



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115151539 A

(43) 申请公布日 2022.10.04

(21) 申请号 202080084260.5

(22) 申请日 2020.12.03

(30) 优先权数据

62/943,406 2019.12.04 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.06.02

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/063038 2020.12.03

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/113462 EN 2021.06.10

(71) 申请人 因赛特公司

地址 美国特拉华州

(72) 发明人 M·陶 J·博尔

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.

C07D 471/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

权利要求书6页 说明书57页

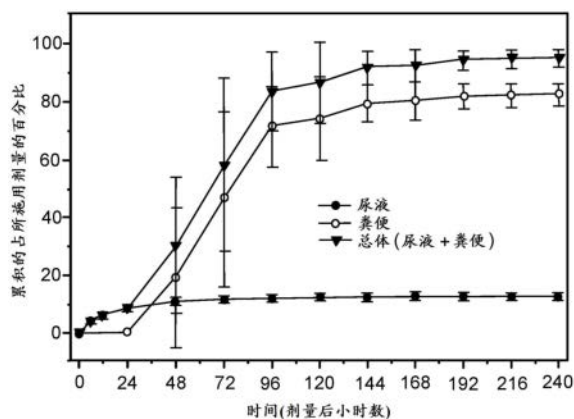
序列表1页 附图4页

(54) 发明名称

FGFR抑制剂的衍生物

(57) 摘要

本公开涉及成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂的衍生物 (例如羟基、酮基、葡糖苷酸、磺酸以及氧化衍生物), 包括其制备方法以及其制备中的中间物, 所述物质可用于治疗FGFR介导的疾病, 诸如癌症。



1. 一种化合物,所述化合物选自:

3-(2,6-二氟-3-羟基-5-甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮;以及

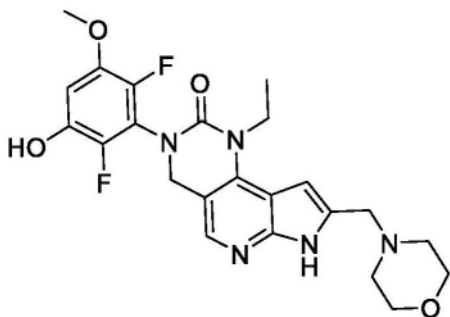
3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-4-羟基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮,

或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求1所述的化合物,所述化合物为3-(2,6-二氟-3-羟基-5-甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮或其药学上可接受的盐。

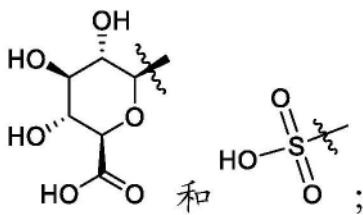
3. 如权利要求1所述的化合物,所述化合物为3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-4-羟基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮或其药学上可接受的盐。

4. 一种式II化合物:



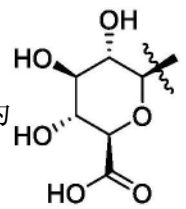
## II

其中一个C-H基团用C-X基团置换,N-H基团用N-X基团置换,或O-H基团用O-X基团置换;其中X为选自以下的基团:

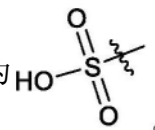


或其药学上可接受的盐。

5. 如权利要求4所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中X为



6. 如权利要求4所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中X为



7. 如权利要求4-6中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中一个C-H基团用

C-X基团置换。

8. 如权利要求4-6中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述N-H基团用N-X基团置换。

9. 如权利要求4-6中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述O-H基团用O-X基团置换。

10. 一种化合物,所述化合物为3-(2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮或其药学上可接受的盐。

11. 如权利要求1-9中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物或其药学上可接受的盐为大体上分离的。

12. 一种组合物,所述组合物包含如权利要求1-11中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,以及至少一种药学上可接受的载体。

13. 如权利要求12所述的组合物,所述组合物适合于经口施用。

14. 如权利要求12所述的组合物,所述组合物适合于静脉内施用。

15. 如权利要求12所述的组合物,所述组合物适合于动脉施用。

16. 如权利要求15所述的组合物,其中所述动脉施用为肝动脉输注。

17. 一种抑制FGFR酶的方法,所述方法包括使所述酶与如权利要求1-11中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或如权利要求12-16中任一项所述的组合物接触。

18. 一种治疗有需要的患者的癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或如权利要求12-16中任一项所述的组合物。

19. 如权利要求18所述的方法,其中所述癌症选自膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、头颈癌、肾癌、肝癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、食管癌、胆囊癌、胰腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、白血病、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性淋巴瘤、成人T细胞白血病、B细胞淋巴瘤、急性骨髓性白血病、霍奇金氏或非霍奇金氏淋巴瘤、瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症、毛细胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、成胶质细胞瘤、黑素瘤以及横纹肉瘤。

20. 一种治疗有需要的患者的骨髓增生性疾病的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或如权利要求12-16中任一项所述的组合物。

21. 如权利要求20所述的方法,其中所述骨髓增生性疾病选自真性红细胞增多症、自发性血小板增多以及原发性骨髓纤维化。

22. 一种治疗有需要的患者的骨骼或软骨细胞病症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或如权利要求12-16中任一项所述的组合物。

23. 如权利要求22所述的方法,其中所述骨骼或软骨细胞病症选自软骨发育不全、软骨生成减退、侏儒症、致死性发育不良(TD)、亚伯氏综合征、克鲁松氏综合征、杰克逊-韦斯综合征、比尔-史蒂文森皮肤回旋综合征、普法伊弗综合征以及颅缝早闭综合征。

24. 一种治疗有需要的患者的低磷酸盐血症病症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或如权利

要求12-16中任一项所述的组合物。

25. 如权利要求24所述的方法, 其中所述低磷酸盐血症病症为X连锁低磷酸盐血性佝偻病、常染色体隐性低磷酸盐血性佝偻病、常染色体显性低磷酸盐血性佝偻病或肿瘤诱导的软骨病。

26. 一种治疗有需要的患者的胆管细胞癌的方法, 所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐, 或如权利要求12-16中任一项所述的组合物。

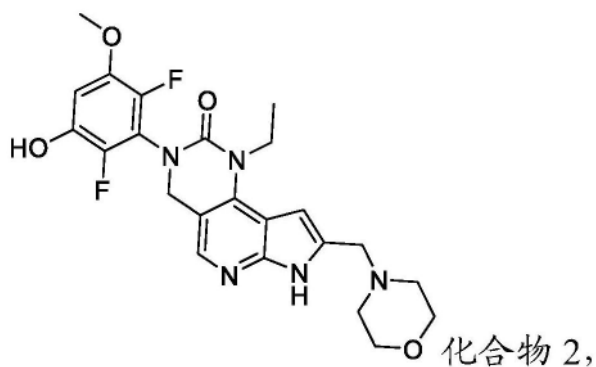
27. 如权利要求26所述的方法, 其中所述胆管细胞癌为晚期或转移性胆管细胞癌。

28. 一种治疗有需要的患者的骨髓/淋巴赘瘤的方法, 所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐, 或如权利要求12-16中任一项所述的组合物。

29. 如权利要求28所述的方法, 其中所述骨髓/淋巴赘瘤为8p11骨髓增生性综合征。

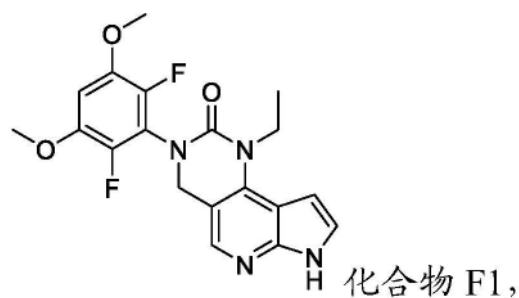
30. 如权利要求28所述的方法, 其中所述骨髓/淋巴赘瘤与嗜酸性粒细胞增多相关。

31. 一种制备具有下式的化合物2或其盐的方法:

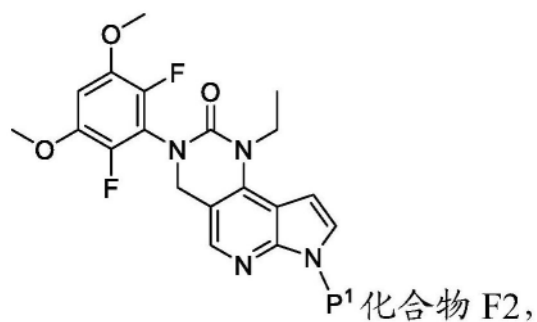


所述方法包括:

a) 使具有下式的化合物F1:

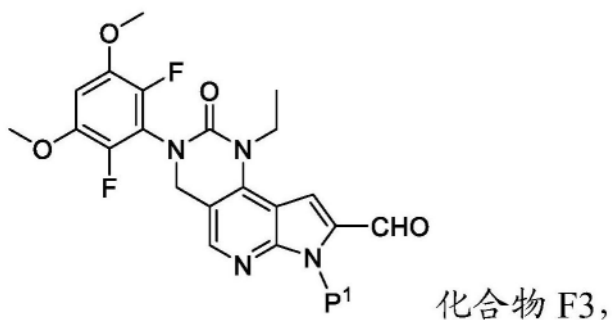


与氨基保护剂反应, 以提供具有下式的化合物F2:



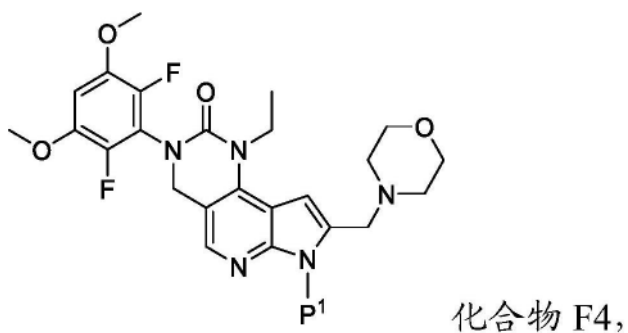
或其盐,其中P<sup>1</sup>为氨基保护基;

b) 使化合物F2与DMF在存在B1的情况下反应,其中B1为碱,以提供具有下式的化合物F3:



或其盐;

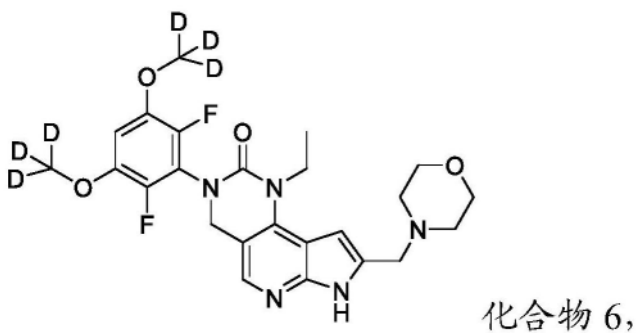
c) 使化合物F3与吗啉在存在RA1的情况下反应,其中RA1为还原剂,以提供具有下式的化合物F4:



或其盐;以及

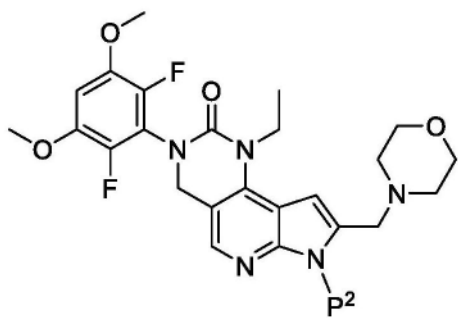
d) 使化合物F4去保护以提供化合物2或其盐。

32. 一种用于制备具有下式的化合物6或其盐的方法:



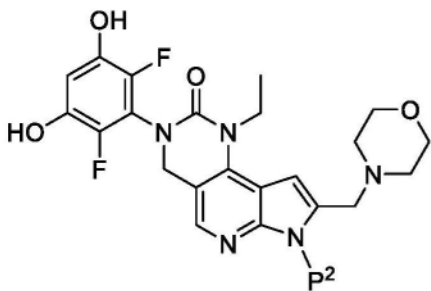
所述方法包括:

a) 使具有下式的化合物F7:



化合物 F7

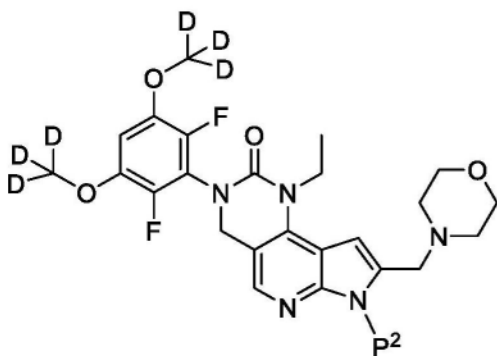
与A3反应,其中A3为路易斯酸,并且其中P<sup>2</sup>为氨基保护基,以提供具有下式的化合物F6:



化合物 F6,

或其盐;

b) 使化合物F6与CD<sub>3</sub>I在存在B4的情况下反应,其中B4为碱,以提供具有下式的化合物F5:

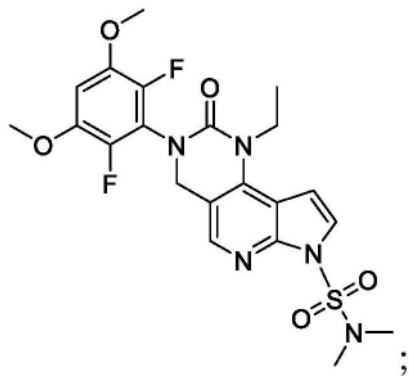


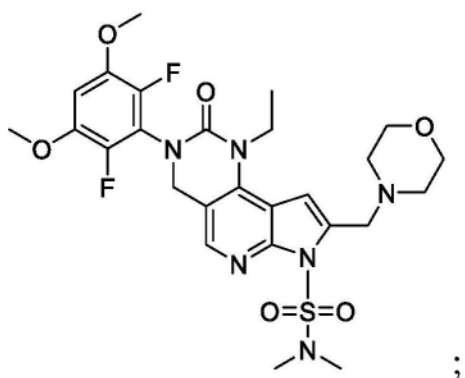
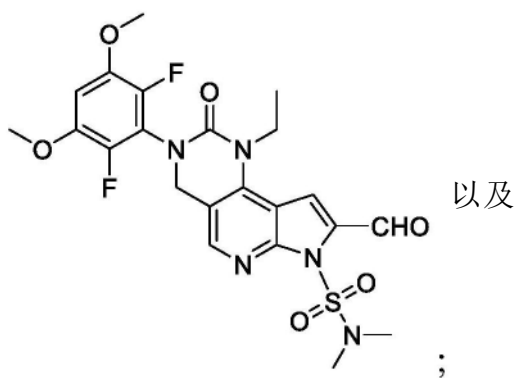
化合物 F5,

或其盐;以及

c) 使化合物F5去保护以提供化合物6或其盐。

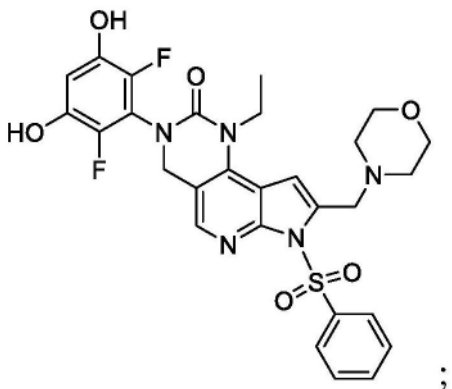
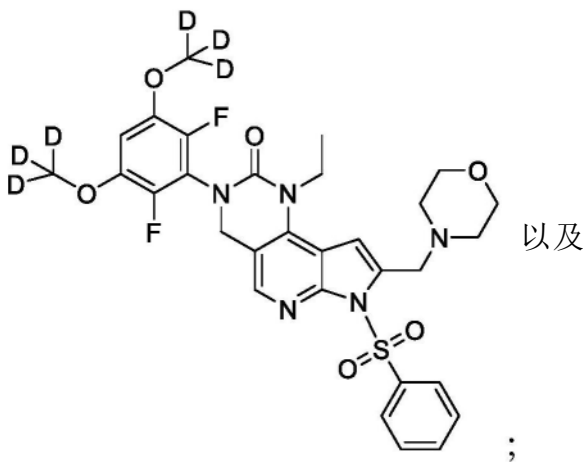
33. 一种化合物,所述化合物选自:





或上述物质中的任一者的盐。

34. 一种化合物, 所述化合物选自:



或上述物质中的任一者的盐。

## FGFR抑制剂的衍生物

### 技术领域

[0001] 本申请涉及成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂的衍生物 (例如羟基、酮基、葡萄糖苷酸、磺酸以及氘化衍生物), 包括其制备方法以及其制备中的中间物, 所述物质可用于治疗FGFR介导的疾病, 诸如癌症。

### 背景技术

[0002] 成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 为受体酪氨酸激酶, 受体酪氨酸激酶结合于成纤维细胞生长因子 (FGF) 配体。存在四种FGFR蛋白 (FGFR1-4), 这四种FGFR蛋白能够结合配体并且参与包括组织发育、血管生成、伤口愈合以及代谢调控的许多生理学过程的调控。在配体结合时, 受体经历二聚化和磷酸化, 从而引起刺激蛋白激酶活性并且募集许多细胞内对接蛋白。这些相互作用促进一系列细胞内信号传导路径的活化, 包括Ras-MAPK、AKT-PI3K以及磷脂酶C, 所述细胞内信号传导路径对于细胞生长、增殖以及存活来说为重要的 (在Eswarakumar等Cytokine&Growth Factor Reviews, 2005中进行了综述)。

[0003] 此路径通过FGF配体或FGFR的过表达或FGFR的活化突变而异常活化可导致肿瘤发展、进展以及对常规癌症疗法的抗性。在人癌症中, 已描述导致非配体依赖性受体活化的基因改变, 包括基因扩增、染色体转位以及体细胞突变。基因改变可包括突变、融合、重排 (例如转位、缺失、倒位) 以及基因的扩增。数千肿瘤样品的大规模DNA测序已表明在人癌症中FGFR路径的组分属于最频繁突变的。这些活化突变中有许多与导致骨骼发育不良综合征的种系突变相同。在人疾病中导致异常配体依赖性信号传导的机制包括FGF的过表达以及FGFR剪接的变化, 从而使得受体具有更混杂的配体结合能力 (在Knights和Cook Pharmacology&Therapeutics, 2010; Turner和Grose, Nature Reviews Cancer, 2010中进行了综述)。因此, 研发靶向FGFR的抑制剂可用于具有升高的FGF或FGFR活性的疾病的临床治疗。

[0004] 牵涉到FGF/FGFR的癌症类型包括但不限于: 癌瘤 (例如膀胱癌、乳腺癌、颈部癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、头颈癌、肾癌、肝癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌); 造血系统恶性肿瘤 (例如多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性淋巴瘤、成人T细胞白血病、急性骨髓性白血病、非霍奇金淋巴瘤 (non-Hodgkin lymphoma)、骨髓增生性赘瘤以及瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症 (Waldenstrom's Macroglobulinemia)); 以及其他赘瘤 (例如成胶质细胞瘤、黑素瘤以及横纹肉瘤)。除在致癌赘瘤中的作用外, 在包括但不限于软骨发育不全和颅缝早闭综合征的骨骼和软骨细胞病症中也牵涉到FGFR活化。特定来说, 在包括肝细胞癌的许多癌症的发病机理中牵涉到FGFR4-FGF19信号传导轴 (Heinzle等, Cur. Pharm. Des. 2014, 20:2881)。转基因小鼠中FGF19的异位表达显示导致肝脏中的肿瘤形成并且发现将抗体中和为FGF19抑制小鼠中的肿瘤生长。此外, 已在包括肝细胞癌、结肠直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、肺癌以及甲状腺癌的多种肿瘤类型中观测到FGFR4的过表达。此外, 已在横纹肌肉瘤中报告FGFR4中的活化突变 (Taylor等JCI 2009, 119:3395)。

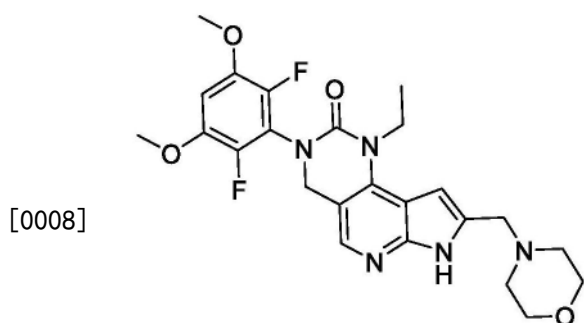
[0005] 当前正在研发FGFR的抑制剂用于治疗癌症。举例来说, 例如美国公布号2012/

0165305;2014-0045814;2013-0338134;2014/0171405;2014/0315902;2016/0115164;2016/0244448;2016/0244449;以及2016-0244450中报告了分子3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮和FGFR的其他小分子抑制剂。

[0006] 因此,持续需要新的或改良的抑制FGFR的剂来研发新的并且更有效的用于治疗癌症和其他疾病的药物。本文所描述的化合物(包括这些化合物的衍生物)、组合物以及方法以这些需要以及其他目的为目标。

## 发明内容

[0007] 本公开尤其提供了化合物1的衍生物:



化合物 1,

[0009] 或其药学上可接受的盐。

[0010] 本公开还涉及药物组合物,所述药物组合物包含本公开的化合物或其药学上可接受的盐以及至少一种药学上可接受的载体。

[0011] 本公开还涉及抑制FGFR酶的方法,所述方法包括使所述酶与本公开的化合物或其药学上可接受的盐接触。

[0012] 本公开还涉及一种治疗与FGFR酶的异常活性或表达相关的疾病的方法,所述方法包括向有需要的患者施用本公开的化合物或其药学上可接受的盐。

[0013] 本公开还涉及本公开的化合物用于治疗与FGFR酶的异常活性或表达相关的疾病。

[0014] 本公开还涉及一种用于治疗有需要的患者的由FGFR酶或其突变体介导的病症的方法,所述方法包括向所述患者施用本公开的化合物或其药学上可接受的组合物的步骤。

[0015] 本公开还涉及一种用于治疗有需要的患者的由FGFR酶或其突变体介导的病症的方法,所述方法包括向患者施用本公开的化合物或其药学上可接受的盐或包含本公开的化合物或其药学上可接受的盐的组合物与如本文所描述的另一疗法或治疗剂的组合的步骤。

[0016] 本公开还涉及本公开的化合物在制备用于疗法中的药剂中的用途。

## 附图说明

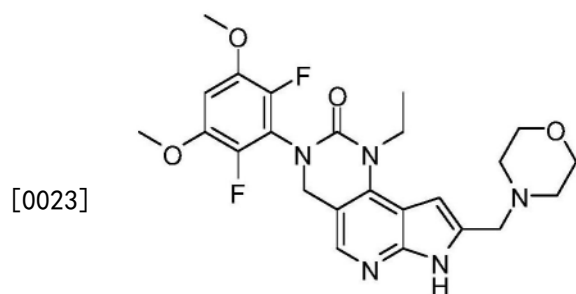
[0017] 图1为示出在给予健康男性受试者单个13-mg (250 $\mu$ Ci) 口服剂量的[14C]化合物1之后按指定间隔在尿液和粪便中回收的平均累积放射剂量百分比的图。

[0018] 图2为示出在给予处于禁食状态的健康男性志愿者单个口服剂量的约13mg [14c] 化合物1之后血液或血浆中的平均放射性(nM当量)以及血浆中的化合物1(nM)的图。

- [0019] 图3示出了化合物1的人循环代谢产物的质谱图。  
 [0020] 图4示出了从尿液分离的化合物1代谢产物的质谱图。  
 [0021] 图5示出了从粪便分离的化合物1代谢产物的质谱图。

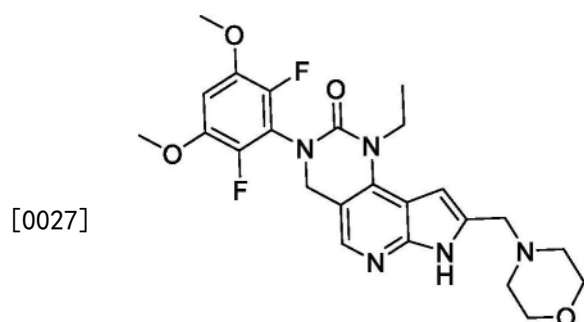
### 具体实施方式

[0022] 本公开尤其涉及如下化合物,所述化合物为3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(化合物1)的衍生物,以及用于制备所述衍生物的方法和中间物。以下显示化合物1的结构:



化合物 1。

- [0024] 美国专利号9,611,267中描述了化合物1,所述专利的全文以引用的方式并入本文中。  
 [0025] 在一些实施方案中,化合物为化合物1的代谢产物。在一些实施方案中,化合物为活性代谢产物,所述活性代谢产物可调节一种或多种FGFR蛋白的活性并且可用于例如治疗与FGFR表达或活性相关的疾病。在一些实施方案中,对本文所描述的代谢产物化合物的水平进行测量和分析以帮助开业医师调整化合物1的剂量水平。  
 [0026] 因此,本公开还提供了一种式I化合物:

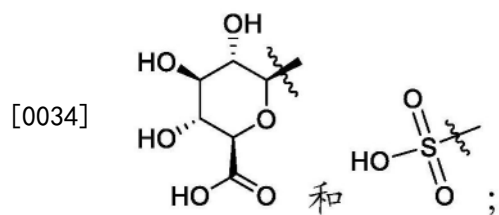


I,

- [0028] 或其药学上可接受的盐,其中:  
 [0029] 一个或多个OCH<sub>3</sub>基团任选用OH基团置换,其中OH基团任选用O-X基团置换,  
 [0030] 一个C-H基团任选用C-X基团置换,  
 [0031] 一个CH<sub>2</sub>基团任选用C=O基团置换,  
 [0032] 吗啉环的一个或多个CH<sub>2</sub>基团各自任选用C(OH)H基团置换,N-H基团任选用N-X基

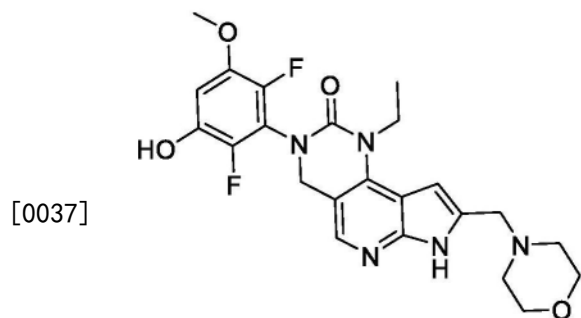
团置换,并且

[0033] 其中X为选自以下的基团:



[0035] 前提条件为化合物具有选自OH、O-X、C-X、C=O以及N-X的基团中的一者或多者。

[0036] 本发明还提供了一种式II化合物:



II,

[0038] 或其药学上可接受的盐,其中:

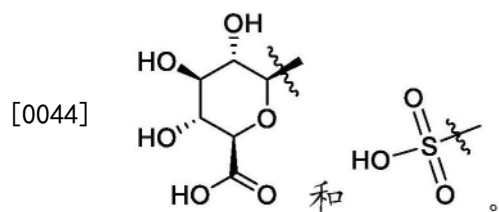
[0039] 一个C-H基团任选用C-X基团置换,

[0040] 一个CH<sub>2</sub>基团任选用C=O基团置换,

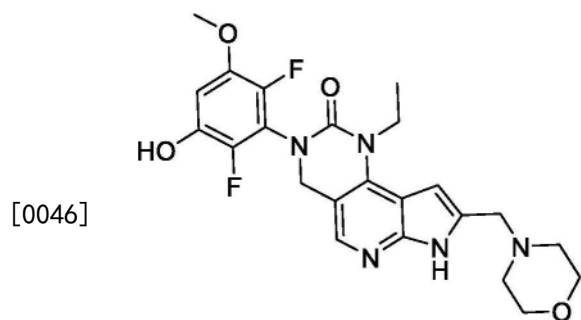
[0041] N-H基团任选用N-X基团置换,并且

[0042] O-H基团任选用O-X基团置换;

[0043] 其中X为选自以下的基团:

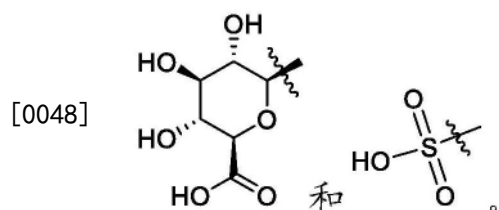


[0045] 在一些实施方案中,本发明还提供了一种式II化合物:



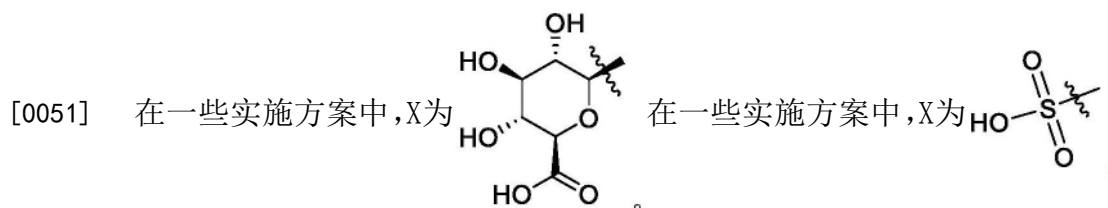
II,

[0047] 或其药学上可接受的盐,其中一个C-H基团用C-X基团置换,N-H基团用N-X基团置换,或O-H基团用O-X基团置换;其中X为选自以下的基团:

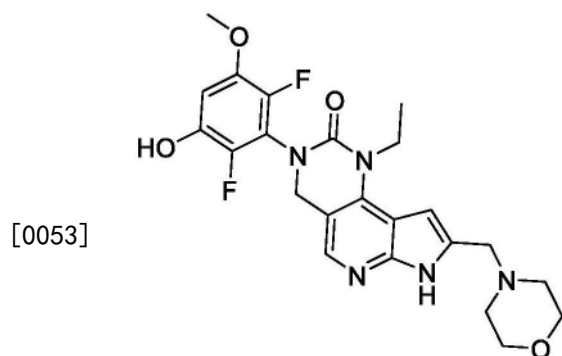


[0049] 在一些实施方案中,一个或多个 $\text{OCH}_3$ 基团任选用OH基团置换,其中OH基团任选用O-X基团置换。在一些实施方案中,OH基团任选用O-X基团置换。在一些实施方案中,一个C-H基团任选用C-X基团置换。在一些实施方案中,一个 $\text{CH}_2$ 基团任选用C=O基团置换。在一些实施方案中,N-H基团任选用N-X基团置换。在一些实施方案中,吗啉环的一个或多个 $\text{CH}_2$ 基团各自任选用C(OH)H基团置换。

[0050] 在一些实施方案中,一个或多个 $\text{OCH}_3$ 基团用OH基团置换,其中OH基团用O-X基团置换。在一些实施方案中,一个或多个 $\text{OCH}_3$ 基团用OH基团置换。在一些实施方案中,OH基团用O-X基团置换。在一些实施方案中,一个C-H基团用C-X基团置换。在一些实施方案中,一个 $\text{CH}_2$ 基团用C=O基团置换。在一些实施方案中,N-H基团用N-X基团置换。在一些实施方案中,吗啉环的一个或多个 $\text{CH}_2$ 基团各自用C(OH)H基团置换。



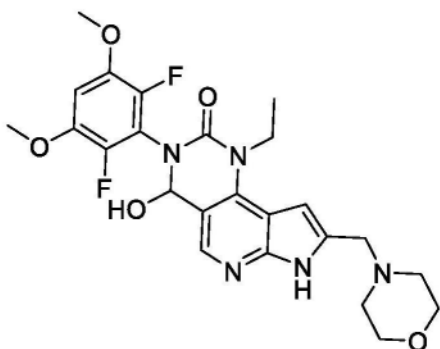
[0052] 本发明提供了一种化合物,所述化合物为3-(2,6-二氟-3-羟基-5-甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(化合物2)或其药学上可接受的盐。以下显示化合物2的结构:



化合物 2。

[0054] 本发明还提供了一种化合物,所述化合物为3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-4-羟基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(化合物3)或其药学上可接受的盐。以下显示化合物3的结构:

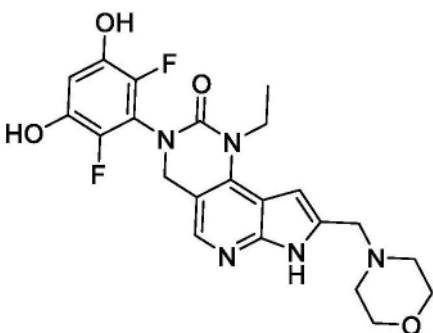
[0055]



## 化合物 3。

[0056] 本发明还提供了一种化合物,所述化合物为3-(2,6-二氟-3,5-二羟基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(化合物4)或其药学上可接受的盐。以下显示化合物4的结构:

[0057]



## 化合物 4。

[0058] 在一些实施方案中,化合物选自:

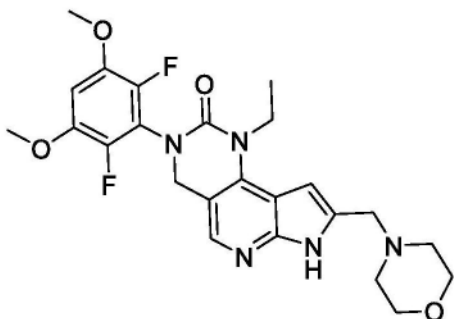
[0059] 3-(2,6-二氟-3-羟基-5-甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮;以及

[0060] 3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-4-羟基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮,

[0061] 或其药学上可接受的盐。

[0062] 在一些实施方案中,化合物为式I化合物:

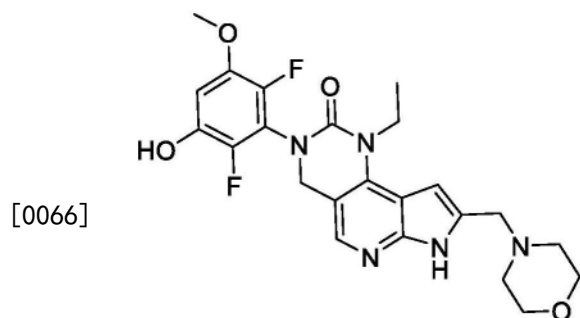
[0063]



I,

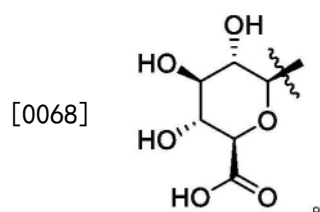
[0064] 或其药学上可接受的盐,其中吗啉环的一个CH<sub>2</sub>基团用(C=O)基团置换。

[0065] 在一些实施方案中,化合物为式II化合物:

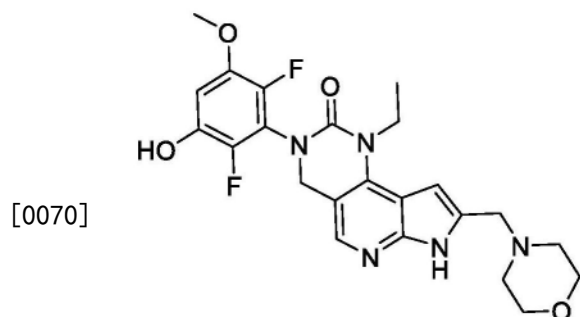


II,

[0067] 或其药学上可接受的盐,其中一个C-H基团用C-X基团置换,N-H基团用N-X基团置换,或O-H基团用O-X基团置换;其中X为以下基团:

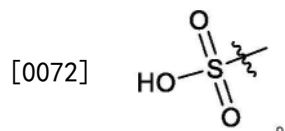


[0069] 在一些实施方案中,化合物为式II化合物:



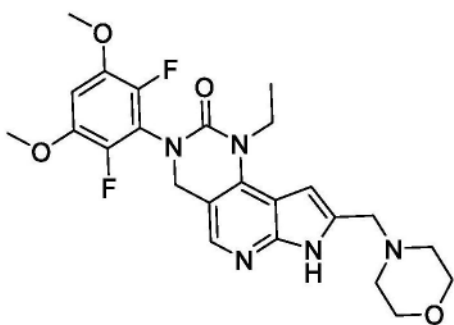
II,

[0071] 或其药学上可接受的盐,其中一个C-H基团用C-X基团置换,N-H基团用N-X基团置换,或O-H基团用O-X基团置换;其中X为以下基团:



[0073] 在一些实施方案中,化合物为式I化合物:

[0074]

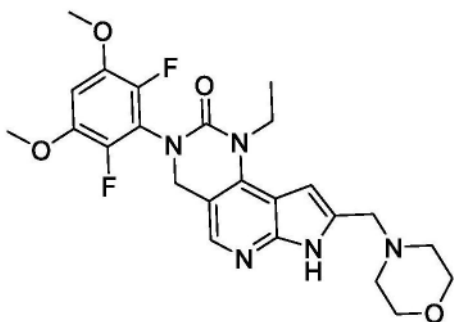


I,

[0075] 或其药学上可接受的盐,其中吗啉环的两个CH<sub>2</sub>基团各自用C(OH)H基团置换。

[0076] 在一些实施方案中,化合物为式I化合物:

[0077]

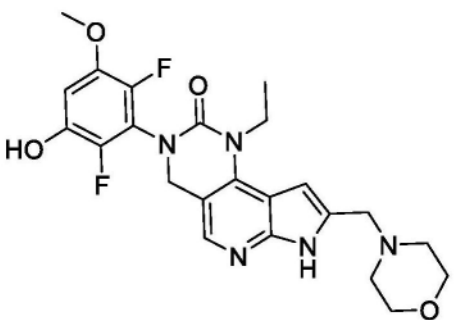


I,

[0078] 或其药学上可接受的盐,其中各OCH<sub>3</sub>基团用OH基团置换;并且吗啉环的一个CH<sub>2</sub>基团用(C=O)基团置换。

[0079] 在一些实施方案中,化合物为式II化合物:

[0080]



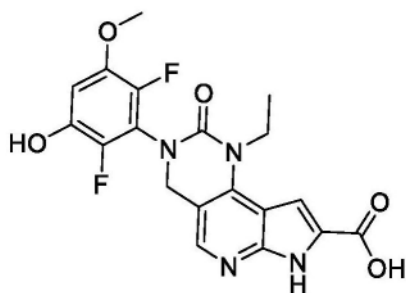
II,

[0081] 或其药学上可接受的盐,其中吗啉环的一个CH<sub>2</sub>基团用(C=O)基团置换。

[0082] 本文还提供了一种化合物,所述化合物为3-(2,6-二氟-3-羟基-5-甲氧基苯基)-1-乙基-2-氧代-2,3,4,7-四氢-1H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-8-羧酸(化合物5)或其药学上可接受的盐。

[0083] 以下显示化合物5的结构:

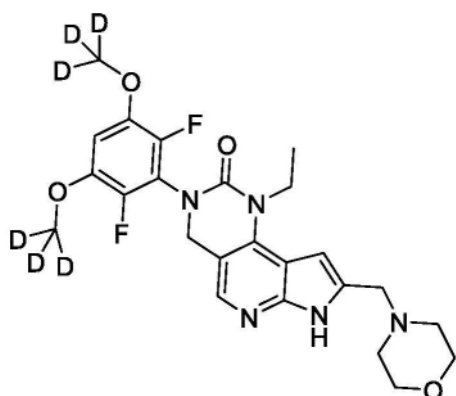
[0084]



化合物 5。

[0085] 本文还提供了一种化合物,所述化合物为3-(2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(化合物6)或其药学上可接受的盐。以下显示化合物6的结构:

[0086]



化合物 6。

[0087] 上述实施方案中的每一者均假定遵循适当价数的规则。

[0088] 本文所描述的某些化合物为3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(化合物1)的代谢产物。代谢产物是从由化合物1的药代动力学和毒代动力学研究收集的人血液/血清、尿液以及粪便样品分离。本发明的代谢产物可为FGFR抑制剂,并且与母体化合物(化合物1)相比可具有有利特性(PK、PD、毒性等)。举例来说,与化合物1相比,本公开的代谢产物(例如化合物2)可为更好的用于Pgp转运的底物。因此,本公开的代谢产物(例如化合物2)可为更适合用于静脉内施用或肝动脉输注以便治疗本文所公开的疾病和病症(例如胆管细胞癌)的候选物。

[0089] 在一些实施方案中,本发明的化合物为大体上分离的。“大体上分离”意味着化合物至少部分或大体上与它在其中形成或被检测到的环境分离。部分分离可包括例如富含本发明的化合物的组合物。大体上分离可包括含有按重量计至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%的代谢产物的组合物。

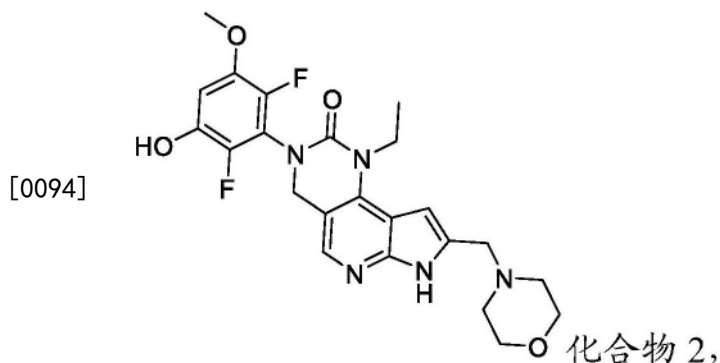
[0090] 本文还提供了一种包含本公开的化合物或其药学上可接受的盐的组合物,所述组合物含有按重量计至少约50%的所述化合物或盐。在一些实施方案中,组合物含有按重量计至少约60%的化合物或盐。在一些实施方案中,组合物含有按重量计至少约70%的化合

物或盐。在一些实施方案中,组合物含有按重量计至少约80%的化合物或盐。在一些实施方案中,组合物含有按重量计至少约90%的化合物或盐。

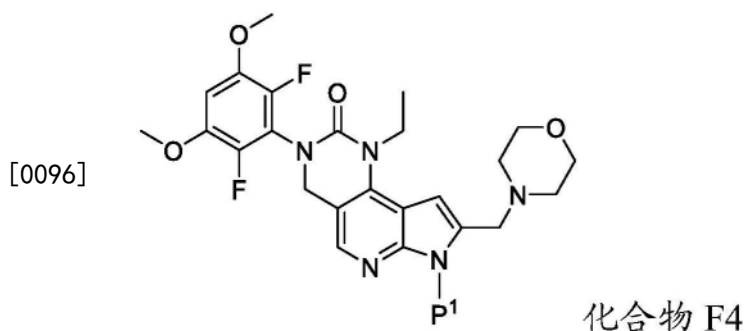
[0091] 用于制备化合物2的方法

[0092] 本申请还提供了一种制备化合物2的方法,其中所述方法可适合于按比例放大。

[0093] 本文提供了一种制备具有下式的化合物2或其盐的方法:



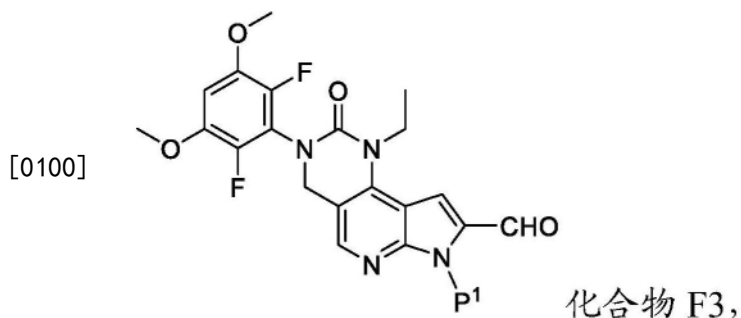
[0095] 所述方法包括使具有下式的化合物F4或其盐去保护:



[0097] 其中P<sup>1</sup>为氨基保护基。在一些实施方案中,P<sup>1</sup>为磺酰胺基团。在一些实施方案中,P<sup>1</sup>为-SO<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

[0098] 在一些实施方案中,化合物F4的去保护包括使化合物F4与A1反应,其中A1为酸。在一些实施方案中,A1为盐酸。在一些实施方案中,A1为盐酸水溶液。在一些实施方案中,去保护在70-90℃(例如80℃)的温度下进行。在一些实施方案中,去保护在存在S1的情况下进行,其中S1为极性非质子溶剂。在一些实施方案中,S1为1,4-二噁烷。在一些实施方案中,化合物F4的去保护包括使用相对于化合物F4约1至约50摩尔当量的去保护剂、相对于化合物F4约10至约30摩尔当量的去保护剂或相对于化合物F4约20摩尔当量的去保护剂。

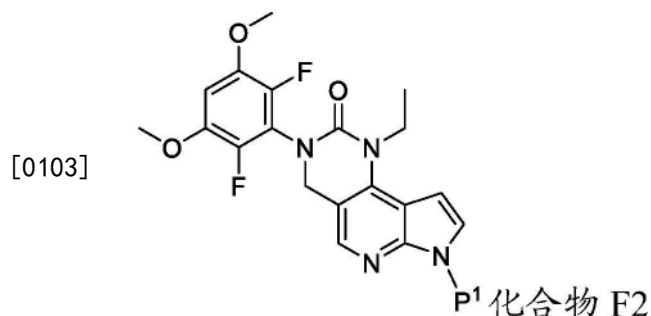
[0099] 化合物F4或其盐可通过包括以下步骤的方法来制备:使具有下式的化合物F3:



[0101] 或其盐与吗啉在存在RA1的情况下,其中RA1为还原剂。在一些实施方案中,RA1为三乙酰氧基硼氢化钠。在一些实施方案中,化合物F3与RA1的反应在存在A2的情况下进行,

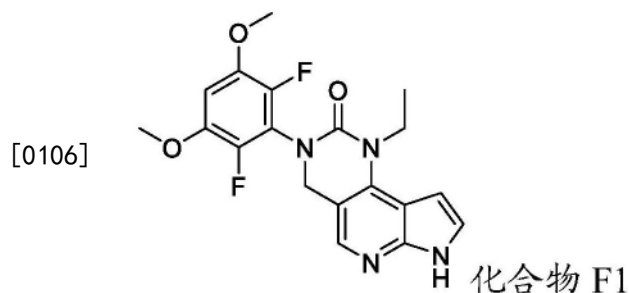
其中A2为酸。在一些实施方案中,A2为有机酸。在一些实施方案中,A2为乙酸。在一些实施方案中,化合物F3与RA1的反应在存在S2的情况下进行,其中S2为溶剂。在一些实施方案中,S2为极性非质子溶剂。在一些实施方案中,S2为氯化甲烷。

[0102] 化合物F3或其盐可通过包括以下步骤的方法来制备:使具有下式的化合物F2:



[0104] 或其盐与DMF在存在B1的情况下反应,其中B1为碱。在一些实施方案中,B1为二异丙基酰胺锂(“LDA”)。在一些实施方案中,化合物F2与DMF在存在B1的情况下的反应在存在S3的情况下进行,其中S3为极性非质子溶剂。在一些实施方案中,S3为四氢呋喃。化合物F2与DMF在存在B1的情况下的反应可在约-100℃与约-50℃之间的温度(例如约-64℃)下进行。

[0105] 化合物F2或其盐可通过包括以下步骤的方法来制备:使具有下式的化合物F1:



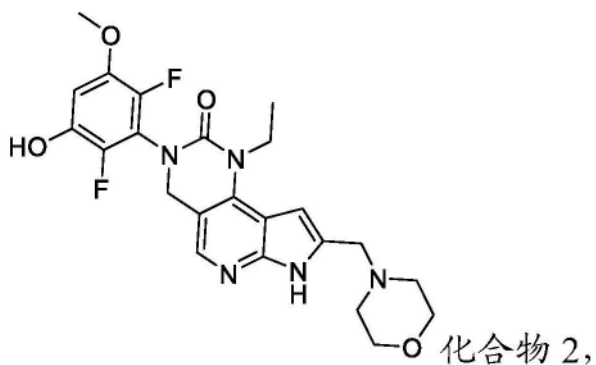
[0107] 或其盐与包含P<sup>1</sup>的氨基保护剂反应。

[0108] 在一些实施方案中,氨基保护剂为P<sup>1</sup>-X,其中X为卤素。在一些实施方案中,氨基保护剂为Me<sub>2</sub>NSO<sub>2</sub>Cl。化合物F1与氨基保护剂的反应可在存在B2的情况下进行,其中B2为碱。在一些实施方案中,B2为金属氢氧化物碱。在一些实施方案中,B2为NaOH。

[0109] 化合物F1与氨基保护剂的反应可在存在四丁基硫酸氢铵的情况下进行。在一些实施方案中,化合物F1与氨基保护剂的反应在存在S4的情况下进行,其中S4为极性非质子溶剂。在一些实施方案中,S4为四氢呋喃。在一些实施方案中,化合物F1与氨基保护剂的反应在约0℃至约50℃(例如约0℃至约30℃)的温度下进行。

[0110] 本文提供了一种制备具有下式的化合物2或其盐的方法:

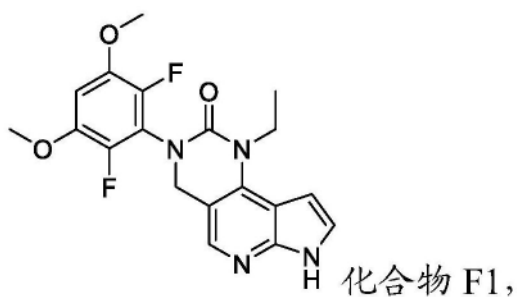
[0111]



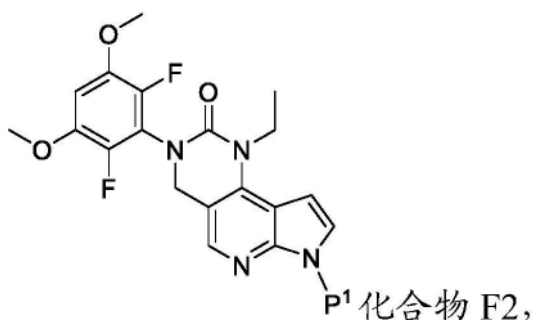
[0112] 所述方法包括:

[0113] a) 使具有下式的化合物F1:

[0114]

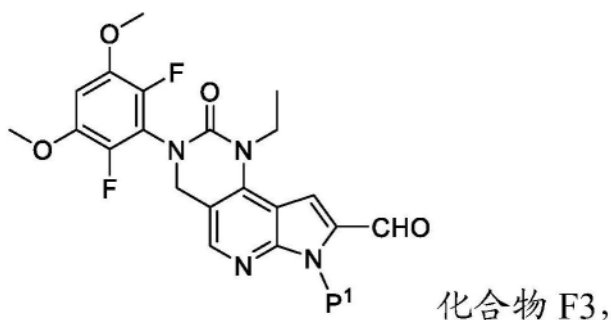
[0115] 与包含P<sup>1</sup>的氨基保护剂反应,以提供具有下式的化合物F2:

[0116]

[0117] 或其盐,其中P<sup>1</sup>为氨基保护基;

[0118] b) 使化合物F2与DMF在存在B1的情况下反应,其中B1为碱,以提供具有下式的化合物F3:

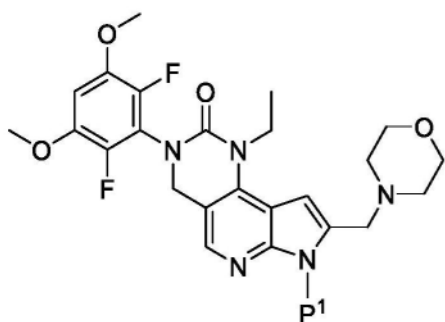
[0119]



[0120] 或其盐;

[0121] c) 使化合物F3与吗啉在存在RA1的情况下反应,其中RA1为还原剂,以提供具有下式的化合物F4:

[0122]



化合物 F4,

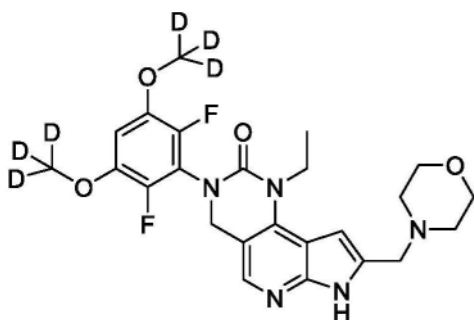
[0123] 或其盐;以及

[0124] d) 使化合物F4去保护以提供化合物2或其盐。

[0125] 用于制备化合物6的方法

[0126] 本公开提供了一种制备具有下式的化合物6或其盐的方法:

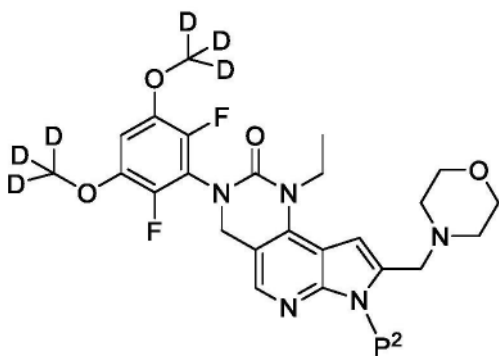
[0127]



化合物 6,

[0128] 所述方法包括使具有下式的化合物F5或其盐去保护:

[0129]

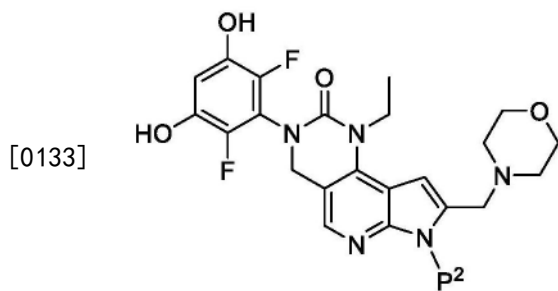


化合物 F5,

[0130] 其中P<sup>2</sup>为氨基保护基。在一些实施方案中,P<sup>2</sup>为-SO<sup>2</sup>-苯基。

[0131] 化合物F5的去保护可包括用B3处理化合物F5,其中B3为碱。在一些实施方案中,B3为金属氢氧化物碱。在一些实施方案中,B3为NaOH。在一些实施方案中,B3为NaOH水溶液。在一些实施方案中,在存在S5的情况下进行化合物F5的去保护,其中S5为1,4-二噁烷。在一些实施方案中,化合物F5与B3的反应包括使用相对于化合物F5约1至约10摩尔当量的B3、相对于化合物F5约2至约8摩尔当量的B3或相对于化合物F5约4摩尔当量的B3。

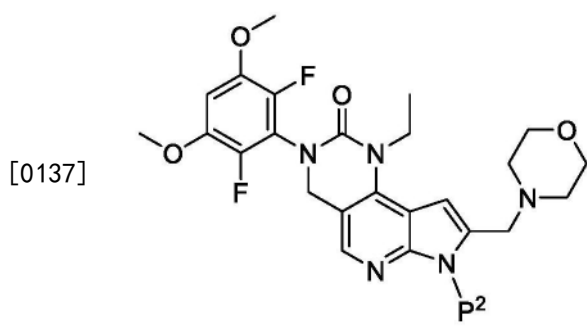
[0132] 化合物F5可通过包括以下步骤的方法来制备:使具有下式的化合物F6:



[0134] 与 $CD_3I$ 在存在 $B_4$ 的情况下反应,其中 $B_4$ 为碱。在一些实施方案中, $B_4$ 为氢化钠。

[0135] 化合物F6与 $CD_3I$ 的反应可在存在 $S_6$ 的情况下进行,其中 $S_6$ 为极性非质子溶剂。在一些实施方案中, $S_6$ 为DMF。化合物F6与 $CD_3I$ 的反应可包括使用相对于化合物F6约1至约5摩尔当量的 $CD_3I$ 、相对于化合物F6约1至约3摩尔当量的 $CD_3I$ 或相对于化合物F6约2摩尔当量的 $CD_3I$ 。化合物F6与 $CD_3I$ 的反应可包括使用相对于化合物F6约1至约10摩尔当量的 $B_4$ 、相对于化合物F6约2至约8摩尔当量的 $B_4$ 或相对于化合物F6约4至约5摩尔当量的 $B_4$ 。

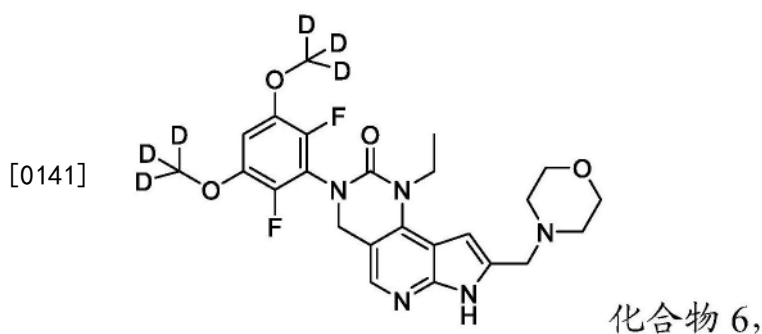
[0136] 化合物F6可通过包括以下步骤的方法来制备:使具有下式的化合物F7:



[0138] 与 $A_3$ 反应,其中 $A_3$ 为路易斯酸(Lewis acid)。在一些实施方案中, $A_3$ 为 $BBr_3$ 。

[0139] 化合物F7与 $A_3$ 的反应可在存在 $S_7$ 的情况下进行,其中 $S_7$ 为极性非质子溶剂。在一些实施方案中, $S_7$ 为氯化甲烷。化合物F7与 $A_3$ 的反应可在约 $-100^\circ C$ 至约 $30^\circ C$  (例如约 $-100^\circ C$ 至室温)的温度下进行。化合物F7与 $A_3$ 的反应可包括使用相对于化合物F7约1至约20摩尔当量的 $A_3$ 、相对于化合物F7约5至约15摩尔当量的 $A_3$ 或相对于化合物F7约8至约12摩尔当量的 $A_3$ 。

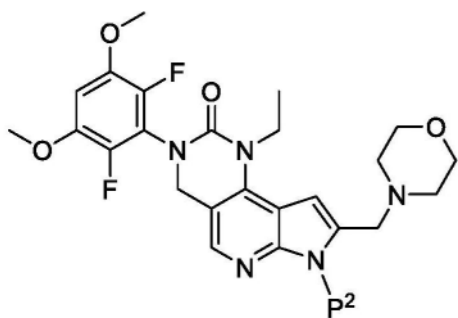
[0140] 本文提供了一种用于制备具有下式的化合物6或其盐的方法:



[0142] 所述方法包括:

[0143] a) 使具有下式的化合物F7:

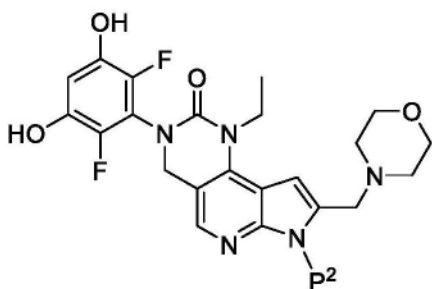
[0144]



化合物 F7

[0145] 与A3反应,其中A3为路易斯酸,并且其中P<sup>2</sup>为氨基保护基,以提供具有下式的化合物F6:

[0146]

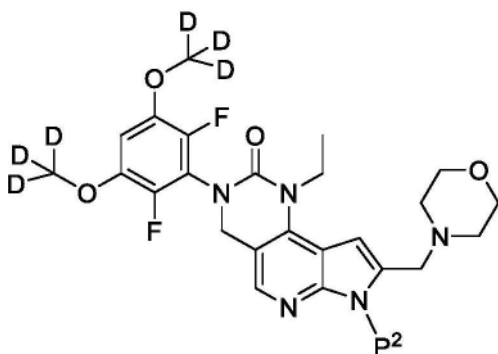


化合物 F6,

[0147] 或其盐;

[0148] b) 使化合物F6与CD<sub>3</sub>I在存在B4的情况下反应,其中B4为碱,以提供具有下式的化合物F5:

[0149]



化合物 F5,

[0150] 或其盐;以及

[0151] c) 使化合物F5去保护以提供化合物6或其盐。

[0152] 可根据本领域中已知的任何适合的方法对本文所描述的方法加以监测。举例来说,可通过光谱手段,诸如核磁共振光谱法(例如<sup>1</sup>H或<sup>13</sup>C)、红外光谱法、分光光度法(例如UV-可见)或质谱法;或通过色谱法,诸如高效液相色谱法(HPLC)或薄层色谱法来监测产物形成。可通过本领域中已知的任何适合的方法对通过反应获得的化合物进行纯化。举例来说,适合的吸附剂(例如硅胶、氧化铝等)上的色谱(中压)、HPLC或制备型薄层色谱;蒸馏;升华、研磨或再结晶。一般来说,通过物理方法来测定化合物的纯度,诸如测量熔点(在固体情况下)、获得NMR谱或进行HPLC分离。如果熔点降低,如果NMR谱中不希望有的信号减少或如果HPLC描记线中的无关峰被移除,那么化合物可被认为已被纯化。在一些实施方案中,化合物为大体上纯化的。

[0153] 化合物的制备可涉及各种化学基团的保护和去保护。对保护和去保护的需要以及

对适当保护基的选择可由本领域技术人员容易地确定。在例如Wuts和Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 第4版, John Wiley&Sons: New York, 2006中可找到保护基的化学作用, 所述文献以全文引用的方式并入本文中。如本文所用, “氨基保护基”是指用于保护胺的任何保护基。示例性氨基保护基包括但不限于苯基磺酰基、苯甲氧基羰基(Cbz)、2,2,2-三氯乙氧基羰基(Troc)、2-(三甲基硅烷基)乙氧基羰基(Teoc)、2-(4-三氟甲基苯基磺酰基)乙氧基羰基(Tsc)、叔丁氧基羰基(BOC)、1-金刚烷氧基羰基(Adoc)、2-金刚烷氧基羰基(2-Adoc)、2,4-二甲基戊-3-基氧基羰基(Doc)、环己基氧基羰基(Hoc)、1,1-二甲基-2,2,2-三氯乙氧基羰基(TcBOC)、乙烯基、2-氯乙基、2-苯基磺酰基乙基、烯丙基、苯甲基、2-硝基苯甲基、4-硝基苯甲基、二苯基-4-吡啶基甲基、N',N'-二甲基胍基、甲氧基甲基、叔丁氧基甲基(Bum)、苯甲基氧基甲基(BOM)或2-四氢吡喃基(THP)、三(C<sub>1-4</sub>烷基)硅烷基(例如三(异丙基)硅烷基)、1,1-二乙氧基甲基或N-特戊酰氧基甲基(POM)。

[0154] 可在适当的温度下进行本文所描述的方法的反应, 所述适当的温度可由熟练技工容易地确定。反应温度将取决于例如试剂和溶剂(如果存在)的熔点和沸点; 反应的热力学(例如剧烈放热反应可能需要在低温下进行); 以及反应的动力学(例如高活化能屏障可能需要高温)。

[0155] 在一些实施方案中, 将如本文所描述的溶液浓缩是指通过使溶剂蒸发、通过将溶液加热、通过使溶液经受减压或它们的任何组合使溶液的体积减小。

[0156] 可在适合的溶剂中进行本文所描述的方法的反应, 所述适合的溶剂可由熟习有机合成技术者容易地选择。适合的溶剂在进行反应的温度(例如可在溶剂的冷冻温度至溶剂的沸腾温度范围内的温度)下可大体上与起始物质(反应物)、中间物或产物不具反应性。可在一种溶剂或超过一种溶剂的混合物中进行给定反应。根据特定反应步骤, 可选择适合用于特定反应步骤的溶剂。在一些实施方案中, 诸如当试剂中的至少一者为液体或气体时, 可在不存在溶剂的情况下进行反应。

[0157] 适合的溶剂可包括卤化溶剂, 诸如四氯化碳、溴二氯甲烷、二溴氯甲烷、溴仿、氯仿、溴氯甲烷、二溴甲烷、丁基氯、二氯甲烷(氯化甲烷)、四氯乙烯、三氯乙烯、1,1,1-三氯乙烷、1,1,2-三氯乙烷、1,1-二氯乙烷、2-氯丙烷、 $\alpha, \alpha, \alpha$ -三氟甲苯、1,2-二氯乙烷、1,2-二溴乙烷、六氟苯、1,2,4-三氯苯、1,2-二氯苯、氯苯、氟苯、它们的混合物等。

[0158] 适合的醚溶剂包括: 二甲氧基甲烷、四氢呋喃、1,3-二噁烷、1,4-二噁烷、呋喃、四氢呋喃(THF)、二乙基醚、乙二醇二甲基醚、乙二醇二乙基醚、二乙二醇二甲基醚(二甘醇二甲基醚)、二乙二醇二乙基醚、三乙二醇二甲基醚、苯甲基醚、叔丁基甲基醚、它们的混合物等。

[0159] 适合的质子溶剂可包括例如但不限于水、甲醇、乙醇、2-硝基乙醇、2-氟乙醇、2,2,2-三氟乙醇、乙二醇、1-丙醇、2-丙醇、2-甲氧基乙醇、1-丁醇、2-丁醇、异丁醇、叔丁醇、2-乙氧基乙醇、二乙二醇、1-戊醇、2-戊醇或3-戊醇、新戊醇、叔戊醇、二乙二醇单甲基醚、二乙二醇单乙基醚、环己醇、苯甲醇、苯酚或甘油。

[0160] 适合的非质子溶剂可包括例如但不限于N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2(1H)-嘧啶酮(DMPU)、1,3-二甲基-2-咪唑啉酮(DMI)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、甲酰胺、N-甲基乙酰胺、N-甲基甲酰胺、乙腈、二甲亚砜、丙腈、甲酸乙酯、乙酸甲酯、六氯丙酮、丙酮、乙基甲基酮、乙酸乙酯、环丁砜、N,N-二甲基丙酰

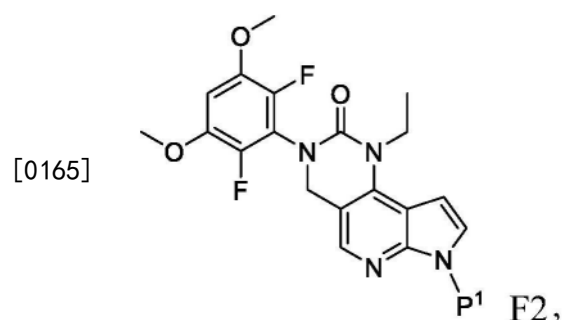
胺、四甲基脲、硝基甲烷、硝基苯或六甲基磷酰胺。

[0161] 适合的烃溶剂包括苯、环己烷、戊烷、己烷、甲苯、环庚烷、甲基环己烷、庚烷、乙基苯、间二甲苯、邻二甲苯或对二甲苯、辛烷、二氢茚、壬烷或萘。

[0162] 可在空气中或在惰性气氛下进行本文所描述的方法的反应。典型地,可使用熟练技工熟知的空气敏感性合成技术来进行含有与空气大体上具反应性的试剂或产物的反应。

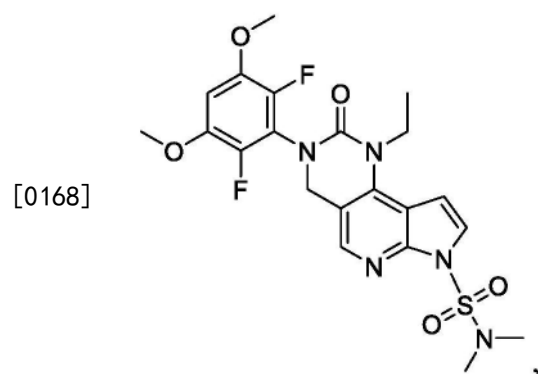
[0163] 如本文所用的表述“周围温度”和“室温”为本领域中所理解的,并且通常指大致为进行反应的房间的温度的温度(例如反应温度),例如约20℃至约30℃的温度。如本文所用的术语“高温”为本领域中所理解的,并且通常指超过室温的温度(例如反应温度),例如超过30℃。

[0164] 本文提供了化合物F2:



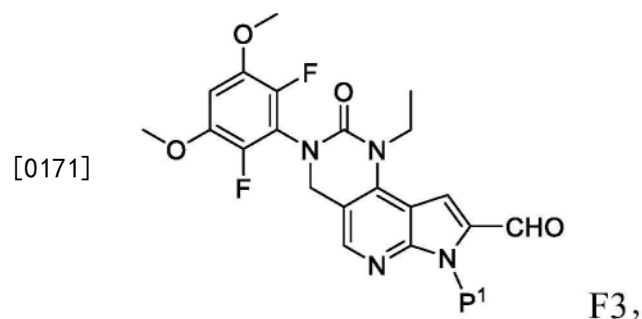
[0166] 或其盐,其中P<sup>1</sup>为氨基保护基。

[0167] 在一些实施方案中,化合物F2具有以下结构:



[0169] 或其盐。

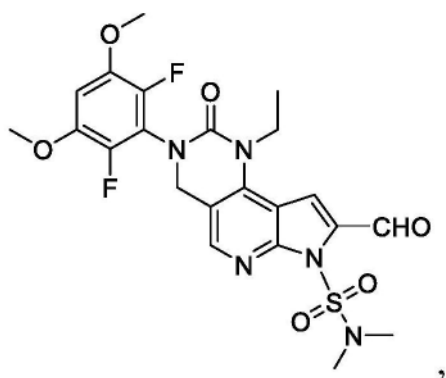
[0170] 本文提供了化合物F3:



[0172] 或其盐,其中P<sup>1</sup>为氨基保护基。

[0173] 在一些实施方案中,化合物F3具有以下结构:

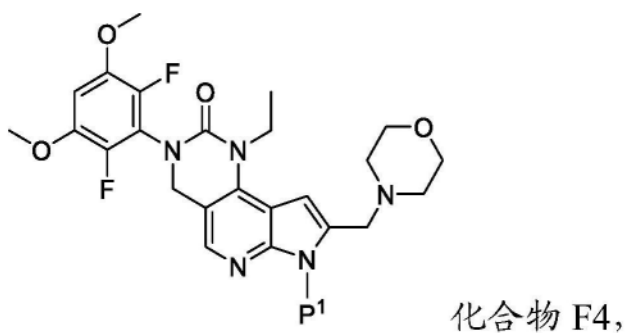
[0174]



[0175] 或其盐。

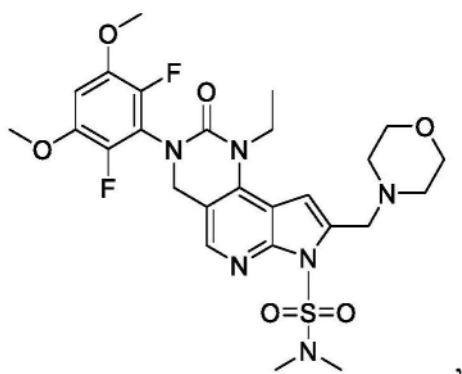
[0176] 本文提供了化合物F4:

[0177]

[0178] 或其盐,其中P<sup>1</sup>为氨基保护基。

[0179] 在一些实施方案中,化合物F4具有以下结构:

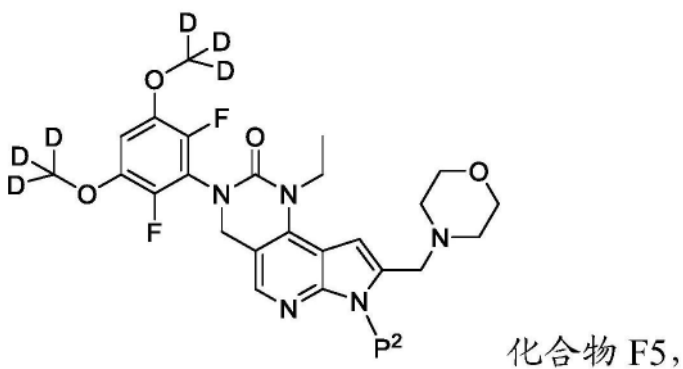
[0180]



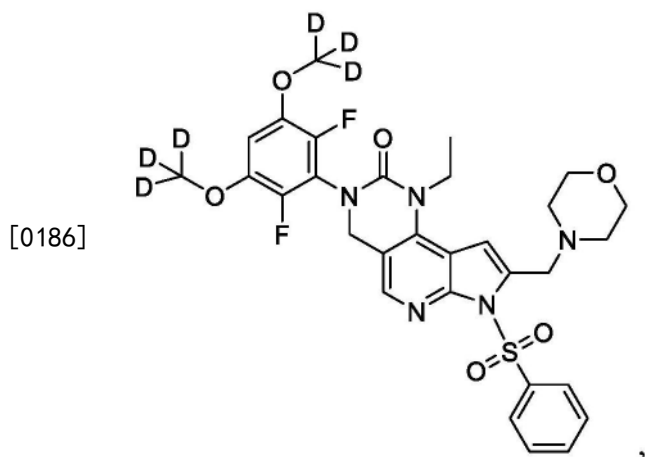
[0181] 或其盐。

[0182] 本文提供了化合物F5:

[0183]

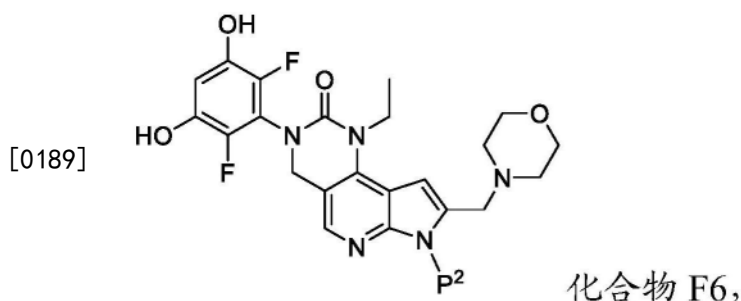
[0184] 或其盐,其中P<sup>2</sup>为氨基保护基。

[0185] 在一些实施方案中,化合物F5具有以下结构:



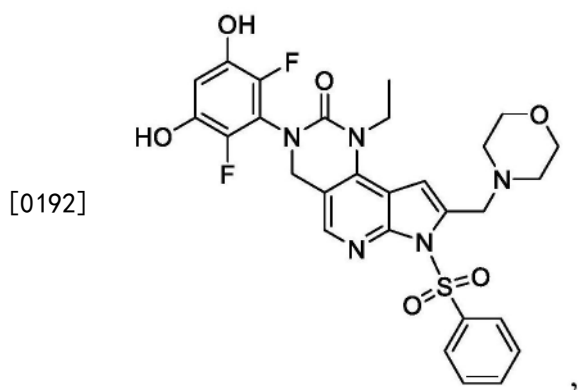
[0187] 或其盐。

[0188] 本文提供了化合物F6:



[0190] 或其盐,其中P<sup>2</sup>为氨基保护基。

[0191] 在一些实施方案中,化合物F6具有以下结构:



[0193] 或其盐。

[0194] 本公开的化合物还包括互变异构体形式。互变异构体形式由单键与相邻双键交换以及伴随的质子迁移引起。互变异构体形式包括质子异变互变异构体,质子异变互变异构体为具有相同经验式和总电荷的异构质子化状态。示例性质子异变互变异构体包括酮-烯醇对、酰胺-亚氨酸对、内酰胺-内酰亚胺对、烯胺-亚胺对以及环形形式,其中质子可占据杂环系统的两个或更多个位置,例如1H-咪唑和3H-咪唑;1H-1,2,4-三唑、2H-1,2,4-三唑以及4H-1,2,4-三唑;1H-异吡啶和2H-异吡啶;以及1H-吡唑和2H-吡唑。互变异构体形式可处于平衡中或通过适当取代在空间上锁定至一种形式中。

[0195] 本公开的化合物还包括出现在中间物或最终化合物中的原子的所有同位素。同位

素包括具有相同原子序数但质量数不同的那些原子。举例来说,氢的同位素包括氕和氘。本公开的化合物的一个或多个组成原子可用天然或非天然丰度的原子的同位素置换或取代。在一些实施方案中,化合物包括至少一个氕原子。举例来说,本公开的化合物中的一个或多个氢原子可用氕置换或取代。在一些实施方案中,化合物包括两个或更多个氕原子。在一些实施方案中,化合物包括1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个氕原子。将同位素纳入有机化合物中的合成方法为本领域中已知的(Deuterium Labeling in Organic Chemistry, Alan F. Thomas (New York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange, Jens Atzrodt, Volker Derdau, Thorsten Fey 以及 Jochen Zimmermann, Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 7744-7765; The Organic Chemistry of Isotopic Labeling, James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011)。同位素标记的化合物可用于各种研究中,诸如NMR波谱学、新陈代谢实验和/或分析。

[0196] 用重同位素(诸如氕)取代可提供由更大的代谢稳定性产生的某些治疗优点,例如增加的体内半衰期或降低的剂量需求,并且因此在一些情况下可为优选的。(A. Kerekes等 J. Med. Chem. 2011, 54, 201-210; R. Xu等 J. Label Compd. Radiopharm. 2015, 58, 308-312)。

[0197] 如本文所用的术语“化合物”意在包括所展示的结构的所有立体异构体、几何异构体、互变异构体以及同位素。所述术语还意在指本公开的化合物,无论其如何制备,例如合成制备、通过生物过程(例如新陈代谢或酶转化)制备或它们的组合。

[0198] 使用方法

[0199] 如本文所描述的化合物可抑制FGFR酶的活性。举例来说,可使用本公开的化合物通过向需要抑制FGFR酶的细胞、个体或患者施用抑制量的化合物来抑制所述细胞或个体或患者中的所述酶的活性。

[0200] 作为FGFR抑制剂,本公开的化合物可用于治疗与FGFR酶或FGFR配体的异常表达或活性相关的各种疾病。抑制FGFR的化合物将可用于提供特别是通过抑制血管生成在肿瘤中阻止生长或诱导凋亡的手段。因此,预期本公开的化合物将证实可用于治疗或预防增生性疾病,诸如癌症。特别地,具有受体酪氨酸激酶的活化突变体或受体酪氨酸激酶上调的肿瘤可对所述抑制剂特别敏感。

[0201] 在某些实施方案中,本公开提供了一种治疗有需要的患者的FGFR介导的病症的方法,所述方法包括向所述患者施用本公开的化合物或其药学上可接受的组合物的步骤。

[0202] 举例来说,本公开的化合物可用于治疗癌症。示例性癌症包括膀胱癌、乳腺癌(例如激素R阳性、三阴性)、宫颈癌、结肠直肠癌、小肠癌、结肠癌、直肠癌、肛门癌、子宫内膜癌、胃癌(例如胃肠道间质瘤)、头颈癌(例如喉癌、下咽癌、鼻咽癌、口咽癌、唇癌以及口癌、鳞状头颈癌)、肾癌(例如肾细胞癌、尿路上皮癌、肉瘤、威尔姆氏瘤(Wilms tumor))、肝癌(例如肝细胞癌、胆管细胞癌、肝血管肉瘤、成肝细胞瘤)、肺癌(例如腺癌、小细胞肺癌和非小细胞肺癌、小细胞性和非小细胞性癌、支气管癌、支气管腺瘤、胸膜肺胚细胞瘤)、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、子宫癌、外阴癌、食管癌、胆囊癌、胰腺癌(例如外分泌胰腺癌)、胃癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、神经内分泌癌(例如嗜铬细胞瘤、默克细胞癌(Merkel cell cancer)、神经内分泌癌)、皮肤癌(例如鳞状细胞癌、卡波西肉瘤(Kaposi sarcoma)、默克细胞皮肤癌)以及脑癌(例如星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、室管膜瘤、神经外胚层肿瘤、松果体肿瘤)。

[0203] 其他示例性癌症包括造血系统恶性肿瘤,诸如白血病或淋巴瘤、多发性骨髓瘤、慢

性淋巴细胞性淋巴瘤、成人T细胞白血病、B细胞淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、急性骨髓性白血病、霍奇金氏或非霍奇金氏淋巴瘤、骨髓增生性赘瘤(例如8p11骨髓增生性综合征、真性红细胞增多症、自发性血小板增多以及原发性骨髓纤维化)、骨髓发育异常综合征、慢性嗜酸性粒细胞性白血病、瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症、毛细细胞淋巴瘤、慢性骨髓性淋巴瘤、急性成淋巴细胞性淋巴瘤、AIDS相关淋巴瘤以及伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)。

[0204] 在某些实施方案中,本文提供了一种治疗有需要的患者的骨髓/淋巴赘瘤的方法。在某些实施方案中,骨髓/淋巴赘瘤为8p11骨髓增生性综合征。如本文所用,术语“8p11骨髓增生性综合征”(EMS)意指与嗜酸性粒细胞增多和FGFR1异常相关的骨髓/淋巴赘瘤或具有FGFR1重排的骨髓/淋巴赘瘤(MLN)。Jackson, Courtney C.等Human Pathology, 2010, 41, 461-476中对八P十一骨髓增生性综合征进行了综述。EMS的确定特征为存在涉及定位于染色体8p11基因座的FGFR1基因的转位,并且已在EMS中鉴定出至少10处额外的转位和1处插入,每一者均破坏FGFR1并且与各种配偶体形成新颖融合基因。参见Jackson, Courtney C.等Human Pathology, 2010, 41, 461-476。

[0205] 在一些实施方案中,骨髓/淋巴赘瘤的特征为FGF/FGFR基因改变。基因改变可包括突变、融合、重排(例如转位、缺失、倒位)以及基因的扩增。在某些实施方案中,骨髓/淋巴赘瘤展现FGFR1融合。FGFR1融合可为转位、中间缺失或染色体倒位。在一些实施方案中,FGFR1融合为FGFR1转位。在某些实施方案中,骨髓/淋巴赘瘤展现8p11转位。在某些实施方案中,8p11转位与FGFR1的活化相关。在一些实施方案中,骨髓/淋巴赘瘤展现不为FGFR1转位的FGF/FGFR改变。在某些实施方案中,患者对骨髓/淋巴赘瘤(例如8p11骨髓增生性综合征)至少一次先前治疗已失败。在一些实施方案中,先前治疗为手术或放射疗法。在一些实施方案中,患者具有肝炎史。在一些实施方案中,肝炎为慢性B型肝炎或C型肝炎。在一些实施方案中,患者不具有肝炎史。

[0206] 在某些实施方案中,本文提供了一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的本公开的化合物。在某些实施方案中,癌症选自膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、小肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、头颈癌、肾癌、肝癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、子宫癌、外阴癌、食管癌、胆囊癌、胰腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、脑癌、白血病、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性淋巴瘤、成人T细胞白血病、B细胞淋巴瘤、急性骨髓性白血病、霍奇金氏或非霍奇金氏淋巴瘤、瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症、骨髓增生性赘瘤、慢性骨髓性淋巴瘤、急性成淋巴细胞性淋巴瘤、成T淋巴细胞性淋巴瘤、毛细细胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、成胶质细胞瘤、黑素瘤、横纹肉瘤、淋巴肉瘤以及骨肉瘤。

[0207] 在某些实施方案中,癌症为膀胱癌(例如尿路上皮癌、鳞状细胞癌、腺癌)。

[0208] 在某些实施方案中,肝癌为胆管细胞癌(例如肝内、肝门部或肝门周、远端肝外)。如本文所用,胆管细胞癌与胆管癌或胆管瘤相同。在某些实施方案中,胆管癌为晚期或转移性胆管癌。在某些实施方案中,胆管癌为手术不可切除的胆管癌。在某些实施方案中,胆管癌为肝内胆管癌。在某些实施方案中,胆管癌为肝外胆管癌。在某些实施方案中,胆管癌展现FGFR2酪氨酸激酶融合,这如Arai, Yasuhito等Hepatology, 2014, 59, 1427-1434中所描述定义某一分子亚型。在一些实施方案中,胆管癌的特征为FGF/FGFR基因改变的肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤展现FGFR2融合。FGFR2融合可为转位、中间缺失或染色体倒位。在一些实施方案中,FGFR2融合为FGFR2转位。FGFR2转位可选自包括但不限于以下的组:FGFR2-

BICC1、FGFR2-AHCYL1、FGFR2-MACF1、FGFR2内含子17重排。在一些实施方案中,肿瘤展现不为FGFR2转位的FGF/FGFR改变。在一些实施方案中,胆管癌不展现FGF/FGFR基因改变的肿瘤。

[0209] 用本公开的化合物可治疗的其他癌症包括眼部肿瘤、成胶质细胞瘤、黑素瘤、横纹肉瘤、淋巴肉瘤、平滑肌肉瘤、尿路上皮癌(例如输尿管癌、尿道癌、膀胱癌、脐尿管癌)以及骨肉瘤。

[0210] 本公开的化合物还可用于抑制肿瘤转移。

[0211] 在一些实施方案中,可使用如本文所描述的本公开的化合物来治疗阿茨海默氏病(Alzheimer's disease)、HIV或结核病。

[0212] 除致癌赘瘤之外,本公开的化合物可用于治疗骨骼和软骨细胞病症,包括但不限于软骨发育不全、软骨生成减退、侏儒症、致死性发育不良(TD)(临床形式TD I和TD II)、亚伯氏综合征(Apert syndrome)、克鲁松氏综合征(Crouzon syndrome)、杰克逊-韦斯综合征(Jackson-Weiss syndrome)、比尔-史蒂文森皮肤回旋综合征(Beare-Stevenson cutis gyrate syndrome)、普法伊弗综合征(Pfeiffer syndrome)以及颅缝早闭综合征。

[0213] 本文所提供的化合物还可用于治疗纤维化疾病,诸如其中疾病症状或病症的特征为纤维化。示例性纤维化疾病包括肝硬化、肾小球性肾炎、肺纤维化、全身性纤维化、类风湿性关节炎以及伤口愈合。

[0214] 在一些实施方案中,可将本文所提供的化合物用于治疗低磷酸盐血症病症,诸如X连锁低磷酸盐血性佝偻病、常染色体隐性低磷酸盐血性佝偻病以及常染色体显性低磷酸盐血性佝偻病或肿瘤诱导的软骨病。

[0215] 在一些实施方案中,本文提供了一种增加患者的存活时间或无进展存活时间的方法,所述方法包括向患者施用本文所提供的化合物。在一些实施方案中,患者患有癌症。在一些实施方案中,患者患有本文所描述的疾病或病症。在一些实施方案中,患者患有胆管癌。在一些实施方案中,本文提供了一种增加患有胆管癌的患者存活时间或无进展存活时间的方法,其中胆管癌的特征为FGFR2融合,所述方法包括向患者施用本文所提供的化合物。如本文所用,无进展存活时间是指在治疗实体肿瘤期间以及之后患者在患有疾病但疾病不变得更糟的情况下生活的时间长度。无进展存活时间可指从第一次施用化合物到较早死亡或疾病进展的时间长度。可通过RECIST 1.1版(实体肿瘤反应评估准则)来确定疾病的进展,如由独立中央放射审查委员会(independent centralized radiological review committee)所评价。在一些实施方案中,施用化合物产生的无进展存活时间为大于约1个月、约2个月、约3个月、约4个月、约5个月、约6个月、约8个月、约9个月、约12个月、约16个月或约24个月。在一些实施方案中,施用化合物产生的无进展存活时间为至少约1个月、约2个月、约3个月、约4个月、约5个月、约6个月、约8个月、约9个月或约12个月;并且小于约24个月、约16个月、约12个月、约9个月、约8个月、约6个月、约5个月、约4个月、约3个月或约2个月。在一些实施方案中,施用化合物使得无进展存活时间增加至少约1个月、约2个月、约3个月、约4个月、约5个月、约6个月、约8个月、约9个月或约12个月;并且小于约24个月、约16个月、约12个月、约9个月、约8个月、约6个月、约5个月、约4个月、约3个月或约2个月。

[0216] 如本文所用,术语“细胞”意指体外、离体或体内的细胞。在一些实施方案中,离体细胞可为从诸如哺乳动物等有机体切除的组织样品的一部分。在一些实施方案中,体外细

胞可为细胞培养物中的细胞。在一些实施方案中,体内细胞为在诸如哺乳动物等有机体中活着的细胞。

[0217] 如本文所用,术语“接触”是指在体外系统或体内系统中将所指示的部分汇集在一起。举例来说,使FGFR酶与本文所描述的化合物(例如化合物1)“接触”包括向具有FGFR的个体或患者(诸如人)施用本文所描述的化合物,以及例如将本文所描述的化合物(例如化合物1)引入含有含FGFR酶的细胞或纯化制剂的样品中。

[0218] 如本文所用,可互换使用的术语“个体”或“患者”是指任何动物,包括哺乳动物,优选为小鼠、大鼠、其他啮齿动物、兔、狗、猫、猪、牛、绵羊、马或灵长类动物,并且最优选为人。

[0219] 如本文所用,短语“治疗有效量”是指活性化合物或药剂在组织、系统、动物、个体或人中引发研究者、兽医、医生或其他临床医师所寻求的生物或医学反应的量,诸如如本文所公开的固体形式或其盐中的任一者的量。任何个别情况下的适当“有效”量均可使用本领域技术人员已知的技术来确定。

[0220] 短语“药学上可接受”在本文中用于指在合理医学判断范围内适合于与人和动物的组织接触而不会有过度毒性、刺激、过敏反应、免疫原性或其他问题或并发症并且符合合理效益/风险比的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0221] 如本文所用,短语“药学上可接受的载体或赋形剂”是指药学上可接受的材料、组合物或媒介物,诸如液体或固体填料、稀释剂、溶剂或封装材料。赋形剂或载体通常为安全的、无毒的并且既不在生物学上不希望也不以其他方式不希望,并且包括兽医学用途以及人药物用途可接受的赋形剂或载体。在一个实施方案中,每种组分如本文所规定为“药学上可接受的”。参见例如Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第21版;Lippincott Williams&Wilkins:Philadelphia,Pa.,2005;Handbook of Pharmaceutical Excipients,第6版;Rowe等编;The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association:2009;Handbook of Pharmaceutical Additives,第3版;Ash和Ash编;Gower Publishing Company:2007;Pharmaceutical Preformulation and Formulation,第2版;Gibson编;CRC Press LLC:Boca Raton,Fla.,2009。

[0222] 如本文所用,术语“治疗(treating/treatment)”是指抑制疾病;例如抑制经历或展现疾病、疾患或病症的病变或症状的个体的疾病、疾患或病症(即阻止病变和/或症状的进一步发展),或改善疾病;例如改善经历或展现疾病、疾患或病症的病变或症状的个体的疾病、疾患或病症(即使病变和/或症状逆转),诸如降低疾病的严重程度。

[0223] 应了解,本公开为清楚起见在单独实施方案背景中所描述的某些特征也可以组合形式提供于单个实施方案中(同时所述实施方案旨在为组合的,如同以多个独立形式撰写一般)。反过来,本公开为简便起见在单一实施方案背景中所描述各个特征也可单独或以任何适合的子组合形式提供。

[0224] 组合疗法

[0225] 可将一种或多种额外药剂或治疗方法(诸如抗病毒剂、化学治疗剂或其他抗癌剂、免疫增强剂、免疫抑制剂、放射、抗肿瘤和抗病毒疫苗、细胞因子疗法(例如IL2、GM-CSF等)和/或酪氨酸激酶抑制剂)与本文所描述的化合物组合用于治疗FGFR相关的疾病、病症或疾患,或如本文所描述的疾病或疾患。可将所述剂与本发明化合物组合于单一剂型中,或可将所述剂作为单独剂型同时或依序施用。

[0226] 可将如本文所描述的化合物与一种或多种其他激酶抑制剂组合用于治疗受多个信号传导路径影响的疾病,诸如癌症。举例来说,组合可包括以下激酶的一种或多种抑制剂以治疗癌症: Akt1、Akt2、Akt3、TGF- $\beta$ R、Pim、PKA、PKG、PKC、CaM-激酶、磷酸化酶激酶、MEKK、ERK、MAPK、mTOR、EGFR、HER2、HER3、HER4、INS-R、IGF-1R、IR-R、PDGF $\alpha$ R、PDGF $\beta$ R、CSF1R、KIT、FLK-II、KDR/FLK-1、FLK-4、flt-1、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、c-Met、Ron、Sea、TRKA、TRKB、TRKC、FLT3、VEGFR/Flt2、Flt4、EphA1、EphA2、EphA3、EphB2、EphB4、Tie2、Src、Fyn、Lck、Fgr、Btk、Fak、SYK、FRK、JAK、ABL、ALK以及B-Raf。另外,可将如本文所描述的FGFR抑制剂的固体形式与同PI3K/Akt/mTOR信号传导路径相关的激酶(诸如PI3K、Akt(包括Akt1、Akt2以及Akt3)以及mTOR激酶)的抑制剂组合。

[0227] 在一些实施方案中,可将如本文所描述的化合物与诸如以下的酶或蛋白质受体的一种或多种抑制剂组合使用以治疗疾病和病症: HPK1、SBLB、TUT4、A2A/A2B、CD47、CDK2、STING、ALK2、LIN28、ADAR1、MAT2a、RIOK1、HDAC8、WDR5、SMARCA2以及DCLK1。示例性疾病和病症包括癌症、感染、炎症以及神经退行性病症。

[0228] 在一些实施方案中,可将如本文所描述的化合物与靶向表观遗传调控因子的治疗剂组合使用。表观遗传调控因子的实例包括溴结构域抑制剂、组蛋白赖氨酸甲基转移酶、组蛋白精氨酸甲基转移酶、组蛋白脱甲基酶、组蛋白脱乙酰酶、组蛋白乙酰酶以及DNA甲基转移酶。组蛋白脱乙酰酶抑制剂包括例如伏立诺他(vorinostat)。

[0229] 对于治疗癌症和其他增生性疾病,可将如本文所描述的化合物与靶向型疗法组合使用,所述靶标型疗法包括JAK激酶抑制剂(鲁索替尼(Ruxolitinib)、额外JAK1/2和JAK1选择性抑制剂、巴瑞替尼(baricitinib)或INCB39110)、Pim激酶抑制剂(例如LGH447、INCB053914以及SGI-1776)、PI3激酶抑制剂(包括PI3K- $\delta$ 选择性抑制剂和广谱PI3K抑制剂,例如INCB50465和INCB54707)、PI3K- $\gamma$ 抑制剂(诸如PI3K- $\gamma$ 选择性抑制剂)、MEK抑制剂、CSF1R抑制剂(例如PLX3397和LY3022855)、TAM受体酪氨酸激酶抑制剂(Tyro-3、Axl以及Mer;例如INCB81776)、血管生成抑制剂、白介素受体抑制剂、周期蛋白依赖性激酶抑制剂、BRAF抑制剂、mTOR抑制剂、蛋白酶体抑制剂(硼替佐米(Bortezomib)、卡非佐米(Carfilzomib))、HDAC抑制剂(帕比司他(panobinostat)、伏立诺他)、DNA甲基转移酶抑制剂、地塞米松(dexamethasone)、溴和额外末端家族成员抑制剂(例如溴结构域抑制剂或BET抑制剂,诸如OTX015、CPI-0610、INCB54329或INCB57643)、LSD1抑制剂(例如GSK2979552、INCB59872以及INCB60003)、精氨酸酶抑制剂(例如INCB1158)、吡啶胺2,3-二氧酶抑制剂(例如艾卡多司他(epacadostat)、NLG919或BMS-986205)、PARP抑制剂(例如奥拉帕尼(olaparib)或芦卡帕尼(rucaparib))以及BTK的抑制剂,诸如依鲁替尼(ibrutinib)。此外,为治疗癌症和其他增生性疾病,可将本文所描述的化合物与靶向疗法组合使用,诸如c-MET抑制剂(例如卡马替尼(capmatinib))、抗CD19抗体(例如他法西他单抗(tafasitamab))、ALK2抑制剂(例如INCB00928);或它们的组合。

[0230] 对于治疗癌症和其他增生性疾病,可将如本文所描述的化合物与化学治疗剂、核受体的激动剂或拮抗剂或其他抗增生剂组合使用。还可将本文所描述的化合物与医学疗法,诸如手术或放射疗法,例如 $\gamma$ -放射、中子束放射疗法、电子束放射疗法、质子疗法、近程放射疗法以及全身性放射性同位素组合使用。

[0231] 适合的化学治疗剂的实例包括以下中的任一者:阿巴瑞克(abarelix)、阿比特龙

(abiraterone)、阿法替尼 (afatinib)、阿柏西普 (aflibercept)、阿地白介素 (aldesleukin)、阿仑单抗 (alemtuzumab)、阿利维甲酸 (alitretinoin)、别嘌醇、六甲蜜胺、阿米多克斯 (amidox)、安吖啶 (amsacrine)、阿那曲唑 (anastrozole)、阿非迪霉素 (aphidicolin)、三氧化砷、天冬酰胺酶、阿昔替尼 (axitinib)、阿扎胞苷、贝伐单抗 (bevacizumab)、蓓萨罗丁 (bexarotene)、巴瑞替尼、苯达莫司汀 (bendamustine)、比卡米特 (bicalutamide)、博来霉素 (bleomycin)、硼替佐米 (bortezomib/bortezomib)、布立尼布 (brivanib)、布帕利塞 (buparlisib)、静脉用白消安 (busulfan intravenous)、口服白消安、卡普睾酮 (calusterone)、开普拓 (camptosar)、卡培他滨 (capecitabine)、卡铂 (carboplatin)、卡莫司汀 (carmustine)、西地尼布 (cediranib)、西妥昔单抗 (cetuximab)、氮芥苯丁酸、顺铂 (cisplatin)、克拉屈滨 (cladribine)、氯法拉滨 (clofarabine)、克唑替尼 (crizotinib)、环磷酰胺、阿糖胞苷 (cytarabine)、达卡巴嗪 (dacarbazine)、达克替尼 (dacomitinib)、更生霉素 (dactinomycin)、达肝素钠 (dalteparin sodium)、达沙替尼 (dasatinib)、更生霉素、道诺霉素 (daunorubicin)、地西他滨 (decitabine)、地加瑞克 (degarelix)、地尼白介素 (denileukin)、地尼白介素-白喉毒素连接物 (denileukin diftitox)、脱氧柯福霉素 (deoxycoformycin)、右雷佐生 (dexrazoxane)、代多克斯 (didox)、多西他赛 (docetaxel)、多柔比星 (doxorubicin)、着洛萨芬 (droloxafine)、屈他雄酮丙酸盐 (dromostanolone propionate)、依库珠单抗 (eculizumab)、恩杂鲁胺 (enzalutamide)、表鬼臼毒素 (epidophyllotoxin)、表柔比星 (epirubicin)、埃博霉素 (epothilone)、埃罗替尼 (erlotinib)、雌莫司汀 (estramustine)、依托泊昔磷酸盐 (etoposide phosphate)、依托泊苷、依西美坦 (exemestane)、枸橼酸芬太尼 (fentanyl citrate)、非格司亭 (filgrastim)、氟尿苷、氟达拉滨 (fludarabine)、氟尿嘧啶、氟他米特 (flutamide)、氟维司群 (fulvestrant)、吉非替尼 (gefitinib)、吉西他滨 (gemcitabine)、吉妥珠单抗奥佐米星 (gemtuzumab ozogamicin)、戈舍瑞林乙酸盐 (goserelin acetate)、组胺瑞林乙酸盐 (histrelin acetate)、替坦异贝莫单抗 (ibritumomab tiuxetan)、伊达比星 (idarubicin)、伊德利塞 (idelalisib)、异环磷酰胺、伊马替尼甲磺酸盐 (imatinib mesylate)、干扰素 $\alpha$ 2a、伊立替康 (irinotecan)、拉帕替尼二甲苯磺酸盐 (lapatinib ditosylate)、来那度胺 (lenalidomide)、来曲唑 (letrozole)、亚叶酸、亮丙瑞林乙酸盐 (leuprolide acetate)、左旋咪唑 (levamisole)、洛那法尼 (lonafarnib)、洛莫司汀 (lomustine)、二氯甲基二乙胺 (meclorethamine)、甲地孕酮乙酸盐、美法仑 (melphalan)、巯基嘌呤、甲氨蝶呤、甲氧沙林 (methoxsalen)、光辉霉素 (mithramycin)、丝裂霉素C (mitomycin C)、米托坦 (mitotane)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、诺龙苯丙酸盐 (nandrolone phenpropionate)、纳维宾 (navelbene)、耐昔妥珠单抗 (necitumumab)、奈拉滨 (nelarabine)、来那替尼 (neratinib)、尼罗替尼 (nilotinib)、尼鲁米特 (nilutamide)、尼拉帕尼 (niraparib)、诺非单抗 (nofetumomab)、戈舍瑞林 (oserelin)、奥沙利铂 (oxaliplatin)、帕西他赛 (paclitaxel)、帕米膦酸盐 (pamidronate)、帕尼单抗 (panitumumab)、帕比司他、帕唑帕尼 (pazopanib)、培门冬酶 (pegaspargase)、培非格司亭 (pegfilgrastim)、培美曲塞二钠 (pemetrexed disodium)、喷司他汀 (pentostatin)、匹拉利塞 (pilaralisib)、哌泊溴烷 (pipobroman)、普卡霉素 (plicamycin)、普纳替尼 (ponatinib)、卟菲尔钠 (porfimer)、泼尼松 (prednisone)、丙卡巴肼 (procarbazine)、奎纳

克林(quinacrine)、兰尼单抗(ranibizumab)、拉布立酶(rasburicase)、瑞格非尼(regorafenib)、雷洛萨芬(reloxafine)、雷利米得(revlimid)、利妥昔单抗(rituximab)、芦卡帕尼、鲁索替尼、索拉非尼(sorafenib)、链佐星(streptozocin)、舒尼替尼(sunitinib)、舒尼替尼马来酸盐、他莫昔芬(tamoxifen)、替加氟(tegafur)、替莫唑胺(temozolomide)、替尼泊苷(teniposide)、睾内酯、替扎西他滨(tezacitabine)、沙利度胺(thalidomide)、硫鸟嘌呤、噻替派(thiotepa)、替吡法尼(tipifarnib)、拓扑替康(topotecan)、托瑞米芬(toremifene)、托西莫单抗(tositumomab)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、维甲酸、曲平(triapine)、曲米多克斯(trimidox)、曲普瑞林(triptorelin)、尿嘧啶氮芥、戊柔比星(valrubicin)、凡德他尼(vandetanib)、长春花碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、长春地辛(vindesine)、长春瑞滨(vinorelbine)、伏立诺他、维利帕尼(veliparib)、他拉唑帕尼(talazoparib)以及唑来膦酸盐(zoledronate)。

[0232] 在一些实施方案中,可将如本文所描述的化合物与免疫检查点抑制剂组合使用。示例性免疫检查点抑制剂包括针对诸如以下的免疫检查点分子的抑制剂:CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K $\delta$ 、PI3K $\gamma$ 、TAM、精氨酸酶、CD137(也称为4-1BB)、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3(例如INCAGN2385)、TIM3(例如INCB2390)、VISTA、PD-1、PD-L1以及PD-L2。在一些实施方案中,免疫检查点分子为选自以下的刺激性检查点分子:CD27、CD28、CD40、ICOS、OX40(例如INCAGN1949)、GITR(例如INCAGN1876)以及CD137。在一些实施方案中,免疫检查点分子为选自以下的抑制性检查点分子:A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、IDO、KIR、LAG3、PD-1、TIM3以及VISTA。在一些实施方案中,可将本文所提供的化合物与一种或多种选自以下的剂组合使用:KIR抑制剂、TIGIT抑制剂、LAIR1抑制剂、CD160抑制剂、2B4抑制剂以及TGFR $\beta$ 抑制剂。

[0233] 在一些实施方案中,免疫检查点分子的抑制剂为小分子PD-L1抑制剂。在一些实施方案中,在美国专利公布号US 20170107216、US 20170145025、US 20170174671、US 20170174679、US 20170320875、US 20170342060、US 20170362253以及US 20180016260中所描述的PD-L1分析中小分子PD-L1抑制剂具有小于1 $\mu$ M、小于100nM、小于10nM或小于1nM的IC<sub>50</sub>,所述公布中的每一者出于所有目的以全文引用的方式并入本文中。

[0234] 在一些实施方案中,免疫检查点分子的抑制剂为PD-1的抑制剂,例如抗PD-1单克隆抗体。在一些实施方案中,抗PD-1单克隆抗体为MGA012(瑞弗利单抗(retifanlimab))、纳武单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)(也称为MK-3475)、皮地利珠单抗(pidilizumab)、SHR-1210、PDR001、伊匹单抗(ipilumimab)或AMP-224。在一些实施方案中,抗PD-1单克隆抗体为纳武单抗或派姆单抗。在一些实施方案中,抗PD1抗体为派姆单抗。在一些实施方案中,抗PD1抗体为纳武单抗。在一些实施方案中,抗PD-1单克隆抗体为MGA012(瑞弗利单抗)。在一些实施方案中,抗PD1抗体为SHR-1210。一种或多种其他抗癌剂包括抗体治疗剂,诸如4-1BB(例如乌瑞鲁单抗(urelumab)、乌托米单抗(utomilumab))。

[0235] 在一些实施方案中,可将本公开的化合物与INCB086550组合使用。

[0236] 在一些实施方案中,免疫检查点分子的抑制剂为PD-L1的抑制剂,例如抗PD-L1单克隆抗体。在一些实施方案中,抗PD-L1单克隆抗体为BMS-935559、MEDI4736、MPDL3280A(也称为RG7446)或MSB0010718C。在一些实施方案中,抗PD-L1单克隆抗体为MPDL3280A或

MEDI4736。

[0237] 在一些实施方案中,免疫检查点分子的抑制剂为CTLA-4的抑制剂,例如抗CTLA-4抗体。在一些实施方案中,抗CTLA-4抗体为伊匹单抗、曲美木单抗(tremelimumab)、AGEN1884或CP-675,206。

[0238] 在一些实施方案中,免疫检查点分子的抑制剂为LAG3的抑制剂,例如抗LAG3抗体。在一些实施方案中,抗LAG3抗体为BMS-986016、LAG525或INCAGN2385。

[0239] 在一些实施方案中,免疫检查点分子的抑制剂为TIM3的抑制剂,例如抗TIM3抗体。在一些实施方案中,抗TIM3抗体为INCAGN2390、MBG453或TSR-022。

[0240] 在一些实施方案中,免疫检查点分子的抑制剂为GITR的抑制剂,例如抗GITR抗体。在一些实施方案中,抗GITR抗体为TRX518、MK-4166、INCAGN1876、MK-1248、AMG228、BMS-986156、GWN323或MEDI1873。

[0241] 在一些实施方案中,免疫检查点分子的抑制剂为OX40的激动剂,例如OX40激动剂或OX40L融合蛋白。在一些实施方案中,抗OX40抗体为MEDI0562、MOXR-0916、PF-04518600、GSK3174998或BMS-986178。在一些实施方案中,OX40L融合蛋白为MEDI6383。

[0242] 在一些实施方案中,免疫检查点分子的抑制剂为CD20的抑制剂,例如抗CD20抗体。在一些实施方案中,抗CD20抗体为奥妥珠单抗(obinutuzumab)或利妥昔单抗。

[0243] 可将本公开的化合物与双特异性抗体组合使用。在一些实施方案中,双特异性抗体的结构域中的一者靶向PD-1、PD-L1、CTLA-4、GITR、OX40、TIM3、LAG3、CD137、ICOS、CD3或TGF $\beta$ 受体。

[0244] 在一些实施方案中,可将本公开的化合物与一种或多种代谢酶抑制剂组合使用。在一些实施方案中,代谢酶抑制剂为ID01、TD0或精氨酸酶的抑制剂。ID01抑制剂的实例包括艾卡噪司他、NLG919、BMS-986205、PF-06840003、IOM2983、RG-70099以及LY338196。

[0245] 在一些实施方案中,可将如本文所描述的化合物与用于治疗诸如癌症的疾病的一种或多种剂组合使用。在一些实施方案中,所述剂为烷基化剂、蛋白酶体抑制剂、皮质类固醇或免疫调节剂。烷基化剂的实例包括环磷酰胺(CY)、美法仑(MEL)以及苯达莫司汀。在一些实施方案中,蛋白酶体抑制剂为卡非佐米。在一些实施方案中,皮质类固醇为地塞米松(DEX)。在一些实施方案中,免疫调节剂为来那度胺(LEN)或泊马度胺(pomalidomide)(POM)。

[0246] 预期与本公开的化合物组合使用的适合的抗病毒剂可包含核苷和核苷酸逆转录酶抑制剂(NRTI)、非核苷逆转录酶抑制剂(NNRTI)、蛋白酶抑制剂以及其他抗病毒药物。

[0247] 适合的NRTI的实例包括叠氮胸苷(zidovudine)(AZT);地达诺新(didanosine)(ddI);扎西他滨(zalcitabine)(ddC);司他夫定(stavudine)(d4T);拉米夫定(lamivudine)(3TC);阿巴卡韦(abacavir)(1592U89);阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil)[双(POM)-PMEA];洛布卡韦(lobucavir)(BMS-180194);BCH-10652;恩曲他滨(emitricitabine)[(-)-FTC]; $\beta$ -L-FD4(也称为 $\beta$ -L-D4C并且命名为 $\beta$ -L-2',3'-双脱氧-5-氟-胞苷);DAPD,((-)- $\beta$ -D-2,6,-二氨基-嘌呤二氧杂环戊烷);以及洛德腺苷(lodenosine)(FddA)。典型的适合的NNRTI包括奈韦拉平(nevirapine)(BI-RG-587);德拉维拉丁(delaviradine)(BHAP,U-90152);依法韦仑(efavirenz)(DMP-266);PNU-142721;AG-1549;MKC-442(1-(乙氧基-甲基)-5-(1-甲基乙基)-6-(苯基甲基)-(2,4(1H,3H)-嘧啶二酮);以

及(+)-胡桐内酯(calanolide)A(NSC-675451)和B。典型的适合的蛋白酶抑制剂包括沙奎那韦(saquinavir)(Ro 31-8959);利托那韦(ritonavir)(ABT-538);茚地那韦(indinavir)(MK-639);奈非那韦(nelfinavir)(AG-1343);安普那韦(amprenavir)(141W94);拉西那韦(lasinavir)(BMS-234475);DMP-450;BMS-2322623;ABT-378;以及AG-1 549。其他抗病毒剂包括羟基脲、利巴韦林(ribavirin)、IL-2、IL-12、喷他夫西(pentafuside)以及伊萨姆项目号(Yisum Project No.)11607。

[0248] 适合与本文所描述的化合物组合使用以治疗癌症的剂包括化学治疗剂、靶向型癌症疗法、免疫疗法或放射疗法。本文所描述的化合物与抗激素剂组合用于治疗乳腺癌以及其他肿瘤可为有效的。适合的实例为抗雌激素剂,包括但不限于他莫昔芬和托瑞米芬;芳香酶抑制剂,包括但不限于来曲唑、阿那曲唑以及依西美坦;肾上腺类固醇(例如泼尼松)、孕酮(例如甲地孕酮乙酸盐)以及雌激素受体拮抗剂(例如氟维司群)。还可将适合用于治疗前列腺和其他癌症的抗激素剂与本文所描述的化合物组合。这些抗激素剂包括抗雄激素,包括但不限于氟他米特、比卡米特以及尼鲁米特;促黄体激素释放激素(LHRH)类似物,包括亮丙瑞林、戈舍瑞林、曲普瑞林以及组胺瑞林;LHRH拮抗剂(例如地加瑞克);雄激素受体阻断剂(例如恩杂鲁胺);以及抑制雄激素产生的剂(例如阿比特龙)。

[0249] 可将本文所描述的化合物与针对膜受体激酶的其他剂组合或与它们按顺序使用,尤其对于对靶向型疗法已发展出原发性或获得性抗性的患者来说。这些治疗剂包括针对EGFR、Her2、VEGFR、c-Met、Ret、IGFR1或Flt-3以及针对癌症相关融合蛋白激酶(诸如Bcr-Abl和EML4-Alk)的抑制剂或抗体。针对EGFR的抑制剂包括吉非替尼和埃罗替尼,并且针对EGFR/Her2的抑制剂包括但不限于达克替尼、阿法替尼、拉帕替尼以及来那替尼。针对EGFR的抗体包括但不限于西妥昔单抗、帕尼单抗以及耐昔妥珠单抗。可将c-Met的抑制剂与FGFR抑制剂组合使用。这些物质包括奥纳珠单抗(onartumzumab)、提万替尼(tivantinib)以及INC-280。针对Abl(或Bcr-Abl)的剂包括伊马替尼、达沙替尼、尼罗替尼以及普纳替尼并且针对Alk(或EML4-ALK)的那些剂包括克唑替尼。

[0250] 血管生成抑制剂在一些肿瘤中与FGFR抑制剂组合可为有效的。这些物质包括针对VEGF或VEGFR的抗体或VEGFR的激酶抑制剂。针对VEGF的抗体或其他治疗性蛋白质包括贝伐单抗和阿柏西普。VEGFR激酶的抑制剂和其他抗血管生成抑制剂包括但不限于舒尼替尼、索拉非尼、阿西替尼、西地尼布、帕唑帕尼、瑞格非尼、布立尼布以及凡德他尼。

[0251] 在癌症中细胞内信号传导路径的活化频繁发生,并且已将靶向这些路径的组分的剂与受体靶向剂组合以增强功效并且降低抗性。可与本文所描述的化合物组合的剂的实例包括PI3K-AKT-mTOR路径的抑制剂、Raf-MAPK路径的抑制剂、JAK-STAT路径的抑制剂以及蛋白质伴侣和细胞周期进展的抑制剂。

[0252] 针对PI3激酶的剂包括但不限于匹拉利塞、伊德利塞、布帕利塞。可将诸如雷帕霉素(rapamycin)、西罗莫司(sirolimus)、替西罗莫司(temsirolimus)以及依维莫司(everolimus)等mTOR抑制剂与FGFR抑制剂组合。其他适合的实例包括但不限于维罗非尼(vemurafenib)和达拉非尼(dabrafenib)(Raf抑制剂)以及曲美替尼(trametinib)、司美替尼(selumetinib)以及GDC-0973(MEK抑制剂)。还可将一种或多种JAK(例如鲁索替尼、巴瑞替尼、托法替尼(tofacitinib)、Hsp90(例如坦螺旋霉素(tanespimycin))、周期蛋白依赖性激酶(例如帕布昔利布(palbociclib))、HDAC(例如帕比司他)、PARP(例如奥拉帕尼)以及

蛋白酶体(例如硼替佐米、卡非佐米)的抑制剂与本文所描述的化合物组合。在一些实施方案中,相较于JAK2和JAK3,JAK抑制剂对JAK1具选择性。

[0253] 其他适合与本文所描述的化合物组合使用的剂包括化学疗法组合,诸如用于肺癌和其他实体肿瘤的基于铂的双重疗法(顺铂或卡铂加上吉西他滨;顺铂或卡铂加上多西他赛;顺铂或卡铂加上帕西他赛;顺铂或卡铂加上培美曲塞)或吉西他滨加上帕西他赛结合粒子(Abraxane®)。

[0254] 适合的化学治疗剂或其他抗癌剂包括例如烷基化剂(包括但不限于氮芥、乙烯亚胺衍生物、烷基磺酸盐、亚硝基脲以及三氮烯),诸如尿嘧啶氮芥、双氯乙基甲胺(chlormethine)、环磷酰胺(Cytosan<sup>TM</sup>)、异环磷酰胺、美法仑、氮芥苯丁酸、哌泊溴烷、三亚乙基-三聚氰胺、三亚乙基硫代磷胺(triethylenethiophosphoramine)、白消安、卡莫司汀、洛莫司汀、链佐星、达卡巴嗪以及替莫唑胺。

[0255] 其他适合与本文所描述的化合物组合使用的剂包括类固醇(包括17 $\alpha$ -乙炔雌二醇)、二乙基己烯雌酚、睾酮、泼尼松、氟甲睾酮、甲基泼尼松龙(methylprednisolone)、甲基睾酮、泼尼松龙、曲安西龙(triamcinolone)、氯三芳乙烯、羟孕酮、氨鲁米特(aminoglutethimide)以及乙酸甲羟孕酮。

[0256] 其他适合与本文所描述的化合物组合使用的剂包括:达卡巴嗪(DTIC),任选与诸如卡莫司汀(BCNU)和顺铂等其他化学疗法药物一起;“达特茅斯方案(Dartmouth regimen)”,该方案由DTIC、BCNU、顺铂以及他莫昔芬组成;顺铂、长春花碱以及DTIC的组合;或替莫唑胺。还可将本文所描述的化合物与免疫疗法药物,包括细胞因子,诸如干扰素 $\alpha$ 、白介素2以及肿瘤坏死因子(TNF)组合。

[0257] 适合的化学治疗剂或其他抗癌剂包括例如抗代谢物(包括但不限于叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物以及腺苷脱氨酶抑制剂),诸如甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、氟尿苷、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、氟达拉滨磷酸盐、喷司他汀以及吉西他滨。

[0258] 适合的化学治疗剂或其他抗癌剂还包括例如某些天然产物和其衍生物(例如长春花生物碱、抗肿瘤抗生素、酶、淋巴因子以及表鬼臼毒素),诸如长春花碱、长春新碱、长春地辛、博来霉素、更生霉素、道诺霉素、多柔比星、表柔比星、伊达比星、ara-C、帕西他赛(TAXOL<sup>TM</sup>)、光辉霉素、脱氧柯福霉素、丝裂霉素-C、L-天冬酰胺酶、干扰素(尤其IFN- $\alpha$ )、依托泊苷以及替尼泊苷。

[0259] 其他细胞毒性剂包括纳维宾、CPT-11、阿那曲唑、来曲唑、卡培他滨、雷洛萨芬、环磷酰胺、异环磷酰胺以及着洛萨芬。

[0260] 细胞毒性剂也适合,诸如表鬼臼毒素;抗肿瘤酶;拓扑异构酶抑制剂;丙卡巴肼;米托蒽醌;铂配位络合物,诸如顺铂和卡铂;生物反应调节物;生长抑制剂;抗激素治疗剂;亚叶酸;替加氟;以及造血生长因子。

[0261] 一种或多种其他抗癌剂包括抗体治疗剂,诸如曲妥珠单抗(Herceptin)、共刺激分子(诸如CTLA-4、4-1BB)的抗体、PD-1和PD-L1抗体或细胞因子(IL-10、TGF- $\beta$ 等)的抗体。

[0262] 其他抗癌剂还包括阻断免疫细胞迁移的那些抗癌剂,诸如包括CCR2和CCR4的趋化因子受体的拮抗剂。

[0263] 其他抗癌剂还包括增强免疫系统的那些抗癌剂,诸如佐剂或过继性T细胞转移。

[0264] 抗癌疫苗包括树突细胞、合成肽、DNA疫苗以及重组病毒。在一些实施方案中,肿瘤

疫苗包括来自人癌症中所牵涉的病毒(诸如人乳头瘤病毒(HPV)、肝炎病毒(HBV和HCV)以及卡波西氏疱疹肉瘤病毒(KHSV))的蛋白质。可使用的肿瘤疫苗的非限制性实例包括黑素瘤抗原的肽(诸如gp100、MAGE抗原、Trp-2、MARTI和/或酪氨酸酶的肽)或经转染以表达细胞因子GM-CSF的肿瘤细胞。

[0265] 可将本公开的化合物与用于治疗造血来源的多种肿瘤的骨髓移植组合使用。

[0266] 安全并且有效施用大多数这些化学治疗剂的方法为本领域技术人员已知的。此外,标准文献中描述了它们的施用。举例来说,“Physicians’ Desk Reference”(PDR,例如1996年版,Medical Economics Company, Montvale, NJ)中描述了许多化学治疗剂的施用,所述文献的公开内容以引用的方式并入本文中,如同以全文阐述一般。

[0267] 如通篇所提供,可将其他化合物、抑制剂、剂等与本发明化合物组合于单个或连续剂型中,或它们可作为单独剂型同时或依序施用。

[0268] 药物制剂和剂型

[0269] 在一些实施方案中,本公开的化合物或其药物组合物适合于经口施用。在一些实施方案中,本公开的化合物或其药物组合物适合于静脉内施用。在一些实施方案中,本公开的化合物或其药物组合物适合于动脉施用。在一些实施方案中,动脉施用为肝动脉输注。

[0270] 当用作药物时,可以药物组合物形式施用如本文所描述的化合物,所述药物组合物是指如本文所描述的一种或多种化合物与至少一种药学上可接受的载体的组合。本公开的药物组合物可含有按重量计20%的化合物或其盐。本公开的药物组合物可含有按重量计30%的化合物或其盐。本公开的药物组合物可含有按重量计40%的化合物或其盐。本公开的药物组合物可含有按重量计50%的化合物或其盐。本公开的药物组合物可含有按重量计60%的化合物或其盐。本公开的药物组合物可含有按重量计70%的化合物或其盐。本公开的药物组合物可含有按重量计80%的化合物或其盐。本公开的药物组合物可含有按重量计90%的化合物或其盐。本公开的药物组合物可含有按重量计95%的化合物或其盐。本公开的药物组合物可含有按重量计99%的化合物或其盐。

[0271] 可以药物技术中熟知的方式来制备这些组合物,并且可根据需要局部还是全身处理以及所要处理的区域通过多种途径来施用。施用可为表面(包括经眼部和向粘膜,包括鼻内、经阴道以及经直肠递送)、经肺(例如通过吸入或吹入粉末或气溶胶,包括通过喷雾器;气管内、鼻内、经表皮以及经真皮)、经眼、经口或肠胃外。经眼递送的方法可包括表面施用(滴眼剂)、结膜下、眼周或玻璃体内注射或通过气囊导管或手术放置于结膜囊中的眼部插入物来引入。肠胃外施用包括静脉内、动脉内、皮下、腹膜内或肌肉内注射或输注;或经颅内,例如鞘内或心室内施用。肠胃外施用可呈单次团注剂量形式,或可例如通过连续灌注泵进行。用于表面施用的药物组合物和制剂可包括真皮贴剂、软膏、洗剂、乳膏、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾、液体以及粉末。常规药物载体;水性、粉末或油性基质;增稠剂等可为必需的或需要的。

[0272] 本公开还包括药物组合物,所述药物组合物含有作为活性成分的本公开的化合物与一种或多种药学上可接受的载体的组合。在制备本文所描述的组合物时,将活性成分典型地与赋形剂混合,由赋形剂稀释或密封于呈例如胶囊、香囊、纸或其他容器的形式的此类载体内。当赋形剂充当稀释剂时,它可为充当活性成分的媒介物、载体或介质的固体、半固体或液体材料。因此,组合物可呈片剂、丸剂、粉末、糖锭、香囊、扁囊剂、酏剂、悬浮液、乳液、

溶液、糖浆、气溶胶(作为固体或于液体介质中)、含有例如按重量计多达10%的活性化合物的乳膏、软质和硬质明胶胶囊、栓剂、无菌可注射溶液以及无菌包装的粉末的形式。

[0273] 在制备制剂时,可在与其他成分组合之前对活性化合物进行研磨以提供适当的粒度。如果活性化合物为大体上不溶性的,那么可将其研磨至小于200目的粒度。如果活性化合物为大体上水溶性的,那么可通过研磨调节粒度以在制剂中提供大体上均匀的分布,例如约40目。

[0274] 适合的赋形剂的一些实例包括乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、海藻酸盐、黄蓍胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆以及甲基纤维素。制剂可另外包括:润滑剂,诸如滑石、硬脂酸镁以及矿物油;润湿剂;乳化和悬浮剂;防腐剂,诸如苯甲酸甲酯和羟基-苯甲酸丙酯;甜味剂;以及调味剂。本文所描述的组合物可被配制成为通过采用本领域中已知的程序向患者施用之后提供活性成分的快速、持续或延迟释放。

[0275] 组合物可被配制成为单位剂型,每个剂量含有约5至约100mg、更通常约10至约30mg的活性成分。术语“单位剂型”是指适合作为用于人受试者和其他哺乳动物的单一剂量的物理离散单位,每个单位含有经过计算与适合的药物赋形剂结合产生所需治疗作用的预定量的活性材料。

[0276] 活性化合物可在广泛剂量范围内有效并且通常以药学有效量施用。然而,应了解,实际上施用的化合物量将通常由医师根据相关情况来确定,包括所要治疗的疾患、所选施用途径、所施用的实际化合物、个别患者的年龄、体重以及反应、患者症状的严重程度等。

[0277] 对于制备诸如片剂等固体组合物,将主要活性成分与药物赋形剂混合以形成含有本公开的化合物的均匀混合物的固体预配制组合物。当提到这些预配制组合物为均匀的时,活性成分典型地均匀分散于组合物中,使得组合物可轻易再分成同等有效的单位剂型,诸如片剂、丸剂以及胶囊。然后将此固体预制剂再分成上文所描述的类型单位剂型,所述单位剂型含有例如0.1至约500mg的本公开的活性成分。

[0278] 可将本公开的片剂或丸剂包覆包衣或以其他方式混配以提供得到延长作用的优点的剂型。举例来说,片剂或丸剂可包含内部剂量和外部剂量组分,后者呈于前者上的包膜的形式。两个组分可由肠溶层隔开,所述肠溶层用以抵抗在胃中的崩解并且准许内部组分完好地传送至十二指肠中或在释放时有所延迟。可将多种材料用于此类肠溶层或包衣,此类材料包括许多聚合酸和聚合酸与诸如虫胶、鲸蜡醇以及乙酸纤维素等材料的混合物。

[0279] 如本文所描述的本公开的化合物和组合物可并入其中以便经口或通过注射施用的液体形式包括水溶液、适当调味的糖浆、水性或油性悬浮液以及用食用油(诸如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油)调味的乳液以及酞剂以及类似药物媒介物。

[0280] 用于吸入或吹入的组合物包括于药学上可接受的水性或有机溶剂或它们的混合物中的溶液和悬浮液以及粉末。如上文所描述,液体或固体组合物可含有适合的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,通过经口或经鼻呼吸道途径施用组合物以获得局部或全身效应。可通过使用惰性气体将组合物雾化。可直接从雾化装置呼吸获得雾化的溶液或可将雾化装置连接至面罩帷罩或间歇性正压呼吸机。可从以适当方式递送制剂的装置经口或经鼻施用溶液、悬浮液或粉末组合物。

[0281] 向患者施用的化合物或组合物的量将根据正在施用什么、施用目的(诸如预防或

治疗)、患者状态、施用方式等而变化。在治疗应用中,可以足以治愈或至少部分抑制疾病症状和其并发症的量向已罹患疾病的患者施用组合物。有效剂量将取决于正在治疗的疾病疾患,并且由主治临床医师根据诸如以下的因素来判断:疾病的严重程度、患者的年龄、体重以及一般状况等。

[0282] 向患者施用的组合物可呈上文所描述的药物组合物的形式。这些组合物可通过常规灭菌技术来灭菌,或可为无菌过滤的。水溶液可按原样包装供使用,或为冻干的,冻干制剂在施用之前与无菌水性载体组合。化合物制剂的pH值典型地将在3与11之间,更优选为5至9并且最优选为7至8。应了解,前述赋形剂、载体或稳定剂中的某些的使用将引起药物盐的形成。

[0283] 本文所描述的化合物的治疗剂量可根据例如进行治疗的特定用途、化合物的施用方式、患者的健康和状况以及处方医师的判断而变化。药物组合物中本文所描述的化合物的比例或浓度可根据许多因素而变化,包括剂量、化学特性(例如疏水性)以及施用途径。举例来说,可将本文所描述的化合物提供于含有约0.1至约10%w/v的化合物的生理缓冲水溶液中用于肠胃外施用。一些典型剂量范围为每天每千克体重约1 $\mu$ g至约1g。在一些实施方案中,剂量范围为每天每千克体重约0.01mg至约100mg。剂量可能取决于诸如以下变量:疾病或病症的类型和进展程度、特定患者的总体健康状态、所选化合物的相对生物功效、赋形剂的配制以及其施用途径。可由从体外或动物模型测试系统得到的剂量反应曲线推断有效剂量。

[0284] 还可将本公开的化合物与一种或多种额外活性成分组合配制,所述一种或多种其他活性成分可包括任何药剂,诸如抗病毒剂、疫苗、抗体、免疫增强剂、免疫抑制剂、消炎剂等。

#### [0285] 实施例

[0286] 以下提供用于本发明的化合物的实验程序。所制备的化合物中的一些的制备型LC-MS纯化在Waters质量定向分馏系统上进行。用于操作这些系统的基本设备设置、方案以及控制软件已在文献中进行了详细描述。参见例如“Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS”,K.Blom,J.Combi.Chem.,4,295(2002);“Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification”,K.Blom,R.Sparks,J.Doughty,G.Everlof,T.Haque,A.Combs,J.Combi.Chem.,5,670(2003);以及“Preparative LC-MS Purification:Improved Compound Specific Method Optimization”,K.Blom,B.Glass,R.Sparks,A.Combs,J.Combi.Chem.,6,874-883(2004)。典型地在以下条件下对所分离的化合物进行分析型液相色谱质谱法(LCMS)以进行纯度分析:仪器;Agilent 1100系列,LC/MSD,柱:Waters Sunfire™ C<sub>18</sub> 5 $\mu$ m,2.1x 50mm,缓冲液:流动相A:0.025%TFA水溶液和流动相B:乙腈;B的梯度为在3分钟内2%至80%并且流速为2.0mL/分钟。

[0287] 还在制备规模上如实施例中所指示通过具有MS检测器的逆相高效液相色谱(RP-HPLC)或快速色谱(硅胶)对所制备的化合物中的一些进行分离。典型制备型逆相高效液相色谱(RP-HPLC)柱条件如下:

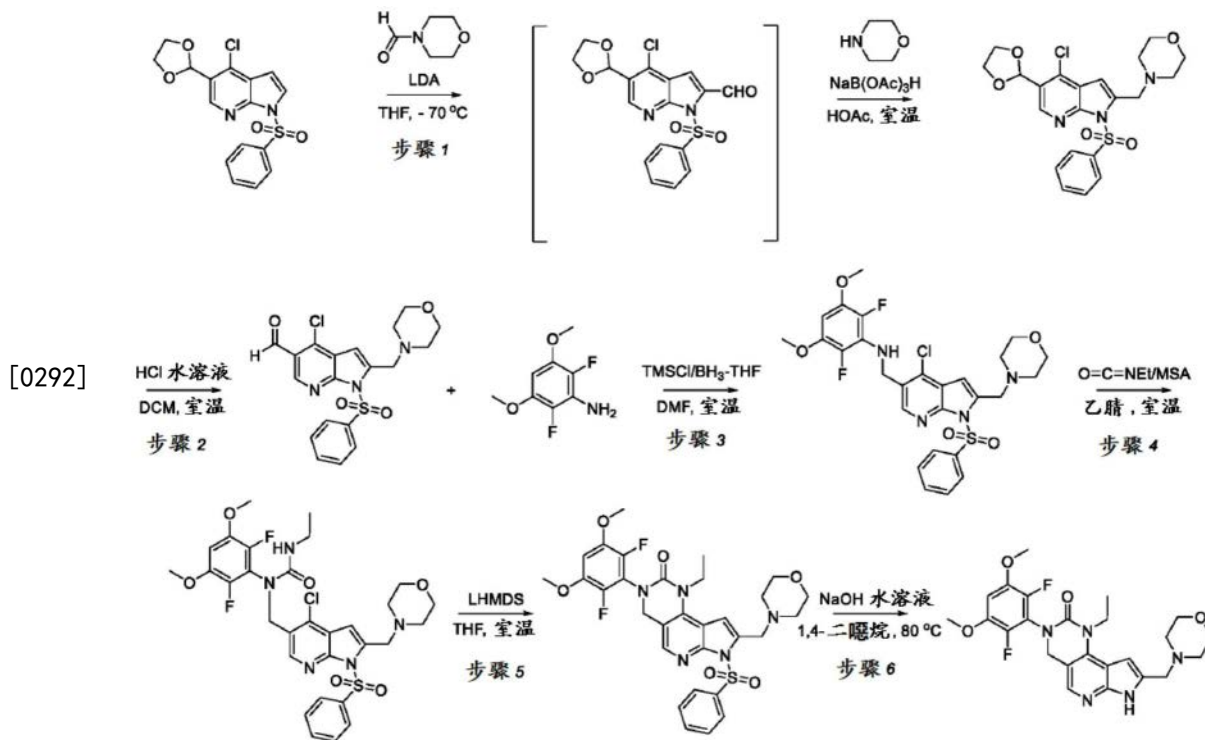
[0288] pH=2纯化:Waters Sunfire™ C<sub>18</sub> 5 $\mu$ m,19x 100mm柱,用流动相A:0.1%TFA(三氟乙酸)水溶液和流动相B:乙腈进行洗脱;流速为30mL/分钟,使用如文献中所描述的化合物

特异性方法优化方案[参见“Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization”, K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Comb. Chem., 6, 874-883 (2004)]针对各化合物对分离梯度进行优化。典型地,在30x 100mm柱情况下所用的流速为60mL/分钟。

[0289] pH=10纯化: Waters XBridge C<sub>18</sub> 5 $\mu$ m, 19x 100mm柱, 用流动相A: 0.15% NH<sub>4</sub>OH水溶液和流动相B: 乙腈进行洗脱; 流速为30mL/分钟, 使用如文献中所描述的化合物特异性方法优化方案[参见“Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization”, K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Comb. Chem., 6, 874-883 (2004)]针对各化合物对分离梯度进行优化。典型地,在30x 100mm柱情况下所用的流速为60mL/分钟。

[0290] 实施例1

[0291] 3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(化合物1)的合成



[0293] 步骤1: 4-((4-氯-5-(1,3-二氧杂环戊-2-基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)吗啉的合成

[0294] 在N<sub>2</sub>下向1-L烧瓶中添加4-氯-5-(1,3-二氧杂环戊-2-基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶 (50.0g, 137mmol) (参见例如实施例2) 和四氢呋喃 (THF, 266g, 300mL)。在-70°C下向此混合物中添加2.0M二异丙基酰胺锂的THF/庚烷/苯乙烷溶液 (77.4g, 95mL, 190mmol, 1.4当量)。将混合物在-70°C下搅拌1h。向混合物中逐滴添加N-甲酰基吗啉 (29.7g, 258mmol, 1.9当量) 的THF溶液 (22.2g, 25mL)。在添加之后在30min内进行反应。LC/MS表明干净地形成所需产物4-氯-5-(1,3-二氧杂环戊-2-基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-甲醛。用乙酸 (16.4g, 15.6mL, 274mmol, 2.0当量) 中止反应并且移除干冰冷却。在0°C下 (内部温度从0°C升至18°C) 依次向混合物中添加吗啉 (33.7g, 33.5mL, 387mmol,

2.83当量)和乙酸(74.0g,70mL,1231mmol和9.0当量)并且搅拌过夜。添加三乙酰氧基硼氢化钠(52.50g,247.7mmol,1.8当量)并且将反应混合物温度从20℃升至32℃。将混合物在室温下搅拌30min。HPLC和LC/MS指示反应完成。依次缓慢地添加水(100g,100mL)和2.0M碳酸钠( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )的水溶液(236g,200mL,400mmol,2.9当量)(排出气体!)。将混合物搅拌约30min。分离有机层并且添加水(250g,250mL)和庚烷(308g,450mL)。将所得浆料搅拌1h并且通过过滤收集固体。将湿滤饼用庚烷洗涤两次(75.00mL x 2, 51.3g x 2),然后在烘箱中在50℃下干燥过夜,得到呈浅棕色固体状的所需产物4-((4-氯-5-(1,3-二氧杂环戊-2-基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)吗啉(52.00g,81.8%产率): $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClN}_2\text{O}_5\text{S}$ 的LCMS计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ :464.00;实验值:464.0; $^1\text{H}$  NMR(400MHz,DMSO- $\text{d}_6$ ) $\delta$ 8.48(s,1H),8.38(m,2H),7.72(m,1H),7.64(m,2H),6.83(s,1H),6.13(s,1H),4.12(m,2H),4.00(m,2H),3.92(s,2H),3.55(m,4H),2.47(m,4H)。

[0295] 步骤2:4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛的合成

[0296] 在室温下向具有热电偶、加料漏斗以及机械搅拌器的2L反应器中装入4-((4-氯-5-(1,3-二氧杂环戊-2-基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)吗啉(20.00g,43.1mmol)和二氯甲烷(265g,200mL)。将所得混合物在室温(内部温度为19.5℃)下搅拌以获得溶液。在室温下在7min内向所得溶液中添加盐酸水溶液(0.5M,240g,200.0ml,100mmol,2.32当量)。在室温下搅拌超过23h之后,双层反应混合物转变为浓无色悬浮液。当HPLC显示反应完成时,将浆料冷却至0-5℃并且在约10min内添加氢氧化钠水溶液(1N,104g,100mL,100mmol和2.32当量)以将反应混合物的pH值调节至10-11。添加正庚烷(164g,240mL)并且将反应混合物在室温下搅拌1h。通过过滤收集固体并且将湿滤饼用水(2x 40mL)、庚烷(2x 40mL)洗涤,然后在烘箱中在50℃下在真空下干燥,提供呈浅棕色固体状的所需产物4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛(16.9g,93%产率): $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ 的LCMS计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ :420.00;实验值:420.0; $^1\text{H}$  NMR(400MHz,DMSO- $\text{d}_6$ ) $\delta$ 10.33(s,1H),8.76(s,1H),8.42(m,2H),7.74(m,1H),7.65(m,2H),6.98(s,1H),3.96(m,2H),3.564(m,4H),2.51(m,4H)。

[0297] 步骤3:N-((4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)甲基)-2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺的合成

[0298] 向配备有热电偶、氮气入口以及机械搅拌器的2-L反应器中装入N,N-二甲基甲酰胺(450mL,425g)、4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛(30.0g,71.45mmol)和2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺(14.2g,75.0mmol)。在10min内在室温(内部温度20-23℃)下向此悬浮液(内部温度20℃)中逐滴添加氯三甲基硅烷(19.4g,22.7mL,179mmol)。在添加氯三甲基硅烷之后悬浮液在5min内变成溶液。将溶液在室温下搅拌1.5h,然后用冰浴冷却至0-5℃。经由另一漏斗历时30min逐滴添加硼烷-THF复合物的THF溶液(1.0M,71.4mL,71.4mmol,64.2g,1.0当量),同时将温度维持在0-5℃下。在添加之后,将混合物搅拌4h。在20min内在冰浴冷却下添加水(150g,150mL),随后缓慢添加氢氧化铵溶液(28% $\text{NH}_3$ ,15.3g,17ml,252mmol,3.53当量)至pH 9-10,同时将温度维持在10℃以下。通过另一漏斗再添加水(250mL,250g)。将浆料搅拌30min并且通过过滤收集固体。将湿滤饼用水(90g x 2,90ml x 2)和庚烷(61.6g x 2,90ml x 2)洗涤。将产物抽吸干燥过夜,得到所需

产物N-((4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)甲基)-2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺(41.6g,96%产率): $C_{27}H_{28}ClF_2N_4O_5S$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :593.10;实验值:593.1; $^1H$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 8.36(m,2H),8.28(s,1H),7.72(m,1H),7.63(m,2H),6.78(s,1H),6.29(m,1H),5.82(m,1H),4.58(m,2H),3.91(s,2H),3.76(s,6H),3.56(m,4H),2.47(m,4H)。

[0299] 步骤4:1-((4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)甲基)-1-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-3-乙基脲的合成

[0300] 向装配有热电偶、氮气鼓泡器入口以及磁性搅拌器的2-L 3-颈圆底烧瓶中装入N-((4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)甲基)-2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺(67.0g,113mmol)和乙腈(670mL,527g)。将悬浮液冷却至0-5℃。历时30秒向混合物中装入异氰酸乙酯(17.7mL,15.9g,224mmol,1.98当量)。在装料之后将温度在0.7℃下保持不变。历时35min逐滴装入甲磺酸(16.1mL,23.9g,248mmol,2.2当量),同时将温度维持在2℃以下。使混合物升温至室温并且搅拌过夜。在添加之后24h时,显示产物为93.7%,未反应的SM为0.73%并且主要杂质(双异氰酸酯加合物)为1.3%。将混合物用冰浴冷却并且依次用氢氧化钠(NaOH)溶液(1.0M,235mL,244g,235mmol,2.08当量)历时20min以及用饱和碳酸氢钠( $NaHCO_3$ )水溶液(1.07M,85mL,91g,0.091mol,0.80当量)历时10min骤冷。添加水(550mL,550g)并且液体变为一个相。将混合物搅拌2h并且通过过滤收集固体,用水(165mL,165g)洗涤,得到1-((4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)甲基)-1-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-3-乙基脲(70.3g,93.7%产率)。

[0301] 将粗1-((4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)甲基)-1-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-3-乙基脲(68.5g,103mmol)添加至乙腈(616mL,485g)中。将混合物加热至60-65℃并且获得琥珀色稀悬浮液。用硅藻土过滤出固体并且将硅藻土用乙腈(68.5mL,53.8g)洗涤。向淡黄色滤液中添加水(685g,685mL)以形成浆料。将浆料在室温下搅拌过夜并且过滤。将固体添加至水(685mL,685g)中并且在60℃下搅拌2h。过滤固体并且在庚烷(685mL,469g)中再形成浆料过夜。将产物在烘箱中在50℃下在真空下干燥48h,提供呈无色固体状的1-((4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)甲基)-1-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-3-乙基脲(62.2g,90.8%产率,根据HPLC面积%为99.9%纯度)。KF为0.028%。乙腈(根据 $^1H$  NMR)为约1.56%,DCM(根据 $^1H$  NMR)2.0%: $C_{30}H_{33}ClF_2N_5O_6S$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :EM:664.17;实验值:664.2; $^1H$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 8.33(m,2H),8.31(s,1H),7.72(m,1H),7.64(m,1H),6.96(m,2H),6.73(s,1H),6.43(m,1H),4.87(s,2H),3.90(s,2H),3.77(s,6H),3.54(m,4H),3.03(m,2H),2.46(m,4H),0.95(m,3H)。

[0302] 步骤5:3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮的合成

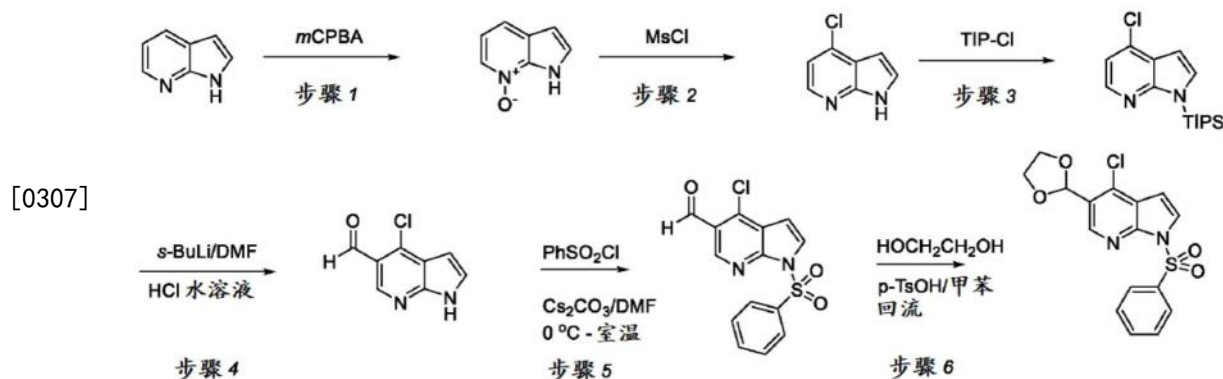
[0303] 向配备有热电偶、氮气入口以及机械搅拌器的2000mL烧瓶中装入干燥1-((4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)甲基)-1-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-3-乙基脲(30.0g,45.2mmol,KF=0.11%)和四氢呋喃(1200mL,1063g)。在室温下向此悬浮液中装入1.0M六甲基二硅叠氮化锂的THF溶液(62.3mL,55.5g,62.3mmol,1.38当量)。在添加碱之后混合物转变为溶液。将反应混合物搅拌2h并且HPLC显

示起始物质为不可检测的。向此混合物中添加1.0M盐酸(18.1mL,约18.1g,18.1mmol,0.4当量)。将溶液浓缩至600mL并且添加水(1200mL,1200g)。在添加水之后形成浆料。将浆料在室温下搅拌30min并且通过过滤收集固体。将湿滤饼用水(60mLx2,60gx2)洗涤两次并且在50℃下干燥过夜,得到呈浅棕色固体状的3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(26.58g,按原样产率93.7%):THF根据<sup>1</sup>H NMR为0.32%,KF 5.26%,经过调节的产率为88.5%: $C_{30}H_{32}F_2N_5O_6S$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :EM:628.20;实验值:628.2;<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ8.41 (m, 2H), 8.07 (s, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.63 (m, 2H), 7.05 (m, 1H), 6.89 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.09 (m, 2H), 3.93 (s, 2H), 3.89 (s, 6H), 3.60 (m, 4H), 2.50 (m, 4H), 1.28 (m, 3H)。

[0304] 步骤6:3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮的合成

[0305] 向配备有氮气入口、冷凝器、热电偶以及加热套的500mL烧瓶中的3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(10.0g,15.93mmol)于1,4-二噁烷(100ml,103g)中的搅拌悬浮液中添加1M氢氧化钠水溶液(63.7ml,66.3g,63.7mmol)。将反应混合物在75℃下加热18h。LCMS显示反应完成。添加水(100mL,100g)以得到浓悬浮液。将此浆料在室温下搅拌1h并且过滤。将滤饼用水(3x 10mL,3x 10g)和庚烷(2x 10mL,2x 6.84g)洗涤。通过通过滤饼抽真空将滤饼干燥过夜然后在烘箱中在50℃下在真空下干燥过夜,得到3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(6.8g,87.6%产率): $C_{24}H_{28}F_2N_5O_4$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :488.20;实验值:488.2。

[0306] 实施例2.4-氯-5-(1,3-二氧杂环戊-2-基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的合成



[0307] 步骤4

[0308] 步骤1:1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-氧化物的合成

[0309] 在0-10℃下在搅拌下历时5h将间氯过氧苯甲酸(105.5Kg,612mol,1.2当量)添加至1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(60Kg,507.6mol)于二氯甲烷(600L)中的溶液中。在添加完成之后,将混合物在0-10℃下搅拌3h。通过过滤收集所得固体,用庚烷洗涤,并且干燥,得到1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-氧化物。将母液浓缩并且将残余物用二氯甲烷:庚烷(2:3)处理,并且过滤以回收额外的物质。获得粗1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-氧化物(72Kg,96%纯度),所述物质未纯化即用于下一步骤。

[0310] 步骤2:4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的合成

[0311] 将粗1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-7-氧化物(72Kg, 253mol)溶解在DMF(360L)中并且在50℃下加热。将甲磺酰氯(85.2Kg, 746mol, 3.0当量)的溶液逐滴添加至溶液中, 同时将温度维持在70℃以下。在90℃下搅拌2h之后, 将反应溶液冷却至室温, 并且添加至720Kg的冰/水中。在0℃下将混合物用6.0M NaOH中和。通过过滤收集所得沉淀, 并且用水洗涤。将固体与72L水、48L乙醇以及29L 30%NaOH混合, 并且在室温下搅拌1-2h。添加水(144L), 并且将混合物用37%HCl处理以将pH值调节至约1。通过过滤收集产物并且干燥, 得到4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(粗26kg, 97%纯度, 未纯化即使用):  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.30 (s, 1H), 8.25 (m, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 6.65 (m, 1H)。

[0312] 步骤3: 4-氯-1-(三异丙基硅烷基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶的合成

[0313] 在0℃下搅拌粗4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(24Kg, 155.2mol)于THF(216L)中的溶液, 同时在 $\text{N}_2$ 下逐份添加NaH(60%, 7.56Kg, 188.6mol, 1.3当量)。在添加之后, 将混合物在室温下搅拌1h。逐滴添加三异丙基硅烷基氯(39.6Kg, 188.6mol, 1.3当量), 同时将温度维持在25℃以下。在搅拌20h之后, 将混合物用144L水骤冷并且用144L庚烷萃取。将水层用72L甲基叔丁基醚反萃取。将合并的有机层经无水 $\text{MgSO}_4$ 干燥并且在真空下浓缩, 得到呈液体状的粗4-氯-1-(三异丙基硅烷基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶。所述物质未纯化即使用, 但将其水含量控制在0.1%以下。

[0314] 步骤4: 4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛的合成

[0315] 向1000L低温反应器中装入粗4-氯-1-(三异丙基硅烷基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(50Kg, 约138mol)和无水THF(150Kg)。将混合物冷却至-75℃并且在 $\text{N}_2$ 下搅拌, 同时历时约6.0h逐滴添加S-BuLi(1.3M环己烷溶液, 230L, 300mol, 2.2当量), 同时将内部温度维持在-60℃以下。将混合物在-75℃下再搅拌2h。历经约3.0h的时间逐滴添加N,N-二甲基甲酰胺(30.4Kg, 416.1mol, 3.0当量)以将内部温度控制在-65℃以下。在-65至-75℃下搅拌2h之后, 通过逐滴添加20%HCl于异丙醇(115Kg, 635mol, 4.5当量)中的溶液将混合物骤冷。然后将混合物在室温(20-25℃)下搅拌过夜。通过装入饱和 $\text{NaHCO}_3$ 将pH值调节至7-8。通过过滤收集所形成的沉淀。将滤饼用76L水洗涤, 得到4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛(14Kg, 58%产率):  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  12.54 (s, 1H), 10.35 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 7.74 (m, 1H), 6.72 (m, 1H)。

[0316] 步骤5: 4-氯-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛的合成

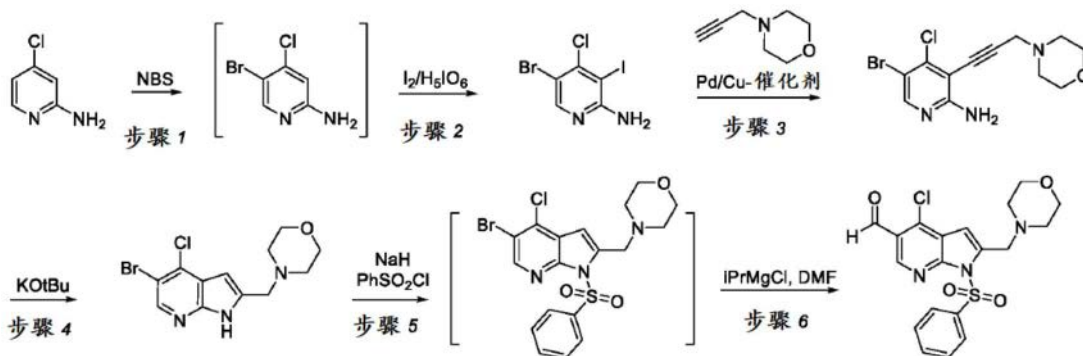
[0317] 向500L反应器中装入N,N-二甲基甲酰胺(108L)和4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛(10.8Kg, 59.8mol)并且冷却至0-5℃。在0-5℃下向所得浓浆料中装入碳酸铯(39Kg, 120mol)。将浆料在0℃下搅拌约20min并且混合物变成琥珀色稀浆料。在10℃以下通过加料漏斗向稀浆料中逐滴添加苯磺酰氯(11.6Kg, 65.8mol, 1.1当量)。将所得浆料在10℃以下搅拌1h并且HPLC指示反应完成。在室温下过夜的延长搅拌对反应混合物形态几乎没有影响。向此混合物中添加水(160L)并且将浆料搅拌1h。通过过滤(缓慢)收集固体。将滤饼用水洗涤并且在烘箱中在真空下干燥, 得到呈浅棕色固体状的4-氯-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛(17.8Kg, 93%产率):  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$ 的LCMS计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 321.00; 实验值: 320.9;  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 10.34 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.18 (m, 3H), 7.77 (m, 1H), 7.66 (m, 2H), 7.05 (m, 1H)。

[0318] 步骤6: 4-氯-5-(1,3-二氧杂环戊-2-基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡

啉)的合成

[0319] 向1000L反应器中装入甲苯(270L)、4-氯-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛(27Kg,84.2mmol)、单水合对甲苯磺酸(217g,1.26mol,0.015当量)以及1,2-乙二醇(73.7Kg,1187mol,14.1当量)。搅拌混合物并且加热至回流以移除水(一些乙二醇也随反应进展而移除),持续9h(LCMS显示反应完成)。在室温下搅拌过夜之后,将混合物用乙酸乙酯(135L)稀释并且用饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液洗涤。分离各层并且将有机层用10%NaCl水溶液洗涤并且浓缩。添加庚烷(108L)并且形成浆料。通过过滤收集固体。将固体溶解在二氯甲烷(108L)中并且过滤以移除机械杂质。将滤液浓缩,然后溶解在67.5L(2.5V)的热乙酸乙酯中并且搅拌2h。在固体形成时使混合物冷却。通过过滤收集固体,得到呈灰白色固体状的4-氯-5-(1,3-二氧杂环戊-2-基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(22Kg,70%产率):C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S的LCMS计算值[M+H]<sup>+</sup>:365.03;实验值:365.1;<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$  8.51(s,1H),8.13(m,2H),8.07(m,1H),7.73(m,1H),7.63(m,2H),6.90(m,1H),6.13(s,1H),4.12(m,2H),3.98(m,2H)。

[0320] 实施例3.4-氯-2-(吗啉-4-基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛的替代合成



[0321] 步骤1:5-溴-4-氯吡啶-2-胺的合成

[0322] 在15-20℃下历时2h向2-氨基-4-氯吡啶(100g,777.8mmol,1.0当量)于乙腈(500mL,5相对体积)中的浆料中按份添加N-溴琥珀酰亚胺(131.5g,738.9mmol,0.95当量),将温度保持在15-20℃下。将反应物搅拌30min并且通过HPLC检验转化率。根据转化率,再添加0-5mol%的N-溴琥珀酰亚胺并且将混合物再搅拌15min。在HPLC指示转化完成之后,将反应混合物加热并且在常压下蒸馏出乙腈(300mL)。添加水(250mL)并且将温度调节至50-55℃并且形成浆料。将所得浆料搅拌30min并且历时1h添加水(350mL)。将浆料冷却至20-25℃,搅拌1h并且通过过滤收集固体。将湿滤饼用水(75mL)与乙腈(25mL)的混合物洗涤,得到湿产物5-溴-4-氯吡啶-2-胺(191g,根据HPLC面积%纯度为92.1%)。将湿产物溶解在乙酸(500mL,基于2-氨基-4-氯吡啶为5相对体积,55-70℃)中并且将溶液直接用于下一步骤。

[0323] 步骤2:5-溴-4-氯-3-碘吡啶-2-胺的合成

[0324] 将5-溴-4-氯吡啶-2-胺于乙酸中的溶液(含191g,5-溴-4-氯吡啶-2-胺的500mL乙酸)在减压下在40-60℃下蒸馏以移除溶剂。然后,添加硫酸(39.7g,96%-w/w,388.9mmol,0.5当量)和碘(76.2g,300.3mmol,0.386当量)并且将温度调节至77-83℃。在此温度下,历时2-3h添加过碘酸的溶液(50%-w/w,54.89g,120.4mmol,0.155当量)。将反应物在77-83℃下搅拌2-3h并且通过HPLC检验转化率(SM<1.0%-a/a)。在75-85℃下,通过每份4.53g(0.05

当量)按份添加固体亚硫酸铵直到KI/淀粉测试为阴性来使反应混合物骤冷。典型地需要两份(0.1当量)亚硫酸铵。还可通过不存在碘的紫色观察到骤冷结束。然后,将反应混合物用水(200mL,2.0相对体积,在室温下)稀释,并且将温度降至约50℃。使产物沉淀析出。在45-60℃下,用氨水(需要于水中25%-w/w,约63.6g,0.93mol,1.2当量)将pH值调节至3.0-3.5。中和为强烈放热的。将浆料在45-50℃下搅拌30min然后通过过滤收集固体。将滤饼用典型地约600mL水洗涤然后用2-丙醇(200mL)洗涤。将湿产物在真空室中在60℃下干燥,得到呈黄色至米色固体状的5-溴-4-氯-3-碘吡啶-2-胺(213.5g,82.3%产率): $C_5H_4BrClIN_2$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :332.82;实验值:332.8; $^1H$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 8.09(s,1H),6.60(s,2H)。

[0326] 步骤3:5-溴-4-氯-3-(3-吗啉基丙-1-炔-1-基)吡啶-2-胺的合成

[0327] 将5-溴-4-氯-3-碘吡啶-2-胺(50g,150mmol,1.0当量)、4-(丙-2-炔基)吗啉(22.5g,180mmol,1.20当量)、二异丙胺(18.2g,180mmol,1.2当量)以及150mL的甲苯装入反应器。将溶液小心地脱气,应用3个真空氦气循环。然后,添加CuI(0.29g,1.5mmol,1mol%)和Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>并且再次用氦气吹扫烧瓶。将混合物在50℃下搅拌过夜(17h)。整份添加水(50mL,1体积)并且将混合物冷却至20-25℃。过滤出粗产物并且用10%氨水(50mL,1.0体积)、水(50mL,1体积)、甲苯(25mL,0.5体积)并且用2-异丙醇(50mL,1.0体积)连续洗涤。在真空下在50℃下干燥之后,获得呈浅棕色固体状的5-溴-4-氯-3-(3-吗啉基丙-1-炔-1-基)吡啶-2-胺(41.6g,87%产率): $C_{12}H_{14}BrClIN_5O$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :329.99;实验值:330.0; $^1H$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 8.13(s,1H),6.69(s,2H),3.64(s,2H),3.61(m,4H),2.54(m,4H)。

[0328] 步骤4:4-((5-溴-4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)吗啉的合成

[0329] 将KOtBu(18.1g,1.4当量,112.21mmol)于四氢呋喃(114mL,3体积)于中的溶液加热至30-35℃,同时在30-35℃下历时1.0h按份添加5-溴-4-氯-3-(3-吗啉基丙-1-炔-1-基)吡啶-2-胺(38g,114.9mmol,1.0当量)。在搅拌2h之后,用乙酸(10.4g,172.4mmol,1.5当量)于水(76mL,2体积)中的溶液中止反应并且通过蒸馏移除76mL的THF(76mL)。然后将溶液加热至回流并且添加MeOH(38mL,1体积),并且历时1h将所得悬浮液冷却至23℃。在23℃下搅拌0.5h之后,过滤出固体并且用水(38mL,1体积)和MeOH(38mL,1体积)洗涤。在真空下在50℃下干燥之后获得呈浅棕色粉末状的4-((5-溴-4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)吗啉4-((5-溴-4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)吗啉(32.8g,86%产率): $C_{12}H_{14}BrClIN_5O$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :329.99;实验值:329.8; $^1H$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 12.22(s,1H),8.34(s,1H),6.40(s,1H),3.65(s,2H),3.58(m,4H),2.42(m,4H)。

[0330] 步骤5:4-((5-溴-4-氯-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)吗啉的合成

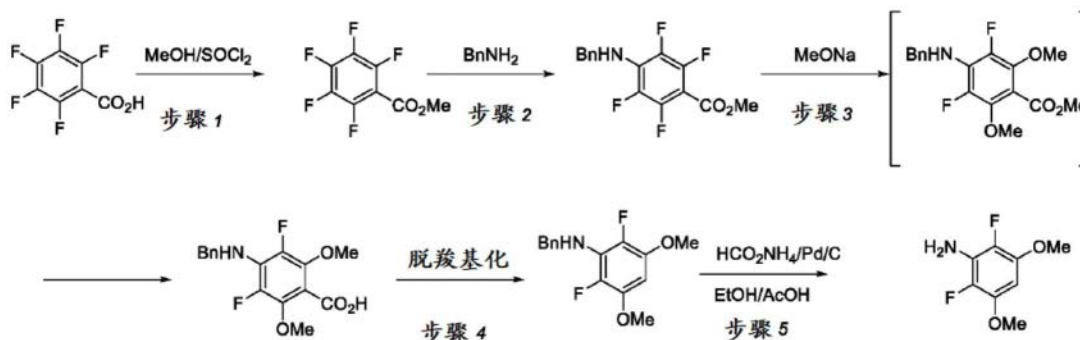
[0331] 将4-((5-溴-4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)吗啉(10g,30.25mmol,1.0当量,分析94%-w/w)和NaH(1.69g,60%,42.35mmol,1.4当量)于38mL的四氢呋喃中的浆料冷却至0-5℃,同时历时1h添加PhSO<sub>2</sub>Cl(7.48g,42.35mmol,1.4当量)。在1.5h之后,HPLC指示反应不完全。再添加NaH(0.34g,0.3当量),此时观测到气体逸出。当HPLC显示反应完成时,将反应混合物用乙酸(0.5g)和水(15mL)与甲醇(15mL)的混合物骤冷。用苛性钠将pH值调节至6.5并且通过过滤分离产物。将湿滤饼用2-异丙醇(20mL)和水(20mL)洗涤并且将湿产物(14.8g)在真空室中干燥,得到呈棕色固体状的4-((5-溴-4-氯-1-(苯基磺酰基)-1H-

吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)吗啉(12.57g,86%产率): $C_{18}H_{18}BrClIN_3O_3S$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :469.99;实验值:470.0; $^1H$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 8.56(s,1H),8.33(m,2H),7.73(m,1H),7.65(m,2H),6.83(s,1H),3.91(s,2H),3.53(m,4H),2.46(m,4H)。

[0332] 步骤6:4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛的合成

[0333] 在-10℃至0℃下向4-((5-溴-4-氯-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-基)甲基)吗啉(5.0g,10.6mmol,1.0当量)于50mL四氢呋喃中的悬浮液中添加iPrMgCl(6.9mL,2M四氢呋喃溶液,13.80mmol,1.3当量)。在搅拌2h之后在-5℃至0℃下历时0.5h将N,N-二甲基甲酰胺(1.55g,21.2mmol,2.0当量)添加至反应溶液中。将混合物在-5℃至0℃下搅拌0.5h,然后历时0.5h升温至23℃并且在23℃下搅拌1h。通过添加1.5mL乙酸和10mL水将pH值调节至6-7。向双相混合物中添加25mL MeOH和15mL水。在搅拌1h之后,过滤出产物并且用20mL MeOH/水(1/1)和30mL水洗涤。在真空下在50℃下干燥之后,获得呈灰白色粉末状的4-氯-2-(吗啉基甲基)-1-(苯基磺酰基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛(3.39g,76%产率): $C_{19}H_{19}ClN_3O_4S$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :420.07;实验值:420.0; $^1H$  NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 10.33(s,1H),8.76(s,1H),8.42(m,2H),7.74(m,1H),7.65(m,2H),6.98(s,1H),3.96(m,4H),3.564(m,4H),2.51(m,4H)。

[0334] 实施例4.2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺的合成



[0336] 步骤1:五氟苯甲酸甲酯的合成

[0337] 在20-50℃下历时4.0h向五氟苯甲酸(40Kg,188.6mol)于68L的甲醇中的溶液中逐滴添加SOCl<sub>2</sub>(29.2Kg,245.2mol,1.3当量)。然后将混合物加热至回流持续17h。通过真空蒸馏移除甲醇,并且将残余物溶解在甲基叔丁基醚(77L)中。将溶液用饱和NaHCO<sub>3</sub>(37L)洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,并且蒸发,得到呈无色油状的五氟苯甲酸甲酯(39kg,91%产率): $^1H$  NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 3.90(s,3H)。

[0338] 步骤2:4-(苯甲基氨基)-2,3,5,6-四氟苯甲酸甲酯的合成

[0339] 将五氟苯甲酸甲酯(39Kg,172.5mol)和N,N-二异丙基乙胺(26.8Kg,207mol,1.2当量)溶解在N-甲基吡咯烷酮(39L)中。历时3.5h逐滴添加苯甲胺(18.5Kg,172.5mol,1.0当量)于19.5L的N-甲基吡咯烷酮中的溶液,同时将内部温度维持在50℃以下。将所得浓黄色浆料加热至65℃并且再搅拌1h。将混合物倾入195L乙酸水溶液(10%乙酸和90%H<sub>2</sub>O)中,并且将浆料搅拌1h并且过滤。将滤饼用水和庚烷洗涤,并且在35℃下在真空下干燥,得到4-(苯甲基氨基)-2,3,5,6-四氟苯甲酸甲酯(38Kg,70%产率): $^1H$  NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 7.37(m,5H),4.67(m,2H),4.58(m,1H),3.93(s,3H)。

[0340] 步骤3:4-(苯甲基氨基)-3,5-二氟-2,6-二甲氧基苯甲酸的合成

[0341] 在室温下在N<sub>2</sub>下搅拌含4-(苯甲基氨基)-2,3,5,6-四氟苯甲酸甲酯(38Kg, 121.3mol)的甲醇(72L),同时历时3.0h逐滴添加NaOMe于甲醇中的溶液(25wt%, 110.8Kg, 545.85mol, 4.5当量),同时将温度维持在50℃以下。在加热至65-70℃持续18h之后,将18L的水添加至反应混合物中并且将所得溶液搅拌1h。通过真空蒸馏移除溶剂。添加水(54L)并且用37% HCl将所得溶液酸化至pH 2。将混合物用乙酸乙酯萃取三次(每次54Kg)。将合并的有机萃取物用水(43L)洗涤并且浓缩至干燥以形成固体。将固体用庚烷(43L)湿磨以移除杂质。收集固体并且在40℃下在真空下干燥,得到4-(苯甲基氨基)-3,5-二氟-2,6-二甲氧基苯甲酸(35Kg, 86%产率): <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ12.74 (s, 1H), 7.37 (m, 5H), 6.62 (s, 1H), 4.67 (m, 2H), 3.96 (s, 6H)。

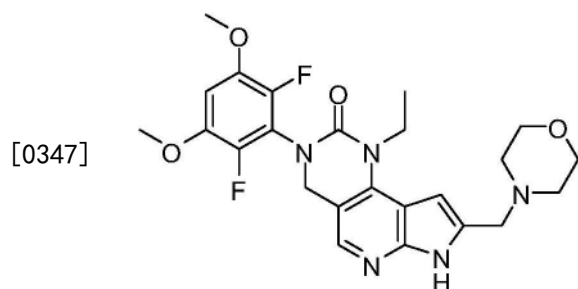
[0342] 步骤4:n-苯甲基-2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺的合成

[0343] 在氮气气氛下将4-(苯甲基氨基)-3,5-二氟-2,6-二甲氧基苯甲酸(17Kg)在纯净条件下加热至75-85℃持续3-4h。在反应完成之后,添加40L的甲基叔丁基醚和20L的1M NaOH。将混合物在室温下搅拌30min。分离有机层,并且用水(20L)和盐水(20L)洗涤。将有机相在减压下浓缩,得到粗产物。将粗物质用庚烷湿磨并且在35℃下在真空下干燥,得到N-苯甲基-2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺(12Kg, 82%产率): <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.35 (m, 5H), 6.09 (m, 1H), 4.53 (m, 2H), 4.00 (s, 1H), 3.85 (s, 6H)。

[0344] 步骤5:2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺的合成

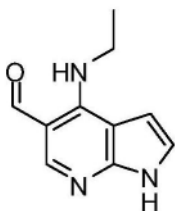
[0345] 将N-苯甲基-2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺(24Kg, 85.9mol)溶解在乙醇(120L)与乙酸(20L)的混合溶剂中,同时添加甲酸铵(13.2Kg)和1.68Kg的Pd/C。将混合物在50℃下加热2-3h。然后将反应混合物经 Celite® 垫过滤,并且用乙醇(1.2L X2)洗涤并且浓缩。将粗物质添加至80L的水中,并且过滤所得浆料。将粗物质添加至60L甲基叔丁基醚和2.5Kg活性炭中,并且将混合物加热至回流持续3h。在过滤和浓缩之后,将所得固体添加至36L庚烷中并且在室温下搅拌2h。将混合物过滤并且在35℃下在真空下干燥,得到呈浅棕色固体状的2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺(15.2Kg, 93%产率): C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>F<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>的LCMS计算值[M+H]<sup>+</sup>:190.16; 实验值:190.1; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ6.16 (m, 1H), 5.18 (s, 2H), 3.78 (s, 6H)。

[0346] 实施例5.3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(化合物1)的替代合成



[0348] 步骤1:4-(乙基氨基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛

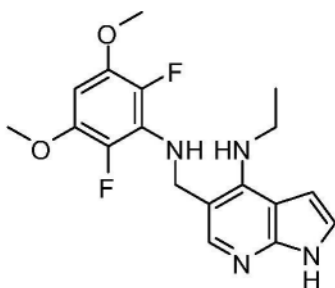
[0349]



[0350] 将4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛(目录号958230-19-8, Lakestar Tech, 批次: 124-132-29; 3.0g, 17mmol) 和乙胺(10M水溶液, 8.3mL, 83mmol) 于2-甲氧基乙醇(20mL, 200mmol) 中的混合物加热至130℃并且搅拌过夜。将混合物冷却至室温, 然后在减压下浓缩。将残余物用1N HCl(30mL) 处理并且在室温下搅拌1h, 然后用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液中和。经由过滤收集沉淀, 然后用水洗涤并且干燥以提供所需产物(2.9g, 92%)。C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>O的LC-MS计算值[M+H]<sup>+</sup><sub>m/z</sub>: 190.1; 实验值: 190.1。

[0351] 步骤2: 5-[(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)氨基]甲基-N-乙基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-胺

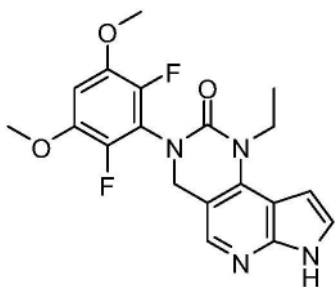
[0352]



[0353] 将4-(乙基氨基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-甲醛(7.0g, 37mmol)、2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺(9.1g, 48mmol) 以及[(1S)-7,7-二甲基-2-氧代双环[2.2.1]庚-1-基]甲磺酸(Aldrich, 目录号21360; 2g, 7mmol) 于二甲苯(250mL) 中的混合物加热至回流, 并且使用迪恩斯塔克装置(Dean-Stark) 共沸移除水持续2天, 此时LC-MS显示反应完成。将混合物冷却至室温并且在减压下移除溶剂。将残余物溶解于四氢呋喃(500mL) 中, 然后缓慢添加2.0M四氢铝酸锂THF溶液(37mL, 74mmol) 并且将所得混合物在50℃下搅拌3h, 然后冷却至室温。通过添加水、15%NaOH水溶液以及水来中止反应。将混合物过滤并且用THF洗涤。将滤液浓缩并且将残余物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>洗涤, 然后过滤, 得到纯产物(11g, 82%)。C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>F<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>的LC-MS计算值[M+H]<sup>+</sup><sub>m/z</sub>: 363.2; 实验值: 363.1。

[0354] 步骤3: 3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮

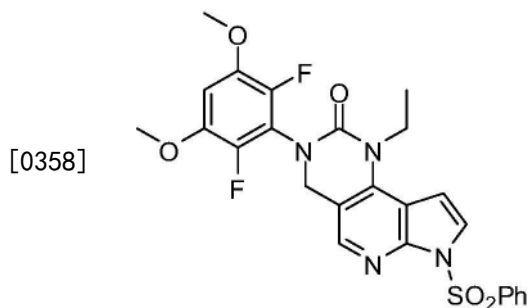
[0355]



[0356] 在0℃下将三光气(5.5g, 18mmol) 于四氢呋喃(30mL) 中的溶液缓慢添加至5-[(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)氨基]甲基-N-乙基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-4-胺(5.6g,

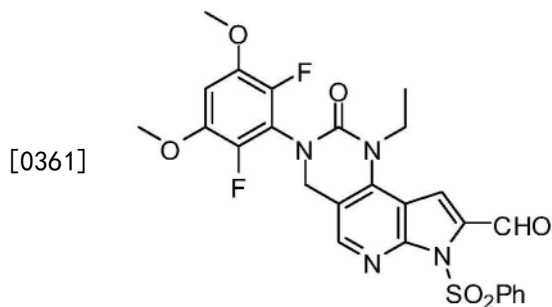
15mmol) 于四氢呋喃 (100mL) 中的混合物中,然后将混合物在室温下搅拌6h。将混合物冷却至0℃,然后缓慢添加1.0M氢氧化钠水溶液 (100mL, 100mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜并且经由过滤收集所形成的沉淀,用水洗涤,然后干燥以提供第一批纯化的所需产物。将滤液中的有机层分离并且将水层用氯化甲烷萃取。将合并的有机层浓缩并且将残余物用氯化甲烷湿磨,然后过滤并且干燥以提供另一批产物 (总计5.5g, 92%)。 $C_{19}H_{19}F_2N_4O_3$ 的LC-MS计算值 $[M+H]^+_{m/z}$ : 389.1; 实验值: 389.1。

[0357] 步骤4: 3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮



[0359] 向冷却至0℃的3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮 (900mg, 2.32mmol) 于N,N-二甲基甲酰胺 (20mL) 中的溶液中添加氢化钠 (185mg, 4.63mmol, 于矿物油中60wt%)。将所得混合物在0℃下搅拌30min,然后添加苯磺酰氯 (0.444mL, 3.48mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1.5h,此时LC-MS显示反应物完全成为所需产物。用饱和 $NH_4Cl$ 溶液中止反应并且用水稀释。经由过滤收集白色沉淀,然后用水和己烷洗涤,干燥以提供呈白色固体状的所需产物 (1.2g, 98%), 所述所需产物未进一步纯化即用于下一步骤。 $C_{25}H_{23}F_2N_4O_5S$ 的LC-MS计算值 $[M+H]^+_{m/z}$ : 529.1; 实验值: 529.1。

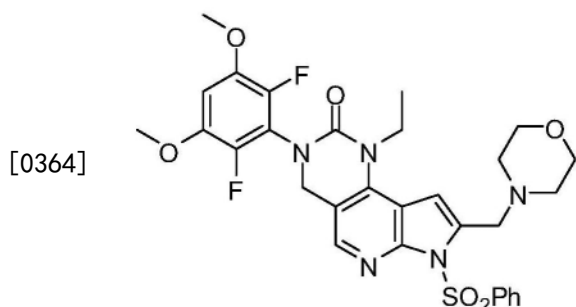
[0360] 步骤5: 3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-2-氧代-7-(苯基磺酰基)-2,3,4,7-四氢-1H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-8-甲醛



[0362] 向在-78℃下的3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮 (1.75g, 3.31mmol) 于四氢呋喃 (80mL) 中的溶液中添加新制备的二异丙基酰胺锂 (1M四氢呋喃 (THF) 溶液, 3.48mL, 3.48mmol)。将所得混合物在-78℃下搅拌30min,然后缓慢添加N,N-二甲基甲酰胺 (1.4mL, 18mmol)。将反应混合物在-78℃下搅拌30min,然后用水中止反应并且用EtOAc萃取。将有机萃取物合并,然后用水和盐水洗涤。将有机层经 $Na_2SO_4$ 干燥并且浓缩。将残余物通过快速色谱纯化,用0至20% EtOAc/DCM洗脱,得到呈白色固体状的所需产物 (1.68g, 91%)。

$C_{26}H_{23}F_2N_4O_6S$ 的LC-MS计算值  $(M+H)^+ m/z$ :557.1;实验值:556.9。

[0363] 步骤6:3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮

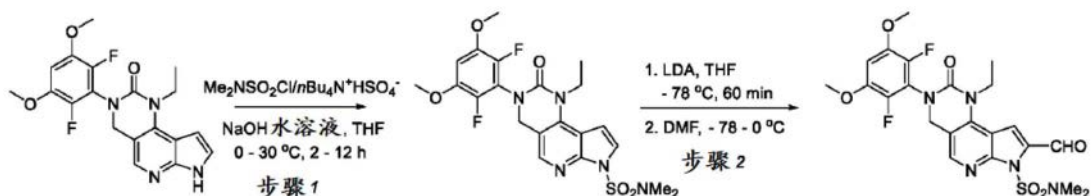


[0365] 向3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-2-氧代-7-(苯基磺酰基)-2,3,4,7-四氢-1H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-8-甲醛(1.73g,3.11mmol)于二氯甲烷(50mL)中的溶液中添加吗啉(0.95mL,11mmol),随后添加乙酸(2mL,30mmol)。将所得黄色溶液在室温下搅拌过夜,然后添加三乙酰氧基硼氢化钠(2.3g,11mmol)。将混合物在室温下搅拌3h,此时LC-MS显示反应物完全成为所需产物。用饱和 $NaHCO_3$ 中止反应,然后用乙酸乙酯(EtOAc)萃取。将有机萃取物合并,然后用水和盐水洗涤。将有机层经 $Na_2SO_4$ 干燥并且浓缩。将残余物通过快速色谱纯化,用0至40%EtOAc/DCM洗脱,得到呈黄色固体状的所需产物(1.85g,95%)。 $C_{30}H_{32}F_2N_5O_6S$ 的LC-MS计算值  $(M+H)^+ m/z$ :628.2;实验值:628.0。

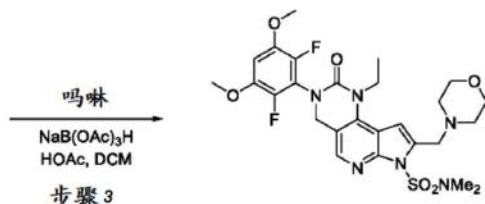
[0366] 步骤7:3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮

[0367] 向3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉-4-基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(1.5g,2.4mmol)于四氢呋喃(40mL)中的溶液中添加四正丁基氟化铵(1M THF溶液,7.2mL,7.2mmol)。将所得溶液在50℃下搅拌1.5h,然后冷却至室温并且用水中止反应。将混合物用二氯甲烷(DCM)萃取并且将有机萃取物合并,然后用水和盐水洗涤。将有机层经 $Na_2SO_4$ 干燥并且浓缩。将残余物通过快速色谱纯化,用0至10%MeOH/DCM洗脱,得到呈白色固体状的所需产物,通过制备型HPLC(pH=2,乙腈/ $H_2O$ )将所需产物进一步纯化。 $C_{24}H_{28}F_2N_5O_4$ 的LC-MS计算值  $(M+H)^+ m/z$ :488.2;实验值:488.0。 $^1H$  NMR(500MHz,DMSO)  $\delta$ 12.09(s,1H),8.06(s,1H),7.05(t,J=8.1Hz,1H),6.87(s,1H),4.78(s,2H),4.50(s,2H),4.17(q,J=6.8Hz,2H),3.97(br,2H),3.89(s,6H),3.65(br,2H),3.37(br,2H),3.15(br,2H),1.37(t,J=6.8Hz,3H)。

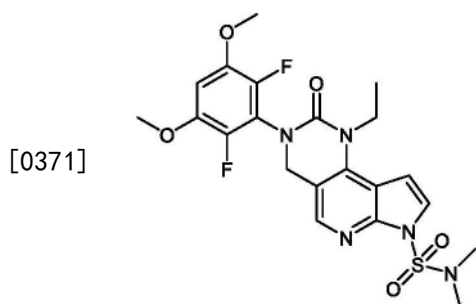
[0368] 实施例6.7-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基-苯基)-9-乙基-2-吗啉-4-基甲基-8-氧代-6,7,8,9-四氢-3,4,7,9-四氮杂-环戊二烯并[a]萘-3-磺酸二甲基酰胺的合成



[0369]



[0370] 步骤1.7-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基-苯基)-9-乙基-8-氧代-6,7,8,9-四氢-3,4,7,9-四氮杂-环戊二烯并[a]萘-3-磺酸二甲基酰胺的合成

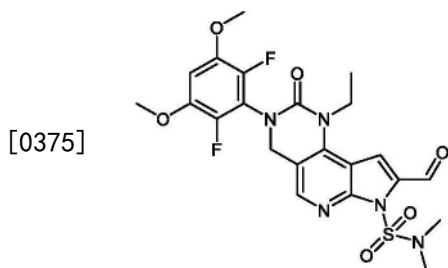


[0372] 将200L玻璃反应器与高架搅拌冷凝器、热电偶、加料漏斗以及氮气入口组装在一起,并且将设备用氮气吹扫。将饮用水(3.1L)和氢氧化钠(3093g)装入反应器并且在约71℃下搅拌混合物,直到获得溶液。将反应混合物冷却至约30℃并且添加THF(15.0L)。将反应混合物冷却至10℃并且依序添加3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(3000g)和 $n\text{-Bu}_4\text{N}^+\text{HSO}_4^-$ (262g),同时将温度维持在约10℃下。用THF(15.0L)将材料冲洗至反应器中,同时将温度维持在约7℃下。添加N,N-二甲基胺磺酰氯(1.244L),同时将温度维持在约7℃下。将反应混合物加热至约17℃并且在约22℃下搅拌7h。装入饮用水(120.0L),同时将温度维持在约20℃下,并且将反应混合物在约18℃下搅拌1h。将反应混合物过滤并且将滤饼用饮用水洗涤四次(每次洗涤30.0L)。将产物在过滤器上空气干燥14.5小时,以提供粗3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-N,N-二甲基-2-氧代-1,2,3,4-四氢-7H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-7-磺酰胺(4694g)。

[0373] 纯化:将100L玻璃反应器与高架搅拌冷凝器、热电偶、加料漏斗以及氮气入口组装在一起并且将设备用氮气吹扫。为色谱柱加载 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (37.5L)和硅胶(15,000g)并且充分混合并且洗脱至硅胶的表面。将海沙(4000g)和硫酸镁(6000g)依序装入柱中。将粗3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基-苯基)-1-乙基-N,N-二甲基-2-氧代-1,2,3,4-四氢-7H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-7-磺酰胺(6118g)和 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (22.5L)充分混合,直到获得溶液,然后将溶液装入柱中。发现洗脱速率太慢,因此将硫酸镁和溶液从柱中移除并且过滤。将滤饼用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (20L)洗涤并且将滤液装入柱中。将容器用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (2.5L)冲洗并且将冲洗物装入柱

中。将柱子用5%EtOAc/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(分别从9.4L的EtOAc和178.1L的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>制备)洗脱。将所需级分在约45℃下在真空下部分浓缩(出于方便使用2个旋转蒸发器)至剩余24L的目标总体积(每千克装入的3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-N,N-二甲基-2-氧代-1,2,3,4-四氢-7H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-7-磺酰胺约4L)。将蒸馏残余物(24L)装入100L反应器并且将温度调节至约28℃。装入庚烷(54L)并且将反应混合物在约24℃下搅拌1小时。将反应混合物过滤并且将滤饼用庚烷(24L)洗涤。将产物在过滤器上空气干燥约3小时以提供产物(5382g)。C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S的LCMS计算值[M+H]<sup>+</sup>:495.5;实验值:495.1。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.12 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.07 (t, 1H), 6.89 (s, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.14 (t, 2H), 3.91 (s, 6H), 2.96 (s, 6H), 1.35 (t, 3H)。

[0374] 步骤2.7- (2,6-二氟-3,5-二甲氧基-苯基)-9-乙基-2-甲酰基-8-氧代-6,7,8,9-四氢-3,4,7,9-四氮杂-环戊二烯并[a]萘-3-磺酸二甲基酰胺的合成



[0376] 将22L玻璃反应器和200L玻璃反应器与高架搅拌冷凝器、热电偶、加料漏斗以及氮气入口组装在一起并且将各设备用氮气吹扫。将THF (2.38L) 和N,N-二异丙胺 (0.82L) 装入22L玻璃反应器并且将混合物冷却至-72℃。装入n-BuLi于己烷中的2.5M溶液 (2.13L), 同时将温度维持在约-70℃下。将反应混合物在-71℃下搅拌约7分钟并且历时3.5h升温至-2℃以形成1M LDA溶液。

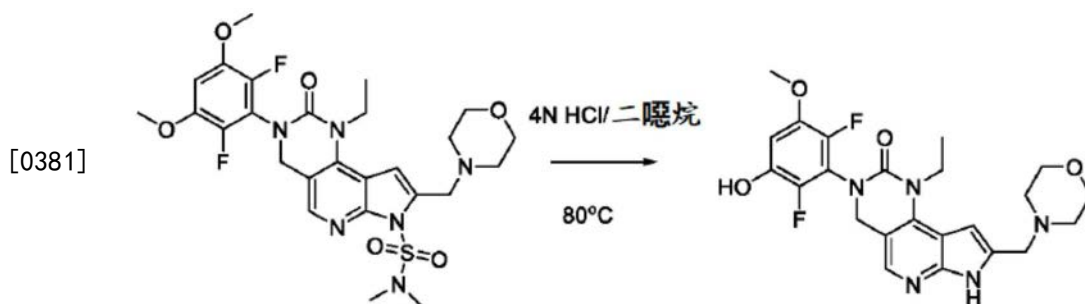
[0377] 将3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-N,N-二甲基-2-氧代-1,2,3,4-四氢-7H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-7-磺酰胺 (1075g毛重, 93.07wt%, 1001g净重) 和THF (10.0L) 装入第一旋转蒸发器并且在不进行溶剂收集的情况下在约63℃下旋转约28分钟, 直到获得溶液。将3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-N,N-二甲基-2-氧代-1,2,3,4-四氢-7H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-7-磺酰胺 (1075g毛重, 93.07wt%, 1001g净重) 和THF (10.0L) 装入第二旋转蒸发器并且在不进行溶剂收集的情况下在约61℃下旋转约35分钟, 直到获得溶液。将两种混合物在约50℃下在减压下浓缩。将THF (每个旋转蒸发器10.0L) 装入各旋转蒸发器, 并且将两种混合物在约50℃下在减压下浓缩。将THF (10.0L) 装入第一旋转蒸发器并且在不进行溶剂收集的情况下将混合物在约64℃下旋转14分钟, 直到获得溶液。将THF (10.0L) 装入第二旋转蒸发器并且在不进行溶剂收集的情况下将混合物在约64℃下旋转14分钟, 直到获得溶液。通过GC得到的残余CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>的百分比 (PCT) 合格。将两种溶液转移至200L反应器, 使用THF (26L) 来帮助转移。将反应混合物冷却至-65℃。历时约1小时装入1M LDA溶液 (4.84L), 同时将温度维持在约-64℃下, 并且将反应混合物在-65℃下搅拌2.25h。历时30分钟装入DMF (1.56L), 同时将温度维持在约-65℃下。将反应混合物在-64℃下搅拌31分钟并且历时约2小时升温至-12℃。单独地, 通过将氯化铵 (160g) 与饮用水 (1.6L) 充分混合来制备氯化铵水溶液。历时17分钟装入氯化铵水溶液, 同时将温度维持在约-5℃下, 并且历时约7.5h将反应混合物升温至19℃。将反应混合物

在真空下在约45℃下部分浓缩(出于方便使用2个旋转蒸发器)。通过蒸馏收集到36L的总体积(每千克装入的3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基-苯基)-1-乙基-N,N-二甲基-2-氧代-1,2,3,4-四氢-7H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-7-磺酰胺收集约18L)。将蒸馏残余物装入200L反应器并且将温度调节至约23℃并且将反应混合物在23℃下搅拌约2h。历时约1h添加饮用水(20.0L)并且在约23℃下搅拌反应混合物。将反应混合物过滤并且将滤饼用饮用水洗涤两次(每次洗涤10.0L)。将产物在过滤器上空气干燥约3.5h以提供粗产物(2028g)。将粗物在46-53℃下在MTBE中制成浆料持续1h,然后冷却至室温,过滤,再用MTBE洗涤,得到7-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基-苯基)-9-乙基-2-甲酰基-8-氧代-6,7,8,9-四氢-3,4,7,9-四氮杂-环戊二烯并[a]萘-3-磺酸二甲基酰胺: $C_{22}H_{23}F_2N_5O_6S$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ : 524.13;实验值:524.80。 $^1H$  NMR(400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 10.24(s, 1H), 8.31(s, 1H), 7.50(s, 1H), 7.05(m, 1H), 4.86(s, 2H), 4.17(m, 2H), 3.86(s, 6H), 3.04(s, 6H), 1.29(m, 3H)。

[0378] 步骤3.7-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基-苯基)-9-乙基-2-吗啉-4-基甲基-8-氧代-6,7,8,9-四氢-3,4,7,9-四氮杂-环戊二烯并[a]萘-3-磺酸二甲基酰胺的合成

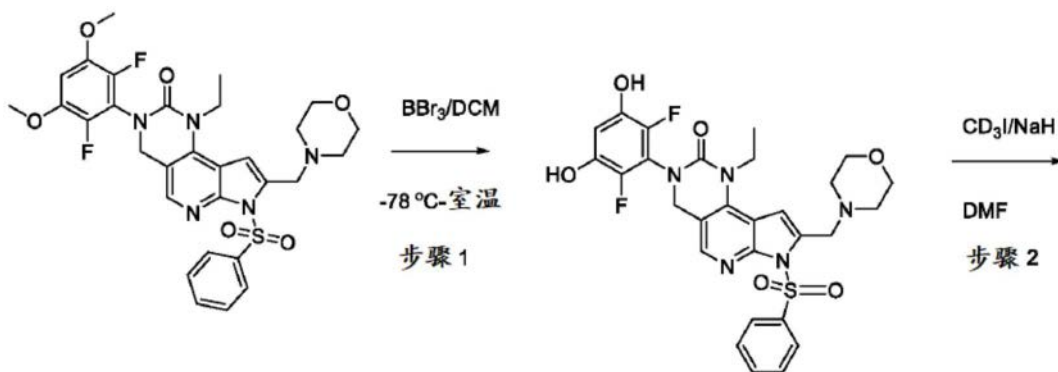
[0379] 将200L玻璃反应器与高架搅拌冷凝器、热电偶、加料漏斗以及氮气入口组装在一起并且将设备用氮气吹扫。将氯化甲烷(20.0L)和7-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基-苯基)-9-乙基-2-甲酰基-8-氧代-6,7,8,9-四氢-3,4,7,9-四氮杂-环戊二烯并[a]萘-3-磺酸二甲基酰胺(2000g)装入反应器并且在18℃下搅拌混合物,直到获得溶液。将吗啉(1.7L)添加至反应混合物中。历时34分钟添加乙酸(2.0L),同时将温度维持在约32℃下。将反应混合物在约27℃下搅拌4h。历时40分钟添加三乙氧基硼氢化钠(1620g),同时将温度维持在约28℃下。将反应混合物在约24℃下搅拌2.5h。单独地,通过将碳酸氢钠(2800g)与饮用水(40.0L)充分混合直到获得溶液来制备溶液。历时36分钟添加溶液,同时将温度维持在约19℃下,直至获得8-9的pH值。将反应混合物在约18℃下搅拌30分钟。分离各相。将有机相用氯化甲烷萃取三次(每次萃取10.0L)。将合并的有机相用饮用水(20.0L)洗涤。单独地,通过将氯化钠(2001g)与饮用水(20.0L)充分混合直到获得溶液来制备溶液。将有机相用氯化钠溶液洗涤并且经 $MgSO_4$ (600g)干燥。将反应混合物过滤并且将滤饼用氯化甲烷(6.0L)洗涤。将合并的滤液和洗涤物在减压下在38℃下浓缩以提供粗7-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基-苯基)-9-乙基-2-吗啉-4-基甲基-8-氧代-6,7,8,9-四氢-3,4,7,9-四氮杂-环戊二烯并[a]萘-3-磺酸二甲基酰胺(2200g)。使用0-40%EtOAc/DCM的色谱给出7-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基-苯基)-9-乙基-2-吗啉-4-基甲基-8-氧代-6,7,8,9-四氢-3,4,7,9-四氮杂-环戊二烯并[a]萘-3-磺酸二甲基酰胺: $C_{26}H_{32}F_2N_6O_6S$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ : 595.21;实验值:474.2。 $^1H$  NMR(400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.10(s, 1H), 7.05(t, 1H), 6.81(s, 1H), 4.80(s, 2H), 4.12(m, 2H), 3.91(s, 6H), 3.79(s, 2H), 3.57(m, 4H), 3.10(s, 6H), 2.50(m, 4H), 1.35(m, 3H)。

[0380] 实施例7.3-(2,6-二氟-3-羟基-5-甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(化合物2)的合成

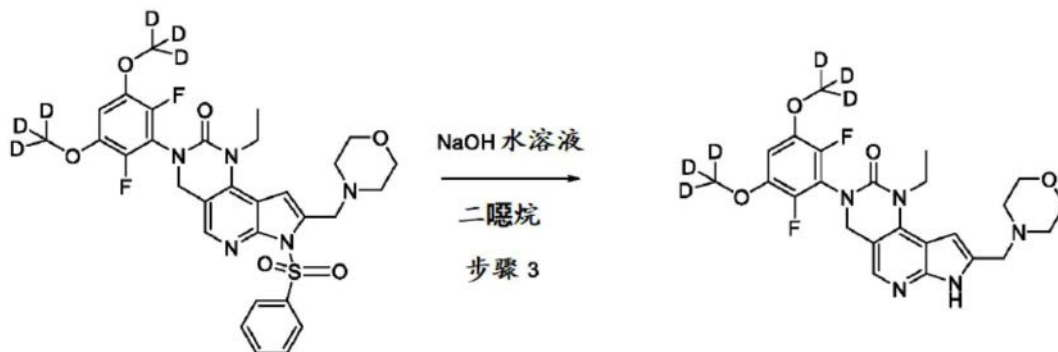


[0382] 将3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-N,N-二甲基-8-(吗啉-4-基甲基)-2-氧代-1,2,3,4-四氢-7H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-7-磺酰胺(44.88g, 75.48mmol)于1,4-二噁烷(400mL, 4000mmol)中的混合物在N<sub>2</sub>下搅拌,同时经由另一漏斗(内部温度达到35℃)添加12.0M氯化氢水溶液(1260mL, 1510mmol)与水(1260mL, 6990mmol)的混合物。将所得溶液在80℃下加热18h。LC-MS指示没有留下起始物质。将反应混合物冷却至室温,将有机溶剂浓缩,并且将所得HCl水溶液用200mL的2N HCl溶液稀释。将所得水溶液用DCM(3X80 mL)萃取,并且将合并的DCM相用6N HCl(80mL)再萃取。搅拌合并的HCl水溶液并且用冰水冷却至0-5℃。通过逐滴添加25%NaOH(约200mL)将酸性溶液中和至pH>12。将所得固体(去保护的未反应的起始物质或化合物1)过滤并且用水(3X250 mL)洗涤。将碱性水溶液用HCl水溶液酸化至pH值为约6,并且用DCM(3X30 mL)萃取。将合并的DCM溶液经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,并且浓缩。然后将粗物质在MTBE中制成浆料,过滤,再用MTBE洗涤,并且在真空烘箱中在50℃下干燥过夜,得到3-(2,6-二氟-3-羟基-5-甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(277mg):C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>的LCMS计算值[M+H]<sup>+</sup>:474.47;实验值:474.2。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ11.40(s, 1H), 9.95(s, 1H), 7.99(s, 1H), 6.78(m, 1H), 6.42(s, 1H), 4.76(s, 2H), 4.09(m, 2H), 3.80(s, 3H), 3.60(m, 6H), 2.41(m, 4H), 1.28(m, 3H)。

[0383] 实施例8.3- (2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(化合物6)的合成



[0384]



[0385] 步骤1.3-(2,6-二氟-3,5-二羟基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮的合成

[0386] 将3-(2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(2.0g,3.2mmol)于25.0mL DCM中的溶液在-78℃下搅拌,同时逐滴添加 $\text{BBr}_3$ (3.10mL,10.0当量)(纯)。在30min之后,将干冰浴槽移除并且使反应物缓慢升温至室温。在2h之后,HPLC指示不再有起始物质。然后将反应物冷却至0℃,小心地用20mL的冰水处理,并且搅拌30min。将所得固体过滤,再用水洗涤并且在漏斗上干燥过夜。将粗物质用20%MeOH的DCM溶液(10mL)处理并且搅拌20min,然后过滤并且干燥,得到呈白色固体状的3-(2,6-二氟-3,5-二羟基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(1.208g,61%产率): $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ 的LCMS计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ :600.17;实验值:600.4。材料未进一步纯化即用于下一步骤。

[0387] 步骤2.3-(2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮的合成

[0388] 将含3-(2,6-二氟-3,5-二羟基苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(1.20g,2.00mmol)和NaH(于矿物油中的60%分散体,216mg,9.01mmol)的DMF(12.4mL,160mmol)在室温下在 $\text{N}_2$ 下搅拌15min(全部进入溶液中),然后逐滴添加 $\text{MeI-d}^3$ (0.263mL,4.20mmol)。在室温下搅拌1h之后,将反应物冷却至0℃,添加30mL冰水,并且将所得固体搅拌30min。将所得固体过滤,用水洗涤并且干燥。将粗产物通过使用0-6%MeOH/DCM的Biotage色谱纯化,得到呈白色固体状的3-(2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(950mg,75%产率):

$C_{30}H_{26}D_6F_2N_5O_6S$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :634.23;实验值:634.5。 $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.41 (m, 2H), 8.07 (s, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.63 (m, 2H), 7.05 (m, 1H), 6.89 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.09 (m, 2H), 3.93 (s, 2H), 3.60 (m, 4H), 2.50 (m, 4H), 1.28 (m, 3H)。

[0389] 步骤3.3- (2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮的合成

[0390] 向25mL烧瓶中添加含3- (2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-7-(苯基磺酰基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(1000mg, 1.578mmol)的1,4-二噁烷(10.0mL)以及1N氢氧化钠水溶液(6312 $\mu$ l, 6.31mmol)。将溶液加热至74℃(内部温度)持续15小时。LC-MS指示反应完成。将透明浅黄色溶液冷却至室温(随着混合物冷却固体开始从溶液中沉淀析出),得到灰白色悬浮液。在20-25℃下添加水(10.0mL)并且将所得固体搅拌30min。将固体过滤,用水洗涤6次并且检验最终洗涤物的pH值(pH=约7)。粗产物(0.70g)HNMR指示存在一些二噁烷。

[0391] 将含粗3- (2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮(0.70g, 1.418mmol)的DCM(3.88ml, 60.3mmol)加热至22-36℃并且搅拌以得到透明溶液。在约5min之后,添加MTBE(0.693ml, 5.82mmol)。在搅拌约1h之后,形成沉淀,并且将混合物再搅拌30min。将混合物过滤,用MTBE洗涤,用庚烷洗涤并且在真空烘箱中在 $N_2$ 下在50℃下干燥,得到产物(0.63g, 81%产率, 96%HPLC纯度)。将粗固体利用使用0-10%MeOH/DCM的Biotage色谱纯化,将级分合并,浓缩,并且在真空烘箱中在50℃下干燥,得到具有99.5%HPLC纯度的3- (2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯基)-1-乙基-8-(吗啉基甲基)-1,3,4,7-四氢-2H-吡咯并[3',2':5,6]吡啶并[4,3-d]嘧啶-2-酮: $C_{24}H_{22}D_6F_2N_5O_4$ 的LCMS计算值 $[M+H]^+$ :494.24;实验值:494.2。 $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 11.75 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.05 (m, 1H), 6.89 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.09 (m, 2H), 3.60 (m, 6H), 2.50 (m, 4H), 1.28 (m, 3H)。

[0392] 还可根据实施例1使用2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯胺替代2,6-二氟-3,5-二甲氧基苯胺来制备化合物6。可根据实施例4步骤3使用甲醇钠-d3替代甲醇钠来制备2,6-二氟-3,5-双(甲氧基-d3)苯胺。

[0393] 实施例A

[0394] FGFR酶分析

[0395] 在酶不连续分析中测定所例示化合物的抑制剂性能,酶不连续分析使用FRET测量来测量肽磷酸化从而检测产物形成。将抑制剂在DMSO中连续稀释并且将0.2 $\mu$ L的体积转移至384孔板的孔中。对于包括磷酸化和非磷酸化蛋白的FGFR同种型(-1、-2、-3野生型以及突变体同种型,-4),将每孔5 $\mu$ L体积的在分析缓冲液(50mM HEPES, 10mM  $MgCl_2$ , 1mM EGTA, 0.01%吐温-20(Tween-20), 5mM DTT, pH 7.5)中稀释的酶添加至板中并且与抑制剂一起在周围温度下预孵育5-15分钟。板上包括适当的对照(酶空白和无抑制剂的酶)。通过添加含有含生物素化EQEDEPEGDYFEWLE (SEQ ID NO.1)肽底物与ATP的分析缓冲液的每孔5 $\mu$ L的体积来起始反应。肽底物的10 $\mu$ L/孔反应浓度为500nM,而ATP浓度维持在接近或低于各FGFR同种型的ATP  $K_m$ 。在单独实验系列中针对各FGFR同种型预先确定ATP  $K_m$ 值。将反应板在25℃下孵育1小时,并且以添加每孔5 $\mu$ L的骤冷溶液(50mM Tris, 150mM NaCl, 0.5mg/mL BSA, pH 7.8; 45mM EDTA、600nM星形孢菌素(staurosporin)与3.75nM Eu-抗体PY20以及180nM APC-

链霉亲和素的Perkin Elmer Lance试剂) 结束反应。使板在周围温度下平衡约10分钟,然后在PheraStar读板仪 (BMG Labtech) 仪器上进行扫描。

[0396] 使用GraphPad prism或XLfit分析数据。通过将数据对产生具有可变希尔系数 (Hill coefficient) 的S形剂量-反应曲线的四参数逻辑斯蒂方程 (four parameter logistic equation) 进行拟合来得到 $IC_{50}$ 值。Prism方程:  $Y = \text{最低值} + (\text{最高值} - \text{最低值}) / (1 + 10^{-(\text{Log}IC_{50} - X) * \text{希尔斜率}})$ ;

[0397] XLfit方程:  $Y = (A + ((B - A) / (1 + ((X/C)^D))))$ , 其中X为抑制剂浓度的对数并且Y为反应。

[0398] 各种本公开的化合物的FGFR抑制数据在下表1中示出。符号: “+” 指示 $IC_{50}$  小于10nM; “++” 指示 $IC_{50}$  大于或等于10nM但小于100nM; “+++” 指示 $IC_{50}$  大于或等于100nM但小于500nM; 并且“++++” 指示 $IC_{50}$  大于或等于500nM但小于1000nM。

[0399] 表1. FGFR抑制数据

| [0400] | 化合物   | FGFR1<br>IC50<br>(nM) | FGFR2<br>IC50<br>(nM) | FGFR3<br>IC50<br>(nM) |
|--------|-------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|        | 化合物 1 | +                     | +                     | +                     |
| [0401] | 化合物 2 | +                     | +                     | +                     |
|        | 化合物 3 | ++                    | ++                    | +++                   |
|        | 化合物 6 | +                     | +                     | +                     |

[0402] 实施例B: KATOIII全血pFGFR2 $\alpha$ ELISA分析

[0403] 为测量加入KATO III的全血分析中的酪氨酸磷酸化成纤维细胞生因子受体2 $\alpha$  (FGFR2 $\alpha$ ), 从ATCC购得KATO III细胞并且维持在含20%FBS的伊斯科夫氏培养基 (Iscove's medium) (Gibco/Life Technologies) 中。为测量测试化合物对FGFR2 $\alpha$ 活性的抑制, 使用伊斯科夫氏培养基 (0.2%FBS) 以 $5 \times 10^6$  个细胞/ml将细胞再悬浮。然后在存在或不存在一定浓度范围的测试化合物以及300ul人肝素化全血 (Biological Specialty Corp, Colmar PA) 的情况下, 将50uL的细胞加入96-深孔2ml聚丙烯分析块 (Costar,) 中。在37°C中孵育4小时之后, 使用Qiagen EL缓冲液将红细胞溶解并且将细胞溶解产物再悬浮于含有标准蛋白酶抑制剂混合物 (Calbiochem/EMD) 和PMSF (Sigma) 的溶解缓冲液 (Cell Signaling) 中持续30分钟冰。将溶解产物转移至标准V形底丙烯组织培养板并且在-80°C下冷冻过夜。在R&D Systems DuoSet IC人磷酸-FGF R2 $\alpha$ ELISA中测试样品, 并且使用进行540的波长校正的情况下设定至450nm的SpectraMax M5微板对板进行测量。通过使用GraphPad Prism 5.0软件对抑制剂抑制百分比相较于抑制剂浓度的对数的曲线进行拟合来进行 $IC_{50}$ 测定。

[0404] KATOIII全血pFGFR2 $\alpha$ ELISA  $IC_{50}$  数据在下表2中示出。符号: “+” 指示 $IC_{50}$  小于50nM; “++” 指示 $IC_{50}$  大于或等于50nM但小于250nM; “+++” 指示 $IC_{50}$  大于或等于250nM但小于500nM; “++++” 指示 $IC_{50}$  大于或等于500nM但小于1000nM; 并且“+++++” 指示 $IC_{50}$  大于或等于1000nM但小于3000nM。

[0405] 表2. KATOIII全血pFGFR2 $\alpha$ ELISA数据

| [0406] | 化合物   | FGFR2_WB_ELISA-<br>KATOIII<br>IC50 (nM) |
|--------|-------|-----------------------------------------|
|        | 化合物 1 | +                                       |
|        | 化合物 2 | ++                                      |
|        | 化合物 3 | +++++                                   |
|        | 化合物 6 | 未检出                                     |
|        | 化合物 7 | +                                       |

[0407] 实施例C:Caco-2细胞中的渗透性和P-gp介导的转运的测定

[0408] 使Caco-2细胞在DMEM培养基中以14000个细胞/孔的接种密度在96-孔transwell板中生长。为确定在吸收方向(A-B)上的渗透性,将含测试化合物的HBSS添加至供给者区室中(顶侧),并且将含4%BSA的HBSS添加至接受者区室中(基底侧)。为确定化合物是否为P-gp底物,在不存在4%BSA的情况下在A-B与B-A两个方向上测量渗透性值(双向转运分析)。包括地高辛和环孢菌素A分别作为P-gp底物和抑制剂的阳性对照,以确保P-gp在双向转运分析中的功能性。在供给者区室中(A-B转运为顶侧并且B-A转运为基底侧)添加各种浓度的测试化合物,而在接受者区室中(A-B转运为基底侧并且B-A转运为顶侧)添加HBSS溶液。在A-B方向的渗透性研究中,供给者体积为0.075mL,并且接受者体积为0.25mL。在B-A方向的渗透性研究,供给者体积为0.25mL,并且接受者体积为0.075mL。孵育在37℃下进行120分钟。在120分钟孵育之前和之后测量跨膜电阻(TEER)以确保细胞单层的完整性。在孵育期结束时,将样品从供给者与接受者侧移除并且与乙腈混合以便进行蛋白质沉淀。在离心之后收集上清液以便使用LC-MS/MS方法进行分析。使用以下等式确定Caco-2研究的渗透系数(Papp)值:

[0409] 
$$Papp (cm/s) = (F * VD) / (SA * MD)$$

[0410] 其中流率(F,质量/时间)是从所关注的化合物在接受者侧的累积量的斜率计算,SA为细胞膜的表面积,VD为供给者体积,并且MD为供给者腔室中的溶液的初始量。

[0411] 将Caco-2研究的流出比率计算为在B-A方向上测量的Papp除以A-B方向上的Papp的比率。

[0412] 各种本公开的化合物在Caco-2细胞中的渗透性数据在下表3中示出。

[0413] 表3.Caco-2细胞中的渗透性

| [0414] | 化合物   | CACO2<br>Pm<br>(x10E-6cm/s) |
|--------|-------|-----------------------------|
|        | 化合物 1 | 11                          |
|        | 化合物 2 | 0.5                         |
|        | 化合物 3 | 未检出                         |
|        | 化合物 6 | 16                          |

[0415] 各种本公开的化合物在Caco-2细胞中的P-gp介导的转运数据在以下表4和表5中示出。

[0416] 表4. 化合物2跨Caco-2单层的双向转运

| 化合物 2<br>浓度<br>( $\mu\text{M}$ ) | 抑制剂 |                         | Papp A-B*<br>( $\times 10^{-6} \text{ cm/s}$ ) | Papp B-A*<br>( $\times 10^{-6} \text{ cm/s}$ ) | 流出比率<br>(B-A/A-B)* |
|----------------------------------|-----|-------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------|
|                                  | 化合物 | 浓度<br>( $\mu\text{M}$ ) |                                                |                                                |                    |
| 3                                | NA  | NA                      | $0.43 \pm 0.15$                                | $11 \pm 8.0$                                   | $25 \pm 11$        |
|                                  | CSA | 10                      | $0.65 \pm 0.11$                                | $2.2 \pm 0.49$                                 | $3.3 \pm 1.2$      |
| 30                               | NA  | NA                      | $0.41 \pm 0.07$                                | $7.7 \pm 2.8$                                  | $19 \pm 5.2$       |
|                                  | CSA | 10                      | $2.0 \pm 0.33$                                 | $3.1 \pm 1.2$                                  | $1.5 \pm 0.59$     |

[0418] NA=不适用;CSA=环孢菌素A;\*N=3

[0419] 表5. 化合物1跨Caco-2单层的双向转运

| 化合物 1<br>浓度( $\mu\text{M}$ ) | 抑制剂 |                         | Papp A-B*<br>( $\times 10^{-6} \text{ cm/s}$ ) | Papp B-A*<br>( $\times 10^{-6} \text{ cm/s}$ ) | 流出比率<br>(B-A/A-B)* |
|------------------------------|-----|-------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------|
|                              | 化合物 | 浓度<br>( $\mu\text{M}$ ) |                                                |                                                |                    |
| 1                            | NA  | NA                      | $7.3 \pm 1.6$                                  | $11 \pm 0.95$                                  | $1.5 \pm 0.35$     |
| 30                           | CSA | 5                       | $12 \pm 2.3$                                   | $9.0 \pm 1.8$                                  | $0.73 \pm 0.17$    |
|                              | NA  | NA                      | $21 \pm 1.1$                                   | $13 \pm 1.6$                                   | $0.64 \pm 0.07$    |
|                              | CSA | 5                       | $18 \pm 0.75$                                  | $12 \pm 1.3$                                   | $0.63 \pm 0.07$    |

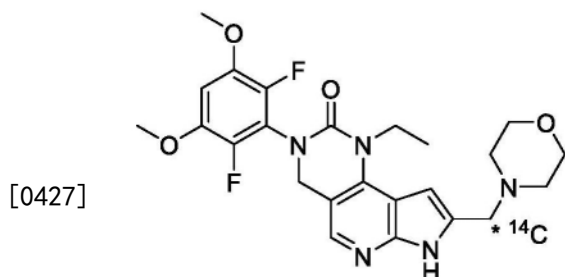
[0422] NA=不适用;CSA=环孢菌素A;\*N=3-6

[0423] 化合物1在30 $\mu\text{M}$ 下的流出比率为0.64。相比之下,化合物2在30 $\mu\text{M}$ 下的流出比率为19。这表明与化合物1相比,化合物2为更有效的用于Pgp转运的底物,并且化合物2未良好吸收至血流中。化合物2可为用于静脉内施用或肝动脉输注以便治疗疾病和病症(例如胆管细胞癌)的候选物。

[0424] 此外,化合物1在Caco-2细胞中的渗透性为11Pm,而化合物2在Caco-2细胞中的渗透性为0.5Pm。根据化合物结构中的差异小,化合物1与化合物2的渗透性和流出比率之间的差异大为意外的。

[0425] 实施例D: 化合物1人吸收、新陈代谢以及排泄研究

[0426] 进行开放标签研究,评估单个口服剂量的[14C]化合物1的质量平衡、药代动力学以及代谢产物型态:



[14C]化合物 1

[0428] 七个男性受试者各自在禁食过夜之后接受单个口服剂量的11mg的化合物1片剂以及[14C]化合物1溶液(约250 $\mu\text{Ci}$ )。在施用之后4至10天从参与者收集血液/血浆、尿液以及

粪便。

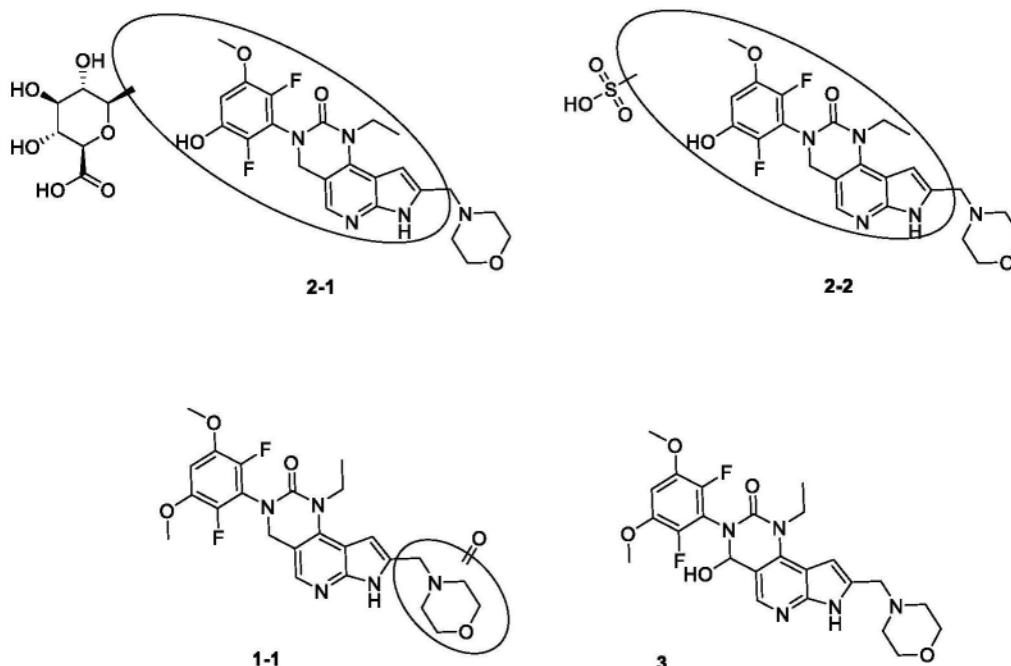
[0429] 人排出准则包括回收了最少90%的所施用的放射剂量；以及在2个连续24-小时尿液和粪便收集样品中在排泄物(尿液和粪便合并)中回收了小于或等于1%的所施用放射剂量。

[0430] 尿液中回收了12.6%的剂量，并且粪便中回收了82.4%的剂量。在240小时研究中，尿液和粪便中的总放射性回收率为95.1%。观测到快速吸收，并且在剂量后约2.0小时观测到峰值总放射性和血浆化合物1浓度。

[0431] 图1示出了在给予健康男性受试者单个13-mg (250 $\mu$ Ci) 口服剂量的[14C]化合物1之后按指定间隔在尿液和粪便中回收的平均累积放射剂量百分比。

[0432] 图2示出了在给予处于禁食状态的健康男性志愿者单个口服剂量的约13mg [14C] 化合物1之后血液或血浆中的平均放射性 (nM当量) 以及血浆中的化合物1 (nM)。血浆总放射性和化合物1具有约十小时的半衰期。血浆化合物1浓度与血浆总放射性的比率为约0.7，表明化合物1为血浆中的主要循环组分。血液与血浆放射性比率(约0.8)指示放射性与血细胞的低关联性。

[0433] 观测到四种次要循环代谢产物(<10%的化合物相关材料)，如下文所示：



[0434]

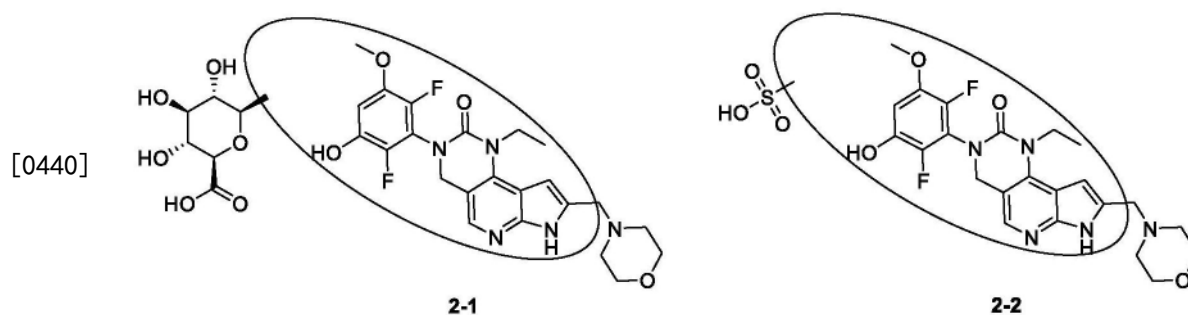
[0435] 化合物2-1为化合物2的葡萄糖苷酸衍生物。化合物2-2为化合物2的磺酸衍生物。化合物1-1为化合物1的酮基衍生物。围绕化学结构的某些部分的环指示用于连接葡萄糖苷酸、磺酸以及酮基基团的选择。

[0436] 从血液/血浆样品分离的各化合物占所施用剂量的百分比在下表中示出：

| 化合物 | $m/z$  | 总放射性百分比                          |
|-----|--------|----------------------------------|
|     |        | 汉密尔顿池(Hamilton Pool)的汇集物(0-24 h) |
| 2-1 | 650.23 | 5.9                              |
| 2-2 | 554.15 | 5.0                              |
| 3   | 504.21 | 6.0                              |
| 2   | 474.19 | 未检出                              |
| 1   | 488.21 | 64.5                             |
| 1-1 | 502.19 | 6.8                              |

[0438] 图3示出了化合物1的人循环代谢产物的质谱图。

[0439] 尿液中回收了12.6%的剂量。从尿液分离了化合物1的两种代谢产物,如下文所示:



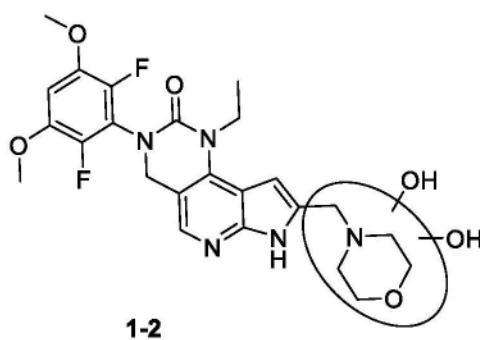
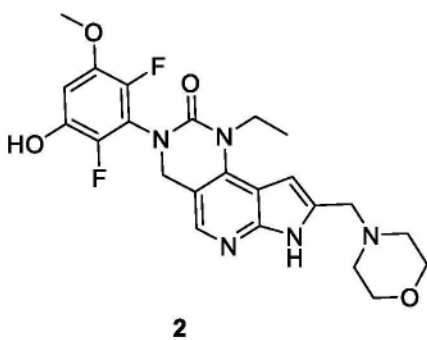
[0441] 围绕化学结构的某些部分的环指示用于连接葡萄糖苷酸和磷酸基团的选择。

[0442] 尿液样品中所分离的各化合物占所施用剂量的百分比在下表中示出：

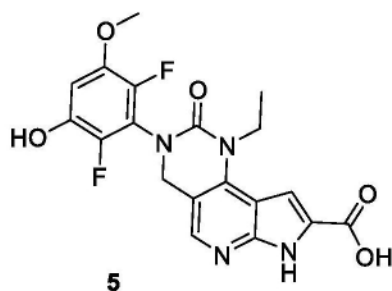
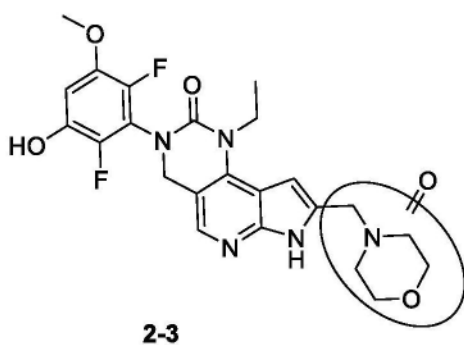
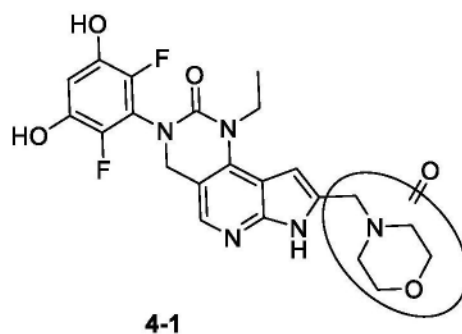
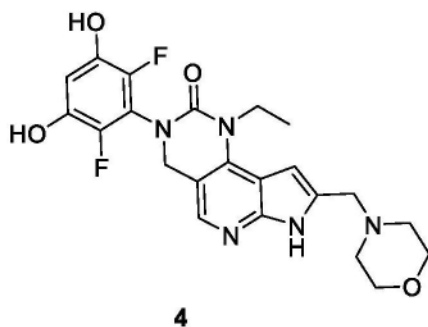
| 化合物 | <i>m/z</i> | 尿液样品中占所施用剂量的百分比 |        |         |         |     |
|-----|------------|-----------------|--------|---------|---------|-----|
|     |            | 0-6 h           | 6-12 h | 12-24 h | 24-48 h | 和   |
| 2-1 | 650.23     | 1.7             | 0.8    | 1.0     | 1.0     | 4.4 |
| 2-2 | 554.15     | 0.7             | 0.3    | 0.5     | 0.6     | 2.1 |
| 1   | 488.21     | 0.5             | 0.2    | 0.2     | 0.2     | 1.0 |

[0444] 图4示出了从尿液分离的化合物1代谢产物的质谱图。

[0445] 粪便中回收了82.4%的剂量。从粪便分离了化合物1的以下代谢产物:



[0446]



[0447] 化合物4-1为化合物4的酮基衍生物。化合物2-3为化合物2的酮基衍生物。化合物1-2为化合物1的二羟基化衍生物。围绕化学结构的某些部分的环指示用于连接羟基和酮基基团的选择。

[0448] 粪便样品中所分离的各化合物占所施用剂量的百分比在下表中示出：

| 化合物 | <i>m/z</i> | 粪便样品中占所施用剂量的百分比 |         |         |         |          |           |      |
|-----|------------|-----------------|---------|---------|---------|----------|-----------|------|
|     |            | 0-24 h          | 24-48 h | 48-72 h | 72-96 h | 96-120 h | 120-144 h | 和    |
| 4   | 460.18     | 未检出             | 0.5     | 2.3     | 1.1     | 0.2      | 0.4       | 4.5  |
| 2   | 474.19     | < 0.1           | 11.4    | 14.5    | 14.5    | 1.6      | 2.9       | 44.4 |
| 4-1 | 474.16     | < 0.1           | 0.4     | 0.6     | 0.7     | 0.1      | 0.2       | 2.0  |
| 1-2 | 520.20     | < 0.1           | 0.9     | 1.2     | 1.0     | 0.1      | 0.2       | 3.5  |
| 1   | 488.21     | 0.1             | 0.6     | 0.4     | 0.2     | 0.0      | 0.0       | 1.4  |
| 2-3 | 488.17     | < 0.1           | 1.5     | 2.3     | 2.5     | 0.3      | 0.5       | 7.1  |
| 5   | 419.12     | 未检出             | 0.4     | 0.6     | 0.5     | 0.0      | 0.1       | 1.6  |

[0449]

[0450] 图5示出了从粪便分离的化合物1代谢产物的质谱图。

[0451] 由前述描述,除本文所描述的那些外,本发明的各种修改对本领域技术人员来说将为显而易见的。此类修改也旨在属于随附权利要求的范围内。本申请中所列举的每个参考文献,包括所有专利、专利申请以及公布,以全文引用的方式并入本文中。

## 序列表

&lt;110&gt; 因塞特公司 (Incyte Corporation)

&lt;120&gt; FGFR抑制剂的衍生物

&lt;130&gt; 20443-0654W01

&lt;150&gt; US 62/943,406

&lt;151&gt; 2019-12-04

&lt;160&gt; 1

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列 (Artificial Sequence)

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成肽

&lt;400&gt; 1

Glu Gln Glu Asp Glu Pro Glu Gly Asp Tyr Phe Glu Trp Leu Glu

1

5

10

15

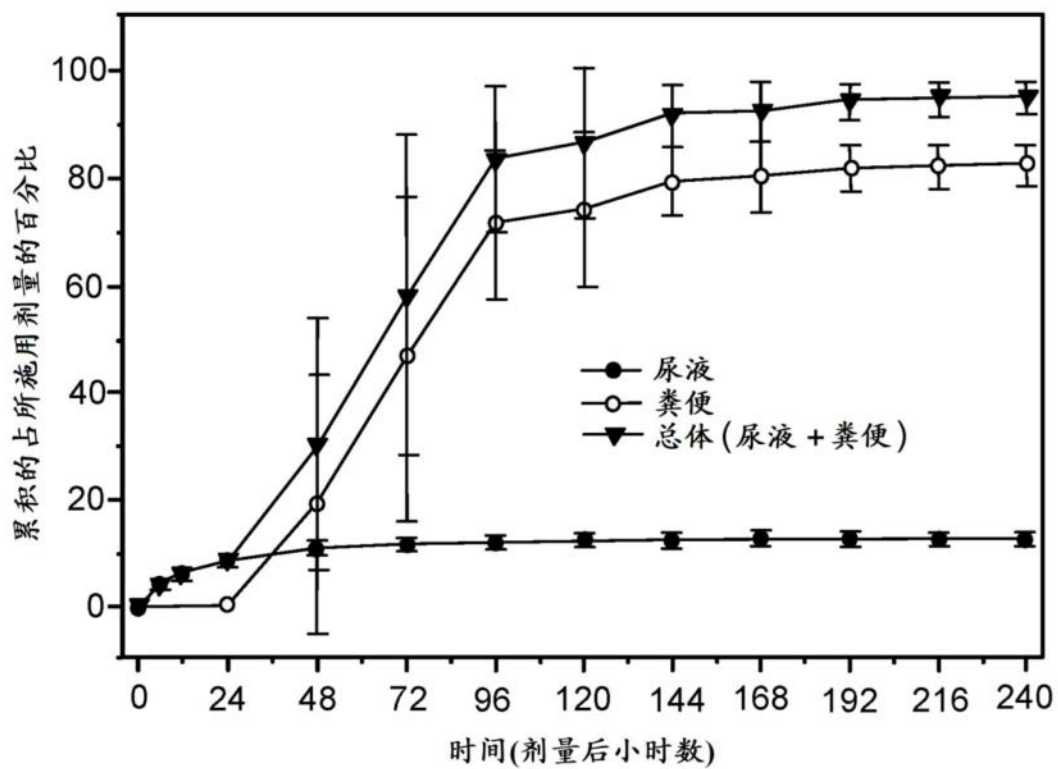


图1

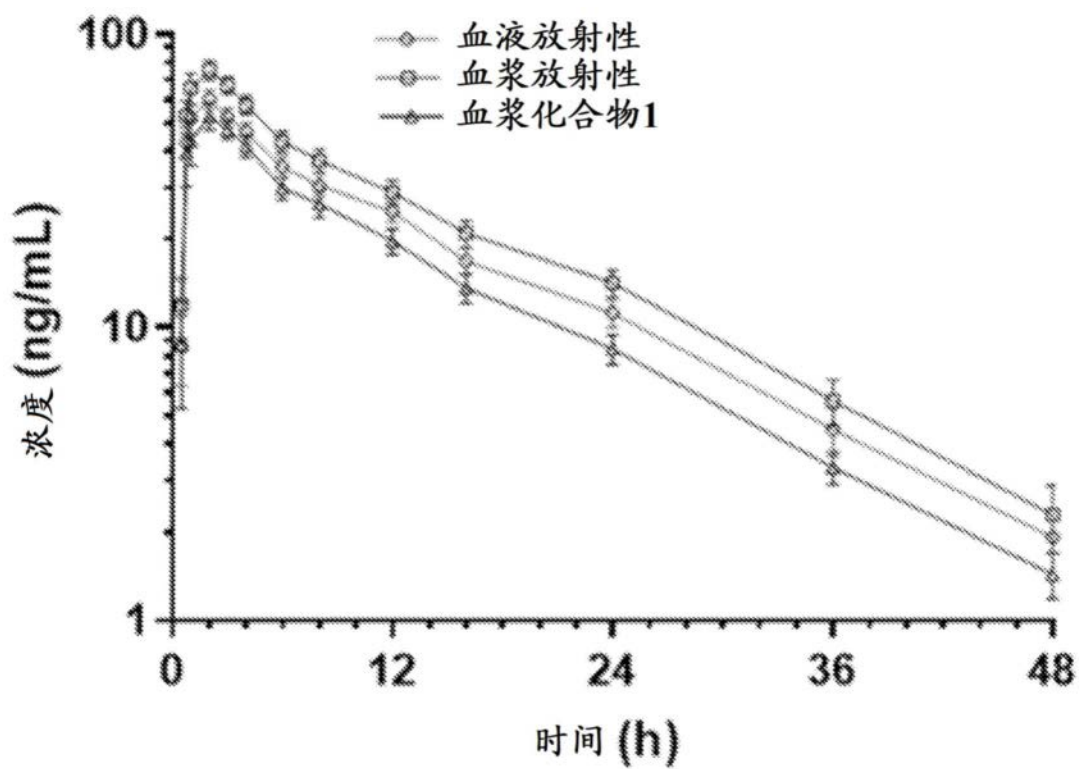


图2

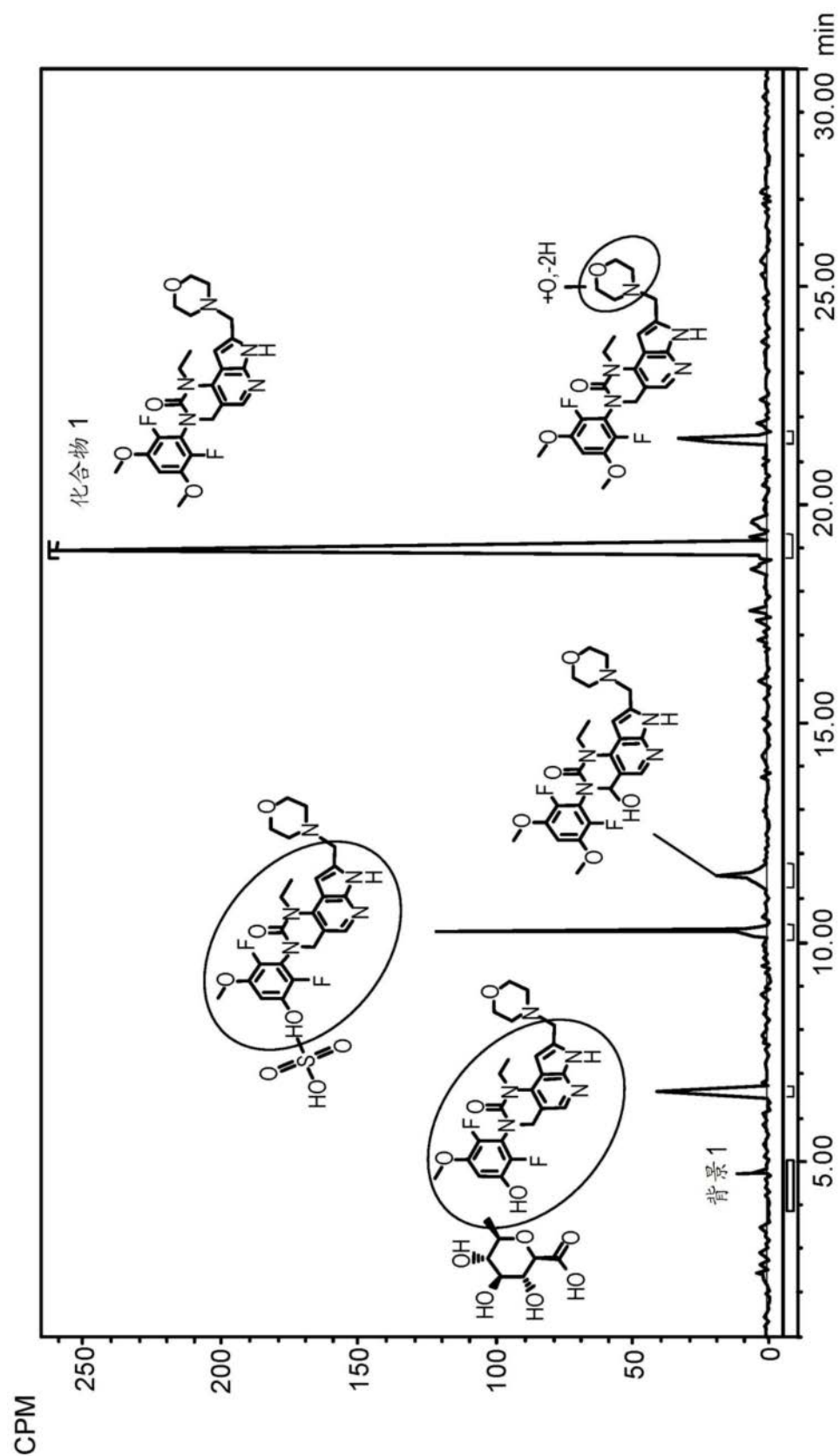


图3

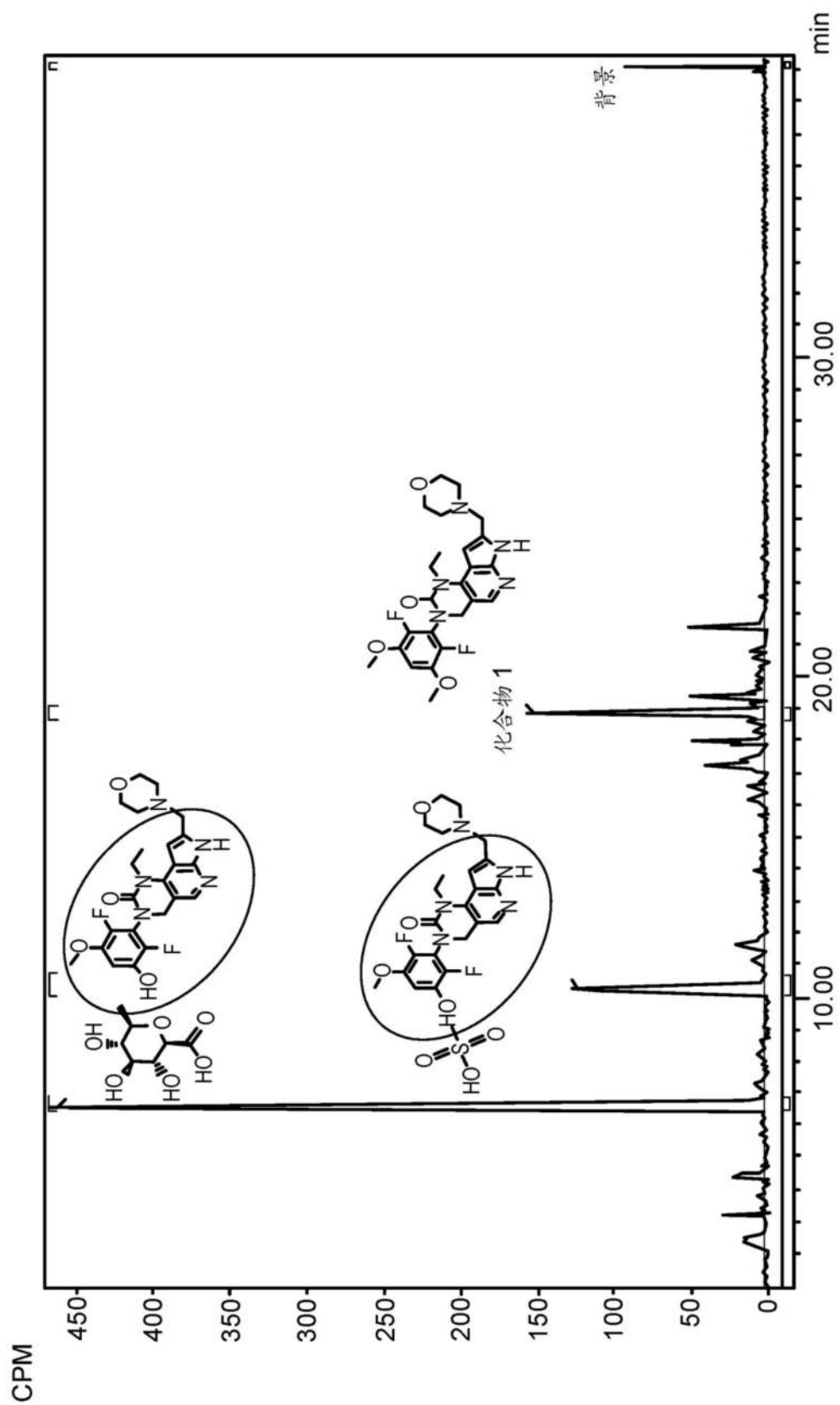


图4

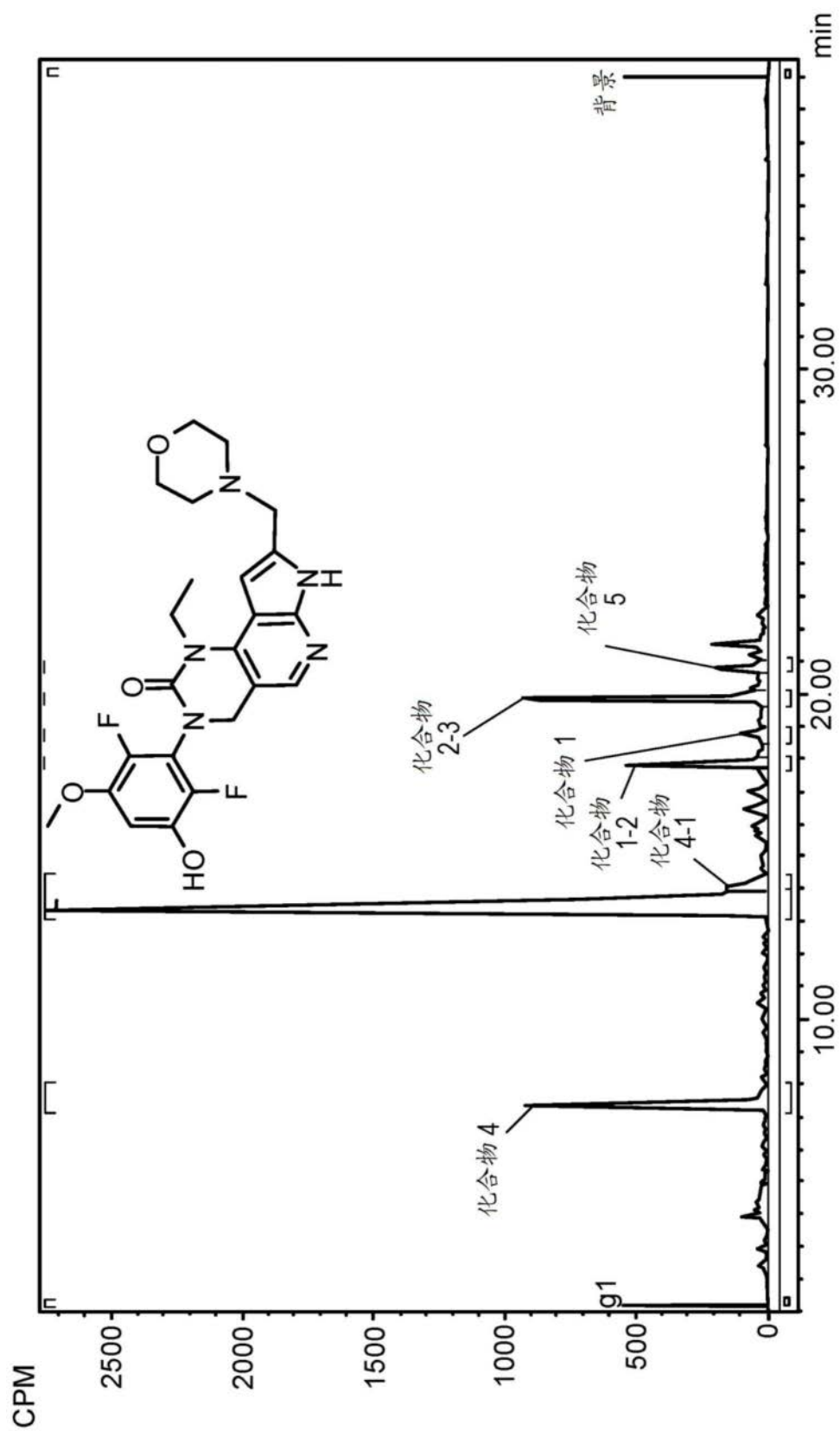


图5