(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 120004887 A
(43)申请公布日 2025.05.16

(21)申请号 202510105110.2

(22)申请日 2020.11.20

(66)本国优先权数据
201911147956.3 2019.11.21 CN
202010837381.4 2020.08.19 CN

(62)分案原申请数据
202080066108.4 2020.11.20

(71)申请人 江苏恒瑞医药股份有限公司
地址 222047 江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路7号
申请人 上海恒瑞医药有限公司

(72)发明人 李心 董怀德 白东栋 贺峰 陶维康

(51)Int.Cl.
C07D 471/04(2006.01)
C07D 487/04(2006.01)
A61K 31/5377(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)

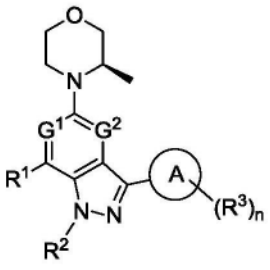
权利要求书8页 说明书47页

(54)发明名称

吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法及其在医药上的应用

(57)摘要

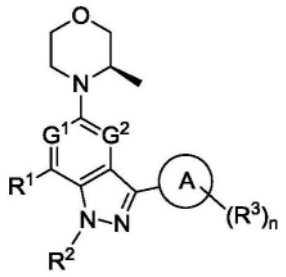
本公开涉及吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法及其在医药上的应用。具体而言，本公开涉及一种通式(I)所示的吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法及含有该衍生物的药物组合物以及其作为治疗剂的用途，特别是作为ATR激酶抑制剂的用途和用于制备治疗和/或预防过度增殖性疾病的药物中的用途。通式(I)中各基团的定义与说明书中相同。



(I)

CN 120004887 A

1.一种通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐：



(I)

其中：

G^1和G^2相同或不同,各自独立地为CH或N,条件是G^1和G^2不同时为CH；

环A为杂芳基；

R^1选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、$-NR^4R^5$、$-CONR^4R^5$、$-SO_2NR^4R^5$、$-R^6N-CO-NR^4R^5$、$-COOR^7$、$-SO_2R^7$、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、$-NR^4R^5$、$-CONR^4R^5$、$-SO_2NR^4R^5$、$-R^6N-CO-NR^4R^5$、$-COOR^7$、$-SO_2R^7$、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

R^2选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

R^3选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

R^4和R^5相同或不同,且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

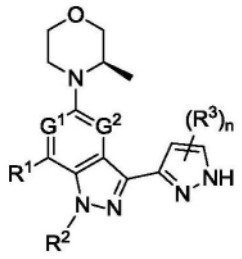
R^6选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

R^7选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

n为0、1、2或3。

2.根据权利要求1中所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,其中环A选自吡唑基、吡咯基和咪唑基。

3.根据权利要求1或2中所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,其为通式(II)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐：

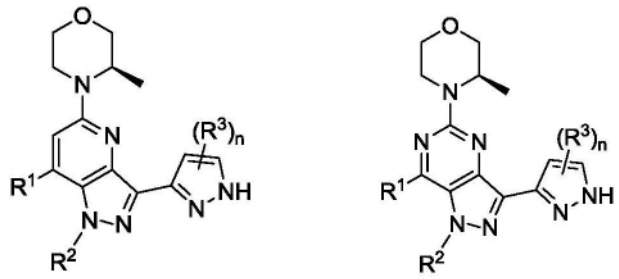


(II)

其中：

G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如权利要求1中所定义。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其为通式(III)或通式(IV)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐：



(III) 或 (IV)

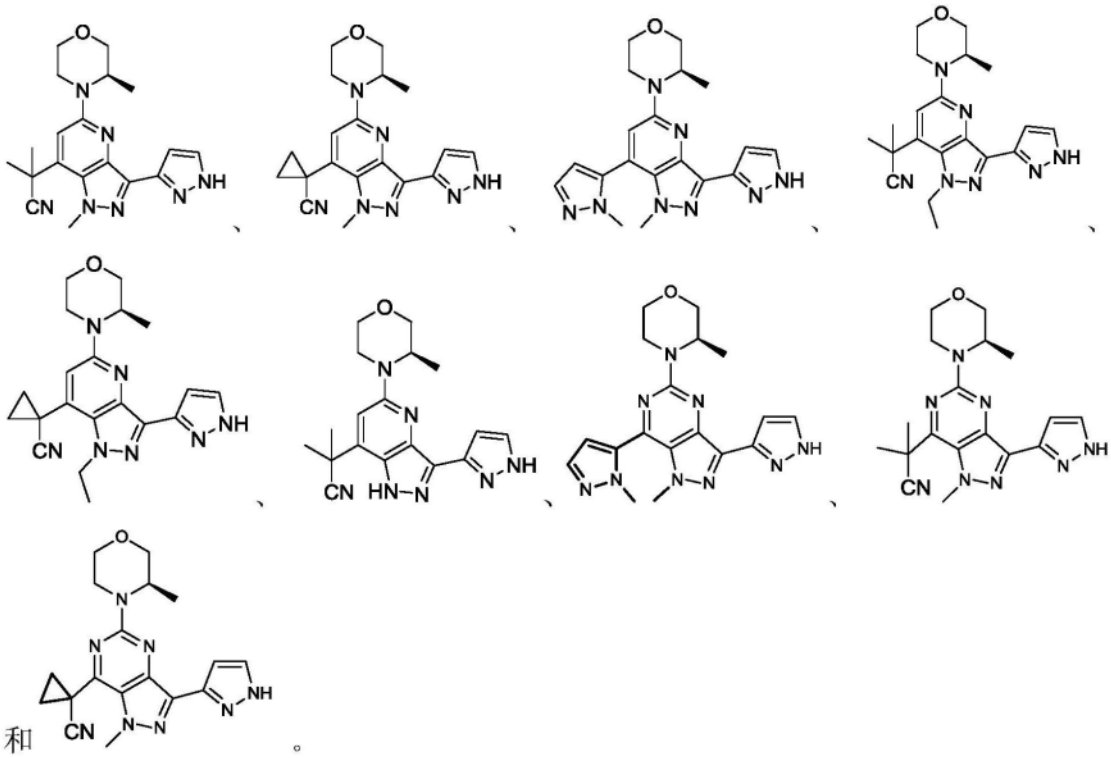
其中：R^1、R^2、R^3和n如权利要求1中所定义。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其中R^1选自烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其中R^2为氢原子或烷基；优选为烷基。

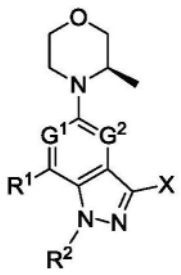
7.根据权利要求1至6中任一项所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其中R^3为氢原子。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其选自以下任一化合物：



和 。

9.一种通式(IA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，



(IA)

其中：

X为卤素；优选为Br；

G^1和G^2相同或不同，各自独立地为CH或N，条件是G^1和G^2不同时为CH；

R^1选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、-NR^4R^5、-$CONR^4R^5$、-$SO_2NR^4R^5$、-R^6N-CO-NR^4R^5、-$COOR^7$、-SO_2R^7、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、-NR^4R^5、-$CONR^4R^5$、-$SO_2NR^4R^5$、-R^6N-CO-NR^4R^5、-$COOR^7$、-SO_2R^7、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

R^2选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

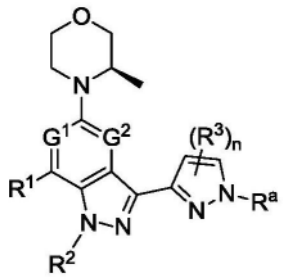
R^4和R^5相同或不同，且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟基、氨基、环烷基、杂

环基、芳基和杂芳基；

R^6选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

R^7选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。

10.一种通式(IIA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，



(IIA)

其中：

R^a为氨基保护基；

G^1和G^2相同或不同，各自独立地为CH或N，条件是G^1和G^2不同时为CH；

R^1选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、$-NR^4R^5$、$-CONR^4R^5$、$-SO_2NR^4R^5$、$-R^6N-CO-NR^4R^5$、$-COOR^7$、$-SO_2R^7$、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、$-NR^4R^5$、$-CONR^4R^5$、$-SO_2NR^4R^5$、$-R^6N-CO-NR^4R^5$、$-COOR^7$、$-SO_2R^7$、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

R^2选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

R^3选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

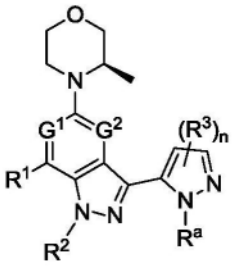
R^4和R^5相同或不同，且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

R^6选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

R^7选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

n为0、1、2或3。

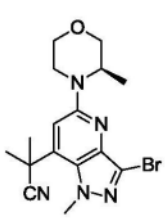
11.一种通式(IIGA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，



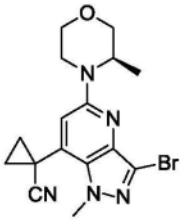
(IIGA)

其中:G^1、G^2、R^1、R^2、R^3、R^a和n如权利要求10中所定义。

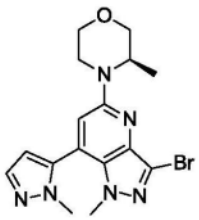
12.根据权利要求9所述的通式(IA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,其选自以下任一化合物:



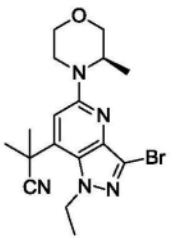
1h、



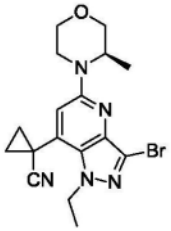
2b、



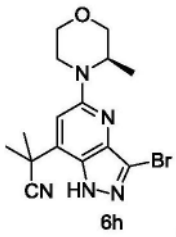
3b、



4h、

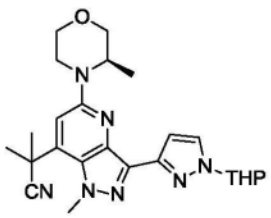


5b 和

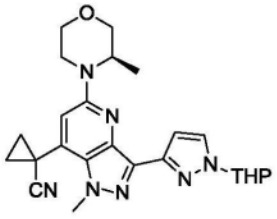


6h。

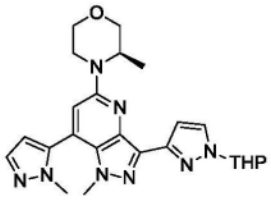
13.根据权利要求10所述的通式(IIA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,其选自以下任一化合物:



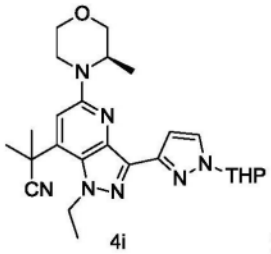
1i、



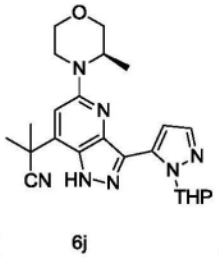
2c、



3c、

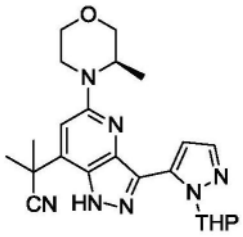


4i 和



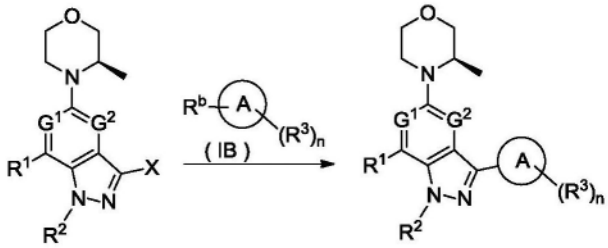
6j。

14.根据权利要求11所述的通式(IIGA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,其选自以下化合物:



6j

15.一种制备根据权利要求1所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:

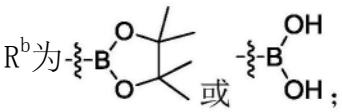


(IA) (I)

通式(IA)的化合物和通式(IB)的化合物发生偶联反应,得到通式(I)的化合物,

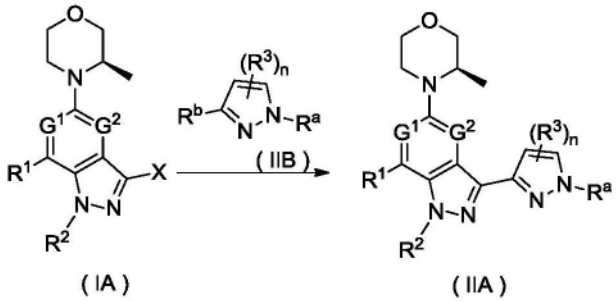
其中:

X为卤素;优选为Br;

R^b为;

环A、G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如权利要求1中所定义。

16.一种制备根据权利要求10所述的通式(IIA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:



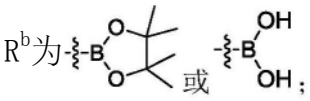
(IA) (IIA)

通式(IA)的化合物和通式(IIB)的化合物发生偶联反应,得到通式(IIA)的化合物,

其中:

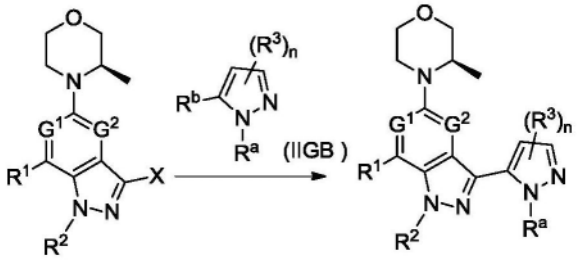
X为卤素;优选为Br;

R^a为氨基保护基;

R^b为;

G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如权利要求10中所定义。

17.一种制备通式(IIGA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:

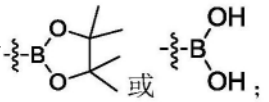


(IA)　　(IIGA)

通式(IA)的化合物和通式(IIGB)的化合物发生偶联反应,得到通式(IIGA)的化合物,其中:

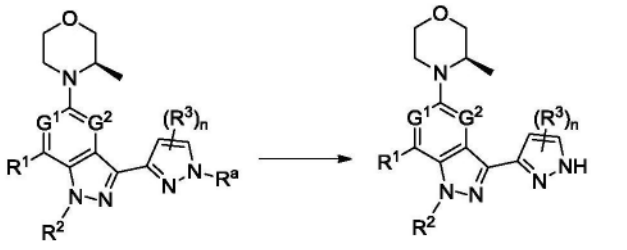
X为卤素;优选为Br;

R^a为氨基保护基;

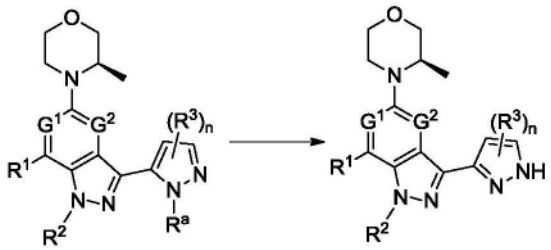
R^b为;

G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如权利要求11中所定义。

18.一种制备通式(II)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:



(IIA)　　(II)　　或



(IIGA)　　(II)

通式(IIA)的化合物或者通式(IIGA)的化合物脱去氨基保护基,得到通式(II)的化合物,其中:

R^a为氨基保护基;

G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如权利要求3中所定义。

19.一种药物组合物,所述药物组合物含有根据权利要求1至8中任一项所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

20.根据权利要求1至8中任一项所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐或根据权利要求19所述的药物组合物在制备用于抑制ATR激酶的药物中的用途。

21.根据权利要求1至8中任一项所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐或根据权利要求19所述的药物组合物在制备用于治疗和/或预防过度增殖性疾病的药物中的用途。

22.根据权利要求1至8中任一项所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐或根据权利要求19所述的药物组合物在制备用于治疗和/或预防肿瘤的药物中的用途。

吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法及其在医药上的应用

[0001] 本申请是申请号为202080066108.4,申请日为2020年11月20日,发明名称为“吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法及其在医药上的应用”的中国专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本公开属于医药领域,涉及一种通式(I)所示的吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法、含有该衍生物的药物组合物以及其作为治疗剂的用途,特别是作为ATR激酶抑制剂的用途和在用于制备治疗和/或预防过度增殖性疾病的药物中的用途。

背景技术

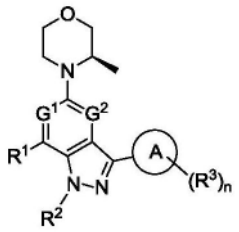
[0003] 无论是正常细胞还是肿瘤细胞中,每天都会出现成千上万次DNA的损伤。这使得DNA损伤修复在维持基因组的稳定性和细胞存活方面起到至关重要的作用。相比较于正常细胞,肿瘤细胞承受了更大的复制压力,携带更多的内源性DNA损伤,并且经常出现一个或多个DNA损伤修复通路的缺失。这使得肿瘤细胞的存活更加依赖于DNA损伤修复的顺利进行。

[0004] 同源重组修复是DNA双链断裂的主要修复方式,以未受损的姐妹染色单体的同源序列作为其修复的模板复制受损处的DNA序列,精确修复DNA。这种修复方式主要发生在细胞的G2期和S期。ATR是同源重组修复通路中的关键酶,属于PIKK家族。当ATR/ATRIP复合物与覆盖了复制蛋白A(RPA)的受损DNA结合后,ATR被激活并通过磷酸化下游蛋白Chk1和SMARCAL等,调节细胞周期各个检查点,引起细胞周期阻滞;保证受损DNA的稳定性;提高dNTP浓度,促使DNA损伤得以修复。细胞周期S期中出现的DNA损伤修复主要由ATR通路完成,说明ATR对于保证细胞增殖非常重要。对于临床肿瘤样品的分析结果表明在多种肿瘤组织中,例如胃癌、肝癌、结直肠癌、卵巢癌、胰腺癌等,均观察到ATR表达水平升高。并且在卵巢癌、胰腺癌病人中,高水平的ATR往往伴随着较低的存活率。由此可见ATR是一个重要的肿瘤治疗的靶标。

[0005] 现已公开的ATR抑制剂的专利申请包括WO2010071837、WO2011154737、WO2016020320、WO2016130581、WO2017121684、WO2017118734、WO2018049400、WO2019050889和WO2014140644等。

发明内容

[0006] 本公开的目的在于提供一种通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐:

[0007] 

(I)

[0008] 其中：

[0009] G^1和G^2相同或不同，各自独立地为CH或N，条件是G^1和G^2不同时为CH；

[0010] 环A为杂芳基；

[0011] R^1选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、-NR^4R^5、-$CONR^4R^5$、-$SO_2NR^4R^5$、-R^6N-CO-NR^4R^5、-$COOR^7$、-SO_2R^7、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、-NR^4R^5、-$CONR^4R^5$、-$SO_2NR^4R^5$、-R^6N-CO-NR^4R^5、-$COOR^7$、-SO_2R^7、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

[0012] R^2选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

[0013] R^3选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

[0014] R^4和R^5相同或不同，且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

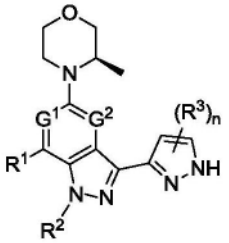
[0015] R^6选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

[0016] R^7选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

[0017] n为0、1、2或3。

[0018] 在本公开的一些实施方案中，所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其中环A选自吡唑基、吡咯基和咪唑基。

[0019] 在本公开一些优选的实施方案中，所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其为通式(II)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐：

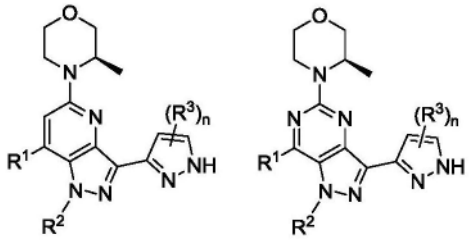
[0020] 

(II)

[0021] 其中：

[0022] G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(I)中所定义。

[0023] 在本公开一些优选的实施方案中，所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其为通式(III)或通式(IV)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐：

[0024] 

(III) 或 (IV)

[0025] 其中：R^1、R^2、R^3和n如通式(I)中所定义。

[0026] 在本公开的一些实施方案中，所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其中R^1选自烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

[0027] 在本公开的一些实施方案中，所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其中R^1选自烷基、环烷基和杂环基；其中所述的烷基任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代，所述的环烷基和杂环基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；优选地，R^1为$C_{1-}C_6$烷基或3至6元环烷基；其中所述的$C_{1-}C_6$烷基和3至6元环烷基各自独立地任选被选自卤素、$C_{1-}C_6$烷基、$C_{1-}C_6$烷氧基、$C_{1-}C_6$卤代烷基、$C_{1-}C_6$羟烷基、氰基、氨基、硝基、3至6元环烷基、3至6元杂环基、6至10元芳基和5至10元杂芳基中的一个或多个取代基所取代；更优选R^1为$C_{1-}C_6$烷基或3至6元环烷基；其中所述的$C_{1-}C_6$烷基和3至6元环烷基各自独立地任选被一个氰基取代；最优选R^1为  或 。

[0028] 在本公开的一些实施方案中，所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，其中R^2为氢

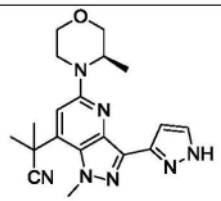
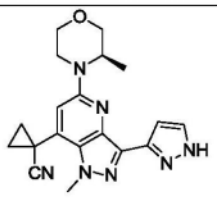
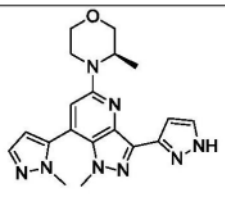
原子或烷基;优选为烷基;更优选为C_{1-6}烷基。

[0029] 在本公开的一些实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,其中R^2为烷基。

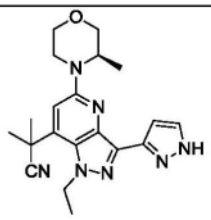
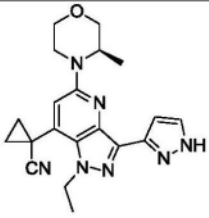
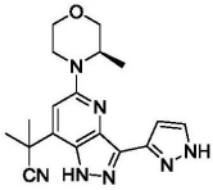
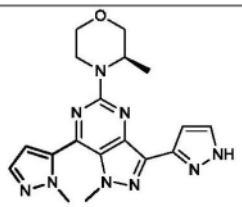
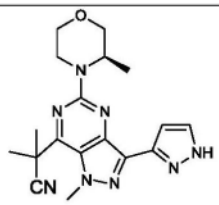
[0030] 在本公开的一些实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,其中R^3为氢原子。

[0031] 本公开的典型化合物包括但不限于:

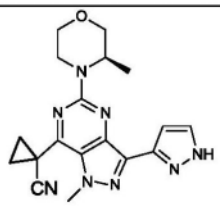
[0032]

实施例编号	化合物结构与命名
1	 1
	(*R*)-2-甲基-2-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)丙腈 **1**
2	 2
	(*R*)-1-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)环丙腈 **2**
3	 3
	(*R*)-3-甲基-4-(1-甲基-7-(1-甲基-1*H*-吡唑-5-基)-3-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-5-基)吗啉 **3**

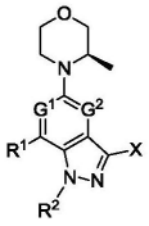
[0033]

4	 4
	(*R*)-2-(1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)-2-甲基丙腈 **4**
5	 5
	(*R*)-1-(1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)环丙腈 **5**
6	 6
	(*R*)-2-甲基-2-(5-(3-甲基吗啉基)-3-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)丙腈 **6**
	
	(*R*)-3-甲基-4-(1-甲基-7-(1-甲基-1*H*-吡唑-5-基)-3-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]嘧啶-5-基)吗啉
	
	(*R*)-2-甲基-2-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]嘧啶-7-基)丙腈

[0034]

	
	(*R*)-1-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]嘧啶-7-基)环丙腈

[0035] 本公开的另一方面涉及通式(IA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，

[0036] 

(IA)

[0037] 其中：

[0038] X为卤素；优选为Br；

[0039] G^1和G^2相同或不同，各自独立地为CH或N，条件是G^1和G^2不同时为CH；

[0040] R^1选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、-NR^4R^5、-$CONR^4R^5$、-$SO_2NR^4R^5$、-R^6N-CO-NR^4R^5、-$COOR^7$、-SO_2R^7、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、-NR^4R^5、-$CONR^4R^5$、-$SO_2NR^4R^5$、-R^6N-CO-NR^4R^5、-$COOR^7$、-SO_2R^7、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

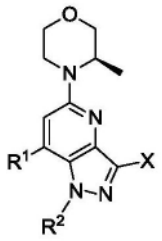
[0041] R^2选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

[0042] R^4和R^5相同或不同，且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

[0043] R^6选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

[0044] R^7选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。

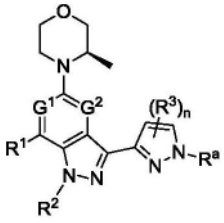
[0045] 本公开的另一方面涉及通式(IIIC)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，

[0046] 

(IIIC)

[0047] 其中:X、R^1和R^2如通式(IA)中所定义。

[0048] 本公开的另一方面涉及通式(IIA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

[0049] 

(IIA)

[0050] 其中:

[0051] R^a为氨基保护基;

[0052] G^1和G^2相同或不同,各自独立地为CH或N,条件是G^1和G^2不同时为CH;

[0053] R^1选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、-NR^4R^5、-$CONR^4R^5$、-$SO_2NR^4R^5$、-R^6N-CO-NR^4R^5、-$COOR^7$、-SO_2R^7、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;其中所述的烷基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、-NR^4R^5、-$CONR^4R^5$、-$SO_2NR^4R^5$、-R^6N-CO-NR^4R^5、-$COOR^7$、-SO_2R^7、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代;

[0054] R^2选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代;

[0055] R^3选自氢原子、卤素、烷基、烯基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代;

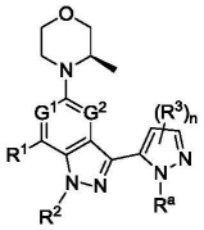
[0056] R^4和R^5相同或不同,且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

[0057] R^6选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

[0058] R^7选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

[0059] n为0、1、2或3。

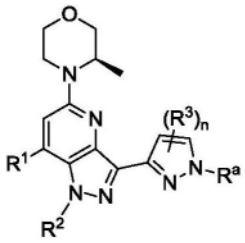
[0060] 本公开的另一方面涉及通式(IIGA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

[0061] 

(IIGA)

[0062] 其中:G^1、G^2、R^1、R^2、R^3、R^a和n如通式(IIA)中所定义。

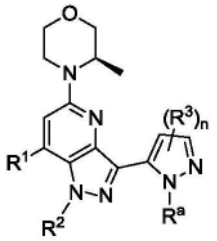
[0063] 本公开的另一方面涉及通式(IIIA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

[0064] 

(IIIA)

[0065] 其中:R^a、R^1、R^2、R^3和n如通式(IIA)中所定义。

[0066] 本公开的另一方面涉及通式(IIIGA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

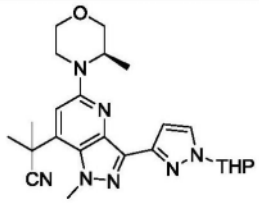
[0067] 

(IIIGA)

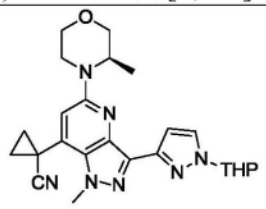
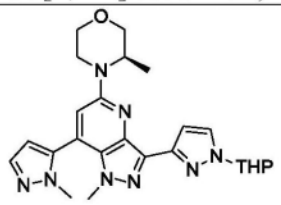
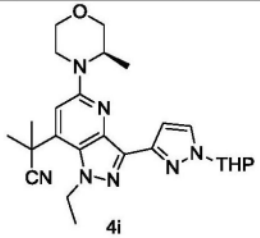
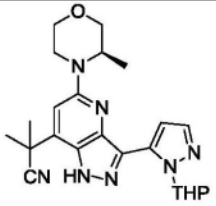
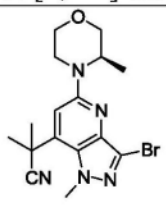
[0068] 其中:R^a、R^1、R^2、R^3和n如通式(IIIA)中所定义。

[0069] 本公开的典型中间体化合物包括但不限于:

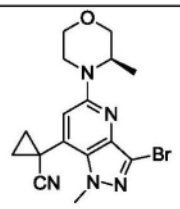
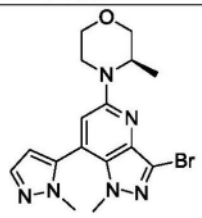
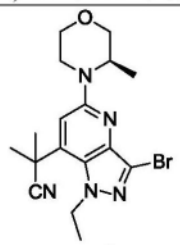
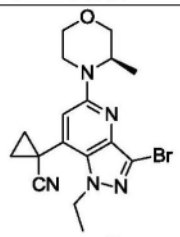
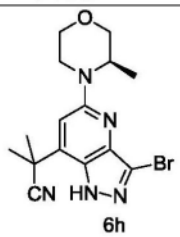
[0070]

实施例编号	化合物结构与命名
1i	 1i

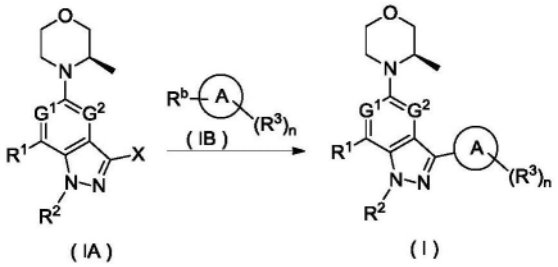
[0071]

	2-甲基-2-(1-甲基-5-((*R*)-3-甲基吗啉基)-3-(1-(四氢-2*H*-吡喃-2-基)-1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)丙腈 **1i**
2c	 **2c**
	1-(1-甲基-5-((*R*)-3-甲基吗啉基)-3-(1-(四氢-2*H*-吡喃-2-基)-1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)环丙腈 **2c**
3c	 **3c**
	(3*R*)-3-甲基-4-(1-甲基-7-(1-甲基-1*H*-吡唑-5-基)-3-(1-(四氢-2*H*-吡喃-2-基)-1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-5-基)吗啉 **3c**
4i	 **4i**
	2-(1-乙基-5-((*R*)-3-甲基吗啉基)-3-(1-(四氢-2*H*-吡喃-2-基)-1*H*-吡唑-3-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)-2-甲基丙腈 **4i**
6j	 **6j**
	2-甲基-2-(5-((*R*)-3-甲基吗啉基)-3-(1-(四氢-2*H*-吡喃-2-基)-1*H*-吡唑-5-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)丙腈 **6j**
1h	 **1h**
	(*R*)-2-(3-溴-1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)-2-甲基丙腈 **1h**

[0072]

2b	 2b
	(*R*)-1-(3-溴-1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)环丙腈 **2b**
3b	 3b
	(*R*)-4-(3-溴-1-甲基-7-(1-甲基-1*H*-吡唑-5-基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-5-基)-3-甲基吗啉 **3b**
4h	 4h
	(*R*)-2-(3-溴-1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)-2-甲基丙腈 **4h**
5b	 5b
	(*R*)-1-(3-溴-1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)环丙腈 **5b**
6h	 6h
	(*R*)-2-(3-溴-5-(3-甲基吗啉基)-1*H*-吡唑并[4,3-*b*]吡啶-7-基)-2-甲基丙腈 **6h**

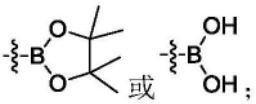
[0073] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:

[0074] 

[0075] 通式(IA)的化合物和通式(IB)的化合物发生偶联反应,得到通式(I)的化合物,

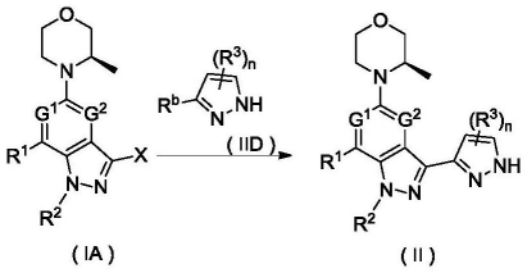
[0076] 其中:

[0077] X为卤素;优选为Br;

[0078] R^b为;

[0079] 环A、G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(I)中所定义。

[0080] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(II)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:

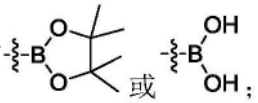
[0081] 

[0082] 通式(IA)的化合物和通式(IID)的化合物发生偶联反应,得到通式(II)的化合物,

[0083]

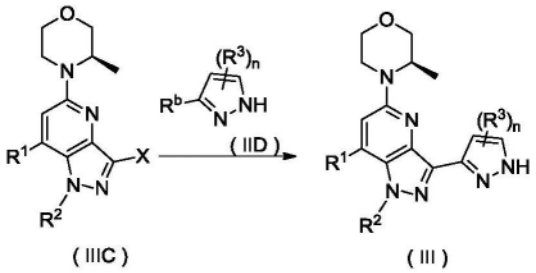
[0084] 其中:

[0085] X为卤素;优选为Br;

[0086] R^b为;

[0087] G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(II)中所定义。

[0088] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(III)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:

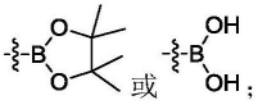
[0089] 

[0090] 通式(IIIC)的化合物和通式(IID)的化合物发生偶联反应,得到通式(III)的化合

物，

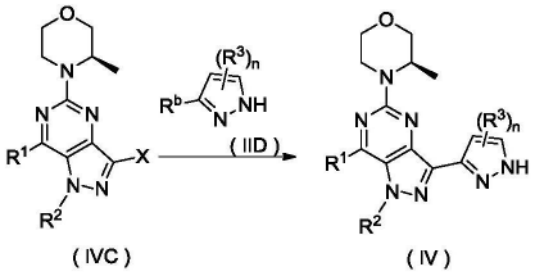
[0091] 其中：

[0092] X为卤素；优选为Br；

[0093] R^b为；

[0094] R^1、R^2、R^3和n如通式(III)中所定义。

[0095] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(IV)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法，该方法包括：

[0096] 

(IVC) (IV)

[0097] 通式(IVC)的化合物和通式(IID)的化合物发生偶联反应，得到通式(IV)的化

[0098] 合物，

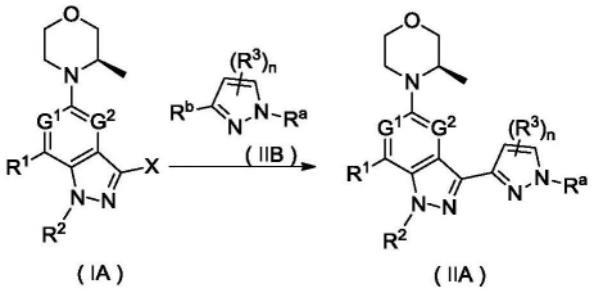
[0099] 其中：

[0100] X为卤素；优选为Br；

[0101] R^b为；

[0102] R^1、R^2、R^3和n如通式(IV)中所定义。

[0103] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(IIA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法，该方法包括：

[0104] 

(IA) (IIA)

[0105] 通式(IA)的化合物和通式(IIB)的化合物发生偶联反应，得到通式(IIA)的化合物，

[0106] 其中：

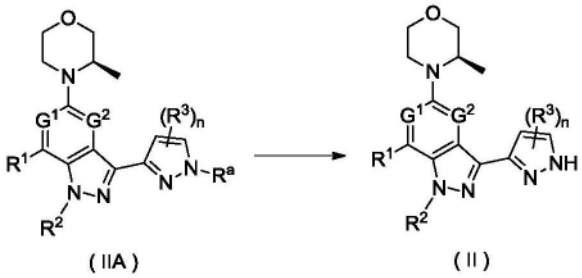
[0107] X为卤素；优选为Br；

[0108] R^a为氨基保护基；

[0109] R^b为；

[0110] G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(II)中所定义。

[0111] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(II)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法，该方法包括：

[0112] 

(IIA) (II)

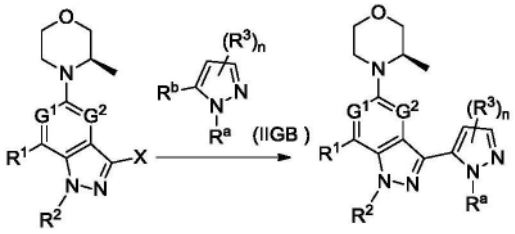
[0113] 通式(IIA)的化合物脱去氨基保护基，得到通式(II)的化合物，

[0114] 其中：

[0115] R^a为氨基保护基；

[0116] G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(II)中所定义。

[0117] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(IIGA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法，该方法包括：

[0118] 

(IA) (IIGA)

[0119] 通式(IA)的化合物和通式(IIGB)的化合物发生偶联反应，得到通式(IIGA)的化合物，

[0120] 其中：

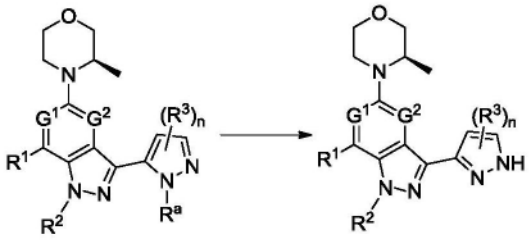
[0121] X为卤素；优选为Br；

[0122] R^a为氨基保护基；

[0123] R^b为；

[0124] G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(IIGA)中所定义。

[0125] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(II)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法，该方法包括：

[0126] 

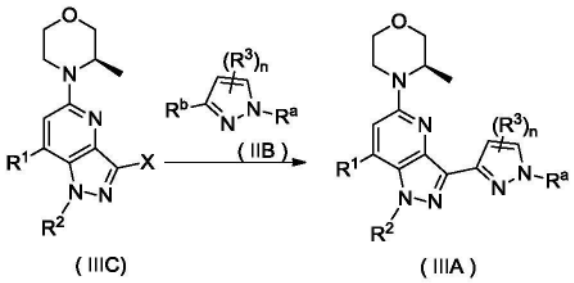
[0127] 通式(IIGA)的化合物脱去氨基保护基,得到通式(II)的化合物,

[0128] 其中:

[0129] R^a为氨基保护基;

[0130] G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(II)中所定义。

[0131] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(IIIA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:

[0132] 

[0133] 通式(IIIC)的化合物和通式(IIB)的化合物发生偶联反应,得到通式(IIIA)的化合物,

[0134] 其中:

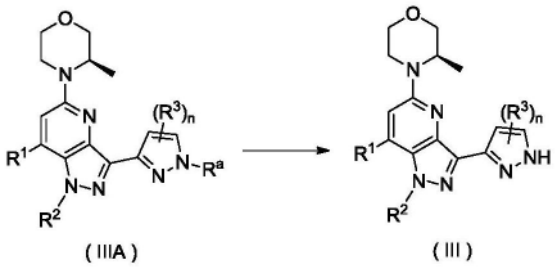
[0135] X为卤素;优选为Br;

[0136] R^a为氨基保护基;

[0137] R^b为;

[0138] R^1、R^2、R^3和n如通式(III)中所定义。

[0139] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(III)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:

[0140] 

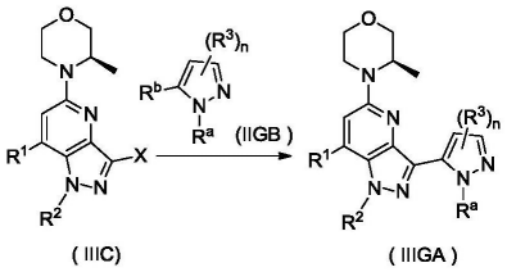
[0141] 通式(IIIA)的化合物脱去氨基保护基,得到通式(III)的化合物,

[0142] 其中:

[0143] R^a为氨基保护基;

[0144] R^1、R^2、R^3和n如通式(III)中所定义。

[0145] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(IIIGA)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:

[0146] 

[0147] 通式(IIIC)的化合物和通式(IIGB)的化合物发生偶联反应,得到通式(IIIGA)的化合物,

[0148] 其中:

[0149] X为卤素;优选为Br;

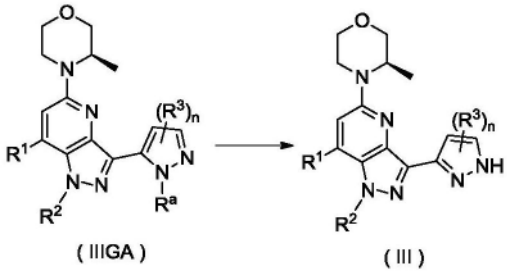
[0150] R^a为氨基保护基;

[0151] R^b为

;

[0152] R^1、R^2、R^3和n如通式(IIIG)中所定义。

[0153] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(III)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:

[0154] 

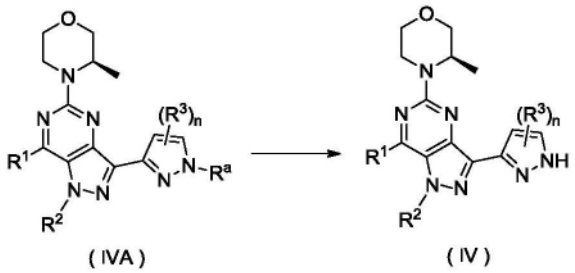
[0155] 通式(IIIGA)的化合物脱去氨基保护基,得到通式(III)的化合物,

[0156] 其中:

[0157] R^a为氨基保护基;

[0158] R^1、R^2、R^3和n如通式(III)中所定义。

[0159] 本公开的另一方面涉及一种制备通式(IV)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐的方法,该方法包括:

[0160] 

[0161] 通式(IVA)的化合物脱去氨基保护基,得到通式(IV)的化合物,

[0162] 其中:

[0163] R^a为氨基保护基;

[0164] R^1、R^2、R^3和n如通式(IV)中所定义。

[0165] 本公开的另一方面涉及一种药物组合物,所述药物组合物含有本公开通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式或其可药用盐,以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0166] 本公开进一步涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐或包含其的药物组合物在制备用于抑制ATR激酶的药物中的用途。

[0167] 本公开进一步涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐或包含其的药物组合物在制备用于治疗和/或预防过度增殖性疾病的药物中的用途。

[0168] 本公开进一步涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐或包含其的药物组合物在制备用于治疗和/或预防肿瘤的药物中的用途。

[0169] 本公开进一步涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐或包含其的药物组合物在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。

[0170] 本公开还涉及一种抑制ATR激酶的方法,其包括给予所需患者有效量的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐,或包含其的药物组合物。

[0171] 本公开还涉及一种治疗和/或预防过度增殖性疾病的方法,其包括给予所需患者有效量的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐,或包含其的药物组合物。

[0172] 本公开还涉及一种治疗和/或预防肿瘤的方法,其包括给予所需患者有效量的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐,或包含其的药物组合物。

[0173] 本公开进一步涉及一种通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或包含其的药物组合物,其用作药物。所述药物可以用于治疗和/或预防过度增殖性疾病,特别是肿瘤。

[0174] 本公开还涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐,或包含其的药物组合物,其用作ATR

激酶抑制剂。

[0175] 本公开还涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐,或包含其的药物组合物,其用于治疗和/或预防过度增殖性疾病。

[0176] 本公开进一步涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐,或包含其的药物组合物,其用于治疗肿瘤。

[0177] 本公开中所述的肿瘤选自黑色素瘤、脑瘤、食管癌、胃癌、肝癌、胰腺癌、结肠直肠癌、肺癌、肾癌、乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、皮肤癌、神经母细胞瘤、神经胶质瘤、肉瘤、骨癌、子宫癌、子宫内膜癌、头颈肿瘤、多发性骨髓瘤、B-细胞淋巴瘤、真性红细胞增多症、白血病、甲状腺肿瘤、膀胱癌和胆囊癌。

[0178] 可将活性化合物制成适合于通过任何适当途径给药的形式,活性化合物优选是以单位剂量的方式,或者是以患者可以以单剂自我给药的方式。本公开化合物或组合物的单位剂量的表达方式可以是片剂、胶囊、扁囊剂、瓶装药水、药粉、颗粒剂、锭剂、栓剂、再生药粉或液体制剂。

[0179] 本公开治疗方法中所用化合物或组合物的剂量通常将随疾病的严重性、患者的体重和化合物的相对功效而改变。不过,作为一般性指导,合适的单位剂量可以是0.1~1000mg。

[0180] 本公开的药物组合物除活性化合物外,可含有一种或多种辅料,所述辅料选自以下成分:填充剂(稀释剂)、粘合剂、润湿剂、崩解剂或赋形剂等。根据给药方法的不同,组合物可含有0.1至99重量%的活性化合物。

[0181] 含活性成分的药物组合物可以是适用于口服的形式,例如片剂、糖锭剂、锭剂、水或油混悬液、可分散粉末或颗粒、乳液、硬或软胶囊,或糖浆剂或酏剂。可按照本领域任何已知制备药用组合物的方法制备口服组合物,此类组合物可含有一种或多种选自以下的成分:甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂,以提供悦目和可口的药用制剂。片剂含有活性成分和用于混合的适宜制备片剂的无毒的可药用的赋形剂。这些赋形剂可以是惰性赋形剂、造粒剂、崩解剂、粘合剂和润滑剂。这些片剂可以不包衣或可通过掩盖药物的味道或在胃肠道中延迟崩解和吸收,因而在较长时间内提供缓释作用的已知技术将其包衣。

[0182] 也可用其中活性成分与惰性固体稀释剂或其中活性成分与水溶性载体或油溶媒混合的软明胶胶囊提供口服制剂。

[0183] 水悬浮液含有活性物质和用于混合的适宜制备水悬浮液的赋形剂。此类赋形剂是悬浮剂、分散剂或湿润剂。水混悬液也可以含有一种或多种防腐剂、一种或多种着色剂、一种或多种矫味剂和一种或多种甜味剂。

[0184] 油混悬液可通过使活性成分悬浮于植物油,或矿物油配制而成。油悬浮液可含有增稠剂。可加入上述的甜味剂和矫味剂,以提供可口的制剂。可通过加入抗氧化剂保存这些组合物。

[0185] 通过加入水可使适用于制备水混悬的可分散粉末和颗粒提供活性成分和用于混合的分散剂或湿润剂、悬浮剂或一种或多种防腐剂。适宜的分散剂或湿润剂和悬浮剂可说明上述的例子。也可加入其他赋形剂例如甜味剂、矫味剂和着色剂。通过加入抗氧化剂例如

抗坏血酸保存这些组合物。

[0186] 本公开的药物组合物也可以是水包油乳剂的形式。油相可以是植物油,或矿物油或其混合物。适宜的乳化剂可以是天然产生的磷脂,乳剂也可以含有甜味剂、矫味剂、防腐剂和抗氧剂。此类制剂也可含有缓和剂、防腐剂、着色剂和抗氧剂。

[0187] 本公开的药物组合物可以是无菌注射水溶液形式。可以使用的可接受的溶媒或溶剂有水、林格氏液和等渗氯化钠溶液。无菌注射制剂可以是其中活性成分溶于油相的无菌注射水包油微乳可通过局部大量注射,将注射液或微乳注入患者的血流中。或者,最好按可保持本公开化合物恒定循环浓度的方式给予溶液和微乳。为保持这种恒定浓度,可使用连续静脉内递药装置。这种装置的实例是Deltec CADD-PLUS.TM.5400型静脉注射泵。

[0188] 本公开的药物组合物可以是用于肌内和皮下给药的无菌注射水或油混悬液的形式。可按已知技术,用上述那些适宜的分散剂或湿润剂和悬浮剂配制该混悬液。无菌注射制剂也可以是在肠胃外可接受的无毒稀释剂或溶剂中制备的无菌注射溶液或混悬液。此外,可方便地用无菌固定油作为溶剂或悬浮介质。为此目的,可使用任何调和固定油。此外,脂肪酸也可以制备注射剂。

[0189] 可按用于直肠给药的栓剂形式给予本公开化合物。可通过将药物与在普通温度下为固体但在直肠中为液体,因而在直肠中会溶化而释放药物的适宜的无刺激性赋形剂混合来制备这些药物组合物。

[0190] 如本领域技术人员所熟知的,药物的给药剂量依赖于多种因素,包括但并非限定于以下因素:所用具体化合物的活性、患者的年龄、患者的体重、患者的健康状况、患者的行为、患者的饮食、给药时间、给药方式、排泄的速率、药物的组合等;另外,最佳的治疗方式如治疗的模式、通式化合物(I)的日用量或可药用的盐的种类可以根据传统的治疗方案来验证。

[0191] 发明的详细说明

[0192] 除非有相反陈述,在说明书和权利要求书中使用的术语具有下述含义。

[0193] 术语“烷基”指饱和脂肪族烃基团,其为包含1至20个碳原子的直链或支链基团,优选含有1至12个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11和12个)碳原子的烷基,更优选为含有1至6个碳原子的烷基。非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、2,2-二乙基己基,及其各种支链异构体等。更优选的是含有1至6个碳原子的低级烷基,非限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,

2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。烷基可以是取代的或非取代的,当被取代时,取代基可以在任何可使用的连接点上被取代,所述取代基优选独立地任选选自H原子、D原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

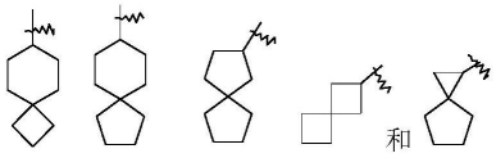
[0194] 术语“亚烷基”指饱和的直链或支链脂肪族烃基,其具有2个从母体烷的相同碳原子或两个不同的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基,其为包含1至20个碳原子的直链或支链基团,优选含有1至12个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11和12个)碳原子,更优选含有1至6个碳原子的亚烷基。亚烷基的非限制性实例包括但不限于亚甲基(-CH_2-)、1,1-亚乙基(-CH(CH_3)-)、1,2-亚乙基(-CH_2CH_2)-、1,1-亚丙基(-CH(CH_2CH_3)-)、1,2-亚丙基(-CH_2CH(CH_3)-)、1,3-亚丙基(-$CH_2CH_2CH_2$-)、1,4-亚丁基(-$CH_2CH_2CH_2CH_2$-)等。亚烷基可以是取代的或非取代的,当被取代时,取代基可以在任何可使用的连接点上被取代,所述取代基优选独立地任选选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、硫醇、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基和氧代基中的一个或多个取代基所取代。

[0195] 术语“烯基”指分子中含有至少一个碳碳双键的烷基化合物,其中烷基的定义如上所述。烯基可以是取代的或非取代的,当被取代时,取代基优选为一个或多个以下基团,其独立地选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

[0196] 术语“炔基”指分子中含有至少一个碳碳三键的烷基化合物,其中烷基的定义如上所述。炔基可以是取代的或非取代的,当被取代时,取代基优选为一个或多个以下基团,其独立地选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

[0197] 术语“环烷基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基,环烷基环包含3至20个碳原子,优选包含3至12个碳原子,更优选包含3至8(例如3、4、5、6、7或8)个碳原子,更优选包含3至6个碳原子。单环环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基、环辛基等;多环环烷基包括螺环、稠环和桥环的环烷基。

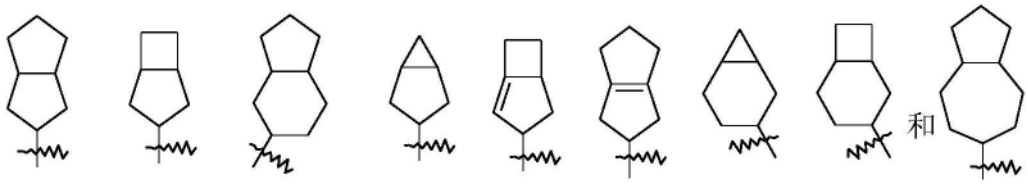
[0198] 术语“螺环烷基”指5至20元的单环之间共用一个碳原子(称螺原子)的多环基团,其可以含有一个或多个双键。优选为6至14元,更优选为7至10元(例如7、8、9或10元)。根据环与环之间共用螺原子的数目将螺环烷基分为单螺环烷基、双螺环烷基或多螺环烷基,优选为单螺环烷基和双螺环烷基。更优选为4元/4元、4元/5元、4元/6元、5元/5元或5元/6元单螺环烷基。螺环烷基的非限制性实例包括:

[0199] 

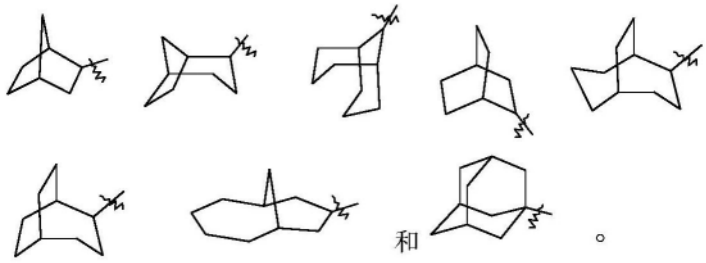
。

[0200] 术语“稠环烷基”指5至20元,系统中的每个环与体系中的其他环共享毗邻的一对碳原子的全碳多环基团,其中一个或多个环可以含有一个或多个双键。优选为6至14元,更

优选为7至10元(例如7、8、9或10元)。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环稠环烷基,优选为双环或三环,更优选为3元/4元、3元/5元、3元/6元、4元/4元、4元/5元、4元/6元、5元/4元、5元/5元、5元/6元、6元/3元、6元/4元、6元/5元和6元/6元双环烷基。稠环烷基的非限制性实例包括:

[0201]  和 。

[0202] 术语"桥环烷基"指5至20元,任意两个环共用两个不直接连接的碳原子的全碳多环基团,其可以含有一个或多个双键。优选为6至14元,更优选为7至10元(例如7、8、9或10元)。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环桥环烷基,优选为双环、三环或四环,更优选为双环或三环。桥环烷基的非限制性实例包括:

[0203]  和 。

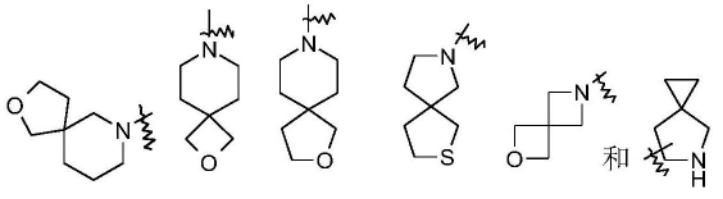
[0204] 所述环烷基环包括如上所述的环烷基(包括单环、螺环、稠环和桥环)稠合于芳基、杂芳基或杂环烷基环上,其中与母体结构连接在一起的环为环烷基,非限制性实例包括茚满基、四氢萘基、苯基并环戊基和苯并环庚烷基等;优选苯基并环戊基和四氢萘基。

[0205] 环烷基可以是取代的或非取代的,当被取代时,取代基可以在任何可使用的连接点上被取代,所述取代基优选独立地任选选自氢原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

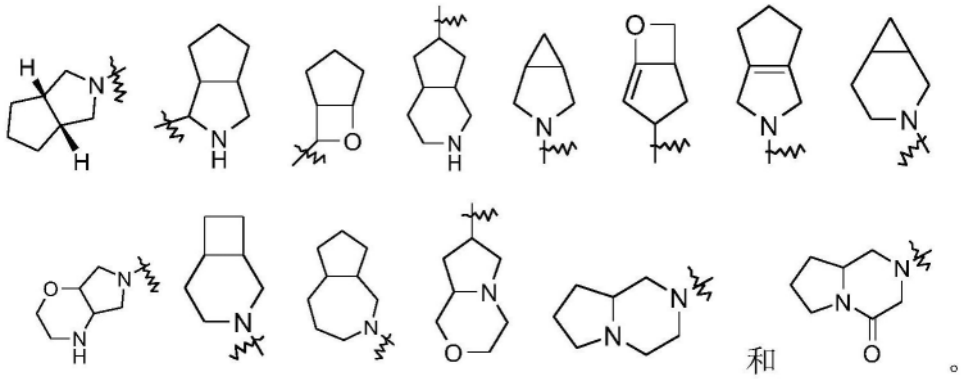
[0206] 术语"烷氧基"指-O-(烷基)和-O-(非取代的环烷基),其中烷基的定义如上所述。烷氧基的非限制性实例包括:甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环已氧基。烷氧基可以是任选取代的或非取代的,当被取代时,取代基优选为一个或多个以下基团,其独立地选自H原子、D原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基中的一个或多个取代基所取代。术语"杂环基"指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基,其包含3至20个环原子,其中一个或多个环原子为选自氮、氧、S、S(0)和$S(0)_2$的杂原子,但不包括-0-0-、-0-S-或-S-S-的环部分,其余环原子为碳。优选包含3至12个环原子,其中1~4个(例如1、2、3和4个)是杂原子;更优选包含3至8(例如3、4、5、6、7或8)个环原子,其中1-3(例如1、2或3)是杂原子;更优选包含3至6个环原子,其中1-3个是杂原子;最优选包含5或6个环原子,其中1-3个是杂原子。单环杂环基的非限制性实例包括吡咯烷基、四氢吡喃基、1,2.3.6-四氢吡啶基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基等。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基。

[0207] 术语"螺杂环基"指5至20元的单环之间共用一个原子(称螺原子)的多环杂环基团,其中一个或多个环原子为选自氮、氧、S、S(0)和$S(0)_2$的杂原子,其余环原子为碳。其可

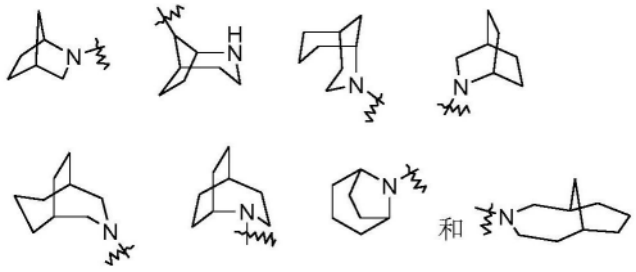
以含有一个或多个双键。优选为6至14元，更优选为7至10元。根据环与环之间共用螺原子的数目将螺杂环基分为单螺杂环基、双螺杂环基或多螺杂环基，优选为单螺杂环基和双螺杂环基。更优选为4元/4元、4元/5元、4元/6元、5元/5元或5元/6元单螺杂环基。螺杂环基的非限制性实例包括：

[0208] 

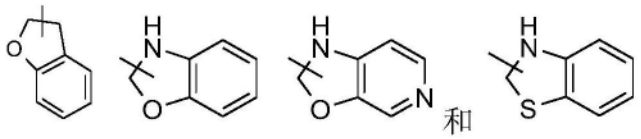
[0209] 术语“稠杂环基”指5至20元，系统中的每个环与体系中的其他环共享毗邻的一对原子的多环杂环基团，一个或多个环可以含有一个或多个双键，其中一个或多个环原子为选自氮、氧、S、S(0)和$S(0)_2$的杂原子，其余环原子为碳。优选为6至14元，更优选为7至10元(例如7、8、9或10元)。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环稠杂环基，优选为双环或三环，更优选为3元/4元、3元/5元、3元/6元、4元/4元、4元/5元、4元/6元、5元/4元、5元/5元、5元/6元、6元/3元、6元/4元、6元/5元和6元/6元双环稠杂环基。稠杂环基的非限制性实例包括：

[0210] 

[0211] 术语“桥杂环基”指5至14元，任意两个环共用两个不直接连接的原子的多环杂环基团，其可以含有一个或多个双键，其中一个或多个环原子为选自氮、氧、S、S(0)和$S(0)_2$的杂原子，其余环原子为碳。优选为6至14元，更优选为7至10元(例如7、8、9或10元)。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环桥杂环基，优选为双环、三环或四环，更优选为双环或三环。桥杂环基的非限制性实例包括：

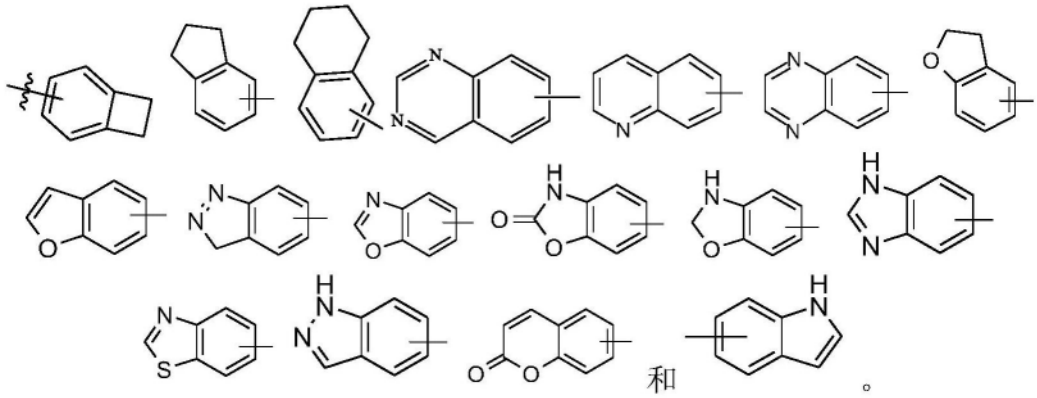
[0212] 

[0213] 所述杂环基环包括如上所述的杂环基(包括单环、螺杂环、稠杂环和桥杂环)稠合于芳基、杂芳基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂环基，其非限制性实例包括：

[0214] 

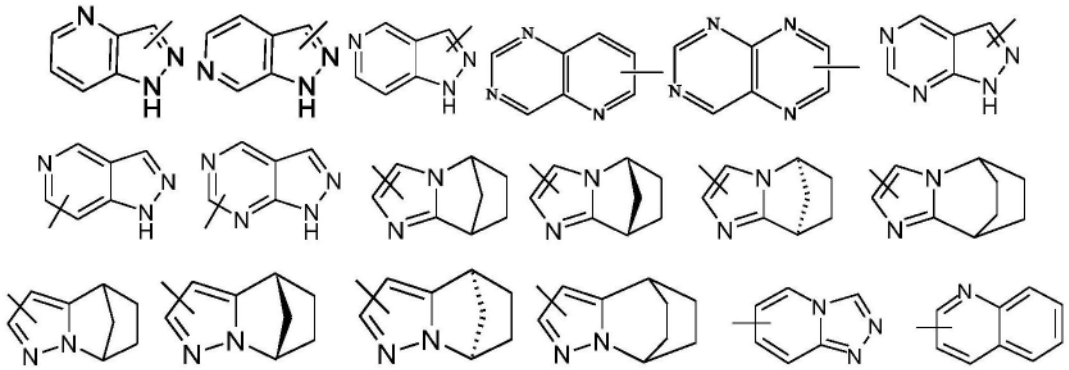
[0215] 杂环基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，所述取代基优选独立地任选选自氢原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

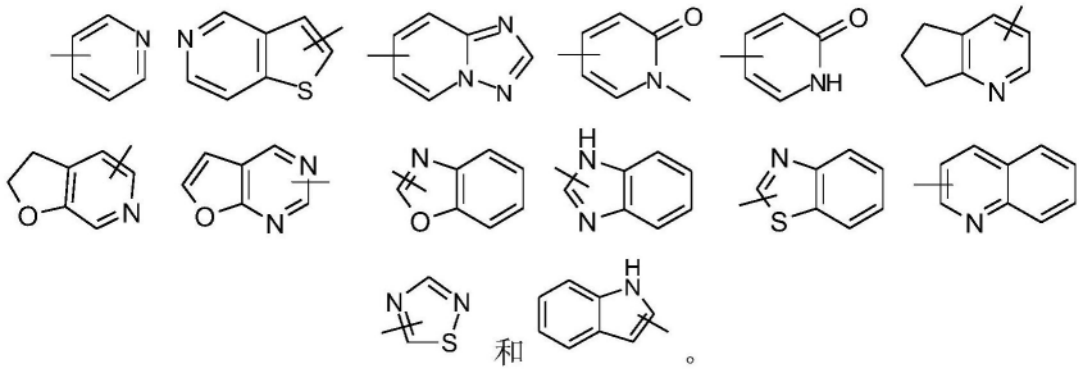
[0216] 术语“芳基”指具有共轭的π电子体系的6至14元全碳单环或稠合多环(稠合多环是共享毗邻碳原子对的环)基团，优选为6至10元，例如苯基和萘基。所述芳基环包括如上所述的芳基环稠合于杂芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为芳基环，其非限制性实例包括：

[0217] 

[0218] 芳基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，所述取代基优选独立地任选选自氢原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

[0219] 术语“杂芳基”指包含1至4个(例如1、2、3和4个)杂原子、5至14个环原子的杂芳族体系，其中杂原子选自氧、硫和氮。杂芳基优选为5至10元(例如5、6、7、8、9和10)，更优选为5元或6元，例如呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、N-烷基吡咯基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基等。所述杂芳基环包括如上述的杂芳基稠合于芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂芳基环，其非限制性实例包括：

[0220] 

[0221] 

[0222] 杂芳基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，所述取代基优选独立地任选选自氢原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

[0223] 上述环烷基、杂环基、芳基和杂芳基具有1个从母体环原子上除去一个氢原子所衍生的残基，或2个从母体的相同或两个不同的环原子上除去两个氢原子所衍生的残基，即“二价环烷基”、“二价杂环基”、“亚芳基”、“亚杂芳基”。

[0224] 术语“氨基保护基”是为了使分子其它部位进行反应时氨基保持不变，用易于脱去的基团对氨基进行保护。非限制性实施例包含四氢吡喃基、叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基和对甲氧苄基等。这些基团可任选地被选自卤素、烷氧基或硝基中的1-3个取代基所取代。所述氨基保护基优选为四氢吡喃基。

[0225] 术语“环烷基氧基”指环烷基-O-，其中环烷基如上所定义。

[0226] 术语“卤代烷基”指烷基被一个或多个卤素取代，其中烷基如上所定义。

[0227] 术语“氘代烷基”指烷基被一个或多个氘原子取代，其中烷基如上所定义。

[0228] 术语“羟基”指-OH基团。

[0229] 术语“羟烷基”指被羟基取代的烷基，其中烷基如上所定义。

[0230] 术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

[0231] 术语“氨基”指-NH_2。

[0232] 术语“氰基”指-CN。

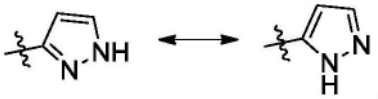
[0233] 术语“硝基”指-NO_2。

[0234] 术语“羰基”指C=O。

[0235] 术语“羧基”指-C(O)OH。

[0236] 术语“羧酸酯基”指-C(O)O(烷基)或-C(O)O(环烷基)，其中烷基、环烷基如上所定义。

[0237] THP为四氢吡喃基。

[0238] 本公开化合物可以作为互变异构体存在。出于本公开的目的，对式(I)的化合物的提及是指对该化合物本身，或其任何一种互变异构体本身，或两种或更多种互变异构体的混合物的提及。例如提及吡唑基时，应理解为包括如下两种结构中的任何一种或两种互变异构体的混合物，。

[0239] 本公开的化合物包含其同位素衍生物。术语“同位素衍生物”指结构不同仅在于存

在一种或多种同位素富集原子的化合物。例如,具有本公开的结构,用“氘”或“氚”代替氢,或者用^{18}F-氟标记(^{18}F同位素)代替氟,或者用^{11}C-、^{13}C-或者^{14}C-富集的碳(^{11}C-、^{13}C-、或者^{14}C-碳标记;^{11}C-、^{13}C-或者^{14}C-同位素)代替碳原子的化合物处于本公开的范围内。这样的化合物可用作例如生物学测定中的分析工具或探针,或者可以用作疾病的体内诊断成像示踪剂,或者作为药效学、药动学或受体研究的示踪剂。本公开包含各种氘化形式的式(I)化合物。与碳原子连接的各个可用的氢原子可独立地被氘原子替换。本领域技术人员能够参考相关文献合成氘化形式的式(I)化合物。在制备氘代形式的式(I)化合物时可使用市售的氘代起始物质,或它们可使用常规技术采用氘代试剂合成,氘代试剂包括但不限于氘代硼烷、三氘代硼烷四氢呋喃溶液、氘代氢化锂铝、氘代碘乙烷和氘代碘甲烷等。

[0240] “任选”或“任选地”意味着随后所描述的事件或环境可以但不必发生,该说明包括该事件或环境发生或不发生地场合。例如,“任选被烷基取代的杂环基团”意味着烷基可以但不必须存在,该说明包括杂环基团被烷基取代的情形和杂环基团不被烷基取代的情形。

[0241] “取代的”指基团中的一个或多个氢原子,优选为最多5个,更优选为1~3个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻,取代基仅处在它们的可能的化学位置,本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定(通过实验或理论)可能或不可能的取代。例如,具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和(如烯属)键的碳原子结合时可能是不稳定的。

[0242] “药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其它化学组分的混合物,以及其它组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药,利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

[0243] “可药用盐”是指本公开化合物的盐,这类盐用于哺乳动物体内时具有安全性和有效性,且具有应有的生物活性。

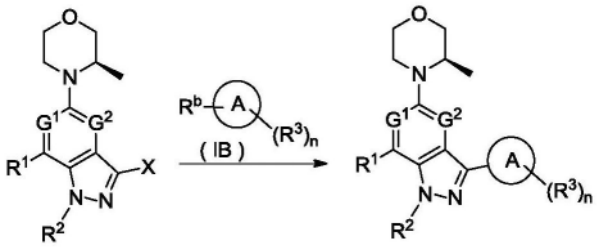
[0244] 针对药物或药理学活性剂而言,术语“治疗有效量”是指无毒的但能达到预期效果的药物或药剂的足够用量。有效量的确定因人而异,取决于受体的年龄和一般情况,也取决于具体的活性物质,个案中合适的有效量可以由本领域技术人员根据常规试验确定。

[0245] 本公开化合物的合成方法

[0246] 为了完成本公开的目的,本公开采用如下技术方案:

[0247] 方案一

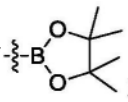
[0248] 本公开通式(I)所示的化合物或其盐的制备方法,包括以下步骤:

[0249] 

[0250] 通式(IA)的化合物和通式(IB)的化合物,在碱性条件下,在催化剂存在下,发生偶联反应,得到通式(I)的化合物,

[0251] 其中:

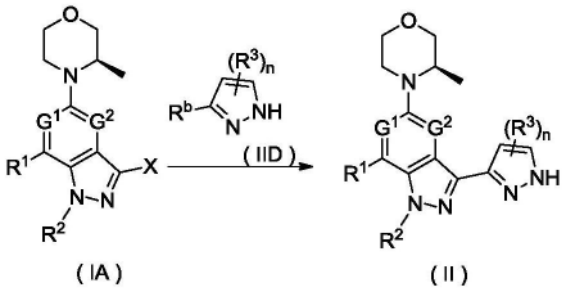
[0252] X为卤素;优选为Br;

[0253] R^b为或；

[0254] 环A、G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(I)中所定义。

[0255] 方案二

[0256] 本公开通式(II)所示的化合物或其盐的制备方法，包括以下步骤：

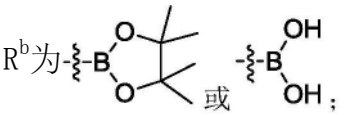
[0257] 

(IA) (II)

[0258] 通式(IA)的化合物和通式(IID)的化合物，在碱性条件下，在催化剂存在下，发生偶联反应，得到通式(II)的化合物，

[0259] 其中：

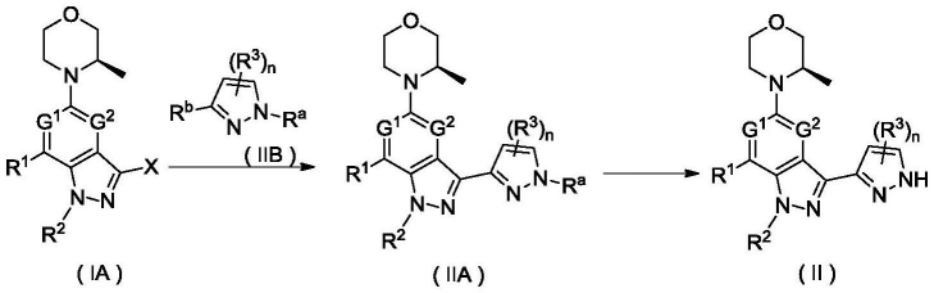
[0260] X为卤素；优选为Br；

[0261] R^b为；

[0262] G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(II)中所定义。

[0263] 方案三

[0264] 本公开通式(II)所示的化合物或其盐的制备方法，包括以下步骤：

[0265] 

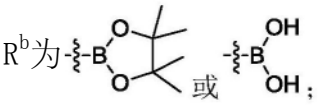
(IA) (IIA) (II)

[0266] 通式(IA)的化合物和通式(IIB)化合物，在碱性条件下，在催化剂存在下，发生偶联反应，得到通式(IIA)的化合物；

[0267] 通式(IIA)的化合物在酸性条件下脱去氨基保护基，得到通式(II)的化合物；

[0268] 其中：

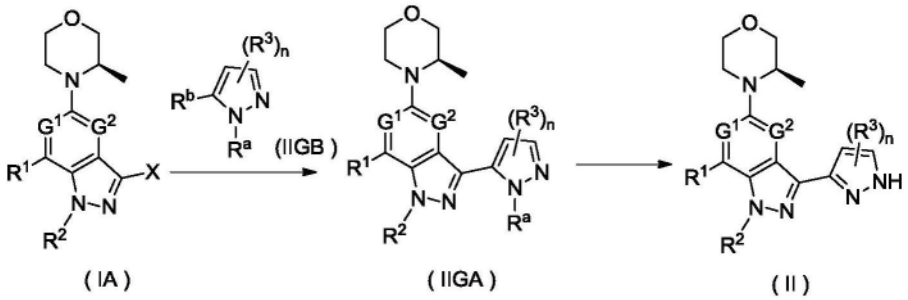
[0269] X为卤素；优选为Br；

[0270] R^b为；

[0271] G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(II)中所定义。

[0272] 方案四

[0273] 本公开通式(II)所示的化合物或其盐的制备方法，包括以下步骤：

[0274] 

[0275] 通式(IA)的化合物和通式(IIGB)化合物,在碱性条件下,在催化剂存在下,发生偶联反应,得到通式(IIGA)的化合物;

[0276] 通式(IIGA)的化合物在酸性条件下脱去氨基保护基,得到通式(II)的化合物;

[0277] 其中:

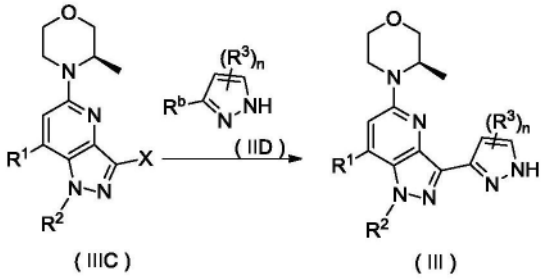
[0278] X为卤素;优选为Br;

[0279] R^b为;

[0280] G^1、G^2、R^1、R^2、R^3和n如通式(II)中所定义。

[0281] 方案五

[0282] 本公开通式(III)所示的化合物或其盐的制备方法,包括以下步骤:

[0283] 

[0284] 通式(IIIC)的化合物和通式(IID)化合物,在碱性条件下,在催化剂存在下,发生偶联反应,得到通式(III)的化合物,

[0285] 其中:

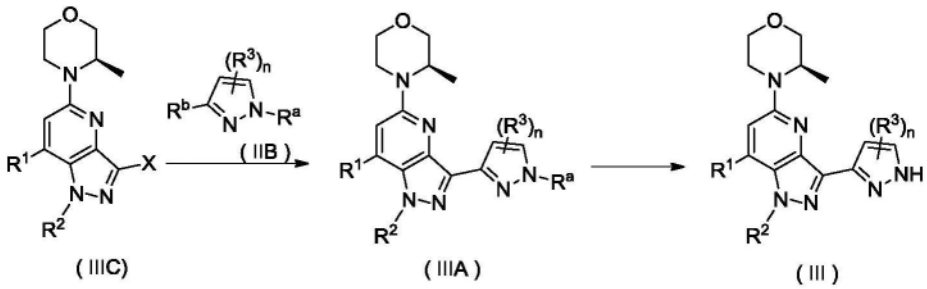
[0286] X为卤素;优选为Br;

[0287] R^b为;

[0288] R^1、R^2、R^3和n如通式(III)中所定义。

[0289] 方案六

[0290] 本公开通式(III)所示的化合物或其盐的制备方法,包括以下步骤:

[0291] 

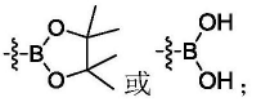
[0292] 通式(IIIC)的化合物和通式(IIB)化合物,在碱性条件下,在催化剂存在下,发生偶联反应,得到通式(IIIA)的化合物;

[0293] 通式(IIIA)的化合物,在酸性条件下脱去氨基保护基,得到通式(III)的化合物;

[0294] 其中:

[0295] X为卤素;优选为Br;

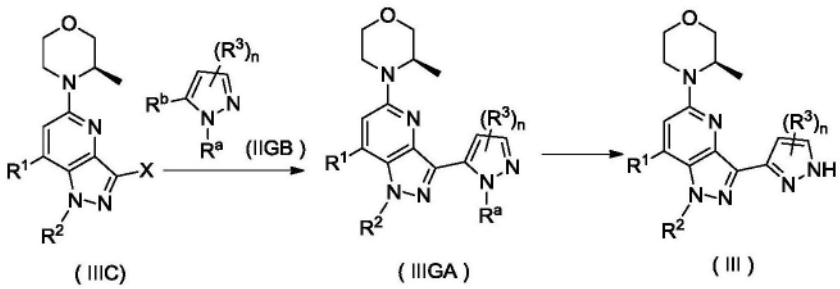
[0296] R^a为氨基保护基;

[0297] R^b为;

[0298] R^1、R^2、R^3和n如通式(III)中所定义。

[0299] 方案七

[0300] 本公开通式(III)所示的化合物或其盐的制备方法,包括以下步骤:

[0301] 

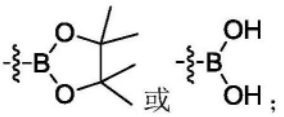
[0302] 通式(IIIC)的化合物和通式(IIGB)化合物,在碱性条件下,在催化剂存在下,发生偶联反应,得到通式(IIIGA)的化合物;

[0303] 通式(IIIGA)的化合物,在酸性条件下脱去氨基保护基,得到通式(III)的化合物;

[0304] 其中:

[0305] X为卤素;优选为Br;

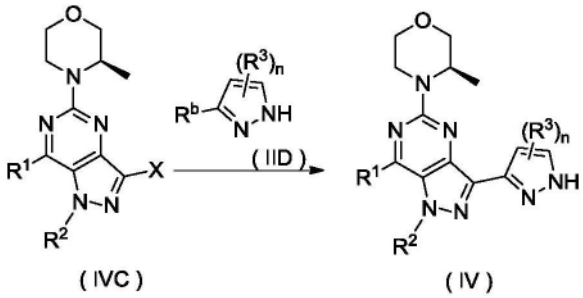
[0306] R^a为氨基保护基;

[0307] R^b为;

[0308] R^1、R^2、R^3和n如通式(III)中所定义。

[0309] 方案八

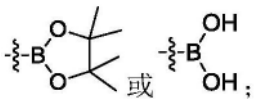
[0310] 本公开通式(IV)所示的化合物或其盐的制备方法,包括以下步骤:

[0311] 

[0312] 通式(IVC)的化合物和通式(IID)化合物,在碱性条件下,在催化剂存在下,发生偶联反应,得到通式(IV)的化合物,

[0313] 其中:

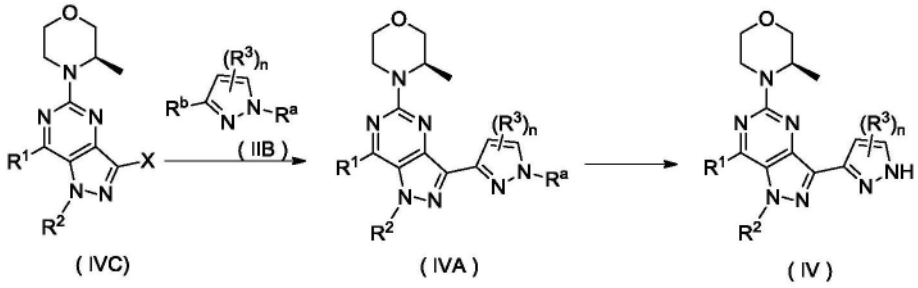
[0314] X为卤素;优选为Br;

[0315] R^b为;

[0316] R^1、R^2、R^3和n如通式(IV)中所定义。

[0317] 方案九

[0318] 本公开通式(IV)所示的化合物或其盐的制备方法,包括以下步骤:

[0319] 

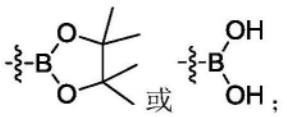
[0320] 通式(IVC)的化合物和通式(IIB)化合物,在碱性条件下,在催化剂存在下,发生偶联反应,得到通式(IVA)的化合物;

[0321] 通式(IVA)的化合物,在酸性条件下脱去氨基保护基,得到通式(IV)的化合物;

[0322] 其中:

[0323] X为卤素;优选为Br;

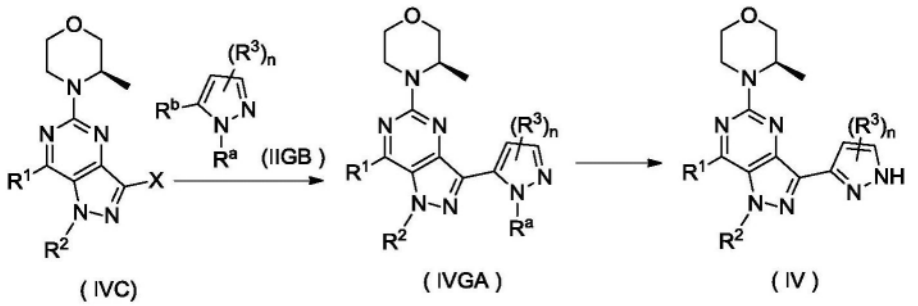
[0324] R^a为氨基保护基;

[0325] R^b为;

[0326] R^1、R^2、R^3和n如通式(IV)中所定义。

[0327] 方案十

[0328] 本公开通式(IV)所示的化合物或其盐的制备方法,包括以下步骤:

[0329] 

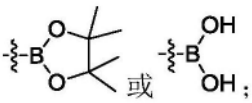
[0330] 通式(IVC)的化合物和通式(IIGB)化合物,在碱性条件下,在催化剂存在下,发生偶联反应,得到通式(IVGA)的化合物;

[0331] 通式(IVGA)的化合物,在酸性条件下脱去氨基保护基,得到通式(IV)的化合物;

[0332] 其中:

[0333] X为卤素;优选为Br;

[0334] R^a为氨基保护基;

[0335] R^b为;

[0336] R^1、R^2、R^3和n如通式(IV)中所定义。

[0337] 以上合成方案中提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述的有机碱类包括但不限于三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基氨基锂、醋酸钾、叔丁醇钠、叔丁醇钾和正丁醇钠,所述的无机碱类包括但不限于氢化钠、磷酸钾、碳酸钠、碳酸钾、碳酸铯、氢氧化钠和氢氧化锂。

[0338] 以上合成方案中所述的催化剂包括但不限于钯/碳、四三苯基膦钯、二氯化钯、醋酸钯、二(三苯基膦)二氯化钯(II)、双(二亚苄基丙酮)钯、氯(2-二环已基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯基)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯、[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯、1,1'-双(二苄基磷)二氯二戊铁钯或三(二亚苄基丙酮)二钯,优选为四三苯基膦钯或二(三苯基膦)二氯化钯(II)。

[0339] 以上合成方案中提供酸性条件的试剂包括但不限于氯化氢、氯化氢的1,4-二氧六环溶液、三氟乙酸、甲酸、乙酸、盐酸、硫酸、甲磺酸、硝酸、磷酸、对苯甲磺酸、Me_3SiCl、TMSOTf,优选为三氟乙酸。

[0340] 以上合成方案中氨基保护基包括但不限于四氢吡喃基(THP)、叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基和对甲氧苄基,这些基团可任选地被选自卤素、烷氧基或硝基中的1-3个取代基所取代。优选为四氢吡喃基。

[0341] 上述反应优选在溶剂中进行,所用溶剂包括但不限于:乙二醇二甲醚、醋酸、甲醇、乙醇、正丁醇、甲苯、四氢呋喃、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、正已烷、二甲基亚砜、1,4-二氧六环、水或N,N-二甲基甲酰胺。

具体实施方式

[0342] 以下结合实施例进一步描述本公开,但这些实施例并非限制着本公开的范围。

[0343] 实施例

[0344] 化合物的结构是通过核磁共振(NMR)或/和质谱(MS)来确定的。NMR位移(δ)以10^{-6}(ppm)的单位给出。NMR的测定是用Bruker AVANCE-400核磁仪,测定溶剂为氘代二甲基亚砜($DMSO-d_6$)、氘代氯仿($CDCl_3$)、氘代甲醇(CD_3OD),内标为四甲基硅烷(TMS)。

[0345] MS的测定用Agilent 1200/1290DAD-6110/6120Quadrupole MS液质联用仪(生产商:Agilent,MS型号:6110/6120Quadrupole MS)、waters ACQuity UPLC-QD/SQD(生产商:waters,MS型号:waters ACQuity Qda Detector/waters SQ Detector)、THERMO Ultimate 3000-Q Exactive(生产商:THERMO,MS型号:THERMO Q Exactive)。

[0346] 高效液相色谱法(HPLC)分析使用Agilent HPLC 1200DAD、Agilent HPLC 1200VWD和Waters HPLC e2695-2489高压液相色谱仪。

[0347] 手性HPLC分析测定使用Agilent 1260DAD高效液相色谱仪。

[0348] 高效液相制备使用Waters 2545-2767、Waters 2767-SQ Detecor2、Shimadzu LC-20AP和Gilson GX-281制备型色谱仪。

[0349] 手性制备使用Shimadzu LC-20AP制备型色谱仪。

[0350] CombiFlash快速制备仪使用Combiflash Rf200(TELEDYNE ISCO)。

[0351] 薄层层析硅胶板使用烟台黄海HSGF254或青岛GF254硅胶板,薄层色谱法(TLC)使用的硅胶板采用的规格是0.15mm～0.2mm,薄层层析分离纯化产品采用的规格是0.4mm～0.5mm。

[0352] 硅胶柱色谱法一般使用烟台黄海硅胶200～300目硅胶为载体。

[0353] 激酶平均抑制率及IC_{50}值的测定用NovoStar酶标仪(德国BMG公司)。

[0354] 本公开的已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成,或可购买自ABCR GmbH&Co.KG、Acros Organics、Aldrich Chemical Company、韶远化学科技(Accela ChemBio Inc)、达瑞化学品等公司。

[0355] 实施例中无特殊说明,反应能够均在氩气氛或氮气氛下进行。

[0356] 氩气氛或氮气氛是指反应瓶连接一个约1L容积的氩气或氮气气球。

[0357] 氢气氛是指反应瓶连接一个约1L容积的氢气气球。

[0358] 加压氢化反应使用Parr 3916EKX型氢化仪和清蓝QL-500型氢气发生器或HC2-SS型氢化仪。

[0359] 氢化反应通常抽真空,充入氢气,反复操作3次。

[0360] 微波反应使用CEM Discover-S 908860型微波反应器。

[0361] 实施例中无特殊说明,溶液是指水溶液。

[0362] 实施例中无特殊说明,反应的温度为室温,为20℃～30℃。

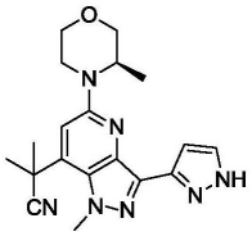
[0363] 实施例中的反应进程的监测采用薄层色谱法(TLC),反应所使用的展开剂,纯化化合物采用的柱层析的洗脱剂的体系和薄层色谱法的展开剂体系包括:A:二氯甲烷/甲醇体系,B:正己烷/乙酸乙酯体系,C:石油醚/乙酸乙酯体系,,溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节,也可以加入少量的三乙胺和醋酸等碱性或酸性试剂进行调节。

[0364] THP为四氢吡喃基。

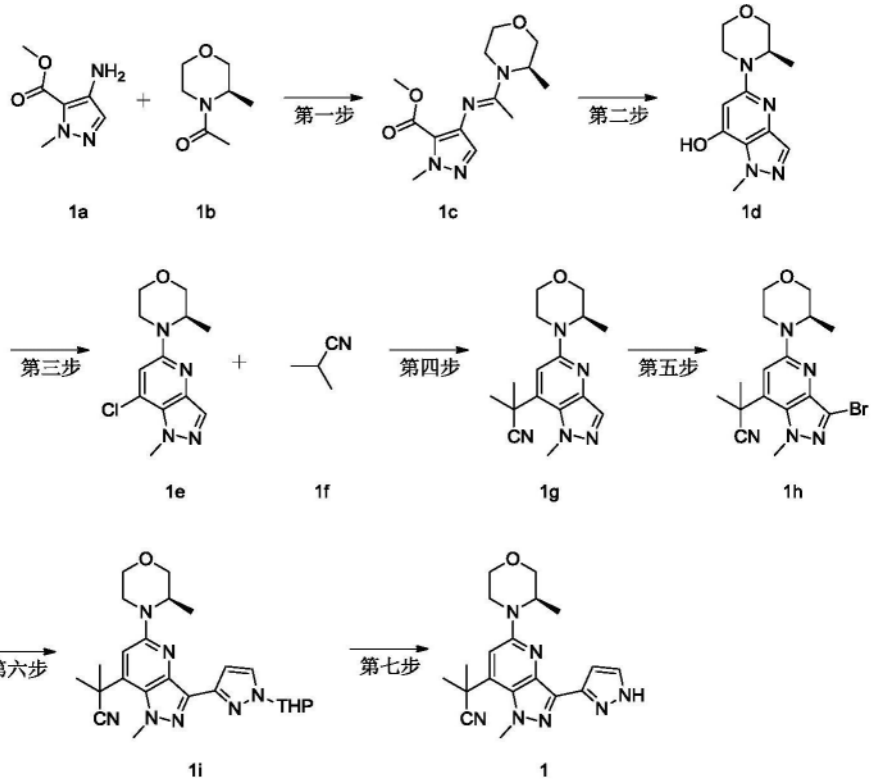
[0365] 实施例1

[0366] (R)-2-甲基-2-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-

[0367] 基)丙腈1

[0368] 

1

[0369] 

[0370] 第一步

[0371] (R,E)-1-甲基-4-((1-(3-甲基吗啉)乙亚基)氨基)-1H-吡唑-5-羧酸甲酯1c

[0372] 将化合物(R)-1-(3-甲基吗啉)乙-1-酮1b(2.5g,17.7mmol,采用专利申请“WO2016020320A1中说明书第86页的实施例中间体-1”公开的方法制备而得)溶于1,2-二氯乙烷中,氩气保护,放入冰水中冷却,缓慢滴加三氯氧磷(7.4g,48.3mmol),滴完后室温搅拌30分钟,加入化合物4-氨基-1-甲基-1H-吡唑-5-甲酸甲酯1a(2.5g,16.1mmol,江苏艾康生物),加热至80℃搅拌反应2小时。冷却至室温,减压浓缩,所得残余物中加入二氯甲烷(200mL)稀释,放入冰水中冷却,滴加饱和碳酸氢钠溶液中和至pH=8~9,有机相用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物1c(4.8g),产率:94%。

[0373] MS m/z(ESI):281.2[M+1]。

[0374] 第二步

[0375] (R)-1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-酚1d

[0376] 将化合物1c(2.6g,9.3mmol)溶于四氢呋喃(20mL),放入冰水中冷却,缓慢加入双三甲基硅基氨基锂(27.8mL,1M四氢呋喃溶液,27.8mmol),0℃反应1小时。加入甲醇(10mL)淬灭反应,用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系A纯化得到标题化合物1d(400mg),产率:55.8%。

[0377] MS m/z(ESI):249.0[M+1]。

[0378] 第三步

[0379] (R)-4-(7-氯-1-甲基-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-5-基)-3-甲基吗啉1e

[0380] 将化合物1d(400mg,1.6mmol)溶于3.0mL三氯氧磷中,加热至90℃搅拌2.0小时。反应液冷却至室温,减压浓缩,所得残余物中加入二氯甲烷(50mL)稀释,放入冰水中冷却,加

入饱和碳酸氢钠溶液中和至pH＝8～9,搅拌反应0.5小时,静置分液,收集有机相,用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物1e(240mg),产率:56％。MS m/z(ESI):267.0[M+1]。

[0381] 第四步

[0382] (R)-2-甲基-2-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)丙腈1g

[0383] 将化合物1e(240mg,0.91mmol)和化合物异丁腈1f(620mg,8.9mmol,上海毕得)溶于30mL四氢呋喃中,氮气氛下,干冰丙酮浴冷却,滴加双三甲基硅基氨基锂(8.9mL,1M四氢呋喃溶液,8.9mmol),低温搅拌0.5小时,自然升至室温搅拌1小时,加水淬灭反应,有机相用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物1g(200mg),产率:74％。

[0384] MS m/z(ESI):300.1[M+1]。

[0385] 第五步

[0386] (R)-2-(3-溴-1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)-2-甲基丙腈1h

[0387] 将1g(200mg,0.67mmol)溶于5mL的1,4-二氧六环中,加入氢氧化钠溶液(0.66mL,2M溶液,1.32mmol),冰水冷却,加入液溴(427mg,2.67mmol),低温搅拌10分钟,自然升至室温搅拌反应1小时。加入乙酸乙酯稀释,有机相用饱和硫代硫酸钠溶液洗涤,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物1h(140mg),产率:55％。

[0388] MS m/z(ESI):377.9[M+1]。

[0389] 第六步

[0390] 2-甲基-2-(1-甲基-5-((R)-3-甲基吗啉基)-3-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-3-

[0391] 基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)丙腈1i

[0392] 将1h(20mg,0.05mmol)、四三苯基膦钯(18mg,0.015mmol)、碳酸钠(11mg,0.10mmol)和1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)-1H-吡唑(29mg,0.10mmol,上海毕得)溶于4mL乙二醇二甲醚中,加入1mL水,氩气氛下,微波加热至120℃反应1小时。反应液冷却至室温,加水20mL,乙酸乙酯萃取(20mL×3),合并有机相,减压浓缩,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物1i(20mg),产率:84％。

[0393] MS m/z(ESI):450.1[M+1]。

[0394] 第七步(R)-2-甲基-2-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-

[0395] 基)丙腈1

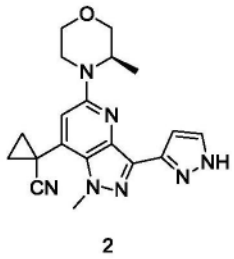
[0396] 将化合物1i(20mg,0.04mmol)溶于5mL二氯甲烷中,滴加5mL三氟乙酸,加毕,搅拌反应4小时。反应液减压浓缩,滴加7M氨甲醇溶液调节pH＝8～9,减压浓缩,用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系A纯化得到标题化合物1(7.0mg),产率:43％。

[0397] MS m/z(ESI):366.0[M+1]。

[0398] ^{1}H NMR(400MHz,CD_3OD):δ7.58(s,1H),7.03(s,1H),6.86(s,1H),4.39(s,4H),4.04-3.82(m,2H),3.74(s,2H),3.58(td,1H),3.26(dd,1H),1.88(d,6H),1.19(d,3H)。

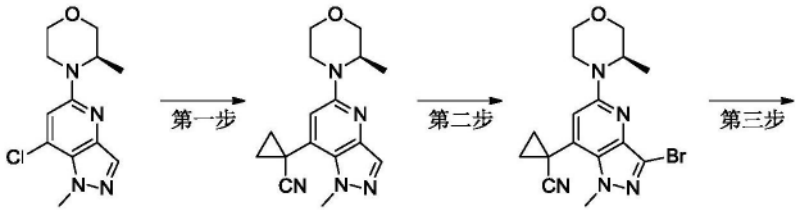
[0399] 实施例2

[0400] (R)-1-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)环丙腈2

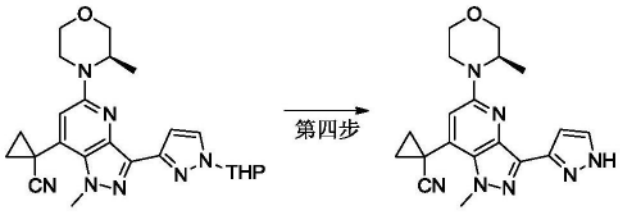


2

[0401]



1e 2a 2b



2c 2

[0402] 第一步

[0403] (R)-1-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)环丙腈2a

[0404] 将1e(86mg,0.32mmol)、环丙腈(65mg,0.97mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(30mg,0.03mmol)、1,1'-联萘-2,2'-双二苯膦(40mg,0.06mmol)溶于2mL四氢呋喃中,氩气氛下,加入双三甲基硅基氨基锂(1.0mL,1M四氢呋喃溶液,1.0mmol),密封加热至80℃搅拌反应1小时,反应液冷却至室温。加水20mL,乙酸乙酯萃取(20mL×3),合并有机相,用饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物2a(80mg),产率:84%。

[0405] MS m/z(ESI):298.3[M+1]。

[0406] 第二步

[0407] (R)-1-(3-溴-1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)环丙腈2b

[0408] 将2a(30mg,0.1mmol)溶于5mL的1,4-二氧六环中,加入氢氧化钠溶液(0.1mL,2M溶液,0.2mmol),冰水冷却,加入液溴(64mg,0.4mmol),低温搅拌10分钟,自然升至室温搅拌反应1小时。加入20mL乙酸乙酯稀释,有机相用饱和硫代硫酸钠溶液洗涤,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化

得到标题化合物2b(30mg),产率:80%。

[0409] MS m/z(ESI):376.4[M+1]。

[0410] 第三步

[0411] 1-(1-甲基-5-((R)-3-甲基吗啉基)-3-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)环丙腈2c

[0412] 将2b(30mg,0.08mmol)、四三苯基膦钯(10mg,0.08mmol)、碳酸钠(17mg,0.16mmol)和1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)-1H-吡唑(44mg,0.16mmol)溶于4.0mL乙二醇二甲醚中,加入1.0mL水,氩气氛下,微波加热至120℃搅拌反应1小时,反应液冷却至室温。加水20mL,乙酸乙酯萃取(20mL×3),合并有机相,减压浓缩,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物2c(30mg),产率:84%。

[0413] MS m/z(ESI):448.3[M+1]。

[0414] 第四步

[0415] (R)-1-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)环丙腈2

[0416] 将化合物2c(30mg,0.07mmol)溶于5mL二氯甲烷中,滴加1mL三氟乙酸,加毕,搅拌反应4小时。反应液减压浓缩,滴加7M氨甲醇溶液调节pH=8~9,减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系A纯化得到标题化合物2(13.5mg),产率:55%。

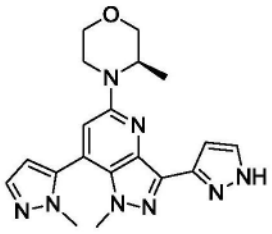
[0417] MS m/z(ESI):364.3[M+1]。

[0418] ^{1}H NMR(400MHz,CD_3OD):δ7.58(d,1H),7.01(d,1H),6.93(s,1H),4.40(d,1H),4.38(s,3H),3.95(dd,2H),3.79-3.68(m,2H),3.57(td,1H),3.30-3.25(m,1H),1.92-1.80(m,2H),1.72-1.58(m,2H),1.18(d,3H)。

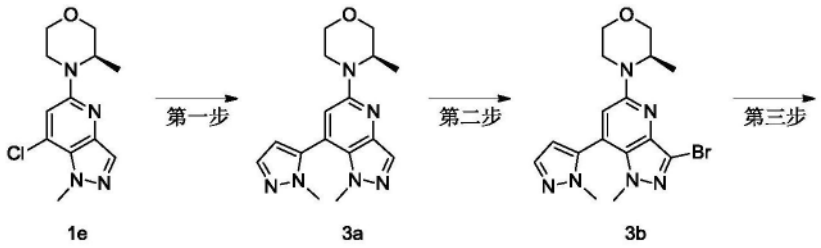
[0419] 实施例3

[0420] (R)-3-甲基-4-(1-甲基-7-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]

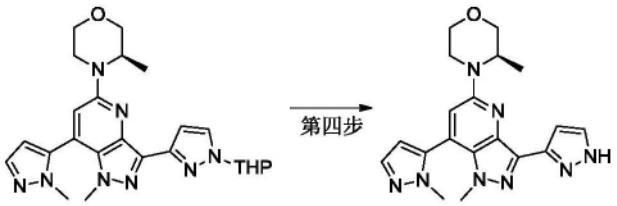
[0421] 吡啶-5-基)吗啉3



3

[0422] 

1e 3a 3b



3c 3

[0423] 第一步

[0424] (R)-3-甲基-4-(1-甲基-7-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-5-基)吗啉

[0425] 3a

[0426] 将1e(250mg,0.94mmol)、双三苯基磷二氯化钯(66mg,0.09mmol)、碳酸钾(260mg,1.8mmol)和1-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)-1H-吡唑(390mg,1.87mmol)溶于8.0mL乙二醇二甲醚中,加入2.0mL水,氩气氛下,微波加热至120℃反应2小时,反应液冷却至室温。加水20mL稀释,乙酸乙酯萃取(20mL×3),合并有机相,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物3a(290mg),产率:99%。

[0427] MS m/z(ESI):313.2[M+1]。

[0428] 第二步(R)-4-(3-溴-1-甲基-7-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-5-基)-3-甲基吗啡啉3b

[0429] 将3a(300mg,0.97mmol)溶于5mL的N,N-二甲基甲酰胺中,放入冰水中冷却,加入N-溴代丁二酰亚胺(205mg,1.2mmol),低温搅拌10分钟,自然升至室温搅拌反应1小时。加入20mL乙酸乙酯稀释,有机相用饱和硫代硫酸钠溶液洗涤,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物3b(115mg),产率:30%。

[0430] MS m/z(ESI):391.1[M+1]。

[0431] 第三步

[0432] (3R)-3-甲基-4-(1-甲基-7-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-(1-(四氢-2H-吡喃-2-

基)-1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-5-基)吗啉3c

[0433] 将3b(35mg,0.09mmol)、四三苯基膦钯(10mg,0.009mmol)、碳酸钠(19mg,0.18mmol)和1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)-1H-吡唑(50mg,0.18mmol)溶于5.0mL乙二醇二甲醚中,加入1mL水,氩气氛下,微波加热至120℃反应1小时,冷却。加水20mL,乙酸乙酯萃取(20mL×3),合并有机相,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物3c(20mg),产率:48%。

[0434] MS m/z(ESI):463.4[M+1]。

[0435] 第四步

[0436] (R)-3-甲基-4-(1-甲基-7-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]

[0437] 吡啶-5-基)吗啉3

[0438] 将化合物3c(60mg,0.13mmol)溶于5mL二氯甲烷中,滴加1mL三氟乙酸,加毕,搅拌反应4小时。反应液减压浓缩,滴加7M氨甲醇溶液调节pH=8~9,减压浓缩,用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系A纯化得到标题化合物3(20mg),产率:40.7%。

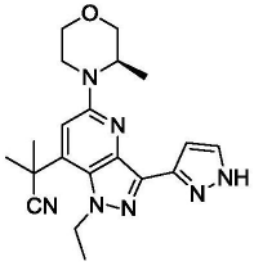
[0439] MS m/z(ESI):379.2[M+1]。

[0440] ^{1}H NMR(400MHz,CD_3OD):δ7.58(d,1H),7.57(d,1H),7.03(d,1H),6.90(s,1H),6.48(d,1H),4.38(d,1H),4.02-3.88(m,2H),3.72(s,2H),3.65(s,3H),3.57(td,1H),3.50(s,3H),3.27-3.22(m,1H),1.19(d,3H)。

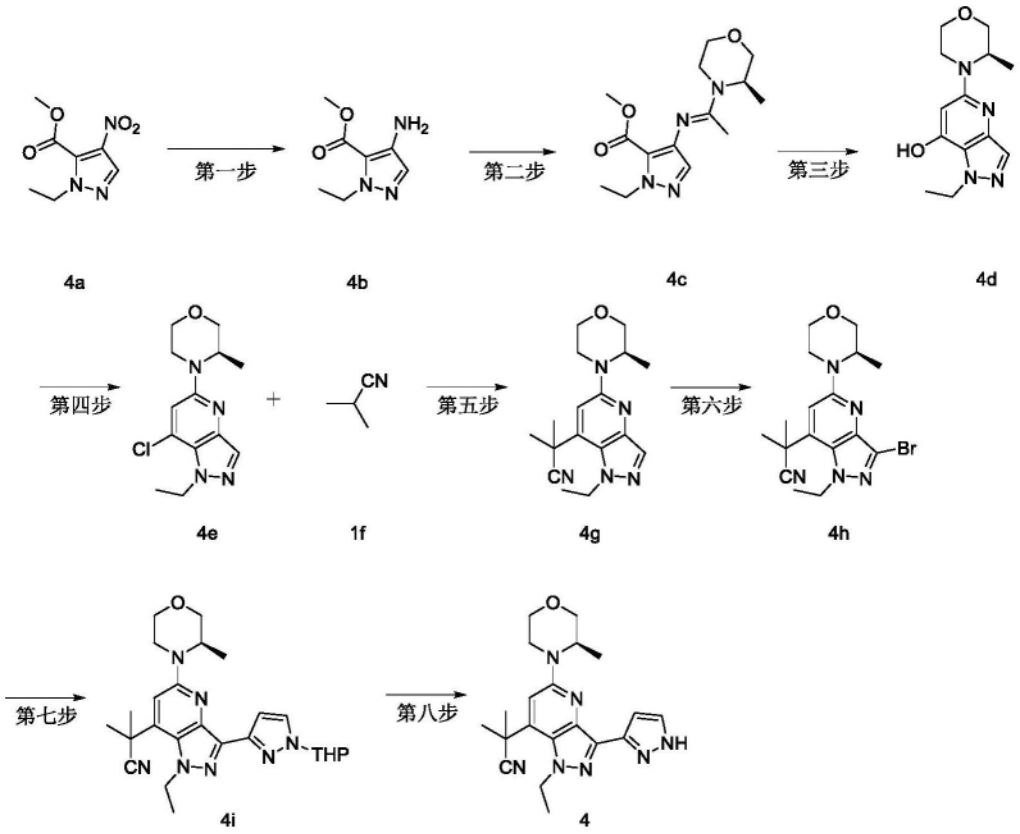
[0441] 实施例4

[0442] (R)-2-(1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)-2-

[0443] 甲基丙腈4

[0444] 

4

[0445] 

[0446] 第一步

[0447] 1-乙基-4-硝基-1H-吡唑-5-羧酸甲酯4b

[0448] 将化合物1-乙基-4-硝基-1H-吡唑-5-甲酸甲酯4a(5g,25.1mmol,上海毕得)溶于100mL甲醇,加入10%钯/碳(1g),氢气置换三次,搅拌反应14小时。过滤,滤液减压浓缩,得到粗品标题化合物4b(4.2g),产物不经纯化直接用于下一步反应。

[0449] MS m/z(ESI):170.1[M+1]。

[0450] 第二步

[0451] (R,E)-1-乙基-4-((1-(3-甲基吗啉)乙亚基)氨基)-1H-吡唑-5-羧酸甲酯4c

[0452] 将1b(3.3g,23.0mmol)溶于1,2-二氯乙烷中,氩气氛下,放入冰水中冷却,缓慢滴加三氯氧磷(5.4g,35.2mmol),滴完后室温搅拌30分钟,加入4b(2.5g,16.1mmol),加热至80℃搅拌反应2小时。冷却至室温,减压浓缩,所得残余物中加入二氯甲烷(200mL)稀释,放入冰水中冷却,滴加饱和碳酸氢钠溶液中和至pH=8~9,有机相用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化,得到标题化合物4c(2.3g),产率:66.1%。

[0453] MS m/z(ESI):295.2[M+1]。

[0454] 第三步

[0455] (R)-1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-酚4d

[0456] 将4c(1g,3.39mmol)溶于四氢呋喃(20mL),放入冰水中冷却,缓慢加入双三甲基硅基氨基锂(10mL,1M四氢呋喃溶液,10mmol),0℃反应1小时。加入甲醇(10mL)淬灭反应,用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系A纯化,得到标题化合物4d(250mg),产率:28.1%。

[0457] MS m/z(ESI):263.1[M+1]。

[0458] 第四步

[0459] (R)-4-(7-氯-1-乙基-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-5-基)-3-甲基吗啉4e

[0460] 将4d(250mg,0.95mmol)溶于2.0mL三氯氧磷中,加热至90℃搅拌2小时。反应液冷却至室温,减压浓缩,所得残余物中加入二氯甲烷(50mL)稀释,放入冰水中冷却,加入饱和碳酸氢钠溶液中和至pH=8~9,搅拌反应0.5小时,静置分液,收集有机相,用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化,得到标题化合物4e(120mg),产率:42.5%。

[0461] MS m/z(ESI):281.3[M+1]。

[0462] 第五步

[0463] (R)-2-(1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)-2-甲基丙腈4g

[0464] 将化合物4e(120mg,0.43mmol)和化合物1f(295mg,4.3mmol,上海毕得)溶于30mL四氢呋喃中,氩气氛下,干冰丙酮浴冷却,滴加双三甲基硅基氨基锂(1.7mL,1M四氢呋喃溶液,1.7mmol),低温搅拌0.5小时,自然升至室温搅拌1小时,加水淬灭反应,有机相用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化,得到标题化合物4g(95mg),产率:74%。

[0465] MS m/z(ESI):314.1[M+1]。

[0466] 第六步

[0467] (R)-2-(3-溴-1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)-2-甲基丙腈4h

[0468] 将4g(95mg,0.67mmol)溶于5mL的1,4-二氧六环中,加入氢氧化钠溶液(0.3mL,2M溶液,0.6mmol),冰水冷却,加入液溴(194mg,1.2mmol),低温搅拌10分钟,自然升至室温搅拌反应1小时。加入乙酸乙酯稀释,有机相用饱和硫代硫酸钠溶液洗涤,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化,得到标题化合物4h(41mg),产率:34%。

[0469] MS m/z(ESI):392.1[M+1]。

[0470] 第七步

[0471] 2-(1-乙基-5-((R)-3-甲基吗啉基)-3-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)-2-甲基丙腈4i

[0472] 将4h(40mg,0.1mmol)、四三苯基膦钯(12mg,0.01mmol)、碳酸钠(32mg,0.3mmol)和1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑(32mg,0.20mmol,上海毕得)溶于4mL二氧六环中,加入1mL水,氩气氛下,微波加热至120℃反应1小时。反应液冷却至室温,加水20mL,乙酸乙酯萃取(20mL×3),合并有机相,减压浓缩,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物4i(40mg),产率:85%。

[0473] MS m/z(ESI):464.1[M+1]。

[0474] 第八步

[0475] (R)-2-(1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)-2-

[0476] 甲基丙腈4

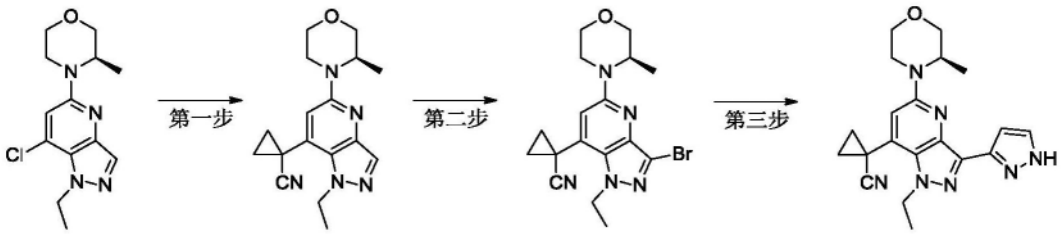
[0477] 将化合物4i(20mg,0.04mmol)溶于5mL二氯甲烷中,滴加5mL三氟乙酸,加毕,搅拌反应4小时。反应液减压浓缩,滴加7M氨甲醇溶液调节pH=8~9,减压浓缩,用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系A纯化,得到标题化合物4(15mg),产率:45%。

[0478] MS m/z(ESI):380.2[M+1]。

[0479] ^{1}H NMR(400MHz,CD_3OD):δ7.57(s,1H),7.04(s,1H),6.85(s,1H),4.66-4.64(m,2H),4.39-4.38(m,1H),3.97-3.91(m,2H),3.74(s,2H),3.58-3.57(m,1H),3.28-3.27(m,1H),1.86(d,6H),1.46(t,3H),1.18(d,3H)。

[0480] 实施例5

[0481] (R)-1-(1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)环丙腈5

[0482] 

4e 5a 5b 5

[0483] 第一步

[0484] (R)-1-(1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)环丙腈5a

[0485] 将4e(500mg,1.78mmol)、环丙腈(239mg,3.56mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(162mg,0.18mmol)、1,1'-联萘-2,2'-双二苯膦(222mg,0.36mmol)溶于2mL四氢呋喃中,氩气氛下,加入双三甲基硅基氨基锂(5.3mL,1M四氢呋喃溶液,5.3mmol),密封加热至80℃搅拌反应1小时,反应液冷却至室温。加水20mL,乙酸乙酯萃取(20mL×3),合并有机相,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物5a(360mg),产率:64.9%。

[0486] MS m/z(ESI):312.2[M+1]。

[0487] 第二步

[0488] (R)-1-(3-溴-1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)环丙腈5b

[0489] 将5a(377mg,1.2mmol)溶于5mL的四氢呋喃中,冰水冷却,加入N-溴代丁二酰亚胺(215mg,1.2mmol),低温搅拌10分钟,自然升至室温搅拌反应2小时。加入20mL乙酸乙酯稀释,有机相用饱和硫代硫酸钠溶液洗涤,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物5b(100mg),产率:21%。

[0490] MS m/z(ESI):390.3[M+1]。

[0491] 第三步(R)-1-(1-乙基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)环丙腈5

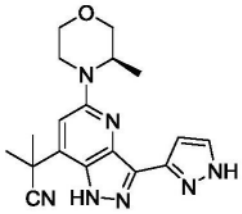
[0492] 将5b(100mg,0.25mmol)、[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯二氯甲烷络合物(43mg,0.05mmol)、碳酸钠(81mg,0.78mmol)和(1H-吡唑-3-基)硼酸(43mg,0.38mmol,上海

毕得)溶于4.0mL二氧六环中,加入1.0mL水,氩气氛下,100℃搅拌反应2小时,反应液冷却至室温。加水20mL,乙酸乙酯萃取(20mL×3),合并有机相,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系A纯化,得到标题化合物5(10mg),产率:10%。

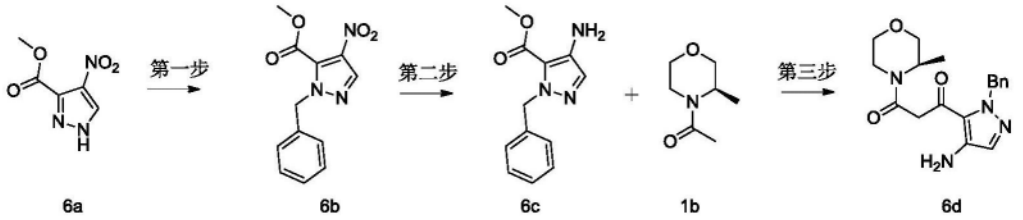
[0493] ^{1}H NMR(400MHz,CD_3OD):δ7.82(s,1H),7.04-7.12(m,2H),4.84-4.82(m,2H),4.51-4.50(m,1H),4.09-4.05(m,2H),3.86-3.85(m,2H),3.69-3.66(m,1H),3.43-3.42(m,1H),1.97(d,2H),1.80-1.78(m,2H),1.67(t,3H),1.32(d,3H)。

[0494] 实施例6

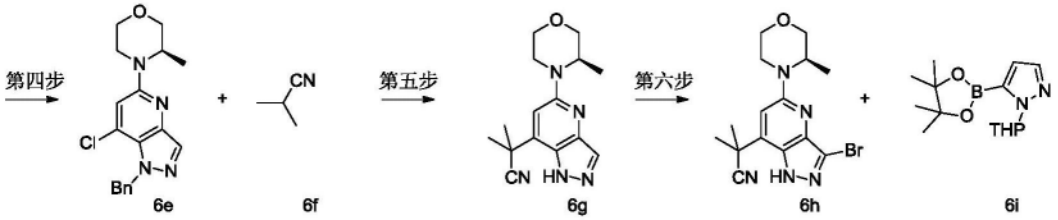
[0495] (R)-2-甲基-2-(5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)丙腈6

[0496] 

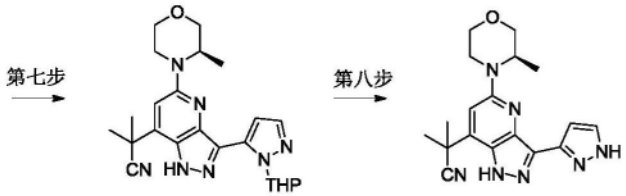
6



6a 6b 6c 1b 6d

[0497] 

6e 6f 6g 6h 6i



6j 6

[0498] 第一步

[0499] 1-苄基-4-硝基-1H-吡唑-5-羧酸甲酯6b

[0500] 将4-硝基-1H-吡唑-3-羧酸甲酯6a(2g,11.69mmol,迈瑞尔)溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中,加入碳酸钾(1.75g,12.66mmol)和溴化苄(2.04g,11.93mmol),室温搅拌17小时。反应液加入80mL乙酸乙酯,水洗(30mL×3),饱和氯化钠溶液(30mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物6b(710mg),产率:23.3%。

[0501] MS m/z(ESI):262.0[M+1]。

[0502] 第二步

[0503] 4-氨基-1-苄基-1H-吡唑-5-羧酸甲酯6c

[0504] 将化合物6b(710mg,2.72mmol)溶于20mL无水乙醇中,加入铁粉(1.52g,27.22mmol)和氯化铵(1.46g,27.29mmol)。将反应液加热至回流,搅拌反应17小时。反应液冷却至室温,通过预铺一层硅藻土的布氏漏斗过滤,用乙酸乙酯洗涤固体,合并滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物6c(650mg,包含乙醇酯交换产物),产率:100%。

[0505] MS m/z(ESI):232.2[M+1],246.2[M+1]。

[0506] 第三步

[0507] (R)-1-(4-氨基-1-苄基-1H-吡唑-5-基)-3-(3-甲基吗啉基)丙烷-1,3-二酮6d

[0508] 将双(三甲硅基)氨基锂(11.29mL,1M四氢呋喃溶液,11.29mmol)置三口瓶中,氮气氛下,将反应液冷却至内温在-10℃至0℃之间,滴入1b的2-甲基四氢呋喃溶液(0.65g,4.54mmol,1.6mL),保温反应40分钟。再滴入6c的2-甲基四氢呋喃溶液(0.65g,2.81mmol,2.6mL),保温反应1小时。反应液加入10mL水,用乙酸乙酯萃取(10mL×3),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物6d(440mg),产率:45.7%。

[0509] MS m/z(ESI):343.2[M+1]。

[0510] 第四步

[0511] (R)-1-苄基-7-氯-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶6e

[0512] 将化合物6d(0.44g,1.29mmol)溶于5mL乙腈中,加入N,N-二异丙基乙胺(0.5g,3.87mmol),冷却反应液至内温在-5℃至0℃之间。滴加三氯氧磷(0.79g,5.15mmol),保温反应1.5小时,再升至65℃反应4小时。反应液冷却至室温,倒入到20mL饱和碳酸钠溶液中,用乙酸乙酯萃取(20mL×3),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物6e(180mg),产率:40.8%。

[0513] MS m/z(ESI):343.1[M+1]。

[0514] 第五步

[0515] (R)-2-甲基-2-(5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)丙腈6g

[0516] 将化合物6e(180mg,0.53mmol)和异丁腈6f(218mg,3.15mmol)溶于5mL四氢呋喃中,氮气氛下,冷却至内温-70℃以下。滴加双(三甲硅基)氨基锂(3.15mL,1M四氢呋喃溶液,3.15mmol),保温反应30分钟,再升至室温反应1小时。加入10mL水,用乙酸乙酯萃取(10mL×3),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物6g(80mg),产率:53.3%。

[0517] MS m/z(ESI):286.2[M+1]。

[0518] 第六步

[0519] (R)-2-(3-溴-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)-2-甲基丙腈6h

[0520] 将化合物6g(80mg,0.28mmol)溶于2mL四氢呋喃中,加入N-溴代丁二酰亚胺(50mg,0.28mmol),室温搅拌30分钟。加入10mL饱和硫代硫酸钠溶液,用乙酸乙酯萃取(10mL×3),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标

题化合物6h(40mg),产率:39.2%。

[0521] MS m/z(ESI):364.1[M+1]。

[0522] 第七步

[0523] 2-甲基-2-(5-((R)-3-甲基吗啉基)-3-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-5-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)丙腈6j

[0524] 将化合物6h(40mg,0.11mmol)、1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)-1H-吡唑6i(61mg,0.22mmol,上海毕得)和碳酸钠(24mg,0.22mmol)置于三口瓶中,加入2mL 1,4-二氧六环和0.5mL水,氮气置换3次后,加入二(三苯基膦)二氯化钯(II)(16mg,22.8umol),氮气置换3次,氮气氛下,外温升温至85℃,保温搅拌1小时。反应液冷却至室温,加入10mL水,用乙酸乙酯萃取(10mL×3),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物6j(25mg),产率:52.3%。

[0525] MS m/z(ESI):436.3[M+1]。

[0526] 第八步

[0527] 2-甲基-2-(5-((R)-3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-5-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)丙腈6

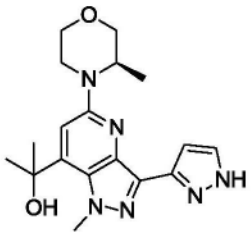
[0528] 将化合物6j(22mg,50.51umol)溶于3mL异丙醇中,加入三氟乙酸(404mg,3.54mmol),室温搅拌30分钟。将反应液倒入到10mL饱和碳酸氢钠溶液中,减压浓缩,再用乙酸乙酯萃取(10mL×3),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用薄层色谱法以展开剂体系C纯化所得残余物,得到标题化合物6(5mg),产率:28.2%。

[0529] MS m/z(ESI):352.1[M+1]。

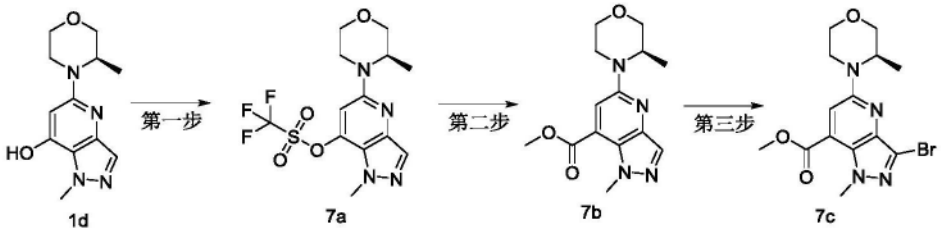
[0530] ^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$):δ7.77(s,1H),7.18(s,1H),6.93(s,1H),4.42-4.43(d,1H),4.14-4.11(m,1H),4.01-3.98(m,1H),3.88-3.89(m,2H),3.74-3.67(m,1H),3.44-3.42(m,1H),2.00(s,6H),1.36-1.35(d,3H)。

[0531] 对照例1(实施例7)

[0532] (R)-2-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)丙-2-醇7



7

[0533] 

1d 7a 7b 7c 7d 7e 7

[0534] 第一步

[0535] (R)-1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基三氟甲烷磺酸酯7a

[0536] 将化合物1d(500mg,2.0mmol)溶于5.0mL二氯甲烷中,加入N,N-二异丙基乙胺(520mg,4.0mmol)、N-苯基双(三氟甲烷磺酰基)亚胺(790mg,2.2mmol)搅拌2.0小时。反应液减压浓缩,所得残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物7a(600mg),产率:78.3%。

[0537] MS m/z(ESI):381.3[M+1]。

[0538] 第二步

[0539] (R)-1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-羧酸甲酯7b

[0540] 将化合物7a(400mg,1.05mmol)、[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯二氯甲烷络合物(178mg,0.21mmol,上海毕得)、三乙胺(210mg,2.09mmol)溶于8mL甲醇中,一氧化碳气氛下,于65℃搅拌15小时,冷却至室温,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物7b(90mg),产率:29.5%。

[0541] MS m/z(ESI):291.1[M+1]。

[0542] 第三步

[0543] (R)-3-溴-1-甲基-5-(3-甲基吗啉)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-羧酸甲酯7c

[0544] 将化合物7b(90mg,0.31mmol)溶于5mL四氢呋喃中,加入N-溴代丁二酰亚胺(110mg,0.62mmol),室温搅拌30分钟。加入10mL饱和硫代硫酸钠溶液,用乙酸乙酯萃取(10mL×3),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,得到粗品标题化合物7c(180mg),产品不经纯化直接用于下步反应。

[0545] MS m/z(ESI):369.1[M+1]。

[0546] 第四步

[0547] 1-甲基-5-((R)-3-甲基吗啉基)-3-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-羧酸甲酯7d

[0548] 将7c(180mg,0.316mmol)、[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯二氯甲烷络合物(30mg,0.032mmol)、碳酸钠(83mg,0.783mmol)和1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊-2-基)-1H-吡唑(176mg,0.632mmol,上海毕得)溶于4mL二氧六环中,加入1mL水,氩气氛下,微波加热至120℃反应1小时。反应液冷却至室温,加水20mL,乙酸乙酯萃取(20mL×3),合并有机相,减压浓缩,饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析色谱法以洗脱剂体系C纯化得到标题化合物7d(45mg),产率:32.3%。

[0549] MS m/z(ESI):441.2[M+1]。

[0550] 第五步

[0551] 2-(1-甲基-5-((R)-3-甲基吗啉基)-3-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)丙-2-醇7e

[0552] 将化合物7d(45mg,0.102mmol)溶于5mL四氢呋喃中,冰浴滴加1M甲基溴化镁的四氢呋喃溶液(36mg,0.301mmol,上海毕得),加毕,搅拌反应2小时。反应液加入10mL饱和氯化铵溶液,乙酸乙酯(10mL×3)萃取,减压浓缩,残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系A纯化得到标题化合物7e(40mg),产率:88.9%。MS m/z(ESI):441.6[M+1]。

[0553] 第六步(R)-2-(1-甲基-5-(3-甲基吗啉基)-3-(1H-吡唑-3-基)-1H-吡唑并[4,3-b]吡啶-7-基)丙-2-

[0554] 醇7

[0555] 将化合物7e(40mg,90umol)溶于3mL甲醇中,加入盐酸二氧六环溶液(1mL,4N),室温搅拌30分钟。减压浓缩,所得残余物用薄层色谱法以展开剂体系C纯化,得到标题化合物7(10mg),产率:30.9%。

[0556] MS m/z(ESI):357.6[M+1]。

[0557] ^{1}H NMR(400MHz,CD_3OD):δ7.68(s,1H),7.43(s,1H),7.11(s,1H),4.50-4.42(m,2H),4.21(s,3H),4.10-3.99(m,4H),3.84(d,2H),3.68(td,2H),1.28(d,6H)。

[0558] 测试例:

[0559] 生物学评价

[0560] 测试例1、本公开化合物对ATR酶的抑制效应。

[0561] 以下方法用来测定本公开化合物对ATR酶的抑制效应。实验方法简述如下:

[0562] 一、实验材料及仪器

[0563] 1.ATR酶(Eurofins Pharma Discovery Services,14-953-M)

[0564] 2.GST标签P53蛋白(Eurofins Pharma Discovery Services,14-952-M)

[0565] 3.384孔板(Thermo Scientific,267462)

[0566] 4.U型底96孔板(Corning,3795)

[0567] 5.标记铕穴状化合物抗磷酸化P53蛋白抗体(cisbio,61P08KAE)

[0568] 6.链接d2的抗GST抗体(cisbio,61GSTDLF)

[0569] 7.ATP溶液(Promega,V916B)

[0570] 8.EDTA(Thermo Scientific,AM9260G)

[0571] 9.HEPES(Gibco,15630-080)

[0572] 10.酶标仪(BMG,PHERAsta)

[0573] 二、实验步骤

[0574] ATR酶1nM、P53蛋白50nM、7.435μM的ATP以及不同浓度(首浓度1μM,3倍梯度稀释11个浓度)的小分子化合物混合室温孵育2小时,然后加入终止液(12.5mM HEPES,250mM EDTA)混匀,再加入0.42ng/孔的标记铕穴状化合物抗磷酸化P53蛋白抗体和25ng/孔的链接d2的抗GST抗体。室温孵育过夜后用PHERAstar检测620nm和665nm荧光信号。数据使用GraphPad软件处理。

[0575] 三、实验数据

[0576] 本公开化合物对ATR酶的抑制活性可通过以上的试验进行测定,测得的IC_{50}值见表1。

[0577] 表1本公开化合物对ATR酶抑制的IC_{50}。

[0578]

实施例编号	IC_{50}/nM	最大抑制率(%)
1	3	100
2	9	100
3	15	100
4	6	100
5	8	100
6	3	100
对照例1	73	97

[0579] 结论:与对照例1相比,本公开化合物具有更好的ATR酶的抑制活性。

[0580] 测试例2、细胞增殖实验

[0581] 以下方法通过检测细胞内ATP含量,根据IC_{50}大小评价本公开化合物对LoVo细胞增殖的抑制效果。实验方法简述如下:

[0582] 一、实验材料及仪器

[0583] 1.LoVo,人结肠癌肿瘤细胞(南京科佰,CBP60032)

[0584] 2.胎牛血清(FBS)(GIBCO,10091-148)

[0585] 3.F-12K培养基(Gibco,21127030)

[0586] 4.CellTite-Glo试剂(Promega,G7573)

[0587] 5.96孔细胞培养板(corning,3903)

[0588] 6.胰酶(invitrogen,25200-072)

[0589] 7.酶标仪(BMG,PHERAstar)

[0590] 8.细胞计数仪(上海睿钰生物科技有限公司,IC1000)

[0591] 二、实验步骤

[0592] LoVo细胞培养在含10%FBS的F-12K培养基中,一周传代2~3次,传代比列1:3或1:5。传代时,用胰酶消化细胞后转至离心管中,1200rpm离心3分钟,弃去上清培养基残液,加入新鲜培养基重悬细胞。在96孔细胞培养板中加入90μL的细胞悬液,密度为3.88×10^4细胞/ml,96孔板外围只加入100μL的完全培养基。将培养板在培养箱培养24小时(37℃,5%

CO_2)。

[0593] 将待测样品用DMSO稀释成2mM,并以3倍依次稀释成10个浓度,并设置空白和对照孔。取配制成梯度浓度的待测化合物溶液5μL加入到95μL新鲜培养基中。再向培养板中加入10μL上述含药物的培养基溶液。将培养板在培养箱孵育3天(37℃,5% CO_2)。在96孔细胞培养板中,每孔加入50μL CellTiter-Glo试剂,室温避光放置5-10min,在PHERAstar中读取化学发光信号值,数据使用GraphPad软件处理。

[0594] 三、实验数据

[0595] 本公开化合物对LoVo细胞增殖的抑制活性可通过以上的试验进行测定,测得的IC_{50}值见表2。

[0596] 表2本公开化合物对LoVo细胞增殖抑制的IC_{50}。

[0597]

实施例编号	IC_{50}/nM	最大抑制率%)
1	43	93
2	75	90
3	124	87
4	64	89
5	100	93
6	55	95
对照例1	316	92

[0598] 结论:与对照例1相比,本公开化合物对LoVo细胞增殖具有更好的抑制作用。

[0599] 药代动力学评价

[0600] 测试例3、本公开化合物的药代动力学测试

[0601] 1、摘要

[0602] 以大鼠为受试动物,应用LC/MS/MS法测定了大鼠灌胃给予实施例1化合物、实施例2化合物和实施例3化合物后不同时刻血浆中的药物浓度。研究本公开化合物在大鼠体内的药代动力学行为,评价其药动学特征。

[0603] 2、试验方案

[0604] 2.1试验药品

[0605] 实施例1化合物、实施例2化合物和实施例3化合物。

[0606] 2.2试验动物

[0607] 健康成年SD大鼠12只,雌雄各半,平均分成3组,每组4只,购自维通利华实验动物有限公司。

[0608] 2.3药物配制

[0609] 称取一定量药物,加入5%DMSO、5%吐温80和90%生理盐水配置成无色澄明溶液。

[0610] 2.4给药

[0611] SD大鼠禁食过夜后灌胃给药,给药剂量均为2mg/kg,给药体积均为10.0mL/kg。

[0612] 3、操作

[0613] 大鼠灌胃给药实施例1化合物、实施例2化合物和实施例3化合物,于给药前及给药后0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、11.0、24.0小时由眼眶采血0.2mL,置于EDTA-K2kk抗凝试管中,4℃、11000转/分钟离心5分钟分离血浆,于-20℃保存,给药后2小时进食。

[0614] 测定不同浓度的药物灌胃给药后大鼠血浆中的待测化合物含量:取给药后各时刻的大鼠血浆25μL,加入内标溶液50μL,乙腈175μL,涡旋混合5分钟,离心10分钟(4000转/分钟),血浆样品取上清液1μL进行LC/MS/MS分析。

[0615] 4、药代动力学参数结果

[0616] 表3本公开化合物的药代动力学参数如下:

[0617]

编号	药代实验(2 mg/kg)					
	血药浓度	曲线面积	半衰期	滞留时间	清除率	表观分布容积
	Cmax (ng /mL)	AUC (ng /mL*h)	T1/2 (h)	MRT(h)	CL/F (ml/min/kg)	Vz/F (ml/kg)
1	1112±394	3203±2747	2.62±2.48	3.08±2.31	17.7±12.4	2058±1222
2	309±219	1592±1392	2.57±1.39	3.99±2.26	51.7±49.5	7804±6135
3	673.57±86.67	2706±807	2.23±0.53	3.26±0.67	13.14±3.7	2437±448

[0618] 结论:本公开化合物的药代吸收良好,具有明显的药代动力学优势。