



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114008050 A

(43) 申请公布日 2022. 02. 01

(21) 申请号 202080044324.9

(22) 申请日 2020.06.16

(30) 优先权数据

63/036,577 2020.06.09 US

(66) 本国优先权数据

PCT/CN2019/091710 2019.06.18 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.12.16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/037848 2020.06.16

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/257143 EN 2020.12.24

(71) 申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 M·E·扎克 N·S·拉贾帕克萨

Y·X·程 李伟 D·G·M·朔雷

F·A·罗梅罗 M·C·布赖恩

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 邵红 徐志明

(51) Int.Cl.

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 19/08 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

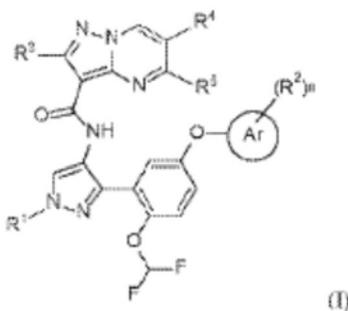
权利要求书8页 说明书152页

(54) 发明名称

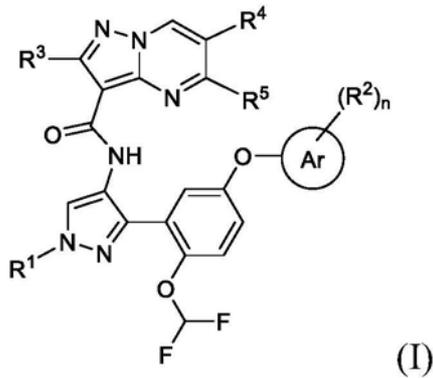
JAK激酶的吡唑并嘧啶芳基醚抑制剂及其用途

(57) 摘要

本文描述了可用作JAK激酶抑制剂的化合物及其盐。还提供了包含这种JAK抑制剂和药用载体、佐剂或媒介物的药物组合物,以及治疗患者的对Janus激酶活性的抑制有响应的疾病或病症或减轻其严重程度度的方法。



1. 一种式 (I) 化合物:



或其药用盐, 其中:

Ar为: 苯基; 1,2,3,4-四氢异喹啉基; 吡啶基; 吡啶基; 或哒嗪基;

R<sup>1</sup>为: 氢; C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; -(CHR<sup>a</sup>)<sub>h</sub>-het<sup>1</sup>; -(CHR<sup>a</sup>)<sub>k</sub>-NR<sup>a</sup>-het<sup>1</sup>; 或-(CHR<sup>a</sup>)<sub>m</sub>-C<sub>3-6</sub>环烷基, 其中环烷基部分可以未被取代或被R<sup>d</sup>取代一次或两次;

每个R<sup>2</sup>独立地为: C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基; C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基; 卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-SO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 羟基; 氰基; 氰基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 卤代; 乙酰基; -(CHR<sup>a</sup>)<sub>p</sub>-het<sup>2</sup>; -(CHR<sup>a</sup>)<sub>q</sub>-NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>; -(CHR<sup>a</sup>)<sub>r</sub>-C(O)-NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>; -(CHR<sup>a</sup>)<sub>s</sub>-NR<sup>a</sup>-C(O)-NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>; 或-(CHR<sup>a</sup>)<sub>t</sub>-C<sub>3-6</sub>环烷基, 其中环烷基部分可以未被取代或被R<sup>e</sup>取代一次或两次;

R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>各自独立地为: 氢; 或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基;

每个R<sup>a</sup>独立地为: 氢; 或C<sub>1-6</sub>烷基;

每个R<sup>b</sup>独立地为: 氢; C<sub>1-6</sub>烷基; 或羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

每个R<sup>c</sup>独立地为: 氢; C<sub>1-6</sub>烷基; 羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 氰基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 氧杂环丁烷基; 2-吗啉代乙基; 1-甲基-氮杂环丁烷-3-基; 2-(N,N-二甲基氨基)-乙基; 羟基环丁基; 或3-(N,N-二甲基氨基)-吡咯烷-1-基; (CHR<sup>a</sup>)<sub>u</sub>-C<sub>3-6</sub>环烷基, 其中环烷基部分可以未被取代或被R<sup>e</sup>取代一次或两次;

或者R<sup>b</sup>和R<sup>c</sup>与它们所连接的氮原子一起可以形成het<sup>3</sup>;

每个R<sup>d</sup>独立地为: C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、羟基或卤代;

每个R<sup>e</sup>独立地为: C<sub>1-6</sub>烷基; 羟基; 氰基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基; 吗啉基; 或-(CHR<sup>a</sup>)<sub>v</sub>-NR<sup>g</sup>R<sup>h</sup>, 其中R<sup>g</sup>和R<sup>h</sup>各自独立地为氢或C<sub>1-6</sub>烷基;

h为0至2;

k为0至2;

m为0至2;

n为0至2;

p为0至2;

q为0至2;

r为0至2;

s为0至2;

t为0至2;

u为0至2;

v为0至2;

het<sup>1</sup>为:氧杂环丁烷基;四氢呋喃基;四氢吡喃基;或吡咯烷基;其中的每一个可以未被取代或被R<sup>d</sup>取代一次或两次;

het<sup>2</sup>为:氮杂环丁烷基;吡咯烷基;氧杂环丁烷基;哌啶基;吗啉基;哌嗪基;氮杂萘基;奎宁环基;或吡唑基;其中的每一个可以未被取代或被R<sup>e</sup>取代一次或两次;并且

het<sup>3</sup>为:氮杂环丁烷基;吡咯烷基;哌啶基;吗啉基;哌嗪基;或氮杂萘基;其中的每一个可以未被取代或被R<sup>e</sup>取代一次或两次。

2. 根据权利要求1所述的化合物,或其立体异构体或药用盐,其中Ar为:苯基;或吡唑基。

3. 根据权利要求1或2所述的化合物,或其立体异构体或药用盐,其中Ar为苯基。

4. 根据权利要求1或2所述的化合物,或其立体异构体或药用盐,其中Ar为吡唑基。

5. 根据权利要求1所述的化合物,或其立体异构体或药用盐,其中R<sup>1</sup>为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的化合物,或其立体异构体或药用盐,其中R<sup>1</sup>为甲基。

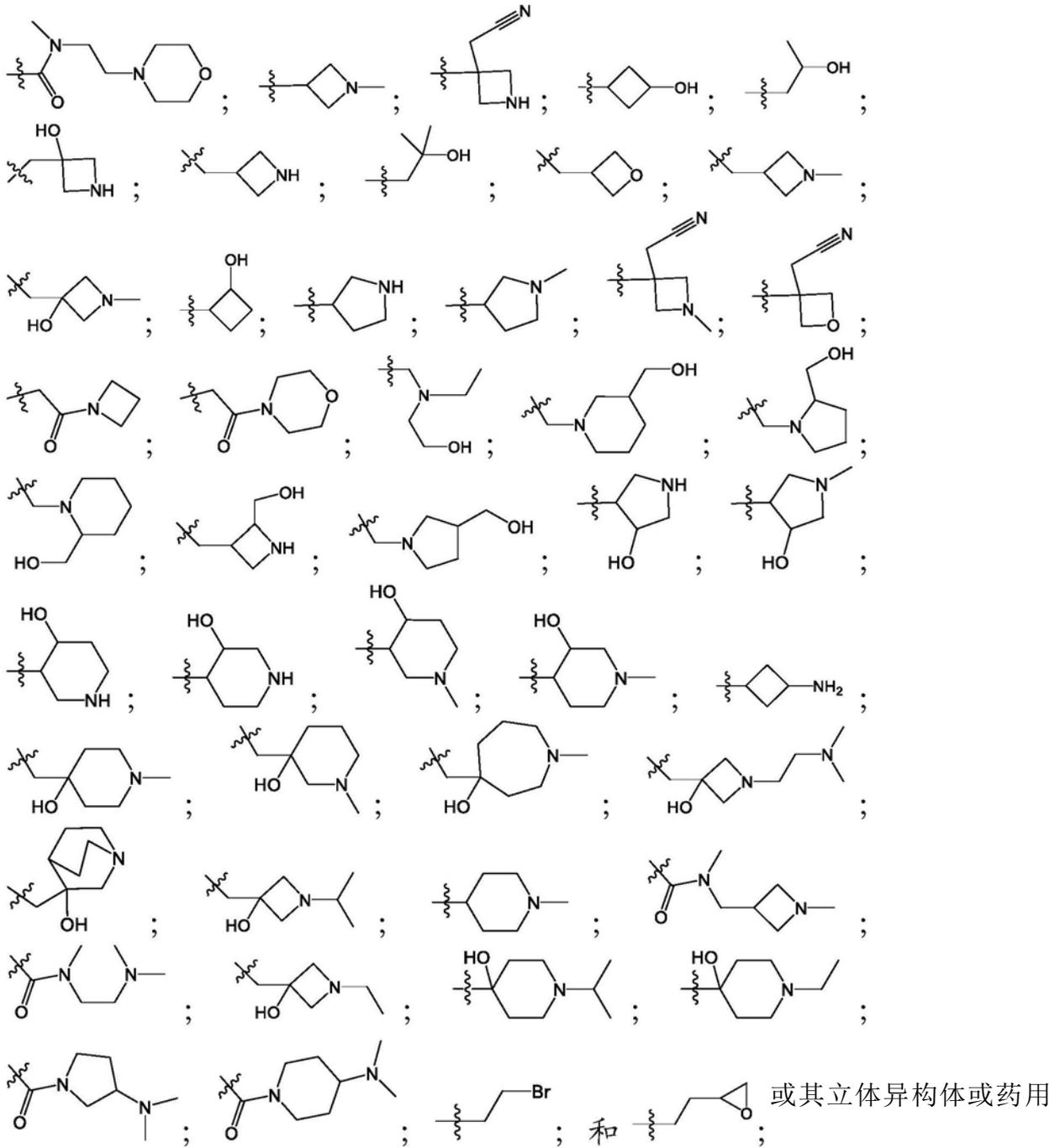
7. 根据权利要求1至6中任一项所述的化合物,或其立体异构体或药用盐,其中n为0。

8. 根据权利要求1至6中任一项所述的化合物,或其立体异构体或药用盐,其中n为1。

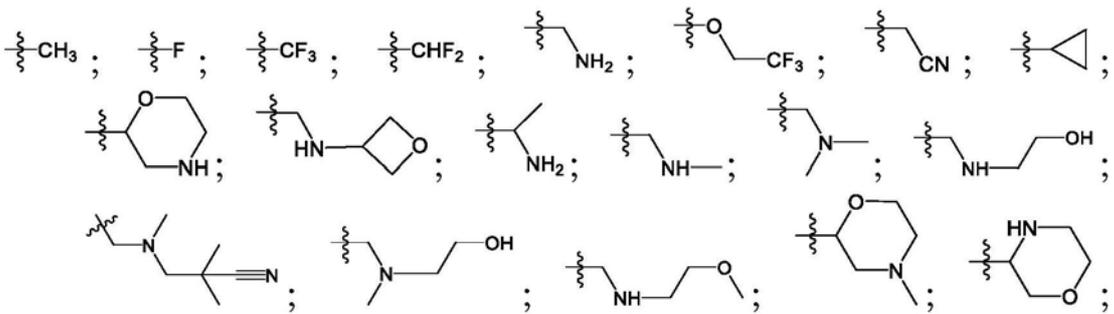
9. 根据权利要求1至6中任一项所述的化合物,或其立体异构体或药用盐,其中n为2。

10. 根据权利要求1至9中任一项所述的化合物,其中每个R<sup>2</sup>独立地选自:

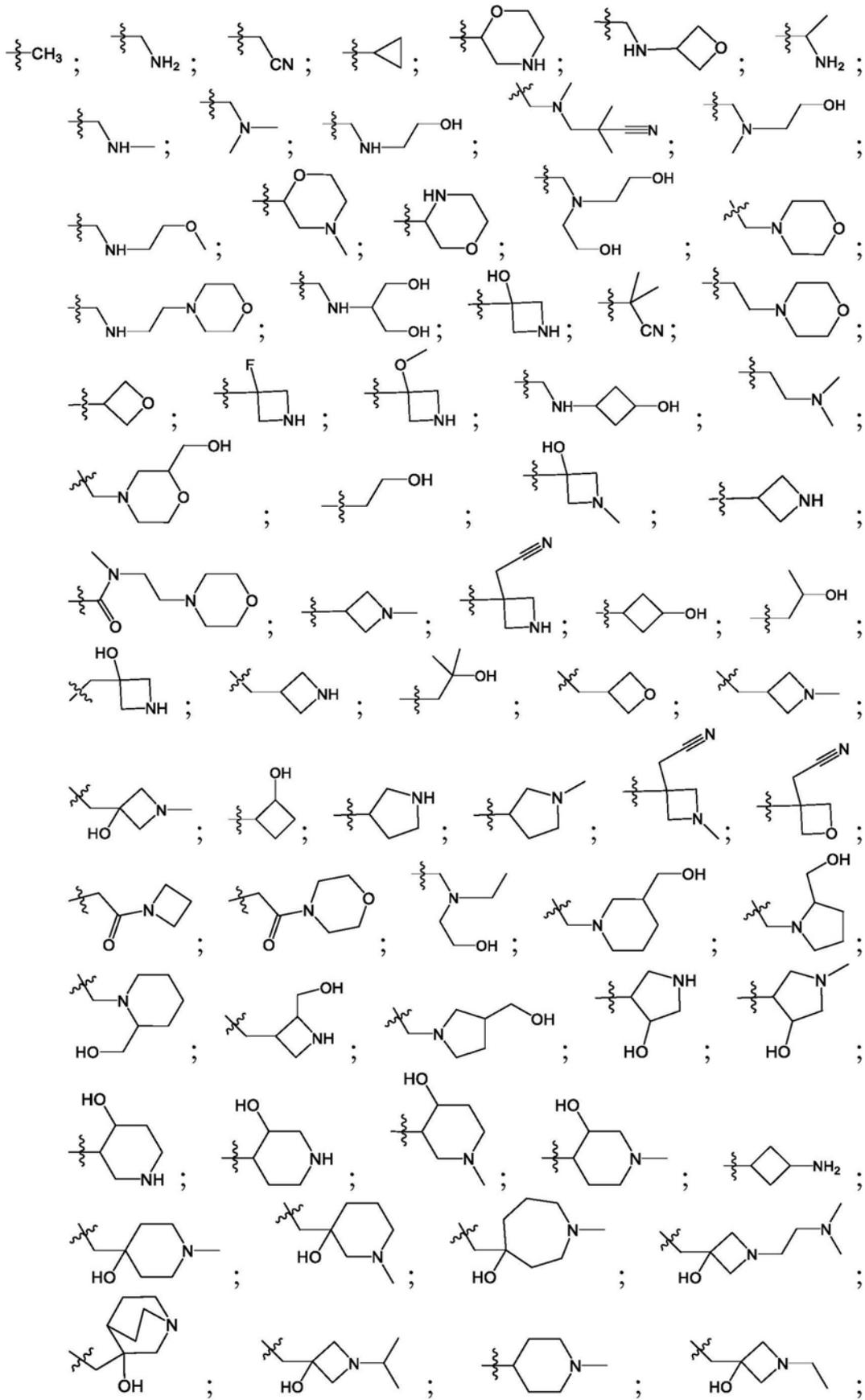


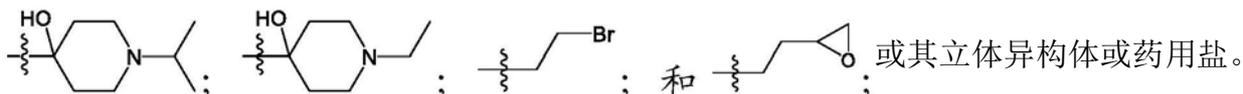


11. 根据权利要求1至9中任一项所述的化合物,其中每个R<sup>2</sup>独立地选自:

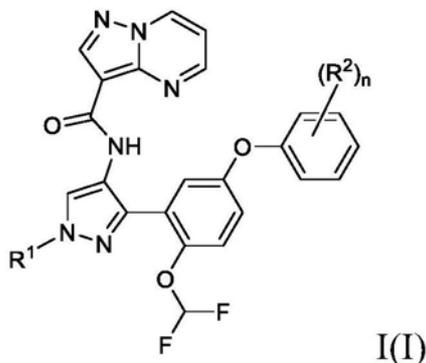






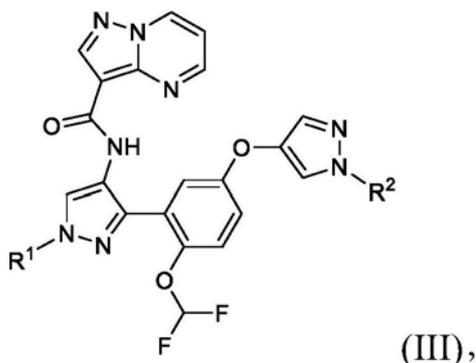


13. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为式(II)化合物:



或其立体异构体或药用盐。

14. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为式(III)化合物:



或其立体异构体或药用盐。

15. 一种预防、治疗患者的对Janus激酶活性的抑制有响应的疾病或病症或减轻其严重程度方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的根据权利要求1至14中任一项所述的化合物,或其立体异构体或药用盐。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中所述疾病或病症为癌症、中风、糖尿病、肝肿大、心血管疾病、多发性硬化、阿尔茨海默氏病、囊性纤维化、病毒性疾病、自身免疫性疾病、动脉粥样硬化、再狭窄、银屑病、类风湿性关节炎、炎症性肠病、哮喘、变态反应性疾病、炎症、神经系统疾患、激素相关疾病、与器官移植相关的病症(例如,移植排斥)、免疫缺陷疾患、破坏性骨病、增生性疾患、感染性疾病、与细胞死亡有关的病症、凝血酶诱导的血小板聚集、肝病、涉及T细胞活化的病理性免疫病症、CNS疾患或骨髓增生性疾患。

17. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至14中任一项所述的化合物,或其立体异构体或药用盐,其中所述药物组合物包含适合于吸入递送的所述化合物的微粒。

18. 根据权利要求17所述的药物组合物,其中所述微粒通过喷雾干燥、冷冻干燥或微粉化来制备。

19. 一种试剂盒,其包含:

(a) 第一药物组合物,其包含根据权利要求1至14中任一项所述的化合物,或其立体异构体或药用盐;和

(b) 使用说明书。

20. 根据权利要求14所述的试剂盒,其进一步包括第二药物组合物,所述第二药物组合物包含用于治疗炎性疾患的药剂、或化疗剂。

21. 根据权利要求1至14中任一项所述的化合物,或其立体异构体或药用盐用于治疗炎性疾病的用途。

22. 根据权利要求1至14中任一项所述的化合物,或其立体异构体或药用盐在制备用于治疗炎性疾病的药物中的用途。

23. 根据权利要求21至22中任一项所述的化合物,或其立体异构体或药用盐的用途,其中所述炎性疾病是哮喘。

24. 如本文所述的本发明。

## JAK激酶的吡唑并嘧啶芳基醚抑制剂及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2019年6月18日提交的国际申请号PCT/CN2019/091710和2020年6月9日提交的美国临时申请号63/036,577的优先权,其公开内容通过引用并入本文。

### 技术领域

[0003] 本发明涉及Janus激酶(诸如JAK1和JAK2)抑制剂化合物,及包含这些化合物的组合物,和使用方法,所述使用方法包括但不限于诊断或治疗患有响应于JAK激酶抑制的病症的患者。

### 背景技术

[0004] 细胞因子途径介导广泛的生物学功能,包括炎症和免疫的许多方面。Janus激酶(JAK),包括JAK1、JAK2、JAK3和TYK2,是与I型和II型细胞因子受体相关并调节细胞因子信号转导的细胞质蛋白激酶。细胞因子与同源受体的结合触发受体相关JAK的激活,并且这导致信号转导和转录激活因子(STAT)蛋白的JAK介导的酪氨酸磷酸化并最终导致特定基因集的转录激活(Schindler et al.,2007,J.Biol.Chem.282:20059-63)。JAK1、JAK2和TYK2表现出广泛的基因表达模式,而JAK3表达仅限于白细胞。细胞因子受体通常作为异二聚体发挥作用,并且因此通常多于一种类型的JAK激酶与细胞因子受体复合物相关。在许多情况下,与不同细胞因子受体复合物相关的特异性JAK已通过遗传学研究确定,并得到了其他实验证据的证实。抑制JAK酶的示例性治疗益处例如国际专利申请No.WO2013/014567中进行了讨论。

[0005] JAK1最初是在筛选新激酶的过程中被鉴定出的(Wilks A.F.,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.86:1603-1607)。遗传和生物化学研究已表明,JAK1在功能和物理上与I型干扰素(例如,IFN $\alpha$ )、II型干扰素(例如,IFN $\gamma$ )以及IL-2和IL-6细胞因子受体复合物相关联(Kisseleva等人,2002,Genes285:1-24;Levy等人,2005,Nat.Rev.Mol.Cell Biol.3:651-662;O'Shea等人,2002,Cell,109(增刊):S121-S131)。JAK1敲除小鼠由于LIF受体信号传导缺陷而在围产期死亡(Kisseleva等人,2002,Genes285:1-24;O'Shea等人,2002,Cell,109(增刊):S121-S131)。来源于JAK1敲除小鼠的组织的表征证明了该激酶在IFN、IL-10、IL-2/IL-4和IL-6途径中的关键作用。一种靶向IL-6途径的人源化单克隆抗体(托珠单抗)被欧洲委员会批准用于治疗中度至重度类风湿性关节炎(Scheinecker等人,2009,Nat.Rev.Drug Discov.8:273-274)。

[0006] CD4<sup>+</sup> T细胞通过在肺内产生包括IL-4、IL-9和IL-13在内的TH2细胞因子而在哮喘发病中发挥重要作用(Cohn等人,2004,Annu.Rev.Immunol.22:789-815)。IL-4和IL-13诱导粘液产生增多、嗜酸性粒细胞到肺的募集以及IgE产生增多(Kasaian等人,2008,Biochem.Pharmacol.76(2):147-155)。IL-9导致肥大细胞激活,这加剧了哮喘症状(Kearley等人,2011,Am.J.Resp.Crit.Care Med.,183(7):865-875)。当 $\alpha$ 分别与共同 $\gamma$ 链或IL-13R $\alpha$ 1链结合时,IL-4R链激活JAK1并与IL-4或IL-13结合(Pernis等人,2002,

J.Clin.Invest.109(10):1279-1283)。共同 $\gamma$ 链也可以与IL-9R $\alpha$ 联合以结合IL-9,并且IL-9R $\alpha$ 也激活JAK1(Demoulin等人,1996,Mol.Cell Biol.16(9):4710-4716)。虽然共同 $\gamma$ 链激活JAK3,但据证实JAK1优于JAK3,并且尽管JAK3有活性,但是对JAK1的抑制足以使经由共同 $\gamma$ 链的信号传导失活(Haan等人,2011,Chem.Biol.18(3):314-323)。通过阻断JAK/STAT信号传导途径来抑制IL-4、IL-13和IL-9信号传导可以减轻临床前肺部炎症模型中的哮喘症状(Mathew等人,2001,J.Exp.Med.193(9):1087-1096;Kudlacz等人,2008,Eur.J.Pharmacol.582(1-3):154-161)。

[0007] 生物化学和遗传学研究已表明了JAK2与单链(例如,EPO)、IL-3和干扰素 $\gamma$ 细胞因子受体家族之间的关联(Kisseleva等人,2002,Genes 285:1-24;Levy等人,2005,Nat.Rev.Mol.Cell Biol.3:651-662;O'Shea等人,2002,Cell,109(增刊):S121-S131)。与此一致,JAK2敲除小鼠死于贫血(O'Shea等人,2002,Cell,109(增刊):S121-S131)。JAK2激酶激活突变(例如,JAK2 V617F)与人类骨髓增生性疾患相关。此外,JAK2与细胞因子受体,例如IL-5和胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)相关。IL-5是负责嗜酸性粒细胞分化、生长、激活、存活和募集到气道的关键细胞因子(Pelaia等人,2019,Front.Physiol.,10:1514;Stirling et al.,2001,Am.J.Respir.Crit.Care Med.,164:1403-9;Fulkerson and Rothenberg,2013,Nat.Rev Drug Discov.,12:117-9.;Varricchi and Canonica,2016,Expert.Rev.Clin.Immunol.,12:903-5)。三种靶向IL-5(美泊利单抗、瑞替珠单抗)或其受体 $\alpha$ 链(贝那利珠单抗)的单克隆抗体药物已被批准用于治疗嗜酸性粒细胞表型哮喘。TSLP是一种上皮细胞衍生的细胞因子,在调节II型免疫中起重要作用,并作为TH2细胞因子产生上游的警报(Kitajima等人,2011,Eur J Immunol.,41:1862-71)。Tezepelumab是TSLP的拮抗剂抗体。2期试验的结果表明,它成功地减少了有和没有2型高特征的患者哮喘恶化(Corren等人,2017,377:936-46)。

[0008] JAK3仅与 $\gamma$ 共同细胞因子受体链相关,该 $\gamma$ 共同细胞因子受体链存在于IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和IL-21细胞因子受体复合物中。JAK3对淋巴样细胞的发育和增殖至关重要,并且JAK3突变导致严重的联合免疫缺陷(SCID)(O'Shea等人,2002,Cell,109(增刊):S121-S131)。基于其在调节淋巴细胞中的作用,JAK3和JAK3介导的途径已被靶向用于免疫抑制适应症(例如,移植排斥和类风湿性关节炎)(Baslund等人,2005,Arthritis & Rheumatism 52:2686-2692;Changelian等人,2003,Science 302:875-878)。

[0009] TYK2与I型干扰素(例如,IFN $\alpha$ )、IL-6、IL-10、IL-12和IL-23细胞因子受体复合物相关(Kisseleva等人,2002,Genes 285:1-24;Watford,W.T.和O'Shea,J.J.,2006,Immunity 25:695-697)。与此一致,来源于TYK2缺陷型人的原代细胞在I型干扰素、IL-6、IL-10、IL-12和IL-23信号传导方面有缺陷。一种靶向IL-12和IL-23细胞因子的共有p40亚基的全人单克隆抗体(优特克单抗)最近被欧洲委员会批准用于治疗中度至重度斑块状银屑病(Krueger等人,2007,N.Engl.J.Med.356:580-92;Reich等人,2009,Nat.Rev Drug Discov.8:355-356)。此外,对靶向IL-12和IL-23途径的抗体进行了治疗克罗恩病的临床试验(Mannon等人,2004,N.Engl.J.Med.351:2069-79)。

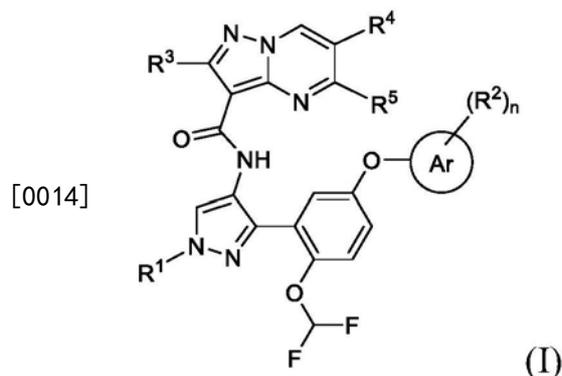
[0010] 国际专利申请公开号WO 2010/051549、WO 2011/003065、WO 2015/177326和WO 2017/089390讨论了据报道可用作一种或多种Janus激酶的抑制剂的某些吡唑并嘧啶化合物。其中提供了显示出对JAK1以及JAK2、JAK3和/或TYK2激酶的抑制的某些特定化合物的数

据。

[0011] 目前,仍然需要作为Janus激酶抑制剂的其他化合物。例如,需要具有作为一种或多种Janus激酶(例如,JAK1和JAK2)的抑制剂的有用效力的化合物与实现有用的治疗益处所必需的其他药理学性质的组合。例如,一般来说,需要表现出对一种Janus激酶的选择性超过对其他激酶的选择性(例如,对JAK1和/或JAK2的选择性超过对其他激酶诸如富含亮氨酸的重复激酶2(LRRK2)的选择性)的有效化合物。还需要表现出对一种Janus激酶的选择性超过对其他Janus激酶的选择性(例如,对JAK1和/或JAK2的选择性超过对JAK3和/或TYK2的选择性)的有效化合物。显示对JAK1和JAK2两者的选择性超过对JAK3和TYK2的选择性的化合物,在对JAK1抑制有响应的条件下可以提供治疗益处。此外,目前需要具有制剂和吸入施用所必需的其他性质(例如,熔点、pK、溶解度等)的有效JAK1抑制剂。此类化合物对于治疗例如哮喘的病症特别有用。

[0012] 因此,本领域需要对诸如上述那些的JAK激酶介导的病症进行附加的或替代的治疗。特别需要可用于吸入递送以治疗气道炎症适应症(例如哮喘)的JAK1和JAK2激酶抑制剂。

[0013] 本文提供了抑制JAK激酶的吡唑并嘧啶,诸如选自式(I)化合物,其立体异构体或盐,如其药用盐。JAK激酶可以是JAK1、JAK2或两者。一个实施例提供了一种式(I)化合物:



[0015] 或其药用盐,其中:

[0016] Ar为:苯基;1,2,3,4-四氢异喹啉基;吡唑基;吡啶基;或哒嗪基;

[0017] R<sup>1</sup>为:氢;C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;- (CHR<sup>a</sup>)<sub>h</sub>-het<sup>1</sup>; - (CHR<sup>a</sup>)<sub>k</sub>-NR<sup>a</sup>-het<sup>1</sup>;或 - (CHR<sup>a</sup>)<sub>m</sub>-C<sub>3-6</sub>环烷基,其中环烷基部分可以未被取代或被R<sup>d</sup>取代一次或两次;

[0018] 每个R<sup>2</sup>独立地为:C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基;C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基;卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-SO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;羟基;氰基;氰基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;卤代;乙酰基;- (CHR<sup>a</sup>)<sub>p</sub>-het<sup>2</sup>; - (CHR<sup>a</sup>)<sub>q</sub>-NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>; - (CHR<sup>a</sup>)<sub>r</sub>-C(O)-NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>; - (CHR<sup>a</sup>)<sub>s</sub>-NR<sup>a</sup>- (CHR<sup>a</sup>)<sub>s</sub>-C(O)-NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>;或 - (CHR<sup>a</sup>)<sub>t</sub>-C<sub>3-6</sub>环烷基,其中环烷基部分可以未被取代或被R<sup>e</sup>取代一次或两次;

[0019] R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>各自独立地为:氢;或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基;

[0020] 每个R<sup>a</sup>独立地为:氢;或C<sub>1-6</sub>烷基;

[0021] 每个R<sup>b</sup>独立地为:氢;C<sub>1-6</sub>烷基;或羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

[0022] 每个R<sup>c</sup>独立地为:氢;C<sub>1-6</sub>烷基;羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;氰基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;氧杂环丁烷基;2-吗啉代乙基;1-甲基-氮杂环丁烷-3-基;2-(N,N-二甲基氨基)-乙基;羟基环丁基;或3-(N,N-二甲基氨基)-吡咯烷-1-基;(CHR<sup>a</sup>)<sub>u</sub>-C<sub>3-6</sub>环烷基,其中环烷基部

分可以未被取代或被R<sup>e</sup>取代一次或两次；

[0023] 或者R<sup>b</sup>和R<sup>c</sup>与它们所连接的氮原子一起可以形成het<sup>3</sup>；

[0024] 每个R<sup>d</sup>独立地为：C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、羟基或卤代；

[0025] 每个R<sup>e</sup>独立地为：C<sub>1-6</sub>烷基；羟基；氰基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；吗啉基；或-(CHR<sup>a</sup>)<sub>v</sub>-NR<sup>g</sup>R<sup>h</sup>，其中R<sup>g</sup>和R<sup>h</sup>各自独立地为氢或C<sub>1-6</sub>烷基；

[0026] h为0至2；

[0027] k为0至2；

[0028] m为0至2；

[0029] n为0至2；

[0030] p为0至2；

[0031] q为0至2；

[0032] r为0至2；

[0033] s为0至2；

[0034] t为0至2；

[0035] u为0至2；

[0036] v为0至2；

[0037] het<sup>1</sup>为：氧杂环丁烷基；四氢呋喃基；四氢吡喃基；或吡咯烷基；其中的每一个可以未被取代或被R<sup>d</sup>取代一次或两次；

[0038] het<sup>2</sup>为：氮杂环丁烷基；吡咯烷基；氧杂环丁烷基；哌啶基；吗啉基；哌嗪基；氮杂~~草~~基；奎宁环基；或吡啶基；其中的每一个可以未被取代或被R<sup>e</sup>取代一次或两次；并且

[0039] het<sup>3</sup>为：氮杂环丁烷基；吡咯烷基；哌啶基；吗啉基；哌嗪基；或氮杂~~草~~基；其中的每一个可以未被取代或被R<sup>e</sup>取代一次或两次；

[0040] 还提供了一种药物组合物，所述药物组合物包含本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0041] 还提供了本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐在治疗中的用途，诸如在炎性疾病（例如，哮喘）的治疗中的用途。还提供了本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐在制备用于治疗炎性疾病的药物中的用途。还提供了一种在患者中预防、治疗响应于Janus激酶活性抑制的疾病或病症或减轻其严重程度度的方法，所述方法包括向患者施用治疗有效量的如本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0042] 哮喘中最有效的细胞因子（IL-4、IL-5、IL-9、IL-13和TSLP）都通过JAK1和/或JAK2发出信号。本发明的化合物对JAK1和JAK2均具有活性。这些化合物中的某些任选地对JAK1和JAK2均具有最佳平衡的共活性，或者对JAK1的亲合力略高于JAK2，而不是对这些激酶中的一种具有比另一种大得多的活性。主题化合物还对与肺毒性有关的脱靶激酶如LRRK2具有良好的选择性。

[0043] 虽然在简单的生化分析中，许多化合物可能对JAK1和JAK2都表现出高亲和力，但并非所有这些化合物都能有效介导与JAK1和JAK2相关的相关细胞因子。本发明的某些化合物除了对JAK1和JAK2都具有活性外，还在基于细胞的测定中显示在介导与JAK1和JAK2相关的哮喘相关细胞因子方面是有效的。

[0044] 本发明的化合物还在肺组织中表现出有利的药代动力学（PK）特性并且可用于吸

入疗法。当使用诸如干粉吸入 (DPI) 或鼻内 (IN) 递送的技术通过吸入途径给药时,某些化合物出人意料地显示出在肺组织内的持续滞留,而在体循环中的浓度要低得多。这种改进的 PK 特性可以有利地导致有效治疗的更小剂量和更低频率的给药要求。某些化合物表现出出乎意料的改善的溶解度,再次在肺中提供了改善的功效。与其他 JAK 抑制剂相比,本发明的某些化合物还表现出出乎意料的细胞毒性降低。

## 具体实施方式

### [0045] 定义

[0046] “卤素”或“卤代基”是指氟、氯、溴或碘。另外,术语如“卤代烷基”意指包括单卤代烷基和多卤代烷基,其中一个或多个卤素取代烷基基团的一个或多个氢。

[0047] 术语“烷基”是指饱和的直链或支链单价烃基,其中该烷基可以任选地被取代。在一个实例中,烷基为一至十八个碳原子 ( $C_1-C_{18}$ )。在其他实例中,烷基是  $C_0-C_6$ 、 $C_0-C_5$ 、 $C_0-C_3$ 、 $C_1-C_{12}$ 、 $C_1-C_{10}$ 、 $C_1-C_8$ 、 $C_1-C_6$ 、 $C_1-C_5$ 、 $C_1-C_4$ , 或  $C_1-C_3$ 。  $C_0$  烷基是指键。烷基基团的示例包括甲基 (Me,  $-CH_3$ )、乙基 (Et,  $-CH_2CH_3$ )、1-丙基 (n-Pr, 正丙基,  $-CH_2CH_2CH_3$ )、2-丙基 (i-Pr, 异丙基,  $-CH(CH_3)_2$ )、1-丁基 (n-Bu, 正丁基,  $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ )、2-甲基-1-丙基 (i-Bu, 异丁基,  $-CH_2CH(CH_3)_2$ )、2-丁基 (s-Bu, 仲丁基,  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ )、2-甲基-2-丙基 (t-Bu, 叔丁基,  $-C(CH_3)_3$ )、1-戊基 (正戊基,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ )、2-戊基 ( $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$ )、3-戊基 ( $-CH(CH_2CH_3)_2$ )、2-甲基-2-丁基 ( $-C(CH_3)_2CH_2CH_3$ )、3-甲基-2-丁基 ( $-CH(CH_3)CH(CH_3)_2$ )、3-甲基-1-丁基 ( $-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$ )、2-甲基-1-丁基 ( $-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$ )、1-己基 ( $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ )、2-己基 ( $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$ )、3-己基 ( $-CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$ )、2-甲基-2-戊基 ( $-C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$ )、3-甲基-2-戊基 ( $-CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$ )、4-甲基-2-戊基 ( $-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$ )、3-甲基-3-戊基 ( $-C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$ )、2-甲基-3-戊基 ( $-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$ )、2,3-二甲基-2-丁基 ( $-C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$ )、3,3-二甲基-2-丁基 ( $-CH(CH_3)C(CH_3)_3$ )、1-庚基和1-辛基。在一些实施例中,用于“任选取代的烷基”的取代基包括 F、Cl、Br、I、OH、SH、CN、NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>3</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、C(O)CH<sub>3</sub>、COOH、CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、环丙基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、氧代基、三氟甲基、二氟甲基、磺酰氨基、甲磺酰氨基、SO、SO<sub>2</sub>、苯基、哌啶基、哌嗪基和嘧啶基中的一个至四个实例,其中它们的烷基、苯基和杂环部分可以任选地被取代,诸如被一至四个选自该相同列表的取代基取代。

[0048] 术语“烯基”是指具有至少一个不饱和位点(即,碳-碳双键)的直链或支链单价烃基,其中烯基可以任选地被取代,并且包括具有“顺式”和“反式”取向,或者替代地“E”和“Z”取向的基团。在一个实例中,烯基是二至十八个碳原子 ( $C_2-C_{18}$ )。在其他实例中,烯基是  $C_2-C_{12}$ 、 $C_2-C_{10}$ 、 $C_2-C_8$ 、 $C_2-C_6$  或  $C_2-C_3$ 。实例包括但不限于乙烯基 (ethenyl 或 vinyl) ( $-CH=CH_2$ )、丙-1-烯基 ( $-CH=CHCH_3$ )、丙-2-烯基 ( $-CH_2CH=CH_2$ )、2-甲基丙-1-烯基、丁-1-烯基、丁-2-烯基、丁-3-烯基、丁-1,3-二烯基、2-甲基丁-1,3-二烯基、己-1-烯基、己-2-烯基、己-3-烯基、己-4-烯基和己-1,3-二烯基。在一些实施例中,用于“任选取代的烯基”的取代基包括 F、Cl、Br、I、OH、SH、CN、NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>3</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、C(O)CH<sub>3</sub>、COOH、CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、环丙基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、氧代基、三氟甲基、二氟甲基、磺酰氨基、甲磺酰氨基、SO、SO<sub>2</sub>、苯基、哌啶基、哌嗪基和嘧啶基中的一个至四个实例,其中它们的烷基、苯基和杂环部分可以任选地被取代,诸如被一至四个选自该相同列表的取代基取代。

[0049] 术语“炔基”是指具有至少一个不饱和位点(即碳-碳三键)的直链或支链一价烃基,其中炔基可以任选地被取代。在一个实例中,炔基为两个至十八个碳原子( $C_2-C_{18}$ )。在其他实例中,炔基是 $C_2-C_{12}$ 、 $C_2-C_{10}$ 、 $C_2-C_8$ 、 $C_2-C_6$ 或 $C_2-C_3$ 。实例包括但不限于乙炔基( $-C\equiv CH$ )、丙-1-炔基( $-C\equiv CCH_3$ )、丙-2-炔基(炔丙基,  $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ )、丁-1-炔基、丁-2-炔基和丁-3-炔基。在一些实施例中,用于“任选取代的炔基”的取代基包括F、Cl、Br、I、OH、SH、CN、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NHCH}_3$ 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{N}_3$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $\text{COOH}$ 、 $\text{CO}_2\text{CH}_3$ 、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、环丙基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、氧代基、三氟甲基、二氟甲基、磺酰氨基、甲磺酰氨基、 $\text{SO}$ 、 $\text{SO}_2$ 、苯基、哌啶基、哌嗪基和嘧啶基中的一个至四个实例,其中它们的烷基、苯基和杂环部分可以任选地被取代,诸如被一至四个选自该相同列表的取代基取代。

[0050] “亚烷基”是指饱和支链或直链烃基团,其具有通过从母体烷烃的相同或两个不同碳原子上移去两个氢原子得到的两个单价自由基中心。在一个实例中,二价亚烷基基团为一至十八个碳原子( $C_1-C_{18}$ )。在其他实例中,二价亚烷基基团是 $C_0-C_6$ 、 $C_0-C_5$ 、 $C_0-C_3$ 、 $C_1-C_{12}$ 、 $C_1-C_{10}$ 、 $C_1-C_8$ 、 $C_1-C_6$ 、 $C_1-C_5$ 、 $C_1-C_4$ ,或 $C_1-C_3$ 。基团 $C_0$ 亚烷基是指键。示例性的亚烷基基团包括亚甲基( $-\text{CH}_2-$ )、1,1-乙基( $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ )、1,2-乙基( $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ )、1,1-丙基( $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ )、2,2-丙基( $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ )、1,2-丙基( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ )、1,3-丙基( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ )、1,1-二甲基-乙-1,2-基( $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$ )、1,4-丁基( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ )等等。

[0051] 术语“杂烷基”是指由指明数目的碳原子(或者,如果没有指明,则至多18个碳原子)和一至五个选自由O、N、Si和S组成的组的杂原子组成的直链或支链一价烃基,并且其中氮原子和硫原子可以任选地被氧化,并且氮杂原子可以任选地被季铵化。在一些实施例中,杂原子选自O、N和S,其中氮和硫原子可任选地被氧化并且氮杂原子可任选地被季铵化。一个或多个杂原子可位于杂烷基基团的任何内部位置处,包括烷基基团与分子其余部分的相连处(例如,  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ )。示例包括 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 和 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ 。至多两个杂原子可以是连续的,例如 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ 和 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 。杂烷基基团可任选地被取代。在一些实施例中,用于“任选取代的杂烷基”的取代基包括F、Cl、Br、I、OH、SH、CN、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NHCH}_3$ 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{N}_3$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $\text{COOH}$ 、 $\text{CO}_2\text{CH}_3$ 、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、环丙基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、氧代基、三氟甲基、二氟甲基、磺酰氨基、甲磺酰氨基、 $\text{SO}$ 、 $\text{SO}_2$ 、苯基、哌啶基、哌嗪基和嘧啶基中的一个至四个实例,其中它们的烷基、苯基和杂环部分可以任选地被取代,诸如被一至四个选自该相同列表的取代基取代。

[0052] “氨基”是指伯胺(即,  $-\text{NH}_2$ )、仲胺(即,  $-\text{NRH}$ )、叔胺(即,  $-\text{NRR}$ )和季胺(即,  $-\text{N}(\text{+})\text{RRR}$ ),所述氨基任选地被取代,其中每个R是相同或不同的并且选自烷基、环烷基、芳基和杂环基,其中烷基、环烷基、芳基和杂环基基团如本文所定义。在许多此类实施例中,R为 $C_1-C_6$ 烷基。特定的仲胺和叔胺是烷基胺、二烷基胺、芳基胺、二芳基胺、芳烷基胺和二芳烷基胺,其中烷基和芳基部分可以任选地被取代。特定的仲胺和叔胺是甲胺、乙胺、丙胺,异丙胺、苯胺、苄胺、二甲胺、二乙胺、二丙胺和二异丙胺。在一些实施例中,季胺的R基团各自独立地是任选取代的烷基基团。

[0053] “芳基”是指无论是否稠合至一个或多个基团,都具有指定的碳原子数,或者如果未指定数目,则至多14个碳原子的碳环芳族基团。一个实例包括具有6-14个碳原子的芳基基团。另一实例包括具有6-10个碳原子的芳基基团。芳基基团的实例包括苯基、萘基、联苯

基、菲基、并四苯基 (naphthaceny1)、1,2,3,4-四氢萘基、1H-茛基、2,3-二氢-1H-茛基等(参见,例如,Lang's Handbook of Chemistry (Dean, J.A., ed.) 13<sup>th</sup> ed. Table 7-2 [1985])。具体的芳基是苯基。取代的苯基或取代的芳基是指被一个、两个、三个、四个或五个取代基(例如,1-2个、1-3个或1-4个取代基)取代的苯基基团或芳基基团,所述取代基诸如选自本文指定的基团(参见“任选取代的”定义),诸如F、Cl、Br、I、OH、SH、CN、NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>3</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、C(O)CH<sub>3</sub>、COOH、CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、环丙基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、氧代、三氟甲基、二氟甲基、磺酰氨基、甲磺酰氨基、SO、SO<sub>2</sub>、苯基、哌啶基、哌嗪基和嘧啶基中的一个至四个实例,其中它们的烷基、苯基和杂环部分可以任选地被取代,诸如被一至四个选自该相同列表的取代基取代。术语“取代的苯基”的示例包括单或二(卤代)苯基基团,诸如2-氯苯基、2-溴苯基、4-氯苯基、2,6-二氯苯基、2,5-二氯苯基、3,4-二氯苯基、3-氯苯基、3-溴苯基、4-溴苯基、3,4-二溴苯基、3-氯-4-氟苯基、2-氟苯基、2,4-二氟苯基等;单或二(羟基)苯基基团,诸如4-羟基苯基、3-羟基苯基、2,4-二羟基苯基,它们的羟基受保护的衍生物等;硝基苯基基团,诸如3-硝基苯基或4-硝基苯基;氰基苯基基团,例如4-氰基苯基;单或二(烷基)苯基基团,诸如4-甲基苯基、2,4-二甲基苯基、2-甲基苯基、4-(异丙基)苯基、4-乙基苯基、3-(正丙基)苯基等;单或二(烷氧基)苯基基团,例如3,4-二甲氧基苯基、3-甲氧基-4-苄氧基苯基、3-乙氧基苯基、4-(异丙氧基)苯基、4-(叔丁氧基)苯基、3-乙氧基-4-甲氧基苯基等;3-三氟甲基苯基或4-三氟甲基苯基;单或二羧基苯基或(羧基受保护的)苯基基团,诸如4-羧基苯基,单或二(羟甲基)苯基或(羟甲基受保护的)苯基,诸如3-(羟甲基受保护的)苯基或3,4-二(羟甲基)苯基;单或二(氨基甲基)苯基或(氨基甲基受保护的)苯基,诸如2-(氨基甲基)苯基或2,4-(氨基甲基受保护的)苯基;或单或二(N-(甲基磺酰氨基))苯基,例如3-(N-(甲基磺酰氨基))苯基。另外,术语“取代的苯基”表示取代基不同的二取代苯基基团,例如3-甲基-4-羟基苯基、3-氯-4-羟基苯基、2-甲氧基-4-溴苯基、4-乙基-2-羟基苯基、3-羟基-4-硝基苯基、2-羟基-4-氯苯基、2-氯-5-二氟甲氧基等;以及取代基不同的三取代苯基基团,例如3-甲氧基-4-苄氧基-6-甲基磺酰氨基、3-甲氧基-4-苄氧基-6-苯基磺酰氨基;以及取代基不同的四取代苯基基团,诸如3-甲氧基-4-苄氧基-5-甲基-6-苯基磺酰氨基。在一些实施例中,芳基的取代基诸如苯基,包含酰胺。例如,芳基(例如,苯基)取代基可以是-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>CONR'R",其中R'和R"各自独立地指包括例如以下的基团:氢;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基;未取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或NR'R"取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;未取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基);以及被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基);或者R'和R"可以与氮原子结合以形成3元环、4元环、5元环、6元环或7元环,其中环原子任选地被N、O或S取代,并且其中环任选地被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代。

[0054] “环烷基”是指非芳族的饱和或部分不饱和的烃环基团,其中环烷基基团可任选地独立地被一个或多个本文所述的取代基取代。在一个实例中,环烷基基团为3至12个碳原子

(C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>)。在其他实例中,环烷基为C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>,C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> or C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>。在其他实例中,作为单环的环烷基基团是C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>或C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>。在另一个实例中,作为双环的环烷基基团是C<sub>7</sub>-C<sub>12</sub>。作为螺环系的环烷基基团是C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub>。单环环烷基的示例包括环丙基、环丁基、环戊基、1-环戊-1-烯基、1-环戊-2-烯基、1-环戊-3-烯基、环己基、全氘代环己基、1-环己-1-烯基、1-环己基-2-烯基、1-环己-3-烯基、环己二烯基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、环十一烷基和环十二烷基。具有7至12个环原子的双环环烷基的示例性排列包括但不限于[4,4]、[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]环体系。示例性桥接双环环烷基包括但不限于双环[2.2.1]庚烷、双环[2.2.2]辛烷和双环[3.2.2]壬烷。螺环烷基的示例包括螺[2.2]戊烷、螺[2.3]己烷、螺[2.4]庚烷,螺[2.5]辛烷和螺[4.5]癸烷。在一些实施例中,用于“任选取代的环烷基”的取代基包括F、Cl、Br、I、OH、SH、CN、NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>3</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、C(O)CH<sub>3</sub>、COOH、CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、环丙基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、氧代基、三氟甲基、二氟甲基、磺酰氨基、甲磺酰氨基、SO、SO<sub>2</sub>、芳基、哌啶基、哌嗪基和嘧啶基中的一个至四个实例,其中它们的烷基、芳基和杂环部分可以任选地被取代,诸如被一至四个选自该相同列表的取代基取代。在一些实施例中,环烷基的取代基包含酰胺。例如,环烷基取代基可以是-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>CONR'R",其中R'和R"各自独立地指包括例如以下的基团:氢;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基;未取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或NR'R"取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;未取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基);以及被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基);或者R'和R"可以与氮原子结合以形成3元环、4元环、5元环、6元环或7元环,其中环原子任选地被N、O或S取代,并且其中环任选地被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代。

[0055] “杂环基团”、“杂环的”、“杂环(heterocycle)”、“杂环基”或“杂环(heterocyclo)”可互换使用,并且是指具有3至20个环原子(例如,3-10个环原子)的任何单环系、双环系、三环系或螺环系,饱和或不饱和的环系、芳族(杂芳基)或非芳族(例如杂环烷基)环系,其中环原子是碳,并且该环或环系中的至少一个原子是选自氮、硫或氧的杂原子。如果环状体系的任一环原子是杂原子,则该体系是杂环,无论所述环状体系与分子其余部分的连接点如何。在一个实例中,杂环基包括3-11个环原子(“元”)并且包括单环系、双环系,三环系和螺环系,其中环原子是碳,其中该环或环系中的至少一个原子是选自氮、硫或氧的杂原子。在一实例中,杂环基包括1至4个杂原子。在一实例中,杂环基包括1至3个杂原子。在另一实例中,杂环基包括3元至7元单环,其具有1-2个、1-3个或1-4个选自氮、硫或氧的杂原子。在另一实例中,杂环基包括4元至6元单环,其具有1-2个、1-3个或1-4个选自氮、硫或氧的杂原子。在另一实例中,杂环基包括3元单环。在另一实例中,杂环基包括4元单环。在另一个实例中,杂环基包括5-6元单环,例如5-6元杂芳基。在另一个实例中,杂环基包括3-11元杂环烷基,例如4-11元杂环烷基。在一些实施例中,杂环基烷基包括至少一个氮。在一实例中,所述杂环基包括0至3个双键。任何氮或硫杂原子都可任选地被氧化(例如,NO、SO、SO<sub>2</sub>),并且任何氮

杂原子都可任选地被季铵化(例如,  $[\text{NR}_4]^+\text{Cl}^-$ 、 $[\text{NR}_4]^+\text{OH}^-$ )。杂环的实例是环氧乙烷基、氮丙啶基、硫杂环丙烷基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基、1,2-二硫杂环丁烷基、1,3-二硫杂环丁烷基、吡咯烷基、二氢-1H-吡咯基、二氢呋喃基、四氢呋喃基、二氢噻吩基、四氢噻吩基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基、异喹啉基、四氢异喹啉基、吗啉基、硫代吗啉基、1,1-二氧-硫代吗啉基、二氢吡喃基、四氢吡喃基、六氢硫代吡喃基、六氢嘧啶基、噁嗪基、噻嗪基、硫杂氧杂环己基(thioxanyl)、高哌嗪基(homopiperazinylyl)、高哌啶基(homopiperidinylyl)、氮杂环庚烷基(azepanyl)、氧杂环庚烷基(oxepanyl)、硫杂环庚烷基(thiepanyl)、氧杂环庚烯基(oxazepinylyl)、氧杂氮杂环庚烷基(oxazepanyl)、二氮杂环庚烷基(diazepanyl)、1,4-二氮杂环庚烷基、二氮杂卓、三氮杂卓、硫杂氮杂环庚烷基(thiazepanyl)、四氢噻喃基、噁唑烷基、噻唑烷基、异噻唑烷基、1,1-二氧代异噻唑啉基、噁唑烷二基、咪唑啉酮基、4,5,6,7-四氢[2H]吡唑基、四氢苯并咪唑基、4,5,6,7-四氢苯并[d]咪唑基、1,6-二氢咪唑[4,5-d]吡咯并[2,3-b]吡啶基、噻嗪基、噁嗪基、噻二嗪基、噁二嗪基、二噻嗪基、二噁嗪基、噁噻嗪基、噻三嗪基、噁三嗪基、二噻二嗪基、咪唑啉基、二氢嘧啶基、四氢嘧啶基、1-吡咯烷基、2-吡咯烷基、3-吡咯啉基、吡啶基、噻喃基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二噁烷基、1,3-二氧戊环基、吡唑啉基、吡唑烷基、二噻吩基、二硫杂环戊基、嘧啶酮、嘧啶二酮、嘧啶-2,4-二甲酰基、哌嗪酮基、哌嗪二酮基、吡唑烷基亚胺基咪唑啉基、3-氮杂双环[3.1.0]己烷基、3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷基、6-氮杂双环[3.1.1]庚烷基、3-氮杂双环[3.1.1]庚基、3-氮杂双环[4.1.0]庚烷基、氮杂双环[2.2.2]己烷基、2-氮杂双环[3.2.1]辛烷基、8-氮杂双环[3.2.1]辛烷基、2-氮杂双[2.2.2]辛烷基、8-氮杂双环[2.2.2]辛烷基、7-噁双环[2.2.1]庚烷、氮杂螺[3.5]壬烷基、氮杂螺[2.5]辛烷基、氮杂螺[4.5]癸烷基、1-氮杂螺[4.5]癸烷-2-基、氮杂螺[5.5]十一烷基、四氢吡啶基、八氢吡啶基、四氢异吡啶基、四氢吡啶基、1,1-二氧六氢硫代吡喃基。含有硫或氧原子和一至三个氮原子的5元杂环的示例是噻唑基,包括噻唑-2-基和噻唑-2-基氮氧化物;噻二唑基,包括1,3,4-噻二唑-5-基和1,2,4-噻二唑-5-基;噁唑基,例如噁唑-2-基;以及噁二唑基,诸如1,3,4-噁二唑-5-基和1,2,4-噁二唑-5-基。含有2至4个氮原子的示例性5元环杂环包括咪唑基,例如咪唑-2-基;三唑基,例如1,3,4-三唑-5-基;1,2,3-三唑-5-基、1,2,4-三唑-5-基;以及四唑基,例如1H-四唑-5-基。示例性苯并稠合的5元杂环是苯并噁唑-2-基、苯并噻唑-2-基和苯并咪唑-2-基。示例性6元杂环含有一个至三个氮原子和任选的硫或氧原子,例如吡啶基,诸如吡啶-2-基、吡啶-3-基和吡啶-4-基;嘧啶基,诸如嘧啶-2-基和嘧啶-4-基;三嗪基,诸如1,3,4-三嗪-2-基和1,3,5-三嗪-4-基;哒嗪基,尤其是哒嗪-3-基和吡嗪基。吡啶N-氧化物和哒嗪N-氧化物以及吡啶基、嘧啶-2-基、嘧啶-4-基、哒嗪基和1,3,4-三嗪-2-基基团是其他示例性杂环基团。杂环可任选地被取代。例如,用于“任选取代的杂环”的取代基包括F、Cl、Br、I、OH、SH、CN、NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>3</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、C(O)CH<sub>3</sub>、COOH、CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、环丙基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、氧代基、三氟甲基、二氟甲基、磺酰氨基、甲磺酰氨基、SO、SO<sub>2</sub>、芳基、哌啶基、哌嗪基和嘧啶基中的一个至四个实例,其中它们的烷基、芳基和杂环部分可以任选地被取代,诸如被一至四个选自该相同列表的取代基取代。在一些实施例中,杂环基团的取代基(诸如杂芳基或杂环烷基)包括酰胺。例如,杂环(例如,杂芳基或杂环烷基)取代基可以是-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>CONR'R",其中R'和R"各自独立地指包括例如以下的基团:氢;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧

基、氧代或NR'R''取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基；被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基；未取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基；被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或NR'R''取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基；未取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基)；以及被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基)；或者R'和R''可以与氮原子结合以形成3元环、4元环、5元环、6元环或7元环,其中环原子任选地被N、O或S取代,并且其中环任选地被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代。

[0056] “杂芳基”是指任何单环、双环或三环系,其中至少一个环是含有1至4个选自氮、氧和硫的杂原子的5元或6元芳族环,并且在一个示例性实施例中,至少一个杂原子是氮。参见,例如,Lang's Handbook of Chemistry (Dean, J.A., ed.) 13<sup>th</sup> ed. Table 7-2 [1985]。该定义包括任何双环基团,其中任何上述杂芳基环与芳基环稠合,其中所述芳基环或所述杂芳基环与分子的其余部分连接。在一个实施例中,杂芳基包括5-6元单环芳族基团,其中一个或多个环原子为氮、硫或氧。示例性杂芳基基团包括噻吩基、呋喃基、咪唑基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、噁唑基、异噁唑基、三唑基、噻二唑基、噁二唑基、四唑基、噻三唑基、噁三唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、三嗪基、四嗪基、四唑并[1,5-b]哒嗪基、咪唑[1,2-a]嘧啶基和嘌呤基,以及苯并稠合衍生物,例如苯并噁唑基、苯并呋喃基、苯并噻唑基、苯并噻二唑基、苯并三唑基、苯并咪唑基和吲哚基。杂芳基基团可任选地被取代。在一些实施例中,用于“任选取代的杂芳基”的取代基包括F、Cl、Br、I、OH、SH、CN、NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>3</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、C(O)CH<sub>3</sub>、COOH、CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、环丙基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、三氟甲基、二氟甲基、磺酰氨基、甲磺酰氨基、SO、SO<sub>2</sub>、苯基、哌啶基、哌嗪基和嘧啶基中的一个至四个实例,其中它们的烷基、苯基和杂环部分可以任选地被取代,诸如被一至四个选自该相同列表的取代基取代。在一些实施例中,杂芳基的取代基包含酰胺。例如,杂芳基取代基可以是-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>CONR'R'',其中R'和R''各自独立地指包括例如以下的基团:氢;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基;未取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或NR'R''取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;未取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基)；以及被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基)；或者R'和R''可以与氮原子结合以形成3元环、4元环、5元环、6元环或7元环,其中环原子任选地被N、O或S取代,并且其中环任选地被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代。

[0057] 在特定的实施例中,杂环基基团在该杂环基基团的碳原子处连接。通过举例,碳键合的杂环基基团包括以下键合排列:在吡啶环的2、3、4、5或6位,在哒嗪环的3、4、5或6位,在嘧啶环的2、4、5或6位,在吡嗪环的2、3、5或6位,在呋喃、四氢呋喃、噻吩(thiofuran)、噻吩(thiophene)、吡咯或四氢吡咯环的2、3、4或5位,在噁唑、咪唑或噻唑环的2、4或5位,在异噁

唑、吡唑或异噻唑环的3、4或5位,在氮丙啶环的2或3位,在氮杂环丁烷环的2、3或4位,在喹啉环的2、3、4、5、6、7或8位,或在异喹啉环的1、3、4、5、6、7或8位。

[0058] 在某些实施例中,杂环基团是N-连接的。通过举例,氮键合的杂环基或杂芳基团包括以下键合排列:在氮丙啶、氮杂环丁烷、吡咯、吡咯烷、2-吡咯啉、3-吡咯啉、咪唑、咪唑烷、2-咪唑啉、3-咪唑啉、吡唑、吡唑啉、2-吡唑啉、3-吡唑啉、哌啶、哌嗪、吡啶、二氢吡啶、1H-吡啶的1位,在异吡啶或异二氢吡啶的2位,在吗啉的4位,以及在咪唑或β-咪唑的9位。

[0059] 术语“烷氧基”是指由式-OR表示的直链或支链一价基团,其中R是如本文所定义的烷基。烷氧基基团包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、单氟甲氧基、二氟甲氧基和三氟甲氧基,以及环丙氧基。

[0060] “酰基”是指由式-C(O)-R表示的含羰基的取代基,其中R是氢、烷基、环烷基、芳基或杂环基,其中烷基、环烷基、芳基和杂环基如本文所定义。酰基基团包括烷酰基(例如,乙酰基)、芳酰基(例如,苯甲酰基)和杂芳酰基(例如,吡啶基)。

[0061] 除非另外指明,否则“任选取代的”是指基团可以是未取代的或被一个或多个(例如,0个、1个、2个、3个、4个或5个或更多个,或其中可推导出的任何范围)针对该基团列出的取代基取代,其中所述取代基可以相同或不同。在实施例中,可选地取代的基团具有1个取代基。在另一实施例中,可选地取代的基团具有2个取代基。在另一实施例中,可选地取代的基团具有3个取代基。在另一实施例中,可选地取代的基团具有4个取代基。在另一实施例中,可选地取代的基团具有5个取代基。

[0062] 单独或作为另一取代基(例如,烷氧基)的一部分的烷基自由基,以及同样单独或作为另一取代基的一部分的亚烷基、烯基、炔基、杂烷基、杂环烷基和环烷基的任选取代基可以是如本文所述的各种基团,以及选自以下项组成的组的基团:卤素;氧代;CN;NO;N<sub>3</sub>; -OR'; 全氟-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷氧基;未取代的C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代的C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基;未取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基(例如,苯基);被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或NR'R''取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;未取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基);被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基); -NR'R''; -SR'; -SiR'R''R'''; -OC(O)R'; -C(O)R'; -CO<sub>2</sub>R'; -CONR'R''; -OC(O)NR'R''; -NR''C(O)R'; -NR''C(O)NR'R''; -NR''C(O)<sub>2</sub>R'; -S(O)<sub>2</sub>R'; -S(O)<sub>2</sub>NR'R''; -NR'S(O)<sub>2</sub>R''; -NR''S(O)<sub>2</sub>NR'R''; 脘基; 胍基; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-OR'; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NR'R''; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-SR'; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-SiR'R''R'''; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-OC(O)R'; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-C(O)R'; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-CO<sub>2</sub>R'; 以及-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-CONR'R'',或它们的组合,所述任选取代基的量在零至(2m'+1)的范围内,其中m'是此类自由基中的碳原子的总数。R'、R''和R'''各自独立地指基团,包括例如氢;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R''取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基;未取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或NR'R''取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;未取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基);以及被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>

烷氧基、氧代或NR'R"取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基)。当R'和R"连接在同一氮原子时,其可与氮原子结合形成3元环、4元环、5元环、6元环或7元环,其中环原子任选地被N、O或S取代,并且其中环可任选地被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代。例如,-NR'R"意欲包括1-吡咯烷基和4-吗啉基。

[0063] 类似地,芳基和杂芳基基团的任选取代基种类繁多。在一些实施例中,芳基和杂芳基基团的取代基选自由以下项组成的组:卤素;CN;NO;N<sub>3</sub>; -OR'; 全氟-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷氧基;未取代的C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基;未取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基(例如,苯基);被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或NR'R"取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;未取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基);被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基); -NR'R"; -SR'; -SiR'R'R"; -OC(O)R'; -C(O)R'; -CO<sub>2</sub>R'; -CONR'R"; -OC(O)NR'R"; -NR"C(O)R'; -NR"R"C(O)NR'R"; -NR"C(O)<sub>2</sub>R'; -S(O)<sub>2</sub>R'; -S(O)<sub>2</sub>NR'R"; -NR'S(O)<sub>2</sub>R"; -NR"R'S(O)<sub>2</sub>NR'R"; 脞基; 胍基; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-OR'; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NR'R"; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-SR'; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-SiR'R'R"; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-OC(O)R'; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-C(O)R'; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-CO<sub>2</sub>R'; 以及-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>CONR'R",或它们的组合,所述任选取代基的量在零至(2m'+1)的范围内,其中m'是此类基团中的碳原子的总数。R'、R"和R"各自独立地指基团,包括例如氢;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>杂烷基;未取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基或NR'R"取代的C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基;未取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基);以及被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代的3-11元杂环基(例如,含有1至4个选自O、N和S的杂原子的5-6元杂芳基或含有1至4个选自O、N和S的杂原子的4-11元杂环烷基)。当R'和R"连接在同一氮原子时,其可与氮原子结合形成3元环、4元环、5元环、6元环或7元环,其中环原子任选地被N、O或S取代,并且其中环可任选地被卤素、OH、CN、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氧代或NR'R"取代。例如,-NR'R"意欲包括1-吡咯烷基和4-吗啉基。

[0064] 术语“氧代基”是指=O或(=O)<sub>2</sub>。

[0065] 如本文所用,与化学结构中的键相交的波浪线“”表示与化学结构中的波浪键相连的原子与分子其余部分或分子片段的其余部分的连接点。在一些实施例中,箭头和星号一起以波浪线的方式用以指示连接点。

[0066] 在某些实施例中,一般描述二价基团不具有特定的键合构型。应当理解,除非另有说明,否则一般性描述旨在包括两种键合结构。例如,除非另外指明,否则在基团R<sup>1</sup>-R<sup>2</sup>-R<sup>3</sup>中,如果基团R<sup>2</sup>被描述为-CH<sub>2</sub>C(O)-,则应理解为该基团可作为R<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>C(O)-R<sup>3</sup>和R<sup>1</sup>-C(O)CH<sub>2</sub>-R<sup>3</sup>键合。

[0067] 除非另外指明,否则术语“本发明的化合物(compound(s) of the invention/

compound(s) of the present invention)”等包括本文的式(I)化合物,诸如化合物1-18,有时称为作为JAK抑制剂,所述JAK抑制剂包括立体异构体(包括阻转异构体)、几何异构体、互变异构体、溶剂化物、代谢物、同位素、盐(例如,药用盐)及其前药。在一些实施例中,溶剂化物、代谢物、同位素或前药以及其任意组合被排除在外。

[0068] 术语“药学上可接受的”是指分子实体和组合物当视情况而定施用于动物(例如人)时不产生不利的、过敏的或其他不良反应。

[0069] 本发明的化合物可以是盐的形式,诸如药学上可接受的盐。“药学上可接受的盐”包括酸加成盐和碱加成盐。“药学上可接受的酸加成盐”是指用无机酸(诸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、碳酸、磷酸等)和有机酸形成的保留游离碱的生物学有效性和特性并且在生物学上或其他方面并非不可取的盐,所述有机酸可以选自脂肪族类、环脂族类、芳族类、芳脂族类、杂环类、羧酸类和磺酸类有机酸,诸如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、葡糖酸、乳酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、马来酸、丙二酸(malonic acid)、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、天冬氨酸、抗坏血酸、谷氨酸、邻氨基苯甲酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、帕莫酸、苯乙酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等。

[0070] “药学上可接受的碱加成盐”包括衍生自无机碱的那些碱加成盐,诸如钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐、镁盐、铁盐、锌盐、铜盐、锰盐、铝盐等。具体的碱加成盐是铵盐、钾盐、钠盐、钙盐和镁盐。衍生自药学上可接受的有机无毒碱的盐包括伯胺、仲胺和叔胺,取代胺(包括天然存在的取代胺)、环胺和碱性离子交换树脂(诸如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二乙氨基乙醇、氨丁三醇、二环己胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、哈胺(hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡糖胺、甲基葡糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、多胺树脂等)的盐。具体的有机无毒碱包括异丙胺、二乙胺、乙醇胺、氨丁三醇、二环己胺、胆碱和咖啡因。

[0071] 在一些实施例中,盐选自盐酸盐、氢溴酸盐、三氟乙酸盐、硫酸盐、磷酸盐、乙酸盐、富马酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、乳酸盐、柠檬酸盐、丙酮酸盐、琥珀酸盐、草酸盐、甲磺酸盐、对甲苯磺酸盐、双硫酸盐、苯磺酸盐、乙烷磺酸盐、丙二酸盐、羟萘甲酸盐(xinafoate)、抗坏血酸盐、油酸盐、烟酸盐、糖精酸盐、己二酸盐、甲酸盐、乙醇酸盐、棕榈酸盐、L-乳酸盐、D-乳酸盐、天冬氨酸盐、苹果酸盐、L-酒石酸盐、D-酒石酸盐、硬脂酸盐、糠酸盐(例如,2-糠酸盐或3-糠酸盐)、萘二磺酸盐(萘-1,5-二磺酸盐或萘-1-(磺酸)-5-磺酸盐)、乙二磺酸盐(乙-1,2-二磺酸盐或乙-1-(磺酸)-2-磺酸盐)、羟乙基磺酸盐(2-羟乙基磺酸盐)、2-均三甲苯磺酸盐、2-萘磺酸盐、2,5-二氯苯磺酸盐、D-扁桃酸盐、L-扁桃酸盐、肉桂酸盐、苯甲酸盐、己二酸盐、乙磺酸盐、丙二酸盐、三甲基苯磺酸盐(2-均三甲苯磺酸盐)、萘甲酸盐(2-萘磺酸盐)、樟脑酸盐(樟脑-10-磺酸盐,例如(1S)-(+)-10-樟脑磺酸盐)、谷氨酸盐、戊二酸盐、马尿酸盐(2-(苯甲酰氨基)乙酸盐)、乳清酸盐、二甲苯酸盐(对二甲苯-2-磺酸盐)和帕莫酸盐(2,2'-二羟基-1,1'-二萘甲烷-3,3'-二羧酸盐)。

[0072] “无菌”制剂是无菌的或不含有所有活微生物及其孢子。

[0073] “立体异构体”是指具有相同化学组成,但原子或基团在空间中的排列不同的化合物。立体异构体包括非对映异构体、对映异构体、构象异构体等。

[0074] “手性”是指分子具有镜像配对物的不可重合性质,而术语“非手性”是指分子可重合到其镜像配对物上。

[0075] “非对映异构体”表示具有两个或更多个手性中心并且其分子并非彼此镜像的立体异构体。非对映体具有不同的物理性质,例如,熔点、沸点、光谱性质或生物活性。非对映异构体的混合物可以在高分辨率分析程序(诸如电泳)和色谱法(诸如HPLC)下分离。

[0076] “对映异构体”是指化合物的两种立体异构体,所述两种立体异构体是彼此不可重叠的镜像。

[0077] 本文所用的立体化学定义和惯例通常遵循S.P.Parker,Ed.,McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(1984)McGraw-Hill Book Company,New York;and Eliel,E.and Wilen,S.,“Stereochemistry of Organic Compounds”,John Wiley&Sons, Inc.,New York,1994。许多有机化合物以旋光活性形式存在,即它们具有旋转平面偏振光平面的能力。在描述光学活性化合物时,前缀D和L或R和S用于表示分子围绕其手性中心的绝对构型。前缀d和l或(+)和(-)用于表示化合物对平面偏振光的旋转的符号,其中(-)或l表示该化合物是左旋的。带有(+)或d前缀的化合物是右旋的。对于既定化学结构,这些立体异构体除了互为镜像外,是完全相同的。特定的立体异构体也可以被称为对映异构体,并且此类异构体的混合物通常被称为对映异构体混合物。对映异构体的50:50混合物称为外消旋混合物或外消旋物,其可能在化学反应或过程中没有立体选择或立体特异性的情况下发生。术语“外消旋混合物”和“外消旋物”是指两种无旋光活性的对映体种类的等摩尔混合物。

[0078] 术语“互变异构体”或“互变异构形式”是指通过低能垒相互转化的具有不同能量的结构异构体。例如,质子互变异构体(也称为质子异变的互变异构体)包括经由质子迁移的相互转化,诸如酮-烯醇和亚胺-烯胺异构化。价互变异构体包括通过一些键合电子的重组而进行的相互转化。

[0079] 本发明的某些化合物可以非溶剂化的形式以及包括水合形式在内的溶剂化的形式存在。“溶剂化物”是指一种或多种溶剂分子与本发明化合物的缔合或复合物。形成溶剂化物的溶剂的示例包括水、异丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸和乙醇胺。某些本发明的化合物可以多种结晶或无定形形式存在。通常,所有物理形态均应在本发明的范围内。术语“水合物”是指其中溶剂分子是水的复合物。

[0080] “代谢物”是指通过特定化合物或其盐在体内代谢产生的产物。此类产物可以例如由所施用的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺、酯化、脱酯、酶促裂解等产生。

[0081] 代谢产物通常通过制备(例如, $^{14}\text{C}$  or  $^3\text{H}$ )本发明化合物具有放射性标记的同位素进行鉴定,并以可检测的剂量(例如,大于约0.5mg/kg)向动物(诸如大鼠、小鼠、豚鼠、猴或人)施用,使其有足够的时间新陈代谢(通常约30秒至30小时),并从尿液、血液或其他生物样品中分离出其转化产物。由于这些产物已被标记,因此很容易分离(通过使用能够结合在代谢物中存活的表位的抗体来分离其他产物)。以常规方式,例如,通过MS、LC/MS或NMR分析,来确定代谢物的结构。通常,代谢物的分析以与本领域技术人员熟知的常规药物代谢研究相同的方式进行。代谢产物只要在体内未被发现,就可用于本发明化合物治疗给药的诊断测定。

[0082] “受试者”、“个体”或“患者”是脊椎动物。在某些实施例中,所述脊椎动物是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于家畜(诸如牛)、运动动物、宠物(诸如豚鼠、猫、犬、兔和马)、灵长类动物、小鼠和大鼠。在某些实施例中,哺乳动物是人。在包括向患者施用如本文所述的JAK

抑制剂或其药学上可接受的盐的实施例中,患者可以是需要所述JAK抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0083] 术语“Janus激酶”是指JAK1、JAK2、JAK3和TYK2蛋白激酶。在一些实施例中,Janus激酶可进一步定义为JAK1、JAK2、JAK3或TYK2中的一者。在任何实施例中,可以将JAK1、JAK2、JAK3和TYK2中的任一者明确排除出Janus激酶。在一些实施例中,Janus激酶是JAK1。在一些实施例中,Janus激酶是JAK1和JAK2的组合。

[0084] 术语“抑制”和“减少”,或这些术语的任何变型,包括任何可测量的降低或完全抑制,以达到预期结果。例如,与正常相比可以降低约、至多约、或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或更多,或其中可衍生的任何范围的活性(例如JAK1活性)减少。

[0085] “治疗有效量”是指本发明的化合物或其盐(例如其药用盐)用于以下的量:(i) 治疗或预防特定疾病、病症或疾患,或(ii) 减弱、改善或消除特定疾病、病症或疾患的一种或多种症状,以及任选地(iii) 预防或延迟本文所述的特定疾病、病症或疾患的一种或多种症状的发作。在一些实施例中,治疗有效量是足以减弱或缓解自身免疫性疾病或炎性疾病(例如,哮喘)的症状的量。在一些实施例中,治疗有效量是本文所述的化学实体足以显著降低B细胞活性或数量的量。在癌症的情况下,药物的治疗有效量可以减少癌细胞的数量、减少肿瘤大小、抑制(即,在一定程度上减缓和优选地阻止)癌细胞浸润到周围器官中、抑制(即,在一定程度上减缓和优选地阻止)肿瘤转移、在一定程度上抑制肿瘤生长,或在一定程度上缓解与癌症有关的一种或多种症状。在某种程度上,所述药物可以阻止生长或杀死既存癌细胞,它可以抑制细胞生长或具有细胞毒性。对于癌症疗法,例如,疗效可以通过评估疾病进展时间(TTP)或确定有效率(RR)进行测量。

[0086] “治疗(treatment)”(及其变型诸如“治疗(treat)”或“治疗(treating)”)是指试图改变所治疗个体或细胞的自然进程的临床干预,并且可以是为了预防或在临床病理学的进程中进行。预期治疗效果包括预防疾病的发生或复发、缓解症状、减轻疾病的任何直接或间接病理后果、稳定(即,不恶化)疾病状态、降低疾病进展速度、改善或减轻疾病状态,如果与未接受治疗和缓解或改善预期的预期生存期相比,生存期延长。在一些实施例中,本发明的化合物或其盐(例如其药用盐)用于延迟疾病或病症的发展或者减缓疾病或病症的进展。需要治疗的那些包括已经患有病状或病症的那些以及易于患病状或病症的那些(例如,通过基因突变)或待预防病状或病症的那些。

[0087] “炎性病症”是指其中过量或不受控炎性反应导致过度炎性症状、宿主组织损伤或组织功能丧失的任何疾病、疾患或综合征。“炎性病症”还指由白细胞内流或中性粒细胞趋化介导的病理状态。

[0088] “炎症”是指由组织损伤或损害引起的局部保护性反应,其具有破坏、稀释或隔离(隔绝)损伤因子和损伤组织的作用。炎症与白细胞内流或中性粒细胞趋化明显相关。炎症可能是由病原生物和病毒感染以及非感染性方式引起,所述非感染性方式诸如心肌梗死或中风后的创伤或再灌注、对外源性抗原的免疫应答和自身免疫性应答。因此,适于用本发明化合物或其盐(例如,其药用盐)治疗的炎性疾患疾病包括与特异性防御系统的反应以及非特异性防御系统的反应相关的疾病。

[0089] “特异性防御系统”是指免疫系统对存在特定抗原产生反应的组分。由特异性防御

系统应答引起的炎症的实例包括对外源性抗原的经典应答、自身免疫性疾病和由T细胞介导的迟发性超敏反应。慢性炎性疾病、实体移植组织和器官排斥(例如,肾脏和骨髓移植)以及移植物抗宿主病(GVHD)是特异性防御系统的炎症反应的进一步实例。

[0090] 术语“非特异性防御系统”是指由不具有免疫记忆的白色细胞(例如,粒细胞和巨噬细胞)介导的炎症病症。至少部分由非特异性防御系统的反应引起的炎症的示例包括与以下病症相关的炎症:诸如成人(急性)呼吸窘迫综合征(ARDS)或多器官损伤综合征;再灌注损伤;急性肾小球肾炎;反应性关节炎;伴有急性炎性组分的皮肤病;急性化脓性脑膜炎或其他中枢神经系统炎症病症,诸如中风;热损伤;炎性肠病;粒细胞输血相关综合征;和细胞因子诱导的毒性。

[0091] “自身免疫性疾病”是指其中组织损伤与体液或细胞介导的与对机体自身成分应答有关的任何一组疾患。自身免疫性疾病的非限制性实例包括类风湿性关节炎、狼疮和多发性硬化。

[0092] 如本文所用,“过敏性疾病”是指由过敏引起的任何症状、组织损伤或组织功能丧失。如本文所用,“关节炎病”是指其特征在于可归因于多种病因的关节的炎性损伤的疾病。如本文所用,“皮炎”是指皮肤疾病大家族中的任一种,其特征在于归因于多种病因的皮肤炎症。如本文所用,“移植排斥”是指针对移植组织(诸如器官或细胞(例如,骨髓))的任何免疫反应,其特征在于移植组织和周围组织的功能丧失、疼痛、肿胀、白细胞增多和血小板减少。本发明的治疗方法包括用于治疗与炎性细胞活化有关的疾患的方法。

[0093] “炎性细胞活化”是指通过以下诱导:增殖细胞反应的刺激(包括但不限于细胞因子、抗原或自身抗体),可溶性介质的产生(包括但不限于细胞因子、氧自由基、酶、前列腺素或血管活性胺),或炎性细胞(包括但不限于单核细胞、巨噬细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞、粒细胞(即多形核白细胞,诸如中性粒细胞、嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞)、肥大细胞、树突状细胞、Langerhans细胞和内皮细胞)中新生或数量增加的介质(包括但不限于主要组织相容性抗原或细胞粘附分子)的细胞表面表达。本领域技术人员将理解的是,这些细胞中的一种或多种这些表型的活化可对炎症病症的引发、持续或加剧产生作用。

[0094] 在一些实施例中,可以根据本发明的方法治疗的炎症病症包括但不限于哮喘、鼻炎(例如,过敏性鼻炎)、过敏性气道综合征、特应性皮炎、支气管炎、类风湿性关节炎、牛皮癣、接触性皮炎、慢性阻塞性肺疾病(COPD)和迟发性超敏反应。

[0095] 术语“癌症”和“癌性”、“赘生物”和“肿瘤”以及相关术语是指或描述哺乳动物中通常以细胞生长不受控制为特征的生理状况。“肿瘤”包含一个或多个癌细胞。癌症的实例包括癌、母细胞瘤、肉瘤、精原细胞瘤、胶质母细胞瘤、黑素瘤、白血病和髓样或淋巴样恶性肿瘤。此类癌症的更具体实例包括鳞状细胞癌(例如,上皮鳞状细胞癌)和肺癌,包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌(“NSCLC”)、肺腺癌和肺鳞状癌。其他癌症包括皮肤癌、角化棘皮瘤、滤泡癌、毛细胞白血病、颊腔癌、咽(口腔)癌、唇癌、舌癌、口腔癌、唾液腺癌、食道癌、喉癌、肝细胞癌、胃(gastric)癌、胃(stomach)癌、胃肠癌、小肠癌、大肠癌、胰腺癌、宫颈癌、卵巢癌、肝脏癌、膀胱癌、肝细胞癌、乳房癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、泌尿生殖道癌、胆道癌、甲状腺癌、乳头状癌、肝癌、子宫内膜癌、子宫癌、唾液腺癌、肾脏或肾癌、前列腺癌、睾丸癌、外阴癌、腹膜癌、肛门癌、阴茎癌、骨癌、多发性骨髓瘤、B细胞淋巴瘤、中枢神经系统癌、脑癌、头癌和颈癌、霍奇金病及相关转移。赘生性病症的实例包括骨髓增生性病症,诸如真性红细胞

增多症、原发性血小板增多症、骨髓纤维化, 诸如原发性骨髓纤维化和慢性骨髓性白血病 (CML)。

[0096] “化疗剂”是可用于治疗既定病症(例如, 癌症或炎性病症)的制剂。化疗剂的实例是本领域熟知的, 并且包括诸如美国公开申请号2010/0048557中公开的实例, 其通过引用并入本文。另外, 化疗剂包括任何化疗剂的药学上可接受的盐、酸或衍生物, 以及它们中的两种或更多种的组合。

[0097] “包装插页”用于指治疗产品的商业包装中通常包括的说明书, 其含有涉及此类治疗产品的使用的有关适应症、用法、剂量、施用、禁忌症和警告的信息。

[0098] 除非另有说明, 否则本文描述的结构包括仅在一个或多个同位素富集原子存在下有差异的化合物。可掺入本发明的化合物的示例性同位素包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、氯和碘的同位素, 分别诸如 $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{17}\text{O}$ 、 $^{18}\text{O}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{36}\text{Cl}$ 、 $^{123}\text{I}$ 和 $^{125}\text{I}$ 。同位素标记的化合物(例如,  $^3\text{H}$ 和 $^{14}\text{C}$ 标记的化合物)可用于化合物或底物组织分布测定。 $^3\text{H}$ (即,  $^3\text{H}$ )和碳-14(即,  $^{14}\text{C}$ )同位素因易于制备和具有可检测性而可用。此外, 用较重的同位素诸如氘(即,  $^2\text{H}$ )取代可以提供由于代谢稳定性更高(例如, 体内半衰期增加或剂量减少要求)而带来的某些治疗优势。在一些实施例中, 一个或多个氢原子被 $^2\text{H}$ 或 $^3\text{H}$ 取代, 或者一个或多个碳原子被富含 $^{13}\text{C}$ 或 $^{14}\text{C}$ 的碳取代。正电子发射同位素(诸如 $^{15}\text{O}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{11}\text{C}$ 和 $^{18}\text{F}$ )可用于正电子发射断层扫描(PET)研究, 以检查底物受体的占有率。同位素标记的化合物通常可以按照与本文的方案或实例中公开的程序类似的程序, 通过用同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂进行制备。

[0099] 特别考虑到的是, 关于本发明的一个实施例讨论的任何限制可以适用于本发明的任何其他实施例。此外, 本发明的任何化合物或其盐(例如, 其药用盐)或组合物可用于本发明的任何方法, 且本发明的任何方法可用于生产或利用本发明的任何化合物或其盐(例如, 其药用盐)或组合物。

[0100] 尽管本公开内容支持仅是指可选项和“和/或”的定义, 使用的术语“或”用于意指“和/或”, 除非明确指出仅是指可选项或可选项相互排斥。

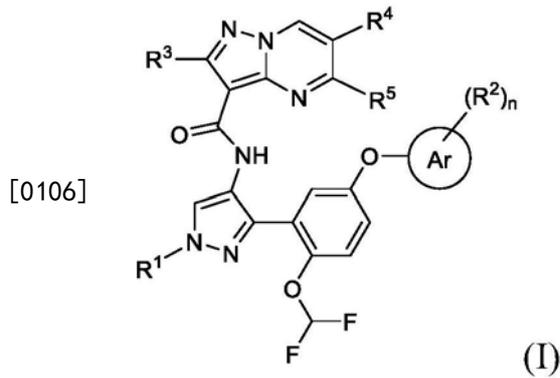
[0101] 在整个本申请中, 术语“约”用于表示值包括用于确定该值的装置或方法的误差的标准差。

[0102] 如本文所用, “一种(a)”或“一个(an)”是指一个或多个, 除非另外明确指出。如本文中所使用的“另一个”意指至少第二个或更多个。

[0103] 本文使用的标题仅用于编制目的。

[0104] JANUS激酶的抑制剂

[0105] 一个实施例提供了一种式(I)化合物:



[0107] 或其药用盐,其中:

[0108] Ar为:苯基;1,2,3,4-四氢异喹啉基;吡啶基;吡啶基;或哒嗪基:

[0109] R<sup>1</sup>为:氢;C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;- (CHR<sup>a</sup>)<sub>h</sub>-het<sup>1</sup>; - (CHR<sup>a</sup>)<sub>k</sub>-NR<sup>a</sup>-het<sup>1</sup>;或-(CHR<sup>a</sup>)<sub>m</sub>-C<sub>3-6</sub>环烷基,其中环烷基部分可以未被取代或被R<sup>d</sup>取代一次或两次;

[0110] 每个R<sup>2</sup>独立地为:C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基;C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基;卤代-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-SO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;羟基;氰基;氰基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;卤代;乙酰基;- (CHR<sup>a</sup>)<sub>p</sub>-het<sup>2</sup>; - (CHR<sup>a</sup>)<sub>q</sub>-NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>; - (CHR<sup>a</sup>)<sub>r</sub>-C(O)-NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>; - (CHR<sup>a</sup>)<sub>s</sub>-NR<sup>a</sup>- (CHR<sup>a</sup>)<sub>s</sub>-C(O)-NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>;或-(CHR<sup>a</sup>)<sub>t</sub>-C<sub>3-6</sub>环烷基,其中环烷基部分可以未被取代或被R<sup>e</sup>取代一次或两次;

[0111] R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>各自独立地为:氢;或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基;

[0112] 每个R<sup>a</sup>独立地为:氢;或C<sub>1-6</sub>烷基;

[0113] 每个R<sup>b</sup>独立地为:氢;C<sub>1-6</sub>烷基;或羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

[0114] 每个R<sup>c</sup>独立地为:氢;C<sub>1-6</sub>烷基;羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;氰基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;氧杂环丁烷基;2-吗啉代乙基;1-甲基-氮杂环丁烷-3-基;2-(N,N-二甲基氨基)-乙基;羟基环丁基;或3-(N,N-二甲基氨基)-吡咯烷-1-基;(CHR<sup>a</sup>)<sub>u</sub>-C<sub>3-6</sub>环烷基,其中环烷基部分可以未被取代或被R<sup>e</sup>取代一次或两次;

[0115] 或者R<sup>b</sup>和R<sup>c</sup>与它们所连接的氮原子一起可以形成het<sup>3</sup>;

[0116] 每个R<sup>d</sup>独立地为:C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、羟基或卤代;

[0117] 每个R<sup>e</sup>独立地为:C<sub>1-6</sub>烷基;羟基;氰基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;羟基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;吗啉基;或-(CHR<sup>a</sup>)<sub>v</sub>-NR<sup>g</sup>R<sup>h</sup>,其中R<sup>g</sup>和R<sup>h</sup>各自独立地为氢或C<sub>1-6</sub>烷基;

[0118] h为0至2;

[0119] k为0至2;

[0120] m为0至2;

[0121] n为0至2;

[0122] p为0至2;

[0123] q为0至2;

[0124] r为0至2;

[0125] s为0至2;

[0126] t为0至2;

[0127] u为0至2;

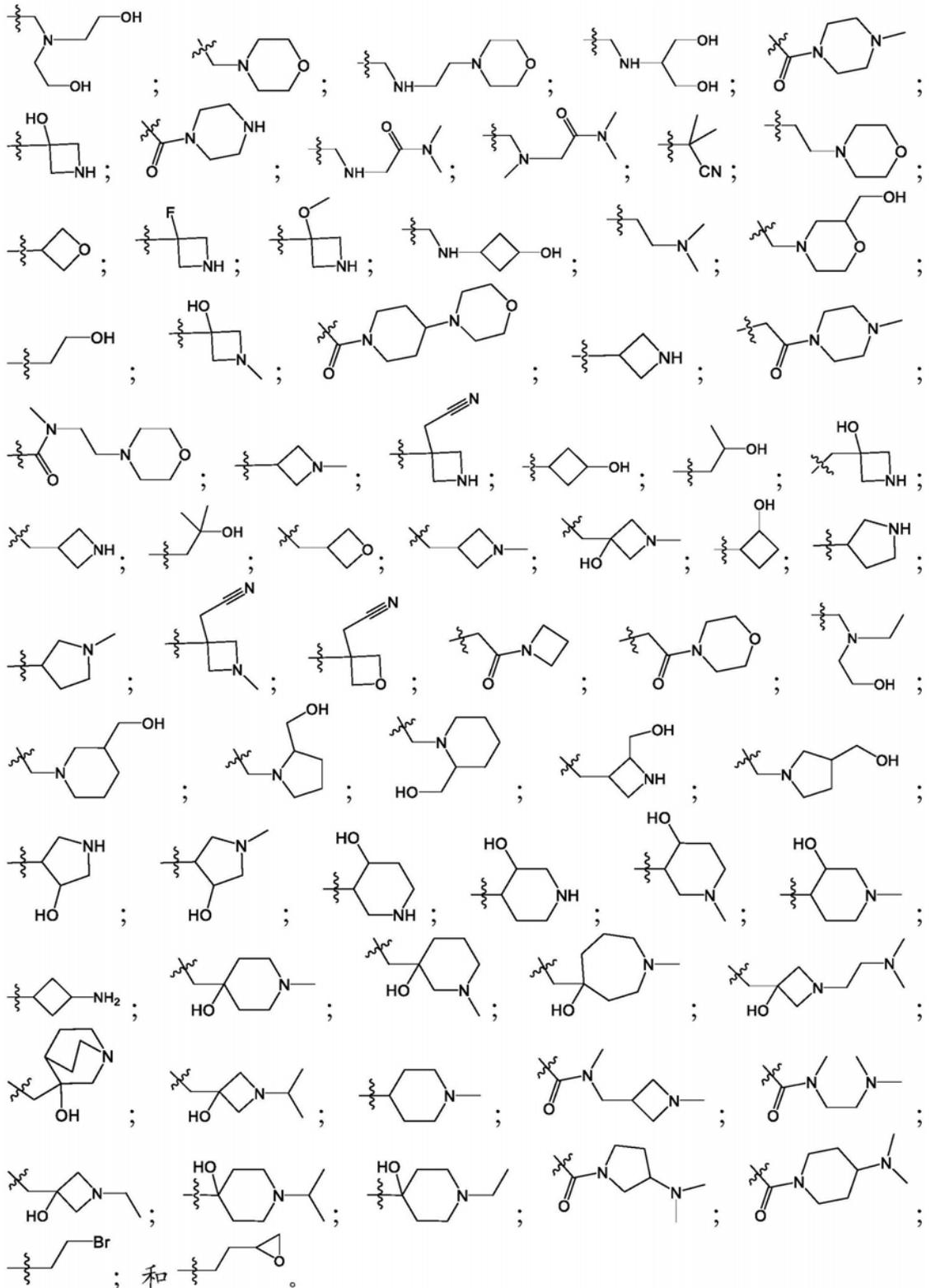
[0128] v为0至2;

- [0129]  $\text{het}^1$ 为:氧杂环丁烷基;四氢呋喃基;四氢吡喃基;或吡咯烷基;其中的每一个可以未被取代或被 $\text{R}^d$ 取代一次或两次;
- [0130]  $\text{het}^2$ 为:氮杂环丁烷基;吡咯烷基;氧杂环丁烷基;哌啶基;吗啉基;哌嗪基;氮杂**草**基;奎宁环基;或吡啶基;其中的每一个可以未被取代或被 $\text{R}^e$ 取代一次或两次;并且
- [0131]  $\text{het}^3$ 为:氮杂环丁烷基;吡咯烷基;哌啶基;吗啉基;哌嗪基;或氮杂**草**基;其中的每一个可以未被取代或被 $\text{R}^e$ 取代一次或两次。
- [0132] 在某些实施例中,Ar为苯基;或吡啶基。
- [0133] 在某些实施例中,Ar为苯基。
- [0134] 在某些实施例中,Ar为吡啶基。
- [0135] 在某些实施例中, $\text{R}^1$ 为氢或 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基。
- [0136] 在某些实施例中, $\text{R}^1$ 为氢。
- [0137] 在某些实施例中, $\text{R}^1$ 为 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基。
- [0138] 在某些实施例中, $\text{R}^1$ 为甲基。
- [0139] 在某些实施例中, $\text{R}^3$ 为氢。
- [0140] 在某些实施例中, $\text{R}^4$ 为氢。
- [0141] 在某些实施例中, $\text{R}^5$ 为氢。
- [0142] 在某些实施例中,h为0。
- [0143] 在某些实施例中,h为1。
- [0144] 在某些实施例中,h为2。
- [0145] 在某些实施例中,k为0。
- [0146] 在某些实施例中,k为1。
- [0147] 在某些实施例中,k为2。
- [0148] 在某些实施例中,m为0。
- [0149] 在某些实施例中,m为1。
- [0150] 在某些实施例中,m为2。
- [0151] 在某些实施例中,n为0。
- [0152] 在某些实施例中,n为1。
- [0153] 在某些实施例中,n为2。
- [0154] 在某些实施例中,p为0。
- [0155] 在某些实施例中,p为1。
- [0156] 在某些实施例中,p为2。
- [0157] 在某些实施例中,q为0。
- [0158] 在某些实施例中,q为1。
- [0159] 在某些实施例中,q为2。
- [0160] 在某些实施例中,r为0。
- [0161] 在某些实施例中,r为1。
- [0162] 在某些实施例中,r为2。
- [0163] 在某些实施例中,s为0。
- [0164] 在某些实施例中,s为1。

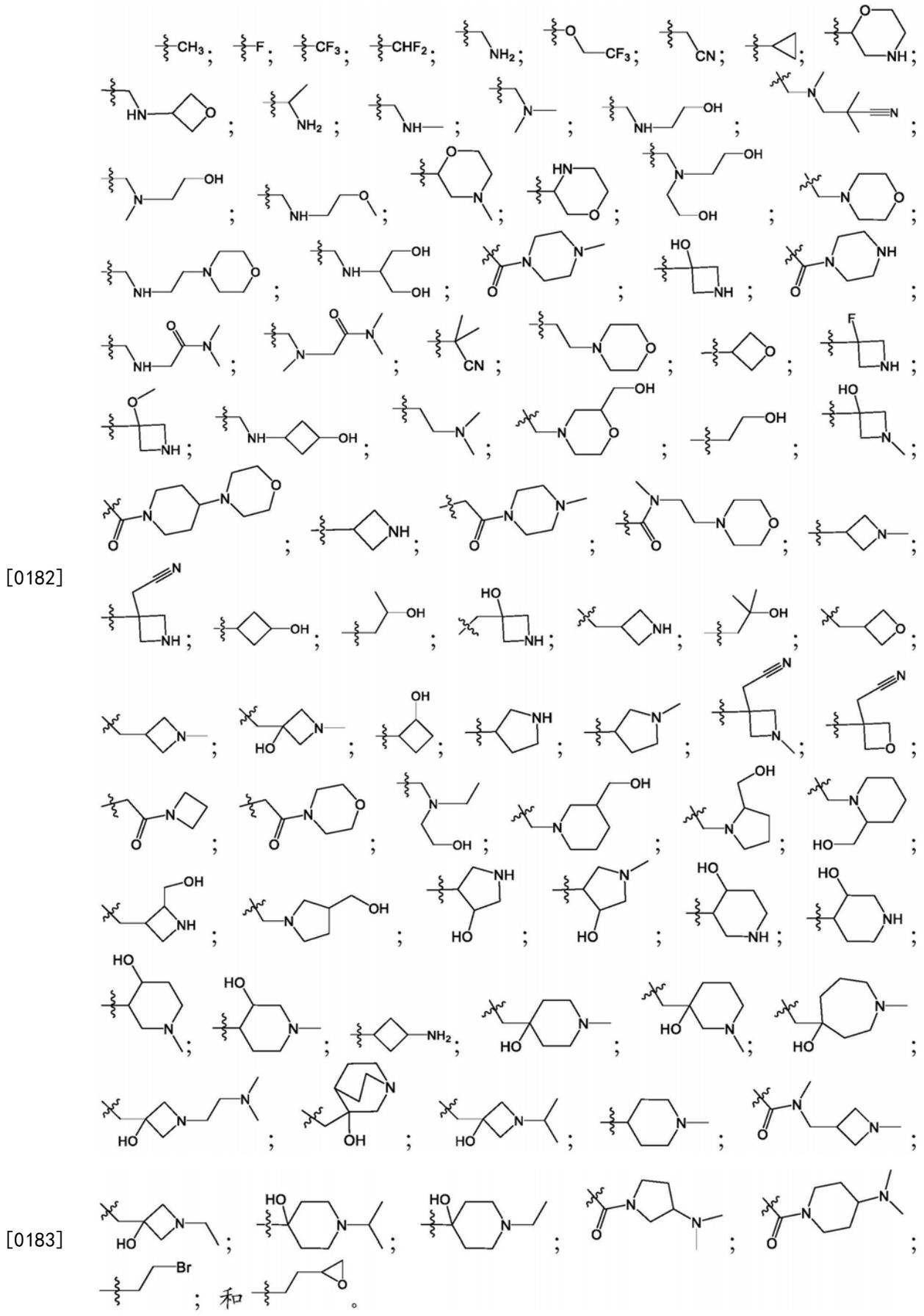




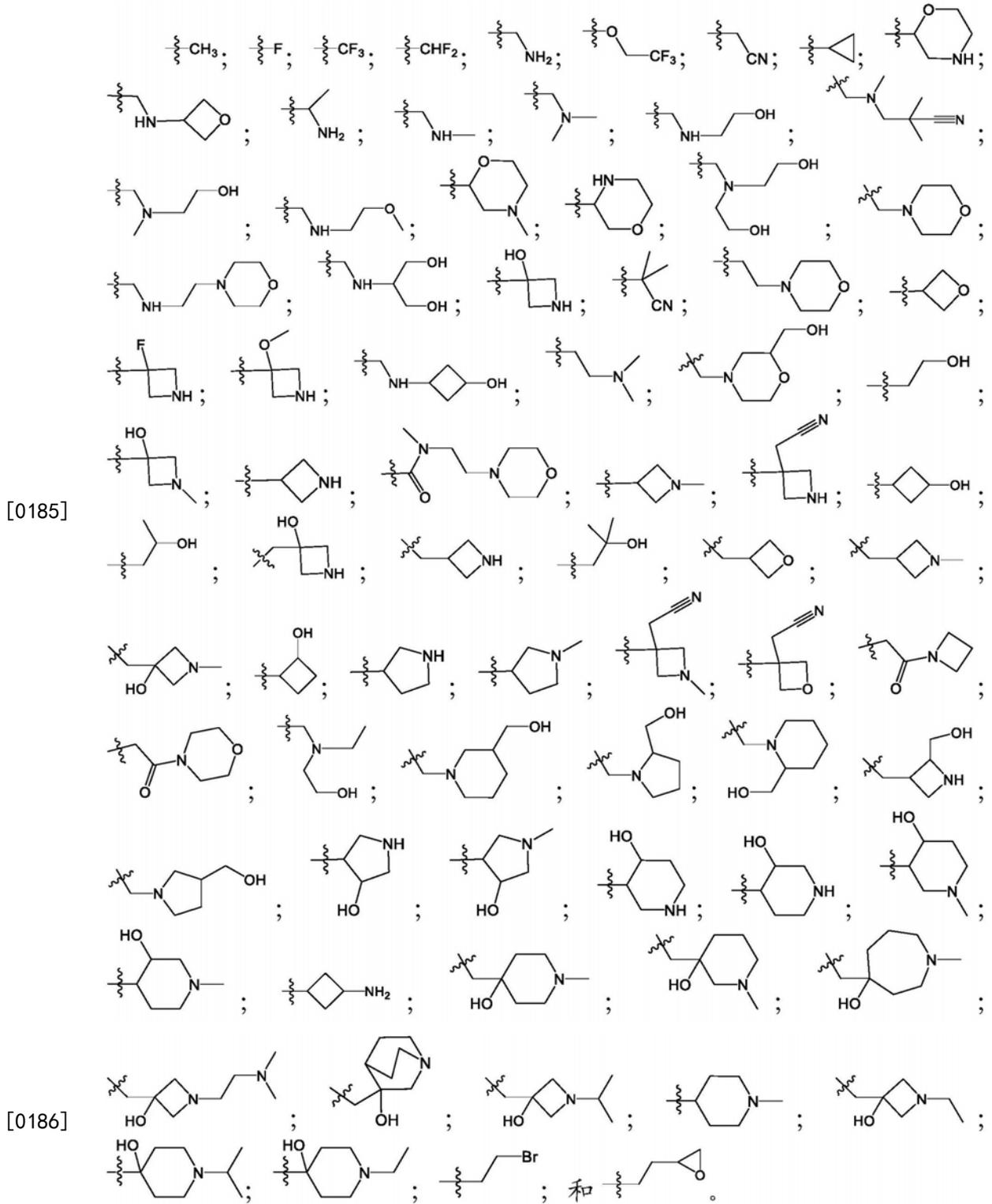
[0180]



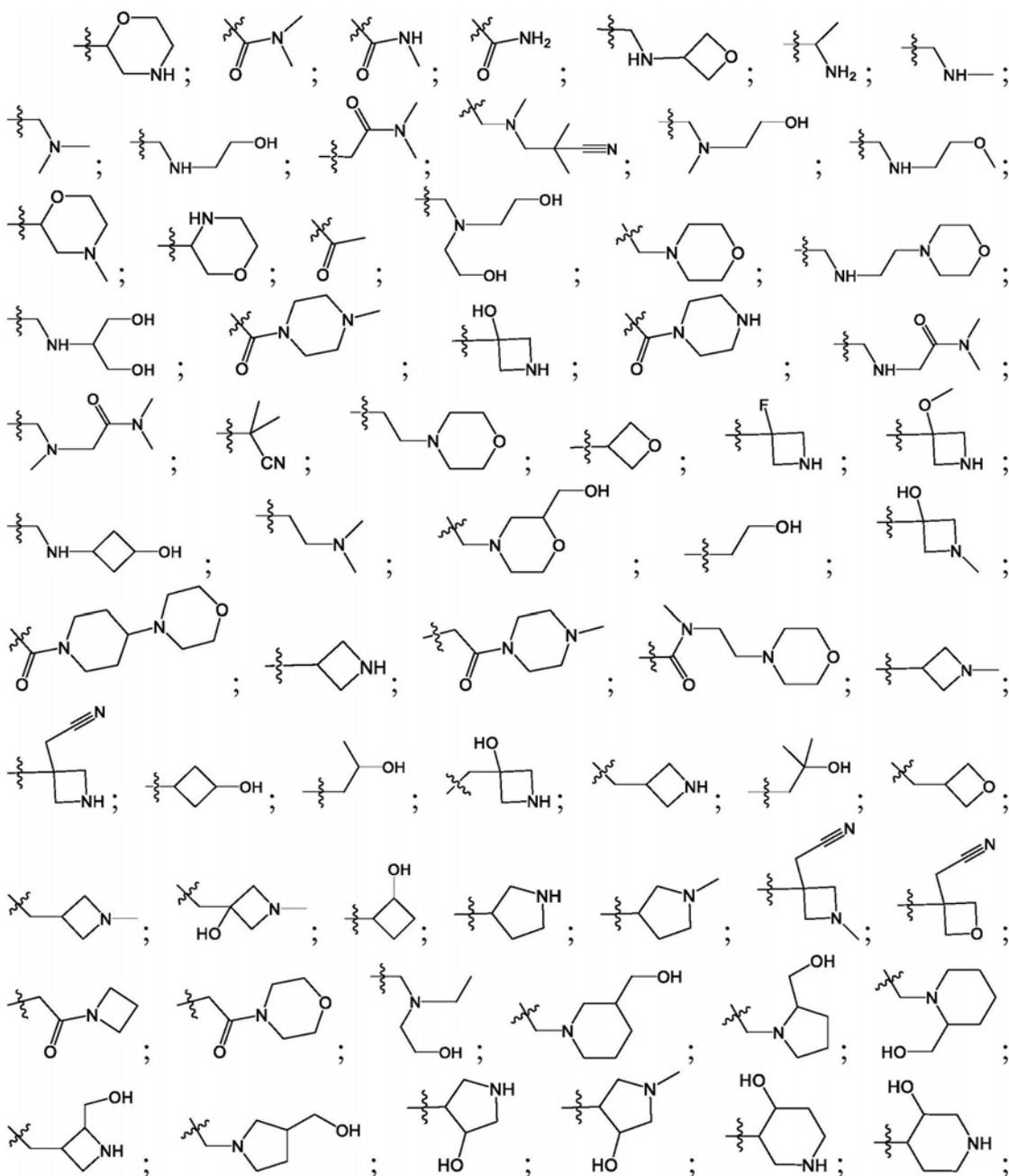
[0181] 在一些实施例中,每个R<sup>2</sup>独立地选自;



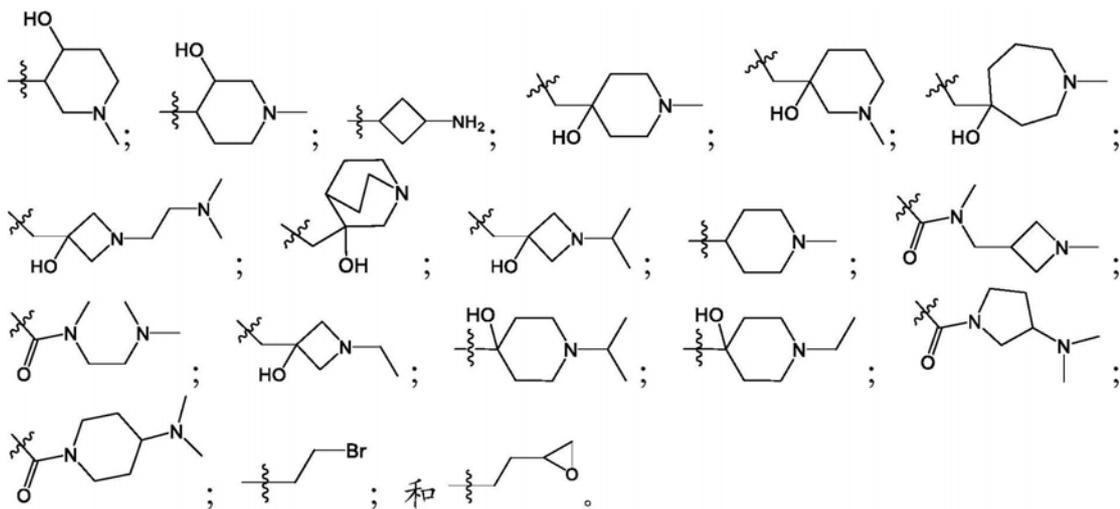
[0184] 在一些实施例中,每个R<sup>2</sup>独立地选自;



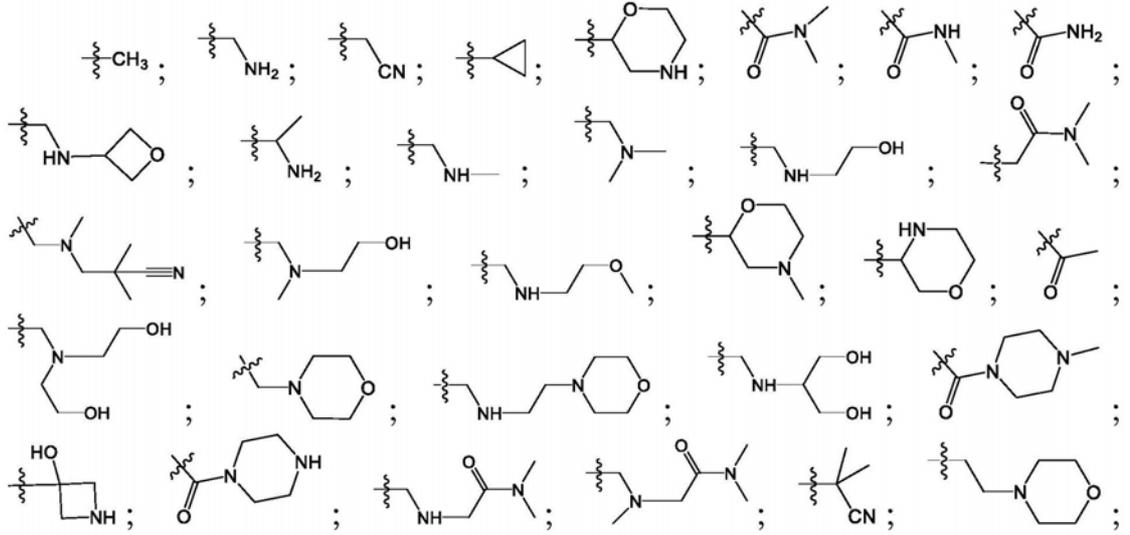
[0188]



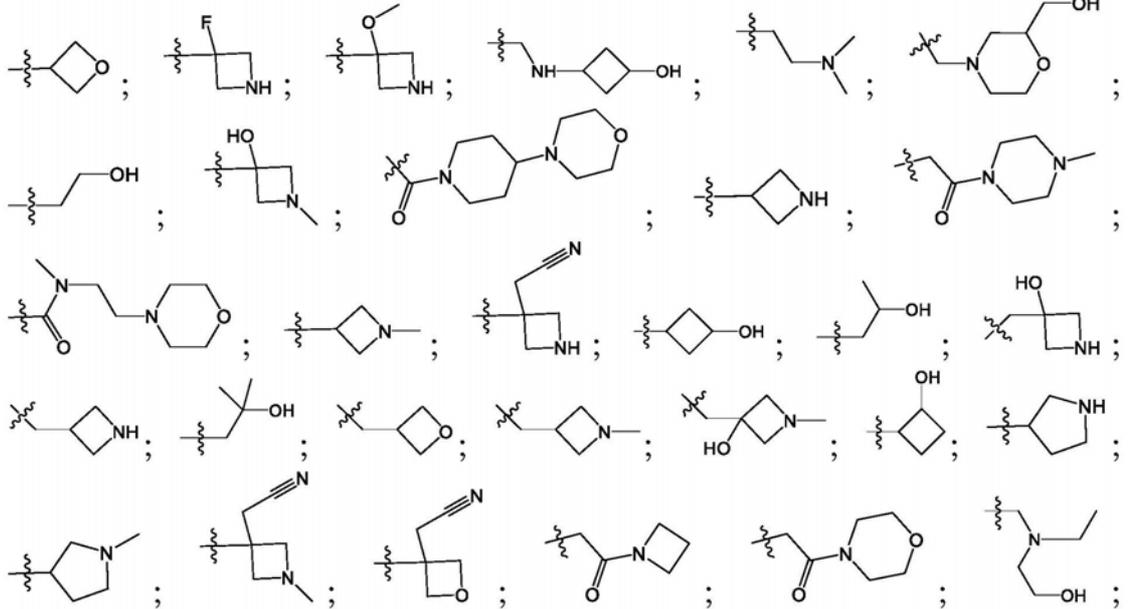
[0189]

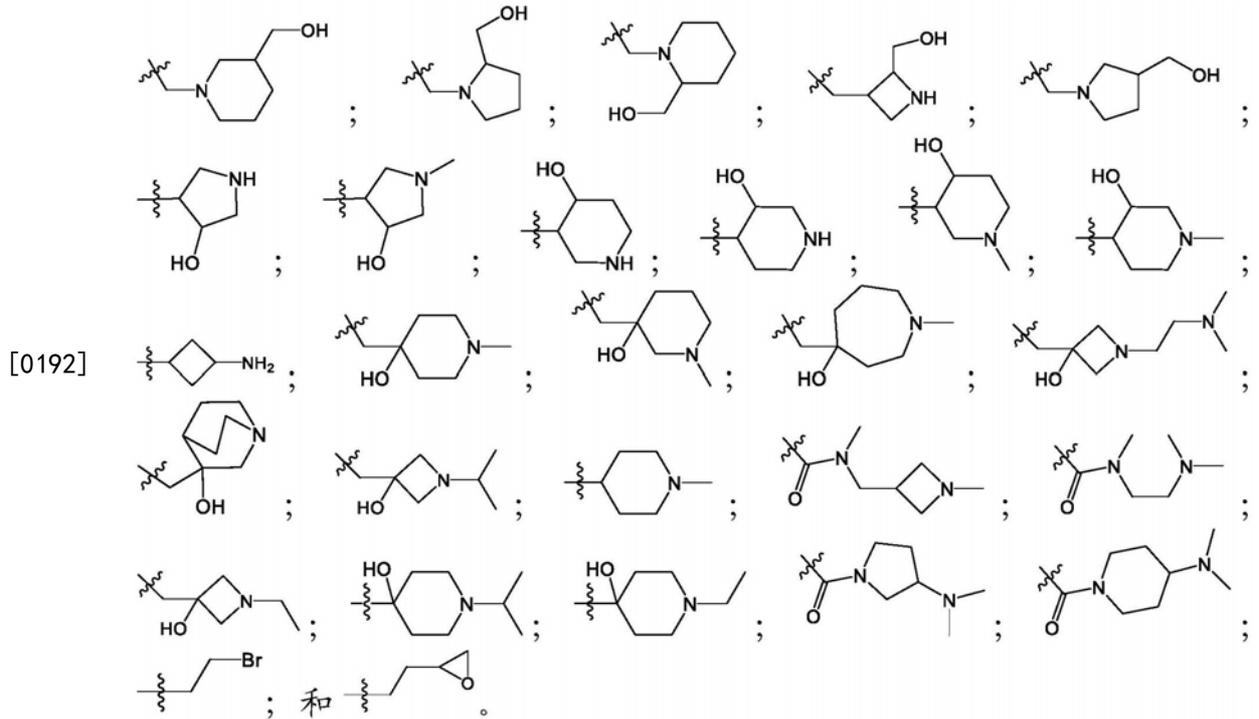


[0190] 在一些实施例中,其中n为1,R<sup>2</sup>选自;

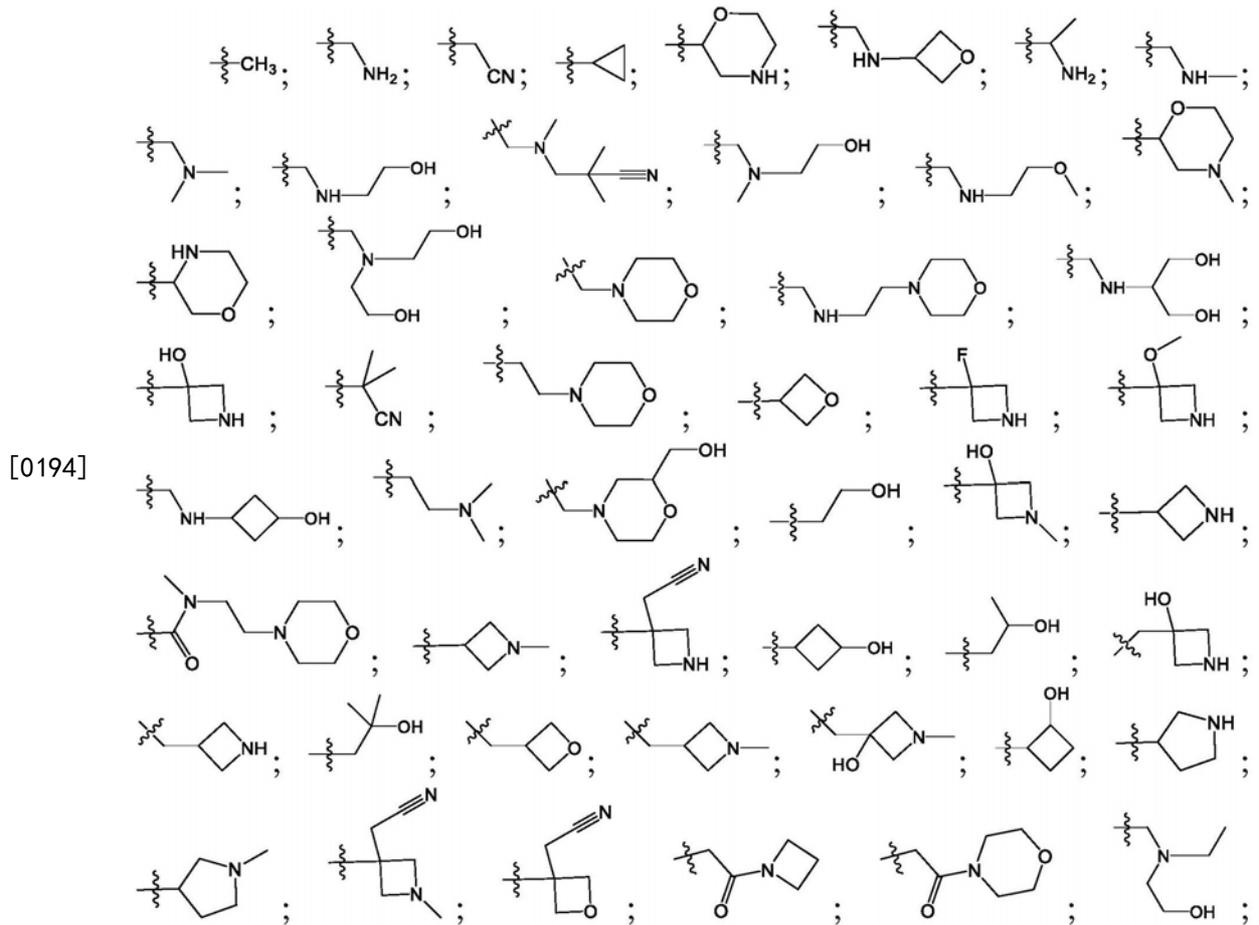


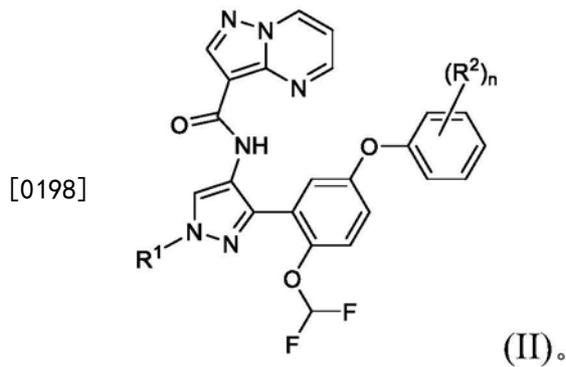
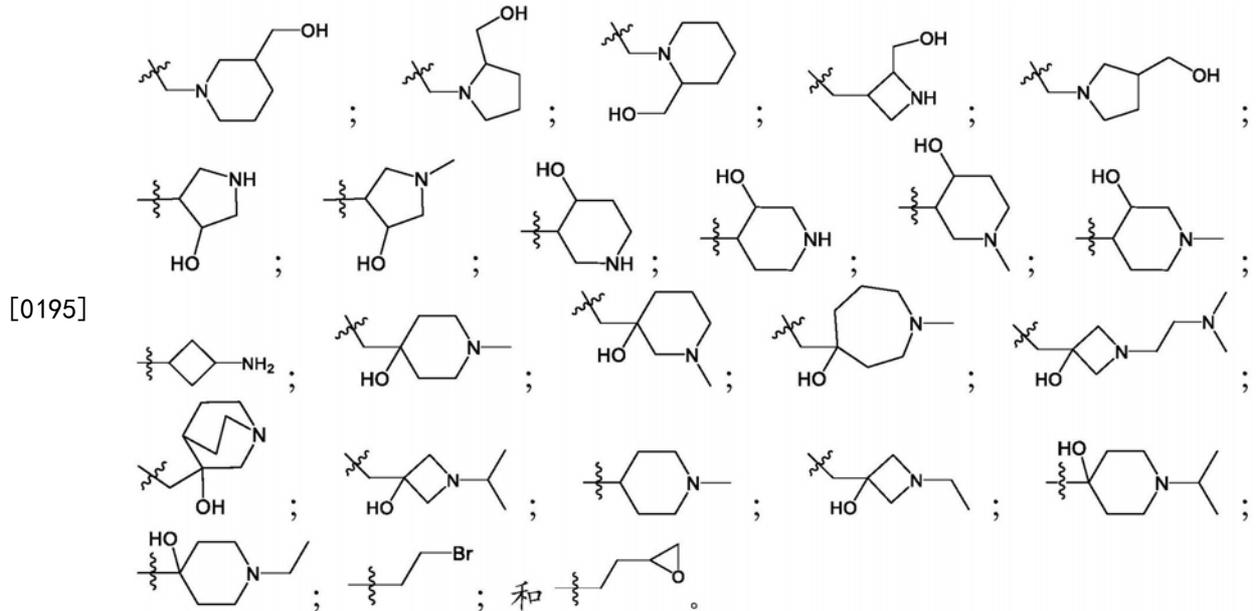
[0191]





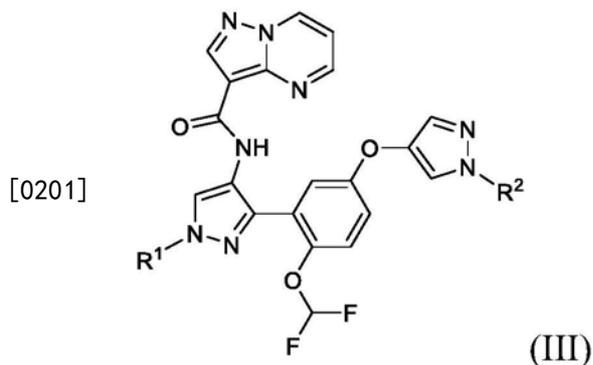
[0193] 在一些实施例中,其中n为1, R<sup>2</sup>选自;





[0199] 其中R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和n如本文所定义。

[0200] 在某些实施例中,主题化合物具有式(III):



[0202] 其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>如本文所定义。

[0203] 在一些实施例中,提供了选自下表1的化合物或盐(例如,药用盐)或其立体异构体:

[0204] 还提供了一种药物组合物,其包含本文所述的JAK抑制剂或其药用盐,以及药用载体、稀释剂或赋形剂。

[0205] 还提供了本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐在治疗中的用途,诸如在

炎性疾病(例如,哮喘)的治疗中的用途。还提供了本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐在制备用于治疗炎性疾病的药物中的用途。还提供了一种在患者中预防、治疗响应于Janus激酶活性抑制的疾病或病症或减轻其严重程度的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的如本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐。

[0206] 在一个实施例中,治疗的疾病或病症是癌症、真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、骨髓纤维化、慢性骨髓性白血病(CML)、类风湿性关节炎、炎性肠综合征、克罗恩病、银屑病、接触性皮炎或迟发性超敏反应。

[0207] 在一个实施例中,提供了本文所述的JAK抑制剂或其药用盐在治疗癌症、真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、骨髓纤维化、慢性骨髓性白血病(CML)、类风湿性关节炎、炎性肠综合征、克罗恩病、银屑病、接触性皮炎或迟发性超敏反应的用途。

[0208] 在一个实施例中,提供了一种组合物,所述组合物经配制用于吸入施用。

[0209] 在一个实施例中,提供了一种计量剂量吸入器,所述计量剂量吸入器包含本发明的化合物或其药学上可接受的盐。

[0210] 在一个实施例中,本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐作为JAK1抑制剂的效能比作为LRRK2抑制剂的效能高至少五倍。

[0211] 在一个实施例中,本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐作为JAK1抑制剂的效能比作为LRRK2抑制剂的效能高至少十倍。

[0212] 在一个实施例中,提供了一种治疗哺乳动物脱发的方法,所述方法包括将本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐施用于哺乳动物。

[0213] 在一个实施例中,提供了本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐用于脱发治疗的用途。

[0214] 在一个实施例中,提供了本文所述的JAK抑制剂或其药学上可接受的盐在制备用于治疗哺乳动物脱发的药物中的用途。

[0215] 发明的化合物可以包含一个或多个不对称碳原子。因此,化合物可以以非对映异构体、对映异构体或其混合物的形式存在。化合物的合成可以采用外消旋体、非对映体或对映体作为起始原料或中间体。具体的非对映异构化合物的混合物可以通过色谱法或结晶法分离或富含一种或多种具体的非对映异构体。相似地,可以使用相同的技术或本领域已知的其他技术分离或以对映体富集对映异构体混合物。不对称碳或氮原子可以各自为R或S构型,并且这些构型均在本发明的范围内。

[0216] 在本文所示的结构中,其中未指定任何特定手性原子的立体化学,则所有立体异构体均被考虑并包括为本发明的化合物。当立体化学由表示具体构型的实心楔形或虚线指定时,则该立体异构体即被指定和定义。除非另有说明,否则如果使用实心楔形或虚线,则意指相对立体化学。

[0217] 另一方面包括本文所述化合物的前药,包括已知的氨基保护基团和羧基保护基团,它们在生理条件下释放(例如,水解)以产生本发明的化合物。

[0218] 术语“前药”是指药物活性物质的前体或衍生物形式,与母体药物相比对患者的效果较低,并且能够被酶或水解活化或转化为活性更高的母体形式。参见,例如,Wilman, “Prodrugs in Cancer Chemotherapy” Biochemical Society Transactions, 14, pp.375-382, 615th Meeting Belfast (1986) and Stella et al., “Prodrugs: A Chemical

Approach to Targeted Drug Delivery,” Directed Drug Delivery, Borchardt et al., (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985)。前药包括但不限于含磷酸盐的前药、含硫代磷酸盐的前药、含硫酸盐的前药、含肽的前药、D-氨基酸修饰的前药、糖基化的前药、含 $\beta$ -内酰胺的前药、可取代的含苯氧基乙酰胺的前药或可取代的含苯乙酰胺的前药,以及5-氟胞嘧啶和5-氟尿苷前药。

[0219] 特定类别的前药是其中氨基、脒基、氨基亚烷基氨基、亚氨基亚烷基氨基或胍基中的氮原子被羟基基团、烷基羰基(-CO-R)基团、烷氧基羰基(-CO-OR)或酰氧基烷基-烷氧基羰基(-CO-O-R-O-CO-R)基团取代的化合物,其中R为一价或二价基团,例如,烷基、亚烷基或芳基或具有式-C(O)-O-CP1P2-卤代烷基的基团,其中P1和P2相同或不同,并且为氢、烷基、烷氧基、氰基、卤素、烷基或芳基。在特定的实施例中,氮原子是脒基基团的氮原子中的一个。可以通过使化合物与活化基团(诸如酰基基团)反应,例如,以将化合物中的氮原子与活化的酰基基团的示例性羰基键合来制备前药。活化的羰基化合物的实例是含有与羰基基团键合的离去基团的化合物,并且包括,例如,酰基卤、酰基胺、酰基吡啶盐、酰基醇盐、酰基苯氧化物,诸如对硝基苯氧基酰基、二硝基苯氧基酰基、氟苯氧基酰基和二氟苯氧基酰基。反应通常在惰性溶剂中于诸如-78°C至约50°C的降低温度下进行。反应还可以在无机碱(例如,碳酸钾或碳酸氢钠)或有机碱(诸如胺,包括吡啶、三甲胺、三乙胺、三乙醇胺等)的存在下进行。

[0220] 还涵盖其他类型的前药。例如,本文所述的JAK抑制剂的游离羧基基团可以被衍生为酰胺或烷基酯。作为另一个实例,包含游离羟基基团的本发明的化合物可以通过将羟基基团转化成诸如但不限于以下的基团而衍生为前药:磷酸酯、半琥珀酸酯、二甲基氨基乙酸酯或磷酰氧基甲基氧羰基基团,如Fleisher, D.等人,(1996) Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs Advanced Drug Delivery Reviews, 19:115中所述。还包括羟基和氨基基团的氨基甲酸酯前药,如羟基基团的碳酸酯前药、磺酸酯和硫酸酯。还涵盖羟基基团衍生为(酰氧基)甲基和(酰氧基)乙基醚,其中酰基基团可以是可选地被一些基团取代的烷基酯,这些基团包括但不限于醚、胺和羧酸官能团,或者其中酰基基团是如上所述的氨基酸酯。这类前药如J. Med. Chem., (1996), 39:10所述。更具体的实例包括用诸如以下的基团取代醇基团的氢原子:(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷酰氧基甲基、1-((C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷酰氧基)乙基、1-甲基-1-((C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷酰氧基)乙基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧羰基氧甲基、N-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧羰基氨基甲基、琥珀酰、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷酰基、 $\alpha$ -氨基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷酰基、芳基和 $\alpha$ -氨基酰基或 $\alpha$ -氨基酰基- $\alpha$ -氨基酰基,其中每个 $\alpha$ -氨基酰基独立地选自天然L-氨基酸、P(O)(OH)<sub>2</sub>、-P(O)(O(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基)<sub>2</sub>或糖基(除去碳水化合物的半缩醛形式的羟基产生的自由基)。

[0221] “离去基团”是指化学反应中第一反应物的一部分,其在化学反应中从第一反应物被置换。离去基团的实例包括但不限于卤素原子、烷氧基和磺酰氧基基团。磺酰氧基基团的实例包括但不限于烷基磺酰氧基团(例如,甲基磺酰氧基(甲磺酸酯基)和三氟甲基磺酰氧基(三氟甲磺酸酯基))以及芳基磺酰氧基(例如,对甲苯磺酰氧基(甲苯磺酸酯基)和对硝基磺酰氧基(壬酸酯基))。

[0222] JANUS激酶抑制剂化合物的合成

[0223] 化合物可以通过本文所述的合成途径合成。在某些实施例中,除了本文所包含的

描述之外或根据本文所包含的描述,可以使用化学领域公知的方法。起始材料通常可从商业来源获得,诸如Aldrich Chemicals (Milwaukee, Wis.), 或易于使用本领域技术人员公知的方法制备(例如,通过以下通常所述的方法进行制备:Louis F. Fieser和Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v.1-19, Wiley, N.Y. (1967-1999年版本), Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. 编辑Springer-Verlag, Berlin, 包括增刊(也可以通过Beilstein在线数据库获得)), 或Comprehensive Heterocyclic Chemistry, 编辑Katrizky和Rees, Pergamon Press, 1984。

[0224] 化合物可以单独制备或作为包括至少2种, 例如, 5至1,000种化合物或10至100种化合物的化合物文库制备。化合物的文库可以通过组合的“拆分和混合”方法或使用溶液相或固相化学的多种平行合成方法, 通过本领域技术人员已知的方法进行制备。因此, 根据本发明的另一方面, 提供了包括至少2种本发明的化合物的化合物文库。

[0225] 为了说明的目的, 以下描绘的反应方案提供了合成本发明化合物以及关键中间体的途径。有关各反应步骤的详细说明, 请参见以下实例章节。本领域技术人员将理解, 可以使用其他合成路线。尽管在流程中描述了某些特定的起始原料和试剂, 并在下面进行了讨论, 但是可以替代其他起始原料和试剂以提供各种衍生物或反应条件。另外, 根据本公开内容, 可以使用本领域技术人员熟知的常规化学方法进一步修改通过下述方法制备的许多化合物。

[0226] 在制备本发明的化合物时, 可能需要保护中间体的远端官能度(例如, 伯胺或仲胺)。此类保护的需求将根据远端官能度的性质以及制备方法的条件而有所不同。合适的氨基保护基团包括乙酰基、三氟乙酰基、苄基、苯磺酰基、叔丁氧羰基(BOC)、苄氧羰基(CBz)和9-芴基亚甲基氧羰基(Fmoc)。对于是否需要这种保护是本领域技术人员容易确定的。有关保护基团及其用途的常规说明, 参见T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley&Sons, New York, 1991。

[0227] 可以使用多种试剂和条件来进行常用于合成本发明的化合物的其他转化, 包括以下:

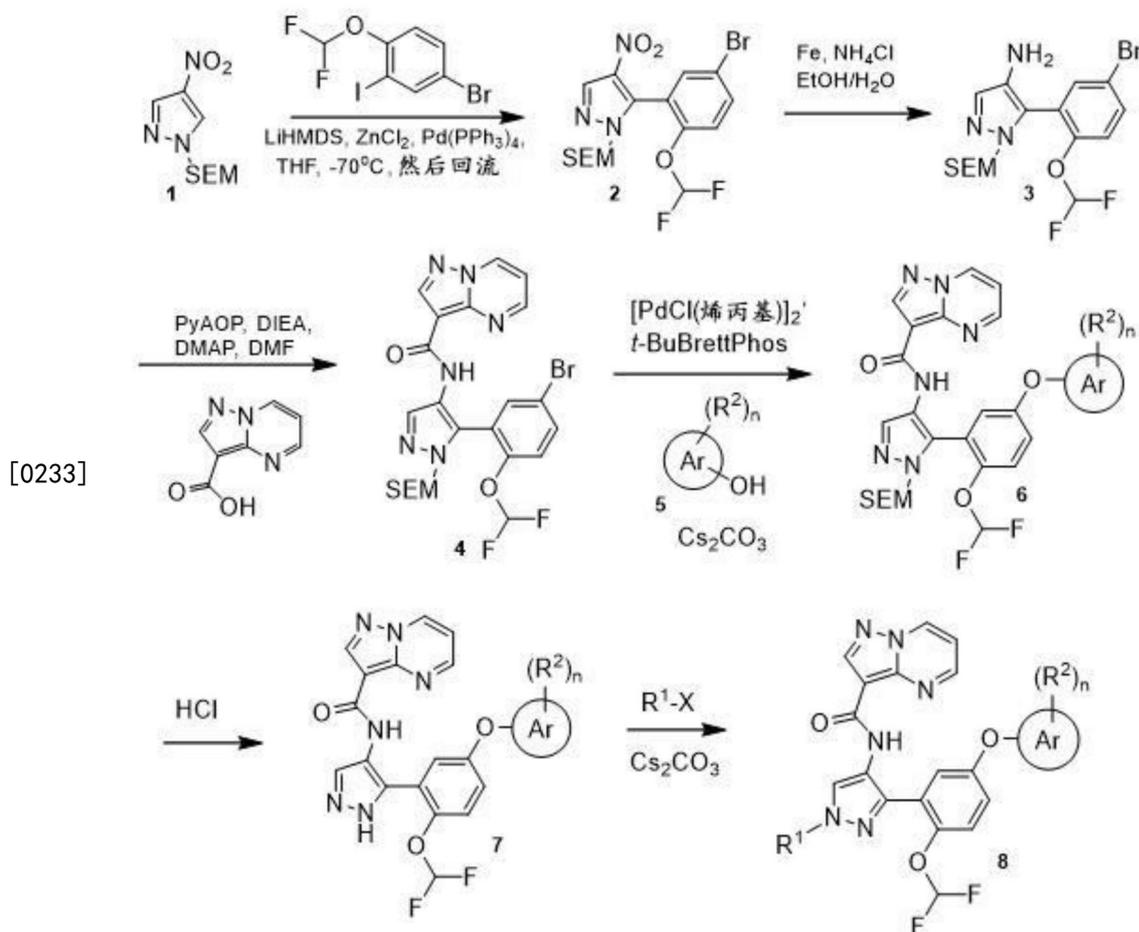
[0228] (1) 羧酸与胺反应形成酰胺。可以使用本领域技术人员已知的各种试剂来实现这种转化, 但综述可见于Tetrahedron, 2005, 61, 10827-10852。

[0229] (2) 可以使用多种催化剂、配体和碱实现伯胺或仲胺与芳基卤化物或类卤化物(例如, 三氟甲磺酸酯)的反应, 通常称为“Buchwald-Hartwig交叉偶联”。这些方法的综述在Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents, 2010, 575-581中提供。

[0230] (3) 芳基卤化物与乙烯基硼酸或硼酸酯之间的钯交叉偶联反应。这种转化是一类“Suzuki-Miyaura交叉偶联”, 这类反应已在Chemical Reviews, 1995, 95 (7), 2457-2483中详述。

[0231] (4) 酯水解生成相应的羧酸是本领域技术人员公知的, 条件包括: 对于甲基和乙基酯, 使用强碱水溶液, 诸如氢氧化锂、氢氧化钠或氢氧化钾, 或者强无机酸水溶液, 诸如HCl; 对于叔丁酯, 将使用酸(例如, HCl在二噁烷中的溶液或三氟乙酸(TFA)在二氯甲烷(DCM)中的溶液)进行水解。

[0232] 反应方案1



[0234] 反应方案1说明了式I的化合物的合成。硝基吡唑化合物1可在钯催化条件下用4-溴-1-(二氟甲氧基)-2-碘苯芳基化以生成化合物2。化合物2的硝基可以用诸如铁和氯化铵的条件还原,生成氨基苯胺3。酰胺键,在偶联剂(例如但不限于PyAOP)和有机溶剂(例如但不限于DMF)中的有机碱(例如但不限于DIPEA和DMAP)的存在下,与可商购的吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酸偶联,提供化合物4。式6的化合物可以通过在Pd催化偶联条件下用适当取代的羟基芳基化合物5(诸如苯酚、吡唑或吡啶酚)和溶剂(例如但不限于甲苯)中的碱(例如但不限于碳酸铯)处理化合物4来合成。在溶剂(例如但不限于1,4-二噁烷)中使用酸(例如但不限于HCl)去除化合物6的SEM保护基团,得到化合物7。然后化合物7可以与基团 $R^1-X$ 进行N-烷基化,其中X是卤代(例如溴)以提供化合物8。

[0235] 应当理解的是,在存在合适的官能团的情况下,可以通过一种或多种采用缩合、取代、氧化、还原或裂解反应的标准合成方法进一步衍生化用于其制备中的各种式的化合物或任何中间体。具体取代方法包括常规的烷基化、芳基化、杂芳基化、酰化、磺酰化、卤化、硝化、甲酰化和偶联程序。

[0236] 在另一实例中,伯胺或仲胺基团可以通过酰化转化为酰胺基团( $-NHCOR'$ 或 $-NRCOR'$ )。酰化作用可以通过在碱(诸如三乙胺)存在下,在适当的溶剂(诸如二氯甲烷)中与适当的酰氯反应,或在适当的偶联剂(诸如HATU(0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐))存在下与适当的羧酸反应来实现。类似地,可以在合适的溶剂(诸如二氯甲烷)中,在合适的碱(诸如三乙胺)存在下,通过与合适的磺酰氯反应,将胺基团转化为磺酰胺基团( $-NHSO_2R'$ 或 $-NR''SO_2R'$ )。在合适的溶剂(诸如二氯甲烷)中,在合适的碱(诸如三

乙胺)存在下,通过与合适的异氰酸酯反应,可以将伯胺基团或仲胺基团转化为脲基团(-NHCONR' R"或-NRCONR' R")。

[0237] 胺(-NH<sub>2</sub>)可以通过还原硝基(-NO<sub>2</sub>)基团而获得,例如,通过催化加氢,例如,使用氢,在金属催化剂(例如,钯)存在下,在溶剂(诸如乙酸乙酯或醇,例如,甲醇)中于支撑物(诸如碳)上进行。或者,可以在酸(诸如盐酸)存在下通过使用例如金属(例如,锡或铁)的化学还原进行转化。

[0238] 在另一实例中,胺(-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)基团可以通过还原腈(-CN)而获得,例如,通过催化加氢,例如,使用氢,在金属催化剂的存在下,于适当的温度例如从约-78°C至溶剂的回流温度下进行,所述金属催化剂例如在支撑物(诸如碳)上的钯,或在溶剂中的Raney镍,所述溶剂诸如醚,例如,环醚(诸如四氢呋喃)。

[0239] 在另一实例中,可以通过将羧酸基团(-CO<sub>2</sub>H)转化为相应的酰基叠氮化物(-CON<sub>3</sub>), Curtius重排和所得异氰酸酯(-N=C=O)的水解,获得胺(-NH<sub>2</sub>)基团。

[0240] 醛基团(-CHO)可以通过胺和硼氢化物(例如三乙酰氧基硼氢化钠或氰基硼氢化钠)的还原胺化反应转变为胺基团(-CH<sub>2</sub>NR' R"),在溶剂诸如卤代烃(例如,二氯甲烷),或醇诸如乙醇中,其中必要时在接近环境温度下在酸(诸如乙酸)存在下进行。

[0241] 在另一实例中,在本领域技术人员已知的标准条件下,通过使用Wittig或Wadsworth-Emmons反应,使用适当的膦烷或膦酸酯,可以将醛基团转化为烯基基团(-CH=CHR')。

[0242] 可以通过在适当的溶剂(诸如甲苯)中使用氢化二异丁基铝将酯基团(诸如-CO<sub>2</sub>Et)或腈(-CN)还原获得醛基团。或者,可以使用本领域技术人员已知的任何合适的氧化剂通过醇基团的氧化获得醛基团。

[0243] 取决于R的性质,可以通过酸催化水解或碱催化水解将酯基团(-CO<sub>2</sub>R')转化为相应的酸基团(-CO<sub>2</sub>H)。如果R为叔丁基,则可以例如通过在水性溶剂中用有机酸(诸如三氟乙酸)处理,或通过在水性溶剂中用无机酸(诸如盐酸)处理来实现酸催化水解。

[0244] 可以在合适的偶联剂(诸如HATU)中,在适当的溶剂(诸如二氯甲烷)中,通过与适当的胺反应,将羧酸基团(-CO<sub>2</sub>H)转化为酰胺(CONHR'或-CONR' R")。

[0245] 在另一实例中,羧酸可通过转化为相应的酰氯(-COCl),然后通过Arndt-Eistert合成,经一个碳(即,-CO<sub>2</sub>H至-CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)同系化。

[0246] 在另一实例中,-OH基团可以由相应的酯(例如,-CO<sub>2</sub>R')或醛(-CHO)通过还原而产生,例如,使用复杂的金属氢化物(诸如氢化铝锂)在乙醚或四氢呋喃中,或硼氢化钠在溶剂(如甲醇)中。或者,可以通过在溶剂(诸如四氢呋喃)中使用例如氢化铝锂,或在溶剂(诸如四氢呋喃)中使用硼烷,通过还原相应的酸(-CO<sub>2</sub>H)制备醇。

[0247] 可以使用本领域技术人员已知的条件将醇基团转化为离去基团(诸如卤素原子)或磺酰氧基基团(诸如烷基磺酰氧基),例如,三氟甲基磺酰氧基或芳基磺酰氧基,例如,对甲苯磺酰氧基基团。例如,将醇与亚硫酸氯在卤代烃(例如,二氯甲烷)中反应以产生相应的氯化物。在反应中也可以使用碱(例如,三乙胺)。

[0248] 在另一实例中,可以通过在膦(例如,三苯基膦)和活化剂(诸如二乙基偶氮二羧酸酯、二异丙基偶氮二羧酸酯或二甲基偶氮二羧酸酯)的存在下,在溶剂(诸如四氢呋喃)中将酚或酰胺与醇偶合,从而使醇、苯酚或酰胺基团烷基化。或者,可以通过使用适当的碱(例

如, 氢氧化钠) 进行去质子化, 随后添加烷基化剂 (诸如卤代烷) 来实现烷基化。

[0249] 化合物中的芳香族卤素取代基可以通过碱, 例如, 锂碱 (诸如正丁基锂或叔丁基锂) 中进行处理, 任选地在低温下 (例如, 约 -78°C), 在溶剂 (诸如四氢呋喃) 中进行卤素金属交换, 然后用亲电子试剂淬灭以引入所需的取代基。因此, 例如, 可以通过使用 N,N-二甲基甲酰胺作为亲电子试剂引入甲酰基基团。芳香族卤素取代基还可以经受金属 (例如, 钯或铜) 催化的反应, 以引入例如酸、酯、氰基、酰胺、芳基、杂芳基、烯基、炔基、硫代取代基或氨基取代基。可以采用的适当程序包括如 Heck、Suzuki、Stille、Buchwald 或 Hartwig 所述的那些。

[0250] 与适当的亲核试剂 (诸如胺或醇) 反应后, 芳香族卤素取代基还可以发生亲核取代。有利地, 这种反应可以在微波辐射存在下在升高的温度下进行。

[0251] 分离方法

[0252] 在每个示例性方案中, 将反应产物彼此分离或与起始材料分离可能是有利的。通过本领域常见的技术将每个步骤或一系列步骤的期望产物分离或纯化 (下文为在分离之后) 至期望的均一度。通常此类分离涉及多相提取、从溶剂或溶剂混合物结晶或研制、蒸馏、升华或色谱法。色谱法可涉及任意种方法, 包括例如: 反相和正相色谱法; 尺寸排阻色谱法; 离子交换色谱法; 超临界流体色谱法; 高压、中压和低压液相色谱方法和装置; 小规模分析性色谱法; 模拟移动床 (SMB) 和制备型薄层或厚层色谱法, 以及小规模薄层法和快速色谱法技术。

[0253] 另一类分离方法涉及用试剂处理混合物, 选择所述试剂以与期望的产物、未反应的起始材料、反应副产物等结合或以其他方式使期望的产物、未反应的起始材料、反应副产物等为可分离的。此类试剂包括吸附剂或吸收剂, 诸如活性炭、分子筛、离子交换介质等。可替代地, 所述试剂可以是酸 (在碱性材料的情况下); 碱 (在酸性材料的情况下); 结合试剂诸如抗体、结合蛋白、选择性螯合剂诸如冠醚; 液/液离子萃取试剂 (LIX) 等。

[0254] 对适当的分离方法的选择取决于所涉及的材料性质。示例性分离方法包括沸点和分子量 (在蒸馏和升华中)、极性官能团的存在或不存在 (在色谱中)、材料在酸性和碱性介质中的稳定性 (在多相提取中) 等。本领域技术人员将应用最有可能实现所期望分离的技术。

[0255] 可通过本领域技术人员公知的方法, 例如通过色谱法和/或分级结晶, 基于非对映异构体的物理化学差异, 将非对映异构体的混合物分离为其单独的非对映异构体。对映异构体可通过如下方式分离: 通过使对映异构体的混合物与适当的光学活性化合物 (例如手性助剂, 如手性醇或 Mosher 酰氯 (Mosher's acid chloride)) 反应, 将对映异构体的混合物转化为非对映异构体的混合物, 分离非对映异构体, 并将单独的非对映异构体转化 (例如水解) 为相应的纯对映异构体。此外, 一些本发明的化合物可以是阻转异构体 (例如取代的联芳化合物) 并被视为本发明的一部分。对映异构体也可使用手性 HPLC 柱或超临界流体色谱法来分离。

[0256] 单一的立体异构体, 例如基本上不含其立体异构体的对映异构体, 可通过如下方式获得: 通过使用诸如形成非对映异构体的方法, 使用光学活性拆分剂来拆分外消旋混合物 (ElieI, E. 和 Wilen, S., *Stereochemistry of Organic Compounds*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994; Lochmuller, C.H., *J. Chromatogr.*, 113 (3): 283-302 (1975))。本发明的手性化合物的外消旋混合物可通过任何合适的方法来分离和离析, 所述方法包括: (1) 与

手性化合物形成离子性非对映异构盐,并通过分级结晶或其他方法来分离;(2)与手性衍生试剂形成非对映异构化合物,分离所述非对映异构体,并转化为纯立体异构体;以及(3)在手性条件下对基本上纯的或富集的立体异构体进行直接分离。参见:Drug Stereochemistry, Analytical Methods and Pharmacology, Irving W. Wainer, 编辑, Marcel Dekker, Inc., New York (1993)。

[0257] 非对映异构盐可通过如下方式形成:使对映异构纯的手性碱诸如马钱子碱(brucine)、奎宁、麻黄碱、番木鳖碱(strychnine)、 $\alpha$ -甲基- $\beta$ -苯基乙胺(安非他明)等与带有酸性官能团诸如羧酸和磺酸的不对称化合物反应。可通过分级结晶或离子色谱法来诱导非对映异构盐分离。对于分离氨基化合物的光学异构体而言,手性羧酸或磺酸诸如樟脑磺酸、酒石酸、扁桃酸或乳酸的加入可引起非对映异构盐的形成。

[0258] 或者,使待拆分的底物与手性化合物的一种对映异构体反应以形成非对映异构体对(Eliel, E. 和 Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994, 第322页)。非对映异构化合物可通过如下方式形成:使不对称化合物与对映异构纯的手性衍生试剂诸如薄荷基衍生物反应,之后分离非对映异构体并水解,以得到纯的或富集的对映异构体。确定光学纯度的方法涉及制备外消旋混合物的手性酯,诸如薄荷基酯,例如在碱的存在下制备(-)氯甲酸薄荷基酯,或 Mosher 酯、 $\alpha$ -甲氧基- $\alpha$ -(三氟甲基)苯基乙酸酯(Jacob, J. Org. Chem. 47:4165 (1982)), 并就两种阻转异构的对映异构体或非对映异构体的存在对NMR光谱进行分析。阻转异构化合物的稳定非对映异构体可通过正相和反相色谱法,按照用于分离阻转异构的萘基-异喹啉的方法(WO 96/15111, 以引用方式并入本文)进行分离和离析。通过方法(3),两种对映异构体的外消旋混合物可通过使用手性固定相的色谱法进行分离(Chiral Liquid Chromatography W. J. Lough, 编辑, Chapman and Hall, New York, (1989); Okamoto, J. of Chromatogr. 513:375-378 (1990))。富集的对映异构体可通过用于辨别带有不对称碳原子的其他手性分子的方法(诸如旋光性或圆二色性)进行辨别。手性中心和对映异构体的绝对立体化学可通过X射线晶体学来确定。

[0259] 可通过诸如NMR和分析型HPLC的表征方法来观察用于其合成的位置异构体和中间体。对于相互转化的能垒足够高的某些化合物,可例如通过制备型HPLC来分离E和Z异构体。

[0260] 药物组合物和施用

[0261] 本发明涉及的化合物是JAK激酶抑制剂,如JAK1抑制剂,并且可用于治疗若干种疾病,例如炎症性疾病,如哮喘。

[0262] 因此,另一实施例提供了含有本发明的化合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物或药物,以及使用本发明的化合物制备此类组合物和药物的方法。

[0263] 在一个实例中,本发明的化合物或其药学上可接受的盐可通过在环境温度下适当的pH值和期望的纯度下与生理学上可接受的载体(即在所用剂量和浓度下对受者无毒的载体)混合而配制为盖伦(galenical)施用形式。制剂的pH主要取决于化合物的具体用途和浓度,但是通常在约3至约8的范围内。在一个实例中,将本发明的化合物或其药学上可接受的盐配制在pH5的乙酸盐缓冲液中。在另一实施例中,本发明的化合物是无菌的。化合物可以例如作为固体或无定形组合物、作为冻干制剂或作为水溶液储存。

[0264] 以与良好医学实践一致的方式配制、计量和施用组合物。在这种情况下需要考虑的因素包括所治疗的特定疾患、所治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床病症、疾患的原因、药剂的递送部位、施用方法、施用的时间安排,以及执业医师已知的其他因素。

[0265] 应当理解,任何特定患者的具体剂量水平均将取决于多种因素,包括所用具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用时间、施用途径、排泄速率、药物组合和正在治疗的特定疾病的严重程度。最优化的剂量水平和给药频率将通过临床试验确定,如制药领域中所需要的。通常,进行施用的日剂量范围将在如下范围内:每kg人体重约0.001mg至约100mg,通常为每kg人体重0.01mg至约50mg,例如每kg人体重0.1至10mg,以单次剂量或分份剂量进行。通常,吸入施用的日剂量范围将在如下范围内:每kg人体重约0.1 $\mu$ g至约1mg,优选每kg人体重0.1 $\mu$ g至50 $\mu$ g,以单次剂量或分份剂量进行。另一方面,在一些情况下可能需要使用超出这些限制的剂量。

[0266] 本发明的化合物或其药学上可接受的盐可通过任何适合的方式施用,包括口服、局部(包括颊和舌下)、直肠、阴道、经皮、肠胃外、皮下、腹膜内、肺内、皮内、鞘内、吸入和硬膜外和鼻内,以及(如果需要用于局部治疗)病灶内施用。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。在一些实施例中,采用吸入施用。

[0267] 本发明的化合物或其药学上可接受的盐可以以任何方便的施用形式施用,例如片剂、粉剂、胶囊、锭剂、颗粒、溶液、分散剂、混悬剂、糖浆、喷雾剂、气体剂(vapor)、栓剂、凝胶、乳剂、贴剂等。此类组合物可含有药物制剂中常规的组分,例如稀释剂(例如葡萄糖、乳糖或甘露醇)、载体、pH修饰剂、缓冲剂、甜味剂、填充剂、稳定剂、表面活性剂、润湿剂、润滑剂、乳化剂、助悬剂、防腐剂、抗氧化剂、遮光剂、助流剂、加工助剂、着色剂、芳香剂、矫味剂、其他已知的添加剂以及其他活性剂。

[0268] 适合的载体和赋形剂是本领域技术人员熟知的,并且在例如Ansel,Howard C.等人,Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems.Philadelphia:Lippincott,Williams和Wilkins,2004;Gennaro,Alfonso R.等人Remington:The Science and Practice of Pharmacy.Philadelphia:Lippincott,Williams&Wilkins,2000;以及Rowe,Raymond C.Handbook of Pharmaceutical Excipients.Chicago,Pharmaceutical Press,2005中有详细描述。例如,载体包括溶剂、分散介质、包衣、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂(例如抗细菌剂、抗真菌剂)、等渗剂、吸收延迟剂、盐、防腐剂、药物、药物稳定剂、凝胶、粘合剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂、甜味剂、矫味剂、染料、类似材料及其组合,如本领域普通技术人员已知的(参见例如Remington's Pharmaceutical Sciences,第1289-1329页,1990)。除了任何常规载体与活性成分不相容的情况之外,所述载体在治疗或药物组合物中的用途是可预期的。示例性赋形剂包括磷酸二钙、甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁或其组合。药物组合物可以包含不同类型的载体或赋形剂,这取决于其是以固体、液体还是气雾剂形式施用,以及对于这些施用途径其是否需要是无菌的。

[0269] 例如,用于口服施用的片剂和胶囊可以是单位剂量呈递形式,并且可以含有常规赋形剂如粘合剂,例如糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨醇、黄蓍胶或聚乙烯吡咯烷酮;填充剂,例如乳糖、糖、玉米淀粉、磷酸钙、山梨醇或甘氨酸;压片润滑剂,例如硬脂酸镁、滑石粉、聚乙二醇或二氧化硅;崩解剂,例如马铃薯淀粉,或可接受的润湿剂如十二烷基硫酸钠。可以根

据正常药物实践中熟知的方法将片剂包衣。口服液体制剂可以是例如水性或油性混悬剂、溶液、乳剂、糖浆或酏剂的形式，或者可以作为用于在使用前用水或其他适合的媒介物重构的干燥产品呈递。此类液体制剂可以含有常规的添加剂，如助悬剂，例如山梨醇、糖浆、甲基纤维素、葡萄糖浆、明胶氢化食用脂肪；乳化剂，例如卵磷脂、脱水山梨糖醇单油酸酯或阿拉伯胶；非水性媒介物（其可以包括食用油），例如杏仁油、分级的椰子油、油性酯如甘油、丙二醇或乙醇；防腐剂，例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸，以及如果需要常规的矫味剂或着色剂。

[0270] 对于局部施用于皮肤，可以将化合物制成乳膏、洗剂或软膏。可用于药物的乳膏或软膏制剂是本领域熟知的常规制剂，例如在如British Pharmacopoeia的标准药理学教科书中所描述的。

[0271] 本发明的化合物或其药学上可接受的盐也可以配制用于吸入，例如作为鼻喷雾剂，或用于干粉或气雾剂吸入器。对于通过吸入递送，化合物通常是微粒的形式，其可以通过多种技术包括喷雾干燥、冷冻干燥和微粉化来制备。可以使用例如压力驱动的喷射雾化器或超声雾化器进行气雾产生，例如通过使用抛射剂驱动的计量气雾剂或来自例如吸入胶囊或其他“干粉”递送系统的微粉化化合物的无抛射剂施用。

[0272] 作为实例，本发明的组合物可以制备为用于从喷雾器递送的混悬剂或作为液体抛射剂中的气雾剂，例如在加压计量剂量吸入器(PMDI)中使用。适用于PMDI的抛射剂是本领域技术人员已知的，并且包括CFC-12、HFA-134a、HFA-227、HCFC-22 (CCl<sub>2</sub>F<sub>2</sub>) 和HFA-152 (CH<sub>4</sub>F<sub>2</sub>和异丁烷)。

[0273] 在一些实施例中，本发明的组合物为干粉形式，用于使用干粉吸入器(DPI)递送。许多类型的DPI是已知的。

[0274] 通过施用递送的微粒可以使用有助于递送和释放的赋形剂配制。例如，在干粉制剂中，微粒可以使用有助于从DPI流入肺的大载体颗粒配制。适合的载体颗粒是已知的，并且包括乳糖颗粒；它们可以具有例如大于90μm的质量中值空气动力学直径。

[0275] 在基于气雾剂的制剂的情况下，实例为：

	本发明的化合物*	24 mg / 罐
	卵磷脂，NF 液体浓度	1.2 mg / 罐
[0276]	三氯氟甲烷，NF	4.025 g / 罐
	二氯二氟甲烷，NF	12.15 g / 罐。

[0277] \*或其药学上可接受的盐

[0278] 取决于所用的吸入器系统，可以如所述施用本发明的化合物或其药学上可接受的盐。除了化合物之外，施用形式还可以含有如上所述的赋形剂，或者例如抛射剂（例如在计量气雾剂的情况下为Frigen）、表面活性物质、乳化剂、稳定剂、防腐剂、矫味剂、填充剂（例如在粉末吸入器的情况下是乳糖）或（如果适合）另外的活性化合物。

[0279] 对于吸入的目的，可以使用很多系统，这些系统利用适合于患者的吸入技术，可以产生和施用最优化的粒径的气雾剂。除了使用适配器（垫片、膨胀器）和梨形容器（例如Nebulator®、Volumatic®）以及发射吹气喷雾的自动装置（Autohaler®）外，对于计量喷雾剂，特别是在粉末吸入器的情况下，还可以使用多种技术解决方案（例如

Diskhaler®、Rotadisk®、Turbohaler®，或例如，如美国专利No. 5,263,475中所述的吸入器，该美国专利以引用方式并入本文)。另外，本发明的化合物或其药学上可接受的盐可以在多室装置中递送，从而允许递送组合剂。

[0280] 该化合物或其药学上可接受的盐也可以在无菌介质中肠胃外施用。取决于所用的媒介物和浓度，可以将化合物悬浮或溶解在媒介物中。有利地，可以将佐剂诸如局部麻醉剂、防腐剂或缓冲剂溶解在媒介物中。

[0281] 靶向吸入式药物递送

[0282] 本发明的化合物可以用于靶向吸入递送。最近已经综述了通过局部(吸入)施用递送至肺部的药物的优化(Cooper, A.E.等人Curr. Drug Metab. 2012, 13, 457-473)。

[0283] 由于递送装置的限制，吸入药物的剂量在人体中可能受到限制，这需要具有良好肺药代动力学特性的高效分子。由于诸如从吸入器中一次抽吸可递送的药物量有限，以及与肺高喷雾剂负荷有关的安全性问题(例如，咳嗽或发炎)等因素，针对感兴趣的靶标的高效力对于吸入式药物尤为重要。例如，在一些实施例中，对于吸入式JAK1抑制剂，可以期望如本文所述的JAK1生化测定中的 $K_i$ 为约0.5nM或更小，以及如本文所述的基于JAK1依赖性细胞的测定中的 $IC_{50}$ 为约20nM或更小。在其他实施例中，本发明化合物或其药用盐的预计人用剂量比本领域已知化合物的预计人用剂量小至少两倍。因此，在一些实施例中，本文所述的化合物(或其药用盐)证明了此类效力值。以下程序用于评估主题化合物作为吸入药物的潜在用途。

[0284] IL13信号传导。IL13信号传导与哮喘发病密切相关。IL13是一种需要活性JAK1才能进行信号传导的细胞因子。因此，抑制JAK1也会抑制IL13信号传导，这会为哮喘患者带来益处。在动物模型(例如，小鼠模型)中对IL13信号传导的抑制可预测对人类哮喘患者的未来益处。因此，吸入式JAK1抑制剂在动物模型中显示IL13信号传导抑制可能是有益的。测量这种抑制的方法在本领域中是已知的。例如，如本文所讨论并且在本领域中已知的，已知JAK1依赖性STAT6磷酸化是IL13刺激的下游结果。因此，在一些实施例中，本文所述的化合物(或其药用盐)表现出对肺pSTAT6诱导的抑制。为了检查对pSTAT6水平的药效学作用，将本发明的化合物与IL13向雌性Balb/c小鼠鼻内共同给药。将化合物配制在盐水中的0.2% (v:v)吐温80中，并按1:1 (v:v)在施用前立即与IL13混合。通过用移液管将固定体积(50 $\mu$ L)直接分配到鼻孔中以达到目标剂量水平(3mg/kg、1mg/kg、0.3mg/kg、0.1mg/kg)，来将鼻内剂量施用于轻度麻醉(异氟醚)的小鼠。给药后0.25小时，通过心脏穿刺收集血液样品(约0.5mL)，并通过离心(1500g, 10min, +4 $^{\circ}$ C)产生血浆。用冷的磷酸盐缓冲盐水(PBS)灌注肺，称重并在液氮中速冻。将所有样品储存在约-80 $^{\circ}$ C下直至分析。每克组织加入2mL HPLC级水后，在4 $^{\circ}$ C下使用Omni-Prep Bead Ruptor将除霜的肺样品称重并匀浆。血浆和肺样品通过蛋白质沉淀法提取，其中使用三体积的含甲苯磺丁脲(50ng/mL)和拉贝洛尔(25ng/mL)的乙腈作为分析内标。涡旋混合并在3200g和4 $^{\circ}$ C下离心30分钟后，将上清液用HPLC级水在96孔板中适当稀释(例如1:1v:v)。通过LC-MS/MS，参照一系列基质匹配校准和质量控制标准，对血浆和肺样品的代表性等分试样进行母体化合物测定。通过向对照Balb/c小鼠血浆或肺匀浆(2:1，在HPLC级水中)的等分试样中掺加测试化合物，并如针对实验样本所述的方法进行提取来制备标准物。肺:血浆比率测定为在采样时间(0.25小时)的平均肺浓度( $\mu$ M)与平均血浆浓度( $\mu$ M)之比。

[0285] 为了测量pSTAT6水平,将小鼠肺在-80℃下冷冻储存直至测定,并在0.6ml冰冷细胞裂解缓冲液(Cell Signaling Technologies,目录号9803S)中匀浆,所述缓冲液中补充有1mM PMSF以及蛋白酶(Sigma Aldrich,目录号P8340)和磷酸酶(Sigma Aldrich,目录号P5726和P0044)抑制剂混合物。将样品在4℃下以16060x g离心4分钟以除去组织碎片,并使用Pierce BCA蛋白测定试剂盒(目录号23225)测定匀浆的蛋白浓度。在冰冷的蒸馏水中将样品稀释至蛋白浓度为5mg/ml,并通过Meso Scale Discovery电化学发光免疫测定来测定pSTAT6水平。简而言之,将5μl/孔的150μg/ml STAT6捕获抗体(R&D Systems,目录号MAB2169)包被在96孔Meso Scale Discovery高结合板(目录号L15XB-3)上,并在室温下风干5小时。通过加入150μl/孔的30mg/ml Meso Scale Discovery封闭剂A(目录号R93BA-4)来封闭板,并在室温下在微孔板振荡器上培养2小时。封闭的板用Meso Scale Discovery TRIS洗涤缓冲液(目录号R61TX-1)洗涤4次,之后转移50μl/孔的肺匀浆以达到250μg/孔的蛋白负荷。将测定板在4℃下孵育过夜,并用TRIS洗涤缓冲液洗涤4次,然后在室温下在微孔板振荡器上加入25μl/孔2.5μg/ml硫标签标记的pSTAT6检测抗体(BD Pharmingen,目录号558241)达2小时。用TRIS洗涤缓冲液洗涤板4次,并加入150μl/孔的1X Meso Scale Discovery读数缓冲液T(目录号R92TC-1)。通过在Meso Scale Discovery SECTOR S 600仪器上检测电化学发光来定量肺匀浆pSTAT6水平。

[0286] JAK和JAK2抑制抑制JAK1和JAK2的化合物可潜在用于治疗不同类型的哮喘。JAK1与JAK2之间的选择性对于吸入式JAK1抑制剂也很重要。例如,GMCSF(粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子)是一种仅通过JAK2发出信号的细胞因子。GMCSF活性的中和与肺中的肺泡蛋白沉着症(PAP)相关联。但是,亚极量的JAK2抑制似乎与PAP无关。因此,即使是适度的JAK1与JAK2选择性,或对JAK1和JAK2的大约等效抑制,也有助于避免完全抑制GMCSF途径和避免PAP。例如,在某些实施例中,对JAK1和JAK2等效的化合物是需要的。在其他实施例中,对JAK1的选择性是对JAK2的选择性的约2倍-5倍的化合物可以对吸入式JAK1抑制剂有益。因此,在一些实施例中,本文所述的化合物(或其药用盐)证明了此类选择性。测量JAK1和JAK2选择性的方法在本领域中是已知的,并且信息也可以在本文的实例中找到。

[0287] 激酶谱分析。另外,可以期望吸入式JAK1或JAK1/JAK2抑制剂对一种或多种其他激酶具有选择性,以减少由于脱靶激酶途径抑制而产生潜在毒性的可能性。因此,吸入式JAK1抑制剂对多种非JAK激酶具有选择性也可以是有利的,例如在可得自ThermoFisher Scientific的SelectScreen™生化激酶谱分析服务的使用Adapta™筛选方案测定条件(2016年7月29日修订)、LanthaScreen™Eu激酶结合测定筛选方案和测定条件(2016年6月7日修订)和/或Z'LYTE™筛选方案和测定条件(2016年9月16日修订)的方案中。例如,本发明的化合物或其药用盐与一组非JAK激酶相比对JAK1表现出至少50倍的选择性。因此,在一些实施例中,本文所述的化合物(或其药用盐)证明了此类选择性。

[0288] 细胞毒性测定。肝细胞毒性、一般细胞毒性或未知机制的细胞毒性是潜在药物(包括吸入式药物)的不期望的特征。可以有益的是吸入式JAK1或JAK1/JAK2抑制剂对各种细胞类型的固有细胞毒性较低。用于评估细胞毒性的典型细胞类型包括原代细胞(例如人肝细胞)和增殖建立的细胞系(例如Jurkat和HEK-293)。因此,在一些实施例中,本文所述的化合物(或其药用盐)证明了这些值。测量细胞毒性的方法在本领域中是已知的。在一些实施例中,如下测试本文所述的化合物:

[0289] (a) 在T175烧瓶中将HEK293T细胞维持在亚汇合密度。将细胞以450个细胞/45 $\mu$ l培养基在Greiner 384孔黑色/透明组织培养物处理的板中铺板。(Greiner目录号781091)。分配细胞后,将板在室温下平衡30分钟。在室温下放置30分钟后,将细胞在CO<sub>2</sub>和湿度受控的孵育箱中于37 $^{\circ}$ C下孵育过夜。第二天,以最高浓度为50 $\mu$ M的10点剂量反应曲线,用在100% DMSO中稀释的化合物(细胞的最终DMSO浓度=0.5%)对细胞进行处理。然后将细胞和化合物在CO<sub>2</sub>和湿度受控的孵育箱中于37 $^{\circ}$ C下孵育72小时。温育72小时后,使用CellTiterGlo<sup>®</sup> (Promega目录号G7572)测量所有孔的存活力。在室温下温育20分钟后,使用发光模式在EnVision<sup>™</sup> (Perkin Elmer Life Sciences)上对板进行读数;

[0290] (b) 使用人原代肝细胞:将测试化合物制备为在DMSO中的10mM溶液。另外,将阳性对照(如氯丙嗪)制备为在DMSO中的10mM溶液。通常使用7点剂量反应曲线以2倍稀释评定测试化合物。通常,测试的最大浓度为50-100 $\mu$ M。最高浓度通常由测试化合物的溶解度决定。将冻存的原代人肝细胞(BioreclamationIVT) (批号IZT) 在InVitroGro<sup>™</sup>HT解冻培养基(BioreclamationIVT)中于37 $^{\circ}$ C下解冻,沉淀并重悬。通过台盼蓝排除法评定肝细胞存活力,并将细胞以13,000个细胞/孔的密度在黑壁的BioCoat<sup>™</sup>胶原蛋白384孔板(Corning BD)中的InVitroGro<sup>™</sup>CP平板培养基中铺板,所述培养基中补充了1%Torpedo<sup>™</sup>抗生素混合物(BioreclamationIVT)和5%胎牛血清。在处理之前,将细胞孵育过夜持续18小时(37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>)。培养18小时后,除去平板培养基,并用在含1%Torpedo<sup>™</sup>抗生素混合物和1%DMSO(无血清条件)的InVitroGro<sup>™</sup>HI培育培养基中稀释的化合物处理肝细胞。将肝细胞用浓度为诸如0.78、1.56、3.12、6.25、12.5、25和50 $\mu$ M的测试化合物进行处理,最终体积为50 $\mu$ L。测定中包括阳性对照(例如氯丙嗪),其浓度通常与测试化合物相同。将另外的细胞用1%DMSO处理以作为媒介物对照。所有处理均为时48小时(在37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>下),每种处理条件以三重的方式重复。进行过化合物处理48小时后,将CellTiter-Glo<sup>®</sup>细胞存活力测定(Promega)用作终点测定来测量ATP含量,作为对细胞存活力的测定。根据制造说明书执行测定。在EnVision<sup>™</sup>多板读取器(PerkinElmer,Waltham,MA,USA)上进行发光测定。将发光数据相对于媒介物(1%DMSO)对照孔进行归一化。通过以可变Hill斜率向对数转换的抑制剂浓度(包括媒介物在内的7点连续稀释)相对于归一化反应进行非线性回归而生成抑制曲线和IC<sub>50</sub>估计值,其顶部和底部分别限制为100和0的恒定值(GraphPad Prism<sup>™</sup>,GraphPad Software,La Jolla,CA,USA)。

[0291] hERG抑制。抑制hERG(human ether-à-go-go-related gene)钾通道可能导致长QT综合征和心律失常。尽管预计吸入式JAK1或JAK1/JAK2抑制剂的血浆水平较低,但是通过肺吸收离开肺进入血流的肺沉积化合物将会直接循环到心脏。因此,吸入式JAK1抑制剂的局部心脏浓度可以瞬时高于总血浆水平,特别是在紧接着给药之后。因此,使吸入式JAK1抑制剂的hERG抑制降至最低可以是有益的。例如,在一些实施例中,优选的是hERG IC<sub>50</sub>超过游离药物血浆C<sub>max</sub>的30倍。因此,在一些实施例中,本发明的化合物(或其药用盐)在如下条件下展示最小化的hERG抑制:

[0292] (a) 使用hERG 2pt自动膜片钳条件来检查化合物对在哺乳动物细胞中表达的hERG的体外效应,该体外效应是在室温下使用自动平行膜片钳系统QPatch HT<sup>®</sup> (Sophion Bioscience A/S,Denmark)进行评估的。在一些情况下,仅以一种或两种浓度诸如1或10 $\mu$ M

测试化合物。在其他情况下,确立了更广泛的浓度反应关系以允许估算IC<sub>50</sub>。例如,选择测试化合物的浓度,以半对数增量跨越大约10-90%的抑制范围。在两个或多个细胞( $n \geq 2$ )中测试各测试物品的浓度。每种测试物品浓度的暴露持续时间为最少3分钟;及/或

[0293] (b) 在WO 2014/074775的实例中,在“Effect on Cloned hERG Potassium Channels Expressed in Mammalian Cells (对哺乳动物细胞中表达的克隆的hERG钾通道的效应)”, Charles River Company的ChanTest™方案下描述的那些,进行了以下更改:将稳定表达hERG的细胞保持在-80mV。使用固定幅度的脉冲模式(调节预脉冲:+20mV持续1s;以5s的间隔重复进行复极化测试ramp to -90mV (-0.5V/s))。每次记录均以参考物质E-4021 (500nM) (Charles River Company)的超大浓度的最终应用告终。从数据中以数字方式离线减去剩余的未抑制电流,以确定测试物质的hERG抑制效力。

[0294] CYP (细胞色素P450) 抑制试验。对于吸入式JAK1或JAK1/JAK2抑制剂,CYP抑制可以不是期望的特征。例如,可逆的或时间依赖性的CYP抑制剂可导致其自身的血浆水平或其他共同施用药物的血浆水平出现不期望的增加(药物-药物相互作用)。另外,时间依赖性CYP抑制有时是由母体药物向反应性代谢物的生物转化引起的。此类反应性代谢物可能共价修饰蛋白质,从而潜在地引发毒性。因此,使可逆的和/或时间依赖性的CYP抑制降至最低可以是对吸入式JAK1抑制剂有益的。因此,在一些实施例中,本发明的化合物(或其药用盐)表现出最低的或没有可逆的和/或时间依赖性的CYP抑制。测量CYP抑制的方法在本领域中是已知的。本文描述的化合物的CYP抑制作用在0.16-10 $\mu$ M的浓度范围内进行了评估,使用混合的( $n=150$ )人肝微粒体(Corning, Tewksbury, MA),使用之前报道的方法(Halladay等人, Drug Metab. Lett. 2011, 5, 220-230)。温育持续时间和蛋白浓度取决于CYP同种型和所评定的探针底物/代谢物。针对各CYP,使用以下底物/代谢物,以及温育时间和蛋白浓度:CYP1A2, 非那西丁/对乙酰氨基酚, 30分钟, 0.03mg/ml蛋白质; CYP2C9, 华法林/7-羟基华法林, 30分钟, 0.2mg/ml蛋白质; CYP2C19, 美芬妥英/4-羟基美芬妥英, 40分钟, 0.2mg/ml蛋白质; CYP2D6, 右美沙芬/右啡烷, 10分钟, 0.03mg/ml蛋白质; CYP3A4, 咪达唑仑/1-羟基咪达唑仑, 10分钟, 0.03mg/ml蛋白质和CYP3A4 睾酮/6-羟基睾酮, 10分钟, 0.06mg/ml蛋白质。先前已确定这些条件是CYP特异性代谢物的线性形成速率。所有反应均以1mM NADPH引发,并通过加入0.1%甲酸的乙腈溶液(含适当的稳定标记内标)终止。通过LC-MS/MS分析样品。

[0295] 小鼠肺组织结合。JAK1/JAK2抑制剂对肺组织的高结合分数或百分比可能是不希望的,因为它会减少可用于抑制JAK1或JAK2的游离药物的量。

[0296] (a) 组织结合实验按照标准方案使用一次性RED以三重重复( $n=3$ )的方式进行。最初,将单独的药物加入组织匀浆(pH 7.4)以达到1 $\mu$ M的最终浓度,然后将300 $\mu$ L的药物-组织匀浆混合物转移到在接收孔上预装500 $\mu$ L磷酸盐缓冲盐水(133mM)的RED的供体孔中。RED板用透气膜密封并置于摇动培养箱(450rpm, VWR Symphony™)中,在37°C和5%CO<sub>2</sub>条件下培养6小时。培养结束时,从RED装置中取出30 $\mu$ L样品的等分试样,并用等体积的组织匀浆或缓冲液平衡基质,然后立即用含有普萘洛尔或拉贝洛尔作为内标冰冷的乙腈(样品:乙腈1:4)猝灭所得样品。在Thermo Scientific Compact Digital MicroPlate Shaker上以500rpm振摇15min后,接着将所有样品以3700rpm离心15min(Beckman Coulter Allegra X 12R)以去除血浆蛋白。随后,收集上清液,然后在LC-MS/MS分析之前用等体积的水稀释。

[0297] (b) 在替代程序中,测试化合物与小鼠肺匀浆的肺组织结合程度也可以通过使用

Pierce RED (快速平衡透析) 装置 (Fisher Scientific 89811&89809) 的平衡透析来确定。制备化合物在DMSO中的10mM溶液并用DMSO稀释至1mM。将此1mM (4μL) 的等分试样加入肺匀浆 (稀释因子为1:9, 肺组织:磷酸钾缓冲液 (0.05M, pH 7.4)) 中, 得到最终化合物培养浓度为5μM, 其中溶剂占最终培养体积的0.5% (v/v)。

[0298] 对于每个测定, 一式三份测定结合的肺组织百分比。将肺匀浆 (200μL) 装入RED装置插入件的一侧, 一式三份, 并将350μL磷酸钾缓冲液装入另一侧。将RED装置密封并在定轨振荡器 (约150rpm) 上以 37°C 孵育4小时。

[0299] 培养后, 在分析前将一份肺匀浆 (8μL) 和一份透析液 (72μL) 进行基质匹配 (肺匀浆与72μL磷酸盐缓冲液, 透析液与8μL肺匀浆)。通过添加160μL含有内标的乙腈从样品中沉淀蛋白质。对在实验开始时采样的肺匀浆等分试样 (t=0min样品) 进行相同的基质匹配和蛋白质沉淀程序, 以评估质量平衡。将淬灭的样品离心 (4000rpm, 30min, 4°C), 所得上清液用水稀释 (3:1 (v/v), 上清液:水), 并通过液相色谱质谱法分析样品或母体化合物。

[0300] 肺匀浆中的未结合分数 (fu) 由透析液与匀浆峰面积的比值确定, 校正以考虑肺匀浆稀释度 (D), 从而能够使用以下方程估计整个肺组织的结合:

[0301] 未稀释的  $f_u = (1/D) / [((1/\text{表面的} f_u) - 1) + (1/D)]$

[0302] 校正的结合分数 (%) = (1 - 未稀释的  $f_u$ ) \* 100

[0303] 动力学溶解度。为了减少肺中未溶解的颗粒物的量, 可能需要吸入递送的JAK1/JAK2抑制剂有良好水溶性。在测量动力学溶解度的一个程序中, 将4μL 10mM DMSO测试化合物储备溶液加入Millipore Multiscreen® 96孔滤板中的196μL pH 7.4磷酸盐缓冲盐水中, 得到200μM, 含2%残留DMSO的测试浓度。滤板用铝密封膜密封, 在室温下振荡24小时, 然后将混合物真空过滤到干净的96孔板中。使用pH 7.4磷酸盐缓冲盐水溶液将滤液样品稀释两倍, 然后通过具有化学发光氮检测 (CLND) 和紫外 (UV) 检测的超高效液相色谱 (UHPLC) 在254nm波长分析5μL所得溶液。样品浓度通常由CLND强度进行量化, 其与化合物中的氮数有关。UV检测主要用于确认样品纯度, 除非在极少数情况下测试化合物不含氮。在那些情况下, 基于UV吸光度收集化合物特定的校准曲线。然后使用该曲线来确定样品浓度。

[0304] 亲脂性。亲脂性通常与潜在药物的溶解度、吸收、组织渗透、蛋白质结合、分布以及ADME和PK特性相关。计算的logP (cLogP), 化合物在正辛醇和水之间分配系数 (即化合物在正辛醇中的浓度/化合物在水中的浓度) 的对数, 因此可以是吸入递送的JAK1/JAK抑制剂的重要考虑因素。

[0305] 肝微粒体稳定性。为了最大限度地减少吸入的JAK1/JAK2抑制剂的系统暴露, 优化肝脏中的快速代谢可能是有益的。肝微粒体稳定性测定在BioCel 1200液体处理工作站 (gilent Technologies, Santa Clara, CA) 上进行。将化合物 (1.0μM) 在100μL的反应混合物中于37°C孵育5min, 该反应混合物含有100mM磷酸盐缓冲液 (pH 7.4) 和0.5mg/mL肝微粒体和1mM NADPH。在不同的时间间隔 (0、20、40和60min), 取出20μL反应混合物的等分试样, 并与4倍体积的含有0.1μM普萘洛尔作为内标的乙腈 (ACN) 混合以停止代谢反应。然后将样品以3250xg离心40min以去除沉淀的蛋白质。随后将上清液转移到新的96孔板中并使用去离子水稀释2倍, 然后使用与Agilent 1260HPLC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) 联用的ABI Sciex5500 QTRAP® 质谱仪 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 进行LC-MS/MS分析。使用测试化合物与内标在不同时间点相对于对照的峰面积比计算剩余百分比

( $T=0\text{min}$ )。参见B. Williamson, C. Wilson, G. Dagnell, R. J. Riley. Harmonised high throughput microsomal stability assay. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 2017; 84: 31-36。

[0306] **固态特性**。对于预定通过干粉吸入来递送的化合物, 还需要能够产生可以微粉化至 $1-5\mu\text{m}$ 大小的化合物的结晶形式。粒度是吸入式化合物肺沉积的重要决定因素。直径小于5微米( $\mu\text{m}$ )的颗粒通常被定义为可吸入的。直径大于 $5\mu\text{m}$ 的颗粒更有可能沉积在口咽中, 因此不太可能沉积在肺中。此外, 与更大的颗粒相比, 直径小于 $1\mu\text{m}$ 的细颗粒更有可能在空气中保持悬浮, 因此更可能从肺中呼出。因此, 对于作用部位在肺的吸入式药物, 粒径为 $1-5\mu\text{m}$ 可以是有益的。用于测量粒度的典型方法包括激光衍射和级联撞击。用于定义粒度的典型值包括:

[0307] • D10、D50和D90。这些值是粒径的测量值, 分别指示样品的10%、50%或90%低于该值。例如, D50为 $3\mu\text{m}$ 指示50%的样品的大小低于 $3\mu\text{m}$ 。

[0308] • 质量平均空气动力学直径(MMAD)。MMAD是指直径, 按质量计50%的颗粒大于该值而50%小于该值。MMAD是集中趋势的量度。

[0309] • 几何标准偏差(GSD)。GSD是根据MMAD的分散性量值或空气动力学粒度分布散布的量度。

[0310] 吸入式药物的常用制剂是干粉制剂, 所述干粉制剂包含与载体(诸如乳糖)以及(或没有)附加添加剂(诸如硬脂酸镁)掺混的活性药物成分(API)。对于这种制剂和其他制剂, API本身具有允许将其研磨成 $1-5\mu\text{m}$ 的可吸入颗粒大小的特性可以是有益的。应避免颗粒的附聚, 所述附聚可以通过本领域中已知的方法进行测量, 例如在不同压力条件下检查D90值。因此, 在一些实施例中, 本发明的化合物(或其药用盐)可以制备成具有这样的可吸入粒度而少有或没有附聚。

[0311] 至于结晶度, 对于一些吸入式药物制剂(包括乳糖掺混物), 重要的是使用特定结晶形式的API。结晶度和结晶形式可能会影响与吸入式药物有关的许多参数, 包括但不限于: 随时间的化学和空气动力学稳定性、与吸入式制剂组分诸如乳糖的相容性、吸湿性、肺积存性和肺刺激性。因此, 稳定的、可再现的结晶形式对于吸入式药物可以是有益的。另外, 用于将化合物研磨至期望粒度的技术通常是高能的, 并且可以使得低熔点的结晶形式转化为其他结晶形式, 或者转化为完全或部分无定形的。熔点低于 $150^\circ\text{C}$ 的结晶形式可能不适宜研磨, 而熔点低于 $100^\circ\text{C}$ 的结晶形式有可能与研磨不相容。因此, 吸入式药物的熔点至少大于 $100^\circ\text{C}$ , 理想地大于 $150^\circ\text{C}$ 可以是有益的。因此, 在一些实施例中, 本文所述的化合物(或其药用盐)表现出这种特性。

[0312] 另外, 将分子量降至最低可有助于降低吸入式JAK1抑制剂的有效剂量。分子量越低, 每单位质量的活性药物成分(API)的分子数相应地就越高。因此, 找到保留吸入式药物的所有其他期望特性的最小分子量的吸入式JAK1抑制剂可以是有益的。

[0313] 最后, 化合物需要在给定的时间段内在肺中保持足够的浓度, 以便能够发挥药理学效应达期望的持续时间, 并且对于药理学靶标(在并不期望所述靶标的全身抑制作用的情况下)而言能够具有较低的全身暴露。肺对大分子(蛋白质、肽)以及伴随短肺半衰期的小分子具有固有的高渗透性, 因此有必要通过改变化合物的一种或多种特征来减弱肺吸收速率: 使膜渗透性、优化的 $\text{pKa}$ 、 $\text{cLogP}$ 、溶解度、溶解速率最小化, 或向化合物中引入一定程度

的碱性以增强与富含磷脂的肺组织的结合,或通过捕获在酸性亚细胞区室如溶酶体(pH 5)中。测量此类特性的方法在本领域中是已知的。

[0314] 因此,在一些实施例中,本发明的化合物(或其药用盐)有利的表现出上述特征中的一种或多种。此外,在一些实施例中,相对于本领域中已知的化合物,本发明的化合物有利地表现出这些特征中的一种或多种,对于预期用作口服药物而不是吸入式药物的本领域化合物而言尤其如此。例如,进行吸收快的化合物在吸入时通常很难保留在肺中。

[0315] 使用JANUS激酶抑制剂的治疗方法和用途

[0316] 本发明的化合物或其药学上可接受的盐抑制Janus激酶诸如JAK1激酶的活性。例如,化合物或其药学上可接受的盐通过JAK1激酶以及STAT介导的细胞因子产生来抑制信号转导和转录激活因子(STAT)的磷酸化。本发明的化合物可用于通过细胞因子途径诸如IL-6、IL-15、IL-7、IL-2、IL-4、IL-9、IL-10、IL-13、IL-21、G-CSF、IFN $\alpha$ 、IFN $\beta$ 或IFN $\gamma$ 途径抑制细胞中的JAK1激酶活性。因此,在一个实施例中,提供了一种使细胞与本发明的化合物或其药学上可接受的盐接触以抑制细胞中的Janus激酶活性(例如,JAK1活性)的方法。

[0317] 所述化合物可用于治疗由异常的IL-6、IL-15、IL-7、IL-2、IL-4、IL-9、IL-10、IL-13、IL-21、G-CSF、IFN $\alpha$ 、IFN $\beta$ 或IFN $\gamma$ 细胞因子信号传导驱动的免疫性疾病。

[0318] 因此,一个实施例包括用于治疗的本发明的化合物或其药学上可接受的盐。

[0319] 在一些实施例中,提供了本发明的化合物或其药学上可接受的盐在炎性疾病治疗中的用途。进一步提供了本发明的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗炎性疾病如哮喘的药物中的用途。还提供了用于治疗炎性疾病如哮喘的本发明的化合物或其药学上可接受的盐。

[0320] 另一实施例包括一种方法,该方法预防、治疗患者的响应于Janus激酶活性如JAK1激酶活性的抑制的疾病或病症(如哮喘)或减轻所述疾病或病症的严重性。所述方法可以包括向患者施用治疗有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐的步骤。在一个实施例中,响应于Janus激酶如JAK1激酶的抑制的疾病或病症是哮喘。

[0321] 在一个实施例中,疾病或病症是癌症、中风、糖尿病、肝肿大、心血管疾病、多发性硬化、阿尔茨海默病、囊性纤维化、病毒性疾病、自身免疫性疾病、动脉粥样硬化、再狭窄、银屑病、类风湿性关节炎、炎性肠病、哮喘、变态反应性疾患、炎症、神经系统疾患、激素相关疾病、与器官移植相关的病症(例如,移植排斥)、免疫缺陷疾患、破坏性骨病、增殖性病症、感染性疾病、与细胞死亡有关的病症、凝血酶诱导的血小板聚集、肝疾病、涉及T细胞活化的病理性免疫病症、CNS病症或骨髓增殖性疾患。

[0322] 在一个实施例中,炎性疾病是类风湿性关节炎、银屑病、哮喘、炎性肠病、接触性皮炎或迟发性超敏反应。在一个实施例中,自身免疫性疾病是类风湿性关节炎、狼疮或多发性硬化。

[0323] 在另一个实施例中,本发明的化合物或其药用盐可用于治疗肺病,例如纤维化肺病或间质性肺疾病(例如,间质性肺炎)。在一些实施例中,本发明的化合物或其药用盐可用于治疗特发性肺纤维化(IPF)、系统性硬化性间质性肺疾病(SSc-ILD)、非特异性间质性肺炎(NSIP)、类风湿关节炎相关的间质性肺疾病(RA-ILD)、结节病、过敏性肺炎或继发于除硬皮病以外的结缔组织病的ILD(例如,多发性肌炎、皮肌炎、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮(SLE)或混合性结缔组织病)。

[0324] 在一个实施例中,癌症是乳房癌、卵巢癌、宫颈癌、前列腺癌、睾丸癌、阴茎癌、泌尿生殖道癌、精原细胞瘤、食道癌、喉癌、胃癌(gastric)、胃癌(stomach)、胃肠癌、皮肤癌、角化棘皮瘤、滤泡癌、黑素瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC)、肺腺癌、肺鳞癌、结肠癌、胰腺癌、甲状腺癌、乳头状癌、膀胱癌、肝脏癌、胆道癌、肾癌、骨癌、髓性障碍、淋巴性障碍、毛细细胞癌、颊腔和咽(口腔)癌、唇癌、舌癌、口腔癌、唾液腺癌、咽癌、小肠癌、结肠癌、直肠癌、肛门癌、肾脏癌、外阴癌、甲状腺癌、大肠癌、子宫内膜癌、子宫癌、脑癌、中枢神经系统癌、腹膜癌、肝细胞癌、头癌、颈癌、霍奇金病或白血病。

[0325] 在一个实施例中,疾病是骨髓增殖性疾患。在一个实施例中,骨髓增殖性疾患是真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、骨髓纤维化或慢性骨髓性白血病(CML)。

[0326] 另一个实施例包括本发明的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗本文所述疾病(例如炎症病症、免疫性疾病或癌症)的药物中的用途。在一个实施例中,本发明提供了一种通过靶向抑制JAK激酶如JAK1来治疗如本文所述的疾病或病症(例如炎症病症、免疫性疾病或癌症)的方法。

[0327] 组合疗法

[0328] 所述化合物可以单独使用或与其他药剂组合使用以进行治疗。药物组合物或给药方案的第二化合物或其他化合物(例如第三)通常具有与本发明的化合物互补的活性,使得它们不会对彼此产生不利影响。此类药剂适当地以对预期目的有效的量组合存在。所述化合物可以在单一药物组合物中一起施用或分开施用,并且当分开施用时,其可以同时或顺序施用。这种顺序施用可以在时间上接近或间隔较远。

[0329] 例如,其他化合物可以与本发明的化合物或其药学上可接受的盐组合用于预防或治疗炎症疾病,如哮喘。用于联合疗法的适合的治疗剂包括但不限于:腺苷A2A受体拮抗剂;抗感染药;非甾体糖皮质激素受体(GR受体)激动剂;抗氧化剂;2肾上腺素受体激动剂;CCR1拮抗剂;趋化因子拮抗剂(不是CCR1);皮质类固醇;CRTh2拮抗剂;DP1拮抗剂;甲酰基肽受体拮抗剂;组蛋白脱乙酰酶激活剂;氯通道hCLCA1阻断剂;上皮钠通道阻断剂(ENAC阻断剂);细胞间粘附分子1阻断剂(ICAM阻断剂);IKK2抑制剂;JNK抑制剂;瞬时受体潜在锚蛋白1(TRPA1)抑制剂;布鲁顿氏酪氨酸激酶(BTK)抑制剂(如非尼布替尼(fenebrutinib));脾酪氨酸激酶(SYK)抑制剂;类胰蛋白酶 $\beta$ 抗体;ST2受体抗体(例如AMG 282);环加氧酶抑制剂(COX抑制剂);脂氧合酶抑制剂;白三烯受体拮抗剂;双重2肾上腺素受体激动剂/M3受体拮抗剂(MABA化合物);MEK-1抑制剂;髓过氧化物酶抑制剂(MPO抑制剂);毒蕈碱拮抗剂;p38 MAPK抑制剂;磷酸二酯酶PDE4抑制剂;磷脂酰肌醇3-激酶 $\delta$ 抑制剂(PI3-激酶 $\delta$ 抑制剂);磷脂酰肌醇3-激酶 $\gamma$ 抑制剂(PI3-激酶抑制剂);过氧化物酶体增植物激活受体激动剂(PPAR激动剂);蛋白酶抑制剂;视黄酸受体调节剂(RAR调节剂);他汀类;血栓烷拮抗剂;TLR7受体激动剂;或血管扩张剂。

[0330] 此外,本发明的化合物或其药学上可接受的盐可以与以下物质组合:(1)皮质类固醇,诸如二丙酸阿氯米松、阿洛米松(amelometasone)、二丙酸倍氯米松、布地奈德、丙酸布替可特、Biclesonide、丙酸氯倍他索(blobetasol propionate)、去异丁基环索奈德(desisobutyrylciclesonide)、地塞米松、dtiprednol dicloacetate、氟轻松、糠酸氟替卡松、丙酸氟替卡松、依碳氯替泼诺(局部用)或糠酸莫米松;(2) $\beta$ 2-肾上腺素受体激动剂,诸如舒喘灵(salbutamol)、沙丁胺醇(albuterol)、特布他林、非诺特罗、比托特罗、卡布特罗、

克仑特罗、吡布特罗、里模特罗 (rimoterol)、特布他林、曲托喹酚、妥洛特罗,以及长效 $\beta$ 2-肾上腺素受体激动剂,诸如奥西那林 (metaproterenol)、异丙肾上腺素 (isoproterenol)、异丙肾上腺素 (isoprenaline)、沙美特罗、茛达特罗 (indacaterol)、福莫特罗 (包括富马酸福莫特罗)、阿福特罗 (arformoterol)、卡莫特罗 (carmoterol)、Abediterol、三氟拉酸维兰特罗 (vilanterol trifenate)、奥达特罗 (olodaterol); (3) 皮质类固醇/长效 $\beta$ 2激动剂组合产品,诸如沙美特罗/丙酸氟替卡松 (**Advair®**,也以 **Seretide®** 销售)、福莫特罗/布地奈德 (**Symbicort®**)、福莫特罗/丙酸氟替卡松 (**Flutiform®**)、福莫特罗/环索奈德、福莫特罗/糠酸莫米松、茛达特罗 (indacaterol)/糠酸莫米松、三氟拉酸维兰特罗 (vilanterol trifenate)/糠酸氟替卡松 (Breo Ellipta) 或阿福特罗 (arformoterol)/环索奈德; (4) 抗胆碱能剂,例如毒蕈碱-3 (M3) 受体拮抗剂,诸如异丙托溴铵、噻托溴铵、阿地铵 (aclidinium) (LAS-34273)、格隆溴铵、或芜地溴铵 (umeclidinium bromide); (5) M3-抗胆碱能/ $\beta$ 2-肾上腺素受体激动剂组合产品,诸如维兰特罗 (vilanterol)/芜地铵 (**Anoro® Ellipta®**)、奥托特罗 (olodaterol)/噻托溴铵、格隆溴铵/茛达特罗 (**Ultibro®**,也以 **Xoterna®** 销售)、氢溴酸非诺特罗/异丙托溴铵 (**Berodual®**)、硫酸沙丁胺醇/异丙托溴铵 (**Combivent®**)、富马酸福莫特罗/格隆溴铵或阿地溴铵/福莫特罗; (6) 双重药理学M3-抗胆碱能/ $\beta$ 2-肾上腺素受体激动剂,诸如Batefenterol succinate、AZD-2115或LAS-190792; (7) 白三烯调节剂,例如白三烯拮抗剂,诸如孟鲁司特、扎鲁司特 (zafirlumast) 或普仑司特,或白三烯生物合成抑制剂,诸如齐留通,或LTB4拮抗剂,诸如阿美卢班 (amelubant),或FLAP抑制剂,诸如氟非隆 (fibroflapon)、GSK-2190915; (8) 磷酸二酯酶-IV (PDE-IV) 抑制剂 (进行或吸入),诸如罗氟司特、西洛司特、奥格司特 (oglemilast)、咯利普兰、替托司特 (tetomilast)、AVE-8112、瑞米司特 (revamilast)、CHF 6001; (9) 抗组胺药,例如选择性组胺-1 (H1) 受体拮抗剂,诸如非索非那定、西吡替林 (cetirizine)、氯雷他定或阿司咪唑,或双重H1/H3受体拮抗剂,诸如GSK835726或GSK 1004723; (10) 镇咳剂,诸如可待因或右美沙芬 (dextromorphan); (11) 粘液溶解剂,例如N-乙酰基半胱氨酸或福多斯汀 (fudosteine); (12) 祛痰剂/粘弹性调节剂,例如氨溴索、高渗溶液 (例如盐水或甘露醇) 或表面活性剂; (13) 粘液溶解肽,例如重组人脱氧核糖核酸酶I (链道酶- $\alpha$ 和rhDNase) 或螺杀菌素; (14) 抗生素,例如阿奇霉素、妥布霉素或氨基糖苷; (15) 非选择性COX-1/COX-2抑制剂,诸如布洛芬或酮洛芬; (16) COX-2抑制剂,诸如塞来考昔和罗非昔布; (17) VLA-4拮抗剂,诸如在WO 97/03094和WO 97/02289中描述的那些,所述文献各自通过引用合并于本文; (18) TACE抑制剂和TNF- $\alpha$ 抑制剂,例如抗TNF单克隆抗体,诸如 **Remicade®** 和CDP-870,以及TNF受体免疫球蛋白分子,如 **Enbrel®**; (19) 基质金属蛋白酶抑制剂,例如MMP-12; (20) 人嗜中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂,诸如BAY-85-8501或在WO 2005/026124、WO 2003/053930和WO 2006/082412中描述的那些,所述文献各自通过引用合并于本文; (21) A2b拮抗剂,诸如在WO 2002/42298中描述的那些,其通过引用合并于本文; (22) 趋化因子受体功能调节剂,例如CCR3和CCR8的拮抗剂; (23) 调节其他类前列腺素受体的作用的化合物,例如血栓烷 $A_2$ 拮抗剂; DP1拮抗剂,诸如拉罗匹仑 (laropiprant) 或阿萨匹仑 (asapiprant) CRTH2拮抗剂,诸如OC000459、非韦匹仑 (fevipiprant)、ADC 3680或ARRY 502; (24) PPAR激动剂,包括PPAR $\alpha$ 激

动剂(如非诺贝特)、PPAR $\delta$ 激动剂、PPAR $\gamma$ 激动剂(如吡格列酮、罗格列酮和巴格列酮);(25) 甲基黄嘌呤,诸如茶碱或氨茶碱,以及甲基黄嘌呤/皮质类固醇组合,诸如茶碱/布地奈德、茶碱/丙酸氟替卡松、茶碱/环索奈德、茶碱/糠酸莫米松和茶碱/二丙酸倍氯米松;(26) A2a 激动剂,诸如EP1052264和EP1241176中所述的那些;(27) CXCR2或IL-8拮抗剂,如AZD-5069、AZD-4721、Danirixin;(28) IL-R信号传导调节剂,诸如阿那白滞素(kineret)和ACZ 885;(29) MCP-1拮抗剂,如ABN-912;(30) p38 MAPK抑制剂,如BCT197、JNJ49095397、洛沙莫德(losmapimod)或PH-797804;(31) TLR7受体激动剂,如AZD 8848;(32) PI3-激酶抑制剂,诸如RV1729或GSK2269557(格隆溴铵);(33) 三重组合产品,例如TRELEGY ELLIPTA(糠酸氟替卡松、溴化乌梅氯丁铵和维兰特罗);或(34) TRPA1、BTK或SYK的小分子抑制剂。

[0331] 在一些实施例中,本发明的化合物或其药学上可接受的盐可以与一种或多种其他药物组合使用,例如抗过度增殖药、抗癌药、细胞抑制剂、细胞毒性剂、抗炎剂或化疗剂,诸如美国公开申请No.2010/0048557中公开的那些,该申请通过引用合并于本文。如本领域中已知的,本发明的化合物或其药学上可接受的盐也可以与放疗或外科手术组合使用。

[0332] 特别考虑任何前述物质与本发明化合物或其药用盐的组合。

[0333] 制品

[0334] 另一实施例包括用于治疗响应于Janus激酶如JAK1激酶的抑制的疾病或疾患的制品(例如药盒)。该药盒可以包含:

[0335] (a) 第一药物组合物,其包含本发明的化合物或其药学上可接受的盐;和

[0336] (b) 使用说明书。

[0337] 在另一实施例中,药盒进一步包含:

[0338] (c) 第二药物组合物,如包含如上所述的用于治疗的药剂的药物组合物,该药剂为诸如用于治疗炎性疾患的药剂,或化疗剂。

[0339] 在一个实施例中,说明书描述了将第一药物组合物和第二药物组合物同时、顺序或分开施用于有需要的患者。

[0340] 在一个实施例中,第一组合物和第二组合物包含在独立的容器中。在另一实施例中,第一组合物和第二组合物包含在同一个容器中。

[0341] 使用的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、泡罩包装等。所述容器可以由诸如玻璃或塑料等多种材料形成。容器中包含用于有效治疗病症的本发明的化合物或其药学上可接受的盐,并且所述容器可具有无菌入口(例如,所述容器可以是静脉内输液袋或具有可由皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。标签或包装插页标明该化合物用于治疗所选择的病症,诸如哮喘或癌症。在一个实施例中,标签或包装插页标明该化合物可以用于治疗某种疾患。此外,标签或包装插页可标明待治疗的患者是具有特征为活性过强或不规律的Janus激酶活性(诸如活性过强或不规律JAK1活性)的疾患的患者。标签或包装插页也可以标明该化合物可以用于治疗其他疾患。

[0342] 替代地或另外地,药盒可进一步包括第二(或第三)容器,所述第二(或第三)容器包含药学上可接受的缓冲液,诸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液或葡萄糖溶液。制品还可以包括从商业和用户角度所需的其他物质,包括其他缓冲剂、稀释剂、过滤器、针头和注射器。

[0343] 为了说明本发明,纳入了以下实例。然而,应当理解,这些实例不限制本发明,而是

仅意在建议实施本发明的方法。本领域技术人员将认识到,所述的化学反应可以容易地进行调整以制备其他的本发明的化合物,并且制备化合物的替代方法也在本发明的范围内。例如,通过对本领域的技术人员显而易见的修改,例如,通过适当地保护干扰基团、利用本领域中已知的其他合适的试剂或通过对反应条件进行常规修改,可成功地实现根据本发明所述的非示例性化合物的合成。另选地,本文所公开的或本领域已知的其他反应将被视为适用于制备本发明的其他化合物。

[0344] 实例

[0345] 通用实验细节

[0346] 除非另有说明,否则所有溶剂和商购试剂均按原样使用。在通过硅胶色谱法纯化产物的情况下,使用手动填充硅胶(Kieselgel 60,220-440目,35-75 $\mu$ m)的玻璃柱或 Isolute<sup>®</sup> SPE Si II管柱进行该操作。“Isolute SPE Si管柱”是指包含具有50 $\mu$ m平均粒径和标称60Å孔隙率的不规则颗粒的未键合活性二氧化硅的预填充聚丙烯柱。在使用 Isolute<sup>®</sup> SCX-2管柱的情况下,“Isolute<sup>®</sup> SCX-2管柱”是指包含非封端丙基磺酸官能化的二氧化硅强阳离子交换吸附剂的预填充聚丙烯柱。

[0347] LCMS条件

[0348] 方法A

[0349] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Shim-Pack XR-ODS, 2.2 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
[0350]	0.00	1.2	95	5
	2.00	1.2	5	95
	2.70	1.2	5	95
[0351]	2.75	1.2	95	5

[0352] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0353] 方法B

[0354] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Shim-Pack XR-ODS, 2.2 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.2	80	20
[0355]	3.60	1.2	40	60
	4.00	1.2	0	100
	4.70	1.2	0	100
	4.75	1.2	95	5

[0356] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0357] 方法C

[0358] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Shim-Pack XR-ODS, 2.2 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.2	95	5
[0359]	3.00	1.2	5	95
	3.70	1.2	5	95
	3.75	1.2	95	5

[0360] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0361] 方法D

[0362] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Shim-Pack XR-ODS, 2.2 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
[0363]	0.00	1.2	95	5
	3.50	1.2	30	70
[0364]	3.70	1.2	0	100
	4.50	1.2	0	100
	4.75	1.2	95	5

[0365] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0366] 方法E

[0367] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Shim-Pack XR-ODS, 2.2 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.2	95	5
[0368]	3.50	1.2	40	60
	3.70	1.2	0	100
	4.70	1.2	0	100
	4.75	1.2	95	5

[0369] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0370] 方法F

[0371] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Shim-Pack XR-ODS, 2.2 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.2	70	30
[0372]	3.50	1.2	30	70
	3.70	1.2	0	100
	4.50	1.2	0	100
[0373]	4.75	1.2	95	5

[0374] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0375] 方法G

[0376] 实验在SHIMADZU 20A HPLC上进行,采用C18反相柱(50x2.1mm Ascentis Express C18, 2.7 $\mu$ m粒径),洗脱液为:溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.0	95	5
[0377]	1.10	1.0	0	100
	1.60	1.0	0	100
	1.70	1.0	95	5

[0378] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0379] 方法H

[0380] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Shim-Pack XR-ODS, 2.2 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.2	95	5
[0381]	1.10	1.2	0	100
	1.70	1.2	0	100
	1.75	1.2	95	5
[0382]	检测-UV (220和254nm) 和ELSD			
[0383]	<u>方法I</u>			
[0384]	实验在SHIMADZU 20A HPLC上进行,采用Poroshell HPH-C <sub>18</sub> 色谱柱(50x3mm,2.7μm 粒径),使用:溶剂A:水/5mM NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> ;溶剂B:乙腈洗脱。梯度:			
	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
[0385]	0.00	1.2	90	10
	1.10	1.2	5	95
[0386]	1.60	1.2	5	95
	1.70	1.2	90	10
[0387]	检测-UV (220和254nm) 和ELSD			
[0388]	<u>方法J</u>			
[0389]	实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Kinetex XB-C <sub>18</sub> ,2.6 μm粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:			
	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.5	95	5
[0390]	1.20	1.5	0	100
	1.70	1.5	0	100
	1.80	1.5	95	5
[0391]	检测-UV (220和254nm) 和ELSD			
[0392]	<u>方法K</u>			
[0393]	实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Shim-Pack XR-ODS, 2.2μm粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:			

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.0	95	5
[0394]	2.20	1.0	0	100
	3.20	1.0	0	100
	3.30	1.0	95	5

[0395] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0396] 方法L

[0397] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x2.1mm Kinetex XB-C<sub>18</sub> 100A, 2.6 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.0	95	5
[0398]	1.10	1.0	0	100
	1.60	1.0	0	100
	1.70	1.0	95	5

[0399] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0400] 方法M

[0401] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(30x2.1mm Kinetex C18-100A, 1.7 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.01	1.0	95	5
[0402]	0.60	1.0	0	100
	1.00	1.0	0	100
	1.05	1.0	95	5

[0403] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0404] 方法N

[0405] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3.0mm Poroshell HPH-C18, 2.7 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+5mM碳酸氢铵;溶剂B:乙腈洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.01	1.0	90	10
[0406]	2.00	1.0	5	95
	2.70	1.0	5	95
	2.80	1.0	90	10

[0407] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0408] 方法O

[0409] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3.0mm Titank C18,3.0 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+5mM碳酸氢铵;溶剂B:乙腈洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.01	1.0	90	10
[0410]	2.00	1.0	5	95
	2.70	1.0	5	95
	2.80	1.0	90	10

[0411] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0412] 方法P

[0413] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(30x2.1mm Halo C18,2.0 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.0	95	5
[0414]	1.30	1.0	0	100
	1.80	1.0	0	100
	1.90	1.0	95	5

[0415] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0416] 方法Q

[0417] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3.0mm YMC-Triart C18,2.5 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.1%甲酸;溶剂B:乙腈+0.1%甲酸洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
[0418]	0.01	1.0	95	5
	3.00	1.0	5	95
	3.70	1.0	5	95
[0419]	3.75	1.0	95	5
[0420]	检测-UV (220和254nm) 和ELSD			
[0421]	<u>方法R</u>			
[0422]	实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Shim-Pack XR-ODS, 2.2 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:			
	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	1.2	70	30
[0423]	3.10	1.2	0	100
	3.70	1.2	0	100
	3.75	1.2	95	5
[0424]	检测-UV (220和254nm) 和ELSD			
[0425]	<u>方法S</u>			
[0426]	实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3.0mm Poroshell HPH-C18, 2.7 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+5mM碳酸氢铵;溶剂B:乙腈洗脱。梯度:			
	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.01	1.0	90	10
	3.50	1.0	40	60
[0427]	4.00	1.0	5	95
	4.70	1.0	5	95
	4.80	1.0	90	10
[0428]	检测-UV (220和254nm) 和ELSD			
[0429]	<u>方法T</u>			
[0430]	实验在SHIMADZU 20A HPLC上进行,采用C18反相柱(50x2.1mm Ascentis Express C18, 2.7 $\mu$ m粒径),洗脱液为:溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸。梯度:			
[0431]	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B

	0.00	1.0	95	5
[0432]	2.00	1.0	0	100
	2.70	1.0	0	100
	2.80	1.0	95	5
[0433]	检测-UV (220和254nm) 和ELSD			
[0434]	<u>方法U</u>			
[0435]	实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3mm Shim-Pack XR-ODS, 2.2 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.05%三氟乙酸;溶剂B:乙腈+0.05%三氟乙酸洗脱。梯度:			
	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.01	1.2	95	5
[0436]	3.50	1.2	50	50
	3.70	1.2	0	100
	4.70	1.2	0	100
	4.75	1.2	95	5
[0437]	检测-UV (220和254nm) 和ELSD			
[0438]	<u>方法V</u>			
[0439]	实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x3.0mm Poroshell HPH-C18, 2.7 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+5mM碳酸氢铵;溶剂B:乙腈洗脱。梯度:			
	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.01	1.0	90	10
[0440]	3.50	1.0	60	40
	4.00	1.0	5	95
	4.70	1.0	5	95
	4.80	1.0	90	10
[0441]	检测-UV (220和254nm) 和ELSD			
[0442]	<u>方法W</u>			
[0443]	实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50x2.1mm Waters Acquity BEH, 1.7 $\mu$ m粒径),用溶剂A:水+0.1%甲酸;溶剂B:乙腈+0.1%甲酸洗脱。梯度:			

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.00	0.8	95	5
[0444]	1.60	0.8	0	100
	1.80	0.8	0	100
	2.00	0.8	95	5

[0445] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0446] 方法X

[0447] 实验采用Agilent 1290UHPLC与Agilent MSD (6140) 质谱仪联用系统,该仪器系统使用ESI作为离子源。使用Phenomenex XB-C18,1.7 $\mu$ m,50 $\times$ 2.1mm色谱柱以0.4ml/分钟的流速分离LC。流动相A为含0.1%甲酸的水,流动相B为含0.1%甲酸的乙腈。梯度以2%B开始并且以98%B结束,历时7min,并且保持98%B 1.5min,然后平衡1.5min。LC柱温为40 $^{\circ}$ C。采集UV在220nm和254nm的吸光度,且所有实验均采用质谱全扫描。

[0448] 方法Y

[0449] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50 $\times$ 3.0mm Gemini-NX,3.0 $\mu$ m 粒径),用溶剂A:水+5mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ;溶剂B:乙腈+5mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ 洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.01	1.2	90	10
[0450]	2.20	1.2	5	95
	3.20	1.2	5	95
	3.30	1.2	90	10

[0451] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0452] 方法Z

[0453] 实验在SHIMADZU LCMS-2020上进行,采用C18反相柱(50 $\times$ 3.0mm Gemini-NX,3.0 $\mu$ m 粒径),用溶剂A:水+5mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ;溶剂B:乙腈+5mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ 洗脱。梯度:

	梯度 - 时间	流速 ml/min	%A	%B
	0.01	1.2	90	10
[0454]	3.20	1.2	30	70
	4.30	1.2	30	70
	4.40	1.2	90	10

[0455] 检测-UV (220和254nm) 和ELSD

[0456] 常用缩写列表

[0457]	ACN	乙腈
[0458]	盐水 (Brine)	饱和氯化钠水溶液
[0459]	CH <sub>3</sub> OD	氘化甲醇
[0460]	CDCl <sub>3</sub>	氘代氯仿
[0461]	DCM	二氯甲烷
[0462]	DIEA或DIPEA	二异丙基乙胺
[0463]	DMA	二甲基乙酰胺
[0464]	DMAP	4-二甲氨基吡啶
[0465]	DMF	二甲基甲酰胺
[0466]	DMSO	二甲基亚砷
[0467]	DMSO-d6	氘代二甲基亚砷
[0468]	EDC或EDCI	1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺
[0469]	EtOAc	乙酸乙酯
[0470]	EtOH	乙醇
[0471]	FA	甲酸
[0472]	HOAc	醋酸
[0473]	g	克
[0474]	h	小时
[0475]	HATU	(O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲
[0476]		基脲六氟磷酸盐)
[0477]	HCl	盐酸
[0478]	HOBt	羟基苯并三唑
[0479]	HPLC	高效液相色谱法
[0480]	IMS	工业甲基化酒精
[0481]	L	升
[0482]	LCMS	液相色谱-质谱
[0483]	LiHMDS或LHMDS	六甲基二硅基胺基锂
[0484]	MDAP	质谱引导自动纯化
[0485]	MeCN	乙腈
[0486]	MeOH	甲醇
[0487]	min	分钟
[0488]	mg	毫克
[0489]	mL	毫升
[0490]	NMR	核磁共振谱
[0491]	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> ·CHCl <sub>3</sub>	三(二亚苄基丙酮) 二钯(0)-氯仿加合物
[0492]	PE	石油醚
[0493]	Prep-HPLC	制备型高效液相色谱法
[0494]	SCX-2	强阳离子交换
[0495]	TBAF	四正丁基氟化铵

[0496] THF 四氢呋喃

[0497] TFA 三氟乙酸

[0498] Xantphos 4,5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基氧杂蒽

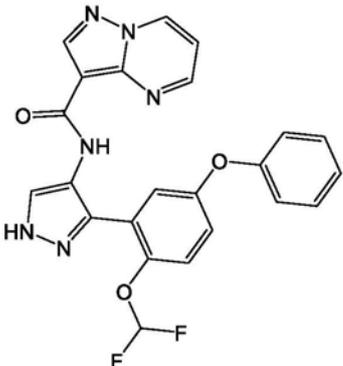
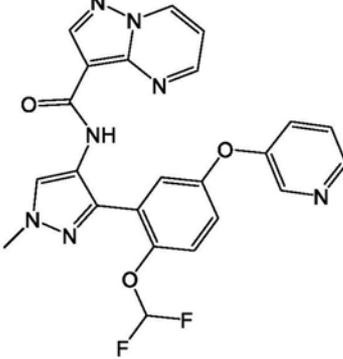
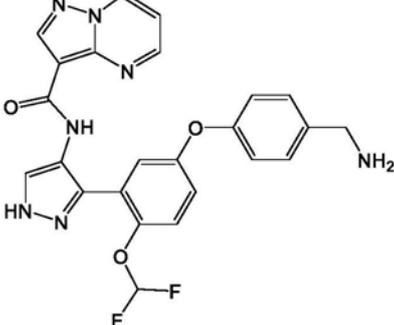
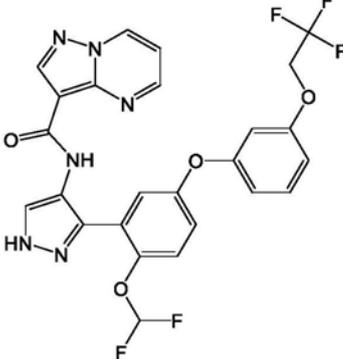
[0499] 表1的以下代表性化合物使用与本文方案和实例中描述的那些类似的程序制备。以下每种化合物的绝对立体化学可能未描绘:因此,结构可能出现不止一次,每个代表一个立体异构体。

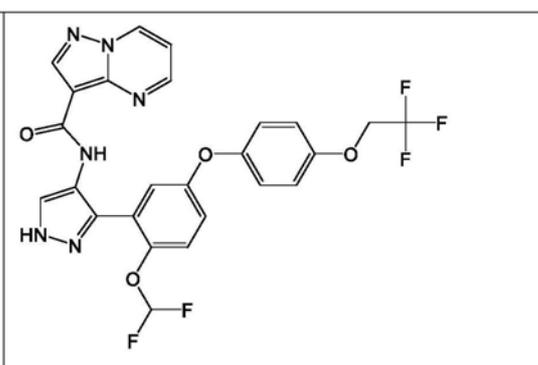
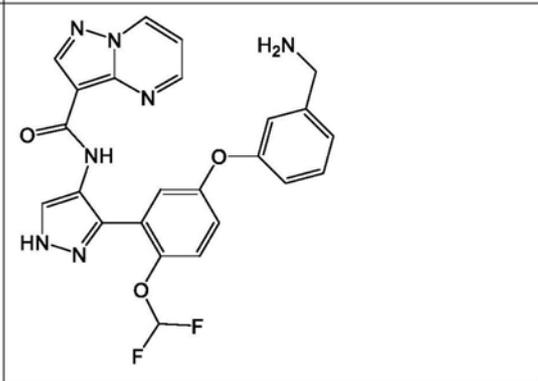
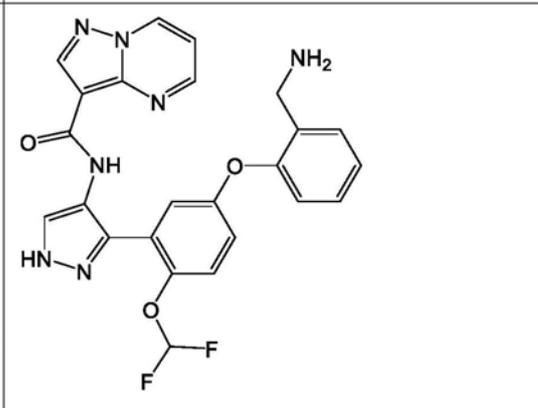
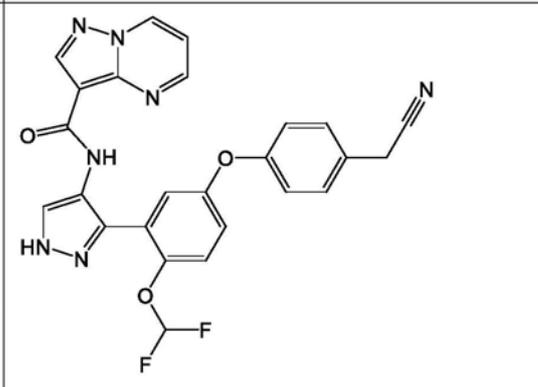
[0500] 表1

[0501]

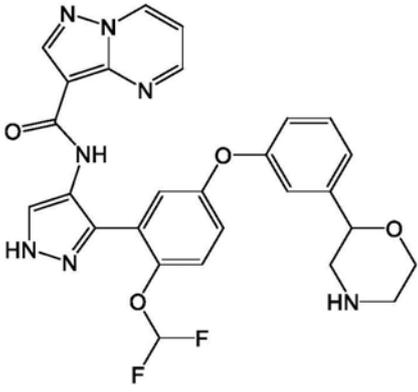
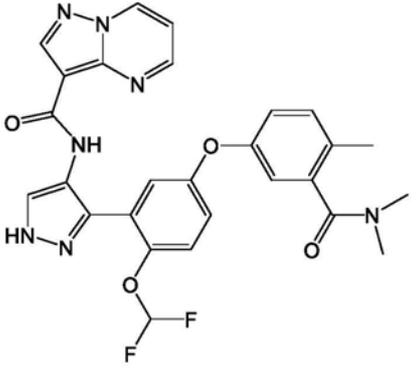
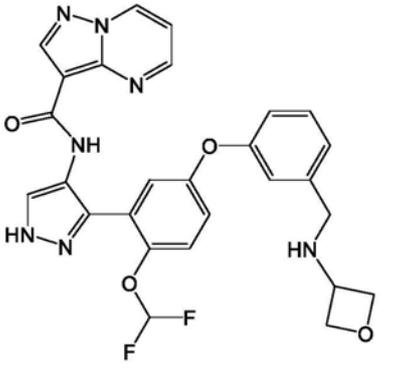
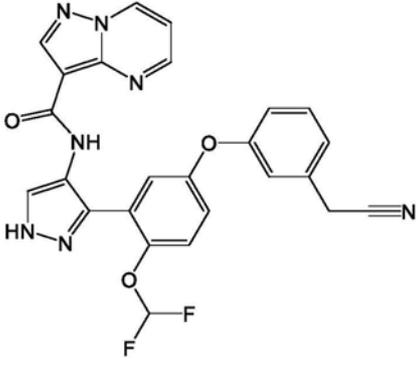
	结构	名称
--	----	----

[0502]

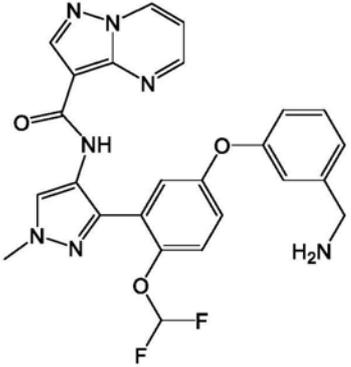
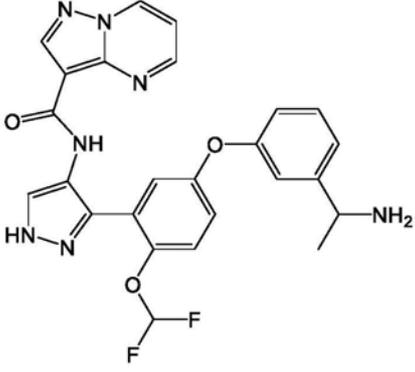
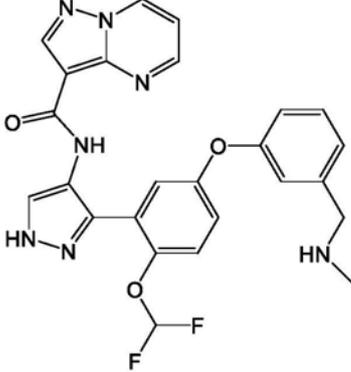
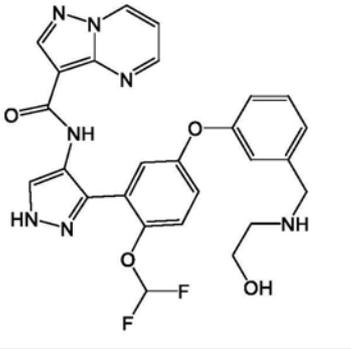
1		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基-苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
2		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(3-吡啶基氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
3		N-[3-[5-[4-(氨基甲基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
4		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(2,2,2-三氟乙氧基)苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

5		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-(2,2,2-三氟乙氧基)苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
6		N-[3-[5-[3-(氨基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
[0503] 7		N-[3-[5-[2-(氨基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
8		N-[3-[5-[4-(氰)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

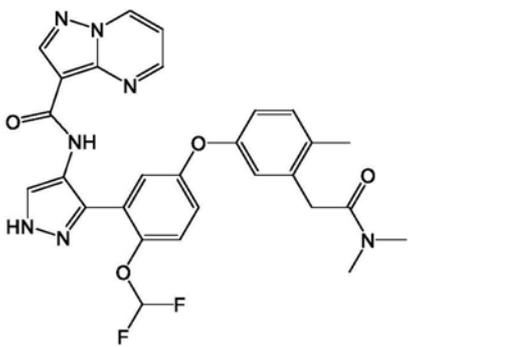
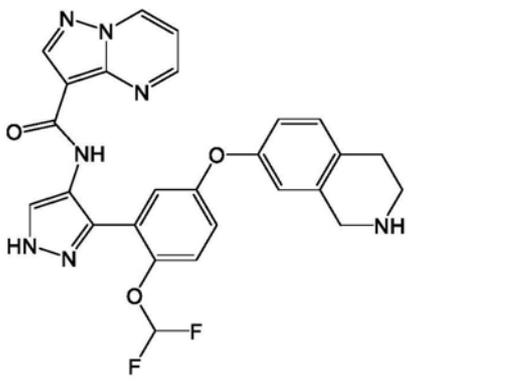
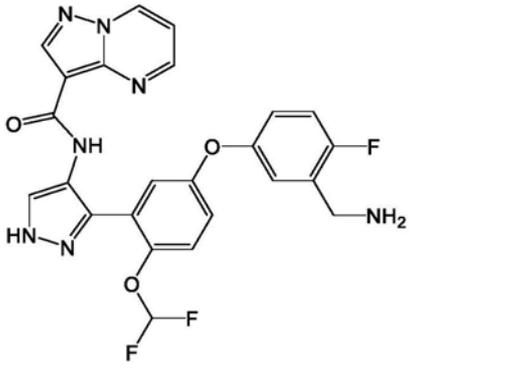
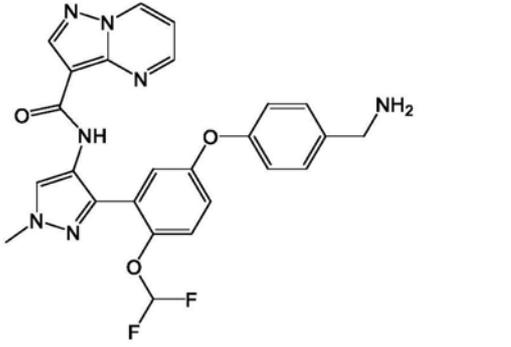
[0504]

9		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(3-吗啉-2-基苯氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
10		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(二甲基氨基乙酰基)-4-甲基-苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
11		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[(氧杂环丁烷-3-基氨基)甲基]苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
12		N-[3-[5-[3-(氰甲基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0505]

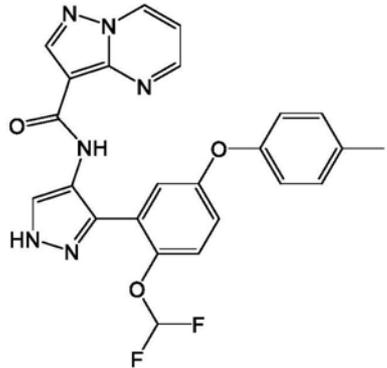
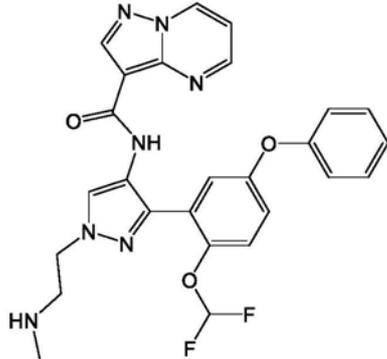
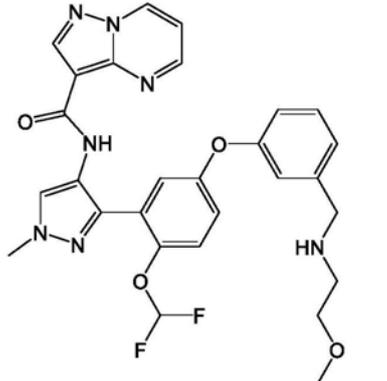
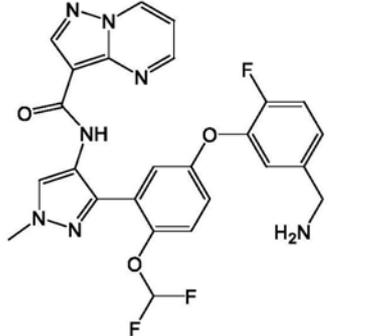
13		N-[3-[5-[3-(氨基甲基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
14		N-[3-[5-[3-(1-氨基乙基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
15		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(甲基氨基)苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
16		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[(2-羟基乙基氨基)甲基]苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0506]

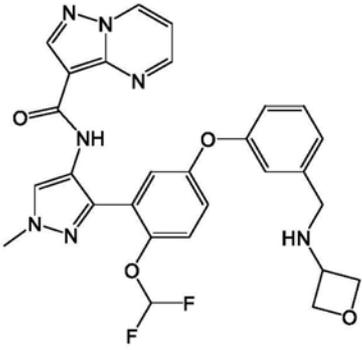
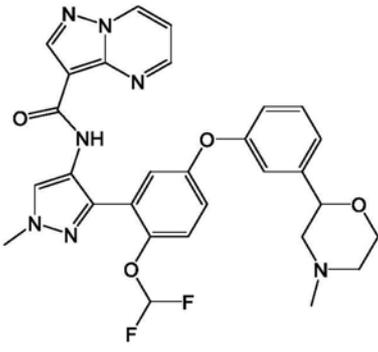
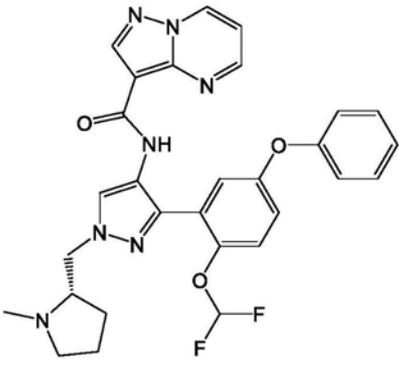
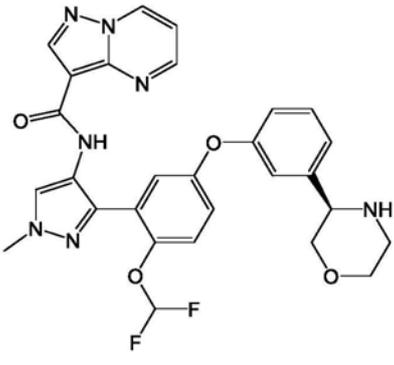
17		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[2-(二甲基氨基)-2-氧代-乙基]-4-甲基-苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
18		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
19		N-[3-[5-[3-(氨基甲基)-4-氟-苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
20		N-[3-[5-[4-(氨基甲基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺



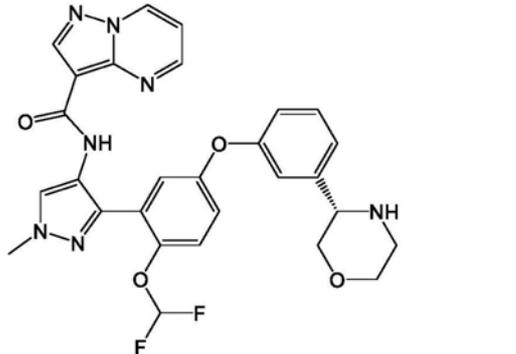
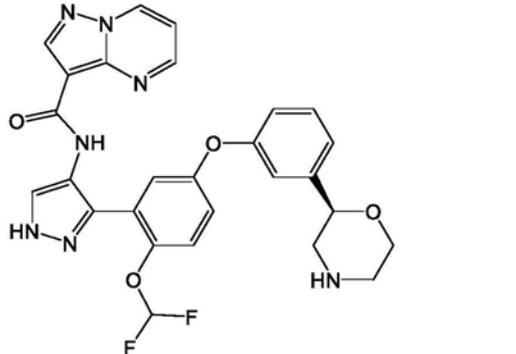
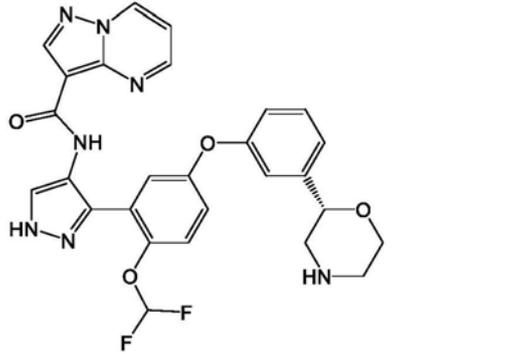
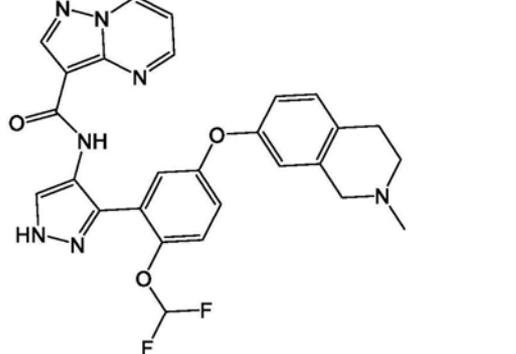
[0508]

25		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(4-甲基苯氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
26		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基-苯基]-1-[2-(甲基氨基)乙基]吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
27		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[(2-甲氧基乙基氨基)甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
28		N-[3-[5-[5-(氨基)-2-氟-苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

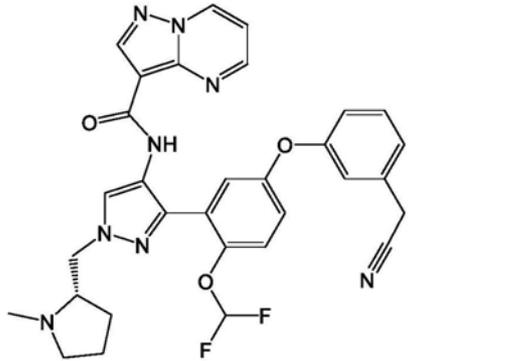
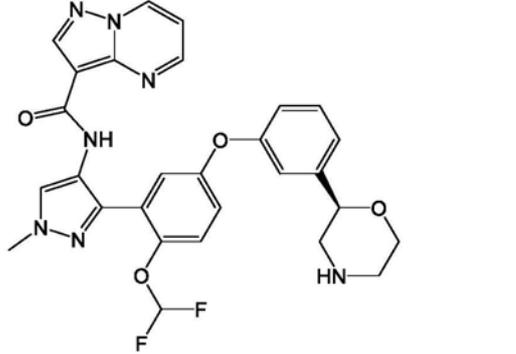
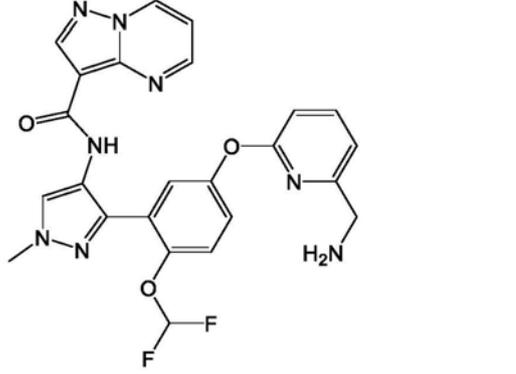
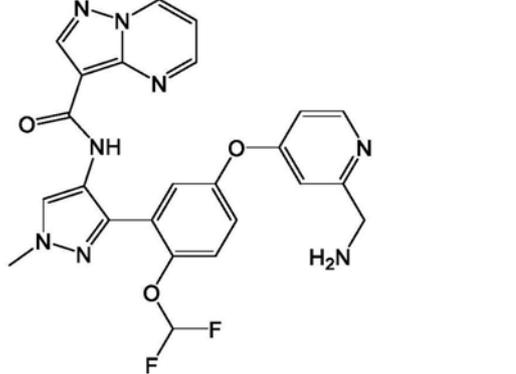
[0509]

29		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[(氧杂环丁烷-3-基氨基)甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
30		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(4-甲基吗啉-2-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
31		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基-苯基]-1-[[外消旋-(2R)-1-甲基吡咯烷-2-基]甲基]吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
32		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[外消旋-(3R)-吗啉-3-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

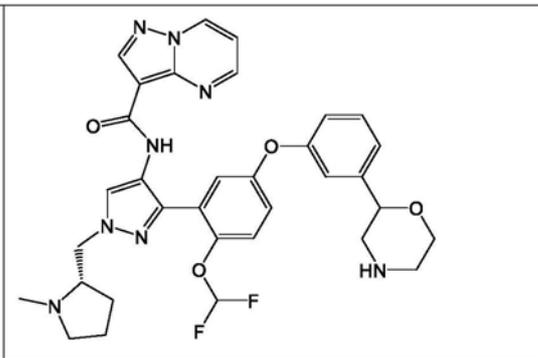
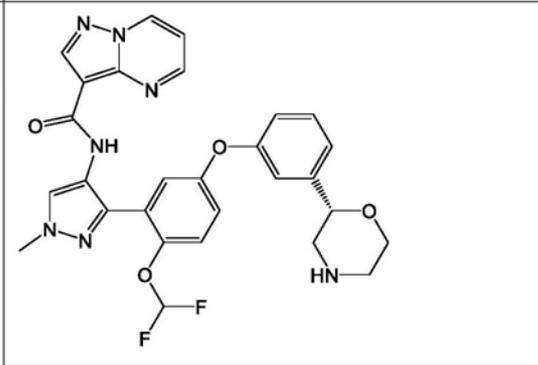
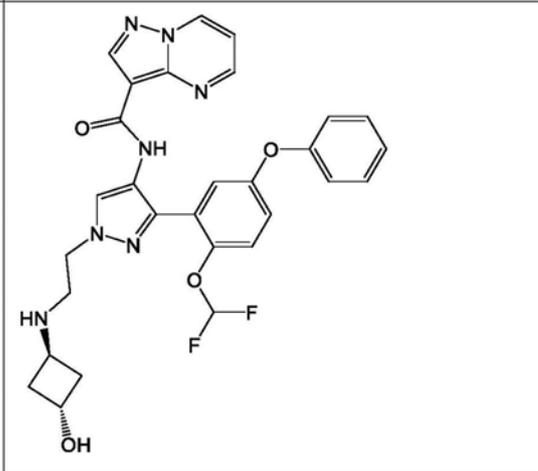
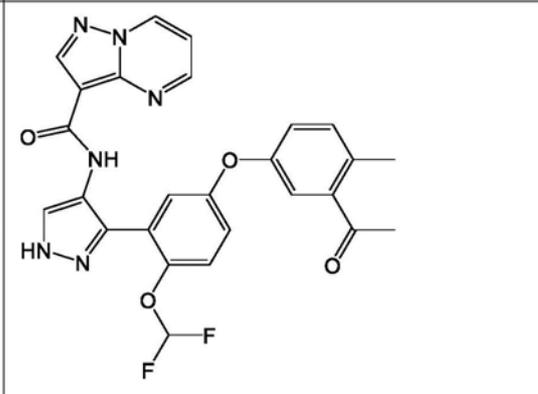
[0510]

33		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[外消旋-(3S)-吗啉-3-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
34		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[外消旋-(2R)-吗啉-2-基]苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
35		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[外消旋-(2S)-吗啉-2-基]苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
36		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[(2-甲基-3,4-二氢-1H-异喹啉-7-基)氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0511]

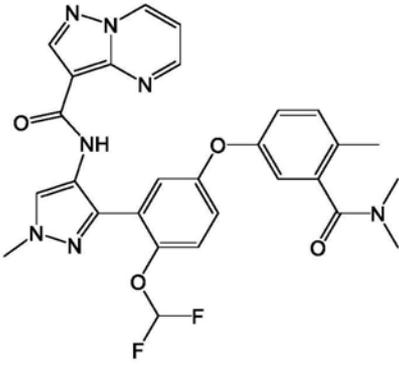
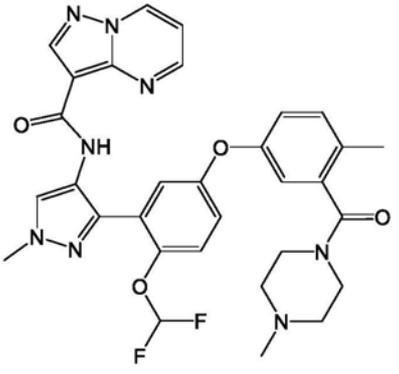
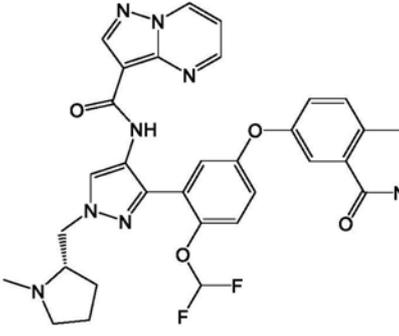
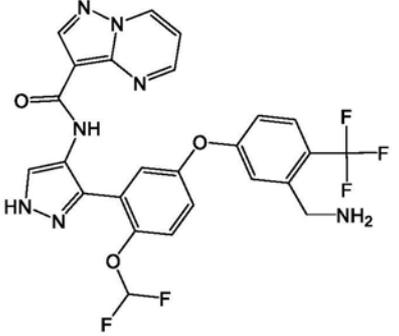
37		N-[3-[5-[3-(氨基甲基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-[[外消旋-(2R)-1-甲基吡咯烷-2-基]甲基]吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
38		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[外消旋-(2R)-吗啉-2-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
39		N-[3-[5-[[6-(氨基甲基)-2-吡啶基]氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
40		N-[3-[5-[[2-(氨基甲基)-4-吡啶基]氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0512]

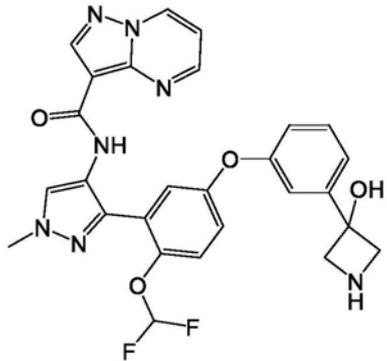
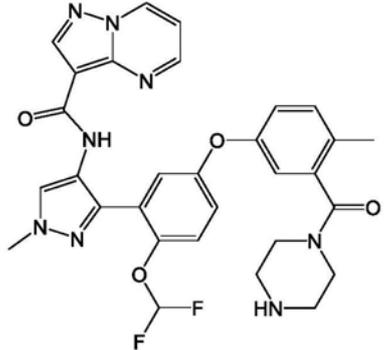
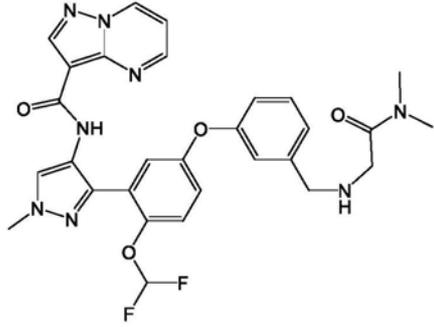
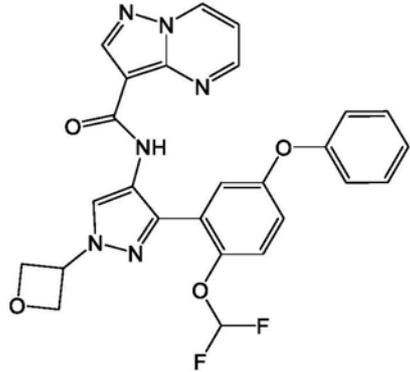
41		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(3-吗啉-2-基苯氧基)-苯基]-1-[[外消旋-(2R)-1-甲基吡咯烷-2-基]甲基]吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
42		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[外消旋-(2S)-吗啉-2-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
43		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基-苯基]-1-[2-[(3-羟基环丁基)氨基]乙基]吡唑-4基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
44		N-[3-[5-(3-乙酰基-4-甲基-苯氧基)-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺



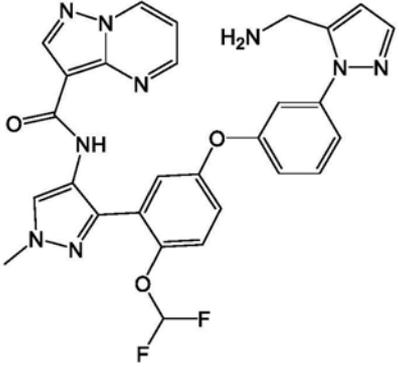
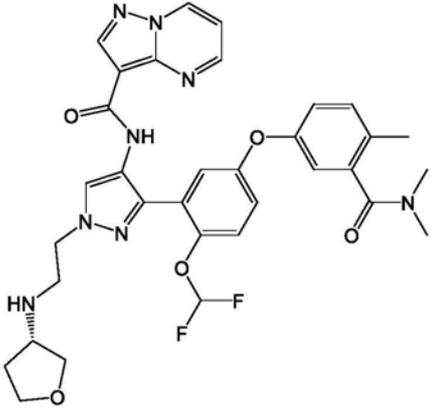
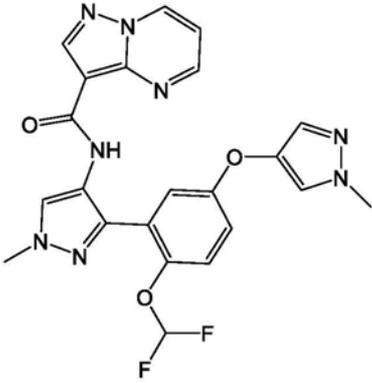
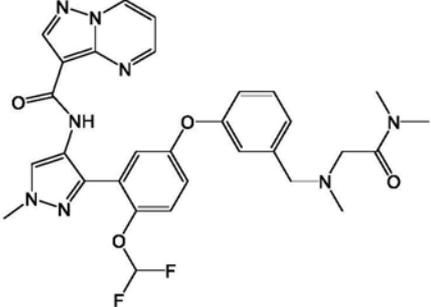
[0514]

49		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(二甲基氨基甲酰基)-4-甲基-苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
50		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-甲基-3-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
51		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(二甲基氨基甲酰基)-4-甲基-苯氧基]苯基]-1-[[外消旋-(2R)-1-甲基吡咯烷-2-基]甲基]吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
52		N-[3-[5-[3-(氨基甲基)-4-(三氟甲基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0515]

53		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
54		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-甲基-3-(哌嗪-1-羰基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
55		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[[[2-(二甲基氨基)-2-氧代-乙基]氨基]甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
56		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基-苯基]-1-(氧杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0516]

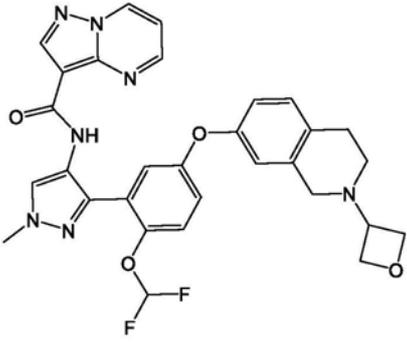
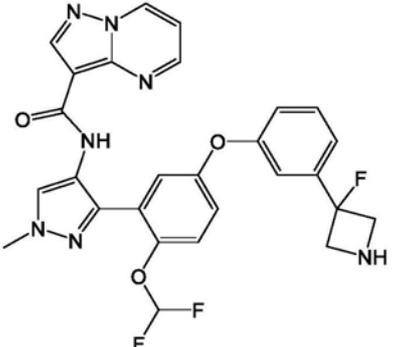
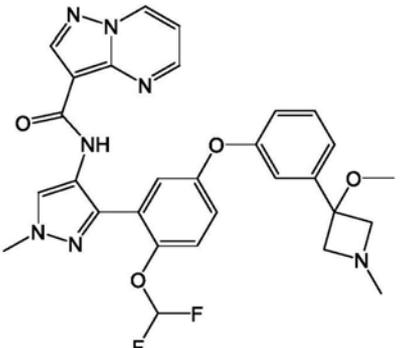
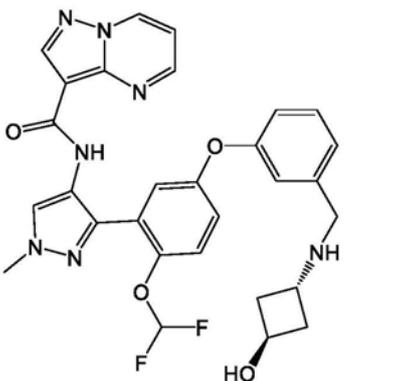
57		N-[3-[5-[3-[5-(氨基)吡唑-1-基]苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
58		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(二甲基氨基甲酰基)-4-甲基-苯氧基]苯基]-1-[2-[[外消旋-(3R)-四氢咪喃-3-基]氨基]乙基]吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
59		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1-甲基吡唑-4-基)氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
60		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[[[2-(二甲基氨基)-2-氧代-乙基]-甲基-氨基]甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0517]

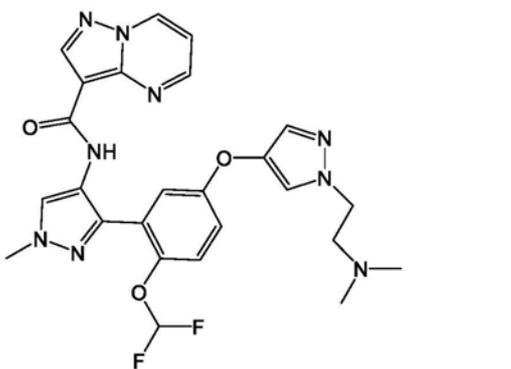
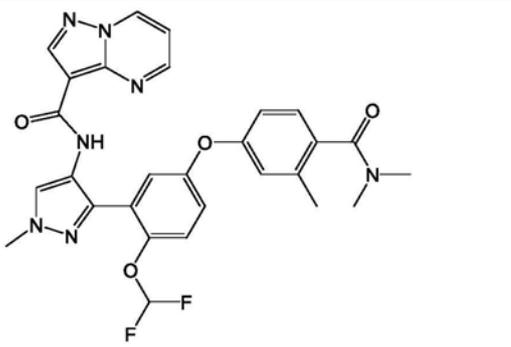
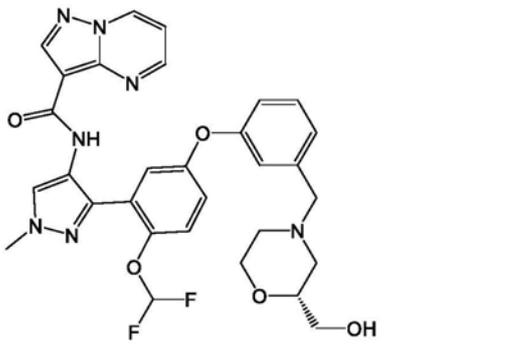
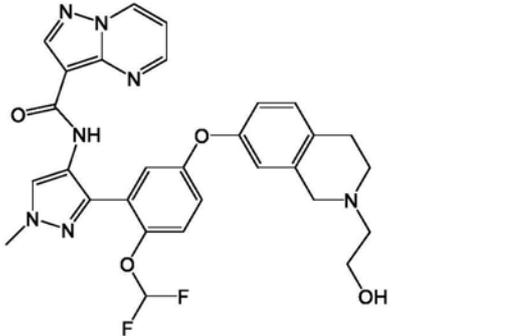
61		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-(吗啉甲基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
62		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(二甲基氨基乙酰基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
63		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
64		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[(2-甲基-3,4-二氢-1H-异喹啉-6-基)氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0518]

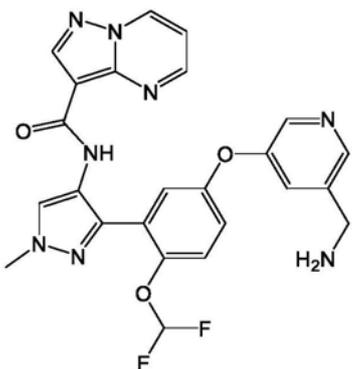
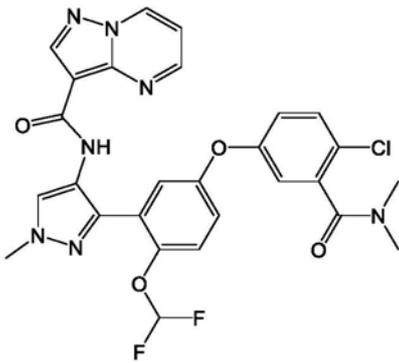
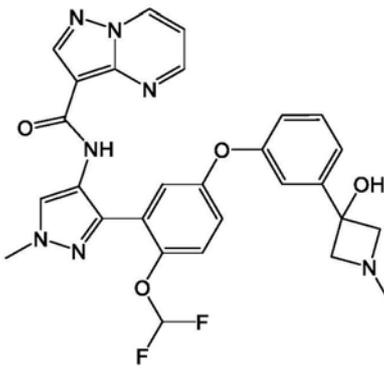
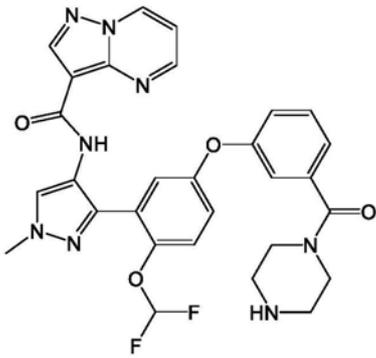
65		N-[3-[5-[3-[5-(氨基)吡唑-1-基]苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
66		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[5-(甲基氨基)吡唑-1-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
67		N-[3-[5-[4-(1-氰基-1-甲基-乙基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
68		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(2-吗啉基乙基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

69		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[[2-(氧杂环丁烷-3-基)-3,4-二氢-1H-异喹啉-7-基]氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
70		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-氟氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
[0519] 71		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-甲氧基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
72		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[[3-羟基环丁基]氨基]甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

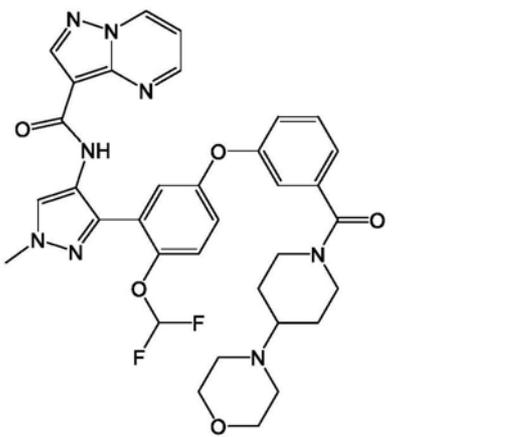
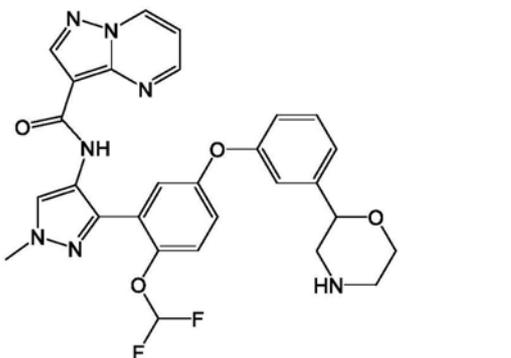
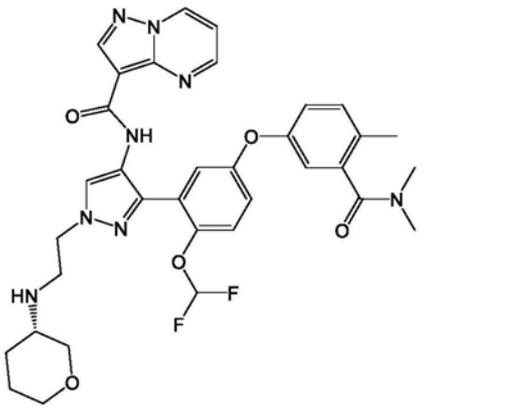
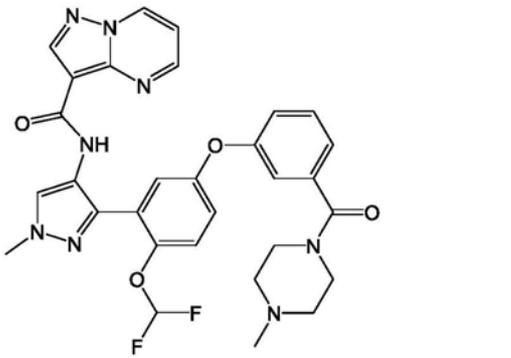
[0520]

73		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[2-(二甲基氨基)乙基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
74		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-(二甲基氨基甲酰基)-3-甲基-苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
75		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[[外消旋-(2S)-2-(羟基甲基)吗啉-4-基]甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
76		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[[2-(2-羟基乙基)-3,4-二氢-1H-异喹啉-7-基]氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

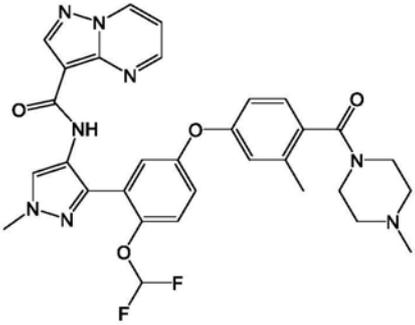
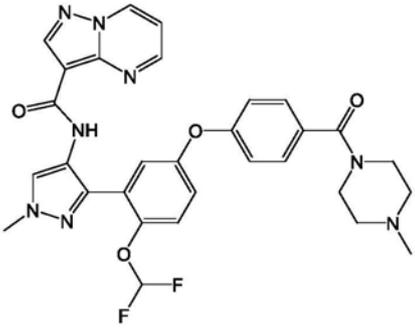
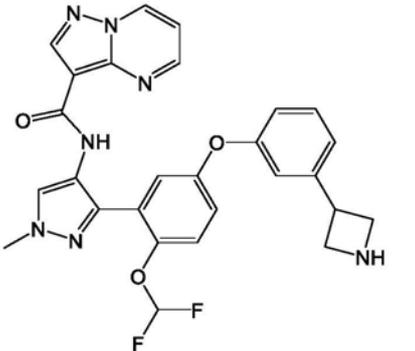
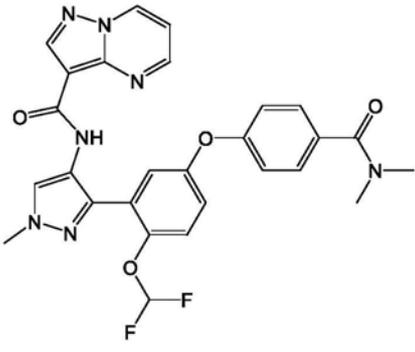
[0521]

77		N-[3-[5-[[5-(氨基甲基)-3-吡啶基]氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
78		N-[3-[5-[4-氯-3-(二甲基氨基甲酰基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
79		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
80		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(哌嗪-1-羰基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

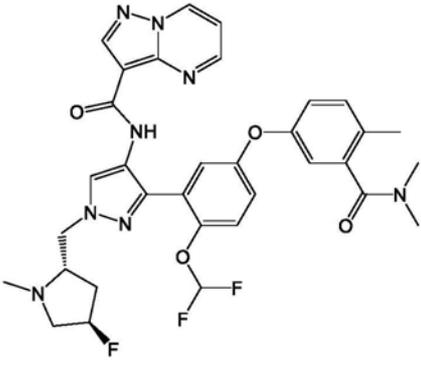
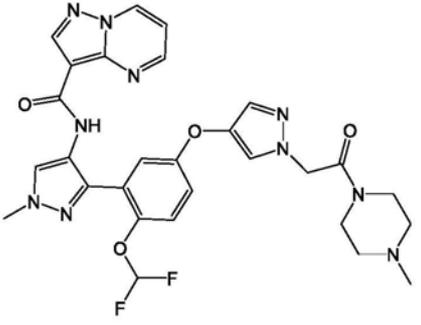
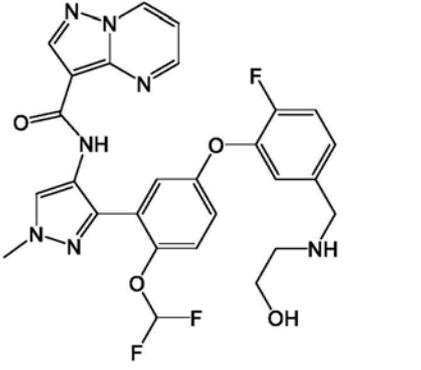
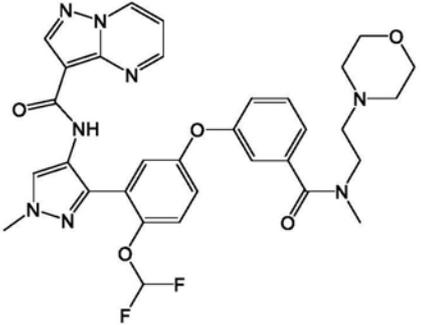
[0522]

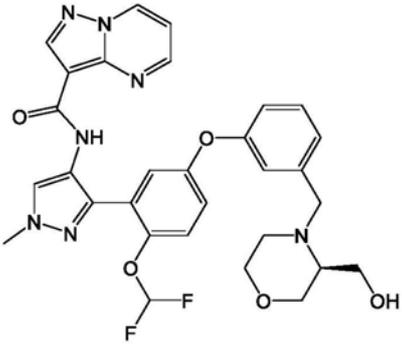
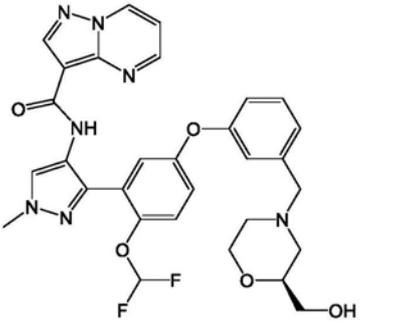
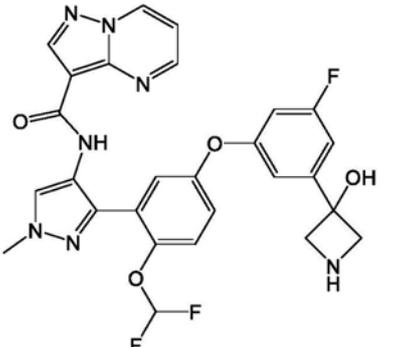
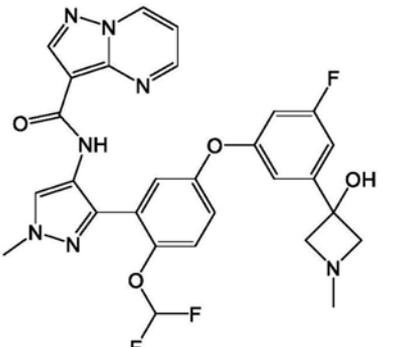
81		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(4-吗啉哌啶-1-羰基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
82		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(3-吗啉-2-基苯氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
83		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(二甲基氨基甲酰基)-4-甲基-苯氧基]苯基]-1-[2-[[外消旋-(3R)-四氢吡喃-3-基]氨基]乙基]吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
84		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0523]

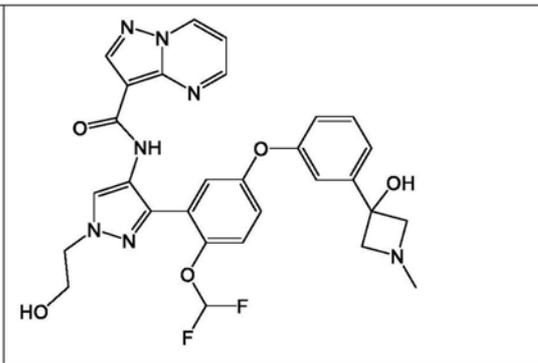
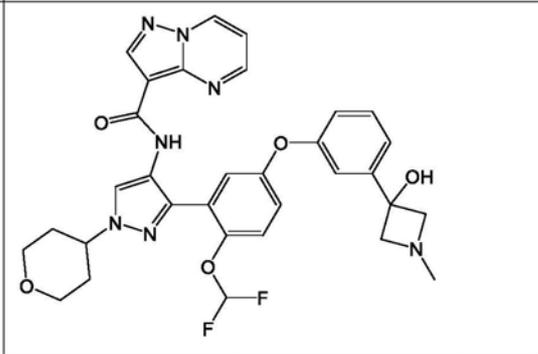
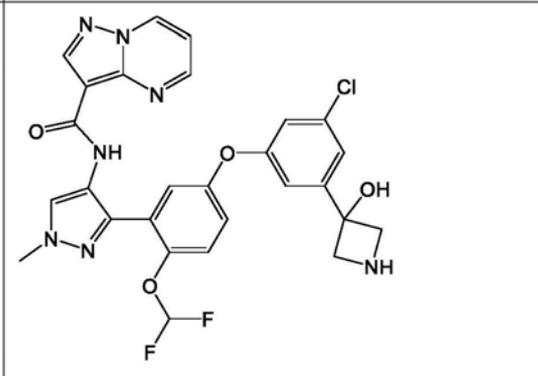
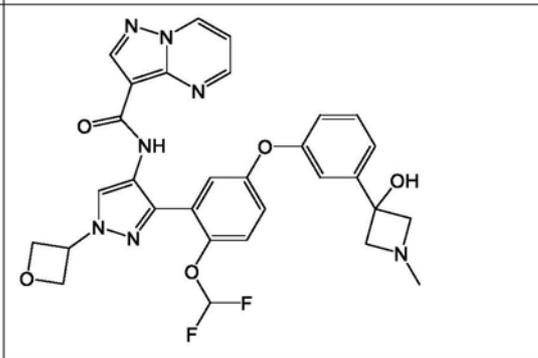
85		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-甲基-4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
86		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
87		N-[3-[5-[3-(氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
88		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-(二甲基氨基甲酰基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

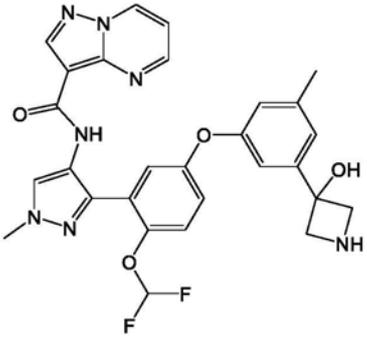
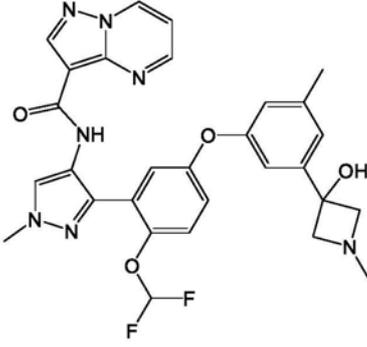
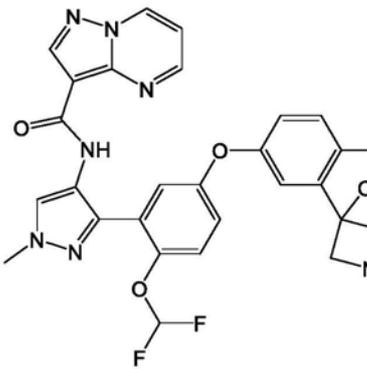
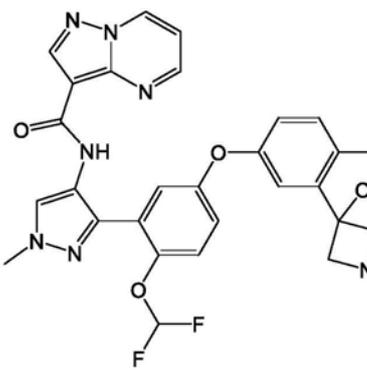
[0524]

89		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(二甲基氨基甲酰基)-4-甲基-苯氧基]苯基]-1-[[外消旋-(2R,4S)-4-氟-1-甲基-吡咯烷-2-基]甲基]吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
90		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
91		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[2-氟-5-[(2-羟基乙基氨基)甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
92		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[甲基(2-吗啉基乙基)氨基甲酰基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

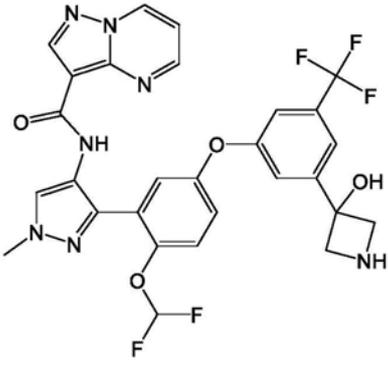
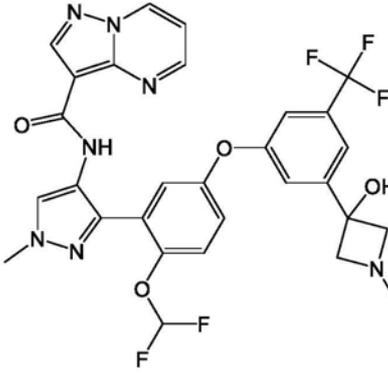
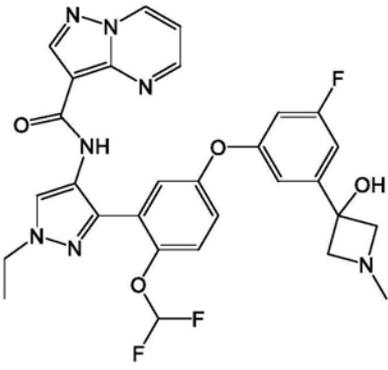
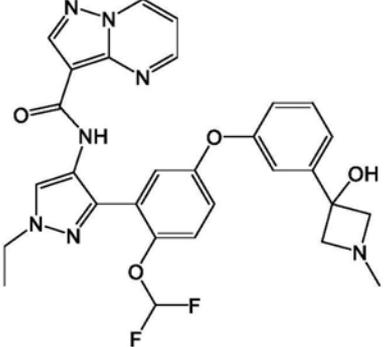
93		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[[外消旋-(3R)-3-(羟基甲基)吗啉-4-基]甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
94		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[[外消旋-(2R)-2-(羟基甲基)吗啉-4-基]甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
[0525] 95		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-氟-5-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
96		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-氟-5-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0526]

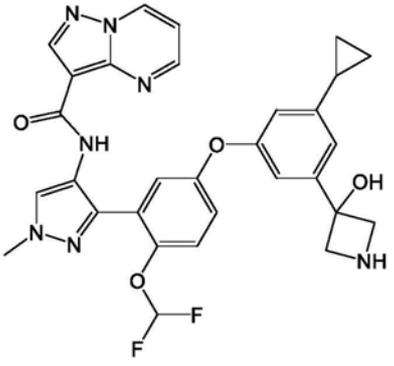
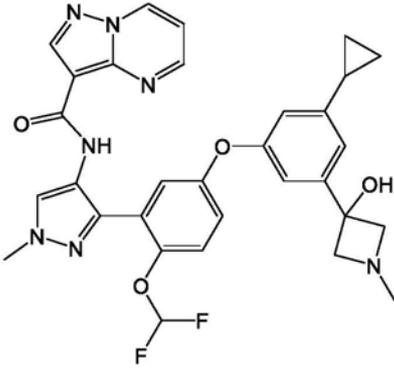
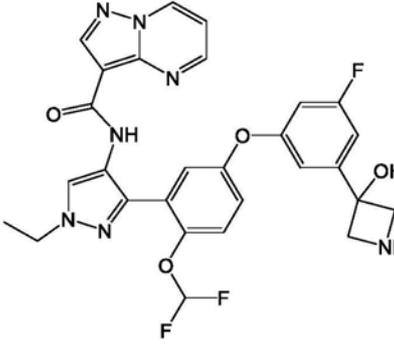
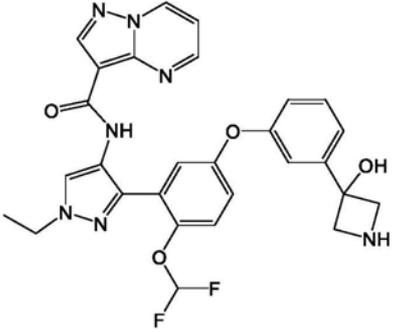
97		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-(2-羟基乙基)吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
98		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-四氢吡喃-4-基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
99		N-[3-[5-[3-氯-5-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
100		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-(氧杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

101		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)-5-甲基-苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
102		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)-5-甲基-苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
[0527] 103		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-氟-3-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
104		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-氟-3-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

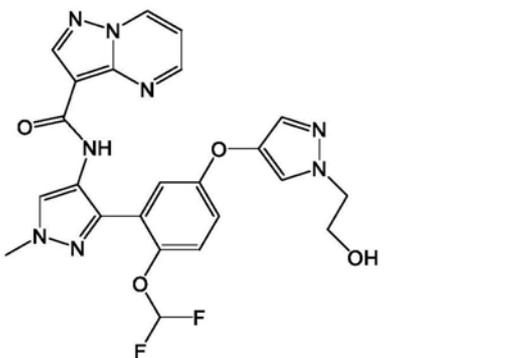
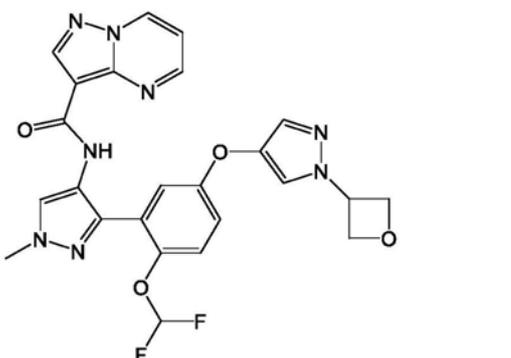
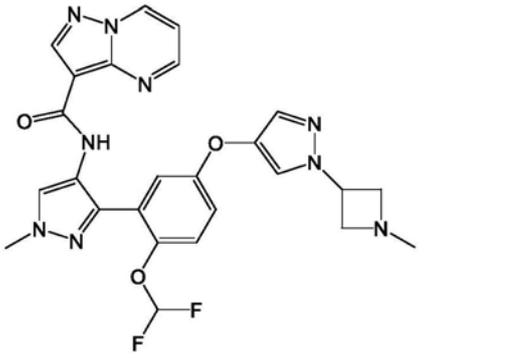
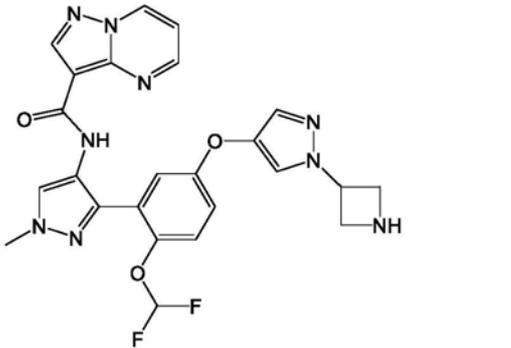
[0528]

105		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基 氮杂环丁烷-3-基)-5-(三氟甲基)苯氧 基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并 [1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
106		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基- 1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)-5-(三氟甲 基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基] 吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
107		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-氟-5-(3- 羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧 基]苯基]-1-乙基-吡唑-4-基]吡唑并 [1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
108		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基- 1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯 基]-1-乙基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a] 嘧啶-3-甲酰胺

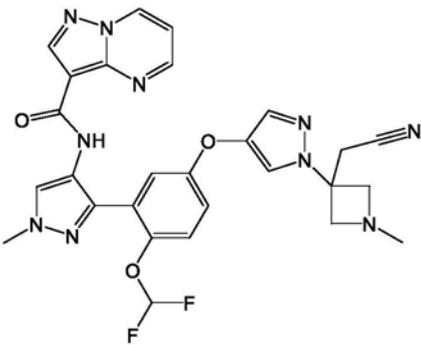
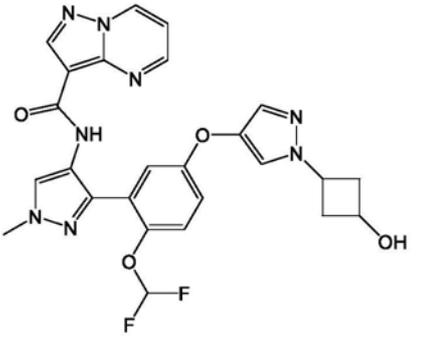
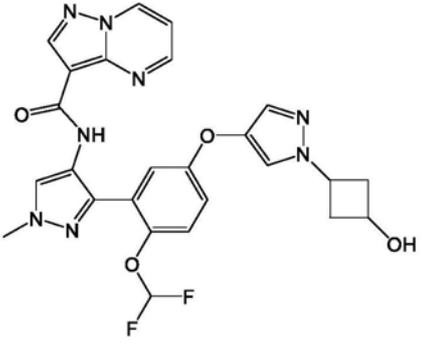
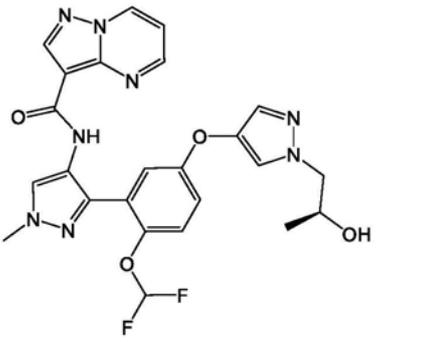
[0529]

109		N-[3-[5-[3-环丙基-5-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
110		N-[3-[5-[3-环丙基-5-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
111		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-氟-5-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-乙基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
112		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-乙基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

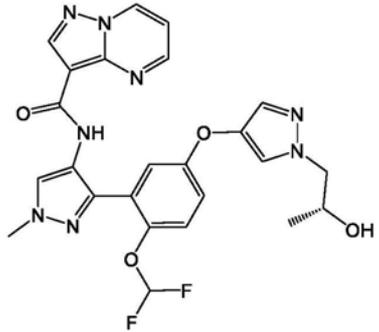
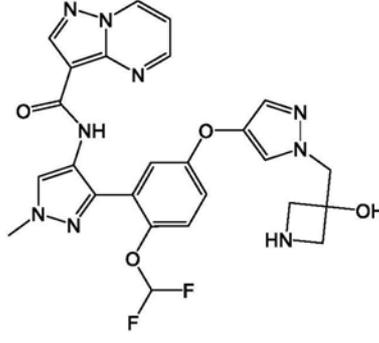
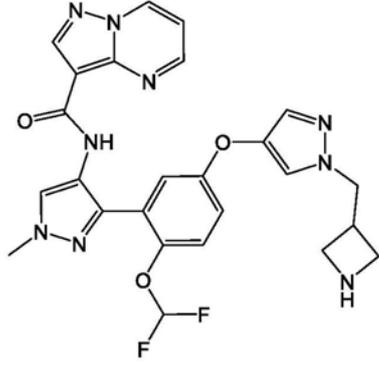
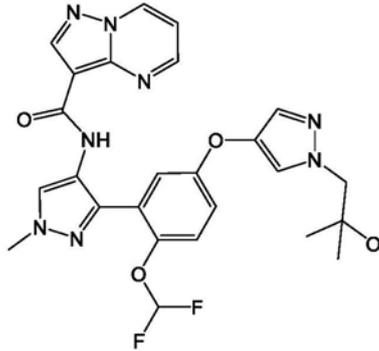
[0530]

113		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(2-羟基乙基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
114		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(氧杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
115		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
116		N-[3-[5-[1-(氮杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]氧基-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0531]

117		N-[3-[5-[1-[3-(氰基甲基)-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]氧基-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
118		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(3-羟基环丁基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
119		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(3-羟基环丁基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
120		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[外消旋-(2R)-2-羟基丙基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0532]

121		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[外消旋-(2S)-2-羟基丙基]吡啶-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
122		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)甲基]吡啶-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
123		N-[3-[5-[1-(氮杂环丁烷-3-基)甲基]吡啶-4-基]氧基-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
124		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(2-羟基-2-甲基-丙基)吡啶-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

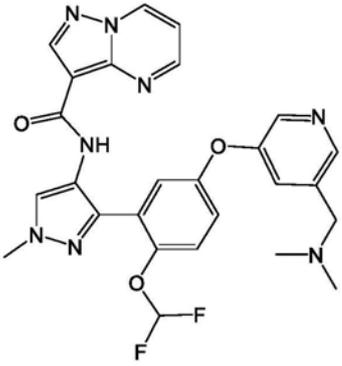
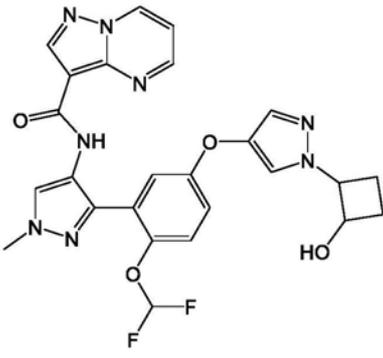
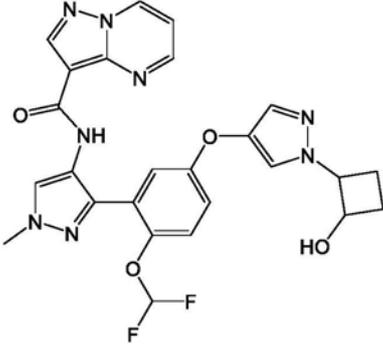
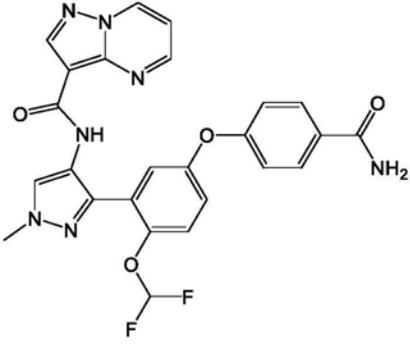
[0533]

125		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(氧杂环丁烷-3-基甲基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
126		N-[3-[5-[1-(2-氨基乙基)吡唑-4-基]氧基-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
127		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
128		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

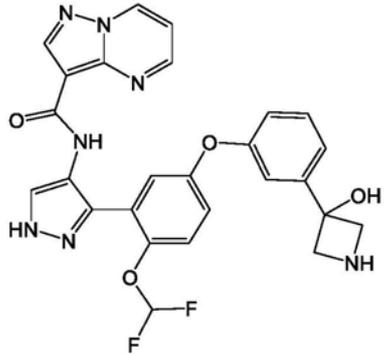
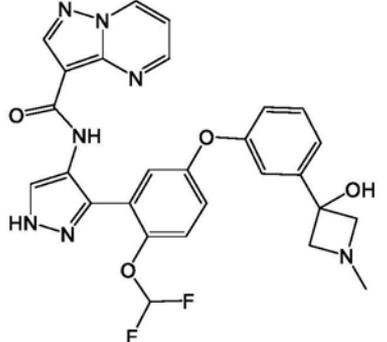
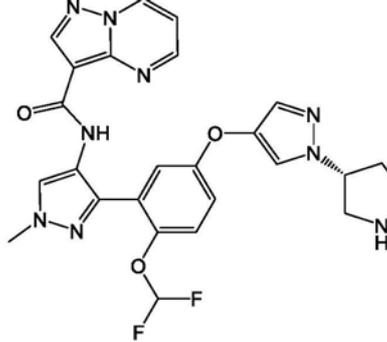
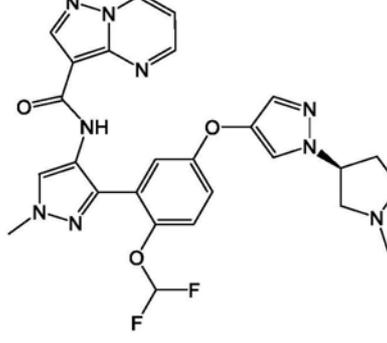
[0534]

129		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-[2-(二甲基氨基)-2-氧代-乙基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
130		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-(二甲基氨基甲酰基)苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
131		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-(甲基氨基甲酰基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
132		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(二氟甲基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

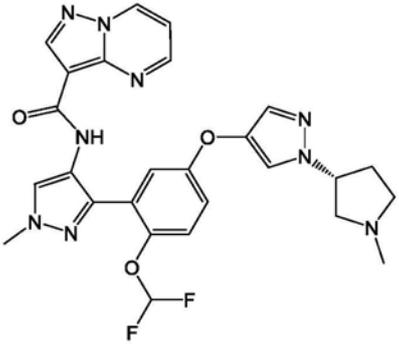
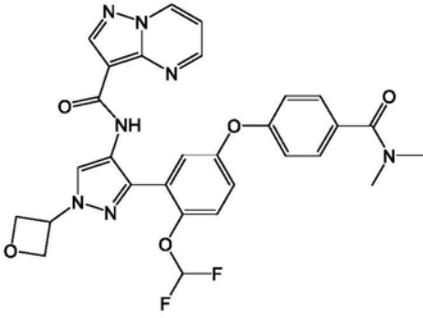
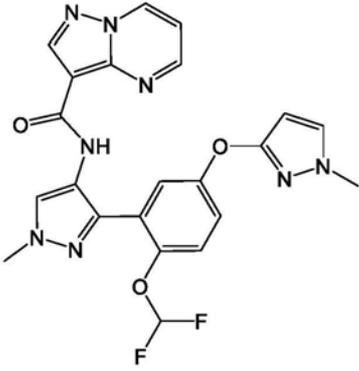
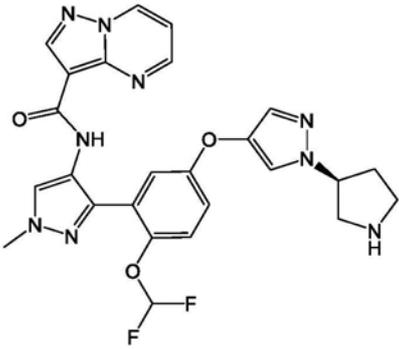
[0535]

133		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[[5-[(二甲基氨基)甲基]-3-吡啶基]氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
134		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(2-羟基环丁基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
135		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(2-羟基环丁基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
136		N-[3-[5-(4-氨基甲酰基苯氧基)-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

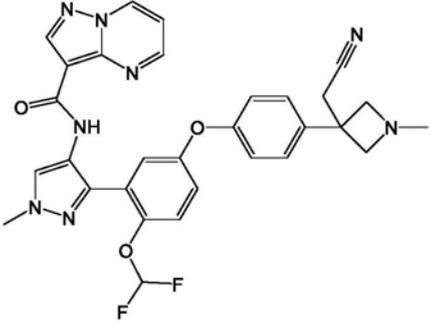
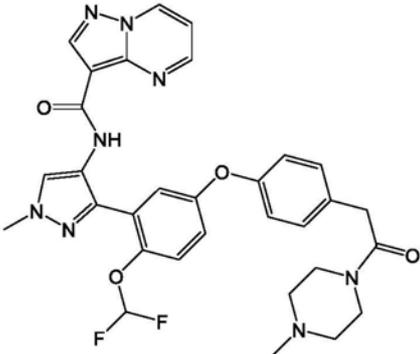
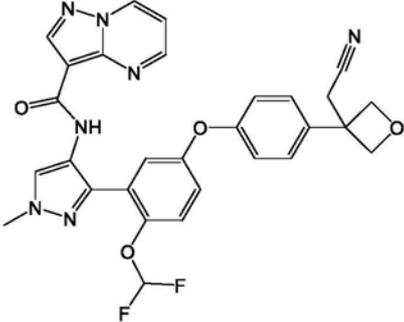
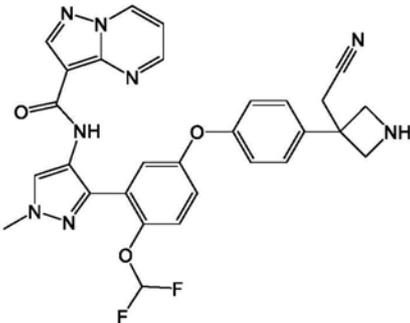
[0536]

137		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺; 2,2,2-三氟乙酸
138		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
139		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[外消旋-(3R)-吡咯烷-3-基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
140		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[外消旋-(3S)-1-甲基吡咯烷-3-基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

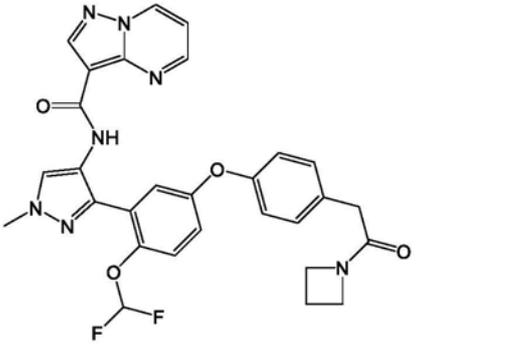
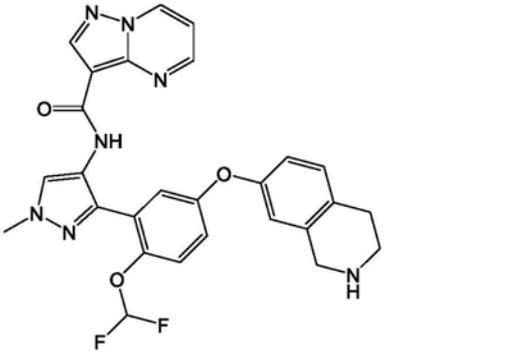
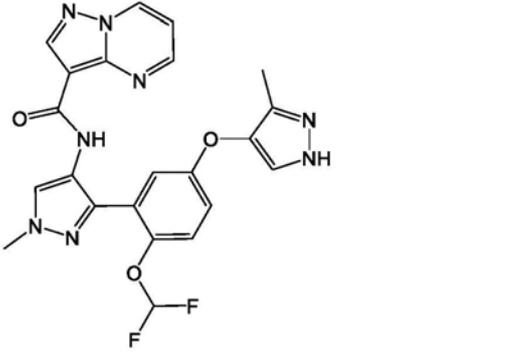
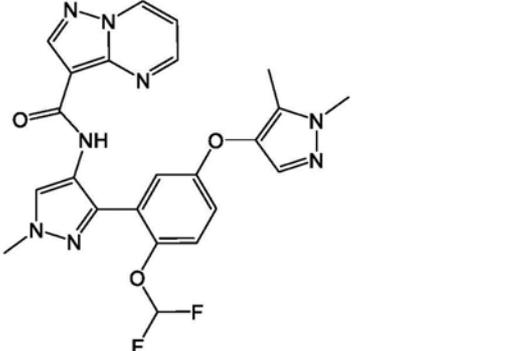
[0537]

141		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[外消旋-(3R)-1-甲基吡咯烷-3-基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
142		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-(二甲基氨基甲酰基)苯氧基]苯基]-1-(氧杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
143		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1-甲基吡唑-3-基)氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
144		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-[外消旋-(3S)-吡咯烷-3-基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0538]

145		N-[3-[5-[4-[3-(氰基甲基)-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基]苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
146		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[4-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
147		N-[3-[5-[4-[3-(氰基甲基)氧杂环丁烷-n-3-基]苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
148		N-[3-[5-[4-[3-(氰基甲基)氮杂环丁烷-3-基]苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0539]

149		N-[3-[5-[4-[2-(氮杂环丁烷-1-基)-2-氧代-乙基]苯氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
150		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
151		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[(3-甲基-1H-吡唑-4-基)氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
152		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1,5-二甲基吡唑-4-基)氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0540]

153		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1,3-二甲基吡唑-4-基)氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
154		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(2-羟基乙基)-3-甲基-吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
155		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(2-羟基乙基)-5-甲基-吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
156		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

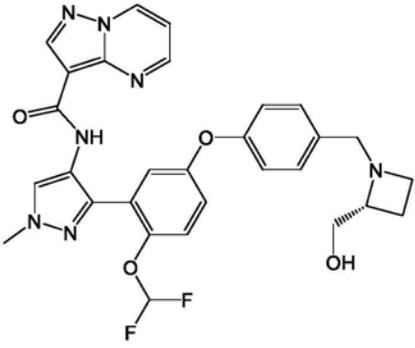
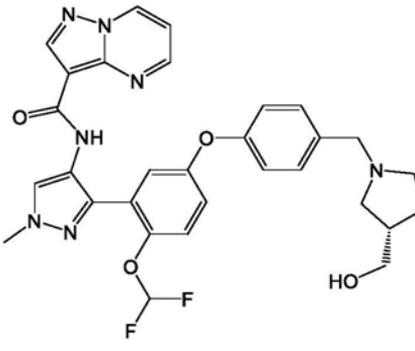
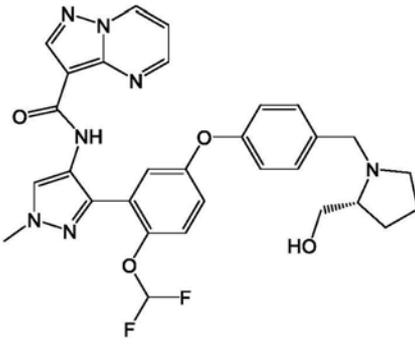
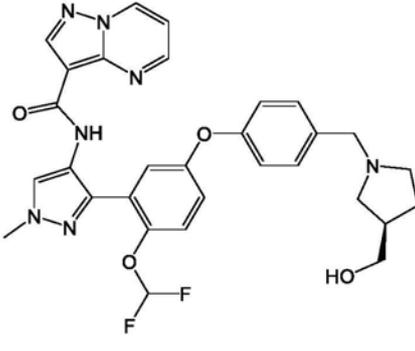
157		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基氧基)苯基]-1-(氧杂环丁烷-3-基)吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
158		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[[5-(甲基氨基乙酰基)-3-吡啶基]氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
159		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[[5-(二甲基氨基乙酰基)-3-吡啶基]氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
160		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1H-吡唑-4-基氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0541]

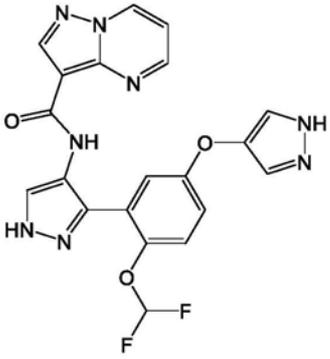
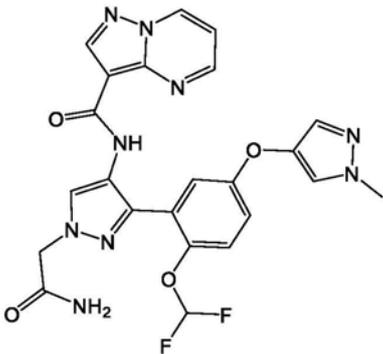
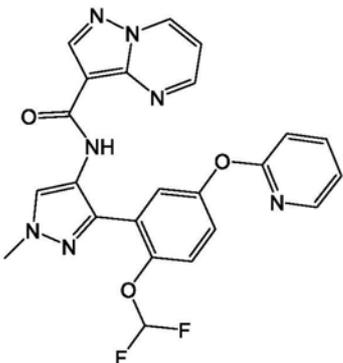
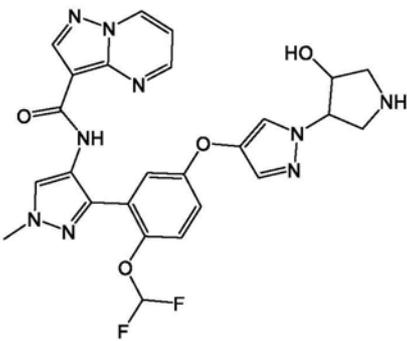




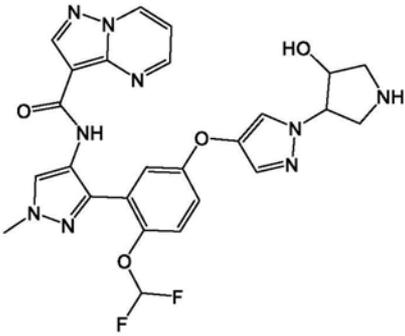
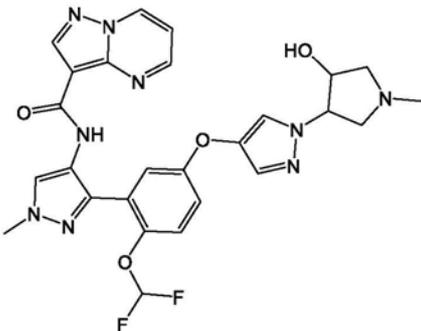
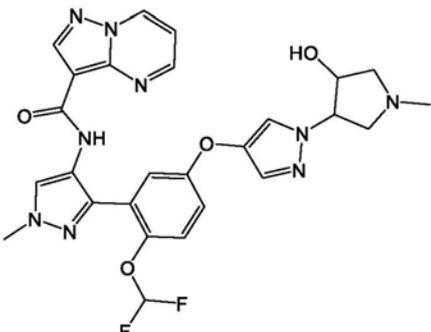
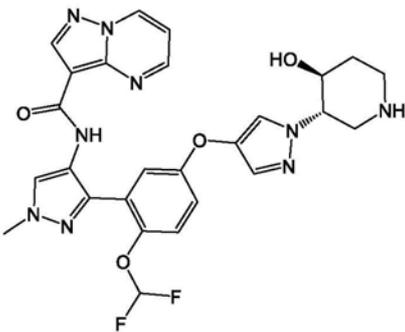
[0544]

169		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-[[外消旋-(2R)-2-(羟基甲基)氮杂环丁烷-1-基]甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
170		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-[[外消旋-(3S)-3-(羟基甲基)吡咯烷-1-基]甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
171		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-[[外消旋-(2R)-2-(羟基甲基)吡咯烷-1-基]甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
172		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[4-[[外消旋-(3R)-3-(羟基甲基)吡咯烷-1-基]甲基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

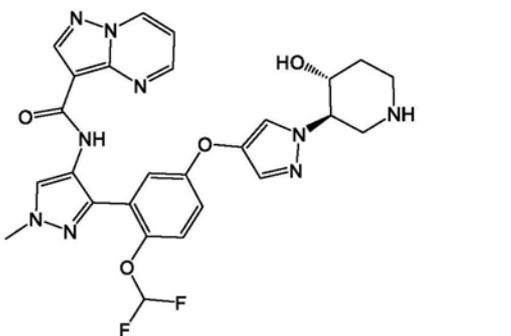
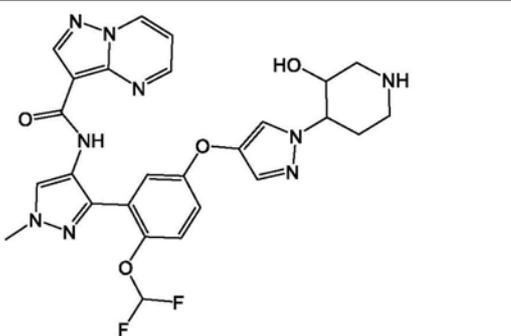
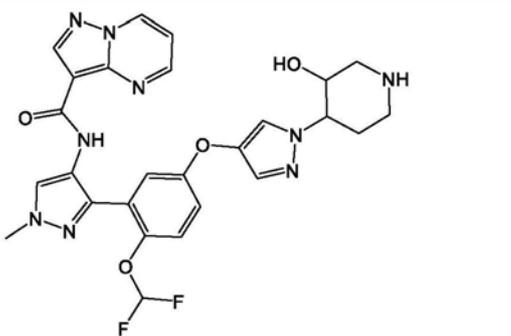
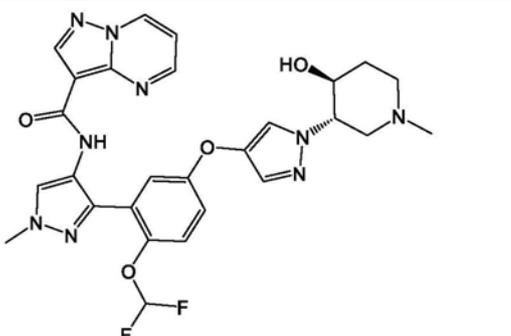
[0545]

173		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1H-吡唑-4-基氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
174		N-[1-(2-氨基-2-氧代-乙基)-3-[2-(二氟甲氧基)-5-(1-甲基吡唑-4-基)氧基-苯基]吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
175		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(2-吡啶基氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
176		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-(4-羟基吡咯烷-3-基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

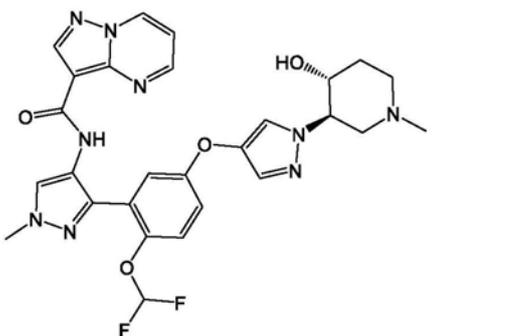
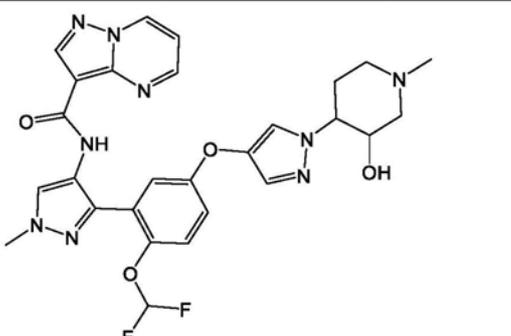
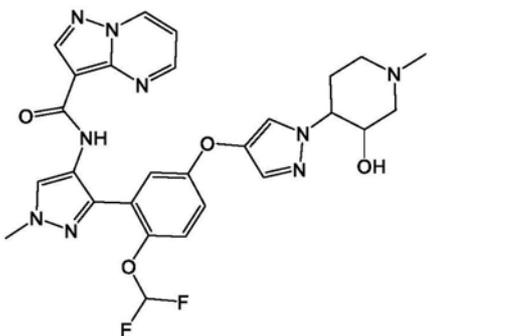
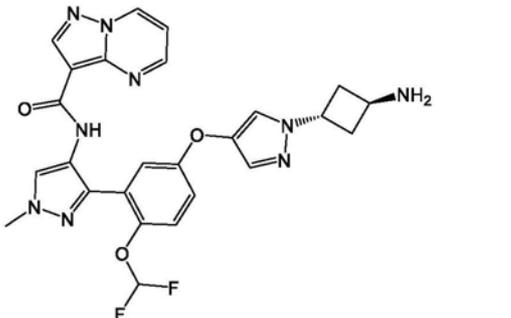
[0546]

177		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-(4-羟基吡咯烷-3-基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
178		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(4-羟基-1-甲基-吡咯烷-3-基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
179		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-[1-(4-羟基-1-甲基-吡咯烷-3-基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
180		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[外消旋-(3S,4S)-4-羟基-3-哌啶基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

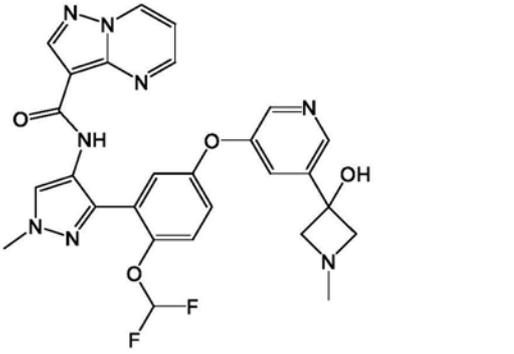
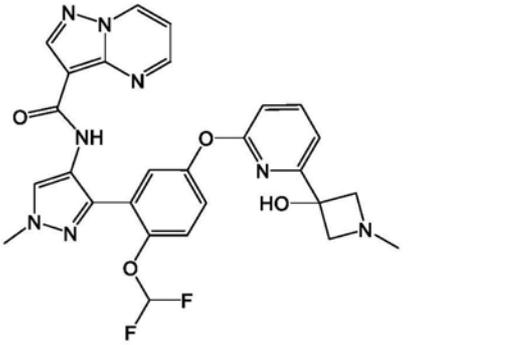
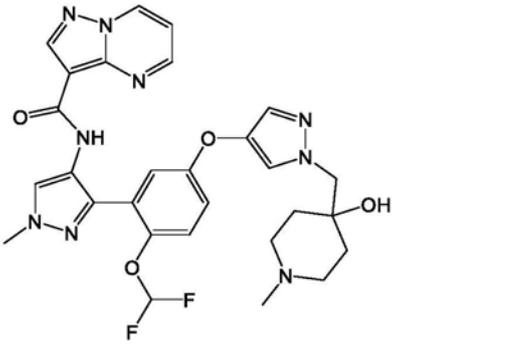
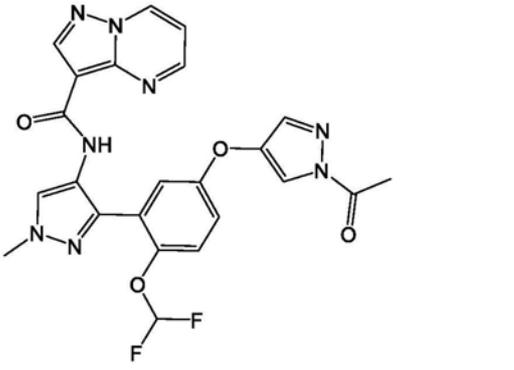
[0547]

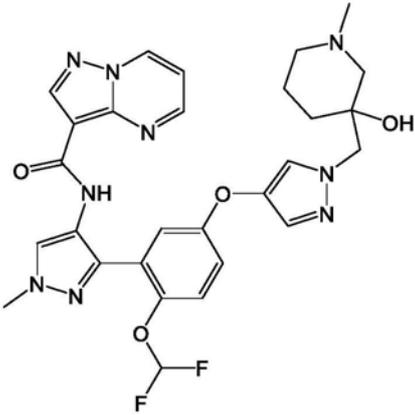
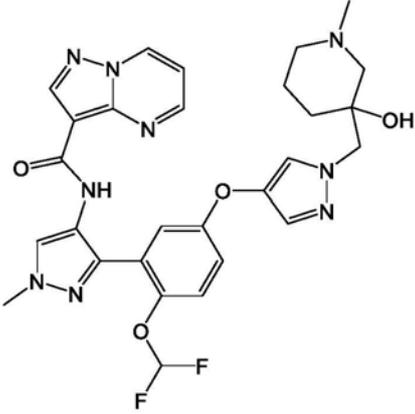
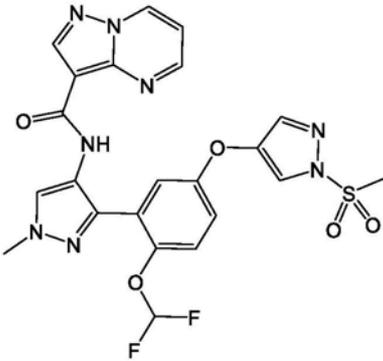
181		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[外消旋-(3R,4R)-4-羟基-3-哌啶基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
182		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-(3-羟基-4-哌啶基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
183		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-(3-羟基-4-哌啶基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
184		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[外消旋-(3S,4S)-4-羟基-1-甲基-3-哌啶基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

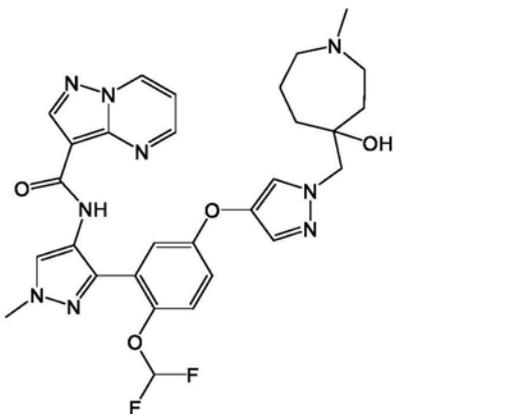
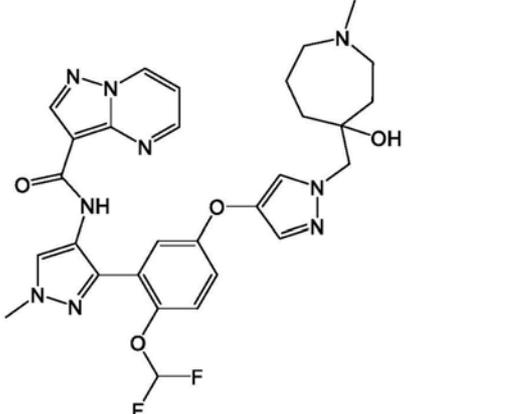
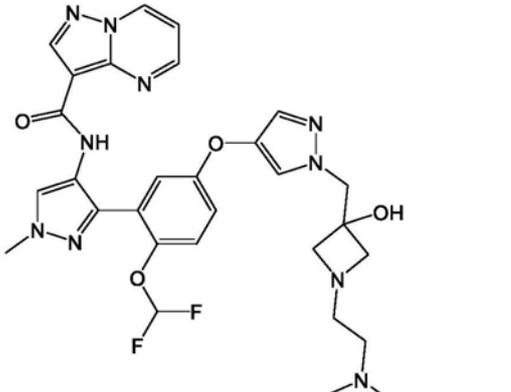
[0548]

185		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[外消旋-(3R,4R)-4-羟基-1-甲基-3-哌啶基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
186		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-(3-羟基-1-甲基-4-哌啶基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
187		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-(3-羟基-1-甲基-4-哌啶基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
188		N-[3-[5-[1-(3-氨基环丁基)吡唑-4-基]氧基-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

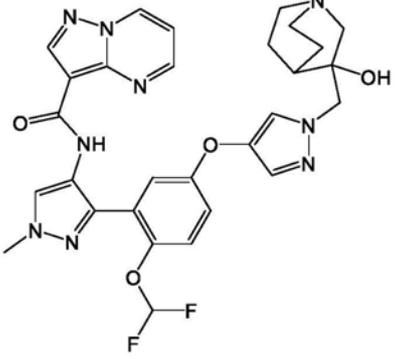
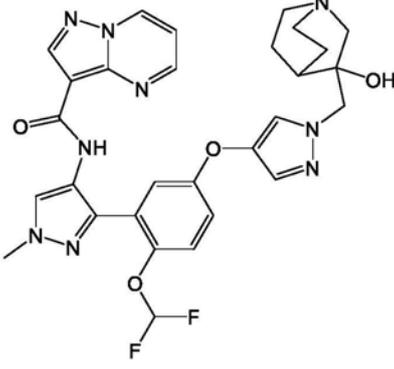
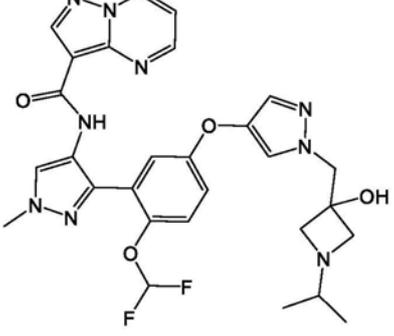
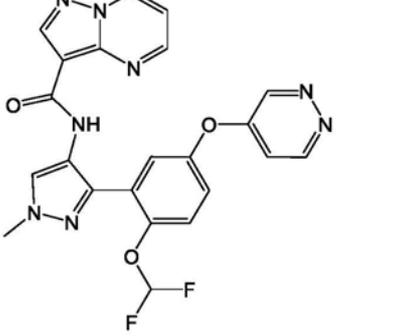
[0549]

189		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[[5-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)-3-吡啶基]氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
190		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[[6-(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)-2-吡啶基]氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
191		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(4-羟基-1-甲基-4-哌啶基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
192		N-[3-[5-(1-乙酰基吡唑-4-基)氧基-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

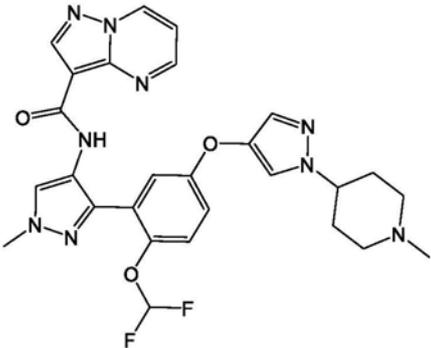
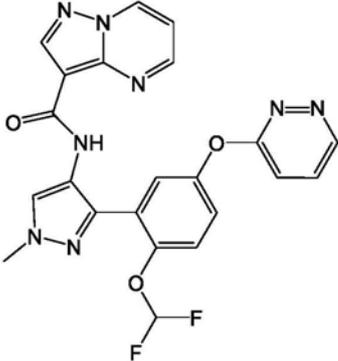
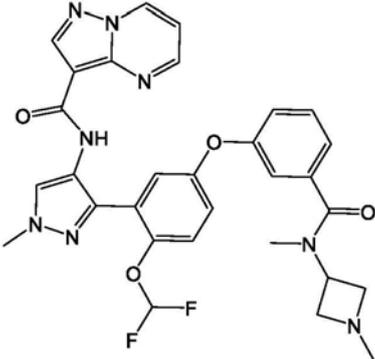
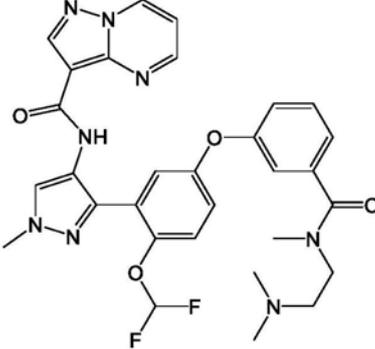
193		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(3-羟基-1-甲基-3-哌啶基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
[0550] 194		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(3-羟基-1-甲基-3-哌啶基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
195		N-[3-[2-双(二氟甲氧基)-5-(1-甲磺酰基吡唑-4-基)氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

196		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(4-羟基-1-甲基-氮杂环庚烷-4-基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
[0551] 197		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(4-羟基-1-甲基-氮杂环庚烷-4-基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
198		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[[1-[2-(二甲基氨基)乙基]-3-羟基-氮杂环丁烷-3-基]甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0552]

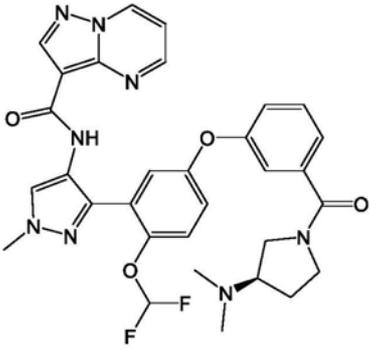
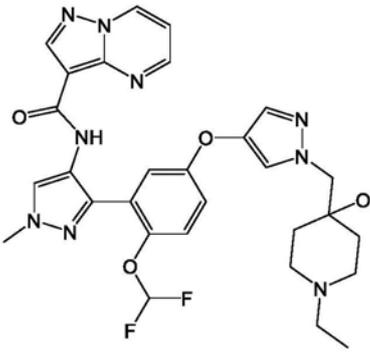
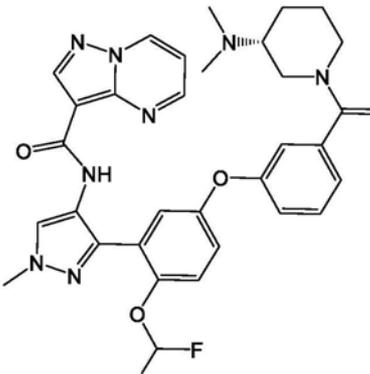
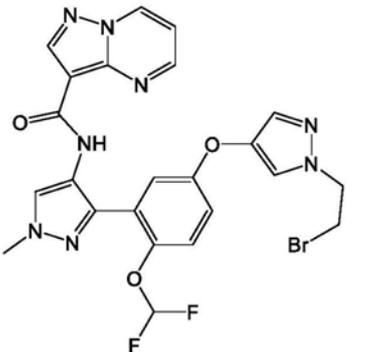
199		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(3-羟基奎宁环-3-基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
200		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(3-羟基奎宁环-3-基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
201		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(3-羟基-1-异丙基-氮杂环丁烷-3-基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
202		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-哒嗪-4-基氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

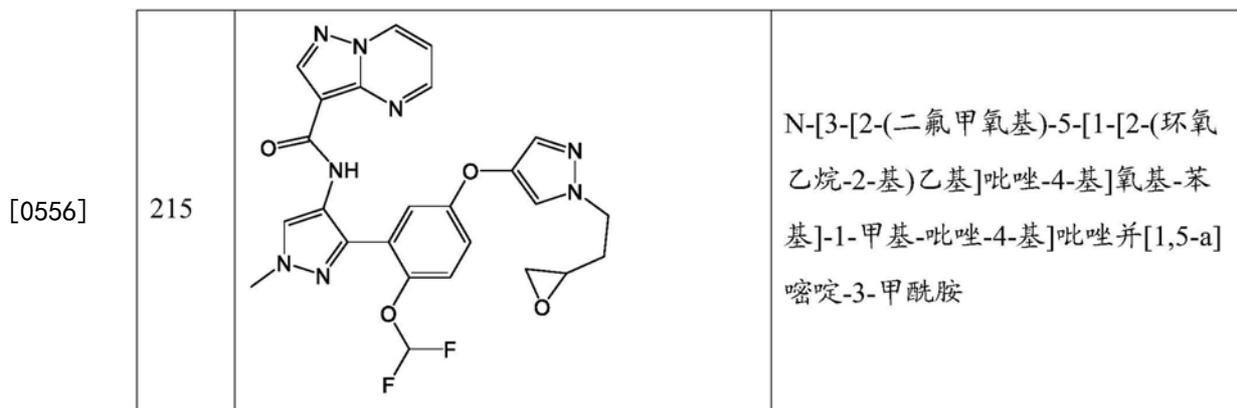
[0553]

203		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-(1-甲基-4-哌啶基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
204		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-哒嗪-3-基氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
205		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[甲基-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)氨基甲酰基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
206		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[2-(二甲基氨基)乙基-甲基-氨基甲酰基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0554]

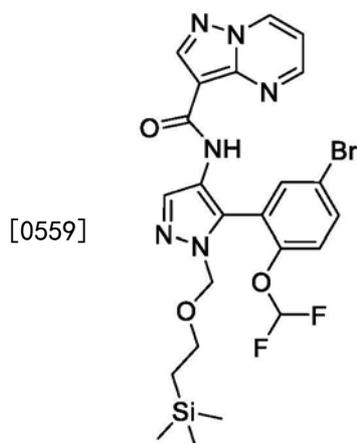
207		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(1-乙基-3-羟基-氮杂环丁烷-3-基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
208		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(3-羟基-1-甲基-氮杂环丁烷-3-基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-乙基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
209		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(4-羟基-1-异丙基-4-哌啶基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
210		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[外消旋-(3R)-3-(二甲基氨基)吡咯烷-1-羰基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

211		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[外消旋-(3S)-3-(二甲基氨基)吡咯烷-1-羰基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
212		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-[(1-乙基-4-羟基-4H-吡啶基)甲基]吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
[0555] 213		N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[外消旋-(3R)-3-(二甲基氨基)哌啶-1-羰基]苯氧基]苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺
214		N-[3-[5-[1-(2-溴乙基)吡唑-4-基]氧基-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺



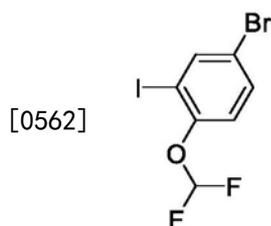
[0557] 表1

[0558] 中间体1



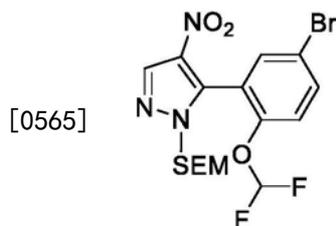
[0560] N-(5-(5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0561] 步骤1:4-溴-1-(二氟甲氧基)-2-碘苯的合成



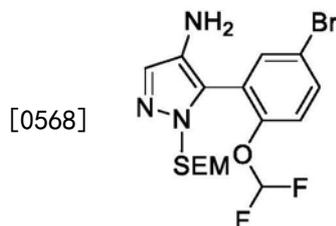
[0563] 向4-溴-2-碘苯酚(282g,943mmol)在N,N-二甲基甲酰胺(2000mL)和水(500mL)中的溶液中添加2-氯-2,2-二氟乙酸钠(216g,1.42mol)和碳酸铯(617g,1.89mol)。反应容器配有用于释放CO<sub>2</sub>的气体出口。所得混合物在120°下搅拌过夜,冷却至室温,并倒入冰水(3000mL)中。用乙酸乙酯(3x1500 mL)对所得溶液进行萃取,并将有机层混合。用盐水(1000mL)洗涤乙酸乙酯提取物,经无水硫酸钠干燥并减压浓缩。残渣通过硅胶快速色谱纯化,用乙酸乙酯/石油醚(1/10)洗脱,得到300g(91%)的4-溴-1-(二氟甲氧基)-2-碘苯,为黄色油。<sup>1</sup>H NMR(300MHz,CDC1<sub>3</sub>) δ7.96(dd,J=5.7Hz,2.4Hz,1H),7.45(dd,J=8.7Hz,2.4Hz,1H),7.03(d,J=8.7Hz,1H),6.39(t,J=72.9Hz,1H)。

[0564] 步骤2:5-[5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基]-4-硝基-1-[[2-(三甲基硅基)乙氧基]甲基]-1H-吡唑的合成



[0566] 向4-硝基-1-[[2-(三甲基硅基)乙氧基]甲基]-1H-吡唑(100g,411mmol)在无水THF(1000mL)的溶液滴加至LiHMDS(490mL,在THF中1.0mol/L)溶液中,并在-70℃氮气下搅拌。将所得溶液在-50℃下搅拌1h,然后冷却至-70℃。在-70℃下滴加ZnCl<sub>2</sub>(500mL,在THF中0.7mol/L)。将所得溶液加热至室温,并在室温下搅拌1h。向混合物中添加4-溴-1-(二氟甲氧基)-2-碘苯(150g,860mmol)、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(24.0g,20.8mmol)。所得溶液在回流温度下加热过夜,冷却至室温,并减压浓缩。这个规模的反应再重复一次,将两次运行的粗产物合并进行纯化。将残余物通过硅胶快速色谱法纯化,用乙酸乙酯/石油醚(1/20)洗脱。合并适当的级分并在减压下浓缩。这导致300g(79%)的5-[5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基]-4-硝基-1-[[2-(三甲基硅基)乙氧基]甲基]-1H-吡唑,全部为淡黄色固体。<sup>1</sup>H NMR(300MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ 8.27(s,1H),7.68(dd,J=8.7,2.4Hz,1H),7.62(d,J=2.4Hz,1H),7.19(d,J=8.4Hz,1H),6.39(t,J=72.5Hz,1H),5.44-5.19(m,2H),3.72-3.54(m,2H),0.94-0.89(m,2H),0.02(s,9H)。

[0567] 步骤3:5-(5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-((2-(三甲基硅基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-胺的合成



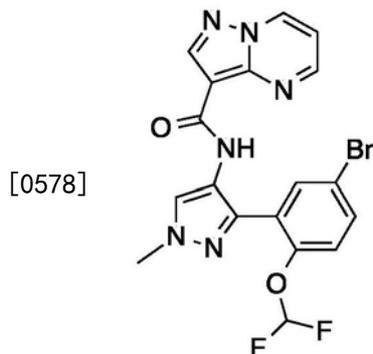
[0569] 向5-(5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基)-4-硝基-1-((2-(三甲基硅基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑(50.1g,108mmol)在乙醇(2000mL)和水(200mL)中的溶液中添加铁粉(60.1g,1.07mol)和NH<sub>4</sub>Cl(28.0g,0.523mol)。将反应混合物在回流温度下在氮气下搅拌3h。过滤出固体,并用乙醇(100mL)清洗。在减压条件下浓缩滤液。将残余物溶解在3000mL乙酸乙酯中。用1x500 mL盐水洗涤乙酸乙酯溶液,经无水硫酸钠干燥并减压浓缩,得到50.1g粗5-(5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-((2-(三甲基硅基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-胺,为黄色油。将该粗产物用于下一步,而不经进一步纯化。LC/MS(方法G,ESI):[M+H]<sup>+</sup>=434.2,R<sub>T</sub>=0.93min。

[0570] 步骤4:N-(5-(5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成



1H), 7.80 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.72 (dd, J=8.8, 2.4Hz, 1H), 7.37 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.23 (dd, J=7.0, 4.2Hz, 1H), 6.81 (t, J=73.2Hz, 1H) .

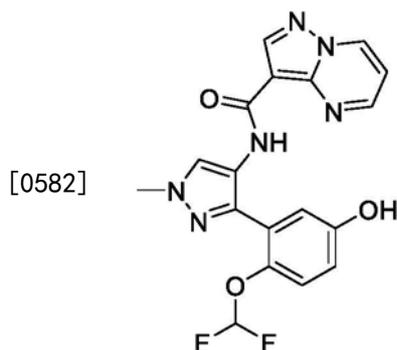
[0577] 中间体3



[0579] N-[3-[5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

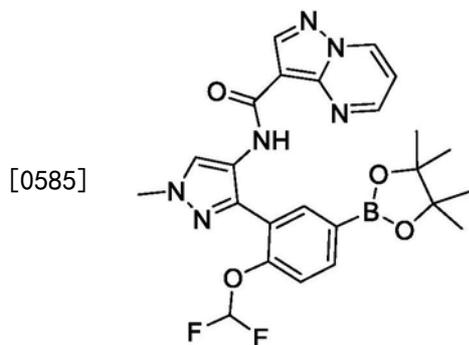
[0580] 在室温向N-[5-[5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-[[2-(三甲基硅基)乙氧基]甲基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(中间体1, 10.1g, 17.3mmol)在二氯甲烷(200mL)中的溶液中添加 $\text{Me}_3\text{OBF}_4$  (2.81g, 18.9mmol)。将所得溶液在室温下搅拌2小时。然后向反应混合物中添加10mL EtOH, 并将反应混合物搅拌1h, 向该溶液中添加5.0mL HCl (浓度) 并搅拌1h。所得混合物在真空下浓缩。用碳酸氢钠(20%)将溶液的pH值调整为8。用3x300 mL乙酸乙酯提取所得溶液, 合并有机层, 并经无水硫酸钠干燥, 然后在真空下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上, 用乙酸乙酯/石油醚r (80%)洗脱, 得到5.5g (69%)的N-[3-[5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺, 为淡黄色固体。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 9.86 (s, 1H), 8.80 (dd, J=7.0, 1.6Hz, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.60 (dd, J=4.2, 1.6Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.85 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.58 (dd, J=8.4, 2.4Hz, 1H), 7.24 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.02 (dd, J=7.0, 4.2Hz, 1H), 6.49 (t, J=74.0Hz, 1H), 4.01 (s, 3H) .

[0581] 中间体4



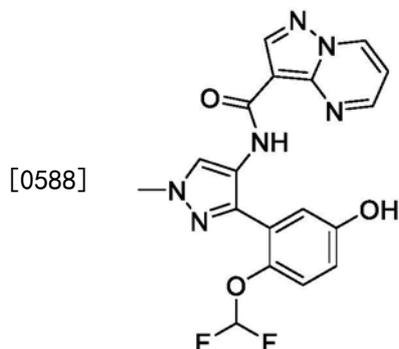
[0583] N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-羟基苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0584] 步骤1:N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成



[0586] 将N-[3-[5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(中间体3,1000mg,2.16mmol)、4,4,5,5-四甲基-2-(四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-1,3,2-二氧杂环戊硼烷(824mg,3.25mmol,1.50当量)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(176mg,0.216mmol,0.100当量)、DPPF(119mg,0.215mmol,0.100当量)、醋酸钾(636mg,6.48mmol,3.00当量)和二噁烷(18mL)放置在30-mL密封管中,其在氮气惰性气氛下吹扫并保持。将所得混合物在110℃下搅拌过夜,然后在真空下浓缩。残余物通过硅胶柱纯化,用乙酸乙酯/石油醚(60:40)进行洗脱。这得到965mg(88%)的N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺,为淡黄色固体。LC/MS(方法H,ESI):[M+H]<sup>+</sup>=511.2,R<sub>T</sub>=1.31min.

[0587] 步骤2:N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-羟基苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成

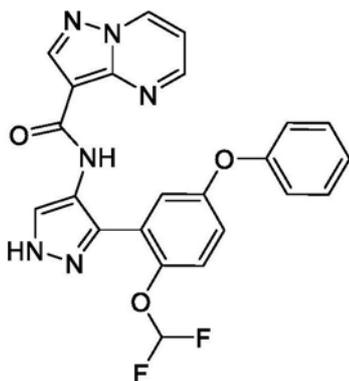


[0589] 在100mL圆底瓶中,放置N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-(四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(965mg,1.89mmol)、四氢呋喃(10mL)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(0.5mL,21.5mmol)。所得溶液在室温下搅拌过夜,然后在真空下浓缩。这得到680mg(90%)的N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-羟基苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺,为灰色固体。LC/MS(方法H,ESI):[M+H]<sup>+</sup>=401.1,R<sub>T</sub>=1.04min.

[0590] 实例

[0591] 实例1

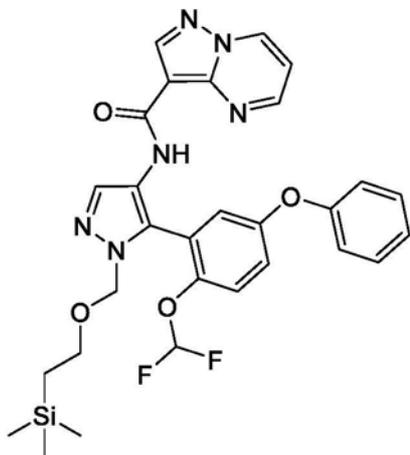
[0592]



[0593] N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基苯基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0594] 步骤1:N-(5-(2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基苯基)-1-((2-(三甲基硅基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成

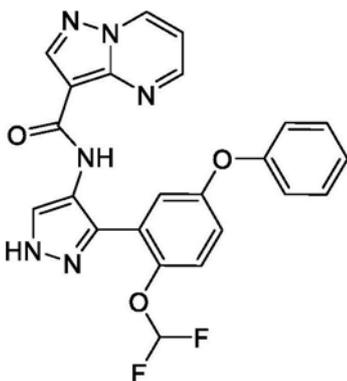
[0595]



[0596] 将N-(5-(5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-((2-(三甲基硅基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(中间体1,100mg,0.173mmol)、苯酚(32.5mg,0.345mmol,2.00当量)、[PdCl(烯丙基)]<sub>2</sub>(6.31mg,0.017mmol,0.10当量)、RockPhos(16.2mg,0.035mmol,0.20当量)、碳酸铯(84.3mg,0.26mmol,1.50当量)、甲苯(2mL)放置在10-mL圆底烧瓶中,其在氮气惰性气氛下吹扫并保持。将所得溶液在油浴中于100℃下搅拌14h。将所得混合物在真空下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上,用乙酸乙酯/石油醚(1:1)洗脱。这得到100mg(98%)的N-(5-(2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基苯基)-1-((2-(三甲基硅基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺,为黄色固体。LC/MS(方法J,ESI):[M+H]<sup>+</sup>=593.3,R<sub>T</sub>=1.35min.

[0597] 步骤2:N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基苯基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成。

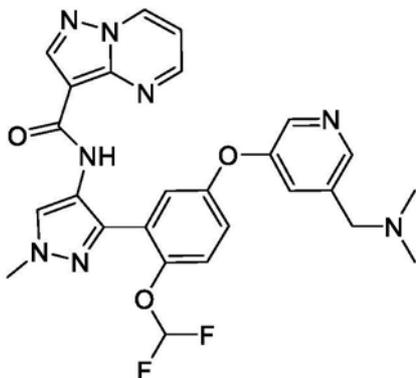
[0598]



[0599] 将N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基苯基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(100mg,0.169mmol)、三氟乙酸(2mL)和二氯甲烷(8mL)放置在25mL圆底瓶中。将所得溶液在室温下搅拌30min,并在真空下浓缩。通过Flash-Prep-HPLC在以下条件下(IntelFlash-1)纯化粗产物:色谱柱,C18硅胶;流动相,在14min内从CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O=30:70增加到CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O=70:30;检测器,UV 254nm。这得到28.5mg(37%)的N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-苯氧基苯基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺,为淡黄色固体。LC/MS(方法G,ESI):[M+H]<sup>+</sup>=463.2,R<sub>T</sub>=0.86min。<sup>1</sup>H NMR(300MHz,CD<sub>3</sub>OD)δ9.14-9.12(m,1H),8.69-8.65(m,2H),8.28-8.26(m,1H),7.45-7.42(m,1H),7.33-7.04(m,8H),6.72(t,J=73.7Hz,1H)。

[0600] 实例133

[0601]

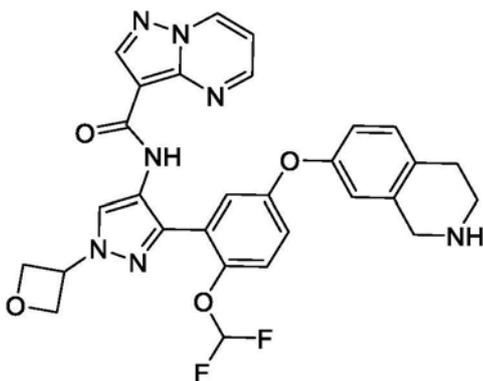


[0602] N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((5-(二甲基氨基)甲基)吡啶-3-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0603] 将N-[3-[5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(中间体3,300mg,0.648mmol)、5-[(二甲基氨基)甲基]吡啶-3-醇(197mg,1.30mmol)、[PdCl(烯丙基)]<sub>2</sub>(9.48mg,0.026mmol)、RockPhos(30.4mg,0.065mmol)、碳酸铯(422mg,1.30mmol)和甲苯(13mL)添加到100mL圆底烧瓶中,并用氮气脱气5min。反应混合物在100℃下搅拌过夜,然后在真空下浓缩。通过反相HPLC纯化粗产物,得到标题化合物(39.0mg,0.071mmol,收率10.9%),为白色固体。LC/MS(方法W,ESI):[M+H]<sup>+</sup>=535.2,R<sub>T</sub>=1.04min。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ9.73(s,1H),9.35(dd,J=7.0,1.6Hz,1H),8.80-8.51(m,2H),8.41-8.09(m,3H),7.47(d,J=8.9Hz,1H),7.40-6.96(m,5H),3.89(s,3H),3.39(s,2H),2.10(s,6H)。

[0604] 实例157

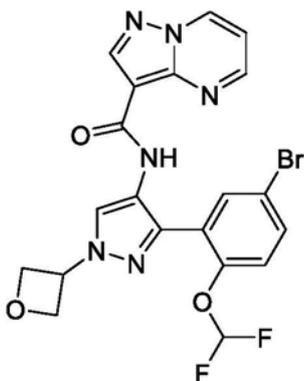
[0605]



[0606] N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基)氧基)苯基)-1-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0607] 步骤1:N-(3-(5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成

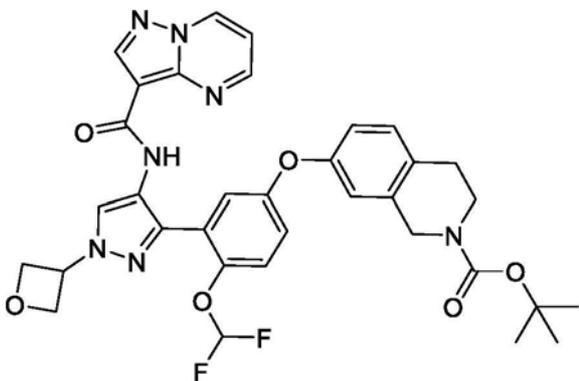
[0608]



[0609] 将N-[3-[5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基]-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(中间体2,200mg,0.445mmol)、N,N-二甲基甲酰胺(8mL)、碳酸铯(403mg,1.24mmol,3.0当量)、3-碘氧烷(97.3mg,0.529mmol,1.2当量)放入25mL圆底烧瓶中。将所得溶液在60℃搅拌4h。将反应混合物真空浓缩。将残余物施加到硅胶柱上,用二氯甲烷/甲醇(10:1)进行洗脱。这得到187mg(83%)的N-(3-(5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺,为黄色固体。LC/MS(方法J,ESI): $[M+H]^+=505.1\&507.1$ , $R_T=1.03\text{min}$ 。

[0610] 步骤2. 7-(4-(二氟甲氧基)-3-(1-(氧杂环丁烷-3-基)-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)苯氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸叔丁酯的合成

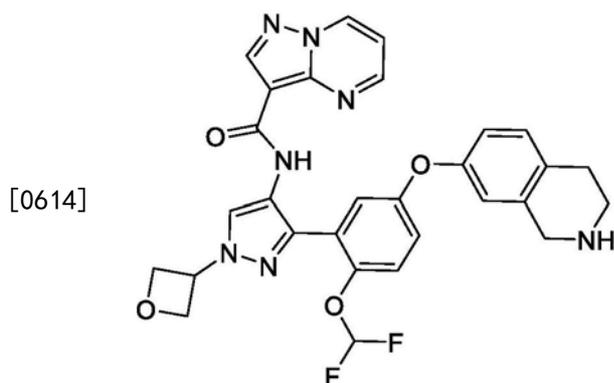
[0611]



[0612] 将N-[3-[5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基]吡

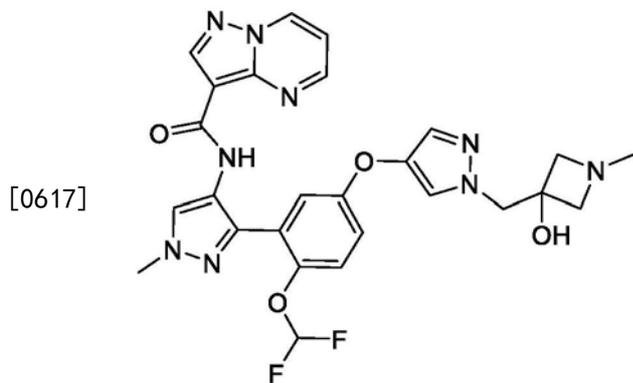
唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺 (187mg, 0.37mmol)、甲苯 (10mL)、Pd<sub>2</sub>(烯丙基)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6.8mg, 0.019mmol, 0.050当量)、t-BuBrettPhos (17.9mg, 0.037mmol, 0.10当量)、碳酸铯 (145mg, 0.45mmol, 1.2当量)、7-羟基-1,2,3,4-四氢异喹啉-2-甲酸叔丁酯 (111mg, 0.45mmol, 1.2当量) 放入30-mL密封管中。将所得溶液在100℃下搅拌过夜。将所得混合物在真空下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上,用乙酸乙酯/石油醚(1:1)洗脱。这得到125mg (50%) 的7-(4-(二氟甲氧基)-3-(1-(氧杂环丁烷-3-基)-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)苯氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸叔丁酯,为黄色固体。LC/MS (方法H,ESI): [M+H]<sup>+</sup> = 674.4, R<sub>T</sub> = 1.40min.

[0613] 步骤3.N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基)氧基)苯基)-1-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成



[0615] 将7-(4-(二氟甲氧基)-3-(1-(氧杂环丁烷-3-基)-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)苯氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸叔丁酯 (150mg, 0.223mmol)、氯化氢(在二噁烷中4M, 1mL) 和1,4-二噁烷 (4mL) 放置在25mL圆底烧瓶中。将所得溶液在室温下搅拌1小时。将所得混合物在真空下浓缩。这得到120mg (94%) 的N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基)氧基)苯基)-1-(氧杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺,为黄色固体。LC/MS (方法A,ESI): [M+H]<sup>+</sup> = 574.3, R<sub>T</sub> = 1.30min. <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 9.11 (dd, J = 7.2, 1.8Hz, 1H), 8.67-8.64 (m, 2H), 8.41 (s, 1H), 7.40 (d, J = 8.8Hz, 1H), 7.25-7.21 (m, 2H), 7.17-7.14 (m, 1H), 7.08-6.51 (m, 3H), 5.62-5.57 (m, 1H), 5.12-5.08 (m, 4H), 3.89 (s, 2H), 3.10-3.06 (m, 2H), 2.82-2.80 (m, 2H).

[0616] 实例128

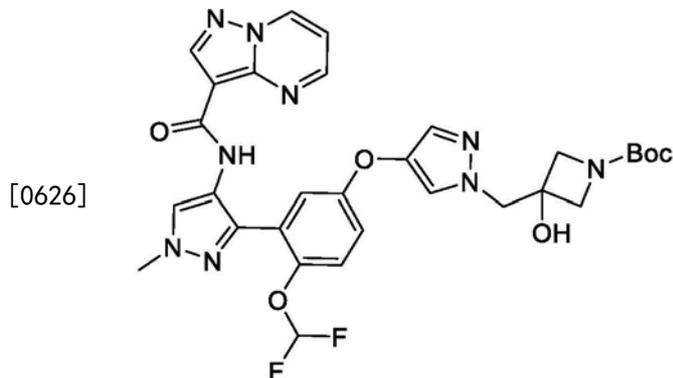


[0618] N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-((2-(三甲基硅基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺



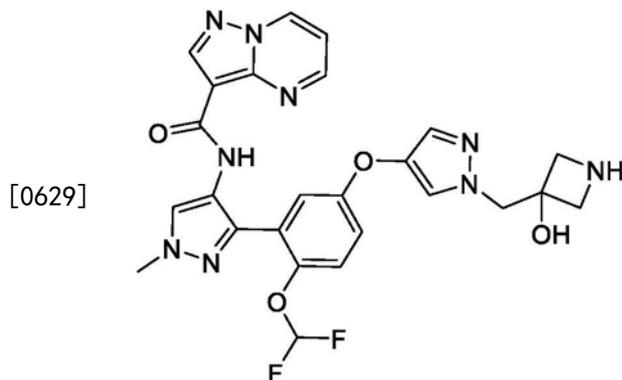
苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(95.3g,65.6%),为灰白色固体。<sup>1</sup>H NMR:DMSO 400MHz $\delta$ 12.83(s,1H),9.74(s,1H),9.35-9.33(m,1H),8.68-8.66(m,2H),8.27-7.81(s,1H),7.48-7.41(s,1H),7.38-7.31(s,1H),7.29-7.28(m,1H),7.17-6.90(m,4H).LC/MS(方法I,ESI):[M+H]<sup>+</sup>=467.3,R<sub>T</sub>=0.91min.

[0625] 步骤3:3-((4-(4-(二氟甲氧基)-3-(1-甲基-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)苯氧基)-1H-吡唑-1-基)甲基)-3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯



[0627] 在室温下,向N-(3-(5-((1H-吡唑-4-基)氧基)-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(850mg,1.82mmol)、1-氧杂-5-氮杂螺环[2.3]己烷-5-甲酸叔丁酯(675mg,3.65mmol)在甲醇(12mL)的溶液中,添加DIEA(706mg,5.47mmol)。将所得溶液在80℃搅拌过夜。通过反相色谱法(在水中的乙腈0-50/0.05% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)纯化所得残留物,得到3-((4-(4-(二氟甲氧基)-3-(1-甲基-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)苯氧基)-1H-吡唑-1-基)甲基)-3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(837mg,1.28mmol,70.5%收率),为黄色固体。LC/MS(方法H,ESI):[M+H]<sup>+</sup>=652.3,R<sub>T</sub>=1.20min.

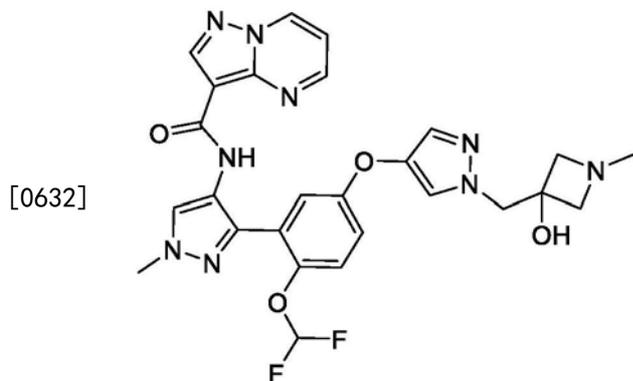
[0628] 步骤4:N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-((3-羟基氮杂环丁烷-3-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺



[0630] 在室温下向3-((4-(4-(二氟甲氧基)-3-(1-甲基-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)苯氧基)-1H-吡唑-1-基)甲基)-3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(737mg,1.13mmol)的溶液,添加在己氟-2-丙醇(5.0mL,1.13mmol)中的三氟乙酸(84mg,0.73mmol)。将所得溶液在30℃下搅拌两天。通过反相色谱法(水中的乙腈0-40/0.05% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)纯化所得残留物,得到N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-((3-羟基氮杂环丁烷-3-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

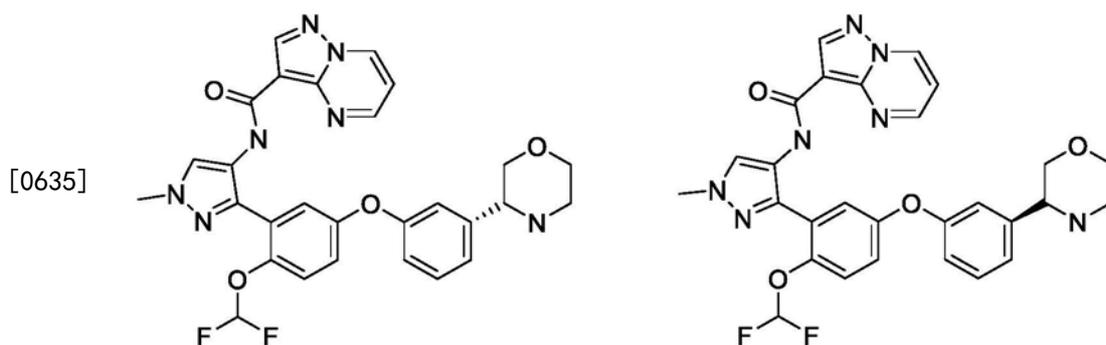
(1.11g), 为白色固体。LC/MS (方法N, ESI):  $[M+H]^+ = 552.3$ ,  $R_t = 1.11$  min.  $^1H$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.75 (s, 1H), 9.35 (dd,  $J = 6.9, 1.5$  Hz, 1H), 8.67-8.65 (m, 2H), 8.27 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.41-6.84 (m, 6H), 5.67 (s, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.34-3.17 (m, 5H).

[0631] 步骤5: N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-(3-羟基-1-甲基氮杂环丁烷-3-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺



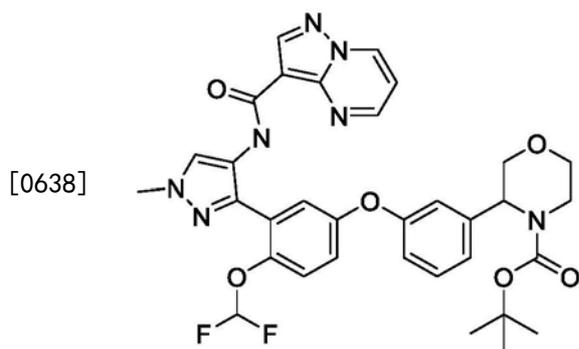
[0633] 在室温下向N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的溶液(950mg, 1.72mmol), 添加在甲醇(24mL)中的HCHO/H<sub>2</sub>O(1.79g, 1.72mmol)。将所得溶液搅拌2h。然后加入三乙酰氧基硼氢化钠(5.04g, 1.72mmol)。将反应混合物在室温搅拌2h, 并且在真空中浓缩。将所得粗产物通过反相色谱法(在水中的乙腈0-45/0.1%NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)纯化, 得到所需产物, 为白色固体(864.1mg)。在55°C下搅拌2h, 然后在室温下搅拌3天, 固体从环己烷/异丙醇=3/1(60mL)中重新结晶。过滤后, 得到N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-(3-羟基-1-甲基氮杂环丁烷-3-基)甲基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(836.6mg, 1.4793mmol, 85.9%收率), 为白色固体。LC/MS (方法A, ESI):  $[M+H]^+ = 566.3$ ,  $R_t = 1.21$  min.  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.74 (s, 1H), 9.34 (dd,  $J = 7.2, 1.6$  Hz, 1H), 8.67-8.65 (m, 2H), 8.27 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.41-6.90 (m, 6H), 5.60 (s, 1H), 4.22 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.37-3.31 (m, 2H), 2.75-2.73 (m, 2H), 2.20 (s, 3H).

[0634] 实例32和33



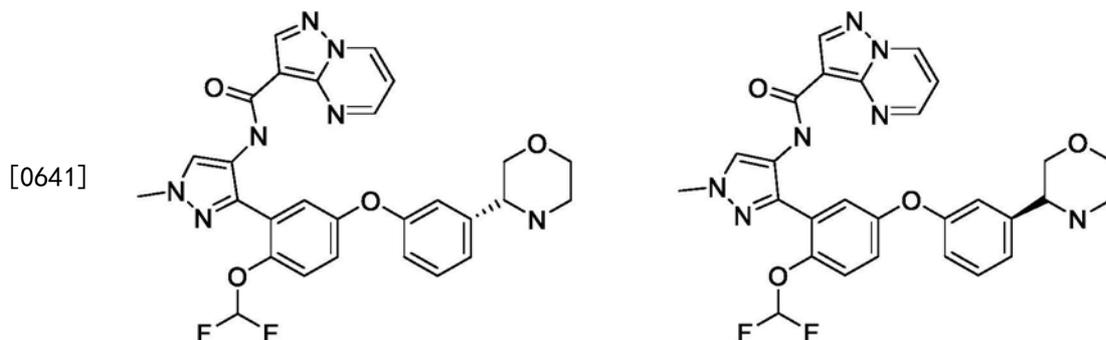
[0636] (N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[(3R)-吗啉-3-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺和(N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[(3S)-吗啉-3-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0637] 步骤1. 3-(3-(4-(二氟甲氧基)-3-(1-甲基-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)苯氧基)苯基)吗啉-4-甲酸叔丁酯的合成



[0639] 将甲苯(10mL)、N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-羟基苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(中间体4,400mg,1.00mmol)、3-(3-溴苯基)吗啉-4-甲酸叔丁酯(410mg,1.2mmol,1.20当量)、[PdCl(烯丙基)]<sub>2</sub>(7.31mg,0.020mmol,0.02当量)、RockPhos(18.7mg,0.040mmol,0.040当量)、碳酸铯(651mg,2.0mmol,2.0当量)放置在30-mL密封管中,其在氮气惰性气氛下吹扫并保持。将所得溶液在油浴中于90℃下搅拌14h。将所得混合物在真空下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上,用二氯甲烷/甲醇(10:1)进行洗脱。这得到200mg(30%)的3-[3-[4-(二氟甲氧基)-3-(1-甲基-4-[吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-氨基]-1H-吡唑-3-基)苯氧基]苯基]吗啉-4-甲酸叔丁酯,为浅黄色固体。

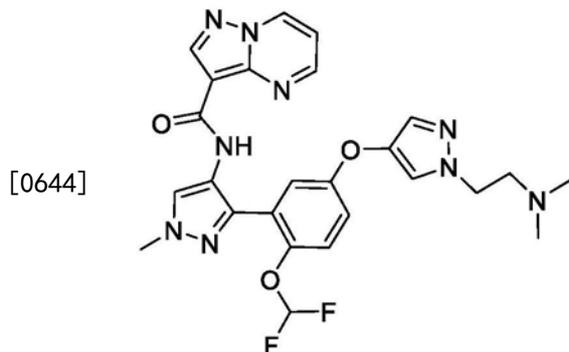
[0640] 步骤2. (N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[(3R)-吗啉-3-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺和(N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[(3S)-吗啉-3-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成



[0642] 将氯化氢/二噁烷(4M,3mL)、3-[3-[4-(二氟甲氧基)-3-(1-甲基-4-[吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-氨基]-1H-吡唑-3-基)苯氧基]苯基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(200mg,0.302mmol)放置在25mL圆底瓶中。将所得溶液在室温下搅拌2小时。将所得混合物在真空下浓缩。通过Prep-HPLC在以下条件下纯化粗产物:(2#-AnalyseHPLC-SHIMADZU(HPLC-10)):色谱柱,XBridge Prep C18 OBD色谱柱,19\*150mm 5 $\mu$ m 13nm;流动相,10mmol NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>水溶液和ACN(24.0%ACN,在8min内增加至高达42.0%);检测器,UV220nm。利用手性制备型HPLC纯化外消旋产物,所用条件如下(Prep-HPLC-009):色谱柱,CHIRALPAK-AD-H-SL001,20\*250mm;流动相,Hex和IPA(在50min内保持50.0%IPA);检测器,UV 254/220nm。这得到(N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[(3R)-吗啉-3-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(峰值1,11.4mg,7%收率),为白色固体,和(N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-[(3S)-吗啉-3-基]苯氧基]苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(峰值2,8.4mg,5%收率),为白色固体,具有任意的立体化学赋值。<sup>1</sup>H NMR(300MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 9.74(s,1H),9.35(dd,J=6.9,1.5Hz,1H),8.68-8.66(m,2H),8.26(s,1H),7.45-6.90(m,

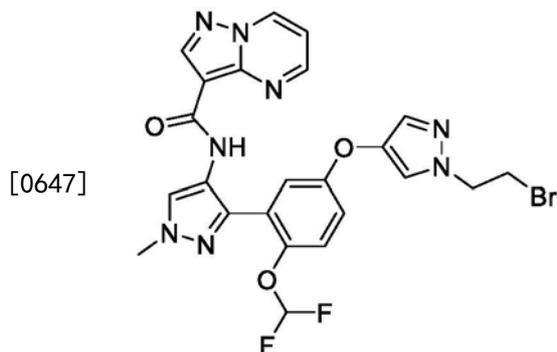
9H), 3.89 (s, 3H), 3.76-3.68 (m, 3H), 3.32 (m, 1H), 3.09 (m, 1H), 2.82-2.80 (m, 2H), 1.24 (m, 2H), 0.88-0.83 (m, 1H). LC/MS (方法E, ESI):  $[M+H]^+ = 562.3$ ,  $R_T = 2.73$  min.

[0643] 实例73



[0645] N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-(2-(二甲基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0646] 步骤1:N-(3-(5-((1-(2-溴乙基)-1H-吡唑-4-基)氧基)-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成



[0648] 将N-(3-(5-((1H-吡唑-4-基)氧基)-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(200mg, 0.429mmol)、N,N-二甲基甲酰胺(15mL)、碳酸铯(700mg, 2.15mmol, 5.00当量)、1,2-二溴乙烷(1.6g, 8.52mmol, 20.000当量)放入30-mL密封管中。将所得溶液在油浴中于60℃下搅拌3h。将所得混合物在真空下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上,用乙酸乙酯/石油醚(100%EA)洗脱。这得到180mg(73%)的N-(3-(5-((1-(2-溴乙基)-1H-吡唑-4-基)氧基)-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺,为黄色油。LC/MS(方法J, ESI):  $[M+H]^+ = 573.2$  &  $575.2$ ,  $R_T = 1.00$  min.

[0649] 步骤2:N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-(2-(二甲基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成

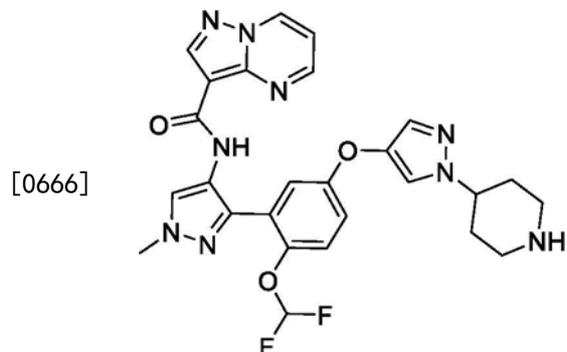
[0650] 将N-[3-(5-[[1-(2-溴乙基)-1H-吡唑-4-基]氧基]-2-(二氟甲氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(180mg, 0.314mmol, 1.000当量)、 $CH_3CN$ (14mL, 266mmol)、DIEA(203mg, 1.57mmol, 5.00当量)、二甲胺盐酸盐(76.5mg, 0.94mmol, 3.00当量)放入30-mL密封管中。将所得溶液在油浴中于70℃下搅拌3h。将所得混合物在真空下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上,用二氯甲烷/甲醇(85:15)进行洗脱。通过Flash-Prep-HPLC在以下条件下(IntelFlash-1)纯化粗产物(120mg):硅胶柱;流动相,  $ACN/H_2O$  (10mmol  $NH_4HCO_3$ ) = 15%, 在8min内增加到37%;检测器, UV 254nm。这得到34.9mg(21%)的





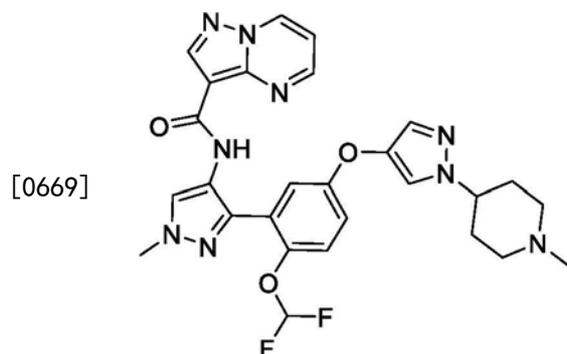
(4-(二氟甲氧基)-3-(1-甲基-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)苯氧基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(96.4mg),为白色固体。LC/MS(方法H,ESI): $[M+H]^+$ =467.2, $R_T=1.09\text{min}$ 。

[0665] 步骤2.N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成



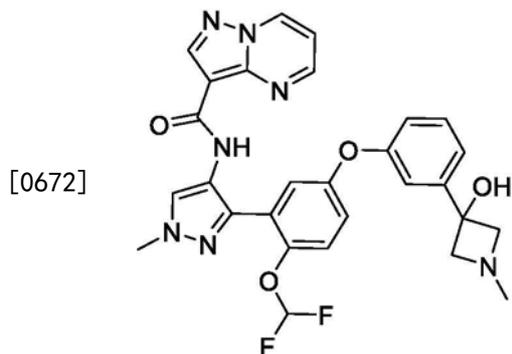
[0667] 在室温下向4-[4-[4-(二氟甲氧基)-3-[1-甲基-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)吡唑-3-基]苯氧基]吡唑-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(96.4mg,0.150mmol)在二氯甲烷(5mL)中的溶液,添加三氟乙酸(1.0mL,0.150mmol)。将所得溶液在室温下搅拌4h,并在真空下浓缩。粗产物直接使用而不经进一步纯化。

[0668] 步骤3.N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成



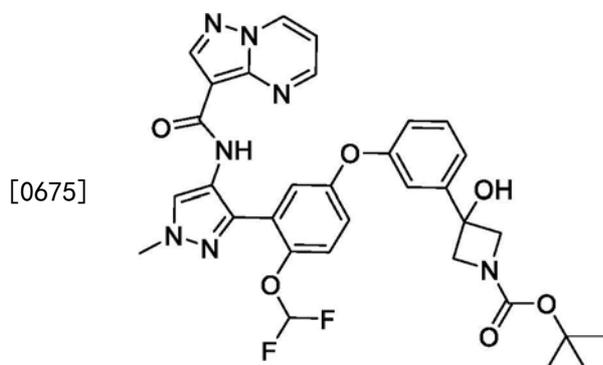
[0670] 在室温下添加N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[1-(4-哌啶基)吡唑-4-基]氧基-苯基]-1-甲基-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(150mg,0.270mmol)、HCHO/H<sub>2</sub>O(360mg,12.0mmol)在甲醇(6mL)中的溶液。将所得溶液在rt搅拌2h。然后添加三乙酰氧基硼氢化钠(1.1mg,0.01mmol)并在室温下搅拌2h。将反应混合物在真空下浓缩。通过反相色谱法纯化所得残余物;色谱柱:XBridge Prep OBD C18色谱柱,19\*250mm,5 $\mu\text{m}$ ;流动相A:水(10mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>),流动相B:EtOH;流速:25mL/min;梯度:在10min内40B至64B,得到N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(47.2mg,0.084mmol,30.6%收率),为白色固体。LC/MS(方法A,ESI): $[M+H]^+$ =564.3, $R_T=1.23\text{min}$ 。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 9.73(s,1H),9.34(dd,J=7.2,1.6Hz,1H),8.66-8.65(m,2H),8.27(s,1H),7.87(s,1H),7.41-7.40(m,2H),7.28(dd,J=7.2,4.4Hz,1H),7.17-6.89(m,3H),4.04-3.98(m,1H),3.90(s,3H),2.83-2.80(m,2H),2.18(s,3H),2.03-1.87(m,6H)。

[0671] 实例79



[0673] N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-(3-(3-羟基-1-甲基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

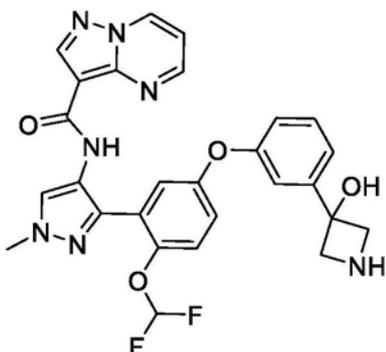
[0674] 步骤1:3-(3-(4-(二氟甲氧基)-3-(1-甲基-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)苯氧基)苯基)-3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯的合成



[0676] 将N-[3-[5-溴-2-(二氟甲氧基)苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(中间体3,462mg,1.00mmol)、3-羟基-3-(3-羟基苯基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(549mg,2.07mmol,2.07当量)、[PdCl(烯丙基)]<sub>2</sub>(41.1mg,0.112mmol,0.113当量)、t-BuBrettPhos(98.1mg,0.202mmol,0.203当量)、碳酸铯(395mg,1.21mmol,1.22当量)和甲苯(15mL)放置在30-mL密封管中,其在氮气惰性气氛下吹扫并保持。将所得溶液在油浴中于100℃下搅拌12h。将反应混合物带至室温,并通过过滤去除固体。滤液在真空下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上,用乙酸乙酯/石油醚(10:1)洗脱。这得到3-(3-(4-(二氟甲氧基)-3-(1-甲基-4-(吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺基)-1H-吡唑-3-基)苯氧基)苯基)-3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯,为黄绿色固体。LC/MS(方法I,ESI):[M+H]<sup>+</sup>=648.3,R<sub>T</sub>=1.18min.

[0677] 步骤2:N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-(3-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成

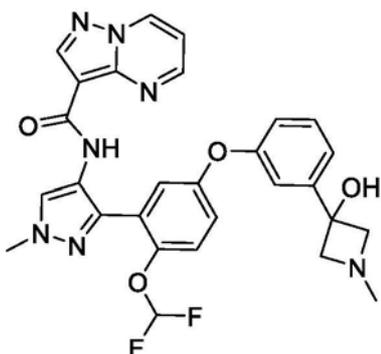
[0678]



[0679] 将3-[3-[4-(二氟甲氧基)-3-(1-甲基-4-[吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-氨基]-1H-吡唑-3-基)苯氧基]苯基]-3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.15g,1.78mmol)、二氯甲烷(20mL)和三氟乙酸(4mL)放入50mL圆底烧瓶中。将所得溶液在室温下搅拌2小时,并在真空下浓缩。这得到1.21g(粗)N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺,为固体,其无需进一步纯化即可使用。LC/MS(方法G,ESI): $[M+H]^+=548.3$ , $R_T=0.69$ min.

[0680] 步骤3:N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-(3-(3-羟基-1-甲基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺的合成

[0681]



[0682] 将N-[3-[2-(二氟甲氧基)-5-[3-(3-羟基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基]苯基]-1-甲基-1H-吡唑-4-基]吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺(1.21g,2.21mmol,1.00当量)在二氯甲烷(20mL)中的溶液、甲醛(0.75mL,30.2mmol,13.7当量)、 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (937mg,4.42mmol,2.00当量)放入50mL圆底烧瓶中。将所得溶液在室温下搅拌18小时。将所得混合物在真空下浓缩。将残余物施加到硅胶柱上,用四氢呋喃/MeOH(10/1)进行洗脱。这得到0.68g(55%)的N-(3-(2-(二氟甲氧基)-5-(3-(3-羟基-1-甲基氮杂环丁烷-3-基)苯氧基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺,为白色固体。LC/MS(方法H,ESI): $[M+H]^+=562.3$ , $R_T=0.69$ min. $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $\delta$ 9.13-9.11(m,1H),8.67-8.65(m,2H),8.25(s,1H),7.44-7.36(m,3H),7.28-7.20(m,4H),7.02-6.97(m,1H),6.73(t, $J=74\text{Hz}$ ,1H),3.98(s,3H),3.73(d, $J=9.2\text{Hz}$ ,2H),3.51-3.50(m,2H).

[0683] 表1中每种化合物的液相色谱-质谱(LCMS)方法、保留时间和 $m/z$ 如表2所示。

[0684] 表2

[0685]

实例	LCMS 方法	保留时间 (min)	m/z
1	K	1.89	463.1
2	E	2.21	478.1
3	E	2.15	492.2
4	是	3.33	561.1
5	K	1.81	561.2
6	K	1.38	492.2
7	K	2.28	492.1
8	K	2.29	502.2

[0686]

9	G	0.61	548
10	T	1.11	548
11	K	1.4	548.2
12	是	1.6	502.1
13	K	1.42	506.2
14	K	1.38	506.2
15	K	1.36	506.2
16	K	1.37	536.2
17	K	1.77	562.3
18	E	2.56	518.2
19	K	1.39	510.2
20	K	1.42	506.2
21	K	2.59	601.3
22	是	3.64	564.2
23	是	2.76	550.2
24	是	1.38	510.1
25	U	3.04	477.1
26	K	2.05	520.2
27	U	1.11	564.3
28	E	2.74	524.2
29	K	1.58	562.3
30	K	1.68	576.3
31	K	2.18	560.3
32	E	2.73	562.3
33	E	2.73	562.3
34	是	1.94	548.4
35	E	1.79	548.4
36	是	1.6	532.2
37	K	1.95	599.3
38	E	2.58	562.3
39	K	1.48	507.2
40	E	2.08	507.2
41	K	2.18	645.4
42	K	1.51	562
43	G	0.76	576.3
44	D	2.08	519.2
45	U	2.53	594.3
46	B	2.55	576.3
47	T	0.85	619.2
48	U	2.49	580.3
49	是	1.61	562.3
50	G	0.99	617.3
51	L	0.86	645.4
52	是	1.63	560.2
53	T	0.95	548.2

[0687]

54	G	0.64	603.4
55	T	0.99	591.3
56	是	1.83	519.2
57	U	2.57	572.3
58	J	0.86	661.4
59	K	1.67	481.2
60	U	2.68	605.3
61	是	1.71	576.2
62	K	2.52	548.3
63	E	2.33	532.2
64	是	1.73	546.2
65	K	1.36	558.3
66	U	2.6	586.3
67	J	1.05	530.2
68	K	1.39	580.3
69	T	0.97	588.2
70	Z	2.38	550.3
71	是	1.7	576.2
72	是	1.51	576.3
73	T	0.93	538.3
74	A	1.32	562.3
75	是	2.28	606.3
76	U	2.58	576.3
77	K	1.29	507.2
78	E	2.66	582.2
79	K	1.44	562.3
80	是	1.38	589.3
81	是	1.5	673.4
82	U	2.73	562.3
83	Z	2.41	675.4
84	K	1.42	603.4
85	K	1.45	617.5
86	K	1.69	603.4
87	A	1.22	532.2
88	A	2.63	548.3
89	是	1.65	663.4
90	U	2.13	607.3
91	K	1.5	568.2
92	K	1.5	647.3
93	K	1.44	606.3
94	K	1.55	606.3
95	Z	2.13	566.3
96	K	1.6	580.3
97	E	2.14	592.3
98	D	2.34	632.3

[0688]

99	D	2.4	582.2
100	K	1.44	604.3
101	D	2.3	562.3
102	D	2.33	576.3
103	D	2.18	566.2
104	K	1.43	580.3
105	K	1.55	616.3
106	K	1.59	630.3
107	否	1.46	594.2
108	S	2.35	576.2
109	A	1.39	588.3
110	D	2.36	602.4
111	D	2.37	580.2
112	A	1.24	562.3
113	A	1.4	511.3
114	A	1.5	523.3
115	A	1.26	536.3
116	E	2.15	522.3
117	A	1.28	575.3
118	A	1.46	537.3
119	A	1.45	537.3
120	A	1.47	525.3
121	A	1.47	525.3
122	否	1.11	552.3
123	A	1.4	536.3
124	A	1.7	539.3
125	否	1.37	537.3
126	D	2.46	510.3
127	A	1.27	550.3
128	E	2.12	566.3
129	A	1.6	562.3
130	A	1.46	534.3
131	D	2.51	534.3
132	A	1.65	517.2
133	X	3.05	535.2
134	A	1.48	537.3
135	T	1.07	537.3
136	A	1.46	520.2
137	W	1.03	534.1
138	X	3.14	548.1
139	A	1.25	536.3
140	A	1.26	550.3
141	A	1.27	550.3
142	A	1.56	590.3
143	D	2.51	481.1

[0689]

144	A	1.26	536.3
145	A	1.33	585.4
146	A	1.32	617.4
147	A	1.64	572.4
148	A	1.32	571.4
149	A	1.59	574.4
150	A	1.3	532.3
151	S	2.22	481.2
152	A	1.53	495.2
153	D	2.52	495.2
154	否	1.2	525.3
155	I	0.95	525.3
156	D	2.66	604.3
157	A	1.31	574.3
158	X	4.56	536.1
159	X	3.99	549.1
160	A	1.41	467.2
161	否	1.4	604.3
162	A	1.31	604.3
163	A	1.31	590.3
164	A	1.31	590.4
165	A	1.31	590.4
166	S	2.43	590.3
167	否	1.43	604.3
168	A	1.35	604.4
169	A	1.3	576.4
170	E	2.42	576.3
171	A	1.3	590.3
172	否	1.29	590.3
173	E	2.37	453.1
174	X	3.69	524.2
175	女	1.53	478.1
176	E	2.03	552.2
177	E	2.03	552.2
178	A	1.21	566.2
179	A	1.21	566.2
180	E	1.96	566.2
181	U	2.2	566.2
182	E	2.03	566.2
183	E	1.99	566.2
184	E	2	580.2
185	E	2	580.2
186	A	1.21	580.2
187	A	1.21	580.2
188	A	1.22	536.2

	189	否	1.78	563.3
	190	否	2.15	563.2
	191	否	1.9	594.3
	192	I	0.99	509.2
	193	E	2.03	594.3
	194	E	2.04	594.2
	195	I	0.98	545.2
	196	E	2.13	608.3
	197	E	2.13	608.2
	198	否	1.41	623.4
	199	E	2.09	606.2
	200	E	2.09	606.3
[0690]	201	A	1.24	594.3
	202	E	2.1	479.2
	203	A	1.23	564.3
	204	E	2.15	479.1
	205	E	2.42	603.2
	206	E	2.55	605.2
	207	B	2.07	580.3
	208	A	1.26	580.3
	209	E	2.28	622.2
	210	A	1.47	617.2
	211	H	1.02	617.2
	212	U	2.66	608.2
	213	A	1.34	631.3
	214	B	1.94	573
	215	B	1.7	536.2

[0691] 表2

[0692] 测定

[0693] 测试剂

[0694] 测试剂样品作为浓度为10mM的二甲基亚砜 (DMSO) 溶液提供,并在使用前在室温下储存在黑暗中。

[0695] JAK1和JAK2生化分析

[0696] 体外生化分析量化合成肽的JAK-催化磷酸化,如使用LabChip<sup>®</sup> EZ Reader II微流控流动位移仪 (PerkinElmer; Waltham, MA) 检测到的。底物肽Y-1B具有序列5-FAM-VALVDGYFRLTT-NH<sub>2</sub>。Y-1B用5-FAM (5-羧基荧光素) 荧光标记在N-末端,并含有一个可通过JAK活性磷酸化的酪氨酸残基 (Y)。底物肽储备物以5mM在DMSO中制备。纯化的重组人JAK1激酶结构域蛋白 (残基854-1154) 在昆虫细胞中表达,并从Proteros Biostructures GmbH (Martinsried, Germany) 采购。重组人JAK2激酶结构域蛋白 (残基812-1132) 在昆虫细胞中表达,并在基因泰克公司 (South San Francisco, CA) 纯化。激酶反应混合物含有100mM 4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸 (HEPES) 缓冲液 (pH 7.2)、10mM氯化镁、0.015% Brij<sup>®</sup> 35、4mM二硫苏糖醇、1.5μM Y-1B肽底物、25μM三磷酸腺苷 (ATP)、1nM总JAK1或0.2nM总JAK2,以及最终

浓度为2% (体积比 [v/v]) DMSO的高达1000nM的试验化合物。在每次滴定试验中,在十二种浓度中的每种浓度下对测试化合物以一式两份的方式进行测试。空白反应含有ATP、肽和DMSO,但不含JAK或测试化合物,而非抑制对照反应含有ATP、肽、JAK和DMSO,但不含测试化合物。

[0697] 将肽加ATP混合物 (24 $\mu$ L) 添加到1 $\mu$ L DMSO (或仅DMSO) 中的测试化合物中。在充分混合所得溶液之前,通过向抑制剂/肽/ATP混合物中添加25 $\mu$ L JAK酶来启动反应。反应在室温 (22 $^{\circ}$ C - 23 $^{\circ}$ C) 下孵育,最终体积为每孔50 $\mu$ L,置于384-孔板中。培养30-分钟后,通过向每个孔中添加25 $\mu$ L 150mM 乙二醇四乙酸 (pH值7.2) 至100mM HEPES缓冲液 (含0.015% Brij 35), 停止反应。

[0698] 在每个反应中,使用EZ Reader II仪器分离残余Y-1B底物和生成的磷酸-肽产物。在-1.3psi的工作压力下,分别使用-500和-2600V的下游和上游电压实现产物分子与底物分子的电泳分离。存在于底物和产物肽上的5-FAM基团在488nm处激发,在530nm处检测到荧光,并报告了峰高。

[0699] 数据分析

[0700] 使用HTS Well Analyzer软件版本5.2 (PerkinElmer) 和以下方程 (方程1), 从电泳图中的相应峰高计算底物转化为产物的程度 (或百分比):

[0701] 反应式1

$$[0702] \quad \% \text{转化率} = [P \div (S+P)] \times 100$$

[0703] 其中S和P分别表示底物和产物的峰高。从所有试验孔的信号中减去不含JAK的空白孔的任何基线信号后,将%转化率数据转化为分数活性,如方程2所示,其中 $v_i$ 和 $v_o$ 分别为存在和不存在测试化合物时的%转化率。在含有JAK和DMSO媒介物但没有测试化合物的非抑制对照反应中观察到的%转化率被定义为具有分数活性=1 (不存在抑制剂, $v_i = v_o$ ), 而不含JAK的空白孔被定义为具有分数活性=0。根据试验化合物浓度绘制分数活性图,并使用XLfit软件 (IDBS; Guildford, United Kingdom) 将数据拟合至紧密-结合表观抑制常数 ( $K_i^{app}$ ) 二次方程 (见方程2) (Williams JW, Morrison JF. The kinetics of reversible tight-binding inhibition. Methods Enzymol 1979; 63: 437-67.), 其用于计算分数活性和  $K_i^{app}$

[0704] 反应式2

$$[0705] \quad \text{分数活性} = \frac{v_i}{v_o} = 1 - \frac{([E]_T + [I]_T + K_i^{app}) - \sqrt{([E]_T + [I]_T + K_i^{app})^2 - 4[E]_T[I]_T}}{2[E]_T}$$

[0706] 其中 $[E]_T$ 和 $[I]_T$ 是活性酶 (JAK1的初始估计值为0.15nM, JAK2的初始估计值为0.048nM) 和抑制剂 (不同参数) 的总浓度。最后,通过应用竞争抑制关系 (方程3), 从 $K_i^{app}$ 计算 $K_i$

[0707] 反应式3

$$[0708] \quad K_i = K_i^{app} / (1 + [ATP] / K_m^{app})$$

[0709] 其中[ATP]是ATP的浓度, = 25 $\mu$ M,  $K_m^{app}$ 是JAK1的表观ATP米氏常数, = 32.1 $\mu$ M,  $K_m^{app}$ 是JAK2的表观ATP米氏常数, 11.7 $\mu$ M。通过应用紧密-结合方程2来解释抑制剂的任何损耗, 以及竞争-抑制关系方程3, 分析的灵敏度至少可以扩展到JAK1的计算 $K_i$ 为0.008nM, 而

JAK2的为0.0015nM。

#### [0710] 激酶选择性

[0711] 在一组重组人激酶活性和结合分析中,在1 $\mu$ M浓度下评估测试药物的体外激酶选择性,包括细胞质和受体酪氨酸激酶、丝氨酸/苏氨酸激酶和脂质激酶(SelectScreen<sup>®</sup>激酶谱分析服务,ThermoFisher Scientific, Madison, WI)。激酶活性分析测量肽磷酸化(Z'-LYTE<sup>®</sup>)或ADP生成(Adapta<sup>®</sup>),而结合分析监测ATP位点结合探针的位移(LanthaScreen<sup>®</sup>)。活性分析中使用的ATP浓度通常在实验测定的每个激酶的表现米氏常数( $K_m^{app}$ )值的2-倍以内,而结合分析中使用的竞争性结合示踪剂浓度通常在实验测定的解离常数( $K_d$ )值的3-倍以内。针对每种激酶对抑制剂进行了两次测试,并报告了平均%抑制值。对于在初始1- $\mu$ M测试浓度下被抑制接近或大于50%的激酶,使用相同的测定进行10点抑制剂滴定,以确定引起50%抑制的抑制剂浓度(IC<sub>50</sub>)。此分析组中使用的JAK1总浓度为75nM。如果100%的75nM JAK1蛋白具有催化活性,则供应商JAK1分析得出的JAK1抑制剂敏感性极限理论上为37.5nM的IC<sub>50</sub>值(总酶浓度的一半)。然而,SelectScreen<sup>®</sup>JAK1分析产生的几种抑制剂的JAK1IC<sub>50</sub>值远低于37.5nM,与我们的内部测定结果一致。因此,SelectScreen<sup>®</sup>分析中的活性JAK1酶浓度必须远低于分析中使用的75nM的总标称JAK1蛋白浓度,且该分析的观察灵敏度远高于37.5nM的理论灵敏度IC<sub>50</sub>限值。

#### [0712] 数据分析

[0713] 为了拟合浓度-酶抑制图中的数据,SelectScreen<sup>®</sup>激酶谱分析<sup>®</sup>服务使用了Xlfit软件(IDBS),型号205(sigmoidal浓度反应模型),-这是一个四-参数逻辑拟合模型,如方程4所述

#### [0714] 反应式4

$$[001] y = A + \{ (B - A) \div [1 + (C \div x)^D] \}$$

[0716] 其中x为抑制剂浓度,y为观察到的抑制百分比,A为最小y-值,B为最大y-值,C为IC<sub>50</sub>值,D为(希尔)斜率。在某些情况下,使用三-参数逻辑拟合。例如,如果无限低抑制剂浓度下的曲线平台不适合-20%至20%之间抑制,则较低的平台设置为0%抑制,而如果无限低抑制剂浓度下的曲线平台不适合70%至130%抑制,则较高的平台设置为100%抑制。

#### [0717] TF-1细胞系磷酸化STAT JAK1和JAK2通路选择性测定

[0718] TF-1人红白血病细胞(ATCC<sup>®</sup>; Manassas, VA; 目录号CRL-2003<sup>TM</sup>) 在Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 培养基中生长,培养基中添加10%热灭活胎牛血清(FBS)、2ng/mL粒细胞巨噬细胞集落刺激因子、1 $\times$ 种非-必需氨基酸(NEAA)和1mM丙酮酸钠。在测定前一天,将培养物转移到Opti-MEM<sup>TM</sup>, 1 $\times$ NEAA、1mM丙酮酸钠和0.5%活性碳处理FBS(饥饿培养基)中。抑制剂储备溶液(DMSO中5mM)在DMSO中以1:2的比例连续稀释,以生成10-点浓度滴定(在500 $\times$ 测试浓度下),然后在测定介质(含有1 $\times$ NEAA和1mM丙酮酸钠的RPMI)中通过50-倍稀释进一步稀释,以生成10 $\times$ 浓度滴定(在2%DMSO中)。将细胞(在35 $\mu$ L分析培养基中300,000个细胞/孔)接种在384-孔Greiner平板中。向细胞中添加10 $\times$ 浓度(5 $\mu$ L)的稀释抑制剂,并在37 $^{\circ}$ C的加湿孵育箱中平板30分钟。然后用人重组细胞因子以其相应的EC<sub>90</sub>浓度刺激细胞,如之前针对每个单独批次所确定的。对于转录因子6(P-STAT6)TF-1+白介

素-13 (IL-13) 的磷酸化信号转导子和激活子测定, 向细胞中添加10 $\mu$ L的250ng/mL IL-13 (R&D Systems; Minneapolis, MN), 然后在37 $^{\circ}$ C下孵育10分钟。对于P-STAT5 TF-1+红细胞生成素 (EPO) 测定, 向细胞中添加10 $\mu$ L的110IU/mL EPO (Gibco Life Technologies, 目录号 PHC2054), 然后在37 $^{\circ}$ C下孵育30min。对于这两种测定, 培养后向细胞中添加5 $\mu$ L含有1mM 苯甲磺酰氟 (PMSF) 的冰冷10 $\times$ 细胞裂解缓冲液 (细胞信号技术; Danvers, MA; 目录号9803S)。将测定板在-80 $^{\circ}$ C下冷冻至少1小时。在IL-13测定中, 通过用兔抗-人STAT6总抗体 (Cell Signaling Technologies; 目录号9362S) 包被山羊抗-兔 (GAR) 平板 (Meso Scale Discovery [MSD]; Rockville, MD; 目录号MSD L21RA-1) 测量P-STAT6, 将细胞裂解物在包被平板中以4 $^{\circ}$ C培养过夜, 然后使用标准的MSD平板处理、清洗和检测程序, 使用小鼠抗-P-STAT6 (Tyr641) Clone 16E12抗体 (MilliporeSigma; Burlington, MA; 目录号05-590, 由MSD使用SULFO-标记) 进行检测。在EPO测定中, 使用磷酸化-STAT5a, b全细胞裂解液试剂盒 (MSD; 目录号K150IGD-1) 检测P-STAT5。在MESO SECTOR S600 (MSD) 酶标仪上读取孔的电化学发光 (ECL) 信号。

#### [0719] 数据分析

[0720] 通过从所有孔的ECL值中减去阴性对照 (细胞因子刺激和20 $\mu$ M对照抑制剂处理的细胞) 平均ECL值, 确定相对于阳性对照 (细胞因子刺激和DMSO处理的细胞) 平均ECL值的测试化合物孔ECL值的对照百分比, 并使用四-参数逻辑拟合模型确定测试化合物的IC<sub>50</sub>, 如方程4所示。

#### [0721] P-STAT6 BEAS-2B+IL-13细胞测定

[0722] 为了研究JAK1抑制剂在与人类哮喘细胞生物学相关的细胞系中的作用, 开发了人肺支气管上皮BEAS-2B细胞系中IL-13-刺激的STAT6磷酸化分析。

[0723] BEAS-2B细胞 (ATCC<sup>®</sup> CRL-9609<sup>™</sup>) 在支气管上皮生长培养基 (BEGM) (Lonza 目录号 CC-3170; Walkersville, MD; 或 PromoCell 目录号 C-21060; Heidelberg, Germany) 中生长。测试化合物储备溶液 (DMSO中0.5mM) 在DMSO中以1:2的比例连续稀释, 以生成10-点浓度曲线 (在500 $\times$ 测试浓度下), 然后在BEGM中通过50-倍稀释步骤进一步稀释, 以生成10 $\times$ 浓度曲线 (在2% DMSO中)。将细胞以100,000个细胞/孔的接种于96-孔板中的200 $\mu$ L BEGM, 并在37 $^{\circ}$ C的加湿孵育箱中孵育48小时。从细胞中吸取培养基并用70 $\mu$ L新鲜BEGM替换。向细胞中添加稀释的测试化合物 (10 $\mu$ L; 或测定培养基中的2% DMSO), 并在37 $^{\circ}$ C的加湿孵育箱中孵育1小时。然后将20 $\mu$ L的250ng/mL人类重组IL-13 (Bio-Techne 目录号213-ILB) 添加到细胞中, 并在37 $^{\circ}$ C下孵育15分钟。从细胞中吸取培养基, 并向细胞中添加60 $\mu$ L含有1mM PMSF的冰冷1 $\times$ 细胞裂解缓冲液 (Cell Signaling Technologies; 目录号9803S)。将测定板在-80 $^{\circ}$ C下孵育至少1小时。通过用兔抗-人STAT6总抗体 (Cell Signaling Technologies; 目录号9362S) 包被GAR平板 (MSD; 目录号MSD L45RA-1) 测量P-STAT6, 将细胞裂解物在包被平板中以4 $^{\circ}$ C培养过夜, 然后使用标准的MSD平板处理、清洗和检测程序, 使用小鼠抗-磷酸化-STAT6 (Tyr641) Clone 16E12抗体 (Millipore; 目录号05-590, 由MSD使用SULFO-标记) 进行检测。平板在MESO SECTOR S600上读取。

#### [0724] 数据分析

[0725] 通过从所有孔中减去阴性对照值, 并使用阳性对照值确定对照百分比, 进行数据分析; IC<sub>50</sub>通过四-参数逻辑拟合模型确定, 如方程4所示。

[0726] 用抑制剂清洗(WO)进行P-STAT6 BEAS-2B+IL-13细胞测定

[0727] 为了评估JAK1抑制剂在细胞清洗去除游离未结合抑制剂后保留其抑制IL-13-刺激的STAT6磷酸化的能力,开发了人肺支气管上皮BEAS-2B细胞系中的抑制剂清洗(WO)分析。抑制剂清洗后抑制活性的保留与抑制剂与JAK1蛋白的持久结合和/或清洗后抑制剂分子在细胞内的保留一致。

[0728] 与标准BEAS-2B细胞测定(见上文)一样, BEAS-2B细胞在支气管上皮生长培养基(BEGM)中生长。测试化合物储备溶液(DMSO中0.5mM)在DMSO中以1:2的比例连续稀释,以生成10-点浓度曲线(在500×测试浓度下),然后在BEGM中通过50-倍稀释步骤进一步稀释,以生成10×浓度曲线(在2%DMSO中)。将细胞以100,000个细胞/孔的接种于96-孔板中的200μL BEGM,并在37°C的加湿孵育箱中孵育48小时。从细胞中吸取培养基并用70μL新鲜BEGM替换。向细胞中添加稀释的测试化合物(10μL;或测定培养基中的2%DMSO),并在37°C的加湿孵育箱中孵育1小时。从细胞中吸取培养基并用80μL新鲜BEGM替换,以洗去细胞中的抑制剂,然后在37°C的加湿孵育箱中孵育细胞板10分钟。该冲洗程序又重复了两次。在第三个洗涤步骤后,将细胞板返回到37°C加湿孵育箱中并孵育1小时。然后将二十μL 250ng/mL IL-13添加到细胞中,并在37°C下孵育15分钟。从细胞中吸取培养基,并向细胞中添加60μL含有1mM PMSF的冰冷1×细胞裂解缓冲液(Cell Signaling Technologies;目录号9803S)。将测定板在-80°C下孵育至少1小时。通过用兔抗-人STAT6总抗体(Cell Signaling Technologies;目录号9362S)包被GAR平板(MSD;目录号MSD L45RA-1)测量P-STAT6,将细胞裂解物在包被平板中以4°C培养过夜,然后使用标准的MSD平板处理、清洗和检测程序,使用小鼠抗-磷酸化-STAT6(Tyr641) Clone 16E12抗体(Millipore;目录号05-590,由MSD使用SULFO-标记)进行检测。平板在MESO SECTOR S600上读取。

[0729] 数据分析

[0730] 通过从所有孔中减去阴性对照值,并使用阳性对照值确定对照百分比,进行分析;IC<sub>50</sub>通过四-参数逻辑拟合模型确定,如方程4所示。

[0731] 细胞毒性测定

[0732] 使用T175烧瓶中保持半汇合密度的A549 ATCC® CCL-185™、Jurkat克隆E6-1 ATCC® TIB-152™ 和HEK-293T ATCC® CRL-1573™ 细胞。将处于指数生长期的细胞(45μL培养基中的450个细胞)置于Greiner 384孔黑色/透明组织培养处理板(Greiner目录号781091)中。分配细胞后,让平板在室温下平衡30分钟,然后将平板放置在37°C CO<sub>2</sub>和湿度控制培养箱中过夜。第二天,用100%DMSO(细胞上0.5%最终二甲基亚砷浓度)稀释的测试药剂(10点滴定,最高浓度为50μM)处理细胞。然后将细胞和化合物在37°C CO<sub>2</sub>和湿度控制孵育箱中孵育72小时,然后通过添加CellTiter-Glo® (Promega G7572)试剂到所有孔中测量细胞活力。平板在室温下孵育20分钟,然后在EnVision平板酶标仪(Perkin Elmer Life Sciences)上读取孔发光。

[0733] 表1化合物的酶促测定数据如表3所示。

[0734] 表2

[0735]

	Biochem JAK1 Ki (nM)	Biochem JAK2 Ki (nM)	细胞的 JAK1 PSTAT6 BEAS2B+ IL13 (nM)	细胞的 JAK1 PSTAT6 TF- 1+IL13 (nM)	细胞的 JAK2 PSTAT5 TF- 1+EPO (nM)
1	0.18	0.096	0		
2	0.32	0.19	20	3.6	11
3	3.3	0.89	15		
4	1.1	0.7	18		

[0736]

5	1.1	0.91	18		
6	0.23	0.2	11		
7	1.5	1.9	360		
8	0.18	0.14	7.6		
9	0.34	0.36	93		
10	0.24	0.18	42		
11	1	0.69	190		
12	0.21	0.21	18		
13	0.21	0.43	13		
14	0.25	0.38	26		
15	0.32	0.4	24		
16	0.22	0.19	170		
17	0.42	0.21	26		
18	0.17	0.17	32		
19	0.39	0.28	49		
20	1.5	0.59	19		
21	1.8	1.3	110		
22	0.34	0.31	22		
23	0.37	0.35	24		
24	0.64	0.56	22		
25	0.39	0.14	11		
26	0.25	0.41	12		
27	0.73	0.55	20		
28	0.19	0.21	19		
29	1.2	0.72	62		
30	0.93	0.56	40		
31	0.37	0.86	9.2		

[0737]

32	0.67	0.39	46		
33	0.95	0.43	62		
34	0.35	0.32	37		
35	0.59	0.53	110		
36	0.51	0.25	11		
37	0.55	1.4	16		
38	0.52	0.38	22		
39	1.5	1.3	35		
40	0.97	0.77	51		
41	1.4	4.4	210		
42	0.37	0.39	11		
43	0.3	0.31	24		
44	0.45	0.24	5.7		
45	0.58	0.5	34		
46	1.5	1.6	67		
47	2	1.6	24		
48	0.76	0.64	86		
49	0.44	0.28	20	5.4	8.6
50	0.64	0.46	35		
51	1.3	1.8	45		
52	3	2.3	91		
53	0.32	0.27	210		
54	0.43	0.42	58		
55	0.9	0.58	48		
56	0.35	0.25	15		
57	0.91	0.69	37		
58	1.2	0.7	33		

[0738]

59	0.31	0.18	13	4.6	7.3
60	0.81	0.75	35		
61	5.1	2.9	130		
62	0.35	0.24	14		
63	1.7	0.42	47		
64	1.7	0.57	59		
65	0.85	0.63	120		
66	3.9	3.6	130		
67	2.1	1.2	25		
68	6.2	2.9			
69	1.3	0.53	37		
70	0.27	0.26	23		
71	0.94	0.88	47		
72	0.91	0.74	62		
73	1.6	1.7	95		
74	0.61	0.26	30		
75	0.84	0.89	96		
76	0.4	0.27	12		
77	2.6	2.5	33		
78	0.31	0.22	21		
79	0.24	0.25	8	8.2	4.8
80	0.35	0.35	61		
81	0.47	0.48	26		
82	0.58	0.6	51	8.4	15
83	1.7	1	150		
84	0.48	0.47	74		
85	1.3	0.4	110		

[0739]

86	1.1	0.56	77		
87	0.26	0.41	36		
88	0.31	0.24	15		
89	1.2	1.3	120		
90	0.59	0.31	52		
91	0.32	0.4	17		
92	1.1	0.68	56		
93	1.2	0.65	89		
94	1.7	1.1	40		
95	0.17	0.23	110		
96	0.25	0.26	13	5.2	3
97	0.85	0.6	300		
98	0.87	2.8	61		
99	0.19	0.31	78		
100	0.4	0.46	46		
101	0.2	0.23	180		
102	0.44	0.43	24		
103	0.48	0.54	260		
104	0.73	0.75	45		
105	0.49	0.43	81		
106	1.6	1.7	74		
107	0.43	0.49	37		
108	0.69	0.72	60		
109	0.88	0.58	250		
110	0.69	0.36	30		
111	0.38	0.56	270		
112	0.38	0.46	110		

[0740]

113	0.3	0.14	20	7	13
114	0.84	0.49	29	6	29
115	3	1.6	48		
116	1.5	0.84	95		
117	1.5	0.66	84		
118	0.43	0.5	48		
119	0.9	0.52	41		
120	0.35	0.24	19		
121	0.28	0.18	18	4	4.9
122	0.52	0.56	390		
123	0.61	0.74	370		
124	0.39	0.21	29		
125	0.82	0.38	87		
126	1.1	0.91	67		
127	1.6	1.5	46		
128	0.52	0.41	30	51	52
129	0.27	0.15	14		
130	0.46	0.23	24		
131	0.41	0.24	23		
132	0.4	0.24	14	4.6	7.6
133	1.1	1.2	62	13	24
134	0.42	0.26	16		
135	0.25	0.16	15		
136	0.5	0.23	46		
137	0.82	0.51	1000		
138	0.55	0.4	150		
139	2	1.5	70		

[0741]

140	2.6	1.9	44		
141	1.6	1.2	46	12	33
142	0.64	0.39	22		
143	0.69	0.36	26	3	23
144	3.9	3.7	160		
145	5.5	3.1	160		
146	0.62	0.29	40		
147	0.28	0.22	19		
148	3.6	1.9	210		
149	0.28	0.17	20		
150	0.21	0.22	16		
151	0.29	0.2	19		
152	0.31	0.3	20		
153	0.46	0.23	27		
154	0.57	0.29	37		
155	0.31	0.21	25		
156	0.27	0.12	23		
157	0.31	0.28	28		
158	0.62	0.46	37		
159	0.54	0.37	43		
160	0.1	0.07	8.3	2.1	3.6
161	6	2.2			
162	2.6	0.76	32		
163	1.5	0.37	21		
164	3.2	1.5	38		
165	1.7	0.56	31		
166	2.5	0.99	32		

[0742]

167	1.9	0.34	26		
168	1.3	0.58	30		
169	1.2	0.68	29		
170	4.1	1.9	76		
171	1.9	0.95	50		
172	6.2	1.4	150		
173	0.13	0.076	82	24	68
174	1.6	0.92	240		
175	1.1	0.57	68		
176	0.25	0.21	210		
177	0.57	0.34	330		
178	0.29	0.21	32	26	49
179	0.82	0.4	50	92	72
180	0.29	0.23	95		
181	0.29	0.23	60	76	160
182	0.65	0.43	160		
183	0.41	0.22	150		
184	0.32	0.21	47	12	38
185	0.33	0.21	62		
186	0.76	0.39	48	22	58
187	0.35	0.24	44	34	38
188	0.91	0.77	150		
189	0.57	0.39	78		
190	1.4	1	38	180	130
191	0.54	0.19	110		
192	0.28	0.2	9.3	3.3	2.1
193	1.6	2.3	58		

[0743]	194	2.1	1.4	64		
	195	0.38	0.26	13	4.1	9.7
	196	0.8	0.52	120		
	197	0.81	0.51	130		
	198	1.5	0.83	1000		
	199	0.88	0.43	130		
	200	3.6	1.6	780		
	201	0.46	0.34	34	14	21
	202	0.68	0.38	26		
	203	2.5	2.3	75		
	204	2.2	1.4	56		
	205	0.74	0.79	40		
	206	0.89	0.88	45		
	207	0.73	0.53	33		
	208	1.2	1.2	72		
	209	0.96	0.48	190		
	210	1.1	0.95	50		
	211	0.98	0.58	54		
	212	0.84	0.6	120		
	213	1.2	0.89	49		
	214	1.1	0.68			
215	1.9	1.1				

[0744] 表2

[0745] 动物模型

[0746] 鼠屋尘螨 (HDM) 模型

[0747] 从Jackson West购买的七至八周龄雌性C57BL/6J小鼠。在第0天和第14天,通过腹腔施用在无菌PBS中稀释的2mg明矾(Thermo Scientific)混合的屋尘螨(HDM, D.Pteronyssinus,购自Greer Laboratories,标准化为每只小鼠0.918 $\mu$ g DerP1含量)对小鼠进行免疫。在第21天和第24天,用PBS中的HDM(再次标准化为0.918 $\mu$ g DerP1含量)攻击小鼠,通过气管内吸入给药。在每次吸入HDM激发之前(以及在第22天和第23天的亚组中),动物通过仅鼻吸入(使用来自电子医疗测量系统(EMMS)的干粉吸入设备,包括Wright粉尘给

料机 and 4层/24端口或2层/12端口,定向流,仅鼻吸入塔)接收测试化合物,在攻击前1小时结束。对照组动物只接受空气鼻吸入。在最终治疗24小时后,对小鼠进行反轨道出血以获得血浆PK,然后通过吸入CO<sub>2</sub>进行安乐死。安乐死后,收集BAL液体用于总的(通过FACS,使用参考珠中已知量的峰值)和差异的(通过Wright Giemsa-染色的细胞涂片)细胞计数。采集肺和脾脏,称重并冷冻以进行PK。每组有5或6只动物。

[0748] 此外,为了验证肺给药剂量,PK卫星组(每组3只天然动物)通过仅鼻腔吸入给药测试化合物一天或连续四天。在最终吸入给药后,直接对PK卫星动物进行反轨道抽血以进行血浆PK,然后通过吸入CO<sub>2</sub>实施安乐死。收集肺和脾脏并称重以进行PK分析。

#### [0749] Rat OVA模型

[0750] 来自Charles River-Kingston.的六周大的雄性棕色挪威大鼠。在第0天,通过腹腔注射在无茵PBS中稀释的150µg OVA (Sigma)和40mg明矾(Thermo Scientific),对大鼠进行免疫。致敏后28天,用在PBS中的2%OVA通过雾化器雾化30分钟,连续三天激发大鼠。在每次OVA激发之前,动物通过仅鼻吸入(使用来自电子医疗测量系统(EMMS)的干粉吸入设备,包括Wright粉尘给料机和4层,24端口,定向流,仅鼻吸入塔)接收JAK1/JAK2测试化合物,在攻击前1小时结束。对照组动物经口接受MCT缓冲液,或仅经鼻吸入空气。最终治疗24小时后,通过吸入CO<sub>2</sub>对大鼠实施安乐死。从腹主动脉抽取血液进行血浆PK和全血FACS分析。安乐死后,收集BAL液体用于总的(通过FACS,使用参考珠中已知量的峰值)和差异的(通过Wright Giemsa-染色的细胞涂片)细胞计数。采集肺,称重并冷冻以进行PK。称取脾脏并将其切成两半,用于PK和FACS分析。通过FACS分析血液和脾脏样品的总细胞计数和NK细胞百分比(CD161a阳性)。每组有6只动物,除了天然的对照组,其含有5只动物。

[0751] 此外,为了验证肺给药剂量,PK卫星组(每组3只未成年动物)通过仅鼻腔吸入给药JAK1/JAK2测试化合物一天或三天。在最终吸入给药后,直接对PK卫星动物通过吸入CO<sub>2</sub>实施安乐死。从腹主动脉抽取血液进行血浆PK。收集肺和脾脏并称重以进行PK分析。

[0752] 按以下方式测定测试化合物的血浆和肺部水平及其比率。测定中使用了Charles River实验室的BALB/c小鼠。测试化合物在盐水中的0.2%吐温80中单独配制,并通过进行吸入将给药溶液引入小鼠气管。在给药后的不同时间点(通常为0.167、2、6、24小时),通过心脏穿刺取出血样,并从小鼠身上切除完整的肺。血液样品在4℃下以约12,000rpm的转速离心(Eppendorf离心机,5804R)4分钟,以收集血浆。肺填充干燥,称重,并在无菌水中以1:3的稀释度均质。测试化合物的血浆和肺水平通过LC-MS分析根据测试基质中标准曲线中的分析标准测定。肺-血浆比率确定为肺AUC(单位:µg hr/g)与血浆AUC(单位:µg hr/mL)的比率,其中AUC通常定义为测试化合物浓度与时间曲线下的面积。

#### [0753] 小鼠血浆和肺的药代动力学

[0754] 通过单次鼻腔内(IN)滴注溶液/悬浮液施用,施用0.3mg/kg配制在盐水中的0.2%吐温80中的目标剂量后,在雌性Balb/c小鼠中测定化合物的药代动力学。7-8周龄雌性Balb/c小鼠可从Charles River购买。在用于研究之前,将小鼠置于特定的无病原体条件下。

[0755] 给药前动物不禁食。在给药后0.083、2、7和24小时,在麻醉(腹腔注射戊巴比妥)下,每个时间点从3只动物身上采集血样,通过心脏穿刺到EDTA涂层的微容器中。血液样品离心(1500g,4℃下10min)以分离血浆。血浆样品冻结在大约-80°。鼻腔给药后,在肺灌注之

前,取下脾脏,称重并快速冷冻。确认死亡后,给药动物的肺灌注冷冻PBS,以清除肺血管中的残余血液。然后切除肺部并称重(记录所有重量)。所有组织样品均通过浸入液氮冷冻。组织样品冷冻保存(约-80℃),直至分析。

[0756] 在PK分析之前,每克组织加入4mL HPLC级水后,在4℃下使用Omni-Prep Bead Ruptor (Omni Inc., Kennesaw, GA)将除霜的组织样品(脾脏和肺)称重并匀浆。血浆和组织匀浆样品通过蛋白质沉淀法提取,其中使用四体积的含甲苯磺丁脲(200ng/mL)或拉贝洛尔(100ng/mL)的乙腈作为内标。样品在3200g和4℃下混合并离心30分钟,以去除沉淀的蛋白质,上清液在96孔板中用HPLC级水适当稀释(例如1:1, v/v)。使用Waters Xevo TQ-S (Waters, Elstree, UK)在正离子模式下,通过LC-MS/MS对基质匹配校准曲线和质量控制标准,对血浆、脾脏和肺样品的代表性小份进行化合物浓度分析。标准品是通过在对照血浆、脾脏和肺组织匀浆中加入等份化合物,并按照针对实验样品所述进行提取而制备的。所有基质的检测限为0.168mg/mL-4000ng/mL。

[0757] 在计算平均值和SD时,低于定量下限(LLoQ)的浓度被视为零。样品中测量的平均浓度用于构建半对数浓度-时间曲线。药代动力学(PK)分析使用Biobook (E-WorkbookIDBS)中的非部门方法进行。

[0758] 链格孢菌诱导的肺嗜酸性炎症小鼠模型

[0759] 气道嗜酸性粒细胞增多是人类哮喘的特征。链格孢菌是一种真菌性空气过敏原,可加重人类哮喘,并诱导小鼠肺部嗜酸性炎症(Havaux et al. Clin Exp Immunol. 2005, 139 (2):179-88)。在小鼠中,已经证明链格孢菌间接激活了肺中组织驻留的2型固有淋巴细胞,这些细胞对(如IL-2和IL-7)产生反应,释放JAK依赖性细胞因子(如IL-5和IL-13),并协调嗜酸性炎症(Bartemes et al. J Immunol. 2012, 188 (3):1503-13)。

[0760] 研究中使用了来自Taconic的七至九周龄雄性C57小鼠。在研究当天,用异氟烷对动物进行轻度麻醉,并通过口咽抽吸施用媒介物或测试化合物。给药后,将动物置于侧卧状态,并在将其送回家中笼子之前监测其麻醉完全恢复情况。一小时后,再次对动物进行短暂麻醉,并通过口咽抽吸用媒介物或链格孢菌提取物进行激发,然后监测其从麻醉中恢复,并返回其家中笼子。链格孢菌施用四十八小时后,收集支气管肺泡灌洗液(BALF),并使用Advia 120血液系统(Siemens)计数BALF中的嗜酸性粒细胞。

[0761] 与媒介物处理的、链格孢菌激发的对照动物相比,四十八小时时,治疗动物BALF中存在的嗜酸性粒细胞水平降低,证明了模型中的化合物活性。数据表示为媒介物处理的、链格孢菌激发的BALF嗜酸性粒细胞反应的抑制百分比。为了计算抑制百分比,将每种情况下BALF嗜酸性粒细胞的数量转换为平均媒介物处理的、链格孢菌激发的BALF嗜酸性粒细胞的百分比,并从百分之百中减去。