

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 11 月 19 日 (19.11.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/228635 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 413/12 (2006.01) A61K 31/517 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01) A61K 31/519 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/089390

(22) 国际申请日: 2020 年 5 月 9 日 (09.05.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201910401976.2 2019年5月10日 (10.05.2019) CN
201910538865.6 2019年6月20日 (20.06.2019) CN

(71) 申请人: 浙江大学(ZHEJIANG UNIVERSITY) [—/CN]; 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路866号, Zhejiang 310058 (CN)。

(72) 发明人: 金洪传(JIN, Hongchuan); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路866号, Zhejiang 310058 (CN)。 冯利锋(FENG, Lifeng); 中国浙江省杭州

市西湖区余杭塘路866号, Zhejiang 310058 (CN)。

应士龙(YING, Shilong); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路866号, Zhejiang 310058 (CN)。 王嫻(WANG, Xian); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路866号, Zhejiang 310058 (CN)。

(74) 代理人: 浙江杭州金通专利事务所有限公司(ZHEJIANG HANGZHOU JINTONG PATENT AGENCY CO., LTD); 中国浙江省杭州市下城区武林广场8号省科协大楼19层, Zhejiang 310003 (CN)。

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

(54) Title: EGFR KINASE INHIBITOR AND APPLICATION THEREOF IN PREPARING ANTI-CANCER DRUG

(54) 发明名称: 一种EGFR激酶抑制剂及其在制备抗癌药物方面的应用

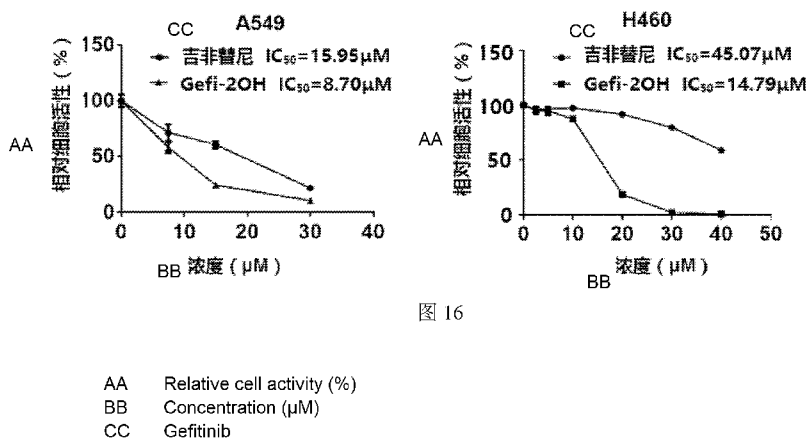


图 16

(57) Abstract: Disclosed are an EGFR kinase inhibitor and application thereof in preparing an anti-cancer drug; said EGFR kinase inhibitor reduces the alkalinity of EGFR TKI, can effectively improve the acquired drug resistance of EGFR TKI caused by the accumulation of SQSTM1, and is of great significance to improving the clinical treatment benefits of EGFR TKI.

(57) 摘要: 本发明公开了一种EGFR激酶抑制剂及其在制备抗癌药物方面的应用, 所述的EGFR激酶抑制剂通过减弱EGFR TKI的碱性的方式, 可有效改善由SQSTM1积聚引起的EGFR TKI获得性耐药性, 对提高EGFR TKI的临床治疗收益具有重要意义。

ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

一种 EGFR 激酶抑制剂及其在制备抗癌药物方面的应用

技术领域

本发明涉及药物领域；具体来说，本发明涉及一种新型 EGFR 激酶抑制剂及其在治疗癌症方面的应用。

5 背景技术

肺癌是全球范围内发病率最高、导致死亡人数最多的恶性肿瘤，对人类健康造成了严重的威胁。然而，传统的化学治疗方法治疗晚期肺癌的疗效却十分有限。表皮生长因子受体（Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR, ErbB1）属于受体酪氨酸激酶 ErbB 家族中的一员。现有的研究证据表明，在多种实体瘤内普遍存在 EGFR 高表达、基因扩增或激活型突变（L858R）的现象。EGFR 过表达或者激活型突变，会引起下游 Ras/Raf/MAPK、PI3K/Akt 等细胞增殖、生存信号通路的过度活化。因此，EGFR 被认为是一种驱动肺癌、胰腺癌、乳腺癌等恶性肿瘤发生发展的关键癌基因。EGFR 酪氨酸激酶抑制剂（EGFR TKI）在治疗上述 EGFR 异常激活的恶性肿瘤方面，临床收益十分显著，曾一度为人们带来巨大的希望。

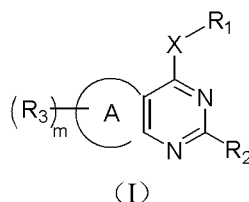
吉非替尼（Gefitinib）、厄洛替尼（Erlotinib）等第一代 EGFR-TKI 通过可逆性地结合 EGFR 的 ATP 结合位点而抑制肿瘤细胞 EGFR 信号通路的激活。然而，临床实践发现，吉非替尼只能维持半年到一年的有效缓解期，很快便产生耐药性。目前，研究揭示吉非替尼的耐药机制主要有以下几个方面：①EGFR 基因的突变：特异性 EGFR 外显子 20 的二次突变，引起第 790 位的苏氨酸被体积较大的甲硫氨酸取代（T790M），阻止吉非替尼和厄洛替尼与 ATP 位点的结合；其他二次耐药突变包括 L747S、D761Y 以及 T854A 等；②EGFR 信号转导路径的变化，如 Ras 活化引起 Raf-MEK-MAPK 的上调，与 EGFR 失去偶联，ERK、Met 高表达以及 PTEN 失活引起 AKT 通路的过度活化等；③EGFR 旁路效应：如血小板源性生长因子受体（PDGFR）、胰岛素样生长因子受体-1（IGF1R）受体等生长因子受体直接活化其下游信号通路。针对 EGFR 的 T790M 突变开发的第二代 EGFR-TKI 阿法替尼（Afatinib, BIBW2992）、第三代 EGFR-TKI 奥西替尼（Osimertinib, AZD9291）已经开始应用于临床，但亦不可避免地产生了各种耐药性，其机制包括产生 C797S 突变、EGFR、HER2、c-Met 基因扩增等。

自噬是在应激状态下，细胞通过降解大分子物质和损伤的细胞器来维持能量供应及清除有害物质，从而维持自身稳态的一种生物学过程。近年来，大量研究发现自噬对于恶性肿瘤的进展和 EGFR TKI 获得性耐药的产生密切相关。自噬既可以阻止正常细胞恶变，又可以帮助已经恶变的细胞抵抗不利的生存环境，促进耐药性的产生。作为介导细胞自噬、能量感应、氧化应激等多个信号通路的关键配体蛋白 SQSTM1（Sequestosome-1, 又称为 p62），其在肿瘤的发生发展及耐药中均发挥了非常重要的作用。作为配体蛋白，SQSTM1 对多个促癌信号通路有重要调控作用，其不仅介导 mTORC1 在溶酶体中的活化，也可以通过与 keap1 的直接作用使其与 Nrf2 的相互作用解离，从而抑制 keap1 介导 Nrf2 的泛素化降解。SQSTM1 的蛋白水平升高，不仅意味着细胞自噬相关降解途径被削弱，同时也可以帮助肿瘤细胞抵抗凋亡。有研究发现铂类药物耐药性细胞内 SQSTM1 的表达出现上调，相反地，降低 SQSTM1 的蛋白水平可有效提高肿瘤对药物的敏感性。此外，SQSTM1 可发生核穿梭，从而参与对放疗、化疗等引起的 DNA 损伤的修复，同样地证明 SQSTM1 是促进肿瘤耐药性产生的关键调节因子。然而，对于 SQSTM1 在 EGFR TKI 耐药性产生过程中扮演着怎样的角色，目前仍未可知。通过阐明 SQSTM1 在 EGFR TKI 耐药性产生过程的重要作用，并通过针对 SQSTM1 调控 EGFR TKI 耐药性的作用机制，进行 EGFR TKI 的合理改造，有望克服临床上 EGFR TKI 获得性耐药性这一难题，对提高 EGFR TKI 的临床治疗收益具有重要意义。

发明内容

本发明目的在于提供一种抗癌作用强，同时又不会影响细胞自噬进程和溶酶体功能的新型 EGFR 激酶抑制剂及其在制备预防和/或治疗与受体酪氨酸蛋白激酶有关的疾病和病症（例如，癌症，特别是非小细胞肺癌）的药物中的应用。

5 本发明提供一种如式I所示的化合物及其药学上可接受的盐，



式I中，

A 环为 5 至 18 元环，或，A 环不存在；

10 X 为-O-、-S-、-N(R₄)-或-(CHR₄)_n-, n 为 0 或 1；

R₁ 选自：芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基和杂环烷基；

R₂ 选自：氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₄、-C(O)OR₄、-C(O)NR₄R₅、-CH=NR₄、-CN、-OR₄、-OC(O)R₄、-S(O)_t-R₄、-NR₄R₅、-NR₄C(O)R₅、-NO₂、-N=CR₄R₅ 和卤素；

15 R₃ 每次出现时独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₄、-C(O)OR₄、-C(O)NR₄R₅、-CH=NR₄、-CN、-OR₄、-OC(O)R₄、-S(O)_t-R₄、-NR₄R₅、-NR₄C(O)R₅、-NO₂、-N=CR₄R₅ 和卤素；

m 为 0-3 的整数（具体如 0、1、2、3）；

t 为 1、2 或 3；

20 R₄ 和 R₅ 分别独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、芳基、芳香族或非芳香族杂环基、烷氧基、芳氧基和卤素；

并且，式I所示的化合物结构中含有至少一个酸性取代基，该酸性取代基含有至少一个酸性官能团。

在本发明的一个实施方式中，酸性官能团选自：酚羟基、羧基、磺酸基和磷酸基中的一种或多种。

25 在本发明的一个实施方式中，酸性取代基选自：羟基苯基、羧基苯基、磺酸基苯基、磷酸基苯基、羟基苯甲酰氧基取代烷基、磺酸基取代烷基、羧基取代烷基、磷酸基取代烷基、磺酸基苯基取代烷基、羧基苯基取代烷基、磷酸基苯基取代烷基、羟基苯甲酰氧基取代烷氧基、磺酸基取代烷氧基、羧基取代烷氧基、磷酸基取代烷氧基、磺酸基苯基取代烷氧基、羧基苯基取代烷氧基和磷酸基苯基取代烷氧基中的一个或多种。

在本发明的一个实施例中，羟基苯基中，羟基位于苯基的 2-5 位中的至少一个。

30 在本发明的一个实施例中，羧基苯基中，羧基位于苯基的 2-5 位中的至少一个。

在本发明的一个实施例中，磺酸基苯基中，磺酸基位于苯基的 2-5 位中的至少一个。

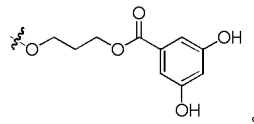
在本发明的一个实施例中，磷酸基苯基中，磷酸基位于苯基的 2-5 位中的至少一个。

35 在本发明的一个实施例中，羟基苯甲酰氧基为二羟基苯甲酰氧基（例如，2,3-二羟基苯甲酰氧基、2,4-二羟基苯甲酰氧基、2,5-二羟基苯甲酰氧基、2,6-二羟基苯甲酰氧基、3,4-二羟基苯甲酰氧基、3,5-二羟基苯甲酰氧基、3,6-二羟基苯甲酰氧基、4,5-二羟基苯甲酰氧基、4,6-二羟基苯甲酰氧基或 5,6-二羟基苯甲酰氧基）或三羟基苯甲酰氧基（例如，2,3,4-三羟基苯甲酰氧基、2,3,5-三羟基苯甲酰氧基、2,3,6-三羟基苯甲酰氧基、2,4,5-三羟基苯甲酰氧基、2,4,6-三羟基苯甲酰氧基、2,5,6-三羟基苯甲酰氧基、3,4,5-三羟基苯甲酰氧基、3,4,6-三羟基苯甲酰氧基或 4,5,6-三羟基苯甲酰氧基）。

在本发明的一个实施方式，烷基为 C1-C6 烷基，优选为 C1-C3 烷基。

40 在本发明的一个实施方式，烷氧基为 C1-C6 烷氧基，优选为 C1-C3 烷氧基。

在本发明的一个实施例中，式I所示的化合物结构中含有至少一个如下结构的取代基：



在本发明的一个实施例中，X 为-O-。

在本发明的另一个实施例中，X 为-NH-。

在本发明的另一个实施例中，X 为-(CHR₄)_n，n 为 0，即 X 不存在。

5 在本发明的一个实施方式中，R₁ 为取代的芳基，如取代的苯基。

在本发明的另一个实施方式中，R₁ 为取代的杂环基，如取代的吡啶基（如 3-吡啶基）。

在本发明的一个实施例中，m 为 2。

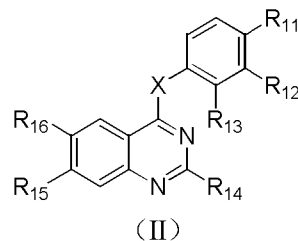
在本发明的另一个实施例中，m 为 0。

在本发明的一个实施方式中，A 环为芳环，优选为苯环，其与相连的嘧啶环形成喹啉环结构。

10 在本发明的另一个实施方式中，A 环为杂芳环，优选为单杂原子五元芳环，例如，吡咯环、呋喃环或噻吩环，其与嘧啶环稠合形成五元单杂芳环[3,2-d]并嘧啶环结构。

在本发明的另一个实施方式中，A 环不存在。

在本发明的一个具体实施方式中，式I中，A 环为芳环，R₁ 为取代苯基，所述化合物具有通式II所示结构：



式II中，X 为-O-、-S-、-N(R₁₇)-或-(CHR₁₇)_n，n 为 0 或 1；

20 R₁₁、R₁₂ 和 R₁₃ 独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₁₇、-C(O)OR₁₇、-C(O)NR₁₇R₁₈、-CH=NR₁₇、-CN、-OR₁₇、-OC(O)R₁₇、-S(O)_t-R₁₇、-NR₁₇R₁₈、-NR₁₇C(O)R₁₈、-NO₂、-N=CR₁₇R₁₈ 和卤素；

R₁₄ 选自：氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₁₇、-C(O)OR₁₇、-C(O)NR₁₇R₁₈、-CH=NR₁₇、-CN、-OR₁₇、-OC(O)R₁₇、-S(O)_t-R₁₇、-NR₁₇R₁₈、-NR₁₇C(O)R₁₈、-NO₂、-N=CR₁₇R₁₈ 和卤素；

25 R₁₅ 和 R₁₆ 独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₁₇、-C(O)OR₁₇、-C(O)NR₁₇R₁₈、-CH=NR₁₇、-CN、-OR₁₇、-OR₁₉-R₁₈、-OC(O)R₁₇、-S(O)_t-R₁₇、-NR₁₇R₁₈、-NR₁₇C(O)R₁₈、-NO₂、-N=CR₁₇R₁₈ 和卤素；或 R₁₅ 和 R₁₆ 与其所连接的苯环形成任意取代的稠环体系；

t 为 1、2 或 3；

30 R₁₇ 和 R₁₈ 独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、芳基、芳香族或非芳香族杂环基、烷氧基、芳氧基、卤素和氨基；

R₁₉ 为亚烷基；

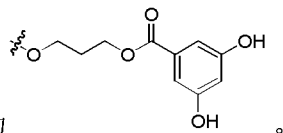
并且，式II所示的化合物结构中含有至少一个酸性取代基，该酸性取代基含有至少一个酸性官能团。所述酸性官能团和酸性取代基具有本发明上述定义。

在本发明的一个实施方式中，R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄、R₁₅ 和 R₁₆ 中至少一个含有酸性官能团。

35 在本发明的一个具体实施方式中，R₁₅ 含有至少一个酸性官能团。

在本发明的一个具体实施方式中，R₁₅ 选自：羟基苯基、羧基苯基、磺酸基苯基、磷酸基苯基、羟基苯甲酰氧基取代烷基、磺酸基取代烷基、羧基取代烷基、磷酸基取代烷基、磺酸基苯基取代烷基、羧基苯基取代烷基、磷酸基苯基取代烷基、羟基苯甲酰氧基取代烷氧基、磺酸基取代烷氧基、羧基取代烷氧基

基、磷酸基取代烷氧基、磺酸基苯基取代烷氧基、羧基苯基取代烷氧基和磷酸基苯基取代烷氧基。



在本发明的一个实施例中, R_{15} 为

在本发明的一个实施例中, X 为 -NH-。

在本发明的一个实施方式中, R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 独立地选自: 氢、卤素 (如 F、Cl)、 $-\text{NO}_2$ 、烯基、炔基和 $-\text{O}(\text{CH}_2)_x\text{Ar}$, x 为 0 或 1, Ar 为芳基 (例如苯基) 或杂环基 (例如, 含氮杂环基)。

在本发明的一个实施例中, R_{11} 为 F, R_{12} 为 Cl, R_{13} 为氢。

在本发明的另一个实施例中, R_{11} 为氢, R_{12} 为 Cl, R_{13} 为 F。

在本发明的一个实施方式中, R_{11} 为氢, R_{13} 为氢, R_{12} 选自: 卤素、乙烯基和乙炔基。

在本发明的一个实施方式中, R_{14} 选自: 氢、烷基、-CN 和卤素。

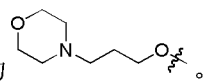
在本发明的一个实施例中, R_{14} 为氢。

在本发明的一个实施方式中, R_{16} 为 $-\text{OR}_{19}-\text{R}_{18}$, 其中 R_{19} 为亚甲基、亚乙基、亚丙基或亚丁基, R_{18} 选自: 芳香族或非芳香族杂环基 (如吗啉基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基等)、烷氧基 (如甲氧基、乙氧基、丙氧基)、芳氧基 (如苯氧基) 和取代的氨基 (如甲氨基、二甲氨基)。

在本发明的一个具体实施方式中, R_{16} 为 $-\text{OR}_{19}-\text{R}_{18}$, 其中 R_{19} 为亚乙基或亚丙基, R_{18} 选自: 吗啉基、哌嗪基、二甲氨基、吡咯烷基、哌啶基、甲氧基和乙氧基。

具体地, R_{16} 可选自: 3-(4-吗啉基)丙氧基、3-(1-哌嗪基)丙氧基、3,3-二甲氨基丙氧基、3-(1-吡咯烷基)丙氧基、3-(1-哌啶基)丙氧基、3-(4-哌啶基)丙氧基、甲氧乙氧基和乙氧乙氧基。

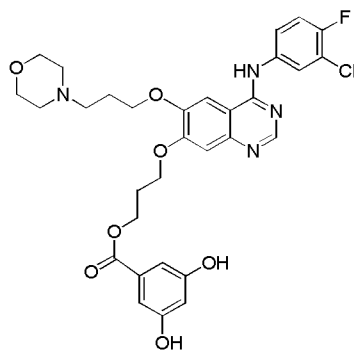
在本发明的一个实施例中, R_{16} 为



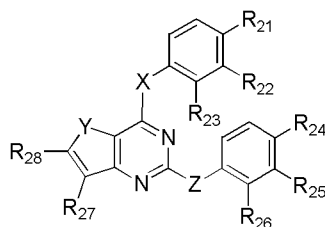
在本发明的一个实施方式中, R_{16} 为 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}_{18}$, 其中 R_{18} 选自: 取代或未取代的烯基 (如乙烯基、1-丙烯基、1-丁烯基), 该烯基上的取代基可选自: 芳香族或非芳香族杂环基 (如吡咯烷基、哌啶基)、烷氧基 (如甲氧基、乙氧基) 和取代的氨基 (如甲氨基、二甲氨基)。

在本发明的一个具体实施方式中, R_{16} 选自: 4-甲氧基-2-丁烯酰胺基、4-吡咯烷基-2-丁烯酰胺基、4-二甲氨基-2-丁烯酰胺基和 4-哌啶基-2-丁烯酰胺基。

在本发明的一个实施例中, 所述化合物具有如下结构:



在本发明的另一个实施方式中, 式I中, A 环为单杂原子五元芳环, R_1 为取代苯基, 所述化合物具有通式III所示结构:



(III)

式III中,

X 为-O-、-S-、-N(R₂₉)-或-(CHR₂₉)_n-, n 为 0 或 1;

Y 为-O-、-S-或-N(R₂₉)-;

Z 为-O-、-S-或-N(R₂₉)-;

- 5 R₂₁、R₂₂ 和 R₂₃ 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₂₉、-C(O)OR₂₉、-C(O)NR₂₉R₂₈、-CH=NR₂₉、-CN、-OR₂₉、-OC(O)R₂₉、-S(O)_t-R₂₉、-NR₂₉R₂₁₀、-NR₂₉C(O)R₂₁₀、-NO₂、-N=CR₂₉R₂₁₀ 和卤素;

- R₂₄、R₂₅ 和 R₂₆ 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₂₉、-C(O)OR₂₉、-C(O)NR₂₉R₂₈、-CH=NR₂₉、-CN、-OR₂₉、-OC(O)R₂₉、-S(O)_t-R₂₉、
10 -NR₂₉R₂₁₀、-NR₂₉C(O)R₂₁₀、-NO₂、-N=CR₂₉R₂₁₀ 和卤素;

R₂₇ 和 R₂₈ 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₂₉、-C(O)OR₂₉、-C(O)NR₂₉R₂₈、-CH=NR₂₉、-CN、-OR₂₉、-OC(O)R₂₉、-S(O)_t-R₂₉、-NR₂₉R₂₁₀、-NR₂₉C(O)R₂₁₀、-NO₂、-N=CR₂₉R₂₁₀ 和卤素; R₂₇ 和 R₂₈ 与其所连接的杂环形成任意取代的稠环体系;

- 15 t 为 1、2 或 3;

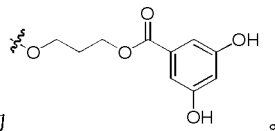
R₂₉ 和 R₂₁₀ 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、芳基、芳香族或非芳香族杂环基、烷氧基、芳氧基、卤素和氨基;

并且, 式III所示的化合物结构中含有至少一个酸性取代基, 该酸性取代基含有至少一个酸性官能团。所述酸性官能团和酸性取代基具有本发明上述定义。

- 20 在本发明的一个实施方式中, R₂₁、R₂₂、R₂₃、R₂₄、R₂₅、R₂₆、R₂₇ 和 R₂₈ 中至少一个含有酸性官能团。

在本发明的一个具体实施方式中, R₂₆ 含有至少一个酸性官能团。

在本发明的一个具体实施方式中, R₂₆ 选自: 羟基苯基、羧基苯基、磺酸基苯基、磷酸基苯基、羟基苯甲酰氧基取代烷基、磺酸基取代烷基、羧基取代烷基、磷酸基取代烷基、磺酸基苯基取代烷基、羧基苯基取代烷基、磷酸基苯基取代烷基、羟基苯甲酰氧基取代烷氧基、磺酸基取代烷氧基、羧基取代烷氧基、
25 磺酸基取代烷氧基、磺酸基苯基取代烷氧基、羧基苯基取代烷氧基和磷酸基苯基取代烷氧基。



在本发明的一个实施例中, R₂₆ 为

在本发明的一个实施例中, X 为-NH-。

在本发明的另一个实施例中, X 为-O-。

在本发明的一个实施例中, Y 为-S-。

- 30 在本发明的一个实施例中, Z 为-NH-。

在本发明的一个实施方式中, R₂₁ 和 R₂₃ 独立地选自: 氢、烷基和卤素。

在本发明的一个实施例中, R₂₁ 为氢。

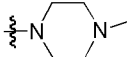
在本发明的一个实施例中, R₂₃ 为氢。

在本发明的一个实施方式中, R₂₂ 为-NHC(O)R₂₁₀、其中, R₂₁₀ 为取代或未取代的烯基, 如乙烯基、

- 35 3-丙烯基。具体地, R₂₂ 可为 或 。

在本发明的一个实施方式中, R₂₄ 为杂环基, 如取代或未取代的含氮非芳香杂环基(具体如, 哌嗪基、哌啶基), 其上取代基选自: 烷基(如甲基、乙基)、酰基(如乙酰基、丙酰基)、杂环基(如吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基等), 所述取代位点为含氮非芳香杂环基的氮位。

- 40 在本发明的一个具体实施方式中, R₂₄ 选自: 4-(1-乙酰基)哌嗪基、4-(1-甲基)哌嗪基、4-(1-吡咯烷基)哌嗪基、4-(1-哌啶基)哌嗪基和 4-甲基哌嗪基-1-哌啶基。

在本发明的一个实施例中, R_{24} 为 .

在本发明的另一个实施方式中, R_{24} 为 $-NR_{27}R_{28}$, R_{27} 和 R_{28} 独立地选自: 氢和取代或未取代的烷基 (如甲基、3-(甲氨基)丙基)。

在本发明的一个实施例中, R_{24} 为 N,N-二甲氨基或 N^1,N^1,N^2 -三甲基乙二胺基。

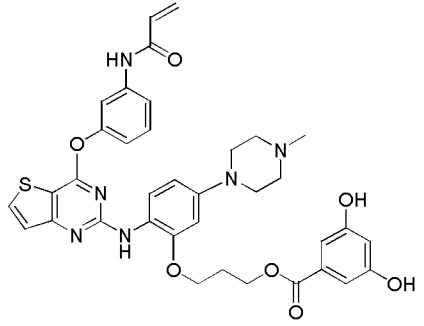
5 在本发明的一个实施例中, R_{25} 为氢。

在本发明的一个实施方式中, R_{27} 和 R_{28} 独立地选自: 氢、烷基和卤素。

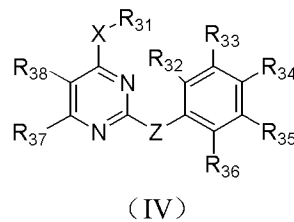
在本发明的一个实施例中, R_{27} 为氢。

在本发明的一个实施例中, R_{28} 为氢。

在本发明的一个实施例中, 所述化合物具有如下结构:



10 在本发明的另一个实施方式中, 式I中, A 环不存在, R_1 为取代苯基, 所述化合物具有通式IV所示结构:



15 式IV中,

X 为 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R_{39})-$ 或 $-(CHR_{39})_n-$, n 为 0 或 1;

Z 为 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R_{39})-$;

R_{31} 为氢、取代或未取代的芳基或杂环基;

20 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 和 R_{36} 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、 $-COR_{39}$ 、 $-C(O)OR_{39}$ 、 $-C(O)NR_{39}R_{310}$ 、 $-CH=NR_{39}$ 、 $-CN$ 、 $-OR_{39}$ 、 $-OC(O)R_{39}$ 、 $-S(O)_t-R_{39}$ 、 $-NR_{39}R_{310}$ 、 $-NR_{39}C(O)R_{310}$ 、 $-NO_2$ 、 $-N=CR_{39}R_{310}$ 和卤素;

R_{37} 和 R_{38} 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、 $-COR_{39}$ 、 $-C(O)OR_{39}$ 、 $-C(O)NR_{39}R_{310}$ 、 $-CH=NR_{39}$ 、 $-CN$ 、 $-OR_{39}$ 、 $-OC(O)R_{39}$ 、 $-S(O)_t-R_{39}$ 、 $-NR_{39}R_{310}$ 、 $-NR_{39}C(O)R_{310}$ 、 $-NO_2$ 、 $-N=CR_{39}R_{310}$ 和卤素;

25 t 为 1、2 或 3;

R_{39} 和 R_{310} 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、芳基、芳香族或非芳香族杂环基、烷氧基、芳氧基、卤素和氨基;

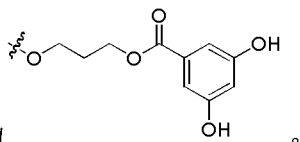
并且, 式IV所示的化合物结构中含有至少一个酸性取代基, 该酸性取代基含有至少一个酸性官能团。所述酸性官能团和酸性取代基具有本发明上述定义。

30 在本发明的一个实施方式中, R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_{37} 和 R_{38} 中至少一个含有酸性官能团。

在本发明的一个具体实施方式中, R_{36} 含有至少一个酸性官能团。

在本发明的一个具体实施方式中, R_{36} 选自: 羟基苯基、羧基苯基、磺酸基苯基、磷酸基苯基、羟基苯甲酰氧基取代烷基、磺酸基取代烷基、羧基取代烷基、磷酸基取代烷基、磺酸基苯基取代烷基、羧基

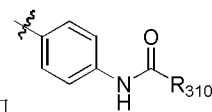
苯基取代烷基、磷酸基苯基取代烷基、羟基苯甲酰氧基取代烷氧基、磺酸基取代烷氧基、羧基取代烷氧基、磷酸基取代烷氧基、磺酸基苯基取代烷氧基、羧基苯基取代烷氧基和磷酸基苯基取代烷氧基。



在本发明的一个实施例中, R_{36} 为

在本发明的一个实施例中, X 为 $-(CHR_{39})_n-$, n 为 0, 即 X 不存在。

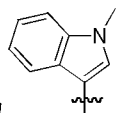
5 在本发明的一个实施例中, Z 为 $-NH-$ 。



在本发明的一个实施方式中, R_{31} 为取代的芳基, 如取代的苯基, 具体如 R_{310} 为取代或未取代的烯基, 如乙烯基、3-丙烯基, 烯基上的取代基选自: 烷氧基 (如甲氧基、乙氧基)、杂环基 (如哌啶基、吡咯烷基) 和取代的氨基 (如甲氨基、二甲氨基)。

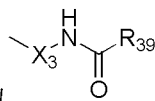
10 在本发明的一个具体实施方式中, R_{31} 选自: 3-丙烯酰胺基苯基、3-(4-甲氧基-2-丁烯酰胺基)苯基、3-(4-哌啶基-2-丁烯酰胺基)苯基、3-(4-吡咯烷基-2-丁烯酰胺基)苯基、3-(4-二甲氨基-2-丁烯酰胺基)苯基。

在本发明的另一个实施方式中, R_{31} 为取代或未取代的杂环基, 如吡唑[1,5-a]并吡啶基或取代的吡啶基, 吡啶基的取代基选自: 氢、烷基和酰基。



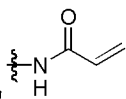
在本发明的一个实施例中, R_{31} 为

在本发明的一个实施例中, R_{32} 为氢。



15 在本发明的一个实施方式中, R_{33} 为, 其中 X_3 为 $-NH-$ 或 $-O-$, R_{39} 为取代或未取代的烯基, 如乙烯基、3-丙烯基, 烯基上的取代基选自: 烷氧基 (如甲氧基、乙氧基)、杂环基 (如哌啶基、吡咯烷基) 和取代的氨基 (如甲氨基、二甲氨基)。

20 在本发明的一个具体实施方式中, R_{33} 选自: 丙烯酰氧基、丙烯酰胺基、4-甲氧基-2-丁烯酰氧基、4-甲氧基-2-丁烯酰胺基、4-哌啶基-2-丁烯酰氧基、4-哌啶基-2-丁烯酰胺基、4-吡咯烷基-2-丁烯酰氧基、4-吡咯烷基-2-丁烯酰胺基、4-二甲氨基-2-丁烯酰氧基和 4-二甲氨基-2-丁烯酰胺基。



在本发明的一个实施例中, R_{33} 为

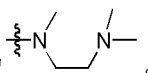
在本发明的一个实施例中, R_{35} 为氢。

25 在本发明的一个实施方式中, R_{34} 为取代或未取代的杂环基, 如取代的含氮非芳香杂环基 (具体如, 哌嗪基、哌啶基), 其上取代基选自: 烷基 (如甲基、乙基)、酰基 (如乙酰基、丙酰基)、杂环基 (如吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基等), 所述取代位点为含氮非芳香杂环基的氮位。

在本发明的一个具体实施方式中, R_{34} 选自: 4-(1-乙酰基)哌嗪基、4-(1-甲基)哌嗪基、4-(1-吡咯烷基)哌嗪基、4-(1-哌啶基)哌嗪基和 4-甲基哌嗪基-1-哌啶基。

在本发明的另一个实施方式中, R_{34} 为 $-NR_{27}R_{28}$, R_{27} 和 R_{28} 独立地选自: 氢和取代或未取代的烷基 (如甲基、3-(甲氨基)丙基)。

30 在本发明的一个具体实施方式中, R_{34} 为 N,N -二甲氨基或 N^1,N^1,N^2 -三甲基乙二胺基。



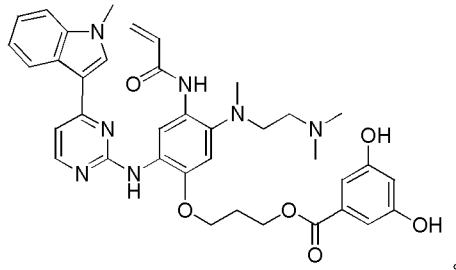
在本发明的一个实施例中, R_{34} 为

在本发明的一个实施方式中, R_{37} 和 R_{38} 独立地选自: 氢、卤素、硝基、氰基和三氟甲基。

在本发明的一个实施例中, R_{37} 为氢。

在本发明的一个实施例中， R_{38} 为氢。

在本发明的一个实施例中，所述化合物具有如下结构：



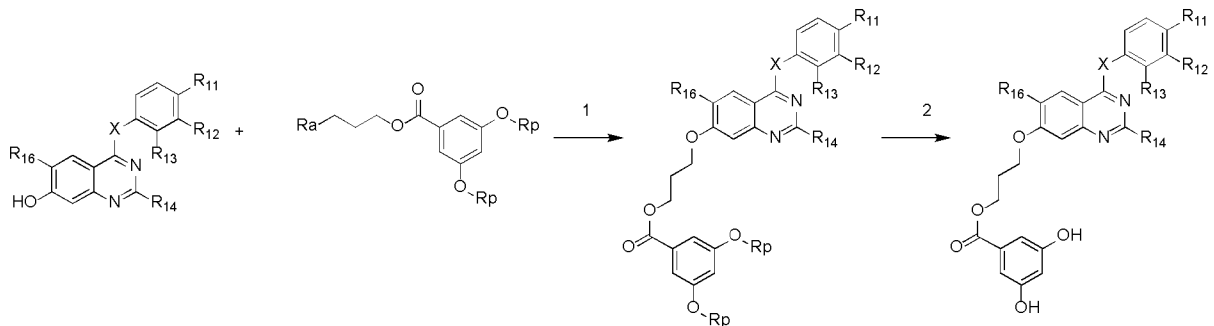
本发明还提供一种上述化合物的制备方法，其包括向具有 EGFR 抑制活性的化合物（例如，已知 EGFR TKI 化合物）结构中通过反应引入至少一个酸性官能团的步骤。

在本发明的一个实施方式中，酸性官能团选自：酚羟基、羧基、磺酸基和磷酸基中的一种或多种。

在本发明的一个实施方式中，上述制备方法包括通过反应引入一个或多个选自以下的基团：羟基苯基、羧基苯基、磺酸基苯基、磷酸基苯基、羟基苯甲酰氧基取代烷基、磺酸基取代烷基、羧基取代烷基、磷酸基取代烷基、磺酸基苯基取代烷基、羧基苯基取代烷基、磷酸基苯基取代烷基、羟基苯甲酰氧基取代烷氧基、磺酸基取代烷氧基、羧基取代烷氧基、磷酸基取代烷氧基、磺酸基苯基取代烷氧基、羧基苯基取代烷氧基和磷酸基苯基取代烷氧基。

在本发明的一个实施方式中，上述制备方法中，EGFR TKI 化合物为吉非替尼。

在本发明的一个实施例中，上述制备方法包括如下反应步骤：



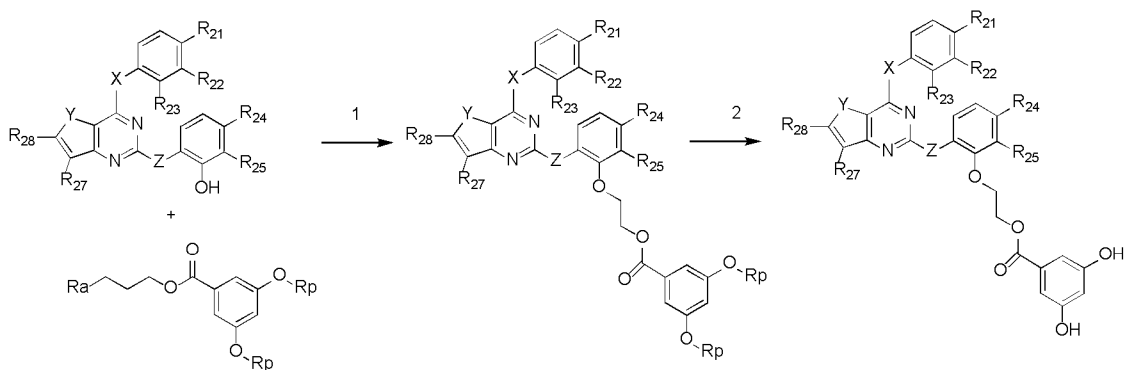
其中，X、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{16} 具有本发明上述定义，

Ra 为卤原子，

Rp 为羟基保护基团；

第 2 步反应为羟基脱保护反应。

在本发明的另一个实施例中，上述制备方法包括如下反应步骤：



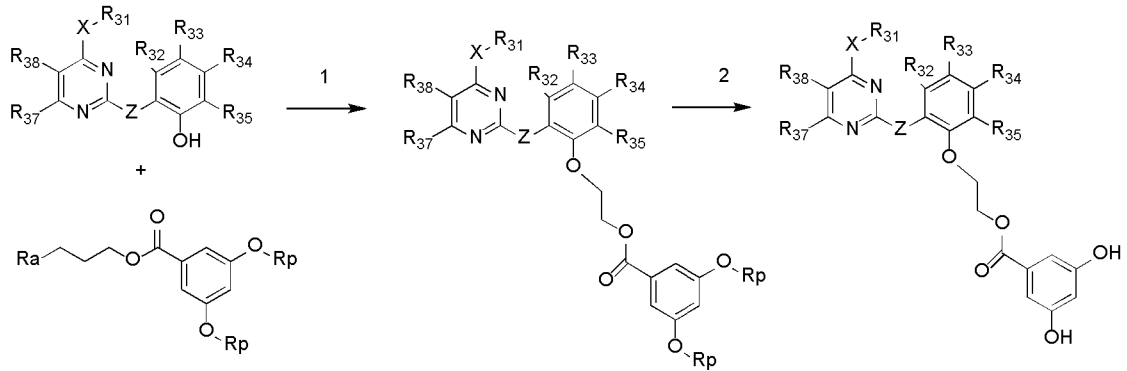
其中，X、Y、Z、 R_{21} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{27} 、 R_{28} 具有本发明上述定义，

Ra 为卤原子，

Rp 为羟基保护基团；

第 2 步反应为羟基脱保护反应。

在本发明的另一个实施例中，上述制备方法包括如下反应步骤：



其中，X、Z、R₃₁、R₃₂、R₃₃、R₃₄、R₃₅、R₃₇、R₃₈具有本发明上述定义，

Ra为卤原子，

R_p为羟基保护基团；

第2步反应为羟基脱保护反应。

为实现羟基保护和脱保护的目的，所述羟基保护基团和羟基脱保护反应可选择本领域常规的羟基保护基团和羟基脱保护反应，本发明对此不作具体限定。

本发明还提供一种改造EGFR TKI的方法，其包括减弱EGFR TKI的碱性的步骤，例如，在该EGFR TKI的结构中引入至少一个酸性官能团的步骤。

所述酸性官能团具有本发明上述定义。

本发明还提供一种上述化合物或其药学上可接受的盐的立体异构体、几何异构体、互变异构体、消旋体、溶剂化物、水合物、代谢前体和前药。

本发明还提供一种药物组合物，其包含上述化合物或其药学上可接受的盐、立体异构体、几何异构体、互变异构体、消旋体、溶剂化物、水合物、代谢前体或前药，以及一种或多种药学上可接受的辅料。

所述药学上可接受的载体是指药学领域常规的药物载体。例如：稀释剂、赋形剂如水等，填充剂如淀粉、蔗糖等；粘合剂如纤维素衍生物、藻酸盐、明胶和聚乙烯吡咯烷酮等；湿润剂如甘油等；崩解剂如琼脂、碳酸钙和碳酸氢钠等；吸收促进剂如季铵化合物等；表面活性剂如十六烷醇等；吸附载体如高岭土和皂粘土等；润滑剂如滑石粉、硬脂酸钙和镁、聚乙二醇等。另外，还可以在组合物中加入其它辅料如香味剂、甜味剂等。

本发明所述的药物组合物可以为片剂(包括糖衣片剂、膜包衣片剂、舌下片剂、口腔崩解片、口腔片剂等等)、丸剂、粉剂、颗粒剂、胶囊剂(包括软胶囊、微胶囊)、锭剂、糖浆剂、液体、乳剂、混悬剂、控制释放制剂(例如，瞬时释放制剂、缓释制剂、缓释微囊)、气雾剂、膜剂(例如，口服崩解膜剂、口腔粘膜-粘附膜剂)、注射剂(例如，皮下注射、静脉注射、肌肉注射、腹膜内注射)、静脉滴注剂、透皮吸收制剂、软膏剂、洗剂、粘附制剂、栓剂(例如，直肠栓剂、阴道栓剂)、小药丸、鼻制剂、肺制剂(吸入剂)、眼睛滴剂等等、口服或胃肠外制剂(例如，通过静脉内、肌肉内、皮下、器官内、鼻内、皮内、滴注、脑内、直肠内等给药形式，给药至肿瘤的附近和直接给药至病变处)。在本发明的一个实施方式中，所述的药物组合物为注射剂。

本发明的药物组合物的各种剂型可以按照药学领域的常规生产方法制备。例如使活性成分与一种或多种辅料混合，然后将其制成所需的剂型。

本发明的药物组合物优选含有重量比为0.1-99.5%的活性成分，更优选含有重量比为0.5-95%的活性成分。

本发明化合物的施用量可根据用药途径、患者的年龄、体重、所治疗的疾病的类型和严重程度等变化，可以一次或多次施用。

本发明还提供一种上述化合物或其药学上可接受的盐、立体异构体、几何异构体、互变异构体、消旋体、溶剂化物、水合物、代谢前体和前药在制备预防和/或治疗与受体酪氨酸蛋白激酶有关的疾病和病症的药物中的应用。

本发明还提供一种预防和/或治疗与受体酪氨酸蛋白激酶有关的疾病和病症的方法，其包括将本发明所述化合物或其药学上可接受的盐、立体异构体、几何异构体、互变异构体、消旋体、溶剂化物、水合物、代谢前体和前药、或所述药物组合物施用至由此需求的个体的步骤。

所述与受体酪氨酸蛋白激酶有关的疾病和病症为肿瘤，其包括但不限于：肺癌、胰腺癌、乳腺癌或结肠癌，特别是肺癌，更特别是非小细胞肺癌。

本发明的发明人经过大量实验首创性地发现 EGFR TKIs 的抗肿瘤效果和其自身的酸碱性密切相关，目前临床上使用的 EGFR TKI（如吉非替尼和 AZD9291）会使肿瘤细胞溶酶体酸化过程减弱，进而造成促癌蛋白 SQSTM1 的积累，最终导致肿瘤获得性耐药性的产生。发明人通过减弱 EGFR TKI 的碱性的方式，开发了一系列 EGFR TKI 化合物，其可有效改善由 SQSTM1 积聚引起的 EGFR TKI 获得性耐药性，对提高 EGFR TKI 的临床治疗收益具有重要意义。

附图说明

图 1 所示为实施例 1 中用吉非替尼处理后的 A549、HCC827 和 H460 细胞中 SQSTM1 表达量的测定结果。

图 2 所示为实施例 1 中用 AZD9291 处理后的 A549、HCC827 和 H460 细胞中 SQSTM1 表达量的测定结果。

图 3 所示为实施例 2 中 A549 和 H460 细胞中 LC3 和 SQSTM1 表达量的测定结果。

图 4 所示为实施例 3 的检测结果；图 4A 为免疫荧光显微镜检测 GFP-LC3 和 RFP-LC3 的斑点照片，其中，第一列图中斑点均为绿色荧光斑点，第二列图中斑点均为红色荧光斑点，第三列图中斑点均为黄色荧光斑点；图 4B 所示为各实验组 LC3 黄色斑点/红色斑点（%）的结果。

图 5 所示为实施例 4 的检测结果；其中，第一列图表示在 A549 细胞中瞬转 SQSTM1-Flag 的质粒，接着用抗生素 G418 筛选得到稳定转染的单克隆细胞团后，用不同浓度的 Gefitinib 和 AZD9291 处理 48 小时，MTS 法检测细胞活力的结果。第二列图表示在 H460 细胞中敲减 SQSTM1 48 小时后，用不同浓度的 Gefitinib 和 AZD9291 处理 24 小时，MTS 法检测细胞活力的结果。

图 6 所示为实施例 5 的检测结果；图 6A 为采用吉非替尼和 AZD9291 处理 A549 不同时间后，免疫荧光法检测 LC3 蛋白表达变化的结果；图 6B 所示为图 6A 中结果的统计分析，分别统计 10 个随机视野，标尺为 10 μ m，星号（*）代表 P<0.05，为有统计差异。

图 7 所示为实施例 6 的检测结果；其中，图 7A 为 LAMP1 和 LC3 的免疫荧光检测照片，图 7B 所示为各实验组的共定位系数的统计结果。

图 8 所示为实施例 7 中吉非替尼、AZD9291、CQ 和 CQ 联用 Baf A1 处理后 A549 和 HCC827 细胞中成熟体 CTSB 表达量的测定结果。

图 9 所示为实施例 8 的检测结果；其中，图 9A 为荧光显微镜检测照片，其中，比例尺为 10 μ m，第一、三行图中的斑点均为红色荧光斑点，第二、四行图片中的斑点均为绿色荧光斑点，图 9B 所示为各实验组 AO-红色斑点的检测结果。

图 10 所示为化合物 II-1（Gefi-2OH）的合成路径。其中，pKa（碱性）表示化合物中碱性最强的吗啡基团的酸度系数，而 pKa₁（酸性）、pKa₂（酸性）则分别表示化合物中呈酸性的两个酚羟基的酸度系数。

图 11 所示为化合物 III-1 的合成路径。

图 12 所示为化合物 IV-1（AZD-2OH）的合成路径。

图 13 所示为实施例 13 的检测结果。其中，图 13A 为 H460 细胞中吉非替尼和化合物 Gefi-2OH 处理后 SQSTM1 和成熟体 CTSB 的表达量的测定结果，图 13B 为 A549 和 HCC827 细胞中吉非替尼和化合物 Gefi-2OH 处理后，EGFR 及其下游 Akt、Erk1/2 蛋白的磷酸化修饰程度以及其蛋白本身表达量的检测结果。

图 14 所示同样为实施例 13 的检测结果。其中，图 14A 为 H460 细胞中 AZD9291 和化合物 AZD-2OH

处理后 SQSTM1 和成熟体 CTSB 的表达量的测定结果, 图 14B 为 HCC827 细胞中 AZD9291 和化合物 AZD-20H 处理后, EGFR 及其下游 Akt、Erk1/2 蛋白的磷酸化修饰程度以及其蛋白本身表达量的检测结果。

图 15 所示为实施例 14 的检测结果。其中, 左侧为荧光显微镜检测照片, 其中, 比例尺为 10 μ M, 图中的斑点均为 LysoTracker-blue 形成的蓝色荧光斑点, 右侧所示为各实验组酸性囊泡斑点 (蓝色斑点数量) 的检测结果。

图 16 所示为实施例 15 的检测结果, 其分别为吉非替尼和化合物 Gefi-20H 对 A549 (左侧) 和 H460 细胞 (右侧) 的增殖抑制作用的检测结果。

图 17 所示同样为实施例 15 的检测结果, 为 AZD9291 和化合物 AZD-20H 对 H460 细胞的增殖抑制作用的检测结果。

图 18 所示为实施例 16 的检测结果; 其中, 左侧为流式细胞术检测结果图, 右侧所示为各实验组的细胞凋亡率的结果。

具体实施方式

除非另有定义, 本文使用的所有的技术和科学术语具有与本发明涉及领域的技术人员通常理解的相同的含义。在描述和要求保护本发明中, 将使用以下术语。

“卤素”表示氟、氯、溴或碘, 优选为氟或氯。

“烷基”是指直链或支链的且不含不饱和键的烃链自由基, 典型的烷基含有 1-12 个、1-8 个或 1-6 个碳原子, 如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、正戊基等。如果烷基被芳基取代, 那么其相应为“芳烷基”自由基, 如苯甲基或苯乙基。如果烷基被杂环基取代, 那么其相应为“杂环烷基”自由基。

“烯基”指的是至少含两个碳原子、至少一个不饱和键的直链或支链的烃链自由基, 且该烃链自由基以单键与分子其它部分连接。典型的烯基基团含有 2-12 个、2-8 个或者 2-6 个碳原子, 例如, 乙烯基、1-丙烯基或丁烯基。

“炔基”指的是含至少两个碳原子、至少一个碳碳三键的直链或支链的烃链自由基, 且该烃链自由基以单键与分子其它部分连接。典型的炔基基团含有 2-12 个、2-8 个或者 2-6 个碳原子, 例如, 乙炔基、丙炔基 (例如 1-丙炔基、2-丙炔基)。

“环烷基”指的是脂环烃。典型的环烷基含 1 至 3 个单环和/或稠环、含 3-18 个碳原子, 优选 3-10 个碳原子, 如环丙基、环己基或金刚烷基。在具体实施方式中, 环烷基含 3-6 个碳原子。

“芳基”指的是单环或多环自由基, 包括含单芳基基团和/或稠芳基基团的多环自由基。典型的芳基基团包含 1-3 个单环或稠环及 6-18 个碳原子, 如苯基、萘基 (如 2-萘基) 自由基。

“杂环基”指的是稳定的、典型地为 3 元至 18 元的环自由基, 其由碳原子和一至五个选自氮、氧和硫的杂原子构成, 优选为具有一个或多个杂原子的 4 元至 8 元环, 更优选为具有一个或多个杂原子的 5 元或 6 元环, 其可以是芳香族的或者非芳香族的。对于本发明的目的, 杂环可以是单环、双环或三环体系, 其可以包括稠环体系; 且杂环自由基中的氮、碳或硫原子可以任选地被氧化; 氮原子可以任选地被季胺化; 且杂环自由基可以是部分饱和或完全饱和的或为芳族的。杂环基的例子包括但不限于: 苯并咪唑、苯并噻唑、呋喃、异噻唑、咪唑、吡咯、哌啶、哌嗪、嘌呤、喹啉、噻二唑、四氢呋喃、香豆素、吗啉、吡咯、吡唑、恶唑、异恶唑、三唑、咪唑等。

“烷氧基”是指式为-OR_a的自由基, 其中 R_a为如上定义的烷基自由基, 具有一个或多个 (如 1、2、3 或 4) 氧键, 且通常含有 1-12 个、1-8 个或者 1-6 个碳原子, 如甲氧基、乙氧基、丙氧基等。

“芳氧基”是指式为-O-芳基的自由基, 其中芳基为如上所定义的。芳氧基化合物的一些例子为-O-苯基、-O-对甲苯基、-O-间甲苯基、-O-邻甲苯基或-O-萘基。

除非在本发明中特别说明, 否则, 如果适用的话, 所有的基团均可被任选地取代。

下面将结合实施例及说明书附图详细说明本发明。

这里所列举的化合物只是为了更好地说明本发明的化合物类别和结构形式，并非限制本发明。

本发明在以下的实施例中进一步说明。这些实施例只是为了说明的目的，而不是用来限制本发明的范围。由于通式 (II) - (IV) 中每个通式所包含化合物的合成采用了完全相同的方法，只在反应原料上有差别，因此，实施例 10-12 中仅选用了通式化合物 II-1、III-1、IV-1 为代表，对通式 (II) - (IV) 化合物的合成进行概述。

实验中所用部分实验材料和设备信息如下：

A549 (野生型 EGFR)、HCC827 (外显子 19 缺失型 EGFR) 和 NCI-H460 (H460, 野生型 EGFR)，购自中国科学院细胞库 (中国上海)；

RPMI1640 培养基、DMEM 培养基和胎牛血清 (FBS)，均购自杭州四季青有限公司 (中国杭州)；

PBS 缓冲液、EBSS 缓冲液、含 0.02%EDTA 的 0.25%胰酶和 Opti-MEM 培养基 (吉诺生物医药技术有限公司，中国)；

二甲基亚砜 DMSO (AMRESCO, 美国)；

细胞培养皿及培养板 (Corning Costar, 美国)；

吉非替尼、奥西替尼 (AZD9291)、巴弗洛霉素 A1 (Baf A1)，购自 Selleck (中国上海)；

雷帕霉素 (Rapamycin)，购自 Beyotime (中国上海)；

氯喹 (CQ)、吖啶橙染料 (AO)，购自 Sigma Aldrich (中国上海)；

BCA 蛋白质测定试剂盒，购自 Bio-Rad Laboratories (美国加州)；

辣根过氧化物酶偶联二抗，购自 Jackson ImmunoResearch (中国上海)；

化学发光检测试剂盒，购自 Biological Industries (美国)；

Amersham Imager 600 系统，购自通用电气医疗集团生命科学部 (中国上海)；

siRNA 转染试剂：Lipofectamine™ RNAiMAX (Invivogen, 美国)；

质粒转染试剂：X-tremeGENE HP DNA Transfection Reagent (Roche, 瑞士)；

CellTiter 96® AQueous 非放射性细胞增殖检测试剂盒，购自 Promega (中国北京)；

BD Pharmingen FITC Annexin V 细胞凋亡检测试剂盒，购自 BD Biosciences (中国上海)；

BD FACSCalibur™ 流式细胞仪，购自 BD Biosciences (中国上海)。

发明人前期进行了如下实验：

在下述的细胞生物学实验步骤中，“处理”是指将待试化合物用细胞培养液稀释到特定浓度后，加入培养皿中与细胞孵育特定时间。

实施例 1

用指定浓度 (如图 1 所示) 的吉非替尼处理非小细胞肺癌细胞 (NSCLC) 24 小时 (对 A549 和 H460 细胞) 或 36 小时 (对 HCC827 细胞)，并通过蛋白质印迹法 (Western Blot) 测定 SQSTM1 的表达。肌动蛋白用作内部参照蛋白。实验结果如图 1 所示。

用指定浓度 (如图 2 所示) 的 AZD9291 处理 A549、HCC827 和 H460 细胞 24 小时，并通过 Western Blot 测定 SQSTM1 的表达。肌动蛋白用作内部参照蛋白。实验结果如图 2 所示。

Western Blot 操作步骤：

用含有 2%SDS、0.1%溴酚蓝、10%甘油、1.5%DTT (二硫苏糖醇) 和 0.1M tris-HCl (pH6.8) 的裂解缓冲液裂解细胞。通过 BCA 法蛋白定量试剂盒测定细胞裂解物中蛋白浓度。通过 SDS-PAGE 分离煮沸变性的裂解物，再将其转移至聚偏二氟乙烯膜上，用 5%无脂牛奶 (溶解在 TBST 中) 封闭。然后，将该膜与指定的一抗在 4°C 孵育过夜，用 TBST (含 0.1%Tween-20 的 TBS) 洗涤 3 次后，与辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的二抗室温下孵育 2 小时。TBST 洗涤 3 次。最后，在 Amersham Imager 600 系统中，通过化学发光试剂盒检测膜上 HRP 的水平，以此表征相应抗原的含量。

由图 1 和 2 中结果可知，吉非替尼、AZD9291 在三种具有不同遗传背景的 NSCLC 细胞 (A549、HCC827 和 H460) 中，均以剂量依赖性的方式上调 SQSTM1 蛋白水平。

实施例 2

用 DMSO、雷帕霉素、吉非替尼处理 A549 和 H460 细胞 7 小时，然后对上述细胞给药 Baf A1 (巴弗

洛霉素 A1) 或不给药, 培养 5 小时。通过 Western Blot (参照实施例 1 中的 Western Blot 步骤) 检测 LC3 和 SQSTM1 表达。实验结果如图 3 所示。

由图 3 结果可知, 单用吉非替尼的作用和自噬抑制剂 Baf A1 类似, 而和自噬诱导剂雷帕霉素相反; 雷帕霉素和 BafA1 联用后, LC3-II 和 SQSTM1 的蛋白水平均明显上升, 而吉非替尼和 BafA1 联合后却没有表现出明显的增强效果。以上实验结果表明吉非替尼很可能通过抑制细胞自噬而阻断 SQSTM1 自噬性降解, 导致其在细胞内积聚。

实施例 3

用 GFP-RFP-LC3 质粒转染 A549 细胞 48 小时, 然后分别用 EBSS、CQ、吉非替尼或 AZD9291 处理该细胞。通过免疫荧光显微镜检测 GFP-LC3 和 RFP-LC3 的斑点, 实验结果如图 4A 所示。

LC3 黄色斑点/红色斑点 (%) 的定量表示为 3 个独立实验的平均值 $\pm$ SD, n=10 个细胞。统计结果如图 4B 所示, 其中, 星号 (*) 表示统计学差异 (学生 t 检验, $P < 0.05$)。

由实施例 2 和 3 的结果可知, 吉非替尼、AZD9291 对自噬的抑制作用与已知的自噬抑制剂巴佛洛霉素 A1 (Baf A1) 和氯喹 (CQ) 类似, 虽然能上调 LC3II 的表达 (如图 3 所示), 但却负向调控细胞的自噬流进程 (如图 4 所示)。

实施例 4

SQSTM-1 基因的高表达: 将处于对数生长期的细胞种到相应的孔板内, 培养过夜使细胞贴壁。转染前将培养液更换为无抗含 10% 胎牛血清的相应培养基, 取适量体积的 Opti-MEM 培养基于 EP 管中, 加入适量质粒和转染试剂 X-treme GENE HD, 吹打混匀后室温静置 20-25min。将混合物以滴的形式均匀加到细胞培养基中, 轻轻晃动使其混匀。根据实验需要转染 48-72h。并采用 Western blot 法评估过表达效果。

SQSTM-1 基因的敲低: 将处于对数生长期的细胞种到相应的孔板内, 培养过夜使细胞贴壁 (不同的待转染细胞需要不同的覆盖率)。转染前将培养液更换为无抗含 10% 胎牛血清的相应培养基, 取适量的 Opti-MEM 培养基于 EP 管中, 根据实验说明书加入适量的 Lipofectamine RNAiMAX transfection reagent, 混匀, 再取等体积的 Opti-MEM 培养基加入适量 siRNA, 混匀 (siRNA 和阴性对照 negative control siRNA 由上海吉玛制药技术有限公司合成)。再将两管液体混合, 吹打混匀, 室温静置约 15min。将混合物以滴的形式均匀加到细胞培养基中, 轻轻晃动使其混匀。根据实验需要转染 48-72h。并采用 Western blot 法评估敲低效果。

实验结果如图 5 所示。由图 5 中结果证明高表达 SQSTM1 导致细胞对吉非替尼、AZD9291 的耐受性, 而敲低 SQSTM1 可增加细胞对二者的敏感性。

根据实施例 1-4 的实验结果, 发明人推断, 吉非替尼、AZD9291 等 EGFR TKI 通过抑制细胞的自噬性降解, 导致 SQSTM1 的积聚从而促进细胞产生对 EGFR TKI 的获得性耐药性。

实施例 5

免疫荧光实验步骤: 将灭菌过的盖玻片置于孔板中, 细胞密度接种为常规的 1/5 到 1/3, 过夜培养, 加入药物处理特定时间后, 从孵箱中取出。1 $\times$ PBS 洗 1 次, 再用无水甲醇洗 1 次, 室温固定 10 分钟。PBS 洗 3 次。然后用 0.25% Triton X-100 透化 25 分钟。PBS 再洗 3 次。加入 3% 的 BSA (1 $\times$ PBS 配制) 室温封闭 30 分钟。加稀释好的一抗 (用 3% BSA 稀释), 放在湿盒内, 4 $^{\circ}$ C 过夜。次日, PBS 洗 3 次后, 加稀释好的荧光二抗 (用 3% BSA 稀释, 1:200 稀释) 室温孵育 1 小时, 避光。PBS 再洗 3 次。使用混有 DAPI 的封片剂封片, 封片后室温静置 1 小时, 荧光显微镜下检测 DAPI 和 LC3 荧光的强度。实验结果如图 6 所示。

已知, 自噬可分成 3 个主要的过程, 即自噬体的形成、自噬体和溶酶体的融合、自噬溶酶体的降解。

由图 6 中结果可知, 以细胞内表达的 LC3II 产生的荧光为检测信号, 吉非替尼、AZD9291 对自噬体的形成不仅没有抑制作用, 反而起到促进作用。

实施例 6

以溶酶体膜蛋白 LAMP1 和 LC3II 的共定位为评价指标, 用雷帕霉素或吉非替尼处理 A549 细胞 24 小时, 通过免疫荧光检测 LAMP1 和 LC3 的共定位, 实验结果如图 7A 所示。

共定位系数 (Colocalization coefficient) 表示为 LC3 和 LAMP1 的共定位点与总 LC3 点的比率。共定位系数的定量表示为 3 个独立实验的平均值 $\pm$ SD, n=10 个细胞。统计结果如图 7B 所示, 其中, NS 表示

无显著意义（学生 t 检验， $P > 0.05$ ）。

由图 7 中结果可知，吉非替尼并不影响自噬体与溶酶体的融合。

由实施例 5 和 6，发明人认为，吉非替尼、AZD9291 等 EGFR-TKI 并不影响自噬体形成（反而起到促进作用，以 LC3II 的表达量为标记物，如图 6 所示）和自噬体与溶酶体的融合（以溶酶体膜蛋白 LAMP1 和 LC3II 的共定位为评价指标，如图 7 所示），而可能是通过抑制溶酶体的功能。

实施例 7

CTSB 是溶酶体的一个特征性水解酶，其需要在溶酶体的酸性环境中被剪切为成熟体后才能发挥水解蛋白的作用。因此，很多研究将 CTSB 成熟体的表达量作为溶酶体功能强弱的指标。

分别用吉非替尼、AZD9291、CQ 或 Baf A1 处理 A549 和 HCC827 细胞 24 小时，以肌动蛋白作为对照，通过 Western Blot（参照实施例 1 中的 Western Blot 步骤）评估 CTSB 成熟体的表达。实验结果如图 8 所示。

由图 8 结果可知，吉非替尼、AZD9291 可显著地下调 CTSB 成熟体的表达，由此说明了这两个化合物确实存在削弱溶酶体功能的作用。

实施例 8

吖啶橙染料（AO）是一种亲质子的荧光染料，其非质子化单体能发出绿色荧光，而进入溶酶体被质子化后形成聚合体并发出红色荧光。

分别用 DMSO、吉非替尼、AZD9291、CQ 或 BafA1 处理 A549 和 HCC827 细胞 12 小时，然后将 A549 和 HCC827 细胞与 AO 孵育 15 分钟。通过荧光显微镜检测 AO-红色荧光斑点的数量。实验结果如图 9A 所示。

每个细胞的 AO-红色荧光斑点的定量表示为 3 个独立实验的平均值 $\pm$ SD， $n=10$ 个细胞。统计结果如图 9B 所示，其中，星号（*）表示统计学差异（学生 t 检验， $P < 0.05$ ），ND 表示未检测到。

由图 9 结果可知，吉非替尼、AZD9291 均抑制溶酶体的酸化过程。

根据实施例 4-8 的实验结果，发明人推测，吉非替尼、AZD9291 等 EGFR TKI 通过抑制溶酶体酸化，导致自噬溶酶体的功能减弱及其所包裹的底物的降解受阻。

实施例 9

代表性 EGFR TKI 化学结构酸碱性分析：从第一代到第三代 EGFR TKI 中挑选了目前临床上最常用的 8 个代表性药物，通过在免费开源的药物数据库中（<https://www.drugbank.ca/>）检索其理化性质。8 个代表性 EGFR TKI 化学结构中的氮原子个数都在三个或三个以上，而没有缺电子的路易斯酸酸性基团，均属于路易斯碱碱性药物。其中，吉非替尼、阿法替尼、达克替尼（Dacomitinib）、奥西替尼、奥姆替尼（Olmotinib）等都具有碱性较强的脂肪胺基，其碱性 pKa 值如下表所示。

表 1 代表性 EGFR TKI 的碱性 pKa 值

EGFR TKI			pKa (最大碱性)
第一代 EGFR TKI	Gefitinib		6.85
	Erlotinib		4.62
	Icotinib		4.62

第二代 EGFR TKI	Afatinib		8.81
	Dacomitinib		8.55
第三代 EGFR TKI	Osimertinib		8.87
	Rociletinib		3.62
	Olmotinib		7.96

根据以上实验结果, 发明人推断, 造成吉非替尼、AZD9291 等 EGFR TKI 抑制溶酶体酸化, 进而导致自噬溶酶体降解受阻的根本原因可能是由于吉非替尼、AZD9291 等 EGFR TKI 在化学结构上存在碱性较强的官能团, 使其容易进入到酸性微环境的溶酶体中, 通过减少溶酶体的酸化, 进而造成了对自噬溶酶体的功能性阻断和促癌蛋白 SQSTM1 的积累, 最终导致肿瘤细胞对吉非替尼、AZD9291 等 EGFR TKI 产生耐药性。在此基础上, 发明人对结构上含有强碱性基团的 EGFR TKI 进行碱性中和改造而得到一系列 EGFR TKI 碱性中和类似物, 例如以下实施例 10-12 中所合成的化合物。

实施例 10 通式化合物II-1 的合成 (合成路线如图 10 所示)

步骤I、3-溴丙基-3,5-二甲氧基苯甲酸酯 (中间体 1-3) 的制备: 称取 3,5-二甲氧基苯甲酰氯 (中间体 1-1) (2g, 10mmol) 和 3-溴-1-丙醇 (中间体 1-2) (1.07mL, 5mmol), 将其溶解在 20mL 二氯甲烷中, 搅拌至溶解, 再缓慢滴加三乙胺 (1.5mL, 15mmol), 在室温下搅拌, TLC 监测反应过程, 约 5 小时后反应完毕。加入 20mL 超纯水猝灭反应后, 再加入 20mL 二氯甲烷进行萃取, 饱和 NaCl 溶液洗涤 3 次, 二氯甲烷层用无水 MgSO_4 干燥, 过滤后, 旋转蒸发除去后浓缩得粗产物, 硅胶柱层析纯化得到无色油状液体中间体 1-3, 产率: 80%。

步骤II、3-溴丙基-3,5-二羟基苯甲酸酯 (中间体 1-4) 的制备: 称取中间体 1-3(604mg, 2mmol)溶于

20mL 的二氯甲烷中, 边搅拌边将三氯化铝 (1333mg, 10mmol, 分三次), 碘化钠 (150mg, 1mmol) 依次加入, 室温下反应过夜。待反应完全, 加入 20mL 饱和氯化铵溶液中和反应, 再加入 20mL 二氯甲烷进行萃取, 用饱和 NaCl 溶液洗涤二氯甲烷层 3 次, 并用无水 MgSO₄ 干燥。滤液浓缩后, 通过快速硅胶柱层析纯化得到淡黄色油状液体中间体 **1-4**, 产率: 30%。¹H-NMR (CDCl₃, 600MHz) δ : 7.087 (d, J = 2.4 Hz, 2H, H-2, H-6), 6.572 (t, J = 2.4 Hz, 1H, H-4), 5.486 (s, 2H, -OH $\times$ 2), 4.449 (t, J = 6.0 Hz, 2H, -OCH₂CH₂CH₂Br), 3.676 (t, J = 6.6 Hz, 2H, -OCH₂CH₂CH₂Br), 2.212 (t, J = 6.0 Hz, 2H, -OCH₂CH₂CH₂Br).

步骤III、3-溴丙基-3,5-二氢吡喃基苯甲酸酯(中间体 1-6)的制备: 称取中间体 **1-4** (550mg, 2mmol)、二氢吡喃 (中间体 **1-5**) (841.2mg, 10mmol) 和对甲苯磺酸吡啶盐 (502mg, 0.2mmol), 溶于 20mL 二氯甲烷中, 室温下反应 6 小时。反应完全后, 加入 20mL 水和 20mL 二氯甲烷, 萃取并旋干二氯甲烷。硅胶柱层析法分离纯化后得到淡黄色油状物中间体 **1-6**, 产率: 63%。¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz) δ : 7.348 (t, J = 2.5 Hz, 2H, H-2, H-6), 6.984 (q, J = 2.5 Hz, 1H, H-4), 5.435-5.463 (m, 2H, -O-pyranyl-H-2 $\times$ 2), 4.447 (t, J = 6.0 Hz, 2H, -OCH₂CH₂CH₂Br), 3.886 (td, J_1 = 2.5 Hz, J_2 = 10.5 Hz, 2H, -O-pyranyl-H-6 $\times$ 2), 3.688 (t, J = 6.5 Hz, 2H, -OCH₂CH₂CH₂Br), 3.596-3.632 (m, 2H, -O-pyranyl-H-6 $\times$ 2), 2.196-2.246 (m, 2H, -OCH₂CH₂CH₂Br), 1.958-2.016 (m, 2H, -O-pyranyl-H-3 $\times$ 2), 1.844-1.894 (m, 4H, -O-pyranyl-H-3 $\times$ 2, -O-pyranyl-H-4 $\times$ 2), 1.644-1.712 (m, 4H, -O-pyranyl-H-4 $\times$ 2, -O-pyranyl-H-5 $\times$ 2), 1.584-1.613 (m, 2H, -O-pyranyl-H-5 $\times$ 2).

步骤IV、4-((3-氯-4-氟苯基)氨基)-6-(3-吗啡啉丙氧基)喹唑啉-7-醇 (中间体 1-8) 的制备: 称取原料药吉非替尼 (中间体 **1-7**) (89.4mg, 0.2mmol) 和 L-甲硫氨酸 (49.23mg, 0.33mmol), 溶解于 5mL 的甲磺酸中, 165°C 下回流反应约 24 小时。反应完全后, 加入 5mL 的超纯水猝灭反应, 并置于室温下冷却。再逐渐滴加 40% NaOH 水溶液至体系 pH 接近 7 左右后, 加入 20mL 乙酸乙酯萃取并旋干溶剂, 硅胶柱层析法分离纯化后得到白色固体粉末中间体 **1-8**, 产率: 52%。¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) δ : 8.367 (s, 1H, H-2), 7.964 (dd, J_1 = 2.8 Hz, J_2 = 6.8 Hz, 1H, H-8), 7.762 (s, 1H, H-5), 7.616-7.656 (m, 1H, H-2'), 7.230 (t, J = 8.8 Hz, 1H, H-6'), 7.033 (s, 1H, H-5'), 4.267 (t, J = 6.0 Hz, 2H, -NCH₂CH₂CH₂O-), 3.783 (t, J = 4.8 Hz, 4H, -OCH₂ $\times$ 2), 2.871 (t, J = 7.2 Hz, 2H, -NCH₂CH₂CH₂O-), 2.784 (s, 4H, -NCH₂ $\times$ 2), 2.145-2.208 (m, 2H, -NCH₂CH₂CH₂O-). MS (ESI) m/z : 432.97 (M+1)⁺, calculated for C₂₁H₂₂ClFN₄O₃: 432.14.

步骤V-VI、3-((4-((3-氯-4-氟苯基)氨基)-6-(3-吗啡啉丙氧基)喹唑啉-7-基)氧基)丙基-3,5-二羟基苯甲酸酯 (通式化合物II-1, Gefi-2OH) 的制备: 称取中间体 **1-8** (43.2 mg, 0.1mmol) 和中间体 **1-6** (88.4 mg, 0.2mmol), 溶于 5mL N,N-二甲基甲酰胺中, 加入碳酸钾 (55.2mg, 0.4mmol) 和碘化钠 (15mg, 0.1mmol) 后, 80°C 反应过夜。反应完全后, 加入 5mL 的超纯水和 20mL 的乙酸乙酯进行萃取, 然后旋干溶剂。经柱层析色谱纯化, 得到无色油状液体。将此油状物重新溶解在 5mL 的无水乙醇中, 加入 1mL 10% HCl 溶液, 室温下搅拌反应 2h。旋干体系中的无水乙醇后, 加入 4mL 的超纯水和 10mL 乙酸乙酯进行萃取。旋干乙酸乙酯后, 通过快速柱层析法分离纯化得到白色粉末状的目标产物 **Gefi-2OH**, 产率: 30%。¹H-NMR (DMSO-d₆, 600MHz) δ : 8.471 (s, 1H, H-2), 8.116 (d, J = 4.8 Hz, 1H, H-8), 7.849 (s, 1H, H-5), 7.785 (s, 1H, H-2'), 7.410 (t, J = 9.0 Hz, 1H, H-6'), 7.222 (s, 1H, H-5'), 6.803 (d, J = 2.4 Hz, 2H, H-2'', H-6''), 6.410 (t, J = 2.4 Hz, 1H, H-4''), 4.400 (t, J = 6.0 Hz, 2H, O=COCH₂), 4.280 (t, J = 6.0 Hz, 2H, O=COCH₂CH₂CH₂), 4.177 (s, 2H, -NCH₂CH₂CH₂O-), 3.556 (s, 4H, -OCH₂ $\times$ 2), 2.475 (t, J = 1.8 Hz, 2H, -NCH₂CH₂CH₂O-), 2.359 (s, 4H, -NCH₂ $\times$ 2), 2.218 (m, J = 6.0 Hz, 2H, O=COCH₂CH₂CH₂), 1.983 (m, J = 7.8 Hz, 2H, -NCH₂CH₂CH₂O-). MALDI-TOF MS m/z : 627.475 (M+1)⁺, calculated for C₃₁H₃₂ClFN₄O₇: 626.19.

实施例 11 通式化合物III-1 的合成 (合成路线如图 11 所示)

步骤I、4-氟-2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯胺 (中间体 2-2) 的制备: 将 2-氨基-5-氟苯酚 (中间体 **2-1**) (1.27g, 10mmol)、二氢吡喃 (2.52g, 30mmol) 和对甲苯磺酸吡啶盐 (502mg, 1mmol), 溶于 20mL 二氯甲烷中, 室温下反应 6 小时。反应完全后, 加入 20mL 水和 20mL 二氯甲烷, 萃取并旋干二氯甲烷。硅胶柱层析法分离纯化后得到无色油状物中间体 **2-2**, 产率: 77%。MS (ESI) m/z : 212.10 (M+1)⁺, calculated for C₁₁H₁₄FN₂: 211.10.

步骤II、4-甲基哌嗪基-2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯胺 (中间体 2-3) 的制备: 称取中间体 **2-2** (1.05g, 5mmol) 和 N-甲基哌嗪 (1.36mL, 15mmol) 溶于 20mL 2-戊醇中, 120°C 下反应 3 小时。反应完全后, 旋干溶剂, 加入乙酸乙酯萃取, 浓缩后经硅胶柱层析法分离纯化后得到红色粉末状中间体 **2-3**, 产率: 71%。

MS (ESI) m/z: 292.30 (M+1)⁺, calculated for C₁₆H₂₅N₃O₂: 291.19.

步骤III、2-氯噻吩并[3,2-d]嘧啶-4(3H)-酮(中间体 2-5)的制备: 称取 2,4-氯噻吩并[3,2-d]嘧啶(中间体 2-4) (1.025g, 5mmol) 溶于 10mL 乙醇/水=4:1 的混合溶剂中, 再称取 500mg 氢氧化钠溶于 3mL 蒸馏水中, 并将此溶液滴加进入反应体系, 40°C下反应 4 小时。反应完全后, 加入 1mL 乙酸, 在 35°C下继续反应 2 小时, 将所得沉淀抽滤, 蒸馏水洗涤后, 得到白色粉末状中间体 2-5, 产率: 89%。MS (ESI) m/z: 187.96 (M+2)⁺, calculated for C₆H₃ClN₂OS: 185.97.

步骤IV、2-((4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)氨基)噻吩[3,2-d]嘧啶-4(3H)-酮(中间体 2-6)的制备: 称取中间体 2-5 (930mg, 5mmol) 溶于 50mL 乙醇中, 加入中间体 2-3 (1.75g, 6mmol) 和 5mL 乙酸, 回流反应 6 小时。待反应完全后将反应物冷却至室温, 将 6mL 三乙胺缓慢滴加进反应物, 然后将抽滤, 并用 20mL 乙醇洗涤 2 次, 真空干燥得到黄色固体粉末状中间体 2-6, 产率: 69%。MS (ESI) m/z: 442.30 (M+1)⁺, calculated for C₂₂H₂₇N₅O₃S: 441.18.

步骤V、4-氯-N-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)噻吩[3,2-d]嘧啶-2-胺(中间体 2-7)的制备: 称取中间体 2-6 (1.76g, 4mmol) 溶于 5mL 乙腈中, 将反应温度升至 75°C。加入 1mL 三氯氧磷和 1mL 乙腈的混合溶液, 75°C下反应 1 小时。反应完全后, 分别加入 10mL 冰水和 40%氢氧化钠溶液, 在室温下搅拌 1 小时后, 抽滤后, 用 20mL 蒸馏水洗 2 次, 烘干得到粗产品。然后, 将此粗产品重新溶于 20mL 体积比为 3:2 的二氯甲烷/甲醇混合溶剂中, 室温下搅拌 1 小时后, 旋干溶剂。再将产物重新溶于 10mL 体积比为 8:2 的乙腈/水混合溶剂中, 室温下搅拌 2 小时后, 减压抽滤, 得到白色固体粉末状中间体 2-7, 产率: 77%。MS (ESI) m/z: 461.20 (M+2)⁺, calculated for C₂₂H₂₆ClN₅O₂S: 459.15.

步骤VI、N-(3-((2-((4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)氨基)噻吩并[3,2-d]嘧啶-4-基)氧基)苯基)丙烯酰胺(中间体 2-8)的制备: 称取中间体 2-7 (1.76g, 4mmol)、N-(3-羟苯基)丙烯酰胺 (815mg, 5mmol) 和碳酸钾 (1.66g, 12mmol) 溶于 25mL 体积比为 8:2 的乙腈/水混合溶剂中, 回流反应 6 小时。反应完全后, 将反应物降至室温, 加入 50mL 蒸馏水, 在室温下反应过夜。将反应液抽滤, 用 10mL 体积比为 1:2 的乙腈/水混合溶剂洗涤 1 次, 得到白色固体粉末中间体 2-8, 产率: 84%。MS (ESI) m/z: 587.30 (M+1)⁺, calculated for C₃₁H₃₄N₆O₄S: 586.24.

步骤VII-VIII、N-(3-((2-((4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)氨基)噻吩并[3,2-d]嘧啶-4-基)氧基)苯基)丙烯酰胺(通式化合物III-1)的制备: 参照实施例 10 中步骤V和步骤VI的方法, 将中间体 2-8 和中间体 1-6 进行反应, 得到白色固体粉末目标化合物III-1, 产率: 52%。MS (ESI) m/z: 697.30 (M+1)⁺, calculated for C₃₆H₃₆N₆O₇S: 696.24.

实施例 12 通式化合物IV-1 的合成(合成路线如图 12 所示)

步骤I、3-(2-氯嘧啶-4-基)-1-甲基-1H-咪唑(中间体 3-3)的制备: 将 2,4-二氯嘧啶(中间体 3-2) (1.49g, 10mmol) 和氯化铝 (1.33g, 10mmol) 悬浮在 20mL 的 N,N-二甲基乙酰胺 (DME) 中, 室温下搅拌 5 分钟后, 向反应体系中加入 1-甲基咪唑(中间体 3-1) (1.25mL, 10mmol), 80°C反应 2 小时, TLC 监测反应过程。在 5 分钟内, 将 50mL 超纯水缓慢滴入反应体系中猝灭反应, 搅拌 30 分钟, 将所得固体减压过滤后, 快速硅胶柱层析纯化得到白色固体中间体 3-3, 产率 93%。MS (ESI) m/z: 244.10 (M+1)⁺, calculated for C₁₃H₁₀ClN₃: 243.06.

步骤II、2-氨基-4-硝基-5-氟苯酚(中间体 3-5)的制备: 称取 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺(中间体 3-4) (372mg, 2mmol) 溶于 20mL 的二氯甲烷中, 边搅拌边将三氯化铝 (1333mg, 10mmol, 分三次)、碘化钠 (150mg, 1mmol) 依次加入, 室温下反应过夜。待反应完全, 加入 20mL 饱和氯化铵溶液中和反应, 再加入 20mL 二氯甲烷进行萃取, 用饱和 NaCl 溶液洗涤二氯甲烷层 3 次, 并用无水 MgSO₄ 干燥。滤液浓缩后, 通过快速硅胶柱层析纯化得到淡黄色油状液体中间体 3-5, 产率: 37%。MS (ESI) m/z: 173.10 (M+1)⁺, calculated for C₆H₅FN₂O₃: 172.03.

步骤III、4-氟-5-硝基-2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯胺(中间体 3-6)的制备: 称取中间体 3-5 (860mg, 5mmol)、二氢吡喃 (1680mg, 20mmol) 和对甲苯磺酸吡啶盐 (125.5mg, 0.5mmol), 溶于 20mL 二氯甲烷中, 室温下反应 6 小时。反应完全后, 加入 20mL 水和 20mL 二氯甲烷, 萃取并旋干二氯甲烷。硅胶柱层析法分离纯化后得到无色油状物中间体 3-6, 产率: 70%。MS (ESI) m/z: 257.13 (M+1)⁺, calculated for C₁₁H₁₃FN₂O₄: 256.09.

步骤IV、N-(4-氟-5-硝基-2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)-4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-胺(中间体 3-7)的制备: 称取中间体 3-6 (1280mg, 5mmol) 和中间体 3-3 (1215mg, 5mmol) 溶于 20mL 2-戊醇中, 加入对甲基苯磺酸一水合物 (1140mg, 6mmol), 105°C 反应 3 小时。待反应完全后将反应物冷却至室温, 抽滤, 并用 10mL 2-戊醇洗涤 2 次。再用 5mL 乙腈洗涤 1 次, 真空干燥得到黄色固体粉末中间体 3-7, 产率: 95%。MS (ESI) m/z: 464.30 (M+1)⁺, calculated for C₂₄H₂₂FN₅O₄: 463.17。

步骤V、4-氟-N¹-(4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)-6-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基-1,3-二胺(中间体 3-8)的制备: 称取中间体 3-7 (927mg, 2 mmol)、铁粉 (560mg, 10mmol) 和氯化铵 (80.25mg, 1.5mmol), 溶解于 16mL 的乙醇/水=3:1 的混合溶剂中, 78°C 回流反应 2 小时。反应完全后, 通过磺酸基离子交换柱将溶液初步提纯, 再通过快速硅胶柱层析法, 分离纯化后得到浅褐色油状物中间体 3-8, 产率: 82%。MS (ESI) m/z: 434.30 (M+1)⁺, calculated for C₂₄H₂₄FN₅O₂: 433.19。

步骤VI、N-(2-氟-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)胺基)-4-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)丙烯酰胺(中间体 3-9)的制备: 称取中间体 3-8 (867mg, 2 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (310mg, 2.4mmol), 溶解于 10mL 的二氯甲烷中, 将丙烯酰氯 (181mg, 2mmol) 缓慢滴加进入反应液, 在冰水浴中反应约 2 小时。反应完全后, 分别加入 50mL 二氯甲烷和 50mL 饱和碳酸氢钠, 萃取 3 次, 硅胶柱层析法分离纯化后得到白色粉末中间体 3-9, 产率: 32%。MS (ESI) m/z: 488.30 (M+1)⁺, calculated for C₂₇H₂₆FN₅O₃: 487.20。

步骤VII-VIII、N-(2-氟-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)胺基)-4-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)丙烯酰胺(中间体 3-10)的制备: 参照实施例 10 中步骤V和步骤VI的方法, 将中间体 3-9 和中间体 1-6 进行反应, 得到白色粉末状中间体 3-10, 产率: 63%。MS (ESI) m/z: 598.30 (M+1)⁺, calculated for C₃₂H₂₈FN₅O₆: 597.20。

步骤IX、3-(4-丙烯酰胺-5-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-2-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯氧基)丙基-3,5-二羟基苯甲酸酯(通式化合物IV-1, AZD-2OH)的制备: 称取中间体 3-10 (597.6mg, 1 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (306mg, 3mmol), 溶解于 10mL 的 2-戊醇中, 在 120°C 中反应约 3 小时。反应完全后, 旋干溶剂, 分别加入 10mL 乙酸乙酯和 10mL 饱和硫酸钠, 萃取 3 次, 快速硅胶柱层析法分离得到白色固体粉末目标化合物IV-1, 产率: 72%。MS (ESI) m/z: 680.30 (M+1)⁺, calculated for C₃₇H₄₁N₇O₆: 679.31。

实施例 13 免疫印迹法检测化合物 Gefi-2OH 对细胞中 p62、CTSB 等蛋白表达量的影响

将 A549、H460 细胞分别以 1×10⁵/孔和 0.8×10⁵/孔的密度接种于 6 孔板中, 过夜培养后, 将吉非替尼和化合物 Gefi-2OH 用完全培养基稀释成特定浓度, 分别加入 6 孔板中, 作用 24 小时后, 加入裂解缓冲液裂解细胞, 将此细胞裂解液煮沸变性后, 进行 Western Blot 实验(步骤参照实施例 1 中的 Western Blot 方法), 结果如图 13 所示。

实验结果如图 13A 所示, 改造后的碱性中和类似物 Gefi-2OH (实施例 10 制备所得) 对 SQSTM1 的积聚效果以及对溶酶体功能的影响(CTSB 的表达量)较吉非替尼均大大减弱, 提示碱性中和的改造策略有效地削弱了吉非替尼对溶酶体功能的阻断。如图 13B 所示, 相同浓度的 Gefi-2OH 和吉非替尼均可以有效抑制 EGFR 以及其下游 Akt、Erk1/2 的磷酸化程度, 表示此类改造并不会影响吉非替尼等 EGFR TKI 原有的 EGFR 激酶抑制活性。此外, 我们同样检测了改造后的类似物 AZD-2OH 对 SQSTM1 和 CTSB 表达量的影响以及其对 EGFR 信号通路的抑制作用。实验结果如图 14A 和 14B 所示, 以 AZD9291 为对照, AZD-2OH 对 SQSTM1 的积聚效果以及对溶酶体功能的影响同样明显减弱, 并对 EGFR 信号通路产生与 AZD9291 相同的抑制作用。

实施例 14 采用溶酶体示踪荧光探针 (Lysotracker) 检测化合物 Gefi-2OH 对细胞中溶酶体功能的影响

荧光染料 Lysotracker 的荧光实验检测原理及具体步骤: Lysotracker 是用能发出蓝色荧光的化学基团标记的带有弱碱性的探针, 其中弱碱部分可提供质子, 以维持 pH 在中性, 可以选择性地滞留在偏酸性的溶酶体中, 从而实现对于溶酶体的特异性荧光标记。其具体步骤如下: 将盖玻片置于孔板中, 细胞密度接种为平时的 1/5 到 1/3, 贴壁后进行相应的处理。将 Lysotracker 染料与培养液进行 1:1000 稀释后加入细胞内, 孵育 2 小时。倒掉培养液, 用 1×PBS 洗 3 次, 每次 5 分钟。使用 20% 的甘油与 PBS 的混合液作为

封片液，直接将活细胞封片并在显微镜下观察荧光。

前面的研究中，发明人观察到吉非替尼和 AZD9291 等化合物通过影响溶酶体的功能而抑制自噬溶酶体的降解。因此，针对改造后的类似物 **Gefi-2OH**，发明人同样检测了其对于溶酶体功能的影响。通过将不同药物处理组的细胞用溶酶体的特异性探针 **Lysotracker** 进行示踪，并进行荧光检测，结果如图 15 所示。实验结果显示，吉非替尼使溶酶体的体积明显增加，数量明显减少，表明吉非替尼显著削弱细胞内溶酶体的功能；而相较于吉非替尼组，其碱性中和类似物 **Gefi-2OH** 对溶酶体的体积影响较微弱，对溶酶体的数量改变也弱于吉非替尼组。基于上述结果，揭示了经过碱性中和改造的类似物 **Gefi-2OH** 对溶酶体功能的阻断比吉非替尼减弱，并且这种作用有望使 **Gefi-2OH** 对肿瘤细胞的杀伤作用提升。

实施例 15 化合物 **Gefi-2OH** 对非小细胞肺癌的增殖抑制作用

取对数生长期细胞 A549 和 H460 细胞分别以 5000 个/孔和 6000 个/孔的密度接种于 96 孔板内，每个实验组设置 5 个平行重复孔；培养 24h 后，加入配制好的药物浓度梯度的培养液，继续培养 48h；检测前吸尽每孔内的培养基，并加入已经配制好的含 10%MTS 的 1640 培养基 100 μ l，在 37 $^{\circ}$ C 孵箱中避光孵育 20-60 分钟，酶联免疫检测仪上震荡 1 分钟后用 490nm 波长读取吸光度值，当净 OD 值达到 0.5-0.8 范围时停止检测，计算细胞的相对增殖率，并使用 Graphpad prism 6 画出增殖曲线，结果如图 16 所示。

由图 16 结果可知，碱性中和的吉非替尼衍生物 **Gefi-2OH** 对非小细胞肺癌细胞 A549、H460 的增殖抑制作用要明显优于吉非替尼，其半数抑制浓度 (IC_{50}) 较吉非替尼分别提高了约 1.8 倍 (A549 细胞中) 和 3 倍 (H460 细胞中)。此外，按照上述方法亦检测了本发明的化合物 **AZD-2OH** 对 H460 细胞的增殖抑制作用，其增殖曲线如图 17 所示。由图 17 结果可知，本发明的化合物 **AZD-2OH** 对 H460 细胞的增殖抑制作用同样明显优于改造前化合物 AZD9291，其半数抑制浓度 (IC_{50}) 仅为 AZD9291 的一半不到。

实施例 16 流式细胞术检测化合物 **Gefi-2OH** 对 NSCLC 细胞凋亡的影响

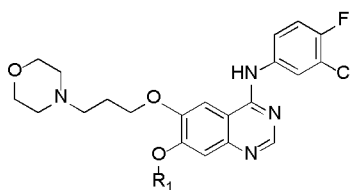
分别收集 A549 和 H460 细胞上清于离心管中，用预冷的 PBS 洗涤一次，同样收集到上述离心管中。在细胞中加入适量不含 EDTA 的 0.25% 的胰酶，一定时间后，用 2 倍胰酶体积的含 10%FBS 的 1640 培养液中和，收集细胞悬液至之前的离心管中。离心 1500rpm，5min，倒去上清，PBS 重悬细胞沉淀，再次 1500rpm 离心 5min，弃上清。加入 100 μ l 1 $\times$ Binding Buffer 重悬细胞，将细胞的密度调整为 $5-10 \times 10^5$ /mL。各加入 5 μ l 的 Annexin V-FITC 和 5 μ l 的 PI Staining Solution，轻柔地混匀细胞悬液。避光、室温孵育 15min。加入 400 μ l 1 $\times$ Binding Buffer 稀释，轻轻混匀，1 小时内上机检测。每个样采集 10000 events。结果如图 18 所示。

由图 18 结果可知，**Gefi-2OH** 显著诱导 A549、H460 细胞凋亡，且在相同浓度作用下，**Gefi-2OH** 诱导凋亡的效果要明显优于吉非替尼。

实施例 17 不同通式化合物的 H460 细胞增殖抑制活性筛选

为了说明本发明的通式化合物对非小细胞肺癌细胞的增殖抑制作用，以下合成了典型的通式(I)化合物，并进行了细胞增殖实验检测，化合物具体合成方法同**实施例 10-12**，检测方法同**实施例 15**，其检测结果表 1-3 所示；其中表 1、2、3 结果分别表示通式化合物**II**、**III**、**IV**对 H460 细胞的增殖活性的影响。由表 1-3 结果可知，对吉非替尼、奥姆替尼以及奥西替尼进行碱性中和改造，极大地提升了其对 H460 细胞的杀伤作用。改造所得的通式化合物**II**、**III**、**IV**均表现出良好的肺癌细胞增殖抑制活性，其中，奥西替尼的改造物（通式**IV-1**-**通式IV-8**）活性最优，其 IC_{50} 值在 1.21-5.13 μ M 之间。此外，通过对三类化合物的构效关系分析，发现 R 取代基的酸性对活性的高低起决定性作用，其酸性越强，化合物整体的抗肿瘤活性也越好，具体表现为不同取代基对化合物增殖抑制活性提升的贡献排名：烷基磺酸>烷基羧酸>苯磺酸>苯甲酸>三元酚>二元酚，由此进一步说明了 EGFR TKIs 分子结构所带碱性的确是导致肿瘤细胞对其敏感性降低、耐药性产生的重要原因，而本发明首次针对 EGFR TKIs 进行碱性中和改造，取得了意想不到的良好效果，探索出了一条提高其活性的新途径。

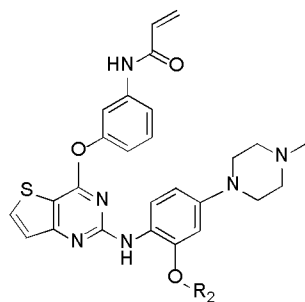
表 1



化合物II-1-化合物II-8

编号	取代基 (R ₁)	半数抑制浓度 (IC ₅₀ , μM)
II-1		14.79
II-2		16.57
II-3		12.46
II-4		8.47
II-5		7.11
II-6		7.54
II-7		5.19
II-8		4.33
吉非替尼		45.07

表 2



化合物III-1-化合物III-8

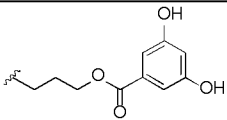
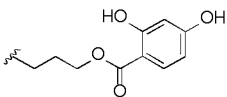
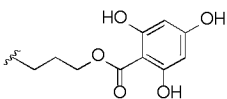
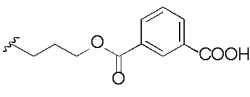
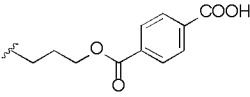
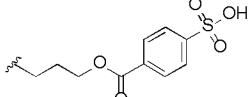
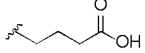
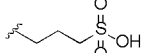
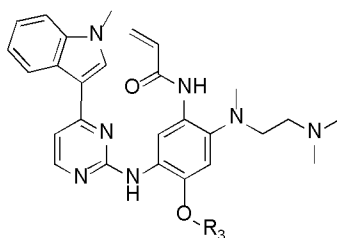
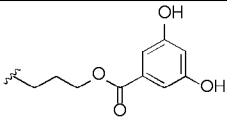
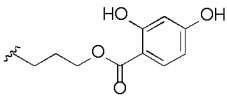
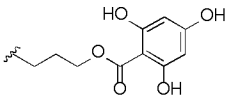
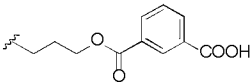
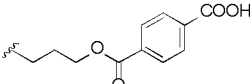
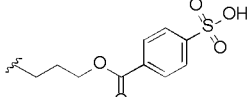
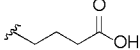
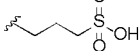
编号	取代基 (R ₂)	半数抑制浓度 (IC ₅₀ , μM)
III-1		12.7
III-2		13.77
III-3		11.66
III-4		8.65
III-5		8.79
III-6		7.61
III-7		6.54
III-8		5.87
奥姆替尼		19.47

表 3

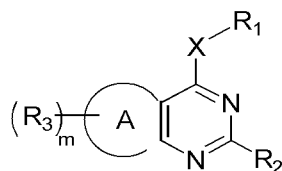


化合物IV-1-化合物IV-8

编号	取代基 (R ₃)	半数抑制浓度 (IC ₅₀ , μM)
IV-1		4.69
IV-2		5.13

IV-3		4.07
IV-4		2.54
IV-5		2.36
IV-6		2.71
IV-7		1.78
IV-8		1.21
奥西替尼		10.15

1、一种如通式I所示的化合物或其药学上可接受的盐，



(I)

式I中，

A 环为 5 至 18 元环，或，A 环不存在；

X 为-O-、-S-、-N(R₄)-或-(CHR₄)_n-, n 为 0 或 1；

R₁ 选自：芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基和杂环烷基；

R₂ 选自：氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₄、-C(O)OR₄、-C(O)NR₄R₅、-CH=NR₄、-CN、-OR₄、-OC(O)R₄、-S(O)_t-R₄、-NR₄R₅、-NR₄C(O)R₅、-NO₂、-N=CR₄R₅ 和卤素；

R₃ 每次出现时独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₄、-C(O)OR₄、-C(O)NR₄R₅、-CH=NR₄、-CN、-OR₄、-OC(O)R₄、-S(O)_t-R₄、-NR₄R₅、-NR₄C(O)R₅、-NO₂、-N=CR₄R₅ 和卤素；

m 为 0-3 的整数；

t 为 1、2 或 3；

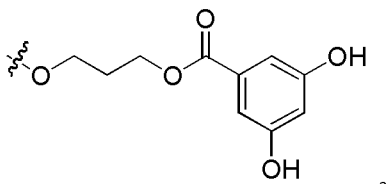
R₄ 和 R₅ 分别独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、芳基、芳香族或非芳香族杂环基、烷氧基、芳氧基和卤素；

并且，通式I所示的化合物结构中含有至少一个酸性取代基，所述酸性取代基含有至少一个酸性官能团；

优选地，所述酸性官能团选自：酚羟基、羧基、磺酸基和磷酸基中的一种或多种；

更优选地，所述酸性取代基选自：羟基苯基、羧基苯基、磺酸基苯基、磷酸基苯基、羟基苯甲酰氧基取代烷基、磺酸基取代烷基、羧基取代烷基、磷酸基取代烷基、磺酸基苯基取代烷基、羧基苯基取代烷基、磷酸基苯基取代烷基、羟基苯甲酰氧基取代烷氧基、磺酸基取代烷氧基、羧基取代烷氧基、磷酸基取代烷氧基、磺酸基苯基取代烷氧基、羧基苯基取代烷氧基和磷酸基苯基取代烷氧基中的一种或多种；

更进一步优选地，所述化合物的结构中含有至少一个如下结构的取代基：

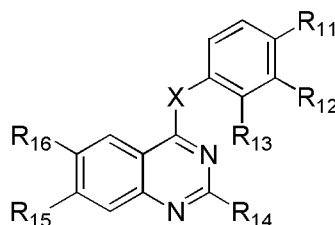


2、如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，所述 A 环为芳环，优选为苯环，其与相连的嘧啶环形成喹唑啉环结构；或，

所述 A 环为杂芳环，优选为单杂原子五元芳环，更优选为吡咯环、呋喃环或噻吩环，其与嘧啶环稠合形成五元单杂芳环[3,2-d]并嘧啶环结构；或，

所述 A 环不存在。

3、如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有通式II所示结构：



(II)

式II中，X 为-O-、-S-、-N(R₁₇)-或-(CHR₁₇)_n-，n 为 0 或 1；

R₁₁、R₁₂ 和 R₁₃ 独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₁₇、-C(O)OR₁₇、-C(O)NR₁₇R₁₈、-CH=NR₁₇、-CN、-OR₁₇、-OC(O)R₁₇、-S(O)_t-R₁₇、-NR₁₇R₁₈、-NR₁₇C(O)R₁₈、-NO₂、-N=CR₁₇R₁₈ 和卤素；

R₁₄ 选自：氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₁₇、-C(O)OR₁₇、-C(O)NR₁₇R₁₈、-CH=NR₁₇、-CN、-OR₁₇、-OC(O)R₁₇、-S(O)_t-R₁₇、-NR₁₇R₁₈、-NR₁₇C(O)R₁₈、-NO₂、-N=CR₁₇R₁₈ 和卤素；

R₁₅ 和 R₁₆ 独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₁₇、-C(O)OR₁₇、-C(O)NR₁₇R₁₈、-CH=NR₁₇、-CN、-OR₁₇、-OC(O)R₁₇、-S(O)_t-R₁₇、-NR₁₇R₁₈、-NR₁₇C(O)R₁₈、-NO₂、-N=CR₁₇R₁₈ 和卤素；或 R₁₅ 和 R₁₆ 与其所连接的苯环形成任意取代的稠环体系；

t 为 1、2 或 3；

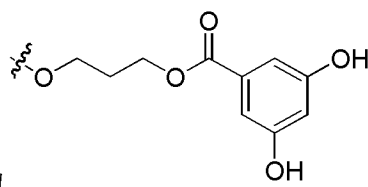
R₁₇ 和 R₁₈ 独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、芳基、芳香族或非芳香族杂环基、烷氧基、芳氧基、卤素和氨基；

R₁₉ 为亚烷基；

并且, R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 和 R_{16} 中至少一个含有酸性官能团。

4、如权利要求 3 所述的化合物, 其特征在于, 所述 R_{15} 含有至少一个酸性官能团;

优选地, 所述 R_{15} 选自: 羟基苯基、羧基苯基、磺酸基苯基、磷酸基苯基、羟基苯甲酰氧基取代烷基、磺酸基取代烷基、羧基取代烷基、磷酸基取代烷基、磺酸基苯基取代烷基、羧基苯基取代烷基、磷酸基苯基取代烷基、羟基苯甲酰氧基取代烷氧基、磺酸基取代烷氧基、羧基取代烷氧基、磷酸基取代烷氧基、磺酸基苯基取代烷氧基、羧基苯基取代烷氧基和磷酸基苯基取代烷氧基;



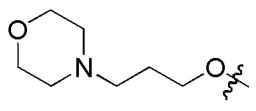
更优选地, 所述 R_{15} 为

5、如权利要求 3 或 4 所述的化合物, 其特征在于, 所述 X 为 -NH-;

所述 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 独立地选自: 氢、卤素、 $-\text{NO}_2$ 、烯基、炔基、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_x\text{Ar}$, x 为 0 或 1, Ar 为芳基或杂环基; 优选地, 所述 R_{11} 为 F, R_{12} 为 Cl, R_{13} 为氢;

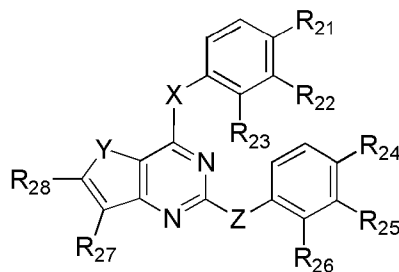
所述 R_{14} 选自: 氢、烷基、 $-\text{CN}$ 和卤素; 优选地, 所述 R_{14} 为氢;

所述 R_{16} 为 $-\text{OR}_{19}-\text{R}_{18}$, 其中 R_{19} 为亚甲基、亚乙基、亚丙基或亚丁基, R_{18} 选自: 芳香族或非芳香族杂环基、烷氧基、芳氧基和取代的氨基; 优选地, 所述 R_{16} 选自: 3-(4-吗啉基)丙氧基、3-(1-哌嗪基)丙氧基、3,3-二甲氨基丙氧基、3-(1-吡咯烷基)丙氧基、3-(1-哌啶基)丙氧基、3-(4-哌啶基)丙氧基、甲氧乙氧基和乙氧乙氧基, 更优选为



或, 所述 R_{16} 为 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}_{18}$, 其中 R_{18} 选自: 取代或未取代的烯基, 所述烯基上的取代基选自: 芳香族或非芳香族杂环基、烷氧基和取代的氨基, 优选地, 所述 R_{16} 选自: 4-甲氧基-2-丁烯酰胺基、4-吡咯烷基-2-丁烯酰胺基、4-二甲氨基-2-丁烯酰胺基和 4-哌啶基-2-丁烯酰胺基。

6、如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 所述化合物具有通式 III 所示结构:



(III)

式III中,

X 为-O-、-S-、-N(R₂₉)-或-(CHR₂₉)_n-, n 为 0 或 1;

Y 为-O-、-S-或-N(R₂₉)-;

Z 为-O-、-S-或-N(R₂₉)-;

R₂₁、R₂₂ 和 R₂₃ 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₂₉、-C(O)OR₂₉、-C(O)NR₂₉R₂₈、-CH=NR₂₉、-CN、-OR₂₉、-OC(O)R₂₉、-S(O)_t-R₂₉、-NR₂₉R₂₁₀、-NR₂₉C(O)R₂₁₀、-NO₂、-N=CR₂₉R₂₁₀ 和 卤素;

R₂₄、R₂₅ 和 R₂₆ 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₂₉、-C(O)OR₂₉、-C(O)NR₂₉R₂₈、-CH=NR₂₉、-CN、-OR₂₉、-OC(O)R₂₉、-S(O)_t-R₂₉、-NR₂₉R₂₁₀、-NR₂₉C(O)R₂₁₀、-NO₂、-N=CR₂₉R₂₁₀ 和 卤素;

R₂₇ 和 R₂₈ 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₂₉、-C(O)OR₂₉、-C(O)NR₂₉R₂₈、-CH=NR₂₉、-CN、-OR₂₉、-OC(O)R₂₉、-S(O)_t-R₂₉、-NR₂₉R₂₁₀、-NR₂₉C(O)R₂₁₀、-NO₂、-N=CR₂₉R₂₁₀ 和 卤素;
R₂₇ 和 R₂₈ 与其所连接的杂环形成任意取代的稠环体系;

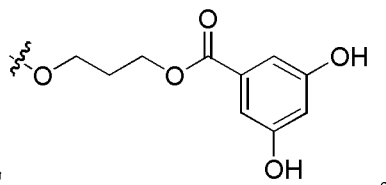
t 为 1、2 或 3;

R₂₉ 和 R₂₁₀ 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、芳基、芳香族或非芳香族杂环基、烷氧基、芳氧基、卤素和氨基;

并且, R₂₁、R₂₂、R₂₃、R₂₄、R₂₅、R₂₆、R₂₇ 和 R₂₈ 中至少一个含有酸性官能团。

7、如权利要求 6 所述的化合物, 其特征在于, 所述 R₂₆ 含有至少一个酸性官能团;

优选地, 所述 R₂₆ 选自: 羟基苯基、羧基苯基、磺酸基苯基、磷酸基苯基、羟基苯甲酰氧基取代烷基、磺酸基取代烷基、羧基取代烷基、磷酸基取代烷基、磺酸基苯基取代烷基、羧基苯基取代烷基、磷酸基苯基取代烷基、羟基苯甲酰氧基取代烷氧基、磺酸基取代烷氧基、羧基取代烷氧基、磷酸基取代烷氧基、磺酸基苯基取代烷氧基、羧基苯基取代烷氧基和磷酸基苯基取代烷氧基;



更优选地, 所述 R₂₆ 为

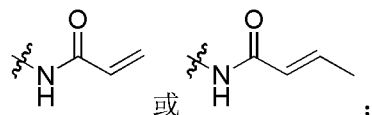
8、如权利要求 6 或 7 所述的化合物, 其特征在于, 所述 X 为-NH-或-O-;

所述 Y 为-S-;

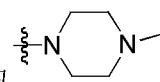
所述 Z 为-NH-;

所述 R₂₁ 和 R₂₃ 独立地选自: 氢、烷基和卤素; 优选地, 所述 R₂₁ 为氢, R₂₃ 为氢;

所述 R₂₂ 为-NHC(O)R₂₁₀、其中, R₂₁₀ 为取代或未取代的烯基; 优选地, 所述 R₂₂ 为



所述 R₂₄ 为杂环基, 优选为取代的含氮非芳香杂环基, 其上取代基选自: 烷基、酰基和杂环基, 优选地, 所述 R₂₄ 选自: 4-(1-乙酰基)哌嗪基、4-(1-甲基)哌嗪基、4-(1-吡咯烷基)哌嗪基、4-(1-哌啶基)哌嗪基和 4-甲基哌嗪基-1-哌啶基, 最优选为

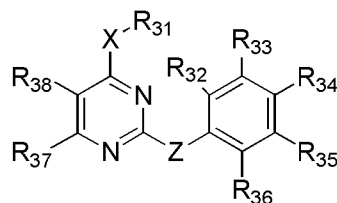


或, 所述 R₂₄ 为-NR₂₇R₂₈, R₂₇ 和 R₂₈ 独立地选自: 氢和取代或未取代的烷基, 优选为 N,N-二甲氨基或 N¹,N¹,N²-三甲基乙二胺基;

所述 R₂₅ 为氢;

所述 R₂₇ 和 R₂₈ 独立地选自: 氢、烷基和卤素; 优选地, 所述 R₂₇ 为氢, R₂₈ 为氢。

9、如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 所述化合物具有通式IV所示结构:



(IV)

式IV中,

X 为-O-、-S-、-N(R₃₉)-或-(CHR₃₉)_n-, n 为 0 或 1;

Z 为-O-、-S-或-N(R₃₉)-;

R₃₁ 为氢、取代或未取代的芳基或杂环基;

R₃₂、R₃₃、R₃₄、R₃₅ 和 R₃₆ 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或非芳香族杂环基、杂环烷基、-COR₃₉、-C(O)OR₃₉、-C(O)NR₃₉R₃₁₀、-CH=NR₃₉、-CN、-OR₃₉、-OC(O)R₃₉、-S(O)_t-R₃₉、-NR₃₉R₃₁₀、-NR₃₉C(O)R₃₁₀、-NO₂、-N=CR₃₉R₃₁₀ 和 卤素;

R₃₇ 和 R₃₈ 独立地选自: 氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳香族或

非芳香族杂环基、杂环烷基、 $-\text{COR}_{39}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{39}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_{39}\text{R}_{310}$ 、 $-\text{CH}=\text{NR}_{39}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OR}_{39}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}_{39}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_t-\text{R}_{39}$ 、 $-\text{NR}_{39}\text{R}_{310}$ 、 $-\text{NR}_{39}\text{C}(\text{O})\text{R}_{310}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{N}=\text{CR}_{39}\text{R}_{310}$ 和卤素；

t 为 1、2 或 3；

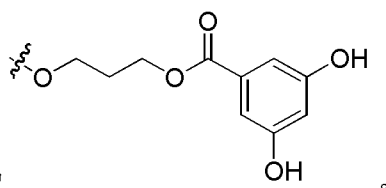
R_{39} 和 R_{310} 独立地选自：氢、烷基、环烷基、烯基、芳基、芳香族或非芳香族杂环基、烷氧基、芳氧基、卤素和氨基；

并且， R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 、 R_{34} 、 R_{35} 、 R_{36} 、 R_{37} 和 R_{38} 中至少一个含有酸性官能团；

优选地，所述酸性官能团选自：酚羟基、羧基、磺酸基和磷酸基中的一种或多种。

10、如权利要求 9 所述的化合物，其特征在于，所述 R_{36} 含有至少一个酸性官能团；

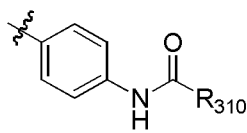
优选地，所述 R_{36} 选自：羟基苯基、羧基苯基、磺酸基苯基、磷酸基苯基、羟基苯甲酰氧基取代烷基、磺酸基取代烷基、羧基取代烷基、磷酸基取代烷基、磺酸基苯基取代烷基、羧基苯基取代烷基、磷酸基苯基取代烷基、羟基苯甲酰氧基取代烷氧基、磺酸基取代烷氧基、羧基取代烷氧基、磷酸基取代烷氧基、磺酸基苯基取代烷氧基、羧基苯基取代烷氧基和磷酸基苯基取代烷氧基；

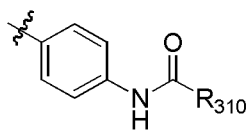


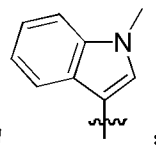
更优选地，所述 R_{36} 为

11、如权利要求 9 或 10 所述的化合物，其特征在于，所述 X 为 $-(\text{CHR}_{39})_n-$ ， n 为 0；

所述 Z 为 $-\text{NH}-$ ；

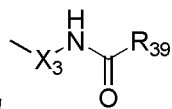


所述 R_{31} 为取代的芳基，优选为 ，其中， R_{310} 为取代或未取代的烯基，所述烯基上的取代基选自：烷氧基、杂环基和取代的氨基，优选地，所述 R_{31} 选自：3-丙烯酰胺基苯基、3-(4-甲氧基-2-丁烯酰胺基)苯基、3-(4-哌啶基-2-丁烯酰胺基)苯基、3-(4-吡咯烷基-2-丁烯酰胺基)苯基、3-(4-二甲氨基-2-丁烯酰胺基)苯基；或，所述 R_{31} 为取代或未取代的杂环基，优选为吡唑[1,5-a]吲哚基或取代的吲哚基，所述吲哚

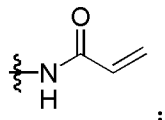


基上的取代基选自：氢、烷基和酰基，更优选地，所述 R_{31} 为

所述 R_{32} 为氢；



所述 R_{33} 为 $\text{X}_3\text{N}(\text{H})\text{C}(=\text{O})\text{R}_{39}$ ，其中 X_3 为 $-\text{NH}-$ 或 $-\text{O}-$ ， R_{39} 为取代或未取代的烯基，所述烯基上的取代基选自：烷氧基、杂环基和取代的氨基，优选地，所述 R_{33} 选自：丙烯酰氧基、丙烯酰胺基、4-甲氧基-2-丁烯酰氧基、4-甲氧基-2-丁烯酰胺基、4-哌啶基-2-丁烯酰氧基、4-哌啶基-2-丁烯酰胺基、4-吡咯烷基-2-丁烯酰氧基、4-吡咯烷基-2-丁烯酰胺基、4-二甲胺基-2-丁烯酰氧基和 4-二甲胺基-2-丁烯酰胺基，更优选地，所述 R_{33} 为

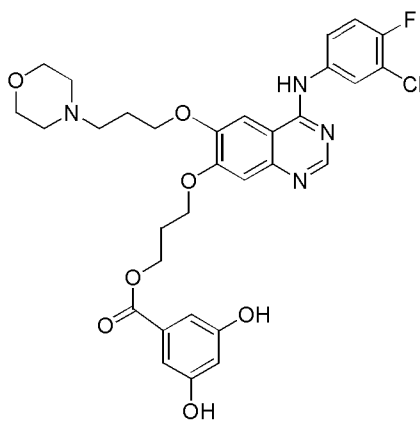


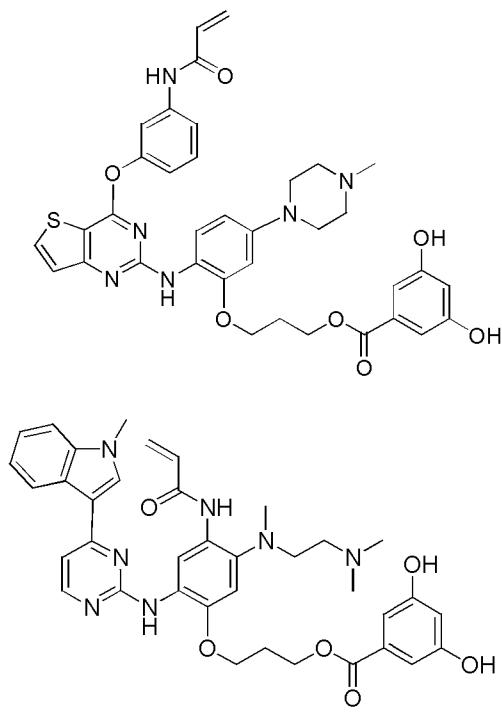
所述 R_{35} 为氢；

所述 R_{34} 为取代或未取代的杂环基，优选为取代的含氮非芳香杂环基，其上取代基选自：烷基、酰基和杂环基，优选地，所述 R_{34} 选自：4-(1-乙酰基)哌嗪基、4-(1-甲基)哌嗪基、4-(1-吡咯烷基)哌嗪基、4-(1-哌啶基)哌嗪基和 4-甲基哌嗪基-1-哌啶基；或，所述 R_{34} 为 $-\text{NR}_{27}\text{R}_{28}$ ，其中 R_{27} 和 R_{28} 独立地选自：氢和取代或未取代的烷基，优选为 N,N -二甲氨基或 $\text{N}^1, \text{N}^1, \text{N}^2$ -三甲基乙二胺基；

所述 R_{37} 和 R_{38} 独立地选自：氢、卤素、硝基、氰基和三氟甲基；优选地，所述 R_{37} 为氢， R_{38} 为氢。

12、如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，所述化合物选自如下结构：





13、一种权利要求 1-12 任一项所述化合物的制备方法，其包括向具有 EGFR 抑制活性的化合物结构中引入至少一个酸性官能团的步骤。

14、一种权利要求 1-12 任一项所述化合物或其药学上可接受的盐的立体异构体、几何异构体、互变异构体、消旋体、溶剂化物、水合物、代谢前体和前药。

15、一种药物组合物，其包含权利要求 1-12 任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、或权利要求 14 所述的立体异构体、几何异构体、互变异构体、消旋体、溶剂化物、水合物、代谢前体或前药，以及一种或多种药学上可接受的辅料。

16、一种权利要求 1-12 任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、或权利要求 14 所述的立体异构体、几何异构体、互变异构体、消旋体、溶剂化物、水合物、代谢前体或前药，或权利要求 15 所述的药物组合物在制备预防和/或治疗与受体酪氨酸蛋白激酶有关的疾病和病症的药物中的应用；

优选地，所述与受体酪氨酸蛋白激酶有关的疾病和病症为肿瘤，优选自：肺癌、胰腺癌、乳腺癌或结肠癌，更优选为肺癌，最优选为非小细胞肺癌。

WO 2020/228635

PCT/CN2020/089390

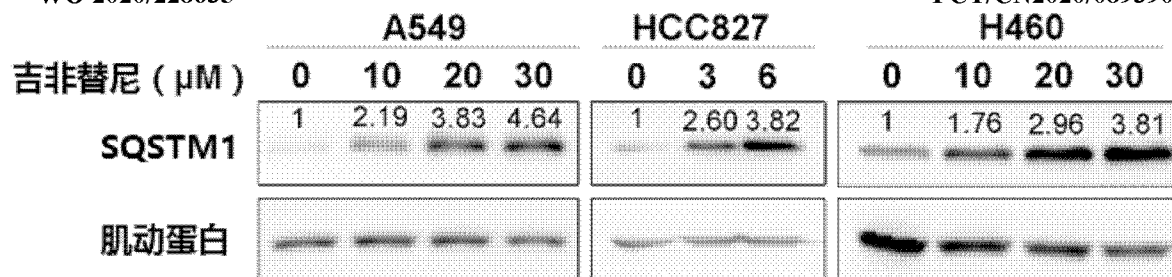


图 1

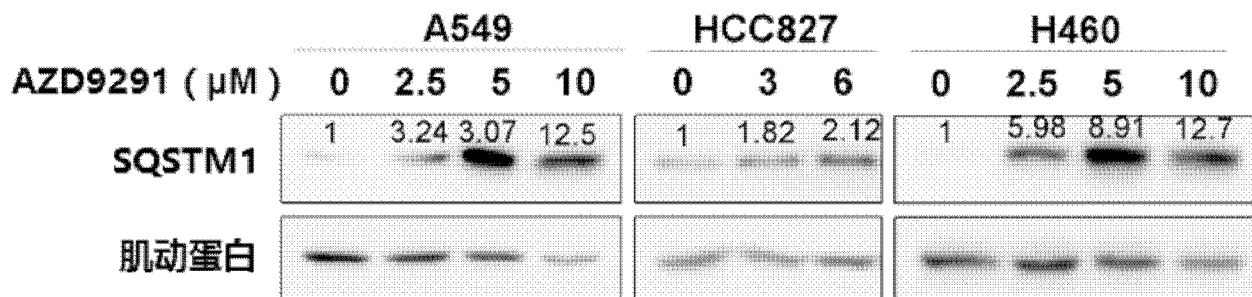


图 2

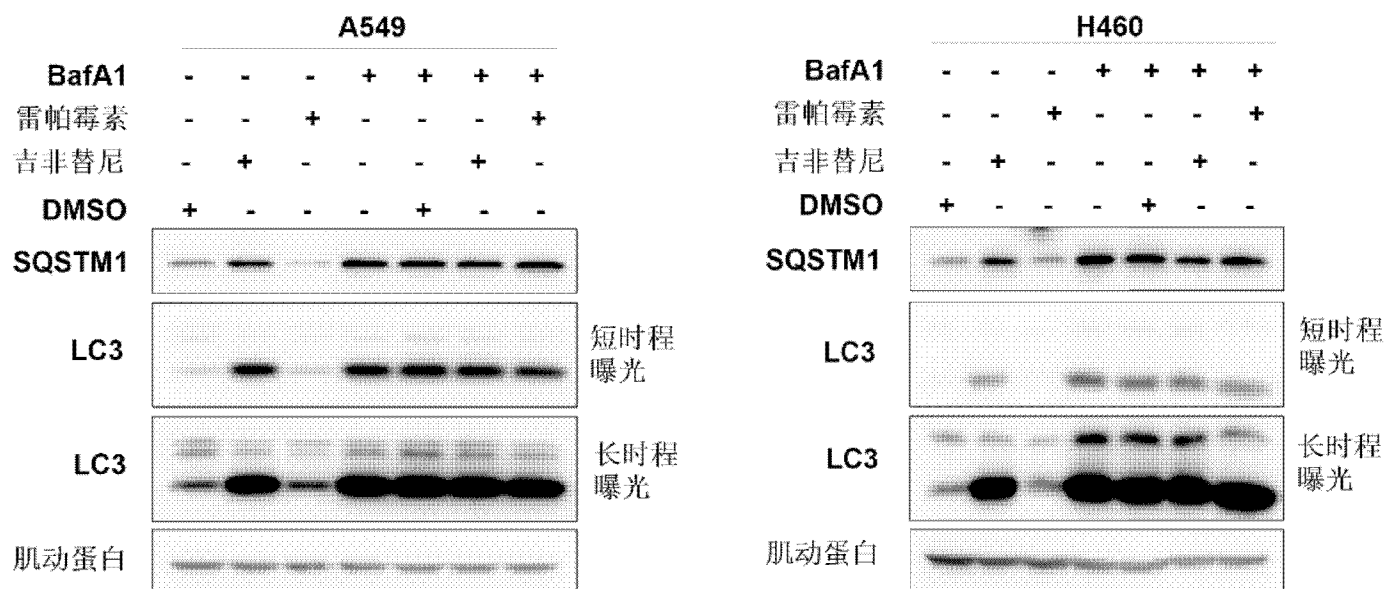


图 3

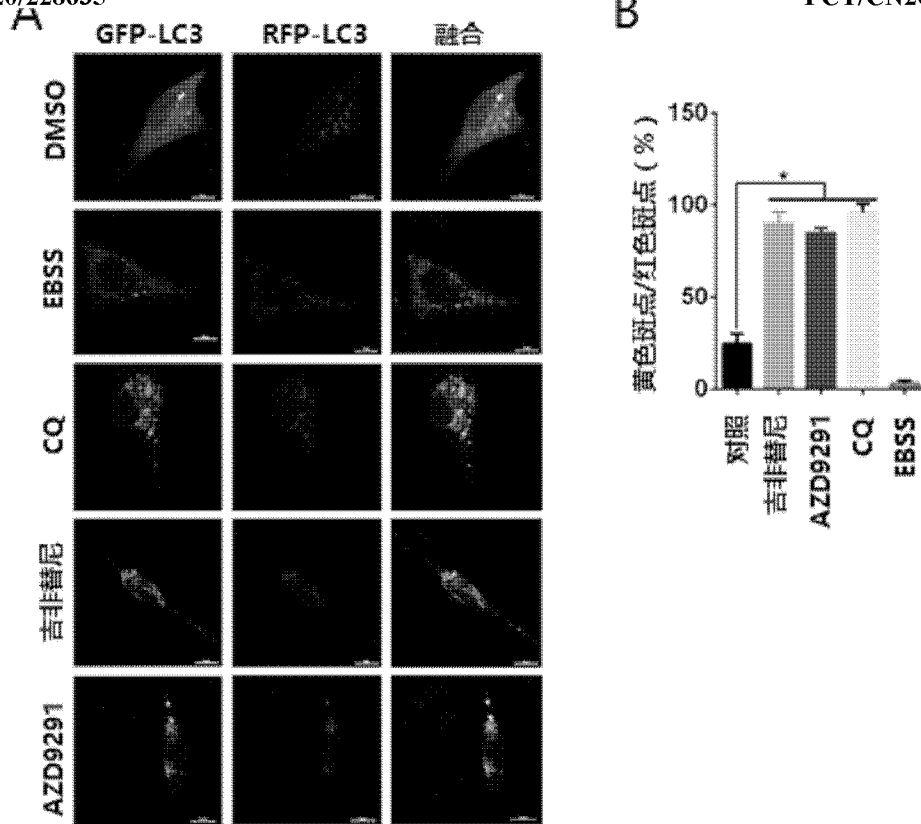


图 4

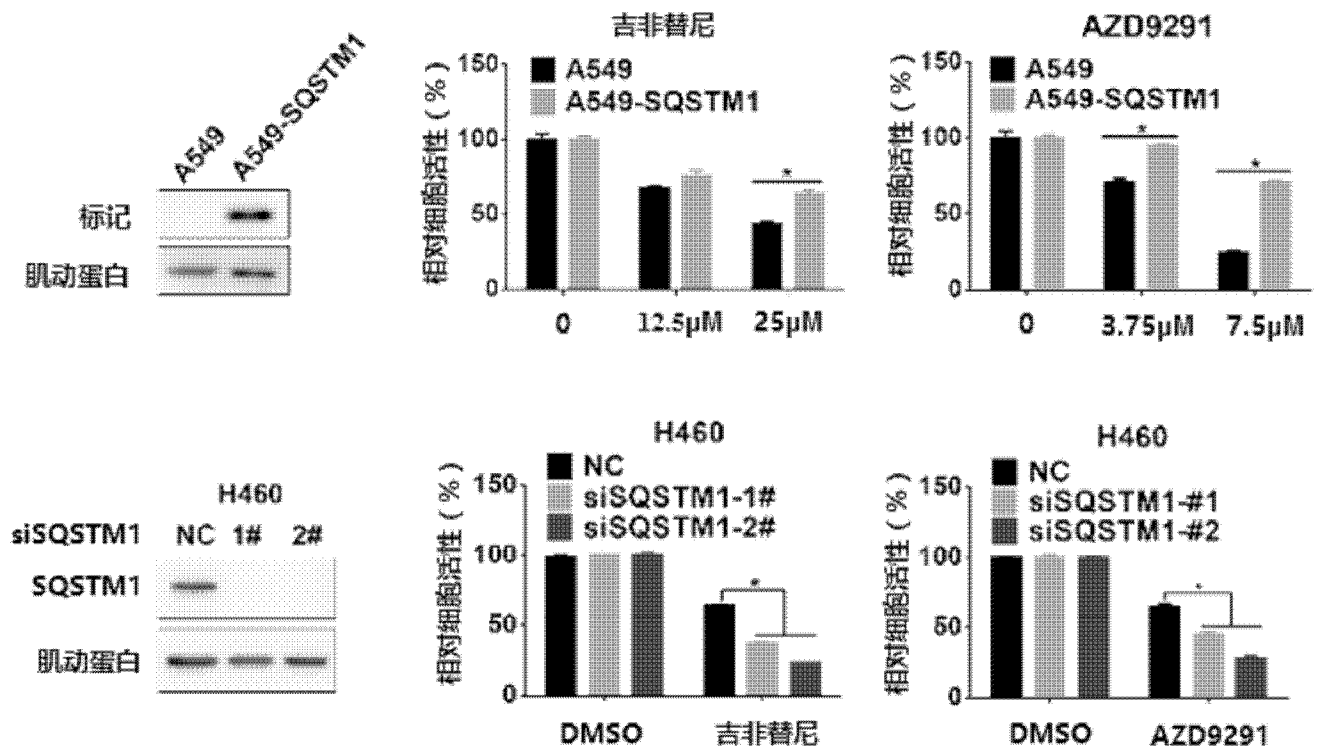
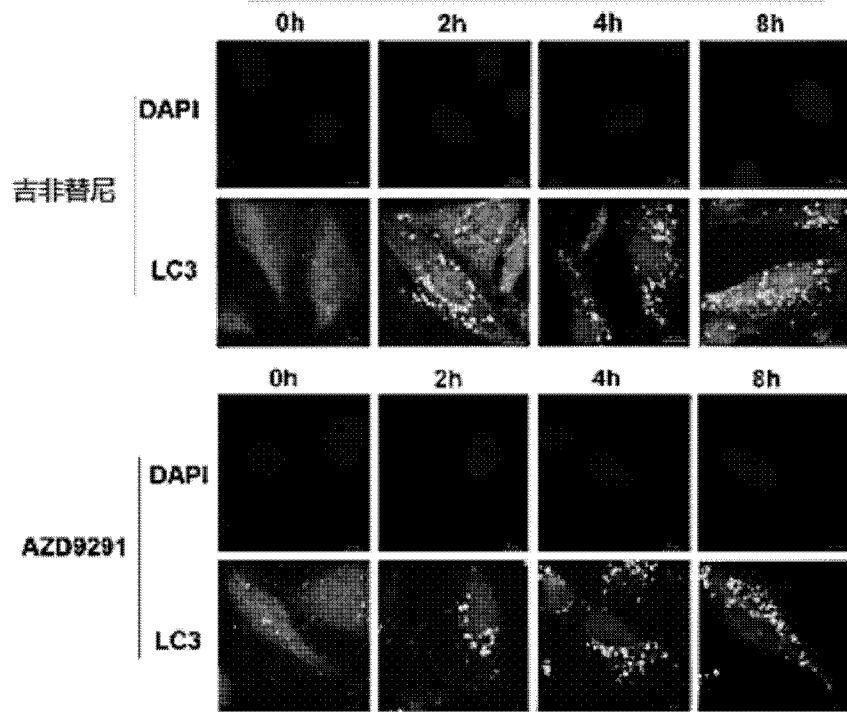


图 5



B

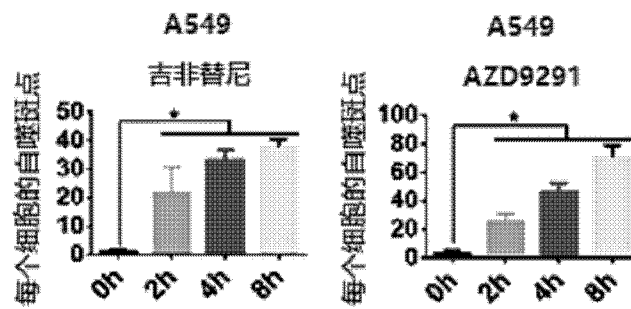


图 6

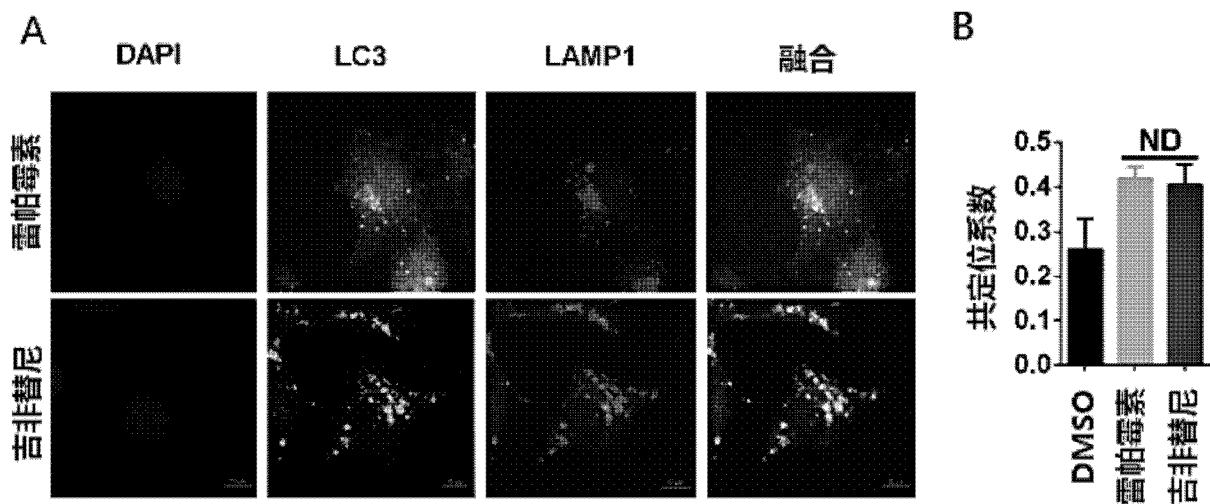


图 7

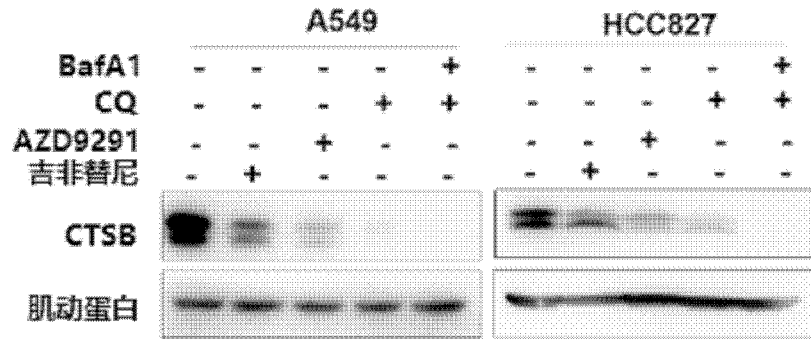


图 8

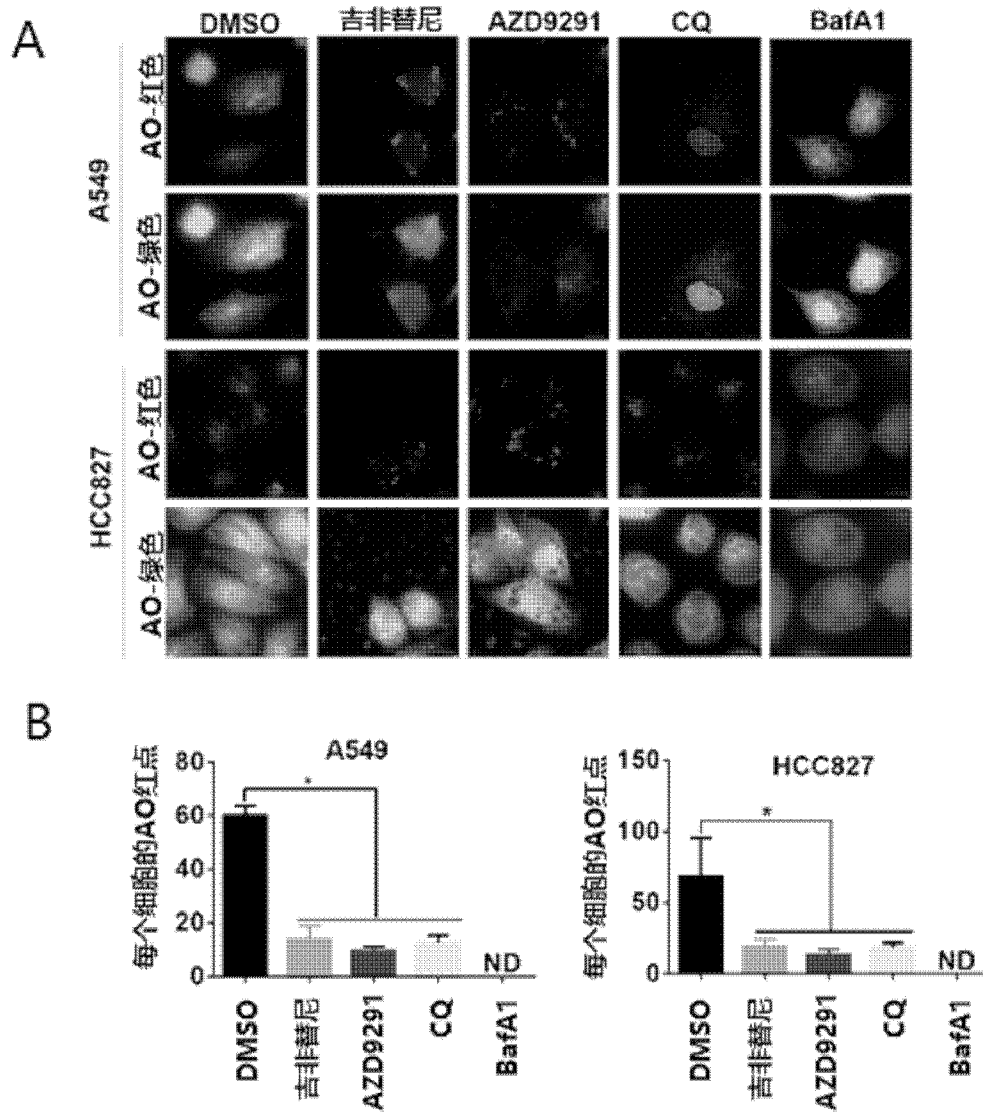


图 9

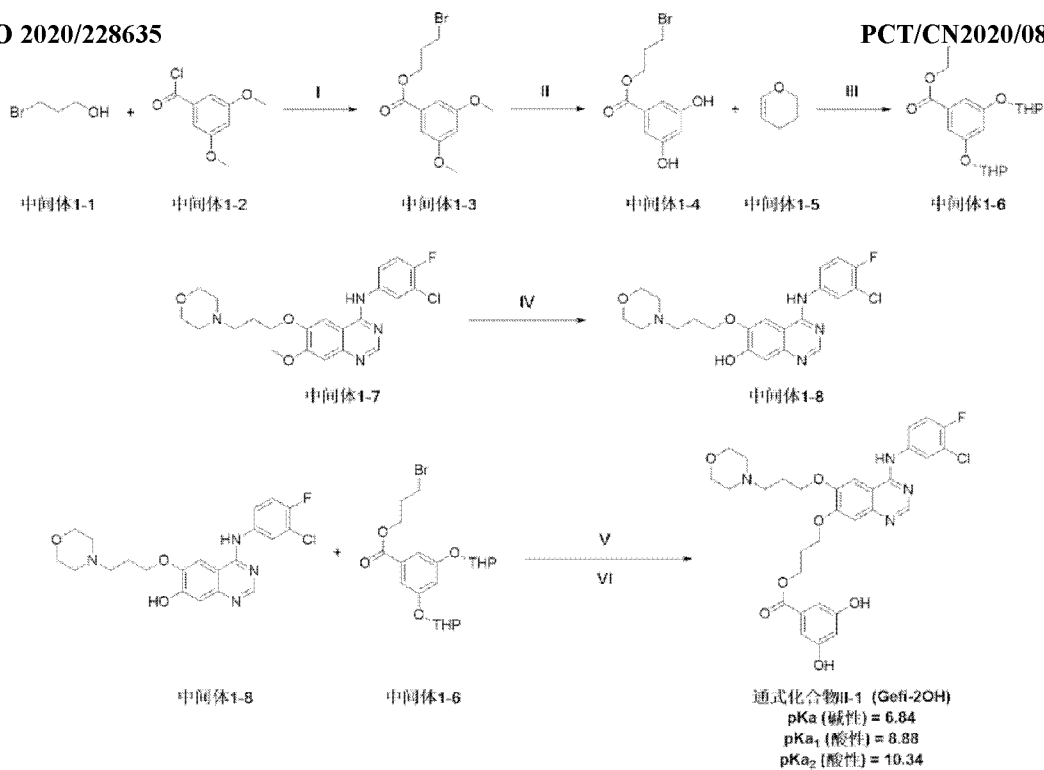


图 10

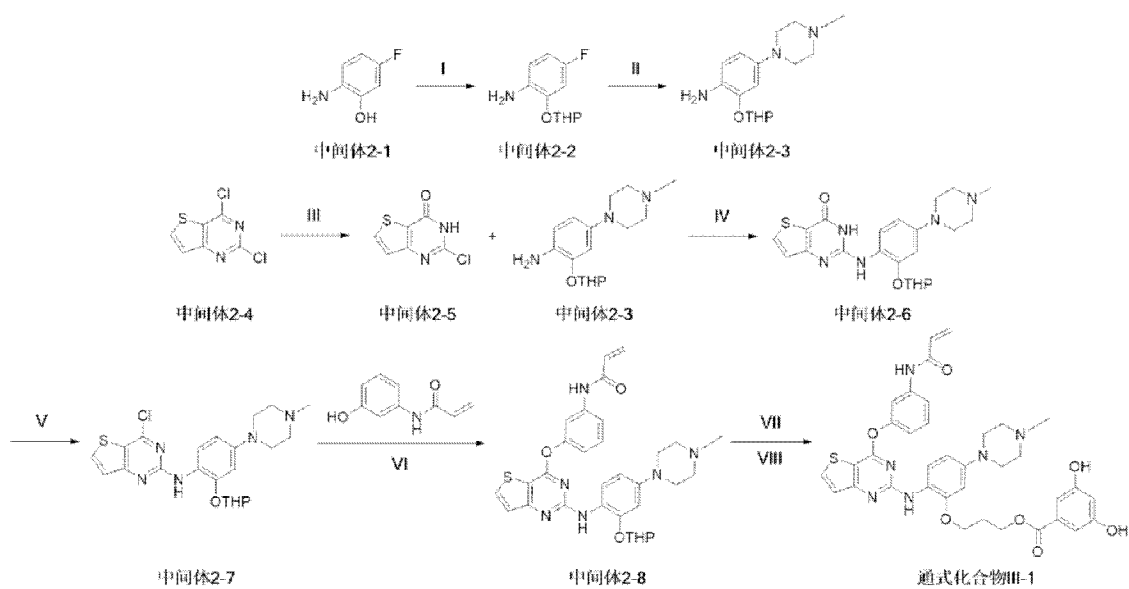


图 11

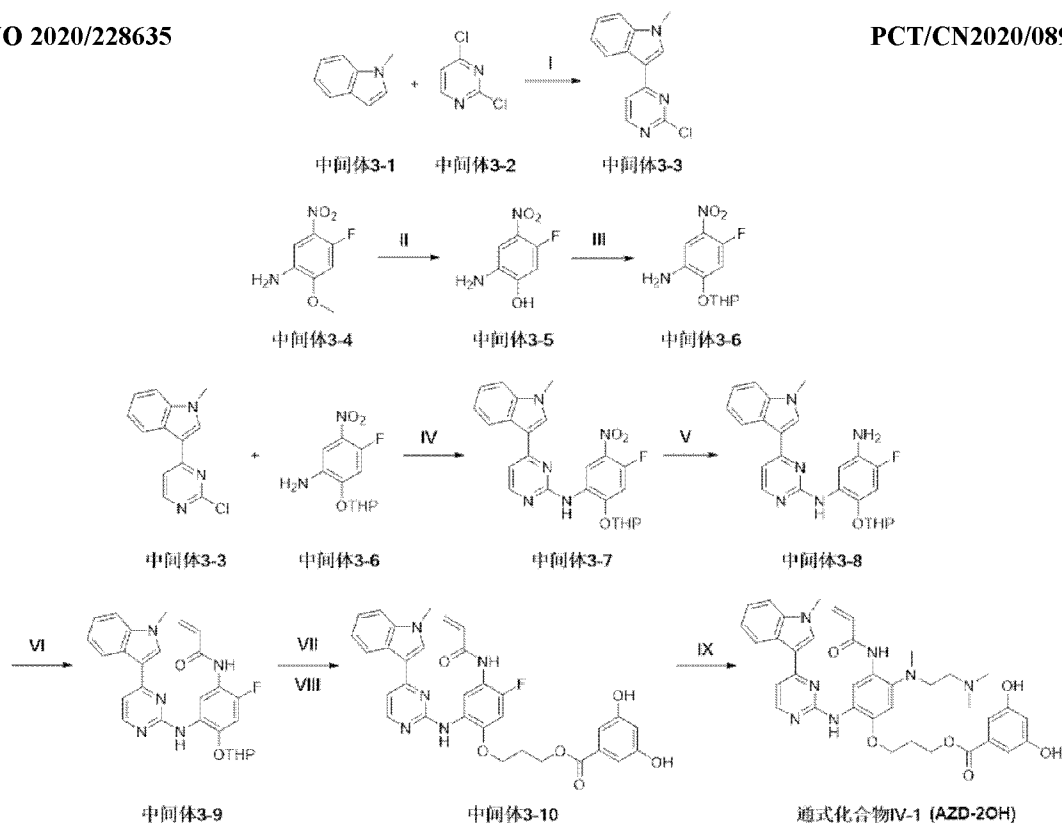


图 12

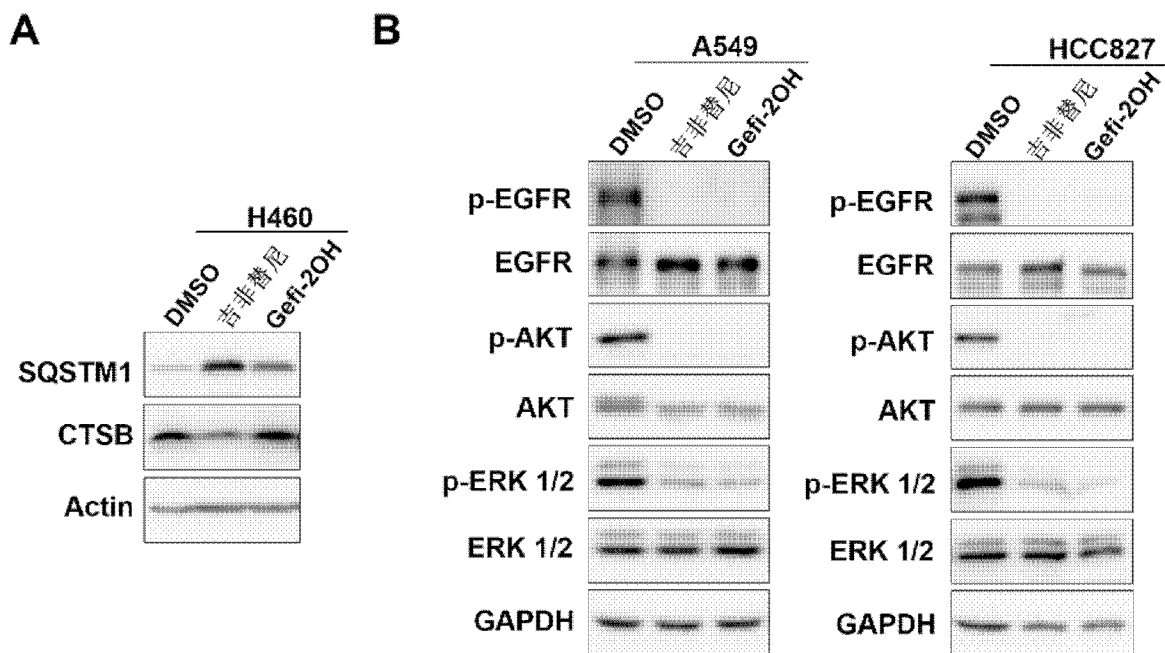
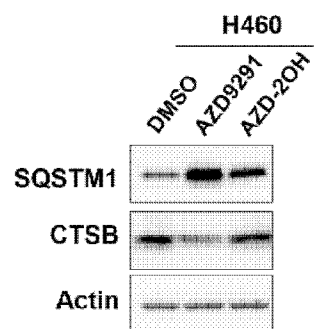


图 13

A



B

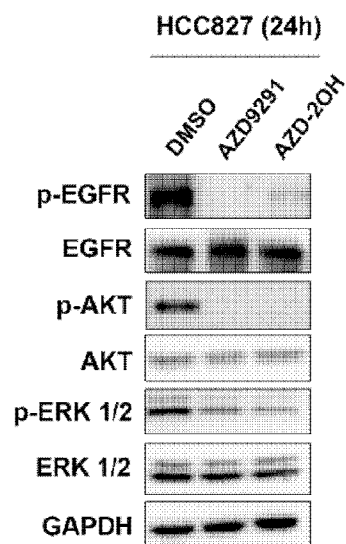


图 14

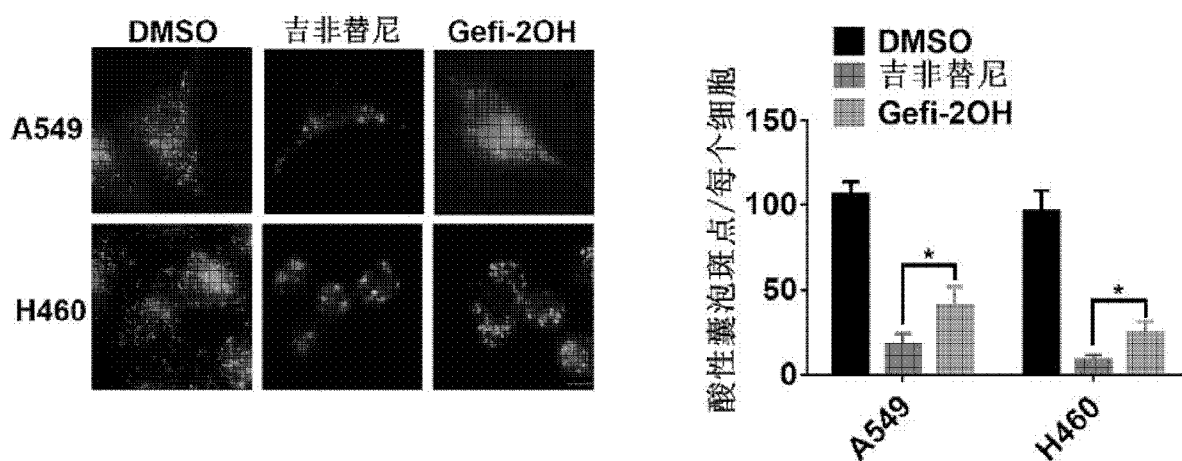


图 15

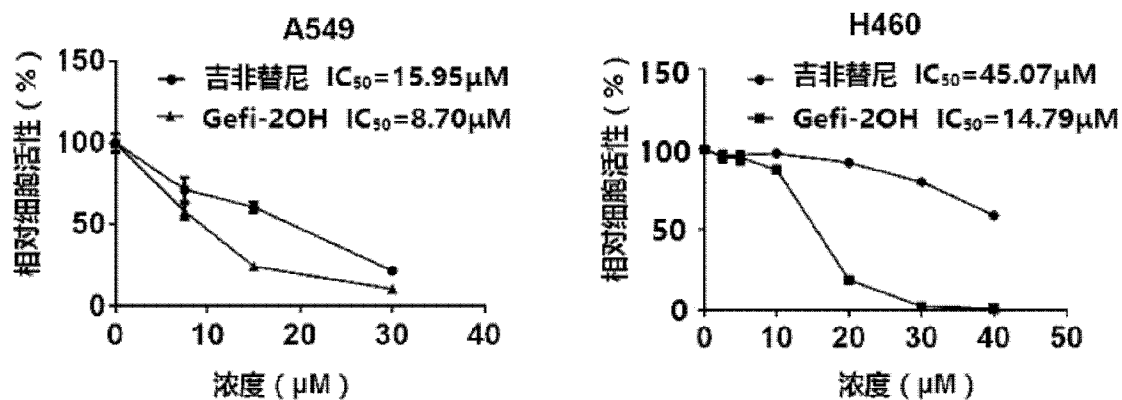


图 16

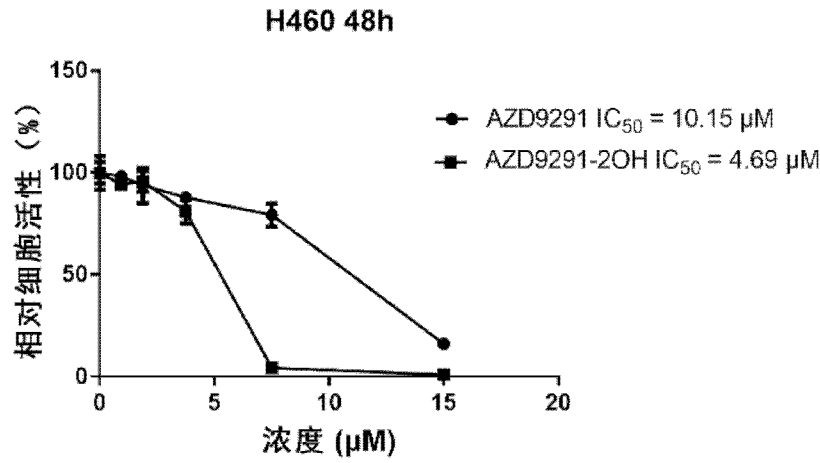


图 17

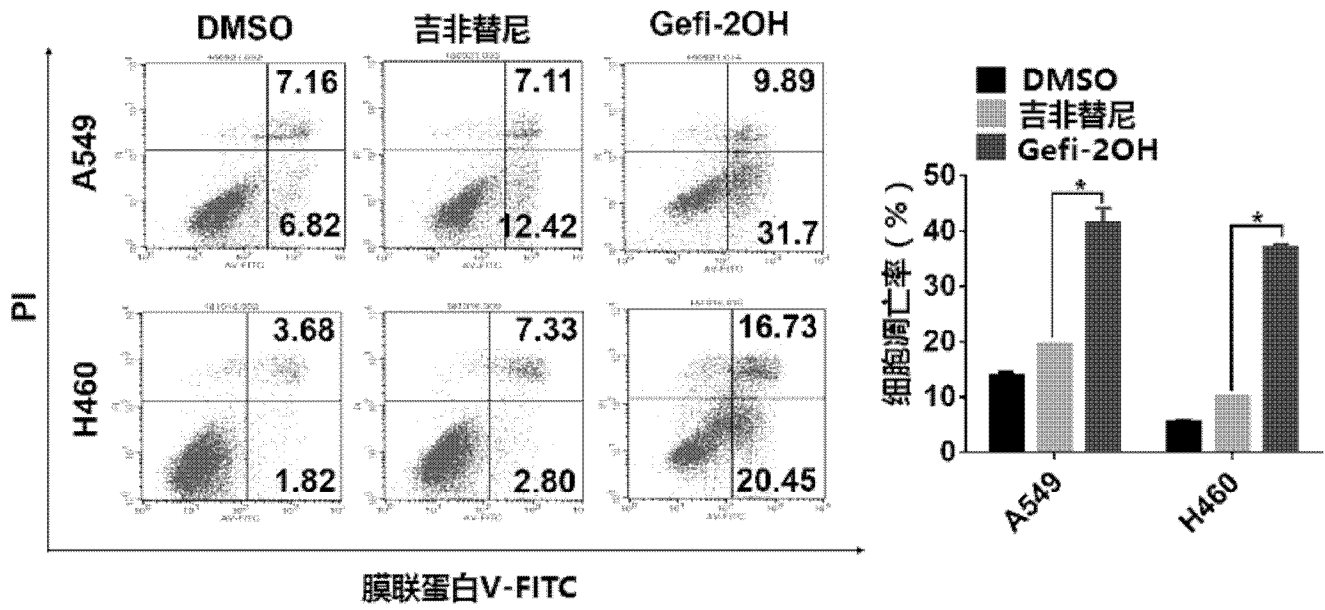


图 18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/089390

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 413/12(2006.01)i; C07D 417/12(2006.01)i; C07D 403/04(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i; A61K 31/517(2006.01)i; A61K 31/519(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D413/-;C07D417/-;C07D403/-, A61K31/-,A61P35/-

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

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

CNABS; VEN; CNKI; REG; CAPLUS; 酸性基团, 癌症, 肿瘤, EGFR, cancer, tumor, search according to the structure of structure formula in claim 3, 6, 9

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 103102342 A (GUANGDONG HEC PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 15 May 2013 (2013-05-15) description, pages 94-95, embodiments 27-28, claims 1, 13-20	1-3, 5, 13-16
A	CN 103102342 A (GUANGDONG HEC PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 15 May 2013 (2013-05-15) description, pages 94-95, embodiments 27-28, claims 1, 13-20	4, 12
X	CN 102775356 A (JIANGSU HENGYI PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al.) 14 November 2012 (2012-11-14) description, page 9, paragraphs [0092]-[0093], communication method 1, pages 16-17 specific embodiment 17	1-3, 5, 13
X	ZHANG, Xuan et al. "The design and synthesis of a new class of RTK/HDAC dual-targeted inhibitors" <i>Molecules</i> , Vol. 18, 03 June 2013 (2013-06-03), pages 6491-6503, in particular page 6494, process 1, page 6495, table 2	1-3, 5, 13-16



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 July 2020

Date of mailing of the international search report

24 July 2020

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/089390

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PRAJAPATI, Bhavesh et al. "Synthesis and preliminary in-vitro cytotoxic activity of morpholino propoxy quinazoline derivatives" <i>International Journal of ChemTech Research</i> , Vol. 6, No. 1., 31 December 2014 (2014-12-31), pages 547-555, in particular tables 1-5, compound VIII	1-3, 5, 13-15
X	CN 102947316 A (HANMI SCIENCE CO., LTD.) 27 February 2013 (2013-02-27) description, pages 29, 33, 35, 74 and 75, claims 4-10	1, 2, 6, 8, 13-16
A	CN 102947316 A (HANMI SCIENCE CO., LTD.) 27 February 2013 (2013-02-27) description pages 29, 33, 35, 74 and 75, claims 4-10	7, 12
X	CN 108017620 A (BEIJING CREATRON INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL RESEARCH CO., LTD.) 11 May 2018 (2018-05-11) claim 2	1, 2, 9, 11
X	CN 107793413 A (BINJIANG PHARMA, INC.) 13 March 2018 (2018-03-13) description page 14 embodiment 1 and page 28 embodiment 13	1, 2, 9
X	CN 106995437 A (QILU PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 01 August 2017 (2017-08-01) description page 39, claims 2-9	1, 2, 9, 11, 13-16
A	CN 106995437 A (QILU PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 01 August 2017 (2017-08-01) description page 39, claims 2-9	10, 12
X	CN 108558832 A (ZHEJIANG SHUREN UNIVERSITY) 21 September 2018 (2018-09-21) claims 1 and 2	1, 2, 9, 13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/089390

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	103102342	A	15 May 2013	CN	103102342	B	29 October 2014
CN	102775356	A	14 November 2012	EP	2708532	A1	19 March 2014
				WO	2012155806	A1	22 November 2012
				EP	2708532	A4	01 October 2014
				US	9034886	B2	19 May 2015
				CN	102775356	B	22 July 2015
				US	2014235633	A1	21 August 2014
CN	102947316	A	27 February 2013	WO	2011162515	A3	03 May 2012
				SI	2975042	T1	28 February 2019
				NZ	627709	A	24 December 2014
				JP	5834347	B2	16 December 2015
				CN	105061438	A	18 November 2015
				US	2013116213	A1	09 May 2013
				RS	55783	B1	31 July 2017
				HR	P20170456	T1	19 May 2017
				RS	58265	B1	29 March 2019
				KR	20110139653	A	29 December 2011
				EP	2975042	B1	03 October 2018
				AU	2011269989	A1	07 February 2013
				HK	1211575	A1	27 May 2016
				SG	186378	A1	30 January 2013
				MX	342164	B	19 September 2016
				MY	162132	A	31 May 2017
				TW	201204364	A	01 February 2012
				RU	2014147193	A	10 July 2015
				CY	1118750	T1	12 July 2017
				HR	P20190012	T1	22 February 2019
				RU	2598852	C2	27 September 2016
				AR	096075	A2	02 December 2015
				BR	122014012788	A2	13 August 2019
				JP	5852173	B2	03 February 2016
				EP	2585470	A4	01 January 2014
				CA	2803056	C	16 May 2017
				TW	1513701	B	21 December 2015
				SI	2585470	T1	31 March 2017
				HU	E042165	T2	28 June 2019
				ZA	201209742	B	26 March 2014
				HU	E032515	T2	28 September 2017
				EP	2585470	A2	01 May 2013
				RU	2585177	C2	27 May 2016
				PT	2585470	T	06 March 2017
				KR	101587506	B1	25 January 2016
				KR	20140060473	A	20 May 2014
				AU	2011269989	B2	11 December 2014
				TW	1528962	B	11 April 2016
				IL	232382	A	29 December 2016
				US	8957065	B2	17 February 2015
				CA	2803056	A1	29 December 2011
				AU	2011269989	A8	28 February 2013
				US	2016229868	A1	11 August 2016

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/089390

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
				CN 102947316 B	10 August 2016
				EP 2975042 A1	20 January 2016
				MX 2012014601 A	21 February 2013
				JP 2014159473 A	04 September 2014
				UA 111272 C2	11 April 2016
				US RE46511 E	15 August 2017
CN	108017620	A	11 May 2018	None	
CN	107793413	A	13 March 2018	None	
CN	106995437	A	01 August 2017	None	
CN	108558832	A	21 September 2018	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/089390

A. 主题的分类

C07D 413/12(2006.01)i; C07D 417/12(2006.01)i; C07D 403/04(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i; A61K 31/517(2006.01)i; A61K 31/519(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07D413/-;C07D417/-;C07D403/-, A61K31/-, A61P35/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS;VEN;CNKI; REG;CAPLUS;酸性基团, 癌症, 肿瘤, EGFR, cancer, tumor, 根据权利要求3、6和9的结构式进行了结构式检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 103102342 A (广东东阳光药业有限公司) 2013年 5月 15日 (2013 - 05 - 15) 说明书第94-95页实施例27-28, 权利要求1、13-20	1-3、5、13-16
A	CN 103102342 A (广东东阳光药业有限公司) 2013年 5月 15日 (2013 - 05 - 15) 说明书第94-95页实施例27-28, 权利要求1、13-20	4、12
X	CN 102775356 A (江苏恒谊药业有限公司等) 2012年 11月 14日 (2012 - 11 - 14) 说明书第9页第[0092]-[0093]段通法一和第16-17页实施例17	1-3、5、13
X	ZHANG, Xuan等. "The design and synthesis of a new class of RTK/HDAC dual-targeted inhibitors" Molecules, 第18卷, 2013年 6月 3日 (2013 - 06 - 03), 第 6491-6503页, 尤其是第6494页流程1和第6495页表2	1-3、5、13-16
X	PRAJAPATI, Bhavesh等. "Synthesis and preliminary in-vitro cytotoxic activity of morpholino propoxy quinazoline derivatives" International Journal of ChemTech Research, 第6卷, 第1期, 2014年 12月 31日 (2014 - 12 - 31), 第547-555页, 尤其是表1-5化合物VIII	1-3、5、13-15
X	CN 102947316 A (韩美科学株式会社) 2013年 2月 27日 (2013 - 02 - 27) 说明书第29、33、35、74和75页, 权利要求4-10	1、2、6、8、13-16

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2020年 7月 17日

国际检索报告邮寄日期

2020年 7月 24日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

受权官员

徐赤

电话号码 62086349

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 102947316 A (韩美科学株式会社) 2013年 2月 27日 (2013 - 02 - 27) 说明书第29、33、35、74和75页, 权利要求4-10	7、12
X	CN 108017620 A (北京睿创康泰医药研究院有限公司) 2018年 5月 11日 (2018 - 05 - 11) 权利要求2	1、2、9、11
X	CN 107793413 A (天津滨江药物研发有限公司) 2018年 3月 13日 (2018 - 03 - 13) 说明书第14页实施例1和第28页实施例13	1、2、9
X	CN 106995437 A (齐鲁制药有限公司) 2017年 8月 1日 (2017 - 08 - 01) 说明书第39页, 权利要求2-9	1、2、9、11、13-16
A	CN 106995437 A (齐鲁制药有限公司) 2017年 8月 1日 (2017 - 08 - 01) 说明书第39页, 权利要求2-9	10、12
X	CN 108558832 A (浙江树人学院) 2018年 9月 21日 (2018 - 09 - 21) 权利要求1-2	1、2、9、13

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/089390

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	103102342	A	2013年 5月 15日	CN	103102342	B	2014年 10月 29日
CN	102775356	A	2012年 11月 14日	EP	2708532	A1	2014年 3月 19日
				WO	2012155806	A1	2012年 11月 22日
				EP	2708532	A4	2014年 10月 1日
				US	9034886	B2	2015年 5月 19日
				CN	102775356	B	2015年 7月 22日
				US	2014235633	A1	2014年 8月 21日
CN	102947316	A	2013年 2月 27日	WO	2011162515	A3	2012年 5月 3日
				SI	2975042	T1	2019年 2月 28日
				NZ	627709	A	2014年 12月 24日
				JP	5834347	B2	2015年 12月 16日
				CN	105061438	A	2015年 11月 18日
				US	2013116213	A1	2013年 5月 9日
				RS	55783	B1	2017年 7月 31日
				HR	P20170456	T1	2017年 5月 19日
				RS	58265	B1	2019年 3月 29日
				KR	20110139653	A	2011年 12月 29日
				EP	2975042	B1	2018年 10月 3日
				AU	2011269989	A1	2013年 2月 7日
				HK	1211575	A1	2016年 5月 27日
				SG	186378	A1	2013年 1月 30日
				MX	342164	B	2016年 9月 19日
				MY	162132	A	2017年 5月 31日
				TW	201204364	A	2012年 2月 1日
				RU	2014147193	A	2015年 7月 10日
				CY	1118750	T1	2017年 7月 12日
				HR	P20190012	T1	2019年 2月 22日
				RU	2598852	C2	2016年 9月 27日
				AR	096075	A2	2015年 12月 2日
				BR	122014012788	A2	2019年 8月 13日
				JP	5852173	B2	2016年 2月 3日
				EP	2585470	A4	2014年 1月 1日
				CA	2803056	C	2017年 5月 16日
				TW	1513701	B	2015年 12月 21日
				SI	2585470	T1	2017年 3月 31日
				HU	E042165	T2	2019年 6月 28日
				ZA	201209742	B	2014年 3月 26日
				HU	E032515	T2	2017年 9月 28日
				EP	2585470	A2	2013年 5月 1日
				RU	2585177	C2	2016年 5月 27日
				PT	2585470	T	2017年 3月 6日
				KR	101587506	B1	2016年 1月 25日
				KR	20140060473	A	2014年 5月 20日
				AU	2011269989	B2	2014年 12月 11日
				TW	1528962	B	2016年 4月 11日
				IL	232382	A	2016年 12月 29日
				US	8957065	B2	2015年 2月 17日
				CA	2803056	A1	2011年 12月 29日
				AU	2011269989	A8	2013年 2月 28日
				US	2016229868	A1	2016年 8月 11日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/089390

检索报告引用的专利文件				公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
					CN 102947316 B	2016年 8月 10日
					EP 2975042 A1	2016年 1月 20日
					MX 2012014601 A	2013年 2月 21日
					JP 2014159473 A	2014年 9月 4日
					UA 111272 C2	2016年 4月 11日
					US RE46511 E	2017年 8月 15日
CN	108017620	A	2018年 5月 11日	无		
CN	107793413	A	2018年 3月 13日	无		
CN	106995437	A	2017年 8月 1日	无		
CN	108558832	A	2018年 9月 21日	无		