



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116444488 A

(43) 申请公布日 2023. 07. 18

(21) 申请号 202310021053.0

C07D 487/08 (2006.01)

(22) 申请日 2023.01.06

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(66) 本国优先权数据

202210044658.7 2022.01.14 CN

(71) 申请人 上海立森印迹医药技术有限公司

地址 201203 上海市浦东新区中国(上海)

自由贸易试验区蔡伦路781号1210室

(72) 发明人 周宁 成形 徐颖姣 李成涛

邹武新

(74) 专利代理机构 北京清亦华知识产权代理事

务所(普通合伙) 11201

专利代理师 张娜

(51) Int. Cl.

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

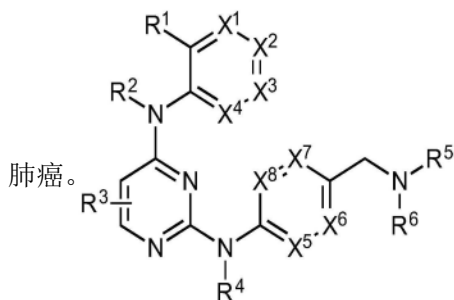
权利要求书7页 说明书47页 附图1页

(54) 发明名称

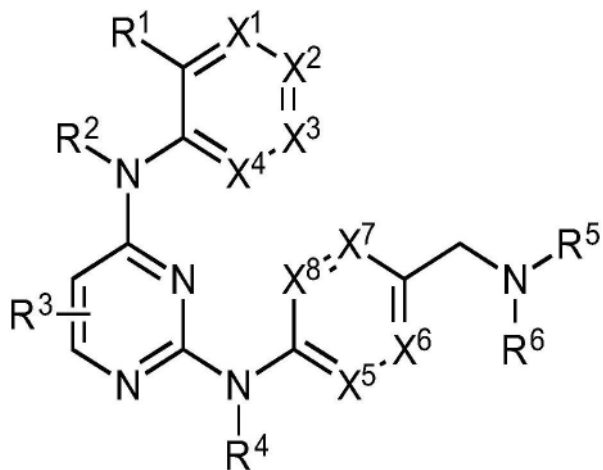
一种嘧啶-2,4-二胺衍生物及其制备方法和用途

(57) 摘要

本发明提供一种嘧啶-2,4-二胺衍生物及其制备方法和用途,具体地,所述的嘧啶-2,4-二胺衍生物如式一所示。本发明提供的嘧啶-2,4-二胺衍生物对耐药的肿瘤细胞株具有很高的抑制活性,尤其对EGFR小分子抑制剂耐药的肿瘤细胞株,进一步地,本发明提供的嘧啶-2,4-二胺衍生物可以用于治疗晚期肿瘤,尤其是晚期肺癌,特别是小细胞肺癌和靶向药治疗抵抗的非小细胞



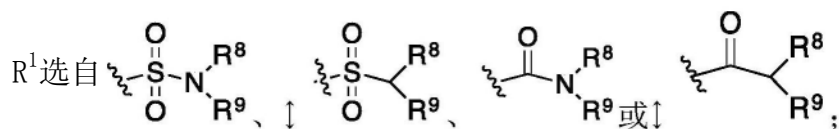
1. 一种式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐，



式一

其中，

X¹、X²、X³、X⁴、X⁵、X⁶、X⁷或X⁸各自独立地选自N或CR⁷；



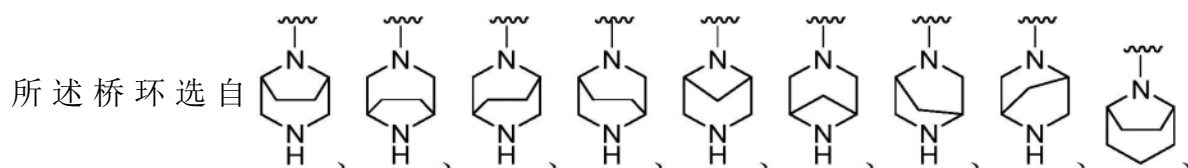
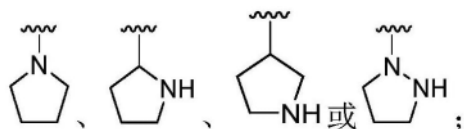
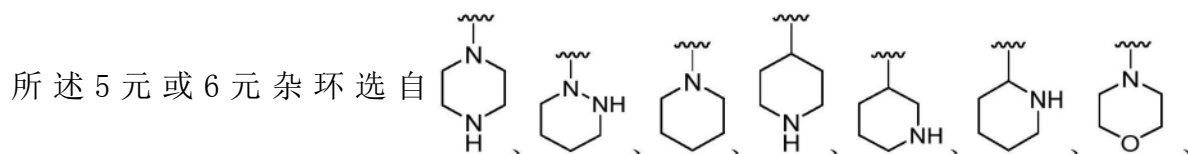
R²选自氢、烷基或取代的烷基；

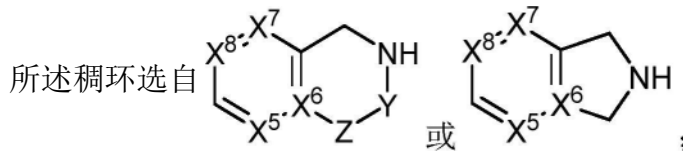
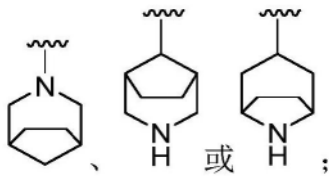
R³选自氢、卤素、C₁-C₆烷基、氨基、(C₁-C₆烷基)_m氨基、(C₁-C₆烷基)_m氨基烷基、(C₁-C₆烷基)_m酰胺基或(C₁-C₆烷基)_m氨基酰基；

R⁴选自氢、烷基或取代的烷基；

R⁵和R⁶与其共同连接的N一起形成5元或6元杂环或桥环；或R⁵和R⁶与 一起

形成稠环；





Z或Y各自独立地选自键、 $(\text{CH}_2)_n$ 或NH;

所述5元或6元杂环、桥环或稠环各自独立地任选地被一个或多个 R^{10} 取代;

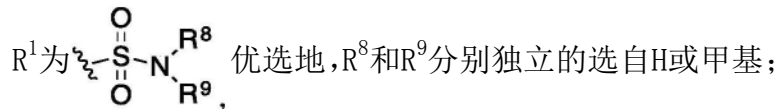
R^8 和 R^9 各自独立地选自氢、 C_1 - C_6 烷基或 C_3 - C_6 环烷基;

R^7 或 R^{10} 各自独立地选自氢、 C_1 - C_6 烷基、卤代 C_1 - C_6 烷基、羟基 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、卤代 C_1 - C_6 烷氧基、卤素、氰基、羟基、羧基、硝基、 $(\text{C}_1$ - C_6 烷基) $_m$ 氨基羰基、 C_1 - C_6 烷基羰基、 $(\text{C}_1$ - C_6 烷基) $_m$ 氨基、 $(\text{C}_1$ - C_6 烷基) $_m$ 氨基烷基、 C_1 - C_6 烷氧烷基、 $(\text{C}_1$ - C_6 烷基) $_m$ 氨基羰基氨基、磺酸基、 C_1 - C_6 烷基磺酰基、 $(\text{C}_1$ - C_6 烷基) $_m$ 氨基磺酰基、 C_1 - C_6 烷基磺酰氨基或 C_3 - C_6 环烷基;

各m独立地为0、1或2;

n为1或2。

2. 根据权利要求1所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,其中,

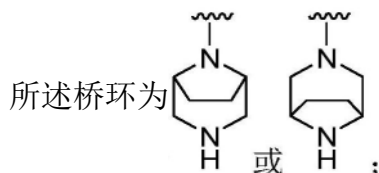
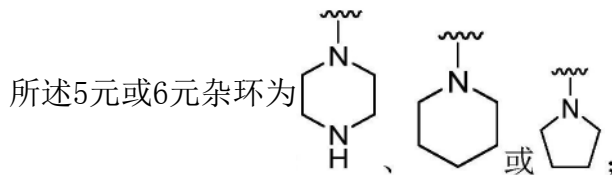


优选地, R^2 为氢;

优选地, R^4 为氢。

3. 根据权利要求1-2任一项所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,其中, R^3 为卤素,优选地, R^3 为氯。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,其中,

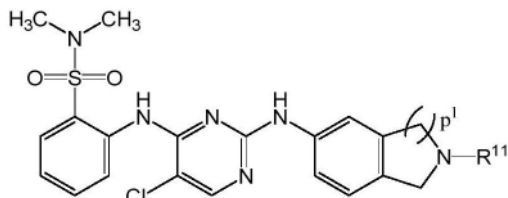


R^{10} 选自 C_1 - C_4 烷基或 $(\text{C}_1$ - C_6 烷基) $_m$ 氨基,其中, R^{10} 中的m为0、1或2;优选地, R^{10} 为甲基或N,N-二甲氨基。

5. 根据权利要求1-4任一项所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异

构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,其中, X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 、 X^5 、 X^6 、 X^7 或 X^8 均为CH;或 X^1 、 X^2 、 X^3 和 X^4 中只有一个为N和/或 X^5 、 X^6 、 X^7 和 X^8 中只有一个为N。

6. 根据权利要求1-5任一项所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,其中,所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐为式二所示的化合物,

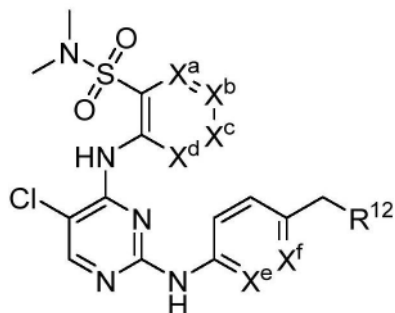


式二其中, R^{11} 选自 C_1 - C_6 烷基、羟基 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷基羰基、(C_1 - C_6 烷基) $_m$ 氨基烷基或 C_1 - C_6 烷氧烷基;优选地, R^{11} 选自N,N-二甲氨基乙基、甲氧基乙基、N-甲基氨基乙基;

m 选自0、1或2;

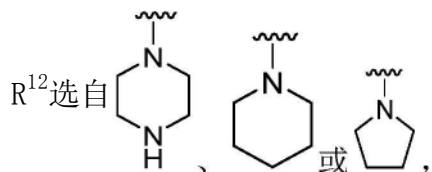
p^1 选自0、1、2或3。

7. 根据权利要求1-5任一项所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,其中,所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐为式三所示的化合物,



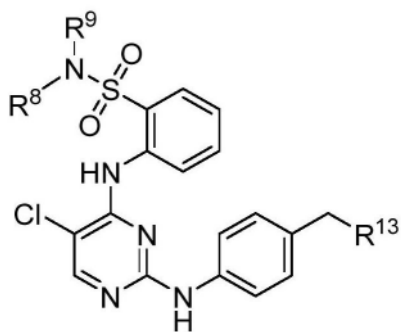
式三

其中, X^a 、 X^b 、 X^c 、 X^d 、 X^e 或 X^f 各自独立地选自N或CH,或 X^a 、 X^b 、 X^c 、 X^d 中只有一个为N和/或 X^e 、 X^f 中只有一个为N;



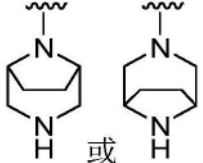
其中 R^{12} 被一个或多个甲基、二甲胺或三甲胺任意取代。

8. 根据权利要求1-5任一项所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,其中,所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐为式四所示的化合物,

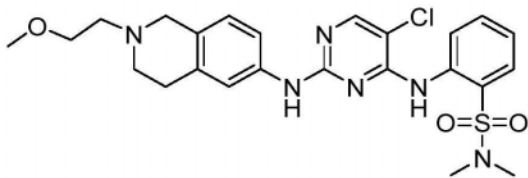
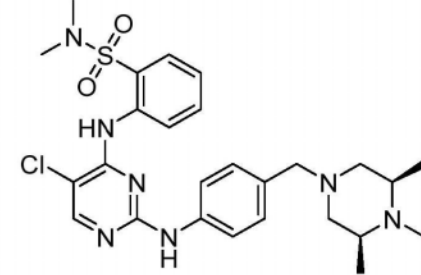
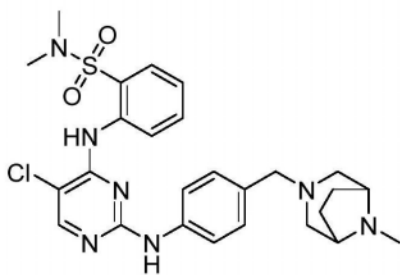
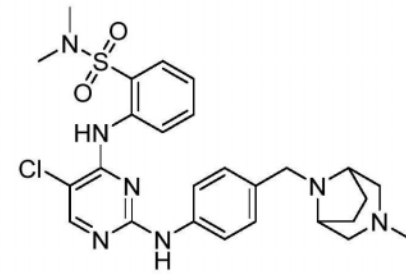
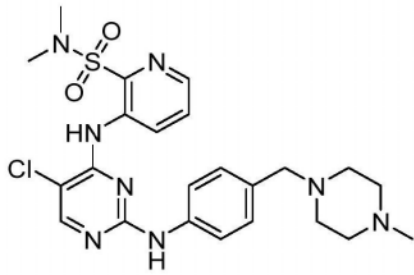
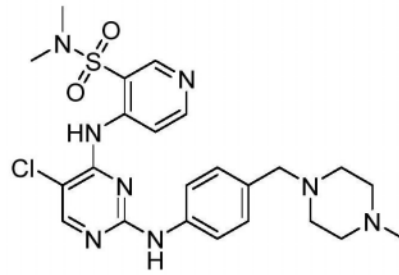
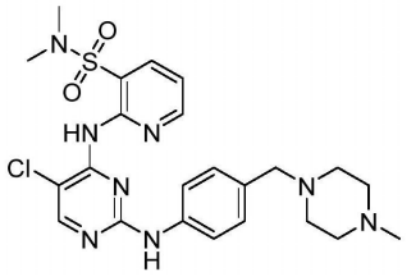
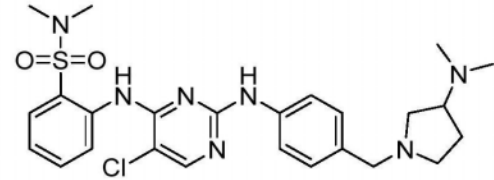
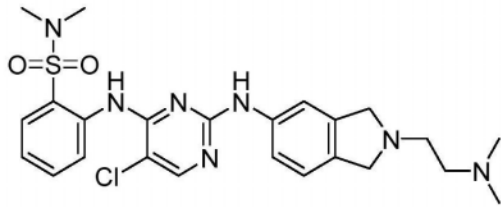
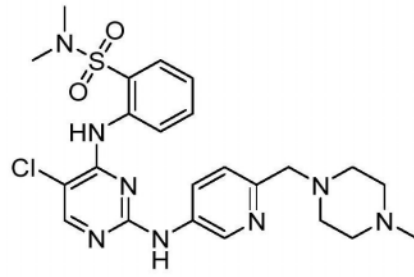
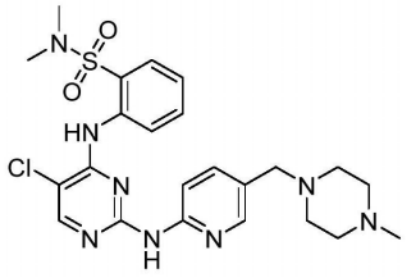


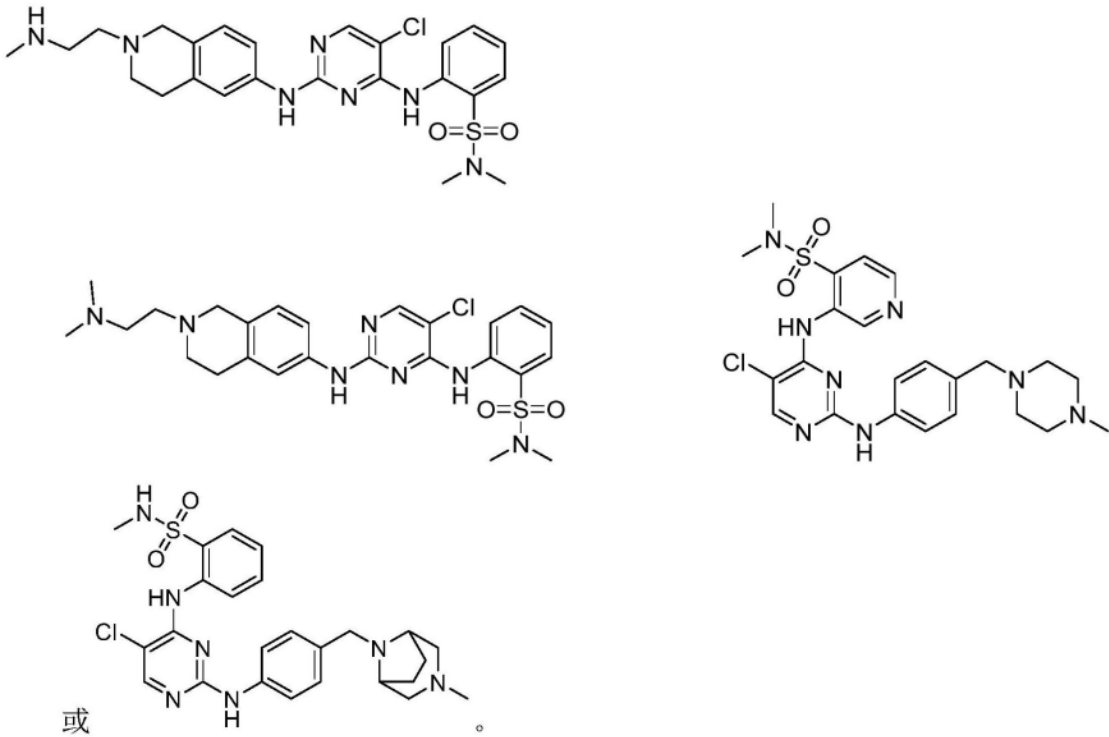
式四

其中, R^8 和 R^9 各自独立地选自氢、 C_1 - C_6 烷基或 C_3 - C_6 环烷基;

R^{13} 选自  其中 R^{13} 被一个或多个甲基任意取代。

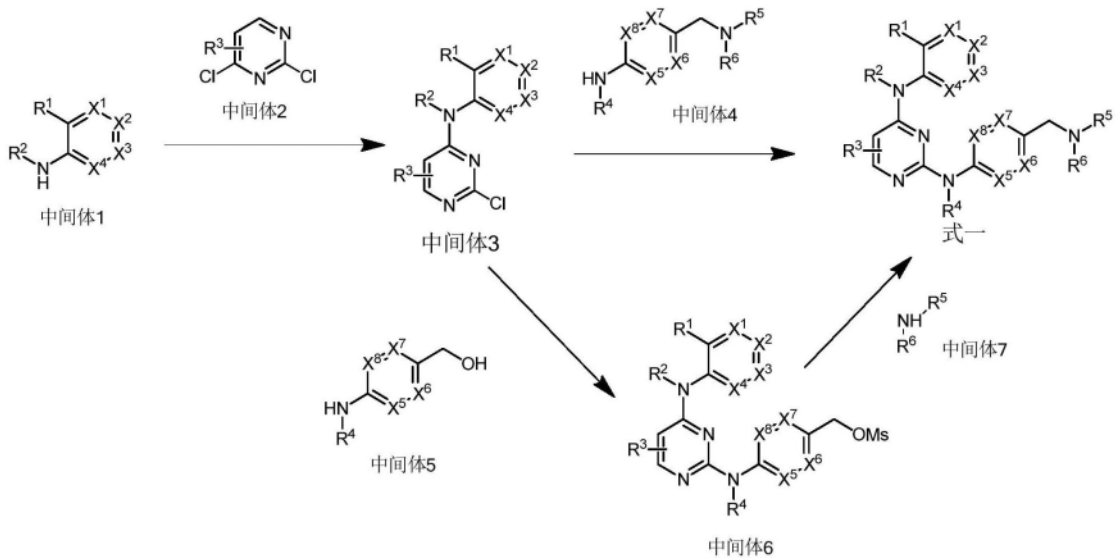
9. 根据权利要求1-8任一项所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,其中,所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐选自如下化合物:





10. 一种制备权利要求1-9任一项所述的式一所示的化合物的方法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:

- 1) 中间体1和中间体2发生缩合反应生成中间体3;
 - 2-1) 中间体3与中间体4发生缩合反应生成式一所示的化合物;或
 - 3-1) 中间体3与中间体5发生缩合反应生成中间体6;
 - 3-2) 中间体6与中间体7发生缩合反应生成式一所示的化合物;
- 反应方程式如下:



其中, X^1 至 X^8 、 R^1 至 R^6 、 m 和 n 如权利要求1-8任一项所定义。

11. 一种药物组合物,所述药物组合物含有治疗有效剂量的权利要求1-9中任一项所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,和可药用的载体或赋形剂。

12. 权利要求1-9任一项所述的式一所示的化合物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,或权利要求11所述的药物组合物,在制备用于治疗耐药肿瘤的药物中的应用;

优选地,所述耐药肿瘤为晚期实体瘤;

优选地,所述晚期实体瘤为晚期肺癌、晚期甲状腺癌、晚期膀胱癌、晚期神经胶质瘤、晚期胰腺癌、晚期黑色素瘤、晚期胃癌、晚期结直肠癌、晚期肝癌、晚期宫颈癌、晚期卵巢癌或晚期食管癌;

优选地,所述晚期实体瘤为小细胞肺癌或靶向药治疗抵抗的非小细胞肺癌。

一种嘧啶-2,4-二胺衍生物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明属于耐药肿瘤治疗技术领域,特别涉及一种嘧啶-2,4-二胺衍生物及其制备方法和用途。

背景技术

[0002] 癌症已经成为严重威胁人类生命和健康的第二大疾病,据统计,全球每年新增癌症病人多达1000万,约有500万人死于癌症。肺癌、肝癌、胃癌、食管癌等成为了我国重点防治的癌症。

[0003] 在传统的癌症治疗过程中,化疗为主要的治疗手段,顺铂等化疗药物非特异性地阻断细胞分裂从而使细胞死亡,它们在杀死肿瘤细胞的同时,也破坏了正常细胞的生长,带来许多不良反应,并且产生耐药性。

[0004] 表皮生长因子受体(EGFR)是上皮生长因子(EGF)细胞增殖和信号传导的受体。EGFR属于蛋白酪氨酸激酶家族的一种,由EGFR(Erb-B1)、Erb-B2(HER-2/neu)、Erb-B3(Her3)和Erb-B4(Her4)组成。EGFR位于细胞膜表面,可与配体(例如EGF或TGF α)形成同源二聚体,或者与家族中其他的受体(例如Erb-B2、Erb-B3,或Erb-B4)形成异源二聚体。EGFR二聚后,可引起EGFR细胞内关键的酪氨酸残基磷酸化,从而激活细胞内多个下游的信号通路,包括MAPK、Akt和JNK通路,这些信号通路在细胞增殖、侵袭、转移及细胞凋亡中起重要作用。

[0005] EGFR的过度表达和突变已被证实将导致不可控的细胞生长,并与大部分癌症的发生及进展有关,例如肺癌、结肠癌、乳腺癌等。因此,EGFR成为了抗癌药物开发的重要靶点。

[0006] 现有的靶向EGFR的小分子抑制剂分为三代:

[0007] (1) 第一代小分子EGFR抑制剂包括吉非替尼和厄洛替尼等,在肺癌治疗中显示出较好的疗效,已作为治疗伴随EGFR激活突变的非小细胞肺癌的一线药物。与化疗相比,第一代小分子EGFR抑制剂的优势在于不会产生骨髓抑制,恶心和脱发等副作用。但是,经吉非替尼等第一代小分子EGFR抑制剂治疗10-12个月后,多数患者仍然产生了耐药性。大部分患者的耐药性是由于EGFR基因T790M的突变,从而降低了药物与靶点的亲和力,造成肿瘤的复发或病情进展。

[0008] (2) 第二代小分子EGFR抑制剂包括阿法替尼等,与第一代小分子EGFR抑制剂与EGFR之间的非共价可逆结合相比,第二代小分子EGFR抑制剂通过于激酶靶标形成稳定的共价键结合,抑制EGFR的激酶活性。但是由于这类药物对野生型EGFR及其他酪氨酸蛋白激酶也有抑制作用,副作用增加。同时,二代EGFR抑制剂对EGFR基因T790M突变型的选择性较低,无法克服肿瘤的耐药。

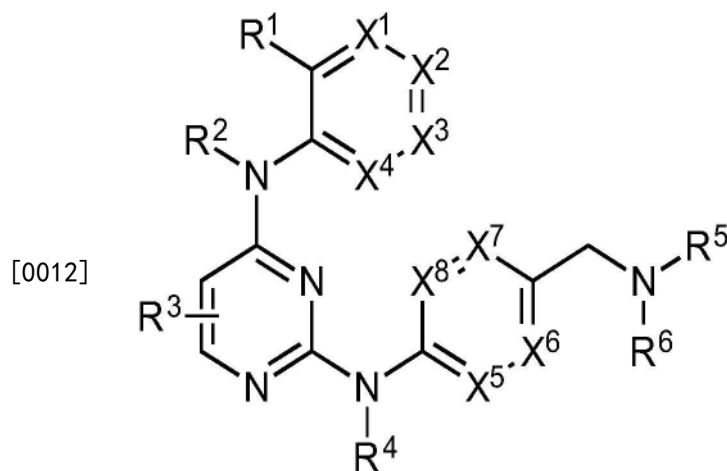
[0009] (3) 第三代小分子EGFR抑制剂以奥希替尼为代表,其可以高选择性、有效对抗EGFR-TKI获得性T790M耐药,可解决大约60%的EGFR靶向药物耐药问题。但是,随着第三代小分子EGFR抑制剂的使用,大部分病人同样会产生耐药性。

[0010] 因此,为了解决小分子EGFR抑制剂耐药性,提高肿瘤治疗有效性等问题,迫切需要新类型,尤其是新颖骨架的化合物来解决EGFR抑制剂治疗肿瘤出现的耐药性问题。小细胞

肺癌占肺癌的15%-20%，其恶性程度更高，预后差。由于小细胞肺癌的异质性高，缺乏分子靶向药，目前临床上主要采用联合细胞毒性化疗药和放疗进行治疗。仅25%的早期小细胞肺癌患者通过同步放化疗可实现疾病的长期控制。然而，对于大多数小细胞肺癌患者来说，对同步放化疗的响应是短暂的，早期小细胞肺癌患者的中位生存期小于2年，转移性小细胞肺癌患者的中位生存期约为1年。目前，免疫检查点抑制剂(PD-1/PD-L1抗体)的使用可使一部分小细胞肺癌患者获益，但是生物药高昂的治疗费用极大的加重了患者的经济负担。因此，为了提高小细胞肺癌患者的治疗有效性，提高小细胞肺癌患者的生存期，迫切需要开发具有新型骨架的小分子化合物。

发明内容

[0011] 本发明的目的在于提供一种式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐，



式一

[0013] 其中，

[0014] X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 、 X^5 、 X^6 、 X^7 或 X^8 各自独立地选自N或CR⁷；

[0015] R^1 选自 或

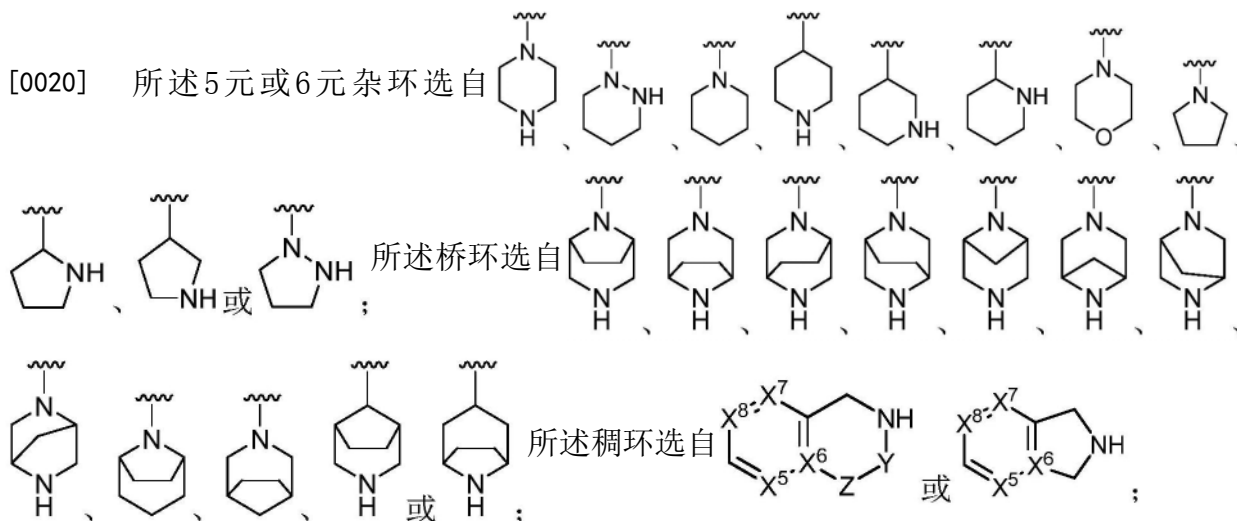
[0016] R^2 选自氢、烷基或取代的烷基；

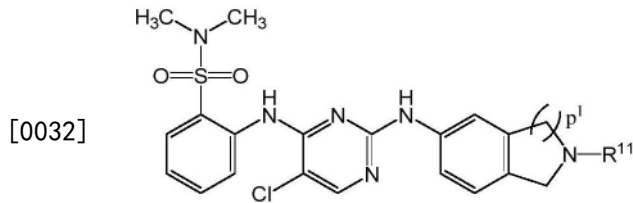
[0017] R^3 选自氢、卤素、 C_1 - C_6 烷基、氨基、 $(C_1$ - C_6 烷基)_m氨基、 $(C_1$ - C_6 烷基)_m氨基烷基、 $(C_1$ - C_6 烷基)_m酰胺基或 $(C_1$ - C_6 烷基)_m氨基酰基；

[0018] R^4 选自氢、烷基或取代的烷基；

[0019] R^5 和 R^6 与其共同连接的N一起形成5元或6元杂环或桥环；或 R^5 和 R^6 与 一起形成稠环；

一起形成稠环；

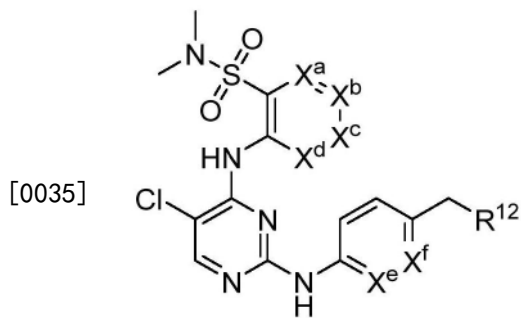




式二

[0033] 其中, R^{11} 选自 C_1-C_6 烷基、羟基 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷基羰基、 $(C_1-C_6$ 烷基) $_m$ 氨基烷基或 C_1-C_6 烷氧烷基; 优选地, R^{11} 选自 N,N -二甲氨基乙基、甲氧基乙基、 N -甲基氨基乙基; m 选自 0、1 或 2; p^1 选自为 0、1、2 或 3。

[0034] 在某些实施例中, 嘧啶-2,4-二胺衍生物为式三所示的化合物,



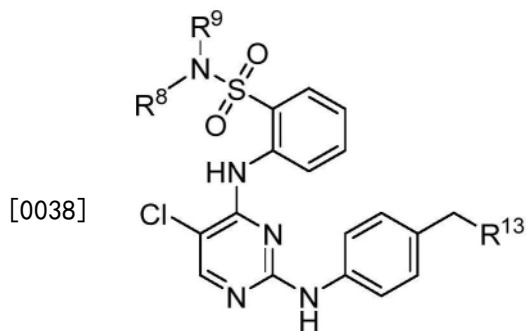
式三

[0036] 其中, X^a 、 X^b 、 X^c 、 X^d 、 X^e 或 X^f 各自独立地选自 N 或 CH , 或 X^a 、 X^b 、 X^c 、 X^d 中只有一个为 N 和/

或 X^e 、 X^f 中只有一个为 N ; R^{12} 选自 其中 R^{12} 被一个或多个甲基、二甲胺

或三甲胺任意取代。

[0037] 在某些实施例中, 嘧啶-2,4-二胺衍生物为式四所示的化合物,



式四

[0039] 其中, R^8 和 R^9 各自独立地选自氢、 C_1-C_6 烷基或 C_3-C_6 环烷基; R^{13} 选自 或 ,

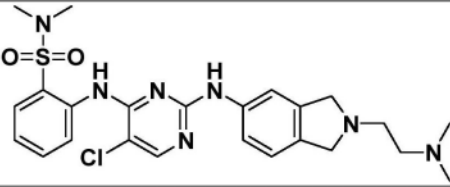
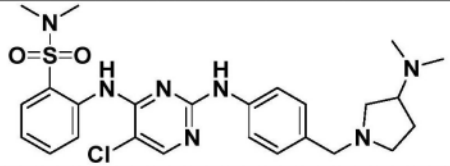
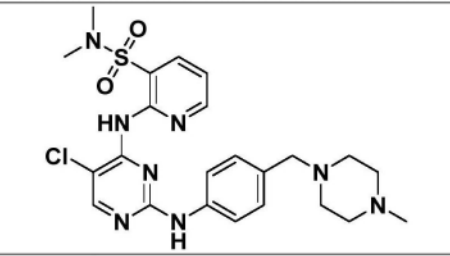
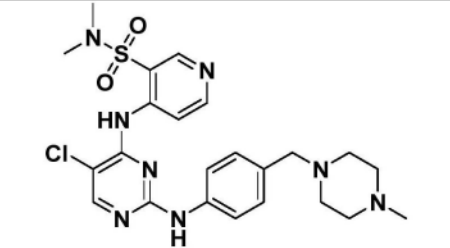
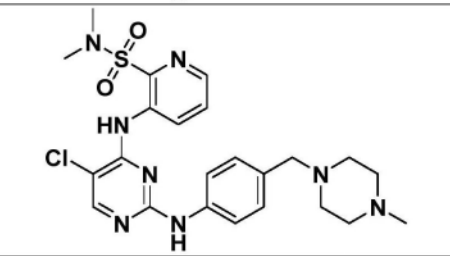
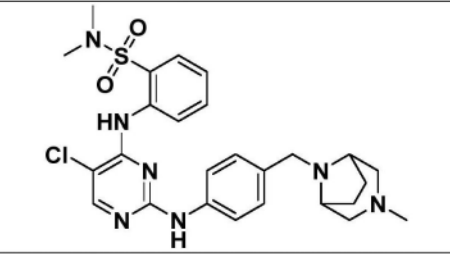
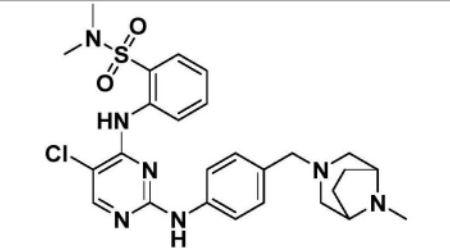
其中 R^{13} 被一个或多个甲基任意取代。

[0040] 在某些实施例中,式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐,包括但不限于以下化合物:

[0041]

化合物编号	结构	命名
1		2-((5-氯-2-((5-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)吡啶-2-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺
2		2-((5-氯-2-((6-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺

[0042]

3		2-((5-氯-2-((2-(2-(二甲氨基)乙基)异二氢咪唑-5-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺
4		2-((5-氯-2-((4-((3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺
5		2-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-3-磺酰胺
6		4-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-3-磺酰胺
7		3-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-2-磺酰胺
8		2-((5-氯-2-((4-((3-甲基-3,8-二氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺
9		2-((5-氯-2-((4-((8-甲基-3,8-二氮杂二环[3.2.1]辛烷-3-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺

[0043]

10		2-((5-氯-2-((4-(((3R,5S)-3,4,5-三甲基咪唑-1-基)甲基)苯基)氨基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺
11		2-((5-氯-2-((2-(2-甲氧基乙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基)氨基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺
12		2-((5-氯-2-((2-(2-(甲基氨基)乙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基)氨基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺
13		2-((5-氯-2-((2-(2-(二甲氨基)乙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基)氨基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺
14		3-((5-氯-2-((4-((4-甲基咪唑-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-4-磺酰胺
15		2-((5-氯-2-((4-((3-甲基-3,8-二氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N-甲基苯磺酰胺

[0044] 本发明另一方面提供一种制备式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐的方法，所述方法包括如下步骤：

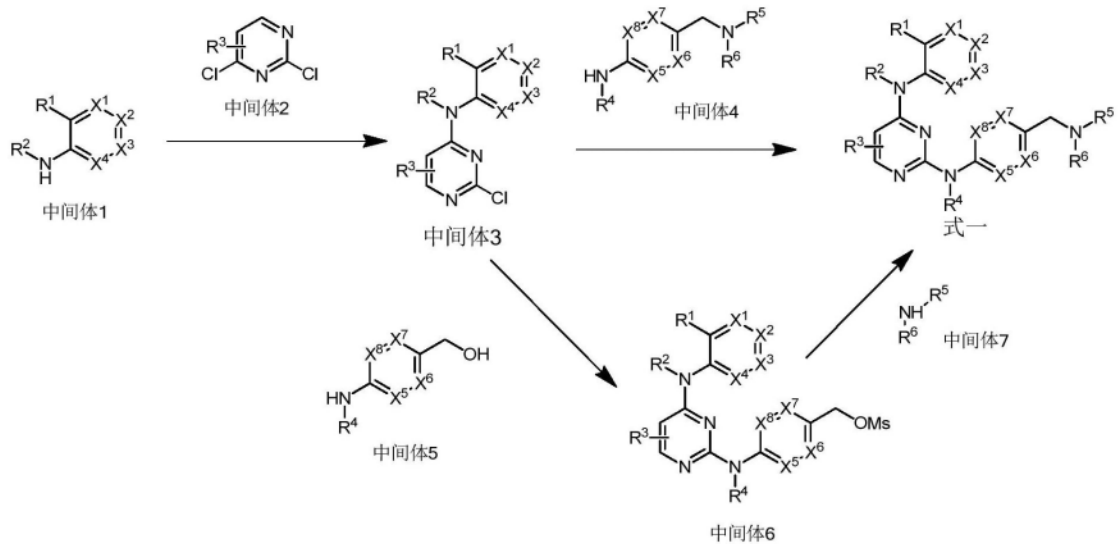
[0045] 1) 中间体1和中间体2发生缩合反应生成中间体3；

[0046] 2-1) 中间体3与中间体4发生缩合反应生成式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物；或

[0047] 3-1) 中间体3与中间体5发生缩合反应生成中间体6；

[0048] 3-2) 中间体6与中间体7发生缩合反应生成式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物；

[0049] 反应方程式如下：



[0050]

[0051] 其中, X^1 至 X^8 、 R^1 至 R^6 、 m 和 n 如上所定义。

[0052] 本发明的另一方面提供一种药物组合物, 其含有治疗有效剂量的嘧啶-2,4-二胺衍生物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐, 以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

[0053] 本发明还提供一种制备上述药物组合物的方法, 其包括将式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐与药学上可接受的载体或赋形剂相混合。

[0054] 本发明进一步提供式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐, 或包含其的药物组合物, 其作为药物的用途。

[0055] 本发明进一步提供式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐, 或包含其的药物组合物, 在制备用于治疗耐药肿瘤的药物中的应用; 优选地, 所述耐药肿瘤为晚期实体瘤; 优选地, 所述晚期实体瘤为晚期肺癌、晚期甲状腺癌、晚期膀胱癌、晚期神经胶质瘤、晚期胰腺癌、晚期黑色素瘤、晚期胃癌、晚期结直肠癌、晚期肝癌、晚期宫颈癌、晚期卵巢癌或晚期食管癌; 优选地, 所述实体瘤为小细胞肺癌或靶向药治疗抵抗的非小细胞肺癌。

[0056] 本发明还提供一种治疗耐药肿瘤的方法, 其包括向需要其的患者施用治疗有效剂量的式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐, 或包含其的药物组合物。

[0057] 可将作为活性成分的式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物或其消旋体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、同位素取代物、前药或其药学上可接受的盐制成适合于通过任何适当途径给药的形式, 其中, 活性成分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。本发明活性成分或组合物的单位剂量的表达方式可以是片剂、胶囊、颗粒剂、膏剂、锭剂、栓剂或液体制剂等。

[0058] 本发明治疗方法中所用的化合物或组合物的剂量通常将随患者的体重、疾病的病症程度、化合物的相对功效而改变。本发明通用的化合物单位剂量为0.1-1000mg。

[0059] 本发明的药物组合物除活性成分外, 可含有一种或多种载体或赋形剂, 所述载体

或赋形剂选自以下成分：填充剂、崩解剂、粘合剂、润湿剂或润滑剂等。根据给药方法的不同，药物组合物可含有0.1-99重量%的活性成分。

[0060] 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、胶囊剂、颗粒剂、散剂、混悬液或糖浆剂等。可按照本领域任何已知方法制备口服组合物。其中，口服组合物中的片剂、胶囊剂、颗粒剂、散剂包括活性成分和用于混合的适宜制备上述口服组合物的可药用的赋形剂，这些赋形剂可以是填充剂、崩解剂、粘合剂和润滑剂；口服组合物还可含有以下载体：甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂，以改善口感提高稳定性。

[0061] 混悬液含有活性物质和用于适宜制成混悬液的赋形剂。此类赋形剂包括混悬剂、分散剂和湿润剂。混悬液还可以包括防腐剂、着色剂或矫味剂等。

[0062] 本发明的药物组合物可以是无菌注射水溶液形式。赋形剂可包括水、甘油、氯化钠等溶剂、防腐剂、增溶剂等。

[0063] 本发明的药物组合物可用于直肠给药的栓剂形式给予。栓剂所包括的赋形剂包括基质、增稠剂、抗氧化剂、硬化剂等。

[0064] 定义和一般术语

[0065] 现在详细描述本发明的某些实施方案，其实例由随附的结构式和化学式说明。本发明意图涵盖所有的替代、修改和等同技术方案，它们均包括在如权利要求定义的本发明范围内。本领域技术人员应认识到，许多与本文所述类似或等同的方法和材料能够用于实践本发明。本发明绝不限于本文所述的方法和材料。在所结合的文献、专利和类似材料的一篇或多篇与本申请不同或相矛盾的情况下(包括但不限于所定义的术语、术语应用、所描述的技术，等等)，以本申请为准。

[0066] 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。

[0067] 术语“DCM”是指二氯甲烷。

[0068] 术语“TEA”是指三乙胺。

[0069] 术语“THF”是指四氢呋喃。

[0070] 术语“MeOH”是指甲醇。

[0071] 术语“Pd/C”是指钯碳。

[0072] 术语“DMAC”是指N,N-二甲基乙酰胺。

[0073] 术语“NaH”是指氢化钠。

[0074] 术语“AcOH”是指乙酸。

[0075] 术语“ $\text{NaBH}(\text{AcO})_3$ ”是指三乙酰氧基硼氢化钠。

[0076] 术语“LiHMDS”是指双三甲基硅基胺基锂。

[0077] 术语“ $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ ”是指三二亚苄基丙酮二钯。

[0078] 术语“t-BuONa”是指叔丁醇钠。

[0079] 术语“BINAP”是指1,1'-联萘-2,2'-双二苯膦。

[0080] 术语“dioxane”是指1,4-二氧六环。

[0081] 术语“ LiAlH_4 ”是指氢化铝锂。

[0082] 术语“DCE”是指二氯乙烷。

[0083] 术语“MeI”是指碘甲烷。

[0084] 术语“DMF”是指N,N-二甲基甲酰胺。

- [0085] 术语“ K_2CO_3 ”是指碳酸钾。
- [0086] 术语“EtOAc”是指乙酸乙酯。
- [0087] 术语“EtOH”是指乙醇。
- [0088] 术语“DCDMH”是指1,3-二氯-5,5-二甲基海因。
- [0089] 术语“ NH_4Cl ”是指氯化铵。
- [0090] 术语“MsCl”是指甲磺酰氯。
- [0091] 术语“MeCN”是指乙腈。
- [0092] 术语“con.HCl”是指浓盐酸。
- [0093] 术语“ $(COCl)_2$ ”是指草酰氯。
- [0094] 术语“ BH_3 ”是指硼烷。
- [0095] 术语“con. H_2SO_4 ”是指浓硫酸。
- [0096] 术语“ $(CH_2O)_n$ ”是指多聚甲醛。
- [0097] 术语“ Boc_2O ”是指二碳酸二叔丁酯。
- [0098] 术语“t-BuOK”是指叔丁醇钾。
- [0099] 术语“ CCl_4 ”是指四氯化碳。
- [0100] 术语“ Cl_2 ”是指氯气。
- [0101] 术语“ Br_2 ”是指溴。
- [0102] 术语“ Cs_2CO_3 ”是指碳酸铯。
- [0103] 术语“X-Phos”是指2-二环己基膦-2',4',6'-三异丙基联苯。
- [0104] 术语“ $Pd(OAc)_2$ ”是指醋酸钯。
- [0105] 术语“TFA”是指三氟乙酸。
- [0106] 术语“PhMeSH”是指苯甲硫醇。
- [0107] 术语“烷基”是指直链或支链饱和烃基,烷基的非限制性实施例包括:甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、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。
- [0108] 术语“烷氧基”是指具有“W-O-”结构的基团,其中W为烷基,烷氧基的非限制性实施例包括:甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基或叔丁氧基等。
- [0109] 术语“卤代烷基”是指被一个或多个卤素取代的烷基,卤代烷基的非限制性实施例包括:三氟甲基、三氟乙基或三氟丙基等。
- [0110] 术语“卤代烷氧基”是指被一个或多个卤素取代的具有“W-O-”结构的基团,其中W为烷基,卤代烷氧基的非限制性实施例包括:三氟甲氧基、三氟乙氧基或三氟丙氧基等。
- [0111] 术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。
- [0112] 术语“羟基烷基”是指被一个或多个羟基取代的烷基,羟基烷基的非限制性实施例包括:羟甲基或羟乙基等。
- [0113] 术语“氰基”指-CN。
- [0114] 术语“羟基”是指-OH。
- [0115] 术语“羧基”是指-COOH。
- [0116] 术语“硝基”是指- NO_2 。
- [0117] 术语“ (C_1-C_6) 烷基 $_m$ 氨基羰基”是指具有“ NH_2CO- ”、“W-NHCO-”或“ W_2-NCO- ”结构的基

团,其中W为烷基,(C_1-C_6 烷基)_m氨基羰基的非限制性实施例包括:甲氨基羰基或乙氨基羰基或二甲氨基羰基等。

[0118] 术语“ C_1-C_6 烷基羰基”是指具有“W-CO-”结构的基团,其中W为烷基, C_1-C_6 烷基羰基的非限制性实施例包括:甲基羰基、乙基羰基或丙基羰基等。

[0119] 术语“(C_1-C_6 烷基)_m氨基”是指具有“NH₂-”、“W-NH-”或“W₂-N-”结构的基团,其中W为烷基,(C_1-C_6 烷基)_m氨基的非限制性实施例包括:甲氨基、乙氨基或二甲氨基等。

[0120] 术语“(C_1-C_6 烷基)_m氨基烷基”是指具有“NH₂-W-”、“W-NH-W-”或“W₂-N-W-”结构的基团,其中W为烷基,(C_1-C_6 烷基)_m氨基烷基的非限制性实施例包括:甲氨甲基、乙氨甲基或二甲氨甲基等。

[0121] 术语“ C_1-C_6 烷氧烷基”是指具有“W-O-W-”结构的基团,其中W为烷基, C_1-C_6 烷氧烷基的非限制性实施例包括:甲氧甲基、乙氧甲基等。

[0122] 术语“(C_1-C_6 烷基)_m氨基羰基氨基”是指具有“NH₂CONH-”、“W-NHCONH-”或“W₂-NCONH-”结构的基团,其中W为烷基,(C_1-C_6 烷基)_m氨基羰基氨基的非限制性实施例包括:脞基、甲氨基羰基氨基、乙氨基羰基氨基或二甲氨基羰基氨基等。

[0123] 术语“磺酸基”是指-SO₃OH。

[0124] 术语“ C_1-C_6 烷基磺酰基”是指具有“W-SO₂-”结构的基团,其中W为烷基, C_1-C_6 烷基磺酰基的非限制性实施例包括甲磺酰基或乙磺酰基等。

[0125] 术语“(C_1-C_6 烷基)_m氨基磺酰基”是指具有“NH₂SO₂-”、“W-NH-SO₂-”或“W₂-N-SO₂-”结构的基团,W为烷基,(C_1-C_6 烷基)_m氨基磺酰基的非限制性实施例包括:甲氨基磺酰基、乙氨基磺酰基或二甲氨基磺酰基等。

[0126] 术语“ C_1-C_6 烷基磺酰氨基”是指具有“W-SO₂-NH-”结构的基团W为烷基, C_1-C_6 烷基磺酰氨基的非限制性实施例包括:甲基磺酰氨基或乙基磺酰氨基等。

[0127] 术语“环烷基”是指饱和或部分饱和的环状烃基,组成环烷基的碳原子数可为3-15个,例如3-6个,环烷基的非限制性实施例包括:环丙基、环丁基、环戊基或环己基等。

[0128] “取代的”指基团中的一个或多个氢原子,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。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。

[0129] “立体异构体”是指具有相同化学构造,但原子或基团在空间上排列方式不同的化合物。立体异构体包括对映异构体、非对映异构体、构象异构体(旋转异构体)、几何异构体(顺/反)异构体、阻转异构体,等等。

[0130] “手性”是具有与其镜像不能重叠性质的分子;而“非手性”是指与其镜像可以重叠的分子。

[0131] “对映异构体”是指一个化合物的两个不能重叠但互成镜像关系的异构体。

[0132] “非对映异构体”是指有两个或多个手性中心并且其分子不互为镜像的立体异构体。非对映异构体具有不同的物理性质,如熔点、沸点、光谱性质和反应性。非对映异构体混合物可通过高分辨分析操作如电泳和色谱,例如HPLC来分离。

[0133] 许多有机化合物以光学活性形式存在,即它们具有使平面偏振光的平面发生旋转的能力。在描述光学活性化合物时,使用前缀D和L或R和S来表示分子关于其一个或多个手性中心的绝对构型。前缀d和l或(+)和(-)是用于指定化合物所致平面偏振光旋转的符号,

其中(-)或l表示化合物是左旋的。前缀为(+)或d的化合物是右旋的。一种具体的立体异构体是对映异构体,这种异构体的混合物称作对映异构体混合物。对映异构体的50:50混合物称为外消旋混合物或外消旋体,当在化学反应或过程中没有立体选择性或立体特异性时,可出现这种情况。

[0134] 本发明公开化合物的任何不对称原子(例如,碳等)都可以以外消旋或对映体富集的形式存在,例如(R)-、(S)-或(R,S)-构型形式存在。在某些实施方案中,各不对称原子在(R)-或(S)-构型方面具有至少50%对映体过量,至少60%对映体过量,至少70%对映体过量,至少80%对映体过量,至少90%对映体过量,至少95%对映体过量,或至少99%对映体过量。

[0135] 依据起始物料和方法的选择,本发明化合物可以以可能的异构体中的一个或它们的混合物,例如外消旋体和非对映异构体混合物(这取决于不对称碳原子的数量)的形式存在。光学活性的(R)-或(S)-异构体可使用手性合成子或手性试剂制备,或使用常规技术拆分。如果化合物含有一个双键,取代基可能为E或Z构型;如果化合物中含有二取代的环烷基,环烷基的取代基可能有顺式或反式构型。

[0136] 所得的任何立体异构体的混合物可以依据组分物理化学性质上的差异被分离成纯的或基本纯的几何异构体,对映异构体,非对映异构体,例如,通过色谱法和/或分步结晶法。

[0137] 可以用已知的方法将任何所得终产物或中间体的外消旋体通过本领域技术人员熟悉的方法拆分成光学对映体,如,通过对获得的其非对映异构的盐进行分离。外消旋的产物也可以通过手性色谱来分离,如,使用手性吸附剂的高效液相色谱(HPLC)。特别地,对映异构体可以通过不对称合成制备,例如,可参考Jacques, et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley Interscience, New York, 1981); *Principles of Asymmetric Synthesis* (2nd Ed. Robert E. Gawley, Jeffrey Aubé, Elsevier, Oxford, UK, 2012); Eliel, E.L. *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); Wilen, S.H. *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p.268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972); *Chiral Separation Techniques: A Practical Approach* (Subramanian, G. Ed., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2007)。

[0138] 术语“互变异构体”或“互变异构形式”是指具有不同能量的可通过低能垒(low energy barrier)互相转化的结构异构体。若互变异构是可能的(如在溶液中),则可以达到互变异构体的化学平衡。例如,质子互变异构体(proto tautomer)(也称为质子转移互变异构体(proto tropic tautomer))包括通过质子迁移来进行的互相转化,如酮-烯醇异构化和亚胺-烯胺异构化。

[0139] 如本发明所描述的,本发明的化合物可以任选地被一个或多个取代基所取代,如上面的通式化合物,或者如实施例里面特殊的例子,子类,和本发明所包含的一类化合物。应了解“任选取代的”这个术语与“取代或未取代的”这个术语可以交换使用。一般而言,术语“任选地”不论是否位于术语“取代的”之前,表示所给结构中的一个或多个氢原子被具体取代基所取代。除非其他方面表明,一个任选的取代基团可以有一个取代基在基团各个可取代的位置进行取代。当所给出的结构式中不只一个位置能被选自具体基团的一个或多个

取代基所取代,那么取代基可以相同或不同地在各个位置取代。其中所述的取代基可以是,但并不限于,氘、羟基、氨基、卤素、氰基、芳基、杂芳基、烷氧基、烷氨基、烷硫基、烷基、烯基、炔基、杂环基、巯基、硝基、芳氧基、杂芳氧基、氧代(=O)、羧基、羟基取代的烷氧基、羟基取代的烷基-C(=O)-、烷基-C(=O)-、烷基-S(=O)-、烷基-S(=O)₂-、羟基取代的烷基-S(=O)-、羟基取代的烷基-S(=O)₂-、羧基取代的烷氧基等等。

[0140] “同位素取代物”是指基团中的氢原子被氘或氚取代,碳原子被¹³C、¹⁴C或¹⁵C等取代,N原子被¹³N、¹⁵N、¹⁶N等取代,氧原子被¹⁵O或¹⁷O等取代,氟原子被¹⁷F或¹⁹F等取代,碘原子被¹²⁸I取代等形成的化合物。

[0141] 另外,需要说明的是,除非以其他方式明确指出,在本发明中所采用的描述方式“各…独立地为”与“…各自独立地为”和“…独立地为”可以互换,均应做广义理解,其既可以是指在不同基团中,相同符号之间所表达的具体选项之间互相不影响,也可以表示在相同的基团中,相同符号之间所表达的具体选项之间互相不影响。以R为例,以R为例,-RC(=O)-、-NRC(S)NR'-、-NRC(O)O-、-C(O)NR-或-NR-C(O)-之间R的具体选项互相之间不受影响;同时,在同一化学式如果出现2个或2个以上的R,R的具体选项互相之间也不受影响。

[0142] “药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或与其他化学组分的混合物,以及其他组分例如药学上可接受的载体和赋形剂。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。

[0143] 适用于本揭露的药物组合物包括:当中含有一有效量的活性成分以实现其预期目的的多个组合物。所述多个有效量的确定完全在本领域技术人员的能力范围内,特别是根据本说明书提供的详细的揭露内容。通常地,根据本发明的所述多个化合物在一宽剂量范围内有效。例如:在成年人的治疗中,每天使用0.01至1000毫克(mg)、0.5至100毫克、每天1至50毫克以及每天5至40毫克的多个剂量为可以使用的剂量的多个示例。一非限制性剂量为每天10至30毫克。确切的剂量将取决于给药途径、所述化合物的给药形式、待治疗的所述对象、待治疗的所述对象的体重、所述(多个)化合物的所述生物利用度、吸附、分布、新陈代谢及所述(多个)化合物的排泄(ADME)毒性、以及主治医生的偏好及经验。

[0144] “可药用盐”是指本发明化合物的盐,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。

[0145] “药学上可接受的盐”是指本发明的化合物的有机盐和无机盐。药学上可接受的盐在所属领域是为我们所熟知的,如文献:S.M.Berge et al.,J.Pharmaceutical Sciences, 66,1-19,1977所记载的。药学上可接受的无毒的酸形成的盐包括,但并不限于,与氨基基团反应形成的无机酸盐,如盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硫酸盐、高氯酸盐,和有机酸盐,如乙酸盐、草酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、丙二酸盐,或通过书籍文献上所记载的其他方法如离子交换法来得到这些盐。其他药学上可接受的盐包括己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、重硫酸盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊基丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、反丁烯二酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖醛酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、扑酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、苦味酸盐、特戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等等。通过

适当的碱得到的盐包括碱金属、碱土金属,铵和N+(C1-4烷基)4的盐。本发明也拟构思了任何所包含N的基团的化合物所形成的季铵盐。水溶性或油溶性或分散产物可以通过季铵化作用得到。碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等等。药学上可接受的盐进一步包括适当的、无毒的铵/季铵盐和抗平衡离子形成的胺阳离子,如卤化物、氢氧化物、羧化物、硫酸化物、磷酸化物、硝酸化物、C₁₋₈磺酸化和芳香磺酸化物。

[0146] 多个药学上可接受的盐通常为本领域普通技术人员所熟知,并且包括根据本说明书中所描述的所述多个化合物上存在的多个特定取代部分,以多个相对无毒的酸或碱制备而成的多个活性化合物的盐。当本揭露的多个化合物含有多个相对地酸性的官能团时,可以通过在无溶剂(neat)条件下或在一合适的惰性溶剂中或通过离子交换(由此一离子复合物中的一个碱性抗衡离子(碱)被另一个取代),使所述多个化合物的中性形式与一足够量的所需的碱接触来获得多个碱加成盐。多个药学上可接受的碱加成盐的多个示例包括:钠盐、钾盐、钙盐、铵盐、有机氨基盐或镁盐或类似的盐。

[0147] “前药”是指代表一个化合物在体内转化为式(X)所示的化合物。这样的转化受前体药物在血液中水解或在血液或组织中经酶转化为母体结构的影响。本发明前体药物类化合物可以是酯,在现有的发明中酯可以作为前体药物的有苯酯类,脂肪族(C₁-C₂₄)酯类,酰氧基甲基酯类,碳酸酯,氨基甲酸酯类和氨基酸酯类。例如本发明里的一个化合物包含羟基,即可以将其酰化得到前体药物形式的化合物。其他的前体药物形式包括磷酸酯,如这些磷酸酯类化合物是经母体上的羟基磷酸化得到的。关于前体药物完整的讨论可以参考以下文献:T.Higuchi and V.Stella,Pro-drugs as Novel Delivery Systems,Vol.14of the A.C.S.Symposium Series,Edward B.Roche,ed.,Bioreversible Carriers in Drug Design,American Pharmaceutical Association and Pergamon Press,1987,J.Rautio et al.,Prodrugs:Design and Clinical Applications,Nature Review Drug Discovery,2008,7,255-270,and S.J.Hecker et al.,Prodrugs of Phosphates and Phosphonates,Journal of Medicinal Chemistry,2008,51,2328-2345。

[0148] 如本说明书所用,术语“治疗”可以包括逆转、减轻、抑制所述疾病的发展、预防或降低所述疾病或所述术语所适用的状况或所述疾病或病症的一个或多个症状或表现。

[0149] “预防”是指不引起一疾病、病症、症状或表现或严重程度的恶化。因此,可以预防性地以当前公开的所述多个化合物进行给药,以预防或减少所述疾病或病症的发生或复发。

[0150] 如本发明所使用的术语“治疗”任何疾病或病症,是指所有可以减缓、中断、阻止、控制或停止疾病或病症的进展,但不一定表示所有疾病或病症的症状全部消失,其也包括对所述症状的预防性治疗,尤其是在容易患有这样疾病或障碍的患者中。在其中一些实施方案中指改善疾病或病症(即减缓或阻止或减轻疾病或其至少一种临床症状的发展)。在另一些实施方案中,“治疗”指缓和或改善至少一种身体参数,包括可能不为患者所察觉的身体参数。在另一些实施方案中,“治疗”指从身体上(例如稳定可察觉的症状)或生理学上(例如稳定身体的参数)或上述两方面调节疾病或病症。在另一些实施方案中,“治疗”指预防或延迟疾病或病症的发作、发生或恶化。

[0151] 如本发明所使用的术语“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是指能够引发个体的生物学或医学响应(例如降低或抑制酶或蛋白质活性,或改善症状、缓解病症、减缓或延迟疾

病发展,或预防疾病等)的本发明化合物的量。

[0152] 本发明提供的嘧啶-2,4-二胺衍生物对晚期肿瘤细胞株具有很高的抑制活性,尤其对非小细胞肺癌,特别是对靶向药治疗抵抗的非小细胞肺癌,由此得出,本发明提供的嘧啶-2,4-二胺衍生物可以用于治疗晚期肿瘤,尤其是非小细胞肺癌,特别是靶向药治疗抵抗的非小细胞肺癌。

[0153] 本发明的附加方面和优点将在下面的描述中部分给出,部分将从下面的描述中变得明显,或通过本发明的实践了解到。

附图说明

[0154] 本发明的上述和/或附加的方面和优点从结合下面附图对实施例的描述中将变得明显和容易理解,其中:

[0155] 图1是根据本发明实施例的经不同药物治疗后小鼠肿瘤体积的变化图;

[0156] 图2是根据本发明实施例的经不同药物治疗后小鼠体重的变化图。

具体实施方式

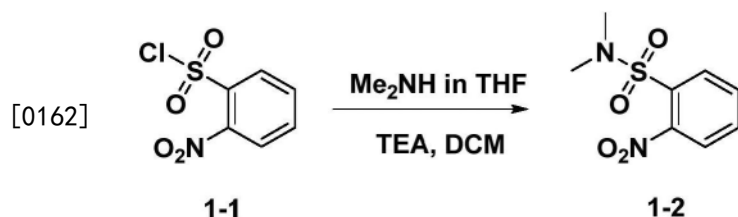
[0157] 下面详细描述本发明的实施例。下面描述的实施例是示例性的,仅用于解释本发明,而不能理解为对本发明的限制。

[0158] 下面将结合实施例对本发明的方案进行解释。本领域技术人员将会理解,下面的实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件的,按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

[0159] 以下结合实施例进一步描述本发明,但这些实施例并非限制着本发明的范围。

[0160] 实施例1:2-((5-氯-2-((5-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)吡啶-2-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物1)的合成

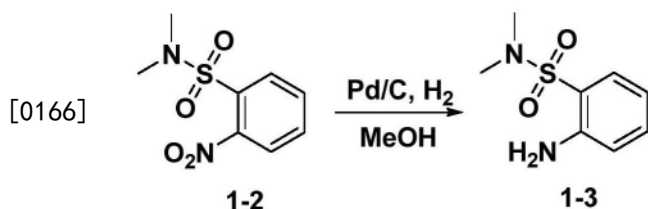
[0161] 步骤1:2-硝基-N,N-二甲基苯磺酰胺(1-2)的合成



[0163] 将2-硝基苯磺酰氯(1-1, 20.0g, 90.5mmol, 1.0eq)溶于300mL DCM中,降温至0℃,向其中滴加TEA(37.0g, 271mmol, 3.0eq)和2M Me₂NH的THF(81.4g, 135mmol, 1.5eq)溶液,升温至30℃,反应2小时。薄层色谱监测显示反应完成,将反应液浓缩,向体系中加入300mL水稀释,用DCM萃取3次,每次300mL,真空浓缩得到粗产品,将粗产品用40.0mL甲基叔丁基醚打浆,得到目标化合物1-2(12.0g),白色固体,收率57.6%。

[0164] LCMS: 231.0 ([M+H]⁺).

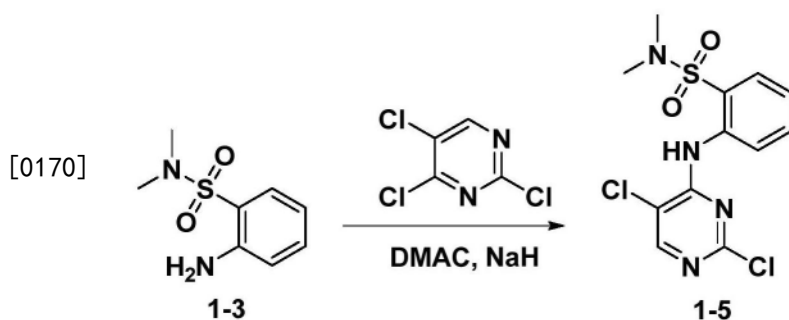
[0165] 步骤2:2-氨基-N,N-二甲基苯磺酰胺(1-3)的合成



[0167] 将化合物1-2(12.0g, 52.2mmol)溶于84.0mL MeOH中,向其中加入1.2g Pd/C,氢气保护下,25℃反应8小时。将反应液过滤,浓缩得到目标化合物1-3(10.0g),直接用于下一步反应。

[0168] LCMS: 201.2 ($[M+H]^+$) .

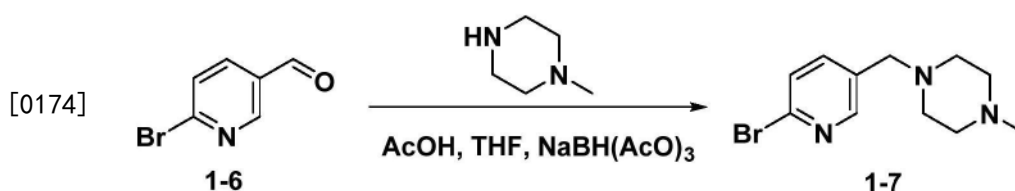
[0169] 步骤3: 2-((2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(1-5)的合成



[0171] 将化合物1-3(10.0g, 50.0mmol, 1.0eq)溶于120mL DMAC中,于25℃向其中加入NaH(6.00g, 150mmol, 3.0eq),加完,室温反应2小时;将20.0mL 2,4,5-三氯嘧啶(27.2g, 150mmol, 3.0eq)的DMAC溶液加入到反应液中,室温反应3小时,向反应体系中加入60mL水和60mL甲基叔丁基醚,25℃反应30分钟,然后将反应液过滤,干燥得到目标化合物1-5(4.00g),黄色固体,收率31.2%。

[0172] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ 9.86(m, 1H), 8.60(dd, $J=8.4, 0.9\text{Hz}$, 1H), 8.28(s, 1H), 7.86(dd, $J=8.0, 1.6\text{Hz}$, 1H), 7.73-7.55(m, 1H), 7.30(dd, $J=11.4, 4.1\text{Hz}$, 1H), 2.75(d, $J=6.8\text{Hz}$, 6H) .

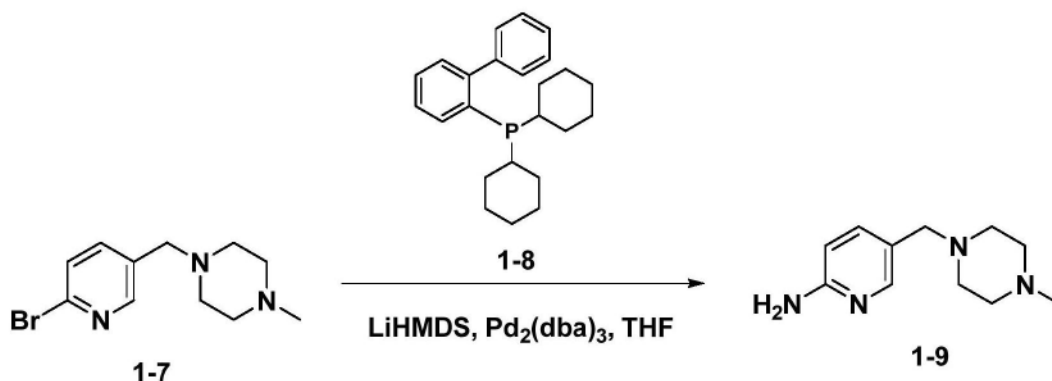
[0173] 步骤4: 1-((6-溴吡啶-3-基)甲基)-4-甲基哌嗪(1-7)的合成



[0175] 将6-溴尼古丁醛(1-6, 2.00g, 10.8mmol, 1.0eq)和1-甲基哌嗪(5.40g, 54mmol, 5.0eq)溶于30mL THF中,0℃条件下,向其中加入0.3g AcOH,反应30分钟,向体系中加入 NaBH(AcO)_3 (11.5g, 54.0mmol, 5.0eq),缓慢升至室温,反应过夜。将反应液过滤,浓缩得到粗产品,将粗产品用硅胶柱纯化得到目标化合物1-7(800mg),白色固体,收率41.2%。

[0176] 步骤5: 5-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)吡啶-2-胺(1-9)的合成

[0177]

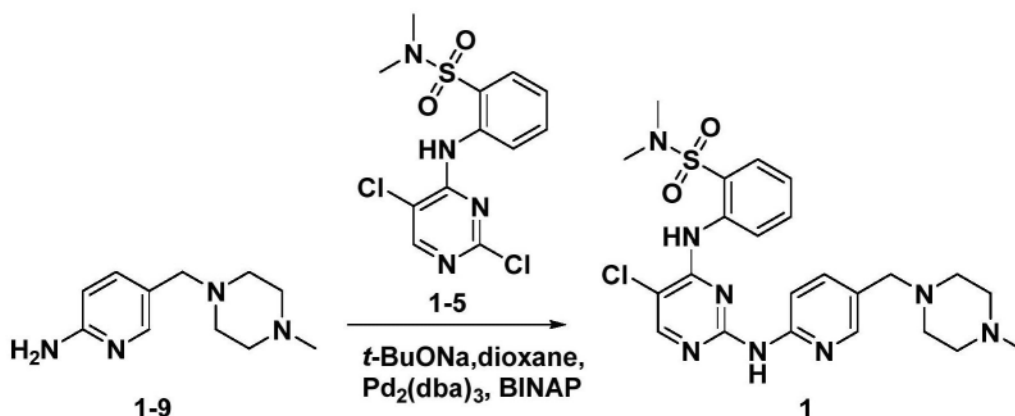


[0178] 将化合物1-7(0.5g, 1.86mmol, 1.0eq)溶于5mL干燥的THF中,向其中加入[1,1'-联苯基]-2-基二环己基磷烷(1-8, 190mg, 0.186mmol, 0.1eq),反应5分钟,然后将LiHMDS(5.6mL)和Pd₂(dba)₃(75.7mg, 0.093mmol, 0.05eq)加入到悬浮液中,升温至65℃反应4小时。向反应液中加入30mL DCM和30mL水,用1N盐酸调节体系PH=2,用DCM萃取3次,每次30mL,将水相用2N氢氧化钠溶液调至pH=9,再用DCM萃取3次,每次30mL,将有机相合并,真空浓缩得到目标化合物1-9(210mg),黄色固体。

[0179] LCMS: 207.2 ([M+H]⁺).

[0180] 步骤6: 2-((5-氯-2-((5-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)吡啶-2-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物1)的合成

[0181]



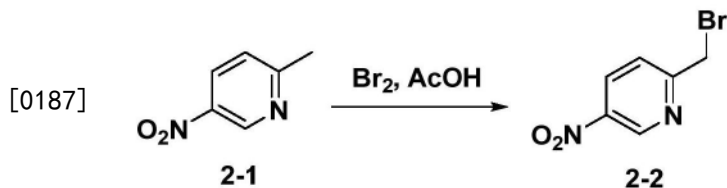
[0182] 将化合物1-9(180mg, 0.87mmol, 1.0eq)、化合物1-5(360mg, 0.96mmol)和t-BuONa(40.0mg, 1.09mmol, 1.25eq)溶于2.0mL dioxane中,氮气置换三次,在氮气条件下,加入Pd₂(dba)₃(90mg, 0.087mmol, 0.1eq)和BINAP(108.3mg, 0.174mmol, 0.2eq),反应液于微波反应器中,升温至130℃,反应1.5h,向反应液中加入4.0mL水,用DCM萃取3次,每次30mL。将有机相合并,用饱和食盐水洗2次,每次20mL,减压浓缩得到粗产品,粗产品用制备液相色谱纯化,得到目标化合物1(8.1mg),白色固体,收率11.7%。

[0183] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 9.97(s, 1H), 9.52(s, 1H), 8.91(d, J=8.4Hz, 1H), 8.36(s, 1H), 8.19(d, J=2.0Hz, 1H), 7.94(d, J=8.4Hz, 1H), 7.82(dd, J=8.0, 1.6Hz, 1H), 7.76-7.67(m, 1H), 7.58(dd, J=8.4, 2.0Hz, 1H), 7.38-7.34(m, 1H), 3.41(s, 2H), 2.65(s, 6H), 2.48-2.22(m, 8H), 2.15(s, 3H).

[0184] LCMS: 517.2 ([M+H]⁺).

[0185] 实施例2: 2-((5-氯-2-((6-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物2)的合成

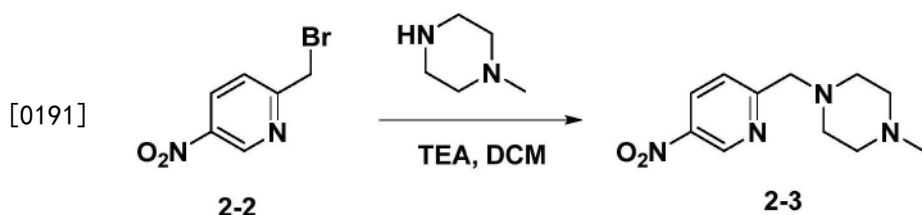
[0186] 步骤1:2-(溴甲基)-5-硝基吡啶(2-1)的合成



[0188] 将2-甲基-5-硝基吡啶(2-1, 8.7g, 63mmol, 1.0eq)溶于AcOH(90mL)中,向溶液中加入Br₂(5g, 31.5mmol, 0.5eq),升温至100℃反应30分钟。将反应体系降至室温,加入50mL水稀释,然后用甲基叔丁基醚萃取三次,每次100mL。将有机相合并,用饱和的碳酸氢钠溶液洗两次,每次100mL。然后用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩,得到粗产品。将粗产品用硅胶柱(PE:EtOAc=10:1)纯化,得到粗产品2-2(8.5g),直接用于下一步。

[0189] LCMS: 217.0, 219.0 ([M+H]⁺) .

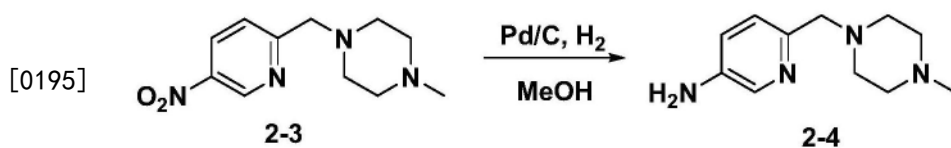
[0190] 步骤2:1-甲基-4-((5-硝基吡啶-2-基)甲基)哌嗪(2-3)的合成



[0192] 将化合物2-2(8.5g, 39mmol, 1.0eq)和1-甲基哌嗪(3.9g, 39mmol, 1.0eq)溶于DCM(80mL)中,加入TEA(5.9g, 58.8mmol, 2.0eq),室温反应12小时。向反应体系中加入100mL水稀释,然后用DCM萃取3次,每次250mL。将有机相合并,用饱和食盐水洗2次,每次250mL,然后用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到粗产品。将粗产品用硅胶柱(DCM:MeOH=10:1)纯化,得到目标化合物2-3(2.5g),棕色固体,两步反应收率16.8%。

[0193] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 9.34 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.42 (dd, J=8.7, 2.4Hz, 1H), 7.66 (d, J=8.7Hz, 1H), 3.77 (s, 2H), 2.68-2.42 (m, 8H), 2.33 (s, 3H) .

[0194] 步骤3:6-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)吡啶-3-胺(2-4)的合成

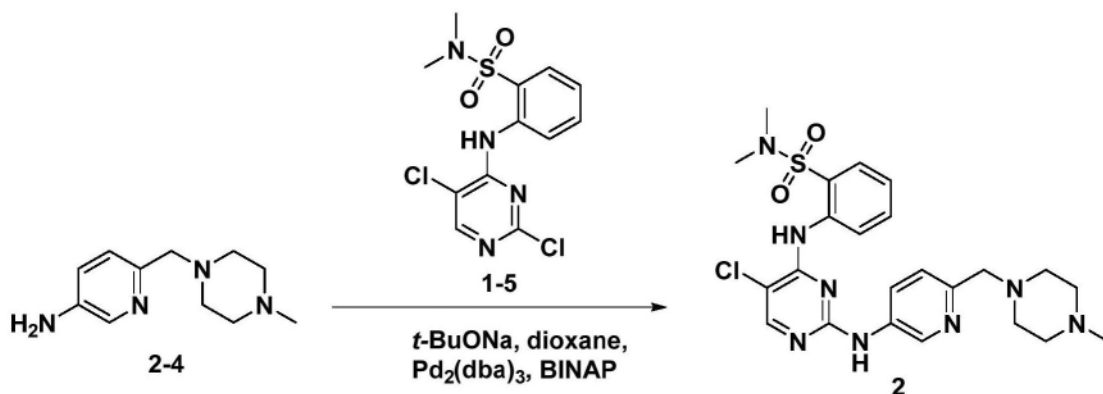


[0196] 将化合物2-3(2.5g, 10.6mmol, 1.0eq)溶于MeOH(25mL)中,然后向溶液中加入Pd/C(250mg),氢气保护下,室温反应2小时,过滤,将滤液浓缩得到目标化合物2-4(2.0g),棕色固体,收率91.6%。

[0197] LCMS: 207.2 ([M+H]⁺) .

[0198] 步骤4:2-((5-氯-2-((6-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)吡啶-3-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物2)的合成

[0199]



[0200] 将化合物2-4(80mg, 0.39mmol, 1.2eq)和化合物1-5(111mg, 0.32mmol, 1.0eq)溶于dioxane (5mL)中,向其中加入BIANP (24.2mg, 0.04mmol, 0.1eq)、t-BuONa (46.6mg, 0.49mmol, 1.5eq)和Pd₂(dba)₃ (17.7mg, 0.02mmol, 0.05eq),氮气保护下,升温至100℃反应12小时。将反应体系降至室温,加入15mL水淬灭,然后用EtOAc萃取3次,每次25mL。将有机相合并,用饱和食盐水洗2次,每次10mL,然后用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到粗产品,将粗产品用制备薄层色谱(DCM:MeOH=10:1)纯化得到目标化合物2(19.4mg),米白色固体,收率9.7%。

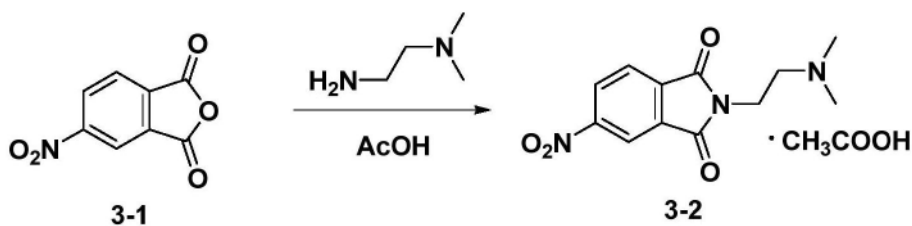
[0201] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ9.67 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.64 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.56-8.51 (m, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.03-7.99 (m, 1H), 7.83 (dd, J=8.1, 1.5Hz, 1H), 7.72-7.66 (m, 1H), 7.41-7.35 (m, 1H), 7.27 (d, J=8.4Hz, 1H), 3.51 (s, 2H), 2.65 (s, 6H), 2.46-2.24 (m, 8H), 2.16 (s, 3H)。

[0202] LCMS: 517.1 [M+H]⁺。

[0203] 实施例3: 2-((5-氯-2-((2-(2-(二甲氨基)乙基)异二氢吡啶-5-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物3)的合成

[0204] 步骤1: 2-(2-(2-(二甲氨基)乙基)-5-硝基异二氢吡啶-1,3-二酮)乙酸盐(3-2)的合成

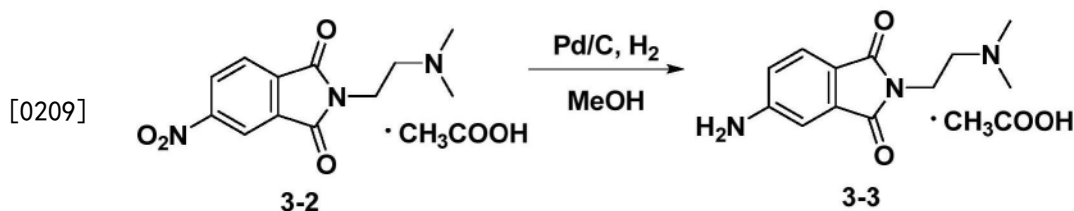
[0205]



[0206] 将化合物5-硝基异苯并咪唑-1,3-二酮(3-1, 11.1g, 57.5mmol, 1.0eq)溶于AcOH (75mL)中,室温下,向其中加入化合物N,N-二甲基乙烷-1,2-二胺(5.1g, 57.5mmol, 1.0eq),升温至110℃反应12小时。将反应液降至室温,然后过滤,将滤液浓缩,得到粗产品。将粗产品用MeOH(10mL)和EtOAc(90mL)打浆,得到目标化合物3-2(20g,粗品),黄色固体。

[0207] LCMS: 264.1 ([M+H]⁺)。

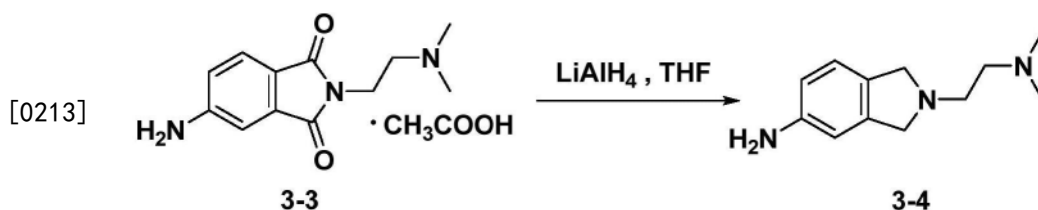
[0208] 步骤2: 5-氨基-2-(2-(2-(二甲氨基)乙基)异二氢吡啶-1,3-二酮)乙酸盐(3-3)的合成



[0210] 将化合物3-2 (20g, 粗品) 溶于MeOH (300mL) 中, 向其中加入Pd/C (2.0g), 氢气保护下, 室温反应5小时。将混合物过滤, 将滤液浓缩, 得到目标化合物3-3 (12.4g), 黄色固体, 两步收率73.5%。

[0211] LCMS: 234.1 ($[M+H]^+$) .

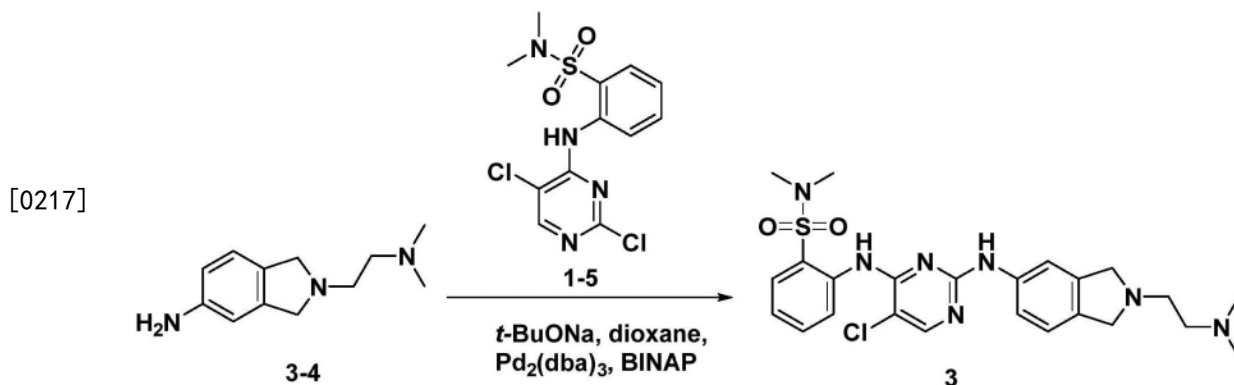
[0212] 步骤3: 2-(2-(二甲氨基)乙基)异二氢吡啶-5-胺(3-4)的合成



[0214] 将化合物3-3 (1.0g, 2.14mmol, 1.0eq) 溶于无水THF (10mL) 中, 降温至0℃, 向其中分批加入LiAlH₄ (407mg, 1.07mmol, 5.0eq), 将反应体系升温至65℃反应24小时。向反应液中依次加入1mL水, 1mL 15%的氢氧化钠溶液和3mL水淬灭, 然后加入4克硫酸钠, 加完, 反应1小时。将反应体系过滤, 滤液浓缩得到粗产品, 将粗产品用硅胶柱 (DCM:MeOH=10:1) 纯化得到目标化合物3-4 (300mg), 黑色固体, 收率42.7%。

[0215] LCMS: 206.2 ($[M+H]^+$) .

[0216] 步骤4: 2-((5-氯-2-((2-(2-(二甲氨基)乙基)异二氢吡啶-5-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物3)的合成



[0218] 将化合物3-4 (100mg, 0.49mmol, 1.0eq)、化合物1-5 (140mg, 0.41mmol, 0.83eq)、t-BuONa (58.4mg, 0.61mmol, 1.25eq) 和BINAP (30.2mg, 0.049mmol, 0.1eq) 溶于dioxane (3mL) 中, 向其中加入Pd₂(dba)₃ (22.2mg, 0.025mmol, 0.05eq), 于微波反应器中, 升温至120℃反应2小时。向反应液中加入10mL水稀释, 用EtOAc萃取3次, 每次10mL。将有机相合并, 然后用10mL饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到粗产品。将粗产品用制备薄层色谱纯化得到目标化合物3 (21.6mg), 白色固体, 收率11.3%。

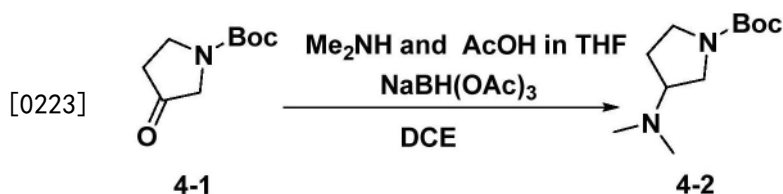
[0219] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ 9.50 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.49 (d, J=7.8Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.83 (dd, J=7.8, 1.5Hz, 1H), 7.73-7.67 (m, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.41-7.31 (m, 2H),

7.08 (d, J=8.1Hz, 1H), 3.78 (d, J=5.7Hz, 4H), 2.80-2.72 (m, 2H), 2.64 (s, 6H), 2.47-2.40 (m, 2H), 2.21 (s, 6H).

[0220] LCMS: 516.2 ([M+H]⁺).

[0221] 实施例4: 2-((5-氯-2-((4-((3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物4)的合成

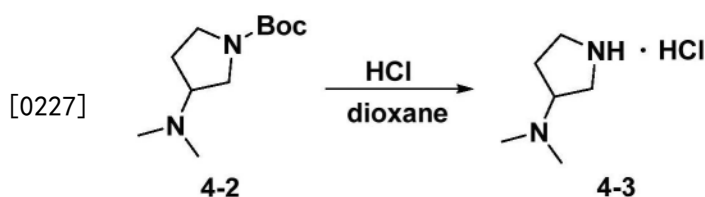
[0222] 步骤1: 叔丁基3-(二甲氨基)吡咯烷-1-羧酸酯(4-2)的合成



[0224] 将叔丁基-3-羰基吡咯烷-1-羧酸酯(4-1, 2g, 10.8mmol, 1.0eq)溶于20mL DCE中,向其中加入Me₂NH(8mL, 16.2mmol, 1.5eq)和AcOH(65mg, 1.1mmol, 0.1eq)的THF溶液,室温反应15分钟,向反应体系中加入NaBH(OAc)₃(6.9g, 32.4mmol, 3.0eq),室温反应16小时。向反应液中加入20mL水稀释,用DCM萃取2次,每次20mL。将有机相合并,用15mL饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到粗产品4-2(2.0g),直接用于下一步。

[0225] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 3.7-3.45 (m, 2H), 3.28-3.19 (dd, J=9.6Hz, 1H), 3.08-2.98 (dd, J=10.2Hz, 1H), 2.72-2.60 (m, 1H), 2.22 (s, 6H), 2.10-1.90 (m, 1H), 1.80-1.60 (m, 1H), 1.41 (s, 9H).

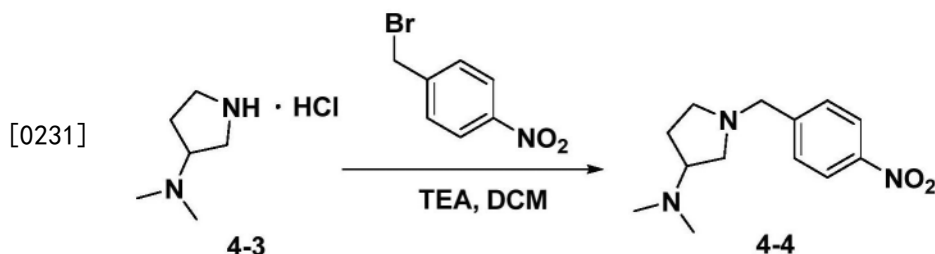
[0226] 步骤2: N,N-二甲基吡咯烷-3-胺盐酸盐(4-3)的合成



[0228] 将化合物4-2(2.0g, 9.3mmol, 1.0eq)的盐酸溶液溶于10mL dioxane中,室温反应2小时。反应完成,过滤,收集沉淀物得到目标化合物4-3(1.3g, 盐酸盐),黄色固体,两步反应收率80.0%。

[0229] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ 1.68 (m, 1H), 4.02-3.90 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.45 (m, 2H), 3.20 (m, 1H), 2.78 (s, 6H), 2.33-2.18 (m, 2H).

[0230] 步骤3: N,N-二甲基-1-(4-硝基苯基)吡咯烷-3-胺(4-4)的合成



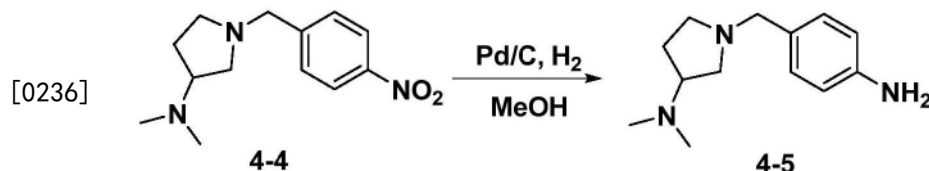
[0232] 将化合物4-3(1.1g, 7.3mmol, 1.0eq)和1-(溴甲基)-4-硝基苯(1.65g, 7.7mmol, 1.05eq)溶于10mL DCM中,向其中加入TEA(2.2g, 21.9mmol, 3.0eq),室温反应12小时。向反应液中加入10mL水稀释,用EtOAc萃取2次,每次20mL。将有机相合并,用饱和食盐水洗3次,每次20mL,用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到粗产品,将粗产品用硅胶柱(DCM:MeOH=20:

1) 纯化得到目标化合物4-4 (500mg), 黄色固体, 收率27.4%。

[0233] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ 8.21-8.17 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.50-7.48 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.48-3.45 (m, 1H), 2.94-2.77 (m, 3H), 2.64 (m, 1H), 2.59 (s, 6H), 2.22-2.05 (m, 2H)。

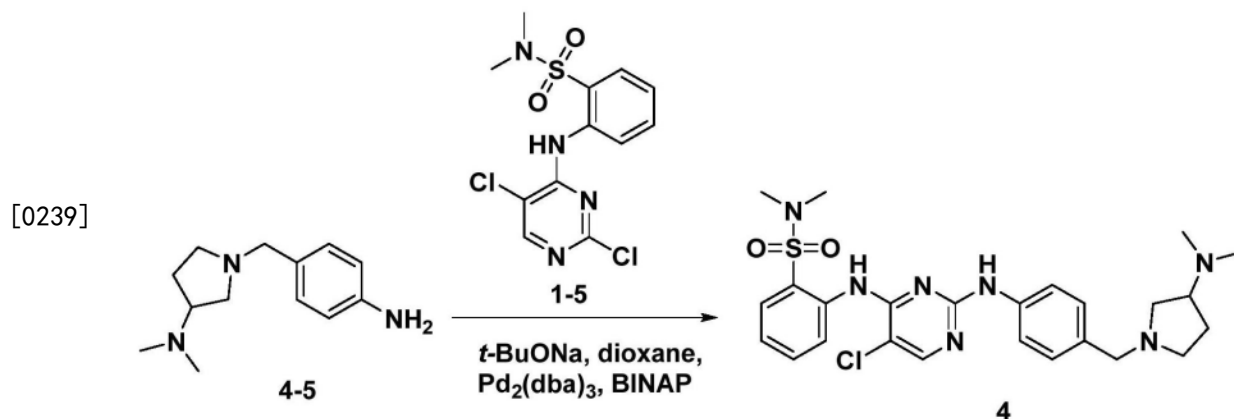
[0234] LCMS: 250.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

[0235] 步骤4: 1-(4-氨基苯甲基)-N,N-二甲基吡咯烷-3-胺(4-5)的合成



[0237] 将化合物4-4 (400mg, 1.6mmol, 1.0eq) 溶于5mL MeOH, 向其中加入80mg Pd/C, 氢气条件下, 室温反应2小时。将反应液过滤, 滤液浓缩得到目标化合物4-5 (320mg), 白色固体, 收率90.9%。

[0238] 步骤5: 2-((5-氯-2-((4-((3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物4)的合成



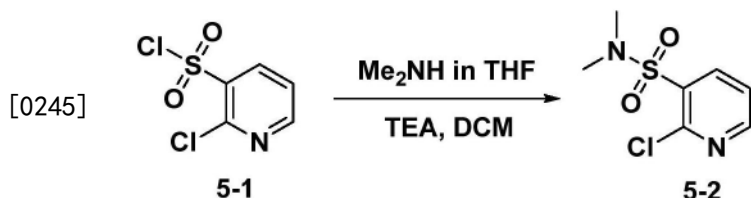
[0240] 将化合物4-5 (170mg, 0.78mmol, 1.2eq) 和化合物1-5 (222mg, 0.64mmol, 1.0eq) 溶于5mL dioxane中, 向其中加入BINAP (48.3mg, 0.08mmol, 0.1eq)、t-BuONa (93.2mg, 0.97mmol, 1.5eq) 和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (35.5mg, 0.04mmol, 0.05eq), 氮气保护下, 升温至 100°C 反应12小时。将反应体系降至室温, 加入15mL水淬灭, 用AcOH萃取3次, 每次25mL。将有机相合并, 用饱和食盐水洗2次, 每次10mL, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到粗产品, 将粗产品用制备薄层色谱(DCM:MeOH=10:1)纯化得到目标化合物4 (23.6mg), 黄色固体, 收率5.7%。

[0241] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9.51 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 8.60 (m, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.83-7.80 (m, 1H), 7.69-7.67 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 3H), 7.54-7.52 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.38-7.34 (dd, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.16-7.14 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 3.51-3.42 (m, 2H), 2.66 (m, 1H), 2.64 (m, 7H), 2.49 (m, 1H), 2.46-2.44 (m, 2H), 2.11 (s, 6H), 7.90-1.80 (m, 1H), 1.68-1.54 (m, 1H)。

[0242] LCMS: 530.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

[0243] 实施例5: 2-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-3-磺酰胺(化合物5)的合成

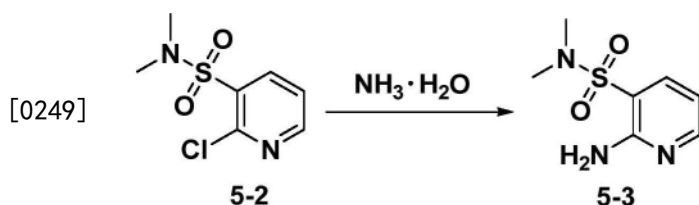
[0244] 步骤1: 2-氯-N,N-二甲基吡啶-3-磺酰胺(5-2)的合成



[0246] 将2-氯吡啶-3-磺酰氯(5-1, 5.0g, 24.3mmol, 1.0eq)溶于50mL DCM和TEA(4.9g, 48.5mmol, 2.0eq)中,室温下,向其中加入2mol/L的 Me_2NH 的THF溶液(1.6g, 36.4mmol, 1.5eq),加完,室温反应2小时。向反应混合物中加入50mL水稀释,用DCM萃取3次,每次50mL。将有机相合并,用50mL 1mol/L的盐酸洗涤,干燥,浓缩得到目标化合物5-2(2.4g,粗产品),灰白色油状液体,收率45.1%。

[0247] LCMS: 221.0 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) .

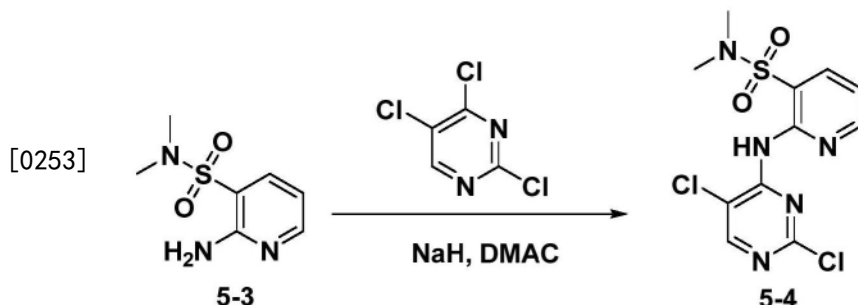
[0248] 步骤2: 2-氨基-N,N-二甲基吡啶-3-磺酰胺(5-3)的合成



[0250] 向高压釜中,加入化合物5-2(2.4g, 10.9mmol)和28mL $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$,升温至150℃反应12小时。向反应混合物中加入150mL水稀释,过滤,加入50mL水洗涤滤渣,干燥得到目标化合物5-3(1.3g),白色固体,收率59.3%。

[0251] LCMS: 202.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) .

[0252] 步骤3: 2-((2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-3-磺酰胺(5-4)的合成

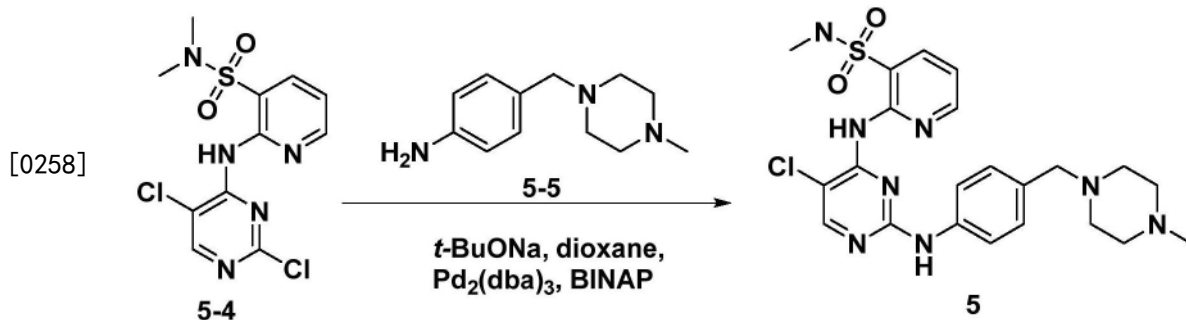


[0254] 将化合物5-3(1.0g, 4.9mmol, 1.0eq)溶于10mL DMAC中,向其中加入NaH(在矿物油里的含量为60%, 792mg, 19.8mmol, 4.0eq), 25℃反应1小时。然后向体系中缓慢加入2,4,5-三氯嘧啶(3.17g, 17.32mmol, 3.5eq),加完,25℃反应3小时。向反应体系中加入10mL水淬灭,用EtOAc萃取3次,每次15mL。将有机相合并,用水洗3次,每次15mL,然后用15mL饱和食盐水洗涤。加入无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗产品,将粗产品用硅胶柱(DCM)纯化得到目标化合物5-4(800mg),黄色固体,收率46.9%。

[0255] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3): δ 9.66 (s, 1H), 8.69 (dd, $J=4.8, 1.8\text{Hz}$, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.17 (dd, $J=7.2, 1.8\text{Hz}$, 1H), 7.30-7.26 (m, 1H), 2.79 (s, 6H) .

[0256] LCMS: 348.0 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) .

[0257] 步骤4: 2-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-3-磺酰胺(化合物5)的合成



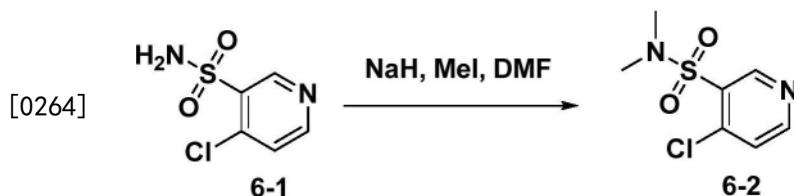
[0259] 将化合物5-4 (100mg, 0.28mmol, 0.83eq)、4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯胺(5-5, 71mg, 0.34mmol, 1.0eq)、BINAP (21.4mg, 0.034mmol, 0.1eq)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (15.6mg, 0.017mmol, 0.05eq) 和 $t\text{-BuONa}$ (41.2mg, 0.43mmol, 1.25eq) 依次加入到3mL dioxane中, 氮气吹扫1分钟, 升温至120℃微波反应器中反应2小时。反应液中加入10mL水稀释, 用EtOAc萃取3次, 每次10mL。将有机相合并, 用10mL饱和食盐水洗涤, 干燥, 浓缩得到粗产品。将粗产品用制备液相色谱(乙腈/水, 5mmol/L的碳酸氢铵作为添加剂, 20mL/min) 纯化得到目标化合物5 (19mg), 白色固体, 收率12.8%。

[0260] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6): δ 9.58 (s, 1H), 9.28 (brs, 1H), 8.82 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.25 (dd, $J=8.0, 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.73 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.47 (dd, $J=8.0, 4.8\text{Hz}$, 1H), 7.10 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 3.34 (s, 2H), 2.69 (s, 6H), 2.43-2.21 (m, 8H), 2.14 (s, 3H)。

[0261] LCMS: 517.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

[0262] 实施例6: 4-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)- N,N -二甲基吡啶-3-磺酰胺(化合物6)的合成

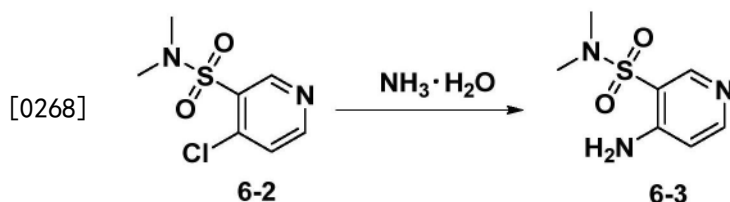
[0263] 步骤1: 4-氯- N,N -二甲基吡啶-3-磺酰胺(6-2)的合成



[0265] 25℃条件下, 将4-氯吡啶-3-磺酰胺(6-1, 500mg, 2.59mmol, 1.0eq)溶于DMF中, 向溶液中加入NaH(在矿物油里的含量为60%, 228.8mg, 5.72mmol, 2.2eq), 室温反应1小时。降温至0℃, 缓慢加入MeI (811.9mg, 5.72mmol, 2.2eq), 升至室温并且搅拌3小时。薄层色谱监测反应完成。反应液中加入10mL水淬灭, DCM萃取3次, 每次15mL, 用20mL饱和食盐水洗, 减压浓缩得到粗产品。将粗产品用硅胶柱纯化(PE:EtOAc=7:3)得到目标化合物6-2 (600mg), 灰白色油状液体, 收率87.4%。

[0266] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6): δ 8.34 (s, 1H), 8.14 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H), 6.77 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H), 2.67 (s, 6H)。

[0267] 步骤2: 4-氨基- N,N -二甲基吡啶-3-磺酰胺(6-3)的合成

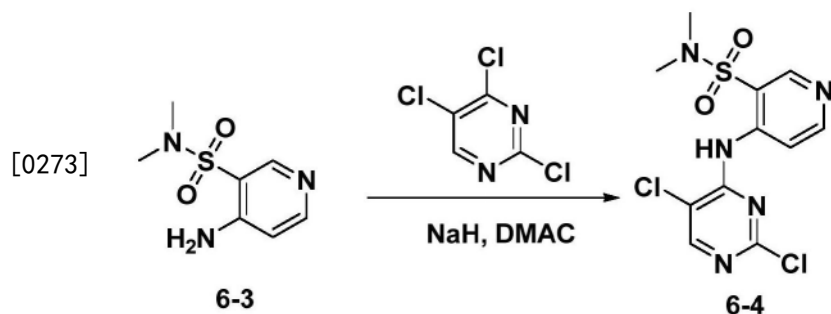


[0269] 将化合物6-2(3.0g, 13.5mmol)溶于60mL $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 中,在高压釜中120℃反应12h。液质监测反应完成。将反应体系冷却至室温,加入150mL水淬灭,过滤,用50mL水洗,过滤,干燥,得到目标化合物6-3(1.4g),白色固体,收率为51.5%。

[0270] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6): δ 8.33 (s, 1H), 8.13 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H), 6.90 (brs, 2H), 6.77 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H), 2.67 (s, 6H)。

[0271] LCMS: 202.0 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

[0272] 步骤3: 4-((2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-3-磺酰胺(6-4)的合成

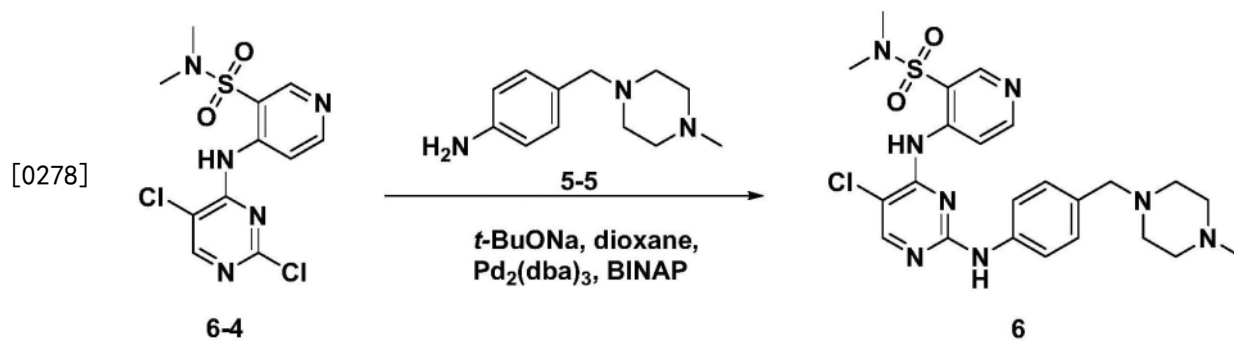


[0274] 将化合物6-3(800mg, 3.96mmol, 1.0eq)溶于10mL DMAC中,向其中加入NaH(在矿物油里的含量为60%, 633.6mg, 15.8mmol, 4.0eq), 25℃反应1小时,然后缓慢加入化合物2,4,5-三氯嘧啶(871.45mg, 4.75mmol, 1.2eq),加入过程控制温度低于27℃,加完,25℃反应1小时。向反应液中加入10mL水淬灭,用EtOAc萃取3次,每次15mL,将有机相合并,用饱和食盐水洗2次,每次15mL,减压浓缩得到粗产品,粗产品用硅胶柱纯化(DCM),得到目标化合物6-4(670mg),黄色固体,收率48.5%。

[0275] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6): δ 10.06 (brs, 1H), 8.87-8.85 (m, 2H), 8.71 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 2.74 (s, 6H)。

[0276] LCMS: 348.0 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

[0277] 步骤4: 4-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-3-磺酰胺(化合物6)的合成



[0279] 将化合物6-4(150mg, 0.43mmol, 1.0eq)、化合物5-5(95.1mg, 0.46mmol, 1.05eq)、BINAP(26.1mg, 0.04mmol, 0.1eq)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (19.2mg, 0.02mmol, 0.05eq)和t-BuONa(50.4mg, 0.54mmol, 1.25eq)溶于3mL dioxane中,微波条件下,120℃反应2小时。将反应体系冷却至室温,加入3mL水,用EtOAc萃取3次,每次5mL,减压浓缩得到粗产品。粗产品经制备液相色谱(乙腈/水, 5mmol/L的碳酸氢铵作为添加剂, 20mL/min)分离纯化得到目标化合物6(20.1mg),白色固体,收率为9.0%。

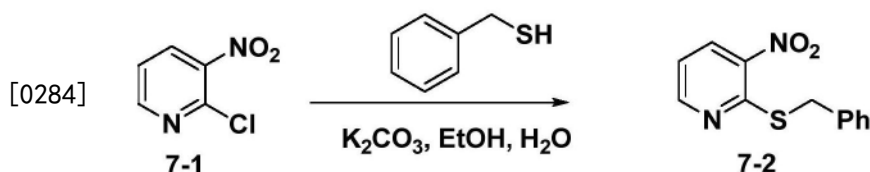
[0280] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6): δ 9.64 (s, 1H), 8.84 (brs, 1H), 8.79 (m, 2H), 8.79 (s, 1H),

8.59 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.56 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 7.23 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 3.41 (s, 2H), 2.75 (s, 6H), 2.43-2.22 (m, 8H), 2.14 (s, 3H).

[0281] LCMS: 517.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0282] 实施例7:3-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)吡啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-2-磺酰胺(化合物7)的合成

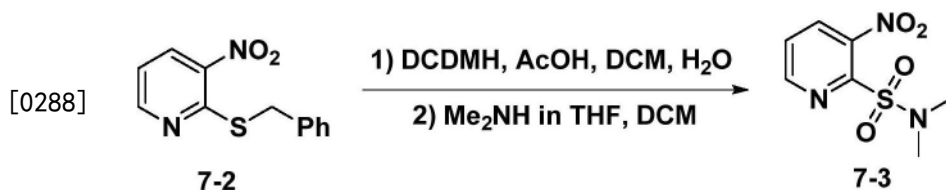
[0283] 步骤1:2-(苯甲硫基)-3-硝基吡啶(7-2)的合成



[0285] 将2-氯-3-硝基吡啶(7-1, 5.0g, 32mmol, 1.0eq)和苯基甲硫醇(4.3g, 35.2mmol, 1.1eq)溶于150mL EtOH和30mL H₂O的混合溶液中,向其中加入K₂CO₃,室温反应12小时。向反应液中入100mL水淬灭,过滤,然后用30mL水洗涤,得黄色出粗产品,真空干燥得到目标化合物7-2(8.3g),黄色固体,收率95.8%。

[0286] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ8.88 (dd, $J=4.8, 1.8\text{Hz}$, 1H), 8.63 (dd, $J=8.4, 1.8\text{Hz}$, 1H), 7.50-7.48 (m, 1H), 7.47-7.43 (m, 2H), 7.36-7.26 (m, 3H), 4.50 (s, 2H).

[0287] 步骤2:N,N-二甲基-3-硝基吡啶-2-磺酰胺(7-3)的合成

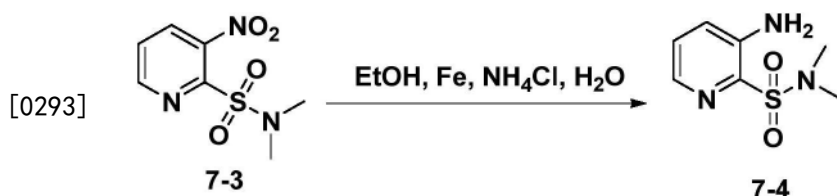


[0289] 将化合物7-2(1.0g, 4.1mmol, 1.0eq)溶于AcOH(2mL)、H₂O(4mL)和DCM(24mL)的混合溶液中,降温至0℃,加入DCDMH(2.4g, 12.2mmol, 3.0eq),升温至25℃反应4小时。薄层色谱和液质检测反应完全。用16mL 5%的连二亚硫酸钠溶液和16mL 10%磷酸二氢钾溶液依次洗涤,浓缩得到残渣。将残渣用50mL DCM稀释,降温至0℃,缓慢加入Me₂NH的THF溶液(2mmol/L, 6mL),加完,25℃反应20分钟。将反应液用5mL饱和柠檬酸溶液淬灭,将有机相浓缩得到目标化合物7-3(840mg),黄色固体,收率88.5%。

[0290] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ8.96 (dd, $J=4.5, 1.5\text{Hz}$, 1H), 8.59 (dd, $J=8.1, 1.5\text{Hz}$, 1H), 7.98 (dd, $J=8.1\text{Hz}, 4.5\text{Hz}$, 1H), 2.97 (s, 6H).

[0291] LCMS: 232.0 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0292] 步骤3:3-氨基-N,N-二甲基吡啶-2-磺酰胺(7-4)的合成



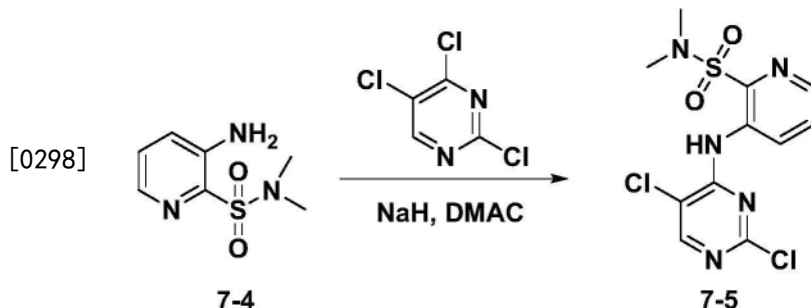
[0294] 将化合物7-3(840mg, 3.63mmol, 1.0eq)和Fe(460mg, 36.3mmol, 10.0eq)溶于8mL EtOH中,室温下,向其中加入NH₄Cl(230mg, 18.15mmol, 5.0eq)的水溶液,升温至105℃,反应1.5小时。减压浓缩反应液,然后用10mL水稀释,用EtOAc萃取3次,每次50mL,无水硫酸钠干

干燥,过滤,减压浓缩得到目标化合物7-4(640mg),棕色固体,收率87.7%。

[0295] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ 7.95 (s, 1H), 7.84 (dd, $J=3.6, 1.8\text{Hz}$, 1H), 7.31-7.29 (m, 1H), 6.10 (brs, 2H), 2.83 (s, 6H) .

[0296] LCMS: 202.0 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) .

[0297] 步骤4: 3-((2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-2-磺酰胺(7-5)的合成

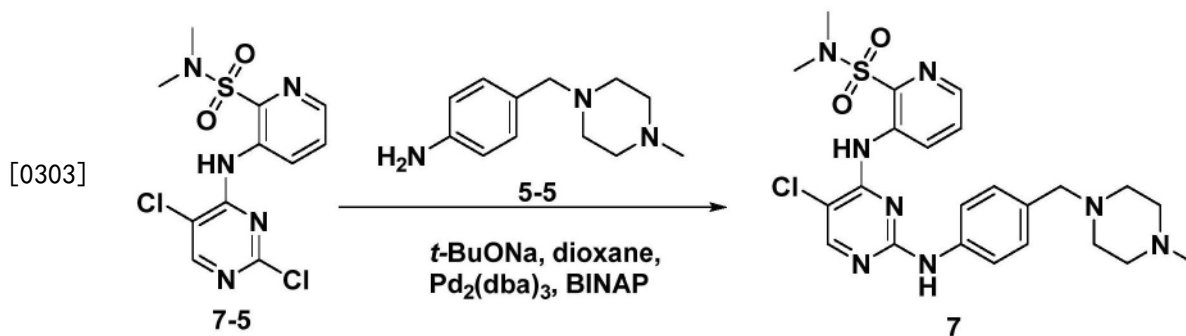


[0299] 将NaH(在矿物油里的含量为60%, 320mg, 8mmol, 4.0eq)溶于8mL DMAC, 25°C条件下,向其中加入化合物7-4(400mg, 1.98mmol, 1.0eq), 室温反应1h.控制温度低于27°C,缓慢加入化合物2,4,5-三氯嘧啶(435mg, 2.4mmol, 1.2eq), 25°C反应1h.将反应液真空浓缩得到粗产品,将粗产品用硅胶柱(PE:EtOAc=3:1)纯化得到目标化合物7-5(320mg),白色固体,收率46.4%。

[0300] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ 9.80 (brs, 1H), 8.71 (dd, $J=8.4, 1.5\text{Hz}$, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.53 (dd, $J=4.5, 1.5\text{Hz}$, 1H), 7.81 (dd, $J=8.4, 1.5\text{Hz}$, 1H), 2.94 (s, 3H), 2.93 (s, 3H) .

[0301] LCMS: 348.0 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) .

[0302] 步骤5: 3-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-2-磺酰胺(化合物7)的合成



[0304] 将化合物7-5(150mg, 4.3mmol, 1.0eq)、化合物5-5(95mg, 4.6mmol, 1.05eq)、t-BuONa(100mg, 5.4mmol, 1.25eq)和BINAP(26.1mg, 0.43mmol, 0.1eq)溶于3mL dioxane中,氮气保护下,室温加入Pd₂(dba)₃(19.2mg, 0.21mmol, 0.05eq),微波条件下,120°C反应2小时。将反应体系冷却至室温,加3mL水淬灭,用EtOAc萃取3次,每次5mL,真空浓缩得到粗产品。将粗产品用制备液相色谱(乙腈/水, 5mmol/L的碳酸氢铵作为添加剂, 20mL/min)分离纯化得到目标化合物7(11.7mg),白色固体,收率5.3%。

[0305] ^1H NMR (400MHz, CD₃OD): δ 9.23 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 8.35 (dd, $J=4.4\text{Hz}, 1.2\text{Hz}$, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.58-7.54 (m, 3H), 7.27 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 3.61 (s, 2H), 3.01 (s, 6H), 2.99-2.54 (m, 8H), 2.52 (s, 3H) .

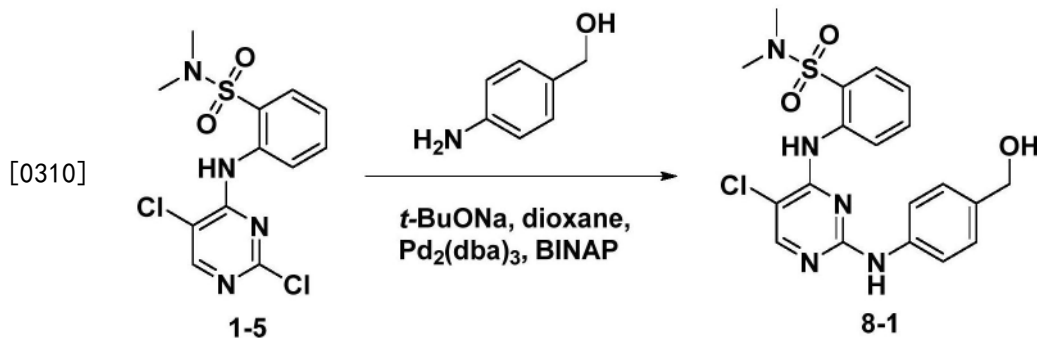
[0306] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 9.58 (s, 1H), 9.43 (s, 1H), 9.10 (brs, 1H), 8.43 (dd, $J=$

4.4, 1.2Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.66 (dd, J=8.4Hz, 4.4Hz, 1H), 7.53 (d, J=7.6Hz, 2H), 7.18 (d, J=8.0Hz, 2H), 3.45 (s, 2H), 2.93 (s, 7H), 2.68-2.51 (m, 4H), 2.44-2.22 (m, 6H).

[0307] LCMS: 517.2 ([M+H]⁺).

[0308] 实施例8: 2-((5-氯-2-((4-((3-甲基-3,8-二氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物8)的合成

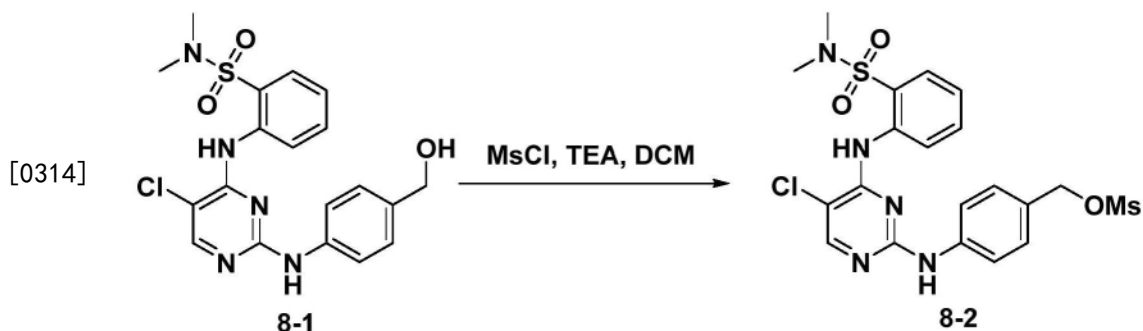
[0309] 步骤1: 2-((5-氯-2-((4-(羟甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(8-1)的合成



[0311] 将化合物1-5(1.0g, 2.89mmol, 1.0eq)溶于10mL dioxane中,向其中加入4-氨基苯基甲醇(430mg, 3.48mmol, 1.2eq)、Pd₂(dba)₃(159mg, 0.17mmol, 0.05eq)、BINAP(217mg, 0.35mmol, 0.1eq)和t-BuONa(418mg, 4.35mmol, 1.5eq),氮气保护下,升温至100℃反应12小时。将反应体系降至室温,向其中加入15mL水,用EtOAc萃取3次,每次15mL。将有机相合并,用饱和食盐水洗两次,每次15mL,然后用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到粗产品。将粗产品用硅胶柱(PE:EtOAc=1:3)纯化得到目标化合物8-1(600mg),黄色固体,收率47.9%。

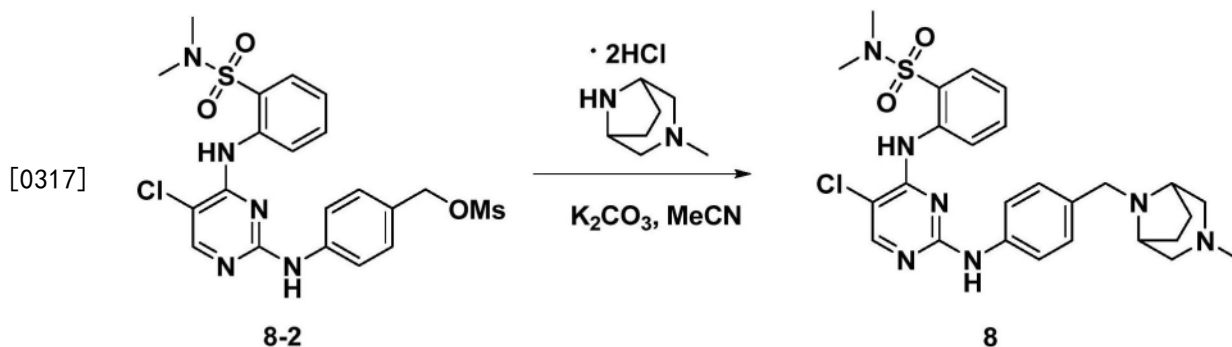
[0312] LCMS: 434.1 ([M+H]⁺).

[0313] 步骤2: 4-((5-氯-4-((2-(N,N-二甲基氨磺酰)苯基)氨基)嘧啶-2-基)氨基)苯基甲磺酸酯(8-2)的合成



[0315] 将化合物8-1(600mg, 1.38mmol, 1.0eq)溶于10mL DCM中,室温下,向其中加入TEA(279mg, 2.76mmol, 2.0eq)。将混合体系降温至0℃,向其中加入MsCl(236mg, 2.07mmol, 1.5eq),升至室温,反应4小时。向反应液中加入20mL水,然后用DCM萃取3次,每次20mL。将有机相合并,用饱和食盐水洗2次,每次20mL,用无水硫酸钠干燥,浓缩得到粗产品8-2(750mg),黄色固体,直接用于下一步反应。

[0316] 步骤3: 2-((5-氯-2-((4-((3-甲基-3,8-二氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物8)的合成

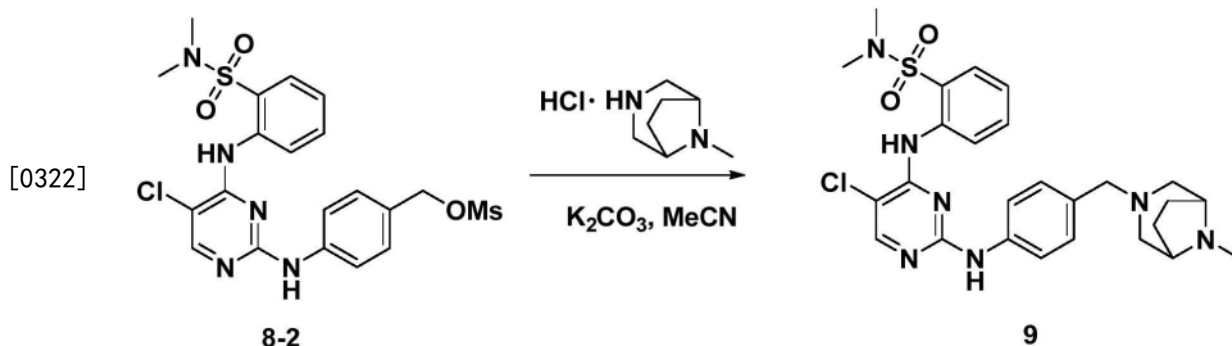


[0318] 将化合物8-2(250mg,0.49mmol,1.0eq)和3-甲基-3,8-二氮杂二环[3.2.1]辛烷盐酸盐(8-3,107mg,0.54mmol,1.1eq)溶于5mL MeCN中,向其中加入 K_2CO_3 (340mg,2.45mmol,5.0eq)。氮气保护下,升温至80℃反应4小时。将反应体系降至室温,向其中加入15mL水,用EtOAc萃取3次,每次20mL。将有机相合并,用饱和食盐水洗2次,每次20mL,用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到粗产品。将粗产品用制备液相色谱(乙腈/水,5mmol/L的碳酸氢铵作为添加剂,20mL/min)纯化得到目标化合物8(19mg),白色固体,收率7.2%。

[0319] 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 9.50 (s, 1H), 9.32 (brs, 1H), 8.58-8.55 (m, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.83 (d, $J=1.4$ Hz, 1H), 7.68 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.36 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 3.36 (s, 2H), 2.97 (s, 2H), 2.64 (s, 6H), 2.48-2.45 (m, 2H), 2.19-2.16 (m, 2H), 2.13 (s, 3H), 1.85-1.82 (m, 2H), 1.69-1.68 (m, 2H)。

[0320] LCMS: 542.2 ($[M+H]^+$)。

[0321] 实施例9:2-((5-氯-2-((4-((8-甲基-3,8-二氮杂二环[3.2.1]辛烷-3-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物9)的合成

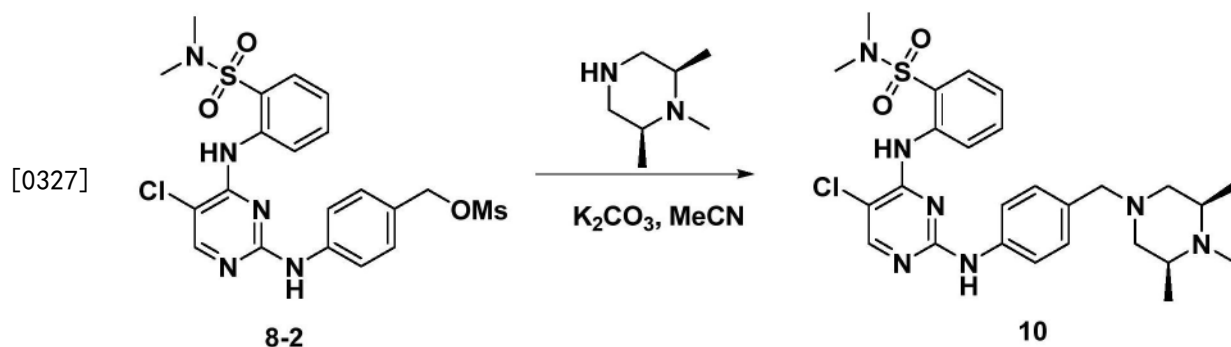


[0323] 将化合物8-2(250mg,0.49mmol)和8-甲基-3,8-二氮杂二环[3.2.1]辛烷盐酸盐(107mg,0.54mmol)溶于5mL MeCN中,向体系中加入 K_2CO_3 (340mg,2.45mmol),氮气保护下升温至80℃,反应2小时。薄层色谱显示反应完全。将反应体系冷却至室温,加入15mL水,用EtOAc萃取3次,每次20mL。将有机相合并,用饱和食盐水洗2次,每次20mL,然后用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到粗产品。将粗产品用制备液相色谱(乙腈/水,5mmol/L的碳酸氢铵作为添加剂,20mL/min)分离纯化得到目标化合物9(34.2mg),白色固体,收率12.9%。

[0324] 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 9.50 (s, 1H), 9.32 (brs, 1H), 8.58-8.55 (m, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.83 (d, $J=1.4$ Hz, 1H), 7.68 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.36 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 3.36 (s, 2H), 2.97 (s, 2H), 2.64 (s, 6H), 2.48-2.45 (m, 2H), 2.19-2.16 (m, 2H), 2.13 (s, 3H), 1.85-1.82 (m, 2H), 1.69-1.68 (m, 2H)。

[0325] LCMS: 542.2 ($[M+H]^+$)。

[0326] 实施例10:2-((5-氯-2-((4-(((3R,5S)-3,4,5-三甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物10)的合成



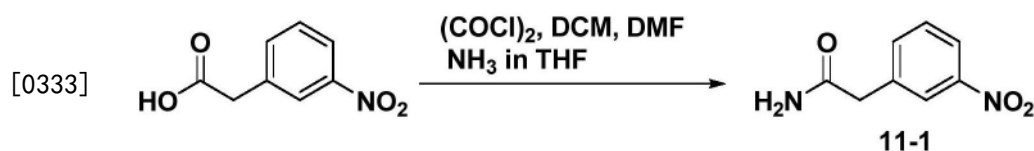
[0328] 将化合物8-2(250mg, 0.49mmol)和(2R,6S)-1,2,6-三甲基哌嗪(69.3mg, 0.54mmol)溶于5mL MeCN中,向体系中加入 K_2CO_3 (340mg, 2.45mmol),氮气保护下,将混合物升温至80℃,反应2小时。液质监测显示反应完全。将反应体系降至室温,加入15mL水,用EtOAc萃取3次,每次20mL,将有机相合并,用饱和食盐水洗2次,每次20mL,然后用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到粗产品。将粗产品用制备液相色谱(乙腈/水,5mmol/L的碳酸氢铵作为添加剂,20mL/min)分离纯化得到目标化合物10(20.8mg),白色固体,收率7.8%。

[0329] 1H NMR(400MHz, DMSO- d_6): δ 9.52(s, 1H), 9.33(s, 1H), 8.59(d, J=9.2Hz, 1H), 8.28(s, 1H), 7.82(dd, J=8.0, 1.6Hz, 1H), 7.69(t, J=8.0Hz, 1H), 7.53(d, J=8.4Hz, 2H), 7.36(t, J=7.2Hz, 1H), 7.15(d, J=8.4Hz, 2H), 3.29-3.27(m, 2H), 2.70-2.57(m, 9H), 2.17-2.08(m, 4H), 1.73(t, J=10.0Hz, 2H), 0.93(d, J=6.0Hz, 6H)。

[0330] LCMS: 544.1 ([M+H]⁺)。

[0331] 实施例11:2-((5-氯-2-((2-(2-甲氧基乙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺甲酸盐(化合物11)的合成

[0332] 步骤1:2-(3-硝基苯基)乙酰胺(11-1)的合成

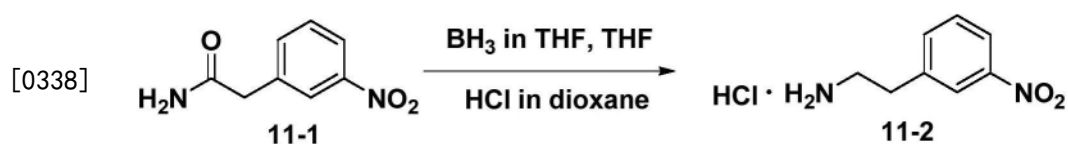


[0334] 将2-(3-硝基苯基)乙酸(10.0g, 55.2mmol, 1.0eq)和3滴DMF溶于100mL DCM中,向其中滴加 $(COCl)_2$ (7.0g, 55.2mmol, 1.0eq),室温反应2小时。向其中加入 NH_3 的THF溶液(500mL),反应一小时。将反应混合体系用DCM萃取2次,每次500mL。将有机相合并,用500mL饱和食盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到粗产品,将粗产品用硅胶柱(DCM:MeOH=10:1)纯化得到目标化合物11-1(6g),白色固体,收率60.3%。

[0335] 1H NMR(300MHz, DMSO- d_6): δ 8.15(s, 1H), 8.13-8.09(m, 1H), 7.72(d, J=7.8Hz, 1H), 7.64-7.58(m, 2H), 7.02(brs, 1H), 3.57(s, 2H)。

[0336] LCMS: 181.1 ([M+H]⁺)。

[0337] 步骤2:2-(3-硝基苯基)乙烷-1-胺盐酸盐(11-2)的合成

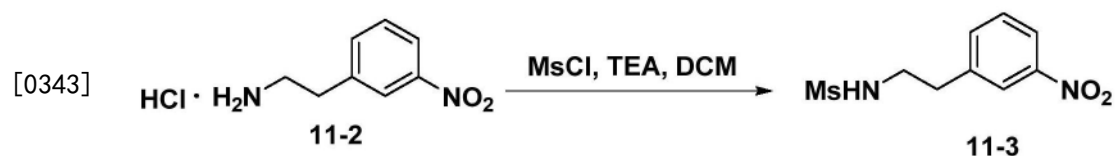


[0339] 将搅拌中的 BH_3 的THF (60mL) 溶液降温至 0°C , 向其中加入化合物11-1 (6.0g, 33.3mmol, 1.0eq) 的THF溶液, 升至室温, 反应2小时, 然后加热 70°C 反应3小时, 液相色谱监测显示反应完全。将反应体系降至室温, 用50mL 3N盐酸小心淬灭。反应体系降至室温, 用60mL 3M氢氧化钠溶液溶解, 然后用DCM萃取2次, 每次100mL。将有机相合并, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到粗产品, 将粗产品溶于50mL DCM中, 向其中加入10mL 4N的HCl的dioxane溶液, 反应1小时。将反应体系过滤, 干燥得到目标化合物11-2 (4.8g), 米白色固体, 收率86.8%。

[0340] ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6): δ 8.19-8.12 (m, 2H), 8.09 (brs, 2H), 7.77 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 7.65 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 3.21-3.01 (m, 4H) .

[0341] LCMS: 167.1 ($[\text{M}-\text{HCl}+\text{H}]^+$) .

[0342] 步骤3: N-(3-硝基苯乙基)甲磺酰胺 (11-3) 的合成

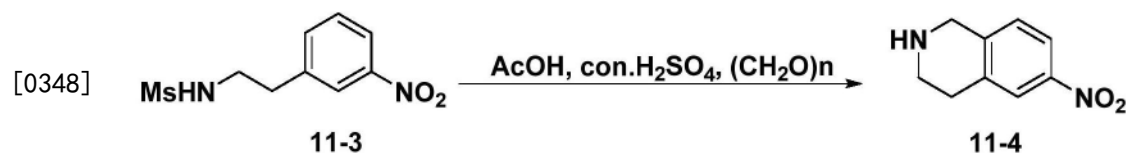


[0344] 室温下, 将化合物11-2 (4.4g, 21.7mmol, 1.0eq) 溶于40mL DCM中, 向其中加入TEA (6.4g, 63mmol, 3.0eq), 降温至 -20°C , 缓慢加入MsCl (3.0g, 26mmol, 1.2eq) 的DCM (20mL) 溶液, -20°C 反应20分钟。然后升至室温, 反应2小时。反应完成, 向体系中加入25mL水, 用DCM萃取3次, 每次50mL。将有机相合并, 用100mL饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到目标化合物11-3 (3.4g), 白色固体, 收率94.3%。

[0345] ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6): δ 8.16 (s, 1H), 8.15-8.08 (m, 1H), 7.75 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 7.62 (t, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 7.12 (t, $J=5.7\text{Hz}$, 1H), 3.29-3.22 (m, 2H), 2.92 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 2.86 (s, 3H) .

[0346] LCMS: 267.0 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) .

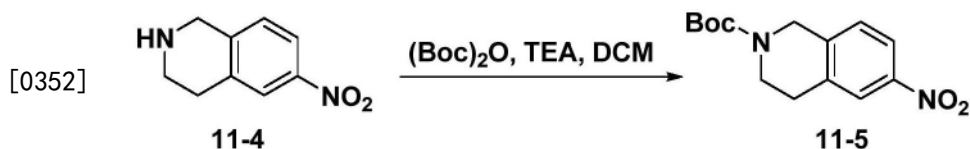
[0347] 步骤4: 6-硝基-1,2,3,4-四氢异喹啉 (11-4) 的合成



[0349] 0°C 条件下, 向35mL AcOH中加入50mL con. H_2SO_4 , 再加入化合物11-3 (5.4g, 22.4mmol, 1.0eq) 的AcOH溶液 (25mL) 搅拌至反应完成, 向其中加入 $(\text{CH}_2\text{O})_n$ (637mg, 22.4mmol, 1.0eq), 降温至 0°C , 反应30分钟, 然后加热至 45°C 反应12小时。液质监测反应完全, 将反应体系降至室温, 用50mL冰水淬灭, 用EtOAc萃取2次, 每次100mL。将有机相合并, 用饱和食盐水洗两次, 每次50mL。用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到粗品化合物11-4 (2.9g), 黄色固体, 直接用于下一步。

[0350] LCMS: 179.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) .

[0351] 步骤5: 叔丁基-6-硝基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸酯 (11-5) 的合成

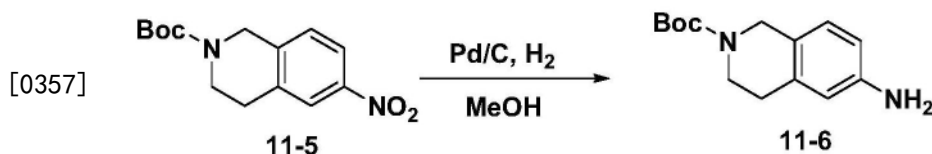


[0353] 将化合物11-4 (2.9g, 16.3mmol, 1.0eq) 溶于25mL DCM中, 向其中加入TEA (3.3g, 32.6mmol, 2.0eq) 和 $(\text{Boc})_2\text{O}$ (4.0g, 18.0mmol, 1.1eq), 室温反应4小时。反应完成, 向其中加入25mL水, 用DCM萃取3次, 每次25mL, 将有机相合并, 用饱和食盐水洗2次, 每次20mL。用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到粗产品, 将粗产品用硅胶柱 (PE:EtOAc=5:1) 纯化得到目标化合物11-5 (1.5g), 黄色固体, 收率33.1%。

[0354] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8.08 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.04 (dd, $J=8.4, 2.4\text{Hz}$, 1H), 7.49 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.63 (s, 2H), 3.59 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 2H), 2.92 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 2H), 1.44 (s, 9H)。

[0355] LCMS: 223.0 ($[\text{M}-56+\text{H}]^+$)。

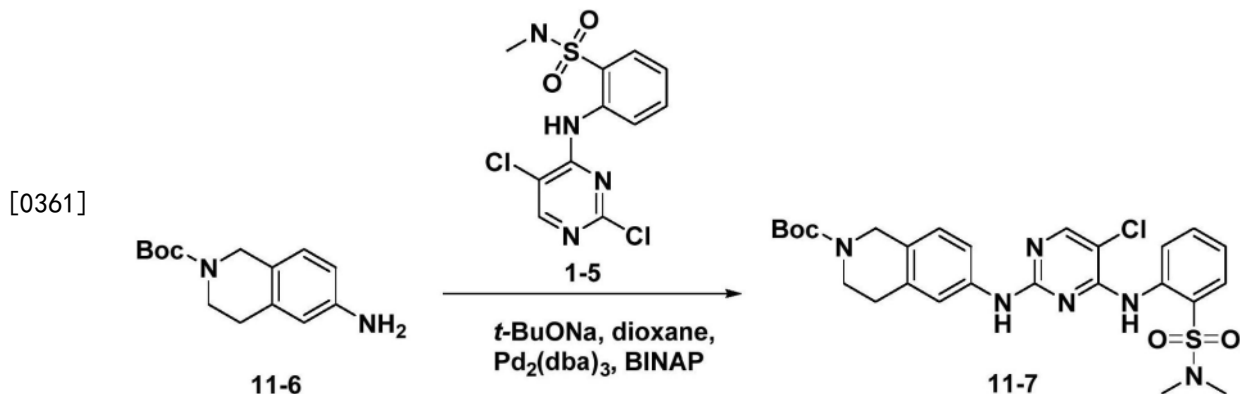
[0356] 步骤6: 叔丁基-6-氨基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸酯 (11-6) 的合成



[0358] 将化合物11-5 (2g, 7.2mmol, 1.0eq) 溶于20mL MeOH中, 室温下向其中加入200mg Pd/C, 氢气保护下, 室温反应4小时。液质监测反应完全, 过滤, 滤液浓缩得到目标化合物11-6 (1.8g), 黄色固体, 收率92.5%。

[0359] LCMS: 249.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

[0360] 步骤7: 叔-丁基6-((5-氯-4-((2-(N,N-二甲基氨磺酰)苯基)氨基)嘧啶-2-基)氨基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸酯 (11-7) 的合成



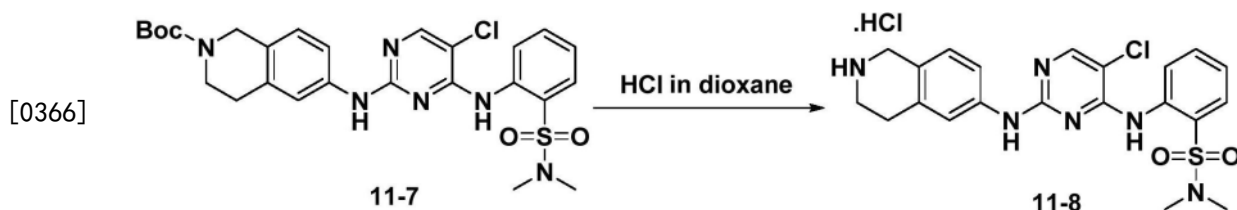
[0362] 将化合物11-6 (500mg, 2.0mmol, 1.2eq) 和化合物1-5 (580mg, 1.7mmol, 1.0eq) 溶于10mL dioxane中, 向其中加入BINAP (124mg, 0.2mmol, 0.1eq)、t-BuONa (240mg, 2.5mmol, 1.5eq) 和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (92mg, 0.1mmol, 0.05eq)。氮气保护下, 升温至100℃反应12小时。反应完成, 降至室温, 用15mL水淬灭, 用EtOAc萃取3次, 每次25mL。将有机相合并, 用饱和食盐水洗2次, 每次10mL, 用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得到粗产品。将粗产品用硅胶柱 (PE:EtOAc=2:1) 纯化得到目标化合物11-7 (350mg), 棕色固体, 收率31.4%。

[0363] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9.51 (s, 1H), 9.28 (brs, 1H), 8.52 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H),

8.29 (s, 1H), 7.84 (dd, J=8.1, 1.5Hz, 1H), 7.75-7.69 (m, 1H), 7.47-7.43 (m, 1H), 7.42-7.35 (m, 2H), 7.04 (d, J=8.7Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.53 (t, J=6.0Hz, 2H), 2.68-2.61 (m, 8H), 1.44 (s, 9H).

[0364] LCMS: 559.2 ($[M+H]^+$).

[0365] 步骤8: 2-((5-氯-2-((1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)苯磺酰胺(11-8)的合成

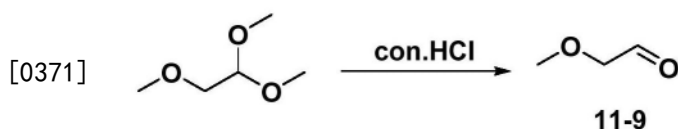


[0367] 向HCl的dioxane (6mL) 溶液中加入化合物11-7 (350mg, 0.6mmol), 室温反应12小时。反应完成, 过滤得到目标化合物11-8 (250mg), 黄色固体, 收率91.0%。

[0368] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ 9.87 (s, 1H), 9.49 (brs, 3H), 8.43 (d, J=7.8Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.86 (dd, J=7.8, 1.2Hz, 1H), 7.80-7.73 (m, 1H), 7.47-7.37 (m, 3H), 7.01 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.17 (brs, 2H), 3.38-3.26 (m, 2H), 2.86 (t, J=6.0Hz, 1H, 2H), 2.56 (s, 6H).

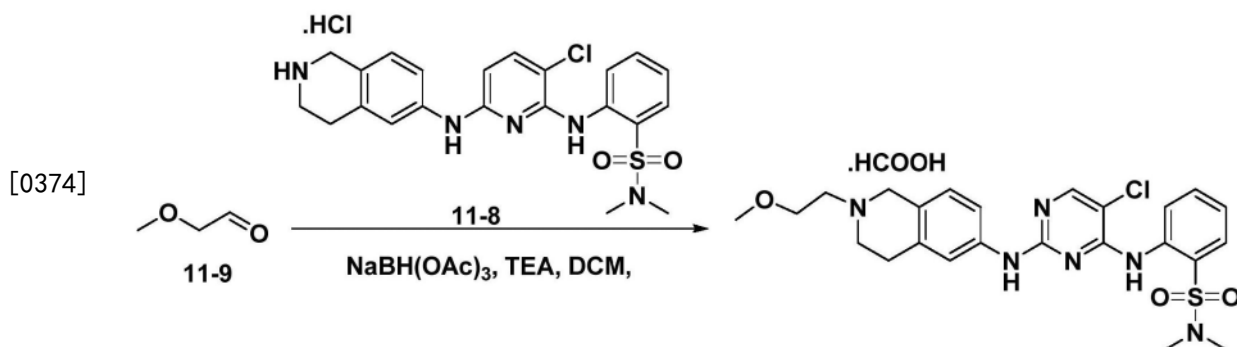
[0369] LCMS: 459.1 ($[M-HCl+H]^+$).

[0370] 步骤9: 2-甲氧基乙醛(11-9)的合成



[0372] 将1,1,2-三甲氧基乙烷(1g, 6.2mol) 溶于con.HCl (5mL) 中, 升温至40°C 反应3h。薄层色谱监测反应完全。将反应体系用5mL DCM萃取得到化合物11-9的DCM溶液, 直接用于下一步反应。

[0373] 步骤10: 2-((5-氯-2-((2-(2-甲氧基乙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(11)甲酸盐的合成



[0375] 将化合物11-9溶于4mL DCM中, 室温下, 加入化合物11-8 (11-2, 150mg, 0.3mmol, 1.0eq) 和TEA (90.9mg, 0.9mmol, 3.0eq), 加完, 反应10分钟。然后向体系中加入NaBH(OAc)₃ (125mg, 0.6mmol, 2.0eq), 室温反应30分钟。液质监测反应完全。向反应体系中加入10mL水, 然后用EtOAc萃取3次, 每次15mL。将有机相合并, 用饱和食盐水洗2次, 每次10mL, 然后用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到粗产品, 将粗产品用制备液相色谱(乙腈/水, 0.1%的甲酸作为添加剂, 20mL/min) 分离纯化得到目标化合物11的甲酸盐 (60.8mg, 甲酸盐), 黄色固体, 收

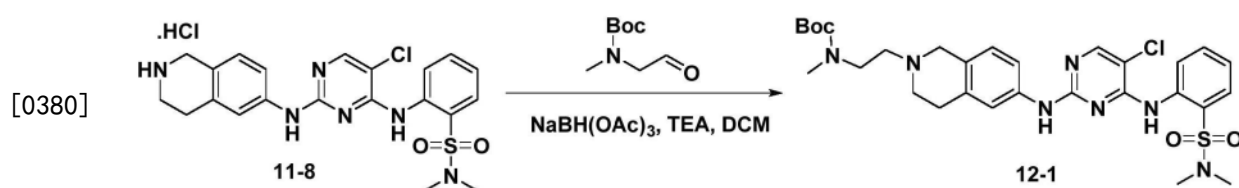
率38.7%。

[0376] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 9.46 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.58-8.49 (m, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.14 (s, 2H), 7.82 (dd, $J=8.0, 1.6\text{Hz}$, 1H), 7.71 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.39-7.31 (m, 3H), 6.93 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 3.66 (s, 2H), 3.55 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.28 (s, 3H), 2.80-2.66 (m, 6H), 2.64 (s, 6H).

[0377] LCMS: 517.2 ($[\text{M}-\text{HCOOH}+\text{H}]^+$).

[0378] 实施例12 2-((5-氯-2-((2-(2-(甲基氨基)乙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物12)的合成

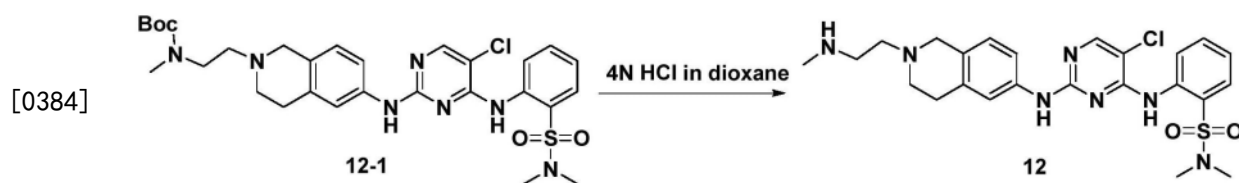
[0379] 步骤1:叔丁基-(2-(6-((5-氯-4-((2-(N,N-二甲基胺磺酰)苯基)胺基)嘧啶-2-基)氨基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)乙基)(甲基)氨基甲酸酯(化合物12-1)的合成



[0381] 将化合物叔丁基-甲基(2-羰基乙基)氨基甲酸酯(113mg, 0.65mmol, 1.5eq)溶于5mL DCM中,室温条件下,向其中加入化合物11-8(200mg, 0.44mmol, 1.0eq)和TEA(45mg, 0.44mmol),反应10分钟。然后加入 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (168mg, 0.79mmol, 1.8eq),反应30分钟。反应完成,向反应液中加入10mL水,用 EtOAc 萃取3次,每次15mL。将有机相合并,用饱和食盐水洗2次,每次10mL,用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到目标化合物12-1(350mg),白色固体,收率87.5%。

[0382] LCMS: 616.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0383] 步骤2:2-((5-氯-2-((2-(2-(甲基氨基)乙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物12)的合成



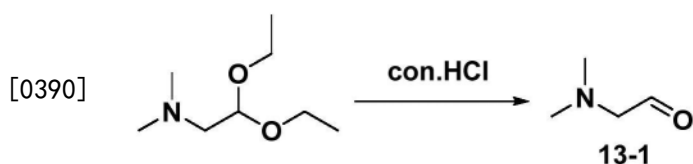
[0385] 向4N HCl的dioxane(6mL)溶液中,加入化合物12-1(350mg, 0.6mmol, 1.0eq),室温反应12小时。反应完成,将反应液过滤得到粗产品,将粗产品用制备液相色谱(乙腈/水, 0.1%的甲酸作为添加剂, 20mL/min)纯化,冻干,得到目标化合物12的甲酸盐(90mg),黄色固体,收率29.1%。

[0386] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 9.45 (s, 1H), 9.28 (brs, 1H), 8.53 (brs, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.83 (dd, $J=8.0, 1.2\text{Hz}$, 1H), 7.72-7.68 (m, 1H), 7.39-7.31 (m, 3H), 6.93 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 3.54 (s, 2H), 2.99-2.96 (m, 2H), 2.78-2.66 (m, 6H), 2.64 (s, 6H), 2.48 (s, 3H).

[0387] LCMS: 516.2 ($[\text{M}-\text{HCOOH}+\text{H}]^+$).

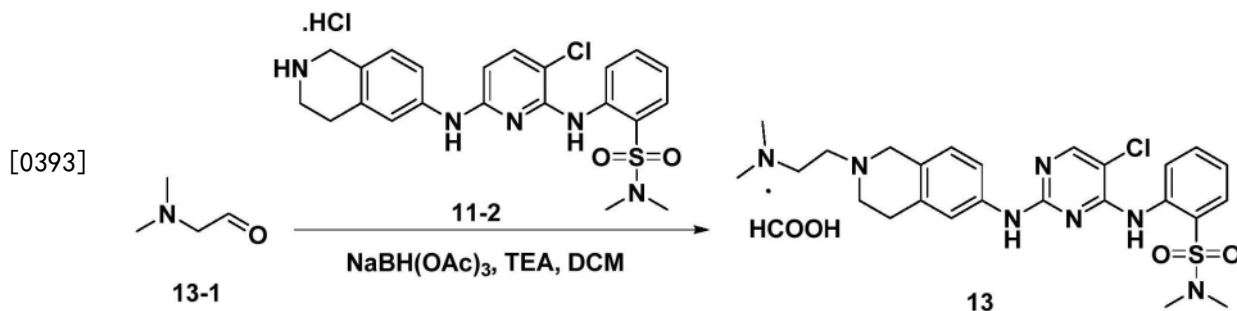
[0388] 实施例13:2-((5-氯-2-((2-(2-(二甲氨基)乙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺甲酸盐(化合物13)的合成

[0389] 步骤1:2-(二甲氨基)乙醛(13-1)的合成



[0391] 将2,2-二乙氧基-N,N-二甲基乙烷-1-胺(1.0g,6.2mol)溶于con.HCl(5mL)中,升温至40℃反应3h。薄层色谱监测反应完全。将反应体系减压浓缩得到粗产品13-1(200mg),直接用于下一步反应。

[0392] 步骤2:2-((5-氯-2-((2-(2-(二甲氨基)乙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯磺酰胺(化合物13)甲酸盐的合成



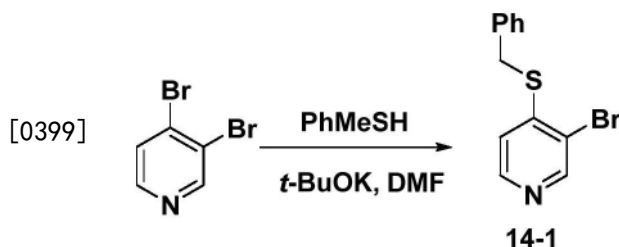
[0394] 将化合物13-1(45.6mg,0.52mmol,1.5eq)溶于5mL DCM中,向其中加入化合物11-2(160mg,0.35mmol,1.0eq)和TEA(105mg,1.05mmol,3.0eq),室温反应10分钟。然后加入NaBH(OAc)₃(133mg,0.7mmol,2.0eq),加完,室温反应30分钟。液质监测反应完全。向反应体系中加入10mL水,用EtOAc萃取3次,每次15mL,将有机相合并,用饱和食盐水洗2次,每次10mL,然后用无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到粗产品,将粗产品用制备液相色谱(乙腈/水,0.1%的甲酸作为添加剂,20mL/min)分离纯化得到目标化合物13(26mg,甲酸盐),黄色固体,收率15.1%。

[0395] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ9.43(s,1H),9.27(s,1H),8.57-8.49(m,1H),8.48-8.12(m,3H),7.82(d,J=7.6Hz,1H),7.70(t,J=7.6Hz,1H),7.39-7.35(m,2H),7.30(d,J=8.4Hz,1H),6.91(d,J=8.4Hz,1H),3.53(s,2H),2.75-2.67(m,4H),2.64(s,6H),2.58-2.52(m,4H),2.22(s,6H)。

[0396] LCMS:530.2([M-HCOOH+H]⁺)。

[0397] 实施例14:3-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-4-磺酰胺(化合物14)的合成

[0398] 步骤1:4-(苯甲硫基)-3-溴吡啶(14-1)的合成

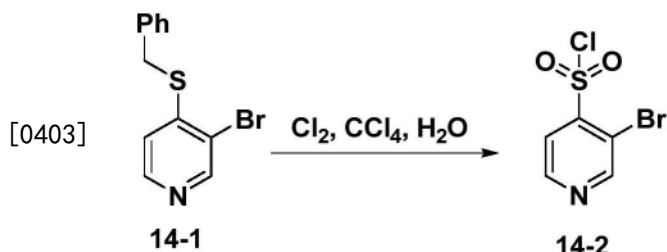


[0400] 将化合物3,4-二溴吡啶(20.0g,84.4mmol,1.0eq)和t-BuOK(15.0g,134mmol,1.6eq)溶于200mL DMF中,0℃向其中滴加PhMeSH(15.0g,121mmol,1.4eq),室温反应3小时。将反应液浓缩,滤渣用300mL水稀释,用DCM萃取3次,将有机相合并,用饱和食盐水洗涤,干

干燥,过滤,浓缩得到粗产品,将粗产品用硅胶柱(PE:EtOAc=5:1)纯化得到目标化合物14-1 (13.5g,48.1mmol)白色固体,收率57.1%。

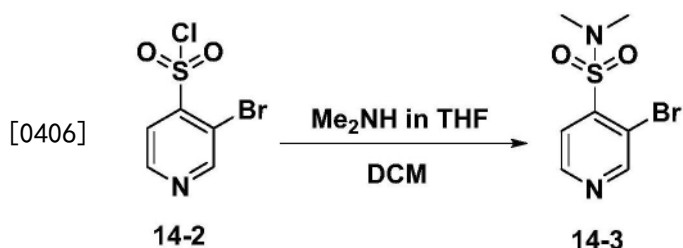
[0401] $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ 8.47 (s, 1H), 8.26 (d, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), 7.31 (dt, $J=10.1, 4.9\text{Hz}$, 5H), 7.00 (d, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), 4.14 (s, 2H)。

[0402] 步骤2:3-溴吡啶-4-磺酰氯(14-2)的合成



[0404] 将化合物14-1(6.00g,21.4mmol)溶于72.0mL CCl_4 和24.0mL H_2O 中,0℃条件下,向其中加入 Cl_2 ,直到反应体系变为黄色。将混合液加入水中,用DCM萃取3次,将有机相合并,用饱和食盐水洗涤,得到目标化合物14-2,直接用于下一步。

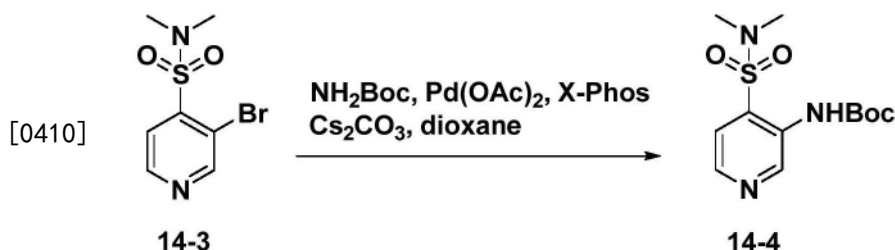
[0405] 步骤3:3-溴-N,N-二甲基吡啶-4-磺酰胺(14-3)的合成



[0407] 向化合物14-2中加入 Me_2NH 的THF溶液,加完,室温反应2小时。将反应液倒入水中,用DCM萃取,将有机相合并,用饱和食盐水洗涤,浓缩得到粗产品。将粗产品用硅胶柱(PE:EtOAc=3:1)纯化得到目标化合物14-3(450mg,1.66mmol),黄色固体,收率3.13%。

[0408] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 8.94 (s, 1H), 8.72 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 7.88 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 2.94 (s, 6H)。

[0409] 步骤4:叔丁基-(4-(N,N-二甲基胺磺酰基)吡啶)-3-基)氨基甲酸酯(14-4)的合成

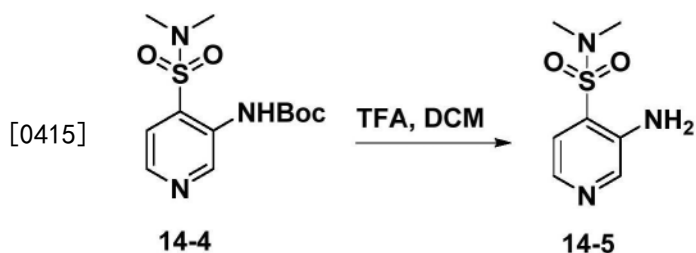


[0411] 将化合物14-3(450mg,1.69mmol)、 NH_2Boc (270mg,2.45mmol)、 Cs_2CO_3 (123mg,2.07mmol)、X-Phos (18.0mg,0.338mmol)和 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (10mg,0.169mmol)溶于3mL dioxane中,氮气保护下,升温至130℃反应1.5小时。将反应液过滤,浓缩得到粗产品,将粗产品用硅胶柱纯化得到目标化合物14-4(300mg,0.997mmol),黄色固体,收率58.9%。

[0412] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 9.60 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.45 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 7.53 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 2.94 (s, 6H), 1.53 (s, 9H)。

[0413] LCMS: 302.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

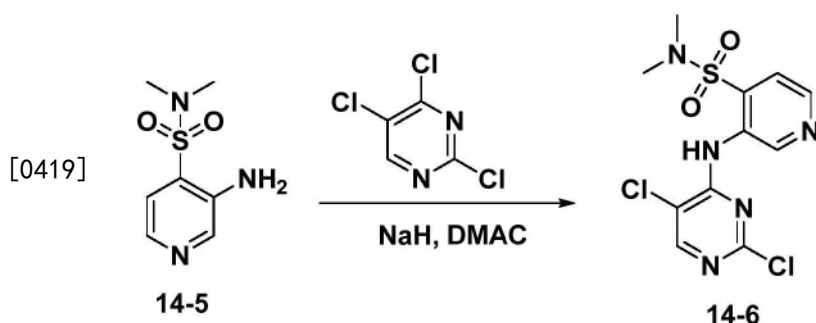
[0414] 步骤5:3-氨基-N,N-二甲基吡啶-4-磺酰胺(14-5)的合成



[0416] 将化合物14-4 (0.3g, 0.997mmol) 溶于2mL干燥的DCM中,向其中加入2.00mL TFA, 室温反应2小时。将反应液倒入水中,用碳酸氢钠调节Ph=8,用DCM萃取3次。将有机相合并,用饱和食盐水洗涤,浓缩得到粗产品14-5 (210mg),黄色固体。

[0417] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 8.25 (s, 1H), 8.03 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 7.33 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 5.19 (s, 2H), 2.80 (s, 6H) .

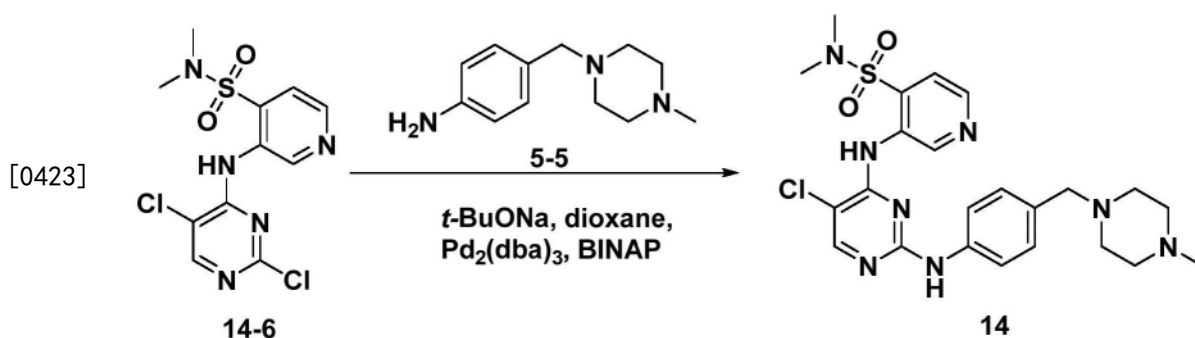
[0418] 步骤6:3-((2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-4-磺酰胺(14-6)的合成



[0420] 将化合物14-5 (210mg, 1.04mmol) 溶于12.0mL DMAC中,25°C条件下,向其中加入NaH (160mg, 3.13mmol), 室温反应2小时。向其中加入2,4,5-三氯嘧啶 (160mg, 0.03mol) 的DMAC溶液 (2mL), 室温反应3小时。将混合液倒入水和甲基叔丁基醚中,25°C反应30分钟。反应液过滤,将滤渣干燥得到目标化合物14-6 (0.30g),黄色固体,收率83.2%。

[0421] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 9.56 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 8.70 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.79 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 2.71 (s, 6H) .

[0422] 步骤7:3-((5-氯-2-((4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基吡啶-4-磺酰胺(化合物14)的合成



[0424] 将化合物14-6 (140mg, 0.403mmol)、化合物5-5 (112mg, 0.630mmol) 和t-BuONa (49.0mg, 0.504mmol) 溶于3.00mL dioxane中,氮气保护下向其中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.0403mmol) 和BINAP (3.60mg, 0.0806mmol),微波反应器中130°C反应1小时。将反应液倒入水中,用DCM萃取,将有机相合并用饱和食盐水洗涤,干燥浓缩得到粗产品,将粗产品用制

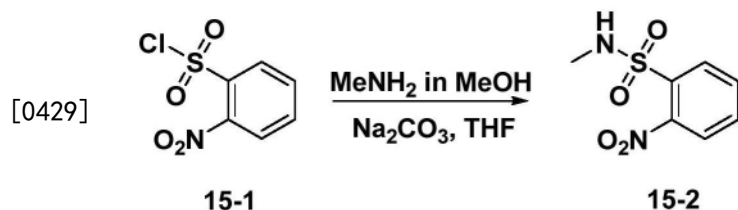
备液相色谱纯化得到目标化合物14(24.5mg),白色固体。

[0425] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 9.77 (s, 1H), 9.60 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 8.62 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.62 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 7.74 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 7.15 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 3.34 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 2.60 (m, 6H), 2.50 (m, 8H), 2.32 (s, 3H).

[0426] LCMS: 517.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

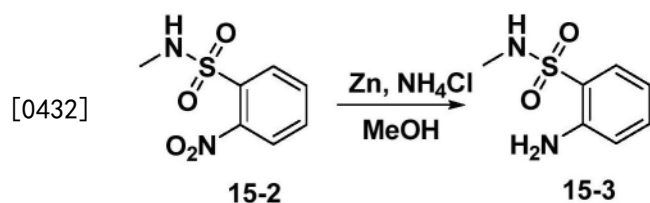
[0427] 实施例15: 2-((5-氯-2-((4-((3-甲基-3,8-二氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N-甲基苯磺酰胺(化合物15)的合成

[0428] 步骤1: 2-硝基-N-甲基苯磺酰胺(15-2)的合成



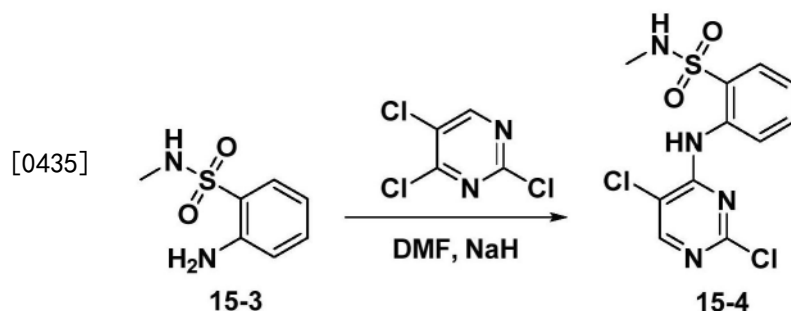
[0430] 将2-硝基苯磺酰氯(15-1, 2.22g, 10.0mmol, 1.0eq)溶于50mL THF中,加入碳酸钠(2.1g, 20.0mmol, 2.0eq), 30%浓度甲胺醇溶液(1.5g, 14.5mmol, 1.45eq), 60°C搅拌反应约2h, 薄层色谱监测显示反应完成, 过滤, 滤液旋干得黄色固体。得到目标化合物15-2(2.16g), 黄色固体, 收率100%。

[0431] 步骤2: 2-氨基-N-甲基苯磺酰胺(15-3)的合成



[0433] 将化合物15-2(2.16g, 10.0mmol)溶于50.0mL MeOH中,向其中加入3.9g Zn粉, 3.2g氯化铵, 60°C反应8小时。滤液旋干, 加适量EA和水, 萃取分液, 饱和食盐水洗, 硫酸钠干燥, 浓缩得到目标化合物15-3(1.62g), 收率87.1%。

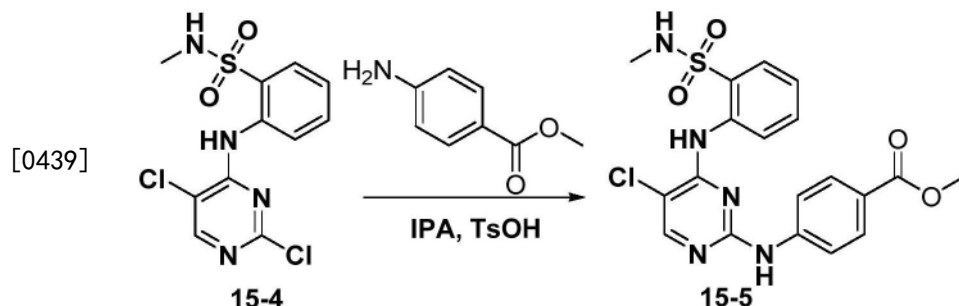
[0434] 步骤3: 2-((2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)-N-甲基苯磺酰胺(15-4)的合成



[0436] 将化合物15-3(1.62g, 8.71mmol, 1.0eq)溶于20mL无水DMF中,于25°C向其中加入NaH(1.5g, 62.5mmol, 7.2eq), 加完, 室温反应4小时后冰水浴降温至0°C; 向2,4,5-三氯嘧啶(3.7g, 20.3mmol, 2.3eq)的DMF溶液(10mL)中加入0.75g NaH, 适当搅拌后加至上述反应液中, 0°C反应0.5小时, 将反应液倒至60mL冰水中, 3M HCl水溶液调节pH至4-6, EA萃取两次, 合并EA并用饱和食盐水洗, 硫酸钠干燥, 柱层析(PE:EA=5:1)得到目标化合物15-4(0.66g), 白色固体, 收率23.0%。

[0437] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) : δ 9.56 (s, 1H) , 8.55 (s, 1H) , 8.22 (dd, $J=8.3, 1.1\text{Hz}$, 1H) , 7.86 (dd, $J=7.9, 1.6\text{Hz}$, 1H) , 7.82-7.70 (m, 2H) , 7.41 (td, $J=7.7, 1.2\text{Hz}$, 1H) , 2.43 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 3H) .

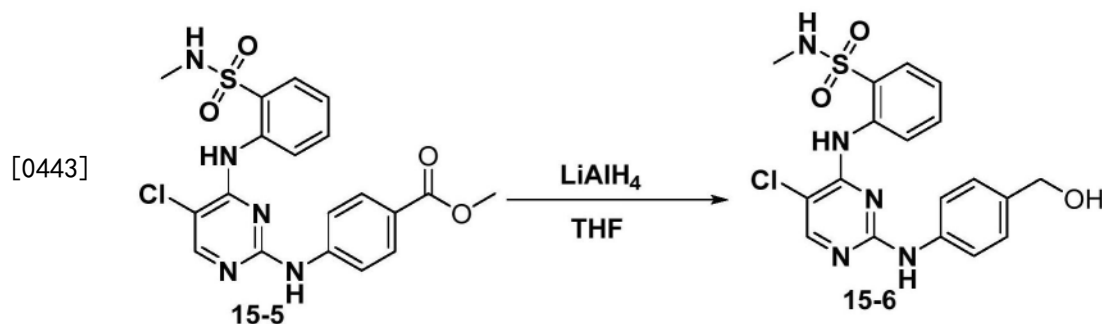
[0438] 步骤4:4-((5-氯-4-((2-(*N*-甲基磺酰基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)氨基)苯甲酸甲酯(15-5)的合成



[0440] 将化合物15-4(0.66g, 2mmol, 1.0eq)溶于240mL异丙醇中,加入对氨基苯甲酸甲酯(0.3g, 2mmol, 1.0eq),对甲苯磺酸(0.52g, 3mmol, 1.5eq),80℃反应48小时后降温至室温,析出白色固体,过滤烘干得0.48g化合物15-5,收率53.6%。

[0441] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) : δ 9.97 (s, 1H) , 9.28 (s, 1H) , 8.45 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H) , 8.37 (s, 1H) , 7.89-7.68 (m, 7H) , 7.39 (td, $J=7.7, 7.3, 1.2\text{Hz}$, 1H) , 3.81 (s, 3H) , 2.44 (s, 3H) .

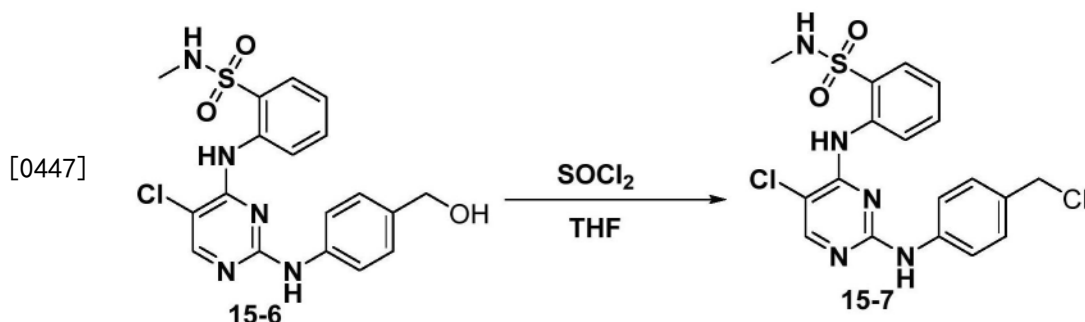
[0442] 步骤5:2-((5-氯-2-((4-(羟甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-*N*-甲基苯磺酰胺(15-6)的合成



[0444] 将化合物15-5(0.48g, 1.07mmol, 1.0eq)溶于60mL THF中,0℃下滴加0.8mL氢化铝锂溶液(2.5mol/L溶于THF, 2mmol, 2.1eq),滴毕,恢复至室温反应3小时,用水淬灭,EA萃取后柱层析得0.15g化合物15-6,收率33.4%。

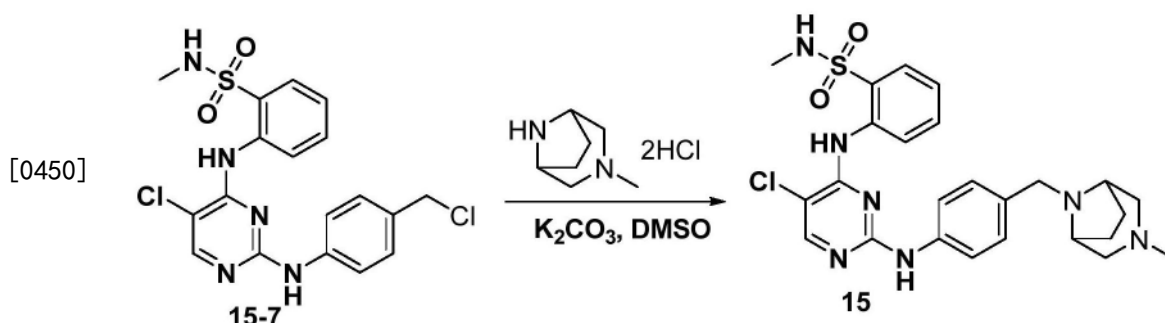
[0445] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) : δ 9.51 (s, 1H) , 9.29 (s, 1H) , 8.54 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H) , 8.28 (s, 1H) , 7.87-7.76 (m, 2H) , 7.67 (ddd, $J=8.6, 7.4, 1.6\text{Hz}$, 1H) , 7.58 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 2H) , 7.33 (ddd, $J=8.1, 7.4, 1.1\text{Hz}$, 1H) , 7.19 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 2H) , 5.08 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 1H) , 4.43 (d, $J=5.1\text{Hz}$, 2H) , 2.44 (d, $J=4.9\text{Hz}$, 3H) .

[0446] 步骤6:2-((5-氯-2-((4-(氯甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-*N*-甲基苯磺酰胺(15-7)的合成



[0448] 将化合物15-6 (0.15g, 0.36mmol, 1.0eq) 溶于6mL THF中, 室温下加入0.15mL氯化亚砷 (2mmol, 5.5eq), 50℃反应4小时, 旋干, 加入适量EA, 饱和氯化铵溶液萃取, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥浓缩得0.16g化合物15-7, 收率100%。

[0449] 步骤7: 2-((5-氯-2-((4-((3-甲基-3,8-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)甲基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N-甲基苯磺酰胺(15)的合成



[0451] 将化合物15-7 (0.16g, 0.36mmol, 1.0eq) 溶于2mL DMSO中, 加入碳酸钾 (109mg, 0.79mmol, 2.2eq), 3-甲基-3,8-二氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐 (73mg, 0.36mmol, 1.0eq), 室温反应8小时, 加入适量饱和氯化铵溶液, EA萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, PE:EA=2:1 (添加千分之五三乙胺) 柱层析得80mg白色固体化合物15, 收率42.1%。

[0452] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 9.47 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.56 (d, J=8.4Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.82 (dd, J=8.0, 1.6Hz, 2H), 7.67-7.59 (m, 1H), 7.59 (s, 2H), 7.31 (t, J=7.6Hz, 1H), 7.23 (d, J=8.2Hz, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.03 (s, 2H), 2.50-2.47 (m, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.16 (s, 1H), 2.13 (d, J=4.2Hz, 4H), 1.88 (dd, J=8.5, 4.1Hz, 2H), 1.71 (t, J=6.2Hz, 2H).

[0453] 实施例16生物学测试评价

[0454] 1、本发明化合物细胞活力检测试验

[0455] 1.1细胞培养方法

[0456] 1.1.1非小细胞肺癌细胞株的培养

[0457] 非小细胞肺癌细胞株NCI-H1975、NCI-H1650、NCI-H1792细胞均用含有10%胎牛血清和1%青链霉素的RPMI-1640培养基培养, 其中NCI-H1975细胞培养时额外添加1%丙酮酸钠。所有细胞均置于含5% CO₂, 37℃的恒温培养箱中进行培养。

[0458] 1.1.2小细胞肺癌细胞株的培养

[0459] 小细胞肺癌细胞株DMS114、NCI-H1688、NCI-H82、NCI-H146、NCI-H446细胞均用含有10%胎牛血清和1%青链霉素的RPMI-1640培养基培养。所有细胞均置于含5% CO₂, 37℃的恒温培养箱中进行培养。

[0460] 1.1.3肺癌胸水原代细胞的培养

[0461] (1) 将胸水倒入灭菌的15或50ml离心管中离心,离心条件:800-1000rpm,离心5min。(2) 用PBS重悬、清洗沉淀2-3次。

[0462] (3) 用完全培养基(含有10%胎牛血清和2%青链霉素的 α -MEM培养基)重悬细胞沉淀,用灭菌细胞筛网去除胸水中的絮状物。

[0463] (4) 用淋巴细胞分离液去除胸水中的红细胞,收集肿瘤细胞和淋巴细胞组分,镜下观察肿瘤细胞数量并接种细胞。

[0464] (5) 24小时后,吸弃上清,加入新鲜培养基继续培养。

[0465] (6) 观察细胞生长状态,根据细胞状态确定是否需要继续换液去除血液细胞。待其长至80%-90%满时,进行细胞保种。

[0466] 1.1.4肺癌组织原代细胞的培养

[0467] (1) 将取自肿瘤患者的组织块从保存液中转移至含抗生素的预冷的HBSS缓冲液中,用预冷的HBSS缓冲液清洗组织块3次;

[0468] (2) 用无菌的手术器械在冰上剪碎组织,以肉眼看不到明显的组织块为准,将组织液收集到15ml离心管内,此过程进行约5-10分钟;

[0469] (3) 向离心管中添加消化酶(胶原酶I,胶原酶IV和中性蛋白酶以1:1:1的比例混合,母液浓度10mg/ml,并用PBS缓冲液或HBSS缓冲液稀释,使用浓度1mg/ml),吹打混匀后放置于37℃恒温培养箱内,持续1-2小时,期间不定时摇晃离心管混匀,促进消化,直到肉眼观察组织块明显减少,消化液浑浊,出现大量絮状物为止;

[0470] (4) 向离心管中添加高糖培养基,终止消化,混匀后离心收集细胞沉淀,用MBM培养基(Advanced DMEM-F12+20ng/ml bFGF+50ng/ml EGF+1% ITS-X+2%B27+10 μ MY-27632+1% PS)重悬,将细胞悬液置于matrigel包被的24孔板内,培养5-7天。待孔板内细胞密度达到80-90%,将细胞传代至6cm细胞培养皿内,待其长至80%-90%满时,进行细胞冻存保种。

[0471] 1.2化合物对细胞活力IC₅₀的检测

[0472] 1.2.1非小细胞肺癌细胞株中IC₅₀的检测

[0473] (1) 培养细胞至对数生长期,待其汇合度达到90%左右时,用0.25%的胰蛋白酶消化细胞,加入完全培养基收集细胞,室温离心后丢弃上清,用新鲜的完全培养基重悬细胞沉淀,计数后室温放置备用。

[0474] (2) 以4000个/孔的密度将细胞接种到96孔板内,体积100 μ l/孔,其中孔板外围的一圈不接种细胞,加入灭菌水以减少培养基蒸发。

[0475] (3) 细胞过夜培养后,吸弃培养基,并加入含有不同浓度化合物的新鲜培养基200 μ l/孔。化合物的稀释方法如下:先配制最高浓度10 μ M的化合物,依次进行3倍稀释,最终设置的化合物浓度为:10 μ M、3.33 μ M、1.11 μ M、0.37 μ M、0.12 μ M、0.041 μ M、0.014 μ M、0.0046 μ M、0.0015 μ M、0 μ M。其中0 μ M组(阴性对照)中添加与10 μ M组等比例的化合物溶剂DMSO。DMSO的浓度不超过0.2%。同时设置不加入细胞、仅加入等体积培养基的空白对照组。每组设置6个重复孔。放置在培养箱中继续培养。

[0476] (4) 72小时后,每孔中加入20 μ l的经0.22 μ m滤膜过滤除菌的MTT溶液(5mg/ml),37℃培养箱中继续培养4小时。

[0477] (5) 小心的吸掉培养基,加入100 μ l的DMSO溶解与MTT反应形成的沉淀,震荡混匀,

使蓝紫色结晶充分混匀,用酶标仪读取492nm处的光吸光值。

[0478] (6) 根据各组别的光吸收值,计算化合物对不同细胞的 IC_{50} 。具体而言,首先将不同浓度化合物处理下的光吸收值减去空白孔的光吸收值,再以 $0\mu M$ 组的光吸收值为100%,计算不同浓度化合物处理后细胞存活率。即存活率 = $(OD_{\text{实验孔}} - OD_{\text{空白对照}}) / (OD_{\text{阴性对照}} - OD_{\text{空白对照}}) \times 100\%$ 。根据存活率和化合物浓度计算 IC_{50} 值。

[0479] 1.2.2 肺癌胸水原代细胞中 IC_{50} 的检测

[0480] (1) 取5代以内的肺癌胸水原代细胞培养至对数生长期,待其汇合度达到90%左右时,用0.25%的胰蛋白酶消化细胞,加入完全培养基收集细胞,室温离心后丢弃上清,用新鲜的完全培养基重悬细胞沉淀,计数后室温放置备用。以2000个/孔的密度将细胞接种到384孔板内,体积 $40\mu l$ /孔,其中孔板外围的一圈不接种细胞,加入灭菌水以减少培养基蒸发。

[0481] (2) 细胞过夜培养后,吸弃培养基,并加入含有不同浓度化合物的新鲜培养基 $200\mu l$ /孔。化合物的稀释方法如下:先配制最高浓度 $10\mu M$ 的化合物,依次进行3倍稀释,最终设置的化合物浓度为: $10\mu M$ 、 $3.33\mu M$ 、 $1.11\mu M$ 、 $0.37\mu M$ 、 $0.12\mu M$ 、 $0.041\mu M$ 、 $0.014\mu M$ 、 $0.0046\mu M$ 、 $0.0015\mu M$ 、 $0\mu M$ 。其中 $0\mu M$ 组(阴性对照)中添加与 $10\mu M$ 组等比例的化合物溶剂DMSO。DMSO的浓度不超过0.2%。同时设置不加入细胞、仅加入等体积培养基的空白对照组。每组设置5个重复孔。放置在培养箱中继续培养。

[0482] (3) 72小时后,每孔中加入 $8\mu l$ 的用 $10mM$ PBS进行两倍稀释的CCK-8溶液,摇匀后放置在 $37^{\circ}C$ 培养箱中继续培养2小时。

[0483] (4) 用酶标仪读取450nm处的光吸光值,并根据吸光值计算 IC_{50} 。计算方法同上。

[0484] 2、化合物对耐药的NSCLC细胞株的 IC_{50} 检测

[0485] 2.1 10种化合物对吉非替尼耐药的NCI-H1975细胞的细胞活力 IC_{50} 检测

[0486] (1) NCI-H1975细胞耐药性的检测

[0487] NCI-H1975细胞被报道含有EGFR^{T790M}和EGFR^{L858R}两种突变类型,是EGFR一代、二代抑制剂的耐药株、三代抑制剂奥希替尼的敏感株。选用EGFR一代抑制剂吉非替尼和三代抑制剂奥希替尼处理NCI-H1975细胞,测定其 IC_{50} 值。结果见表1。

[0488] (2) 10种化合物对NCI-H1975细胞活力 IC_{50} 的检测

[0489] 检测10种化合物对NCI-H1975细胞活力的 IC_{50} ,结果见表1。

[0490] 2.2 10种化合物对吉非替尼、奥希替尼双耐药的NCI-H1650细胞的细胞活力 IC_{50} 检测

[0491] (1) NCI-H1650细胞耐药性的检测

[0492] NCI-H1650细胞被报道抑癌基因PTEN上存在突变,对EGFR一、二、三代抑制剂均表现为耐药。选用EGFR一代抑制剂吉非替尼和三代抑制剂奥希替尼处理NCI-H1650细胞,测定其 IC_{50} 值。结果见表1。

[0493] (2) 10种化合物对NCI-H1650细胞活力 IC_{50} 的检测

[0494] 检测10种化合物对NCI-H1650细胞活力的 IC_{50} ,结果见表1。

[0495] 表1本发明化合物对NCI-H1975和NCI-H1650细胞活力 IC_{50} 的检测结果

化合物	IC ₅₀ (nM)	
	NCI-H1975	NCI-H1650
吉非替尼	>10000	76692
奥希替尼	34.07	2749
2	86.37	466.3
3	28.33	37.76
4	87.67	163.4
6	47.73	250.0
8	55.17	83.63
9	25.28	170.0
10	21.48	135.7
11	29.15	32.55
12	18.56	75.19
13	19.77	67.31

[0496] 上表结果显示, NCI-H1975细胞中, 吉非替尼的IC₅₀大于10 μ M, 奥希替尼的IC₅₀为34.0nM, 证实NCI-H1975为吉非替尼耐药、奥希替尼敏感株。NCI-H1650细胞中, 吉非替尼的IC₅₀大于10 μ M, 奥希替尼的IC₅₀为2749nM, 证实NCI-H1650为吉非替尼、奥希替尼双耐药细胞株。而本发明提供的式一所示的嘧啶-2,4-二胺衍生物对EGFR靶向药耐药的NCI-H1975和NCI-H1650细胞的IC₅₀均小于100nM, 具有非常好的抑制肿瘤细胞生长的作用。

[0498] 2.3化合物8对KRAS靶向药AMG510耐药的NSCLC细胞的细胞活力IC₅₀检测

[0499] (1) NCI-H1792细胞对KRAS G12C靶向药的敏感度的检测

[0500] AMG510是靶向KRAS G12C的新型小分子药物。NCI-H1792细胞带有KRAS G12C突变, 但是NCI-H1792细胞对AMG510耐药。用MTT法检测了NCI-H1792细胞中, AMG510作用的IC₅₀, 结果见表2。

[0501] (2) 化合物8对NCI-H1792细胞活力IC₅₀的检测

[0502] 检测化合物8对NCI-H1792细胞活力IC₅₀, 结果见表2。

[0503] 表2化合物对NCI-H1792细胞活力IC₅₀的检测结果

化合物	IC ₅₀ (nM)
AMG510	>10000
8	40.61

[0505] 检测结果显示, NCI-H1792细胞株对AMG510耐药, 而对化合物8敏感, 且化合物8的IC₅₀仅为40.61nM。

[0506] 3、化合物8和15对小细胞肺癌细胞系的细胞活力IC₅₀

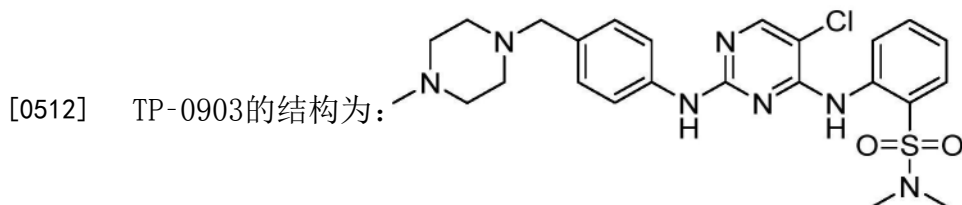
[0507] 小细胞肺癌是异质性很高的一种恶性肿瘤, 临床治疗以传统化疗(主要是铂类药物和依托泊苷)为主。为了研究本专利的化合物在小细胞肺癌中的抗肿瘤活性, 我们用CCK-8法考察了化合物8对5种小细胞肺癌细胞系细胞活力的IC₅₀, 结果见表3:

[0508] 表3化合物8和15对小细胞肺癌细胞系细胞活力IC₅₀的检测结果

[0509]	SCLC 细胞中药物 (IC ₅₀ nM)	8	15	TP-0903	顺铂	依托泊苷
		DMS114	6.03	8.53	95.08	2147
	H146	9.92	16.16	1536	3889	434.5
	H82	5.15	ND	35.03	1763	545.4
	H1688	5.01	9.16	534.0	14110	739.1
	H446	7.58	6.54	276.1	559	1062

[0510] ND表示未检测。

[0511] 检测结果显示,化合物8和15在小细胞肺癌细胞系中表现出了较高的体外抗肿瘤活性,其IC₅₀低至数十nM,而化疗药物顺铂和依托泊苷的IC₅₀显著高于化合物8。同时,与化合物8和15结构相似的TP-0903对5种小细胞肺癌细胞系细胞活力的IC₅₀为数十至数百nM,远高于化合物8和15。



[0513] 4、化合物8对肺癌胸水和组织原代细胞的IC₅₀检测

[0514] 4.1化合物8对小细胞肺癌患者的胸水和组织原代细胞的细胞活力IC₅₀

[0515] (1) 样本信息:PE039、PE052、PE062均为小细胞肺癌患者的胸水原代细胞样本,LT015为小细胞肺癌患者的支气管镜活检原代细胞样本。

[0516] (2) CCK-8检测不同药物(化合物)的IC₅₀,结果见表4。

[0517] 表4化合物8对小细胞肺癌胸水和组织原代细胞的细胞活力IC₅₀

[0518]	化合物	IC ₅₀ (nM)			
		PE039	PE052	PE062	LT015
	8	51.53	59.9	2.7	6.11
	TP-0903	133.9	210.3	5.1	94.28
	顺铂	11130	885	3211	5464
	依托泊苷	ND	ND	770.1	48181
	安罗替尼	ND	9436	1503	2066
	克唑替尼	ND	ND	900.2	ND
	奥西替尼	3991	568.2	2738	ND
	AMG510	ND	>10000	>10000	ND

[0519] ND表示未检测。

[0520] 检测结果显示,化合物8在小细胞肺癌患者胸水原代细胞中表现出较高的抗肿瘤活性,IC₅₀为2.7-59.9nM,而化疗药物顺铂、依托泊昔的IC₅₀均在数百nM以上,化合物8的结构类似物TP-0903在原代细胞PE039、PE052、LT015中IC₅₀也高于化合物8。

[0521] 4.2化合物8对EGFR-TKI耐药的肺腺癌胸水原代细胞的细胞活力IC₅₀

[0522] (1) PE043样本信息:病理结果为肺腺癌;患者基因检测结果显示EGFR 19exon突变、EGFR^{T790M}突变;临床治疗过程显示为EGFR-TKI吉非替尼、奥希替尼耐药,化疗药卡铂、培美曲塞耐药。

[0523] (2) CCK-8检测不同药物(化合物)的IC₅₀,结果见表5。

[0524] 表5化合物8对EGFR-TKI耐药的肺腺癌胸水原代细胞的细胞活力IC₅₀检测结果

化合物	IC ₅₀ (nM)
	PE043
吉非替尼	11854
奥希替尼	3373
顺铂	30970
吉西他滨	>834000
8	34.64

[0526] 检测结果显示,肺腺癌患者的胸水原代细胞PE043对吉非替尼、奥希替尼、顺铂和吉西他滨均表现出耐药,而对化合物8敏感,且化合物8的IC₅₀仅为34.64nM。

[0527] 从以上结果可以得出,本发明提供的化合物对晚期耐药的NSCLC细胞株和小细胞肺癌细胞具有非常好的抑制作用。由此可以得出,本发明提供的化合物可用于治疗晚期肿瘤,特别是晚期肺癌,尤其是小细胞肺癌和靶向药治疗抵抗的非小细胞肺癌。

[0528] 5、化合物8在小细胞肺癌细胞系H446细胞荷瘤鼠中的体内抗肿瘤效果检测

[0529] 5.1H446细胞CDX模型的建立

[0530] 取对数生长期H446细胞混悬于PBS溶液中,然后接种于裸小鼠右前肢皮下,细胞密度约为 2×10^8 个/mL,每只接种0.1mL,共80只。待皮下肿瘤长至50-100mm³时,对40只荷瘤鼠随机分组编号,并开始给药。各组数量如下:vehicle空白对照组8只;化合物8实验组12只;化疗药物对照组8只;TP-0903对照组12只。

[0531] 5.2给药方法及配药方案

[0532] (1) vehicle空白对照组:5% DMSO+20%PEG 300+75%saline(生理盐水);

[0533] (2) 化合物8实验组(15mg/kg):15mg化合物8+5% DMSO(0.375mL)+20%PEG300(1.5mL)+75%saline(5.625mL)配置成总体积为7.5mL的药液,小鼠给药容量为7.5mL/kg,腹腔注射给药,每日一次,连续给药13天,停药7天。

[0534] (3) 化疗药物对照组:cisplatin 2.5mg/kg,etoposide 4mg/kg,配置方法同上,腹腔注射给药,7天为一周期,第1天cisplatin 2.5mg/kg+第1、2、3天etoposide 4mg/kg,剩余4天不给药。重复两个周期,最后6天不给药。

[0535] (4) TP-0903对照组(15mg/kg):15mg/kg TP-0903,配置方法同上,小鼠给药容量为7.5mL/kg,腹腔注射,每日一次,连续给药13天,停药7天。

[0536] 5.3实验过程:

[0537] 小鼠开始给药后,每日观察小鼠状态,监控小鼠体重变化及肿瘤生长情况,绘制小鼠体重变化曲线及肿瘤体积生长曲线。20天后将荷瘤鼠全部处死。

[0538] 5.4死亡情况

[0539] (1) vehicle空白对照组:8只动物全部存活,无死亡;

[0540] (2) 化合物8实验组:12只动物存活11只,第14天死亡1只;

[0541] (3) 化疗药物对照组:8只动物存活7只,第15天死亡1只;

[0542] (4) TP-0903对照组:12只动物存活11只,第7天死亡1只;

[0543] 5.5肿瘤大小变化

[0544] 如图1所示,与vehicle空白对照(CONTROL)组相比,TP-0903对照组对肿瘤体积增长无明显抑制作用,化合物8实验组及化疗药物对照组均可明显地抑制肿瘤体积的增长,并且化合物8对肿瘤体积增长的抑制作用明显地强于化疗药物。

[0545] 5.6裸鼠体重变化

[0546] 如图2所示,vehicle空白对照(CONTROL)组和TP-0903对照组裸鼠体重无明显下降,化合物8实验组及化疗药物对照组裸鼠在给药期间体重有轻微下降,但停药后体重迅速恢复,说明化合物8的毒性不强,临床可以接受。

[0547] 6、化合物8对多种癌细胞系的细胞活力 IC_{50} 检测

[0548] 6.1实验方法

[0549] 按常规培养方法培养癌细胞系至对数生长期,以2000个/孔的密度将细胞接种到384孔板内,体积40 μ l/孔。加入化合物浓度为:5 μ M、1.67 μ M、0.56 μ M、0.19 μ M、0.062 μ M、0.021 μ M、0.0069 μ M、0.0023 μ M、0.00076 μ M、0 μ M。72小时后使用CellTiter-GloTM检测试剂盒检测细胞活力。

[0550] 6.2实验结果

[0551] IC_{50} 检测结果见表6。

[0552] 表6化合物8对其他癌细胞系的细胞活力 IC_{50} 检测结果

化合物 8 IC ₅₀ 值 (nM)		
	HCT116 (结肠癌)	9.0
	SW620 (结肠癌)	101.3
	HT29 (结肠癌)	190.2
	Cal-62 (甲状腺癌)	21.9
	ASH-3 (甲状腺癌)	44.0
	MDA-MB-231 (乳腺癌)	49.9
[0553]	MCF-7 (乳腺癌)	52.8
	Hep3B (肝癌)	184.7
	Hela (宫颈癌)	122.8
	RT-4 (膀胱癌)	54.0
	OV-90 (卵巢癌)	103.4
	LN-18 (神经胶质瘤)	7.8
	MiaPaca-2 (胰腺癌)	13.2
	KYSE-70 (食管癌)	122.1
	A375 (黑色素瘤)	23.3
[0554]	PC-3 (前列腺癌)	>3000
	AGS (胃癌)	36.2

[0555] 检测结果显示,化合物8对甲状腺癌、乳腺癌、膀胱癌、神经胶质瘤、胰腺癌、黑色素瘤、胃癌的IC₅₀均小于100nM,因此在这些肿瘤中有比较好的抗肿瘤潜能;对结肠癌、肝癌、宫颈癌、卵巢癌、食管癌的IC₅₀小于200nM,因此对这些肿瘤可能也有一点的抗肿瘤潜能。

[0556] 在本说明书的描述中,参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中,对上述术语的示意性表述不必针对的是相同的实施例或示例。而且,描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。此外,在不相互矛盾的情况下,本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例或示例以及不同实施例或示例的特征进行结合和组合。

[0557] 尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例,可以理解的是,上述实施例是示例性的,不能理解为对本发明的限制,本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变形。

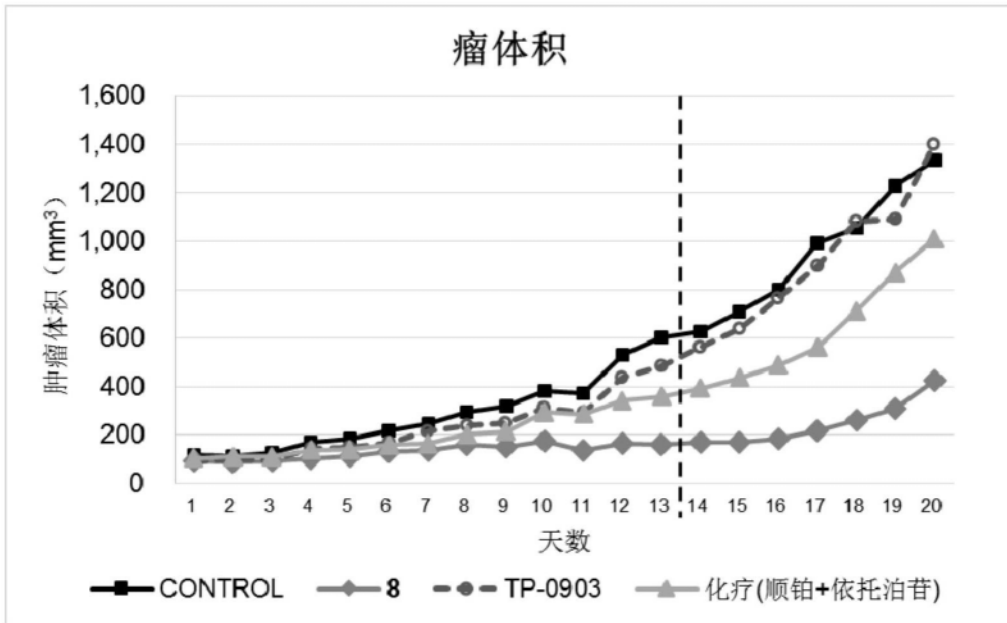


图1

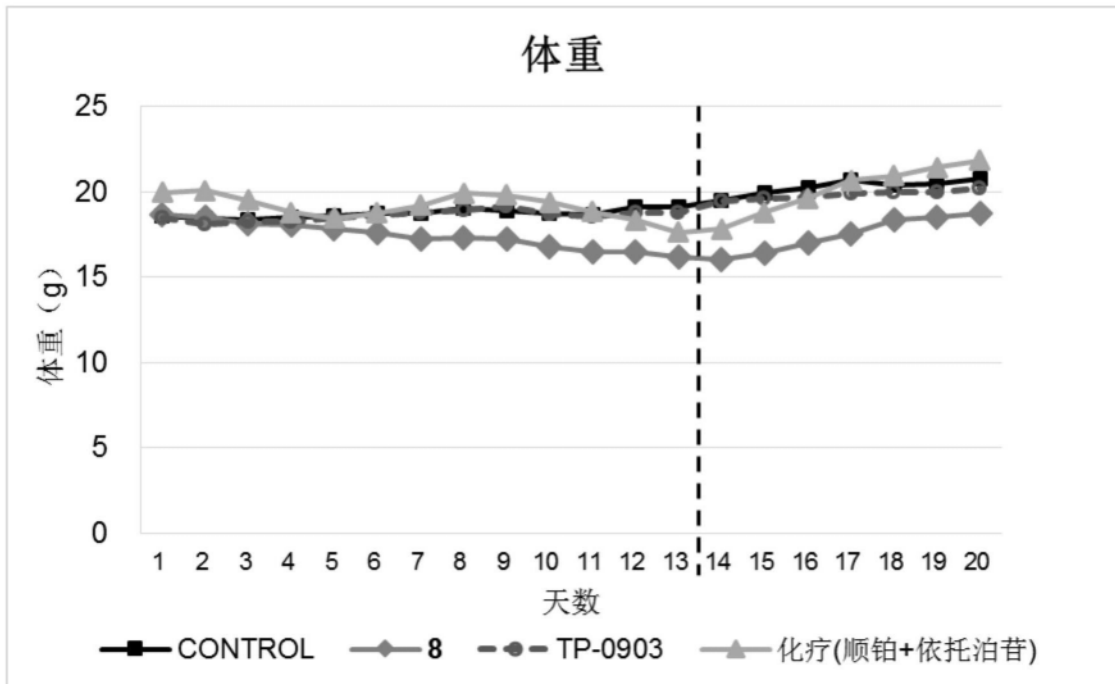


图2