



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105899493 B

(45)授权公告日 2019.03.29

(21)申请号 201580004207.9

(22)申请日 2015.01.16

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105899493 A

(43)申请公布日 2016.08.24

(30)优先权数据

61/928,746 2014.01.17 US

61/991,122 2014.05.09 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.07.11

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2015/050344 2015.01.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/107494 EN 2015.07.23

(73)专利权人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 陈卓亮 M·多尔 J·G·弗塔内

R·卡尔基 加藤充典

M·J·拉马尔切 L·B·佩雷斯

S·威廉姆斯 M·森齐克

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 隋晓平 黄革生

(51)Int.Cl.

C07D 249/14(2006.01)

C07D 241/26(2006.01)

A61K 31/495(2006.01)

A61P 35/04(2006.01)

(56)对比文件

CN 102753177 A,2012.10.24,

WO 2008110611 A1,2008.09.18,

EP 0799617 A2,1997.10.08,

WO 2012027495 A1,2012.03.01,

WO 2005117909 A2,2005.12.15,

审查员 刘健颖

权利要求书10页 说明书76页

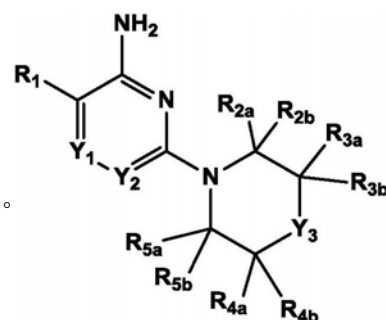
(54)发明名称

用于抑制SHP2活性的1-(三嗪-3-基/哒嗪-3-基)-哌(-嗪)啉衍生物及其组合物

(57)摘要

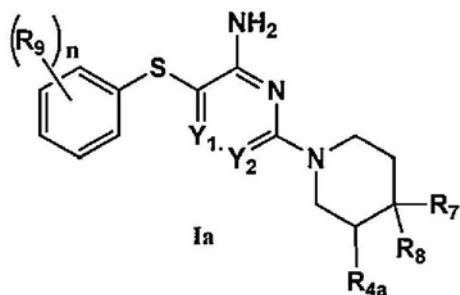
本发明涉及式(I)化合物,在式(I)中,Y<sub>1</sub>、Y<sub>2</sub>、Y<sub>3</sub>、R<sub>1</sub>、R<sub>2a</sub>、R<sub>2b</sub>、R<sub>3a</sub>、R<sub>3b</sub>、R<sub>4a</sub>、R<sub>4b</sub>、R<sub>5a</sub>、R<sub>5b</sub>与发明概述部分定义相同,本发明的化合物能够抑制SHP2活性,本发明还提供制备本发明化合物的方法、含有这些化合物的组合物以及使用这些化合物和组合物控制与SHP2活性异常相关的疾病或

病症的方法。



I

1. 式Ia的化合物或其可药用的盐：



其中：

n选自1、2、3、4和5；

Y<sub>1</sub>选自CH和N；

Y<sub>2</sub>选自CR<sub>6</sub>和N；

R<sub>4a</sub>选自氢和羟基；

R<sub>6</sub>选自氢、卤素、甲基和氨基-羰基；

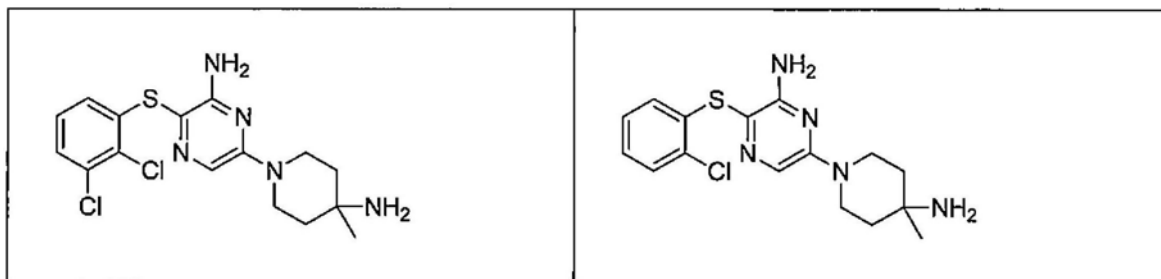
R<sub>7</sub>选自氢、甲基、卤素、羟基、羟基-甲基、苯基、吡啶基、吡嗪基和噻唑基；

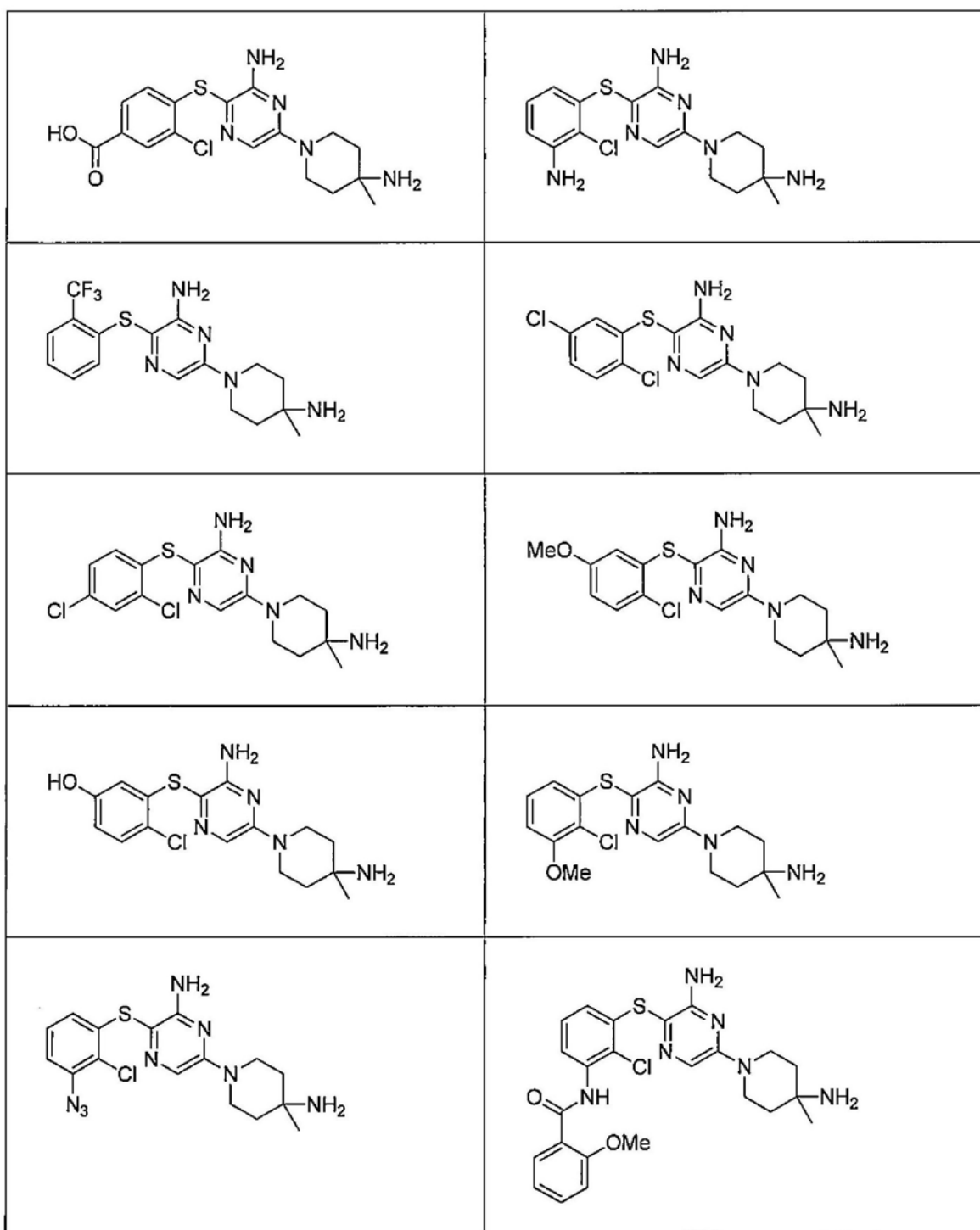
R<sub>8</sub>选自氨基、氨基-甲基、1-氨基乙基和甲基-氨基；

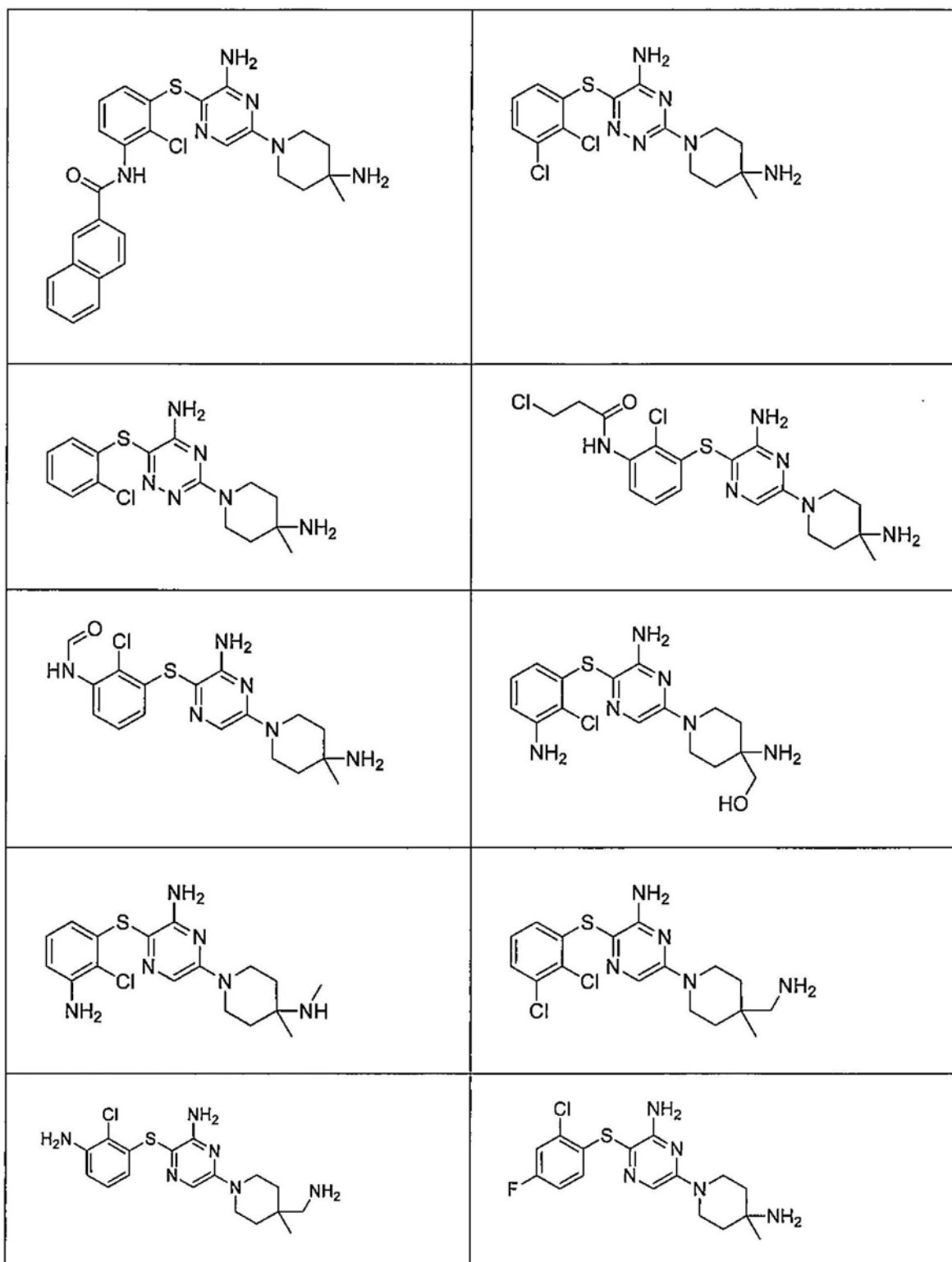
R<sub>9</sub>选自卤素、氨基、羟基、N<sub>3</sub>、C<sub>1-4</sub>烷基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、-C(O)OR<sub>10</sub>、-NHC(O)R<sub>10</sub>和四唑基；

R<sub>10</sub>选自氢、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、苯基和萘基；其中所述R<sub>10</sub>的苯基为未取代的或被甲氧基取代的。

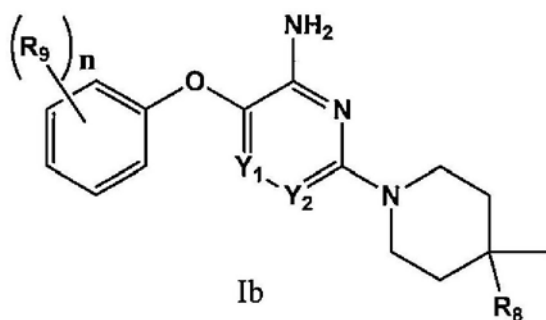
2. 权利要求1的化合物或其可药用的盐，所述化合物选自：








3.1b的化合物或其可药用的盐：



其中：

n选自1、2、3、4和5；

Y<sub>1</sub>选自CH和N；

Y<sub>2</sub>选自CR<sub>6</sub>和N；

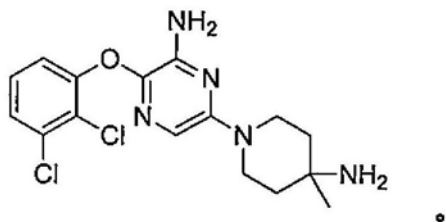
R<sub>6</sub>选自氢、卤素和甲基；

R<sub>8</sub>选自氨基、氨基-甲基、1-氨基乙基和甲基-氨基；

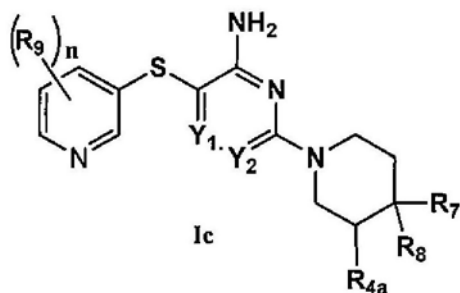
R<sub>9</sub>选自卤素、氨基、羟基、N<sub>3</sub>、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、-C(O)OR<sub>10</sub>、-NHC(O)R<sub>10</sub>和四唑基；

R<sub>10</sub>选自氢、苯基和萘基；其中所述R<sub>10</sub>的苯基为未取代的或被甲氧基取代的。

4. 权利要求3的化合物或其可药用的盐，所述化合物为：



5. 式Ic的化合物或其可药用的盐：



其中：

n选自1、2、3和4；

Y<sub>1</sub>选自CH和N；

Y<sub>2</sub>选自CR<sub>6</sub>和N；

R<sub>4a</sub>选自氢和羟基；

R<sub>6</sub>选自氢、卤素、甲基和氨基-羰基；

R<sub>7</sub>选自氢、甲基、卤素、羟基、羟基-甲基、苯基、吡啶基、吡嗪基和噻唑基；

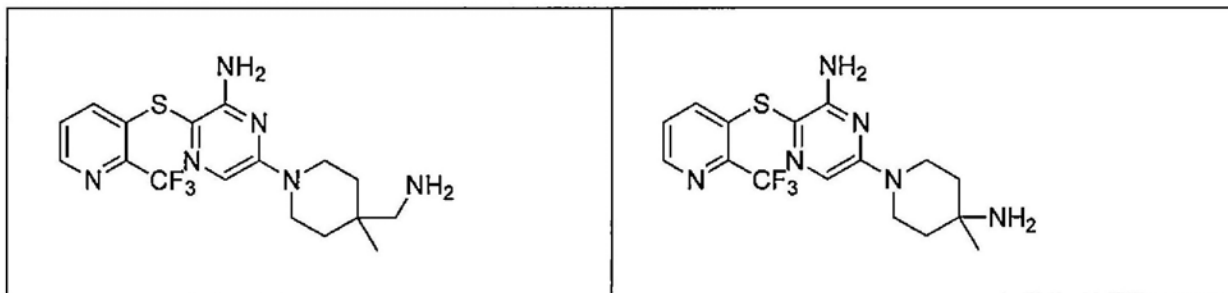
R<sub>8</sub>选自氨基、氨基-甲基、1-氨基乙基和甲基-氨基；

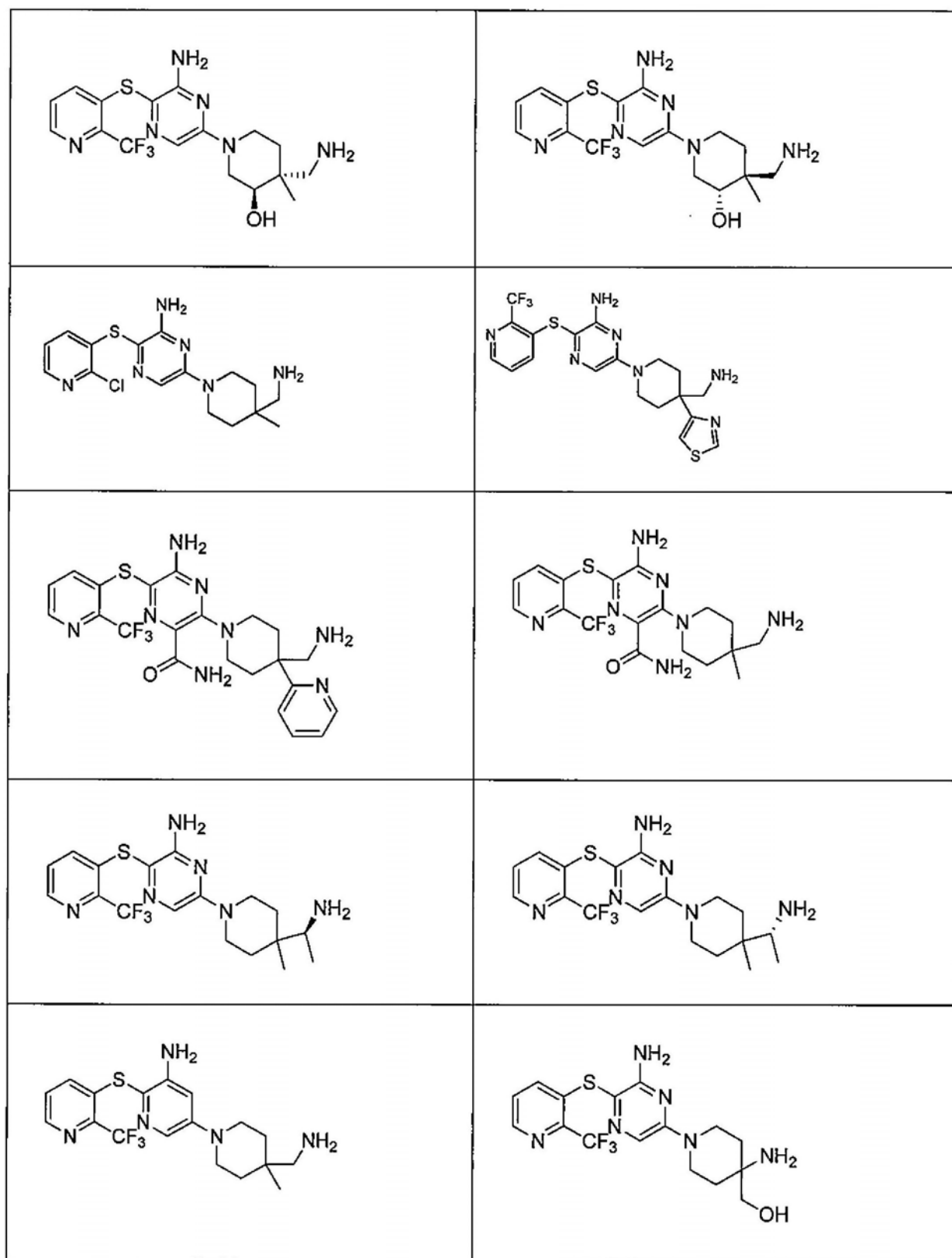
R<sub>9</sub>选自卤素、氨基、羟基、N<sub>3</sub>、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、-C(O)OR<sub>10</sub>、-NHC(O)R<sub>10</sub>

和四唑基；

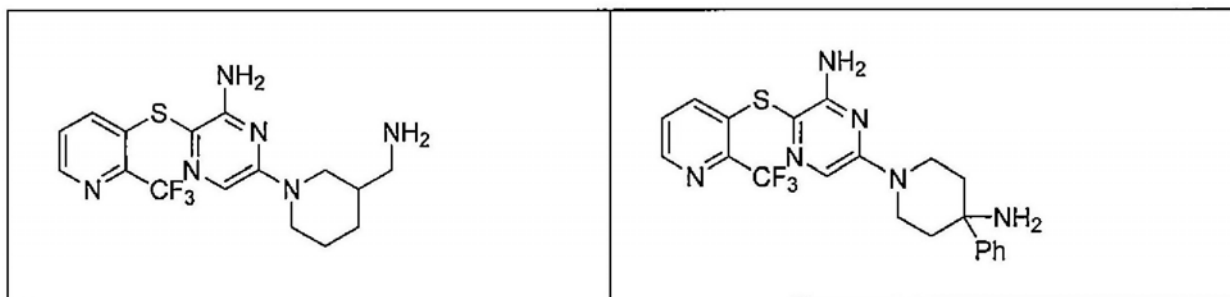
R<sub>10</sub>选自氢、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、苯基和萘基；其中所述R<sub>10</sub>的苯基为未取代的或被甲氧基取代的。

6. 化合物或其可药用的盐，所述化合物选自：

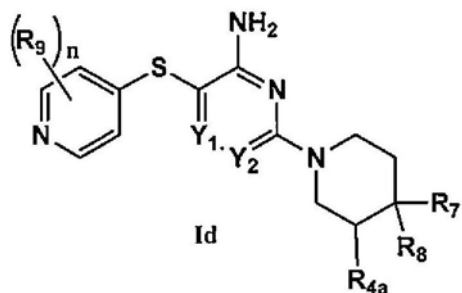








7. 式Id的化合物或其可药用的盐：



其中：

n选自1、2、3和4；

Y<sub>1</sub>选自CH和N；

Y<sub>2</sub>选自CR<sub>6</sub>和N；

R<sub>4a</sub>选自氢和羟基；

R<sub>6</sub>选自氢、卤素、甲基和氨基-羰基；

R<sub>7</sub>选自甲基、乙基、丙基、羟基、卤素、羟基-甲基、苯基、吡啶基、吡嗪基和噻唑基；

R<sub>8</sub>选自氨基、氨基-甲基、1-氨基乙基和甲基-氨基；

R<sub>9</sub>选自卤素、氨基、羟基、N<sub>3</sub>、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、-C(O)OR<sub>10</sub>、-NHC(O)R<sub>10</sub>和四唑基；

R<sub>10</sub>选自氢、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、苯基和萘基；其中所述R<sub>10</sub>的苯基为未取代的或被甲氧基取代的。

8. 化合物或其可药用的盐，所述化合物选自：


9. 药用组合物, 该药用组合物含有权利要求1-8中任一项的化合物或其可药用的盐和至少一种可药用的载体。

10. 权利要求1-8中任一项的化合物或其可药用的盐在制备预防或治疗由SHP2活性介

导的疾病或病症的药物中的用途。

11. 权利要求10的用途,其中所述由SHP2活性介导的疾病或病症选自努南综合征、豹皮综合征、幼年性骨髓单核细胞白血病、成神经细胞瘤、黑素瘤、急性骨髓性白血病、乳腺癌、食管癌、肺癌、结肠癌、头癌、头和颈鳞状细胞癌、胃癌、间变性大细胞淋巴瘤和成胶质细胞瘤。

## 用于抑制SHP2活性的1-(三嗪-3-基/哒嗪-3-基)-哌(-嗪)啉 衍生物及其组合物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及能够抑制SHP2活性的化合物。本发明还提供了本发明化合物的制备方法、含有此类化合物的药物制剂以及采用此类化合物和组合物治疗与SHP2活性异常有关的疾病或病症的方法。

### 背景技术

[0002] Src同源域-2磷酸酶 (SHP2) 是由PTPN11基因编码的非受体蛋白酪氨酸磷酸酶,其有助于多种细胞功能,包括增殖、分化、细胞周期维护和迁移。SHP2与通过Ras-有丝分裂原-活化的蛋白激酶、JAK-STAT或磷酸肌醇3-激酶AKT通路的信号有关。

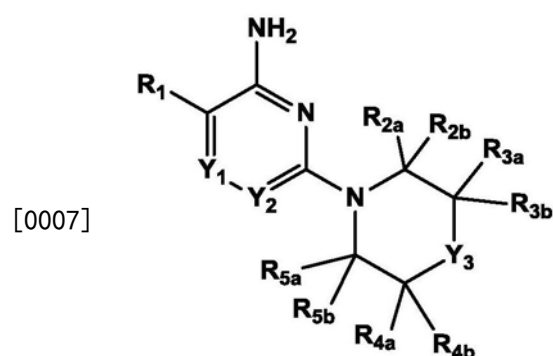
[0003] SHP2具有两个N-末端Src同源2结构域 (N-SH2和C-SH2)、催化结构域 (PTP) 和C-末端。这两个SH2结构域控制SHP2的亚细胞定位和功能调节。该分子以非活化的、自我抑制的通过包含N-SH2和PTP结构域残基的结合网状结构而稳定的构象存在。通过例如细胞因子或生长因子的刺激使得催化位点暴露,导致SHP2的酶的活化。

[0004] PTPN11基因的突变以及随后SHP2的突变已经在多种人类疾病中获得识别,例如努南综合征 (Noonan Syndrome)、豹皮综合征 (Leopard Syndrome)、幼年性骨髓单核细胞白血病、成神经细胞瘤、黑素瘤、急性骨髓性白血病以及乳腺癌、肺癌和结肠癌。因此,对于治疗各种疾病的新疗法的发展而言,SHP2代表可具有高吸引力的靶点。本发明化合物满足了用于抑制SHP2活性的小分子的需要。

### 发明内容

[0005] 发明概述

[0006] 一方面,本发明提供了式I化合物:



### I

[0008] 其中:Y<sub>1</sub>选自CH和N;Y<sub>2</sub>选自CR<sub>6</sub>和N;Y<sub>3</sub>选自NH和CR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>; R<sub>1</sub>为-XR<sub>1a</sub>;其中R<sub>1a</sub>选自C<sub>6-10</sub>芳基、C<sub>3-8</sub>环烷基、C<sub>3-8</sub>环烯基和含有1-4个选自N、O和S的杂原子的5-9元杂芳基;其中所述R<sub>1a</sub>的芳基或杂芳基被1-5个独立选自下列的R<sub>9</sub>基团取代:卤素、氨基、羟基、N<sub>3</sub>、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、羟基取代的-C<sub>1-4</sub>烷基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、氨基取代的-C<sub>1-4</sub>烷基、-C(O)OR<sub>10</sub>、-NHC

(O) R<sub>10</sub>和四唑基;X选自S(O)<sub>m</sub>、O、C(O)、COR<sub>11</sub>、CR<sub>10a</sub>R<sub>10b</sub>、NR<sub>11</sub>;其中m选自0、1和2;每个R<sub>10a</sub>和R<sub>10b</sub>独立选自氢、卤素和C<sub>1-4</sub>烷基;R<sub>11</sub>选自氢和C<sub>1-4</sub>烷基;R<sub>2a</sub>和R<sub>2b</sub>独立选自氢、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、氨基、羟基、C<sub>3-8</sub>环烷基和C<sub>1-4</sub>烷基-氨基;R<sub>3a</sub>和R<sub>3b</sub>独立选自卤素、羰基、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、氨基、羟基、C<sub>3-8</sub>环烷基和C<sub>1-4</sub>烷基-氨基;R<sub>4a</sub>和R<sub>4b</sub>独立选自氢、卤素、羰基、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、氨基、羟基、C<sub>3-8</sub>环烷基和C<sub>1-4</sub>烷基-氨基;R<sub>5a</sub>和R<sub>5b</sub>独立选自氢、羰基、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、氨基、羟基、C<sub>3-8</sub>环烷基和C<sub>1-4</sub>烷基-氨基;其中选自R<sub>2a</sub>、R<sub>3a</sub>、R<sub>4a</sub>、R<sub>5a</sub>、R<sub>6a</sub>和R<sub>7</sub>的任意两个基团可以形成5-6元不饱和的或部分饱和的环;R<sub>6</sub>选自氢、卤素、氰基、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、氨基-羰基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷氧基、羟基取代的C<sub>1-4</sub>烷基、氨基取代的C<sub>1-4</sub>烷基、-S(O)<sub>1-2</sub>R<sub>6a</sub>、-C(S)R<sub>6a</sub>、-C(O)NR<sub>6a</sub>R<sub>6b</sub>、-C(NH)NR<sub>6a</sub>R<sub>6b</sub>和-NR<sub>6a</sub>C(O)R<sub>6b</sub>;其中R<sub>6a</sub>和R<sub>6b</sub>独立选自氢和C<sub>1-4</sub>烷基;R<sub>7</sub>选自氢、C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、羟基、羟基取代的-C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>3-6</sub>环烷基、苯基和含有至多3个选自O、S和N的杂原子的5元杂芳基;R<sub>8</sub>选自氨基、氨基取代的-C<sub>1-4</sub>烷基和甲基-氨基。

[0009] 第二方面,本发明提供了药用组合物,其含有式I化合物或其N-氧化物衍生物、互变异构体、单独的异构体及其异构体混合物;或其药学上可接受的盐,以及与之混合的一种或多种适当的赋形剂。

[0010] 第三方面,本发明提供了在动物中治疗疾病的方法,其中SHP2活性的调节可以预防、抑制或改善该疾病的病理和/或症候,该方法包括给予所述动物治疗有效量的式I化合物或其N-氧化物衍生物、单独的异构体及其异构体混合物或其药学上可接受的盐。

[0011] 第四方面,本发明提供了在动物中治疗疾病的方法,其中SHP2活性的调节可以预防、抑制或改善该疾病的病理和/或症候,该方法包括同时或顺序给予所述动物治疗有效量的式I化合物或其N-氧化物衍生物、单独的异构体及其异构体混合物或其药学上可接受的盐和与之组合的抗癌治疗药物。

[0012] 第五方面,本发明提供了式I化合物在生产药物中的用途,所述药物用于在动物中治疗其中SHP2活性有助于疾病的病理和/或症候的疾病。

[0013] 第六方面,本发明提供了式I化合物及其N-氧化物衍生物、前药衍生物、保护的衍生物、单独的异构体及其异构体化合物以及其药学上可接受的盐的制备方法。

[0014] 定义

[0015] 除非另有说明,在上下文中使用的通用术语优选在本公开内容中具有下列意义,而更通用的术语无论在何处使用,均可以彼此独立被更明确的定义替代,或者因此可以更详细地定义本发明的实施方案:

[0016] “烷基”是指具有至多20个碳原子的完全饱和的支链或非支链烃基。除非另有规定,烷基是指具有1-7个碳原子的烃基(C<sub>1-7</sub>烷基)或1-4个碳原子的烃基(C<sub>1-4</sub>烷基)。烷基的代表性示例包括但不限于甲基、乙基、正-丙基、异-丙基、正-丁基、仲-丁基、异-丁基、叔-丁基、正-戊基、异戊基、新戊基、正-己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、正-庚基、正-辛基、正-壬基、正-癸基等。取代的烷基是包含一或多个(例如1、2或3个)取代基的烷基,所述取代基选自卤素、羟基或烷氧基。卤素取代的烷基(卤素-烷基)和卤素取代的烷氧基(卤素-烷氧基)可以是直链的或支链的,包括甲氧基、乙氧基、二氟甲基、三氟甲基、五氟乙基、二氟甲氧基、三氟甲氧基等。

[0017] “芳基”是指含有6-10个环碳原子的单环或稠合的双环芳族环集合。例如,芳基

可以是苯基或萘基,优选苯基。“亚芳基”是指衍生自芳基的二价基团。

[0018] “杂芳基”如上述芳基所定义,其中一或多个环成员为杂原子。例如C<sub>5-10</sub>杂芳基最少含有5个为碳原子的成员,但是这些碳原子可以被杂原子替代。因此,C<sub>5-10</sub>杂芳基包括吡啶基、吡咯基、呋喃基、噻吩基、噻唑基、苯并呋喃基、苯并吡喃基、苯并噻吩基、苯并[1,3]间二氧杂环戊烯、咪唑基、苯并咪唑基、嘧啶基、呋喃基、噻吩基、异噻吩基、三唑基、四唑基、吡唑基、噻吩基等。

[0019] “环烷基”是指饱和的或部分不饱和的单环、稠合双环或桥连的多环体系,其含有指定的环原子数目。例如,C<sub>3-10</sub>环烷基包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环己烯基等。

[0020] “杂环烷基”是指本申请中定义的环境基,前提是一或多个环碳被选自下列的基团代替:-O-、-N=、-NR-、-C(O)-、-S-、-S(O)-或-S(O)<sub>2</sub>-,其中R为氢、C<sub>1-4</sub>烷基或氮保护基团。例如,本申请中使用的描述本发明化合物的C<sub>3-8</sub>杂环烷基包括吗啉代、吡咯烷基、吡咯烷基-2-酮、哌嗪基、哌啶基、哌啶基酮、1,4-二氧杂-8-氮杂-螺[4.5]癸-8-基、硫代吗啉代、磺基(sulfano)吗啉代、磺酰基(sulfono)吗啉代等。

[0021] “卤素”(或卤代)优选代表氯或氟,但是也可以是溴或碘。

[0022] “SHP2”是指Src同源域-2磷酸酶,也称为SH-PTP2、SH-PTP3、Syp、PTP1D、PTP2C、SAP-2或PTPN11。

[0023] 癌症携带的“PTPN11突变”包括但不限于:N58Y;D61Y、V;E69K;A72V、T、D;E76G、Q、K(ALL);G60A;D61Y;E69V;F71K;A72V;T73I;E76G、K;R289G;G503V(AML);G60R、D61Y、V、N;Y62D;E69K;A72T、V;T73I;E76K、V、G、A、Q;E139D;G503A、R;Q506P(JMML);G60V;D61V;E69K;F71L;A72V;E76A(MDS);Y63C(CMML);Y62C;E69K;T507K(成神经细胞瘤);V46L;N58S;E76V(肺癌);R138Q(黑素瘤);E76G(结肠癌)。

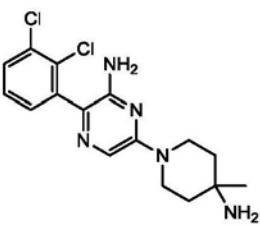
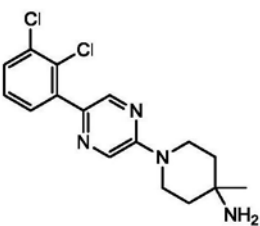
[0024] 式I化合物可以具有不同的异构体形式。例如,任何不对称碳原子均可以存在(R)-、(S)-或(R,S)-构型,优选(R)-或(S)-构型。双键上的取代基或者特别是环上的取代基可以存在顺(=Z-)或反(=E-)形式。因此化合物可以以异构体的混合物存在,或者优选以纯异构体形式存在,优选为纯非对映异构体或纯对映体。

[0025] 当采用复数形式(例如化合物、盐)时,其包括单数形式(例如单个化合物、单个盐)。“一个化合物”不排除(例如在药物制剂中)存在一个以上的式I化合物(或其盐),“一个”仅表示不定冠词。因此“一个”可以优选理解为“一或多个”,或者较少优选“一个”。

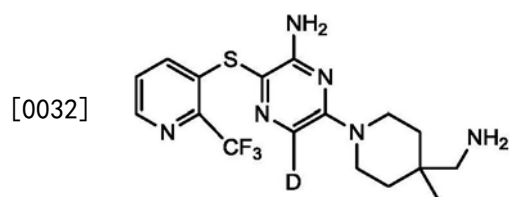
[0026] 无论何时提及式I化合物时,其还应当包括该化合物和/或其互变异构体的N-氧化物。

[0027] 术语“和/或其N-氧化物、其互变异构体和/或其(优选药学上可接受的)盐”特别是指式I化合物可以如此存在,或者以与其N-氧化物的混合物存在,为互变异构体(例如由于酮-烯醇、内酰胺-内酰亚胺、酰胺-亚胺酸或烯胺-亚胺互变异构现象)或者为(例如等价反应引起的)与其互变异构体的混合物,或者为式I化合物的盐和/或任何这些形式或者两种或多种此类形式的混合物。

[0028] 对于下列化合物而言,与吡嗪环连接的NH<sub>2</sub>基团对于效能而言是非常关键的。晶体结构分析显示了NH<sub>2</sub>基团与SHP2残基E250的骨架羰基的分子内相互作用:

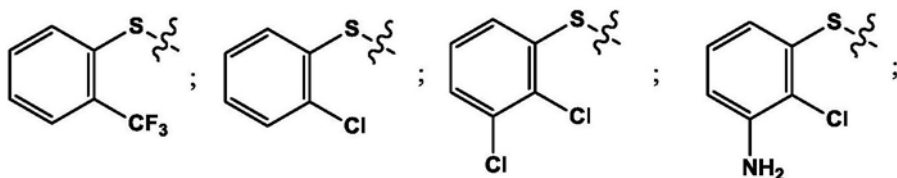
	化合物	SHP2 IC <sub>50</sub>
[0029]		70nM
[0030]		5.7μM

[0031] 本发明还包括本发明化合物或其药学上可接受的盐的所有适当的同位素变体。本发明化合物或其药学上可接受的盐的同位素变体被定义为其中至少一个原子被具有相同原子数但是原子质量不同于自然界中常见原子质量的原子所代替的化合物或其盐。可以掺入本发明化合物和其药学上可接受的盐的同位素的示例包括但不限于氢、碳、氮和氧的同位素,例如<sup>2</sup>H、<sup>3</sup>H、<sup>11</sup>C、<sup>13</sup>C、<sup>14</sup>C、<sup>15</sup>N、<sup>17</sup>O、<sup>18</sup>O、<sup>35</sup>S、<sup>18</sup>F、<sup>36</sup>Cl和<sup>123</sup>I。本发明化合物及其药学上可接受的盐的某些同位素变体(例如,那些其中掺入放射性同位素例如<sup>3</sup>H或<sup>14</sup>C的变体)可以用于药物和/或底物组织分布研究。在具体的示例中,可以使用<sup>3</sup>H和<sup>14</sup>C同位素,因其易于制备和检测。在其它示例中,由于具有较好的代谢稳定性,采用同位素例如<sup>2</sup>H的取代可以提供某些治疗优势,例如体内半衰期延长或者剂量需求降低。本发明化合物或其药学上可接受的盐的同位素变体通常可以通过常规工艺采用适当试剂的适当同位素变体而制备。例如,本发明化合物可以以下面所示的氘化形式存在:

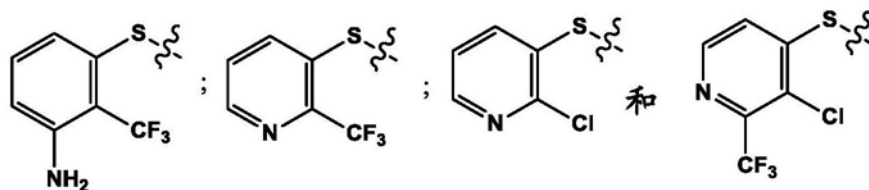
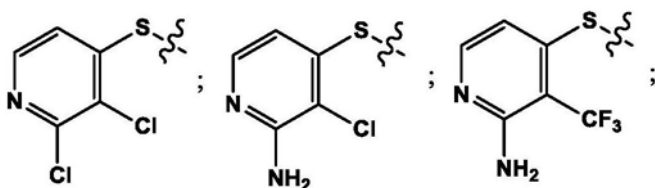


[0033] 优选实施方案的说明

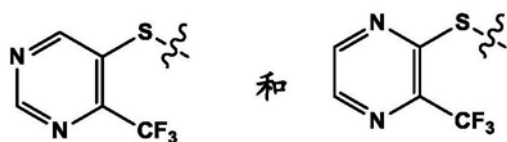
[0034] 本发明涉及能够抑制SHP2活性的化合物。在本发明的一个方面,对于式I化合物而言,-XR<sub>1a</sub>为-SR<sub>1a</sub>,选自:



[0035]

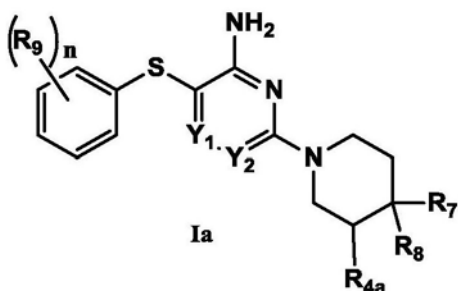
[0036] 在本发明的另一个方面, -XR<sub>1a</sub>为-SR<sub>1a</sub>, 选自:

[0037]



[0038] 在本发明的另一个方面, 式I化合物为式Ia化合物或其可药用的盐:

[0039]

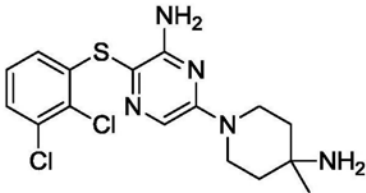
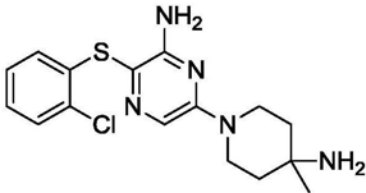
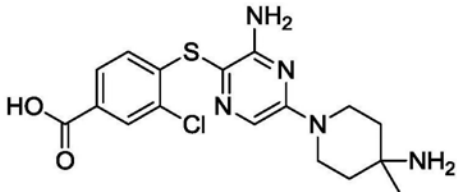
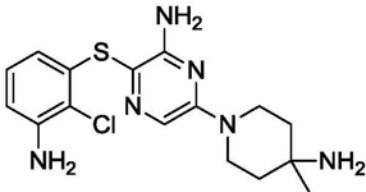
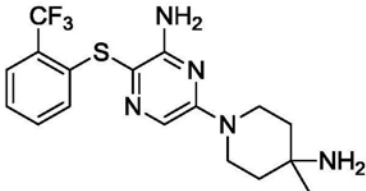
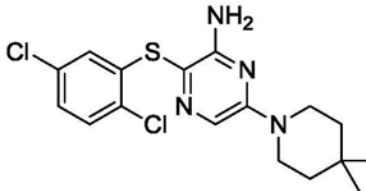
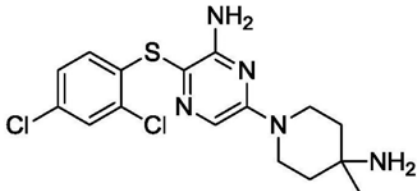
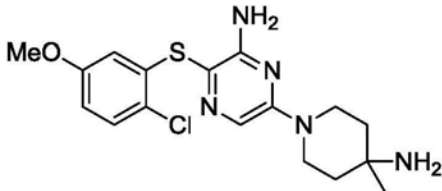
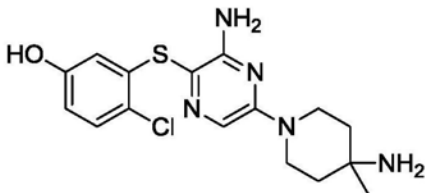
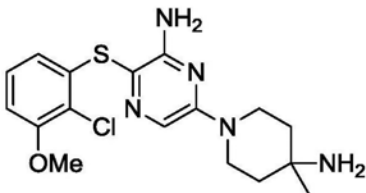
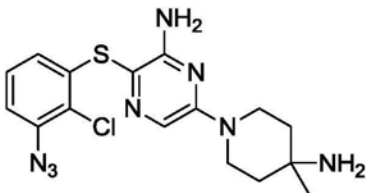
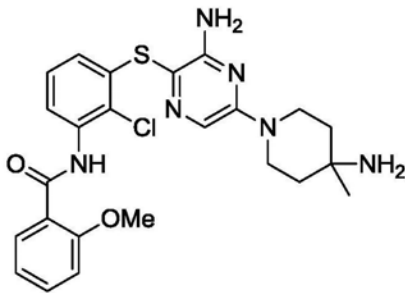


[0040] 其中: n选自1、2、3、4和5; Y<sub>1</sub>选自CH和N; Y<sub>2</sub>选自CR<sub>6</sub>和N; R<sub>4a</sub>选自氢和羟基; R<sub>6</sub>选自氢、卤素、甲基和氨基-羰基; R<sub>7</sub>选自氢、甲基、卤素、羟基、羟基-甲基、苯基、吡啶基、吡嗪基和噻唑基; R<sub>8</sub>选自氨基、氨基-甲基、1-氨基乙基和甲基-氨基; R<sub>9</sub>选自卤素、氨基、羟基、N<sub>3</sub>、C<sub>1-4</sub>烷基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、-C(O)OR<sub>10</sub>、-NHC(O)R<sub>10</sub>和四唑基; R<sub>10</sub>选自氢、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、苯基和萘基; 其中所述R<sub>10</sub>的苯基是未取代的 或者被甲氧基取代。

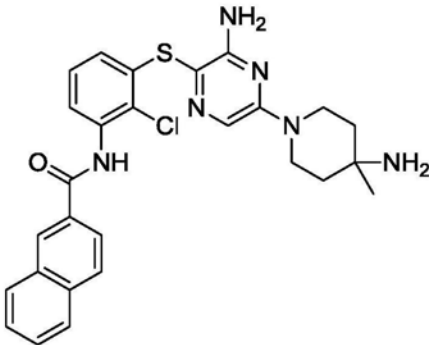
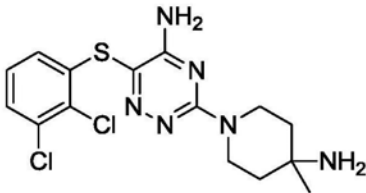
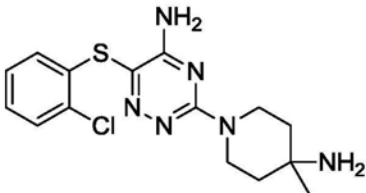
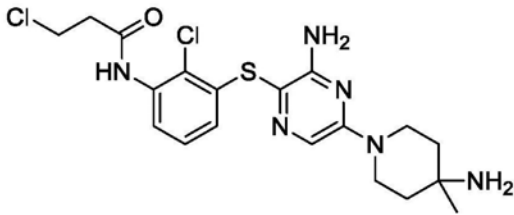
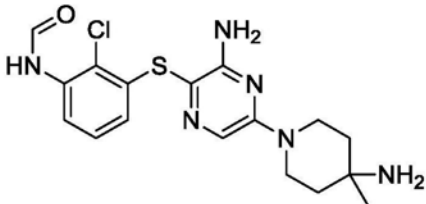
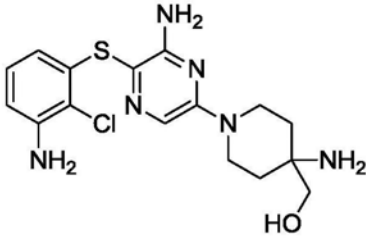
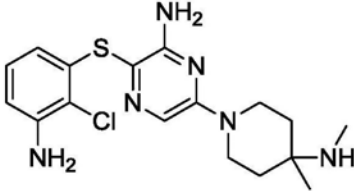
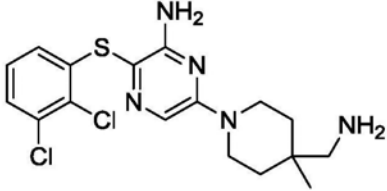
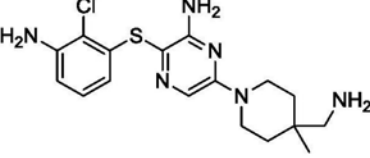
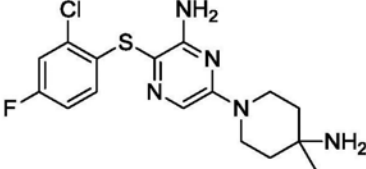
[0041] 在本发明的另外一个方面, 化合物或其可药用的盐选自:



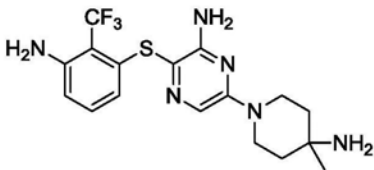
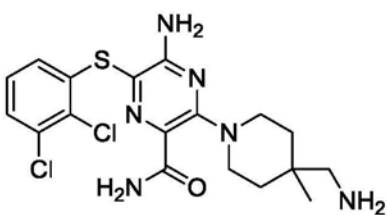
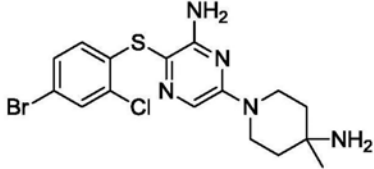
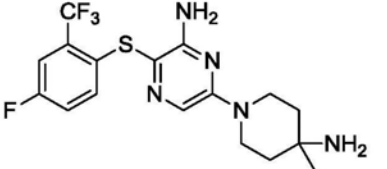
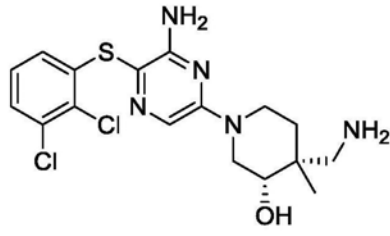
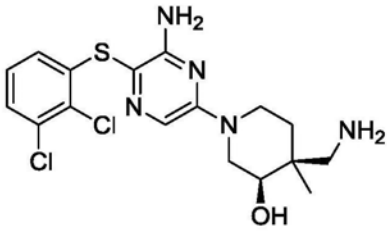
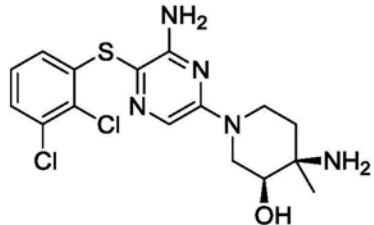
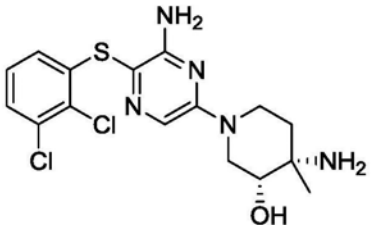
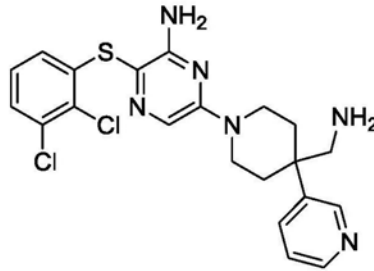
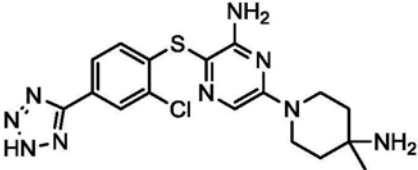
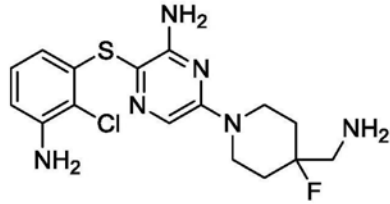
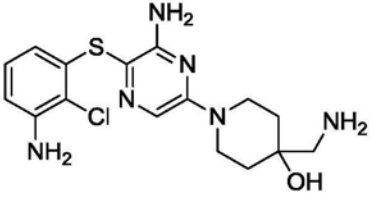
[0042]

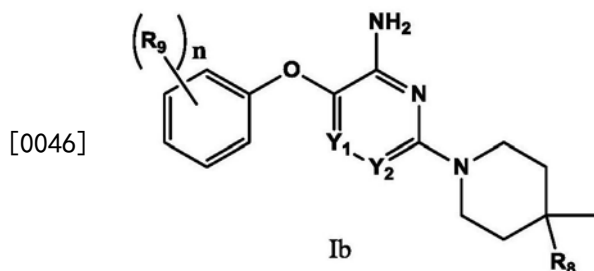
[0043]

[0044]

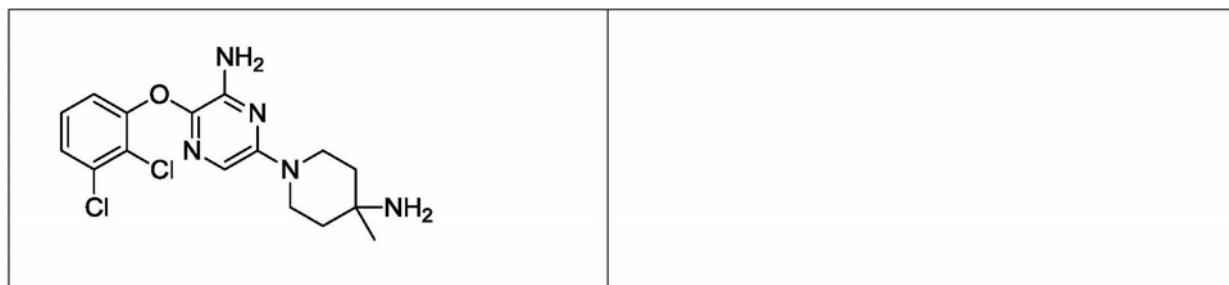
[0045] 本发明的另外一方面为式Ib的化合物或其可药用的盐：



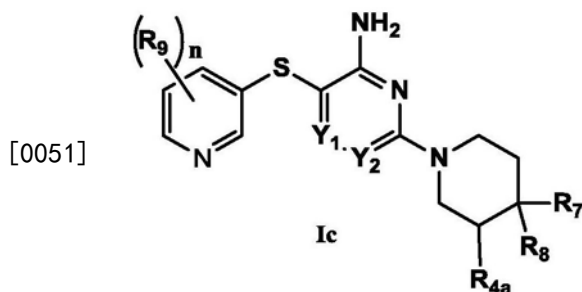
[0047] 其中：n选自1、2、3、4和5；Y<sub>1</sub>选自CH和N；Y<sub>2</sub>选自CR<sub>6</sub>和N；R<sub>6</sub>选自氢、卤素和甲基；R<sub>8</sub>选自氨基、氨基-甲基、1-氨基乙基和甲基-氨基；R<sub>9</sub>选自卤素、氨基、羟基、N<sub>3</sub>、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、-C(O)OR<sub>10</sub>、-NHC(O)R<sub>10</sub>和四唑基；R<sub>10</sub>选自氢、苯基和萘基；其中所述R<sub>10</sub>的苯基是未取代的或者被甲氧基取代。

[0048] 本发明的另外一方面为选自下列的化合物或其可药用的盐：

[0049]



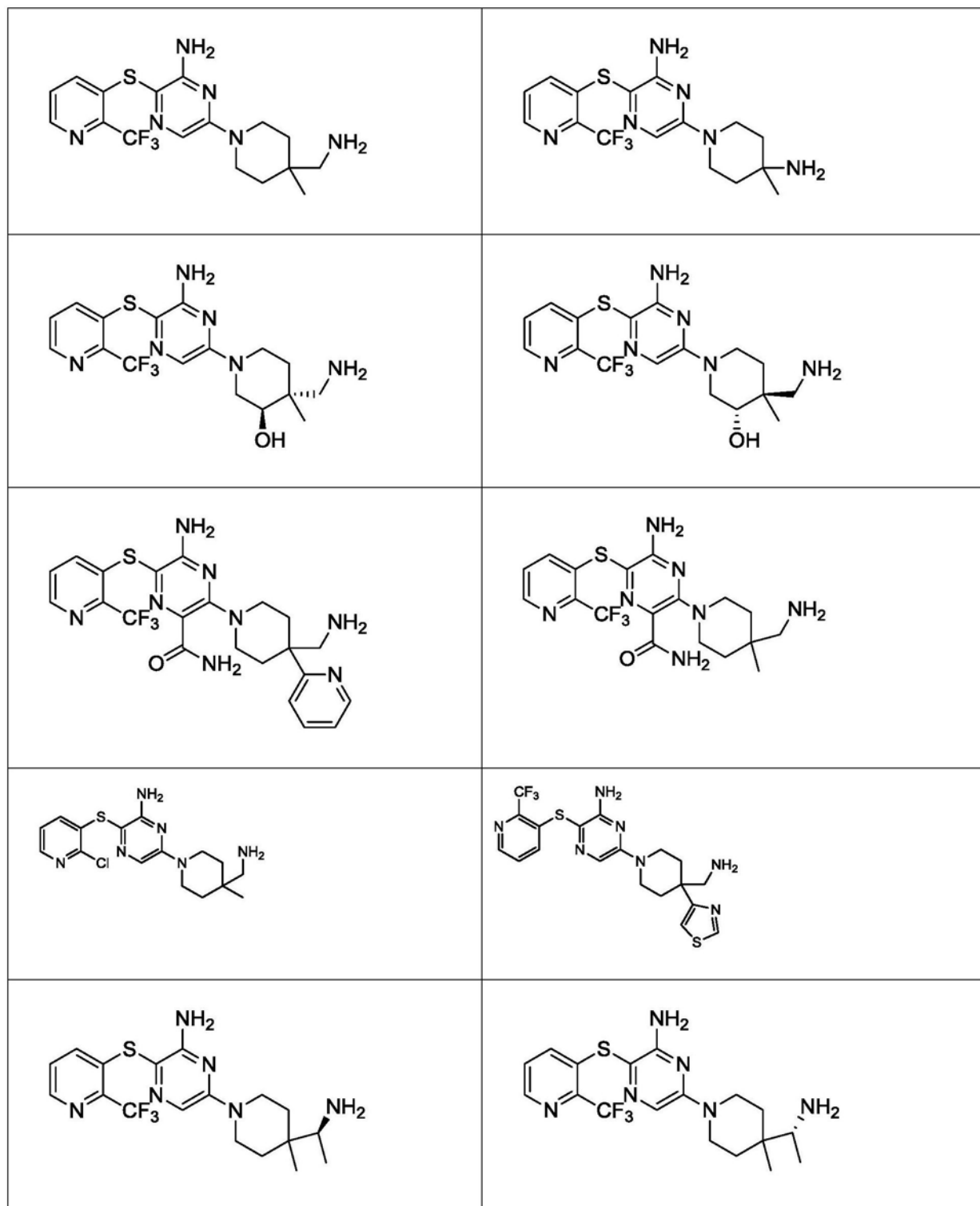
[0050] 本发明的另外一方面为式Ic的化合物或其可药用的盐：



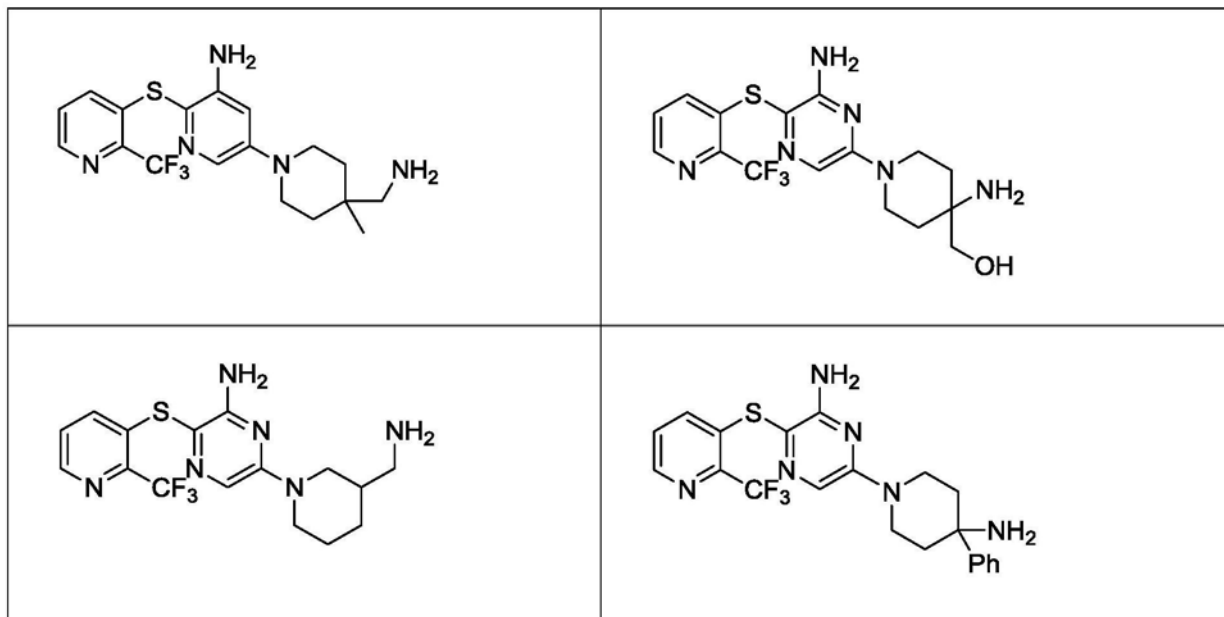
[0052] 其中：n选自1、2、3和4；Y<sub>1</sub>选自CH和N；Y<sub>2</sub>选自CR<sub>6</sub>和N；R<sub>4a</sub>选自氢和羟基；R<sub>6</sub>选自氢、卤素、甲基和氨基-羰基；R<sub>7</sub>选自甲基、羟基、卤素、羟基-甲基、苯基、吡啶基、吡嗪基和噻唑基；R<sub>8</sub>选自氨基、氨基-甲基、1-氨基乙基和甲基-氨基；R<sub>9</sub>选自卤素、氨基、羟基、N<sub>3</sub>、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、-C(O)OR<sub>10</sub>、-NHC(O)R<sub>10</sub>和四唑基；R<sub>10</sub>选自氢、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、苯基和萘基；其中所述R<sub>10</sub>的苯基是未取代的或者被甲氧基取代。

[0053] 本发明的另外一方面为选自下列的化合物或其可药用的盐：

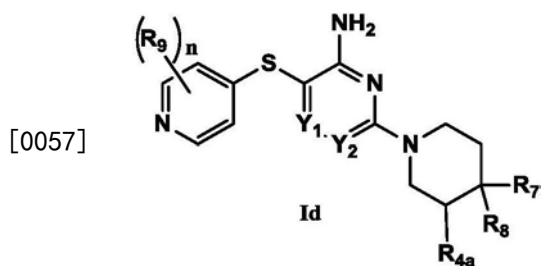
[0054]



[0055]



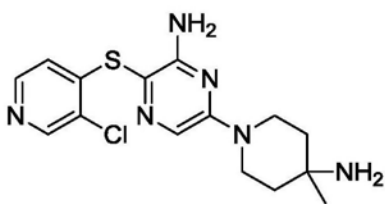
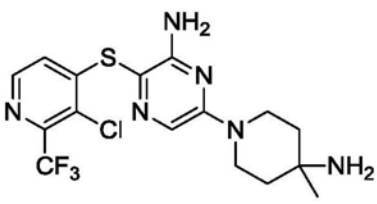
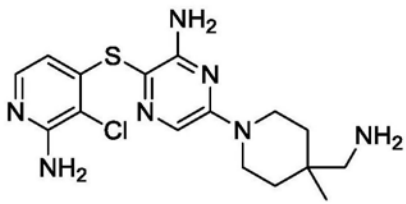
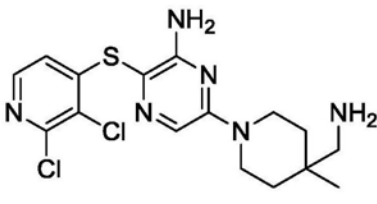
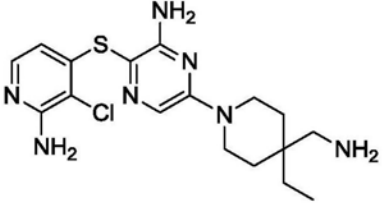
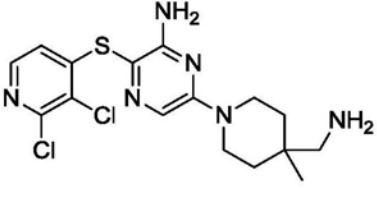
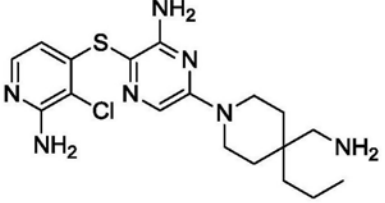
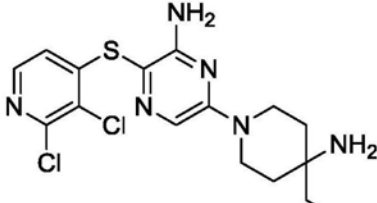
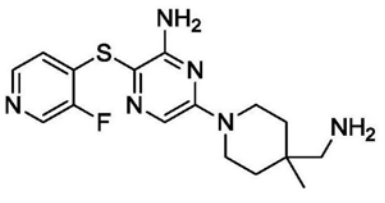
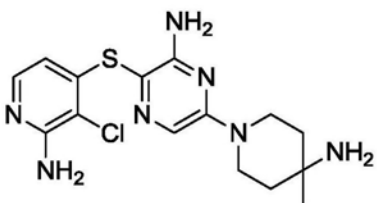
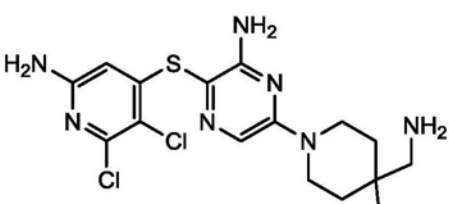
[0056] 本发明的另外一方面为式Id的化合物或其可药用的盐：



[0058] 其中： $n$ 选自1、2、3和4； $Y_1$ 选自CH和N； $Y_2$ 选自CR<sub>6</sub>和N； $R_{4a}$ 选自氢和羟基； $R_6$ 选自氢、卤素、甲基和氨基-羰基； $R_7$ 选自甲基、乙基、丙基、羟基、卤素、羟基-甲基、苯基、吡啶基、吡嗪基和噻唑基； $R_8$ 选自氨基、氨基-甲基、1-氨基乙基和甲基-氨基； $R_9$ 选自卤素、氨基、羟基、N<sub>3</sub>、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、-C(O)OR<sub>10</sub>、-NHC(O)R<sub>10</sub>和四唑基； $R_{10}$ 选自氢、卤素-C<sub>1-4</sub>烷基、苯基和萘基；其中所述R<sub>10</sub>的苯基是未取代的或者被甲氧基取代。

[0059] 在发明的另外一方面为选自下列的化合物或其可药用的盐：

[0060]

[0061] 药理和用途

[0062] Src同源域-2磷酸酶 (SHP2) 为PTPN11基因编码的蛋白酪氨酸磷酸酶, 其有助于多种细胞功能, 包括增殖、分化、细胞周期维护和迁移。SHP2 与通过Ras-有丝分裂原-活化的蛋白激酶、JAK-STAT或磷酸肌醇3-激酶 AKT通路的信号有关。SHP2通过受体酪氨酸激酶 (例如ErbB1、ErbB2和 c-Met) 介导了Erk1和Erk2 (Erk1/2、Erk) MAP激酶的激活。

[0063] SHP2具有两个N-末端Src同源2结构域 (N-SH2和C-SH2)、催化结构域 (PTP) 和C-末端尾部。这两个SH2结构域控制SHP2的亚细胞定位和功能调节。该分子以非活化的构象存在, 其通过包含源自N-SH2和PTP 结构域的残基的结合网状结构而抑制其自身的活性。响应于生长因子刺激, SHP2通过其SH2结构域与船坞蛋白例如Gab1和Gab2上的特殊的酪氨酸-磷酸化位点结合。这诱发了构象的改变, 从而导致SHP2激活。

[0064] PTPN11的突变已经在多种人类疾病中获得识别, 例如努南综合征、豹皮综合征、幼年性骨髓单核细胞白血病、成神经细胞瘤、黑素瘤、急性 骨髓性白血病以及乳腺癌、肺癌和结肠癌。SHP2是各种受体酪氨酸激酶 的重要的下游信号分子, 包括血小板衍生的生长因子 (PDGF-R)、成纤维细胞生长因子 (FGF-R) 和表皮生长因子 (EGF-R) 的受体。SHP2也是有丝分裂 原活化蛋白 (MAP) 激酶通路激活的重要的下游信号分子, 该通路可以导致 细胞转化, 这是癌症发展的先决条件。SHP2的敲除显著地抑制具有SHP2 突变或EML4/ALK易位的肺癌细胞系的细胞生长以及EGFR扩增的乳腺癌和食道癌的细胞生长。SHP2还可以激活胃癌、间变性大细胞淋巴瘤和 恶性胶质瘤的下游致癌基因。

[0065] 努南综合征 (NS) 和豹皮综合征 (LS) -PTPN11突变导致LS (multiple lentigenes、心电图传导异常、眼增宽、肺动脉狭窄、生殖器异常、生长迟 缓、感觉神经性耳聋) 和NS (先天性异常, 包括心脏缺陷、颅面异常和身材 矮小)。两种疾病是常染色体显性综合征家族的一部分, 该综合征是正常细 胞生长和分化所需要的作为RAS/RAF/ME/ERK丝裂原活化蛋白激酶通路 的组成部分的生殖系突变导致的。该通路的异常调节具有深刻的影响, 特别是对心脏发育有深刻影响, 从而导致各种异常, 包括瓣膜 (valvuloseptal) 缺陷和/或肥大性心肌病 (HCM)。已经确定MAPK信号通路的变化对这些 疾病而言非常关键, 而且在人类中也已鉴定了这条通路中的几个候选基因, 其中包括KRAS、NRAS、SOS1、RAF1、BRAF、MEK1、MEK2、SHOC2 和CBL的突变。在NS和LS中最常见的突变基因是PTPN11。在~50%的 NS病例和几乎所有具有NS某些特征的LS患者中发现有PTPN11 (SHP2) 中的生殖系突变。对于NS而言, 蛋白质中的Y62D和Y63C取代是基本 不变的, 是最常见的突变。这两种突变影响了SHP2的催化性非活化构象, 但不影响磷酸酶与其磷酸化信号配对物的结合。

[0066] 幼年性骨髓单核细胞白血病 (JMML) -PTPN11 (SHP2) 中的体细胞突变 发生在约35%的JMML患者中, 一种幼年期骨髓增生性疾病 (MPD)。这 些功能获得性突变通常是N-SH2结构域或磷酸酶结构域中的点突变, 其能 够阻止催化结构域和N-SH2结构域之间的自抑制, 导致SHP2活性。

[0067] 急性骨髓性白血病-PTPN11突变在下列疾病中已经获得鉴定: ~10%的小儿急性白血病, 例如骨髓增生异常综合征 (MDS); ~7%的B细胞 急性淋巴细胞性白血病 (B-ALL); 和~4%的急性骨髓性白血病 (AML)。

[0068] NS和白血病突变导致位于由自抑制SHP2构型中N-SH2和PTP结构 域形成的界面处的氨基酸的改变, 破坏了抑制性分子内相互作用, 导致了 催化结构域的高度活性。

[0069] SHP2作为受体酪氨酸激酶 (RTK) 信号中的正调节物。包含RTK改变 (EGFR<sup>amp</sup>、



Her2<sup>amp</sup>、FGFR<sup>amp</sup>、Met<sup>amp</sup>、易位的/激活的RTK,即ALK、BCR/ABL)的癌症包括食管癌、乳腺癌、肺癌、结肠癌、胃癌、神经胶质瘤、头和颈癌。

[0070] 食管癌(或食道癌)是食管的恶性肿瘤。有各种亚型,主要是鳞状细胞癌(<50%)和腺癌。RTK表达率在食管腺癌和鳞状细胞癌中很高。因此,本发明的SHP2抑制剂可以被用于创新的治疗策略。

[0071] 乳腺癌是一种重要的癌症类型,是女性死亡的主要原因,其中患者对现有药物出现抗性。乳腺癌有四种主要亚型,包括luminal A、luminal B、Her2样和三阴性/Basal-样。三阴性乳腺癌(TNBC)为侵袭性乳腺癌,缺乏特异性靶向疗法。表皮生长因子受体I(EGFR)成为TNBC的有希望的靶点。通过SHP2对Her2以及EGFR的抑制可能是乳腺癌的希望疗法。

[0072] 肺癌—NSCLC是癌症相关死亡率的主要原因,约占85%的肺癌(主要是腺癌和鳞状细胞癌)。尽管细胞毒药物化疗仍然是治疗的一个重要组成部分,基于肿瘤中的基因改变例如EGFR和ALK的改变的靶向疗法更有可能通过靶向治疗获益。

[0073] 结肠癌—已知结肠直肠肿瘤的大约30%至50%是有突变的(异常)KRAS,10%至15%的结肠直肠癌中发现BRAF突变。对于已证明过度表达EGFR的结肠直肠肿瘤患者亚群而言,这些患者对于抗-EGFR治疗表现出良好的临床响应。

[0074] 胃癌是最普遍的癌症类型之一。酪氨酸激酶的异常表达(通过在胃癌细胞中的异常酪氨酸磷酸化反映)在本领域中是公知的。三种受体酪氨酸激酶(c-met(HGF受体)、FGF受体2和erbB2/neu)在胃癌中经常扩增。因此,不同信号通路的破坏可能有助于不同种类的胃癌的发展。

[0075] 成神经细胞瘤为发育中的交感神经系统的小儿肿瘤,约占儿童癌症的8%。间变性淋巴瘤激酶(ALK)基因的基因组改变已被公认为是成神经细胞瘤的发病机理。

[0076] 头颈鳞状细胞癌(SCCHN)。高水平的EGFR表达与各种癌症的预后不良和放疗抗性有关,主要是头颈鳞状细胞癌(SCCHN)。EGFR信号的阻断导致受体刺激、细胞增殖的抑制以及浸润和转移的降低。因此,EGFR是SCCHN新抗癌疗法的主要目标。

[0077] 本发明涉及能够抑制SHP2活性的化合物。本发明还提供了本发明化合物以及包含此类化合物的药物制剂的制备方法。本发明的另一方面涉及治疗SHP2-介导的疾病的方法,该方法包括给予需要的患者治疗有效量的本发明概述中定义的式I化合物。

[0078] 在某些实施方案中,本发明涉及上述方法,其中所述SHP2-介导的疾病为选自下列的疾病,但不限于:JMML;AML;MDS;B-ALL;成神经细胞瘤;食管癌;乳腺癌;肺癌;结肠癌;胃癌;头颈癌。

[0079] 本发明化合物还可以用于治疗与SHP2活性异常相关的其它疾病或病症。因此,另一方面,本发明涉及治疗选自下列疾病的方法:NS;LS;JMML;AML;MDS;B-ALL;成神经细胞瘤;食管癌;乳腺癌、肺癌;结肠癌;胃癌;头颈癌。

[0080] 本发明的SHP2抑制剂可以与另一种药理学活性化合物组合使用,或者与两种或多种药理学活性化合物组合使用,特别是用于治疗癌症。例如,如上文所定义的式(I)化合物或其药学上可接受的盐可以与一或多种选自下列的药物同时、按顺序或各自分别组合给药:例如,有丝分裂抑制剂,如紫杉烷、长春花生物碱、紫杉醇、多西紫杉醇、长春新碱、长春碱、长春瑞滨或长春氟宁;其它抗癌剂,例如顺铂、5-氟尿嘧啶或5-氟2-4(1H,3H)-嘧啶二酮(5FU)、氟他胺或吉西他滨。

[0081] 此类组合可以在治疗中提供显著的优势,包括协同活性。

[0082] 在某些实施方案中,本发明涉及上述方法,其中所述化合物经肠胃外 给药。

[0083] 在某些实施方案中,本发明涉及上述方法,其中所述化合物经肌内、静脉内、皮下、口服、肺部、鞘内、局部或鼻内给药。

[0084] 在某些实施方案中,本发明涉及上述方法,其中所述化合物全身性给 药。

[0085] 在某些实施方案中,本发明涉及上述方法,其中所述患者为哺乳动物。

[0086] 在某些实施方案中,本发明涉及上述方法,其中所述患者为灵长类。

[0087] 在某些实施方案中,本发明涉及上述方法,其中所述患者为人类。

[0088] 另一方面,本发明涉及治疗SHP2-介导的疾病的方法,该方法包括给 予需要的患者治疗有效量的化疗药物以及与之组合的治疗有效量的本发明 概述中定义的式I化合物。

[0089] 药用组合物

[0090] 另一方面,本发明提供了药学上可接受的组合物,其含有治疗有效量 的一或多种上述化合物,与一或多种药学上可接受的载体(添加剂)和/或稀 释剂一起配制。如下面所详细描述,本发明的药用组合物可以特别配制用 于以固体形式或液体形式给药,包括那些适合于下列的给药:(1)口服给药,例如灌服剂(水性或非水性溶液剂或混悬液剂),片剂,例如,那些针对口 腔、舌下和全身吸收的,大丸剂、散剂、颗粒剂、施用于舌的糊剂;(2)肠 胃外给药,例如通过皮下、肌内、静脉内或硬膜外注射给药,例如无菌溶 液或混悬液,或持续释放的制剂;(3)局部给药,例如施用到皮肤上的乳膏、软膏或控释贴剂或喷雾剂;(4)阴 道内或直肠内给药,例如阴道栓剂、乳剂 或泡沫剂;(5)舌下给药;(6)眼睛给药;(7)经皮给 药;(8)经鼻给药;(9)经 肺给药;或(10)鞘内给药。

[0091] 本文中使用的短语“治疗有效量”是指能够在哺乳动物细胞的至少一个 亚群中有效地产生某些希望的治疗效果的化合物、原料或包含本发明化合 物的组合物的量,其对任何医学治疗而言具有合理的利益/风险比。

[0092] 本文中使用的短语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内适 合用于与人类和动物的组织接触而没有过度的毒性、刺激、过敏反应或其 它问题或并发症的化合物、原料、组合物和/或剂型,其具有相应的合理的 利益/风险比。

[0093] 本文中使用的短语“药学上可接受的载体”是指药学可接受的材料、组 合物或介质,例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、生产助剂(例如润 滑剂,滑石粉,硬脂酸镁、钙或锌或硬脂酸)或溶剂包封材料,其能够将目 标化合物从一个器官或身体的一部分输送到另一个器官或身体的另一部 分。每种载体必须是“可接受的”,其意义在于与制剂的其它成分相容并且 对于患者无害。可用作药学上可接受的载体的某些材料的示例包括:(1)糖 类,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,例如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3) 纤维素及其衍生物,例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;(4) 粉末状黄蓍胶;(5)麦芽;(6)明 胶;(7)滑石粉;(8)赋形剂,如可可脂和栓 剂蜡;(9)油类,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻 油、橄榄油、玉米油和 大豆油;(10)二醇类,例如丙二醇;(11)多元醇类,如甘油、山梨醇、甘 露 醇和聚乙二醇;(12)酯类,例如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓 冲剂,如氢氧化 镁和氢氧化铝;(15)海藻酸;(16)无热原水;(17)等渗盐水;(18)林格氏溶液;(19)乙醇; (20)pH缓冲溶液;(21)聚酯、聚碳酸酯和/或聚 酸酐;和(22)其他在药物制剂中使用的无毒 的相容物质。

[0094] 如上所述,本发明化合物的某些实施方案可以含有碱性官能团,如氨基或烷基氨基,因此能够与药学上可接受的酸形成药学上可接受的盐。在此情况下,术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的相对无毒的无机和有机酸加成盐。这些盐可以在施用溶媒或剂型制备过程中原位制备,或通过使得纯化的游离碱形式的本发明化合物与适宜的有机或无机酸反应,并在随后纯化过程中分离所形成的盐制备。代表性的盐包括氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、茶甲酸盐、甲磺酸盐、葡庚糖酸盐、乳糖醛酸盐、月桂基磺酸盐等。(参见,例如Berge等(1977)“Pharmaceutical Salts(可药用的盐)”,J.Pharm.Sci.66:1-19)。

[0095] 目标化合物的药学上可接受的盐包括所述化合物的常规无毒盐或季铵盐,例如源自无毒的有机或无机酸。例如,此类常规无毒盐包括那些衍生自无机酸的盐,例如盐酸、氢溴酸、硫酸、氨基磺酸、磷酸、硝酸等;制备自有机酸的盐,例如乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、硬脂酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、棕榈酸、马来酸、羟基马来酸、苯乙酸、谷氨酸、苯甲酸、水杨酸、磺胺酸、2-乙酰氧基苯甲酸、富马酸、甲苯磺酸、甲磺酸、乙二磺酸、草酸、羟乙基磺酸等。

[0096] 在其它情况下,本发明化合物可以含有一或多个酸性官能团,因此能够与药学上可接受的碱形成药学上可接受的盐。在此情况下,术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的相对无毒的无机和有机碱加成盐。这些盐可以在施用溶媒或剂型制备过程中原位制备,或通过使得纯化的游离酸形式的化合物与适宜碱反应制备,所述碱例如药学上可接受的金属离子的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐,氨,药学上可接受的有机伯、仲或叔胺。代表性的碱或碱土金属盐包括锂、钠、钾、钙、镁和铝盐等。用于形成碱加成盐的代表性有机胺包括乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等。(参见,例如Berge等,同上)。

[0097] 组合物中也可以存在润湿剂、乳化剂和润滑剂,例如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁,以及着色剂、释放剂、包衣剂、甜味剂、矫味剂和芳香剂,还可以存在防腐剂和抗氧化剂。

[0098] 药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:(1)水溶性抗氧化剂,如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠、亚硫酸钠等;(2)油溶性抗氧化剂,如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基苯甲醚(BHA)、丁羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、棕榈酸丙酯、 $\alpha$ -生育酚等;和(3)金属螯合剂,如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

[0099] 本发明的制剂包括适合于经口服、鼻、局部(包括口腔和舌下)、直肠、阴道和/或肠胃外给药的那些制剂。所述制剂可以方便地以单位剂量形式存在,其可以通过药学领域公知的任何方法制备。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量取决于被治疗的宿主、给药的特定模式。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量通常能够产生治疗效果的化合物的量。通常,以100%计,这个量的范围为活性成分的约0.1%至约99%,优选约5%至约70%,最优选约10%至约30%。

[0100] 在某些实施方案中,本发明的制剂包括选自下列的赋形剂:环糊精、纤维素、脂质体、胶束形成剂(例如胆汁酸)和聚合载体(例如聚酯和聚醚);还包括本发明的化合物。在某些实施方案中,上述制剂提高了本发明化合物的口服生物度。

[0101] 制备这些制剂或组合物的方法包括使得本发明化合物与载体以及任选的一或多种辅料混合的步骤。通常,所述制剂通过将本发明化合物与液体载体或微粉化固体载体或

它们两者均匀地和紧密地混合而制备,然后,如果需要,将产物塑形。

[0102] 适合于口服给药的本发明制剂可以是下列形式:胶囊剂、扁囊剂、丸剂、片剂、锭剂的形式(使用矫味的基质,通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶)、散剂、颗粒剂;或为水性或非水性液体中的溶液剂或混悬液剂;或为油包水或水包油型液体乳剂;或为酞剂或糖浆剂;或为软锭剂(使用惰性基质,如明胶和甘油,或蔗糖和阿拉伯胶)和/或漱口剂等,各自含有预定量的作为活性成分的本发明化合物。本发明的化合物还可以作为大丸剂、干药糖剂或糊剂给药。

[0103] 在用于口服给药本发明的固体剂型中(胶囊剂、片剂、丸剂、糖衣丸、散末、颗粒剂、锭剂等),将活性成分与一种或多种药学上可接受的载体混合如柠檬酸钠或磷酸二钙和/或任何以下辅料混合:(1)填充剂或增量剂,如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和/或硅酸;(2)粘合剂,例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯胶;(3)保湿剂,例如甘油;(4)崩解剂,例如琼脂-琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;(5)溶液阻滞剂,例如石蜡;(6)吸收促进剂,例如季铵化合物,和表面活性剂,如泊洛沙姆和月桂基硫酸钠;(7)湿润剂,例如鲸蜡醇、单硬脂酸甘油酯和非离子表面活性剂;(8)吸收剂,例如高岭土和膨润土粘土;(9)润滑剂,例如滑石粉、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠、硬脂酸锌、硬脂酸钠、硬脂酸以及它们的混合物;(10)着色剂,和(11)控释剂,例如交联聚维酮或乙基纤维素。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,该药物组合物还可包含缓冲剂。相似类型的固体组合物也可用作软和硬壳明胶胶囊中的填充剂,使用此类赋形剂如乳糖以及高分子量聚乙二醇。

[0104] 片剂可以任选与一种或多种辅料一起通过压制或模制来制备。压缩片剂可使用粘合剂(例如明胶或羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如淀粉羟乙酸钠或交联羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂来制备。模制片剂可通过在合适的机器中将使用惰性液体稀释剂润湿的粉末状化合物的混合物模制来制备。

[0105] 本发明药物组合物的片剂和其它固体剂型(如糖锭剂、胶囊、丸剂和颗粒剂)可任选被刻痕或采用包衣和壳制备,如肠溶包衣和药物制剂领域中公知的其它包衣工艺。它们也可以配制以提供其中活性成分的缓释或控释,采用例如不同比例的羟丙基甲基纤维素以提供所需的释放模式,或者采用其它的聚合物基质、脂质体和/或微球。它们可以被配制用于快速释放,例如,冷冻干燥。它们可以通过例如细菌截留滤器过滤进行灭菌,或通过加入无菌固体组合物形式的灭菌剂,其可以溶解在无菌水中,或者使用前立即加入一些其它无菌可注射介质。这些组合物还可任选包含遮光剂,可以是只在或优先在胃肠道的某一部分释放活性成分的组合物,任选以延迟的方式释放。可以使用的植入组合物的示例包含聚合材料和蜡。所述活性成分也可以是微囊形式,如果适当,含有一种或多种上述赋形剂。

[0106] 用于本发明化合物口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳剂、微乳剂、溶液剂、混悬液剂、糖浆剂和酞剂。除了活性成分外,液体剂型可以含有本领域中常用的惰性稀释剂,例如水或其它溶剂、增溶剂和乳化剂,如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苧醇、苯甲酸苧酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢呋喃醇、聚乙二醇和脱水山梨醇的脂肪酸酯以及它们的混合物。

[0107] 除了惰性稀释剂,口服组合物还可以包括辅料,例如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂、着色剂、芳香剂和防腐剂。

[0108] 除活性化合物外,混悬液剂还可以含有助悬剂,例如乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烷山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂-琼脂和黄蓍胶以及它们的混合物。

[0109] 用于直肠或阴道给药的本发明药物组合物的制剂可以为栓剂形式,其可以通过将一种或多种本发明化合物与一种或多种适当的无刺激性的赋形剂或载体混合进行制备,所述载体包括例如可可脂、聚乙二醇、栓剂蜡或水杨酸盐,其在室温下是固体但在体温下为液体,因此,其在直肠或阴道腔中熔化并释放活性化合物。

[0110] 适合于阴道给药的本发明的制剂还包括阴道栓剂、棉塞、霜剂、凝胶剂、糊剂、泡沫剂或喷雾剂,其含有在本领域中已知的适当的载体。

[0111] 用于本发明化合物的局部或透皮给药的剂型包括散剂、喷雾剂、软膏、糊剂、霜剂、洗剂、凝胶剂、溶液剂、贴剂和吸入剂。所述活性化合物可以在无菌条件下与药学上可接受的载体进行混合,还可以包含任何可能需要的防腐剂、缓冲剂或抛射剂。

[0112] 除本发明的活性化合物外,软膏剂、糊剂、霜剂和凝胶剂可以含有赋形剂,例如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅酸、滑石粉和氧化锌或其混合物。

[0113] 除本发明的化合物外,散剂和喷雾剂可以含有赋形剂,例如乳糖、滑石粉、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末或这些物质的混合物。喷雾剂可以另外含有常规的抛射剂,如氯氟烃和挥发性未取代的烃,如丁烷和丙烷。

[0114] 透皮贴剂具有提供本发明化合物向机体受控传递的额外优点。此类剂型可以通过将化合物溶解或分散在适当的介质中而制备。也可以采用吸收增强剂以增加通过皮肤的化合物的流量。这种流量的速率可以通过提供控速膜控制,或者将化合物分散在聚合物基质或凝胶中来控制。

[0115] 眼用制剂、眼膏、散剂、溶液剂等也应当包含在本发明的范围内。

[0116] 适用于肠胃外给药的本发明的药物组合物包含一种或多种本发明化合物以及与之组合的一种或多种药学上可接受的无菌等渗水性或非水性溶液、分散体、混悬液或乳剂,或者是在使用前可重建成无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末,其可以包含糖、醇、抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、使制剂与预期接受者的血液等渗的溶质或助悬剂或增稠剂。

[0117] 可以在本发明的药物组合物中使用的适当的水性和非水性载体的示例包括水、乙醇、多元醇(如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其合适的混合物,还包括植物油(如橄榄油)和可注射的有机酯(如油酸乙酯)。例如,通过使用包衣材料(如卵磷脂)、通过在分散液的情况下保持所需的颗粒大小以及通过使用表面活性剂,可以保持适当的流动性。

[0118] 这些组合物还可以含有辅助剂,例如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。通过包含各种抗菌剂和抗真菌剂来确保预防微生物对本发明化合物的作用,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、酚、山梨酸和类似物。组合物中也可能需要包含等渗剂,如糖、氯化钠等。此外,通过包含延迟吸收的物质如单硬脂酸铝和明胶,可以实现可注射药物形式的延长吸收。

[0119] 在某些情况下,为了延长药物的作用,需要通过皮下或肌肉注射以减慢药物的吸收。这可以通过使用水溶性差的晶体或无定形物质的液体混悬液来实现。药物的吸收速率则取决于其溶解速率,而溶解速率又可能取决于晶体大小和晶型。或者,胃肠外给药的药物形式的延迟吸收可以通过将药物溶解或悬浮在油性介质中实现。

[0120] 可注射的储库形式可以通过将目标化合物在可生物降解的聚合物如聚 丙交酯-聚乙交酯中形成微囊束来制备。根据药物与聚合物的比例以及所采 用的特定聚合物的性质,药物释放的速率可以得到控制。其它可生物降解 的聚合物的示例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。还可以通过将药物包埋在与身 体组织相容的脂质体或微乳中制备贮库注射制剂。

[0121] 当本发明的化合物作为药品给药于人类和动物时,它们可以自身给药,或者作为药物组合物给药,该组合物含有例如0.1至99% (更优选为10— 30%)的活性成分以及与之组合的药学可接受的载体。

[0122] 本发明的制剂可以经口服、胃肠外、局部或直肠给药。它们当然以适 于各种给药途径的形式施用。例如,它们可以以片剂或胶囊形式施用,以 注射、吸入、眼用洗剂、软膏、栓剂等形式通过注射、输注或吸入施用; 通过洗液或软膏外用;通过栓剂直肠施用。优选口服给药。

[0123] 本文中使用的短语“胃肠外施用”和“肠胃外给药”是指除了肠内和局部 给药外的其它给药模式,通常通过注射给药,包括但不限于经静脉内、肌 内、动脉内、鞘内、囊内、眼眶内、心内、皮内、腹膜内、气管内、皮下、表皮下、关节内、被膜下、蛛网膜下、脊柱内和胸骨内注射和输注。

[0124] 本文中使用的短语“全身给药”、“全身性施用”、“外周给药”和“外周施 用”是指化合物、药物或其它物质不是直接进入中枢神经系统,从而因此经 过代谢和其它类似过程使得它进入患者的身体系统,例如皮下给药。

[0125] 这些化合物可通过任何合适的给药途径给药于人和其它动物用于治 疗,包括口服、经鼻(通过例如喷雾)、直肠、阴道内、胃肠外、脑池内和 局部(如通过散剂、软膏或滴剂)途径,包括颊和舌下途径。

[0126] 无论选择何种给药途径,可以以适宜的水合物形式使用的本发明化合 物和/或本发明的药用组合物可以通过本领域技术人员已知的常规方法配 制成药学上可接受的剂型。

[0127] 本发明药物组合物中活性成分的实际剂量水平可以改变,以便于有效 获得对特定患者、组合物和给药模式而言所需要的治疗响应的活性成分的 量,而对患者是无毒的。

[0128] 选择的剂量水平取决于多种因素,包括所使用的本发明特定化合物或 其酯、盐或酰胺的活性;使用的特定化合物的给药途径、给药时间、排泄 或代谢速率;吸收的速率和程度;治疗的持续时间;与使用的特定化合物 组合使用的其它药物、化合物和/或材料;待治疗患者的年龄、性别、体重、 状况、总体健康情况以及先前的病史;以及医学领域众所周知的因素。

[0129] 本领域的普通医生或兽医可以容易地确定和处方需要的有效量的药物 组合物。例如,医师或兽医可以以低于必需水平的药用组合物中使用的本 发明化合物的剂量开始以便于获得需要的治疗效果,然后逐步增加剂量, 直到达到满意的效果。

[0130] 在一般情况下,本发明的化合物的合适的日剂量是能够有效产生治疗 效果的最低剂量的化合物的量。这样的有效剂量一般取决于上述因素。通 常,当用于指定的镇痛效果时,用于患者的本发明化合物的口服、静脉内、脑室内和皮下给药的剂量范围为每天每公斤体重约0.0001至约100mg。

[0131] 如果需要的话,活性化合物的有效日剂量可以全天以适当的间隔以二、三、四、

五、六或更多的亚剂量分开施用,任选以单位剂型施用。优选的 给药方案是每天一次给药。

[0132] 如果可能,本发明化合物可以单独给药,优选以药物制剂(组合物)的 形式给予所述化合物。

[0133] 本发明化合物可以配制以任何便利地方式给药于人类或兽医,采用类 似于其它药物的方式。

[0134] 另一方面,本发明提供了药学上可接受的组合物,其含有治疗有效量 的一或多种上述目标化合物,与一或多种药学上可接受的载体(添加剂)和/ 或稀释剂一起配制。如下面所详述,本发明的药用组合物可以特别配制用 于以固体形式或液体形式给药,包括那些适合于下列的给药:(1)口服给药,例如灌服剂(水性或非水性溶液剂或混悬液剂),片剂、大丸剂、散剂、颗 粒剂、施用于舌的糊剂;(2)肠胃外给药,例如通过皮下、肌内或静脉内注射给药,例如以无菌溶液或混悬液的形式;(3)局部给药,例如施用到皮肤、肺部或粘膜上的乳膏、软膏或喷雾剂;或(4)阴道内或直肠内给药,例如阴 道栓剂、霜剂或泡沫剂;(5)舌下或颊腔给药;(6)眼睛给药;(7)经皮给药;或(8)经鼻给药。

[0135] 术语“治疗”应当还预防、治疗和治愈。

[0136] 接受这种治疗的患者是有需要的任何动物,包括灵长类(特别是人类) 和其它哺乳类动物,如马、牛、猪和羊等;还通常包括家禽和宠物。

[0137] 本发明的化合物可以自身给药,或者以与药学上可接受的载体的混合 物给药,也可与抗微生物药物组合给药,如青霉素类、头孢菌素类、氨基 糖苷类和糖肽类。因此,联合治疗包括活性化合物按顺序、同时和分别的 给药,给药的方式应当使得给予的第一种药物的治疗作用在没有完全消失 时给予随后的药物。

[0138] 微乳化技术可以提高某些亲脂性(水不溶性)药物的生物利用度。示例 包括 Trimetrine (Dordunoo, S.K.等, Drug Development and Industrial Pharmacy, 17 (12), 1685-1713, 1991和REV 5901 (Sheen, P.C.等, J Pharm Sci 80 (7), 712-714, 1991)。除其他事项外,微乳化通过优先引导吸 收到淋巴系统而非循环系统从而提高了生物利用度,由此绕过肝脏,防止 了化合物在肝胆循环中的破坏。

[0139] 虽然所有合适的两性载体均可以被考虑,但目前优选的载体通常是那 些通常公认安全 (GRAS) 状态的载体,其既可以溶解本发明的化合物,又可 以在稍后阶段将其微乳 化,该阶段是指该溶液与复杂的水相(例如人体胃肠 道中存在的)接触时。通常,满足这些要求的两亲性成分具有的HLB(亲水 亲油平衡)值为2-20,其结构中包含C-6至C-20范围内的直链脂族基团。示例是聚乙烯-glycolized脂肪酸甘油酯和聚乙二醇。

[0140] 可以特别考虑市售的两性载体,其中包括Gelucire系列、Labrafil、Labrasol或 Lauroglycol (以上均由Gattefosse Corporation, Saint Priest, France生产和销售)、PEG-单油酸酯、PEG-二油酸酯、PEG-单月桂酸酯 和二月桂酸酯、卵磷脂、吐温80等(在美国和世界各地由多个公司生产和 销售)。

[0141] 适用于本发明的亲水性聚合物是那些易溶于水的聚合物,可以与囊泡 形成脂质体共价连接,它们在体内是可接受的并且没有毒性作用(即是生物 相容的)。合适的聚合物包括聚乙二醇(PEG)、聚乳酸(也称为聚丙交酯)、聚乙醇酸(也称为聚乙交酯)、聚乳酸-聚乙醇酸共聚物和聚乙烯醇。优选的 聚合物是那些分子量为约100或120道尔顿至约5000或10000道尔顿的聚 合物,更优选约300道尔顿至约5000道尔顿。在一个特别优选的实施方案



中,聚合物是聚乙二醇,其分子量为约100至约5000道尔顿,更优选分子量为约300至约5000道尔顿。在一个特别优选的实施方案中,聚合物是750道尔顿的聚乙二醇(PEG(750))。聚合物也可以通过其中的单体数量所定义;本发明的一个优选实施方案使用至少约3个单体的聚合物,此类PEG聚合物由三个单体(约150道尔顿)组成。

[0142] 其它适合用于本发明中的亲水性聚合物包括聚乙烯吡咯烷酮、聚甲基噁唑啉(polymethoxazoline)、聚乙基噁唑啉、聚羟丙基甲基丙烯酸酰胺、聚甲基丙烯酸酰胺、聚二甲基丙烯酸酰胺和衍生的纤维素如羟甲基纤维素或羟乙基纤维素。

[0143] 在某些实施方案中,本发明的制剂包含选自下列的生物相容性聚合物:聚酰胺、聚碳酸酯、聚烯烃、丙烯酸和甲基丙烯酸酯的聚合物、聚乙烯基聚合物、聚乙交酯、聚硅氧烷、聚氨酯及其共聚物、纤维素、聚丙烯、聚乙烯、聚苯乙烯、乳酸和乙醇酸的聚合物、聚酐、聚(原)酯、聚(丁酸)、聚(戊酸)、聚(丙交酯-共-己内酯)、多糖、蛋白质、聚透明质酸、聚氰基丙烯酸酯以及它们的共混物、混合物或共聚物。

[0144] 环糊精是环状低聚糖,包含6、7或8个葡萄糖单元,分别用希腊字母 $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\gamma$ 命名。少于六个葡萄糖单元的环糊精不存在。葡萄糖单元通过 $\alpha$ -1,4-糖苷键连接。由于糖单位的椅式构象,所有的仲羟基(位于C-2,C-3)位于该环的一侧,而所有在C-6上的伯羟基都位于另一侧。其结果是,其外表是亲水性的,使得环糊精具有水溶性。与此相反,环糊精的空腔是疏水性的,因为它们是通过原子C-3和C-5的氢与醚样氧连接。这些矩阵结构使得可以与各种相对疏水的化合物络合,包括例如甾体化合物如17 $\beta$ -雌二醇(参见,例如van Uden等Plant Cell Tiss.Org.Cult.38:1-3-113(1994))。该络合通过范德华相互作用和通过氢键形成而发生。对环糊精化学的全面综述参见Wenz,Agnew.Chem.Int.Ed.Engl., 33:803-822(1994)。

[0145] 环糊精衍生物的物理化学性质主要取决于取代的种类和程度。例如,它们在水中的溶解度范围从不溶(例如,三乙酰基- $\beta$ -环糊精)至147%的可溶(w/v)(G-2- $\beta$ -环糊精)。此外,它们可溶于多种有机溶剂。通过增加或减少它们的溶解度,环糊精的性质能够控制各种制剂组分的溶解性。

[0146] 众多环糊精和它们的制备方法已有描述。例如Parmeter(I)等(U.S.Pat.No.3,453,259)和Gramera等(U.S.Pat.No.3,459,731)描述了电中性的环糊精。其它衍生物包括具有阳离子性质的环糊精[Parmeter(II),U.S.Pat.No.3,453,257]、不溶的交联环糊精(Solms,U.S.Pat.No.3,420,788)以及具有阴离子性质环糊精[Parmeter(III),U.S.Pat.No.3,426,011]。在具有阴离子性质的环糊精衍生物中,羧酸、亚磷酸、单磷酸、膦酸、磷酸、硫代膦酸、硫代亚磺酸(thiosulphinic acid)和磺酸已添加到母体环糊精上[参见Parmeter(III),同上]。此外,磺烷基醚环糊精衍生物已由Stella等(U.S.Pat.No.5,134,127)描述。

[0147] 脂质体由至少一层包封水性内部隔室脂质双层膜组成。脂质体可以通过膜类型和大小进行表征。小单层囊泡(SUVs)只有一层膜,通常直径范围在0.02-0.05 $\mu$ m之间;大单层囊泡(LUVs)通常为大于0.05 $\mu$ m的单层(oligolamellar)大囊泡,多层囊泡有多个(通常为同心的)薄膜层,通常大于0.1 $\mu$ m。具有多个非同心的膜的脂质体,即多个较小的囊泡包含在一个较大的囊泡内,被称为多泡囊泡。

[0148] 本发明的一个方面涉及包含含有本发明化合物的脂质体的制剂,其中制备的脂



质体膜可以使得脂质体的荷载能力增加。可选择的或另外,本发明的化合物可以包含在或吸附到脂质体的脂质双层中。本发明化合物可以与脂质表面活性剂进行聚合,在该脂质体的内部空间内携带;在这些情况下,制备的脂质体膜能够对抗活性成分-表面活性剂聚集体的破坏作用。

[0149] 根据本发明的一个实施方案,脂质体的脂质双层包含采用聚乙二醇 (PEG) 衍生的脂质,这使得PEG链从脂质双层的内表面延伸到由脂质体包封的内部空间,并从脂质双层的外部延伸到周围环境中。

[0150] 含有在本发明脂质体中的活性成分为溶解的形式。表面活性剂和活性成分的聚集体(例如含有相关活性成分的乳剂或胶束)可以包封在本发明的脂质体的内部空间内。表面活性剂的作用是分散和溶解活性成分,其可以选自任何合适的脂族、环脂族或芳族表面活性剂,包括但不限于不同的链长(例如,自约C.sub.14至约C.sub.20)的生物相容的溶血磷脂酰胆碱(LPCs)。聚合物衍生的脂质(例如PEG-脂质)也可用于形成胶束,因为它们的作用能够抑制胶束/膜融合,作为聚合物添加到表面活性剂分子可以降低表面活性剂的CMC,有助于胶束的形成。优选表面活性剂的CMCs为微摩尔浓度范围;较高的CMC表面活性剂可以用于制备包封在本发明脂质体中的胶束,然而,胶束表面活性剂单体可能会影响脂质体双层的稳定性,在设计具有所需稳定性的脂质体时是应当考虑的一个因素。

[0151] 本发明的脂质体可以通过本领域中已知的各种技术制备。参见,例如U.S.Pat.No.4,235,871;公开的PCT申请W0 96/14057;New RRC,脂质体:实用方法(Liposomes:A practical approach),IRL Press,Oxford(1990),第33—104页;Lasic DD,脂质体:从物理学到应用(Liposomes from physics to applications)Elsevier Science Publishers BV,Amsterdam,1993。

[0152] 例如,本发明的脂质体可以通过将亲水性聚合物衍生的脂质扩散到预制的脂质体中而制备,例如通过将预制的脂质体暴露于脂质接枝的聚合物组成的胶束中,该聚合物中脂质的浓度与衍生的脂质的最终摩尔百分浓度一致,这是脂质体所希望的。含有亲水性聚合物的脂质体还可以通过根据本领域中公知的均化、脂质-领域水合或挤出技术形成。

[0153] 在本发明的一个方面,制备脂质体,使其在选定大小范围内具有基本上均匀的大小。一种有效的控制大小的方法包括将脂质体的水性悬浮液挤压通过一系列具有选定的均匀孔径大小的聚碳酸酯膜;该膜的孔径大小与挤压通过该膜所获得的脂质体的最大大小基本一致。参见例如美国专利号4,737,323(1988年4月12日)。

[0154] 本发明制剂的释放特征取决于包封材料、被包封药物的浓度以及释放改性剂的存在。例如,释放可以被调节为pH依赖性的,例如采用pH敏感包封材料释放,其仅在低pH释放(如在胃中释放),或者在较高的pH释放(如在肠中释放)。肠溶包衣可用于阻止释放发生直到其通过胃通道之后释放。可以使用多种包衣材料或包封在不同材料的氨脲混合物,获得在胃中的初始释放,随后获得在肠中的后期释放。释放也可以通过盐或成孔剂的包封而调节,其可以通过从囊中扩散而增加水的吸收或药物的释放。可以改变药物溶解度的赋形剂也可用于控制释放速率。也可以加入能够增加基质降解或自基质释放的成分。取决于化合物,它们可以被加入到药物,作为单独的相(即,作为微粒)加入,或者可以共同溶解在聚合物相中。在所有这些情况下,量应在0.1—30%(w/w聚合物)。降解增强剂的类型包括无机盐,如硫酸铵和氯化铵;有机酸,如柠檬酸、苯甲酸和抗坏血酸;无机碱,如碳酸钠、碳

酸钾、碳酸钙、碳酸锌和氢氧化锌；有机碱，如硫酸 鱼精蛋白、精胺、胆碱、乙醇胺、二乙醇胺和三乙醇胺；表面活性剂，如 **Tween®**和**Pluronic®**。能够增加基质（即水溶性化合物如无机盐和糖）微结构的成孔剂可以以微粒的形式加入。其范围在1—30%（w/w聚合物）。

[0155] 摄取也可以通过改变颗粒在肠道中的滞留时间而调节。这可以通过例如将颗粒包衣或者选择粘膜粘附聚合物作为包衣材料而实现。示例包括具有游离羧基的大多数聚合物，例如脱乙酰壳多糖、纤维素，特别是聚丙烯酰胺（本文所使用的聚丙烯酰胺是指包含丙烯酸酯基团和改性的丙烯酸酯基团的聚合物，例如氰基丙烯酸酯和甲基丙烯酸酯）。

[0156] 药用组合产品

[0157] 本发明特别涉及式I化合物（或包含式I化合物的药用组合物）在治疗本文中所述的一或多种疾病中的用途；其中对治疗的响应是有益的，可以例如通过部分或全部消除所述疾病的一或多个症状直到完全治愈或缓解加以证实。

[0158] 式（I）化合物也可以与下列化合物和抗体-药物偶联物组合使用：

[0159] BCR-ABL抑制剂：伊马替尼（**Gleevec®**）；尼洛替尼盐酸盐；尼洛替尼（**Tasigna®**）；达沙替尼（BMS-345825）；伯舒替尼（SKI-606）；帕纳替尼（AP24534）；巴氟替尼（INN0406）；大鲁替尼（PHA-739358）；AT9283（CAS 1133385-83-7）；塞卡替尼（AZD0530）；和N-[2-[(1S,4R)-6-[[4-(环丁基氨基)-5-(三氟甲基)-2-嘧啶基]氨基]-1,2,3,4-四氢萘-1,4-亚胺-9-基]-2-氧代乙基]-乙酰胺（PF-03814735，CAS 942487-16-3）；和LGX818；

[0160] ALK抑制剂：PF-2341066（**XALKORI®**；克唑替尼）；5-氯代-N4-(2-(异丙基磺酰基)苯基)-N2-(2-甲氧基-4-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)哌啶-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺；GSK1838705A；和CH5424802；

[0161] BRAF抑制剂：维罗非尼（PLX4032）和达拉非尼；

[0162] FLT3抑制剂—苹果酸舒尼替尼（Pfizer以商品名**Sutent®**销售）和 PKC412（米哚妥林）。

[0163] MEK抑制剂-曲美替尼；

[0164] 血管内皮生长因子（VEGF）受体抑制剂：贝伐单抗（Genentech/Roche 以商品名**Avastin®**销售）、阿西替尼、（N-甲基-2-[[3-[(E)-2-吡啶-2-基乙烯基]-1H-吡啶-6-基]硫烷基]苯甲酰胺，也称为AG013736，PCT公开号W0 01/002369中描述）、丙氨酸布立尼布（（S）-（R）-1-（4-（4-氟-2-甲基-1H-吡啶-5-基氧基）-5-甲基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-6-基氧基）丙-2-基）2-氨基丙酸酯，也称为BMS-582664）、莫特塞尼（N-（2,3-二氢-3,3-二甲基-1H-吡啶-6-基）-2-[(4-吡啶基甲基)氨基]-3-吡啶甲酰胺，PCT公开号W0 02/066470中描述）、帕瑞肽（也称为SOM230，PCT公开号W0 02/010192中描述）、索拉非尼（以商品名**Nexavar®**销售）；

[0165] HER2受体抑制剂：曲妥单抗（Genentech/Roche以商品名**Herceptin®**销售）、来那替尼（也称为HKI-272，（2E）-N-[4-[[3-氯代-4-[(吡啶-2-基)甲氧基]苯基]氨基]-3-氰基-7-乙氧基喹啉-6-基]-4-（二甲基氨基）丁-2-烯酰胺，PCT公开号W0 05/028443中描述）、拉帕替尼或二甲苯磺酸拉帕替尼（GlaxoSmithKline以商品名**Tykerb®**销售）；Trastuzumab emtansine（在美国，ado-trastuzumab emtansine，商品名Kadcyla）-由单克

隆抗体曲妥单抗 (Herceptin) 与细胞毒药物mertansine (DM1) 连接组成的一种抗体-药物偶联物;

[0166] CD20抗体:利妥昔单抗 (Genentech/Roche以商品名**Riuxan®**和 **MabThera®**销售)、托西莫单抗 (GlaxoSmithKline以商品名 **Bexxar®**销售)、奥法木单抗 (GlaxoSmithKline以商品名**Arzerra®**销售);

[0167] 酪氨酸激酶抑制剂:盐酸埃罗替尼 (以Genentech/Roche商品名 **Tarceva®**销售)、利尼伐尼 (Linifanib) (N-[4-(3-氨基-1H-吡唑-4-基)苯基]-N'-(2-氟-5-甲基苯基)脲,也称为ABT 869,可获自Genentech)、苹果酸舒尼替尼 (Pfizer以商品名**Sutent®**销售)、伯舒替尼 (4-[(2,4-二氯代-5-甲氧基苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙氧基]喹啉-3-甲腈,也称为SKI-606,美国专利号6,780,996公开)、达沙替尼 (Bristol-Myers Squibb 以商品名**Sprycel®**销售)、armala (也称为帕唑帕尼, GlaxoSmithKline以商品名**Votrient®**销售)、伊马替尼和甲磺酸伊马替尼 (Novartis以商品名 **Gilvec®**和**Gleevec®**销售);

[0168] DNA合成抑制剂:卡培他滨 (Roche以商品名**Xeloda®**销售)、盐酸吉西他滨 (Eli Lilly和Company以商品名**Gemzar®**销售)、奈拉滨 ((2R,3S,4R,5R)-2-(2-氨基-6-甲氧基-嘌呤-9-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇, GlaxoSmithKline以商品名**Arranon®**和**Atriance®**销售);

[0169] 抗肿瘤药:奥沙利铂 (Sanofi-Aventis以商品名**Eloxatin®**销售,美国专利号4,169,846公开);

[0170] 表皮生长因子受体 (EGFR) 抑制剂:吉非替尼 (以商品名**Iressa®**销售), N-[4-[(3-氯代-4-氟苯基)氨基]-7-[(3"S)-四氢-3-呋喃基]氧基]-6-喹唑啉基]-4(二甲基氨基)-2-丁酰胺,Boehringer Ingelheim以商品名**Tovok®**销售)、西妥昔单抗 (Bristol-Myers Squibb以商品名**Erbitux®**销售)、帕尼单抗 (Amgen以商品名**Vectibix®**销售);

[0171] HER二聚化抑制剂:帕妥珠单抗 (Genentech以商品名**Omnitarg®**销售);

[0172] 人粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 调节剂:非格司亭 (Amgen以商品名**Neupogen®**销售);

[0173] 免疫调节剂:阿夫土珠 (可获自**Roche®**)、乙二醇化非格司亭 (Amgen 以商品名**Neulasta®**销售)、来那度胺 (也称为CC-5013,商品名**Revlimid®**)、沙利度胺 (商品名**Thalomid®**);

[0174] CD40抑制剂:达西珠单抗 (Dacetuzumab) (也称为SGN-40或huS2C6, 可获自Seattle Genetics,Inc);

[0175] 促凋亡受体激动剂 (PARAs):杜拉乐明 (Dulanermin) (也称为 AMG-951,可获自Amgen/Genentech);

[0176] Hedgehog拮抗剂:2-氯代-N-[4-氯代-3-(2-吡啶基)苯基]-4-(甲基磺酰基)-苯甲酰胺 (也称为GDC-0449,PCT公开号WO 06/028958公开);

[0177] PI3K抑制剂:4-[2-(1H-吡唑-4-基)-6-[[4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基]甲基] 噻吩并[3,2-d]嘧啶-4-基]吗啉(也称为GDC 0941,PCT公开号W0 09/036082和W0 09/055730公开),2-甲基-2-[4-[3-甲基-2-氧代-8-(喹啉-3-基)-2,3-二氢咪唑并[4,5-c]喹啉-1-基]苯基]丙腈(也称为BEZ 235或 NVP-BEZ 235,于PCT公开号W0 06/122806中描述);

[0178] 磷脂酶A2抑制剂:阿那格雷(商品名**Agrylin®**);

[0179] BCL-2抑制剂:4-[4-[[2-(4-氯代苯基)-5,5-二甲基-1-环己烯-1-基]甲基]-1-哌嗪基]-N-[[4-[[ (1R)-3-(4-吗啉基)-1-[(苯硫基)甲基]丙基]氨基]-3-[(三 氟甲基)磺酰基]苯基]磺酰基]苯甲酰胺(也称为ABT-263,公开于PCT公开 号W0 09/155386);

[0180] 丝裂原激活的蛋白激酶(MEK)抑制剂:XL-518(Cas No. 1029872-29-4,可获自ACC Corp.);

[0181] 芳香酶抑制剂:依西美坦(Pfizer以商品名**Aromasin®**销售)、来曲唑(Novartis以商品名**Femara®**销售)、阿那曲唑(商品名**Arimidex®**);

[0182] 拓扑异构酶I抑制剂:伊立替康(Pfizer以商品名**Camptosar®**销售)、盐酸拓扑替康(GlaxoSmithKline以商品名**Hycamtin®**销售);

[0183] 拓扑异构酶II抑制剂:依托泊苷(也称为VP-16和磷酸依托泊苷,商 品名**Toposar®**、**VePesid®**和**Etopophos®**)、替尼泊苷(也称为VM-26,商 品名**Vumon®**);

[0184] mTOR抑制剂:替西罗莫司(Pfizer以商品名**Torisel®**销售)、地磷莫 斯(Ridaforolimus)(正式名称deferolimus,(1R,2R,4S)-4-[(2R)-2 [(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-二 羟基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五氧-11,36-二 氧杂-4-氮杂双环[30.3.1.0<sup>4,9</sup>]三十六烷-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧 基环己基二甲基膦酯,也称为AP23573和MK8669,公开于PCT公开号 W0 03/064383)、依维莫司(Novartis以商品名**Afinitor®**销售);

[0185] 破骨细胞再吸收抑制剂:1-羟基-2-咪唑-1-基-膦酰基乙基)磷酸单水合 物(Novartis以商品名**Zometa®**销售);

[0186] CD33抗体药物偶联物:吉托珠单抗奥唑米星(Gemtuzumab ozogamicin)(Pfizer/Wyeth以商品名**Mylotarg®**销售);

[0187] CD22抗体药物偶联物:Inotuzumab ozogamicin(也称为CMC-544和 WAY-207294,可获自Hangzhou Sage Chemical Co.,Ltd.);

[0188] CD20抗体药物偶联物:替伊莫单抗(商品名**Zevalin®**)。

[0189] 生长抑素类似物:奥曲肽(也称为醋酸奥曲肽,商品名**Sandostatin®**和Sandostatin **LAR®**);

[0190] 合成白介素-11(IL-11):奥普瑞白介素(Pfizer/Wyeth以商品名 **Neumega®**销售);

[0191] 合成促红素:达依泊汀 $\alpha$ (Amgen以商品名**Aranesp®**销售);

- [0192] 核因子 $\kappa$ B的受体活化因子 (RANK) 的抑制剂:地诺单抗 (Amgen以商品名**Prolia®**销售);
- [0193] 促血小板生成素模拟物肽体:罗米司亭 (Amgen以商品名**Nplate®**销售);
- [0194] 细胞生长因子刺激物:帕利夫明 (Palifermin) (Amgen以商品名 **Kepivance®**销售);
- [0195] 抗胰岛素样生长因子-1受体 (IGF-1R) 的抗体:Figitumumab (也称为 CP-751,871, 可获自ACC Corp)、robatumumab (CAS No.934235-44-6);
- [0196] 抗-CS1抗体:Elotuzumab (HuLuc63, CAS No.915296-00-3);
- [0197] CD52抗体:阿伦单抗 (商品名**Campath®**);
- [0198] CTLA-4抑制剂:替西木单抗 (Tremelimumab) (IgG2单克隆抗体,可获自Pfizer,曾经称为ticilimumab,CP-675、206)、伊匹单抗 (CTLA-4抗体,也称为MDX-010, CAS No.477202-00-9);
- [0199] 组蛋白脱乙酰酶抑制剂 (HDI):Voninostat (Merck以商品名**Zolinza®**销售);
- [0200] 烷化剂:替莫唑胺 (Schering-Plough/Merck以商品名**Temodar®**和**Temodal®**销售)、更生霉素 (也称为放线菌素-D,商品名**Cosmegen®**)、美法仑 (也称为L-PAM、L-苯丙氨酸氮芥和苯丙氨酸氮芥,商品名 **Alkeran®**)、六甲蜜胺 (也称为六甲基蜜胺 (HMM),商品名**Hexalen®**)、卡莫司汀 (商品名**BiCNU®**)、苯达莫司汀 (商品名**Treanda®**)、白消安 (商品名 **Busulfex®**和**Myleran®**)、卡铂 (商品名**Paraplatin®**)、洛莫司汀 (也称为 CCNU,商品名**CeeNU®**)、顺铂 (也称为CDDP,商品名**Platinol®**和**Platinol®-AQ**)、苯丁酸氮芥 (商品名**Leukeran®**)、环磷酰胺 (商品名**Cytosan®**和**Neosar®**)、达卡巴嗪 (也称为DTIC、DIC和咪唑甲酰胺,商品名**DTIC-Dome®**)、六甲蜜胺 (也称为六甲基蜜胺 (HMM),商品名 **Hexalen®**)、异环磷酰胺 (商品名**Ifex®**)、丙卡巴肼 (商品名**Matulane®**)、双(氯乙基)甲胺 (也称为氮芥、盐酸氮介和双(氯乙基)甲胺盐酸盐,商品名 **Mustargen®**)、链脲霉素 (商品名**Zanosar®**)、塞替派 (也称为 thiophosphoamide、TESPA和TSPA,商品名**Thioplex®**);
- [0201] 生物响应调节剂:卡介苗 (bacillus calmette-guerin) (商品名**theraCys®**和**TICE®** BCG)、地尼白介素 (denileukin diftitox) (商品名**Ontak®**);
- [0202] 抗肿瘤抗生素:阿霉素 (商品名**Adriamycin®**和**Rubex®**)、博来霉素 (商品名**lenoxane®**)、柔红霉素 (称为盐酸道诺霉素、道诺霉素和盐酸红必霉素,商品名**Cerubidine®**)、柔红霉素脂质体 (柠檬酸柔红霉素脂质体,商品名 **DaunoXome®**)、米托蒽醌 (也称为DHAD,商品名**Novantrone®**)、表柔比星 (商品名Ellence™)、伊达比星 (商品名**Idamycin®**、Idamycin **PFS®**)、丝裂霉素C (商品名**Mutamycin®**);
- [0203] 抗微管药物:雌莫司汀 (商品名**Emcyl®**);

[0204] 组织蛋白酶K抑制剂:奥当卡替 (Odanacatib) (也称为MK-0822,N-(1- 氰基环丙基)-4-氟-N<sup>2</sup>-{(1S)-2,2,2-三氟-1-[4'-(甲基磺酰基)联苯-4-基]乙 基}-L-亮氨酸酰胺,可获自LanzhouChonChemicals,ACC Corp.和 ChemieTek,公开于PCT公开号W0 03/075836);

[0205] 埃博霉素B类似物:伊沙匹隆 (Bristol-Myers Squibb以商品名 **Lxempira®**销售);

[0206] 热休克蛋白 (HSP) 抑制剂:坦螺旋霉素 (Tanespimycin) (17-烯丙基氨基 -17-脱甲氧基格尔德霉素,也称为KOS-953和17-AAG,可获自SIGMA, 公开于美国专利号4,261,989);

[0207] TpoR激动剂:艾曲波帕 (GlaxoSmithKline以商品名 **Promacta®**和 **Revolade®**销售);

[0208] 抗有丝分裂药物:多西他赛 (Sanofi-Aventis以商品名**Taxotere®**销 售);

[0209] 肾上腺皮质类固醇抑制剂:鲁米特 (商品名**Cytadren®**);

[0210] 抗雄激素:尼鲁米特 (商品名为**Nilandron®**和**Anandron®**)、比卡鲁胺 (商品名为**Casodex®**),氟他胺 (商品名Fulexin<sup>TM</sup>);

[0211] 雄激素:甲睾酮 (商品名**Halotestin®**);

[0212] 蛋白酶体抑制剂:硼替佐米 (商品名**Velcade®**);

[0213] CDK1抑制剂:Alvocidib (也称为flavopiridol或HMR-1275,2-(2-氯 代苯基)-5,7-二羟基-8-[(3S,4R)-3-羟基-1-甲基-4-哌啶基]-4-chromenone,公 开于美国专利号5,621,002);

[0214] 促性腺激素释放激素 (GnRH) 受体激动剂:亮丙瑞林或醋酸亮丙瑞林 (Bayer AG以商品名**Viadure®**销售, Sanofi-Aventor以商品名**Eligard®**销 售, Abbott Lab以商品名**Lupron®**销售);

[0215] 紫杉烷抗肿瘤剂:卡巴他赛 (1-羟基-7 $\beta$ ,10 $\beta$ -二甲氧基-9-氧代-5 $\beta$ ,20-环 氧紫杉 (tax)-11-烯-2 $\alpha$ ,4,13 $\alpha$ -三基-4-乙酸酯-2-苯甲酸酯-13-[(2R,3S)-3-{[(叔- 丁氧基)羰基]氨基}-2-羟基-3-苯基丙酸酯)、larotaxel ((2 $\alpha$ ,3 $\xi$ ,4 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,10 $\beta$ ,13 $\alpha$ )-4,10-二 (乙酰基氧基)-13-({(2R,3S)-3-[(叔-丁氧基 羰基)氨基]-2-羟基-3-苯基丙酰基}氧基)-1-羟基-9-氧代-5,20-环氧基-7,19- 环紫杉-11-烯-2-基苯甲酸酯);

[0216] 5HT<sub>1A</sub>受体激动剂:Xaliproden (也称为SR57746,1-[2-(2-萘基)乙 基]-4-[3-(三氟甲基)苯基]-1,2,3,6-四氢吡啶,公开于美国专利号5,266,573);

[0217] HPC疫苗:GlaxoSmithKline以**Cervarix®**销售,Merck以**Gardasil®**销售;

[0218] 铁螯合剂:Deferasinox (Novartis以商品名**Exjade®**销售);

[0219] 抗代谢物:Claribine (2-氯代脱氧腺苷,商品名**leustatin®**)、5-氟尿嘧 啶 (商品名**Adrucil®**)、6-硫鸟嘌呤 (商品名**Purinethol®**)、培美曲塞 (商品名 **Alimta®**)、阿糖胞苷 (也称为阿拉伯呋喃糖基胞嘧啶 (Ara-C),商品名 **Cytosar-U®**)、阿糖胞苷脂质体 (也被称为脂质体Ara-C,商品名 DepoCyt<sup>TM</sup>)、地西他滨 (商品名**Dacogen®**)、羟基脲 (商品名**Hydrea®**、Droxia<sup>TM</sup>和Mylocel<sup>TM</sup>)、氟达拉滨 (商品名**Fludara®**)、氟尿苷 (商品名

**FUDR®**、克拉屈滨(称为2-氯代脱氧腺苷(2-CdA),商品名Leustatin™)、甲氨蝶呤(也称为氨甲蝶呤、甲氨蝶呤钠(MTX),商品名**Rheumatrex®**和 Trexall™)、喷司他丁(商品名**Nipent®**);

[0220] 双膦酸盐:帕米膦酸(商品名**Aredia®**)、唑来膦酸(商品名**Zometa®**);

[0221] 脱甲基化药物:5-氮杂胞苷(商品名**Vidaza®**)、地西他滨(以商品名**Dacogen®**);

[0222] 植物生物碱:紫杉醇蛋白结合物(商品名**Abraxane®**)、长春碱(也称为 硫酸长春碱、长春花碱和VLB,商品名**Alkaban-AQ®**和**Velban®**)、长春新碱(也称为硫酸长春新碱,LCR和VCR,商品名为**Oncovin®**和Vincasar **Pfs®**)、长春瑞滨(商品名**Navelbine®**)、紫杉醇、(商品名Taxol和Onxal™);

[0223] 维甲酸类:阿利维甲酸(商品名**Panretin®**)、维甲酸(全反式视黄酸,也称为 A T R A , 商品名 **Vesanoid®**)、异维甲酸(13-顺式-视黄酸,商品名**Accutane®**、**Amnesteem®**、**Claravis®**、**Clarus®**、**Decutan®**、**Isotane®**、**Izotech®**、**Oratane®**、**Isotret®**和**Sotret®**)、贝沙罗汀(商品名**Targretin®**);

[0224] 糖皮质类固醇:氢化可的松(也称为可的松、氢化可的松琥珀酸钠、氢化可的松磷酸钠,商品名**Ala-Cort®**、氢化可的松磷酸盐,**Solu-Cortef®**、Hydrocort **Acetate®**和**Lanacort®**)、地塞米松((8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17R)-9-氟-11,17-二羟基-17-(2-羟基乙酰基)-10,13,16-三甲基-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十二氢-3H-环戊二烯并[a]菲-3-酮)、泼尼松龙(商品名

**Delta-Cortel®**、**Orapred®**、**Pediapred®**和**Prelone®**)、泼尼松(商品名**Deltasone®**、**Liquid Red®**、**Meticorten®**和**Orasone®**)、甲泼尼龙(也称为6-甲基泼尼松龙、泼尼松龙乙酸甲酯、甲泼尼松龙琥珀酸钠,商品名**Duralone®**、**Medralone®**、**Medrol®**、**M-Prednisol®**和**Solu-Medrol®**);

[0225] 细胞因子:白介素-2(也称为阿地白介素和IL-2,商品名**Proleukin®**)、白介素-11(也称为oprevelkin,以商品名**Neumega®**)、α-干扰素(也称为 IFN-α,商品名**Intron®A**和**Roferon-A®**);

[0226] 雌激素受体下调剂:氟维司群(商品名**Faslodex®**);

[0227] 抗雌激素:他莫昔芬(商品名**Novaldex®**)、托瑞米芬(商品名**Fareston®**);

[0228] 选择性雌激素受体调节剂(SERMs):雷洛昔芬(商品名**Evista®**);

[0229] 促黄体生成激素释放激素(LHRH)激动剂:戈舍瑞林(商品名**Zoladex®**);

[0230] 孕酮:甲地孕酮(也称为醋酸甲地孕酮,商品名**Megace®**);

[0231] 混杂的细胞毒类药物:三氧化二砷(商品名**Trisenox®**)、天冬酰胺酶(也称为L-

门冬酰胺酶, 欧文氏菌属L-门冬酰胺酶, 商品名 **Elspar®** 和 **Kidrolase®**);

[0232] 式(I)化合物也可以与下列联合疗法组合使用:

[0233] 抗恶心药物: NK-1受体拮抗剂: 卡索匹坦 (GlaxoSmithKline以商品名 **Rezonic®** 和 **Zunrisa®** 销售); 和

[0234] 细胞保护剂: 氨磷汀 (商品名 **Ethylol®**)、亚叶酸 (也称为甲酰四氢叶酸 钙, 嗜橙菌因子和亚叶酸)。

[0235] 在本公开中引用的参考文献条目不应当理解为承认引用的文献是能够对本发明专利性有负面影响的现有技术。

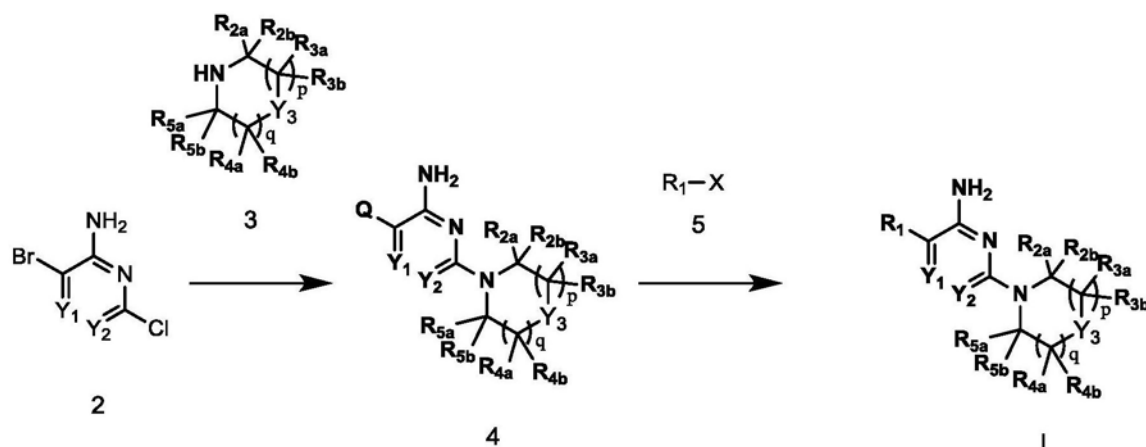
[0236] 本发明化合物的制备方法

[0237] 本发明还包括本发明化合物的制备方法。在所述反应中, 有必要对需要最终产物中存在的反应性官能团加以保护, 例如羟基、氨基、亚氨基、硫代或羧基, 以避免其不必要地参与反应。常规的保护基团可以根据标准实践使用, 例如参见 T.W. Greene 和 P.G.M. Wuts, “有机化学中的保护基团”, John Wiley and Sons, 1991。

[0238] 式I化合物可以根据下面的反应流程I制备:

[0239] 反应流程I:

[0240]



[0241] 其中p、q、n、Y<sub>1</sub>、Y<sub>2</sub>、Y<sub>3</sub>、X、R<sub>2a</sub>、R<sub>2b</sub>、R<sub>3a</sub>、R<sub>3b</sub>、R<sub>4a</sub>、R<sub>4b</sub>、R<sub>5a</sub>和R<sub>5b</sub>如本发明概述中式I所定义, Q为卤素(如溴)或硫醇、硼酸酯或锡酸酯, 使其与化合物5中的卤素反应。于室温下, 或者在加热或微波条件下, 在有或无过渡金属存在下, 在适当的酸或碱条件下, 通过使得化合物2与化合物3反应, 可以制备化合物4。或者, 化合物2的卤素可以被其它卤素或适当的活化基团代替, 所述活化剂例如三氟甲磺酸酯基、甲磺酸酯基、甲苯磺酸酯基、全氟丁基磺酸酯基(nonaflates)、硼酸酯基(boronates)、有机金属锡烷、有机金属甲硅烷基、有机锌、锂、镁等。

[0242] 式I化合物可以通过使得化合物4与适当的偶合配对物(例如化合物5)根据X的性质反应制备。例如, 如反应流程I所示, 化合物5显示为通过X连接的取代的苯基。或者, 化合物5可以是芳基醇、芳基硫代、芳基硼酸酯、芳基锡酸酯、杂芳基醇、芳基硫醇、杂芳基硫醇、芳基硼酸酯、芳基-锡烷、烯烃或其它芳基-金属或杂芳基金属等。偶合配对物也可以被取代。该反应可以在适当的酸或碱性条件下、在有或无过渡金属如钯存在下、于室温下或者在加热或微波条件下进行。也可以采用其它卤素或适当的活化基团(例如三氟甲磺酸酯



基、甲磺酸酯基、甲苯磺酸酯基和全氟丁基磺酸酯基)代替Br进行这些转化。

[0243] 或者,偶合配对物可以是相反的,可以将化合物2衍生为锡烷、硼酸酯、有机锌、有机锂、有机镁、有机硅、有机酮酸盐,与适当的芳基-卤化物、杂芳基-卤化物、烯烃或适当的反应性官能团(例如三氟甲磺酸酯基、甲磺酸酯基、甲苯磺酸酯基和全氟丁基磺酸酯基)等偶合。

[0244] 这些反应可以按所述顺序进行,或者以相反顺序进行,在各种溶剂、温度、压力和适当的环境中进行。该反应可以在酸、碱和/或过渡金属条件下进行。

[0245] 式I化合物的合成的详细示例可以参考下面的实施例。

[0246] 制备本发明化合物的其它方法

[0247] 通过使得游离碱形式的化合物与药学上可接受的无机或有机酸反应,可以将本发明化合物制备为药学上可接受的酸加成盐。或者,通过使得游离酸形式的化合物与药学上可接受的无机或有机碱反应,可以制备本发明化合物的药学上可接受的碱加成盐。

[0248] 式I化合物也可以通过附加适当的官能团而修饰以提高选择性的生物学性质。此类修饰在本领域中是已知的,包括增加进入给定生物系统(如血液、淋巴系统、中枢神经系统、睾丸)的渗透、增加生物利用度、增加溶解度以使得可以肠胃外给药(如注射、输注)、改变代谢和/或改变分泌速率。此类修饰的示例包括但不限于:例如采用聚乙二醇的酯化,采用新戊酰氧基或脂肪酸取代基的衍生化,转化为氨基甲酸酯、芳环的羟基化和芳环中杂原子的取代。无论何时提及式I化合物和/或其N-氧化物、其互变异构体和/或(优选药学上可接受的)盐时,均应当包括该修饰的结构式,并且优选式I分子、其N-氧化物、其互变异构体和/或其盐。

[0249] 或者,盐形式的本发明化合物可以采用原料或中间体的盐制备。考虑到新的式I化合物的游离形式与其盐形式(包括那些可以用作中间体的盐,例如在新化合物纯化或鉴别中使用的)的密切联系,如果适当和便利的话,在上下文中对无论何时提及I化合物均应当理解为既是指该化合物的游离形式和/或也是指其一或多种盐以及一或多种溶剂化物,例如水合物。

[0250] 优选采用无机或有机酸与具有碱性氮原子的I化合物形成盐,例如酸加成盐,特别是药学上可接受的盐。适当的无机酸例如卤酸如盐酸、硫酸或磷酸。适当的有机酸例如羧酸、膦酸、磺酸或氨基磺酸,例如乙酸、丙酸、辛酸、癸酸、十二烷酸、乙醇酸、乳酸、富马酸、琥珀酸、丙二酸、己二酸、庚二酸、辛二酸、壬二酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、氨基酸(如谷氨酸或天冬氨酸)、马来酸、羟基马来酸、甲基马来酸、环己烷羧酸、金刚烷羧酸、苯甲酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、邻苯二甲酸、苯乙酸、扁桃酸、肉桂酸、甲-或乙-磺酸、2-羟基乙磺酸、乙烷-1,2-二磺酸、苯磺酸、4-甲苯磺酸、2-萘磺酸、1,5-萘二磺酸、2-或3-甲基苯磺酸、甲基硫酸、乙基硫酸、十二烷基硫酸、N-环己基氨基磺酸,N-甲基-、N-乙基-或N-丙基-氨基磺酸,或者其它有机质子酸,如抗坏血酸。

[0251] 为了分离或纯化的目的,也可以采用药学上不接受的盐,例如苦味酸盐或高氯酸盐。为了治疗的用途,只能使用药学上可接受的盐或游离化合物(当以药物制剂的形式应用时),因此,优选上述盐。

[0252] 游离酸或游离碱形式的本发明化合物可以分别制备自相应的碱加成盐或酸加成盐形式。例如,酸加成盐形式的本发明化合物可以通过用适当的碱(如氢氧化铵溶液、氢氧

化钠等)处理转化为相应的游离碱。碱加成盐形式的本发明化合物可以通过采用适当的酸(例如盐酸等)处理而转化为相应的游离酸。

[0253] 在适当的惰性有机溶剂(例如乙腈、乙醇、二氧六环水溶液等)中、于0 – 80℃,通过采用还原剂(例如硫、二氧化硫、三苯膦、硼氢化锂、硼氢化钠、三氯化磷、三溴化磷等)处理,可以自本发明化合物的N-氧化物制备未氧化形式的本发明化合物。

[0254] 本发明化合物的前药衍生物可以根据本领域技术人员已知的方法制备(例如,详细方法可以参考Saulnier等(1994), *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 第4卷, 第1985页)。例如,通过使得非衍生化的本发明化合物与适当的氨甲酰化剂(例如1,1-酰氧基烷基甲酰氯、对-硝基苯基碳酸酯等)反应,可以制备适当的前药。

[0255] 本发明化合物的被保护的衍生物可以根据本领域技术人员公知的方法制备。用于保护基团的引入和脱除的技术的详细描述可参见T.W.Greene的“有机化学中的保护基团(Protecting Groups In Organic Chemistry)”,第3版, John Wiley And Sons, Inc., 1999。

[0256] 本发明化合物可以作为溶剂化物(例如水合物)在本发明工艺过程中方便地制备或形成。本发明的水合物可以通过在水/有机溶剂混合物中重结晶而方便地制备,采用的有机溶剂例如二噁英、四氢呋喃或甲醇。

[0257] 本发明化合物可以通过如下方法制备为其单一立体异构体:使得化合物的外消旋混合物与光学活性的拆分剂反应,形成一对非对映异构体化合物,分离该非对映异构体,回收光学纯的对映体。尽管对映体的拆分可以采用本发明化合物的共价非对映异构体衍生物进行,但是优选可解离的复合物(例如结晶的非对映异构体盐)。非对映体具有不同的物理性质(例如熔点、沸点、溶解度、反应性等),通过利用这些不同可以容易地分离。非对映体可以通过色谱法来分离,或者优选通过基于溶解度的差异的分离/拆分技术。然后,旋光纯的对映体以及拆分剂可以通过不会导致外消旋化的任何实用方法而回收。适用于化合物的立体异构体与其外消旋混合物的拆分技术的更详细说明可以参见Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, “对映体、外消旋体和拆分(Enantiomers, Racemates and Resolutions)”, John Wiley and Sons, Inc., 1981。

[0258] 总之,式I化合物可以通过包括下列步骤的方法制备:

[0259] (a) 反应流程I的方法;和

[0260] (b) 任选将本发明化合物转化为药学上可接受的盐;

[0261] (c) 任选将盐形式的本发明化合物转化为非盐形式;

[0262] (d) 任选将未氧化形式的本发明化合物转化为药学上可接受的N-氧化物;

[0263] (e) 任选将N-氧化物形式的本发明化合物转化为未氧化形式;

[0264] (f) 任选自异构体混合物拆分本发明化合物的单独的异构体;

[0265] (g) 任选将非衍生化的本发明化合物转化为药学上可接受的前药衍生物;和

[0266] (h) 任选将本发明化合物的前药衍生物转化为其非衍生化形式。

[0267] 如果原料的生产没有特别描述,则该化合物为已知的,或者可以根据类似于本领域已知的方法或下文实施例中公开的方法制备。

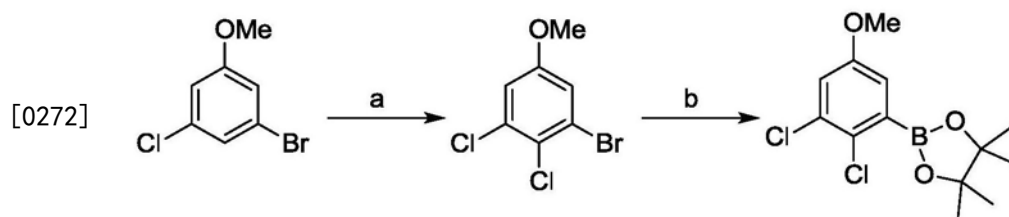
[0268] 本领域技术人员应当理解,上述转化仅仅是本发明化合物制备方法的代表,同样可以采用其它众所周知的方法。

## 实施例

[0269] 下面的实施例和中间体用于阐述本发明而非对其范围加以限定。在实施例中使用的某些缩写如下：乙酸 (AcOH)；三乙胺 (TEA)；四氢呋喃 (THF)；水的 (aq.)；大气压 (atm.)；2,2'-联-二苯基磷基-[1,1']联萘 (BINAP)；4-二甲 基氨基吡啶 (DMAP)；叔-丁氧基羰基 (Boc)；1,1-羰基二咪唑 (CDI)；二碳酸 二-叔-丁基酯 (BOC<sub>2</sub>O)；苯并三唑-1-基-氧基-三-(二甲基氨基)-膦鎓六氟磷 酸盐 (BOP)；二氯甲烷 (DCM)；乙醚 (Et<sub>2</sub>O)；对-甲苯磺酸 (PTSA)；乙酸乙 酯 (EtOAc)；乙醇 (EtOH)；二(三甲基甲硅烷基)氮化锂 (LHMDS)；偶氮二 甲酸二异丙基酯 (DIAD)；N,N-二异丙基-乙基胺 (DIEA或DIPEA)；N,N- 二甲基甲酰胺 (DMF)；二 甲基亚砜 (DMSO)；二苯基磷酰基叠氮化物 (DPPA)；小时 (h)；2-(1H-7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒鎓六氟磷 酸盐 (HATU)；高效液相色谱 (HPLC)；氢化铝锂 (LAH)；液相 色谱-质谱 (LCMS)；二异丙基氮化锂 (LDA)；甲醇 (MeOH)；毫升 (mL)；分钟 (min)；微波 (MW)；正-丁基锂 (n-BuLi)；1,1-二(二苯基膦基)-二茂铁二氯化钯 (II) (PdCl<sub>2</sub>(dppf))；三(二亚 苄基丙酮)二钯 (0) (Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>)；二氯代二(三苯膦) 钯 (II) (PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)；室温 (RT)；三氟 乙酸 (TFA)；四氢呋喃 (THF)；薄层 色谱 (TLC)；保留时间 (t<sub>R</sub>)；和4,5-二(二苯基膦基)-9,9-二甲基咕吨。(Xantophos)。

[0270] 中间体1

[0271] 2-(2,3-二氯代-5-甲氧基苯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷

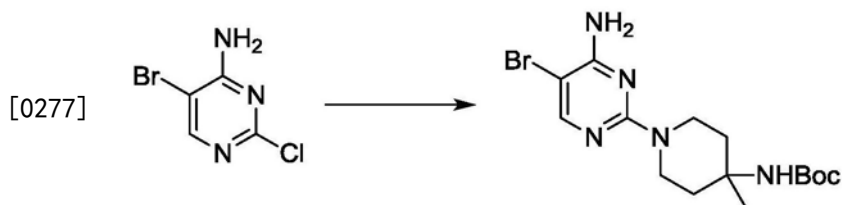


[0273] 步骤a:将1-溴-3-氯代-5-甲氧基苯 (835mg, 3.77mmol) 和1,3,5-三氯代 -1,3,5-三嗪-2,4,6-三酮 (299mg, 1.29mmol) 的DMF (18mL) 溶液于N<sub>2</sub>和50℃ 搅拌16h。冷却至室温后,将反应混合物用NH<sub>4</sub>Cl水溶液稀释,用Et<sub>2</sub>O 萃取。合并的有机相经硫酸镁干燥,过滤,浓缩,获得的残留物通过硅胶 色谱纯化 (0—25%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),获得1-溴-2,3-二氯代-5-甲氧 基苯 (720mg, 2.81mmol)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δppm 7.14 (d, J=2.76 Hz, 1H), 7.01 (d, J=3.01Hz, 1H), 3.81 (s, 3H)。

[0274] 步骤b:将1-溴-2,3-二氯代-5-甲氧基苯 (710mg, 2.77mmol)、4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-二(1,3,2-二氧杂环戊硼烷) (775mg, 3.05mmol)、乙酸钾 (817mg, 8.32mmol) 和PdCl<sub>2</sub>(dppf) (101mg, 0.139mmol) 在二氧六环 (5.5mL) 中的混悬液在微波反应器中于100℃搅拌1h,获得目标化合物, 为二氧六环的溶液,其可以直接用于Suzuki-Miyaura偶合反应。

[0275] 中间体2

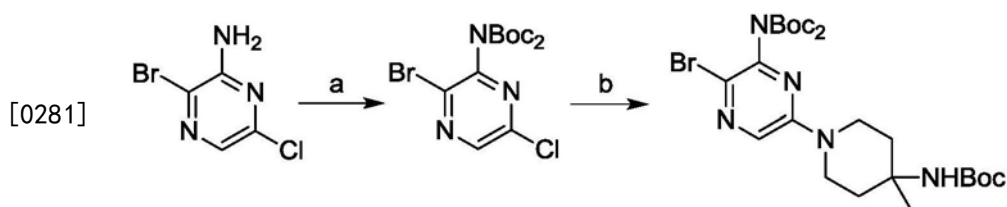
[0276] (1-(4-氨基-5-溴嘧啶-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯



[0278] 将5-溴-2-氯代嘧啶-4-胺(650mg, 3.12mmol)、(4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(835mg, 3.90mmol)和4-甲基吗啉(411 $\mu$ L, 3.74mmol)的NMP (6.25mL)溶液在微波反应器中于130℃搅拌90min。将获得的残留物倒入水(100mL),于室温下搅拌5min。过滤形成的固体,高真空干燥16h,获得(1-(4-氨基-5-溴嘧啶-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(880mg, 2.28mmol)。MS  $m/z$  387.3 (M+H)<sup>+</sup>。

[0279] 中间体3

[0280] (3-溴-6-(4-((叔-丁氧基羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)(叔-丁氧基羰基)氨基甲酸叔-丁基酯

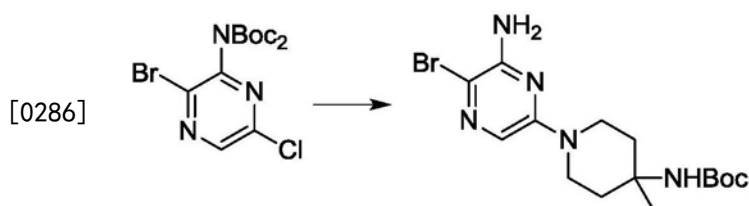


[0282] 步骤a:将3-溴-6-氯代吡嗪-2-胺(10.0g, 48.0mmol)、DMAP(2.99g, 24.47mmol)和二碳酸二-叔-丁基酯(26.2g, 120mmol)的DCM(96mL)溶液于室温下搅拌16h。将反应混合物用盐水稀释,用EtOAc萃取。合并的有机相经硫酸镁干燥,过滤,浓缩,获得的残留物通过硅胶色谱纯化(0—30%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),获得(3-溴-6-氯代吡嗪-2-基)氨基甲酸叔-丁基酯(18.77g, 45.9mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 氯仿-d)  $\delta$ ppm 8.36(s, 1H), 1.45(s, 18H)。

[0283] 步骤b:将(3-溴-6-氯代吡嗪-2-基)氨基甲酸叔-丁基酯(11.9g, 29.1mmol)、(4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(12.48g, 58.2mmol)和4-甲基吗啉(3.84mL, 34.9mmol)的NMP(58mL)溶液于90℃搅拌16h。冷却至室温后,将反应混合物倒入H<sub>2</sub>O(300mL)中,过滤形成的固体。将该固体进一步通过硅胶色谱纯化(0—30%的EtOAc/庚烷(含有0.25%v/v的Et<sub>3</sub>N)梯度洗脱),获得(3-溴-6-(4-((叔-丁氧基羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)(叔-丁氧基羰基)氨基甲酸叔-丁基酯(80%的纯度)。将该化合物进一步通过硅胶色谱纯化(0—7%的EtOAc/DCM(含有0.25%v/v的Et<sub>3</sub>N)梯度洗脱),获得(3-溴-6-(4-((叔-丁氧基羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)(叔-丁氧基羰基)氨基甲酸叔-丁基酯(7.02g, 11.97mmol)。MS  $m/z$  586.5 (M+H)<sup>+</sup>。

[0284] 中间体4

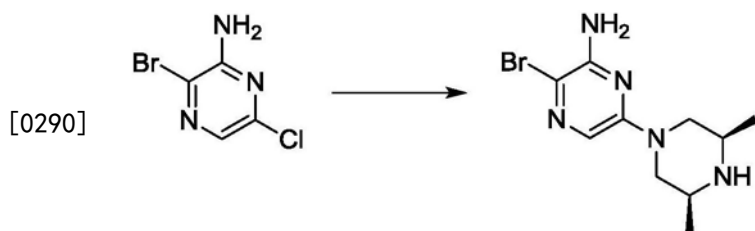
[0285] (1-(6-氨基-5-溴吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯



[0287] 将(3-溴-6-氯代吡嗪-2-基)氨基甲酸叔-丁基酯(8.184g, 20.03mmol)、(4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(8.58g, 40.1mmol)和4-甲基吗啉(2.64mL, 24.03mmol)的NMP(50mL)溶液于150℃搅拌16h。冷却至室温后,将反应混合物采用NaHCO<sub>3</sub>水溶液稀释,用Et<sub>2</sub>O萃取。合并的有机相经硫酸镁干燥,过滤,浓缩,获得的残留物通过硅胶色谱纯化(4-40%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),获得(1-(6-氨基-5-溴吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(1.629g, 4.01mmol)。MS m/z 388.0 (M+H)<sup>+</sup>。

[0288] 中间体5

[0289] 3-溴-6-((3S,5R)-3,5-二甲基哌嗪-1-基)吡嗪-2-胺

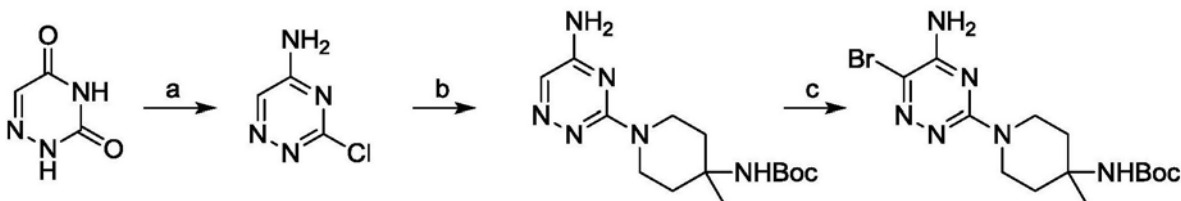


[0291] 将3-溴-6-氯代吡嗪-2-胺(250mg, 1.199mmol)和(2S,6R)-2,6-二甲基哌嗪(151mg, 1.319mmol)的DIPEA(1.5mL, 8.59mmol)悬浮液于130℃搅拌16 h。冷却至室温后,减压除去挥发物,将获得的固体悬浮于H<sub>2</sub>O中,过滤,固体进一步通过HPLC纯化(35-60%的乙腈水溶液梯度洗脱,5mM NH<sub>4</sub>OH改性),获得3-溴-6-((3S,5R)-3,5-二甲基哌嗪-1-基)吡嗪-2-胺(40.0mg, 0.140mmol)。MS m/z (M+H)<sup>+</sup>287.0。

[0292] 中间体6

[0293] (1-(5-氨基-6-溴-1,2,4-三嗪-3-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯

[0294]



[0295] 步骤a:于90℃,将6-氮杂尿嘧啶(1.0g, 8.84mmol)、POCl<sub>3</sub>(10mL, 107 mmol)和N,N-二甲基苯胺(2mL, 1.784mmol)的溶液在微波反应器中搅拌 25min,冷却至RT,将反应物倾至含有庚烷(200mL)的烧杯中,于RT搅拌5min,分离各相,重复该步骤两次(每次200mL庚烷),通过硅藻土垫过滤庚烷相,经MgSO<sub>4</sub>干燥,减压除去挥发物,用NH<sub>3</sub>(7N的MeOH溶液,5mL在10mL的MeOH中)处理得到的于0℃预冷的残留物。于RT搅拌混合物5min,然后除去挥发物,得到3-氯代-1,2,4-三嗪-5-胺(200mg, 17.3%产率)。该化合物不经进一步纯化直接使用。

[0296] 步骤b:于130℃,将3-氯代-1,2,4-三嗪-5-胺(165mg, 1.264mmol)、(4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(271mg, 1.264mmol)和4-甲基吗啉(208 μL, 1.896mmol)的NMP(5mL)溶液在微波反应器中搅拌3h,冷却至RT,经HPLC纯化残留物(15-40%乙腈的水溶液梯度洗脱,5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂),得到(1-(5-氨基-1,2,4-三嗪-3-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(71.0mg, 0.23mmol)。MS m/z 308.4 (M+H)<sup>+</sup>。

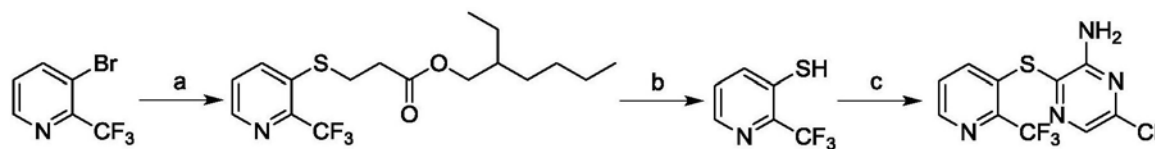
[0297] 步骤c:于RT,将(1-(5-氨基-1,2,4-三嗪-3-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(71mg, 0.230mmol)和NBS(41mg, 0.230mmol)的CHCl<sub>3</sub>(2 mL)溶液搅拌16h,减压除去

挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(0—5% MeOH(含有1%NH<sub>3</sub>)/DCM)梯度洗脱,得到(1-(5-氨基-6-溴-1,2,4-三嗪-3-基)-4-甲基吡啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(87mg,0.23mmol)。MS  $m/z$  387.3 (M+H)<sup>+</sup>。

[0298] 中间体7

[0299] 6-氯代-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺

[0300]



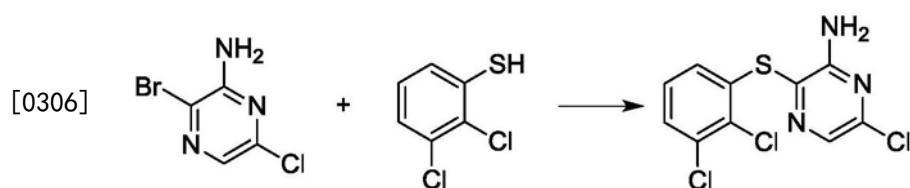
[0301] 步骤a: (RT和N<sub>2</sub>下)向3-溴-2-(三氟甲基)吡啶(1.0g,4.42mmol)、XantPhos(256mg,0.442mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(203mg,0.221mmol)的二氧六环(12mL)溶液中加入2-乙基己基-3-巯基丙酸酯(1.1mL,4.87mmol),接着加入DIPEA(1.55mL,8.85mmol)。于110℃在微波反应器中搅拌得到的溶液1h,冷却至RT,通过硅藻土垫过滤,随后用EtOAc(25mL)洗涤,浓缩合并的滤液,残留物经硅胶色谱纯化(0—30%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到2-乙基己基3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)丙酸酯(1.41g,3.88mmol)。MS  $m/z$  364.0 (M+H)<sup>+</sup>。

[0302] 步骤b: 于-78℃、N<sub>2</sub>下,向2-乙基己基3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)丙酸酯(1.0g,2.75mmol)的THF(8mL)溶液加入叔丁醇钾(1M的THF溶液,8.25mL,8.25mmol),于-78℃剧烈搅拌20min,反应物用K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>aq(2M,500μL)骤冷,减压除去挥发物,将得到的残留物倾至含有K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>aq(2M,30mL)的分离漏斗中,用Et<sub>2</sub>O(2×20mL)萃取,用6M HCl酸化水相直至pH 4,用CHCl<sub>3</sub>:IPA(9:1;3×20mL)再萃取得到的混浊悬浮液,得到2-(三氟甲基)吡啶-3-硫醇(380mg,2.12mmol)。MS  $m/z$  180.0 (M+H)<sup>+</sup>。

[0303] 步骤c: (RT和N<sub>2</sub>下)向2-(三氟甲基)吡啶-3-硫醇(285mg,1.591mmol)、3-溴-6-氯代吡嗪-2-胺(414mg,1.988mmol)、XantPhos(101mg,0.175mmol)和Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(72.8mg,0.08mmol)的二氧六环(2mL)溶液中加入DIPEA(556μL,3.18mmol),于130℃将得到的溶液在微波反应器中搅拌1.5h,冷却至RT,反应物用EtOAc稀释,通过硅藻土垫过滤,随后用EtOAc(25mL)洗涤,浓缩合并的滤液,残留物经硅胶色谱纯化(0—30%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到6-氯代-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(1.41g,3.88mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δppm 8.64(dd, J=4.55, 1.26Hz, 1H), 7.90(s, 1H), 7.82(dd, J=8.08, 0.76Hz, 1H), 7.46(dd, J=8.08, 4.80Hz, 1H); <sup>19</sup>F NMR(376MHz,氯仿-d) δppm -64.34(s, 1F)。MS  $m/z$  307.1 (M+H)<sup>+</sup>。

[0304] 中间体8

[0305] 6-氯代-3-((2,3-二氯代苯基)硫代)吡嗪-2-胺

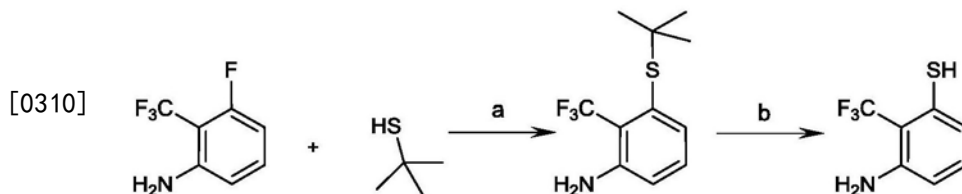


[0307] 于85℃,将3-溴-6-氯代吡嗪-2-胺(5.0g,23.99mmol)、2,3-二氯代苯硫酚(6.44g,36.0mmol)、碘化铜(I)(914mg,4.80mmol)、磷酸钾(10.18g,48.0mmol)和1,10-邻二氮杂菲(1.73mg,9.59mmol)的二氧六环(50mL,脱气的)混合液搅拌16h,冷却至RT,反应

物用EtOAc稀释,通过硅藻土垫过滤,随后用EtOAc (50mL) 洗涤,减压除去挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(0—25%的DCM/甲苯梯度洗脱),得到6-氯代-3-((2,3-二氯代苯基)硫代)吡嗪-2-胺(3.7g,12.07mmol)。MS  $m/z$  306.0 (M+H)<sup>+</sup>。

[0308] 中间体9

[0309] 3-氨基-2-(三氟甲基)苯硫酚

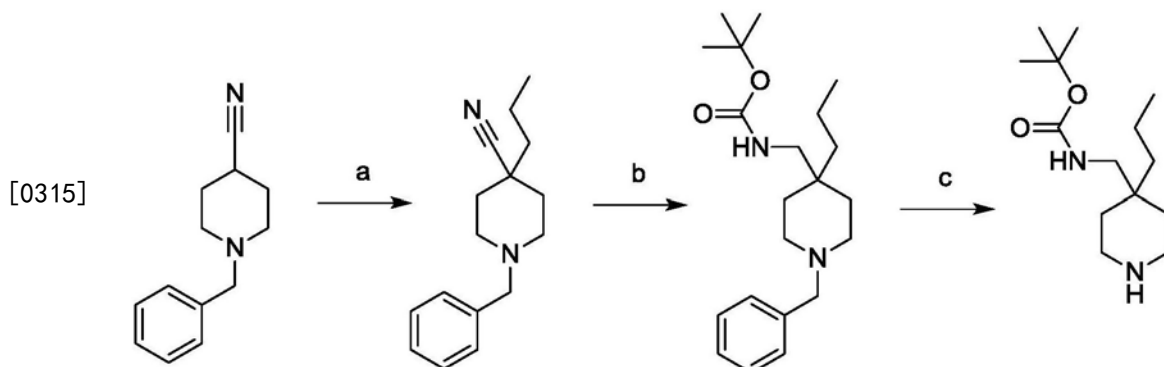


[0311] 步骤a:于130℃,将2-甲基丙烷-2-硫醇(18.31mL,162mmol)、3-氟-2-(三氟甲基)苯胺(9.7g,54.1mmol)和碳酸铯(5.29g,162mmol)的DMF (100mL) 悬浮液搅拌14h,冷却至RT,用EtOAc稀释反应混合物,用盐 水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩,得到3-(叔-丁基硫代)-2-(三氟甲基)苯胺(12.5g,50.2mmol)。MS  $m/z$  250.2 (M+H)<sup>+</sup>。

[0312] 步骤b:于85℃,将3-(叔-丁基硫代)-2-(三氟甲基)苯胺(2.2g,8.82mmol) 的浓HCl (80mL,2.65mol) 悬浮液搅拌3h,冷却至RT,减压除去挥发物,过滤得到的固体,用EtOAc洗涤,于40℃高真空干燥,得到目标化合物的HCl盐(1.02g,4.44mmol)。MS  $m/z$  194.1 (M+H)<sup>+</sup>。

[0313] 中间体10

[0314] ((4-丙基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯



[0316] 步骤a:向N,N-二异丙基胺(14.0mL,97.5mmol)的THF (100mL) 溶液 中滴加(-78℃、N<sub>2</sub>下)n-丁基锂(1.6M的己烷溶液;59.0mL,94.25mmol),于RT将得到的混合物搅拌30min,于-78℃加入1-苄基哌啶-4-甲腈(6.5g,32.5mmol)的THF (50mL) 溶液,于该温度下搅拌30min后,加入n-丙基 碘(20.5mL,211.3mmol),于-78℃搅拌得到的混合物1h,加入氯化铵水溶液使混合物骤冷,用EtOAc萃取,合并的有机相用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩,得到1-苄基-4-丙基哌啶-4-甲腈(6.0g,24.8mmol),该 化合物不经进一步纯化直接使用。MS  $m/z$  243 (M+H)<sup>+</sup>。

[0317] 步骤b:于0℃,向1-苄基-4-丙基哌啶-4-甲腈(1.0g,4.1mmol)、BOC<sub>2</sub>O (2.84mL,12.4mmol)和NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (0.195g,0.82mmol)的MeOH (20mL) 悬浮液中逐份加入硼氢化钠(1.0g,28.9mmol),于RT搅拌得到的混合物 12h,减压除去挥发物,将得到的残留物溶于DCM,通过硅藻土过滤,减压除去挥发物,得到的残留物经硅胶色谱纯化(0—15%的EtOAc/

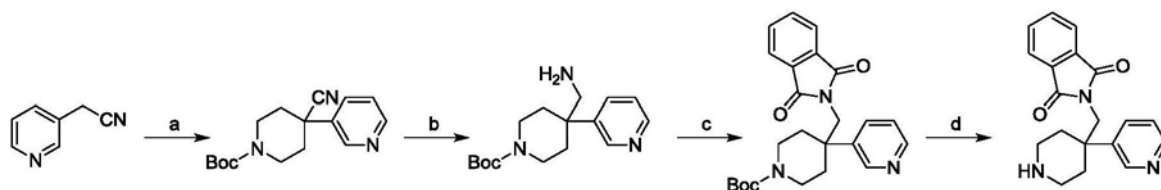
庚烷梯度洗脱),得到((1-苄基-4-丙基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(0.8g,2.3 mmol)。MS  $m/z$  347 (M+H)<sup>+</sup>。

[0318] 步骤c:于RT、H<sub>2</sub>(气囊)下,将(1-苄基-4-丙基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(5.0g,14.4mmol)和10%Pd/C(2g)的MeOH(100mL)悬浮液剧烈搅拌4h,通过硅藻土垫过滤,用MeOH洗涤,减压除去挥发物,得到的残留物用戊烷研磨,得到((4-丙基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(2.7g,10.5mmol),为白色粉末。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 6.68(m,1H),2.87(d,J=6.4Hz,2H),2.69-2.53(m,4H),1.38(s,9H),1.18(m,8H),0.84(q,J=5.9Hz,3H)。MS  $m/z$  257 (M+H)<sup>+</sup>。

[0319] 中间体11

[0320] 2-((4-(吡啶-3-基)哌啶-4-基)甲基)异吲哚啉-1,3-二酮

[0321]



[0322] 步骤a:于0℃,向氢化钠(60%的矿物油分散液,1.487g mg,37.2mmol)的DMF(25mL)悬浮液中滴加2-(吡啶-3-基)乙腈(1.537g,13.01mmol)的DMF(5mL)溶液,于0℃搅拌得到的混合物30min,于0℃加入-双(2-氯代乙基)氨基甲酸叔-丁基酯(3.0g,12.39mmol)的DMF(5mL)溶液,于0℃搅拌得到的混合物15min,于75℃搅拌16h,冷却至RT,用NaHCO<sub>3</sub>aq. 稀释反应混合物,用Et<sub>2</sub>O萃取,合并的有机相经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,浓缩,残留物经硅胶色谱纯化(10—80%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到4-氰基-4-(吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(2.58g,8.98mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz,氯仿-d) $\delta$ ppm 8.69(d,J=2.02Hz,1H),8.55(dd,J=4.80,1.52Hz,1H),7.68-7.81(m,1H),7.30(ddd,J=8.08,4.80,0.76Hz,1H),4.25(br.s.,2H),3.15(br.s.,2H),2.06(d,J=11.87Hz,2H),1.81-1.98(m,2H),1.42(s,9H)。

[0323] 步骤b:于RT,向4-氰基-4-(吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(1.0g,3.48mmol)的MeOH(30mL)溶液中加入CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O(828mg,2.38mmol)和硼氢化钠(658mg,17.40mmol),于RT,搅拌得到的混合物1h,减压除去挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(0—15%的MeOH/DCM梯度洗脱),得到4-(氨基甲基)-4-(吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(683mg,2.344 mmol)。MS  $m/z$  292.2 (M+H)<sup>+</sup>。

[0324] 步骤c:于105℃,将4-(氨基甲基)-4-(吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(683mg,2.344mmol)、邻苯二甲酸酐(434mg,2.93mmol)、活化的分子筛(3埃,500mg)和DIPEA(1.23mL,7.03mmol)的甲苯(12mL)悬浮液搅拌16h,冷却至RT,通过硅藻土垫过滤混合物,接着用EtOAc(10mL)洗涤,减压除去挥发物和残留物,经硅胶色谱纯化(0—10%的MeOH/DCM梯度洗脱),得到4-((1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)甲基)-4-(吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(640mg,1.518mmol)。MS  $m/z$  422.3 (M+H)<sup>+</sup>。

[0325] 步骤d:于RT将4-((1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)甲基)-4-(吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(640mg,1.518mmol)和HCl(4M的二氧六环溶液,1.9 mL,7.59mmol)的二氧六环(20mL)溶液搅拌16h,减压除去挥发物,得到目标化合物的HCl盐(543mg,1.518mmol)。MS

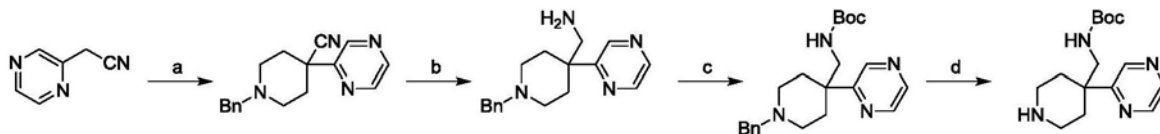


m/z 322.2 (M+H)<sup>+</sup>。

[0326] 中间体12

[0327] ((4-(吡嗪-2-基)哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯

[0328]



[0329] 步骤a:于0℃,用10min向氢化钠(60%的矿物油分散液,1.90g,47.7 mmol)的DMF(30mL)悬浮液中滴加2-(吡嗪-2-基)乙腈(1.90g,15.90mmol)的DMF(5mL)溶液,于0℃搅拌得到的混合物30min,于0℃加入N-苄基-2-氯代-N-(2-氯代乙基)乙胺(4.7g,17.5mmol)的DMF(5mL)溶液,于0℃搅拌得到的混合物15min,于90℃搅拌16h,冷却至RT,反应混合物用NaHCO<sub>3</sub>aq.稀释,用EtOAc(3×25mL)萃取,合并的有机相经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,浓缩,得到的残留物用己烷研磨纯化,得到1-苄基-4-(吡嗪-2-基)哌啶-4-甲腈(1.60g,5.76mmol)。

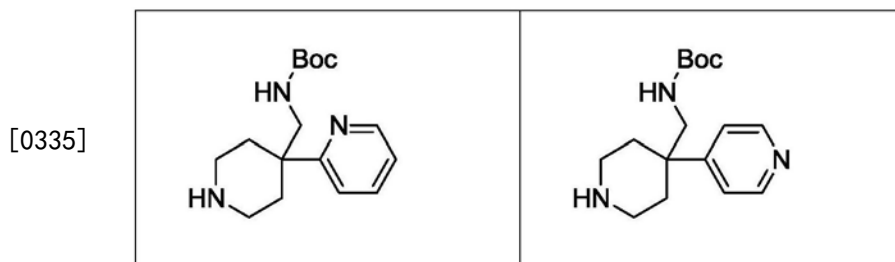
[0330] 步骤b:于RT,向1-苄基-4-(吡嗪-2-基)哌啶-4-甲腈(1.50g,5.39mmol)的NH<sub>3</sub>(7N的MeOH溶液,50mL)溶液中加入雷氏镍(750mg),于RT、H<sub>2</sub>(60psi)下剧烈搅拌得到的悬浮液直到原料消失(16h),通过硅藻土垫过滤反应混合物,随后用MeOH(50mL)洗涤,减压除去挥发物,得到(1-苄基-4-(吡嗪-2-基)哌啶-4-基)甲胺(1.20g,4.25mmol),该物质不经进一步纯化直接用于下一步骤。MS m/z 319 (M+H)<sup>+</sup>。

[0331] 步骤c:于RT,将(1-苄基-4-(吡嗪-2-基)哌啶-4-基)甲胺(1.20g,4.25 mmol)、Et<sub>3</sub>N(1.17mL,8.51mmol)和Boc<sub>2</sub>O(1.95mL,8.51mmol)的DCM(50mL)溶液搅拌2h。用H<sub>2</sub>O稀释反应物,用DCM(3×25mL)萃取,合并的有机相用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压除去挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(0—100%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到((1-苄基-4-(吡嗪-2-基)哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(1.30g,3.40mmol)。MS m/z 383 (M+H)<sup>+</sup>。

[0332] 步骤d:于RT、H<sub>2</sub>(50psi)下,将((1-苄基-4-(吡嗪-2-基)哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(1.50g,3.93mmol)和Pd(OH)<sub>2</sub>(20%钯炭,600mg,50%水分)的MeOH(20mL)悬浮液剧烈搅拌3h,通过硅藻土垫过滤反应混合物,接着用MeOH(50mL)洗涤,减压除去挥发物,得到((4-(吡嗪-2-基)哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(1.10g,3.76mmol),该物质不经进一步纯化直接使用。MS m/z 283 (M+H)<sup>+</sup>。

[0333] 采用上述方法或上述方法的改进方法,并使用相应的杂芳族腈制备表1中的中间体。

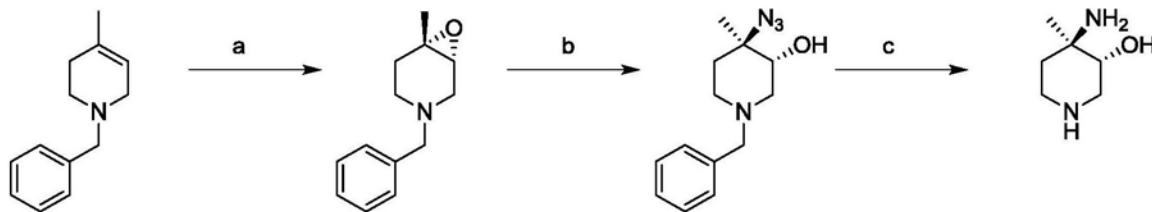
[0334] 表1



[0336] 中间体13

[0337] 外消旋的反式-4-氨基-4-甲基哌啶-3-醇

[0338]



[0339] 步骤a:根据Grishina等在Russian Journal of Organic Chemistry, vol. 41, No.2, 2005中所述方法,将得自商业的1-苄基-4-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶 转化为外消旋的3-苄基-6-甲基-7-氧杂-3-氮杂双环[4.1.0]庚烷。

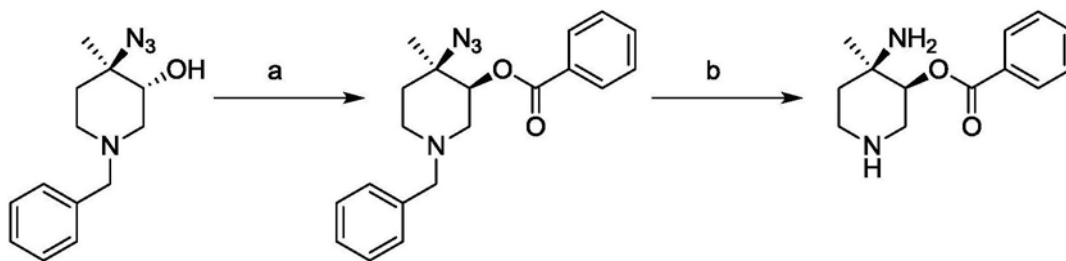
[0340] 步骤b:向0℃的外消旋的3-苄基-6-甲基-7-氧杂-3-氮杂双环[4.1.0]庚烷 (4.5g, 22.153mmol) 的水 (45mL) 和乙酸 (22mL) 溶液中加入叠氮化钠 (7.2 g, 110.766mmol), 将反应物温热至RT, 搅拌16h, 加入饱和的aq碳酸 氢钠 (60mL) 骤冷反应物, 用DCM (3×200mL) 和EtOAc (2×150mL) 萃取 混合物, 合并的有机萃取物用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。粗品产物经硅胶色谱纯化 (25–30%的EtOAc/庚烷梯度洗脱), 得到外消旋 的反式-4-叠氮基-1-苄基-4-甲基哌啶-3-醇 (3.3g, 16.23mmol)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 7.34–7.24 (m, 5H), 3.53 (s, 2H), 3.35 (s, 1H), 2.70–2.57 (m, 3H), 3.32–2.26 (m, 1H), 1.89–1.81 (m, 1H), 1.59–1.55 (m, 1H), 1.37 (s, 3H). MS m/z 247.4 (M+H)<sup>+</sup>。

[0341] 步骤c:向外消旋的反式-4-叠氮基-1-苄基-4-甲基哌啶-3-醇 (474mg, 1.926mmol) 的MeOH溶液中加入催化量的Pd/C, 将该溶液脱气并再回充 H<sub>2</sub> 2×, 将反应物搅拌1h, LCMS表明SM消耗完毕, 通过硅藻土过滤 (MeOH) 反应物, 得到444mg物质 (黄色油状物/半固体)。<sup>1</sup>H NMR表明还 原不完全 (检测到芳族峰), 重复上述步骤。通过硅藻土过滤并浓缩。<sup>1</sup>H NMR 显示芳族峰消失。得到247mg粘的油状物, 不经进一步纯化直接使用。

[0342] 中间体14

[0343] 外消旋的顺式-4-叠氮基-4-甲基哌啶-3-基苯甲酸酯

[0344]



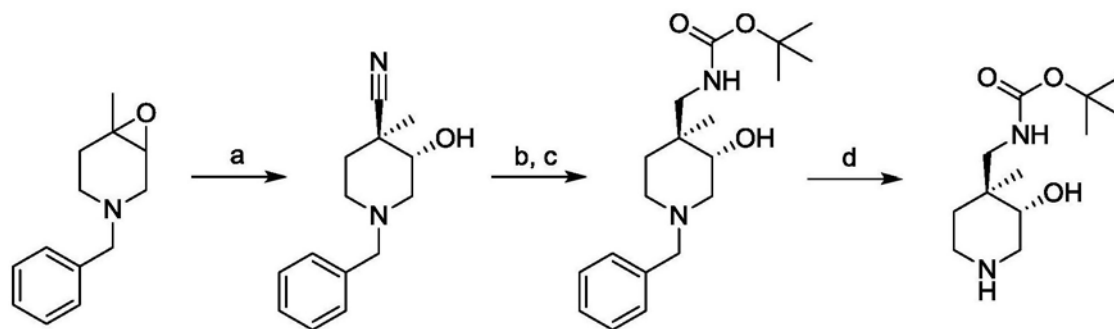
[0345] 步骤a:向外消旋的反式-4-叠氮基-1-苄基-4-甲基哌啶-3-醇 (500mg, 2.03mmol) 的DCM (20mL) 溶液中加入苯甲酸 (273mg, 2.233mmol)、偶氮 二羧酸二-叔-丁基酯 (514mg, 2.233mmol) 和三苯膦 (586mg, 2.233mmol), 于RT搅拌反应物16h, 反应物用DCM (100mL) 稀释, 用饱和的aq碳酸 氢钠 (100mL) 洗涤, 有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩, 残留物经硅胶色谱纯化 (0–20%的EtOAc/庚烷梯度洗脱), 得到外消旋的顺式-4-叠氮基-1-苄基-4-甲基哌啶-3-基苯甲酸酯 (92mg, 0.263mmol), 为黄色油状物, 固化 为灰白色结晶固体。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 8.37 (d, J=9.0Hz, 2H), 8.19 (d, J=8.9Hz, 2H), 7.31–7.18 (m, 6H), 4.44–4.32 (m, 2H), 4.08 (d, J=13.3Hz, 1H), 3.60 (d, J=13.3Hz, 1H), 3.0 (dd, J=4.4, 6.4Hz, 1H), 2.79–2.73 (m, 1 H), 2.49–2.42 (m, 1H), 1.92–1.85 (m, 2H), 1.49 (s, 3H). MS m/z 351.1 (M+H)<sup>+</sup>。

[0346] 步骤b:向外消旋的顺式-4-叠氮基-1-苄基-4-甲基哌啶-3-基苯甲酸酯(90 mg, 0.257mmol)的MeOH(50mL)溶液中加入10%Pd/C(50mg),将反应物脱气,再回充H<sub>2</sub>(气囊)3×。将反应物搅拌16h,粗品反应混合物通过硅藻土过滤(MeOH),浓缩收集的溶液,得到外消旋的顺式-4-叠氮基-4-甲基哌啶-3-基4-硝基苯甲酸酯(48mg,0.184mmol)。该粗品物质不经进一步纯化直接使用。MS m/z 235.2 (M+H)。

[0347] 中间体15

[0348] 外消旋的反式-((3-羟基-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯

[0349]



[0350] 步骤a:于0℃,向氢化锂(0.118g,14.8mmol)的THF(20mL)溶液中加入丙酮氰基醇(1.4mL,14.8mmol),于RT,将得到的反应混合物搅拌2h,减压除去挥发物,得到白色固体。于0℃,向该固体的THF(60mL)溶液中滴加3-苄基-6-甲基-7-氧杂-3-氮杂双环[4.1.0]庚烷(2.0g,9.85mmol)。加入完成后,于回流下搅拌该溶液14h,冷却至RT,加入水(10mL),用EtOAc(3×100mL)萃取得到的混合物,合并的有机相用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。残留物经硅胶色谱纯化(0—20%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到外消旋的反式-1-苄基-3-羟基-4-甲基哌啶-4-甲腈(0.70g,3.0mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.36–7.22(m,5H),5.25(d,J=6.0Hz,1H),3.70–3.67(m,1H),3.49(dd,J=13.2,10.4Hz,2H),2.37(m,3H),1.88–1.74(m,2H),1.25(s,3H)。MS m/z 231.2 (M+H)<sup>+</sup>。

[0351] 步骤b:于RT、氢气环境(气囊)中,将外消旋的反式-1-苄基-3-羟基-4-甲基哌啶-4-甲腈(1.3g,5.6mmol)和雷氏镍(50%的水溶液,600mg)的氨(7 N的EtOH溶液;80mL)悬浮液剧烈搅拌6h,于N<sub>2</sub>下通过硅藻土过滤,用MeOH洗涤,减压除去挥发物,得到反式-4-(氨基甲基)-1-苄基-4-甲基哌啶-3-醇(1.6g,4.79mmol)。该化合物不经进一步纯化直接用于下一步骤。MS m/z 235.2 (M+H)<sup>+</sup>。

[0352] 步骤c:于RT将反式-4-(氨基甲基)-1-苄基-4-甲基哌啶-3-醇(1.6g,4.79 mmol)、B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O(2.84mL,12.4mmol)和NaHCO<sub>3</sub>(0.935g,11.1mmol)的CHCl<sub>3</sub>(70mL)溶液搅拌14h,用DCM稀释混合物,用冰水和盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。残留物经硅胶色谱纯化(0—5%的MeOH/DCM梯度洗脱),得到外消旋的反式-((1-苄基-3-羟基-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(1.6g,4.79mmol)。MS m/z 335.3 (M+H)<sup>+</sup>。

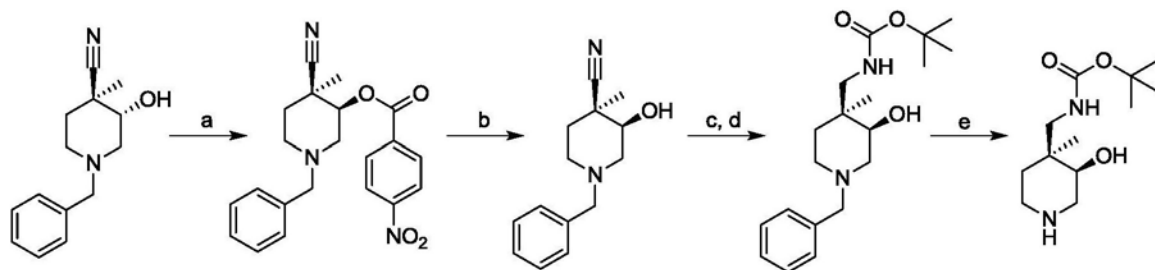
[0353] 步骤d:于RT、氢气环境(气囊)中,将外消旋的反式-((1-苄基-3-羟基-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(1.1g,3.3mmol)和Pd(OH)<sub>2</sub>(20%钯炭;0.250g)的MeOH(60mL)悬浮液剧烈搅拌6h。通过硅藻土过滤得到的混合物,用MeOH洗涤,然后用己烷(10mL)和乙醚(2mL)研磨,得到外消旋的反式-((3-羟基-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(0.70g,2.87mmol),为白色粉末。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.42(dd,J=

9.9, 4.4Hz, 1H), 3.12 (d,  $J=13.9$ Hz, 1H), 2.94–2.84 (m, 2H), 2.82–2.68 (m, 2H), 2.62 (dd,  $J=12.5, 10.0$ Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.41–1.30 (m, 2H), 0.91 (s, 3H). MS  $m/z$  245.1 (M+H)<sup>+</sup>.

[0354] 中间体16

[0355] 外消旋的顺式-(3-羟基-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯

[0356]



[0357] 步骤a: 于0℃, 将外消旋的反式-1-苄基-3-羟基-4-甲基哌啶-4-甲腈 (2.0 g, 8.70mmol)、三苯膦 (3.41g, 13.0mmol) 和偶氮二羧酸二异丙基酯 (2.63g, 13.0mmol) 的THF (30mL) 溶液搅拌10min, 逐份加入4-硝基苯甲酸 (2.18g, 13.0mmol), 于RT将得到的混合物搅拌16h, 用水稀释混合物, 用EtOAc 萃取, 合并的有机相用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。用MeOH 研磨得到的混合物, 得到外消旋的顺式-1-苄基-4-氰基-4-甲基哌啶-3-基4-硝基苯甲酸酯 (1.5g, 3.96mmol)。MS  $m/z$  380 (M+H)<sup>+</sup>。该物质不经具有纯化直接使用。

[0358] 步骤b: 于0℃, 将外消旋的顺式-1-苄基-4-氰基-4-甲基哌啶-3-基4-硝基苯甲酸酯 (1.5g, 3.96mmol) 和碳酸钾 (1.07g, 7.92mmol) 的MeOH (20 mL) 溶液剧烈搅拌10min, 再于RT搅拌1h, 减压除去挥发物, 得到的残留物经水稀释, 用EtOAc (3×) 萃取, 合并的有机相用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。残留物经硅胶色谱纯化 (0–15%的EtOAc/庚烷梯度洗脱), 得到外消旋的顺式-1-苄基-3-羟基-4-甲基哌啶-4-甲腈 (0.8g, 3.5 mmol)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.36–7.26 (m, 5H), 3.99 (d,  $J=12.4$ Hz, 1H), 3.67 (d,  $J=12.8$ , 1H), 3.60–3.51 (m, 2H), 3.11–3.07 (m, 2H), 2.76–2.69 (m, 2H), 2.24 (dd,  $J=12.8, 6.0$ Hz, 1H), 1.87–1.80 (m, 1H), 1.54 (s, 3H). MS  $m/z$  231 (M+H)<sup>+</sup>。

[0359] 步骤c: 于RT、氢气环境 (气囊) 中, 将顺式-1-苄基-3-羟基-4-甲基哌啶-4-甲腈 (800mg, 3.5mmol) 和雷氏镍 (50%的水溶液, 700mg) 的氨 (7N的 EtOH溶液; 20mL) 悬浮液剧烈搅拌16h, 于N<sub>2</sub>下通过硅藻土过滤混合物, 用MeOH洗涤, 减压除去挥发物, 得到外消旋的顺式-4-(氨基甲基)-1-苄基-4-甲基哌啶-3-醇 (700mg, 3.0mmol)。该化合物不经进一步纯化直接用于下一步骤。MS  $m/z$  235.2 (M+H)<sup>+</sup>。

[0360] 步骤d: 于RT, 将顺式-4-(氨基甲基)-1-苄基-4-甲基哌啶-3-醇 (700mg, 3.0mmol)、Boc<sub>2</sub>O (1.1mL, 2.99mmol) 和Et<sub>3</sub>N (860μL, 5.98mmol) 的DCM (10mL) 溶液搅拌2h, 用DCM稀释混合物, 用冰水和盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。残留物经硅胶色谱纯化 (0–50%的EtOAc/庚烷梯度洗脱), 得到外消旋的顺式-(1-苄基-3-羟基-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯 (700mg, 2.10mmol), 该化合物不经进一步纯化直接用于下一步骤。MS  $m/z$  335 (M+H)<sup>+</sup>。

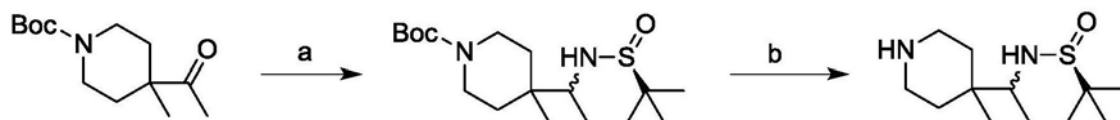
[0361] 步骤e: 于RT、氢气环境 (气囊) 中, 将外消旋的顺式-(1-苄基-3-羟基-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯 (700mg, 2.1mmol) 和Pd/C (10% 钯炭, 300mg) 的MeOH (20mL) 悬浮液剧烈搅拌5h, 通过硅藻土过滤得到的混合物, 用MeOH洗涤并浓缩。残留物经

硅胶色谱纯化(0—10%的 MeOH/DCM梯度洗脱),得到外消旋的顺式-((3-羟基-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(200mg,0.8mmol),为白色粉末。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ3.73-3.67(m,1H),3.59(dd,J=11.1,7.7Hz,1H),3.15-2.99(m,4 H),1.90(m,1H),1.62(m,1H),1.47(m,1H),1.44(s,9H),0.96(s,3H)。MS m/z 245 (M+H)<sup>+</sup>。

[0362] 中间体17

[0363] (S)-2-甲基-N-(1-(4-甲基哌啶-4-基)乙基)丙烷-2-亚磺酰胺。

[0364]

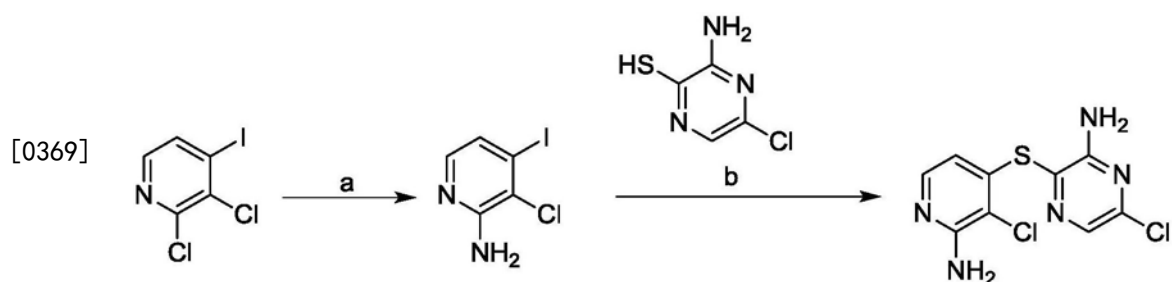


[0365] 步骤a:于80℃,4-乙酰基-4-甲基哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(2.20g,9.12 mmol)、(S)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(2.21g,18.23mmol)和四异丙氧基钛(10.8mL,36.5mmol)的THF(40mL)溶液搅拌60h,冷却至-78℃,加入 MeOH(4mL),随后加入硼氢化锂(596mg,27.3mmol),于-78℃搅拌混合液3h,在16h内缓慢温热至RT,用MeOH和盐水稀释反应混合物,通过硅藻土柱过滤除去固体,减压除去挥发物,用EtOAc萃取水溶液,合并的有机相经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩,残留物经硅胶色谱纯化(0—90%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到4-(1-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺基)乙基)-4-甲基哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(1.0g,2.89mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d)<sup>δ</sup>ppm 3.84(d,J=12.30Hz,2H),3.11-3.27(m,2H),2.89-3.10(m,2 H),1.28-1.54(m,11H),1.18-1.28(m,9H),1.11-1.18(m,3H),0.88-0.96(m,3H)。

[0366] 步骤b:于40℃,将4-(1-((S)-1,1-二甲基乙基亚磺酰胺基)乙基)-4-甲基哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(250mg,0.721mmol)和TFA(214μL,2.77mmol)的DCM(3mL)溶液搅拌2.5h,冷却至RT,减压除去挥发物,得到的(S)-2-甲基-N-(1-(4-甲基哌啶-4-基)乙基)丙烷-2-亚磺酰胺(TFA盐)不经进一步纯化可以直接用于下一步骤。

[0367] 中间体18

[0368] 3-((2-氨基-3-氯代吡啶-4-基)硫代)-6-氯代吡啶-2-胺



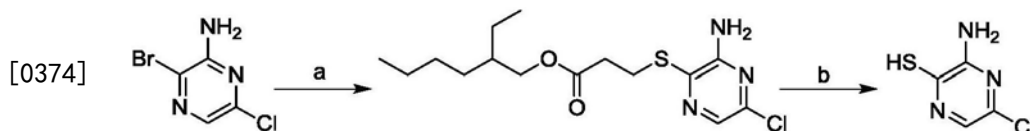
[0370] 步骤a:根据Marie等在Molecules,2012,17,10683—10707中所述的方法,将得自商业的2,3-二氯代-4-碘吡啶转化为3-氯代-4-碘吡啶-2-胺。

[0371] 步骤b:向3-氨基-5-氯代吡啶-2-硫醇(100mg,0.619mmol)、3-氯代-4-碘吡啶-2-胺(315mg,1.238mmol)、XantPhos(35.8mg,0.062mmol)和Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(28.3mg,0.03mmol)的二氧六环(3mL)溶液中加入(于RT、N<sub>2</sub>下)DIPEA(324μL,1.856mmol),于100℃在微波反应器中搅拌得到的溶液2.5h,冷却至RT,用EtOAc稀释反应物,通过硅藻土垫过滤,用EtOAc(10mL)洗涤。浓缩合并的滤液,残留物经硅胶色谱纯化(0—5%的MeOH/DCM梯度洗脱),得到3-

((2-氨基-3-氯代吡啶-4-基)硫代)-6-氯代吡嗪-2-胺(180mg, 0.627mmol)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δppm 7.88 (s, 1H), 7.68 (d, J=5.56Hz, 1H), 6.06 (d, J=5.56Hz, 1H), 1.35-1.43 (m, 2H)。MS m/z 288.2 (M+H)<sup>+</sup>。

[0372] 中间体19

[0373] 3-氨基-5-氯代吡嗪-2-硫醇



[0375] 步骤a:向3-溴-6-氯代吡嗪-2-胺(4.95g, 23.74mmol)的二氧六环(119 mL)溶液中充入氮10min,然后加入2-乙基己基3-巯基丙酸酯(3.79mL, 24.92mmol)、XantPhos(1.37g, 2.37mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(1.08g, 1.19mmol)和DIPEA(8.29mL, 47.5mmol),于105℃搅拌得到的混合物24h,通过硅藻土过滤反应混合物并浓缩。粗品经硅胶色谱纯化(0-40%的EtOAc/庚烷 梯度洗脱),得到2-乙基己基3-((3-氨基-5-氯代吡嗪-2-基)硫代)丙酸酯(6.24g, 18.04mmol),为黄色油状物。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 氯仿-d) δppm 7.82 (s, 1 H), 4.93 (br. s., 2H), 4.14-3.96 (m, 2H), 3.47 (t, J=6.9Hz, 2H), 2.78 (t, J=6.9Hz, 2H), 1.67-1.51 (m, 1H), 1.44-1.20 (m, 8H), 0.90 (t, J=7.4Hz, 6 H)。MS m/z 346.0 (M+H)<sup>+</sup>。

[0376] 步骤b:于-78℃,向2-乙基己基3-((3-氨基-5-氯代吡嗪-2-基)硫代)丙酸酯(2.3g, 6.65mmol)的THF(33mL)溶液中加入叔丁醇钾(1M的THF溶液, 19.95mL, 19.95mmol),于-78℃搅拌得到的混合物1h,加入MeOH(20 mL),浓缩得到的混合物,将粗品溶于MeOH,过滤并经HPLC纯化(5-20%的乙腈水溶液梯度洗脱, 0.1%TFA调节剂),得到3-氨基-5-氯代吡嗪-2-硫醇(TFA盐:1.3g, 4.72mmol),为黄色固体。MS m/z 162.0 (M+H)<sup>+</sup>。

[0377] 中间体20

[0378] 6-氯代-3-((3-氯代吡啶-4-基)硫代)吡嗪-2-胺



[0380] 向3-氨基-5-氯代吡嗪-2-硫醇(TFA盐:0.158g, 0.978mmol)的二氧六环(4.9mL)溶液中充入氮10min,然后加入3-氯代-4-碘吡啶(0.468g, 1.955 mmol)、XantPhos(0.057g, 0.098mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(0.045g, 0.049mmol)和DIPEA(0.512mL, 2.93mmol),于105℃搅拌得到的混合物10h,通过硅藻土过滤并浓缩。粗品经硅胶色谱纯化(0-40%的EtOAc/庚烷梯度洗脱, 含有2%的Et<sub>3</sub>N),得到6-氯代-3-((3-氯代吡啶-4-基)硫代)吡嗪-2-胺(75mg, 0.274mmol),为白色固体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 氯仿-d) δppm 8.46 (s, 1H), 8.22 (d, J=5.3Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 6.68 (d, J=5.3Hz, 1H), 5.17 (br. s., 2 H)。MS m/z 273.0 (M+H)<sup>+</sup>。

[0381] 中间体21

[0382] 6-氯代-3-((2-氯代吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺

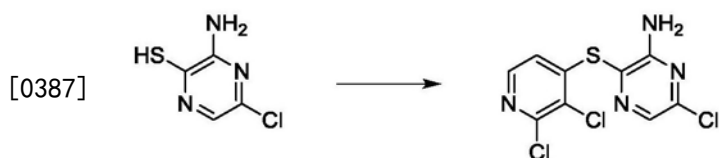


[0384] 向3-氨基-5-氯代吡嗪-2-硫醇(TFA盐:0.2g, 1.238mmol)的二氧六环(6.2mL)溶

液中充入氮10min,然后加入2-氯代-3-碘吡啶(0.593g,2.475 mmol)、XantPhos(0.072g,0.124mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(0.057g,0.062mmol)和DIPEA(0.65mL,3.71mmol),于105℃搅拌得到的混合物10h,通过硅藻土过滤并浓缩,粗品经硅胶色谱纯化(0—40%的EtOAc/庚烷梯度洗脱,含有2%的Et<sub>3</sub>N),得到6-氯代-3-((2-氯代吡啶-3-基)硫代)吡啶-2-胺(95mg,0.347mmol),为白色固体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) $\delta$ ppm 8.28-8.38(m, 1H),7.91(s,1H),7.51-7.59(m,1H),7.22(dd,J=7.9,4.6Hz,1H),5.25(br. s.,2H)。MS m/z 273.0(M+H)<sup>+</sup>。

[0385] 中间体22

[0386] 6-氯代-3-((2,3-二氯代吡啶-4-基)硫代)吡啶-2-胺



[0388] 向3-氨基-5-氯代吡啶-2-硫醇(TFA盐:0.50g,1.814mmol)的二氧六环(90mL)溶液充入氮10min,然后加入2,3-二氯代-4-碘吡啶(0.99g,3.63 mmol)、XantPhos(0.105g,0.181mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(0.083g,0.091mmol)和DIPEA(0.95mL,5.44mmol),于105℃搅拌得到的混合物10h,通过硅藻土过滤并浓缩。粗品经硅胶色谱纯化(0—10%的EtOAc/DCM梯度洗脱)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm 8.13(d,J=5.3Hz,1H),7.95(s,1H),7.30(br.s,2H),6.83(d,J=5.3Hz,1H)。MS m/z 306.9(M+H)<sup>+</sup>。

[0389] 中间体23

[0390] 6-氯代-3-((3-氟吡啶-4-基)硫代)吡啶-2-胺

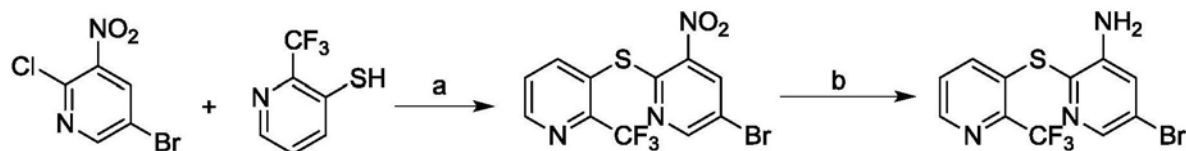


[0392] 于105℃将3-氨基-5-氯代吡啶-2-硫醇(50mg,0.181mmol)、3-氟-4-碘吡啶(121mg,0.544mmol)、Xantphos(10.5mg,0.018mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(8.3 mg,0.009mmol)和DIPEA(95 $\mu$ L,0.544mmol)的二氧六环(脱气的,1.8mL)混合液搅拌10h,冷却至RT,通过硅藻土垫过滤反应物,随后用EtOAc(25 mL)洗涤,减压浓缩合并的滤液,残留物经硅胶色谱纯化(0—40%的EtOAc/庚烷梯度洗脱(含有2%的Et<sub>3</sub>N)),得到6-氯代-3-((3-氟吡啶-4-基)硫代)吡啶-2-胺(25mg,0.097mmol)。MS m/z 257.0(M+H)<sup>+</sup>。

[0393] 中间体24

[0394] 5-溴-2-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡啶-3-胺

[0395]



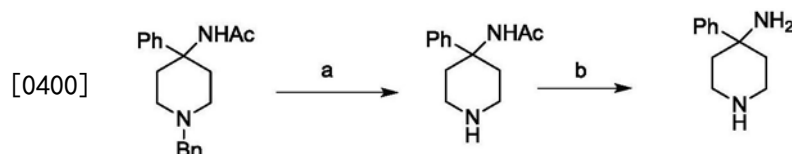
[0396] 步骤a:于120℃将5-溴-2-氯代-3-硝基吡啶(600mg,2.53mmol)、2-(三氟甲基)吡啶-3-硫醇(466mg,2.60mmol)和碳酸铯(1.24g,3.79mmol)的MeCN(12mL)混合液在微波反应器中温热45min,冷却至RT,通过硅藻土垫过滤反应物。减压浓缩滤液,残留物经硅胶色谱纯化(0—20%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到5-溴-3-硝基-2-((2-(三氟甲基)吡啶-3-

基) 硫代) 吡啶 (816mg, 2.15mmol)。MS  $m/z$  379.9 (M+H)<sup>+</sup>。

[0397] 步骤b: 于75℃将5-溴-3-硝基-2-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡啶 (816mg, 2.15mmol)、铁 (839mg, 15.0mmol) 和NH<sub>4</sub>Cl (459mg, 8.59mmol) 的EtOH (30mL) 和H<sub>2</sub>O (8mL) 混合液搅拌3h, 冷却至RT, 减压除去挥发物, 用sat. aq. NaHCO<sub>3</sub>稀释得到的残留物, 用EtOAc (2×10mL) 萃取, 合并的有机相经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩。残留物经硅胶色谱纯化 (0—25%的EtOAc/庚烷梯度洗脱), 得到5-溴-2-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡啶-3-胺 (630mg, 1.80mmol)。MS  $m/z$  350.1 (M+H)<sup>+</sup>。

[0398] 中间体25

[0399] 4-苯基哌啶-4-胺



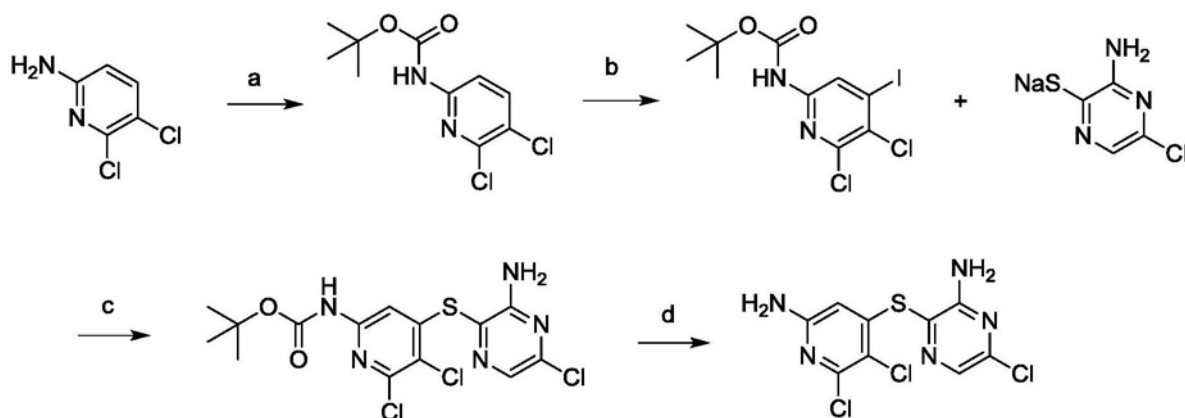
[0401] 步骤a: 于H<sub>2</sub>环境下将N-(1-苄基-4-苯基哌啶-4-基)乙酰胺 (400mg, 1.3 mmol) 和Pd/C (138mg) 的MeOH悬浮液剧烈搅拌16h, 通过硅藻土过滤反应混合物并减压除去挥发物。将得到的残留物溶于EtOAc, 用sat. aq. NaHCO<sub>3</sub>和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩, 得到N-(4-苯基哌啶-4-基)乙酰胺, 该物质不经进一步纯化直接用于下一步骤。

[0402] 步骤b: 于100℃搅拌N-(4-苯基哌啶-4-基)乙酰胺 (150mg, 0.69mmol) 和LiOH (4M的H<sub>2</sub>O溶液, 2.1mL, 8.40mmol) 的MeOH: 二氧六环 (1:1, 4 mL) 悬浮液16h, 冷却至RT, 减压除去挥发物, 用EtOAc (3×5mL) 萃取水相, 用盐水洗涤合并的有机相, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 减压除去挥发物, 得到4-苯基哌啶-4-胺, 为无色油状物, 该物质不经进一步纯化直接使用。

[0403] 中间体26

[0404] 3-((6-氨基-2,3-二氯代吡啶-4-基)硫代)-6-氯代吡啶-2-胺

[0405]



[0406] 步骤a: 于0℃, 向5,6-二氯代吡啶-2-胺 (590mg, 3.62mmol) 的THF (5 mL) 溶液中加入LiHMDS (1M的THF溶液, 7.96mL, 7.96mmol), 于0℃ 搅拌反应物10min, 然后向反应混合物中加入Boc<sub>2</sub>O (869mg, 3.98mmol) 的THF (5mL) 溶液。将获得的溶液于0℃搅拌15min, 然后通过加入1M HCl调节至pH 4。将溶液用EtOAc稀释, 用sat. aq. NaHCO<sub>3</sub>、盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩。残留物经硅胶色谱纯化 (0—40%的 EtOAc/庚烷梯度洗脱), 得到 (5,6-二氯代吡啶-2-基)氨基甲酸叔-丁基酯 (790 mg, 3.00mmol)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ



ppm 7.86 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.70 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.20 (br s, 1H), 1.51 (s, 9H). MS  $m/z$  232.9 ( $M+H-t\text{Bu}$ )<sup>+</sup>.

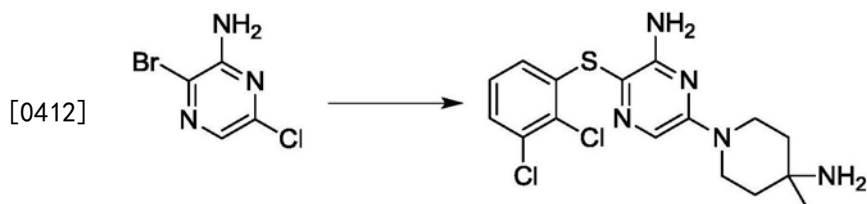
[0407] 步骤b: 于-78℃向二异丙基胺(1mL, 7.07mmol)的THF(5mL)溶液中加入n-BuLi(2.5M的己烷溶液, 2.83mL, 7.07mmol), 于该温度下搅拌得到的混合液1h, 于-78℃加入(5, 6-二氯代吡啶-2-基)氨基甲酸叔-丁基酯(930 mg, 3.53mmol)的THF(5mL)溶液, 于该温度下搅拌2h, 加入碘(987mg, 3.89mmol)的THF(5mL)溶液, 于-78℃搅拌得到的混合物30min, 温热至RT, 用水稀释反应混合物, 用EtOAc(2×50mL)萃取, 用饱和的aq Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>和盐水洗涤合并的有机相, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩。残留物经硅胶色谱纯化(0—40%的EtOAc/庚烷梯度洗脱), 得到(5, 6-二氯代-4-碘吡啶-2-基)氨基甲酸叔-丁基酯(813mg, 2.09mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 氯仿-d)  $\delta$ ppm 8.45 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 1.52 (s, 9H). MS  $m/z$  332.9 ( $M+H-t\text{Bu}$ )<sup>+</sup>.

[0408] 步骤c: 于110℃将(5, 6-二氯代-4-碘吡啶-2-基)氨基甲酸叔-丁基酯(610 mg, 1.57mmol)、3-氨基-5-氯代吡嗪-2-硫醇钠(302mg, 1.65mmol)、Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(72mg, 0.08mmol)、Xantphos(91mg, 0.16mmol)和DIPEA(0.55mL, 3.14mmol)的二氧六环(7.8mL)溶液搅拌8h, 冷却至RT, 通过硅藻土垫过滤反应混合物, 减压除去挥发物, 残留物经硅胶色谱纯化(0—40%的EtOAc/庚烷梯度洗脱), 得到(4-((3-氨基-5-氯代吡嗪-2-基)硫代)-5, 6-二氯代吡啶-2-基)氨基甲酸叔-丁基酯(470mg, 1.11mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, DMSO)  $\delta$ ppm 10.24 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.31 (br s, 2H), 7.16 (s, 1H), 1.38 (s, 9H). MS  $m/z$  321.9 ( $M+H-B^{\circ}$ )<sup>+</sup>.

[0409] 步骤d: 于RT将(4-((3-氨基-5-氯代吡嗪-2-基)硫代)-5, 6-二氯代吡啶-2-基)氨基甲酸叔-丁基酯(470mg, 1.11mmol)和HCl(4M的二氧六环溶液, 5.56mL, 22.24mmol)搅拌1h, 减压除去挥发物, 得到3-((6-氨基-2, 3-二氯代吡啶-4-基)硫代)-6-氯代吡嗪-2-胺二盐酸盐(411mg, 1.04mmol), 该物质不经进一步纯化直接使用。MS  $m/z$  324.0 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

[0410] 实施例1

[0411] 6-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2, 3-二氯代苯基)硫代)吡嗪-2-胺

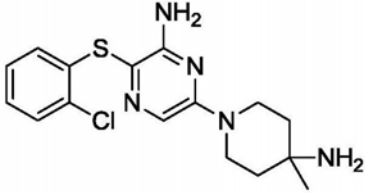


[0413] 于140℃、在微波反应器中将3-溴-6-氯代吡嗪-2-胺(200mg, 0.959 mmol)、2, 3-二氯代苯硫酚(189mg, 1.055mmol)和4-甲基吗啉(158μL, 1.439 mmol)的NMP(2mL)悬浮液搅拌1h, 加入(4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(310mg, 1.45mmol), 随后加入4-甲基吗啉(200μL, 1.82mmol), 于220℃在微波反应器中搅拌1h(注意: 在这些条件下, 除去了Boc保护基团), 反应物经HPLC纯化(35—60%的乙腈水溶液梯度洗脱, 5mM NH<sub>4</sub>OH 调节剂), 得到目标化合物(66.6mg, 0.173mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$ ppm 7.60 (s, 1H), 7.31 (dd,  $J=8.08, 1.52\text{Hz}$ , 1H), 7.12 (t,  $J=8.08\text{Hz}$ , 1H), 6.64 (dd,  $J=7.96, 1.39\text{Hz}$ , 1H), 3.82—4.00 (m, 2H), 3.53—3.63 (m, 2H), 1.57—1.76 (m, 4H), 1.31 (s, 3). C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>5</sub>S ( $M+H$ )<sup>+</sup>的HRMS计算值: 384.0816, 实测值: 384.0803。IC<sub>50</sub>为0.029μM。

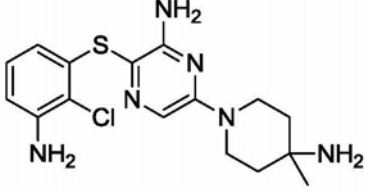
[0414] 下列化合物采用上述方法或者上述方法的改进并使用相应的硫醇制备。尽管在大多数情况下,Boc保护基团可以在反应条件下去除,但是必要时可以采用HCl或TFA。

[0415] 表2

[0416]

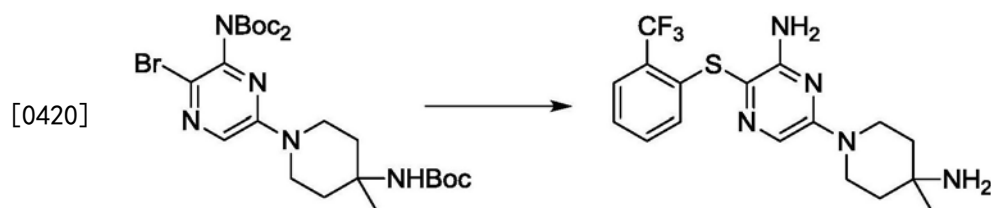
实施例	化合物	鉴定数据	IC <sub>50</sub> (μM)
2		为 TFA 盐。 <sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.72 (s, 1 H), 7.41-7.49 (m, 1 H), 7.19-7.30 (m, 2 H), 6.90-7.00 (m, 1 H), 4.23 (dt, J=14.27, 4.36 Hz, 2 H), 3.49 (ddd, J=14.15, 8.72, 5.18 Hz, 2 H), 1.80-1.99 (m, 4 H), 1.52 (s, 3)。C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>5</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 350.1206, 实测值: 350.1193。	0.070

[0417]

3		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.45 (s, 1 H), 6.74 (t, J=7.96 Hz, 1 H), 6.52 (dd, J=7.96, 1.39 Hz, 1 H), 5.91 (dd, J=7.83, 1.26 Hz, 1 H), 3.93 (dt, J=14.02, 4.86 Hz, 2 H), 3.34 (ddd, J=13.83, 8.78, 4.42 Hz, 2 H), 1.55-1.74 (m, 4 H), 1.31 (s, 3)。C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>6</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 365.1315, 实测值: 365.1306。	0.062
---	--	---	-------

[0418] 实施例4

[0419] 6-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2-(三氟甲基)苯基)硫代)吡嗪-2-胺



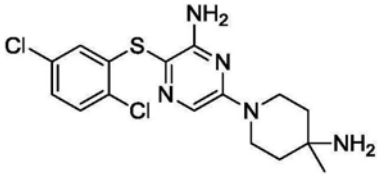
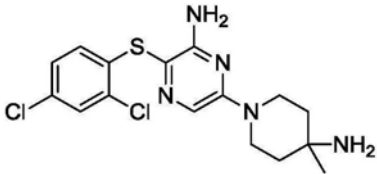
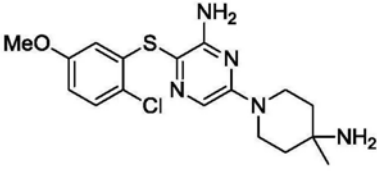
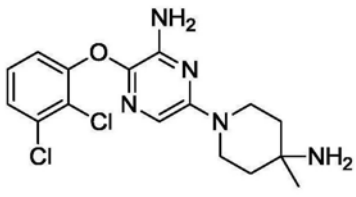
[0421] 于200℃、在微波反应器中将(3-溴-6-(4-((叔-丁氧基羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)(叔-丁氧基羰基)氨基甲酸叔-丁基酯(200mg, 0.341 mmol)、2-(三氟甲基)苯硫酚(135μL, 1.023mmol)和4-甲基吗啉(75μL, 0.682mmol)的NMP(1mL)溶液搅拌1h, 于240℃搅拌1h。注意:在该条件下,去除了Boc保护基团,冷却至RT,混合物经HPLC纯化(35—65%的乙腈水溶液梯度洗脱, 5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂),得到目标化合物(14.1mg, 0.037mmol)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 7.67 (d, J=7.33Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.39 (t, J=7.33Hz, 1H), 7.28 (t, J=7.58Hz, 1H), 7.00 (d, J=8.08Hz, 1H), 3.80 (ddd, J=13.64,

7.20, 4.17Hz, 2H), 3.51–3.69 (m, 2H), 1.62 (ddd, J=9.60, 7.45, 4.42Hz, 4H), 1.24 (s, 3H)。  
C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>F<sub>3</sub>S (M+H)<sup>+</sup>的 HRMS计算值:384.1470, 实测值:384.1468。IC<sub>50</sub>为0.059μM。

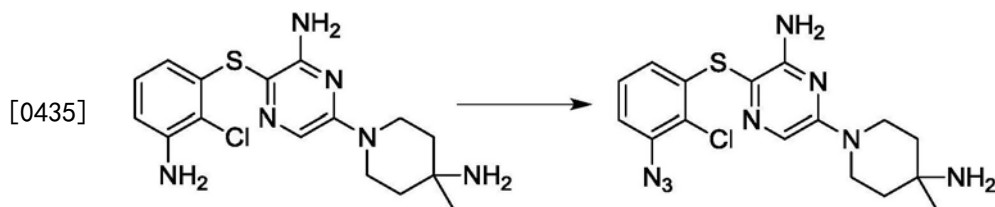
[0422] 下列化合物采用上述方法或者上述方法的改进并使用相应的硫醇制备。尽管在大多数情况下, Boc保护基团可以在反应条件下去除, 但是必要时可以采用HCl或TFA。

[0423] 表3

[0424]

实施例	化合物	鉴定数据	IC <sub>50</sub> (μM)
5		为 TFA 盐。 <sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.54 (s, 1 H), 7.28 (d, J=8.59 Hz, 1 H), 7.00-7.07 (m, 1 H), 6.53 (d, J=2.27 Hz, 1 H), 4.10 (dt, J=14.02, 4.36 Hz, 2 H), 3.31 (ddd, J=14.08, 9.03, 4.93 Hz, 2 H), 1.70-1.83 (m, 4 H), 1.41 (s, 3 )。C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> N <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 384.0816, 实测值: 384.0816。	1.082
6		为 TFA 盐。 <sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.51 (s, 1 H), 7.37 (d, J=2.27 Hz, 1 H), 7.07 (dd, J=8.59, 2.27 Hz, 1 H), 6.62 (d, J=8.59 Hz, 1 H), 4.08 (dt, J=14.27, 4.36 Hz, 2 H), 3.28 (ddd, J=14.08, 9.16, 4.80 Hz, 2 H), 1.66 - 1.82 (m, 4 H), 1.40 (s, 3 )。C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> N <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 384.0816, 实测值: 384.0844。	0.210
7		为 TFA 盐。 <sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.51 (s, 1 H), 7.18 (d, J=8.59 Hz, 1 H), 6.62 (dd, J=8.84, 3.03 Hz, 1 H), 6.16 (d, J=3.03 Hz, 1 H), 4.08 (dt, J=14.02, 4.23 Hz, 2 H), 3.56 (s, 3 H), 3.28 (ddd, J=14.08, 9.03, 4.93 Hz, 2 H), 1.68-1.83 (m, 4 H), 1.40 (s, 3 )。C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> N <sub>5</sub> ClO (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 380.1312, 实测值: 380.1320。	13.666
8		为 TFA 盐。 <sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 7.88 (br. s., 3 H), 7.42 (dd, J=8.08, 1.26 Hz, 1 H), 7.32 (t, J=8.21 Hz, 1 H), 6.96 (dd, J=8.34, 1.26 Hz, 1 H), 6.87 (s, 1 H), 3.91 (d, J=13.89 Hz, 2 H), 3.20 (t, J=10.61 Hz, 2 H), 1.55-1.85	64.427



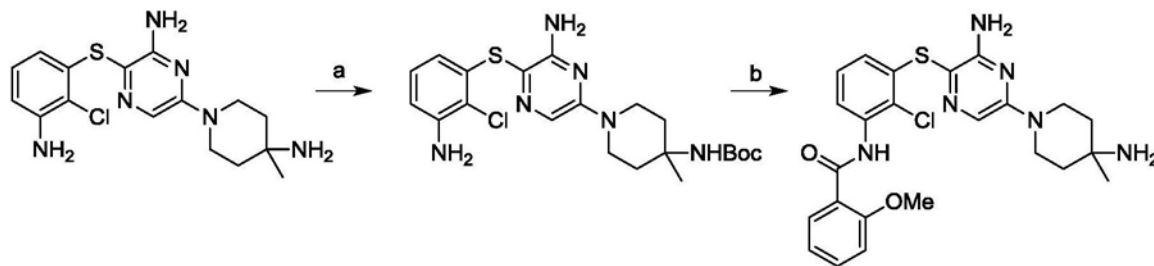


[0436] 于0℃向3-((3-氨基-2-氯代苯基)硫代)-6-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-胺(TFA盐,90mg,0.188mmol)的TFA(1mL)溶液中逐份加入亚硝酸钠(13.6mg,0.197mmol),于0℃搅拌40min,滴加叠氮化钠(24.5mg 0.376 mmol)的H<sub>2</sub>O溶液(于4℃预冷,190μL),于0℃搅拌1h,于RT搅拌30min,该混合物经HPLC纯化(15—40%的乙腈水溶液梯度洗脱,0.1%TFA调节剂),得到目标化合物(12.1mg,0.027mmol,HCl盐).<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δppm 7.81(s,1H),7.32(t,J=7.45Hz,1H),7.23(d,J=7.83Hz,1 H),6.73(d,J=6.82Hz,1H),4.27(d,J=13.64Hz,2H),3.46-3.65(m,2H),1.95(br.s.,4H),1.55(s,3H).∴C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>8</sub>S(M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值391.1220,实测值:391.1219。IC<sub>50</sub>为0.071μM。

[0437] 实施例12

[0438] N-(3-((3-氨基-5-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)硫代)-2-氯代苯基)-2-甲氧基苯甲酰胺

[0439]



[0440] 步骤a:于RT将3-((3-氨基-2-氯代苯基)硫代)-6-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-胺(75mg,0.206mmol)、DIPEA(54μL,0.308mmol)和Boc-酸酐(49.3mg,0.226mmol)的DCM(5mL)溶液搅拌2h,于45℃再搅拌16h,减压除去挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(20—75%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到(1-(6-氨基-5-((3-氨基-2-氯代苯基)硫代)吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(76mg,0.163mmol)。MS m/z 465.1(M+H)<sup>+</sup>。

[0441] 步骤b:于RT将(1-(6-氨基-5-((3-氨基-2-氯代苯基)硫代)吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(25mg,0.054mmol)、DIPEA(28.2μL,0.161mmol)和2-甲氧基苯甲酰氯(8.8μL,0.059mmol)的DCM(1mL)溶液搅拌6h,然后加入TFA(500μL),于RT搅拌30min,减压除去挥发物,经HPLC纯化残留物(25—50%的乙腈水溶液梯度洗脱,0.1%TFA调节剂),得到目标化合物(14.0mg,0.023mmol,TFA盐)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.63(s,1H),8.25(d,J=7.83Hz,1H),8.07(dd,J=7.83,1.77Hz,1H),7.93(br.s.,2H),7.68(s,1H),7.60-7.66(m,1H),7.32(d,J=8.34Hz,1H),7.23(t,J=8.08Hz,1H),7.14-7.20(m,1H),6.43(dd,J=8.08,1.52Hz,1H),6.20(br.s.,2H),4.10(s,3H),3.99-4.09(m,2H),3.30(dt,J=13.83,6.85Hz,2H),1.72(t,J=5.56Hz,4H),1.38(s,3)。C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub>S(M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值:499.1683,实测值:499.1665。IC<sub>50</sub>为0.180μM。

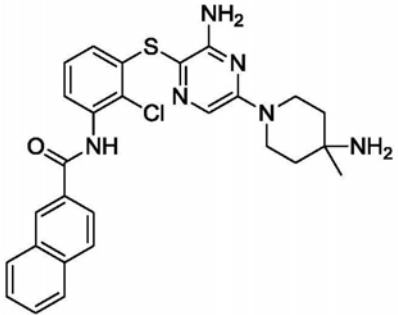
[0442] 下列化合物采用上述方法或者上述方法的改进并使用相应的酰氯制备。

[0443] 表4

[0444]

实施例	化合物	鉴定数据	IC <sub>50</sub> (μM)
-----	-----	------	--------------------------

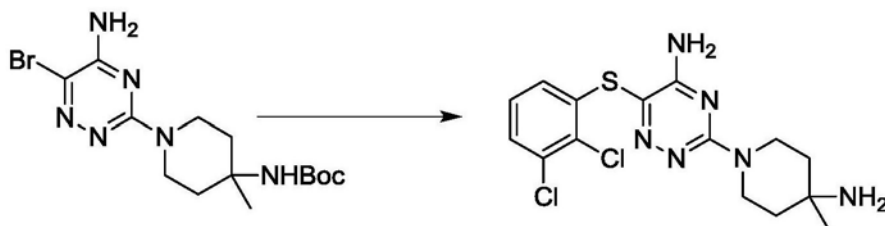
[0445]

13		<p>为 TFA 盐。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 10.27 (s, 1 H), 8.63 (s, 1 H), 8.00-8.14 (m, 4 H), 7.89 (br. s., 2 H), 7.58-7.76 (m, 3 H), 7.42 (dd, J=7.96, 1.39 Hz, 1 H), 7.26 (t, J=7.96 Hz, 1 H), 6.58 (dd, J=8.08, 1.52 Hz, 1 H), 6.22 (br. s., 2 H), 4.06 (d, J=13.89 Hz, 2 H), 3.23-3.35 (与 H<sub>2</sub>O 重叠, m, 2 H), 1.73 (t, J=5.56 Hz, 4 H), 1.38 (s, 3)。C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub>S (M+H)<sup>+</sup>的 HRMS 计算值: 519.1734, 实测值: 519.1719。</p>	0.257
----	---	---	-------

[0446] 实施例14

[0447] 3-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)-6-((2,3-二氯代苯基)硫代)-1,2,4-三嗪-5-胺

[0448]

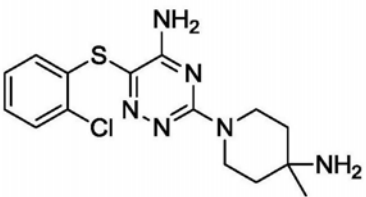


[0449] 于180℃、在微波反应器中将(1-(5-氨基-6-溴-1,2,4-三嗪-3-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(300mg, 0.775mmol)、2,3-二氯代苯硫酚(277 mg, 1.549mmol)和4-甲基吗啉(128μL, 1.162mmol)的NMP(2mL)溶液搅拌90min,冷却至RT,混合物经HPLC纯化(25—50%的乙腈水溶液梯度洗脱, 5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂),得到目标化合物(110.4mg, 0.287mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 7.46 (dd, J=7.96, 1.14Hz, 1H), 7.26 (t, J=8.08Hz, 1H), 6.68 (dd, J=7.96, 1.14Hz, 1H), 3.98 (br. s., 2H), 3.64 (br. s., 2H), 1.61 (br. s., 2H), 1.34-1.49 (m, 4H), 1.09 (s, 3)。C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub>S (M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值: 385.0769, 实测值: 385.0759。IC<sub>50</sub>为0.143μM。

[0450] 下列化合物采用上述方法或者上述方法的改进并使用相应的硫醇制备。尽管在大多数情况下, Boc保护基团可以在反应条件下去除,但是必要时可以采用HCl或TFA。

[0451] 表5

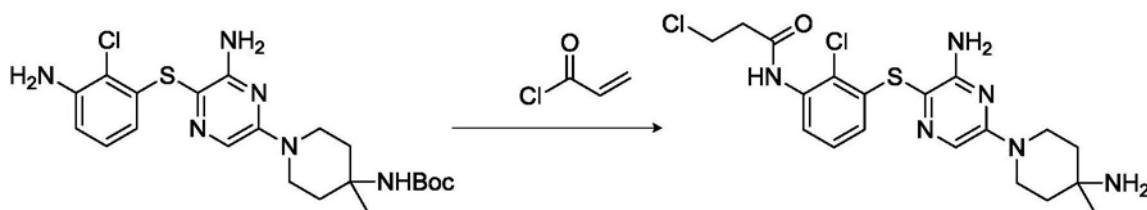
[0452]

实施例	化合物	鉴定数据	IC <sub>50</sub> (μM)
15		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 7.49 (d, J=7.58 Hz, 1 H), 7.16-7.33 (m, 2 H), 6.72-6.82 (m, 1 H), 3.98 (d, J=12.63 Hz, 2 H), 3.64 (d, J=8.34 Hz, 2 H), 1.33-1.57 (m, 6 H), 1.09 (s, 3). C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub> ClS (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 351.1159, 实测值: 351.1153.	0.266

[0453] 实施例16

[0454] N-(3-((3-氨基-5-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)硫代)-2-氯代苯基)-3-氯代丙酰胺

[0455]



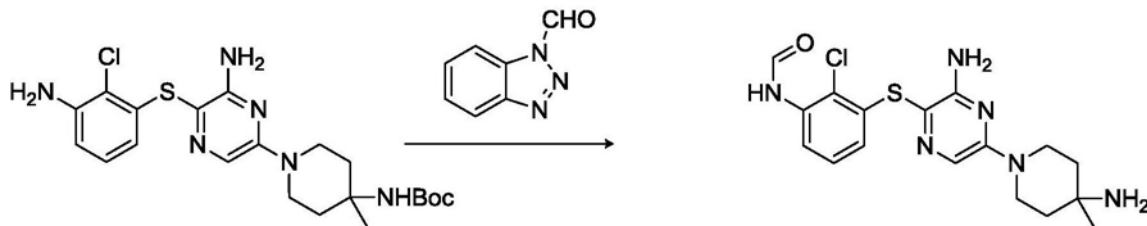
[0456] 于-78℃、N<sub>2</sub>下,向(1-(6-氨基-5-((3-氨基-2-氯代苯基)硫代)吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(35mg,0.075mmol)的DCM(1mL)溶液中加入DIPEA(14.5μL,0.083mmol)和乙酰氯(6.5μL,0.079mmol),于0℃搅拌得到混合物1h,减压除去挥发物,将残留物溶于二氧六环(1mL),于0℃加入HCl(4M的二氧六环溶液,200μL),于0℃将得到的混合物搅拌1h,于RT搅拌2h,减压除去挥发物,残留物经HPLC纯化(10-30%的乙腈水溶液梯度洗脱,0.1%TFA调节剂),得到目标化合物(3.0mg,0.005 mmol)。TFA盐,<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>)δppm 7.51(s,1H),7.42(d,J=7.58Hz,1H),7.03(t,J=8.08Hz,1H),6.47(dd,J=7.96,1.39Hz,1H),4.08(dt,J=14.15,4.29Hz,2H),3.78(t,J=6.44Hz,2H),3.29(ddd,J=14.15,8.97,4.93Hz,2H),2.84(t,J=6.32Hz,2H),1.67-1.84(m,4H),1.41(s,3)。C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>OS(M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值:455.1187,实测值:455.1188。IC<sub>50</sub>为0.085μM。

[0457] 实施例17

[0458] N-(3-((3-氨基-5-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)硫代)-2-氯代苯基)甲酰胺



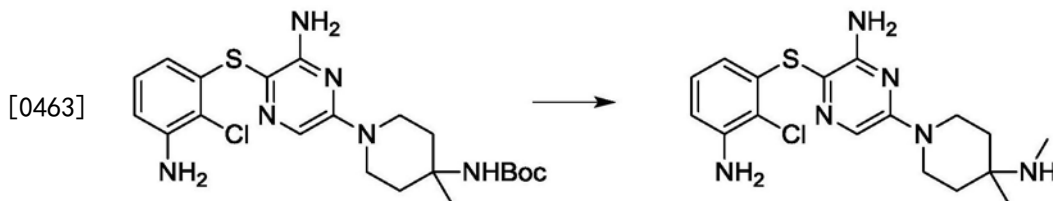
[0459]



[0460] 于RT搅拌(1-(6-氨基-5-((3-氨基-2-氯代苯基)硫代)吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(63mg, 0.135mmol)和1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-甲醛(39.9mg, 0.271mmol)的THF(1mL)溶液3h,减压除去挥发物,将残留物溶于DCM,用NaOH 2M、盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压除去挥发物,将粗品溶于DCM(2mL),加入TFA(200μL),于RT搅拌1h,减压除去挥发物,残留物经HPLC纯化(25-50%的乙腈水溶液梯度洗脱,5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂),得到目标化合物(19mg, 0.0484mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 9.94(s, 1H), 8.36(s, 1H), 7.84(dd, J=8.0, 1.0Hz, 1H), 7.62(s, 1H), 7.17(t, J=8.0Hz, 1H), 6.39(dd, J=8.0, 1.0 Hz, 1H), 6.10(br.s, 2H), 3.73(s, 2H), 3.51(s, 2H), 1.34-1.54(m, 4H), 1.09(s, 3)。C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>6</sub>OS (M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值:393.1264,实测值:393.1264。IC<sub>50</sub>为0.094μM。

[0461] 实施例18

[0462] 3-((3-氨基-2-氯代苯基)硫代)-6-(4-甲基-4-(甲基氨基)哌啶-1-基)吡嗪-2-胺

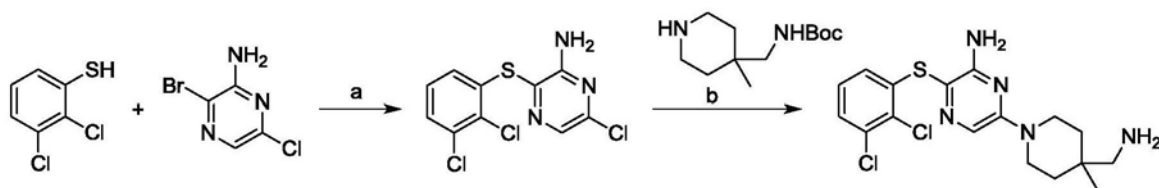


[0464] 于RT、N<sub>2</sub>下向(1-(6-氨基-5-((3-氨基-2-氯代苯基)硫代)吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(122mg, 0.262mmol)的THF(1mL)溶液中加入LiAlH<sub>4</sub>(1M in THF, 394μL, 0.394mmol),于RT搅拌得到的混合物2min,于65℃在微波反应器中搅拌30min,减压除去挥发物,经HPLC纯化残留物(25-50%的乙腈水溶液梯度洗脱,0.1% TFA调节剂),得到目标化合物(82.3mg, 0.738mmol),TFA盐,<sup>1</sup>H NMR(400MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ ppm 7.60(s, 1H), 6.88(t, J=8.03Hz, 1H), 6.67(dd, J=7.91, 1.38Hz, 1H), 6.05(dd, J=7.78, 1.51Hz, 1H), 4.37(d, J=14.05Hz, 2H), 3.24(br.s., 2H), 2.69(s, 3H), 1.90(br.s., 2H), 1.81(d, J=3.76Hz, 2H), 1.52(s, 3)。C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>ClN<sub>6</sub>S (M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值:379.1472,实测值:379.1540;IC<sub>50</sub>为0.066μM。

[0465] 实施例19

[0466] 6-(4-(氨基甲基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2,3-二氯代苯基)硫代)吡嗪-2-胺

[0467]



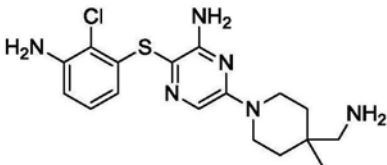
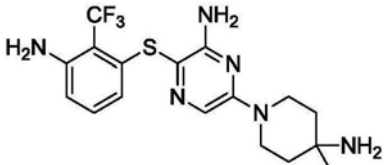
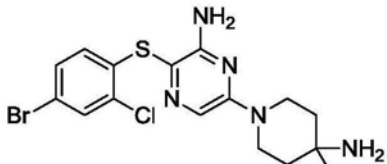
[0468] 步骤a:将3-溴-6-氯代吡嗪-2-胺(1.0g,4.80mmol)、2,3-二氯代苯硫酚(1.29g,7.20mmol)、碘化铜(I)(91mg,0.48mmol)、磷酸钾(2.04g,9.59 mmol)和1,10-邻二氮杂菲(173mg,0.959mmol)的二氧六环(5mL,脱气的)溶液于90℃搅拌16h。冷却至RT,将反应物用EtOAc稀释,将其通过硅藻土垫过滤,随后用EtOAc(50mL)洗涤。减压除去挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(0—20%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到6-氯代-3-((2,3-二氯代苯基)硫代)吡嗪-2-胺(810mg,2.64mmol)。MS  $m/z$  307.0 (M+H)<sup>+</sup>。

[0469] 步骤b:于130℃将3-((3-氨基-2-氯代苯基)硫代)-6-氯代吡嗪-2-胺(30 mg,0.098mmol)和((4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(67mg,0.294mmol)的DIPEA(100μL)混合液搅拌16h,冷却至RT,将反应物用DCM(3mL)稀释,加入TFA(3mL),于RT搅拌5min,减压除去挥发物,经HPLC纯化残留物(15—40%的乙腈水溶液梯度洗脱,0.1%TFA调节剂),得到目标化合物(TFA盐;36.0mg,0.069mmol),为HCl盐,<sup>1</sup>H NMR(400 MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.98(s,3H),7.65(s,1H),7.40(dd,J=7.9,1.4Hz,1H),7.22(t,J=8.0Hz,1H),6.57(dd,J=8.1,1.4Hz,1H),6.17(s,2H),3.86(m,2H),3.37(m,2H),2.77(m,2H),1.52(m,2H),1.42(m,2H),1.08(s,3)。C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>5</sub>S(M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值:398.0973,实测值:398.0958。

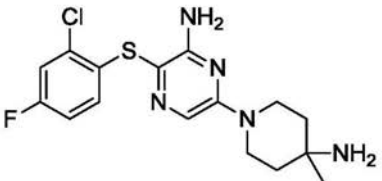
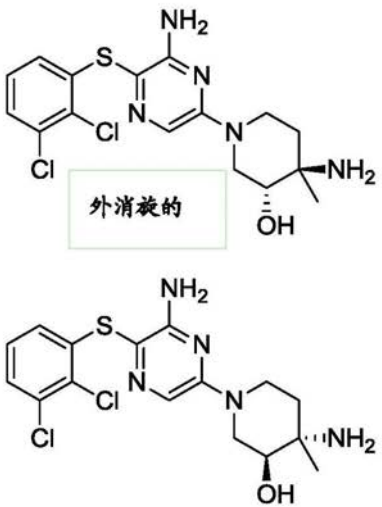
[0470] 下列表6中的式I化合物采用上述方法或者上述方法的改进并使用相应的硫醇和Boc-保护的胺制备。

[0471] 表6


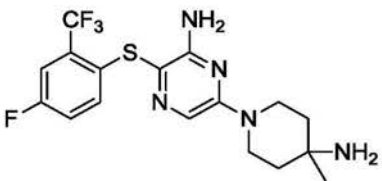
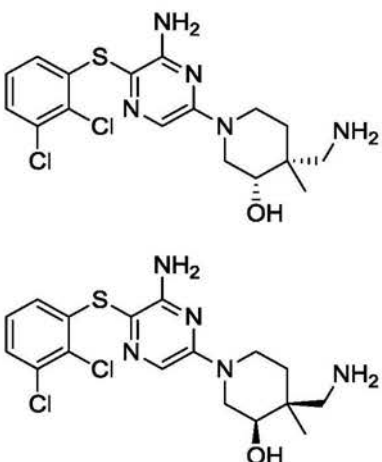
[0472]

实施例	化合物	鉴定数据	IC <sub>50</sub> (μM)
20		<sup>1</sup> H NMR (400MHz, MeOD-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.52 (s, 1 H), 6.85 (t, J=8.0 Hz, 1 H), 6.62 (dd, J=1.3, 8.1 Hz, 1 H), 6.03 (dd, J=1.3, 7.8 Hz, 1 H), 4.00 - 3.83 (m, 2 H), 3.45-3.34 (m, 2 H), 2.54 (br. s., 2 H), 1.59-1.38 (m, 4 H), 1.05 (s, 3 H) . C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>6</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 379.1472, 实测值: 379.1470.	0.022
21		<sup>1</sup> H NMR (400MHz, MeOD-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.44 (s, 1 H), 6.94-6.76 (m, 1 H), 6.48 (d, J=8.1 Hz, 1 H), 6.00 (d, J=8.1 Hz, 1 H), 3.84-3.68 (m, 2 H), 3.52-3.38 (m, 2 H), 1.69-1.47 (m, 4 H), 1.19 (s, 3 H) . C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> F <sub>3</sub> N <sub>6</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 399.1579 , 实测值 : 399.1585.	0.046
22		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 7.73 (d, J=2.0 Hz, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.43 (dd, J=8.5, 2.0 Hz, 1 H), 6.55 (d, J=8.5 Hz, 1	0.044

[0473]

		H), 6.15 (br. s, 2 H), 3.64-3.77 (m, 2 H), 3.49-3.63 (m, 2 H), 1.37-1.54 (m, 4 H), 1.11 (s, 3 H) . C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> BrClN <sub>5</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 430.2553 , 实测值 : 430.0283.	
23		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 7.60 (s, 1 H), 7.50 (dd, J=8.5, 3.0 Hz, 1 H), 7.14 (td, J=8.5, 3.0 Hz, 1 H), 6.70 (dd, J=8.5, 6.0 Hz, 1 H), 6.12 (br. s, 2 H), 3.65-3.77 (m, 2 H), 3.46-3.58 (m, 2 H), 1.34-1.53 (m, 4 H), 1.09 (s, 3 H) . C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> ClFN <sub>5</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 368.1105 , 实测值 : 368.1112.	0.051
24		为 HCl 盐: <sup>1</sup> H NMR (400 MHz, MeOD-d <sub>4</sub> ) δ (ppm) 7.60 (s, 1 H), 7.31 (dd, J=1.3, 8.0 Hz, 1 H), 7.10 (t, J=8.0 Hz, 1 H), 6.61 (dd, J=1.3, 8.9 Hz, 1 H), 4.45-4.36 (m, 2 H), 3.66 (dd, J=5.0, 10.8 Hz, 1 H), 3.16-3.08 (m, 1 H), 2.92 (dd, J=10.8, 13.3 Hz, 1 H), 1.96-1.90 (m, 1 H), 1.86-1.77 (m, 1 H), 1.45 (s, 3 H) . C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>5</sub> OS (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 400.0766 , 实测值 : 400.0792.	0.049

[0474]

25		<p>为 TFA 盐: <math>^1\text{H}</math> NMR (400 MHz, MeOD-<math>d_4</math>) <math>\delta</math> (ppm) 7.61 (s, 1 H), 7.31 (dd, <math>J=1.4, 7.9</math> Hz, 1 H), 7.10 (t, <math>J=8.0</math> Hz, 1 H), 6.61 (dd, <math>J=1.3, 8.0</math> Hz, 1 H), 4.46-4.36 (m, 2 H), 3.66 (dd, <math>J=5.0, 10.8</math> Hz, 1 H), 3.16-3.08 (m, 1 H), 2.92 (dd, <math>J=10.9, 13.5</math> Hz, 1 H), 1.96-1.91 (m, 1 H), 1.86-1.77 (m, 1 H), 1.45 (s, 3 H). <math>\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{OS}</math> (M+H)<math>^+</math> 的 HRMS 计算值: 400.0766, 实测值: 400.0777.</p>	0.077
26		<p><math>^1\text{H}</math> NMR (400 MHz, DMSO-<math>d_6</math>) <math>\delta</math> ppm 7.66 (dd, <math>J=9.0, 3.0</math> Hz, 1 H), 7.61 (s, 1 H), 7.44 (td, <math>J=8.5, 3.0</math> Hz, 1 H), 7.00 (dd, <math>J=9.0, 5.0</math> Hz, 1 H), 6.08 (br. s, 2 H), 3.65-3.76 (m, 2 H), 3.48-3.58 (m, 2 H), 1.33-1.51 (m, 4 H), 1.09 (s, 3). <math>\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{F}_4\text{N}_5\text{S}</math> (M+H)<math>^+</math> 的 HRMS 计算值: 402.1343, 实测值: 402.1312.</p>	0.067
27a 和 27b		<p>手性 SFC 纯化如下进行: 柱: AD-H 21×250mm, 流速: 75 g 每分钟, 流动相: 40% MeOH 和 10mM <math>\text{NH}_4\text{OH}</math> 在 <math>\text{CO}_2</math> 中, 检测: 220 nm UV, 得到单一对映体 <math>R_t</math> (P1)=3.5 min, <math>R_t</math> (P2)=4.8 min. <math>^1\text{H}</math> NMR (400 MHz, DMSO-<math>d_6</math>) <math>\delta</math> ppm 7.33-7.42 (m, 2 H), 7.23 (t, <math>J=8.08</math></p>	P1= 0.076 P2= 0.377

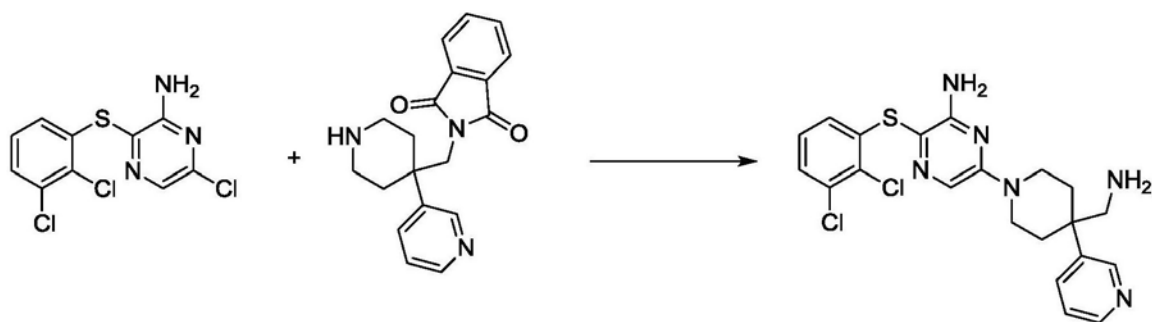
[0475]

		<p>Hz, 1 H), 6.59 (d, J=8.08 Hz, 1 H), 6.05 (s, 2 H), 3.72-3.82 (m, 2 H), 3.35-3.52 (m, 3 H), 2.30 (s, 2 H), 1.74-1.93 (m, 2 H), 1.08 (s, 3). C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>5</sub>OS (M+H)<sup>+</sup>的 HRMS 计算值: 414.0922, 实测值: 414.0913.</p>	
--	--	---	--

[0476] 实施例28

[0477] 6-(4-(氨基甲基)-4-(吡啶-3-基)哌啶-1-基)-3-((2,3-二氯代苯基)硫代)吡嗪-2-胺

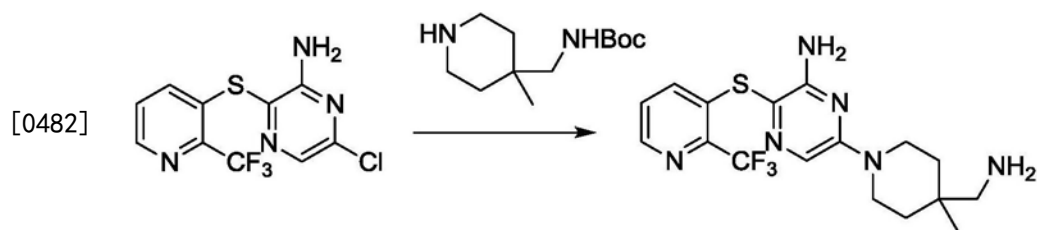
[0478]



[0479] 于135℃,搅拌6-氯代-3-((2,3-二氯代苯基)硫代)吡嗪-2-胺(123mg,0.40 mmol)和2-((4-(吡啶-3-基)哌啶-4-基)甲基)异吲哚啉-1,3-二酮(HCl盐,189 mg,0.480mmol)的DIPEA(3mL)溶液16h,冷却至RT,减压除去挥发物,于55℃搅拌得到的残留物和胂水合物(35%的H<sub>2</sub>O溶液,54μL,0.600mmol)的THF:MeOH(1:1,4mL)溶液3h,冷却至RT,减压除去挥发物,经HPLC 纯化残留物(35-60%的乙腈水溶液梯度洗脱,5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂),得到目标化合物(101mg,0.219mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δppm 8.55(s,1H)8.38(d,J=3.79Hz,1H)7.79-7.92(m,1H)7.46(s,1H)7.41(dd,J=7.96,4.93Hz,1H)7.19(dd,J=8.08,1.26Hz,1H)6.99(t,J=8.08Hz,1 H)6.51(dd,J=8.08,1.26Hz,1H)3.96(dt,J=14.08,4.45Hz,2H)3.16(ddd,J=13.52,10.23,3.03Hz,2H)2.78(s,2H)2.27(d,J=14.65Hz,2H)1.84(ddd,J=14.02,10.11,3.92Hz,2) 。C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>S (M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值:461.1082,实测值:461.1095;IC<sub>50</sub>为0.054μM。

[0480] 实施例29

[0481] 6-(4-(氨基甲基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺



[0483] 于130℃搅拌6-氯代-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(200 mg, 0.652mmol)和((4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(223mg, 0.978mmol)的DIPEA(4mL)溶液2h,冷却至RT,减压除去挥发物,将得到的残留物溶于DCM(5mL),加入TFA(500μL),于RT搅拌溶液20 min,减压除去挥发物,经HPLC纯化残留物(15—40%的乙腈水溶液梯度洗脱,5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂),得到目标化合物(192mg,0.482mmol).<sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δppm 8.29(dd,J=4.42,1.39Hz,1H),7.48(s,1 H),7.23-7.42(m,2H),3.86(dt,J=13.64,4.80Hz,2H),3.32(ddd,J=13.58,9.79,3.66Hz,2H),2.46(s,2H),1.44(ddd,J=13.64,9.60,4.29Hz,2H),1.35(dt,J=13.52,4.23Hz,2H),0.97(s,3H).<sup>19</sup>F NMR(376MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δppm-66.48(s).C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>F<sub>3</sub>S(M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值:399.1579,实测值:399.1581。IC<sub>50</sub>为0.029μM。

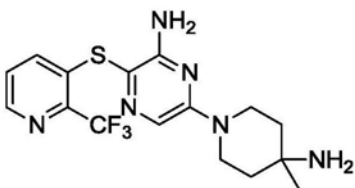
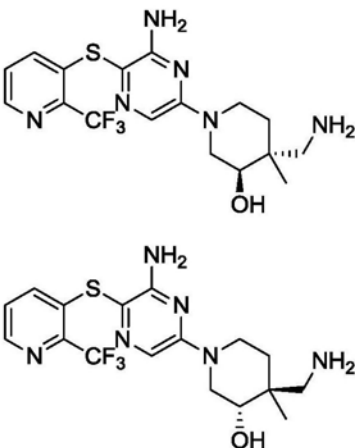
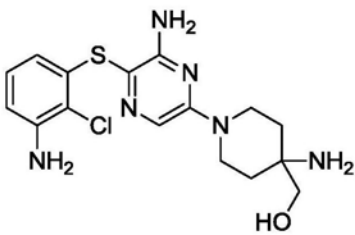
[0484] 下列表7中的式I化合物采用上述方法或者上述方法的改进并使用相应的Boc-保护的胺制备。

[0485] 表7

[0486]

实 施 例	化 合 物	鉴定数据	IC <sub>50</sub> (μM)

[0487]

30		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 8.33-8.54 (m, 1 H), 7.64 (s, 1 H), 7.55 (dd, J=8.0, 4.5 Hz, 1 H), 7.29 (d, J=8.0 Hz, 1 H), 6.19 (s, 2 H), 3.72 (dt, J=13.0, 5.0 Hz, 2 H), 3.55 (ddd, J=13.0, 8.0, 5.0 Hz, 2 H), 1.36-1.51 (m, 4 H), 1.10 (s, 3) . C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> F <sub>3</sub> N <sub>6</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 385.1422, 实测值: 385.1417.	0.066
31a 和 31b		手性 SFC 纯化如下进行: 柱: IC 21×250mm, 流速: 75 g 每分钟, 流动相: 45% MeOH 和 10 mM NH <sub>4</sub> OH 在 CO <sub>2</sub> 中, 检测: 268 nm UV, 得到单一对映体 R <sub>t</sub> (P1)=5.0 min, R <sub>t</sub> (P2)=6.4 min. <sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 8.30 (dd, J=4.42, 1.39 Hz, 1 H), 7.49 (s, 1 H), 7.21-7.40 (m, 2 H), 4.01-4.22 (m, 2 H), 3.51 (dd, J=10.36, 4.80 Hz, 1 H), 2.99-3.14 (m, 1 H), 2.88 (dd, J=13.01, 10.48 Hz, 1 H), 2.57-2.64 (m, 2 H), 1.33-1.45 (m, 2 H), 0.99 (s, 3) . C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> F <sub>3</sub> N <sub>6</sub> OS (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 415.1528, 实测值: 415.1531.	P1= 0.781 P2= 0.064
32		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.54 (br. s., 1 H), 6.86 (t, J=7.91 Hz, 1 H), 6.62 (dd, J=8.03, 1.25 Hz, 1 H), 6.01 (dd, J=7.91, 1.13 Hz, 1 H), 3.88 (d, J=12.30 Hz, 2 H), 3.51-3.67 (m, 2 H), 3.45 (br. s., 2 H), 1.72 (br. s., 2 H), 1.56 (br. s., 2) . C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>6</sub> OS	0.195



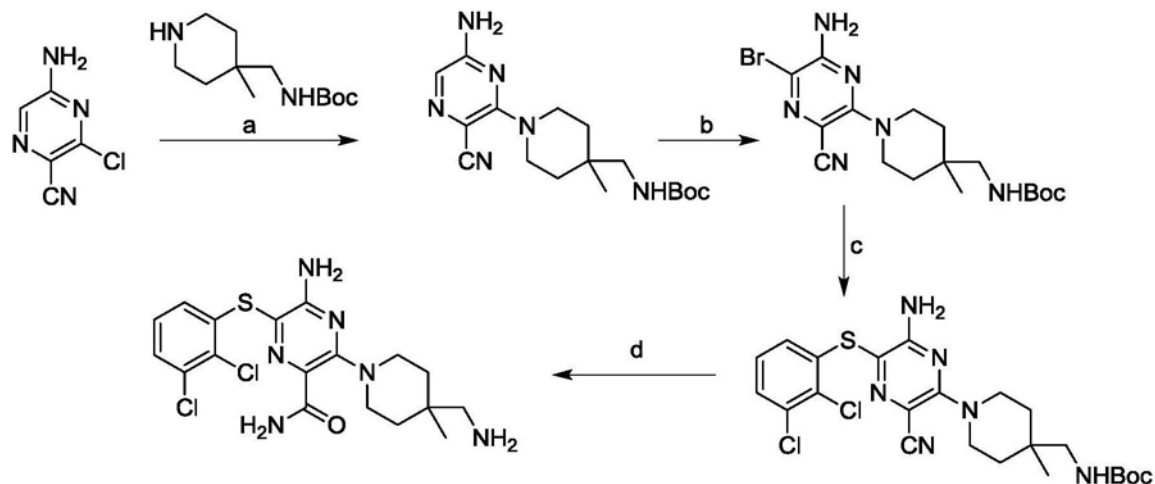
[0488]

		(M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 381.1264, 实测值: 381.1258.	
--	--	--	--

[0489] 实施例33

[0490] 5-氨基-3-(4-(氨基甲基)-4-甲基哌啶-1-基)-6-((2,3-二氯代苯基)硫代)吡嗪-2-甲酰胺

[0491]



[0492] 步骤a:于130℃,搅拌5-氨基-3-氯代吡嗪-2-甲腈(176mg,1.139mmol)和4-(N-Boc-氨基甲基)4-(2-甲基哌啶)(286mg,1.253mmol)的DIPEA(3 mL)溶液16h,将反应混合物冷却至RT,减压除去挥发物.残留物经硅胶色谱纯化(10—100%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到((1-(6-氨基-3-氰基吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(251mg,0.725mmol)。MS m/z 347.3 (M+H)<sup>+</sup>。

[0493] 步骤b:于0℃向((1-(6-氨基-3-氰基吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(230mg,0.664mmol)的DCM(9.5mL)溶液中加入NBS(130mg,0.730mmol),于0℃搅拌得到的混合物5min,于RT搅拌30min,减压除去挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(25—100%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到((1-(6-氨基-5-溴-3-氰基吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(224.6mg,0.528mmol)。MS m/z 427.2 (M+H)<sup>+</sup>。

[0494] 步骤c:于110℃,将2,3-二氯代苯硫酚(71mg,0.399mmol)、((1-(6-氨基-5-溴-3-氰基吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(113 mg,0.266mmol)、磷酸钾(141mg,0.664mmol)、碘化铜(I)(~5mg,0.027 mmol)和1,10-邻二氮杂菲(9.6mg,0.053mmol)的二氧六环(2mL,脱气)悬浮液搅拌16h,冷却至RT,用EtOAc稀释混合物,通过硅藻土垫过滤,用EtOAc洗涤,减压除去挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(30—100%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到((1-(6-氨基-3-氰基-5-((2,3-二氯代苯基)硫代)吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(112.5mg,0.215 mmol)。MS m/z 523.2 (M+H)<sup>+</sup>。

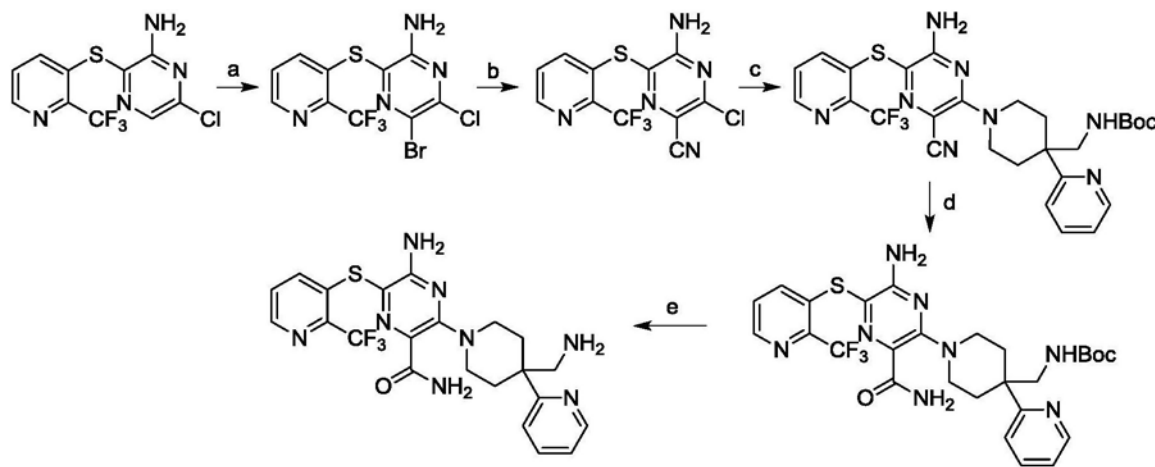
[0495] 步骤d:于140℃将((1-(6-氨基-3-氰基-5-((2,3-二氯代苯基)硫代)吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(40mg,0.076mmol)的MeOH(0.8mL)和NaOH(1M的H<sub>2</sub>O溶液,0.8mL)溶液在微波反应器中搅拌40min,冷却至RT,混合物用H<sub>2</sub>O稀释,

用DCM萃取,合并的有机层用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压除去挥发物,将得到的残留物溶于DCM(2.5mL),加入TFA(150μL),于RT搅拌45min,减压除去挥发物,经HPLC纯化残留物(35–60%的乙腈水溶液梯度洗脱,5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂),得到目标化合物(8mg, 0.017mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δppm 7.34(d, J=7.83Hz, 1H), 7.15(t, J=7.96Hz, 1H), 6.78(d, J=8.08Hz, 1H), 3.72(dt, J=13.52, 4.61Hz, 2H), 2个哌啶质子被残留的溶剂掩蔽, 2.58(br.s., 2H), 1.60(ddd, J=13.20, 9.79, 3.79Hz, 2H), 1.39–1.48(m, 2H), 1.06(s, 3)。<sup>13</sup>C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>OS(M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值:441.1031, 实测值:441.1036。IC<sub>50</sub>为0.019μM。

[0496] 实施例34

[0497] 5-氨基-3-(4-(氨基甲基)-4-(吡啶-2-基)哌啶-1-基)-6-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-甲酰胺

[0498]



[0499] 步骤a:于0℃向6-氯代-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(1.2 g, 2.119mmol)的DCM(30mL)溶液中一次性加入NBS(745mg, 4.19 mmol),于0℃剧烈搅拌得到的混合物30min,于RT 1h,用水骤冷澄清溶液,用DCM萃取,随后用水和盐水洗涤合并的有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。残留物经硅胶色谱纯化(0–50%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到5-溴-6-氯代-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(938mg, 2.51 mmol)。MS m/z 387.2(M+H)<sup>+</sup>。

[0500] 步骤b:于120℃将5-溴-6-氯代-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(750mg, 1.945mmol)和氰化铜(I)(348mg, 3.89mmol)的DMF(7mL)混合物搅拌14h,冷却至RT,通过硅藻土垫过滤反应物,接着用MeOH(50 mL)洗涤,减压除去挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(0–100%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到5-氨基-3-氯代-6-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-甲腈(301mg, 0.907mmol)。MS m/z 332.3(M+H)<sup>+</sup>。

[0501] 步骤c:于135℃将5-氨基-3-氯代-6-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-甲腈(38mg, 0.115mmol)和((4-(吡啶-2-基)哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔丁基酯(66.8mg, 0.229mmol)的DIPEA(180μL)溶液搅拌1h,冷却至RT,减压除去挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(0–100%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到((1-(6-氨基-3-氰基-5-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-基)-4-(吡啶-2-基)哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔丁基酯(64mg, 0.109mmol)。MS m/z 587.4(M+H)<sup>+</sup>。

[0502] 步骤d:于110℃、在微波反应器中将((1-(6-氨基-3-氰基-5-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-基)-4-(吡啶-2-基)哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔丁基酯(64mg, 0.109mmol)和TFA(150μL)在微波反应器中于110℃反应1h,冷却至RT,减压除去挥发物,残留物经硅胶色谱纯化(0–50%的EtOAc/庚烷梯度洗脱),得到5-氨基-3-((4-(氨基甲基)-4-(吡啶-2-基)哌啶-1-基)-6-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-基)甲酰胺(8mg, 0.017mmol)。

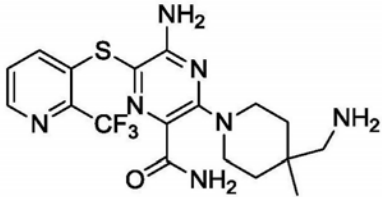
啉-3-基) 硫代) 吡嗪-2-基)-4-(吡啶-2-基) 哌啶-4-基) 甲基) 氨基甲酸叔-丁基酯 (64mg, 0.109mmol) 和NaOH (1M的H<sub>2</sub>O溶液, 1.20mL, 1.20mmol) 的MeOH (3mL) 溶液搅拌110℃, 冷却至RT, 减压除去挥发物, 得到((1-(6-氨基-3-氨基甲酰基-5-((2-(三氟甲基) 吡啶-3-基) 硫代) 吡嗪-2-基)-4-(吡啶-2-基) 哌啶-4-基) 甲基) 氨基甲酸叔-丁基酯粗品, 该物质不经进一步纯化直接用于下一步骤。MS m/z 605.5 (M+H)<sup>+</sup>。

[0503] 步骤e: 向((1-(6-氨基-3-氨基甲酰基-5-((2-(三氟甲基) 吡啶-3-基) 硫代) 吡嗪-2-基)-4-(吡啶-2-基) 哌啶-4-基) 甲基) 氨基甲酸叔-丁基酯 (66mg, 0.109 mmol) 的DCM (2mL) 溶液中加入TFA (420μL), 于RT搅拌得到的混合物 1h, 减压除去挥发物, 经HPLC纯化残留物 (15-40%的乙腈水溶液梯度洗脱, 5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂), 得到5-氨基-3-(4-(氨基甲基)-4-(吡啶-2-基) 哌啶-1-基)-6-((2-(三氟甲基) 吡啶-3-基) 硫代) 吡嗪-2-甲酰胺 (11mg, 0.020 mmol)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δppm 8.53 (dd, J=1.0, 4.8Hz, 1H), 8.35 (dd, J=1.0, 4.5Hz, 1H), 7.75 (dt, J=1.8, 7.8Hz, 1H), 7.53-7.43 (m, 2H), 7.38 (dd, J=4.5, 8.1Hz, 1H), 7.25-7.15 (m, 1H), 3.75 (td, J=4.1, 13.7Hz, 2H), 3.07 (ddd, J=2.5, 10.5, 13.3Hz, 2H), 2.78 (br. s., 2H), 2.41 (d, J=13.9 Hz, 2H), 1.81 (ddd, J=3.5, 10.4, 13.6Hz, 2H)。C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>N<sub>8</sub>OS (M+H)<sup>+</sup>的 HRMS计算值: 505.1697, 实测值: 505.1709; IC<sub>50</sub>为0.102μM。

[0504] 下列表8中的式I化合物采用上述方法或者上述方法的改进并使用相应的胺和胺去保护方法制备。

[0505] 表8

[0506]

实施例	化合物	鉴定数据	IC <sub>50</sub> (μM)
35		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 8.34 (dd, J=4.55, 1.01 Hz, 1 H), 7.41-7.57 (m, 1 H), 7.37 (dd, J=8.08, 4.55 Hz, 1 H), 3.48-3.76 (m, 2 H), 3.23-3.29 (m, 2 H), 2.49 (s, 2 H), 1.39-1.60 (m, 2 H), 1.22-1.39 (m, 3 H), 0.95 (s, 3)。 C <sub>18</sub> H <sub>23</sub> F <sub>3</sub> N <sub>7</sub> OS (M+H) <sup>+</sup> 的	0.109

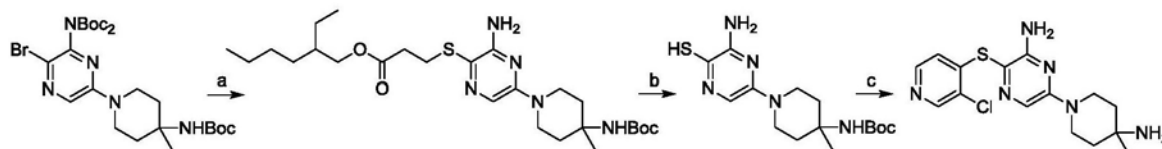
[0507]

		HRMS 计算值: 442.1637, 实测值: 442.1641。	
--	--	------------------------------------	--

[0508] 实施例36

[0509] 6-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)-3-((3-氯代吡啶-4-基) 硫代) 吡嗪-2-胺

[0510]



[0511] 步骤a: 向(3-溴-6-(4-((叔-丁氧基羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)(叔-丁氧基羰基)氨基甲酸叔-丁基酯(1.0g, 1.705mmol)、XantPhos(99 mg, 0.170mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (78mg, 0.085mmol)的二氧六环(3.5mL)溶液(于RT、 $\text{N}_2$ 中)加入2-乙基己基-3-巯基丙酸酯(427 $\mu\text{L}$ , 1.875mmol), 随后加入DIPEA(893 $\mu\text{L}$ , 5.11mmol)。将得到的溶液于微波反应器中于110℃加热1.5h、于140℃加热2h并于160℃加热2h。冷却至RT, 将反应物通过硅藻土垫过滤, 接着用EtOAc(5mL)洗涤, 浓缩合并的滤液, 残留物经硅胶色谱纯化(0—30%的EtOAc/庚烷梯度洗脱), 得到2-乙基己基-3-((3-氨基-5-(4-((叔-丁氧基羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)硫代)丙酸酯(279mg, 0.533mmol)。MS  $m/z$  524.5 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>。

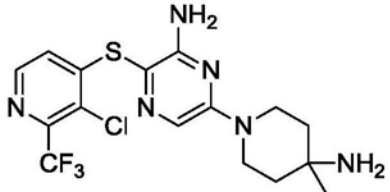
[0512] 步骤b: 于78℃、 $\text{N}_2$ 中向2-乙基己基-3-((3-氨基-5-(4-((叔-丁氧基羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)硫代)丙酸酯(210mg, 0.401mmol)的THF(2mL)溶液中加入叔丁醇钾(1M的THF溶液, 1.6mL, 1.60mmol), 于-78℃剧烈搅拌15min, 用 $\text{K}_2\text{CO}_3\text{aq}$ (2M, 500 $\mu\text{L}$ )骤冷反应物, 减压除去挥发物, 经HPLC纯化残留物(15—40%的乙腈水溶液梯度洗脱, 5mM  $\text{NH}_4\text{OH}$ 调节剂), 得到(1-(6-氨基-5-巯基吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(44mg, 0.130mmol)。MS  $m/z$  340.3 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>。

[0513] 步骤c: 向(1-(6-氨基-5-巯基吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基)氨基甲酸叔-丁基酯(44mg, 0.130mmol)、4-溴-3-氯代吡啶(31.2mg, 0.162mmol)、XantPhos(7.5mg, 0.013mmol)和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (5.9mg, 0.0065mmol)的二氧六环(2mL)溶液(于RT、 $\text{N}_2$ 中)加入DIPEA(68 $\mu\text{L}$ , 0.389mmol)。于110℃中在微波反应器中搅拌得到的溶液1h, 于125℃搅拌1h, 冷却至RT, 用EtOAc稀释反应物, 通过硅藻土垫过滤, 随后用EtOAc(5mL)洗涤, 减压除去挥发物, 将得到的残留物溶于DCM(3mL), 用TFA(500 $\mu\text{L}$ )处理, 于RT搅拌得到的混合物10min, 减压除去挥发物, 经HPLC纯化残留物(15—40%的乙腈水溶液梯度洗脱, 5mM  $\text{NH}_4\text{OH}$ 调节剂), 得到6-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)-3-((3-氯代吡啶-4-基)硫代)吡嗪-2-胺(8.5mg, 0.024 mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.30(s, 1H), 8.06(d,  $J=5.56\text{Hz}$ , 1H), 7.52(s, 1H), 6.58(d,  $J=5.31\text{Hz}$ , 1H), 3.76(ddd,  $J=13.64, 7.07, 4.29\text{Hz}$ , 2H), 3.44—3.59(m, 2H), 1.45—1.64(m, 4H), 1.09—1.23(m, 3)。C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>6</sub>S ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>的HRMS计算值: 351.1159, 实测值: 351.1159。IC<sub>50</sub>为0.076 $\mu\text{M}$ 。

[0514] 下列表9中的式I化合物采用上述方法或者上述方法的改进并使用相应的吡啶基溴化物制备。

[0515] 表9

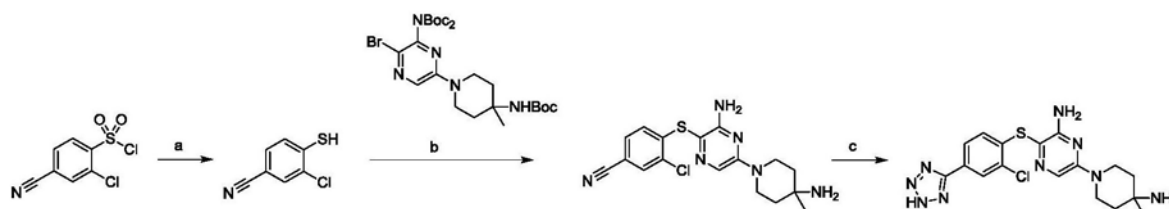
[0516]

实施例	化合物	鉴定数据	IC <sub>50</sub> (μM)
37		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 8.16 (d, J=5.30 Hz, 1 H), 7.55 (s, 1 H), 6.77 (d, J=5.05 Hz, 1 H), 3.71-3.88 (m, 2 H), 3.44-3.62 (m, 2 H), 1.45-1.65 (m, 4 H), 1.14-1.26 (m, 3 )。 C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>6</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 419.1033, 实测值: 419.1011.	0.082

[0517] 实施例38

[0518] 6-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2-氯代-4-(2H-四唑-5-基)苯基)硫代)吡嗪-2-胺

[0519]



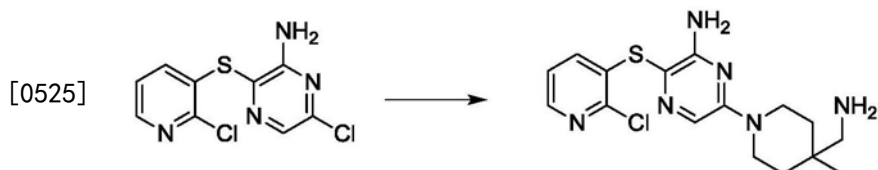
[0520] 步骤a: 于RT将2-氯代-4-氰基苯磺酰氯 (2.0g, 8.47mmol) 和三苯膦 (6.67g, 25.4mmol) 的甲苯 (54mL) 溶液搅拌16h。用DCM稀释得到的混合物, 用水和盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压除去挥发物, 残留物经 硅胶色谱纯化 (1—100%的DCM/庚烷梯度洗脱), 得到3-氯代-4-巯基苄腈 (1.29g, 7.60mmol)。MS m/z 168.6 (M-H)<sup>-</sup>。

[0521] 步骤b: 将3-氯代-4-巯基苄腈 (362mg, 2.131mmol)、(3-溴-6-(4-((叔-丁氧基羰基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)(叔-丁氧基羰基)氨基甲酸叔-丁基酯 (250mg, 0.426mmol) 和N-甲基吗啉 (515μL, 4.69mmol) 的NMP (2.7mL) 溶液于230℃在微波反应器中搅拌40min, 冷却至RT, 用MeOH 稀释反应混合物, 过滤并经HPLC纯化残留物 (25—50%的乙腈水溶液梯度洗脱, 5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂), 得到4-((3-氨基-5-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)硫代)-3-氯代苄腈 (27.8mg, 0.074mmol)。MS m/z 375.1 (M+H)<sup>+</sup>。

[0522] 步骤c: 于120℃将4-((3-氨基-5-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)吡嗪-2-基)硫代)-3-氯代苄腈 (27.8mg, 0.074mmol)、叠氮化钠 (57.8mg, 0.89mmol) 和 氯化铵 (47.6mg, 0.89mmol) 的DMF (2mL) 溶液搅拌90min。用MeOH稀 释得到的混合物, 过滤并直接经HPLC纯化 (10—30%的乙腈水溶液梯度 洗脱, 0.1% TFA调节剂), 得到6-(4-氨基-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2-氯代-4-(2H-四唑-5-基)苯基)硫代)吡嗪-2-胺 (TFA盐, 19.9mg, 0.036mmol)。。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 8.09 (d, J=1.77Hz, 1H) 7.94 (br.s., 3 H) 7.86 (dd, J=8.34, 1.77Hz, 1H) 7.70 (s, 1H) 6.83 (d, J=8.34Hz, 1H) 6.28 (br.s., 2H) 3.98-4.13 (m, 2H) 3.32 (dt, J=13.89, 6.69Hz, 2H) 1.73 (t, J=5.31 Hz, 4H) 1.38 (s, 3)。C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>9</sub>S (M+H)<sup>+</sup>的HRMS 计算值: 418.1324, 实 测值: 418.1306。IC<sub>50</sub>为0.023μM。

[0523] 实施例39

[0524] 6-(4-(氨基甲基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2-氯代吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺



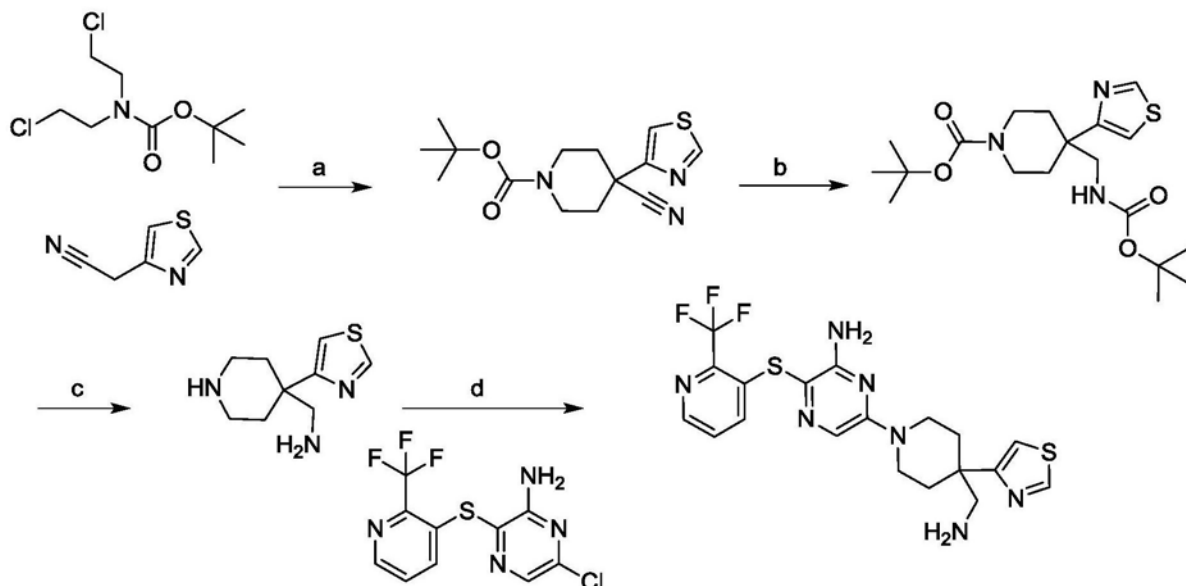
[0526] 步骤a:向6-氯代-3-((2-氯代吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(25mg,0.092 mmol)的DIPEA(0.9mL)悬浮液中加入((4-甲基哌啶-4-基)甲基)氨基甲酸叔-丁基酯(105mg,0.405mmol),于90℃搅拌得到的混合物10h,然后浓缩。将粗品溶于DCM(2mL),加入HCl溶液(4M的二氧六环溶液,229μL,0.915mmol)。于RT搅拌得到的混合物1h并浓缩。粗品经HPLC纯化(15-40%的乙腈水溶液梯度,5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂),得到6-(4-(氨基甲基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2-氯代吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(13mg,0.033mmol),为白色固体。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 8.15(dd,J=4.6,1.6Hz,1H),7.58-7.66(m,1H),7.30(dd,J=7.9,4.6Hz,1H),7.00(dd,J=7.9,1.6

[0527] Hz,1H),6.20(br.s,2H),3.75-3.93(m,2H),3.20-3.51(m,2H),2.41(s,2H),1.21-1.53(m,4H),0.93(s,3H)。C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>6</sub>S(M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值:365.1315,实测值:365.1307。IC<sub>50</sub>为0.026μM。

[0528] 实施例40

[0529] 6-(4-(氨基甲基)-4-(噻唑-4-基)哌啶-1-基)-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺

[0530]



[0531] 步骤a:于0℃向氢化钠(0.93g,23.2mmol,60%的矿物油)的二甲基甲酰胺(60mL)悬浮液中加入2-(噻唑-4-基)乙腈(1.6g,12.9mmol),将混合物搅拌30min,然后加入双(2-氯代乙基)氨基甲酸叔-丁基酯(3.74g,15.5 mmol),于55℃搅拌混合物16h,向混合物中加入水,用乙醚萃取(2×200 mL),用水和盐水洗涤有机萃取物,干燥并浓缩,得到粗品4-氰基-4-(噻唑-4-基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(0.45g,1.54mmol),该物质不经进一步直接用

于下一步骤。

[0532] 步骤b: 于RT向4-氰基-4-(噻唑-4-基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(1.5g, 5.12 mmol)的甲醇(100mL)溶液中加入氯化镍七水合物(1.18g, 4.95mmol), 将混合物搅拌5分钟, 然后加入二碳酸二叔-丁基酯(3.34g, 15.3mmol), 接着加入硼氢化钠(1.93g, 51mmol)。于RT搅拌混合物16h, 通过硅藻土过滤, 用更多的甲醇洗涤, 浓缩合并的滤液, 在乙酸乙酯和水之间分配, 分离各层, 用水和盐水洗涤有机层, 干燥并浓缩。将粗品经硅胶柱色谱纯化, 得到4-(((叔-丁氧基羰基)氨基)甲基)-4-(噻唑-4-基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(1.0 g, 2.52mmol)。MS  $m/z$  396 (M+H)<sup>+</sup>。

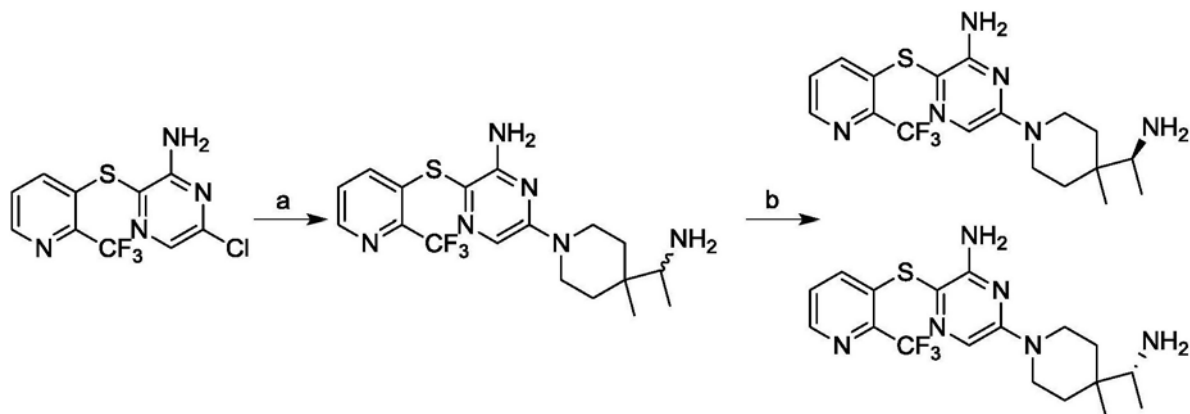
[0533] 步骤c: 于0℃向4-(((叔-丁氧基羰基)氨基)甲基)-4-(噻唑-4-基)哌啶-1-甲酸叔-丁基酯(0.60g, 1.51mmol)的二氯甲烷(10mL)溶液中加入三氟乙酸(5mL), 将混合物温热至RT, 搅拌16h。将混合物浓缩至干, 再溶于甲醇中, 向溶液中加入amberlyst A-21(0.6g), 于RT搅拌反应物4h, 通过硅藻土过滤, 蒸发溶剂, 得到(4-(噻唑-4-基)哌啶-4-基)甲胺(0.45g, 粗品), 将其不经纯化直接用于下一步骤。MS  $m/z$  198 (M+H)<sup>+</sup>。

[0534] 步骤d: 向6-氯代-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(100mg, 0.33mmol)的2-甲基-1-吡咯烷(2mL)和二异丙基乙基胺(2mL)的混合物中加入(4-(噻唑-4-基)哌啶-4-基)甲胺(250mg, 1.27mmol), 将管密封, 于130℃加热混合物16h, 冷却管, 将内容物倾至水中, 用乙酸乙酯萃取, 用水和盐水洗涤有机萃取物, 干燥(硫酸钠), 减压浓缩, 将粗品经制备性HPLC纯化, 得到目标化合物, 将其浓缩至干, 溶于甲醇(5mL)中, 于0℃加入0.5mL盐酸(6M)。浓缩该物质, 得到6-(4-(氨基甲基)-4-(噻唑-4-基)哌啶-1-基)-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺盐酸盐(HCl盐: 39mg, 0.077 mmol), 为黄色固体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 9.21 (d, J=1.5 Hz, 1H), 8.47 (d, J=4.0Hz, 1H), 7.96 (br.s., 2H), 7.76 (d, J=1.5Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.55 (dd, J=8.2, 4.4Hz, 1H), 7.30 (d, J=8.0Hz, 1H), 4.04 (d, J=13.8Hz, 2H), 3.01-3.24 (m, 4H), 2.30 (d, J=13.8Hz, 2H), 1.88 (t, J=9.9 Hz, 2H); C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>S<sub>2</sub> (M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值: 468.1252, 实测值: 468.1267。IC<sub>50</sub>为0.079 $\mu$ M。

[0535] 实施例41

[0536] (S)和(R)-6-(4-(1-氨基乙基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺

[0537]



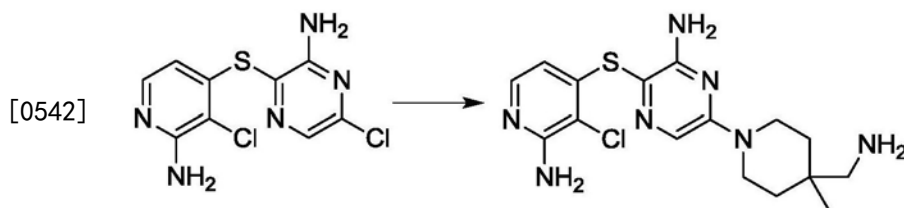
[0538] 步骤a: 将6-氯代-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(221mg,

0.721mmol) 和 (S)-2-甲基-N-(1-(4-甲基哌啶-4-基) 乙基) 丙烷-2-亚磺酰胺 (TFA盐, 0.721mmol) 的DIPEA (3mL) 混合物于110℃搅拌16h, 冷却至 RT, 减压除去挥发物, 将得到的残留物的DCM (2mL) 和HCl (4M的二 氧六环溶液, 2mL) 溶液于40℃搅拌1h, 减压除去挥发物, 经HPLC纯化 残留物 (15-40%的乙腈水溶液梯度洗脱, 0.1% TFA调节剂), 得到6-(4-(1-氨基乙基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2-(三氟甲基) 吡啶-3-基) 硫代) 吡嗪-2-胺 (260mg, 0.630mmol, TFA盐)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δppm 8.28 (d, J=4.04Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.18-7.40 (m, 2H), 4.04 (td, J=8.59, 4.04 Hz, 2H), 3.02-3.16 (m, 2H), 2.57 (d, J=6.57Hz, 1H), 1.28-1.53 (m, 4H), 0.95 (d, J=6.57Hz, 3H), 0.90 (s, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (376MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm -66.43 (s, 1F)。C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub>S (M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值: 413.1735, 实测值: 413.1736。

[0539] 步骤b: 如下将6-(4-(1-氨基乙基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2-(三氟甲基) 吡啶-3-基) 硫代) 吡嗪-2-胺进行手性SFC纯化: 柱: AD-H 21×250mm, 流速: 80g每分钟, 流动相: 35% IPA和10mM NH<sub>4</sub>OH在CO<sub>2</sub>中; 检测: 214nm UV, 得到单一对映体, R<sub>t</sub> (P1) = 2.2min, IC<sub>50</sub>为0.097μM; 和R<sub>t</sub> (P2) = 2.75min.; IC<sub>50</sub>为0.061μM。

[0540] 实施例42

[0541] 3-((2-氨基-3-氯代吡啶-4-基) 硫代)-6-(4-(氨基甲基)-4-甲基哌啶-1-基) 吡嗪-2-胺

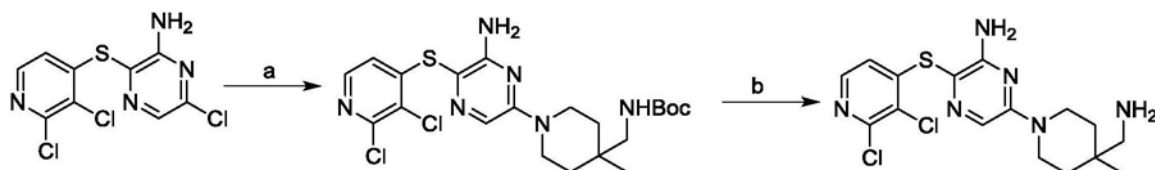


[0543] 于130℃将3-((2-氨基-3-氯代吡啶-4-基) 硫代)-6-氯代吡嗪-2-胺 (60mg, 0.208mmol) 和 ((4-甲基哌啶-4-基) 甲基) 氨基甲酸叔-丁基酯 (95mg, 0.416 mmol) 的DIPEA (2mL) 悬浮液搅拌16h, 冷却至RT, 减压除去挥发物, 将得到的残留物的DCM (5mL) 和TFA (2mL) 溶液搅拌15min, 减压除去 挥发物, 经HPLC纯化残留物 (15-40%的乙腈水溶液梯度洗脱, 5mM NH<sub>4</sub>OH调节剂), 得到3-((2-氨基-3-氯代吡啶-4-基) 硫代)-6-(4-(氨基甲基)-4-甲基哌啶-1-基) 吡嗪-2-胺 (14mg, 0.037mmol)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δppm 7.58 (d, J=5.52Hz, 1H) 7.55 (s, 1H), 5.91 (d, J=5.52Hz, 1H), 3.95 (dt, J=13.68, 4.71Hz, 2H), 3.41 (ddd, J=13.49, 9.85, 3.51Hz, 2H), 2.56 (s, 2 H), 1.53 (ddd, J=13.68, 9.66, 4.27Hz, 2H), 1.44 (dt, J=13.49, 4.30Hz, 2H), 1.01-1.11 (m, 3H)。C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>7</sub>S (M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值: 380.1424, 实测值: 380.1428。IC<sub>50</sub>为0.023μM。

[0544] 实施例43

[0545] 6-(4-(氨基甲基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2,3-二氯代吡啶-4-基) 硫代) 吡嗪-2-胺

[0546]



[0547] 步骤a: 向6-氯代-3-((2,3-二氯代吡啶-4-基) 硫代) 吡嗪-2-胺 (74mg, 0.163



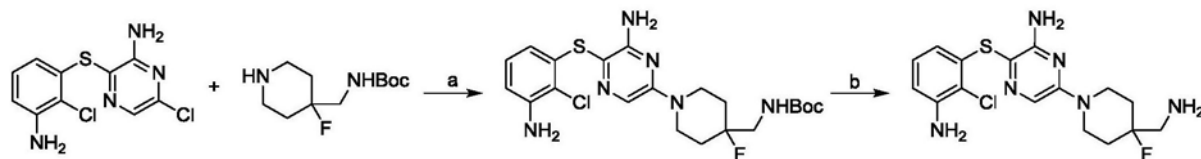
mmol) 的 DIPEA (0.8mL) 悬浮液中加入 ((4-甲基哌啶-4-基) 甲基) 氨基甲酸叔-丁基酯 (74mg, 0.325mmol), 于 90℃ 搅拌得到的混合物 10h, 然后浓缩。粗品经硅胶色谱纯化 (0–50% 的 EtOAc/庚烷梯度洗脱; EtOAc, 含有 10% MeOH; 庚烷, 含有 2% Et<sub>3</sub>N), 得到 ((1-(6-氨基-5-((2,3-二氯代吡啶-4-基) 硫代) 吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基) 甲基) 氨基甲酸叔-丁基酯 (70mg, 0.140mmol), 为灰白色固体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ ppm 7.95–8.08 (m, 1H), 7.66 (s, 1H), 6.51–6.64 (m, 1H), 4.84 (br. s., 2H), 4.67 (t, J=6.1Hz, 1H), 3.80–3.98 (m, 2H), 3.35–3.54 (m, 2H), 3.11 (d, J=6.5Hz, 2H), 1.19–1.69 (m, 13H), 1.03 (s, 3H)。MS m/z 499.1 (M+H)<sup>+</sup>。

[0548] 步骤b: 将 ((1-(6-氨基-5-((2,3-二氯代吡啶-4-基) 硫代) 吡嗪-2-基)-4-甲基哌啶-4-基) 甲基) 氨基甲酸叔-丁基酯 (70mg, 0.140mmol) 溶于 DCM (1mL), 加入 TFA (108μL, 1.40mmol)。于 RT 搅拌得到的混合物 1h 并浓缩。粗品经 HPLC 纯化 (15–40% 的乙腈水溶液梯度洗脱, 5mM NH<sub>4</sub>OH 调节剂), 得到 6-(4-(氨基甲基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-((2,3-二氯代吡啶-4-基) 硫代) 吡嗪-2-胺 (14mg, 0.035mmol), 为白色固体。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 7.98–8.05 (m, 1H), 7.59–7.64 (m, 1H), 6.58–6.67 (m, 1H), 4.00 (dt, J=13.7, 4.8Hz, 2H), 3.45 (ddd, J=13.6, 9.8, 3.8Hz, 2H), 2.60 (s, 2H), 1.40–1.65 (m, 4H), 1.09 (s, 3H)。C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>S (M+H)<sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 399.0939, 实测值: 399.0944。IC<sub>50</sub> 为 0.014μM。

[0549] 实施例 44

[0550] 3-((3-氨基-2-氯代苯基) 硫代)-6-(4-(氨基甲基)-4-氟哌啶-1-基) 吡嗪-2-胺

[0551]



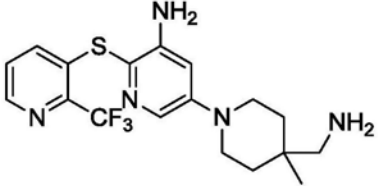
[0552] 步骤a: 于 150℃, 将 3-((3-氨基-2-氯代苯基) 硫代)-6-氯代吡嗪-2-胺 (200 mg, 0.696mmol) 和 ((4-氟哌啶-4-基) 甲基) 氨基甲酸叔-丁基酯 (243mg, 1.045 mmol) 和 DIPEA (0.6mL, 3.48mmol) 的 NMP (2mL) 混合液搅拌 16h, 冷却至 RT, 将反应混合物倾至含有盐水的分液漏斗中, 用 EtOAc (3×5mL) 萃取, 合并的有机相经 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并减压除去挥发物, 残留物经硅胶色谱纯化 (0–10% MeOH/DCM 梯度洗脱), 得到 ((1-(6-氨基-5-((3-氨基-2-氯代苯基) 硫代) 吡嗪-2-基)-4-氟哌啶-4-基) 甲基) 氨基甲酸叔-丁基酯 (285 mg, 0.590mmol)。MS m/z 483.1 (M+H)<sup>+</sup>。

[0553] 步骤b: 于 RT 将 ((1-(6-氨基-5-((3-氨基-2-氯代苯基) 硫代) 吡嗪-2-基)-4-氟哌啶-4-基) 甲基) 氨基甲酸叔-丁基酯 (60mg, 0.124mmol) 和 HCl (4M 的二氧六环溶液, 311μL, 1.242mmol) 的 MeOH (100μL) 溶液搅拌 16h, 减压除去挥发物, 经 HPLC 纯化残留物 (25–50% 的乙腈水溶液梯度洗脱, 0.1% TFA 调节剂), 减压除去挥发物, 残留物用 HCl 处理, 减压除去挥发物, 得到 3-((3-氨基-2-氯代苯基) 硫代)-6-(4-(氨基甲基)-4-氟哌啶-1-基) 吡嗪-2-胺 (38mg, 0.086mmol)。HCl 盐。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 7.71 (s, 1H), 7.12 (t, J=7.9Hz, 1H), 6.94–7.03 (m, 1H), 6.49 (dd, J=7.9, 1.1 Hz, 1H), 4.42 (d, J=14.1Hz, 2H), 3.32–3.42 (m, 4H), 1.99–2.12 (m, 2H), 1.74–1.96 (m, 2)。C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>ClFN<sub>6</sub>S (M+H)<sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 383.1221, 实测值: 383.1209。IC<sub>50</sub> 为 0.271μM。

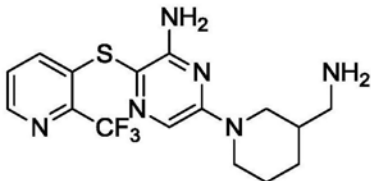
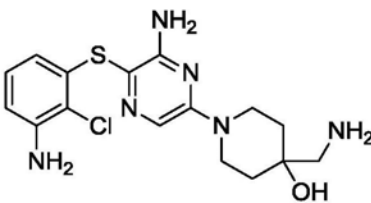
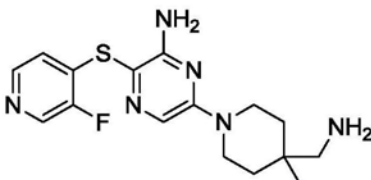
[0554] 采用上述方法或对其进行改进,使用相应的Boc胺和氯代-吡嗪(氯代-吡啶)中间体合成下列化合物。

[0555] 表10

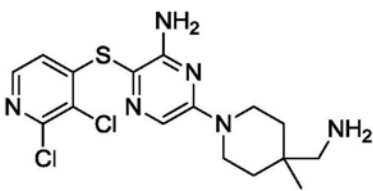
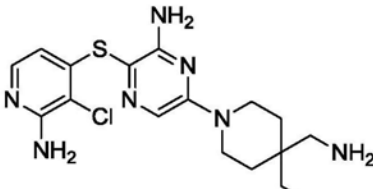
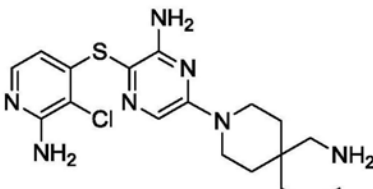
[0556]

实施例	化合物	鉴定数据	IC <sub>50</sub> (μM)
45		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 8.45 (dd, J=4.5, 1.4 Hz, 1 H), 7.73 (d, J=2.6 Hz, 1 H), 7.53 (dd, J=8.2, 4.5 Hz, 1 H), 7.19 (dd, J=8.3, 1.4 Hz, 1 H), 6.65 (d, J=2.7 Hz, 1 H), 5.38 (s, 2 H), 3.13-3.03 (m, 2 H), 2.43 (s, 2 H), 1.56-1.45 (m, 2 H), 1.38-1.30 (m, 2 H), 0.91 (s, 3). C <sub>18</sub> H <sub>23</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 398.1626, 实测值: 398.1620。	0.351

[0557]

46		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 8.40 (dd, J=4.2, 1.7 Hz, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.51-7.34 (m, 2 H), 4.34-4.21 (m, 1 H), 4.17 (dt, J=13.5, 4.3 Hz, 1 H), 3.18 (ddd, J=13.5, 10.3, 3.3 Hz, 1 H), 3.04 (dd, J=13.4, 9.1 Hz, 1 H), 3.00-2.79 (m, 2 H), 1.97 (tt, J=10.4, 4.0 Hz, 2 H), 1.82 (dt, J=13.2, 4.3 Hz, 1 H), 1.70-1.53 (m, 1 H), 1.44 (dtd, J=13.4, 9.7, 4.0 Hz, 1). C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub> F <sub>3</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 385.1422, 实测值: 385.1344.	0.459
47		HCl 盐. <sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 7.95 (s, 3 H), 7.65 (s, 1 H), 6.88 (t, J=7.9 Hz, 1 H), 6.62 (dd, J=7.9, 1.5 Hz, 1 H), 6.07 (s, 5 H), 5.88 (dd, J=7.9, 1.5 Hz, 1 H), 4.02 (dt, J=13.3, 4.2 Hz, 2 H), 3.31 (ddd, J=13.6, 10.4, 3.5 Hz, 2 H), 2.81 (d, J=5.8 Hz, 2 H), 1.58 (tdd, J=17.9, 9.0, 4.0 Hz, 4). C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>6</sub> OS (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 381.1253, 实测值: 381.1253.	0.382
48		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 8.30 (d, J=2.3 Hz, 1 H), 8.10 (dd, J=5.3, 0.8 Hz, 1 H), 7.58 (s, 1 H), 6.76 (dd, J=6.8, 5.3 Hz, 1 H), 3.96 (dt, J=13.7, 4.8 Hz, 2 H), 3.42 (ddd, J=13.6, 9.8, 3.5 Hz, 2 H), 2.55 (s, 2 H), 1.38-1.63 (m, 4 H), 1.06 (s, 3). C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> FN <sub>6</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 349.1611, 实测值: 349.1617.	0.177

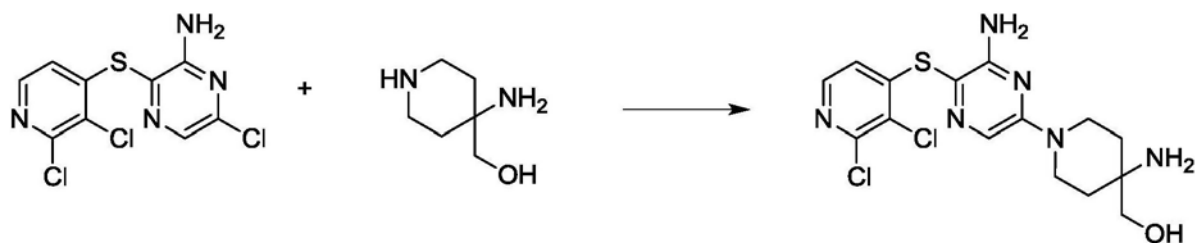
[0558]

49		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.98-8.05 (m, 1 H), 7.59-7.64 (m, 1 H), 6.58-6.67 (m, 1 H), 4.00 (dt, J=13.7, 4.8 Hz, 2 H), 3.45 (ddd, J=13.6, 9.8, 3.8 Hz, 2 H), 2.60 (s, 2 H), 1.40-1.65 (m, 4 H), 1.09 (s, 3). C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>6</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 399.0925, 实测值: 399.0939.	0.100
50		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.59 (d, J=5.5 Hz, 1 H), 7.54 (s, 1 H), 5.91 (d, J=5.6 Hz, 1 H), 3.78-3.69 (m, 2 H), 3.62-3.52 (m, 2 H), 2.64 (s, 2 H), 1.57-1.48 (m, 6 H), 0.88 (t, J=7.5 Hz, 3). C <sub>17</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>7</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 394.1581, 实测值: 394.1573.	0.059
51		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.59 (d, J=5.5 Hz, 1 H), 7.54 (s, 1 H), 5.91 (d, J=5.5 Hz, 1 H), 3.78-3.69 (m, 2 H), 3.61-3.53 (m, 2 H), 2.64 (s, 2 H), 1.56-1.49 (m, 4 H), 1.47-1.40 (m, 2 H), 1.35-1.26 (m, 2 H), 0.97 (t, J=7.0 Hz, 3). C <sub>18</sub> H <sub>27</sub> ClN <sub>7</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 408.1737, 实测值: 408.1730.	0.017

[0559] 实施例52

[0560] (4-氨基-1-(6-氨基-5-((2,3-二氯代吡啶-4-基)硫代)吡嗪-2-基)哌啶-4-基)甲醇

[0561]

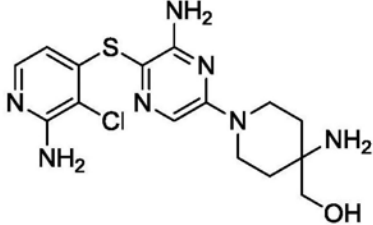


[0562] 于120℃,将6-氯代-3-((2,3-二氯代吡啶-4-基)硫代)吡嗪-2-胺(54.5mg, 0.177mmol)和(4-氨基哌啶-4-基)甲醇(48mg,0.236mmol)的NMP(1mL)和DIPEA(1.00mL)溶液搅拌16h,冷却至RT,将反应混合物用EtOAc 稀释,用水和盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。残留物经硅胶色谱纯化(0-39%的MeOCH/DCM梯度洗脱),得到(4-氨基-1-(6-氨基-5-((2,3-二氯代吡啶-4-基)硫代)吡嗪-2-基)哌啶-4-基)甲醇(34mg,0.084)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 8.10(d,J=5.2Hz,1H),7.65(s,1H),6.57(d,J=5.3Hz,1H),6.26(s,2H),4.70(s,1H),4.03-3.90(m,2H),3.48-3.35(m,2H),3.19(d,J=4.5Hz,2H),1.59-1.46(m,2H),1.39-1.27(m,2)。C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>OS(M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值:401.0713,实测值:401.0725。IC<sub>50</sub>为0.062μM。

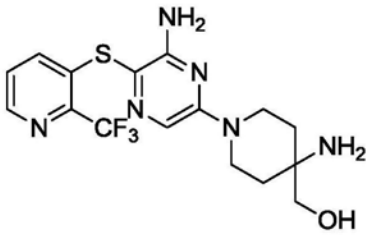
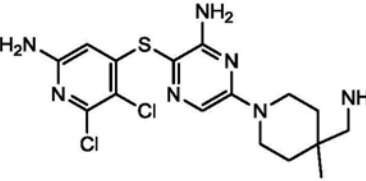
[0563] 采用上述方法或对其进行改进,使用相应的胺和氯代-吡嗪中间体合成 下列化合物。

[0564] 表11

[0565]

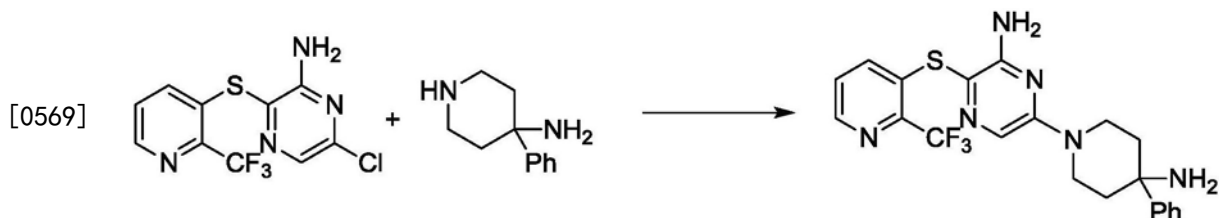
实施例	化合物	鉴定数据	IC <sub>50</sub> (μM)
53		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 7.67-7.59 (m, 2 H), 6.24 (s, 2 H), 6.08 (s, 2 H), 5.74 (d, J=5.4 Hz, 1 H), 4.61 (s, 1 H), 4.04-3.92 (m, 2 H), 3.18-3.11 (m, 2 H), 1.56-1.43 (m, 2 H), 1.40-1.21 (m, 4 H)。为了说明掩盖的质子, 加入了 D <sub>2</sub> O, 再测定 <sup>1</sup> H NMR: <sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> /D <sub>2</sub> O (10μL)) δ ppm 7.69-7.56 (m, 2 H), 6.21 (s, 1 H), 6.06 (s, 1 H), 5.76 (d, J=5.4 Hz, 1 H), 4.03-3.90 (m, 2 H), 3.41-3.29 (m, 2 H), 3.16 (s, 2 H), 1.58-1.43 (m, 2 H), 1.37-1.25 (m, 2 H)。C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>7</sub> OS (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 382.1211, 实测值: 382.1265。	0.315

[0566]

54		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ ppm 8.46 (dd, J=4.5, 1.4 Hz, 1 H), 7.63 (s, 1 H), 7.55 (dd, J=8.2, 4.5 Hz, 1 H), 7.39-7.23 (m, 1 H), 6.14 (s, 2 H), 4.64 (t, J=5.3 Hz, 1 H), 4.07-3.89 (m, 2 H), 3.41-3.33 (m, 2 H), 3.19-3.14 (m, 2 H), 1.91-1.37 (m, 4 H), 1.38-1.23 (m, 2 H). C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> F <sub>3</sub> N <sub>6</sub> OS (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 401.1366, 实测值: 401.1369.	0.170
55		<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 甲醇-d <sub>4</sub> ) δ ppm 7.56 (s, 1 H), 5.77 (s, 1 H), 4.00-3.89 (m, 2 H), 3.41 (ddd, J=13.4, 9.7, 3.6 Hz, 2 H), 2.57 (s, 2 H), 1.62-1.36 (m, 4 H), 1.06 (s, 3). C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>7</sub> S (M+H) <sup>+</sup> 的 HRMS 计算值: 414.1034, 实测值: 414.1012.	0.0177

[0567] 实施例56

[0568] 6-(4-氨基-4-苯基哌啶-1-基)-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺



[0570] 将6-氯代-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(75mg, 0.25mmol)和4-苯基哌啶-4-胺(39mg, 0.221mmol)的NMP(1mL)和DIPEA(200μL)混合液在140℃搅拌16h并在100℃搅拌16h。冷却至RT,减压除去挥发物,经HPLC纯化残留物(15-40%的乙腈水溶液梯度洗脱,0.1%TFA调节剂),得到6-(4-氨基-4-苯基哌啶-1-基)-3-((2-(三氟甲基)吡啶-3-基)硫代)吡嗪-2-胺(28mg, 0.060mmol)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ ppm 8.40 (dd, J=4.3, 1.7Hz, 1H), 7.73-7.67 (m, 2H), 7.65 (bm, 1H), 7.60-7.54 (m, 2 H), 7.52-7.46 (m, 1H), 7.45-7.36 (m, 2H), 4.28-4.21 (m, 2H), 3.31-3.19 (m, 2H), 2.78-2.72 (m, 2H), 2.17 (ddd, J=14.1, 10.4, 3.9Hz, 2)。C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub>S (M+H)<sup>+</sup>的HRMS计算值: 447.1579, 实测值: 447.1585。IC<sub>50</sub>为0.542μM。

[0571] 实验

[0572] 评价本发明化合物选择性抑制SHP2活性的能力。本文中描述的本发明化合物的抑制性能可以通过在任意一个下列实验中的测试证明。

[0573] SHP2变构抑制实验

[0574] SHP2通过二-酪氨酰-磷酸化肽与其Src同源2 (SH2) 结构域的结合而 变构激活。后者的激活步骤导致SHP2的自抑制界面释放,随后使得SHP2 蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTP) 活化,可用于底物识别和反应催化。SHP2的催化 活性可以通过提示荧光实验 (prompt fluorescence assay) 方式采用替代底物 DiFMUP监测。

[0575] 更具体地讲,该磷酸酶反应于室温下在384孔黑色聚苯乙烯板、平底、低侧边、无结合表面 (Corning, Cat#3575) 上进行,最终的反应体积为25 $\mu$ L, 采用下列实验缓冲液条件:60mM HEPES, pH 7.2, 75mM NaCl, 75mM KCl, 1mM EDTA, 0.05% P-20, 5mM DTT。

[0576] 本发明化合物 (浓度范围0.003-100 $\mu$ M) 对SHP2的抑制采用其中 0.5nM的SHP2与 0.5 $\mu$ M的肽 IRS1\_pY1172 (dPEG8) pY1222 (序列: H2N-LN (pY) IDLDLV (dPEG8) LST (pY) ASINFQK-酰胺) 一起温育的实验 进行监测。于25 $^{\circ}$ C温育30-60分钟后,将替代底物DiFMUP (Invitrogen, cat#D6567) 加至反应物中,于25 $^{\circ}$ C温育30分钟。然后反应通过加入5 $\mu$ L 的160 $\mu$ M的bpV溶液 (Phen) (Enzo Life Sciences cat#ALX-270-204) 骤冷。荧光信号采用微量板读数仪 (Envision, Perki-Elmer) 监测,激发和发射波长 分别为340nm和450nm。抑制剂剂量响应曲线采用对照归一化拟合的归 一化的IC<sub>50</sub>回归曲线分析。本发明化合物的IC<sub>50</sub>结果如上面实施例和表 2-11中所示。

[0577] p-ERK细胞试验

[0578] 采用**AlphaScreen®** SureFire™ Phospho-ERK 1/2试剂盒 (PerkinElmer) 的 p-ERK细胞试验:将KYSE-520细胞 (30,000个细胞/孔) 在96-孔板中培养过夜,采用浓度为 20、6.6、2.2、0.74、0.24、0.08、0.027  $\mu$ M的Shp2抑制剂于37 $^{\circ}$ C处理2hrs。通过加入30 $\mu$ L的裂解缓冲液 (PerkinElmer) 终止培养,所述缓冲液与SureFire磷-细胞外信号-调节的激酶 (pERK) 试验试剂盒一起提供 (PerkinElmer)。根据生产商说明书处理样品。采用2101多标记读数仪 (Perkin Elmer Envision) 测定源自pERK的荧光信号,一式二份。抑制百分率通过总ERK信号归一化,与DMSO载体 对照进行比较。

[0579] 集落形成试验和细胞增殖试验

[0580] 将300 $\mu$ L介质 (RPMI-1640, 含有10%的FBS, Lonza) 中的KYSE-520 细胞 (1500个细胞/孔) 涂布于24孔板上。为了进行药物处理,在细胞涂布 后24小时和5天加入各种浓度的本发明化合物 (20、10、5、2.5、1.25 $\mu$ M)。在第11天,将集落采用0.2%的结晶紫 (MP Biomedicals) 染色,随后将其 溶于20%的乙酸中,采用Spectramax读数仪 (Thermo Scientific) 定量测定。在细胞增殖试验中,将100 $\mu$ L介质 (RPMI-1640, 含有10%的FBS, Lonza) 中的细胞 (1500个细胞/孔) 涂布于96孔板上。在第6天,加入50 $\mu$ L Celltiter-Glo试剂 (Promega), 根据供应商说明 (Promega), 测定荧光信号。

[0581] 应当理解,本文中描述的实施例和实施方案仅是为了说明的目的,建议本领域技术人员对其进行各种修改或变化,并且这些修改或变化应当包括在本申请的精神和范围内以及权利要求的范围中。