



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106946896 B

(45)授权公告日 2019.05.21

(21)申请号 201710204740.0

(22)申请日 2017.03.30

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106946896 A

(43)申请公布日 2017.07.14

(73)专利权人 成都知普莱生物医药科技有限公司

地址 610000 四川省成都市高新区科园南路88号天府生命科技园C1栋(孵化楼)813室

(72)发明人 王康敏 赵刚 刘继峰 蒲林 陈伟

(74)专利代理机构 成都高远知识产权代理事务所(普通合伙) 51222

代理人 李高峡 左翔

(51)Int.Cl.

C07D 491/048(2006.01)

A61K 31/519(2006.01)

A61K 31/5377(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

(56)对比文件

WO 03022852 A2,2003.03.20,

CN 103405429 A,2013.11.27,

WO 2006004658 A2,2006.01.12,

CN 102264745 A,2011.11.30,

CN 104854107 A,2015.08.19,

Neha Kansal,等.A Three Dimensional Pharmacophore Modeling for KDR and Tie-2 Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors and Virtual Screening for New Multikinase Inhibitors.《QSAR & Combinatorial Science》.2009,第28卷(第10期),第1130-1147页.

Mohane Selvaraj Coumar,等.Fast-Forwarding Hit to Lead: Aurora and Epidermal Growth Factor Receptor Kinase Inhibitor Lead Identification.《J. Med. Chem.》.2010,第53卷第4980-4988页.

Yasushi Miyazaki,等.Orally active 4-amino-5-diaryllurea-furo[2,3-d]pyrimidine derivatives as anti-angiogenic agent inhibiting VEGFR2 and Tie-2.《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》.2006,第17卷第1773-1778页.

审查员 张倩

权利要求书2页 说明书33页 附图1页

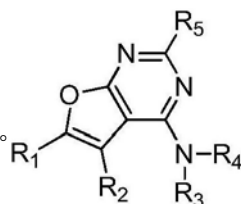
(54)发明名称

呋喃并[2,3-d]嘧啶-4-胺衍生物

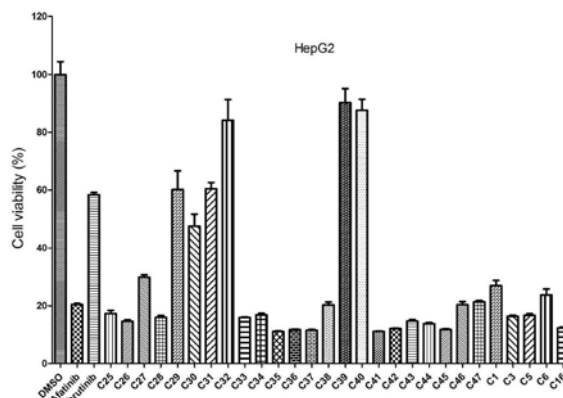
(57)摘要

本发明公开了一种式(I)所示的化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐、或其溶剂合物。本发明还提供了前述化合物在制备抗肿瘤药物、血管生成抑制剂、EGFR激酶抑制剂或AUR

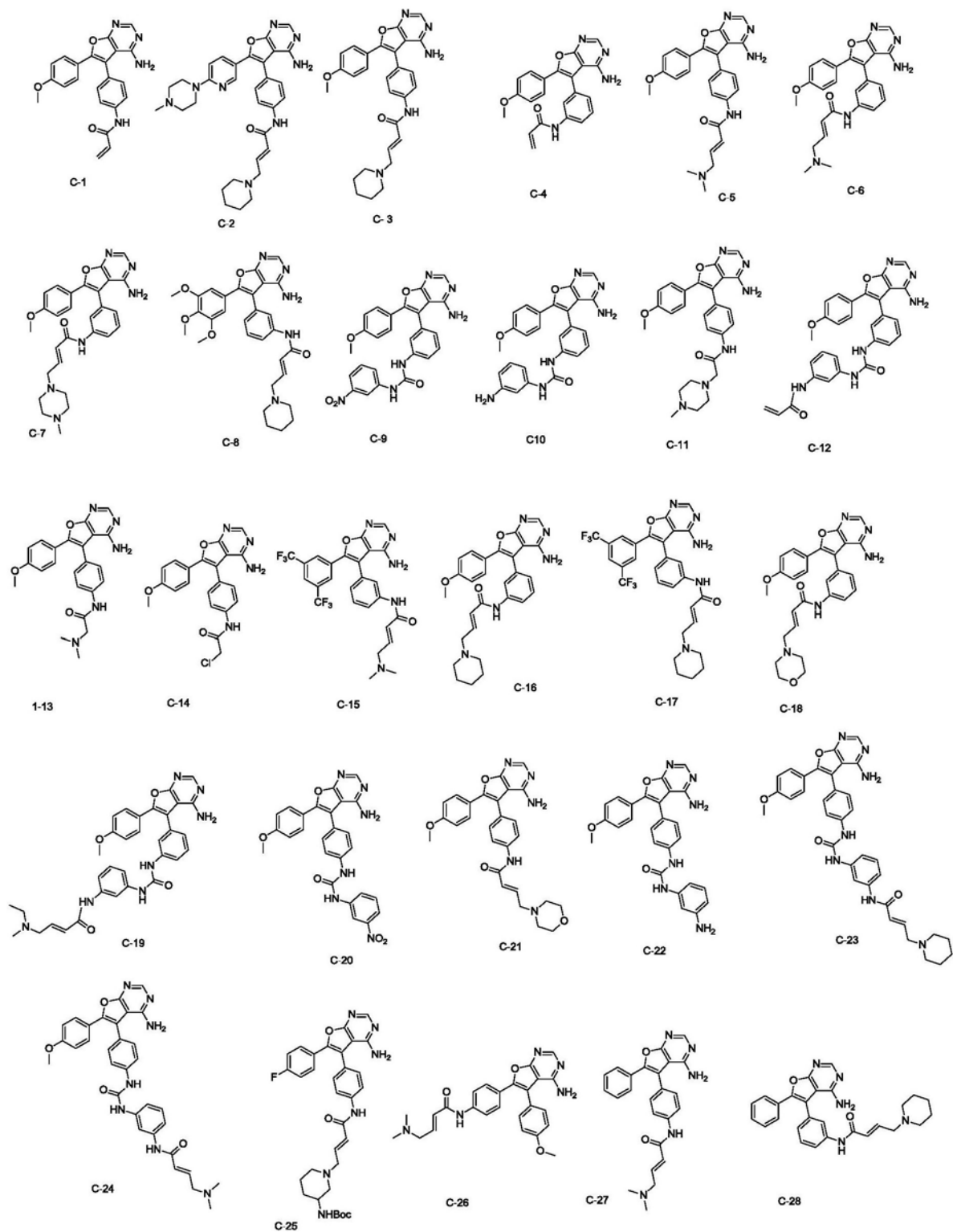
A激酶抑制剂中的用途。

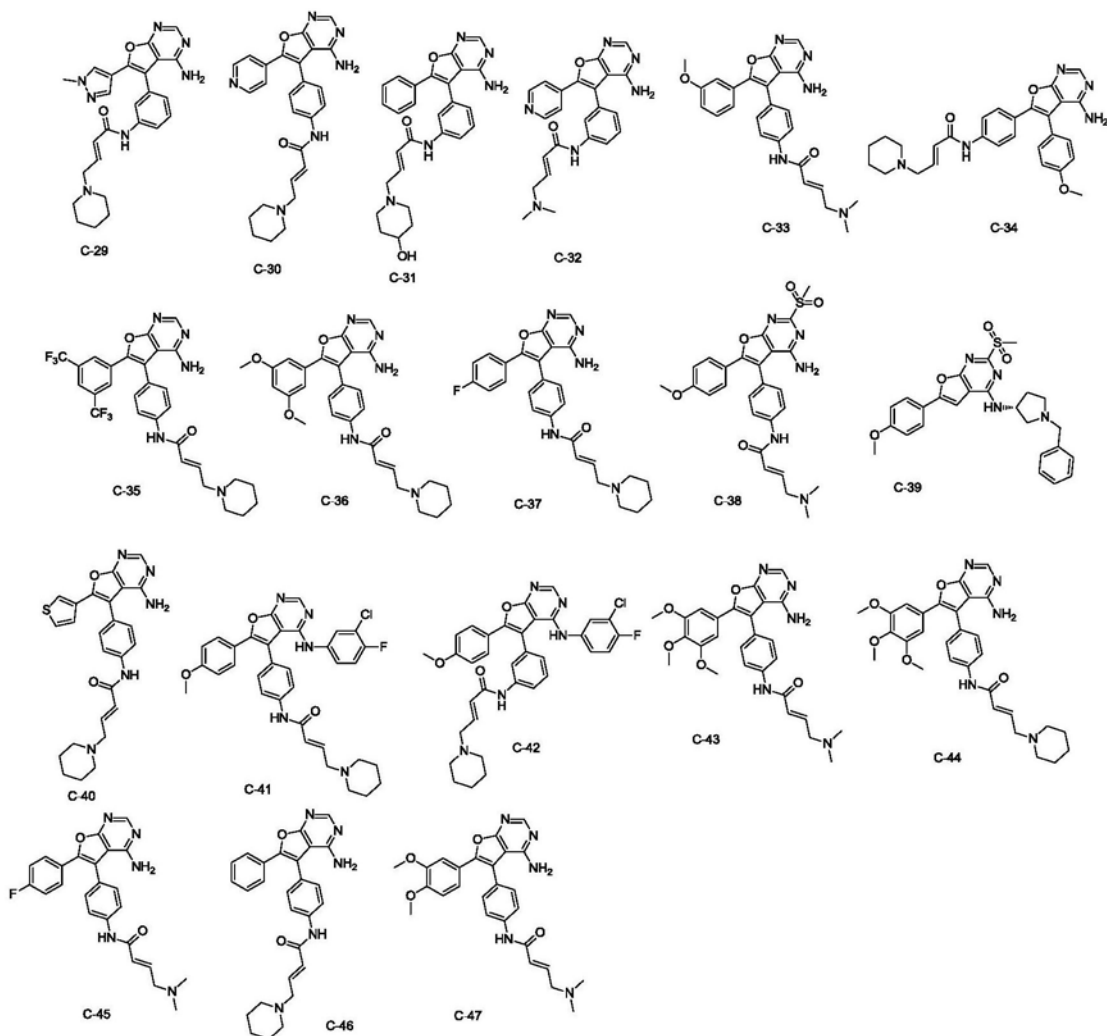


(I)



1. 下述化合物或其药学上可接受的盐：





2. 权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备抗肿瘤药物、血管生成抑制剂、EGFR激酶抑制剂或AUR A激酶抑制剂中的用途。

3. 根据权利要求2的用途,其特征在于:所述肿瘤为肝癌、肺癌、神经胶质细胞瘤、星形胶质母细胞瘤、宫颈癌、结肠癌或乳腺癌。

呋喃并[2,3-d]嘧啶-4-胺衍生物

技术领域

[0001] 本发明涉及呋喃并[2,3-d]嘧啶-4-胺衍生物。

背景技术

[0002] 伴随着人们生活环境的日益恶化,精神压力的不断提高,全球肿瘤患者逐年增多,但是传统常用的治疗肿瘤的化学药物选择性差、毒副作用强且耐药问题比较严重,远远不能满足治疗要求。因此,研发高效、低毒的抗肿瘤新药在当前药物研发领域中十分重要。

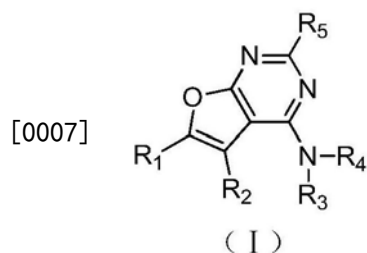
[0003] 近年来,随着分子生物学技术的发展和发病机制从细胞、分子水平的进一步认识,以肿瘤发生发展信号通路中的关键酶为靶点,发现高效、低毒的抗癌药物已成为重要的研究方向。肿瘤的分子靶向治疗不同于传统的肿瘤治疗方法,它是建立在肿瘤分子生物学研究的基础上,对肿瘤生长的关键通路采用小分子化合物阻断其关键酶,从而达到阻断肿瘤细胞生长的作用。分子靶向治疗具有较好的选择性,减少对正常组织的损伤,而这正是传统化学药物治疗难以实现的。

[0004] 在众多的抗肿瘤药物靶点中,表皮生长因子受体(EGFR),也就是一个蛋白酪氨酸激酶(RTK)受体,是调节细胞生长,增殖,存活及迁移的信号通路的重要因子。癌症临床研究表明,这些受体及其配体与很多肿瘤都有重要联系,很多癌症出现了相关生长因子的过量表达,导致过量的酪氨酸磷酸化信号传入细胞。在肿瘤组织中nrPTKs常被激活,再激活下游的信号传导途径,促进细胞增殖、抵抗细胞凋亡,促使肿瘤发生和发展[Summy, J.M.; Gallick, G.E. Clin. Cancer Rev. 2006, 12, 1398.].最普遍的激活突变表现在L858R,外显子21的单点替换和外显子19的删除(delE746-A750)。第一代可逆的表皮生长因子受体抑制剂吉非替尼和埃罗替尼。对身体里有这些特定的激活突变的病人表现出了显著的临床反应(50-80%)。然而,对于这些药物产生继发性耐药突变的病人会在几个月内遭受癌症的复发。第二代表皮生长因子受体抑制剂包括来那替尼,达克替尼,阿法替尼这些药物的结构中都含有亲电的基团Michael-受体。其中以阿法替尼为药物代表为例,烯丙酰胺结构对阿法替尼的抗肿瘤活性起着至关重要的作用,它作为迈克尔受体与EGFR上半胱氨酸残基(Cys797)的催化部位(亲核的巯基)发生迈克尔加成反应,使激酶失活,不可逆地抑制酪氨酸激酶的活性,因而具有良好的耐受性。研究者们通过大量的光谱分析进一步证明了这些共价键的存在,并且发现了阿法替尼通过与HER2的Cys805以及HER4的Cys803作用进而强力抑制这些酶。在对野生型EGFR体外测试显示,阿法替尼在对野生型EGFR与L858R/T790M双突变型的抑制作用与吉非替尼、埃罗替尼以及拉帕替尼相比有着更好的效果。此外,阿法替尼对HER4的抑制作用高于拉帕替尼30倍,高于吉非替尼300倍,高于埃罗替尼500倍。

[0005] 尽管阿法替尼在疗效上优于吉非替尼与埃罗替尼等,但其不良反应与之相比也有所提高。阿法替尼的不良反应较多,其中腹泻、皮疹、口腔炎症、甲沟炎、食欲下降、鼻出血、瘙痒、皮肤干燥十分常见,脱水、味觉改变、膀胱炎、唇炎、发热、鼻塞、低血钾、结膜炎、转氨酶升高、手足综合征、肌肉痉挛与肾损伤常见,角膜炎与肺炎偶见。

发明内容

[0006] 为解决上述问题,本发明提供了式(I)所示的化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐、或其溶剂合物:



[0008] 其中,

[0009] R_1 选自A类基团, R_2 选自B类基团;或者, R_1 选自B类基团, R_2 选自A类基团;

[0010] 所述A类基团选自苯基或杂芳基,其中所述苯基或杂芳基分别独立地任选进一步被卤素、 C_1 - C_6 的烷基、 C_1 - C_6 的烷氧基、 C_1 - C_6 的卤代烷基所取代;

[0011] 所述B类基团选自 $-(X)_m-(Y)_n-Z$;

[0012] 其中m为0或1,n为0或1,且m和n不同时为0;

[0013] X表示 或 X的苯基端与嘧啶并呋喃环的呋喃环

相连;

[0014] Y表示 当m为0时,Y的苯基端与嘧啶并呋喃环的呋喃环相连;

当m不为0时,Y的苯基端与X相连;

[0015] Z选自氢、卤素、芳基或 $-N(R_a)(R_b)$;

[0016] R_a 和 R_b 分别独立地选自 C_1 - C_6 的烷基;或者, R_a 和 R_b 共同与它们相连接的氮原子一起形成饱和杂环基,所述饱和杂环基任选进一步被羟基或 C_1 - C_6 的烷基所取代;

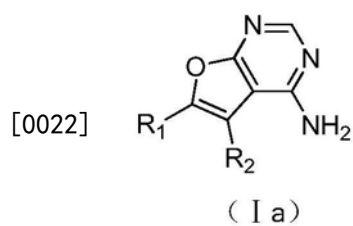
[0017] R_3 、 R_4 分别独立地选自氢、苯基或 $-C(O)R_c$,其中所述苯基任选进一步被一个或多个卤素所取代, R_c 选自 C_1 - C_6 的烷基;

[0018] R_5 选自氢或 $-SO_2-R_d$,其中 R_d 选自 C_1 - C_6 的烷基。

[0019] 进一步地, R_3 和 R_4 同时为氢。

[0020] 进一步地, R_5 为氢。

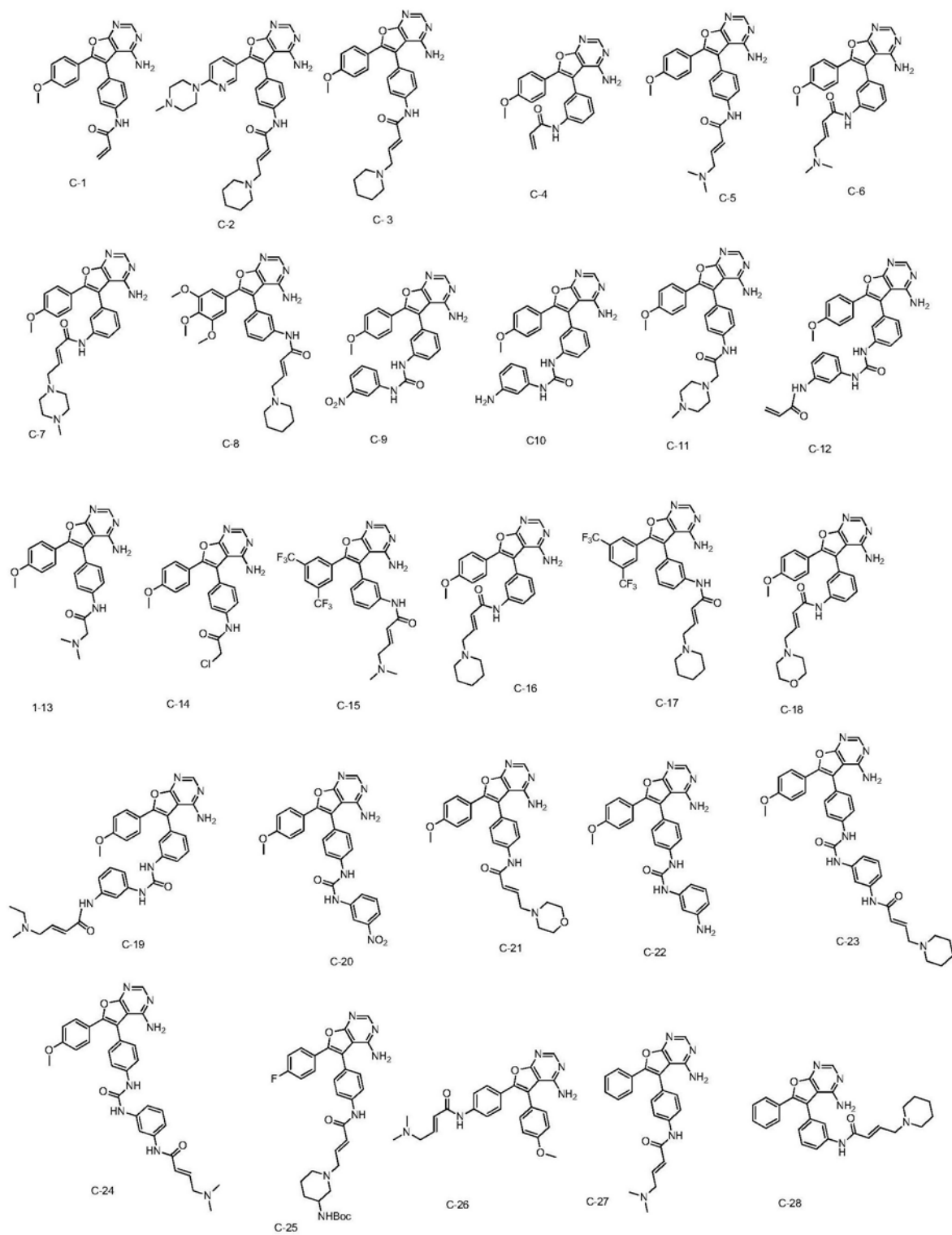
[0021] 进一步地,所述化合物如下式(Ia)所示:



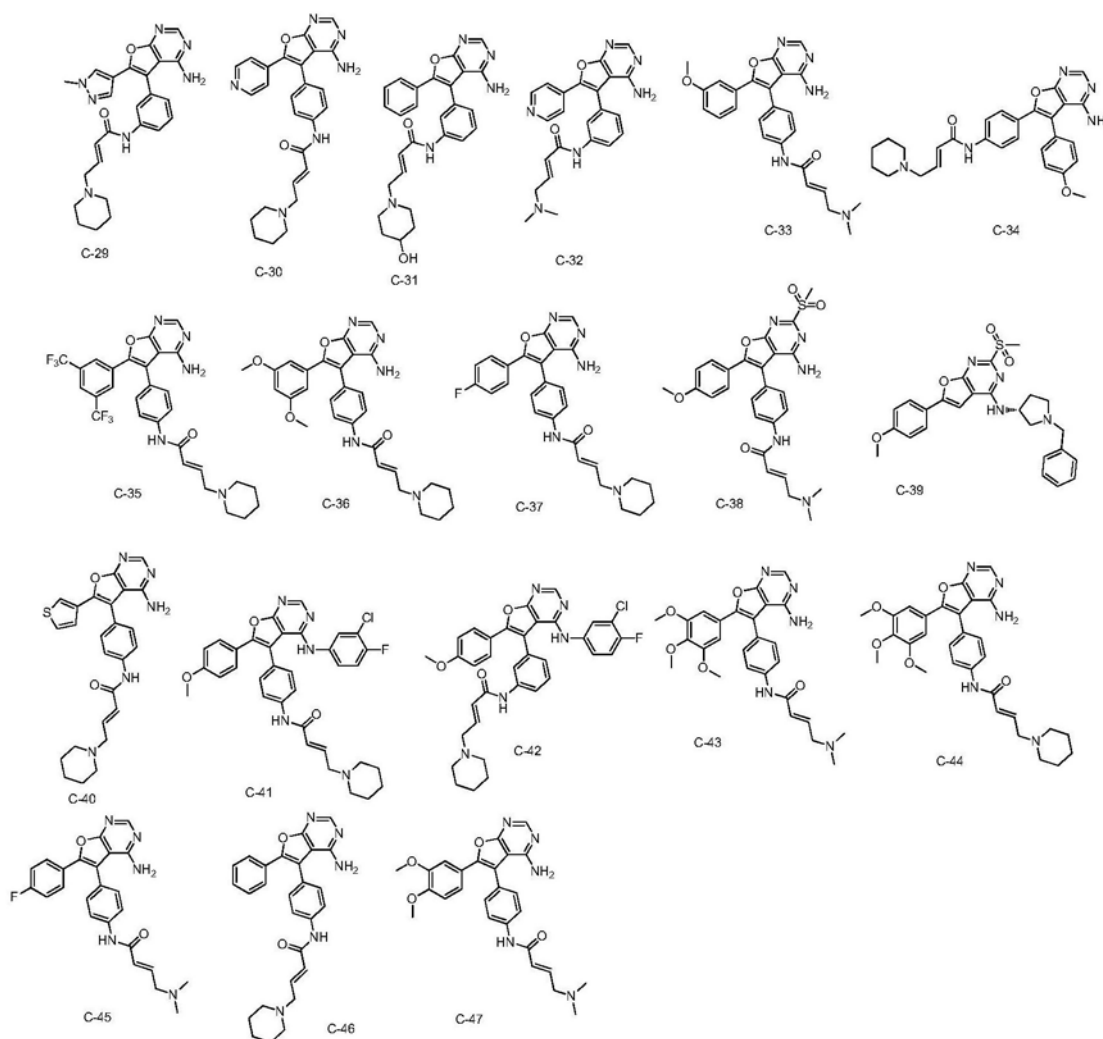
[0023] 进一步地,当A类基团选自杂芳基时,所述杂芳基为5元环或6元环。

- [0024] 进一步地,所述杂芳基选自吡啶基或吡咯基。
- [0025] 进一步地,当A类基团选自取代的苯基时,取代基选自氟、氯、溴、C₁-C₃的烷基、甲氧基、三氟甲基中的任一种或多种。
- [0026] 进一步地,所述X或Y表示的结构中,苯基上的取代基位于该苯基的3位或4位。
- [0027] 进一步地,当A类基团选自取代的苯基或取代的杂芳基时,取代基的数量为1~3。
- [0028] 进一步地,当Z选自芳基时,该芳基为苯基、氨基取代的苯基或硝基取代的苯基。
- [0029] 进一步地,当R_a和R_b共同与它们相连接的氮原子一起形成饱和杂环基时,所述饱和杂环基为6元环。
- [0030] 进一步地,所述饱和杂环基为哌啶基、吗啉基或哌嗪基。
- [0031] 进一步地,当R_a和R_b共同与它们相连接的原子一起形成饱和杂环基时,所述饱和杂环基进一步被羟基、C₁-C₆的烷基或-NH-Pg所取代,其中Pg表示氨基保护基。
- [0032] 进一步地,所述化合物为如下化合物之一:

[0033]



[0034]



[0035] 本发明还提供了前述的化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐、或其溶剂合物在制备抗肿瘤药物、血管生成抑制剂、EGFR激酶抑制剂或AUR A激酶抑制剂中的用途。

[0036] 进一步地,所述肿瘤为肝癌、肺癌、神经胶质细胞瘤、星形胶质母细胞瘤、宫颈癌、结肠癌或乳腺癌。

[0037] 本发明中:

[0038] 所述“立体异构体”包括立体中心(例如带有4个不同取代基的碳)、轴不对称例如有关键、平面不对称及其混合物的存在。立体异构体包括对映体、非对映体、差向异构体、外消旋体和具有内部对称面的内消旋化合物。

[0039] 所述“药学上可接受的”是指某载体、运载物、稀释剂、辅料,和/或所形成的盐通常在化学上或物理上与构成某药物剂型的其它成分相兼容,并在生理上与受体相兼容。

[0040] 所述C₁-C₆的烷基是指C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆的烷基,即具有1~6个碳原子的直链或支链的烷基,例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基、己基等等。

[0041] “氨基保护基”将指可连接至氨基上的氮原子从而保护所述氨基不参与反应并且

其可在后面的反应中容易地除去的基团。合适的氨基保护基包括,但不限于下述保护基:

[0042] 式-C(O)O-R的氨基甲酸酯基团,其中R例如甲基、乙基、叔丁基、苄基、苯乙基、 $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-$,等等;式-C(O)-R'的酰胺基团,其中R'例如甲基、乙基、苯基、三氟甲基,等等;式-SO₂-R''的N-磺酰基衍生物-基团,其中R''例如甲苯基、苯基、三氟甲基、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-基-、2,3,6-三甲基-4-甲氧基苯,等等。

[0043] 试验结果显示,本发明化合物可用于制备抗肿瘤药物、血管生成抑制剂或EGFR激酶抑制剂。

[0044] 显然,根据本发明的上述内容,按照本领域的普通技术知识和惯用手段,在不脱离本发明上述基本技术思想前提下,还可以做出其它多种形式的修改、替换或变更。

[0045] 以下通过实施例形式的具体实施方式,对本发明的上述内容再作进一步的详细说明。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实例。凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的范围。

附图说明

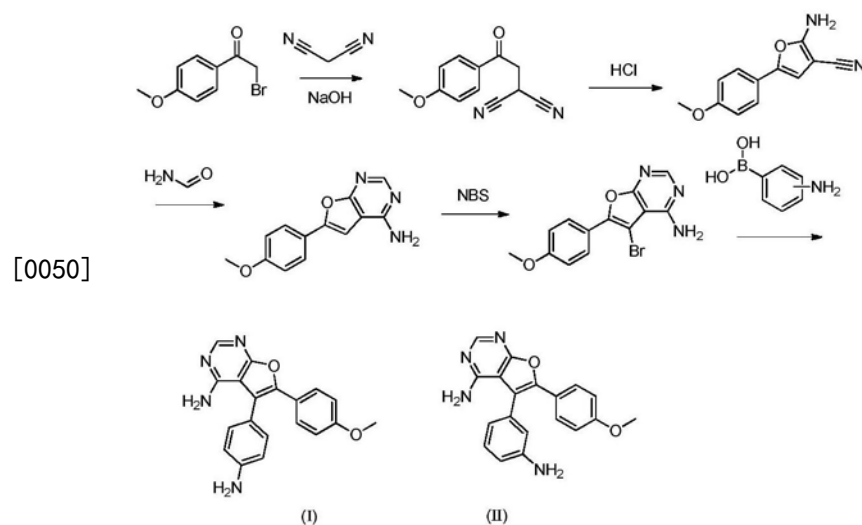
[0046] 图1为本发明化合物对肝癌HepG2细胞抑制活性测试结果如图1所示。

[0047] 图2为本发明化合物对肺癌A549细胞抑制活性测试结果如图2所示

具体实施方式

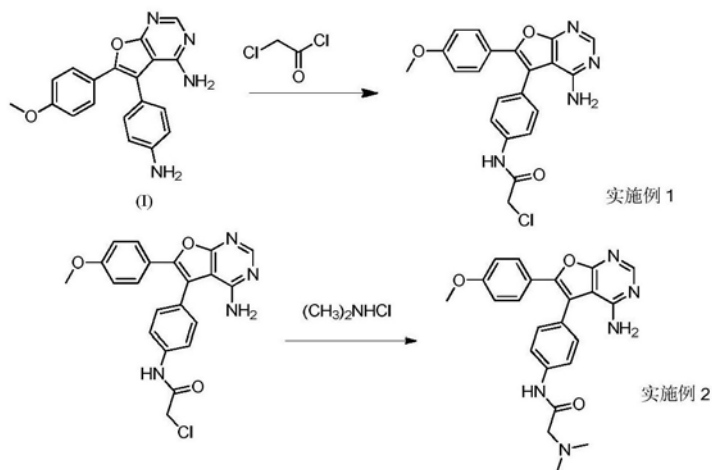
[0048] 本发明化合物及中间体主要按照下述路线制备得到:

[0049] 方案一:

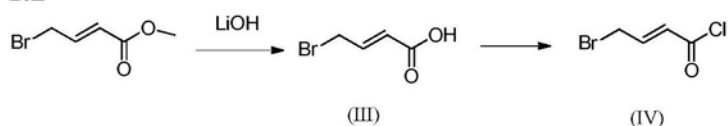


[0051] 中间体I和II的合成方法参照文献Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters 15 (2005) 2203-2207。

1.1



1.2

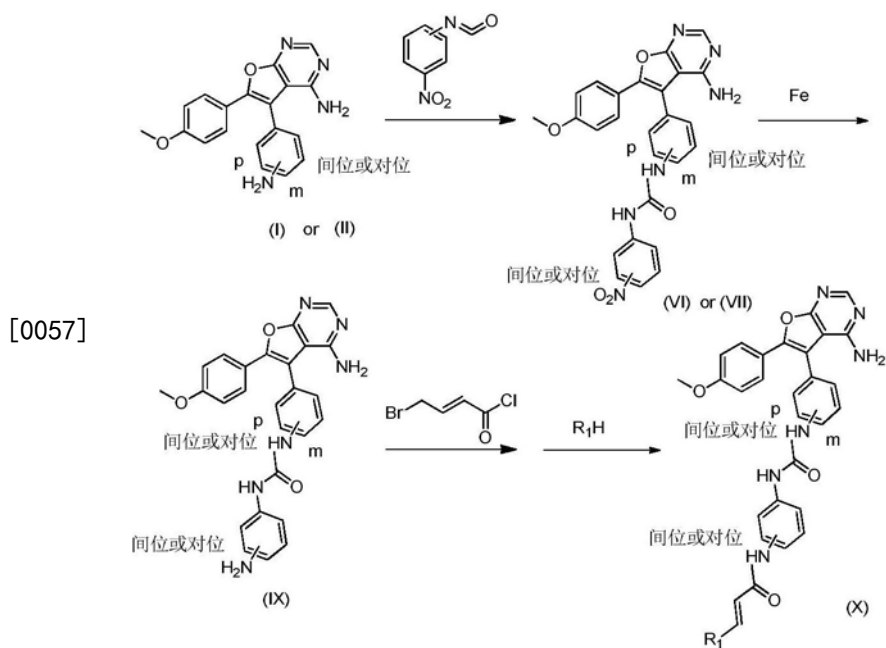


[0053] 中间体(E)-4-溴丁-2-烯酰氯III的合成:

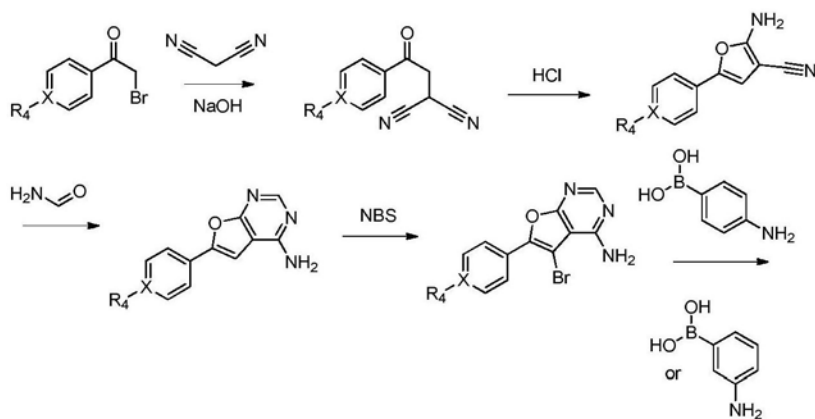
[0054] 将(E)-4-溴巴豆酸甲酯(6g, 33.5mmol)溶于THF(60mL)冷去至0℃,在N₂保护下滴加入一水合氢氧化锂(1.83g, 43.6mmol)的水溶液(20mL)。15min滴完后,保持0℃搅拌3h。然后将冷水(150mL)和石油醚(200mL)加入该体系在0℃继续搅拌10min。分离水相,在0℃用浓盐酸调节PH至1,再用二氯甲烷(80mLx3)萃取。合并有机相,无水硫酸钠干燥后浓缩,得到E-4-溴巴豆酸III,黄色固体(4.5g,收率82%)。

[0055] 在混有E-4-溴巴豆酸III和1滴DMF的DCM(3mL)溶液中滴加入草酰氯(250mg, 1.96mmol)。滴加完后,升至室温搅拌1h。反应结束,浓缩溶剂,得到中间体(E)-4-溴丁-2-烯酰氯IV,无需进一步处理,直接用于下一步反应。

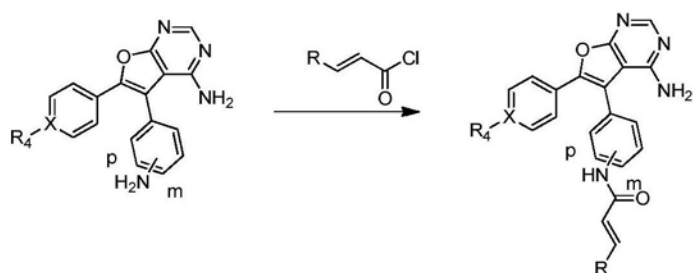
[0056] 1.3



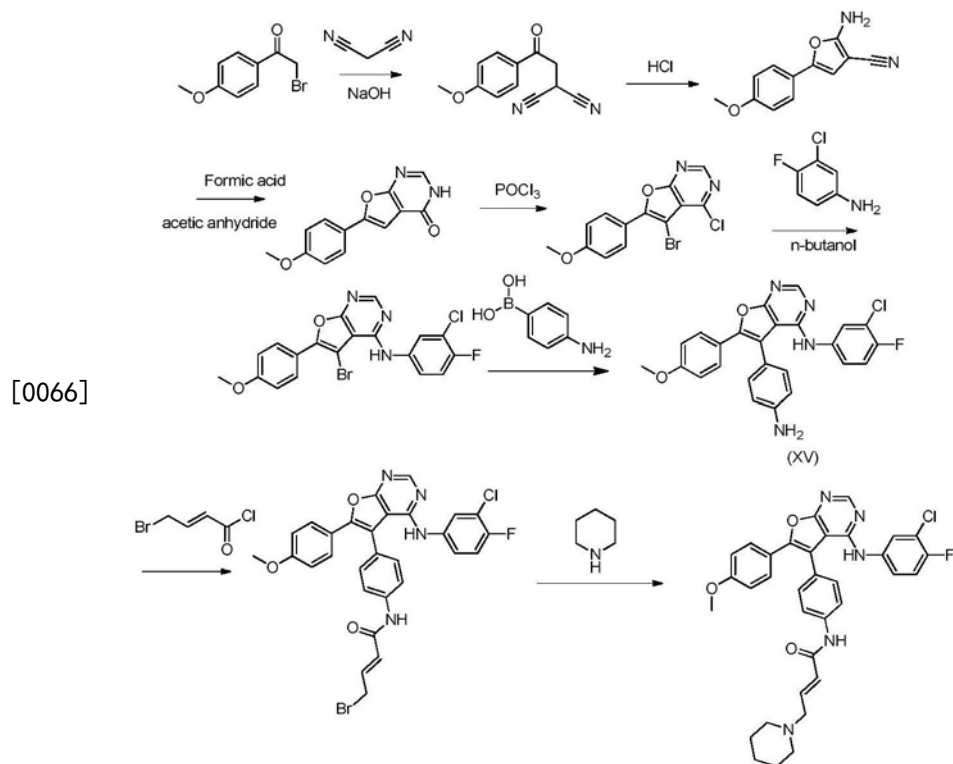
[0058] 方案二:



[0059]



[0060] 方案三:



[0067] 实施例1化合物C-14的制备

[0068] 将中间体I (1g, 3.01mmol) 溶于THF, 加入三乙胺 (0.6g, 6.02mmol), 然后滴加入氯乙酰氯 (0.37g, 3.31mmol)。液相监测反应完全后, 滴入3滴水淬灭反应, 浓缩溶剂。在残留物中加入水, 二氯甲烷萃取, 合并有机相。饱和氯化铵洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 浓缩溶剂。残留物进行柱色谱分离, 得到化合物0.88g, 白色固体 (收率72%)。

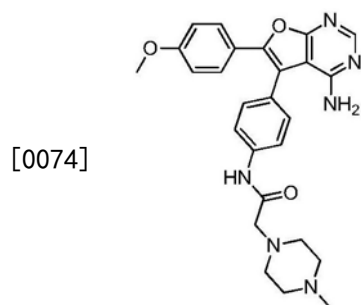
[0069] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm: 3.80 (s, 3H), 4.25 (s, 2H), 6.81–6.83 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.46–7.51 (m, 4H), 7.73–7.76 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.3, 9 (s, 1H)。

[0070] 实施例2化合物C-13的制备

[0071] 将碳酸钾 (0.89g, 6.47mmol) 加化合物c-14 (0.88g, 2.15mmol) 的乙腈, 然后加入二甲胺盐酸盐 (0.17g, 2.15mmol), T LC监测反应, 搅拌5h。反应结束, 抽虑, 少量乙腈洗涤固体, 浓缩母液。将残留物进行柱色谱分离, 得到化合物0.55g (收率61%)。

[0072] ^1H NMR (DMSO) δ : 9.33 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.76–7.78 (m, 2H), 7.45–7.49 (m, 4H), 6.80–6.84 (m, 2H), 4.93 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.14 (s, 2H), 2.43 (s, 6H) ;

[0073] 实施例3化合物C-11的制备

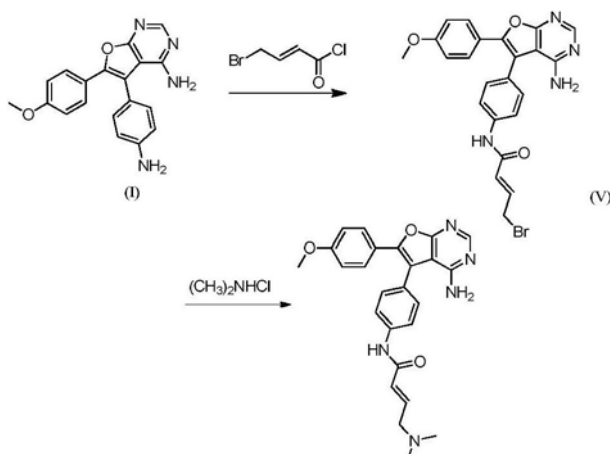


[0075] 其制备方法参照实施例2, 原料为c-14和N-甲基哌嗪, 产物为白色固体, 收率60%。

^1H NMR (DMSO) δ : 9.33 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.74–7.76 (m, 2H), 7.46–7.52 (m, 4H), 6.81–6.83

(m, 2H), 4.92 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.20 (s, 2H), 2.51–2.71 (m, 8H), 2.35 (s, 3H);

[0076] 实施例4化合物C-5的制备



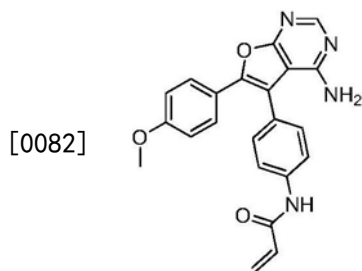
[0077]

[0078] 将中间体I 0.5g (1.08mmol) 溶于THF, 加入三乙胺0.22g (2.18mmol), 然后滴加入上述制备得到的(E)-4-溴丁-2-烯酰氯IV 0.195g (1.08mmol)。液相监测反应完全后, 浓缩溶剂。在残留物中加入水, 二氯甲烷萃取, 合并有机相。饱和氯化铵洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 浓缩溶剂, 得到中间体IV白色固体无需进一步处理, 直接用于下一步。

[0079] 将碳酸钾0.60g (4.32mmol) 加入上述制备得到的中间体V的乙腈溶液中, 然后加入二甲胺盐酸盐0.089g (1.08mmol), TLC监测反应, 搅拌5h。反应结束, 抽滤, 少量乙腈洗涤固体, 浓缩母液。将残留物进行柱色谱分离纯化(二氯甲烷/甲醇作洗脱剂), 得到白色固体(c-5) 0.40g, 收率64%。

[0080] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 2.45 (s, 6H), 3.44 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 6.38–6.42 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.75–6.79 (m, 1H), 6.93–6.95 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.37–7.39 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.43–7.45 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.84–7.86 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 8.23 (s, 1H), 10.40 (s, 1H)。

[0081] 实施例5化合物C-1的制备



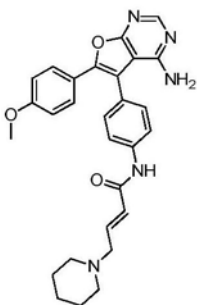
[0082]

[0083] 其制备方法参照实施例4中间体V的合成, 原料为中间体I和丙烯酰氯, 产物为白色固体, 收率72%。

[0084] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 3.80 (s, 3H), 4.92 (s, 2H), 5.84–5.87 (dd, $J=10.0\text{Hz}$, 1.2Hz, 1H), 6.31–6.32 (dd, $J=16.8\text{Hz}$, 10.0Hz, 1H), 6.47 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 6.49–6.51 (dd, $J=16.8\text{Hz}$, 1.2Hz, 1H), 6.80–6.83 (d, $J=12.0\text{Hz}$, 2H), 7.42 (s, 1H), 7.46–7.50 (m, 4H), 7.76–7.78 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 8.36 (s, 1H)。

[0085] 实施例6化合物C-6的制备

[0086]

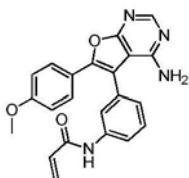


[0087] 其制备方法参照实施例4的合成,原料为中间体II和哌啶,产物为白色固体,收率59%。

[0088] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm: 1.47 (m, 2H), 1.61–1.64 (m, 4H), 2.45 (s, 4H), 3.17–3.19 (dd, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.80 (s, 3H), 4.90 (s, 2H), 6.13–6.17 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.80–6.82 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 6.99–7.07 (m, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.45–7.49 (m, 4H), 7.73–7.75 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 8.36 (s, 1H)。

[0089] 实施例7化合物C-4的制备

[0090]

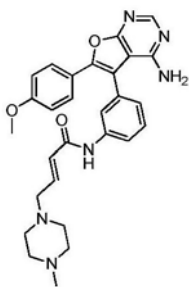


[0091] 其制备方法参照实施例4中间体V的合成,原料为中间体II和丙烯酰氯,产物为白色固体,收率66%。

[0092] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm: 3.80 (s, 3H), 5.17 (s, 2H), 5.81–5.84 (d, $J=11.2\text{Hz}$, 1H), 6.23–6.29 (dd, $J=16.8\text{Hz}$, 10.0Hz, 1H), 6.44–6.48 (d, $J=16.8\text{Hz}$, 1H), 6.81–6.83 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.44–7.51 (m, 4H), 7.65 (s, 1H), 7.74–7.76 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 8.35 (s, 1H)。

[0093] 实施例8化合物C-7的制备

[0094]

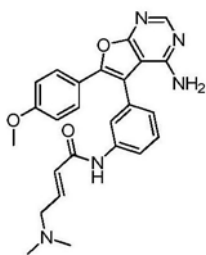


[0095] 其制备方法参照实施例4的合成,原料为中间体II和N-甲基哌啶,产物为白色固体,收率63%。

[0096] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 2.15bs, 3H), 2.34 (s, 6H), 3.10–3.11 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 3.75 (s, 3H), 6.24–6.28 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.68–6.74 (m, 1H), 6.93–6.95 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.15–7.17 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.38–7.41 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.48–7.52 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 7.6Hz, 1H), 7.78–7.80 (m, 2H), 8.24 (s, 1H), 10.25 (s, 1H)。

[0097] 实施例9化合物C-6的制备

[0098]

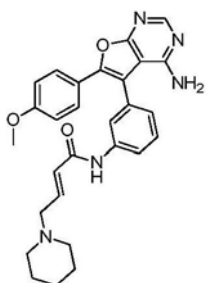


[0099] 其制备方法参照实施例4的合成,原料为中间体II和二甲胺,产物为白色固体,收率58%。

[0100] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 2.72 (s, 6H), 3.75 (s, 3H), 3.87-3.88 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 6.47-6.51 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.75-6.80 (m, 1H), 6.93-6.95 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.19-7.21 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.38-7.41 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.51-7.55 (t, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.82-7.85 (m, 2H), 8.25 (s, 1H), 10.67 (s, 1H)。

[0101] 实施例10化合物C-16的制备

[0102]

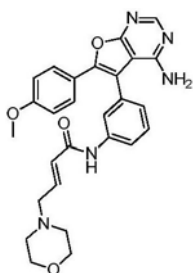


[0103] 其制备方法参照实施例4的合成,原料为中间体II和哌啶,产物为白色固体,收率58%。

[0104] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.38-1.52 (s, 6H), 2.34 (s, 4H), 3.10-3.11 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 3.75 (s, 3H), 6.23-6.27 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.68-6.72 (m, 1H), 6.93-6.95 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.15-7.17 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.39-7.41 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.48-7.52 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 8.0Hz, 1H), 7.79 (s, 2H), 8.25 (s, 1H), 10.25 (s, 1H)。

[0105] 实施例11化合物C-18的制备

[0106]

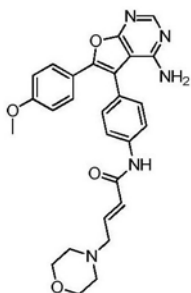


[0107] 其制备方法参照实施例4的合成,原料为中间体II和吗啉,产物为白色固体,收率60%。

[0108] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 2.40 (s, 6H), 2.34 (s, 2H), 3.10-3.11 (t, $J=4.4\text{Hz}$, 4H), 3.74 (s, 3H), 6.31-6.35 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.74-6.79 (m, 1H), 6.92-6.94 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.37-7.38 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.42-7.44 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.83-7.85 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 8.23 (s, 2H), 10.30 (s, 1H)。

[0109] 实施例12化合物C-21的制备

[0110]

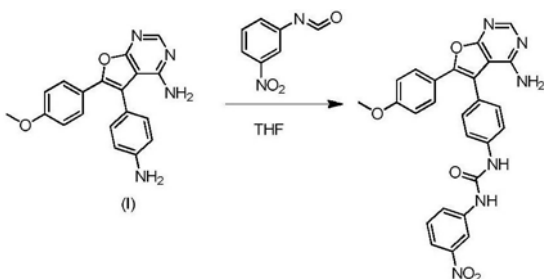


[0111] 其制备方法参照实施例4的合成,原料为中间体I和吗啉,产物为白色固体,收率61%。

[0112] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 10.31 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.86–7.83 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.44–7.37 (m, 4H), 6.95–6.92 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 6.79–6.74 (m, 1H), 6.35–6.31 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.63–3.60 ($J=4.4\text{Hz}$, $J=4.4\text{Hz}$, 4H), 3.15–3.14 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 2.41 (m, 4H)。

[0113] 实施例13化合物C-20的制备

[0114]

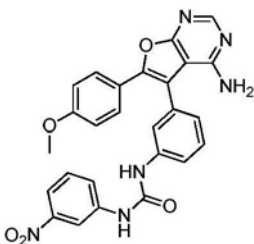


[0115] 向中间体(I) (3.32g, 10mmol) 的四氢呋喃(50ml) 溶液中依次加入乙胺2.53g (25mmol), 间硝基苯异氰酸酯1.64g (10mmol), 加毕, 室温反应30min后, 浓缩溶剂得粗产品。粗产品乙酸乙酯打浆, 抽滤, 干燥, 得化合物淡黄色固体4.46g, 收率90%。

[0116] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 3.75 (s, 3H), 6.96–6.94 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.44–7.40 (m, 4H), 7.61–7.57 (q, $J=8.4\text{Hz}$, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.69–7.66 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.76–7.74 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.86–7.84 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.59–8.58 (q, $J=2.4\text{Hz}$, $J=2\text{Hz}$, 1H), 9.11 (s, 1H), 9.33 (s, 1H)。

[0117] 实施例14化合物C-9的制备

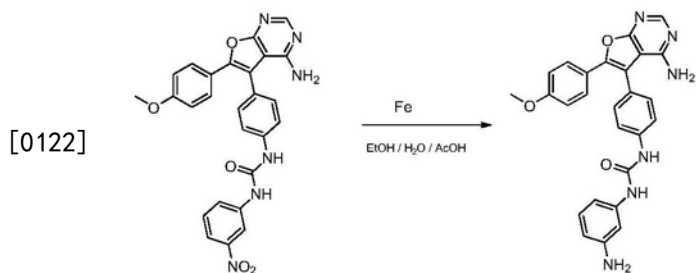
[0118]



[0119] 其制备方法参照实施例13的合成,原料为中间体II和间硝基苯异氰酸酯,产物为淡黄色固体,收率83%。

[0120] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 3.76 (s, 3H), 6.94–6.96 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.06–7.15 (m, 3H), 7.41–7.63 (m, 4H), 7.70–7.73 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 8.27 (s, 1H), 8.59–8.58 (t, $J=2.4\text{Hz}$, $J=2\text{Hz}$, 1H), 9.07 (s, 1H), 9.29 (s, 1H)。

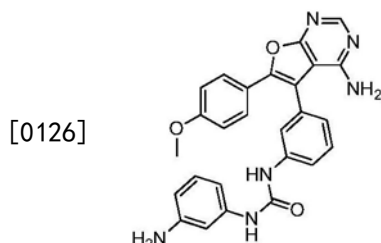
[0121] 实施例15化合物C-22的制备



[0123] 将实施例13化合物(1.32g, 2.66mmol)加入10ml乙醇, 10ml水及1.2ml醋酸的混合液后, 升温至70℃, 加入0.62g铁粉在该温度继续搅拌2h。反应结束, 抽滤, 取母液浓缩。残留物用氢氧化钠水溶液调PH至9, 加入乙酸乙酯50mlx3萃取。合并有机相, 饱和氯化钠洗涤, 干燥有机相, 浓缩至干, 得粗产品。将粗产品用柱色谱分离纯化(二氯甲烷/甲醇作洗脱剂), 得白色固体0.99g, 产率80%。

[0124] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 3.75 (s, 3H), 5.05 (s, 2H), 6.21-6.20 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 6.59-6.57 (d, $J=8.0\text{Hz}$), 6.79 (s, 1H), 6.96-6.89 (m, 3H), 7.42-7.37 (m, 4H), 7.64-7.62 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 8.23 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.84 (s, 1H)。

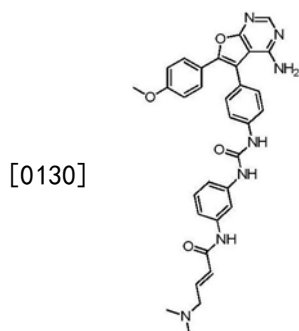
[0125] 实施例16化合物C-10的制备



[0127] 其制备方法参照实施例15的合成, 原料为实施例14, 产物为白色固体, 收率71%。

[0128] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 3.76 (s, 3H), 5.02 (s, 2H), 6.17-6.19 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 6.52-6.55 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 6.75 (s, 1H), 6.86-6.90 (t, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 6.94-6.96 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.05-7.07 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.42-7.47 (m, 3H), 7.54-7.56 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.62 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.76 (s, 1H)。

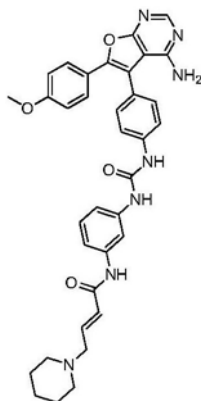
[0129] 实施例17化合物C-24的制备



[0131] 制备方法参照实施4, 原料为实施例15和二甲胺, 产物为白色固体, 收率53%。

[0132] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 10.15 (s, 1H), 9.30 (m, 1H), 9.15 (m, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.66-7.64 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.42-7.39 (m, 4H), 7.35 (m, 1H), 7.22-7.21 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 6.96-6.94 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 6.77-6.70 (m, 1H), 6.35-6.31 (d, $J=14.4\text{Hz}$, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.17 (s, 2H), 2.26 (s, 6H)。

[0133] 实施例18化合物C-23的制备

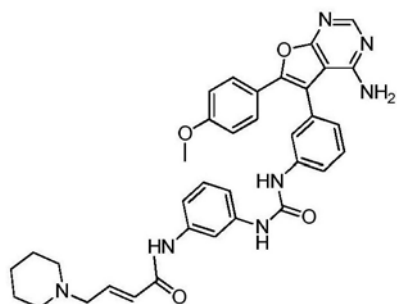


[0134]

[0135] 制备方法参照实施17,原料为实施例15和哌啶,产物为白色固体,收率55%。

[0136] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 1.54-1.40 (m, 6H), 2.37-2.33 (m, 4H), 3.10 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 6.31-6.27 (d, $J=16.0\text{Hz}$, 1H), 6.76-6.70 (m, 1H), 6.96-6.94 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.22-7.20 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 2H), 7.30 (m, 1H), 7.42-7.39 (m, 4H), 7.66-7.64 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.89 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.96-8.91 (m, 2H), 10.08 (s, 1H)。

[0137] 实施例19化合物C-19的制备

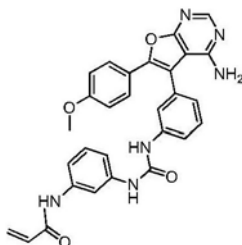


[0138]

[0139] 制备方法参照实施例17,原料为实施例16和哌啶,产物为白色固体,收率53%。

[0140] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 1.39-1.52 (m, 6H), 14.2-13.9 (s, 4H), 3.07 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 6.24-6.28 (d, $J=14.8\text{Hz}$, 1H), 6.68-6.75 (m, 1H), 6.94-6.96 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.07-7.20 (m, 3H), 7.28-7.30 (d, $J=14.8\text{Hz}$, 1H), 7.41-7.48 (m, 3H), 7.55-7.57 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.63 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.78-8.82 (d, $J=14\text{Hz}$, 2H), 10.08 (s, 1H)。

[0141] 实施例20化合物C-12的制备



[0142]

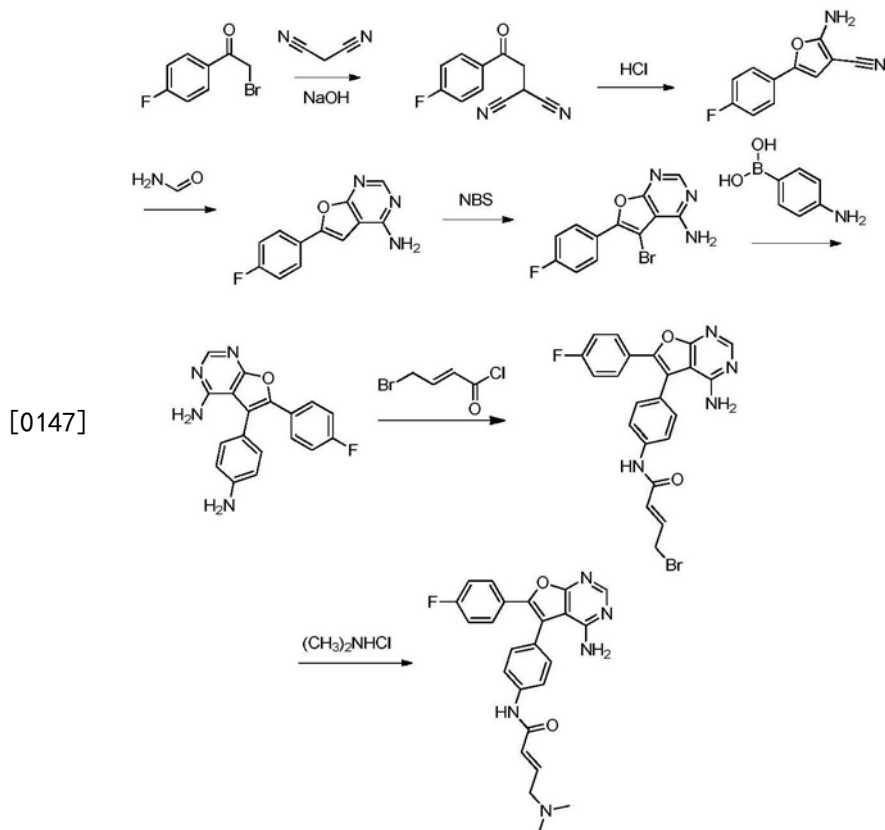
[0143] 制备方法参照实施例17,原料为实施例16和丙烯酰氯,产物为白色固体,收率53%。

[0144] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 3.76 (s, 3H), 5.73-5.76 (m, 1H), 6.22-6.27 (dd, $J=16.8\text{Hz}, 2.0\text{Hz}$, 1H), 6.41-6.47 (dd, $J=16.8\text{Hz}, 10.0\text{Hz}$, 1H), 6.94-6.96 (d, $J=7.2\text{Hz}$,

2H), 6.94-6.96 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.14-7.22 (m, 2H), 7.31-7.33 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.41-7.49 (m, 3H), 7.56-7.58 (d, J=9.2Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.84-8.87 (d, J=14.8Hz, 2H), 10.12 (s, 1H)。

[0145] 实施例21化合物C-45的制备

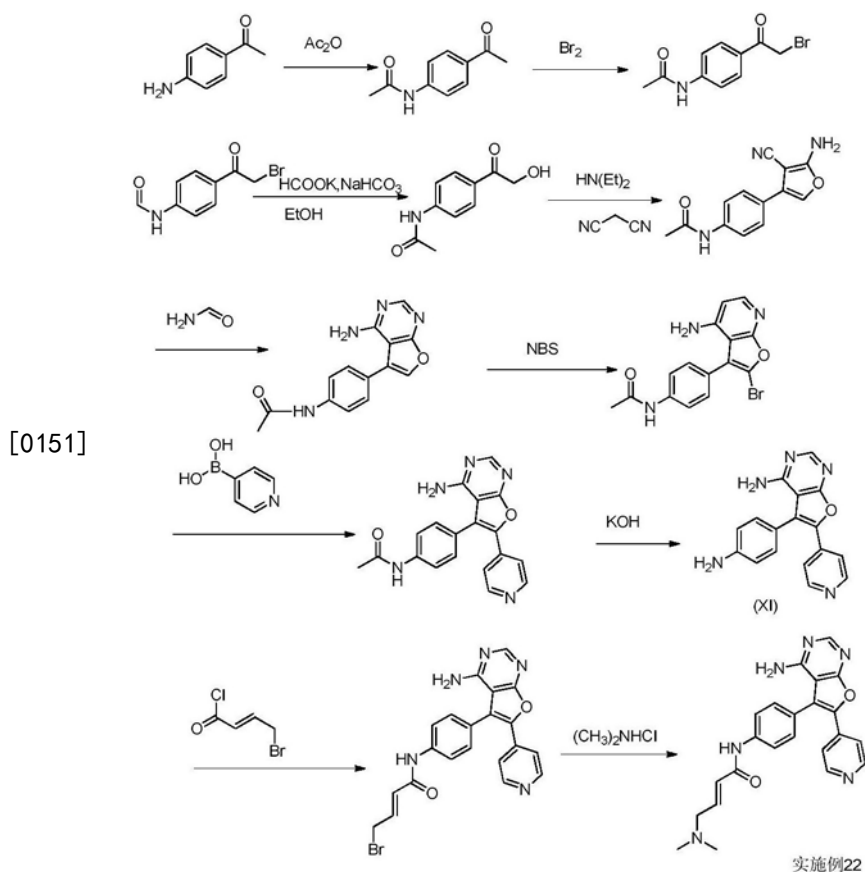
[0146] 方法一



[0148] 该方法一参照实施例4的合成,原料为4-氟溴代苯乙酮,原料4-氟溴代苯乙酮和二胺盐酸盐,产物为白色固体。

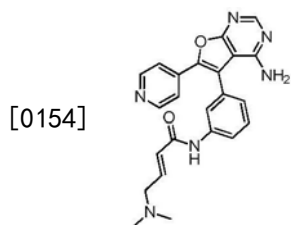
[0149] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 2.22 (s, 6H), 3.09-3.10 (d, J=4.8Hz, 2H), 6.30-6.34 (d, J=15.2Hz, 1H), 6.74-6.80 (m, 1H), 7.21-7.25 (t, J=9.2, 6.8Hz, 2H), 7.43-7.48 (m, 4H), 7.85-7.87 (d, J=8.8Hz, 2H), 8.26 (s, 1H), 10.32 (s, 1H)。

[0150] 方法二



[0152] 方法二参照文献W03022852A2可以合成得到中间体XI,参照可实施例4的合成方法由中间体XI合成得到实施例22。

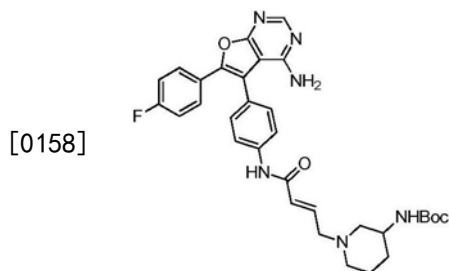
[0153] 实施例22化合物C-32的制备



[0155] 原料4-溴代乙酰基吡啶和二甲胺盐酸盐,产物为白色固体,收率41%。

[0156] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 2.31 (s, 6H), 3.26 (s, 2H), 6.36-6.40 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.76-6.83 (m, 1H), 7.41-7.44 (m, 1H), 7.46-7.49 (d, $J=12.4\text{Hz}$, 2H), 7.81-7.84 (m, 1H), 7.88-7.90 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 8.30 (s, 1H), 8.50-8.51 (m, 1H), 8.57-8.58 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 10.45 (s, 1H);

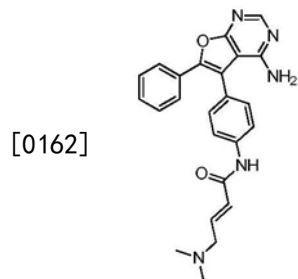
[0157] 实施例23化合物C-25的制备



[0159] 制备方法参照实施例21,原料4-氟溴代苯乙酮和3-叔丁氧羰基氨基哌啶,产物为白色固体,收率50%。

[0160] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 1.05-1.178 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.49-1.88 (m, 5H), 2.69-2.81 (m, 2H), 3.14-3.15 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 6.28-6.32 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.74-6.80 (m, 2H), 7.21-7.25 (t, $J=9.2\text{Hz}$, 8.8Hz, 1H), 7.49-7.50 (m, 4H), 7.85-7.87 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 8.26 (s, 1H), 10.31 (s, 1H)。

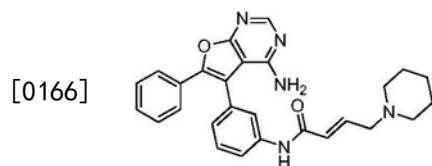
[0161] 实施例24化合物C-27的制备



[0163] 制备方法参照实施例21,原料溴代苯乙酮和二甲胺盐酸盐,产物为白色固体,收率50%。

[0164] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 2.72 (s, 6H), 3.87 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 6.55-6.59 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.83-6.87 (m, 1H), 7.32-7.46 (m, 7H), 7.91-7.93 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 8.27 (s, 1H), 10.82 (s, 1H)。

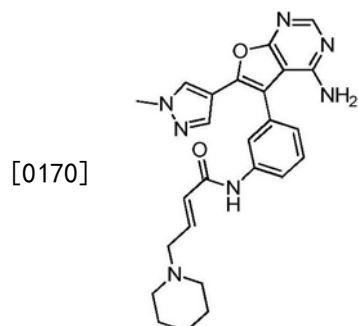
[0165] 实施例25化合物C-28的制备



[0167] 制备方法参照实施例8,原料溴代苯乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率51%。

[0168] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 1.40-1.532 (m, 6H), 2.33-2.36 (m, 4H), 3.10-3.11 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 2H), 6.24-6.28 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.72-6.76 (m, 1H), 7.17-7.19 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.33-7.37 (m, 3H), 7.46-7.53 (m, 3H), 7.80 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 2H), 8.28 (s, 1H), 10.28 (s, 1H)。

[0169] 实施例26化合物C-29的制备

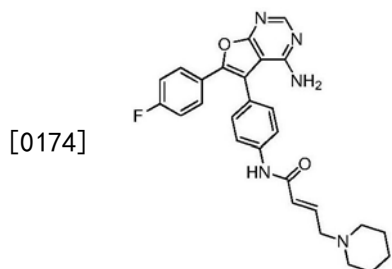


[0171] 制备方法参照实施例8,原料2-溴-1-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率43%。

[0172] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 1.50-1.70 (m, 6H), 2.87 (m, 4H), 3.65 (m, 2H), 3.83

(s, 3H), 6.46–6.50 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.82–6.87 (m, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.46–7.48 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.88–7.91 (q, $J=4.8\text{Hz}$, $J=4.8\text{Hz}$, 3H), 8.21 (s, 1H), 10.59 (s, 1H);

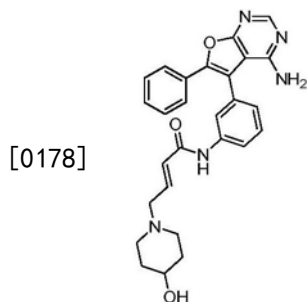
[0173] 实施例27化合物C-37的制备



[0175] 制备方法参照实施例21,原料4-氟溴代苯乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率50%。

[0176] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.42–1.56 (m, 6H), 2.49 (s, 4H), 3.22 (s, 2H), 6.32–6.35 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.76–6.81 (m, 1H), 7.21–7.25 (t, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.44–7.48 (m, 4H), 7.85–7.87 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 8.26 (s, 1H), 10.34 (s, 1H)。

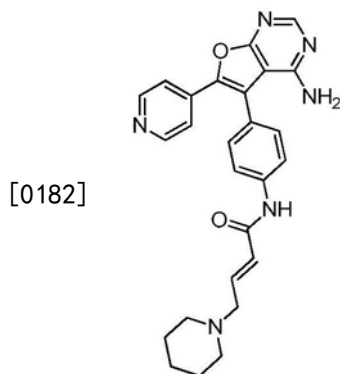
[0177] 实施例28化合物C-31的制备



[0179] 制备方法参照实施例8,原料溴代苯乙酮和4-羟基哌啶,产物为白色固体,收率50%。

[0180] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.35–1.45 (m, 2H), 1.65–1.78 (m, 2H), 1.95–2.15 (m, 2H), 2.63–2.75 (m, 2H), 3.16–3.17 (d, $J=5.0\text{Hz}$, 2H), 4.60 (m, 2H), 6.24–6.28 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.71–6.77 (m, 1H), 7.17–7.19 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.33–7.53 (m, 5H), 7.80–7.81 (m, 2H), 10.28 (s, 1H)。

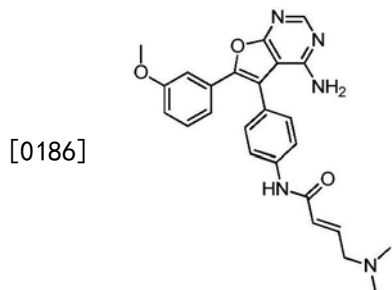
[0181] 实施例29化合物C-30的制备



[0183] 制备方法参照实施例22,原料4-溴代乙酰基吡啶和哌啶,产物为白色固体,收率43%。

[0184] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.40 (m, 2H), 1.52-1.55 (m, 4H), 2.37 (m, 4H), 3.10-3.12 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 6.29-6.33 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.75-6.82 (m, 1H), 7.41-7.44 (m, 1H), 7.45-7.49 (d, $J=12.8\text{Hz}$, 2H), 7.82-7.84 (m, 1H), 7.86-7.89 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 8.30 (s, 1H), 8.50-8.51 (m, 1H), 8.57-8.58 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 10.33 (s, 1H)。

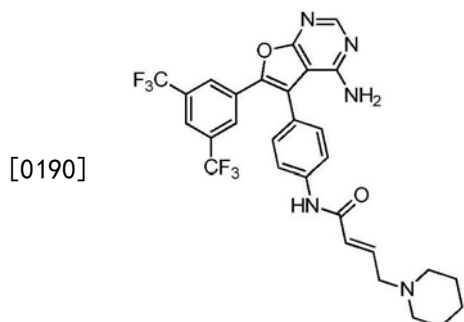
[0185] 实施例30化合物C-33的制备



[0187] 制备方法参照实施例8,原料3-溴代苯乙酮和二甲胺盐酸盐,产物为白色固体,收率41%。

[0188] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 2.18 (s, 6H), 3.05-3.06 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 3.86 (s, 3H), 6.26-6.30 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.70-6.76 (m, 1H), 7.06-7.08 (m, 1H), 7.17-7.19 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.25-7.30 (m, 2H), 7.40 (s, 2H), 7.65-7.67 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 8.09 (s, 1H), 10.13 (s, 1H)。

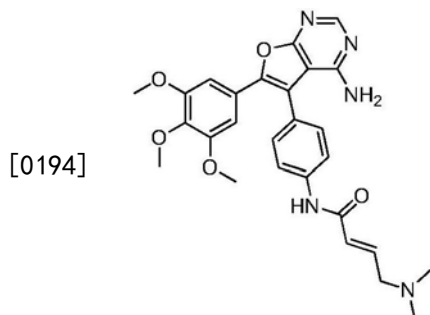
[0189] 实施例31化合物C-35的制备



[0191] 制备方法参照实施例22,原料3,5-二(三氟甲基)溴代苯乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率41%。

[0192] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.40 (m, 2H), 1.50-1.51 (m, 4H), 2.35 (m, 4H), 3.08-3.09 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 6.23-6.27 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.71-6.76 (m, 1H), 7.22-7.24 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.53-7.56 (q, $J=7.6\text{Hz}$, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.79-7.81 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.91-7.94 (m, 3H), 8.08 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 10.29 (s, 1H)。

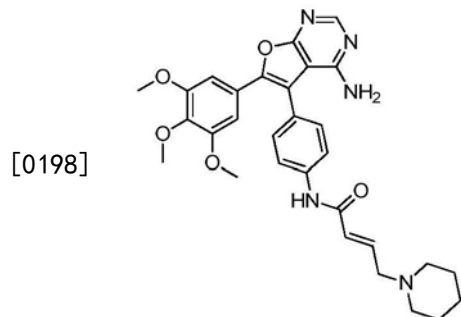
[0193] 实施例32化合物C-43的制备



[0195] 制备方法参照实施例21,原料3,4,5-三甲氧基溴代苯乙酮和二甲胺,产物为白色固体,收率41%。

[0196] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 2.19 (s, 6H), 3.07-3.08 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 3.58 (s, 6H), 3.65 (s, 3H), 6.29-6.33 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.72 (s, 2H), 6.76-6.80 (m, 1H), 7.47-7.49 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.86-7.88 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 8.25 (s, 1H), 10.30 (s, 1H);

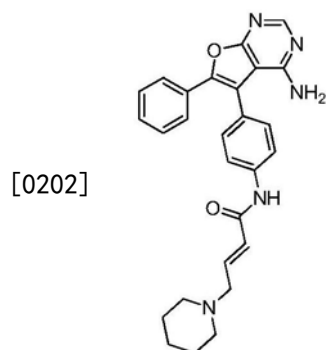
[0197] 实施例33化合物C-44的制备



[0199] 制备方法参照实施例21,原料3,4,5-三甲氧基溴代苯乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率41%。

[0200] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.30 (m, 2H), 1.52-1.55 (m, 4H), 2.37 (m, 4H), 3.10-3.12 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 3.58 (s, 6H), 3.65 (s, 3H), 6.28-6.32 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.72 (s, 2H), 6.74-6.81 (m, 1H), 7.47-7.49 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.86-7.88 (d, 8.4Hz, 2H), 8.25 (s, 1H), 10.29 (s, 1H);

[0201] 实施例34化合物C-46的制备

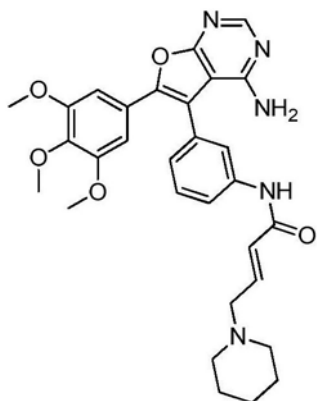


[0203] 制备方法参照实施例21,原料溴代苯乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率50%。

[0204] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.35-1.55 (m, 6H), 2.29-2.39 (m, 4H), 3.11 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 6.28-6.32 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.75-6.80 (m, 1H), 7.32-7.44 (m, 7H), 7.85-7.87 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 8.26 (s, 1H), 10.30 (s, 1H)。

[0205] 实施例35化合物C-8的制备

[0206]

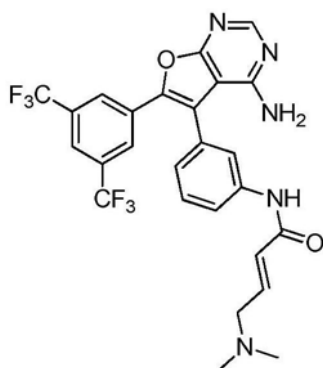


[0207] 制备方法参照实施例21,原料3,4,5-三甲氧基溴代苯乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率41%。

[0208] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.40–1.70 (m, 6H), 2.87 (m, 4H), 3.58 (s, 6H), 3.66 (s, 3H), 3.88 (s, 2H), 6.43–6.47 (d, $J=14.8\text{Hz}$, 1H), 6.74 (s, 2H), 6.77–6.82 (m, 1H), 7.26–7.28 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.55–7.59 (t, $J=8.07.6\text{Hz}$, 7.6Hz, 1H), 7.80–7.82 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.85 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 10.58 (s, 1H)。

[0209] 实施例36化合物C-15的制备

[0210]

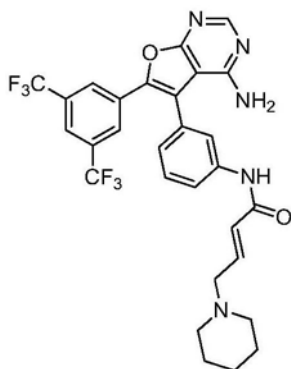


[0211] 制备方法参照实施例22,原料3,5-二氟甲基溴代苯乙酮和二甲胺盐酸盐,产物为白色固体,收率41%。

[0212] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 2.17 (s, 6H), 3.05–3.06 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 6.24–6.28 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.71–6.75 (m, 1H), 7.22–7.24 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.52–7.56 (q, $J_1=J_2=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.78–7.80 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.91–7.94 (d, $J=12.4\text{Hz}$, 3H), 8.08 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 10.30 (s, 1H)。

[0213] 实施例37化合物C-17的制备

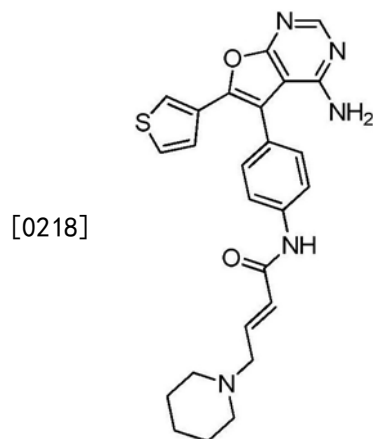
[0214]



[0215] 制备方法参照实施例22,原料3,5-二三氟甲基溴代苯乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率41%。

[0216] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.39-1.51 (m, 6H), 2.25-2.39 (m, 4H), 3.07-3.08 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 6.23-6.27 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.72-6.75 (m, 1H), 7.22-7.24 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.52-7.56 (q, $J=8.0\text{Hz}$, 7.6Hz, 1H), 7.78-7.80 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.90-7.93 (d, $J=12.4\text{Hz}$, 3H), 8.34 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 10.29 (s, 1H)。

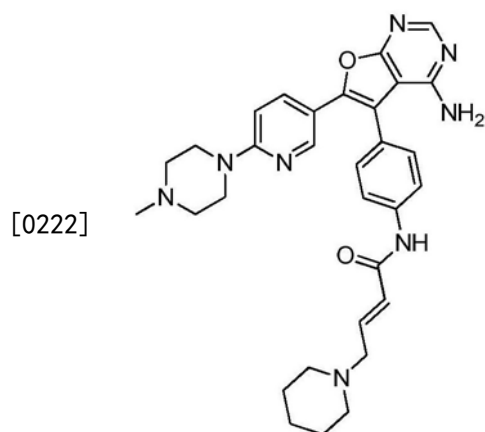
[0217] 实施例38化合物C-40的制备



[0219] 制备方法参照实施例22,原料3-溴代噻吩乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率41%。

[0220] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.43-1.54 (m, 6H), 2.30-2.40 (m, 4H), 3.14 (s, 2H), 6.30-6.34 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.75-6.82 (m, 1H), 6.88-6.89 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 7.45-7.47 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.55-7.57 (m, 1H), 7.69-7.70 (m, 1H), 7.86-7.88 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 8.34 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 10.29 (s, 1H)。

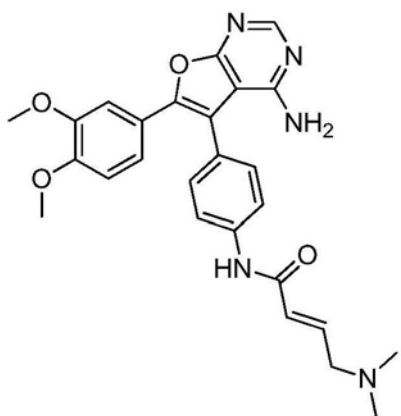
[0221] 实施例39化合物C-2的制备



[0223] 制备方法参照实施例22,原料3-溴代噻吩乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率41%。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.40-1.65 (m, 9H), 1.91 (s, 3H), 2.20-2.25 (m, 3H), 2.37-2.46 (m, 4H), 2.99-3.02 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 5.2Hz, 3H), 2.56-3.59 (m, 4H), 6.32-6.35 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.76-6.85 (m, 1H), 7.42-7.53 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.50-7.51 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.84-7.86 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 8.14-8.15 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.22 (s, 1H), 10.29 (s, 1H)。

[0224] 实施例40化合物C-47的制备

[0225]

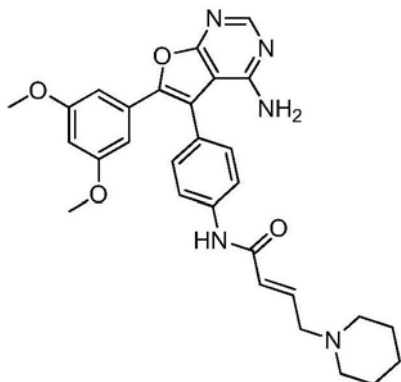


[0226] 制备方法参照实施例21,原料3,4-二甲氧基溴代苯乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率41%。

[0227] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 2.19 (s, 6H), 3.08-3.09 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.55 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 6.29-6.33 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.74-6.79 (m, 1H), 6.94-7.03 (m, 3H), 7.44-7.46 (q, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.84-7.86 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 8.24 (s, 1H), 10.31 (s, 1H);

[0228] 实施例41化合物C-36的制备

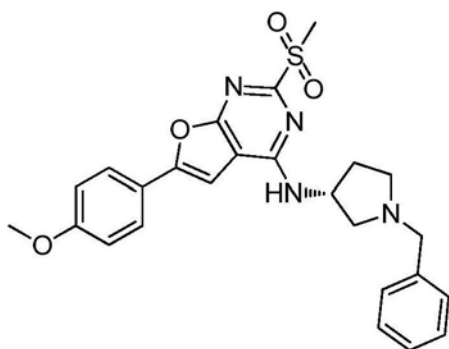
[0229]



[0230] 制备方法参照实施例21,原料3,5-二甲氧基溴代苯乙酮和哌啶,产物为白色固体,收率41%。

[0231] 实施例42化合物C-39的制备

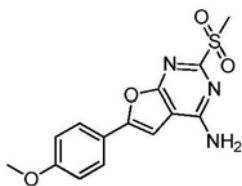
[0232]



[0233] 将中间体XII (100mg, 0.26mmol) 溶于14mL异丙醇后,加入 (69mg, 0.31mmol) (R)-(-)-1-苯甲基-3-氨基吡咯烷和 (0.66mg, 0.65mmol) 三乙胺,加热80度搅拌2.5h。液相检测反应完全,浓缩溶剂。在残留物中加入水,乙酸乙酯萃取,合并有机相。饱和氯化铵洗涤有机相,无水硫酸钠干燥,浓缩溶剂。残留物进行柱色谱分离,得到化合物77mg,白色固体 (收率62%)。

[0234] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 2.95 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 7.14–7.16 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.79 (s, 1H), 8.04–8.06 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H)。

[0235]

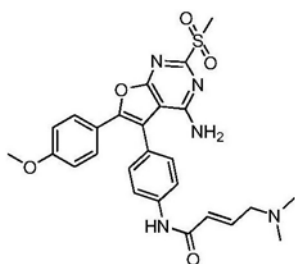


[0236] 制备方法参照实施例42, 原料氨水和中间体XII, 收率69%。

[0237] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 2.82 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 7.09–7.11 (dd, $J=6.8\text{Hz}$, 2.0Hz, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.73–7.77 (dd, $J=6.8\text{Hz}$, 2.0Hz, 2H), 7.98 (s, 4H)。

[0238] 实施例43化合物C-38的制备

[0239]

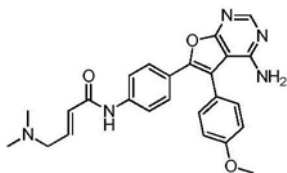


[0240] 参照实施例4的合成方法, 原料为中间体XIII和二甲胺盐酸盐。

[0241] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 2.21 (s, 6H), 3.09–3.10 (d, $J=3.6\text{Hz}$, 2H), 3.76 (s, 3H), 6.31–6.34 (d, $J=15.2\text{Hz}$, 1H), 6.76–6.80 (m, 1H), 6.95–6.97 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.40–7.45 (m, 3H), 7.85–7.87 (q, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 10.32 (s, 1H)。

[0242] 实施例44化合物C-26的制备

[0243]

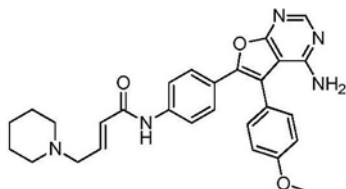


[0244] 参照文献W03022852A2可以合成得到中间体XIV, 再参照实施例4的合成方法得到产物。

[0245] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 10.21 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.64–7.62 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.44–7.39 (m, 4H), 7.15–7.13 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 6.76–6.72 (m, 1H), 6.28–6.25 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.06–3.05 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 3.17 (s, 6H)；

[0246] 实施例45化合物C-34的制备

[0247]

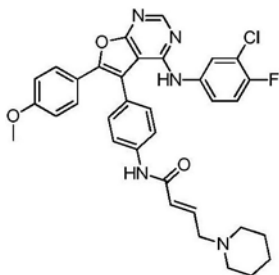


[0248] 制备方法参照实施例44, 原料4-甲氧基溴代苯乙酮和哌啶, 产物为类白固体。

[0249] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} : 1.40–1.53 (m, 6H), 2.37 (m, 4H), 3.11 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 6.24–6.28 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.71–6.77 (m, 1H), 7.13–7.15 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.39–7.44 (m, 4H), 7.62–7.64 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 8.25 (s, 1H), 10.22 (s, 1H)；

[0250] 实施例46化合物C-41的制备

[0251]

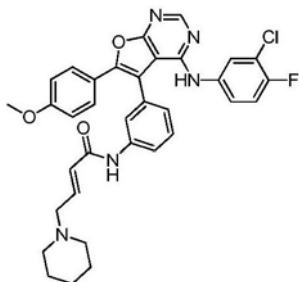


[0252] 参照文献W03022852A2可以合成得到中间体XV,再参照实施例4的合成方法得到产物。

[0253] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 1.41 (m, 2H), 1.51-1.55 (m, 4H), 2.33-2.36 (m, 4H), 3.10-3.11 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 2H), 3.77 (s, 3H), 6.30-6.33 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.75-6.83 (m, 1H), 6.97-6.99 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.15-7.18 (m, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.34-7.38 (q, $J=9.2\text{Hz}$, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.43-7.46 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.53-7.56 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.87-7.90 (m, 3H), 8.52 (s, 1H), 10.32 (s, 1H);

[0254] 实施例47化合物C-42的制备

[0255]



[0256] 制备方法参照实施例46,原料4-甲氧基溴代苯乙酮,间氨基苯硼酸和哌啶,产物为白色固体。

[0257] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 1.38 (m, 2H), 1.50-1.82 (m, 4H), 2.34 (m, 4H), 3.07-3.08 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 6.24-6.28 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 6.72-6.79 (m, 1H), 6.97-6.99 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.22-7.34 (m, 4H), 7.46-7.48 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.53-7.57 (q, $J=7.6\text{Hz}$, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.79-7.84 (m, 2H), 7.95 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 10.30 (s, 1H);

[0258] 实施例48本发明化合物的生物活性

[0259] 第一部分

[0260] 一、实验材料

[0261] 1、细胞株:人神经胶质细胞瘤细胞U251、人脑星形胶质母细胞瘤细胞U87、宫颈癌细胞HeLa、人结肠癌细胞HCT116、人乳腺癌细胞系MCF-7、人脐静脉内皮细胞株HUVEC,本实验室保存。

[0262] 2、实验试剂:MTT (3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐)、PBS缓冲液、DMEM培养基:Gibco公司,胎牛血清:四季青公司,DMSO:Sigma公司,胰蛋白酶:Gibco公司

[0263] 3、实验仪器:细胞培养箱:日本三洋电器公司、酶标仪:MOLECULAR公司、光学显微镜:LEICA公司、超净工作台:北京伟达净化技术研究所。

[0264] 4、试剂的配制:

[0265] (1) PBS溶液:NaCl 8g, KCl 0.2g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 3.62g, KH_2PO_4 0.24g,将上述混

合物加入900ml蒸馏水溶解,调节pH值至7.0,蒸馏水定容至1000ml。

[0266] (2) MTT溶液:将MTT粉末溶于PBS溶液中(5mg/ml),过滤除菌,4℃保存。

[0267] 5、受试药品:实施例4,实施例5,实施例6,实施例7,实施例12,实施例15,实施例16,实施例18,实施例20,实施例21,实施例22。

[0268] 二、实验步骤

[0269] 1.收集对数期细胞,调整细胞悬液浓度为25000个/ml,每孔加入100ul细胞悬液(每孔2500个细胞)。一般设6个复孔并设置对照孔。

[0270] 2.细胞放入培养箱培养,待贴壁后第二天给药(通常前一天下午或晚上铺板,第2天上午给药)。

[0271] 3.给药方法:先配好药,再拿出96孔板,弃去原有培养液,加入药物。药物用培养基配制,每个药物设置0ug/ml、2ug/ml、4ug/ml、6ug/ml、8ug/ml、10ug/ml、20ug/ml、25ug/ml八个浓度梯度。

[0272] 4.细胞放入培养箱培养72h。

[0273] 5.药物作用结束后,每孔加入20ul---MTT(5mg/ml),培养3-4h。

[0274] 6.终止培养,小心吸去孔内培养液。每孔加入150ul---DMSO,37℃温箱孵育10分钟或摇床低速振荡10分钟。之后用酶标仪检测OD—490nm(也有测570nm的)各孔的吸光度值。

[0275] 7.同时设置调零孔(无血清培养基,MTT,DMSO),对照孔(细胞,最大浓度的药物溶解介质,无血清培养基,MTT,DMSO)。

[0276] 8.细胞活力(cell viability):

[0277] 细胞活力(cell viability of control) = (药物组A值-调零孔A值) / (对照孔A值-调零孔A值) * 100%。

[0278] 三、实验结果

[0279] 表1化合物对癌细胞系MCF-7,宫颈癌细胞HeLa及231C的IC50值(μM)

[0280]

化合物	hela	MCF7	231C
c-4	100.544	45.527	194.23
c-6	6.585	5.368	26.963
c-16	3.07	4.48	3.65
c-18	无	75.678	无
c-19	9.216	9.3	10.316
c-20	8.567	10.025	11.434
c-21	17.943	50.617	51.998
c-22	9.472	15.984	21.206
c-23	4.052	6.841	7.285
c-24	14.695	10.65	10.931
c-39	9.165	12.063	13.539

[0281] 表2化合物对人神经胶质细胞瘤细胞U251和U87等的IC50值(μM)

[0282]

化合物	U87	U251
-----	-----	------

阿法替尼	7.429	6.849
c-3	13.931	3.905
c-5	8.119	4.503
c-7	13.52	9.498

[0283] 表3化合物对HCT-116的IC₅₀值 (μM)

[0284]

化合物	HCT-116
阿法替尼	2.668
c-1	7.715
c-3	0.7882
c-4	61.038
c-5	1.1548
c-7	3.008
c-9	8.959
c-10	15.083
c-11	5.288
c-12	13.677
c-13	6.827
c-14	10.401
c-6	13.984
c-16	4.642
c-18	138.268
c-19	11.729
c-20	10.468
c-21	19.216
c-22	10.165
c-23	3.761
c-24	8.507
c-39	6.508

[0285] 表4化合物对A549的IC₅₀值 (μM)

[0286]

化合物	A549
阿法替尼	3.13
c-3	6.39
c-5	14.59
c-16	10.06
c-25	7.32
c-26	6.6
c-34	7.89

c-35	2.49
c-36	15.46
c-37	2.47
c-41	2.07
c-42	6.25
c-45	3.79
c-46	2.46
依鲁替尼	61.4

[0287] 表5化合物对HepG2的IC50值 (μM)

[0288]

化合物	HepG2
阿法替尼	1.69
c-3	4.2
c-5	13.43
c-16	8.63
c-25	5.33
c-26	6.6
c-34	7.89
c-35	2.49
c-36	15.83
c-37	2.47
c-41	2.07
c-42	6.25
c-45	2.2
c-46	2.46
依鲁替尼	61.4

[0289] 表6化合物对人脐静脉内皮细胞株HUVEC的IC50值 (μM)

[0290]

化合物名称	HUVEC
阿法替尼	1.436
c-3	4.283
c-5	4.605
c-7	12.054
c-4	49.671
c-6	11.392
c-16	3.957
c-19	15.902
c-20	12.609
c-21	34.191

c-22	28.036
c-23	11.782

[0291] 化合物对肝癌HepG2细胞抑制活性测试结果如图1所示。对肺癌A549细胞抑制活性测试结果如图2所示。

[0292] 第二部分 激酶活性测试

[0293] 在这个实验中,我们利用Mobility Shift Assay的方法,对体外激酶AXL和TRKA进行2个化合物的筛选,1 μ M起始,3倍稀释,10个浓度,单孔测试。采用化合物阿法替尼作为标准对照。

[0294] 实验方法

[0295] I. 配制1倍的激酶缓冲液和终止液

[0296] 1.1倍激酶缓冲液

[0297] 25Mm HEPES, pH 7.5

[0298] 0.001%Brij-35

[0299] 0.01%Triton

[0300] 0.5Mm EGTA

[0301] 10Mm MgCl₂

[0302] 2Mm DTT

[0303] 2. 终止液

[0304] 100mM HEPES, pH 7.5

[0305] 0.015%Brij-35

[0306] 0.2%Coating Reagent#3

[0307] 50mM EDTA

[0308] II. 化合物配制

[0309] 1) 化合物稀释

[0310] 3. 配制50倍的化合物:化合物的检测终浓度为1 μ M,配置成50倍浓度,即50 μ M,在96孔板上第二个孔中加入100 μ l的50 μ M化合物,其他孔加入60 μ l的100%DMSO。从第2孔中取30 μ l化合物加入第3孔中,依次往下做3倍稀释,共稀释10个浓度。

[0311] 2) 转移5倍化合物到反应板

[0312] 4. 从上述96孔板的每一孔取10 μ l到另一块96孔板中,加入90 μ l激酶缓冲液。因此第二孔至第十一孔中是溶解于10%DMSO中的化合物,第一孔和第十二孔中为10%DMSO。

[0313] 5. 从上述96孔板中取出5 μ l到一块384孔反应板。因此,384孔反应板中就有5 μ l的10%DMSO溶解的5倍化合物及5 μ l的10%DMSO。

[0314] III. 激酶反应

[0315] 1) 配制2.5倍酶溶液

[0316] 6. 将激酶加入1倍激酶缓冲液,形成2.5倍酶溶液。

[0317] 2) 配制2.5倍的底物溶液

[0318] 7. 将FAM标记的多肽和ATP加入1倍激酶缓冲液,形成2.5倍底物溶液。

[0319] 3) 向384孔板中加入酶溶液

[0320] 8. 384孔反应板中已有5 μ l的10%DMSO溶解的5倍化合物。

- [0321] 9. 在384孔反应板中加入10 μ l的2.5倍酶溶液。
- [0322] 10. 室温下孵育10分钟。
- [0323] 4) 向384孔板中加入底物溶液
- [0324] 11. 在384孔反应板中加入10 μ l的2.5倍底物溶液。
- [0325] 5) 激酶反应和终止
- [0326] 12. 28℃下孵育3hr。
- [0327] 13. 加25 μ l终止液终止反应。
- [0328] IV. Caliper读取数据
- [0329] 14. Caliper上读取转化率数据。
- [0330] V. 抑制率计算
- [0331] 15. 从Caliper上复制转化率数据。
- [0332] 16. 把转化率转化成抑制率数据。其中max是指DMSO对照的转化率,min是指无酶活对照的转化率。
- [0333] $\text{Percent inhibition} = (\text{max-conversion}) / (\text{max-min}) * 100.$
- [0334] 17. 用XLFit excel add-in version 4.3.1拟合IC50值。
- [0335] 拟合公式: $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + (\text{IC50}/X)^{\text{HillSlope}})$
- [0336] 结果如下表所示。
- [0337] 表7 IC50结果 (nM)

[0338]

化合物		EGFR		AUR A	
c-3	Bottom	11.6		4.9	
Top		100.0		100.0	
IC50 (nM)		4900		16643	
Hill		0.6		0.8	
c-26	Bottom	6.0		-3.6	
Top		85.0		100.0	
IC50 (nM)		436		27826	
Hill		0.9		0.4	
c-35	Bottom	1.5		0.0	
Top		100.0		0.0	
IC50 (nM)		12399		>100000	
Hill		0.7		0.0	
c-37	Bottom	2.0		0.0	
Top		100.0		0.0	
IC50 (nM)		29664		>100000	
Hill		0.4		0.0	
c-41	Bottom	4.1		3.4	
Top		99		100	
IC50 (nM)		142		4478	
Hill		1.7		0.7	
阿法替尼	Bottom	7.9		0.0	
Top		97.8		0.0	
IC50 (nM)		0.49		>120000	
Hill		1.8		0.0	

[0339] 从所得的细胞活性测试结果可知大部分化合物对抗肿瘤细胞如肝癌,肺癌,人结肠癌细胞HCT116和宫颈癌细胞等表现出良好的活性,甚至比参照阿法替尼和依鲁替尼效果更好;表6显示大部分化合物对人脐静脉内皮细胞株HUVEC的正常细胞的毒性较阿法替尼更小。从EGFR和AUR A激酶活性测试结果可知所测化合物对EGFR激酶有较好的抑制作用,对AUR A激酶的抑制作用强于阿法替尼。

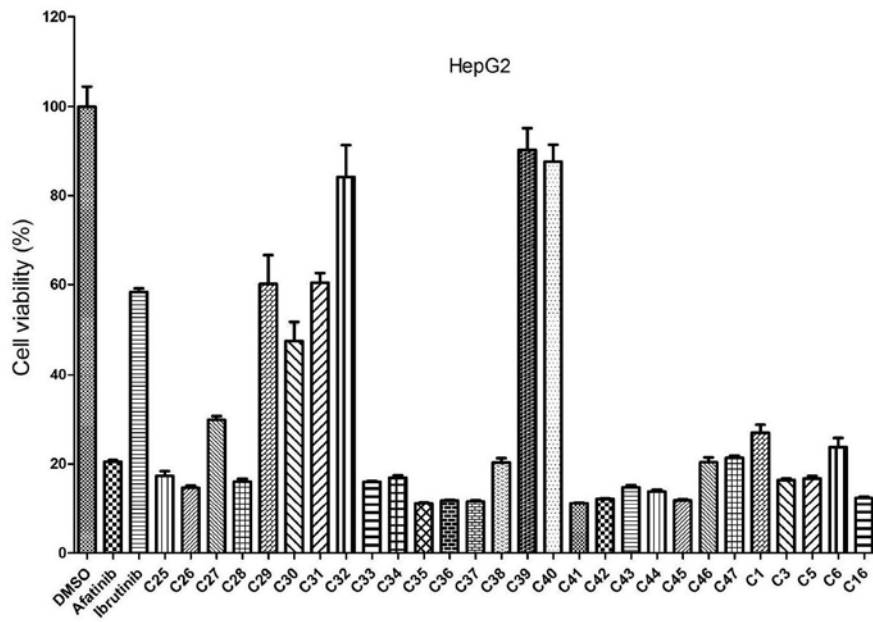


图1

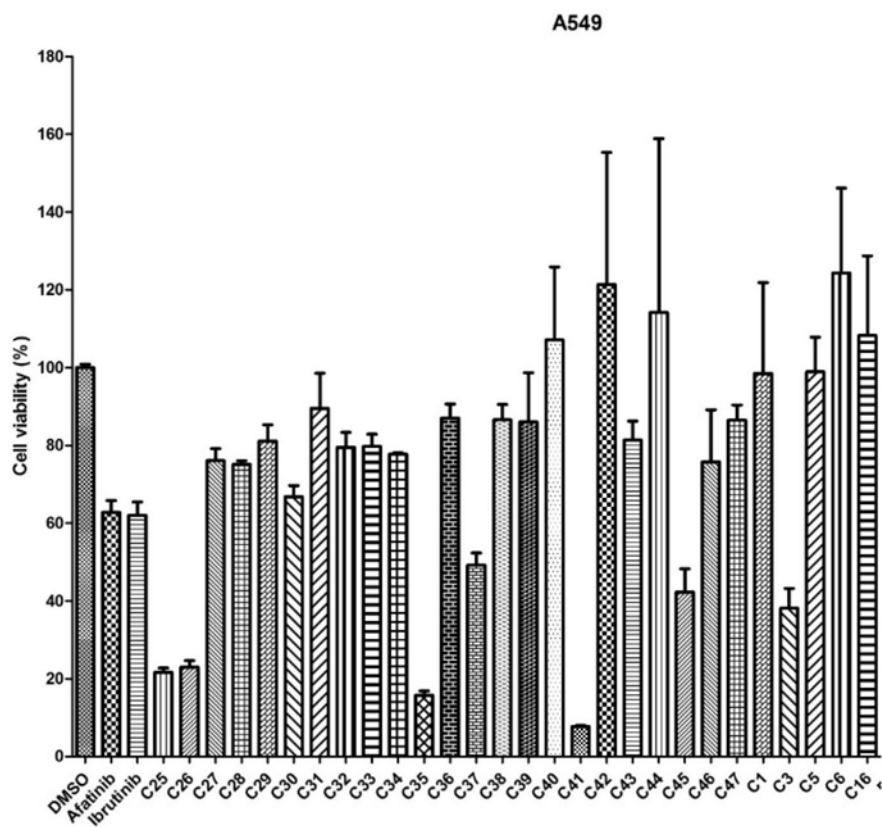


图2