

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2018 年 3 月 22 日 (22.03.2018)



(10) 国际公布号
WO 2018/049781 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 403/04 (2006.01) **A61K 31/415** (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01) **A61K 31/4155** (2006.01)
C07D 401/06 (2006.01) **A61K 31/454** (2006.01)
C07D 403/06 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)
C07D 231/14 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/072570

(22) 国际申请日: 2017 年 1 月 25 日 (25.01.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201610833890.3 2016 年 9 月 19 日 (19.09.2016) CN

(71) 申请人: 北京天诚医药科技有限公司 (BEIJING TIANCHENG PHARMA CO., LTD.) [CN/CN]; 中国北京市昌平区中关村生命科学园生命园路 8 号院一区 9 号楼 2 层 202, Beijing 102206 (CN)。

(72) 发明人: 陈向阳 (CHEN, Xiangyang); 中国北京市昌平区中关村生命科学园生命园路 8 号院 8 号楼, Beijing 102206 (CN)。 高英祥 (GAO, Yingxiang); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道 568 号 8 号楼, Jiangsu 211112 (CN)。 孔祥龙 (KONG, Xianglong,

Norman); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道 568 号 8 号楼, Jiangsu 211112 (CN)。

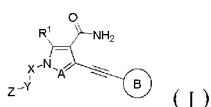
(74) 代理人: 中国专利代理 (香港) 有限公司 (CHINA PATENT AGENT (H.K.) LTD.); 中国香港特别行政区湾仔港湾道 23 号鹰君中心 22 号楼, Hong Kong (CN)。

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

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,

(54) Title: ALKYNYL-SUBSTITUTED HETEROCYCLIC COMPOUND, PREPARATION METHOD THEREFOR AND MEDICAL USE THEREOF

(54) 发明名称: 炔代杂环化合物、其制备方法及其在医药学上的应用



(57) Abstract: The present invention relates to an alkynyl-substituted heterocyclic compound acting as an FGFR inhibitor, a preparation method therefor and the medical use thereof. In particular, the present invention relates to a compound as shown in general formula (I) and a pharmaceutically acceptable salt thereof; a pharmaceutical composition including the compound or a pharmaceutically acceptable salt thereof; a method for treating and/or preventing FGFR-associated diseases, particularly tumours, by using the compound or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and a preparation method for the compound or a pharmaceutically acceptable salt thereof. The present invention also relates to the use of the compound or a pharmaceutically acceptable salt thereof, or the pharmaceutical composition including the compound or a pharmaceutically acceptable salt thereof in the preparation of a drug for treating and/or preventing FGFR-associated diseases, particularly tumours, wherein the definition of each substituent in general formula (I) is the same as that in the description.

(57) 摘要: 本发明涉及作为 FGFR 抑制剂的炔代杂环化合物、其制备方法及其在医药学上的应用。具体而言, 本发明涉及一种通式 (I) 所示的化合物及其可药用的盐、含有所述化合物或其可药用的盐的药物组合物、应用所述化合物或其可药用的盐治疗和/或预防 FGFR 相关性病症、特别是肿瘤的方法以及所述化合物或其可药用的盐的制备方法。本发明还涉及所述化合物或其可药用的盐或含有所述化合物或其可药用的盐的药物组合物在制备用于治疗/或预防 FGFR 相关性病症、特别是肿瘤的药物中的用途。其中通式 (I) 的各取代基与说明书中的定义相同。

RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明：

- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则
4.17(ii))
- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则
4.17(iii))
- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布：

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

炔代杂环化合物、其制备方法及其在医药学上的应用

技术领域

本发明涉及一种作为 FGFR 抑制剂的新的炔代杂环化合物或其可药用的盐；含有所述炔代杂环化合物或其可药用的盐的药物组合物；所述炔代杂环化合物或其可药用的盐的制备方法；所述炔代杂环化合物或其可药用的盐、或含有所述炔代杂环化合物或其可药用的盐的药物组合物在制备用于治疗和/或预防 FGFR 相关性病症、特别是肿瘤的药物中的用途；以及应用所述化合物或组合物治疗和/或预防 FGFR 相关性病症、特别是肿瘤的方法。

背景技术

成纤维细胞生长因子受体（Fibroblast Growth Factor Receptor, FGFR）是一类受体酪氨酸激酶（RTK），结构上由膜外配体结合域、单一的跨膜域和膜内酪氨酸激酶域所组成，主要包括 FGFR1、FGFR2、FGFR3 和 FGFR4 四种亚型。它与其配体，成纤维细胞生长因子（Fibroblast Growth Factor, FGF）在细胞信号传递中起重要的调节作用。FGF 作为细胞外刺激信号，与 FGFR 膜外区结合，引起其膜内酪氨酸激酶磷酸化，从而激活下游的一系列信号通路，对细胞的增殖、分化和转移等进行调控。

多种肿瘤与 FGF/FGFR 表达及激活密切相关，比如非小细胞肺癌、乳腺癌、胃癌、肝癌、膀胱癌、子宫内膜癌、前列腺癌、宫颈癌、结肠癌、食管癌、骨髓瘤和黑色素瘤等（Clin. Cancer Res. 2012, 18, 1855）。研究显示，FGFR1 扩增占非小细胞肺癌的 20%、FGFR2 扩增占胃癌的 ~5%、FGFR3 突变占非侵袭性膀胱癌的 ~70% 和 FGFR4 在肝癌中的扩增等（PloS One 2012, 7, e36713）。因此，靶向 FGFR 的抑制剂的研发已成为抗肿瘤药物研究的前沿热点（Drug Disc. Today 2014, 19, 51）。

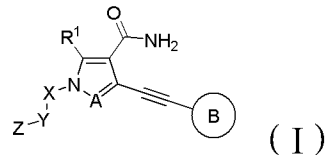
目前市场上已有一些非 FGFR 特异性药物，比如 Pfizer 的 sunitinib、Eisai 的 lenvatinib 和 Boehringer Ingelheim 的 nintedanib，但还没有 FGFR 特异性抑制剂。进入临床的 FGFR 特异性抑制剂有 HMPL-453、BGJ-398、LY-2874455、AZ-4547、JNJ-42756493、TAS-120、ARQ-087 和 BLU-554 等。

尽管 FGFR 抑制剂的开发吸引了众多生物制药公司的关注, 由于其在治疗多种恶性肿瘤所展示的前景, 仍需要开发新的化合物。经过不断努力, 本发明设计具有通式 (I) 所示的结构的化合物, 并发现具有此类结构的化合物表现出优异的效果和作用。

5

发明内容

本发明提供作为 FGFR 抑制剂的一种通式 (I) 所示的化合物、其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式:



10 其中:

A 为 N 或 CR²;

环 B 为苯环或 5-6 元杂芳环, 其中所述苯环和杂芳环任选被一个或多个 G¹ 所取代;

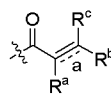
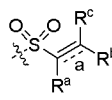
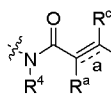
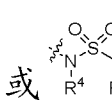
R¹ 独立地选自 H、卤素、氰基、C₁₋₆ 烷基或 -NHR³;

15 R² 独立地选自 H、卤素、氰基或 C₁₋₆ 烷基, 其中所述烷基任选被卤素、氰基、羟基或 -OC₁₋₆ 烷基所取代;

R³ 独立地选自 H、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被卤素、氰基、-OR⁴、-NR⁵R⁶、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基或 3-6 元杂环基所取代;

20 X 不存在或为 C₁₋₆ 亚烷基;

Y 不存在或选自 C₃₋₈ 亚环烷基、3-8 元亚杂环基、亚芳基或亚杂芳基, 其中所述亚环烷基、亚杂环基、亚芳基和亚杂芳基任选被一个或多个 G² 所取代;

Z 独立地选自氰基、-NR⁷CN、、、 或 ;

25 键 a 为双键或三键;

当键 a 为双键时, R^a、R^b 和 R^c 各自独立地选自 H、氰基、卤素、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个 G³ 所取代;

30 R^a 和 R^b 或 R^b 和 R^c 任选与它们连接的碳原子共同形成一任选含有杂原子的 3-6 元环;

当键 a 为三键时, R^a 和 R^c 不存在, R^b 独立地选自 H、氰基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个 G^4 所取代;

R^4 独立地选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选可被一个或多个 G^5 所取代;

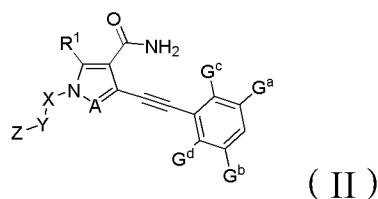
G^1 、 G^2 、 G^3 、 G^4 和 G^5 各自独立地选自卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元杂环基、 C_{6-10} 芳基、5-10 元杂芳基、 $-OR^8$ 、 $-OC(O)NR^8R^9$ 、 $-C(O)OR^8$ 、 $-C(O)NR^8R^9$ 、 $-C(O)R^8$ 、 $-NR^8R^9$ 、 $-NR^8C(O)R^9$ 、 $-NR^8C(O)NR^9R^{10}$ 、 $-S(O)_mR^8$ 或 $-NR^8S(O)_mR^9$, 其中所述烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基任选被一个或多个选自卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元杂环基、 $-OR^{11}$ 、 $-OC(O)NR^{11}R^{12}$ 、 $-C(O)OR^{11}$ 、 $-C(O)NR^{11}R^{12}$ 、 $-C(O)R^{11}$ 、 $-NR^{11}R^{12}$ 、 $-NR^{11}C(O)R^{12}$ 、 $-NR^{11}C(O)NR^{12}R^{13}$ 、 $-S(O)_mR^{11}$ 或 $-NR^{11}S(O)_mR^{12}$ 的取代基所取代;

R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 各自独立地选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元单环杂环基、单环杂芳基或苯基; 且 m 为 1 或 2。

本发明的一个实施方案涉及上述通式(I)所示的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式, 其中 A 为 N 或 CH, 优选为 N。

本发明的另一个实施方案涉及上述通式 (I) 所示的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式, 其中环 B 为苯环。

在一方面, 本发明提供以下通式 (II) 的化合物、或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式:

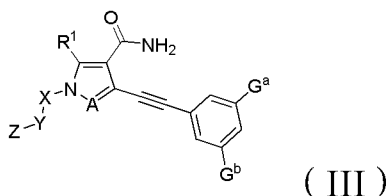


其中:

G^a 、 G^b 、 G^c 和 G^d 各自独立地选自 H、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元杂环基、 $-OR^8$ 、 $-NR^8R^9$ 或 $-C(O)NR^8R^9$, 其中所述烷基、

环烷基和杂环基任选被一个或多个选自卤素、氰基、C₁₋₆烷基、C₃₋₈环烷基、3-8元杂环基、-OR¹¹或-NR¹¹R¹²的取代基所取代；其中 A、R¹、R⁸、R⁹、R¹¹、R¹²、X、Y、Z 的定义如前所述。

5 本发明的另一个实施方案涉及上述通式 (I) 所示的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式，其为通式 (III) 所述的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式：



其中：

10 G^a 和 G^b 各自独立地选自 H、卤素、氰基、C₁₋₆烷基、C₃₋₈环烷基、3-8元杂环基、-OR⁸、-NR⁸R⁹或-C(O)NR⁸R⁹，其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个选自卤素、氰基、C₁₋₆烷基、C₃₋₈环烷基、3-8元杂环基、-OR¹¹或-NR¹¹R¹²的取代基所取代；其中 A、R¹、R⁸、R⁹、R¹¹、R¹²、X、Y、Z 的定义如前所述。

15 本发明的另一个实施方案涉及上述通式 (I) 所示的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式，其中 R¹ 独立地选自 H、-NH₂ 或 -NHC₁₋₆烷基。

在本发明实施方案中，R¹ 可以为 H 或 -NH₂。

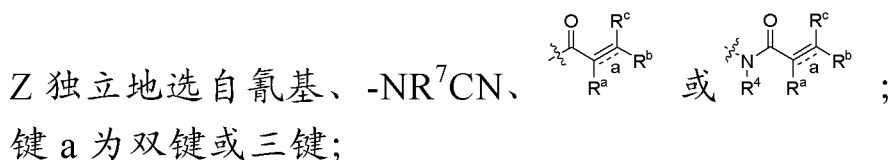
20 在本发明实施方案中，G^a、G^b、G^c 和 G^d 可以各自独立地为 -OC₁₋₂烷基或卤素。

在本发明实施方案中，R¹ 独立地选自 H、-NH₂ 或 -NHR₃；R³ 独立地选自 C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基或 3-6元杂环基，其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被卤素、氰基、-OR⁴、-NR⁵R⁶、C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基或 3-6元杂环基所取代。

25 本发明的另一个实施方案涉及上述通式 (I)、(II) 和 (III) 所示的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式，其中：

X 不存在或为 C₁₋₆亚烷基；

Y 不存在或选自 C₃₋₈亚环烷基或 3-8元亚杂环基；

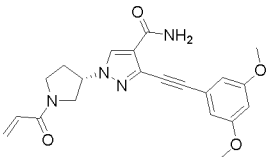
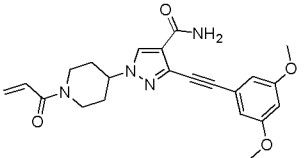
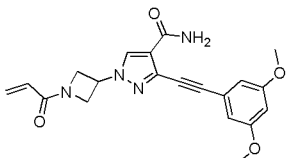
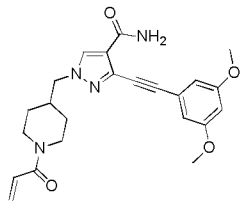
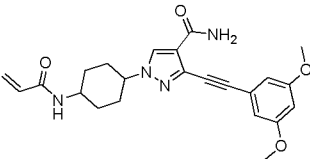


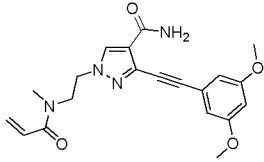
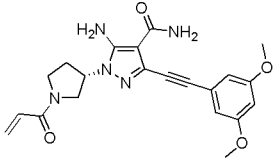
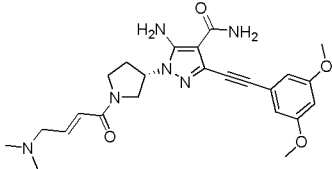
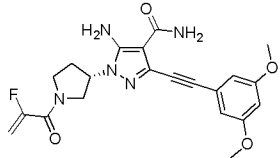
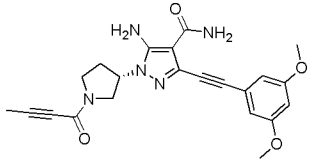
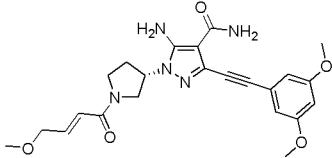
当键 a 为双键时, R^a 、 R^b 和 R^c 各自独立地选自 H、氰基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个独立地选自卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-6 元杂环基、 $-\text{OR}^8$ 或 $-\text{NR}^8\text{R}^9$ 的取代基所取代;

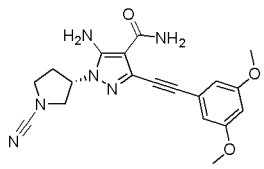
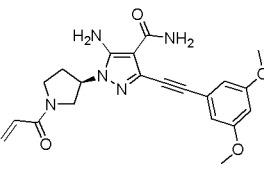
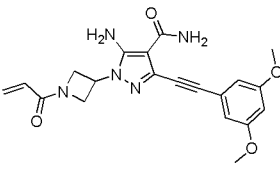
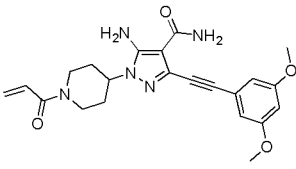
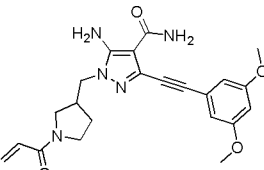
当键 a 为三键时, R^a 和 R^c 不存在, R^b 独立地选自 H、氰基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个独立地选自卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-6 元杂环基、 $-\text{OR}^8$ 或 $-\text{NR}^8\text{R}^9$ 的取代基所取代;

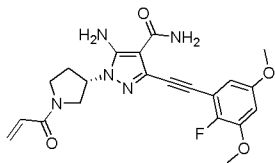
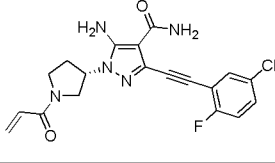
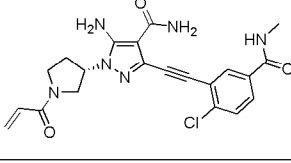
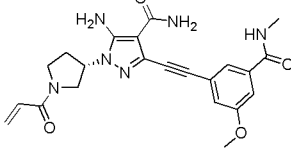
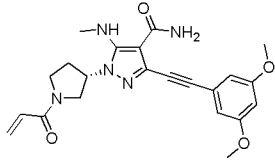
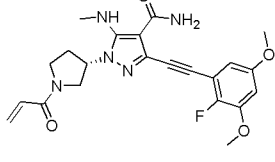
R^4 、 R^8 、 R^9 各自独立地选自 H 或 C_{1-6} 烷基。

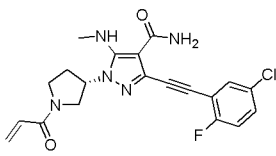
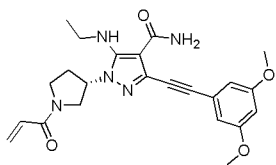
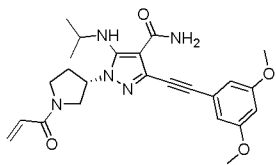
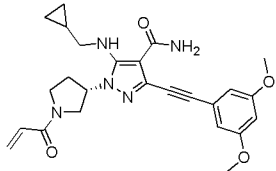
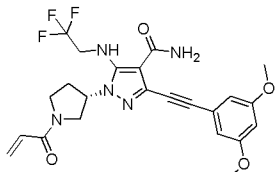
本发明的一个实施方案涉及上述通式 (I) 所示的化合物, 其中所述化合物选自:

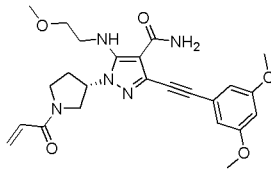
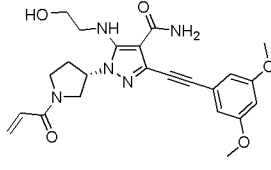
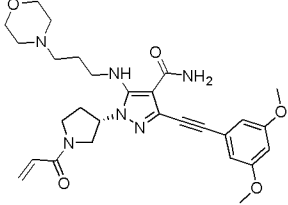
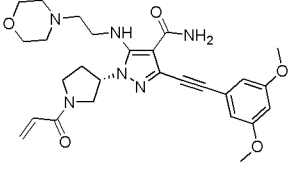
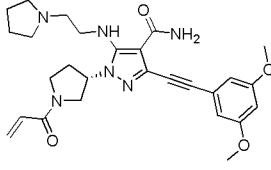
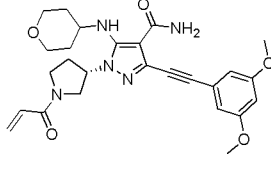
化合物编号	化合物结构与命名
1.	 (S)-1-(1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
2.	 1-(1-丙烯酰基哌啶-4-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
3.	 1-(1-丙烯酰基氮杂环丁烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
4.	 1-((1-丙烯酰基哌啶-4-基)甲基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
5.	 1-(4-丙烯酰基氨基环己基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

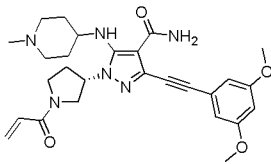
6.	 3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(2-(N-甲基丙烯酰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
7.	 (S)-1-(1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
8.	 (S,E)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(4-(二甲氨基)丁-2-烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
9.	 (S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(2-氟丙烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
10.	 (S)-5-氨基-1-(1-(丁-2-炔酰基)吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
11.	

	(S,E)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(4-甲氧基丁-2-烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
12.	
	(S)-5-氨基-1-(1-氰基吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
13.	
	(R)-1-(1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
14.	
	1-(1-丙烯酰基氮杂环丁烷-3-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
15.	
	1-(1-丙烯酰基哌啶-4-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
16.	
	1-((1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)甲基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

17.	 (S)-1-(1-(丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((2-氟-3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
18.	 (S)-1-(1-(丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((5-氯-2-氟苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
19.	 (S)-1-(1-(丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((2-氯-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
20.	 (S)-1-(1-(丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3-甲氧基-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
21.	 (S)-1-(1-(丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
22.	 (S)-1-(1-(丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((2-氟-3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

	基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
23.	 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((5-氯-2-氟苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
24.	 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(乙基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
25.	 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(异丙基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
26.	 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-((环丙基甲基)氨基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
27.	 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2,2,2-三氟乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

28.	 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-甲氧基乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
29.	 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-羟基乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
30.	 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((3-吗啉代丙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
31.	 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-吗啉代乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
32.	 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
33.	

	(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺
34.	
	(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((1-甲基哌啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式。

本发明化合物对 FGFR 的活性具有显著抑制效应。本发明化合物能够有效抑制 FGFR1、FGFR2、FGFR3 或 FGFR4 的活性，优选其抑制 FGFR1、FGFR2、FGFR3 或 FGFR4 的 IC_{50} 为 100 至 1000nM，更优选 IC_{50} 小于 100nM，最优选其 IC_{50} 小于 10nM。特别的是，本发明化合物对肿瘤细胞（例如 Hep3B、RT4 和 SNU-16 肿瘤细胞）的细胞增殖具有显著抑制效应，优选其 IC_{50} 为 100 至 1000nM，更优选其 IC_{50} 小于 100nM，最优选其 IC_{50} 小于 10nM。

因此本发明化合物可用于治疗或者预防 FGFR 相关性疾病，包括但不限于肿瘤和炎症性疾病，例如骨关节炎。本发明化合物可用于治疗或者预防 FGFR 相关性肿瘤，例如非小细胞肺癌、食管癌、黑色素瘤、横纹肌肉瘤、肾细胞癌、多发性骨髓瘤、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、胃癌、结肠癌、膀胱癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、前列腺癌和肝癌（例如肝细胞癌），更具体为肝癌、胃癌、非小细胞肺癌和膀胱癌。因此，再一方面，本发明提供一种治疗或者预防 FGFR 介导的疾病（例如所述肿瘤）的方法，其包括给予有需要的患者治疗有效量的本发明所述化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物、或包含所述化合物的药物组合物。

本发明的另一方面涉及作为药物或者医药用途的通式(I)所示的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物，其用于治疗或者预防 FGFR 介导的疾病，例如肿瘤或炎症性疾病，包括但不限于非小细胞肺癌、食管癌、黑色素瘤、横纹肌肉瘤、肾细胞癌、多发性骨髓瘤、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、胃癌、结肠癌、膀胱癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、前列腺癌和肝癌。

本发明进一步涉及一种药物组合物，所述药物组合物包含本发明所述化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物及药学上可接受的载体、稀释剂、赋形剂。

5 本发明的另一方面涉及通式(I)所示的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物、或所述药物组合物在制备药物中的用途，其中所述药物用于治疗或者预防 FGFR 介导的疾病，例如肿瘤和炎症性疾病。

根据本发明，所述药物可以是任何药物剂型，包括但不限于片剂、胶囊剂、溶液剂、冻干制剂、注射剂。

10 本发明的药物制剂可以以每剂量单位包含预定量的活性成分的剂量单位形式给药。这种单位可根据治疗的病症、给药方法和患者的年龄、体重和状况包含例如 0.5 毫克至 1 克，优选 1 毫克至 700 毫克，特别优选 5 毫克至 300 毫克的本发明的化合物，或药物制剂可以以每剂量单位包含预定量的活性成分的剂量单位形式给药。优选剂量单位制剂是包含如上指示的日剂量或分剂量或其相应分数的活性成分的那些。
15 此外，可以使用制药领域中公知的方法制备这种类型的药物制剂。

本发明药物制剂可适于通过任何所需的合适方法给药，例如通过经口（包括口腔或舌下）、直肠、经鼻、局部（包括口腔、舌下或经皮）、阴道或肠道外（包括皮下、肌内、静脉内或皮内）方法给药。
20 可以使用制药领域中已知的所有方法通过例如将活性成分与一种或多种赋形剂或一种或多种辅助剂合并来制备这样的制剂。

具体实施方式

除非有相反陈述，否则下列用在说明书和权利要求书中的术语具有
25 下述含义。

在本文中使用的表示方式“C_{x-y}”表示碳原子数的范围，其中x和y均为整数，例如C₃₋₈环烷基表示具有3-8个碳原子的环烷基，即具有3、4、5、6、7或8个碳原子的环烷基。还应理解，“C3-8”还包含其中的任意亚范围，例如C3-7、C3-6、C4-7、C4-6、C5-6等。

30 “烷基”指含有 1 至 20 个碳原子，例如 1 至 18 个碳原子、1 至 12 个碳原子、1 至 8 个碳原子、1 至 6 个碳原子或 1 至 4 个碳原子的饱和的直链或支链的烃基基团。烷基的非限制性实例包括甲基、乙基、正

丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基和 2-乙基丁基。所述烷基可以是取代的或未取代的。

“烯基”指含有至少一个碳碳双键和通常 2 至 20 个碳原子，例如 2 至 8 个碳原子、2 至 6 个碳原子或 2 至 4 个碳原子的直链或支链的烃基基团。烯基的非限制性实例包括乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、2-甲基-2-丙烯基、1,4-戊二烯基和 1,4-丁二烯基。所述烯基可以是取代的或未取代的。

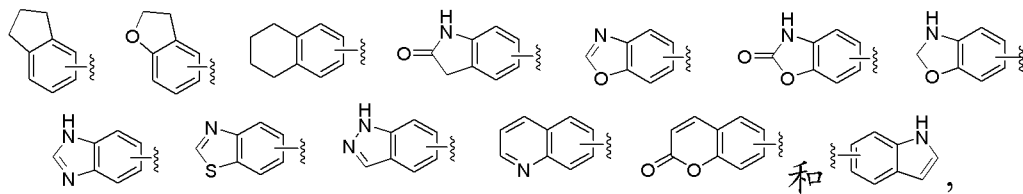
“炔基”指含有至少一个碳碳三键和通常 2 至 20 个碳原子，例如 2 至 8 个碳原子、2 至 6 个碳原子或 2 至 4 个碳原子的直链或支链的烃基基团。炔基的非限制性实例包括乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基和 3-丁炔基。所述炔基可以是取代的或未取代的。

“环烷基”指含有 3 至 14 个碳环原子的饱和环形烃基取代基。环烷基可以是单碳环，通常含有 3 至 7 个碳环原子。单环环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。环烷基可选择地可以是稠合到一起的双或三环，如十氢萘基。所述环烷基可以是取代的或未取代的。

“杂环或杂环基”指饱和或部分不饱和的单环或多环环状基团，其包括 3 至 20 个环原子，例如可以是 3 至 16 个、3 至 14 个、3 至 12 个、3 至 10 个、3 至 8 个、3 至 6 个或 5 至 6 个环原子，其中一个或多个环原子选自氮、氧或 $S(O)_m$ （其中 m 是整数 0 至 2），但不包括 -O-O-、-O-S- 或 -S-S- 的环部分，其余环原子为碳。优选包括 3 至 12 个环原子，更优选 3 至 10 个环原子，最优选 5 或 6 个环原子，其中 1~4 个是杂原子，更优选 1~3 个是杂原子，最优选 1~2 个是杂原子。单环杂环基的非限制性实例包含吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基、氧杂环己烷基和氮杂环丁烷基。多环杂环基包括稠合、桥接或螺多环杂环基。所述杂环或杂环基可以是取代的或未取代的。

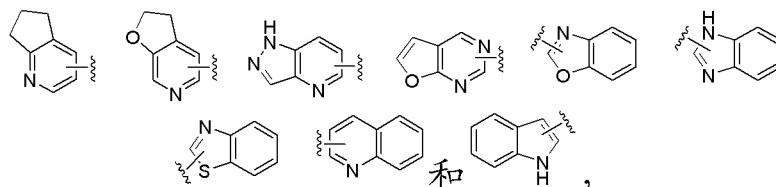
“芳基”指含有 6 至 14 个碳原子的芳香族单环或稠合多环基团，优选为 6 至 10 元，例如苯基和萘基，最优选苯基。所述芳基环可以稠合于杂芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为

芳基环，非限制性实例包括：



所述芳基可以是取代的或未取代的。

- 5 “杂芳基或杂芳环”指包含 5 至 14 个环原子的杂芳族体系，其中 1 至 4 个环原子选自包括氧、硫和氮的杂原子。杂芳基优选为 5 至 10 元。更优选杂芳基是 5 元或 6 元，例如呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、N-烷基吡咯基、嘧啶基、吡嗪基、吡唑基、咪唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基等。所述杂芳基环可以稠合于芳基、杂
- 10 环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂芳基环，非限制性实例包括：



所述杂芳基可以是取代的或未取代的。

- 15 “卤素”指氟、氯、溴或碘。

“氰基”指-CN。

- “任选”或“任选地”意味着随后所描述的事件或环境可以但不必发生，该说明包括该事件或环境发生或不发生地场合。例如，“任选被烷基取代的杂环基团”意味着烷基可以但不必须存在，该说明包括杂环基
- 20 团被烷基取代的情形和杂环基团不被烷基取代的情形。

- “取代的”指基团中的一个或多个氢原子，优选为 5 个，更优选为 1~3 个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定（通过实验或理论）可能或不可能的取代。例如，具
- 25 有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和（如烯属）键的碳原子结合时可能是不稳定的。所述取代基包括但不限于羟基、氨基、卤素、氰基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₈ 环烷基等。

“药物组合物”指含有一种或多种本文所述的化合物或其可药用的盐或前药以及其他组分例如可药用的载体和赋形剂的组合物。药物组

合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

“异构体”指具有相同分子式但其原子结合的性质或顺序或其原子的空间排列不同的化合物称为“异构体”。其原子空间排列不同的异构体称为“立体异构体”。立体异构体包括光学异构体、几何异构体和构象异构体。

本发明的化合物可以以光学异构体形式存在。根据手性碳原子周围取代基的构型，这些光学异构体是“R”或“S”构型。光学异构体包括对映异构体和非对映异构体。制备和分离光学异构体的方法是本领域中已知的。

本发明的化合物也可以存在几何异构体。本发明考虑由碳-碳双键、碳-氮双键、环烷基或杂环基团周围的取代基的分布所产生的各种几何异构体和其混合物。碳-碳双键或碳-氮键周围的取代基指定为 Z 或 E 构型，环烷基或杂环周围的取代基指定为顺式或反式构型。

本发明的化合物还可能显示互变异构现象，例如酮-烯醇互变异构。应该理解，本发明包括任何互变异构或立体异构形式和其混合物，并且不仅仅限于化合物的命名或化学结构式中所使用的任何一个互变异构或立体异构形式。

“同位素”是在本发明化合物中出现的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子序数但不同质量数的那些原子。适合并入本发明化合物中的同位素的实例是氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯，分别例如但不限于 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 和 ^{36}Cl 。本发明的同位素标记化合物通常可通过本领域技术人员已知的传统技术或通过与所附实施例中描述的那些类似的方法使用适当的同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂来制备。这样的化合物具有各种潜在用途，例如作为测定生物活性中的标样和试剂。在稳定同位素的情况下，这样的化合物具有有利地改变生物、药理学或药代动力学性质的潜力。

“前药”是指本发明的化合物可以以前药的形式给予。前药是指在活体内的生理条件下例如通过氧化、还原、水解等（它们各自利用酶或在没有酶参与下进行）转成本发明的生物活性化合物的衍生物。前药的实例是下述化合物：其中本发明的化合物中的氨基被酰化、烷基

化或磷酸化，例如二十烷酰基氨基、丙氨酰氨基、新戊酰氧基甲基氨基，或其中羟基被酰化、烷基化、磷酸化或转化成硼酸盐，例如乙酰氧基、棕榈酰氧基、新戊酰氧基、琥珀酰氧基、富马酰氧基、丙氨酰氧基，或其中羧基被酯化或酰胺化，或其中巯基与选择性地靶向和/或向细胞的胞质溶胶递送药物的载体分子，例如肽形成二硫桥键。这些化合物可以由本发明的化合物根据公知方法制备。

“可药用的盐”或者“药学上可接受的盐”是指由可药用的碱或酸，包括无机碱或酸和有机碱或酸制成的盐。在本发明的化合物含有一个或多个酸性或碱性基团的情况下，本发明还包含它们相应的可药用盐。因此，含有酸性基团的本发明的化合物可以以盐形式存在并可根据本发明使用，例如作为碱金属盐、碱土金属盐或作为铵盐。这样的盐的更确切实例包括钠盐、钾盐、钙盐、镁盐或与氨或有机胺，例如乙胺、乙醇胺、三乙醇胺或氨基酸的盐。含有碱性基团的本发明的化合物可以以盐形式存在并可根据本发明以它们与无机或有机酸的加成盐的形式使用。合适的酸的实例包括盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸、硝酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、苯二磺酸、草酸、乙酸、酒石酸、乳酸、水杨酸、苯甲酸、甲酸、丙酸、特戊酸、丙二酸、琥珀酸、庚二酸、富马酸、马来酸、苹果酸、氨基磺酸、苯基丙酸、葡萄糖酸、抗坏血酸、异烟酸、柠檬酸、己二酸和本领域技术人员已知的其它酸。如果本发明的化合物在分子中同时含有酸性和碱性基团，本发明除所提到的盐形式外还包括内盐或内铵盐。各盐可通过本领域技术人员已知的常规方法获得，例如通过在溶剂或分散剂中使这些与有机或无机酸或碱接触或通过与其它盐阴离子交换或阳离子交换。

因此，在本申请中当提及“化合物”、“本发明化合物”或“本发明所述化合物”时，包括所有所述化合物形式，例如其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体及其混合物。

在本文中，术语“肿瘤”包括良性肿瘤和恶性肿瘤(例如癌症)。

在本文中，术语“癌症”包括 FGFR 参与其发生的各种恶性肿瘤，包括但不限于非小细胞肺癌、食管癌、黑色素瘤、横纹肌肉瘤、肾细胞癌、多发性骨髓瘤、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、胃癌、结肠癌、膀胱癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、前列腺癌和肝癌（例如肝

细胞癌)，更具体为肝癌、胃癌、非小细胞肺癌和膀胱癌。

在本文中，术语“炎症性疾病”是指 FGFR 参与其炎症发生的任何炎症性疾病，例如骨关节炎。

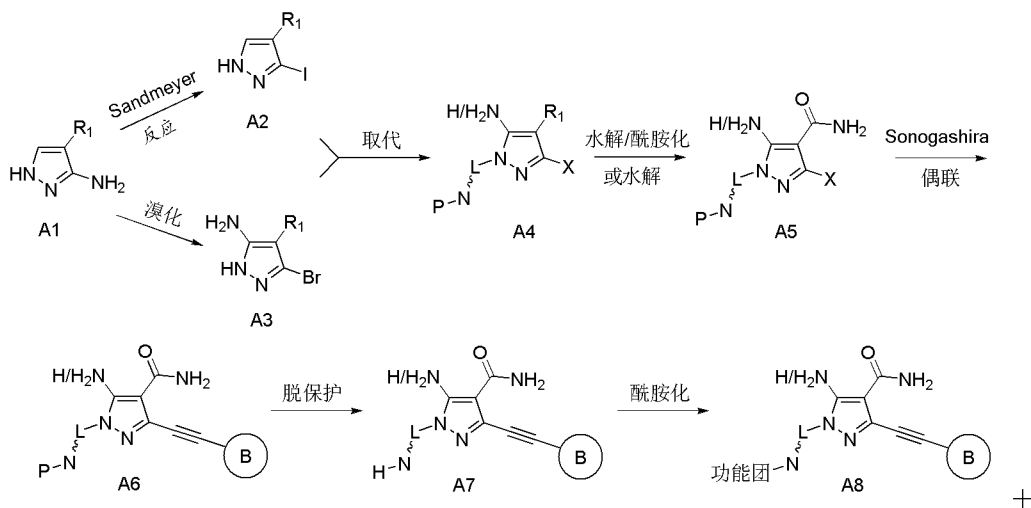
在本文中，术语“治疗有效量”是指包括可有效抑制 FGFR 的功能和/或治疗或防止所述疾病的本发明化合物的量。

合成方法

本发明还提供制备所述化合物的方法。本发明通式 (I) 所述化合物的制备，可通过以下示例性方法和实施例完成，但这些方法和实施例不应以任何方式被认为是对本发明范围的限制。也可通过本领域技术人员所知的合成技术合成本发明所述的化合物，或者综合使用本领域已知方法和本发明所述方法。每步反应所得的产物用本领域已知的分离技术得到，包括但不限于萃取、过滤、蒸馏、结晶、色谱分离等。合成所需的起始原料和化学试剂可以根据文献(可从 SciFinder 上查询)常规合成或购买。

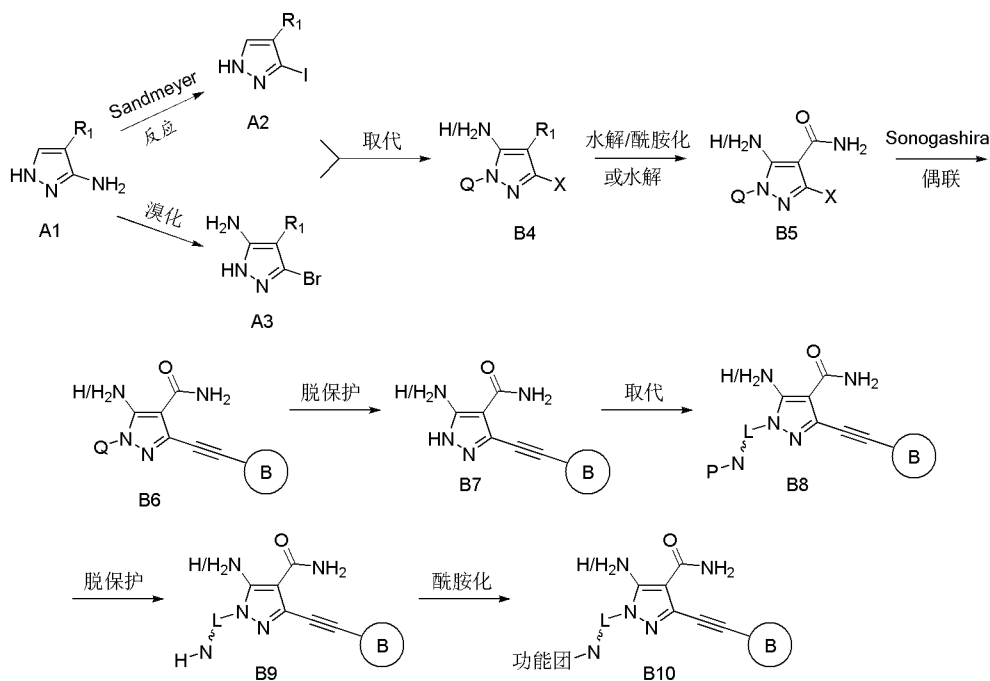
本发明通式 (I) 所述吡唑类化合物可按照方法 A 所述路线合成：
1) 起始物 A1 通过桑德迈尔 (Sandmeyer) 反应得到 A2，也可被溴化得到 A3，其中的 R₁ 可以是 -CN 或酯 (-COOR，其中 R 为烷基)；
2) A2 或 A3 与前体 X-L~N-P (其中 X 为离去基团、L~N-P 为含有带保护氨基的功能团、P 为氨基的保护基) 在碱催化下发生取代反应生成 A4，也可与一帶有羟基的前体 (HO-L~N-P) 通过光延反应 (Mitsunobu 反应) 得到 A4；
3) 当 A4 的 R₁ 是 -CN，在 NaOH/H₂O₂ 条件下水解成酰胺 A5；当 A4 的 R₁ 是酯 (-COOR，其中 R 为烷基)，先在碱性条件 (比如 LiOH) 下水解成羧酸，然后酰胺化得到 A5；
4) A5 与炔通过 Sonogashira 偶联得到 A6；
5) A6 中氨基去保护得到 A7；
6) A7 中的氨基被含有和激酶配体结合域内半胱氨酸残基起反应的功能团的化学试剂 (例如 BrCN、烯丙酰氯等) 衍生化得到目标化合物 A8。

方法 A:



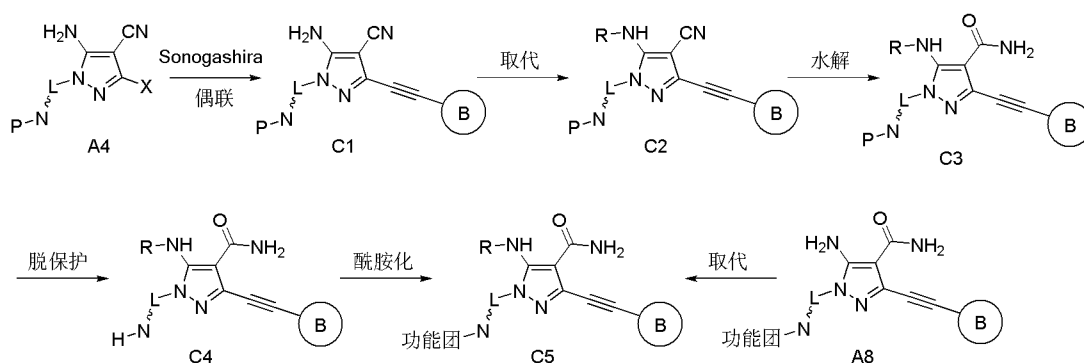
另外也可以按照方法 B 所述路线合成，在第二步引入吡唑 NH 保护基 Q，在第五步脱保护得到共同的中间体 B7，B7 的吡唑 NH 再与含有带保护氨基的不同前体反应取代反应，经过脱保护和衍生化，从而得到目标产物 A8。

方法 B:



本发明通式 (I) 所述吡唑类化合物还可以按照方法 C 所述路线合成：1) A4 先与炔通过 Sonogashira 偶联得到 C1；2) C1 中的 $-NH^2$ 在碱催化下发生取代反应或通过还原氨化生成 C2；3) C2 的 CN 在 NaOH/H₂O₂ 条件下水解成酰胺 C3，在有些情况下需先用 Boc 保护 $-NH-$ ，然后再水解；最后经过脱保护和衍生化，从而得到目标产物 C5；C5 也可通过对 A8 进行直接取代而得到。

方法 C:



实施例

5 化合物的结构是通过核磁共振 (NMR) 或质谱 (MS) 来确定的。NMR 的测定是用 Bruker AVANCE-400 或 Varian Oxford-300 核磁仪, 测定溶剂为氘代二甲基亚砷 (DMSO-*d*₆)、氘代氯仿 (CDCl₃)、氘代甲醇 (CD₃OD), 内标为四甲基甲硅烷 (TMS), 化学位移是以 10⁻⁶ (ppm) 作为单位给出。

10 MS 的测定用 Agilent SQD (ESI) 质谱仪 (生产商: Agilent, 型号: 6120)。

HPLC 的测定使用安捷伦 1200 DAD 高压液相色谱仪 (Sunfire C18, 150×4.6mm, 5μm 色谱柱) 和 Waters 2695-2996 高压液相色谱仪 (Gimini C18 150×4.6mm, 5μm 色谱柱)。

15 薄层层析硅胶板使用青岛海洋 GF254 硅胶板, 薄层色谱法 (TLC) 使用的硅胶板采用的规格是 0.15mm~0.2mm, 薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4mm~0.5mm 硅胶板。

柱层析一般使用青岛海洋 200~300 目硅胶为载体。

20 本发明的已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成, 或可购买自 ABCR GmbH&Co. KG、Acros Organics、Aldrich Chemical Company、韶远化学科技 (Accela ChemBio Inc.)、北京耦合化学品公司等公司。

实施例中如无特殊说明, 反应均在氩气氛或氮气气氛下进行。

氩气氛或氮气气氛是指反应瓶连接一个约 1L 容积的氩气或氮气气球。

25 氩气氛是指反应瓶连接一个约 1L 容积的氩气气球。

加压氢化反应使用北京佳维科创科技有限公司 GCD-500G 高纯氢

气发生器和 BLT-2000 中压氢化仪。

氢化反应通常抽真空，充入氢气，反复操作 3 次。

微波反应使用 CEM Discover-SP 型微波反应器。

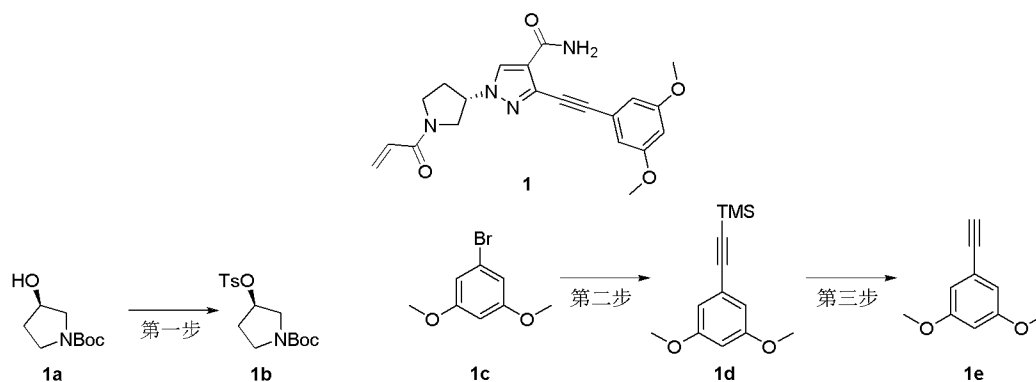
实施例 5 中如无特殊说明，反应的温度为室温，温度范围是 20°C - 30°C。

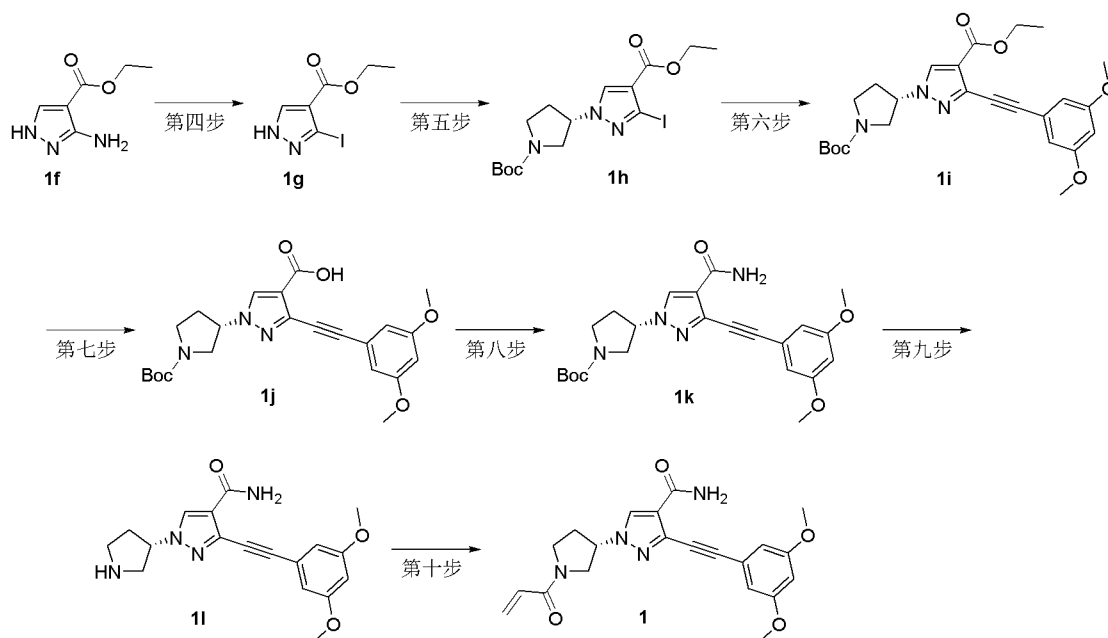
实施例中的反应进程的监测采用薄层色谱法 (TLC)，反应所使用的展开剂的体系有 A：二氯甲烷和甲醇体系；B：石油醚和乙酸乙酯体系，溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节。

纯化化合物采用的柱层析的洗脱剂的体系和薄层色谱法的展开剂的体系包括 A：二氯甲烷和甲醇体系；B：石油醚和乙酸乙酯体系，溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节，也可以加入少量的三乙胺和酸性或碱性试剂等进行调节。

实施例 1

15 (S)-1-(1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺





第一步

(R)-3-(甲苯磺酰氧代)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯

将化合物(R)-3-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 1a (3.5g, 18.7mmol)、
 5 三乙胺 (5.25mL, 37.9mmol)、4-二甲氨基吡啶 (0.35g, 2.87mmol)
 溶于二氯甲烷 (50mL)，加入对甲苯磺酰氯 (5.4g, 28.1mmol)，将
 反应混合物在室温下搅拌 12 小时。加水 (50mL) 稀释，用乙酸乙酯
 (100mL×3) 萃取。有机相合并后用无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥
 剂，在减压下除去溶剂，残余物用硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯 =
 10 2/1)，得到目标产物(R)-3-(甲苯磺酰氧代)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 1b
 (6.0g, 黄色油状物)，产率：94%。

MS m/z (ESI): 364[M+23]

第二步

((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)三甲基甲硅烷

15 将混合物 1-溴-3,5-二甲氧基苯 1c (6.51g, 30mmol)、三甲基甲硅
 基乙炔 (8.8g, 90mmol)、二(三苯基膦)氯化钯 (1.05g, 1.5mmol)、
 碘化亚铜 (0.56g, 3.0mmol)、三乙胺 (80mL) 和 N,N-二甲基甲酰胺
 (150mL) 加热至 80°C，并在氮气保护下搅拌 12 小时。将反应混合物
 冷却至室温，减压浓缩，残余物用硅胶柱层析纯化(石油醚)，得到
 20 目标产物((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)三甲基甲硅烷 1d (6.2g, 棕色固
 体)，产率：88%。

MS m/z (ESI): 235[M+1]

第三步

1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯

将((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)三甲基甲硅烷 1d (3.0g, 12.8mmol) 溶于甲醇 (100mL), 加入碳酸钾 (3.5g, 25.6mmol), 并在室温下搅拌 2 小时。过滤, 减压浓缩滤液, 残余物用硅胶柱层析纯化(石油醚), 得到目标产物 1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯 1e (2g, 黄色固体), 产率: 96%。

第四步

3-碘-1H-吡唑-4-甲酸乙酯

将 3-氨基-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 1f (4.7g, 30.3mmol) 溶于浓盐酸 (12M, 40mL), 并冷却至 0°C, 加入亚硝酸钠 (4.25g, 60mmol) 溶液 (7.5mL), 搅拌 5 分钟, 然后缓慢加入碘化钾 (12.5g, 75mmol) 溶液 (17.5mL), 继续搅拌 30 分钟。将上述反应混合物倒入饱和硫代硫酸钠溶液 (200mL), 用乙酸乙酯 (400mL×3) 萃取。有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 在减压下除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 2/1), 得到目标产物 3-碘-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 1g (6.4g, 浅黄色固体), 产率: 80%。

MS m/z (ESI): 267[M+1]

第五步

(S)-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-3-碘-1H-吡唑-4-甲酸乙酯

将 3-碘-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 1g (4.5g, 17mmol)、(R)-3-(甲苯磺酰氧代)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 1b (6.1g, 17.8mmol)、碳酸铯 (7.5g, 20.4mmol) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (50mL) 的混合物加热到 80°C, 搅拌 3 小时。将反应混合物冷却至室温, 倒入饱和碳酸氢钠溶液 (200mL) 中, 用乙酸乙酯 (300mL×3) 萃取。有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 在减压下除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯 = 5/1 到 2/1), 得到目标产物(S)-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-3-碘-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 1h (3.1g, 淡黄色固体), 产率: 42%。

MS m/z (ESI): 458[M+23]

第六步

(S)-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯

将(S)-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-3-碘-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 1h (1g, 2.25mmol)、1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯 1e (0.75g, 4.5mmol)、二(三苯基膦)氯化钯(175mg, 0.25mmol)、碘化亚铜(95mg, 0.5mmol)、三乙胺(12.5ml)和 N,N-二甲基甲酰胺(12.5mL)的混合物加热到 80°C, 5 搅拌 12 小时。将反应混合物冷却至室温, 在减压下除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯 = 2/1), 得到目标产物(S)-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 1i (0.95g, 黄色油状物), 产率: 90%。

MS m/z (ESI): 414[M+1-56]

10 第七步

(S)-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酸

将(S)-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 1i (0.30g, 0.64mmol)溶于四氢呋喃(3mL), 15 加入氢氧化钠溶液(4M, 2mL), 室温搅拌 1 小时。将反应混合物减压浓缩, 残余物用盐酸(6M, 1mL)酸化, 用乙酸乙酯(10mL×3)萃取。有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 在减压下除去溶剂, 得到目标产物(S)-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酸 1j (200mg, 淡黄色油状物), 产 20 率: 71%。

MS m/z (ESI): 386[M+1-56]

第八步

(S)-3-(4-氨甲酰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯

25 将(S)-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酸 1j(220mg, 0.5mmol)、氯化铵(270mg, 5mmol)、O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脒鎓六氟磷酸盐(HATU)(228mg, 0.6mmol)、N,N-二异丙基乙胺(129mg, 1mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(5mL)的反应混合物在室温下搅拌过夜。加水稀释, 用 30 乙酸乙酯萃取。有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 在减压下除去溶剂, 残余物用薄层硅胶制备色谱纯化(二氯甲烷/甲醇 = 20/1), 得到目标产物(S)-3-(4-氨甲酰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔

基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 1k (140mg, 白色固体), 产率: 64%。

MS m/z (ESI): 385[M+1-56]

第九步

5 (S)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将(S)-3-(4-氨甲酰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 1k (50mg, 0.11mmol)、盐酸 (6M, 5mL) 和二氧六环 (5mL) 的反应混合物在室温下搅拌 1 小时。在减压下除去溶
10 剂, 得到目标产物(S)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 1l (42mg, 盐酸盐, 粗品), 产率: 100%。

MS m/z (ESI): 341[M+1]

第十步

15 (S)-1-(1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

向(S)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺盐酸盐 1l (30mg, 0.08mmol)、N,N-二异丙基乙胺 (31mg, 0.24mmol) 和四氢呋喃 (15mL) 的混合物中滴加丙烯酰氯 (11mg, 0.12mmol) 的四氢呋喃 (5mL) 溶液, 将反应混合物在室温下搅拌 30
20 分钟。加水 (30mL) 淬灭, 用乙酸乙酯萃取。有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 在减压下除去溶剂, 残余物用薄层硅胶制备色谱纯化(二氯甲烷/甲醇 = 20/1), 得到目标产物(S)-1-(1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 1 (15mg, 白色固体), 产率: 50%。

25 MS m/z (ESI): 395[M+1]

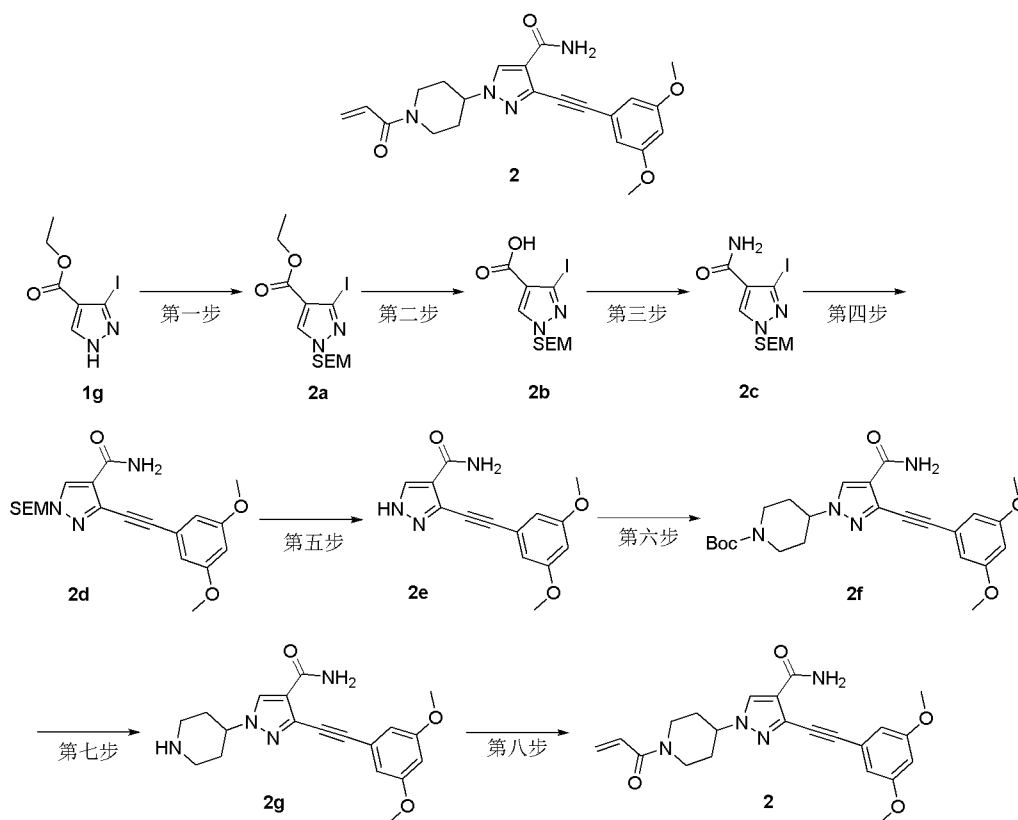
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.10 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 6.96 (brs, 1H), 6.71 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 6.54 - 6.52 (m, 1H), 6.46 - 6.39 (m, 2H), 5.80 (brs, 1H), 5.76 - 5.72 (m, 1H), 5.01 - 4.92 (m, 1H), 4.13 - 4.00 (m, 2H), 3.90 - 3.75 (m, 8H), 2.62 - 2.44 (m, 2H)。

30

实施例 2

1-(1-丙烯酰基哌啶-4-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑

-4-甲酰胺



第一步

5 3-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯

将化合物 3-碘-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 1g (2.01g, 7.5mmol) 溶于四氢呋喃(80mL)并冷却至 0°C, 加入氢化钠(60%矿物油分散体, 0.42g, 10.5mmol), 室温下搅拌 1 小时。向反应混合物中加入 2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯(1.76g, 10.5mmol), 继续搅拌 15 小时。向反应混合物中加入饱和食盐水(100mL), 用乙酸乙酯萃取(150mL×2)。有机相合并后用饱和食盐水洗涤(100mL), 在减压下除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯 = 5/1 到 1/2), 得到目标产物 3-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 2a(2.6g, 无色油状物), 产率: 87%。

15 MS m/z (ESI): 397[M+1]

第二步

3-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲酸

将化合物 3-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯 2a (2.6g, 6.5mmol) 溶于四氢呋喃(40mL), 加入氢氧化锂水溶液(1M, 13mL)并在室温下搅拌 15 小时。加水(20mL)稀释, 用

盐酸 (1M) 酸化至 pH = 4-5, 用乙酸乙酯萃取 (50mL×3)。有机相合并后用饱和食盐水 (100mL) 洗涤, 在减压下除去溶剂, 干燥后得到目标产物 3-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲酸 2b (2.03g, 白色固体), 产率: 85%。

5 MS m/z (ESI): 391[M+23]

第三步

3-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物 3-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲
酸 2b (2.03g, 5.5mmol)、二异丙基乙基胺 (2.13g, 16.5mmol) 和 N,
10 N-二甲基甲酰胺 (20mL) 混合, 依次加入 O-(7-氮杂苯并三唑-1-
基)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐 (HATU) (2.5g, 6.6mmol) 和
1-羟基苯并三唑 (890mg, 6.6mmol), 室温下搅拌 1 小时后加入固体
氯化铵 (1.47g, 27.5mmol), 继续搅拌 15 小时。向反应混合物物中加
入饱和食盐水 (30mL), 用乙酸乙酯萃取 (50mL×3)。有机相合并后
15 用饱和食盐水洗涤 (100mL), 在减压下除去溶剂后, 残余物用硅胶柱
层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1), 得到目标产物 3-碘-1-((2-(三甲基
甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 2c (2.3g, 黄色油状物), 产
率: 100%。

MS m/z (ESI): 368[M+1]

20 第四步

3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲
基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物 3-碘-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲
酰胺 2c (2.7g, 7.3mmol)、1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯 (1.78g, 11mmol)、
25 三乙胺 (2.2g, 21.9mmol)、二(三苯基磷)氯化钨 (512mg, 0.73mmol)
和无水四氢呋喃 (70mL) 混合, 除氧, 在氩气气氛下室温搅拌 15 小时。
在减压下除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析纯化 (乙酸乙酯/石油醚 = 10/1
至 2/1) 得到目标产物 3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-((2-(三甲基甲硅
烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 2d (1.5g, 黄色固体), 产率:
30 51%。

MS m/z (ESI): 402[M+1]

第五步

3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将 3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 2d (1.4g, 3.5mmol)、乙二胺 (525mg, 8.75mmol) 和四氢呋喃 (30mL) 混合, 加入四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液 (1M, 17.5mL, 17.5mmol)。加热回流 15 小时后, 冷却至室温, 加入饱和食盐水 (20mL), 用乙酸乙酯 (100mL×3) 萃取。有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 在减压下除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1), 得到目标产物 3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 2e (600mg, 白色固体), 产率: 63%。

MS m/z (ESI): 272[M+1]

第六步

4-(4-氮甲酰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-甲酸叔丁基酯

将化合物 3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 2e (180mg, 0.66mmol)、4-溴哌啶-1-甲酸叔丁基酯 (264mg, 0.99mmol)、碳酸钾 (182mg, 1.32mmol) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (10mL) 混合后, 加热到 75°C, 搅拌 15 小时。加入水 (30mL), 用乙酸乙酯 (50mL×3) 萃取。有机相合并后用饱和食盐水洗涤, 并用无水硫酸钠干燥。过滤除去干燥剂, 在减压下除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1), 得到目标产物 4-(4-氮甲酰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-甲酸叔丁基酯 2f (120mg, 黄色固体, 含区域异构体), 产率: 40%。

MS m/z (ESI): 477[M+23]

第七步

3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物 4-(4-氮甲酰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-甲酸叔丁基酯 2f (120mg, 0.26mmol, 混合物) 溶于乙醇 (20mL), 加入氯化氢的乙醇溶液 (4M, 1mL, 4mmol), 室温下搅拌 15 小时。在减压下除去溶剂, 残余物溶于甲醇 (20mL) 后, 用饱和碳酸氢钠溶液调节至 pH = 8-9。再次在减压下除去溶剂后, 残余物用硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 10/1), 得到目标产物 3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 2g (25mg, 白色固体),

产率：27%。

MS m/z (ESI): 355[M+1]

第八步

1-(1-丙烯酰基哌啶-4-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物 3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 2g (25mg, 0.07mmol)、烯丙酰氯 (10mg, 0.11mmol)、固体碳酸氢钠 (18mg, 0.21mmol)、水 (2mL) 和四氢呋喃 (10mL) 在 0°C 混合并在此温度下搅拌 10 小时。用乙酸乙酯 (20mL×3) 萃取，有机相合并后用无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥剂，在减压下除去溶剂，残余物用硅胶柱层析纯化(二氯甲烷/甲醇 = 10/1)，得到目标产物 1-(1-丙烯酰基哌啶-4-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 2 (17mg, 白色固体)，产率：60%。

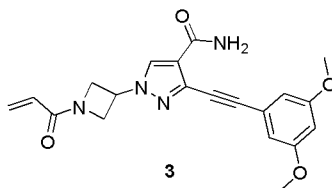
MS m/z (ESI): 409[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.10 (s, 1H), 7.01 (brs, 1H), 6.72 (d, J = 2.2 Hz, 2H), 6.62 (dd, J = 16.8, 10.6 Hz, 1H), 6.55 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 6.33 (dd, J = 16.8, 1.5 Hz, 1H), 5.80 (brs, 1H), 5.76 (dd, J = 10.6, 1.6 Hz, 1H), 4.81 (brs, 1H), 4.40 (t, J = 11.4 Hz, 1H), 4.18 (brs, 1H), 3.82 (s, 6H), 3.26 (brs, 1H), 2.89 (brs, 1H), 2.42 - 2.25 (m, 2H), 2.08 - 2.00 (m, 2H)。

参照实施例 2 的操作步骤合成实施例 3-6:

实施例 3

1-(1-丙烯酰基氮杂环丁烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



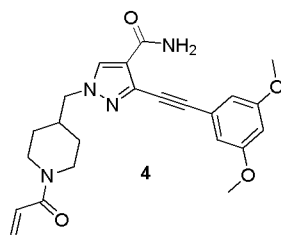
MS m/z (ESI): 381[M+1]

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.43 (s, 1H), 7.30 (s, 2H), 6.73 (d, J = 2.2 Hz, 2H), 6.60 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 6.38 (dd, J = 17.0, 10.3 Hz, 1H), 6.16 (dd, J = 17.0, 2.1 Hz, 1H), 5.73 (dd, J = 10.3, 2.1 Hz, 1H), 5.41 - 5.28

(m, 1H), 4.71 (t, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.50 (dd, $J = 9.2, 4.9$ Hz, 1H), 4.46 - 4.36 (m, 1H), 4.20 (dd, $J = 10.7, 4.8$ Hz, 1H), 3.78 (s, 6H)。

实施例 4

- 5 1-((1-丙烯酰基哌啶-4-基)甲基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

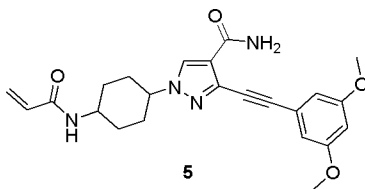


MS m/z (ESI): 423[M+1]

- ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.00 (s, 1H), 6.98 (brs, 1H), 6.72 (s, 2H), 6.61 - 6.54 (m, 2H), 6.28 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.87 (brs, 1H), 5.70 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 4.72 (brs, 1H), 4.04 (brs, 3H), 3.82 (s, 6H), 3.05 (brs, 1H), 2.64 (brs, 1H), 2.27 (brs, 1H), 1.69 (brs, 2H), 1.24 (brs, 2H)。

实施例 5

- 15 1-(4-丙烯酰基氨基环己基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



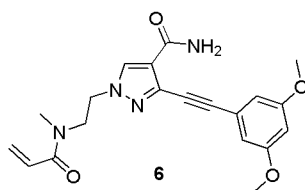
MS m/z (ESI): 423[M+1]

- ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.25 (s, 1H), 6.77 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H), 6.58 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H), 6.38 (dd, $J = 17.1, 10.0$ Hz, 1H), 6.26 (dd, $J = 17.1, 2.0$ Hz, 1H), 5.68 (dd, $J = 10.1, 2.0$ Hz, 1H), 4.38 - 4.33 (m, 1H), 4.13 - 4.11 (m, 1H), 3.82 (s, 6H), 2.28 - 2.18 (m, 2H), 2.07 - 2.02 (m, 2H), 1.96 - 1.80 (m, 4H)。

25 实施例 6

3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(2-(N-甲基丙烯酰基氨基)乙

基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

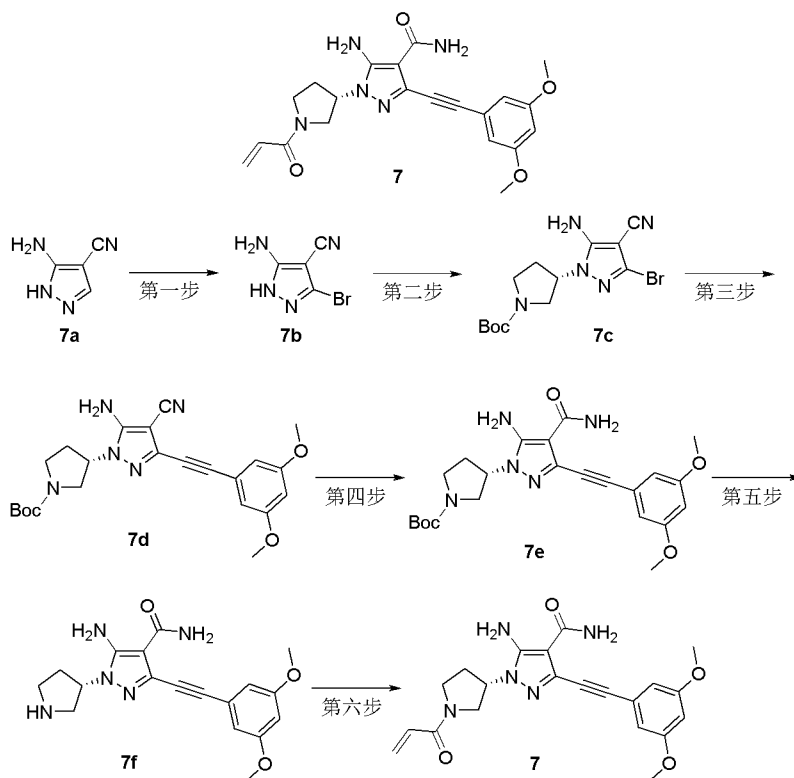


MS m/z (ESI): 383[M+1]

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.24 (s, 1H), 7.10 - 6.90 (m, 2H), 6.76 (s, 2H), 6.69 - 6.54 (m, 2H), 6.07 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 5.64 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 4.37 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.89 - 3.80 (m, 8H), 2.94 (s, 3H)。

实施例 7

(S)-1-(1-(丙烯酰基吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

5-氨基-3-溴-1H-吡唑-4-甲腈

15 将化合物 5-氨基-1H-吡唑-4-甲腈 7a (20g, 185mmol) 溶于 N,N -二甲基甲酰胺(200mL), 冷却至 0°C , 分批加入 N -溴代丁二酰亚胺(34g, 190mmol), 升至室温搅拌 2 小时。将反应液倒入亚硫酸钠溶液中, 用乙酸乙酯 (200mL $\times$ 3) 萃取, 有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤

除去干燥剂，减压浓缩，残余物用硅胶柱层析纯化（二氯甲烷/甲醇 = 20/1），得到目标产物 5-氨基-3-溴-1H-吡唑-4-甲腈 7b (32g, 黄色固体)，产率：93%。

MS m/z (ESI): 187/189[M+1]

5 第二步

(S)-3-(5-氨基-3-溴-4-氰基-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯

将 5-氨基-3-溴-1H-吡唑-4-甲腈 7b (10g, 53.8mmol)、3-(甲苯磺酰氧代)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 (22g, 64.5mmol)、碳酸铯 (58g, 107.6mmol) 和乙腈 (250mL) 的混合物加热到 90°C 反应 4 小时。冷却至室温，过滤，滤饼用二氯甲烷洗涤，滤液合并后减压浓缩，残余物用硅胶柱层析纯化（石油醚/乙酸乙酯 = 5/1），得到目标产物(S)-3-(5-氨基-3-溴-4-氰基-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 7c (5g, 黄色油状物)，产率：26%。

MS m/z (ESI): 300/302[M+1-56]

15 第三步

(S)-3-(5-氨基-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯

将(S)-3-(5-氨基-3-溴-4-氰基-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 7c (5g, 14.1mmol)、碘化亚铜 (0.6g, 2.8mmol)、三乙胺 (9mL)、[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钨 (2g, 2.8mmol) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (150mL) 的混合物在氩气保护下加热至 80°C，分批加入 1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯 (14g, 84.5mmol)，搅拌 2 小时。冷却至室温，将反应液倒入水中，用乙酸乙酯 (200mL×3) 萃取。有机相合并后经无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥剂，减压浓缩，残余物用硅胶柱层析纯化（石油醚/乙酸乙酯 = 5/1），得到目标产物(S)-3-(5-氨基-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 7d (5g, 棕色油状物)，产率：81%。

MS m/z (ESI): 382[M+1-56]

第四步

30 (S)-3-(5-氨基-4-氨甲酰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯

将(S)-3-(5-氨基-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-

基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 7d (5g, 11.4mmol)、氢氧化钠 (1.5g, 37.5mmol, 溶于 2mL 水)、乙醇 (50mL) 和二甲基亚砜 (10mL) 的混合物冷却至 0°C, 加入双氧水 (20mL), 室温搅拌 2 小时。将反应液倒入亚硫酸钠溶液中, 用乙酸乙酯 (100mL×3) 萃取, 有机相合并后经
5 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 残余物用硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 1/1), 得到目标产物(S)-3-(5-氨基-4-氨甲酰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 7e (5g, 棕色油状物), 产率: 96%。

MS m/z (ESI): 400[M+1-56]

10 第五步

(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物(S)-3-(5-氨基-4-氨甲酰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 7e (5g, 11mmol) 溶于二氯
15 甲烷 (100mL) 中, 加入三氟乙酸 (15mL), 室温搅拌 2 小时。减压浓缩, 得到目标产物(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 7f (7.1g, 棕色油状物, 三氟乙酸盐, 粗品), 产率: >100%, 产物不经纯化直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 356[M+1]

20 第六步

(S)-1-(1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 7f (7.1g, 11mmol, 三氟乙酸盐, 粗品) 溶于四
25 氢呋喃 (50mL) 中, 冷却至 0°C, 先后加入碳酸氢钠饱和溶液 (20mL) 和丙烯酰氯 (900mg, 10mmol), 搅拌 30 分钟。将反应液倒入水 (100mL) 中, 并用二氯甲烷 (100mL×3) 萃取。有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 残余物用硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 1/2), 得到目标产物(S)-1-(1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 7 (1.9g, 白色固体),
30 产率: 42%。

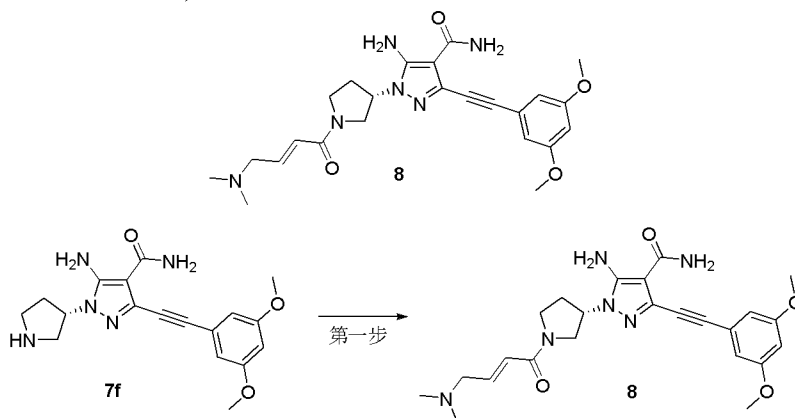
MS m/z (ESI): 410[M+1]

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.18 (brs, 1H), 6.75 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H), 6.69 - 6.55 (m, 3H), 6.20 - 6.14 (m, 1H), 5.72 - 5.67 (m, 1H), 5.03 - 4.91 (m, 1H), 4.01 - 3.96 (m, 1H), 3.84 - 3.70 (m, 7H), 3.66 - 3.60 (m, 1H), 3.55 - 3.48 (m, 1H), 2.36 - 2.21 (m, 2H)。

5

实施例 8

(S,E)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(4-(二甲氨基)丁-2-烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



10

第一步

(S,E)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(4-(二甲氨基)丁-2-烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将(E)-4-(二甲氨基)丁-2-烯酸 (23mg, 0.14mmol)、O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脒鎓六氟磷酸盐 (HATU) (64mg, 0.17mmol)、(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 7f (50mg, 0.14mmol)、N,N-二异丙基乙胺 (2mL) 和二氯甲烷 (3mL) 的反应混合物在室温下搅拌 1 小时。将反应液倒入水中，用二氯甲烷 (20mL $\times$ 3) 萃取。有机相合并后经无水硫酸钠干燥，
 15 过滤除去干燥剂，减压浓缩，残余物用高效液相制备色谱纯化，得到目标产物(S,E)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(4-(二甲氨基)丁-2-烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 8 (2.4mg, 白色固体，甲酸盐)，产率：4%。

20

MS m/z (ESI): 467[M+1]

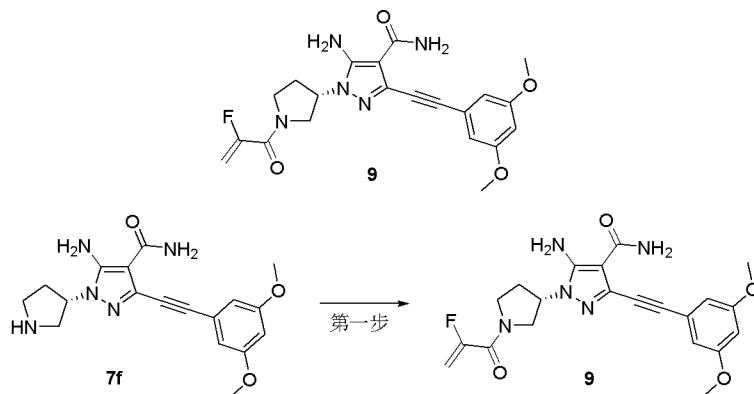
25

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.27 (brs, 1H), 7.20 (brs, 1H), 6.75 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H), 6.70 - 6.61 (m, 3H), 6.44 - 6.35 (m, 1H), 5.01 - 4.93 (m, 1H), 4.01 - 3.93 (m, 1H), 3.77 (s, 6H), 3.74 - 3.64 (m, 3H), 3.06 - 3.03 (m,

2H), 2.38 - 2.24 (m, 2H), 2.17 - 2.15 (m, 6H)。

实施例 9

(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(2-氟丙烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(2-氟丙烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 7f (50mg, 0.14mmol) 和 2-氟丙烯酸 (15mg, 0.17mmol) 溶于二氯甲烷, 加入 N,N-二异丙基乙胺 (54mg, 0.42mmol) 和 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐 (HATU) (69mg, 0.18mmol), 室温搅拌 2 小时。加水 (10mL) 稀释反应混合物, 用二氯甲烷 (10mL×3) 萃取, 有机相合并后减压浓缩。残余物用薄层硅胶制备色谱纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1), 得到目标产物(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(2-氟丙烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 9 (3.6mg, 白色固体), 产率: 6%。

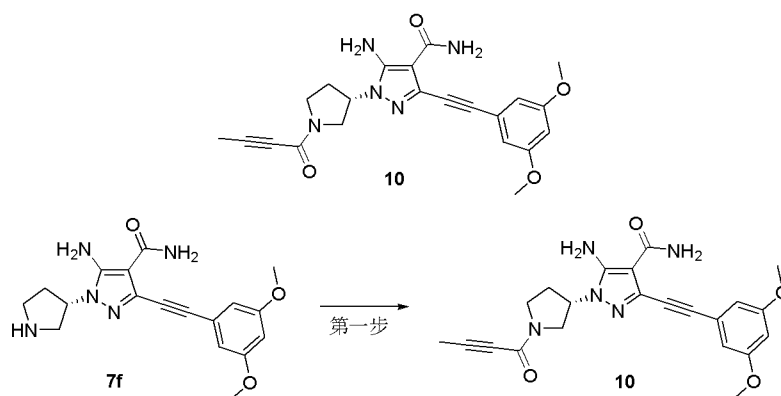
MS m/z (ESI): 428 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.62 (t, *J* = 2.5 Hz, 2H), 6.47 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H), 5.39 (dd, *J* = 47.2, 3.5 Hz, 1H), 5.16 (ddd, *J* = 16.6, 5.7, 3.5 Hz, 1H), 4.86 - 4.81 (m, 1H), 4.02 - 3.91 (m, 2H), 3.87 - 3.72 (m, 2H), 3.71 (s, 6H), 2.34 - 2.23 (m, 2H)。

实施例 10

(S)-5-氨基-1-(1-(丁-2-炔酰基)吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)

乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

- 5 (S)-5-氨基-1-(1-(丁-2-炔酰基)吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 7f (50mg, 0.14mmol) 和 2-丁炔酸 (14mg, 0.17mmol) 溶于二氯甲烷中, 加入 N,N-二异丙基乙胺 (54mg, 0.42mmol) 和 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐 (HATU) (69mg, 0.18mmol), 室温搅拌 2 小时。反应混合物用水 (10mL) 稀释, 用二氯甲烷 (10mL×3) 萃取, 有机相合并后减压浓缩。残余物用薄层硅胶制备色谱纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1), 得到目标产物(S)-5-氨基-1-(1-(丁-2-炔酰基)吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 10 (5.1mg, 淡黄色固体), 产率: 9%。

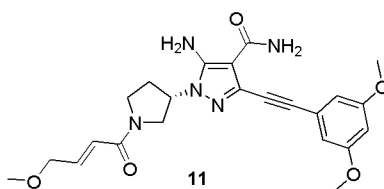
MS m/z (ESI): 422 [M+1]

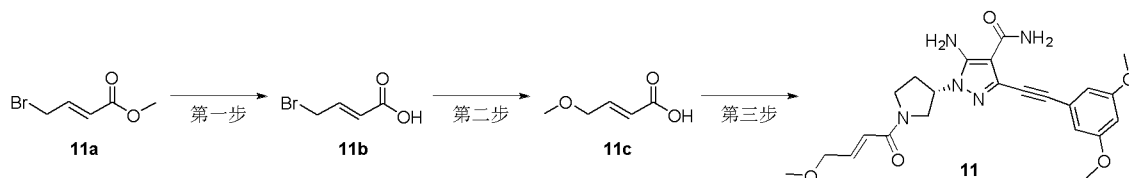
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.62 (t, J = 2.1 Hz, 2H), 6.47 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 4.85 - 4.81 (m, 1H), 4.01 - 3.86 (m, 2H), 3.77 - 3.62 (m, 7.5H), 3.54 - 3.46 (m, 0.5H), 2.32 - 2.27 (m, 2H), 1.95 - 1.93 (m, 3H)。

20

实施例 11

(S,E)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(4-甲氧基丁-2-烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺





第一步

(E)-4-溴丁-2-烯酸

将(E)-4-溴丁-2-烯酸甲酯 11a (3g, 16.8mmol)、氢氧化锂一水合物 (1.1g, 25.3mmol)、四氢呋喃 (50mL) 和水 (50mL) 在 0°C 混合并继续搅拌 2 小时。反应结束后, 用石油醚洗去四氢呋喃, 水相用 2M 盐酸调节至 pH = 1, 然后用乙酸乙酯 (100mL×2) 萃取。有机相合并后在减压下除去溶剂, 得到目标产物(E)-4-溴丁-2-烯酸 11b (2.3g, 黄色油状物), 产率: 83%。

MS m/z (ESI): 163[M-1]

第二步

(E)-4-甲氧基丁-2-烯酸

将化合物(E)-4-溴丁-2-烯酸 11b (100mg, 0.61mmol) 溶于甲醇 (5mL) 后, 加入甲醇钠的甲醇溶液 (30%, 0.55mL, 3.05mmol) 并搅拌 15 小时。反应混合物在减压下除去溶剂后溶于水, 并用稀盐酸调节至 pH = 1, 然后用二氯甲烷萃取 (10mL×3)。有机相合并后在减压下除去溶剂, 得到目标产物(E)-4-甲氧基丁-2-烯酸 11c (50mg, 黄色油状物), 产率: 71%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.13 - 7.03 (m, 1H), 6.15 - 6.07 (m, 1H), 4.18 - 4.11 (m, 2H), 3.48 - 3.38 (s, 3H)。

第三步

(S,E)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(4-甲氧基丁-2-烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物(E)-4-甲氧基丁-2-烯酸 11c (22mg, 0.19mmol)、二异丙基乙基胺 (67mg, 0.52mmol)、(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 7f (50mg, 0.13mmol)、2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (72mg, 0.19mmol) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (10mL) 混合并搅拌 2 小时。在减压下除去溶剂, 残余物溶于乙酸乙酯 (30mL) 后依次用水和饱和食盐水洗涤。在减压下除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 得到

目标产物(S,E)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(1-(4-甲氧基丁-2-烯酰基)吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 11 (30mg, 白色固体), 产率: 51%。

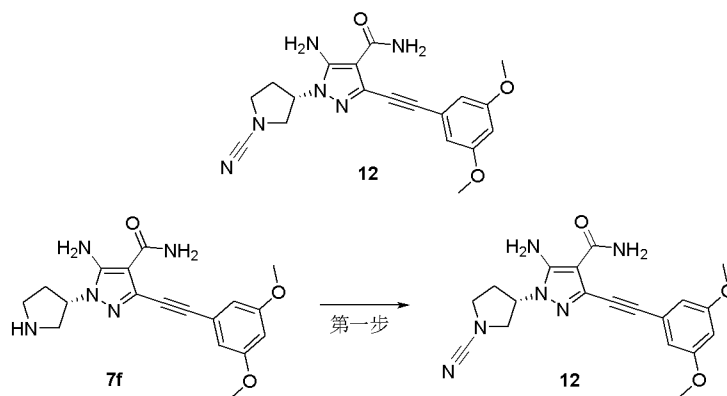
MS m/z (ESI): 454[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.98 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 6.86 (brs, 1H), 6.72 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 6.54 (s, 1H), 6.39 (dd, *J* = 27.7, 16.0 Hz, 1H), 5.54 (brs, 1H), 4.73 - 4.70 (m, 1H), 4.14 - 4.12 (m, 2H), 4.05 - 4.00 (m, 2H), 3.95 - 3.93 (m, 1H), 3.82 (s, 6H), 3.77 - 3.68 (m, 1H), 3.43 (d, *J* = 10.1 Hz, 3H), 2.72 (brs, 0.5H), 2.54 (brs, 0.5H), 2.43 - 2.35 (m, 1H)。

10

实施例 12

(S)-5-氨基-1-(1-氰基吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



15

第一步

(S)-5-氨基-1-(1-氰基吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物(S)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 7f (50mg, 0.14mmol) 溶于四氢呋喃 (2mL), 加入三乙胺 (1mL), 冷却至 0°C, 加入溴化氰 (17mg, 0.15mmol), 0°C 搅拌 2 小时, 升至室温, 继续搅拌 2 小时。反应混合物减压浓缩, 残余物用薄层硅胶制备色谱纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 15/1), 得到目标产物(S)-5-氨基-1-(1-氰基吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 12 (18mg, 白色固体), 产率: 34%。

25

MS m/z (ESI): 381[M+1]

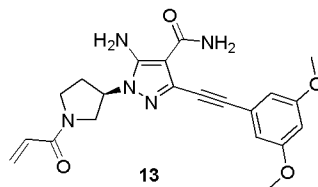
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.77 (brs, 1H), 6.68 (d, *J* = 1.9 Hz, 2H),

6.50 (s, 1H), 5.75 (s, 2H), 5.67 (brs, 1H), 4.79 - 4.73 (m, 1H), 3.84 - 3.73 (m, 9H), 3.61 - 3.53 (m, 1H), 2.53 - 2.43 (m, 1H), 2.37 - 2.26 (m, 1H)。

参照实施例 7 的操作步骤合成了实施例 13-16:

5 实施例 13

(R)-1-(1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

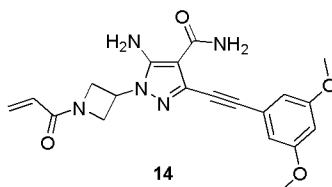


MS m/z (ESI): 410[M+1]

10 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.73 (d, *J* = 1.9 Hz, 2H), 6.71 - 6.60 (m, 1H), 6.58 (brs, 1H), 6.32 (dd, *J* = 16.8, 1.7 Hz, 1H), 5.84 - 5.74 (m, 1H), 5.04 - 4.91 (m, 1H), 4.09 (m, 0.5H), 3.98 (td, *J* = 11.1, 4.0 Hz, 1H), 3.91 (dd, *J* = 7.8, 5.6 Hz, 1H), 3.86 (dd, *J* = 9.9, 4.4 Hz, 1H), 3.81 (s, 6H), 3.73 - 3.63 (m, 0.5H), 2.47 (dd, *J* = 13.2, 6.7 Hz, 1H), 2.38 (dd, *J* = 13.6, 7.0 Hz, 1H)。

实施例 14

1-(1-丙烯酰基氮杂环丁烷-3-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



20

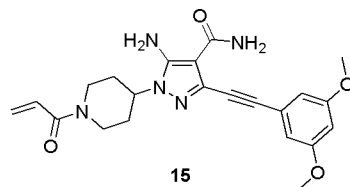
MS m/z (ESI): 396[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.75 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 6.60 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.45 - 6.28 (m, 2H), 5.80 (dd, *J* = 10.1, 2.1 Hz, 1H), 5.29 - 5.21 (m, 1H), 4.79 - 4.64 (m, 2H), 4.54 - 4.47 (m, 1H), 4.46 - 4.39 (m, 1H), 3.82 (s, 6H)。

25

实施例 15

1-(1-丙烯酰基哌啶-4-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



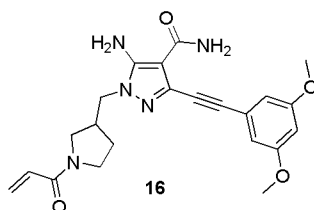
MS m/z (ESI): 424[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.88 - 6.78 (m, 1H), 6.73 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.58 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.24 (dd, *J* = 16.8, 1.7 Hz, 1H), 5.78 (dd, *J* = 10.7, 1.7 Hz, 1H), 4.73 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 4.47 - 4.36 (m, 1H), 4.30 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 3.81 (s, 6H), 3.32 - 3.24 (m, 1H), 2.91 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H), 2.02 (d, *J* = 4.5 Hz, 4H)。

10

实施例 16

1-((1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)甲基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



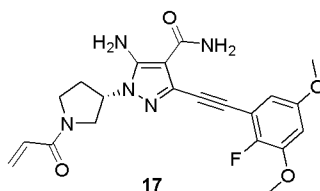
15 MS m/z (ESI): 424[M+1]

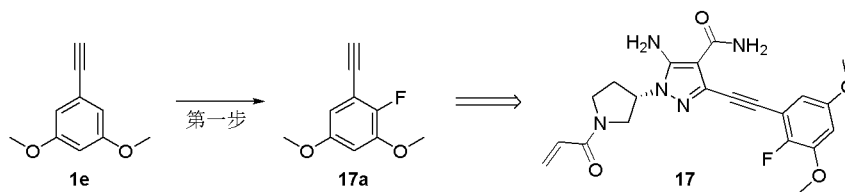
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.73 (s, 2H), 6.66 - 6.55 (m, 2H), 6.28 (d, *J* = 16.7 Hz, 1H), 5.75 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 4.13 - 3.99 (m, 2H), 3.82 (s, 6H), 3.78 - 3.61 (m, 2H), 3.48 (dd, *J* = 14.8, 7.4 Hz, 1H), 3.39 - 3.34 (m, 1H), 2.94 - 2.75 (m, 1H), 2.20 - 2.02 (m, 1H), 1.94 - 1.71 (m, 1H)。

20

实施例 17

(S)-1-(1-丙烯酰基吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((2-氟-3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺





第一步

1-乙炔基-2-氟-3,5-二甲氧基苯

将混合物 1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯 1e (2g, 12.3mmol) 溶于乙腈 (15mL) 中, 降温至 0°C, 并分批加入 1-氯甲基-4-氟-1,4-重氮化二环 2.2.2 辛烷双(四氟硼酸)盐 (6.6g, 18.5mmol), 然后室温搅拌过夜。将反应液倒入水 (50mL) 中, 并用二氯甲烷 (30mL×3) 萃取, 有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 残余物用硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 30/1), 得到目标产物 1-乙炔基-2-氟-3,5-二甲氧基苯 17a (800mg, 黄色固体), 产率: 36%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.46 (dd, $J = 6.9, 2.9$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 4.5, 3.0$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.22 (s, 1H)。

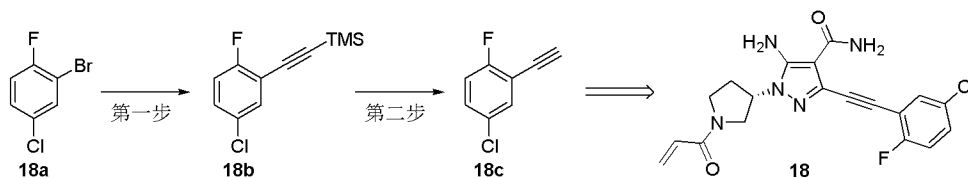
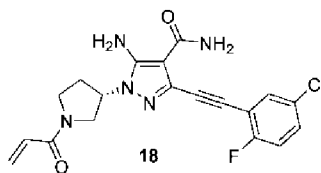
参照实施例 7 第一至第六步的操作步骤合成实施例 17, 但在第三步中用 1-乙炔基-2-氟-3,5-二甲氧基苯取代 1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯。

MS m/z (ESI): 428[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.00 (brs, 1H), 6.59 - 6.57 (m, 2H), 6.49 - 6.39 (m, 2H), 5.74 - 5.70 (m, 1H), 5.52 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.35 (brs, 1H), 4.73 - 4.64 (m, 1H), 4.07 - 3.90 (m, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.78 (d, $J = 5.3$ Hz, 3H), 3.75 - 3.67 (m, 1H), 2.72 - 2.67 (m, 0.5H), 2.54 - 2.31 (m, 1.5H)。

实施例 18

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((5-氯-2-氟苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

((2-氟-5-氯苯基)乙炔基)三甲基硅烷

将2-氟-5-氯溴苯 18a (11.0g, 52.8mmol)、乙炔基三甲基硅烷(7.7g, 79mmol)和三乙胺(60mL)混合, 然后加入碘化亚铜(100mg, 0.53mmol)和二三苯基膦氯化钼(1.86g, 2.65mmol)。反应混合物在氮气保护气氛下加热到 80°C 并继续搅拌 4 小时。反应结束后, 减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯 = 100/1)得到目标产物((2-氟-5-氯苯基)乙炔基)三甲基硅烷 18b (11.0g, 黄色油状物), 产率: 90%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45 (dd, *J* = 6.0, 2.7 Hz, 1H), 7.28 - 7.22 (m, 1H), 7.02 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 0.29 (s, 9H)。

第二步

4-氯-2-乙炔基-1-氟苯

将((2-氟-5-氯苯基)乙炔基)三甲基硅烷 18b (11.0g, 48mmol)、碳酸钾(8.1g, 58mmol)、二氯甲烷(80mL)和甲醇(40mL)混合后, 室温下搅拌 18 小时。反应结束后, 减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯 = 100/1)纯化得到目标产物 4-氯-2-乙炔基-1-氟苯 18c (5.5g, 黄色固体), 产率: 74%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45 (dd, *J* = 6.0, 2.7 Hz, 1H), 7.31 - 7.27 (m, 1H), 7.04 (t, *J* = 8.0, 1H), 3.35 (s, 1H)。

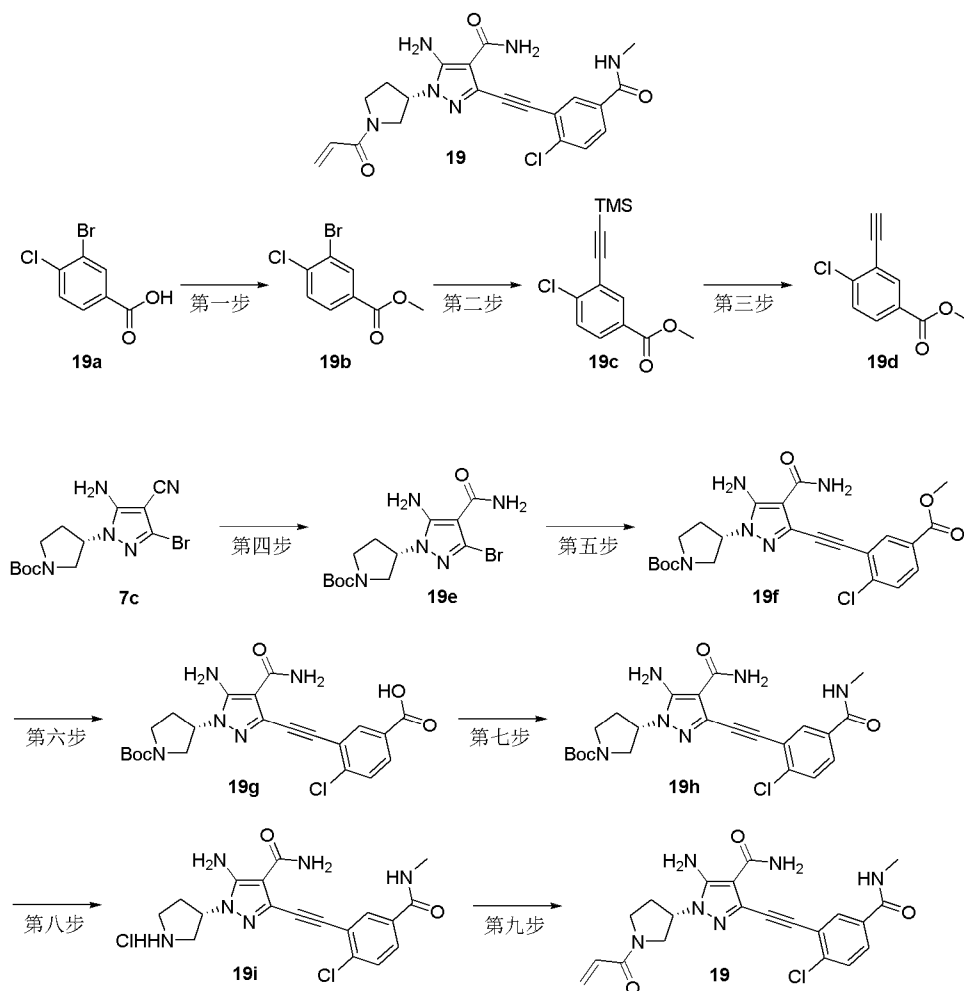
参照实施例 7 第一至第六步的操作步骤合成实施例 18, 但在第三步中用 4-氯-2-乙炔基-1-氟苯取代 1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯。

MS *m/z* (ESI): 402[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.62 - 7.61 (m, 1H), 7.47 - 7.45 (m, 1H), 7.24 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.69 - 6.56 (m, 1H), 6.30 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.77 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 5.02 - 1.91 (m, 1H), 4.09 - 3.95 (m, 2H), 3.84 - 3.78 (m, 2H), 2.46 (dd, *J* = 13.1, 6.6 Hz, 1H), 2.37 (dd, *J* = 13.6, 6.9 Hz, 1H)。

实施例 19

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((2-氯-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

4-氯-3-溴苯甲酸甲酯

- 5 将 4-氯-3-溴苯甲酸 19a (2g, 8.5mmol) 溶于甲醇 (400mL) 并冷却至 0°C, 然后逐滴加入乙酰氯 (2.3g, 30mmol) 并继续搅拌 18 小时。反应结束后减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯 = 10/1)纯化得到目标产物 4-氯-3-溴苯甲酸甲酯 19b (1.2g, 黄色固体), 产率: 57%。

- 10 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.31 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.93 (dd, $J = 8.3, 1.9$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 3.95 (s, 3H)。

第二步

4-氯-3-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯甲酸甲酯

- 15 将化合物 4-氯-3-溴苯甲酸甲酯 19b (1.2g, 4.8mmol)、三甲基硅基乙炔 (0.95g, 9.7mmol)、醋酸钯 (108mg, 0.48mmol)、三苯基膦 (254mg, 0.97mmol)、碘化亚铜 (185mg, 0.97mmol) 和三乙胺 (25mL) 在封管中混合并在 100°C 下加热并搅拌 15 小时。反应完成后减压脱溶,

残余物用柱层析硅胶色谱（石油醚/乙酸乙酯 = 10/1）纯化得到目标产物 4-氯-3-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯甲酸甲酯 19c (1g, 黄色固体), 产率: 78%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.19 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.91 (dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 0.30 (s, 9H)。

第三步

4-氯-3-乙炔基苯甲酸甲酯

将 4-氯-3-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯甲酸甲酯 19c (1g, 3.76mmol) 溶于甲醇 (20mL), 然后加入碳酸钾 (1.04g, 7.52mmol)。室温搅拌 1 小时后, 减压脱溶。残余物用水洗涤并过滤得到目标产品 4-氯-3-乙炔基苯甲酸甲酯 19d (380mg, 黄色固体), 产率: 52%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.23 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.96 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.44 (s, 1H)。

第四步

(S)-3-(5-氨基-3-溴-4-氨基甲酰-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

将化合物(S)-3-(5-氨基-3-溴-4-氨基-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 7c (2.20g, 6.2mmol)、氢氧化钠水溶液 (0.5M, 12.4mL, 6.2mmol)、过氧化氢水溶液 (30%, 15mL) 和二甲基亚砜 (30mL) 混合。室温搅拌 2 小时后, 反应物用饱和食盐水 (50mL) 稀释, 并用乙酸乙酯 (50mL×3) 萃取。有机相合并后减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 100/1 至 20/1) 得到目标产物(S)-3-(5-氨基-3-溴-4-氨基甲酰-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 19e (1.92g, 淡黄色固体), 产率: 83%。

MS *m/z* (ESI): 374[M+1]

第五步

(S)-3-(5-氨基-4-氨基甲酰-3-((2-氯-5-(甲酯基<甲氧羰基>)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

将(S)-3-(5-氨基-3-溴-4-氨基甲酰-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 19e (770mg, 2.1mmol)、三乙胺 (6mL)、1,1'-双二苯基膦二茂铁二氯化钨 (307mg, 0.42mmol)、碘化亚铜 (80mg, 0.42mmol) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (20mL) 混合, 除氧, 在氩气气氛下加热至 90°C, 然后逐滴加入 4-氯-3-乙炔基苯甲酸甲酯 19d (3.20g, 16.5mmol) 的 N,N-

二甲基甲酰胺 (2mL) 溶液, 并继续搅拌 12 小时。减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 得到目标产物(S)-3-(5-氨基-4-氨基甲酰-3-((2-氯-5-(甲酯基<甲氧羰基>)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 19f (420mg, 黄色固体), 产率: 41%。

5 MS m/z (ESI): 488[M+1]

第六步

(S)-3-((5-氨基-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-4-氨基甲酰-1H-吡唑-3-基)乙炔基)-4-氯苯甲酸

将(S)-3-(5-氨基-4-氨基甲酰-3-((2-氯-5-(甲酯基<甲氧羰基>)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 19f (100mg, 0.2mmol) 溶于甲醇 (4mL) 和水 (4mL) 的混合溶剂中, 然后加入氢氧化钠 (25mg, 0.61mmol) 并继续搅拌 2 小时。反应完成后, 在减压条件下除去有机溶剂。残余物用盐酸 (1M) 调节至 pH = 4 至 5, 然后用乙酸乙酯萃取 (30mL×2)。有机相合并后用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后过
10 滤。滤液减压脱溶得到目标产物(S)-3-((5-氨基-1-(1-(叔丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-4-氨基甲酰-1H-吡唑-3-基)乙炔基)-4-氯苯甲酸 19g (80mg, 棕色固体), 产率: 84%。

MS m/z (ESI): 418[M+H-56]

第七步

20 (S)-3-(5-氨基-4-氨基甲酰-3-((2-氯-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

将(S)-3-((5-氨基-1-(1-(叔-丁氧基羰基)吡咯烷-3-基)-4-氨基甲酰-1H-吡唑-3-基)乙炔基)-4-氯苯甲酸 19g (80mg, 0.17mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (2.5mL) 中, 然后依次加入甲胺盐酸盐 (34mg, 0.50mmol)、
25 二异丙基乙基胺 (129mg, 1mmol) 和 2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (64mg, 0.17mmol)。反应物室温搅拌 2 小时后用水淬灭, 然后用乙酸乙酯 (20mL×3) 萃取。有机相合并后减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/1 至 0/1) 得到目标
30 产物(S)-3-(5-氨基-4-氨基甲酰-3-((2-氯-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 19h (41mg, 棕色固体), 产率: 50%。

MS m/z (ESI): 387[M+H-Boc]

第八步

(S)-5-氨基-3-((2-氯-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺盐酸盐

将(S)-3-(5-氨基-4-氨基甲酰-3-((2-氯-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 19h (40mg, 0.08mmol) 溶于乙酸乙酯 (5mL) 中, 然后加入氯化氢的乙醇溶液 (33%, 3mL) 并在室温下搅拌 1 小时。反应完成后, 减压脱溶, 得到目标产物(S)-5-氨基-3-((2-氯-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺盐酸盐 19i (40mg, 粗品, 棕色固体), 该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 387[M+H]

第九步

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((2-氯-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

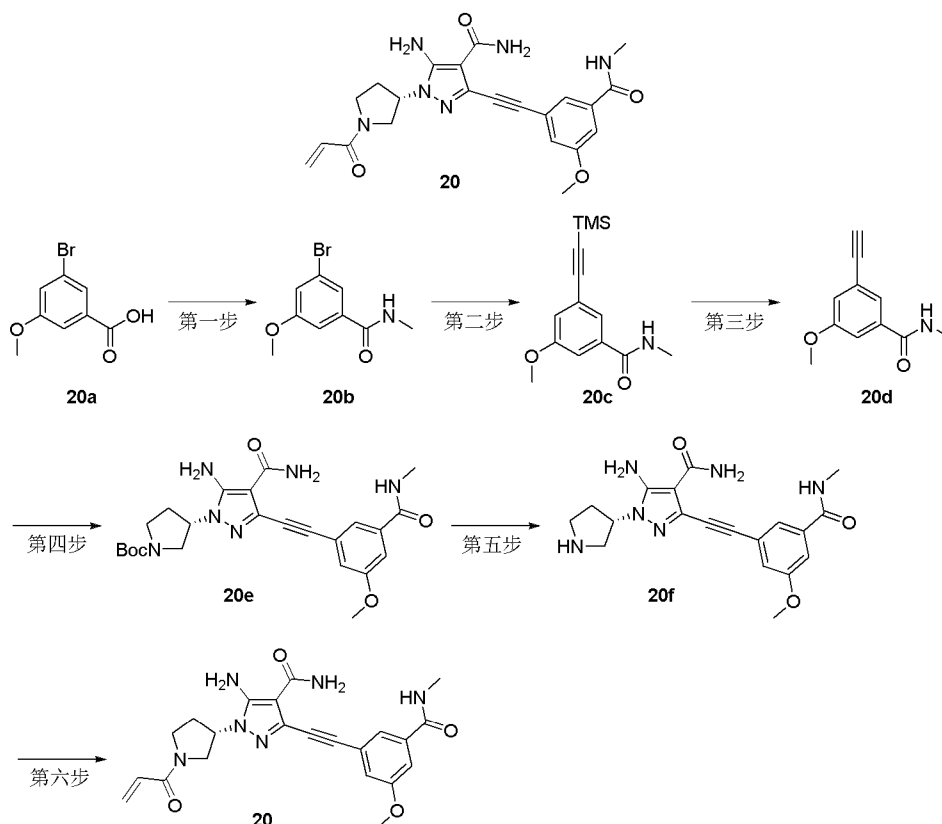
将化合物(S)-5-氨基-3-((2-氯-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺盐酸盐 19i (40mg, 0.08mmol, 粗品)、烯丙酰氯 (7.5mg, 0.08mmol)、碳酸钾水溶液 (0.4M, 1.0mL, 0.4mmol) 和四氢呋喃 (5mL) 在 0°C 混合并在此温度下搅拌 0.5 小时。用乙酸乙酯 (20mL×2) 萃取, 有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 100/1 至 10/1), 得到目标产物(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((2-氯-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 19 (18mg, 白色固体), 产率: 两步 51%。

MS m/z (ESI): 441[M+H]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.65 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 6.70 - 6.62 (m, 4H), 6.19 - 6.15 (m, 1H), 5.70 (t, *J* = 10.2 Hz, 1H), 5.03 - 4.94 (m, 1H), 3.80 - 3.54 (m, 4H), 2.78 (d, *J* = 3.8 Hz, 3H), 2.36 - 2.25 (m, 2H)。

30 实施例 20

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3-甲氧基-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

3-溴-5-甲氧基-N-甲基苯酰胺

- 5 将 3-溴-5-甲氧基苯甲酸 20a (500mg, 2.17mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (15mL) 中, 然后依次加入甲胺盐酸盐 (291mg, 4.35mmol)、二异丙基乙基胺 (1.12g, 8.68mmol) 和 2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (1.24g, 3.26mmol)。反应物室温搅拌 2 小时后用水淬灭, 减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯 = 1/1)
- 10 得到目标产物 3-溴-5-甲氧基-N-甲基苯酰胺 20b (500mg, 白色固体), 产率: 95%。

MS m/z (ESI): 244[M+H]

第二步

3-甲氧基-N-甲基-5-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯酰胺

- 15 将化合物 3-溴-5-甲氧基-N-甲基苯酰胺 20b (500mg, 2.1mmol)、三甲基硅基乙炔 (302mg, 3.1mmol)、醋酸钯 (47mg, 0.21mmol)、三苯基膦 (110mg, 0.42mmol)、碘化亚铜 (80mg, 0.42mmol) 和三乙胺 (20mL) 在封管中混合, 加热至 100°C, 搅拌 15 小时。反应完成后, 减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯 = 1/1)纯化,
- 20 得到目标产物 3-甲氧基-N-甲基-5-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯酰胺

20c (220mg, 黄色固体), 产率: 41%。

MS m/z (ESI): 262[M+H]

第三步

3-乙炔基-5-甲氧基-N-甲基苯酰胺

- 5 将 3-甲氧基-N-甲基-5-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯酰胺 20c (220mg, 0.84mmol) 溶于甲醇 (8mL), 然后加入碳酸钾 (233mg, 1.68mmol)。室温搅拌 1 小时后, 减压脱溶。残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 1/1) 纯化, 得到目标产物 3-乙炔基-5-甲氧基-N-甲基苯酰胺 20d (140mg, 淡黄色固体), 产率: 88%。

- 10 MS m/z (ESI): 190[M+H]

第四步

(S)-3-(5-氨基-4-氨基甲酰-3-((3-甲氧基-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

- 15 将(S)-3-(5-氨基-3-溴-4-氨基甲酰-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 19e (329mg, 0.88mmol)、三乙胺 (2mL)、1,1'-双二苯基膦二茂铁二氯化钨 (129mg, 0.2mmol)、碘化亚铜 (34mg, 0.18mmol) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (8mL) 混合, 除氧, 在氩气气氛下加热至 90°C。然后逐滴加入 3-乙炔基-5-甲氧基-N-甲基苯酰胺 20d (1.00g, 5.3mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (2mL) 溶液并继续搅拌 12 小时。减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到目标产物 (S)-3-(5-氨基-4-氨基甲酰-3-((3-甲氧基-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 20e (400mg, 粗品, 棕色固体)。

MS m/z (ESI): 383[M+H-100]

第五步

- 25 (S)-5-氨基-3-((3-甲氧基-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺盐酸盐

- 30 将(S)-3-(5-氨基-4-氨基甲酰-3-((3-甲氧基-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 20e (400mg, 粗品) 溶于二氯甲烷 (5mL) 中, 然后加入氯化氢的乙醇溶液 (30%, 3mL), 并在室温下搅拌 1 小时。反应完成后, 减压脱溶, 得到目标产物(S)-5-氨基-3-((3-甲氧基-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺盐酸盐 20f (300mg, 粗品, 棕色固体)。产品不经纯化,

直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 383[M+H]

第六步

5 (S)-1-(1-(丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3-甲氧基-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物(S)-5-氨基-3-((3-甲氧基-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺盐酸盐 20f (150mg, 0.39mmol, 粗品)、烯丙酰氯(42mg, 0.47mmol)、碳酸氢钠(131mg, 1.56mmol)、水(4mL)和四氢呋喃(8mL)在 0°C 混合并在此温度下搅拌 0.5 小时。

10 用乙酸乙酯(20mL×2)萃取, 有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到目标产物(S)-1-(1-(丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3-甲氧基-5-(甲基氨基甲酰)苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 20 (60mg, 白色固体), 产率: 两步 35%。

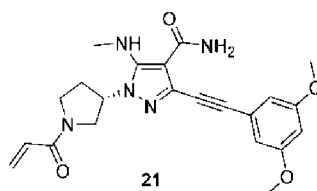
15 MS m/z (ESI): 437[M+H]

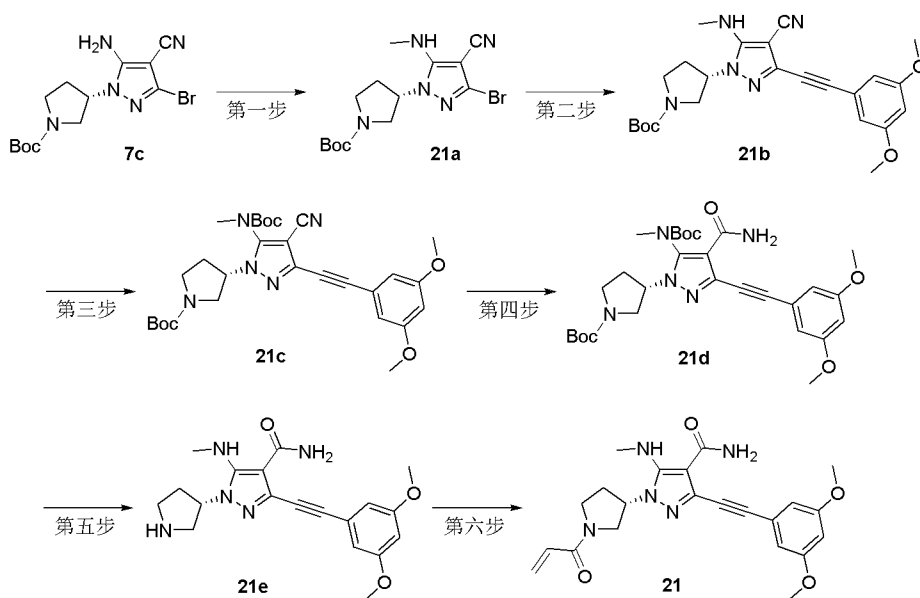
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.59 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.73 - 6.58 (m, 1H), 6.36 - 6.28 (m, 1H), 5.83 - 5.75 (m, 1H), 5.04 - 4.93 (m, 1H), 4.12 - 3.91 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.86 - 3.66 (m, 2H), 2.93 (s, 3H), 2.51 - 2.44 (m, 1H), 2.42 - 2.34 (m, 1H)。

20

实施例 21

(S)-1-(1-(丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺





第一步

(S)-3-(3-(3-溴-4-氰基-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

- 5 将化合物(S)-3-(5-氨基-3-溴-4-氰基-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 7c (178mg, 0.5mmol) 和对甲基苯磺酸一水和物 (12mg, 0.07mmol) 溶于原甲酸三乙酯 (4mL) 中, 加热回流 2 小时。反应结束后减压脱溶, 残余物分散在水中, 然后用乙酸乙酯 (30mL×2) 萃取。有机相合并后, 用无水硫酸钠干燥。过滤后滤液减压脱溶, 残余物溶于乙醇 (10mL)。
- 10 冷却至 0°C 后, 加入硼氢化钠 (89mg, 2.35mmol) 并在室温下搅拌 2 小时。反应完成后, 用饱和食盐水淬灭, 然后用乙酸乙酯 (30mL×2) 萃取。有机相合并后, 减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/1 至 1/1) 纯化得到目标产物(S)-3-(3-溴-4-氰基-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 21a (178mg, 白色固体), 产
- 15 率: 100%。

MS m/z (ESI): 314[M+H-56]

第二步

(S)-3-(4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

- 20 将(S)-3-(3-溴-4-氰基-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 21a (1.85g, 5.0mmol)、三乙胺 (20mL)、1,1'-双二苯基膦二茂铁二氯化钨 (816mg, 1mmol)、碘化亚铜 (190mg, 1mmol) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (20mL) 混合, 除氧, 在氩气气氛下加热至 90°C, 然后

逐滴加入 1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯 (4.86g, 30mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (10mL) 溶液并继续搅拌 12 小时。减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 50/1 至 0/1) 得到目标产物(S)-3-(4-氰基-3-((3,5-二甲氧基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 21b (2.1g, 棕色固体), 产率: 80%。

MS m/z (ESI): 496[M+H-56]

第三步

(S)-3-(5-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

10 将(S)-3-(4-氰基-3-((3,5-二甲氧基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 21b (225mg, 0.5mmol) 溶于二氯甲烷 (10mL), 然后依次加入三乙胺 (150mg, 1.5mmol)、Boc 酸酐 (218mg, 1mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (6mg, 0.05mmol)。室温下搅拌 2 小时后, 加入饱和食盐水 (10mL) 并用乙酸乙酯 (20mL×2) 萃取。有机相合并后, 减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 50/1 至 1/1) 得到目标产物(S)-3-(5-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 21c (200mg, 淡黄色固体), 产率: 72%。

MS m/z (ESI): 440[M+H-112]

20 第四步

(S)-3-(5-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-4-氨基甲酰-3-((3,5-二甲氧基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

将(S)-3-(5-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 21c (55mg, 0.1mmol)、
25 氢氧化钠水溶液 (0.5M, 0.1mL, 0.05mmol)、过氧化氢水溶液 (30%, 0.5mL) 和二甲基亚砜 (1mL) 混合, 室温搅拌 2 小时。反应物用饱和食盐水 (10mL) 稀释并用乙酸乙酯 (20mL×2) 萃取。有机相合并后减压脱溶, 残余物用硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/1 至 1/100) 得到(S)-3-(5-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-4-氨基甲酰-3-((3,5-二甲氧基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 21d (30mg, 棕色固体),
30 产率: 50%。

MS m/z (ESI): 414[M+H-156]

第五步

(S)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺盐酸盐

将(S)-3-(5-((叔丁氧基羰基)(甲基氨基)-4-氨基甲酰-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 21d (570mg, 1mmol) 溶于乙酸乙酯 (10mL) 中, 然后加入氯化氢的乙醇溶液 (33%, 5mL), 并在室温下搅拌 1 小时。反应完成后, 减压脱溶, 得到目标产物 (S)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺盐酸盐 21e (400mg, 粗品, 棕色固体), 该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 370[M+H]

第六步

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

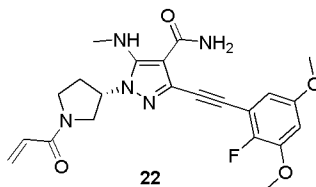
将化合物(S)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺盐酸盐 21e (870mg, 2.35mmol, 粗品)、烯丙酰氯 (254mg, 2.82mmol)、碳酸钾水溶液 (2.5M, 4.7mL, 11.78mmol) 和四氢呋喃 (10mL) 在 0°C 混合并在此温度下搅拌 0.5 小时。用乙酸乙酯 (50mL×2) 萃取, 有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压脱溶。残余物用硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 100/1 至 10/1) 得到目标产物(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 21 (720mg, 白色固体), 产率: 76%。

MS m/z (ESI): 424[M+H]

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.88 (s, 1H), 6.69 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 6.51 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.46 - 6.40 (m, 2H), 5.74 - 5.72 (m, 1H), 5.52 - 5.48 (m, 1H), 5.06 - 5.01 (m, 1H), 4.09 - 3.94 (m, 3H), 3.80 (s, 6H), 3.72 - 3.70 (m, 1H), 3.00 (s, 3H), 2.71 - 2.56 (m, 1H), 2.45 - 2.35 (m, 1H)。

30 实施例 22

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((2-氟-3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



参照实施例 21 的操作步骤合成实施例 22,但在第二步中用 1-乙炔基-2-氟-3,5-二甲氧基苯取代 1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯。

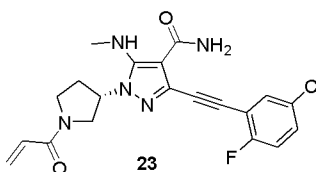
MS m/z (ESI): 442[M+H]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.08 (s, 1H), 6.68 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.60 - 6.57 (m, 2H), 6.51 - 6.40 (m, 2H), 5.74 - 5.69 (m, 1H), 5.35 (s, 1H), 5.08 - 4.99 (m, 1H), 4.11 - 4.08 (m, 1H), 4.05 - 3.94 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.75 - 3.65 (m, 1H), 3.00 (t, J = 5.2 Hz, 3H), 2.72 - 2.58 (m, 1H), 2.44 - 2.33 (m, 1H)。

10

实施例 23

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((5-氯-2-氟苯基)乙炔基)-5-(甲基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



15 参照实施例 21 的操作步骤合成实施例 23,但在第二步中用 4-氯-2-乙炔基-1-氟苯取代 1-乙炔基-3,5-二甲氧基苯。

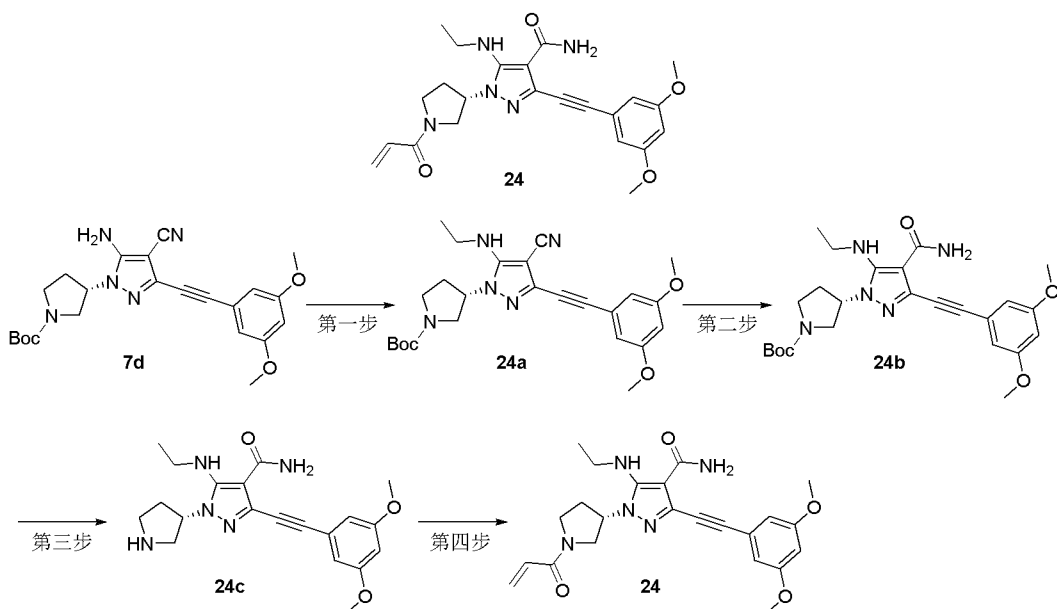
MS m/z (ESI): 416[M+H]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.56 - 7.52 (m, 1H), 7.35 - 7.33 (m, 1H), 7.08 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 7.02 - 6.92 (m, 1H), 6.51 - 6.39 (m, 2H), 5.74 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 5.55 - 5.44 (m, 1H), 5.09 - 4.98 (m, 1H), 4.14 - 3.90 (m, 3H), 3.80 - 3.65 (m, 1H), 3.01 (s, 3H), 2.74 - 2.55 (m, 1H), 2.49 - 2.34 (m, 1H)。

20

实施例 24

25 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-5-(乙基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

(S)-3-(5-乙基氨基-4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 7d (500mg, 1.14mmol) 和氢化钠 (91mg, 2.28mmol, 60%) 加入到 N,N-二乙基乙酰胺 (5mL) 中, 搅拌 10 分钟, 加入碘乙烷 (106mg, 0.68mmol), 搅拌 0.5 小时。将反应液倒入水中, 减压浓缩, 残余物用反相高效液相制备色谱纯化[乙腈/水 (含 0.1%甲酸): 50%-90%], 得到目标产物(S)-3-(5-乙基氨基-4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 24a (70mg, 白色固体), 产率: 22%。

MS m/z (ESI): 410[M+1-56]

第二步

(S)-3-(5-乙基氨基-4-氨基甲酰-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 24a (55mg, 0.12mmol) 溶于二甲基亚砜 (3mL), 加入双氧水 (2mL) 和氢氧化钠 (300mg, 7.5mmol), 常温搅拌 10 分钟后, 升温至 40°C。待反应完成, 冷却后用水 (20mL) 稀释, 乙酸乙酯 (30mL) 萃取, 并用水 (20mL×3) 洗涤, 有机相减压浓缩, 残余物用反相高效液相制备色谱纯化[乙腈/水 (含 0.1%甲酸):

50%-90%], 得到目标产物(S)-3-(5-乙基氨基-4-氨基甲酰-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 24b (15mg), 产率: 26%。

MS m/z (ESI): 484 [M+1]

5 第三步

(S)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(乙基氨基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将(S)-3-(5-乙基氨基-4-氨基甲酰-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 24b (15mg, 0.031mmol) 溶于二氯甲烷 (2mL), 加入三氟乙酸 (0.5mL), 搅拌半小时。待反应完成, 减压浓缩, 得到目标产物(S)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(乙基氨基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 24c (20mg, 粗品, 棕色油状物), 产率: >100%。产物不经纯化直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 384[M+1]

15 第四步

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(乙基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

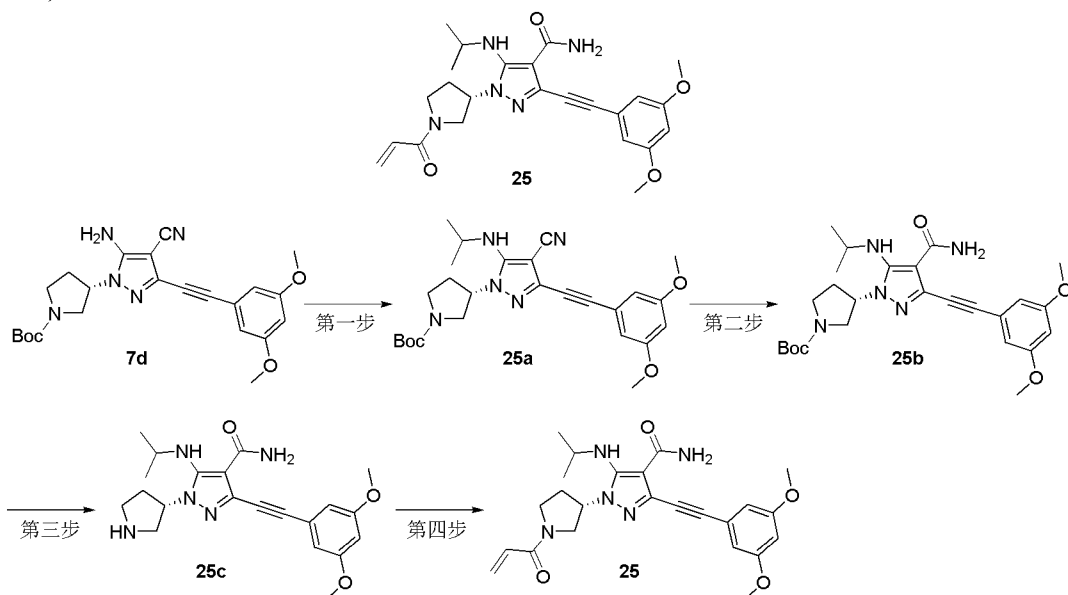
将化合物(S)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(乙基氨基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 24c (20mg, 0.031mmol, 粗品) 溶于四氢呋喃 (5mL), 加入饱和碳酸氢钠溶液 (2mL), 再加入丙烯酰氯 (2.7mg, 0.03mmol) 的四氢呋喃溶液, 搅拌 0.5 小时。反应液减压浓缩, 残余物溶于乙酸乙酯 (30mL), 并用水 (20mL×3) 洗涤。有机相减压浓缩, 残余物用反相高效液相制备色谱纯化[乙腈/水 (含 0.1%甲酸): 20%-70%], 得到目标产物(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(乙基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 24 (4.7mg, 白色固体), 产率: 24%。

MS m/z (ESI): 438[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.87 (brs, 1H), 6.74 (s, 2H), 6.54 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.48 - 6.40 (m, 2H), 5.74 - 5.69 (m, 1H), 5.06 - 4.97 (m, 2H), 4.13 - 3.93 (m, 3H), 3.84 (s, 6H), 3.80 - 3.67 (m, 1H), 3.42 (brs, 2H), 2.75 - 2.35 (m, 2H), 1.31 - 1.25 (m, 3H)。

实施例 25

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(异丙基氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

(S)-3-(4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(异丙基氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

将混合物(S)-3-(5-氨基-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 7d (600mg, 1.37mmol)、碳酸铯 (893mg, 2.74mmol) 和乙腈 (25mL) 搅拌 10 分钟, 迅速加入 2-溴丙烷 (186mg, 1.51mmol), 加热至 72°C, 搅拌 6 小时。冷却至室温, 减压浓缩, 残余物用硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 2/1), 得到目标产物(S)-3-(4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-(异丙基氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 25a (600mg, 浅黄色固体), 产率: 91%。

MS m/z (ESI): 424[M+1-56]

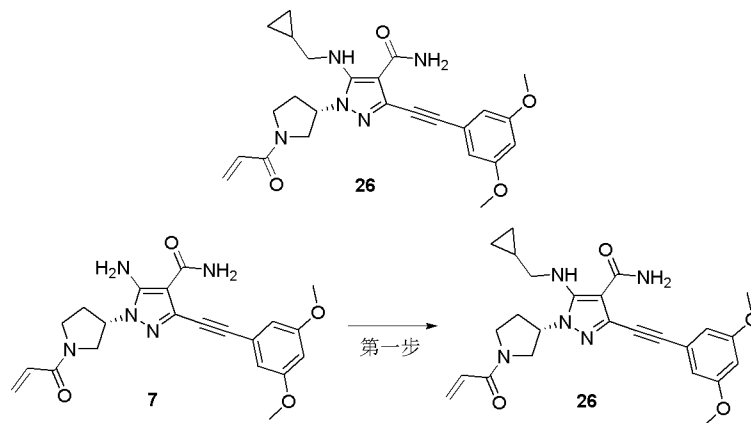
参照实施例 24 中第二步至第四步的操作步骤合成实施例 25。

MS m/z (ESI): 452[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.88 (brs, 1H), 6.70 (s, 2H), 6.54 (s, 1H), 6.51 - 6.39 (m, 2H), 6.03 (t, J = 10.3 Hz, 1H), 5.74 - 5.69 (m, 1H), 5.49 (brs, 1H), 4.96 - 4.87 (m, 1H), 4.09 - 3.86 (m, 3H), 3.80 - 3.66 (m, 7H), 3.45 - 3.43 (m, 1H), 2.69 - 2.32 (m, 2H), 1.27 - 1.15 (m, 6H)。

实施例 26

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-((环丙基甲基)氨基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-((环丙基甲基)氨基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

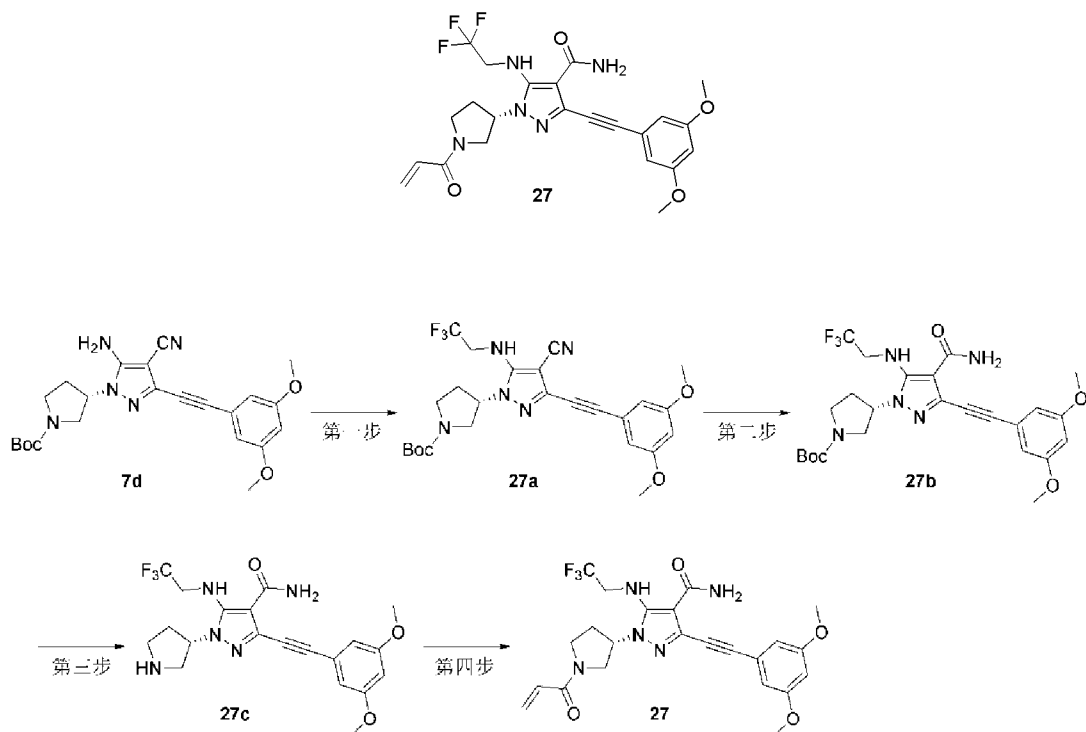
将化合物(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 7 (50mg, 0.12mmol) 溶于乙腈 (2mL) 中, 加入碳酸铯 (80mg, 0.24mmol) 和(溴甲基)环丙烷 (19mg, 0.13mmol), 加热至 70°C, 搅拌 4 小时。将反应液倒入水 (30mL) 中, 并用乙酸乙酯 (30mL×3) 萃取, 有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 残余物用薄层硅胶制备色谱 (二氯甲烷/甲醇 = 12/1) 纯化, 得到目标产物(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-((环丙基甲基)氨基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 26 (14mg, 白色固体), 产率: 28%。

MS m/z (ESI): 464[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.89 (brs, 1H), 6.71 (s, 2H), 6.54 (s, 1H), 6.51 - 6.37 (m, 2H), 5.76 - 5.71 (m, 1H), 5.40 (brs, 1H), 5.03 - 4.95 (m, 1H), 4.06 - 3.89 (m, 3H), 3.82 (s, 6H), 3.78 - 3.67 (m, 1H), 3.06 - 3.02 (m, 2H), 2.69 - 2.52 (m, 1H), 2.46 - 2.35 (m, 1H), 1.15 - 0.98 (m, 1H), 0.63 - 0.60 (m, 2H), 0.29 - 0.27 (m, 2H)。

实施例 27

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2,2,2-三氟乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

- 5 (S)-3-(4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2,2,2-三氟乙基)氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

将(S)-3-(5-氨基-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 7d (430mg, 0.98mmol)、三氟乙醛水溶液 (75%) (304mg, 1.96mmol) 和钛酸四乙酯 (448mg, 1.96mmol) 加入到二氯甲烷 (15mL) 中, 并搅拌 2 小时。待反应完全, 向反应液中加入硼氢化钠 (75mg, 1.96mmol), 常温下继续搅拌 1 小时。将反应液倒入水中并用乙酸乙酯 (20mL×3) 萃取, 有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 残余物经快速柱纯化, 得到目标产物(S)-3-(4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2,2,2-三氟乙基)氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 27a (120mg, 黄色油状物), 产率: 26%。

MS m/z (ESI): 464[M+1-56]

参照实施例 24 中第二步至第四步的操作步骤合成实施例 27。

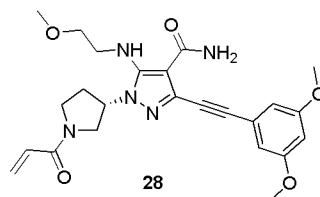
MS m/z (ESI): 492[M+1]

20 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.92 (brs, 1H), 6.70 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 6.47 - 6.39 (m, 2H), 6.31 - 6.25 (m, 1H), 5.75 - 5.65 (m, 1H), 5.65 (brs, 1H), 5.05 - 4.98 (m, 1H), 4.10 - 3.88 (m, 3H), 3.80 (s, 6H), 3.75 - 3.61

(m, 3H), 2.63 - 2.34 (m, 2H)。

实施例 28

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-甲
5 氧基乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



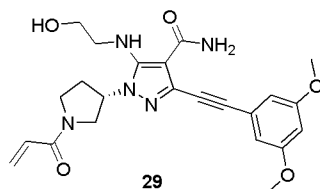
参照实施例 25 的操作步骤合成实施例 28,但在第一步中用 1-溴-2-甲氧基乙烷取代 2-溴丙烷。

MS m/z (ESI): 468[M+1]

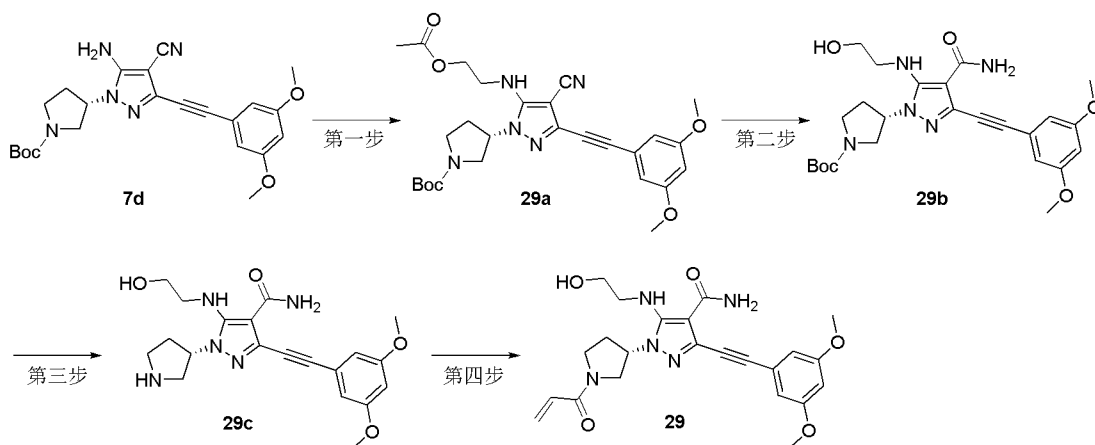
10 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.32 (brs, 1H), 6.74 (d, $J = 2.2$ Hz, 2H), 6.64 (dd, $J = 16.8, 10.4$ Hz, 1H), 6.60 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 6.50 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 6.16 (dd, $J = 16.8, 5.0$ Hz, 1H), 5.68 (t, $J = 10.8$ Hz, 1H), 5.15 - 5.05 (m, 1H), 4.05 - 4.01 (m, 0.5H), 3.86 - 3.81 (m, 1.5H), 3.77 (s, 6H), 3.70 - 3.61 (m, 1H), 3.59 - 3.50 (m, 1H), 3.46 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 3.39 -
15 3.34 (m, 2H), 3.26 (s, 3H), 2.42 - 2.23 (m, 2H)。

实施例 29

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-羟
基乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



20



第一步

(S)-3-(5-((2-乙酰氧基乙基)氨基)-4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

- 5 将混合物(S)-3-(5-氨基-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 7d (300mg, 0.685mmol)、2-溴乙基乙酸酯 (126mg, 0.753mmol)、碳酸铯 (447mg, 1.37mmol) 和乙腈 (4mL) 加热至 90°C, 并搅拌 2 小时。将反应液冷却至室温, 倒入水 (50mL) 中, 并用乙酸乙酯 (30mL×3) 萃取, 有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 残余物用硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 15/1), 得到目标产物(S)-3-(5-((2-乙酰氧基乙基)氨基)-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 29a (148mg, 黄色固体), 产率: 41%。

MS m/z (ESI): 468[M+1-56]

15 第二步

(S)-3-(4-氨基甲酰-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-5-((2-羟基乙基)氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

- 将混合物(S)-3-(5-((2-乙酰氧基乙基)氨基)-4-氰基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 29a (68mg, 0.146mmol)、乙醇 (5mL) 和二甲基亚砜 (1mL), 加入饱和氢氧化钠溶液 (3mL) 和双氧水 (4mL), 30°C 下搅拌 1 小时。待反应完成, 将反应液倒入饱和亚硫酸钠溶液 (30mL) 中, 并用乙酸乙酯 (30mL×3) 萃取, 有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 得到目标产物(S)-3-(4-氨基甲酰-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-5-((2-羟基乙基)氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 29b (110mg, 粗品,
- 25

黄色油状物)，产率：>100%，产物不经纯化直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 444[M+1-56]

第三步

(S)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-羟基乙基)氨基)-1-(吡咯烷
5 -3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物(S)-3-(4-氨基甲酰-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-羟基乙基)氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 29b (110mg, 0.146mmol, 粗品)溶于盐酸的甲醇溶液(5mL)，加热至40℃搅拌1小时。待反应完成后，减压浓缩，得到目标产物(S)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-羟基乙基)氨基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 29c
10 (160mg, 粗品, 白色固体)，产率：>100%，产物不经纯化直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 400[M+1]

第四步

15 (S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-羟基乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

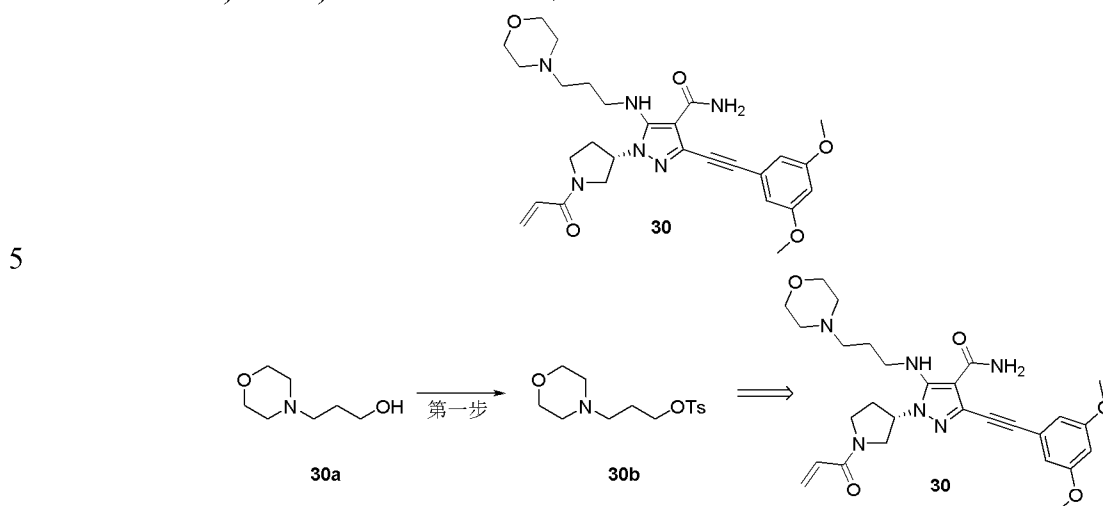
将化合物(S)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-羟基乙基)氨基)-1-(吡咯烷-3-基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 29c(160mg, 0.146mmol, 粗品)溶于四氢呋喃(5mL)中，加入饱和碳酸氢钠溶液(10mL)，再加入
20 丙烯酰氯(12mg, 0.13mmol)，室温搅拌10分钟。待反应完成后，将反应液倒入水(50mL)中，并用乙酸乙酯(30mL×3)萃取，有机相合并后经无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥剂，减压浓缩，残余物通过反相高效液相制备色谱[乙腈/水(含0.2%甲酸)：20%-60%]纯化，得到目标产物(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-羟基乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 29(6mg, 白色固体)，产
25 率：9%。

MS m/z (ESI): 454[M+1]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.36 (brs, 1H), 6.76 (brs, 1H), 6.74 (s, 2H), 6.70 - 6.60 (m, 2H), 6.55 - 6.52 (m, 1H), 6.17 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H),
30 5.69 (t, *J* = 10.9 Hz, 1H), 5.16 - 5.10 (m, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.06 - 4.0 (m, 0.5H), 3.83 - 3.81 (m, 1.5H), 3.77 (s, 6H), 3.68 - 3.63 (m, 2H), 3.55 - 3.53 (m, 2H), 3.28 - 3.26 (m, 2H), 2.38 - 2.27 (m, 2H)。

实施例 30

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((3-吗啉代丙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

3-吗啉代丙基 4-甲基苯磺酸酯

将化合物 3-吗啉代丙烷-1-醇 30a (500mg, 3.45mmol) 溶于二氯甲烷 (100ml), 加入 4-二甲氨基吡啶 (42mg, 0.34mmol)、三乙胺 (1.04g, 10.3mmol) 和对甲苯磺酰氯 (988mg, 5.17mmol), 室温搅拌过夜。待反应完成, 将反应液倒入水 (50mL) 中, 并用二氯甲烷 (50mL×3) 萃取, 有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 残余物用硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 2/1, 得到目标产物 3-吗啉代丙基 4-甲基苯磺酸酯 30b (660mg, 黄色油状物), 产率: 64%。

15

MS m/z (ESI): 300[M+1]

参照实施例 25 的操作步骤合成实施例 30, 但在第一步中用 3-吗啉代丙基 4-甲基苯磺酸酯取代 2-溴丙烷。

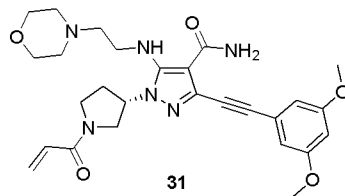
MS m/z (ESI): 537[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.23 (brs, 1H), 7.12 (brs, 1H), 6.94 (brs, 1H), 6.69 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 6.49 - 6.40 (m, 2H), 5.92 (brs, 1H), 5.74 - 5.70 (m, 1H), 5.03 - 4.96 (m, 1H), 4.09 - 3.90 (m, 3H), 3.80 - 3.68 (m, 11H), 3.28 (brs, 2H), 2.89 (brs, 6H), 2.69 - 2.33 (m, 2H), 1.93 (brs, 2H)。

20

25 实施例 31

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-吗啉代乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



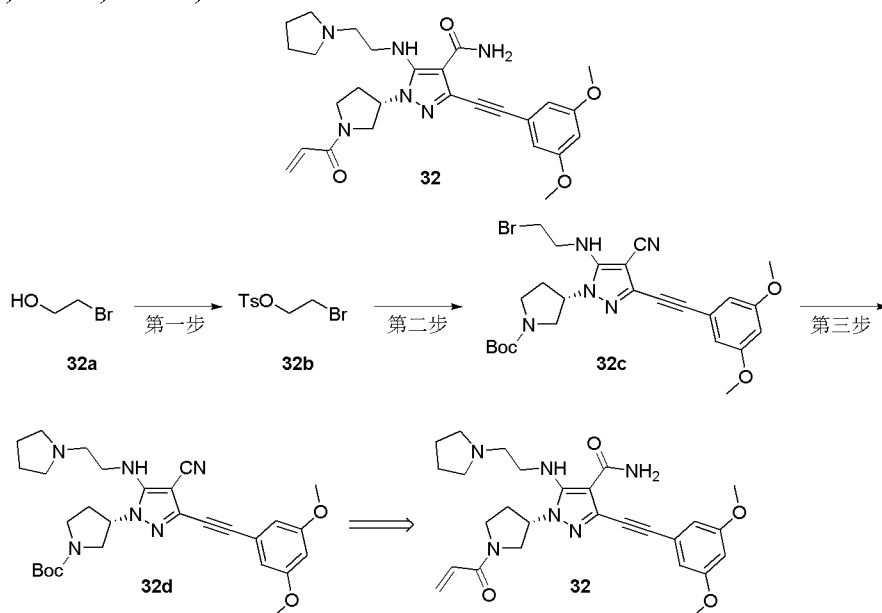
参照实施例 25 的操作步骤合成实施例 31, 但在第一步中用 4-(2-氯乙基)吗啉取代 2-溴丙烷。

MS m/z (ESI): 523[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.14 (s, 1H), 6.95 (brs, 1H), 6.69 (s, 2H), 6.63 (brs, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.49 - 6.39 (m, 2H), 6.14 (brs, 1H), 5.75 - 5.70 (m, 1H), 5.06 - 4.98 (m, 1H), 4.11 - 3.85 (m, 3H), 3.80 - 3.72 (m, 11H), 3.37 - 3.33 (m, 2H), 2.80 - 2.73 (m, 2H), 2.65 (brs, 4H), 2.45 - 2.32 (m, 2H)。

实施例 32

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

2-溴乙基 4-甲基苯磺酸酯

将化合物 2-溴乙醇 32a (500mg, 4.0mmol)、4-二甲氨基吡啶 (246mg, 2.02mmol) 和三乙胺 (1.22g, 12.1mmol) 溶于二氯甲烷 (50mL), 降

温至 0°C, 再分批加对甲苯磺酰氯 (1.15g, 6.05mmol), 加入完成后, 升至室温搅拌过夜。待反应完成, 将反应液倒入水 (50mL) 中并用二氯甲烷 (50mL×3) 萃取, 有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 残余物用硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯 = 10/1),
5 得到目标产物 2-溴乙基 4-甲基苯磺酸酯 32b (600mg, 黄色油状物), 产率: 53%。

MS m/z (ESI): 277[M+1]

第二步

(S)-3-(5-((2-溴乙基)氨基)-4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-
10 吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

将混合物(S)-3-(5-氨基-4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁基酯 7d (400mg, 0.92mmol)、2-溴乙基 4-甲基苯磺酸酯 (380mg, 1.37mmol)、碳酸铯 (600mg, 1.84mmol) 和乙腈 (10mL) 加热至 70°C, 并搅拌 2 小时。将反应液倒入水 (50mL)
15 中, 并用乙酸乙酯 (50mL×3) 萃取, 有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 残余物通过快速柱分离, 得到目标产物 (S)-3-(5-((2-溴乙基)氨基)-4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 32c (240mg, 棕色油状物), 产率: 48%。

MS m/z (ESI): 408[M+1-56-80]

20 第三步

(S)-3-(4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

将混合(S)-3-(5-((2-溴乙基)氨基)-4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 32c (240mg, 0.44mmol)、吡
25 咯烷 (47mg, 0.66mmol)、碳酸铯 (288mg, 0.88mmol) 和乙腈 (5mL) 加热至 70°C, 并搅拌 1.5 小时。将反应液倒入水 (30mL) 中, 并用乙酸乙酯 (30mL×3) 萃取, 有机相合并后经无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 减压浓缩, 残余物用硅胶柱层析纯化(二氯甲烷/甲醇 = 10/1), 得到目标产物(S)-3-(4-氰基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基)-1H-吡唑-1-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 32d (200mg, 黄色油状物), 产率: 85%。

MS m/z (ESI): 479[M+1-56]

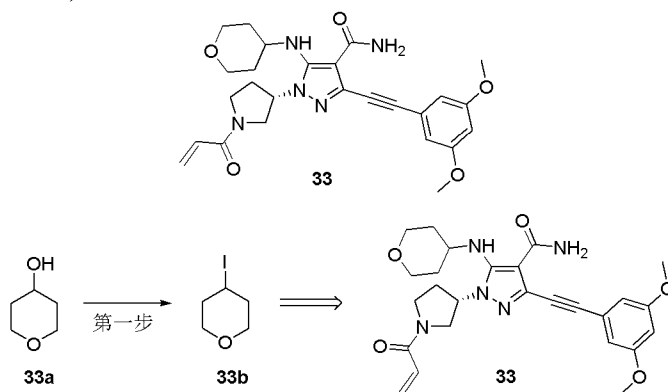
参照实施例 24 中第二步至第四步的操作步骤合成实施例 32。

MS m/z (ESI): 507[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.38 (s, 1H), 6.99 (brs, 1H), 6.69 (s, 2H), 6.51 (s, 1H), 6.47 - 6.36 (m, 2H), 5.72 - 5.67 m, 2H), 5.16 - 5.08 (m, 1H), 4.12 - 3.86 (m, 3H), 3.80 - 3.62 (m, 9H), 3.33 - 3.29 (m, 6H), 2.62 - 2.34 (m, 2H), 2.07 (brs, 4H)。

实施例 33

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



第一步

4-碘四氢-2H-吡喃

将 4-羟基四氢-2H-吡喃 33a (2.04g, 20mmol)、三苯基膦 (6.81g, 26) 和咪唑 (2.04g, 30mmol) 溶于二氯甲烷 (100mL) 中, 冷却至 0°C , 然后加入碘 (6.09g, 24mmol), 并在 45°C 下搅拌 14 小时。反应用水淬灭并用乙酸乙酯 (50mL $\times$ 2) 萃取, 有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 过滤后滤液减压脱溶。残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 1/1) 纯化得到目标产物 4-碘四氢-2H-吡喃 33b (2.12g, 白色固体), 产率: 50%。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 4.62 (dt, $J = 13.9, 4.5$ Hz, 1H), 3.68 - 3.64 (m, 2H), 3.47 - 3.42 (m, 2H), 2.13 - 1.97 (m, 4H)。

参照实施例 24 的操作步骤合成实施例 33, 但在第一步中用 4-碘四氢-2H-吡喃取代碘乙烷。

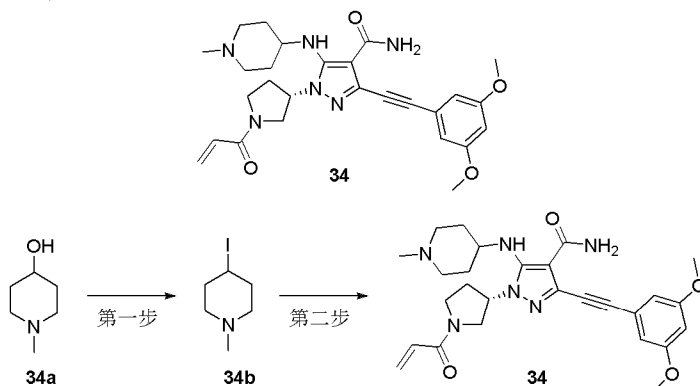
MS m/z (ESI): 494[M+H]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.74 (t, $J = 2.2$ Hz, 2H), 6.71 - 6.62

(m, 1H), 6.60 - 6.58(m, 1H), 6.36 - 6.30 (m, 1H), 5.82 - 5.77 (m, 1H), 5.18 - 5.12 (m, 1H), 4.04 - 3.94 (m, 6H), 3.81 (s, 6H), 3.52 - 3.46 (m, 3H), 2.55 - 2.39 (m, 2H), 1.94 - 1.92 (m, 2H), 1.60 - 1.55 (m, 2H)。

5 实施例 34

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((1-甲基哌啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺



10 第一步

4-碘-1-甲基哌啶

将 4-羟基-1-甲基哌啶 34a (2.3g, 20mmol)、三苯基膦 (6.81g, 26mmol)、咪唑 (2.04g, 30mmol) 和二氯甲烷 (100mL) 混合并冷却至 0°C, 然后加入碘 (6.09g, 24mmol) 并继续搅拌 18 小时。反应结束后用水淬灭, 然后用二氯甲烷 (50mL×2) 萃取。有机相合并后用无水硫酸钠干燥并过滤, 然后将滤液减压脱溶。残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 10/1) 纯化得到目标产物 4-碘-1-甲基哌啶 34b (2.25g, 白色固体), 产率: 50%。

MS m/z (ESI): 226[M+H]

20 第二步

(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((1-甲基哌啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺

将化合物(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-5-氨基-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 7 (210mg, 0.5mmol)、4-碘-1-甲基哌啶 34b (450mg, 2mmol)、碳酸钾 (207mg, 1.5mmol) 和乙腈 (10mL) 混合并在 90°C 下加热并搅拌 13 小时。反应混合物减压脱溶后溶于水, 然后用乙酸乙酯萃取 (50mL×2)。有机相合并后减压脱溶, 残余物用

反向制备液相色谱纯化得到目标产物(S)-1-(1-丙烯酰吡咯烷-3-基)-3-((3,5-二甲氧苯基)乙炔基)-5-((1-甲基哌啶-4-基)氨基)-1H-吡唑-4-甲酰胺 34 (8.1mg, 白色固体), 产率: 3.2%。

MS m/z (ESI): 507[M+H]

5 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.77 (s, 2H), 6.68-6.65 (m, 1H), 6.59 (s, 1H), 6.34 - 6.30 (m, 1H), 5.81 - 5.78 (m, 1H), 5.69 - 5.67 (m, 1H), 5.03 - 5.00 (m, 1H), 4.98 - 5.95(m, 1H), 4.92 - 4.90 (m, 1H), 4.36 (s, 2H), 4.12 - 4.07 (m, 1H), 4.00 - 3.98 (m, 1H), 3.93 - 3.90 (m, 1H), 3.86 - 3.84 (m, 1H), 3.81 (s, 6H), 3.72 - 3.68 (m, 1H), 2.53 - 2.47 (m, 3H), 2.40 - 2.38 (m, 1H),
10 2.32 (s, 3H), 2.27 - 2.21 (m, 1H)。

生物学实验

FGFR 的活性抑制测试

使用 HTRF 激酶检测试剂盒, 通过检测激酶反应中底物的磷酸化
15 水平来评估本发明的化合物对 FGFR 体外活性的影响 (表 1)。

FGFR1 的活性抑制测试

实验方法概述如下:

反应缓冲液包含以下组分: 5 倍稀释的 enzymatic buffer/kinase 5X (Cisbio, 货号为 62EZBFDD) (主要成分为 50mM HEPES, pH7.0)、
20 5mM MgCl_2 和 1mM DTT; 人重组 FGFR1 催化结构域蛋白 (氨基酸 308-731) 由公司自己纯化, 用反应缓冲液稀释成 0.6ng/uL 的激酶溶液; 底物反应溶液包括用反应缓冲液稀释成 400nM 的生物素标记的酪氨酸激酶底物 (Cisbio, 货号为 62TK0PEC) 和 40uM ATP; 检测液包括用检测缓冲液 (Cisbio, 货号为 62SDBRDF) 稀释成 0.125ng/uL Eu^{3+} 标记的
25 的笼状抗体 (Cisbio, 货号为 61T66KLB)、25nM 链霉亲和素标记的 XL665 (Cisbio, 货号为 610SAXLB)。

将化合物用 DMSO 溶解稀释至 1mM, 然后用 DMSO 进行 4 倍的系列稀释至最低浓度为 0.061uM, 每个浓度点再使用反应缓冲液稀释 40 倍。如果化合物 IC_{50} 值非常低, 可以降低化合物的起始浓度。

30 向 384 孔检测板 (Thermo, 货号为 264706) 中添加 4uL 化合物溶液和 2uL 的 FGFR1 激酶溶液, 混合均匀后室温孵育 15 分钟; 随后加入 4uL 底物反应溶液, 将反应混合物在室温孵育 60 分钟; 随后加入与

反应等体积的 10uL 检测液终止反应,混合均匀后室温放置。60 分钟后,磷酸化的产物同时被 Eu^{3+} 标记的笼状抗体 (供体) 和链霉亲和素标记的 XL665 抗体 (受体) 识别,在激光激发后,靠近的供体和受体发生能量共振转移,其从供体 (620nm) 转移至受体 (665nm) 的能量用酶标仪 EnVision (Perkin Elmer) 检测。665/620 的比值与底物的磷酸化程度呈正相关,因此从而检测 FGFR1 激酶的活性。

该实验中未加酶组作为 100%抑制组,加酶但是未加化合物组作为 0%抑制组。化合物对 FGFR1 活性的抑制百分比用以下公式计算:

$$\text{抑制百分比} = 100 - 100 * (\text{比值}_{\text{化合物}} - \text{比值}_{100\% \text{抑制}}) / (\text{比值}_{0\% \text{抑制}} - \text{比值}_{100\% \text{抑制}})$$

10 抑制)

化合物的 IC_{50} 值由 10 个浓度点用 Excel 中 XLfit 软件通过以下公式来计算:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\log \text{IC}_{50} - X) * \text{slope factor}))}$$

其中 Y 为抑制百分比, Bottom 为 S 型曲线的底部平台值, Top 为 S 型曲线的顶部平台值, X 为待测化合物浓度的对数值, slope factor 为曲线斜率系数。

FGFR2 的活性抑制测试

实验方法概述如下:

20 反应缓冲液包含以下组分: 5 倍稀释的 enzymatic buffer/kinase 5X (Cisbio, 货号为 62EZBFDD) (主要成分为 50mM HEPES, pH7.0)、5mM MgCl_2 和 1mM DTT; 人重组 FGFR2 催化结构域蛋白 (氨基酸 400-821) 购自义翘神州生物技术有限公司, 用反应缓冲液稀释成 0.45ng/uL 的激酶溶液; 底物反应溶液包括用反应缓冲液稀释成 800nM 的生物素标记的酪氨酸激酶底物 (Cisbio, 货号为 62TK0PEC) 和 50uM ATP; 检测液包括用检测缓冲液 (Cisbio, 货号为 62SDBRDF) 稀释成 0.125ng/uL Eu^{3+} 标记的笼状抗体 (Cisbio, 货号为 61T66KLB)、50nM 链霉亲和素标记的 XL665 (Cisbio, 货号为 610SAXLB)。

30 将化合物用 DMSO 溶解稀释至 1mM, 然后用 DMSO 进行 4 倍的系列稀释至最低浓度为 0.061uM, 每个浓度点再使用反应缓冲液稀释 40 倍。如果化合物 IC_{50} 值非常低, 可以降低化合物的起始浓度。

向 384 孔检测板 (Thermo, 货号为 264706) 中添加 4uL 化合物溶

液和 2uL 的 FGFR2 激酶溶液，混合均匀后室温孵育 15 分钟；随后加入 4uL 底物反应溶液，将反应混合物在室温孵育 60 分钟；随后加入与反应等体积的 10uL 检测液终止反应，混合均匀后室温放置。60 分钟后，磷酸化的产物同时被 Eu^{3+} 标记的笼状抗体（供体）和链霉亲和素标记的 XL665 抗体（受体）识别。在激光激发后，靠近的供体和受体发生能量共振转移，其从供体（620nm）转移至受体（665nm）的能量用酶标仪 EnVision（Perkin Elmer）检测。665/620 的比值与底物的磷酸化程度呈正相关，因此从而检测 FGFR2 激酶的活性。

该实验中未加酶组作为 100%抑制组，加酶但是未加化合物组作为 0%抑制组。化合物对 FGFR2 活性抑制百分比用以下公式计算：

$$\text{抑制百分比} = 100 - 100 * (\text{比值}_{\text{化合物}} - \text{比值}_{100\% \text{抑制}}) / (\text{比值}_{0\% \text{抑制}} - \text{比值}_{100\% \text{抑制}})$$

化合物的 IC_{50} 值由 10 个浓度点用 Excel 中 XLfit 软件通过以下公式来计算：

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\log \text{IC}_{50} - X) * \text{slope factor}))}$$

其中 Y 为抑制百分比，Bottom 为 S 型曲线的底部平台值，Top 为 S 型曲线的顶部平台值，X 为待测化合物浓度的对数值，slope factor 为曲线斜率系数。

20 FGFR3 的活性抑制测试

实验方法概述如下：

反应缓冲液包含以下组分：5 倍稀释的 enzymatic buffer/kinase 5X（Cisbio，货号为 62EZBFDD）（主要成分为 50mM HEPES，pH7.0）、5mM MgCl_2 和 1mM DTT；人重组 FGFR3 催化结构域蛋白（氨基酸 399-806）购自义翘神州生物技术有限公司，用反应缓冲液稀释成 0.3ng/uL 的激酶溶液；底物反应溶液包括用反应缓冲液稀释成 1000nM 的生物素标记的酪氨酸激酶底物（Cisbio，货号为 62TK0PEC）和 90uM ATP；检测液包括用检测缓冲液（Cisbio，货号为 62SDBRDF）稀释成 0.125ng/uL Eu^{3+} 标记的笼状抗体（Cisbio，货号为 61T66KLB）、62.5nM 链霉亲和素标记的 XL665（Cisbio，货号为 610SAXLB）。

将化合物用 DMSO 溶解稀释至 1mM，然后用 DMSO 进行 4 倍的系列稀释至最低浓度为 0.061uM，每个浓度点再使用反应缓冲液稀释

40 倍。如果化合物 IC₅₀ 值非常低，可以降低化合物的起始浓度。

向 384 孔检测板 (Thermo, 货号为 264706) 中添加 4uL 化合物溶液和 2uL 的 FGFR3 激酶溶液, 混合均匀后室温孵育 15 分钟; 随后加入 4uL 底物反应溶液, 将反应混合物在室温孵育 60 分钟; 随后加入与反应等体积的 10uL 检测液终止反应, 混合均匀后室温放置。60 分钟后, 磷酸化的产物同时被 Eu³⁺ 标记的笼状抗体 (供体) 和链霉亲和素标记的 XL665 抗体 (受体) 识别。在激光激发后, 靠近的供体和受体发生能量共振转移, 其从供体 (620nm) 转移至受体 (665nm) 的能量用酶标仪 EnVision (Perkin Elmer) 检测。665/620 的比值与底物的磷酸化程度呈正相关, 因此从而检测 FGFR3 激酶的活性。

该实验中未加酶组作为 100% 抑制组, 加酶但是未加化合物组作为 0% 抑制组。化合物对 FGFR3 活性抑制百分比用以下公式计算:

$$\text{抑制百分比} = 100 - 100 * (\text{比值}_{\text{化合物}} - \text{比值}_{100\% \text{抑制}}) / (\text{比值}_{0\% \text{抑制}} - \text{比值}_{100\% \text{抑制}})$$

化合物的 IC₅₀ 值由 10 个浓度点用 Excel 中 XLfit 软件通过以下公式来计算:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\log \text{IC}_{50} - X) * \text{slope factor}))}$$

其中 Y 为抑制百分比, Bottom 为 S 型曲线的底部平台值, Top 为 S 型曲线的顶部平台值, X 为待测化合物浓度的对数值, slope factor 为曲线斜率系数。

FGFR4 的活性抑制测试

实验方法概述如下:

反应缓冲液包含以下组分: 5 倍稀释的 enzymatic buffer/kinase 5X (Cisbio, 货号为 62EZBFDD) (主要成分为 50mM HEPES, pH7.0)、5mM MgCl₂ 和 1mM DTT; 人重组 FGFR4 催化结构域蛋白 (氨基酸 460-802) 购自清华大学蛋白质研究技术中心, 用反应缓冲液稀释成 0.5ng/uL 的激酶溶液; 底物反应溶液包括用反应缓冲液稀释成 500nM 的生物素标记的酪氨酸激酶底物 (Cisbio, 货号为 62TK0PEC) 和 90uM ATP; 检测液包括用检测缓冲液 (Cisbio, 货号为 62SDBRDF) 稀释成 0.125ng/uL Eu³⁺ 标记的笼状抗体 (Cisbio, 货号为 61T66KLB)、31.25nM 链霉亲和素标记的 XL665 (Cisbio, 货号为 610SAXLB)。

将化合物用 DMSO 溶解稀释至 1mM，然后用 DMSO 进行 4 倍的系列稀释至最低浓度为 0.061uM，每个浓度点再使用反应缓冲液稀释 40 倍。如果化合物 IC₅₀ 值非常低，可以降低化合物的起始浓度。

向 384 孔检测板 (Thermo, 货号为 264706) 中添加 4uL 化合物溶液和 2uL 的 FGFR4 激酶溶液，混合均匀后室温孵育 15 分钟；随后加入 4uL 底物反应溶液，将反应混合物在室温孵育 60 分钟；随后加入与反应等体积的 10uL 检测液终止反应，混合均匀后室温放置。60 分钟后，磷酸化的产物同时被 Eu³⁺ 标记的笼状抗体 (供体) 和链霉亲和素标记的 XL665 抗体 (受体) 识别。在激光激发后，靠近的供体和受体发生能量共振转移，其从供体 (620nm) 转移至受体 (665nm) 的能量用酶标仪 EnVision (Perkin Elmer) 检测。665/620 的比值与底物的磷酸化程度呈正相关，因此从而检测 FGFR4 激酶的活性。

该实验中未加酶组作为 100%抑制组，加酶但是未加化合物组作为 0%抑制组。化合物对 FGFR4 活性抑制百分比用以下公式计算：

抑制百分比 = $100 - 100 * (\text{比值}_{\text{化合物}} - \text{比值}_{100\% \text{抑制}}) / (\text{比值}_{0\% \text{抑制}} - \text{比值}_{100\% \text{抑制}})$

化合物的 IC₅₀ 值由 10 个浓度点用 Excel 中 XLfit 软件通过以下公式来计算：

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\log \text{IC}_{50} - X) * \text{slope factor}))}$$

其中 Y 为抑制百分比，Bottom 为 S 型曲线的底部平台值，Top 为 S 型曲线的顶部平台值，X 为待测化合物浓度的对数值，slope factor 为曲线斜率系数。

表 1

化合物编号	IC ₅₀			
	FGFR1	FGFR2	FGFR3	FGFR4
1	B	B	B	B
3	C	B	B	B
7	A	A	A	A
8	C	B	B	C
9	C	B	C	C
10	B	A	A	B
11	B	B	B	B
12	C	A	A	B
13	B	A	A	B
14	A	A	A	A
15	C	B	B	B
16	B	B	A	B
17	A	A	A	A
18	B	A	B	B
19	A	A	A	A
20	A	A	A	A
21	A	A	A	A
22	A	A	A	A
23	B	A	A	B
25	B	B	B	B
26	A	A	A	A
27	B	A	B	B
28	B	B	A	B
29	B	A	A	B
30	B	A	A	B
31	B	A	A	B
32	C	B	B	C
33	B	C	C	B
34	B	A	A	B

A < 10nM; 10 nM ≤ B < 100nM; 100 nM ≤ C < 1000nM

本发明的实施例化合物对 FGFR 的活性具有显著抑制效应，优选 IC₅₀ 为 100 至 1000nM，更优选 IC₅₀ 小于 100nM，最优选 IC₅₀ 小于 10nM。

Hep3B 细胞增殖抑制的测定

- 5 使用发光细胞活力测试实验评估本发明的化合物对 Hep3B 肝癌细胞系细胞增殖的影响（表 2）。

实验方法概述如下：

CellTiter-Glo 试剂（Promega，货号为 G7572）由 CTG 冻干粉和 CTG 缓冲液组成，使用时将冻干粉溶解到缓冲液中即可。

- 10 将化合物用 DMSO（Sigma，货号为 D5879）溶解稀释至 5mM，然后用 DMSO 进行 4 倍的系列稀释至最低浓度为 0.31uM，每个浓度点再用不含 FBS 的 DMEM 培养基（ThermoFisher，货号为 11995073）稀释 50 倍。如果化合物 IC₅₀ 值非常低，可以降低化合物的起始浓度。

- 15 Hep3B 细胞（来自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心）在含有 10%FBS（GBICO，货号为 10099-141）和 100U/mL 青链霉素混合液（ThermoFisher，货号为 15140122）的 DMEM 完全培养基中培养，当细胞在培养容器中覆盖率达 80-90%时，用 0.25%胰酶（含 EDTA）（ThermoFisher，货号为 25200056）消化吹散后种植于白色 384 孔板（ThermoFisher，货号为 164610），每孔 1000 细胞（27uL DMEM 完
20 全培养基），然后把 384 孔板置于 37°C、5%CO₂ 的培养箱中培养过夜（18-20 小时）。

- 过夜后每孔加入 3uL DMEM 稀释后的化合物，轻轻离心混匀，然后把 384 孔板置于 37°C、5%CO₂ 的培养箱中继续培养，72 小时后取出于室温放置。30 分钟，每孔加 15uL 平衡至室温的 CTG 试剂，置于振
25 荡器上轻轻震荡 3 分钟以确保细胞裂解充分，放置 10 分钟使冷光信号稳定，然后用 EnVision（Perkin Elmer）读取冷光信号。

其中，加 10uM Blueprint 的 BLU9931(Cancer Discovery 2015, 5, 424) 组的冷光信号作为 signal_{100%抑制}，加 0.2%DMSO 组的冷光信号作为 signal_{0%抑制}。

- 30 化合物对 Hep3B 细胞增殖抑制的百分比可以用以下公式计算：

抑制百分比 = 100 - 100 * (signal_{化合物} - signal_{100%抑制}) / (signal_{0%抑制} - signal_{100%抑制})

化合物 IC₅₀ 值由 8 个浓度点用 XLfit (ID Business Solutions Ltd., UK) 软件通过以下公式计算:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\log \text{IC}_{50} - X) * \text{slope factor}))}$$

其中 Y 为抑制百分比, Bottom 为 S 型曲线的底部平台值, Top 为 S 型曲线的顶部平台值, X 为待测化合物浓度的对数值, slope factor 为曲线斜率系数。

RT4 细胞增殖抑制的测定

使用发光细胞活力测试实验评估本发明的化合物对 RT4 膀胱癌细胞系细胞增殖的影响 (表 2)。

实验方法概述参照 Hep3B 细胞增殖抑制的测定方法, 其中 RT4 细胞 (来自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心)、阳性对照物为 Taiho 专利申请 WO2015008844A1 中的实施例 1 ((S)-1-(3-(4-氨基-3-((3,5-二甲氧基苯基)乙炔基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)吡咯烷-1-基)丙-2-烯-1-酮)。

SNU-16 细胞增殖抑制的测定

使用发光细胞活力测试实验评估本发明的化合物对 SNU-16 胃癌细胞系细胞增殖的影响 (表 2)。

实验方法概述参照 Hep3B 细胞增殖抑制的测定方法, 其中 SNU-16 细胞 (ATCC, HB-8064)、阳性对照物为 Novartis 的 BJG398。

表 2

化合物编号	IC ₅₀		
	Hep3B	RT4	SNU-16
1	B	B	B
7	A	A	A
10	B	B	A
12	C	C	N.D.
17	A	A	A
18	N.D.	B	A
19	N.D.	N.D.	B
20	N.D.	N.D.	B
21	A	A	A
22	A	A	A
23	A	B	A
26	B	A	A
28	N.D.	A	A
29	A	A	A
30	B	A	A
31	B	A	A
34	B	A	A

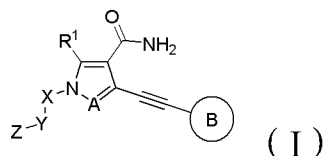
说明：A < 10nM；10 nM ≤ B < 100nM；100 nM ≤ C < 1000nM

N.D.：未进行检测

- 5 本发明的实施例化合物分别对 Hep3B、RT4 和 SNU-16 的细胞增殖具有显著抑制效应，优选 IC₅₀ 为 100 至 1000nM，更优选 IC₅₀ 小于 100nM。

权 利 要 求

1. 一种通式 (I) 所示的化合物:



5 其中:

A 为 N 或 CR²;

环 B 为苯环或 5-6 元杂芳环, 其中所述苯环和杂芳环任选被一个或多个 G¹ 所取代;

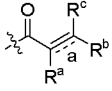
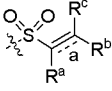
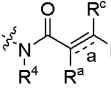
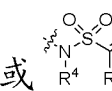
R¹ 独立地选自 H、卤素、氰基、C₁₋₆ 烷基或 -NHR³;

10 R² 独立地选自 H、卤素、氰基或 C₁₋₆ 烷基, 其中所述烷基任选被卤素、氰基、羟基或 -OC₁₋₆ 烷基所取代;

R³ 独立地选自 H、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被卤素、氰基、-OR⁴、-NR⁵R⁶、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基或 3-6 元杂环基所取代;

15 X 不存在或为 C₁₋₆ 亚烷基;

Y 不存在或选自 C₃₋₈ 亚环烷基、3-8 元亚杂环基、亚芳基或亚杂芳基, 其中所述亚环烷基、亚杂环基、亚芳基和亚杂芳基任选被一个或多个 G² 所取代;

Z 独立地选自氰基、-NR⁷CN、、、 或 ;

20 键 a 为双键或三键;

当键 a 为双键时, R^a、R^b 和 R^c 各自独立地选自 H、氰基、卤素、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个 G³ 所取代;

25 R^a 和 R^b 或 R^b 和 R^c 任选与它们连接的碳原子共同形成一任选含有杂原子的 3-6 元环;

当键 a 为三键时, R^a 和 R^c 不存在, R^b 独立地选自 H、氰基、卤素、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个 G⁴ 所取代;

R⁷ 独立地选自 H、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所

述烷基、环烷基和杂环基任选可被一个或多个 G^5 所取代；

G^1 、 G^2 、 G^3 、 G^4 和 G^5 各自独立地选自卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元杂环基、 C_{6-10} 芳基、5-10 元杂芳基、 $-OR^8$ 、 $-OC(O)NR^8R^9$ 、 $-C(O)OR^8$ 、 $-C(O)NR^8R^9$ 、 $-C(O)R^8$ 、
5 $-NR^8R^9$ 、 $-NR^8C(O)R^9$ 、 $-NR^8C(O)NR^9R^{10}$ 、 $-S(O)_mR^8$ 或 $-NR^8S(O)_mR^9$ ，其中所述烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基任选被一个或多个选自卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元杂环基、 $-OR^{11}$ 、 $-OC(O)NR^{11}R^{12}$ 、 $-C(O)OR^{11}$ 、 $-C(O)NR^{11}R^{12}$ 、 $-C(O)R^{11}$ 、 $-NR^{11}R^{12}$ 、 $-NR^{11}C(O)R^{12}$ 、 $-NR^{11}C(O)NR^{12}R^{13}$ 、 $-S(O)_mR^{11}$ 或 $-NR^{11}S(O)_mR^{12}$ 的取代
10 基所取代；

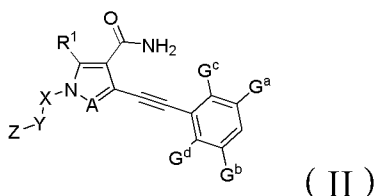
R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 各自独立地选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元单环杂环基、单环杂芳基或苯基；且 m 为 1 或 2；

或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物
15 形式。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中 A 为 N 或 CH，优选为 N。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物，其中环 B 为苯环。

4. 根据权利要求 1 所述的化合物，其为以下通式 (II) 的化合物：

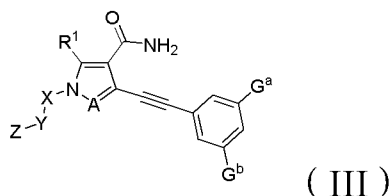


20 其中：

G^a 、 G^b 、 G^c 和 G^d 各自独立地选自 H、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元杂环基、 $-OR^8$ 、 $-NR^8R^9$ 或 $-C(O)NR^8R^9$ ，其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个选自卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元杂环基、 $-OR^{11}$ 或 $-NR^{11}R^{12}$ 的取代基所取代，并且 G^a 、 G^b 、
25 G^c 和 G^d 各自独立地优选为 $-OC_{1-2}$ 烷基或卤素；

A、 R^1 、 R^8 、 R^9 、 R^{11} 、 R^{12} 、X、Y、Z 的定义如权利要求 1 中所述。

5. 根据权利要求 1 所述的化合物，其为以下通式 (III) 的化合物：



其中:

G^a 和 G^b 各自独立地选自 H、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元杂环基、 $-OR^8$ 、 $-NR^8R^9$ 或 $-C(O)NR^8R^9$, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个选自卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、3-8 元杂环基、 $-OR^{11}$ 或 $-NR^{11}R^{12}$ 的取代基所取代, 并且 G^a 和 G^b 各自独立地优选为 $-OC_{1-2}$ 烷基;

A、 R^1 、 R^8 、 R^9 、 R^{11} 、 R^{12} 、X、Y、Z 的定义如权利要求 1 中所述。

6. 根据前述权利要求任一项所述的化合物, 其中 R^1 独立地选自 H、 $-NH_2$ 或 $-NHR^3$;

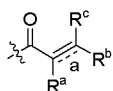
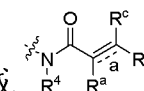
R^3 独立地选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被卤素、氰基、 $-OR^4$ 、 $-NR^5R^6$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基或 3-6 元杂环基所取代。

7. 根据前述权利要求任一项所述的化合物, 其中 R^1 独立地选自 H、 $-NH_2$ 或 $-NHC_{1-6}$ 烷基。

8. 根据前述权利要求任一项所述的化合物, 其中:

X 不存在或为 C_{1-6} 亚烷基;

Y 不存在或选自 C_{3-8} 亚环烷基或 3-8 元亚杂环基;

Z 独立地选自氰基、 $-NR^7CN$ 、 或  ;

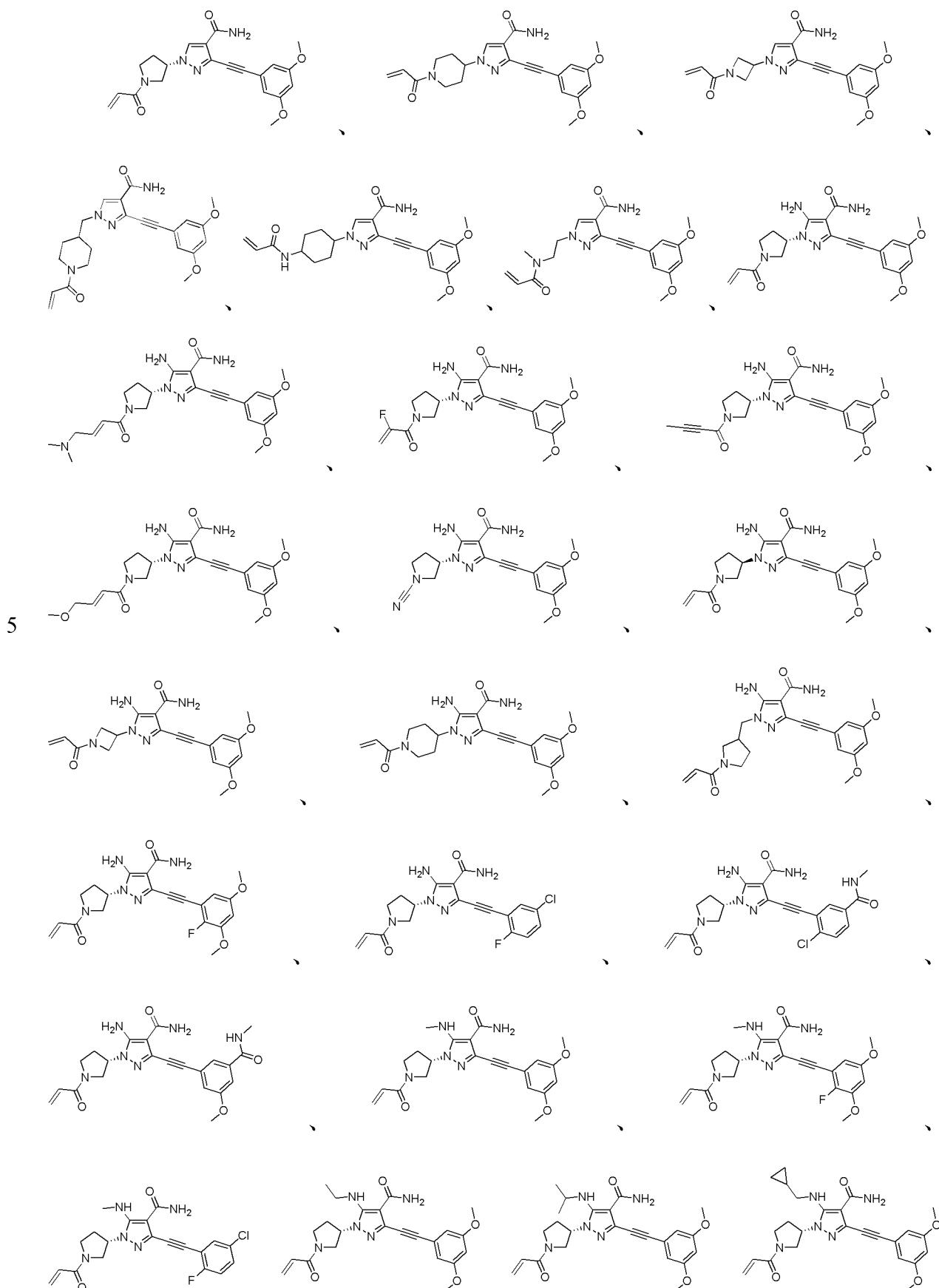
键 a 为双键或三键;

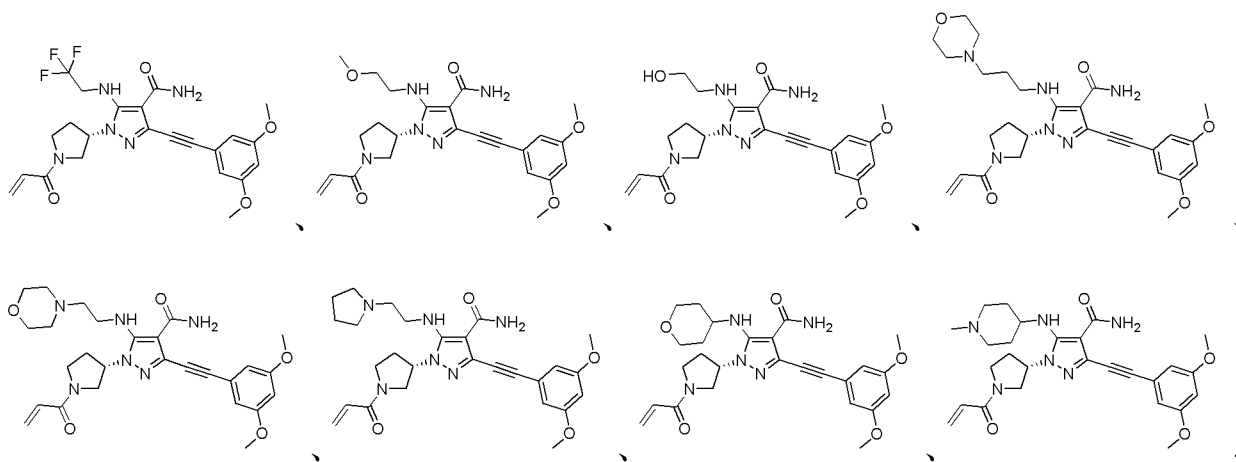
当键 a 为双键时, R^a 、 R^b 和 R^c 各自独立地选自 H、氰基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个独立地选自卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-6 元杂环基、 $-OR^8$ 或 $-NR^8R^9$ 的取代基所取代;

当键 a 为三键时, R^a 和 R^c 不存在, R^b 独立地选自 H、氰基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基或 3-6 元杂环基, 其中所述烷基、环烷基和杂环基任选被一个或多个独立地选自卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-6 元杂环基、 $-OR^8$ 或 $-NR^8R^9$ 的取代基所取代;

R^4 、 R^8 、 R^9 各自独立地选自 H 或 C_{1-6} 烷基。

9. 根据权利要求 1 所述的化合物, 所述化合物选自:





或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式。

10. 一种药物组合物，所述药物组合物包含根据权利要求 1-9 任一项所述的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式和药学上可接受的载体和赋形剂。

11. 根据权利要求 1-9 任一项所述的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式或根据权利要求 10 所述的药物组合物在制备用于治疗和/或预防 FGFR 相关性疾病、优选为肿瘤（例如非小细胞肺癌、食管癌、黑色素瘤、横纹肌肉瘤、肾细胞癌、多发性骨髓瘤、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、胃癌、结肠癌、膀胱癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、前列腺癌和肝癌，更优选为肝癌、胃癌、非小细胞肺癌和膀胱癌）的药物中的用途。

12. 权利要求 1-9 任一项的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式或者权利要求 10 所述的药物组合物，其用作药物。

13. 一种治疗 FGFR 相关性疾病的方法，其包括给药有其需要的患者治疗有效量的根据权利要求 1-9 任一项所述的化合物或其前药、稳定同位素衍生物、可药用的盐、异构体及其混合物形式。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/072570

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 403/04 (2006.01) i; C07D 401/04 (2006.01) i; C07D 401/06 (2006.01) i; C07D 403/06 (2006.01) i; C07D 231/14 (2006.01) i;
A61K 31/415 (2006.01) i; A61K 31/4155 (2006.01) i; A61K 31/454 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 403/-; C07D 401/-; C07D 231/-; A61K 31/-; A61P 35/-

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

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

VEN, CNABS, CNKI, STN (REG, CAPLUS): 北京天诚, 炔, 肿瘤, 癌, FGFR, 成纤维细胞生长因子受体, Fibroblast Growth Factor Receptor, 酪氨酸激酶, RTK

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2013014039 A1 (NERVIANO MEDICAL SCIENCES S.R.L.), 31 January 2013 (31.01.2013), claims 1-31, and compounds 1-103	1-12

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

☒ See patent family annex.

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

Date of the actual completion of the international search 03 May 2017	Date of mailing of the international search report 20 June 2017
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer WANG, Ying Telephone No. (86-10) 62086304

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/072570

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claim No.: 13
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] relating to a treatment method performed on a human body/animal body, which belongs to a subject matter on which a search is not required by the International Searching Authority defined in PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/072570

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2013014039 A1	31 January 2013	JP 2014521621 T	28 August 2014
		JP 6016915 B2	26 October 2016
		US 20140194406 A1	10 July 2014
		US 8912200 B2	16 December 2014

A. 主题的分类		
C07D 403/04(2006.01)i; C07D 401/04(2006.01)i; C07D 401/06(2006.01)i; C07D 403/06(2006.01)i; C07D 231/14(2006.01)i; A61K 31/415(2006.01)i; A61K 31/4155(2006.01)i; A61K 31/454(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
C07D403/-;C07D401/-;C07D231/-;A61K31/-;A61P35/-		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称,和使用的检索词(如使用))		
VEN, CNABS, CNKI, STN(Reg, CAPLUS) 北京天诚, 快, 肿瘤, 癌, FGFR, 成纤维细胞生长因子受体, Fibroblast Growth Factor Receptor, 酪氨酸激酶, RTK		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	WO 2013014039 A1 (NERVIANO MEDICAL SCIENCES S.R.L.) 2013年 1月 31日 (2013 - 01 - 31) 权利要求1-31, 化合物1-103	1-12
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2017年 5月 3日		2017年 6月 20日
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088		王颖
传真号 (86-10)62019451		电话号码 (86-10) 62086304

第II栏

某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求： 13
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 涉及对人体/动物体实施的治疗方法，属于不需要国际检索单位进行检索的主题（细则39.1(iv) PCT）。
2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：
3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际申请号 PCT/CN2017/072570

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2013014039	A1	2013年 1月 31日	JP	2014521621	T	2014年 8月 28日
				JP	6016915	B2	2016年 10月 26日
				US	20140194406	A1	2014年 7月 10日
				US	8912200	B2	2014年 12月 16日