



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111153901 B

(45) 授权公告日 2022. 01. 25

(21) 申请号 201911083409.3

(22) 申请日 2019.11.07

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111153901 A

(43) 申请公布日 2020.05.15

(66) 本国优先权数据
201811317588.8 2018.11.07 CN
201811594644.2 2018.12.26 CN
201910131491.6 2019.02.22 CN

(73) 专利权人 上海凌达生物医药有限公司
地址 201203 上海市浦东新区自由贸易试
验区哈雷路866号三层305室

(72) 发明人 万惠新 潘建峰 马金贵 查传涛

(74) 专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283
代理人 王卫彬 马续红

(51) Int. Cl.

- C07D 471/04 (2006.01)
- C07D 487/04 (2006.01)
- C07D 519/00 (2006.01)
- A61K 31/4545 (2006.01)
- A61K 31/519 (2006.01)
- A61K 31/438 (2006.01)
- A61K 31/4985 (2006.01)
- A61K 31/444 (2006.01)
- A61P 35/00 (2006.01)
- A61P 35/02 (2006.01)
- A61P 43/00 (2006.01)
- A61P 15/00 (2006.01)

审查员 戴年珍

权利要求书4页 说明书76页

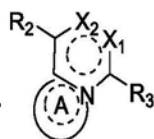
(54) 发明名称

一类含氮稠杂环类SHP2抑制剂化合物、制备方法和用途

(57) 摘要

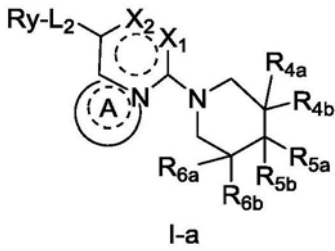
本发明公开了一类含氮稠杂环类SHP2抑制剂化合物、制备方法和用途。本发明的含氮稠杂环类SHP2抑制剂化合物如下式I所示。本发明的化合物对SHP2酶和肿瘤细胞增殖具有均有高的

抑制活性,具有较好的成药性。



I

1. 一种具有如通式I-a所示的含氮稠杂环类化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,

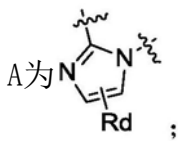


其中, L_2 为S;

X_1 为N;

X_2 为 CR_1 ;

每一个 R_1 独立地为氨基或 C_1-C_6 的烷基;

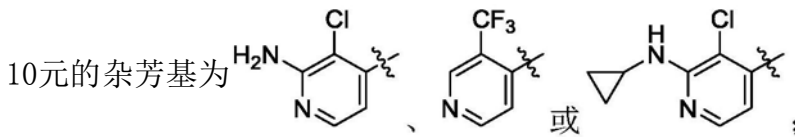


R_d 为H;

R_y 为5-10元杂芳基;

当 R_y 为5-10元的杂芳基时,所述的5-10元的杂芳基上的一个或多个氢原子仅被取代;

当 R_y 为5-10元的杂芳基,且5-10元的杂芳基上的一个或多个氢原子被取代时,所述的5-

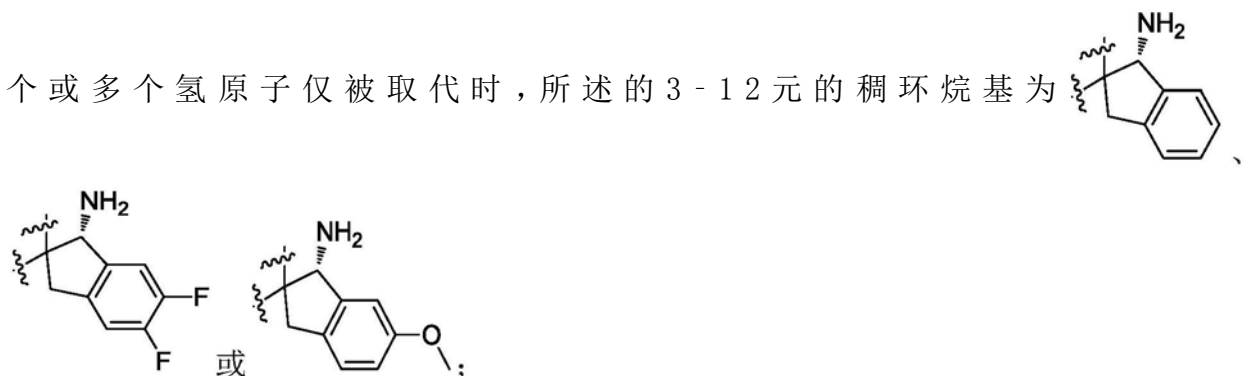


R_{4a} 、 R_{4b} 、 R_{6a} 和 R_{6b} 独立地为氢;

R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环烷基或3-12元的稠环杂环烷基;

当 R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环烷基时,所述的3-12元的稠环烷基上的一个或多个氢原子仅被取代;

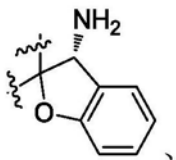
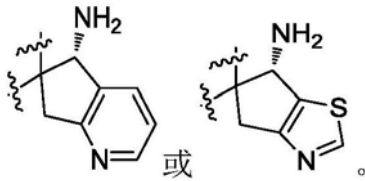
当 R^{5a} 和 R^{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环烷基,且3-12元的稠环烷基上的一个或多个氢原子仅被取代时,所述的3-12元的稠环烷基为



当 R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环杂环烷基时,所述的3-12元的稠环杂环烷基上的一个或多个氢原子被取代;

当 R^{5a} 和 R^{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环杂环烷基,且3-12元的稠环杂环烷

基上的一个或多个氢原子被取代时,所述的3-12元的稠环杂环烷基为

2. 如权利要求1所述的具有如通式I-a所示的含氮稠杂环类化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,当每一个 R_1 独立地为 C_1-C_6 的烷基时,所述的 C_1-C_6 的烷基不被取代。

3. 如权利要求1所述的具有如通式I-a所示的含氮稠杂环类化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,当每一个 R_1 独立地为 C_1-C_6 的烷基时,所述的 C_1-C_6 的烷基为 C_1-C_3 的烷基。

4. 如权利要求1所述的具有如通式I-a所示的含氮稠杂环类化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,

当每一个 R_1 独立地为 C_1-C_6 的烷基时,所述的 C_1-C_6 的烷基为甲基。

5. 如权利要求1所述的具有如通式I-a所示的含氮稠杂环类化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,

当 R_y 为5-10元的杂芳基,且5-10元的杂芳基上的一个或多个氢原子被取代时,所述的5-

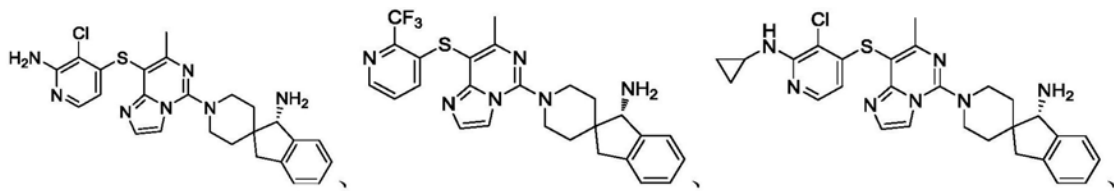
10元的杂芳基为

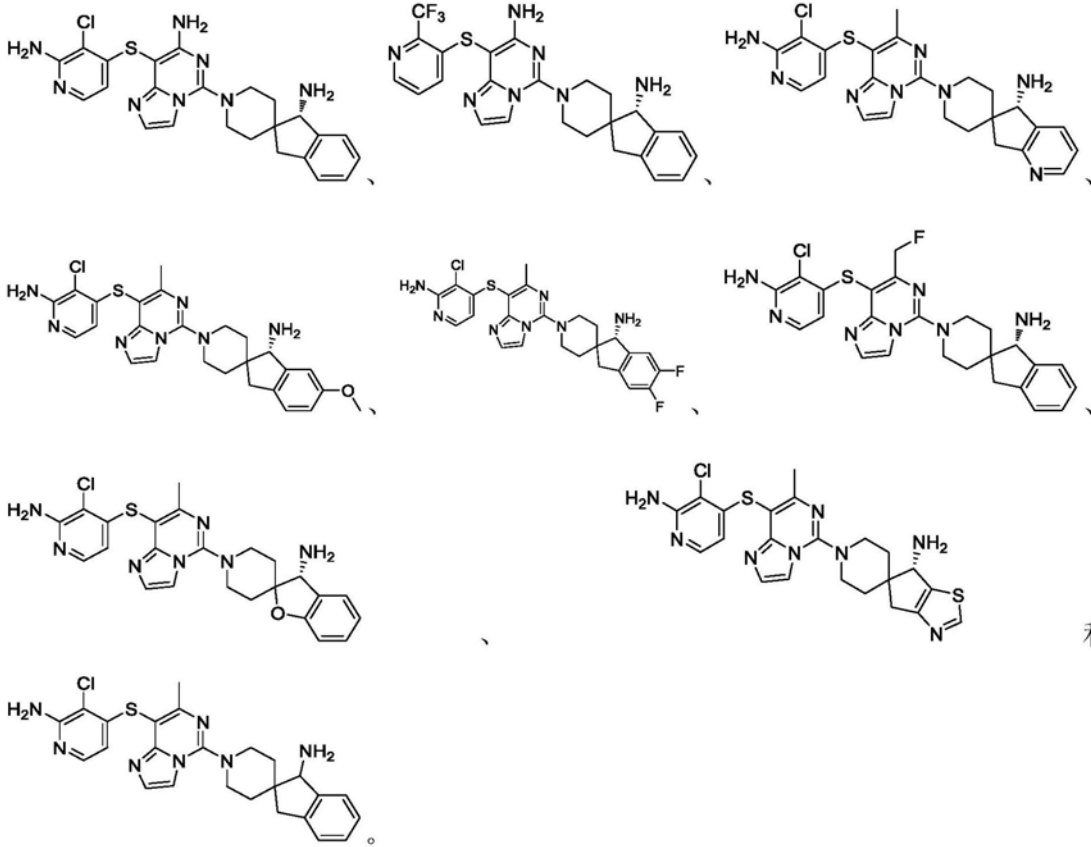


6. 如权利要求1所述的具有如通式I-a所示的含氮稠杂环类化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,

所述的 R_1 为氨基。

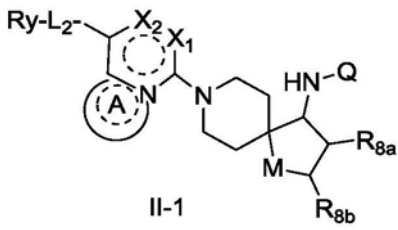
7. 一种含氮稠杂环类化合物为如下任一化合物:





和

8. 一种如式II-1所示的化合物:

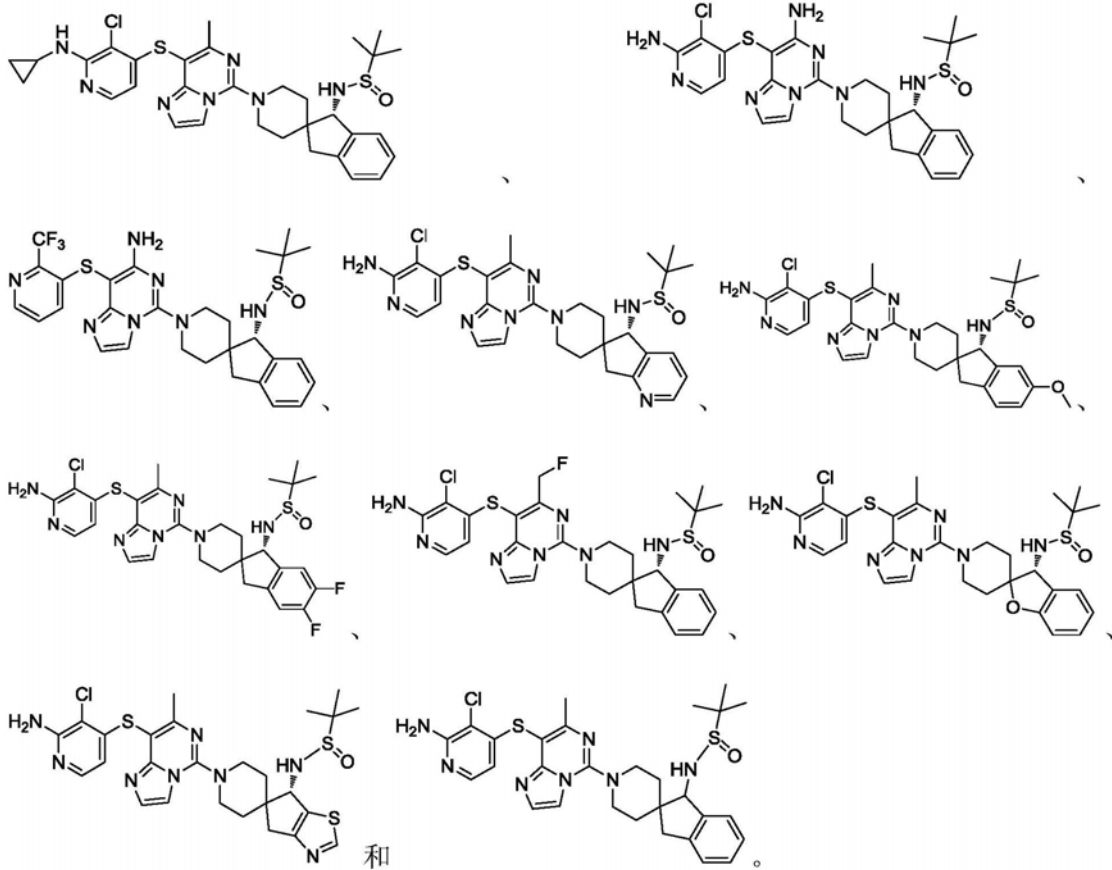


其中, Q为氨基保护基, L₂为S, A、X₁、X₂和R_y的定义均如权

利要求1-7任一项所述; M为0或-CR_{10a}R_{10b}-; 所述的R_{10a}、R_{10b}为氢; R_{8a}和R_{8b}以碳原子相连接形成3-12元芳香体系; 所述的3-12元芳香体系为苯基或4-6元杂芳基; 所述的杂芳基中的杂原子为S或N, 个数1个或2个。

9. 一种化合物, 其特征在于, 其为如下任一化合物:





10. 一种药物组合物A,其包括如权利要求1-7任一项所述的含氮稠杂环类化合物或其药学上可接受的盐,与药学上可接受的载体。

11. 一种药物组合物C,其包括如权利要求1-7任一项所述的含氮稠杂环类化合物或其药学上可接受的盐,与PD-1抑制剂。

12. 如权利要求11所述的药物组合物C,其特征在于,所述的PD-1抑制剂为PD-L1抗体。

13. 如权利要求12所述的药物组合物C,其特征在于,所述的PD-1抑制剂为anti-mouse PD-L1。

14. 一种药物组合物B,其包括如权利要求11-13任一项所述的药物组合物C、和药学上可接受的辅料。

15. 一种如权利要求1-7任一项所述的含氮稠杂环类化合物或其药学上可接受的盐、如权利要求11-13任一项所述的药物组合物C、如权利要求10所述的药物组合物A或如权利要求14所述的药物组合物B在制备药物或SHP2抑制剂中的应用;所述的药物用于防治和/或治疗与SHP2蛋白活性或表达相关的疾病;或所述的药物用于防治和/或治疗与肿瘤、免疫性疾病和炎症性疾病中的一种或多种相关的疾病。

16. 如权利要求15所述的应用,其特征在于,所述的与SHP2蛋白活性或表达相关的疾病为肿瘤。

17. 如权利要求15所述的应用,其特征在于,所述的肿瘤为由Ras-Raf-ERK或PD1/L1信号通路异常导致的肿瘤。

18. 如权利要求15所述的应用,其特征在于,所述的肿瘤为食管癌、结直肠癌、胰腺癌、白血病、肺癌或胃癌。

一类含氮稠杂环类SHP2抑制剂化合物、制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一类含氮稠杂环类SHP2抑制剂化合物、制备方法和用途。

背景技术

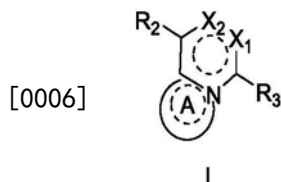
[0002] 蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTP) 在多种细胞过程,如细胞生长、增殖、细胞分化和致癌性转化的调节中起重要作用。蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTP) 导致的脱磷酸和其对对应物酪氨酸激酶导致的磷酸化之间的平衡对于正常生理功能是关键性的。PTP越来越被视为有价值的药物靶点。例如,通过酪氨酸-蛋白磷酸酶非受体类型11 (PTPN11) 编码的包含Src同源-2 (SH2) 结构域的蛋白酪氨酸磷酸酶-2 (SHP2),为包含两个串联Src同源-2 (SH2) 结构域的非受体蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTP)。SHP2在大多数组织广泛表达且在生长因子和细胞因子受体下游的多种信号转导途径中起积极作用,以调节多种细胞功能。SHP2的催化活性是完全活化Ras-ERK1/2级联所需的,该Ras-ERK1/2级联通过SHP2-催化的底物脱磷酸介导,该底物通过酪氨酸磷酸化负调节。SHP2被识别为一种真实的致癌基因;功能获得性SHP2突变导致了增加的磷酸酶活性导致的Noonan综合征,以及多种形式的白血病(例如,青少年髓单核细胞白血病、急性骨髓性白血病、骨髓增生异常综合征、急性淋巴白血病)和多种实体瘤(例如,肺腺癌、结肠癌、成神经细胞瘤、成胶质细胞瘤、黑素瘤、肝细胞癌和前列腺癌)。因此,SHP2代表了多种癌症的有希望的靶点(例如,三阴性和HER2+乳腺癌、受体蛋白酪氨酸激酶 (PTK) 异常活化导致的癌症,其中有些对激酶抑制剂单一治疗响应较差),并在SHP2抑制剂的开发中吸引越来越多的关注。

[0003] 因此,发现和寻找具有较好成药性的SHP2抑制剂逐渐成为工业界和学术界的一大热点研究领域。

发明内容

[0004] 本发明提供了一种与现有技术不同的含氮稠杂环类SHP2抑制剂化合物、制备方法和用途。本发明的含氮稠杂环类SHP2抑制剂化合物,对SHP2酶和肿瘤细胞增殖具有均有高的抑制活性,具有较好的成药性。

[0005] 本发明提供了一种具有如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药,



[0007] 其中: X_1 和 X_2 独立为N或CR₁;

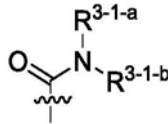
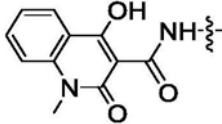
[0008] 每一个R₁独立地为氢、卤素、羟基、氨基、酰胺基、磺酰胺基、C₁-C₆的烷基、C₁-C₆的烷氧基、氰基、烯基、炔基、3-8元的环烷基或杂环烷基、5-8元的芳基或杂芳基;

[0009] R₂为-L₂-R_y;其中L₂为直接键、-O-、-S(O)_n-或-NR_b- ,R_y为5-10元的环烷基或杂环烷

基或芳基或杂芳基; $n=0-2$; R_b 为氢、 C_1-C_6 的烷基或烷氧基、3-8元环烷基或杂环烷基;

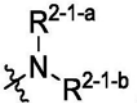
[0010] R_3 为 $-OR_c$ 、 $-SR_c$ 、 $-C(R_a R_b)R_c$ 、 $-NR_b R_c$ 、 $-COR_c$ 、 $-CONR_b R_c$ 、 $-NR_b COR_c$ 、 $-SO_2 NR_b R_c$ 、 $-NR_b SO_2 R_c$ 、 $-NR_b CONR_b R_c$ 、 $-NR_b SO_2 NR_b R_c$ 、 $-NR_b CSNR_b R_c$ 、 $-COOR_c$ 、 $-OOC R_c$ 、 $-OCONR_b R_c$ 、 $-NR_b COOR_c$ 、 $-NR_b CSR_c$ 、 $-CSNR_b R_c$, 其中 R_b 每一次出现时独立地选自氢、 C_1-C_6 的烷基或烷氧基、3-8元的环烷基或杂环烷基; R_c 独立地选自 C_1-C_6 的烷基、3-12元的单环或多环烷基、3-12元的单环或多环杂环烷基; 或者 R_c 与 R_a 或 R_b 形成3-12元的单环或多环烷基、3-12元的单环或多环杂环烷基、3-12元的螺环或稠环烷基、3-12元的螺环或稠环杂环烷基、13-20元的多环杂环烷基、13-20元的螺环杂环烷基、或、13-20元的稠环杂环烷基;

[0011] 上述的任一基团上的一个或多个氢原子可以被选自下组的取代基取代: 氘、卤素、羟基、氨基或环氨基、氰基、硝基、砷基或亚砷基、 C_1-C_8 的烷基、3-8元的环烷基或杂环烷基、 C_1-C_8 的烷氧基、 C_1-C_8 的烷氨基、烯基、炔基、酰基或磺酰基、脲或磺酰脲、5-8元的芳基或杂

芳基、 R^{2-1} 取代的氨基、 R^{2-2} 取代的 C_1-C_4 的烷基或、 或 

[0012] 或者上述的任一基团上的2个氢原子与  形成的4-8元的杂环烷基;

[0013] R^{2-1} 为 C_1-C_4 的烷基或3-6元的环烷基;

[0014] R^{2-2} 为卤素或 

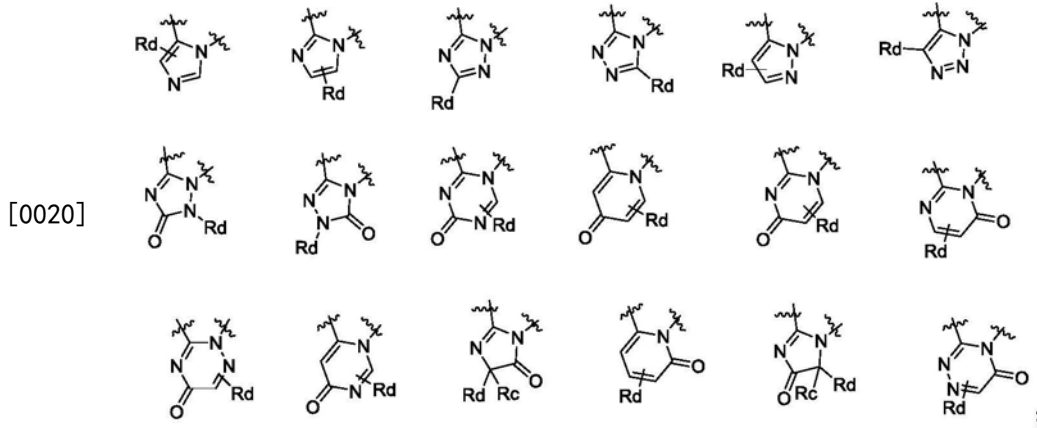
[0015] R^{2-1-a} 、 R^{2-1-b} 、 R^{3-1-a} 和 R^{3-1-b} 独立地为 C_1-C_4 的烷基;

[0016] 其中, 所述的杂芳基包含1-3个选自下组的杂原子: N、O、P或S, 所述的杂环烷基包含1-3个选自下组的杂原子: N、O、P或S, 所述的环系包含螺环、桥环、稠环、并环饱和或部分不饱和的环系, 上述环系可以进一步被 C_1-C_6 烷基、羟基、氨基、卤素或烷氧基取代。

[0017] 本发明中, 所述的具有如通式I或T-a所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药中, 某些取代基的定义可如下所述, 未提及的取代基的定义均如上任一方案所述。

[0018] 在某一优选实施方案中, 所述的具有如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药中:

[0019] 所述的A为如下任一基团:

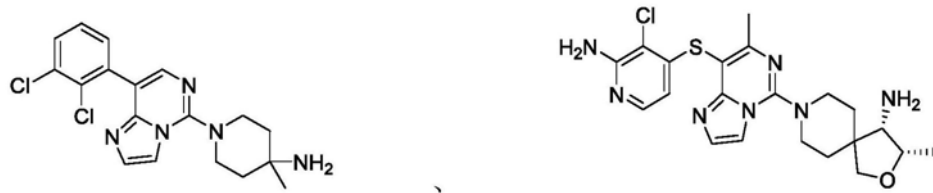


[0021] R_d 为氢、卤素、羟基、氨基、 C_1-C_6 的烷基、 C_1-C_6 的烷氧基、 C_1-C_6 的烷氨基、氰基、烯基、炔基、3-8元的环烷基或杂环烷基、5-8元的芳基或杂芳基。

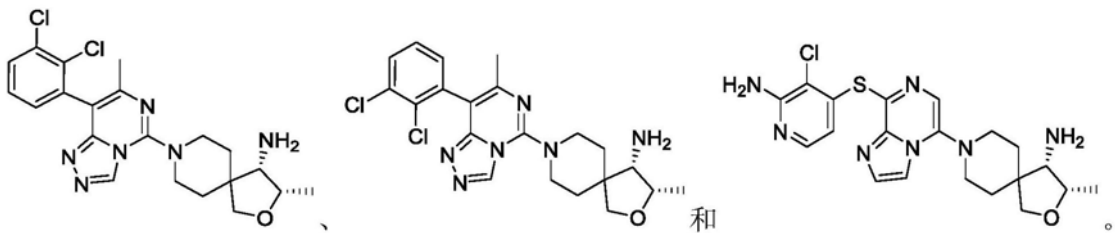
[0022] 在某一优选实施方案中,所述的具有如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药中:

[0023] 所述的 R_a 独立地为氢、 C_1-C_6 的烷基或烷氧基、3-8元的环烷基或杂环烷基。

[0024] 在某一优选实施方案中,具有如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药,不为如下任一化合物:

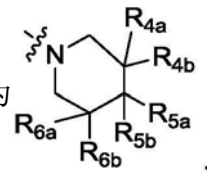


[0025]

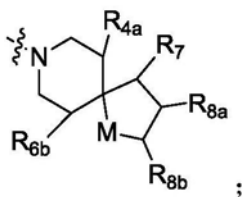


[0026] 在某一优选实施方案中,当 R_3 为 $-NR_bR_c$ 时,所述 $-NR_bR_c$ 为3-12元的单杂环烷基、3-12

元的单杂环烷基或13-20元的多环杂环烷基,进一步可以为



更进一步可以为



[0027] 其中, R_{5a} 为 C_1-C_6 的烷基、羟基、氨基或氨甲基;

[0028] R_{5b} 为羟基、氨基、卤素、 C_1 - C_6 的烷基、3-8元环烷基或杂环烷基、羟基烷基、烷氧基烷基、环烷基烷基、烷氧基酰基、5-8元芳基或杂芳基；

[0029] 或者 R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的碳原子一起形成3-12元的单环或多环饱和或不饱和烷基、3-12元的单环或多环饱和或不饱和杂环烷基、3-12元的螺环或稠环烷基和3-12元的螺环或稠环杂环烷基；

[0030] 上述 R_{5a} 、 R_{5b} 、或、“ R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的单环或多环饱和或不饱和烷基、3-12元的单环或多环饱和或不饱和杂环烷基、3-12元的螺环或稠环烷基和3-12元的螺环或稠环杂环烷基”的基团上的一个或多个氢原子可以被选自下组的取代基取代：氘、卤素、羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、烷基、环烷基和杂环烷基；

[0031] M为 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-CR_{9a}R_{9b}-$ 或 $-NR_{10}-$ ；

[0032] R_7 为氢、卤素、 C_1 - C_6 烷基、羟基、氨基或烷氧基；

[0033] R_{9a} 和 R_{9b} 独立地为氘、氢、氧、羟基、卤素、氨基或 C_1 - C_6 烷基；

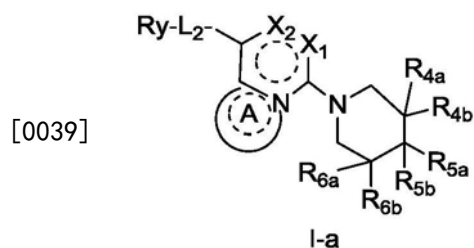
[0034] R_{10} 为氢或 C_1 - C_{10} 烷基；

[0035] R_{8a} 和 R_{8b} 独立地为氢、卤素或 C_1 - C_6 烷基；

[0036] 或者， R_{8a} 和 R_{8b} 与以碳原子或者杂原子相连接形成3~12元的饱和或部分不饱和或芳香环系；所形成的环系可以继续被一个或多个取代基所取代；

[0037] 当所述的环系上一个或多个氢原子被取代基取代时，所述的取代基为 R^{8a-1} ， R^{8a-1} 为卤素或 C_1 - C_8 的烷氧基。

[0038] 本发明还提供了一种具有如通式I-a所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药：

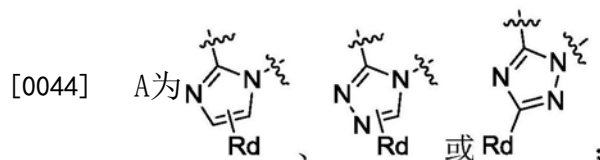


[0040] 其中， L_2 为直接键或 $-S-$ ；

[0041] X_1 为N或 CR_1 ；

[0042] X_2 为 CR_1 ；

[0043] 每一个 R_1 独立地为H、氨基或 C_1 - C_6 的烷基；



[0045] R_d 为H或 C_1 - C_6 的烷基；

[0046] R_y 为5-10元的芳基或5-10元杂芳基；

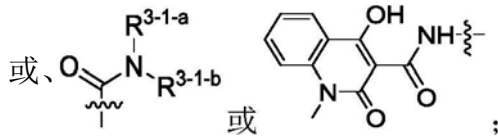
[0047] R_{4a} 、 R_{4b} 、 R_{6a} 和 R_{6b} 独立地为氢；

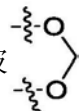
[0048] R_{5a} 和 R_{5b} 独立地为氨基或 C_1 - C_6 的烷基；

[0049] 或者， R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的单环饱和环烷基、3-12元的稠

环烷基或3-12元的稠环杂环烷基；所述的3-12元的稠环杂环烷基中含1-3个选自下组的杂原子：N、O、P或S，

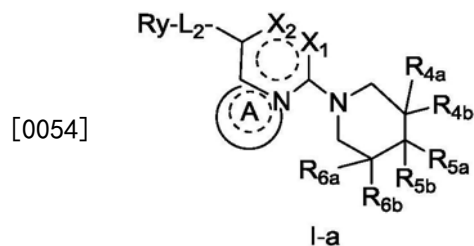
[0050] 上述的 R_1 和 R_y 上的一个或多个氢原子可以被选自下组的取代基取代：卤素、羟基、氨基、 C_1-C_8 的烷基、3-8元的环烷基、 C_1-C_8 的烷氧基、 R^{2-1} 取代的氨基、 R^{2-2} 取代的 C_1-C_4 的烷基



[0051] 或者，上述的 R_1 和 R_y 上的2个氢原子被替代，形成4-8元的杂环烷基；

[0052] 上述 R_{5a} 、 R_{5b} 、或、“ R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的单环饱和烷基、3-12元的稠环烷基、或3-12元的稠环杂环烷基”的基团上的一个或多个氢原子可以被选自下组的取代基取代：卤素、烷氧基和氨基。

[0053] 在某一优选实施方案中，所述的具有如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药里，所述的具有如通式I所示的含氮稠杂环类化合物如通式I-a所示；

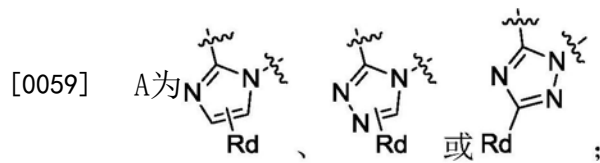


[0055] 其中， L_2 为直接键或-S-；

[0056] X_1 为N或 CR_1 ；

[0057] X_2 为 CR_1 ；

[0058] 每一个 R_1 独立地为H、氨基或 C_1-C_6 的烷基；



[0060] R_d 为H或 C_1-C_6 的烷基；

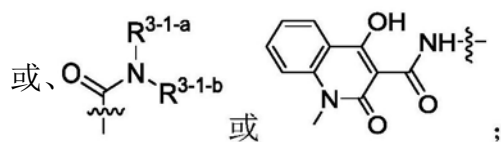
[0061] R_y 为5-10元的芳基或5-10元杂芳基；

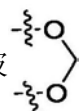
[0062] R_{4a} 、 R_{4b} 、 R_{6a} 和 R_{6b} 独立地为氢；

[0063] R_{5a} 和 R_{5b} 独立地为氨基或 C_1-C_6 的烷基；

[0064] 或者， R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的单环饱和环烷基、3-12元的稠环烷基或3-12元的稠环杂环烷基；所述的3-12元的稠环杂环烷基中含1-3个选自下组的杂原子：N、O、P或S，

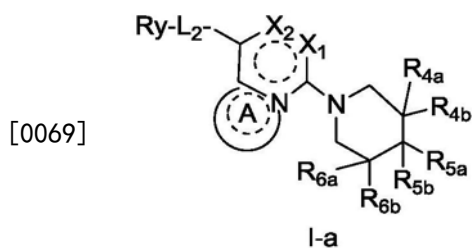
[0065] 上述的 R_1 和 R_y 上的一个或多个氢原子可以被选自下组的取代基取代：卤素、羟基、氨基、 C_1-C_8 的烷基、3-8元的环烷基、 C_1-C_8 的烷氧基、 R^{2-1} 取代的氨基、 R^{2-2} 取代的 C_1-C_4 的烷基



[0066] 或者,上述的 R_1 和 R_y 上的2个氢原子被  替代,形成4-8元的杂环烷基;

[0067] 上述 R_{5a} 、 R_{5b} 、或、“ R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的单环饱和烷基、3-12元的稠环烷基、或3-12元的稠环杂环烷基”的基团上的一个或多个氢原子可以被选自下组的取代基取代:卤素、烷氧基和氨基。

[0068] 在某一优选实施方案中,所述的如通式I-a所示的化合物中:

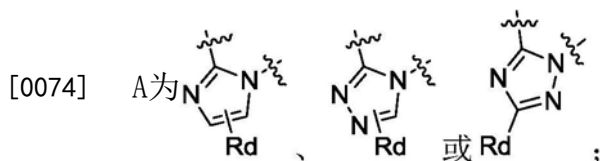


[0070] L_2 为直接键或-S-;

[0071] X_1 为N或 CR_1 ;

[0072] X_2 为 CR_1 ;

[0073] 每一个 R_1 独立地为H、氨基或 C_1-C_6 的烷基;



[0075] R_d 为H;

[0076] R_y 为5-10元的芳基或5-10元杂芳基;

[0077] R_{4a} 、 R_{4b} 、 R_{6a} 和 R_{6b} 独立地为氢;

[0078] R_{5a} 和 R_{5b} 独立地为氨基或 C_1-C_6 的烷基;

[0079] 或者, R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的单环饱和环烷基、3-12元的稠环烷基或3-12元的稠环杂环烷基;所述的3-12元的稠环杂环烷基中含1-3个选自下组的杂原子:N、O、P或S;

[0080] 当所述的 R_1 上的一个或多个氢原子独立地被取代基取代时,所述的取代基为卤素取代;

[0081] 当所述的 R_y 上的一个或多个氢原子被取代基取代时,所述的取代基为 R^{y-1} ,所述的 R^{y-1} 为卤素、氨基、 R^{2-1} 取代的氨基和 R^{2-2} 取代的 C_1-C_4 的烷基中的一种或多种;

[0082] R^{2-1} 为3-6元的环烷基;

[0083] R^{2-2} 为卤素;

[0084] R^{2-1-a} 、 R^{2-1-b} 、 R^{3-1-a} 和 R^{3-1-b} 独立地为 C_1-C_4 的烷基;

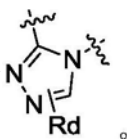
[0085] 所述的“ R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的单环饱和环烷基、3-12元的稠环烷基、或3-12元的稠环杂环烷基”的基团上的一个或多个氢原子可以被取代基取代,所

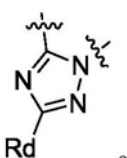
述的取代基为 R^{5a-1} ,所述的 R^{5a-1} 为卤素、 C_1-C_8 的烷氧基和氨基中的一种或多种。

[0086] 在某一优选实施方案中, R_{5a} 和 R_{5b} 独立地可为氨基或 C_1-C_6 的烷基。

[0087] 在某一优选实施方案中, R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的单环饱和环烷基。

[0088] 在某一优选实施方案中, R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环烷基或3-12元的稠环杂环烷基。

[0089] 在某一优选实施方案中,A为。

[0090] 在某一优选实施方案中,A为。

[0091] 在某一优选实施方案中,当每一个 R_1 独立地为 C_1-C_6 的烷基时,所述的 C_1-C_6 的烷基可不被取代、或者、 C_1-C_6 的烷基上的一个或多个氢原子仅被取代基取代。

[0092] 在某一优选实施方案中,当每一个 R_1 独立地为 C_1-C_6 的烷基时,所述的 C_1-C_6 的烷基可为 C_1-C_3 的烷基,进一步可以为甲基、乙基、正丙基或异丙基,进一步可以为甲基。

[0093] 在某一优选实施方案中,当每一个 R_1 上的一个或多个氢原子独立地被卤素取代,所述的卤素可为F、Cl、Br或I,进一步可以为F。

[0094] 在某一优选实施方案中,当每一个 R_1 上的一个或多个氢原子独立地被卤素取代时,所述的 C_1-C_6 的烷基可以为 $-CH_2F$ 。

[0095] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的芳基时,所述的5-10元的芳基可不被取代、或者、5-10元的芳基上的一个或多个氢原子仅被取代基取代。

[0096] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的芳基时,所述的5-10元的芳基可以为6-10元的芳基(苯基或萘基),进一步还可以为苯基。

[0097] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的芳基,且5-10元的芳基上的一个或多个氢原子被取代基取代,所述的取代基为 R^{y-1} ,每一个所述的 R^{y-1} 独立地为卤素时,所述的卤素可以为F、Cl、Br或I,还可以为Cl。

[0098] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的芳基,且5-10元的芳基上的一个或多个氢原子被取代基取代时,所述的取代基的个数可以为1或2个,还可以为2个。当所述的取代基为2个时,所述的取代基可以相同或不同。

[0099] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的芳基,且5-10元的芳基上的一个或多个氢原子被取代基取代时,所述的取代基可以位于 L_2 的邻位和/或间位,还可以位于 L_2 的邻位和间位。

[0100] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的芳基时,所述的5-10元的芳基的环系的个数可以为1个或2个,还可为1个。

[0101] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的杂芳基时,所述的5-10元的杂芳基可不被取代、或者、5-10元的杂芳基上的一个或多个氢原子被取代。

[0102] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的杂芳基时,所述的5-10元的杂芳基可以

为6-8元的杂芳基。

[0103] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的杂芳基时,所述的5-10元的杂芳基中的杂原子可以为N,个数可以为1个。

[0104] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的杂芳基时,所述的5-10元的杂芳基的环系的个数可以为1个或2个,还可为1个。

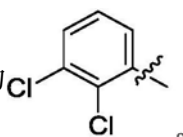
[0105] 在某一优选实施方案中,当 R^{y-1} 为卤素时,所述的卤素可以为F、Cl、Br或I,可以为Cl。

[0106] 在某一优选实施方案中,当 R^{y-1} 为 R^{2-2} 取代的 C_1-C_4 的烷基时,所述的 C_1-C_4 的烷基可为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基或叔丁基,还可以为甲基。

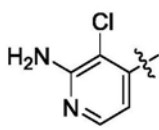
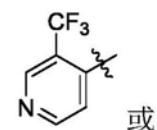
[0107] 在某一优选实施方案中,当 R^{2-1} 为3-6元的环烷基时,所述的3-6元的环烷基可为环丙基、环丁基、环戊基或环己基,还可以为环丙基。

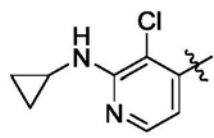
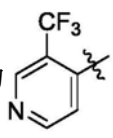
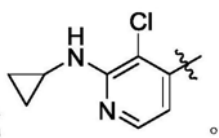
[0108] 在某一优选实施方案中,当 R^{2-2} 为卤素时,所述的卤素可以为F、Cl、Br或I,还可以为F。

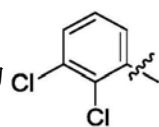
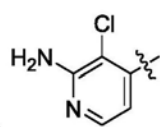
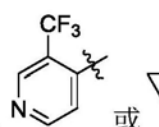
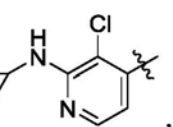
[0109] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的芳基,且5-10元的芳基上的一个或多个

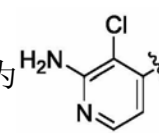
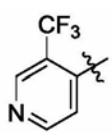
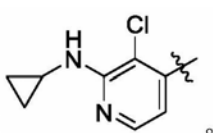
氢原子仅被取代时,所述的5-10元的芳基可以为  。

[0110] 在某一优选实施方案中,当 R_y 为5-10元的杂芳基,且5-10元的杂芳基上的一个或

多个氢原子被取代时,所述的5-10元的杂芳基可以为  、  或

 , 还可以为  或  。

[0111] 在某一优选实施方案中, R_y 为  、  、  或  ,

还可以为  、  或  。

[0112] 在某一优选实施方案中,当 R_{5a} 和 R_{5b} 独立地为 C_1-C_6 的烷基时,所述的 C_1-C_6 的烷基可不被取代、或者、 C_1-C_6 的烷基上的一个或多个氢原子仅被取代。

[0113] 在某一优选实施方案中,当 R_{5a} 和 R_{5b} 独立地为 C_1-C_6 的烷基时,所述的 C_1-C_6 的烷基可以为 C_1-C_3 的烷基,进一步可为甲基、乙基、正丙基或异丙基,进一步还可以为甲基。

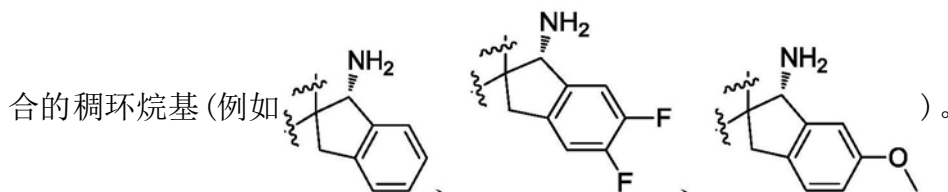
[0114] 在某一优选实施方案中,当 R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的单环饱和和环烷基时,所述的3-12元的单环饱和和环烷基可不被取代、或者、3-12元的单环饱和和环烷基上的一个或多个氢原子仅被取代。

[0115] 在某一优选实施方案中,当 R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的单环饱

和烷基时,所述的3-12元的单环饱和烷基可以为3-6元的单环饱和烷基,进一步可以为环丙基、环丁基、环戊基或环己基,进一步还可以为环戊基。

[0116] 在某一优选实施方案中,当 R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环烷基时,所述的3-12元的稠环烷基可不被取代、或者、3-12元的稠环烷基上的一个或多个氢原子被取代。

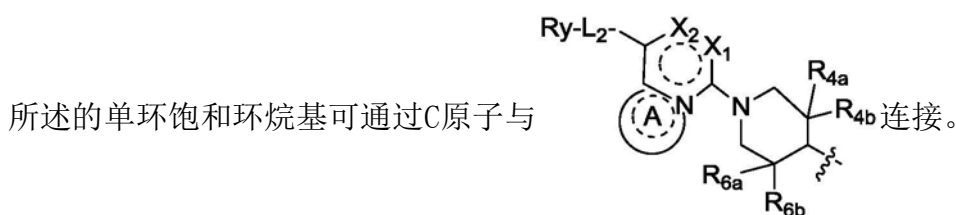
[0117] 在某一优选实施方案中,当 R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环烷基时,所述的3-12元的稠环烷基的环数可以为2个,进一步可以为单环饱和环烷基与芳基稠



[0118] 其中,当所述的3-12元的稠环烷基为单环饱和环烷基与芳基稠合的稠环烷基时,所述的单环饱和环烷基可为3-6元单环饱和环烷基,进一步可以为环丙基、环丁基、环戊基或环己基,还可以为环戊基。

[0119] 其中,当所述的3-12元的稠环烷基为单环饱和环烷基与芳基稠合的稠环烷基时,所述的芳基可为6-10元的芳基,进一步还可以为苯基。

[0120] 其中,当所述的3-12元的稠环烷基为单环饱和环烷基与芳基稠合的稠环烷基时,



[0121] 其中,当所述的3-12元的稠环烷基为单环饱和环烷基与芳基稠合的稠环烷基,且 R^{5a-1} 为氨基时,所述的 R^{5a-1} 的个数可以为1个。

[0122] 其中,当所述的3-12元的稠环烷基为单环饱和环烷基与芳基稠合的稠环烷基,且 R^{5a-1} 为氨基时,所述的 R^{5a-1} 的取代位置可以在单环饱和环烷基上。

[0123] 其中,当所述的3-12元的稠环烷基为单环饱和环烷基与芳基稠合的稠环烷基,且 R^{5a-1} 为 R^{5a-1} 为卤素和/或 C_1-C_8 的烷氧基时,所述的 R^{5a-1} 的个数可以为1个或2个。

[0124] 其中,当所述的3-12元的稠环烷基为单环饱和环烷基与芳基稠合的稠环烷基,且 R^{5a-1} 为卤素和/或 C_1-C_8 的烷氧基时,所述的 R^{5a-1} 的取代位置可以在芳基上。

[0125] 在某一优选实施方案中,当 R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环烷基时,所述的3-12元的稠环烷基可以为6-9元的稠环烷基。

[0126] 在某一优选实施方案中,当 R^{5a} 和 R^{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环烷基,且3-12元的稠环烷基上的一个或多个氢原子被取代基取代,且取代位置的C原子为手性C原子时,所述手性C原子的立体构型可以R型或S型,还可以为S型。

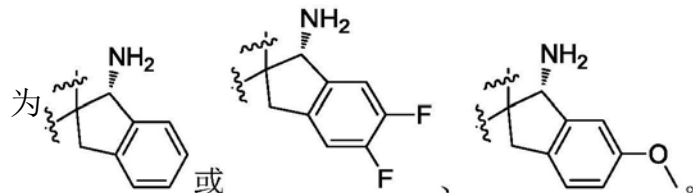
[0127] 在某一优选实施方案中,当 R^{5a} 和 R^{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环烷基,且3-12元的稠环烷基上的一个或多个氢原子被取代基取代时,所述的取代基的个数可为1个、2个或3个。当所述的取代基为2个或3个时,所述的取代基可以相同或不同。

[0128] 在某一优选实施方案中,当 R^{5a-1} 为卤素时,所述的卤素可为F、Cl、Br或I,还可以为

F。

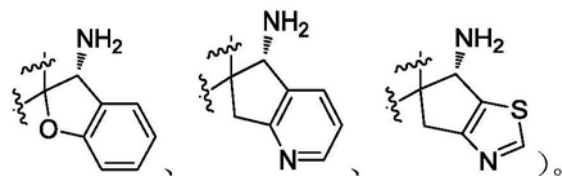
[0129] 在某一优选实施方案中,当 R^{5a-1} 为 C_1-C_8 的烷氧基时,所述的 C_1-C_8 的烷氧基可以为 C_1-C_3 的烷氧基,进一步可以为甲氧基、乙氧基、正丙氧基或异丙氧基,进一步还可以为甲氧基。

[0130] 在某一优选实施方案中,当 R^{5a} 和 R^{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环烷基,且3-12元的稠环烷基上的一个或多个氢原子被取代时,所述的3-12元的稠环烷基可以



[0131] 在某一优选实施方案中,当 R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环杂环基时,所述的3-12元的稠环杂环基可不被取代、或者、3-12元的稠环杂环基上的一个或多个氢原子仅被取代。

[0132] 在某一优选实施方案中,当 R_{5a} 和 R_{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环杂环基时,所述的3-12元的稠环杂环基的环数可以为2个,进一步可以为“单环饱和环烷基、或、单环饱和杂环烷基”与“芳基或杂芳基”稠合的稠环杂环基,更进一步可为单环饱和环烷基与杂芳基稠合的稠环杂环基、或、单环饱和杂环烷基与芳基稠合的稠环杂环基(例如

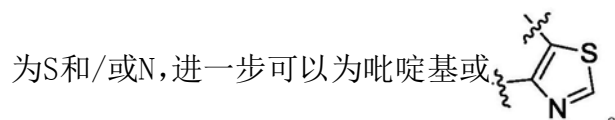


[0133] 其中,当所述的3-12元的稠环杂环基为“单环饱和环烷基、或、单环饱和杂环烷基”与“芳基或杂芳基”稠合的稠环烷基时,所述的单环饱和环烷基可为3-6元单环饱和环烷基,进一步可以为环丙基、环丁基、环戊基或环己基,还可以为环戊基。

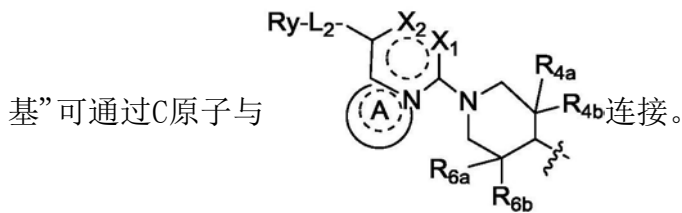
[0134] 其中,当所述的3-12元的稠环杂环基为“单环饱和环烷基、或、单环饱和杂环烷基”与“芳基或杂芳基”稠合的稠环烷基时,所述的杂环饱和环烷基可为3-6元杂环饱和环烷基,进一步可以为四氢吡喃基。

[0135] 其中,当所述的3-12元的稠环杂环基为“单环饱和环烷基、或、单环饱和杂环烷基”与“芳基或杂芳基”稠合的稠环烷基时,所述的芳基可为6-10元的芳基,进一步可以为苯基或菲基,进一步还可以为苯基。

[0136] 其中,当所述的3-12元的稠环杂环基为“单环饱和环烷基、或、单环饱和杂环烷基”与“芳基或杂芳基”稠合的稠环杂环基时,所述的杂芳基可为5-10元的杂芳基、杂原子



[0137] 其中,当所述的3-12元的稠环杂环基为“单环饱和环烷基、或、单环饱和杂环烷基”与“芳基或杂芳基”稠合的稠环烷基时,所述的“单环饱和环烷基、或、单环饱和杂环烷基”



[0138] 其中,当所述的3-12元的稠环杂环烷基为“单环饱和环烷基、或、单环饱和杂环烷基”与“芳基或杂芳基”稠合的稠环杂环烷基,且 R^{5a-1} 为氨基时,所述的 R^{5a-1} 的个数可以为1个。

[0139] 其中,当所述的3-12元的稠环杂环烷基为“单环饱和环烷基、或、单环饱和杂环烷基”与“芳基或杂芳基”稠合的稠环杂环烷基,且 R^{5a-1} 为氨基时,所述的 R^{5a-1} 的取代位置可以在单环饱和环烷基上、或、单环饱和杂环烷基上。

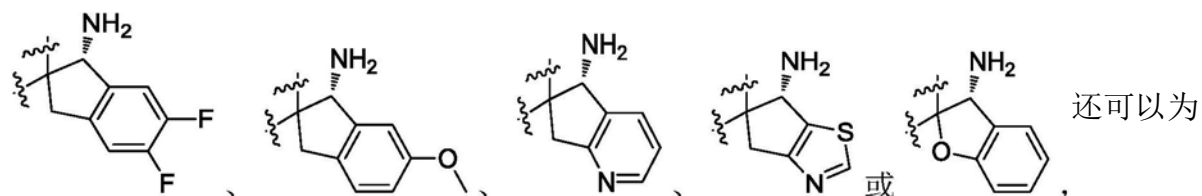
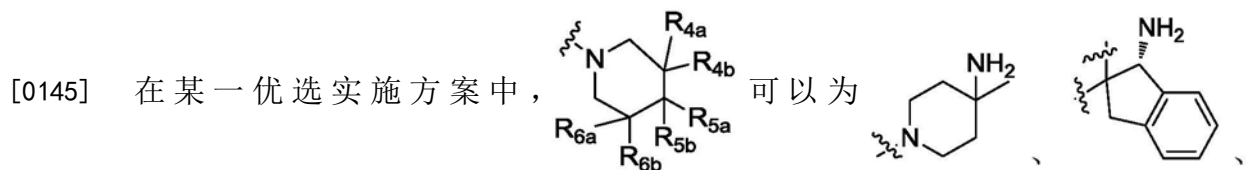
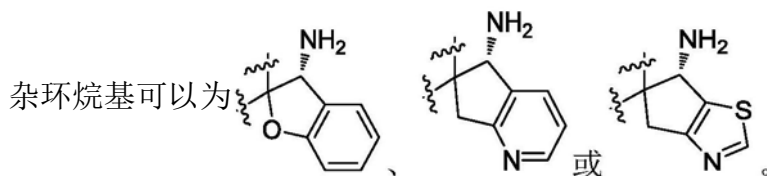
[0140] 在某一优选实施方案中,当 R^{5a} 和 R^{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环杂环烷基,所述的3-12元的稠环杂环烷基的可以为6-9元的稠环杂环烷基。

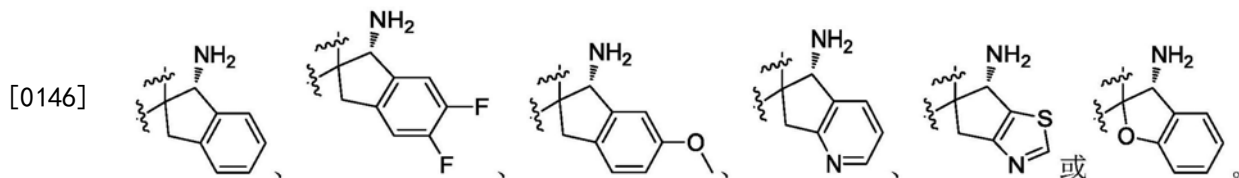
[0141] 在某一优选实施方案中,当 R^{5a} 和 R^{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环杂环烷基,且3-12元的稠环杂环烷基上的一个或多个氢原子被取代基取代,且取代位置的C原子为手性C原子时,所述手性C原子的立体构型可以R型或S型,还可以为S型。

[0142] 在某一优选实施方案中,当 R^{5a} 和 R^{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环杂环烷基时,所述的3-12元的稠环杂环烷基中的杂原子可以为O、S和N中的一种或多种,个数1或2个。

[0143] 在某一优选实施方案中,当 R^{5a} 和 R^{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环杂环烷基,且3-12元的稠环杂环烷基上的一个或多个氢原子被取代基取代时,所述的取代基的个数可为1个。

[0144] 在某一优选实施方案中,当 R^{5a} 和 R^{5b} 与其相连接的原子一起形成3-12元的稠环杂环烷基,且5-12元的稠环杂环烷基上的一个或多个氢原子被取代时,所述的5-12元的稠环





[0147] 在某一优选实施方案中,所述的环烷基中的碳原子不被氧化。

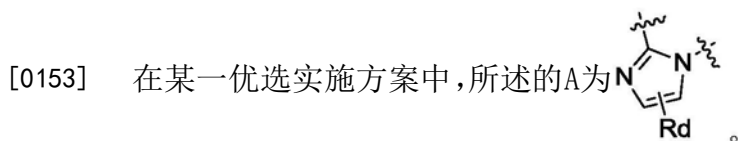
[0148] 在某一优选实施方案中,所述的杂环基中的氮、碳或硫原子不被氧化,氮原子不被季铵化。

[0149] 在某一优选实施方案中,所述的杂芳基中的氮、碳或硫原子不被氧化,氮原子不被季铵化。

[0150] 在某一优选实施方案中,所述的X₁为N。

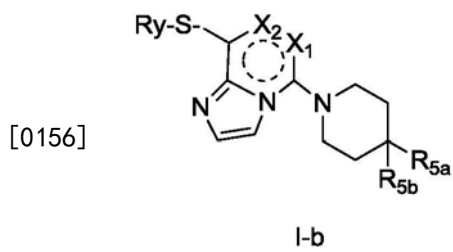
[0151] 在某一优选实施方案中,所述的R₁为氨基。

[0152] 在某一优选实施方案中,所述的L₂为-S-。

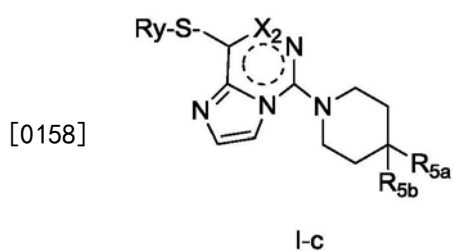


[0154] 在某一优选实施方案中,所述的R_{5a}和R_{5b}与其相连接的原子一起形成3-6元的环烷基、5-12元的稠环烷基或5-12元的稠环杂环烷基,更优选5-12元的稠环烷基或5-12元的稠环杂环烷基。

[0155] 在某一优选实施方案中,所述的如通式I-a所示的含氮稠杂环类化合物为如通式I-b所示的化合物:

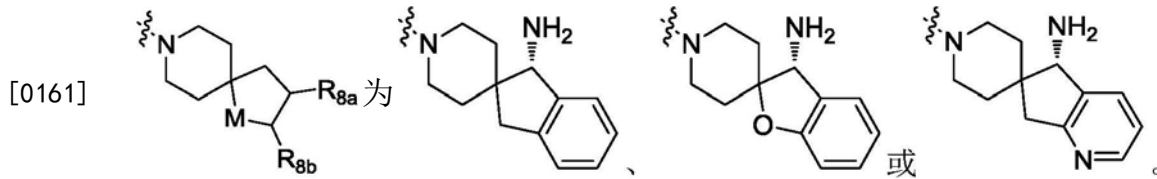
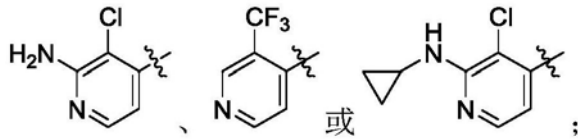


[0157] 在某一优选实施方案中,所述的如通式I-b所示的含氮稠杂环类化合物为如通式I-c所示的化合物:

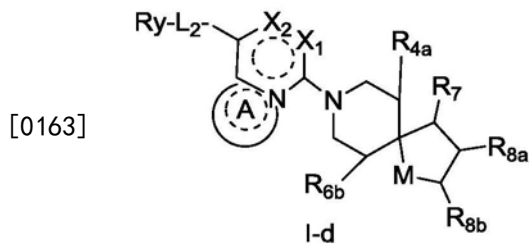


[0159] 其中,R_{5a}和R_{5b}与其相连接的原子一起形成3-6元的环烷基、5-12元的稠环烷基或5-12元的稠环杂环烷基。

[0160] 在某一优选实施方案中,所述的如通式I-a所示的含氮稠杂环类化合物为:R_y为



[0162] 在某一优选实施方案中,所述的如通式I-c所示的含氮稠杂环类化合物为如通式I-d所示的化合物:



[0164] 其中, R_{4a} 和 R_{6b} 为氢;

[0165] R_7 为氨基;

[0166] M为O或C;

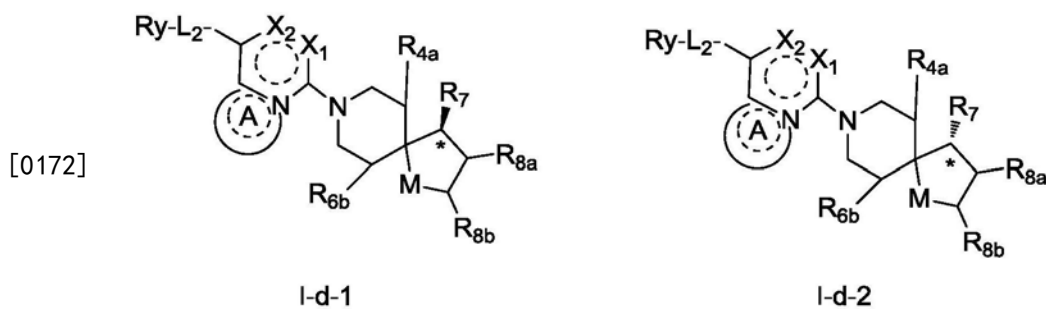
[0167] R_{8a} 和 R_{8b} 为氢,

[0168] 或者, R_{8a} 和 R_{8b} 与以碳原子或者杂原子相连接形成3~12元的芳香环系;所述的杂原子包含1-3个选自下组的杂原子:N、O、P或S;

[0169] 所形成的环系可以继续被一个或多个取代基所取代;

[0170] 当所述的环系上一个或多个氢原子被取代基取代时,所述的取代基为 R^{8a-1} , R^{8a-1} 为卤素和或 C_1-C_8 的烷氧基。

[0171] 在某一优选实施方案中,所述的如通式I-d所示的含氮稠杂环类化合物为如通式I-d-1所示的化合物和/或如通式I-d-2所示的化合物:



[0173] 在某一优选实施方案中,当 R_{8a} 和 R_{8b} 与以碳原子或者杂原子相连接形成3~12元的芳香环系时,所述的芳香环系可以为1个或2个芳香环系,还可为为1个芳香环系。

[0174] 其中,当 R_{8a} 和 R_{8b} 与以碳原子或者杂原子相连接形成3~12元的芳香环系时,所述的3~12元的芳香环系可以为3~12元的芳基或3~12元的杂芳基。

[0175] 其中,当所述的3~12元的芳香环系为3-12元芳基时,所述的3-12元芳基可以为6-10元芳基,进一步可以为苯基或萘基,进一步还可以为苯基。

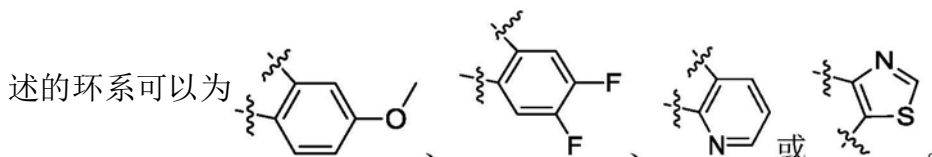
[0176] 其中,当所述的3~12元的芳香环系为4-18元杂芳基时,所述的4-18元杂芳基可以为4-6元杂芳基。

[0177] 其中,当所述的3~12元的芳香环系为4-18元杂芳基时,所述的4-18元杂芳基中的杂原子可以为S或N,个数1个或2个。

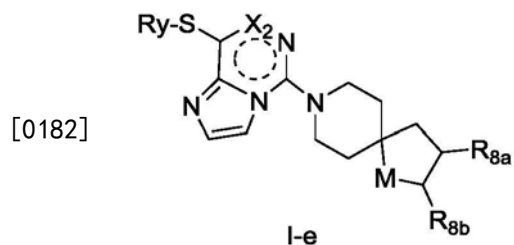
[0178] 其中,当 R^{8a-1} 为卤素时,所述的卤素可以为F、Cl、Br或I,还可以为F。

[0179] 其中,当 R^{8a-1} 为 C_1-C_8 的烷氧基时,所述的 C_1-C_8 的烷氧基可以为 C_1-C_3 的烷氧基,进一步可以为甲氧基、乙氧基、正丙氧基或异丙氧基,进一步还可以为甲氧基。

[0180] 在某一优选实施方案中,当所述的环系上一个或多个氢原子被取代基取代时,所



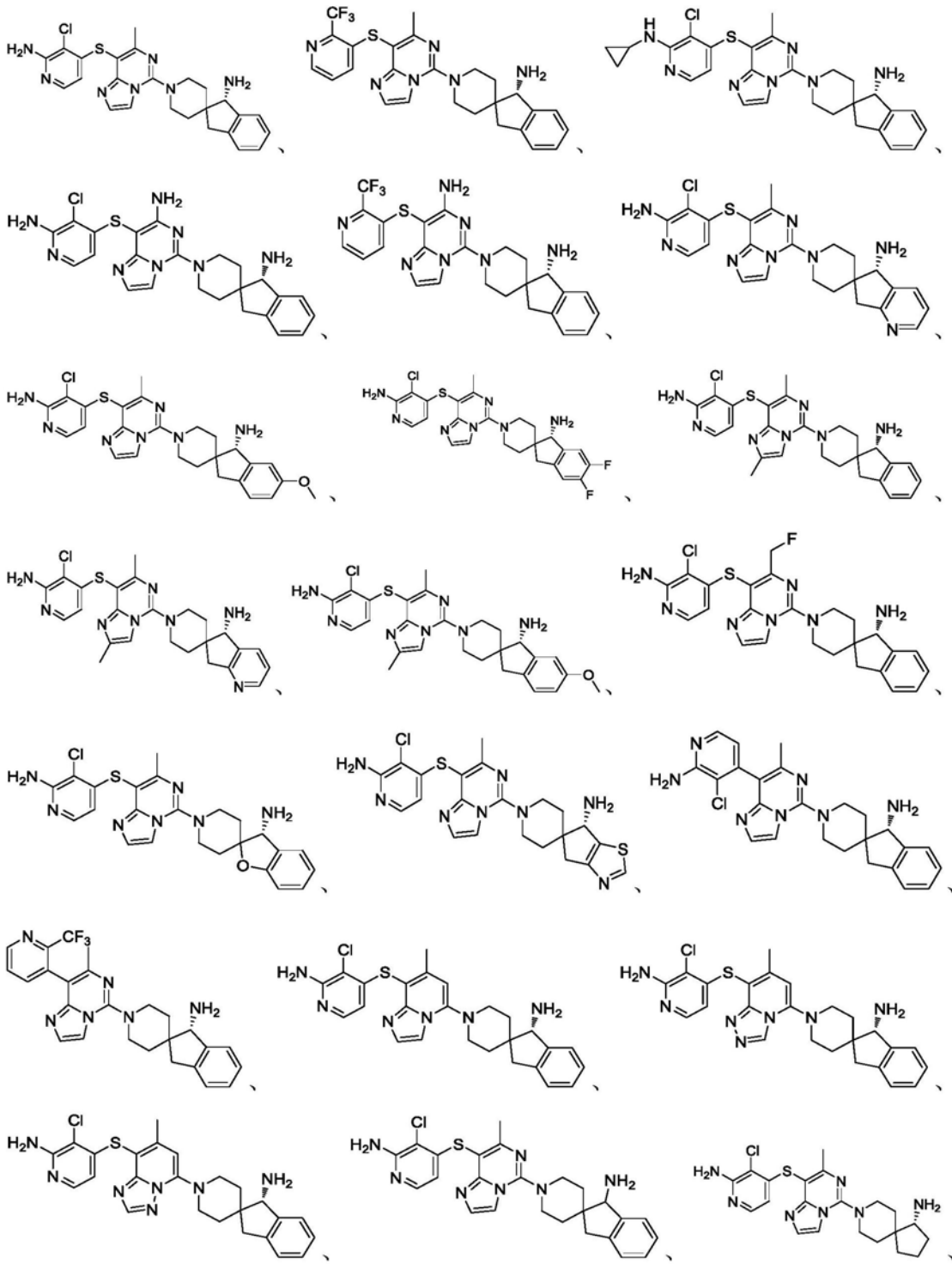
[0181] 在某一优选实施方案中,所述的如通式I-d所示的含氮稠杂环类化合物为如通式I-e所示:

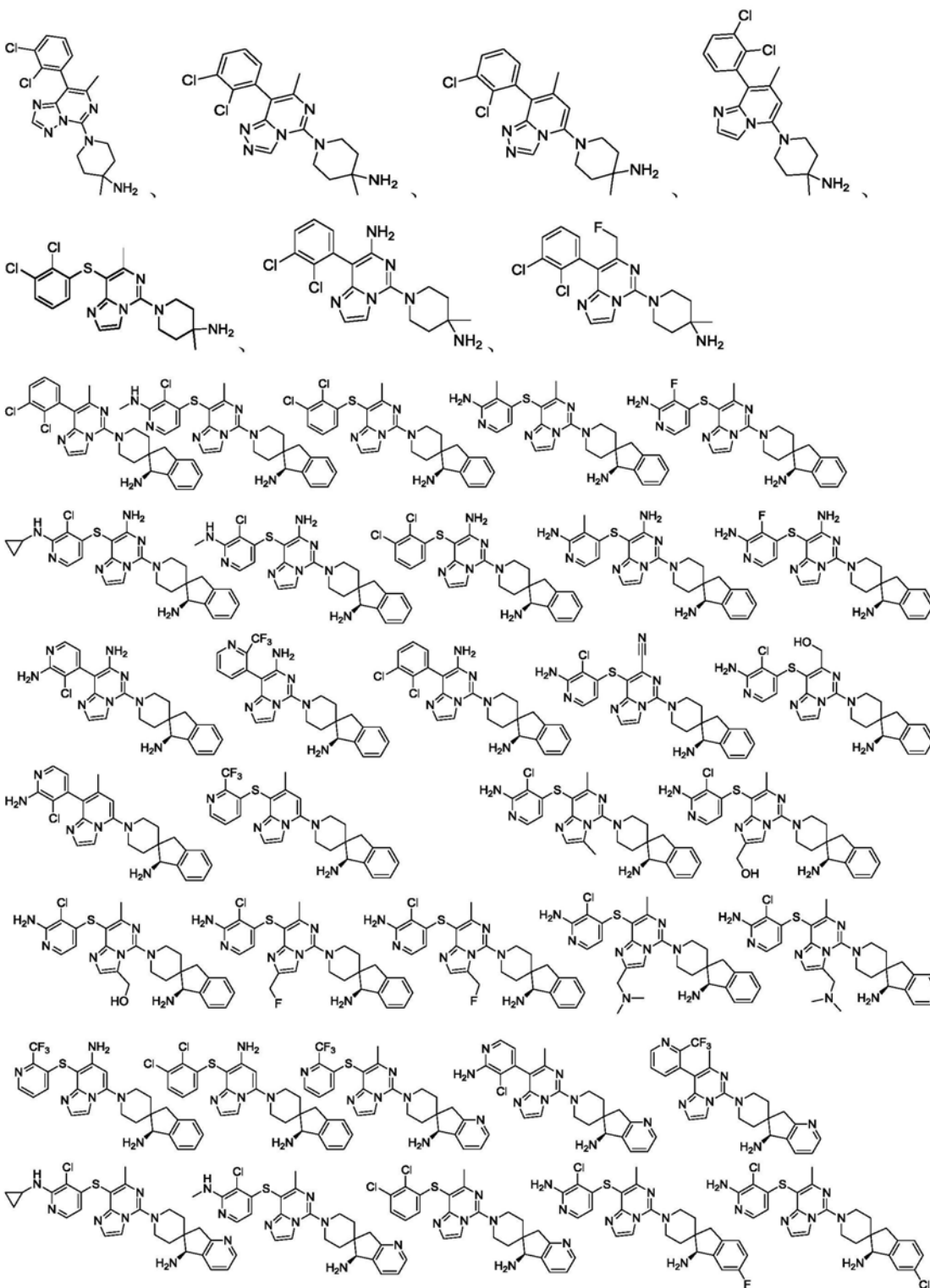


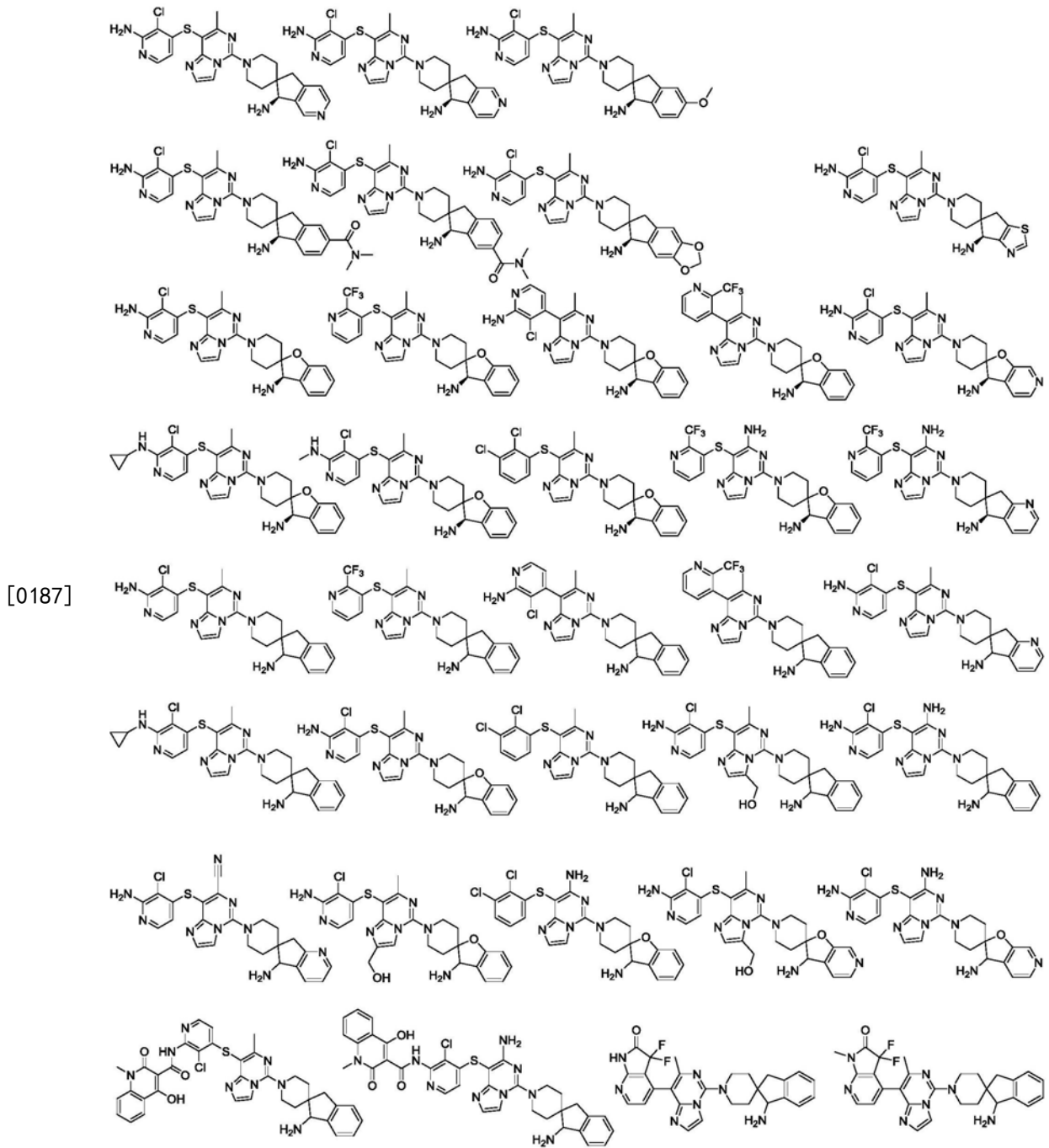
[0183] 其中, R_{8a} 和 R_{8b} 与以碳原子或者杂原子相连接形成3~12元的芳香环系,所述的3~12元的芳香环系为3~12元的芳基或3~12元的杂芳基。

[0184] 在某一优选实施方案中,所述的如通式I所示的含氮稠杂环类化合物为如下任一化合物:

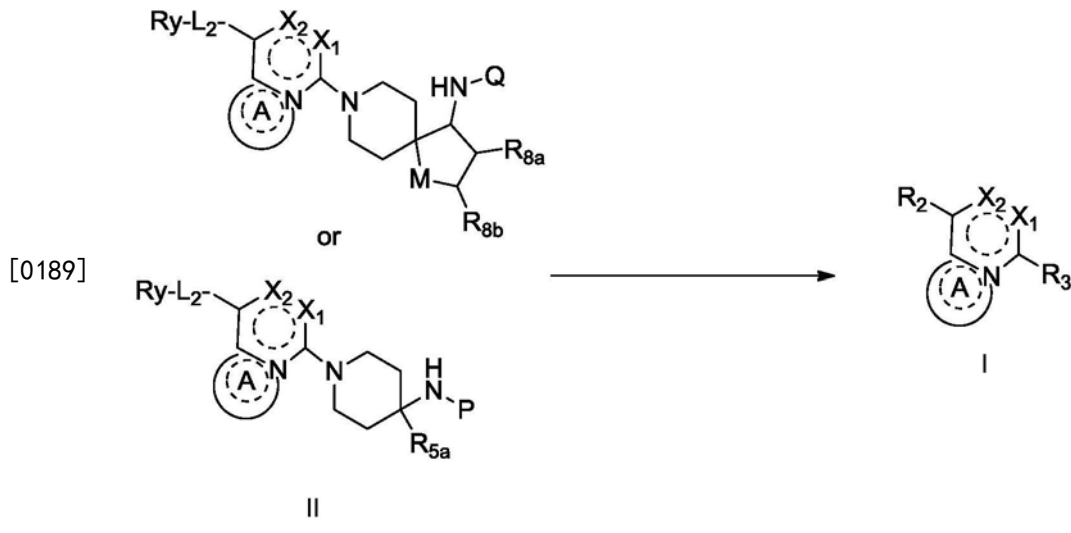
[0185]





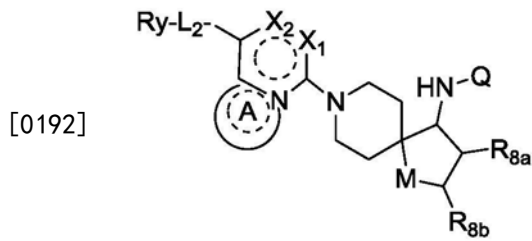


[0188] 本发明还提供了一种如通式I所示的含氮稠杂环类化合物的制备方法,其包括以下步骤:酸性条件下,溶剂中,将II所述的化合物进行如下式的脱保护反应,得到所述的通式I所示的含氮稠杂环类化合物,即可;



[0190] 其中,P、Q为氨基保护基, L_2 、 X_1 、 X_2 、 R_y 、A、M、 R_{5a} 、 R_{8a} 和 R_{8b} 的定义均同前所述。

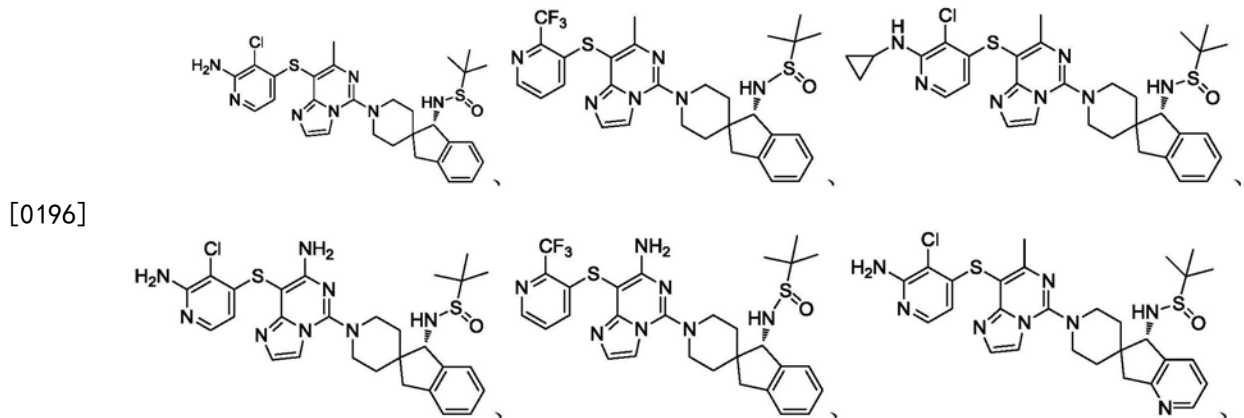
[0191] 本发明还提供了一种如式II-1所示的化合物:

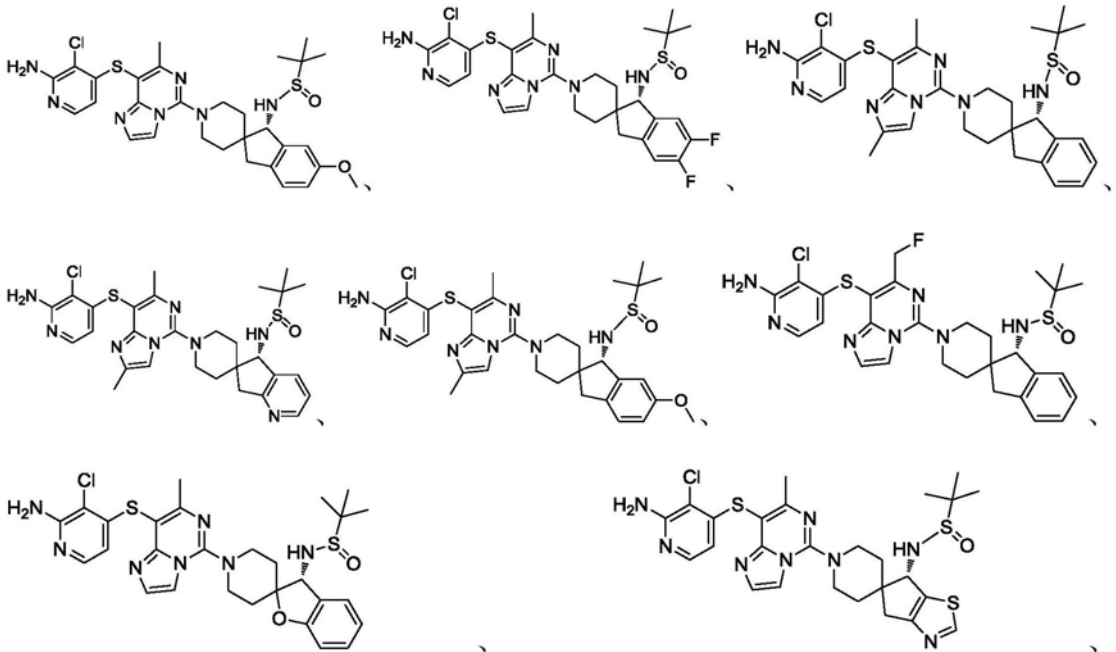


[0193] 其中,Q为氨基保护基, X_1 、 X_2 、 R_y 、A、M、 R_{8a} 和 R_{8b} 的定义均同前所述。

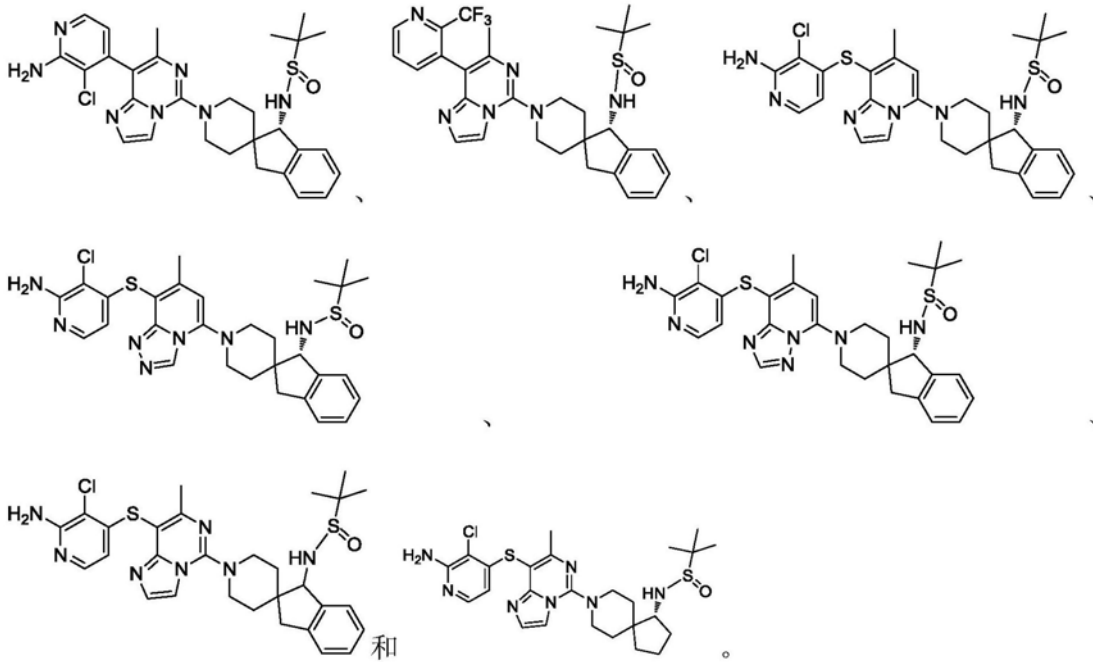
[0194] 式II-1中,所述的氨基保护基优选为

[0195] 所述的如式II-1所示的化合物优选为如下任一化合物:

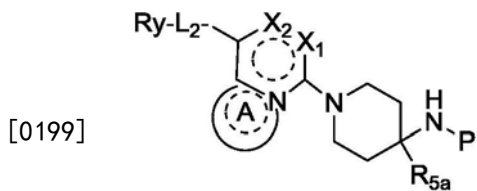




[0197]



[0198] 本发明还提供了一种如式II-2所示的化合物：

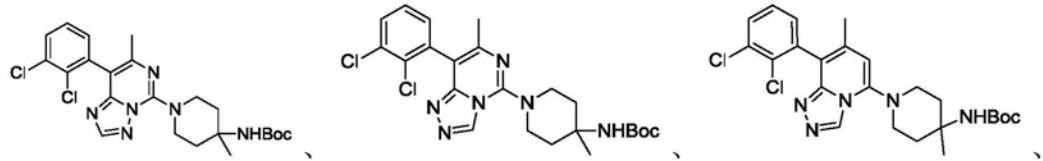


II-2

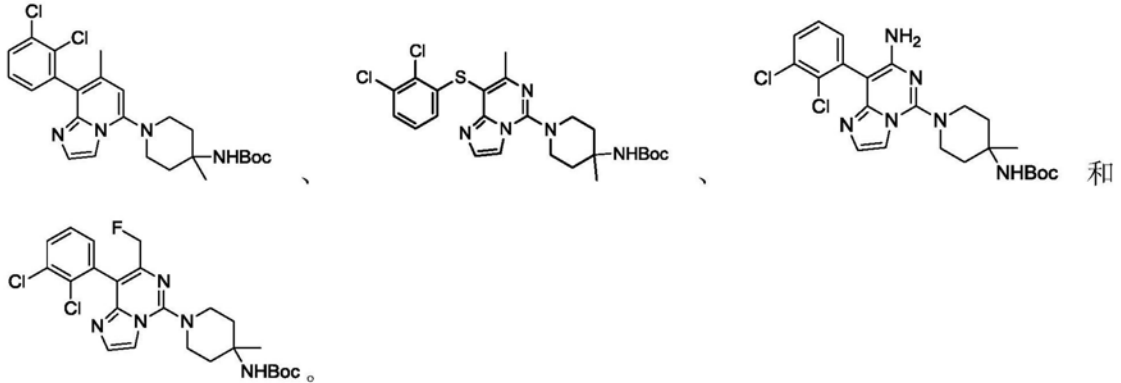
[0200] 其中,P为氨基保护基,X₁、X₂、R_y、A、M和R_{5a}的定义均同前所述。

[0201] 式II-2中,所述的氨基保护基优选为 。

[0202] 本发明还提供了一种如式II-2所示的化合物：



[0203]



[0204] 本发明还提供了一种药物组合物A,其包括上述的如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药,与药学上可接受的载体。

[0205] 本发明还提供了一种药物组合,其包括上述的如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药,与PD-1抑制剂。

[0206] 其中,所述的PD-1抑制剂可以为PD-L1抗体,进一步可以为anti-mouse PD-L1 (B7-H1) (Clone:10F.9G2, Lot:66571701B)。

[0207] 所述药物组合中,所述如通式I或I-a所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药,和所述的PD-1抑制剂可以同时施用或分开施用。

[0208] 所述药物组合中,所述如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药,和所述的PD-1抑制剂可以经注射施用。

[0209] 所述药物组合中,所述如通式I或I-a所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药,可以根据受试者的体重来施用,例如2mg/kg (指单次剂量)。

[0210] 所述药物组合中,所述如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药,在上述的剂量下可以按照每天一次来实施。

[0211] 所述药物组合中,所述的PD-1抑制剂,可以根据受试者的体重来施用,例如10mg/kg (指单次剂量)。

[0212] 所述药物组合中,所述的PD-1抑制剂,在上述的剂量下可以按照一周两次来实施。

[0213] 本发明还提供了一种药物组合物B,其包括上述的药物组合和药学上可接受的辅料。

[0214] 本发明还提供了一种上述的如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药、上述的药物组合物、上述的药物组合物A或上述的药物组合物B在制备药物中的应用。

[0215] 本发明还提供了一种上述的如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药、上述的药物组合物、上述的药物组合物A或上述的药物组合物B在制备药物中的应用,所述的药物用于防治和/或治疗与SHP2蛋白活性或表达相关的疾病。

[0216] 其中,所述的与SHP2蛋白活性或表达相关的疾病可以为肿瘤、免疫性疾病和炎症性疾病中的一种或多种。所述的肿瘤优选为由Ras-Raf-ERK或PD1/L1信号通路异常导致的肿瘤,进一步优选为食管癌细、肺癌细胞、结直肠癌细胞、胰腺癌细胞、白血病细胞、肺癌细胞、肺癌、胃癌、肺癌、肺癌或胃癌,更进一步优选为食管癌细、肺癌细胞、结直肠癌细胞、胰腺癌细胞、白血病细胞、肺癌细胞、肺癌或胃癌。

[0217] 本发明还提供了一种上述的如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药、上述的药物组合物、上述的药物组合物A或上述的药物组合物B在制备药物中的应用,所述的药物用于防治和/或治疗与肿瘤、免疫性疾病和炎症性疾病中的一种或多种相关的疾病。

[0218] 其中,所述的肿瘤、免疫性疾病和炎症性疾病均同前所述。

[0219] 本发明还提供了一种上述的如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药、上述的药物组合物、上述的药物组合物A或上述的药物组合物B在制备SHP2抑制剂中的应用。

[0220] 本发明还提供了一种预防和/或治疗疾病的方法,所述的方法包括给予需要治疗对象有效量的上述的如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药、上述的药物组合物、上述的药物组合物A或上述的药物组合物B;其中,所述的疾病为SHP2蛋白活性或表达相关的疾病。

[0221] 所述的方法中,所述的疾病均同前所述。

[0222] 本发明还提供了一种预防和/或治疗疾病的方法,所述的方法包括给予需要治疗对象有效量的上述的如通式I所示的含氮稠杂环类化合物、其药学上可接受的盐、其对映异构体、其非对映异构体、其互变异构体、其溶剂化物、其多晶型物或其前药、上述的药物组合物、上述的药物组合物A或上述的药物组合物B;其中,所述的疾病为肿瘤、免疫性疾病和炎症性疾病中的一种或多种。

[0223] 所述的方法中,所述的肿瘤、免疫性疾病和炎症性疾病均同前所述。

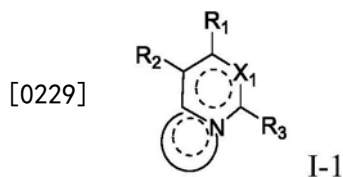
[0224] 所述的方法中,所述的给予需要治疗对象的给药的方式可以为口服。

[0225] 所述的方法中,所述的给予需要治疗对象的给药的频率可以为一天一次。

[0226] 所述的方法中,所述的给予需要治疗对象的给药方式的周期可以为21天。

[0227] 所述的方法中,所述的给予需要治疗对象有效量可以根据受试者的体重来施用,可以为2~10mg/kg(单次剂量),例如0.8mg/kg、2mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg、6mg/kg。

[0228] 在某一优选实施方案中,具有如通式I-1所示的含氮稠杂环类化合物,或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药,



[0230] 式中:

[0231] X_1 选自N、 CR_a , R_a 选自氢、卤素、 C_1-C_6 的烷基、 C_1-C_6 的烷氧基等;

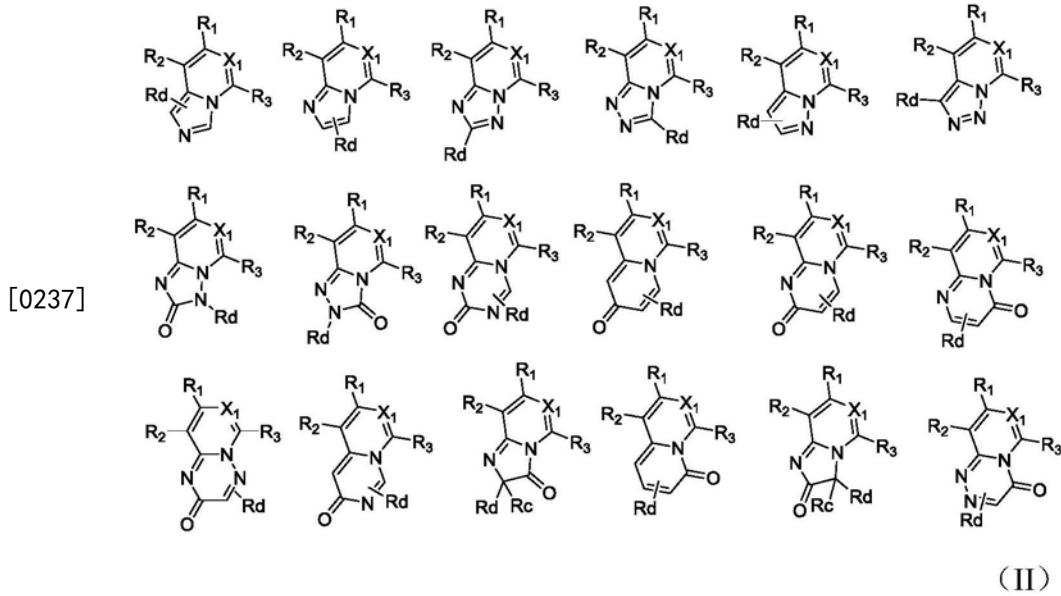
[0232] R_1 选自氢、卤素、羟基、氨基、酰胺基、磺酰胺基、 C_1-C_6 的烷基、 C_1-C_6 的烷氧基、氰基、烯基、炔基、3-8元的环烷基或杂环烷基、5-8元的芳基或杂芳基;

[0233] R_2 选自 $-L_2-R_y$;其中 L_2 为直接键、 $-O-$ 、 $-S(O)_n-$ 、 $-NR_b-$ 等, R_y 为5-10元的环烷基或杂环烷基或芳基或杂芳基; $n=0-2$; R_b 选自氢、 C_1-C_6 烷基或烷氧基、3-8元环烷基或杂环烷基等;

[0234] R_3 选自 $-OR_c$ 、 $-SR_c$ 、 $-C(R_aR_b)R_c$ 、 $-NR_bR_c$ 、 $-COR_c$ 、 $-CONR_bR_c$ 、 $-NR_bCOR_c$ 、 $-SO_2NR_bR_c$ 、 $-NR_bSO_2R_c$ 、 $-NR_bCONR_bR_c$ 、 $-NR_bSO_2NR_bR_c$ 、 $-NR_bCSNR_bR_c$ 、 $-COOR_c$ 、 $-OOCR_c$ 、 $-OCONR_bR_c$ 、 $-NR_bCOOR_c$ 、 $-NR_bCSR_c$ 、 $-CSNR_bR_c$ 等,其中 R_b 每一次出现时独立地选自氢、 C_1-C_6 烷基或烷氧基、3-8元环烷基或杂环烷基等; R_c 独立地选自 C_1-C_6 的烷基、3-12元的单环或多环烷基、3-12元的单环或多环杂环烷基;或者 R_c 可与 R_a 或 R_b 形成3-12元的单环或多环烷基、3-12元的单环或多环杂环烷基、3-12元的螺环或稠环烷基和3-12元的螺环或稠环杂环烷基;

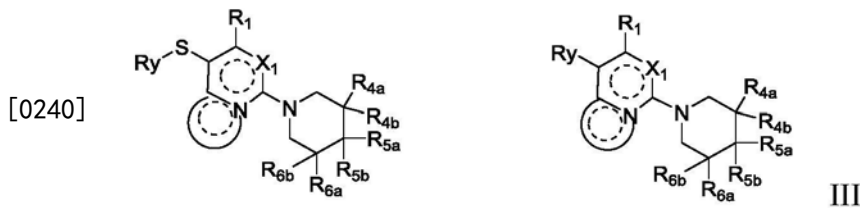
[0235] 上述的任一基团上的一个或多个氢原子可以被选自下组的取代基取代:包括但不限于氘、卤素、羟基、氨基或环氨基、氰基、硝基、砜基或亚砜基、 C_1-C_8 烷基、3-8元环烷基或杂环烷基、 C_1-C_8 烷氧基、 C_1-C_8 烷氨基、烯基、炔基、酰基或磺酰基、脲或磺酰脲、5~8元芳基或杂芳基;其中,所述的杂芳基包含1-3个选自下组的杂原子:N、O、P或S,所述的杂环烷基包含1-3个选自下组的杂原子:N、O、P或S,所述的环系包含螺环、桥环、稠环、并环等饱和或部分不饱和的环系,上述环系可以进一步被 C_1-C_6 烷基、羟基、氨基、卤素、烷氧基等取代。

[0236] 进一步的实施方式中,具有通式(I-1)所述的化合物,或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药,其优选为通式(II)所示的化合物,或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药:



[0238] 其中, R_d 选自氢、卤素、羟基、氨基、 C_1 - C_6 的烷基、 C_1 - C_6 的烷氧基、 C_1 - C_6 的烷氨基、氰基、烯基、炔基、3-8元的环烷基或杂环烷基、5-8元的芳基或杂芳基; R_1 、 R_2 、 R_3 、 X_1 如上文所定义。

[0239] 更进一步的实施方式中, 其优选为如下通式 (III) 所示的化合物, 或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药:

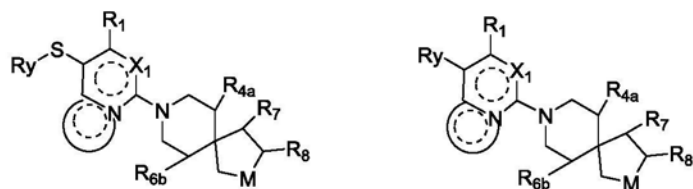


[0241] 其中, R_{4a} 、 R_{4b} 、 R_{6a} 、 R_{6b} 分别独立地选自氢、卤素、羟基、氨基等, 并且同一碳原子上不能同时为羟基取代或羟基和氟同时取代; R_{5a} 选自 C_1 - C_6 烷基、羟基、氨基、氨甲基等, R_{5b} 选自羟基、氨基、卤素、 C_1 - C_6 的烷基、3-8元环烷基或杂环烷基、羟基烷基、烷氧基烷基、环烷基烷基、烷氧基酰基、5-8元芳基或杂芳基等;

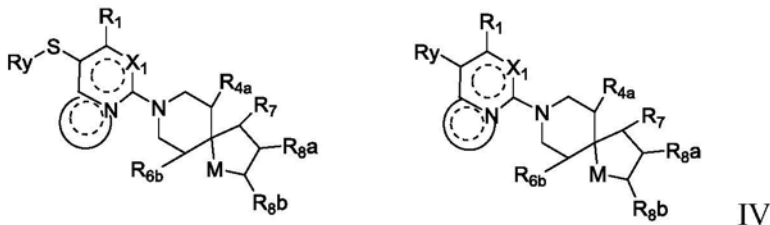
[0242] 或者 R_{5a} 和 R_{5b} 可以通过碳原子连接形成3-12元的单环或多环饱和或不饱和烷基、3-12元的单环或多环饱和或不饱和杂环烷基、3-12元的螺环或稠环烷基和3-12元的螺环或稠环杂环烷基;

[0243] 并且上述 R_{5a} 、 R_{5b} 基团上的各氢原子可以分别被下组基团取代: 氘、卤素、羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、烷基、环烷基、杂环烷基等;

[0244] 更为优选地为通式IV化合物:



[0245]

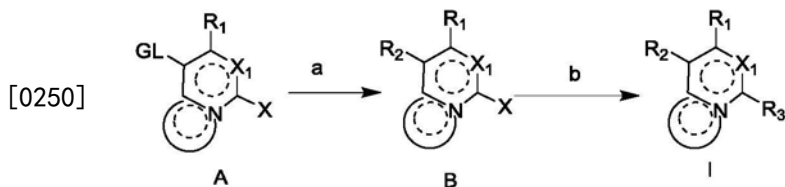


[0246] 其中, M选自 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-CR_{9a}R_{9b}-$ 、 $-NR_{10}-$ 等; R_7 选自氢、卤素、 C_1-C_6 烷基、羟基、氨基、烷氧基等; R_8 选自羟基、卤素、 C_1-C_6 烷基等; R_{9a} 、 R_{9b} 分别独立地选自氘、氢、氧、羟基、卤素、氨基、 C_1-C_6 烷基等; R_{10} 选自氢、 C_1-C_{10} 烷基等; R_{8a} 、 R_{8b} 分别独立地选自氢、卤素、 C_1-C_6 烷基等, 或者 R_{8a} 和 R_{8b} 以碳原子或者杂原子相连接形成3~12元的饱和或部分不饱和或芳香环系, 所形成的环系可以继续被一个或多个取代基所取代; R_1 、 R_y 、 X_1 如上文所定义。

[0247] 一种制备式I化合物的方法, 其特征在于, 所述方法包括步骤a-b:

[0248] a) 将通式(A)化合物与砌块 R_2 通过金属催化偶联反应转化成通式化合物B, 其中 R_2 片段为硼酸、硼酸酯、三氟硼酸盐、或硫化物等; 和

[0249] b) 将通式B化合物与砌块 R_3 在过渡金属催化剂存在的反应条件下进行交叉偶联反应, 得到通式(I)化合物, 其中 R_3 片段为胺、醇、烯、炔、金属烷基试剂、烷基硼酸、烷基硼酸酯或烷基三氟硼酸盐等;



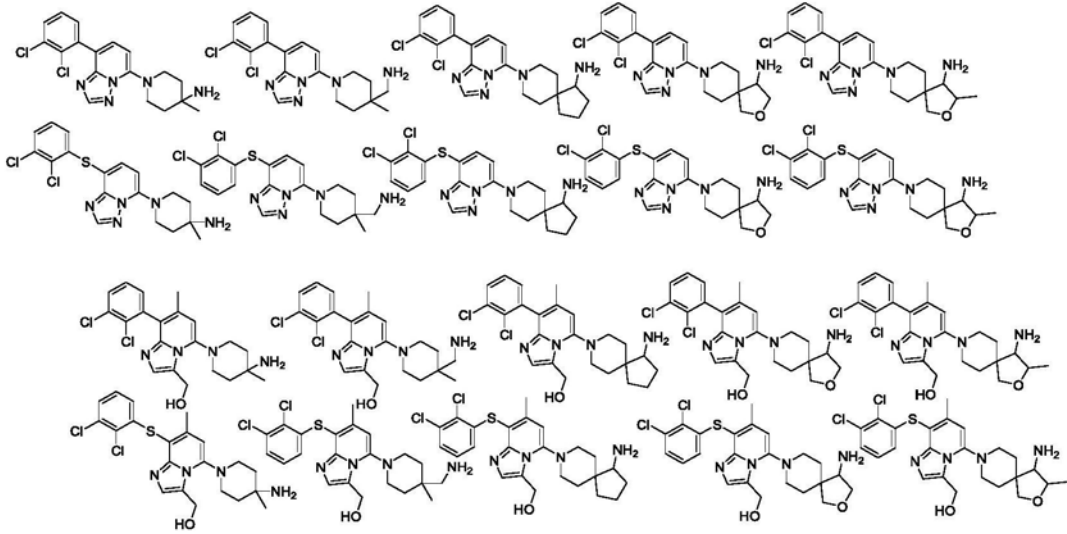
[0251] 其中, LG为离去基团, 选自卤素、三氟甲磺酸酯、苯磺酸酯等, 所示各基团的定义如上所述。

[0252] 优选地, 所述步骤a)、b)各自在溶剂中进行, 且所述溶剂选自下组: 水、甲醇、乙醇、异丙醇、丁醇、乙二醇、乙二醇甲醚、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜, 四氢呋喃、甲苯、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、二氧六环, 或其组合物。

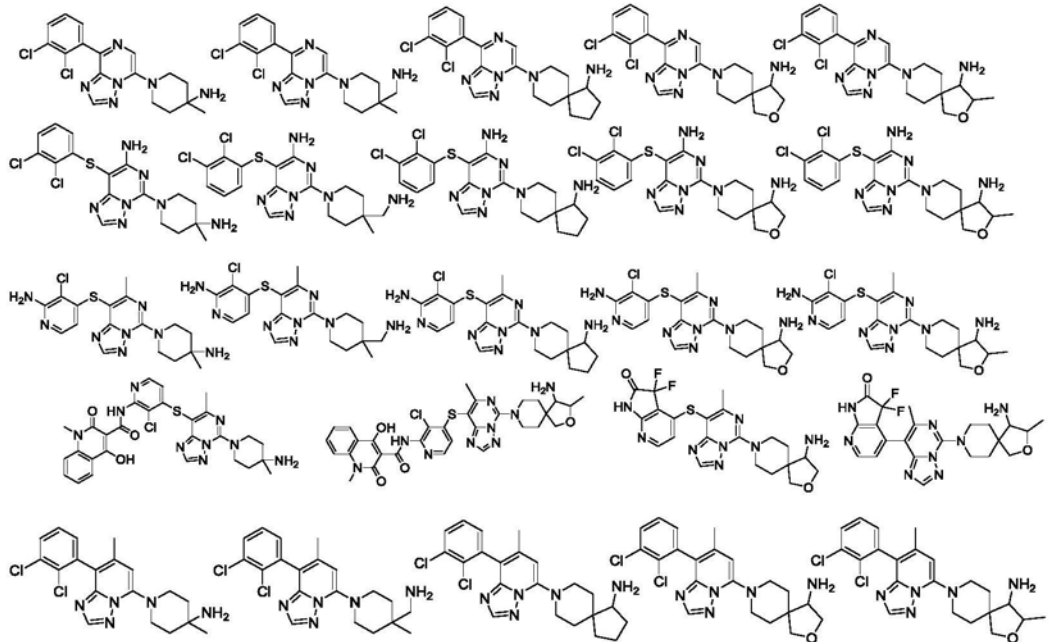
[0253] 优选地, 所述过渡金属催化剂选自下组: 三(二亚苺基丙酮)二钯($Pd_2(dba)_3$)、四(三苺基膦)钯($Pd(PPh_3)_4$)、醋酸钯、氯化钯、二氯二(三苺基膦)钯、三氟醋酸钯、三苺基膦醋酸钯、[1,1'-双(二苺基膦)二茂铁]二氯化钯、双(三邻苺甲基膦)二氯化钯、1,2-二(二苺基膦)乙烷二氯化钯, 或其组合物; 所述催化剂配体选自下组: 三叔丁基膦、四氟硼酸三叔丁基膦、三正丁基膦、三苺基膦、三对苺甲基膦、三环己基膦、三邻苺甲基膦, 或其组合物。

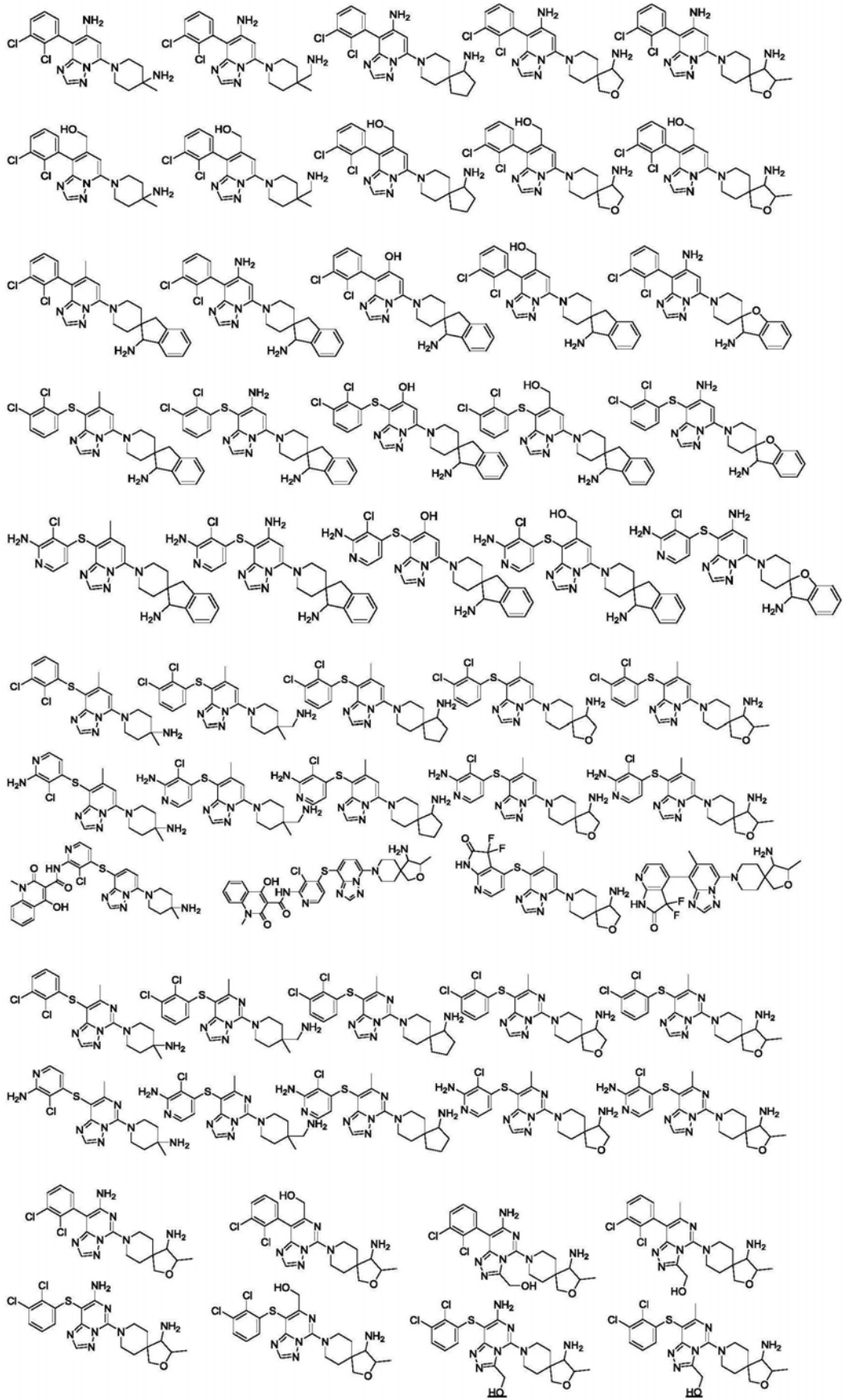
[0254] 优选地, 所述无机碱选自下组: 氢化钠、氢氧化钾、醋酸钠、醋酸钾、叔丁醇钾、叔丁醇钠、氟化钾、氟化铯、磷酸钾、碳酸钾、碳酸氢钾、碳酸钠、碳酸氢钠, 或其组合物; 所述有机碱选自下组: 吡啶, 三乙胺, N,N-二异丙基乙胺、1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯(DBU)、六甲基二硅基锂、六甲基二硅基钠、二甲基吡啶, 或其组合物。

[0255] 本发明提供的一类通式 (I-1) 优选化合物, 包括但不限于以下结构:

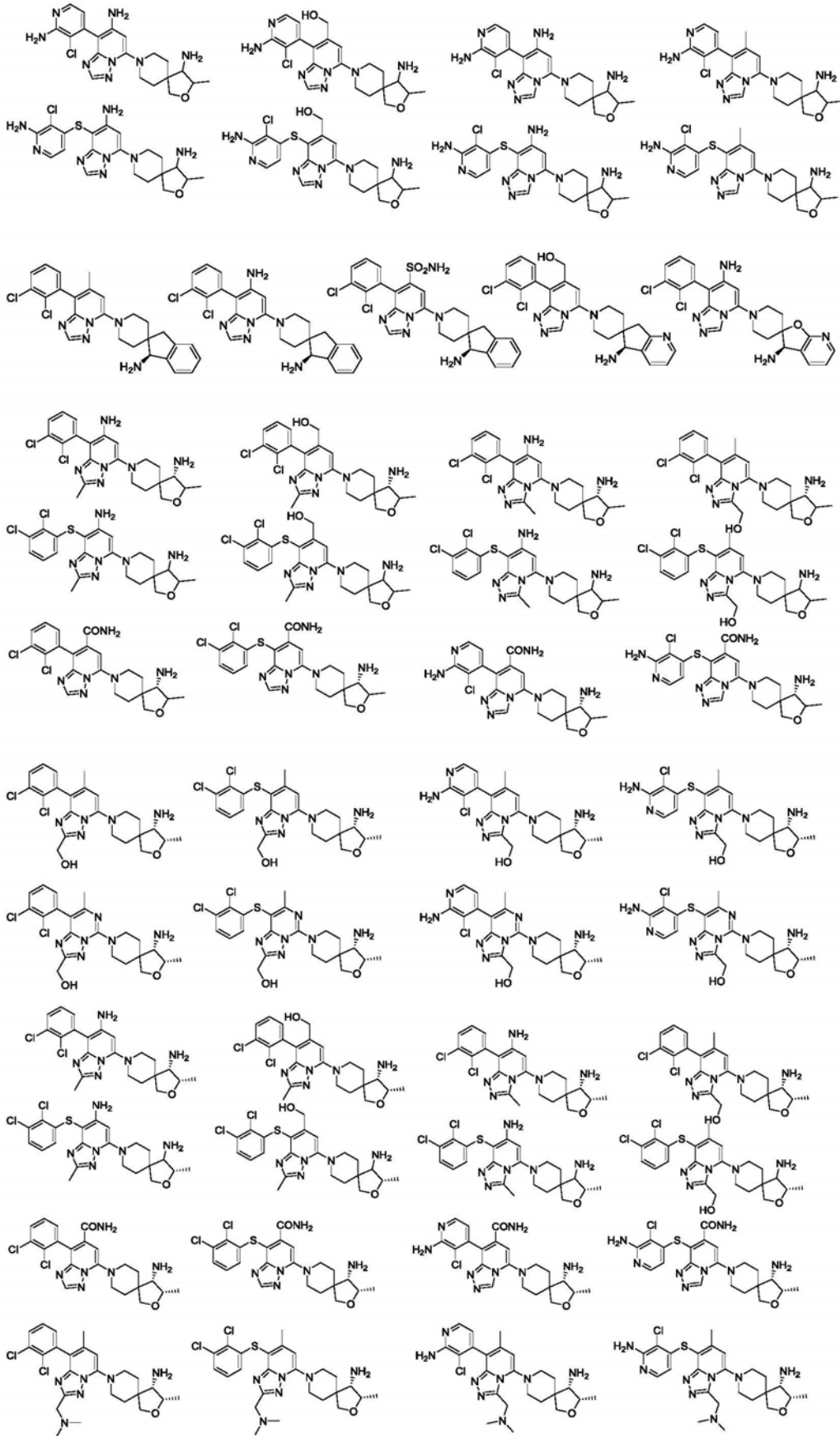


[0256]



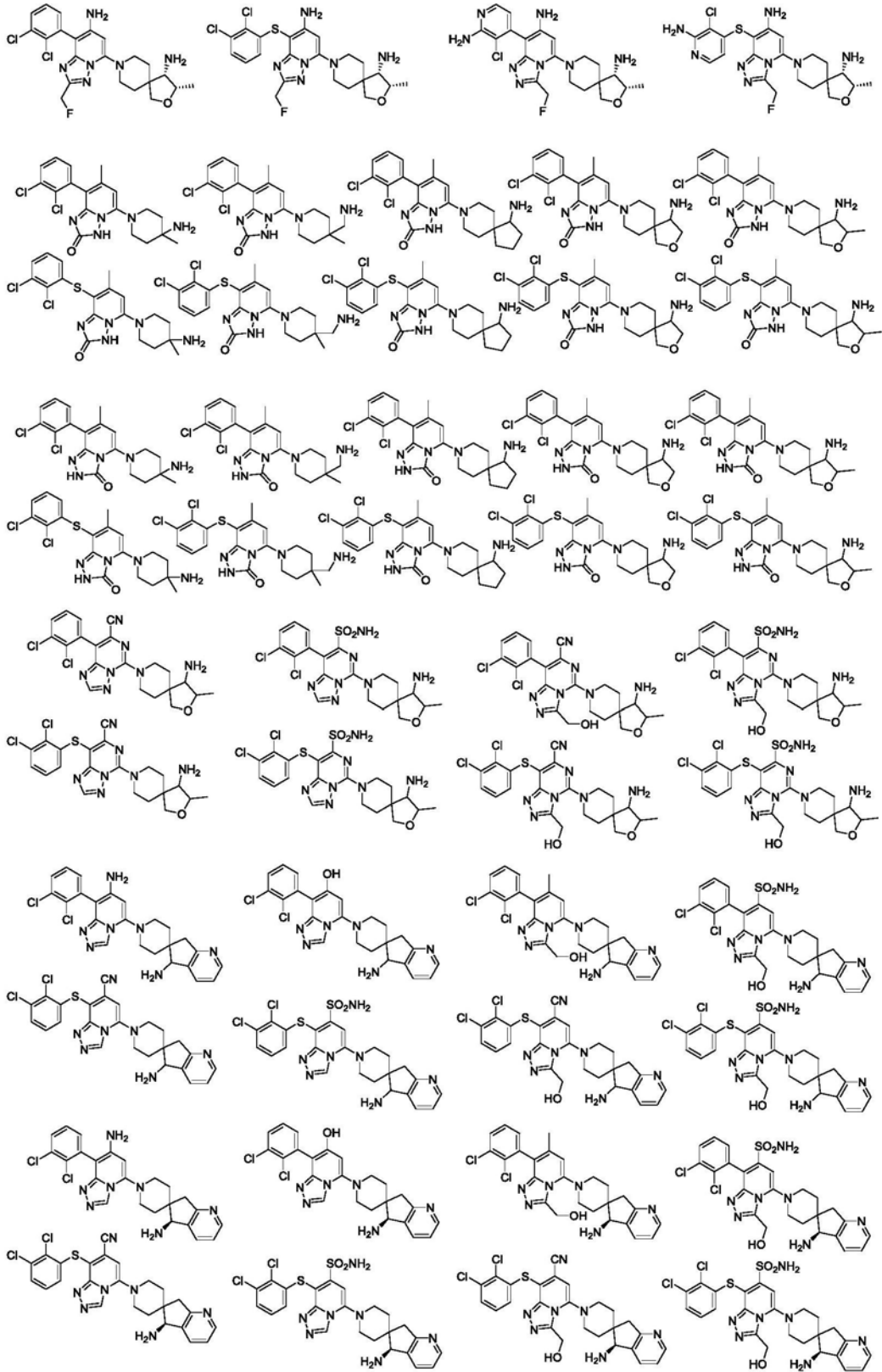


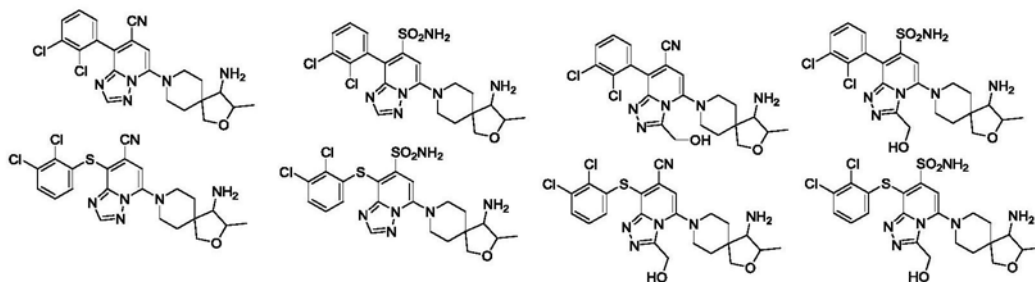
[0257]



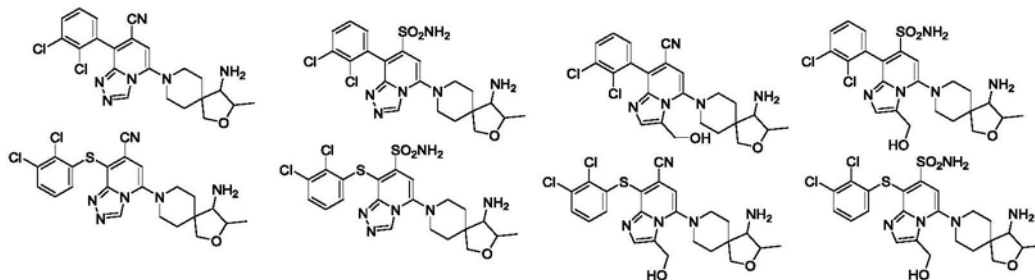
[0258]

[0259]





[0260]



[0261] 本发明的另一目的是提供一种治疗或预防肿瘤的药物及其组合物。实现上述目的的技术方案如下：

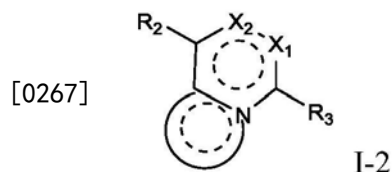
[0262] 一种治疗肿瘤的药物组合物，其由上述通式 (I-1) 所示的含氮稠杂环类化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药与药学上可接受的载体组成。

[0263] 本发明的另一目的是提供一种上述化合物的用途。实现上述目的的技术方案如下：

[0264] 所述通式 (I-1) 所示的含氮稠杂环类化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药用于制备治疗与SHP2等蛋白活性或表达相关的疾病的药物，特别是肿瘤、免疫性疾病和炎症性疾病的治疗药物。

[0265] 本发明涉及具有通式 (I-1) 结构特征的化合物，可以抑制多种肿瘤细胞，尤其是能高效地杀死Ras-ERK, PD-L1等信号通路异常相关的肿瘤，是一类全新作用机制的治疗药物。

[0266] 在某一优选实施方案中，具有如通式I-2所示的含氮稠杂环类化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药，



[0268] 式中：

[0269] X_1, X_2 分别独立地选自N、 CR_1 ， R_1 选自氢、卤素、羟基、氨基、酰胺基、磺酰胺基、 C_1-C_6 的烷基、 C_1-C_6 的烷氧基、氰基、烯基、炔基、3-8元的环烷基或杂环烷基、5-8元的芳基或杂芳基；

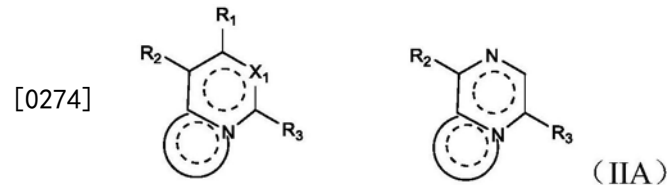
[0270] R_2 选自 $-L_2-R_y$ ；其中 L_2 为直接键、 $-O-$ 、 $-S(O)_n-$ 、 $-NR_b-$ 等， R_y 为5-10元的环烷基或杂环烷基或芳基或杂芳基； $n=0-2$ ； R_b 选自氢、 C_1-C_6 烷基或烷氧基、3-8元环烷基或杂环烷基等；

[0271] R_3 选自 $-OR_c$ 、 $-SR_c$ 、 $-C(R_aR_b)R_c$ 、 $-NR_bR_c$ 、 $-COR_c$ 、 $-CONR_bR_c$ 、 $-NR_bCOR_c$ 、 $-SO_2NR_bR_c$ 、 $-$

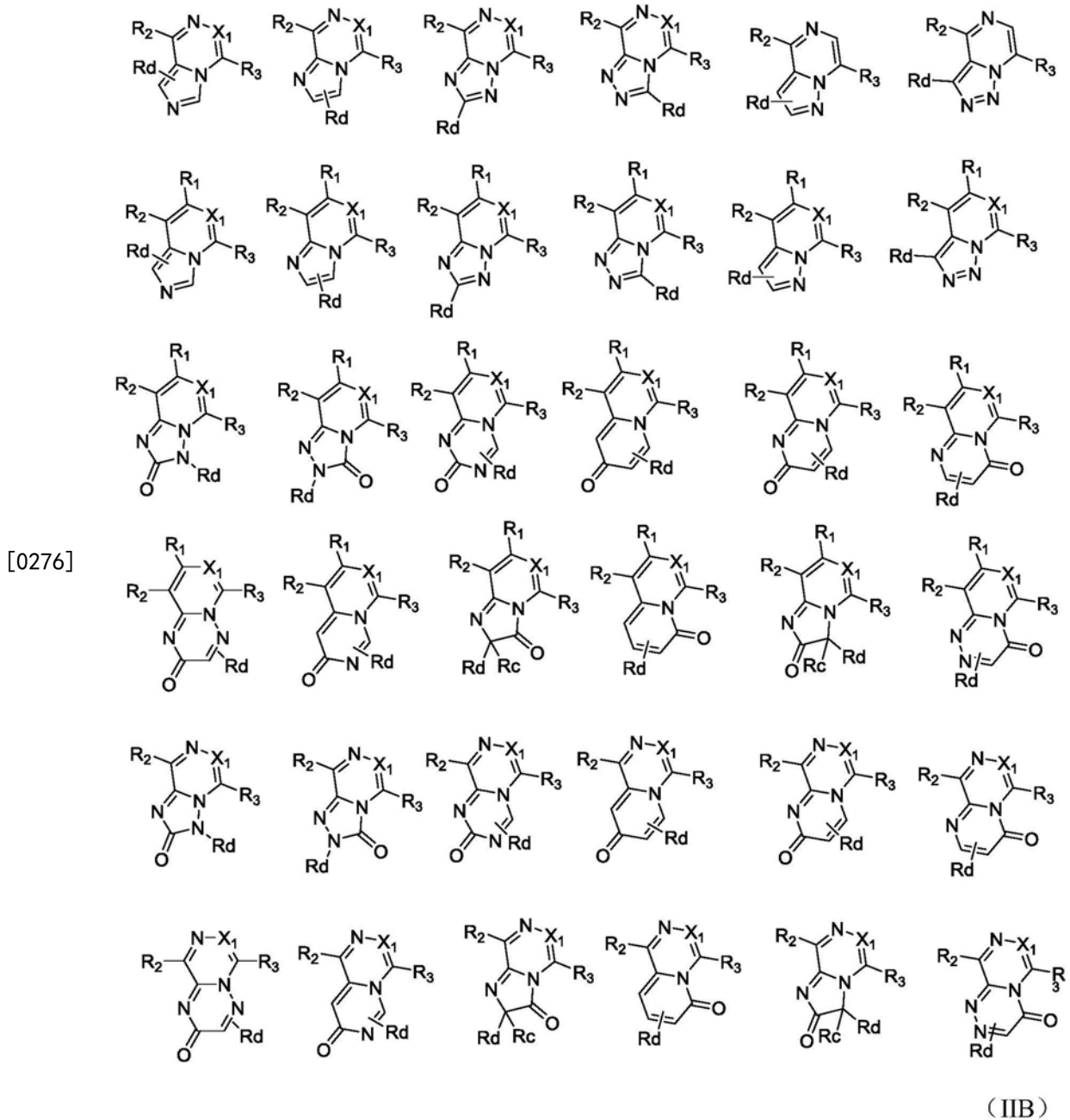
$\text{NR}_b\text{SO}_2\text{R}_c$ 、 $-\text{NR}_b\text{CONR}_b\text{R}_c$ 、 $-\text{NR}_b\text{SO}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ 、 $-\text{NR}_b\text{CSNR}_b\text{R}_c$ 、 $-\text{COOR}_c$ 、 $-\text{OOCR}_c$ 、 $-\text{OCONR}_b\text{R}_c$ 、 $-\text{NR}_b\text{COOR}_c$ 、 $-\text{NR}_b\text{CSR}_c$ 、 $-\text{CSNR}_b\text{R}_c$ 等,其中 R_b 每一次出现时独立地选自氢、 C_1 - C_6 烷基或烷氧基、3-8元环烷基或杂环烷基等; R_c 独立地选自 C_1 - C_6 的烷基、3-12元的单环或多环烷基、3-12元的单环或多环杂环烷基;或者 R_c 可与 R_a 或 R_b 形成3-12元的单环或多环烷基、3-12元的单环或多环杂环烷基、3-12元的螺环或稠环烷基和3-12元的螺环或稠环杂环烷基;

[0272] 上述的任一基团上的一个或多个氢原子可以被选自下组的取代基取代:包括但不限于氘、卤素、羟基、氨基或环氨基、氰基、硝基、砷基或亚砷基、 C_1 - C_8 烷基、3-8元环烷基或杂环烷基、 C_1 - C_8 烷氧基、 C_1 - C_8 烷氨基、烯基、炔基、酰基或磺酰基、脲或磺酰脲、5~8元芳基或杂芳基;其中,所述的杂芳基包含1-3个选自下组的杂原子:N、O、P或S,所述的杂环烷基包含1-3个选自下组的杂原子:N、O、P或S,所述的环系包含螺环、桥环、稠环、并环等饱和或部分不饱和的环系,上述环系可以进一步被 C_1 - C_6 烷基、羟基、氨基、卤素、烷氧基等取代。

[0273] 进一步的实施方式中,具有通式(I-2)所述的化合物,或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药,其优选为通式(IIA)所示的化合物,或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药:

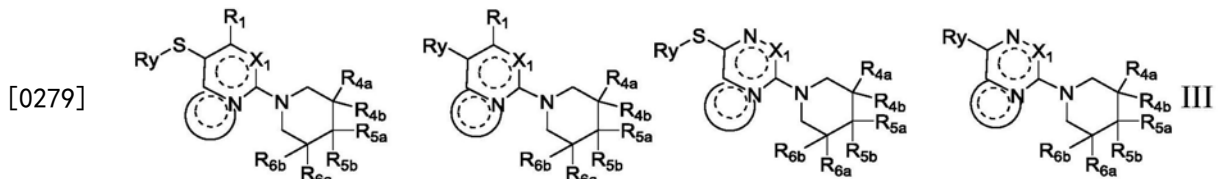


[0275] 进一步优选为通式IIB:



[0277] 其中, R_d 选自氢、卤素、羟基、氨基、 C_1 - C_6 的烷基、 C_1 - C_6 的烷氧基、 C_1 - C_6 的烷氨基、氰基、烯基、炔基、3-8元的环烷基或杂环烷基、5-8元的芳基或杂芳基; R_1 、 R_2 、 R_3 、 X_1 如上文所定义。

[0278] 更进一步的实施方式中, 其优选为如下通式(III)所示的化合物, 或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药:



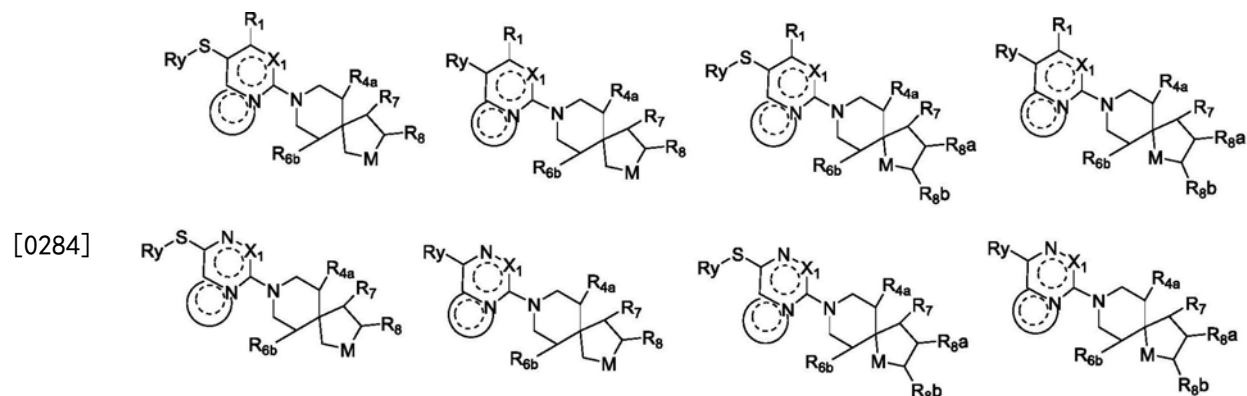
[0280] 其中, R_{4a} 、 R_{4b} 、 R_{6a} 、 R_{6b} 分别独立地选自氢、卤素、羟基、氨基等, 并且同一碳原子上不能同时为羟基取代或羟基和氟同时取代; R_{5a} 选自 C_1 - C_6 烷基、羟基、氨基、氨甲基等, R_{5b} 选自

羟基、氨基、卤素、 C_1 - C_6 的烷基、3-8元环烷基或杂环烷基、羟基烷基、烷氧基烷基、环烷基烷基、烷氧基酰基、5-8元芳基或杂芳基等

[0281] 或者 R_{5a} 和 R_{5b} 可以通过碳原子连接形成3-12元的单环或多环饱和或不饱和烷基、3-12元的单环或多环饱和或不饱和杂环烷基、3-12元的螺环或稠环烷基和3-12元的螺环或稠环杂环烷基；

[0282] 并且上述 R_{5a} 、 R_{5b} 基团上的各氢原子可以分别被下组基团取代：氘、卤素、羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、烷基、环烷基、杂环烷基等；

[0283] 更为优选地为通式IV化合物：



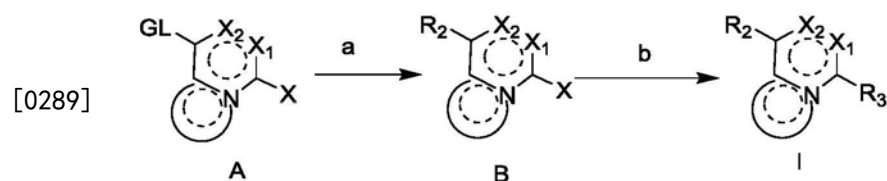
IV

[0285] 其中，M选自 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-CR_{9a}R_{9b}-$ 、 $-NR_{10}-$ 等； R_7 选自氢、卤素、 C_1 - C_6 烷基、羟基、氨基、烷氧基等； R_8 选自羟基、卤素、 C_1 - C_6 烷基等； R_{9a} 、 R_{9b} 分别独立地选自氘、氢、氧、羟基、卤素、氨基、 C_1 - C_6 烷基等； R_{10} 选自氢、 C_1 - C_{10} 烷基等； R_{8a} 、 R_{8b} 分别独立地选自氢、卤素、 C_1 - C_6 烷基等，或者 R_{8a} 和 R_{8b} 以碳原子或者杂原子相连接形成3~12元的饱和或部分不饱和或芳香环系，所形成的环系可以继续被一个或多个取代基所取代； R_1 、 R_y 、 X_1 如上文所定义。

[0286] 一种制备式I-2化合物的方法，其特征在于，所述方法包括步骤a-b：

[0287] a) 将通式(A)化合物与砌块 R_2 通过金属催化偶联反应转化成通式化合物B，其中 R_2 片段为硼酸、硼酸酯、三氟硼酸盐、锡试剂、锌试剂或硫化物等；和

[0288] b) 将通式B化合物与砌块 R_3 在碱催化取代或过渡金属催化剂存在的反应条件下进行交叉偶联反应，得到通式(I)化合物，其中 R_3 片段为胺、醇、烯、炔、金属烷基试剂、烷基硼酸、烷基硼酸酯或烷基三氟硼酸盐等；



[0290] 其中，LG为离去基团，选自卤素、三氟甲磺酸酯、苯磺酸酯等，所示各基团的定义如上所述。

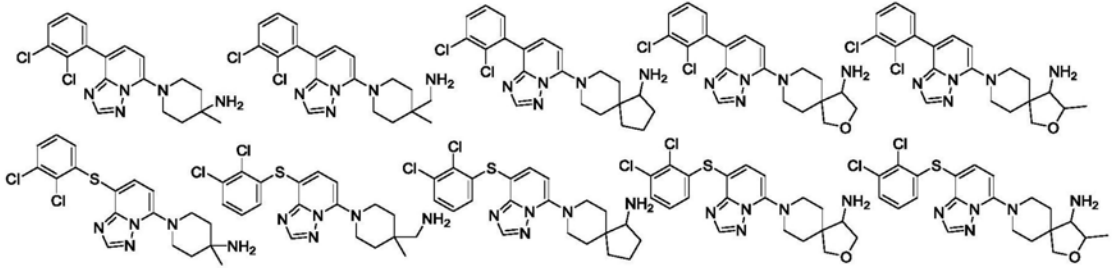
[0291] 优选地，所述步骤a)、b)各自在溶剂中进行，且所述溶剂选自下组：水、甲醇、乙醇、异丙醇、丁醇、乙二醇、乙二醇甲醚、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜，四氢呋喃、甲苯、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、二氧六环，或其组合物。

[0292] 优选地，所述过渡金属催化剂选自下组：三(二亚苺基丙酮)二钯($Pd_2(dba)_3$)、四

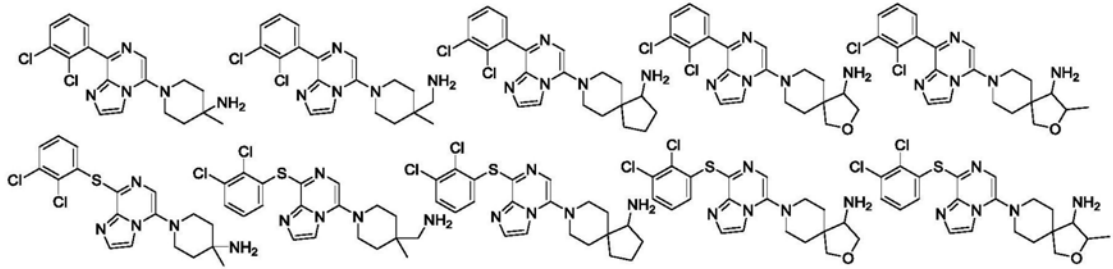
(三苯基膦) 钯 ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$)、醋酸钯、氯化钯、二氯二(三苯基膦)钯、三氟醋酸钯、三苯基膦醋酸钯、[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯、双(三邻苯甲基膦)二氯化钯、1,2-二(二苯基膦基)乙烷二氯化钯,或其组合物;所述催化剂配体选自下组:三叔丁基膦、四氟硼酸三叔丁基膦、三正丁基膦、三苯基膦、三对苯甲基膦、三环己基膦、三邻苯甲基膦,或其组合物。

[0293] 优选地,所述无机碱选自下组:氢化钠、氢氧化钾、醋酸钠、醋酸钾、叔丁醇钾、叔丁醇钠、氟化钾、氟化铯、磷酸钾、碳酸钾、碳酸氢钾、碳酸钠、碳酸氢钠,或其组合物;所述有机碱选自下组:吡啶,三乙胺,N,N-二异丙基乙胺、1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯(DBU)、六甲基二硅基锂、六甲基二硅基钠、二甲基吡啶,或其组合物。

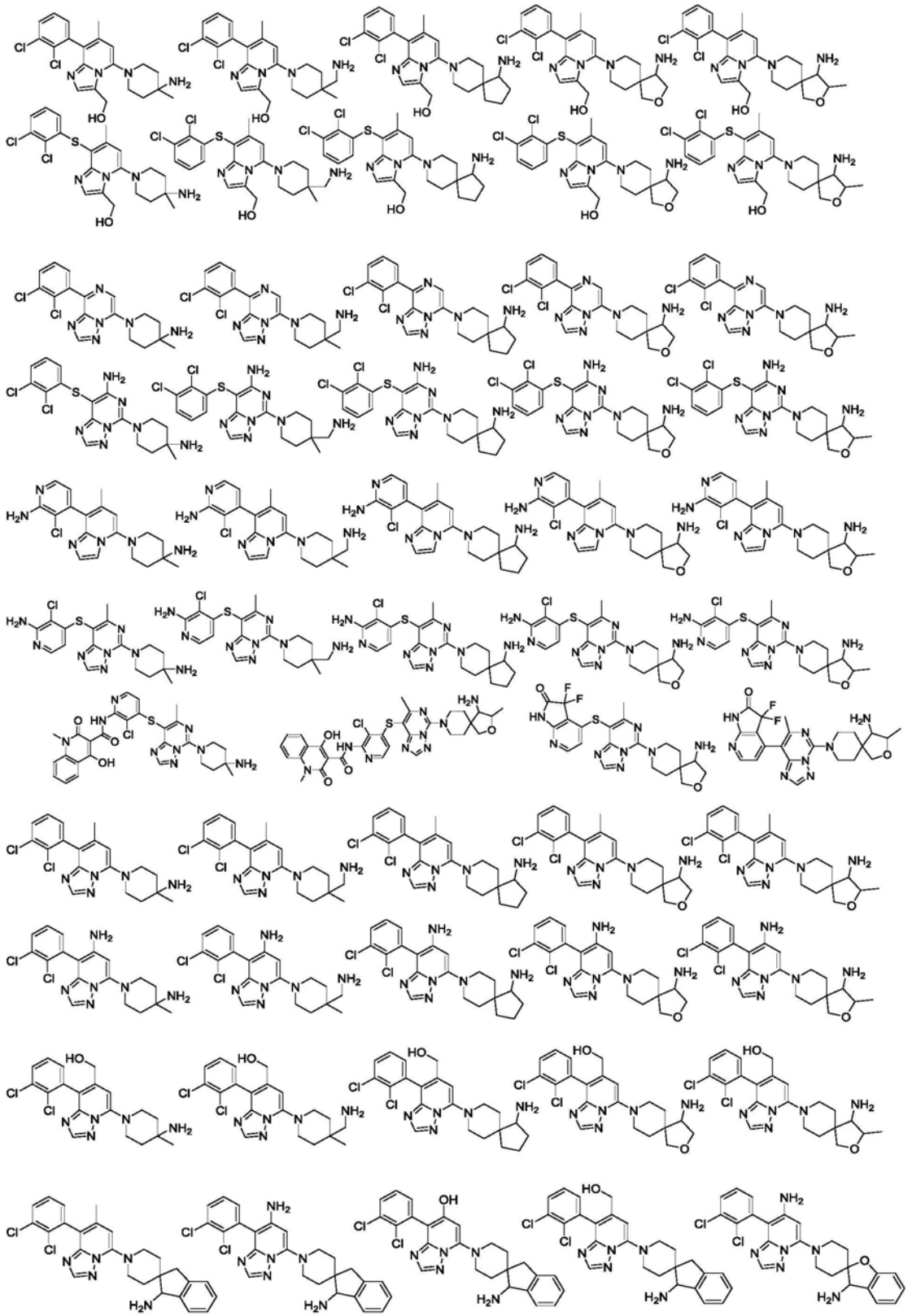
[0294] 本发明提供的一类通式(I)优选化合物,包括但不限于以下结构:

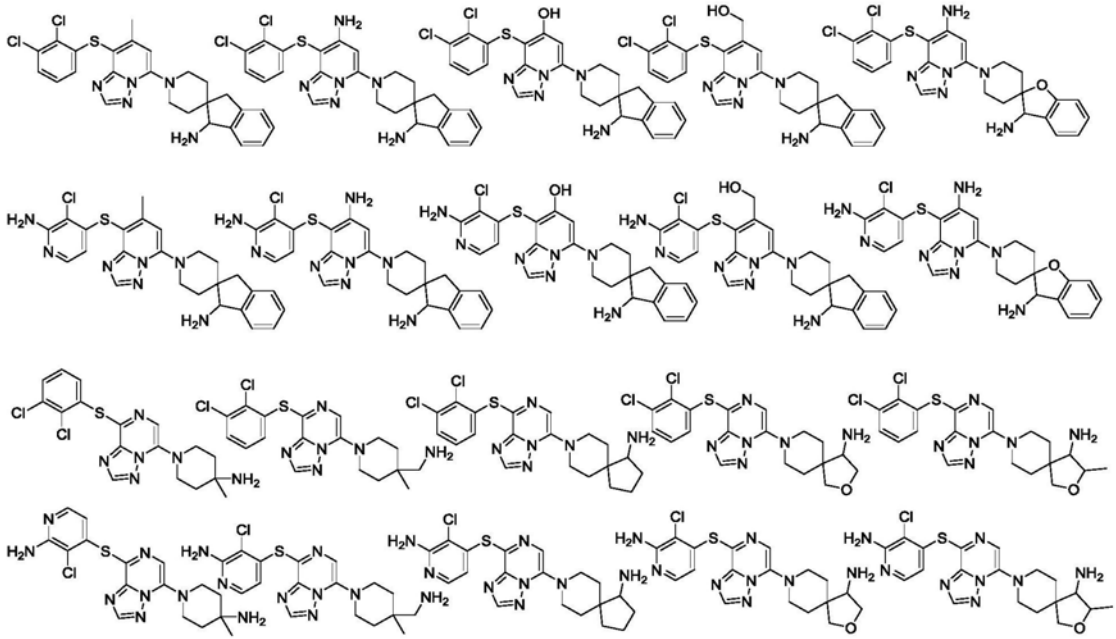


[0295]

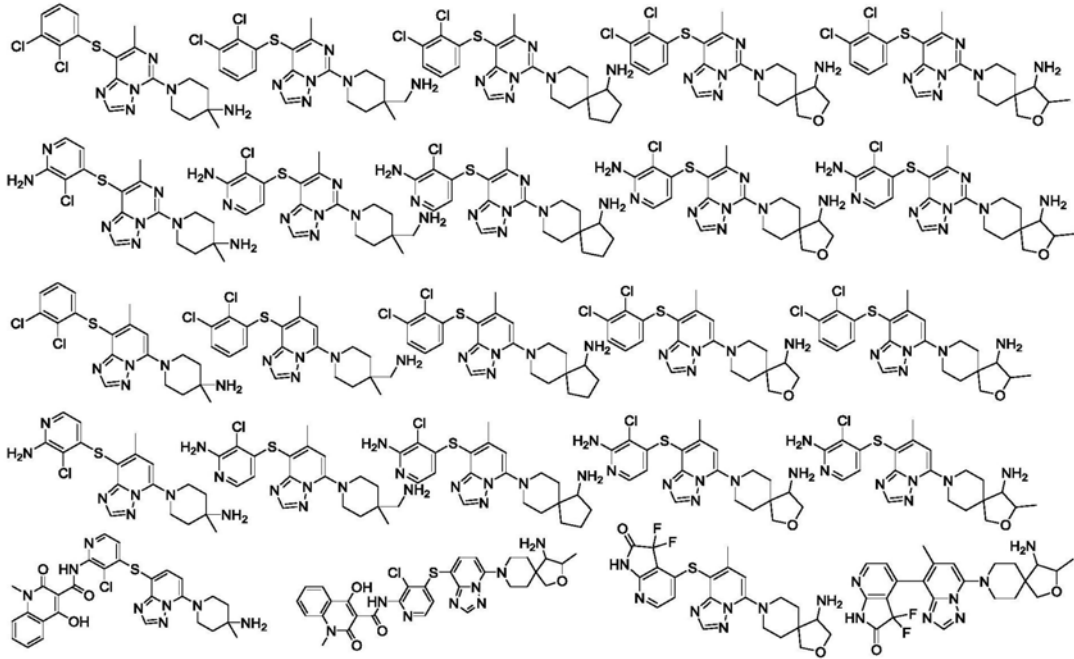


[0296]

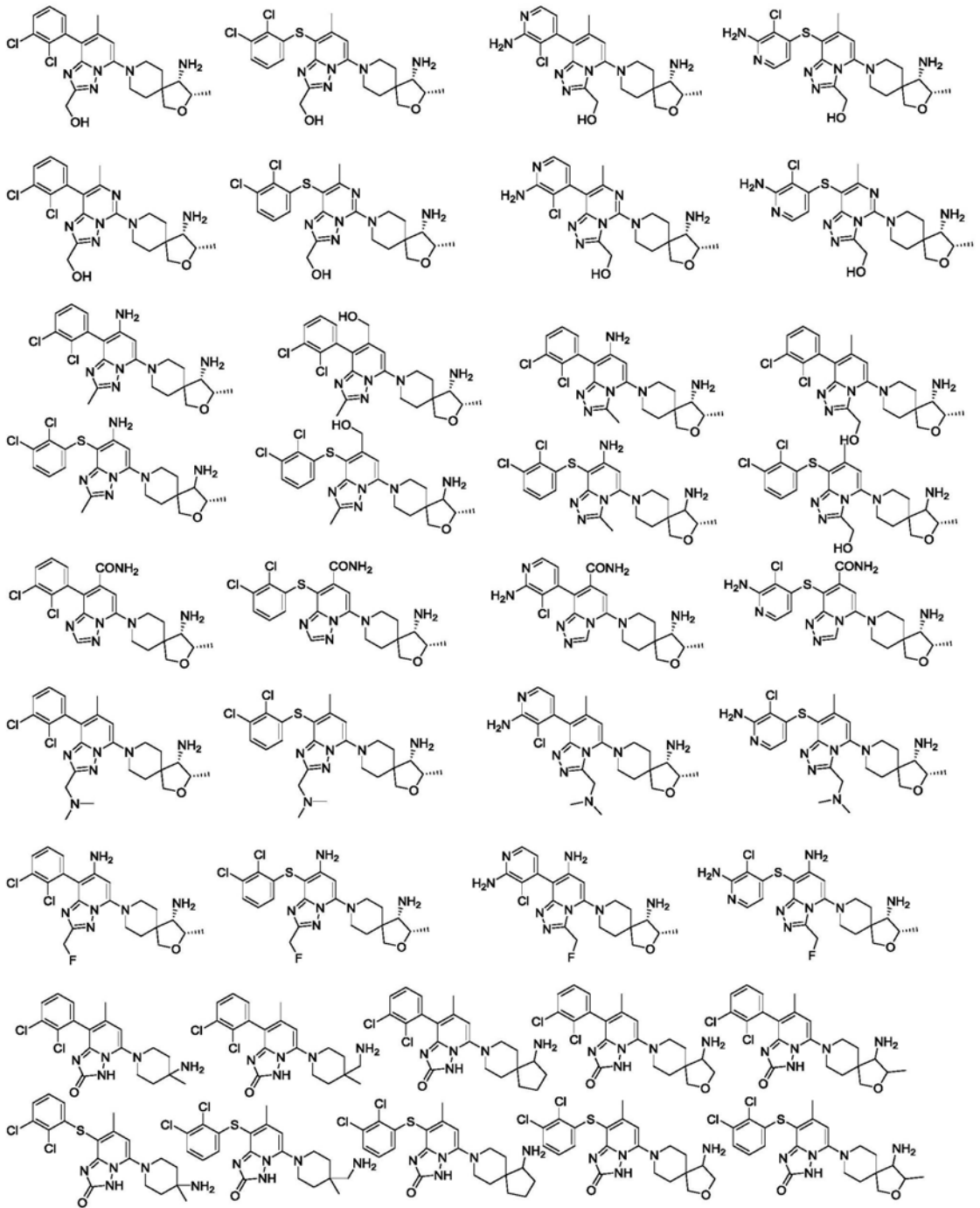




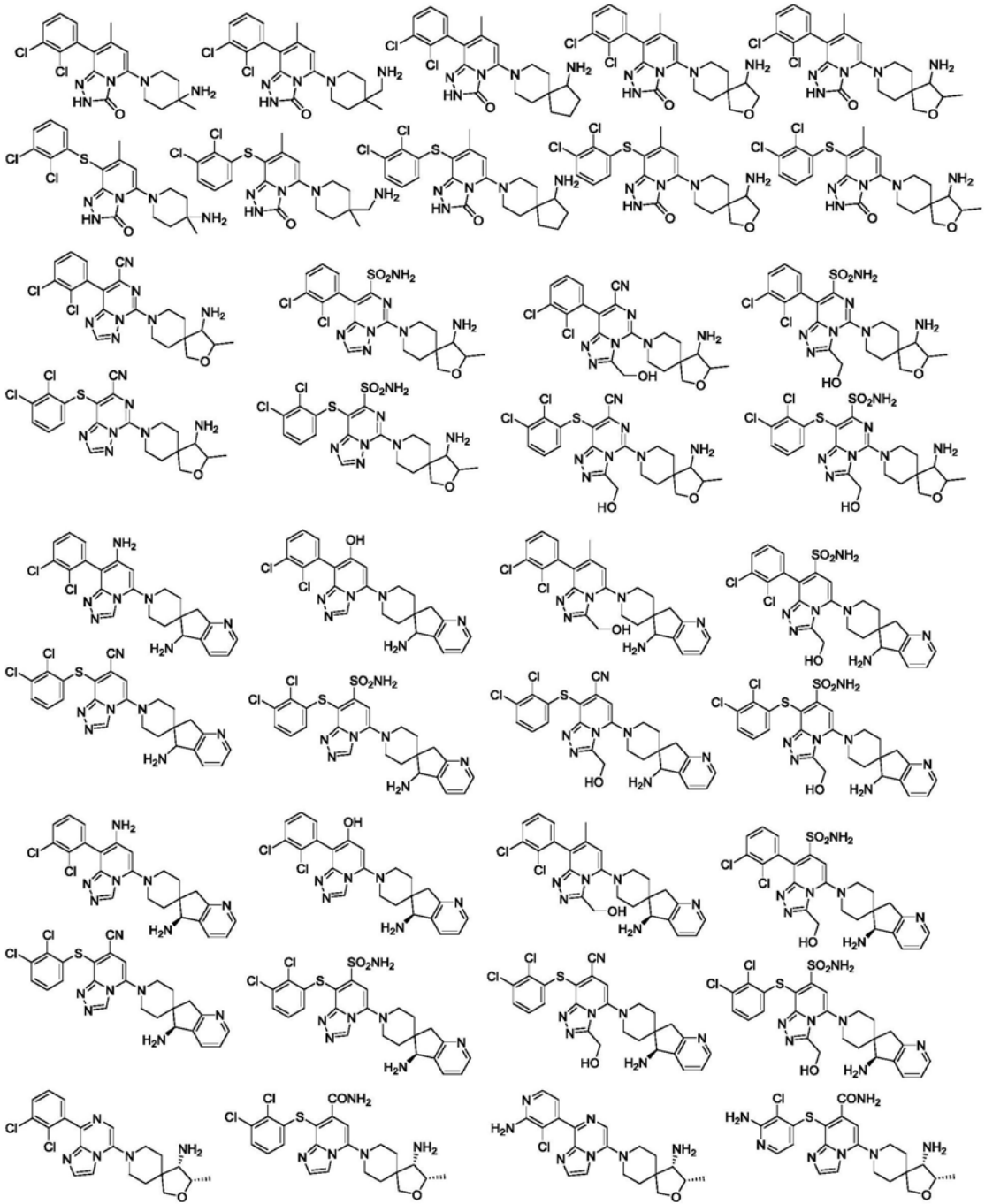
[0297]

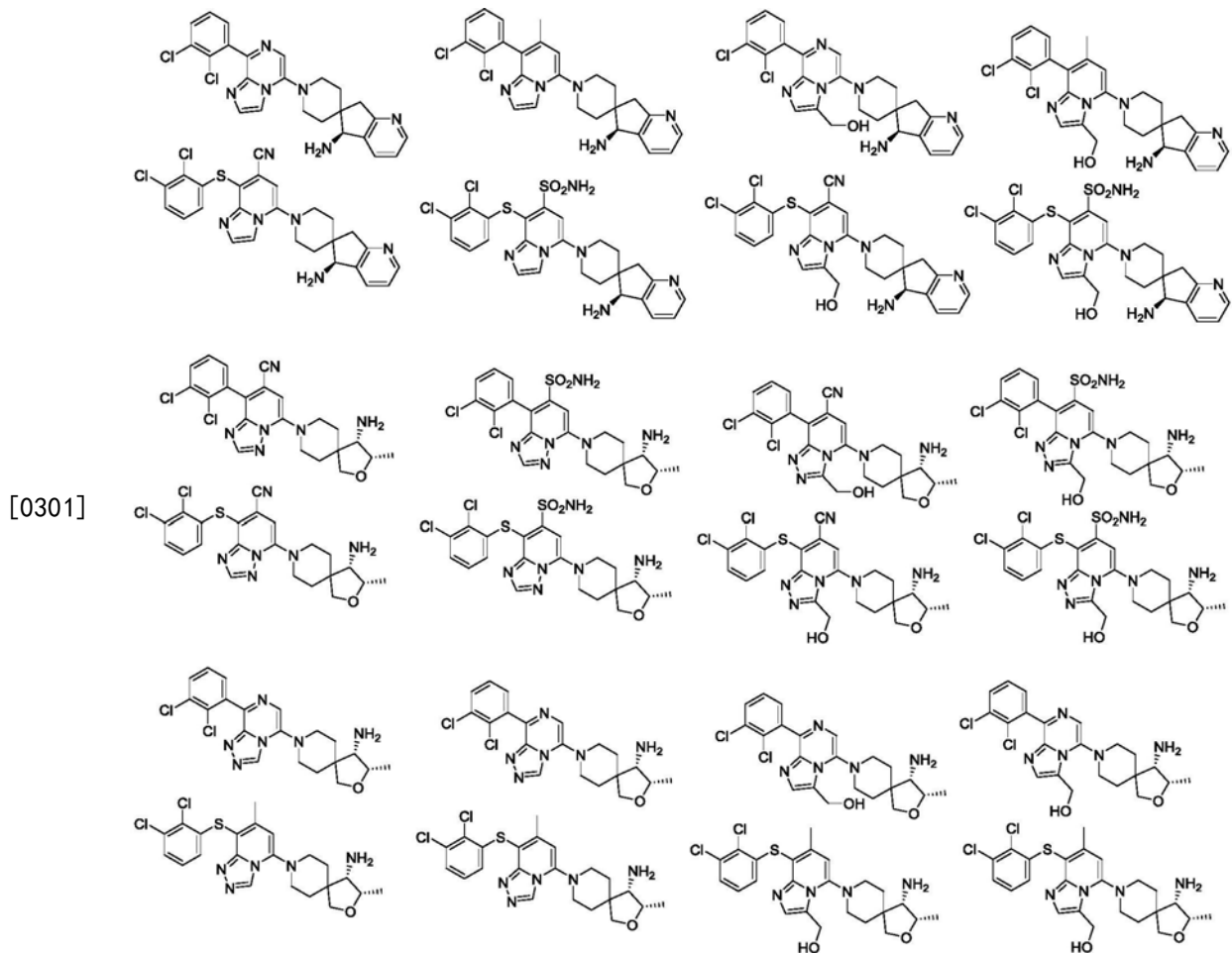


[0299]



[0300]





[0302] 本发明的另一目的是提供一种治疗或预防肿瘤的药物及其组合物。实现上述目的的技术方案如下：

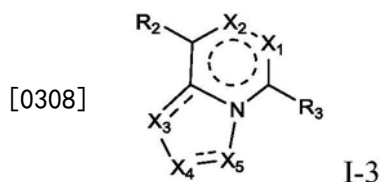
[0303] 一种治疗肿瘤的药物组合物，其由上述通式 (I-2) 所示的含氮稠杂环类化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药与药学上可接受的载体组成。

[0304] 本发明的另一目的是提供一种上述化合物的用途。实现上述目的的技术方案如下：

[0305] 所述通式 (I-2) 所示的含氮稠杂环类化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药用于制备治疗与SHP2等蛋白活性或表达相关的疾病的药物，特别是肿瘤、免疫性疾病和炎症性疾病的治疗药物。

[0306] 本发明涉及具有通式 (I-2) 结构特征的化合物，可以抑制多种肿瘤细胞，尤其是能高效地杀死Ras-ERK, PD-L1等信号通路异常相关的肿瘤，是一类全新作用机制的治疗药物。

[0307] 在某一优选实施方案中，一种具有如通式I-3所示的含氮稠杂环类化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药，



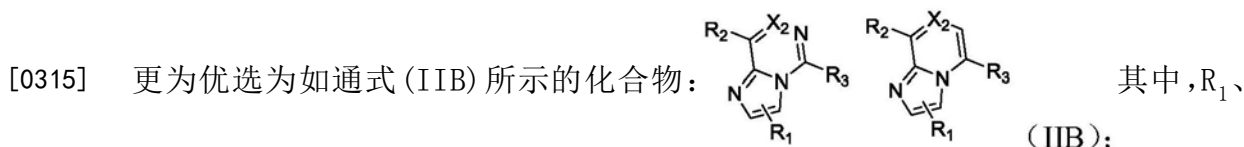
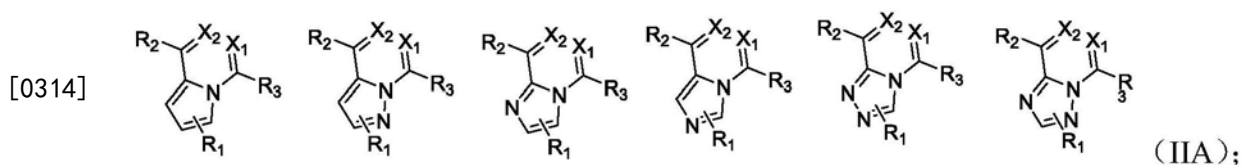
[0309] 式中： X_1, X_2, X_3, X_4 和 X_5 分别独立地选自N、CR₁；R₁选自氢、卤素、羟基、取代或未取代氨基、取代或未取代酰胺基、取代或未取代磺酰胺基、C₁-C₆的取代或未取代烷基、C₁-C₆的取代或未取代烷氧基、氰基、烯基、炔基、3-8元的取代或未取代环烷基或杂环烷基、5-8元的取代或未取代芳基或杂芳基；

[0310] R₂选自-L₂-R_y；其中L₂为直接键、-O-、-S(O)_n-、-NR_b-等，R_y为5-10元的环烷基或杂环烷基或芳基或杂芳基；n=0-2；R_b选自氢、C₁-C₆烷基或烷氧基、3-8元环烷基或杂环烷基等；

[0311] R₃选自-OR_c、-SR_c、-C(RaR_b)R_c、-NR_bR_c、-COR_c、-CONR_bR_c、-NR_bCOR_c、-SO₂NR_bR_c、-NR_bSO₂R_c、-NR_bCONR_bR_c、-NR_bSO₂NR_bR_c、-NR_bCSNR_bR_c、-COOR_c、-OOCR_c、-OCONR_bR_c、-NR_bCOOR_c、-NR_bCSR_c、-CSNR_bR_c等，其中R_b每一次出现时独立地选自氢、C₁-C₆烷基或烷氧基、3-8元环烷基或杂环烷基等；R_c独立地选自C₁-C₆的烷基、3-12元的单环或多环烷基、3-12元的单环或多环杂环烷基；或者R_c可与R_a或R_b形成3-12元的单环或多环烷基、3-12元的单环或多环杂环烷基、3-12元的螺环或稠环烷基和3-12元的螺环或稠环杂环烷基；

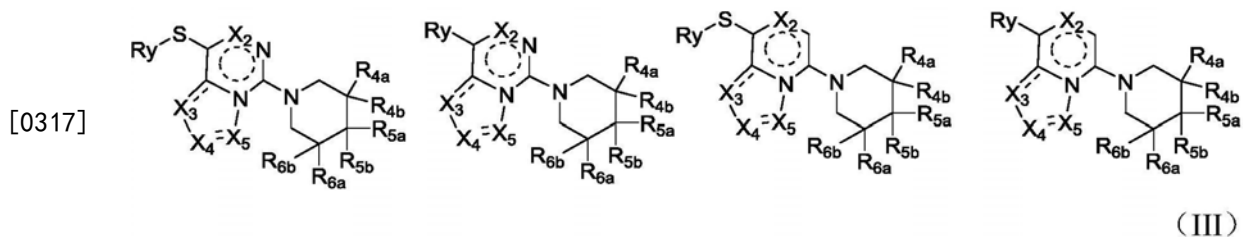
[0312] C₁-C₈烷基、3-8元环烷基或杂环烷基、C₁-C₈烷氧基、C₁-C₈烷氨基、烯基、炔基、酰基或磺酰基、脲或磺酰脲、5~8元芳基或杂芳基；其中，所述的杂芳基包含1-3个选自下组的杂原子：N、O、P或S，所述的杂环烷基包含1-3个选自下组的杂原子：N、O、P或S，所述的环系包含螺环、桥环、稠环、并环等饱和或部分不饱和的环系，上述环系可以进一步被C₁-C₆烷基、羟基、氨基、卤素、烷氧基等取代。

[0313] 进一步的实施方式中，具有通式(I-3)所述的化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药，其优选为通式(IIA)所示的化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药：



R₂、R₃、X₁、X₂如上文所定义。

[0316] 更进一步的实施方式中，其优选为如下通式(III)所示的化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药：

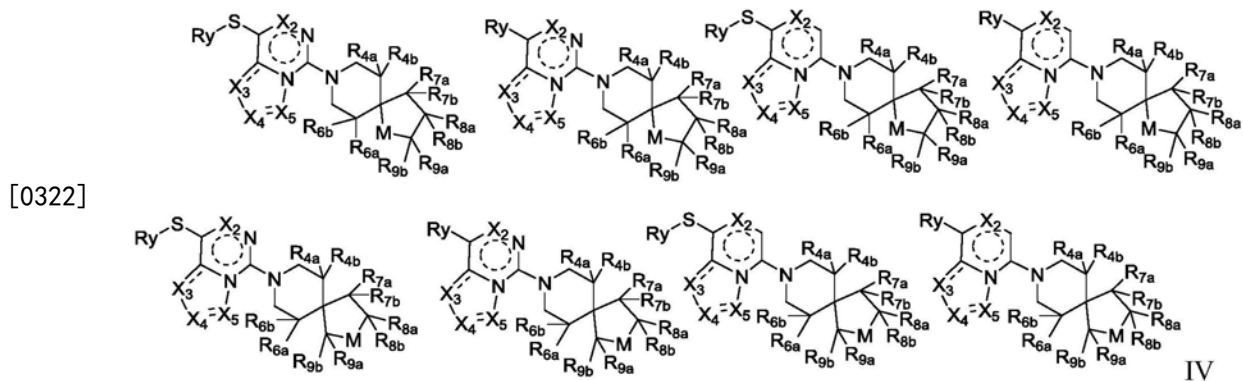


[0318] 其中, R_{4a} 、 R_{4b} 、 R_{6a} 、 R_{6b} 分别独立地选自氢、卤素、羟基、氨基等, 并且同一碳原子上不能同时为羟基取代或羟基和氟同时取代; R_{5a} 选自 C_1 - C_6 烷基、羟基、氨基、氨基甲基等, R_{5b} 选自羟基、氨基、卤素、 C_1 - C_6 的烷基、3-8元环烷基或杂环烷基、羟基烷基、烷氧基烷基、环烷基烷基、烷氧基酰基、5-8元芳基或杂芳基等;

[0319] 或者 R_{5a} 和 R_{5b} 可以通过碳原子连接形成3-12元的单环或多环饱和或不饱和烷基、3-12元的单环或多环饱和或不饱和杂环烷基、3-12元的螺环或稠环烷基和3-12元的螺环或稠环杂环烷基;

[0320] 并且上述 R_{5a} 、 R_{5b} 基团上的各氢原子可以分别被下组基团取代: 氘、卤素、羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、烷基、环烷基、杂环烷基等;

[0321] 更为优选地为通式IV化合物:



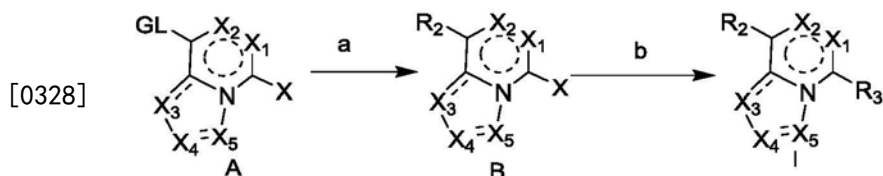
[0323] 其中, M选自 -O-、-S-、-SO₂-、-CR_{9a}R_{9b}-、-NR₁₀- 等; R_{7a} 、 R_{7b} 分别独立地选自氢、卤素、 C_1 - C_6 烷基、羟基、氨基、烷氧基等; R_{8a} 、 R_{8b} 分别独立地选自羟基、卤素、 C_1 - C_6 烷基等; R_{9a} 、 R_{9b} 分别独立地选自氘、氢、氧、羟基、卤素、氨基、 C_1 - C_6 烷基等; R_{10a} 、 R_{10b} 分别独立地选自氢、氘、卤素、氧代、羟基、氨基、 C_1 - C_6 烷基或烷氧基等; R_{10} 独立地选自氢、 C_1 - C_6 的取代或未取代的烷基等;

[0324] 或者 R_{7a} 、 R_{7b} 、 R_{8a} 、 R_{8b} 、 R_{9a} 和 R_{9b} 两两之间以碳原子或者杂原子相连接形成3~12元的饱和或部分饱和或芳香环系, 所形成的环系可以继续被一个或多个取代基所取代; R_y 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 如上文所定义。

[0325] 一种制备式I-3化合物的方法, 其特征在于, 所述方法包括步骤a-b:

[0326] a) 将通式(A)化合物与砌块 R_2 通过金属催化偶联反应转化成通式化合物B, 其中 R_2 片段为硼酸、硼酸酯、三氟硼酸盐、锡试剂、锌试剂或硫化物等; 和

[0327] b) 将通式B化合物与砌块 R_3 在碱催化取代或过渡金属催化剂存在的反应条件下进行交叉偶联反应, 得到通式(I)化合物, 其中 R_3 片段为胺、醇、烯、炔、金属烷基试剂、烷基硼酸、烷基硼酸酯或烷基三氟硼酸盐等;



[0329] 其中, LG为离去基团, 选自卤素、三氟甲磺酸酯、苯磺酸酯等, 所示各基团的定义如上所述。

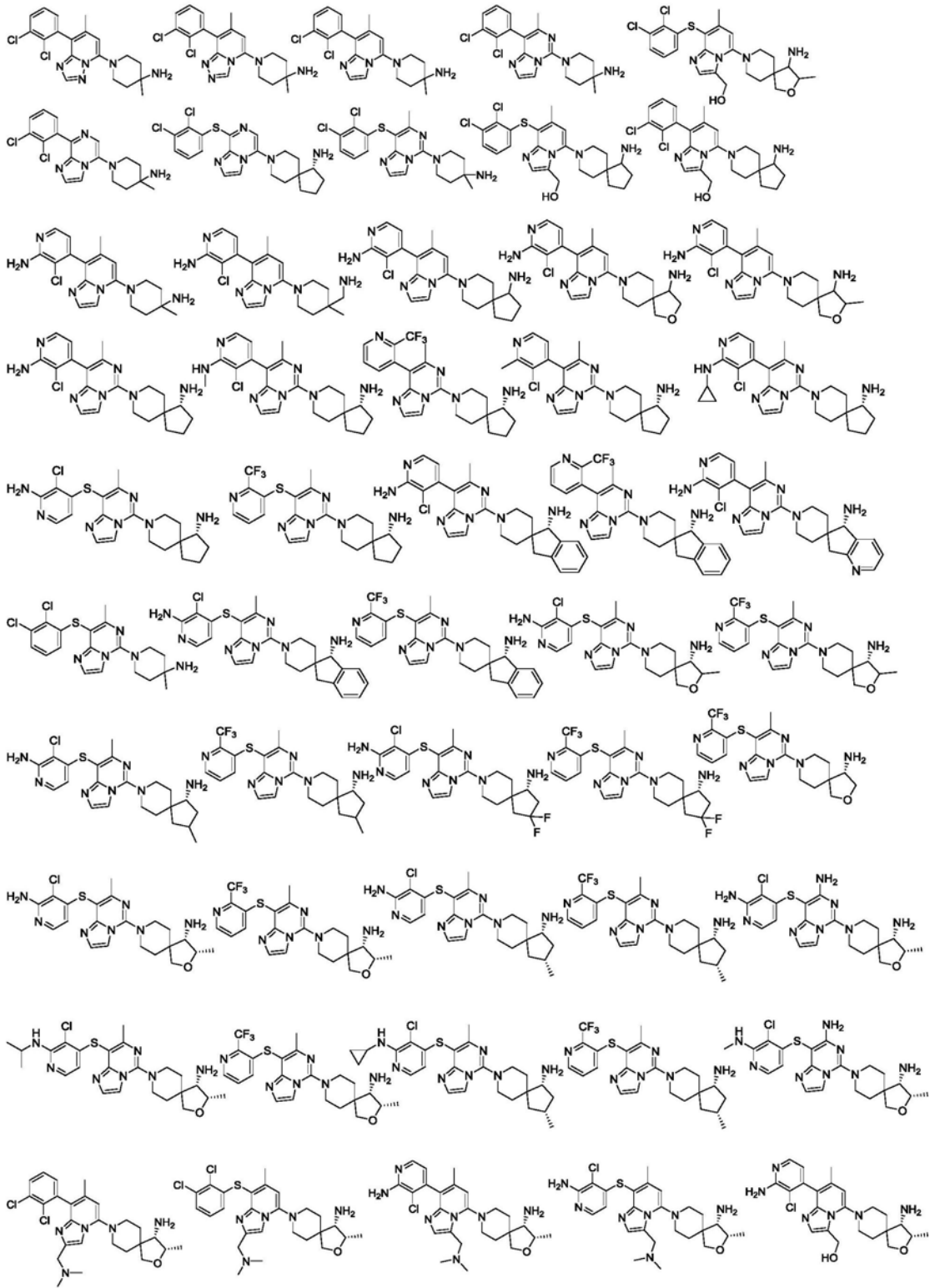
[0330] 优选地, 所述步骤a)、b) 各自在溶剂中进行, 且所述溶剂选自下组: 水、甲醇、乙醇、异丙醇、丁醇、乙二醇、乙二醇甲醚、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜, 四氢呋喃、甲苯、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、二氧六环, 或其组合物。

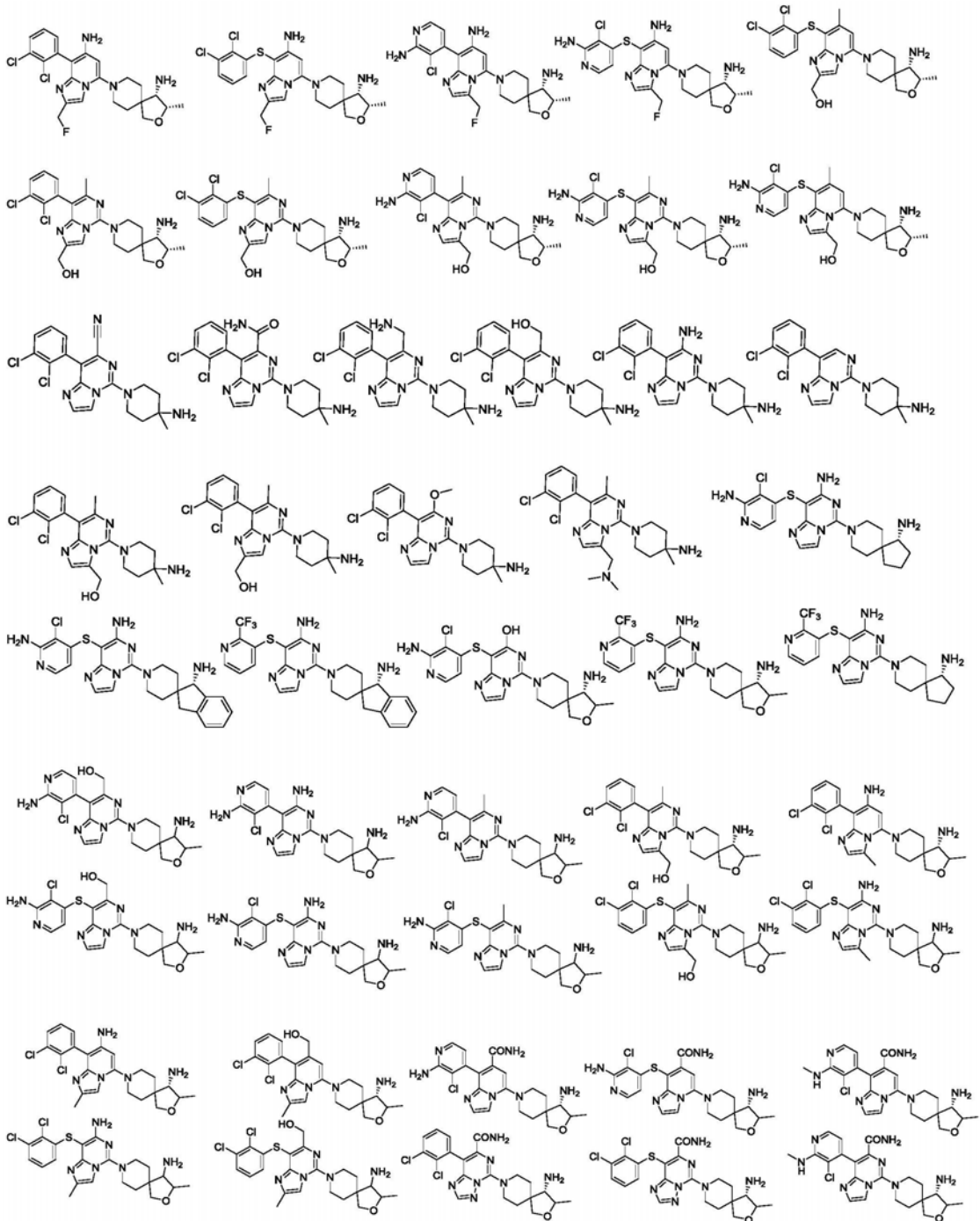
[0331] 优选地, 所述过渡金属催化剂选自下组: 三(二亚苄基丙酮)二钯(Pd₂(dba)₃)、四(三苯基膦)钯(Pd(PPh₃)₄)、醋酸钯、氯化钯、二氯二(三苯基膦)钯、三氟醋酸钯、三苯基膦醋酸钯、[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯、双(三邻苯甲基膦)二氯化钯、1,2-二(二苯基膦基)乙烷二氯化钯, 或其组合物; 所述催化剂配体选自下组: 三叔丁基膦、四氟硼酸三叔丁基膦、三正丁基膦、三苯基膦、三对苯甲基膦、三环己基膦、三邻苯甲基膦, 或其组合物。

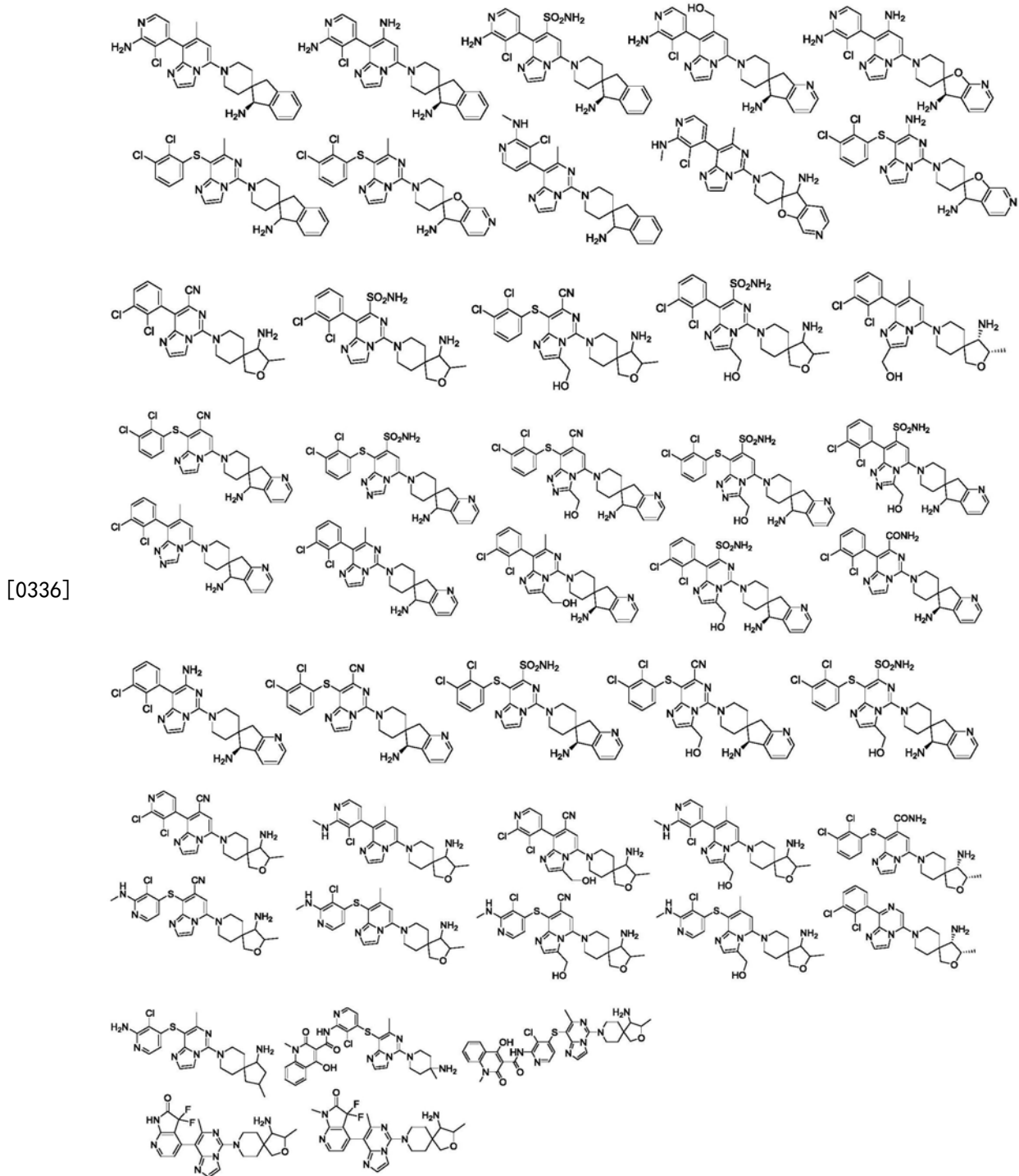
[0332] 优选地, 所述无机碱选自下组: 氢化钠、氢氧化钾、醋酸钠、醋酸钾、叔丁醇钾、叔丁醇钠、氟化钾、氟化铯、磷酸钾、碳酸钾、碳酸氢钾、碳酸钠、碳酸氢钠, 或其组合物; 所述有机碱选自下组: 吡啶, 三乙胺, N,N-二异丙基乙胺、1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯(DBU)、六甲基二硅基锂、六甲基二硅基钠、二甲基吡啶, 或其组合物。

[0333] 本发明提供的一类通式(I-3) 优选化合物, 包括但不限于以下结构:

[0334]







[0337] 本发明的另一目的是提供一种治疗或预防肿瘤的药物及其组合物。实现上述目的的技术方案如下：

[0338] 一种治疗肿瘤的药物组合物，其由上述通式 (I-3) 所示的含氮稠杂环类化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药与药学上可接受的载体组成。

[0339] 本发明的另一目的是提供一种上述化合物的用途。实现上述目的的技术方案如下：

[0340] 所述通式 (I) 所示的含氮稠杂环类化合物，或其药学上可接受的盐、或其对映异构

体、非对映异构体、互变异构体、溶剂化物、多晶型物或前药用于制备治疗与SHP2等蛋白活性或表达相关的疾病的药物,特别是肿瘤、免疫性疾病和炎症性疾病的治疗药物。

[0341] 本发明涉及具有通式(I)结构特征的化合物,可以抑制多种肿瘤细胞,尤其是能高效地杀死Ras-Raf-ERK,PD-L1等信号通路异常相关的肿瘤,是一类全新作用机制的治疗药物。

[0342] 术语

[0343] 除非另有定义,否则本文所有科技术语具有的涵义与权利要求主题所属领域技术人员通常理解的涵义相同。除非另有说明,本文全文引用的所有专利、专利申请、公开材料通过引用方式整体并入本文。

[0344] 应理解,上述简述和下文的详述为示例性且仅用于解释,而不对本发明主题作任何限制。在本申请中,除非另有具体说明,否则使用单数时也包括复数。必须注意,除非文中另有清楚的说明,否则在本说明书和权利要求书中所用的单数形式包括所指事物的复数形式。还应注意,除非另有说明,否则所用“或”、“或者”表示“和/或”。此外,所用术语“包括”以及其它形式,例如“包含”、“含”和“含有”并非限制性。

[0345] 可在参考文献(包括Carey and Sundberg“ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4TH ED.”Vols.A(2000)and B(2001),Plenum Press,New York)中找到对标准化学术语的定义。除非另有说明,否则采用本领域技术范围内的常规方法,如质谱、NMR、IR和UV/VIS光谱法和药理学方法。除非提出具体定义,否则本文在分析化学、有机合成化学以及药物和药物化学的有关描述中采用的术语是本领域已知的。可在化学合成、化学分析、药物制备、制剂和递送,以及对患者的治疗中使用标准技术。例如,可利用厂商对试剂盒的使用说明,或者按照本领域公知的方式或本发明的说明来实施反应和进行纯化。通常可根据本说明书中引用和讨论的多个概要性和较具体的文献中的描述,按照本领域熟知的常规方法实施上述技术和方法。在本说明书中,可由本领域技术人员选择基团及其取代基以提供稳定的结构部分和化合物。

[0346] 当通过从左向右书写的常规化学式描述取代基时,该取代基也同样包括从右向左书写结构式时所得到的在化学上等价的取代基。举例而言,-CH₂-等同于-OCH₂-。

[0347] 本文所用的章节标题仅用于组织文章的目的,而不应被解释为对所述主题的限制。本申请中引用的所有文献或文献部分包括但不限于专利、专利申请、文章、书籍、操作手册和论文,均通过引用方式整体并入本文。

[0348] 在本文中定义的某些化学基团前面通过简化符号来表示该基团中存在的碳原子总数。例如,C₁₋₆烷基是指具有总共1至6个碳原子的如下文所定义的烷基。简化符号中的碳原子总数不包括可能存在于所述基团的取代基中的碳。

[0349] 除前述以外,当用于本申请的说明书及权利要求书中时,除非另外特别指明,否则以下术语具有如下所示的含义。

[0350] 在本申请中,术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘;“羟基”是指-OH基团;“羟基烷基”是指被羟基(-OH)取代的如下文所定义的烷基;“羰基”是指-C(=O)-基团;“硝基”是指-NO₂;“氰基”是指-CN;“氨基”是指-NH₂;“取代的氨基”是指被一个或两个如下文所定义的烷基、烷基羰基、芳烷基、杂芳烷基取代的氨基,例如,单烷基氨基、二烷基氨基、烷基酰氨基、芳烷基氨基、杂芳烷基氨基;“羧基”是指-COOH。

[0351] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分(例如用在卤素取代的烷基等基团中),术语“烷基”意指仅由碳原子和氢原子组成、不含不饱和键、具有例如1至12个(优选为1至8个,更优选为1至6个)碳原子且通过单键与分子的其余部分连接的直链或支链的烃链基团。烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、2-甲基丁基、2,2-二甲基丙基、正己基、庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、辛基、壬基和癸基等。

[0352] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“烯基”意指仅由碳原子和氢原子组成、含有至少一个双键、具有例如2至14个(优选为2至10个,更优选为2至6个)碳原子且通过单键与分子的其余部分连接的直链或支链的烃链基团,例如但不限于乙烯基、丙烯基、烯丙基、丁-1-烯基、丁-2-烯基、戊-1-烯基、戊-1,4-二烯基等。

[0353] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“炔基”意指仅由碳原子和氢原子组成、含有至少一个三键和任选的一个或多个双键、具有例如2至14个(优选为2至10个,更优选为2至6个)碳原子且通过单键与分子的其余部分连接的直链或支链的烃链基团,例如但不限于乙炔基、丙-1-炔基、丁-1-炔基、戊-1-烯-4-炔基等。

[0354] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“环烷基”意指仅由碳原子和氢原子组成的稳定的非芳香族单环或多环烃基,其可包括稠合环体系、桥环体系或螺环体系,具有3至15个碳原子,优选具有3至10个碳原子,更优选具有3至8个碳原子,且其为饱和或不饱和并可经由任何适宜的碳原子通过单键与分子的其余部分连接。除非本说明书中另外特别指明,环烷基中的碳原子可以任选地被氧化。环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环辛基、1H-茛基、2,3-二氢化茛基、1,2,3,4-四氢-萘基、5,6,7,8-四氢-萘基、8,9-二氢-7H-苯并环庚烯-6-基、6,7,8,9-四氢-5H-苯并环庚烯基、5,6,7,8,9,10-六氢-苯并环辛烯基、茛基、二环[2.2.1]庚基、7,7-二甲基-二环[2.2.1]庚基、二环[2.2.1]庚烯基、二环[2.2.2]辛基、二环[3.1.1]庚基、二环[3.2.1]辛基、二环[2.2.2]辛烯基、二环[3.2.1]辛烯基、金刚烷基、八氢-4,7-亚甲基-1H-茛基和八氢-2,5-亚甲基-并环戊二烯基等。

[0355] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“杂环基”意指由2至14个碳原子以及1至6个选自氮、磷、氧和硫的杂原子组成的稳定的3元至20元非芳香族环状基团。除非本说明书中另外特别指明,否则杂环基可以为单环、双环、三环或更多环的环体系,其可包括稠合环体系、桥环体系或螺环体系;其杂环基中的氮、碳或硫原子可任选地被氧化;氮原子可任选地被季铵化;且杂环基可为部分或完全饱和。杂环基可以经由碳原子或者杂原子并通过单键与分子其余部分连接。在包含稠环的杂环基中,一个或多个环可以是下文所定义的芳基或杂芳基,条件是与分子其余部分的连接点为非芳香族环原子。就本发明的目的而言,杂环基优选为包含1至3个选自氮、氧和硫的杂原子的稳定的4元至11元非芳香性单环、双环、桥环或螺环基团,更优选为包含1至3个选自氮、氧和硫的杂原子的稳定的4元至8元非芳香性单环、双环、桥环或螺环基团。杂环基的实例包括但不限于:吡咯烷基、吗啉基、哌嗪基、高哌嗪基、哌啶基、硫代吗啉基、2,7-二氮杂-螺[3.5]壬烷-7-基、2-氧杂-6-氮杂-螺[3.3]庚烷-6-基、2,5-二氮杂-二环[2.2.1]庚烷-2-基、氮杂环丁烷基、吡喃基、四氢吡喃基、噻喃基、四氢呋喃基、噁嗪基、二氧环戊基、四氢异喹啉基、十氢异喹啉基、咪唑啉基、咪唑烷基、喹啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基、异噁唑烷基、二氢吡啶基、八氢吡啶基、八氢异吡啶

基、吡咯烷基、吡唑烷基、邻苯二甲酰亚氨基等。

[0356] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“芳基”意指具有6至18个碳原子(优选具有6至10个碳原子)的共轭烃环体系基团。就本发明的目的而言,芳基可以为单环、双环、三环或更多环的环体系,还可以与上文所定义的环境基或杂环基稠合,条件是芳基经由芳香环上的原子通过单键与分子的其余部分连接。芳基的实例包括但不限于苯基、萘基、蒽基、菲基、芴基、2,3-二氢-1H-异吲哚基、2-苯并噁唑啉酮、2H-1,4-苯并噁嗪-3(4H)-酮-7-基等。

[0357] 在本申请中,术语“芳基烷基”是指被上文所定义的芳基所取代的上文所定义的烷基。

[0358] 在本申请中,作为基团或是其它基团的一部分,术语“杂芳基”意指环内具有1至15个碳原子(优选具有1至10个碳原子)和1至6个选自氮、氧和硫的杂原子的5元至16元共轭环体系基团。除非本说明书中另外特别指明,否则杂芳基可为单环、双环、三环或更多环的环体系,还可以与上文所定义的环境基或杂环基稠合,条件是杂芳基经由芳香环上的原子通过单键与分子的其余部分连接。杂芳基中的氮、碳或硫原子可任选地被氧化;氮原子可任选地被季铵化。就本发明的目的而言,杂芳基优选为包含1至5个选自氮、氧和硫的杂原子的稳定的5元至12元芳香性基团,更优选为包含1至4个选自氮、氧和硫的杂原子的稳定的5元至10元芳香性基团或者包含1至3个选自氮、氧和硫的杂原子的5元至6元芳香性基团。杂芳基的实例包括但不限于噻吩基、咪唑基、吡唑基、噻唑基、噁唑基、噁二唑基、异噁唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、苯并咪唑基、苯并吡唑基、吲哚基、呋喃基、吡咯基、三唑基、四唑基、三嗪基、吡嗪基、异吲哚基、吡啶基、异吡啶基、嘌呤基、喹啉基、异喹啉基、二氮萘基、萘啶基、喹噁啉基、蝶啶基、咪唑基、咪唑基、菲啶基、菲咯啉基、吡啶基、吩嗪基、异噻唑基、苯并噻唑基、苯并噻吩基、噁三唑基、噻吩基、喹啉基、苯硫基、中氮茛基、邻二氮杂菲基、异噁唑基、吩噁嗪基、吩噁嗪基、4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩基、萘并吡啶基、[1,2,4]三唑并[4,3-b]哒嗪、[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪、[1,2,4]三唑并[4,3-c]嘧啶、[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡啶、咪唑并[1,2-a]吡啶、咪唑并[1,2-b]哒嗪、咪唑并[1,2-a]吡嗪等。

[0359] 在本申请中,术语“杂芳基烷基”是指被上文所定义的杂芳基所取代的上文所定义的烷基。

[0360] 在本申请中,“任选的”或“任选地”表示随后描述的事件或状况可能发生也可能不发生,且该描述同时包括该事件或状况发生和不发生的情况。例如,“任选地被取代的芳基”表示芳基被取代或未被取代,且该描述同时包括被取代的芳基与未被取代的芳基。

[0361] 本文所用术语“部分”、“结构部分”、“化学部分”、“基团”、“化学基团”是指分子中的特定片段或官能团。化学部分通常被认为是嵌入或附加到分子上的化学实体。

[0362] “立体异构体”是指由相同原子组成,通过相同的键键合,但具有不同三维结构的化合物。本发明将涵盖各种立体异构体及其混合物。

[0363] 当本发明的化合物中含有烯双键时,除非另有说明,否则本发明的化合物旨在包含E-和Z-几何异构体。

[0364] “互变异构体”是指质子从分子的一个原子转移至相同分子的另一个原子而形成的异构体。本发明的化合物的所有互变异构形式也将包含在本发明的范围内。

[0365] 本发明的化合物或其药学上可接受的盐可能含有一个或多个手性碳原子,且因此

可产生对映异构体、非对映异构体及其它立体异构形式。每个手性碳原子可以基于立体化学而被定义为(R)-或(S)-。本发明旨在包括所有可能的异构体,以及其外消旋体和光学纯形式。本发明的化合物的制备可以选择外消旋体、非对映异构体或对映异构体作为原料或中间体。光学活性的异构体可以使用手性合成子或手性试剂来制备,或者使用常规技术进行拆分,例如采用结晶以及手性色谱等方法。

[0366] 制备/分离个别异构体的常规技术包括由合适的光学纯前体的手性合成,或者使用例如手性高效液相色谱法拆分外消旋体(或盐或衍生物的外消旋体),例如可参见Gerald G übitz and Martin G.Schmid(Eds.),Chiral Separations,Methods and Protocols,Methods in Molecular Biology,Vol.243,2004;A.M.Stalcup,Chiral Separations,Annu.Rev.Anal.Chem.3:341-63,2010;Fumiss et al.(eds.),VOGEL'S ENCYCLOPEDIA OF PRACTICAL ORGANIC CHEMISTRY 5.sup.TH ED.,Longman Scientific and Technical Ltd.,Essex,1991,809-816;Heller,Acc.Chem.Res.1990,23,128。

[0367] 在本申请中,术语“药学上可接受的盐”包括药学上可接受的酸加成盐和药学上可接受的碱加成盐。

[0368] “药学上可接受的酸加成盐”是指能够保留游离碱的生物有效性而无其它副作用的,与无机酸或有机酸所形成的盐。无机酸盐包括但不限于盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐等;有机酸盐包括但不限于甲酸盐、乙酸盐、2,2-二氯乙酸盐、三氟乙酸盐、丙酸盐、己酸盐、辛酸盐、癸酸盐、十一碳烯酸盐、乙醇酸盐、葡糖酸盐、乳酸盐、癸二酸盐、己二酸盐、戊二酸盐、丙二酸盐、草酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、油酸盐、肉桂酸盐、月桂酸盐、苹果酸盐、谷氨酸盐、焦谷氨酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、水杨酸盐、4-氨基水杨酸盐、萘二磺酸盐等。这些盐可通过本专业已知的方法制备。

[0369] “药学上可接受的碱加成盐”是指能够保持游离酸的生物有效性而无其它副作用的、与无机碱或有机碱所形成的盐。衍生自无机碱的盐包括但不限于钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐、镁盐、铁盐、锌盐、铜盐、锰盐、铝盐等。优选的无机盐为铵盐、钠盐、钾盐、钙盐及镁盐。衍生自有机碱的盐包括但不限于以下的盐:伯胺类、仲胺类及叔胺类,被取代的胺类,包括天然的被取代胺类、环状胺类及碱性离子交换树脂,例如氨、异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、二甲基乙醇胺、2-二甲氨基乙醇、2-二乙氨基乙醇、二环己胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡萄糖胺、甲基葡萄糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、聚胺树脂等。优选的有机碱包括异丙胺、二乙胺、乙醇胺、三甲胺、二环己基胺、胆碱及咖啡因。这些盐可通过本专业已知的方法制备。

[0370] “多晶型物”是指本发明的某些化合物在固体状态下由于存在两种或两种以上不同分子排列而产生的不同固体结晶相。本发明的某些化合物可以存在多于一种晶型,本发明旨在包括各种晶型及其混合物。

[0371] 通常,结晶化作用会产生本发明化合物的溶剂化物。本发明中使用的术语“溶剂化物”是指包含一个或多个本发明化合物分子与一个或多个溶剂分子的聚集体。溶剂可以是水,该情况下的溶剂化物为水合物。或者,溶剂可以是有机溶剂。因此,本发明的化合物可以以水合物存在,包括单水合物、二水合物、半水合物、倍半水合物、三水合物、四水合物等,以

及相应的溶剂化形式。本发明化合物可形成真实的溶剂化物,但在某些情况下,也可以仅保留不定的水或者水加上部分不定溶剂的混合物。本发明的化合物可以在溶剂中反应或者从溶剂中沉淀析出或结晶出来。本发明化合物的溶剂化物也包含在本发明的范围之内。

[0372] 本发明还包括上述化合物的前药。在本申请中,术语“前药”表示可在生理学条件下或通过溶剂分解而被转化成本发明的生物活性化合物的化合物。因此,术语“前药”是指本发明的化合物的药学上可接受的代谢前体。当被给予有需要的个体时,前药可以不具有活性,但在体内被转化成本发明的活性化合物。前药通常在体内迅速转化,而产生本发明的母体化合物,例如通过在血液中水解来实现。前药化合物通常在哺乳动物生物体内提供溶解度、组织相容性或缓释的优点。前药包括已知的氨基保护基和羧基保护基。具体的前药制备方法可参照Saulnier, M.G., et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 1994, 4, 1985-1990; Greenwald, R.B., et al., J. Med. Chem. 2000, 43, 475。

[0373] 在本申请中,“药物组合物”是指本发明化合物与本领域通常接受的用于将生物活性化合物输送至哺乳动物(例如人)的介质的制剂。该介质包括药学上可接受的载体。药物组合物的目的是促进生物体的给药,利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

[0374] 本文所用术语“药学上可接受的”是指不影响本发明化合物的生物活性或性质的物质(如载体或稀释剂),并且相对无毒,即该物质可施用于个体而不造成不良的生物反应或以不良方式与组合物中包含的任意组分相互作用。

[0375] 在本申请中,“药学上可接受的载体”包括但不限于任何被相关的政府管理部门许可为可接受供人类或家畜使用的佐剂、载体、赋形剂、助流剂、增甜剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、矫味剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、助悬剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂。

[0376] 本发明所述“肿瘤”,“细胞增殖异常相关疾病”等包括但不限于白血病、胃肠间质瘤、组织细胞性淋巴瘤、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、胰腺癌、肺鳞癌、肺腺癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌、皮肤癌、上皮细胞癌、宫颈癌、卵巢癌、肠癌、鼻咽癌、脑癌、骨癌、食道癌、黑色素瘤、肾癌、口腔癌等疾病。

[0377] 本文所用术语“预防的”、“预防”和“防止”包括使病患减少疾病或病症的发生或恶化的可能性。

[0378] 本文所用的术语“治疗”和其它类似的同义词包括以下含义:

[0379] (i) 预防疾病或病症在哺乳动物中出现,特别是当这类哺乳动物易患有该疾病或病症,但尚未被诊断为已患有该疾病或病症时;

[0380] (ii) 抑制疾病或病症,即遏制其发展;

[0381] (iii) 缓解疾病或病症,即,使该疾病或病症的状态消退;或者

[0382] (iv) 减轻该疾病或病症所造成的症状。

[0383] 本文所使用术语“有效量”、“治疗有效量”或“药学有效量”是指服用后足以在某种程度上缓解所治疗的疾病或病症的一个或多个症状的至少一种药剂或化合物的量。其结果可以为迹象、症状或病因的消减和/或缓解,或生物系统的任何其它所需变化。例如,用于治疗的“有效量”是在临床上提供显著的病症缓解效果所需的包含本文公开化合物的组合物的量。可使用诸如剂量递增试验的技术测定适合于任意个体病例中的有效量。

[0384] 本文所用术语“服用”、“施用”、“给药”等是指能够将化合物或组合物递送到进行生物作用的所需位点的方法。这些方法包括但不限于口服途径、经十二指肠途径、胃肠外注

射(包括静脉内、皮下、腹膜内、肌内、动脉内注射或输注)、局部给药和经直肠给药。本领域技术人员熟知可用于本文所述化合物和方法的施用技术,例如在Goodman and Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, current ed.; Pergamon; and Remington's, *Pharmaceutical Sciences* (current edition), Mack Publishing Co., Easton, Pa中讨论的那些。在优选的实施方案中,本文讨论的化合物和组合物通过口服施用。

[0385] 本文所使用术语“药物组合”、“药物联用”、“联合用药”、“施用其它治疗”、“施用其它治疗剂”等是指通过混合或组合不止一种活性成分而获得的药物治疗,其包括活性成分的固定和不固定组合。术语“固定组合”是指以单个实体或单个剂型的形式向患者同时施用至少一种本文所述的化合物和至少一种协同药剂。术语“不固定组合”是指以单独实体的形式向患者同时施用、合用或以可变的间隔时间顺次施用至少一种本文所述的化合物和至少一种协同制剂。这些也应用到鸡尾酒疗法中,例如施用三种或更多种活性成分。

[0386] 本领域技术人员还应当理解,在下文所述的方法中,中间体化合物官能团可能需要由适当的保护基保护。这样的官能团包括羟基、氨基、巯基及羧酸。合适的羟基保护基包括三烷基甲硅烷基或二芳基烷基甲硅烷基(例如叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基或三甲基甲硅烷基)、四氢吡喃基、苄基等。合适的氨基、脒基及胍基的保护基包括叔丁氧羰基、苄氧羰基等。合适的巯基保护基包括-C(O)-R”(其中R”为烷基、芳基或芳烷基)、对甲氧基苄基、三苯甲基等。合适的羧基保护基包括烷基、芳基或芳烷基酯类。

[0387] 保护基可根据本领域技术人员已知的和如本文所述的标准技术来引入和除去。保护基的使用详述于Greene, T.W. 与P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, (1999), 4th Ed., Wiley中。保护基还可为聚合物树脂。

[0388] 氨基保护基在该领域是熟知的并且包括那些详细描述于在有机合成中的保护基团(Protecting Groups in Organic Synthesis), T.W. Greene和P.G.M. Wuts, 第三版, 约翰威利国际出版公司(John Wiley & Sons), 1999, 通过引用结合在此。例如, 氮保护基团(如酰胺基团)包括但不限于, 甲酰胺, 乙酰胺, 以及苯甲酰胺; 氮保护基团(例如氨基甲酸酯基团)包括但不限于, 甲基氨基甲酸酯、乙基氨基甲酸酯、9-苄基氨基甲酸酯(Fmoc)、2,7-二-叔丁基-[9-(10,10-二氧化-10,10,10,10-四氢噻吨基)]甲基氨基甲酸酯(DBD-Tmoc)、4-甲氧基苯甲酰氨基甲酸酯(Phenoc)、2,2,2-三氯乙基氨基甲酸酯(Troc)、2-三甲基硅烷基乙基氨基甲酸酯(Teoc)、2-苄乙基氨基甲酸酯(hZ)、1-(1-金刚烷基)-1-甲基乙基氨基甲酸酯(Adpoc)、1,1-二甲基-2,2-二溴乙基氨基甲酸酯(DB-t-BOC)、1,1-二甲基-2,2,2-三氯乙基氨基甲酸酯(TCBOC)、1-甲基-1-(4-二苯基)乙基氨基甲酸酯(Bpoc)、1-(3,5-二-叔丁基苯基)-1-甲基乙基氨基甲酸酯(t-Bumeoc)、2-(2'-和4'-吡啶基)乙基氨基甲酸酯(Pyoc)、叔丁基氨基甲酸酯(BOC)、1-金刚烷基氨基甲酸酯(Adoc)、乙烯基氨基甲酸酯(Voc)、烯丙基氨基甲酸酯(Alloc)、1-异丙基烯丙基氨基甲酸酯(ipaoc)、肉桂基氨基甲酸酯(Coc)、4-硝基肉桂基氨基甲酸酯(Noc)、苄基氨基甲酸酯(Cbz)、对甲氧基苄基氨基甲酸酯(Moz)、4-甲基亚磺酰基苄基氨基甲酸酯(Msz)、[2-(1,3-二硫化环戊烷基)]甲基氨基甲酸酯(Dmoc)、4-甲基苯硫基氨基甲酸酯(Mtpc)、2,4-二甲基苯硫基氨基甲酸酯(Bmpc)、2-乙磷基氨基甲酸酯(Peoc)、2-三苯基异丙磷基氨基甲酸酯(Ppoc)、5-苯并异噁唑基甲基氨基甲酸酯、以及2-(三氟甲基)-6-色酮基甲基氨基甲酸酯(Tcroc); 氮保护基团(例如磺酰胺基团)包括但不限于, 对-甲苯磺酰胺(Ts), 苯磺酰胺、2,3,6-三甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Mtr)、2,4,6-三甲

氧基苯磺酰胺 (Mtb)、2,6-二甲基-4-甲氧基苯磺酰胺 (Pme)、2,3,5,6-四甲基-4-甲氧基苯磺酰胺 (Mte)、4-甲氧基苯磺酰胺 (Mbs)、2,4,6-tri甲基苯磺酰胺 (Mts)、2,6-二甲氧基-4-甲基苯磺酰胺 (iMds)、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-磺酰胺 (Pmc)、甲烷磺酰胺 (Ms)、 β -三甲基硅烷基乙烷磺酰胺 (SES)、以及4-(4',8'-二甲氧基萘基甲基)苯磺酰胺 (DNMBS);其他氮保护基团包括但不限于,N-1,1,4,4-四甲基二甲硅烷基氮杂环戊烷加合物 (STABASE)、N-[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲胺 (SEM)、N-三苯基甲胺 (Tr)、N-[(4-甲氧基苯基)二苯基甲基]胺 (MMTr)、N-9-苯基苄胺 (PhF)、N-二茂铁基甲基氨基 (Fcm)、N-亚环己基胺、N-硼烷衍生物、N-铜螯合物、N-锌螯合物、N-硝胺、N-亚硝胺、胺N-氧化物、二苯基膦胺 (Dpp)、二甲基硫代膦胺 (Mpt)、二苯基硫代膦胺 (Ppt)、邻硝基苯亚磺酰胺 (Nps)、以及3-硝基吡啶亚磺酰胺 (Npys)。

[0389] 在不违背本领域常识的基础上,上述各优选条件,可任意组合,即得本发明各较佳实例。

[0390] 本发明所用试剂和原料均市售可得。

[0391] 本发明的积极进步效果在于:本发明的含氮稠杂环类SHP2抑制剂化合物,对SHP2酶和MV4-11细胞增殖具有均有高的抑制活性,具有较好的成药性。

具体实施方式

[0392] 下面通过实施例的方式进一步说明本发明,但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,按照常规方法和条件,或按照商品说明书选择。

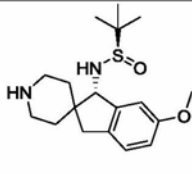
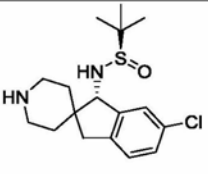
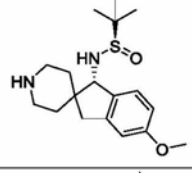
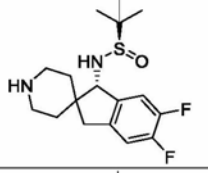
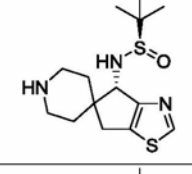
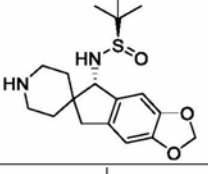
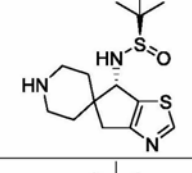
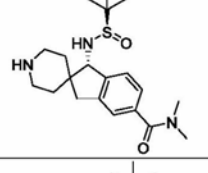
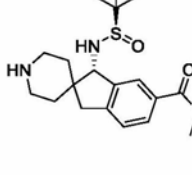
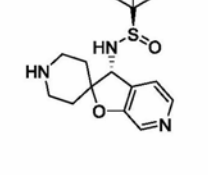
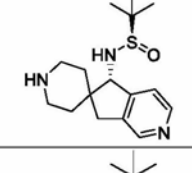
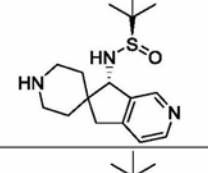
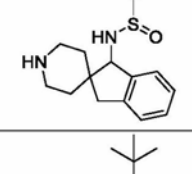
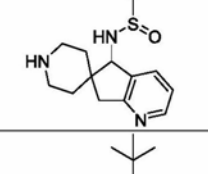
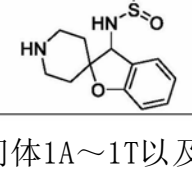
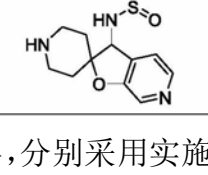
[0393] 中间体制备

[0394] 参照专利W02018172984A1的合成路线和方法,制备得到芳基螺环类中间体1A-1T。

[0395]

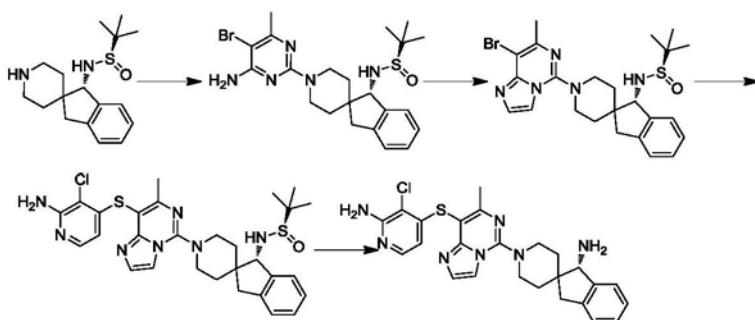
编号	结构	LC-MS (M+H)	编号	结构	LC-MS (M+H)
1A		307.1	1B		308.1
1C		325.1	1D		309.1

[0396]

1E		337.1	1F		341.1/343.1
1G		337.1	1H		343.1
1I		314.1	1J		351.1
1K		314.1	1L		378.1
1M		378.1	1N		310.1
1O		308.1	1P		308.1
1Q		307.1	1R		308.1
1S		309.1	1T		310.1

[0397] 采用中间体1A~1T以及其它商品化的试剂为原料,分别采用实施例的合成方法依次制备合成得到如下实施例化合物。

[0398] 实施例1: (S)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0399]

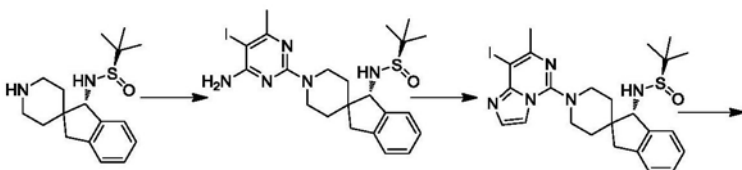
[0400] 第一步:将(R)-N-((S)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(488mg,1.6mmol),5-溴-2-氯-6-甲基嘧啶-4-胺(356mg,1.6mmol)和碳酸钾(662.3mg,4.8mmol)混悬于N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(8mL),加热至100度反应过夜。反应液冷却至室温,倒入水中,乙酸乙酯萃取,干燥,减压浓缩,剩余物柱层析纯化得到(R)-N-((S)-1'-(4-氨基-5-溴-6-甲基嘧啶-2-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(370mg,黄色固体)。MS(ESI): $m/z=491.9/493.9[M+H]$ 。

[0401] 第二步:将(R)-N-((S)-1'-(4-氨基-5-溴-6-甲基嘧啶-2-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(450mg,0.92mmol),40%的氯乙醛水溶液(1.8g,9.2mmol)和乙酸钠(302mg,3.7mmol)混悬于乙醇/磷酸盐缓冲水溶液(pH=6.7)的混合溶剂(20mL/20mL)中,加热至100度搅拌16小时。反应液冷却至室温,浓缩,乙酸乙酯萃取,干燥,减压浓缩,柱层析纯化得到(R)-N-((S)-1'-(8-溴-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(340mg,黄色油状物)。MS(ESI): $m/z=515.8/517.8[M+H]$; $^1H-NMR(400MHz,DMSO-d_6)$ δ 7.67(d,J=1.2Hz,1H),7.59(d,J=1.2Hz,1H),7.29-7.31(m,1H),7.21-7.23(m,3H),5.68(d,J=10.4Hz,1H),4.47(d,J=10.4Hz,1H),3.70-3.78(m,2H),3.09-3.45(m,6H),2.71-2.75(m,1H),2.17-2.24(m,1H),1.93-1.99(m,1H),1.54-1.67(m,1H),1.39-1.42(m,1H),1.22(s,9H)。

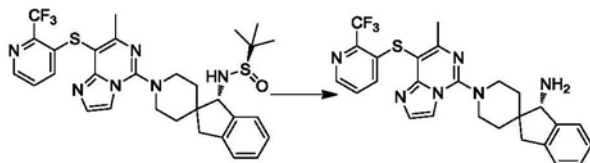
[0402] 第三步:将(R)-N-((S)-1'-(8-溴-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(340mg,0.66mmol),2-氨基-3-氯吡啶-4-硫酚钠盐(121mg,0.66mmol),3,4,7,8-四甲基菲罗琳(32mg,0.13mmol),碘化亚铜(碘化亚铜(CuI))(25mg,0.13mmol)和碳酸钾(255mg,1.8mmol)混悬于二甲基亚砷DMSO(2mL)中,氮气置换三次后,升温至120度反应过夜。反应液冷却至室温,倒入水中,乙酸乙酯萃取,减压浓缩,剩余物制备色谱纯化得到(R)-N-((S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(56mg,无色油状物)。MS(ESI): $m/z=596.2[M+H]$ 。

[0403] 第四步:将(R)-N-((S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(56mg,0.094mmol)溶解于2M氯化氢/甲醇(HCl/MeOH)溶液(5mL)中,室温下搅拌1小时。反应完毕,减压浓缩,剩余物制备色谱纯化得到目标化合物(S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺(27mg,白色固体)。MS(ESI): $m/z=492.1/494.1[M+H]$; $^1H-NMR(400MHz,CD_3OD)$ δ 7.92(d,J=2.0Hz,1H),7.69(d,J=1.6Hz,1H),7.54-7.57(m,2H),7.36-7.48(m,3H),6.18(d,J=6.4Hz,1H),4.50(s,1H),4.11-4.25(m,2H),3.50-3.64(m,2H),3.26(s,2H),2.64(s,3H),1.67-2.20(m,4H)。

[0404] 实施例2: (S)-1'- (7-甲基-8- ((2- (三氟甲基) 吡啶-3-基) 硫代) 咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0405]



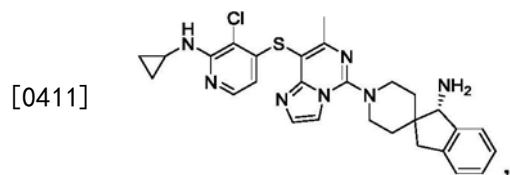
[0406] 第一步: 将 (R)-N-((S)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (603mg, 1.97mmol), 5-碘-2-氯-6-甲基嘧啶-4-胺 (530mg, 1.97mmol) 和碳酸钾 (662.3mg, 4.8mmol) 混悬于N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) (15mL), 加热至100度反应16小时。反应液冷却至室温, 倒入水中, 二氯甲烷萃取四次, 有机相干燥, 减压浓缩, 柱层析纯化得到 (R)-N-((S)-1'- (4-氨基-5-碘-6-甲基嘧啶-2-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (670mg, 黄色固体)。MS (ESI): $m/z=540.3$ [M+H]。

[0407] 第二步: 将 (R)-N-((S)-1'- (4-氨基-5-碘-6-甲基嘧啶-2-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (520mg, 0.96mmol), 40%的氯乙醛水溶液 (1.9g, 9.6mmol) 和乙酸钠 (524.7mg, 6.4mmol) 混悬于乙醇/磷酸盐缓冲水溶液 (pH=6.7) 混合溶剂 (24mL/24mL) 中, 加热至60度搅拌16小时。反应液冷却至室温, 浓缩, 乙酸乙酯萃取, 干燥, 减压浓缩, 柱层析纯化得到 (R)-N-((S)-1'- (8-碘-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (120mg, 黄色油状物)。MS (ESI): $m/z=564.1$ [M+H]。

[0408] 第三步: 将 (R)-N-((S)-1'- (8-碘-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (30.0mg, 0.053mmol), 2- (三氟甲基) 吡啶-3-硫酚 (49.0mg, 0.27mmol), 3,4,7,8-四甲基菲罗琳 (2.64mg, 0.011mmol), 碘化亚铜 (CuI) (2.13mg, 0.011mmol) 和碳酸钾 (21.6mg, 0.16mmol) 混悬于DMSO (2mL) 中, 氮气置换后, 升温至120度反应16小时。反应液冷却至室温, 倒入水中, 乙酸乙酯萃取, 减压浓缩, 剩余物制备色谱纯化得到 (R)-N-((S)-1'- (8- ((2- (三氟甲基) 吡啶-3-基) 硫代) -7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (30mg, 黄色油状物)。MS (ESI): $m/z=615.5$ [M+H]。

[0409] 第四步: 将 (R)-N-((S)-1'- (8- ((2- (三氟甲基) 吡啶-3-基) 硫代) -7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (30mg, 0.049mmol) 溶于甲醇 (3mL) 中, 加入3M HCl/MeOH (1mL), 室温下搅拌2小时。反应完毕, 减压浓缩, 剩余物制备色谱纯化得到目标化合物 (S)-1'- (7-甲基-8- ((2- (三氟甲基) 吡啶-3-基) 硫代) 咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺 (5mg, 白色固体)。MS (ESI): $m/z=511.5$ [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD₃OD) δ 8.46 (d, J=3.2Hz, 1H), 7.98-8.02 (m, 1H), 7.83 (br s, 1H), 7.53 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.34-7.44 (m, 5H), 4.48 (s, 1H), 4.11-4.28 (m, 2H), 3.56-3.68 (m, 2H), 3.25-3.33 (m, 2H), 2.59 (s, 3H), 1.72-2.20 (m, 4H)。

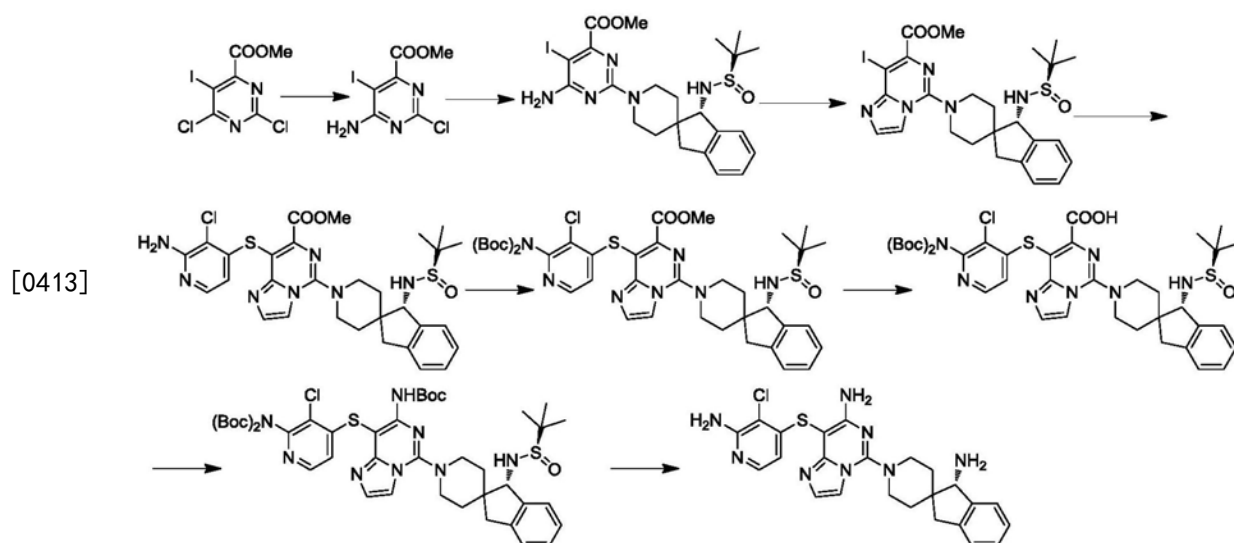
[0410] 实施例3: (S)-1'- (8- ((3-氯-2- (环丙氨基) 吡啶-4-基) 硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



以3-氯-2- (环丙氨基) 吡啶-4-硫酚钠盐为原料,操作

同实施例2。MS (ESI) : $m/z = 532.6 [M+H]^+$; ^1H-NMR (400MHz, CD_3OD) δ 8.13 (br s, 1H), 7.91 (br s, 1H), 7.74 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.35-7.42 (m, 3H), 6.70 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.26-4.41 (m, 2H), 3.68-3.72 (m, 2H), 3.26-3.31 (m, 2H), 2.73-2.76 (m, 1H), 2.64 (s, 3H), 1.73-2.23 (m, 4H), 1.07-1.12 (m, 2H), 0.84 (br s, 2H)。

[0412] 实施例4: (S)-1'- (7-氨基-8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0414] 第一步: 将2,6-二氯-5-碘嘧啶-4-羧酸甲酯 (4.0g, 12mmol) 溶于二氧六环 (40mL), 加入2M氨气/甲醇溶液 (40mL), 室温下搅拌2小时。减压浓缩, 柱层析纯化得到6-氨基-2-氯-5-碘嘧啶-4-羧酸甲酯 (2.4g, 白色固体)。MS (ESI) : $m/z = 313.7 [M+H]^+$; ^1H-NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.53 (brs, 1H), 7.38 (brs, 1H), 3.87 (s, 3H)。

[0415] 第二步: 将6-氨基-2-氯-5-碘嘧啶-4-羧酸甲酯 (376mg, 1.2mmol) 和 (R)-N- ((S)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (TFA salt, 420mg, 1.0mmol) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) (20mL), 加入碳酸钾 (690mg, 5.0mmol), 加热至80度反应2小时, 反应液冷却至室温, 乙酸乙酯稀释, 饱和食盐水洗涤, 干燥, 减压浓缩得到6-氨基-2- ((1S)-1- ((叔丁基亚磺酰基) 氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)-5-碘嘧啶-4-羧酸甲酯 (黄色固体), 直接用于下步反应。MS (ESI) : $m/z = 583.8 [M+H]^+$ 。

[0416] 第三步: 将6-氨基-2- ((1S)-1- ((叔丁基亚磺酰基) 氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)-5-碘嘧啶-4-羧酸甲酯 (粗品, 1.0mmol) 溶于乙醇 (40mL), 加入磷酸盐缓冲溶液 (40mL, pH=6.7), 乙酸钠 (848mg, 10.3mmol) 和40%的氯乙醛水溶液 (2.0g, 10.3mmol), 加热至100度反应过夜。反应液冷却至室温, 浓缩除去大部分有机溶剂, 乙酸乙酯萃取, 干燥, 减压浓缩, 柱层析纯化得到5- ((1S)-1- ((叔丁基亚磺酰基) 氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌

啶]-1'-基)-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸甲酯(167mg,黄色固体)。MS (ESI): $m/z=607.8$ [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz,DMSO-d₆) δ 7.88(d,J=1.2Hz,1H),7.75(d,J=1.2Hz,1H),7.20-7.31(m,4H),5.69(d,J=10.4Hz,1H),4.48(d,J=10.0Hz,1H),3.88(s,3H),3.74-3.81(m,2H),3.12-3.28(m,3H),2.72-2.75(m,1H),2.15-2.22(m,1H),1.93-1.97(m,1H),1.65-1.69(m,1H),1.41-1.44(m,1H),1.21(s,9H)。

[0417] 第四步:将5-((1S)-1-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸甲酯(135mg,0.22mmol),2-氨基-3-氯吡啶-4-硫酚(61mg,0.38mmol),3,4,7,8-四甲基菲罗琳(10mg,0.042mmol),碘化亚铜(CuI)(8mg,0.042mmol)和碳酸钾(91mg,0.66mmol)混悬于DMSO(20mL)中,氮气置换后,升温至120度反应1小时。反应液冷却至室温,乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,有机相干燥,减压浓缩,柱层析纯化得到8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-5-((1S)-1-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸甲酯(80mg,黄色固体)。MS (ESI): $m/z=640.3$ [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz,CD₃OD) δ 7.86(d,J=1.2Hz,1H),7.51(d,J=1.2Hz,1H),7.40(d,J=6.0Hz,1H),7.11-7.26(m,4H),5.83(d,J=5.6Hz,1H),4.50(s,1H),3.99-4.05(m,2H),3.76(s,3H),3.15-3.34(m,3H),2.76(d,J=16.0Hz,1H),2.23-2.30(m,1H),1.97-2.05(m,1H),1.67-1.71(m,1H),1.44-1.48(m,1H),1.24(s,9H)。

[0418] 第五步:将8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-5-((1S)-1-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸甲酯(70mg,0.11mmol),Boc酸酐(Boc₂O)(119mg,0.55mmol),N,N-二甲基氨基吡啶(DMAP)(1mg,0.01mmol)和三乙胺(33mg,0.33mmol)溶于无水二氯甲烷(10mL)中,室温下反应24小时,减压浓缩,柱层析纯化得到8-((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-5-((1S)-1-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸甲酯(60mg,黄色固体)。MS (ESI): $m/z=840.4$ [M+H]。

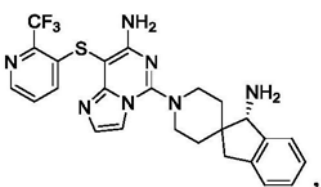
[0419] 第六步:将8-((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-5-((1S)-1-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸甲酯(50mg,0.06mmol)和氢氧化钠(10mg,0.25mmol)溶于甲醇(10mL)中,加入水(2mL),加热至50度反应1小时,2M稀盐酸中和,减压浓缩,柱层析纯化得到8-((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-5-((1S)-1-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸(40mg,白色固体)。MS (ESI): $m/z=826.3$ [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz,DMSO-d₆) δ 7.98(d,J=5.2Hz,1H),7.59(s,1H),7.42(s,1H),7.21-7.32(m,4H),6.62(d,J=5.2Hz,1H),5.70(d,J=10.0Hz,1H),4.50(d,J=10.0Hz,1H),3.85-3.91(m,2H),3.15-3.24(m,3H),2.77(d,J=16.0Hz,1H),2.18-2.24(m,1H),1.96-2.01(m,1H),1.68-1.72(m,1H),1.45-1.49(m,1H),1.41(s,18H),1.23(s,9H)。

[0420] 第七步:将8-((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-5-((1S)-1-((叔丁基亚磺酰基)氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸(35mg,0.042mmol),叠氮磷酸二苯酯(DPPA)(35mg,0.13mmol)和三乙胺(17mg,0.17mmol)溶于叔丁醇(10mL)中,加热至100度反应3小时,LC-MS显示反应完全,减压浓缩得到(R)-N-((S)-1'-((8-((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-7-叔丁氧羰基氨基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(黄色油状

物),直接用于下一步反应。MS (ESI) : $m/z=897.6$ [M+H]。

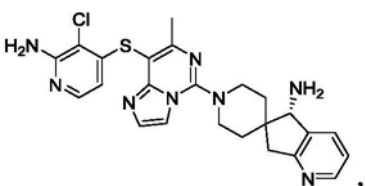
[0421] 第八步:将(R)-N-((S)-1'- (8-((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-7-叔丁氧羰基氨基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(粗品,0.042mmol)溶解于2M HCl/MeOH(10mL)中,室温下搅拌5小时。反应完毕,减压浓缩,剩余物制备色谱纯化得到目标化合物(S)-1'- (7-氨基-8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺(3mg,白色固体)。MS (ESI) : $m/z=493.1$ [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ 7.54 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 7.50 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.42-7.44 (m, 1H), 7.20-7.29 (m, 5H), 6.00 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 4.09 (s, 1H), 3.98-4.02 (m, 2H), 3.33-3.42 (m, 2H), 3.20 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 2.90 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 1.99-2.11 (m, 2H), 1.55-1.72 (m, 2H)。

[0422] 实施例5: (S)-1'- (7-氨基-8-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺

[0423]  以2-(三氟甲基)吡啶-3-硫酚为原料,操作同实施例4。MS

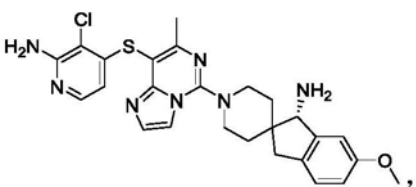
(ESI) : $m/z=512.1$ [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ 8.37 (t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.48-7.53 (m, 2H), 7.31-7.37 (m, 5H), 7.23 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 4.31 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 1H), 3.98-4.07 (m, 2H), 3.37-3.45 (m, 2H), 3.06-3.24 (m, 2H), 2.01-2.10 (m, 2H), 1.69-1.73 (m, 2H)。

[0424] 实施例6: (S)-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊烷并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺

[0425]  以中间体1B为原料,操作同实施例2。MS (ESI) : $m/z=$

493.2/495.2 [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ 8.53 (d, 1H), 7.92 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.69-7.73 (m, 2H), 7.50 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.23 (m, 1H), 6.12 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.11-4.25 (m, 2H), 3.50-3.64 (m, 2H), 3.26 (s, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.67-2.20 (m, 4H)。

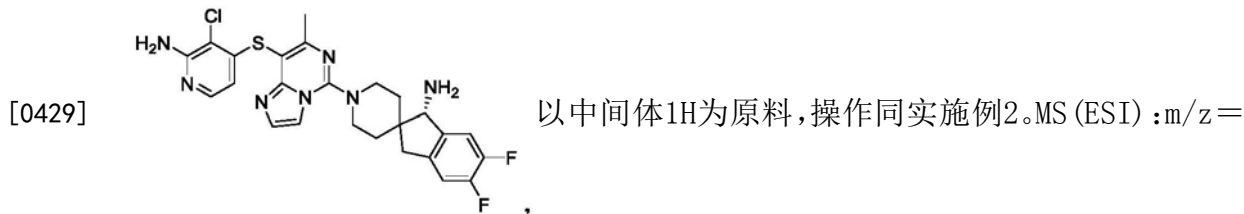
[0426] 实施例7: (S)-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-6-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺

[0427]  以中间体1E为原料,操作同实施例2。MS (ESI) : m/z

=522.2/524.2 [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ 7.92 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.69 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.50 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 6.95-7.28 (m, 3H), 6.20 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.11-4.25 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.50-3.64 (m, 2H), 3.26 (s, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.67-2.20 (m, 4H)。

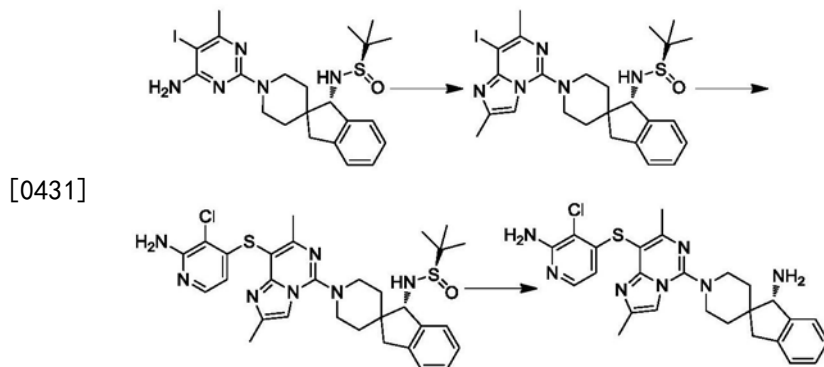
[0428] 实施例8: (S)-1'- (8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧

啉-5-基)-5,6-二氟-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啉]-1-胺



528.2/530.2[M+H]。

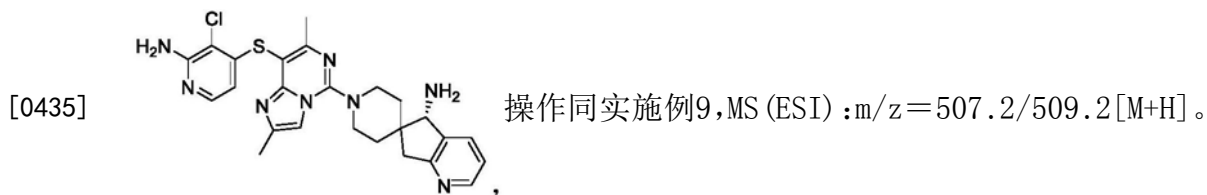
[0430] 实施例9: (S)-1'-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-2,7-二甲基咪唑并[1,2-c]吡啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啉]-1-胺



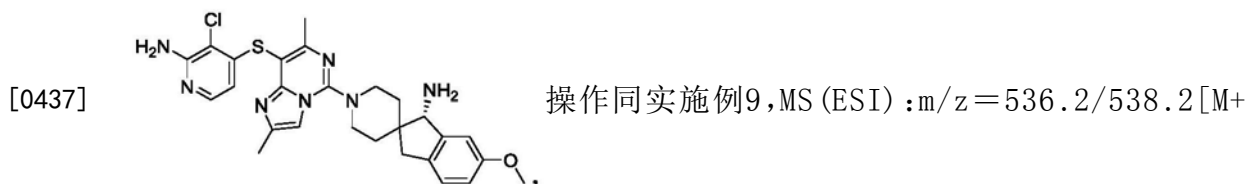
[0432] 将(R)-N-((S)-1'-((4-氨基-5-碘-6-甲基吡啶-2-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啉]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(1.5mmol)溶于四氢呋喃(THF)(10mL),加入一氯丙酮(0.9eq.),室温搅拌过夜,有固体析出,过滤。所得固体溶于乙醇(30mL),加热至回流搅拌4小时。反应液冷却至室温,减压浓缩,加入饱和碳酸钠水溶液,乙酸乙酯萃取,干燥,减压浓缩,得到甲基咪唑中间体(白色固体)。MS (ESI) :m/z=578.1[M+H]。

[0433] 后续操作步骤同实施例2。MS (ESI) :m/z=506.2/508.2[M+H];¹H-NMR (400MHz, CD₃OD) δ7.92 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.54-7.58 (m, 2H), 7.36-7.48 (m, 3H), 6.18 (d, J=6.4Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.11-4.25 (m, 2H), 3.50-3.64 (m, 2H), 3.26 (s, 2H), 2.64 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 1.67-2.20 (m, 4H)。

[0434] 实施例10: (S)-1'-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-2,7-二甲基咪唑并[1,2-c]吡啶-5-基)-5,7-二氢螺[环戊烷并[b]吡啶-6,4'-哌啉]-5-胺

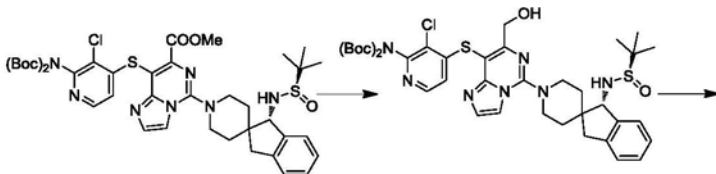


[0436] 实施例11: (S)-1'-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-2,7-二甲基咪唑并[1,2-c]吡啶-5-基)-6-甲氧基-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啉]-1-胺

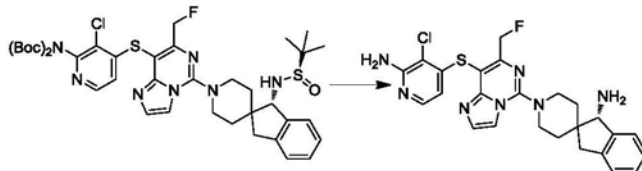


H]。

[0438] 实施例12: (S)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-7-(氟甲基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0439]

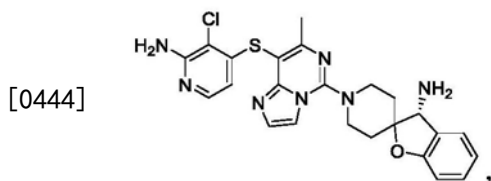


[0440] 第一步:将8- ((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-5- ((1S)-1- ((叔丁基亚磺酰基) 氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸甲酯 (0.19mmol) 溶于二氯甲烷 (15mL), 冷却至-78度, 缓慢加入DIBAL-H (0.56mmol, 1M甲苯溶液), 升至室温, 搅拌2小时, 乙醚稀释, 加入2滴15%的氢氧化钠淬灭反应, 干燥, 浓缩, 柱层析纯化得到8- ((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-5- ((1S)-1- ((叔丁基亚磺酰基) 氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基) 甲醇 (白色固体)。MS (ESI) :m/z=812.3[M+H]。

[0441] 第二步:将8- ((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-5- ((1S)-1- ((叔丁基亚磺酰基) 氨基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1'-基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基) 甲醇 (0.12mmol) 溶于二氯甲烷 (10mL), 冷却至0度, 缓慢加入二乙胺基三氟化硫 (DAST) (0.18mmol), 升至室温, 搅拌过夜, 浓缩, 柱层析纯化得到(S)-1'- (8- ((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-7-(氟甲基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺 (白色固体)。MS (ESI) :m/z=814.3[M+H]。

[0442] 第三步:将(S)-1'- (8- ((2-二叔丁氧羰基氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-7-(氟甲基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺 (0.04mmol) 溶解于2M HCl/MeOH (10mL) 中, 室温下搅拌5小时。反应完毕, 减压浓缩, 剩余物制备色谱纯化得到目标化合物(S)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-7-(氟甲基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺 (白色固体)。MS (ESI) :m/z=510.2/512.2[M+H]; ¹H-NMR (400MHz, CD₃OD) δ7.93 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.69 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.54-7.58 (m, 2H), 7.36-7.48 (m, 3H), 6.17 (d, J=6.4Hz, 1H), 5.01-5.25 (m, 2H), 4.50 (s, 1H), 4.12-4.25 (m, 2H), 3.50-3.64 (m, 2H), 3.26 (s, 2H), 1.68-2.21 (m, 4H)。

[0443] 实施例13: (R)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-3H-螺[苯并呋喃-2,4'-哌啶]-3-胺



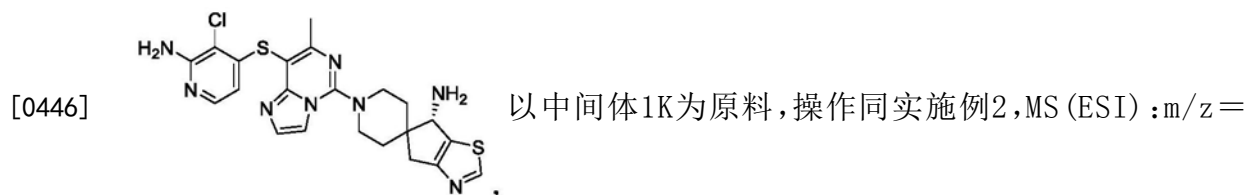
[0444]

以中间体1D为原料, 操作同实施例2, MS (ESI) :m/z=

494.2/496.2[M+H]; ¹H-NMR (400MHz, CD₃OD) δ7.92 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.69 (d, J=1.6Hz, 1H),

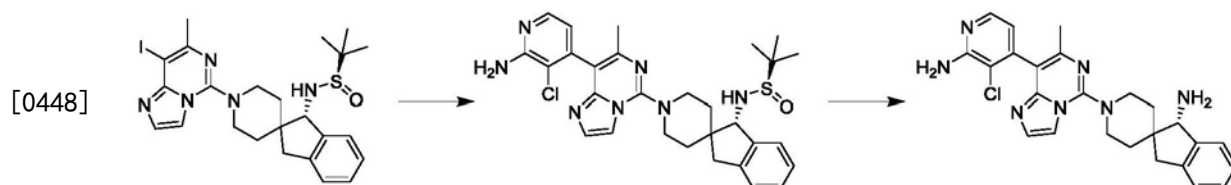
7.50 (d, J=1.6Hz, 1H), 6.92-7.38 (m, 4H), 6.18 (d, J=6.4Hz, 1H), 4.45 (s, 1H), 4.10-4.20 (m, 2H), 3.40-3.54 (m, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.62-2.10 (m, 4H)。

[0445] 实施例14: (S)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4,6-二氢螺[环戊烷并[d]噻唑-5,4'-哌啶]-6-胺



499.2/501.2[M+H]; ¹H-NMR (400MHz, CD₃OD) δ9.02 (s, 1H), 7.92 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.69 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.50 (d, J=1.6Hz, 1H), 6.18 (d, J=6.4Hz, 1H), 4.23-4.45 (m, 3H), 4.10-4.20 (m, 2H), 3.40-3.54 (m, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.62-2.10 (m, 4H)。

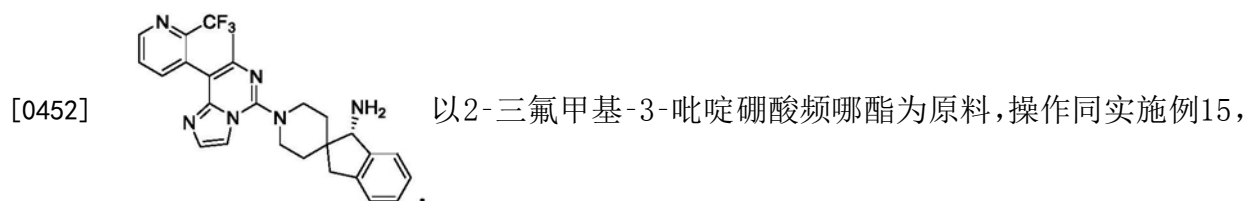
[0447] 实施例15: (S)-1'- (8- (2-氨基-3-氯吡啶-4-基)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0449] 第一步:将(R)-N-((S)-1'- (8-碘-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(0.42mmol)和2-氨基-3-氯-4-吡啶硼酸频哪酯(0.64mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(15mL),加入磷酸钾(1.68mmol)和四三苯基膦钯(Pd(PPh₃)₄)(0.042mmol),氩气置换,加热至80度反应过夜,LCMS检测显示反应完全。乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,干燥,浓缩,柱层析纯化得到(R)-N-((S)-1'- (8- (2-氨基-3-三氯吡啶-4-基)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(黄色固体)。MS (ESI) :m/z=564.2/566.2[M+H]。

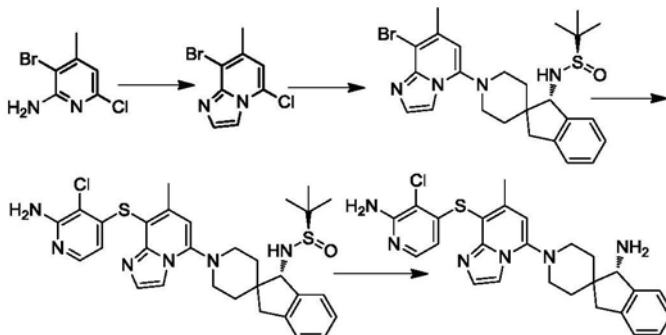
[0450] 第二步:将(R)-N-((S)-1'- (8- (2-氨基-3-三氯吡啶-4-基)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(0.07mmol)溶解于2M HCl/MeOH(10mL)中,室温下搅拌5小时。反应完毕,减压浓缩,剩余物制备色谱纯化得到目标化合物(S)-1'- (8- (2-氨基-3-氯吡啶-4-基)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺(黄色固体)。MS (ESI) :m/z=460.2/462.2[M+H]; ¹H-NMR (400MHz, CD₃OD) δ8.27 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.69 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.54-7.57 (m, 2H), 7.36-7.48 (m, 3H), 7.28 (d, J=6.4Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.11-4.25 (m, 2H), 3.50-3.64 (m, 2H), 3.26 (s, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.67-2.20 (m, 4H)。

[0451] 实施例16: (S)-1'- (7-甲基-8- (2- (三氟甲基) 吡啶-3-基) 咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺

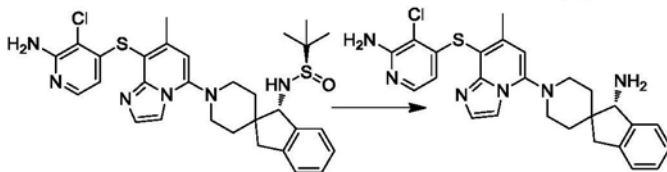


MS (ESI) : $m/z=479.2/481.2$ [M+H]。

[0453] 实施例17: (S)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代) -7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-5-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



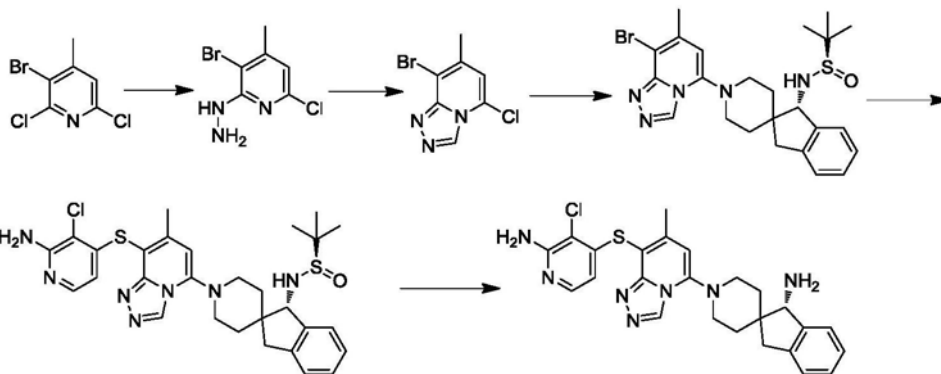
[0454]



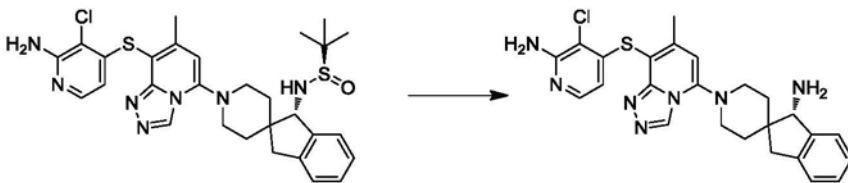
[0455] 将3-溴-6-氯-4-甲基吡啶-2-胺(400mg, 1.82mmol) 溶解于乙醇(EtOH) (40mL) 中, 加入磷酸盐缓冲液(pH=6.7, 40mL), 乙酸钠(600mg, 7.32mmol) 和40%氯乙醛水溶液(1.42g, 7.28mmol), 升温至90度下搅拌16小时。冷却到室温, 用乙酸乙酯萃取三次, 有机相合并后饱和食盐水洗涤, 干燥, 浓缩, 柱层析纯化得到8-溴-5-氯-7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶(360mg, 黄色固体)。MS (ESI) : $m/z=244.9/246.9$ [M+H]。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.78 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.70 (d, J=1.2Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 2.50 (s, 3H)。

[0456] 后续步骤操作同实施例1。MS (ESI) : $m/z=491.2/493.2$ [M+H]; ¹H-NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.92 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.70 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.54-7.57 (m, 2H), 7.36-7.48 (m, 3H), 6.54 (s, 1H), 6.18 (d, J=6.4Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.11-4.25 (m, 2H), 3.50-3.64 (m, 2H), 3.26 (s, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.67-2.20 (m, 4H)。

[0457] 实施例18: (S)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代) -7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-a]吡啶-5-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



[0458]

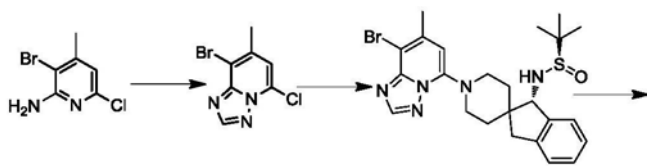


[0459] 将2,6-二氯-3-溴-4-甲基吡啶(4.15mmol) 溶于乙醇(10mL) 中, 加入85%水合肼溶液(2mL), 加热回流反应过夜, TLC检测显示反应完全。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 柱层析纯化得到2-胍基-3-溴-4-甲基-6-氯吡啶(白色固体), MS (ESI) : $m/z=236.1/238.1$ [M+H]。

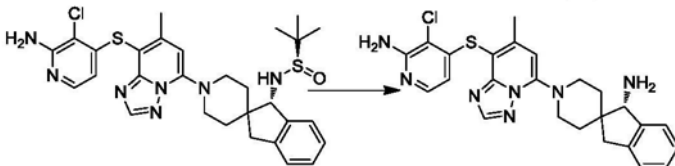
[0460] 将2-胍基-3-溴-4-甲基-6-氯吡啶(2.96mmol) 溶解于原甲酸三甲酯(6mL) 中, 氮气保护下升温至100度反应16小时后, 反应液冷却至室温, 减压浓缩, 柱层析纯化得到8-溴-5-氯-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-a]吡啶(白色固体), MS (ESI) : $m/z=246.2/248.2$ [M+H]; ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.95 (s, 1H), 6.83 (s, 1H), 2.52 (s, 3H)。

[0461] 后续步骤操作同实施例1。MS (ESI) : $m/z=492.2/494.2$ [M+H]。

[0462] 实施例19: (S)-1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺



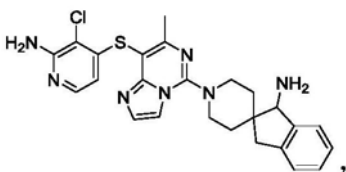
[0463]



[0464] 将2-氨基-3-溴-4-甲基-6-氯吡啶 (5.4mmol) 溶于于60mL甲醇中, 室温下向上述混合物中滴加二甲基甲酰胺-二甲缩醛 (3eq.)。滴加完毕, 反应液在60度下搅拌过夜, 冷却至室温, 再向反应液中加入盐酸羟胺 (3eq.) 和吡啶 (3eq.) , 室温下搅拌2.5小时。反应液减压浓缩, 剩余物悬浮于无水四氢呋喃 (80mL) , 冰浴冷却, 缓慢滴加三氟乙酸酐 (3eq.)。滴加完毕, 移去冰浴, 室温搅拌过夜。反应液减压浓缩, 柱层析纯化得到8-溴-5-氯-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[4,3-a]吡啶 (白色固体)。MS (ESI) : m/z = 246.2/248.2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.40 (s, 1H) , 7.07 (s, 1H) , 2.58 (s, 3H)。

[0465] 后续步骤操作同实施例1。MS (ESI) : m/z = 492.2/494.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (400MHz, CD₃OD) δ 8.39 (s, 1H) , 7.65 (d, J = 1.6Hz, 1H) , 7.52-7.56 (m, 2H) , 7.34-7.45 (m, 2H) , 7.03 (s, 1H) , 6.19 (d, J = 6.4Hz, 1H) , 4.49 (s, 1H) , 4.13-4.24 (m, 2H) , 3.51-3.64 (m, 2H) , 3.27 (s, 2H) , 2.64 (s, 3H) , 1.67-2.20 (m, 4H)。

[0466] 实施例20: 1'- (8- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺

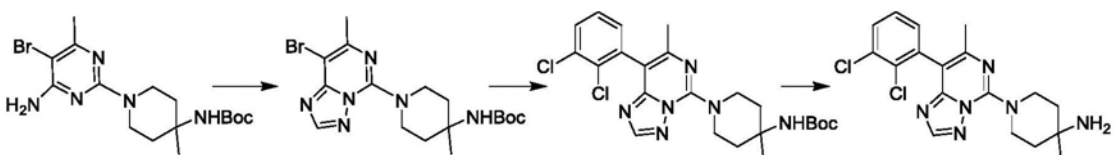


[0467]

操作同实施例2。MS (ESI) : m/z = 492.1/494.1 [M+H]⁺;

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.92 (d, J = 2.0Hz, 1H) , 7.69 (d, J = 1.6Hz, 1H) , 7.54-7.57 (m, 2H) , 7.36-7.48 (m, 3H) , 6.18 (d, J = 6.4Hz, 1H) , 4.50 (s, 1H) , 4.11-4.25 (m, 2H) , 3.50-3.64 (m, 2H) , 3.26 (s, 2H) , 2.64 (s, 3H) , 1.67-2.20 (m, 4H)。

[0468] 实施例21: 1- (8- (2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺



[0469]

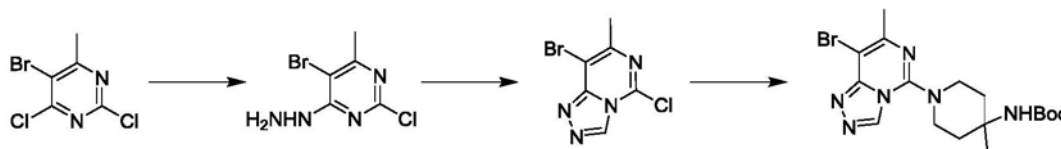
[0470] 第一步: 将 (1- (4-氨基-5-溴-6-甲基嘧啶-2-基)-4-甲基哌啶-4-基) 氨基甲酸叔丁酯 (120mg, 0.3mmol) 溶于甲醇 (10mL) , 加入N,N-二甲基二甲氧基缩醛 (DMF-DMA) (72mg, 0.6mmol) , 加热至80度, 搅拌1小时。冷却至室温, 减压浓缩。将剩余物和盐酸羟胺 (62mg, 0.9mmol) 溶于甲醇 (5mL) , 加入吡啶 (71mg, 0.9mmol) , 室温下搅拌1小时, 减压浓缩。将剩余物

溶于无水四氢呋喃(10mL)中,冰浴冷却下滴加三氟乙酸酐(TFAA)(189mg,0.9mmol),室温反应过夜。浓缩,柱层析纯化得到(1-(8-溴-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(80mg,黄色固体)。MS(ESI): $m/z=425.1/427.1[M+H]$; 1H -NMR(400MHz,DMSO- d_6): δ 8.46(s,1H),6.66(brs,1H),4.33-4.40(m,2H),3.50-3.56(m,2H),2.48(s,3H),2.14-2.18(m,2H),1.53-1.60(m,2H),1.39(s,9H),1.27(s,3H)。

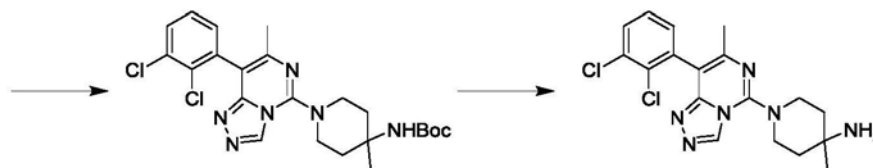
[0471] 第二步:将(1-(8-溴-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(55mg,0.13mmol)和2,3-二氯苯硼酸(37mg,0.19mmol)溶于DMF(10mL),加入磷酸钾(83mg,0.39mmol)和Pd(PPh₃)₄(15mg,0.013mmol),氩气置换,加热至80度反应过夜,LCMS检测显示反应完全。乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,有机相干燥,浓缩,柱层析纯化得到(1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(30mg,淡黄色固体)。MS(ESI): $m/z=491.2/493.2[M+H]$; 1H -NMR(400MHz,CD₃OD): δ 8.11(s,1H),7.55(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),7.32(t,J=8.0Hz,1H),7.23(dd,J=1.6,7.6Hz,1H),4.55-4.58(m,2H),3.54-3.58(m,2H),2.07-2.17(m,2H),2.11(s,3H),1.59-1.66(m,2H),1.36(s,9H),1.29(s,3H)。

[0472] 第三步:将(1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(30mg,0.06mmol)溶于无水二氯甲烷(5mL)中,滴加三氟乙酸(TFA)(1mL),室温下反应1小时,减压浓缩,制备色谱纯化得到1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺(15mg,淡黄色固体)。MS(ESI): $m/z=391.1/393.1$; 1H -NMR(400MHz,CD₃OD) δ 8.42(s,1H),8.00(bs,3H),7.76(dd,J=1.6,6.4Hz,1H),7.50(t,J=8.0Hz,1H),7.40(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),4.58-4.64(m,2H),3.66-3.73(m,2H),2.32(s,3H),1.84-1.93(m,4H),1.43(s,3H)。

[0473] 实施例22:1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺



[0474]



[0475] 第一步:将5-溴-2,4-二氯-6-甲基嘧啶(242mg,1mmol)溶于乙醇(10mL),冰浴冷却下缓慢加入85%的水合肼(59mg,1mmol),0度下搅拌1小时。减压浓缩,石油醚打浆纯化得到5-溴-2-氯-4-胍基-6-甲基嘧啶(150mg,白色固体)。MS(ESI): $m/z=236.9/238.9[M+H]$; 1H -NMR(400MHz,DMSO- d_6): δ 8.88(brs,1H),4.61(brs,2H),2.35(s,3H)。

[0476] 第二步:将5-溴-2-氯-4-胍基-6-甲基嘧啶(150mg,0.64mmol)溶于原甲酸三甲酯(5mL),加热至100度反应过夜。冷却至室温,减压浓缩,柱层析纯化得到8-溴-5-氯-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-c]嘧啶(77mg,黄色固体)。MS(ESI): $m/z=246.9/248.9[M+H]$; 1H -NMR(400MHz,CDC1₃): δ 8.93(s,1H),2.67(s,3H)。

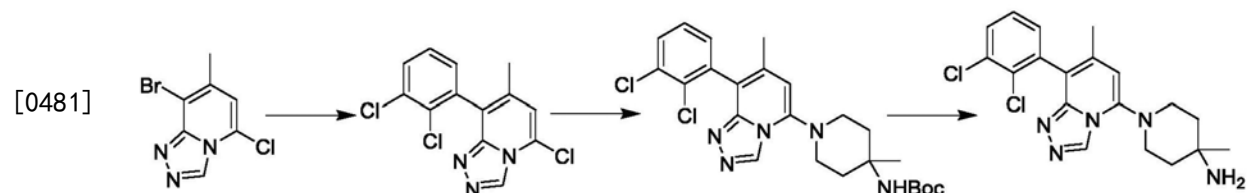
[0477] 第三步:将8-溴-5-氯-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-c]嘧啶(77mg,0.31mmol)和

(4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(100mg,0.47mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(10mL),加入碳酸钾(86mg,0.62mmol),室温下搅拌2小时。乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,干燥,浓缩,柱层析纯化得到(1-(8-溴-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(70mg,白色固体)。MS(ESI): $m/z=425.1/427.1[M+H]$; 1H -NMR(400MHz,CD₃OD):9.22(s,1H),3.75-3.80(m,2H),3.39-3.46(m,2H),2.55(s,3H),2.25-2.28(m,2H),1.74-1.82(m,2H),1.47(s,9H),1.40(s,3H)。

[0478] 第四步:将(1-(8-溴-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(55mg,0.13mmol)和2,3-二氯苯硼酸(37mg,0.19mmol)溶于DMF(10mL),加入磷酸钾(83mg,0.39mmol)和Pd(PPh₃)₄(15mg,0.013mmol),氩气置换,加热至80度反应过夜,LCMS检测显示反应完全。乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,干燥,浓缩,柱层析纯化得到(1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(15mg,淡黄色固体)。MS(ESI): $m/z=491.1/493.1[M+H]$; 1H -NMR(400MHz,CD₃OD): δ 9.20(s,1H),7.68(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),7.46(t,J=8.0Hz,1H),7.38(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),3.84-3.87(m,2H),3.46-3.52(m,2H),2.29-2.32(m,2H),2.21(s,3H),1.80-1.87(m,2H),1.48(s,9H),1.43(s,3H)。

[0479] 第五步:将(1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(15mg,0.03mmol)溶于无水二氯甲烷(5mL)中,逐滴加入TFA(1mL),室温下反应1小时,浓缩,制备色谱纯化得到1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[4,3-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺(3.5mg,黄色固体)。MS(ESI): $m/z=391.0/393.0$; 1H -NMR(400MHz,CD₃OD) δ 9.21(s,1H),7.70(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),7.46(t,J=8.0Hz,1H),7.37(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),3.95-3.99(m,2H),3.57-3.63(m,2H),2.22(s,3H),1.96-2.08(m,4H),1.51(s,3H)。

[0480] 实施例23:1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[4,3-a]吡啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺



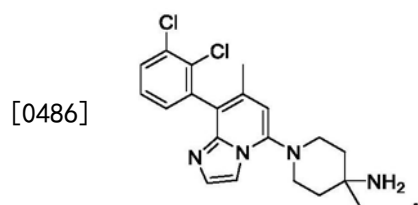
[0482] 第一步:将8-溴-5-氯-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-a]吡啶(50mg,0.20mmol)溶于1,4-二氧六环/水混合溶剂(2mL,4:1)中,加入2,3-二氯苯硼酸(43mg,0.22mmol)和碳酸氢钠(NaHCO₃)(51mg,0.61mmol),氮气置换后加入Pd(dppf)Cl₂(8mg,0.01mmol),升温至100度下搅拌16小时。冷却至室温,过滤,浓缩,柱层析纯化得到5-氯-8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-a]吡啶(32mg,棕色固体)。MS(ESI): $m/z=311.9/313.9[M+H]$ 。

[0483] 第二步:将5-氯-8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-a]吡啶(30mg,0.09mmol)溶解于DMF(2mL)中,加入(4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(18mg,0.08mmol)和磷酸钾(K₃PO₄)(18mg,0.08mmol),升温至100度下搅拌16小时。冷却至室温,过滤,浓缩,柱层析纯化得到(1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-a]吡啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(黄色固体)。MS(ESI): $m/z=490.4/492.4[M+H]$ 。

[0484] 第三步:将(1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑并[4,3-a]吡啶-5-

基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(15mg,0.03mmol)溶于二氯甲烷(DCM)(1.5mL)中,加入TFA(0.4mL),室温下搅拌1小时。减压浓缩,制备色谱纯化得到1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基-[1,2,4]三氮唑[4,3-a]吡啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺(2mg,黄色固体)。MS(ESI): $m/z=390.1/392.0$; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ 9.06(s,1H),7.68(dd, $J=1.6,8.0\text{Hz}$,1H),7.45(t, $J=8.0\text{Hz}$,1H),7.31(dd, $J=1.6,8.0\text{Hz}$,1H),6.61(s,1H),3.46(dd, $J=5.2,11.2\text{Hz}$,2H),3.20-3.26(m,2H),2.13-2.20(m,5H),2.03-2.07(m,2H),1.54(s,3H)。

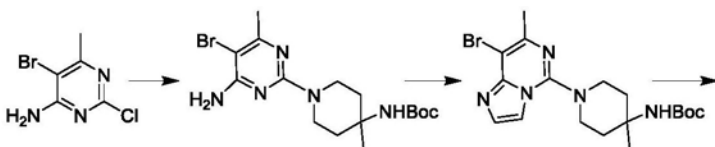
[0485] 实施例24:1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺



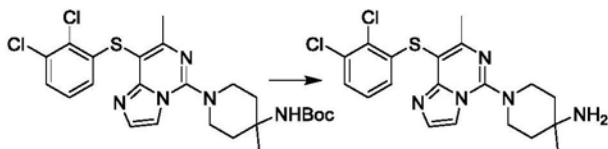
操作同实施例23。MS(ESI): $m/z=389.1/391.0$; $^1\text{H-NMR}$

(400MHz, CD_3OD) δ 7.69(d, $J=1.2\text{Hz}$,1H),7.65(dd, $J=1.2,8.0\text{Hz}$,1H),7.41-7.45(m,2H),7.27(dd, $J=1.2,7.6\text{Hz}$,1H),6.54(s,1H),3.30-3.34(m,2H),3.15-3.20(m,2H),2.15(s,3H),1.87-1.91(m,4H),1.34(s,3H)。

[0487] 实施例25:1-(8-((2,3-二氯苯基)硫)-7-甲基咪唑[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺



[0488]



[0489] 第一步:将5-溴-2-氯-6-甲基嘧啶-4-胺(450mg,2.04mmol)和(4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(514mg,2.40mmol)溶于DMF(12mL),加入碳酸钾(559mg,4.05mmol),加热至60度,搅拌过夜,乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,干燥,浓缩,柱层析纯化得到(1-(4-氨基-5-溴-6-甲基嘧啶-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(550mg,白色固体)。MS(ESI): $m/z=400.3/402.3[\text{M}+\text{H}]$; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6): δ 6.53(brs,2H),3.92-3.95(m,2H),3.22-3.28(m,2H),2.22(s,3H),1.95-1.99(m,2H),1.38(s,9H),1.27-1.33(m,2H),1.22(s,3H)。

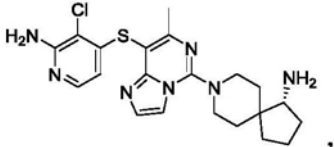
[0490] 第二步:将(1-(4-氨基-5-溴-6-甲基嘧啶-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(226mg,0.57mmol)溶于乙醇(10mL),加入磷酸盐缓冲溶液(10mL, $\text{pH}=6.7$),乙酸钠(186mg,2.27mmol)和40%的氯乙醛水溶液(1.1g,5.6mmol),加热至100度,搅拌24小时,乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,干燥,浓缩,柱层析纯化得到(1-(8-溴-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(180mg,黄色固体)。MS(ESI): $m/z=424.3/426.3[\text{M}+\text{H}]$; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6):7.79(d, $J=1.2\text{Hz}$,1H),7.55(d, $J=1.2\text{Hz}$,1H),6.63(brs,1H),3.45-3.49(m,2H),3.15-3.20(m,2H),2.47(s,3H),2.17-2.20(m,2H),

1.61-1.68 (m, 2H), 1.39 (s, 9H), 1.29 (s, 3H)。

[0491] 第三步:将(1-(8-溴-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(240mg, 0.57mmol)和2,3-二氯苯硫酚(152mg, 0.85mmol)溶于二氧六环(15mL)中,加入磷酸钾(180mg, 0.85mmol), 1,10-菲罗啉(21mg, 0.11mmol)和碘化亚铜(CuI)(22mg, 0.11mmol),氮气置换,加热至105度搅拌18小时。冷却至室温后过滤,浓缩,柱层析纯化得到(1-(8-((2,3-二氯苯基)硫)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(17mg, 棕色固体)。MS (ESI): $m/z = 522.2/524.2 [M+H]$ 。

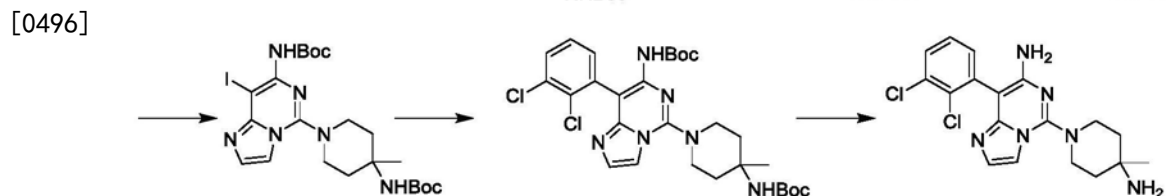
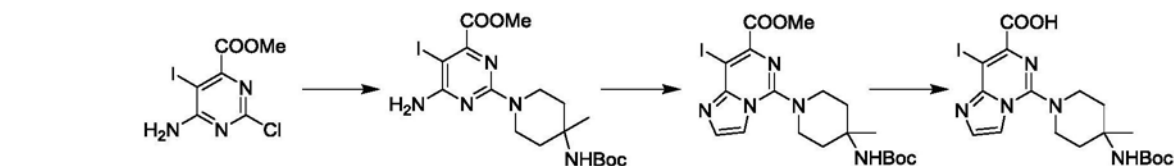
[0492] 第四步:将(1-(8-((2,3-二氯苯基)硫)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(17mg, 0.03mmol)溶解于DCM(1.5mL)中,加入TFA(0.5mL),室温下搅拌1小时。减压浓缩,制备色谱纯化得到1-(8-((2,3-二氯苯基)硫)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺(9mg, 白色固体)。MS (ESI): $m/z = 422.1/424.1$; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ 7.73 (d, $J = 1.6\text{Hz}$, 1H), 7.47 (d, $J = 1.6\text{Hz}$, 1H), 7.27 (dd, $J = 1.2, 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.02 (t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 6.49 (dd, $J = 1.2, 8.0\text{Hz}$, 1H), 3.58-3.76 (m, 4H), 2.57 (s, 3H), 1.77-1.86 (m, 4H), 1.30 (s, 3H)。

[0493] 实施例26: (R)-8-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-8-氮杂螺[4.5]十一-1-胺

[0494]  参照实施例1的方法制备得到目标化合物。MS (ESI): m/z

$= 444.1/446.1 [M+H]$; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ 7.95 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.58 (d, $J = 6.4\text{Hz}$, 1H), 6.27 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 4.15-4.24 (m, 2H), 3.45-3.48 (m, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.25-2.32 (m, 1H), 1.67-2.03 (m, 10H)。

[0495] 实施例27: 5-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)-8-(2,3-二氯苯基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-胺



[0497] 第一步:将6-氨基-2-氯-5-碘嘧啶-4-羧酸甲酯(572mg, 1.83mmol)和(4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(586mg, 2.74mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(50mL),加入碳酸钾(506mg, 3.67mmol),加热至60度反应24小时。反应液冷却至室温,乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,干燥,减压浓缩得到6-氨基-2-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-5-碘嘧啶-4-羧酸甲酯(710mg, 黄色固体)。MS (ESI): $m/z = 491.8 [M+H]$; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 6.82 (brs, 2H), 6.55 (brs, 1H), 3.89-3.93 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.22-3.27 (m,

2H), 1.97-1.99 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.31-1.38 (m, 2H), 1.22 (s, 3H)。

[0498] 第二步:将6-氨基-2-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-5-碘嘧啶-4-羧酸甲酯(491mg, 1.0mmol)溶于乙醇(40mL),加入磷酸盐缓冲溶液(40mL, pH=6.7),乙酸钠(848mg, 10.3mmol)和40%的氯乙醛水溶液(2.0g, 10.3mmol),加热至100度反应过夜。反应液冷却至室温,浓缩除去大部分有机溶剂,乙酸乙酯萃取,干燥,减压浓缩,柱层析纯化得到5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸甲酯(395mg, 黄色固体)。MS (ESI): $m/z=516.1$ [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.01 (d, J=1.2Hz, 1H), 7.72 (d, J=1.2Hz, 1H), 6.64 (brs, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.50-3.53 (m, 2H), 3.17-3.23 (m, 2H), 2.17-2.21 (m, 2H), 1.61-1.68 (m, 2H), 1.39 (s, 9H), 1.29 (s, 3H)。

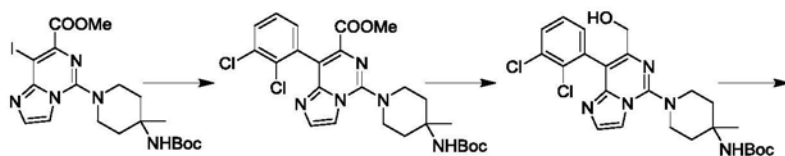
[0499] 第三步:将5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸甲酯(200mg, 0.39mmol)和氢氧化钠(31mg, 0.78mmol)溶于甲醇(10mL)中,加入水(2mL),加热至50度反应3小时,2M稀盐酸中和,减压浓缩,柱层析纯化得到5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸(122mg, 黄色固体)。MS (ESI): $m/z=501.7$ [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 7.76 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.48 (d, J=1.6Hz, 1H), 6.63 (brs, 1H), 3.38-3.42 (m, 2H), 3.10-3.15 (m, 2H), 2.17-2.20 (m, 2H), 1.61-1.67 (m, 2H), 1.39 (s, 9H), 1.29 (s, 3H)。

[0500] 第四步:将5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸(100mg, 0.2mmol),叠氮磷酸二苯酯(DPPA)(110mg, 0.4mmol)和三乙胺(61mg, 0.6mmol)溶于叔丁醇(10mL)中,加热至100度反应2小时,LC-MS显示反应完全,减压浓缩,柱层析纯化得到(5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)氨基甲酸叔丁酯(15mg, 黄色固体)。MS (ESI): $m/z=573.2$ [M+H]; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ 7.70 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.43 (d, J=1.6Hz, 1H), 3.54-3.57 (m, 2H), 3.20-3.24 (m, 2H), 2.12-2.15 (m, 2H), 1.64-1.71 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.34 (s, 9H), 1.28 (s, 3H)。

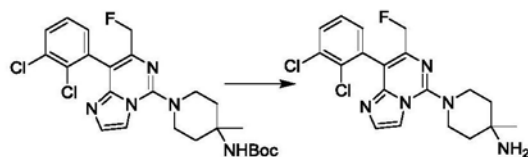
[0501] 第五步:将(5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)氨基甲酸叔丁酯(10mg, 0.017mmol)和2,3-二氯苯硼酸(5mg, 0.026mmol)溶于乙醇/水混合溶剂(4mL/0.2mL)中,加入碳酸钠(5mg, 0.048mmol),氮气置换后加入Pd(dppf) Cl_2 (2mg, 0.0027mmol),升温至80度下搅拌2小时。冷却至室温,过滤,浓缩,柱层析纯化得到(5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-(2,3-二氯苯基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)氨基甲酸叔丁酯(6mg, 黄色固体)。MS (ESI): $m/z=591.4/593.4$ [M+H]。

[0502] 第六步:将(5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-(2,3-二氯苯基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)氨基甲酸叔丁酯(6mg, 0.01mmol)溶解于DCM(4mL)中,加入TFA(1mL),室温下搅拌2小时。减压浓缩,制备色谱纯化得到5-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)-8-(2,3-二氯苯基)咪唑[1,2-c]嘧啶-7-胺(2mg, 黄色固体)。MS (ESI): $m/z=391.1/393.0$; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ 7.64 (dd, J=1.2, 8.0Hz, 1H), 7.55 (d, J=2.4Hz, 1H), 7.37-7.42 (m, 2H), 7.31 (dd, J=1.2, 8.0Hz, 1H), 3.81-3.85 (m, 2H), 3.38-3.45 (m, 2H), 1.87-2.02 (m, 4H), 1.45 (s, 3H)。

[0503] 实施例28:1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-(氟亚甲基)咪唑[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺



[0504]



[0505] 第一步:将5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-碘咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-羧酸甲酯(137mg,0.27mmol)和2,3-二氯苯硼酸(101mg,0.53mmol)溶于乙醇/水混合溶剂(10mL/0.5mL)中,加入碳酸钠(83mg,0.78mmol),氮气置换后加入Pd(dppf)Cl₂(27mg,0.04mmol),升温至80度下搅拌2小时。冷却至室温,过滤,浓缩,柱层析纯化得到(5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-(2,3-二氯苯基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)氨基甲酸叔丁酯(110mg,黄色固体)。MS(ESI):m/z=533.9/535.9[M+H]⁺;¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ7.97(d,J=1.2Hz,1H),7.70(d,J=1.2Hz,1H),7.67(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),7.40-7.44(m,1H),7.32(dd,J=1.6,7.6Hz,1H),6.68(brs,1H),3.63(s,3H),3.60-3.63(m,2H),3.26-3.28(m,2H),2.22-2.25(m,2H),1.67-1.75(m,2H),1.41(s,9H),1.32(s,3H)。

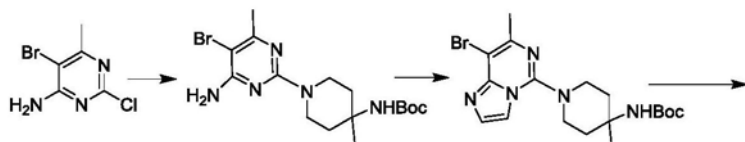
[0506] 第二步:将(5-(4-((叔丁氧羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-8-(2,3-二氯苯基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-7-基)氨基甲酸叔丁酯(100mg,0.19mmol)溶于二氯甲烷(15mL),冷却至-78度,缓慢加入DIBAL-H(0.56mL,0.56mmol,1M甲苯溶液),升至室温,搅拌2小时,乙醚稀释,加入2滴15%的氢氧化钠淬灭反应,干燥,浓缩,柱层析纯化得到(1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-(羟甲基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(黄色固体)。MS(ESI):m/z=505.9/507.9[M+H]⁺。

[0507] 第三步:将((1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-(羟甲基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(80mg,0.16mmol)溶于二氯甲烷(10mL),冷却至0度,缓慢加入二乙胺基三氟化硫(DAST)(38mg,0.24mmol),升至室温,搅拌过夜,浓缩,柱层析纯化得到((1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-(氟甲基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(51mg,黄色固体)。MS(ESI):m/z=508.3/510.3[M+H]⁺;¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ7.88(d,J=1.2Hz,1H),7.76(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),7.57(d,J=1.2Hz,1H),7.46-7.50(m,1H),7.40(dd,J=1.6,7.6Hz,1H),6.67(brs,1H),5.15(dd,J=10.4,34.0Hz,1H),5.03(dd,J=10.4,34.0Hz,1H),3.58-3.63(m,2H),3.25-3.28(m,2H),2.22-2.25(m,2H),1.67-1.73(m,2H),1.41(s,9H),1.32(s,3H)。

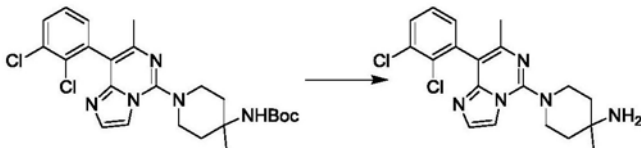
[0508] 第四步:将((1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-(氟甲基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(50mg,0.098mmol)溶解于DCM(5mL)中,加入TFA(1mL),室温下搅拌2小时。减压浓缩,制备色谱纯化得到1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-(氟亚甲基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺(22mg,白色固体)。MS(ESI):m/z=408.1/410.1;¹H-NMR(400MHz,CD₃OD)δ7.83(s,1H),7.70(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),7.58(d,J=1.2Hz,1H),7.45(t,J=8.0Hz,1H),7.37(dd,J=1.6,8.0Hz,1H),5.01-5.25(m,2H),3.72-3.79(m,2H),3.53-3.61(m,2H),1.87-1.91(m,4H),1.37(s,3H)。

[0509] 对比化合物1:1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基

哌啶-4-胺



[0510]



[0511] 第一步:将5-溴-2-氯-6-甲基嘧啶-4-胺(300mg,1.35mmol)和(4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(288mg,1.35mmol)溶于DMF(12mL),加入碳酸钾(372mg,2.7mmol),加热至60度,搅拌过夜,乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,干燥,浓缩,柱层析纯化得到(1-(4-氨基-5-溴-6-甲基嘧啶-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(261mg,白色固体)。MS(ESI): $m/z=400.3/402.3[M+H]$; $^1H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):\delta 6.53(\text{brs},2H),3.92-3.95(\text{m},2H),3.22-3.28(\text{m},2H),2.22(\text{s},3H),1.95-1.99(\text{m},2H),1.38(\text{s},9H),1.27-1.33(\text{m},2H),1.22(\text{s},3H)$ 。

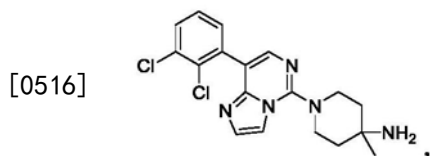
[0512] 第二步:将(1-(4-氨基-5-溴-6-甲基嘧啶-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(226mg,0.57mmol)溶于乙醇(10mL),加入磷酸盐缓冲溶液(10mL,pH=6.7),乙酸钠(186mg,2.27mmol)和40%的氯乙醛水溶液(1.1g,5.6mmol),加热至100度,搅拌24小时,乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,干燥,浓缩,柱层析纯化得到(1-(8-溴-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(180mg,黄色固体)。MS(ESI): $m/z=424.3/426.3[M+H]$; $^1H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):\delta 7.79(\text{d},J=1.2\text{Hz},1H),7.55(\text{d},J=1.2\text{Hz},1H),6.63(\text{brs},1H),3.45-3.49(\text{m},2H),3.15-3.20(\text{m},2H),2.47(\text{s},3H),2.17-2.20(\text{m},2H),1.61-1.68(\text{m},2H),1.39(\text{s},9H),1.29(\text{s},3H)$ 。

[0513] 第三步:将(1-(8-溴-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(180mg,0.42mmol)和(2,3-二氯苯基)硼酸(122mg,0.64mmol)溶于DMF(15mL),加入磷酸钾(356mg,1.68mmol)和 $Pd(PPh_3)_4$ (50mg,0.043mmol),氩气置换,加热至80度反应过夜,LCMS检测显示反应完全。冷却至室温,乙酸乙酯稀释,饱和食盐水洗涤,干燥,浓缩,柱层析纯化得到(1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(35mg,淡黄色固体)。MS(ESI): $m/z=490.2[M+H]$; $^1H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):\delta 7.71-7.73(\text{m},2H),7.47(\text{t},J=8.0\text{Hz},1H),7.44(\text{d},J=1.6\text{Hz},1H),7.37(\text{dd},J=1.6,8.0\text{Hz},1H),6.65(\text{brs},1H),3.53-3.56(\text{m},2H),3.23-3.29(\text{m},2H),2.20-2.23(\text{m},2H),2.11(\text{s},3H),1.65-1.72(\text{m},2H),1.41(\text{s},9H),1.32(\text{s},3H)$ 。

[0514] 第四步:将(1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(35mg,0.072mmol)溶于无水二氯甲烷(5mL)中,逐滴加入TFA(1mL),室温下反应1小时,浓缩,制备色谱纯化,冻干,得到1-(8-(2,3-二氯苯基)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-胺(7.6mg,黄色固体)。MS(ESI): $m/z=390.0/392.1[M+H]$; $^1H-NMR(400MHz,DMSO-d_6)\delta 7.69-7.74(\text{m},2H),7.37-7.48(\text{m},3H),3.42-3.50(\text{m},4H),2.11(\text{s},3H),1.57-1.71(\text{m},4H),1.17(\text{s},3H)$ 。

[0515] 对比化合物2:1-(8-(2,3-二氯苯基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-4-甲基哌啶-4-

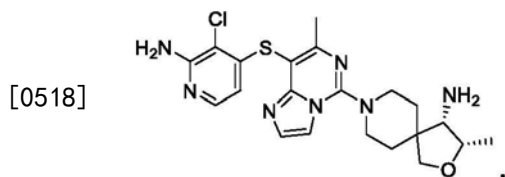
胺



以5-溴-2-氯嘧啶-4-胺为原料,操作同对比化合物1。MS

(ESI): $m/z = 376.1/378.1 [M+H]^+$; ^1H-NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7.66 (d, $J = 1.6Hz$, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.53-7.55 (m, 1H), 7.45 (d, $J = 1.6Hz$, 1H), 7.30-7.31 (m, 2H), 3.52-3.55 (m, 4H), 1.70-1.75 (m, 4H), 1.20 (s, 3H)。

[0517] 对比化合物3:



参照实施例2的方法制备得到目标化合物。MS (ESI):

$m/z = 460.4$; ^1H-NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7.92 (brs, 1H), 7.72 (br s, 1H), 7.56 (d, $J = 4.8Hz$, 1H), 6.22 (d, $J = 6.4Hz$, 1H), 4.32-4.35 (m, 1H), 4.09-4.19 (m, 2H), 4.03 (d, $J = 8.8Hz$, 1H), 3.92 (d, $J = 9.2Hz$, 1H), 3.30-3.53 (m, 3H), 2.61 (s, 3H), 1.82-2.11 (m, 4H), 1.34 (d, $J = 6.4Hz$, 3H)。

[0519] 测试例一: 实施例化合物对SHP2酶抑制活性测试

[0520] (1) 按照BPS Biosciences公司的SHP2酶说明书配制1×Reaction Buffer。(2) 化合物浓度梯度的配制: 受试化合物测试浓度为10 μ M, 3倍稀释, 10个浓度, 在384孔板中稀释成100倍终浓度的100%二甲亚砜溶液, 用Precision 4倍稀释化合物, 10个浓度。使用分液器Echo 550向目的板OptiPlate-384F转移250nL 100倍终浓度的化合物。正对照加入250nL 二甲亚砜, 负对照加入250nL 1mM SHP099。(3) 用1×Reaction Buffer配制5倍终浓度的激活肽溶液, 分别加入5 μ L到反应板中, 1000rpm离心1min。(4) 用1×Reaction Buffer配制2.5倍终浓度的酶溶液, 分别加入10 μ L到反应板中, 1000rpm离心1min, 室温孵育60分钟。(5) 用1×Reaction Buffer配制2.5终浓度的底物肽溶液, 1000rpm离心1min, 室温孵育30分钟。(6) 加入30 μ L终止检测液停止反应, 1000rpm离心60秒, 振荡混匀。(7) 用Caliper EZ Reader读取转化率。(7) 数据分析:

[0521]
$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Conversion\%}_{\text{max}} - \text{Conversion\%}_{\text{sample}}}{\text{Conversion\%}_{\text{max}} - \text{Conversion\%}_{\text{min}}} \times 100$$

[0522] 其中: $\text{Conversion\%}_{\text{sample}}$ 是样品的转化率读数; $\text{Conversion\%}_{\text{min}}$: 阴性对照孔均值, 代表没有酶活孔的转化率读数; $\text{Conversion\%}_{\text{max}}$: 阳性对照孔比值均值, 代表没有化合物抑制孔的转化率读数。(8) 拟合量效曲线: 以浓度的log值作为X轴, 百分比抑制率为Y轴, 采用分析软件GraphPad Prism 5的log(inhibitor) vs. response-Variable slope拟合量效曲线, 从而得出各个化合物对酶活性的IC50值(具体结果如表1所示)。

[0523] 表1

[0524]

编号	SHP2 酶抑制 IC ₅₀ 值/nM	编号	SHP2 酶抑制 IC ₅₀ 值/nM	编号	SHP2 酶抑制 IC ₅₀ 值/nM
实施例 1	4.4	实施例 11	NT	实施例 21	>1 uM
实施例 2	6.3	实施例 12	2.9	实施例 22	>1 uM
实施例 3	1.0	实施例 13	1.8	实施例 23	>1 uM
实施例 4	1.9	实施例 14	3.1	实施例 24	706
实施例 5	0.8	实施例 15	12.1	实施例 25	65
实施例 6	1.3	实施例 16	9.5	实施例 26	6.1
实施例 7	2.1	实施例 17	9.1	实施例 27	287
实施例 8	3.7	实施例 18	24.6	实施例 28	53
实施例 9	NT	实施例 19	29.5	SHP099	73
实施例 10	NT	实施例 20	3.8		
对比化合物 1	141	对比化合物 2	3460	对比化合物 3	6.8

[0525] 结果:本发明稠杂环类实施例化合物对于SHP2酶具有较高的抑制活性,其IC₅₀值大部分小于50nM,与对比化合物1,2和SHP099相比,具有明显的优势。

[0526] 测试例2:实施例化合物对MV4-11白血病细胞增殖抑制活性的测试

[0527] 具体实验步骤:1) Day 0:96接种细胞胰酶消化细胞并悬浮于细胞培养液中,利用细胞自动计数仪检测细胞密度并用培养液稀释细胞到合适的密度,96孔板中加入100μl细胞悬液,无细胞培养基作为对照孔,置于37℃,5%CO₂的细胞培养箱孵育过夜;2) Day1:加药处理细胞待测化合物共测试8个浓度,3倍稀释,10μM为待测化合物的起始检测浓度。具体步骤:配置200x化合物母液,利用培养基稀释化合物至3x终浓度即加入3μL 200x化合物到197μL培养液中,96孔板中的细胞每孔加入50μL稀释好的化合物,置于37℃,5%CO₂的细胞培养箱孵育72h;3) Day 4:细胞活力检测细胞96孔板先平衡到室温,每孔加入40μl的CellTiter-Glo®试剂,摇床上混合2分钟使细胞充分裂解,室温孵育10分钟稳定发光信号,Envision酶标仪读取发光值;4) 数据处理使用GraphPad Prism 5.0软件分析数据,利用非线性S曲线回归来拟合数据得出剂量-效应曲线,并由此计算IC₅₀值。抑制率%=(DMSO处理细胞孔-化合物处理细胞孔)/(DMSO处理细胞孔-无细胞培养基孔) x 100。IC₅₀值采用酶标仪随机附带软件以四参数法回归求得(具体结果如表2所示)。

[0528] 表2

[0529]

编号	IC ₅₀ 值/nM	编号	IC ₅₀ 值/nM	编号	IC ₅₀ 值/nM

[0530]	实施例 1	11.0	实施例 11	NT	实施例 21	>10 uM
	实施例 2	31.3	实施例 12	24.7	实施例 22	>10 uM
	实施例 3	2.8	实施例 13	39.2	实施例 23	>10 uM
	实施例 4	4.7	实施例 14	18.4	实施例 24	5.4 uM
	实施例 5	<1.5	实施例 15	135.3	实施例 25	1360
	实施例 6	8.7	实施例 16	107.6	实施例 26	147
	实施例 7	9.3	实施例 17	48.0	实施例 27	2546
	实施例 8	12.0	实施例 18	860.2	实施例 28	2013
	实施例 9	NT	实施例 19	687.4	SHP099	1669
	实施例 10	NT	实施例 20	9.4		
	对比化合物 1	1412	对比化合物 2	>10000	对比化合物 3	43

[0531] 备注：表1和2中NT表示未测试。

[0532] 结果：本发明芳环取代螺环取代的稠杂环类实施例化合物对于MV 4-11细胞增殖抑制剂具有较高的抑制活性，绝大部分化合物的 IC_{50} 值均小于1000nM，部分化合物的细胞活性 IC_{50} 甚至小于10nM，与对比化合物1,2和SHP099相比，具有明显的体外抗肿瘤活性优势。

[0533] 测试例三：部分实施例化合物对不同细胞增殖抑制活性测试

[0534] 将KYSE520(食管癌细胞),H358(肺癌细胞),Colo-205(结直肠癌细胞),MiaPaca-2(胰腺癌细胞),MOLM 13(白血病细胞),NCI-H 1666(肺癌细胞),NCI-H 508(肺癌)、KATO III(胃癌)、HEK 293A(正常细胞),H3255(肺癌),H1975(肺癌),PC-9(肺癌),A549(肺癌)、SNU16(胃癌)和H1299(肺癌)等细胞(100 μ L/孔,20000个细胞/mL)接种在96孔培养板中,并补充有10%胎牛血清和1%青霉素/硫酸链霉素。用0.5%二甲亚砜作为空白对照,用起始浓度为10 μ M,八梯度三倍稀释的待测化合物溶液处理细胞,并在5%CO₂培养箱中孵育一定的时间。在孵育结束时,向每个孔中加入10 μ L的MTT储备溶液(5mg/mL)。将培养板在37 $^{\circ}$ C下孵育4小时,然后去除培养基。将二甲亚砜(100 μ L)加入每个孔中,然后充分摇动。在Thermo Scientific Varioskan Flash多模式阅读器上,在570nm处测量甲臞产物的吸光度。通过使用GraphPad Prism 6.0软件将剂量反应数据拟合到三参数非线性回归模型中获得 IC_{50} 值。

[0535] 结论：本发明部分实施例如实施例1和实施例4对KYSE520、H358、MOLM 13,NCI-H1666,NCI-H 508,SNU 16,KATO III等不同肿瘤细胞株均具有较好的细胞增殖抑制活性, IC_{50} 值小于1 μ M,特别是对于受体酪氨酸激酶驱动或者Ras-Raf-MEK突变驱动型肿瘤细胞株特别敏感,如KYSE520、H358、MOLM 13,NCI-H1666,NCI-H 508细胞增殖抑制 IC_{50} 均小于100nM,部分甚至小于10nM,显示了较高的体外抗肿瘤活性;并且活性远高于对比化合物1,2和SHP099。

[0536] 测试例四：部分实施例化合物对不同酶的抑制活性

[0537] 将实施例化合物溶液(10 μ M,八梯度三倍稀释),按照测试例一所示的类似方法分别与SHP1、LMW-PTP、LYP、MKP3、PTP1B、PTPN2、PTPN6、VHR、CDC25A、PTPRR等磷酸酶作用,测试化合物对上述磷酸酶的抑制活性。

[0538] 结论：本发明部分实施例如实施例1和实施例4对SHP1、PTP1B等磷酸酶的抑制活性较弱,其 IC_{50} 值大于500nM,与SHP2酶相比具有较高的选择性。

[0539] 测试例五：部分实施例化合物的ADME测试

[0540] (1) 代谢稳定性试验：用体系为150 μ L的肝微粒体(终浓度0.5mg/mL)进行代谢稳定性温孵，体系含NADPH(终浓度1mM)、1 μ M受试化合物和阳性对照咪达唑仑或阴性对照阿替洛尔，分别在0min、5min、10min和30min用含替硝唑的乙腈终止反应，涡旋10min，15000rpm离心10min，取50 μ L上清于96孔板中进样。通过测定原药的相对减少量计算化合物代谢稳定性。

[0541] (2) 直接抑制试验(DI试验)：用体系为100 μ L的人肝微粒体(终浓度0.2mg/mL)进行直接抑制温孵，体系含NADPH(终浓度1mM)、10 μ M化合物、阳性抑制剂cocktail(酮康唑10 μ M，奎尼丁10 μ M，磺胺苯吡唑100 μ M， α -萘黄酮10 μ M，反苯环丙胺1000 μ M)、阴性对照(0.1%二甲亚砜的BPS)和混合探针底物(咪达唑仑10 μ M、睾酮100 μ M、右美沙芬10 μ M、双氯芬酸20 μ M、非那西丁100 μ M，美芬妥英100 μ M)，温孵20min后终止反应。通过测定代谢物的相对生成量计算酶相对活性。

[0542] 结论：本发明部分实施例如实施例1和实施例4对不同种属肝微粒体(小鼠、大鼠、犬、猴、人)的代谢稳定性高，半衰期均大于60min，代谢稳定性高、种属差异小。

[0543] 本发明部分实施例如实施例1和实施例4对常见CYP酶如CYP1A2, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4的抑制活性IC₅₀均大于25 μ M，显示了较好的成药性。

[0544] 测试例六：部分实施例化合物在大鼠、小鼠、犬的体内药代动力学参数测试

[0545] 6只SPF级实验动物分成两组，受试化合物配置成合适溶液或混悬液；一组静脉注射给药，一组口服给药。经颈静脉穿刺采血，每个样品采集约0.2mL/时间点，肝素钠抗凝，采血时间点如下：给药前及给药后5、15和30min，1、2、4、6、8和24h；血液样本采集后置于冰上，离心分离血浆(离心条件：8000转/分钟，6分钟，2-8 $^{\circ}$ C)，收集的血浆分析前存放于-80 $^{\circ}$ C。血浆样品采用LC-MS/MS进行分析。

[0546] 根据药物的血药浓度数据，使用药代动力学计算软件WinNonlin5.2非房室模型分别计算供试品的药代动力学参数AUC_{0-t}、AUC_{0- ∞} 、MRT_{0- ∞} 、C_{max}、T_{max}、T_{1/2}和V_d等参数及其平均值和标准差。此外，生物利用度(F)将通过下面的公式进行计算。

$$[0547] \quad F = \frac{AUC_{(0-t)(PO)} \times Dose_{IV}}{AUC_{(0-t)(IV)} \times Dose_{(PO)}} \times 100\%$$

[0548] 对于浓度低于定量下限的样品，在进行药代动力学参数计算时，在达到C_{max}以前取样的样品应以零值计算，在达到C_{max}以后取样点样品应以无法定量(BLQ)计算(具体结果如表3所示)。

[0549] 表3

测试项目	小鼠		大鼠	比格犬
	po, 5 mg/kg		po, 5 g/kg	po, 5 mg/kg
	实施例 1	实施例 4	实施例 1	实施例 1
[0550] 峰浓度 C _{max} (nM)	306	79	211	907
曲线下面积 AUC(uM*h)	5845	557	3541	18248
半衰期 T _{1/2} (h)	11.8	10.9	22.3	10.9
生物利用度 F	61%	20%	64%	162%

[0551] 测试例七:部分实施例化合物对裸小鼠移植瘤生长抑制的测试

[0552] 实验方法:1)将MV 4-11/KYSE520/NCI-H358细胞培养在含10%胎牛血清的培养液中。收集指数生长期的肿瘤细胞,PBS重悬至适合浓度用于裸鼠皮下肿瘤接种。2)实验小鼠于右侧背部皮下接种 $2-8 \times 10^7$ 肿瘤细胞,细胞重悬在1:1的PBS与基质胶中,定期观察肿瘤生长情况,待肿瘤生长至平均体积 $\sim 120\text{mm}^3-1800\text{mm}^3$ 时根据肿瘤大小和小鼠体重随机分组给药。3)肿瘤细胞接种当天定义为第0天。在给药开始前,称量所有动物的体重,并用游标卡尺测量肿瘤体积。3)实施例化合物(用含1%Tween80的注射用水配置到所需浓度后待用)以给定剂量每天口服给药,连续给药三周,溶剂对照组给等量溶剂。整个实验过程中,每周2次测量移植瘤直径,同时称量小鼠体重。

[0553] 肿瘤体积(tumor volume,TV)的计算公式为: $TV=1/2 \times a \times b^2$,其中a、b分别表示长、宽。根据测量的结果计算出相对肿瘤体积(relative tumor volume,RTV),计算公式为: $RTV=V_t/V_0$ 。其中V₀为分笼给药时(即d₀)测量所得肿瘤体积,V_t为每一次测量时的肿瘤体积。抗肿瘤活性的评价指标为1)相对肿瘤增殖率T/C(%),计算公式如下: $T/C(\%)=(TRTV/CRTV) \times 100\%$,TRTV:治疗组RTV;CRTV:阴性对照组RTV;2)肿瘤体积增长抑制率GI%,计算公式如下: $GI\%=[1-(TV_t-TV_0)/(CV_t-CT_0)] \times 100\%$,TV_t为治疗组每次测量的瘤体积;TV₀为治疗组分笼给药时所得瘤体积;CV_t为对照组每次测量的瘤体积;CV₀为对照组分笼给药时所得瘤体积(具体数据如表4所示)。

[0554] 表4

肿瘤细胞移植瘤模型	给药剂量,方式,频率		T/C
[0555] MV 4-11	实施例1	2 mg/kg,口服,每天一次,连续21天	28%
		5 mg/kg,口服,每天一次,连续21天	3.0%
	SHP099	30 mg/kg,口服,每天一次,连续21天	47%
KYSE520	实施例1	2 mg/kg,口服,每天一次,连续21天	30%

[0556]			6 mg/kg,口服, 每天一次, 连续21天	18%
		SHP099	30 mg/kg,口服, 每天一次, 连续21天	43%
	NCI-H358	实施例1	0.8 mg/kg,口服, 每天一次, 连续21天	39%
			2. 5 mg/kg,口服, 每天一次, 连续21天	13%
	对比化合物3	10 mg/kg,口服, 每天一次, 连续21天	39%	

[0557] 结论:实施例化合物1对于裸小鼠MV 4-11/KYSE520/NCI-H358肿瘤细胞移植瘤具有优异的抑制作用,起效剂量低、量效关系明显,并且药物作用持久(瘤组织westernblot检测,末次给药24小时后,实验药物对于瘤组织内信号通路仍能持续抑制),实验动物耐受性良好;实施例化合物对以上三种肿瘤的体内抑制作用远强于对比化合物3和SHP099。

[0558] 测试例八:实施例化合物对C57BL-6小鼠MC38结直肠癌移植瘤生长抑制的测试

[0559] 实验方法:1)将MC38细胞培养在含10%胎牛血清的培养液中。收集指数生长期的肿瘤细胞,PBS重悬至适合浓度用于裸鼠皮下肿瘤接种。2)实验小鼠于右侧背部皮下接种 5×10^7 肿瘤细胞,细胞重悬在1:1的PBS与基质胶中,定期观察肿瘤生长情况,待肿瘤生长至平均体积 $\sim 50\text{mm}^3$ - 60mm^3 时根据肿瘤大小和小鼠体重随机分组给药。3)肿瘤细胞接种当天定义为第0天。在给药开始前,称量所有动物的体重,并用游标卡尺测量肿瘤体积。3)实施例化合物(用含1%Tween80的注射用水配置到所需浓度后待用)以给定剂量每天口服给药,anti PD-L1抗体腹腔注射,每周两次,连续给药两周,溶剂对照组给等量溶剂。整个实验过程中,每周2次测量移植瘤直径,同时称量小鼠体重。

[0560] 肿瘤体积(tumor volume,TV)的计算公式为: $TV = 1/2 \times a \times b^2$,其中a、b分别表示长、宽。根据测量的结果计算出相对肿瘤体积(relative tumor volume,RTV),计算公式为: $RTV = V_t/V_0$ 。其中 V_0 为分笼给药时(即d0)测量所得肿瘤体积, V_t 为每一次测量时的肿瘤体积。抗肿瘤活性的评价指标为1)相对肿瘤增殖率T/C(%),计算公式如下: $T/C(\%) = (TRTV/CRTV) \times 100\%$,TRTV:治疗组RTV;CRTV:阴性对照组RTV;2)肿瘤体积增长抑制率GI%,计算公式如下: $GI\% = [1 - (TV_t - TV_0) / (CV_t - CT_0)] \times 100\%$, TV_t 为治疗组每次测量的瘤体积; TV_0 为治疗组分笼给药时所得瘤体积; CV_t 为对照组每次测量的瘤体积; CV_0 为对照组分笼给药时所得瘤体积(具体数据如表5所示)。

[0561] 表5

编号	给药剂量,方式,频率	T/C
实施例1	1mg/kg,口服,每天一次	60%
Anti PD-L1	10mg/kg,腹腔注射,一周两次	39%
实施例1+Anti PD-L1	1mg/kg,口服,每天一次+10mg/kg,腹腔注射,一周两次	13%

[0563] 结论:实施例化合物1与PD-L1抗体(InVivoMab anti-mouse PD-L1/B7-H1,Clone:10F.9G2;Lot:66571701B)在C57BL-6鼠模型上,对于MC38肿瘤细胞移植瘤生长抑制作用具有明显的协同增效效应,并且实验动物耐受性良好。

[0564] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。