

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2016 年 4 月 7 日 (07.04.2016)



(10) 国际公布号
WO 2016/050165 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07D 487/04 (2006.01) *A61K 31/4985* (2006.01)
A61K 31/4188 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2015/090568
- (22) 国际申请日: 2015 年 9 月 24 日 (24.09.2015)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201410520700.3 2014 年 9 月 30 日 (30.09.2014) CN
- (71) 申请人: 上海海雁医药科技有限公司 (SHANGHAI HAIYAN PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO. LTD) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区张江高科技园区李冰路 67 弄 8 号, Shanghai 201203 (CN)。 扬子江药业集团有限公司 (YANGTZE RIVER PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD) [CN/CN]; 中国江苏省泰州市高港区扬子江南路 1 号, Jiangsu 225321 (CN)。
- (72) 发明人: 金云舟 (JIN, Yunzhou); 中国上海市浦东新区张江高科技园区李冰路 67 弄 8 号, Shanghai 201203 (CN)。 卜平 (BU, Ping); 中国上海市浦东新区张江高科技园区李冰路 67 弄 8 号, Shanghai 201203 (CN)。 何琦 (HE, Qi); 中国上海市浦东新区张江高科技园区李冰路 67 弄 8 号, Shanghai 201203 (CN)。 兰炯 (LAN, Jiong); 中国上海市浦东新区张江高科技园区李冰路 67 弄 8 号, Shanghai 201203 (CN)。 周福生 (ZHOU, Fusheng); 中国上海

市浦东新区张江高科技园区李冰路 67 弄 8 号, Shanghai 201203 (CN)。 张亮 (ZHANG, Liang); 中国上海市浦东新区张江高科技园区李冰路 67 弄 8 号, Shanghai 201203 (CN)。 何向宇 (HE, Xiangyu); 中国上海市浦东新区张江高科技园区李冰路 67 弄 8 号, Shanghai 201203 (CN)。

(74) 代理人: 上海一平知识产权代理有限公司 (XU & PARTNERS, LLC.); 中国上海市普陀区真北路 958 号天地科技广场 1 号楼 106 室, Shanghai 200333 (CN)。

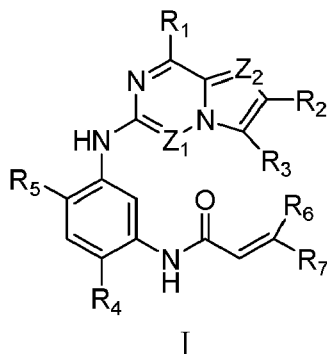
(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

[见续页]

(54) Title: AZABICYCLO DERIVATIVES, PROCESS FOR PREPARATION THEREOF AND MEDICAL USE THEREOF

(54) 发明名称: 氮杂双环衍生物、其制法与医药上的用途



(57) Abstract: Provided are azabicyclo derivatives, a process for preparation thereof and medical use thereof. Specifically, provided are compounds of formula (I) or pharmaceutically acceptable salts, stereoisomers, solvates or prodrugs thereof, a process for preparation thereof, and application thereof in preparing EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) inhibitors. Definition of each group in the formula can be found in the description for details.

(57) 摘要: 提供了氮杂双环衍生物、其制法与医药上的用途。具体地, 提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或前药, 其制备方法, 以及其在制备 EGFR 抑制剂方面的应用, 式中各基团的定义详见说明书。

WO 2016/050165 A1

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

氮杂双环衍生物、其制法与医药上的用途

技术领域

本发明涉及医药技术领域，特别涉及一种氮杂双环衍生物及其制备方法和作为
5 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂的应用，以及由其制备的药物组合物和药用组合物。

背景技术

肺癌是全球发病率最高的癌症。在中国，肺癌发病率位居所有癌症中第一位，也是中国发病率和死亡率最高的癌症。

10 在中国肺癌病人中，30%病人具有 EGFR 突变，其中 L858R 和外显子 19 缺失突变占 90%以上，这类病人对 EGFR 抑制剂更为敏感。现有已上市第一代 EGFR 抑制剂，例如厄洛替尼、吉非替尼对这类病人治疗效果良好，能够使其其中 60%以上病人肿瘤缩小，明显延长病人无进展生存期。但绝大多数病人在 6-12 个月获得耐药，第一代 EGFR 抑制剂不再起效，而这类病人目前处于无药可用状态。临床发现对第一代 EGFR 抑制剂产生耐药
15 的病人中有 50%检测到 EGFR T790M 突变。在 T790M 突变细胞系 H1975 中，第一代 EGFR 抑制剂吉非替尼和厄洛替尼均大于 3 μ M，基本没有活性。

目前第二代不可逆 pan-EGFR 抑制剂阿法替尼已经获批上市，该药对 EGFR 突变肺癌病人疗效显著好于第一代 EGFR 抑制剂。但第二代抑制剂同时也具有很强的野生型 EGFR 抑制活性，对野生型 EGFR 的抑制活性显著高于耐药 T790M 突变，病人皮疹等毒副作用
20 严重且对耐药病人疗效较差，仅有小部分第一代 EGFR 抑制剂耐药的病人对这类药物产生应答。

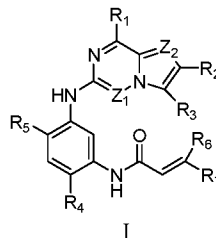
为了提高对 EGFR T790M 耐药突变抑制活性的同时降低对野生型 EGFR 的抑制活性，开发活性更高、选择性更好、毒性更低的第三代 EGFR 突变体选择性抑制剂具有重要的意义。

25

发明内容

本发明的目的在于提供一类新型氮杂双环衍生物，其对细胞毒性低且对 EGFR 突变体具有高选择抑制性。

30 本发明第一方面提供了一种式(I)所示的化合物，或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药：



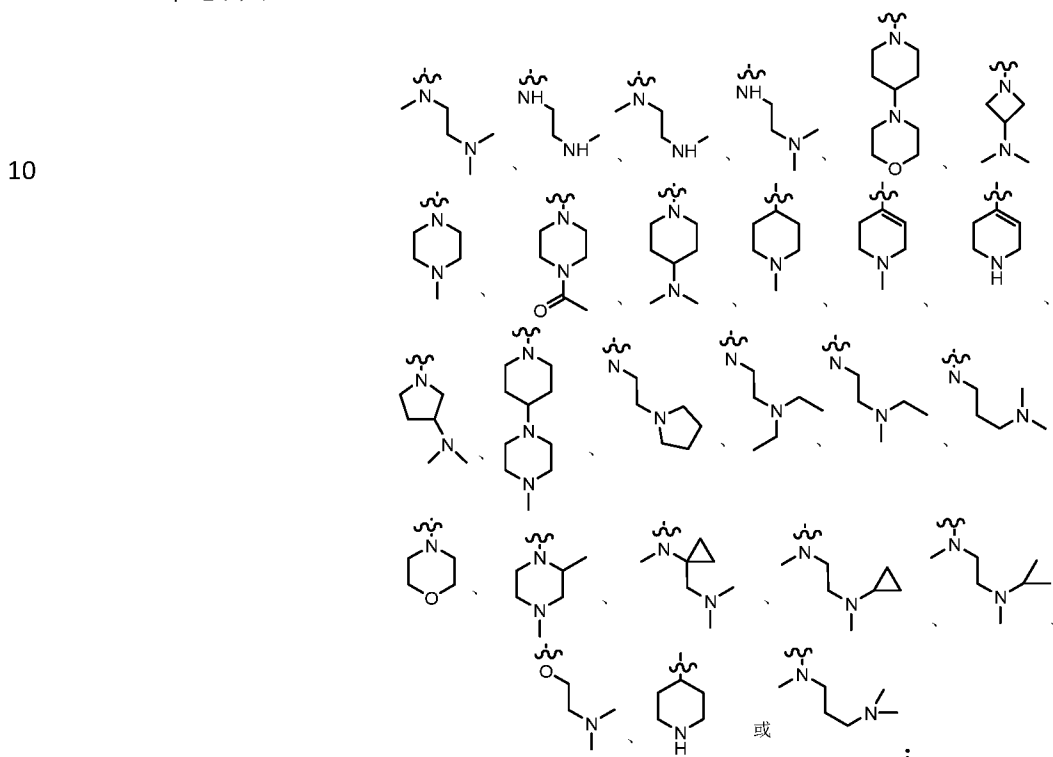
式中，

Z₁、Z₂ 各自独立地为 N 或 CR₀；其中，R₀ 选自下组：氢、卤素、C₁₋₁₀ 烷基(优选 C₁₋₆ 烷基，更优选 C₁₋₃ 烷基)、卤代的 C₁₋₁₀ 烷基(优选卤代的 C₁₋₆ 烷基，更优选卤代的 C₁₋₃ 烷基)；

R_1 、 R_2 各自独立地为氢、卤素、 C_{1-10} 烷基(优选 C_{1-6} 烷基, 更优选 C_{1-3} 烷基)、卤代的 C_{1-10} 烷基(优选 C_{1-6} 烷基, 更优选 C_{1-3} 烷基)、 C_{1-10} 烷氧基(优选 C_{1-6} 烷氧基, 更优选 C_{1-3} 烷氧基)、 C_{3-8} 环烷氧基(优选为 C_{3-6} 环烷氧基);

R_3 为氢、卤素、 C_{2-10} 烯基 (优选 C_{2-6} 烯基)、 C_{1-10} 烷基(优选 C_{1-6} 烷基, 更优选 C_{1-3} 烷基)、卤代的 C_{1-10} 烷基(优选卤代的 C_{1-6} 烷基, 更优选卤代的 C_{1-3} 烷基)、 C_{1-10} 烷氧基(优选 C_{1-6} 烷氧基, 更优选 C_{1-3} 烷氧基)、 C_{3-8} 环烷氧基(优选为 C_{3-6} 环烷氧基)、取代或未取代的 C_{3-10} 环烷基(优选 C_{3-6} 环烷基)、取代或未取代的 C_{3-10} 杂环基、取代或未取代的 C_{6-10} 芳环, 取代或未取代的 C_{4-10} 环烯基;

R_4 选自下组:



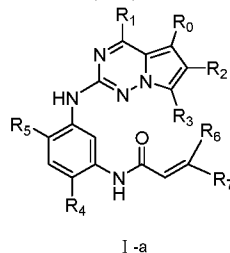
15 R_5 为氢、羟基、CN、 NO_2 、卤素、 C_{1-10} 烷基(优选 C_{1-6} 烷基, 更优选 C_{1-3} 烷基)、卤代的 C_{1-10} 烷基(优选卤代的 C_{1-6} 烷基, 更优选卤代的 C_{1-3} 烷基)、 C_{1-10} 烷氧基(优选 C_{1-6} 烷氧基, 更优选 C_{1-3} 烷氧基)、 C_{3-10} 环烷基(优选 C_{3-6} 环烷基)、 C_{3-8} 环烷氧基(优选为 C_{3-6} 环烷氧基)、 $-CON(C_{1-10} \text{ 烷基})_2$ (优选为 $-CON(C_{1-6} \text{ 烷基})_2$, 更优选为 $-CON(C_{1-3} \text{ 烷基})_2$)、 $-NC(O)C_{1-10}$ 烷基(优选为 $-NC(O)C_{1-6}$ 烷基, 更优选为 $-NC(O)C_{1-3}$ 烷基)、 $-C(O)OC_{1-10}$ 烷基(优选为 $-C(O)OC_{1-6}$ 烷基, 更优选为 $-C(O)OC_{1-3}$ 烷基)、 $-OC(O)C_{1-10}$ 烷基(优选为 $-OC(O)C_{1-6}$ 烷基, 更优选为 $-OC(O)C_{1-3}$ 烷基)、 $-COC_{1-10}$ 烷基(优选为 $-COC_{1-6}$ 烷基, 更优选为 $-COC_{1-3}$ 烷基)、 $-CO$ -苯基、 $-SO_2C_{1-10}$ 烷基(优选为 $-SO_2C_{1-6}$ 烷基, 更优选为 $-SO_2C_{1-3}$ 烷基)、 $-SO_2$ -苯基、 $-S(O)C_{1-10}$ 烷基(优选为 $-S(O)C_{1-6}$ 烷基, 更优选为 $-S(O)C_{1-3}$ 烷基)、 $-S(O)$ -苯基、 $-N(C_{1-10} \text{ 烷基})_2$ (优选为 $-N(C_{1-6} \text{ 烷基})_2$, 更优选为 $-N(C_{1-3} \text{ 烷基})_2$); 其中, 所述的苯基为未取代的或被

20 1-3 个选自下组的取代基所取代: 卤素、 C_{1-10} 烷基;

R_6 、 R_7 各自独立地为氢、 C_{1-10} 烷基(优选 C_{1-6} 烷基, 更优选 C_{1-3} 烷基、最优选为甲基)、取代或未取代的 C_{6-10} 芳基;

其中,所述的“取代”是指环原子上的 1 至 6 个氢原子被选自下组的取代基所取代:羟基、CN、NO₂、卤素、C₁₋₁₀ 烷基、卤代的 C₁₋₁₀ 烷基、-CON(C₁₋₁₀ 烷基)₂、-C(O)OC₁₋₁₀ 烷基、-OC(O)C₁₋₁₀ 烷基、-COC₁₋₁₀ 烷基、-CO-苯基、-SO₂C₁₋₁₀ 烷基、-SO₂-苯基、-S(O)C₁₋₁₀ 烷基、-S(O)-苯基、-N(C₁₋₁₀ 烷基)₂; 其中,所述的苯基为未取代的或被 1-3 个选自下组的取代基所取代:卤素、C₁₋₁₀ 烷基。

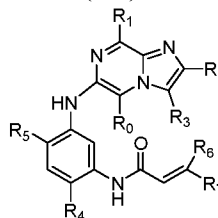
在另一优选例中,所述式(I)化合物为式(I-a)所示的化合物:



I -a

式中, R₀、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇ 定义如前。

在另一优选例中,所述式(I)化合物为式(I-b)所示的化合物:



I -b

式中, R₀、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇ 定义如前。

在另一优选例中,式(I-a)化合物和/或式(I-b)化合物中, R₅ 为氢、羟基、CN、NO₂、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、环丙氧基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、-CON(CH₃)₂、-NC(O)CH₃、-C(O)OCH₃、-OC(O)CH₃、-CO-苯基、-COCH₃、-SO₂-苯基、-SO₂CH₃、-N(CH₃)₂。

在另一优选例中,式(I-a)化合物和/或式(I-b)化合物中, R₆ 和 R₇ 为氢。

在另一优选例中,式(I-a)化合物和/或式(I-b)化合物中, R₁ 和 R₂ 为氢。

在另一优选例中,式(I-a)化合物和/或式(I-b)化合物中, R₃ 为:

(i) 取代或未取代的含 1、2 或 3 个氮原子的 9 至 10 元双环杂芳环;

(ii) 取代或未取代的含 1 到 2 个氮原子的 5 至 6 元单环杂芳环;

(iii) 取代或未取代的含 1 或 2 个选自氮、氧或硫的杂原子的 4 至 7 元饱和单杂环基;

(iv) 取代或未取代的 6 元部分不饱和单环基团;

(v) 取代或未取代的 C₆₋₁₀ 芳环;

(vi) C₁₋₃ 烷基; 或

(vii) C₃₋₁₀ 环烷基。

在另一优选例中,所述的“取代”是指环原子上的 1 至 3 个氢原子被选自下组的取代基所取代:羟基、NO₂、卤素、C₁₋₃ 烷基、卤代的 C₁₋₃ 烷基、-SO₂C₁₋₃ 烷基、-COC₁₋₃ 烷基。

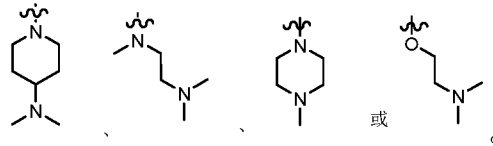
在另一优选例中,所述的“取代”是指环原子上的 1 至 3 个氢原子被选自下组的取代基所取代:羟基、NO₂、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲

基、三氟甲基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 。

在另一优选例中，在式(I)化合物中， R_0 为氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基。

在另一优选例中，在式(I)化合物中， R_1 、 R_2 各自独立地为氢、氟、氯、溴、碘、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、环丙氧基。

在另一优选例中， R_4 选自下组：

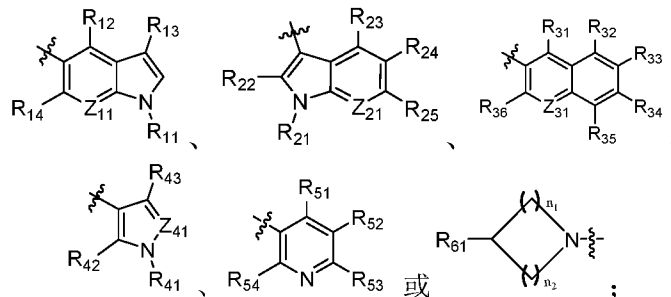


在另一优选例中， R_3 为甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、环丙氧基、取代或未取代的 C_{3-10} 杂环基、取代或未取代的苯基或取代或未取代的 C_{4-8} 环烯基。

在另一优选例中，所述 C_{3-10} 杂环基为吡唑基、吗啉基、杂氮 C_{3-7} 环烷基、吡咯并吡啶基、吡啶并吡咯基、吡咯基、吡啶基、喹啉基、噻啉基、噻啉基或吡啶基。

在另一优选例中，所述 C_{4-10} 环烯基为环戊烯基、1,3-环己二烯基、1,4-环己二烯基、环己烯基、或环庚烯基。

在另一优选例中，所述取代或未取代的 C_{3-10} 杂环基选自下组：



其中， Z_{11} 为 CR_{15} 或 N ； Z_{21} 为 CR_{26} 或 N ； Z_{31} 为 CR_{37} 或 N 、 Z_{41} 为 CR_{44} 或 N ； n_1 为 1、2 或 3； n_2 为 1 或 2；

R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} 、 R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{42} 、 R_{43} 、 R_{44} 、 R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 、 R_{61} 各自独立地为氢、羟基、 CN 、 NO_2 、卤素、卤代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷基、 $-\text{CON}(\text{C}_{1-10} \text{ 烷基})_2$ 、 $-\text{N}(\text{C}_{1-10} \text{ 烷基})_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{COC}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{CO}$ -苯基、 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{SO}_2$ -苯基、 $-\text{S}(\text{O})\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{S}(\text{O})$ -苯基；所述的烷基、苯基为未取代的或被 1-3 个选自下组的取代基所取代：氟、氯、甲基；

R_{11} 、 R_{21} 、 R_{41} 各自独立地为氢、卤代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷基、 $-\text{COC}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{CO}$ -苯基、 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{SO}_2$ -苯基；其中，所述的苯基为未取代的或被 1-3 个选自下组的取代基所取代：氟、氯、甲基。

在另一优选例中， Z_{11} 为 N ； R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 各自独立地为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基； R_{11} 为氢、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基、 $-\text{COC}_{1-3} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-3} \text{ 烷基}$ 。

在另一优选例中， Z_{11} 为 N ； R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 各自独立地为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基； R_{11} 为氢、甲基、乙基、丙基、异

丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 。

在另一优选例中， Z_{21} 为 CR_{26} ； R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} 各自独立地为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基； R_{21} 为氢、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基、 $-\text{COC}_{1-3}$ 烷基、 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-3}$ 烷基。

- 5 在另一优选例中， Z_{21} 为 CR_{26} ； R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} 各自独立地为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基； R_{21} 为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 。

在另一优选例中， Z_{31} 为 N； R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 各自独立地为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基。

- 10 在另一优选例中， Z_{31} 为 N； R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 各自独立地为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基。

在另一优选例中， Z_{41} 为 N 或 CR_{44} ； R_{42} 、 R_{43} 、 R_{44} 各自独立地为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基； R_{41} 为氢、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基、 $-\text{COC}_{1-3}$ 烷基、 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-3}$ 烷基。

- 15 在另一优选例中， Z_{41} 为 N 或 CR_{44} ； R_{42} 、 R_{43} 、 R_{44} 各自独立地为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基； R_{41} 为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 。

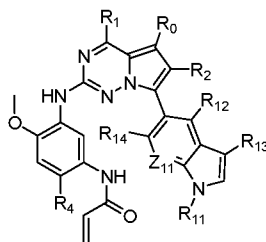
在另一优选例中， R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 各自独立地为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基。

- 20 在另一优选例中， R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 各自独立地为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基。

在另一优选例中， n_1 为 2； n_2 为 2； R_{61} 为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基、 $-\text{COC}_{1-3}$ 烷基、 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-3}$ 烷基。

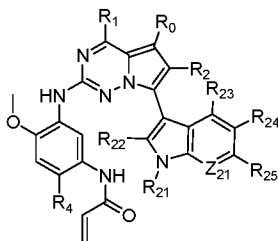
在另一优选例中， n_1 为 2； n_2 为 2； R_{61} 为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 。

- 25 在另一优选例中，所述式(I)化合物为式(II)、式(III)、式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、或式(IX)所示的化合物：



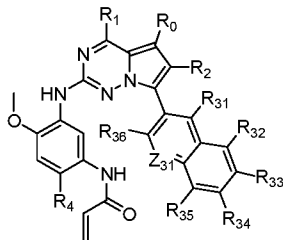
II

式中， R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 、 Z_{11} 定义如前；



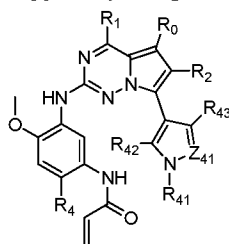
III

式中, R_{21} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 、 Z_{21} 定义如前;



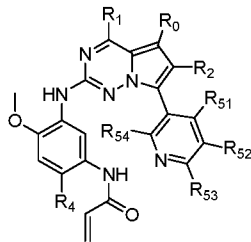
IV

式中, R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 、 Z_{31} 定义如前;



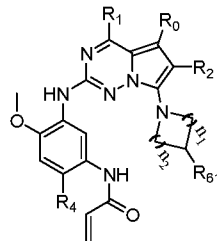
V

5 式中, R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 、 R_{41} 、 R_{42} 、 R_{43} 、 Z_{41} 定义如前;



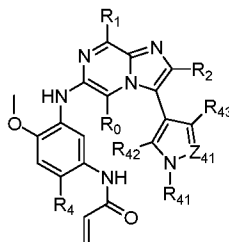
VI

式中, R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 定义如前;



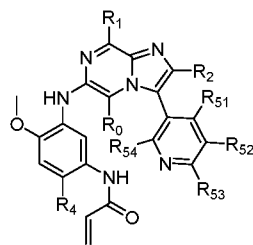
VII

式中, R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 、 R_{61} 、 n_1 、 n_2 定义如前;



VIII

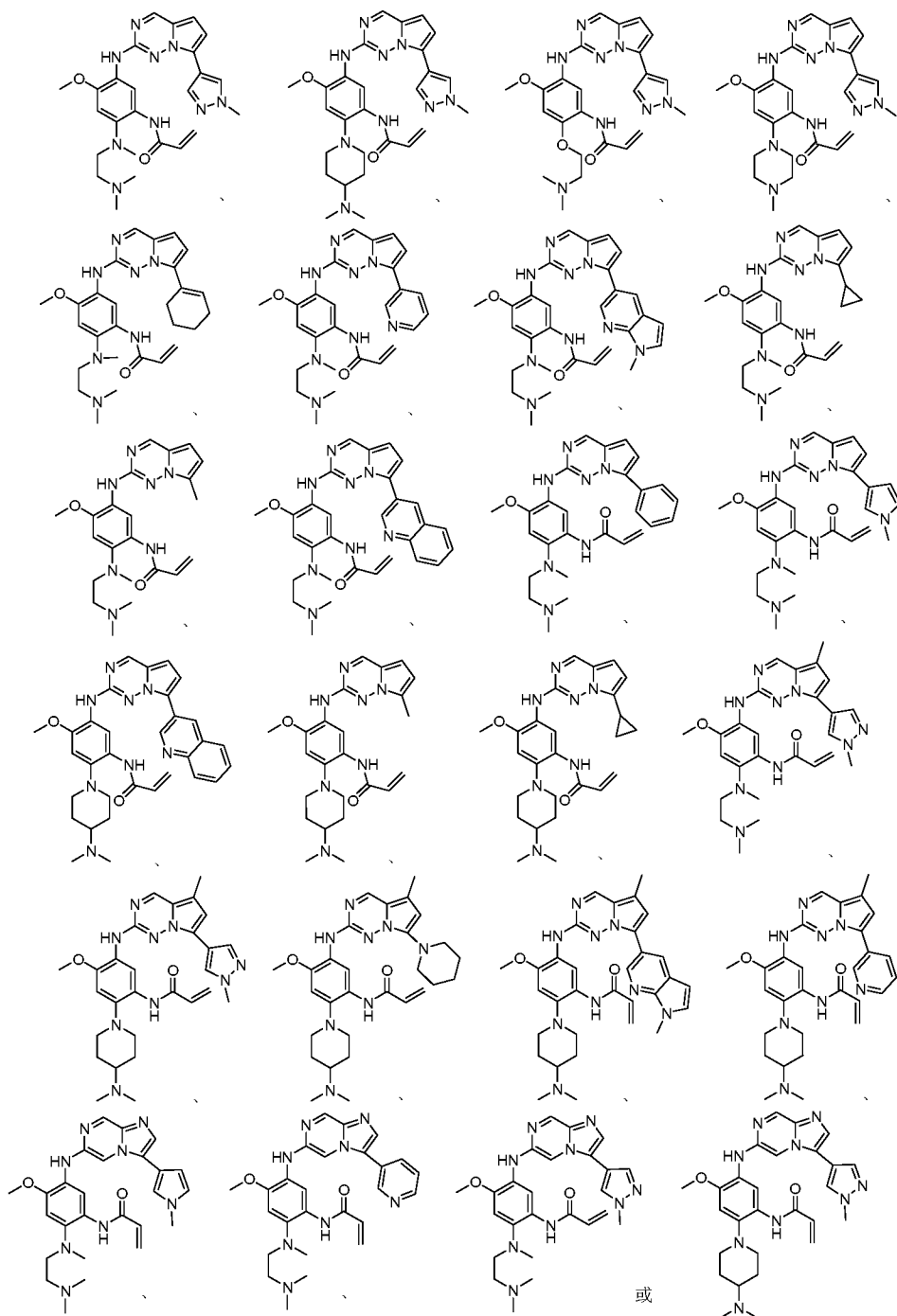
式中, R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 、 R_{41} 、 R_{42} 、 R_{43} 、 Z_{41} 定义如前;



IX

式中, R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 如前述定义。

在另一优选例中，所述式(I)化合物选自下组以及表 5 中的化合物 J-24 至 J-54：



或

•

物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药；以及药学可接受的载体。

本发明第三方面提供了本发明第一方面所述的化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药在(i)制备调控 EGFR 酪氨酸激酶活性的药物或者(ii) 5 制备预防和/或治疗 EGFR 相关疾病的药物中的应用。

在另一优选例中，所述调控为上调或下调。

在另一优选例中，所述的 EGFR 相关疾病选自：癌症、糖尿病、免疫系统疾病、神经退行性疾病、心血管疾病或使用 EGFR 调节剂治疗期间具有获得性耐药性的疾病。

在另一优选例中，所述癌症为非小细胞肺癌、头颈癌、乳腺癌、肾癌、胰腺癌、子宫 10 颈癌、食道癌、胰腺癌、前列腺癌、膀胱癌、结肠直肠癌、卵巢癌、胃癌、脑恶性肿瘤包括成胶质细胞瘤等，或它们的任何组合。

在另一优选例中，所述非小细胞肺癌是由 EGFR 突变引起的，包括敏感型突变(如 L858R 突变或外显子 19 缺失)和耐药性突变(如 EGFR T790M 突变)。

在本发明中，EGFR 调节剂是指靶向 EGFR 的小分子酪氨酸激酶抑制剂，如吉非替 15 尼，厄洛替尼，埃克替尼，拉帕替尼、阿法替尼等。

在另一优选例中，所述获得性耐药性的疾病是由 EGFR 外显子 20 编码的 T790 突变所引起的疾病、或者包含 EGFR 外显子 20 编码的 T790 突变所引起的疾病。

在另一优选例中，所述的 EGFR 外显子 20 编码的 T790 为 T790M。

本发明第四方面提供了一种药用组合物，所述药用组合物包括：本发明第一方面所述 20 的化合物、或其药学上可接受的盐、或其立体异构体、或其溶剂化物、或其前药；以及其它药物，所述其它药物为选自下组药物中的一种或多种：吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼、拉帕替尼、XL647、NVP-AEE-788、ARRY-334543、EKB-569、BIBW2992、HKI272、BMS-690514、CI-1033、凡德他尼、PF00299804、WZ4002、西妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕尼单抗、马妥珠单抗、尼妥珠单抗、扎鲁木单抗、帕妥珠单抗、MDX-214、CDX-110、 25 IMC-11F8、Zemab、Her2 疫苗 PX 1041、HSP90 抑制剂、CNF2024、坦螺旋霉素、阿螺旋霉素、IPI-504、SNX-5422、NVP-AUY922。

除本发明的化合物或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或前药以外，上述药用组合物中的其它药物均为本领域技术人员熟知的抗肿瘤药物。

应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描 30 述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

具体实施方式

本发明人经过长期而深入的研究，意外地发现了一类 EGFR 突变选择性抑制剂，其 35 在较低浓度（如纳摩尔浓度）下即可抑制 EGFR 耐药性突变酶(如 T790M/L858R 双突变酶)及其细胞株(如 H1975)的增殖，而对野生型 EGFR 酶及其细胞株（如 A431）的抑制则相对较弱。因此，此类结构适用于目前 EGFR-TKI 治疗中产生继发性耐药的病例；同时其突变选择性大大减小了因抑制野生型 EGFR 而产生的毒副作用，此外，该类化合物在

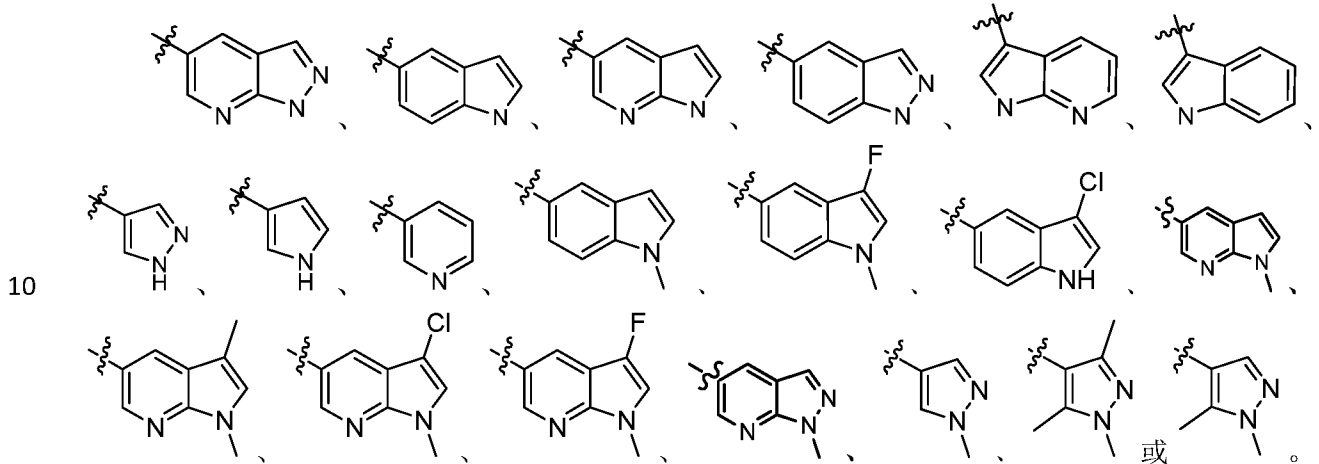
术语定义

如本文所用,“部分不饱和”是指含有一个或多个不饱和键,但不具有完全共轭的 π 电子系统。

如本文所用,“含 1 到 2 个氮原子的 5 至 6 元单环杂芳环”是指含 1 到 2 个氮原子的且具有 5 至 6 个环原子的单环杂芳基,例如包括(但不限于):咪唑基、吡咯基、吡啶基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基等。

如本文所用,“含 1、2 或 3 个氮原子的 9 至 10 元双环杂芳环”是指含 1、2 或 3 个氮原子的且具有 9 至 10 个环原子的双环杂芳基,例如包括(但不限于):吲哚基、异吲哚基、喹啉基、异喹啉基、喹唑基、苯并咪唑基、喹唑啉基、喹喔啉基、噌啉基、酞嗪基。

如本文所用,在本发明中,所述 5 至 6 元单环杂芳环或 9 至 10 元双环杂芳环优选自下组:



如本文所用,“含 1 或 2 个选自氮、氧或硫的杂原子的 4 至 7 元饱和单杂环基”是指含 4 至 7 个环原子且 1 或 2 个碳原子被氮、氧或硫原子所置换的饱和单环基团。单杂环基的实例包括(但不限于):吗啉基、哌啶基、四氢吡咯基、氮杂环丁烷、氮杂环庚烷。

如本文所用,“6 元部分不饱和单环基团”是指含 6 个环原子的部分不饱和的全碳单环基团。例如包括(但不限于):1,3-环己二烯基、1,4-环己二烯基、环己烯基等。

药物组合物

术语“本发明的活性物质”或“本发明的活性化合物”是指本发明式(I)化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药,其具有显著的 EGFR 抑制活性,其不仅对 EGFR T790M 耐药突变具有较高的抑制活性,而且对野生型 EGFR 的抑制活性显著降低,具有较高的选择抑制性,同时还具有低细胞毒性。此外与其它已知的 EGFR 突变体抑制剂相比,本发明的化合物还显示出有利的物理性质,毒性特征和/或代谢特征。

如本文所用,所述“药学上可接受的盐”包括药学可接受的酸加成盐和药学可接受的碱加成盐。

“药学上可接受的酸加成盐”是指能够保留游离碱的生物有效性而无其他副作用的,与无机酸或有机酸所形成的盐。无机酸盐包括但不限于盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐等;有机酸盐包括但不限于甲酸盐、乙酸盐、丙酸盐、乙醇酸盐、葡萄糖酸盐、乳酸盐、草酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、谷氨酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、对甲苯磺酸盐和水杨酸盐等。这些盐可通过本专业已知的方法制备。

“药学可接受的碱加成盐”，包括但不限于无机碱的盐如钠盐，钾盐，钙盐和镁盐等。包括但不限于有机碱的盐，比如铵盐，三乙胺盐，赖氨酸盐，精氨酸盐等。这些盐可通过本专业已知的方法制备。

如本文所用，式(I)化合物可以存在于一种或多种晶型，本发明的活性化合物包括各种晶型及其混合物。

本发明中提及的“溶剂化物”是指本发明的化合物与溶剂形成的配合物。它们或者在溶剂中反应或者从溶剂中沉淀析出或者结晶出来。例如，一个与水形成的配合物称为“水合物”。式(I)化合物的溶剂化物属于本发明范围之内。

本发明式(I)所示的化合物可以含有一个或多个手性中心，并以不同的光学活性形式存在。当化合物含有一个手性中心时，化合物包含对映异构体。本发明包括这两种异构体和异构体的混合物，如外消旋混合物。对映异构体可以通过本专业已知的方法拆分，例如结晶以及手性色谱等方法。当式(I)化合物含有多于一个手性中心时，可以存在非对映异构体。本发明包括拆分过的光学纯的特定异构体以及非对映异构体的混合物。非对映异构体可由本专业已知方法拆分，比如结晶以及制备色谱。

本发明包括上述化合物的前药。前药包括已知的氨基保护基和羧基保护基，在生理条件下被水解或经由酶反应释放得到母体化合物。具体的前药制备方法可参照(Saulnier, M.G.; Frennesson, D.B.; Deshpande, M.S.; Hansel, S.B and Vysa, D.M.Bioorg.Med.Chem.Lett.1994, 4, 1985-1990; 和 Greenwald, R.B.; Choe, Y.H.; Conover, C.D.; Shum, K.; Wu, D.; Royzen, M.J.Med.Chem.2000, 43, 475.)。

通常，本发明化合物或其药学可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或前药可以与一种或多种药用载体形成适合的剂型施用。这些剂型适用于口服、直肠给药、局部给药、口内给药以及其他非胃肠道施用(例如，皮下、肌肉、静脉等)。例如，适合口服给药的剂型包括胶囊、片剂、颗粒剂以及糖浆等。这些制剂中包含的本发明的化合物可以是固体粉末或颗粒；水性或非水性液体中的溶液或是混悬液；油包水或水包油的乳剂等。上述剂型可由活性化合物与一种或多种载体或辅料经由通用的药剂学方法制成。上述的载体需要与活性化合物或其他辅料兼容。对于固体制剂，常用的无毒载体包括但不限于甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、纤维素、葡萄糖、蔗糖等。用于液体制剂的载体包括水、生理盐水、葡萄糖水溶液、乙二醇和聚乙二醇等。活性化合物可与上述载体形成溶液或是混悬液。

本发明的组合物以符合医学实践规范的方式配制，定量和给药。给予化合物的“治疗有效量”由要治疗的具体病症、治疗的个体、病症的起因、药物的靶点以及给药方式等因素决定。

“治疗有效量”是指可对人和/或动物产生功能或活性的且可被人或/或动物所接受的量。

本发明的所述药物组合物或所述药用组合物中含有的本发明化合物或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药的治疗有效量优选为 0.1mg-5g/kg(体重)。

本发明的式(I)化合物、或其药学上可接受的盐、或溶剂化物、或其立体异构体、或前

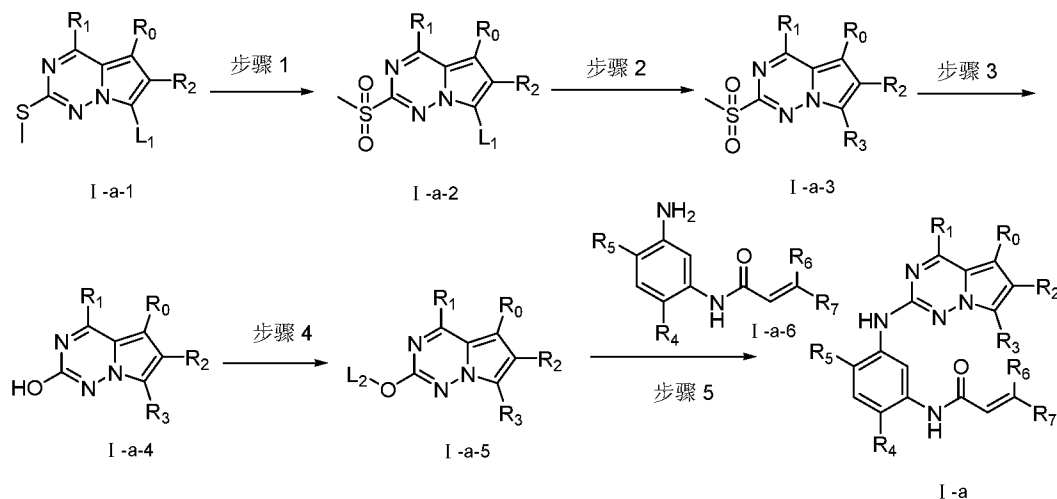
药在某些疾病中可以与其它药物联合应用,以达到预期的治疗效果。一个联合应用的例子是用来治疗晚期 NSCLC。例如,将治疗有效量的本发明式(I)所示化合物与 mTOR 抑制剂联用(例如雷帕霉素);或与 Met 抑制剂(包括 Met 抗体 MetMab 和 Met 小分子抑制剂 PF02341066)联用;或与 IGF1R 抑制剂联用(例如 OSI-906);或与热休克蛋白抑制剂联用等。

制备方法

下面更具体地描述本发明式(I)结构化合物的制备方法,但这些具体方法不对本发明构成任何限制。本发明化合物还可以任选将在本说明书中描述的或本领域已知的各种合成方法组合起来而方便的制得,这样的组合可由本发明所属领域的技术人员容易的进行。

例如,本发明的式(I-a)和式(I-b)化合物的制备方法可包括(但不限于)如下流程。

方案 1



方案 1 中, L_1 和 $-O-L_2$ 为离去基团, 包括(但不限于)三氟甲磺酸酯; 氯、溴、碘; 磺酸酯基, 如甲磺酸酯、甲苯磺酸酯、对溴苯磺酸酯、对甲苯磺酸酯等; 酰氧基, 如乙酰氧基、三氟乙酰氧基等。其它各取代基和基团如说明书中所定义。

式(I-a-1)化合物可依次通过氧化反应、偶联反应、还原反应、取代反应、偶联反应生成式(I-a)化合物。

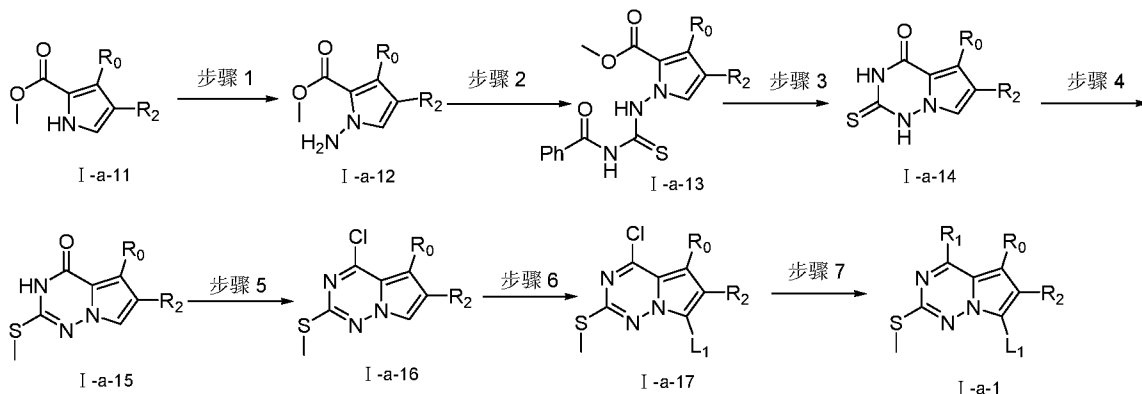
步骤 2 中, 式(I-a-2)化合物可与各类带有 R_3 基团的硼酸或硼酯类化合物进行偶联反应(如 Suzuki 偶联等)生成式(I-a-3)化合物; 根据不同的底物, 可选择合适的条件和方法很方便地进行合成。例如在一定温度下, 使用合适的催化剂(或含合适的配体)或碱及适当的溶剂进行。该方法是本领域技术人员所使用的常规方法。

步骤 4 中, 式(I-a-4)化合物可通过与合适的试剂形成如磺酸酯基、乙酰氧基等离去基团;

步骤 5 中, 式(I-a-5)化合物可通过取代反应或偶联反应与式(I-a-6)化合物反应生成式(I-a)化合物, 例如在一定温度下, 使用合适的催化剂(或含合适的配体)或碱及适当的溶剂进行。如使用酸催化, 催化剂可以是但不限于 TFA 或对甲苯磺酸。使用 Buchwald-Hartwig 胺化法, 所用的钯催化剂可以是但不限于 $Pd_2(dba)_3$, 所用的配体可以是但不限于 XantPhos(4,5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基氧杂蒽), 所用的碱可以是但不限于碳酸铯。

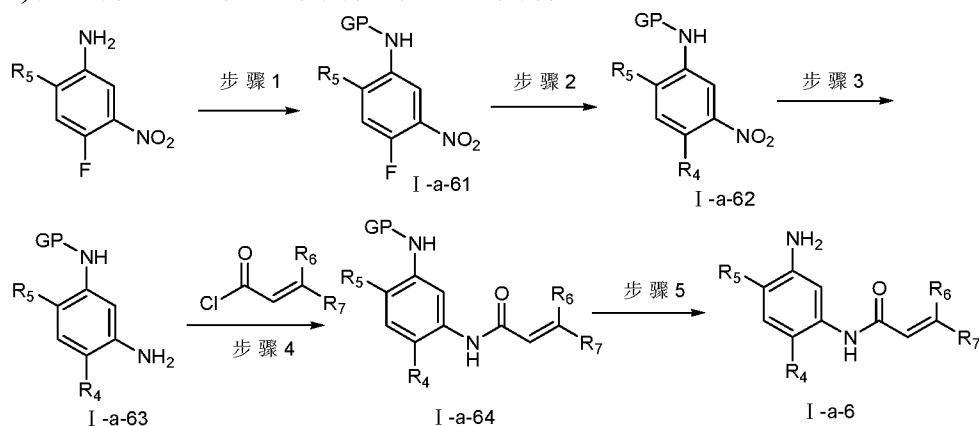
方案 1 中的上述各类反应均为本领域技术人员熟知的反应。

式(I-a-1)和式(I-a-6)化合物可采用本领域熟知的方法进行制备。式(I-a-1)化合物可通过如下示例性方法进行制备：



- 5 上述各式中，各取代基和基团如说明书中所定义，以式(I-a-11)化合物(市售可得)为起始原料，依次经过胺取代反应、苯甲酰基异硫氰酸酯化反应、关环反应、甲基化反应、氯代反应和取代反应生成式(I-a-1)化合物。上述各反应试剂和反应条件均可参照已知方法。

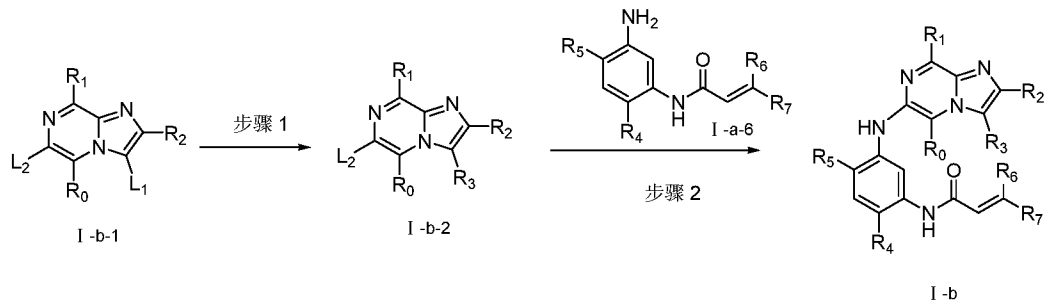
式(I-a-6)化合物可通过如下示例性方法进行制备：



- 10 以化合物 4-氟-2- R_5 -5-硝基苯胺为起始原料，依次经过氨基上保护基反应、胺取代反应、硝基还原反应、酰化反应和氨基脱保护反应来制备式(I-a-6)化合物。上述各步反应均为本领域常规反应。化合物 4-氟-2- R_5 -5-硝基苯胺可市购得到，或通过本领域技术人员已知的方法制备(式(I-a-6)化合物的合成方法可参见 WO2013014448A1)。

- 15 式(I-a-61)化合物中的 PG 为氨基保护基。氨基保护基包括但不限于：叔丁氧羰基(Boc)；芳基甲氧羰基，苄氧羰基(Cbz)和 9-芴甲氧羰基(Fmoc)；苄基(Bn)、三苯甲基(Tr)、1,1-二-(4'-甲氧基苯基)甲基；三甲基甲硅烷基(TMS)和叔丁基二甲基甲硅烷基(TBS)等等。上保护和脱保护的方法可参考本领域熟知的常规方法。

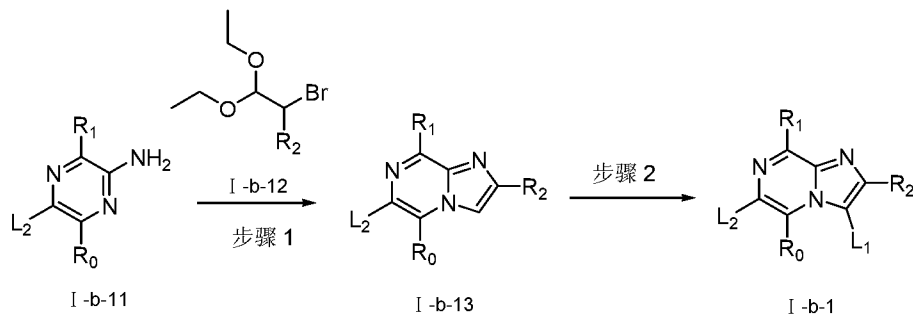
方案 2



方案 2 中, 各取代基和基团如说明书中所定义。

式(I-b-1)化合物可依次与各类带有 R_3 基团的硼酸或硼酯类化合物和式(I-a-6)化合物进行取代反应或偶联反应生成式(I-b)化合物, 反应所用试剂和条件均为本领域所已知的。

5 式(I-b-1)化合物可采用本领域熟知的方法进行制备。如通过如下示例性方法进行制备:



其中各取代基和基团如说明书中所定义。式(I-b-11)化合物与式(I-b-12)化合物关环反应后与合适的试剂形成如溴、碘、磺酸酯基、乙酰氧基等离去基团, 生成式(I-b-1)化合物。
10 该合成方法为已知的方法。

本发明公开的式(I-a)化合物或式(I-b)化合物以及化合物的制备方法、药物组成和治疗方案, 本领域技术人员可以借鉴本文内容, 适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是, 所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的, 它们都被视为包括在本发明。
15 本发明的产品、方法及应用已经通过较佳实施例进行了描述, 相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的方法和应用程序进行改动或适当变更与组合, 来实现和应用本发明技术。

与现有技术相比, 本发明的主要优点在于:

20 (1) 本发明化合物对 EGFR T790M 突变型(特别是 EGFR T790M/L858R 双突变型)酶或其细胞具有高抑制活性, 且对 EGFR 野生型(EGFR WT)酶或其细胞具有低抑制活性, 因此具有高选择抑制性。

(2) 本发明化合物对 EGFR 双突变型酶和细胞表现高选择抑制性的同时, 还具有低非特异性细胞毒性。

25 (3) 与其他已知的 EGFR 突变抑制剂相比, 本发明化合物还显示出有利的物理性质(例如, 较高的水溶性), 有利的毒性特征(例如较低的 hERG 阻断倾向), 有利的代谢特征(例如, 较好的药代动力学特征, 如生物利用度)。

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件如 Sambrook 等人，分子克隆：实验室手册(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)中所述的条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数按重量计算。

除非另行定义，本文所用的术语与本领域熟练人员所熟悉的意义相同。此外，任何与所记载内容相似或同等的方法及材料皆可应用于本发明中。

试剂与仪器

¹HNMR: Bruker AVANCE-400 核磁仪，内标为四甲基硅烷(TMS)。

LC-MS: Agilent 1200 HPLC System/6140 MS 液质联用质谱仪(生产商：安捷伦)，柱子 WatersX-Bridge, 150×4.6mm, 3.5μm。

制备高效液相色谱(pre-HPLC): Waters PHW007, 柱子 XBridge C18, 4.6*150mm, 3.5um。

采用 ISCO Combiflash-Rf75 或 Rf200 型自动过柱仪，Agela 4 g、12g、20g、40g、80g、120g 一次性硅胶柱。

已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成，或可以购自 ABCR GmbH&Co.KG, Acros Organics, Aldrich Chemical Company, 韶远化学科技 (Accela ChemBio Inc)和达瑞化学品等公司。

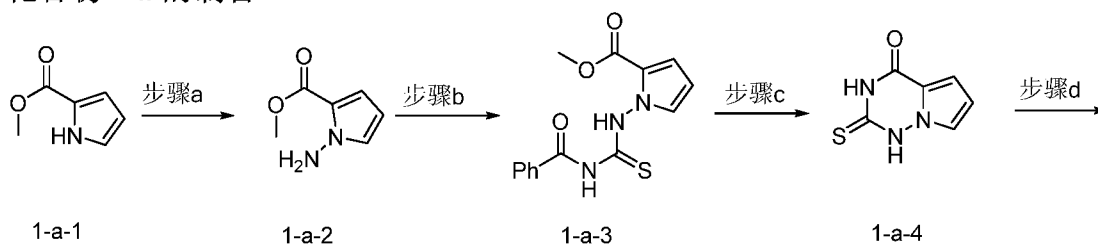
若无特殊说明，实施例中的反应均在氮气或氩气氛下进行。

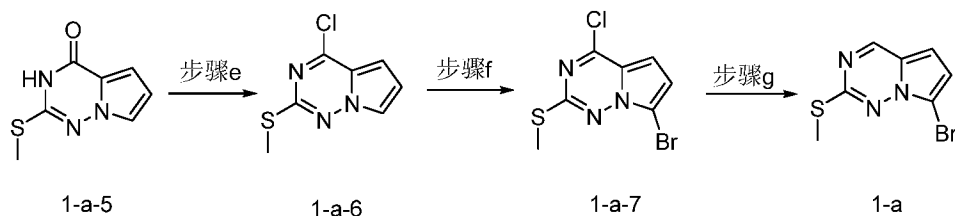
若无特殊说明，实施例中的溶液为水溶液。

DMF: 二甲基甲酰胺，DMSO: 二甲基亚砜，THF: 四氢呋喃，DIEA: N,N-二异丙基乙胺，EA: 乙酸乙酯，PE: 石油醚，BINAP: (2R,3S)-2,2'-双二苯膦基-1,1'-联萘。NBS: N-溴代丁二酰亚胺、NCS: N-氯代丁二酰亚胺、Pd₂(dba)₃: 三(二亚苄基丙酮)二钯、Pd(dppf)Cl₂: [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯。

如本文所用，室温是指约 20-30℃。

化合物 1-a 的制备





步骤 a: 在 4L 烧瓶中, 25.0g 原料 1-a-1(0.19mol)溶解在 1L 四氢呋喃中, 氮气保护下室温搅拌 20 分钟, 将 1M 的叔丁醇钾的四氢呋喃溶液(500.0ml, 0.50mol)加入到此溶液中, 搅拌 1 小时。然后把 0.15M 的氯胺乙醚溶液(2.1L, 0.31mol)在 10℃ 下 20 分钟内加入到该反应液中, 同时通入氮气, 2 小时后, 把饱和硫代硫酸钠水溶液(500ml)逐滴加入该反应液, 继续搅拌一小时。分离有机相, 分别用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。滤除干燥剂后, 将滤液在减压下浓缩, 得到油状化合物 1-a-2。MS m/z(ESI): 141.2 [M+H]⁺。

步骤 b: 把粗品化合物 1-a-2 溶解在 500ml 的四氢呋喃的溶液中, 然后室温下滴加苯甲酰基异硫氰酸酯的四氢呋喃溶液, 然后反应过夜。反应完成后, 减压浓缩。往粗品中加入 200ml 乙醚并搅拌 30 分钟, 过滤, 用正己烷/乙醚(9:1)洗涤得到灰白色固体化合物 1-a-3(38.2 g, 65%)。MS m/z(ESI): 304.0 [M+H]⁺。

步骤 c: 在 500ml 烧瓶中加入化合物 1-a-3(38.20 g, 126mmol)和氢氧化钠溶液(2M, 252ml, 504mmol), 加热 85℃ 反应 90 分钟, 然后冷却到室温, 加入 100ml 乙醇, 冰浴下滴加乙酸(29ml, 510mmol), 继续搅拌 30 分钟。把固体过滤并用冰的乙醇洗涤浓缩得到白色固体。在加入 200ml 乙醚搅拌 30 分钟, 过滤并用乙醚洗涤得到白色固体化合物 1-a-4(17.5g, 83%)。MS m/z(ESI): 168.1 [M+H]⁺。

步骤 d: 在 1L 烧瓶中加入化合物 1-a-4(17.5g, 105mmol)和 500 ml 四氢呋喃, 然后加入 8.4ml 碘甲烷(135mmol), 45℃ 下搅拌 1 个小时。浓缩反应液得到白色的固体, 往白色的固体中加入 500ml 水和 500ml 饱和碳酸氢钠水溶液, 搅拌过滤, 滤饼用水洗涤得到白色固体化合物 1-a-5(17.7g, 93%)。MS m/z(ESI): 182.1 [M+H]⁺。

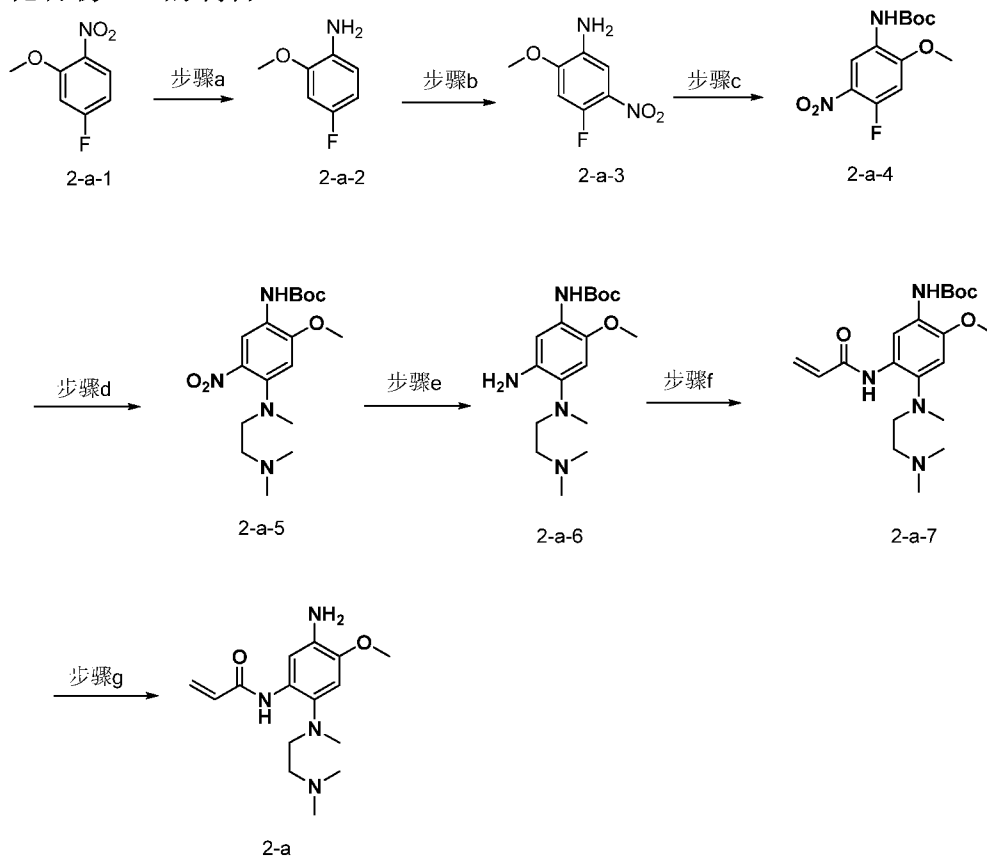
步骤 e: 在 500ml 烧瓶中加入化合物 1-a-5(17.6g, 97.1mmol)和 110ml 三氯氧磷, 100℃ 下反应 4 小时。反应完成后, 把三氯氧磷减压蒸掉, 加入冰水搅拌 5 分钟, 冰的氨水(25ml)慢慢滴加入该体系中, 搅拌 20 分钟过滤, 滤饼用大量水洗涤得到黄色的固体。把得到粗品黄色固体溶解在 1L 二氯甲烷中, 分别用水、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥浓缩得到黄色固体化合物 1-a-6(17.4g, 90%)。MS m/z(ESI): 199.7 [M+H]⁺。

步骤 f: 在 1L 烧瓶中加入化合物 1-a-6(10g, 50.1mmol)、500ml 四氢呋喃和 250ml 甲醇, 冰浴下慢慢加入 N-溴代丁二酰亚胺(8.91g, 50.1mmol), 室温下反应完成后浓缩得到黄色固体。用 500ml 二氯甲烷溶解该固体, 分别用水、饱和食盐水洗涤, 干燥浓缩得到约 14g 粗品黄色固体化合物 1-a-7。

步骤 g: 在 55℃ 条件下, 把约 14g 粗品化合物 1-a-7 溶解在 150ml 异丙醇中, 3.98g 硼氰化钠(50mmol)慢慢分批加入到该体系中, 然后加热到 60℃ 反应 3 个小时, 检测反应完成后冷却到室温, 过滤, 滤饼用二氯甲烷洗涤, 滤液浓缩得到粘稠的液体。把该粗品溶解在 300ml 二氯甲烷中, 12.5g 的 2,3 二氯-5,6-二氰对苯醌(55.1mmol)慢慢分批加入该反应液中。室温搅拌 2 个小时, 反应完成后过滤, 滤液浓缩得到粗品, 然后柱层析纯化(石油

醚/乙酸乙酯=40:1-20:1)得到黄色固体化合物 1-a(9.8 g, 774%)。MS m/z (ESI): 244.0 $[M+H]^+$ 。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.956 (s, 1H), 7.095 (s, 2H), 2.578 (s, 3H)。

化合物 2-a 的制备



5

步骤 a: 将反应底物 2-a-1(10.6g, 58 mmol)放置于 500 mL 的反应瓶中, 加入四氢呋喃/水 (100 mL / 60 mL)混合溶液使底物溶解。在室温条件下, 向搅拌的反应瓶中依次加入氯化铵 (15.5 g, 292 mmol)和还原铁粉(26 g, 467 mmol), 随后将反应体系加热至 65℃并持续搅拌 3 小时。通过 TLC 检测反应进度, 待底物完全反应后, 过滤除去多余的铁粉, 滤饼用乙酸乙酯淋洗三次。滤液用乙酸乙酯/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 减压浓缩得到化合物 2-a-2(8.0g), 直接用于下一步反应。产率: 93%; 纯度: 90%; MS m/z (ESI):142.0 $[M+H]^+$ 。

10

步骤 b: 将化合物 2-a-2 (8.0 g, 43 mmol)放置于 500 mL 的反应瓶中, 在搅拌下加入浓硫酸(100 mL)使底物溶解。在零下 20℃条件下, 向搅拌的反应瓶中缓慢滴加浓硝酸(6.15 mL, 48 mmol), 并保持该温度搅拌 5 分钟。通过 TLC 检测反应进度, 待底物完全反应后, 倒入冰水中。保持零下 20℃冰浴, 向反应体系中缓慢加入氢氧化钠/水溶液(150 mL/ 300 mL), 调节 pH 值至 8-9。中和完成后的反应液用乙酸乙酯/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 减压浓缩得到化合物 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺 2-a-3(8.7g), 直接用于下一步反应。产率: 80%; 纯度: 100%; MS m/z (ESI): 187.0 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7.34 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.04 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 5.25 (brs, 2H), 3.90 (s, 3H)。

20

步骤 c: 将化合物 2-a-3(11.16 g, 60 mmol) 溶解在二氯甲烷(150 mL)中, 加入三乙胺

(12.24 g, 120 mmol), 二碳酸二叔丁酯(15.60 g, 72 mmol), 4-二甲氨基吡啶(0.74 g, 6 mmol)。混合物在室温搅拌 18 小时后过滤, 滤液旋干。残留物用柱层析 (PE : EA = 4 : 1) 纯化后得桔黄色固体 2-a-4(12.56g, 产率: 73%)。MS m/z(ESI): 285 [M+H]⁺。纯度 = 97% (UV254)。

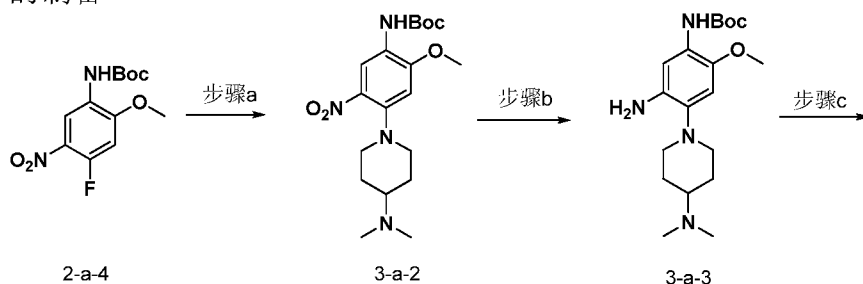
5 步骤 d: 将化合物 2-a-4 (11.46 g, 40 mmol) 溶解在 DMA(60 mL)中, 加入 N,N,N'-三甲基乙二胺(4.90 g, 48 mmol), N,N-二异丙基乙胺(7.74 g, 60 mmol)。混合物在氮气保护下, 加热到 90 °C 并搅拌 6 小时。冷却至室温后, 倒入冰水中, 用乙酸乙酯 (400 mL) 萃取。分出有机相, 用食盐水(300 mL)洗涤。无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液旋干, 得桔黄色固体 2-a-5(12.51g, 产率: 85%)。MS m/z(ESI): 369 [M+H]⁺, 纯度 = 98%(UV214)。

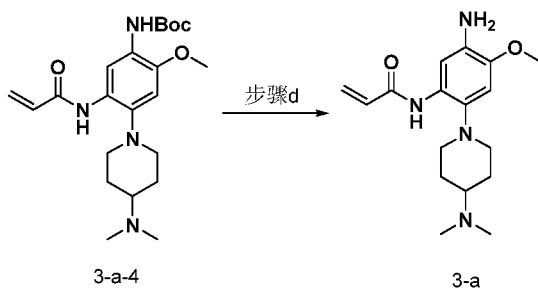
10 步骤 e: 将化合物 2-a-5 (12 g, 32.6 mmol) 溶解在甲醇(200 mL)中, 加入 Pd/C (1.0 g)。混合物在室温下用氢气气球加氢氢化 1 小时后, 过滤。滤液旋干, 得黑色固体 2-a-6 (10.70g, 产率: 97%)。MS m/z(ESI): 339 [M+H]⁺, 纯度 = 97%(UV254)。

15 步骤 f: 将化合物 2-a-6 (10.1 g, 30 mmol) 和 三乙胺(6.12g, 60 mmol)溶解在二氯甲烷(200 mL)中, 冷却至 0 °C。加入丙烯酰氯 (3.24 g, 36 mmol)。混合物在氮气保护下, 室温搅拌 3 小时。反应混合物用饱和碳酸氢钠水溶液 (200 mL), 食盐水(200 mL)洗涤。无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液旋干, 得棕色固体 2-a-7 (9.64g, 产率: 82%)。MS m/z(ESI): 393 [M+H]⁺, 纯度 = 88% (UV254)。

20 步骤 g: 将化合物 2-a-7(9.41 g, 24 mmol) 溶解在二氯甲烷(100 mL)中, 冷却到 0 °C, 加入三氟乙酸 (20 mL)。混合物在氮气保护下, 室温搅拌 18 小时。反应混合物旋干。残留物溶解在二氯甲烷(300 mL)中, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (200 mL), 食盐水(200 mL)洗涤。无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液旋干, 残留物用柱层析 (DCM : MeOH = 10 : 1)纯化后得桔黄色油状物 2-a(3.26 g, 产率: 46.5%)。MS m/z(ESI): 293 [M+H]⁺, 纯度 = 99% (UV214)。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 10.07 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.40 (dd, J = 16.8, 1.6 Hz, 1H), 6.29-6.32 (m, 1H), 5.66 (dd, J = 10.0, 1.6 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.76 (s, 2H), 2.85 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.65 (s, 3H), 2.25 (s, 8H)。

化合物 3-a 的制备





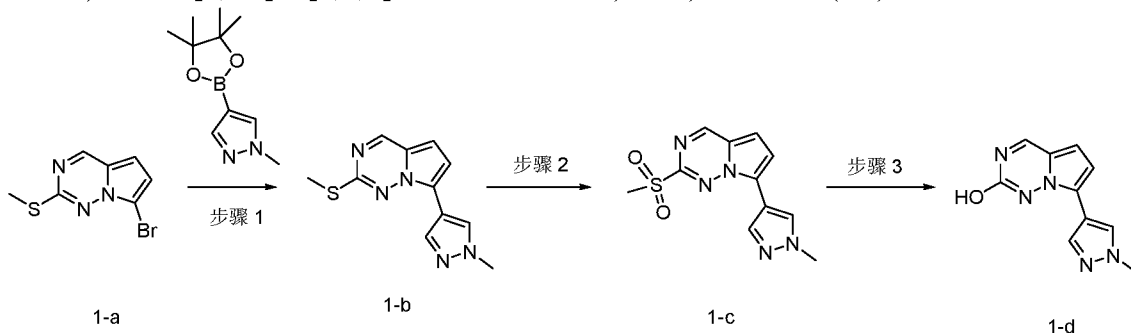
步骤 a: 将化合物 2-a-4 (14.0 g, 50 mmol) 溶解在 DMA (70 mL) 中, 加入 4-二甲氨基哌啶 (7.56 g, 60 mmol), N,N-二异丙基乙胺 (12.9 g, 100 mmol)。混合物在氮气保护下, 加热到 90℃ 并搅拌 6 小时。冷却至室温后, 倒入冰水中, 用乙酸乙酯 (400 mL) 萃取。分出有机相, 用食盐水 (300 mL) 洗涤。无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液旋干, 得桔黄色固体 3-a-2 (19.1g, 产率: 81%)。MS m/z(ESI): 395 [M+H]⁺, 纯度 = 99%(UV214)。

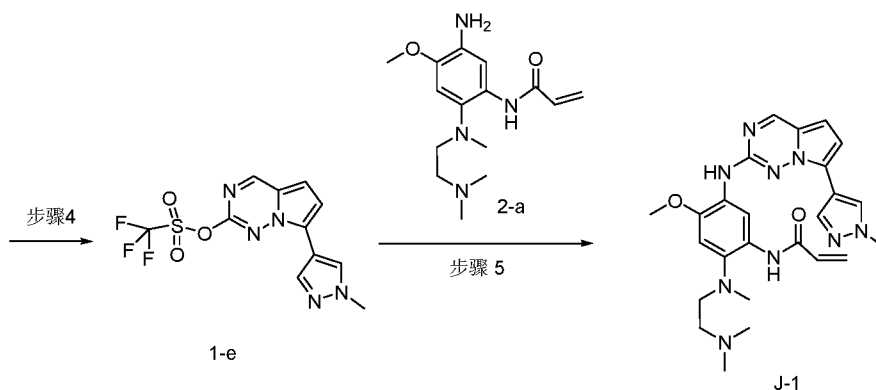
步骤 b: 将化合物 3-a-2 (15.76 g, 40 mmol) 溶解在甲醇 (150 mL) 中, 加入 Pd/C (2.0 g)。混合物在室温下用氢气气球加氢氢化 1 小时后, 过滤。滤液旋干, 得黑色固体 3-a-3 (13.41g, 产率: 92%)。MS m/z(ESI): 365 [M+H]⁺, 纯度 = 93%(UV214)。

步骤 c: 将化合物 3-a-3 (11 g, 30 mmol) 和三乙胺 (6.2g, 60 mmol) 溶解在二氯甲烷 (150 mL) 中, 冷却至 0℃。加入丙烯酰氯 (3.24 g, 36 mmol)。混合物在氮气保护下, 室温搅拌 3 小时。反应混合物用饱和碳酸氢钠水溶液 (200 mL), 食盐水 (200 mL) 洗涤。无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液旋干, 得棕色固体 3-a-4 (9.61g, 产率: 77%)。MS m/z(ESI): 393 [M+H]⁺, 纯度 = 91%(UV254)。

步骤 d: 将化合物 3-a-4 (6.27 g, 15 mmol) 溶解在二氯甲烷 (100 mL) 中, 冷却到 0℃, 加入三氟乙酸 (30 mL)。混合物在氮气保护下, 室温搅拌 24 小时。反应混合物旋干。残留物溶解在二氯甲烷 (300 mL) 中, 用饱和碳酸氢钠水溶液 (200 mL), 食盐水 (200 mL) 洗涤。无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液旋干, 残留物用柱层析 (DCM: MeOH = 20:1) 纯化后得桔黄色固 3-a (3.4 g, 产率: 71%)。MS m/z(ESI): 319 [M+H]⁺, 纯度 = 96%(UV214)。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.50 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.32-6.35 (m, 2H), 5.73 (dd, J = 8.8, 2.8 Hz, 1H), 3.80 (s, 5H), 3.01-3.05 (m, 3H), 2.71-2.77 (m, 8H), 2.14-2.17 (m, 2H), 1.90-1.99 (m, 2H)。

实施例 1: N - (2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - (1 - 甲基-1H-吡唑-4 - 基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-1)的制备





步骤 1: 化合物 1-a(6.0g, 24.6mmol), 1 - 甲基-4(4,4,5,5 - 四甲基-1,3,2 - 二氧硼戊环-2 - 基)-1H-吡唑(10.2g, 49.0mmol), 四三苯基磷钼(2.84g, 2.46mmol), 碳酸钾(10.2g, 73.8mmol), 二氧六环 60ml, 水 20ml 的混合物, 氩气保护, 100℃ 搅拌 4 小时。反应结束, 冷却至室温, 加入二氯甲烷和水, 分离有机相, 减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0~0: 100]纯化得到黄色固体化合物 1-b(5.7g), 直接用于下一步反应。产率: 94.5%; 纯度: 98.76%(UV254)。MS m/z(ESI):246.0[M+H]⁺。

步骤 2: 化合物 1-b(5.64g, 22.7mmol)溶解于 500ml 二氯甲烷中, 冷却至 0℃, 缓慢的加入 m-CPBA(间氯过氧化苯甲酸)(15.68g, 90.9mmol), 加毕, 室温搅拌 3 小时。反应结束, 加入饱和硫代硫酸钠溶液 200ml 搅拌 0.5 小时, 分离有机相, 饱和碳酸氢钠洗, 分离有机相, 饱和食盐水洗, 分离有机相, 减压浓缩得到固体化合物 1-c(3.0g), 直接用于下一步反应。产率: 47.0%; 纯度: 63.7%(UV254)。MS m/z(ESI):278.1[M+H]⁺。

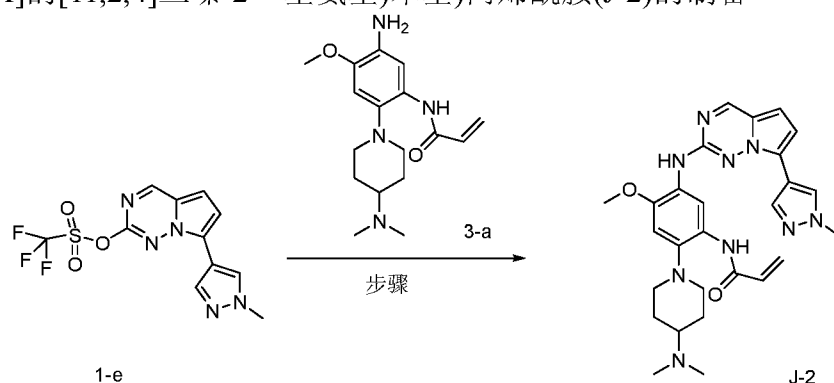
步骤 3: 向氢氧化钠(2.8g, 70mmol)的 35ml 水溶液中加入化合物 1-c(3g, 6.9mmol), 100℃ 搅拌 2 小时。反应结束, 冷却至室温, 二氯甲烷萃取, 分离收集水相, 水相用乙酸调节 pH 为 5, 二氯甲烷萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到红棕色固体化合物 1-d(1.2g), 直接用于下一步反应。产率: 80.8%; 纯度: 71%(UV254)。MS m/z(ESI):216.1[M+H]⁺。

步骤 4: 化合物 1-d(1.2g, 3.96mmol)溶于 10ml 二甲基甲酰胺, 然后加入 N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(2.1g, 5.88mmol), N,N-二异丙基乙胺(1.5g, 11.61mmol), 室温搅拌 3 小时。反应结束, 加入 50ml 二氯甲烷, 水洗有机相两次, 分离有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0~80: 20]纯化得到半固体化合物 1-e(160mg), 直接用于下一步反应。产率: 11.6%; 纯度: 68%(UV254)。MS m/z(ESI):348.0[M+H]⁺。

步骤 5: 向化合物 1-e(30mg, 0.086mmol), 化合物 2-a(25mg, 0.086mmol), 4,5-双二苯基磷-9,9-二甲基氧杂蒽(10mg, 0.0172mmol), 碳酸铯(56mg, 0.172mmol)的 4ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(8mg, 0.0086mmol), 氩气保护, 160℃ 微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品 107mg, 经制备液相分离纯化得化合物 J-1(10.16mg), 产率: 23.8%; 纯度: 97.83%(UV254)。MS m/z(ESI):490.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.22 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.38(s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.88(s,1H), 7.06-7.05 (d, J = 4.7 Hz, 2H), 6.89-6.88 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 6.45-6.38 (dd, J1 = 10.2 Hz, J2 = 16.9 Hz,1H), 6.21-6.17 (dd, J1 = 1.8 Hz, J2 = 16.9

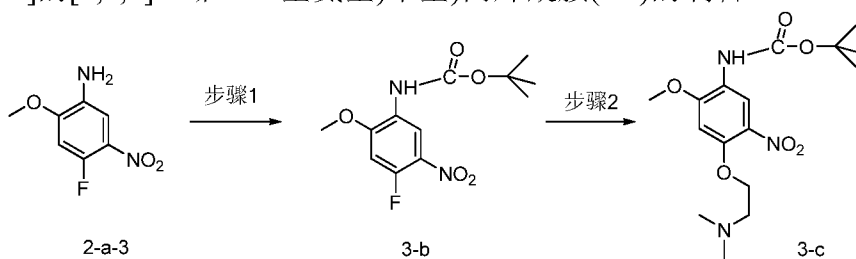
Hz, 1H), 5.76-5.73 (dd, J1 = 1.8 Hz, J2 = 10.1 Hz, 1H), 3.82(s, 3H), 3.75(s, 3H), 2.90-2.88(t, J = 4.7 Hz, 2H), 2.73(s, 3H), 2.33(s, 2H), 2.22(s, 6H)。

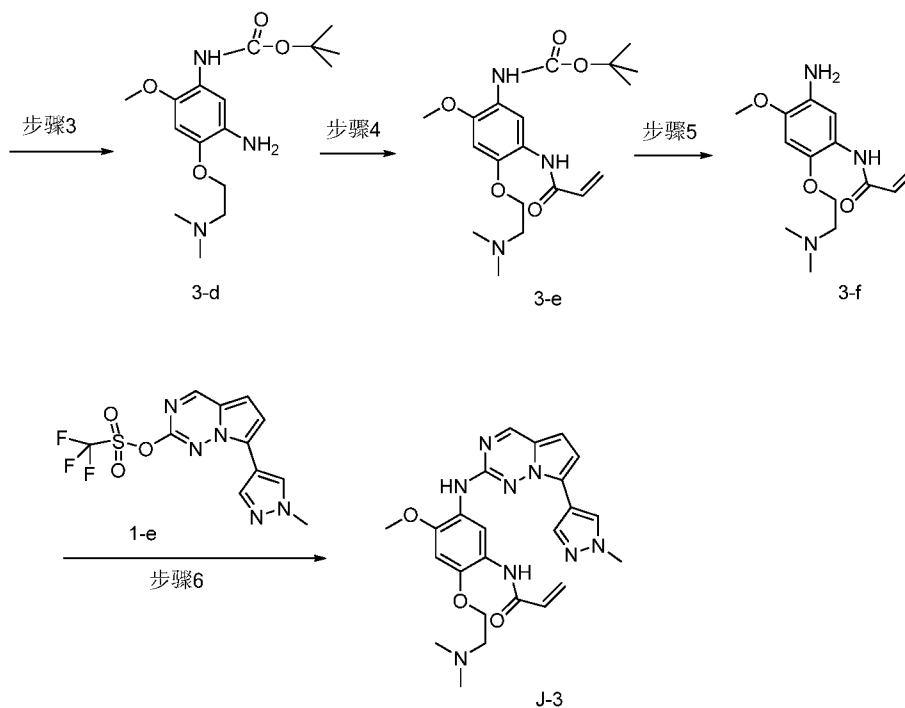
实施例 2: N - (2 - (4-(二甲基氨基)哌啶-1 - 基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - (1 - 甲基-1H-吡唑-4 - 基)吡咯并[1,2-f][11,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-2)的制备



步骤: 向 4ml 二氧六环溶液中加入化合物 1-e(50mg, 0.098mmol), 化合物 3-a(32mg, 0.1mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯(9mg, 0.0098mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(9mg, 0.016mmol), 碳酸铯(64mg, 0.196mmol), 氩气保护, 120℃微波搅拌 10 分钟。反应结束, 冷却至室温, 硅藻土过滤, 二氯甲烷洗滤饼, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得黄色固体化合物 J-2(5.67mg), 产率: 11.2%; 纯度: 100% (UV254)。MS m/z(ESI): 516.0[M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.11 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.07 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.72 (dd, J = 16.8, 10.5 Hz, 1H), 6.19 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 5.74 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.07 (d, J = 10.4 Hz, 2H), 2.76 – 2.65 (m, 2H), 2.27 (s, 7H), 1.86 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 1.73 (m, 2H)。

实施例 3: N - (2 - (2 - (二甲基氨基)乙氧基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - (1 - 甲基-1H-吡唑-4 - 基)吡咯并[1,2-f][1,1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-3)的制备





步骤 1: 化合物 2-a-3(25g, 134.3mmol)溶于 200ml 二氯甲烷溶液中, 冷却至 5℃, 加入 4-二甲氨基吡啶(3.3g, 27mmol), 缓慢加入二碳酸二叔丁酯(33g, 151.2mmol), 室温搅拌过夜。反应结束, 硅藻土过滤, 二氯甲烷洗滤饼, 滤液减压浓缩得到棕色结晶固体 38g, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 90: 10~80: 20]纯化得到淡黄色结晶固体化合物 3-b(13.6g), 直接用于下一步反应。产率: 35.4%; 纯度: 92.41% (UV254)。MS m/z(ESI):231.0[M-55]⁺。

步骤 2: 化合物 2 - (二甲基氨基)乙醇 (2.26g, 25.34mmol)溶于 55ml 四氢呋喃, 冷却至 0℃, 缓慢加入钠氢(1.093g, 27.325mmol), 氩气保护, 室温搅拌 3 小时, 缓慢加入化合物 3-b(5.4g, 17.49mmol)的 31ml 四氢呋喃溶液, 室温搅拌过夜。反应结束, 反应液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[DCM: MeOH = 100: 0~90: 10]纯化得到黄色固体化合物 3-c(6.66g), 直接用于下一步反应。产率: 99.34%; 纯度: 91.01% (UV254)。MS m/z(ESI):356.1[M+H]⁺。

步骤 3: 化合物 3-c(6.66g, 17.06mmol)溶于 150ml 甲醇, 加入钯炭(600mg), 氢气的条件下室温搅拌 5 小时。反应结束, 过滤, 甲醇洗, 滤液减压浓缩得到暗棕色油状化合物 3-d(6.06g), 直接用于下一步反应。产率: 109.19%; 纯度: 66.01% (UV254)。MS m/z(ESI):326.1[M+H]⁺。

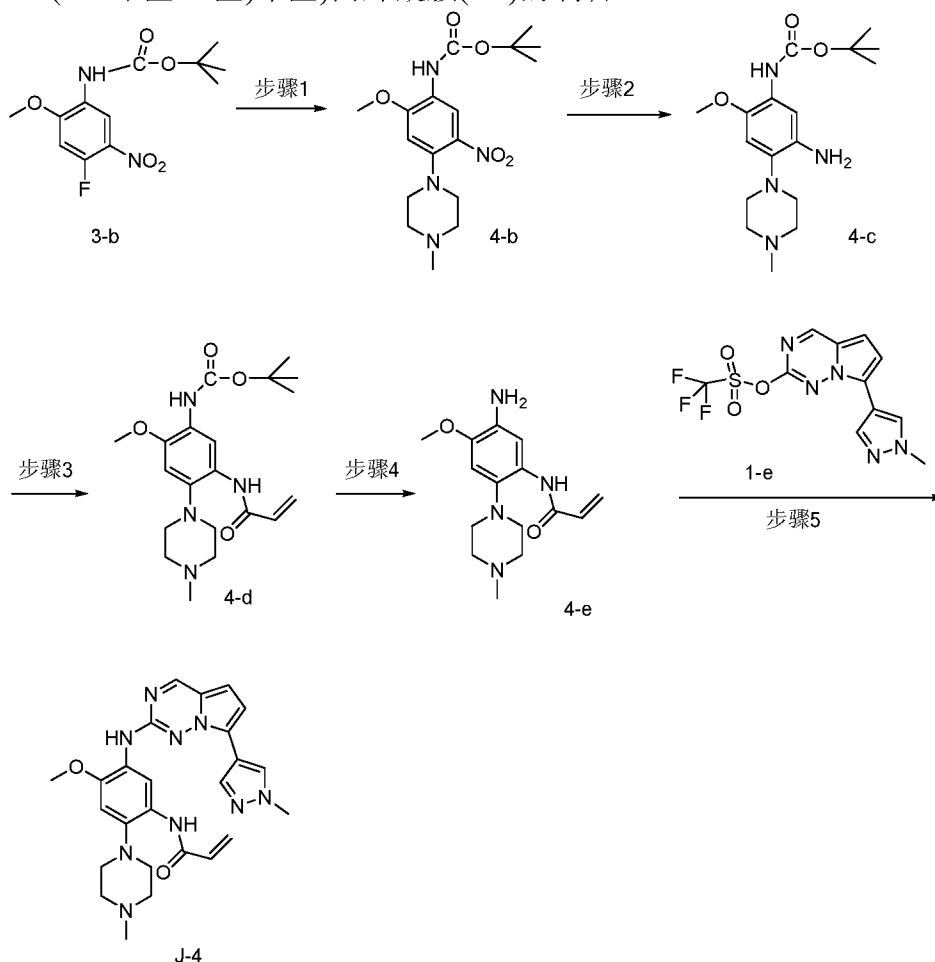
步骤 4: 化合物 3-d(6.06g, 12.29mmol)溶于 50ml 二氯甲烷, 冷却至 0℃, 加入 N,N-二异丙基乙胺(3.18g, 24.61mmol)搅拌 5 分钟, 逐滴加入丙烯酰氯(1.45g, 16.02mmol)的 10ml 二氯甲烷溶液, 缓慢升至室温搅拌 2 小时。反应结束, 加入 25ml 饱和碳酸氢钠溶液, 搅拌 10 分钟, 水洗, 饱和食盐水洗, 分离有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[DCM: (10%NH₃·H₂O)MeOH = 100: 0~80: 20]纯化得到浅棕色固体化合物 3-e(2.29g), 直接用于下一步反应。产率: 49.1%; 纯度: 97.24% (UV254)。MS m/z(ESI):380.2[M+H]⁺。

步骤 5: 化合物 3-e(2.29g, 5.87mmol)溶于 50ml 二氯甲烷, 冷却至 0℃, 缓慢加入三氟乙酸(13.39g, 117.44mmol), 室温搅拌过夜。反应结束, 反应液减压浓缩, 加入二氯甲

烷溶解, 盐酸(1N)萃取, 水相用碳酸钠溶液调 pH 为 9, 二氯甲烷/甲醇萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得粗品, 经 Combi-flash 柱层析[DCM:(10%NH₃.H₂O)MeOH = 100: 0~80: 20]纯化得到暗棕色油状化合物 3-f(1.1g), 直接用于下一步反应。产率: 67.07%; 纯度: 99.38% (UV254)。MS m/z(ESI):280.1[M+H]⁺。

- 5 步骤 6: 向 4ml 二氧六环溶液中加入化合物 1-e(50mg, 0.098mmol), 化合物 3-f(28mg, 0.1mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯(9mg, 0.0098mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(9mg, 0.016mmol), 碳酸铯(64mg, 0.196mmol), 氩气保护, 120℃微波搅拌 10 分钟。反应结束, 冷却至室温, 硅藻土过滤, 二氯甲烷洗滤饼, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得黄色固体化合物 J-3(7.71mg), 产率: 16.5%; 纯度: 100% (UV254)。MS
- 10 m/z(ESI):477.0[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.81 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.04 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.87 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 6.56 – 6.41 (m, 1H), 6.18 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 5.73 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 4.20 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 2.60 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.27 (s, 6H)。

- 15 实施例 4: N - (4 - 甲氧基-5 - (7 - (1 - 甲基-1H-吡唑-4 - 基)吡咯并[1,2-f]的[1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)-2 - (4 - 甲基-1-基)苯基)丙烯酰胺(J-4)的制备



- 步骤 1: 化合物 3-b(2.1g, 7.336mmol), 1 - 甲基哌嗪(0.88g, 8.80mmol), 碳酸钾(2.0g, 14.672mmol), 二甲基甲酰胺 20ml 的混合物, 100℃搅拌 1 小时。反应结束, 冷却至室温, 加水 100ml, 乙酸乙酯萃取(20ml×2), 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减
- 20

压浓缩得到粗品 4-b(2.5g), 直接用于下一步反应。产率: 93%; 纯度: 66% (UV254)。MS m/z (ESI):367.2[M+H]⁺。

步骤 2: 化合物 4-b(2.5g, 6.823mmol)溶于 25ml 甲醇, 加入钯炭(0.25g),氢气的条件下室温搅拌 16 小时。反应结束, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品化合物 4-c(2.4g), 直接用于下一步反应。产率: 100%; 纯度: 49% (UV254)。MS m/z (ESI):337.2[M+H]⁺。

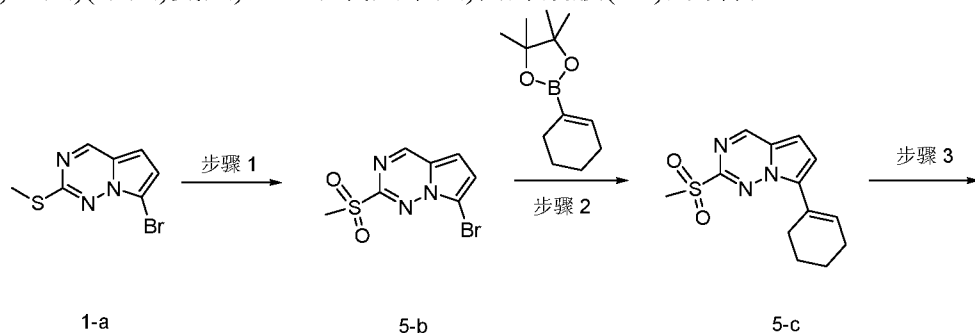
步骤 3: 化合物 4-c (2.4g, 7.13mmol)溶于 25ml 二氯甲烷, 5℃加入 N,N-二异丙基乙胺(1.38g, 10.7mmol), 5℃逐滴加入丙烯酰氯(0.968g, 10.7mmol), 室温搅拌 6 小时。反应结束, 加入水, 乙酸乙酯萃取, 分离合并有机相, 减压浓缩得粗品, 经 Combi-flash 柱层析纯化得到化合物 4-d(0.9g), 直接用于下一步反应。产率: 32%; 纯度: 77% (UV254)。

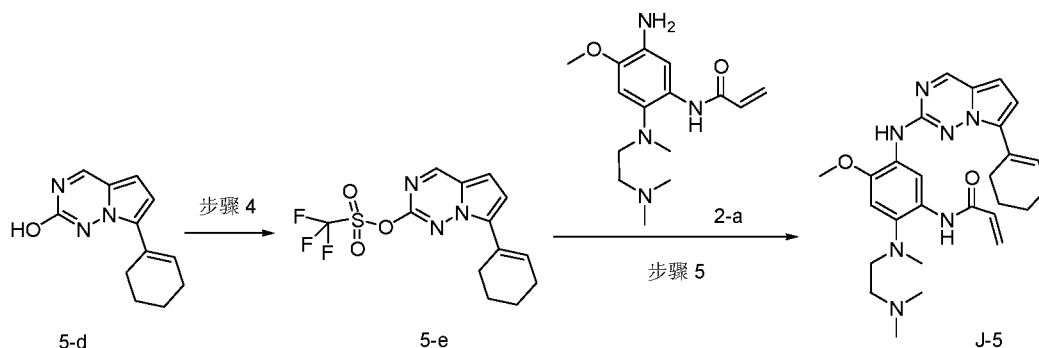
MS m/z (ESI):391.3[M+H]⁺。

步骤 4: 化合物 4-d (0.7g, 1.793mmol)溶于 9ml 二氯甲烷, 5℃加入三氟乙酸 3ml, 室温搅拌 6 小时。反应结束, 反应液减压浓缩, 碳酸钠溶液调 pH 为 9-10, 乙酸乙酯萃取, 分离合并有机相, 减压浓缩得粗品, 经 Combi-flash 柱层析纯化得到化合物 4-e(0.36g), 直接用于下一步反应。产率: 69%; 纯度: 100% (UV254)。MS m/z (ESI):291[M+H]⁺。

步骤 5: 向 4ml 二氧六环溶液中加入化合物 1-e(53mg, 0.1mmol), 化合物 4-e(44mg, 0.1mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯(10mg, 0.011mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(9mg, 0.016mmol), 碳酸铯(68mg, 0.21mmol), 氩气保护, 120℃微波搅拌 10 分钟。反应结束, 冷却至室温, 硅藻土过滤, 二氯甲烷洗滤饼, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得黄色固体化合物 J-4(5.89mg), 产率: 11.6%; 纯度: 100% (UV254)。MS m/z (ESI):488.0[M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.09 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.06 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.89 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 6.70 – 6.60 (m, 1H), 6.18 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 5.73 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 2.88 (t, J = 4.7 Hz, 4H), 2.55 (s, 4H), 2.26 (s, 3H)。

实施例 5: N - (5(7 - 环己烯基 - 吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)-2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4 - 甲氧基苯基)丙烯酰胺(J-5)的制备





步骤 1: 化合物 1-a(2.3g, 9.4mmol)溶解于 200ml 二氯甲烷中, 冷却至 0℃, 缓慢的加入 m-CPBA(间氯过氧化苯甲酸)(6.5g, 37.7mmol), 加毕, 室温搅拌 2 小时。反应结束, 加入饱和硫代硫酸钠溶液 200ml 搅拌 1 小时, 分离有机相, 饱和碳酸氢钠洗, 分离有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到固体化合物 5-b(733mg), 直接用于下一步反应。产率: 28.2%; 纯度: 84.2%(UV254)。MS m/z(ESI):275.8[M+H]⁺。

步骤 2: 向二氧六环 12ml/水 4ml 的混合溶液中加入化合物 5-b(650mg, 1.98mmol), 2-环己烯基-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环(825mg, 3.96mmol), 四三苯基磷钼(145mg, 0.198mmol), 碳酸钠(630mg, 5.94mmol), 氩气保护, 120℃微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 加入 50ml 二氯甲烷, 硅藻土过滤, 滤液用水/二氯甲烷萃取, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0~0: 100]纯化得到橙色固体化合物 5-c(251mg), 直接用于下一步反应。产率: 45.7%; 纯度: 81.54%(UV254)。MS m/z(ESI):278.1[M+H]⁺。

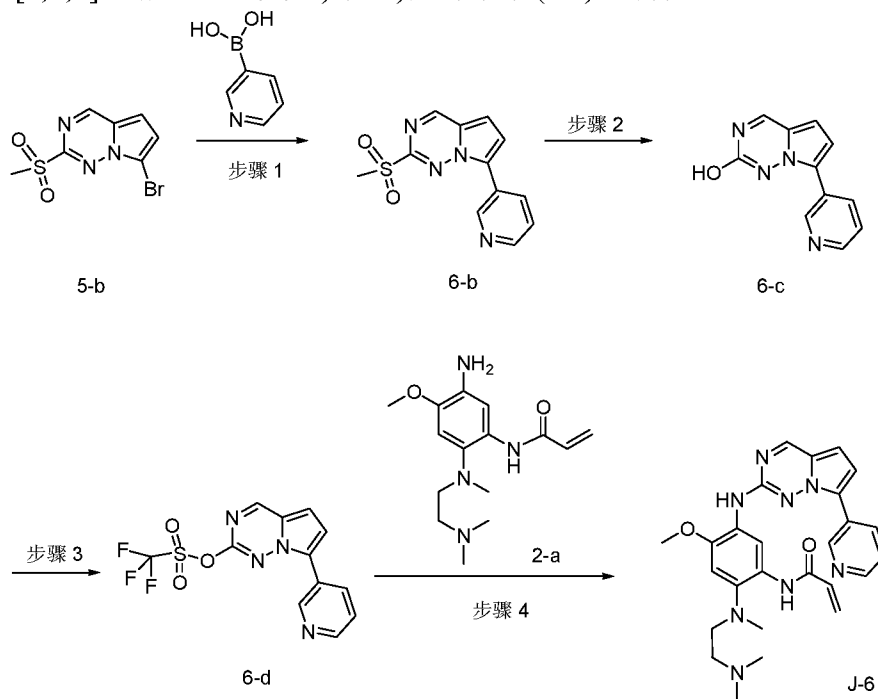
步骤 3: 向氢氧化钠(300mg, 7.5mmol)的 4ml 水溶液中加入化合物 5-c(249mg, 0.73mmol), 100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却至 0℃, 缓慢加入乙酸调 pH 为 5, 有固体析出, 二氯甲烷萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到棕色固体化合物 5-d(240mg), 直接用于下一步反应。产率: 152.87%; 纯度: 84.55%(UV254)。MS m/z(ESI):216.2[M+H]⁺。

步骤 4: 化合物 5-d(240mg, 0.94mmol)溶于 10ml 二甲基甲酰胺, 冷却至 0℃, 加入 N,N-二异丙基乙胺(183mg, 1.42mmol), 搅拌 10 分钟, 加入 N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(370mg, 1mmol), 室温搅拌 3 小时。反应结束, 反应液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0~80: 20]纯化得到黄色固体化合物 5-e(43mg), 直接用于下一步反应。产率: 13.2%; 纯度: 53%(UV254)。MS m/z(ESI):348.1[M+H]⁺。

步骤 5: 向 3ml 二氧六环溶液中加入化合物 5-e(23mg, 0.066mmol), 化合物 2-a(20mg, 0.068mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯(6mg, 0.0066mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(6mg, 0.01mmol), 碳酸铯(43mg, 0.132mmol), 氩气保护, 140℃微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 硅藻土过滤, 二氯甲烷洗滤饼, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得黄色固体化合物 J-5(3.46mg), 产率: 9.79%; 纯度: 100%(UV254)。MS m/z(ESI):490.4[M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.16 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.82 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 6.76 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 6.42 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.21 (dd, J = 17.0, 1.9 Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.1,

1.9 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 2.90 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.42 (s, 2H), 2.35 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.24 (s, 6H), 2.08 (s, 2H), 1.70 – 1.60 (m, 2H), 1.59 – 1.48 (m, 2H)。

实施例 6: N - (2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - (吡啶-3 - 基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酸酰胺(J-6)的制备



步骤 1: 向化合物 5-b(552mg, 2.0mmol), 吡啶-3 - 基硼酸(246mg, 2.0mmol), 碳酸钠(424mg, 4.0mmol)的二氧六环 20ml/水 5ml 的混合溶液中加入 [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁] 二氯化钯(72mg, 0.1mmol), 氩气保护, 130℃微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 二氯甲烷/水萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到黄色固体化合物 6-b(160mg), 直接用于下一步反应。产率: 29.1%; 纯度: 60% (UV254)。MS m/z(ESI):275.1[M+H]⁺。

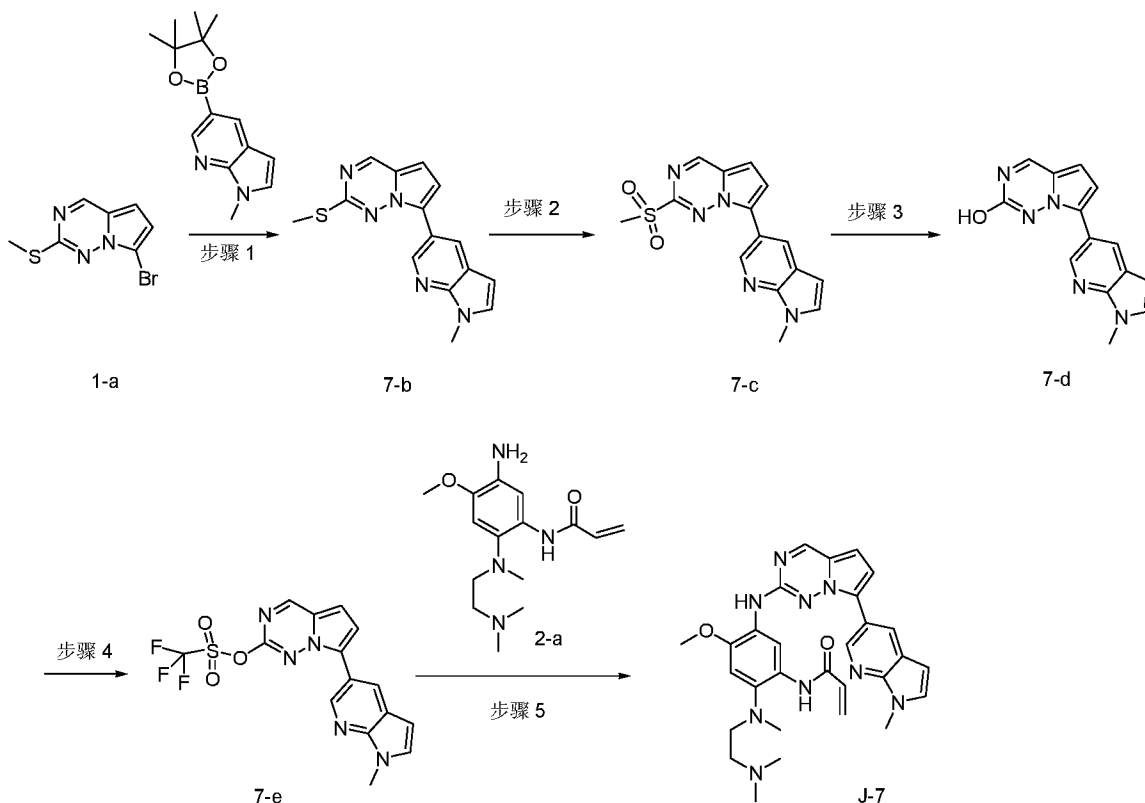
步骤 2: 向氢氧化钠溶液(2ml, 11.67mmol)中加入化合物 6-b(160mg, 0.583mmol), 100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却至 0℃, 缓慢加入乙酸调 pH 为 4-5, 二氯甲烷萃取, 分离合并有机相, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到棕色固体化合物 6-c(130mg), 直接用于下一步反应。产率: 100%; 纯度: 52%(UV254)。MS m/z(ESI):213.1[M+H]⁺。

步骤 3: 向化合物 6-c(130mg, 0.61mmol), N,N-二异丙基乙胺(158mg, 1.22mmol) 的 5ml 二甲基甲酰胺溶液中, 0℃加入 N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(297mg, 0.79mmol), 室温搅拌 1 小时。反应结束, 二氯甲烷萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0~40: 60]纯化得到黄色固体化合物 6-d(30mg), 直接用于下一步反应。产率: 15%; 纯度: 89% (UV254)。MS m/z(ESI):345[M+H]⁺。

步骤 4: 向 4ml 二氧六环溶液中加入化合物 6-d(30mg, 0.087mmol), 化合物 2-a(25mg, 0.085mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯(8mg, 0.0087mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂

蒽(10mg, 0.017mmol), 碳酸铯(57mg, 0.174mmol), 氩气保护, 170℃微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得淡黄色固体化合物 J-6(7.84mg), 纯度: 95.46% (UV254)。MS m/z(ESI): 487.3[M+H]⁺。¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.13 (s, 1H), 9.15-9.14 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.65-8.63(d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.41-8.40(t, J = 3.5 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.32-7.31 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.28-7.25 (dd, J₁ = 4.8 Hz, J₂ = 8.0 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.97-6.96 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 6.45-6.40(dd, J₁ = 10.2 Hz, J₂ = 17.0 Hz, 1H), 6.18-6.15(dd, J₁ = 1.6 Hz, J₂ = 17.0 Hz, 1H), 5.76-5.73(dd, J₁ = 1.5 Hz, J₂ = 10.1 Hz, 1H), 3.81(s, 3H), 2.89(s, 2H), 2.72(s, 3H), 2.32(s, 2H), 2.22(s, 6H)。

10 实施例 7: N - (2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - (1 - 甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5 - 基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酸酰胺(J-7)的制备



步骤 1: 化合物 1-a(250mg, 1mmol), 1 - 甲基-5(4,4,5,5 - 四甲基-1,3,2 - 二氧硼戊环-2 - 基)-1H--吡咯并[2,3-b]吡啶(387mg, 1.5mmol), [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯(36g, 0.05mmol), 碳酸钾(317mg, 3mmol)加入到二氧六环 50ml/水 5ml 溶液中, 氩气保护, 80℃搅拌 16 小时。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 乙酸乙酯/水萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析纯化得到黄棕色固体化合物 7-b(232mg), 直接用于下一步反应。产率: 78.5%; 纯度: 94.46% (UV254)。MS m/z(ESI): 296[M+H]⁺。

步骤 2: 化合物 7-b(180mg, 0.61mmol)溶解于 10ml 二氯甲烷中, 冷却至 0℃, 缓慢的加入 m-CPBA(间氯过氧化苯甲酸)(421mg, 2.4mmol), 加毕, 室温搅拌过夜。反应结束, 加入饱和碳酸钠溶液, 分离有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到棕色固体

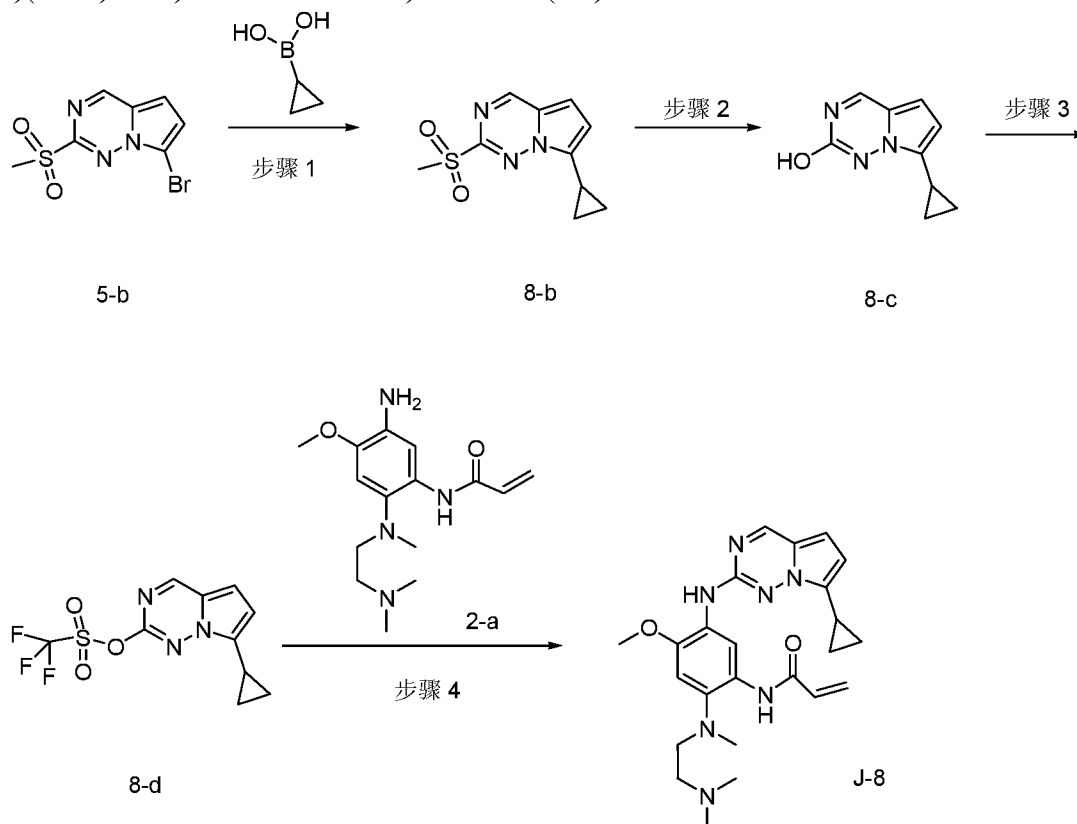
化合物 7-c(80mg), 直接用于下一步反应。产率: 37.2%; 纯度: 47%(UV254)。MS m/z (ESI):328[M+H]⁺。

步骤 3: 化合物 7-c(75mg, 0.23mmol)饱和氢氧化钠溶液(0.65ml), 100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却至室温, 乙酸调节 pH 为 4-5, 二氯甲烷萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到棕色固体化合物 7-d(50mg), 直接用于下一步反应。产率: 82%; 纯度: 62%(UV254)。MS m/z (ESI):266[M+H]⁺。

步骤 4: 向化合物 7-d(80mg, 0.3mmol), N,N-二异丙基乙胺(116mg, 0.9mmol)的 5ml 二甲基甲酰胺溶液中 0℃加入 N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(118mg, 0.33mmol), 室温搅拌 2 小时。反应结束, 加入二氯甲烷萃取, 饱和食盐水洗, 分离有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[DCM: MeOH = 90: 10~80: 20]纯化得到黄色固体化合物 7-e(25mg), 直接用于下一步反应。产率: 33%; 纯度: 94% (UV254)。MS m/z (ESI):398[M+H]⁺。

步骤 5: 向化合物 7-e(20mg, 0.05mmol), 化合物 2-a(15mg, 0.05mmol), 4,5-双二苯基磷-9,9-二甲基氧杂蒽(6mg, 0.01mmol), 碳酸铯(33mg, 0.1mmol)的 3ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(5mg, 0.005mmol), 160℃微波搅拌 20 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得化合物 J-7(2.01mg), 纯度: 96.92% (UV254)。MS m/z (ESI):540[M+H]⁺。

实施例 8: N - (5(7 - 环丙基吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)-2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4 - 甲氧基苯基)丙烯酰胺(J-8)的制备



步骤 1: 向化合物 5-b(276mg, 1.0mmol), 环丙基硼酸(258mg, 3.0mmol), 碳酸钠(318mg,

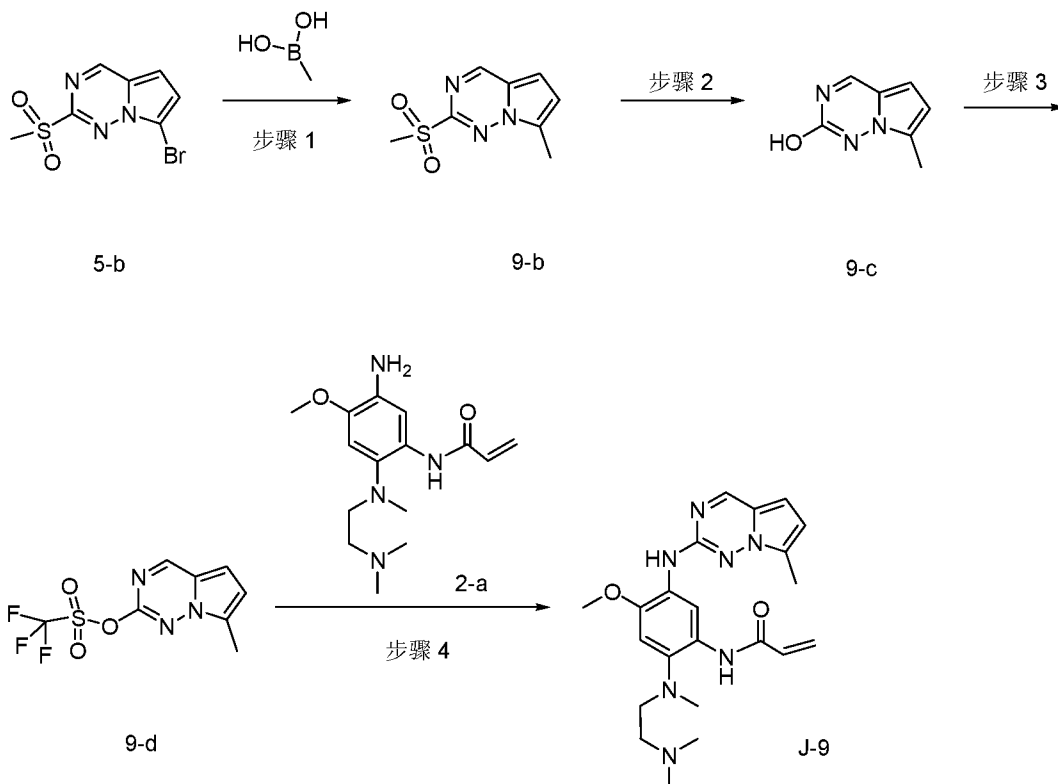
3.0mmol)的二氧六环 15ml/水 5ml 的混合溶液中加入 [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯 (37mg, 0.05mmol), 氩气保护, 110℃微波搅拌 5 小时。反应结束, 冷却至室温, 二氯甲烷/水萃取, 饱和食盐水洗, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE:EA = 50: 50~30: 70]纯化得到黄色固体化合物 8-b(90mg), 直接用于下一步反应。产率: 38%; 纯度: 79% (UV254)。MS m/z(ESI):238.1[M+H]⁺。

步骤 2: 向氢氧化钠溶液(6N, 1.1ml, 6.7mmol)中加入化合物 8-b(160mg, 0.67mmol), 100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却室温, 缓慢加入乙酸调 pH 为 4-5, 二氯甲烷和水萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到棕色固体化合物 8-c(117mg), 直接用于下一步反应。产率: 100%; 纯度: 67%(UV254)。MS m/z(ESI):176[M+H]⁺。

步骤 3: 向化合物 8-c(117mg, 0.67mmol), N,N-二异丙基乙胺(173mg, 1.34mmol) 的 10ml 二甲基甲酰胺溶液中, 0℃加入 N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(479mg, 1.34mmol), 室温搅拌 2 小时。反应结束, 减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0~70:30]纯化得到黄色固体化合物 8-d(180mg), 直接用于下一步反应。产率: 87.4%; 纯度: 85% (UV254)。MS m/z(ESI):308.0[M+H]⁺。

步骤 4: 向化合物 8-d(90mg, 0.29mmol), 化合物 2-a(85mg, 0.29mmol), 4,5-双二苯基磷-9,9-二甲基氧杂蒽(34mg, 0.058mmol), 碳酸铯(190mg, 0.58mmol)的 10ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(27mg, 0.029mmol), 160℃微波搅拌 20 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得淡黄色固体化合物 J-8(18.89mg), 纯度: 100% (UV254)。MS m/z(ESI):450.3[M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.08(s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.26(s, 1H), 7.51(s, 1H), 7.00(s, 1H), 6.76-6.75(d, J = 4.6 Hz, 1H), 6.40-6.39(d, J = 4.6 Hz, 2H), 6.18-6.13 (dd, J1 = 1.7 Hz, J2 = 16.8 Hz, 1H), 5.72-5.69 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 3.89(s, 3H), 2.89-2.86(t, J = 4.5 Hz, 3H), 2.68(s, 3H), 2.32(s, 2H), 2.21(s, 6H), 1.08-1.06(dd, J1 = 2.0 Hz, J2 = 8.3 Hz, 2H), 0.80 (s, 2H)。

实施例 9: N - (2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - 甲基吡咯并 [1,2-f]的[1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酸酰胺(J-9)的制备



步骤 1: 向化合物 5-b(828mg, 3.0mmol), 甲基硼酸(539mg, 9.0mmol), 碳酸钠(795mg, 7.5mmol)的二氧六环 30ml/水 10ml 的混合溶液中加入 [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯 (110mg, 0.15mmol), 110℃微波搅拌 6 小时。反应结束, 冷却至室温, 二氯甲烷/水萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE:EA = 80: 20~60: 40]纯化得到棕色固体化合物 9-b(242mg), 直接用于下一步反应。产率: 38.2%; 纯度: 65% (UV254)。MS m/z(ESI):212.1[M+H]⁺。

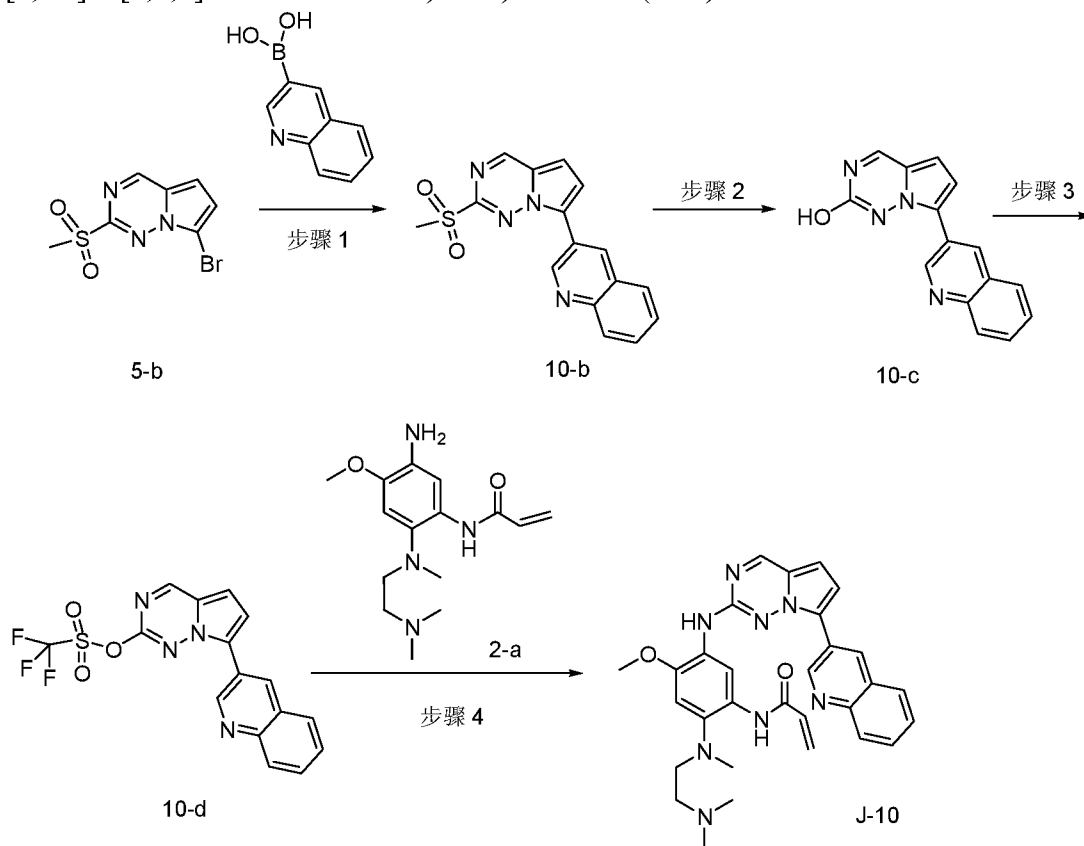
步骤 2: 向氢氧化钠溶液(6N, 2ml, 11.4mmol)中加入化合物 9-b(242mg, 1.14mmol), 100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却室温, 缓慢加入乙酸调 pH 为 3-4, 二氯甲烷和水萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到棕色固体化合物 9-c(137mg), 直接用于下一步反应。产率: 80.6%; 纯度: 89%(UV254)。MS m/z(ESI):150.1[M+H]⁺。

步骤 3: 向化合物 9-c(137mg, 0.92mmol), N,N-二异丙基乙胺(357mg, 2.76mmol) 的 10ml 二甲基甲酰胺溶液中, 0℃分批加入 N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(656mg, 1.84mmol), 室温搅拌 2 小时。反应结束, 减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE:EA = 100: 0~80:20]纯化得到黄色油状化合物 9-d(180mg), 直接用于下一步反应。产率: 70%; 纯度: 73% (UV254)。MS m/z(ESI):280.0[M+H]⁺。

步骤 4: 向化合物 9-d(90mg, 0.32mmol), 化合物 2-a(93mg, 0.32mmol), 4,5-双二苯基磷-9,9-二甲基氧杂蒽(37mg, 0.064mmol), 碳酸铯(209mg, 0.64mmol)的 8ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(29mg, 0.032mmol), 氩气保护, 170℃微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得黄色固体化合物 J-9(33mg), 产率 24.4%, 纯度: 96.82% (UV254)。MS m/z(ESI):424.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.07 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 7.53(s, 1H), 7.01(s, 1H), 6.80-6.79 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 6.62-6.61 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 6.42-6.36 dd, J1 = 10.0 Hz, J2

= 16.9 Hz, 1H), 6.25-6.20 (dd, J1 = 2.1 Hz, J2 = 16.9 Hz, 1H), 5.75-5.72 (dd, J1 = 1.8 Hz, J2 = 10.1 Hz, 1H), 3.88(s, 3H), 2.87-2.86(d, J = 5.3 Hz, 2H), 2.68(s, 3H), 2.57 s, 3H), 2.30(s, 2H), 2.21(s, 6H)。

- 5 实施例 10: N - (2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - (喹啉-3 - 基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-10)的制备



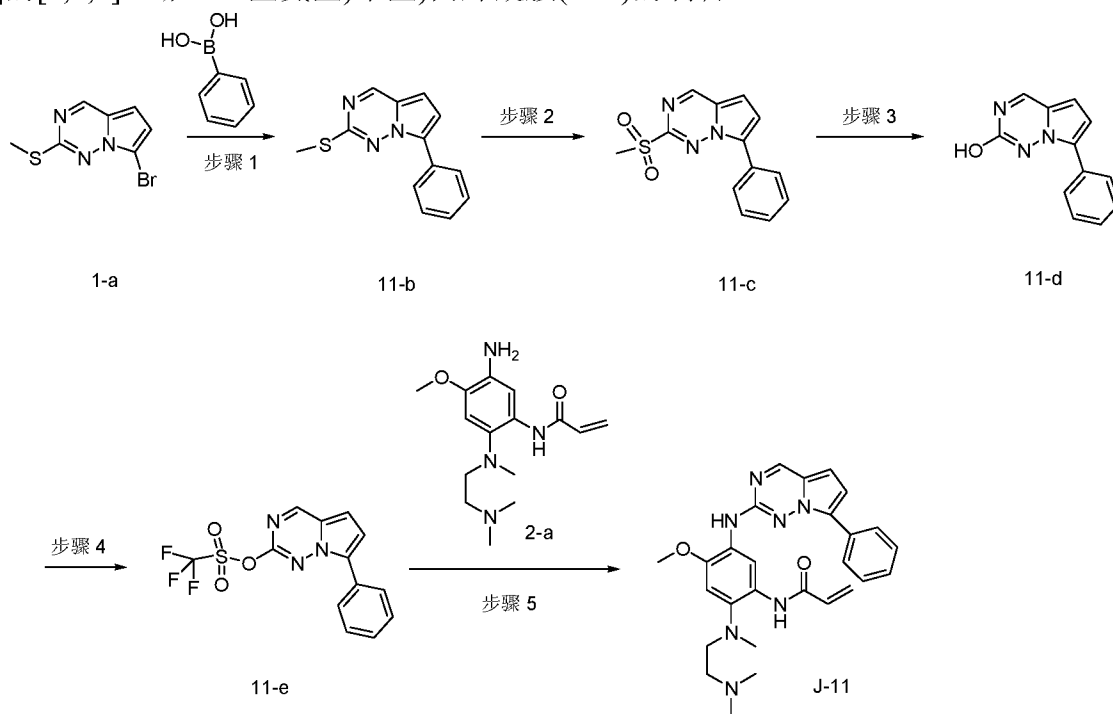
步骤 1: 向化合物 5-b(828mg, 3.0mmol), 喹啉-3-基硼酸(571mg, 3.3mmol), 碳酸钠
10 (795mg, 7.5mmol)的二氧化六环 30ml/水 10ml 的混合溶液中加入 [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]
二氯化钼(110mg, 0.15mmol), 100℃微波搅拌过夜。反应结束, 冷却至室温, 二氯甲烷/
水萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash
柱层析[PE:EA = 100: 0~20: 80]纯化得到黄色固体化合物 10-b(226mg), 直接用于下一步反
应。产率: 23%; 纯度: 49% (UV254)。MS m/z(ESI):325.1[M+H]⁺。

15 步骤 2: 向氢氧化钠溶液(3N, 2.3ml, 7mmol)中加入化合物 10-b(226mg, 0.7mmol),
100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却室温, 调 pH 为 4-5, 二氯甲烷和水萃取, 分离合并有
机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到棕色固体化合物 10-c(180mg), 直接用于
于下一步反应。产率: 98%; 纯度: 87%(UV254)。MS m/z(ESI):263.1[M+H]⁺。

20 步骤 3: 向化合物 10-c(180mg, 0.69mmol), N,N-二异丙基乙胺(267mg, 2.07mmol) 的
10ml 二甲基甲酰胺溶液中, 0℃分批加入 N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(493mg,
1.38mmol), 室温搅拌 2 小时。反应结束, 减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE:
EA = 100: 0~80:20]纯化得到黄色固体化合物 10-d(120mg), 直接用于下一步反应。产率:
44.3%; 纯度: 90% (UV254)。MS m/z(ESI):395.1[M+H]⁺。

步骤 4: 向化合物 10-d(60mg, 0.15mmol), 化合物 2-a(44mg, 0.15mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(18mg, 0.03mmol), 碳酸铯(98mg, 0.3mmol)的 8ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(14mg, 0.015mmol), 170℃微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得黄色固体化合物 J-10(18mg), 产率 22.5%, 纯度: 97.08% (UV254)。MS m/z(ESI): 537.3[M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.15 (s, 1H), 9.48 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 9.23 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 9.03(s, 1H), 8.64(s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.96-7.94(d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.71-7.66 (m, 2H), 7.55-7.50 (m, 2H), 7.12(s, 1H), 7.02-7.01(d, J = 4.8 Hz, 1H), 6.30-6.26(dd, J₁ = 10.7 Hz, J₂ = 17.0 Hz, 1H), 5.95-5.90(dd, J₁ = 5.8 Hz, J₂ = 16.9 Hz, 1H), 5.58-5.55(dd, J₁ = 1.7 Hz, J₂ = 10.1 Hz, 1H), 3.80(s, 3H), 2.96-2.93(d, J = 9.5 Hz, 2H), 2.78(s, 3H), 2.37(s, 2H), 2.24(s, 6H)。

实施例 11: N - (2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - 苯基吡咯并 [1,2-f] 的 [1,2,4] 三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-11)的制备



步骤 1: 向化合物 1-a(500mg, 2.05mmol)的乙腈 15ml/水 3ml 溶液中加入苯硼酸(250mg, 2.05mmol), [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯(150mg, 0.2mmol), 碳酸钠(435mg, 4.10mmol), 100℃微波搅拌 20 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0~80: 20]纯化得到黄色固体化合物 11-b(210mg), 直接用于下一步反应。产率: 42%; 纯度: 76% (UV254)。MS m/z(ESI): 242.1[M+H]⁺。

步骤 2: 化合物 11-b(200mg, 0.83mmol)的 100ml 二氯甲烷中, 冷却至 0℃, 缓慢的加入 m-CPBA(间氯过氧化苯甲酸)(428mg, 2.49mmol), 加毕, 室温搅拌 3 小时。反应结束, 加入饱和硫代硫酸钠溶液, 分离有机相, 饱和碳酸钠洗, 分离有机相, 减压浓缩得到黄色固体化合物 11-c(180mg), 直接用于下一步反应。纯度: 54%(UV254)。MS

m/z(ESI):274.1[M+H]⁺。

步骤 3: 向氢氧化钠(396mg, 10mmol)的 10ml 水溶液中加入化合物 11-c(180mg, 0.66mmol), 100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却至室温, 加乙酸中和, 乙酸乙酯/水萃取, 分离收集有机相, 减压浓缩得到黄色粉末状化合物 11-d(100mg), 直接用于下一步反应。

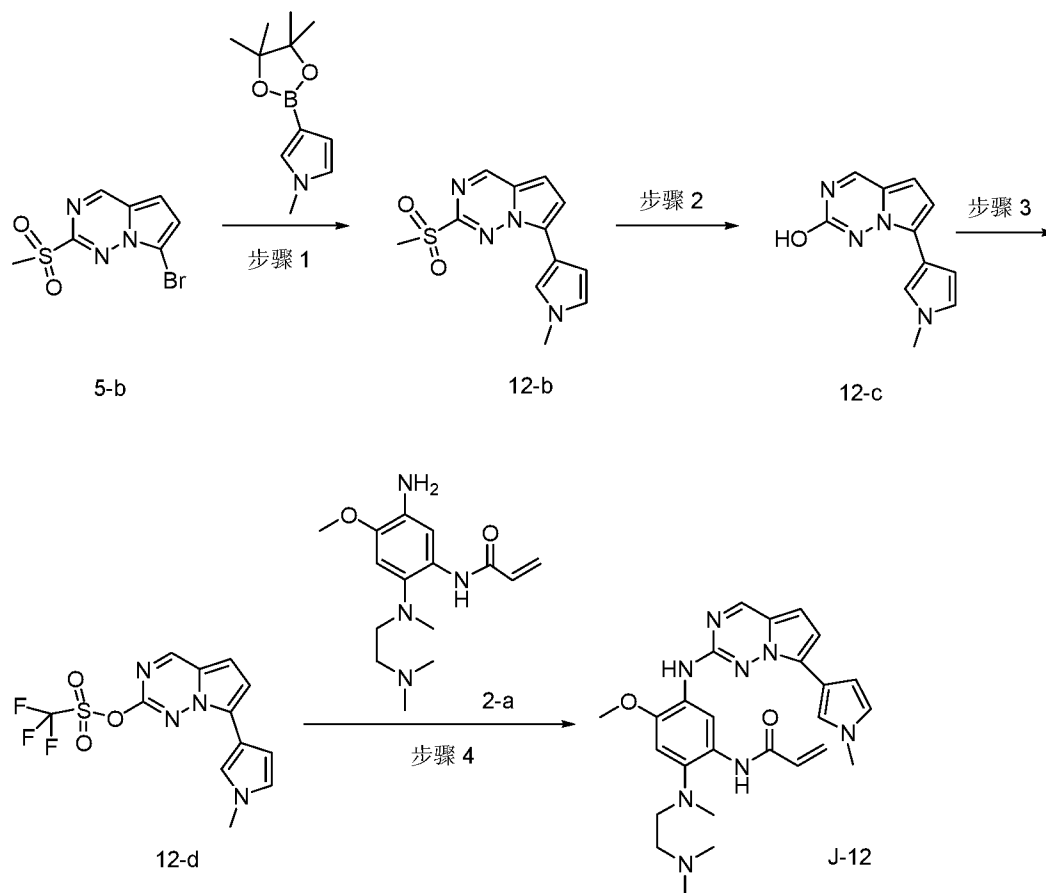
5 纯度: 66%(UV254)。MS m/z(ESI):212.1[M+H]⁺。

步骤 4: 向化合物 11-d(100mg, 0.47mmol)的 5ml 二甲基甲酰胺溶液中 0℃加入 N,N-二异丙基乙胺(183mg, 1.42mmol), 室温搅拌 5 分钟, 加入 N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(169mg, 0.47mmol), 室温搅拌 3 小时。反应结束, 乙酸乙酯/水萃取, 分离收集有机相, 水洗, 饱和食盐水洗, 分离有机相, 减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 90:10]纯化得到黄色半固体化合物 11-e(55mg), 直接用于下一步反应。纯度: 90%
10 (UV254)。MS m/z(ESI):344.0[M+H]⁺。

步骤 5: 向化合物 11-e(10mg, 0.029mmol), 化合物 2-a(9mg, 0.029mmol) 的 2ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(3mg, 0.003mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(4mg, 0.006mmol), 碳酸铯(19mg, 0.058mmol), 160℃微波搅拌 10 分钟。反应结
15 束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得化合物 J-11(2.08mg), 纯度: 100% (UV254)。MS m/z(ESI):486.1[M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.94 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.14 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.92 (s, 1H), 7.39 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.01 – 6.96 (m, 2H), 6.27 (d, J = 16.7 Hz, 1H), 5.80 (d, J = 10.3 Hz, 1H), 5.33 (t, J = 4.9 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.20 (s, 2H), 2.65 (s, 3H), 2.60 (s, 2H), 1.25 (s, 6H)。

20

实施例 12: N - (2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - (1 - 甲基-1H-吡咯-3 - 基)吡咯并[1,2-f]的[1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酸酰胺(J-12)的制备



步骤 1: 向化合物 5-b(250mg, 0.9mmol)的乙腈 16ml 溶液中加入 1 - 甲基-1H-吡咯-3 - 基硼酸(188mg, 0.9mmol), [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯(67mg, 0.09mmol), 碳酸钠(192mg, 1.81mmol), 水 2ml, 130℃微波搅拌 30 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析纯化得到黄色粉末状化合物 12-b(80mg), 直接用于下一步反应。产率: 32%。MS m/z(ESI):277.1[M+H]⁺。

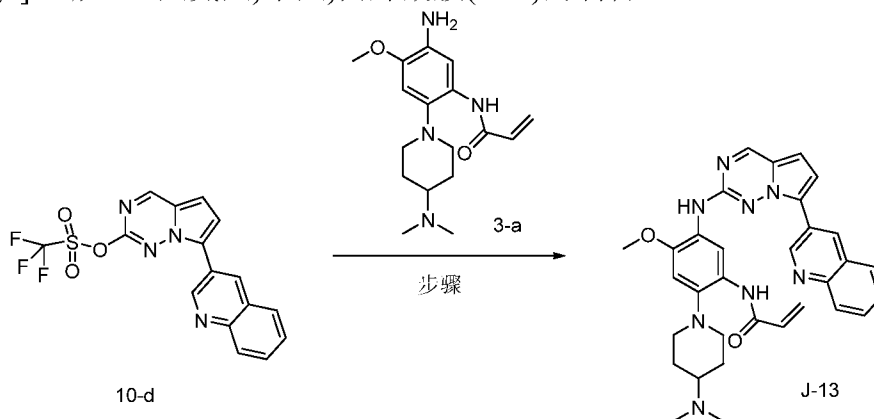
步骤 2: 向氢氧化钠 (174mg, 4.34mmol)的 3ml 水溶液中加入化合物 12-b(80mg, 0.29mmol), 100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却室温, 缓慢加入乙酸调 pH 为 4, 乙酸乙酯萃取, 分离合并有机相, 减压浓缩得到黄色油状化合物 12-c(80mg), 直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):215.1[M+H]⁺。

步骤 3: 向化合物 12-c(80mg, 0.37mmol) 的 4ml 二甲基甲酰胺溶液中 0℃加入 N,N-二异丙基乙胺(145mg, 1.12mmol), N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(134mg, 0.37mmol), 室温搅拌 3 小时。反应结束, 减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析纯化得到黄色油状化合物 12-d(40mg), 直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):347.1[M+H]⁺。

步骤 4: 向化合物 12-d(30mg, 0.09mmol) 的 2ml 二氧六环溶液中加入化合物 2-a(25mg, 0.09mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯(8mg, 0.009mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(10mg, 0.018mmol), 碳酸铯(58mg, 0.18mmol), 160℃微波搅拌 10 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得黄色粉末状化合物 J-12(1.83mg)。MS m/z(ESI):489.2[M+H]⁺。

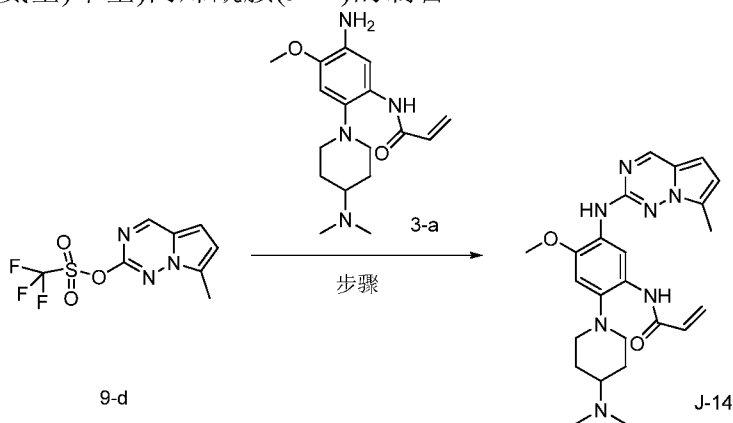
实施例 13: N - (2 - (4-(二甲基氨基)吡啶-1 - 基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - (喹啉-3 - 基)吡咯

并[1,2-f]的[1,2,4]三嗪-2-基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-13)的制备



步骤：向化合物 10-d(60mg, 0.15mmol)，化合物 3-a(48mg, 0.15mmol)，4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(18mg, 0.03mmol)，碳酸铯(98mg, 0.3mmol)的 8ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(14mg, 0.015mmol)，170℃微波搅拌 15 分钟。反应结束，冷却至室温，减压浓缩得到粗品，经制备液相分离纯化得黄色固体化合物 J-13(16mg)，产率 19%，纯度：97.38% (UV254)。MS m/z(ESI):563.3[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.47 (s, 1H), 9.23-9.22 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 9.02 (s, 2H), 8.37(s, 1H), 8.30(s, 1H), 7.98-7.96(d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.74-7.66(m, 2H), 7.55-7.54 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 7.01-7.00(d, J = 4.8 Hz, 1H), 6.96(s, 1H), 6.61-6.54(dd, J1 = 10.2 Hz, J2 = 16.9 Hz, 1H), 5.98-5.94(dd, J1 = 1.7 Hz, J2 = 16.9 Hz, 1H), 5.58-5.55(d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.78(s, 3H), 3.13-3.11(d, J = 11.2 Hz, 2H), 2.77-2.71(t, J = 11.2 Hz, 1H), 2.25(s, 7H), 1.90-1.87(d, J = 10.6 Hz, 2H), 1.76-1.74(d, J = 9.8 Hz, 2H)。

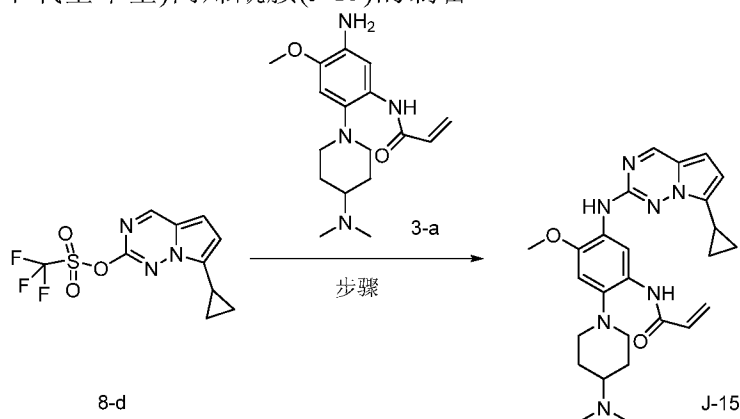
实施例 14: N - (2 - (4-(二甲基氨基)吡啶-1 - 基)-4 - 甲氧基-5 - (7 - 甲基吡咯并[1,2-f]的[1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-14)的制备



步骤：向化合物 9-d(90mg, 0.32mmol)，化合物 3-a(102mg, 0.32mmol)，4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(37mg, 0.064mmol)，碳酸铯(209mg, 0.64mmol)的 8ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(29mg, 0.032mmol)，氩气保护，170℃微波搅拌 15 分钟。反应结束，冷却至室温，过滤，滤液减压浓缩得到粗品，经制备液相分离纯化得黄色固体化合物 J-14(31mg)，产率 21.5%，纯度：100% (UV254)。MS m/z(ESI):450.4[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.10 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.52(s, 1H), 6.86(s, 1H), 6.79-6.78 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 6.68-6.61 (dd, J1 = 10.1 Hz, J2 = 16.8 Hz, 1H), 6.61-6.60 (d, J =

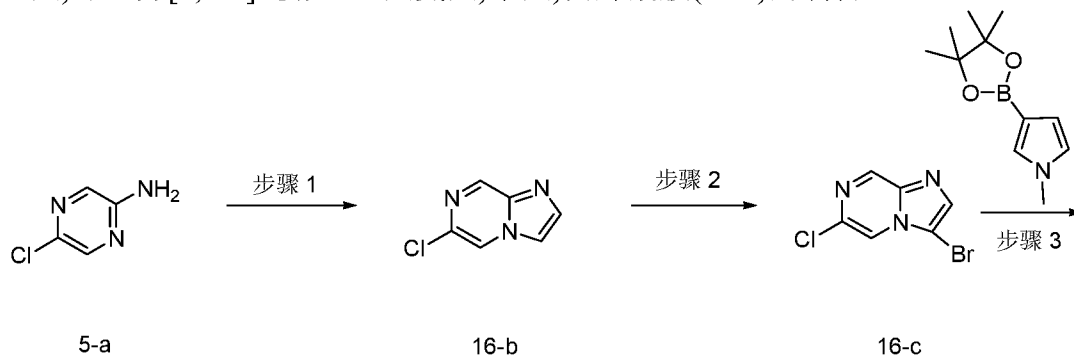
4.5 Hz, 1H), 6.24-6.19 (dd, $J_1 = 1.8$ Hz, $J_2 = 16.9$ Hz, 1H), 5.74-5.71 (dd, $J_1 = 1.6$ Hz, $J_2 = 10.2$ Hz, 1H), 3.88(s, 3H), 3.01-2.99(d, $J = 11.6$ Hz, 2H), 2.69-2.64(m, 2H), 2.52(s, 3H), 2.22(s, 6H), 2.18(m, 1H), 1.85-1.82(d, $J = 10.9$ Hz, 2H), 1.71-1.66(t, $J = 11.2$ Hz, 2H)。

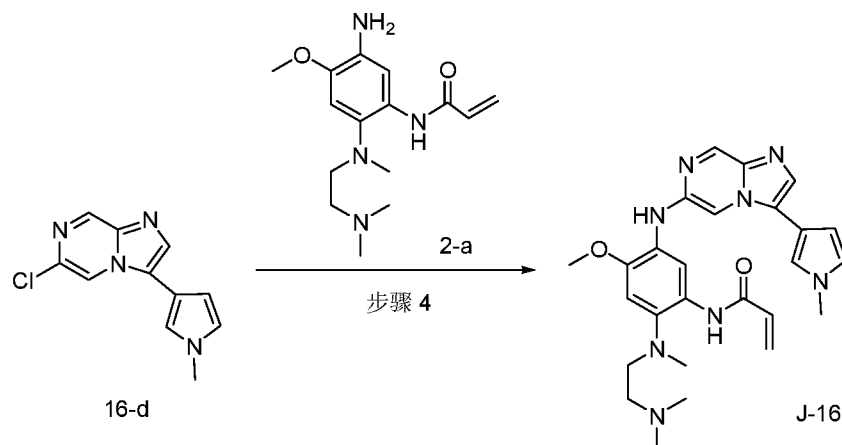
5 实施例 15: N - (5(7 - 环丙基吡咯并[1,2-f]的[1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)-2 - (4-(二甲基氨基)哌啶-1 - 基)-4 - 甲氧基苯基)丙烯酰胺(J-15)的制备



步骤: 向化合物 8-d(90mg, 0.29mmol), 化合物 3-a(93mg, 0.29mmol), 4,5-双二苯基磷-9,9-二甲基氧杂蒽(34mg, 0.058mmol), 碳酸铯(190mg, 0.58mmol)的 10ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(27mg, 0.029mmol), 170℃微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得黄色固体化合物 J-15(14.6mg), 产率 10.6%, 纯度: 100% (UV254)。MS m/z (ESI):476.1[M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.18 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 7.49(s, 1H), 6.84(s, 1H), 6.75-6.74 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 6.68-6.61 (dd, $J_1 = 10.1$ Hz, $J_2 = 16.7$ Hz, 1H), 6.40-6.39 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 6.18-6.13 (dd, $J_1 = 2.0$ Hz, $J_2 = 16.9$ Hz, 1H), 5.71-5.68 (dd, $J_1 = 1.8$ Hz, $J_2 = 10.1$ Hz, 1H), 3.89(s, 3H), 3.02-3.00(d, $J = 11.5$ Hz, 2H), 2.74(s, 1H), 2.68-2.63(t, $J = 10.1$ Hz, 2H), 2.21(s, 6H), 1.95(m, 1H), 1.84-1.81(d, $J = 10.6$ Hz, 2H), 1.71-1.63(dd, $J_1 = 11.5$ Hz, $J_2 = 20.3$ Hz, 2H), 1.05-1.02(m, 2H), 0.80-0.78(m, 2H)。

20 实施例 16: N - (2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4 - 甲氧基-5 - (3(1 - 甲基-1H-吡咯-3 - 基)咪唑并[1,2- α]吡嗪-6 - 基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-16)的制备





步骤 1: 化合物 5-a(2.6g, 20mmol), 2-溴-1,1-二乙氧基乙烷(12.0g, 60.89mmol)溶于 30ml 异丙醇溶液中, 然后加入溴化氢溶液(10.5g, 62.22mmol), 80℃搅拌过夜。反应结束, 冷却至室温, 碳酸氢钠调 pH 为 8, 二氯甲烷萃取, 分离合并有机相, 减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[DCM :MeOH=90 :10~70 :30]纯化得到棕色固体化合物 16-b(2.3g), 直接用于下一步反应。产率: 49.75%, 纯度 96.63。MS m/z(ESI):154.0[M+H]⁺。

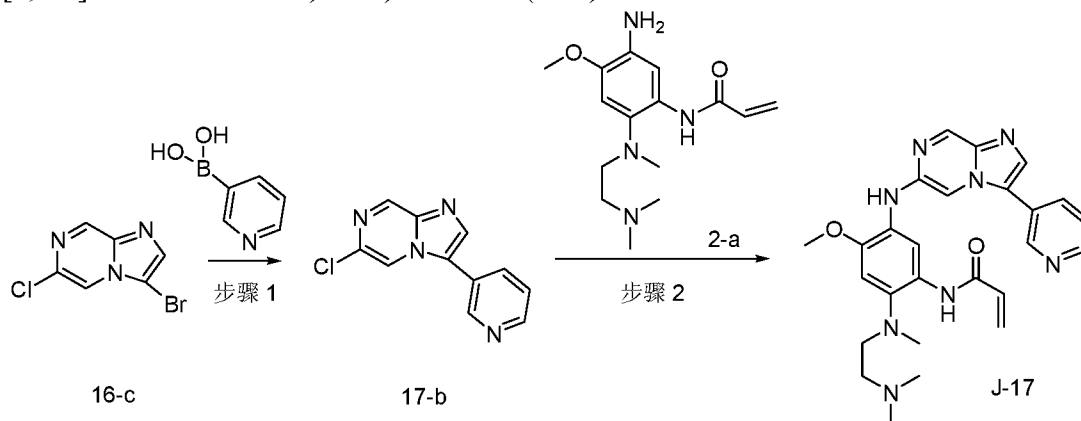
步骤 2: 向化合物 16-b (1.2g, 7.8mmol)的 40ml 乙腈溶液中加入 N-溴代丁二酰亚胺(1.46g, 8.2mmol), 室温搅拌 2 小时。反应结束, 加入乙酸乙酯和水萃取, 分离合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE :EA=100 :0~70 :30]纯化得到化合物 16-c(850mg), 直接用于下一步反应。产率: 47.2%, 纯度 100%。MS m/z(ESI):231.9[M+H]⁺。

步骤 3: 向化合物 16-c(174mg, 0.75mmol), 1-甲基-1H-吡咯-3-基硼酸(147mg, 0.71mmol), 碳酸钠(238mg, 2.25mmol)的乙腈 15ml/水 3ml 溶液中加入 [1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯(27mg, 0.0375mmol), 氩气保护, 70℃搅拌 4 小时。反应结束, 冷却至室温, 乙酸乙酯和水萃取, 分离合并有机相, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE :EA=60 :40~40 :60]纯化得到化合物 16-d(81mg), 直接用于下一步反应。产率: 46.5%, 纯度 100%。MS m/z(ESI):233[M+H]⁺。

步骤 4: 向化合物 16-d(69mg, 0.3mmol), 化合物 2-a(88mg, 0.3mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(35mg, 0.06mmol), 碳酸铯(196mg, 0.6mmol)的 10ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(27mg, 0.03mmol), 氩气保护, 170℃微波搅拌 25 分钟。反应结束, 冷却至室温, 减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得化合物 J-16(34.7mg), 产率 23.3%, 纯度 100%。MS m/z(ESI):489[M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.20 (s, 1H), 8.81 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.90-6.89 (t, J = 2.3 Hz, 1H), 6.50-6.49 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 6.39-6.32 (dd, J₁ = 9.9 Hz, J₂ = 16.8 Hz, 1H), 6.23-6.19 (dd, J₁ = 1.9 Hz, J₂ = 16.8 Hz, 1H), 5.75-5.72 (dd, J₁ = 1.9 Hz, J₂ = 10.0 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 2.86-2.83 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.27-2.24 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H)。

实施例 17: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-(3(吡啶-3-基)

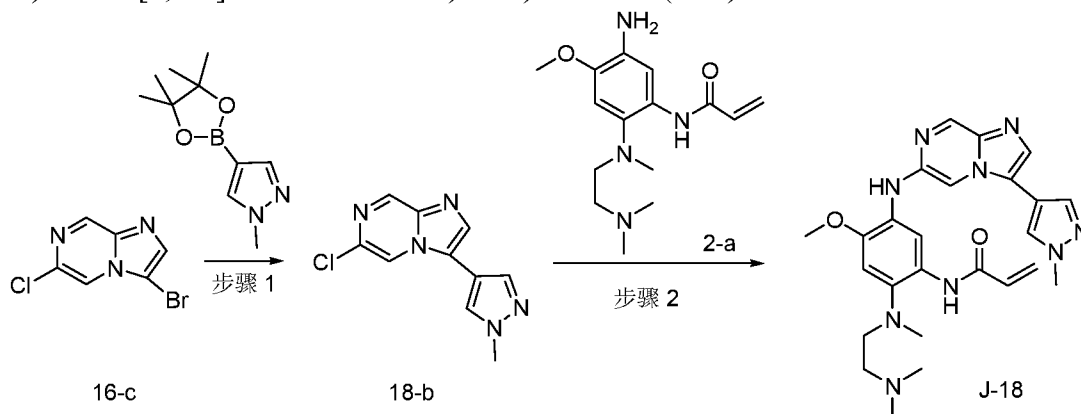
咪唑并[1,2-a]吡嗪-6-基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-17)的制备



步骤 1: 向化合物 16-c(174mg, 0.75mmol), 吡啶-3-基硼酸(87mg, 0.71mmol), 碳酸钠(238mg, 2.25mmol)的乙腈 8ml/水 2ml 溶液中加入 [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯(27mg, 0.0375mmol), 氩气保护, 70℃搅拌 4 小时。反应结束, 冷却至室温, 乙酸乙酯和水萃取, 分离合并有机相, 饱和食盐水洗, 分离有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析[PE :EA=50 :50~20 :80]纯化得到化合物 17-b(87mg), 直接用于下一步反应。产率: 50.6%, 纯度 93%。MS m/z(ESI):231[M+H]⁺。

步骤 2: 向化合物 17-b(75mg, 0.325mmol), 化合物 2-a(95mg, 0.325mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(38mg, 0.065mmol), 碳酸铯(212mg, 0.65mmol)的 10ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(30mg, 0.0325mmol), 氩气保护, 170℃微波搅拌 25 分钟。反应结束, 冷却至室温, 减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得化合物 J-17(49.2mg), 产率 31%, 纯度 100%。MS m/z(ESI):487[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.12 (s, 1H), 8.95 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 8.94 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 8.64(t, J = 1.5 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.27-8.26(d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.22-8.19 (m, 1H), 8.07(s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.58-7.55 (m, 1H), 6.97(s, 1H), 6.34-6.32 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.23-6.22(d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.74-5.71(dd, J1 = 2.0 Hz, J2 = 10.0 Hz, 1H), 3.83(s, 3H), 2.86-2.83(t, J = 5.1 Hz, 2H), 2.67(s, 3H), 2.28(s, 2H), 2.20(s, 6H)。

实施例 18: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-(3-(甲基-1H-吡唑-4-基)咪唑并[1,2-a]吡嗪-6-基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-18)的制备

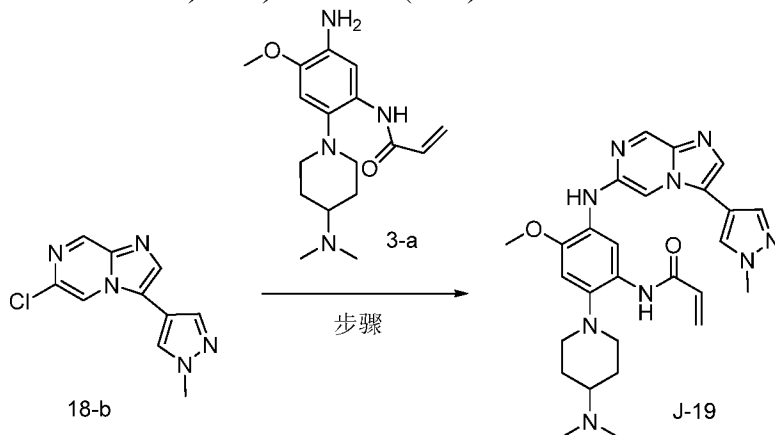


步骤 1: 向化合物 16-c(465mg, 2mmol), 1-甲基-4(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼

戊环-2 - 基)-1H-吡唑(395mg, 1.9mmol), 碳酸钠(636mg, 6mmol)的乙腈 40ml/水 8ml 溶液中加入 [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯(73mg, 0.1mmol), 氩气保护, 70℃搅拌 4 小时。反应结束, 冷却至室温, 乙酸乙酯和水萃取, 分离合并有机相, 饱和食盐水洗, 分离有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析 [PE :EA=50 :50~0 :100]纯化得到化合物 18-b(281mg), 直接用于下一步反应。产率: 61%, 纯度 97%。MS m/z(ESI):234[M+H]⁺。

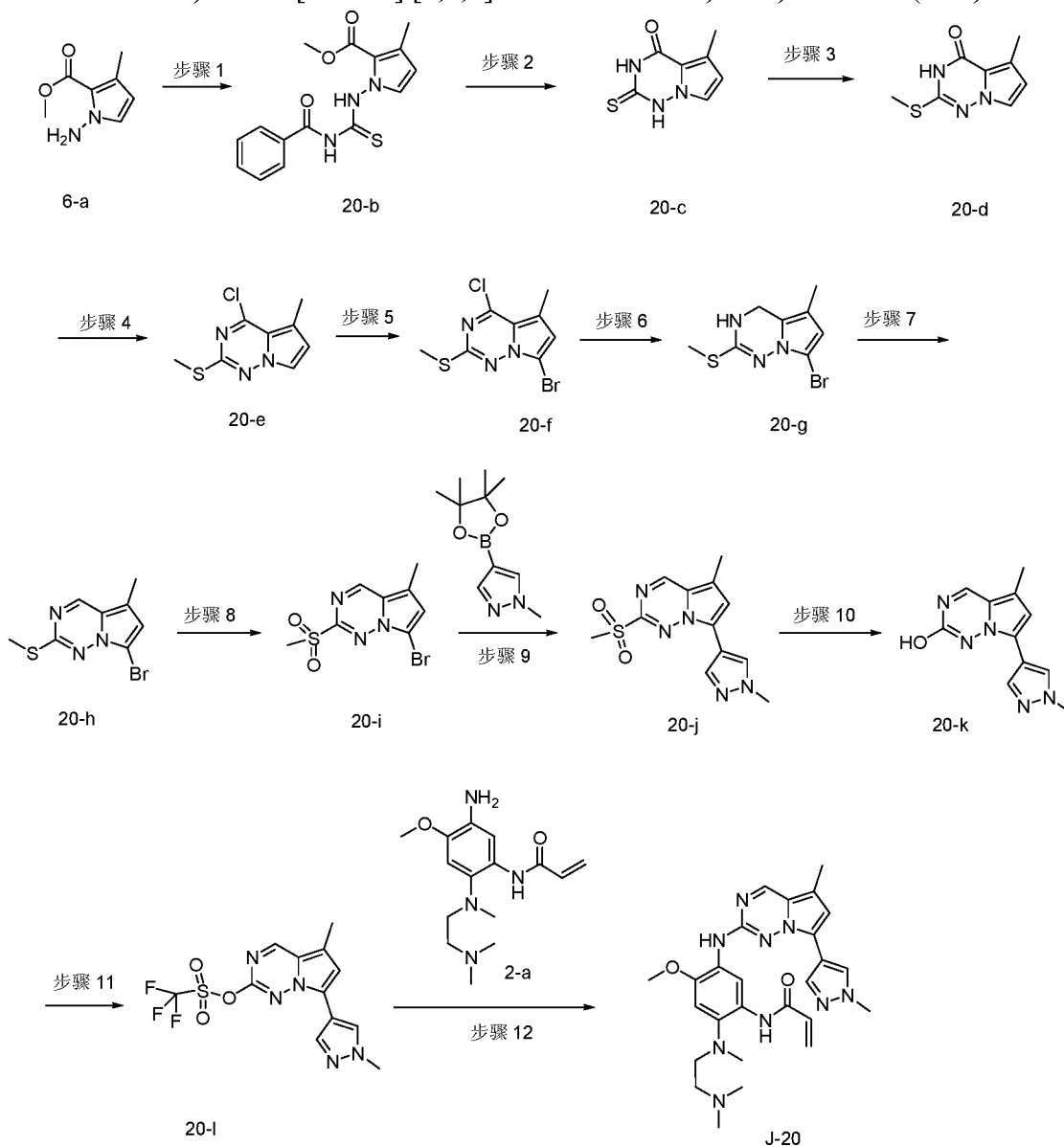
步骤 2: 向化合物 18-b(93mg, 0.4mmol), 化合物 2-a(117mg, 0.4mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(46mg, 0.08mmol), 碳酸铯(261mg, 0.8mmol)的 12ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(37mg, 0.04mmol), 氩气保护, 160℃微波搅拌 20 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得化合物 J-18(37.95mg), 产率 19.4%, 纯度 100%。MS m/z(ESI):490[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.23 (s, 1H), 8.87-8.86 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.37(s, 1H), 8.11 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 7.96(d, J = 0.5 Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.39-6.33 (dd, J1 = 10.0 Hz, J2 = 16.9 Hz, 1H), 6.25-6.20 (dd, J1 = 2.1 Hz, J2 = 16.9 Hz, 1H), 5.76-5.73(dd, J1 = 2.0 Hz, J2 = 9.9 Hz, 1H), 3.93(s, 3H), 3.85(s, 3H), 2.86-2.83(t, J = 5.3 Hz, 2H), 2.68(s, 3H), 2.27-2.24(t, J = 9.7 Hz, 2H), 2.19(s, 6H)。

实施例 19: N - (2 - (4-(二甲基氨基)哌啶-1 - 基)-4 - 甲氧基-5 - (3(1 - 甲基-1H-吡唑-4 - 基)咪唑并[1,2-α]吡嗪 6 - 氨基)苯基)丙烯酰胺(J-19)的制备



步骤: 向化合物 18-b(117mg, 0.5mmol), 化合物 3-a(159mg, 0.5mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(58mg, 0.1mmol), 碳酸铯(326mg, 1.0mmol)的 12ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(46mg, 0.05mmol), 氩气保护, 160℃微波搅拌 20 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得化合物 J-19(32.9mg), 产率 12.8%, 纯度 100%。MS m/z(ESI):516[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.01 (s, 1H), 8.85 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.25(s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.95(s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.69-6.63 (dd, J1 = 10.2 Hz, J2 = 17.0 Hz, 1H), 6.23-6.19 (dd, J1 = 1.7 Hz, J2 = 16.9 Hz, 1H), 5.74-5.71(t, J = 10.2 Hz, 1H), 3.93(s, 3H), 3.84(s, 3H), 3.01-2.98(d, J = 11.4 Hz, 2H), 2.68-2.63(t, J = 10.3 Hz, 2H), 2.24(s, 7H), 1.85-1.82(d, J = 10.7 Hz, 2H), 1.72-1.64(m, 2H)。

实施例 20: N - (2 - ((2 - (二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4 - 甲氧基-5 - (5 - 甲基-7 - (1 - 甲基-1H-吡唑-4 - 基)吡咯并[1, 2-F] [1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙酰胺(J-20)的制备



步骤 1: 向化合物 6-a(4.5g, 26.79mmol)的 180ml 的四氢呋喃的溶液中, 0℃下滴加苯甲酰基异硫氰酸酯(4.5g, 27.61mmol), 室温搅拌 4 小时。反应完成后, 减压浓缩。往粗品中加入乙醚并搅拌, 过滤得到白色粉末状化合物 20-b(7.65 g)。直接用于下一步反应, 产率 97%, 纯度 96%。MS m/z(ESI): 332.1 [M+H]⁺。

步骤 2: 向氢氧化钠(48mg, 1.2mmol)的 1ml 水溶液中加入化合物 20-b(100mg, 0.3mmol), 加热 85℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却到室温, 加入(41.5mg, 0.9mmol)乙醇, 冰浴下滴加乙酸(72mg, 1.2mmol)搅拌。减压浓缩得到白色化合物 20-c(54mg)。直接用于下一步反应, 纯度 91%。MS m/z(ESI): 182.1 [M+H]⁺。

步骤 3: 向化合物 20-c(1.0g, 22.10mmol)的 110 ml 四氢呋喃中加入碘甲烷(4.5g, 28.85mmol), 45℃下搅拌 2 个小时。反应结束, 冷却至室温, 减压浓缩反应液得到白色的固体, 往白色的固体中加入 100ml 水和 100ml 饱和碳酸氢钠水溶液, 搅拌过滤得到白色

粉末状化合物 20-d(3.96g)。直接用于下一步反应，纯度 92%。MS m/z(ESI): 196.1 [M+H]⁺。

步骤 4: 向 23ml 三氯氧磷中加入化合物 20-d(3.96g, 20.31mmol)和, 120℃搅拌 1 小时。反应结束, 冷却至室温, 把三氯氧磷减压蒸掉, 加入冰水, 氨水(5.5ml)搅拌 20 分钟, 过滤, 滤饼溶解在二氯甲烷中, 分别用水、饱和食盐水洗涤, 分离有机相, 减压浓缩得到黄色固体化合物 20-e(4.2g)。直接用于下一步反应, 纯度 70%。MS m/z(ESI): 214.1[M+H]⁺。

步骤 5: 向化合物 20-e(4.2g, 19.72mmol)的 200ml 四氢呋喃和 100ml 甲醇溶液中, 0℃慢慢加入 N-溴代丁二酰亚胺(3.49g, 19.72mmol), 室温下搅拌 3 小时。反应完成后浓缩。用二氯甲烷溶解, 分别用水、饱和食盐水洗涤, 分离有机相, 干燥浓缩得到粗品黄色固体化合物 20-f(6g)。直接用于下一步反应, 纯度 81%。MS m/z(ESI): 291.9[M+H]⁺。

步骤 6: 向化合物 20-f(3.36g, 11.51mmol)的 40ml 异丙醇中加入硼氰化钠(874mg, 23.01mmol), 然后加热到 60℃搅拌 5 个小时。反应结束, 冷却到 0℃加入水, 然后用乙酸乙酯和水萃取, 分别用水和饱和食盐水洗涤有机相, 分离有机相, 减压浓缩得到黄色固体化合物 20-g(2.86g)。直接用于下一步反应, 纯度 81%。MS m/z(ESI): 260.0[M+H]⁺。

步骤 7: 向化合物 20-g(2.86g, 11.0mmol)的 80ml 二氯甲烷中加入 2, 3 二氯-5, 6-二氰对苯醌(2.75g, 12.1mmol), 室温搅拌 1 小时。反应结束, 过滤, 滤液浓缩得到粗品, 然后柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯: 5%)得到黄色固体化合物 20-h(1.92 g)。直接用于下一步反应, 纯度 98%。MS m/z(ESI): 260.0[M+H]⁺。

步骤 8: 向化合物 20-h(250mg, 0.97mmol)的 8ml 甲醇溶液中加入钨酸钠(3.6mg, 9.68mmol), 过氧化氢(1.1g, 0.01mmol), 65℃搅拌 3 小时。反应结束, 减压浓缩, 水洗得到黄色固体化合物 20-i(660mg), 直接用于下一步反应。产率: 79%。MS m/z(ESI):290.0[M+H]⁺。

步骤 9: 向化合物 20-i(220mg, 0.76mmol)的 15ml 乙腈溶液中加入 1 - 甲基-4(4,4,5,5 - 四甲基-1,3,2 - 二氧硼戊环-2 - 基)-1H-吡唑(158mg, 0.76mmol), [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钨(56mg, 0.08mmol), 碳酸钠(161mg, 1.52mmol), 水 1ml, 120℃微波搅拌 20 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤,, 滤液减压浓缩, 经 Combi-flash 柱层析纯化得到黄色固体化合物 20-j(200mg), 直接用于下一步反应。产率: 90%。MS m/z(ESI):292.1[M+H]⁺。

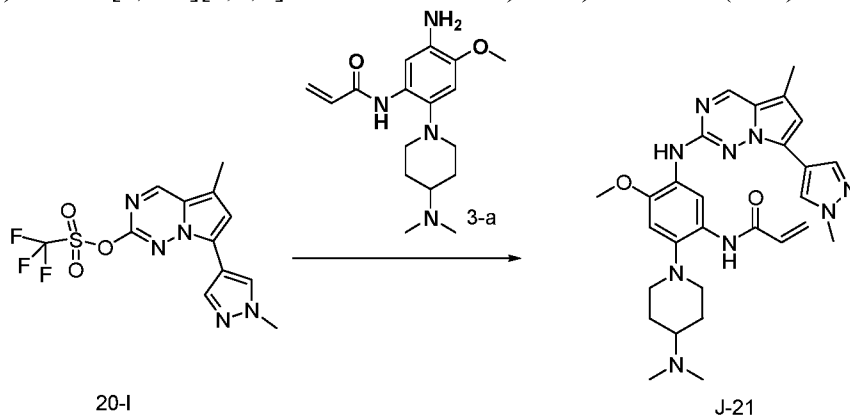
步骤 10: 向化合物 20-j(180mg, 0.62mmol)的 8ml 水溶液中加入氢氧化钠 (371mg, 9.27mmol), 100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却至室温, 乙酸调节 pH 为 4, 乙酸乙酯萃取, 分离收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到红色固体化合物 20-k(140mg), 直接用于下一步反应。产率: 100%。MS m/z(ESI):230.1[M+H]⁺。

步骤 11: 化合物 20-k(90mg, 0.39mmol)溶于 3ml 二甲基甲酰胺, 然后加入 N,N-二异丙基乙胺(153mg, 1.18mmol), N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(140mg, 0.39mmol), 室温搅拌 2 小时。反应结束, 减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析纯化得到黄色固体化合物 20-l(120mg), 直接用于下一步反应。产率: 90%。MS m/z(ESI):362.1[M+H]⁺。

步骤 12: 向化合物 20-l(50mg, 0.14mmol) 的 8ml 二氧六环溶液中加入化合物 2-a(41mg, 0.14mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钨(13mg, 0.014mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(17mg, 0.027mmol), 碳酸铯(91mg, 0.28mmol), 160℃微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得化合物

J-20(2.84mg), 产率: 4%。MS m/z(ESI): 504.3[M+H]⁺。

实施例 21: N - (2 - (4-(二甲基氨基)哌啶-1 - 基)-4 - 甲氧基-5 - (5 - 甲基-7 - (1 - 甲基-1H-吡唑-4 - 基)吡咯并[1,2-F][1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-21)的制备

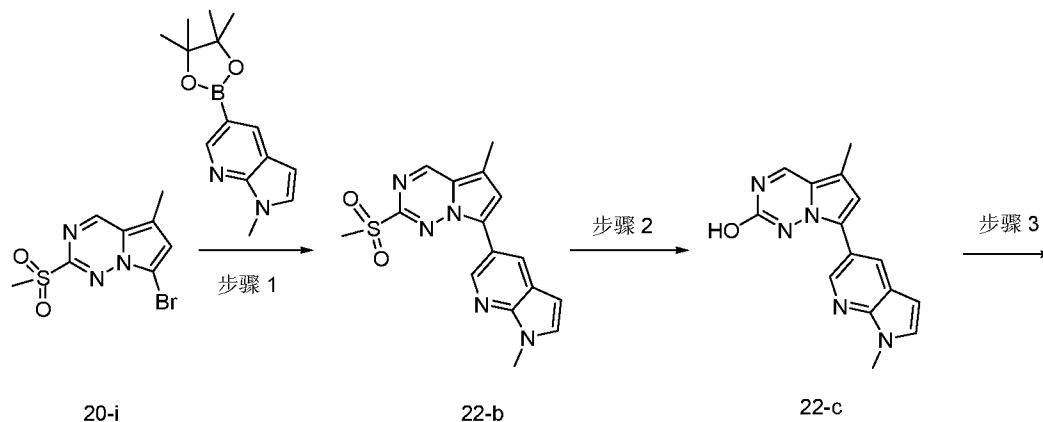


5

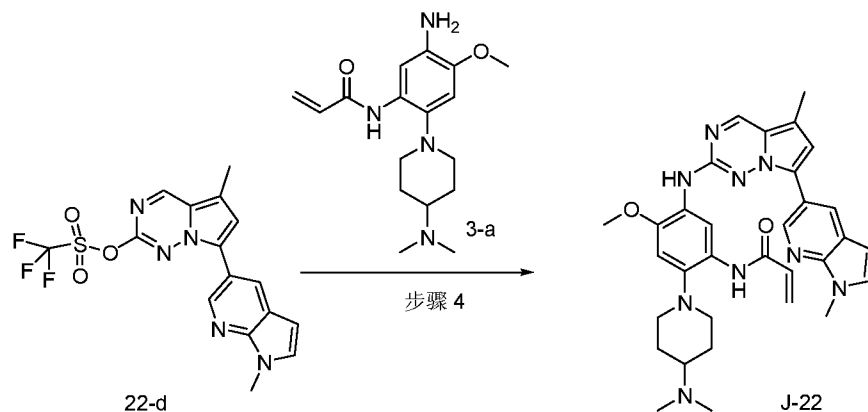
步骤: 向化合物 20-I(50mg, 0.14mmol) 的 8ml 二氧六环溶液中加入化合物 3-a(44mg, 0.14mmol), 三(二苄基丙酮)二钯(13mg, 0.014mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(17mg, 0.027mmol), 碳酸铯(91mg, 0.28mmol), 160℃微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得黄色油状化合物 J-21(2.76mg), 产率: 4%。MS m/z(ESI):530.2[M+H]⁺。

10

实施例 22: N - (2 - (4-(二甲基氨基)哌啶-1 - 基)-4 - 甲氧基-5 - (5 - 甲基-7 - (1 - 甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5 基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-22)的制备



15



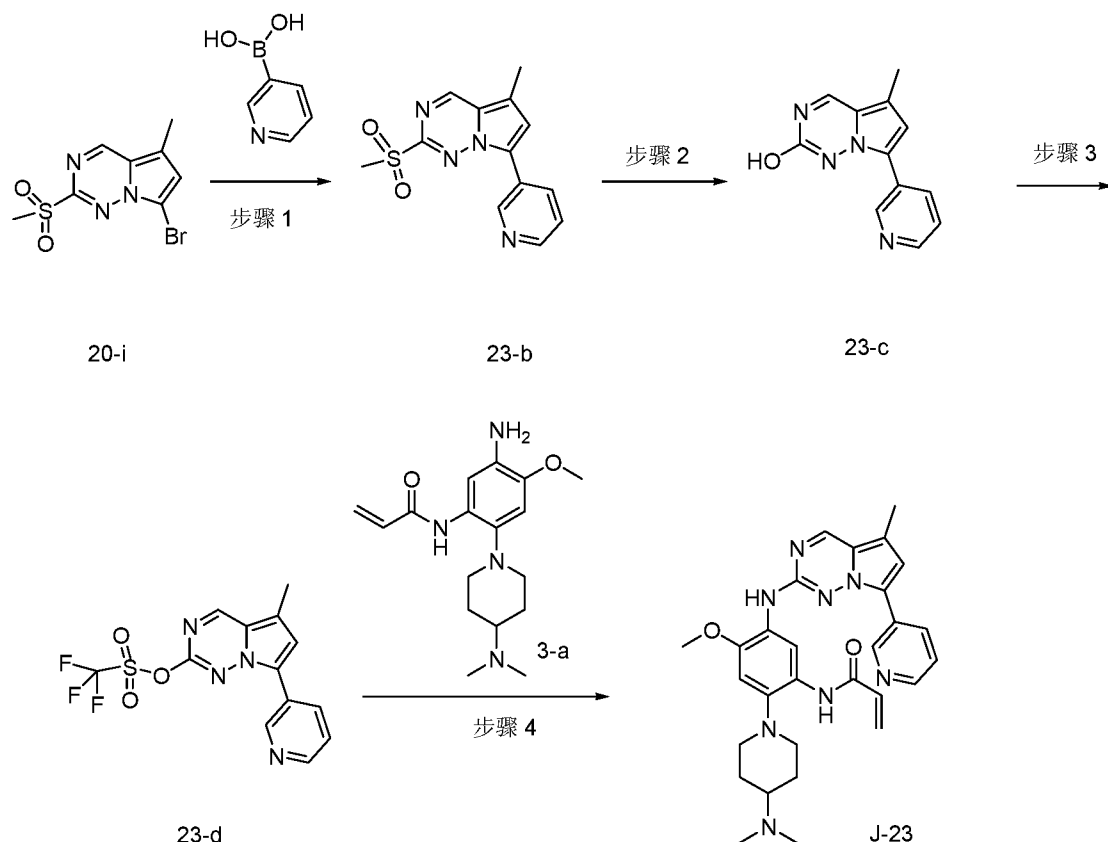
步骤 1: 向化合物 20-i(100mg, 0.34mmol)的 2ml 乙腈溶液中加入 1 - 甲基-5(4,4,5,5 - 四甲基-1,3,2 - 二氧硼戊环-2 - 基)-1H--吡咯并[2,3-b] 吡啶(89mg, 0.34mmol), [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯(22mg, 0.03mmol), 碳酸钠(73mg, 0.69mmol), 水 2 滴, 120℃ 微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩, 经 Combi-flash 柱层析纯化得到黄色固体化合物 22-b(100mg), 直接用于下一步反应。产率: 85%。MS m/z(ESI):342.1[M+H]⁺。

步骤 2: 向化合物 22-b(100mg, 0.29mmol)的 5ml 水溶液中加入氢氧化钠 (234mg, 5.86mmol), 100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却至室温, 乙酸调节 pH 为 4, 乙酸乙酯萃取, 分离收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到化合物 22-c(100mg), 直接用于下一步反应。产率: 100%。MS m/z(ESI): 280.1[M+H]⁺。

步骤 3: 化合物 22-c(100mg, 0.36mmol)溶于 10ml 二甲基甲酰胺, 0℃加入 N,N-二异丙基乙胺(139mg, 1.08mmol), 搅拌 10 分钟, 加入 N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(141mg, 0.39mmol), 室温搅拌 12 小时。反应结束, 减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析 [PE/EA:50%]纯化得到黄色固体化合物 22-d(250mg), 直接用于下一步反应。纯度: 65%。MS m/z(ESI):412.1[M+H]⁺。

步骤 4: 向化合物 22-d(240mg, 0.58mmol), 化合物 3-a(123mg, 0.58mmol)的 16ml 二氧六环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(36mg, 0.06mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(45mg, 0.12mmol), 碳酸铯(254mg, 1.17mmol), 160℃微波搅拌 20 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得化合物 J-22(24mg), 纯度: 6.09% (UV254)。MS m/z(ESI): 580.3[M+H]⁺。

实施例 23: N - (2 - (4-(二甲基氨基)哌啶-1 - 基)-4 - 甲氧基-5 - (5 - 甲基-7 - (吡啶-3 - 基)吡咯并[1,2-f][1,2,4]三嗪-2 - 基氨基)苯基)丙烯酰胺(J-23)的制备



步骤 1: 向化合物 20-i(100mg, 0.34mmol)的 2ml 乙腈溶液中加入吡啶-3 - 基硼酸 (71mg, 0.34mmol), [1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯(22mg, 0.034mmol), 碳酸钠(73mg, 0.69mmol), 水 2 滴, 120℃微波搅拌 15 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压
5 浓缩, 经 Combi-flash 柱层析纯化得到黄色固体化合物 23-b(100mg), 直接用于下一步反应。产率: 84%。MS m/z(ESI): 389.1[M+H]⁺。

步骤 2: 向化合物 23-b(100mg, 0.35mmol)的 5ml 水溶液中加入氢氧化钠 (278mg, 6.94mmol), 100℃搅拌 2 小时。反应结束, 冷却至室温, 乙酸调节 pH 为 4, 乙酸乙酯萃取, 分离收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到化合物 23-c(95mg), 直
10 接用于下一步反应。产率: 100%。MS m/z(ESI): 227.1[M+H]⁺。

步骤 3: 化合物 23-c(75mg, 0.33mmol)溶于 3ml 二甲基甲酰胺, 0℃加入 N,N-二异丙基乙胺(128mg, 0.99mmol), N-苯基双(三氟甲烷磺酸亚胺)(130mg, 0.36mmol), 室温搅拌 1 小时。反应结束, 减压浓缩得到粗品, 经 Combi-flash 柱层析纯化得到黄色固体化合物 23-d(50mg), 直接用于下一步反应。纯度: 42%。MS m/z(ESI): 359.0[M+H]⁺。

步骤 4: 向化合物 23-d(37mg, 0.1mmol), 化合物 3-a(33mg, 0.1mmol)的 6ml 二氧六
15 环溶液中加入三(二亚苄基丙酮)二钯(10mg, 0.01mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(12mg, 0.02mmol), 碳酸铯(70mg, 0.21mmol), 160℃微波搅拌 100 分钟。反应结束, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 经制备液相分离纯化得化合物 J-23(16mg), 纯度: 18% (UV254)。MS m/z(ESI): 527.3[M+H]⁺。

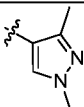
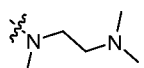
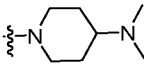
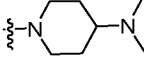
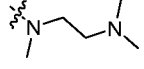
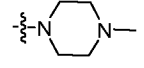
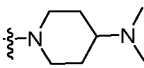
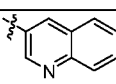
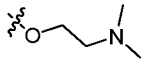
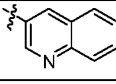
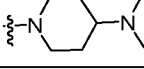
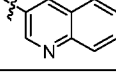
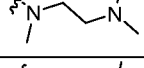
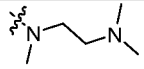
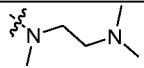
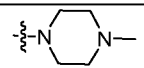
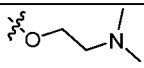
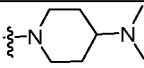
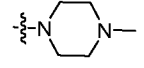
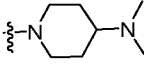
实施例 24—54

化合物 J-24 至 J-54 的结构如式(I)所示, 其中, 取代基 Z₁、Z₂、R₃、R₄ 如表 5 所示,

R₁、R₂、R₆、R₇为氢，R₅为甲氧基。化合物 J-24 至 J-54 可根据下表所列的不同结构按照与化合物 J-1 至 J-23 相类似的方法制备。所用的起始原料和中间体是本领域技术人员可根据现有方法制备得到的。

表 5

实施例编号	化合物	R ₃	R ₄	Z ₁	Z ₂	MS[M+H] ⁺
24	J-24			N	CH	538.2
25	J-25			N	CH	527.2
26	J-26			N	CH	554.3
27	J-27			N	C-CH ₃	566.2
28	J-28			N	CH	484
29	J-29			N	C-CH ₃	500.3
30	J-30			N	C-CH ₃	544.3
31	J-31			N	C-CH ₃	516
32	J-32			N	C-CH ₃	518.2
33	J-33			N	CH	504
34	J-34			N	CH	518.2
35	J-35			N	C-CH ₃	558.3
36	J-36			N	C-CH ₃	502
37	J-37			N	C-CH ₃	491
38	J-38			CH	N	477

39	J-39			CH	N	504.3
40	J-40			CH	N	515
41	J-41			N	CH	515
42	J-42			N	C-CH ₃	503
43	J-43			N	CH	487.3
44	J-44			N	CH	543.3
45	J-45			N	CH	524
46	J-46			N	C-CH ₃	577.3
47	J-47			CH	N	537.2
48	J-48	异丙基		N	C-CH ₃	466
49	J-49	甲基		CH	N	424
50	J-50	甲基		N	CH	422.2
51	J-51	环丙基		N	CH	437
52	J-52	环丙基		CH	N	476.3
53	J-53			N	CH	485.2
54	J-54			CH	N	513

测试例 1：对野生型 EGFR 和突变型 EGFR 激酶的活性抑制测试

以下 z'-lyte 测试方法中所用试剂均购自 Invitrogen。

利用 z'-lyte 方法测定对 T790M/L858R 双突变型 EGFR 激酶(Invitrogen, PV4879)、野生型 EGFR 激酶(Invitrogen, PV3872)的抑制活性。

10 μL T790M/L858R 激酶反应体系中各组分的工作浓度为：25μM ATP，0.1 ng/μL T790M/L858R 激酶，2 μM Tyr04 底物 (Invitrogen, PV3193)。加入本发明上述实施例制备的化合物(即待测物)后 DMSO 的浓度为 2 vol%。

10 μL 野生型 EGFR (EGFR WT) 激酶反应体系中各组分的工作浓度为：10μM ATP，

0.8 ng/μL 野生型 EGFR 激酶，2 μM Tyr04 底物 (Invitrogen, PV3193)。加入待测物后 DMSO 的浓度为 2 vol%。

室温溶解 10 mM 的药物储存液，经 8 vol% DMSO 溶液梯度稀释至终浓度 4-0.002 μM。每孔中加入 2.5 μL 的待测物溶液以及 5 μL 经反应缓冲液稀释的 T790M/L858R 激酶(或野生型 EGFR 激酶)与 Tyr04 底物的混合物，再加入 2.5μL 的 ATP 启动反应。其中 C1 孔用反应缓冲液代替 ATP，C2 孔不加入任何药物，C3 孔按说明书描述加入磷酸化的底物。在 25 度摇床避光反应 60 分钟后。加入 5μL Development Reagent B(Invitrogen, 用 TR-FRET 稀释缓冲液进行稀释)，于室温摇床反应 60 分钟。在 VictorX5 荧光酶标仪(PerkinElmer)上读板，测定激发波长为 405 nm、发射波长为 450 nm 和 520 nm 的光吸收(例如，C3_{520nm} 表示 C3 孔在 520 nm 的读值)。

抑制率计算方法(参照 Invitrogen, PV3193 的说明书)如下：

1、ER=Coumarin Emission (450nm)/Fluorescein Emission (520nm)

2、磷酸化率 = $(1 - ((ER \times C3_{520nm} - C3_{450nm}) / ((C1_{450nm} - C3_{450nm}) + ER \times (C3_{520nm} - C1_{520nm})))) \times 100\%$

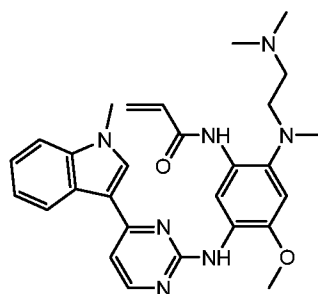
3、抑制率 (IR) = $(1 - (\text{测试化合物的磷酸化率}) / (\text{C2 的磷酸化率})) \times 100\%$

用 XLFIT 5.0 软件(英国 IDBS 公司)拟合计算半数抑制浓度 IC₅₀。

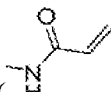
表 1 酶抑制活性与选择抑制活性

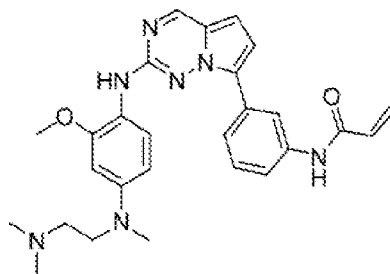
化合物 编号	T790M/L858R (IC ₅₀ /μM)	EGFR WT (IC ₅₀ /μM)	对酶的选择抑制活性 [IC ₅₀ (EGFR WT)/IC ₅₀ (T790M/L858R)]
J-1	0.001	0.004	4
J-2	0.002	0.023	11.5
J-3	0.001	0.010	10
J-4	0.002	0.035	17.5
J-5	0.003	0.009	3
J-6	0.0024	0.013	5.42
J-7	0.002	0.005	2.5
J-8	0.002	0.112	56
J-9	0.016	0.105	6.6
J-10	0.001	0.003	3
J-11	0.0024	0.010	4.2
J-12	0.0019	0.008	4.2
J-13	0.005	0.021	4.2
J-14	0.009	0.104	11.6
J-15	0.262	>1	3.8
J-20	0.012	0.294	24.5
J-21	0.294	>1	3.4
AZD-9291	0.002	0.003	1.5
BIBW2992	0.005	0.001	0.2

由表 1 可知，与阳性对照物 BIBW2992 (阿法替尼)和 AZD-9291(制备方法参见 WO2013014448A1，结构如下)相比，本发明的实施例化合物对 EGFR 突变型酶 (T790M/L858R)表现出较强的抑制活性，而对 EGFR 野生型酶抑制活性较弱，因此本发明的化合物对 EGFR 突变型酶具有较好的选择抑制活性。



AZD-9291

此外, 本发明人还合成了丙烯酰胺基()位置不同于式(I)化合物的其他化合物, 包括化合物 CC0922。结果表明, 该化合物 CC0922 很不稳定, 不适合药用。



CC0922

测试例 2: EGFR T790M 抑制剂对 A431(EGFR 野生型)及 H1975(EGFR T790M 突变)细胞 EGFR 磷酸化水平的抑制(ELISA 法测定)

以下方法中的试剂、溶液的配置方法以及细胞处理和裂解液制备步骤、ELISA 检测步骤均按照 R&D DYC3570, R&D DYC1095E 以及 R&D DYC1095BE 的说明书进行操作。

一、试剂和溶液

细胞裂解缓冲液: 1%(W/V) NP-40, 20 mM Tris (pH 8.0), 137 mM NaCl, 10%(V/V) 甘油 glycerol, 1 mM NaVO₃, 2 mM EDTA。

细胞裂解液: 细胞裂解缓冲液 + 10 μg/mL 抑肽酶(Aprotinin) (Sigma)+ 10 ug/mL 亮抑蛋白肽酶(Leupeptin) (Sigma), 现配现用。

1xPBS 缓冲液: NaCl: 0.137M, KCl: 0.0027M, Na₂PO₄-12H₂O: 0.01M, KH₂PO₄: 0.0015M, pH7.4。

洗涤缓冲液: 含有 0.05% (V/V)Tween-20 的 PBS 缓冲液。

检测抗体稀释液: 20 mM Tris, 137 mM NaCl, 0.05%(V/V)Tween-20, 0.1%(W/V) BSA, pH 7.2-7.4。

封闭液: 含有 1%(W/V)BSA 的 PBS 缓冲液。

ELISA 试剂盒: R&D DYC3570, R&D DYC1095E 和 R&D DYC1095BE。

二、H1975 细胞

2.1: H1975 细胞处理和裂解液制备

(1) 将 H1975 细胞 (购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库) 以 1×10^4 /孔的密度种到 96 孔板中, 每孔 90 微升含 10%(V/V)FBS 的 RPMI1640 培养基, 37°C、5%(V/V) CO₂ 培养过夜。

(2) 将待测化合物按照 MTT 实验中药物稀释方法稀释, 将 10 μ L 稀释后的化合物或稀释后的 DMSO 加入到细胞培板的对应孔中, DMSO 终浓度为 0.5%(V/V), 37 $^{\circ}$ C、5%(V/V)CO₂ 培养 1 小时。以纯 DMSO 处理的细胞培养体系作为细胞对照。

(3) 吸掉培养基后加入 100 μ L 细胞裂解液, 封板模封置于-80 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜。以细胞裂解缓冲液作为空白对照。

2.2: ELISA 检测步骤

按照 R&D DYC1095E 或 R&D DYC1095BE 给定说明书进行操作。

(1) R&D 捕获抗体((DYC1095BE 或 DYC1095E))用 PBS 1:180 稀释, 稀释好的抗体 100 μ L/孔加入 ELISA 反应板(Corning costar 42592), 25 $^{\circ}$ C 摇床包被过夜;

(2) 360 μ L 洗涤缓冲液洗 3 次;

(3) 加入 300 μ L 封闭液, 25 $^{\circ}$ C 摇床孵育 2 小时;

(4) 360 μ L 洗涤缓冲液洗 3 次;

(5) 加入 40 μ L 细胞裂解缓冲液和 60 μ L 细胞裂解液, 25 $^{\circ}$ C 摇床孵育 2 小时;

(6) 360 μ L 洗涤缓冲液洗 3 次;

(7) 检测抗体用检测抗体稀释液以试剂盒说明规定比例稀释, 每孔加入 100 μ L, 25 $^{\circ}$ C 摇床避光孵育 1 小时;

(8) 360 μ L 洗涤缓冲液洗 3 次;

(9) 将 TMB 底物(R&D DY999)中的 A 试剂和 B 试剂以 1:1 进行混合, 每孔 100 μ L, 25 $^{\circ}$ C 摇床避光孵育 20 分钟;

(10) 2N H₂SO₄ 每孔加入 50 μ L;

(11) 用酶标仪读板(Thermo Multiskan K3)分别测定细胞对照、空白对照以及药物处理情况下的 OD 450 值和 OD570 值, 并用相同孔的 OD 450 值减去相应 OD570 值分别得到 OD_{细胞}、OD_{空白}和 OD_{药物处理}。

2.3 数据分析

抑制率(%)=100% $\times$ (OD_{细胞}-OD_{药物处理})/(OD_{细胞}-OD_{空白})

2.4 将计算得到的抑制率用 XLFIT 5.0 软件计算出 IC₅₀ 值, 参见表 2。

三、A431 细胞

3.1 A431 细胞的处理和测试步骤

(1) 将 A431 细胞 (购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库) 以 1 $\times$ 10⁴/孔的密度种到 96 孔板中, 每孔 90 微升含有 10%FBS 的 DMEM 培养基 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养过夜。

(2) 将 A431 细胞培养基更换为 90 微升无血清 DMEM 培养基, 继续培养过夜。

(3) 将待测化合物按照 MTT 实验中药物稀释方法稀释, 将 10 μ L 稀释后的化合物或稀释后的 DMSO 加入到细胞培板的对应孔中, DMSO 终浓度为 0.5%, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养 1 小时。然后在除细胞对照孔外的每孔中加入 10 微升 2 μ g/L 的 EGF(R&D, 236-EG-01M), 在细胞孔加入 10 微升无血清 DMEM 培养 45 分钟; 以不加入 EGF 与药物处理的细胞作为细胞对照, 以不加入药物的只加入 EGF 处理的细胞作为 EGF 对照。

(4) 吸掉培养基后加入 100 μ L 细胞裂解液, 封板模封置于-80 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜。

3.2 ELISA 检测步骤

参照 R&D DYC3570E 说明书进行操作。

(1) R&D 捕获抗体(DYC3570E)用 PBS 1:180 稀释, 稀释好的抗体 100 μ L/孔加入 ELISA 反应板(Corning costar 42592), 25 $^{\circ}$ C 摇床包被过夜;

(2) 360 μ L 洗涤缓冲液洗 3 次;

5 (3) 加入 200 μ L 封闭液, 25 $^{\circ}$ C 摇床孵育 2 小时;

(4) 360 μ L 洗涤缓冲液洗 3 次;

(5) 加入 40 μ L 细胞裂解缓冲液和 60 μ L 细胞裂解液, 25 $^{\circ}$ C 摇床孵育 2 小时;

(6) 360 μ L 洗涤缓冲液洗 3 次;

10 (7) 检测抗体用检测抗体稀释液以试剂盒说明规定比例稀释, 每孔加入 100 μ L, 25 $^{\circ}$ C 摇床避光孵育 1 小时;

(8) 360 μ L 洗涤缓冲液洗 3 次;

(9) 将 TMB 底物(R&D DY999)中的 A 试剂和 B 试剂以 1:1 进行混合, 每孔 100 μ L, 25 $^{\circ}$ C 摇床避光孵育 20 分钟;

(10) 2N H₂SO₄ 每孔加入 50 μ L;

15 (11) 用酶标仪读板(Thermo Multiskan K3)分别测定细胞对照、空白对照以及药物处理情况下的 OD 450 值和 OD570 值, 并用相同孔的 OD 450 值减去相应 OD570 值分别得到 OD_{EGF}、OD_{药物}、OD_{细胞}。

3.3 数据分析

抑制率(%)=100% $\times$ (OD_{EGF}-OD_{药物})/(OD_{EGF}-OD_{细胞})

20 3.4 将计算得到的抑制率用 XLFIT 5.0 软件计算出 IC₅₀ 值, 参见表 2。

表 2 细胞活性 ELISA 法测定结果

化合物编号	H1975 细胞 (IC ₅₀ /μM)	A431 细胞 (IC ₅₀ /μM)	对细胞水平靶点的选择抑制活性 [IC ₅₀ (A431 细胞)/IC ₅₀ (H1975 细胞)]
J-1	0.012	0.112	9.3
J-2	0.025	0.303	12.1
J-3	0.001	0.093	93
J-4	0.004	1.799	450
J-5	0.106	0.208	2
J-6	0.027	0.309	11.4
J-8	0.163	0.495	3
J-9	0.186	0.920	5
J-11	0.063	0.237	3.8
J-12	0.015	0.023	1.5
J-13	0.043	0.301	7
J-14	0.106	2.704	25.5
J-16	0.171	0.211	1.2
J-17	0.734	1.164	1.6
J-19	0.289	0.327	1.13
BIBW2992	0.021	0.005	0.24

由表 2 可知, 与阳性对照物 BIBW2992 相比, 本发明实施例的化合物对 EGFR 突变型细胞具有较好的选择抑制活性。

测试例 3: MTT(3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐)方法检测细胞抑制活性

MTT 测试方法步骤采用本领域技术人员熟知的方法进行, 方法中所用试剂均可市购得到。

- 5 首先, 移除培养基并加入 1 mL 0.25 %的胰酶/EDTA (Gibco, 25200-056)。洗一次后, 再加入 1.5mL 胰酶/EDTA 消化贴壁细胞, 至细胞分离, 然后加入 3.5 mL 培养基终止消化。将消化完的细胞悬浮液移至 15 mL 离心管, 1300 rpm 离心 3 分钟后弃上清, 并用新鲜的培养基重悬细胞。然后细胞计数, 并稀释细胞至以下浓度: H1975 细胞每毫升 2.78 万, A431 细胞和 NIH3T3 细胞(购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库)每毫升 3.33 万。
- 10 将细胞种入 96 孔板(BD 3072), 每孔 90 μ L, 培养过夜。

A431 细胞培养基为: 含 10%FBS (Gibco, 10099-141) 的 DMEM (Hyclone SH30243.01B);

NIH3T3 细胞培养基为: 含 10%FBS (Gibco, 10099-141) 的 DMEM (Hyclone SH30243.01B);

- 15 H1975 细胞培养基为: 含 10%FBS (Gibco, 10099-141) 的 RPMI-1640 (Hyclone SH30809.01B);

- 取 20 μ L 10mM 待测化合物, 按照如下浓度梯度(2000, 666.67, 222.22, 74.07, 24.69, 8.23, 2.74, 0.91 μ M)稀释 200X 药品, 再加入无血清培养基(终浓度为: 100, 33.33, 11.11, 3.704, 1.235, 0.412, 0.137, 0.046 μ M), 并每孔加入 10 μ L 药品到细胞培养板内其中 DMSO
- 20 终浓度为 0.5%。

加药后将细胞放入培养箱, 培养 72 小时后, 每孔加入 10 μ L 的 5 mg/ml 的 MTT (Sigma, M5655) 溶液, 然后将 96 孔板放入 37°C 5%CO₂ 培养箱孵育 4 小时。

- 再在 2000 rpm, 5min 的条件下离心平板, 移除上清后, 每孔加入 150 μ L DMSO, 并在摇床中震荡平板至所有结晶紫溶解。最后使用酶标仪测定 492 nm 光吸收, 使用 XLFIT
- 25 5.0 软件(英国 IDBS 公司)计算 IC₅₀。

表 3 化合物对细胞生长的抑制活性和选择性

化合物编号	H1975 细胞 (IC ₅₀ /μM)	A431 细胞 (IC ₅₀ /μM)	对细胞生长的选择抑制活性 [IC ₅₀ (A431 细胞)/ IC ₅₀ (H1975 细胞)]
J-1	<0.00457247	0.327	71.6
J-2	0.011	0.403	36.6
J-3	0.008	0.168	21
J-4	0.014	0.461	32.9
J-5	0.023	0.354	15.4
J-6	0.028	0.427	15.3
J-7	0.010	0.231	23.1
J-8	0.097	3.191	32.9
J-9	0.125	1.653	13.2
J-10	0.009	0.147	16.3
J-11	0.026	0.621	23.9
J-12	0.009	0.332	36.9
J-13	0.013	0.369	28.4

J-14	0.126	3.557	28.2
J-16	0.388	1.147	3
J-17	0.424	2.951	7
J-18	0.251	1.563	6.2
J-19	0.243	1.212	5
BIBW2992	0.088	0.029	0.33

由表 3 可知, 与阳性对照物 BIBW2992 相比, 本发明实施例化合物对 EGFR 突变型细胞(H1975 细胞)表现出较强的抑制活性, 而对 EGFR 野生型细胞(A431 细胞)表现出较弱抑制活性, 因此本发明的化合物对 EGFR 突变型细胞具有较好的选择抑制活性。

5

表 4 化合物对 NIH3T3 细胞的毒性测试结果

化合物编号	NIH3T3 细胞 MTT 测试(IC ₅₀ /uM)
J-1	4.834
J-2	5.457
J-3	3.905
J-4	3.646
J-5	2.818
J-6	8.205
J-7	3.375
J-9	>10
J-10	3.271
J-11	5.567
J-12	4.734
J-13	2.966
J-14	7.774
J-16	>10
J-17	>10
J-18	>10
J-19	>10
BIBW2992	2.750

由表 4 可知, 与阳性对照物 BIBW2992 相比, 本发明实施例化合物对 NIH3T3 细胞具有较高的 IC₅₀ 值, 因此显示出较小的毒性。

10

从体外激酶活性抑制、细胞内 EGFR 磷酸化水平抑制、细胞生长抑制实验显示, 在纳摩尔浓度下, 本发明实施例化合物对突变型 EGFR 酶活性、EGFR 磷酸化水平、细胞增殖表现出较强的抑制活性, 而对野生型 EGFR 酶活性、EGFR 磷酸化水平、细胞增殖表现出较弱抑制活性, 因此本发明化合物对 EGFR 突变株细胞具有较好的选择抑制活性。

15

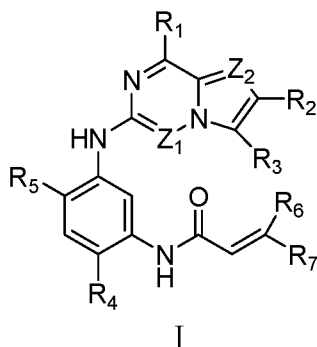
而且, 细胞毒性实验中对 NIH-3T3 细胞有极弱的抑制作用, 故表现出较低的细胞毒性。

因此, 此类化合物对 T790M 突变的 EGFR 有较好的选择抑制活性且细胞毒性低, 是第二代 EGFR-TKI 的理想替代物。同时本发明的化合物表现出良好的生物利用度。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

权利要求

1. 一种式(I)所示的化合物, 或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药;



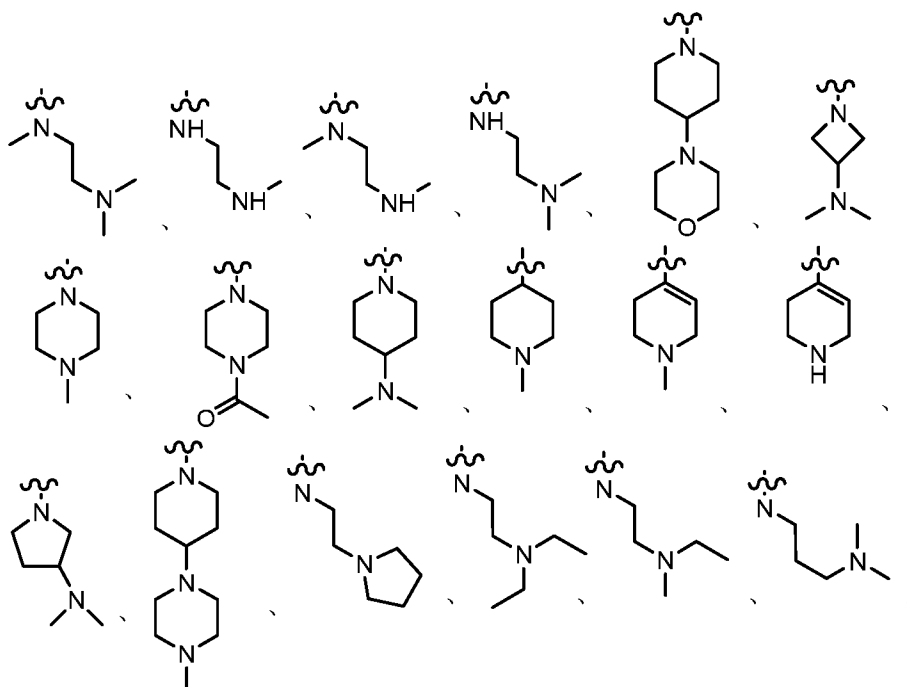
5 式中,

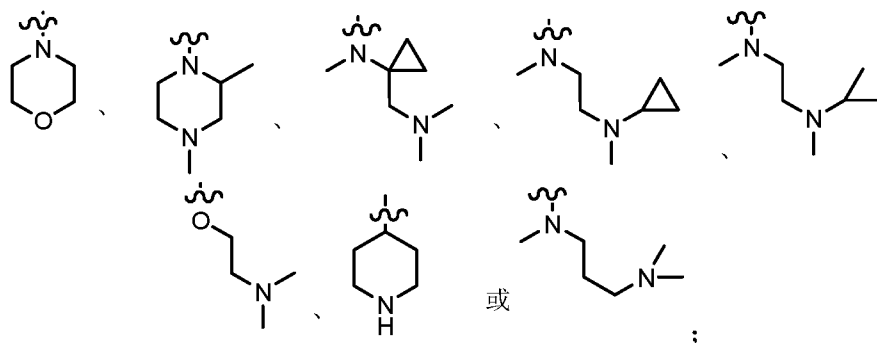
Z₁、Z₂各自独立地为 N 或 CR₀；其中，R₀选自下组：氢、卤素、C₁₋₁₀烷基、卤代的 C₁₋₁₀烷基；

R₁、R₂各自独立地为氢、卤素、C₁₋₁₀烷基、卤代的C₁₋₁₀烷基、C₁₋₁₀烷氧基、C₃₋₈环烷氧基；

10 R_3 为氢、卤素、 C_{2-10} 烯基、 C_{1-10} 烷基、卤代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、 C_{3-8} 环烷氧基、取代或未取代的 C_{3-10} 环烷基、取代或未取代的 C_{3-10} 杂环基、取代或未取代的 C_{6-10} 芳环，取代或未取代的 C_{4-10} 环烯基；

R₄选自下组:



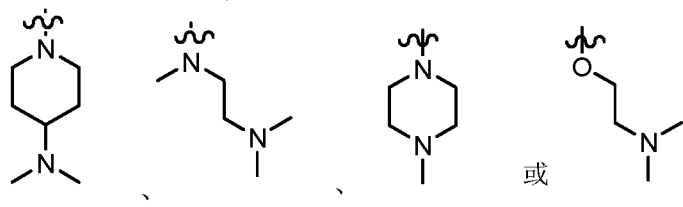


R_5 为氢、羟基、CN、 NO_2 、卤素、 C_{1-10} 烷基、卤代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、 C_{3-10} 环烷基、 C_{3-8} 环烷氧基、 $-\text{CON}(\text{C}_{1-10} \text{ 烷基})_2$ 、 $-\text{NC}(\text{O})\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{COC}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{CO}$ -苯基、 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{SO}_2$ -苯基、 $-\text{S}(\text{O})\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{S}(\text{O})$ -苯基、 $-\text{N}(\text{C}_{1-10} \text{ 烷基})_2$ ；其中，所述的苯基为未取代的或被 1-3 个选自下组的取代基所取代：卤素、 C_{1-10} 烷基；

R_6 、 R_7 各自独立地为氢、 C_{1-10} 烷基、取代或未取代的 C_{6-10} 芳基；

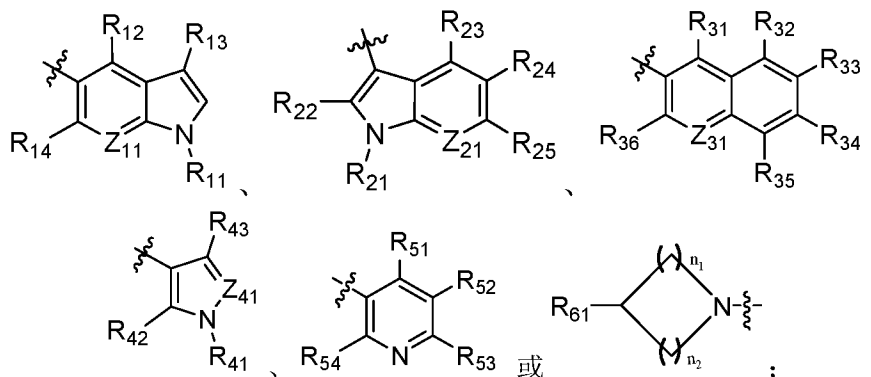
其中，所述的“取代”是指环原子上的 1 至 6 个氢原子被选自下组的取代基所取代：羟基、CN、 NO_2 、卤素、 C_{1-10} 烷基、卤代的 C_{1-10} 烷基、 $-\text{CON}(\text{C}_{1-10} \text{ 烷基})_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{COC}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{CO}$ -苯基、 $-\text{SO}_2\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{SO}_2$ -苯基、 $-\text{S}(\text{O})\text{C}_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-\text{S}(\text{O})$ -苯基、 $-\text{N}(\text{C}_{1-10} \text{ 烷基})_2$ ；其中，所述的苯基为未取代的或被 1-3 个选自下组的取代基所取代：卤素、 C_{1-10} 烷基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药，其特征在于， R_4 选自下组：



3. 如权利要求 1 所述的化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药，其特征在于， R_3 为甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、取代或未取代的 C_{3-10} 杂环基、取代或未取代的苯基或取代或未取代的 C_{4-8} 环烯基。

4. 如权利要求 1 或 3 所述的化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药，其特征在于，所述取代或未取代的 C_{3-10} 杂环基选自下组：



其中, Z_{11} 为 CR_{15} 或 N; Z_{21} 为 CR_{26} 或 N; Z_{31} 为 CR_{37} 或 N; Z_{41} 为 CR_{44} 或 N; n_1 为 1、2 或 3; n_2 为 1 或 2;

- 5 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} 、 R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{42} 、 R_{43} 、 R_{44} 、 R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 、 R_{61} 各自独立地为氢、羟基、CN、 NO_2 、卤素、卤代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷基、 $-CON(C_{1-10} \text{ 烷基})_2$ 、 $-N(C_{1-10} \text{ 烷基})_2$ 、 $-C(O)OC_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-OC(O)C_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-COC_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-CO$ -苯基、 $-SO_2C_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-SO_2$ -苯基、 $-S(O)C_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-S(O)$ -苯基; 所述的烷基、苯基为未取代的或被 1-3 个选自下组的取代基所取代: 氟、氯、甲基;
- 10 R_{11} 、 R_{21} 、 R_{41} 各自独立地为氢、卤代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷基、 $-COC_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-CO$ -苯基、 $-SO_2C_{1-10} \text{ 烷基}$ 、 $-SO_2$ -苯基; 其中, 所述的苯基为未取代的或被 1-3 个选自下组的取代基所取代: 氟、氯、甲基。

5. 如权利要求 4 所述的化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药, 其特征在于,

- 15 Z_{11} 为 N; R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 各自独立地为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基; R_{11} 为氢、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基、 $-COC_{1-3} \text{ 烷基}$ 、 $-SO_2C_{1-3} \text{ 烷基}$;

Z_{21} 为 CR_{26} ; R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} 各自独立地为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基; R_{21} 为氢、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基、 $-COC_{1-3} \text{ 烷基}$ 、 $-SO_2C_{1-3} \text{ 烷基}$;

- 20 Z_{31} 为 N; R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 各自独立地为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基;

Z_{41} 为 N 或 CR_{44} ; R_{42} 、 R_{43} 、 R_{44} 各自独立地为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基; R_{41} 为氢、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基、 $-COC_{1-3} \text{ 烷基}$ 、 $-SO_2C_{1-3} \text{ 烷基}$;

R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 各自独立地为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基;

- 25 n_1 为 2; n_2 为 2; R_{61} 为氢、卤素、卤代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基、 $-COC_{1-3} \text{ 烷基}$ 、 $-SO_2C_{1-3} \text{ 烷基}$ 。

6. 如权利要求 5 所述的化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体

异构体、或其前药，其特征在于，

Z_{11} 为 N； R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 各自独立地为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基； R_{11} 为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ ；

5 Z_{21} 为 CR_{26} ； R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} 各自独立地为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基； R_{21} 为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ ；

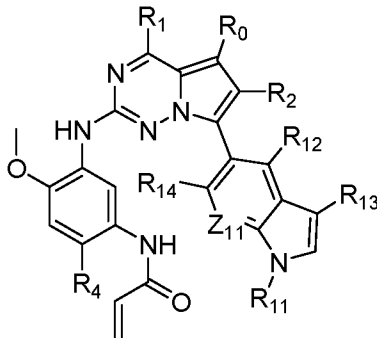
Z_{31} 为 N； R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 各自独立地为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基；

10 Z_{41} 为 N 或 CR_{44} ； R_{42} 、 R_{43} 、 R_{44} 各自独立地为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基； R_{41} 为氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ ；

R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 各自独立地为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基；

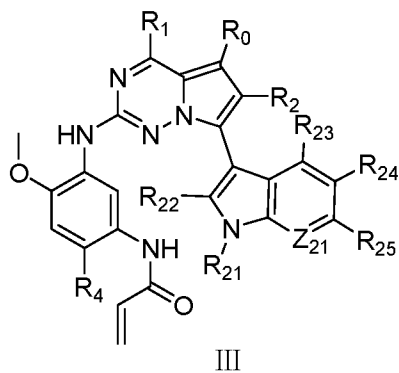
15 n_1 为 2； n_2 为 2； R_{61} 为氢、氟、氯、溴、甲基、乙基、丙基、异丙基、一氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 。

7. 如权利要求 1 所述的化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药，其特征在于，所述式(I)化合物为式(II)、式(III)、式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、或式(IX)所示的化合物：

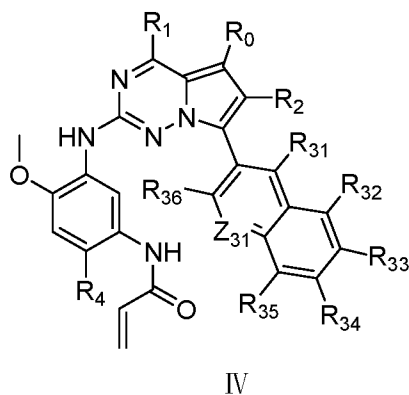


II

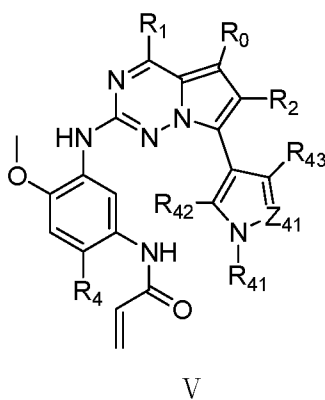
20 式中， R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 Z_{11} 如权利要求 4 所定义； R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 如权利要求 1 所定义；



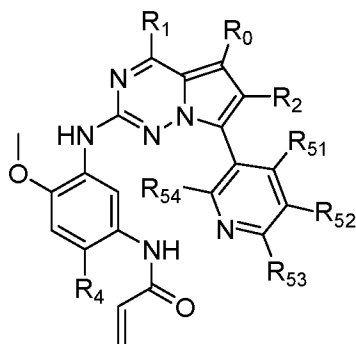
式中， R_{21} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 Z_{21} 如权利要求 4 所定义； R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 如权利要求 1 所定义；



5 式中， R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 、 Z_{31} 如权利要求 4 所定义； R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 如权利要求 1 所定义；

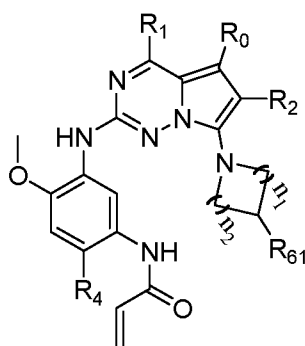


式中， R_{41} 、 R_{42} 、 R_{43} 、 Z_{41} 如权利要求 4 所定义； R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 如权利要求 1 所定义；



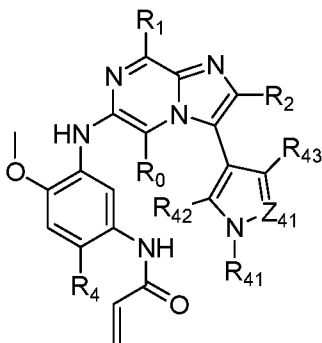
VI

式中， R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 如权利要求4所定义； R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 如权利要求1所定义；



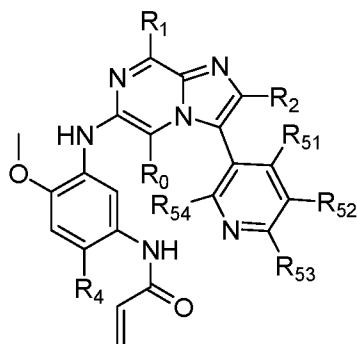
VII

5 式中， R_{61} 、 n_1 、 n_2 如权利要求4所定义； R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 如权利要求1所定义；



VIII

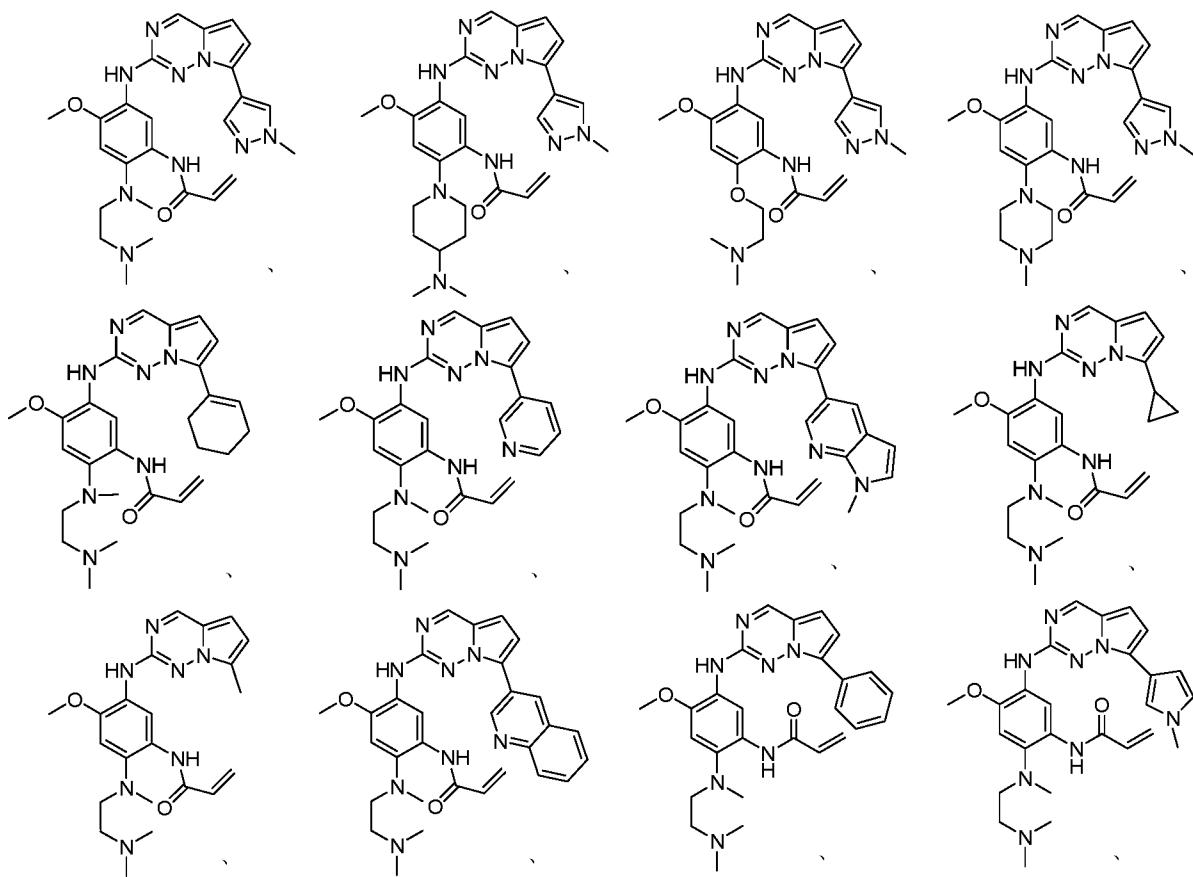
式中， R_{41} 、 R_{42} 、 R_{43} 、 Z_{41} 如权利要求4所定义； R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 如权利要求1所定义；

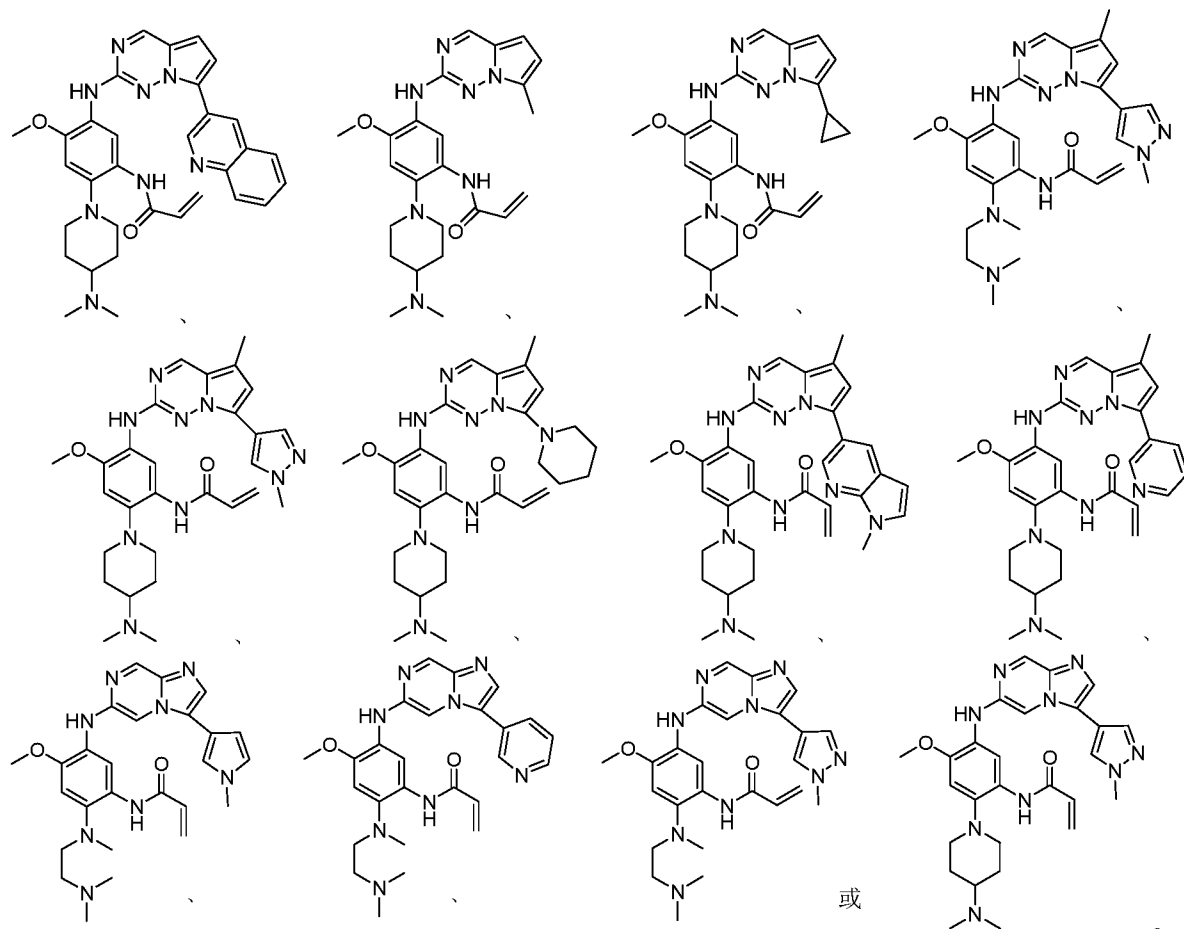


IX

式中， R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 如权利要求 4 所定义； R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_4 如权利要求 1 所定义。

8. 如权利要求 1 或 7 所述的化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其
5 立体异构体、或其前药，其特征在于，所述式(I)化合物选自下组以及表 5 中化合物 J-24 至 J-54:





9. 一种药物组合物，所述组合物包括权利要求 1 至 8 中任一项所述的化合物、或其
5 药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药；以及药学可接受的载体。

10. 如权利要求 1 至 8 中任一项所述的化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化
物、或其立体异构体、或其前药在(i)制备调控 EGFR 酪氨酸激酶活性的药物或者(ii)制备
预防和/或治疗 EGFR 相关疾病的药物中的应用。

11. 如权利要求 10 所述的应用，其特征在于，所述的 EGFR 相关疾病选自：癌症、
10 糖尿病、免疫系统疾病、神经退行性疾病、心血管疾病或使用 EGFR 调节剂治疗期间具
有获得性耐药性的疾病。

12. 如权利要求 11 所述的应用，其特征在于，所述获得性耐药性的疾病是由 EGFR 外
显子 20 编码的 T790 突变所引起的疾病、或者包含 EGFR 外显子 20 编码的 T790 突变
所引起的疾病。

13. 一种药用组合物，所述药用组合物包括：权利要求 1-8 中任一项所述的化合物、
或其药学上可接受的盐、或其立体异构体、或其溶剂化物、或其前药；以及其它药物，所
述其它药物为选自下组药物中的一种或多种：吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼、拉帕替尼、
15 XL647、NVP-AEE-788、ARRY-334543、EKB-569、BIBW2992、HKI272、BMS-690514、

CI-1033、凡德他尼、PF00299804、WZ4002、西妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕尼突单抗、马妥珠单抗、尼妥珠单抗、扎鲁木单抗、帕妥珠单抗、MDX-214、CDX-110、IMC-11F8、Zemab、Her2 疫苗 PX 1041、HSP90 抑制剂、CNF2024、坦螺旋霉素、阿螺旋霉素、IPI-504、SNX-5422、NVP-AUY922。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2015/090568

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 487/04 (2006.01) i; A61K 31/4188 (2006.01) i; A61K 31/4985 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 487/-; A61K 31/-; A61P 35/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, WPI, CNKI, REGISTRY (STN), CAPLUS (STN), MARPAT (STN): EGFR, inhibit+, cancer, tumor, structure search, yangtze river pharmaceutical group, beijing haiyan pharmaceutical co., ltd

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 103702990 A (ASTRAZENECA AB) 02 April 2014 (02.04.2014) description, paragraphs [0007], [0008], [0034] and [0035], embodiments 1-60, and claims 1-6	1-13
A	CN 102482277 A (DANA FARBER CANCER INST INC.) 30 May 2012 (30.05.2012) description, paragraphs [0012]-[0022], table 1, compounds 15 and 17, table 2, compounds 7 and 8, table 5, compounds 17-19, table 6, compound 26 and 29, and claims 1-129	1-13
A	WO 2011140338 A1 (GATEKEEPER PHARMACEUTICALS, INC.) 10 November 2011 (10.11.2011) description, paragraphs [0019] and [0022], embodiments 1-30, and claims 1-57	1-13
A	WO 2013170671 A1 (EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 21 November 2013 (21.11.2013) description, page 3, lines 6-20, and claims 1-10	1-13
A	CN 103717602 A (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA et al.) 09 April 2014 (09.04.2014) claims 1-59	1-13

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 02 December 2015	Date of mailing of the international search report 28 December 2015
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer LI, Shikun Telephone No. (86-10) 61648378

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/CN2015/090568

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2009102468 A1 (CGI PHARMACEUTICALS, INC. et al.) 20 August 2009 (20.08.2009) claims 1-60	1-13
A	WO 2011079231 A1 (GATEKEEPER PHARMACEUTICAL, INC.) 30 June 2011 (30.06.2011) description, paragraphs [0019] and [0022], and claims 1-57	1-13
A	WO 2013042006 A1 (PFIZER et al.) 28 March 2013 (28.03.2013) description, page 1, the sixth line from the bottom, and claims 1-23	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/090568

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 103702990 A	02 April 2014	PE 17002014 A1	20 November 2014
		TW 201443040 A	16 November 2014
		CA 2881991 A1	31 January 2013
		EA 201391491 A1	29 August 2014
		CA 2843109 C	16 June 2015
		WO 2013014448 A1	31 January 2013
		AU 2012288626 B2	07 May 2013
		KR 20140062181 A	22 May 2014
		CR 20130629 A	12 March 2014
		CA 2843109 A1	31 January 2013
		CA 2881987 A1	31 January 2013
		JP 2013544273 A	12 December 2013
		TW 1465445 B	21 December 2014
		TW 201319057 A	16 May 2013
		AU 2012288626 A8	26 September 2013
		CA 2882018 A1	31 January 2013
		JP 2014094930 A	22 May 2014
		US 2013053409 A1	28 February 2013
		EP 2736895 A1	04 June 2014
		SG 10201402860 QA	28 August 2014
		SG 10201402857 QA	28 August 2014
		KR 101422619 B1	24 July 2014
		CN 104109151 A	22 October 2014
		UY 34219 A	28 February 2013
		AR 087336 A1	19 March 2014
		NZ 617393 A	28 November 2014
		JP 5537704 B2	02 July 2014
		CN 104109161 A	22 October 2014

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/090568

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102482277 A	30 May 2012	SG 194783 A1	30 December 2013
		KR 101410902 B1	20 June 2014
		JP 2014139226 A	31 July 2014
		US 8946235 B2	03 February 2015
		AU 2012288626 C1	17 September 2015
		US 2015119379 A1	30 April 2015
		JP 5427321 B2	26 February 2014
		CO 6811863 A2	16 December 2013
		KR 20140047741 A	22 April 2014
		AU 2012288626 A1	02 May 2013
		DO P2013000263	31 January 2014
		IL 229199 D0	30 January 2014
		ECSP 13013033 A	31 January 2014
		CA 2881993 A1	31 January 2013
		MX 2014000528 A	01 May 2014
		CN 103702990 B	09 September 2015
		KR 20140030089 A	11 March 2014
		EP 2440559 A4	21 November 2012
		IL 216140 D0	31 January 2012
		US 2012094999 A1	19 April 2012
		WO 2010129053 A3	24 March 2011
		EP 2440559 A2	18 April 2012
		WO 2010129053 A2	11 November 2010
		JP 2012526113 A	25 October 2012
		KR 20120047208 A	11 May 2012
		WO 2010129053 AS	15 December 2011
		CA 2760794 A1	11 November 2010
WO 2011140338 A1	10 November 2011	US 2013137709 A1	30 May 2013

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/090568

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2013170671 A1	21 November 2013	DE 112013002484 T5	29 January 2015
		US 2015126508 A1	07 May 2015
		CN 103930425 A	16 July 2014
		JP 2015516445 A	11 June 2015
CN 103717602 A	09 April 2014	MX 2013013415 A	09 July 2014
		WO 2012158843 A3	11 April 2013
		WO 2012158843 A2	22 November 2012
		JP 2014513729 A	05 June 2014
		KR 20140059169 A	15 May 2014
		AU 2012255759 A1	16 January 2014
		EP 2710007 A2	26 March 2014
		CA 2836449 A1	22 November 2012
		EP 2710007 A4	01 April 2015
		US 2014323464 A1	30 October 2014
WO 2009102468 A1	20 August 2009	US 8697699 B2	15 April 2014
		US 2013023499 A1	24 January 2013
		JP 5496915 B2	21 May 2014
		CA 2714414 A1	20 August 2009
		NZ 587039 A	25 January 2013
		JP 2011511835 A	14 April 2011
		EP 2252617 A1	24 November 2010
		US 2009221612 A1	03 September 2009
		AU 2009215191 A1	20 August 2009
		US 2011207736 A1	25 August 2011
WO 2011079231 A1	30 June 2011	US 2014011810 A1	09 January 2014
WO 2013042006 A1	28 March 2013	US 2013079324 A1	28 March 2013
		UY 34342 A	30 April 2013
		DOP 2014000055 A	15 May 2014

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/090568

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
		CL 2014002726 A1	13 February 2015
		CL 2014000566 A1	10 October 2014
		EA 201490673 A1	30 June 2014
		US 2015203502 A1	23 July 2015
		MD 20140023 A2	30 June 2014
		AR 088760 A1	02 July 2014
		TW 201313723 A	01 April 2013
		TW 1492946 B	21 July 2015
		EP 2758402 A1	30 July 2014
		JP 2014526549 A	06 October 2014
		CN 103814030 A	21 May 2014
		AU 2012311184 A1	06 March 2014
		IL 231592 D0	28 May 2014
		SG 2014014450 A	26 September 2014
		CO 6910196 A2	31 March 2014
		CR 20140132 A	16 May 2014
		PE 12282014 A1	01 October 2014
		AP 201407475 D0	28 February 2014
		CA 2847540 A1	28 March 2013
		MX 2014003501 A	22 July 2014
		US 9040547 B2	26 May 2015
		MA 35451 B1	01 September 2014
		KR 20140059246 A	15 May 2014

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2015/090568

A. 主题的分类

C07D 487/04(2006.01)i; A61K 31/4188(2006.01)i; A61K 31/4985(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07D 487/-, A61K 31/-, A61P 35/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

EPODOC, WPI, CNKI, CNABS, REGISTRY(STN), CAPLUS(STN), MARPAT(STN): EGFR, 表皮生长因子, 抑制, 癌, 肿瘤, 海燕医药, 扬子江药业, inhibit+, cancer, tumor, 结构检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 103702990 A (阿斯利康瑞典有限公司) 2014年 4月 2日 (2014 - 04 - 02) 说明书第[0007]-[0008]、[0034]-[0035]段, 实施例1-60, 权利要求1-16	1-13
A	CN 102482277 A (达纳-法伯癌症研究所有限公司) 2012年 5月 30日 (2012 - 05 - 30) 说明书第[0012]-[0022]段, 表1化合物15、17, 表2化合物7、8, 表5化合物17-19, 表6化合物26、29, 权利要求1-129	1-13
A	WO 2011140338 A1 (GATEKEEPER PHARMACEUTICALS, INC. 等) 2011年 11月 10日 (2011 - 11 - 10) 说明书第[0019]、[0022]段, 实施例1-30, 权利要求1-57	1-13
A	WO 2013170671 A1 (EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 2013年 11月 21日 (2013 - 11 - 21) 说明书第3页第6-20行, 权利要求1-10	1-13
A	CN 103717602 A (加利福尼亚大学董事会等) 2014年 4月 9日 (2014 - 04 - 09) 权利要求1-59	1-13
A	WO 2009102468 A1 (CGI PHARMACEUTICALS, INC. 等) 2009年 8月 20日 (2009 - 08 - 20) 权利要求1-60	1-13

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2015年 12月 2日

国际检索报告邮寄日期

2015年 12月 28日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

授权官员

李士坤

电话号码 (86-10)61648378

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	WO 2011079231 A1 (GATEKEEPER PHARMACEUTICAL, INC. 等) 2011年 6月 30日 (2011 - 06 - 30) 说明书第[0019]、[0022]段，权利要求1-57	1-13
A	WO 2013042006 A1 (PFIZER等) 2013年 3月 28日 (2013 - 03 - 28) 说明书第1页倒数第6行，权利要求1-23	1-13

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/090568

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	103702990	A	2014年 4月 2日	PE	17002014	A1	2014年 11月 20日
				TW	201443040	A	2014年 11月 16日
				CA	2881991	A1	2013年 1月 31日
				EA	201391491	A1	2014年 8月 29日
				CA	2843109	C	2015年 6月 16日
				WO	2013014448	A1	2013年 1月 31日
				AU	2012288626	B2	2015年 5月 7日
				KR	20140062181	A	2014年 5月 22日
				CR	20130629	A	2014年 3月 12日
				CA	2843109	A1	2013年 1月 31日
				CA	2881987	A1	2013年 1月 31日
				JP	2013544273	A	2013年 12月 12日
				TW	I465445	B	2014年 12月 21日
				TW	201319057	A	2013年 5月 16日
				AU	2012288626	A8	2013年 9月 26日
				CA	2882018	A1	2013年 1月 31日
				JP	2014094930	A	2014年 5月 22日
				US	2013053409	A1	2013年 2月 28日
				EP	2736895	A1	2014年 6月 4日
				SG	10201402860Q	A	2014年 8月 28日
				SG	10201402857Q	A	2014年 8月 28日
				KR	101422619	B1	2014年 7月 24日
				CN	104109151	A	2014年 10月 22日
				UY	34219	A	2013年 2月 28日
				AR	087336	A1	2014年 3月 19日
				NZ	617393	A	2014年 11月 28日
				JP	5537704	B2	2014年 7月 2日
				CN	104109161	A	2014年 10月 22日
				SG	194783	A1	2013年 12月 30日
				KR	101410902	B1	2014年 6月 20日
				JP	2014139226	A	2014年 7月 31日
				US	8946235	B2	2015年 2月 3日
				AU	2012288626	C1	2015年 9月 17日
				US	2015119379	A1	2015年 4月 30日
				JP	5427321	B2	2014年 2月 26日
				CO	6811863	A2	2013年 12月 16日
				KR	20140047741	A	2014年 4月 22日
				AU	2012288626	A1	2013年 5月 2日
				DO	P2013000263	A	2014年 1月 31日
				IL	229199	D0	2014年 1月 30日
				EC	SP13013033	A	2014年 1月 31日
				CA	2881993	A1	2013年 1月 31日
				MX	2014000528	A	2014年 5月 1日
				CN	103702990	B	2015年 9月 9日
				KR	20140030089	A	2014年 3月 11日
CN	102482277	A	2012年 5月 30日	EP	2440559	A4	2012年 11月 21日
				IL	216140	D0	2012年 1月 31日
				US	2012094999	A1	2012年 4月 19日
				WO	2010129053	A3	2011年 3月 24日
				EP	2440559	A2	2012年 4月 18日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/090568

检索报告引用的专利文件				公布日 (年/月/日)		同族专利		公布日 (年/月/日)				
				WO	2010129053	A2	2010年 11月 11日					
				JP	2012526113	A	2012年 10月 25日					
				KR	20120047208	A	2012年 5月 11日					
				WO	2010129053	A8	2011年 12月 15日					
				CA	2760794	A1	2010年 11月 11日					
WO	2011140338	A1	2011年 11月 10日	US	2013137709	A1	2013年 5月 30日					
WO	2013170671	A1	2013年 11月 21日	DE	112013002484	T5	2015年 1月 29日					
				US	2015126508	A1	2015年 5月 7日					
				CN	103930425	A	2014年 7月 16日					
				JP	2015516445	A	2015年 6月 11日					
				CN	103717602	A	2014年 4月 9日	MX	2013013415	A	2014年 7月 9日	
				WO	2012158843	A3	2013年 4月 11日					
				WO	2012158843	A2	2012年 11月 22日					
				JP	2014513729	A	2014年 6月 5日					
				KR	20140059169	A	2014年 5月 15日					
				AU	2012255759	A1	2014年 1月 16日					
				EP	2710007	A2	2014年 3月 26日					
				CA	2836449	A1	2012年 11月 22日					
				EP	2710007	A4	2015年 4月 1日					
				US	2014323464	A1	2014年 10月 30日					
				WO	2009102468	A1	2009年 8月 20日	US	8697699	B2	2014年 4月 15日	
				US	2013023499	A1	2013年 1月 24日					
				JP	5496915	B2	2014年 5月 21日					
				CA	2714414	A1	2009年 8月 20日					
				NZ	587039	A	2013年 1月 25日					
				JP	2011511835	A	2011年 4月 14日					
				EP	2252617	A1	2010年 11月 24日					
				US	2009221612	A1	2009年 9月 3日					
				AU	2009215191	A1	2009年 8月 20日					
				WO	2011079231	A1	2011年 6月 30日	US	2011207736	A1	2011年 8月 25日	
				US	2014011810	A1	2014年 1月 9日					
				WO	2013042006	A1	2013年 3月 28日	US	2013079324	A1	2013年 3月 28日	
				UY	34342	A	2013年 4月 30日					
				DO	P2014000055	A	2014年 5月 15日					
				CL	2014002726	A1	2015年 2月 13日					
				CL	2014000566	A1	2014年 10月 10日					
				EA	201490673	A1	2014年 6月 30日					
				US	2015203502	A1	2015年 7月 23日					
				MD	20140023	A2	2014年 6月 30日					
				AR	088760	A1	2014年 7月 2日					
				TW	201313723	A	2013年 4月 1日					
				TW	I492946	B	2015年 7月 21日					
				EP	2758402	A1	2014年 7月 30日					
				JP	2014526549	A	2014年 10月 6日					
				CN	103814030	A	2014年 5月 21日					
				AU	2012311184	A1	2014年 3月 6日					
				IL	231592	D0	2014年 5月 28日					
				SG	2014014450	A	2014年 9月 26日					
				CO	6910196	A2	2014年 3月 31日					

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/090568

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		CR 20140132 A	2014年 5月 16日
		PE 12282014 A1	2014年 10月 1日
		AP 201407475 D0	2014年 2月 28日
		CA 2847540 A1	2013年 3月 28日
		MX 2014003501 A	2014年 7月 22日
		US 9040547 B2	2015年 5月 26日
		MA 35451 B1	2014年 9月 1日
		KR 20140059246 A	2014年 5月 15日