



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104736533 B

(45)授权公告日 2016.12.07

(21)申请号 201380052158.7

(22)申请日 2013.08.16

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104736533 A

(43)申请公布日 2015.06.24

(30)优先权数据

61/684,202 2012.08.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.04.03

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/AU2013/000913 2013.08.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/026243 EN 2014.02.20

(73)专利权人 癌症治疗合作研究中心有限公司

地址 澳大利亚维多利亚州

(72)发明人 理查德·查尔斯·福伊齐克

本杰明·约瑟夫·莫罗

凯瑟琳·法埃·赫姆利

吉琳·伊利莎白·伦尼斯

迈克尔·昂·卡梅里诺

丹尼·加纳梅

保罗·安托尼·斯图普尔

罗米纳·勒塞纳

威廉默斯·约翰尼斯·安东尼厄

斯·克斯滕

安德鲁·约翰·哈维

伊恩·彼得·霍姆斯

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 郑斌 彭鲲鹏

(51)Int.Cl.

C07D 403/12(2006.01)

C07D 401/12(2006.01)

C07D 413/12(2006.01)

C07D 403/14(2006.01)

C07D 401/14(2006.01)

C07D 239/42(2006.01)

A61K 31/4439(2006.01)

A61K 31/444(2006.01)

A61K 31/506(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

A61P 35/04(2006.01)

(56)对比文件

CN 103534241 A,2014.01.22,

CN 101605540 A,2009.12.16,

CA 2808540 A1,2012.02.23,

WO 2008008234 A1,2008.01.17,

审查员 李占成

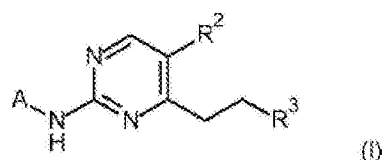
权利要求书21页 说明书137页

(54)发明名称

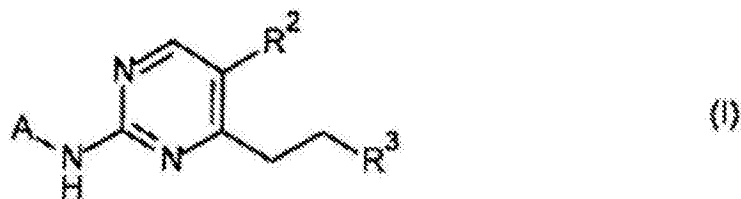
VEGFR3抑制剂

(57)摘要

本发明涉及一种式(I)化合物:本发明还涉及用于制备所述式(I)化合物的方法、含有所述化合物的药剂或组合物,或使用所述化合物来治疗增殖性疾病如癌症,以及治疗通过控制和/或抑制淋巴管生成来改善的疾病的方法。



1. 一种式(I)化合物、或盐：



其中：

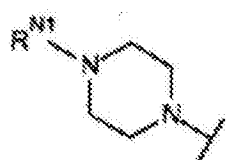
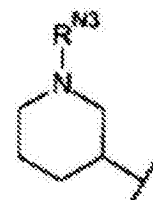
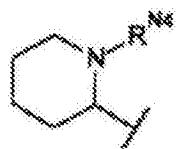
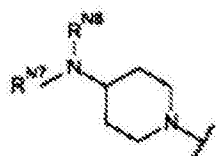
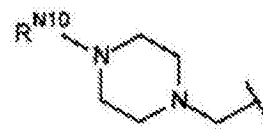
A选自任选取代的苯基和通过芳环碳原子连接至所述NH基团的任选取代的5-10元杂芳基，其中所述杂芳基环系统含有1至4个选自N、O和S的杂原子；并且；

当A为任选取代的苯基时，A可带有不在所述NH基团的 α 位的取代基 R^{1A} 并且可任选地进一步带有不在所述NH基团的 α 位的一个或两个取代基 R^{1B} ，其中 R^{1A} 选自：

(i) $CH(R^{C1})NZ^1Z^3$ ，其中 R^{C1} 选自H、 C_{1-2} 烷基， Z^1 选自H、任选被OH取代的 C_{1-3} 烷基、 $C(=O)OC_{1-4}$ 烷基和 $C(=O)Me$ ，并且 Z^3 为H，或 Z^1 和 Z^3 与其所连接的N一起形成含有至少一个N和任选地一个O的4-6元杂环；

(ii) $XNHZ^2$ ，其中X选自 CMe_2 、亚环丙基、亚环丁基、亚环戊基和氧杂环丁亚基并且 Z^2 选自H、任选被OH取代的 C_{1-3} 烷基、 $C(=O)OC_{1-3}$ 烷基和 $C(=O)Me$ ；

(iii) 选自 R^{1A1} 至 R^{1A13} 的基团：

(R^{1A1})(R^{1A2})(R^{1A3})(R^{1A4})(R^{1A5})(R^{1A6})(R^{1A7})(R^{1A8})(R^{1A9})(R^{1A10})(R^{1A11})(R^{1A12})(R^{1A13})

其中:

R^{N1}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;

R^{N2}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;

R^{N3}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;

R^{N4}选自H和CH₃;

R^{N5}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;

R^{N6}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;

R^{N7}和R^{N8}独立地选自H和CH₃;

R^{N9}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;

R^{N10}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;

R^{N11} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$;并且

R^{N12} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$;

并且其中每个 R^{1B} 独立地选自:

(i) C_{1-3} 烷基;

(ii) CF_3 ;

(iii)F;

(iv)Cl;

(v) $O-(C_{1-3}$ 烷基);

(vi)CN;

当A为任选取代的5-10元杂芳基时,A可带有不在所述NH基团的 α 位的单个取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 如以上所定义,并且可任选地进一步带有一个、两个或三个取代基 R^{1C} ,其中各 R^{1C} 独立地选自:

(i)任选被一至三个选自F、OH和 $O-(C_{1-3}$ 烷基)的取代基取代的 C_{1-3} 烷基;

(ii)F;

(iii)Cl;

(iv) $O-(C_{1-3}$ 烷基);

(v)CN;

(vi)=O;以及

(vii) $C(=O)C_{1-3}$ 烷基

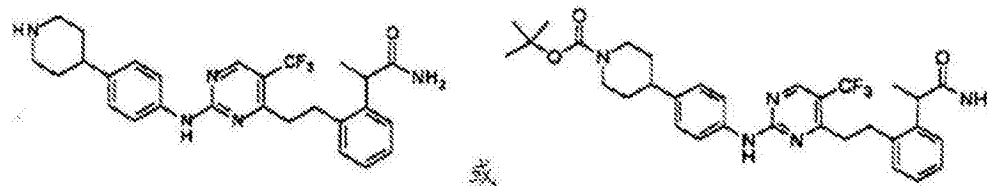
R^2 选自H、卤基、 C_{1-4} 烷基、 CF_3 、 CF_2H 、CN和 $O-(C_{1-3}$ 烷基);

R^3 选自取代的苯基和取代的6元杂芳基,其中所述杂芳基环系统含有1或2个N杂原子,其中

R^3 带有在所述 $-C_2H_4-$ 基团的 α 或 β 位的取代基 R^4 ,并且可另外带有选自F、甲基和 CF_3 的另外的取代基;并且

R^4 为 $-Y-C(O)N(R^{N13})Z^4$,其中Y选自 $-CHCH_3-$ 、 $-CH(CH_2CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 和 C_{3-5} 亚环烷基; R^{N13} 选自H和 CH_3 ;并且 Z^4 选自H、 CH_3 和 OCH_3 ;

条件是其不为:



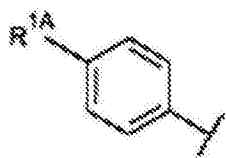
2. 根据权利要求1所述的化合物,条件是:

若 R^3 选自:

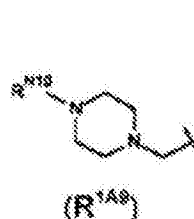
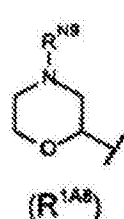
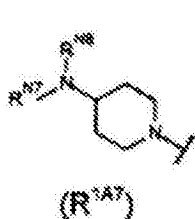
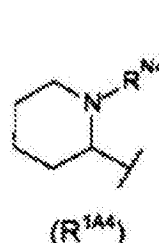
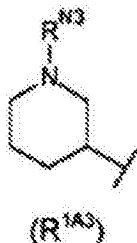
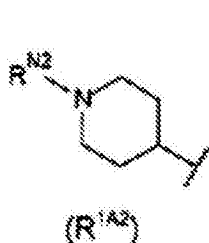
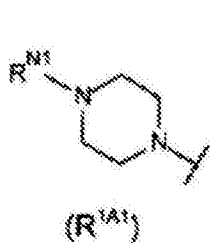


R^4 为 $-CH(CH_3)C(O)N(R^{N13})Z^4$;

A为以下任一项:



其中 R^{1A} 选自



并且 R^{N1} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$;

R^{N2} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$;

R^{N3} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$;

R^{N4} 选自H和 CH_3 ;

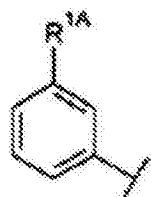
R^{N5} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$;

R^{N7} 和 R^{N8} 独立地选自H和 CH_3 ;

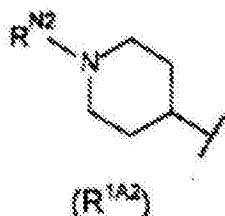
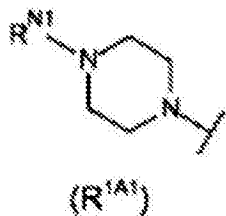
R^{N9} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$;

R^{N10} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$;

或



其中 R^{1A} 为



并且 R^{N1} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$;

R^{N2} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$;

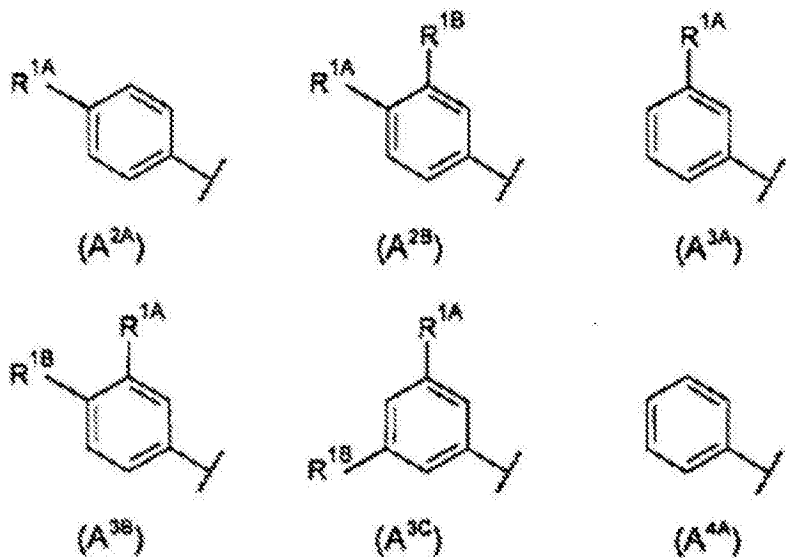
则 R^2 不选自 CF_3 、卤基、 CF_2H 和 CN 。

3. 根据权利要求1所述的化合物, 其中当A为苯基时, Y选自 $-CH(CH_2CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 和

C₃₋₅亚环烷基。

4. 根据权利要求1所述的化合物, 其中A为任选取代的苯基。

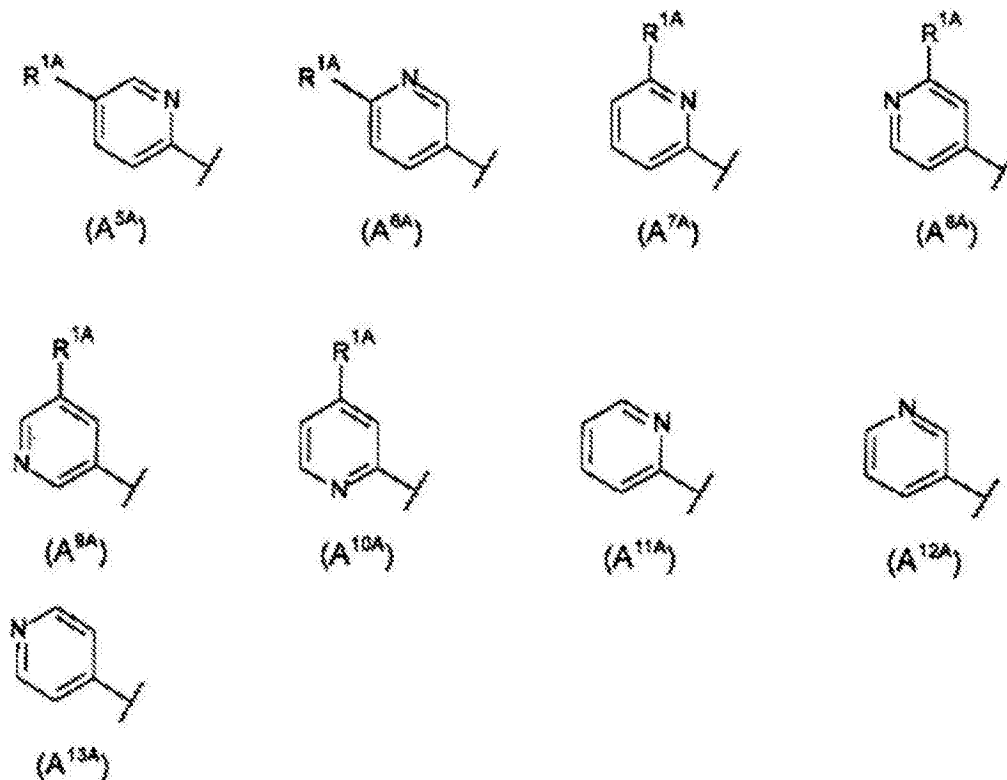
5. 根据权利要求4所述的化合物, 其中A选自:



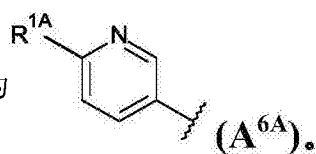
6. 根据权利要求1所述的化合物, 其中A为任选取代的6元杂芳基。

7. 根据权利要求6所述的化合物, 其中A为任选取代的吡啶基。

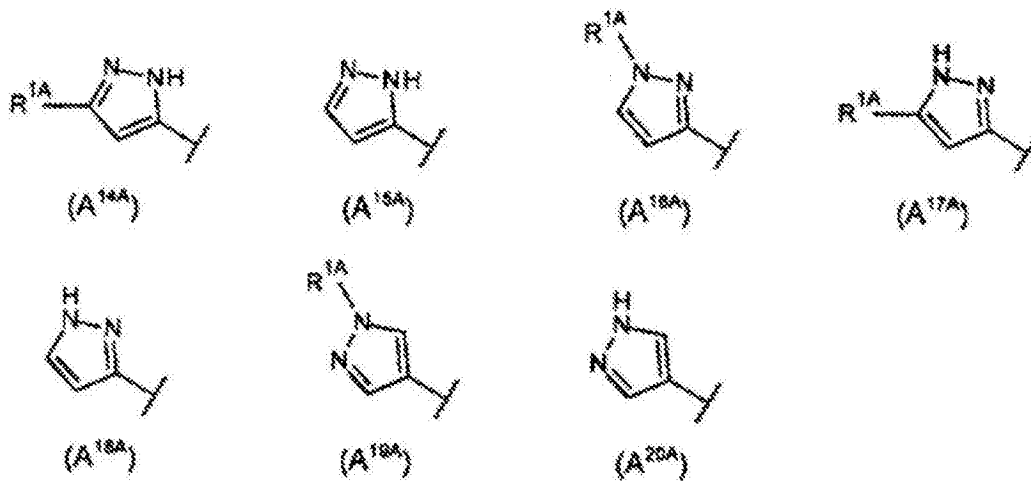
8. 根据权利要求7所述的化合物, 其中A选自:



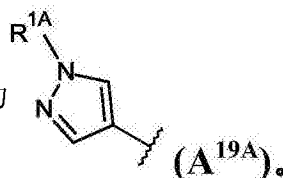
9. 根据权利要求8所述的化合物, 其中A为



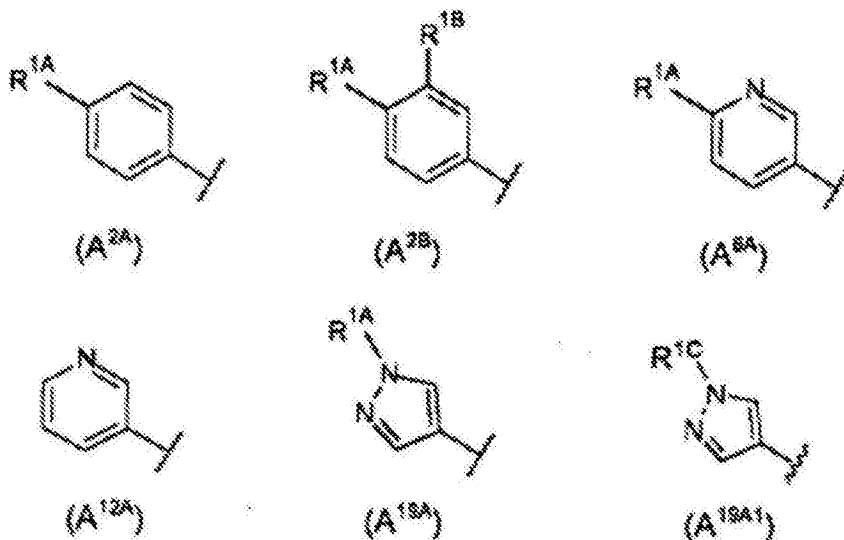
10. 根据权利要求1所述的化合物, 其中A为任选取代的5元杂芳基。
 11. 根据权利要求10所述的化合物, 其中A为任选取代的吡唑基。
 12. 根据权利要求11所述的化合物, 其中A选自:



13. 根据权利要求12所述的化合物, 其中A为



14. 根据权利要求1所述的化合物, 其中A选自:



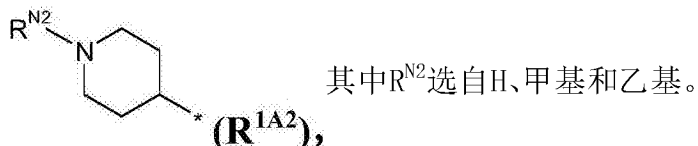
15. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R^{1A}为CH(R^{C1})NZ¹Z³, Z¹选自H和CH₂CH₂OH并且Z³为H。
 16. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R^{1A}为CH(R^{C1})NZ¹Z³, 并且R^{C1}选自H和甲基。
 17. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R^{1A}为CH(R^{C1})NZ¹Z³, Z¹选自H和CH₂CH₂OH, Z³为H并且R^{C1}选自H和甲基。
 18. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R^{1A}为XNHZ², 并且Z²选自H和C(=O)OMe。
 19. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R^{1A}为XNHZ², 并且X选自CMe₂和亚环丁基。
 20. 根据权利要求1所述的化合物, 其中R^{1A}为XNHZ², Z²选自H和C(=O)OMe并且X选自CMe₂

和亚环丁基。

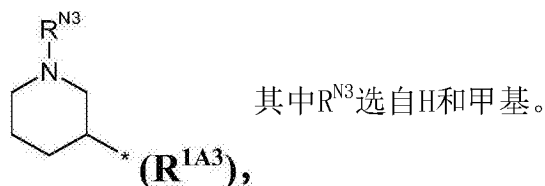
21. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



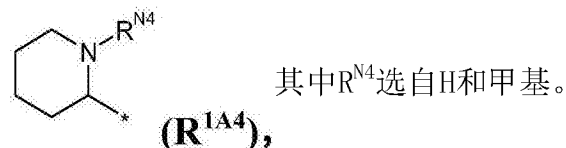
22. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



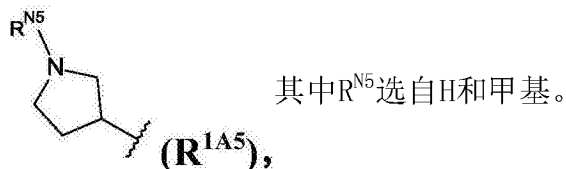
23. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



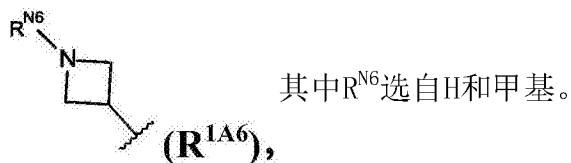
24. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



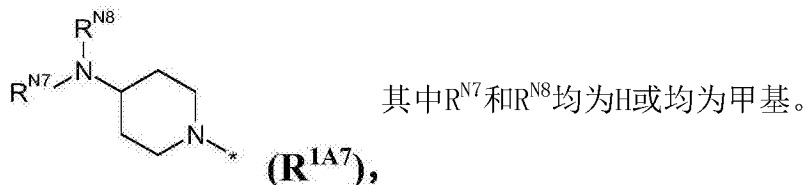
25. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



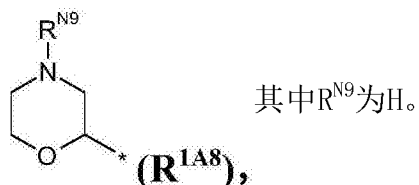
26. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



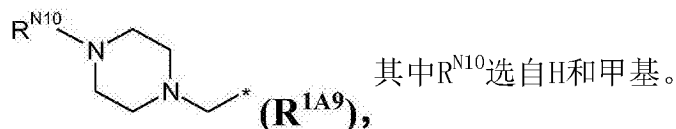
27. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



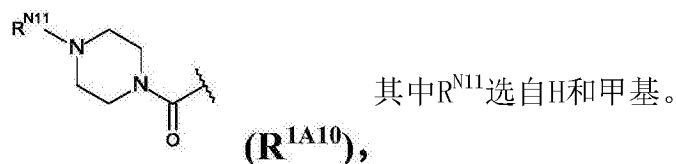
28. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



29. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



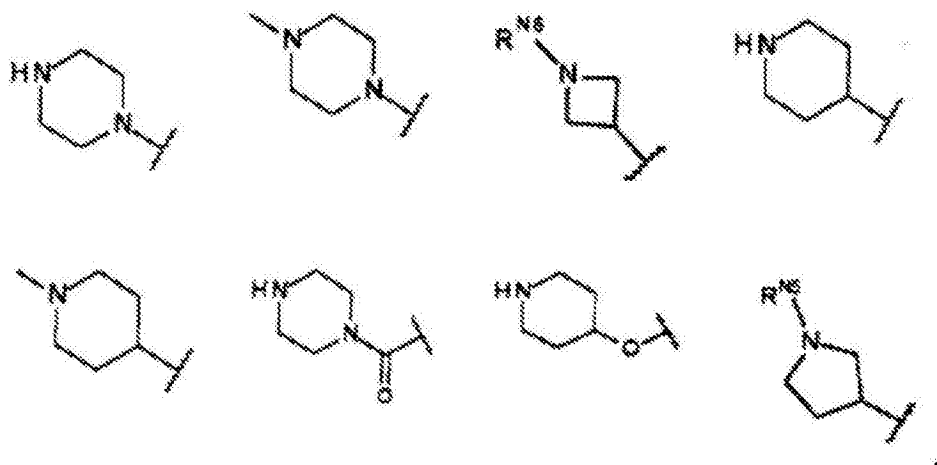
30. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



31. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 为:



32. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1A} 选自:



33. 根据权利要求1所述的化合物, 其中A上不存在 R^{1B} 取代基。

34. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1B} 为甲基。

35. 根据权利要求1所述的化合物, 其中存在单个 R^{1B} 取代基。

36. 根据权利要求1所述的化合物, 其中A上不存在 R^{1C} 取代基。

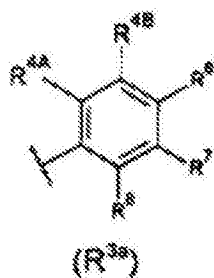
37. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^{1C} 为甲基或 CF_3 。

38. 根据权利要求1所述的化合物, 其中存在单个 R^{1C} 取代基。

39. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^2 为H、F、Cl或 C_{1-4} 烷基、 CF_3 、 CF_2H 、CN或甲氧基。

40. 根据权利要求39所述的化合物, 其中 R^2 为Cl、甲基或 CF_3 。

41. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^3 具有以下结构:



其中R⁶、R⁷和R⁸独立地选自H、F、甲基和CF₃；并且

R^{4A}和R^{4B}中的一个为R⁴，并且R^{4A}和R^{4B}中的另一个选自H、F、甲基和CF₃。

42. 根据权利要求41所述的化合物，其中R^{4A}和R^{4B}中不为R⁴的基团、以及R⁶、R⁷和R⁸均为H。

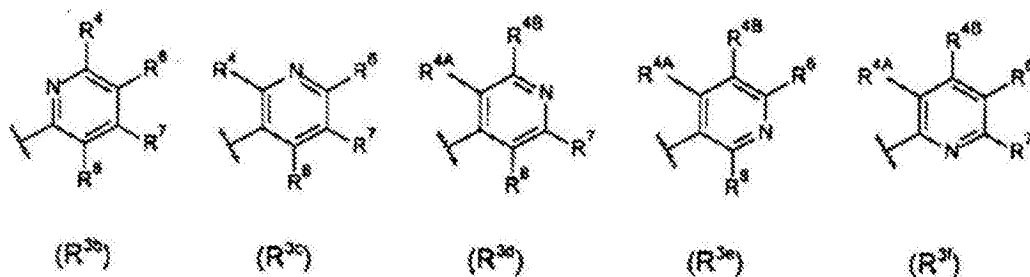
43. 根据权利要求41所述的化合物，其中R^{4A}和R^{4B}中不为R⁴的基团、R⁶、R⁷和R⁸中的一个不为H。

44. 根据权利要求43所述的化合物，其中不为H的所述基团为R⁶或R⁷。

45. 根据权利要求41所述的化合物，其中所述基团R^{4A}为R⁴，并且R^{4B}、R⁶、R⁷和R⁸均为H。

46. 根据权利要求1所述的化合物，其中R³为取代的6元杂芳基，其中所述杂芳基环系统含有1或2个N杂原子。

47. 根据权利要求46所述的化合物，其中R³选自以下结构中的一种：



其中R⁶、R⁷和R⁸(如果存在)独立地选自H、F、甲基和CF₃；

R^{4A}和R^{4B}(如果存在)中的一个为R⁴，并且另一个选自H、F、甲基和CF₃。

48. 根据权利要求47所述的化合物，其中R^{4A}和R^{4B}(如果存在)中不为R⁴的所述基团，以及R⁶、R⁷和R⁸(如果存在)均为H。

49. 根据权利要求47所述的化合物，其中R^{4A}和R^{4B}(如果存在)中不为R⁴的所述基团，以及R⁶、R⁷和R⁸(如果存在)中的一个不为H。

50. 根据权利要求47所述的化合物，其中R³具有结构R^{3d}和R^{3e}。

51. 根据权利要求1所述的化合物，其中R⁴在所述-C₂H₄-基团的α位。

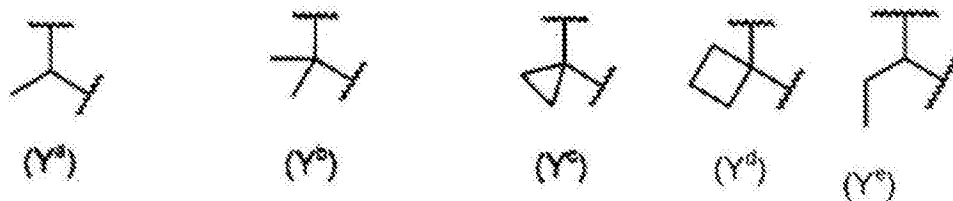
52. 根据权利要求1所述的化合物，其中R⁴在所述-C₂H₄-基团的β位。

53. 根据权利要求1所述的化合物，其中R^{N13}为H或Me。

54. 根据权利要求1所述的化合物，其中Z⁴为H、Me或OMe。

55. 根据权利要求1所述的化合物，其中Y选自-CHCH₃-、-CH(CH₂CH₃)-、-C(CH₃)₂-和C₃₋₅亚环烷基。

56. 根据权利要求1所述的化合物，其中Y选自



57. 根据权利要求1所述的化合物, 其中Y选自 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 和 C_{3-4} 亚环烷基。

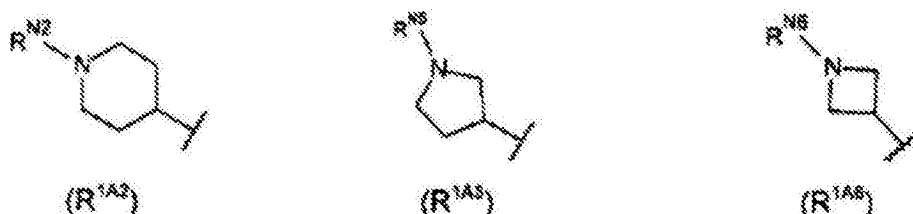
58. 根据权利要求1所述的化合物, 其为式(Ia)化合物或其盐, 其中:

A选自任选取代的苯基和通过芳环碳原子连接至所述NH基团的任选取代的5或6元杂芳基, 其中所述杂芳基环系统含有1或2个选自N和O的杂原子; 并且;

当A为任选取代的苯基时, A可带有不在所述NH基团的 α 位的取代基 R^{1A} , 其中 R^{1A} 选自:

(i) $\text{CH}(\text{R}^{\text{C}1})\text{NZ}^1\text{Z}^3$, 其中 $\text{R}^{\text{C}1}$ 选自H、 C_{1-2} 烷基, Z^1 选自H和被 $\text{C}(=\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基或 $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$ 取代的 C_{1-3} 烷基, 并且 Z^3 为H, 或 Z^1 和 Z^3 与其所连接的N一起形成含有一个N和任选地一个O的4-6元杂环;

(iii) 选自以下的基团:



其中:

$\text{R}^{\text{N}2}$ 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$;

$\text{R}^{\text{N}5}$ 选自H和 C_{1-4} 烷基;

$\text{R}^{\text{N}6}$ 为H;

当A为任选取代的5或6元杂芳基时, A可带有不在所述NH基团的 α 位的单个取代基 R^{1A} , 其中 R^{1A} 如以上所定义, 并且可任选地进一步带有一个或两个取代基 R^{1C} , 其中各 R^{1C} 独立地选自:

(i) 任选被一至三个选自F、OH和 $\text{O}-(\text{C}_{1-3}\text{烷基})$ 的取代基取代的 C_{1-3} 烷基;

(ii) $\text{O}-(\text{C}_{1-3}\text{烷基})$;

(ii) CN; 以及

(iii) $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$;

R^2 选自卤基、 CH_3 和 CF_3 ;

R^3 为取代的苯基, 其中

R^3 带有在所述 $-\text{C}_2\text{H}_4-$ 基团的 α 或 β 位的取代基 R^4 , 并且可另外带有另外的取代基F; 并且

R^4 为 $-\text{Y}-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{N}13})\text{Z}^4$, 其中Y选自 $-\text{CHCH}_3-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 以及 C_{3-4} 亚环烷基; $\text{R}^{\text{N}13}$ 为H; 并且 Z^4 为H。

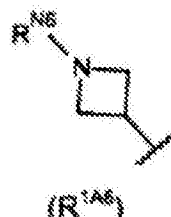
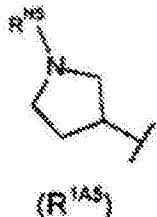
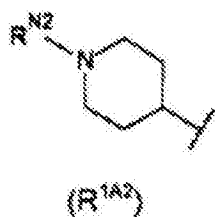
59. 根据权利要求1所述的化合物, 其为式(Ib)化合物或其盐, 其中:

A选自任选取代的苯基和通过芳环碳原子连接至所述NH基团的任选取代的5或6元杂芳基, 其中所述杂芳基环系统含有1或2个选自N和O的杂原子; 并且

当A为任选取代的苯基时, A可带有不在所述NH基团的 α 位的取代基 R^{1A} , 其中 R^{1A} 选自:

(i) $\text{CH}(\text{R}^{\text{C1}})\text{NZ}^1\text{Z}^3$, 其中 R^{C1} 选自 H 、 C_{1-2} 烷基, Z^1 选自 H 和被 $\text{C}(=\text{O})\text{OC}_{1-4}$ 烷基或 $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$ 取代的 C_{1-3} 烷基, 并且 Z^3 为 H ;

(iii) 选自以下的基团:



其中:

R^{N2} 选自 H 、 C_{1-3} 烷基和 $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$;

R^{N5} 选自 H 和 C_1 烷基;

R^{N6} 为 H ;

当 A 为任选取代的 5 或 6 元杂芳基时, A 可带有不在所述 NH 基团的 α 位的单个取代基 R^{1A} , 其中 R^{1A} 如以上所定义, 并且可任选地进一步带有一个或两个取代基 R^{1C} , 其中各 R^{1C} 独立地选自:

(i) 任选被一至三个独立地选自 F 、 OH 和 $\text{O}-(\text{C}_{1-3}\text{烷基})$ 的取代基取代的 C_{1-3} 烷基;

(ii) $\text{O}-(\text{C}_{1-3}\text{烷基})$;

(iii) CN ; 以及

(iii) $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$;

R^2 选自卤基、 CH_3 和 CF_3 ;

R^3 为取代的苯基, 其中

R^3 带有在所述 $-\text{C}_2\text{H}_4-$ 基团的 α 或 β 位的取代基 R^4 , 并且可另外带有另外的取代基 F ; 并且

R^4 为 $-\text{Y}-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{N13}})\text{Z}^4$, 其中 Y 选自 $-\text{CHCH}_3-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 以及 C_{3-4} 亚环烷基; R^{N13} 为 H ; 并且 Z^4 为 H 。

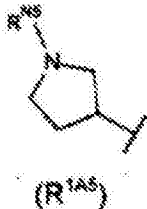
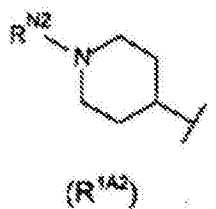
60. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其为式 (Ic) 化合物或其盐, 其中:

A 选自取代的苯基和通过芳环碳原子连接至所述 NH 基团的任选取代的 5 或 6 元杂芳基, 其中所述杂芳基环系统含有 1 或 2 个选自 N 和 O 的杂原子; 并且;

当 A 为任选取代的苯基时, A 可带有不在所述 NH 基团的 α 位的取代基 R^{1A} , 其中 R^{1A} 选自:

(i) $\text{CH}(\text{R}^{\text{C1}})\text{NZ}^1\text{Z}^3$, 其中 R^{C1} 为甲基, Z^1 为 H 并且 Z^3 为 H ;

(iii) 选自以下的基团:



其中:

R^{N2} 选自 H 和甲基;

R^{N5} 选自 H 和甲基;

R^{N6} 为 H ;

当A为任选取代的5或6元杂芳基时,A可带有不在所述NH基团的 α 位的单个取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 如以上所定义,并且可任选地进一步带有一个或两个取代基 R^{1C} ,其中各 R^{1C} 独立地选自:

(i) CH_3 或 CF_3 ;

R^2 选自卤基和 CF_3 ;

R^3 为取代的苯基,其中

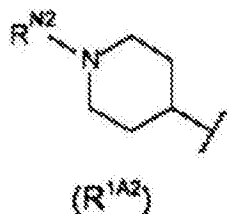
R^3 带有在所述 $-C_2H_4-$ 基团的 α 或 β 位的取代基 R^4 ,并且可另外带有另外的取代基F;并且

R^4 为 $-Y-C(O)N(R^{N13})Z^4$,其中Y选自 $-CHCH_3-$ 、 $-CH(CH_2CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 以及 C_3 亚环烷基; R^{N13} 为H;并且 Z^4 为H。

61. 根据权利要求1所述的化合物,其为式(Id)化合物或其盐,其中:

A选自取代的苯基和通过芳环碳原子连接至所述NH基团的任选取代的吡唑基或吡啶基,其中所述杂芳基环系统含有1或2个选自N和O的杂原子;并且:

当A为任选取代的苯基时,A可带有不在所述NH基团的 α 位的取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 为:



其中:

R^{N2} 为甲基;

当A为任选取代的吡唑基或吡啶基时,A可带有不在所述NH基团的 α 位的单个取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 如以上所定义,并且可任选地进一步带有一个或两个取代基 R^{1C} ,其中各 R^{1C} 独立地选自:

(i) CH_3 或 CF_3 ;

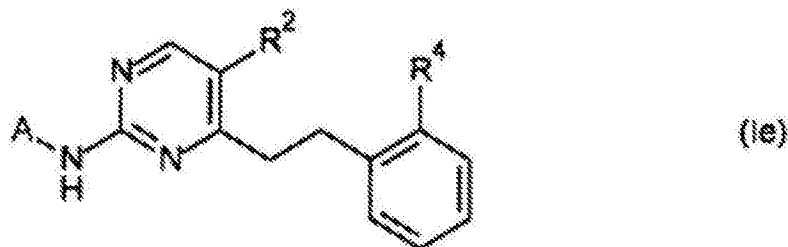
R^2 选自Cl和 CF_3 ;

R^3 为取代的苯基,其中

R^3 带有在所述 $-C_2H_4-$ 基团的 α 位的取代基 R^4 ,并且可另外带有另外的取代基F;并且

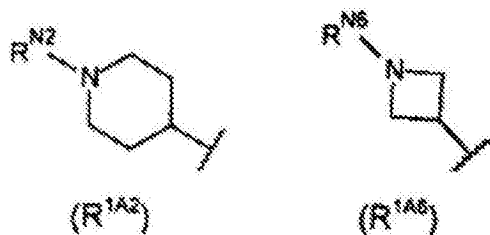
R^4 为 $-Y-C(O)N(R^{N13})Z^4$,其中Y选自 $-CHCH_3-$ 和 C_3 亚环烷基; R^{N13} 为H;并且 Z^4 为H。

62. 根据权利要求1所述的化合物,其为式(Ie)化合物:



其中:

A选自:任选取代的苯基和任选取代的吡啶基,其中A可带有不在所述NH基团的 α 位的一个取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 选自以下的基团:



其中:

R^{N2}选自H和甲基;

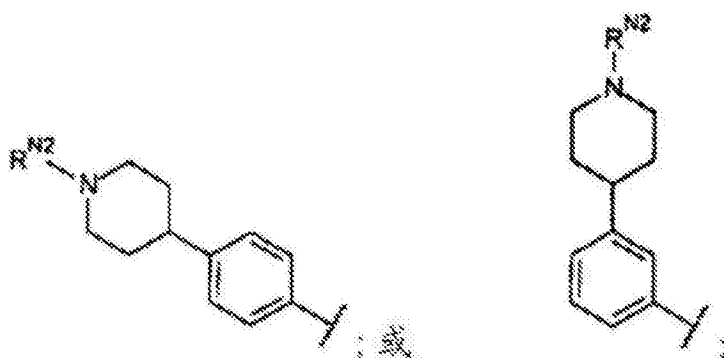
R^{N6}选自H和甲基;

R²选自Cl、甲基和CF₃;并且

R⁴为-Y-C(O)NH₂,其中Y选自-CHCH₃-, -C(CH₃)₂-, 亚环丙基和亚环丁基;

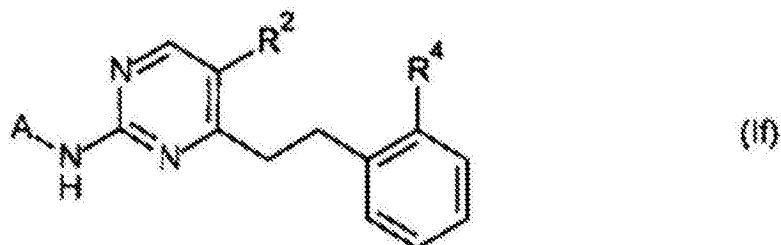
条件是:

若A为以下任一项:



并且R²为Cl或CF₃,则R⁴不为-CH(CH₃)C(O)NH₂。

63. 根据权利要求1所述的化合物,其为式(I f)化合物:



其中:

A选自:任选取代的苯基和任选取代的吡啶基,其中A可带有不在所述NH基团的α位的一个取代基R^{1A},其中R^{1A}选自以下的基团:



其中:

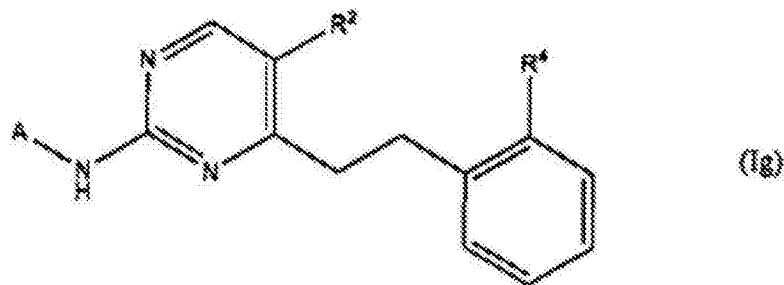
R^{N2}选自H和甲基;

R^{N6}选自H和甲基;

R^2 选自 Cl 、甲基和 CF_3 ；并且

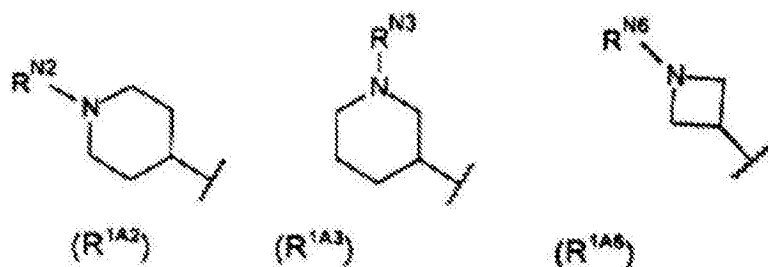
R^4 为 $-Y-C(=O)NH_2$ ，其中 Y 选自 $-C(CH_3)_2-$ 、亚环丙基和亚环丁基。

64. 根据权利要求1所述的化合物，其为式(Ig)化合物或其盐：



其中：

A选自含有1或2个选自N和O的杂原子的任选取代的5或6元杂芳基，其中A可带有不在所述NH基团的 α 位的一个取代基 R^{1A} ，其中 R^{1A} 选自 R^{1A2} 、 R^{1A3} 和 R^{1A6}



其中：

R^{N2} 选自H和 C_{1-4} 烷基；

R^{N3} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$ ；

R^{N6} 选自H和 C_{1-4} 烷基；

并且可任选地进一步带有选自 CF_3 、 C_{1-3} 烷基、 CH_2CF_3 、 CN 、 $C(=O)(C_{1-3} \text{烷基})$ 、 $CH(CH_3)NH_2$ 、 $CHCF_2$ 、 OCH_3 、 $CH(CH_3)NHCH_3$ 、 C_{1-3} 烷基OH和 C_{1-3} 烷基OMe的一个取代基 R^{1C} ；

R^2 选自卤基、 C_{1-4} 烷基和 CF_3 ；并且

R^4 为 $-Y-C(=O)NH_2$ ，其中 Y 选自 $-CHCH_3-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、亚环丙基和亚环丁基。

65. 一种选自以下的化合物：

2-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丁酰胺(1)；

1-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(2)；

1-(2-(2-(2-((4-(1-甲基哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(3)；

1-(2-(2-(2-((4-(氮杂环丁烷-3-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(4)；

1-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(5)；

1-(2-(2-(5-氯-2-(吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(6)；

1-(2-(2-(5-氯-2-(吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(7)；

1-(2-(2-(5-氯-2-((4-(1-甲基哌啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(8);

1-(2-(2-(5-氯-2-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(9);

1-(2-(2-(5-(三氟甲基)-2-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(10);

1-(2-(2-(5-氯-2-(噁唑-2-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(11);

1-(2-(2-(5-氯-2-(嘧啶-5-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(12);

1-(2-(2-(5-氯-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(13);

1-(2-(2-(2-((1-(氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(14);

1-(2-(2-(5-氯-2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(15);

1-(2-(2-(5-氯-2-(5-(1-甲基哌啶-3-基)吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(16);

1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(17);

1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(18);

1-(2-(2-(2-(1H-吡唑-4-基氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(19);

1-(2-(2-(5-氯-2-(1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(20);

1-(2-(2-(5-氯-2-(1-(1-甲基吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(21);

1-(2-(2-(5-氯-2-(哒嗪-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(22);

1-(2-(2-(5-氯-2-(苯基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(23);

(1-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(24);

1-(2-(2-(2-((4-(1-氨基乙基)苯基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(24A);

1-(2-(2-(5-氯-2-((3-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(25);

1-(2-(2-(5-氯-2-((1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(26);

1-(2-(2-(5-氯-2-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(27);

1-(2-(2-(5-氯-2-((1-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(28);

1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(29);

1-(2-(2-(5-氯-2-((1-异丙基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(30);

1-(2-(2-(5-氯-2-((6-氰基吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(31);

1-(2-(2-(2-((6-乙酰吡啶-3-基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(32);

1-(2-(2-(2-((6-(1-氨基乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(33);

1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(34);

2-(2-(2-(2-(1H-吡唑-4-基氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(35);

2-(2-(2-(5-氯-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(36);

2-(2-(2-(5-氯-2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(37);

2-(2-(2-(5-氯-2-(6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(38);

2-(2-(2-(5-氯-2-(吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(39);

2-(2-(2-(5-氯-2-(嘧啶-5-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(40);

2-(2-(2-(5-氯-2-(6-甲基吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(41);

2-(2-(2-(5-氯-2-(哒嗪-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(42);

2-(2-(2-(5-氯-2-(1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(43);

2-(2-(2-(5-氯-2-(1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(44);

2-(2-(2-(5-氯-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)-2-甲基丙酰胺(45);

1-(2-(2-(2-((1H-吡唑-4-基)氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(46);

1-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(47);

1-(2-(2-(5-甲基-2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(48);

1-(2-(2-(5-甲基-2-((6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(49);

1-(2-(2-(2-((4-(1-氨基乙基)苯基)氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(50);

2-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(51);

1-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丁烷甲酰胺(52);

1-(3-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(53);

2-(2-(2-(2-((1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(54);

2-(2-(2-(2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(55);

2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(56);

2-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(57);

2-(2-(2-(2-((1-(1-乙酰哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(58);

2-(2-(2-(2-((1-(1-乙基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(59);

2-(2-(2-(2-((1-(1-异丙基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(60);

2-(2-(2-(2-((6-甲氧基吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(61);

2-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(62);

2-(2-(2-(2-((6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(63);

1-(2-(2-(2-((6-甲氧基吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(64);

1-(2-(2-(2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(65);

1-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(66);

1-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(67);

1-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(68);

1-(2-(2-(2-((6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(69);

1-(4-(4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙基氨基甲酸叔丁酯(70);

1-(2-(2-(2-(4-(1-氨乙基)苯基氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷

甲酰胺(70A);

1-(2-(2-(2-(4-(1-乙酰氨基乙基)苯基氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(71);

1-(2-(2-(2-((6-(1-氨基乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(72);

1-(2-(2-(2-((6-(1-(甲基氨基)乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(73);

1-(2-(2-(2-((6-(1-(氮杂环丁烷-1-基)乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(74);

1-(2-(2-(2-((6-(1-吗啉代乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(75);

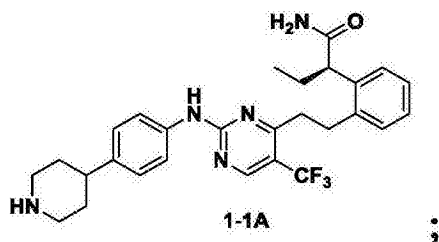
1-{2-[2-(5-氯-2-{[1-(2-羟乙基)-1H-吡唑-4-基]氨基}嘧啶-4-基)乙基]苯基}环丙烷甲酰胺(76);以及

1-{2-[2-(5-氯-2-{[1-(2-甲氧基乙基)-1H-吡唑-4-基]氨基}嘧啶-4-基)乙基]苯基}环丙烷甲酰胺(77),

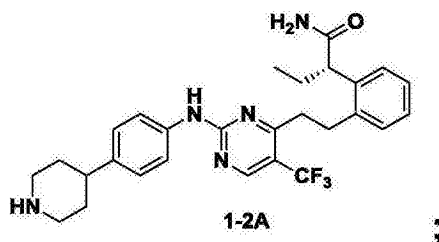
或其盐。

66. 根据权利要求65的化合物,其选自:

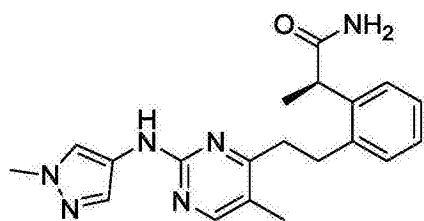
2-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丁酰胺的对映异构体A(1-1A),其如下式所示:



2-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丁酰胺的对映异构体B(1-2A),其如下式所示:

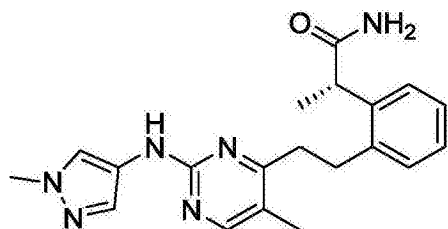


2-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺的对映异构体A(51-1A),其如下式所示:

**51-1A**

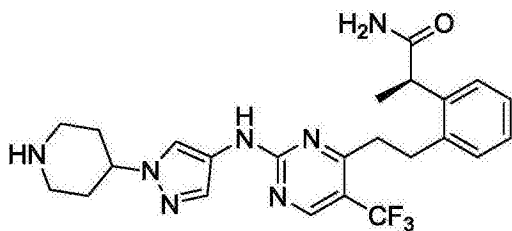
;

2-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺的对映异构体B(51-2A),其如下式所示:

**51-2A**

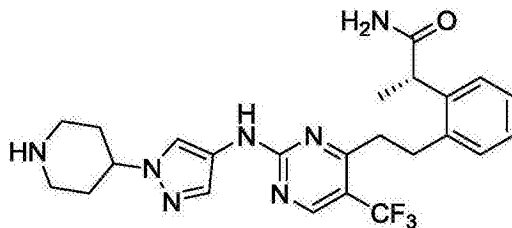
;

2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺的对映异构体A(56-1A),其如下式所示:

**56-1A**

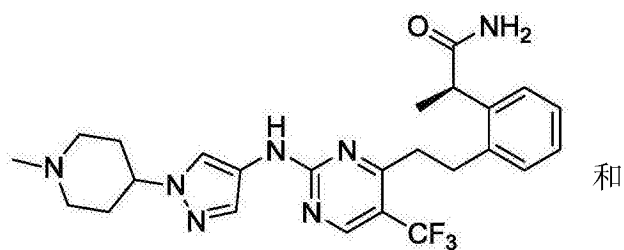
;

2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺的对映异构体B(56-2A),其如下式所示:

**56-2A**

;

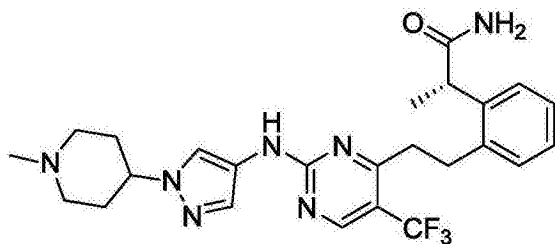
2-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺的对映异构体A(57-1A),其如下式所示:

**57-1A**

和

;

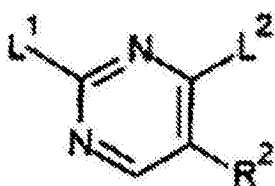
2-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺的对映异构体B(57-2A),其如下式所示:

**57-2A**

,

或其盐。

67. 一种用于制备根据权利要求1至66中任一项所述的化合物或其盐的方法, 其包括使式F1化合物

**F1**

与式A-NH₂的化合物反应以置换所述基团L¹并且与式HC≡R³的化合物反应以置换所述基团L²;或

与式HC≡R³的化合物反应以置换所述基团L²并且与式A-NH₂的化合物反应以置换所述基团L¹,

其中R²、A和R³如权利要求1中的式(I)中所定义并且L¹和L²为离去基团。

68. 一种药剂,其包含根据权利要求1至66中任一项所述的化合物或其盐。

69. 一种组合物,其包含根据权利要求1至66中任一项所述的化合物或其盐。

70. 根据权利要求1至66中任一项所述的化合物或其盐,根据权利要求68所述的药剂或根据权利要求68所述的组合物,其用于治疗方法中。

71. 根据权利要求1至66中任一项所述的化合物或其盐,根据权利要求68所述的药剂或根据权利要求69所述的组合物在制备用于治疗通过抑制VEGFR3来改善的疾病的药品中的用途。

72. 根据权利要求1至66中任一项所述的化合物或其盐,根据权利要求68所述的药剂或根据权利要求69所述的组合物在制备用于治疗癌症的药品中的用途。

73. 根据权利要求1至66中任一项所述的化合物或其盐, 根据权利要求68所述的药剂或根据权利要求69所述的组合物, 其用于通过抑制VEGFR3来改善的疾病的治疗方法中。

74. 根据权利要求1至66中任一项所述的化合物或其盐, 根据权利要求68所述的药剂或根据权利要求69所述的组合物, 其用于治疗癌症的方法中。

75. 根据权利要求1至66中任一项所述的化合物或其盐, 根据权利要求68所述的药剂或根据权利要求69所述的组合物, 其用于人或动物身体的治疗方法中。

76. 根据权利要求1至66中任一项所述的化合物或其盐, 根据权利要求68所述的药剂或根据权利要求69所述的组合物在制备用于体外或体内抑制VEGFR3的药品中的用途。

77. 根据权利要求72所述的用途, 其中所述癌症选自黑素瘤、乳腺癌和头颈癌。

78. 根据权利要求74所述的化合物或其盐, 其中所述癌症选自黑素瘤、乳腺癌和头颈癌。

79. 根据权利要求68所述的药剂或根据权利要求69所述的组合物, 其还包含抗肿瘤剂。

VEGFR3抑制剂

[0001] 本发明涉及抑制血管内皮生长因子受体3(VEGFR3)(又称为Fms相关酪氨酸激酶4(FLT4))的2,4,5-取代嘧啶、其制备方法以及含有所述化合物的药剂或组合物。本发明还涉及一种使用所述化合物来治疗增殖性疾病(如癌症)以及治疗通过控制和/或抑制淋巴管发生来改善的疾病的方法。

[0002] 背景

[0003] 在21世纪,癌症仍然是死亡的主要原因。因此,目前将相当大的药物研究和开发努力放在发现可为癌症患者提供寿命延长或治愈选择的治疗剂上。

[0004] 虽然存在许多不同种类的癌症,每种癌症表现出不同组的遗传和生长特性,但许多实体癌类型的共同点是能够转移。肿瘤局限于身体的一个区域并且可通过手术介入和/或放射疗法来控制,直到发生转移。然而,转移导致癌细胞扩散至身体的不同部分并且虽然手术介入可去除原发性肿瘤病变,但所有转移性病变的去除极难控制。

[0005] 肿瘤转移为多阶段过程,其涉及分解细胞外基质、浸润局部组织实质、内渗到局部血管(regional blood vessel)和淋巴管中、在循环中存活并且最后在次生组织部位中外渗、存活和生长(Front.Biosci.(Elite编著).2012;4:1888-1897)。

[0006] 可通过血管或淋巴管发生转移。在若干方面,淋巴管不同于血管。大集合淋巴管在其壁中含有血管平滑肌细胞以及瓣膜,所述瓣膜防止淋巴液回流。然而,不像典型的毛细血管,毛细淋巴管缺乏周皮细胞和连续基膜并且含有大的内皮间瓣膜样开口(J.Theor.Med.2003;5:59-66)。由于其更大的渗透性,毛细淋巴管比毛细血管在允许肿瘤细胞穿过上更有效。实验证据表明正在生长的肿瘤病变内的淋巴管发生(新淋巴管的形成)促进通过淋巴管的转移。淋巴管发生的控制为预防淋巴结转移呈现具有吸引力的治疗策略(J.Clin.Onc.2007;25:4298-4307)。

[0007] 淋巴系统由毛细管和由内皮细胞连续排列的较大的集合管构成,其使外渗的流体和大分子从胞间隙返回至血液循环。通过淋巴管转移至区域淋巴结是许多癌症类型共同的肿瘤进展过程。淋巴结累及程度为许多类型癌症分期的主要决定因素并且为用作受影响的淋巴结的手术介入和放射治疗介入的基础的重要预后因素。

[0008] 通过生长因子VEGFC或VEGFD结合至其膜受体VEGFR3的分子信号传导已显示在淋巴管发生过程中起到核心作用(Brit.J.Cancer 2006;94:1355-1360)。VEGFR3受体的刺激通过磷酸化其细胞内区域发生并且触发驱动淋巴内皮细胞增殖、迁移和分化从而导致淋巴管形成的下游信号传导级联(Exp.Cell Res.2006;312:575-583)。VEGFC或VEGFD的表达增加已显示促进肿瘤相关的淋巴管发生,从而使淋巴介导的向区域淋巴结的转移成为可能。已针对若干不同肿瘤类型报道了这些观察,包括结肠直肠癌(Oncol.Rep.2009;22:1093-1100)、肺癌(Ann.Oncol.2010;21:223-231)、胃癌(Surgery 2009;146:896-905)、肾癌(Oncol.Rep.2008;20:721-725)、前列腺癌(Clin.Cancer Res.2004;10:5137-5144)以及卵巢癌(Cancer 2004;101:1364-1374)。在啮齿动物中的若干肿瘤实验模型中,阻断VEGFC、VEGFD/VEGFR3介导的信号传导已显示抑制淋巴管发生并且遏制淋巴结转移(Ann.N.Y.Acad.Sci.2008;113:,225-234;Int.J.Cancer 2009;125:2747-2756)。

[0009] VEGFR3为在胚胎发生过程中广泛表达于内皮细胞中的跨膜酪氨酸激酶受体(Biochem.J.2011;437:169-183)。在发育后期,VEGFR3表达变得局限于发育淋巴管。在成人中,VEGFR3表达主要局限于淋巴内皮和CD34+造血细胞的子集。另外,某些内分泌器官中的有孔毛细血管和静脉以及单核细胞、巨噬细胞和一些树突细胞(DC)在成人中继续表达VEGFR3。小鼠胚胎中VEGFR3基因的破坏导致血管网络形成失败并且在胚胎第9.5天之后死亡(Biochem.J.2011;437:169-183)。这项观察表明VEGFR3在胚胎脉管系统的发育中起到关键作用。在癌症中,VEGFR3在转移性淋巴结和淋巴管瘤中的淋巴窦中过表达。此外,在许多情况下,癌细胞自身表达VEGFR3。表达VEGFR3的癌细胞已显示出其增殖依赖于VEGFR3/VEGFC信号传导(Eur.J.Canc.2011;47:2353-2363)。

[0010] 基于上文,显而易见,VEGFR3信号传导的抑制具有作为用于哺乳动物受试者的治疗策略的强烈可能,所述哺乳动物受试者已被诊断患有特征在于表达这个受体的内皮细胞的增殖的疾病。在癌症的情况下,靶向VEGFR3可能通过遏制淋巴转移和遏制表达VEGFR3的癌细胞的生长而产生治疗益处。

[0011] 有趣的是,并且从VEGFR3轴线内的靶选择观点来看可能重要的是,在其中VEGFC和VEGFD基因纯合缺失的小鼠中,血液脉管系统正常发育,不像VEGFR3纯合敲除小鼠的胚胎心血管表型:即,这两个配体的缺失与受体的缺失不相同(Mol.Cell.Biol.2008;28:4843-4850)。这些数据提高了以下可能性:存在VEGFR3的另一个配体或VEGFR3可能通过不依赖于其配体VEGFC和VEGFD的尚且未知的方式起作用。上文表明与单独靶向VEGFC或VEGFD相比,靶向VEGFR3对阻断VEGFC/D-VEGFR3信号传导更有利。

[0012] 虽然存在许多涉及具有各种水平的VEGFR3活性和选择性的酪氨酸激酶抑制剂的已报道的研究(Nat.Rev.Drug Discov.2006;5:835-844;Mol.Cancer Ther.2007;6:2012-2021;Cancer Res.2009;69:8009-8016;Mol.Cancer Ther.2012;11:1637-1649),但这些研究在其它酪氨酸激酶上具有一些至少部分由抑制导致的限制。

[0013] 尽管如此,总体来说这些研究加强了以下结论:VEGFR3的抑制可遏制或减少淋巴管发生和/或淋巴引起的转移。

[0014] 因此,选择性抑制VEGFR3的化合物将有利于治疗增殖性疾病,如癌症。

[0015] 如上所述,VEGFR3在淋巴管发生的控制上起到重要作用。因此,VEGFR3的抑制剂可用于治疗其中淋巴管发生的控制/抑制具有治疗益处的除癌症以外的疾病。淋巴系统在慢性炎症性疾病和移植排斥中起主要作用。通过遏制VEGFR3功能来抑制淋巴管发生可在这些病状中提供可行的治疗策略。

[0016] 例如,临床前研究已表明,VEGFR3在角膜和眼部表面中的表达在角膜新血管形成过程中调节并且VEGFR3介导角膜树突细胞至淋巴结的迁移和对角膜移植的免疫性的诱导。其中在发炎和高度血管化的宿主床上进行移植的高危角膜移植具有非常低的成功率,其中排斥率高达90%(J.Leukoc Biol.2003;74:172-178)。在临床前模型中,用VEGFR3抗体治疗导致角膜移植排斥的显著遏制(Nat.Med.2004;10:813-815)。

[0017] 在眼睛的脉络膜层中产生新血管的脉络膜新血管形成(CNV)导致慢性炎症,所述慢性炎症涉及年龄相关黄斑变性(AMD)的发病机理并且由包括血管内皮生长因子(VEGF)家族成员VEGFA和VEGFC的非控制表达的因素驱动(J.Cell.Physiol.2012;227(1):116-26)。已开发了靶向VEGFA的用于AMD的治疗剂,例如抗VEGFA抗体兰尼单抗(ranibizumab)和贝伐

单抗(bevacizumab)以及抗VEGF适体哌加他尼,但迄今为止还没有治疗剂被临床评价为通过调节VEGFC及其同源受体VEGFR3来介导作用。

[0018] 因此,抑制VEGFR3的化合物可有用于预防和/或治疗眼睛疾病,例如角膜移植排斥和年龄相关黄斑变性。

[0019] 此外,有越来越多的证据表明淋巴管对皮肤的慢性炎症具有积极作用。淋巴内皮细胞增殖和淋巴增生已在小鼠的慢性皮肤炎症中有所描述并且已针对牛皮癣患者的皮肤病变有所报道(Blood 2004;104:1048-1057)。

[0020] 因此,抑制VEGFR3的化合物可有用于预防和/或治疗皮肤炎症,如患有牛皮癣的患者的皮肤病变。

[0021] 还发现淋巴管发生与肾移植排斥相关。产生VEGFC的巨噬细胞诱导新淋巴管的形成,所述新淋巴管形成诱导和支持在肾移植植物中维持同种异体免疫应答(Nat.Med.2006;12:230-234)。

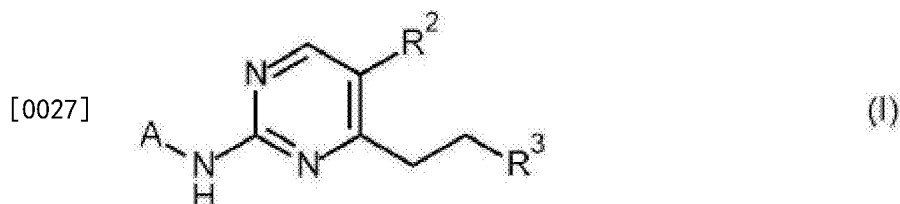
[0022] 因此,抑制VEGFR3的化合物可有用于预防和/或治疗肾移植中的排斥。

[0023] 共同未决申请W02012/110773公开了抑制FAK和VEGFR3的化合物。

[0024] 概述

[0025] 本发明人发现了有效作为VEGFR3抑制剂的特定种类的化合物。这些化合物可对VEGFR3表现出比对如FAK和/或VEGFR2的激酶更高的选择性。

[0026] 在第一方面,本发明提供以下式(I)化合物、其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药:



[0028] 其中:

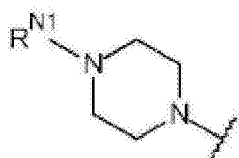
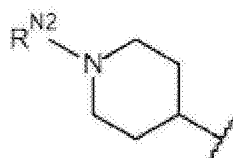
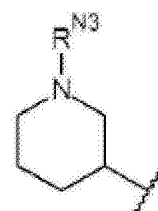
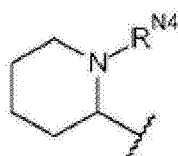
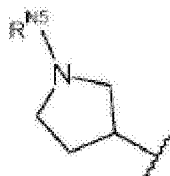
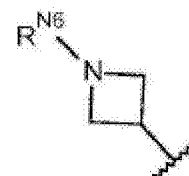
[0029] A选自任选取代的苯基和通过芳环碳原子连接至NH基团的任选取代的5-10元杂芳基,其中杂芳基环系统含有选自N、O和S的1至4个杂原子;并且

[0030] 当A为任选取代的苯基时,A可带有不在NH基团的 α 位的取代基 R^{1A} 并且可任选地进一步带有不在NH基团的 α 位的一个或两个取代基 R^{1B} ,其中 R^{1A} 选自:

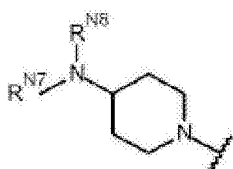
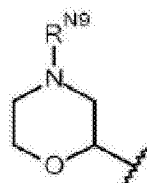
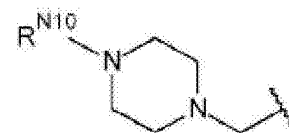
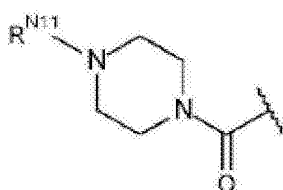
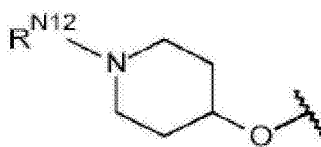
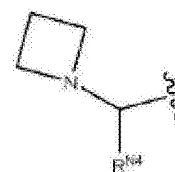
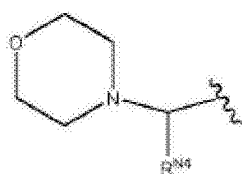
[0031] (i) $CH(R^{C1})NZ^1Z^3$,其中 R^{C1} 选自H、 C_{1-2} 烷基, Z^1 选自H、任选被OH取代的 C_{1-3} 烷基、 $C(=O)OC_{1-4}$ 烷基和 $C(=O)Me$,并且 Z^3 为H,或 Z^1 和 Z^3 与其所连接的N一起形成含有至少一个N和任选地一个O的4-6元杂环;

[0032] (ii) $XNHZ^2$,其中X选自 CMe_2 、亚环丙基、亚环丁基、亚环戊基和氧杂环丁亚基并且 Z^2 选自H、任选被OH取代的 C_{1-3} 烷基、 $C(=O)OC_{1-3}$ 烷基和 $C(=O)Me$;

[0033] (iii)选自 R^{1A1} 至 R^{1A13} 的基团:

(R^{1A1})(R^{1A2})(R^{1A3})(R^{1A4})(R^{1A5})(R^{1A6})

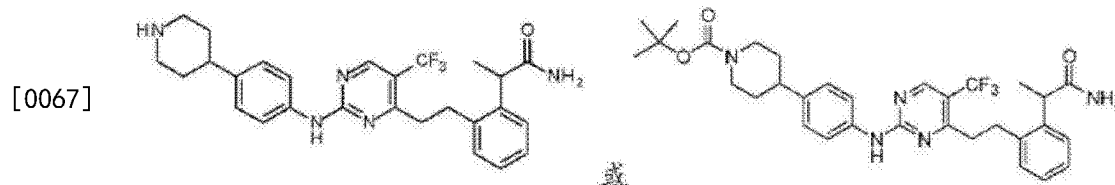
[0034]

(R^{1A7})(R^{1A8})(R^{1A9})(R^{1A10})(R^{1A11})(R^{1A12})(R^{1A13})

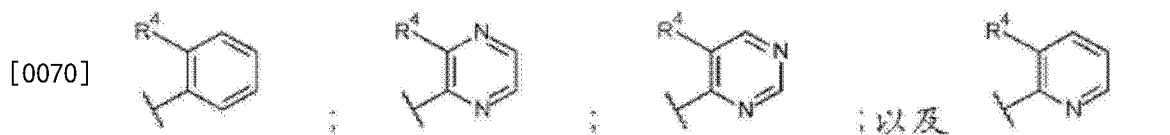
[0035] 其中:

[0036] R^{N1}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;[0037] R^{N2}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;[0038] R^{N3}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;[0039] R^{N4}选自H和CH₃;[0040] R^{N5}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;[0041] R^{N6}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me;

- [0042] R^{N7} 和 R^{N8} 独立地选自H和 CH_3 ;
- [0043] R^{N9} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$;
- [0044] R^{N10} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$;
- [0045] R^{N11} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$;并且
- [0046] R^{N12} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$ 。
- [0047] 并且其中每个 R^{1B} 独立地选自:
- [0048] (i) C_{1-3} 烷基;
- [0049] (ii) CF_3 ;
- [0050] (iii)F;
- [0051] (iv)Cl;
- [0052] (v) $O-(C_{1-3}$ 烷基);以及
- [0053] (vi)CN;
- [0054] 当A为任选取代的5-10元杂芳基时,A可带有不在NH基团的 α 位的单个取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 如以上所定义,并且可任选地进一步带有一个、两个或三个取代基 R^{1C} ,其中各 R^{1C} 独立地选自:
- [0055] (i)任选被一至三个独立地选自F、OH和 $O-(C_{1-3}$ 烷基)的取代基取代的 C_{1-3} 烷基;
- [0056] (ii)F;
- [0057] (iii)Cl;
- [0058] (iv) $O-(C_{1-3}$ 烷基);
- [0059] (v)CN;
- [0060] (vi)=O;以及
- [0061] (vii) $C(=O)(C_{1-3}$ 烷基);
- [0062] R^2 选自H、卤基、 C_{1-4} 烷基、 CF_3 、 CF_2H 、CN和 $O-(C_{1-3}$ 烷基);
- [0063] R^3 选自取代的苯基和取代的6元杂芳基,其中杂芳基环系统含有1或2个N杂原子,其中
- [0064] R^3 带有在 $-C_2H_4-$ 基团的 α 或 β 位的取代基 R^4 ,并且可另外带有选自F、甲基和 CF_3 的另外的取代基;并且
- [0065] R^4 为 $-Y-C(O)N(R^{N13})Z^4$,其中Y选自 $-CHCH_3-$ 、 $-CH(CH_2CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 C_{3-5} 亚环烷基; R^{N13} 选自H和 CH_3 ;并且 Z^4 选自H、 CH_3 和 OCH_3 。
- [0066] 在一些实施方案中,本发明的第一方面的化合物具有如上所定义的式(I),条件是化合物不为:

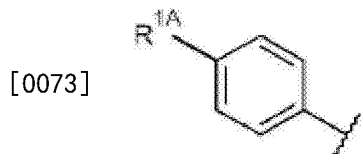


- [0068] 在一些实施方案中,第一方面的化合物具有如上所定义的式(I),条件是:
- [0069] 若 R^3 选自:

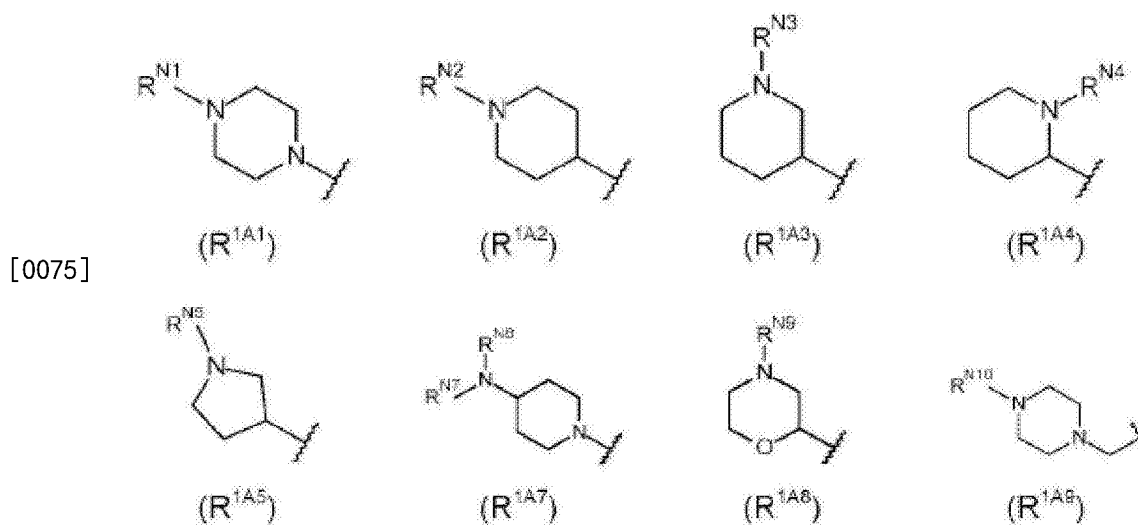


[0071] R^4 为 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{N}13})\text{Z}^4$;

[0072] A为以下任一项:



[0074] 其中 R^{1A} 选自



[0076] 并且 $R^{\text{N}1}$ 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$;

[0077] $R^{\text{N}2}$ 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$;

[0078] $R^{\text{N}3}$ 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$;

[0079] $R^{\text{N}4}$ 选自H和 CH_3 ;

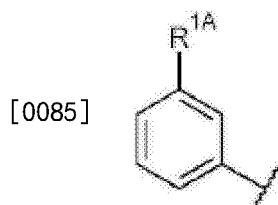
[0080] $R^{\text{N}5}$ 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$;

[0081] $R^{\text{N}7}$ 和 $R^{\text{N}8}$ 独立地选自H和 CH_3 ;

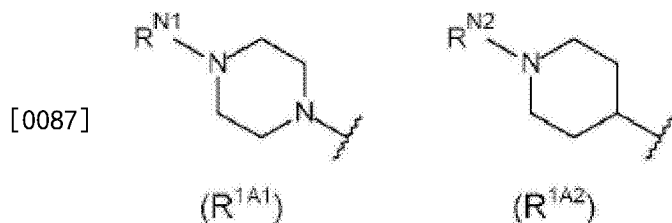
[0082] $R^{\text{N}9}$ 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$;

[0083] $R^{\text{N}10}$ 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$;

[0084] 或



[0086] 其中 R^{1A} 为



[0088] 并且R^{N1}选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me；

[0089] R^{N2}选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me；

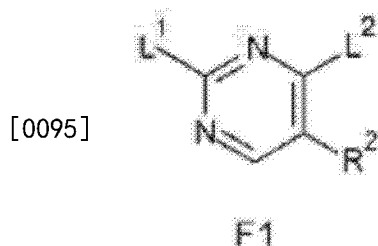
[0090] 则R²不选自CF₃、卤基、CF₂H和CN。

[0091] 在一些实施方案中，第一方面的化合物具有如上所定义的式(I)，其中当A为苯基时，Y选自-CH(CH₂CH₃)-、

[0092] -C(CH₃)₂-和C₃₋₅亚环烷基。

[0093] 本发明的第二方面提供一种用于制备第一方面的式(I)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药的方法，其包括：

[0094] 使式F1化合物



[0096] 与式A-NH₂的化合物反应以置换基团L¹并且与式HC≡R³的化合物反应以置换基团L²，或

[0097] 与式HC≡R³的化合物反应以置换基团L²并且与式A-NH₂的化合物反应以置换基团L¹，

[0098] 其中R²、A和R³如以上式(I)中所定义并且L¹和L²为离去基团。

[0099] 本发明的第三方面提供一种包含第一方面的式(I)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药的药剂。

[0100] 还提供第一方面的式(I)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药作为药剂的用途。

[0101] 还提供用作药剂的第一方面的式(I)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药。

[0102] 药剂可为抗癌剂、淋巴管生成抑制剂、抗转移剂或VEGFR3抑制剂。

[0103] 本发明的第四方面提供一种包含第一方面的化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药以及药学上可接受的载体或稀释剂的组合物。

[0104] 本发明的第五方面提供用于在治疗方法中使用的第一方面的化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药、第三方面的药剂或第四方面的组合物。

[0105] 本发明的第六方面提供第一方面的化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药、第三方面的药剂或第四方面的组合物在制备用于治疗通过抑制VEGFR3来改善的疾病或病状的药品中的用途。本发明的第六方面还提供用于在通过抑制VEGFR3来改善的疾病或病状的治疗方法中使用的第一方面的化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前

药、第三方面的药剂或第四方面的组合物。

[0106] 本发明的第七方面提供第一方面的化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药、第三方面的药剂或第四方面的组合物在制备用于治疗癌症的药品中的用途。本发明的第七方面还提供用于在治疗癌症的方法中使用的第一方面的化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药、第三方面的药剂或第四方面的组合物。

[0107] 本发明的另一个方面提供优选地处于药剂或组合物形式的用于在治疗人或动物身体的方法中使用的第一方面的化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药、第三方面的药剂或第四方面的组合物。

[0108] 本发明的另一个方面提供一种体外或体内抑制VEGFR3的方法,所述方法包括使细胞或细胞裂解物与有效量的第一方面的化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药、第三方面的药剂或第四方面的组合物接触。

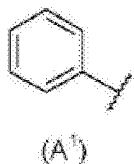
[0109] 本发明的另一个方面提供一种抗癌治疗,所述抗癌治疗包含第一方面的化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药、第三方面的药剂或第四方面的组合物以及抗肿瘤剂。

[0110] 基团A和 R^1 至 R^4 中的每一个将在以下更详细地讨论。

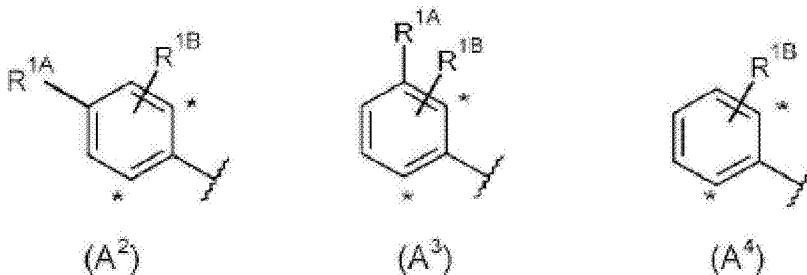
[0111] A

[0112] A选自任选取代的苯基和通过芳环碳原子连接至NH基团的任选取代的5-10元杂芳基,其中杂芳基环系统含有1至4个选自N、O和S的杂原子。

[0113] 如果A为未取代的苯基,那么所述A具有以下结构:



[0115] 如果A为取代的苯基,那么 R^{1A} 基团可为间位或对位,并且因此A可具有以下结构:



[0117] 其中 R^{1B} 基团不可为化合物其余部分连接点的 α 位(即,所述 R^{1B} 不可在标星号的位置)。

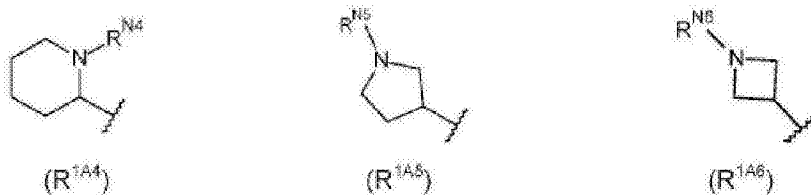
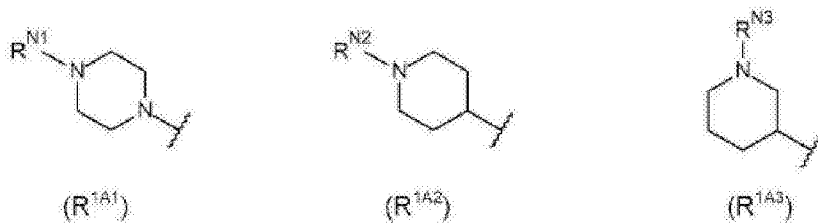
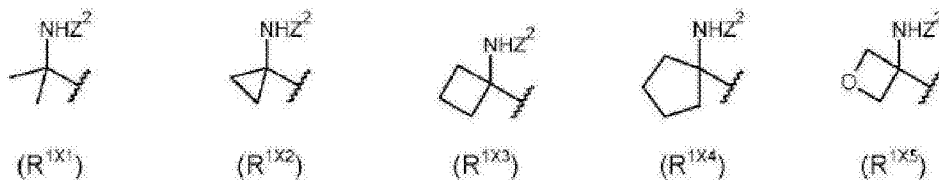
[0118] 当A为通过芳环碳原子连接至NH基团的5-10元杂芳基时,其中杂芳基环系统含有选自N、O和S的1至4个杂原子,所述A为通过从杂芳族化合物(即具有至少一个杂芳环的化合物)的芳族环原子上去除氢原子而获得的单价部分,所述部分具有5至10个环原子。优选地,每个环具有5至7个环原子。

[0119] 单环杂芳基的实例包括但不限于衍生自以下的那些:

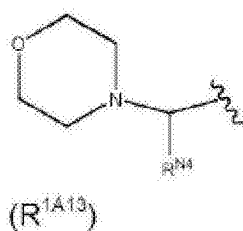
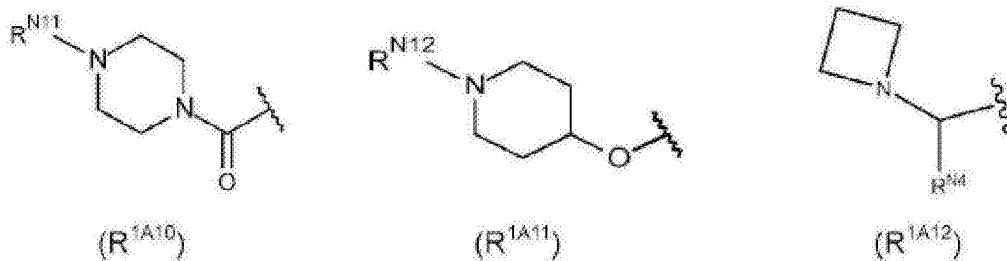
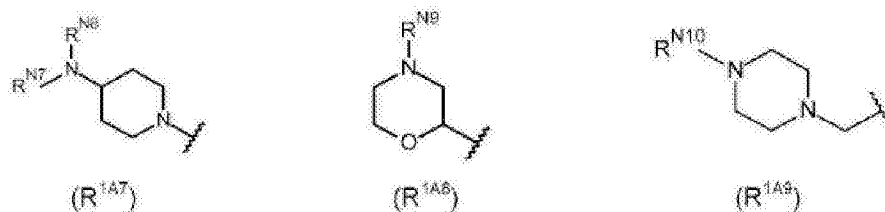
[0120] N₁:吡咯(唑)(5元)、吡啶(吡嗪)(6元);

[0121] O₁:呋喃(氧杂环戊二烯)(5元);

- [0122] S₁:噻吩(thiole)(5元);
- [0123] N₁O₁:噁唑(5元)、异噁唑(5元)、异噻(6元);
- [0124] N₂O₁:噁二唑(呋咱)(5元);
- [0125] N₃O₁:噁三唑(5元);
- [0126] N₁S₁:噻唑(5元)、异噻唑(5元);
- [0127] N₂:咪唑(1,3-二唑)(5元)、吡唑(1,2-二唑)(5元)、哒嗪(1,2-二嗪)(6元)、嘧啶(1,3-二嗪)(6元)(例如,胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶)、吡嗪(1,4-二嗪)(6元);
- [0128] N₃:三唑(5元)、三嗪(6元);以及
- [0129] N₄:四唑(5元)。
- [0130] 包含稠环的杂芳基的实例包括但不限于衍生自以下的那些:
- [0131] 9元(具有2个稠环),衍生自苯并呋喃(O₁)、异苯并呋喃(O₁)、吲哚(N₁)、异吲哚(N₁)、吲嗪(N₁)、二氢吲哚(N₁)、异二氢吲哚(N₁)、嘌呤(N₄)(例如,腺嘌呤、鸟嘌呤)、苯并咪唑(N₂)、吲唑(N₂)、苯并噁唑(N₁O₁)、苯并异噁唑(N₁O₁)、苯并二氧杂环戊烯(O₂)、苯并呋咱(N₂O₁)、苯并三唑(N₃)、苯并噻吩(S₁)、苯并噻唑(N₁S₁)、苯并噻二唑(N₂S);
- [0132] 10元(具有2个稠环),衍生自色烯(O₁)、异色烯(O₁)、色满(O₁)、异色满(O₁)、苯并二烷(O₂)、喹啉(N₁)、异喹啉(N₁)、喹嗪(N₁)、苯并噁嗪(N₁O₁)、苯并二嗪(N₂)、吡啶并吡啶(N₂)、喹喔啉(N₂)、喹唑啉(N₂)、噌啉(N₂)、酞嗪(N₂)、萘啶(N₂)、蝶啶(N₄)。
- [0133] 因此,当A为5至10元杂芳基时,所述A可选自以上列出的任何基团。
- [0134] 如果A为6元杂芳基,那么R^{1A}基团可为NH基团的间位或对位。如果A为5元杂芳基或7至10元杂芳基,那么R^{1A}基团不为-NH-基团的α位。因此,当A为5元杂芳基时,R^{1A}基团为-NH-基团的β位。
- [0135] R^{1A}
- [0136] R^{1A}可具有以下结构之一:
- [0137] CH₂NZ¹Z³;
- [0138] CH(CH₃)NZ¹Z³;
- [0139] CH(C₂H₅)NZ¹Z³;



[0140]



[0141] 其中：

[0142] R^{N1}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me；[0143] R^{N2}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me；[0144] R^{N3}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me；[0145] R^{N4}选自H和CH₃；[0146] R^{N5}选自H、C₁₋₄烷基、C₃₋₄环烷基和C(=O)Me；

[0147] R^{N6} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$;

[0148] R^{N7} 和 R^{N8} 独立地选自H和 CH_3 ;

[0149] R^{N9} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$;

[0150] R^{N10} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$;

[0151] R^{N11} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$;并且

[0152] R^{N12} 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-4} 环烷基和 $C(=O)Me$ 。

[0153] R^{N1} 、 R^{N2} 、 R^{N3} 、 R^{N5} 、 R^{N6} 、 R^{N9} 、 R^{N10} 、 R^{N11} 和 R^{N12} 中的每一个独立地选自H、 C_{1-4} 烷基(即甲基、乙基、丙-1-基、丙-2-基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基)、 C_{3-4} 环烷基(即环丙基、甲基环丙基、环丁基)和 $C(=O)Me$ 。 R^{N4} 、 R^{N7} 和 R^{N8} 中的每一个独立地选自H或甲基。

[0154] Z^1 独立地选自H、被OH任选取代的 C_{1-3} 烷基(即甲基、乙基、丙-1-基和丙-2-基)、 $C(=O)OC_{1-4}$ 烷基(即 $C(=O)O$ -甲基、 $C(=O)O$ -乙基、 $C(=O)O$ -丙-1-基、 $C(=O)O$ -丙-2-基)、 $C(=O)O$ -正丁基、 $C(=O)O$ -异丁基、 $C(=O)O$ -仲丁基、 $C(=O)O$ -叔丁基)和 $C(=O)Me$ 。

[0155] Z^2 独立地选自H、任选被OH取代的 C_{1-3} 烷基(即甲基、乙基、丙-1-基和丙-2-基)、 $C(=O)OC_{1-3}$ 烷基(即 $C(=O)O$ -甲基、 $C(=O)O$ -乙基、 $C(=O)O$ -丙-1-基和 $C(=O)O$ -丙-2-基)和 $C(=O)Me$ 。

[0156] Z^3 为H,或 Z^1 和 Z^3 与N一起形成含有至少一个N和任选地一个O的4-6元杂环。含有至少一个N和任选地一个O的合适的4-6元杂环的实例包括氮杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、和吗啉基。

[0157] R^{1B}

[0158] 各 R^{1B} 基团可为 C_{1-3} 烷基(即甲基、乙基、丙-1-基和丙-2-基)、 CF_3 、F、Cl、 $O-C_{1-3}$ 烷基(即甲氧基、乙氧基、丙-1-氧基和丙-2-氧基)或CN。这些基团可为A上的任何可用环位置,除了为NH基团的 α 位的位置。可存在最多2个 R^{1B} 基团(即1或2个)。

[0159] R^{1C}

[0160] 各 R^{1C} 基团可为任选被一至三个选自F、OH、Cl、 $O-C_{1-3}$ 烷基(即甲氧基、乙氧基、丙-1-氧基和丙-2-氧基)、CN、=O或 $C(=O)Me$ 的取代基取代的 C_{1-3} 烷基(即甲基、乙基、丙-1-基和丙-2-基)。合适的任选取代的 C_{1-3} 烷基的实例包括 $-CFH_2$ 、 $-CF_2H$ 、 $-CF_3$ 、 $-CH_2CFH_2$ 、 $-CH_2CF_2H$ 、 $-CH_2CF_3$ 、 $-CFHCH_3$ 、 $-CF_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CFH_2$ 、 $-CH_2CH_2CF_2H$ 、 $-CH_2CH_2CF_3$ 、 $-CH_2CFHCH_3$ 、 $-CH_2CF_2CH_3$ 、 $-CFHCH_2CH_3$ 、 $-CF_2CH_2CH_3$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2OCH_3$ 、 $-CH(OH)CH_3$ 、 $CH(OCH_3)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2OCH_3$ 、 $-CH(OH)CH_2CH_3$ 、 $CH(OCH_3)CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH(OH)CH_3$ 、 $-CH_2CH(OCH_3)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_2OH$ 和 $-CH_2CH_2CH_2OCH_3$ 。这些基团可在A上的任何可用环位置上被取代。取决于A的性质并且具体地取决于环原子和环杂原子的数目以及是否存在 R^{1A} ,可存在最多3个 R^{1C} 基团(即1、2或3个)。

[0161] R^2

[0162] R^2 选自H、卤基(即F、Cl、Br、I)、 C_{1-4} 烷基(即甲基、乙基、丙-1-基和丙-2-基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基)、 CF_3 、 CF_2H 、CN和甲氧基。

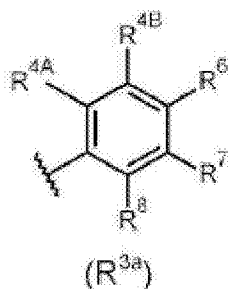
[0163] 在一些实施方案中,卤基为F或Cl。

[0164] R^3

[0165] R^3 选自取代的苯基和取代的6元杂芳基,其中杂芳基环系统含有1或2个N杂原子。

[0166] 当 R^3 为取代的苯基时,所述 R^3 具有以下结构:

[0167]

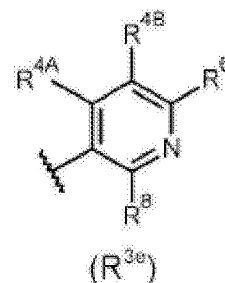
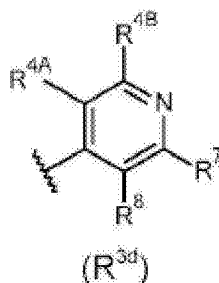
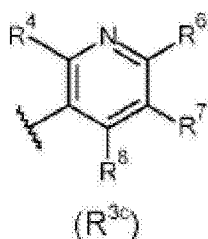
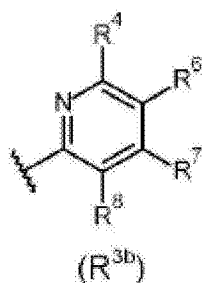


[0168] 其中R⁶、R⁷和R⁸独立地选自H、F、甲基和CF₃。R^{4A}和R^{4B}中的一个为R⁴，并且另一个选自H、F、甲基和CF₃。

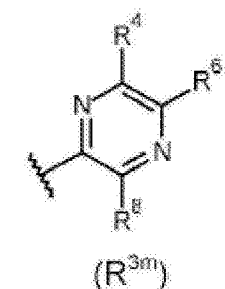
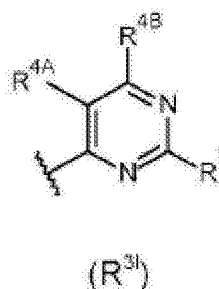
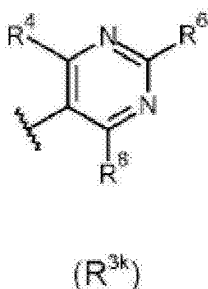
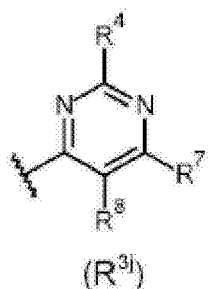
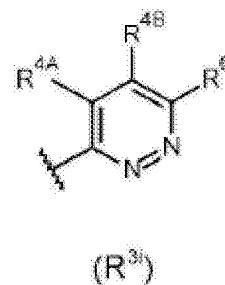
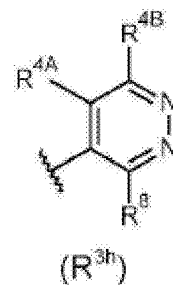
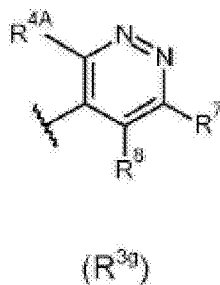
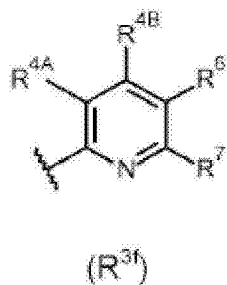
[0169] 当R³为取代的6元杂芳基时，其中杂芳基环系统含有1或2个N杂原子，所述R³可选自以下基团中的任一个：

[0170] 吡啶基；哒嗪基(1,2-二嗪基)；嘧啶基(1,3-二嗪基)和吡嗪基(1,4-二嗪基)。

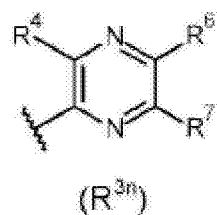
[0171] 当R³为取代的6元杂芳基时，所述R³可具有以下结构之一：



[0172]



[0173]



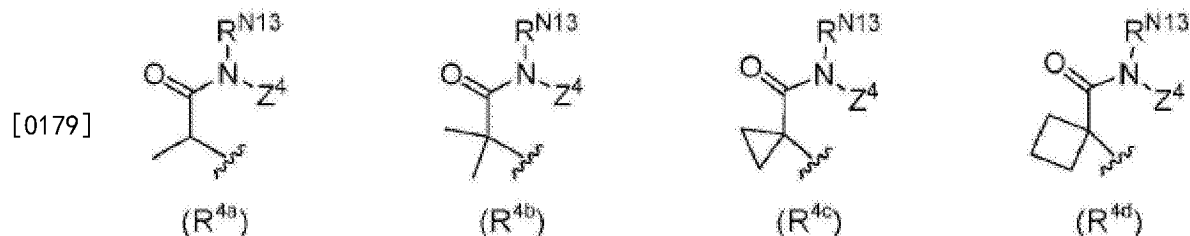
[0174] 其中R⁶、R⁷和R⁸(如果存在)独立地选自H、F、甲基和CF₃。R^{4A}和R^{4B}(如果存在)中的一个为R⁴，并且另一个选自H、F、甲基和CF₃。

[0175] 当 R^4 为 $-C_2H_4-$ 基团的 α 位时,它还可被描述为是邻位的。当 R^4 为 $-C_2H_4-$ 基团的 β 位时,它还可被描述为是间位的。

[0176] R^3 上的另外任选的取代基独立地选自F、甲基和 CF_3 。这些另外的基团可在 R^3 上的任何可用环位置上,被 R^4 占据的位置除外。取决于 R^3 的性质并且具体地取决于环杂原子的数目,可存在最多4个另外的任选取代基(即1、2、3或4个)。

[0177] R^4

[0178] R^4 选自具有下式的基团:



[0180] R^{N13} 选自H和 CH_3 ,并且 Z^4 选自H、 CH_3 或 OCH_3 。因此, R^4 可具有下式:

[0181] (i)- $Y-C(O)NH_2$;

[0182] (ii)- $Y-C(O)NHMe$;

[0183] (iii)- $Y-C(O)NMe_2$;

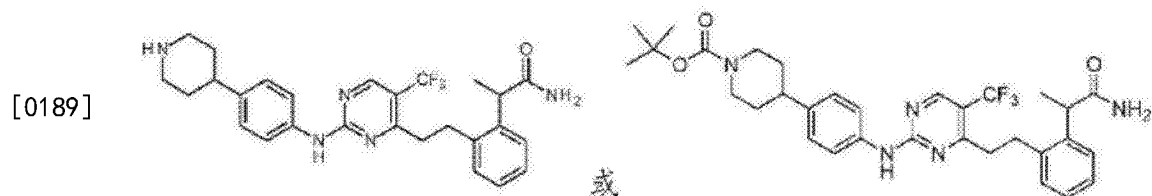
[0184] (iv)- $Y-C(O)N(OMe)H$;以及

[0185] (v)- $Y-C(O)N(OMe)Me$,

[0186] 其中Y选自 $-CHCH_3-$ 、 $-CH(CH_2CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 和 C_{3-5} 亚环烷基。

[0187] 附带条件

[0188] 在一些实施方案中,从本申请中放弃保护W02012/110773的化合物12和155:

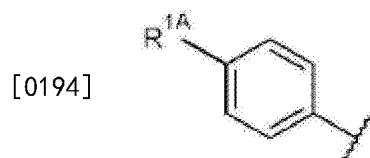


[0190] 在其它实施方案中,本发明的化合物不包括公开于W02012/110773中的那些,所述专利以引用的方式并入本文。具体来说,若 R^3 选自:

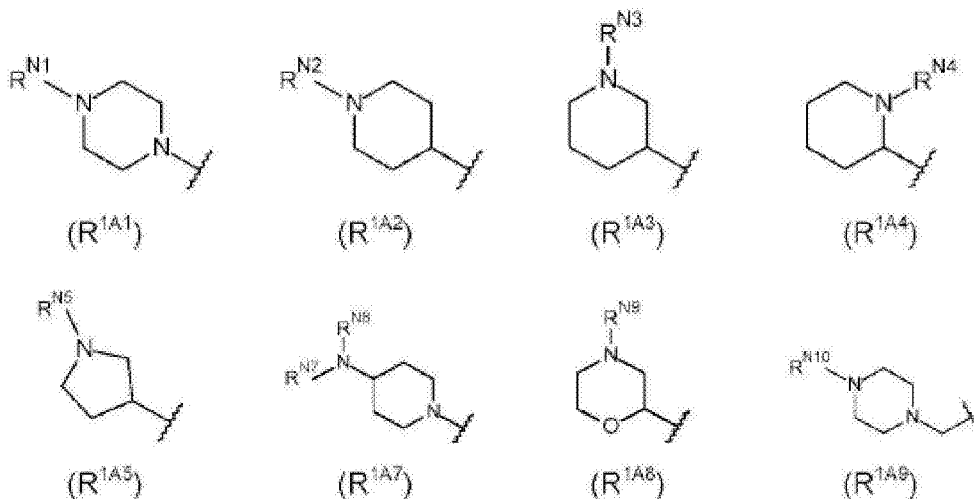


[0192] R^4 为 $-CH(CH_3)C(O)N(R^{N13})Z^4$;

[0193] A为以下任一项:



[0195] 其中 R^{1A} 选自



[0197] 并且R^{N1}选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me;

[0198] R^{N2}选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me;

[0199] R^{N3}选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me;

[0200] R^{N4}选自H和CH₃;

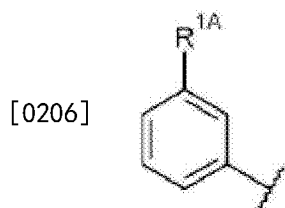
[0201] R^{N5}选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me;

[0202] R^{N7}和R^{N8}独立地选自H和CH₃;

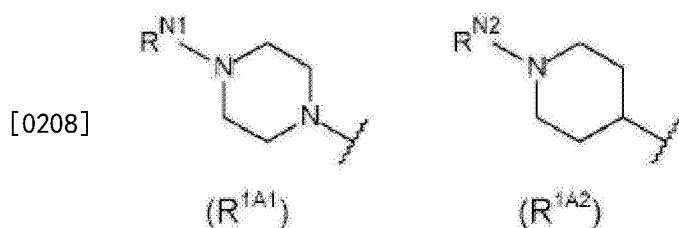
[0203] R^{N9}选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me;

[0204] R^{N10}选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me;

[0205] 或



[0207] 其中R^{1A}为



[0209] 并且R^{N1}选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me;

[0210] R^{N2}选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me;

[0211] 则R²不选自CF₃、卤基、CF₂H和CN。

[0212] 因此,仅当R⁴为-CH(CH₃)C(O)N(R^{N13})Z⁴,即当Y为-CH(CH₃)-时,此附带条件适用。

[0213] 在另一个实施方案中,第一方面的化合物具有式(I),其中当A为苯基时,Y选自-CH(CH₂CH₃)-、

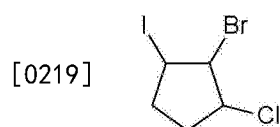
[0214] -C(CH₃)₂-和C₃₋₅亚环烷基。

[0215] 包括其它形式

[0216] 上文包括这些取代基的熟知的离子、盐、溶剂合物和受保护形式。例如,提到羧酸($-\text{COOH}$)还包括其阴离子(羧酸根)形式($-\text{COO}^-$)、盐或溶剂合物以及常规受保护形式。类似地,提到氨基包括氨基的质子化形式($-\text{N}^+\text{HR}^1\text{R}^2$)、盐或溶剂合物(例如,盐酸盐)以及氨基的常规受保护形式。类似地,提到羟基还包括其阴离子形式($-\text{O}^-$)、盐或溶剂合物以及羟基的常规受保护形式。

[0217] α/β

[0218] 在本文中使用时术语 α 和 β 来指示环上的取代基的相对位置。为避免疑惑,用以下结构说明其含义:



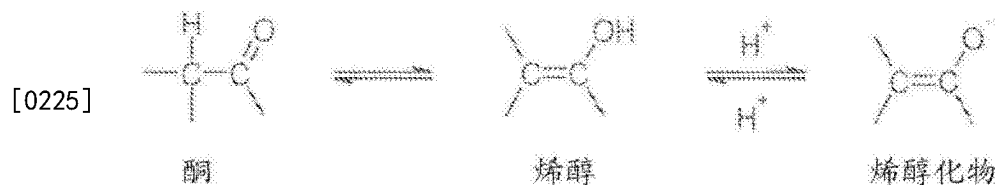
[0220] 其中溴代基为氯代基的 α 位并且碘代基为氯代基的 β 位。

[0221] 异构体、盐、溶剂合物、受保护形式和前药

[0222] 某些化合物可以一种或多种特定的几何、光学、对映异构、非对映异构、差向异构、立体异构、互变异构、构象或端基异构形式存在,包括但不限于顺式和反式;E-形式和Z-形式;c-形式、t-形式和r-形式;内向形式和外向形式;R-形式、S-形式和内消旋形式;D-形式和L-形式;d-形式和l-形式;(+)形式和(-)形式;酮基形式、烯醇形式和烯醇化物形式;顺式形式和反式形式;向斜形式和背斜形式; α -形式和 β -形式;轴向形式和平伏形式;船式、椅式、扭转式、信封式和半椅式以及其组合,在下文中总称为“异构体”(“异构体形式”)。

[0223] 应注意,除了如下对于互变异构体形式所讨论,确切地从如本文所使用的术语“异构体”中排除的是结构(或构成)异构体(即原子之间的连接不同的异构体,而不是仅原子在空间中的位置不同)。例如,提到甲氧基 $-\text{OCH}_3$ 不解释为提到其结构异构体羟甲基 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 。类似地,提到邻-氯苯基不解释为提到其结构异构体间-氯苯基。然而,提到一类结构很可能包括在所述种类内的结构异构体形式(例如, C_{1-7} 烷基包括正丙基和异丙基;丁基包括正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基;甲氧基苯基包括邻-甲氧基苯基、间-甲氧基苯基和对-甲氧基苯基)。

[0224] 以上排除不涉及互变异构体形式,例如酮基形式、烯醇形式和烯醇化物形式,例如像在以下互变异构体对中:酮/烯醇(以下说明)、亚胺/烯胺、酰胺/亚氨基醇、脒/脒、亚硝基/肟、硫酮/烯硫醇、N-亚硝基/羟基偶氮基和硝基/异硝基。



[0226] 注意,确切地包括在术语“异构体”中是具有一个或多个同位素取代的化合物。例如,H可处于任何同位素形式,包括 ^1H 、 ^2H (D)和 ^3H (T);C可处于任何同位素形式,包括 ^{12}C 、 ^{13}C 和 ^{14}C ;O可处于任何同位素形式,包括 ^{16}O 和 ^{18}O 等。

[0227] 除非另外指明,否则提到具体化合物包括所有所述异构体形式,包括(全部或部分)其外消旋混合物和其它混合物。用于制备(例如不对称合成)和分离(例如,分级结晶和色谱手段)所述异构体形式的方法为本领域中已知的或通过以已知的方式调整本文所教导

的方法或已知的方法而容易获得。

[0228] 除非另外指明,否则提到具体化合物还包括例如如下所讨论的其离子、盐、溶剂合物和受保护形式。

[0229] 可方便或可期望制备、纯化和/或处理活性化合物的对应盐,例如药学上可接受的盐。药学上可接受的盐的实例讨论于Berge等J.Pharm.Sci.,66,1-19(1977)中。

[0230] 例如,如果化合物为阴离子或具有可为阴离子的官能团(例如, $-\text{COOH}$ 可为 $-\text{COO}^-$),那么盐可用合适的阳离子形成。合适的无机阳离子的实例包括但不限于碱金属离子如 Na^+ 和 K^+ 、碱土阳离子如 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 以及其它阳离子如 Al^{3+} 。合适的有机阳离子的实例包括但不限于铵离子(即, NH_4^+)和取代的铵离子(例如, NH_3R^+ 、 NH_2R_2^+ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+)。一些合适的取代铵离子的实例为衍生自以下的那些:乙胺、二乙胺、二环己基胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、葡甲胺和氨基丁三醇以及氨基酸如赖氨酸和精氨酸。常见的季铵离子的实例为 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ 。

[0231] 如果化合物为阳离子或具有可为阳离子的官能团(例如, $-\text{NH}_2$ 可为 $-\text{NH}_3^+$),那么盐可用合适的阴离子形成。合适的无机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下无机酸的那些:盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、亚硫酸、硝酸、亚硝酸、磷酸和亚磷酸。合适的有机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下有机酸的那些:乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、硬脂酸、棕榈酸、乳酸、苹果酸、扑酸、酒石酸、柠檬酸、葡萄糖酸、抗坏血酸、马来酸、羟基马来酸、苯乙酸、谷氨酸、天冬氨酸、苯甲酸、肉桂酸、丙酮酸、水杨酸、磺胺酸、2-乙酰氧基苯甲酸、富马酸、苯磺酸、甲苯磺酸、甲磺酸、乙磺酸、乙烷二磺酸、草酸、泛酸、羟基乙磺酸、戊酸、乳糖酸和葡萄糖酸。合适的聚合阴离子的实例包括但不限于衍生自以下聚合酸的那些:单宁酸、羧甲基纤维素。

[0232] 可方便或可期望制备、纯化和/或处理活性化合物的对应溶剂合物。本文在常规意义上使用的术语“溶剂合物”是指溶质(例如活性化合物、活性化合物的盐)和溶剂的复合物。如果溶剂为水,那么溶剂合物可合宜地指水合物,例如一水合物、二水合物、三水合物等。

[0233] 可方便或可期望制备、纯化和/或处理处于化学保护形式的活性化合物。如本文所使用的术语“化学保护形式”涉及其中一个或多个反应性官能团被保护不发生不希望的化学反应即处于受保护或保护基团(又称为被遮蔽或遮蔽基团或被封端或封端基团)的形式化合物。通过保护反应性官能团,可在不影响受保护基团的情况下进行涉及其它未保护的官能团的反应;通常在后续步骤中可在大致上不影响分子的其余部分的情况下去除保护基团。参见,例如Protective Groups in Organic Synthesis(T.Green and P.Wuts,Wiley,1999)。

[0234] 例如,羟基可被保护为醚($-\text{OR}$)或酯($-\text{OC}(=\text{O})\text{R}$),例如,被保护为:叔丁基醚;苯甲基、二苯甲基(二苯基甲基)或三苯甲基(三苯基甲基)醚;三甲基甲硅烷基或叔丁基二甲基甲硅烷基醚;或乙酰基酯($-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{OAc}$)。

[0235] 例如,醛或酮基可分别被保护为缩醛或缩酮,其中羰基($>\text{C}=\text{O}$)通过例如与伯醇的反应转化为二醚($>\text{C}(\text{OR})_2$)。通过在酸的存在下使用大大过量的水水解来容易地使醛或酮基再生。

[0236] 例如,胺基可例如被保护为酰胺或聚氨酯,例如被保护为:甲酰胺($-\text{NHCO}-\text{CH}_3$);苄

氧基酰胺(-NHCO-OCH₂C₆H₅, -NH-Cbz);叔丁氧基酰胺(-NHCO-OC(CH₃)₃, -NH-Boc);2-联苯基-2-丙氧基酰胺(-NHCO-OC(CH₃)₂C₆H₄C₆H₅, -NH-Bpoc)、9-苄基甲氧基酰胺(-NH-Fmoc)、6-硝基苧藜基氧基酰胺(-NH-Nvoc)、2-三甲基甲硅烷基乙氧基酰胺(-NH-Teoc)、2,2,2-三氯乙氧基酰胺(-NH-Troc)、烯丙氧基酰胺(-NH-Alloc)、2-(苄基磺酰基)乙氧基酰胺(-NH-Psec);或在合适的情况下,被保护为N-氧化物(>N⁺O⁻)。

[0237] 例如,羧酸基团可被保护为酯,例如被保护为:C₁₋₇烷基酯(例如甲酯;叔丁酯);C₁₋₇卤代烷基酯(例如,C₁₋₇三卤代烷基酯);三C₁₋₇烷基甲硅烷基-C₁₋₇烷基酯;或C₅₋₂₀芳基-C₁₋₇烷基酯(例如,苯甲酯;硝基苯甲酯);或被保护为酰胺,例如被保护为甲酰胺。

[0238] 例如,硫醇基团可被保护为硫醚(-SR),例如被保护为:苯甲基硫醚;乙酰氨基甲基醚(-S-CH₂NHC(=O)CH₃)。

[0239] 可方便或可期望制备、纯化和/或处理处于前药形式的活性化合物。如本文所使用的术语“前药”涉及当代谢时(例如体内)产生所希望的活性化合物的化合物。通常,前药为无活性的或比活性化合物的活性小,但可提供有利的处理、施用或代谢特性。例如,一些前药为活性化合物的酯(例如,生理学上可接受的代谢不稳定的酯)。在代谢过程中,酯基(-C(=O)OR)被裂解产生活性药物。可通过例如酯化母体化合物中的任何羧酸基团(-C(=O)OH)并在适当时先保护母体化合物中存在的任何其它反应性基团,接着根据需要进行保护来形成所述酯。所述代谢不稳定的酯的实例包括其中R为以下的那些:C₁₋₇烷基(例如-Me、-Et);C₁₋₇氨基烷基(例如氨基乙基;2-(N,N-二乙基氨基)乙基;2-(4-吗啉代)乙基);和酰氧基-C₁₋₇烷基(例如酰氧基甲基;酰氧基乙基;例如新戊酰氧基甲基;乙酰氧基甲基;1-乙酰氧基乙基;1-(1-甲氧基-1-甲基)乙基-羰基氧基乙基;1-(苯甲酰基氧基)乙基;异丙氧基-羰基氧基乙基;1-异丙氧基-羰基氧基乙基;环己基-羰基氧基甲基;1-环己基-羰基氧基乙基;环己基氧基-羰基氧基甲基;1-环己基氧基-羰基氧基乙基;(4-四氢吡喃基氧基)羰基氧基甲基;1-(4-四氢吡喃基氧基)羰基氧基乙基;(4-四氢吡喃基)羰基氧基甲基;以及1-(4-四氢吡喃基)羰基氧基乙基)。

[0240] 另外,一些前药酶促激活以产生活性化合物或当进一步化学反应时产生活性化合物的化合物。例如,前药可为糖衍生物或其它糖苷缀合物,或可为氨基酸酯衍生物。

[0241] 选择性

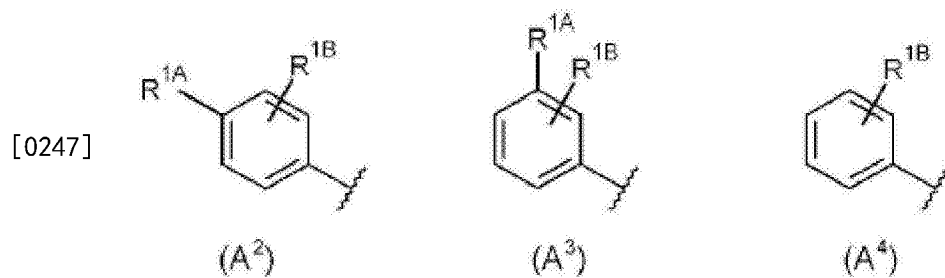
[0242] 可通过细胞测定结果(参见,例如,以下描述的VEGFR3和VEGFR2测定)来表明对VEGFR3的抑制超过对其它激酶如FAK和/或VEGFR2的抑制的化合物的选择性。

[0243] 另外的实施方案

[0244] 以下实施方案和优选方式可在适当时彼此组合。

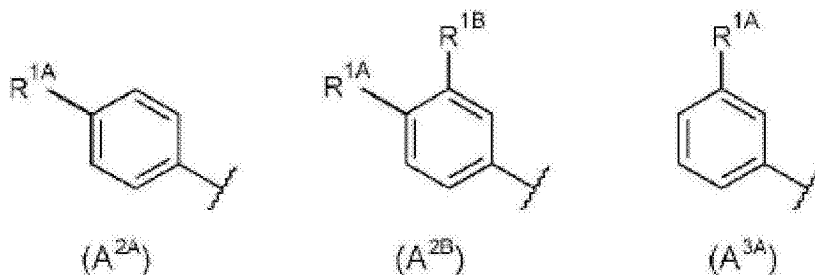
[0245] A

[0246] 在一些实施方案中,A为任选取代的苯基并且可具有以下结构:

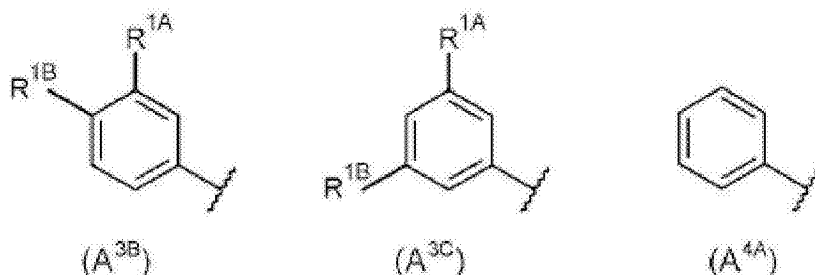


[0248] 其中 R^{1B} 基团不可为化合物其余部分连接点的 α 位。

[0249] 在这些实施方案中(即当A为苯基时),不存在 R^{1B} 取代基或存在单个 R^{1B} 取代基可为优选的。如果存在单个 R^{1B} 取代基,那么所述取代基可为间位或对位,因此更优选的A基团包括:

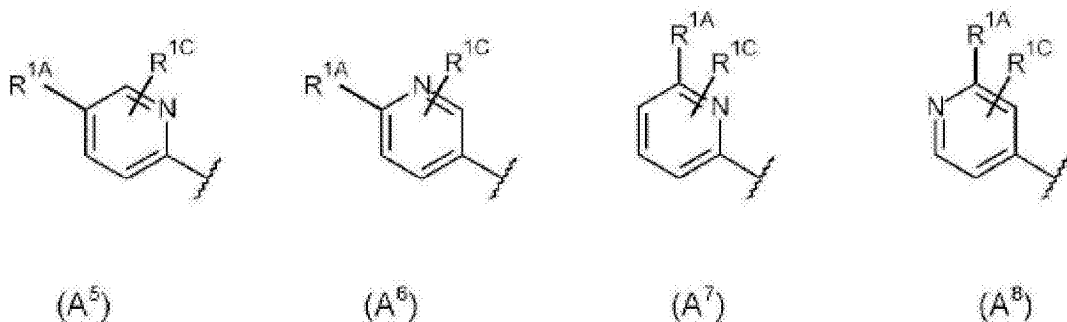


[0250]

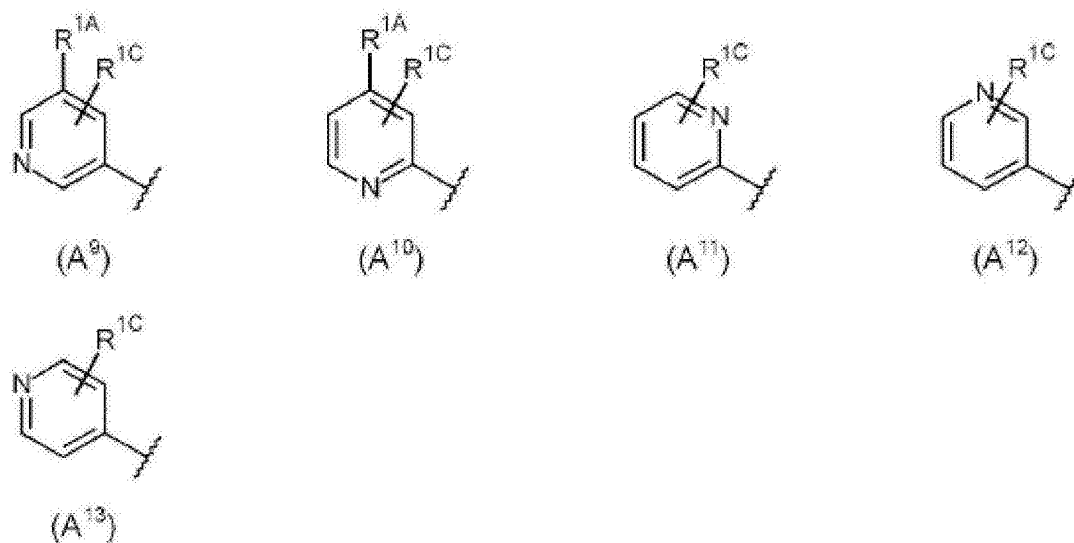


[0251] 在一些实施方案中,A为任选取代的6元杂芳基。6元杂芳基包括但不限于:吡啶基、异噁嗪基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基和三嗪基。

[0252] 在这些实施方案中,可优选地,A为吡啶基,其可具有以下结构:

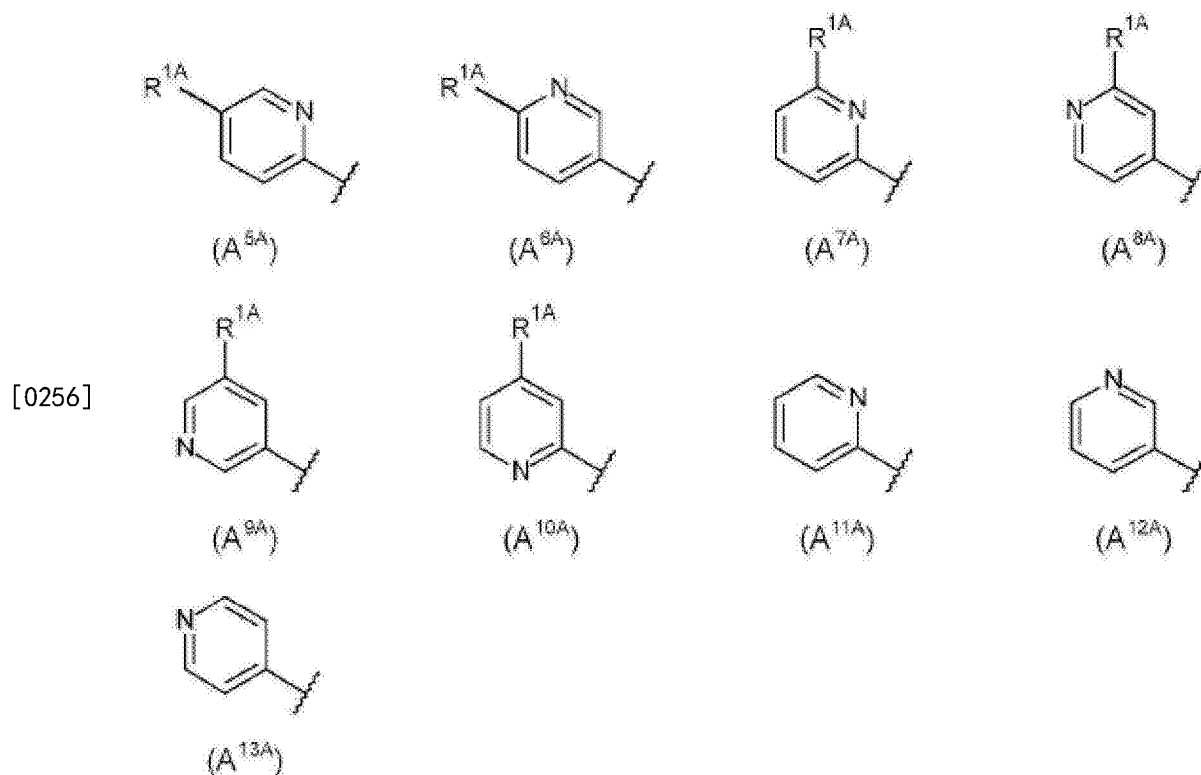


[0253]



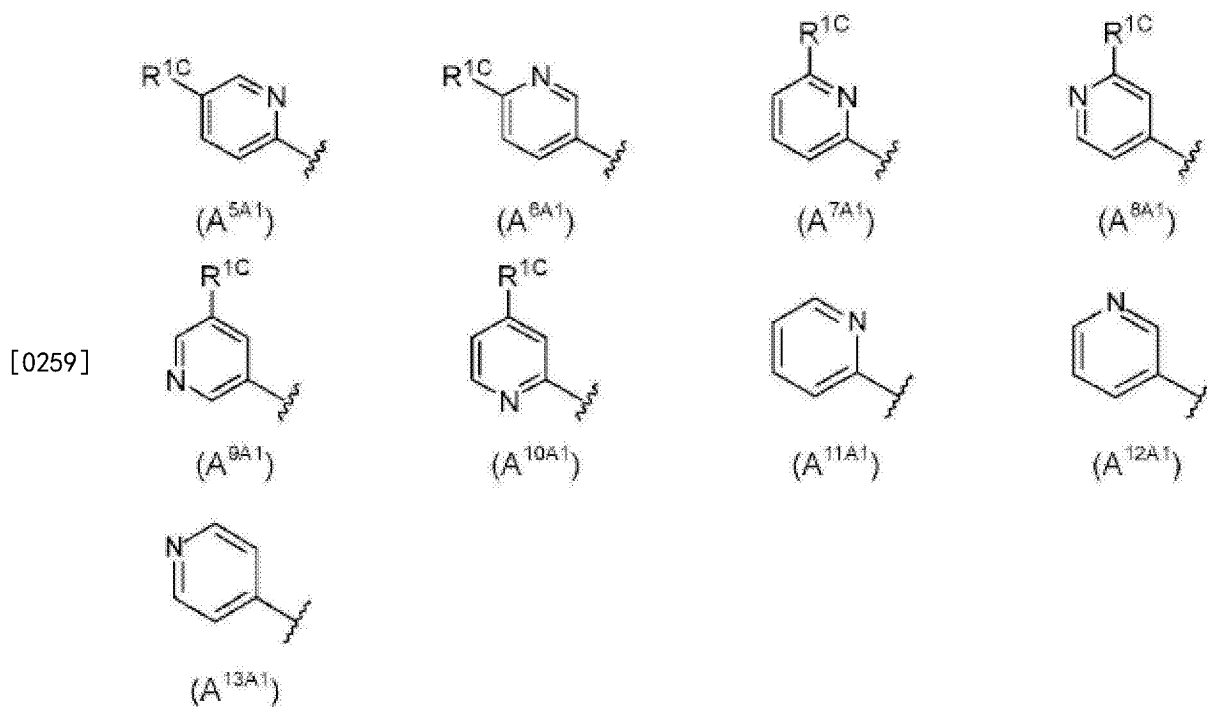
[0254] 在这些实施方案中,优选地,当 R^{1A} 存在时, R^{1C} 不为氧代(=O)基团。对于这些结构, A^6 可为更优选的。

[0255] 在一些实施方案中(即当A为6元杂芳基时),可不存在 R^{1C} 取代基。因此,当A为吡啶基并且不存在 R^{1C} 基团时,所述A可具有以下结构:



[0257] 对于这些结构, A^6 可为更优选的。

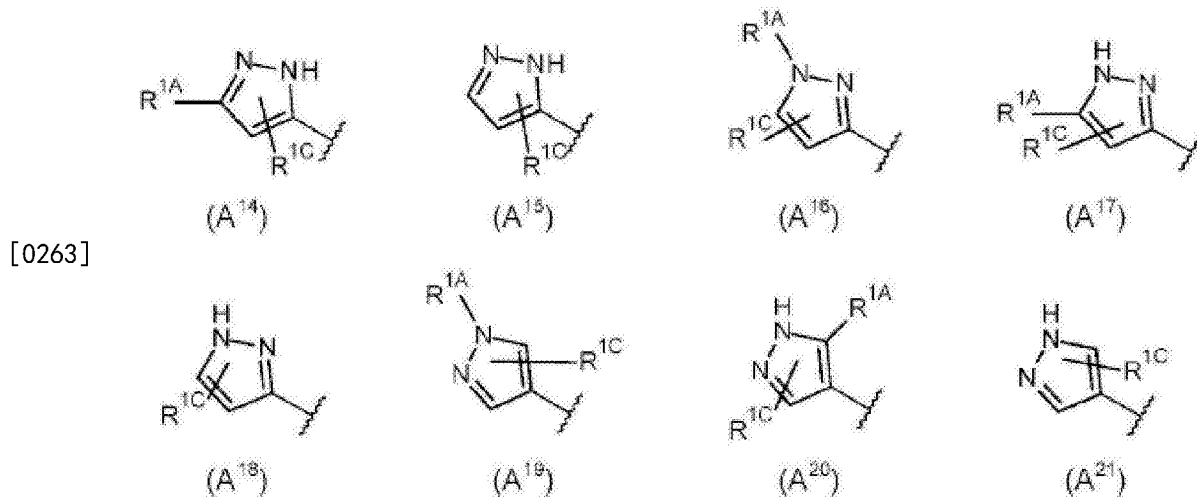
[0258] 在其它实施方案中(即当A为6元杂芳基时),可不存在 R^{1A} 取代基。因此,当A为吡啶基并且不存在 R^{1C} 基团时,吡啶基可为未取代的,或其可具有多个 R^{1C} 基团之一。吡啶基可具有以下结构之一:



[0260] 对于这些结构, A^{6A1}可为更优选的。

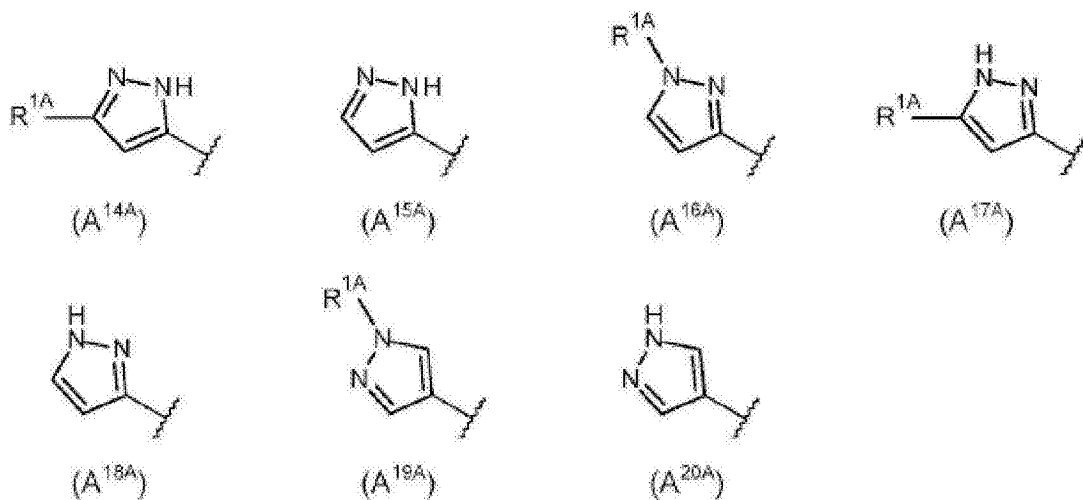
[0261] 在一些实施方案中, A为任选取代的5元杂芳基。5元杂芳基包括但不限于: 吡咯基; 呋喃基; 噻吩基; 噁唑基; 异噁唑基; 噁二唑基; 噁三唑基; 噻唑基; 异噻唑基; 咪唑基; 吡唑基; 三唑基和四唑基。

[0262] 在这些实施方案中, 可优选地, A为吡唑基, 其可具有以下结构:



[0264] 在这些实施方案中, 优选地R^{1C}不为氧代(=O)基团。对于这些结构, A¹⁶和A¹⁸可为更优选的。

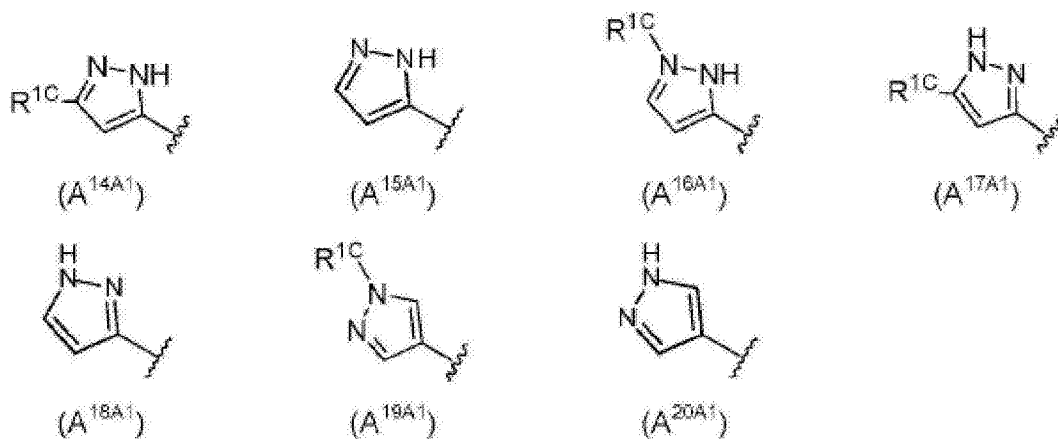
[0265] 在一些实施方案中(即当A为5元杂芳基时), 可不存在R^{1C}取代基。因此, 当A为吡唑基并且不存在R^{1C}基团时, 所述A可具有以下结构:



[0266]

[0267] 对于这些结构, A^{19A}可为更优选的。

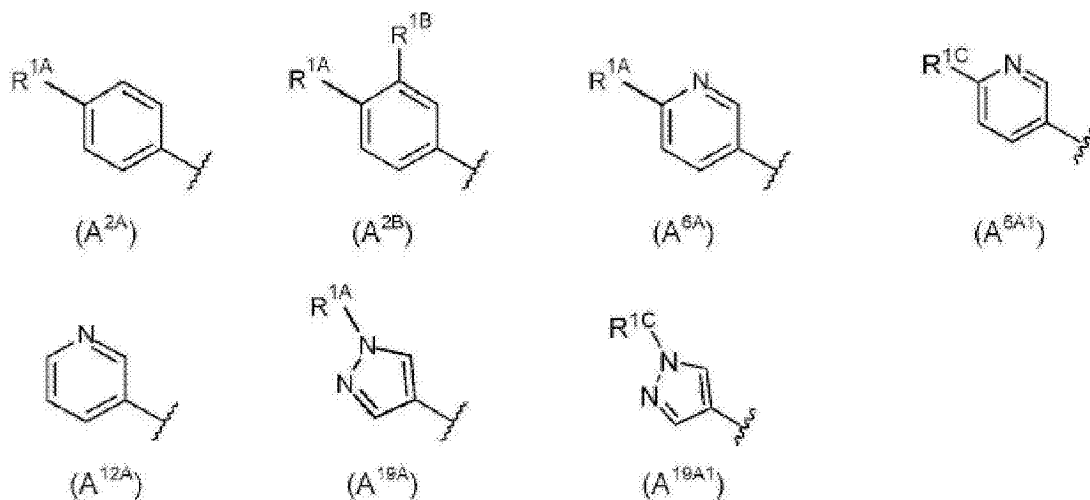
[0268] 在其它实施方案中(即当A为5元杂芳基时),可不存在R^{1A}取代基。因此,当A为吡唑基并且不存在R^{1C}基团时,吡唑基可为未取代的,或其可具有多个R^{1C}基团之一。吡唑基可具有以下结构之一:



[0269]

[0270] 对于这些结构, A^{19A1}可为更优选的。

[0271] 因此,对于A特别优选的结构包括:



[0272]

[0273] R^{1A}

[0274] 在其中 R^{1A} 为 $CH(R^{C1})NZ^1Z^3$ 的一些实施方案中, R^{C1} 选自H和 C_{1-2} 烷基, Z^1 可为以下中的任一个:

[0275] (i)H;

[0276] (ii)任选被OH取代的 C_{1-3} 烷基,优选地Me,或 CH_2CH_2OH ;

[0277] (iii) $C(=O)OC_{1-4}$ 烷基,优选地 $C(=O)OMe$ 或 $C(=O)OtBu$;以及

[0278] (iv) $C(=O)Me$ 。

[0279] 并且 Z^3 可为H,或 Z^1 和 Z^3 与其所连接的N一起形成含有一个N和任选地一个O的4-6元杂环。

[0280] 在一些这些实施方案中, Z^1 可选自H和 CH_2CH_2OH ,并且 Z^3 可为H。因此,在这些实施方案中, R^{1A} 选自: CH_2NH_2 ; $CH(CH_3)NH_2$; $CH(C_2H_5)NH_2$; $CH_2NHCH_2CH_2OH$; $CH(CH_3)NHCH_2CH_2OH$; 以及 $CH(C_2H_5)NHCH_2CH_2OH$ 。

[0281] 在其中 R^{1A} 为 $CH(R^{C1})NZ^1Z^3$ 的一些这些实施方案中, R^{C1} 可选自H和甲基,并且 Z^3 可为H。因此,在这些实施方案中, R^{1A} 选自: CH_2NHZ^1 和 $CH(CH_3)NHZ^1$ 。

[0282] 在其中 R^{1A} 为 $CH(R^{C1})NHZ^1$ 的一些实施方案中, Z^1 可选自H和 CH_2CH_2OH ,并且 R^{C1} 可选自H和甲基。因此,在这些实施方案中, R^{1A} 选自: CH_2NH_2 ; $CH_2NHCH_2CH_2OH$; $CH(CH_3)NH_2$; 以及 $CH(CH_3)NHCH_2CH_2OH$ 。

[0283] 在其中 R^{1A} 为 $CH(R^{C1})NZ^1Z^3$ 的一些实施方案中, Z^1 和 Z^3 可与其所连接的N一起形成含有一个N和任选地一个O的4-6元杂环。在这些实施方案中, R^{1A} 为例如氮杂环丁烷基或吗啉基。

[0284] 在其中 R^{1A} 为 $XNHZ^2$ 的一些实施方案中, Z^2 可为以下中的任一个:

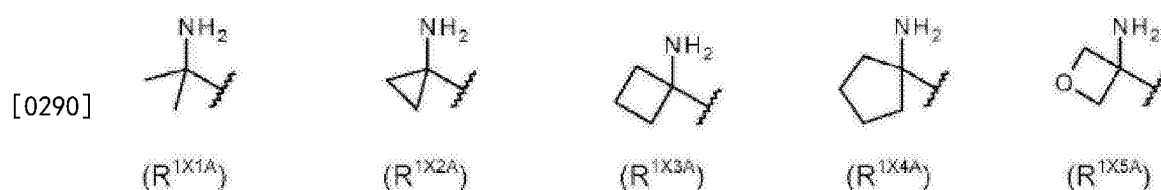
[0285] (i)H;

[0286] (ii)任选被OH取代的 C_{1-3} 烷基,优选地Me,或 CH_2CH_2OH ;

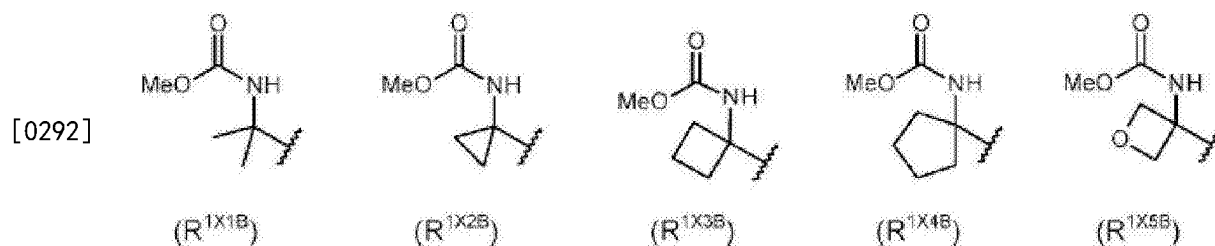
[0287] (iii) $C(=O)OC_{1-3}$ 烷基,优选地 $C(=O)OMe$;以及

[0288] (iv) $C(=O)Me$ 。

[0289] 在其中 R^{1A} 为 $XNHZ^2$ 的一些实施方案中, Z^2 可为H。因此,在这些实施方案中, R^{1A} 具有以下结构:

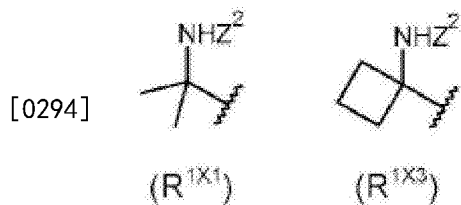


[0291] 在其中 R^{1A} 为 $XNHZ^2$ 的一些实施方案中, Z^2 可为 $C(=O)OMe$ 。因此,在这些实施方案中, R^{1A} 具有以下结构:

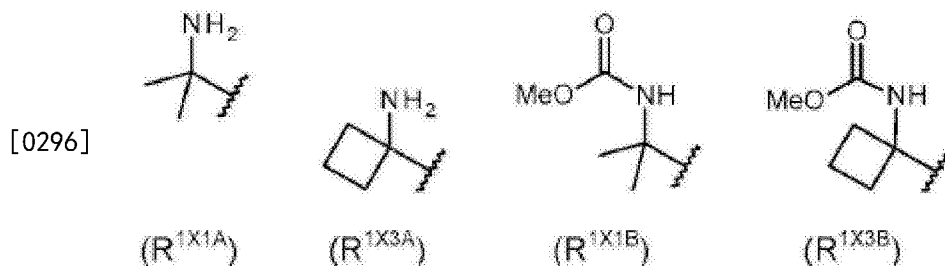


[0293] 在其中 R^{1A} 为 $XNHZ^2$ 的一些实施方案中,X可选自 CMe_2 和亚环丁基。因此,在这些实施

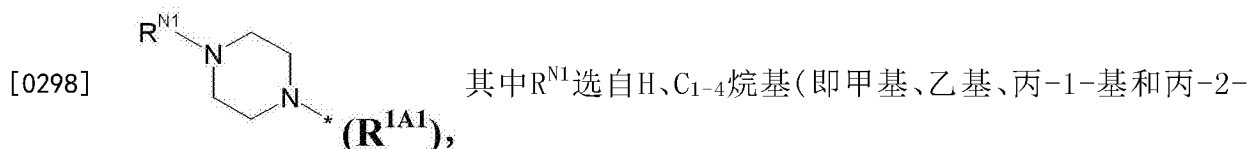
方案中, R^{1A} 具有以下结构:



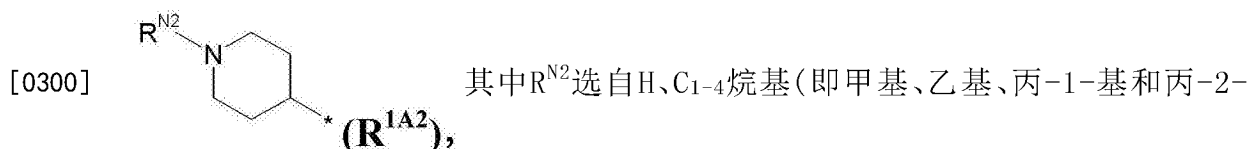
[0295] 在其中 R^{1A} 为 $XNHZ^2$ 的一些实施方案中, Z^2 可选自 H 和 $C(=O)OMe$, 并且 X 可选自 CM_e_2 和亚环丁基。因此, 在这些实施方案中, R^{1A} 具有以下结构:



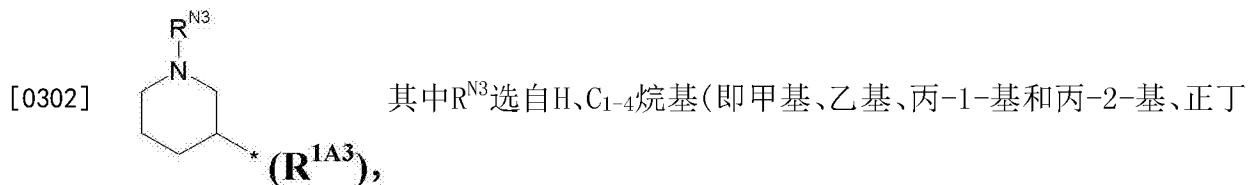
[0297] 在一些实施方案中, R^{1A} 为:



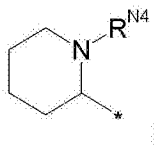
[0299] 在一些实施方案中, R^{1A} 为:



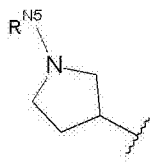
[0301] 在一些实施方案中, R^{1A} 为:



[0303] 在一些实施方案中, R^{1A} 为:

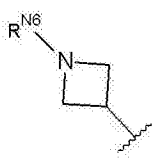
[0304]  其中R^{N4}选自H或甲基。在一些这些实施方案中,可优选地R^{N4}为H。
(R^{1A4}),

[0305] 在一些实施方案中,R^{1A}为:

[0306]  其中R^{N5}选自H、C₁₋₄烷基(即甲基、乙基、丙-1-基和丙-2-基、正
(R^{1A5}),

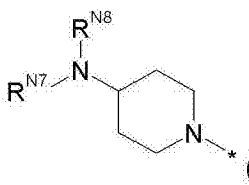
丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基)、C₃₋₄环烷基(即环丙基、甲基环丙基、环丁基)和C(=O)Me。在一些这些实施方案中,可优选地R^{N5}为C(=O)Me。在其它这些实施方案中,可优选地R^{N5}为H、甲基或乙基,更优选地为H或甲基。

[0307] 在一些实施方案中,R^{1A}为:

[0308]  其中R^{N6}选自H、C₁₋₄烷基(即甲基、乙基、丙-1-基和丙-2-基、正
(R^{1A6}),

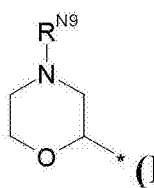
丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基)、C₃₋₄环烷基(即环丙基、甲基环丙基、环丁基)和C(=O)Me。在一些这些实施方案中,可优选地R^{N6}为C(=O)Me。在其它这些实施方案中,可优选地R^{N6}为H、甲基或乙基,更优选地为H或甲基。

[0309] 在一些实施方案中,R^{1A}为:

[0310]  其中R^{N7}和R^{N8}均为H或均为甲基。在一些这些实施方案
(R^{1A7}),

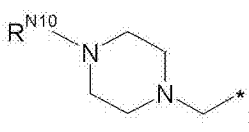
中,可优选地R^{N7}和R^{N8}均为H。

[0311] 在一些实施方案中,R^{1A}为:

[0312]  其中R^{N9}选自H、C₁₋₄烷基(即甲基、乙基、丙-1-基和丙-2-基、正丁
(R^{1A8}),

基、异丁基、仲丁基、叔丁基)、C₃₋₄环烷基(即环丙基、甲基环丙基、环丁基)和C(=O)Me。在一些这些实施方案中,可优选地R^{N9}为C(=O)Me。在其它这些实施方案中,可优选地R^{N9}为H、甲基或乙基,更优选地为H或甲基。

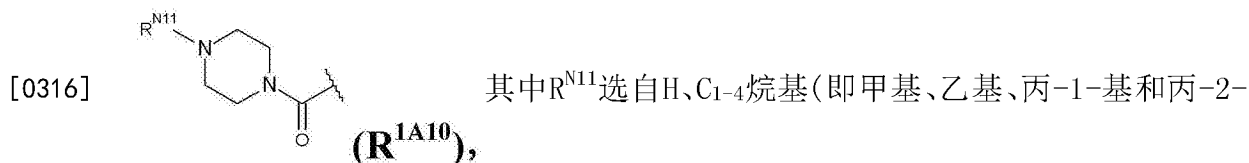
[0313] 在一些实施方案中,R^{1A}为:

[0314]  其中R^{N10}选自H、C₁₋₄烷基(即甲基、乙基、丙-1-基和丙-
(R^{1A9}),

2-基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基)、C₃₋₄环烷基(即环丙基、甲基环丙基、环丁基)和C(=

O)Me。在一些这些实施方案中,可优选地 R^{N10} 为 $C(=O)Me$ 。在其它这些实施方案中,可优选地 R^{N10} 为H、甲基或乙基,更优选地为H或甲基。

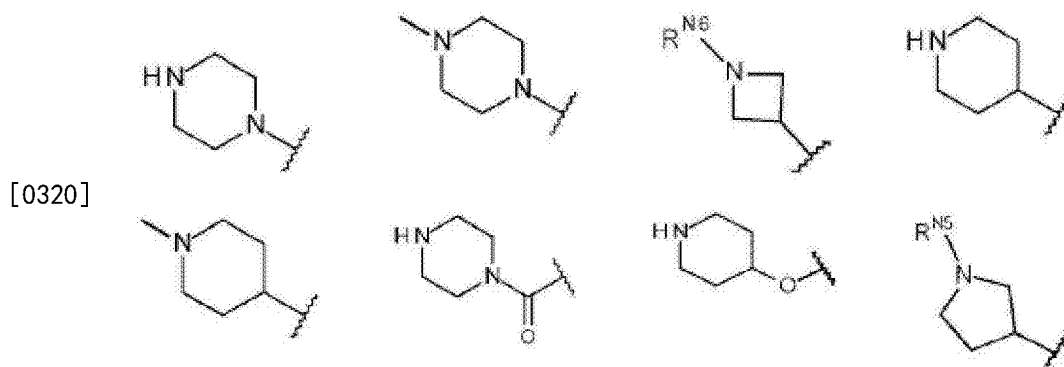
[0315] 在一些实施方案中, R^{1A} 为:



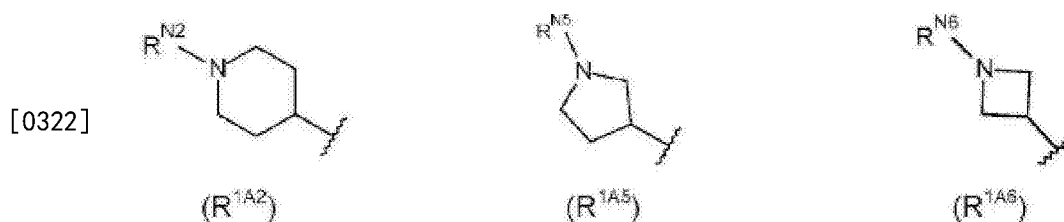
[0317] 在一些实施方案中, R^{1A} 为:



[0319] 尤其优选的 R^{1A} 基团包括:



[0321] 在一些实施方案中, R^{1A} 选自 R^{1A2} 和 R^{1A6} :



[0323] 其中:

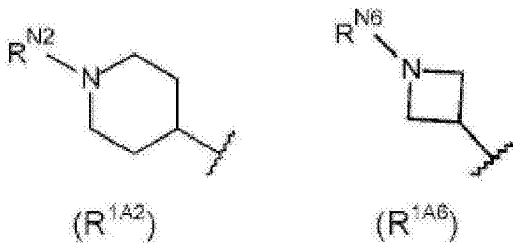
[0324] R^{N2} 选自H和甲基;

[0325] R^{N5} 选自H和甲基;并且

[0326] R^{N6} 选自H和甲基。

[0327] 在一些实施方案中, R^{1A} 选自 R^{1A2} 和 R^{1A6} :

[0328]



[0329] 其中:

[0330] R^{N2} 选自H和甲基;并且[0331] R^{N6} 选自H和甲基。[0332] R^{1B} [0333] 在一些实施方案中,不存在 R^{1B} 取代基。[0334] 在一些实施方案中, R^{1B} 优选地为 C_{1-3} 烷基并且更优选地为甲基。[0335] 在一些实施方案中,存在单个 R^{1B} 取代基。所述取代基可为 C_{1-3} 烷基;[0336] CF_3 ;F;Cl;O-(C_{1-3} 烷基);以及CN。在一些这些实施方案中,所述取代基优选地为 C_{1-3} 烷基,并且更优选地为甲基。[0337] R^{1C} [0338] 在一些实施方案中,不存在 R^{1C} 取代基。[0339] 在其中存在 R^{1C} 取代基的实施方案中,各 R^{1C} 取代基独立地选自:[0340] (i)任选被一至三个选自F、OH和OMe的取代基取代的 C_{1-3} 烷基;

[0341] (ii)F;

[0342] (iii)Cl;

[0343] (iv)O-(C_{1-3} 烷基);

[0344] (v)CN;

[0345] (vi)=O;以及

[0346] (vii)C(=O)Me。

[0347] 在一些实施方案中,各 R^{1C} 取代基独立地选自;[0348] (i)任选被一至三个选自F、OH和OMe的取代基取代的 C_{1-3} 烷基;[0349] (ii)O-(C_{1-3} 烷基);

[0350] (v)CN;以及

[0351] (vii)C(=O)Me。

[0352] 在其它实施方案中, R^{1C} 优选地为任选被一至三个F原子取代的 C_{1-3} 烷基并且更优选地为甲基或 CF_3 。[0353] 在一些实施方案中,存在单个 R^{1C} 取代基。所述取代基可为 C_{1-3} 烷基;[0354] CF_3 ;F;Cl;O-(C_{1-3} 烷基);CN;C(=O)Me;以及=O。在一些这些实施方案中,所述取代基优选地为任选被一至三个F取代基取代的 C_{1-3} 烷基,并且更优选地为甲基或 CF_3 。[0355] R^2 [0356] 在一些实施方案中, R^2 为H。[0357] 在一些实施方案中, R^2 为卤基(即F、Cl、Br、I)。在一些这些实施方案中,卤基为F或Cl。

[0358] 在一些实施方案中, R^2 为 C_{1-4} 烷基(即甲基、乙基、丙-1-基和丙-2-基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基)。在一些这些实施方案中, C_{1-4} 烷基为甲基或乙基, 并且甲基可为优选的。

[0359] 在一些实施方案中, R^2 选自 CF_3 和 CF_2H 。在一些这些实施方案中, R^2 为 CF_3 。

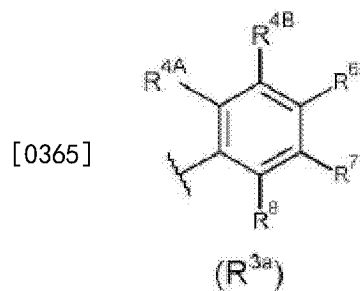
[0360] 在一些实施方案中, R^2 为 CN 。

[0361] 在一些实施方案中, R^2 为甲氧基。

[0362] 在一些实施方案中, R^2 选自 CF_3 和 Cl 。

[0363] R^3

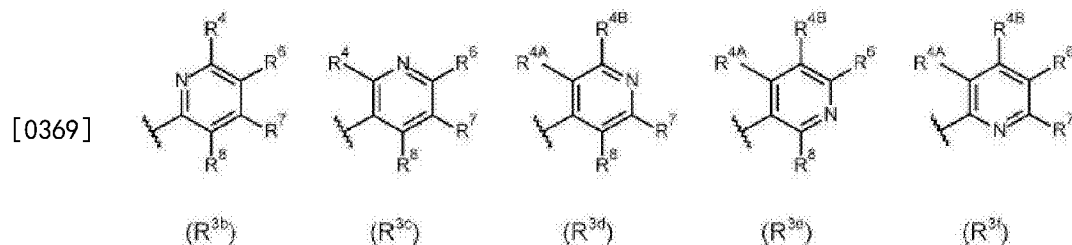
[0364] 在一些实施方案中, R^3 为取代的苯基, 并且因此所述 R^3 具有以下结构:



[0366] 其中 R^6 、 R^7 和 R^8 独立地选自 H、F、甲基和 CF_3 。 R^{4A} 和 R^{4B} 中的一个为 R^4 , 并且另一个选自 H、F、甲基和 CF_3 。在一些这些实施方案中, R^{4A} 和 R^{4B} 中不为 R^4 的基团以及 R^6 、 R^7 和 R^8 均为 H。在其它这些实施方案中, R^{4A} 和 R^{4B} 中不为 R^4 的基团、 R^6 、 R^7 和 R^8 中的一个不为 H, 并且因此为 F、甲基或 CF_3 。不为 H 的基团可优选地为 R^6 或 R^7 。

[0367] 在一些实施方案中, R^3 为取代的苯基, R^{4B} 、 R^6 、 R^7 和 R^8 均为 H, 并且 R^{4A} 为 R^4 。

[0368] 在一些实施方案中, R^3 为取代的 6 元杂芳基, 其中杂芳基环系统含有 1 或 2 个 N 杂原子。在这些实施方案中, 可优选地, R^3 为吡啶基, 其可具有以下结构:



[0370] 其中 R^6 、 R^7 和 R^8 (如果存在) 独立地选自 H、F、甲基和 CF_3 。 R^{4A} 和 R^{4B} (如果存在) 中的一个为 R^4 , 并且另一个选自 H、F、甲基和 CF_3 。对于这些结构, R^{3d} 和 R^{3e} 可为优选的。在一些这些实施方案中, R^{4A} 和 R^{4B} 中不为 R^4 的基团以及 R^6 、 R^7 和 R^8 (如果存在) 均为 H。在其它这些实施方案中, R^{4A} 和 R^{4B} 中不为 R^4 的基团、 R^6 、 R^7 和 R^8 (如果存在) 中的一个不为 H, 并且因此为 F、甲基或 CF_3 。在一些实施方案中, 可优选地 F 取代基不为环氮原子的 α 位。

[0371] R^4

[0372] 在一些实施方案中, R^4 为 $-C_2H_4-$ 基团的 α 位。在一些实施方案中, R^4 为 $-C_2H_4-$ 基团的 β 位。

[0373] 基团 R^4 为 $-Y-C(O)(R^{N13})Z^4$ 。

[0374] 在一些实施方案中, R^{N13} 为 H。

[0375] 在其它实施方案中, R^{N13} 为 Me。

[0376] 在一些实施方案中, Z^4 为 H。

[0377] 在其它实施方案中, Z^4 为 Me。

[0378] 在其它实施方案中, Z^4 为 OMe。

[0379] Y 可为 $-\text{CHCH}_3-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 和 C_{3-5} 亚环烷基中的任一个。

[0380] 在一些实施方案中, Y 选自 CHCH_3- 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 和 C_{3-5} 亚环烷基。

[0381] 在一些实施方案中, Y 选自 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 和 C_{3-5} 亚环烷基。

[0382] 在一些实施方案中, Y 选自 Y^a 至 Y^e :



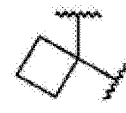
(Y^a)



(Y^b)

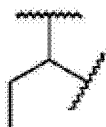


(Y^c)



(Y^d)

[0383]



(Y^e)

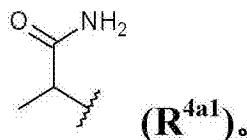
[0384] 在一些实施方案中, Y 选自 Y^b 、 Y^c 、 Y^d 和 Y^e 。

[0385] 在其它实施方案中, Y 选自 Y^a 、 Y^b 、 Y^c 和 Y^e 。

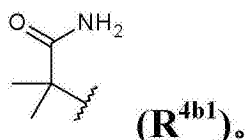
[0386] 在一些实施方案中, Y 选自 Y^a 、 Y^c 、 Y^d 和 Y^e 。

[0387] 在一些实施方案中, R^4 为 $-\text{Y}'-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, 其中 Y' 选自 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、亚环丙基和亚环丁基。

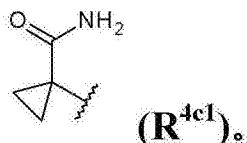
[0388] 在一些实施方案中, R^4 为:



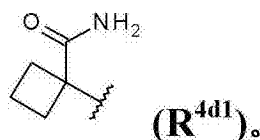
[0389] 在一些实施方案中, R^4 为:



[0390] 在一些实施方案中, R^4 为:



[0391] 在一些实施方案中, R^4 为:



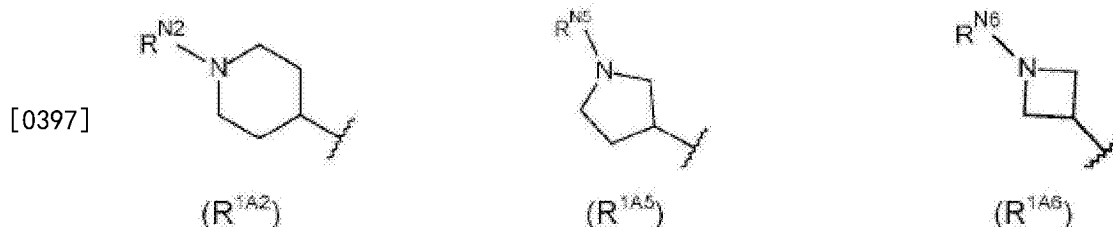
[0392] 在本发明的一些实施方案中, 化合物具有式 (Ia), 所述化合物为第一方面的式 (I) 化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药, 其中:

[0393] A 选自任选取代的苯基和通过芳环碳原子连接至 NH 基团的任选取代的 5 或 6 元杂芳基, 其中杂芳基环系统含有 1 或 2 个选自 N 和 O 的杂原子; 并且;

[0394] 当A为任选取代的苯基时,A可带有不在NH基团的 α 位的取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 选自:

[0395] (i) $CH(R^{C1})NZ^1Z^3$,其中 R^{C1} 选自H、 C_{1-2} 烷基, Z^1 选自H和被 $C(=O)OC_{1-4}$ 烷基或 $C(=O)Me$ 取代的 C_{1-3} 烷基,并且 Z^3 为H,或 Z^1 和 Z^3 与其所连接的N一起形成含有一个N和任选地一个O的4-6元杂环;

[0396] (iii)选自以下的基团:



[0398] 其中:

[0399] R^{N2} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$;

[0400] R^{N5} 选自H和 C_{1-4} 烷基;

[0401] R^{N6} 为H;

[0402] 当A为任选取代的5或6元杂芳基时,A可带有不在NH基团的 α 位的单个取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 如以上所定义,并且可任选地进一步带有一个或两个取代基 R^{1C} ,其中各 R^{1C} 独立地选自:

[0403] (i) 任选被一至三个独立地选自F、OH和O- $(C_{1-3}$ 烷基)的取代基取代的 C_{1-3} 烷基;

[0404] (ii) O- $(C_{1-3}$ 烷基);

[0405] (ii) CN;以及

[0406] (iii) $C(=O)Me$;

[0407] R^2 选自卤基、 CH_3 和 CF_3 ;

[0408] R^3 为取代的苯基,其中

[0409] R^3 带有在 $-C_2H_4-$ 基团的 α 或 β 位的取代基 R^4 ,并且可另外带有另外的取代基F;并且

[0410] R^4 为 $-Y-C(O)N(R^{N13})Z^4$,其中Y选自 $-CHCH_3-$ 、 $-CH(CH_2CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 以及 C_{3-4} 亚环烷基; R^{N13} 为H;并且 Z^4 为H。

[0411] 在本发明的一些实施方案中,化合物具有式(Ib),所述化合物为第一方面的式(I)和如上所定义的式(Ia)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药,其中:

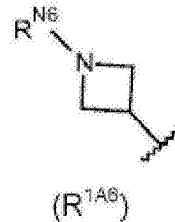
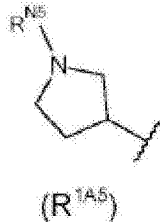
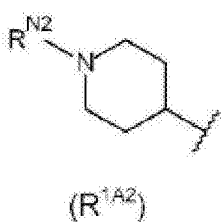
[0412] A选自任选取代的苯基和通过芳环碳原子连接至NH基团的任选取代的5或6元杂芳基,其中杂芳基环系统含有1或2个选自N和O的杂原子;并且;

[0413] 当A为任选取代的苯基时,A可带有不在NH基团的 α 位的取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 选自:

[0414] (i) $CH(R^{C1})NZ^1Z^3$,其中 R^{C1} 选自H、 C_{1-2} 烷基, Z^1 选自H和被 $C(=O)OC_{1-4}$ 烷基或 $C(=O)Me$ 取代的 C_{1-3} 烷基,并且 Z^3 为H;

[0415] (iii)选自以下的基团:

[0416]



[0417] 其中:

[0418] R^{N2} 选自H、C₁₋₃烷基和C(=O)Me;[0419] R^{N5} 选自H和C₁烷基;[0420] R^{N6} 为H;

[0421] 当A为任选取代的5或6元杂芳基时,A可带有不在NH基团的 α 位的单个取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 如以上所定义,并且可任选地进一步带有一个或两个取代基 R^{1C} ,其中各 R^{1C} 独立地选自:

[0422] (i)任选被一至三个独立地选自F、OH或O-(C₁₋₃烷基)的取代基取代的C₁₋₃烷基;[0423] (ii)O-(C₁₋₃烷基);

[0424] (ii)CN;以及

[0425] (iii)C(=O)Me;

[0426] R^2 选自卤基、CH₃和CF₃;[0427] R^3 为取代的苯基,其中[0428] R^3 带有在-C₂H₄-基团的 α 或 β 位的取代基 R^4 ,并且可另外带有另外的取代基F;并且

[0429] R^4 为-Y-C(O)N(R^{N13})Z⁴,其中Y选自-CHCH₃-、-CH(CH₂CH₃)-、-C(CH₃)₂-以及C₃₋₄亚环烷基; R^{N13} 为H;并且Z⁴为H。

[0430] 在本发明的一些实施方案中,化合物具有式(Ic),所述化合物为第一方面的式(I)和如上所定义的式(Ia)和(Ib)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药,其中:

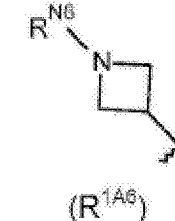
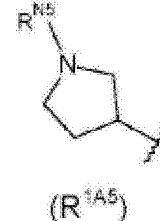
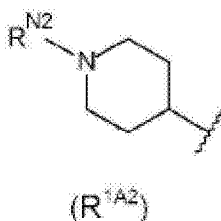
[0431] A选自取代的苯基和通过芳环碳原子连接至NH基团的任选取代的5或6元杂芳基,其中杂芳基环系统含有1或2个选自N和O的杂原子;并且

[0432] 当A为任选取代的苯基时,A可带有不在NH基团的 α 位的取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 选自:

[0433] (i)CH(R^{C1})NZ¹Z³,其中 R^{C1} 为甲基,Z¹为H并且Z³为H;

[0434] (iii)选自以下的基团:

[0435]



[0436] 其中:

[0437] R^{N2} 选自H和甲基;[0438] R^{N5} 选自H和甲基;[0439] R^{N6} 为H;

[0440] 当A为任选取代的5或6元杂芳基时,A可带有不在NH基团的 α 位的单个取代基 R^{1A} ,其中 R^{1A} 如以上所定义,并且可任选地进一步带有一个或两个取代基 R^{1C} ,其中各 R^{1C} 独立地选

自:

[0441] (i)CH₃或CF₃;

[0442] R²选自卤基和CF₃;

[0443] R³为取代的苯基,其中

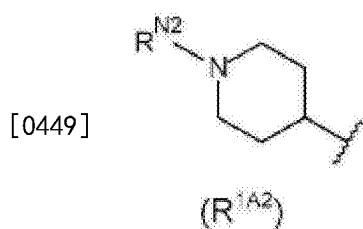
[0444] R³带有在-C₂H₄-基团的α或β位的取代基R⁴,并且可另外带有另外的取代基F;并且

[0445] R⁴为-Y-C(O)N(R^{N13})Z⁴,其中Y选自-CHCH₃-、-CH(CH₂CH₃)-、-C(CH₃)₂-以及亚环丙基;R^{N13}为H;并且Z⁴为H。

[0446] 在本发明的一些实施方案中,化合物具有式(Id),所述化合物为第一方面的式(I)和如上所定义的式(Ia)至(Ic)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药,其中:

[0447] A选自取代的苯基和通过芳环碳原子连接至NH基团的任选取代的吡唑基或吡啶基,其中杂芳基环系统含有1或2个选自N和O的杂原子;并且

[0448] 当A为任选取代的苯基时,A可带有不在NH基团的α位的取代基R^{1A},其中R^{1A}为:



[0450] 其中:

[0451] R^{N2}为甲基;

[0452] 当A为任选取代的吡唑基或吡啶基时,A可带有不在NH基团的α位的单个取代基R^{1A},其中R^{1A}如以上所定义,并且可任选地进一步带有一个或两个取代基R^{1C},其中各R^{1C}独立地选自:

[0453] (i)CH₃或CF₃;

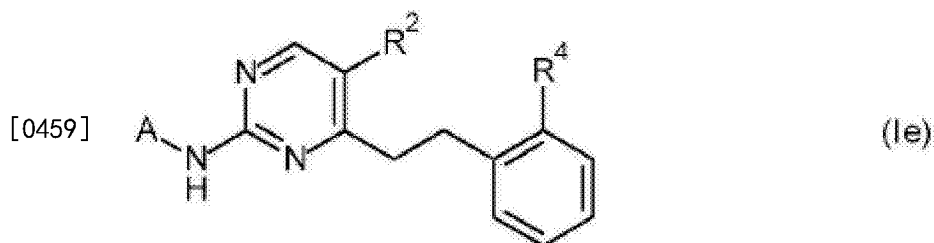
[0454] R²选自Cl和CF₃;

[0455] R³为取代的苯基,其中

[0456] R³带有在-C₂H₄-基团的α位的取代基R⁴,并且可另外带有另外的取代基F;并且

[0457] R⁴为-Y-C(O)N(R^{N13})Z⁴,其中Y选自-CHCH₃-和C₃亚环烷基;R^{N13}为H;并且Z⁴为H。

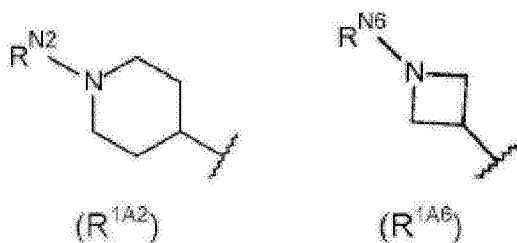
[0458] 在本发明的一些实施方案中,化合物具有式(Ie)或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药:



[0460] 其中:

[0461] A选自:任选取代的苯基和任选取代的吡啶基,其中A可带有不在NH基团的α位的一个取代基R^{1A},其中R^{1A}选自R^{1A2}和R^{1A6};

[0462]



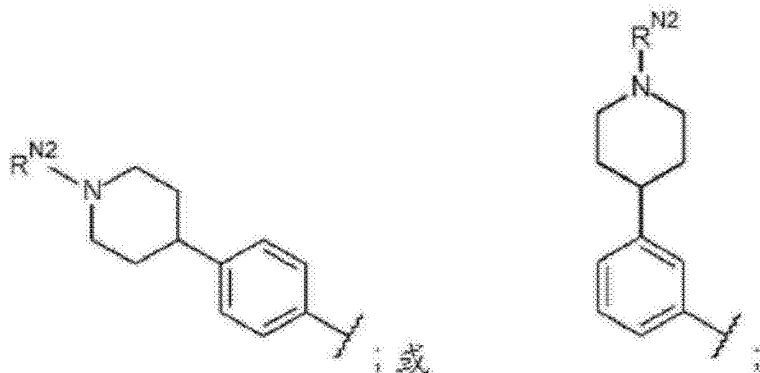
[0463] 其中:

[0464] R^{N2}选自H和甲基;[0465] R^{N6}选自H和甲基;[0466] R²选自Cl、甲基和CF₃;并且[0467] R⁴为-Y-C(O)NH₂,其中Y选自-CHCH₃-, -C(CH₃)₂-, 亚环丙基和亚环丁基;

[0468] 条件是:

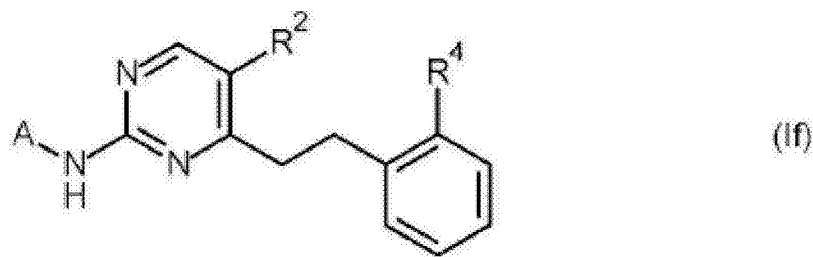
[0469] 若A为以下任一项:

[0470]

[0471] 并且R²为Cl或CF₃,则R⁴不为-CH(CH₃)C(O)NH₂。

[0472] 在本发明的一些实施方案中,化合物具有式(I f)或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药:

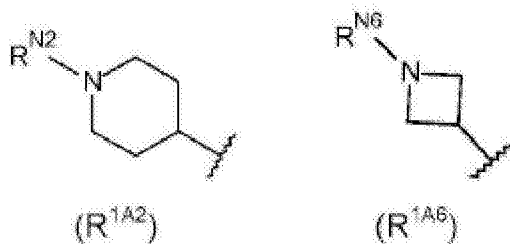
[0473]



[0474] 其中:

[0475] A选自:任选取代的苯基和任选取代的吡啶基,其中A可带有不在NH基团的α位的一个取代基R^{1A},其中R^{1A}选自R^{1A2}和R^{1A6}:

[0476]



[0477] 其中:

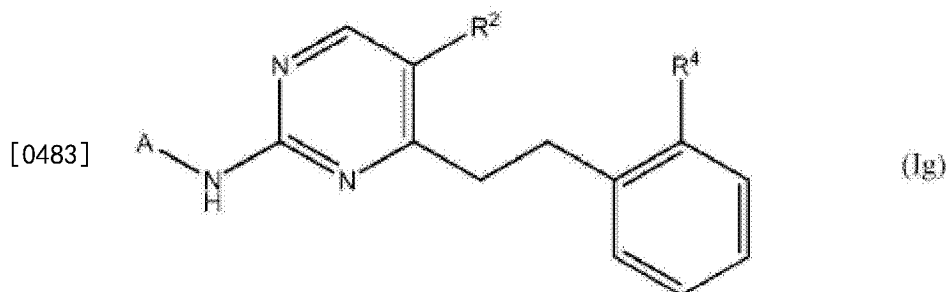
[0478] R^{N2} 选自H和甲基；

[0479] R^{N6} 选自H和甲基；

[0480] R^2 选自C1、甲基和 CF_3 ；并且

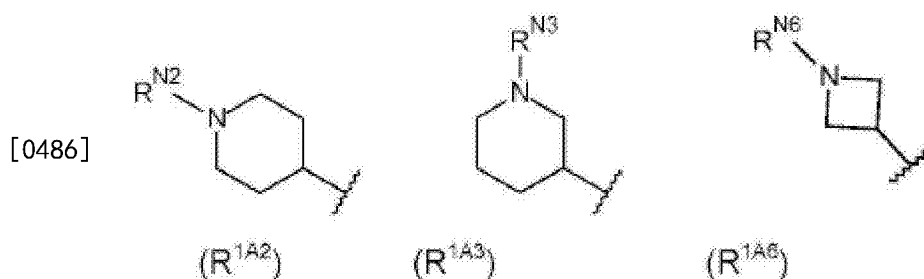
[0481] R^4 为 $-Y-C(=O)NH_2$ ，其中Y选自 $-C(CH_3)_2-$ 、亚环丙基和亚环丁基。

[0482] 在本发明的一些实施方案中，化合物具有式(Ig)或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药：



[0484] 其中

[0485] A选自含有1或2个选自N和O的杂原子的任选取代的5或6元杂芳基，其中A可带有不在NH基团的 α 位的一个取代基 R^{1A} ，其中 R^{1A} 选自 R^{1A2} 、 R^{1A3} 和 R^{1A6}



[0487] 其中：

[0488] R^{N2} 选自H和 C_{1-4} 烷基；

[0489] R^{N3} 选自H、 C_{1-3} 烷基和 $C(=O)Me$ ；

[0490] R^{N6} 选自H和 C_{1-4} 烷基；

[0491] 并且可任选地进一步带有选自 CF_3 、 C_{1-3} 烷基、 CH_2CF_3 、 CN 、 $C(=O)(C_{1-3}烷基)$ 、 $CH(CH_3)NH_2$ 、 $CHCF_2$ 、 OCH_3 、 $CH(CH_3)NHCH_3$ 、 C_{1-3} 烷基OH和 C_{1-3} 烷基OMe的一个取代基 R^{1C} ；

[0492] R^2 选自卤基、 C_{1-4} 烷基和 CF_3 ；并且

[0493] R^4 为 $-Y-C(=O)NH_2$ ，其中Y选自 $-CHCH_3-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、亚环丙基和亚环丁基。

[0494] 在式(Ig)的一个实施方案中，A选自含有N的5元杂芳基如任选取代的吡唑基、含有N和O的5元杂芳基如任选取代的噁唑基以及含有N的6元杂芳基如任选取代的吡啶基、任选取代的嘧啶基和任选取代的哒嗪基，其中A带有选自上式(Ig)中所定义的 R^{1A2} 、 R^{1A3} 和 R^{1A6} 的一个取代基并且可任选地进一步带有选自 CF_3 、 C_{1-3} 烷基、 CH_2CF_3 、 CN 、 $C(=O)Me$ 、 $CH(CH_3)NH_2$ 、 $CHCF_2$ 、 OMe 、 $CH(CH_3)NHCH_3$ 、 C_{1-3} 烷基OH和 C_{1-3} 烷基OMe的一个取代基 R^{1C} ；

[0495] R^2 选自C1、Me和 CF_3 ；并且

[0496] R^4 为 $CHCH_3C(=O)NH_2$ 。

[0497] 在式(Ig)的另一个实施方案中，A选自含有N的5元杂芳基如任选取代的吡唑基，其中A带有选自上式(Ig)中所定义的 R^{1A2} 的一个取代基；

[0498] R^2 为 CF_3 ;并且

[0499] R^4 为 $CHCH_3C(=O)NH_2$ 。

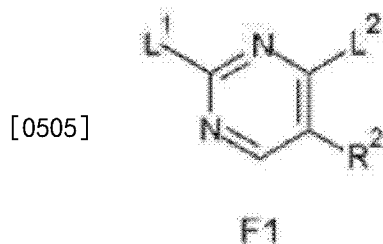
[0500] 在适当时,相对于式I化合物表述的优选方式也适用于式Ia至Ig化合物。

[0501] 本发明的实施方案为实施例的化合物,包括化合物1至化合物77。特别有意义的实施方案包括化合物2、3、4、5、6、7、8、13、15、19、20、33、35、45、48、49、50、56、56-1A、56-2A、57、57-1A、57-2A、68和70。

[0502] 一般合成方法

[0503] 可通过采用以下一般方法并且使用实验部分中详细描述的程序来制备本发明的化合物。所提到的反应条件为说明性和非限制性的。

[0504] 用于制备式(I)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药的方法包括使式F1化合物



[0506] 与式 $A-NH_2$ 的化合物反应以置换基团 L^1 并且与式 $HC\equiv R^3$ 的化合物反应以置换基团 L^2 ;或

[0507] 与式 $HC\equiv R^3$ 的化合物反应以置换基团 L^2 并且与式 $A-NH_2$ 的化合物反应以置换基团 L^1 ,

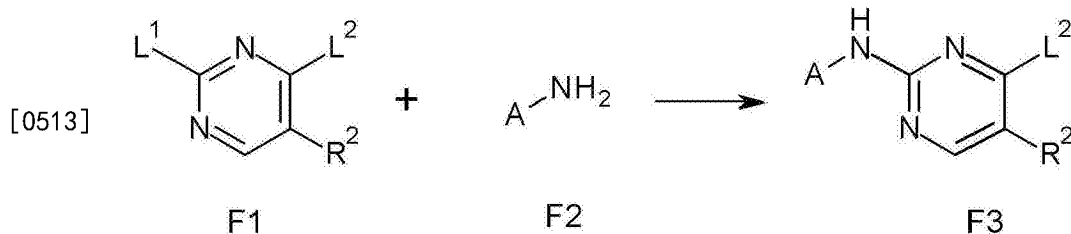
[0508] 其中 R^2 、 A 和 R^3 如以上式(I)中所定义并且 L^1 和 L^2 为离去基团。

[0509] 将了解的是,式 $A-NH_2$ 和 $HC\equiv R^3$ 的化合物可单独或以任何顺序依次或同时与式F1化合物反应。

[0510] 离去基团 L^1 和 L^2 可为任何合适的离去基团,如卤素原子(F、Cl、Br、I)、 $-SR$ 或 $-SO_2R$,其中R为 C_{1-4} 直链或支链烷基。在一些实施方案中, L^1 和 L^2 可为相同或不同的并且可选自由以下组成的组:Cl、Br、I、SMe、 SO_2Me 。

[0511] 如上所述的式I化合物可通过以下概述的合成策略来制备,其中应用以上的定义:

[0512] 方案A



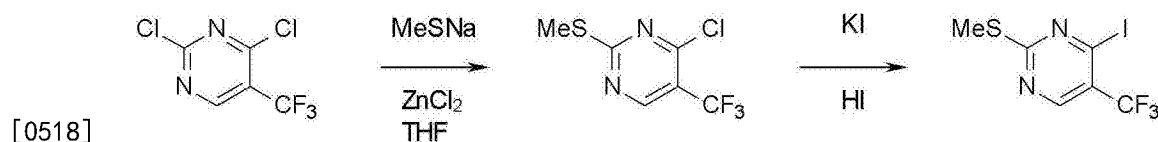
[0514] 式F1化合物可与式F2的取代的商购或合成的氨基取代的化合物(如方案C至N中所制备)反应以形成式F3的中间体,其中 L^1 和 L^2 可为相同或不同的并且包括Cl、Br、I、SMe、 SO_2Me 。

[0515] 可制备式F1化合物,其中 L^1 和 L^2 为不同的以允许区域选择性取代,或当 $L^1=L^2$ 时可采用合适的反应条件(选择溶剂、反应温度、添加路易斯酸,例如 Et_2O 中的 $ZnCl_2$)以允许 L^1 优

于 L^2 被选择性置换。在获得区域化学混合物和二取代时,可通过色谱法分离区域异构体。

[0516] 式F1化合物(其中 $L^1=L^2$)为可商购获得的,例如2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶、2,4-二氯-5-氟嘧啶、2,4,5-三氯嘧啶、2,4-二氯-5-溴嘧啶、2,4-二氯-5-碘嘧啶、2,4-二氯-5-甲基嘧啶、2,4-二氯-5-氰基嘧啶,或可由商购起始材料容易地制备。在 $R^2=CF_3$ 并且希望 L^1 和 L^2 不同时,可采用方案B中概述的方法。

[0517] 方案B



G1

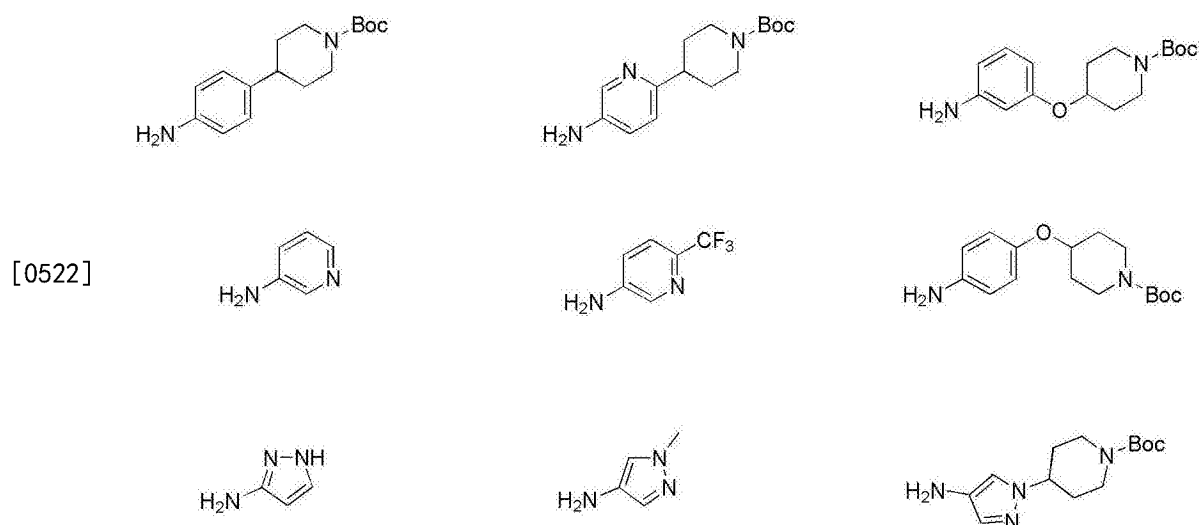
G2

G3

[0519] 可使可商购获得的2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(G1)在氯化锌(II)的存在下选择性地与甲硫醇钠反应,得到2-硫代甲基-4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶(G2)。如果需要2-位和4-位的进一步分化或如果希望另外的活化,2-硫代甲基-4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶(G2)可例如通过在Finkelstein条件下转化为2-硫代甲基-4-碘-5-(三氟甲基)嘧啶(G3)和/或通过用m-CPBA氧化来进一步反应以得到对应的砜。

[0520] 式F2的可商购获得的氨基化合物的实例包括但不限于描绘于表1中的那些。

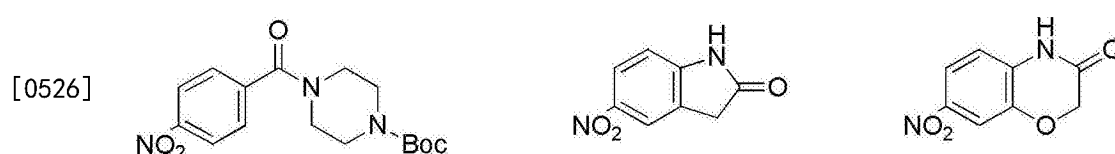
[0521] 表1



[0523] 应了解,式F2的化合物(商购和合成的)可在通过广泛范围的化学作用偶联至式F1的嘧啶之前或之后进一步改性,所述化学作用包括但不限于水解、烷基化、酰化、亲电卤化和Mitsunobu偶联。

[0524] 除了式F2的可商购获得的氨基化合物以外,众多类似的含硝基化合物也为可商购获得的,包括但不限于描绘于表2中的那些。

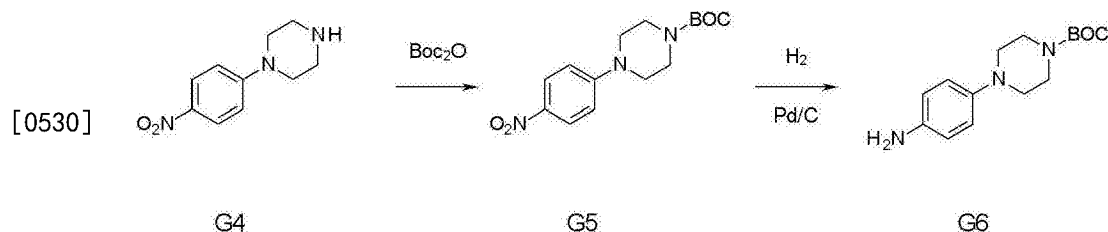
[0525] 表2



[0527] 应了解,所述化合物可在合适的条件下,例如在氢气气氛下在钯的存在下被还原,得到式F2的氨基化合物。

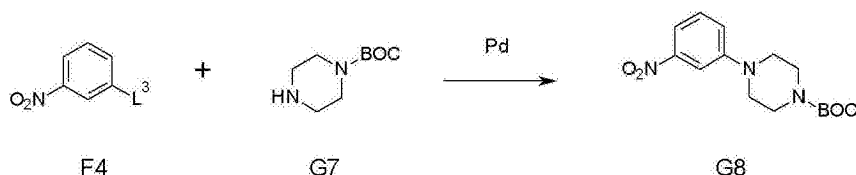
[0528] 本发明的合成的氨基化合物可通过一系列工序来制备。应了解,杂环类似物也可通过与以下概述的那些类似的方法通过用合适的杂芳香族系统取代含苯基的起始材料来制备。

[0529] 方案C

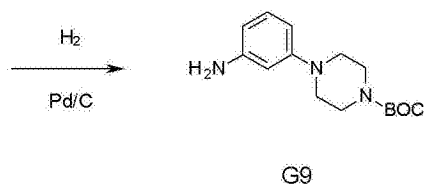


[0531] 可商购获得的1-(4-硝基苯基)哌嗪(G4)或其盐可与Boc酸酐反应,得到4-(4-硝基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(G5)。随后在催化剂例如披钯炭的存在下通过氢化还原得到对应的苯胺,4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(G6)。

[0532] 方案D

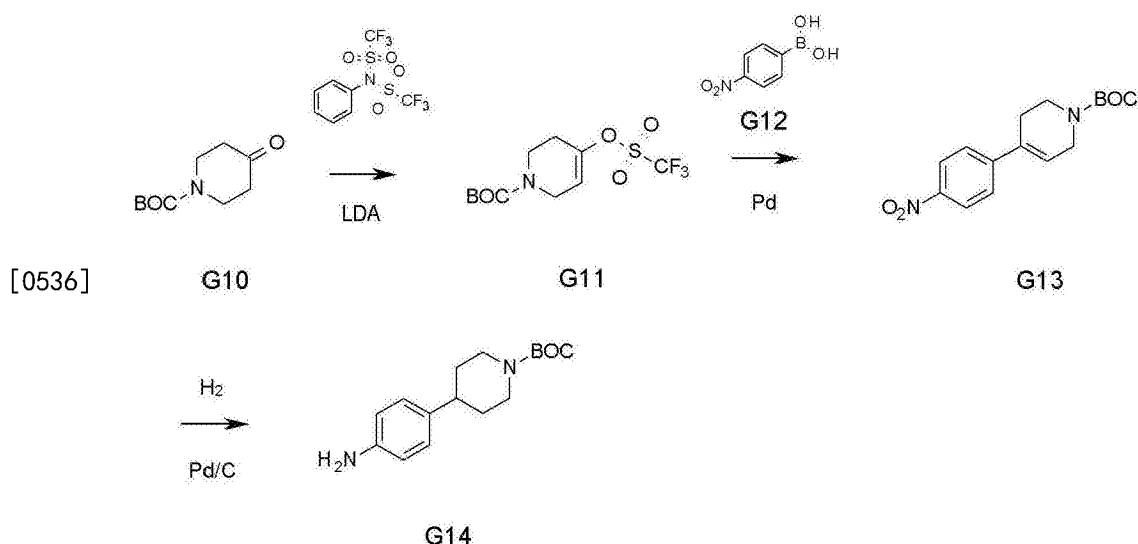


[0533]



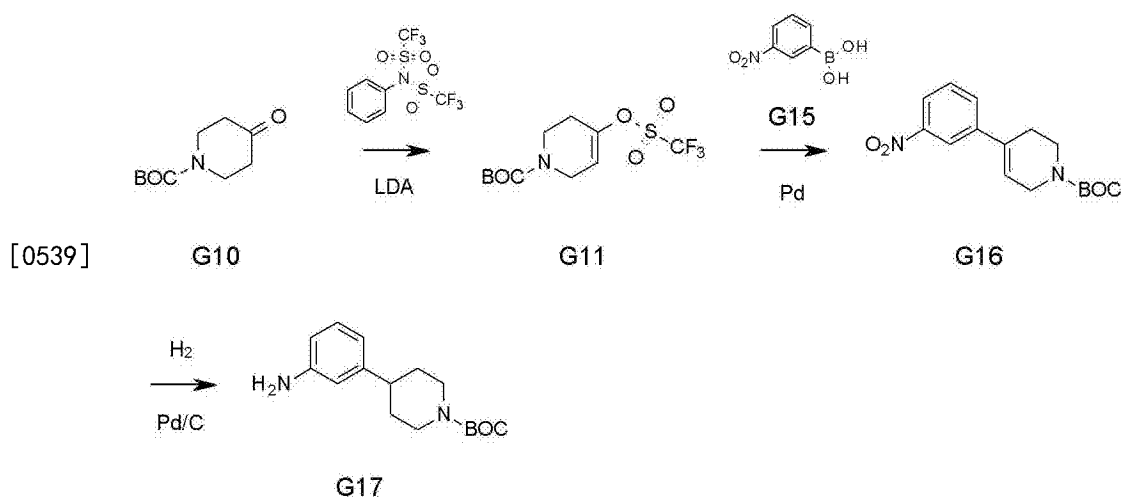
[0534] 4-(3-氨基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(G9)可通过在Buchwald型反应中偶联可商购获得的哌嗪-1-羧酸叔丁酯(G7)和式F4的化合物(其中 $L^3 = \text{I}$ 或 Br)以得到4-(3-硝基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(G8)来制备。在催化剂例如披钯炭的存在下用氢气还原得到4-(3-氨基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(G9)。

[0535] 方案E



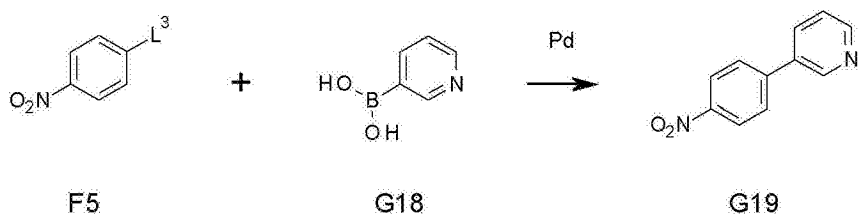
[0537] G6的对应4-哌啶类似物可通过以将可商购获得的4-氧代哌啶-1-羧酸叔丁酯(G10)转化为三氟甲磺酸乙烯酯G11起始的一系列反应来制备。G11在Suzuki型反应中与(4-硝基苯基)硼酸(G12)的偶联得到四氢吡啶G13。随后在催化剂例如披钯炭的存在下通过氢化还原得到4-(4-氨基苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(G14)。

[0538] 方案F

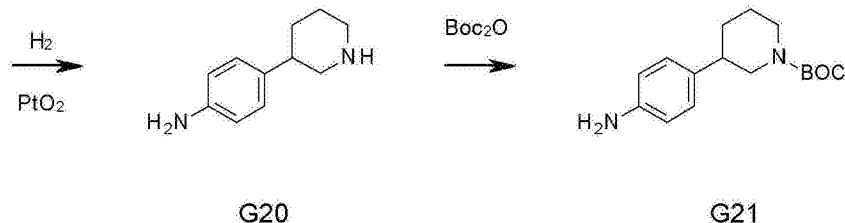


[0540] G9的对应4-(3-氨基苯基)哌啶类似物可通过以将可商购获得的4-氧代哌啶-1-羧酸叔丁酯(G10)转化为三氟甲磺酸乙烯酯G11起始的一系列反应来制备。G11在Suzuki型反应中与(3-硝基苯基)硼酸(G15)的偶联得到四氢吡啶G16。随后在催化剂例如披钯炭的存在下通过氢化还原得到4-(3-氨基苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(G17)。

[0541] 方案G

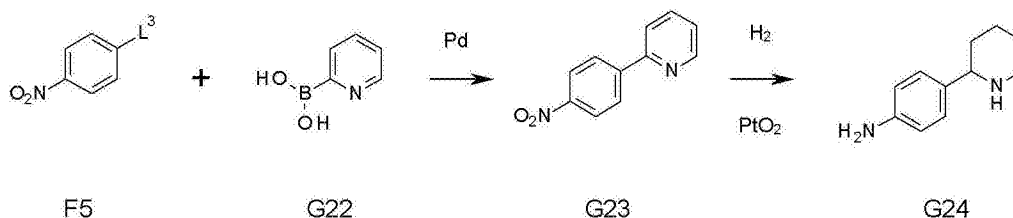


[0542]

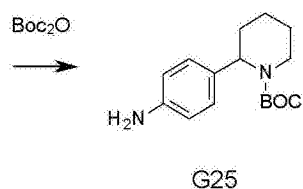


[0543] G14的3-(4-氨基苯基)哌啶区域异构体可通过使式F5的可商购获得的化合物(其中 $L^3 = \text{I}$ 或 Br)与吡啶-3-基硼酸(G18)在Suzuki型反应中反应形成3-(4-硝基苯基)吡啶(G19)来制备。在催化剂例如氧化铂的存在下用氢气还原G19得到4-(哌啶-3-基)苯胺(G20),其可使用Boc酸酐保护以得到3-(4-氨基苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(G21)。

[0544] 方案H

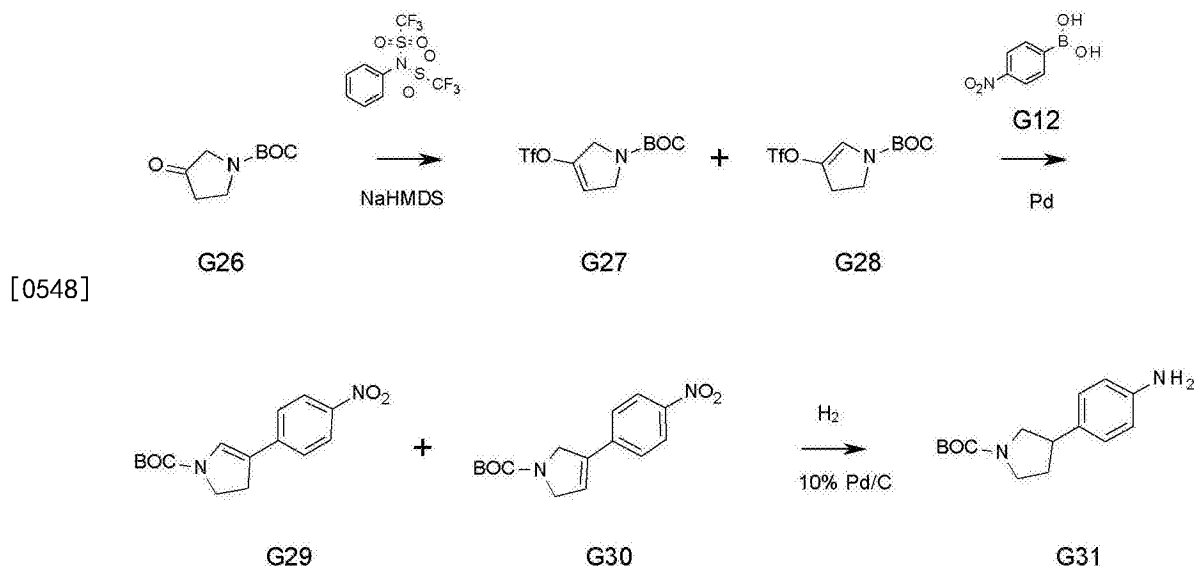


[0545]



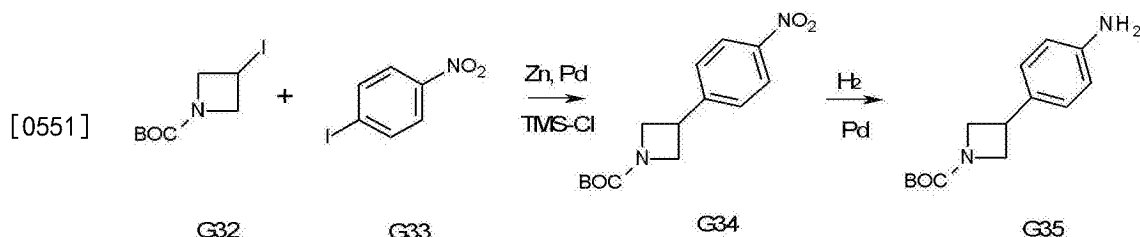
[0546] G14的2-(4-氨基苯基)哌啶区域异构体可通过使式F5的可商购获得的化合物(其中 $L^3 = \text{I}$ 或 Br)与吡啶-2-基硼酸(G22)在Suzuki型反应中反应形成2-(4-硝基苯基)吡啶(G23)来制备。在催化剂例如氧化铂的存在下用氢气还原G23得到4-(哌啶-2-基)苯胺(G24),其可使用Boc酸酐保护以得到2-(4-氨基苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(G25)。

[0547] 方案I



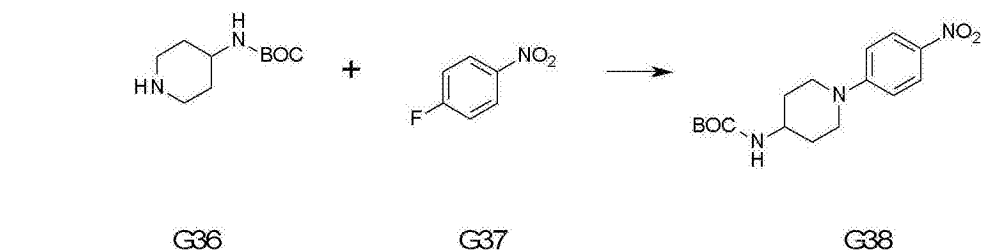
[0549] 可商购获得的3-氧代吡咯烷-1-羧酸叔丁酯(G26)可在三氟甲磺酰胺和合适的碱例如NaHMDS的存在下转化为三氟甲磺酸乙烯酯G27和G28的混合物。该混合物在Suzuki条件下与(4-硝基苯基)硼酸(G12)的偶联得到二氢吡咯G29和G30。在催化剂例如10%披钯炭的存在下使用氢气还原此混合物得到3-(4-氨基苯基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯(G31)。

[0550] 方案J



[0552] 可商购获得的3-碘氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(G32)和4-碘-硝基苯(G33)的金属/甲硅烷基介导的偶联得到3-(4-硝基苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(G34)。随后在催化剂例如披钯炭的存在下通过氢化还原得到3-(4-氨基苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(G35)。

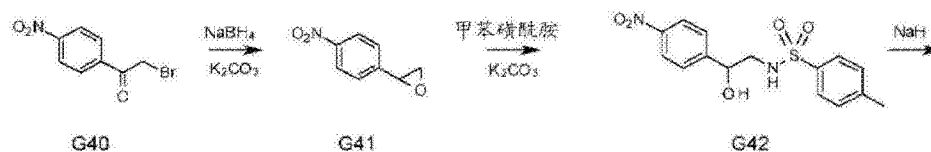
[0553] 方案K



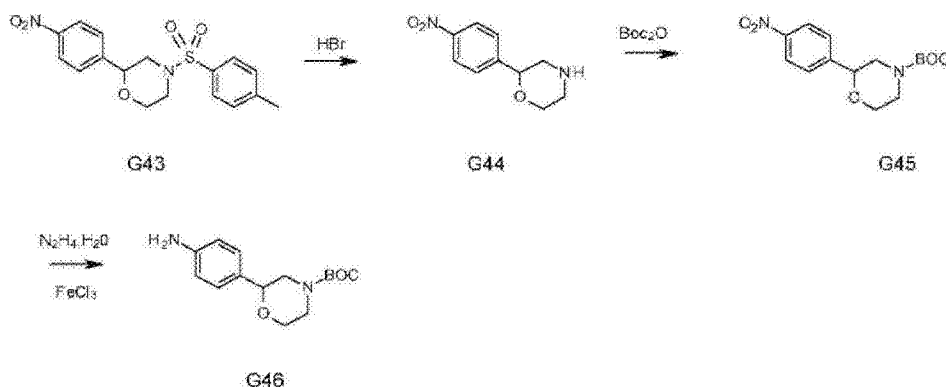
[0555] (1-(4-氨基苯基)哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(G39)可通过可商购获得的哌啶-4-

基氨基酸叔丁酯(G36)和1-氟-4-硝基苯(G37)在热条件下的亲核芳香族取代得到(1-(4-硝基苯基)哌啶-4-基)氨基酸叔丁酯(G38)来制备。在催化剂例如10%披钨炭的存在下用氢气还原G38得到(1-(4-氨基苯基)哌啶-4-基)氨基酸叔丁酯(G39)。

[0556] 方案L

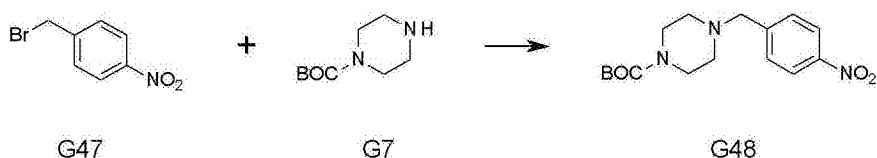


[0557]

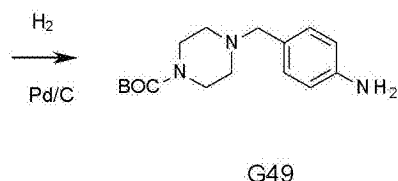


[0558] 可商购获得的2-溴-1-(4-硝基苯基)乙酮(G40)可被还原和环化,得到环氧化物G41。用甲苯磺酰胺打开环氧化物,接着用(2-溴乙基)二苯基硫三氟甲烷磺酸盐环化得到吗啉G43。裂解磺酰胺并且随后用Boc酸酐重新保护得到氨基甲酸酯G45。在氯化铁(III)的存在下使用肼还原得到2-(4-氨基苯基)吗啉-4-羧酸叔丁酯(G46)。

[0559] 方案M



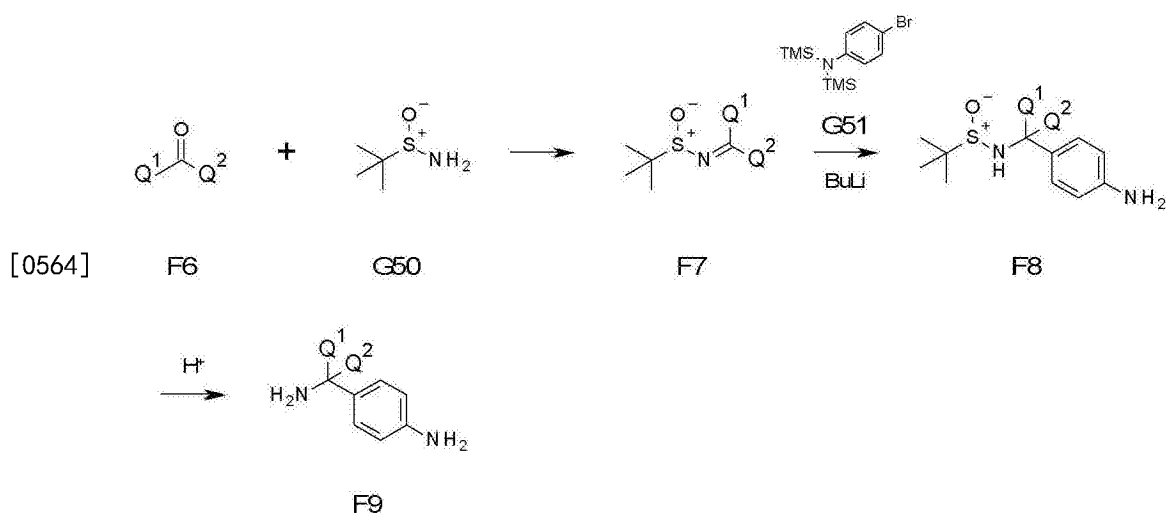
[0560]



[0561] 4-(4-氨基苯甲基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(G49)可通过用哌嗪-1-羧酸叔丁酯(G7)亲核置换可商购获得的1-(溴甲基)-4-硝基苯(G47)以得到4-(4-硝基苯甲基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(G48)来制备。随后在催化剂例如10%披钨炭的存在下用氢气还原,得到4-(4-氨基苯甲基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(G49)。

[0562] 可购买具有允许在苯胺处选择性反应的处于适当位置的合适保护基团的含有苯胺或取代苯胺的式F2化合物或使用如方案N中概述的Ellman型工序来合成所述式F2化合物。

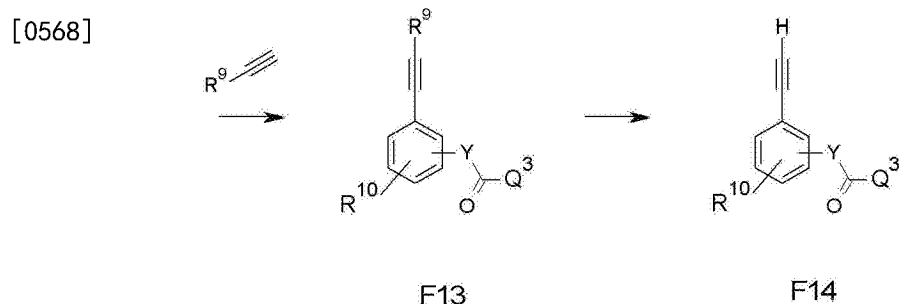
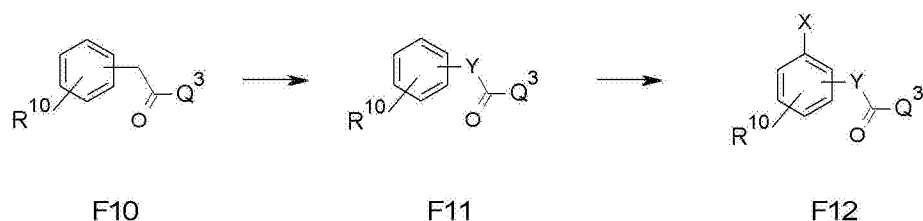
[0563] 方案N



[0565] 式F6的羰基化合物可与2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(G50)反应以得到式F7化合物。式F7化合物可与由适当保护的氨基化合物制备的阴离子,例如用正丁基锂处理的N-(4-溴苯基)-1,1,1-三甲基-N-(三甲基甲硅烷基)硅烷胺(G51)反应以得到式F8化合物。在酸性条件下将式F8化合物水解,例如使用盐酸水溶液,得到式F9化合物。在必要时,式F9化合物可进一步被保护以促进区域专一性反应性。应认识到,Q¹和Q²可为相同或不同的并且可耦合在一起形成环结构,例如如在环丁酮中。取代基Q¹和Q²形成式I化合物中的R^{C1}或X的一部分。还应认识到,适当保护的氨基杂环的阴离子可添加至式F7化合物,以得到式F9化合物的杂环类似物。

[0566] 在需要其中R³为芳基或取代芳基的化合物时,可如方案0中所概述来制备式F14化合物。

[0567] 方案0

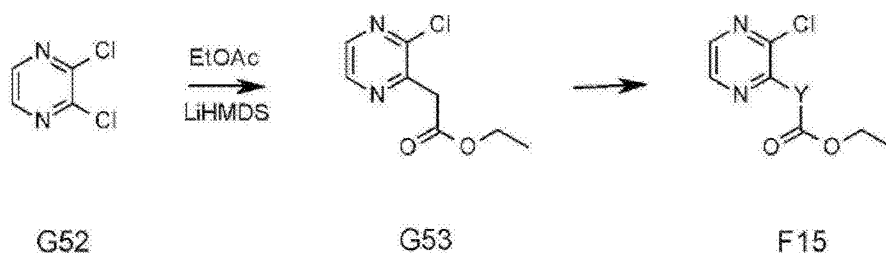


[0569] 式F10、F11和F12化合物可商购获得或可合成制备,其中R¹⁰独立地为H、F、Me或CF₃; Q³可为OH、O-烷基、NH₂或取代的N并且X=Cl、Br或I。应认识到,对于式F10、F11和F12化合物, Q³的性质可容易地改变。例如,羧酸可根据需要转化为对应的酯或酰胺,并且相反地,酯和酰胺可水解得到羧酸。可使用合适的碱例如LDA将其中Q³为酯的式F10化合物去质子化并且用烷化剂例如甲基碘将所得阴离子淬灭,以得到式F11化合物,其中Y为单烷基化物质。接着

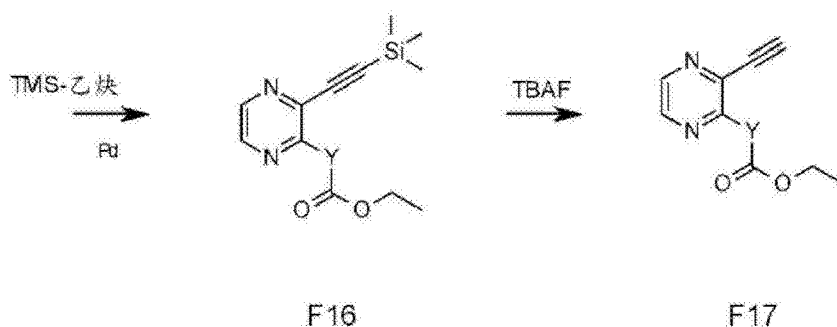
可进行第二去质子化,从而允许引入与所采用的第一烷化剂可相同或不同的第二烷化剂,或以促进环系统的环化,其中所使用的第一烷化剂为二官能化的,例如1,3-二溴丙烷。式F11化合物的卤化得到式F12化合物,例如1-苯基-1-环丙烷羧酸可在Pd(OAc)₂和(二乙酰氧基碘)苯的存在下容易地碘化,以得到1-(2-碘苯基)环丙烷羧酸。式F12化合物可在Sonagashira型偶联条件下反应,以得到式F13的乙炔,其中R⁹=TMS、TES或C(CH₃)₂OH。可接着移除R⁹以生成式F14化合物。当R⁹=TMS或TES时,可使用碳酸钾或氟化四正丁基铵来诱导此转化。当R⁹=C(CH₃)₂OH时,可使用回流甲苯中的氢化钠。

[0570] 或者,当需要其中R³=杂芳基的化合物时,可如方案P、Q和R中所概述来制备F14杂芳基类似物。

[0571] 方案P

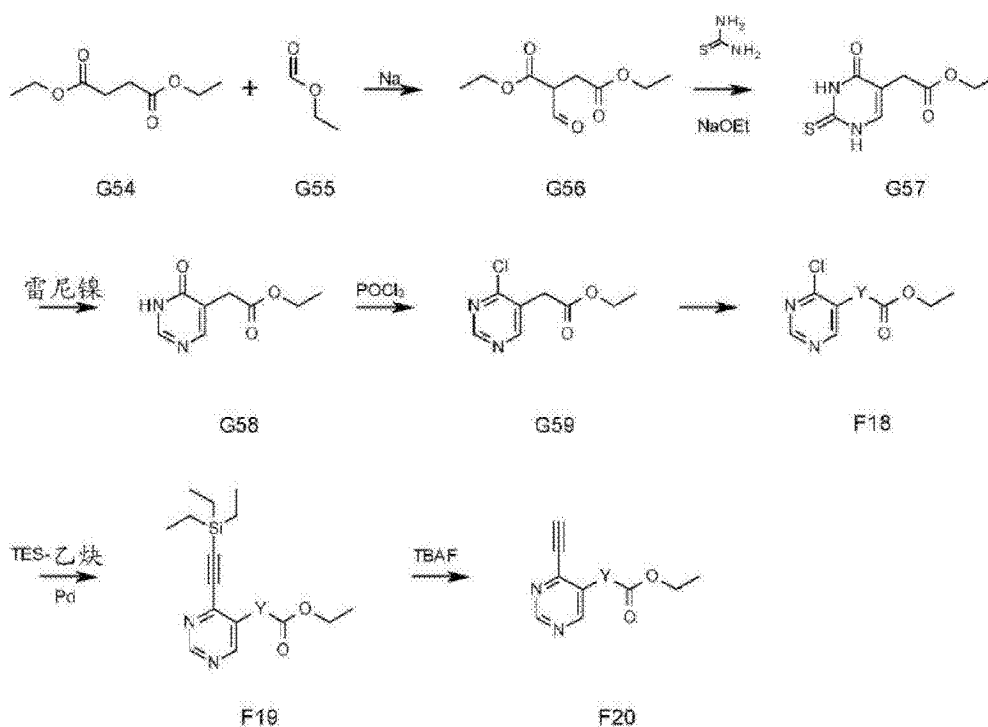


[0572]



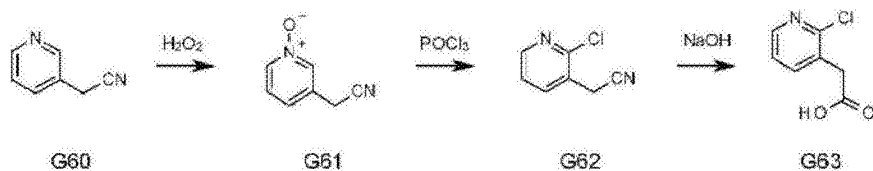
[0573] 对于含吡啶的类似物,可使2,3-二-氯吡啶(G52)在LiHMDS的存在下与乙酸乙酯反应得到酯G53。如以上对于芳基类似物所描述的去质子化和烷基化得到式F15化合物。式F15化合物与TMS乙炔在Sonagashira条件下的偶联得到式F16的乙炔。使用TBAF移除三甲基甲硅烷基,得到式F17化合物。

[0574] 方案Q

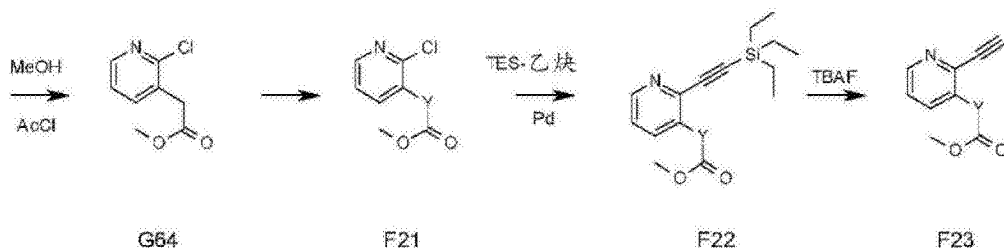


[0576] 对于嘧啶类似物,琥珀酸二乙酯(G54)和甲酸乙酯(G55)可在金属钠的存在下缩合得到醛G56。使用硫脲环化得到4-氧代-2-硫代-1,2,3,4-四氢嘧啶(G57)。使用雷尼镍脱硫得到嘧啶酮G58,其可使用三氯氧磷转化为4-氯嘧啶G59。如上对于芳基类似物所描述的去质子化和烷基化得到式F18化合物。式F18化合物与TES-乙炔在Sonagashira条件下偶联,随后使用TBAF移除三乙基甲硅烷基,得到式F20化合物。应认识到,区域异构嘧啶可通过类似系列反应由G57的异构体获取。

[0577] 方案R

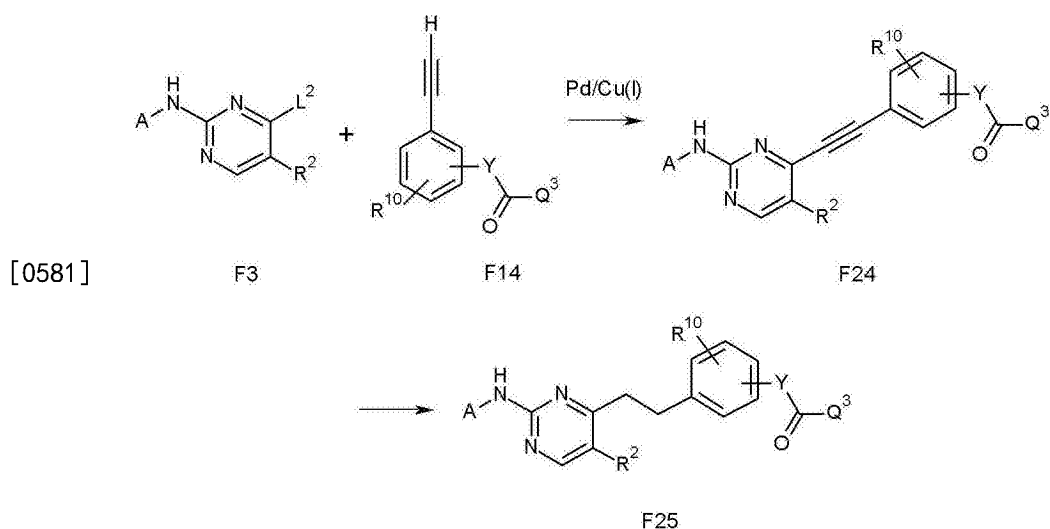


[0578]



[0579] 对于3-吡啶基乙酸酯,可将2-(吡啶-3-基)乙腈(G60)氧化成N-氧化物G61。用三氯氧磷氯化得到2-氯吡啶G62,其可用氢氧化钠水解成乙酸G63。使用甲醇的酯形成得到2-氯吡啶酯G64。如以上对于芳基类似物所描述的去质子化和烷基化得到式F21化合物。式F21化合物与TES-乙炔在Sonagashira条件下偶联,随后使用TBAF移除三乙基甲硅烷基,得到式F23化合物。应认识到,其它区域异构吡啶类似物可使用类似顺序,以其它可商购获得的吡啶基乙酸酯起始来制备。

[0580] 方案S



[0582] 式F3的嘧啶可在Sonagashira型偶联中与式F14的末端乙炔反应得到式F24的乙炔。式F24化合物中的乙炔可在过渡金属催化剂的存在下使用氢气还原成式F25的烷烃。所使用的催化剂和条件的准确选择取决于 R^2 的性质。例如，在 $R^2 = F, CF_3$ 、甲基或甲氧基时，可使用10%Pd/C，在 $R^2 = Cl$ 时，使用氧化铂。如果有必要，可对式F25化合物进行官能团处理。例如，其中 $Q^3 = O$ -烷基（即酯）的式F25化合物可接着脱保护以得到式F25的羧酸，其中 $Q^3 = OH$ 。在其中 $Q^3 = OMe$ 的酯中，可采用LiOH溶液。在 $Q^3 = Ot-Bu$ 时，可使用酸性溶液例如DCM中的TFA来促进水解。应认识到，在酸性条件下，A中的Boc保护基团也将裂解。

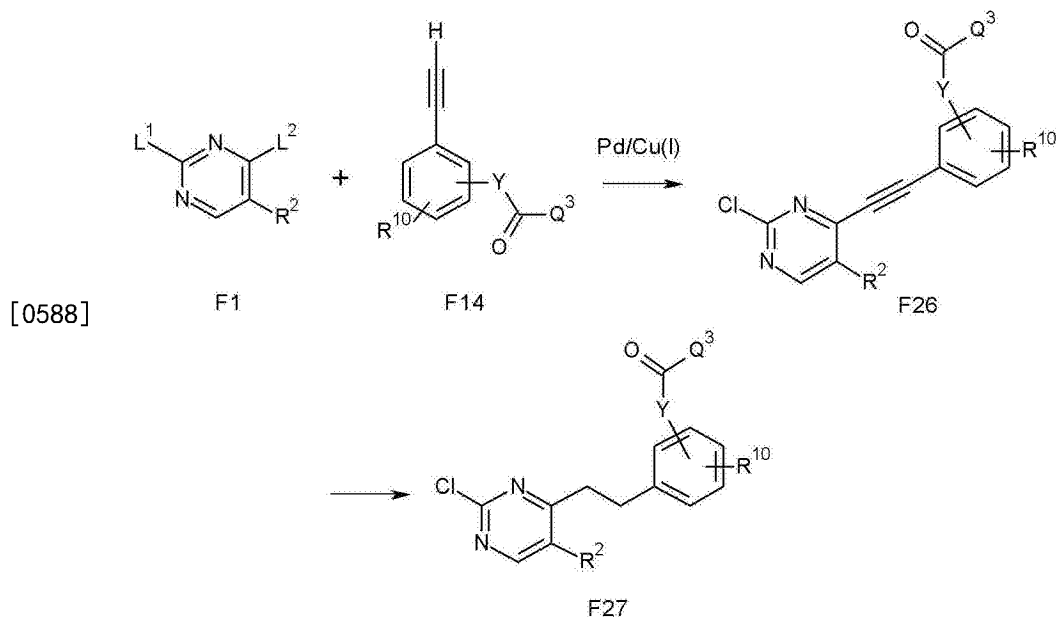
[0583] 可然后在偶联剂例如EDCI.HCl或HATU的存在下、使用合适选择的胺将其中 $Q^3 = OH$ 的式F25化合物转化为酰胺和取代酰胺，如式(1)中所描述。

[0584] 应认识到，式F14化合物的杂芳族类似物（如在方案P、Q和R中所描述）可以与方案S中所描述的类似的方式偶联，并且接着进一步加工成如上所述的酰胺。

[0585] 其中 $Q^3 =$ 酰胺或取代酰胺的式F25化合物可然后通过存在于A中的胺官能度的衍生化来进一步修饰。例如，其中A如方案C至M中所描述来制备，其中存在氨基甲酸叔丁酯的式F25化合物可在弱酸例如TFA的存在下水解，以得到母体胺。胺官能度可通过以下方式进一步衍生化：在三乙酰氧基硼氢化钠的存在下用甲醛还原性烷化，以得到N-Me类似物；在三乙酰氧基硼氢化钠的存在下用乙醛还原性烷化，以得到N-Et类似物；或N-乙酰基类似物可通过与合适的酰化剂例如乙酸酐的反应来制备。

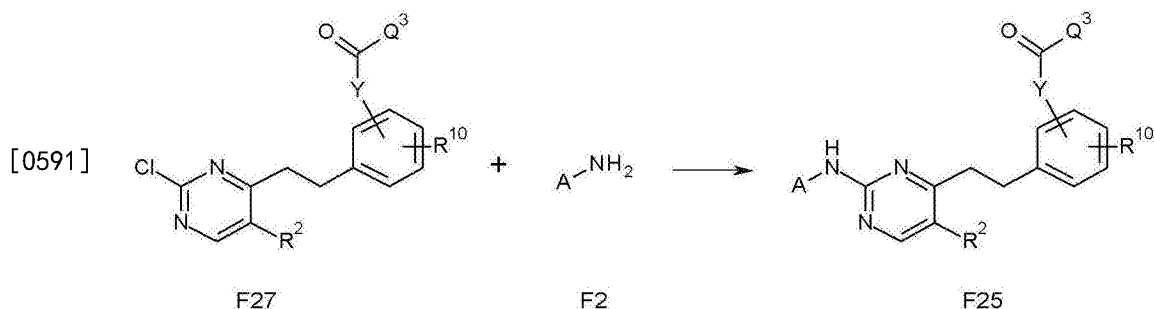
[0586] 或者，可使用方案S所述方法的补充方法，其中 R^2 不为 CF_3 ，由此式F1的嘧啶最初偶联至式F14的乙炔，如在方案T中所详述。

[0587] 方案T



[0589] 式F1的嘧啶可在Sonagashira型偶联中偶联至式F14的乙炔,以得到式F26的乙炔。取决于 R^2 的性质,这些偶联可为区域选择性的,或当获得混合物时,可通过色谱法分离区域异构体。式F26化合物中的乙炔可在过渡金属催化剂的存在下使用氢气还原成式F27的烷烃。所使用的催化剂和条件的准确选择取决于 R^2 的性质。例如,在 $R^2=\text{Me}$ 时,可使用10%Pd/C,在 $R^2=\text{Cl}$ 时,使用氧化铂。所需酰胺可已经存在于式F14化合物中,或可选地可使用酯并且随后如上所述衍生化。

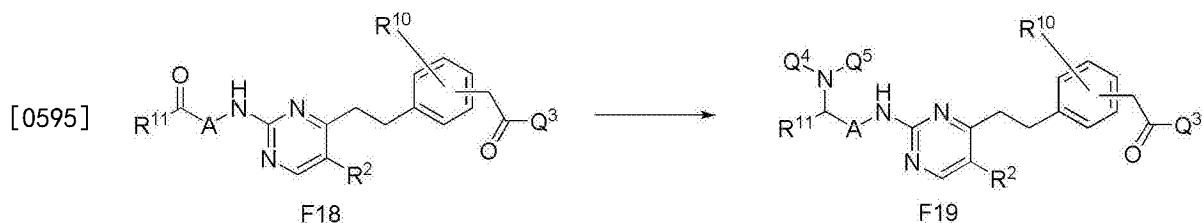
[0590] 方案U



[0592] 然后可使式F27化合物与如上所述制备的式F2的氨基化合物反应,以得到式F25化合物。所述偶联可在酸性条件下例如使用三氟乙醇中的三氟乙酸或使用钨催化在Buchwald/Hartwig型偶联中介导。

[0593] 然后可如上所述根据需要进一步加工式25化合物。

[0594] 方案V



[0596] 其中 R^{11} 为氢、烷基或类似基团的式F18的醛或酮可被胺取代以形成式F19化合物。应认识到,在一些情况下, $Q^4=Q^5=\text{H}$,从而形成伯胺。或者, $Q^4=\text{H}$ 并且 $Q^5=\text{R}$ 以形成仲胺。在

一些情况下, $Q^4=Q^5=R$, 将提供仲胺, 其也可使 Q^4 和 Q^5 耦合在一起形成环结构, 例如但不限于氮杂环丁烷、吡咯烷、哌嗪、吗啉和哌啶。

[0597] 本发明的化合物的用途

[0598] 本发明提供活性化合物, 具体来说, 活性2,4,5-取代嘧啶。

[0599] 如本文所使用的术语“活性”涉及能够抑制VEGFR3活性的化合物, 并且具体来说包括具有内在活性的化合物(药物)以及所述化合物的前药, 所述前药自身可表现出极小或没有内在活性。

[0600] 可用于评估由具体化合物提供的VEGFR3抑制的测定在以下实施例中描述。

[0601] 本发明进一步提供一种抑制细胞中的VEGFR3活性的方法, 其包括使所述细胞与有效量的优选地处于药学上可接受的组合物形式的活性化合物接触。所述方法可在体外或体内实施。

[0602] 本发明进一步提供抑制VEGFR3活性的活性化合物, 以及抑制VEGFR3活性的方法, 其包括使细胞与有效量的活性化合物接触, 不论在体外还是在体内。

[0603] 活性化合物还可用作体外测定的一部分, 例如, 以便确定候选宿主是否可能受益于用所讨论的化合物治疗。

[0604] 本发明进一步提供用于在治疗人或动物身体的方法中使用的活性化合物。所述方法可包括向所述受试者施用治疗有效量的优选地处于药物组合物形式的活性化合物。

[0605] 如本文在治疗病状的上下文中所使用的术语“治疗”一般涉及治疗和疗法, 不论人还是动物(例如在兽医应用中), 其中获得一些所需的治疗效果, 例如, 抑制病状的进展, 并且包括降低进展速率、终止进展速率、改善病状和治愈病状。还包括作为预防性措施的治疗(即预防)。

[0606] 如本文所使用的术语“治疗有效量”涉及有效产生与合理的受益/风险比相匹配的一些所需治疗效果的活性化合物, 或包含活性化合物的材料、组合物或剂型的量。

[0607] 癌症

[0608] 本发明提供作为抗癌剂的活性化合物。本领域普通技术人员能够容易地确定候选化合物是否单独或组合地治疗任何具体细胞类型的癌性病状。

[0609] 本发明提供活性化合物用于治疗人或动物身体的癌症的用途。本发明进一步提供用于在治疗人或动物身体的癌症的方法中使用的活性化合物。所述用途或方法可包括向所述受试者施用治疗有效量的优选地处于药物组合物形式的活性化合物。

[0610] 癌症的实例包括但不限于骨癌、脑干神经胶质瘤、乳腺癌、肾上腺癌、肛门区癌、膀胱癌、内分泌系统癌、食管癌、头部或颈部癌、肾或输尿管癌、肝癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、小肠癌、甲状腺癌、尿道癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、输卵管癌、肾盂癌、阴道癌、外阴癌、慢性或急性白血病、结肠癌、黑素瘤如皮肤或眼内黑素瘤、血液恶性肿瘤、何杰金氏病、肺癌、淋巴细胞淋巴瘤、中枢神经系统(CNS)肿瘤、卵巢癌、胰腺癌、垂体腺瘤、原发性CNS淋巴瘤、前列腺癌、直肠癌、肾细胞癌、软组织肉瘤、皮肤癌、脊轴肿瘤、胃癌和子宫癌。在一些实施方案中, 癌症为黑素瘤、乳腺癌或头颈癌。

[0611] 可治疗任何类型的细胞, 包括但不限于肺、胃肠道(包括例如, 肠、结肠)、乳房(乳腺)、卵巢、前列腺、肝脏(肝)、肾脏(肾)、膀胱、胰腺、大脑和皮肤。

[0612] 本发明的化合物还可适用于抑制淋巴管生成和/或遏制淋巴结转移。本发明的化

合物还可适用于预防癌症扩散和预防转移。

[0613] 在一个实施方案中,提供了式(I)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药预防癌症扩散或预防转移的用途。还提供了用于在用于预防癌症扩散或预防转移的方法中使用的式(I)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药。

[0614] 在另一个实施方案中,提供一种抗癌治疗,其包含式(I)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药以及抗肿瘤剂。

[0615] 本文所定义的抗癌治疗可作为单独疗法应用或除了本发明的化合物以外,可涉及常规手术或放射疗法或化学疗法。所述化学疗法可包括以下类别的抗肿瘤剂中的一种或多种:

[0616] (i)其它抗增殖/抗肿瘤药物及其组合,如内科肿瘤学中所使用的,如烷化剂(例如顺铂、奥沙利铂、卡铂、环磷酰胺、氮芥、美法仑、苯丁酸氮芥、白消安、替莫唑胺和亚硝基脲);抗代谢物(例如吉西他滨和抗叶酸剂如氟嘧啶如5-氟尿嘧啶和喃氟啶、雷替曲赛、甲氨蝶呤、胞嘧啶阿糖胞苷和羟基脲);抗肿瘤抗生素(例如蒽环类如阿霉素、博来霉素、多柔比星、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、丝裂霉素-C、更生霉素和光神霉素);抗有丝分裂剂(例如长春花生物碱如长春新碱、长春碱、长春地辛和长春瑞滨和紫杉烷类如紫杉醇和多西紫杉醇(泰索帝)以及保罗样激酶抑制剂);以及拓扑异构酶抑制剂(例如表鬼臼毒素如依托泊苷和替尼泊苷、安吖啶、拓扑替康和喜树碱);

[0617] (ii)细胞生长抑制剂如抗雌激素(例如他莫昔芬、氟维司群、托瑞米芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬和爱多昔芬(iodoxyfene))、抗雄激素(例如比卡鲁胺、氟他胺、尼鲁米特和环丙孕酮乙酸酯)、LHRH拮抗剂或LHRH激动剂(例如戈舍瑞林、亮丙瑞林和布舍瑞林)、孕激素(例如乙酸甲地孕酮)、芳香酶抑制剂(例如阿那曲唑、来曲唑、伏氯唑(vorazole)和依西美坦)以及5 α -还原酶的抑制剂如非那雄胺;

[0618] (iii)抗浸润剂(例如c-Src激酶家族抑制剂如4-(6-氯-2,3-亚甲基二氧苯胺)-7-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙氧基]-5-四氢吡喃-4-基氧喹啉(AZD0530;国际专利申请WO 01/94341)、N-(2-氯-6-甲基苯基)-2-{6-[4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基]-2-甲基嘧啶-4-基氨基}噻唑-5-甲酰胺(达沙替尼,BMS-354825;J. Med. Chem., 2004, 47, 6658-6661和4-((2,4-二氯-5-甲氧基苯基)氨基)-6-甲氧基-7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙氧基)喹啉-3-腈(博舒替尼,SKI-606;Cancer research(2003), 63(2), 375-81),以及金属蛋白酶抑制剂如马立马司他、尿激酶纤溶酶原活化剂受体功能的抑制剂或肝素抗体);

[0619] (iv)生长因子功能的抑制剂:例如所述抑制剂包括生长因子抗体和生长因子受体抗体(例如抗erbB2抗体曲妥珠单抗[赫赛汀T]、抗EGFR抗体帕木单抗、抗erbB1抗体西妥昔单抗[爱必妥,C225]以及由Stern等人Critical reviews in oncology/haematology, 2005,第54卷,第11-29页公开的任何生长因子或生长因子受体抗体);所述抑制剂还包括酪氨酸激酶抑制剂,例如表皮生长因子家族的抑制剂(例如EGFR家族酪氨酸激酶抑制剂如N-(3-氯-4-氟苯基)-7-甲氧基-6-(3-吗啉代丙氧基)喹啉-4-胺(吉非替尼,ZD1839)、N-(3-乙炔基苯基)-6,7-双(2-甲氧基乙氧基)喹啉-4-胺(厄洛替尼,OSI 774)和6-丙烯酰胺基-N-(3-氯-4-氟苯基)-7-(3-吗啉代丙氧基)-喹啉-4-胺(CI 1033)、erbB2酪氨酸激酶抑制剂如拉帕替尼、肝细胞生长因子家族的抑制剂、血小板衍生生长因子家族的抑制剂如伊马替尼、丝氨酸/苏氨酸激酶的抑制剂(例如Ras/Raf信号传导抑制剂如法尼基转移酶抑

制剂,例如索拉非尼(BAY 43-9006))、通过MEK和/或AKT激酶的细胞信号传导的抑制剂、肝细胞生长因子家族的抑制剂、c-kit抑制剂、abl激酶抑制剂、IGF受体(胰岛素样生长因子)激酶抑制剂;极光激酶抑制剂(例如AZD1152、PH739358、VX-680、MLN8054、R763、MP235、MP529、VX-528和AX39459)以及细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂如CDK2和/或CDK4抑制剂;

[0620] (v)抗血管生成和抗淋巴管生成剂如抑制血管内皮生长因子的作用的那些,[例如抗血管内皮细胞生长因子A(VEGFA)抗体贝伐单抗(阿瓦斯丁T);抗血管内皮细胞生长因子A(VEGFA)抗体兰尼单抗;抗VEGF适体哌加他尼;抗血管内皮生长因子受体3(VEGFR3)抗体IMC-3C5;抗血管内皮细胞生长因子C(VEGFC)抗体VGX-100;抗血管内皮细胞生长因子D(VEGFD)抗体VGX-200;可溶性形式的血管内皮生长因子受体3(VEGFR3)VGX-300和VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂,如4-(4-溴-2-氟苯胺)-6-甲氧基-7-(1-甲基哌啶-4-基甲氧基)喹唑啉(凡德他尼;ZD6474;WO 01/32651中的实施例2)、4-(4-氟-2-甲基吡啶-5-基氧基)-6-甲氧基-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹唑啉(西地尼布;AZD2171;WO 00/47212中的实施例240)、瓦他拉尼(PTK787;WO 98/35985)、帕唑帕尼(GW786034)、阿西替尼(AG013736)、索拉非尼和舒尼替尼(SU11248;WO 01/60814);如在国际专利申请W097/22596、WO 97/30035、WO 97/32856和WO 98/13354中公开的化合物和通过其它机制起作用的化合物(例如利诺胺、整联蛋白avb3功能抑制剂和血管抑素)];

[0621] (vi)血管破坏剂如考布他汀A4和在国际专利申请WO 99/02166、WO 00/40529、WO 00/41669、WO 01/92224、WO 02/04434和WO 02/08213中公开的化合物;

[0622] (vii)反义疗法,例如针对以上列出的靶标的疗法,如ISIS 2503、抗-ras反义;

[0623] (viii)基因治疗方法,包括例如替代异常基因如异常p53或异常BRCA1或BRCA2, GDEPT的方法(基因导向性酶前药疗法)、如使用胞嘧啶脱氨酶、胸苷激酶或细菌硝基还原酶的那些的方法以及增加对化学疗法或放射疗法的患者耐受性的方法如多药物抗性基因疗法;以及

[0624] (ix)免疫治疗方法,包括例如增加患者肿瘤细胞的免疫原性的离体和体内方法(如用细胞因子如白细胞介素2、白细胞介素4或粒细胞巨噬细胞集落刺激因子转染)、降低T细胞无反应性的方法、使用转染免疫细胞如细胞因子转染的树突细胞的方法、使用细胞因子转染的肿瘤细胞系的方法以及使用抗独特型抗体的方法

[0625] 特别感兴趣的组合是与多西紫杉醇的组合。感兴趣的其它可能的组合包括与吉西他宾、顺铂和喜树碱前药伊立替康的组合。

[0626] 通过控制和/或抑制淋巴管生成来改善的疾病

[0627] 本发明提供适用于预防和/或治疗通过控制和/或抑制淋巴管生成来改善的疾病或病状的活性化合物。

[0628] 在一个实施方案中,提供式(I)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药抑制、遏制或减少淋巴管生成的用途。还提供用于在抑制、遏制或减少淋巴管生成的方法中使用的式(I)化合物或其异构体、盐、溶剂合物、受保护形式或前药。

[0629] 如以上所论述,这些疾病或病状可包括:

[0630] (a)眼睛疾病,例如角膜移植排斥和年龄相关黄斑变性;

[0631] (b)皮肤炎症,如患有牛皮癣的患者的皮肤病变;

[0632] (c)肾移植的排斥。

[0633] 施用

[0634] 活性化合物或包含活性化合物的药物组合物可通过任何便利的施用途径施用至受试者,不论全身/外周还是所需作用部位,包括但不限于,口服(例如摄食);局部(包括例如经皮、鼻内、眼部、经颊和舌下);经肺(例如通过使用例如气雾剂,例如通过嘴或鼻的吸入或吹入疗法);直肠;阴道;肠胃外,例如通过注射,包括皮下、皮内、肌肉内、静脉内、动脉内、心内、鞘内、脊柱内、囊内、包膜下、眶内、腹膜内、气管内、表皮下、关节内、蛛网膜下、玻璃体内和胸骨内;通过植入贮库,例如皮下、玻璃体内或肌肉内。受试者可为真核生物、动物、脊椎动物、哺乳动物、啮齿动物(例如豚鼠、仓鼠、大鼠、小鼠)、鼠科动物(例如小鼠)、犬科动物(例如犬)、猫科动物(例如猫)、马科动物(例如马)、灵长类动物、猿猴(例如猴或猿)、猴(例如狨、狒狒)、猿(例如大猩猩、黑猩猩、猩猩、长臂猿),或人。

[0635] 制剂

[0636] 虽然活性化合物可单独施用,但是优选其以药物组合物(例如制剂)形式存在,所述药物组合物包含至少一种如上文定义的活性化合物,连同一种或多种药学上可接受的载体、佐剂、赋形剂、稀释剂、填充剂、缓冲剂、稳定剂、防腐剂、润滑剂或本领域技术人员熟知的其它材料和任选地其它治疗或预防剂。

[0637] 因此,本发明进一步提供如上文定义的药物组合物,和制造药物组合物的方法,所述方法包括将至少一种如上文定义的活性化合物连同一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂、缓冲剂、佐剂、稳定剂或如本文描述的其它材料混合。

[0638] 如本文所使用的术语“药学上可接受的”涉及化合物、材料、组合物和/或剂型,其在合理医学判断范围内适用于与受试者(例如人)的组织接触而没有过量毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,与合理的益处/风险比是相匹配的。每一种载体、赋形剂等也必须在与制剂的其它成分相容的意义上是“可接受的”。

[0639] 合适的载体、赋形剂等可存在于标准药物读本中,例如,Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,1990。

[0640] 制剂可方便地以单位剂型存在并且可通过药学领域中熟知的任何方法来制备。所述方法包括使活性化合物与构成一种或多种辅助成分的载体结合的步骤。通常,通过使活性化合物与液体载体或细碎固体载体或两者均匀并紧密地结合,然后根据需要将产物成形来制备制剂。

[0641] 制剂可呈以下形式:液体、溶液、混悬液、乳液、酏剂、糖浆、片剂、锭剂、颗粒、粉末、胶囊、扁囊剂、丸剂、安瓿、栓剂、阴道栓、软膏、凝胶、糊剂、霜剂、喷雾剂、烟雾剂、泡沫、洗剂、油剂、大丸剂、干药糖剂或气雾剂。

[0642] 适于口服施用(例如摄食)的制剂可以如下形式存在:分散单位,如胶囊、扁囊剂或片剂,各自含有预定量的活性化合物;粉末或颗粒;水性或非水性液体中的溶液或混悬液;或水包油液体乳液或油包水液体乳液;大丸剂;干药糖剂;或糊剂。

[0643] 片剂可通过常规方法制成,例如,压缩或模制,任选地与一种或多种辅助成分一起。可通过在合适的机器中压缩处于自由流动形式如粉末或颗粒的活性化合物来制备压缩片剂,所述活性化合物任选地与以下物质混合:一种或多种粘合剂(例如聚维酮、明胶、阿拉伯树胶、山梨糖醇、黄蓍胶、羟丙基甲基纤维素);填充剂或稀释剂(例如乳糖、微晶纤维素、磷酸氢钙);润滑剂(例如硬脂酸镁、滑石、二氧化硅);崩解剂(例如羟乙酸淀粉钠、交联聚维

酮、交联羧甲基纤维素钠);表面活性或分散或润湿剂(例如十二烷基硫酸钠);以及防腐剂(例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、山梨酸)。可通过在合适的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物来制备模制片剂。片剂可任选地包衣或刻痕并且可配制以便提供其中的活性化合物的缓慢或受控释放,使用例如不同比例的羟丙基甲基纤维素来提供所需的释放曲线。片剂可任选地提供有肠溶包衣,以提供在肠道部分而不是在胃中的释放。

[0644] 适于局部施用(例如经皮、鼻内、眼部、经颊和舌下)的制剂可配制成软膏、霜剂、混悬液、洗剂、粉末、溶液、糊剂、凝胶、喷雾剂、气雾剂或油剂。或者,制剂可包括贴剂或敷料,如浸渍有活性化合物和任选地一种或多种赋形剂或稀释剂的绷带或橡皮膏。

[0645] 适于在口腔中局部施用的制剂包括:锭剂,其包含在矫味基质通常为蔗糖和阿拉伯树胶或黄蓍胶中的活性化合物;软锭剂,其包含在惰性基质如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯树胶中的活性化合物;以及漱口水,其包含在合适的液体载体中的活性化合物。

[0646] 适于局部施用至眼睛的制剂还包括滴眼剂,其中活性化合物溶解或悬浮于合适的载体,尤其是活性化合物的水性溶剂中。

[0647] 适于鼻腔施用的其中载体为固体的制剂包括具有例如在约20微米至约500微米范围内的粒度的粗粉末,其以进行鼻吸的方式,即通过经由鼻腔通道从放在鼻子近处的粉末的容器中快速吸入来施用。其中载体为液体的用于以例如鼻腔喷雾剂、滴鼻液的形式或通过气雾剂来施用或通过喷雾器施用的合适的制剂包括活性化合物的水性或油性溶液。

[0648] 适于通过吸入施用的制剂包括以气雾喷雾剂的形式,借助于合适的抛射剂如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它合适的气体从加压包装中呈递的那些。

[0649] 适于经由皮肤局部施用的制剂包括软膏、霜剂和乳液。当配制成软膏时,活性化合物可任选地与石蜡或水可混溶的软膏基质一起使用。或者,活性化合物可配制成具有水包油霜剂基质的霜剂。如果需要,霜剂基质的水相可包括,例如,至少约30%w/w的多元醇,即,具有两个或更多个羟基的醇如丙二醇、1,3-丁二醇、甘露糖醇、山梨糖醇、甘油和聚乙二醇及其混合物。局部制剂可合意地包括增强活性化合物通过皮肤或其它患病区域的吸收或渗透的化合物。所述皮肤渗透增强剂的实例包括二甲亚砷和相关类似物。

[0650] 当配制成局部乳液时,油相可任选地仅包含乳化剂(或称为利泻剂),或所述油相可包含至少一种乳化剂与脂肪或油或与脂肪和油两者的混合物。优选地,亲水性乳化剂与充当稳定剂的亲脂性乳化剂一起包含在内。还优选地包含油和脂肪。总之,具有或不具有稳定剂的乳化剂构成所谓的乳化蜡,并且蜡连同油和/或脂肪一起构成所谓的乳化软膏基质,其形成霜剂制剂的油性分散相。

[0651] 合适的乳化剂和乳液稳定剂包括Tween 60、Span 80、鲸蜡硬脂醇、肉豆蔻醇、单硬脂甘油酸和十二烷基硫酸钠。制剂的合适的油或脂肪的选择基于实现所需的美容特性,因为活性化合物在可用于药物乳液制剂中的大多数油中的溶解性可为非常低的。因此霜剂应优选地为不油腻、不染色和可清洗的产品,其具有合适的稠度以避免从管或其它容器中渗漏。可使用直链或支链、一元或二元烷基酯,如二异己二酸酯、硬脂酸异鲸蜡基酯、椰子脂肪酸的丙二醇二酯、肉豆蔻酸异丙酯、油酸癸酯、棕榈酸异丙酯、硬脂酸丁酯、2-乙基己基棕榈酸酯或被称为Crodamol CAP的支链酯的共混物,最后三种为优选酯。取决于所需特性,这些

物质可单独或组合使用。

[0652] 或者,可使用高熔点脂质如白软石蜡和/或液体石蜡或其它矿物油。

[0653] 适于直肠施用的制剂可以具有包含例如可可脂或水杨酸盐的合适基质的栓剂形式存在。

[0654] 适于阴道施用的制剂可以阴道栓、棉塞、霜剂、凝胶、糊剂、泡沫或喷雾制剂的形式存在,除了活性化合物以外,其含有如本领域中已知为适当的这类载体。

[0655] 适于肠胃外施用(例如通过注射,包括皮肤、皮下、肌肉内、静脉内和皮内)的制剂包括水性和非水性等渗、无热原、无菌注射溶液,其可含有抗氧化剂、缓冲剂、防腐剂、稳定剂、抑菌剂,以及使得制剂与预期接受者的血液等渗的溶质;以及水性和非水性无菌混悬液,其可包括悬浮剂和增稠剂,以及脂质体或被设计来将化合物靶向血液组分或一个或多个器官的其它微粒系统。用于在所述制剂中使用的合适的等渗媒介物的实例包括氯化钠注射液、林格氏溶液或乳酸化林格氏注射液。典型地,溶液中活性化合物的浓度为约1ng/mL至约10 μ g/mL,例如约10ng/mL至约1 μ g/mL。制剂可存在于单位剂量或多剂量密封容器中,例如,安瓿和小瓶,并且可存储于冷冻干燥(冻干)条件下,只需要在使用前即时添加无菌液体载体,例如注射用水。临时注射溶液和混悬液可由无菌粉末、颗粒和片剂制备。制剂可呈脂质体或被设计来将活性化合物靶向血液组分或一个或多个器官的其它微粒系统的形式。

[0656] 剂量

[0657] 应认识到,活性化合物和包含活性化合物的组合物的适当剂量可在各个患者之间不同。确定最优剂量一般将涉及在治疗益处的水平和本发明的治疗的任何风险或有害副作用之间进行平衡。所选剂量水平将取决于各种因素,包括但不限于具体化合物的活性、施用于途径、施用时间、化合物的排泄速率、治疗持续时间、组合使用的其它药物、化合物和/或材料,以及患者的年龄、性别、体重、病情、一般健康状况和以前病史。化合物的量和施用于途径将最终由医师酌定,但是总体上剂量将在作用部位获得局部浓度,其实现所需效果而不导致大致上有害或有毒的副作用。

[0658] 体内施用可在整个治疗过程中以一次剂量、连续或间歇地(例如在适当的时间间隔下,以分剂量)实现。确定最有效施用方式和剂量的方法为本领域技术人员熟知并且将随着用于治疗的制剂、治疗目的、所治疗的靶细胞和所治疗的受试者而变化。单次或多次施用可根据由治疗医师选择的剂量水平和模式来执行。

[0659] 通常,活性化合物的合适剂量在每天约100 μ g/kg受试者体重至约250mg/kg受试者体重的范围内。当活性化合物为盐、酯、前药等时,施用量基于母体化合物来计算,因此待使用的实际重量成比例增加。

实施例

[0660] 以下实施例仅提供来阐明本发明并且不旨在限制如本文描述的本发明的范围。在以下实施例中,如果结构含有一个或多个立体中心并且立体化学在图中描绘,那么相应立体化学以任意绝对构型指定。这些结构描绘单一对映异构体以及所有比率的对映异构体的混合物,和/或所有比率的非对映异构体的混合物。

[0661] 缩略语

[0662] 为方便起见,许多化学部分使用熟知缩写来表示,包括但不限于,甲基(Me)、乙基

(Et)、正丙基(nPr)、异丙基(iPr)、正丁基(nBu)、叔丁基(tBu)、正己基(nHex)、环己基(cHex)、苯基(Ph)、甲氧基(MeO)、乙氧基(EtO)、三甲基甲硅烷基(TMS)、叔丁氧羰基(Boc)和乙酰基(Ac)。

[0663] 为方便起见,许多化学化合物使用熟知缩写来表示,包括但不限于,甲醇(MeOH)、乙醇(EtOH)、醚或二乙醚(Et₂O)、乙酸乙酯(EtOAc)、三乙胺(Et₃N)、二氯甲烷(dichloromethane)(二氯甲烷(methylene chloride),DCM)、三氟乙酸(TFA)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、硫酸钠(Na₂SO₄)、四氢呋喃(THF)、二甲亚砜(DMSO)、硫酸镁(MgSO₄)、碳酸氢钠(NaHCO₃)、叔丁醇(t-BuOH)、1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC1.HCl)、四-正丁基氟化铵(TBAF)、间氯过氧苯甲酸(mCPBA)、六甲基二硅氮烷钠盐(NaHMDS)、N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、1-羟基苯并三唑(HOBt)、O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(HATU)、三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(Pd₂(dba)₃)、反式-二氯双(三苯基膦)钯(II)(PdCl₂(PPh₃)₂)、乙酸钯(II)(Pd(OAc)₂)、四氟硼酸三叔丁基膦(t-Bu₃PH.BF₄)、4,5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基咕吨(Xantphos)、三苯基膦(PPh₃)以及1,2-二氯乙烷(DCE)。

[0664] 一般实验细节

[0665] 除非另外说明,否则以下概论适用。

[0666] 在Bruker Avance DRX300(300MHz)或Bruker Ultrashield plus(400MHz)上记录¹NMR光谱。信号的多重性通过以下缩写来标识:s,单峰;d,双重峰;dd,双重双重峰;t,三重峰;tt,三重三重峰;td,三重双重峰;q,四重峰;br,宽峰;m,多重峰。所有观察到的偶联常数J以赫兹来记录。

[0667] 使用Agilent 6100Series Single Quad LC/MS(LCMS-A)或Waters ZQ3100系统(LCMS-B)或Finnigan LCG Advantage Max(LCMS-C)或Agilent 1200Infinity Series(LCMS-D)生成LC/MS数据。

[0668] LCMS方法A(LCMS-A)

[0669] 仪器:Agilent 6100Series Single Quad LC/MS

[0670] Agilent 1200系列HPLC

[0671] 泵:1200系列G1311A Quaternary泵

[0672] 自动取样器:1200系列G1329A恒温自动取样器

[0673] 检测器:1200系列G1314B可变波长检测器

[0674] LC条件:

[0675] 反相HPLC分析

[0676] 柱:Luna C8(2)5μ50×4.6mm 100A

[0677] 柱温:30℃

[0678] 进样量:5μL

[0679] 溶剂A:水0.1%甲酸

[0680] 溶剂B:乙腈0.1%甲酸

[0681] 梯度:5%-100%B,经10min

[0682] 检测:254nm或214nm

[0683] MS条件:

[0684] 离子源:四极

- [0685] 离子模式:多模式-ES
- [0686] 干燥气体温度:300℃
- [0687] 蒸发器温度:200℃
- [0688] 毛细管电压(V):2000(正)
- [0689] 毛细管电压(V):4000(负)
- [0690] 扫描范围:100-1000
- [0691] 步长:0.1秒
- [0692] 采集时间:10min
- [0693] LCMS方法B(LCMS-B)
- [0694] 仪器:Waters ZQ 3100-质量检测器
- [0695] Waters 2545-泵
- [0696] Waters SFO系统射流组织器(Waters SFO System Fluidics Organizer)
- [0697] Waters 2996二极管阵列检测器
- [0698] Waters 2767样品管理器
- [0699] LC条件:
- [0700] 反相HPLC分析
- [0701] 柱:XBridge TM C18 5μm 4.6×100mm
- [0702] 进样量:10μL
- [0703] 溶剂A:水0.1%甲酸
- [0704] 溶剂B:乙腈0.1%甲酸
- [0705] 梯度:10%-100%B,经10min
- [0706] 流动速率:1.5ml/min
- [0707] 检测:100-600nm
- [0708] MS条件
- [0709] 离子源:单一四极
- [0710] 离子模式:ES正
- [0711] 源温度:150℃
- [0712] 去溶剂化温度:350℃
- [0713] 检测:离子计数
- [0714] 毛细管(KV):3.00
- [0715] 样品锥(V):30
- [0716] 萃取器(V):3
- [0717] RF透镜(V):0.1
- [0718] 扫描范围:100-1000Amu
- [0719] 扫描时间:0.5秒
- [0720] 采集时间:10min
- [0721] 气体流量:100L/h
- [0722] 去溶剂化:650L/h
- [0723] LCMS方法C(LCMS-C)

- [0724] 仪器:Finnigan LCG Advantage Max
- [0725] Finnigan Surveyor LC泵
- [0726] Finnigan Surveyor自动取样器
- [0727] Finnigan Surveyor PDA检测器
- [0728] LC条件:
- [0729] 反相HPLC分析
- [0730] 柱:Gemini 3 μ m C18 20 $\times$ 4.0mm 110A
- [0731] 进样量:10 μ L
- [0732] 溶剂A:水0.1%甲酸
- [0733] 溶剂B:乙腈0.1%甲酸
- [0734] 梯度:10%-100%B,经10min
- [0735] 检测:100-600nm
- [0736] MS条件
- [0737] 离子源:离子阱
- [0738] 离子模式:ES正
- [0739] 温度:300 $^{\circ}$ C
- [0740] 检测:离子计数
- [0741] 扫描范围:80-1000Amu
- [0742] 扫描时间:0.2秒
- [0743] 采集时间:10min
- [0744] LCMS方法D(LCMS-D)
- [0745] 仪器:Agilent 1200Infinity Series
- [0746] 泵:1260Infinity G1312B Binary泵
- [0747] 自动取样器:1260Infinity G1367E 1260HiP ALS
- [0748] 检测器:1290Infinity G4212A 1290DAD
- [0749] LC条件:
- [0750] 反相HPLC分析
- [0751] 柱:Poroshell 120EC-C18
- [0752] 柱温:35 $^{\circ}$ C
- [0753] 进样量:1 μ L
- [0754] 溶剂A:水0.1%甲酸
- [0755] 溶剂B:乙腈0.1%甲酸
- [0756] 梯度:5%-100%B,经3.8min
- [0757] 检测:在254nm和214nm下监测
- [0758] MS条件:
- [0759] 离子源:四极
- [0760] 离子模式:API-ES
- [0761] 干燥气体温度:350 $^{\circ}$ C
- [0762] 毛细管电压(V):3000(正)

- [0763] 毛细管电压(V):3000(负)
[0764] 扫描范围:100-1000
[0765] 步长:0.1秒
[0766] 采集时间:5min
[0767] HPLC
[0768] 仪器:Waters Alliance HT
[0769] 检测器:Waters 2996二极管阵列
[0770] 柱:反相Xbridge TM Prep C18 5um 10x 100mm
[0771] 进样量:50uL
[0772] 溶剂A:水0.1%甲酸
[0773] 溶剂B:乙腈0.1%甲酸
[0774] 流动速率:4.0ml/min
[0775] 检测:100-600nm
[0776] 样品制备:MeCN和MeOH
[0777] 制备性质量-定向LC(prepare-LCMS)
[0778] 仪器:Waters ZQ 3100-质量检测器
[0779] Waters 2545-泵
[0780] Waters SFO系统射流组织器
[0781] Waters 2996二极管阵列检测器
[0782] Waters 2767样品管理器
[0783] LC条件:
[0784] 反相HPLC分析
[0785] 柱:XBridge TM C18 5μm 19×50mm
[0786] 进样量500μL
[0787] 溶剂A:水0.1%甲酸
[0788] 溶剂B:乙腈0.1%甲酸
[0789] 梯度:25%-100%B,经10min
[0790] 流动速率:19mL/min
[0791] 检测:100-600nm
[0792] MS条件:
[0793] 离子源:单一四极
[0794] 离子模式:ES正
[0795] 源温度:150℃
[0796] 去溶剂化温度:350℃
[0797] 检测:离子计数
[0798] 毛细管(KV)-3.00
[0799] 样品锥(V):30
[0800] 萃取器(V):3
[0801] RF透镜(V):0.1

- [0802] 扫描范围:100-1000Amu
- [0803] 扫描时间:0.5秒
- [0804] 采集时间:10min
- [0805] 气体流量
- [0806] 去溶剂化L/小时-650
- [0807] 样品锥L/小时-100
- [0808] 手性分离和表征方法
- [0809] 方法A
- [0810] SFC
- [0811] 柱:Chiralpak IC(250×21mm),5μ
- [0812] 流动速率:40mL/min
- [0813] 移动相:CO₂:MeOH中的0.1%DEA
- [0814] 方法B
- [0815] SFC
- [0816] 柱:Chiralpak IC(250×21mm),5μ
- [0817] 流动速率:40mL/min
- [0818] 移动相:CO₂:IPA中的0.5%DEA
- [0819] 方法C
- [0820] SFC
- [0821] 柱:Chiralcel-ODH
- [0822] 流动速率:3mL/min
- [0823] 移动相:CO₂:IPA中的0.5%DEA
- [0824] 方法D
- [0825] HPLC
- [0826] 柱:Chiralpak IC(250×10mm),5μ
- [0827] 移动相:正己烷:乙醇(80:20)
- [0828] 流动速率:5.0mL/min
- [0829] 方法E
- [0830] SFC
- [0831] 柱:Lux纤维素-4(250x 4.6mm),5μ
- [0832] 移动相:CO₂:甲醇(70:30)
- [0833] 流动速率:3.0mL/min
- [0834] 方法F
- [0835] SFC
- [0836] 柱:Lux纤维素-2(250x 4.6mm),5μ
- [0837] 流动速率:1.2mL/min
- [0838] 移动相:CO₂:甲醇中的0.5%DEA
- [0839] 方法G
- [0840] HPLC

[0841] 柱:Chiralpak ADH(250×4.6mm),5 μ

[0842] 移动相:正己烷:乙醇(80:20)

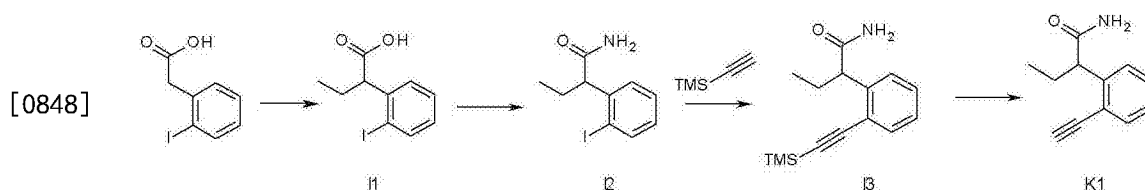
[0843] 流动速率:1mL/min

[0844] 分析薄层色谱在Merck硅胶60F254铝背板上执行,其使用荧光猝灭在UV光下或使用酸性茴香醛或碱性高锰酸钾浸液来可视化。快速色谱使用Teledyne Isco CombiFlash Rf纯化系统使用标准**RediSep®**柱体或Biotage Isolera纯化系统使用Grace、**RediSep®**或Biotage二氧化硅柱体来执行。微波照射使用CEM Explorer SP微波反应器来实现。

[0845] 在需要时,无水溶剂使用Braun纯化系统制备或购自Sigma-Aldrich。

[0846] 关键中间体的合成

[0847] 关键中间体1:2-(2-乙炔基苯基)丁酰胺(K1)



[0849] (a)2-(2-碘苯基)丁酸(I1)

[0850] 在氮气气氛下,将二异丙基氨基锂溶液(THF/庚烷/乙苯中的2.0M,3.82mL,7.63mmol)添加至干燥THF(10mL)中并且冷却至0℃。然后逐滴添加2-(2-碘苯基)乙酸(500mg,1.91mmol)的干燥THF(15mL)溶液。将此溶液在0℃下搅拌40分钟,然后添加碘乙烷(0.92mL,11mmol)。将溶液回到室温并且搅拌4小时。添加H₂O(10mL)、接着添加2M HCl(20mL)将所得混合物淬灭。用EtOAc(3×30mL)萃取水层,将有机层合并并且用盐水洗涤、经MgSO₄干燥,并且将溶剂在减压下蒸发。将残余物吸附至硅胶上并使用柱色谱(Biotage Isolera,SiO₂柱体,石油醚中的0-40%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈淡黄色油状物的标题化合物I1(479mg,87%);¹H NMR(400MHz,d₆-DMSO)δ12.49(s,1H),7.88(dd,J=7.9,1.2Hz,1H),7.39(td,J=7.6,1.2Hz,1H),7.32(dd,J=7.8,1.7Hz,1H),7.01(J m,1H),3.77(t,J=7.5Hz,1H),1.98-1.86(m,1H),1.73-1.60(m,1H),0.85(t,J=7.3Hz,3H)。

[0851] (b)2-(2-碘苯基)丁酰胺(12)

[0852] 在氮气气氛下,将HOBt(325mg,2.40mmol)、EDCI·HCl(461mg,2.40mmol)和DIPEA(1.40mL,8.02mmol)添加至2-(2-碘苯基)丁酸(I1)(465mg,1.60mmol)在干燥THF(6mL)和干燥DMF(1mL)中的经过搅拌的溶液中。10分钟之后,一次性添加碳酸铵(770mg,8.02mmol)并且将所得混合物在室温下搅拌24小时。将挥发物真空移除并且向残余物添加EtOAc(50mL)和饱和NaHCO₃水溶液(50mL)。用EtOAc(2×50mL)萃取水相,然后将合并的有机萃取物用盐水洗涤并且经MgSO₄干燥。将溶剂在减压下移除并且将所得固体通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera,SiO₂柱体,石油醚中的0-50%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈白色固体的标题化合物I2(398mg,86%);¹H NMR(400MHz,d₆-DMSO)δ7.85(dd,J=7.9,1.2Hz,1H),7.46(dd,J=7.8,1.7Hz,1H),7.39(s,1H),7.35(td,J=7.6,1.2Hz,1H),7.02-6.92(m,2H),3.59(dd,J=8.8,6.0Hz,1H),1.92-1.78(m,1H),1.65-1.51(m,1H),0.86(t,J=7.3Hz,3H)。LCMS-A:室温5.463min;m/z290[M+H]⁺。

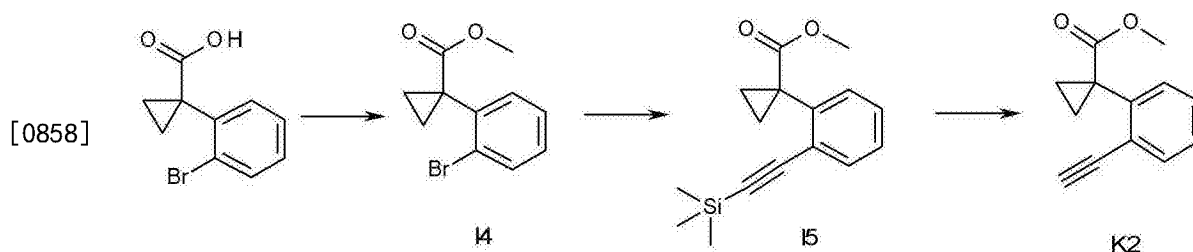
[0853] (c) 2-(2-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯基)丁酰胺(I3)

[0854] 在氮气下,将乙炔基三甲基硅烷(0.11mL,0.80mmol)和干燥DMF(9.0mL)添加至2-(2-碘苯基)丁酰胺(I2)(193mg,0.668mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(23mg,0.033mmol)、t-Bu₃PH·BF₄(10mg,0.033mmol)和CuI(6mg,0.033mmol)的混合物中。将所得溶液用氮气流脱气10分钟,然后添加Et₃N(3.0mL)。将所得混合物在60℃下、在氮气下搅拌16小时,然后吸附至硅胶上并通过柱色谱(Biotage Isolera,SiO₂柱体,石油醚中的0-100%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈棕褐色固体的标题化合物I3(151mg,87%);¹H NMR(400MHz,d₆-DMSO)δ7.46-7.39(m,2H),7.34(td,J=7.7,1.4Hz,1H),7.26(br,1H),7.21(td,J=7.5,1.4Hz,1H),6.97(br,1H),3.80(dd,J=8.9,5.7Hz,1H),1.95-1.80(m,1H),1.69-1.55(m,1H),0.85(t,J=7.3Hz,3H),0.25(s,9H)。LCMS-A:室温6.267min;m/z260[M+H]⁺。

[0855] (d) 2-(2-乙炔基苯基)丁酰胺(K1)

[0856] 在0℃、在氮气下,向2-(2-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯基)丁酰胺(I3)(149mg,0.574mmol)的DCM(10.0mL)溶液中添加TBAF(THF中的1.0M,0.86mL,0.86mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌5分钟,然后倾倒至水(50mL)中。将有机相分离并且用DCM(2×40mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(40mL)洗涤,经MgSO₄干燥并且将溶剂真空移除。将残余物吸附至硅胶上并通过柱色谱(Biotage Isolera,SiO₂柱体,石油醚中的0-75%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈灰白色固体的标题化合物K1(104mg,97%);¹H NMR(400MHz,d₆-DMSO)δ7.50-7.43(m,2H),7.35(td,J=7.7,1.5Hz,1H),7.31(s,1H),7.23(td,J=7.5,1.3Hz,1H),6.93(s,1H),4.37(s,1H),3.85(dd,J=8.6,6.4Hz,1H),1.97-1.83(m,1H),1.61(J m,1H),0.84(t,J=7.3Hz,3H)。LCMS-A:室温5.265min;m/z188[M+H]⁺。

[0857] 关键中间体2:1-(2-乙炔基苯基)环丙烷羧酸甲酯(K2)



[0859] (a) 1-(2-溴苯基)环丙烷羧酸甲酯(I4)

[0860] 用浓HCl水溶液(0.5mL)处理1-(2-溴苯基)环丙烷羧酸(500mg,2.07mmol)的MeOH(10mL)溶液。将所得混合物在室温下搅拌16小时,然后加热至回流并且再搅拌24小时。将挥发物蒸发并且将残余物溶解于EtOAc中。将有机层用NaHCO₃的饱和溶液、盐水洗涤,然后经MgSO₄干燥。将溶剂真空移除以得到呈橙色油状物的标题化合物I4(400mg,76%);¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ7.60-7.54(m,1H),7.32-7.24(m,2H),7.15(m,1H),3.63(s,3H),1.75(d,J=3.1Hz,2H),1.21(q,J=4.0Hz,2H)。

[0861] (b) 1-(2-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯基)环丙烷羧酸甲酯(I5)

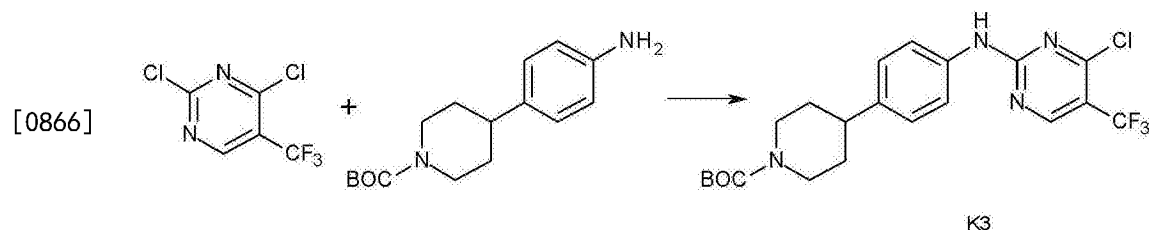
[0862] 将1-(2-溴苯基)环丙烷羧酸甲酯(I4)(658mg,2.58mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(91mg,0.13mmol)、t-Bu₃PH·BF₄(37mg,0.13mmol)、CuI(25mg,0.13mmol)和乙炔基三甲基硅烷(0.44mL,3.1mmol)在干燥DMF(5.0mL)中的溶液用氮气脱气10分钟,然后添加Et₃N(2.0mL)。在65℃、在氮气下搅拌16小时之后,将所得混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage

Isolera, SiO₂柱体, 石油醚中的0-20% EtOAc, 40℃-60℃) 纯化, 以得到呈橙色油状物的标题化合物I5(569mg, 81%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ7.67-7.12(m, 4H), 3.57-3.47(m, 3H), 1.64-1.49(m, 2H), 1.26-1.16(m, 2H), 0.22-0.13(m, 9H)。LCMS-A: 室温6.977min; m/z 273[M+H]⁺。

[0863] (c) 1-(2-乙炔基苯基)环丙烷羧酸甲酯(K2)

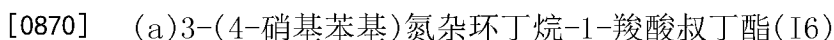
[0864] 在0℃下, 向1-(2-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯基)环丙烷羧酸甲酯(I5)(568mg, 2.09mmol)的DCM(20.0mL)溶液中添加TBAF(THF中的1.0M; 3.13mL, 3.13mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌10分钟, 然后倾倒入水(50mL)中。用DCM(2×50mL)萃取水层, 然后将合并的有机层用盐水洗涤、经MgSO₄干燥, 并且将溶剂真空移除。将残余物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, SiO₂柱体, 石油醚中的0-25% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈灰白色固体的标题化合物K2(140mg, 34%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ7.46(dt, J=7.5, 0.8Hz, 1H), 7.40-7.25(m, 3H), 4.32(s, 1H), 3.52(s, 3H), 1.54(q, J=4.1Hz, 2H), 1.25-1.19(m, 2H)。LCMS-A: 室温5.921min; m/z 201[M+H]⁺。

[0865] 关键中间体3: 4-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(K3)



[0867] 将2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(4.122g, 19.00mmol)在室温下在1:1 t-BuOH:DCE混合物(400mL)中搅拌。小心地添加Et₂O(21.71mL, 21.71mmol)中的1.0M ZnCl₂溶液, 并且将所得混合物搅拌10分钟。添加1-Boc-4-(4-氨基苯基)哌啶(5.00g, 18.1mmol), 随后添加Et₃N(6.052mL, 43.42mmol), 并且继续在室温下搅拌过夜。将挥发物蒸发至干燥并且将所得残余物悬浮于水(500mL)中。在超声波处理30分钟后, 将悬浮液过滤并且将滤饼用水(2×100mL)洗涤并且在高真空下干燥, 以得到呈棕褐色固体的标题化合物K3(8.11g, 98%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ10.61(s, 1H), 8.78(s, 1H), 7.59(d, J=8.4Hz, 2H), 7.23(d, J=8.5Hz, 2H), 4.07(d, J=11.1Hz, 2H), 2.80(s, 2H), 2.65(t, J=12.0Hz, 1H), 1.74(d, J=12.3Hz, 2H), 1.42(s, 11H)。LCMS-A: 室温6.834min; m/z 457[M+H]⁺。

[0868] 关键中间体4: 3-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(K4)



[0871] 在氮气气氛下,将1,2-二溴乙烷(0.146mL,1.69mmol)添加至锌粉(0.901g,13.8mmol)在THF(3.5mL)中的剧烈搅拌的悬浮液中并且将所得悬浮液在80℃下加热10分钟。在室温下添加THF(1.75mL)中的三甲基甲硅烷基氯(0.202mL,1.59mmol)并且在搅拌4分钟之后,经15分钟的时间段逐滴添加3-碘氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(3.00g,10.6mmol)的THF(3.5mL)溶液。将所得混合物在室温下搅拌2小时,然后添加Pd₂(dba)₃(0.155g,0.170mmol)和三-2-呋喃基膦(0.143g,0.615mmol),随后添加THF(18mL)中的1-碘-4-硝基苯(2.90g,11.7mmol)。将所得混合物在55℃下加热3小时,然后在室温下用饱和氯化钠水溶液(15mL)淬灭。用DCM(2x 15mL)萃取水相,然后将合并的有机部分干燥(硫酸镁)、过滤并且真空蒸发。将残余物使用硅胶柱色谱(CombiFlash Rf,40g SiO₂柱体,环己烷中的10%-40%EtOAc)纯化,以得到呈橙色油状物的标题化合物I6(2.14g,72%);¹H NMR(300MHz,CDCl₃)δ8.24(dd,J=6.8,1.9Hz,2H),7.51(d,J=8.6Hz,2H),4.41(t,J=8.7Hz,2H),3.98(dd,J=8.5,5.7Hz,2H),3.89-3.81(s,1H),1.49(s,9H)。

[0872] (b) 3-(4-氨基苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(I7)

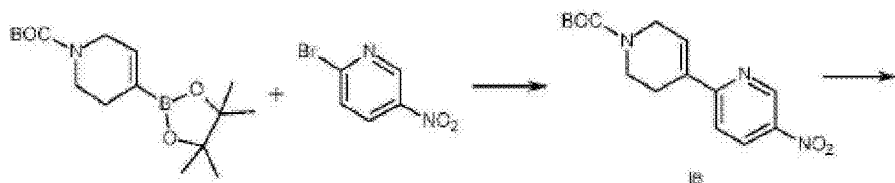
[0873] 将10%Pd/C(0.320g)和3-(4-硝基苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(I6)(2.14g, 7.68mmol)在EtOAc(16mL)中的悬浮液在氢气气氛下搅拌18小时。添加另外的10%Pd/C(1.00g)并且再继续搅拌20小时。将所得混合物通过硅藻土垫过滤,用EtOAc洗涤并且将滤液真空浓缩,以得到呈淡黄色/米黄色固体的标题化合物I7(1.80g,94%);¹H NMR(300MHz, CDCl₃)δ7.12(d,J=8.3Hz,2H),6.69(dd,J=6.5,1.9Hz,2H),4.29(t,J=8.7Hz,2H),3.93(dd,J=8.4,6.1Hz,2H),3.65(brs,2H),1.55-1.68(m,1H),1.48(s,9H)。LCMS-B:室温4.964min;m/z 249[M+H]⁺。

[0874] (c)3-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(K4)

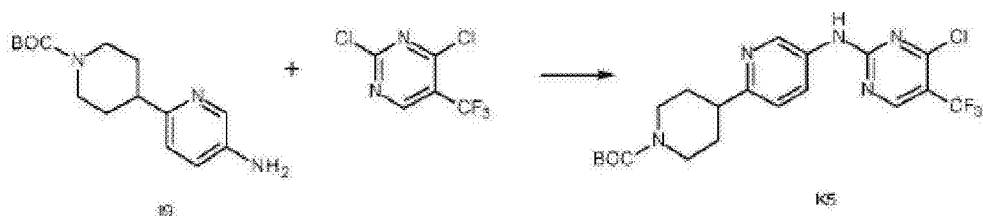
[0875] 在室温下,在氮气下将氯化锌(Et_2O 中的1.0M)(4.83mL,4.83mmol)添加至2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(0.769g,3.54mmol)在1:1二氯乙烷/叔丁醇(64mL)中的溶液中。搅拌10分钟之后,添加3-(4-氨基苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(I7)(0.800g,3.22mmol),随后添加 Et_3N (1.08mL,7.73mmol)。将所得混合物在室温下搅拌20小时,然后将挥发物真空移

除。向固体残余物添加水并且将所得悬浮液超声波处理2分钟。将悬浮液过滤并且将滤饼干燥,然后吸附至硅胶上并且使用柱色谱(CombiFlash Rf,40g SiO₂柱体,环己烷中的10%-40%EtOAc)纯化,以得到白色固体。将固体悬浮于MeOH(7mL)中并且超声波处理30秒。将所得悬浮液过滤并且将滤饼用MeOH(3mL)洗涤,然后干燥以得到呈白色固体的标题化合物K4(0.777g,56%);¹H NMR(300MHz,d₆-DMSO)δ10.6(s,1H),8.79(s,1H),7.66(d,J=8.4Hz,2H),7.33(d,J=8.4Hz,2H),4.23(t,J=7.6Hz,2H),3.80(s,3H),1.40(s,9H)。LCMS-B:室温8.810min;m/z 429[M+H]⁺。

[0876] 关键中间体5:4-(5-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(K5)



[0877]



[0878] (a)5-硝基-5',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-羧酸叔丁酯(18)

[0879] 在氮气下,向N-Boc-1,2,3,6-四氢吡啶-4-硼酸频哪醇酯(1.52g,4.93mmol)、2-溴-5-硝基吡啶(1.00g,4.93mmol)和PdCl₂(PPh₃)₂(173mg,0.246mmol)的混合物中添加1,4-二噁烷(30mL),随后添加3M碳酸钠水溶液(4.93mL,14.8mmol)。将所得混合物用氮气脱气10分钟,然后在回流下加热16小时。在冷却时,添加EtOAc(150mL)并且将所得溶液用水(3×50mL)、盐水(50mL)洗涤,然后干燥(Na₂SO₄)。将挥发物在减压下蒸发,以得到褐色固体,将所述固体使用硅胶柱色谱(Biotage Isolera,40g SiO₂柱体,石油醚中的0-30%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈黄色固体的标题化合物18(1.43g,95%);¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ9.37(dd,J=2.6,0.5Hz,1H),8.43(dd,J=8.8,2.7Hz,1H),7.53(d,J=8.8Hz,1H),6.95-6.83(m,1H),4.20(d,J=3.0Hz,2H),3.67(t,J=5.6Hz,2H),2.70-2.63(m,2H),1.49(s,9H)。LCMS-A:室温6.140min;m/z 304[M-H]⁻。

[0880] (b)4-(5-氨基吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(19)

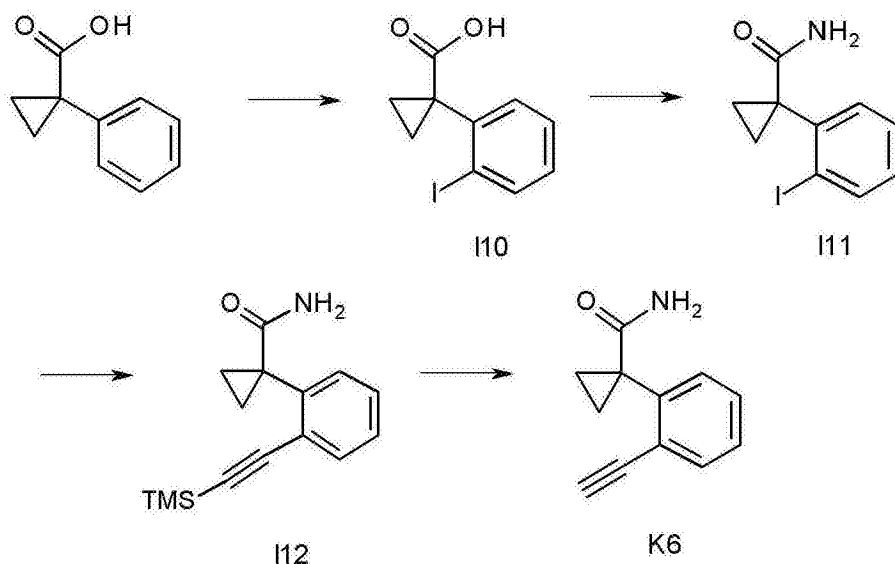
[0881] 将10%Pd/C(500mg)在DMF(5mL)中的浆液添加至5-硝基-5',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-羧酸叔丁酯(18)(1.40,4.59mmol)的DMF(45mL)溶液中,并且将所得混合物在氢气气氛下、在室温下搅拌16小时。添加EtOAc(100mL)并且将所得悬浮液通过硅藻土垫过滤、用EtOAc(150mL)洗涤。将挥发物在减压下移除并且将残余物通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera,40g Si柱体,石油醚中的0-100%EtOAc,40℃-60℃,然后是EtOAc中的0-20%MeOH)纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物19(1.18g,93%);¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ8.03(dd,J=2.4,1.0Hz,1H),7.00-6.87(m,2H),4.22(brs,2H),3.59(brs,2H),2.85-2.67(m,3H),1.86(m,2H),1.72-1.59(m,2H),1.46(s,9H)。LCMS-A:室温4.416min;m/z 278[M+H]

]⁺。

[0882] (c)4-(5-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(K5)

[0883] 在室温下,将Et₂O(1.14mL,1.14mmol)中的1.0M ZnCl₂溶液小心地添加至2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(217mg,0.999mmol)在1:1t-BuOH:DCE混合物(50mL)中的经过搅拌的溶液中。添加完成后,继续搅拌20分钟,然后添加4-(5-氨基吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(I9)(263mg,0.952mmol),随后添加Et₃N(0.159mL,1.14mmol)。将所得混合物在室温下搅拌48小时,然后将挥发物在减压下蒸发并且将所得残余物使用硅胶柱色谱(Biotage Isolera,24g SiO₂柱体,石油醚中的0-55%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈白色固体的标题化合物K5(155mg,36%);¹H NMR(400MHz,d₆-DMSO)δ10.75(s,1H),8.82(s,1H),8.73(d,J=2.4Hz,1H),8.00(dd,J=8.5,2.4Hz,1H),7.30(d,J=8.5Hz,1H),4.11-4.01(m,2H),2.93-2.75(m,3H),1.81(d,J=11.1Hz,2H),1.63-1.50(m,2H),1.41(s,9H)。LCMS-A:室温5.604min;m/z458,460[M+H]⁺。

[0884] 关键中间体6:1-(2-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺(K6)



[0886] (a)1-(2-碘苯基)环丙烷羧酸(I10)

[0887] 将1-苯基-1-环丙烷羧酸(2.00g,12.3mmol)、Pd(OAc)₂(0.138g,0.617mmol)、碘(2.34g,9.24mmol)和(二乙酰氧基碘)苯(2.97g,9.24mmol)在DMF(10mL)中的溶液在盖有铝箔的情况下在60℃下搅拌18小时。添加另外的碘(2.34g,9.24mmol)和(二乙酰氧基碘)苯(2.97g,9.24mmol)并且在60℃下再继续搅拌8小时。最后一次添加碘(2.34g,9.24mmol)和(二乙酰氧基碘)苯(2.97g,9.24mmol)并且在60℃下再继续搅拌16小时。将所得混合物在EtOAc与水之间分配并且将水相用EtOAc萃取几次。将合并的有机萃取物用10%偏硫酸氢钠水溶液(3x 30mL)、10%柠檬酸水溶液(2x 30mL)、水、盐水洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且蒸发。将残余物使用硅胶柱色谱(CombiFlash Rf,80g SiO₂柱体,环己烷中的30%-40% EtOAc)纯化,以得到呈米黄色固体的标题化合物I10(3.11g,87%);¹H NMR(300MHz,CDCl₃)δ7.88(d,J=8.0Hz,1H),7.28-7.35(m 2H),6.97-7.03(m,1H),2.13(brs,2H),1.30(brs,2H)。

[0888] (b)1-(2-碘苯基)环丙烷甲酰胺(I11)

[0889] 将HOBt(1.89g, 14.0mmol)和EDCI.HCl(2.69g, 14.0mmol)添加至1-(2-碘苯基)环丙烷羧酸(I10)(3.11g, 10.8mmol)在DMF(6mL)、THF(29mL)和Et₃N(9.4mL, 54mmol)中的溶液中。15分钟之后, 添加碳酸铵(7.95g, 86.4mmol)并且将所得混合物在室温下搅拌20小时。将挥发物真空移除并且将水(150mL)添加至残余物, 从而导致形成悬浮液。将悬浮液超声波处理几分钟、过滤, 并且将滤饼干燥, 以得到呈灰白色固体的标题化合物I11(2.55g, 82%); ¹H NMR(300MHz, d₆-DMSO)δ7.87(d, J=7.6Hz, 1H), 7.36-7.38(m, 2H), 7.02-7.08(m, 1H), 6.96(brs, 1H), 6.05(brs, 1H), 1.52(brs, 2H), 0.96(brs, 2H)。LCMS-B: 室温5.800min; m/z 288[M+H]⁺。

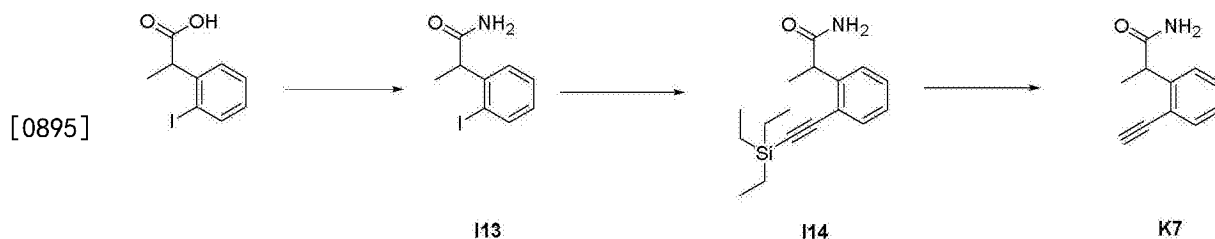
[0890] (c) 1-(2-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺(I12)

[0891] 将1-(2-碘苯基)环丙烷甲酰胺(I11)(1.53g, 85.3mmol)、乙炔基三甲基硅烷(1.05mL, 7.46mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.037g, 0.053mmol)、t-Bu₃PH·BF₄(0.031g, 0.11mmol)和碘化亚铜(I)(0.020g, 0.11mmol)在DMF(10mL)中的溶液在氮气气氛、在50℃下搅拌26小时。将挥发物真空蒸发并且将所得黑色残余物使用硅胶柱色谱(CombiFlash Rf, 24g SiO₂柱体, 环己烷中的5%-20% EtOAc)纯化, 以得到呈深黄色非晶形固体的标题化合物I12(1.09g, 79%); ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ7.52(d, J=7.1Hz, 1H), 7.26-7.50(m, 3H), 5.26(brs, 2H), 1.72(dq, J=4.1Hz, 2H) 1.16(dq, J=3.9Hz, 2H), 0.26(s, 9H)。LCMS-B: 室温 7.446min; m/z 258[M+H]⁺。

[0892] (d) 1-(2-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺(K6)

[0893] 用TBAF在THF(5.08mL, 5.08mmol)中的1M溶液缓慢处理1-(2-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺(I12)(1.09g, 4.23mmol)在DCM(20mL)中的含有乙酸(0.315mL, 5.50mmol)的冷却(5℃水/冰浴)溶液。将所得混合物在室温下搅拌2小时, 然后添加水(30mL)。用DCM(2x 15mL)萃取水层, 然后将合并的有机萃取物用水、盐水洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤并且真空蒸发, 以得到呈棕褐色固体的标题化合物(0.780g, 99%); ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ7.57(d, J=6.7Hz, 1H), 7.31-7.45(m, 3H), 5.46(brs, 1H), 5.27(brs, 1H), 3.38(s, 1H), 1.75(dq, J=4.0Hz, 2H) 1.18(dq, J=3.7Hz, 2H)。LCMS-B: 室温5.489min; m/z 186[M+H]⁺。

[0894] 关键中间体7的合成:2-(2-乙炔基苯基)丙酰胺(K7)



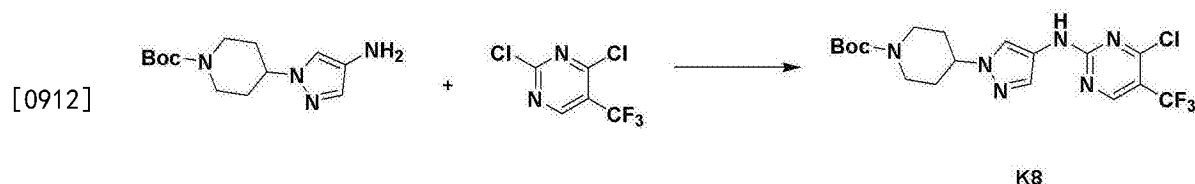
[0896] 方法1.

[0897] (a) 2-(2-碘苯基)丙酰胺(I13)

[0898] 将2-(2-碘苯基)丙酸(9.73g, 35.2mmol)在THF(24mL)、DMF(4mL)和DIPEA(30.7mL, 0.176mol)中的溶液在室温、在N₂下与HOBt(7.14g, 52.9mmol)和EDCI·HCl(10.1g, 52.9mmol)一起搅拌10分钟。然后添加碳酸铵(16.9g, 0.176mol)并且将反应混合物在室温下搅拌过夜。将挥发物在减压下移除, 然后向残余物添加饱和NaHCO₃水溶液(100mL)。用EtOAc(3×100mL)萃取水相并且将合并的有机物用盐水洗涤、经MgSO₄干燥, 并且将挥发物

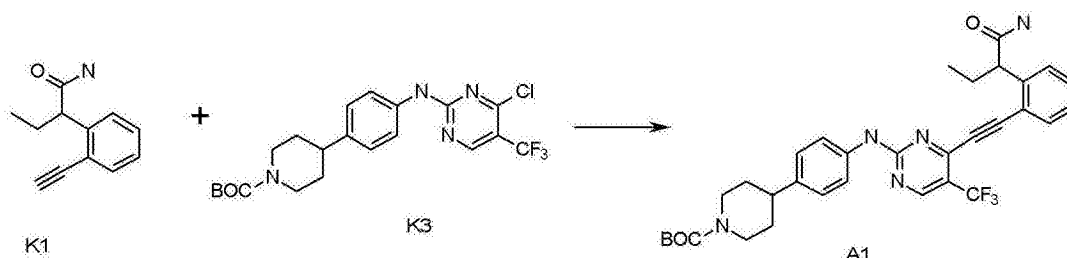
[0910] 将TBAF在THF(45.6mL, 45.6mmol)中的1.0M溶液添加至2-(2-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯基)丙酰胺I15(9.33g, 38.0mmol)的THF(200mL)溶液中并且将混合物搅拌10分钟。将反应混合物用饱和NaHCO₃水溶液(200mL)稀释并且用DCM(3×150mL)萃取水层。将合并的有机物吸附至硅胶上并且通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 120g SiO₂柱体, 石油醚中的0-80% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈棕褐色固体的标题化合物K7(5.11g, 76%)。LCMS-D: 室温3.03min; m/z 174[M+H]⁺。

[0911] 关键中间体8的合成: 4-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(K8)

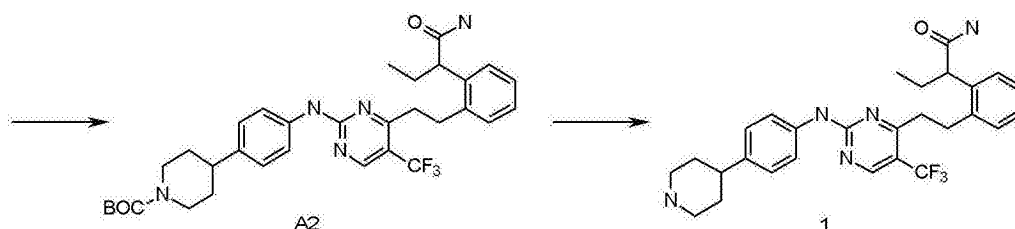


[0913] 将ZnCl₂在Et₂O(22.5mL, 22.5mmol)中的1.0M溶液添加至2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(4.48g, 20.7mmol)在t-BuOH(50mL)和DCE(50mL)中的溶液中并且将混合物搅拌10分钟。将混合物用t-BuOH(50mL)和DCE(50mL)稀释, 然后添加4-(4-氨基-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(5.00g, 18.8mmol)和Et₃N(3.14mL, 22.5mmol)。继续搅拌过夜并且随后将挥发物真空移除。将所得残余物悬浮于丙酮(50mL)、接着悬浮于水(500mL)中, 并且超声波处理15分钟, 然后通过真空过滤移除固体并且用水(100mL)洗涤滤饼。将固体悬浮于丙酮(25mL)中、过滤, 并且用石油醚40℃-60℃(200mL)洗涤滤饼, 以得到呈浅粉红色固体的标题化合物K8(6.57g, 78%)。LCMS-D: 室温3.618min; m/z 445.1[M-H]⁻。

[0914] 实施例1: 2-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)丁酰胺(1)的合成



[0915]



[0916] (a) 4-(4-((4-((2-(1-氨基-1-氧代丁-2-基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A1)

[0917] 将4-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(K3)(193mg, 0.422mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(15mg, 0.021mmol)、t-Bu₃PH·BF₄(6mg, 0.021mmol)、CuI

(4mg, 0.021mmol)和2-(2-乙炔基苯基)丁酰胺(K1)(87mg, 0.47mmol)在DMF(3.0mL)中的混合物用氮气脱气10分钟。添加Et₃N(1.0mL)并且将所得混合物在微波照射下、在120℃下加热20分钟。将挥发物在减压下移除并且将残余物吸附至硅胶上,然后通过柱色谱(Biotage Isolera, SiO₂柱体,石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化,以得到呈黄色固体的标题化合物A1(175mg, 68%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO)δ10.39(s, 1H), 8.88-8.76(m, 1H), 7.67(d, J=8.5Hz, 2H), 7.63-7.47(m, 3H), 7.37(td, J=7.4, 1.6Hz, 1H), 7.27-7.17(m, 3H), 7.01(s, 1H), 4.07(s, 2H), 3.89(dd, J=8.6, 6.4Hz, 1H), 2.80(br, 2H), 2.64(J m, 1H), 1.98-1.90(m, 1H), 1.74(d, J=12.7Hz, 2H), 1.70-1.60(m, 1H), 1.55-1.44(m, 2H), 1.42(s, 9H), 0.87(t, J=7.3Hz, 3H)。LCMS-A: 室温6.726min; m/z 606[M-H]⁻。

[0918] (b) 4-(4-((4-(2-(1-氨基-1-氧代丁-2-基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A2)

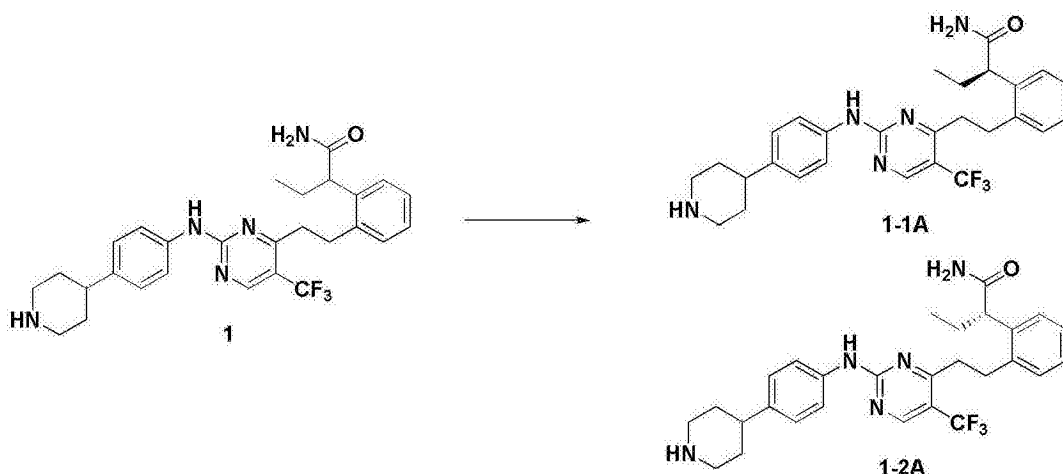
[0919] 将10%Pd/C(100mg)、4-(4-((4-(2-(1-氨基-1-氧代丁-2-基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A1)(167mg, 0.275mmol)和Et₃N(1.0mL)在DMF(10mL)中的悬浮液在氢气气氛下搅拌16小时。将所得混合物用EtOAc(60mL)稀释、通过硅藻土过滤,然后将溶剂在减压下移除,以得到呈黄色油状物的标题化合物A2(412mg, 98%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO)δ10.15(s, 1H), 8.67(s, 1H), 7.67(d, J=8.6Hz, 2H), 7.49-7.42(m, 1H), 7.31(s, 1H), 7.22-7.14(m, 5H), 6.87(s, 1H), 4.06(d, J=10.5Hz, 2H), 3.61(dd, J=8.8, 6.1Hz, 1H), 3.29-2.94(m, 4H), 2.88-2.74(m, 被溶剂遮蔽), 2.70-2.59(m, 1H), 2.04-1.92(m, 1H), 1.74(d, J=12.6Hz, 2H), 1.61-1.43(m, 3H), 1.41(s, 9H), 0.83(t, J=7.3Hz, 3H)。LCMS-A: 室温6.722min; m/z 612[M+H]⁺。

[0920] (c) 2-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丁酰胺(1)

[0921] 将TFA(0.84mL, 11mmol)和4-(4-((4-(2-(1-氨基-1-氧代丁-2-基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A2)(168mg, 0.275mmol)在DCM(20mL)中的溶液在室温、在氮气气氛下搅拌24小时。将挥发物真空移除并且将残余物溶解于MeOH中并且装载至SCX柱体(10g)上。柱用5个柱体积的MeOH、然后用5个柱体积的MeOH中的5%v/v氨水来洗脱,以洗脱胺产物。将含氨滤液在减压下蒸发并且将残余物溶解于DCM(~2mL)中。添加环己烷(~10mL)并且将所得悬浮液超声波处理10分钟。通过过滤分离沉淀,以得到呈灰白色固体的标题化合物1(100mg, 71%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO)δ10.14(s, 1H), 8.67(s, 1H), 7.66(d, J=8.6Hz, 2H), 7.51-7.43(m, 1H), 7.31(s, 1H), 7.22-7.10(m, 5H), 6.87(s, 1H), 3.61(dd, J=8.8, 6.1Hz, 1H), 3.22-2.89(m, 6H), 2.62-2.53(m, 3H), 2.07-1.91(m, 1H), 1.67(d, J=12.0Hz, 2H), 1.62-1.42(m, 3H), 0.87-0.80(m, 3H)。LCMS-A: 室温4.973min; m/z 512[M+H]⁺。

[0922] 实施例1-1A和1-2A: 2-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丁酰胺(1)的分离

[0923]



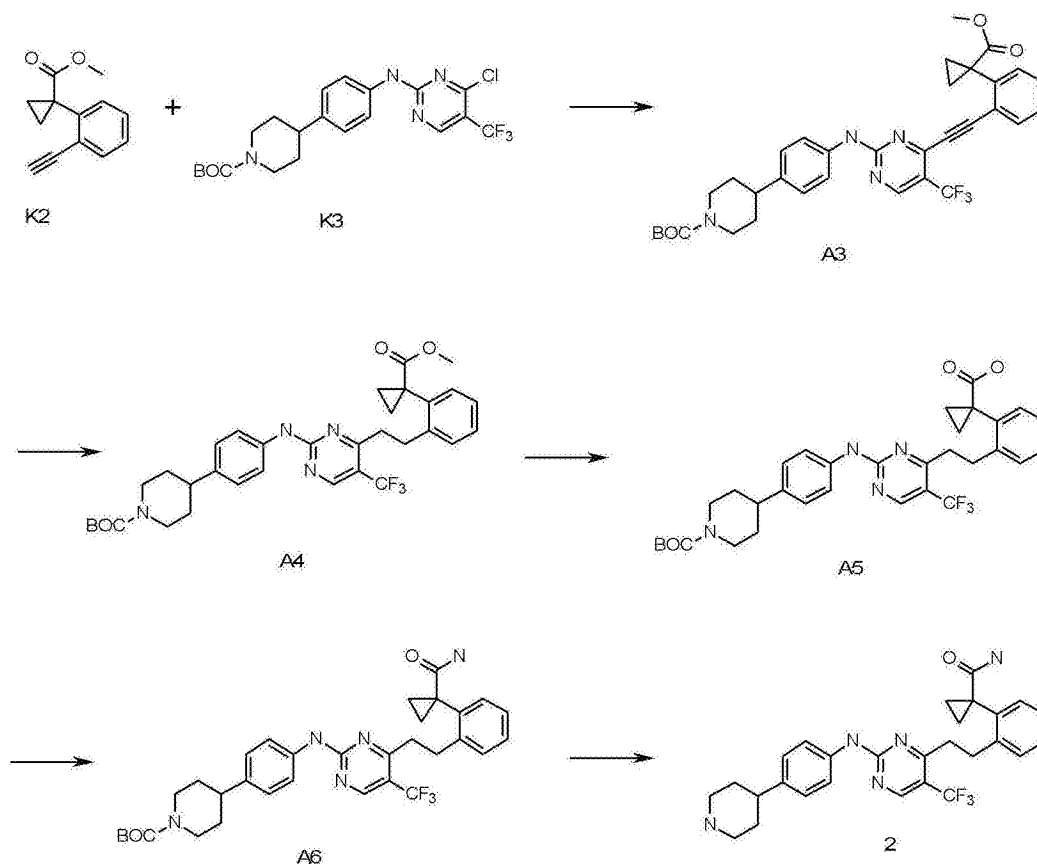
[0924] 使用手性分离方法C分离外消旋2-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丁酰胺(1)。各对映异构体的绝对构型并未经验性地确定。

[0925] 2-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丁酰胺的对映异构体A(1-1A),手性表征方法C:室温5.58min,对映异构体纯度>99%。

[0926] 2-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丁酰胺的对映异构体B(1-2A),手性表征方法C:室温3.82min,对映异构体纯度97.4%。

[0927] 实施例2:1-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(2)的合成

[0928]



[0929] (a)4-(4-((4-((2-(1-甲氧羰基)环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A3)

[0930] 将4-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(K3)(262mg, 0.574mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(20mg, 0.029mmol)、t-Bu₃PH·BF₄(8mg, 0.03mmol)、CuI(5mg, 0.03mmol)和1-(2-乙炔基苯基)环丙烷羧酸甲酯(K2)(138mg, 0.689mmol)在DMF(5.0mL)中的溶液用氮气脱气10分钟。添加Et₃N(1.0mL)并且将所得混合物在微波照射下、在120℃下加热20分钟。将所得混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, SiO₂柱体, 石油醚中的0-40%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈黄色固体的标题化合物A3(308mg, 86%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO)δ10.37(s, 1H), 8.79(s, 1H), 7.67(d, J=8.2Hz, 2H), 7.60(dd, J=7.6, 1.0Hz, 1H), 7.54-7.38(m, 3H), 7.21(d, J=8.6Hz, 2H), 4.07(d, J=11.6Hz, 2H), 3.52(s, 3H), 2.80(s, 2H), 2.65(J m, 1H), 1.74(d, J=12.4Hz, 2H), 1.64(q, J=4.0Hz, 2H), 1.49(td, J=12.6, 4.1Hz, 2H), 1.42(s, 9H), 1.29(q, J=4.2Hz, 2H)。LCMS-A: 室温7.083min; m/z 619[M-H]⁻。

[0931] (b) 4-(4-((4-(2-(1-(甲氧羰基)环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A4)

[0932] 将10%Pd/C(200mg)、4-(4-((4-((2-(1-甲氧羰基)环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A3)(0.302g, 0.487mmol)和Et₃N(1.0mL)在DMF(10mL)中的悬浮液在氢气气氛下搅拌16小时。将所得混合物用EtOAc(60mL)稀释并且通过硅藻土过滤。将滤液在减压下蒸发, 以得到呈黄色油状物的标题化合物A4(494mg, 99%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO)δ10.15(s, 1H), 8.68(s, 1H), 7.67(d, J=8.6Hz, 2H), 7.33-7.26(m, 3H), 7.22-7.17(m, 3H), 4.07(d, J=11.6Hz, 2H), 3.49(s, 3H), 3.15-3.07(m, 2H), 3.07-3.00(m, 2H), 2.86-2.75(m, 峰被溶剂遮蔽), 2.70-2.58(m, 1H), 1.74(d, J=11.3Hz, 2H), 1.58(d, J=3.4Hz, 2H), 1.48(dt, J=12.6, 6.2Hz, 2H), 1.42(s, 9H), 1.21(s, 2H)。LCMS-A: 室温7.175min; m/z 625[M+H]⁺。

[0933] (c) 1-(2-(2-(2-((4-(1-(叔丁氧羰基)哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷羧酸(A5)

[0934] 将4-(4-((4-(2-(1-(甲氧羰基)环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A4)(0.304g, 0.487mmol)和LiOH·H₂O(204mg, 4.87mmol)在THF(7mL)、MeOH(7mL)和H₂O(1.5mL)中的溶液在室温下搅拌过夜。然后将所得混合物加热至40℃并且搅拌3.5天。将挥发物在减压下移除并且将残余物溶解于EtOAc(50mL)中。小心地添加HCl水溶液(2M, 50mL)并且将层分离。用EtOAc(2×50mL)萃取水相, 然后将合并的有机物用盐水洗涤并且经MgSO₄干燥。将溶剂真空移除以得到呈黄色油状物的标题化合物45(680mg, 98%); LCMS-A: 室温6.793min; m/z 609[M-H]⁻。

[0935] (d) 4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A6)

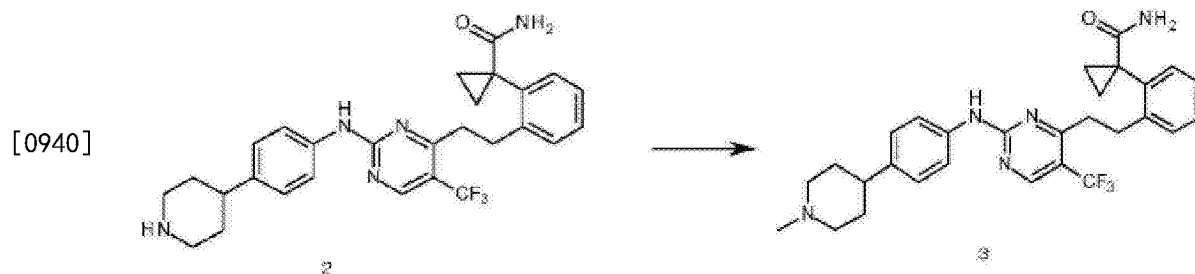
[0936] 在氮气气氛下, 将HOBt(99mg, 0.73mmol)、EDCI·HCl(140mg, 0.73mmol)和DIPEA(0.42mL, 2.43mmol)添加至1-(2-(2-(2-((4-(1-(叔丁氧羰基)哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷羧酸(A5)(297mg, 0.486mmol)在干燥THF(6mL)和干燥DMF(1mL)中的经过搅拌的溶液中。10分钟之后, 一次性添加碳酸铵(234mg, 2.43mmol)并且将所得溶液在40℃下搅拌72小时。将挥发物真空移除并且向残余物添加EtOAc(50mL)和饱和NaHCO₃(50mL)。分离有机层之后, 用EtOAc(2×50mL)萃取水相。将有机萃取物合并,

用盐水洗涤并且经MgSO₄干燥。将挥发物在减压下移除并且将残余物通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, SiO₂柱体, 石油醚中的0-60% EtOAc, 40°C-60°C)纯化, 以得到呈黄色固体的标题化合物A6(131mg, 44%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ10.15(s, 1H), 8.67(s, 1H), 7.67(d, J=8.5Hz, 2H), 7.32(dd, J=13.9, 5.0Hz, 3H), 7.26-7.14(m, 3H), 6.98(s, 1H), 5.99(s, 1H), 4.05(dd, J=15.7, 8.8Hz, 2H), 3.13(dd, J=25.3, 9.9Hz, 4H), 2.93-2.70(m, 2H), 2.63(t, J=12.2Hz, 1H), 1.74(d, J=12.5Hz, 2H), 1.41(s, 13H), 0.97(s, 2H)。LCMS-A: 室温6.720min; m/z 610[M+H]⁺。

[0937] (e)1-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(2)

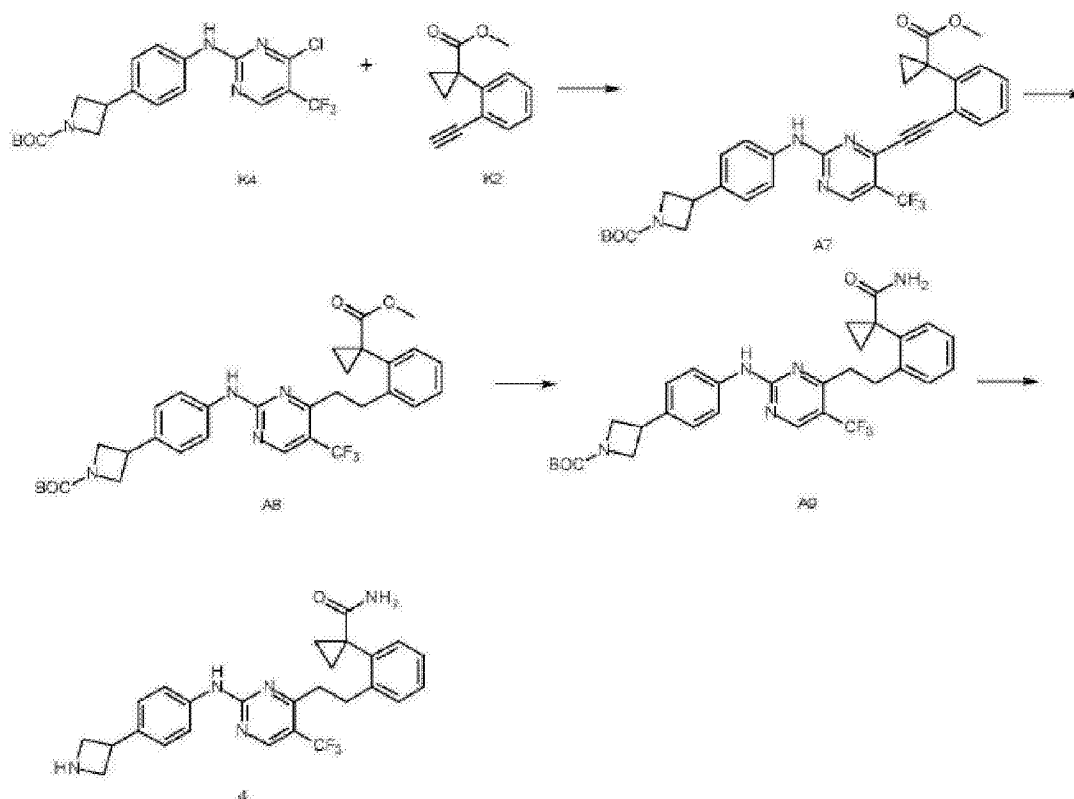
[0938] 将TFA(0.65mL, 8.5mmol)和4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A6)(0.13mg, 0.21mmol)在DCM(20mL)中的溶液在室温、在氮气下搅拌24小时。将挥发物真空移除并且将残余物溶解于MeOH中并且装载至SCX柱体(10g)上。柱用5个柱体积的MeOH、然后用5个柱体积的MeOH中的5% v/v氨水来洗脱, 以洗脱胺产物。将含氨滤液在减压下蒸发并且将所得固体在高真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物2(100mg, 93%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ10.14(s, 1H), 8.67(s, 1H), 7.66(d, J=8.6Hz, 2H), 7.37-7.27(m, 3H), 7.25-7.14(m, 3H), 6.99(s, 1H), 6.00(s, 1H), 3.22-3.13(m, 2H), 3.13-3.06(m, 2H), 3.01(d, J=11.9Hz, 2H), 2.62-2.52(m, 峰被溶剂遮蔽), 1.67(d, J=10.7Hz, 2H), 1.57-1.40(m, 4H), 0.97(s, 2H)。LCMS-A: 室温4.963min; m/z 510[M+H]⁺。

[0939] 实施例3: 1-(2-(2-(2-((4-(1-甲基哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(3)的合成



[0941] 在氮气气氛下, 将甲醛(H₂O中的37重量%; 8.8μL, 0.12mmol)添加至1-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(2)(20mg, 39μmol)的MeOH(5.0mL)溶液中。将所得混合物在室温下搅拌10分钟, 然后一次性添加三乙酰氧基硼氢化钠(33mg, 0.16mmol)并且继续搅拌2.5小时。将挥发物真空移除并且用EtOAc(20mL)和饱和NaHCO₃水溶液(20mL)稀释残余物。将层分离并且用EtOAc(2×20mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤, 经MgSO₄干燥并且将挥发物在减压下移除。将残余物溶解于DCM(1mL)中, 向其中添加环己烷(5mL)以形成浑浊的悬浮液。将溶剂真空移除并且将所得固体在高真空下干燥, 以得到呈白色粉末的标题化合物3(18mg, 88%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ10.15(s, 1H), 8.67(s, 1H), 7.66(d, J=8.5Hz, 2H), 7.40-7.27(m, 3H), 7.22(dd, J=14.4, 8.0Hz, 3H), 6.99(s, 1H), 6.01(s, 1H), 3.21-3.05(m, 4H), 2.88(d, J=10.9Hz, 2H), 2.50-2.30(m, 1H), 2.21(s, 3H), 1.99(s, 2H), 1.79-1.58(m, 4H), 1.44(s, 2H), 0.97(s, 2H)。LCMS-A: 5.028min; m/z 524[M+H]⁺。

[0942] 实施例4:1-(2-(2-(2-((4-(氮杂环丁烷-3-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(4)的合成



[0944] (a)3-(4-((4-((2-(1-甲氧羰基)环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(A7)

[0945] 将3-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(K4)(260mg,0.606mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(21mg,0.030mmol)、PPh₃(16mg,0.061mmol)、CuI(12mg,0.061mmol)和1-(2-乙炔基苯基)环丙烷羧酸甲酯(K2)(146mg,0.728mmol)在DMF(3.0mL)中的溶液用氮气脱气10分钟。添加Et₃N(1.0mL)并且将所得混合物在微波照射下、在120℃下加热20分钟。将所得混合物吸附至二氧化硅上并且通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera,40g SiO₂柱体,石油醚中的0-25%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈橙色油状物的标题化合物A7(359mg,>95%);¹H NMR(400MHz,d₆-DMSO)δ10.45(s,1H),8.82(s,1H),7.75(d,J=8.4Hz,2H),7.61(dd,J=7.5,1.0Hz,1H),7.55-7.38(m,3H),7.32(d,J=8.6Hz,2H),4.32-4.17(m,2H),3.89-3.74(m,3H),3.52(s,3H),1.64(q,J=4.0Hz,2H),1.40(s,9H),1.29(q,J=4.2Hz,2H)。LCMS-A:室温6.550min;m/z593[M+H]⁺。

[0946] (b)3-(4-((4-(2-(1-(甲氧羰基)环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(A8)

[0947] 将10%Pd/C(200mg)、3-(4-((4-((2-(1-甲氧羰基)环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(A7)(353mg,0.596mmol)和Et₃N(1.5mL)在DMF(10mL)中的悬浮液在氢气气氛下搅拌16小时。将所得混合物用EtOAc(60mL)稀释、通过硅藻土过滤并且将挥发物在减压下移除。将残余物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera,24g SiO₂柱体,石油醚中的0-40%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物A8(353mg,99%);¹H NMR(400MHz,d₆-DMSO)δ10.22(s,1H),8.69

(s, 1H), 7.74(d, J=8.6Hz, 2H), 7.32-7.26(m, 5H), 7.22-7.16(m, 1H), 4.24(t, J=7.4Hz, 2H), 3.87-3.71(m, 3H), 3.49(s, 3H), 3.17-2.98(m, 4H), 1.58(d, J=3.3Hz, 2H), 1.40(s, 9H), 1.19(s, 2H)。LCMS-A: 室温6.650min; m/z 595[M-H]⁻。

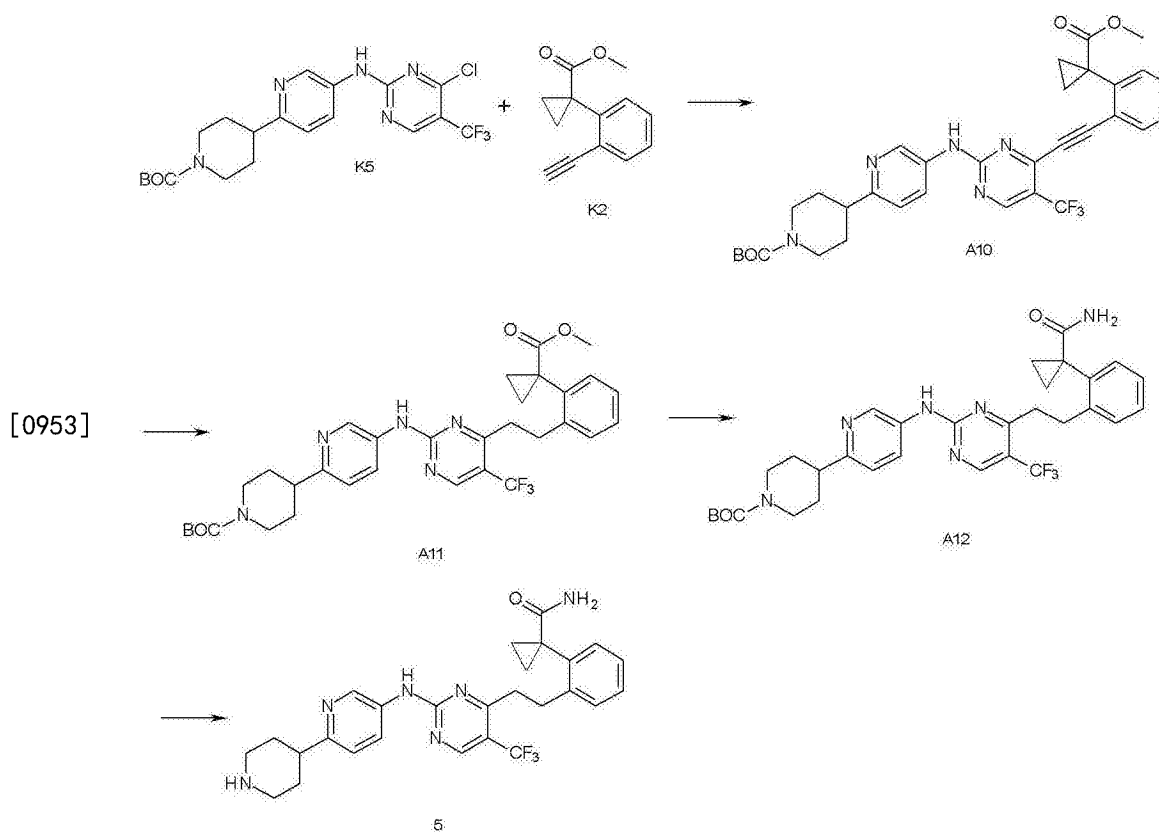
[0948] (c) 3-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(A9)

[0949] 将3-(4-((4-(2-(1-(甲氧羰基)环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(A8)(347mg, 0.582mmol)和LiOH·H₂O(293mg, 6.98mmol)在THF(7.0mL)、MeOH(7.0mL)和H₂O(2.0mL)中的溶液在室温下搅拌3天。添加LiOH·H₂O(147mg, 3.49mmol)并且将所得混合物在35℃下加热16小时。小心地添加EtOAc(50mL)和HCl水溶液(2M, 50mL), 然后将层分离并且用EtOAc(2×50mL)萃取水相。将有机层合并、用盐水洗涤、干燥(MgSO₄), 然后蒸发至干燥。将残余物溶解于THF(12mL)和DMF(2.0mL)中, 在氮气气氛下向其中添加HOBt(157mg, 1.16mmol)、EDCI·HCl(223mg, 1.16mmol)和DIPEA(0.507mL, 2.91mmol)。10分钟之后, 一次性添加碳酸铵(280mg, 2.91mmol)并且将所得混合物在室温下搅拌16小时, 然后在40℃下再搅拌24小时。将挥发物真空移除并且添加EtOAc(20mL)和饱和NaHCO₃(20mL)。将层分离, 然后用EtOAc(2×20mL)萃取水相。将有机萃取物合并、用盐水洗涤、干燥(MgSO₄), 然后蒸发至干燥。将残余物通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, 石油醚中的10%-50% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物A9(179mg, 53%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ 10.22(s, 1H), 8.69(s, 1H), 7.73(d, J=8.6Hz, 2H), 7.37-7.27(m, 5H), 7.26-7.19(m, 1H), 6.98(s, 1H), 5.99(s, 1H), 4.23(t, J=7.7Hz, 2H), 3.88-3.70(m, 3H), 3.21-3.14(m, 2H), 3.14-3.07(m, 2H), 1.44(d, J=3.5Hz, 2H), 1.40(s, 9H), 0.97(s, 2H)。LCMS-A: 室温6.168min; m/z 582[M+H]⁺。

[0950] (d) 1-(2-(2-(2-((4-(氮杂环丁烷-3-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(4)

[0951] 将TFA(0.916mL, 12.0mmol)和3-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(A9)(174mg, 0.299mmol)在DCM(10mL)中的溶液在室温、在氮气下搅拌16小时。将挥发物真空移除并且将残余物溶解于MeOH中并且装载至SCX柱体(10g)上。柱用5个柱体积的MeOH、然后用5个柱体积的MeOH中的5% v/v氨水来洗脱, 以洗脱胺产物。将含氨滤液在减压下蒸发并且在高真空下干燥, 以得到呈黄色固体的标题化合物4(129mg, 90%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ 10.19(s, 1H), 8.68(s, 1H), 7.77-7.67(m, 2H), 7.38-7.26(m, 5H), 7.26-7.18(m, 1H), 6.99(s, 1H), 6.00(s, 2H), 3.86(s, 3H), 3.71(s, 2H), 3.22-3.13(m, 2H), 3.13-3.05(m, 2H), 1.44(s, 2H), 0.96(s, 2H)。LCMS-A: 室温4.591min; m/z 482[M+H]⁺。

[0952] 实施例5: 1-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(5)的合成



[0954] (a) 4-(5-((4-((2-(1-甲氧羰基)环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A10)

[0955] 将4-(5-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(K5)(152mg, 0.332mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(12mg, 0.017mmol)、PPh₃(9mg, 0.03mmol)、CuI(6mg, 0.03mmol)和1-(2-乙炔基苯基)环丙烷羧酸甲酯(K2)(80mg, 0.40mmol)在DMF(4.0mL)中的经过搅拌的悬浮液用氮气脱气10分钟。添加Et₃N(1.0mL)并且将所得混合物在微波照射下、在120℃下加热20分钟。将挥发物真空移除并且将残余物吸附至硅胶上并通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, 石油醚中的0-60% EtOAc, 40℃-60℃, 然后是石油醚中的10%-45% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈黄色油状物的标题化合物A10(141mg, 68%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ10.53(s, 1H), 8.84(s, 1H), 8.77(d, J=2.5Hz, 1H), 8.12(d, J=6.5Hz, 1H), 7.61(dd, J=7.6, 1.0Hz, 1H), 7.54-7.38(m, 3H), 7.28(d, J=8.5Hz, 1H), 4.05(br, 2H), 3.51(s, 3H), 2.94-2.72(m, 3H), 1.81(d, J=10.5Hz, 2H), 1.63(q, J=4.1Hz, 2H), 1.61-1.49(m, 2H), 1.41(s, 9H), 1.29(q, J=4.2Hz, 2H)。LCMS-A: 室温5.913min; m/z 622 [M+H]⁺。

[0956] (b) 4-(5-((4-(2-(1-(甲氧羰基)环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A11)

[0957] 将4-(5-((4-((2-(1-(甲氧羰基)环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A10)(134mg, 0.216mmol)、10% Pd/C(100mg)和Et₃N(1.0mL)在DMF(10mL)中的悬浮液在氢气气氛下搅拌16小时。将所得混合物用EtOAc(60mL)稀释并且通过硅藻土过滤。将滤液真空蒸发并且将所得残余物吸附至硅胶上并通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, 石油醚中的10%-50% EtOAc, 40℃-60℃)纯化,

以得到呈无色油状物的标题化合物A11(117mg, 87%); ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 8.65(d, $J=2.6\text{Hz}$, 1H), 8.57(s, 1H), 8.15(dd, $J=8.5, 2.7\text{Hz}$, 1H), 7.45(s, 1H), 7.34-7.27(m, 3H), 7.24-7.15(m, 2H), 4.26(s, 2H), 3.60(s, 3H), 3.22-3.07(m, 4H), 2.92-2.76(m, 3H), 1.92(d, $J=11.4\text{Hz}$, 2H), 1.79-1.65(m, 4H), 1.48(s, 9H), 1.22-1.18(m, 2H)。LCMS-A: 室温5.971min; m/z 626[M+H] $^+$ 。

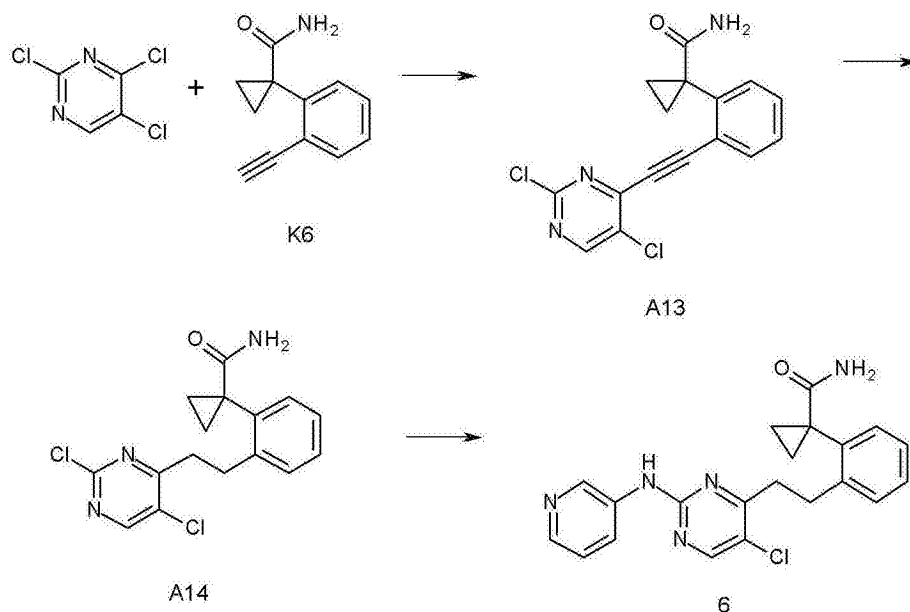
[0958] (c) 4-(5-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A12)

[0959] 将4-(5-((4-(2-(1-(甲氧羰基)环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A11)(112mg, 0.179mmol)和LiOH·H₂O(90mg, 2.2mmol)在THF(7.0mL)、MeOH(7.0mL)和H₂O(2.0mL)中的溶液在35℃下搅拌24小时。添加另外的LiOH·H₂O(45mg, 1.1mmol)并且在35℃下继续搅拌16小时。添加另外的LiOH·H₂O(45mg, 1.07mmol)并且在35℃下继续搅拌3天。将挥发物真空移除并且用EtOAc(20mL)和HCl水溶液(2M, 20mL)稀释残余物。将层分离并且用EtOAc(2×50mL)萃取水相。将合并的有机萃取物用盐水洗涤并且经MgSO₄干燥。将挥发物真空移除并且将残余物溶解于无水THF(9.0mL)和无水DMF(1.5mL)中, 然后在氮气气氛下添加HOBt(48mg, 0.36mmol)、EDCI·HCl(68mg, 0.36mmol)和二异丙基胺(0.310mL, 2.21mmol)。搅拌10分钟之后, 一次性添加碳酸铵(86mg, 0.89mmol)并且将所得混合物在室温下搅拌16小时。将温度升高至40℃并且再继续搅拌24小时。将挥发物真空移除, 然后向残余物添加EtOAc(20mL)和饱和NaHCO₃(20mL)。在分离层之后, 用EtOAc(2×20mL)萃取水相, 然后将合并的有机萃取物用盐水洗涤并且经MgSO₄干燥。将挥发物在减压下移除并且将残余物通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, 石油醚中的10%-100% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物A12(77mg, 71%); ^1H NMR(400MHz, d_6 -DMSO) δ 10.32(s, 1H), 8.76(d, $J=2.5\text{Hz}$, 1H), 8.72(s, 1H), 8.14(d, $J=6.7\text{Hz}$, 1H), 7.37-7.26(m, 4H), 7.26-7.18(m, 1H), 6.98(s, 1H), 6.02(s, 1H), 4.05(d, $J=12.7\text{Hz}$, 2H), 3.21-3.07(m, 4H), 2.87-2.75(m, 3H), 1.81(d, $J=11.1\text{Hz}$, 2H), 1.56(qd, $J=13.0, 4.4\text{Hz}$, 2H), 1.47-1.38(m, 11H), 0.97(s, 2H)。LCMS-A: 室温5.273min; m/z 611[M+H] $^+$ 。

[0960] (d) 1-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(5)

[0961] 将TFA(0.386mL, 5.04mmol)和4-(5-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A12)(0.077g, 0.13mmol)在DCM(10.0mL)中的溶液在室温、在N₂下搅拌3.5h。将挥发物真空移除并且将残余物溶解于DCM(~1mL)中。添加环己烷(~5mL), 直到形成白色沉淀。将所得悬浮液超声波处理10分钟并且将固体通过过滤分离并干燥, 以得到呈灰白色固体的标题化合物5(0.042g, 65%); ^1H NMR(400MHz, d_6 -DMSO) δ 10.31(s, 1H), 8.75(d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.72(s, 1H), 8.13(d, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 7.39-7.18(m, 5H), 6.98(s, 1H), 6.02(s, 1H), 3.19-3.05(m, 6H), 2.81-2.59(m, 3H), 1.79(d, $J=11.0\text{Hz}$, 2H), 1.63(qd, $J=12.5, 3.8\text{Hz}$, 2H), 1.47-1.41(m, 2H), 1.02-0.92(m, 2H)。LCMS-A: 室温4.445min; m/z 511[M+H] $^+$ 。

[0962] 实施例6: 1-(2-(2-(5-氯-2-(吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(6)的合成



[0964] (a) 1-(2-((2,5-二氯嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺(A13)

[0965] 将 $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (16mg, 0.023mmol)添加至1-(2-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺(K6) (0.420g, 2.26mmol)、2,4,5-三氯嘧啶(0.338mL, 2.94mmol)、 Et_3N (1.26mL, 9.07mmol)和碘化亚铜(I) (8.6mg, 0.045mmol)在1,4-二噁烷(4.5mL)中的经过搅拌的溶液中。将所得混合物在氮气气氛下在60℃下搅拌2.5小时,然后用石油醚40℃-60℃ (25mL)稀释。将所得沉淀过滤、干燥、用水(50mL)洗涤并且干燥,以得到呈浅棕褐色固体的标题化合物A13(0.570g, 75%); ^1H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ 9.01(s, 1H), 7.72(d, $J=7.1\text{Hz}$, 1H), 7.41-7.57(m, 3H), 6.97(brs, 1H), 6.20(brs, 1H), 1.53(dq, $J=4.0\text{Hz}$, 2H) 1.06(dq, $J=3.7\text{Hz}$, 2H)。LCMS-B: 室温6.593min; m/z 332 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0966] (b) 1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(A14)

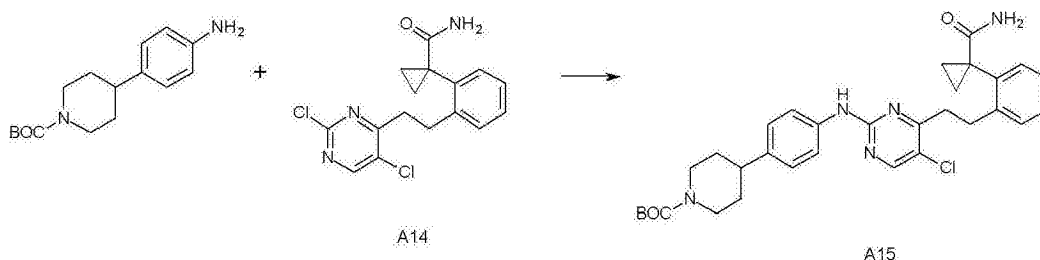
[0967] 将1-(2-((2,5-二氯嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺(A13) (0.536g, 1.61mmol)和氧化铂(0.110g, 0.484mmol)在DIPEA(16mL)和MeOH(3mL)中的悬浮液在氢气气氛下搅拌58小时。将所得混合物通过硅藻土垫过滤并且真空浓缩滤液。将残余物用水和EtOAc稀释并且通过硅藻土垫过滤。用EtOAc(2×20mL)萃取滤液,并且将合并的有机部分用水(3×20mL)、盐水洗涤,干燥(硫酸镁),过滤并且真空浓缩。将残余物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(CombiFlash Rf, 24g SiO_2 柱体, 环己烷中的30%-60% EtOAc)纯化,以得到呈白色固体的标题化合物A14(375mg, 69%); ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 8.52(s, 1H), 7.43(d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.28-7.31(m, 3H), 5.37(d, $J=17\text{Hz}$, 2H), 3.27(brs, 4H), 1.76(brs, 2H), 1.16(brs, 2H)。LCMS-B: 室温5.30min; m/z 337 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0968] (c) 1-(2-(2-(5-氯-2-(吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(6)

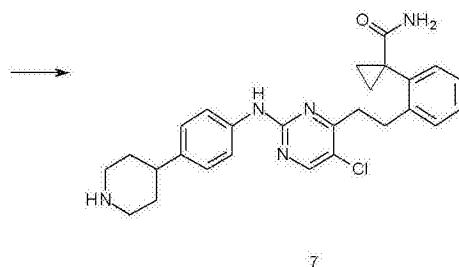
[0969] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(A14) (100mg, 297 μmol)、 Cs_2CO_3 (291mg, 892 μmol)和3-氨基吡啶(56.0mg, 595 μmol)在1,4-二噁烷(2.0mL)中的悬浮液超声波处理10分钟。向其中添加Xantphos(6.88mg, 11.9 μmol)和 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1.33mg, 5.95 μmol)并且将所得混合物在微波照射下、在120℃下加热20分钟。将所得混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO_2 柱体, EtOAc中的0-50% MeOH)纯化,以产生棕褐色固体。将其在水(50mL)中超声波处理10min并且过滤,以得到呈绿色固体的标题

化合物6(29mg, 25%); ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 8.80–8.74(d, $J=2.5\text{Hz}$, 1H), 8.33(s, 1H), 8.32–8.28(dd, $J=4.7, 1.3\text{Hz}$, 1H), 8.18–8.12(m, 1H), 7.47–7.42(d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.38–7.34(m, 3H), 7.34–7.25(m, 2H), 5.56(s, 1H), 5.37(s, 1H), 3.34–3.14(m, 4H), 1.78(s, 2H), 1.16(s, 2H)。LCMS-A: 室温4.502min; m/z 394 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0970] 实施例7: 1-(2-(2-(5-氯-2-(吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(7)的合成



[0971]



[0972] (a) 4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A15)

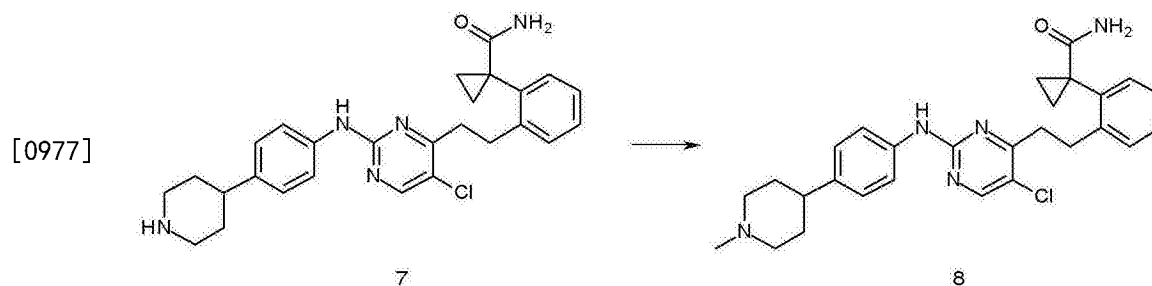
[0973] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(A14)(100mg, 297 μmol)、 Cs_2CO_3 (291mg, 892 μmol)和4-(4-氨基苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(164mg, 595 μmol)在1,4-二噁烷(2.0mL)中的悬浮液超声波处理10min。向其中添加Xantphos(6.88mg, 11.9 μmol)和 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1.33mg, 5.95 μmol)并且将所得混合物在微波照射下、在120 $^\circ\text{C}$ 下加热20min。将所得混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO_2 柱体, 石油醚中的0–100% EtOAc , 40 $^\circ\text{C}$ –60 $^\circ\text{C}$)纯化, 以得到呈黄色油状物的标题化合物A15(121mg, 71%); ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 8.25–8.22(s, 1H), 7.54–7.46(m, 3H), 7.43–7.38(dt, $J=7.4, 1.0\text{Hz}$, 1H), 7.34–7.29(m, 2H), 7.29–7.22(m, 1H), 7.19–7.12(m, 2H), 5.93–5.80(s, 1H), 5.41–5.26(s, 1H), 4.39–4.18(s, 2H), 3.31–3.06(m, 4H), 2.90–2.69(t, $J=11.8\text{Hz}$, 2H), 2.69–2.54(tt, $J=12.0, 3.4\text{Hz}$, 1H), 1.88–1.68(t, $J=15.8\text{Hz}$, 4H), 1.68–1.53(qd, $J=13.0, 4.4\text{Hz}$, 2H), 1.53–1.46(s, 9H), 1.19–1.07(s, 2H)。LCMS-A: 室温6.326min; m/z 577 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0974] (b) 1-(2-(2-(5-氯-2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(7)

[0975] 将TFA(1.0mL)添加至4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A15)(121mg, 210 μmol)的DCM(5mL)溶液中并且将所得混合物在室温下搅拌16小时。添加饱和 Na_2CO_3 水溶液, 直到溶液为碱性, 然后添加 EtOAc (50mL)和水(50mL)。将有机层分离、用盐水(20mL)洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 然后将挥发物真空移除。将所得残余物吸附至硅胶上并且将所得材料用 MeOH (300mL)洗涤, 接着用 MeOH/EtOH (1:1)(300mL)中的1M NH_3 洗涤。将来自含氨洗涤液的挥发物真空移除并且将所得胶状物在 Et_2O

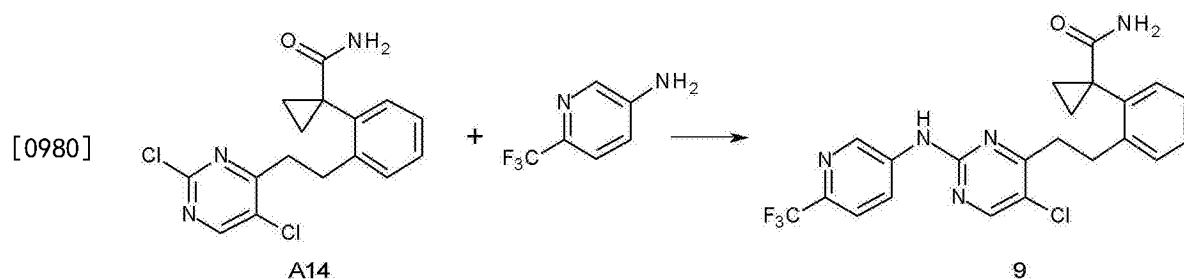
(20mL)中超声波处理,以得到沉淀,通过过滤收集所述沉淀。滤饼的空气干燥得到呈白色固体的产物7(55mg,55%);¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ 8.28(s,1H),7.52-7.46(d,J=8.6Hz,2H),7.46-7.41(d,J=7.3Hz,1H),7.37-7.32(d,J=5.0Hz,2H),7.31-7.25(m,2H,模糊的),7.23-7.18(d,J=8.5Hz,2H),7.15(s,1H),5.33(s,2H),3.34-3.12(m,6H),2.84-2.71(td,J=12.2,2.3Hz,2H),2.71-2.56(tt,J=12.1,3.7Hz,1H),1.92-1.59(m,6H,模糊的),1.15(s,2H)。LCMS-A:室温4.527min;m/z 477[M+H]⁺。

[0976] 实施例8:1-(2-(2-(5-氯-2-((4-(1-甲基哌啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(8)的合成



[0978] 在氮气气氛下,将甲醛(H₂O中的37重量%;14 μ L,0.19mmol)添加至1-(2-(2-(5-氯-2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(7)(30mg,63 μ mol)的MeOH(5.0mL)溶液中。将所得混合物在室温下搅拌10分钟,然后添加三乙酰氧基硼氢化钠(53mg,0.25mmol)。在室温下继续搅拌2.5小时,然后将挥发物真空移除并且将所得残余物在EtOAc(20mL)与饱和NaHCO₃水溶液(20mL)之间分配。将层分离并且用EtOAc(2 $\times$ 20mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经MgSO₄干燥并且将挥发物真空蒸发。将残余物溶解于丙酮(0.5mL)中并且添加石油醚40 $^{\circ}$ C-60 $^{\circ}$ C(25mL)。将所得绿色沉淀通过过滤分离并且在高真空下干燥,以得到呈绿色固体的标题化合物8(8mg,26%);¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ 8.18(s,1H),7.41(d,J=8.5Hz,2H),7.34(d,J=7.3Hz,1H),7.30-7.23(m,3H),7.12(d,J=8.5Hz,2H),5.55(s,1H),5.25(s,1H),3.13(J m,6H),2.52-2.41(m,1H),2.38(s,3H),2.23(t,J=11.8Hz,2H),1.89(dd,J=25.4,12.3Hz,2H),1.80(d,J=12.3Hz,2H),1.68(s,2H),1.06(s,2H)。LCMS-A:室温4.611min;m/z 491[M+H]⁺。

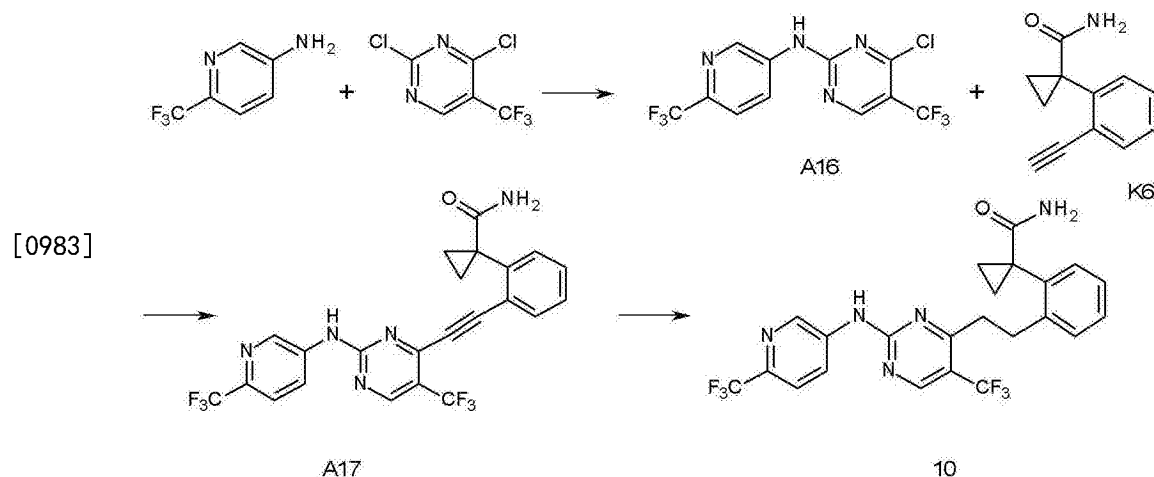
[0979] 实施例9:1-(2-(2-(5-氯-2-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(9)的合成



[0981] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(A14)(150mg,446 μ mol)、Cs₂CO₃(436mg,1.34 μ mol)和5-氨基-2-三氟甲基吡啶(145mg,892 μ mol)在1,4-二噁烷(3mL)中的悬浮液超声波处理10分钟。添加Xantphos(10.3mg,17.8 μ mol)和Pd(OAc)₂(2.00mg,8.92 μ mol)并且将所得混合物在微波照射下、在120 $^{\circ}$ C下加热20分钟。将所得混合

物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100% EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-40% MeOH)纯化。将经过纯化的固体溶解于丙酮(0.2mL)中并且添加石油醚40℃-60℃(30mL)。通过真空过滤收集沉淀并且将滤饼在高真空下干燥以产生呈棕褐色固体的标题化合物9(62mg, 30%); ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ8.87(d, J = 2.6Hz, 1H), 8.43-8.34(m, 2H), 7.69(d, J = 8.7Hz, 1H), 7.60(s, 1H), 7.45(d, J = 8.2Hz, 1H), 7.36(dd, J = 7.8, 3.1Hz, 2H), 7.30(d, J = 4.9Hz, 1H), 5.39(d, J = 8.9Hz, 2H), 3.35-3.17(m, 4H), 1.78(s, 2H), 1.16(s, 2H)。LCMS-A: 室温4.816min; m/z 462[M+H]⁺。

[0982] 实施例10: 1-(2-(2-(5-(三氟甲基)-2-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(10)的合成



[0984] (a) 4-氯-5-(三氟甲基)-N-(6-(三氟甲基)吡啶-3-基)嘧啶-2-胺(A16)

[0985] 在0℃下, 经20分钟的时间段, 将氯化锌在Et₂O(18.5mL, 18.5mmol)中的1.0M溶液添加至2,6-二氯-5-三氟甲基嘧啶(2.81g, 13.0mmol)的t-BuOH/DCE(1:1, 50mL)溶液中, 然后将所得混合物搅拌1小时。经20分钟添加5-氨基-2-三氟甲基嘧啶(2.00g, 12.3mmol)和DIPEA(3.22mL, 18.5mmol)在t-BuOH/DCE(1:1, 30mL)中的溶液, 然后将所得混合物在室温下搅拌4天, 然后加热至40℃并且再搅拌24小时。将挥发物在减压下移除, 以得到固体残余物。添加水(100mL)并且将悬浮液超声波处理30分钟。用EtOAc(3×100mL)和CHCl₃(100mL)萃取所得混合物。将有机萃取物合并、通过相分离柱体, 并且将挥发物在减压下蒸发。将残余物通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 2×40g SiO₂, 石油醚中的0-25% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物A16(1.78g, 42%); ¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ11.21(s, 1H), 9.02(d, J = 2.5Hz, 1H), 8.96-8.89(m, 1H), 8.40(dd, J = 8.6, 2.2Hz, 1H), 7.92(d, J = 8.6Hz, 1H)。LCMS-A: 室温5.931min; m/z 343[M+H]⁺。

[0986] (b) 1-(2-((5-(三氟甲基)-2-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺(A17)

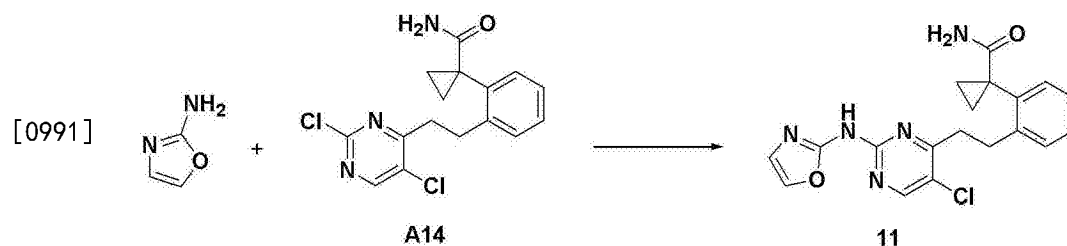
[0987] 在氮气下, 将1-(2-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺(K6)(0.100g, 0.540mmol)的DMF(2.0mL)溶液添加至4-氯-5-(三氟甲基)-N-(6-(三氟甲基)吡啶-3-基)嘧啶-2-胺(A16)(0.185g, 0.540mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.019g, 0.027mmol)、t-Bu₃PH·BF₄(0.016g, 0.054mmol)和CuI(0.010g, 0.054mmol)。将混合物用氮气脱气10分钟, 然后接着添加Et₃N(1.0mL), 将所得混合物在微波照射下、在120℃下加热15分钟。将挥发物在减压下移除, 将残余物吸附至二氧化硅上并通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 24g 二氧化硅柱体, 石油醚中的0-100%

EtOAc, 40℃-60℃) 纯化, 以得到呈黄色固体的标题化合物A17(0.157g, 59%); ^1H NMR (400MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 11.05(s, 1H), 9.05-8.93(m, 2H), 8.64(d, $J=6.3\text{Hz}$, 1H), 7.93(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 7.62(dd, $J=7.6, 0.9\text{Hz}$, 1H), 7.58-7.39(m, 3H), 7.00(s, 1H), 6.17(s, 1H), 1.54(q, $J=3.8\text{Hz}$, 2H), 1.10-1.02(m, 2H)。LCMS-A: 室温5.851min; m/z 492.2[M+H] $^+$ 。

[0988] (c) 1-(2-(2-(5-(三氟甲基)-2-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(10)

[0989] 将10% Pd/C(0.145g)和1-(2-((5-(三氟甲基)-2-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺(A17)(0.157g, 0.320mmol)在 Et_3N (1mL)和DMF(10mL)中的悬浮液在氢气气氛下、在40℃下搅拌16小时。将所得混合物通过硅藻土过滤并且将滤液在减压下浓缩。将残余物吸附至硅胶上并且通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO_2 柱体, 石油醚中的0-55% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物10(0.108g, 68%); ^1H NMR(400MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 10.84(s, 1H), 9.01(d, $J=2.2\text{Hz}$, 1H), 8.84(s, 1H), 8.58(dd, $J=8.6, 2.1\text{Hz}$, 1H), 7.93(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 7.40-7.28(m, 3H), 7.27-7.19(m, 1H), 7.01(s, 1H), 6.04(s, 1H), 3.27-3.08(m, 4H), 1.44(d, $J=3.4\text{Hz}$, 2H), 1.02-0.91(m, 2H)。LCMS-A: 室温5.959min; m/z 496[M+H] $^+$ 。

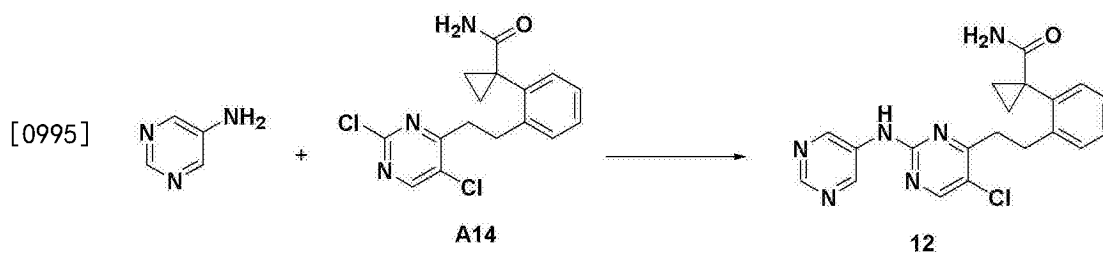
[0990] 实施例11: 1-(2-(2-(5-氯-2-(噁唑-2-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(11)的合成



[0992] 1-(2-(2-(5-氯-2-(噁唑-2-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(11)

[0993] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.150g, 0.446mmol)、 Cs_2CO_3 (436mg, 1.34 μmol)和2-氨基噁唑(75.0mg, 0.892mmol)在1,4-二噁烷(3mL)中的悬浮液超声波处理10分钟。添加Xantphos(10mg, 18 μmol)和乙酸钯(II)(2.0mg, 8.9 μmol)并且将反应物在120℃下微波照射20分钟。将所得混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO_2 柱体, 环己烷中的0-100% EtOAc, 然后是EtOAc中的0-20% MeOH)纯化, 以得到固体。添加丙酮(0.5mL), 接着添加环己烷(25mL)并且将混合物超声波处理10分钟。通过过滤收集所得沉淀, 并且将滤饼用环己烷(25mL)洗涤并在高真空下干燥, 以得到呈白色固体的标题化合物11(10mg, 6%)。LCMS-B: 室温4.64min; m/z 384.0[M+H] $^+$ 。

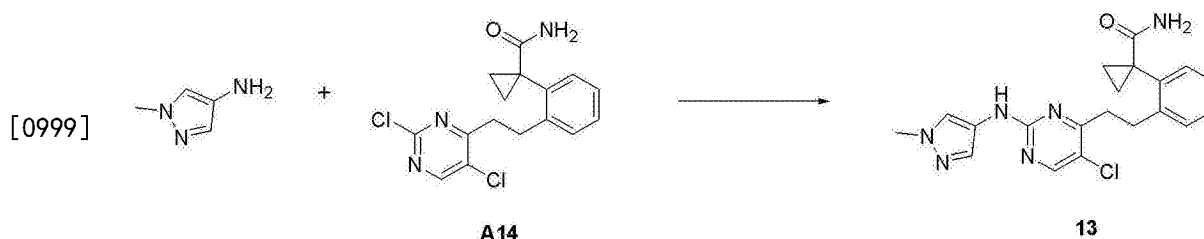
[0994] 实施例12: 1-(2-(2-(5-氯-2-(嘧啶-5-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(12)的合成



[0996] 1-(2-(2-(5-氯-2-(嘧啶-5-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(12)

[0997] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.100g, 0.297mmol)、 Cs_2CO_3 (0.291g, 0.892mmol)和5-氨基嘧啶(56.6mg, 0.595mmol)在1,4-二噁烷(3mL)中的悬浮液超声波处理10分钟。添加Xantphos(6.9mg, 12 μmol)和乙酸钯(II)(1.3mg, 5.9 μmol)并且将反应物在120℃下微波照射20分钟。将所得混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-40%MeOH)纯化, 以得到固体, 将所述固体悬浮于0.5M柠檬酸水溶液(50mL)中并且超声波处理10分钟。通过过滤收集沉淀并且将滤饼用2M NaOH水溶液(100mL)、环己烷(100mL)洗涤并空气干燥, 以得到呈黄色固体的标题化合物12(25mg, 21%)。LCMS-B: 室温4.89min; m/z 395.0[M+H]⁺。

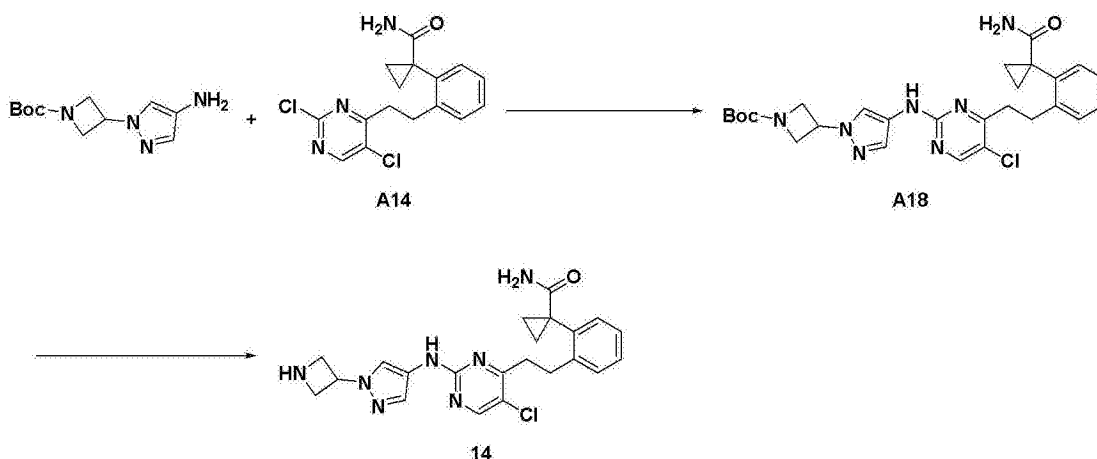
[0998] 实施例13: 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(13)的合成



[1000] 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(13)

[1001] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(1.50g, 4.46mmol)在1,4-二噁烷(25mL)中的含有4-氨基-1-甲基吡唑(0.520g, 5.35mmol)和对甲苯磺酸(0.085g, 0.45mmol)的溶液在微波照射下、在120℃下加热7小时。将挥发物真空移除并且将残余物吸附至硅胶上, 将产物使用二氧化硅柱色谱(Combiflash Rf, 40g SiO_2 柱体, 环己烷中的60%-100%EtOAc, 然后是DCM中的0-5%MeOH)分离, 以得到呈浅橙色泡沫的标题化合物13(1.01g, 56%)。¹H NMR(300MHz, d_6 -DMSO) δ 9.64(s, 1H), 8.37(s, 1H), 7.87(s, 1H), 7.46(s, 1H), 7.22-7.36(m, 4H), 7.00(brs, 1H), 6.01(brs, 1H), 3.81(s, 3H), 3.09(brs, 4H), 1.45-1.44(m, 2H), 1.00-0.99(m, 2H)。LCMS-B: 室温6.318min; m/z 397[M+H]⁺。

[1002] 实施例14: 1-(2-(2-(2-((1-(氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(14)的合成



[1003]

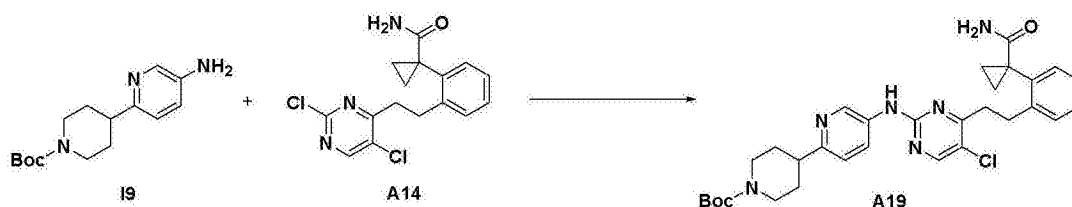
[1004] (a) 3-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(A18)

[1005] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.100g, 0.297mmol)、Cs₂CO₃(0.291g, 0.892mmol)和3-(4-氨基-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(0.142g, 0.595mmol)在二噁烷(3mL)中的悬浮液超声波处理10分钟。向悬浮液添加Xantphos(6.9mg, 12μmol)和乙酸钯(II)(1.3mg, 5.9μmol)并且将混合物在120℃下微波照射20分钟。将所得混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-40%MeOH)纯化, 以得到呈黄色油状物的标题化合物A18(110mg, 69%)。LCMS-A: 室温6.349min; m/z 538.3[M+H]⁺。

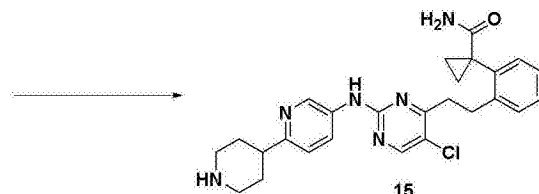
[1006] (b) 1-(2-(2-(2-((1-(氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(14)

[1007] 将TFA(1mL)添加至3-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯A18(0.110g, 0.204mmol)的DCM(5mL)溶液中并且将反应物在室温下搅拌16小时。将挥发物真空移除并且将所得残余物装载至SCX柱体(5g)上。用MeOH(100mL), 接着用MeOH(100mL)中的5%NH₄OH洗涤柱体。合并碱性部分并且将溶剂真空移除, 以得到呈棕褐色固体的标题化合物14(61mg, 68%)。¹H NMR (400MHz, d₄-MeOD) δ 8.27(s, 1H), 8.09(s, 1H), 7.65(s, 1H), 7.44-7.37(m, 2H), 7.34(m, 1H), 7.27(m, 1H), 5.36-5.18(m, 1H), 4.15(m, 2H), 3.96(m, 2H), 3.20(m, 4H), 1.63(m, 2H), 1.20-1.05(m, 2H)。LCMS-C: 室温4.30min; m/z 438.0[M+H]⁺。

[1008] 实施例15: 1-(2-(2-(5-氯-2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(15)的合成



[1009]



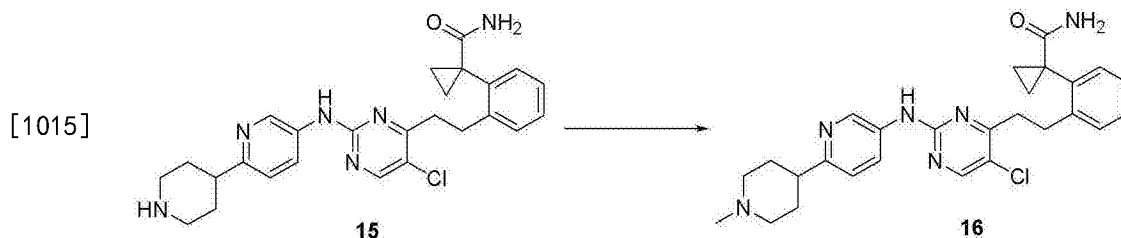
[1010] (a)4-(5-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A19)

[1011] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.150g, 0.446mmol)、Cs₂CO₃(0.436g, 1.34mmol)和4-(5-氨基吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯I9(247mg, 0.892mmol)在1,4-二噁烷(3mL)中的悬浮液超声波处理10分钟。添加Xantphos(10mg, 18μmol)和乙酸钯(II)(2.0mg, 8.9μmol)并且将混合物在120℃下微波照射20分钟。将混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, 环己烷中的0-100% EtOAc)纯化, 以得到呈黄色油状物的标题化合物A19(79mg, 31%)。LCMS-C: 室温 4.92min; m/z 577.0[M+H]⁺。

[1012] (b)1-(2-(2-(5-氯-2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(15)

[1013] 将TFA(1mL)添加至4-(5-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A19(79.0mg, 0.137mmol)的DCM(5mL)溶液中并且搅拌16小时。将挥发物真空移除并且将所得残余物装载至SCX柱体(5g)上。用MeOH(100mL), 接着用MeOH(100mL)中的5%NH₄OH洗涤柱体。合并碱性部分并且将溶剂真空移除, 以得到呈白色固体的标题化合物15(50mg, 77%)。¹H NMR(400MHz, d₄-MeOD) δ8.74(s, 1H), 8.36(s, 1H), 8.21(dd, J=8.6, 2.7Hz, 1H), 7.45-7.22(m, 5H), 3.30-3.17(m, 6H), 2.95-2.80(m, 3H), 1.99-1.96(m, 2H), 1.86-1.76(m, 2H), 1.64-1.63(m, 2H), 1.19-1.07(m, 2H)。LCMS-C: 室温 4.17min; m/z 477.1[M+H]⁺。

[1014] 实施例16: 1-(2-(2-(5-氯-2-(5-(1-甲基哌啶-3-基)吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(16)的合成

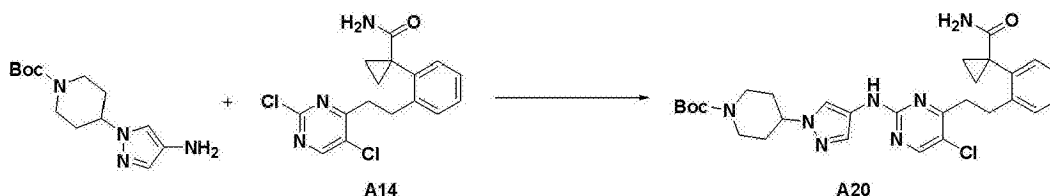


[1016] 1-(2-(2-(5-氯-2-(5-(1-甲基哌啶-3-基)吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(16)

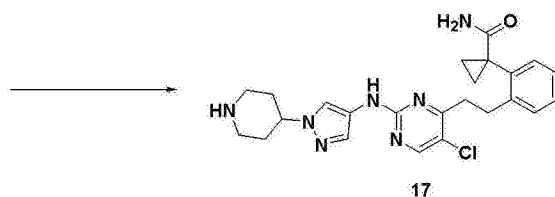
[1017] 在氮气气氛下, 将甲醛(32.8μL, 0.440mmol, H₂O中的37重量%)添加至1-(2-(2-

(5-氯-2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺15 (42.0mg, 0.088mmol)在MeOH(1.10mL)中的悬浮液中。然后一次性添加三乙酰氧基硼氢化钠(187mg, 0.881mmol)并且将混合物在室温下搅拌过夜。将挥发物真空移除并且用EtOAc(10mL)和饱和NaHCO₃水溶液(10mL)稀释残余物。将层分离并且用EtOAc(2×15mL)萃取水层。将合并的有机层用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤并且经Na₂SO₄干燥。将溶剂在减压下移除以产生白色固体,通过prep-LCMS纯化所述固体,得到呈白色固体的标题化合物16(5.90mg, 14%)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ8.69(brs, 1H), 8.28(s, 1H), 8.10(dd, J=8.47, 2.53Hz, 1H), 7.55-7.62(m, 1H), 7.43(d, J=7.04Hz, 1H), 7.32-7.36(m, 2H), 7.20-7.32(m, 1H), 5.94(brs, 1H), 5.40(brs, 1H), 3.32-3.42(m, 4H), 3.22-3.32(m, 2H), 3.12-3.21(m, 2H), 2.80-2.92(m, 1H), 2.59-2.73(m, 3H), 2.05-2.33(m, 4H), 1.72-1.79(m, 2H), 1.10-1.17(m, 2H)。LCMS-C: 室温5.08min; m/z 491.3[M+H]⁺。

[1018] 实施例17: 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡啶-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(17)的合成



[1019]



[1020] (a) 4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡啶-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A20)

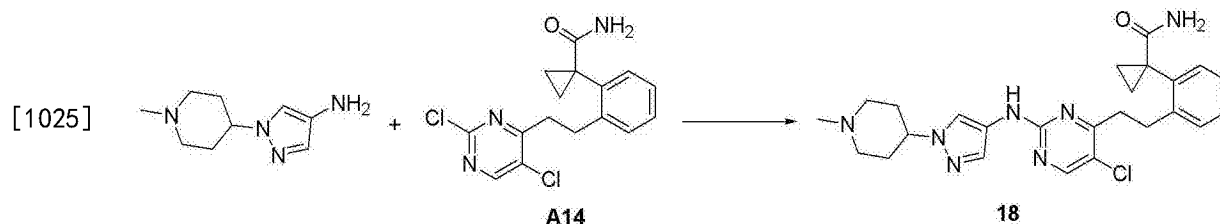
[1021] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.100g, 0.297mmol)、Cs₂CO₃(0.291g, 0.892mmol)和4-(4-氨基-1H-吡啶-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(0.158g, 0.595mmol)在1,4-二噁烷(2mL)中的悬浮液超声波处理10分钟。添加Xantphos(6.9mg, 12μmol)和乙酸钯(II)(1.3mg, 5.9μmol)并且将混合物在120℃下微波照射20分钟。将混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 环己烷中的0-100% EtOAc, 然后是EtOAc中的0-10% MeOH)纯化, 以得到呈褐色固体的标题化合物A20(21mg, 12%)。LCMS-C: 室温5.54min; m/z 565.9[M+H]⁺。

[1022] (b) 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡啶-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(17)

[1023] 将TFA(1mL)添加至4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡啶-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A20(0.021g, 0.037mmol)的DCM(5mL)溶液中并且将混合物搅拌16小时。将挥发物真空移除并且将所得残余物装载至SCX柱体(5g)上。用MeOH(100mL), 接着用MeOH(100mL)中的5% NH₄OH洗涤柱体。合并碱性部分, 将溶剂真空移除, 并且通过prep-LCMS纯化所得残余物以得到呈黄色固体的标题化合物17(3.6mg, 21%)。

LCMS-B:室温4.711min;m/z 466.2[M+H]⁺。

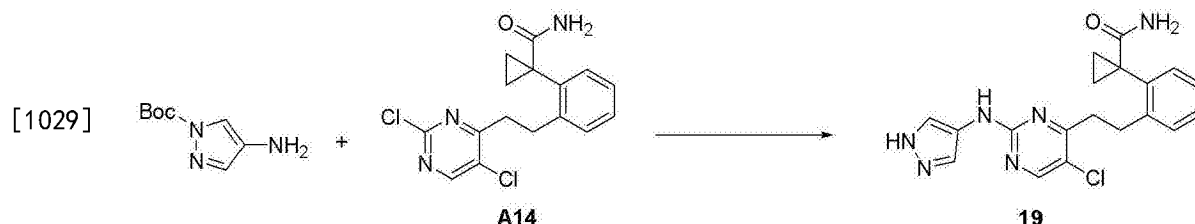
[1024] 实施例18:1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(18)的合成



[1026] 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(DGG_011_20_06)(CTX-0358024)

[1027] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.060g, 0.21mmol)在MeOH(1.0mL)和水(0.1mL)中的含有1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-胺(0.039g, 0.21mmol)的溶液在70℃下加热48小时。将混合物吸附至硅胶上并且通过二氧化硅柱色谱(CombiFlash Rf, 4g SiO₂柱体, DCM中的0-50% MeOH)纯化。通过HPLC(用30%-100%梯度的含有0.1%甲酸的乙腈和含有0.1%甲酸的水洗脱, 流动速率4.0mL/min)进一步纯化得到呈浅黄色固体的标题化合物18(0.015g, 17%)。LCMS-C:室温4.31min;m/z 480[M+H]⁺。

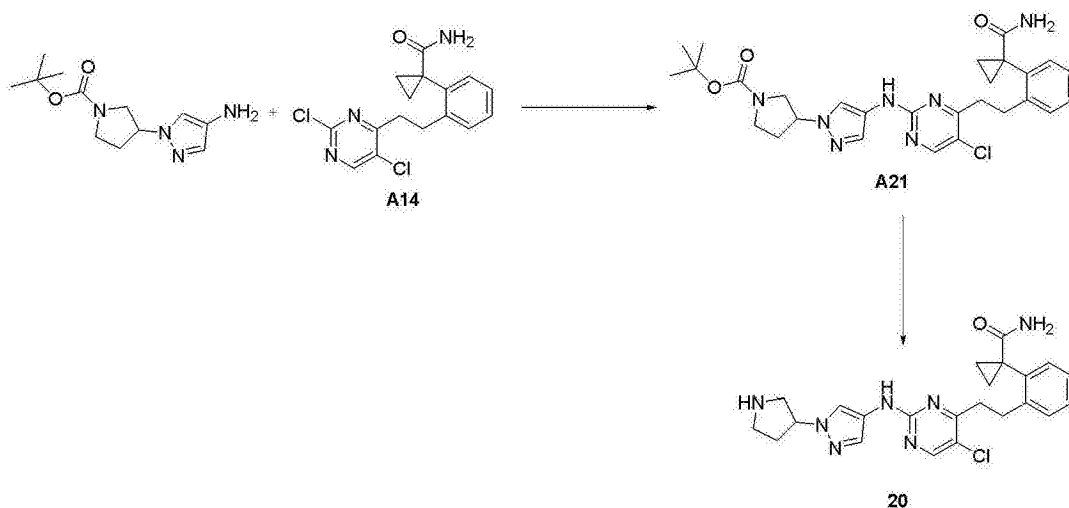
[1028] 实施例19:1-(2-(2-(2-(1H-吡唑-4-基氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(19)的合成



[1030] 1-(2-(2-(2-(1H-吡唑-4-基氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(19)

[1031] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.070g, 0.21mmol)和4-氨基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(0.11g, 0.63mmol)的溶液在MeOH:水(10:1比率, 4mL)中在70℃下搅拌2小时, 然后在90℃下搅拌16小时。将挥发物真空移除并且将残余物通过硅胶柱色谱(CombiFlash Rf, DCM中的0-15% MeOH)纯化, 以得到呈淡黄色固体的标题化合物19(0.015g, 19%)。¹H NMR(300MHz, d₆-DMSO) δ 0.93-1.02(m, 2H), 1.38-1.49(m, 2H), 3.04-3.16(m, 4H), 6.03(brs, 1H), 6.98(brs, 1H), 7.18-7.39(m, 4H), 7.48-7.72(m, 1H), 7.79-8.00(m, 1H), 8.37(s, 1H), 9.62(s, 1H)。LCMS-C:室温4.92min;m/z 383[M+H]⁺。

[1032] 实施例20:1-(2-(2-(5-氯-2-(1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(20)的合成



[1033]

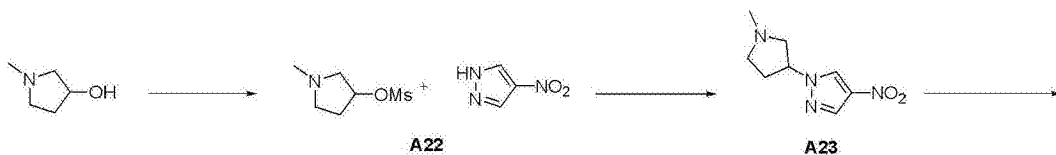
[1034] (a) 3-(4-(4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯(A21)

[1035] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.150g, 0.446mmol)、4-氨基-1-(1-Boc-吡咯烷-3-基)-1H-吡唑(0.225g, 0.892mmol)在MeOH(10mL)和水(1.0mL)中的经过搅拌的溶液在70℃下加热2天。添加另外的4-氨基-1-(1-boc-吡咯烷-3-基)-1H-吡唑(0.125g, 0.446mmol)并且将混合物在回流下再加热16小时。在冷却后, 移除溶剂以得到粗红色油状物, 将所述油状物通过硅胶柱色谱(环己烷中的0-100%EtOAc)纯化, 以得到呈红色油状物的标题化合物A21(0.164g, 67%收率)。LCMS-C: 室温5.51min; m/z 551.9[M+H]⁺。

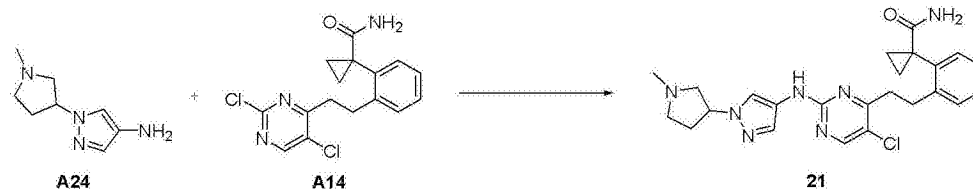
[1036] (b) 1-(2-(2-(5-氯-2-(1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(20)

[1037] 向3-(4-(4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯A21(0.164g, 0.297mmol)在DCM(5mL)中的经过搅拌的溶液中添加1,4-二噁烷(0.223mL)中的4M HCl溶液。将混合物搅拌5小时, 然后添加另外的二噁烷(3当量)中的4M HCl并且将混合物再搅拌16小时。添加另一份1,4-二噁烷(2mL)中的4M HCl并且将混合物搅拌16小时将溶剂移除并且将残余物用1M HCl水溶液(~5mL)稀释并用EtOAc(2×10mL)洗涤。用1M NaOH碱化并且用EtOAc(3×10mL)萃取水层。将合并的有机物干燥(MgSO₄)、过滤并且真空浓缩, 以得到粗的白色糊状物, 通过快速色谱(环己烷中的0-100% EtOAc)纯化所述糊状物, 得到呈红色油状物的标题化合物。通过HPLC(梯度: 20-100%, 水0.1%甲酸中的乙腈0.1%甲酸, 12min)进一步纯化得到呈透明胶状物的标题化合物20(0.012g, 9%收率)。¹H NMR(300MHz, MeOD) δ 1.14(d, J=3.30Hz, 2H), 1.64(d, J=3.30Hz, 2H), 2.32-2.44(m, 1H), 2.46-2.65(m, 1H), 3.12-3.26(m, 4H), 3.43-3.54(m, 1H), 3.60-3.80(m, 3H), 5.21-5.32(m, 1H), 7.23-7.45(m, 4H), 7.64(s, 1H), 8.08(m, 1H), 8.29(m, 1H)。LCMS-C: 室温4.29min; m/z 452[M+H]⁺。

[1038] 实施例21: 1-(2-(2-(5-氯-2-(1-(1-甲基吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(21)的合成



[1039]



[1040] (a)1-甲基吡咯烷-3-基甲磺酸盐(A22)

[1041] 将3-羟基-1-甲基吡咯烷(0.543mL, 4.94mmol)溶解于DCM(10mL)中并且冷却至0℃。添加Et₃N(0.827mL, 5.93mmol)、甲磺酰氯(0.421mL, 5.44mmol)和DMAP(0.006g, 0.05mmol)并且将混合物在室温下搅拌16小时。将混合物用CHCl₃(5mL)稀释并且用饱和NaHCO₃(5mL)和水(2×5mL)洗涤。将有机层真空浓缩以得到呈黄色油状物的标题化合物A22(0.717g, 81%收率)。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 1.85-2.24(m, 6H), 2.38-2.74(m, 3H), 2.76-2.91(m, 3H), 4.95(m, 1H)。

[1042] (b)1-(1-甲基吡咯烷-3-基)-4-硝基-1H-吡唑(A23)

[1043] 将4-硝基-1H-吡唑(0.452g, 4.00mmol)溶解于DMF(8mL)中并且冷却至0℃。添加NaH(0.192g, 60%油分散液, 4.80mmol)并且将混合物搅拌10分钟。添加1-甲基吡咯烷-3-基甲磺酸盐A22(0.717g, 4.00mmol)并且将混合物在100℃下搅拌16小时。将混合物用EtOAc(5mL)稀释并且用饱和NH₄Cl(5mL)和水(4×5mL)洗涤。将有机物真空浓缩, 得到粗淡黄色油状物, 通过快速色谱(DCM中的0-30%MeOH)纯化所述油状物, 以得到呈淡黄色油状物的标题化合物A23(0.575g, 73%收率)。LCMS-B: 室温1.12min; m/z 197[M+H]⁺。

[1044] (c) 1-(1-甲基吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-胺(A24)

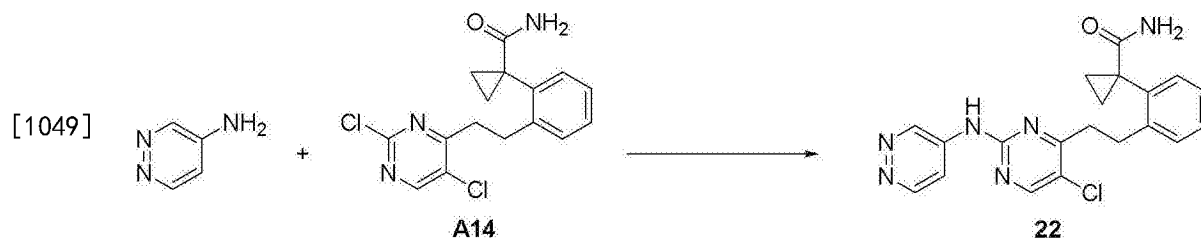
[1045] 将1-(1-甲基吡咯烷-3-基)-4-硝基-1H-吡唑A23(0.575g, 2.93mmol)和10%Pd/C(0.061g)在EtOH(15mL)中的溶液在氢气气氛下搅拌16小时。通过硅藻土过滤反应混合物并且将溶剂真空移除以得到呈红色油状物的标题化合物A24(0.555g, 定量)。¹H NMR(300MHz, MeOD)δ2.27-2.42(m, 1H), 2.72-2.76(m, 2H), 3.02-3.10(m, 1H), 3.46-3.55(m, 1H), 3.70-3.85(m, 4H), 5.14-5.26(m, 1H), 7.33(s, 1H), 7.46(m, 1H)。

[1046] (d) 1-(2-(2-(5-氯-2-(1-(1-甲基吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(21)

[1047] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.085g, 0.25mmol)、1-(1-甲基吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-胺A24(0.046g, 0.278mmol)和TsOH(0.003g, 0.02mmol)在1,4-二噁烷(4mL)中的经过搅拌的溶液在120℃下在微波中搅拌60分钟,接着在150℃下搅拌2小时,然后在160℃下搅拌2小时。冷却之后,移除溶剂以得到粗红色油状物,将所述油状物通过快速色谱(DCM中的0-30%MeOH)、接着通过HPLC(梯度:20%-100%,水0.1%甲酸中的乙腈0.1%甲酸,12min)纯化,以得到呈透明胶状物的标题化合物21(0.008g, 7%收率)。LCMS-C:室温4.34min; m/z 466 $[M+H]^+$ 。

[1048] 实施例22:1-(2-(2-(5-氯-2-(哒嗪-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲

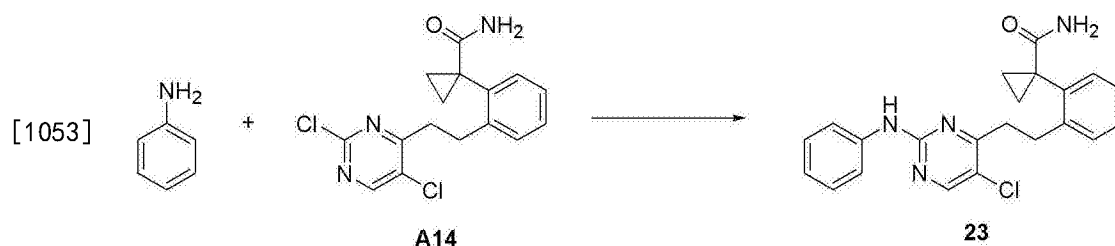
酰胺(22)的合成



[1050] (a) 1-(2-(2-(5-氯-2-(吡啶-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(22)

[1051] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14 0.080g, 0.24mmol)、4-氨基吡啶(0.045g, 0.48mmol)、Xantphos(0.0055g, 0.010mmol)和Cs₂CO₃(0.23g, 0.71mmol)在1,4-二噁烷(4mL)中的混合物用氮气鼓泡10分钟。添加乙酸钯(II)(0.0011g, 0.0049mmol)并且将混合物在120℃下、在微波中加热25分钟。将挥发物真空移除并且将残余物通过硅胶柱色谱(CombiFlash Rf, DCM中的0-15% MeOH)纯化, 以得到呈淡黄色固体的标题化合物22(0.010g, 11%)。LCMS-C: 室温4.34min; m/z 395[M+H]⁺。

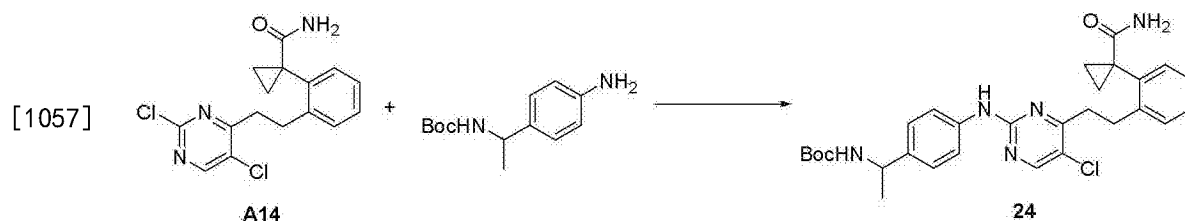
[1052] 实施例23: 1-(2-(2-(5-氯-2-(苯基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(23)的合成



[1054] (a) 1-(2-(2-(5-氯-2-(苯基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(23)

[1055] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.080g, 0.24mmol)在1,4-二噁烷(1.0mL)中的含有苯胺(0.043mL, 0.48mmol)和对甲苯磺酸(4.5mg, 0.024mmol)的溶液在微波照射下、在120℃下加热4小时。将反应混合物吸附至硅胶上并且通过二氧化硅柱色谱(CombiFlash Rf, 12g SiO₂柱体, 环己烷中的20%-50% EtOAc)纯化, 以得到呈淡黄色泡沫的标题产物23(0.044g, 46%)。LCMS-B: 室温7.718min; m/z 393[M+H]⁺。

[1056] 实施例24: (1-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(24)的合成

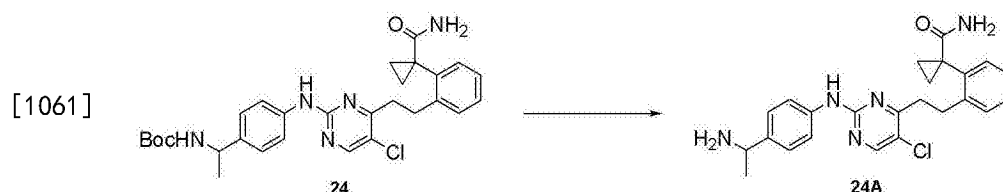


[1058] (1-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(24)

[1059] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.080g, 0.24mmol)、1-(4-氨基苯基)乙基氨基甲酸叔丁酯(0.067g, 0.29mmol)、Xantphos(0.0057g,

0.010mmol)和 Cs_2CO_3 (0.23g, 0.71mmol)在1,4-二噁烷(4mL)中的混合物用氮气鼓泡10分钟。添加乙酸钨(II)(0.0010g, 0.0045mmol)并且将混合物在120℃下、在微波照射下加热25分钟。将混合物在水与EtOAc之间分配。将层分离并且用EtOAc萃取水层(2次)。将合并的有机萃取物用盐水洗涤、干燥(Na_2SO_4)并且将溶剂真空蒸发以得到粗产物。通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf, 环己烷中的0-100%EtOAc)纯化, 得到呈无色油状物的标题化合物24(0.015g, 12%)。LCMS-C: 室温5.79min; m/z 536 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

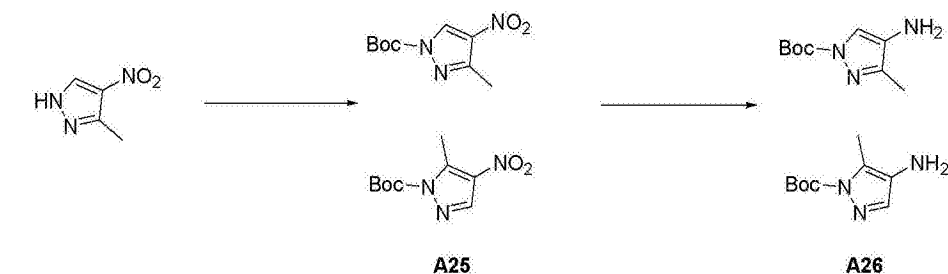
[1060] 实施例24A: 1-(2-(2-(2-((4-(1-氨基乙基)苯基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(24A)的合成



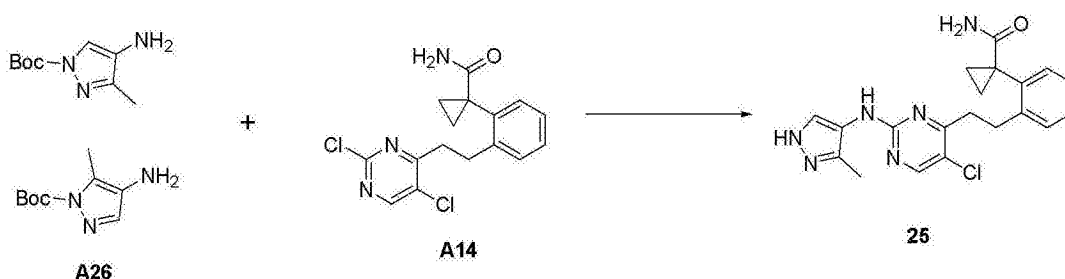
[1062] 1-(2-(2-(2-((4-(1-氨基乙基)苯基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(24A)

[1063] 向1-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯24(0.012g, 0.022mmol)的DCM(1mL)溶液中添加三氟乙酸(0.5mL)。将混合物在环境温度下搅拌2小时, 然后将挥发物真空移除。将粗残余物装载至用甲醇调节的SCX柱体上。用甲醇、接着用乙醇中的2N氨洗涤柱体。合并碱性部分并且将溶剂真空移除, 以得到呈无色油状物的标题化合物24A(0.009g, 92%)。LCMS-C: 室温4.41min; m/z 436 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1064] 实施例25: 1-(2-(2-(5-氯-2-((3-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(25)的合成



[1065]



[1066] (a) 3-甲基-4-硝基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯或5-甲基-4-硝基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(A25)

[1067] 将二碳酸二叔丁基酯(5.15g, 23.6mmol)和4-二甲基氨基吡啶(0.481g, 3.93mmol)

添加至3-甲基-4-硝基吡唑(2.50g, 19.7mmol)的DCM(100mL)溶液中并且将混合物在室温下搅拌16小时。将反应混合物用水(100mL)、盐水(100mL)洗涤、干燥(相分离器)并且在减压下浓缩。将残余物吸附至SiO₂上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 2×40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-50% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物A25(2.54g, 57%)。LCMS-D: 室温3.39min; 没有检测到产物离子。

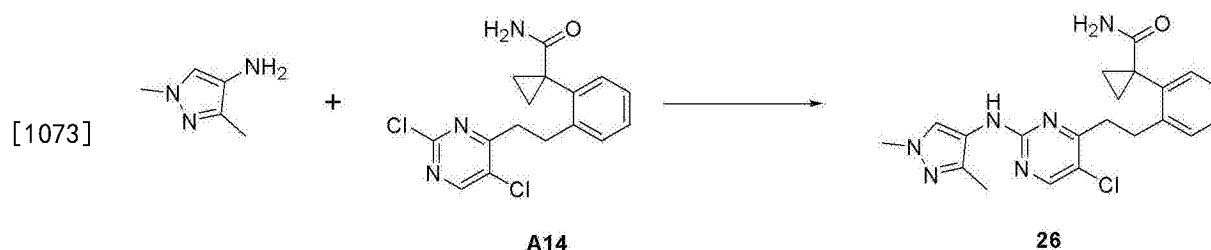
[1068] (b) 4-氨基-3-甲基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯或4-氨基-5-甲基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(A26)

[1069] 将3-甲基-4-硝基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯或5-甲基-4-硝基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(未测定异构体)A25(1.50g, 6.60mmol)的EtOH(75mL)溶液在10% Pd/C(用约53%水润湿, 0.150g)上在H₂气氛、在室温下搅拌16小时。将混合物用EtOAc(50mL)稀释并且通过硅藻土过滤。挥发物的真空蒸发得到呈粉红色固体的标题化合物A26(1.30g, >95%)。LCMS-D: 室温2.78min; m/z 198[M+H]⁺。

[1070] (c) 1-(2-(2-(5-氯-2-((3-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(25)

[1071] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.120g, 0.357mmol)、4-氨基-3-甲基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯或4-氨基-5-甲基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(未测定异构体)A26(0.141g, 0.714mmol)和对甲苯磺酸一水合物(0.007g, 0.04mmol)在1,4-二噁烷(2.0mL)中的混合物在微波反应器中在120℃下搅拌3小时。将反应混合物吸附至SiO₂上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, DCM中的0-10% MeOH)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物25(0.035g, 25%)。LCMS-A: 室温5.62min; m/z 397[M+H]⁺。

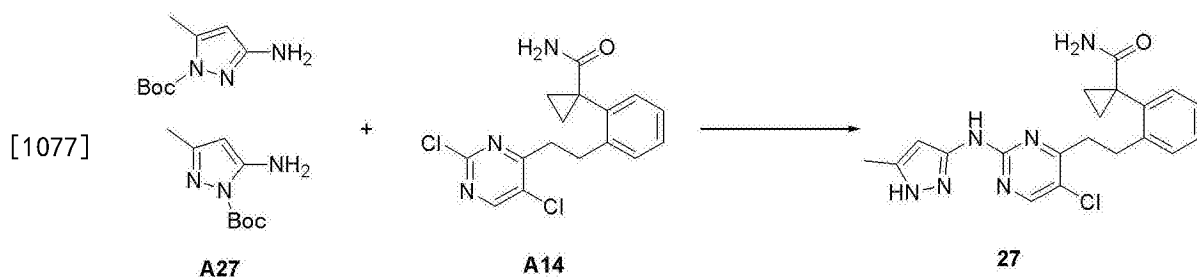
[1072] 实施例26: 1-(2-(2-(5-氯-2-((1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(26)的合成



[1074] (a) 1-(2-(2-(5-氯-2-((1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(26)

[1075] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.100g, 0.297mmol)、1,3-二甲基-1H-吡唑-4-胺(0.070g, 0.63mmol)和对甲苯磺酸一水合物(0.006g, 0.032mmol)在1,4-二噁烷(1.0mL)中的混合物在微波中在120℃下搅拌2小时。添加另外的1,4-二噁烷(1.5mL)并且将反应混合物在微波中在120℃下再搅拌4小时。将反应混合物吸附至SiO₂上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, 石油醚中的15%-100% EtOAc, 40℃-60℃)纯化。将疑似含有产物的部分合并, 并且吸附至二氧化硅上并通过柱色谱(Biotage Isolera, 12g SiO₂, DCM中的0-5% MeOH)纯化, 以得到呈淡黄色固体的标题化合物26(0.030g, 25%)。LCMS-D: 室温3.24min; m/z 411[M+H]⁺。

[1076] 实施例27: 1-(2-(2-(5-氯-2-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(27)的合成



[1078] (a) 3-氨基-5-甲基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯和5-氨基-3-甲基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯的混合物(A27)

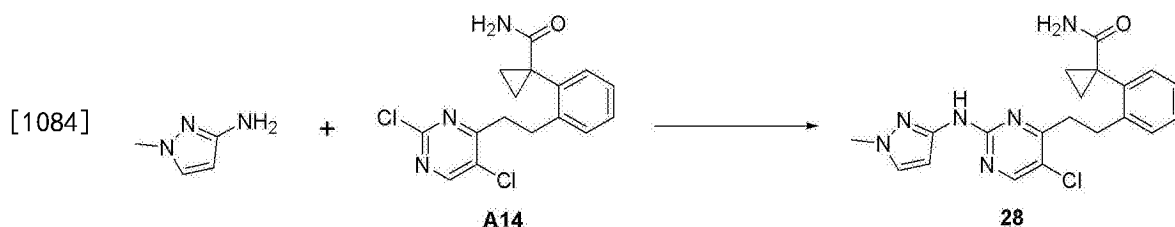
[1079] 将二碳酸二叔丁基酯(531mg, 2.57mmol)添加至3-氨基-5-甲基吡唑(250mg, 2.57mmol)和KOH(289mg, 5.15mmol)在THF(25mL)中的混合物中。将反应混合物在室温下搅拌过夜,然后将挥发物真空移除。将所得胶状物用EtOAc(100mL)稀释并且用水(100mL)洗涤。将有机层分离、吸附至硅胶上并且通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, 石油醚中的0-50% EtOAc, 40℃-60℃)纯化,以得到呈白色固体的标题化合物A27(154mg, 30%)。LCMS-A: 室温5.237min。

[1080] 注意:未指定吡唑上的Boc位置。

[1081] (b) 1-(2-(2-(5-氯-2-((5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(27)

[1082] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(263mg, 0.781mmol)、Cs₂CO₃(509mg, 1.56mmol)以及3-氨基-5-甲基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯和5-氨基-3-甲基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯的混合物A27(154mg, 0.781mmol)在1,4-二噁烷(5mL)中的悬浮液超声波处理10分钟。添加Xantphos(23mg, 0.039mmol)和Pd₂(dba)₃(36mg, 0.039mmol)并且将混合物在120℃下微波照射20分钟。将所得混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100% EtOAc, 40℃-60℃)纯化,以得到黄色油状物,将所述油状物溶解于DCM(5.0mL)中。添加TFA(1.0mL)并且将混合物在室温下搅拌2小时,然后添加饱和Na₂CO₃水溶液(20mL)和水(100mL)。将所得沉淀通过过滤收集、吸附至硅胶上并且通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 12g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100% EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-30% MeOH)纯化,以得到呈黄色固体的标题化合物27(8mg, 3%)。LCMS-A: 室温5.412min; m/z 397.2[M+H]⁺。

[1083] 实施例28: 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(28)的合成

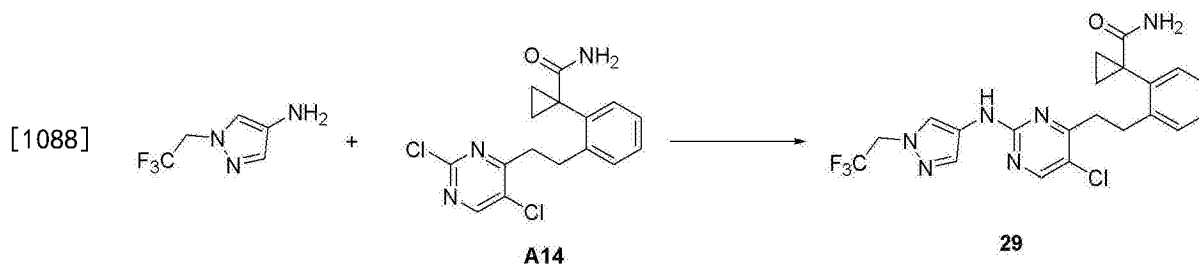


[1085] 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(28)

[1086] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.100g, 0.297mmol)、1-甲基-1H-吡唑-3-胺(0.058g, 0.595mmol)和对甲苯磺酸一水合物(0.006g,

0.030mmol)在1,4-二噁烷(2.0mL)中的混合物在微波反应器中在120℃下搅拌3小时。将反应混合物吸附至SiO₂上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, DCM中的0-5% MeOH)纯化,以得到胶状固体。将固体悬浮于Et₂O和石油醚40℃-60℃(1:1)的混合物中并且超声波处理10分钟。将沉淀通过真空过滤分离并且干燥,以得到呈黄色固体的标题化合物28(0.014g, 12%)。LCMS-D: 室温3.26min; m/z 397[M+H]⁺。

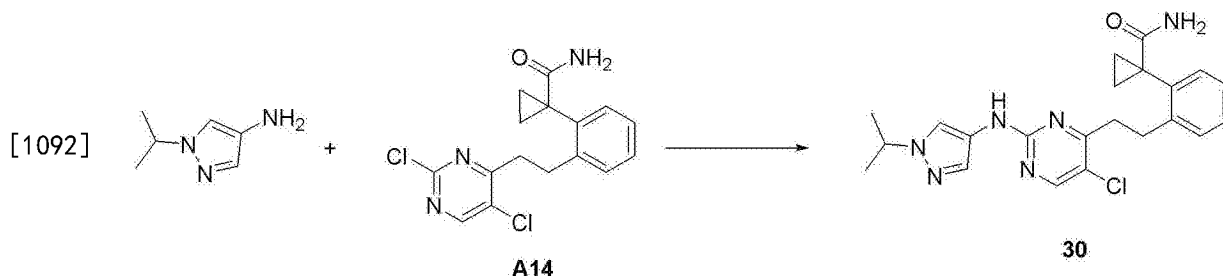
[1087] 实施例29: 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(29)的合成



[1089] 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(29)

[1090] 将1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-胺(0.160g, 0.967mmol)、1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.101g, 0.300mmol)和TsOH·H₂O(0.010g, 0.051mmol)在1,4-二噁烷(2.0mL)中的混合物在微波中加热至120℃, 持续3小时。将混合物在减压下浓缩并且使用硅胶柱色谱(石油醚中的0-100% EtOAc, 40℃-60℃)纯化,以得到标题化合物29(0.036g, 26%)。LCMS-D: 室温3.402min; m/z 465.2[M+H]⁺。

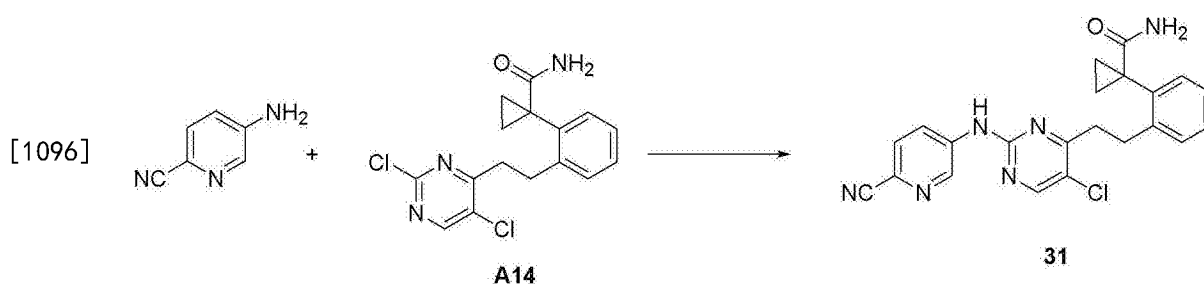
[1091] 实施例30: 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-异丙基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(30)的合成



[1093] 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-异丙基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(30)

[1094] 将1-异丙基吡唑-4-胺(0.083g, 0.66mmol)、1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.110g, 0.327mmol)和TsOH·H₂O(0.013g, 0.066mmol)在1,4-二噁烷(2.0mL)中的混合物在微波中加热至100℃, 持续3小时。将混合物在减压下浓缩并且通过硅胶柱色谱(石油醚中的0-100% EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-10% MeOH)纯化,以得到标题化合物30(0.094g, 68%)。LCMS-D: 室温3.355min; m/z 425.3[M+H]⁺。

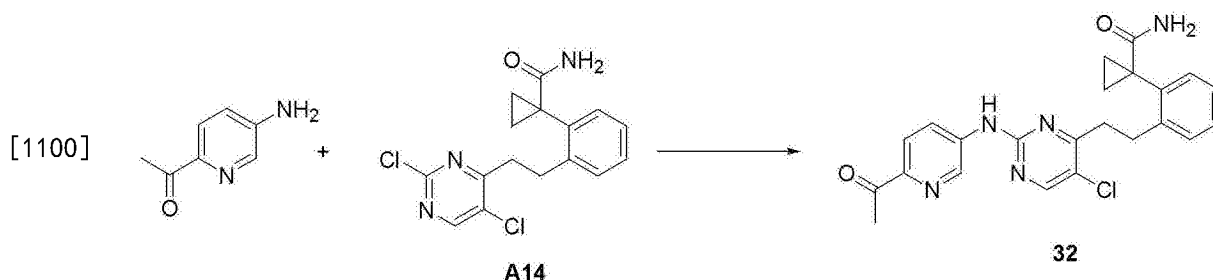
[1095] 实施例31: 1-(2-(2-(5-氯-2-((6-氰基吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(31)的合成



[1097] 1-(2-(2-(2-(5-氯-2-((6-氨基吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(31)

[1098] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.300g, 0.892mmol)在THF(2.5mL)中的含有5-氨基-2-吡啶甲腈(0.213g, 1.78mmol)、Cs₂CO₃ (0.872g, 2.67mmol)、Xantphos(0.021g, 0.036mmol)和乙酸钡(II)(4mg, 0.018mmol)的溶液在微波照射下、在120℃下加热30分钟。将反应混合物吸附至硅胶上并且通过二氧化硅柱色谱(CombiFlash Rf, 12g SiO₂柱体, DCM中的0-10% MeOH)纯化, 以得到呈米白色固体的标题化合物31(0.262g, 70%)。LCMS-B: 室温7.13min; m/z 419[M+H]⁺。

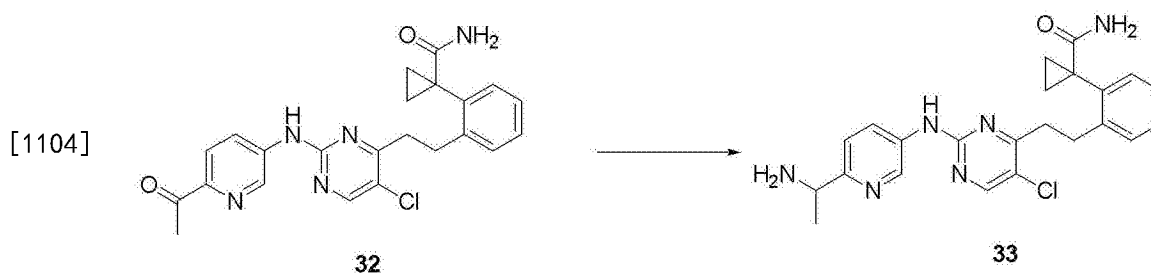
[1099] 实施例32: 1-(2-(2-(2-((6-乙酰吡啶-3-基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(32)的合成



[1101] 1-(2-(2-(2-((6-乙酰吡啶-3-基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(32)

[1102] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0-200g, 0.595mmol)在1,4-二噁烷(2.0mL)中的含有1-(5-氨基吡啶-2-基)乙酮(0.121g, 0.892mmol)、Cs₂CO₃(0.581g, 1.78mmol)、Xantphos(0.014g, 0.024mmol)和乙酸钡(II)(2.67mg, 0.012mmol)的溶液在微波照射下、在120℃下加热30分钟。将反应混合物吸附至硅胶上并且通过二氧化硅柱色谱(CombiFlash Rf, 4g SiO₂柱体, DCM中的0-10% MeOH)纯化, 以得到呈浅米白色固体的标题化合物32(0.183g, 70%)。LCMS-B: 室温6.98min; m/z 437[M+H]⁺。

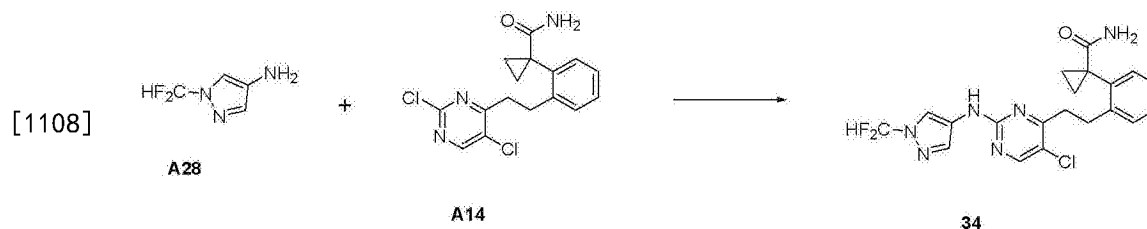
[1103] 实施例33: 1-(2-(2-(2-((6-(1-氨基乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(33)的合成



[1105] 1-(2-(2-(2-((6-(1-氨基乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(33)

[1106] 将乙酸铵(0.587g, 7.61mmol)添加至1-(2-(2-(2-((6-乙酰吡啶-3-基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺32(0.166g, 0.381mmol)在MeOH(5mL)和THF(5mL)中的溶液中并且将混合物在氮气气氛下搅拌20分钟。添加氰基硼氢化钠(0.017g, 0.27mmol)并且将混合物搅拌5小时。添加另外的氰基硼氢化钠(0.017g, 0.27mmol)并且将混合物在35℃下搅拌22小时。向混合物中添加水(10mL), 然后用20%盐酸水溶液(10mL)将其酸化。用Et₂O(2×30mL)洗涤水相, 然后用固体氢氧化钾碱化至pH 10。用DCM(3×30mL)萃取水相并且将合并的有机物用盐水洗涤、干燥(Na₂SO₄)、吸附至二氧化硅上并通过二氧化硅柱色谱(Combiflash Rf, 12g SiO₂柱体, DCM中的0-30%MeOH)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物33(0.101g, 60%)。LCMS-B: 室温4.32min; m/z 437[M+H]⁺。

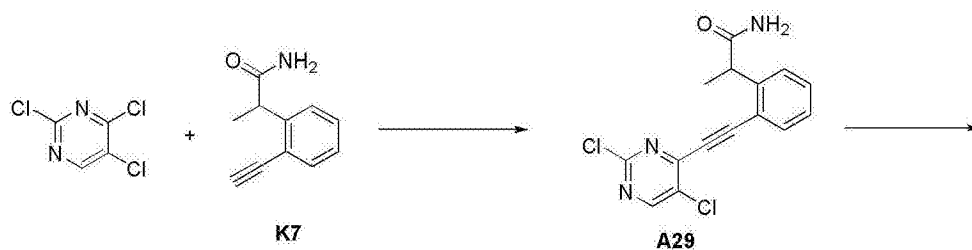
[1107] 实施例34: 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(34)的合成



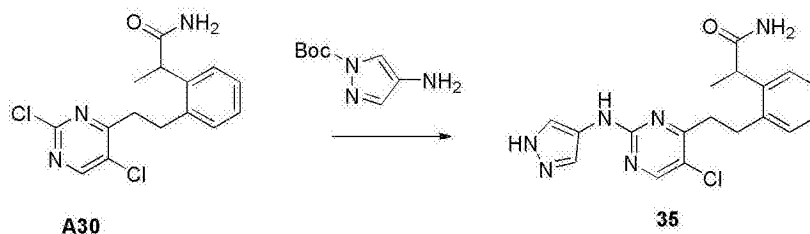
[1109] 1-(2-(2-(5-氯-2-((1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(34)

[1110] 将1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14(0.076g, 0.225mmol)、1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-胺A28(0.030g, 0.23mmol)和对甲苯磺酸一水合物(0.004g, 0.023mmol)在1,4-二噁烷(4.0mL)中的混合物在微波反应器中在120℃下搅拌2小时。将挥发物真空移除并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 12g SiO₂柱体, DCM中的0-5% MeOH)纯化残余物。合并疑似含有产物的部分并且将溶剂真空移除以得到残余物, 将所述残余物通过柱色谱(Biotage Isolera, 12g SiO₂柱体, 石油醚中的0-60%EtOAc, 40℃-60℃)进一步纯化。合并疑似含有产物的部分, 将溶剂真空移除, 并且通过prep-LCMS纯化所得固体以得到呈白色固体的标题化合物34(0.005g, 5%)。LCMS-B: 室温3.41min; m/z 433[M+H]⁺。

[1111] 实施例35: 2-(2-(2-(2-(1H-吡唑-4-基氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(35)的合成



[1112]



[1113] (a) 2-(2-((2,5-二氯嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)丙酰胺(A29)

[1114] 向2-(2-乙炔基苯基)丙酰胺K7(2.5g, 14mmol)和2,4,5-三氯嘧啶(2.2mL, 19mmol)在1,4-二噁烷(27mL)和Et₃N(8.1mL, 58mmol)中的含有CuI(0.055g, 0.29mmol)的溶液中添加PdCl₂(PPh₃)₂(0.10g, 0.14mmol)。将反应混合物在60℃下在氮气气氛下加热2.5小时。将溶剂真空移除并且将残余物用环己烷中的20%Et₂O稀释。将沉淀过滤、用水洗涤并且真空干燥,以得到呈浅褐色固体的标题化合物A29(4.52g, 98%)。LCMS-C:室温5.10min;m/z 320 [M+H]⁺。

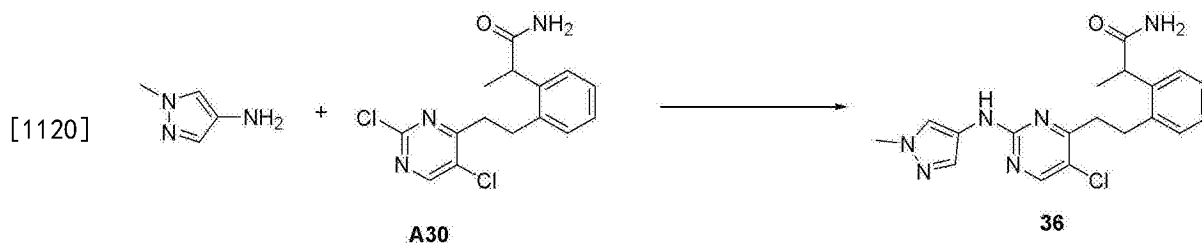
[1115] (b) 2-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(A30)

[1116] 将2-(2-((2,5-二氯嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)丙酰胺A29(1.0g, 3.1mmol)在DMF(55mL)和MeOH(5mL)中的溶液在氢气气氛下、在环境温度下与氧化铂(II)(0.21g, 0.94mmol)一起搅拌120小时。将反应混合物用EtOAc稀释并且通过硅藻土塞过滤。用EtOAc洗涤滤饼并且将溶剂真空移除以得到粗残余物,将所述残余物通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf, 环己烷中的0-90%EtOAc)纯化,得到呈灰白色固体的标题化合物A30(0.65g, 64%)。LCMS-C:室温4.98min;m/z 324 [M+H]⁺。

[1117] (c) 2-(2-(2-(2-(1H-吡唑-4-基氨基)-5-氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(35)

[1118] 将2-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺A30(0.10g, 0.31mmol)和4-氨基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(0.17g, 0.93mmol)的溶液在MeOH:水(10:1, 5mL)中在90℃下加热18小时。将溶剂真空移除并且通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf, DCM中的0-15%MeOH)纯化粗残余物。合并纯化部分,将溶剂真空移除并且将固体在环己烷中超声波处理并过滤。将残余物真空干燥,以得到呈淡黄色固体的标题化合物35(0.060g, 52%)。¹H NMR(300MHz, d₆-DMSO)δ1.34(d, J=7.04Hz, 3H), 2.92-3.11(m, 4H), 3.86(q, J=7.04Hz, 1H), 6.85(brs, 1H), 7.13-7.25(m, 4H), 7.36-7.44(m, 1H), 7.57-8.7(m, 2H), 8.37(s, 1H), 9.63(s, 1H)。LCMS-C:室温4.72min;m/z 371 [M+H]⁺。

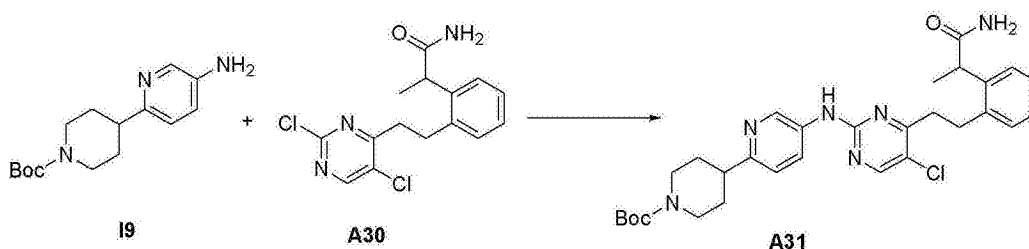
[1119] 实施例36: 2-(2-(2-(5-氯-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(36)的合成



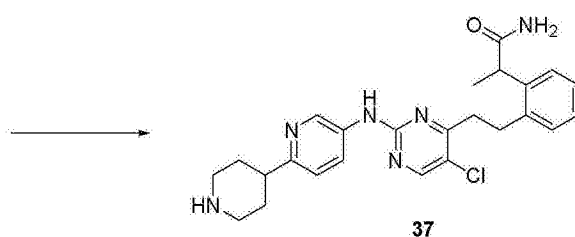
[1121] 2-(2-(2-(5-氯-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(36)

[1122] 将2-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺A30(50mg,0.15mmol)、4-氨基-1-甲基吡唑(15mg,0.015mmol)和对甲苯磺酸(3.0mg,0.015mmol)在1,4-二噁烷(2mL)中的溶液在80℃下在微波照射下加热3小时,然后在120℃下加热3小时,最后在140℃下加热2小时。将混合物在水与EtOAc之间分配,将层分离并用EtOAc萃取水相(3次)。将合并的有机萃取物用盐水洗涤、干燥(Na_2SO_4)并且将溶剂真空蒸发以得到粗产物。通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf,DCM中的0-10%MeOH)纯化,得到呈苍白色固体的标题化合物36(0.020g,34%)。 ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 1.57(d, $J=7.26\text{Hz}$,3H),3.04-3.15(m,4H),3.91(s,3H),4.00(q, $J=6.97\text{Hz}$,1H),5.59(brs,2H),7.19-7.31(m,3H),7.34(brs,1H),7.38-7.41(m,1H),7.49(s,1H),7.71(s,1H),8.25(s,1H)。LCMS-B:室温6.09min; m/z 385 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1123] 实施例37:2-(2-(2-(5-氯-2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(37)的合成



[1124]



[1125] (a)4-(5-((4-(2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A31)

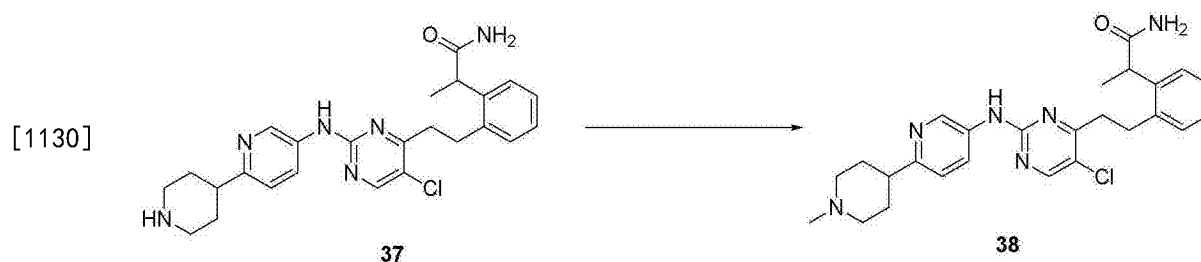
[1126] 将2-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺A30(50.0mg,0.154mmol)、 Cs_2CO_3 (151mg,0.463mmol)和4-(4-氨基苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯I9(85.6mg,0.308mmol)在1,4-二噁烷(1.0mL)中的悬浮液超声波处理10分钟,然后添加Xantphos(3.57mg,6.18 μmol)和乙酸钯(II)(0.692mg,3.08 μmol)。将反应物在微波照射下在120℃下加热20分钟,然后通过硅藻土过滤。用EtOAc洗涤滤饼,将溶剂在减压下移除并且将粗材料通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf,环己烷中的0-90%EtOAc)纯化,以得到标题化合物A31(34mg,39%)。

LCMS-C:室温6.33min; m/z 565.2 $[M+H]^+$ 。

[1127] (b)2-(2-(2-(5-氯-2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(37)

[1128] 将TFA(0.71mL)添加至4-(5-((4-(2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A31(34mg,0.06mmol)的DCM(7mL)溶液中并且将混合物在室温下搅拌过夜。将挥发物真空移除,然后添加2.0M NaOH溶液(2mL)和EtOAc。将相分离并且用EtOAc萃取水相。将合并的有机相用水洗涤、经 Na_2SO_4 干燥,并且将溶剂在减压下移除以得到标题化合物37(23mg,82%)。LCMS-C:室温6.02min; m/z 465.3 $[M+H]^+$ 。

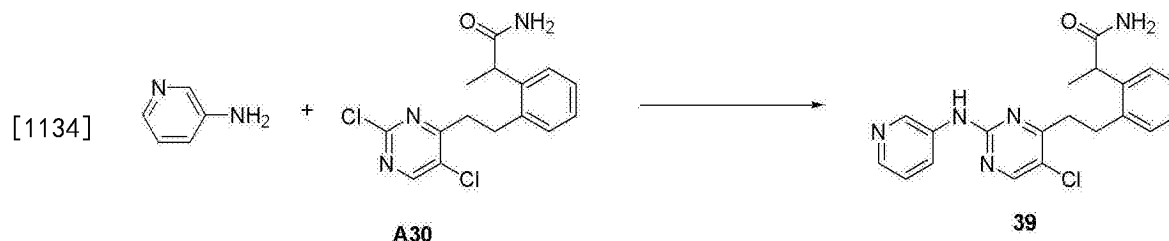
[1129] 实施例38:2-(2-(2-(5-氯-2-(6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(38)的合成



[1131] 2-(2-(2-(5-氯-2-((6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(38)

[1132] 在氮气气氛下,将甲醛(31.2 μ L,0.419mmol, H_2O 中的37重量%)添加至2-(2-(2-(5-氯-2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺37(39.0mg,0.084mmol)在MeOH(2.0mL)中的悬浮液中。一次性添加三乙酰氧基硼氢化钠(178mg,0.839mmol)并且将反应混合物在室温下搅拌2.5小时。将挥发物真空移除并且用EtOAc(10mL)和饱和 $NaHCO_3$ 水溶液(10mL)稀释残余物。将层分离并且用EtOAc(2 $\times$ 10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(20mL)和盐水(15mL)洗涤并且经 Na_2SO_4 干燥。将溶剂在减压下移除并且将所得固体悬浮于DCM(20mL)和环己烷(30mL)中。将固体过滤以得到标题化合物38(34mg,84%)。LCMS-C:室温4.19min; m/z 479.2 $[M+H]^+$ 。

[1133] 实施例39:2-(2-(2-(5-氯-2-(吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(39)的合成

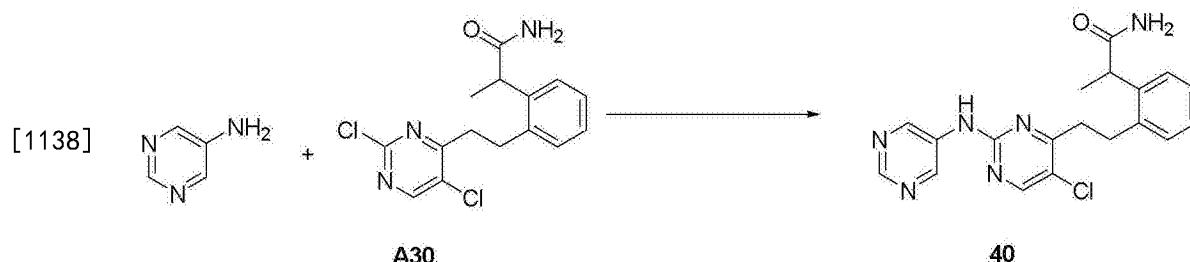


[1135] 2-(2-(2-(5-氯-2-(吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(39)

[1136] 将2-(2-(2-(5-氯-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺A30(0.080g,0.25mmol)、3-氨基吡啶(0.046g,0.49mmol)、Xantphos(0.0057g,0.010mmol)和 CS_2CO_3 (0.24g,0.74mmol)在1,4-二噁烷(3mL)中的混合物用氮气鼓泡10分钟。添加乙酸钡(II)(0.0011g,0.0049mmol)并且将混合物在120 $^{\circ}C$ 下、在微波照射下加热28分钟。将挥发物

真空移除并且将残余物通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf,DCM中的0-10%MeOH)纯化,以得到呈粉红色固体的标题化合物39(0.029g,31%)。LCMS-C:室温4.30min;m/z 382[M+H]⁺。

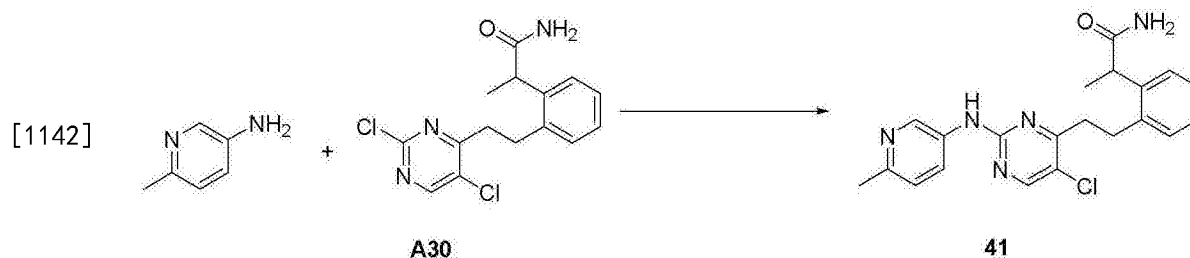
[1137] 实施例40:2-(2-(2-(5-氯-2-(嘧啶-5-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(40)的合成



[1139] 2-(2-(2-(5-氯-2-(嘧啶-5-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(40)

[1140] 将2-(2-(2-(5-氯-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺A30(0.080g,0.25mmol)、5-氨基嘧啶(0.047g,0.49mmol)、Xantphos(0.0057g,0.010mmol)和Cs₂CO₃(0.24g,0.74mmol)在1,4-二噁烷(3mL)中的混合物用氮气鼓泡10分钟。添加乙酸钡(II)(0.0011g,0.0049mmol)并且将混合物在120℃下、在微波照射下加热20分钟。将挥发物真空移除并且将残余物通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf,DCM中的0-10%MeOH)纯化,以得到呈灰白色固体的标题化合物40(0.030g,32%)。LCMS-C:室温4.85min;m/z 383[M+H]⁺。

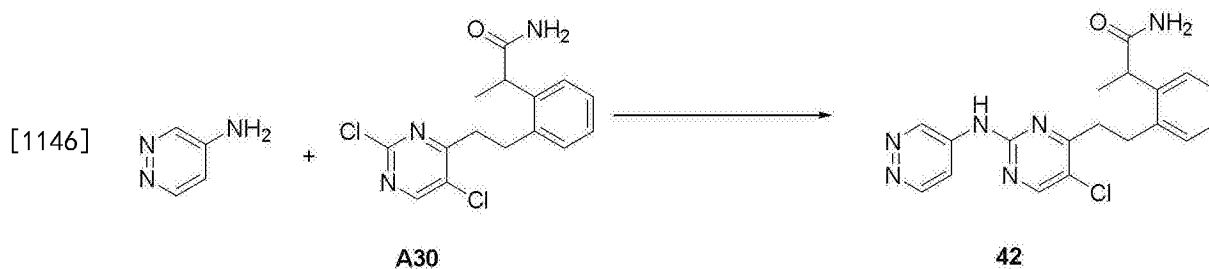
[1141] 实施例41:2-(2-(2-(5-氯-2-(6-甲基吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(41)的合成



[1143] 2-(2-(2-(5-氯-2-(6-甲基吡啶-3-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(41)

[1144] 将2-(2-(2-(5-氯-2-(1-甲基-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺WAK-011-06-05(0.080g,0.25mmol)、5-氨基-2-甲基吡啶(0.053g,0.49mmol)、Xantphos(0.0057g,0.010mmol)和Cs₂CO₃(0.24g,0.74mmol)在1,4-二噁烷(3mL)中的混合物用氮气鼓泡10分钟。添加乙酸钡(II)(0.0011g,0.0049mmol)并且将混合物在120℃下、在微波照射下加热20分钟。将挥发物真空移除并且将残余物通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf,DCM中的0-10%MeOH)纯化,以得到呈淡黄色固体的标题化合物41(0.032g,33%)。LCMS-C:室温4.24min;m/z 396[M+H]⁺。

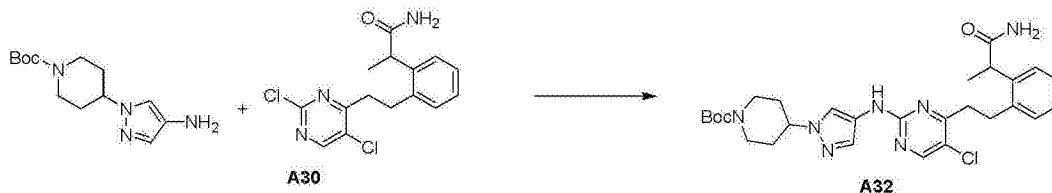
[1145] 实施例42:2-(2-(2-(5-氯-2-(哒嗪-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(42)的合成



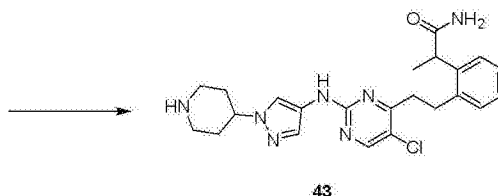
[1147] 2-(2-(2-(5-氯-2-(吡啶-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(42)

[1148] 将2-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(A30)(0.080g,0.25mmol)、4-氨基吡啶(0.046g,0.49mmol)、Xantphos(0.0057g,0.010mmol)和Cs₂CO₃(0.24g,0.74mmol)在1,4-二噁烷(3mL)中的混合物用氮气鼓泡10分钟。添加乙酸钡(II)(0.0011g,0.0049mmol)并且将混合物在120℃下、在微波照射下加热28分钟。将挥发物真空移除并且将残余物通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf,DCM中的0-15%MeOH)纯化,以得到呈淡黄色固体的标题化合物42(0.020g,21%)。LCMS-C:室温4.23min;m/z 383[M+H]⁺。

[1149] 实施例43:2-(2-(2-(5-氯-2-(1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(43)的合成



[1150]



[1151] (a)4-(4-(4-(2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A32)

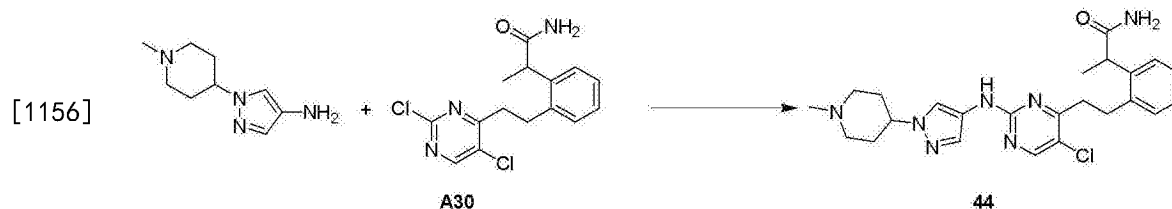
[1152] 将2-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(A30)(0.120g,0.370mmol)、4-(4-氨基-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(0.177g,0.666mmol)在正丁醇(3mL)和冰乙酸(0.004mL,0.074mmol)中的经过搅拌的溶液在150℃下在微波中搅拌30分钟。在冷却后,移除溶剂以得到粗紫色油状物,将所述油状物通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf,DCM中的0-30%MeOH)纯化,以得到呈红色油状物的标题化合物A32(0.090g,44%收率)。LCMS-C:室温5.44min;m/z 554[M+H]⁺。

[1153] (b)2-(2-(2-(5-氯-2-(1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(43)

[1154] 向4-(4-(4-(2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯乙基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A32(0.090g,0.162mmol)在DCM(5mL)中的经过搅拌的溶液中添加TFA(2.0mL)并且将混合物在室温下搅拌1.5小时。移除溶剂并且将残余物悬浮于EtOAc(5mL)中并用1M HCl洗涤。用1M NaOH碱化并且用EtOAc(2×5mL)萃取水层。将合并的有机层

干燥(MgSO_4)、过滤并且真空浓缩,以得到粗紫色油状物,通过快速色谱(CombiLash Rf,DCM中的0-30%MeOH)纯化所述油状物,得到呈红色油状物的标题化合物43(0.019g,26%收率)。LCMS-C:室温4.24min; m/z 454 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

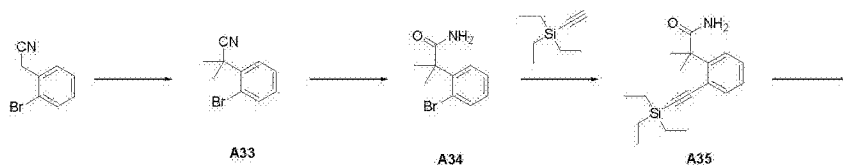
[1155] 实施例44:2-(2-(2-(5-氯-2-(1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(44)的合成



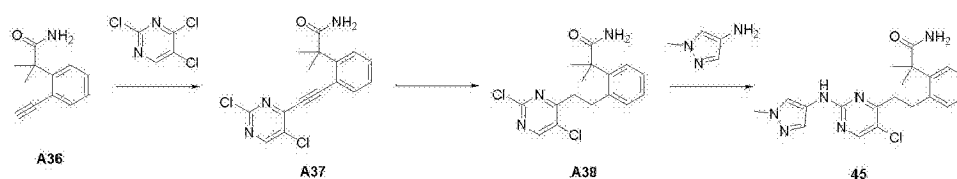
[1157] 2-(2-(2-(5-氯-2-(1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(44)

[1158] 将1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-胺(0.117g,0.648mmol)、2-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺A30(0.060g,0.185mmol)在MeOH(10mL)和水(1.0mL)中的经过搅拌的溶液在70℃下搅拌16小时。添加另外的1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-胺(0.052g,0.29mmol)并且将反应物在70℃下搅拌16小时。冷却之后,将溶剂移除,以得到油状物,将所述油状物通过HPLC(梯度:30%-100%,水0.1%甲酸中的乙腈0.1%甲酸,12min)纯化,以得到呈红色胶状物的标题化合物44(0.0018g,2%收率)。LCMS-C:室温4.28min; m/z 468 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1159] 实施例45:2-(2-(2-(5-氯-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)-2-甲基丙酰胺(45)的合成



[1160]



[1161] (a)2-(2-溴苯基)-2-甲基丙腈(A33)

[1162] 将 $t\text{-BuOK}$ (0.898g,8.00mmol)在无水THF(3mL)和无水NMP(3mL)中的悬浮液在 N_2 气氛下冷却至0℃。向此悬浮液中添加2-(2-溴苯基)乙腈(0.392g,2.00mmol)并且允许混合物在0℃下搅拌10分钟。经5分钟的时间段仔细地添加碘甲烷(0.50mL,8.0mmol)并且将所得混合物在0℃与10℃之间再搅拌1小时。通过添加饱和 NaHCO_3 水溶液将过量 $t\text{-BuOK}$ 淬灭并且用 EtOAc (3×40mL)萃取水相。将合并的有机物用盐水洗涤,干燥(MgSO_4)并且将溶剂真空移除以得到黄色残余物。通过柱色谱(Biotage Isolera,24g SiO_2 柱体,石油醚中的0-15% EtOAc ,40℃-60℃)纯化,得到呈无色油状物的标题化合物A33(0.377g,84%)。LCMS-D:室温3.48min; m/z 197/199 $[\text{M}-\text{CN}]^+$ 。

[1163] (b)2-(2-溴苯基)-2-甲基丙酰胺(A34)

[1164] 将2-(2-溴苯基)-2-甲基丙腈A33(0.377g, 1.68mmol)、NaOH(0.135g, 3.37mmol)和t-BuOH(4mL)的混合物在密闭容器中在100℃下搅拌40小时。将反应混合物冷却、用DCM稀释并且通过硅藻土过滤。将滤液溶剂真空移除并且将残余物通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈无色油状物的标题化合物A34(0.192g, 48%)。LCMS-D: 室温3.06min; m/z 242/244[M+H]⁺。

[1165] (c)2-甲基-2-(2-((三乙基甲硅烷基)乙炔基)苯基)丙酰胺(A35)

[1166] 将2-(2-溴苯基)-2-甲基丙酰胺A34(0.196g, 0.810mmol)、CuI(0.008g, 0.040mmol)、四氟硼酸三叔丁基膦(0.012g, 0.040mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.028g, 0.040mmol)和(三乙基甲硅烷基)乙炔(0.174mL, 0.971mmol)在DMF(5mL)中的混合物用N₂鼓泡10分钟。添加Et₃N(5mL)并且将混合物在65℃、在氮气下搅拌4小时。将混合物冷却并且将挥发物真空移除。将暗褐色残余物吸附至二氧化硅上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 24g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈褐色固体的标题化合物A35(0.116g, 48%)。LCMS-D: 室温3.84min; m/z 302[M+H]⁺。

[1167] (d)2-(2-乙炔基苯基)-2-甲基丙酰胺(A36)

[1168] 将2-甲基-2-(2-((三乙基甲硅烷基)乙炔基)苯基)丙酰胺A35(0.116g, 0.385mmol)的THF(5mL)溶液在0℃下与TBAF(THF中的1.0M, 0.40mL, 0.40mmol)一起搅拌2分钟。添加饱和NaHCO₃水溶液(20mL)并且用EtOAc(3×30mL)萃取水相。将合并的有机物用盐水洗涤, 干燥(MgSO₄)并且将溶剂真空移除。将所得黄色油状物通过柱色谱(Biotage Isolera, 24gSiO₂柱体, 石油醚中的20%-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈黄色固体的标题化合物A36(0.060g, 83%)。LCMS-D: 室温3.02min; m/z 188[M+H]⁺。

[1169] (e)2-(2-((2,5-二氯嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)-2-甲基丙酰胺(A37)

[1170] 将2-(2-乙炔基苯基)-2-甲基丙酰胺A36(0.060g, 0.32mmol)、2,4,5-三氯嘧啶(48μL, 0.42mmol)和Et₃N(0.18mL, 1.3mmol)在1,4-二噁烷(5mL)中的混合物用N₂鼓泡10分钟。添加CuI(0.001g, 0.006mmol)和PdCl₂(PPh₃)₂(0.002g, 0.003mmol)并且将反应混合物在室温下在N₂气氛下搅拌5.5小时。将挥发物真空移除并且将残余物通过柱色谱(Biotage Isolera, 12g SiO₂柱体, 石油醚中的10%-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈灰白色固体的标题化合物A37(0.067g, 63%)。LCMS-D: 室温3.33min; m/z 334[M+H]⁺。

[1171] (f)2-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)-2-甲基丙酰胺(A38)

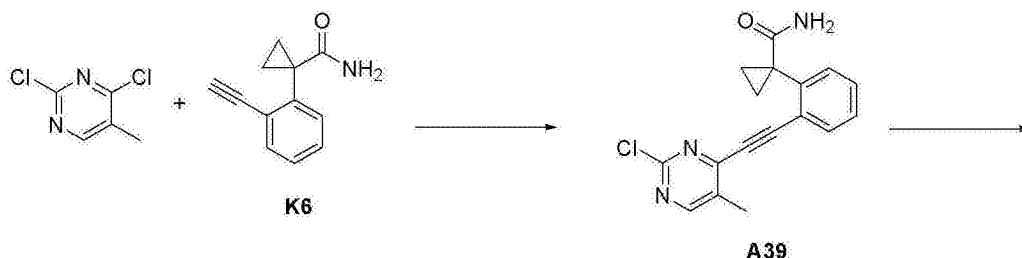
[1172] 将2-(2-((2,5-二氯嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)-2-甲基丙酰胺A37(0.067g, 0.20mmol)和PtO₂(0.014g, 0.060mmol)在MeOH(3.0mL)和DMF(3.0mL)中的混合物在H₂气氛下搅拌64小时。将混合物用EtOAc稀释、通过硅藻土过滤并且将滤液溶剂真空移除。将残余物通过柱色谱(Biotage Isolera, 12g SiO₂, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈灰白色固体的标题化合物A38(0.042g, 62%)。LCMS-D: 室温3.37min; m/z 338[M+H]⁺。

[1173] (g)2-(2-(2-(5-氯-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)-2-甲基丙酰胺(45)

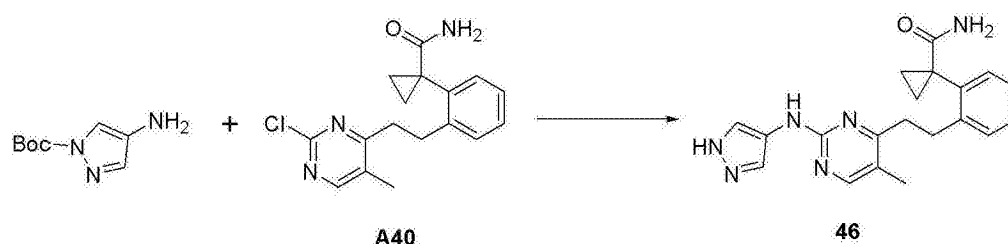
[1174] 将2-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)-2-甲基丙酰胺A38(0.042g, 0.12mmol)、1-甲基-1H-吡唑-4-胺(0.022g, 0.23mmol)和对甲苯磺酸一水合物(0.002g,

0.012mmol)在1,4-二噁烷(4.0mL)中的混合物在微波中在120℃下加热3小时。冷却之后,将挥发物真空移除并且将残余物吸附至二氧化硅上。通过柱色谱(Biotage Isolera,12g SiO₂,DCM中的0-5%MeOH)纯化得到呈灰白色固体的标题化合物45(0.009g,18%)。LCMS-D: 室温3.29min;m/z 399[M+H]⁺。

[1175] 实施例46:1-(2-(2-(2-((1H-吡唑-4-基)氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(46)的合成



[1176]



[1177] (a)1-(2-((2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺(A39)

[1178] 将1-(2-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺K6(2.29g,12.4mmol)、2,4-二氯-5-甲基嘧啶(2.62g,16.1mmol)、CuI(0.047g,0.25mmol)和PdCl₂(PPh₃)₂(0.087g,0.12mmol)在二噁烷(25mL)中的混合物用N₂鼓泡10分钟。添加Et₃N(10mL)并且将混合物在70℃、在氮气下搅拌1小时。将反应混合物冷却并吸附至二氧化硅上。通过柱色谱(Biotage Isolera,120g SiO₂,CHCl₃中的0-10%MeOH)纯化得到呈黄色油状物的标题化合物A39(1.85g,48%)。LCMS-D: 室温3.24min;m/z 312[M+H]⁺。

[1179] (b)1-(2-(2-(2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(A40)

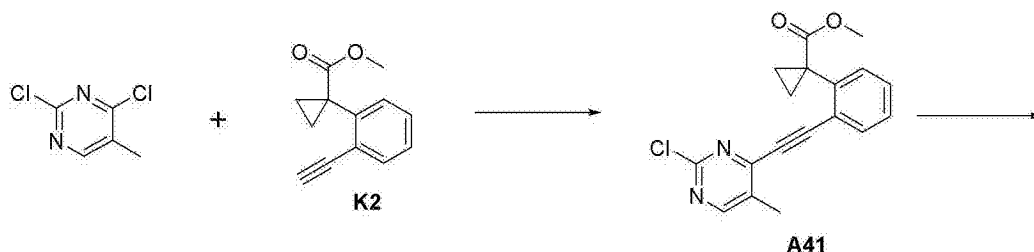
[1180] 将1-(2-((2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺A39(1.85g,5.93mmol)和PtO₂(0.404g,1.78mmol)在MeOH(10mL)和DMF(40mL)中的混合物在H₂气氛下在室温下搅拌110小时。将混合物通过硅藻土过滤并且将挥发物真空移除。将残余物通过柱色谱(Biotage Isolera,40gSiO₂,石油醚中的0-100%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈白色固体的标题化合物A40(1.65g,88%)。LCMS-D: 室温3.20min;m/z 316[M+H]⁺。

[1181] (c)1-(2-(2-(2-((1H-吡唑-4-基)氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(46)

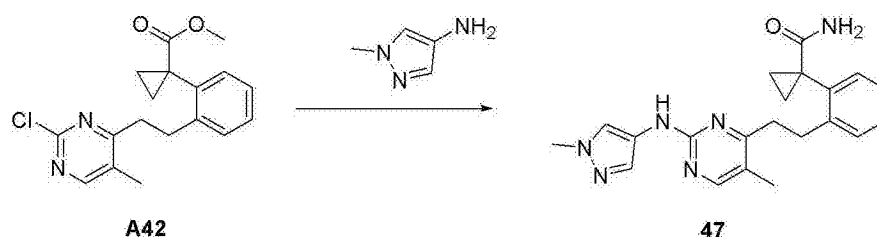
[1182] 将1-(2-(2-(2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A40(0.147g,0.465mmol)、4-氨基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(0.102g,0.559mmol)、Cs₂CO₃(0.455g,1.40mmol)、Xantphos(0.011g,0.019mmol)和Pd(OAc)₂(0.002g,0.009mmol)在1,4-二噁烷(5mL)中的混合物用N₂鼓泡10分钟,然后在微波中在120℃下加热20分钟。将反应混合物冷却至室温、吸附至二氧化硅上,并且通过柱色谱(Biotage Isolera,24g SiO₂柱体,石油醚中的20%-100%EtOAc,40℃-60℃,然后是EtOAc中的0-20%MeOH)纯化,以得到白色固体。

将此固体溶解于DCM中并且通过添加环己烷沉淀。将悬浮液超声波处理10分钟并且将沉淀通过真空过滤分离并用Et₂O洗涤,以得到呈白色固体的标题化合物46(0.021g,12%)。LCMS-D:室温2.98min;m/z 363[M+H]⁺。

[1183] 实施例47:1-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(47)的合成



[1184]



[1185] (a)1-(2-((2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷羧酸甲酯(A41)

[1186] 将1-(2-乙炔基苯基)环丙烷羧酸甲酯K2(1.34g,6.67mmol)、2,4-二氯-5-甲基嘧啶(1.41g,8.67mmol)、CuI(0.063g,0.33mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.234g,0.333mmol)和四氟硼酸三叔丁基膦(0.097g,0.33mmol)在1,4-二噁烷(15mL)中的混合物用N₂鼓泡10分钟。添加DIPEA(3.48mL,20.0mmol)并且将反应混合物在80℃、在N₂下搅拌3小时。将反应混合物冷却并且将挥发物真空移除,以得到黑色残余物,将所述残余物通过柱色谱(Biotage Isolera, 2×40g SiO₂柱体,石油醚中的0-50%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈黄色油状物的不纯的标题化合物A41(估计80%纯度,1.352g,50%)。LCMS-A:室温6.79min;m/z 327[M+H]⁺。

[1187] (b)1-(2-(2-(2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷羧酸甲酯(A42)

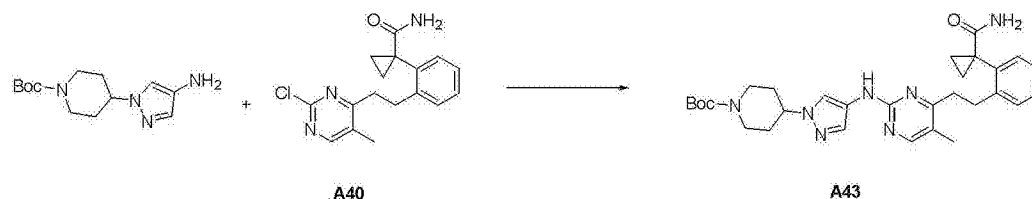
[1188] 将1-(2-((2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷羧酸甲酯A41(估计80%纯度,1.35g,3.31mmol)在DMF(15mL)和MeOH(5mL)中的溶液在H₂气氛下在室温下与PtO₂(0.235g,1.03mmol)一起搅拌16小时。将反应混合物用EtOAc(50mL)稀释并且通过硅藻土过滤。将挥发物真空移除并且将黑色残余物通过柱色谱(Biotage Isolera,40g SiO₂柱体,石油醚中的0-25%EtOAc,40℃-60℃,然后是40g SiO₂柱体,DCM中的0-5%MeOH)纯化,以得到不纯的标题化合物A42(估计78%纯度,0.922g,66%)。LCMS-D:室温3.58min;m/z 331[M+H]⁺。

[1189] (c)1-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(47)

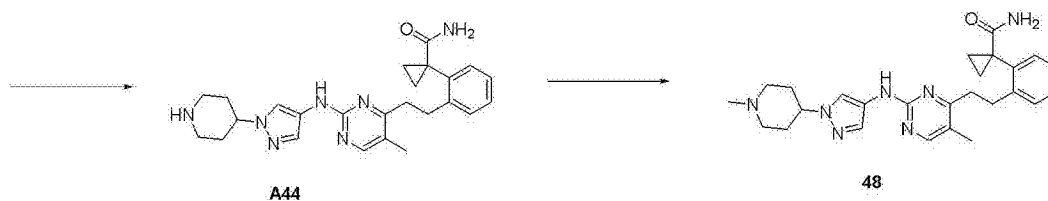
[1190] 将1-甲基-1H-吡唑-4-胺(0.294g,3.02mmol)、1-(2-(2-(2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷羧酸甲酯A42(0.500g,估计78%纯度,1.18mmol)、Xantphos(0.035g,0.060mmol)和Cs₂CO₃(1.48g,4.53mmol)在1,4-二噁烷(5mL)中的混合物用N₂鼓泡10分钟。添加乙酸钨(II)(0.007g,0.030mmol)并且将混合物在120℃下、在微波中搅拌20分钟。将挥发

物真空移除并且将黑色残余物通过色谱(Biotage Isolera, 2×40g SiO₂柱体, 石油醚中的50-100%EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-10%MeOH)纯化以得到黄色油状物。将此油状物通过柱色谱(DCM中的0-5%MeOH)进一步纯化, 以得到黄色固体。将此固体和LiOH·H₂O (0.234g, 5.57mmol)在THF(7mL)、MeOH(7mL)和H₂O(1.5mL)中的混合物在室温下搅拌24小时。向反应混合物添加另一份LiOH·H₂O(0.234g, 5.57mmol)并且在室温下继续搅拌72小时, 接着在35℃下搅拌24小时。将挥发物真空移除, 然后添加H₂O(10mL)和HCl水溶液(2M, 10mL)。用EtOAc(3×30mL)萃取水相, 将有机物合并、用盐水洗涤、干燥(MgSO₄)并且将溶剂在减压下移除以得到黄色油状物。将此油状物、HOBt(0.072g, 0.535mmol)、EDCI·HCl(0.103g, 0.535mmol)和DIPEA(0.23mL, 1.34mmol)在THF(6mL)和DMF(1mL)中的混合物在室温下搅拌10分钟, 然后添加碳酸铵(0.257g, 2.68mmol)。将混合物在室温下再搅拌24小时, 然后在35℃下搅拌24小时。添加饱和NaHCO₃水溶液(30mL)并且用EtOAc(3×30mL)萃取混合物。将有机物合并、用盐水洗涤, 并且将溶剂真空移除以得到黄色油状物, 将所述油状物通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂, 石油醚中的50-100%EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-10%MeOH)纯化。合并纯化部分并且将溶剂真空移除以得到黄色固体。通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, CHCl₃中的0-5%MeOH)进一步纯化得到黄色固体。此材料的Prep-LCMS得到呈白色固体的标题化合物47(0.005g, 1.1%)。LCMS-D: 室温3.03min; m/z 377[M+H]⁺。

[1191] 实施例48: 1-(2-(2-(5-甲基-2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(48)的合成



[1192]



[1193] (a) 4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-甲基嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A43)

[1194] 将1-(2-(2-(2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A40(0.250g, 0.792mmol)、4-(4-氨基-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(0.422g, 1.58mmol)、Pd(OAc)₂(0.004g, 0.016mmol)、Xantphos(0.018g, 0.022mmol)和Cs₂CO₃(0.774g, 2.38mmol)在二噁烷(15mL)中的混合物用N₂鼓泡10分钟, 然后在微波中在120℃下搅拌20分钟。将挥发物真空移除并且将残余物吸附至SiO₂上并通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈褐色固体的标题化合物A43(0.118g, 27%)。LCMS-D: 室温3.40min; m/z 546[M+H]⁺。

[1195] (b) 1-(2-(2-(5-甲基-2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙

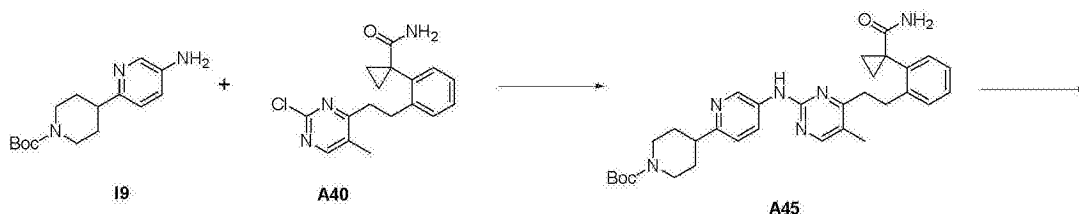
基)苯基)环丙烷甲酰胺(A44)

[1196] 用TFA(0.32mL, 4.1mmol)处理4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-甲基嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A43(0.113g, 0.207mmol)的DCM(10mL)溶液并且在室温下搅拌20小时。将挥发物真空移除并且向残余物添加NaOH水溶液(2M, 40mL)。用EtOAc(3×40mL)萃取水相, 将合并的有机物用盐水洗涤并且经MgSO₄干燥。将溶剂真空移除并且将固体悬浮于DCM中。添加环己烷并且将悬浮液超声波处理10分钟。通过真空过滤分离固体以得到呈灰白色固体的标题化合物A44(0.066g, 72%)。LCMS-D: 室温2.88min; m/z 446[M+H]⁺。

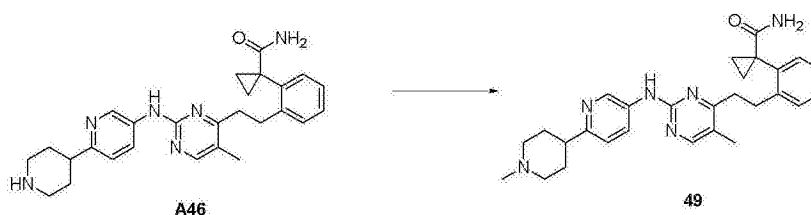
[1197] (c) 1-(2-(2-(5-甲基-2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(48)

[1198] 在氮气气氛下, 向1-(2-(2-(5-甲基-2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A44(0.064g, 0.14mmol)的MeOH(12mL)溶液中添加甲醛溶液(水中的37%, 32μL, 0.43mmol)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.122g, 0.575mmol)。将混合物在室温下搅拌4小时, 然后在减压下浓缩。将混合物用饱和NaHCO₃水溶液(20mL)稀释并且用EtOAc(3×25mL)萃取水相。将合并的有机物用盐水洗涤并干燥(MgSO₄), 然后将溶剂真空移除以得到呈白色固体的标题化合物48(0.035g, 53%)。LCMS-D: 室温2.89min; m/z 460[M+H]⁺。

[1199] 实施例49: 1-(2-(2-(5-甲基-2-((6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(49)的合成



[1200]



[1201] (a) 4-(5-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-甲基嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A45)

[1202] 将1-(2-(2-(2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A40(0.240g, 0.761mmol)、4-(5-氨基吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(0.422g, 1.52mmol)、Pd(OAc)₂(0.003g, 0.015mmol)、Xantphos(0.018g, 0.030mmol)和Cs₂CO₃(0.744g, 2.28mmol)在二噁烷(8mL)中的混合物用N₂鼓泡10分钟, 然后在微波中在120℃下搅拌20分钟。将挥发物真空移除并且将残余物吸附至SiO₂上并通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-20%MeOH)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物A45(0.212g, 50%)。LCMS-D: 室温3.20min; m/z 557[M+H]⁺。

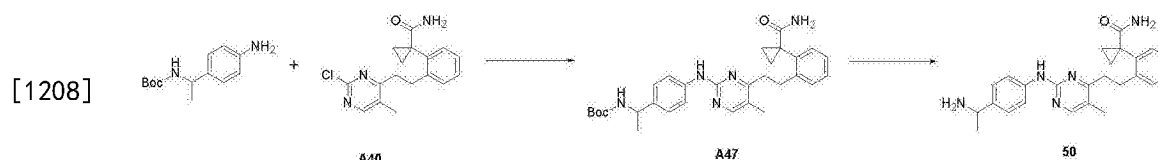
[1203] (b)1-(2-(2-(5-甲基-2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(A46)

[1204] 用TFA(0.41mL, 5.4mmol)处理4-(5-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-甲基嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A45(0.200g, 0.359mmol)的DCM(10mL)溶液并且在室温下搅拌4小时。向反应混合物中再添加一份TFA(0.14mL, 1.8mmol)的等分试样并且在室温下继续搅拌1小时。向混合物仔细地添加饱和NaHCO₃水溶液(~20mL), 随后添加NaOH水溶液(2M, ~20mL)。将DCM真空移除并且用EtOAc(3×30mL)萃取水性混合物。将有机萃取物合并、用盐水洗涤, 干燥(MgSO₄)并且将溶剂真空移除。将残余物溶解于DCM中, 然后添加环己烷以形成白色沉淀。将悬浮液超声波处理10分钟并且过滤以得到呈白色固体的标题化合物A46(0.129g, 79%)。LCMS-D: 室温3.08min; m/z 457[M+H]⁺。

[1205] (c)1-(2-(2-(5-甲基-2-((6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(49)

[1206] 用甲醛溶液(水中的37%, 59μL, 0.80mmol)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.225g, 1.06mmol)处理1-(2-(2-(5-甲基-2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A46(0.121g, 0.265mmol)的MeOH(10mL)溶液并且在室温下搅拌3小时。将混合物真空浓缩, 添加NaOH水溶液(2M, ~30mL)并且用EtOAc(3×30mL)萃取水相。将有机物合并、用盐水洗涤, 干燥(MgSO₄)并且将溶剂在减压下蒸发以得到无色油状物。将油状物溶解于DCM中并且添加环己烷直到形成白色沉淀。将悬浮液超声波处理10分钟并且将固体通过真空过滤分离并在高真空下干燥4小时, 以得到呈白色固体的标题化合物49(0.051g, 41%)。LCMS-D: 室温3.13min; m/z 471[M+H]⁺。

[1207] 实施例50: 1-(2-(2-(2-((4-(1-氨基乙基)苯基)氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(50)的合成



[1209] (a)(1-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-甲基嘧啶-2-基)氨基)苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(A47)

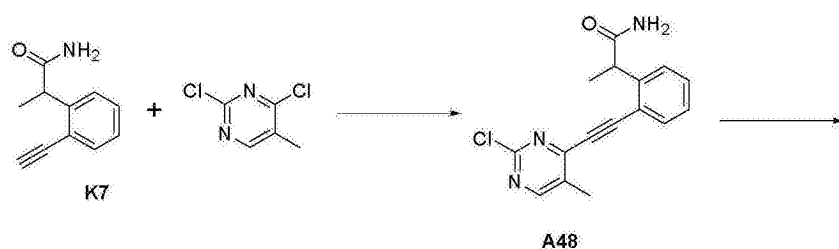
[1210] 将1-(2-(2-(2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A40(0.300g, 0.950mmol)、(1-(4-氨基苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(0.449g, 1.90mmol)、Pd(OAc)₂(0.004g, 0.019mmol)、xantphos(0.022g, 0.038mmol)和Cs₂CO₃(0.929g, 2.85mmol)在二噁烷(15mL)中的混合物用N₂鼓泡10分钟, 然后在微波中在120℃下搅拌20分钟。将挥发物真空移除并且将残余物吸附至SiO₂上并通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物A47(0.110g, 22%)。LCMS-D: 室温3.52min; m/z 516[M+H]⁺。

[1211] (b)1-(2-(2-(2-((4-(1-氨基乙基)苯基)氨基)-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(50)

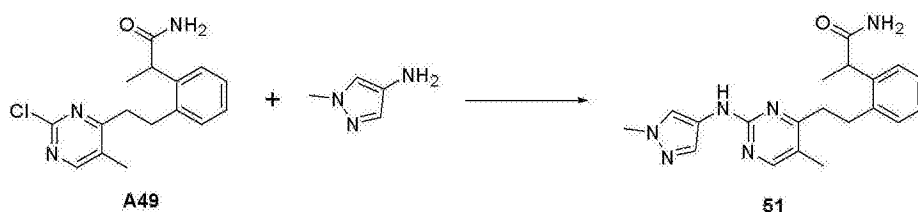
[1212] 用TFA(0.33mL, 4.3mmol)处理(1-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-甲基嘧啶-2-基)氨基)苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯A47(0.110g, 0.213mmol)的DCM(10mL)溶

液并且在室温下搅拌6小时。将挥发物真空蒸发,然后向残余物添加NaOH水溶液(2M,30mL)。用EtOAc(3×30mL)萃取水相,将合并的有机物用盐水洗涤并且经MgSO₄干燥。将溶剂真空移除,以得到仍含有起始材料的灰白色固体。将固体溶解于DCM(20mL)中并且用TFA(0.17mL, 2.2mmol)处理。将混合物在室温下搅拌24小时,然后将挥发物真空移除。添加NaOH水溶液(2M,30mL)并且用EtOAc(3×30mL)萃取水相。将有机物合并、用盐水洗涤,干燥(MgSO₄)并且将溶剂真空移除。将所得白色固体溶解于DCM中并且通过添加环己烷将所需产物沉淀。通过真空过滤分离沉淀以得到呈白色固体的标题化合物50(0.037g,42%)。LCMS-A:室温2.98min;m/z 399[M-NH₂]⁺。

[1213] 实施例51:2-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(51)的合成



[1214]



[1215] (a)2-(2-((2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)丙酰胺(A48)

[1216] 将2-(2-乙炔基苯基)丙酰胺K7(2.00g,11.5mmol)、2,4,-二氯-5-甲基嘧啶(2.45g,15.0mmol)、CuI(0.044g,0.33mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.162g,0.231mmol)和四氟硼酸三叔丁基膦(0.067g,0.23mmol)在DMF(15mL)中的悬浮液用N₂鼓泡10分钟。添加Et₃N(10mL)并且将反应混合物在60℃、在N₂下搅拌2.5小时。将混合物冷却、用Et₂O稀释,并且通过过滤分离沉淀并用Et₂O洗涤,接着用水洗涤,以得到呈白色固体的标题化合物A48(2.08g,60%)。LCMS-A:室温5.86min;m/z 300[M+H]⁺。

[1217] (b)2-(2-(2-(2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(A49)

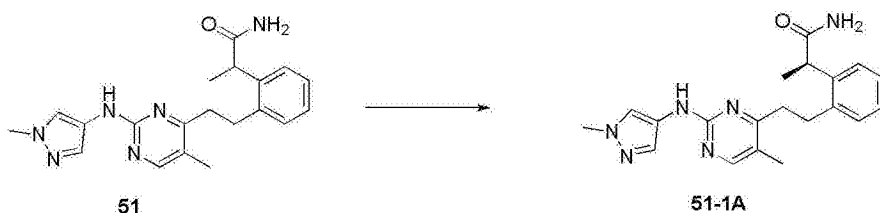
[1218] 将2-(2-((2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)丙酰胺A48(2.08g,6.95mmol)在DMF(110mL)和MeOH(10mL)中的溶液在H₂气氛下在室温下与PtO₂(0.395g,1.74mmol)一起搅拌16小时。再添加一份PtO₂(0.189g,0.832mmol)并且继续在H₂下在室温下搅拌72小时。将混合物用EtOAc(200mL)稀释并且通过硅藻土过滤。将挥发物真空移除并且将残余物通过柱色谱(Biotage Isolera,120g SiO₂柱体,石油醚中的10%-100%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到呈白色固体的标题化合物A49(1.51g,72%)。LCMS-D:室温3.15min;m/z 304[M+H]⁺。

[1219] (c)2-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(51)

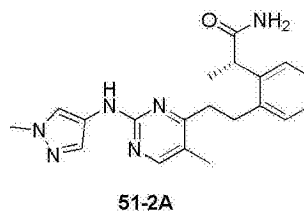
[1220] 将2-(2-(2-(2-氯-5-甲基嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺A49(0.250g,

0.823mmol)、1-甲基-1H-吡唑-4-胺(0.096g,0.99mmol)和对甲苯磺酸一水合物(0.016g,0.082mmol)在1,4-二噁烷(5mL)中的混合物在120℃下微波照射3小时。将挥发物真空移除并且将残余物吸附至二氧化硅上并且通过柱色谱(Biotage Isolera,40g SiO₂柱体,石油醚中的50%-100%EtOAc,40℃-60℃,然后是EtOAc中的0-10%MeOH)纯化。合并疑似含有产物的部分并且将溶剂真空移除以得到绿色固体。将固体吸附至二氧化硅上并通过柱色谱(Biotage Isolera,40g SiO₂柱体,CHCl₃中的0-10%MeOH)纯化,以得到呈白色固体的标题化合物51(0.178g,59%);¹H NMR(400MHz,d₆-DMSO)δppm 9.16(s,1H),8.11(s,1H),7.85(s,1H),7.46(s,1H),7.41-7.35(m,1H),7.24(s,1H),7.20-7.10(m,3H),6.87(s,1H),3.86(q,J=7.1,7.0,7.0Hz,1H),3.78(s,3H),3.23-3.11(m,1H),3.08-2.97(m,1H),2.96-2.78(m,2H),2.05(s,3H),1.33(d,J=6.9Hz,3H)。LCMS-D:室温2.99min;m/z 365[M+H]⁺。

[1221] 实施例51-1A和51-2A:2-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(51)的分离



[1222]

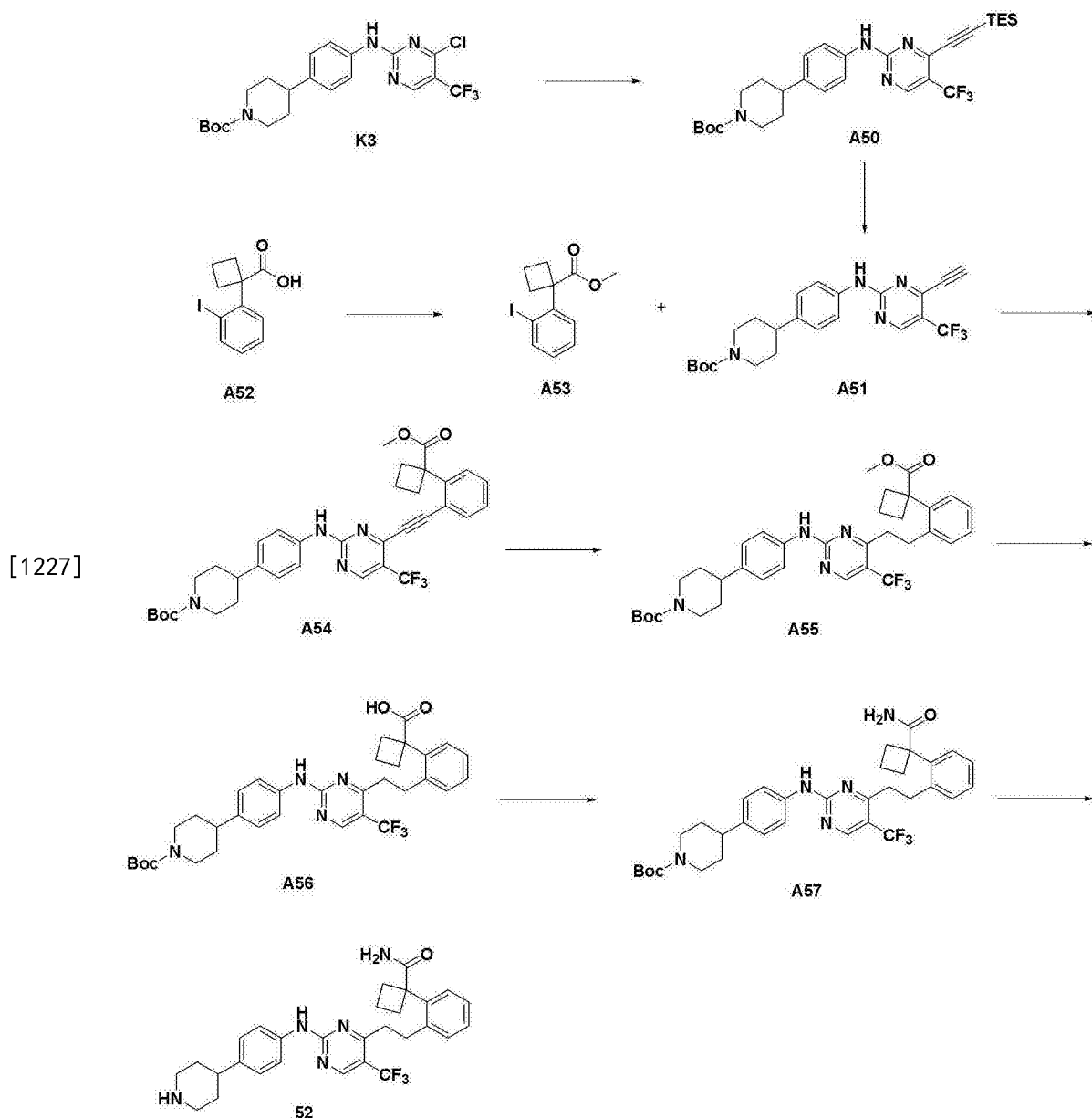


[1223] 使用手性分离方法A分离2-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(51)。

[1224] 2-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(51-1A)的对映异构体A,手性表征方法E:室温12.11min,对映异构体纯度>99%。

[1225] 2-(2-(2-(5-甲基-2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(51-2A)的对映异构体B,手性表征方法E:室温14.72min,对映异构体纯度>99%。

[1226] 实施例52:1-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丁烷甲酰胺(52)的合成



[1228] (a) 4-(4-((5-(三氟甲基)-4-((三乙基甲硅烷基)乙炔基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A50)

[1229] 将4-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯K3 (5.10g, 11.2mmol)、 $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (392mg, 0.558mmol)、 PPh_3 (146mg, 0.558mmol) 和 CuI (106mg, 0.558mmol) 在 THF (200mL) 和 Et_3N (7.78mL, 55.8mmol) 中的悬浮液超声波处理10分钟。添加 TES 乙炔 (3.00mL, 16.7mmol) 并且将混合物在 30°C 下搅拌过夜。将粗混合物吸附至硅胶上并且通过硅胶柱色谱 (Biotage Isolera, 石油醚中的 0-50% EtOAc , 40°C - 60°C) 纯化, 以得到呈黄色泡沫的标题化合物 A50 (4.64g, 74%)。LCMS-A: 室温 7.737min; m/z 561 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 。

[1230] (b) 4-(4-((4-乙炔基-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (A51)

[1231] 将 K_2CO_3 (1.72g, 12.4mmol) 和 4-(4-((5-(三氟甲基)-4-((三乙基甲硅烷基)乙炔基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 A50 (4.64g, 8.28mmol) 在 MeOH (250mL) 中的

混合物在室温下搅拌15分钟。将混合物用水(250mL)稀释并且用DCM(3×250mL)萃取。将有机物合并并且吸附至硅胶上。通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 石油醚中的0-100% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 得到呈黄色固体的标题化合物A51(2.196g, 59%)。LCMS-A: 室温 6.615min; m/z 445[M-H]⁻。

[1232] (c) 1-(2-碘苯基)环丁烷羧酸(A52)

[1233] 将1-苯基-1-环丁烷羧酸(2.00g, 11.4mmol)在DMF(10mL)中的含有乙酸钡(II)(0.109g, 0.567mmol)、碘(2.16g, 8.51mmol)和(二乙酰氧基碘)苯(2.47g, 8.51mmol)的溶液在光的存在下在60℃下搅拌18小时。添加另外的碘(2.16g, 8.51mmol)和(二乙酰氧基碘)苯(2.47g, 8.51mmol)并且在60℃下继续搅拌8小时。最后一次添加碘(2.16g, 8.51mmol)和(二乙酰氧基碘)苯(2.47g, 8.51mmol)并且在60℃下继续搅拌16小时。将反应混合物在EtOAc与水之间分配并且将水相用EtOAc萃取几次。将合并的有机部分用10%偏硫酸氢钠(3×30mL)、10%柠檬酸(2×30mL)、水、盐水洗涤, 接着干燥(MgSO₄)、过滤并且将溶剂蒸发。将粗产物干燥装载至硅胶上并且使用二氧化硅柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100% EtOAc, 40℃-60℃)分离产物, 以得到呈米黄色固体的标题化合物A52(425mg, 12%)。LCMS-A: 室温 5.711min。

[1234] (d) 1-(2-碘苯基)环丁烷羧酸甲酯(A53)

[1235] 将1-(2-碘苯基)环丁烷羧酸A52(425mg, 1.41mmol)在MeOH(25mL)和浓H₂SO₄(1.0mL)中的溶液在60℃下搅拌过夜。将挥发物真空移除并且将所得残余物稀释于EtOAc(50mL)和饱和NaHCO₃溶液(50mL)中。用EtOAc(3×50mL)萃取水层, 将合并的有机部分干燥(MgSO₄)并且将挥发物真空移除以得到呈透明油状物的标题化合物A53(361mg, 81%)。LCMS-A: 室温 7.020min; m/z 317[M+H]⁺。

[1236] (e) 4-(4-((4-((2-(1-甲氧羰基)环丁基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A54)

[1237] 将4-(4-((4-乙炔基-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A51(169mg, 0.380mmol)、1-(2-碘苯基)环丁烷羧酸甲酯A53(100mg, 0.316mmol)、PPh₃(8mg, 0.03mmol)和CuI(3mg, 0.02mmol)在DMF(3mL)和Et₃N(0.5mL)中的悬浮液超声波处理10分钟, 然后添加PdCl₂(PPh₃)₂(22mg, 0.032mmol)。将反应混合物在120℃下微波照射20分钟, 吸附至硅胶上并且使用柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-30% EtOAc, 40℃-60℃(柱运行两次))纯化, 以得到呈黄色油状物的标题化合物A54(33mg, 16%)。LCMS-A: 室温 7.919min; m/z 635[M+H]⁺。

[1238] (f) 4-(4-((4-(2-(1-(甲氧羰基)环丁基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A55)

[1239] 将Pd/C 10%(40mg)添加至4-(4-((4-((2-(1-(甲氧羰基)环丁基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A54(33mg, 0.052mmol)在EtOAc(10mL)和Et₃N(0.5mL)中的溶液中。将混合物在氢气气氛下搅拌过夜, 然后通过硅藻土过滤。用EtOAc(50mL)洗涤滤饼并且将挥发物真空移除以得到呈黄色油状物的标题化合物A55(31mg, 93%)。LCMS-A: 室温 8.013min; m/z 639.3[M+H]⁺。

[1240] (g) 1-(2-(2-(2-((4-(1-(叔丁氧羰基)哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丁烷羧酸(A56)

[1241] 将LiOH.H₂O(41mg, 0.97mmol)添加至4-(4-((4-(2-(1-(甲氧羰基)环丁基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A55(31mg, 0.049mmol)在THF(5mL)和H₂O(0.5mL)中的溶液中并且将混合物在40℃下搅拌过夜。添加另外的LiOH.H₂O(400mg, 9.53mmol)并且将混合物在回流下加热12天。在冷却时,添加DCM(50mL)和水(50mL),并且用EtOAc(2×50mL)萃取水层。将合并的有机物干燥(Na₂SO₄)并且将挥发物真空移除以得到呈黄色油状物的标题化合物A56(30mg, 98%)。LCMS-A: 室温7.586min, m/z 625 [M+H]⁺。

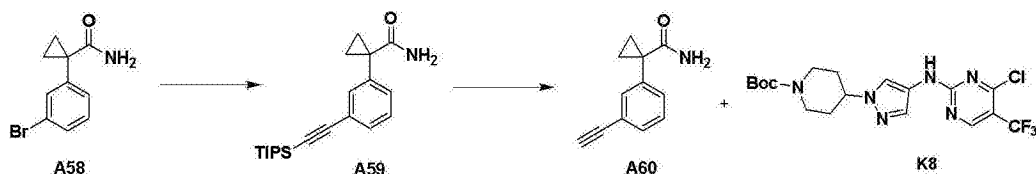
[1242] (h)4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丁基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A57)

[1243] 将碳酸铵(92mg, 0.96mmol)添加至1-(2-(2-(2-((4-(1-(叔丁氧羰基)哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丁烷羧酸A56(30mg, 0.048mmol)、HOBt(32mg, 0.24mmol)和EDCI.HCl(46mg, 0.24mmol)在Et₃N(0.2mL)和DMF(10mL)中的悬浮液中并且将所得混合物在40℃下搅拌过夜。将挥发物真空移除并且将所得残余物溶解于DCM(50mL)中、用水(50mL)洗涤、分离并吸附至硅胶上。通过柱色谱(Biotage Isolera, 12g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100% EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 得到呈黄色固体的标题化合物A57(6mg, 20%)。LCMS-A: 室温8.604min; m/z 624.3 [M+H]⁺。

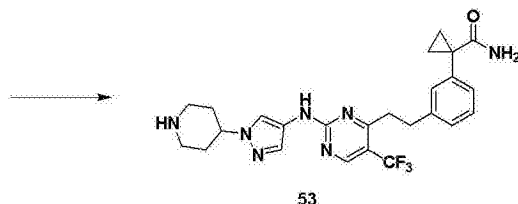
[1244] (i)1-(2-(2-(2-((4-(哌啶-4-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丁烷甲酰胺(52)

[1245] 将TFA(0.5mL)和4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丁基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A57(6.0mg, 9.6μL)在DCM(5mL)中的混合物在室温下搅拌过夜。将挥发物真空移除, 然后添加2M NaOH水溶液(5mL)以形成沉淀。通过过滤收集固体并用环己烷(10mL)洗涤以得到呈棕褐色固体的标题化合物52(1.5mg, 30%)。LCMS-A: 室温4.994min; m/z 524.3 [M+H]⁺。

[1246] 实施例53: 1-(3-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(53)的合成



[1247]



[1248] (a)1-(3-溴苯基)环丙烷甲酰胺(A58)

[1249] 将碳酸铵(7.97g, 83.0mmol)添加至1-(3-溴苯基)环丙基乙酸(2.00g, 8.30mmol)、HOBt(1.68g, 12.4mmol)和EDCI.HCl(2.39g, 12.4mmol)在Et₃N(5mL)和DMF(25mL)中的悬浮液中并且将混合物在室温下搅拌过夜。添加EtOAc(150mL)并且将有机层用饱和NaHCO₃溶液

(100mL)、0.5M柠檬酸溶液(3×100mL)、水(100mL)、盐水(50mL)洗涤并且干燥(Na_2SO_4)。将挥发物真空移除以产生呈白色固体的标题化合物A58(1.78g, 89%)。LCMS-A: 室温5.807min; m/z 241[M+H]⁺。

[1250] (b) 1-(3-((三异丙基甲硅烷基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺(A59)

[1251] 将1-(3-溴苯基)环丙烷甲酰胺A58(1.00g, 4.17mmol)、TIPS乙炔(3.74mL, 16.7mmol)、 PPh_3 (55mg, 0.21mmol)和CuI(40mg, 0.21mmol)在 Et_3N (4mL)和DMF(15mL)中的悬浮液超声波处理10分钟。添加 $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (146mg, 0.208mmol)并且将混合物在80℃下搅拌16小时。将粗混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物A59(1.20g, 84%)。LCMS-A: 室温8.081min; m/z 342.4[M+H]⁺。

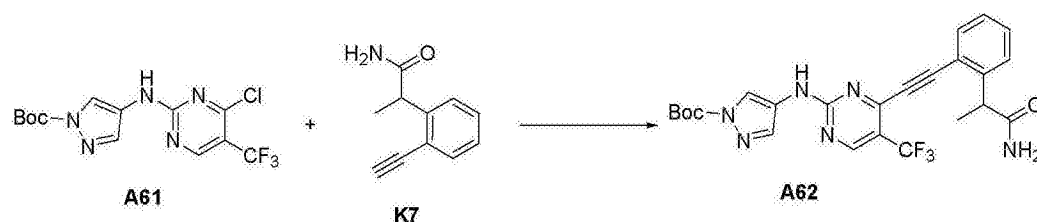
[1252] (c) 1-(3-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺(A60)

[1253] 将THF(10.5mL, 10.5mmol)中的1.0M TBAF溶液添加至1-(3-((三异丙基甲硅烷基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺A59(1.20g, 3.50mmol)的THF(50mL)溶液中并且搅拌15分钟。将混合物用水(200mL)和EtOAc(200mL)稀释, 然后将有机部分分离并用0.5M柠檬酸溶液(200mL)、水(200mL)、盐水(50mL)洗涤并干燥(Na_2SO_4)。将挥发物真空移除并且将所得固体悬浮于环己烷(50mL)中并且超声波处理10分钟。通过过滤收集固体并干燥以得到呈棕褐色固体的标题化合物A60(386mg, 59%)。LCMS-A: 室温5.635min; m/z 186.2[M+H]⁺。

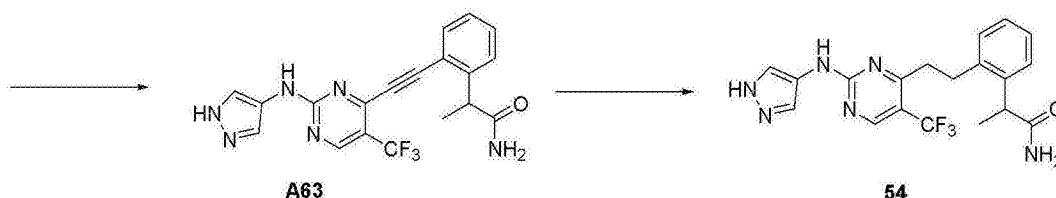
[1254] (d) 1-(3-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(53)

[1255] 将4-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯K8(483mg, 1.08mmol)、1-(3-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺A60(200mg, 1.08mmol)、 PPh_3 (14mg, 0.054mmol)和CuI(10mg, 0.054mmol)在 Et_3N (1mL)和DMF(4mL)中的悬浮液超声波处理10分钟, 添加 $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (38mg, 0.054mmol)并且将反应混合物在120℃下微波照射40分钟。将混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化以得到黄色油状物。通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 柱体, EtOAc中的0-100%MeOH)进一步纯化得到黄色油状物, 将所述油状物溶解于EtOAc(20mL)和DMF(2mL)中。向该溶液中添加Pd/C 10%(100mg)并且将混合物在氮气气氛下在室温下搅拌过夜。将混合物通过硅藻土过滤并且用EtOAc(50mL)洗涤滤饼。合并洗涤液并且将挥发物真空移除以得到黄色油状物, 将所述油状物吸附至硅胶上并通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-20%MeOH)纯化。通过二氧化硅柱色谱(Biotage Isolera, 25g SiO_2 柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-20%MeOH)进一步纯化得到粗材料, 将所述粗材料溶解于DCM(20mL)中。向该溶液中添加TFA(1mL)并且将混合物在室温下搅拌过夜。将挥发物真空移除并且将所得固体在饱和 Na_2CO_3 (水溶液)(25mL)中超声波处理10分钟。通过过滤收集沉淀并且用水(25mL)、甲苯(50mL)洗涤并且空气干燥, 以得到呈黄色固体的标题化合物53(15mg, 32%)。LCMS-A: 室温4.784min; m/z 500.3[M+H]⁺。

[1256] 实施例54: 2-(2-(2-(2-((1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(54)的合成



[1257]



[1258] (a) 4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(A61)

[1259] 在0℃、在氮气气氛下,将氯化锌在Et₂O(4.0mL,4.0mmol)中的1.0M溶液添加至DCE/t-BuOH(40mL)的1:1混合物中的2,4-二氯-5-三氟甲基嘧啶(0.49mL,3.6mmol)中。将混合物搅拌1小时,然后添加在DCE/t-BuOH(30mL)的1:1混合物中的4-氨基-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(0.606g,3.31mmol)和三乙胺(0.51mL,3.7mmol)。将混合物升温至室温并且搅拌20小时,然后真空浓缩并且逐渐添加至100mL水。将所得沉淀通过真空过滤移除并用DCM洗涤。使用硅胶柱色谱(DCM中的0-30%EtOAc)纯化滤液以得到标题化合物A61(0.170g,14%)。LCMS-D:室温3.622min;m/z 362.1[M-H]⁻。

[1260] (b) 4-((4-((2-((1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯(A62)

[1261] 将4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯A61(0.373g,1.03mmol)、2-(2-乙炔基苯基)丙酰胺K7(0.452g,2.40mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.015g,0.02mmol)、t-Bu₃PH·BF₄(0.011g,0.038mmol)和CuI(0.007g,0.04mmol)在1,4-二噁烷(6.0mL)和DIPEA(0.90mL,5.2mmol)中的经过脱气的混合物在100℃下在微波中加热30分钟。将混合物在减压下浓缩并且使用硅胶柱色谱(石油醚中的0-100%EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到标题化合物A62(0.309g,58%)。LCMS-D:室温3.533min;m/z 502.2 499.2[M-H]⁻。

[1262] (c) 2-(2-((2-((1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)丙酰胺(A63)

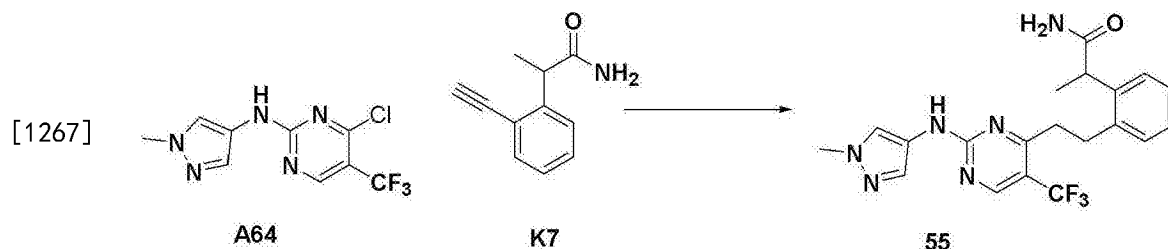
[1263] 将4-((4-((2-((1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-羧酸叔丁酯A62(0.31g,0.62mmol)和TFA(0.90mL,12mmol)在DCM(3.0mL)中的混合物在室温下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩并且用水(50mL)稀释,然后用DCM(2x50mL)和EtOAc(50mL)萃取。将合并的有机残余物浓缩并且使用硅胶柱色谱(石油醚中的50%-100%EtOAc,40℃-60℃,然后是EtOAc中的0-10%MeOH)纯化,以得到标题化合物A63(0.211g,85%)。LCMS-D:室温3.162min;m/z 401.2[M+H]⁺。

[1264] (d) 2-(2-(2-(2-((1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(54)

[1265] 将Et₃N(0.5mL)添加至DMF(4mL)和EtOAc(16mL)中的2-(2-((2-((1H-吡唑-4-基)

氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)丙酰胺A63(0.211g, 0.527mmol)和10%Pd/C(0.155g)并且将混合物在氢气气氛下搅拌16小时。将混合物通过硅藻土过滤、在减压下浓缩并且使用硅胶柱色谱(石油醚中的80%-100%EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-10%MeOH)纯化。将所得产物用Et₂O和丙酮的混合物进一步湿磨, 并且通过真空过滤收集沉淀以得到标题化合物54(0.055g, 26%)。LCMS-D: 室温3.178min; m/z 405.2[M+H]⁺。

[1266] 实施例55: 2-(2-(2-(2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(55)的合成



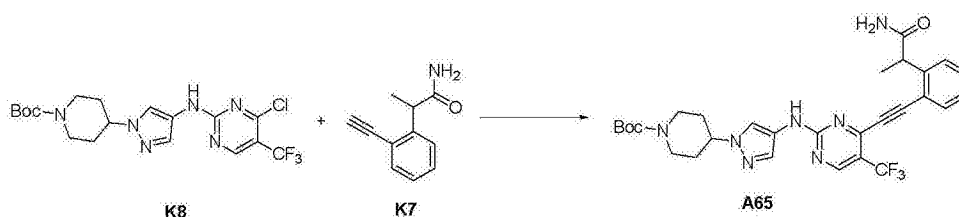
[1268] (a) 4-氯-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-胺(A64)

[1269] 将ZnCl₂在Et₂O(5.07mL, 5.07mmol)中的1.0M溶液添加至2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(1.00g, 4.61mmol)在t-BuOH(25mL)和DCE(25mL)中的溶液中并且将混合物搅拌10分钟。将混合物用t-BuOH(25mL)和DCE(25mL)稀释, 然后添加1-甲基-1H-吡唑-4-胺(492mg, 5.07mmol)和Et₃N(1.93mL, 13.83mmol)并且在室温下继续搅拌过夜。将挥发物真空移除并且将所得残余物悬浮于水(250mL)中并且超声波处理10分钟。通过真空过滤收集固体并且将滤饼用水洗涤, 接着空气干燥。将固体溶解于DCM中、吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 以得到呈白色固体的标题化合物A64(182mg, 14%)。LCMS-A: 室温6.113min; m/z 278.1[M+H]⁺。

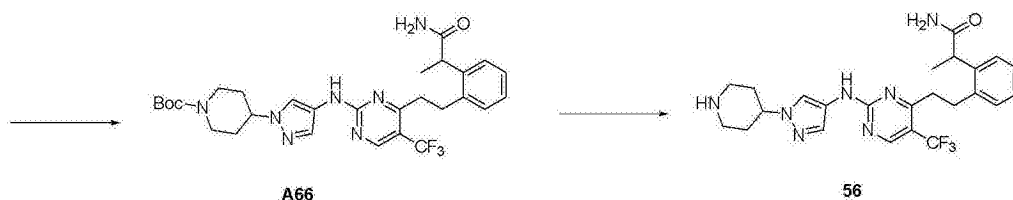
[1270] (b) 2-(2-(2-(2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(55)

[1271] 将4-氯-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-胺A64(182mg, 0.656mmol)、2-(2-乙炔基苯基)丙酰胺K7(110mg, 0.635mmol)、PPh₃(8mg, 0.032mmol)和CuI(6mg, 0.032mmol)在Et₃N(1mL)和DMF(3mL)中的悬浮液超声波处理10分钟, 添加PdCl₂(PPh₃)₂(22mg, 0.032mmol)并且将反应混合物在120℃下微波照射20分钟。将所得混合物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃, 然后是EtOAc中的0-100%MeOH)纯化以得到黄色固体。通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, EtOAc中的0-100%MeOH)进一步纯化得到黄色固体(105mg), 将所述固体溶解于EtOAc(10mL)和DMF(2mL)中。添加10%Pd/C(50mg)并且将混合物在氢气气氛下在室温下搅拌过夜。将混合物用EtOAc(50mL)稀释、通过硅藻土过滤并且用EtOAc(50mL)洗涤滤饼。将洗涤液合并, 并且将挥发物真空移除。将所得残余物吸附至硅胶上并且通过柱色谱(Biotage Isolera, 12g SiO₂柱体, EtOAc中的0-100%MeOH)纯化, 以得到呈棕褐色固体的标题化合物55(31mg, 29%)。LCMS-A: 室温5.931min; m/z 419.2[M+H]⁺。

[1272] 实施例56: 2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(56)的合成



[1273]



[1274] (a) 4-(4-((4-((2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A65)

[1275] 在氮气气氛下,将4-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯K8(2.054g,4.597mmol)、2-(2-乙炔基苯基)丙酰胺K7(1.027g,5.929mmol)、CuI(0.017g,0.089mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.062g,0.088mmol)和t-Bu₃PH·BF₄(0.025g,0.087mmol)在二噁烷(20mL)和Et₃N(2.5mL,18mmol)中的混合物在110℃下在微波中加热40分钟。将混合物在减压下浓缩并且使用硅胶柱色谱(石油醚中的50%-100% EtOAc,40℃-60℃)纯化,以得到标题化合物A65(2.121g,79%)。¹H NMR(400MHz,d₆-DMSO)δ 10.48-10.33(m,1H),8.82-8.73(m,1H),8.09-7.97(m,1H),7.64-7.55(m,2H),7.56-7.44(m,2H),7.41-7.34(m,1H),7.29-7.22(m,1H),7.01(s,1H),4.39-4.29(m,1H),4.18-3.99(m,3H),2.99-2.80(m,2H),2.02-1.94(m,2H),1.83-1.70(m,2H),1.41(s,9H),1.39-1.31(m,3H)。

[1276] (b) 4-(4-((4-((2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A66)

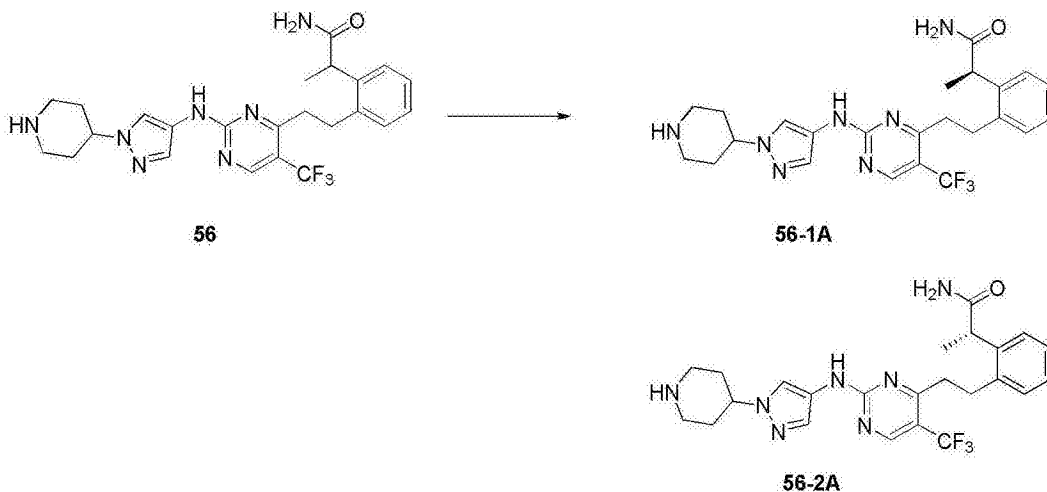
[1277] 将4-(4-((4-((2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A65(3.30g,5.66mmol)在DMF(50mL)和TEA(5mL)中的溶液在H₂气氛下、在35℃下与10%Pd/C(用约53%水润湿,3.00g)一起搅拌20小时。将混合物通过硅藻土过滤并且将溶剂真空移除。通过柱色谱(Biotage Isolera,120g SiO₂柱体,石油醚中的20%-100%EtOAc,40℃-60℃)纯化,得到呈黄色固体的标题化合物A66(3.32g,99%)。LCMS-D:室温3.54min;m/z 588[M+H]⁺。

[1278] (c) 2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(56)

[1279] 将4-(4-((4-(2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A66(3.41g,5.80mmol)的DCM(50mL)溶液冷却至0℃并且用TFA(4.44mL,0.058mol)处理。将混合物在0℃下搅拌1小时,然后在室温下搅拌3小时。向混合物中再添加一份TFA(2.2mL,0.029mol)的等分试样并且在室温下继续搅拌2小时。仔细地添加饱和NaHCO₃水溶液(~50mL),随后添加NaOH水溶液(2M,~50mL)。将DCM真空移除并且用H₂O(~50mL)稀释所得水性混合物。将白色悬浮液超声波处理10分钟,然后真空过滤。将分离的固体用水洗涤并空气干燥,以得到呈白色固体的标题化合物56(2.8g,

99%)。¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ 10.20-10.08(m, 1H), 8.69-8.56(m, 1H), 8.02-7.93(m, 1H), 7.58(s, 1H), 7.44-7.35(m, 1H), 7.27-7.14(m, 4H), 6.92-6.80(m, 1H), 4.21-4.08(m, 1H), 3.91-3.79(m, 1H), 3.18-2.91(m, 6H), 2.61-2.50(m, 2H), 1.92-1.86(m, 2H), 1.81-1.68(m, 2H), 1.33(d, J=6.9Hz, 3H)。LCMS-A: 室温4.79min; m/z 488[M+H]⁺。

[1280] 实施例56-1A和56-2A: 2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(56)的分离

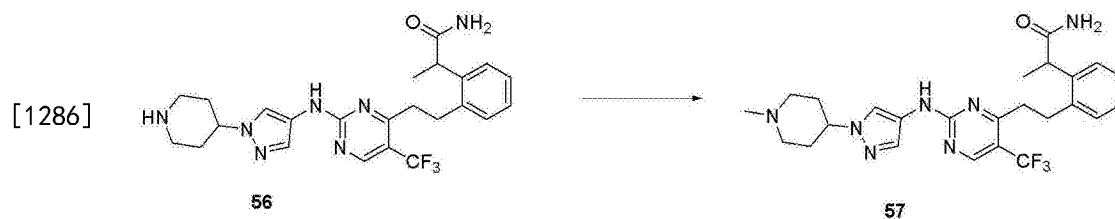


[1282] 使用手性分离方法D分离外消旋2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺。

[1283] 2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺的对映异构体A(56-1A), 手性表征方法F: 室温9.16min, 对映异构体纯度>99%。

[1284] 2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺的对映异构体B(56-2A), 手性表征方法F: 室温6.31min, 对映异构体纯度>97.6%。

[1285] 实施例57: 2-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(57)的合成

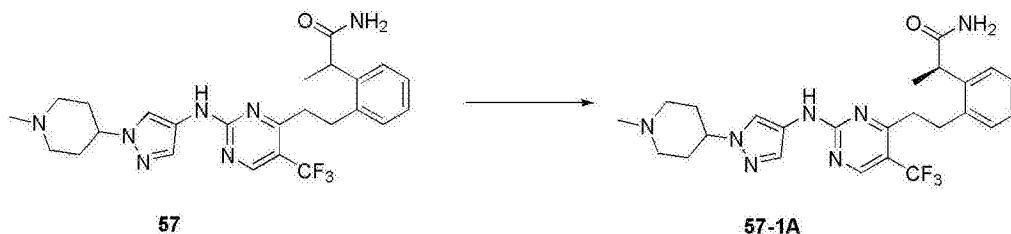


[1287] 2-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(57)

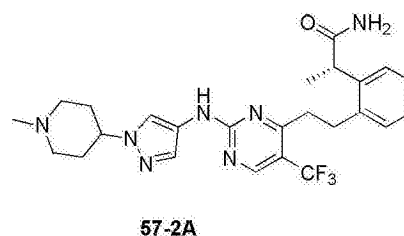
[1288] 在氮气气氛下, 向2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺56(1.14g, 2.33mmol)的MeOH(40mL)溶液中添加甲醛溶液(水中的37%, 0.52μL, 7.0mmol)和三乙酰氧基硼氢化钠(1.98g, 9.33mmol)。将混合物在室温下搅拌4小时, 然后在减压下浓缩。将混合物用饱和NaHCO₃水溶液(75mL)稀释并且用EtOAc(3×50mL)萃取水相。将合并的有机物用盐水洗涤并干燥(MgSO₄), 然后将溶剂真空移

除以得到呈白色固体的产物(1.05g, 90%)。¹H NMR(400MHz, d₆-DMSO) δ 10.22-10.09(m, 1H), 8.69-8.55(m, 1H), 8.04-7.95(m, 1H), 7.58(s, 1H), 7.43-7.35(m, 1H), 7.29-7.12(m, 4H), 6.96-6.84(m, 1H), 4.13-4.01(m, 1H), 3.90-3.79(m, 1H), 3.27-2.88(m, 4H), 2.83(d, J=10.0Hz, 2H), 2.19(s, 3H), 2.07-1.87(m, 6H), 1.33(d, J=6.8Hz, 3H)。LCMS-D: 室温3.03min; m/z 502[M+H]⁺。

[1289] 实施例57-1A和57-2A: 2-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(57)的分离



[1290]

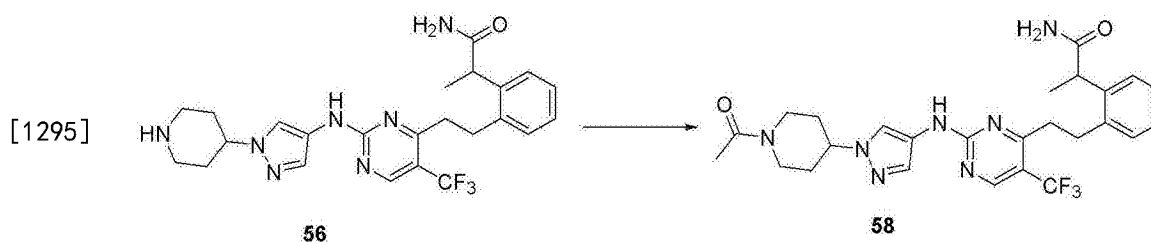


[1291] 使用手性分离方法B分离2-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(57)。

[1292] 2-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺的对映异构体A(57-1A), 手性表征方法G: 室温14.23min, 对映异构体纯度>99%。

[1293] 2-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺的对映异构体B(57-2A), 手性表征方法G: 室温20.34min, 对映异构体纯度>99%。

[1294] 实施例58: 2-(2-(2-(2-((1-(1-乙酰哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(58)的合成

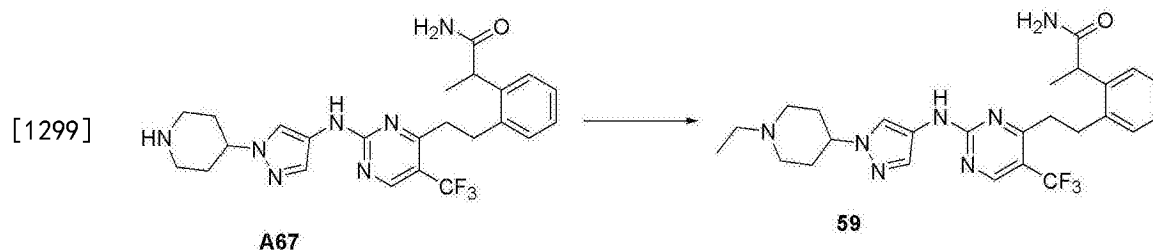


[1296] 2-(2-(2-(2-((1-(1-乙酰哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(58)

[1297] 将乙酸酐(15μL, 0.15mmol)添加至2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺56(50mg, 0.10mmol)在DCM(5mL)和吡啶(12μL, 0.15mmol)中的溶液中并且将混合物在室温下搅拌过夜。将挥发物真空移除并且将所得固体悬浮于水(25mL)中并且超声波处理5分钟。通过过滤收集固体并用饱和Na₂CO₃水溶

液(20mL)、水(50mL)洗涤,接着用石油醚40℃-60℃洗涤,以得到呈白色固体的标题化合物58(42mg,77%)。LCMS-D:室温3.176min; m/z 530.4[M+H]⁺。

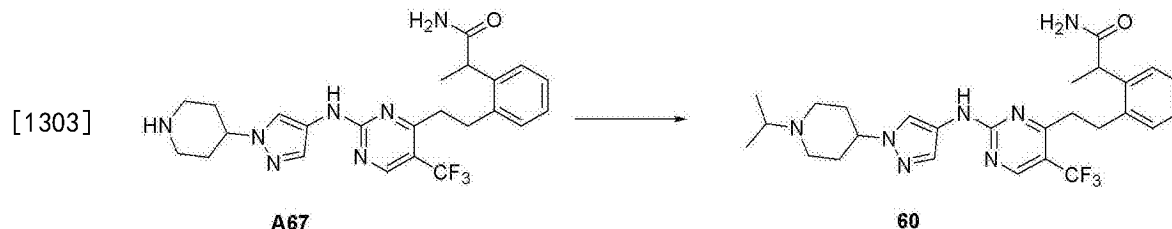
[1298] 实施例59:2-(2-(2-(2-((1-(1-乙基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(59)的合成



[1300] 2-(2-(2-(2-((1-(1-乙基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(59)

[1301] 将乙醛(17μL,0.31mmol)添加至2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺A67(50mg,0.10mmol)的EtOH(20mL)溶液中。10分钟后,添加NaHB(OAc)₃(86mg,0.41mmol)并且将混合物搅拌3小时。将反应用水(20mL)淬灭并且将挥发物真空移除。将所得固体悬浮于水(25mL)中、超声波处理10分钟、通过过滤收集,然后溶解于丙酮(3mL)中。添加石油醚40℃-60℃,得到沉淀,通过过滤收集所述沉淀,以得到呈棕褐色固体的标题化合物59(42mg,79%)。LCMS-A:室温4.808min; m/z 516.3[M+H]⁺。

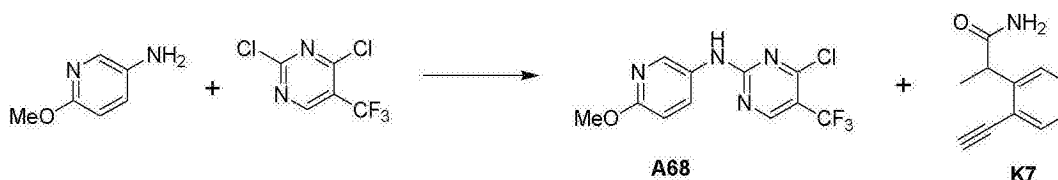
[1302] 实施例60:2-(2-(2-(2-((1-(1-异丙基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(60)的合成



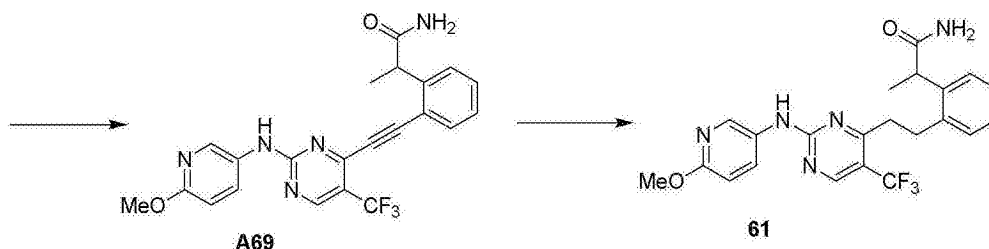
[1304] 2-(2-(2-(2-((1-(1-异丙基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(60)

[1305] 将2-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺A67(80mg,0.16mmol)、2-碘丙烷(25μL,0.25mmol)和K₂CO₃(68mg,0.49mmol)在MeCN(5mL)中的悬浮液在120℃下微波照射40分钟。添加另外的2-碘丙烷(25μL,0.25mmol)并且将反应混合物再在120℃下微波照射40分钟。在冷却时,将液体从固体中滗析出来并且将挥发物真空移除。将所得固体悬浮于水(50mL)中并且超声波处理10分钟,然后过滤。将固体溶解于丙酮(3mL)中并且通过添加石油醚40℃-60℃沉淀,然后通过过滤收集并在高真空下干燥,以得到呈棕褐色固体的标题化合物60(61mg,70%)。LCMS-D:室温3.060min; m/z 530.4[M+H]⁺。

[1306] 实施例61:2-(2-(2-(2-((6-甲氧基吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(61)的合成



[1307]



[1308] (a) 4-氯-N-(6-甲氧基吡啶-3-基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-胺(A68)

[1309] 将 ZnCl_2 在 Et_2O (5.07mL, 5.07mmol)中的1.0M溶液添加至2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(1.00g, 4.61mmol)在 $t\text{-BuOH}$ (25mL)和DCE(25mL)中的溶液中。将混合物搅拌10分钟,然后用 $t\text{-BuOH}$ (25mL)和DCE(25mL)稀释,之后添加5-氨基-2-甲氧基吡啶(629mg, 5.07mmol)和 Et_3N (1.93mL, 13.8mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜,并且将挥发物真空移除。将所得残余物悬浮于水(250mL)中并且超声波处理10分钟,然后通过真空过滤分离固体。将滤饼用水洗涤并且空气干燥,然后溶解于DCM中并吸附至硅胶上。通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 柱体,石油醚中的0-100% EtOAc , 40℃-60℃)纯化,得到呈白色固体的标题化合物A68(944mg, 67%)。LCMS-A: 室温6.62min; m/z 305 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

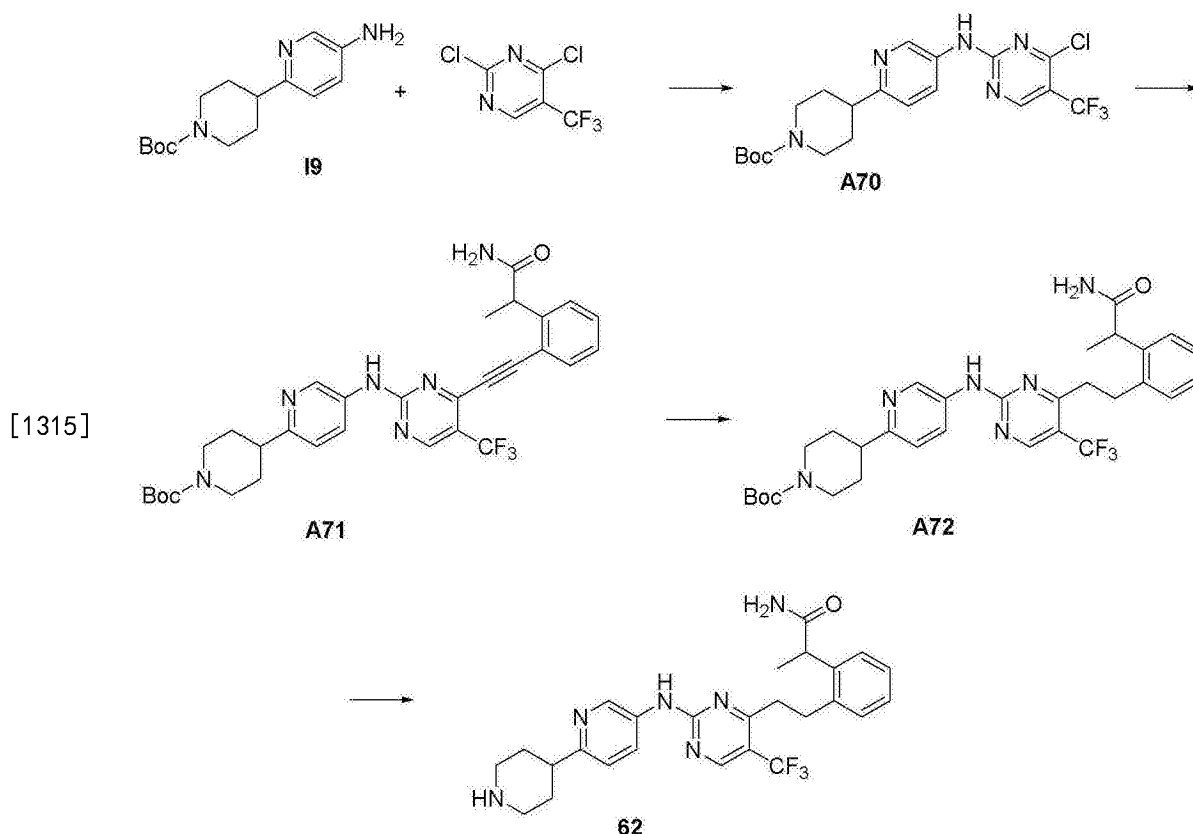
[1310] (b) 2-(2-((2-((6-甲氧基吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)丙酰胺(A69)

[1311] 将2-(2-乙炔基苯基)丙酰胺K7(0.120g, 0.693mmol)、4-氯-N-(6-甲氧基吡啶-3-基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-胺A68(0.211g, 0.693mmol)、 CuI (0.013g, 0.069mmol)、 $t\text{-Bu}_3\text{PHBF}_4$ (0.020g, 0.069mmol)和 $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (0.024g, 0.035mmol)在DMF(3mL)中的混合物用 N_2 鼓泡5分钟。添加 Et_3N (1mL)并且将反应混合物在120℃下在微波中搅拌15分钟。将挥发物真空移除并且将黑色残余物吸附至二氧化硅上。通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 柱体,石油醚中的0-100% EtOAc , 40℃-60℃)纯化,得到呈黄色固体的标题化合物A69(0.198g, 65%)。LCMS-D: 室温3.43min; m/z 442 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1312] (c) 2-(2-(2-(2-((6-甲氧基吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(61)

[1313] 将2-(2-((2-((6-甲氧基吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)丙酰胺A69(0.198g, 0.449mmol)在 EtOAc (20mL)和 MeOH (10mL)中的溶液在10% Pd/C (用约53%的水润湿, 0.150g)上在氢气气氛下搅拌16小时。将混合物通过硅藻土过滤并且将溶剂真空移除。通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 , 石油醚中的0-80% EtOAc , 40℃-60℃)纯化,得到呈白色固体的标题化合物61(0.126g, 63%)。LCMS-D: 室温3.43min; m/z 446 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1314] 实施例62: 2-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(62)的合成



[1316] (a) 4-(5-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (A70)

[1317] 将2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(411mg, 1.89mmol)在室温下在1:1 t-BuOH:DCE (100mL)中搅拌。小心地添加Et₂O(2.16mL, 2.16mmol)中的1.0M ZnCl₂溶液,并且在添加之后,将混合物在室温下搅拌20分钟。添加4-(5-氨基吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯I9 (500mg, 1.80mmol),随后添加NEt₃(0.30mL, 2.16mmol),并且将混合物在室温下搅拌44小时。将有机溶剂蒸发至干燥并且将粗棕褐色固体悬浮于水(250mL)中并超声波处理10分钟。将固体通过过滤分离、用水(2×100mL)洗涤并空气干燥以得到米白色固体。将固体吸附至二氧化硅上并且通过硅胶柱色谱(40g SiO₂柱体,石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化,以得到呈灰白色固体的标题化合物A70(346mg, 42%)。LCMS-A: 室温5.949min; m/z 458[M+H]⁺。

[1318] (b) 4-(5-((4-((2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A71)

[1319] 在氮气气氛下,向4-(5-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A70(0.397g, 0.867mmol)、2-(2-乙炔基苯基)丙酰胺K7(0.195g, 1.13mmol)、CuI(0.011g, 0.057mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.039g, 0.056mmol)和t-Bu₃PH·BF₄(0.017g, 0.058mmol)的混合物中添加二噁烷(12mL)和DIPEA(0.60mL, 3.4mmol)。将混合物在室温下搅拌96小时,然后在减压下浓缩并且通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera, SiO₂柱体,石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃以及EtOAc中的0-20%MeOH)纯化,以得到标题化合物A71(0.139g, 27%)。LCMS-D: 室温3.626min; m/z 595.3[M+H]⁺。

[1320] (c) 4-(5-((4-((2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)

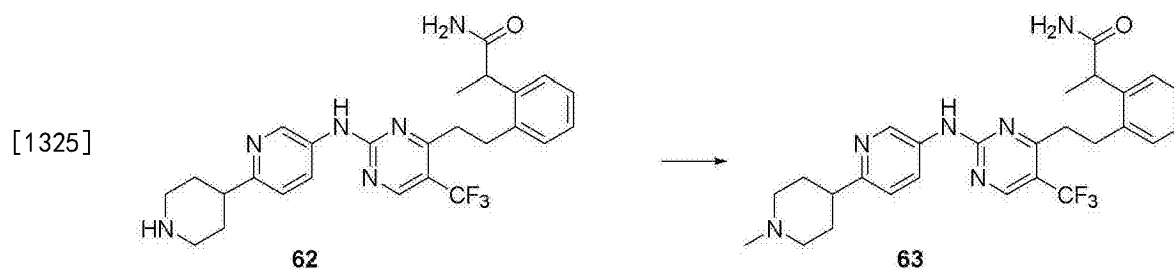
氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A72)

[1321] 将4-(5-((4-((2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A71(0.139g,0.234mmol)和10%Pd/C(0.156g)在DMF(3.0mL)和Et₃N(0.30mL)中的混合物在氢气气氛下搅拌112小时。将混合物通过硅藻土过滤,在减压下浓缩,然后使用硅胶柱色谱(Biotage Isolera,SiO₂柱体,石油醚中的0-100%EtOAc,40℃-60℃,EtOAc中的0-20%MeOH)纯化,以得到标题化合物A72(0.060g,42%)。LCMS-D:室温3.568min;m/z 599.4[M+H]⁺。

[1322] (d)2-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(62)

[1323] 将TFA(0.50mL,6.5mmol)添加至DCM(5mL)中的4-(5-((4-(2-(1-氨基-1-氧代丙-2-基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A72(0.060g,0.099mmol)中并且将混合物搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩并且用25%NaOH水溶液(20mL)淬灭。用EtOAc(3x 20mL)萃取水相,然后将合并的有机物干燥(相分离柱体)并在减压下浓缩。将悬浮液用己烷超声波处理并且在减压下浓缩,以得到标题化合物(0.066g,134%残余溶剂/水)。LCMS-D:室温3.025min;m/z 499.3[M+H]⁺。

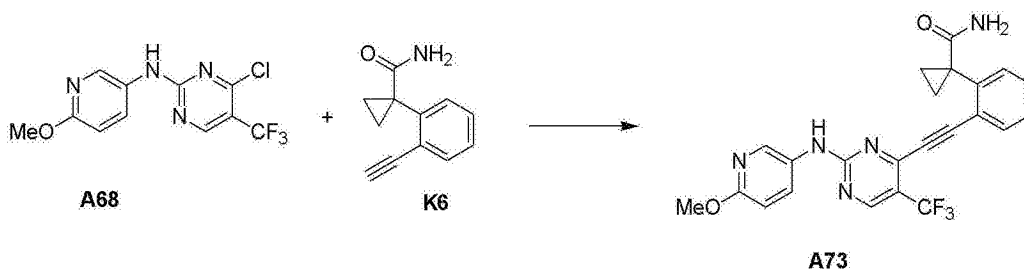
[1324] 实施例63:2-(2-(2-(2-((6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(63)的合成



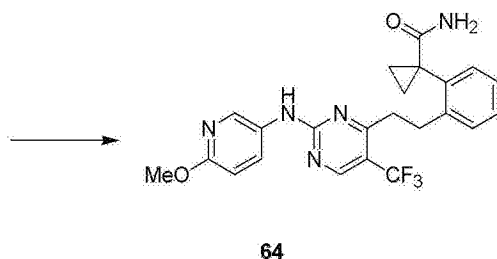
[1326] 2-(2-(2-(2-((6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺(63)

[1327] 向2-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)丙酰胺62(0.064g,0.13mmol)在无水MeOH(2.0mL)中的混合物中添加37%甲醛水溶液(0.04mL,0.5mmol)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.138g,0.649mmol)。将混合物在氮气气氛下在室温下搅拌3小时,然后通过添加饱和NaHCO₃水溶液(30mL)淬灭。用EtOAc(2x 20mL)萃取水相,然后将合并的有机物使用相分离柱体干燥并在减压下浓缩。通过prep-LCMS纯化有机残余物,以得到呈甲酸盐(2当量,通过¹H NMR测定)的标题化合物63(0.020g,30%)。LCMS-A:室温4.786min;m/z 513.3[M+H]⁺。

[1328] 实施例64:1-(2-(2-(2-((6-甲氧基吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(64)的合成



[1329]



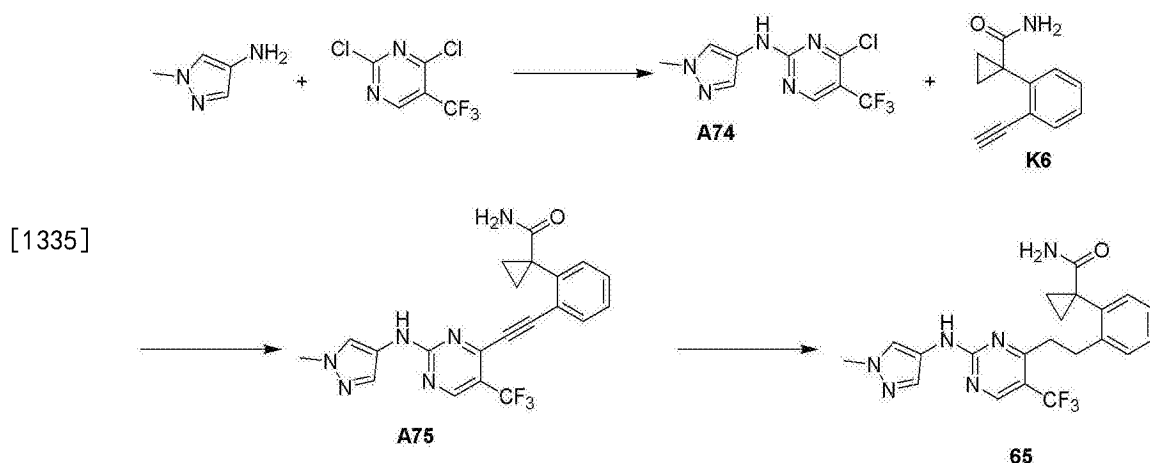
[1330] (a) 1-(2-((2-((6-甲氧基吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺(A73)

[1331] 将1-(2-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺K6(0.120g, 0.648mmol)、4-氯-N-(6-甲氧基吡啶-3-基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-胺A68(0.197g, 0.648mmol)、CuI(0.012g, 0.065mmol)、*t*-Bu₃PHBF₄(0.019g, 0.065mmol)和PdCl₂(PPh₃)₂(0.023g, 0.032mmol)在DMF(3mL)中的混合物用N₂鼓泡5分钟。添加Et₃N(1mL)并且将反应混合物在120℃下在微波中搅拌15分钟。将挥发物真空移除并且将黑色残余物吸附至二氧化硅上。通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 得到呈黄色固体的标题化合物A73(0.229g, 78%)。LCMS-D: 室温3.47min; *m/z* 454[M+H]⁺。

[1332] (b) 1-(2-(2-(2-((6-甲氧基吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(64)

[1333] 将1-(2-((2-((6-甲氧基吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺A73(0.229g, 0.505mmol)的EtOAc(20mL)溶液在10%Pd/C(用约53%的水润湿, 0.150g)上在氢气气氛下搅拌16小时。将混合物通过硅藻土过滤并且将溶剂真空移除。通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO₂, 石油醚中的0-80%EtOAc, 40℃-60℃)纯化, 得到被炔烃起始材料污染的灰白色固体。将固体溶解于EtOAc(20mL)和MeOH(10mL)中并且在氢气气氛下在10%Pd/C(用约53%的水润湿, 0.130g)上搅拌16小时。通过硅藻土过滤混合物并且将溶剂真空移除, 以得到呈白色固体的标题化合物64(0.130g, 56%)。LCMS-D: 室温3.51min; *m/z* 458[M+H]⁺。

[1334] 实施例65: 1-(2-(2-(2-((1-甲基-1H-吡啶-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(65)的合成



[1336] (a) 4-氯-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-胺(A74)

[1337] 在氮气气氛下,将Et₂O(1M,23.2mL,23.2mmol)中的ZnCl₂添加至DCE:t-BuOH(1:1,150mL)中的2,4-二氯-5-三氟甲基嘧啶(5.2mL,39mmol)中。将混合物搅拌45分钟,然后添加DCE/t-BuOH(1:1,150mL)和DIPEA(3.2mL,18mmol)中的1-甲基-1H-吡唑-4-胺(1.880g,19.36mmol)。将混合物加热至50℃持续16小时,冷却并使用真空过滤进行过滤。用MeOH洗涤固体并且将滤液在减压下浓缩,然后倾倒入水中。将所得沉淀在真空过滤下收集并用水、接着用石油醚40℃-60℃洗涤,最终溶解于Et₂O中并过滤。将Et₂O滤液在减压下浓缩,以得到粗产物,将所述粗产物通过用Et₂O和环己烷湿磨或硅胶柱色谱(石油醚中的0-30%EtOAc,40℃-60℃)的组合分批进一步纯化,然后合并以得到标题化合物A74(1.6g,30%)。¹H NMR(400MHz,d-DMSO)δppm 10.66-10.58(m,1H),8.77-8.68(m,1H),7.93-7.86(m,1H),7.53(s,1H),3.88-3.78(m,3H)。

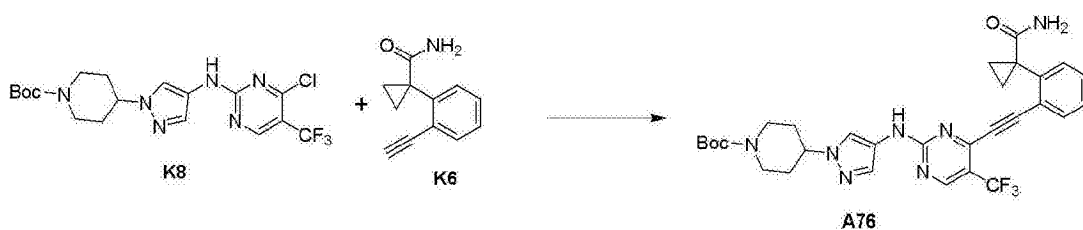
[1338] (b) 1-(2-((2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺(A75)

[1339] 向4-氯-N-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-胺A74(0.178g,0.640mmol)、1-(2-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺K6(0.172g,0.928mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.005g,0.007mmol)、t-Bu₃PH·BF₄(0.005g,0.02mmol)和碘化亚铜(I)(0.003g,0.02mmol)在DMF(8.0mL)中的经过脱气的混合物中添加DIPEA(0.33mL,1.9mmol)。将混合物在100℃下在微波中加热2x20分钟,然后在减压下浓缩。通过硅胶柱色谱(Isolera,石油醚中的0-100%EtOAc,40℃-60℃,然后是EtOAc中的0-20%MeOH)纯化,得到标题化合物A75(0.120g,44%)。LCMS-D:室温3.30min;m/z 427.2[M+H]⁺。

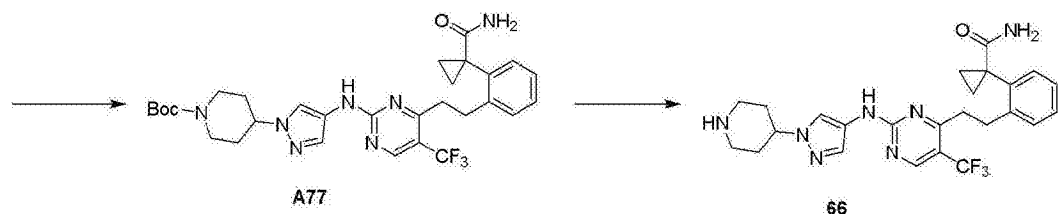
[1340] (c) 1-(2-(2-(2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(65)

[1341] 将1-(2-((2-((1-甲基-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙炔基)苯基)环丙烷甲酰胺A75(0.120g,0.281mmol)和10%Pd/C(0.135g)在DMF(3mL)、EtOAc(5mL)和Et₃N(0.5mL)中的混合物在氢气气氛下搅拌16小时。将混合物通过硅藻土过滤并且在减压下浓缩,然后通过硅胶柱色谱(EtOAc中的0-15%MeOH)纯化。将产物用Et₂O湿磨并且收集所得沉淀以得到标题化合物65(0.090g,74%)。LCMS-D:室温3.316min;m/z 431.2[M+H]⁺。

[1342] 实施例66:1-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(66)的合成



[1343]



[1344] (a) 4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A76)

[1345] 将1-(2-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺K6(0.250g, 1.35mmol)、4-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯K8(0.603g, 1.35mmol)、CuI(0.026g, 0.135mmol)、 $t\text{-Bu}_3\text{PHBF}_4$ (0.039g, 0.135mmol)和 $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (0.047g, 0.067mmol)在DMF(10mL)中的混合物用 N_2 鼓泡5分钟。添加 Et_3N (3mL)并且将反应混合物在 120°C 下在微波中搅拌20分钟。将挥发物真空移除并且将黑色残余物吸附至二氧化硅上。通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 柱体, 石油醚中的0-100%EtOAc, 40°C - 60°C)纯化得到黄色固体, 将所述固体通过柱色谱(Biotage Isolera, $2 \times 40\text{g}$ SiO_2 柱体, DCM中的0-10%MeOH, 然后是40g SiO_2 柱体, DCM中的0-5%MeOH)的两次重复进一步纯化, 以得到呈黄色固体的标题化合物A76(0.405g, 50%)。LCMS-D: 室温3.62min; m/z 596 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1346] (b) 4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A77)

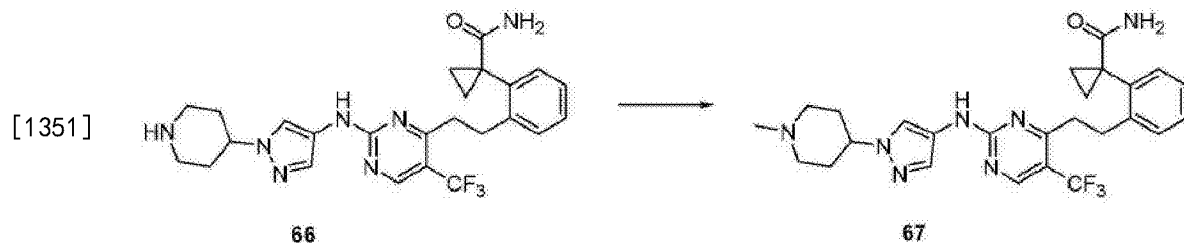
[1347] 将4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A76(0.405g, 0.680mmol)和10%Pd/C(用约53%的水润湿, 0.200g)在EtOAc(30mL)和MeOH(15mL)中的混合物在 H_2 气氛下、在室温下搅拌16小时。将混合物通过硅藻土塞过滤并且真空浓缩滤液。通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 柱体, DCM中的0-10%MeOH)纯化得到黄色油状物, 将所述油状物通过柱色谱(Biotage Isolera, 40g SiO_2 柱体, 石油醚中的10%-90%EtOAc, 40°C - 60°C)进一步纯化, 以得到呈黄色固体的标题化合物A77(0.213g, 52%)。LCMS-D: 室温3.62min; m/z 600 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[1348] (c) 1-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(66)

[1349] 用TFA(1.09mL, 14.2mmol)处理4-(4-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A77(0.213g, 0.355mmol)的DCM(10mL)溶液并且在室温下搅拌16小时。将挥发物真空蒸发, 然后向残余物添加HCl水溶液(2M, 25mL)。用EtOAc($3 \times 25\text{mL}$)萃取水相, 将合并的有机物用盐水洗涤并且经 MgSO_4 干燥。将溶剂真空移除并且将粗产物通过柱色谱(Biotage Isolera, 12g C_{18} 柱体, H_2O 中的0-

100%MeOH)纯化,以得到黄色油状物。将该油状物溶解于最小量的DCM中并且通过添加汽油将所需产物沉淀。通过过滤分离固体,以得到呈黄色固体的标题化合物66(0.114g,64%)。LCMS-D:室温3.07min; m/z 500 $[M+H]^+$ 。

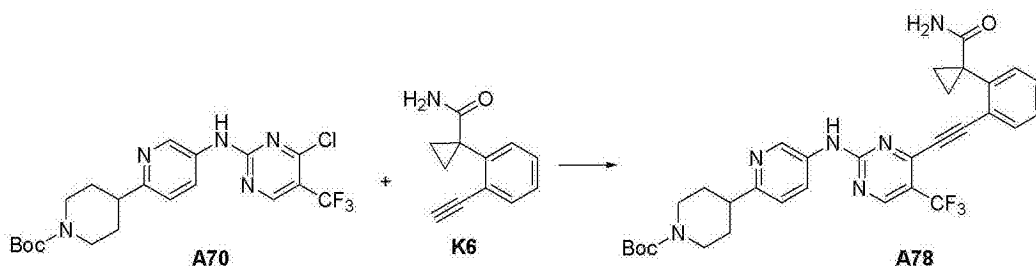
[1350] 实施例67:1-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(67)的合成



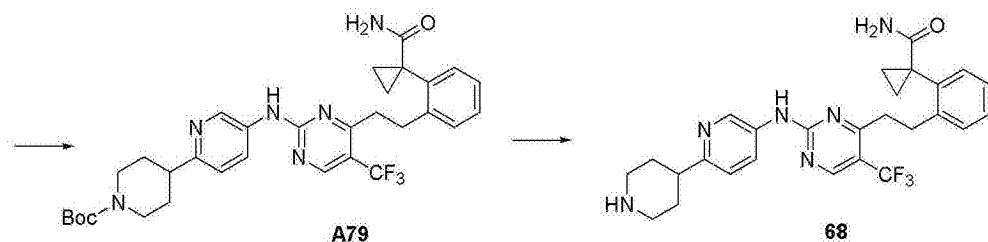
[1352] (a)1-(2-(2-(2-((1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(67)

[1353] 将1-(2-(2-(2-((1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺66(0.081g,0.16mmol)和甲醛(H_2O 中的37重量%;36 μ L,0.49mmol)在MeOH(5mL)中的混合物在室温下搅拌10分钟。然后添加三乙酰氧基硼氢化钠(0.137g,0.649mmol)并且在室温下继续搅拌3小时。将挥发物真空移除,并且向残余物添加饱和 $NaHCO_3$ 水溶液(20mL)。用EtOAc(3 $\times$ 20mL)萃取水层,将合并的有机物用盐水洗涤、干燥($MgSO_4$),并且将溶剂真空移除。将黄色残余物溶解于MeOH中并且装载至SCX柱体(10g)上。柱用5个柱体积的MeOH、然后用5个柱体积的MeOH中的2%v/v氨水来洗脱,以释放胺产物。将溶剂在减压下蒸发,将残余物溶解于DCM中并且通过添加石油醚40 $^{\circ}C$ -60 $^{\circ}C$ 将固体沉淀。通过过滤分离固体并干燥,以得到呈黄色固体的标题化合物67(0.048g,58%)。LCMS-A:室温4.82min; m/z 514 $[M+H]^+$ 。

[1354] 实施例68:1-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(68)的合成



[1355]



[1356] (a)4-(5-((4-((2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A78)

[1357] 在氮气气氛下,向4-(5-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A70(0.208g,0.453mmol)、1-(2-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺K6(0.079g,0.42mmol)、CuI(0.003g,0.02mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.017g,0.024mmol)和t-Bu₃PH·BF₄(0.009g,0.03mmol)的混合物中添加二噁烷(6.0mL)和DIPEA(0.23mL,1.3mmol)。将混合物在85℃下搅拌4小时,然后在减压下浓缩。通过硅胶柱色谱(Biotage Isolera,石油醚中的0-100%EtOAc,40℃-60℃,EtOAc中的0-20%MeOH)纯化,得到标题化合物A78(0.118g,46%)。LCMS-D:室温3.645min;m/z 607.4[M+H]⁺。

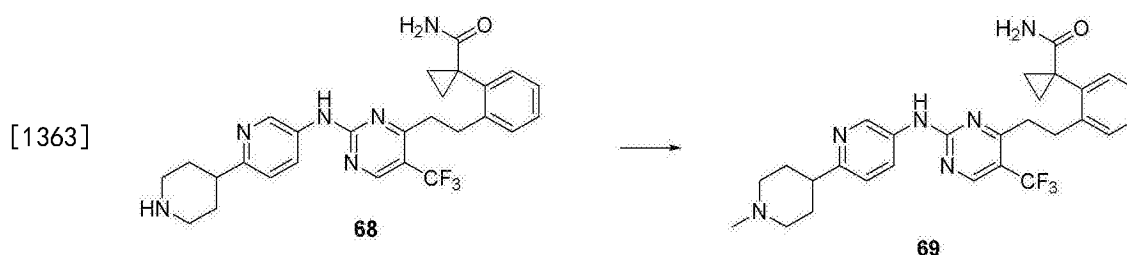
[1358] (b)4-(5-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(A79)

[1359] 将DMF(3mL)和Et₃N(0.30mL)添加至4-(5-((4-((2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A78(0.118g,0.194mmol)和10%Pd/C(0.182g)的混合物中。将混合物在氢气气氛下搅拌20小时,通过硅藻土过滤并且将滤液在减压下浓缩。通过硅胶柱色谱(石油醚中的0-100%EtOAc,40℃-60℃)纯化得到标题化合物A79(0.080g,67%)。LCMS-A:室温5.852min;m/z 611.3[M+H]⁺。

[1360] (c)1-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(68)

[1361] 将TFA(0.50mL,6.5mmol)添加至4-(5-((4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)吡啶-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯A79(0.080g,0.13mmol)在DCM(5mL)中的混合物中并且将混合物搅拌4小时。将混合物在减压下浓缩并且用25%NaOH水溶液(20mL)淬灭,然后用EtOAc(3×20mL)萃取。将合并的有机萃取物在减压下浓缩并且用DCM(1.5mL)和TFA(0.2mL)重复以上过程持续3小时。将混合物在减压下浓缩并且用25%NaOH水溶液(20mL)淬灭,然后用EtOAc(3×20mL)萃取。将合并的有机残余物干燥(相分离柱体)并且在减压下浓缩,以得到标题化合物68(0.069g,定量)。LCMS-A:室温4.783min;m/z 511.3[M+H]⁺。

[1362] 实施例69:1-(2-(2-(2-((6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(69)的合成

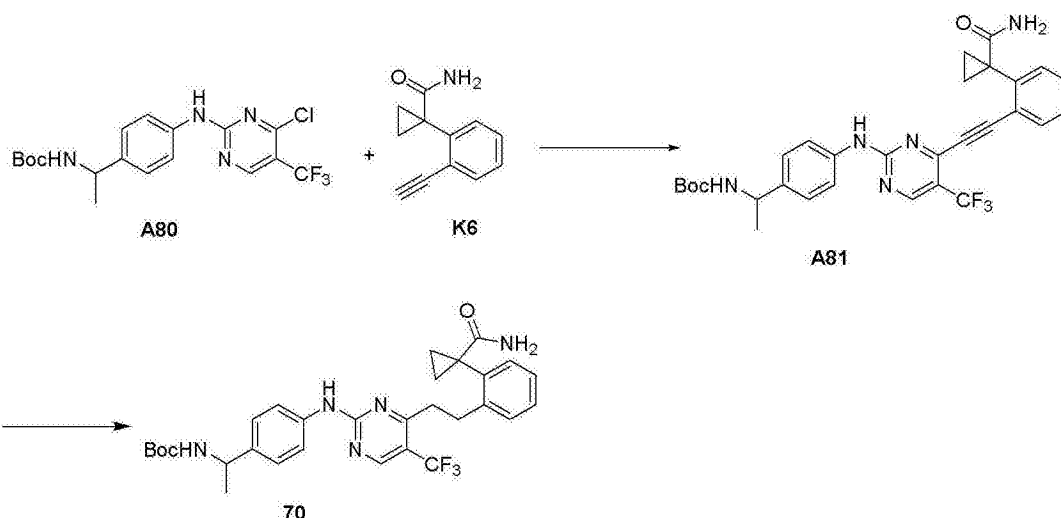


[1364] 1-(2-(2-(2-((6-(1-甲基哌啶-4-基)嘧啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(69)

[1365] 向1-(2-(2-(2-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺68(0.069g,0.14mmol)在无水MeOH(2.0mL)中的混合物中添加37%甲醛水溶液(0.04mL,0.5mmol)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.147g,0.695mmol)。将混合物在氮气气氛下在室温下搅拌3小时,然后用饱和NaHCO₃水溶液(30mL)淬灭。用EtOAc(2x 20mL)萃取水相,然后将合并的有机物使用相分离柱体干燥并真空浓缩。通过prep-LCMS纯化得到呈

甲酸盐(2当量,通过¹H NMR测定)的标题化合物69(0.020g, 29%)。LCMS-A: 室温4.802min; m/z 525.3[M+H]⁺。

[1366] 实施例70: 1-(4-(4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙基氨基甲酸叔丁酯(70)的合成



[1368] (a) 1-(4-(4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙基氨基甲酸叔丁酯(A80)

[1369] 将2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(1.93g, 8.89mmol)在室温下在1:1 t-BuOH:DCE混合物(200mL)中搅拌。小心地添加Et₂O(10.2mL, 10.2mmol)中的1.0M ZnCl₂溶液,并且将混合物在室温下搅拌20分钟。添加1:1 t-BuOH:DCE混合物(100mL),随后添加(1-(4-氨基苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(2.00g, 8.46mmol)和Et₃N(1.42mL, 10.2mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜,然后将挥发物真空蒸发。添加EtOH(30mL),将悬浮液超声波处理1分钟,然后将固体过滤、用EtOH(10mL)洗涤并真空干燥,以得到呈米白色固体的标题化合物A80(3.2g, 91%)。LCMS-C: 室温4.88min。

[1370] (b) 1-(4-(4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙基氨基甲酸叔丁酯(A81)

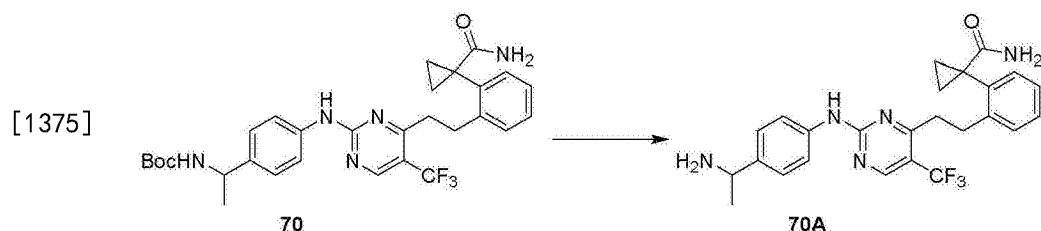
[1371] 将1-(2-乙炔基苯基)环丙烷甲酰胺K6(0.15g, 0.81mmol)的DMF(3mL)溶液添加至含有1-(4-(4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙基氨基甲酸叔丁酯A80(0.34g, 0.81mmol)、PdCl₂(PPh₃)₂(0.028g, 0.040mmol)、四氟硼酸三叔丁基膦(0.023g, 0.081mmol)和碘化亚铜(I)(0.015g, 0.081mmol)的反应容器中。将混合物用氮气鼓泡10分钟,然后添加Et₃N(1.5mL)。将混合物在微波照射下、在120℃下加热15分钟。将挥发物真空移除并且将残余物通过硅胶柱色谱(Combiflash Rf, 环己烷中的0-100% EtOAc)纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物A81(0.26g, 56%)。LCMS-C: 室温5.80min; m/z 566[M+H]⁺。

[1372] (c) 1-(4-(4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙基氨基甲酸叔丁酯(70)

[1373] 将1-(4-(4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯基)乙炔基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙基氨基甲酸叔丁酯(0.25g, 0.44mmol)在EtOAc(12mL)和DMF(2.0mL)中的溶液在氢气气氛下在环境温度下与Pd/C 10%(0.15g)一起搅拌16小时。将反应混合物用EtOAc稀释、通过硅藻土塞过滤并且用EtOAc洗涤。将溶剂真空移除并且将粗残余物通过硅胶柱色

谱(Combiflash Rf,环己烷中的0-100%EtOAc)纯化,以得到呈无色油状物的标题化合物70(0.14g,56%)。LCMS-C:室温5.88min; m/z 570[M+H]⁺。

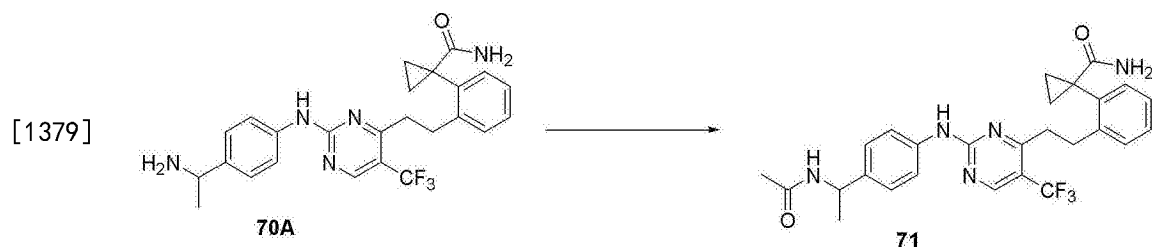
[1374] 实施例70A:1-(2-(2-(2-(4-(1-氨基乙基)苯基氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(70A)的合成



[1376] 1-(2-(2-(2-(4-(1-氨基乙基)苯基氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(70A)

[1377] 向1-(4-(4-(2-(1-氨基甲酰基环丙基)苯乙基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙基氨基甲酸叔丁酯70(0.11g,0.19mmol)的DCM(4mL)溶液中添加三氟乙酸(2mL)。将混合物在环境温度下搅拌16小时,然后将挥发物真空移除。使用MeOH调理的SCX纯化粗残余物,用EtOH中的2M氨将产物洗脱,以得到呈米白色固体的标题化合物70A(0.073g,81%)。LCMS-C:室温4.48min; m/z 470[M+H]⁺。

[1378] 实施例71:1-(2-(2-(2-(4-(1-乙酰氨基乙基)苯基氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(71)的合成



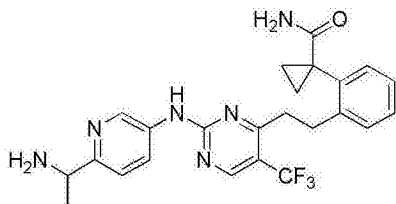
[1380] 1-(2-(2-(2-(4-(1-乙酰氨基乙基)苯基氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺(71)

[1381] 向1-(2-(2-(2-(4-(1-氨基乙基)苯基氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺70A(0.015g,0.032mmol)的DCM(1mL)溶液中添加吡啶(0.0040mL,0.050mmol)和乙酸酐(0.0050mL,0.053mmol)并且将反应混合物在环境温度下搅拌过夜。将混合物在水与EtOAc之间分配,将层分离并用EtOAc萃取水层(2次)。将合并的有机萃取物用盐水洗涤、干燥(Na₂SO₄)并且真空蒸发,以得到呈浅褐色固体的标题化合物71(0.016g,98%)。LCMS-C:室温5.24min; m/z 512[M+H]⁺。

[1382] 除了以上提供的实施例以及那些化合物的合成的描述之外,本领域技术人员应认识到,也可制备以下化合物:

[1383] 实施例72:1-(2-(2-(2-(6-(1-氨基乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺的合成

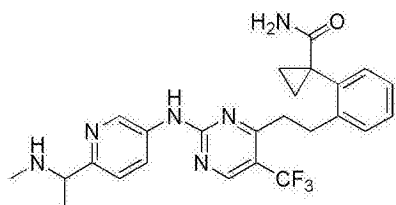
[1384]



[1385] 根据针对实施例2所描述的方法制备此化合物。

[1386] 实施例73:1-(2-(2-(2-((6-(1-(甲基氨基)乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺的合成

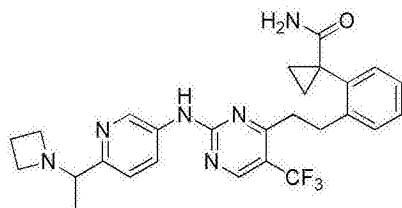
[1387]



[1388] 经由对应于实施例32的甲基酮中间体、接着如方案V中所述用甲胺还原性胺化来制备此化合物。

[1389] 实施例74:1-(2-(2-(2-((6-(1-(氮杂环丁烷-1-基)乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺的合成

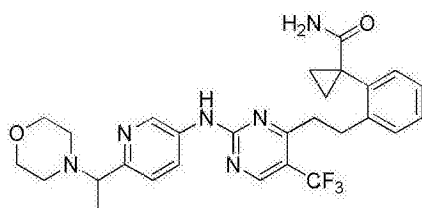
[1390]



[1391] 经由对应于实施例32的甲基酮中间体、接着如方案V中所述用氮杂环丁烷还原性胺化来制备此化合物。

[1392] 实施例75:1-(2-(2-(2-((6-(1-(吗啉代乙基)吡啶-3-基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺的合成

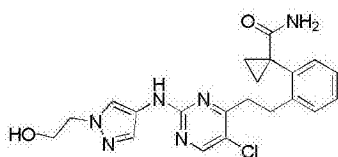
[1393]



[1394] 经由对应于实施例32的甲基酮中间体、接着如方案V中所述用吗啉还原性胺化来制备此化合物。

[1395] 实施例76:[插入化合物名称]的合成

[1396]

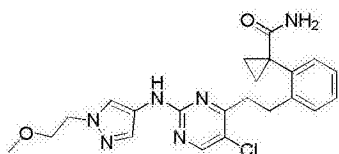


[1397] 如针对实施例34所描述使1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14和1-乙醇-1H-吡啶-4-胺反应,以得到呈淡黄色固体的实施例76(0.064g,63%)。

LCMS-C:室温4.78min;m/z 427[M+H]⁺。

[1398] 实施例77:[插入化合物名称]的合成

[1399]



[1400] 如针对实施例34所描述使1-(2-(2-(2,5-二氯嘧啶-4-基)乙基)苯基)环丙烷甲酰胺A14和1-甲氧基乙醇-1H-吡唑-4-胺反应,以得到呈淡黄色油状物的实施例77(0.060g, 57%)。LCMS-B:室温6.43min;m/z 441[M+H]⁺。

[1401] 生物测定

[1402] 本发明化合物的活性可使用生物化学和细胞测定进行剖析。

[1403] 对VEGFR3的主要效力可使用Alpha ScreenTM技术生物化学测定来评估。

[1404] 本发明的化合物抑制细胞内的VEGFR3的能力可用ELISA型测定来评估。

[1405] VEGFR3生物化学测定

[1406] 可在以下测定中测试本发明化合物的体外活性:

[1407] 生物素标记肽用作底物(氨基酸序列:生物素-Glu-Gly-Pro-Trp-Leu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂)。VEGFR3胞质区(氨基酸798-1298)作为N-末端GST-融合蛋白(“酶”)购买。在Greiner牌白色384-孔低容量平板中进行15μL测定反应。所有反应含有10mM HEPES pH 7.4、10mM MgCl₂、0.01%(v/v)Tween-20、50μM Na₃VO₄、来自鸡卵白的0.01%(w/v)白蛋白、1mM二硫苏糖醇、111nM肽底物、500μM ATP和3.8ng/反应酶,其中在阴性对照反应中省去酶。从在DMSO中制备的稀释系列以100nL的体积添加化合物,阳性和阴性对照反应接受没有化合物的相同体积的DMSO。将平板用粘着剂密封剂密封并且在30摄氏度下孵育90分钟。用在与如下相同的时间添加的检测试剂终止反应:使用链霉亲和素涂布的供体和抗磷酸酪氨酸(P-Tyr-100)受体珠粒将产物形成定量为PerkinElmer AlphaScreenTM珠粒之间的放大荧光。向每个反应中添加含有10mM HEPES pH 7.4、25mM NaCl、100mM EDTA、0.01%(v/v)Tween-20和6.25μg/mL每个珠粒类型的5μL。将平板孵育6小时,然后在PerkinElmer EnVisionTM平板读取器上以HTS AlphascreeenTM模式读取。通过以下方式获得IC₅₀值:计算每个反应相对于相同平板上的对照的抑制百分比(%I)(%I=(I-CN)/(CP-CN),其中CN/CP分别为阴性/阳性反应的平均值),然后相对于化合物浓度[I]将%I数据拟合为%I=(A+((B-A)/(1+((C/[I])^D))))),其中A为下渐近线,B为上渐近线,C为IC₅₀值,并且D为斜率因子。

[1408] 上述测定在一些情况下也以改进形式进行(以下用*指示)。在这些情况下,将VEGFR3胞质区(氨基酸818-1177,缺乏Uniprot登录号P35916的949-1002)表达和纯化为N-末端Hexa-His-融合蛋白(“酶”),而不是使用N-末端GST-融合蛋白。测定条件与上述相同,但是使用1μM ATP和8ng/酶反应液。两个测定型式的相当性能使用如文献中所描述的基准化合物来监测。

[1409] VEGFR3生物化学测定结果

[1410]

化合物	IC ₅₀ (nM)
1	91

1-1A	103
1-2A	75

[1411]

2	10
3	9
4	22
5	28
6	8
7	10
8	10
9	26
10	92
11	1302
12	39
13	4
14	6
15	11
16	1
17	9
18	3
19	3
20	7
21	7
22	20
23	11
24	2
24A	14
25	7
26	12
27	47
28	268
29	8
30	4
31	48
32	44
33	60
34	7

[1412]

35	9
36	16
37	31
38	32
39	44
40	160

41	45
42	154
43	12
44	9
45	3
46	13
47	5
48	12
49	23
50	46
51	15
51-1A	25
51-2A	41
52	23
53	228
54	17
55	15
56	27
56-1A	31
56-2A	93
57	27
58	22
59	86
60	89
61	118
62	492
63	28
64	8

[1413]

65	3
66	7
67	7
68	28
69	63
70	64
70A	22
71	10
76	4
77	3

[1414] VEGFR3磷酸ELISA测定

[1415] 可在以下测定中测试本发明化合物的体外活性：

[1416] 将成人皮肤淋巴微血管内皮细胞(HMVEC-dLyAD)(Cat#CC-2810, Lonza)以180,000细胞/孔(体积1mL)接种于EGM-2MV(Cat#CC-3202, Lonza)中的透明底部、TC处理的12孔平板

(Cat#665180, Greiner Bio-One)中,并且将平板在37℃和5%CO₂下孵育6小时。用EBM-2 (Cat#CC-3156, Lonza)+0.1%BSA(Cat# A8412, Sigma)更换培养基并且将细胞再孵育一段时间(在37℃和5%CO₂下过夜)。

[1417] 用100μL的总VEGFR3捕获抗体(Part#841888, 人总VEGFR3/FLT4 ELISA试剂盒, Cat#DYC3491, R&D Systems)或磷酸VEGFR3捕获抗体(Part#841885, 人磷酸VEGFR3/FLT4 ELISA试剂盒, Cat#DYC2724, R&D Systems)涂布96孔Maxisorp免疫平板(Cat#439454, Nunc)。将平板盖上并且在室温下孵育过夜。

[1418] 将涂布抗体弹掉并且将平板用洗涤缓冲液(磷酸盐缓冲盐水(137mM NaCl、2.7mM KCl、8.1mM Na₂HPO₄、1.5mM KH₂PO₄, pH 7.2-7.4)、0.05%Tween 20)洗涤三次。然后将300μL封闭缓冲液(PBS中的5%v/v Tween20、5%w/v蔗糖)添加至孔并且将平板在室温下孵育2小时。将封闭溶液弹掉并且将平板洗涤三次并控干。

[1419] 在具有恒定0.1%DMSO浓度的EBM-2(Cat#CC-3156, Lonza)+0.1%BSA(Cat#A8412, Sigma)中制备化合物稀释系列。将439μL样品或媒介物对照添加至细胞单层。将细胞在37℃和5%CO₂下处理1小时。将250ng/mL重组人VEGFC(Cat#2179-VC, R&D Systems)添加至孔并且将平板在37℃和5%CO₂下再孵育10分钟。

[1420] 将培养基和化合物移除并且将细胞单层在Dulbecco氏磷酸盐缓冲盐水(Cat# 21600-044, Invitrogen)中洗涤一次。将130μL裂解缓冲液添加至孔并且将细胞裂解物收获并且转移至管并且存储于冰上。通过每1mL的Phosphosafe™萃取试剂(Cat#71296, Merck)添加10μL蛋白酶抑制剂混合物(Cat#8340, Sigma-Aldrich)、10μLPMSF(苯甲磺酰氟, Cat# P7626, Sigma-Aldrich, 制备为500mM DMSO储液)来制备完全裂解缓冲液。

[1421] 然后,将所收获的样品在IC稀释剂#18(5%Tween 20/PBS)中1:2稀释并且将100μL转移至总的和磷酸VEGFR3涂布的、封闭的和洗涤的96孔平板并且在室温下孵育2小时。然后将平板在如上所述的洗涤缓冲液中洗涤三次并控干。为了检测总VEGFR3,将在IC稀释剂#1(1%w/v BSA(Cat#A7906, Sigma-Aldrich)/PBS)中稀释的100μL检测抗体(总VEGFR3试剂盒中的总VEGFR3检测抗体Part#841888)添加至孔并且将平板在室温下孵育2小时。然后将平板在洗涤缓冲液中洗涤三次并控干。将在IC稀释剂#1链霉亲和素-HRP,总VEGFR3试剂盒中的Part#890803)中稀释的100μL链霉亲和素-HRP添加至孔并且在室温下孵育20分钟,随后如上所述洗涤。添加100μL底物溶液(用于ELISA的3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)液体底物系统, Cat#T0440, Sigma-Aldrich)并且将平板在黑暗中在室温下孵育20分钟,随后添加50μL终止溶液(2M H₂SO₄)。

[1422] 使用装配有450nm滤光器的Multiskan Ascent平板读取器和Ascent软件来定量总VEGFR3水平。

[1423] 为了检测磷酸VEGFR3,将100μL检测抗体(抗-磷酸-酪氨酸-HRP检测抗体,磷酸VEGFR3试剂盒中的Part#841403)在IC稀释剂#1(1%w/v BSA/PBS)中稀释,添加至孔并且将平板在室温下孵育2小时。然后将平板在如上所述的洗涤缓冲液中洗涤三次并控干。添加100μL底物溶液(用于ELISA的3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)液体底物系统, Cat#T0440, Sigma-Aldrich)并且将平板在黑暗中在室温下孵育20分钟,随后添加50μL终止溶液(2M H₂SO₄)。

[1424] 使用装配有450nm滤光器的Multiskan ascent平板读取器和ascent软件来定量磷

酸VEGFR3水平。

[1425] 通过以下方式确定IC₅₀值：首先根据下式计算磷酸VEGFR3相对于总VEGFR3的水平：

$$[1426] \quad SRP = \frac{SP}{ST}$$

[1427] 其中SRP为样品相对磷酸水平，SP为磷酸VEGFR3读数并且ST为总VEGFR3读数。

[1428] 然后根据下式计算每种裂解物相对于媒介物对照(VEGFC刺激的)的抑制百分比(%I)：

$$[1429] \quad \%I = \frac{SRP_{\text{媒介物}} - SRP_{\text{测试}}}{SRP_{\text{媒介物}}} * 100$$

[1430] 其中SRP为如上计算的样品相对磷酸水平。

[1431] 以%I对化合物浓度作图并且使用S形剂量反应拟合数据，并由曲线确定IC₅₀。

[1432] VEGFR3磷酸ELISA测定结果

[1433]

化合物	IC ₅₀ (nM)
1	173
1-1A	329
1-2A	315
2	26
3	27
4	38
5	51

[1434]

6	17
7	38
8	19
9	75
12	267
13	9
14	30
15	51
16	4
17	62
18	5
19	11
20	38
21	14
24	25
35	64
36	76
44	52
45	23
51	526

56	68
57	27
57-1A	38
57-2A	19
64	394
68	51

[1435] VEGFR2磷酸ELISA测定

[1436] 可在以下测定中测试本发明化合物的体外活性:

[1437] 将成人脐静脉内皮细胞(HUVEC)(Cat#CC-2519,Lonza)以180,000细胞/孔(体积1mL)接种于EGM-2(Cat#CC-3162,Lonza)中的透明底部、TC处理的12孔平板(Cat#665180, Greiner Bio-One)中,并且将平板在37℃和5%CO₂下孵育6小时。用EBM-2(Cat#CC-3156, Lonza)+0.1%BSA(Cat#A8412,Sigma)更换培养基并且将细胞再孵育一段时间(在37℃和5%CO₂下过夜)。

[1438] 用100μL总VEGFR2捕获抗体(Part#841434,人总VEGFR2/FLT4ELISA试剂盒,Cat#DYC1780,R&D Systems)或磷酸vEGFR2捕获抗体(Part#841419,人磷酸VEGFR2/FLT4ELISA试剂盒,Cat#DYC1766,R&D Systems)涂布96孔Maxisorp免疫平板(Cat#439454,Nunc)。将平板盖上并且在室温下孵育过夜。

[1439] 将涂布抗体弹掉并且将平板用洗涤缓冲液(磷酸盐缓冲盐水(137mM NaCl、2.7mM KCl、8.1mM Na₂HPO₄、1.5mM KH₂PO₄,pH 7.2-7.4)、0.05%Tween 20)洗涤三次。然后将300μL封闭缓冲液(PBS中的1%v/v BSA(Cat#A8412,Sigma))添加至孔并且将平板在室温下孵育2小时。将封闭溶液弹掉并且将平板洗涤三次并控干。

[1440] 在具有恒定0.1%DMSO浓度的EBM-2(Cat#CC-3156,Lonza)+0.1%BSA(Cat#A8412, Sigma)中制备化合物稀释系列。将427.5μL样品或媒介物对照添加至细胞单层。将细胞在37℃和5%CO₂下处理1小时。将50ng/mL重组人VEGF(Cat#293-VC,R&D Systems)添加至孔并且将平板在37℃和5%CO₂下再孵育10分钟。

[1441] 将培养基和化合物移除并且将细胞单层在Dulbecco氏磷酸盐缓冲盐水(Cat#21600-044,Invitrogen)中洗涤一次。将130μL裂解缓冲液添加至孔并且将细胞裂解物收获并且转移至管并且存储于冰上。通过每1mL的Phosphosafe™萃取试剂(Cat#71296,Merck)添加10μL蛋白酶抑制剂混合物(Cat#P8340,Sigma-Aldrich)、10μL PMSF(苯甲磺酰氟,Cat#P7626,Sigma-Aldrich,制备为500mM DMSO储液)来制备完全裂解缓冲液。

[1442] 然后,将所收获的样品在IC稀释剂#12(1%NP-40、20mM Tris(pH8.0)、137mM NaCl、10%甘油、2mM EDTA、1mM活化原钒酸钠)中1:2稀释并且将100μL转移至总的和磷酸VEGFR3涂布的、封闭的和洗涤的96孔平板并且在室温下孵育2小时。然后将平板在如上所述的洗涤缓冲液中洗涤三次并控干。

[1443] 为了检测总VEGFR2,将在IC稀释剂#14(20mM Tris、137mM CaCl₂、0.05%Tween20、0.1%BSA)中稀释的100μL检测抗体(总VEGFR2试剂盒中的总VEGFR2检测抗体Part#841435)添加至孔并且将平板在室温下孵育2小时。然后将平板在洗涤缓冲液中洗涤三次并控干。将在IC稀释剂#14链霉亲和素-HRP,总VEGFR2试剂盒中的Part#890803)中稀释的100μL链霉亲和素蛋白-HRP添加至孔并且在室温下孵育20分钟,随后如上所述洗涤。添加100μL底物溶液(用于ELISA的3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)液体底物系统,Cat#T0440,Sigma-Aldrich)

并且将平板在黑暗中在室温下孵育20分钟,随后添加50 μ L终止溶液(2M H_2SO_4)。

[1444] 使用装配有450nm滤光器的Multiskan Ascent平板读取器和Ascent软件来定量总VEGFR2水平。

[1445] 为了检测磷酸VEGFR2,将100 μ L检测抗体(抗-磷酸-酪氨酸-HRP检测抗体,磷酸VEGFR2试剂盒中的Part#841403)在IC稀释剂14(20mM Tris、137mM $CaCl_2$ 、0.05% Tween20、0.1% BSA)中稀释,添加至孔并且将平板在室温下孵育2小时。然后将平板在如上所述的洗涤缓冲液中洗涤三次并控干。添加100 μ L底物溶液(用于ELISA的3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)液体底物系统,Cat#T0440,Sigma-Aldrich)并且将平板在黑暗中在室温下孵育20分钟,随后添加50 μ L终止溶液(2M H_2SO_4)。

[1446] 使用装配有450nm滤光器的Multiskan ascent平板读取器和ascent软件来定量磷酸VEGFR2水平。

[1447] 通过以下方式确定 IC_{50} 值:首先根据下式计算磷酸VEGFR2相对于总VEGFR2的水平:

$$[1448] \quad SRP = \frac{SP}{ST}$$

[1449] 其中SRP为样品相对磷酸水平,SP为磷酸VEGFR2读数并且ST为总VEGFR2读数。

[1450] 然后,根据下式计算每种裂解物相对于媒介物对照(VEGF-A刺激的)的抑制百分比(%I):

$$[1451] \quad \%I = \frac{SRP_{\text{媒介物}} - SRP_{\text{测试}}}{SRP_{\text{媒介物}}} * 100$$

[1452] 其中SRP为如上计算的样品相对磷酸水平。

[1453] 以%I对化合物浓度作图并且使用S形剂量反应拟合数据,并由所绘制的曲线确定 IC_{50} 。

[1454] VEGFR2磷酸ELISA测定结果

[1455]

化合物	IC_{50} (nM)
1	>10000
2	283
3	1789
4	2038
5	4083
6	6608
7	629
8	897
9	>10000
12	>10000
13	257
14	357
15	1996
16	46

17	393
18	21
19	248
20	1755
21	73
24A	209
35	3786
36	8171
44	138
45	370
56	2224
57	394
57-1A	518
57-2A	382
68	4083

[1456] P397Y-FAK抑制MSD平台细胞生物标志物测定

[1457] 可在以下测定中测试本发明化合物的体外活性：

[1458] 用在PBS中预稀释至1mg/mL浓度的30微升/孔的小鼠单克隆FAK抗体[63D5](cat# ab72140, Abcam)涂布96孔平板(cat#MA6000, Meso Scale Discovery)。将平板用粘着剂膜密封并且在4℃下孵育16小时。然后将抗体从平板中弹掉并且添加150μL 3% [w/v] 封闭剂A (cat#R93AA-1, Meso Scale Discovery)。将平板用粘着剂膜重新密封并且在室温下在设定于中等速度的振荡器上孵育2小时。然后, 将平板用含有50mM Tris-HCl pH 7.5、0.15M NaCl和0.02% Tween-20的溶液洗涤三次, 然后如以下所述添加细胞裂解物。

[1459] 在化合物处理前2天, 将细胞1:2分到T150细胞培养烧瓶中。在化合物处理前一天, 将含有20,000个细胞的200μL培养基接种到白色、透明底部、TC处理的、澄清的96孔微量滴定板(cat#655098, Greiner Bio-One)的所有孔中, 并且将平板在37℃和5% CO₂下孵育36小时。然后, 从在DMSO中制备的稀释系列添加1微升/孔的化合物。阴性对照孔接受相同体积的不具有化合物的DMSO, 并且阳性对照孔接受在相同体积DMSO中的2μM对照化合物。将细胞在37℃和5% CO₂下处理1小时。然后将培养基/化合物弹掉并且添加55微升/孔的冰冷的完全裂解缓冲液。通过每10mL的不完全裂解缓冲液(150mM NaCl、20mM Tris-HCl pH 7.5、1mM EDTA、1mM EGTA、1% Triton-X 100)添加1片PhosSTOP完全磷酸酶抑制剂(cat# 04906837001, Roche)和1片完全、微型、无EDTA的蛋白酶抑制剂(Complete, Mini, EDTA-free, protease inhibitor)(cat#04693159001, Roche)来制备完全裂解缓冲液。将平板在冰上孵育30分钟, 并且每5分钟高速振荡平板30秒。将40微升/孔的细胞裂解物转移至如上所述的涂布、封闭和洗涤的96孔微量滴定板。将96孔平板用粘着剂膜密封并且在4℃下孵育16小时。然后, 将平板用含有50mM Tris-HCl pH 7.5、0.15M NaCl和0.02% Tween-20的溶液洗涤三次并控干。添加25微升/孔的检测溶液(50mM Tris-HCl pH 7.5、0.15M NaCl和0.02% Tween-20中的1% [w/v] 封闭剂A (cat#R93AA-1, Meso Scale Discovery), 具有1:600 兔多克隆FAK磷酸Y397抗体(cat#ab39967, Abcam)、1:1000抗-兔磺基-标签抗体(cat#

R32AB-1 Meso Scale Discovery)和1:40重构封闭剂D-M(cat#D609-0100, Rockland Immunochemicals for Research)),并且将平板用粘着剂膜重新密封并且在室温下在设定于中等速度的平板振荡器上孵育1小时。然后,将平板用含有50mM Tris-HCl pH 7.5、0.15M NaCl和0.02%Tween-20的溶液洗涤三次并控干。然后添加150μL/孔读取缓冲液T+表面活性剂(cat#R92TC-1, Meso Scale Discovery),并且使用Meso Scale Discovery SECTOR Imager 6000仪器来定量pFAK-397水平。

[1460] 通过以下方式确定IC₅₀值:首先计算每种裂解物相对于相同平板上的对照的抑制百分比(%I)($\%I = (S - CP) / (CN - CP)$),其中S为样品结果,CN为仅DMSO处理的阴性对照的平均结果,并且CP为2μM处理的阳性对照的平均结果。以%I对化合物浓度[I]作图,并且使用以下等式 $\%I = (A + ((B - A) / (1 + ((C / [I])^D)))$ 拟合数据,其中A为下渐近线,B为上渐近线,C为IC₅₀值,并且D为斜率因子。

[1461] MDA-231-LNA细胞的P397Y-FAK抑制MSD平台细胞生物标志物测定结果

[1462]

化合物	IC ₅₀ (nM)
1	1178
2	80
3	672
4	>2000
16	1159
54	88
55	115
56	517

[1463] B16F10黑素瘤小鼠模型

[1464] 体内研究(In-life study)

[1465] 将6至8周龄的雌性BALB/c nu/nu小鼠在耳部表皮下接种在**Matrigel**®悬浮液中的4x10⁵个鼠B16F10黑素瘤细胞(ATCC CRL-6475)。接种后24小时,通过口服强饲每天两次开始治疗,持续14天。每天监测动物的健康、重量变化和外观以及沿着耳朵的卫星状病变的数目。

[1466] 在第15天,将小鼠处死并且取下耳朵并固定在4%多聚甲醛中。在照相之前,将耳朵在PBS中洗涤两次,然后储存于PBS中用于整体免疫组织化学分析(whole mount immunohistochemistry analysis)。取出引流淋巴结(颈浅表)、检验转移病变的存在并且照相,之后冰冻于OTC包埋剂中。

[1467] 通过测量长度和宽度来测定原发性病变大小。使用以下方程式($V = W \times L^2 / 2$)计算病变体积。

[1468] 淋巴管和血管的整体免疫组织化学

[1469] 在将耳朵分离成背侧(具有原发性病变)和腹侧切片之前,从多聚甲醛固定的耳朵边缘取出软骨。将背侧耳朵切片在4℃下在PBS中的0.3%Triton-x100中透化处理1小时,随后在4℃下在旋转轮上在1%BSA/0.3%Triton-x100/PBS中封闭过夜。

[1470] 然后将耳朵在旋转轮上在4℃下在一抗(小鼠LYVE-1生物素化亲和力6402纯化的

pAB, R&D Systems, Cat#BAF2125或大鼠抗小鼠CD31(PECAM)克隆390, eBioscience, Cat#14-0311)中孵育24小时,随后是在4℃下在0.3%Triton-x100/PBS中6x1小时洗涤。

[1471] 然后将耳朵在旋转轮上在4℃下在次级检测试剂(链霉亲和素Cy3缀合物, Sigma-Aldrich Cat#S-6402或Alexa Fluor 488山羊抗大鼠IgI(H+L)抗体, Invitrogen Molecular Probes Cat#A11006)中孵育24小时,随后是在4℃下在0.3%Triton-x100/PBS中6x1小时洗涤。

[1472] 将耳朵切片在4%多聚甲醛中重新固定20分钟,接着在PBS中洗涤两次,然后用具有Dapi的Prolong Gold抗淬灭试剂(Invitrogen Molecular Probes Cat#P36935)封固在整体载玻片中。

[1473] 用DP72CCD相机和相关软件在Olympus BX51显微镜上获取耳朵的代表性图像。

[1474] Caki-1肿瘤模型

[1475] 给6至8周龄的雌性BALB/c nu/nu小鼠皮下(s.c.)注射人肾癌细胞系Caki-1(ATCC HTB-46)。将细胞重悬于Dulbecco氏PBS(Sigma-Aldrich)中并且在第三乳房脂肪垫附近皮下注射 5×10^6 个细胞。使肿瘤生长至 150mm^3 的平均大小,然后开始治疗。治疗可由在不同给药剂量下的重复的口服强饲组成。在研究过程中监测肿瘤生长和动物健康。肿瘤生长表示为平均肿瘤体积(mm^3)。将动物安乐死并且切除肿瘤,用于使用免疫组织化学或者使用肿瘤裂解物定量靶(磷酸化VEGFR3)的原位抑制来进行组织学检验,包括肿瘤内淋巴管和血管的发育以及靶衔接(磷酸化VEGFR3)。