



(10) 申请公布号 CN 118302162 A

(43) 申请公布日 2024.07.05

(21) 申请号 202280077694.1

(22) 申请日 2022.11.22

(30) 优先权数据

63/282,878 2021.11.24 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.05.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/080348 2022.11.22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/097227 EN 2023.06.01

(71) 申请人 默沙东有限责任公司

地址 美国新泽西州

申请人 阿斯泰科医疗有限公司

大鹏药品工业株式会社

(72) 发明人 D·L·斯洛曼 S·加蒂亚卡

S·卡瓦穆拉 T·亨德森

A·J·胡佛 U·斯瓦米纳坦

I·巴拉斯坦 T·H·格拉哈姆

韩永新 P·施奥夫 小早川优

大岛豪 宇野贵夫

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 陈文平

(51) Int.Cl.

A61K 31/33 (2006.01)

A61K 31/395 (2006.01)

A61K 31/495 (2006.01)

A61K 31/505 (2006.01)

权利要求书6页 说明书106页

序列表(电子公布)

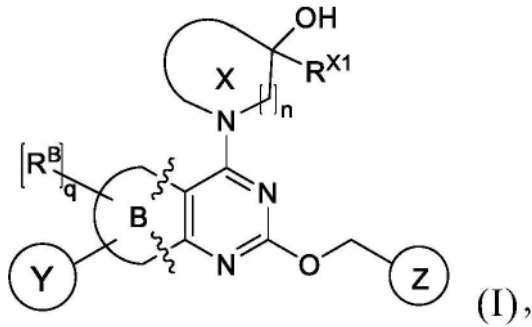
(54) 发明名称

KRAS突变蛋白的小分子抑制剂

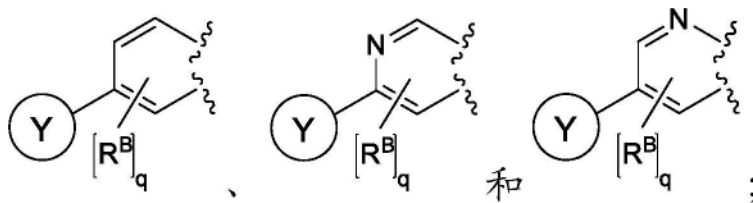
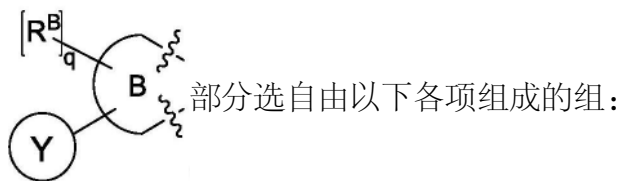
(57) 摘要

式(I)的化合物或其药学上可接受的盐可以抑制Kirsten大鼠肉瘤(KRAS)蛋白的G12C、G12D和/或G12V突变体,并有望用作例如用于治疗癌症的治疗剂。本公开还提供包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。本公开还涉及将所述化合物或其药学上可接受的盐用于癌症的治疗和预防的方法以及制备用于此目的的药物。

1. 一种式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐



其中



$R^B$ 的每次出现独立地选自由以下各项组成的组: 卤素、氰基、 $C_1$ - $C_3$ 烷基、 $C_1$ - $C_3$ 氟烷基、环丙基和 $C_1$ - $C_4$ 氰基烷基;

环X选自由以下各项组成的组:

(i) 5-至9-元单环-或稠合双环-或桥联双环-杂环烷基, 其中所述杂环烷基是饱和的并且除了示出的N原子之外, 包含0至2个选自由以下各项组成的组的杂原子基团: N、S、S(O)、S(O)<sub>2</sub>和O; 和

(ii) 8-至10-元螺杂环烷基, 其中所述螺杂环烷基是饱和的并且除了示出的N原子之外, 包含0至2个选自由以下各项组成的组的杂原子基团: N、S、S(O)、S(O)<sub>2</sub>和O;

其中环X未被取代或独立地被1至3个选自由以下各项组成的组的 $R^{X2}$ 取代基取代: 氟、氰基、羟基、 $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_1$ - $C_6$ 氟烷基、 $C_1$ - $C_3$ 羟基烷基、-N(H)C(O)杂芳基, 其中杂芳基任选地被 $C_1$ - $C_3$ 烷基取代;

$R^{X1}$ 选自由以下各项组成的组: H、 $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_1$ - $C_6$ 氟烷基、 $C_1$ - $C_6$ 羟基烷基和 $C_1$ - $C_4$ 氰基烷基;

环Y选自由以下各项组成的组:

(i) 8-至10-元双环体系, 其中所述8-至10-元双环体系是部分不饱和的或芳香族的, 并且其中所述8-至10-元双环体系包含0至3个选自由以下各项组成的组的杂原子: N、S和O;

(ii) 13-至14-元三环体系, 其中所述13-至14-元三环体系是部分不饱和的或芳香族的, 并且其中所述13-至14-元三环体系包含0至3个选自由以下各项组成的组的杂原子: N、S和O; 和

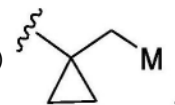
(iii) 苯基; 和

(iv) 包含1至2个N原子的6-元杂芳基环;

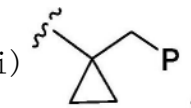
其中环Y未被取代或独立地被1至4个选自由以下各项组成的组的R<sup>Y</sup>取代基取代:卤素、羟基、氨基、氧代、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>氟烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>炔基、C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>氟炔基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>氟烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>氰基烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环氟烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷氧基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环氟烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>氟烯基和氰基;

环Z选自由以下各项组成的组:

(i) 5-至8-元单环-或双环-杂环烷基,其中所述杂环烷基是饱和的并且包含1至3个独立地选自由以下各项组成的组的杂原子:N、S和O,并且其中所述杂环烷基未被取代或被1-2个选自由以下各项组成的组的R<sup>ZHC</sup>取代基取代:卤素、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>羟基烷基、-C(H)(OH)CF<sub>2</sub>H、-O-CH<sub>2</sub>-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>氟烷基)和亚甲基(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)氨基甲酸酯;

(ii)  其中M选自由以下各项组成的组:羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>二烷基氨基和C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基

氨基,并且其中所述环丙基未被取代或独立地被至多2个卤素基团取代;

(iii)  其中P是5-至8-元单环-或稠合双环-或桥联双环-杂环烷基,其中所

述杂环烷基是饱和的并且包含1至2个选自由以下各项组成的组的杂原子:N和O,其中所述杂环烷基未被取代或被1个选自由以下各项组成的组的R<sup>P</sup>取代基取代:卤素、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>羟基烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>氰基烷基、氨基甲酰基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷氧基、氰基和-NHC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基,并且其中所述环丙基未被取代或独立地被至多2个卤素基团取代;和

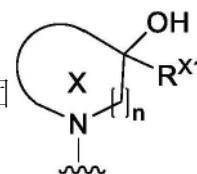
(iv) 4-至8-元单环-或双环-环烷基,其中所述环烷基是饱和的并且其中所述环烷基未被取代或独立地被1-3个选自由以下各项组成的组的R<sup>ZC</sup>取代基取代:卤素、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>氟烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>羟基烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>羟基氟烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>环氟烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>羟基环烷基和C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>羟基环氟烷基;

下标n为1或2;以及

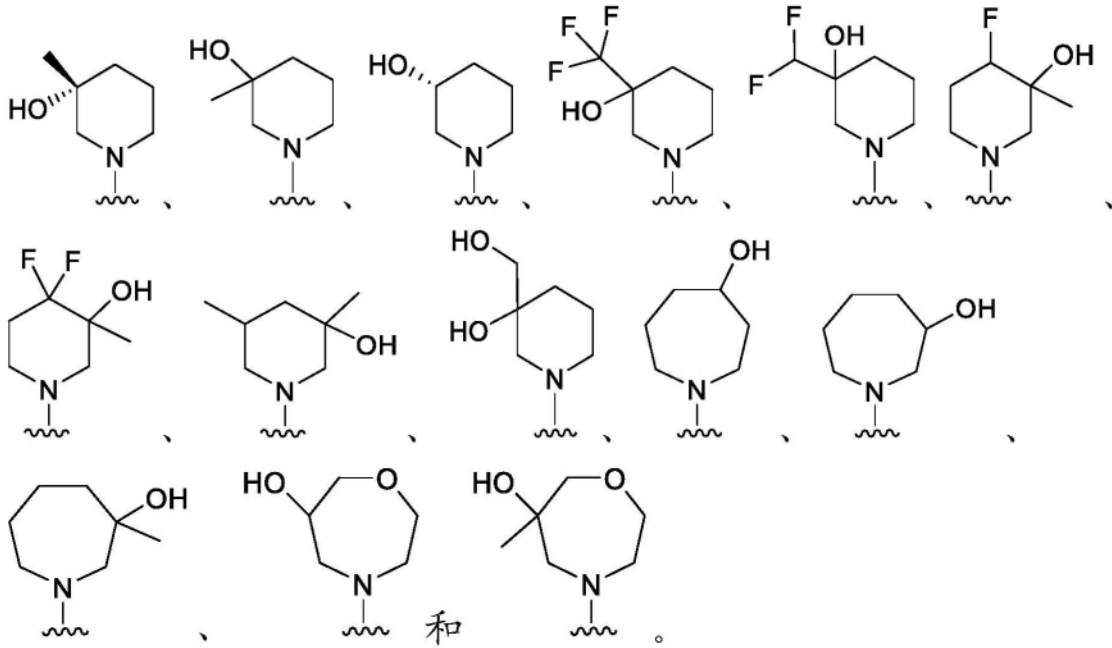
下标q为0、1或2。

2. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中环X是5-至8-元单环杂环烷基,其中所述杂环烷基是饱和的并且除了示出的N原子之外,包含0至1个选自由以下各项组成的组的杂原子:N、S和O。

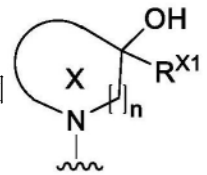
3. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述基团



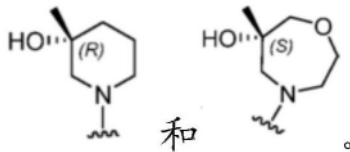
选自由以下各项组成的组:



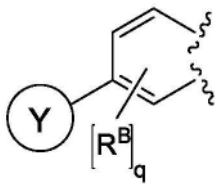
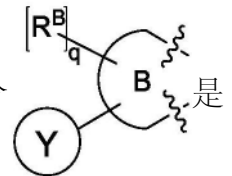
4. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述基团



选自自由以下各项组成的组:



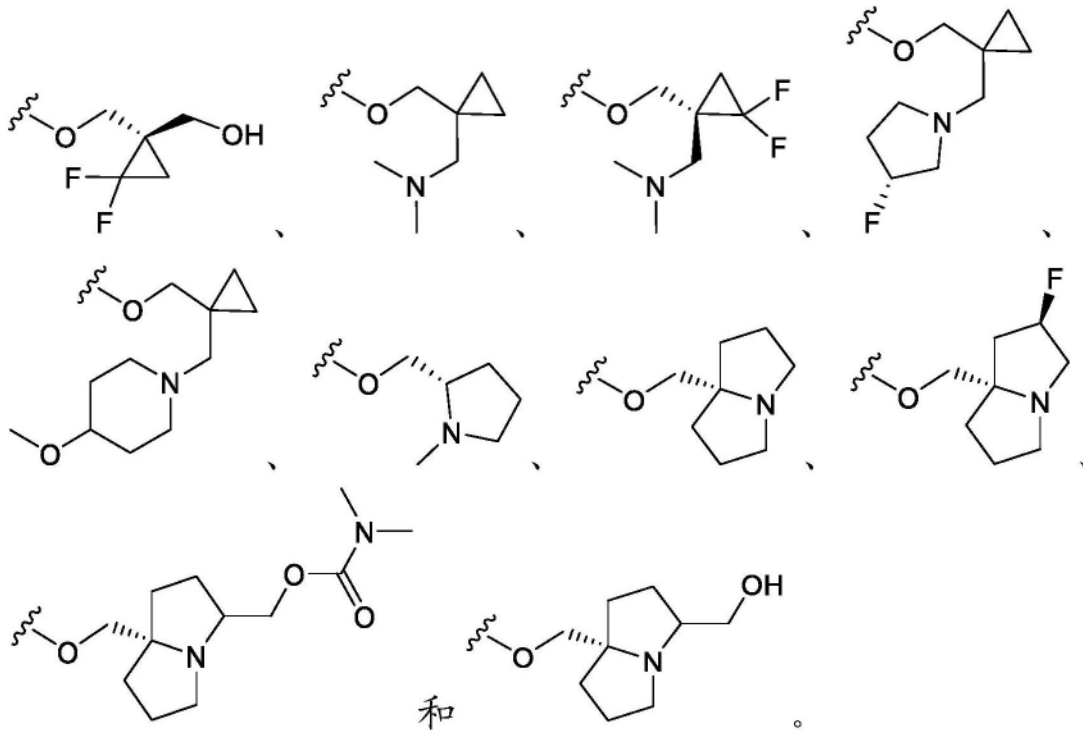
5. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述部分



6. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Y选自自由以下各项组成的组:萘基、苯基、吡啶基、苯并噁唑基、苯并吡唑基、苯并噻唑基、吡啶并吡唑基和苯并噻吩基。

7. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Y选自自由以下各项组成的组:





10. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其选自实施例1-49。

11. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,和药学上可接受的载体。

12. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、额外的抗癌剂和药学上可接受的载体。

13. 一种抑制KRAS-G12D蛋白的方法,其包括使KRAS-G12D蛋白与根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐接触,以抑制所述KRAS-G12D蛋白的活性。

14. 一种抑制KRAS-G12C蛋白的方法,其包括使KRAS-G12C蛋白与根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐接触,以抑制所述KRAS-G12C蛋白的活性。

15. 一种抑制KRAS-G12V蛋白的方法,其包括使KRAS-G12V蛋白与根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐接触,以抑制所述KRAS-G12V蛋白的活性。

16. 一种治疗癌症的方法,其包括向需要这种治疗的受试者施用治疗有效量的根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐。

17. 根据权利要求16所述的方法,其进一步包括向所述受试者施用额外的活性剂。

18. 根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗,或根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在治疗中的用途。

19. 根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗癌症,或根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐用于治疗癌症中的用途。

20. 根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其用于制备治疗癌症的药物,或根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗癌症的药物中的用途。

21. 根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及额外的抗癌

剂,其用于治疗癌症,或根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及额外的抗癌剂用于治疗癌症的用途。

22. 根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及额外的抗癌剂,其用于制备治疗癌症的药物,或根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及额外的抗癌剂在制备治疗癌症的药物中的用途。

23. 一种包含根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物,其用于癌症的治疗,或包含根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物用于治疗癌症的用途。

24. 一种包含根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及额外的抗癌剂的药物组合物,其用于癌症的治疗,或包含根据权利要求1-10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐以及额外的抗癌剂的药物组合物用于治疗癌症的用途。

## KRAS突变蛋白的小分子抑制剂

### [0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2021年11月24日提交的美国临时专利申请第63/282,878号的优先权,其内容通过引用整体并入本文。

### 技术领域

[0003] 本公开涉及KRAS的小分子抑制剂,其抑制例如Kirsten大鼠肉瘤(KRAS)蛋白的G12C突变体、G12D突变体和G12V突变体,以及涉及包含式(I)化合物的药物组合物,以及使用该化合物治疗疾病(包括癌症)的方法。

### 背景技术

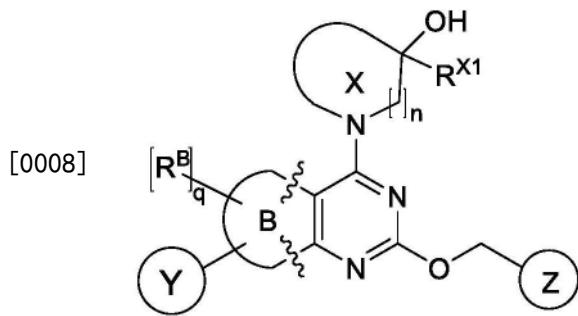
[0004] RAS是一种小单体GTP-结合蛋白,其具有约21kDa的分子量,作为分子开关起作用。RAS可以通过与鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)的蛋白质(例如,SOS1)结合来结合GTP,这迫使释放结合的核苷酸,并释放GDP。当RAS与GTP结合时,它被激活(开启)并募集并激活对于其他受体信号的传递所必需的蛋白质,例如c-Raf和PI 3-激酶。RAS还具有酶活性,它可以切割GTP核苷酸的末端磷酸并将核苷酸转化为GDP。转化速率通常较慢,但可以通过GTPase-激活蛋白(GAP)类蛋白(例如RasGAP)而显著加速。当GTP转化为GDP时,RAS失活(关闭)。

[0005] 通常已知的RAS亚家族成员包括HRAS、KRAS和NRAS。其中,在许多恶性肿瘤中观察到了KRAS的突变:在86%的胰腺导管腺癌(PDAC)、41%的结直肠癌(CRC)和32%的肺腺癌(LUAD;非小细胞肺癌(NSCLC)的一种亚型)中。这些突变通常发生在KRAS12位的甘氨酸残基("G12")上;G12的突变分别占总KRAS突变的91%(PDAC)、68%(CRC)和85%(LUAD)。每种组织类型中G12氨基酸取代的分布各不相同。LUAD中最普遍的突变是突变为半胱氨酸("G12C")(46%),而PDAC(45%)和CRC(45%)中的主要突变是突变为天冬氨酸("G12D")。观察到在所有PDAC(35%)、CRC(30%)和LUAD(23%)的G12突变中,有相当一部分是G12突变为缬氨酸("G12V")(Nature Reviews Drug Discovery,19,533-552,2020)。

[0006] 开发KRAS-G12C抑制剂的积极努力正在进行中。已经报道了几种专注于半胱氨酸残基的共价抑制剂,其中一些已经进行了临床研究,例如AMG510(NCT03600883)、MRTX849(NCT03785249)和JNJ-74699157(NCT04006301)。然而,KRAS-G12C突变仅占有所有KRAS突变的一小部分,并且主要在LUAD中被发现。为了有效抑制其他常见的KRAS突变蛋白(例如KRAS-G12D和KRAS-G12V),需要不同的方法,因为这些突变体在活性位点缺乏反应性的半胱氨酸(Nature Reviews Drug Discovery,19,533-552,2020)。

### 发明内容

[0007] 本公开提供了调节突变型KRAS、HRAS和/或NRAS蛋白并且可能是用于治疗癌症的有价值的药用活性化合物的小分子抑制剂。在某些实施方案中,公开的化合物选择性抑制KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V蛋白。式(I)的化合物:

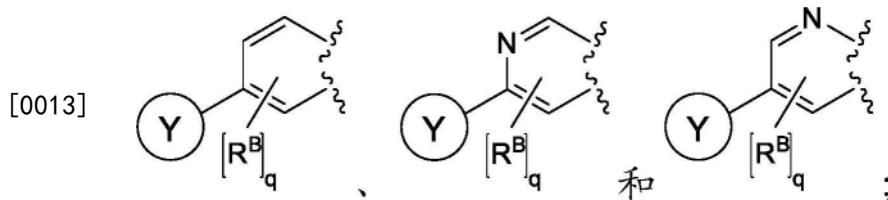


[0009] 及其药学上可接受的盐,可以调节KRAS、HRAS和/或NRAS的活性,从而影响调节与致癌病状相关的细胞生长、分化和增殖的信号通路。在特定实施方案中,式(I)的化合物可以抑制KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V蛋白。本公开还提供了制备式(I)化合物的方法、使用这种化合物治疗致癌病状的方法以及包含式(I)化合物的药物组合物。

### 具体实施方式

[0010] 公开的化合物

[0011] 在一个实施方案中,本公开提供了一种具有结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,如上所示,其中:



[0014]  $R^B$ 的每次出现独立地选自由以下各项组成的组:卤素、氰基、 $C_1$ - $C_3$ 烷基、 $C_1$ - $C_3$ 氟烷基、环丙基和 $C_1$ - $C_4$ 氰基烷基;

[0015] 环X选自由以下各项组成的组:

[0016] (i) 5-至9-元单环-或稠合双环-或桥联双环-杂环烷基,其中所述杂环烷基是饱和的并且除了示出的N原子之外,包含0至2个选自由以下各项组成的组的杂原子基团:N、S、S(O)、S(O)<sub>2</sub>和O;和

[0017] (ii) 8-至10-元螺杂环烷基,其中所述螺杂环烷基是饱和的并且除了示出的N原子之外,包含0至2个选自由以下各项组成的组的杂原子基团:N、S、S(O)、S(O)<sub>2</sub>和O;

[0018] 其中环X未被取代或独立地被1至3个选自由以下各项组成的组的 $R^{X2}$ 取代基取代:氟、氰基、羟基、 $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_1$ - $C_6$ 氟烷基、 $C_1$ - $C_3$ 羟基烷基、-N(H)C(O)杂芳基,其中杂芳基任选地被 $C_1$ - $C_3$ 烷基取代;

[0019]  $R^{X1}$ 选自由以下各项组成的组:H、 $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_1$ - $C_6$ 氟烷基、 $C_1$ - $C_6$ 羟基烷基和 $C_1$ - $C_4$ 氰基烷基;

[0020] 环Y选自由以下各项组成的组:

[0021] (i) 8-至10-元双环体系,其中所述8-至10-元双环体系是部分不饱和的或芳香族的,并且其中所述8-至10-元双环体系包含0至3个选自由以下各项组成的组的杂原子:N、S和O;

[0022] (ii) 13-至14-元三环体系,其中所述13-至14-元三环体系是部分不饱和的或芳香族的,并且其中所述13-至14-元三环体系包含0至3个选自由以下各项组成的组的杂原子:N、S和O;和

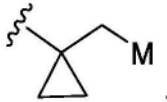
[0023] (iii) 苯基;和

[0024] (iv) 包含1至2个N原子的6-元杂芳基环;

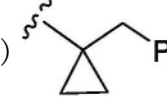
[0025] 其中环Y未被取代或独立地被1至4个选自由以下各项组成的组的 $R^Y$ 取代基取代:卤素、羟基、氨基、氧代、 $C_1$ - $C_3$ 烷基、 $C_1$ - $C_3$ 烷氧基、 $C_1$ - $C_3$ 氟烷氧基、 $C_2$ - $C_3$ 炔基、 $C_2$ - $C_3$ 氟炔基、 $C_1$ - $C_3$ 氟烷基、 $C_1$ - $C_3$ 氰基烷基、 $C_3$ - $C_6$ 环烷基、 $C_3$ - $C_6$ 环氟烷基、 $C_3$ - $C_6$ 环烷氧基、 $C_3$ - $C_6$ 环氟烷氧基、 $C_2$ - $C_3$ 烯基、 $C_2$ - $C_3$ 氟烯基和氰基;

[0026] 环Z选自由以下各项组成的组:

[0027] (i) 5-至8-元单环-或双环-杂环烷基,其中所述杂环烷基是饱和的并且包含1至3个独立地选自由以下各项组成的组的杂原子:N、S和O,并且其中所述杂环烷基未被取代或被1-2个选自由以下各项组成的组的 $R^{ZHC}$ 取代基取代:卤素、羟基、 $C_1$ - $C_3$ 烷基、 $C_1$ - $C_3$ 羟基烷基、-C(H)(OH)CF<sub>2</sub>H、-O-CH<sub>2</sub>-O-( $C_1$ - $C_3$ 氟烷基)和亚甲基( $C_1$ - $C_3$ 烷基)( $C_1$ - $C_3$ 烷基)氨基甲酸酯;

[0028] (ii)  其中M选自由以下各项组成的组:羟基、 $C_1$ - $C_3$ 二烷基氨基和 $C_1$ - $C_4$

烷基氨基,并且其中所述环丙基未被取代或独立地被至多2个卤素基团取代;

[0029] (iii)  其中P是5-至8-元单环-或稠合双环-或桥联双环-杂环烷基,其

中所述杂环烷基是饱和的并且包含1至2个选自由以下各项组成的组的杂原子:N和O,其中所述杂环烷基未被取代或被1个选自由以下各项组成的组的 $R^P$ 取代基取代:卤素、羟基、 $C_1$ - $C_3$ 羟基烷基、 $C_1$ - $C_3$ 氰基烷基、氨基甲酰基、 $C_1$ - $C_3$ 烷氧基、氰基和-NHC(O) $C_1$ - $C_3$ 烷基,并且其中所述环丙基未被取代或独立地被至多2个卤素基团取代;和

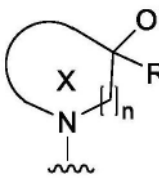
[0030] (iv) 4-至8-元单环-或双环-环烷基,其中所述环烷基是饱和的并且其中所述环烷基未被取代或独立地被1-3个选自由以下各项组成的组的 $R^{ZC}$ 取代基取代:卤素、羟基、 $C_1$ - $C_3$ 烷基、 $C_1$ - $C_3$ 氟烷基、 $C_1$ - $C_3$ 羟基烷基、 $C_1$ - $C_3$ 羟基氟烷基、 $C_3$ - $C_4$ 环烷基、 $C_3$ - $C_4$ 环氟烷基、 $C_3$ - $C_4$ 羟基环烷基和 $C_3$ - $C_4$ 羟基环氟烷基;

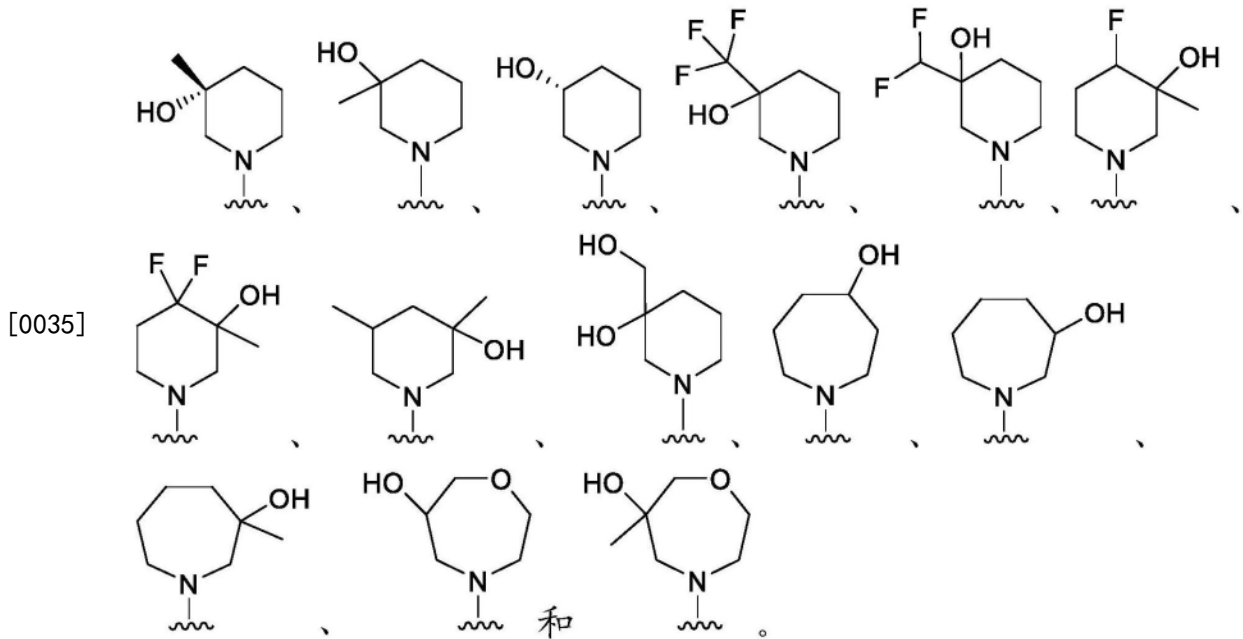
[0031] 下标n为1或2;以及

[0032] 下标q为0、1或2。

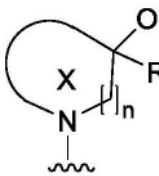
[0033] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中环X是5-至8-元单环杂环烷基,其中所述杂环烷基是饱和的并且除了示出的N原子之外,包含0至1个选自由以下各项组成的组的杂原子:N、S和O。

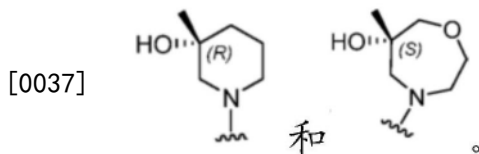
[0034] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其

中所述基团  选自由以下各项组成的组：

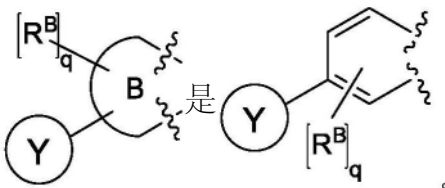


[0036] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐,其

中所述基团  选自由以下各项组成的组：



[0038] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐,其

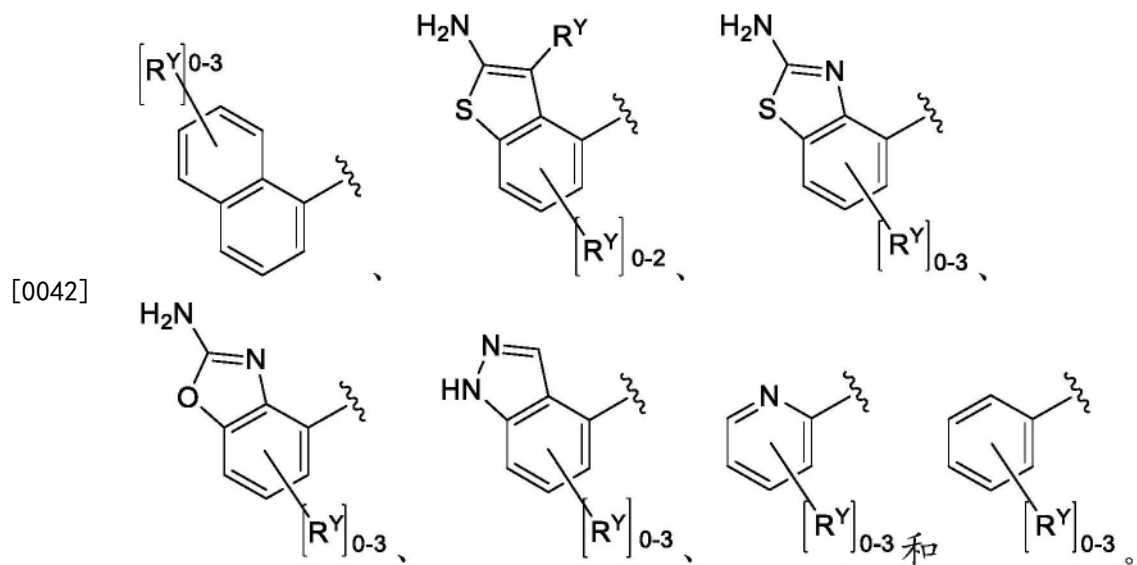
中所述部分  。

[0039] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Y选自由以下各项组成的组:萘基、苯基、吡啶基、苯并噁唑基、苯并吡唑基、苯并噻唑基、吡啶并吡唑基和苯并噻吩基。

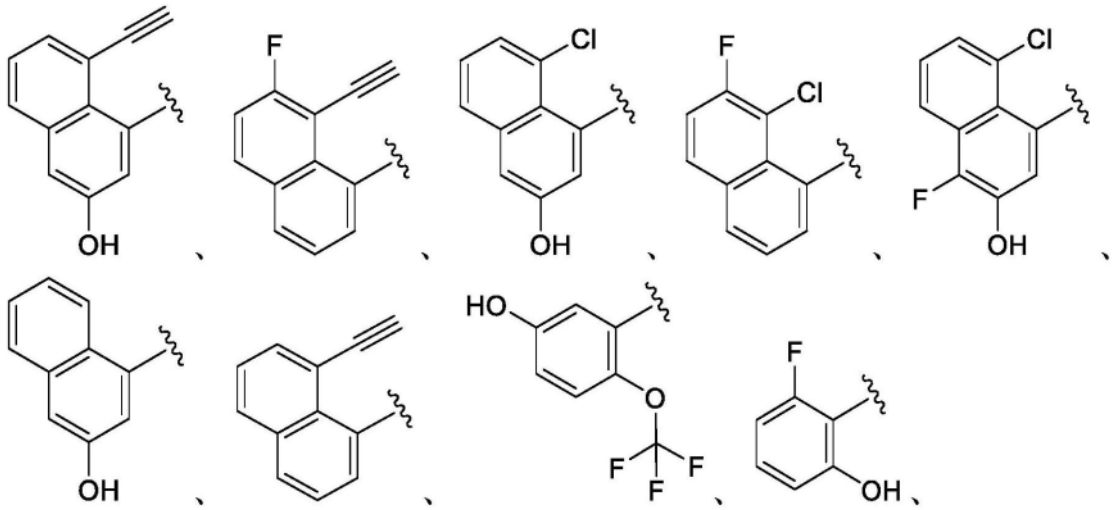
[0040] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Y选自由以下各项组成的组:萘基、苯基、吡啶基、苯并噁唑基、苯并吡唑基、苯并噻唑基。

[0041] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐,其

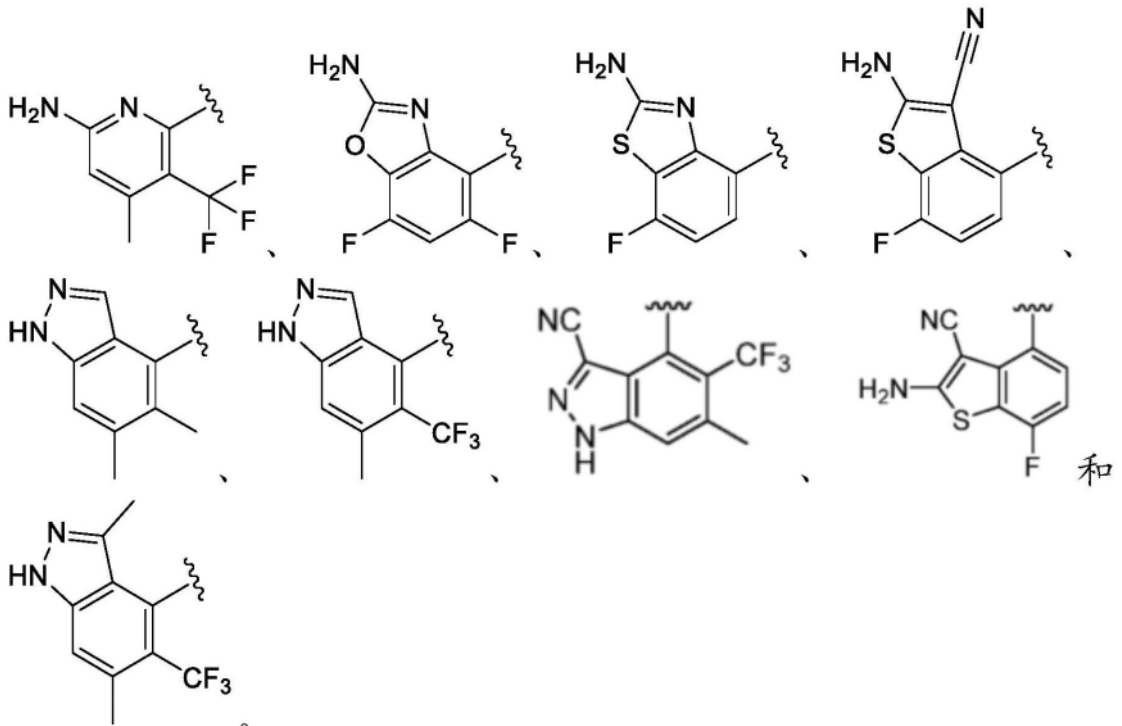
中环Y选自自由以下各项组成的组：



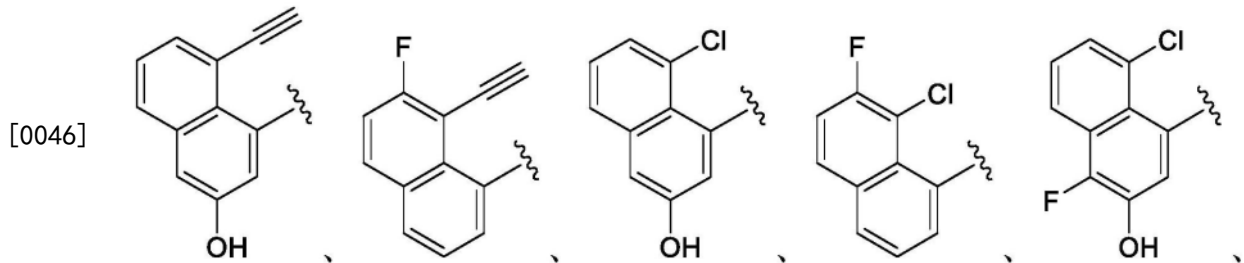
[0043] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Y选自自由以下各项组成的组:

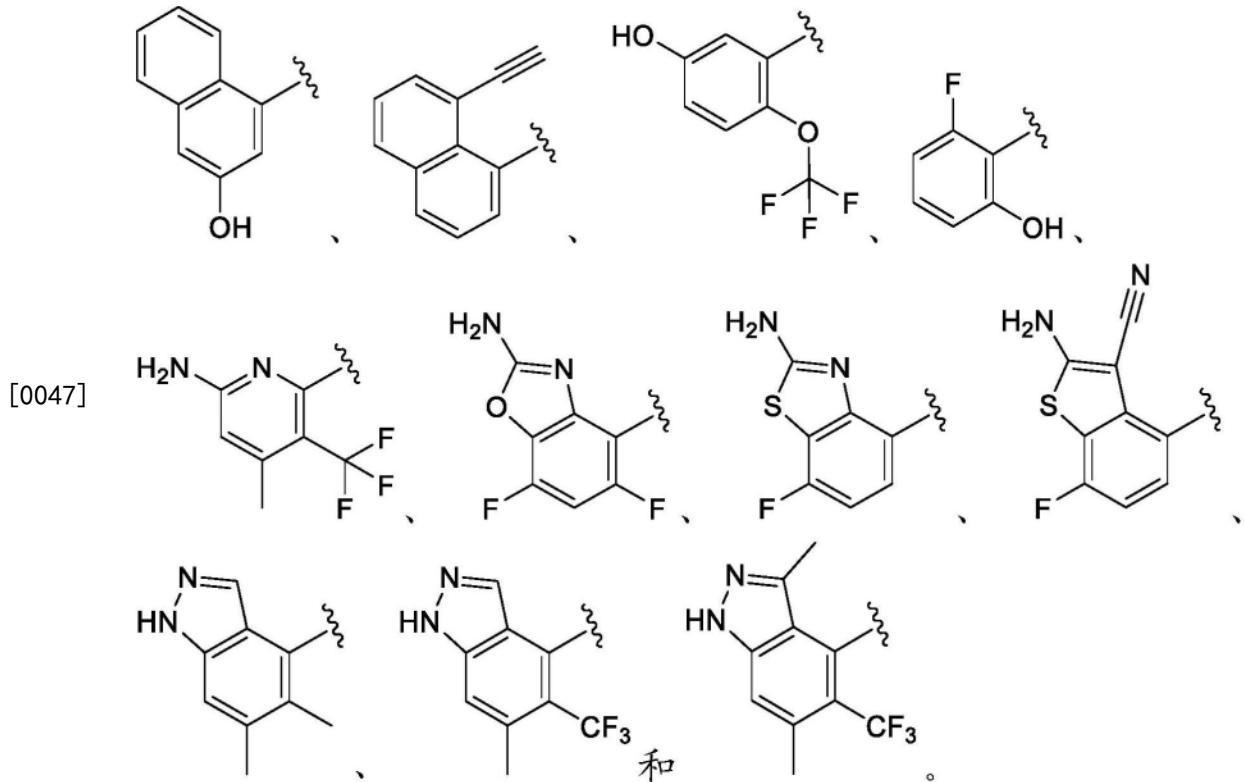


[0044]

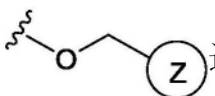


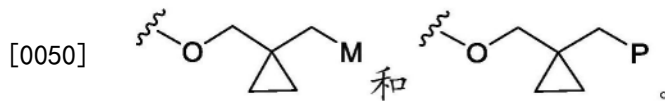
[0045] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Y选自由以下各项组成的组:

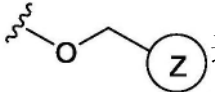


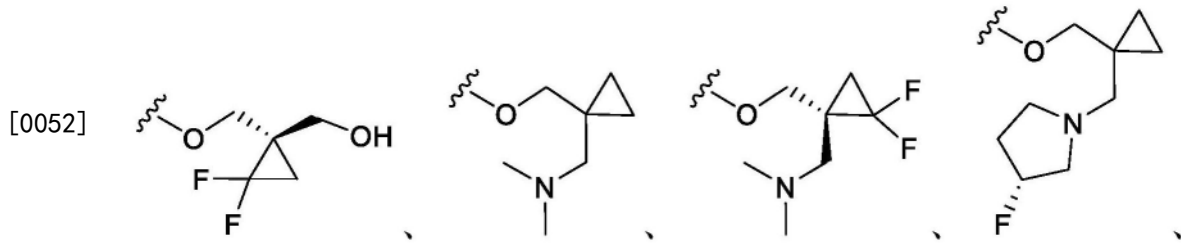


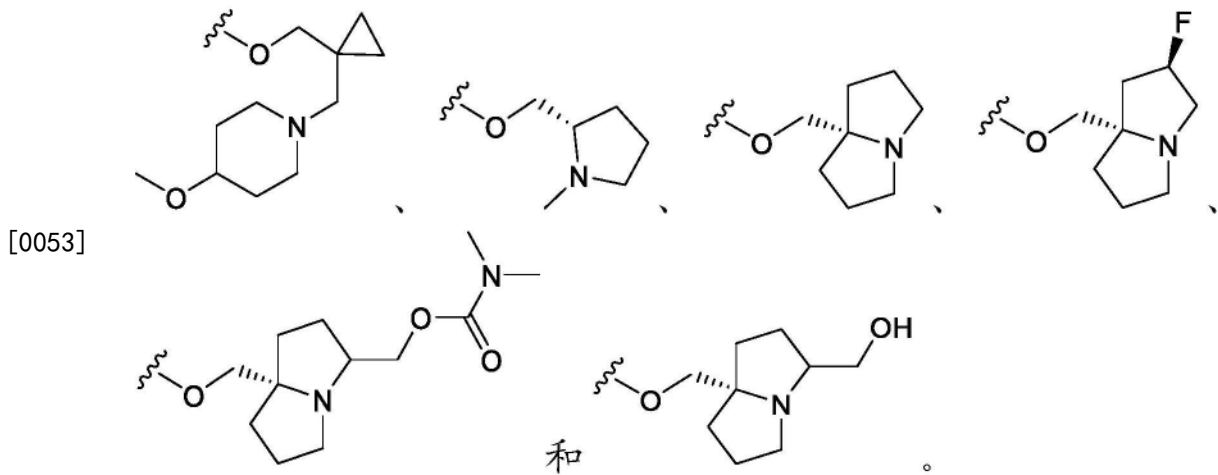
[0048] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Y未被取代或独立地被1至4个选自由以下各项组成的组的 $R^Y$ 取代基取代:卤素、羟基、氨基、氧代、 $C_1-C_3$ 烷基、 $C_1-C_3$ 烷氧基、 $C_1-C_3$ 氟烷氧基、 $C_2-C_3$ 炔基、 $C_2-C_3$ 氟炔基、 $C_1-C_3$ 氟烷基、 $C_1-C_3$ 氰基烷基和氰基。

[0049] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述基团  选自由以下各项组成的组:



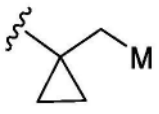
[0051] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述基团  选自由以下各项组成的组:

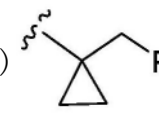




[0054] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Z选自由以下各项组成的组:

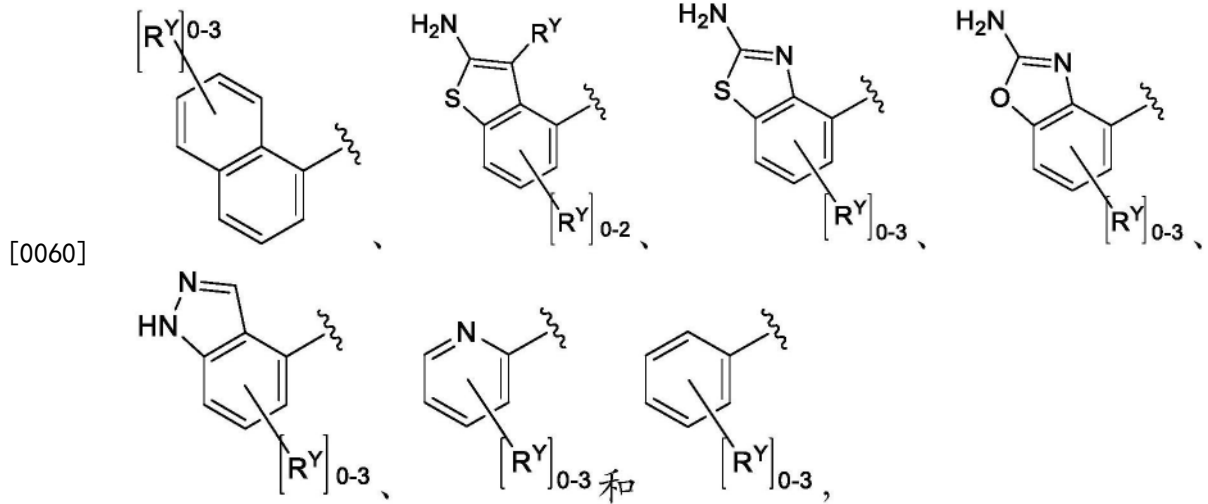
[0055] (i) 5-至8-元单环-或双环-杂环烷基,其中所述杂环烷基是饱和的并且包含1个氮杂原子并且其中所述杂环烷基未被取代或被1-2个选自由以下各项组成的组的 $R^{ZHC}$ 取代基取代:卤素、 $C_1$ - $C_3$ 烷基、 $C_1$ - $C_3$ 羟基烷基、 $-C(H)(OH)CF_2H$ 、 $-O-CH_2-O-$ ( $C_1$ - $C_3$ 氟烷基)和亚甲基( $C_1$ - $C_3$ 烷基)( $C_1$ - $C_3$ 烷基)氨基甲酸酯;

[0056] (ii)  其中M选自由以下各项组成的组:羟基、 $C_1$ - $C_3$ 二烷基氨基和 $C_1$ - $C_4$ 烷基氨基,并且其中所述环丙基未被取代或独立地被至多2个卤素基团取代;

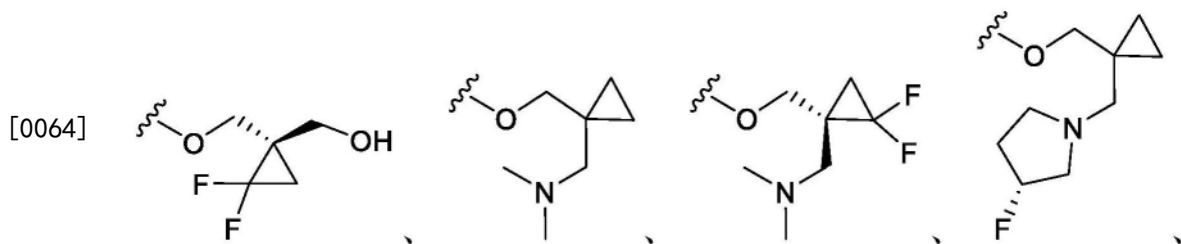
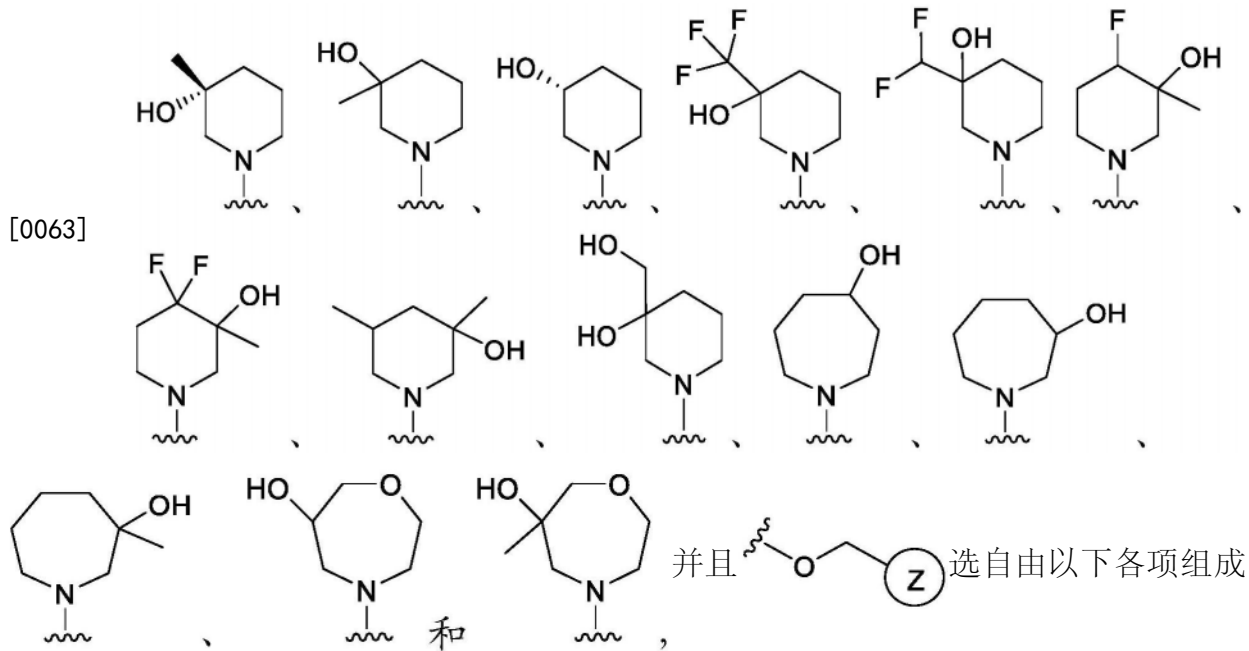
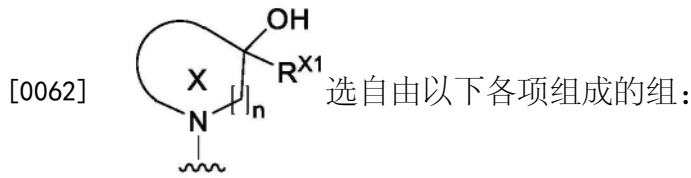
[0057] (iii)  其中P是5-至8-元单环-或稠合双环-或桥联双环-杂环烷基,其中所述杂环烷基是饱和的并且包含1至2个选自由以下各项组成的组的杂原子:N和O,其中所述杂环烷基未被取代或被1个选自由以下各项组成的组的 $R^P$ 取代基取代:卤素、羟基、 $C_1$ - $C_3$ 羟基烷基、 $C_1$ - $C_3$ 氰基烷基、氨基甲酰基、 $C_1$ - $C_3$ 烷氧基、氰基和 $-NHC(O)C_1$ - $C_3$ 烷基,并且其中所述环丙基未被取代或独立地被至多2个卤素基团取代。

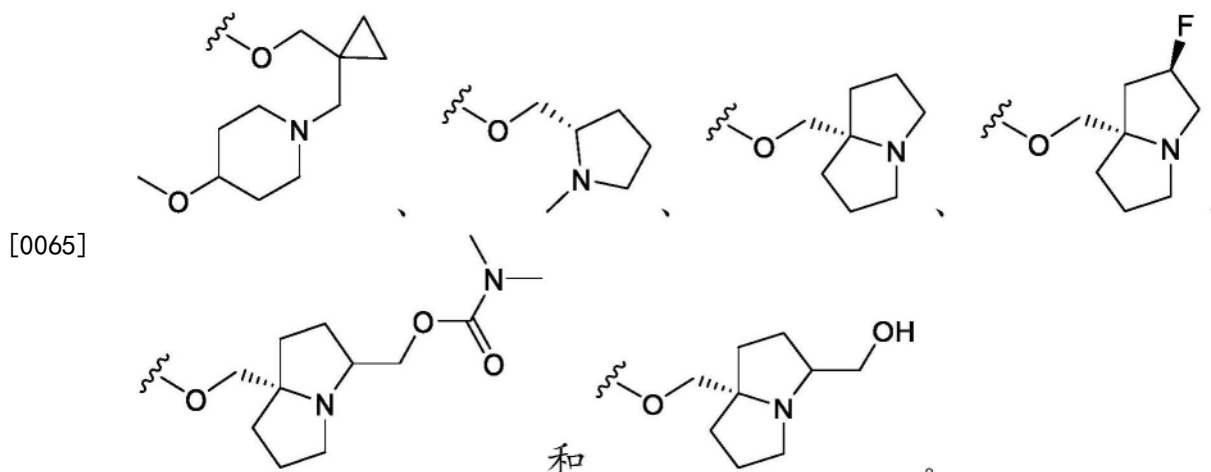
[0058] 在某些实施方案中,本公开提供了一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,其中

[0059] 环Y选自由以下各项组成的组:



[0061] 每个 $R^Y$ 独立地选自由以下各项组成的组:氟、氯、氨基、羟基、乙炔基、甲基、三氟甲基和氰基,





[0066] 在特定实施方案中,本公开提供了如下所列的实施例1-49中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐。

[0067] 本公开包括本文定义的化合物的药学上可接受的盐,其包括本文定义的所有结构式、实施方案和类别的药学上可接受的盐。

[0068] 定义

[0069] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术及科学术语具有与本公开所属领域技术人员所理解相同的含义。

[0070] 如在本公开通篇中所使用,“式(I)化合物”应理解为包括“式(I)化合物或其药学上可接受的盐”。同样,“式(I)化合物”、“本文公开的化合物”、“本文所述的化合物”、“本公开的化合物”等可互换使用,并且均包括化合物及其药学上可接受的盐。

[0071] “烯基”是指包含至少一个碳-碳双键(可以是直链或支链)的脂肪族烃基。非限制性示例包括乙烯基、丙烯基和丁烯基。

[0072] “烷基”以及具有前缀“ak1”的其它基团(例如烷氧基及其类似基团)表示可为含有指定数目的碳原子的直链或支链或其组合的碳链。例如, $C_1$ - $C_6$ 烷基指具有1个(例如,甲基)至6个(例如,己基)碳原子的烷基。在特定实施方案中,直链烷基具有1至6个碳原子且支链烷基具有3至7个碳原子。烷基的实施例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基及叔丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基及其类似基团。

[0073] “烷氧基”及“烷基-O-”可互换使用且是指连接至氧的烷基。

[0074] “炔基”是指包含至少一个碳-碳三键(可以是直链或支链)的脂肪族烃基。非限制性示例包括乙炔基、丙炔基和丁炔基。

[0075] “芳基”是指包含5-14个碳原子的单环、双环或三环碳环芳香环或环系,其中至少一个环是芳香族的。非限制性示例包括苯基和萘基。

[0076] “氨基烷基”是指-烷基- $NH_2$ 基团,其中所述烷基如前文所定义。通过烷基组分的一个碳原子与母体部分键合。适合的氨基烷基基团的非限制性示例包括氨基甲基和氨基乙基。“烷基氨基”指-NH-烷基基团,其中所述烷基如前文所定义。通过氨基组分的一个氮原子与母体部分键合。

[0077] “双环环系”是指两个接合环。“三环环系”是指三个接合环。环可为稠合的,即共用两个相邻原子,或“螺环”,即仅共用单个原子,或“桥接的”,即共用三个或更多个原子,其中两个桥头原子通过包含至少一个原子的桥连接。同样,双环或三环环系可以是芳环、杂环、环

烷基环等。

[0078] “氨基甲酰基”是指 $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{O})-$ 基团,其为氨基甲酸失去 $-\text{OH}$ 基团形成的单价基团。通过羰基组分的碳原子与母体部分键合。

[0079] “氰基烷基”是指 $-\text{烷基}-\text{CN}$ 基团,其中所述烷基如前文所定义。通过烷基组分的一个碳原子与母体部分键合。适合的氰基烷基基团的非限制性示例包括氰基甲基和3-氰基丙基。

[0080] “环烷基”是指饱和环状烃基。在特定实施方案中,环烷基具有3至12个碳原子,形成1至3个碳环,其中具有2-3个环的环系可以是稠合的。环烷基的示例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、金刚烷基及其类似基团。

[0081] “环氟烷基”是指单-氟或多-氟-取代的饱和环状烃基,例如双氟-取代的环戊基。“环烷氧基”是指通过氧与母体部分连接的环烷基。“环氟烷氧基”是指通过氧与母体部分连接的环氟烷基。

[0082] “二烷基氨基”是指如前所述的烷基氨基,其中所述氨基原子被两个烷基取代基取代,取代可以相同或者不同,例如 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 或 $-\text{N}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ 。

[0083] “氟烷基”包括经单取代的以及经多个氟取代的烷基,直至经全氟取代的烷基。例如,包括氟甲基、1,1-二氟乙基、三氟甲基或1,1,1,2,2-五氟丁基。“氟烯基”包括经单取代的以及经多个氟取代的烯基基团。“氟炔基”包括经单取代的以及经多个氟取代的炔基基团。“氟烷氧基”包括经单取代的以及经多个氟取代的如前所述的“烷氧基”基团。

[0084] 除非另有说明,否则“卤素”或“卤基”包括氟(氟基)、氯(氯基)、溴(溴基)及碘(碘基)。在一个实施方案中,卤基为氟基 $(-\text{F})$ 或氯基 $(-\text{Cl})$ 。

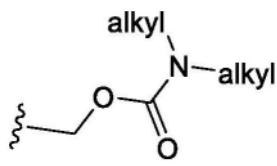
[0085] “杂芳基”是指芳香单环、双环和三环环结构,其中环中的一个或多个原子(杂原子)是除碳以外的元素。杂原子通常是O、S或N原子。杂芳基基团的示例包括吡啶基、噁二唑啉基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、哒嗪基、异噁唑基、噻唑基、噁唑基、吡啶基、苯并噁唑基、苯并噻唑基和咪唑基。

[0086] “杂环烷基”或“杂环环”或“杂环”是指包含约3至约10个环原子,优选约5至约10个环原子的非芳香单环、双环、三环或桥环体系,其中环体系中的一个或多个原子是除碳以外的元素,例如氮、氧、磷或硫,是单独或组合的。在环体系中不存在相邻的氧和/或硫原子。在某些实施方案中,杂环烷基包含约5至约6个环原子。在杂环基的根名之前的前缀氮杂、氧杂、磷杂或硫杂表示分别至少存在一个氮、氧、磷或硫原子作为环原子。在某些实施方案中,杂环烷基的氮或硫原子可任选地氧化为相应的N-氧化物、S-氧化物或S,S-二氧化物。例如,在某些实施方案中,杂环烷基可包含N、S、S(O)、S(O)<sub>2</sub>和/或O(在本文中被称为“杂原子基团”)。合适的单环杂环基环的非限制性示例包括哌啶基、吡咯烷基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、噻唑烷基、1,4-二噁烷基、四氢呋喃基、四氢硫苯基、磷杂环己烷、膦烷、1-氧代膦-1-鎓等此类化合物。“螺杂环烷基”是指稠合环体系,其中所述环仅共用一个原子,并且至少一个环是杂环烷基。

[0087] “羟烷基”是指 $\text{HO}-\text{烷基}-$ 基团,其中烷基如前所定义。通过烷基的碳原子与母体部分键合。优选的羟烷基包含低级烷基。合适的羟烷基基团的非限制性示例包括羟甲基和2-羟乙基。“羟基氟烷基”是指 $\text{HO}-\text{氟烷基}-$ 基团,其中氟烷基如前所定义。“羟基环烷基”是指 $\text{HO}-\text{环烷基}-$ 基团,其中环烷基如前所定义。“羟基环氟烷基”是指 $\text{HO}-\text{环氟烷基}-$ 基团,其中

环氟烷基如前所定义。

[0088] “亚甲基(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)氨基甲酸酯”是指具有如下结构



换句话说,所述氨基甲酸酯基团具有与氮原子相连的如前所定义的烷

基基团,其可以是相同的或者不同的。

[0089] 当任何变量(例如,R<sup>Y</sup>)在任何组分或式(I)或本文中指其他通用式中出现一次以上时,其在每次出现时的定义独立于其在其他每次出现时的定义。取代基及/或变量的组合仅在此类组合产生稳定化合物时为允许的。在选择本公开化合物时,本领域普通技术人员将认识到,遵照众所周知的化学结构连接性及稳定性原理可选择多个取代基,例如,R<sup>Y</sup>。除非明确规定为相反的,否则允许在环(例如芳基、杂芳基环或饱和杂环烷基环)中的任何原子上经指定取代基取代,其限制条件为此类环取代为化学上允许的且产生稳定化合物。“稳定”化合物为可制备及分离的化合物且其结构及特性保持或可基本上保持不变持续足以允许将化合物用于本文所描述的目的的时间段(例如向个体治疗或预防性施用)。

[0090] 应认为术语“经取代”包括所指定取代基的多种取代度。在公开或要求保护多种取代基部分时,经取代的化合物可独立地经一个或多个所公开或所要求保护的取代基部分单取代或多取代。独立取代是指(两个或更多个)取代基可相同或不同。

[0091] 除非另外明确描绘或描述,否则在变量所连接的环中的任何可用碳原子上允许具有“浮动”键的结构式中所描绘的变量,例如R<sup>X</sup>。当式(I)或其任何实施方案中的部分经指定为“任选地经取代”时,表示式(I)或其实施方案涵盖在所述部分上含有指定取代基(多个取代基)的化合物及在所述部分上不含指定取代基(或多个取代基)的化合物。

[0092] 如本文中所使用的是指与化合物的其余部分的连接点。

[0093] 式(I)化合物可含有一个或多个不对称中心且可因此以外消旋体及外消旋混合物、单一对映异构体、非对映异构混合物及个别非对映异构体形式存在。式(I)化合物中所存在的不对称性中心可全部彼此独立地具有S构型或R构型。式(I)化合物包括所有可能的对映异构体及非对映异构体以及两种或更多种立体异构体的所有比例的混合物,例如对映异构体及/或非对映异构体的混合物。因此,对映异构体为本公开的主题,其呈左旋及右旋对映体的对映异构纯形式、外消旋体形式及两种对映异构体的所有比例的混合物形式。在顺/反异构的情形中,本公开包括顺式及反式两者以及此类形式的所有比例的混合物。本公开旨在涵盖式(I)化合物的所有此类立体异构形式。在结构式或化学名称指定立体中心处的特定构型的情况下,期望由该指定立体中心产生的化合物的对映异构体或立体异构体。在式(I)化合物的结构式是指手性中心处的直线的情况下,所述结构式包括与手性中心相关的S及R立体异构体及其混合物。

[0094] 式(I)化合物可通过例如自适合的溶剂(例如甲醇或乙酸乙酯或其混合物)分步结晶或通过手性色谱法使用光学活性固定相分离成其个别非对映异构体。绝对立体化学可通过(若必要)用含有已知绝对构型的不对称中心的试剂衍生的结晶产物或结晶中间体的X-射线晶体学来测定。还可使用振动圆二色性(VCD)测定绝对立体化学。替代地,式(I)化合物的任何立体异构体或异构体可使用已知绝对构型的光学纯起始物质或试剂,通过立体特异

性合成获得。

[0095] 必要时,可分离化合物的外消旋混合物以便分离个别对映异构体。分离可通过本领域中众所周知的方法进行,例如使化合物的外消旋混合物与对映异构性纯化合物偶合以形成非对映异构混合物,随后通过例如分步结晶或色谱法的标准方法分离个别非对映异构体。偶合反应通常使用对映异构纯的酸或碱形成盐。非对映异构体衍生物然后可通过使所添加的手性残基裂解转化为纯对映异构体。化合物的外消旋混合物还可直接通过色谱法利用手性固定相分离,所述方法在本领域中已众所周知。

[0096] 含有烯烃双键的式(I)化合物,除非另有说明,否则其旨在包括E及Z几何异构体两者。

[0097] 本文所描述的化合物中的一些可以互变异构体的形式存在,其具有不同的氢连接点,伴随一个或多个双键位移。例如,酮及其烯醇形式为酮-烯醇互变异构体。式I化合物涵盖个别互变异构体及其混合物。

[0098] 本文中所述的一些化合物可在围绕单键的旋转能垒足够高以防止在给定温度下自由旋转时以阻转异构体形式存在,因此允许分离具有不同特性的个别构象异构体。本公开的式I化合物涵盖个别阻转异构体及其混合物。当经拆分时,个别阻转异构体可通过建立的惯例指定,例如由国际纯应用化学联盟(IUPAC)2013建议指定的那些惯例。

[0099] 在式(I)化合物中,原子可展示其天然同位素丰度,或可人工富集原子数目相同但原子质量或质量数与自然界中主要发现的原子质量或质量数不同的特定同位素中的一种或多种原子。如本文所描述及所要求保护的本公开旨在包括式(I)化合物及其实施例的所有适合的同位素变体。例如,氢(H)的不同同位素形式包括氕( $^1\text{H}$ )及氘( $^2\text{H}$ ,在本文中还表示为D)。氕为自然界中发现的主要氢同位素。氘富集可获得某些治疗优势,例如增加活体内半衰期或减少剂量需求,或可提供适用于表征生物样本的标准物的化合物。同位素富集化合物可通过本领域技术人员众所周知的常规技术而无需过度实验或通过本文的方案及实施例中所述类似的工艺,使用适当的同位素富集试剂及/或中间体来制备。

[0100] 术语“药学上可接受的盐”是指由药学上可接受的无毒碱或酸制备的盐。当式(I)化合物为酸性时,其相应盐可方便地自药学上可接受的无毒碱制备,所述无毒碱包括无机碱及有机碱。衍生自此类无机碱的盐包括铝盐、铵盐、钙盐、铜盐(高价及低价)、铁盐、亚铁盐、锂盐、镁盐、锰盐(高价及低价)、钾盐、钠盐、锌盐及其类似盐。优选地为铵盐、钙盐、镁盐、钾盐及钠盐。自药学上可接受的有机无毒碱制备的盐包括衍生自天然存在及合成来源的伯胺、仲胺及叔胺的盐。可由其形成盐的药学上可接受的有机无毒碱包括例如精氨酸、甜菜碱、咖啡碱、胆碱、N,N'-二苯甲基乙二胺、二乙胺、2-二乙氨基乙醇、2-二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、还原葡萄糖胺、葡萄糖胺、组氨酸、哈胺(hydrabamine)、异丙胺、二环己胺、赖氨酸、甲基还原葡萄糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、多元胺树脂、普鲁卡因(procaine)、嘌呤、可可豆碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、缓血酸胺(tromethamine)及其类似碱。

[0101] 当式(I)化合物为碱性时,其对应盐可方便地由药学上可接受的无毒无机及有机酸制备。所述酸包括例如乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙磺酸、反丁烯二酸、葡萄糖酸、谷氨酸、氢溴酸、盐酸、羧乙基磺酸、乳酸、顺丁烯二酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、黏液酸、硝酸、双羧萘酸、泛酸、磷酸、丁二酸、硫酸、酒石酸、对甲苯磺酸及其类似酸。优选地为

柠檬酸、氢溴酸、盐酸、顺丁烯二酸、磷酸、硫酸及酒石酸。若式(I)化合物在分子中同时含有酸性及碱性基团,则除所提及的盐形式以外,本公开还包括内盐或甜菜碱(两性离子)。可通过本领域技术人员已知的常规方法,例如通过与有机或无机酸或碱在溶剂或分散剂中组合,或通过与其他盐阴离子交换或阳离子交换,自式(I)化合物获得盐。本公开还包括式(I)化合物的所有盐,所述盐由于较低生理相容性而并不直接适用于药物,但可用作例如中间体以用于化学反应或用于制备药学上可接受的盐。

[0102] 此外,式(I)化合物可以非晶形式及/或一种或多种结晶形式存在,且因此式(I)化合物的所有非晶及结晶形式及其混合物(包括实施例)旨在包括在本公开的范围。另外,一些式(I)化合物可与水(即水合物)或常见有机溶剂(例如(但不限于)乙酸乙酯)形成溶剂合物。本公开化合物的此类溶剂合物及水合物,尤其药学上可接受的溶剂合物及水合物以及非溶剂化及无水形式同样涵盖在本公开的范围。

[0103] 式(I)化合物的引起活体内转化成在本公开范围内的化合物的任何药学上可接受的前药修饰也在本公开范围内。

[0104] 术语“治疗上有效(effective)(或有效(efficacious))量”及类似描述(例如“对治疗有效的量”或“有效剂量”)旨在表示将引起研究人员、兽医、医生或其他临床医生正寻求的组织、是统、动物或人类的生物学或医学反应的式(I)化合物的量。在优选地实施例中,术语“治疗有效量”是指缓解人类患者的至少一种临床症状的式(I)化合物的量。术语“预防上有效(或有效)量”及类似描述(例如“对预防有效的量”)旨在表示将预防或降低研究人员、兽医、医生或其他临床医生在组织、是统、动物或人类中预防的生物学或医学事件的出现风险的式(I)化合物的量。

[0105] 式(I)化合物的剂量

[0106] 利用式(I)化合物的施用方案是根据多种因素而选择,包括患者的类型、人种、年龄、体重、性别及医学病状;待治疗的病状的严重程度;选择施用的化合物的效能;施用途径;及患者的肾及肝功能。出于确定预防、对抗或阻止病状进展所需的治疗有效或预防有效剂量的目的,这些因素的考虑完全在一般熟练临床医生的权限内。应理解,特定日剂量可同时为例如用于治疗致癌病状的治疗有效量及例如用于预防致癌病状的预防有效量。

[0107] 尽管个体需要不同,但式(I)化合物的有效量的最优选地范围的确定在本领域的技术范围内。为了在对例如本文所鉴别的病状及病症进行治愈性及预防性治疗中施用给人类,本公开化合物的典型剂量可为约0.05mg/kg/天至约50mg/kg/天、或至少0.05mg/kg、或至少0.08mg/kg、或至少0.1mg/kg、或至少0.2mg/kg、或至少0.3mg/kg、或至少0.4mg/kg、或至少0.5mg/kg,以及其间的任何量,至约50mg/kg或更少、或约40mg/kg或更少、或约30mg/kg或更少、或约20mg/kg或更少、或约10mg/kg或更少以及其间的任何量,其可以为例如约2.5mg/天(0.5mg/kg×5kg)至约5000mg/天(50mg/kg×100kg)。例如,化合物的剂量可为约0.1mg/kg/天至约50mg/kg/天、约0.05mg/kg/天至约10mg/kg/天、约0.05mg/kg/天至约5mg/kg/天、约0.05mg/kg/天至约3mg/kg/天、约0.07mg/kg/天至约3mg/kg/天、约0.09mg/kg/天至约3mg/kg/天、约0.05mg/kg/天至约0.1mg/kg/天、约0.1mg/kg/天至约1mg/kg/天、约1mg/kg/天至约10mg/kg/天、约1mg/kg/天至约5mg/kg/天、约1mg/kg/天至约3mg/kg/天、约3mg/天至约500mg/天、约5mg/天至约250mg/天、约10mg/天至约100mg/天、约3mg/天至约10mg/天或约100mg/天至约250mg/天。此类剂量可以单次剂量施用或可分为多次剂量。

[0108] 药物组合物

[0109] 式(I)化合物及其药学上可接受的盐可以本身作为药物与彼此混合或呈药物组合物形式向动物、优选地向哺乳动物,且尤其为向人类施用。术语“个体”或“患者”包括动物,优选地为哺乳动物,且尤其为人类,其使用本公开的活性剂来预防或治疗医学病状。向个体施用药物包括自我施用及通过另一个人向患者施用。个体可能需要或期望治疗现有疾病或医学病状,或可能需要或期望预防性治疗以预防或降低所述疾病或医学病状出现的风险。如本文中所使用,个体“需要”现有病状的治疗或预防性治疗涵盖需要通过医疗专业人士进行判定以及患者期望进行此类治疗。

[0110] 因此,本公开还提供适用于药物的式(I)化合物及其药学上可接受的盐;其用于调节突变KRAS、HRAS及/或NRAS蛋白质的活性的用途,且尤其是其用于治疗及预防下文所提及的疾病或病症的用途;以及其用于制备用于这些目的的剂的用途。在某些实施方案中,式(I)化合物及其药学上可接受的盐抑制KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V蛋白质。

[0111] 此外,本公开提供药物组合物,包含有效剂量的至少一种式(I)化合物及/或其药学上可接受的盐及常规药学上可接受的载体,即一种或多种药学上可接受的载体物质及/或添加剂作为活性组分。

[0112] 因此,本公开提供例如适用于药物组合物的所述化合物及其药学上可接受的盐,所述药物组合物包含有效剂量的式(I)化合物及/或其药学上可接受的盐及常规药学上可接受的载体作为活性组分;及所述化合物及/或其药学上可接受的盐在治疗或预防下文所提及的疾病或病症(例如癌症)中的用途;以及其用于制备用于这些目的的剂的用途。

[0113] 根据本公开的药物组合物可例如按以下形式经口施用:丸剂、片剂、漆包片剂(lacquered tablets)、糖衣片剂、颗粒剂、硬明胶胶囊及软明胶胶囊、水性、酒精性或油性溶液、糖浆、乳液或悬浮液,或例如以栓剂形式经直肠施用。施用还可以注射或输注用溶液形式非经肠(例如经皮下、经肌内或经静脉内)进行。

[0114] 其他适合的施用形式为例如经皮或局部施用(例如呈软膏、酊剂、喷雾剂或经皮治疗是统形式),或例如微胶囊、植入物或棒。优选地施用形式视例如待治疗的疾病及其严重程度而定。

[0115] 药物组合物中的本文所述的化合物的活性化合物及/或其药学上可接受的盐的量通常为每剂量0.01至200mg,或0.1至200mg,或1至200mg,但视药物组合物的类型而定,其还可更高。在一些实施方案中,药物组合物中的式(I)的活性化合物及/或其药学上可接受的盐的量为每剂量0.01至10mg。药物组合物通常包含0.5至90重量%的至少一种式(I)化合物及/或其药学上可接受的盐。药物组合物的制备可以本身已知的方式进行。为此目的,将一种或多种式(I)化合物及/或其药学上可接受的盐以及一种或多种固体或液体药物载体物质及/或添加剂(或辅助物质)及(必要时)与具有治疗或预防作用的其他药学上活性化合物组合视为适合的施用形式或剂型,其可随后在人类或兽药中用作药物。

[0116] 为了生产丸剂、片剂、糖衣片剂及硬明胶胶囊,有可能使用例如乳糖、淀粉(例如玉米淀粉或淀粉衍生物)、滑石、硬脂酸或其盐等。用于软明胶胶囊及栓剂的载体为例如脂肪、蜡、半固体及液体多元醇、天然或硬化油等。用于制备溶液(例如注射用溶液或乳液或糖浆)的适合的载体为例如水、生理学上可接受的氯化钠溶液、醇(例如乙醇、丙三醇、多元醇)、蔗糖、转化糖、葡萄糖、甘露醇、植物油等。还有可能冻干式(I)化合物及其药学上可接受的盐

且使用所得冻干物,例如用于制备注射或输注用制剂。用于微胶囊、植入物或棒的适合的载体为例如乙醇酸与乳酸的共聚物。

[0117] 除活性化合物及载体以外,药物组合物还可含有常规添加剂,例如填充剂、崩解剂、黏合剂、润滑剂、润湿剂、稳定剂、乳化剂、分散剂、防腐剂、甜味剂、着色剂、调味剂、芳香剂、增稠剂、稀释剂、缓冲物质、溶剂、增溶剂、用于实现储存效应的试剂、用于改变渗透压的盐、包衣剂或抗氧化剂。

[0118] 使用式(I)的化合物的方法

[0119] 本申请提供一种抑制RAS介导的细胞信号传导的方法,其包含使细胞与式(I)化合物或其药学上可接受的盐接触。RAS介导的信号转导的抑制可通过本领域中已知的广泛多种方式来评定及证实。非限制性实施例包括(a)RAS的GTP酶活性降低;(b)GTP结合亲和力降低或GDP结合亲和力增加;(c)GTP的 $K_{off}$ 增加或GDP的 $K_{off}$ 降低;(d)RAS路径下游的信号转导分子的含量降低,例如pMEK、pERK或pAKT含量降低;及/或(e)RAS复合物与包括但不限于Raf的下游信号传导分子的结合降低。试剂盒及市售分析可用于测定上述的一种或多种。

[0120] 本申请还提供使用式(I)化合物(或其药学上可接受的盐)或含有此类化合物的药物组合物治疗疾病病状的方法,所述疾病病状包括但不限于由突变KRAS、HRAS及/或NRAS蛋白(例如癌症)及在一些实施方案中KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V突变体所涉及的病状。

[0121] 在一些实施方案中,提供一种用于治疗癌症的方法,所述方法包含向需要此类治疗的个体施用治疗有效量的式(I)化合物(或其药学上可接受的盐)或任何包含此类化合物的前述药物组合物。在一些实施方案中,癌症是由KRAS、HRAS或NRAS突变,例如KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V突变介导。在各种实施方案中,癌症为胰腺癌、结肠直肠癌或肺癌。在一些实施方案中,癌症为胆囊癌、甲状腺癌或胆管癌。

[0122] 在一些实施方案中,本公开提供一种治疗有需要个体的病症的方法,其中所述方法包含测定个体是否具有KRAS、HRAS或NRAS突变(例如KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V突变),且如果个体经测定具有KRAS、HRAS或NRAS突变,则向所述个体施用治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0123] 公开的化合物抑制锚定非依赖性细胞生长且因此具有抑制肿瘤转移的潜能。因此,本公开的另一实施方案提供一种用于抑制肿瘤转移的方法,所述方法包含施用有效量的式(I)化合物。

[0124] 还已鉴别出血液学恶性病(例如影响血液、骨髓及/或淋巴结的癌症)中的KRAS、HRAS或NRAS突变。因此,某些实施方案是关于向需要治疗血液恶性病的个体施用式(I)化合物(例如呈药物组合物形式)。此类恶性病包括但不限于白血病及淋巴瘤。例如,本公开的化合物可用于治疗例如以下的疾病:急性淋巴母细胞白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、急性单核细胞性白血病(AMoL)及/或其他白血病。在其他实施方案中,所述化合物适用于治疗淋巴瘤,例如霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkins lymphoma)或非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkins lymphoma)。在各种实施方案中,所述化合物适用于治疗浆细胞恶性病,例如多发性骨髓瘤、套细胞淋巴瘤及瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)。

[0125] 测定肿瘤或癌症是否包含KRAS、HRAS或NRAS突变(例如KRAS-G12C、KRAS-G12D和/

或KRAS-G12V突变)可通过评定编码KRAS、HRAS或NRAS蛋白的核苷酸序列,通过评定KRAS、HRAS或NRAS蛋白的氨基酸序列或通过评定推定KRAS、HRAS或NRAS突变蛋白的特征来进行。野生型人类KRAS、HRAS或NRAS的序列为本领域中已知的。

[0126] 检测KRAS、HRAS或NRAS核苷酸序列的突变的方法也为本领域技术人员已知。此类方法包括但不限于聚合酶链反应-限制性片段长度多形性(PCR-RFLP)分析、聚合酶链反应-单链构象多态性(PCR-SSCP)分析、实时PCR分析、PCR测序、突变等位基因特异性PCR扩增(MASA)分析、直接测序、引子延伸反应、电泳、寡核苷酸接合分析、杂交分析、塔克曼分析(TaqMan assay)、SNP基因分型分析、高分度溶解分析及微阵列分析。在一些实施方案中,通过实时PCR评价样本中的KRAS、HRAS或NRAS突变(例如KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V突变)。在实时PCR中,使用对KRAS、HRAS或NRAS突变具有特异性的荧光探针。存在突变时,探针结合且检测到荧光。在一些实施方案中,使用直接测序方法鉴别KRAS、HRAS或NRAS基因的特定区(例如外显子2及/或外显子3)中的KRAS、HRAS或NRAS突变。

[0127] 检测KRAS、HRAS或NRAS蛋白(例如KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V突变)的方法也为本领域技术人员已知。此类方法包括但不限于使用对突变蛋白具有特异性的接合剂(例如抗体)检测KRAS、HRAS或NRAS突变体、蛋白电泳及西方墨点法及直接肽测序。

[0128] 可评估多种组织样本以测定肿瘤或癌症是否包含KRAS、HRAS或NRAS突变(例如KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V突变)。在一些实施方案中,样本获自患有肿瘤或癌症的个体。在一些实施方案中,样本为新鲜的肿瘤/癌症样本。在一些实施方案中,样本为冷冻的肿瘤/癌症样本。在一些实施方案中,样本为经福尔马林(formalin)固定、经石蜡包埋的样本。在一些实施方案中,样本为循环肿瘤细胞(CTC)样本。在一些实施方案中,将样本处理成细胞溶解物。在一些实施方案中,将样本处理成DNA或RNA。

[0129] 本申请还提供一种治疗过度增生性病征的方法,其包含向有需要的个体施用治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述方法涉及治疗患有例如以下的癌症的个体:急性骨髓性白血病、青少年癌症、儿童肾上腺皮质癌、AIDS相关癌症(例如淋巴瘤及卡堡氏肉瘤(Kaposi's Sarcoma))、肛门癌、阑尾癌、星型细胞瘤、非典型畸胎瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑干神经胶质瘤、脑瘤、乳癌、支气管肿瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、类癌、非典型畸胎瘤、胚胎肿瘤、生殖细胞肿瘤、原发性淋巴瘤、子宫颈癌、儿童癌症、脊索瘤、心脏肿瘤、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓增生性病征、结肠癌、结肠直肠癌、颅咽管瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、肝外乳腺管原位癌(DCIS)、胚胎肿瘤、中枢神经是统(CNS)癌症、子宫内膜癌、室管膜瘤、食道癌、敏感性神经胚细胞瘤、尤文氏肉瘤(ewing sarcoma)、颅外生殖细胞肿瘤、性腺外生殖细胞肿瘤、眼癌、骨纤维组织细胞瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠道类癌、胃肠道基质肿瘤(GIST)、生殖细胞肿瘤、妊娠期滋养细胞肿瘤、毛细胞白血病、头颈癌、心腺癌、肝癌、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、眼内黑色素瘤、胰岛细胞瘤、胰腺神经内分泌肿瘤、肾癌、喉癌、唇及口腔癌症、肝癌、小叶原位癌(LCIS)、肺癌、淋巴瘤、原发性隐匿的转移性鳞状颈癌、中线道癌、口腔癌、多发性内分泌瘤症候群、多发性骨髓瘤/浆细胞肿瘤、蕈样霉菌病、骨髓发育不良症候群、脊髓发育不良/骨髓增生赘瘤、多发性骨髓瘤、梅克尔细胞癌、恶性间皮瘤、骨恶性纤维组织细胞瘤及骨肉瘤、鼻腔及鼻窦癌、鼻咽癌、神经母细胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、口腔癌、唇及口腔癌、口咽癌、卵巢癌、胰腺癌、乳头状瘤症、副神经节瘤、副鼻窦及鼻腔癌症、

甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、胸膜肺母细胞瘤、原发性中枢神经是统 (CNS) 淋巴瘤、前列腺癌、直肠癌、移行细胞癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、唾液腺癌、皮肤癌、胃 (stomach/gastric) 癌、小细胞肺癌、小肠癌、软组织肉瘤、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、咽喉癌、胸腺瘤及胸腺癌、甲状腺癌、肾盂及输尿管的移行细胞癌症、滋养细胞肿瘤、儿童罕见癌症、尿道癌、子宫肉瘤、阴道癌、外阴癌或病毒诱发的癌症。在一些实施方案中,所述方法涉及治疗非癌性过度增生性疾病,例如皮肤(例如牛皮癣)、再狭窄或前列腺(例如良性前列腺肥大(BPH))的良性增生。

[0130] 在一些实施方案中,治疗方法为针对治疗肺癌,且所述方法包含向有需要的个体施用治疗有效量的式(I)化合物(或包含此类化合物的药物组合物)。在某些实施方案中,肺癌为非小细胞肺癌(NSCLC),例如腺癌、鳞状细胞肺癌或大细胞肺癌。在一些实施方案中,肺癌为小细胞肺癌。式(I)化合物可提供治疗益处的其他肺癌包括但不限于腺肿瘤、类癌及未分化癌瘤。

[0131] 本公开还提供通过使蛋白质与有效量的式(I)化合物接触来调节突变KRAS、HRAS或NRAS蛋白活性(例如,由KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V突变产生的活性)的方法。调节可为抑制或活化蛋白质活性。在一些实施方案中,本公开提供通过使突变KRAS、HRAS或NRAS蛋白(例如,KRAS-G12C、KRAS-G12D和/或KRAS-G12V突变体)与有效量的式(I)化合物在溶液中接触来抑制蛋白质活性的方法。在一些实施方案中,本公开提供通过接触表现所关注蛋白质的细胞、组织或器官来抑制突变KRAS、HRAS或NRAS蛋白活性的方法。在一些实施方案中,本公开提供通过向个体施用有效量的式(I)化合物来抑制包括但不限于啮齿动物及哺乳动物(例如人类)的个体中的蛋白质活性的方法。

[0132] 组合疗法

[0133] 一种或多种额外药理学活性剂可与式(I)化合物(或其药学上可接受的盐)组合施用。额外活性剂(一种或多种活性剂)旨在表示在体内具有活性的药物活性剂(一种或多种活性剂),包括在施用后转化为药学上活性形式的前药,其不同于式(I)化合物。额外活性剂还包括所述额外活性剂的游离酸、游离碱及药学上可接受的盐。通常,任何一种或多种适合的额外活性剂,包括化学治疗剂或治疗抗体,可与式(I)化合物以单一剂量制剂(例如固定剂量药物组合),或以一种或多种单独的剂量制剂以任何组合形式使用,所述一种或多种单独的剂量制剂允许同时或依序向个体施用活性剂(联施用单独活性剂)。另外,式(I)化合物(或其药学上可接受的盐)可与放射疗法、激素疗法、手术或免疫疗法组合施用。

[0134] 本申请还提供用于组合疗法的方法,其中已知额外活性剂调节其他路径、或相同路径的其他组分、或甚至重叠目标酶组,其与式(I)化合物或其药学上可接受的盐组合使用。在一个实施方案中,此类疗法包括但不限于一种或多种式(I)化合物与化学治疗剂、免疫治疗剂、激素及抗激素剂、靶向治疗剂及抗血管生成剂的组合以提供协同或累加治疗效果。在另一个实施方案中,此类疗法包括放射治疗以提供协同或累加治疗效果。

[0135] 额外活性剂(即额外抗癌剂)的实施例包括化学治疗剂(例如细胞毒性剂)、免疫治疗剂、激素及抗激素剂、靶向治疗剂及抗血管生成剂。许多抗癌剂可归类为此类群组中的一种或多种。尽管本文中已将某些抗癌剂分类于特定群组或子组内,但许多此类剂还可列于一个或多个其他群组或子组内,如目前在本领域中理解。应理解,特定剂在本文中分类成特定群组并不旨在为限制性的。许多抗癌剂目前在本领域中是已知的且可与本公开化合物

组合使用。

[0136] 此外,剂可为激动剂、拮抗剂、立体异位调节剂、毒素,或更一般地,可用来抑制或刺激其标靶(例如受体或酶活化或抑制)。例如,适合使用的为一种或多种特异性结合且抑制生长因子活性的剂(例如抗体、抗原结合区或可溶性受体),例如肝细胞生长因子(HGF,也称为散射因子)的拮抗剂,及特异性结合其受体“c-met”的抗体或抗原结合区。

[0137] 在一个实施方案中,额外抗癌剂为化学治疗剂、免疫治疗剂、激素剂、抗激素剂、靶向治疗剂或抗血管生成剂(或血管生成抑制剂)。在一个实施方案中,额外抗癌剂选自自由以下组成的组:化学治疗剂、有丝分裂抑制剂、植物生物碱、烷基化剂、抗代谢物、铂类似物、酶、拓扑异构酶抑制剂、类视黄素、氮丙啶、抗生素、激素剂、抗激素剂、抗雌激素剂、抗雄激素剂、抗肾上腺剂、雄激素剂、靶向治疗剂、免疫治疗剂、生物反应调节剂、细胞介素抑制剂、肿瘤疫苗、单克隆抗体、免疫检查点抑制剂、抗PD-1剂、抗PD-L1剂、群落刺激因子、免疫调节剂、免疫调节酰亚胺(IMiD)、抗CTLA4剂、抗LAG1剂、抗OX40剂、GITR激动剂、CAR-T细胞、BiTE、信号转导抑制剂、生长因子抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、EGFR抑制剂、组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)抑制剂、蛋白酶体抑制剂、细胞周期抑制剂、抗血管生成剂、基质金属蛋白酶(MMP)抑制剂、肝细胞生长因子抑制剂、TOR抑制剂、KDR抑制剂、VEGF抑制剂、HIF-1 $\alpha$ 抑制剂、HIF-2 $\alpha$ 抑制剂、纤维母细胞生长因子(FGF)抑制剂、RAF抑制剂、MEK抑制剂、ERK抑制剂、PI3K抑制剂、AKT抑制剂、MCL-1抑制剂、BCL-2抑制剂、SHP2抑制剂、HER-2抑制剂、BRAF抑制剂、基因表达调节剂、自噬抑制剂、细胞凋亡诱导剂、抗增生剂及糖酵解抑制剂。

[0138] 在一个实施方案中,额外抗癌剂为化学治疗剂。化学治疗剂的非限制性实施例包括有丝分裂抑制剂及植物生物碱、烷基化剂、抗代谢物、铂类似物、酶、拓扑异构酶抑制剂、类视黄素、氮丙啶及抗生素。

[0139] 有丝分裂抑制剂及植物生物碱的非限制性实施例包括紫杉烷,例如卡巴他赛(cabazitaxel)、多西他赛(docetaxel)、拉洛他赛(larotaxel)、奥他赛(ortataxel)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)及替司他赛(tesetaxel);地美可辛(demecolcine);埃坡霉素(epothilone);艾瑞布林(eribulin);依托泊苷(etoposide)(VP-16);磷酸依托泊苷(etoposide phosphate);纳维瑞滨(navelbine);诺斯卡品(noscapine);替尼泊苷(teniposide);噻立拉斯汀(thaliblastine);长春碱(vinblastine);长春新碱(vincristine);长春地辛(vindesine);长春氟宁(vinflunine);及长春瑞滨(vinorelbine)。

[0140] 烷基化剂的非限制性实施例包括氮芥,例如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥(chlornaphazine)、氯磷酰胺、胞磷烷(cytosphane)、雌氮芥(estramustine)、异环磷酰胺(ifosfamide)、甘露醇氮芥(mannomustine)、氮芥(mechlorethamine)、氮芥氧化物盐酸盐、美法仑(melphalan)、新氮芥(novembichin)、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泼尼氮芥(prednimustine)、三(2-氯乙基)胺、曲磷胺(trofosfamide)及尿嘧啶氮芥(uracil mustard);磺酸烷基酯,例如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan);亚硝基脲,例如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine)、链佐霉素(streptozotocin)及TA-07、乙烯亚胺及甲基三聚氰胺,例如六甲蜜胺(altretamine)、噻替派(thiotepa)、曲他胺(triethylenemelamine)、三乙基硫代磷

酰胺、三乙烯基磷酰胺及三甲基三聚氰胺；胺莫司汀 (ambamustine)；苯达莫司汀 (bendamustine)；达卡巴嗪 (dacarbazine)；依托格鲁 (etoglucid)；伊洛福芬 (irofulven)；马磷酰胺 (mafosfamide)；二溴甘露醇 (mitobronitol)；二溴卫矛醇 (mitolactol)；哌泊溴烷 (pipobroman)；丙卡巴肼 (procarbazine)；替莫唑胺 (temozolomide)；曲奥舒凡 (treosulfan)；及三亚胺醌 (triaziquone)。

[0141] 抗代谢物的非限制性实施例包括叶酸类似物，例如氨基喋呤 (aminopterin)、迪诺特宁 (denopterin)、依达曲沙 (edatrexate)、甲氨喋呤 (methotrexate)、蝶罗呤 (pteropterin)、雷替曲塞 (raltitrexed) 及曲美沙特 (trimetrexate)；嘌呤类似物，例如6-巯基嘌呤、6-硫代鸟嘌呤、氟达拉滨 (fludarabine)、佛罗得辛 (forodesine)、硫咪嘌呤 (thiamiprine) 及硫鸟嘌呤 (thioguanine)；嘧啶类似物，例如5-氟尿嘧啶 (5-FU)、6-氮尿苷、安西他滨 (ancitabine)、氮胞苷 (azacytidine)、卡培他滨 (capecitabine)、卡莫氟 (carmofur)、阿糖胞苷 (cytarabine)、地西他滨 (decitabine)、二去氧尿苷 (dideoxyuridine)、去氧氟尿苷 (doxifluridine)、依诺他滨 (enocitabine)、氟尿苷 (floxuridine)、加洛他滨 (galocitabine)、吉西他滨 (gemcitabine) 及沙帕他滨 (sapacitabine)、3-氨基吡啶-2-甲醛硫半卡巴肼；溴尿苷 (broxuridine)；克拉屈滨 (cladribine)；环磷酰胺；阿糖胞苷 (cytarabine)；乙嘧替氟 (emitefur)；羟基尿素；巯基嘌呤；奈拉滨 (nelarabine)；培美曲塞 (pemetrexed)；喷司他丁 (pentostatin)；喃氟啶 (tegafur)；及曲沙他滨 (troxacitabine)。

[0142] 铂类似物的非限制性实施例包括卡铂 (carboplatin)、顺铂 (cisplatin)、二环铂 (dicycloplatin)、庚铂 (heptaplatin)、洛铂 (lobaplatin)、奈达铂 (nedaplatin)、奥沙利铂 (oxaliplatin)、赛特铂 (satraplatin) 及四硝酸三铂 (triplatin tetranitrate)。

[0143] 酶的非限制性实施例包括天冬酰胺酶 (asparaginase) 及培门冬酶 (pegaspargase)。

[0144] 拓扑异构酶抑制剂的非限制性实施例包括吡啶甲酰胺、胺萘非特 (amonafide)、安吡啶 (amsacrine)、贝洛替康 (belotecan)、依利醋铵 (elliptinium acetate)、依昔替康 (exatecan)、吲哚并咪唑 (indolocarbazole)、伊立替康 (irinotecan)、勒托替康 (lurtotecan)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、雷佐生 (razoxane)、卢比替康 (rubitecan)、SN-38、索布佐生 (sobuzoxane) 及拓朴替康 (topotecan)。

[0145] 类视黄素的非限制性实施例包括阿维利甲酸 (alitretinoin)、贝瑟罗汀 (bexarotene)、非瑞替尼 (fenretinide)、异维甲酸 (isotretinoin)、利阿唑 (liarozole)、RII瑞汀酰胺 (retinamide) 及维甲酸。

[0146] 氮丙啶的非限制性实施例包括苯唑多巴 (benzodopa)、卡波醌 (carboquone)、米特多巴 (meturedopa) 及尤利多巴 (uredopa)。

[0147] 抗生素的非限制性实施例包括插层抗生素；蒽二酮；蒽环霉素抗生素，例如阿克拉霉素 (aclarubicin)、胺柔比星 (amrubicin)、柔红霉素 (daunomycin)、道诺霉素 (daunorubicin)、小红莓 (doxorubicin)、表柔比星 (epirubicin)、艾达霉素 (idarubicin)、美诺立尔 (menogaril)、诺加霉素 (nogalamycin)、吡柔比星 (pirarubicin) 及伐柔比星 (valrubicin)；6-重氮-5-氧代苯-L-正白氨酸；阿克拉霉素 (aclacinomycin)；放射菌素 (actinomycin)；安曲霉素 (authramycin)；偶氮丝氨酸 (azaserine)；博来霉素

(bleomycin);放线菌素C(cactinomycin);卡奇霉素(calicheamicin);卡拉比辛(carabycin);洋红霉素(carminomycin);嗜癌菌素(carzinophilin);色霉素(chromomycin);放线菌素D(dactinomycin);地托比星(detorubicin);依索比星(esorubicin);埃斯波霉素(esperamicin);格尔德霉素(geldanamycin);麻西罗霉素(marcellomycin);丝裂霉素(mitomycin);丝裂霉素C;霉酚酸;橄榄霉素(olivomycin);诺凡特龙(novantrone);培洛霉素(peplomycin);泊非罗霉素(porfiromycin);泼非霉素(potfiromycin);嘌呤霉素(puromycin);奎那霉素(quelamycin);蝴蝶霉素(rebeccamycin);罗多比星(rodorubicin);链黑菌素(streptonigrin);链脲菌素(streptozocin);坦螺旋霉素(tanespimycin);杀结核菌素(tubercidin);乌苯美司(ubenimex);净司他丁(zinostatin);净司他丁司他美(zinostatin stimalamer);及左柔比星(zorubicin)。

[0148] 在一个实施方案中,额外抗癌剂为激素及/或抗激素剂(即激素疗法)。激素及抗激素剂的非限制性实施例包括抗雄激素剂,例如阿比特龙(abiraterone)、阿帕鲁胺(apalutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、达洛鲁胺(darolutamide)、恩杂鲁胺(enzalutamide)、氟他胺(flutamide)、戈舍瑞林(goserelin)、亮丙立德(leuprolide)及尼鲁胺(nilutamide);抗雌激素剂,例如4-羟基他莫昔芬(tamoxifen)、抑制4(5)-咪唑的芳香酶、EM-800、磷雌酚(fosfestrol)、氟维司群(fulvestrant)、雷洛昔芬(keoxifene)、LY 117018、奥那司酮(onapristone)、雷诺昔酚(raloxifene)、他莫昔芬(tamoxifen)、托瑞米芬(toremifene)及曲沃昔芬(trioxifene);抗肾上腺剂,例如胺鲁米特(aminoglutethimide)、右旋胺鲁米特(dexaminoglutethimide)、米托坦(mitotane)及曲洛司坦(trilostane);雄激素,例如卡鲁睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiothane)及睾内酯(testolactone);阿巴瑞克(abarelix);阿那曲唑(anastrozole);西曲瑞克(cetorelix);德舍瑞林(deslorelin);依西美坦(exemestane);法屈唑(fadrozole);非那雄安(finasteride);福美司坦(formestane);组氨瑞林(histrelin)(RL 0903);人类绒毛膜激性腺素;兰瑞肽(lanreotide);LDI 200(Milkhaus);来曲唑(letrozole);亮丙瑞林(leuprorelin);米非司酮(mifepristone);那法瑞林(nafarelin);萘氧啉(nafoxidine);奥沙特隆(osaterone);泼尼松(prednisone);促甲状腺激素 $\alpha$ 及曲普瑞林(triptorelin)。

[0149] 在一个实施方案中,额外抗癌剂为免疫治疗剂(即,免疫疗法)。免疫治疗剂的非限制性实施例包括生物反应调节剂、细胞介素抑制剂、肿瘤疫苗、单克隆抗体、免疫检查点抑制剂、群落刺激因子及免疫调节剂。

[0150] 包括例如干扰素及白介素的细胞介素抑制剂(细胞介素)的生物反应调节剂的非限制性实施例包括干扰素 $\alpha$ /干扰素 $\alpha$ ,例如干扰素 $\alpha$ -2、干扰素 $\alpha$ -2a、干扰素 $\alpha$ -2b、干扰素 $\alpha$ -n1、干扰素 $\alpha$ -n3、干扰素 $\alpha$ -1、聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a、聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2b及白细胞 $\alpha$ 干扰素;干扰素 $\beta$ ,例如干扰素 $\beta$ -1a及干扰素 $\beta$ -1b;干扰素 $\gamma$ ,例如天然干扰素 $\gamma$ -1a及干扰素 $\gamma$ -1b;阿地白介素(aldesleukin);白介素-1 $\beta$ ;白介素-2;奥普瑞白介素(oprelvekin);索纳明(sonermin);他索那明(tasonermin);及维力金(virulizin)。

[0151] 肿瘤疫苗的非限制性实施例包括APC 8015、AVICINE、膀胱癌疫苗、癌症疫苗(Biomira)、胃泌素17免疫原、丸山疫苗、黑色素瘤溶解物疫苗、黑色素瘤肿瘤溶解剂疫苗

(New York Medical College)、黑色素瘤疫苗(New York University)、黑色素瘤疫苗(Sloan Kettering Institute)、TICE®BCG (Bacillus Calmette-Guerin)及病毒黑色素瘤细胞溶解物疫苗(Royal Newcastle Hospital)。

[0152] 单克隆抗体的非限制性实施例包括阿巴伏单抗(abagovomab)、阿达木单抗(adecatumumab)、阿柏西普(aflibercept)、阿仑单抗(alemtuzumab)、博纳吐单抗(blinatumomab)、贝伦妥单抗维多汀(brentuximab vedotin)、CA 125Mab(Biomira)、癌症Mab(Japan Pharmaceutical Development)、达利珠单抗(daclizumab)、达雷木单抗(daratumumab)、德诺单抗(denosumab)、依决洛单抗(edrecolomab)、吉妥单抗奥唑米星(gemtuzumab zogamicin)、HER-2及Fc MAb(Medarex)、替伊莫单抗(ibritumomab tiuxetan)、个体基因型105AD7 MAb(CRC Technology)、个体基因型CEA MAb(Trilex)、伊派利单抗(ipilimumab)、林妥珠单抗(lintuzumab)、LYM-1-碘131Mab(Techni clone)、米妥莫单抗(mitumomab)、莫昔土莫单抗(moxetumomab)、奥伐木单抗(ofatumumab)、多晶型上皮黏蛋白-钇90Mab(Antisoma)、兰比珠单抗(ranibizumab)、利妥昔单抗(rituximab)及曲妥珠单抗(trastuzumab)。

[0153] 免疫检查点抑制剂的非限制性实施例包括抗PD-1剂或抗体,例如测米匹单抗(cemiplimab)、纳武单抗(nivolumab)及派立珠单抗(pembrolizumab);抗PD-L1剂或抗体,例如阿特珠单抗(atezolizumab)、阿维鲁单抗(avelumab)及德瓦鲁单抗(durvalumab);抗CTLA-4剂或抗体,例如易普单抗(ipilimumab);抗LAG1剂;及抗OX40剂。

[0154] 群落刺激因子的非限制性实施例包括阿法达贝泊汀(darbepoetin alfa)、阿法依泊汀(epoetin alfa)、倍他依泊汀(epoetin beta)、非格司亭(filgrastim)、颗粒球巨噬细胞群落刺激因子、来格司亭(lenograstim)、来立司亭(leridistim)、米立司亭(mirimostim)、莫拉司亭(molgramostim)、那托司亭(nartograstim)、派非格司亭(pegfilgrastim)及沙格司亭(sargramostim)。

[0155] 额外免疫治疗剂的非限制性实施例包括BiTE、CAR-T细胞、GITR激动剂、咪喹莫特(imiquimod)、免疫调节酰亚胺(IMiD)、失配双股RNA(Ampligen)、雷西莫特(resiquimod)、SRL 172及胸腺法新(thymalfasin)。

[0156] 在一个实施方案中,额外抗癌剂为靶向治疗剂(即,靶向疗法)。靶向治疗剂包括例如单克隆抗体及小分子药物。靶向治疗剂的非限制性实施例包括信号转导抑制剂、生长因子抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、EGFR抑制剂、组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)抑制剂、蛋白酶体抑制剂、细胞周期抑制剂、血管生成抑制剂、基质金属蛋白酶(MMP)抑制剂、肝细胞生长因子抑制剂、TOR抑制剂、KDR抑制剂、VEGF抑制剂、纤维母细胞生长因子(FGF)抑制剂、MEK抑制剂、ERK抑制剂、PI3K抑制剂、AKT抑制剂、MCL-1抑制剂、BCL-2抑制剂、SHP2抑制剂、HER-2抑制剂、BRAF抑制剂、基因表达调节剂、自噬抑制剂、细胞凋亡诱导剂、抗增生剂及糖酵解抑制剂。

[0157] 信号转导抑制剂的非限制性实施例包括酪氨酸激酶抑制剂、多重激酶抑制剂、安罗替尼(anlotinib)、阿瓦替尼(avapritinib)、阿西替尼(axitinib)、达沙替尼(dasatinib)、多韦替尼(dovitinib)、伊马替尼(imatinib)、乐伐替尼(lenvatinib)、氯尼达明(lonidamine)、尼罗替尼(nilotinib)、尼达尼布(nintedanib)、帕唑尼布(pazopanib)、派格索曼(pegvisomant)、普纳替尼(ponatinib)、凡德他尼(vandetanib)及

EGFR抑制剂。

[0158] EGFR抑制剂的非限制性实施例包括EGFR的小分子拮抗剂,例如阿法替尼 (afatinib)、布加替尼 (brigatinib)、埃罗替尼 (erlotinib)、吉非替尼 (gefitinib)、拉帕替尼 (lapatinib) 及奥希替尼 (osimertinib);及基于抗体的EGFR抑制剂,包括可通过其天然配位体部分或完全阻断EGFR活化的任何抗EGFR抗体或抗体片段。基于抗体的EGFR抑制剂可包括例如描述于Modjtahedi,H.,等人,1993,Br.J.Cancer 67:247-253;Teramoto,T.,等人,1996,Cancer 77:639-645;Goldstein等人,1995,Clin.Cancer Res.1:1311-1318;Huang,S.M.,等人,1999,Cancer Res.15:59(8):1935-40;及Yang,X.,等人,1999,Cancer Res.59:1236-1243中的抑制剂;单克隆抗体Mab E7.6.3 (Yang,1999,见上文);Mab C225 (ATCC寄存编号HB-8508),或具有其结合特异性的抗体或抗体片段;特异性反义核苷酸或 siRNA;阿法替尼 (afatinib)、西妥昔单抗 (cetuximab);马妥珠单抗 (matuzumab);莱西单抗 (necitumumab);尼妥珠单抗 (nimotuzumab);帕尼单抗 (panitumumab);及扎鲁姆单抗 (zalutumumab)。

[0159] 组蛋白脱乙酰基酶 (HDAC) 抑制剂的非限制性实施例包括贝林诺他 (belinostat)、帕比诺他 (panobinostat)、罗米地辛 (romidepsin) 及伏立诺他 (vorinostat)。

[0160] 蛋白酶体抑制剂的非限制性实施例包括硼替佐米 (bortezomib)、卡非佐米 (carfilzomib)、依萨佐米 (ixazomib)、马瑞佐米 (marizomib) (盐孢菌素 (salinosporamide) a) 及奥普洛佐米 (oprozomib)。

[0161] 包括CDK抑制剂的细胞周期抑制剂的非限制性实施例包括阿贝力布 (abemaciclib)、阿昔迪布 (alvociclib)、帕柏西利 (palbociclib) 及利波西利 (ribociclib)。

[0162] 在一个实施方案中,额外抗癌剂为抗血管生成剂(或血管生成抑制剂),包括但不限于基质金属蛋白酶 (MMP) 抑制剂;VEGF抑制剂;EGFR抑制剂;TOR抑制剂,例如依维莫司 (everolimus) 及坦罗莫司 (temsirolimus);PDGFR激酶抑制剂,例如克诺拉尼 (crenolanib);HIF-1 $\alpha$ 抑制剂,例如PX 478;HIF-2 $\alpha$ 抑制剂,例如贝聚替凡 (belzutifan) 及描述于WO 2015/035223中的HIF-2 $\alpha$ 抑制剂;纤维母细胞生长因子 (FGF) 或FGFR抑制剂,例如B-FGF及RG 13577;肝细胞生长因子抑制剂;KDR抑制剂;抗Ang1剂及抗Ang2剂;抗Tie2激酶抑制剂;Tek拮抗剂 (US 2003/0162712;US 6,413,932);抗TWEAK剂 (US 6,727,225);用以拮抗整合素与其配位体的结合的ADAM解联整合素域 (US2002/0042368);抗eph受体及/或抗肝配蛋白抗体或抗原结合区 (US 5,981,245;5,728,813;5,969,110;6,596,852;6,232,447;及6,057,124);及抗PDGF-BB拮抗剂以及特异性结合于PDGF-BB配位体的抗体或抗原结合区。

[0163] 基质金属蛋白酶 (MMP) 抑制剂的非限制性实施例包括MMP-2 (基质金属蛋白酶2) 抑制剂、MMP-9 (基质金属蛋白酶9) 抑制剂、普琳司他 (prinomastat)、RO 32-3555及RS13-0830。可用基质金属蛋白酶抑制剂的实施例描述于例如WO 96/33172、WO 96/27583、EP 1004578、WO 98/07697、WO 98/03516、WO 98/34918、WO 98/34915、WO 98/33768、WO 98/30566、EP 0606046、EP 0931788、WO 90/05719、WO 99/52910、WO 99/52889、WO 99/29667、WO 1999/007675、EP 1786785、EP 1181017、US2009/0012085、US 5,863,949、US 5,861,510 及EP 0780386中。优选地的MMP-2及MMP-9抑制剂为具有极小或无抑制MMP-1的活性的那些。

更优选地为相对于其他基质金属蛋白酶(即,MAP-1、MMP-3、MMP-4、MMP-5、MMP-6、MMP-7、MMP-8、MMP-10、MMP-11、MMP-12及MMP-13)抑制MMP-2及/或MMP-9的抑制剂。

[0164] VEGF及VEGFR抑制剂的非限制性实施例包括贝伐单抗(bevacizumab)、西地尼布(cediranib)、CEP 7055、CP 547632、KRN 633、奥兰替尼(orantinib)、帕佐泮尼(pazopanib)、派加替尼(pegaptanib)、派加替尼八钠、司马沙尼(semaxanib)、索拉非尼(sorafenib)、舒尼替尼(sunitinib)、VEGF拮抗剂(Borean,Denmark)及VEGF-TRAP™。

[0165] 额外抗癌剂还可为另一抗血管生成剂,包括但不限于2-甲氧雌二醇、AE 941、阿仑单抗(alemtuzumab)、 $\alpha$ -D148 Mab(Amgen,US)、艾普士他汀(alphastatin)、醋酸阿奈可他(anecortave acetate)、血管生成素(angiocidin)、血管生成抑制剂(SUGEN,US)、血管生长抑素、抗Vn Mab(Crucell,Netherlands)、阿替莫德(atiprimod)、阿西替尼(axitinib)、AZD 9935、BAY RES2690(Bayer,Germany)、BC 1(Genoa Institute of Cancer Research, Italy)、贝洛尼布(beloranib)、氟草胺(benefin)(Lane Labs,US)、卡博替尼(cabozantinib)、CDP 791(Celltech Group,UK)、软骨素酶(chondroitinase)AC、西仑吉肽(cilengitide)、康柏斯达汀(combretastatin)A4前药、CP 564959(OSI,US)、CV247、CYC 381(Harvard University,US)、E 7820、EHT 0101、内皮生长抑素(endostatin)、恩扎妥林盐酸盐(enzastaurin hydrochloride)、ER-68203-00(IVAX,US)、血纤维蛋白原-E(fibrinogen-E)片段、Flk-1(ImClone Systems,US)、FLT 1的形式(VEGFR 1)、FR-111142、GCS-100、GW 2286(GlaxoSmithKline,UK)、IL-8、伊洛马司他(ilomastat)、IM-862、伊索拉定(irsogladine)、KM-2550(Kyowa Hakko,Japan)、来那度胺(lenalidomide)、乐伐替尼(lenvatinib)、第二代MAB $\alpha$ 5 $\beta$ 3整合素(Applied Molecular Evolution,USA及MedImmune,US)、MAB VEGF(Xenova,UK)、马立马司他(marimastat)、马斯平(maspin)(Sosei,Japan)、美他汀(metastatin)、莫托帕明(motuporamine)C、M-PGA、奥瑞布林(ombrabulin)、OXI4503、PI 88、血小板因子4、PPI 2458、雷莫芦单抗(ramucirumab)、rBPI 21及BPI衍生的抗血管生成剂(XOMA,US)、瑞戈非尼(regorafenib)、SC-236、SD-7784(Pfizer,US)、SDX 103(University of California, San Diego,US)、SG 292(Telios,US)、SU-0879(Pfizer,US)、TAN-1120、TBC-1635、特伐替尼(tesevatinib)、四硫钼酸盐、沙利度胺(thalidomide)、凝血栓蛋白1抑制剂、Tie-2配体(Regeneron,US)、组织因子路径抑制剂(EntreMed,US)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 抑制剂、肿瘤抑素(tumstatin)、TZ 93、尿激酶纤维蛋白溶酶原活化物抑制剂、瓦迪美占(vadimezan)、凡德他尼(vandetanib)、血管新生抑制素(vasostatin)、凡塔蓝尼(vatalanib)、VE-钙黏素-2拮抗剂、束骨姜黄醇(xanthorrhizol)、XL 784(Exelixis,US)、塞维-阿柏西普(ziv-aflibercept)及ZD 6126。

[0166] 在实施方案中,额外抗癌剂为干扰或抑制RAS-RAF-ERK或PI3K-AKT-TOR信号传导路径的额外活性剂或为PD-1及/或PD-L1拮抗剂。在实施方案中,额外抗癌剂为RAF抑制剂、EGFR抑制剂、MEK抑制剂、ERK抑制剂、PI3K抑制剂、AKT抑制剂、TOR抑制剂、MCL-1抑制剂、BCL-2抑制剂、SHP2抑制剂、蛋白酶体抑制剂或免疫疗法,包括单克隆抗体、免疫调节酰亚胺(IMiD)、抗PD-1剂、抗PDL-1剂、抗CTLA4剂、抗LAG1剂及抗OX40剂、GITR激动剂、CAR-T细胞及BiTE。

[0167] RAF抑制剂的非限制性实施例包括达拉非尼(dabrafenib)、恩拉非尼(encorafenib)、瑞戈非尼(regorafenib)、索拉非尼(sorafenib)及维罗非尼

(vemurafenib)。

[0168] MEK抑制剂的非限制性实施例包括毕尼替尼(binimetinib)、CI-1040、考比替尼(cobimetinib)、PD318088、PD325901、PD334581、PD98059、瑞法美替尼(refametinib)、司美替尼(selumetinib)及曲美替尼(trametinib)。

[0169] ERK抑制剂的非限制性实施例包括如WO 2017/068412中所描述的LY3214996、LTT462、MK-8353、SCH772984、来福替尼(ravoxertinib)、优立替尼(ulixertinib)及ERKi。

[0170] PI3K抑制剂的非限制性实施例包括17-羟基渥曼青霉素类似物(例如WO 06/044453);AEZS-136;阿培利司(alpelisib);AS-252424;布帕昔布(buparlisib);CAL263;考班昔布(copanlisib);CUDC-907;达妥昔布(dactolisib)(WO 06/122806);去甲氧基绿胶霉素(demethoxyviridin);杜韦力西布(duvelisib);GNE-477;GSK1059615;IC87114;艾德昔布(idelalisib);INK1117;LY294002;Palomid 529;帕夏昔布(paxalisib);哌立福新(perifosine);PI-103;PI-103盐酸盐;皮克立西(pictilisib)(例如WO 09/036,082;WO 09/055,730);PIK 90;PWT33597;SF1126;索诺昔布(sonolisib);TGI 00-115;TGX-221;XL147;XL-765;渥曼青霉素;及ZSTK474。

[0171] AKT抑制剂的非限制性实施例包括Akt-1-1(抑制Akt1)(Barnett等人(2005)Biochem.J.,385(Pt.2),399-408);Akt-1-1,2(Barnett等人(2005)Biochem.J.385(Pt.2),399-408);API-59CJ-Ome(例如Jin等人(2004)Br.J.Cancer 91,1808-12);1-H-咪唑并[4,5-c]吡啶基化合物(例如W005011700);吡啶-3-甲醇及其衍生物(例如美国专利第6,656,963号;Sarkar及Li(2004)J Nutr.134(12增刊),3493S-3498S);哌立福新(perifosine),Dasmahapatra等人(2004)Clin.Cancer Res.10(15),5242-52,2004);磷脂酰环己六醇醚脂质类似物(例如Gills及Dennis(2004)Expert.Opin.Investig.Drugs13,787-97);曲西立滨(triciribine)(Yang等人(2004)Cancer Res.64,4394-9);咪唑并噁草酮,包括反-3-氨基-1-甲基-3-[4-(3-苯基-5H-咪唑并[1,2-c]吡啶并[3,4-e][1,3]噁嗪-2-基)苯基]-环丁醇盐酸盐(WO 2012/137870);阿弗替布(afuresertib);卡瓦替布(capivasertib);MK2206;帕塞替布(patasertib),以及WO 2011/082270和WO 2012/177844中公开的那些。

[0172] TOR抑制剂的非限制性实施例包括德佛利姆(deforolimus);ATP-竞争性TORC1/TORC2抑制剂,包括PI-103、PP242、PP30及托林(Torin)1;FKBP12增强剂中的TOR抑制剂、雷帕霉素(rapamycin)及其衍生物,包括坦罗莫司(temsirolimus)、依维莫司(everolimus)、WO 9409010;雷帕霉素类似物(rapalog),例如,如WO 98/02441及WO 01/14387中所公开,例如AP23573、AP23464或AP23841;40-(2-羟基乙基)雷帕霉素、40-[3-羟基(羟基甲基)甲基丙酸酯]-雷帕霉素;40-表-(四唑基)-雷帕霉素(也被称作ABT578);32-去氧雷帕霉素;16-戊炔基氧基-32(S)-二氢雷帕霉素,及WO 05/005434中所公开的其他衍生物;US 5,258,389、WO 94/090101、WO 92/05179、US 5,118,677、US 5,118,678、US 5,100,883、US 5,151,413、US 5,120,842、WO 93/111130、WO 94/02136、WO 94/02485、WO 95/14023、WO 94/02136、WO 95/16691、WO 96/41807、WO 96/41807及US 5,256,790中所公开的衍生物;及含磷雷帕霉素衍生物(例如WO 05/016252)。

[0173] MCL-1抑制剂的非限制性实施例包括AMG-176、MIK665及S63845。

[0174] SHP2抑制剂的非限制性实施例包括WO 2019/167000及WO 2020/022323中所描述的SHP2抑制剂。

[0175] 适合使用的抗癌剂的额外非限制性实施例包括2-乙基酰肼、2,2',2''-三氯三乙胺、ABVD、醋葡醛内酯(aceglatone)、醋孟南(acemannan)、醛磷酰胺糖苷、艾法雷啉(alpharadin)、阿米福汀(amifostine)、氨基乙酰丙酸、阿那格雷(anagrelide)、ANCER、安西司亭(ancestim)、抗CD22免疫毒素、抗癌变草药、阿帕兹醌(apaziquone)、阿格拉宾(arglabin)、三氧化二砷、硫唑嘌呤(azathioprine)、BAM 002(Novelos)、bcl-2(Genta)、贝斯布西(bestrabucil)、比立考达(biricodar)、比山群(bisantrene)、溴麦角环肽(bromocriptine)、布洛利辛(brostallicin)、苔藓虫素(bryostatin)、丁硫氨酸磺基肟(buthionine sulfoximine)、花萼海绵诱癌素(calyculin)、细胞周期非特异性抗肿瘤剂、西莫白介素(celmoleukin)、氯屈膦酸盐(clodronate)、克氯霉唑(clotrimazole)、阿糖胞苷烷磷酸酯(cytarabine ocfosfate)、DA 3030(Dong-A)、得弗伐胺(defofamine)、地尼白介素(denileukin diftitox)、右雷佐生(dexrazoxane)、地吡醌(diaziquone)、二氯乙酸、地拉齐普(dilazep)、迪斯德莫来(discodermolide)、多可沙诺(docosanol)、度骨化醇(doxercalciferol)、依地福新(edelfosine)、依洛尼塞(eflornithine)、EL532(Elan)、依氟鸟氨酸(elfomithine)、依沙芦星(elsamitrucin)、恩尿嘧啶(eniluracil)、依他啉唑(etanidazole)、依昔舒林(exisulind)、氟鲁吉喏(ferruginol)、叶酸补充剂(例如亚叶酸)、加西托星(gacytosine)、硝酸镓、吉美拉西(gimeracil)/奥特拉西(oteracil)/喃氟啉(tegafur)组合(S-1)、吉可平(glycopine)、组胺二盐酸盐、HIT双氯芬酸、HLA-B7基因疗法(Vical)、人胚胎 $\alpha$ 胎蛋白、伊班膦酸盐(ibandronate)、伊班膦酸(ibandronic acid)、ICE化疗方案、伊美克(imexon)、碘苄胍(iobenguane)、IT-101(CRLX101)、拉尼喹达(laniquidar)、LC 9018(Yakult)、来氟米特(leflunomide)、磨菇多糖(lentinan)、左旋咪唑(levamisole)+氟尿嘧啶(flourouracil)、洛伐他汀(lovastatin)、甲硫蒽酮(lucanthone)、马索罗酚(masoprocol)、美拉肿醇(melarsoprol)、甲氧氯普胺(metoclopramide)、米替福新(miltefosine)、米泼昔芬(miproxifene)、米托胍脘(mitoguazone)、米托唑胺(mitazolomide)、莫哌达醇(mopidamol)、莫特沙芬钆(motexafin gadolinium)、MX6(Galderma)、纳洛酮(naloxone)+戊唑星(pentazocine)、硝基可润(nitracrine)、诺拉曲特(nolatrexed)、NSC 631570奥曲肽(octreotide)(Ukrain)、奥拉帕尼(olaparib)、P-30蛋白、PAC-1、帕利夫明(palifermin)、帕米膦酸盐(pamidronate)、帕米膦酸(pamidronic acid)、戊聚糖聚硫酸钠、苯来美特(phenamet)、毕西巴尼(picibanil)、匹蒽醌(pixantrone)、铂、鬼臼酸(podophyllinic acid)、吡吩姆钠(porfimer sodium)、PSK(多糖-K)、兔抗胸腺细胞多株抗体、拉布立实施方案(rasburiembodiment)、视黄酸、铈 Re 186依替膦酸盐(etidronate)、罗莫肽(romurtide)、钐( $^{153}\text{Sm}$ )来昔决南衫(lexidronam)、西索菲兰(sizofiran)、苯基乙酸钠、膦门冬酸(sparfosic acid)、螺旋锗、氯化铯-89、苏拉明(suramin)、苦马豆素(swainsonine)、他拉泊芬(talaporfin)、塔利奎达(tariquidar)、他扎罗汀(tazarotene)、喃氟啉-尿嘧啶(tegafur-uracil)、替莫泊芬(temoporfin)、细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid)、四氯十氧化物、血小板生成素、乙基艾迪普林锡(tin ethyl etiopurpurin)、替拉扎明(tirapazamine)、TLC ELL-12、托西莫单抗(tositumomab)-碘 $^{131}$ 、曲氟尿苷(trifluridine)及替吡嘧啶(tipiracil)组合、肌钙蛋白(troponin) I(Harvard University,US)、尿烷、伐司扑达(valsopodar)、维替泊芬(verteporfin)、唑来膦酸(zoledronic acid)及唑苏达(zosuquidar)。

[0176] 本公开进一步提供一种使用本文所提供的式(I)化合物或药物组合物与放射疗法的组合来治疗癌症的方法。本领域中已知施用放射疗法的技术,且这些技术可用于本文所描述的组合法。式(I)化合物在此组合法中的施用可如本文中所描述来确定。

[0177] 放射疗法可通过多种方法中的一种或方法组合来施用,包括但不限于外射束疗法、内放射疗法、植入物放射、立体定向放射外科手术、全身放射疗法、放射疗法及持久性或暂时性间质性近接疗法。如本文所使用,术语“近接疗法”是指通过在肿瘤或其他增生性组织疾病部位处或附近插入体内的空间围束放射性物质所递送的放射疗法。所述术语旨在包括但不限于暴露于放射性同位素(例如At-211、I-131、I-125、Y-90、Re-186、Re-188、Sm-153、Bi-212、P-32及Lu的放射性同位素)。适用于本公开的细胞调节剂的适合的放射源包括固体及液体二者。作为非限制性实施例,放射源可为放射性核素,例如作为固体源的I-125、I-131、Yb-169、Ir-192、作为固体源的I-125,或发射光子、 $\beta$ 粒子、 $\gamma$ 放射线或其他治疗射线的其他放射性核素。放射性物质还可为由放射性核素的任何溶液(例如I-125或I-131的溶液)制备的流体,或放射性流体可使用含有较小固体放射性核素(例如Au-198、Y-90)粒子的适合的流体的浆液制备。此外,放射性核素可包含于凝胶或放射性微球体中。

[0178] 本公开还提供用于组合法的方法,其中已知额外活性剂调节其他路径、或相同路径的其他组分、或甚至重叠目标酶组,其与式(I)化合物或其药学上可接受的盐组合使用。在一个实施方案中,此类疗法包括但不限于一种或多种式(I)化合物与化学治疗剂、免疫治疗剂、激素治疗剂、治疗性抗体、靶向治疗剂及放射治疗的组合以提供协同或累加治疗效果。

[0179] 根据所治疗的病状,本公开化合物可与本文所公开的剂或其他适合的剂组合使用。因此,在一些实施方案中,一种或多种本公开化合物将与如上文所描述的其他剂共同施用。当用于组合法中时,本文所描述的化合物与第二剂同时或分开施用。所述组合施用可包括两种剂以同一剂型同时施用、以单独剂型同时施用,及分开施用。即,式(I)化合物及上文所描述的任何剂可一起调配于同一剂型中且同时施用。替代地,式(I)化合物及上文所描述的任何剂可同时施用,其中两种剂存在于单独剂型中。在另一个替代方案中,式(I)化合物可仅在上文所描述的任何剂之后施用,或反之亦然。在单独施用方案的一些实施方案中,式(I)化合物及上文所描述的任何剂相隔几分钟、或相隔几小时、或相隔几天施用。

[0180] 由于本公开的一个方面使用可分开施用的药学上活性化合物的组合治疗疾病/病状,本公开进一步涉及以试剂盒形式组合单独的药物组合物。试剂盒包含两种单独的药物组合物:式(I)化合物及第二药物化合物。所述试剂盒包含用于容纳单独组合物的容器,例如分开的瓶或分开的箔片包装。容器的额外实施例包括注射器、盒子及袋子。在一些实施方案中,试剂盒包含单独组分的使用说明。当单独组分优选地以不同剂型(例如,经口及非经肠)施用时,以不同施用时间间隔施用时或当处方健康护理专业人员需要滴定组合的个别组分时,所述试剂盒形式尤其有利。

[0181] 本公开还提供用于疗法中的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,或式(I)化合物或其药学上可接受的盐在疗法中的用途。本公开还提供用于治疗癌症的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,或式(I)化合物或其药学上可接受的盐用于治疗癌症的用途。本公开还提供用于制备供治疗癌症用的剂的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,或式(I)化合物或其药学上可接受的盐用于制备供治疗癌症用的剂的用途。本公开还提供用于治疗癌症的式

(I) 化合物或其药学上可接受的盐及额外抗癌剂,或式(I)化合物或其药学上可接受的盐及额外抗癌剂用于治疗癌症的用途。本公开还提供用于制备供治疗癌症用的剂的式(I)化合物或其药学上可接受的盐及额外抗癌剂,或式(I)化合物或其药学上可接受的盐及额外抗癌剂用于治疗癌症的用途。本公开还提供一种用于治疗癌症的包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐及额外抗癌剂的药物组合物,或包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐及额外抗癌剂的药物组合物用于治疗癌症的用途。本公开还提供一种用于治疗癌症的包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐及额外抗癌剂的药物组合物,或包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐及额外抗癌剂的药物组合物用于治疗癌症的用途。

[0182] 制备本公开化合物的方法

[0183] 可根据以下方案及实施例的程序,使用适当的物质制备本文所描述的化合物,且通过以下特定实施例进一步示例。然而,实施例中所说明的化合物不应解释为形成视为本公开的唯一种类。实施例进一步说明制备本公开的化合物的细节。本领域技术人员将容易地理解,以下制备程序的条件及工艺的已知变化可用于制备这些化合物。例如,在某些情况下,可以改变实施反应方案的步骤的顺序,以促进反应或避免不需要的反应产物。提供这些实施例的目的仅为了进一步说明且并不旨在限制本公开。下文所描述的任何中间体在本文中是通过编号的前有“Int-”而提及。

[0184] 在整个合成方案及实施例中,除非另有说明,否则缩写及首字母缩写词可与以下定义一起使用:

[0185] anhydr. = 无水;aq. = 水溶液;atm = 气氛;Bodipy-GDP = ((2R,3S,4R,5R) -5-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-3-(((2-(3-(5,5-二氟-7,9-二甲基-5H-414,514-二吡咯并[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]二氮杂硼杂环己烯-3-基)丙酰胺基)乙基)氨甲酰基)氧基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)甲基二磷酸氢酯与((2R,3R,4R,5R) -5-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-4-(((2-(3-(5,5-二氟-7,9-二甲基-5H-414,514-二吡咯并[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]二氮杂硼杂环己烯-3-基)丙酰胺基)乙基)氨甲酰基)氧基)-3-羟基四氢呋喃-2-基)甲基二磷酸氢酯的混合物(Invitrogen™,目录号G22360);Boc<sub>2</sub>O = 二碳酸二-叔丁酯;BOP = 苯并三氮唑-1-基氧基三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐;B<sub>2</sub>pin<sub>2</sub> = 双(频哪醇合)二硼;br s = 宽单峰;Bu = 丁基;t-Bu = 叔丁基;cataCxiu®C = 反-二(μ-乙酸根)双[邻(二-邻甲苯基膦基)苯甲基]二钯(II);CDCl<sub>3</sub> = 氘化氯仿;Cbz = 苄氧羰基;CDI = 1,1'-羰基二咪唑;CELITE = 硅藻土;CF<sub>3</sub> = 三氟甲基;cGMP = 环单磷酸鸟苷;CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> = 硝基甲烷;conc. = 经浓缩的;DAST = (二乙胺基)三氟化硫;DBU = 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯;DCM = 二氯甲烷;DCE = 二氯乙烷;DHP = 3,4-二氢吡喃;DIEA/DIPEA = N,N-二异丙基乙胺;DMAP = 二甲基氨基吡啶;DME = 二甲氧基乙烷,DMEA = N,N-二甲基乙胺,DMF = N,N-二甲基甲酰胺;DMP = 戴斯-马丁高碘烷;DMS = 甲硫醚;DMSO = 二甲亚砜;DPPF或dppf = 1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁;EDTA = 乙二胺四乙酸;equiv,eq. = 当量;Et = 乙基;Et<sub>3</sub>N = 三乙胺;EtOAc = 乙酸乙酯;EtOH = 乙醇;格拉布氏催化剂 = (1,3-双(2,4,6-三甲基苯基)-2-咪唑啉亚基)二氯(苯基亚甲基)(三环己基膦)钨;GTP = 鸟苷三磷酸盐;h = 小时;HATU = 1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐;HEPES = 4-(2-羟基乙基)-1-哌嗪乙磺酸;HMDS = 六甲基二硅氮烷;HPLC = 高压液相色谱法;Int. = 中间体;iPr = 异丙基;IP = 反曲点;i-PrOH = 异丙醇;KHMDs = 双(三甲基硅烷基)氨基钾;LCMS,LC/MS = 液相色谱

法-质谱法;min,min.=分钟;LDA=二异丙氨基锂;M=摩尔;m-CPBA或mCPBA=3-氯过苯甲酸;Me=甲基;MeCN,ACN=乙腈;MeOH=甲醇;mp,m.p.=熔点;mpk=毫克/千克;MsCl=甲磺酰氯;MOM=甲氧基甲基;MTBE=甲基叔丁基醚;N=正常;NaOMe=甲醇钠;NaHMDS=六甲基二硅氮烷钠;NBS=N-溴代琥珀酰亚胺;NCS=N-氯代琥珀酰亚胺;NMO=4-甲基吗啉N-氧化物;NMR=核磁共振;N.D.=未确定;PDA=光电二极管阵列;Pet.醚=石油醚;Pd-C=钯/碳;Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>=三(二苯亚甲基丙酮)二钯(0);Ph=苯基;Pr=丙基;psi=磅/平方寸量规;POCl<sub>3</sub>=氧氯化磷;PPTS=吡啶对甲苯磺酸盐;PTLC,prep TLC=制备型薄层色谱法;pTsOH=对甲苯磺酸;rac=外消旋;RT=保留时间;RP-HPLC=反向HPLC;rt=室温;sat.=饱和;SFC=超临界流体色谱法;SOS=非七激酶子(Son of Sevenless);TBAF=氟化四正丁基铵;TBSCl=叔丁基二甲基氯硅烷;TBDPS-Cl=叔丁基(氯)二苯基硅烷;TEA=三乙胺;TEMPO=2,2,6,6-四甲基哌啶1-氧基;Tf<sub>2</sub>O=三氟甲磺酸酐;TFA=三氟乙酸;TFAA=三氟乙酸酐;THP=四氢吡喃;TLC=薄层色谱法;THF=四氢呋喃;TMEDA=N,N,N',N'-四甲基乙二胺;TMS=三甲基硅烷;TWEEN=聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单月桂酸酯;VCD=振动圆二色性;v,v/v=体积、体积比体积;w,w/w=重量、重量比重量,XPhos=2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基联苯基;μm=微米。

#### [0186] 实施例

[0187] 除非另有说明,否则浓度是指在减压下(例如通过旋转蒸发)移除挥发性组分。除非另有说明,否则所有温度以摄氏度为单位。除非另有说明,否则通过阳离子检测模式下电喷雾离子质谱分析(ESI)测量的质谱(MS),且m/z是指[M+H]<sup>+</sup>离子。除非另有说明,否则在环境温度下,在400-500MHz下记录<sup>1</sup>H NMR光谱。报告为0.5H的质子是归因于旋转异构信号。RP-HPLC是指在C18-官能化的制备型或半制备型柱上使用乙腈及水(用三氟乙酸或氢氧化铵作为溶剂修饰)作为洗脱液进行梯度洗脱的反向HPLC,且除非另有说明,否则馏分经冻干或通过旋转蒸发浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化是使用快速色谱法是统(例如ISCO®或Biotage®)和使用所述溶剂是统洗脱的市售预装填硅胶柱实现。除非在实验程序及化合物表中另有说明,否则以外消旋体形式合成本文所描述的化合物。实施例中的某些产物/中间体包括“峰1”及/或“峰2”的指示,其是指在指定条件下用于以分离化合物的色谱柱(例如SFC柱)洗脱指定产物/中间体的顺序。因此,例如,峰1是指在指定条件下的第一洗脱化合物,例如第一洗脱立体异构体。

[0188] 立体异构体的手性拆分中所用的SFC柱概述于下表中:

[0189]

SFC 柱	SFC 柱缩写
Daicel Chiralpak IC (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 A
AD-H (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 B
Phenomenex, LUX-2 (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 C
Phenomenex, Cellulose-2 (25 mm x 250 mm, 10 um)	柱 D
Daicel Chiralpak AS (50 mm x 250 mm, 10 um)	柱 E
Regis, (R,R) Whelk-O1 (50 mm x 250 mm, 10 um)	柱 F
Daicel Chiralpak AD (30 mm x 250 mm, 10 um)	柱 G
Daicel Chiralpak OJ-H (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 H
Phenomenex, LUX-4 (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 I
Daicel Chiralpak AS (50 mm x 250 mm, 10 um)	柱 J
Daicel Chiralpak IG (30 mm x 250 mm, 10 um)	柱 K
Chiral Technologies, IB-N (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 L
Daicel Chiralpak IA (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 M
ES Industries, CCAF4 (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 N
Phenomenex, Cellulose-2 (30 mm x 250 mm, 5 um)	柱 O
Daicel Chiralpak IG-3 (4.6 mm x 100 mm, 3 um)	柱 P
CCA (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 Q
CCO (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 R
CCC (21 mm x 250 mm, 5 um)	柱 S
Daicel Chiralpak IC (30 mm x 250 mm, 10 um)	柱 T
Chiral SFC OD-H (21 mm x 250 mm x 5 μm)	柱 U

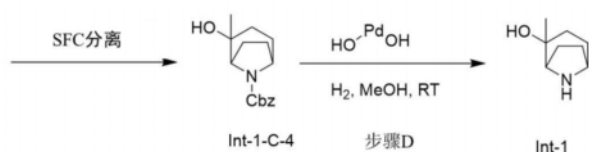
[0190]	SJ (21 mm x 250 mm x 5 $\mu$ m)	柱 V
	Phenomenex-Cellulose-2 (30 mm x 250 mm, 10 $\mu$ m)	柱 W

[0191] 中间体的合成:

[0192] 中间体1:2-甲基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-醇(Int-1)



[0193]



[0194] 步骤A: 苄基2-羟基-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸酯(Int-1-A)

[0195] 向8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-醇、HCl (600mg, 3.67mmol) 的DCM(18mL) 溶液中加入N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(948mg, 7.33mmol), 随后加入N,N-二甲基吡啶-4-胺(45mg, 0.37mmol)。然后向此反应混合物中逐滴加入苄基氯甲酸酯(1.00g, 5.87mmol)。反应混合物在环境温度下搅拌5小时。用DCM稀释混合物, 用饱和碳酸氢钠溶液、饱和盐水溶液洗涤, 并减压浓缩。通过快速硅胶色谱(用甲醇的二氯甲烷溶液洗脱, 0-25%梯度) 纯化外消旋混合物, 得到标题化合物。MS (ESI) : m/z (M+H)<sup>+</sup>262。

[0196] 步骤B: 苄基2-氧代-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸酯(Int-1-B)

[0197] 向苄基2-羟基-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸酯(Int-1-A) (800mg, 3.06mmol) 的DCM(28mL) 溶液中加入戴斯-马丁高碘烷(1.17g, 2.76mmol)。反应混合物在环境条件下搅拌5h。用DCM稀释混合物, 用饱和碳酸氢钠溶液、饱和盐水溶液洗涤, 并减压浓缩。通过快速硅胶色谱(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱, 0-45%梯度) 纯化产物, 得到标题化合物。MS (ESI) : m/z (M+H)<sup>+</sup>260。

[0198] 步骤C: 苄基2-羟基-2-甲基-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸酯(Int-1-C)

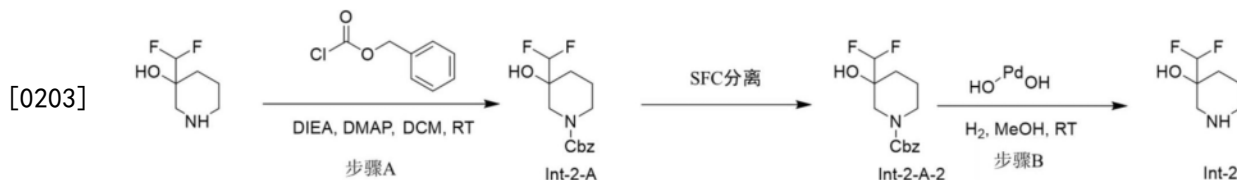
[0199] 在氮气下于0 °C, 向苄基2-氧代-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸酯(Int-1-B) (540mg, 2.1mmol) 的THF (19mL) 溶液中加入甲基溴化镁(1.4mL, 4.2mmol, 3M Et<sub>2</sub>O溶液)。将混合物缓慢升至环境温度并搅拌45分钟。用饱和氯化铵溶液淬灭反应混合物, 并用乙酸乙酯提取(2 × 10mL)。用饱和盐水溶液洗涤合并的提取物, 并减压浓缩。通过快速硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱, 0-40%梯度) 纯化产物, 得到标题化合物, 其为立体异构体的混合物。MS (ESI) : m/z (M+H)<sup>+</sup>276。通过SFC(柱A; 含0.1% NH<sub>4</sub>OH的15% MeOH) 分离立体异构体的混合物。减压浓缩级分, 得到标题化合物Int-1-C-1、Int-1-C-2、Int-1-C-3和Int-1-C-4, 为分离的立体异构体, 按其洗脱顺序编号。

[0200] 步骤D: 2-甲基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-醇(Int-1)。

[0201] 在氮气下向装有碳载氢氧化钡(19.18mg, 0.068mmol) 的8mL小瓶中加入苄基(1R,

5S)-2-羟基-2-甲基-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸酯(Int-1-C-4)的MeOH(3mL)溶液。将烧瓶抽真空并回充氮气(3×)。然后再抽真空并用氢气球回充。在环境温度下搅拌1.5h后,将反应混合物抽真空并回充氮气。过滤反应并用甲醇洗涤。浓缩滤液后得到标题化合物(Int-1)。MS(ESI): $m/z(M+H)^+$ 142。

[0202] 中间体2:3-(二氟甲基)哌啶-3-醇(Int-2)



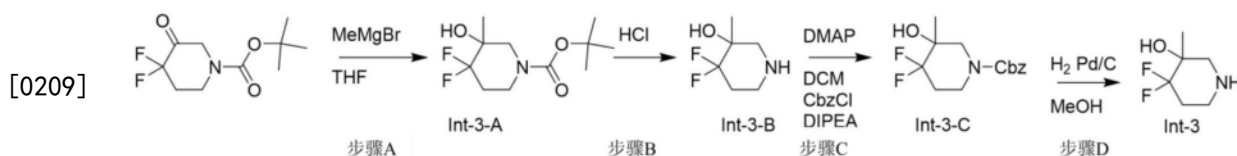
[0204] 步骤A: 苄基3-(二氟甲基)-3-羟基哌啶-1-羧酸酯(Int-2-A)

[0205] 向3-(二氟甲基)哌啶-3-醇、HCl(1.5g,8.0mmol)的DCM(30mL)溶液中加入N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(2.85mL,16.0mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.098g,0.80mmol)。向该混合物中逐滴加入苄基氯甲酸酯(2.28mL,16.0mmol)。混合物在环境温度下搅拌过夜。用DCM稀释混合物,用饱和碳酸氢钠溶液、饱和盐水溶液洗涤,并减压浓缩。通过快速硅胶色谱(用EtOAc的己烷溶液洗脱,0-25%梯度)纯化外消旋混合物。通过手性SFC色谱柱B;含0.1% NH<sub>4</sub>OH的25%MeOH分离产物,得到标题化合物,为分离的立体异构体(Int-2-A-1,峰1)MS(ESI): $m/z(M+H)^+$ 286和(Int-2-A-2,峰2)MS(ESI): $m/z(M+H)^+$ 286。

[0206] 步骤B: 3-(二氟甲基)哌啶-3-醇(Int-2)

[0207] 在氮气下向装有碳载氢氧化钯(39.4mg,0.140mmol)的8mL小瓶中加入苄基3-(二氟甲基)-3-羟基哌啶-1-羧酸酯(Int-2-A-2)(100mg,0.351mmol)的MeOH(3mL)溶液。将烧瓶抽真空并回充氮气(3×)。然后再抽真空并用氢气球回充。在环境温度下搅拌3h后,将反应混合物抽真空并回充氮气。过滤并浓缩反应,得到标题化合物。<sup>1</sup>H NMR(499MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$  5.79(t,J=55.9Hz,1H),5.07(s,1H),2.73(dd,J=12.8,3.9Hz,1H),2.64-2.54(m,2H),2.44(dd,J=15.8,6.7Hz,1H),1.59(d,J=9.7Hz,1H),1.57-1.50(m,2H),1.38(dd,J=11.6,4.2Hz,1H)。

[0208] 中间体3:4,4-二氟-3-甲基哌啶-3-醇(Int-3)



[0210] 步骤A: 叔丁基4,4-二氟-3-羟基-3-甲基哌啶-1-羧酸酯(Int-3-A)

[0211] 在0℃下,用甲基溴化镁(1630 $\mu$ l,4.89mmol,3M二乙醚溶液)处理叔丁基4,4-二氟-3-氧代哌啶-1-羧酸酯(200mg,0.921mmol)的THF(2367 $\mu$ l)溶液。使反应混合物升温至室温并搅拌4h,然后反应混合物继续进行下一个步骤。

[0212] 步骤B: 4,4-二氟-3-甲基哌啶-3-醇(Int-3-B)

[0213] 在0℃下,向步骤A的反应混合物中(逐滴)加入HCl的二噁烷溶液(1183 $\mu$ l,4.73mmol,4M)。使反应混合物升温至室温并搅拌过夜。使用碳酸氢钠(sat.aq.)进行中和。用DCM(3×20mL)提取产物,并减压浓缩。将粗残留物用于下一步,无需纯化。

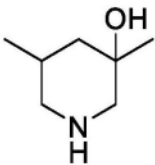
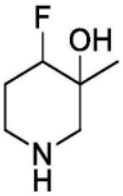
[0214] 步骤C: 苄基4,4-二氟-3-羟基-3-甲基哌啶-1-羧酸酯(Int-3-C)

[0215] 将步骤B中获得的4,4-二氟-3-甲基哌啶-3-醇的粗混合物溶解在二氯甲烷(2.4mL)中,并在0°C下用Hunig碱(2000 $\mu$ l,11.45mmol)和DMAP(11.57mg,0.095mmol)处理,然后加入苄基氯甲酸酯(270 $\mu$ l,1.893mmol)。使反应混合物升温至室温并搅拌2h。真空浓缩反应混合物,并重新溶解在DMSO(3mL)中。通过Prep-HPLC(C18,0-100%MeCN/水,含0.1%TFA改性剂)直接从溶液中分离出产物。减压浓缩含产物的级分,得到标题化合物,为差向异构体的混合物。LCMS(ESI):m/z(M+H)<sup>+</sup>286。

[0216] 步骤D:4,4-二氟-3-甲基哌啶-3-醇(Int-3)

[0217] 在氩气下,向装有碳载钯(14mg,0.013mmol,10%wt)的密封小瓶中加入苄基4,4-二氟-3-羟基-3-甲基哌啶-1-羧酸酯(11mg,0.039mmol)(Int-3-C)的MeOH(1000 $\mu$ L)溶液。通过气球引入氢气,并添加一个出口针,以使氢气在溶剂液面以下冒泡1分钟。将氢气入口提高到溶剂液面以上,并移除出口。在氢气下搅拌反应1h。过滤反应混合物,并减压浓缩,得到标题化合物。LCMS(ESI):m/z(M+H)<sup>+</sup>152。

[0218] 下表中的化合物是使用与Int-3的合成中所述相似的程序合成的,对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换,在完成所指示的步骤之后,任选地使用所指示的条件拆分立体异构体,并结转所指示的峰。合适的替换可市购获得,如文献所述合成,使用本领域技术人员可用的方法合成,或如本文所述合成。

Int	结构	化合物名称	分离	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
[0219] Int-1		3,5-二甲基哌啶-3-醇	步骤 C; SFC 柱 C, 含 0.1% NH <sub>4</sub> OH 的 25% MeOH; 结转重叠峰 2/3 (共 4 个)	130
Int-2		4-氟-3-甲基哌啶-3-醇	NA	134



用盐水(500mL×2)洗涤合并的有机层,用无水硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。通过硅胶柱色谱(洗脱剂:石油醚:乙酸乙酯=50:1至1:1)纯化粗残留物,得到乙基2-亚甲基-5-氧代四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-8-B)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ4.96-5.13(m,2H),4.27(br d,J=16Hz,1H),4.19(q,J=7Hz,2H),3.71(br d,J=16Hz,1H),3.04(d,J=16Hz,1H),2.69-2.83(m,1H),2.59(ddd,J=2,9,13Hz,1H),2.40-2.52(m,2H),1.96-2.22(m,1H),1.26(t,J=7Hz,3H)。

[0227] 步骤C:乙基2,5-二氧化四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-8-C)

[0228] 将臭氧(239mmol)(0.5~1m<sup>3</sup>/h)通入乙基2-亚甲基-5-氧代四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-8-B)(160g,765mmol)的DCM(1.60升)和MeOH(160mL)溶液中,在-70℃下持续9h。向反应混合物中通入氮气以吹扫多余的臭氧。然后,在-70℃下向混合物中加入二甲基硫醚(76.0g,1.22mol)。将反应混合物在20℃下搅拌14h。减压浓缩反应混合物,得到残留物。通过硅胶柱色谱(洗脱剂:石油醚:乙酸乙酯=50:1至1:1)纯化粗残留物,得到乙基2,5-二氧化四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-8-C)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ4.22(q,J=7Hz,2H),4.07-4.12(m,1H),3.54(dd,J=1,18Hz,1H),2.92-3.03(m,2H),2.74-2.88(m,1H),2.42-2.51(m,2H),2.12-2.23(m,1H),1.27(t,J=7Hz,3H)。

[0229] 步骤D:乙基2-羟基-5-氧代四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-8-D)

[0230] 在氮气下于0℃向乙基2,5-二氧化四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-8-C)(200g,947mmol)的EtOH(2.00L)溶液中加入NaBH<sub>4</sub>(10.8g,284mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌10分钟。通过在5℃下加入sat.NH<sub>4</sub>Cl(50.0mL)来淬灭反应混合物,并在5℃下搅拌混合物0.5h。减压浓缩反应混合物。通过硅胶柱色谱(洗脱剂:石油醚:乙酸乙酯=50:1至1:1)纯化粗残留物,得到乙基2-羟基-5-氧代四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-8-D)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ4.54-4.70(m,1H),4.16-4.31(m,2H),3.93(dd,J=6,13Hz,1H),3.09(d,J=13Hz,1H),2.75-2.90(m,1H),2.39-2.63(m,4H),2.01-2.13(m,1H),1.83(dd,J=6,14Hz,1H),1.29(t,J=7Hz,3H)。

[0231] 步骤E:乙基(2R,7aS)-2-氟-5-氧代四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-8-E-2)

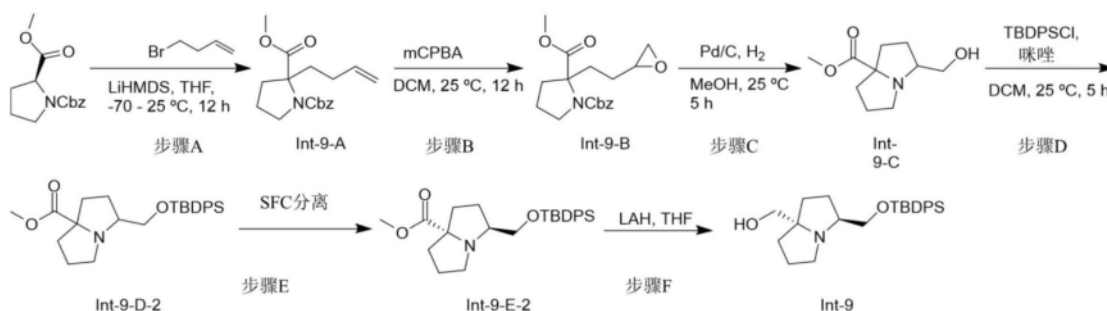
[0232] 在氮气下于-70℃向乙基2-羟基-5-氧代四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-8-D)(100g,468mmol)的DCM(1L)溶液中,逐滴加入DAST(113g,703mmol,93mL)。将反应混合物升温至20℃并搅拌16h。通过在10℃下加入EtOH(50.0mL)来淬灭反应,然后用水(300mL)稀释,并用DCM(200mL×2)提取。用盐水(200mL)洗涤合并的有机层,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并减压浓缩。合并六次相同反应的粗产物,并通过硅胶柱色谱(石油醚:乙酸乙酯=50:1至1:1)纯化。该材料通过prep-HPLC(C18,含0.05% HCl的0-100% MeCN/水)进一步纯化。使用手性SFC(色谱柱E;含0.1%NH<sub>4</sub>OH的EtOH)拆分外消旋混合物,得到乙基(2R,7aS)-2-氟-5-氧代四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-8-E-2,峰2)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ5.16-5.43(m,1H),4.14-4.27(m,3H),3.06-3.26(m,1H),2.57-2.85(m,3H),2.38-2.50(m,1H),2.07-2.30(m,2H),1.28(t,J=7Hz,3H)。

[0233] 步骤F:((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲醇(Int-8)

[0234] 在氮气下于0℃,向(2R,7aS)-2-氟-5-氧代四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸乙酯(Int-8-E-2)(82.0g,381mmol)的THF(300mL)溶液中加入LAH(21.7g,571mmol)的混合物的THF(520mL)溶液。将反应混合物升温至70℃并搅拌3小时。将反应混合物冷却至0℃,并在氮

气下于0℃加入 $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 淬灭。反应混合物在20℃下搅拌0.5小时,然后过滤。用EtOAc (600mL×5)洗涤滤饼,用无水 $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ 干燥滤液。过滤混合物,减压浓缩滤液,得到残留物。通过硅胶柱色谱( $\text{SiO}_2$ , DCM:甲醇=100:1至10:1)纯化粗残留物,得到标题化合物。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ 5.06-5.34 (m, 1H), 3.25 (s, 2H), 3.08-3.23 (m, 3H), 2.85-3.08 (m, 2H), 2.00-2.12 (m, 2H), 1.74-1.93 (m, 4H)。

[0235] 中间体9: ((3S, 7aS)-3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲醇(Int-9)



[0236]

[0237] 步骤A: 1-苄基-2-甲基-2-(丁-3-烯-1-基)吡咯烷-1,2-二羧酸酯(Int-9-A)

[0238] 在氮气下于-78℃向1-苄基-2-甲基(S)-吡咯烷-1,2-二羧酸酯(38g, 144mmol)的THF(200mL)溶液中加入LiHMDS(216mL, 216mmol),将反应在 $\text{N}_2$ 气氛下于-78℃搅拌反应1小时。然后在-78℃下加入4-溴丁-1-烯(39.0g, 289mmol),在 $\text{N}_2$ 气氛下于25℃搅拌反应2小时。用饱和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液(300mL)淬灭混合物,并用EtOAc(200mL×3)提取,用NaCl(aq. sat., 200mL)洗涤有机层,用无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥并真空浓缩。通过快速硅胶色谱(用0-30%梯度的乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化残留物,得到标题化合物。MS(ESI)  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  318。

[0239] 步骤B: 1-苄基-2-甲基-2-(2-(环氧乙烷-2-基)乙基)吡咯烷-1,2-二羧酸酯(Int-9-B)

[0240] 向1-苄基-2-甲基-2-(丁-3-烯-1-基)吡咯烷-1,2-二羧酸酯(Int-9-A)(27g, 85mmol)的DCM(500mL)溶液中加入m-CPBA(45.9g, 213mmol)(80%),所得混合物在20℃搅拌2小时。过滤反应物,用 $\text{Na}_2\text{SO}_3$ (aq. sat., 100mL)和盐水(aq. sat., 100mL)洗涤滤液。用 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥有机层并过滤,通过快速硅胶色谱(用0-20%梯度的乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化滤液,得到标题化合物。MS(ESI)  $m/z$  334。

[0241] 步骤C: 甲基-3-(羟甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-9-C)

[0242] 向1-苄基-2-甲基-2-(2-(环氧乙烷-2-基)乙基)吡咯烷-1,2-二羧酸酯(Int-9-B)(24g, 72.0mmol)的MeOH(500mL)溶液中加入Pd-C(3.83g, 3.60mmol, 10%wt),所得混合物在20℃搅拌3小时。过滤反应物并用MeOH(200mL)洗涤,减压浓缩滤液,得到标题化合物,其直接用于下一步。MS(ESI)  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  200。

[0243] 步骤D: 反式-甲基-3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-9-D-2)

[0244] 向甲基-3-(羟甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-9-C)(14g, 70.3mmol)的DCM(30mL)溶液中加入咪唑(9.57g, 141mmol)和TBDPSCl(21.7mL, 84mmol),所得混合物在20℃搅拌1小时。过滤反应物,真空浓缩滤液。通过快速硅胶色谱(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化残留物,得到标题化合物(Int-9-D-2,第二洗脱异构体,反式)。MS(ESI)  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$

438。

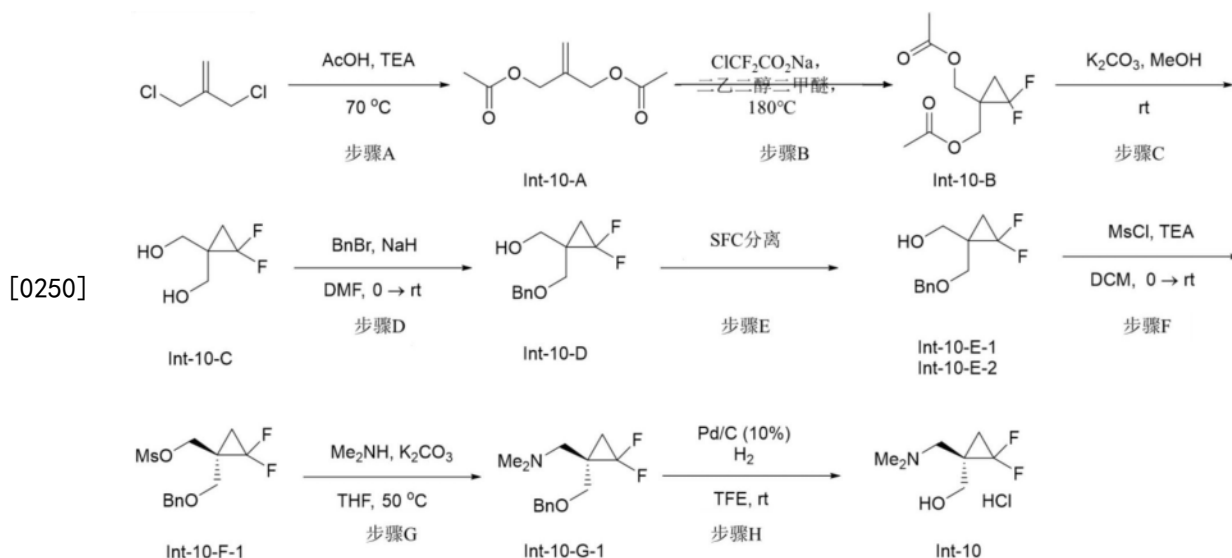
[0245] 步骤E: 甲基(3S,7aS)-3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-9-E-2)

[0246] 将反式-甲基3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(Int-9-D-2)(11.5g,26.3mmol)的混合物通过制备型SFC(柱F;含0.1%NH<sub>4</sub>OH的20%EtOH)进行分离,得到标题化合物(Int-9-E-2,第二洗脱异构体)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>:m/z 438。

[0247] 步骤F: ((3S,7aS)-3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲醇(Int-9)

[0248] 在0℃下向甲基(3S,7aS)-3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-羧酸酯(4.2g,9.6mmol,Int-9-E-2)的THF(60mL)溶液中分批加入LiAlH<sub>4</sub>(0.546g,14.39mmol)。反应混合物在0℃下搅拌1小时。用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·10H<sub>2</sub>O(10g)淬灭反应混合物,并用EtOAc(50mL)稀释。过滤反应混合物。减压浓缩滤液,得到残留物,通过快速硅胶色谱(用甲醇的DCM溶液洗脱,10%等度洗脱)将其纯化,得到((3S,7aS)-3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲醇(Int-9)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>m/z:410。

[0249] 中间体10: (R)-(1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇盐酸盐(Int-10)



[0251] 步骤A: 2-[(乙酰氧基)甲基]丙-2-烯-1-基乙酸酯(Int-10-A)

[0252] 向5L 4-颈圆底烧瓶中加入3-氯-2-(氯甲基)丙-1-烯(600.g,4.80mol)、三乙胺(1.46kg,14.4mol)和乙酸(721g,12.0mol)。将所得溶液在70℃下搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温,并通过加入3L水来淬灭。用乙酸乙酯(3×1L)提取所得溶液,并用盐水溶液(2×1L)洗涤合并的有机层。用无水硫酸钠干燥有机层。过滤干燥后的溶液,并浓缩滤液。通过硅胶柱色谱,使用乙酸乙酯/石油醚(1:6)对残留物进行纯化,得到2-[(乙酰氧基)甲基]丙-2-烯-1-基乙酸酯(Int-10-A)。

[0253] 步骤B: [1-[(乙酰氧基)甲基]-2,2-二氟环丙基]甲基乙酸酯(Int-10-B)

[0254] 在氮气惰性气氛的维持下,向20-L的4-颈圆底烧瓶中加入2-[(乙酰氧基)甲基]丙-2-烯-1-基乙酸酯(Int-10-A)(600.g,3.48mol)的二乙二醇二甲醚(5L)溶液。随后在180℃下,在5小时内逐滴加入ClCF<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Na(2.65kg,17.4mol)的二乙二醇二甲醚(5L)溶液,同时搅拌。将所得溶液在180℃下搅拌1小时。将反应混合物冷却至室温,并通过加入H<sub>2</sub>O(5L)来

淬灭。用石油醚(4×2L)提取所得溶液,并合并有机层。用水(3×2L)洗涤合并的有机层,并用无水硫酸钠干燥。过滤干燥后的溶液,并将滤液浓缩至干燥,得到[1-[(乙酰氧基)甲基]-2,2-二氟环丙基]甲基乙酸酯(Int-10-B),其无需纯化即可直接用于下一步。

[0255] 步骤C: [2,2-二氟-1-(羟甲基)环丙基]甲醇(Int-10-C)

[0256] 向20-L的4-颈圆底烧瓶中加入[1-[(乙酰氧基)甲基]-2,2-二氟环丙基]甲基乙酸酯(Int-10-B)(800g,3.60mol)、MeOH(10L)和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(995g,7.20mol)。将所得溶液在室温下搅拌过夜。过滤出固体。浓缩滤液。然后通过加入水(2L)来稀释所得混合物。用乙酸乙酯(5×1L)提取所得溶液。合并有机层并在无水硫酸钠上干燥。过滤干燥后的溶液,并真空浓缩滤液。通过硅胶柱色谱法,使用乙酸乙酯/石油醚(1:1)对残留物进行纯化,得到[2,2-二氟-1-(羟甲基)环丙基]甲醇(Int-10-C)。<sup>1</sup>H NMR(300MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ1.30(t,J=9Hz,2H),3.52(m,4H),4.79(t,J=5.6Hz,2H)。

[0257] 步骤D: (1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇(Int-10-D)

[0258] 用氮气吹扫装有倒入式氮适配器的500mL单颈圆底烧瓶,然后加入氢化钠(4.52g,113mmol)和N,N-二甲基甲酰胺(100mL)。将悬浮液冷却至0℃。分批次加入固体[2,2-二氟-1-(羟甲基)环丙基]甲醇(Int-10-C)(12.0g,87mmol)。混合物在升温至室温的同时搅拌1小时。然后将所得反应混合物冷却至0℃,并用苄基溴(10.3mL,87mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(10mL)溶液处理。混合物在室温下搅拌1小时后,然后用饱和氯化铵水溶液(10mL)和水(10mL)处理。在乙酸乙酯(75mL)和水(75mL)之间分配混合物。用1wt%的LiCl水溶液洗涤(30mL×3)有机层,用无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩滤液。通过硅胶柱色谱法(EtOAc的己烷溶液,0-40%梯度)纯化,得到(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇(Int-10-D)。<sup>1</sup>H NMR(499MHz,Methanol-d<sub>4</sub>) δ7.39-7.32(m,4H),7.32-7.26(m,1H),4.62-4.49(m,2H),3.79-3.64(m,3H),3.60(dd,J=10.4,2.1Hz,1H),1.35(dddd,J=29.1,12.5,8.0,4.5Hz,2H)。

[0259] 步骤E: (R)-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇(Int-10-E-1)和(S)-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇(Int-10-E-2)

[0260] 使用SFC手性色谱(柱B;5% MeOH w/0.1% NH<sub>4</sub>OH和5% H<sub>2</sub>O)对消旋的(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇(Int-10-D)进行拆分,得到(R)-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇(Int-10-E-1,峰1)和(S)-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇(Int-10-E-2,峰2)。(Int-10-E-1,峰1)<sup>1</sup>H NMR(499MHz,Methanol-d<sub>4</sub>) δ7.39-7.26(m,5H),4.58-4.51(m,2H),3.78-3.67(m,3H),3.60(dd,J=10.4,2.0Hz,1H),1.35(dddd,J=28.4,12.5,8.0,4.5Hz,2H)。(Int-10-E-2峰2)<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>) δ7.42-7.29(m,5H),4.63-4.51(m,2H),3.87-3.76(m,2H),3.69(d,J=2.0Hz,2H),2.40(t,J=6.1Hz,1H),1.39(ddd,J=4.5,8.0,12.5Hz,1H),1.28(ddd,J=4.3,7.9,12.4Hz,1H)。

[0261] 步骤F: (S)-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲基甲磺酸酯(Int-10-F-1)

[0262] 将(R)-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇(Int-10-E-1)(3.25g,14.24mmol)的DCM(30mL)溶液冷却至0℃,并用三乙胺(7.94mL,57.0mmol)处理,然后用甲磺酰氯(2.22mL,28.5mmol)的DCM(2.2mL)溶液处理。反应混合物在升温至室温的同时搅拌3小时。通过硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化反应混合物,得到(S)-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲基甲磺酸酯(Int-10-F-1)。MS(ESI):m/z(M+Na)<sup>+</sup>329。

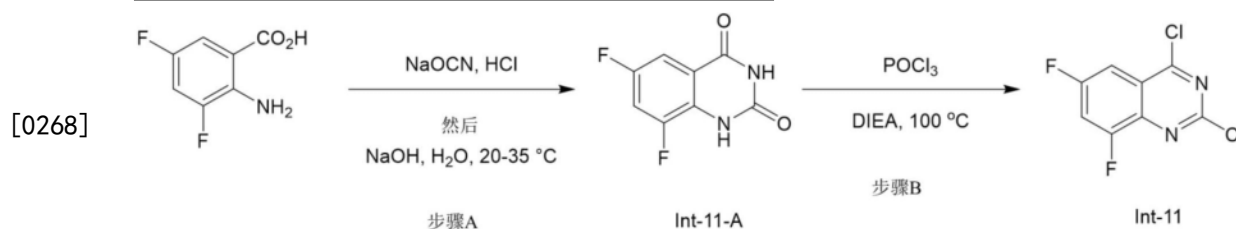
[0263] 步骤G: (R)-1-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)-N,N-二甲基甲胺(Int-10-G-1)

[0264] 用碳酸钾(3.70g, 26.8mmol)处理(S)-1-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲基甲磺酸酯(Int-10-F-1)(4.10g, 13.4mmol)和二甲基胺(2M THF溶液)(33.5mL, 66.9mmol)。将烧瓶加盖,在50℃下加热24小时。将反应混合物冷却至室温,用水(20mL)稀释,并用乙酸乙酯提取。用无水硫酸钠干燥合并的有机层,过滤,并浓缩滤液。通过硅胶柱色谱法(用(1:3EtOH/EtOAc)的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化粗残留物,得到(R)-1-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)-N,N-二甲基甲胺(Int-10-G-1)。MS(ESI):m/z(M+H)<sup>+</sup>256。

[0265] 步骤H: (R)-1-(1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇盐酸盐(Int-10)

[0266] 将(R)-1-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)-N,N-二甲基甲胺(Int-10-G-1)(2.96g, 11.6mmol)和Pd/C(10wt%, 湿载体)(0.618g, 0.580mmol)的2,2,2-三氟乙醇(20.0mL)溶液置于100mL回收瓶中,在氢气(1atm, 气球)下于室温搅拌20小时。通过Celite™垫过滤混合物,用甲醇(3×10mL)冲洗垫。用3M HCl的甲醇溶液(12mL, 36.0mmol)处理合并的滤液和洗液,然后减压浓缩,得到清澈无色的粘性浆液。加入乙醚(10mL),搅拌混合物以开始沉淀。真空浓缩混合物,然后用乙醚(10mL)处理并超声处理1分钟。倾析乙醚。真空干燥固体,得到标题化合物(Int-10)。MS(ESI):m/z(M+H)<sup>+</sup>166。

[0267] 中间体11:2,4-二氯-6,8-二氟喹唑啉(Int-11)



[0269] 步骤A:6,8-二氟喹唑啉-2,4(1H,3H)-二酮(Int-11-A)

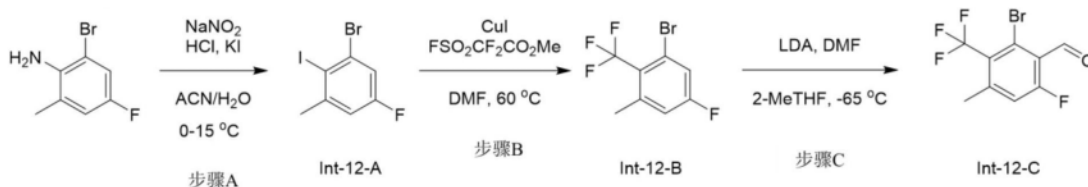
[0270] 在20℃下,在5L三-颈圆底烧瓶中将氢氧化钠(67.9g, 1.70mol)溶解于H<sub>2</sub>O(2.10L)。在20℃下向该混合物中加入2-氨基-3,5-二氟苯甲酸(210g, 1.21mol)。将所得混合物在35℃下搅拌1小时。在35℃下向该混合物中加入异氰酸钠(173g, 2.67mol),并搅拌直至固体完全溶解。将所得混合物在35℃下搅拌1小时。在30-35℃下,向该混合物中逐滴加入HCl(6M, 1.01L, 6.06mol),持续1小时,并保持pH值在6至7之间。然后在25℃下加入NaOH(146g, 3.64mol),持续1小时。将所得混合物在25℃下搅拌9小时。在20-25℃下,向该混合物中逐滴加入HCl(12N),并保持pH值在~1至2之间。向混合物中加入丙酮(1.2L),并在25℃下搅拌1小时。通过过滤除去沉淀物,并用丙酮(500mL)洗涤滤饼。向滤液中加入甲醇(1.2L),并在25℃下搅拌1小时。通过收集沉淀物获得产物,得到6,8-二氟喹唑啉-2,4(1H,3H)-二酮(Int-11-A)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz DMSO-d<sub>6</sub>)δ11.54(s, 1H), 11.34(s, 1H), 7.71-7.72(m, 1H), 7.46-7.49(m, 1H)。

[0271] 步骤B:2,4-二氯-6,8-二氟喹唑啉(Int-11)

[0272] 在20℃下,向5L三-颈圆底烧瓶中加入6,8-二氟喹唑啉-2,4(1H,3H)-二酮(Int-11-A)(166g, 838mmol)和POCl<sub>3</sub>(1.03kg, 6.70mol)。将所得混合物冷却至10℃,并加入DIPEA(324g, 2.51mol)。在100℃下搅拌反应混合物3小时。减压蒸发反应混合物至干燥。将残留物溶解在EtOAc(1L)中,并用饱和NaHCO<sub>3</sub>(1L)洗涤。用盐水(300mL×2)洗涤有机层,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干

干燥并过滤。真空浓缩滤液至干燥。在25℃下,用MTBE (300mL) 研磨残留物30分钟。过滤混合物,并收集固体以获得2,4-二氯-6,8-二氟喹啉(Int-11)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.24-8.29(m, 1H), 7.97-7.99(m, 1H)。

[0273] 中间体12:4-溴-6-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吲唑(Int-12)



[0274]



[0275] 步骤A:1-溴-5-氟-2-碘-3-甲基苯(Int-12-A)

[0276] 将2-溴-4-氟-6-甲基苯胺(200g, 0.983mol)溶解在MeCN(800mL)中。将所得混合物冷却至0℃。在保持反应温度为0℃的同时,向反应混合物中加入浓HCl(12M, 245mL)。将NaNO<sub>2</sub>(81.1g, 1.18mol eq)的水溶液(400mL)逐滴加入反应混合物中,同时保持反应温度为0℃。所得混合物在0℃下搅拌0.5小时。然后,在0℃下将KI(195g, 1.18mol)的水溶液(400mL)逐滴加入反应混合物中。将所得混合物升温至室温,并在20℃下搅拌12小时。通过加入NaOH水溶液将产物混合物调整为pH 8-9,并用EtOAc(2.00L×2)提取水相。用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥有机相,过滤并浓缩。通过硅胶柱色谱法(EtOAc的己烷溶液, 0-100%梯度)纯化残留物,得到1-溴-5-氟-2-碘-3-甲基苯(Int-12-A)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.27-7.22(m, 1H), 6.95(dd, J=2.4, 8.8Hz, 1H), 2.56(s, 3H)。

[0277] 步骤B:1-溴-5-氟-3-甲基-2-(三氟甲基)苯(Int-12-B)

[0278] 将1-溴-5-氟-2-碘-3-甲基苯(Int-12-A)(100g, 0.317mol)溶解在DMF(1.50L)中。在25℃下向该混合物中加入CuI(514g, 2.70mol)和甲基2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸酯(518g, 2.70mol)。将反应混合物加热并在60℃下搅拌12小时。使用上述条件将此反应重复额外3批次。将四批次反应合并,并用水(24.0L)淬灭。用石油醚(8.00L×2)提取混合物。用盐水(4.00L×2)洗涤合并的有机层并经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。过滤干燥后的溶液,真空浓缩滤液,得到含有1-溴-5-氟-3-甲基-2-(三氟甲基)苯(Int-12-B)的粗品。

[0279] 步骤C:2-溴-6-氟-4-甲基-3-(三氟甲基)苯甲醛(Int-12-C)

[0280] 将1-溴-5-氟-3-甲基-2-(三氟甲基)苯(Int-12-B)(100g, 0.382mol)溶解在2-MeTHF(500mL)中。将反应混合物冷却至-65℃。在-65℃下向混合物中加入LDA(213mL, 426mmol)的2M溶液。在-65℃下搅拌反应混合物0.5小时。然后,在-65℃下向该混合物中逐滴加入DMF(31.2g, 0.420mol)。在-65℃下搅拌反应混合物2小时。通过使用1M HCl将反应混合物的pH调整为3-4,并用2-MeTHF(500mL×2)提取水相。经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥有机相,过滤并浓缩,得到2-溴-6-氟-4-甲基-3-(三氟甲基)苯甲醛(Int-12-C)。

[0281] 步骤D:4-溴-6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-吡唑(Int-12-D)

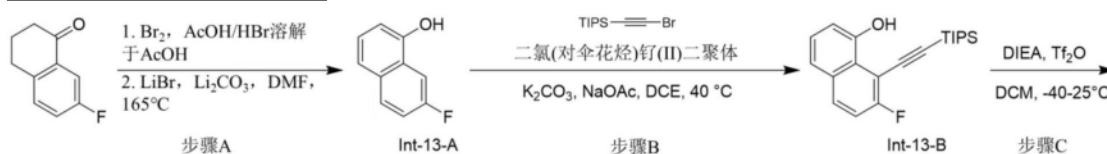
[0282] 将2-溴-6-氟-4-甲基-3-(三氟甲基)苯甲醛(Int-12-C) (100g, 0.351mol) 溶解在THF (800mL) 中。在25℃下向该混合物中加入 $N_2H_4 \cdot H_2O$  (53.7g, 1.05mol)。将混合物加热并在60℃下搅拌2小时。用水(400mL)淬灭产物混合物并用EtOAc (200mL×2) 提取。用盐水(200mL)洗涤合并的有机层并经 $Na_2SO_4$ 干燥。过滤干燥后的溶液,真空浓缩滤液,得到残留物。在15℃下用DCM (100mL) 研磨所得残留物2小时。通过过滤收集固体,得到4-溴-6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-吡唑(Int-12-D)。 $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 10.61-10.20(m, 1H), 8.20(d,  $J=0.8Hz$ , 1H), 7.34(d,  $J=0.6Hz$ , 1H), 2.67-2.63(m, 3H)。

[0283] 步骤E:4-溴-6-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑(Int-12)

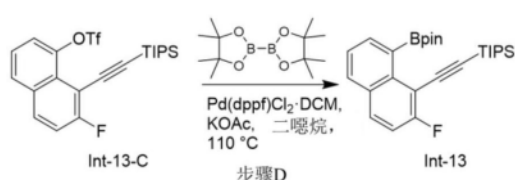
[0284] 将4-溴-6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-吡唑(Int-12-D) (60.0g, 0.215mol) 溶解在DCM (240mL) 和MeCN (240mL) 中。在20℃下向混合物中加入DHP (21.7g, 0.258mol) 和TsOH· $H_2O$  (8.18g, 0.043mol)。在20℃下搅拌反应混合物12小时。向产物混合物中加入水(200mL)。用DCM (200mL×2) 提取所得混合物。用盐水(200mL)洗涤合并的有机层并经 $Na_2SO_4$ 干燥。过滤干燥后的溶液,减压浓缩滤液。通过柱色谱法( $SiO_2$ , 石油醚:乙酸乙酯=1:0至0:1)纯化所得残留物,得到4-溴-6-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑(Int-12)。 $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ -d)  $\delta$ 8.12(s, 1H), 7.44(s, 1H), 5.69(dd,  $J=3, 9Hz$ , 1H), 4.09-3.94(m, 1H), 3.81-3.69(m, 1H), 2.69-2.63(m, 3H), 2.56-2.43(m, 1H), 2.19-2.14(m, 1H), 2.12-2.04(m, 1H), 1.87-1.73(m, 2H), 1.71-1.63(m, 1H)。

[0285] 中间体13: ((2-氟-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基)

[0286] 三异丙基硅烷(Int-13)



[0287]



[0288] 步骤A:7-氟萘-1-醇(Int-13-A)

[0289] 在0℃下,向7-氟-3,4-二氢萘-1(2H)-酮(5.00g, 30.5mmol)的AcOH(100mL)和HBr(0.375mL, 2.279mmol, 33% AcOH溶液)搅拌溶液中加入 $Br_2$  (1.726mL, 33.5mmol)的AcOH(3mL)溶液,并将混合物在25℃下搅拌3小时。反应完成后,用DCM(300mL)稀释反应混合物并用水(30mL×3)洗涤。经无水 $Na_2SO_4$ 干燥合并的有机相,过滤并减压浓缩。将残留物溶解于DMF(100mL)中,并向溶剂中加入碳酸锂(3.83g, 51.8mmol)和溴化锂(4.50g, 51.8mmol)。将所得混合物在165℃下搅拌3小时。用EtOAc(300mL)稀释反应混合物并用盐水(aq. sat., 50mL×3)洗涤。经无水 $Na_2SO_4$ 干燥合并的有机相,过滤并真空浓缩。通过快速硅胶色谱(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到7-氟萘-1-醇(Int-13-A)。 $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 7.86-7.71(m, 2H), 7.42(d,  $J=8.3Hz$ , 1H), 7.26-7.22(m, 2H), 6.82(d,  $J=7.6Hz$ , 1H)。

[0290] 步骤B:7-氟-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-醇(Int-13-B)

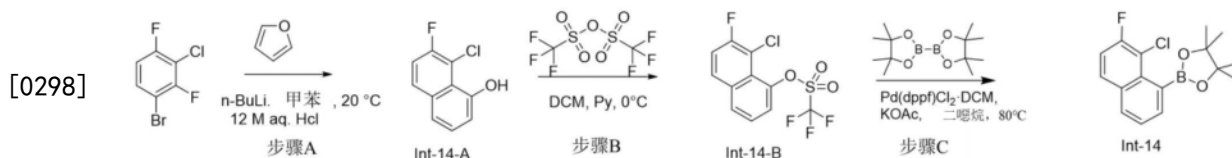
[0291] 在氮气气氛下于25℃向7-氟萘-1-醇(Int-13-A)(7.00g,43mmol)的DCE溶液(70mL)中加入(溴乙炔基)三异丙基硅烷(13.5g,51.8mmol)、碳酸钾(5.97g,43.2mmol)、醋酸钠(0.708g,8.63mmol)和二氯(对伞花烃)钨(II)二聚体(3.97g,6.47mmol),在40℃下搅拌混合物16小时。用DCM(100mL)稀释反应混合物,并过滤所得混合物。真空浓缩滤液,通过快速硅胶色谱(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到7-氟-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-醇(Int-13-B)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ9.07(s,1H),7.76(dd,J=5.9,9.0Hz,1H),7.39-7.28(m,2H),7.20(t,J=8.8Hz,1H),7.07-6.96(m,1H),1.20-1.13(m,21H)。

[0292] 步骤C:7-氟-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基三氟甲磺酸酯(Int-13-C)

[0293] 在-40℃下,向7-氟-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-醇(Int-13-B)(10.6g,30.9mmol)的DCM溶液(100mL)中加入DIEA(16.2mL,93mmol)和Tf<sub>2</sub>O(7.84mL,46.4mmol),并将混合物在25℃下搅拌1小时。真空浓缩反应混合物,并通过快速硅胶色谱(用己烷中的乙酸乙酯洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到7-氟-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基三氟甲磺酸酯(Int-13-C)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ7.96-7.83(m,2H),7.58(br d,J=7.6Hz,1H),7.54-7.45(m,1H),7.45-7.35(m,1H),1.31-1.16(m,21H)。

[0294] 步骤D:((2-氟-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基)[0295] 三异丙基硅烷(Int-13)

[0296] 在25℃下向7-氟-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基三氟甲磺酸酯(Int-13-C)(4.6g,9.69mmol)和双(频哪醇合)二硼(3.69g,14.5mmol)的二噁烷(50mL)溶液中加入醋酸钾(1.903g,19.4mmol)和PdCl<sub>2</sub>(dppf)-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>加合物(0.792g,0.969mmol),并在N<sub>2</sub>气氛下于110℃搅拌溶液15小时。将反应混合物用EtOAc(50mL)稀释,并过滤所得混合物。真空浓缩滤液,通过快速硅胶色谱(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到((2-氟-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基)三异丙基硅烷(Int-13)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ7.84-7.72(m,3H),7.40(t,J=7.5Hz,1H),7.26-7.20(m,1H),1.42(s,12H),1.15(s,21H)。

[0297] 中间体14:2-(8-氯-7-氟萘-1-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷(Int-14)[0299] 步骤A:8-氯-7-氟萘-1-醇(Int-14-A)

[0300] 在-20℃下向1-溴-3-氯-2,4-二氟苯(5.00g,22.0mmol)和呋喃(3.20mL,44.0mmol)的甲苯(100mL)溶液中加入n-BuLi(16.1mL,26.4mmol,1.64M在己烷中)。在-20℃至室温下搅拌混合物过夜后,通过加入H<sub>2</sub>O淬灭反应,过滤并在真空中浓缩。将残留物溶解在EtOAc中,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过快速硅胶色谱(0-60%,乙酸乙酯的己烷梯度溶液)纯化粗产物,得到5-氯-6-氟-1,4-二氢-1,4-环氧萘,将其重新溶解在EtOH(40mL)中。加入HCl(25.0mL,300mmol,12M aq.)。在80℃下搅拌混合物3小时后,将反应混合物冷却至室温并在真空中浓缩。通过快速硅胶色谱(用乙酸乙酯的己烷溶

液洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到8-氯-7-氟萘-1-醇(Int-14-A)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δppm 7.09 (d, J=7Hz, 1H) 7.25-7.32 (m, 1H) 7.36-7.44 (m, 2H) 7.75 (dd, J=9, 6Hz, 1H) 7.92 (s, 1H)。

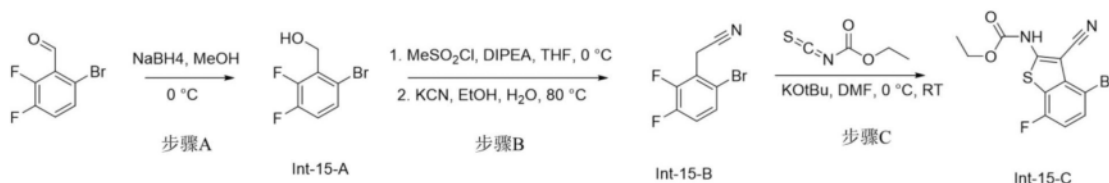
[0301] 步骤B:8-氯-7-氟萘-1-基三氟甲磺酸酯(Int-14-B)

[0302] 在0℃下向8-氯-7-氟萘-1-醇(Int-14-A) (2.36g, 12.0mmol)的二氯甲烷(20mL)溶液中加入吡啶(2.13mL, 26.4mmol)和三氟甲基磺酸酐(2.62mL, 15.6mmol)。在0℃下搅拌混合物2小时后,通过加入水淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。通过快速硅胶色谱(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到8-氯-7-氟萘-1-基三氟甲磺酸酯(Int-14-B)。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δppm 7.41-7.48 (m, 1H) 7.49-7.55 (m, 1H) 7.59 (br d, J=8Hz, 1H) 7.82-7.88 (m, 1H) 7.90 (br d, J=8Hz, 1H)。

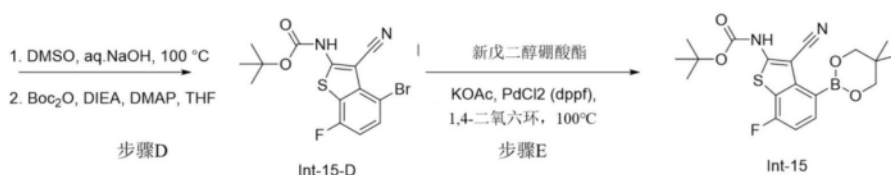
[0303] 步骤C:2-(8-氯-7-氟萘-1-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷(Int-14)

[0304] 将8-氯-7-氟萘-1-基三氟甲磺酸酯(Int-14-B) (200mg, 0.609mmol)、4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-联(1,3,2-二噁硼烷) (309mg, 0.122mmol)、KOAc (299mg, 3.04mmol)和1,1'-双(二苯基膦)二茂铁二氯化钯(II) (49.7mg, 0.0609mmol)的混合物的DMF(2.0mL)溶液在80℃下搅拌2小时。通过加入水淬灭反应,用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过快速硅胶色谱(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到2-(8-氯-7-氟萘-1-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷(Int-14)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.85 (dd, J=8.4, 1.2Hz, 1H), 7.76 (dd, J=9.2, 5.6Hz, 1H), 7.70 (d, J=6.8Hz, 1H), 7.48 (dd, J=8.0, 8.0Hz, 1H), 7.33 (dd, J=8.8, 8.4Hz, 1H), 1.45 (s, 12H)。

[0305] 中间体15:叔丁基(3-氰基-4-(5,5-二甲基-1,3,2-二噁硼-2-基)-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯(Int-15)



[0306]



[0307] 步骤A:(6-溴-2,3-二氟苯基)甲醇(Int-15-A)

[0308] 在0℃下,向6-溴-2,3-二氟苯甲醛(5.00g, 22.6mmol)的MeOH(100mL)溶液中加入硼氢化钠(5.00g, 22.0mmol)。在室温下搅拌混合物1小时后,通过加水淬灭反应。反应混合物用EtOAc提取,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩,得到(6-溴-2,3-二氟苯基)甲醇(Int-15-A)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.37-7.31 (m, 1H), 7.09-7.02 (m, 1H), 4.86 (dd, J=6.8, 2.4Hz, 2H), 2.11 (t, J=6.8Hz, 1H)。

[0309] 步骤B:2-(6-溴-2,3-二氟苯基)乙腈(Int-15-B)

[0310] 在0℃下,向(6-溴-2,3-二氟苯基)甲醇(Int-15-A)(3.00g,13.5mmol)的THF(30mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(2.81mL,16.1mmol)和甲磺酰氯(1.15mL,14.8mmol)。在室温下搅拌混合物15小时后,通过加水淬灭反应混合物。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩,得到苜氯衍生物,无需进一步纯化。向苜氯衍生物的EtOH(30mL)和H<sub>2</sub>O(6mL)溶液中加入氰化钾(818mg,12.6mmol)。在80℃下搅拌混合物1小时后,将反应混合物冷却至室温并减压浓缩。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。残留物通过快速硅胶色谱纯化(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,0-100%梯度),得到2-(6-溴-2,3-二氟苯基)乙腈(Int-15-B)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ7.43-7.38(m,1H),7.17-7.09(m,1H),4.89(d,J=2.0Hz,2H)。

[0311] 步骤C:乙基(4-溴-3-氰基-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯(Int-15-C)

[0312] 在0℃下,向2-(6-溴-2,3-二氟苯基)乙腈(Int-15-B)(2.00g,8.62mmol)的DMF(20mL)溶液中加入叔丁醇钾(1.02g,9.05mmol)。在0℃下搅拌混合物10分钟后,向反应混合物中加入乙氧基羰基异硫氰酸酯(1.07mL,9.05mmol)。在室温下搅拌反应混合物1小时,然后在100℃下加热30分钟。然后将混合物冷却至0℃,并在搅拌下缓慢加入H<sub>2</sub>O。通过过滤收集所得的沉淀物,用水和己烷冲洗,并在真空下干燥,得到乙基(4-溴-3-氰基-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯(Int-15-C)。ESI-MS m/z[M-H]<sup>-</sup>341,343。

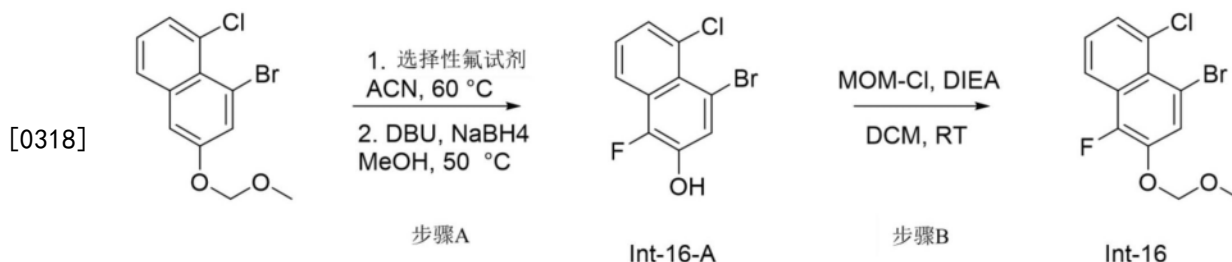
[0313] 步骤D:叔丁基(4-溴-3-氰基-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯(Int-15-D)

[0314] 向乙基(4-溴-3-氰基-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯(Int-15-C)(2.51g,7.31mmol)的DMSO(10mL)溶液中加入5.0M的NaOH(8.00mL,40.0mmol)水溶液。在100℃下搅拌混合物13小时后,将混合物冷却至室温,并在搅拌下缓慢加水。通过过滤收集所得的沉淀物,用水和己烷冲洗,并在真空下干燥。将残留物重新溶解在THF(40mL)中,并用N,N-二异丙基乙胺(1.54mL,8.85mmol)、DMAP(36.0mg,0.295mmol)和二-叔丁基二碳酸酯(1.42g,6.49mmol)处理。在室温下搅拌混合物13小时后,加入水和EtOAc,然后通过过滤收集所得的沉淀物,用水和己烷冲洗,并在真空下干燥,得到叔丁基(4-溴-3-氰基-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯。用EtOAc提取滤液层,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。残留物通过快速硅胶色谱纯化(0-10%,MeOH的EtOAc梯度溶液),得到叔丁基(4-溴-3-氰基-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯(Int-15-D)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ7.96(s,1H),7.54-7.49(m,1H),6.94-6.88(m,1H),1.59(s,9H)。

[0315] 步骤E:叔丁基(3-氰基-4-(5,5-二甲基-1,3,2-二噁硼-2-基)-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯(Int-15)

[0316] 将叔丁基(4-溴-3-氰基-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯(Int-15-D)(1.00g,2.69mmol)和新戊二醇硼酸酯(1.83g,8.08mmol)溶于1,4-二氧六环(15mL)中,加入醋酸钾(793mg,8.08mmol)。在室温下搅拌混合物1小时后,向混合物中加入二氯双(二苯基膦苯基)醚钯(II)(193mg,0.269mmol),然后将混合物在100℃下加热2小时。将反应混合物冷却至室温并加入水。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。残留物通过快速硅胶色谱纯化(0-30%,乙酸乙酯的己烷梯度溶液),得到叔丁基(3-氰基-4-(5,5-二甲基-1,3,2-二噁硼-2-基)-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯(Int-15)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ11.6(s,1H),7.61-7.56(m,1H),7.22-7.15(m,1H),3.77(s,4H),1.52(s,9H),1.02(s,6H)。

[0317] 中间体16:4-溴-5-氯-1-氟-2-(甲氧基甲氧基)萘(Int-16)



[0319] 步骤A:4-溴-5-氯-1-氟萘-2-醇(Int-16-A)

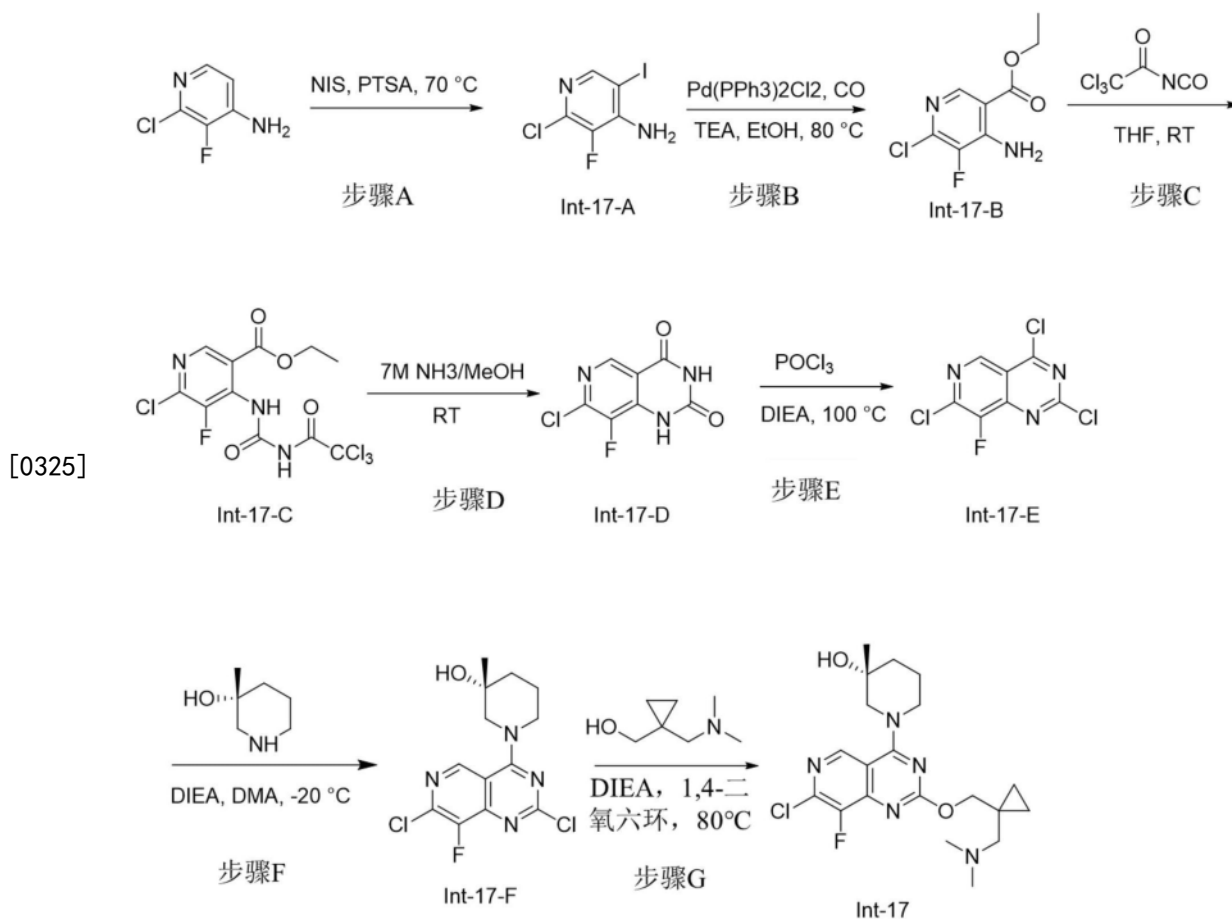
[0320] 向1-溴-8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘(200mg, 0.663mmol)的MeCN(2.0mL)溶液中加入1-氯甲基-4-氟-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷双(四氟硼酸酯)(470mg, 1.33mmol)。在60 °C下搅拌混合物2小时后,通过加入饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液来淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩,得到氟化合物。

[0321] 在0 °C下向氟化合物的MeOH(2.2mL)溶液中加入1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(0.428mL, 3.32mmol)和四氢硼酸钠(125mg, 3.32mmol)。在50 °C下搅拌混合物30分钟后,通过加入饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液来淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。通过快速硅胶色谱(0-20%, EtOAc的梯度己烷溶液)纯化残留物,得到4-溴-5-氯-1-氟萘-2-醇(Int-16-A)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.95(ddd, J=8.4, 1.2, 1.2Hz, 1H), 7.71(d, J=8.6Hz, 1H), 7.56(d, J=7.5Hz, 1H), 7.39(dd, J=8.0, 7.9Hz, 1H), 5.54(d, J=3.8Hz, 1H)。

[0322] 步骤B:4-溴-5-氯-1-氟-2-(甲氧基甲氧基)萘(Int-16)

[0323] 向4-溴-5-氯-1-氟萘-2-醇(Int-16-A)(158mg, 0.573mmol)的二氯甲烷(3.0mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(2.96mL, 17.0mmol)和氯甲基甲基醚(0.0871mL, 1.15mmol)。在室温下搅拌混合物15分钟后,通过加入饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液来淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。通过快速硅胶色谱(0-20%, EtOAc的梯度己烷溶液)纯化残留物,得到4-溴-5-氯-1-氟-2-(甲氧基甲氧基)萘(Int-16)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.05(ddd, J=8.5, 1.2, 1.2Hz, 1H), 7.88(d, J=8.1Hz, 1H), 7.60(d, J=7.4Hz, 1H), 7.40(dd, J=8.2, 7.8Hz, 1H), 5.30(s, 2H), 3.57(s, 3H)。

[0324] 中间体17:(R)-1-(7-氯-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-17)



[0326] 步骤A: 2-氯-3-氟-5-碘吡啶-4-胺 (Int-17-A)

[0327] 向2-氯-3-氟吡啶-4-胺 (13.6g, 92.8mmol) 和N-碘代琥珀酰亚胺 (25.1g, 111mmol) 的乙腈 (67mL) 溶液中加入对甲苯磺酸一水合物 (883mg, 4.64mmol)。将混合物在70°C搅拌17小时。将反应混合物冷却至室温, 并用水和乙酸乙酯稀释。用饱和 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液、饱和 $\text{Na}_2\text{SO}_3$ 溶液和盐水洗涤有机层, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并真空浓缩。减压干燥残留物4小时, 得到2-氯-3-氟-5-碘吡啶-4-胺 (Int-17-A)。ESI-MS  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  273。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  8.08 (d,  $J=0.8\text{Hz}$ , 1H)。

[0328] 步骤B: 乙基4-氨基-6-氯-5-氟烟酸酯 (Int-17-B)

[0329] 在氮气气氛下, 向2-氯-3-氟-5-碘吡啶-4-胺 (Int-17-A) (24.6g, 90.3mmol) 和 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (6.34g, 9.03mmol) 的乙醇 (492ml) 溶液中加入 $\text{Et}_3\text{N}$  (45.4ml, 326mmol)。在减压下对悬浮液进行脱气, 并用一氧化碳吹扫几次。在80°C和一氧化碳气氛下搅拌混合物15小时。将反应混合物冷却至室温并过滤, 真空浓缩滤液, 以去除70%的乙醇, 并过滤残留物。减压干燥滤饼4小时, 得到乙基4-氨基-6-氯-5-氟烟酸酯 (Int-17-B)。ESI-MS  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  219, 221。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.38 (s, 1H), 7.59 (br s, 2H), 4.32 (q, 2H,  $J=7.0\text{Hz}$ ), 1.32 (t, 3H,  $J=7.1\text{Hz}$ )。

[0330] 步骤C: 乙基6-氯-5-氟-4-(3-(2,2,2-三氯乙酰基)脲基)烟酸酯 (Int-17-C)

[0331] 在25°C下, 向乙基4-氨基-6-氯-5-氟烟酸酯 (Int-17-B) (8.44g, 38.6mmol) 的THF (25ml) 溶液中加入2,2,2-三氯乙酰基异氰酸酯 (6.86ml, 57.9mmol)。混合物在氮气气氛下于室温搅拌10分钟。将反应混合物真空浓缩。减压干燥残留物4小时, 得到乙基6-氯-5-氟-

4-(3-(2,2,2-三氯乙酰基)脲基)烟酸酯(Int-17-C)。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  406。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.96 (br s, 1H), 10.48 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 4.31 (q, 2H,  $J=7.1$ Hz), 1.29 (t,  $J=7.1$ Hz, 3H)。

[0332] 步骤D: 7-氯-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(Int-17-D)

[0333] 在25℃下,向乙基6-氯-5-氟-4-(3-(2,2,2-三氯乙酰基)脲基)烟酸酯(Int-17-C) (15.7g, 38.6mmol)的甲醇(157ml)溶液中加入7M氨的甲醇溶液(16.5ml, 116mmol)。在氮气气氛下于25℃将混合物搅拌1小时。真空浓缩反应混合物。减压干燥残留物4小时,得到7-氯-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(Int-17-D)。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  216。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.32 (s, 1H)。

[0334] 步骤E: 2,4,7-三氯-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶(Int-17-E)

[0335] 在25℃下,向7-氯-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(Int-17-D) (6.0g, 27.8mmol)的POCl<sub>3</sub> (59.1ml)溶液中加入二异丙基乙基胺(38.1ml, 223mmol)。在氮气气氛下于100℃搅拌混合物1小时。将反应混合物冷却至室温并真空浓缩。残留物与甲苯共沸,减压干燥4小时,得到2,4,7-三氯-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶(Int-17-E)。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  252。

[0336] 步骤F: (R)-1-(2,7-二氯-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-17-F)

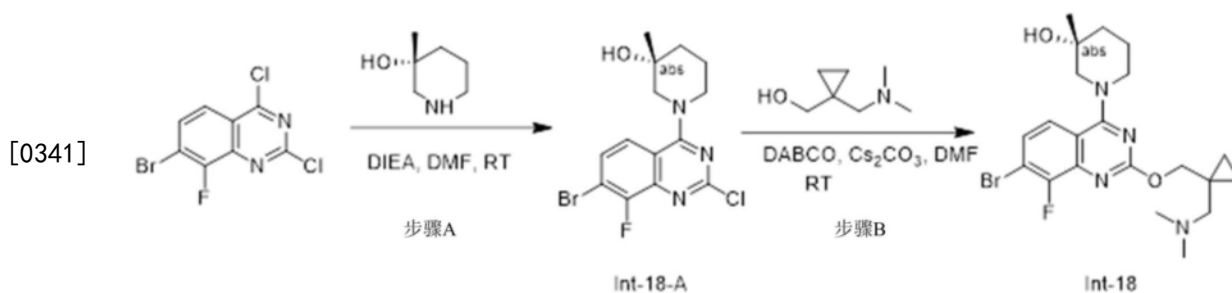
[0337] 在-20℃下,向2,4,7-三氯-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶(Int-17-E) (3.5g, 13.9mmol)的N,N-二甲基乙酰胺(35ml)溶液中加入(3R)-3-甲基哌啶-3-醇(1.89g, 12.5mmol)和二异丙基乙基胺(24.1ml, 139mmol)。在氮气气氛下于-20℃搅拌混合物0.5小时。用水和乙酸乙酯稀释反应混合物。用盐水洗涤有机层,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。通过快速硅胶色谱(洗脱液, 12-100%乙酸乙酯/己烷)纯化残留物,得到(R)-1-(2,7-二氯-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-17-F)。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  331。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.19 (s, 1H), 4.74 (br s, 1H), 4.47 (br d, 1H,  $J=12.5$ Hz), 4.12 (d, 1H,  $J=13.4$ Hz), 3.58 (d,  $J=13.4$ Hz, 1H), 3.26-3.29 (m, 1H), 1.90-2.03 (m, 1H), 1.60-1.73 (m, 3H), 1.16 (s, 3H)。

[0338] 步骤G: (R)-1-(7-氯-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-17)

[0339] 在室温下,向(R)-1-(2,7-二氯-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-17-F) (300mg, 0.91mmol)和(1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲醇(234mg, 1.81mmol)的1,4-二氧六环(4.5ml)溶液中加入二异丙基乙基胺(473 $\mu$ l, 2.72mmol)。在氮气气氛下于80℃搅拌混合物6小时。将反应混合物冷却至室温,并用水和乙酸乙酯稀释。经MgSO<sub>4</sub>干燥有机层,过滤并真空浓缩。通过快速NH-硅胶色谱(洗脱液, 12-100%EtOAc的己烷溶液)和反相HPLC(乙腈/水和0.1%甲酸)纯化残留物,得到(R)-1-(7-氯-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-17)。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  424。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.88 (s, 1H), 4.33-4.42 (m, 4H), 3.36-3.43 (m, 1H), 3.25 (d, 1H,  $J=13.5$ Hz), 2.77 (br s, 1H), 2.29-2.38 (m, 2H), 2.25 (s, 6H), 1.97-2.09 (m, 1H), 1.86-1.90 (m, 1H), 1.62-1.75 (m, 2H), 1.33 (s, 3H), 0.64-0.74 (m, 2H), 0.42-0.52 (m, 2H)。

[0340] 中间体18: (R)-1-(7-溴-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟喹啉

啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-18)



[0342] 步骤A: (R)-1-(7-溴-2-氯-8-氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-18-A)

[0343] 在室温下,向7-溴-2,4-二氯-8-氟喹唑啉(200mg,0.676mmol)和(R)-3-甲基哌啶-3-醇盐酸盐(108mg,0.676mmol)的DMF(3.0mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.471mL,2.70mmol)。在室温下搅拌混合物30分钟后,通过加入H<sub>2</sub>O淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩,得到(R)-1-(7-溴-2-氯-8-氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-18-A)。ESI-MS m/z[M+H]<sup>+</sup>374,376,378。

[0344] 步骤B: (R)-1-(7-溴-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-18)

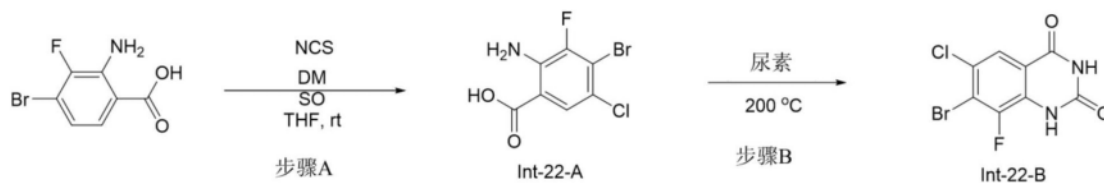
[0345] 在室温下,向(R)-1-(7-溴-2-氯-8-氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-18-A)(190mg,0.507mmol)和(1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲醇(112mg,0.867mmol)的DMF(5.0mL)溶液中加入碳酸铯(496mg,1.52mmol)和1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷(11.4mg,0.101mmol)。在室温下搅拌混合物13小时后,通过加入H<sub>2</sub>O淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。通过快速NH-硅胶色谱(20-50%,EtOAc的己烷梯度溶液)纯化残留物,得到(R)-1-(7-溴-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-18)。ESI-MS m/z[M+H]<sup>+</sup>467,469。

[0346] 下表中的化合物是使用与Int-18的合成中所述的相似程序合成的,对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,使用本领域技术人员可用的方法合成,或如本文所述合成。

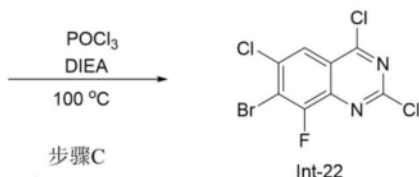
[0347]	Int	结构	化合物名称	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
--------	-----	----	-------	------------------------

Int	结构	化合物名称	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
Int-5		1-(7-溴-6-氯-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟喹唑啉-4-基)氮杂环庚-4-醇	501, 503
[0348] Int-6		(R)-1-(7-溴-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	450, 452
Int-7		1-(7-溴-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟代四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)氮杂环庚-4-醇	531, 533, 535

[0349] 中间体22:7-溴-2,4,6-三氯-8-氟喹唑啉 (Int-22)



[0350]



[0351] 步骤A:2-氨基-4-溴-5-氯-3-氟苯甲酸 (Int-22-A)

[0352] 向10-L的4-颈圆底烧瓶中加入2-氨基-4-溴-3-氟苯甲酸(700g,2.99mol)、THF(7.0L)和DMSO(93.5g,1.20mol)。然后在25℃下分批加入NCS(799g,5.98mol)。将所得溶液在室温下搅拌过夜。然后通过加入7L饱和NaCl(aq)来淬灭反应。用乙酸乙酯(2×2L)提取所得溶液,用水(3×1L)洗涤有机层,并用无水硫酸钠干燥。过滤干燥后的溶液,滤液浓缩。将所得残留物在石油醚:乙酸乙酯=10:1(5L)中研磨1小时。通过过滤收集固体,得到2-氨

基-4-溴-5-氯-3-氟苯甲酸 (Int-22-A), 无需纯化即可直接用于下一步。

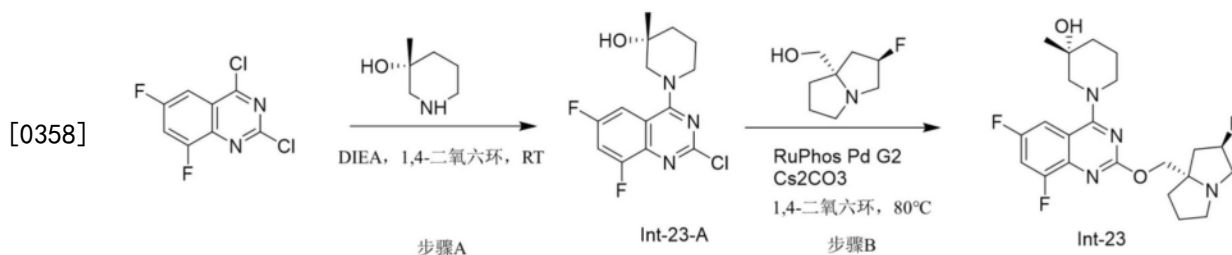
[0353] 步骤B: 7-溴-6-氯-8-氟喹唑啉-2,4(1H,3H)-二酮 (Int-22-B)

[0354] 向2-L的4-颈圆底烧瓶中加入2-氨基-4-溴-5-氯-3-氟苯甲酸 (Int-22-A) (100g, 372mmol) 和尿素 (112g, 1.86mol)。将所得溶液在200℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却至25℃, 反应固化。在上述条件下重复6批该反应。将七批反应合并, 研磨大部分固体, 得到7-溴-6-氯-8-氟喹唑啉-2,4(1H,3H)-二酮 (Int-22-B) 的醋混合物, 无需纯化即可直接用于下一步。

[0355] 步骤C: 7-溴-2,4,6-三氯-8-氟喹唑啉 (Int-22)

[0356] 向3-L的4-颈圆底烧瓶中加入7-溴-6-氯-8-氟喹唑啉-2,4(1H,3H)-二酮 (Int-22-B) (290g, 0.980mol) 和POCl<sub>3</sub> (1.51kg, 9.86mol)。然后在25℃下搅拌的同时逐滴加入DIEA (382g, 2.96mol)。将所得溶液在100℃下搅拌2小时。在上述条件下重复2批该反应。将三批反应合并并浓缩。通过硅胶柱纯化残留物, 用石油醚:乙酸乙酯=10:1洗脱。将粗产物在石油醚:乙酸乙酯=5:1 (1L) 中浆化。通过过滤收集固体, 得到7-溴-2,4,6-三氯-8-氟喹唑啉 (Int-22)。<sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ8.227 (s, 1H)。

[0357] 中间体23: (R)-1-(6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-23)



[0359] 步骤A: (R)-1-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-23-A)

[0360] 向2,4-二氯-6,8-二氟喹唑啉 (Int-11) (350mg, 1.49mmol) 的1,4-二氧六环 (8.00mL) 溶液中加入 (R)-3-甲基哌啶-3-醇 (226mg, 1.49mmol) 和N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺 (1.04ml, 5.96mmol)。在室温下搅拌反应混合物25分钟。然后将反应冷却至室温, 并用DCM和水稀释。摇动有机层, 然后分离。浓缩有机相, 通过硅胶柱色谱法 (0-10% 乙酸乙酯的己烷梯度溶液) 纯化得到的残留物, 得到 (R)-1-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-23-A)。MS (ESI): m/z (M+H)<sup>+</sup>314。

[0361] 步骤B: (R)-1-(6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-23)

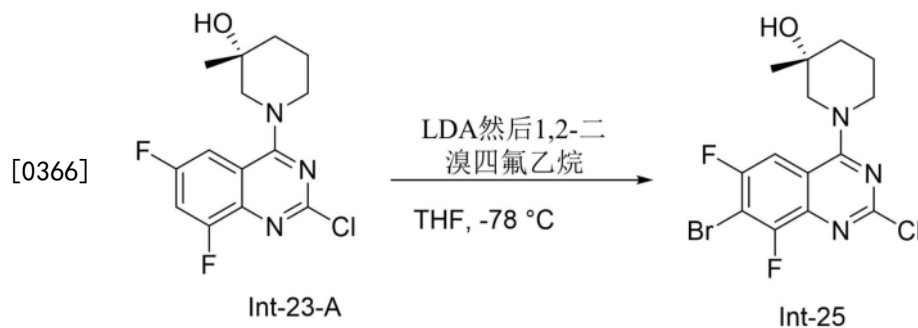
[0362] 向 (R)-1-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-23-A) (315mg, 1.00mmol) 的1,4-二氧六环 (6.00ml) 溶液中加入 ((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基) 甲醇 (Int-8) (176mg, 1.10mmol)、碳酸铯 (818mg, 2.51mmol) 和RuPhos Pd G2 (78mg, 0.100mmol)。在80℃下搅拌反应混合物3小时。然后将其冷却至室温, 用水淬灭并用EtOAc提取。用饱和盐水溶液洗涤合并的提取物并浓缩。通过硅胶柱色谱法使用100% EtOAc的己烷溶液纯化产物, 得到 (R)-1-(6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-23)。MS (ESI): m/z (M+H)<sup>+</sup>437。

[0363] 下表中的化合物是使用与Int-23的合成中所述的相似程序合成的, 对起始材料、

中间体和/或试剂进行适当的替换。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,或者使用本领域技术人员可用的方法合成,或者如本文所述合成。

Int	结构	化合物名称	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
[0364] Int-8		(R)-1-(2-(((3S,7aS)-3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	687

[0365] 中间体25: (R)-1-(7-溴-2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-25)

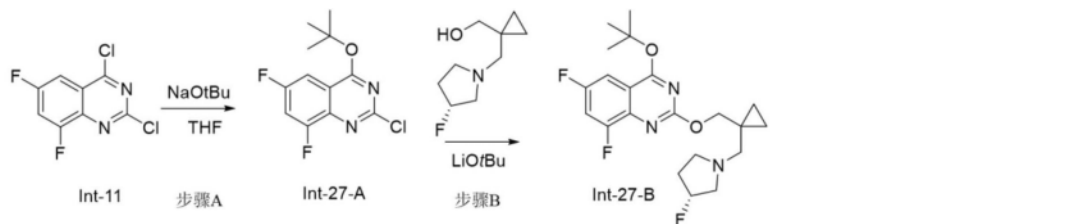


[0367] 在氮气鼓泡器下,将(R)-1-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-23-A) (1000mg, 3.19mmol) 的四氢呋喃 (15.0ml) 溶液冷却至 -78 °C,并用LDA (2M THF/庚烷/乙苯溶液, 4.8mL, 9.6mmol) 处理。在 -78 °C 下搅拌混合物30分钟,得到红色溶液。在 -78 °C 下用1,2-二溴四氟乙烷 (1.14ml, 9.56mmol) 的四氢呋喃 (2.00mL) 溶液处理混合物。在 -78 °C 下搅拌混合物30分钟,然后在 -78 °C 下用饱和氯化铵水溶液 (1mL) 淬灭。将混合物升温至室温,用水 (1mL) 稀释并用乙酸乙酯提取。用无水硫酸钠干燥合并的有机层,过滤,浓缩滤液。通过硅胶柱色谱 (0至100% EtOAc 的己烷梯度溶液) 纯化,得到标题化合物 (Int-25)。MS (ESI) : m/z (M+H)<sup>+</sup> 392, 394。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, Acetone-d<sub>6</sub>) δ 8.07 (d, J=9.6Hz, 1H), 4.42 (d, J=13.2Hz, 1H), 4.19 (d, J=13.5Hz, 1H), 3.96 (s, 1H), 3.50 (d, J=13.5Hz, 1H), 3.34-3.24 (m, 1H), 2.25-2.14 (m, 1H), 1.85 (t, J=9.8Hz, 1H), 1.80-1.70 (m, 2H), 1.28 (s, 3H)。

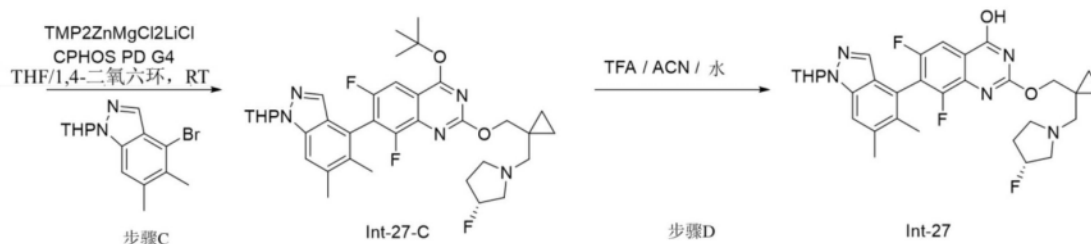
[0368] 下表中的化合物是使用与Int-25的合成中所述的相似程序合成的,对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,或者使用本领域技术人员可用的方法合成,或者如本文所述合成。

Int	结构	化合物名称	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
[0369] Int-9		(R)-1-(7-溴-2-(((3S,7aS)-3-((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	765

[0370] 中间体27: 7-(5,6-二甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡啶-4-基)-6,8-二氟-2-((1-((R)-3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基喹唑啉-4-醇 (Int-27)



[0371]



[0372] 步骤A: 4-(叔丁氧基)-2-氯-6,8-二氟喹唑啉 (Int-27-A)

[0373] 在氮气下,将2,4-二氯-6,8-二氟喹唑啉 (Int-11) (2.00g, 8.51mmol) 的无水THF (42mL) 溶液在冰浴中冷却。然后加入叔丁醇钠 (4.7mL的2.0M THF溶液, 9.4mmol)。在冰浴中搅拌72分钟后,再加入额外的叔丁醇钠 (0.63mL的2.0M THF溶液, 1.26mmol)。继续搅拌18分钟后,通过旋转蒸发浓缩混合物。用DCM (20mL) 提取残留物,过滤,并通过旋转蒸发浓缩。用DCM (8mL) 提取残留物,过滤,并通过硅胶柱色谱法 (90% 己烷和10% DCM, 梯度至100% DCM) 纯化滤液,得到4-(叔丁氧基)-2-氯-6,8-二氟喹唑啉 (Int-27-A)。MS (ESI) : m/z (M+H-tBu)<sup>+</sup> 217.1。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.53-7.47 (m, 1H), 7.32 (td, J=9.5, 2.7Hz, 1H), 1.75 (s, 9H)。

[0374] 步骤B: (R)-4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-2-((1-((3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)

[0375] 甲氧基)喹唑啉 (Int-27-B)

[0376] 向4-(叔丁氧基)-2-氯-6,8-二氟喹唑啉 (Int-27-A) (14.17g, 52.0mmol) 的无水1,4-二氧六环 (139mL) 悬浮液溶液中加入 (R)-1-((3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲醇 (6.0g, 35mmol) 的无水1,4-二氧六环 (14mL) 溶液,并加入额外的无水1,4-二氧六环 (20mL)。向混合悬浮液中加入2-甲基丙烷-2-醇锂 (38mL, 1.0M THF溶液, 38mmol)。在氮气气氛下,将混合物在100℃搅拌3小时42分钟,然后在4℃静置20.5小时。用EtOAc (170mL) 稀释混合物,并用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (170mL) 洗涤。用EtOAc/MeOH (50mL/1mL) 提取分离的水层两次。用硫

酸钠干燥合并的有机层,过滤,并浓缩。通过硅胶柱色谱法(0-10% EtOAc的己烷溶液,两相中均含0.5%三乙胺)纯化残留物,然后再通过硅胶柱色谱法(1.5%三乙胺的己烷溶液)纯化,得到(R)-4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-2-((1-((3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉(Int-27-B)。MS(ESI):m/z(M+H)<sup>+</sup>410.2。

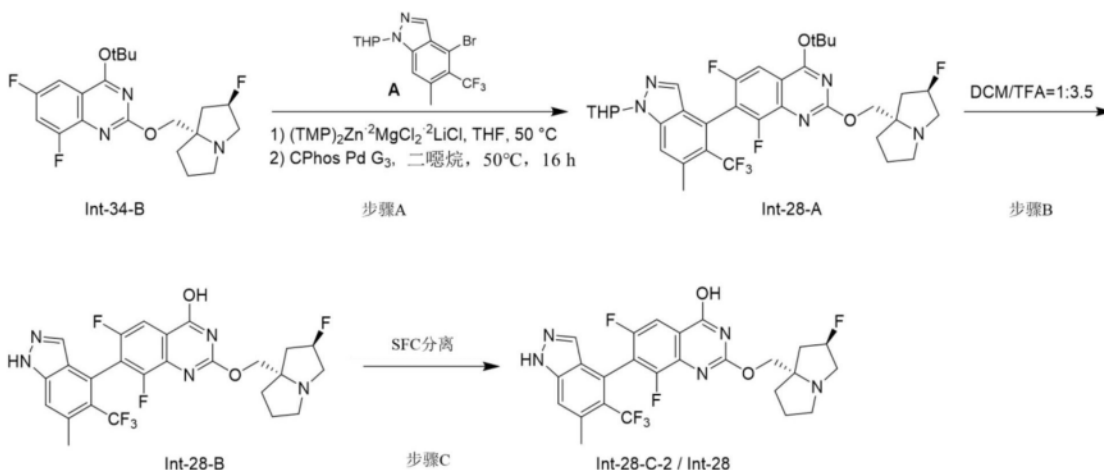
[0377] 步骤C:4-(叔丁氧基)-7-(5,6-二甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡啶-4-基)-6,8-二氟-2-((1-((R)-3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉(Int-27-C)

[0378] 向(R)-4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-2-((1-((3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉(Int-27-B)(1.75g,4.27mmol)中加入双(2,2,6,6-四甲基哌啶-1-基)锌,与MgCl<sub>2</sub>和LiCl的络合物(0.13M THF/甲苯溶液,Aldrich cat.no.748188-100ML,36mL,4.7mmol)。将溶液在40℃搅拌1小时21分钟,然后在室温下搅拌37分钟。然后加入无水1,4-二氧六环(43mL),并在室温下搅拌15分钟。然后加入4-溴-5,6-二甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡啶(2.65g,8.55mmol),随后加入Pd(CPhos)G3(515mg,0.639mmol)。在氮气气氛下,将混合物在80℃搅拌36分钟,然后冷却至室温。用EtOAc(80mL)和水(40mL)稀释混合物。过滤混合物,并用EtOAc(200mL)提取过滤后的残留物。通过旋转蒸发浓缩合并的滤液,并将残留物悬浮在EtOAc(80mL)和水(40mL)中。混合后,分离各层,用EtOAc(30mL)提取水层。用硫酸钠干燥合并的有机层,过滤,并浓缩。通过硅胶柱色谱法(30-40% DCM的己烷溶液,两相中均含1.5%三乙胺)纯化残留物,然后通过硅胶柱色谱法(10-15% DCM的己烷溶液,两相中均含1.5%三乙胺),再次通过硅胶柱色谱法(20% DCM的己烷溶液,两相中均含1.5%三乙胺),得到4-(叔丁氧基)-7-(5,6-二甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡啶-4-基)-6,8-二氟-2-((1-((R)-3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉(非对映异构体混合物),通过SFC(柱A,40% IPA w/0.1%NH<sub>4</sub>OH)将其纯化,其中拆分出4个峰。将SFC纯化后的前两个洗脱峰合并,得到4-(叔丁氧基)-7-(5,6-二甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡啶-4-基)-6,8-二氟-2-((1-((R)-3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉(Int-27-C)。MS(ESI):m/z(M+H)<sup>+</sup>638.3。

[0379] 步骤D:7-(5,6-二甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡啶-4-基)-6,8-二氟-2-((1-((R)-3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-27)

[0380] 向4-(叔丁氧基)-7-(5,6-二甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡啶-4-基)-6,8-二氟-2-((1-((R)-3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉(Int-27-C)(500mg,0.784mmol)中加入MeCN/水/三氟乙酸(4:1:0.05,v/v/v)(19mL)的溶液。将溶液在室温下搅拌1小时20分钟;然后加入碳酸钠水溶液(2M溶液,1.53mL)。将混合物浓缩,并将残留物溶解在DCM和水中。用DCM提取水层四次,然后用硫酸钠干燥合并的有机层,过滤并浓缩,得到7-(5,6-二甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡啶-4-基)-6,8-二氟-2-((1-((R)-3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-27)。MS(ESI):m/z(M+H)<sup>+</sup>582.3。

[0381] 中间体28:6,8-二氟-2-((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-吡啶-4-基)喹唑啉-4-醇(Int-28)



[0382]

[0383] 步骤A: 4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)喹唑啉(Int-28-A)

[0384] 在氮气气氛下于25°C,向4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(下文中的Int-34-B)(1.8g,4.55mmol)中加入(TMP)<sub>2</sub>Zn·2MgCl<sub>2</sub>·2LiCl(41.4mL,13.66mmol)(0.33M的THF溶液),在50°C下搅拌2小时。通过LCMS-1监测反应混合物,显示交换完成(用溶解在THF中的I<sub>2</sub>淬灭)。然后在25°C下向反应混合物中加入4-溴-6-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑(2.480g,6.83mmol)和CPhos Pd G3(0.367g,0.455mmol)的1,4-二氧六环(30mL)溶液。在50°C下搅拌反应40小时。用EtOAc(60mL)稀释反应混合物,并向混合物中加入饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液(50mL)。将混合物过滤,并用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥滤液,然后减压蒸发溶剂以得到粗产物。通过快速硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化粗产物,得到4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)喹唑啉(Int-28-A)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>:m/z 678.3。

[0385] 步骤B: 6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)喹唑啉-4-醇(Int-28-B)

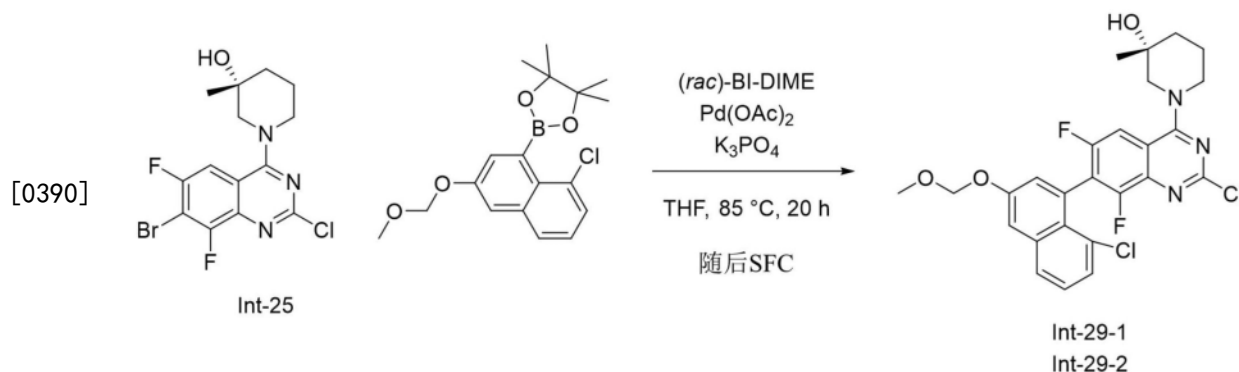
[0386] 在25°C下,向TFA(9mL,117mmol)的DCM(30mL)溶液中加入4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)喹唑啉(Int-28-A)(4g,5.90mmol)。在25°C下搅拌反应6小时。减压蒸发溶剂以得到粗产物,用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(3×20mL)洗涤。用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥合并的有机相,过滤并在真空中浓缩,得到6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)喹唑啉-4-醇(Int-28-B)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>:m/z 538.2。

[0387] 步骤C: 6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)喹唑啉-4-醇(Int-28)

[0388] 通过制备型SFC(柱G;0.1% NH<sub>4</sub>OH,60% EtOH)分离外消旋的6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)喹唑啉-4-醇(Int-28-B)(3.10g,5.77mmol),得到6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-基)喹唑啉-4-醇

(Int-28, SFC中的第二洗脱异构体)。MS (ESI)  $[M+H]^+$ :  $m/z$  538.2。 $^1H$  NMR (400MHz, MeOD)  $\delta$  7.78-7.70 (m, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 5.52-5.25 (m, 1H), 4.50-4.36 (m, 2H), 3.63-3.40 (m, 3H), 3.16 (dt,  $J=5.9, 9.8$ Hz, 1H), 2.70 (br d,  $J=1.5$ Hz, 3H), 2.47-2.28 (m, 2H), 2.25-2.16 (m, 1H), 2.15-2.04 (m, 2H), 2.02-1.90 (m, 1H)。

[0389] 中间体29: (3R)-1-(2-氯-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-29-1, Int-29-2)



[0391] 在室温下用磷酸三钾(1257mg, 5.92mmol)、(S)-BI-DIME(130mg, 0.395mmol)、(R)-BI-DIME(130mg, 0.395mmol)和醋酸钯(II)(89mg, 0.395mmol)处理(R)-1-(7-溴-2-氯-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-25)(775mg, 1.97mmol)和2-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷(826mg, 2.37mmol)的混合物的四氢呋喃(10.0ml)溶液。用氮气气流在液面下吹扫混合物1分钟。将小瓶密封,并将混合物在85°C加热20小时。将混合物冷却至室温,用乙酸乙酯稀释并通过Celite上的Florisil分层垫过滤。用乙酸乙酯冲洗垫,并浓缩合并的滤液。通过硅胶柱色谱法(用EtOAc的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到标题化合物,为阻转异构体的混合物。通过手性SFC(柱H, 20% MeOH w/0.1%  $NH_4OH$ )分离阻转异构体,得到阻转异构体1和阻转异构体2。

[0392] 阻转异构体1(Int-29-1):

[0393] MS (ESI):  $m/z$  (M+H) +534, 536。

[0394]  $^1H$  NMR (500MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  8.01-7.97 (m, 1H), 7.95 (d,  $J=10.1$ Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.55-7.49 (m, 2H), 7.39 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 4.42 (d,  $J=13.2$ Hz, 1H), 4.23 (d,  $J=13.4$ Hz, 1H), 3.99 (s, 1H), 3.54 (d,  $J=13.4$ Hz, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.36 (t,  $J=11.2$ Hz, 1H), 2.29-2.18 (m, 1H), 1.91-1.84 (m, 1H), 1.83-1.74 (m, 2H), 1.30 (s, 3H)。

[0395] 阻转异构体2(Int-29-2):

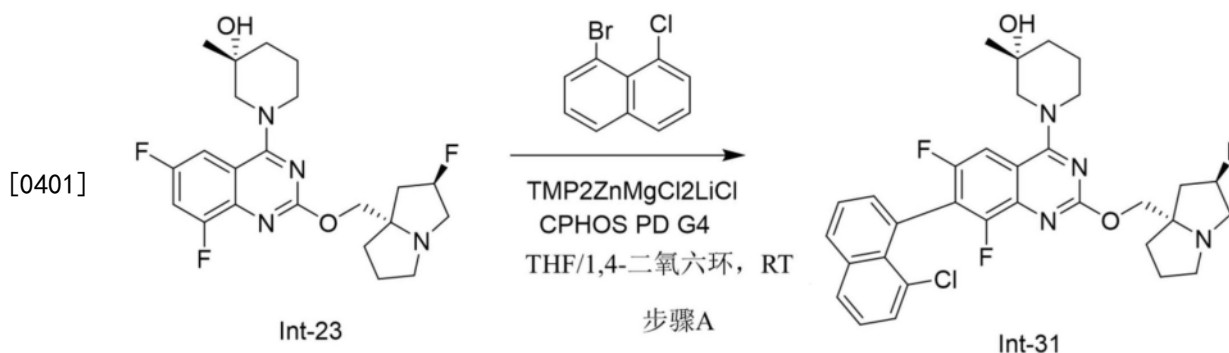
[0396] MS (ESI):  $m/z$  (M+H) +534, 536。

[0397]  $^1H$  NMR (500MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  8.02-7.97 (m, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.53-7.48 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.40 (d,  $J=13.2$ Hz, 1H), 4.23 (d,  $J=13.4$ Hz, 1H), 4.06 (s, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.48 (d,  $J=13.4$ Hz, 1H), 3.36 (t,  $J=11.8$ Hz, 1H), 2.27-2.16 (m, 1H), 1.92-1.85 (m, 1H), 1.83-1.74 (m, 2H), 1.32 (s, 3H)。

[0398] 下表中的化合物使用与Int-29的合成中所述的相似程序合成,对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换,任选地在完成所指示的步骤后使用所指示的条件拆分立体异构体,并结转所指示的峰。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,或者使用本领域技术人员可用的方法合成,或者如本文所述合成。

Int	结构	化合物名称	分离	[M/2+H] <sup>+</sup> 检测值
[0399] Int-10		(3R)-1-(2-(((3R,7aR)-3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-6,8-二氟-7-(7-氟-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	柱 A. 含 0.1% NH <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O 的 55% EtOH, 峰 1	506

[0400] 中间体31: (3S)-1-(7-(8-氯萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-31)

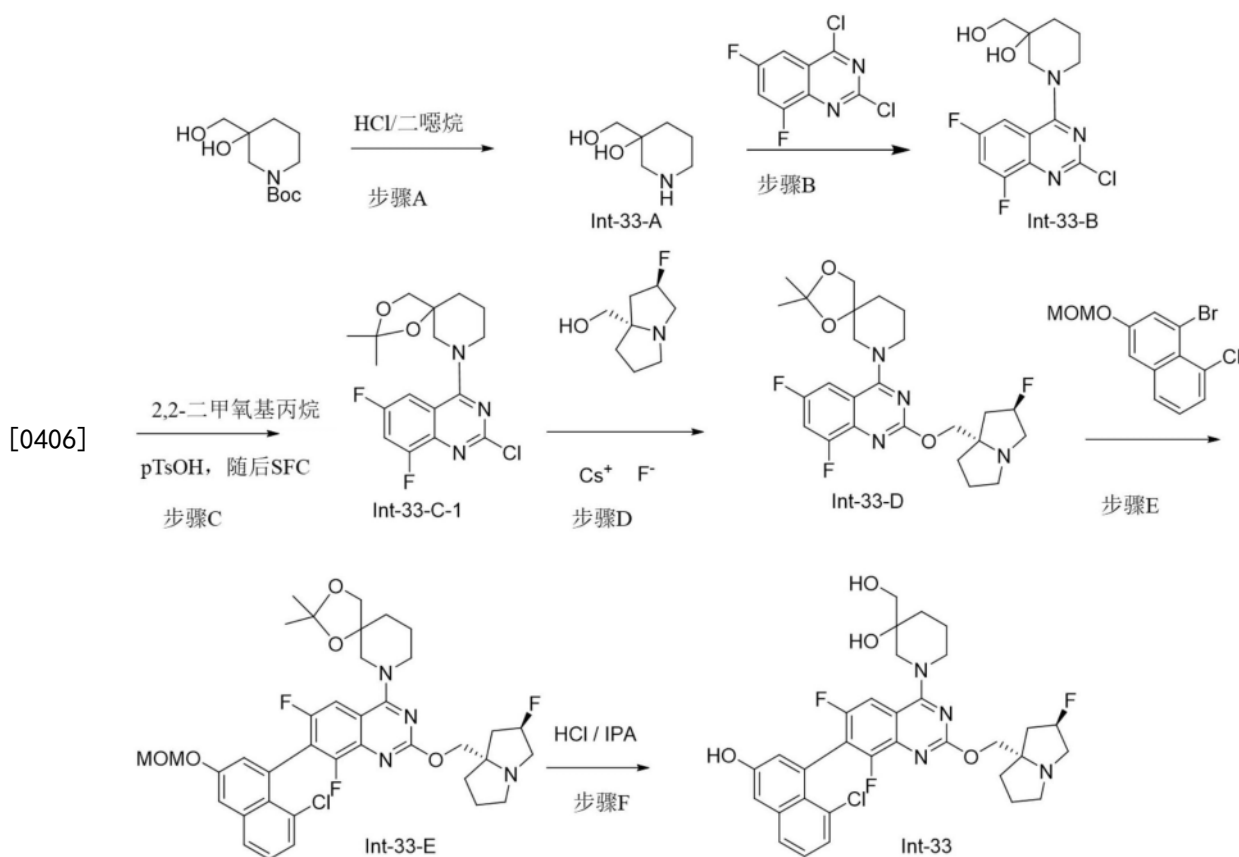


[0402] 在微波瓶中装入 (R)-1-(6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-23) (178mg, 0.408mmol)。然后用管线真空和氮气脱气三次,并用氩气吹扫三次。向其中加入 THF (4100mL),随后加入 TMP<sub>2</sub>ZnMgCl<sub>2</sub>LiCl (5.44ml, 0.816mmol, THF/甲苯溶液)。将溶液用氩气吹扫5分钟,并在室温下搅拌45分钟。在碘和THF的混合物中淬灭一份。将1-溴-8-氯萘 (197mg, 0.816mmol) 和 CPHOS PD G4 (50.3mg, 0.061mmol) 的混合物溶解在1,4-二氧六环 (4100mL) 中,并超声处理直至变成澄清溶液。将该混合物加入微波瓶中,并在室温下搅拌45分钟。用乙酸乙酯和饱和氯化铵水溶液稀释混合物。分离有机层,用硫酸镁干燥,过滤并减压浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化所得混合物,用100% EtOAc的己烷溶液洗脱,得到 (3S)-1-(7-(8-氯萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-31)。MS (ESI): m/z (M+H)<sup>+</sup> 597。

[0403] 下表中的化合物通过使用与Int-31的合成中所述的相似程序合成,对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,或者使用本领域技术人员可用的方法合成,或者如本文所述合成。

Int	结构	化合物名称	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
[0404] Int-11		(3R)-1-(7-(8-氯-7-氟喹啉-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	615

[0405] 中间体33:1-(7-(8-氯-3-羟基喹啉-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-(羟甲基)哌啶-3-醇 (Int-33)



[0407] 步骤A: (rac) 3-(羟甲基)哌啶-3-醇 (Int-33-A)

[0408] 向 (rac) 叔丁基 3-羟基-3-(羟甲基)哌啶-1-羧酸酯 (1.00g, 4.32mmol) 的二噁烷 (14mL) 溶液中加入 HCl (16ml, 65mmol, 4M 二噁烷溶液), 并在室温下搅拌反应 5 小时。减压除去有机溶剂, 并向残留物中加入乙醚并共蒸发, 得到标题化合物 (Int-33-A)。

[0409] 步骤B: (rac) 1-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-(羟甲基)哌啶-3-醇 (Int-33-B)

[0410] 向 2,4-二氯-6,8-二氟喹唑啉 (Int-11) (1.2g, 5.0mmol) (Int-11) (1.2g, 5.0mmol) 的二噁烷 (14mL) 和 DIPEA (3.8ml, 22mmol) 溶液中加入 Int-33-A, 并将所得混合物在室温下搅拌 2.5 小时。用冷水淬灭反应, 并用乙酸乙酯稀释所得混合物。分离有机层, 用盐水洗涤, 用  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并减压除去过量溶剂。通过硅胶柱色谱法 (DCM 的 MeOH 溶液, 0-15% 梯度)

纯化产物。将含有产物的级分合并,并减压除去过量溶剂,得到标题化合物(Int-33-B)。MS (ESI): $m/z$ (M+H)<sup>+</sup>330.1。

[0411] 步骤C:7-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂-7-氮杂螺[4.5]癸烷(Int-33-C-1)

[0412] 向(rac)1-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-(羟甲基)哌啶-3-醇(Int-33-B)(1.2g,3.8mmol)的DMF(20mL)和2,2-二甲氧基丙烷(0.93mL,7.5mmol)溶液中加入pTsOH(716mg,3.77mmol),并将所得混合物在室温下搅拌。用冷水淬灭反应,并用乙酸乙酯稀释所得混合物。分离有机层,用盐水洗涤,用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压除去过量溶剂。通过硅胶柱色谱法(DCM中的MeOH,0-15%梯度)纯化产物。将含有所需产物的级分合并,减压除去过量溶剂,然后真空干燥得到黄色固体。通过SFC(柱H,含0.1% NH<sub>4</sub>OH的10% MeOH)分离获得的固体,得到两个对映异构体。Int-33-C-1(第一洗脱),7-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂-7-氮杂螺[4.5]癸烷,为黄色固体,MS(ESI): $m/z$ (M+H)<sup>+</sup>370.1,以及Int-33-C-2(第二洗脱),7-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂-7-氮杂螺[4.5]癸烷,为黄色泡沫,MS(ESI): $m/z$ (M+H)<sup>+</sup>370. MS(ESI): $m/z$ (M+H)<sup>+</sup>370.1。

[0413] 步骤D:7-(6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂-7-氮杂螺[4.5]癸烷(Int-33-D)

[0414] 向7-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂-7-氮杂螺[4.5]癸烷(Int-33-C-1)(200.Mg,0.541mmol)和((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲醇(Int-8)(172mg,1.082mmol)的DMSO(1.00mL)溶液中加入氟化铯(329mg,2.16mmol),并将所得混合物在100℃下搅拌3小时。将反应混合物冷却至室温并用水稀释。将其分配在乙酸乙酯和水中。用乙酸乙酯提取水层两次。合并有机层,用盐水洗涤,用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压除去过量溶剂。通过硅胶柱色谱法(DCM的MeOH溶液,0-15%梯度)纯化产物。将含有产物的级分合并,减压除去过量溶剂,并真空干燥得到标题化合物(Int-33-D)。MS(ESI): $m/z$ (M+H)<sup>+</sup>493.3。

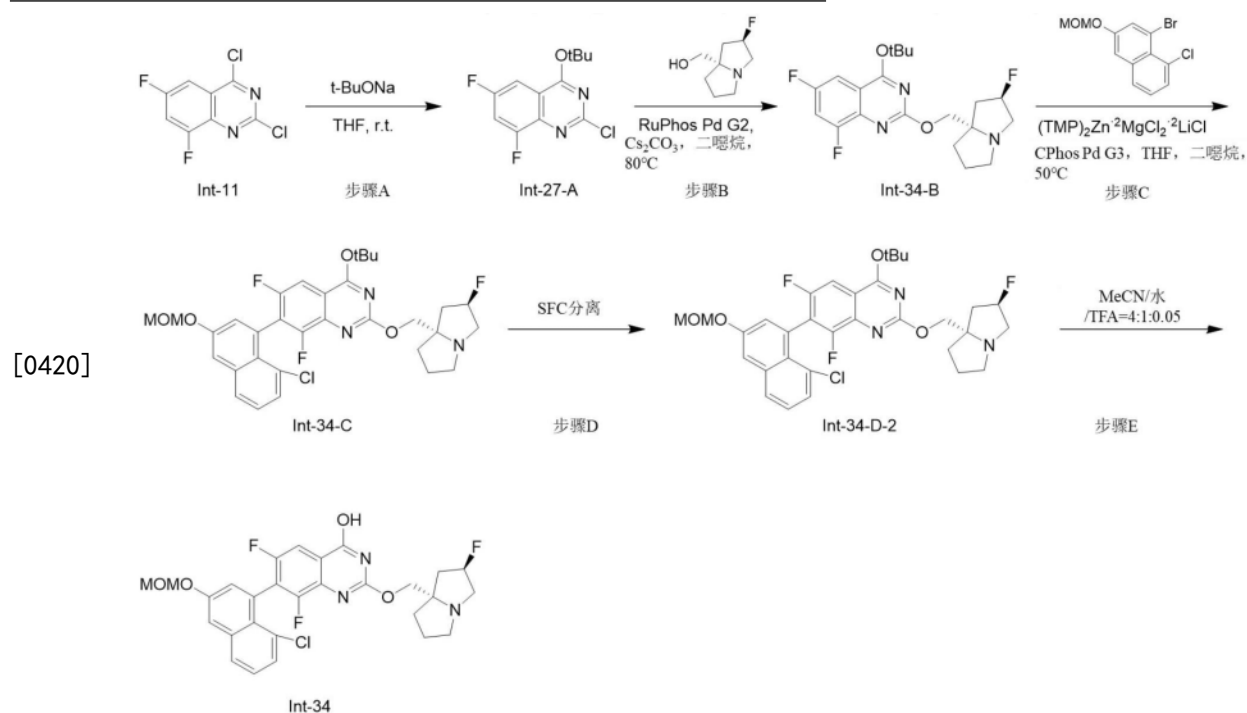
[0415] 步骤E:7-(7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂-7-氮杂螺[4.5]癸烷(Int-33-E)

[0416] 向用N<sub>2</sub>彻底吹扫的小瓶中加入TMP<sub>2</sub>Z-MgClLiCl(1.096mL,0.164mmol,在THF/甲苯中)。向其中加入7-(6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂-7-氮杂螺[4.5]癸烷(Int-33-D)(123.0mg,0.250mmol)的THF(1mL)溶液,并将反应混合物在室温下搅拌1小时。将1-溴-8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘(136mg,0.450mmol)和CPHOS PD G4(22mg,0.027mmol)的二噁烷(1.00mL)溶液加入上述反应混合物中,搅拌2小时,并在预热的油浴中于100℃放置2.5h。将反应在冰中冷却并用水淬灭。真空除去过量溶剂,并将残留物分配在乙酸乙酯和水中。用乙酸乙酯提取水层两次,合并有机层,减压除去过量溶剂,并通过硅胶柱(用DCM中的MeOH,0-15%梯度洗脱)纯化残留物。将含有所需产物的级分合并,减压除去过量溶剂,并真空干燥得到7-(7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂-7-氮杂螺[4.5]癸烷(Int-33-E)。MS(ESI): $m/z$ (M+H)<sup>+</sup>713.2。

[0417] 步骤F: 1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-(羟甲基)哌啶-3-醇 (Int-33)

[0418] 向7-(7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂-7-氮杂螺[4.5]癸烷(Int-33-E) (158mg, 0.222mmol) 的异丙醇(1.00mL) 溶液中加入HCl (1.1mL, 4.4mmol), 并将反应混合物在45℃下搅拌4小时。减压除去过量溶剂。将残留物溶解在MeOH中, 并直接通过反相HPLC(C18, ACN-水w/0.5% TFA, 0-100%梯度) 纯化。将含有所需产物的级分合并, 并冷冻干燥。获得1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-(羟甲基)哌啶-3-醇作为非对映异构体的混合物(Int-33), 为黄色油状的阻转异构体混合物。MS (ESI) : m/z (M+H)<sup>+</sup> 629.2。

[0419] 中间体34: 7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇 (Int-34)



[0421] 步骤A: 4-(叔丁氧基)-2-氯-6,8-二氟喹唑啉 (Int-27-A)

[0422] 在氮气气氛下于0℃向2,4-二氯-6,8-二氟喹唑啉(Int-11) (10g, 42.6mmol) 的THF (100mL) 溶液中加入叔丁醇钠(21.28mL, 42.6mmol, 2.0M的THF溶液)。将混合物在25℃下搅拌2小时。用EtOAc (200mL) 稀释混合物, 用水(30mL) 洗涤, 用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并减压蒸发溶剂以得到粗产物。通过快速硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的石油醚溶液洗脱, 0-100%梯度) 纯化粗产物, 得到4-(叔丁氧基)-2-氯-6,8-二氟喹唑啉(Int-27-A)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.52-7.44(m, 1H), 7.35-7.27(m, 1H), 1.74(s, 9H)。

[0423] 步骤B: 4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉 (Int-34-B)

[0424] 在手套箱中, 向4-(叔丁氧基)-2-氯-6,8-二氟喹唑啉(Int-34-A) (4g, 14.67mmol) 和((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲醇(Int-8) (3.50g, 22.00mmol) 的二噁烷(60mL) 溶液中加入Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (9.56g, 29.3mmol) 和RuPhos Pd G2 (1.139g, 1.467mmol), 并在氮

气氛下于80℃搅拌反应混合物15小时。用水(20mL)淬灭反应混合物,并用EtOAc(100mL×3)提取。用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥合并的有机相,过滤并真空浓缩。通过快速硅胶柱色谱法(用EtOAc的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-34-B)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>m/z 396。

[0425] 步骤C:4-(叔丁氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-34-C)

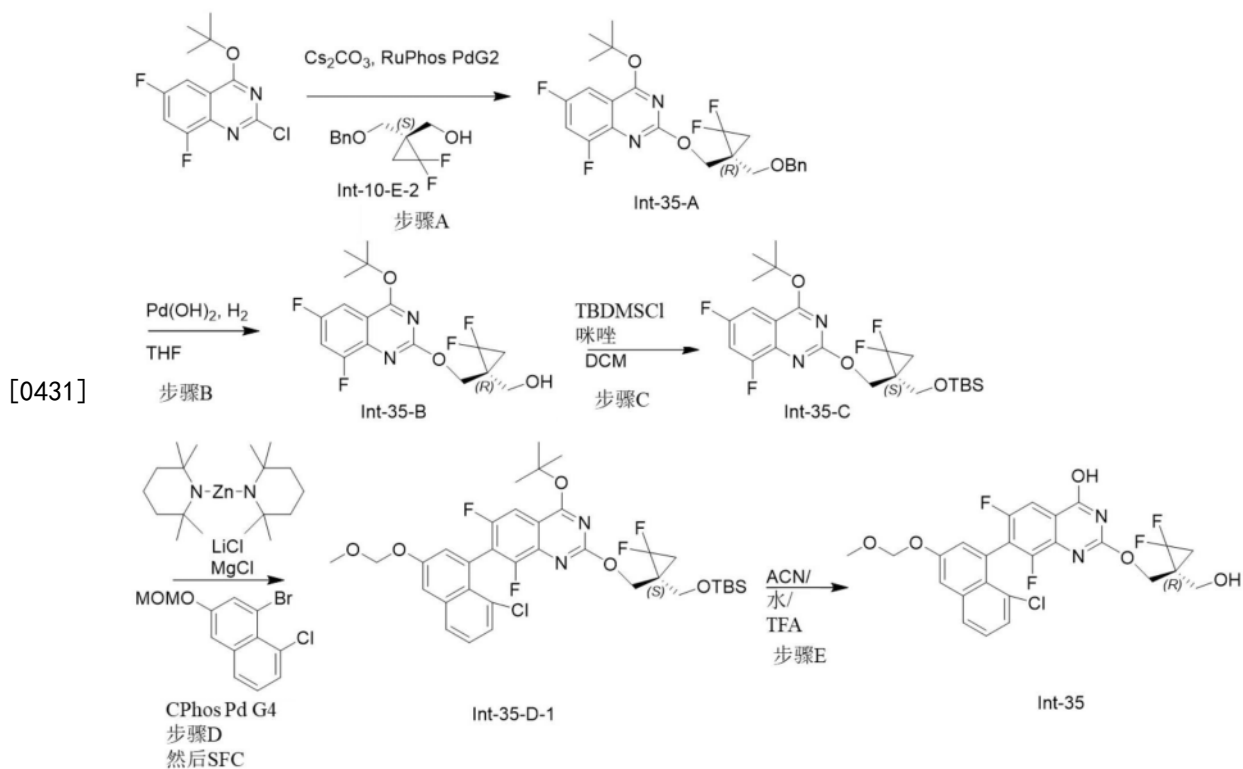
[0426] 在手套箱中,向(TMP)<sub>2</sub>Zn·2MgCl<sub>2</sub>·2LiCl(90mL,9.6mmol,0.33MTHF溶液)中加入4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-34-B)(3.9g,9.86mmol),并在50℃下搅拌3小时。在25℃下向反应溶液中加入1-溴-8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘(3.57g,11.84mmol)和CPhos Pd G3(0.795g,0.986mmol)的THF(24mL)溶液;然后在手套箱中于50℃搅拌反应混合物15小时。LCMS显示起始材料被消耗,并观察到所需的MS。用EtOAc(300mL)稀释混合物,并向混合物中加入饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液(30mL)。过滤混合物并分离。用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥有机层,并减压蒸发溶剂以得到粗产物。通过快速硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化粗产物,得到4-(叔丁氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-34-C)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>:m/z 616。

[0427] 步骤D:4-(叔丁氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-34-D-2)

[0428] 通过制备型SFC(柱G,含0.1% NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O的30% EtOH)分离4-(叔丁氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-34-C)(3.8g,6.17mmol)的混合物,得到4-(叔丁氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(第二洗脱异构体)(Int-34-D-2)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>:m/z 616。

[0429] 步骤E:7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-34)

[0430] 将4-(叔丁氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-34-D-2)(1.5g,2.435mmol)的MeCN(16mL)、水(4mL)和TFA(0.4mL)混合物溶液在25℃下搅拌1.5小时。浓缩反应以去除MeCN,并通过制备型HPLC(C18,含0.1% TFA的ACN水溶液)纯化混合物,得到7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-34),为TFA盐。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>:m/z 560。中间体35:7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-2-(((R)-2,2-二氟-1-(羟甲基)环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-醇(Int-35)



[0432] 步骤A: (R)-2-((1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-4-(叔丁氧基)-6,8-二氟喹唑啉(Int-35-A)

[0433] 在氩气下,向氯(2-二环己基膦基-2',6'-二异丙氧基-1,1'-联苯)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯(II)(1.85g,2.38mmol)、碳酸铯(23.3g,72mmol)和4-(叔丁氧基)-2-氯-6,8-二氟喹唑啉(Int-27-A)(6.5g,24mmol)的混合物中加入(S)-(1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇(8.16g,35.8mmol)的二噁烷(100mL)溶液。将反应混合物在氩气气氛下于100℃搅拌过夜。允许反应混合物冷却至室温,用EtOAc(300mL)稀释,过滤(Celite)并用碳酸氢钠(饱和水溶液,3×100mL)洗涤。保留有机相并减压浓缩。通过硅胶柱色谱法(乙酸乙酯的己烷梯度溶液)纯化所得混合物,得到标题化合物(Int-35-A)。MS(ESI):m/z(M+H-tBu)<sup>+</sup>409。

[0434] 步骤B: (R)-(1-(((4-(叔丁氧基)-6,8-二氟喹唑啉-2-基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇(Int-35-B)

[0435] 在惰性气氛下,向含有氢氧化钯(0.61g,0.86mmol)的烧瓶中加入(R)-2-((1-((苄氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-4-(叔丁氧基)-6,8-二氟喹唑啉(Int-35-A)(4g,9mmol)的THF(43mL)溶液。允许氢气在反应混合物中鼓泡,然后用氢气气球密封。将反应混合物在室温下搅拌6小时。允许氩气在反应混合物中鼓泡,然后在氩气气氛下通过celite过滤反应混合物。在真空中浓缩滤液。通过硅胶柱色谱法(乙酸乙酯的己烷梯度溶液)纯化所得混合物,得到标题化合物。MS(ESI):m/z(M+H-tBu)+319。<sup>1</sup>H NMR(499MHz,Methanol-d<sub>4</sub>)δ 7.55-7.45(m,2H),4.69(d,J=12Hz,1H),4.60(d,J=12Hz,1H),3.85(d,J=12Hz,1H),3.79(d,J=12Hz,1H),1.79(s,9H),1.68-1.57(m,1H),1.55-1.45(m,1H)。

[0436] 步骤C: (S)-4-(叔丁氧基)-2-((1-(((叔丁基二甲基硅基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉(Int-35-C)

[0437] 将(R)-(1-(((4-(叔丁氧基)-6,8-二氟喹唑啉-2-基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基

基) 甲醇 (Int-35-B) (5.2g, 14mmol) 溶解在二氯甲烷 (70ml) 中, 并用咪唑 (2.8g, 41mmol) 处理, 随后在 0°C 下分三批加入 TBDMS-Cl (2.7g, 18mmol)。允许反应混合物升温至室温并搅拌 2 小时。用 DCM (300mL) 稀释反应混合物并用碳酸氢钠 (3 × 100mL) 洗涤。合并有机相并在真空中浓缩。通过硅胶柱色谱法 (乙酸乙酯的梯度己烷溶液) 纯化所得混合物。在真空中浓缩含有产物的级分, 得到标题化合物 (Int-35-C)。MS (ESI): m/z (M+Na) +511。<sup>1</sup>H NMR (Methanol-d<sub>4</sub>) δ: 7.55-7.42 (m, 2H), 4.62 (s, 2H), 3.98 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.83 (d, J=10.9Hz, 1H), 1.68-1.59 (m, 1H), 1.52-1.43 (m, 1H), 0.87 (s, 9H), 0.05 (s, 6H)。

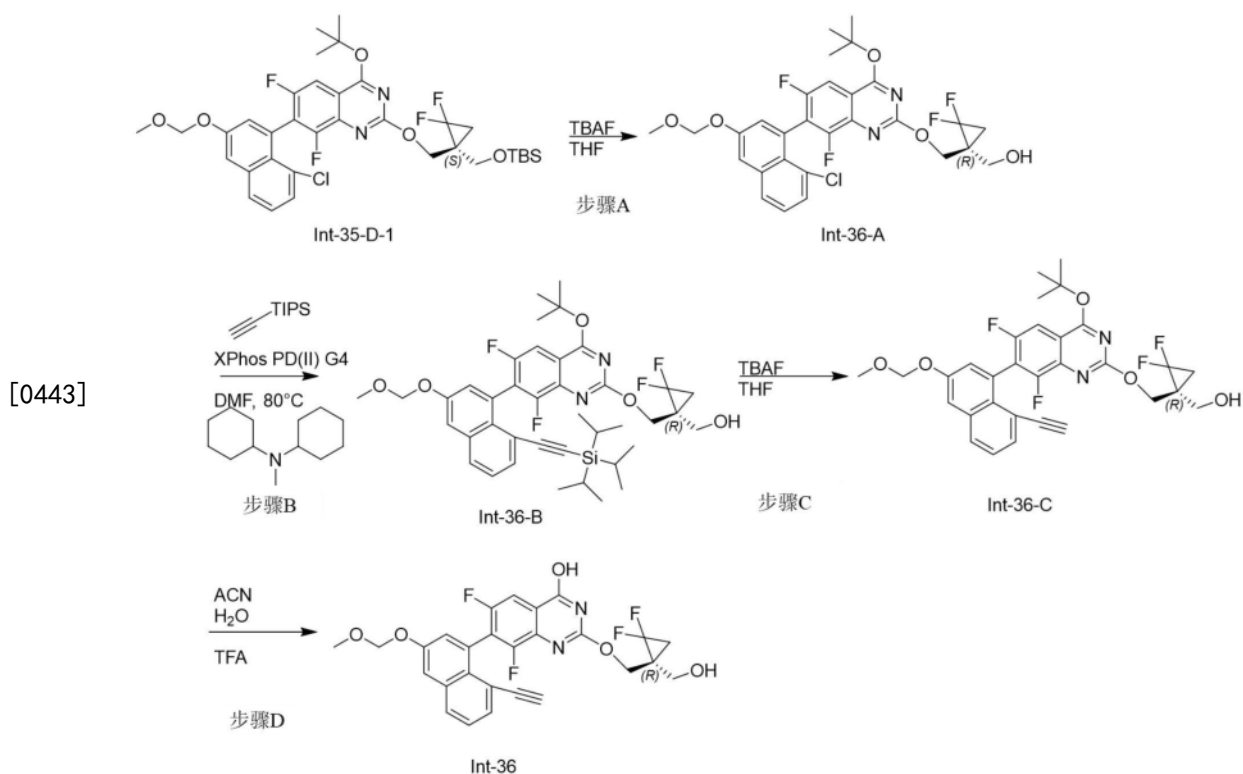
[0438] 步骤D: 4-(叔丁氧基)-2-(((S)-1-(((叔丁基二甲基硅基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉 (Int-35-D)

[0439] 将 (S)-4-(叔丁氧基)-2-((1-(((叔丁基二甲基硅基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉 (Int-35-C) (19ml, 5.1mmol) 的 THF 溶液加入到二(2,2,6,6-四甲基哌啶基)锌-LiCl-MgCl<sub>2</sub> 的 THF/甲苯 (19ml, 6.1mmol) 溶液中。将反应混合物在室温下搅拌 1 小时。通过通过超声制备 CPhos Pd G4 (0.63g, 0.77mmol)、1-溴-8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘 (3.1g, 10. mmol) 的分离混合物的二噁烷 (25mL) 溶液并温和加热直至均质, 然后加入到锌酸盐混合物中。在加热至 100°C 并过夜之前, 用氩气吹扫反应混合物。用 EtOAc (200mL) 稀释反应混合物并用氯化铵 (3 × 100mL) 洗涤。合并有机相并在真空中浓缩。通过硅胶柱色谱法 (乙酸乙酯的梯度己烷溶液) 纯化所得混合物。在真空中浓缩含有产物的级分, 得到标题化合物 (Int-35-D)。通过手性 SFC (柱 F, 15% MeOH w/0.1% NH<sub>4</sub>OH) 分离阻转异构体。(Int-35-D-1, 峰1) -MS (ESI): m/z (M+H-tBu) +653。<sup>1</sup>H NMR (499MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.03-7.96 (m, 1H), 7.76 (d, J=2.2Hz, 1H), 7.63 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.53-7.48 (m, 2H), 7.36 (d, J=2.3Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.64 (d, J=11.3Hz, 1H), 4.46 (d, J=11.4Hz, 1H), 3.87 (d, J=10.9Hz, 1H), 3.77 (d, J=10.9Hz, 1H), 3.45 (s, 3H), 1.87-1.78 (m, 1H), 1.74 (s, 9H), 1.67-1.55 (m, 1H), 0.79 (s, 9H), -0.01 (s, 6H)。(Int-35-D-2, 峰2) -MS (ESI): m/z (M+H-tBu) +653。<sup>1</sup>H NMR (499MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.04-7.94 (m, 1H), 7.76 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.63 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.53-7.48 (m, 2H), 7.35 (d, J=2.1Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.57 (d, J=11.5Hz, 1H), 4.53 (d, J=11.5Hz, 1H), 3.88 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.75 (d, J=10.9Hz, 1H), 3.45 (s, 3H), 1.82 (d, J=8.5Hz, 1H), 1.74 (s, 9H), 1.70-1.58 (m, 1H), 0.79 (s, 9H), -0.01 (s, 3H), -0.01 (s, 3H)。

[0440] 步骤E: 7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-2-(((R)-2,2-二氟-1-(羟甲基)环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-醇 (Int-35)

[0441] 将 4-(叔丁氧基)-2-(((S)-1-(((叔丁基二甲基硅基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉 (Int-35-D-1) (100mg, 0.141mmol, 峰1) 溶解在乙腈 (1100μL) 和水 (282μL) 中, 随后用 TFA (28μL) 处理。将反应混合物搅拌过夜, 然后用饱和碳酸氢钠水溶液淬灭。用 DCM 提取产物, 并真空浓缩以得到标题化合物 (Int-35)。MS (ESI): m/z (M+H) +539。

[0442] 中间体 36: 2-(((R)-2,2-二氟-1-(羟甲基)环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-4-醇 (Int-36)



[0444] 步骤A: ((1R)-1-(((4-(叔丁氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-2-基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇 (Int-36-A)

[0445] 在环境温度下,向4-(叔丁氧基)-2-((S)-1-((叔丁基二甲基硅基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉 (Int-35-D-1) (250mg, 0.352mmol) 的THF (1760 $\mu$ L) 搅拌溶液中加入TBAF (700 $\mu$ L, 0.700mmol, 1M THF溶液)。将反应混合物搅拌2小时。加入氯化铵 (1mL, sat. aq) 并搅拌1小时。用EtOAc (3 $\times$  10mL) 提取产物,合并有机相并真空浓缩。通过硅胶柱色谱法 (0-100% EtOAc的己烷溶液) 纯化产物。真空浓缩含有产物的级分,得到标题化合物 (Int-36-A)。MS (ESI): m/z (M+H-tBu) +539。

[0446] 步骤B: ((1R)-1-(((4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-2-基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇 (Int-36-B)

[0447] 将((1R)-1-(((4-(叔丁氧基)-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-2-基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇 (Int-36-A) (196mg, 0.329mmol) 溶解在DMF (3294 $\mu$ L) 中。依次加入N,N-二环己基甲基胺 (350 $\mu$ L, 1.6mmol) 和(三异丙基硅基)乙炔 (739 $\mu$ L, 3.29mmol)。用氩气对反应混合物进行脱气,并加入甲烷磺酸(2-二环己基磷基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)(2'-氨基-1,1'-联苯-2-基)钼(II) (56mg, 0.066mmol)。允许氩气在反应混合物中鼓泡,然后密封并在80 $^{\circ}$ C搅拌过夜。用水 (6mL) 稀释反应混合物,并用EtOAc (3 $\times$  10mL) 提取,真空浓缩有机相。通过硅胶柱色谱法 (0-100%, EtOAc的己烷溶液) 纯化产物。真空浓缩含有产物的级分,得到标题化合物 (Int-36-B)。MS (ESI): m/z (M+H-tBu) +685。

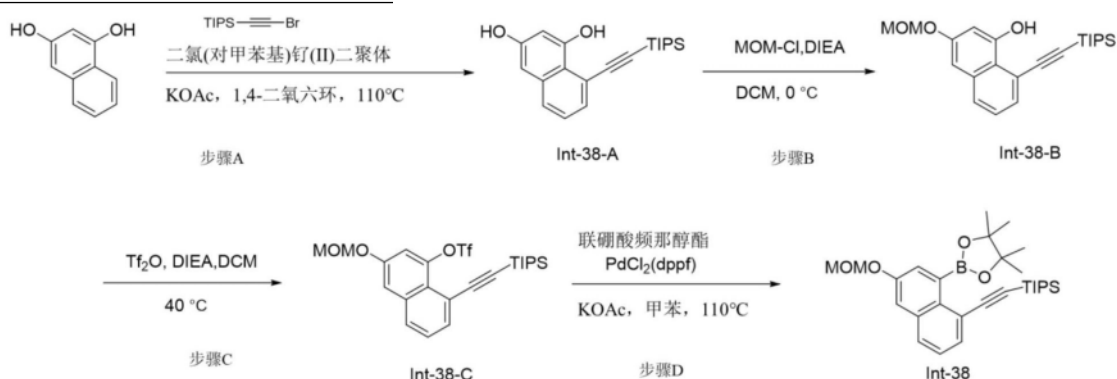
[0448] 步骤C: ((1R)-1-(((4-(叔丁氧基)-7-(8-乙炔基-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-2-基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇 (Int-36-C)

[0449] 环境温度下,向((1R)-1-(((4-(叔丁氧基)-6,8-二氟-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-2-基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇 (Int-



基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉(Int-37-A) (0.37g, 0.49mmol) 和THF (9.7mL) 的烧瓶中加入TBAF (1.0M的THF溶液, 1.2mL, 1.2mmol)。将混合物在室温下搅拌30分钟。30分钟后,用乙酸乙酯和饱和氯化铵稀释混合物。分离有机层,用硫酸镁干燥,过滤,并减压浓缩。通过硅胶柱色谱法(0-100% (3:1乙酸乙酯:乙醇)梯度己烷溶液)纯化所得混合物,得到4-(叔丁氧基)-7-(8-乙炔基-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉和7-(8-乙炔基-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-37)的混合物。向该混合物中加入乙腈(3.2mL)、水(0.81mL)和TFA(0.81mL)。将混合物在环境温度下搅拌2小时。2小时后,乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠水溶液稀释混合物用。分离有机层,用硫酸镁干燥,过滤,并减压浓缩。通过硅胶柱色谱法(0-100% (3:1乙酸乙酯:乙醇)梯度己烷溶液)纯化所得混合物,得到7-(8-乙炔基-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-37)。MS (ESI): m/z (M+H)<sup>+</sup>550。<sup>1</sup>H NMR (499MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.02 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.70 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.61-7.56 (m, 2H), 7.52 (dd, J=7.7Hz, 1H), 7.31 (d, J=2.1Hz, 1H), 5.39 (s, 2H), 5.37-5.22 (m, 1H), 4.16 (d, J=10.3Hz, 1H), 4.07 (d, J=10.3Hz, 1H), 3.78 (s, 1H), 3.45 (s, 3H), 3.20-2.97 (m, 4H), 2.87-2.79 (m, 1H), 2.20-1.99 (m, 3H), 1.87-1.76 (m, 3H)。

[0458] 中间体38:三异丙基((6-(甲氧基甲氧基)-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基)硅烷(Int-38)



[0459]

[0460] 步骤A:8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1,3-二醇(Int-38-A)

[0461] 在氮气气氛下于25°C,向萘-1,3-二醇(16.0g, 100mmol)的二噁烷(160mL)溶液中加入(溴乙炔基)三异丙基硅烷(31.3g, 120mmol)、乙酸钾(19.6g, 200mmol)和二氯(对甲苯基)钯(II)二聚体(6.12g, 9.99mmol),并在110°C下搅拌16小时。用DCM(200mL)稀释反应混合物,并过滤所得混合物。真空浓缩滤液,通过快速硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化残留物,得到8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1,3-二醇(Int-38-A)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.26 (s, 1H), 7.60 (d, J=8.3Hz, 1H), 7.44 (d, J=7.1Hz, 1H), 7.26-7.30 (m, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.60 (s, 1H), 4.90 (br s, 1H), 1.14-1.18 (m, 21H)。

[0462] 步骤B:3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-醇(Int-38-B)

[0463] 在0°C下,向8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1,3-二醇(Int-38-A) (13.0g, 38.2mmol)的DCM(130mL)溶液中加入DIEA(20mL, 115mmol)和MOM-Cl(8.44g, 7.96mL, 105mmol),并在0°C下搅拌10分钟。用DCM(200mL)稀释反应混合物并用盐水(30mL×2)洗涤。

用无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥有机层,过滤并真空浓缩。通过快速硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化残留物,得到3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-醇(Int-38-B)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, MeOD)  $\delta$  7.63-7.71 (m, 1H), 7.44 (dd,  $J=1.0, 7.1\text{Hz}$ , 1H), 7.24-7.34 (m, 1H), 6.93 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.62 (d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 1H), 5.23 (s, 2H), 3.46 (s, 3H), 1.10-1.23 (m, 21H)。

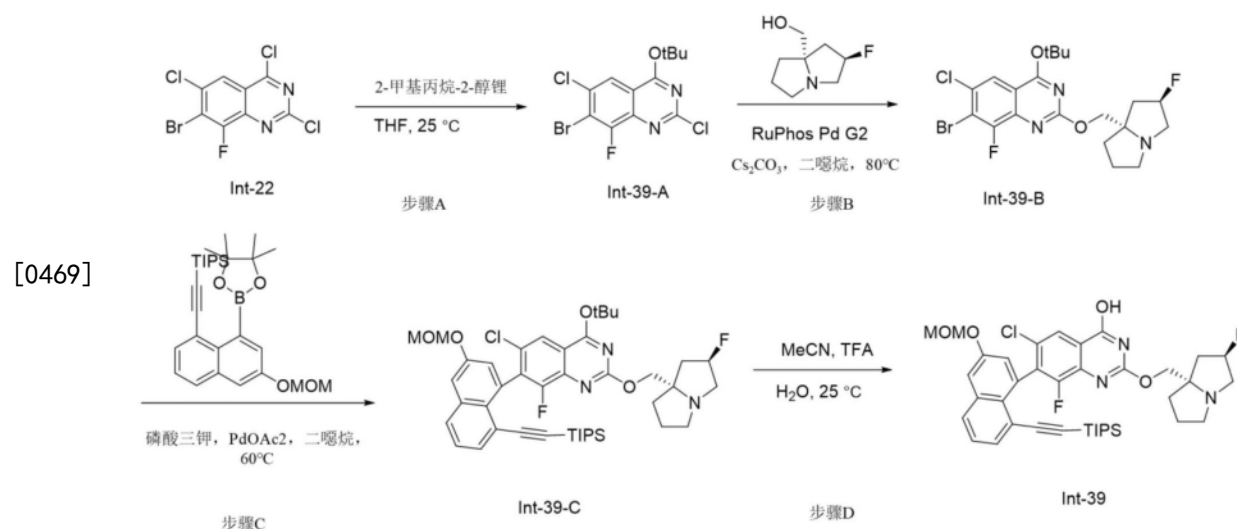
[0464] 步骤C: 3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基三氟甲磺酸酯(Int-38-C)

[0465] 在 $-40^\circ\text{C}$ 下,向3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-醇(Int-38-B) (9.00g, 23.40mmol) 的DCM(100mL) 溶液中加入DIEA (12.26mL, 70.2mmol) 和 $\text{Tf}_2\text{O}$  (5.9mL, 35.1mmol), 并在 $-40^\circ\text{C}$ 下搅拌2分钟。真空浓缩反应混合物,通过快速硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化残留物,得到3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基三氟甲磺酸酯(Int-38-C)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  = 7.71 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.45-7.38 (m, 2H), 7.29 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H), 5.27 (s, 2H), 3.54-3.46 (m, 3H), 1.18-1.10 (m, 21H)。

[0466] 步骤D: 三异丙基((6-(甲氧基甲氧基)-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基)硅烷(Int-38)

[0467] 在 $20^\circ\text{C}$ 下,向3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基三氟甲磺酸酯(Int-38-C) (9.00g, 17.42mmol) 和联硼酸频那醇酯(8.85g, 34.8mmol) 的甲苯(180mL) 溶液中加入乙酸钾(5.98g, 61.0mmol) 和 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  (1.275g, 1.742mmol), 并在氮气气氛下于 $110^\circ\text{C}$ 搅拌15小时。用EtOAc(500mL) 稀释反应混合物,并过滤所得混合物。真空浓缩滤液,通过快速硅胶柱色谱法(用EtOAc的己烷溶液洗脱)纯化残留物,得到三异丙基((6-(甲氧基甲氧基)-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基)硅烷(Int-38)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.69 (dd,  $J=2.8, 7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.47 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 7.31-7.40 (m, 2H), 5.27-5.31 (m, 2H), 3.47-3.52 (m, 3H), 1.44 (s, 12H), 1.12-1.21 (m, 21H)。

[0468] 中间体39: 6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-醇(Int-39)



[0470] 步骤A: 7-溴-4-(叔丁氧基)-2,6-二氯-8-氟喹唑啉(Int-39-A)

[0471] 在氮气气氛下于 $25^\circ\text{C}$ 向7-溴-2,4,6-三氯-8-氟喹唑啉(Int-22) (5g, 15.13mmol)

的THF (50mL) 溶液中加入2-甲基丙烷-2-醇锂 (7mL, 15.40mmol, 2.2M THF溶液)。将混合物在25℃下搅拌1小时。LCMS显示起始材料被消耗, 并形成了所需峰。TLC (SiO<sub>2</sub>; 石油醚: 乙酸乙酯=20:1) 显示起始材料被消耗, 并观察到新斑点。用H<sub>2</sub>O (20mL) 淬灭混合物, 用EtOAc (2×60mL) 提取, 用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并减压蒸发溶剂以得到粗产物。通过快速硅胶柱色谱法 (用TEA碱化, 用EtOAc的己烷溶液洗脱) 纯化粗产物, 得到7-溴-4-(叔丁氧基)-2,6-二氯-8-氟喹唑啉 (Int-39-A)。MS (ESI): m/z (M+H-tBu)<sup>+</sup> 311.3, 313.3。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.98 (d, J=1.7Hz, 1H), 1.77 (s, 9H)。

[0472] 步骤B: 7-溴-4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉 (Int-39-B)

[0473] 向7-溴-4-(叔丁氧基)-2,6-二氯-8-氟喹唑啉 (Int-39-A) (4g, 10.87mmol) 和 ((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基) 甲醇 (Int-8) (2.60g, 16.30mmol) 的二噁烷 (60mL) 溶液中加入Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.08g, 21.74mmol) 和RuPhos Pd G2 (0.844g, 1.087mmol)。将溶液在氮气气氛下于80℃搅拌15小时。LCMS显示起始材料被消耗, 并发现了所需的MS。用水 (10mL) 淬灭反应混合物, 并用EtOAc (150mL×3) 提取所得混合物。用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥合并的有机相, 并真空浓缩过滤。通过快速硅胶柱色谱法 (用EtOAc的己烷溶液洗脱) 纯化残留物, 得到7-溴-4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉 (Int-39-B)。MS (ESI): m/z (M+H)<sup>+</sup> 489.8, 491.8。

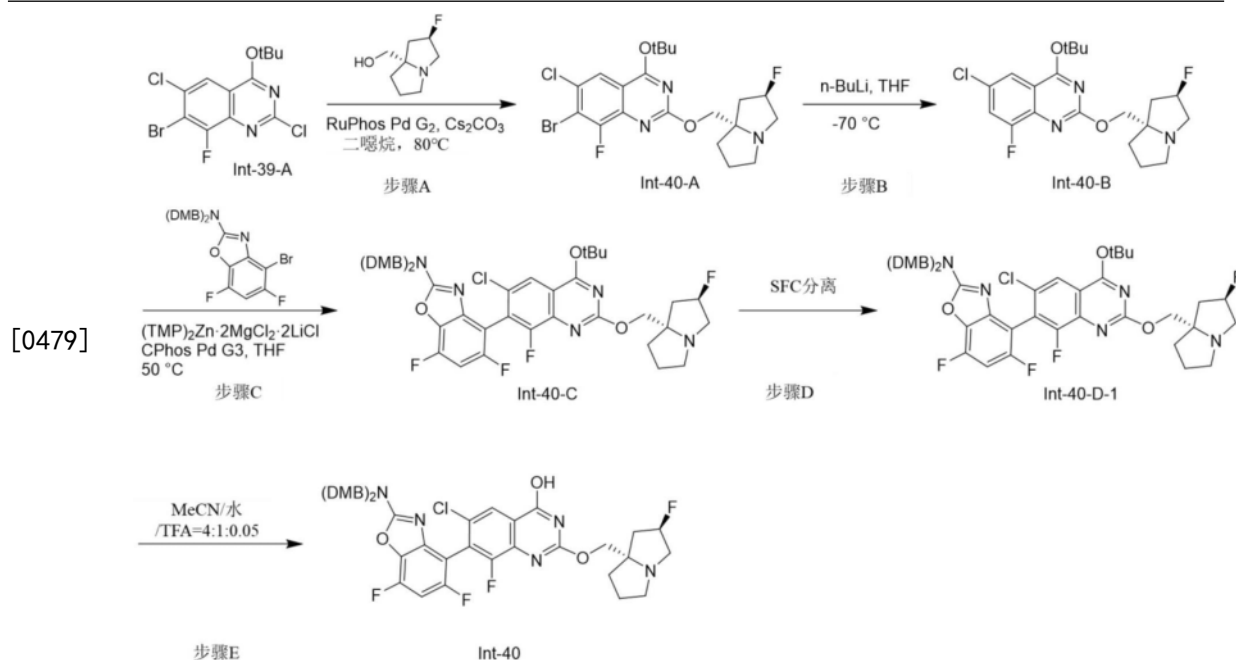
[0474] 步骤C: 4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉 (Int-39-C)

[0475] 在氮气下, 向7-溴-4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉 (Int-39-B) (2g, 4.08mmol) 和三异丙基 ((6-(甲氧基甲氧基)-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基) 硅烷 (Int-38) (3.02g, 6.11mmol) 的二噁烷 (40mL) 溶液中加入磷酸三钾 (2.60g, 12.23mmol)、rRac-BI-DIME (0.404g, 1.223mmol) 和Pd (OAc)<sub>2</sub> (0.137g, 0.611mmol), 并在氮气气氛下于60℃搅拌15小时。用EtOAc (100mL) 稀释反应混合物, 并用水 (10mL) 和盐水 (10mL) 洗涤。用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥有机相, 过滤并真空浓缩。通过快速硅胶柱色谱法 (用EtOAc的己烷溶液洗脱) 纯化残留物, 得到4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉 (Int-39-C)。MS (ESI): m/z (M+H)<sup>+</sup> 778.4。

[0476] 步骤D: 6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-醇 (Int-39)

[0477] 将4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉 (Int-39-C) (250mg, 0.225mmol) 的MeCN (4mL)、水 (1mL) 和TFA (0.25mL) 混合物溶液在25℃下搅拌2小时。LCMS显示起始材料被消耗, 并形成了所需MS。在25℃下减压浓缩反应混合物。通过制备型HPLC (柱: Boston Green ODS, 含0.1% TFA的ACN/水) 纯化残留物, 得到6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-醇 (Int-39)。MS (ESI): m/z (M+H)<sup>+</sup> 722.3。

[0478] 中间体40:7-(2-(双(2,4-二甲氧基苄基)氨基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-4-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-40)



[0480] 步骤A:7-溴-4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-40-A)

[0481] 向7-溴-4-(叔丁氧基)-2,6-二氯-8-氟喹唑啉(Int-39-A)(10g,27.2mmol)和((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲醇(Int-8)(6.49g,40.8mmol)的二噁烷(150mL)溶液中加入 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (17.71g,54.3mmol)和RuPhos Pd G2(2.111g,2.72mmol)。将溶液在氮气气氛下于80℃搅拌15小时。用水(50mL)淬灭反应混合物,并用EtOAc(300mL×3)提取所得混合物。用无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥合并的有机相,过滤并在真空中浓缩。通过快速硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化残留物,得到7-溴-4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-40-A)。MS(ESI)  $[\text{M}+\text{H}]^+$  m/z:490。

[0482] 步骤B:4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-40-B)

[0483] 在-78℃下,向7-溴-4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-40-A)(8.7g,18mmol)的THF(100mL)搅拌溶液中加入nBuLi(10.64mL,26.6mmol)(2.5M己烷溶液),并将所得混合物在-78℃下搅拌2小时。用水(10mL)淬灭反应,并用EtOAc(200mL×3)提取所得混合物。用无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥合并的有机相,过滤并在真空中浓缩。通过快速硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉(Int-40-B)。MS(ESI)  $[\text{M}+\text{H}]^+$  m/z:412。

[0484] 步骤C:4-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(2,4-二甲氧基苄基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-2-胺(Int-40-C)

[0485] 将4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲

氧基)喹唑啉(Int-40-B)(5.7g,13.84mmol)的(TMP)<sub>2</sub>Zn•2MgCl<sub>2</sub>•2LiCl(180mL,59.5mmol,0.33M THF溶液)溶液在50℃下搅拌5小时。在25℃下,在手套箱中向反应溶液中加入4-溴-N-(2,4-二甲氧基苄基)-N-(3,5-二甲氧基苄基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-2-胺(13.30g,24.22mmol)和CPhos Pd G3(2.232g,2.77mmol)的THF(24mL)溶液,然后将反应混合物在50℃下搅拌15小时。用EtOAc(500mL)和饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(150mL)稀释反应,并过滤所得混合物。在真空中浓缩滤液,通过快速硅胶柱色谱法(用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱,0-100%梯度)纯化残留物,得到4-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(2,4-二甲氧基苄基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-2-胺(Int-40-C)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup><sub>m/z</sub>:880。

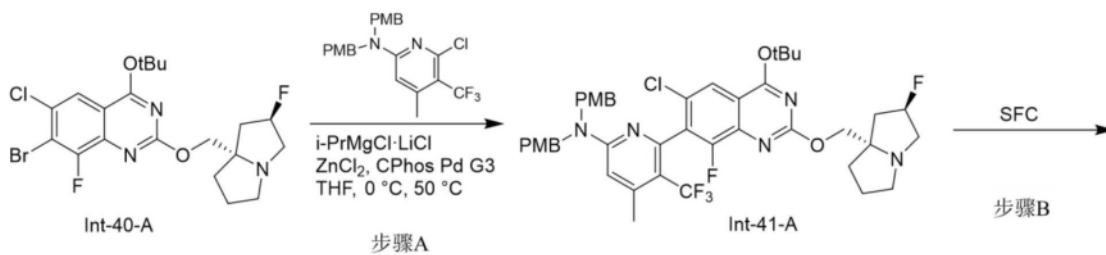
[0486] 步骤D:4-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(2,4-二甲氧基苄基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-2-胺(Int-40-D-1)

[0487] 通过制备型SFC(柱H;含0.1% NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O的45% EtOH)分离4-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(2,4-二甲氧基苄基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-2-胺(Int-40-C)(6.5g,7.38mmol)的阻转异构体混合物,得到4-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(2,4-二甲氧基苄基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-2-胺(Int-40-D-1,第一洗脱异构体)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup><sub>m/z</sub>:880。

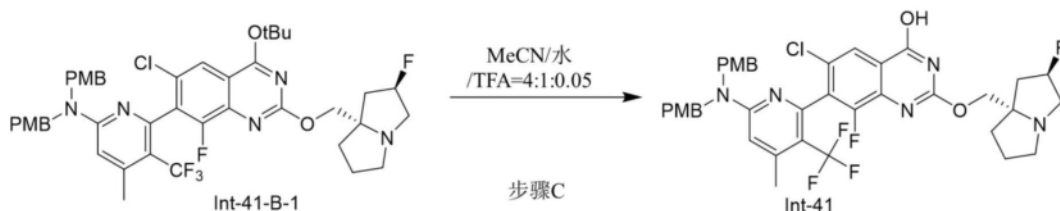
[0488] 步骤E:7-(2-(双(2,4-二甲氧基苄基)氨基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-4-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-40)

[0489] 将4-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(2,4-二甲氧基苄基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-2-胺(Int-40-D-1)(2.5g,2.8mmol)的MeCN(20mL)、水(5mL)和TFA(1mL)混合物溶液在25℃下搅拌4小时。真空浓缩反应混合物,用NH<sub>3</sub>•H<sub>2</sub>O(1mL)碱化残留物。通过制备型HPLC(C18 ACN/水含(0.04% NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O+10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>))纯化混合物,得到7-(2-(双(2,4-二甲氧基苄基)氨基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-4-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-40)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup><sub>m/z</sub>:824。

[0490] 中间体41:7-(6-(双(4-甲氧基苄基)氨基)-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-41)



[0491]



[0492] 步骤A: 6-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(4-甲氧基苄基)-4-甲基-5-(三氟甲基)吡啶-2-胺 (Int-41-A)

[0493] 在氮气气氛下于0°C,向7-溴-4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉 (Int-40-A) (235mg,0.479mmol)的THF (2mL)溶液中加入异丙基氯化镁氯化锂络合物 (0.774mL,1.006mmol) (1.3M THF溶液),并将混合物在0°C下搅拌20分钟。在0°C下向反应溶液中加入氯化锌 (0.766mL,0.766mmol,1M THF溶液),并在25°C下搅拌混合物10分钟。在25°C下,在手套箱中向反应溶液中加入6-氯-N,N-双(4-甲氧基苄基)-4-甲基-5-(三氟甲基)吡啶-2-胺 (216mg,0.479mmol)和CPhos Pd G3 (39mg,0.048mmol),然后将反应混合物在50°C下搅拌15小时。将混合物冷却,用水 (1mL)淬灭,用EtOAc (2×3mL)提取,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并减压蒸发溶剂以得到粗产物。通过快速硅胶柱色谱法(用TEA碱化,用乙酸乙酯的己烷溶液洗脱)纯化粗产物,得到6-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(4-甲氧基苄基)-4-甲基-5-(三氟甲基)吡啶-2-胺 (Int-41-A)。MS (ESI) [M+H]<sup>+</sup>:m/z 826。

[0494] 步骤B: 6-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(4-甲氧基苄基)-4-甲基-5-(三氟甲基)吡啶-2-胺 (Int-41-B-1)

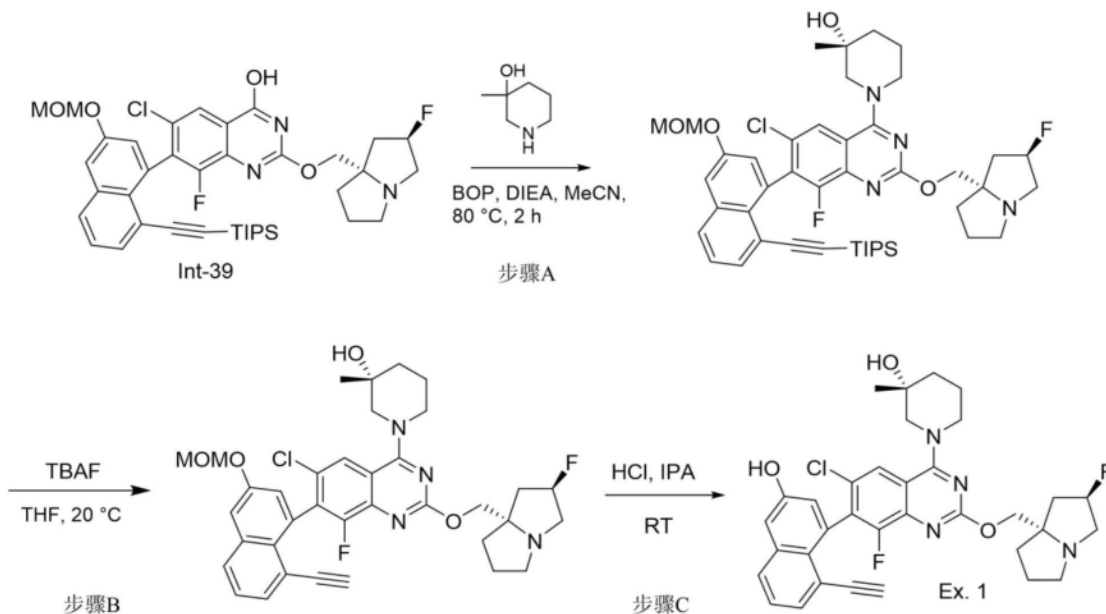
[0495] 通过SFC(柱:G;含0.1% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O的25%乙醇)分离外消旋的6-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(4-甲氧基苄基)-4-甲基-5-(三氟甲基)吡啶-2-胺 (Int-41-A) (90mg,0.109mmol),得到6-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(4-甲氧基苄基)-4-甲基-5-(三氟甲基)吡啶-2-胺 (Int-41-B-1) (SFC中的第一洗脱异构体)。MS (ESI) [M+H]<sup>+</sup>:m/z 826。

[0496] 步骤C: 7-(6-(双(4-甲氧基苄基)氨基)-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇 (Int-41)

[0497] 在20°C下,将6-(4-(叔丁氧基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-7-基)-N,N-双(4-甲氧基苄基)-4-甲基-5-(三氟甲基)吡啶-2-胺 (Int-41-B-1) (42mg,0.051mmol,来自步骤B)加入到MeCN (4mL)、水 (1mL)和TFA (0.05mL)

的溶液中。将混合物在20℃下搅拌1小时。LCMS显示起始材料被消耗,并形成了所需峰。减压蒸发溶剂以得到粗产物。通过反相制备型HPLC(C18含0.225% TFA的ACN/水)纯化粗产物,得到7-(6-(双(4-甲氧基苄基)氨基)-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-41)。MS(ESI) [M+H]<sup>+</sup>:m/z 770。

[0498] 实施例1: (3R)-1-(6-氯-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex. 1)



[0500] 步骤A: (3R)-1-(6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0501] 在25℃下,向6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-醇(Int-39)(80mg,0.11mmol)的MeCN(1mL)溶液中加入((1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)氧基)三(二甲基氨基)膦鎓六氟磷酸盐(V)(74mg,0.17mmol)。混合物在25℃下搅拌30分钟。向反应溶液中加入N-乙基-N-异丙基丙烷-2-胺(72mg,0.55mmol)和(R)-3-甲基哌啶-3-醇(19mg,0.167mmol),然后将混合物在80℃下搅拌2小时。将反应混合物冷却至室温并减压浓缩,通过制备型TLC板(硅胶,己烷/EtOAc=0/1)纯化残留物,得到(3R)-1-(6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇,为黄色油状物。MS(ESI):m/z(M+H)<sup>+</sup>+819.4。通过制备型SFC(柱G;含0.1%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O的35% IPA)分离阻转异构体混合物(3R)-1-(6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇,得到(3R)-1-(6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Pk1,第一洗脱异构体),为黄色固体和(3R)-1-(6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-基)-

3-甲基哌啶-3-醇 (Pk2, 第二洗脱异构体), 为黄色固体。MS (ESI) :  $m/z$  (M+H)<sup>+</sup> 819.4。

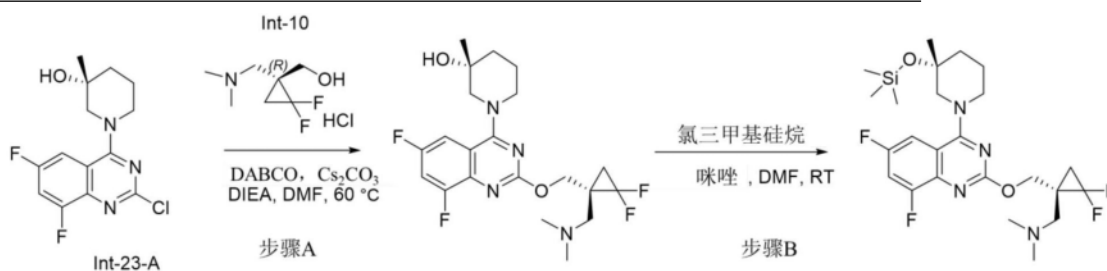
[0502] 步骤B: (3R)-1-(6-氯-7-(8-乙炔基-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0503] 在25°C下,向(3R)-1-(6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(来自步骤A的Pk1, 38mg, 0.046mmol)的THF(0.5mL)溶液中加入TBAF(0.070mL, 0.070mmol)(1M的THF溶液)。混合物在25°C下搅拌30分钟。减压浓缩反应溶液,通过制备型TLC板(硅胶, DCM/MeOH=10/1)纯化残留物,得到(3R)-1-(6-氯-7-(8-乙炔基-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇,为黄色油状物。LCMS (ESI) :  $m/z$  (M+H)<sup>+</sup> 663.2。

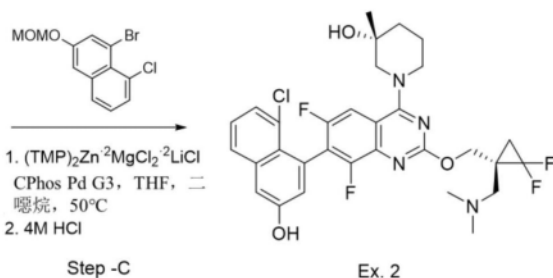
[0504] 步骤C: (3R)-1-(6-氯-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.1)

[0505] 在25°C,向(3R)-1-(6-氯-7-(8-乙炔基-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(来自步骤B, 22mg, 0.033mmol)的2-丙醇(0.25mL)溶液中加入HCl/二噁烷(8.29μL, 0.033mmol)(4M二噁烷溶液)。混合物在25°C下搅拌30分钟。LCMS显示起始材料被消耗,并形成了所需MS。真空浓缩反应溶液,通过制备型HPLC(C18, 0-100% ACN/含0.1% TFA的水)纯化残留物,得到(3R)-1-(6-氯-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.1)。LCMS (ESI) :  $m/z$  (M+H)<sup>+</sup> 619.2。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOD) δ 8.09-8.22 (m, 1H), 7.84 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.51 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.38-7.44 (m, 1H), 7.35 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.06 (d, J=2.5Hz, 1H), 5.39-5.69 (m, 1H), 4.56-4.78 (m, 3H), 4.25-4.41 (m, 1H), 3.81-4.06 (m, 3H), 3.57-3.67 (m, 1H), 3.35-3.52 (m, 2H), 3.10-3.18 (m, 1H), 2.56-2.80 (m, 2H), 2.30-2.49 (m, 3H), 2.19 (br d, J=11.1Hz, 2H), 1.75-1.91 (m, 3H), 1.30 (s, 3H)。

[0506] 实施例2: (3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.2)



[0507]



[0508] 步骤A: (R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0509] 在室温下,向(R)-1-(2-氯-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-23-A)(273mg,0.870mmol)和(R)-1-(((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲醇盐酸盐(Int-10)(193mg,0.957mmol)的DMF(9.0mL)溶液中加入碳酸铯(851mg,2.61mmol)、1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷(19.5mg,0.174mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.152mL,0.870mmol)。将混合物在室温下搅拌17小时后,将反应混合物加热至60℃持续9小时。用H<sub>2</sub>O淬灭反应混合物,用EtOAc提取,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。通过快速NH-硅胶色谱(20-50%,EtOAc的己烷梯度溶液)纯化残留物,得到(R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。ESI-MS m/z [M+H]<sup>+</sup>443。

[0510] 步骤B: 1-(((6,8-二氟-4-((R)-3-甲基-3-((三甲基硅基)氧基)哌啶-1-基)喹啉-2-基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)-N,N-二甲基甲胺

[0511] 在室温下,向(R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(261mg,0.590mmol)的DMF(6.0mL)溶液中加入咪唑(201mg,2.95mmol)和氯三甲基硅烷(0.150mL,1.18mmol)。将混合物在室温下搅拌15小时后,通过加入H<sub>2</sub>O淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过快速硅胶色谱(0-50%,EtOAc的己烷梯度溶液)纯化残留物,得到1-(((R)-1-(((6,8-二氟-4-((R)-3-甲基-3-((三甲基硅基)氧基)哌啶-1-基)喹啉-2-基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)-N,N-二甲基甲胺。ESI-MS m/z [M+H]<sup>+</sup>515。

[0512] 步骤C: (3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.2)

[0513] 向(TMP)<sub>2</sub>Zn·xMgCl<sub>2</sub>·xLiCl的12wt.% THF/甲苯(4.27mL,0.583mmol)溶液中加入1-(((R)-1-(((6,8-二氟-4-((R)-3-甲基-3-((三甲基硅基)氧基)哌啶-1-基)喹啉-2-基)氧基)甲基)-2,2-二氟环丙基)-N,N-二甲基甲胺(100mg,0.194mmol)。将混合物在50℃搅拌1小时后,向反应混合物中加入1-溴-8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘(70.3mg,0.233mmol)和CPhos Pd G3(15.7mg,0.0194mmol)的1,4-二氧六环(1.0mL)溶液。将混合物在50℃搅拌18小时后,通过加入饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和EtOAc淬灭反应,过滤混合物并减压浓缩。通过快速硅胶色谱(0-100%,EtOAc的梯度己烷溶液)纯化残留物,得到偶联化合物。

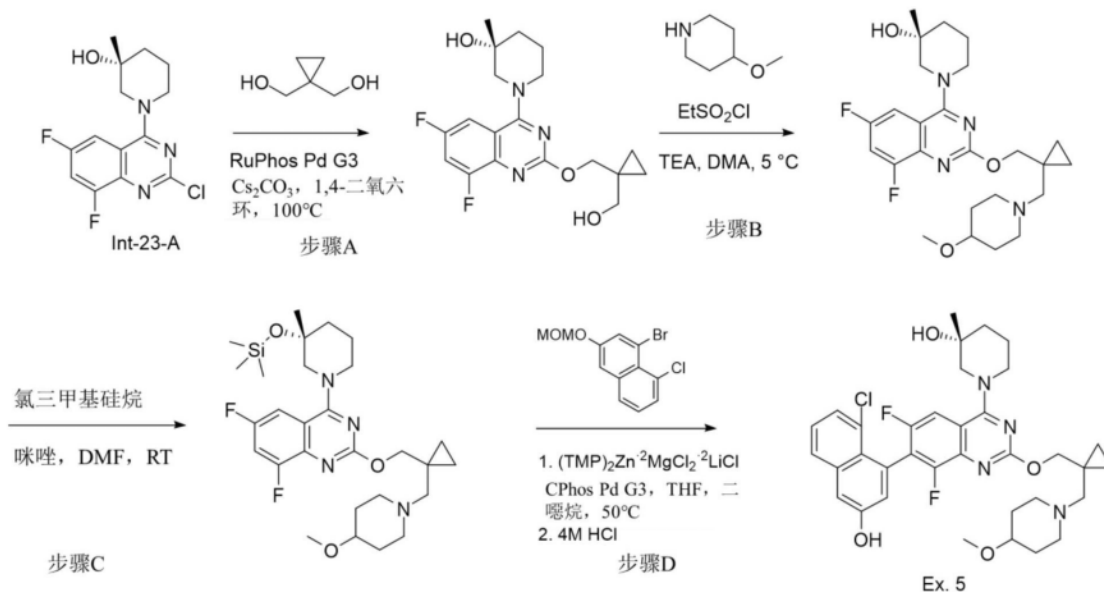
[0514] 向偶联化合物的二氯甲烷(4.0mL)溶液中加入HCl的4.0M 1,4-二氧六环溶液(2.0mL)。将混合物在室温下搅拌30分钟后,减压浓缩反应混合物。通过反相HPLC(C18,0-100% MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到(3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.2)。ESI-MS m/z [M+H]<sup>+</sup>619,621。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.31(s,0.5H),10.30(s,0.5H),7.88-7.82(m,1.5H),7.76(d,J=9.3Hz,0.5H),7.44-7.34(m,3H),7.13-7.09(m,1H),4.79(s,0.5H),4.65(s,0.5H),4.45(d,J=11.0Hz,1H),4.38(d,J=11.2Hz,1H),4.13-3.99(m,1H),3.85(d,J=13.2Hz,1H),3.46-3.33(m,1H),3.30-3.19(m,1H),2.65-2.57(m,1H),2.38-2.29(m,1H),2.15(s,6H),2.09-1.94(m,1H),1.84-1.54(m,4H),1.51-1.42(m,1H),1.17(s,1.5H),1.14(s,1.5H)。

[0515] 下表中的化合物通过使用与Ex.2的合成中所述的相似程序合成,对起始材料、中

间体和试剂进行合适的替换。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,使用本领域技术人员可用的方法合成,或如本文所述合成。

Ex	结构	化合物名称	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
[0516] <b>Ex.3</b>		(3R)-1-(7-(8-氯-4-氟-3-羟基萘-1-基)-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	637, 639
[0517] <b>Ex. 1</b>		(3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-1-基)-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	583, 585

[0518] 实施例5: (3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.5)



[0520] 步骤A: (R)-1-(6,8-二氟-2-((1-(羟甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0521] 在室温下,向(R)-1-(2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-23-A)(300mg,0.956mmol)、环丙烷-1,1-二基二甲醇(195mg,1.91mmol)和RuPhos Pd G3(24.0mg,0.0287mmol)的1,4-二氧六环(5.0mL)溶液中加入碳酸铯(935mg,2.87mmol)。将混合物在100°C搅拌2小时后,冷却至室温,用H<sub>2</sub>O淬灭,用EtOAc提取,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。通过快速硅胶色谱(50-100%,EtOAc的梯度己烷溶液)纯化残留物,得到(R)-1-(6,8-二氟-2-((1-(羟甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。ESI-MS m/z[M+H]<sup>+</sup>380。

[0522] 步骤B: (R)-1-(6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0523] 在-5°C下,向(R)-1-(6,8-二氟-2-((1-(羟甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(150mg,0.395mmol)的N,N-二甲基乙酰胺(2.0mL)中的溶液中加入乙烷磺酰氯(0.0719mL,0.791mmol)和三乙胺(0.278mL,1.98mmol)。将混合物在-5°C搅拌30分钟后,用4-甲氧基哌啶(0.245mL,1.98mmol)处理。将混合物在75°C搅拌2小时后,冷却至室温,用H<sub>2</sub>O淬灭,用EtOAc提取,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。通过快速NH-硅胶色谱(20-100%,EtOAc的梯度己烷溶液)纯化残留物,得到(R)-1-(6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。ESI-MS m/z[M+H]<sup>+</sup>477。

[0524] 步骤C: (R)-6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)-4-(3-甲基-3-((三甲基硅基)氧基)哌啶-1-基)喹唑啉

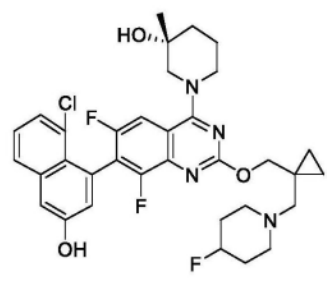
[0525] 在室温下,向(R)-1-(6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(161mg,0.338mmol)的DMF(3.4mL)溶液中加入咪唑(115mg,1.69mmol)和氯三甲基硅烷(0.129mL,1.01mmol)。将混合物在室温下搅拌2小时后,通过加水淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。通过快速NH-硅胶色谱(0-30%,EtOAc梯度的己烷溶液)纯化残留物,得到(R)-6,8-二氟-2-

((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)-4-(3-甲基-3-((三甲基硅基)氧基)哌啶-1-基)喹唑啉。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  549。

[0526] 步骤D: (3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.5)

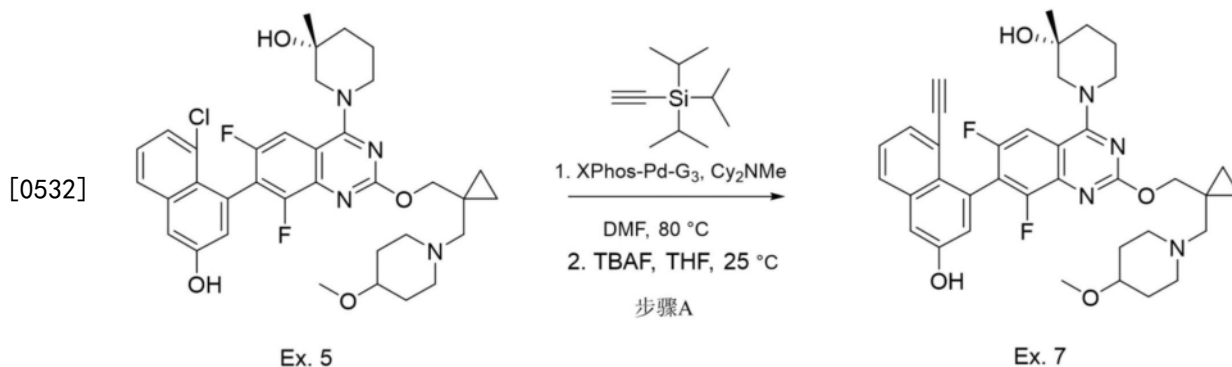
[0527] 向(TMP)  $2Zn \cdot xMgCl_2 \cdot xLiCl$ 的THF/甲苯12wt.%溶液(4.33mL, 0.590mmol)中加入(R)-6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)-4-(3-甲基-3-((三甲基硅基)氧基)哌啶-1-基)喹唑啉(108mg, 0.197mmol)。将混合物在50°C下搅拌1.5小时后,向反应混合物中加入1-溴-8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘(71.2mg, 0.236mmol)和CPhos Pd G3(15.9mg, 0.0197mmol)的1,4-二氧六环(1.0mL)溶液。将混合物在50°C搅拌15小时后,通过加入饱和 $NaHCO_3$ 水溶液和EtOAc淬灭反应,过滤混合物并在真空中浓缩。通过快速硅胶色谱(20-100%, EtOAc的梯度己烷溶液)纯化残留物。在真空中浓缩含有中间体的级分。将残留物重新溶解在二氯甲烷(2.0mL)中,并用HCl的4.0M 1,4-二氧六环溶液(1.0mL)处理。将混合物在室温下搅拌30分钟后,在真空中浓缩反应混合物。通过反相HPLC(MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到(3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.5)。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  653, 655。 $^1H$  NMR(400MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  10.31(s, 0.5H), 10.30(s, 0.5H), 7.87-7.79(m, 1.5H), 7.74(d,  $J=10.1$ Hz, 0.5H), 7.44-7.35(m, 3H), 7.12-7.09(m, 1H), 4.79(s, 0.5H), 4.65(s, 0.5H), 4.26-4.18(m, 2H), 4.09-3.95(m, 1H), 3.80(d,  $J=13.0$ Hz, 1H), 3.40(d,  $J=12.7$ Hz, 0.5H), 3.31-3.20(m, 1.5H), 3.18(s, 3H), 3.14-3.05(m, 1H), 2.79-2.65(m, 2H), 2.34-2.20(m, 2H), 2.10-1.94(m, 3H), 1.82-1.55(m, 5H), 1.41-1.28(m, 2H), 1.16(s, 1.5H), 1.14(s, 1.5H), 0.61(brs, 2H), 0.37(brs, 2H)。

[0528] 下表中的化合物通过使用与Ex.5的合成中所述的相似程序合成,对起始材料、中间体和试剂进行合适的替换。适合的替代物可市购获得,如文献中所述合成,使用本领域技术人员可用的方法合成,或如本文所述合成。

[0529]	Ex	结构	化合物名称	$[M+H]^+$ 检测值
	Ex	结构	化合物名称	$[M+H]^+$ 检测值
[0530]	Ex. 2		(3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-((1-((4-氟哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	641, 643

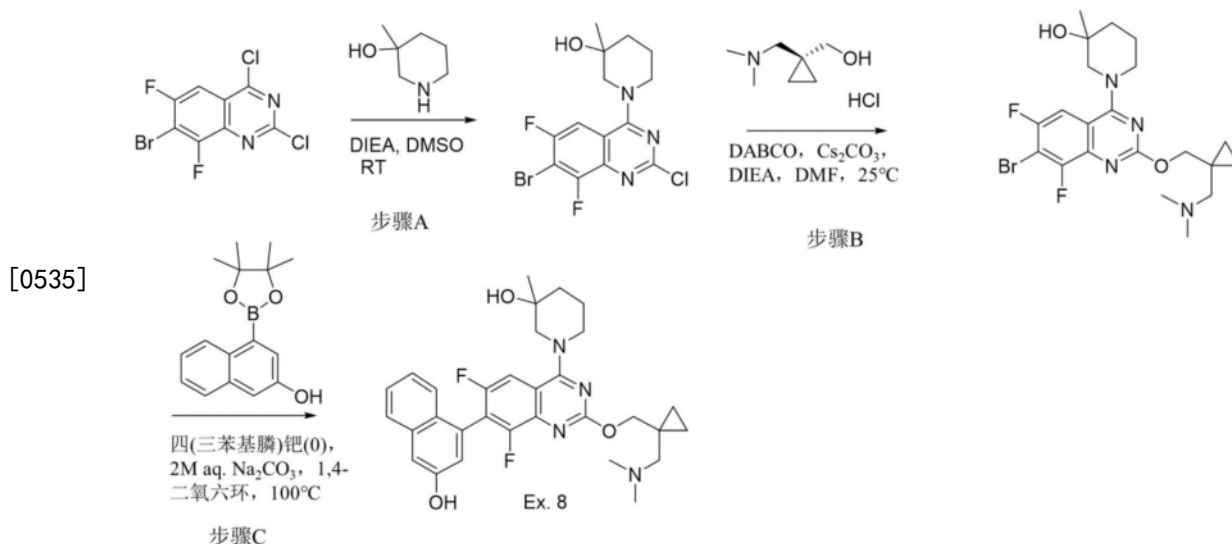
[0531] 实施例7: (3R)-1-(7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基

哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.7)



[0533] 向(3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.5) (25.6mg, 0.0392mmol)、三异丙基硅基乙炔 (87.2 $\mu$ L, 0.392mmol) 和 XPhos Pd G3 (16.6mg, 0.0196mmol) 的 DMF (0.4mL) 溶液中加入 N-环己基-N-甲基环己胺 (0.0420mL, 0.196mmol)。将容器抽空并用氮气回充, 并将混合物在 100 $^{\circ}$ C 搅拌 12 小时。用 EtOAc 稀释混合物, 用饱和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液洗涤稀释后的混合物, 并减压浓缩混合物。通过反相 HPLC (MeCN/水含 0.1% 甲酸) 纯化残留物, 得到偶联产物 (峰 1, 首先洗脱)。向偶联产物 (峰 1, 首先洗脱) 的 THF (1mL) 溶液中加入四丁基氟化铵 (0.100mL, 0.100mmol, 1M 的四氢呋喃溶液), 并将混合物在室温下搅拌 3 小时。用乙酸乙酯稀释混合物, 用水洗涤稀释后的混合物, 并减压浓缩混合物。通过快速 NH<sub>2</sub>-硅胶色谱 (0-10%, MeOH 的梯度 EtOAc 溶液) 纯化残留物, 得到 (3R)-1-(7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-((1-((4-甲氧基哌啶-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.7)。ESI-MS m/z [M+H]<sup>+</sup> 643。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  10.17 (s, 1H), 7.89 (dd, J=8.2, 1.4Hz, 1H), 7.65 (d, J=10.1Hz, 1H), 7.49-7.39 (m, 2H), 7.35 (d, J=2.6Hz, 1H), 7.10 (d, J=2.6Hz, 1H), 4.67 (s, 1H), 4.24 (d, J=10.8Hz, 1H), 4.17 (d, J=10.8Hz, 1H), 4.05 (d, J=13.5Hz, 1H), 3.84 (d, J=13.1Hz, 1H), 3.57 (s, 1H), 3.38-3.32 (m, 1H), 3.26-3.20 (m, 1H), 3.18 (s, 3H), 3.15-3.06 (m, 1H), 2.79-2.66 (m, 2H), 2.34-2.21 (m, 2H), 2.11-1.95 (m, 3H), 1.82-1.73 (m, 2H), 1.73-1.55 (m, 3H), 1.42-1.29 (m, 2H), 1.14 (s, 3H), 0.61 (brs, 2H), 0.37 (brs, 2H)。

[0534] 实施例 8: 1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-6,8-二氟-7-(3-羟基萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.8)



[0536] 步骤A: 1-(7-溴-2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0537] 在室温下,向7-溴-2,4-二氯-6,8-二氟喹唑啉(500mg,1.59mmol)和3-甲基哌啶-3-醇盐酸盐(266mg,1.75mmol)的DMSO(3mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(1.10mL,6.37mmol)。将混合物在室温下搅拌30分钟后,通过加水淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过快速硅胶色谱(20-50%,EtOAc的梯度己烷溶液)纯化残留物,得到1-(7-溴-2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。ESI-MS m/z [M+H]<sup>+</sup>392,394,396。

[0538] 步骤B: 1-(7-溴-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

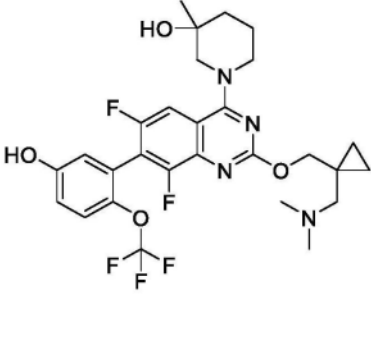
[0539] 在室温下,向1-(7-溴-2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(560mg,1.43mmol)和(1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲醇(203mg,1.57mmol)的DMF(14mL)溶液中加入碳酸铯(929mg,2.85mmol)和1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷(32.0mg,0.285mmol)。将混合物在室温下搅拌63小时后,通过加水淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过快速NH<sub>2</sub>-硅胶色谱(0-20%,MeOH的梯度EtOAc溶液)纯化残留物,得到1-(7-溴-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。ESI-MS m/z [M+H]<sup>+</sup>485,487。

[0540] 步骤C: 1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-6,8-二氟-7-(3-羟基萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

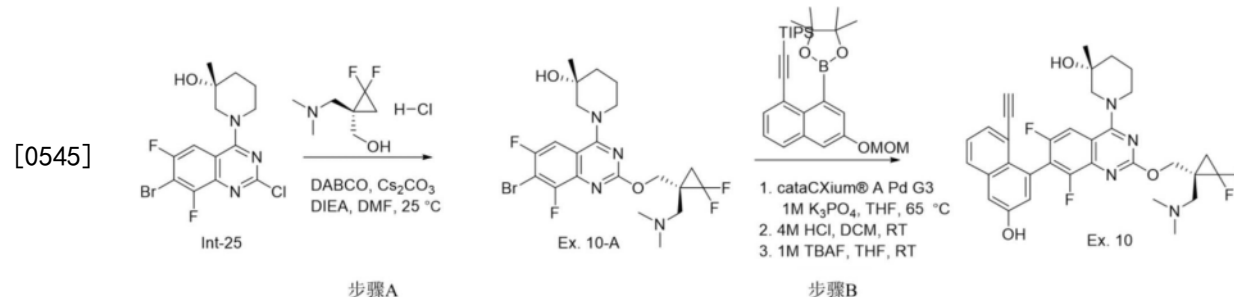
[0541] 在室温下向1-(7-溴-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(25.0mg,0.0515mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)萘酚(18.1mg,0.0670mmol)和四(三苯基膦)钾(6.0mg,5.2μmol)的1,4-二氧六环(0.5mL)溶液加入2.0M的Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(51.5μL,0.103mmol)。将混合物在100℃搅拌16小时后,通过加水淬灭反应。用乙酸乙酯提取反应混合物,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过反相HPLC(0-100%,MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-6,8-二氟-7-(3-羟基萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex. 8)。ESI-MS m/z [M+H]<sup>+</sup>549。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.02-10.00(m,1H),7.89(d,J=10.3Hz,1H),7.81(d,J=8.3Hz,1H),7.48-7.41(m,1H),7.35-7.21(m,3H),

7.16-7.12 (m, 1H), 4.69-4.68 (m, 1H), 4.24-4.16 (m, 2H), 4.14-4.04 (m, 1H), 3.91-3.82 (m, 1H), 3.42-3.33 (m, 1H), 3.29-3.20 (m, 1H), 2.22 (brs, 2H), 2.15 (s, 6H), 2.09-1.95 (m, 1H), 1.76-1.56 (m, 3H), 1.16-1.14 (m, 3H), 0.62 (brs, 2H), 0.39 (brs, 2H)。

[0542] 下表中的化合物通过使用与Ex. 8的合成中所述的相似程序合成,对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,使用本领域技术人员可用的方法合成,或如本文所述合成。

Ex	结构	化合物名称	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
[0543] <b>Ex. 3</b>		1-(2-(((1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟-7-(5-羟基-2-(三氟甲氧基)苯基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	583

[0544] 实施例10: (3R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 10)



[0546] 步骤A: (R)-1-(7-溴-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0547] 在室温下,向(R)-1-(7-溴-2-氯-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-25) (300mg, 0.764mmol)和(R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基甲醇盐酸盐(Int-10) (169mg, 0.840mmol)的DMF (7.5mL)溶液中加入碳酸铯(747mg, 2.29mmol)、1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷(17.1mg, 0.153mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.399mL, 2.29mmol)。将混合物在室温下搅拌87小时后,通过加水淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过快速硅胶色谱(20-100%, EtOAc的梯度己烷溶液)纯化残留物,得到(R)-1-(7-溴-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex. 10-A)。ESI-MS m/z [M+H]<sup>+</sup> 521, 523。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.02 (dd, J=9.8, 2.0Hz, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.23 (d, J=13.0Hz, 1H), 3.93 (d, J=13.3Hz, 1H), 3.42 (d, J=13.4Hz, 1H), 3.24-3.13 (m, 1H), 2.05-1.89 (m, 1H), 1.72-1.54 (m, 3H), 1.11 (s, 3H)。

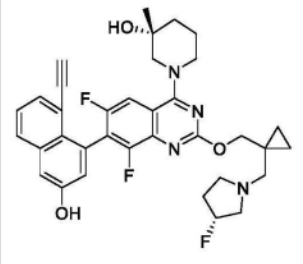
[0548] 步骤B: (3R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-7-

(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

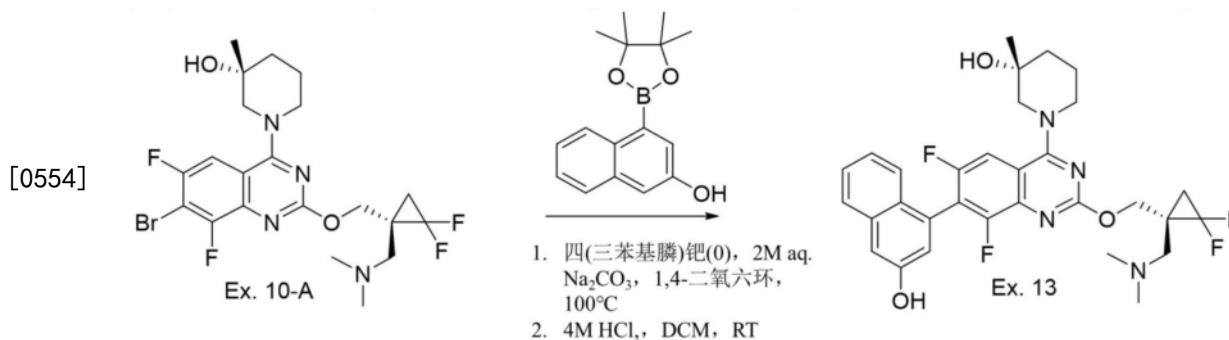
[0549] 在室温下,向(R)-1-(7-溴-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(182mg,0.349mmol)、三异丙基((6-(甲氧基甲氧基)-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基)硅烷(Int-38)(259mg,0.524mmol)和cataCXium®A Pd G3(50.8mg,0.0698mmol)的THF(3.5mL)溶液中加入1.0M的K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>水溶液(1.05mL,1.05mmol)。将混合物在65℃搅拌16小时后,通过加水淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过快速NH<sub>2</sub>-硅胶色谱(20-50%,EtOAc的梯度己烷溶液)纯化残留物,得到偶联产物。向偶联产物的二氯甲烷(4.0mL)溶液中加入HCl的4.0M 1,4-二氧六环溶液(2.0mL)。将混合物在室温下搅拌1小时后,在真空中浓缩反应混合物。通过反相HPLC(MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到萘酚产物(峰1,首先洗脱)。向萘酚产物(峰1,首先洗脱)的THF(3.5mL)溶液中加入四丁基氟化铵(0.350mL,0.350mmol,1M的四氢呋喃溶液),并将混合物在室温下搅拌15小时。用乙酸乙酯稀释混合物,用水洗涤稀释后的混合物,并减压浓缩。通过快速NH-硅胶色谱(0-10%,MeOH的梯度EtOAc溶液)纯化残留物,得到(3R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.10)。ESI-MS m/z[M+H]<sup>+</sup>609。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.18(s,1H),7.89(dd,J=8.2,1.4Hz,1H),7.68(d,J=9.7Hz,1H),7.50-7.39(m,2H),7.37(d,J=2.6Hz,1H),7.11(d,J=2.6Hz,1H),4.68(s,1H),4.43(d,J=11.2Hz,1H),4.38(d,J=10.9Hz,1H),4.08(d,J=13.6Hz,1H),3.87(d,J=13.3Hz,1H),3.58(s,1H),3.39-3.33(m,1H),3.27-3.17(m,1H),2.60(d,J=12.0Hz,1H),2.35(d,J=12.8Hz,1H),2.15(s,6H),2.09-1.96(m,1H),1.82-1.56(m,4H),1.52-1.42(m,1H),1.14(s,3H)。

[0550] 下表中的化合物通过使用与Ex.10的合成中所述的相似程序合成,对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换,并在完成所指定的步骤后,使用所指定的条件任选地拆分立体异构体并结转所指定的峰。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,使用本领域技术人员可用的方法合成,或如本文所述合成。

Ex	结构	化合物名称	分离	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
[0551] Ex. 4		(3R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	步骤 B-2, 峰 1 (C18, 0-100% ACN/水, w/0.1% 甲酸)	573

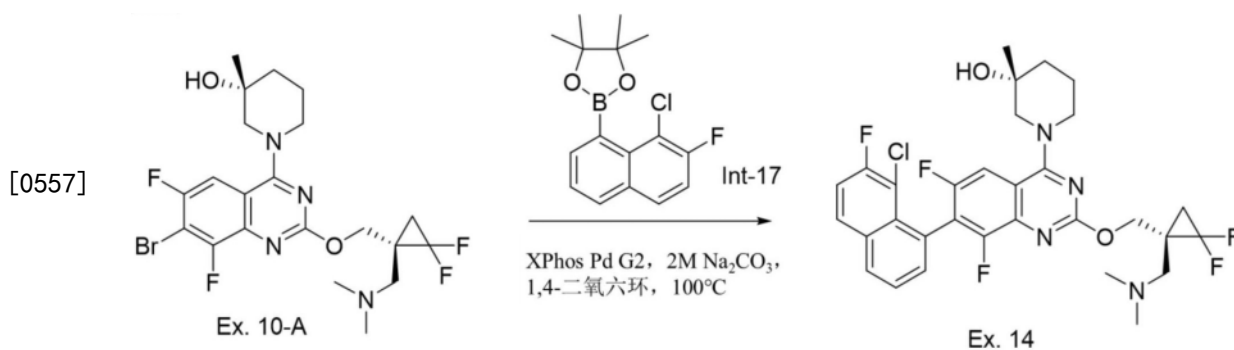
Ex	结构	化合物名称	分离	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
[0552] Ex. 5		(3R)-1-(7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((1-(((R)-3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	N/A	617

[0553] 实施例13: (3R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟-7-(3-羟基萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.13)



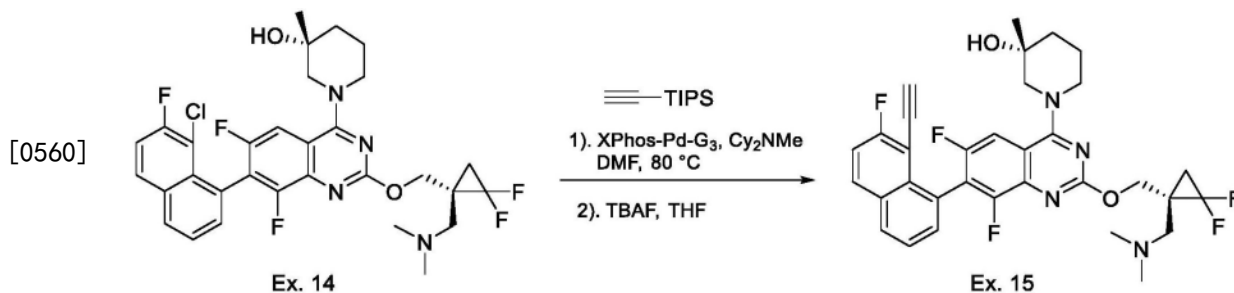
[0555] 在室温下,向(R)-1-(7-溴-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.10-A) (30.0mg,0.0575mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)萘-2-醇 (20.2mg,0.0748mmol)和四(三苯基膦)钙(0) (6.7mg,5.8μmol)的1,4-二氧六环(0.6mL)溶液中加入2.0M的Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(57.5μL,0.115mmol)。将混合物在100℃搅拌14小时后,通过加水淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过反相HPLC(MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到(3R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟-7-(3-羟基萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.13)。ESI-MS m/z[M+H]<sup>+</sup>585,ESI-MS m/z[M+H]<sup>+</sup>621,623。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ10.02-10.00(m,1H),7.91(d,J=10.3Hz,1H),7.81(d,J=8.1Hz,1H),7.48-7.41(m,1H),7.36-7.21(m,3H),7.17-7.13(m,1H),4.70-4.68(m,1H),4.45(d,J=11.2Hz,1H),4.39(d,J=11.2Hz,1H),4.11(d,J=13.0Hz,1H),3.95-3.85(m,1H),3.40(d,J=13.2Hz,1H),3.30-3.20(m,1H),2.61(d,J=13.2Hz,1H),2.35(d,J=13.0Hz,1H),2.15(s,6H),2.09-1.95(m,1H),1.84-1.56(m,4H),1.52-1.42(m,1H),1.17-1.16(m,3H)。

[0556] 实施例14: (3R)-1-(7-(8-氯-7-氟萘-1-基)-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex.14)



[0558] 在室温下,向(R)-1-(7-溴-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.10-A)(30.0mg,0.0575mmol)、2-(8-氯-7-氟萘-1-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷(35.3mg,0.115mmol)和XPhos Pd G2(4.5mg,5.8 $\mu$ mol)的1,4-二氧六环(0.6mL)溶液中加入2.0M的Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(57.5mL,0.115mmol)。将混合物在100℃搅拌6小时后,通过加水淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过反相HPLC(0-100%,MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到(3R)-1-(7-(8-氯-7-氟萘-1-基)-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.14)。ESI-MS  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup>621,623。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 8.28-8.19(m,2H),7.88(d,J=9.0Hz,0.5H),7.79(d,J=9.4Hz,0.5H),7.77-7.65(m,3H),4.79-4.65(m,1H),4.45(d,J=10.9Hz,1H),4.38(d,J=11.4Hz,1H),4.15-4.00(m,1H),3.86(d,J=12.8Hz,1H),3.45-3.33(m,1H),3.30-3.20(m,1H),2.61(d,J=13.2Hz,1H),2.38-2.30(m,1H),2.15(s,6H),2.09-1.92(m,1H),1.84-1.55(m,4H),1.52-1.42(m,1H),1.16-1.14(m,3H)。

[0559] 实施例15: (3R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-7-氟萘-1-基)-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.15)

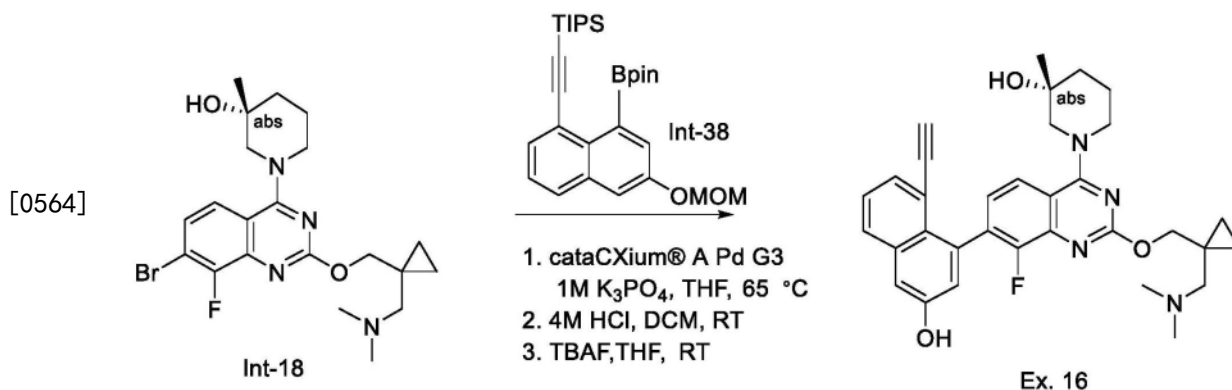


[0561] 向(3R)-1-(7-(8-氯-7-氟萘-1-基)-2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-6,8-二氟喹啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.14)(7.2mg,12 $\mu$ mol)、三异丙基硅基乙炔(25.8 $\mu$ L,0.116mmol)和XPhos Pd G3(4.9mg,5.8 $\mu$ mol)的DMF(0.25mL)溶液中加入N-环己基-N-甲基环己胺(12.4 $\mu$ L,58.0 $\mu$ mol)。将容器抽真空并用氮气回充,并将混合物在100℃搅拌15小时。用EtOAc稀释混合物,用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液洗涤稀释后的混合物,并减压浓缩以得到偶联产物。通过快速NH<sub>2</sub>-硅胶色谱(20-50%,EtOAc的梯度己烷溶液)纯化残留物,得到偶联产物。

[0562] 向偶联产物的THF(0.2mL)溶液中加入四丁基氟化铵(0.0200mL,0.0200mmol,1M的四氢呋喃溶液),并将混合物在室温下搅拌30分钟。用乙酸乙酯稀释混合物,用水洗涤稀释后的混合物,并减压浓缩混合物。通过反相HPLC(MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到

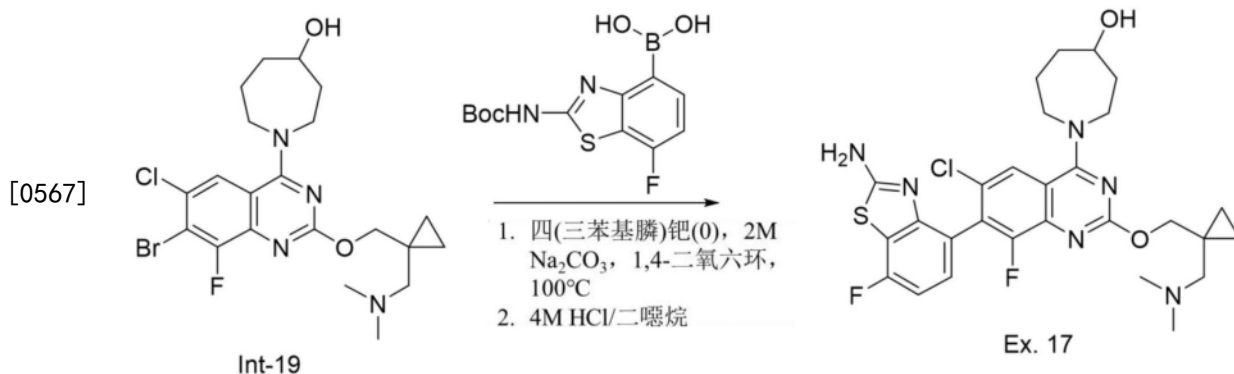
(3R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-7-氟萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 15)。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  611。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.27-8.14 (m, 2H), 7.81-7.58 (m, 4H), 4.72-4.69 (m, 1H), 4.48-4.33 (m, 2H), 4.15-4.00 (m, 2H), 3.95-3.78 (m, 1H), 3.45-3.35 (m, 1H), 3.28-3.15 (m, 1H), 2.65-2.56 (m, 1H), 2.40-2.31 (m, 1H), 2.15 (s, 6H), 2.09-1.95 (m, 1H), 1.84-1.55 (m, 4H), 1.52-1.42 (m, 1H), 1.16-1.14 (m, 3H)。

[0563] 实施例16: (R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 16)



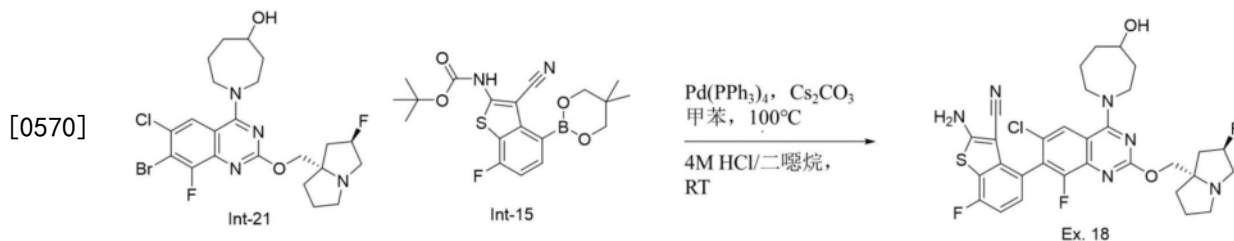
[0565] 在室温下,向(R)-1-(7-溴-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Int-18) (123mg, 0.263mmol)、三异丙基((6-(甲氧基甲氧基)-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基)硅烷 (Int-38) (156mg, 0.316mmol) 和 *cataCXium*® A Pd G3 (38.3mg, 0.0526mmol) 的 THF (2.6mL) 溶液中加入 1.0M 的  $K_3PO_4$  水溶液 (0.790mL, 0.790mmol)。将混合物在 65°C 搅拌 15 小时后,通过加水淬灭反应。用 EtOAc 提取反应混合物,用盐水洗涤,用  $Na_2SO_4$  干燥,过滤并在真空中浓缩。通过快速硅胶色谱 (0-30%, MeOH 的梯度 EtOAc 溶液) 纯化残留物,得到偶联中间体,将其重新溶解在 DCM (4mL) 中。用 HCl 的 4.0M 1,4-二氧六环溶液 (2.0mL) 处理反应混合物。将混合物在室温下搅拌 30 分钟后,在真空中浓缩反应混合物。通过反相 HPLC (0-100%, MeCN/水含 0.1% 甲酸) 纯化残留物,得到萘酚去保护中间体,将其重新溶解在 THF (4mL) 中。用四丁基氟化铵 (0.800mL, 0.800mmol, 1M 的四氢呋喃溶液) 处理反应混合物,并将混合物在室温下搅拌 20 小时。用乙酸乙酯稀释混合物,用水洗涤稀释后的混合物,并减压浓缩。通过快速  $NH_2$ -硅胶色谱 (0-10%, MeOH 的梯度 EtOAc 溶液) 纯化残留物,得到 (R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 16)。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  555。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.09 (s, 1H), 7.89-7.75 (m, 2H), 7.47-7.37 (m, 2H), 7.29 (d,  $J=2.5$ Hz, 1H), 7.21-7.14 (m, 1H), 7.-7.00 (m, 1H), 4.65-4.60 (m, 1H), 4.23-4.14 (m, 2H), 4.10-3.92 (m, 1H), 3.90-3.72 (m, 1H), 3.50-3.36 (m, 2H), 3.29-3.22 (m, 1H), 2.22 (brs, 2H), 2.15 (s, 6H), 2.10-1.94 (m, 1H), 1.74-1.56 (m, 3H), 1.15-1.14 (m, 3H), 0.62 (brs, 2H), 0.38 (brs, 2H)。

[0566] 实施例17: 1-(7-(2-氨基-7-氟苯并[d]噻唑-4-基)-6-氯-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇 (Ex. 17)



[0568] 向1-(7-溴-6-氯-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇(Int-19) (25mg, 0.050mmol)、[2-(叔丁氧羰基氨基)-7-氟-1,3-苯并噻唑-4-基]硼酸(20mg, 0.065mmol)和四(三苯基膦)钙(0) (5.8mg, 5.0 $\mu$ mol)的混合物的1,4-二氧六环(2mL)溶液中加入碳酸钠(0.050mL, 2M水溶液),并将混合物在100°C搅拌16小时。用乙酸乙酯稀释混合物,并减压浓缩稀释后的混合物。向残留物中加入盐酸(3mL, 4M 1,4-二氧六环溶液),并将混合物在50°C搅拌1小时。减压浓缩后,通过反相HPLC(MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到1-(7-(2-氨基-7-氟苯并[d]噻唑-4-基)-6-氯-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇(Ex. 17)。ESI-MS  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup>589, 591。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ 7.99-7.90(m, 3H), 7.26-7.21(m, 1H), 7.09-7.03(m, 1H), 4.65-4.63(m, 1H), 4.25-4.17(m, 2H), 4.00-3.75(m, 6H), 2.55(s, 2H), 2.30-2.05(m, 7H), 1.94-1.69(m, 3H), 1.63-1.53(m, 1H), 0.65-0.59(m, 2H), 0.43-0.37(m, 2H)。

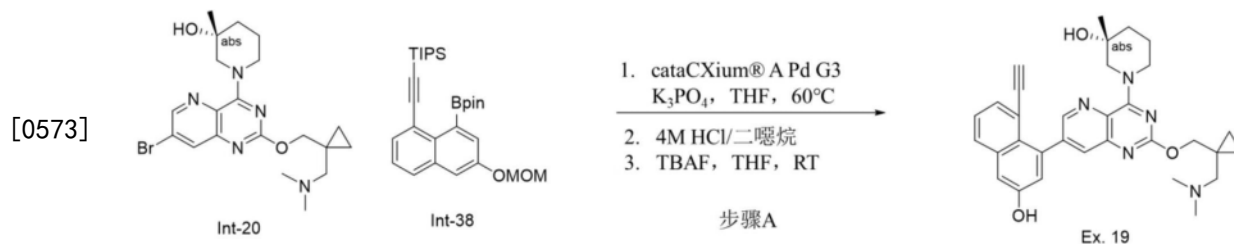
[0569] 实施例18:2-氨基-4-(6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-4-(4-羟基氮杂环庚烷-1-基)喹唑啉-7-基)-7-氟苯并[b]噻吩-3-腈(Ex. 18)



[0571] 向1-(7-溴-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇(Int-21) (30.0mg, 0.0564mmol)、叔丁基(3-氰基-4-(5,5-二甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)-7-氟苯并[b]噻吩-2-基)氨基甲酸酯(Int-15) (34.2mg, 0.0846mmol)和二氯双(二苯基膦基苯基)醚钯(II) (6.1mg, 8.5 $\mu$ mol)的甲苯(1.5mL)溶液中加入碳酸铯(45.9mg, 0.141mmol)。将混合物在100°C搅拌13小时后,将反应混合物冷却至室温,用水淬灭,用EtOAc提取,用盐水洗涤,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过快速硅胶色谱(0-50%, MeOH的梯度EtOAc溶液)纯化残留物,得到偶联中间体,将其重新溶解在DCM(0.5mL)中。向反应混合物中加入HCl(0.5mL, 4.0M 1,4-二氧六环溶液)。将混合物在室温下搅拌6小时后,在真空中浓缩反应混合物。通过快速NH-硅胶色谱(0-10%, MeOH的梯度EtOAc溶液)纯化残留物,得到2-氨基-4-(6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-4-(4-羟基氮杂环庚烷-1-基)喹唑啉-7-基)-7-氟苯并[b]噻吩-3-腈(Ex. 18)。ESI-MS  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup>643, 645。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ 8.09(s, 2H), 7.95(s, 1H), 7.26-7.21(m, 1H), 7.17-7.10(m, 1H), 5.33-5.20(m, 1H), 4.66-4.61(m, 1H), 4.12-4.05(m,

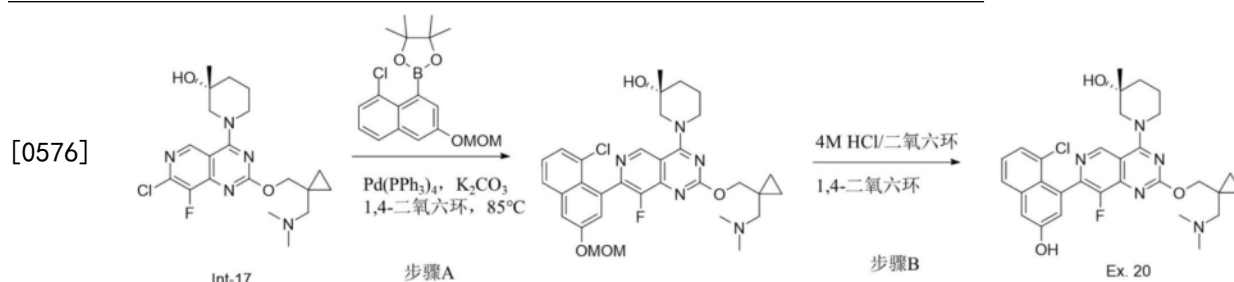
1H), 4.02-3.70 (m, 6H), 3.13-2.96 (m, 3H), 2.87-2.75 (m, 1H), 2.15-1.67 (m, 9H), 1.61-1.50 (m, 1H), 1.26-1.19 (m, 2H)。

[0572] 实施例19: (R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 19)



[0574] 在室温下,向(R)-1-(7-溴-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-20) (60mg, 0.13mmol)、三异丙基((6-(甲氧基甲氧基)-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基)硅烷(Int-38) (79mg, 0.16mmol)和cataCXium® A Pd G3 (19mg, 0.027mmol)的THF (3.0mL)溶液中加入1.0M的 $K_3PO_4$ 水溶液 (0.40mL, 0.40mmol)。将混合物在60°C搅拌4小时后,通过加水淬灭反应。用EtOAc提取反应混合物,用水洗涤,并减压浓缩。向残留物中加入盐酸 (0.3mL, 4M 1,4-二氧六环溶液),并在室温下搅拌1小时。浓缩后,向残留物中加入四丁基氟化铵 (0.3mL, 1M THF溶液),并在室温下搅拌混合物1小时。用乙酸乙酯稀释混合物,用水洗涤稀释后的混合物,并减压浓缩。通过反相HPLC (MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到(R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)吡啶并[3,2-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 19)。ESI-MS  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 538。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.17 (br s, 1H), 8.48 (dd, J=4.4, 2.4Hz, 1H), 7.91-7.88 (m, 1H), 7.72 (dd, J=12.8, 2Hz, 1H), 7.51-7.40 (m, 2H), 7.31 (d, J=2.8Hz, 1H), 7.07 (dd, J=17.4, 2.4Hz, 1H), 4.57-4.49 (m, 1H), 4.38-4.15 (m, 3H), 4.10-3.90 (m, 1H), 3.74-3.68 (m, 1H), 2.29-2.21 (m, 2H), 2.18 (s, 6H), 2.01-1.86 (m, 2H), 1.71-1.50 (m, 3H), 1.25-1.22 (m, 1H), 1.15-1.07 (m, 3H), 0.65-0.61 (m, 2H), 0.43-0.38 (m, 2H)。

[0575] 实施例20: (R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 20)



[0577] 步骤A: (R)-1-(7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

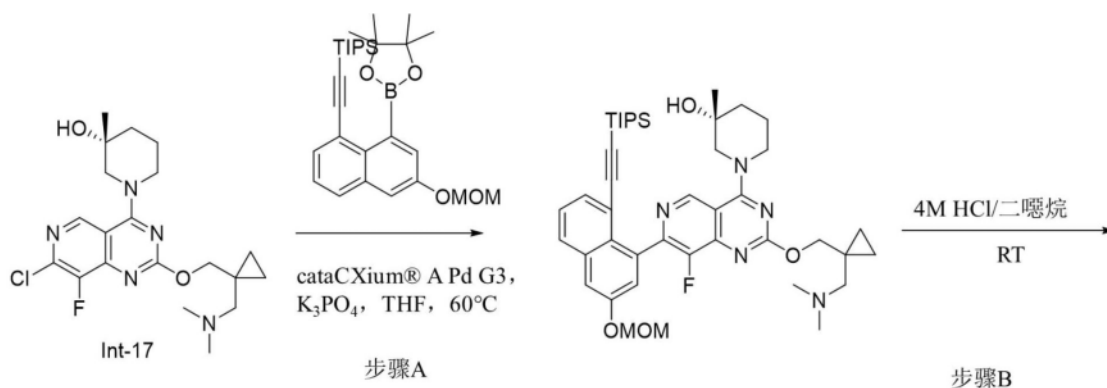
[0578] 在室温下,向(R)-1-(7-氯-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (30mg, 0.071mmol)、2-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷 (30mg, 0.085mmol)和碳酸钾 (48.9mg,

0.354mmol)的1,4-二氧六环(3.0ml)和水(0.6ml)溶液中加入四(三苯基膦)钯(0)(16mg, 0.014mmol)。将混合物减压脱气并用氮气吹扫几次。在氮气气氛下,将混合物于85℃搅拌24小时。将反应混合物冷却至室温,并用水和乙酸乙酯稀释。用MgSO<sub>4</sub>干燥有机层,过滤并在真空中浓缩。通过快速NH<sub>2</sub>-硅胶色谱(洗脱液,12-100% EtOAc的己烷溶液)和反相HPLC(MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到(R)-1-(7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。ESI-MS m/z[M+H]<sup>+</sup>610,612。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>) δ9.12-9.22(m,1H),7.32-7.84(m,5H),5.30-5.35(m,2H),4.28-4.45(m,4H),3.44-3.75(m,5H),3.26-3.34(m,1H),3.14(br s,1H),2.31-2.62(m,8H),1.43-2.10(m,4H),1.23-1.36(m,3H),0.72(br s,2H),0.51(br s,2H)。

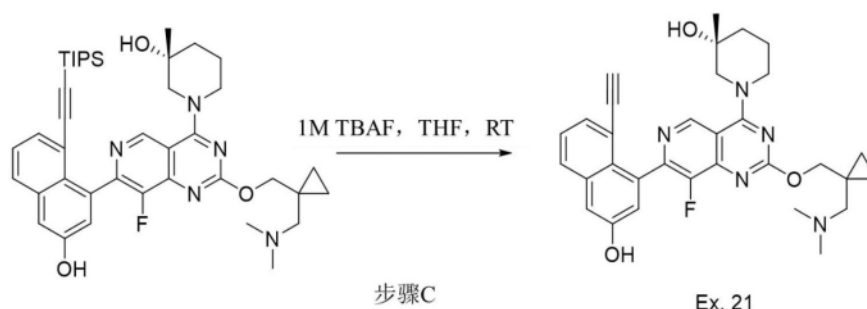
[0579] 步骤B: (R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.20)

[0580] 氮气气氛下于室温向(R)-1-(7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(7.6mg,0.013mmol)的1,4-二氧六环(1.0mL)溶液中加入4M HCl的1,4-二氧六环(93.4μL,0.374mmol)溶液。混合物在氮气气氛下于室温搅拌1小时。将反应混合物在真空中浓缩。通过反相HPLC(0-100% MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到(R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.20)。ESI-MS m/z[M+H]<sup>+</sup>566,568。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>) δ9.00-9.19(m,1H),7.51-7.76(m,1H),7.18-7.25(m,2H),6.37-7.08(m,2H),3.94-4.49(m,5H),3.15-3.23(m,1H),2.91-3.00(m,1H),2.53-2.66(m,2H),2.42-2.46(m,6H),1.29-1.88(m,4H),1.24-1.26(m,3H),0.73(br s,2H),0.55(br s,2H)。

[0581] 实施例21: (R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.21)



[0582]



[0583] 步骤A: (R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0584] 在室温下,向(R)-1-(7-氯-2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-17)(100mg,0.236mmol)、三异丙基((6-(甲氧基甲氧基)-8-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)萘-1-基)乙炔基)硅烷(Int-38)(140mg,0.283mmol)和cataCXium® A Pd G3(34mg,0.047mmol)的THF(2.0mL)溶液中加入磷酸三钾(150mg,0.708mmol)。将混合物减压脱气并用氮气吹扫几次。在氮气气氛下,将混合物于60℃搅拌16小时。将反应混合物冷却至室温,并用水和乙酸乙酯稀释。用MgSO<sub>4</sub>干燥有机层,过滤并在真空中浓缩。通过快速NH-硅胶色谱(洗脱液,12-100%EtOAc的己烷溶液)和反相HPLC(C18,0-100%,MeCN/水含0.1%甲酸)纯化残留物,得到(R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。ESI-MS  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 756。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ 9.15-9.18(m,1H),7.80-7.82(m,1H),7.66-7.70(m,1H),7.51-7.52(m,1H),7.38-7.43(m,1H),7.30-7.33(m,1H),5.29-5.34(m,2H),4.31-4.48(m,4H),2.85-3.75(m,6H),2.27-2.43(m,8H),1.60-2.17(m,4H),1.22-1.35(m,3H),0.85-0.89(m,18H),0.48-0.74(m,7H)。

[0585] 步骤B: (R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟-7-(3-羟基-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0586] 在氮气气氛下于室温向(R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟-7-(3-(甲氧基甲氧基)-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(78mg,0.10mmol)的1,4-二氧六环(1.0mL)溶液中加入4M HCl的1,4-二氧六环溶液(0.129mL,0.516mmol)。将混合物在氮气气氛下于室温搅拌1小时。真空浓缩

反应混合物。通过反相HPLC (C18, 0-100%, MeCN/水含0.1%甲酸) 纯化残留物, 得到(R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟-7-(3-羟基-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  712。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9.12-9.01 (m, 1H), 7.59-7.68 (m, 1H), 7.48-7.53 (m, 1H), 7.48-7.50 (m, 1H), 7.24-7.32 (m, 1H), 6.90-6.97 (m, 1H), 6.14-6.67 (m, 1H), 3.94-4.90 (m, 5H), 2.18-3.22 (m, 10H), 1.21-1.74 (m, 7H), 0.44-0.81 (m, 25H)。

[0587] 步骤C: (R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 21)

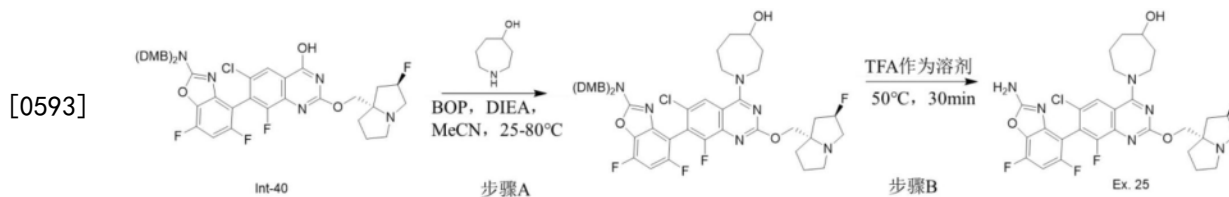
[0588] 在氮气气氛下于室温向(R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-8-氟-7-(3-羟基-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (62mg, 0.087mmol) 的THF (1.0mL) 溶液中加入1M-四丁基氟化铵的THF (0.26mL, 0.26mmol) 溶液。将混合物在氮气气氛下于室温搅拌3小时。将反应混合物冷却至室温, 并用水和乙酸乙酯稀释。用乙酸乙酯提取水层。用盐水洗涤合并的有机层, 用MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在真空中浓缩。通过反相HPLC (MeCN/水含0.1%甲酸) 纯化残留物, 得到(R)-1-(2-((1-((二甲基氨基)甲基)环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 21)。ESI-MS  $m/z$   $[M+H]^+$  556。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.90-9.07 (m, 1H), 7.58-7.65 (m, 1H), 7.36-7.45 (m, 1H), 7.19-7.30 (m, 1H), 6.56-7.02 (m, 2H), 4.00-4.49 (m, 5H), 3.72 (q, 2H, J=7.0Hz), 3.01-3.19 (m, 2H), 2.48-2.62 (m, 3H), 2.34-2.39 (m, 6H), 1.37-1.89 (m, 4H), 1.20-1.28 (m, 3H), 0.66-0.74 (m, 2H), 0.50-0.54 (m, 2H)。

[0589] 下表中的化合物通过使用与Ex. 21的合成中所述的相似程序合成, 对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换。合适的替代物可市购获得, 如文献中所述合成, 使用本领域技术人员可用的方法合成, 或如本文所述合成。

Example	结构	化学名称	ESI-MS $[M+H]^+$
[0590] Ex. 6		(R)-1-(7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟-2-((四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	568

Example	结构	化学名称	ESI-MS [M+H] <sup>+</sup>
Ex. 7 [0591]		(R)-1-(7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	586
Ex. 8		(R)-1-(2-(((R)-1-((二甲基氨基)甲基)-2,2-二氟环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-8-氟吡啶并[4,3-d]嘧啶-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	592

[0592] 实施例25: 1-(7-(2-氨基-5,7-二氟苯并[d]噁唑-4-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇 (Ex. 25)



[0594] 步骤A: 1-(7-(2-(双(2,4-二甲氧基苄基)氨基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-4-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇

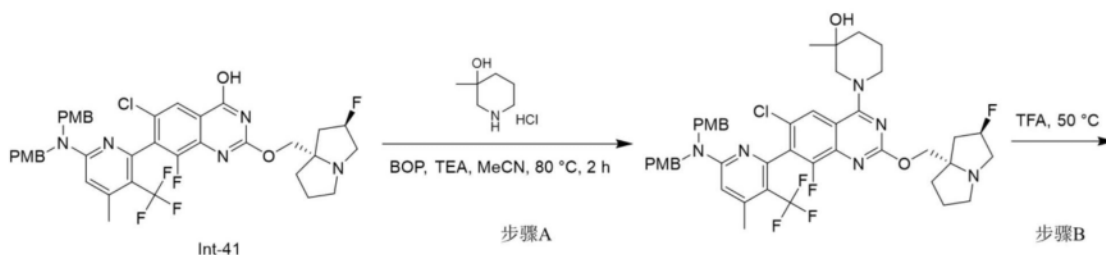
[0595] 在25°C下,向7-(2-(双(2,4-二甲氧基苄基)氨基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-4-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-40) (50mg, 0.061mmol) 的MeCN(1mL) 溶液中加入BOP(40.2mg, 0.091mmol)。将混合物在25°C搅拌30分钟。向反应溶液中加入氮杂环庚烷-4-醇盐酸盐(13.80mg, 0.091mmol) 和DIEA(0.053mL, 0.303mmol); 然后将混合物在80°C搅拌15小时。LCMS显示起始材料被消耗, 并形成了所需的MS。TLC(SiO<sub>2</sub>; DCM:MeOH=15:1) 显示起始材料被消耗, 并观察到新斑点。冷却至室温后, 减压浓缩反应溶液, 并通过制备型TLC板(SiO<sub>2</sub>, DCM/MeOH=15/1) 纯化, 得到1-(7-(2-(双(2,4-二甲氧基苄基)氨基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-4-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇。MS(ESI) [M+H]<sup>+</sup><sub>m/z</sub>: 921。

[0596] 步骤B: 1-(7-(2-氨基-5,7-二氟苯并[d]噁唑-4-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇

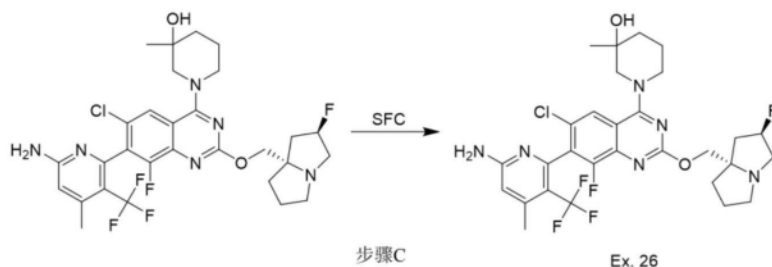
[0597] 在50°C下将1-(7-(2-(双(2,4-二甲氧基苄基)氨基)-5,7-二氟苯并[d]噁唑-4-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)氮

杂环庚烷-4-醇 (35mg, 0.038mmol) 的TFA (1mL) 溶液搅拌30分钟。在真空中浓缩反应混合物, 并将残留物溶解在MeOH (1mL) 中。向混合物中加入 $K_2CO_3$  (26.2mg, 0.190mmol), 并将混合物在25℃搅拌3小时。过滤反应混合物, 并通过制备型HPLC (C18, 0-100%, ACN/水含0.1% TFA) 纯化滤液, 接着通过制备型HPLC (C18, ACN/水含10mM  $NH_4HCO_3$ ) 纯化, 得到1-(7-(2-氨基-5, 7-二氟苯并[d]噁唑-4-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R, 7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇 (Ex. 25)。MS (ESI)  $[M+H]^+ m/z$ : 621。 $^1H$  NMR (400MHz, MeOD)  $\delta$  8.04 (s, 1H), 6.85 (t,  $J=10.3$ Hz, 1H), 5.38-5.18 (m, 1H), 4.32-4.24 (m, 1H), 4.23-4.16 (m, 1H), 4.14-3.84 (m, 5H), 3.28-3.09 (m, 3H), 3.05-2.94 (m, 1H), 2.38-2.08 (m, 5H), 2.06-1.79 (m, 6H), 1.78-1.61 (m, 1H)。

[0598] 实施例26: 1-(7-(6-氨基-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R, 7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 26)



[0599]



[0600] 步骤A: 1-(7-(6-(双(4-甲氧基苄基)氨基)-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R, 7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0601] 在20℃, 向7-(6-(双(4-甲氧基苄基)氨基)-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R, 7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇 (Int-41, 100mg, 0.130mmol) 的MeCN (1mL) 溶液中加入BOP (86mg, 0.195mmol)。将混合物在20℃下搅拌30分钟。向反应溶液中加入TEA (0.09mL, 0.646mmol) 和3-甲基哌啶-3-醇盐酸盐 (30mg, 0.198mmol); 然后将混合物在80℃搅拌2小时。LCMS显示起始材料被消耗, 并形成了所需的峰。TLC ( $SiO_2$ ; 石油醚:乙酸乙酯=1:1) 显示起始材料被消耗, 并观察到新斑点。通过制备型TLC ( $SiO_2$ , 石油醚:乙酸乙酯=1:1) 纯化反应溶液, 得到1-(7-(6-(双(4-甲氧基苄基)氨基)-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R, 7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。MS (ESI)  $[M+H]^+ m/z$  867。

[0602] 步骤B: 1-(7-(6-氨基-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R, 7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

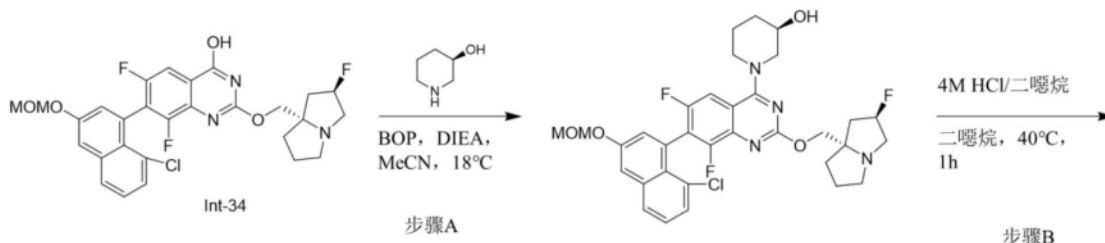
[0603] 在50℃下将1-(7-(6-(双(4-甲氧基苄基)氨基)-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-

基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(113mg,0.130mmol)的TFA(2mL,26.0mmol)溶液搅拌15小时。LCMS显示起始材料被消耗,并形成了所需的峰。TLC(SiO<sub>2</sub>;DCM:MeOH=10:1)显示起始材料被消耗,并观察到新斑点。将混合物冷却,并减压蒸发溶剂以得到粗产物。通过制备型TLC(SiO<sub>2</sub>,DCM:MeOH=10:1)纯化粗产物,得到1-(7-(6-氨基-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>:m/z 627。

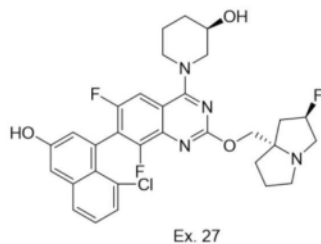
[0604] 步骤C:1-(7-(6-氨基-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0605] 通过SFC(柱D,40% MeOH w/0.1% NH<sub>4</sub>OH)分离外消旋的1-(7-(6-氨基-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(80mg,0.128mmol),得到1-(7-(6-氨基-4-甲基-3-(三氟甲基)吡啶-2-基)-6-氯-8-氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.26)(SFC中第一洗脱异构体)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,MeOD) δ8.09(d,J=1.6Hz,1H),6.61(s,1H),5.54-5.39(m,1H),4.58-4.51(m,1H),4.49-4.42(m,1H),4.30-4.27(m,1H),4.09-4.06(m,1H),3.83-3.69(m,1H),3.66-3.62(m,2H),3.51(d,J=13.3Hz,1H),3.45-3.32(m,2H),3.30-3.25(m,1H),2.63-2.49(m,1H),2.46-2.42(m,3H),2.35-2.28(m,1H),2.22-2.18(m,2H),2.15-2.01(m,2H),1.88-1.80(m,1H),1.80-1.70(m,2H),1.26(s,3H)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>:m/z 627。

[0606] 实施例27:(3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)哌啶-3-醇(Ex.27)



[0607]



[0608] 步骤A:(3R)-1-(7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)哌啶-3-醇

[0609] 将7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-34)(0.0140g,0.0250mmol)溶解在乙腈(0.250mL)中,加入((1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)氧基)三(二甲基氨基)膦鎓六氟磷酸盐(V)(0.0170g,0.0380mmol)和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.0160g,0.125mmol),并在18°C下搅拌1小时。向反应中加入(R)-哌啶-3-醇(0.00505g,0.0500mmol),并在18°C下搅拌16小

时。将混合物浓缩,然后用EtOAc (2mL×2) 提取得到的混合物,并用H<sub>2</sub>O(1mL) 洗涤。然后将有机层合并并减压浓缩,得到(3R)-1-(7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)哌啶-3-醇。MS (ESI) [M+H]<sup>+</sup>m/z 643。

[0610] 步骤B: (3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)哌啶-3-醇 (Ex.27)

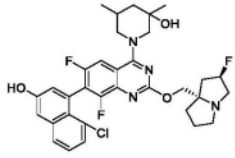
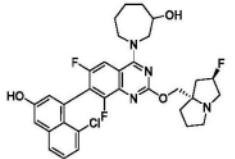
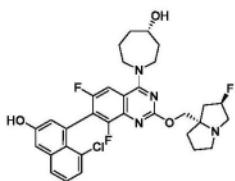
[0611] 将(3R)-1-(7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)哌啶-3-醇(0.0128g,0.0200mmol)溶解在二噁烷(0.500mL)中。加入HCl/二噁烷(0.4M,0.50mL),并在40℃下摇动1小时。真空蒸发混合物,通过HPLC(C18,0-100%ACN/水含0.1% TFA)进行纯化,得到(3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)哌啶-3-醇(Ex.27)。MS (ESI) [M+H]<sup>+</sup>:m/z 599。

[0612] 下表中的化合物通过使用与Ex.27的合成中所述的相似程序合成,对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换。示例性立体异构体任选地1)在完成所指示的步骤后,使用所指示的条件进行拆分,并结转所指示的峰;2)通过使用如本文所述任选拆分的所指示的中间体合成;3)使用市售的任选手性纯的试剂合成;或4)在使用所指示的已拆分中间体合成后进行拆分。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,使用本领域技术人员可用的方法合成,或如本文所述合成。

[0613]

Ex	结构	化合物名称	中间体/ 分离	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
Ex. 9		(3R,5R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-5-甲基吡咯烷-3-醇	Int-34	599
Ex. 10		1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	Int-34	613

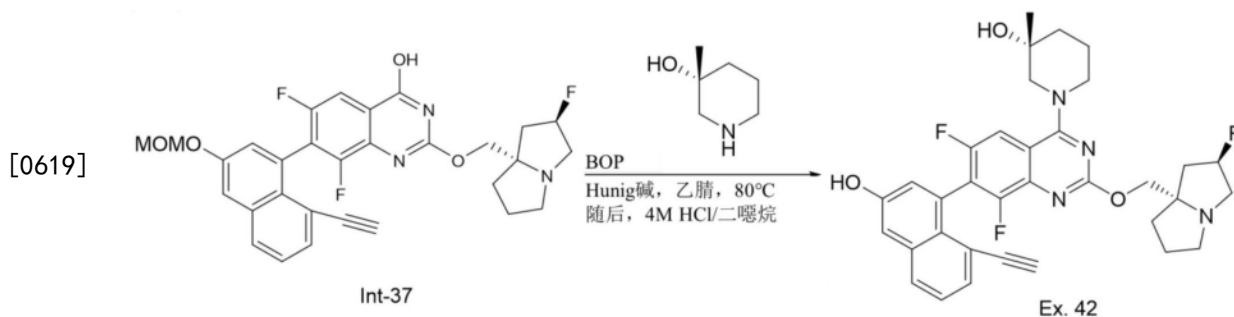
Ex	结构	化合物名称	中间体/ 分离	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
Ex. 11		(3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基 喹-1-基)-2-(((R)-2,2-二 氟-1-(羟甲基)环丙基) 甲氧基)-6,8-二氟喹唑 啉-4-基)-3-甲基哌啶 -3-醇	Int-35	592
[0614] Ex. 12		1-(7-(8-氯-3-羟基喹-1- 基)-6,8-二氟 -2-(((2R,7aS)-2-氟四氢 -1H-吡咯嗪-7a(5H)- 基)甲氧基)喹唑啉-4- 基)-4,4-二氟-3-甲基哌 啶-3-醇	Int-34 / Int-3	649
Ex. 13		1-(7-(8-氯-3-羟基喹-1- 基)-6,8-二氟 -2-(((2R,7aS)-2-氟四氢 -1H-吡咯嗪-7a(5H)- 基)甲氧基)喹唑啉-4- 基)-4-氟-3-甲基哌啶 -3-醇	Int-34 / Int-5	631

Ex	结构	化合物名称	中间体/ 分离	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
<b>Ex. 14</b>		1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3,5-二甲基哌啶-3-醇	Int-34 / Int-4 步骤 B (Prep HPLC, C18, 0-100% ACN/水, 峰 1)	626
[0615] <b>Ex. 15</b>		1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-3-醇	Int-34	613
<b>Ex. 16</b>		(4S)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇	Int-34 / Int-7	613

Ex	结构	化合物名称	中间体/ 分离	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
Ex. 17		1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基氮杂环庚烷-3-醇	Int-34,  步骤 A (SFC, 柱 R, 30% MeOH w/ 0.1% NH4OH, 峰 2)	617
[0616] Ex. 18		(6S)-4-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-6-甲基-1,4-氧氮杂环庚烷-6-醇	Int-34 / Int-6	629
Ex. 19		1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-(三氟甲基)哌啶-3-醇	Int-34  步骤 B (SFC, 柱 Q, 50% IPA w/0.1% NH4OH, 峰 1)	667

Ex	结构	化合物名称	中间体/ 分离	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
Ex. 20		(3R)-1-(7-(5,6-二甲基-1H-咪唑-4-基)-6,8-二氟-2-((1-(((R)-3-氟吡咯烷-1-基)甲基)环丙基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	Int-27	595
[0617] Ex. 21		(4S)-1-(6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-咪唑-4-基)喹唑啉-4-基)氮杂环庚烷-4-醇	Int-28 / Int-7	635
Ex. 22		(6S)-4-(6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(6-甲基-5-(三氟甲基)-1H-咪唑-4-基)喹唑啉-4-基)-6-甲基-1,4-恶氮杂环庚烷-6-醇	Int-28 / Int-6	651

[0618] 实施例42: (3R)-1-(7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇 (Ex. 42)



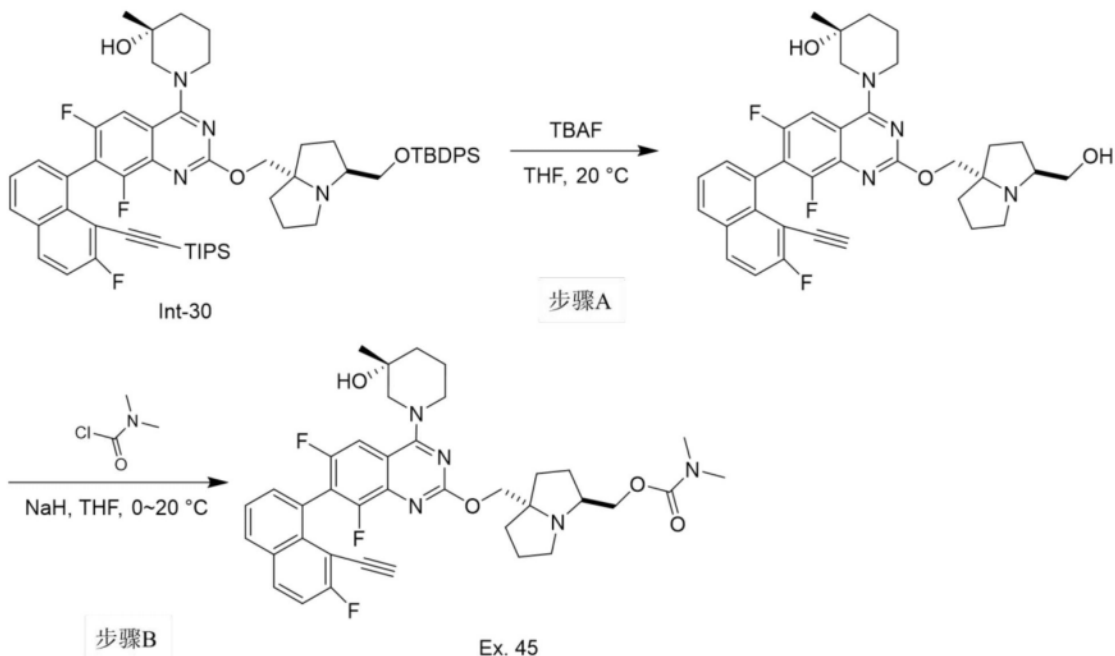
[0620] 向含有7-(8-乙炔基-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-醇(Int-37)(92mgs,0.17mmol)和乙腈(1.0mL)的烧瓶中加入BOP(0.11g,0.25mmol),随后加入Hunig碱(0.15mL,0.84mmol),然后加入(3R)-3-甲基-哌啶-3-醇盐酸盐(25mg,0.17mmol)。将混合物加热至80°C一小时。一小時后,将混合物冷却至室温。加入HCl(4.0M二噁烷溶液,0.43mL,1.7mmol),并将混合物加热至40°C一小时。一小時后,将混合物冷却至室温。加入DMSO(0.50mL),并通过反相HPLC(MeCN/水含0.1%TFA改性剂)纯化混合物以得到不纯产物。进一步通过SFC(柱V;30%MeOH含0.1% NH<sub>4</sub>OH)纯化不纯产物,得到(3R)-1-(7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.42)。MS(ESI):m/z(M+H)<sup>+</sup>603。<sup>1</sup>H NMR(499MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 7.90(d,J=8.2Hz,1H),7.68(d,J=9.8Hz,1H),7.49(d,J=7.1Hz,1H),7.46-7.41(m,1H),7.37(d,J=2.5Hz,1H),7.12(d,J=2.5Hz,1H),5.29(d,J=53.9Hz,1H),4.70(s,1H),4.13-4.05(m,2H),4.02-3.96(m,1H),3.90-3.82(m,1H),3.58(s,1H),3.39-3.36(m,1H),3.27-3.21(m,1H),3.14-3.08(m,2H),3.08-3.00(m,2H),2.87-2.80(m,1H),2.16-2.11(m,1H),2.11-2.00(m,3H),1.88-1.76(m,3H),1.72-1.61(m,3H),1.16(s,3H)。

[0621] 下表中的化合物通过使用与Ex.42的合成中所述的相似程序合成,对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,使用本领域技术人员可用的方法合成,或如本文所述合成。

Ex	结构	化合物名称	中间体	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
Ex. 23		3-(二氟甲基)-1-(7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)哌啶-3-醇	Int-37 / Int-2	639
Ex. 24		(3R)-1-(2-(((R)-2,2-二氟-1-(羟甲基)环丙基)甲氧基)-7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	Int-36	582

[0622]

[0623] 实施例45: ((3S,7aS)-7a-(((7-(8-乙炔基-7-氟萘-1-基)-6,8-二氟-4-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)喹唑啉-2-基)氧基)甲基)六氢-1H-吡咯嗪-3-基)甲基二甲基氨基甲酸酯(Ex. 45)



[0625] 步骤A: (3R)-1-(7-(8-乙炔基-7-氟萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((3S,7aS)-3-(羟甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

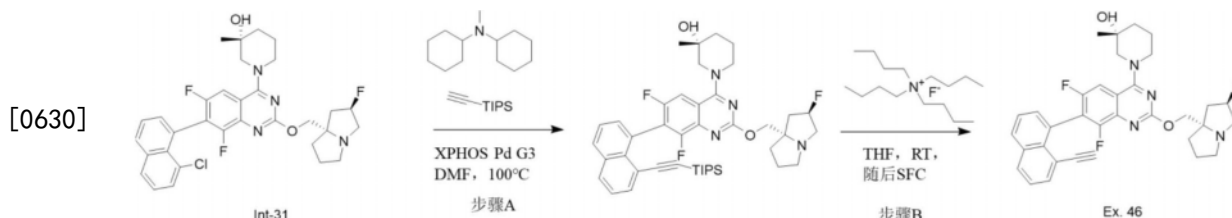
[0626] 向(3R)-1-(2-(((3S,7aS)-3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-6,8-二氟-7-(7-氟-8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-

4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-30)(105mg,0.104mmol)的THF(0.7mL)溶液中加入TBAF(0.311mL,0.311mmol)。将混合物在20℃搅拌1小时。LCMS显示观察到了具有所需产物质量的主峰。浓缩混合物,并通过制备型TLC(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/NH<sub>3</sub>(7M MeOH溶液)=100:3)纯化残留物,得到(3R)-1-(7-(8-乙炔基-7-氟萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((3S,7aS)-3-(羟甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>m/z 617。

[0627] 步骤B: ((3S,7aS)-7a-(((7-(8-乙炔基-7-氟萘-1-基)-6,8-二氟-4-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)喹唑啉-2-基)氧基)甲基)六氢-1H-吡咯嗪-3-基)甲基二甲基氨基甲酸酯(Ex.45)

[0628] 在0℃下,向(3R)-1-(7-(8-乙炔基-7-氟萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((3S,7aS)-3-(羟甲基)四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(40mg,0.065mmol)的THF(0.5mL)溶液中加入氢化钠(6.23mg,0.259mmol)。将混合物在0℃下搅拌0.5小时。然后加入二甲基氨基甲酰氯(10.46mg,0.097mmol)的THF(0.5mL)溶液。将混合物在氮气下于20℃搅拌15小时。LCMS显示观察到了具有所需产物质量的主峰。用H<sub>2</sub>O(3mL)淬灭混合物,并用EtOAc(3mL×3)提取,用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥有机层,过滤并浓缩,通过制备型HPLC(C18,0-100% ACN/水含0.225%甲酸)纯化残留物,得到((3S,7aS)-7a-(((7-(8-乙炔基-7-氟萘-1-基)-6,8-二氟-4-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)喹唑啉-2-基)氧基)甲基)六氢-1H-吡咯嗪-3-基)甲基二甲基氨基甲酸酯(Ex.45)。MS(ESI)[M+H]<sup>+</sup>m/z 688。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,MeOD)δ8.06-8.16(m,2H),7.72(d,J=9.6Hz,1H),7.61-7.69(m,1H),7.58(d,J=7.2Hz,1H),7.45(t,J=8.8Hz,1H),4.54-4.65(m,2H),4.46-4.53(m,1H),4.28-4.45(m,3H),4.00-4.20(m,2H),3.45-3.52(m,2H),3.34-3.45(m,2H),2.86(d,J=17.2Hz,6H),2.38(d,J=6.4Hz,1H),1.95-2.24(m,8H),1.71-1.88(m,3H),1.26(s,3H)。

[0629] 实施例46: (3S)-1-(7-(8-乙炔基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.46)



[0631] 步骤A: (3S)-1-(6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇

[0632] 向(3S)-1-(7-(8-氯萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-31)(100mg,0.167mmol)的DMF(2000μL)溶液中加入N-环己基-N-甲基环己胺(359μL,1.675mmol)、乙炔基三异丙基硅烷(751μL,3.35mmol)和XPHOS Pd G3(128mg,0.151mmol)。用氮气和真空将反应混合物脱气三次,并在100℃加热过夜。将反应混合物冷却至室温,用EtOAc稀释并用饱和NH<sub>4</sub>Cl溶液淬灭。分离有机层并用盐水溶液洗涤,浓缩得到(3S)-1-(6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)-7-(8-((三异丙基硅基)乙炔基)萘-1-基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇。MS(ESI):m/z[M+H]<sup>+</sup>743。

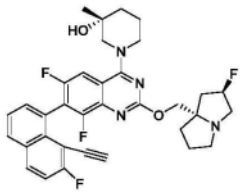
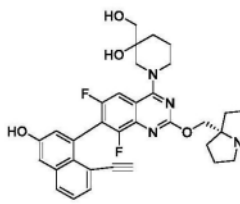
[0633] 步骤B: (3S)-1-(7-(8-乙炔基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-

吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.46)

[0634] 将步骤A中的粗混合物溶于THF (2000 $\mu$ L)中,并加入四丁基氟化铵(335 $\mu$ L, 0.335mmol)。将混合物搅拌30分钟,用EtOAc稀释,用饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液洗涤两次,用盐水溶液洗涤并浓缩。使用硅胶色谱用0-25%甲醇的DCM溶液纯化产物,得到外消旋混合物,通过手性SFC(柱U,30% MeOH含0.1% NH<sub>4</sub>OH)分离得到(3S)-1-(7-(8-乙炔基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Ex.46)。MS(ESI):m/z[M+H]<sup>+</sup>587。<sup>1</sup>H NMR(499MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 8.17(dd,J=12.6,8.3Hz,2H),7.78-7.68(m,3H),7.60(p,J=8.0Hz,2H),5.28(d,J=53.9Hz,1H),4.71(s,1H),4.03(dd,J=48.4,10.3Hz,4H),3.85(t,J=13.1Hz,1H),3.66(s,1H),3.14-2.97(m,4H),2.84(t,J=8.2Hz,1H),2.23-1.91(m,5H),1.91-1.49(m,7H),1.16(s,3H)。

[0635] 下表中的化合物通过使用与Ex.46的合成中所述的相似程序合成,对起始材料、中间体和/或试剂进行合适的替换,并在完成所指示的步骤后,任选地使用所指示的条件拆分立体异构体,并结转所指示的峰。合适的替代物可市购获得,如文献中所述合成,使用本领域技术人员可用的方法合成,或如本文所述合成。

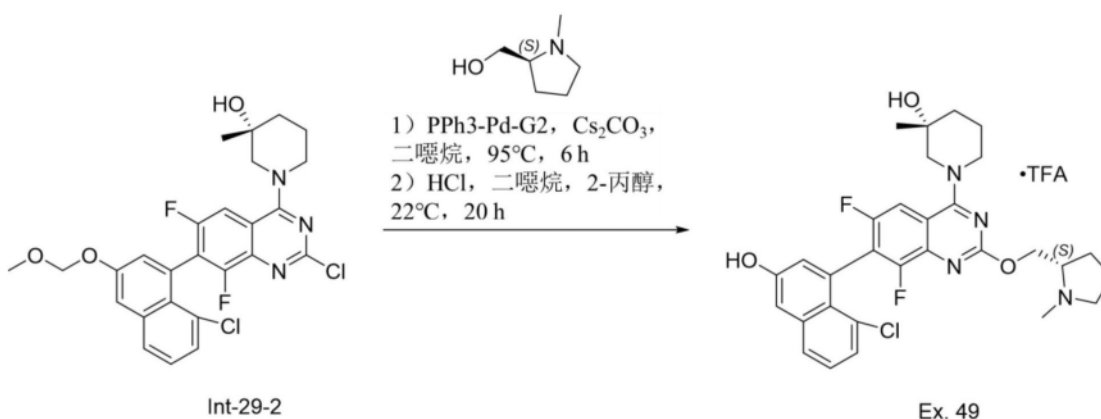
[0636]	Ex	结构	化合物名称	分离	[M+H] <sup>+</sup> 检测值

Ex	结构	化合物名称	分离	[M+H] <sup>+</sup> 检测值
Ex. 25		(3R)-1-(7-(8-乙炔基-7-氟萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇	步骤 B SFC (柱 A, 含 0.1% NH <sub>4</sub> OH 的 EtOH)	605
Ex. 26		1-(7-(8-乙炔基-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((2R,7aS)-2-氟四氢-1H-吡咯嗪-7a(5H)-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-(羟基甲基)哌啶-3-醇	步骤 B Prep HPLC (C18, 0-100% ACN/水 w/0.1%TFA)	618

[0637]

[0638] 实施例49: (3R)-1-(7-(8-氯-3-羟基萘-1-基)-6,8-二氟-2-(((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)甲氧基)喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇三氟乙酸盐 (Ex. 49)

[0639]



[0640] 在2打兰小瓶中,将(3R)-1-(2-氯-7-(8-氯-3-(甲氧基甲氧基)萘-1-基)-6,8-二氟喹唑啉-4-基)-3-甲基哌啶-3-醇(Int-29-2)(30mg,0.056mmol)、N-甲基-L-脯氨酸(19.4mg,0.17mmol)和碳酸铯(58.5mg,0.18mmol)的混合物的二噁烷(0.5ml)溶液用氮气在液面下喷射2分钟,并用氯(三苯基膦)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯(II)(PPh<sub>3</sub>-Pd-G2,6.43mg,0.011mmol)处理。将小瓶加盖并在95°C加热6小时,冷却至室温并用乙酸乙酯(3ml)稀释,通过Florisisil垫的Celite过滤。用乙酸乙酯(2×10ml)冲洗滤垫,并浓缩合并的滤液。

将残留物溶解在2-丙醇(2ml)中,并在室温下用4M HCl的二噁烷溶液(0.5ml)处理。将混合物在室温下搅拌20小时,浓缩,并通过制备型HPLC(C18,0-100% ACN/水含0.1% TFA)纯化残留物,得到标题化合物(Ex. 49)。MS(ESI): $m/z$  [M+H]<sup>+</sup>569。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.38(s, 1H), 10.04(bs, 1H), 7.92(d, J=10.3Hz, 1H), 7.87(d, J=8.1Hz, 1H), 7.48-7.35(m, 3H), 7.14(s, 1H), 4.71(dd, J=12.3, 3.3Hz, 1H), 4.61(dd, J=12.4, 6.7Hz, 1H), 4.11(d, J=13.0Hz, 1H), 3.92(d, J=13.1Hz, 1H), 3.87-3.79(m, 1H), 3.69-3.54(m, 2H), 3.33-3.24(m, 2H), 3.22-3.06(m, 1H), 2.96(d, J=4.7Hz, 3H), 2.34-2.21(m, 1H), 2.13-1.83(m, 4H), 1.82-1.57(m, 3H), 1.19(s, 3H)。

[0641] 测定

[0642] 用于KRAS-G12C/D/V、HRAS和NRAS重组蛋白的SOS-催化的鸟嘌呤核苷酸交换(GNE)测定程度。

[0643] 本测定法中使用重组KRAS-G12C(SEQ ID NO:1)(在本测定中包含额外的三重突变(C51S/C80L/C118S))、KRAS-G12D(SEQ ID NO:2)、KRAS-G12V(SEQ ID NO:3)、HRAS(SEQ ID NO:4)和NRAS(SEQ ID NO:5)蛋白。具体来说,SOS-催化的核苷酸交换测定利用预形成的时间分辨荧光共振能量转移(TR-FRET)复合体,其包含特定的生物素化RAS蛋白(KRAS-G12C/V/D、HRAS、NRAS;如上文所述)与BODIPY-GDP和钽-链霉亲和素。测试化合物与该复合体预孵育60分钟。随后,加入重组人SOS蛋白(SEQ ID NO:6)和非标记GTP以启动交换反应。小分子抑制剂可稳定BODIPY-GDP复合体,而未经处理的蛋白则快速交换BODIPY-GDP为未标记的GTP,导致TR-FRET信号降低,从而允许测定测试化合物的抑制活性。

[0644] 为了组装预形成的TR-FRET复合体,每种生物素化RAS蛋白在EDTA缓冲液(20mM HEPES、50mM氯化钠、10mM EDTA和0.01% Tween)中稀释至2 $\mu$ M,并在室温下孵育1小时。然后将该混合物在含有15nM钽-链霉亲和素(Invitrogen, catalog#PV3577)和900nM BODIPY-GDP(Invitrogen, catalog#G22360)的测定缓冲液(20mM HEPES、150mM氯化钠、10mM氯化镁和0.005% Tween)中进一步稀释至90nM,并在室温下孵育6小时。应注意,每种RAS蛋白的预形成TR-FRET复合体都是在实验前制作的,等分并存储在-80 $^{\circ}$ C,直到实验当天。

[0645] 在DMSO中稀释每个测试化合物(10mM DMSO储备液),以在384孔低死体积微板(Labcyte, catalog#LP-0200)中形成10-点、3-倍稀释。一旦完成稀释,使用Echo 550(Labcyte)将10nL稀释化合物利用声学分配到384孔测定板(Corning, catalog#3820)中。随后,测定板的每个孔接收3 $\mu$ L特定3 $\times$ RAS预形成TR-FRET复合体和3 $\mu$ L测定缓冲液,并在室温下孵育60分钟(预孵育时间)。然后每个孔接收3 $\mu$ L 3 $\times$ 重组人SOS蛋白和GTP(Sigma, G8877)至测定缓冲液中,并在室温下孵育60分钟,或对于KRAS-G12V为90分钟。每个孔的最终反应体积为9 $\mu$ L,包含3mM GTP以及以下浓度的特定RAS和SOS蛋白:KRAS-G12C/SOS=3nM/40nM, KRAS-G12D/SOS=1nM/40nM, KRAS-G12V/SOS=1.25nM/160nM, HRAS/SOS=1.25nM/40nM, 和 NRAS/SOS=1.25nM/40nM。

[0646] 在Envision(PerkinElmer)读板器上测量TR-FRET信号:激发滤光片=340nm;发射1=495nm;发射2=520nm;二向色镜=D400/D505;延迟时间=100ms。每个孔的信号确定为520nm处的发射与495nm处的发射的比值。每个孔的百分比效应在标准化至包含DMSO(无效应)或抑制剂饱和浓度(最大效应)的对照孔后确定。使用Spotfire软件将化合物浓度作为函数的表观效应拟合至四参数逻辑方程来计算IC<sub>50</sub>值。每种RAS类型的该测定法的结果在下

表中以包括“GNE”的标题呈现。

[0647] 细胞磷酸化ERK测定程序,G12C

[0648] 含有纯合子KRAS-G12C激活突变的NCI-H358细胞(ATCC®CRL-5807™)在含生长培养基(含有10%胎牛血清(ThermoFisher Scientific 10091148)的RPMI培养基1640-GlutaMAX™-I(ThermoFisher Scientific 61870))中的T150烧瓶中培养。在TrypLE(ThermoFisher scientific 12604021)消化后从生长培养基中收获细胞,并以每孔15,000个细胞的密度接种在384孔胶原蛋白包被的细胞培养板(Corning 356702)中,并在37℃、5% CO<sub>2</sub>下孵育过夜。制备化合物剂量反应滴定(最终浓度为30μM和1:3稀释,10-点剂量反应),并使用Echo 550液体处理器在384孔中间板中分配适当量的测试化合物。向中间板中加入RPMI培养基1640-GlutaMAX™-I,然后将中间板的内容物转移到384孔胶原蛋白包被的细胞培养板中,在37℃、5% CO<sub>2</sub>下孵育2小时。从胶原蛋白包被的细胞培养板中去除培养基后,细胞在室温下,在含有Halt™蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物(ThermoFisher Scientific 78446)的Alpha SureFire®Ultra™Multiplex p-ERK和总ERK测定试剂盒(PerkinElmer MPSU-PTERK)的裂解缓冲液中裂解,并在室温下以300rpm的恒定速度摇动30分钟。然后将细胞裂解物转移到OptiPlate-384板(PerkinElmer 6005620)中,并按照制造商的方案使用Alpha SureFire®Ultra™Multiplex p-ERK试剂盒和总ERK测定试剂盒(PerkinElmer MPSU-PTERK)检测ERK的磷酸化(p-ERK)和总ERK水平。在EnVision Multimode Plate Reader(PerkinElmer)上读取测定板,并使用p-ERK与总ERK在每个孔中的比率作为最终读数。使用4参数逻辑模型分析剂量响应曲线,使用Spotfire软件计算IC<sub>50</sub>值。该测定的结果在下表标题为“G12C H358”的部分中呈现。

[0649] 细胞磷酸化ERK测定程序,G12D

[0650] 含有纯合子KRAS-G12D激活突变的AsPC-1细胞(ATCC®CRL-1682™)在含生长培养基(含有10%胎牛血清(ThermoFisher Scientific 10091148)的RPMI培养基1640-GlutaMAX™-I(ThermoFisher Scientific 61870))的T150烧瓶中培养。在TrypLE(ThermoFisher scientific 12604021)消化后在生长培养基中收获细胞,并以每孔15,000个细胞的密度接种在384孔胶原蛋白包被的细胞培养板(Corning 356702)中,并在37℃、5% CO<sub>2</sub>下孵育过夜。制备化合物剂量反应滴定(最终浓度为30μM和1:3稀释,10点剂量反应),并使用Echo 550液体处理器在384孔中间板中分配适当量的测试化合物。向中间板中加入RPMI培养基1640-GlutaMAX™-I,然后将中间板的内容物转移到384孔胶原蛋白包被的细胞培养板中,在37℃、5% CO<sub>2</sub>下孵育2小时。从胶原蛋白包被的细胞培养板中去除培养基后,细胞在室温下,在含有Halt™蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物(ThermoFisher Scientific 78446)的Alpha SureFire®Ultra™Multiplex p-ERK和总ERK测定试剂盒(PerkinElmer MPSU-PTERK)的裂解缓冲液中裂解,并在室温下以300rpm的恒定速度摇动30分钟。然后将细胞裂解物转移到OptiPlate-384板(PerkinElmer6005620)中,并按照制造商的方案使用Alpha SureFire®Ultra™Multiplex p-ERK试剂盒和总ERK测定试剂盒(PerkinElmer MPSU-PTERK)检测ERK的磷酸化(p-ERK)和总ERK水平。在EnVision Multimode Plate Reader(PerkinElmer)上读取测定板,并使用p-ERK与总ERK在每个孔中的比率作为最终读数。使用4参数逻辑模型分析剂量响应曲线,并使用Spotfire软件计算IC<sub>50</sub>值。该测定的结果

在下表标题为“G12D ASPC-1”的部分中呈现。

[0651]

Ex #	KRAS G12D GNE IC <sub>50</sub> (nM)	KRAS G12D ASPC-1 IC <sub>50</sub> (nM)	KRAS G12C GNE IC <sub>50</sub> (nM)	G12V GNE IC <sub>50</sub> (nM)	G13D GNE IC <sub>50</sub> (nM)	HRAS GNE IC <sub>50</sub> (nM)	NRAS GNE IC <sub>50</sub> (nM)	G12C H358 IC <sub>50</sub> (nM)
Ex-1	8	70	22	28	21	>9950	>9950	41
Ex-2	7		95	25	43			
Ex-3	223		280	588	616			
Ex-4	9		143	17	14			
Ex-5	11	1148	63	30	20			
Ex-6	92	3049	104	77	103			
Ex-7	1	95	8	2	2			
Ex-8	149		735	89	105	>9950	>9950	

Ex-9	315	1882	297	381	221			4208
Ex-10	1		7	2	3			
Ex-11	1	132	7	2	2			
Ex-12	2	86	14	6	9			41
Ex-13	29		52	47	74			
Ex-14	1186		678	1225	5190			
Ex-15	273		172	732	1506			
Ex-16	1	352	20	3	3			123
Ex-17	283		195	237	341	>9950	>9950	
Ex-18								
Ex-19	91	3345	44	47	129			
Ex-20	4	1184	36	6	6			
Ex-21	1	329	5	1	1			
Ex-22	1	1161	6	2	1			305
Ex-23	1	65	6	1	2			14
Ex-24	1	20	6	1	1			2
Ex-25	21	1405	99	14	20			611
Ex-26	2006	3917	1184	1548	711			7726
Ex-27	321	3835	42	54	66			
Ex-28	637	1225	72	354	406			2257
Ex-29	15	900	46	17	13			>30000
Ex-30	2428	3151	340	1033	1351			512
Ex-31	984	1728	196	358	189			468
Ex-32	59	261	28	40	16			118
Ex-33	163		37	143	86			
Ex-34	285	6299	162	589	441			3623
Ex-35	270	4840	371	153	182			1823
Ex-36	398	1864	175	300	142			3583
Ex-37	6	151	12	2	3			48
Ex-38	857	6861	1011	598	777			2170
Ex-39	2709		792	2288	2663			
Ex-40	173	1328	311	470	931			981
Ex-41	33	285	22	60	48	>11110	>11110	203
Ex-42	3	91	14	3	4	>10000	>10000	58
Ex-43	13	215	8	10	8			58
Ex-44	74	142	26	87	93			59
Ex-45	23	379	24	12	14			331
Ex-46	986	4686	431	168	291			
Ex-47	239	2070	39	390	173			979
Ex-48	13	376	79	5	7			180
Ex-49	18	690	119	20	27			427

[0652]

[0653] 序列

[0654] SEQ ID NO:1-重组KRAS G12C

[0655] GLNDFEFAQKIEWHETEKLVVVGACGVGKSALTIQLIQNHVFVEYDPTIEDSYRKQVVIDGETSLLDI  
LDTAGQEEYSAMRDQYMRTGEGFLLVFAINNTKSFEDIHHYREQIKRVKDSSEVPMVLVGKSDLPSRTVDTKQAQD  
LARSYGIPFIETSAKTRQGVDDAFYTLVREIRKHKEK

[0656] SEQ ID NO:2-重组KRAS G12D

[0657] GLNDIFEAQKIEWHETEKLVVVGADGVGKSALTIQLIQNHVFVEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDI  
LDTAGQEEYSAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHMYREQIKRVKDSDDVPMVLVGNKCDLPSRTVDTKQAQD  
LARSYGIPFIETSAKTRQGVDDAFYTLVREIRKHKEK

[0658] SEQ ID NO:3-重组KRAS G12V

[0659] GLNDIFEAQKIEWHETEKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQNHVFVEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDI  
LDTAGQEEYSAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHMYREQIKRVKDSDDVPMVLVGNKCDLPSRTVDTKQAQD  
LARSYGIPFIETSAKTRQGVDDAFYTLVREIRKHKEK

[0660] SEQ ID NO:4-HRAS

[0661] GGGGSHMTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHVFVEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDILDTAGQEE  
YSAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHQYREQIKRVKDSDDVPMVLVGNKCDLAARTVESRQAQDLARSYGIP  
YIETSAKTRQGVDDAFYTLVREIRQH

[0662] SEQ ID NO:5-NRAS

[0663] GGGGMTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHVFVEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDILDTAGQEEYS  
AMRDQYMRTGEGFLCVFAINNSKSFADINLYREQIKRVKDSDDVPMVLVGNKCDLPTRTVDTKQAHELAKSYGIPFI  
ETSAKTRQGVDDAFYTLVREIRQYRMKKLN

[0664] SEQ ID NO:6-重组人SOS蛋白

[0665] MGSSHHHHHSGENLYFQGSSGLNDIFEAQKIEWHESSEEQMRLPSADVYRFAEPDSEENIIFEENMQ  
PKAGIPIIKAGTVIKLIERLTYHMYADPNFVRTFLTTYRSFCKPQELLSLIERFEIPEPEPTADRIAIENGDQP  
LSAELKRFRKEYIQPVQLRVLNVCRHVVEHHFYDFERDAYLLQRMEEFIGTVRGKAMKKWVESITKIQRKKIARD  
NGPGHNITFQSSPPTVEWHISRPGHIETFDLLTLHPIEIARQLTLESPLYRAVQPSELVGSVWTKEDKEINSPNL  
LKMIRHTTNLTLWFEKIVETENLEERVAVVSRIEILQVFQELNNGVLEVVVSAMNSSPVYRLDHTFEQIPSRQ  
KKILEEAHELSEDHYKKYLAKLRSINPPCVFFGIYLTNLIKTEEGNPEVLKRHGKELINFSKRRKVAEITGEIQQ  
YQNQPYCLRVESDIKRFFENLPMGNSMEKEFTDYLFNKSLEIEPRNPKPLPRFPKKYSYPLKSPGVRPSNPRPGT 。