



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105592850 B

(45)授权公告日 2019.11.15

(21)申请号 201480054401.3

(74)专利代理机构 北京市君合律师事务所

(22)申请日 2014.08.06

11517

(65)同一申请的已公布的文献号

代理人 顾云峰 吴龙瑛

申请公布号 CN 105592850 A

(51)Int.Cl.

(43)申请公布日 2016.05.18

A61K 31/551(2006.01)

(30)优先权数据

61/862,763 2013.08.06 US

(56)对比文件

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.03.31

CN 101031551 A, 2007.09.05, 说明书第5页第3至最后一段、式I, 第55页倒数第3-4行, 第57页第2行最后一个化合物、第3行第1-3个化合物, 第52页第1行第1个化合物, 说明书第74页最后一段至第76页第1段, 第108页倒数第二段.

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/049935 2014.08.06

CN 101611035 A, 2009.12.23, 说明书第5-6页, 第49页表1-4中化合物27, 说明书第12页第4段.

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/021149 EN 2015.02.12

CN 103038230 A, 2013.04.10, 说明书第10页, 第82页化合物99, 第81页化合物92, 第49页第0899段.

(73)专利权人 H·李·莫菲特癌症中心研究所
公司

审查员 曹寅秋

地址 美国佛罗里达州

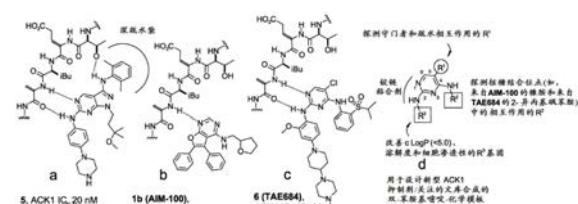
权利要求书4页 说明书108页 附图10页

(54)发明名称

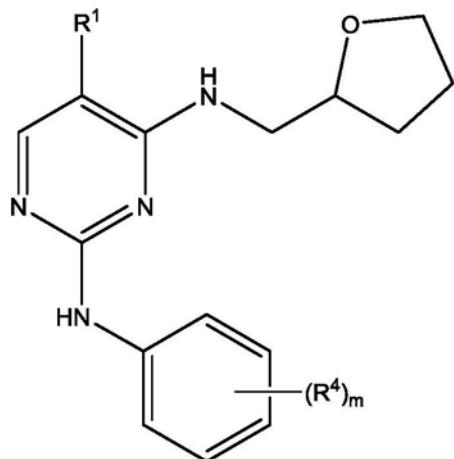
ACK1/TNK2酪氨酸激酶的抑制剂

(57)摘要

描述了癌症疗法和抗癌化合物。具体地, 公开了Ack1酪氨酸激酶的抑制剂及其在治疗癌症中的用途。还公开了筛选新型Ack1酪氨酸激酶抑制剂的方法。在特定的实例中, 公开了具有式I至IV的化合物。



1. 一种具有式IA的化合物或其药学上可接受的盐：



IA

其中

R¹是Cl、Br、F、CH₃或C₂H₅；

m是1或2；且

至少一个R⁴为未取代的或被R⁶取代的环烷基或杂环烷基，并且，如果存在的话，另一个R⁴为OH、Cl、Br、F、C₁—C₆烷基、CN、NO₂或OR⁵，其中

R⁵是C₁—C₆烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基或杂芳基；且

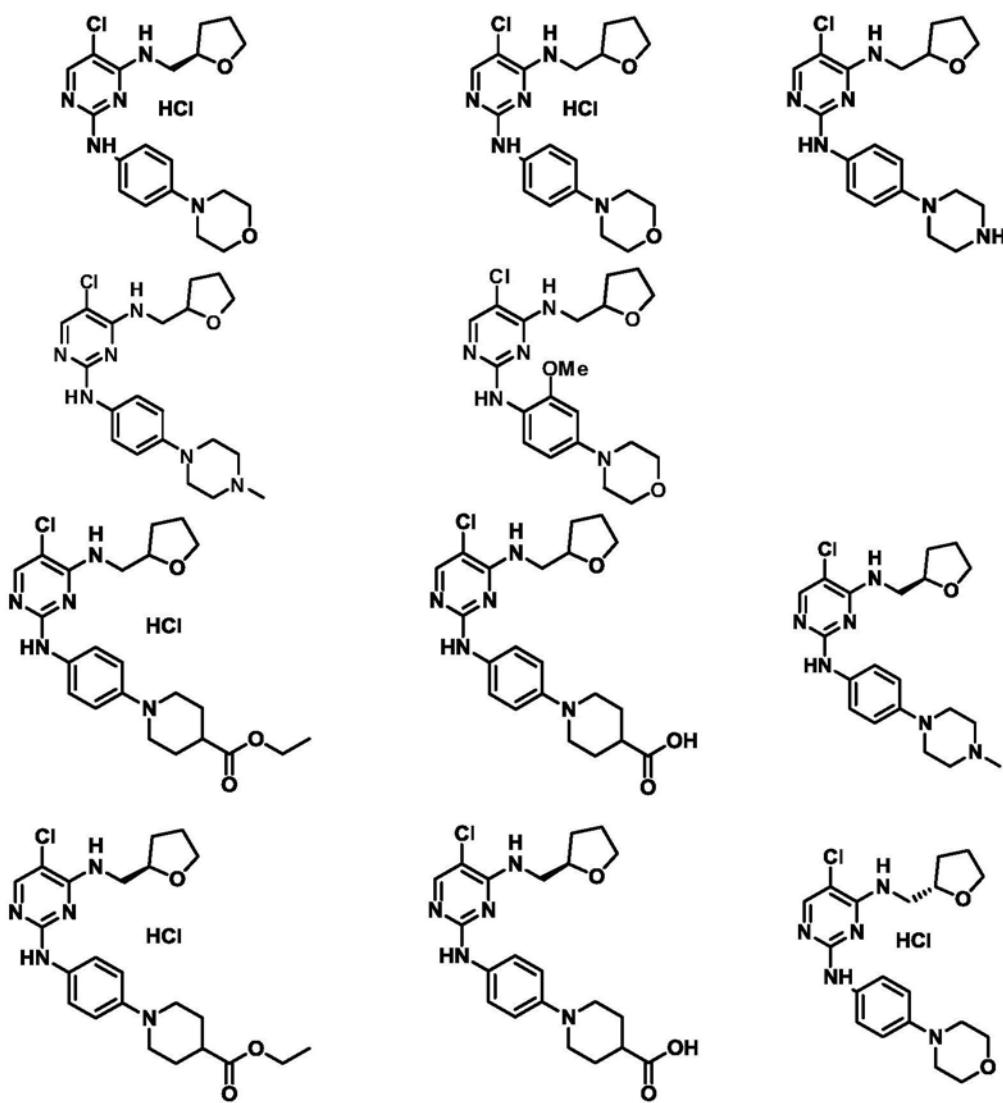
R⁶是OH、Cl、Br、F、C₁—C₆烷基、CO₂H、CO₂R⁵、OC(O)R⁵、(CH₂)₁₋₆CO₂H、C(O)(CH₂)₁₋₆CO₂H、(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、C(O)(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、OR⁵、C(O)R⁵、C(O)NH₂、C(O)NHR⁵、SO₂NH₂、SO₂NHR⁵、C(O)NHSO₂R⁵、4-吗啉基、4-哌嗪基、1-哌啶基、4-哌啶基或PEG-甾醇。

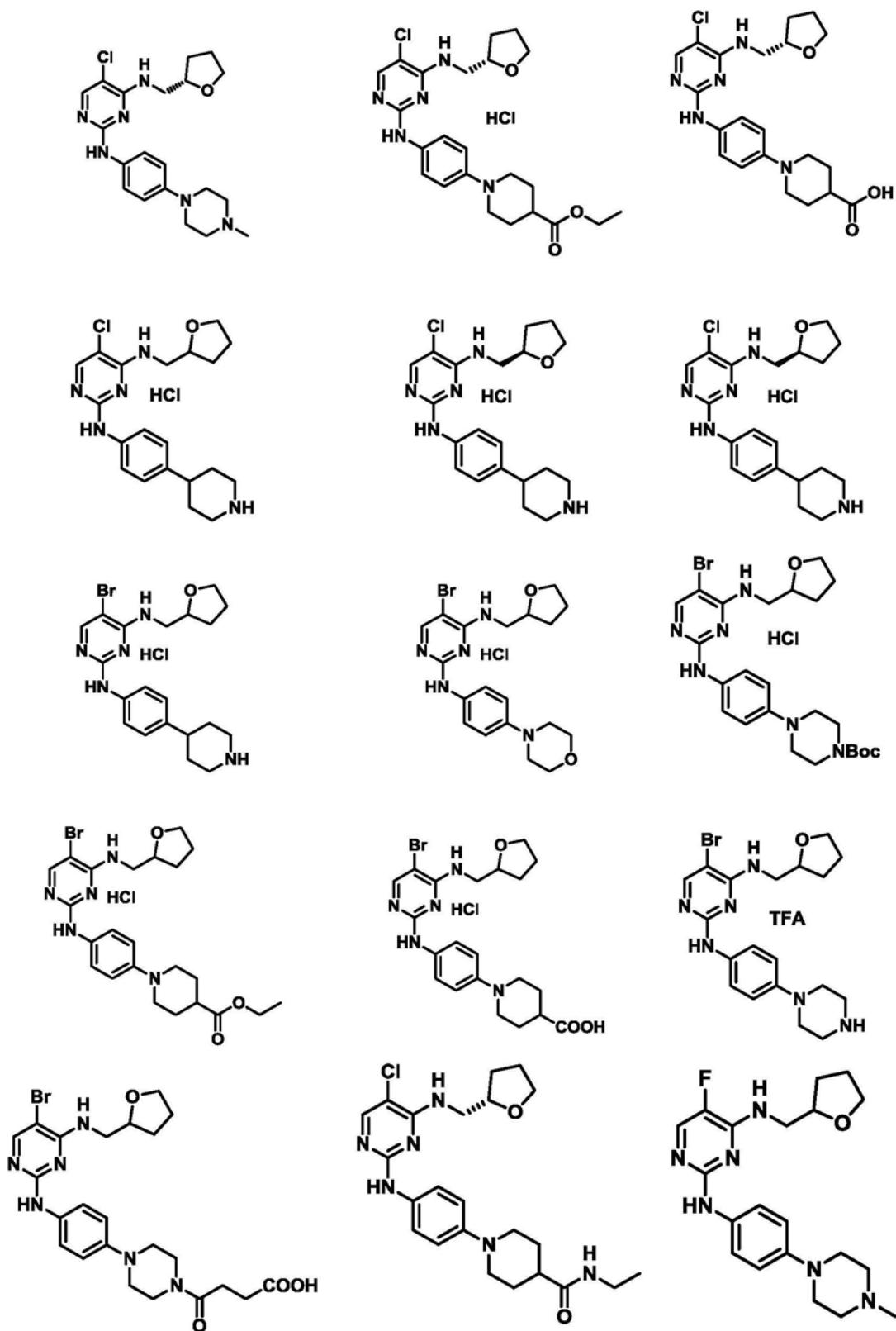
2. 根据权利要求1所述的化合物，其中R¹是Cl或Br。

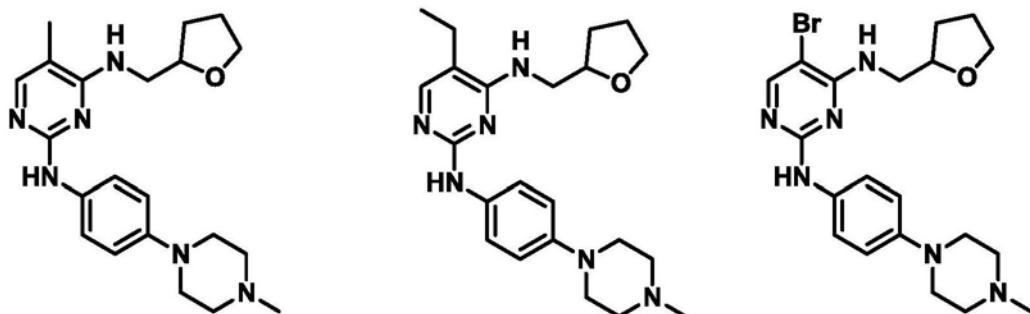
3. 根据权利要求1所述的化合物，其中m是1且R⁴是未取代的或被R⁶取代的4-吗啉基、4-哌嗪基、1-哌啶基或4-哌啶基。

4. 根据权利要求1所述的化合物，其中m是1且R⁴处于对位或者m是2且每个R⁴处于对位和间位。

5. 一种选自下组的化合物：







。

6. 根据前述权利要求中任一项所述的化合物在制备用于治疗或预防癌症的药物中用途,其中所述癌症与被异常地激活、扩增或突变的ACK1酪氨酸激酶相关。

7. 根据权利要求6所述的用途,其中所述癌症是前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌、卵巢癌或肺癌。

ACK1/TNK2酪氨酸激酶的抑制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2013年8月6日提交的美国临时申请No.61/862,763的优先权,其在此通过引用整体并入本文。

[0003] 对政府支持的致谢

[0004] 本发明是在由美国国家卫生研究院颁发的第CA135328号拨款下借助政府资助进行的。政府享有本发明的某些权力。

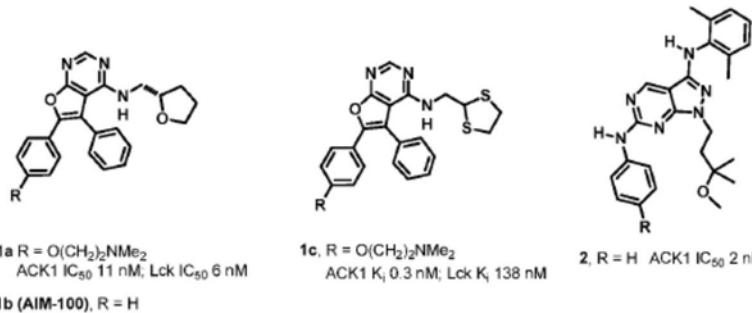
[0005] 领域

[0006] 本文公开的主题一般涉及癌症疗法和抗癌化合物。更具体地,本文公开的主题涉及Ack1酪氨酸激酶的抑制剂及其在癌症治疗中的用途。还公开了筛选Ack1激酶的选择性抑制剂的方法。

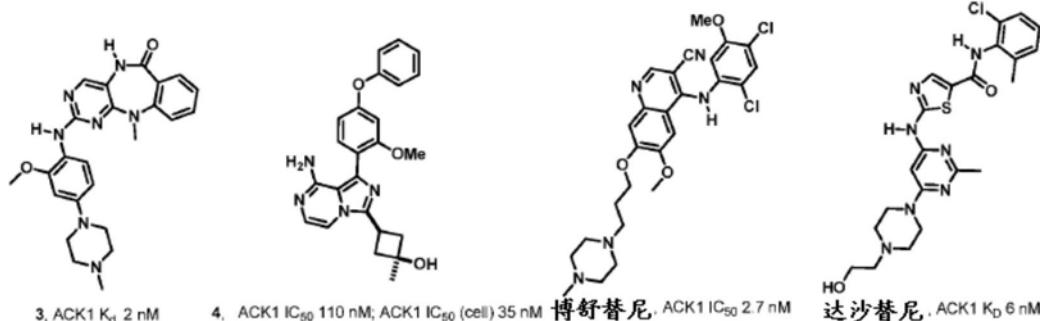
[0007] 背景

[0008] Ack1,也被称为TNK2,是一种在多种细胞类型中表达的非受体酪氨酸激酶。其将来自若干重要配体-激活的受体酪氨酸激酶(RTK)例如EGFR、MerTK、HER2、PDGFR和胰岛素受体的信号合并以启动胞内信号传导级联。ACK1酪氨酸激酶在许多类型的人癌症中被异常地激活、扩增或突变,所述人癌症包括前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌、卵巢癌和肺癌(Mahajan K,等ACK1tyrosine kinase:targeted inhibition to block cancer cell proliferation.Cancer Lett.2013;338:185-92)。异常地激活ACK1经由许多分子机制驱动细胞生长(Mahajan K,等Shepherding AKT and androgen receptor by Ack1tyrosine kinase.J.Cell.Physiol.2010;224:327-33)。几个最近的发现强调其肿瘤促进功能。例如ACK1以雄激素依赖性方式在其反式激活结构域中的Tyr267处磷酸化雄激素受体以促进去势难治性前列腺癌(CRPC)生长(Mahajan K,等Activated Cdc42-associated kinase Ack1promotes prostate cancer progression via androgen receptor tyrosine phosphorylation.Proc.Natl.Acad.Sci.USA 2007;104:8438-43;Mahajan K,等Ack1-mediated androgen receptor phosphorylation modulates radiation resistance in castration-resistant prostate cancer.J.Biol.Chem.2012;287(26):22112-22)。ACK1已显示可通过在Tyr287处磷酸化含WW结构域的氧化还原酶(Wwox)肿瘤抑制子促进前列腺肿瘤发生(Aqeilan RI,等WWOX in biological control and tumorigenesis.J.Cell.Physiol.2007;212:307-10),从而导致其聚泛素化和随后降解(Mahajan K,等Activated tyrosine kinase Ack1promotes prostate tumorigenesis:role of Ack1 in polyubiquitination of tumor suppressor Wwox.Cancer Res.2005;65:10514-23)。还显示ACK1磷酸化并激活了关键信号传导激酶AKT,其在人类生理学和疾病中起到重要作用(Franke TF,等The protein kinase encoded by the Akt proto-oncogene is a target of the PDGF-activated phosphatidylinositol 3-kinase.Cell 1995;81:727-36;Burgering BM,等Protein kinase B(c-Akt) in phosphatidylinositol-3-OH kinase signal transduction.Nature 1995;376:599-602;Manning BD,等AKT/PKB signaling:navigating downstream.Cell 2007;129:1261-74)。当AKT在Tyr176处被ACK1

磷酸化时,其通过抑制促凋亡通路而功能上参与乳腺癌的进展 (Mahajan K, 等 Ack1mediated AKT/PKB tyrosine 176 phosphorylation regulates its activation. PloS one 2010;5:e9646)。相反地,siRNA对ACK1表达的敲低抑制了MCF7乳腺癌细胞系中AKT激活并增加了促凋亡基因诸如Bim和Fas的表达(同上)。ACK1转基因小鼠出现了前列腺上皮内瘤(PIN),表明其激活在肿瘤发生中是重要的(同上)。因此,临床前模型中的显著证据证实ACK1可作为抗癌药物的靶标,并且驱动了许多ACK1抑制剂的开发。ACK1抑制剂的所选实例如下:



[0009]



[0010] 发现一系列的4-氨基-5,6-联芳基-呋喃并[2,3-d]嘧啶(结构1a-1c)可抑制ACK1和相关数目的src激酶家族Lck(淋巴细胞特异性激酶)(DiMauro EF, 等Discovery of 4-amino-5,6-biaryl-furo[2,3-d]pyrimidines as inhibitors of Lck:development of an expedient and divergent synthetic route and preliminary SAR. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2007;17,2305-9; Martin MW, 等Discovery of novel 2,3-diaryl-furo[2,3-d]pyridin-4-amines as potent and selective inhibitors of Lck: synthesis, SAR, and pharmacokinetic properties. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2007;17: 2299-304)。例如,化合物1a有效抑制ACK1和Lck,并可由于Lck抑制的原因而用于开发治疗T细胞-介导的自身免疫性疾病和炎性疾病。另外化合物1b(AIM-100)用作ACK1抑制的化学探针,因为其被报道为可比1a(Lck:ACK1 1.8:1)更低程度地抑制Lck(ACK1:Lck 5:1)。AIM-100抑制在胰腺癌细胞中的ACK1依赖性AKT Tyr176(Mahajan K, 等Ack1tyrosine kinase activation correlates with pancreatic cancer progression. Am. J. Pathol. 2012;180:1386-93)和AR Tyr267(Mahajan K, 等Effect of Ack1tyrosine kinase inhibitor on ligand-independent androgen receptor activity. Prostate 2010;70:1274-85)磷酸化。AIM-100还经由抑制AR Tyr267磷酸化而抑制去势和放射耐受性前列腺异种移植肿瘤生长(Mahajan K, 等Ack1-mediated androgen receptor phosphorylation modulates radiation resistance in castration-

resistant prostate cancer. *J.Biol.Chem.* 2012; 287: 22112-22)。对4-氨基-5,6-联芳基-呋喃并[2,3-d]嘧啶系列的另外成员的研究显示二硫戊环1c是特别有效的ACK1抑制剂 (K_i 0.3nM)。该化合物抑制了细胞系的生长,这依赖于ACK1,其中 IC_{50} 为5nM。然而,其较差的药代动力学特征(有助于二硫戊环环和NMe₂两者的氧化)排除了在动物模型中使用。一系列的2型吡唑并嘧啶还由Amgen开发作为ACK1抑制剂 (Kopecky DJ, 等 *Identification and optimization of N3,N6-diaryl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-3,6-diamines as a novel class of ACK1inhibitors*. *Bioorg.Med.Chem.Lett.* 2008; 18: 6352-6)。例如,化合物2在体外 (IC_{50} 2nM) 和在完整细胞中有效抑制ACK1,如通过抑制ACK1自磷酸化 (IC_{50} 20nM) 测量。Gray及其同事已经通过高通量激酶谱分析嘧啶-二氮杂草的集中文库鉴定了ACK1抑制剂3 (Miduturu CV, 等 *High-throughput kinase profiling:a more efficient approach toward the discovery of new kinase inhibitors*. *Chem.Biol.* 2011; 18: 868-79)。该化合物以2 μ M的浓度废除了HEK293细胞中EGF诱导的ACK1自磷酸化 (Tyr284)。其还在10 μ M下抑制A549肺癌细胞生长。Jin和同事在OSI/Astellas已开发了一系列基于咪唑并哌嗪的ACK1抑制剂 (Jin M, 等 *Discovery of potent, selective and orally bioavailable imidazo[1,5-a]pyrazine derived ACK1inhibitors*. *Bioorg.Med.Chem.Lett.* 2013; 23: 979-84)。例如,化合物4是小鼠模型中经口生物可用的有效ACK1抑制剂,并具有良好的实验ADMET性质。其抑制了AlphaScreen测定中ACK1介导的聚-(GT) 磷酸化,其中 IC_{50} 为110nM。其在细胞环境下有效抑制了ACK1。在NCI-H1703人非小细胞肺癌细胞中,其针对ACK1抑制的 IC_{50} 通过ELISA测定测量为35nM。在该测定中,将来自细胞裂解物的ACK1通过ACK1抗体捕获在ELISA板上。使用识别磷酸酪氨酸残基的酶联抗体,确定ACK1磷酸化的程度。若干混杂激酶抑制剂已显示可抑制ACK1。例如,Src/Abl激酶抑制剂博舒替尼 (Golas JM, 等 *SKI-606, a 4-anilino-3-quinolinecarbonitrile dual inhibitor of Src and Abl kinases, is a potent antiproliferative agent against chronic myelogenous leukemia cells in culture and causes regression of K562xenografts in nude mice*. *Cancer Res.* 2003; 63: 375-81) 以2.7nM的 IC_{50} 抑制ACK1 (Remsing R, 等 *Global target profile of the kinase inhibitor bosutinib in primary chronic myeloid leukemia cells*. *Leukemia* 2009; 23: 477-85)。发现博舒替尼可在非小细胞肺癌(NSCLC) 细胞系的小组中抑制细胞迁移和侵袭但不抑制存活 (Tan DS, 等 *Bosutinib inhibits migration and invasion via ACK1in KRAS mutant non-small cell lung cancer*. *Mol.Cancer* 2014; 13: 13)。当ACK1在K-Ras突变细胞系中特别敲低时,没有看到这些作用。达沙替尼,另一种BCR/Abl和Src家族酪氨酸激酶抑制剂,以6nM的 K_D 抑制ACK1 (Carter TA, 等 *Inhibition of drug-resistant mutants of ABL, KIT, and EGF receptor kinases*. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 2005; 102: 11011-6)。显示达沙替尼可以 IC_{50} < 5nM 抑制调节蛋白-刺激的人前列腺癌LNCaP细胞中的Tyr-267的ACK1自磷酸化和AR磷酸化 (Liu Y, 等 *Dasatinib inhibits site-specific tyrosine phosphorylation of androgen receptor by Ack1and Src kinases*. *Oncogene* 2010; 29: 3208-16)。另外地,达沙替尼在小鼠异种移植物模型中显著减少了表达组成型激活的ACK1的LNCaP细胞的生长(同上)。化学和磷酸化蛋白质组学方法揭示了ACK1是人肺癌细胞中达沙替尼的靶点 (Li J, 等 *Chemical and phosphoproteomic characterization of dasatinib action in lung*

cancer.Nat.Chem.Biol.2010;6:291-9)。

[0011] 通过分析已知ACK1抑制剂开发ACK1抑制剂,所述已知的抑制剂包括1b (AIM-100)、吡唑并嘧啶衍生物5 (Kopecky DJ, 等Identification and optimization of N3,N6-diaryl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-3,6-diamines as a novel class of ACK1inhibitor.Bioorg.Med.Chem.Lett.2008;18:6352-6) 和ALK抑制剂6 (TAE684) (Galkin AV, 等Identification of NVP-TAE684,a potent,selective, and efficacious inhibitor of NPM-ALK.Proc.Natl.Acad.Sci.USA 2007;104:270-5) (根据公开的抑制剂谱分析数据集其强烈地交叉抑制ACK1; K_d 2nM (Davis MI, 等Comprehensive analysis of kinase inhibitor selectivity.Nat.Biotechnol.2011;29:1046-51) 和 K_i 1nM (Metz JT, 等Navigating the kinome.Nat.Chem.Biol.2011;7:200-2))。三种抑制剂的结合模型示于图1中,如从5的X-射线结构用ACK1获得 (pdb 3EQ R) ; 1b (AIM-100) 从类似物的X-射线结构用ACK1模型化 (Jiao X, 等Synthesis and optimization of substituted furo[2,3-d]-pyrimidin-4-amines and 7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amines as ACK1inhibitors.Bioorg.Med.Chem.Lett.2012;22:6212-7) (pdb 4EWH) ; 6从其X-射线结构用ALK模型化 (Bossi RT, 等Crystal structures of anaplastic lymphoma kinase in complex with ATP competitive inhibitors.Biochem.2010;49:6813-25) (pdb 2XB7) 。这些经由嘧啶基、疏水袋中超过看门者的定位基团和核糖结合区中的定位基团结合ACK1铰链残基Ala-208 (Galkin AV, 等Identification of NVP-TAE684,a potent,selective, and efficacious inhibitor of NPM-ALK.Proc.Natl.Acad.Sci.USA 2007;104:270-5) 。双苯胺基嘧啶支架长期被认为是典型的激酶抑制剂基序 (Bebbington D, 等The discovery of the potent aurora inhibitor MK-0457 (VX-680) .Bioorg.Med.Chem.Lett.2009;19:3586-92; Moriarty KJ, 等The synthesis and SAR of 2-amino-pyrrolo[2,3-d]pyrimidines:a new class of Aurora-A kinase inhibitors.Bioorg.Med.Chem.Lett.2006;16:5778-83; Tari LW, 等Structural basis for the inhibition of Aurora A kinase by a novel class of high affinity disubstituted pyrimidine inhibitors.Bioorg.Med.Chem.Lett.2007;17:688-691) 。报道了使用双苯胺基嘧啶支架的Aurora A抑制剂 (Lawrence H R, 等Development of o-chlorophenyl substituted pyrimidines as exceptionally potent aurora kinase inhibitors.J.Med.Chem.2012;55:7392-416; Martin MP, 等A novel mechanism by which small molecule inhibitors induce the DFG flip in Aurora A.ACS Chem.Biol.2012;7:698-706; Yang H, 等Dual Aurora A and JAK2 kinase blockade effectively suppresses malignant transformation.Oncotarget 2014;5:2947-61) 。在新型ACK1抑制剂的开发中,设计工艺包含氨基嘧啶结构作为铰链结合基团 (图1(d)) ,和1b、5和6的片段作为R¹、R²和R³ (图1(d)) 基团以在混合和匹配工艺中产生杂合结构 (图1)。

[0012] 需要的是抑制ACK1的新型化合物和方法,及此类化合物的用途。本文公开的主题满足了这些和其它需要。

[0013] 概述

[0014] 根据公开的材料和方法的目的,如本文所体现和广泛描述,公开的主题在一方面涉及化合物、组合物及制备和使用化合物和组合物的方法。在特定方面,公开的主题涉及癌

症疗法和抗癌化合物。更具体地，本文公开的主题涉及Ack1酪氨酸激酶的抑制剂及其在癌症治疗中的用途。也公开了筛选新型Ack1酪氨酸激酶抑制剂的方法。

[0015] 另外的优势将在下面的说明书中部分列出，并且部分将是说明中显而易见的，或可以通过以下描述的方面的实践而得知。以下所描述的优点将借助在所附权利要求中具体指出的要素和组合来实现和达到。应理解，前面的一般描述和下面的详细描述都只是示例和说明性的，并非限制的。

[0016] 附图简述

[0017] 并入本说明书和构成本说明书一部分的附图说明了以下描述的若干方面。

[0018] 图1显示了已知ACK1抑制剂与ACK1的结合模式。在图1(a)中，化合物5从其晶体结构用ACK1 (pdb 3EQP) 获得。在图1(b)中，基于结合至Lck (pdb 20F2) 的类似化合物，化合物1b用ACK1模型化。在图1(c)中，基于晶体结构ALK (pdb 2XB7)，化合物6用ACK1模型化。图1(d)显示了用于通过分析已知ACK1抑制剂设计新型ACK1抑制剂的双苯胺基嘧啶支架。

[0019] 图2显示了ACK1激酶活性为维持雄激素-非依赖性AR蛋白质水平所需。在图2(a)中，将雄激素饥饿LAPC4细胞用DHT (10nM, 16小时)、AIM-100、DZ1-067、恩杂鲁胺或PLX4032 (7μM, 36小时) 和AR处理。pACK1和肌动蛋白水平通过免疫印迹 (IB) 测定。AR的相对水平显示如下。在图2(b)中，缺乏雄激素的LNCaP和VCaP细胞是未处理的或用2.5、5和10μM AIM-100 处理，并将裂解物免疫印迹。显示了AR表达的定量。在图2(c)中，缺乏雄激素的LNCaP和VCaP细胞是未处理的或用2.5、5和10μM AIM-100处理，并将裂解物免疫印迹。显示了AR表达的定量。在图2(d)中，将LNCaP细胞用对照和ACK1 siRNA转染，然后进行免疫印迹。在图2(e)中，将LNCaP细胞用AIM-100 (7μM, 16小时) 或MG132 (10uM, 6小时) 处理，并用AR抗体进行免疫印迹。

[0020] 图3显示了抑制ACK1激酶活性抑制了AR转录。图3(a)显示了VCaP而图3(b)显示了在雄激素的存在下生长的和用DZ1-067 (7μM于LAPC4中, 2.5&5μM于LnCaP中)、PLX4032 (7μM)、康士得 (Casodex)、恩杂鲁胺 (10μM) 和DHT (10nM, 3小时) 处理过夜的LNCaP细胞。分离总RNA，然后用AR引物进行qPCR。VCaP,*p=0.022; LNCaP,*p=0.042,**p=0.047。图3(c)显示了VCaP而图3(d)显示了在雄激素的存在下生长和用DZ1-067 (7μM于LAPC4中, 2.5&5μM于LnCaP中)、AIM-100 (7μM)、PLX4032 (7μM)、康士得、恩杂鲁胺 (10μM) 和DHT (10nM, 3小时) 处理过夜的LNCaP细胞。分离总RNA，然后用PSA引物进行qPCR。

[0021] 图4显示了细胞增殖测定。图4(a)显示了LNCaP且图4(b)显示了在活性碳解吸的培养基中生长的和用1、2.5、5和10μM抑制剂 (36小时) 处理的VCaP细胞。活细胞的数目由台盼蓝排斥测定计数。

[0022] 图5显示了在酪氨酸88处的ACK1磷酸化组蛋白H4。在图5(a)中，将等摩尔量的经纯化的ACK1和H4蛋白在DZ1-067 (100nM) 的存在下孵育，并且反应物用pY88-H4抗体免疫印迹。图5(b)显示了体内H4Y88-磷酸化。将LNCaP细胞用DZ1-067 (5μM, 16小时)、DHT或恩杂鲁胺 (7μM, 16小时) 处理。将核裂解物用pY88-H4抗体免疫沉淀、然后用H4免疫印迹。下图是输入裂解物。

[0023] 图6显示了H4Y88-磷酸化发生在AR基因内和其下游。在图6(a)中，显示了人AR基因和两个pY88-H4结合位点。图6(b)显示了VCaP而图6(c)显示了用ACK1抑制剂处理的LNCaP细胞；进行ChIP，然后进行使用对应于启动子、内含子2、3' UTR或对照区域的引物的qPCR。VCaP:*p<0.05,**p<0.05; LNCaP:*p<0.05,**p<0.05

[0024] 图7显示了募集AR(图7(a))、MLL(图7(c))、WDR5(图7(d))和沉积H3K4me3(图7(b))外基因标记在AR基因的内含子2内取决于ACK1激酶活性，并可由DZ1-067消除。用DZ1-067处理LNCaP细胞并使用AR、H3K4me3或IgG抗体进行ChIP，然后使用对应于内含子2或对照区域的引物进行qPCR。 $*p<0.05$, $**p<0.05$, $***p<0.05$, $****p<0.05$ 。

[0025] 图8显示了ACK1抑制剂(1 μ M, 过夜)对人前列腺癌细胞的作用。AIM-100、(R)-9b和(S)-9b抑制:LNCaP(图8(b))；LAPC4(图8(c))和VCaP(图8(d))细胞生长。抑制用5 μ M (R)-9b和(S)-9b(图8(a))处理的LAPC4细胞中ACK1自磷酸化。

[0026] 图9(a)显示了SAR综述,图9(b)显示了作为ACK1抑制剂的具有延伸的羧酸系链的化合物(显示了ELISA中在10 μ M下的抑制%)。

[0027] 图10显示了使用HPLC的(R)-9b和(S)-9b的血浆稳定性;对比时间(X-轴)作图的峰(Y-轴)面积。

[0028] 详述

[0029] 本文所述的材料、化合物、组合物和方法可参考公开主题的特定方面的以下详述和其中所包括的实施例更容易地理解。

[0030] 在公开和描述本文材料、化合物、组合物和方法之前,应理解以下所述的各方面并非限制于特定合成方法或特定试剂,因而当然可以有所不同。还应理解,本文中使用的术语仅为了描述特定的方面并且不旨在限制。

[0031] 此外,本说明书通篇中引用各种出版物。这些出版物的公开内容全文据此以引用方式并入本申请,以便更全面地描述本公开主题所属领域的现状。公开的参考文献也可单独地和特定地通过引用所述引用依赖的语句中讨论的其中所含的材料并入本文。

[0032] 一般定义

[0033] 在本说明书和随后的权利要求书中,将参考多个术语,所述术语应被定义为具有以下含义:

[0034] 在本说明书和权利要求书全文中,词汇“包含/包括(comprise)”和该词汇的其它形式诸如“包含/包括(comprising)”和“包含/包括(comprises)”意指包括但不限于且并非意在排除例如其它添加剂、组分、整数或步骤。

[0035] 除非上下文另外清楚地指明,否则如描述和在所附权利要求中使用的,单数形式“一个”、“一种”和“该/所述”包括复数的指示物。因此,例如引用“一种组合物”包括两个或多个此类组合物的混合物,引用“一种抑制剂”包括两个或多个此类抑制剂的混合物,引用“该激酶”包括两个或多个此类激酶的混合物等。

[0036] 术语“任选的”或“任选地”意指随后描述的事件或情况可能发生或可能不发生,且该描述包括所述事件或情况发生的情形和所述事件或情况不发生的情形。

[0037] 尽管阐明本公开广泛范围的数字范围和参数是近似值,但具体实例中阐述的数值应尽可能予以精确报道。然而,任何数值固定地包含某些错误,必然由在其各自的测试测量中发现的标准偏差引起。此外,当在本文阐述数值范围时,设想的是可使用包含引用值的这些值的任何组合。此外,范围在本文中可以表示为从“约”一个特定值,和/或至“约”另一特定值。当表达这样的一个范围时,另一方面包括从一个具体值和/或至另一个具体值。类似地,当值表达为近似值时,通过使用先行词“约”,将理解所述具体值形成另一方面。应进一步理解,每个范围的端点既与另一端点显著相关,又独立于另一端点。除非另外说明,否则

术语“约”意指在由术语“约”修饰的特定值的5% (如在2%或1%内) 内。

[0038] “减少 (reduce)”或该词汇的其它形式诸如“减少 (reducing)”或“减少 (reduction)”意在减少一个事件或特征 (如肿瘤生长、迁移)。应理解这通常与一些标准或预期值相关,换句话说其是相关的但这不总是为待指代的标准或相对值所必需。例如“减少肿瘤生长”意指相对于标准或对照降低肿瘤细胞的量。

[0039] “预防 (prevent)”或该词汇的其它形式诸如“(preventing)”或“(prevention)”意指终止具体事件或特征以稳定或延迟特定事件或特征的发展或进展,或以将特定事件或特征发生的机会最小化。预防不需要与对照比较,因为其通常比例如减少更典型。如本文所用,一些可减少但不可预防,但可减少的一些也可预防。类似地,一些可预防但不可减少,但可预防的一些也可减少。应理解,当使用减少或预防时,除非另外特别说明,否则使用另一词汇也在明确地公开。

[0040] 如本文所用,“治疗”是指获得有益或所需的临床结果。有益或所需的临床结果包括但不限于以下的任一种或多种:减轻一种或多种症状 (诸如肿瘤生长或迁移)、减小癌症程度、稳定 (即不恶化) 癌症状态、预防或延缓癌症扩散 (如迁移)、预防或延缓癌症发生或复发、延缓或减缓癌症进展、缓解癌症状态和减轻 (无论部分还是全部)。

[0041] 术语“患者”优选指需要抗癌剂治疗或用于任何目的而治疗的人,并且更优选需要此类治疗来治疗癌症或癌性疾患或病变的人。然而,术语“患者”还可指代需要抗癌剂治疗或治疗的非人动物,优选哺乳动物诸如狗、猫、马、牛、猪、绵羊和非人灵长类动物等。

[0042] 应理解在本说明书全文中,标识“第一”和“第二”可单独使用以有助于区别公开主题的各种组分和步骤。标识“第一”和“第二”并非意指由这些术语修饰的组分或步骤的任何特定顺序、量、偏好或重要性。

[0043] 化学定义

[0044] 如本文所用,术语“组合物”意在涵盖包含指定量的指定成分的产物以及直接或间接由指定量的指定成分的组合产生的任何产物。

[0045] 说明书和结尾权利要求书中对组合物的特定元素或组分的重量份的引用表明按重量份表达的组合物或制品中元素或组分与任何其它元素或组分之间的重量关系。因此,在含有两份重量的组分X和5份重量的组分Y的混合物中,X和Y以2:5的重量比存在,和以此类比例存在而不论所述混合物是否含有另外的组分。

[0046] 除非相反地特别说明,否则组分的重量百分比 (wt. %) 基于包含组分的制剂或组合物的总重量。

[0047] 如本文所用,术语“取代”意在包括有机化合物所有允许的取代基。在一个广义方面,可允许的取代基包括有机化合物的非环状和环状、支链和直链、碳环和杂环及芳族和非芳族的取代基。示例性取代基包括,例如,下文所述的那些。对于适当的有机化合物,可允许的取代基可以为一个或多个以及相同或不同的。为了公开的目的,杂原子 (诸如氮) 可以具有氢取代基和/或满足杂原子化合价的本文所述有机化合物的任何可允许的取代基。本公开不旨在以任何方式受有机化合物的可允许的取代基的限制。此外,术语“取代”或“被取代”包括隐含的条件,即这样的取代符合被取代原子和取代基的允许化合价,且该取代得到稳定的化合物,如不会自发进行转化 (诸如通过重排、环化、消除等) 的化合物。

[0048] 如本文所用的术语“脂肪族”是指非芳族烃基团,并包括支链和直链烷基、烯基或

炔基。

[0049] 如本文所用的术语“烷基”是1至24个碳原子的支链或直链饱和烃基团,诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十二烷基、十四烷基、十六烷基、二十烷基、二十四烷基等。烷基还可被取代或未被取代。烷基可被一个或多个基团取代,所述基团包括但不限于如下所述的烷基、卤代烷基、烷氧基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、硝基、甲硅烷基、磺基-氧代、磺酰基、砜、亚砜或硫醇。

[0050] 如本文所用的术语“杂烷基”是1-24个碳原子的支链或直链饱和烃基团,其中一个或多个碳原子及其连接的氢原子(如果有的话)被O、S、N或NH替代。杂烷基可被一个或多个基团取代,所述基团包括但不限于如下所述的烷基、卤化烷基、烷氧基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、硝基、甲硅烷基、磺基-氧代、磺酰基、砜、亚砜或硫醇。

[0051] 如本文所用的符号Aⁿ仅用作以下定义中的通用取代基。

[0052] 如本文所用的术语“烷氧基”是通过单个端醚键连接的烷基;即“烷氧基”基团可被定义为—OA¹,其中A¹是如上所定义的烷基。

[0053] 如本文所用的术语“烯基”是2至24个碳原子的烃基团,其结构式含有至少一个碳-碳双键。非对称结构诸如(A¹A²)C=C(A³A⁴)意在包括E和Z异构体。这可在本文的结构式中假定,其中不对称烯基存在或其可由键符号C=C明确指示。烯基可被一个或多个基团取代,所述基团包括但不限于如下所述的烷基、卤化烷基、烷氧基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、硝基、甲硅烷基、磺基-氧代、磺酰基、砜、亚砜或硫醇。

[0054] 如本文所用的术语“炔基”是2至24个碳原子的烃基团,其结构式含有至少一个碳-碳三键。炔基可被一个或多个基团取代,所述基团包括但不限于如下所述的烷基、卤化烷基、烷氧基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、硝基、甲硅烷基、磺基-氧代、磺酰基、砜、亚砜或硫醇。

[0055] 如本文所用的术语“芳基”是含有任何基于碳原子的芳族基团的基团,所述基于碳原子的芳族基团包括但不限于苯、萘、苯基、联苯基、二苯醚等。术语“杂芳基”被定义为含有在芳族基团的环内纳入至少一个杂原子的芳族基团的基团。杂原子的实例包括但不限于氮、氧、硫和磷。可包括在术语“芳基”中的术语“非-杂芳基”定义了含有芳族基团的基团,所述芳族基团不含杂原子。芳基和杂芳基可被取代或不可取代。芳基和杂芳基可被一个或多个基团取代,所述基团包括但不限于如本文所述的烷基、卤化烷基、烷氧基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、硝基、甲硅烷基、磺基-氧代、磺酰基、砜、亚砜或硫醇。术语“联芳基”是一种特定类型的芳基并且被包含在芳基的定义内。联芳基是指如在萘中稠环结构结合在一起的或如在联苯基中经由一个或多个碳-碳键连接的两个芳基。

[0056] 如本文所用的术语“环烷基”是由至少三个碳原子组成的基于非芳族碳的环。环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基等。术语“杂环烷基”是如上所定义的环烷基,其中环的至少一个碳原子被诸如但不限于氮、氧、硫或磷的杂原子取代。环烷基和杂环烷基可被取代或未取代。环烷基和杂环烷基可被一个或多个基团取代,所述基团包括但不限于如本文所述的烷基、烷氧基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤

化物、羟基、酮、硝基、甲硅烷基、磺基-氧代、磺酰基、砜、亚砜或硫醇。

[0057] 术语“杂环烷基”是如上所定义的一种类型的环烷基,其中至少一个碳原子及其连接的氢原子如果存在则被O、S、N或NH替代。杂环烷基和杂环烯基可被取代或未取代的。环烯基和杂环烯基可被一个或多个基团取代,所述基团包括但不限于如本文所述的烷基、烷氧基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、硝基、甲硅烷基、磺基-氧代、磺酰基、砜、亚砜或硫醇。

[0058] 如本文所用的术语“环烯基”是非芳族的基于碳的环,其由至少三个碳原子组成并含有至少一个双键即C=C。环烯基的实例包括但不限于环戊基、环丁基、环戊烯基、环戊二烯基、环己烯基、环己二烯基等。

[0059] 术语“杂环烯基”是如上所定义的一种类型的环烯基,其中环的至少一个碳原子被O、S、N或NH取代。环烯基和杂环烯基可被取代或未取代。环烯基和杂环烯基可被一个或多个基团取代,所述基团包括但不限于如上所述的烷基、烷氧基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、醛、氨基、羧酸、酯、醚、卤化物、羟基、酮、硝基、甲硅烷基、磺基-氧代、磺酰基、砜、亚砜或硫醇。

[0060] 术语“环基团”在本文中用于指代芳基、非-芳基(即环烷基、杂环烷基、环烯基和杂环烯基)或两者。环基团具有一个或多个可被取代或未取代的环系统。芳族基团可含有一个或多个芳基、一个或多个非-芳基、或一个或多个芳基及一个或多个非-芳基。

[0061] 如本文所用的术语“醛”由式—C(0)H代表。在该说明书全文中,“C(0)”是C=O的简写符号。

[0062] 如本文所用的术语“胺”或“氨基”由式NA¹A²A³表示,其中A¹、A²和A³可独立地为如上所述的氢、烷基、卤化烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、环烯基、杂环烷基或杂环烯基。

[0063] 如本文所用的术语“羧酸”由式—C(0)OH表示。如本文所用的“羧酸根”由式—C(0)O⁻表示。

[0064] 如本文所用的术语“酯”由式—OC(0)A¹或—C(0)OA¹表示,其中A¹可为上文所述的烷基、卤化烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、环烯基、杂环烷基或杂环烯基。

[0065] 如本文所用的术语“醚”由式A¹OA²表示,其中A¹和A²可独立地为如上所述的烷基、卤化烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、环烯基、杂环烷基或杂环烯基。

[0066] 如本文所用的术语“酮”由式A¹C(0)A²表示,其中A¹和A²可独立地为如上所述的烷基、卤化烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、环烯基、杂环烷基或杂环烯基。

[0067] 如本文所用的术语“卤化物”是指卤素氟、氯、溴和碘。

[0068] 如本文所用的术语“羟基”由式—OH表示。

[0069] 如本文所用的术语“硝基”由式—NO₂表示。

[0070] 如本文所用的术语“氰基”由式—CN表示。

[0071] 如本文所用的术语“叠氮基”由式—N₃表示。

[0072] 术语“磺酰基”在本文中用于指代由式—S(0)A¹表示的磺基-氧代基团,其中A¹可为氢、烷基、卤化烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、环烯基、杂环烷基或杂环烯基。

[0073] 如本文所用的术语“磺酰基氨基”或“磺酰胺”由式—S(0)NH₂表示。

[0074] 如本文所用的术语“硫醇”由式—SH表示。

[0075] 应理解本文提供的化合物可含有手性中心。此类手性中心可具有(R-)或(S-)构

型。本文提供的化合物可为对映异构纯或非对映异构体或对映异构体混合物。应理解本文提供的化合物的手性中心可经历体内差向异构化。因此,对于经历体内差向异构化的化合物,本领域技术人员将认识到施用(R-)形式的化合物等同于施用(S-)形式的化合物。

[0076] 如本文所用,基本上纯意指足够均匀而看起来不含如通过标准分析方法诸如薄层色谱(TLC)、核磁共振(NMR)、凝胶电泳、高效液相色谱(HPLC)和质谱(MS)、气相-色谱质谱(GC-MS)测定和由本领域技术人员使用来获得此类纯度的类似方法的可容易检测的杂质,或足够纯使得进一步纯化将不能可检测地改变物质的物理和化学性质诸如酶活性和生物活性。传统和现代的纯化化合物产生基本上化学纯的化合物的方法为本领域技术人员已知。然而,基本上化学纯的化合物可为立体异构体的混合物。

[0077] 除非说明相反,否则具有仅以实线且不以楔型或虚线显示的化学键的式涵盖每种可能的异构体,如每种对映异构体、非对映异构体和内消旋化合物及异构体混合物诸如外消旋或非外消旋(scalemic)混合物。

[0078] “药学上可接受的”组分是一种在合理医学判断的范围内适于人类和/或动物而没有与合理的效益/风险比相当的过度不良副作用(诸如毒性、刺激和过敏性响应)的组分。

[0079] “药学上可接受的盐”是指药学上可接受的并具有所需的药理学性质的盐。此类盐包括那些可在化合物中存在的酸性质子能够与无机或有机碱反应的情况下形成的盐。适合的无机盐包括那些与碱金属如钠、钾、镁、钙和铝形成的无机盐。适合的有机盐包括那些与有机碱诸如胺碱(如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨丁三醇、N-甲基葡萄糖胺等)形成的有机盐。此类盐还包括与无机酸(如盐酸和氢溴酸)和有机酸(如乙酸、柠檬酸、马来酸及烷烃-和芳烃-磺酸诸如甲磺酸和苯磺酸)形成的酸加成盐。当两个酸性基团存在时,药学上可接受的盐可为单-酸性-单-盐或二-盐;类似地,当存在多于两个酸性基团时,一些或所有此类基团可转化为盐。

[0080] “药学上可接受的赋形剂”是指可方便地用于制备通常安全、无毒和所需的药物组合物的赋形剂,并且包括对于兽医学用途以及人药学用途可接受的赋形剂。此类赋形剂可为固体、液体、半固体或或在气溶胶组合物的情况下为气体。

[0081] “药学上可接受的载体”是用于向患者递送公开的化合物的载体,诸如溶剂、助悬剂或媒介物。载体可为液体或固体,并且根据考虑的计划的施用方式选择。脂质体还可为药学载体。如本文所用,“载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、媒介物、包衣、稀释剂、抗细菌药和抗真菌药、等渗剂和吸收延迟剂、缓冲剂、载体溶液、混悬剂、胶体等。使用用于药学活性物质的此类介质和试剂是本领域熟知的。除了任何常规培养基或试剂与活性成分不相容的情况下之外,考虑了它在治疗组合物中的用途。

[0082] 如本文所用的术语“治疗有效量”意指引起组织、系统、动物或人的生物或医学反应的活性化合物或药剂的量,其是由研究员、兽医、医学博士或其他临床医师来探寻。参考癌症或其它非所需的细胞增殖,有效量包括足以引起肿瘤收缩和/或降低肿瘤生长速率(诸如抑制肿瘤生长)或预防或延迟其它非所需的细胞增殖的量。在一些实施方案中,有效量是足以延迟发生的量。在一些实施方案中,有效量是足以预防或延迟发生和/或复发的量。有效量可以一个或多个剂量施用。在癌症的情况下,药物或组合物的有效量可: (i) 减少癌症细胞的量; (ii) 减小肿瘤尺寸; (iii) 抑制、减慢、减缓至某种程度并优选停止癌细胞浸润至周围器官; (iv) 抑制(即减缓至某种程度并优选中止)肿瘤迁移; (v) 抑制肿瘤生长; (vi) 预

防或延迟肿瘤发生和/或复发;和/或(vii)缓解与癌症相关的一个或多个症状至某种程度。

[0083] 本文所述的用于治疗哺乳动物受试者的有效量的化合物或组合物可包括约0.1至约1000mg/体重Kg的受试者/天,诸如约1至约100mg/Kg/天,特别是约10至约100mg/Kg/天。所述给药可以是急性或慢性的。据信多种公开的组合物剂量是安全且有效的。

[0084] 现将详细参考公开材料、化合物、组合物、制品和方法的特定方面,其实例说明在随附实施例中。

[0085] 化合物

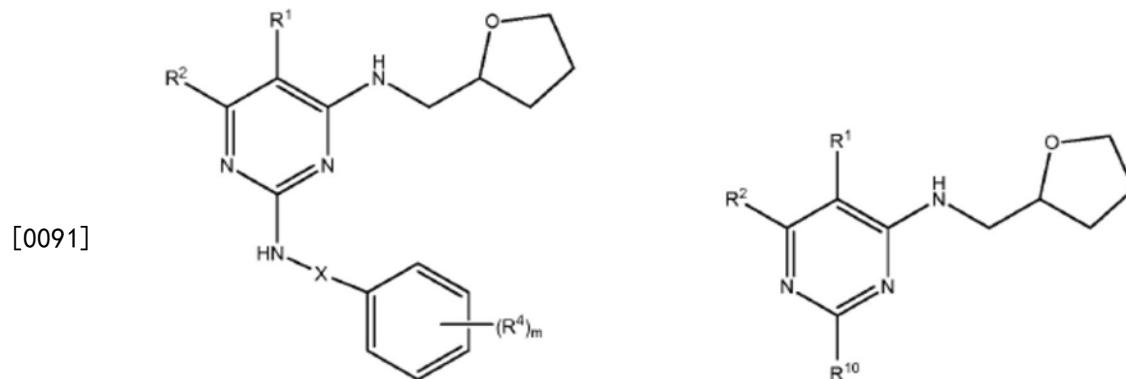
[0086] 已发现Ack1在Tyr176处直接磷酸化AKT,导致AKT膜定位和激活。在前列腺癌细胞中,Ack1在Tyr-267处以雄激素依赖性方式磷酸化AR。此外,Tyr284-磷酸化-Ack1、Tyr176-磷酸化-AKT和Tyr267-磷酸化-AR水平与疾病进展的严重性正相关,而与前列腺癌患者的存活负相关。类似地,发现Ack1介导的AKT酪氨酸磷酸化与乳腺癌进展正相关。

[0087] 此外,已测量Ack1的抑制剂,4-氨基-5,6-联芳基-呋喃并[2,3-d]嘧啶(AIM-100)不仅抑制Ack1激活但抑制pTyr267-AR磷酸化和AKT Tyr176-磷酸化,从而抑制AR和AKT活性。这些发现表明Ack1可对前列腺癌的进展预后,并且Ack1的抑制剂是治疗前列腺癌的治疗剂。

[0088] 关注的Ack1抑制剂的化学文库通过基于支架-跳跃和片段结构的设计来开发。从该文库鉴定了若干化合物能够在低浓度下并且在一些情况下在纳摩尔浓度下体外抑制Ack1。来自该文库的化合物显示在完整癌细胞中抑制Tyr176处的AKT的磷酸化(Ack1体内抑制的替代物)。

[0089] 因此,公开了为Ack1酪氨酸激酶抑制剂的化合物。这些公开的化合物可在各种组合物中用作抗癌治疗剂。

[0090] 在某些实施方案中,公开的化合物具有如式IA或IB所示的基于嘧啶的结构。



[0092] 其中

[0093] X是键或CH₂;

[0094] R¹是Cl、Br、F、CH₃或C₂H₅;

[0095] R²是H、Cl、Br或F或者R¹和R²一起形成稠合芳基或杂芳基;

[0096] m是1、2、3、4或5,优选m是1或2;且

[0097] 每个R⁴独立地为OH、Cl、Br、F、C₁-C₆烷基、CN、NO₂、CO₂H、CO₂R⁵、(CH₂)₁₋₆CO₂H、(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、OR⁵、C(O)R⁵、C(O)NH₂、C(O)NHR⁵、NHSO₂R⁵、SO₂NH₂、SO₂NHR⁵或C(O)NHSO₂R⁵,或者未取代

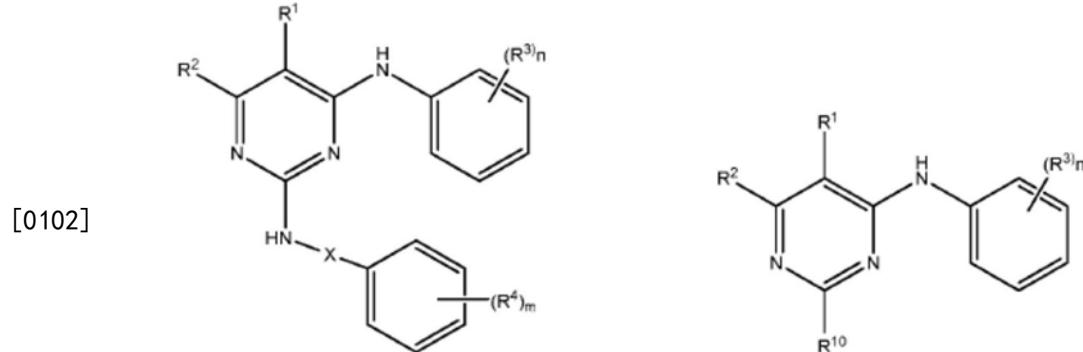
的或被R⁶取代的环烷基或杂环烷基,其中

[0098] R⁵是C₁-C₆烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基或杂芳基;且

[0099] R⁶是OH、Cl、Br、F、C₁-C₆烷基、CO₂H、CO₂R⁵、OC(0)R⁵、(CH₂)₁₋₆CO₂H、C(0)(CH₂)₁₋₆CO₂H、(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、C(0)(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、OR⁵、C(0)R⁵、C(0)NH₂、C(0)NHR⁵、SO₂NH₂、SO₂NHR⁵、C(0)NHSO₂R⁵、4-吗啉基、4-哌嗪基、1-哌啶基、4-哌啶基(piperadiny1)或PEG-甾醇;且

[0100] R¹⁰是Cl、Br或F。

[0101] 在某些实施方案中,公开的化合物具有如式IIA或IIB所示的基于嘧啶的结构。



IIA

IIB

[0103] 其中

[0104] X是键或CH₂;

[0105] R¹是Cl、Br、F、CH₃或C₂H₅;

[0106] R²是H、Cl、Br或F,或者R¹和R²一起形成稠合芳基或杂芳基;

[0107] n是1、2、3、4或5,优选1;

[0108] 每个R³独立为COR⁵、C(0)NH₂、C(0)NR⁵、C(0)NH₂、SR⁵或SO₂R⁵;

[0109] m是1、2、3、4或5,优选m是1或2;且

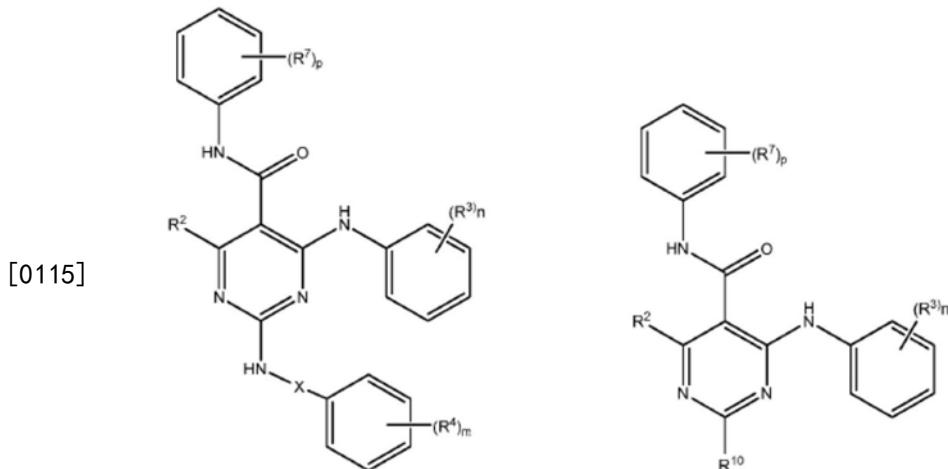
[0110] 每个R⁴独立地为OH、Cl、Br、F、C₁-C₆烷基、CN、NO₂、CO₂H、CO₂R⁵、(CH₂)₁₋₆CO₂H、(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、OR⁵、C(0)R⁵、C(0)NH₂、C(0)NHR⁵、NHSO₂R⁵、SO₂NH₂、SO₂NHR⁵或C(0)NHSO₂R⁵,或未取代的或被R⁶取代的环烷基或杂环烷基,其中

[0111] R⁵是C₁-C₆烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基或杂芳基;

[0112] R⁶是OH、Cl、Br、F、C₁-C₆烷基、CO₂H、CO₂R⁵、OC(0)R⁵、(CH₂)₁₋₆CO₂H、C(0)(CH₂)₁₋₆CO₂H、(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、C(0)(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、OR⁵、C(0)R⁵、C(0)NH₂、C(0)NHR⁵、SO₂NH₂、SO₂NHR⁵、C(0)NHSO₂R⁵、4-吗啉基、4-哌嗪基、1-哌啶基、4-哌啶基(piperadiny1)或PEG-甾醇;且

[0113] R¹⁰是Cl、Br或F。

[0114] 在某些实施方案中,公开的化合物具有如式IIIA或IIB所示的基于嘧啶的结构。



III A

[0116] 其中

[0117] X是键或CH₂；

[0118] R^2 是H、Cl、Br或F，

[0119] n是1、2、3、4或5, 优选1;

[0120] 每个R³独立地为COR⁵、C(0)NH₂、C(0)NR⁵、C(0)₂NH₂、SR⁵或SO₂R⁵；

[0121] m 是1、2、3、4或5, 优选 m 是1或2; 且

[0122] 每个R⁴独立地为OH、Cl、Br、F、C₁-C₆烷基、CN、NO₂、CO₂H、CO₂R⁵、(CH₂)₁₋₆CO₂H、(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、OR⁵、C(O)R⁵、C(O)NH₂、C(O)NHR⁵、NHSO₂R⁵、SO₂NH₂、SO₂NHR⁵或C(O)NHSO₂R⁵，或未取代的或被R⁶取代的环烷基或杂环烷基，其中

[0123] R^5 是C₁–C₆烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基或杂芳基；

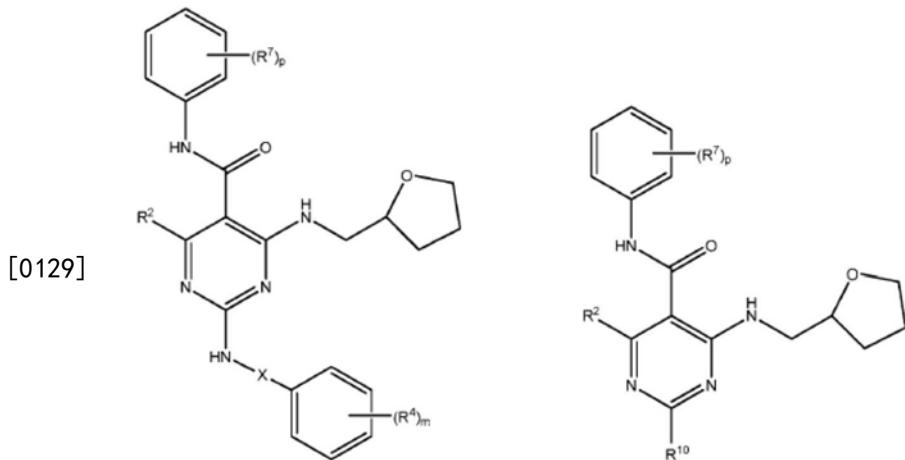
[0124] R^6 是OH、Cl、Br、F、C₁—C₆烷基、CO₂H、CO₂R⁵、OC(0)R⁵、(CH₂)₁₋₆CO₂H、C(0)(CH₂)₁₋₆CO₂H、(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、C(0)(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、OR⁵、C(0)R⁵、C(0)NH₂、C(0)NHR⁵、SO₂NH₂、SO₂NHR⁵、C(0)NHSO₂R⁵、4-吗啉基、4-哌嗪基、1-哌啶基、4-哌啶基(piperadiny1)或PEG-甾醇；

[0125] p是1、2、3、4或5, 优选1或2;

[0126] R^7 是OH、Cl、Br、F、C₁-C₆烷基、CO₂H、CO₂R⁵、OR⁵、CN或NO₂；且

[0127] R^{10} 是Cl、Br或F。

[0128] 在某些实施方案中,公开的化合物具有如式IVA或IVB所示的基于嘧啶的结构。



IVA

[0130] 其中

[0131] X是键或CH₂；

[0132] R^2 是H、Cl、Br或F，

[0133] m 是1、2、3、4或5, 优选 m 是1或2; 且

[0134] 每个R⁴独立地为OH、Cl、Br、F、C₁-C₆烷基、CN、NO₂、CO₂H、CO₂R⁵、(CH₂)₁₋₆CO₂H、(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、OR⁵、C(O)R⁵、C(O)NH₂、C(O)NHR⁵、NHSO₂R⁵、SO₂NH₂、SO₂NHR⁵或C(O)NHSO₂R⁵，或未取代的或被R⁶取代的环烷基或杂环烷基，其中

[0135] R^5 是C₁–C₆烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基或杂芳基；

[0136] R^6 是OH、Cl、Br、F、C₁—C₆烷基、CO₂H、CO₂R⁵、OC(0)R⁵、(CH₂)₁₋₆CO₂H、C(0)(CH₂)₁₋₆CO₂H、(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、C(0)(CH₂)₁₋₆CO₂R⁵、OR⁵、C(0)R⁵、C(0)NH₂、C(0)NHR⁵、SO₂NH₂、SO₂NHR⁵、C(0)NHSO₂R⁵、4-吗啉基、4-哌嗪基、1-哌啶基、4-哌啶基(piperadiny1)或PEG-甾醇；

[0137] p是1、2、3、4或5,优选1或2;且

[0138] R^7 是OH、Cl、Br、F、 C_1-C_6 烷基、 CO_2H 、 CO_2R^5 、 OR^5 、CN或 NO_2 ；且

[0139] R^{10} 是Cl、Br或F。

[0140] 公开的化合物还可以药学上可接受的盐存在，并且此类盐的实例在本文中公开。

[0141] 在一个特定方面,在本文公开的所有式中R²优选为H。

[0142] 在某些实例中, R^1 在式 IA、IB、IIA 或 IIB 中优选为 Cl 或 Br。

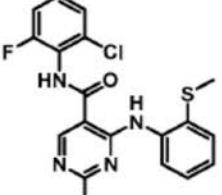
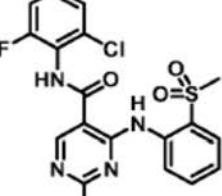
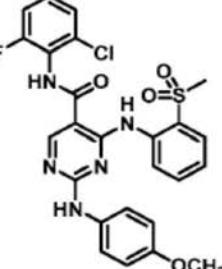
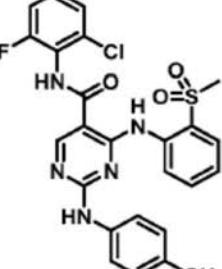
[0143] 在某些实例中, R^{10} 在式 IIB、IIIB、IIIC 或 IVB 中优选为 Cl 或 Br。

[0144] 在式IA、IIA、IIIA或IVA的某些实例中，X优选为键。此外对于这些式，m可为1且R⁴可为未取代的或被R⁶取代的4-吗啉基、4-哌嗪基、1-哌啶基或4-哌啶基(piperadiny1)。在这些式的其它实例中，m可为1且R⁴处于对位或者m为2且每个R⁴处于对位和间位。

[0145] 在式IIA、IIB、IIIA或IIIB的某些实例中，n可为1且R³处于间位且是SR⁵或SO₂R⁵。

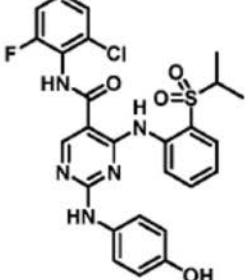
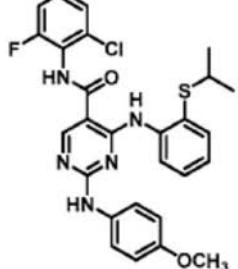
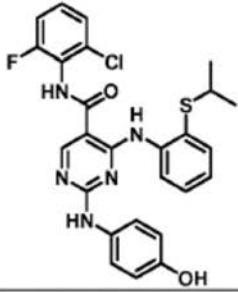
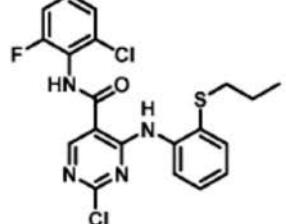
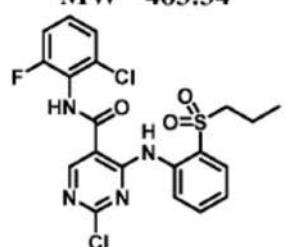
[0146] 在式IIIA、IIIB、IVA或IVB的某些实例中, p可为2且每个R⁷处于邻位且独立地为C1或E。

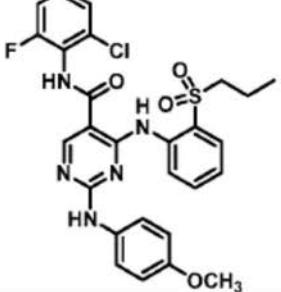
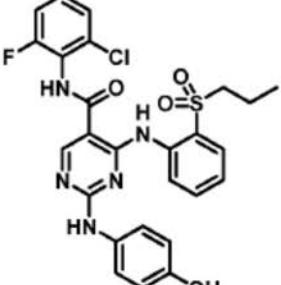
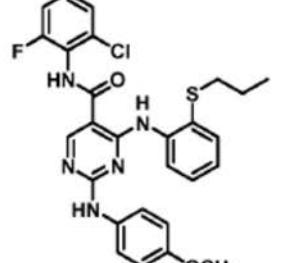
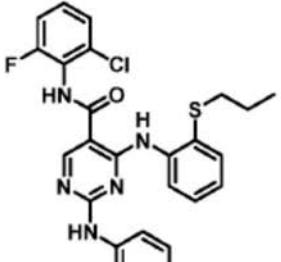
[0147] 适合的根据本公开的化合物提供在表1中。

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μM 下的 抑制%(ELISA)
YL7-031B2, MW= 423.29 		0
YL7-034, MW= 455.29 		16, -3, -6F
YL7-037, MW= 541.98 		4, 0
YL7-038, MW= 527.96 		39,18

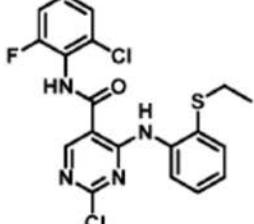
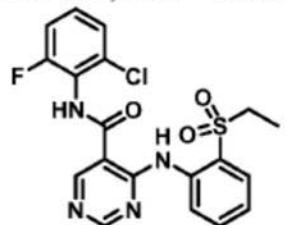
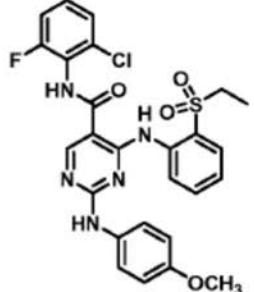
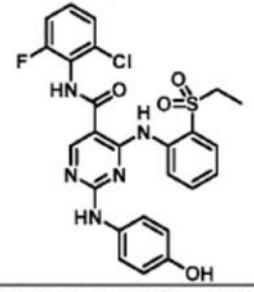
[0148]

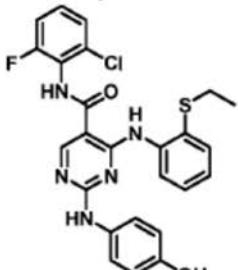
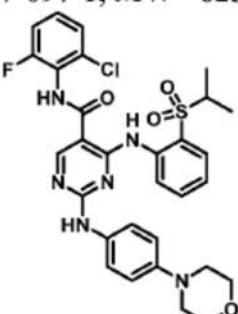
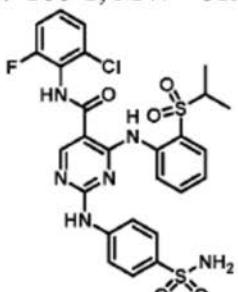
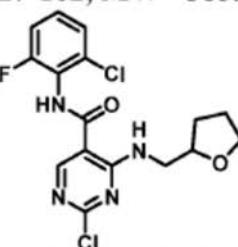
化合物名称、 结构、分子量	IC ₅₀	在10 μM下的 抑制%(ELISA)
YL7-039-1, MW= 509.98 		7, 0
YL7-039-2, MW= 495.96 		40, 5
YL7-040, MW= 451.34 [0149] 		0
YL7-041, MW= 483.34 		7, -21, -27
YL7-045-1, MW= 570.03 		37, 18

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
YL7-045-2, MW= 556.01 		47, 50
YL7-045-3, MW= 538.04 		-15, 0
[0150] YL7-045-4, MW= 524.01 		0
		0
YL7-051, MW= 451.34 		0
YL7-052 MW= 483.34 		0, 14, -8

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
YL7-055-1, MW= 570.03 		27, 13
YL7-055-2, MW= 556.01 		57, 58
YL7-055-3, MW= 538.04 		1, 13
YL7-055-4, MW= 524.01 		28, 27

[0151]

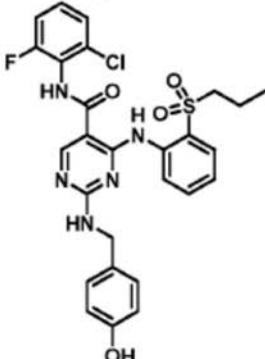
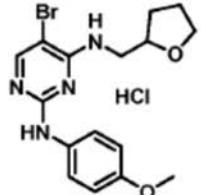
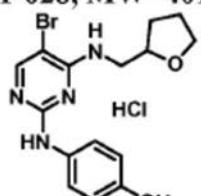
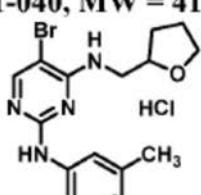
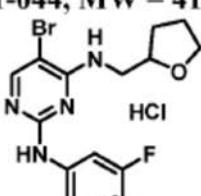
化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在 $10\mu M$ 下的 抑制% (ELISA)
YL7-053, MW= 437.32 		0
YL7-054, MW= 469.32 		0, -3, -25
[0152] YL7-058-1, MW= 556.01 		-6, 0
		68, 43
YL7-058-2, MW= 541.98 		1, 0

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
YL7-058-4, MW= 509.98 		24, 47
YL7-097-1, MW= 625.11 		85, 65
YL7-100-1, MW= 619.09 		8, 6
YL7-102, MW= 385.22 		0

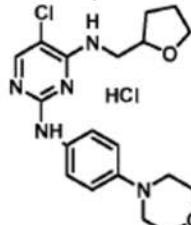
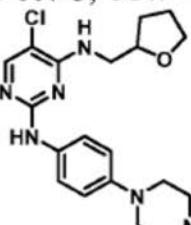
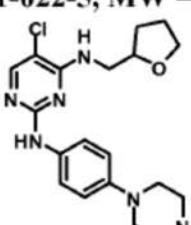
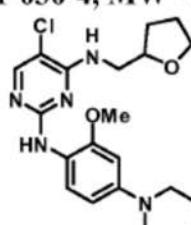
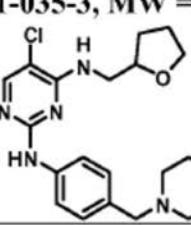
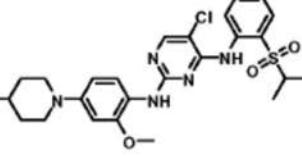
[0153]

[0154]

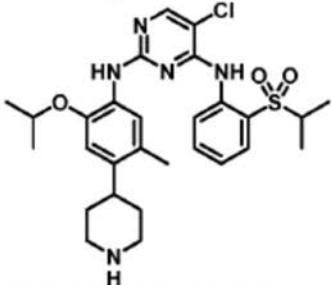
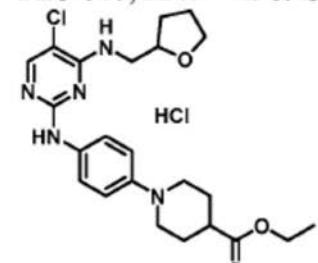
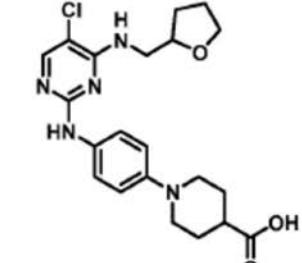
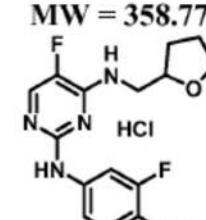
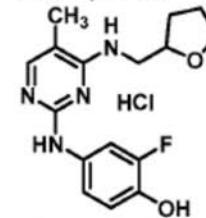
化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
YL7-104-1, MW= 471.91 		76, 61, 37, 27
YL7-104-2, MW= 457.89 	54.4 nM (RB)	85, 76
YL7-106-1, MW= 584.06 		14, 0
YL7-106-3, MW= 583.03 		51, 43

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
YL7-109, MW= 570.03 		-15, 15
SK1-022, MW = 415.71 		67, 68
SK1-028, MW=401.69 	<i>164 nM (RB)</i>	59, 81, 85, 65, 67
SK1-040, MW = 415.71 	<i>99.5 nM (RB)</i>	90, 61, 56, 57
SK1-044, MW = 419.68 	<i>299 nM (RB)</i>	89, 63, 28, 38

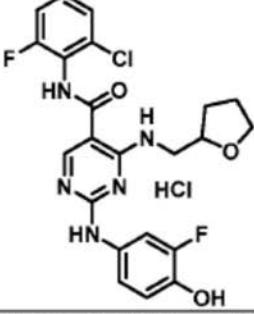
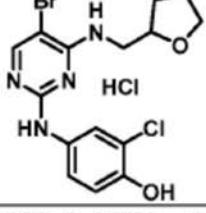
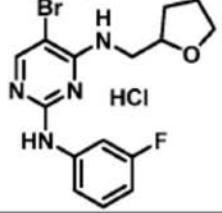
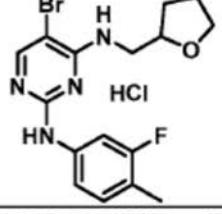
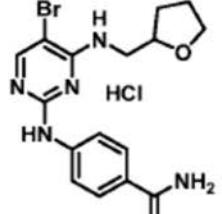
[0155]

化合物名称、 结构、分子量	IC ₅₀	在10 μM下的 抑制%(ELISA)
MH1-006-3, MW = 426.3 	67.5 nM (RB)	90, 88
MH1-007-3, MW = 388.9 	81.3 nM (RB)	91, 73, 78, 78
MH1-022-5, MW = 402.9 	54.4 nM (RB)	90, 91
MH1-030-4, MW = 419.9 		88, 82
MH1-035-3, MW = 401.9 		77, 72
TAE684, MW = 614.2 	27.8, 60.7 nM	94, 92, 98, 99, 99

[0156]

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μM 下的 抑制% (ELISA)
LDK, MW = 558.1 	88.7 (RB)	
YL8-047, MW = 496.43 	108 nM (RB)	65, 67, 69
YL8-050, MW = 431.92 	85 nM (RB)	87, 96, 96
YL7-164 MW = 358.77 		37, 46, 55
YL7-170-1, MW = 354.81 		51, 29, 47

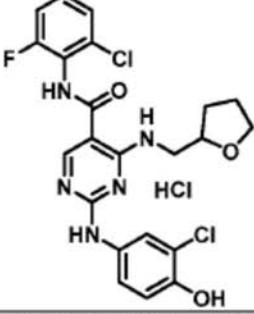
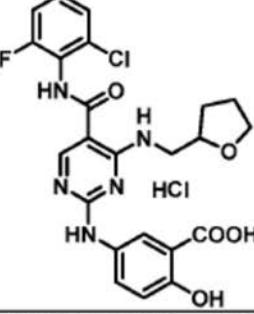
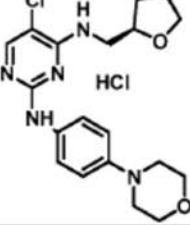
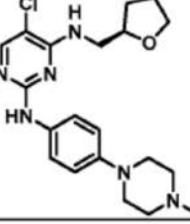
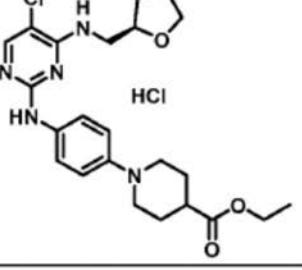
[0157]

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
YL7-170-2, MW = 512.34 		65, 68, 67
YL7-172-1, MW = 436.13 		75, 55, 35
YL7-172-3, MW = 403.68 		69, 21, 25
YL7-172-4, MW = 417.70 		0, -12, 20
YL7-172-5, MW = 428.71 		31, 77, 82

[0158]

化合物名称、 结构、分子量	IC ₅₀	在10 μM下的 抑制%(ELISA)
YL7-172-7, MW = 438.12 		0, 5, 3
YL7-172-8, MW = 433.70 		14, 35, 41
YL8-001, MW = 390.84 		4, 10, -6
YL8-003-1, MW = 445.70 		27, 28, 16
YL8-003-3, MW = 464.77 		56, 68, 63

[0159]

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
YL8-009-1, MW = 528.79 		41, 42, 48
YL8-009-2, MW = 538.36 		44, 40, 55
[0160] DZ1-064, MW = 426.3 	46.5 (RB)	89, 93
DZ1-067, MW = 402.9 	56.0, 57.8, 60.5 (RB)	93, 93, 91
DZ1-070, MW = 496.43 		52, 65

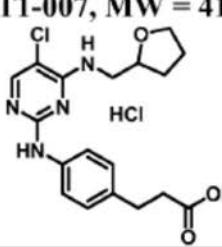
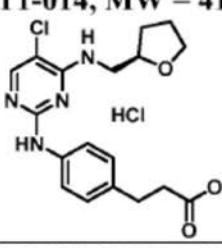
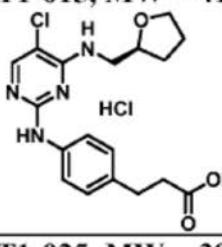
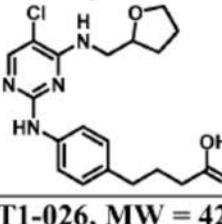
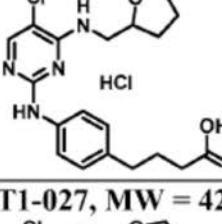
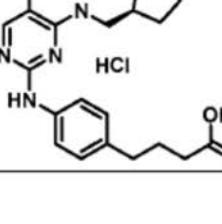
化合物名称、 结构、分子量	IC ₅₀	在10 μM下的 抑制%(ELISA)
DZ1-072, MW = 431.2 	91.6 (RB)	96, 95
DZ1-074, MW = 426.3 	74.1 (RB)	93, 91
DZ1-077, MW = 402.9 	80.5, 83.3 (RB)	93, 94
DZ1-079, MW = 496.43 		54, 69
DZ1-082, MW = 431.2 	54.7 (RB)	92, 94

[0161]

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
NT1-005, MW = 424.4 	231 (RB)	79, 80
NT1-010, MW = 424.4 		67, 76
NT1-011, MW = 424.4 		77, 76
NT1-006, MW = 399.3 		72, 81
NT1-012, MW = 399.3 		68, 74
NT1-013, MW = 399.3 		73, 46

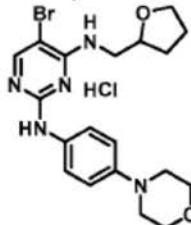
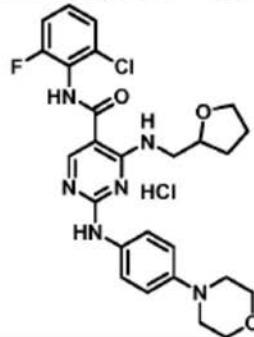
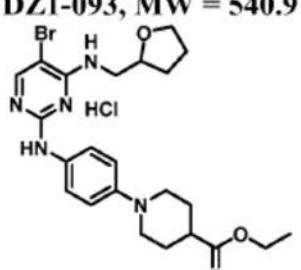
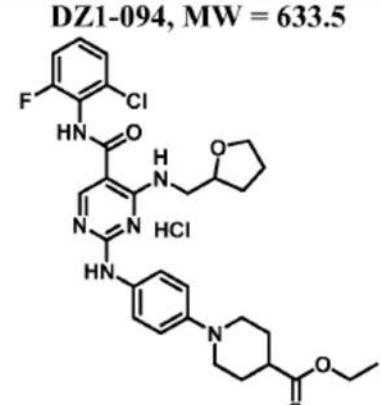
[0162]

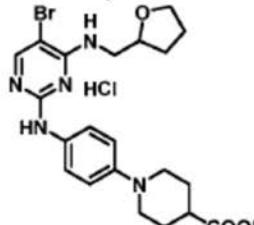
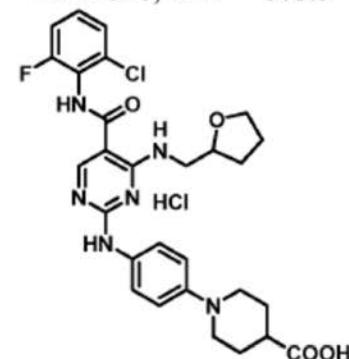
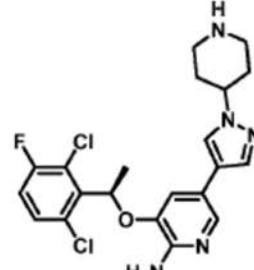
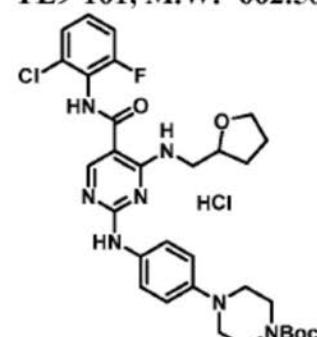
[0163]

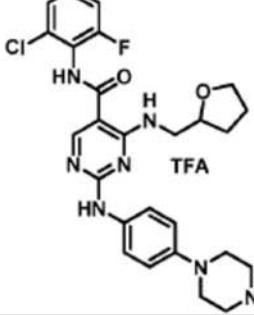
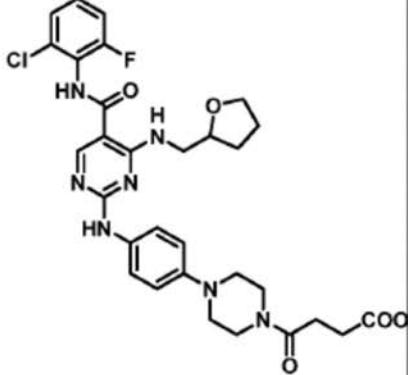
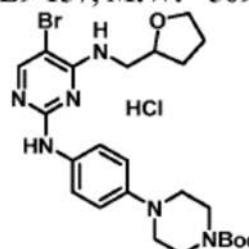
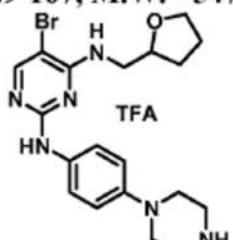
化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
NT1-007, MW = 413.3 		75, 73
NT1-014, MW = 413.3 		61, 75
NT1-015, MW = 413.3 		70, 72
NT1-025, MW = 390.9 		61, 65
NT1-026, MW = 427.3 		55, 65
NT1-027, MW = 427.3 		52, 64

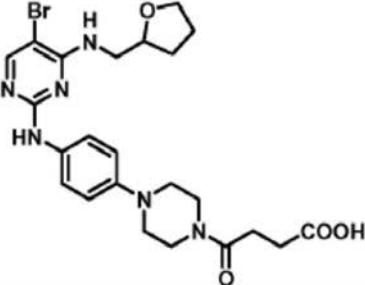
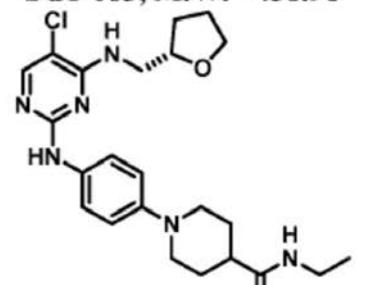
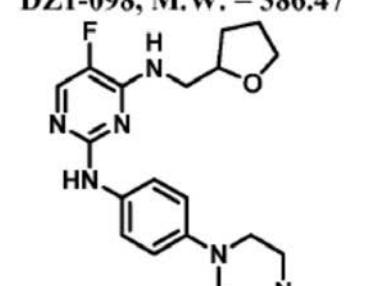
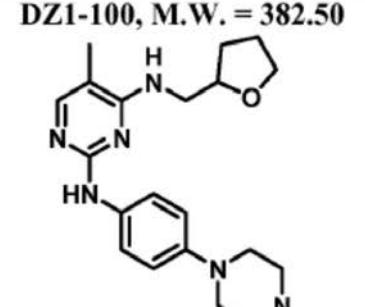
[0164]

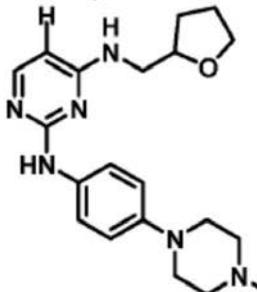
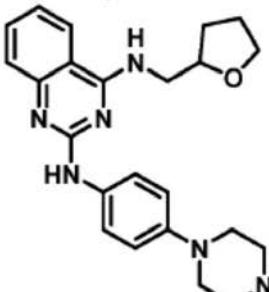
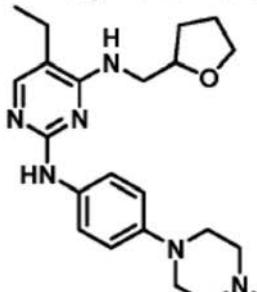
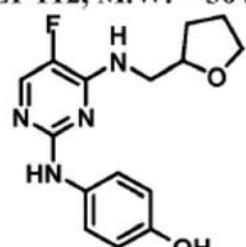
化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
NT1-028, MW = 483.4 		62, 74
NT1-022, MW = 443.7 		59, 63
NT1-023, MW = 457.7 		74, 75
DZ1-088, MW = 468.8 	169 (RB)	84, 85
DZ1-089, MW = 561.5 	53.3 (RB)	97, 97

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在 $10\mu M$ 下的 抑制%(ELISA)
DZ1-091, MW = 470.8 	106 (RB)	88, 90
DZ1-092, MW = 563.5 	47.7 (RB)	77, 88
[0165] DZ1-093, MW = 540.9 		64, 65
DZ1-094, MW = 633.5 		61, 73

化合物名称、 结构、分子量	IC ₅₀	在10 μM下的 抑制%(ELISA)
DZ1-095, MW = 512.8 		85, 84, 85, 84
DZ1-096, MW = 605.5 	36.3, 32.2 (RB)	98, 98
[0166] Crizotinib, MW = 450.3 	171 (RB)	
YL9-161, M.W.=662.58 		28, 31

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在 $10\mu M$ 下的 抑制% (ELISA)
YL9-162, M.W.=640.03 	33.2 (RB)	91, 88
YL9-163, M.W.=626.08 	28.4 (RB)	85, 93
[0167] YL9-157, M.W.= 569.92 		47, 46
YL9-167, M.W.= 547.37 	94.7 (RB)	86, 85

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
YL9-168, M.W.= 533.42 		94, 90
SG1-083, M.W.= 458.98 		73, 61
DZ1-098, M.W.= 386.47 		61, 48
DZ1-100, M.W.= 382.50 		85, 54, 5, 10

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
DZ1-104, M.W. = 368.48 		19, 13
DZ1-106, M.W. = 418.53 		19, 14
[0169] DZ1-108, M.W. = 396.53 		72, 48, 34, 46
DZ1-112, M.W. = 304.32 		53, 33

化合物名称、 结构、分子量	IC_{50}	在10 μ M下的 抑制%(ELISA)
DZ1-114, M.W. = 540.03 	48.3 (RB)	99, 95
DZ1-116, M.W. = 300.36 		15, 5
DZ1-120, M.W. = 320.77 	163 (RB)	73, 58
DZ1-122, M.W. = 447.37 	48.0 (RB)	95, 91

[0171] 方法

[0172] 本文另外提供了治疗或预防受试者癌症的方法，所述方法包括向受试者施用有效量的如本文所公开的化合物或组合物。所述方法还可包括施用第二化合物或组合物，诸如例如抗癌剂或抗炎剂。另外地，所述方法可另外包括向受试者施用有效量的电离辐射。

[0173] 本文还提供了杀死肿瘤细胞的方法。所述方法包括使肿瘤细胞与有效量的如本文公开的化合物或组合物接触。所述方法还可包括向受试者施用第二化合物或组合物(如,抗癌剂或抗炎剂)或施用有效量的电离辐射。

[0174] 本文还提供了肿瘤放疗方法,所述方法包括使肿瘤与有效量的如本文所公开的化

合物或组合物接触并用有效量的电离辐射辐射肿瘤。

[0175] 还公开了治疗患者肿瘤学病症的方法。在一个实施方案中,将有效量的本文公开的一种或多种化合物或组合物施用给患有肿瘤学病症和需要治疗的患者。公开的方法可任选地包括鉴定患者,所述患者为或可为需要肿瘤学病症治疗。患者可为人或其它哺乳动物,诸如灵长类动物(猴、黑猩猩、猿等)、狗、猫、牛、猪或马,或其它患有肿瘤学病症的动物。肿瘤学病症包括但不限于肛门、胆管、膀胱、骨、骨髓、肠(包括结肠和直肠)、乳房、眼、胆囊、肾、嘴、喉、食道、胃、睾丸、宫颈、头、颈、卵巢、肺、间皮瘤、神经内分泌、阴茎、皮肤、脊髓、甲状腺、阴道、外阴、子宫、肝、肌肉、胰腺、前列腺、血细胞(包括淋巴细胞和其它免疫系统细胞)和脑的癌症和/或肿瘤。预期治疗的特定癌症包括癌、卡波西肉瘤(Karposi's sarcoma)、黑素瘤、间皮瘤、软组织肉瘤、胰腺癌、肺癌、白血病(急性成淋巴细胞性、慢性淋巴样、慢性淋巴细胞性、慢性淋巴样及其它类型)和淋巴瘤(霍奇金氏和非霍奇金氏)和多发性骨髓瘤。

[0176] 可根据本文公开的方法治疗的癌症的其它实例为肾上腺皮质癌、肾上腺皮质癌、小脑星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑瘤、乳腺癌、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、类癌瘤、中枢神经系统淋巴瘤、宫颈癌、慢性骨髓增殖性疾病、结肠癌、皮肤性T-细胞淋巴瘤、子宫内膜癌、室管膜瘤、食管癌、胆囊癌、胃部(胃)癌、胃肠道类癌瘤、生殖细胞瘤、神经胶质瘤、毛细胞性白血病、头颈癌、肝细胞(肝)癌、下咽癌、下丘脑和视通路神经胶质瘤、眼内黑素瘤、视网膜母细胞瘤、胰岛细胞癌(内分泌胰腺)、喉癌、唇和口腔癌、肝癌、髓母细胞瘤、默克尔细胞癌(Merkel cell carcinoma)、鳞状颈癌伴隐匿性蕈样霉菌病、骨髓增生异常综合征、骨髓性白血病、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、成神经细胞瘤、非小细胞肺癌、口腔癌、口咽癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状腺旁腺癌、阴茎癌、嗜铬细胞瘤、松果体母细胞瘤和原始性神经外胚层瘤、松果体瘤、浆细胞瘤/多发性骨髓瘤、胸膜肺母细胞瘤、前列腺癌、直肠癌、肾细胞(肾)癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、涎腺癌、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、软组织肉瘤、塞扎里综合征(Sezary syndrome)、皮肤癌、小细胞肺癌、小肠癌、幕上原始神经外胚层肿瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲状腺癌、肾盂和输尿管移行细胞癌、妊娠滋养细胞肿瘤、尿道癌、子宫癌、阴道癌、外阴癌、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(Waldenström's macroglobulinemia)和维尔姆斯氏肿瘤(Wilms' tumor)。

[0177] 在一些方面,公开了通过向受试者施用至少一种如本文公开的化合物或组合物和至少一种癌症免疫治疗剂治疗受试者肿瘤或肿瘤转移的方法。公开的化合物可单独或与癌症免疫治疗剂组合施用。受试者可在手术干预之前、期间或之后接受治疗组合物以移除所有或部分肿瘤。施用可经由以下方式实现:直接浸没;全身或局部静脉内(i.v.)、腹腔内(i.p.)、皮下(s.c.)、肌内(i.m.)或直接注射至肿瘤团中;和/或通过经口施用适当的制剂。

[0178] 适用于本文公开的方法的癌症免疫治疗剂是免疫治疗剂,所述免疫治疗剂包含连接至肿瘤相关抗原靶向组分的细胞效应组分。适合的细胞效应组分可包括细胞毒性化学品、细胞毒性放射性同位素和细胞信号传导剂诸如细胞因子。适合的肿瘤靶向组分是结合至存在于肿瘤细胞的周围组织基质上或中的肿瘤相关抗原的多肽链,诸如受体蛋白质链或免疫球蛋白链。

[0179] 可用于免疫治疗剂的标靶的肿瘤相关抗原包括选自由以下组成组的肿瘤相关抗原:AFP、CA125、CEA、CD19、CD20、CD44、CD45、EGF受体、GD[2]、GD[3]、GM1、GM2、Her-2/Neu、

Ep-CAM (KSA)、IL-2受体、Lewis-Y、Lewis-X (CD 15)、黑素瘤-相关的蛋白聚糖MCSP、PSA和转铁蛋白受体。

[0180] 免疫治疗剂的实例具有效应组分,所述效应组分为连接至靶向组分的细胞因子多肽,所述靶向组分为免疫球蛋白 (Ig) 多肽链。Ig多肽链包含结合至肿瘤相关抗原的可变区。优选地,所述免疫球蛋白链当与适当的互补链组合(即重链互补轻链)时,定义了对肿瘤相关抗原有特异性的抗体活性位点。

[0181] 免疫治疗剂的肿瘤靶向 Ig部分可包含完整免疫球蛋白链氨基酸序列,或至少包含蛋白质的抗原结合特异性部分的片段。因此,适合的 Ig多肽链将具有至少一个对肿瘤相关抗原有特异性的 Ig可变区。

[0182] 适用于公开方法的抗体和从其获得的多肽链将具有可来自任何哺乳动物来源的氨基酸序列。当此类抗体蛋白不是与预期患者来源相同时,可使用抗体蛋白的片段诸如F(ab')2、Fab、Fv或工程化Fv单链抗体蛋白。为了进一步减小抗体蛋白的抗原性,可实现修饰抗体氨基酸序列以通过使蛋白质看起来更像患者正常抗体组分来减小抗体蛋白的抗原性。例如可修饰单克隆鼠抗体氨基酸序列以看起来更像人类,以通过多种用于人源化抗体的方法施用给人患者。

[0183] 癌症免疫治疗剂的特定实例包括特异性结合CLTA-4的抗体诸如伊匹单抗(Bristol-Myers Squibb)、抗-PD-1、抗-PDL1。其它免疫治疗剂包括TNF α 拮抗剂(如依那西普)、B细胞消耗剂利妥昔单抗、抗-IL-6受体托珠单抗和共刺激阻断剂阿巴西普可与本文公开的化合物或组合物一起施用。

[0184] 公开的化合物还可与 toll样受体 (TLR) 激动剂一起施用。TLR激动剂是选自由 TLR1、TLR2、TLR3、TLR4和TLR9组成的组的TLR的配体。例如TLR激动剂可为选自由Pam3CSK4、Pam3CSK4、聚I:C、Ribomuny1和CpG ODN组成的组的配体。

[0185] 公开的化合物还可与血管生成抑制剂一起施用,所述血管生成抑制剂是一种可抑制新血管生成(neovascularization)或扩大现有毛细管网络至肿瘤细胞周围的组织中的药剂。适合的血管生成抑制剂可为具有血管生成抑制活性的多肽,诸如肿瘤相关抗原PSA。其它适合的血管生成抑制剂可为VEGF相关血管生成的拮抗剂,例如细胞表面上VEGF受体的拮抗剂。可使用的一种单克隆抗体是LM609 (ATCC HB9537)。

[0186] 施用

[0187] 公开的化合物可顺序或同时以单独或组合的药物制剂施用。当一种或多种公开的化合物与第二治疗剂组合使用时,每种化合物的剂量可为相同的或不同于单独使用化合物时的剂量。适当的剂量将由本领域技术人员容易地理解。

[0188] 术语“施用”及其变型(如“施用”化合物)就本文所述的化合物而言意指将化合物或化合物前药引入至需要治疗的动物的系统中。当如本文所述的化合物或其前药与一种或多种活性剂(如毒性剂等)组合使用时,“施用”及其变型各自被理解为包括同时和连续引入化合物或其前药和其它试剂。

[0189] 体内施加公开的化合物和含有其的组合物可通过本领域技术人员目前或预期已知的任何适当的方法和技术实现。例如公开的化合物可配制为生理上-或药学上-可接受的形式并通过本领域已知的任何适合的途径施用,所述途径包括例如经口、经鼻、经直肠、局部和肠胃外施用途径。如本文所用,术语肠胃外包括皮下、真皮内、静脉内、肌内、腹腔内和

胸骨内施用诸如通过注射。施用公开的化合物或组合物可为单次施用,或以如本领域技术人员容易确定的连续或分隔的间隔施用。

[0190] 本文公开的化合物和包含其的组合物还可使用脂质体技术、缓释胶囊、可植入泵和可生物降解的容器施用。这些递送方法可有利地长期提供一致剂量。所述化合物还可以盐衍生物形式或晶体形式施用。

[0191] 本文公开的化合物可根据制备药学上可接受的组合物的已知方法配制。配方详述于多种来源中,其为本领域技术人员熟知并可容易获得。例如E.W.Martin(1995) Remington's Pharmaceutical Science描述了可与公开方法结合使用的制剂。通常,还可配制本文公开的化合物使得有效量的化合物与适合的载体合并以促进有效施用化合物。使用的组合物还可呈多种形式。这些包括例如固体、半固体和液体剂型,诸如片剂、丸剂、粉剂、液体溶液或混悬剂、栓剂、可注射和可输注的溶液及喷雾剂。优选的形式取决于预期施用模式和治疗应用。所述组合物还可优选包含本领域技术人员熟知的常规药学上可接受的载体和稀释剂。与化合物一起使用的载体或稀释剂的实例包括乙醇、二甲基亚砜、甘油、氧化铝、淀粉、盐水及等效载体和稀释剂。为了提供施用用于所需治疗性治疗的此类剂量,基于总组合物(包含载体或稀释剂)重量,本文公开的组合物可有利地包含约0.1%至99%,并且特别地1至15重量%的所有一种或多种主题化合物。

[0192] 适用于施用的制剂包括例如可含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和赋予制剂与预期受者血液等渗的溶质的水性无菌注射溶液;和可包含助悬剂和增稠剂的水性和非水性无菌混悬液。所述制剂可存在于单位剂量或多剂量容器中,例如密封安瓿和小瓶,并可储存在冷冻干燥(冻干)条件下,只需在使用前添加无菌液体载体,例如注射用水。可由无菌粉末、颗粒和片剂制备临时的注射溶液和混悬液。应理解除了以上特别提及的成分之外,考虑到讨论的制剂的类型,本文公开的组合物可包括本领域中常规的其它试剂。

[0193] 可通过与细胞直接接触或经由载体方式将本文公开的化合物和包含其的组合物递送至细胞。用于递送化合物和组合物至细胞的载体是本领域中已知的,并且包括例如包封组合物于脂质体部分中。另一种递送本文公开的化合物和组合物至细胞的方式包括将所述化合物连接至经靶向递送至靶细胞的蛋白质或核酸。美国专利No.6,960,648和美国申请公布No.2003/0032594和2002/0120100公开了可偶联至另一种组合物并使得所述组合物被转位穿过生物膜的氨基酸序列。美国申请公布No.2002/0035243还描述了用于转运生物部分穿过细胞膜以用于胞内递送的组合物。化合物还可掺入至聚合物中,所述聚合物的实例包括用于颅内肿瘤的聚(D-L丙交酯-共-乙交酯)聚合物;20:80摩尔比的聚[双(对羧基苯氧)丙烷:癸二酸](如在GLIADEL中所用);软骨素;几丁质;和壳聚糖。

[0194] 为了治疗肿瘤学病症,可将本文公开的化合物与其它抗肿瘤或抗癌物质和/或与辐射和/或光动力疗法和/或与手术治疗组合施用给需要治疗的患者以移除肿瘤。这些其它物质或治疗可在与本文公开的化合物相同或不同时间给予。例如本文公开的化合物可与以下试剂组合使用:有丝分裂抑制剂诸如泰素或长春碱、烷化剂诸如环磷酰胺或异环磷酰胺、抗代谢药诸如5-氟尿嘧啶或羟基脲、DNA嵌入剂诸如阿霉素或博来霉素、拓扑异构酶抑制剂诸如依托泊苷或喜树碱、抗血管生成剂诸如血管生长抑素、抗雌激素诸如他莫昔芬和/或其它抗癌药物或抗体,分别诸如例如GLEEVEC(Novartis Pharmaceuticals Corporation)和HERCEPTIN(Genentech, Inc.)。

[0195] 许多肿瘤和癌症具有在肿瘤或癌症细胞中存在的病毒基因组。例如爱泼斯坦-巴尔病毒 (EBV) 与多种哺乳动物恶性肿瘤相关。本文公开的化合物还可单独使用或与抗癌剂或抗病毒剂诸如更昔洛韦、叠氮胸苷 (AZT)、拉米夫定 (3TC) 等组合使用以治疗感染了可引起细胞转化的病毒的患者和/或治疗具有与细胞中存在病毒基因组相关的肿瘤或癌症的患者。本文公开的化合物还可与基于病毒的肿瘤学疾病治疗组合使用。例如化合物可与突变单纯疱疹一起用于非小细胞肺癌的治疗中 (Toyoizumi 等, "Combined therapy with chemotherapeutic agents and herpes simplex virus type IICP34.5mutant (HSV-1716) in human non-small cell lung cancer," *Human Gene Therapy*, 1999, 10 (18) :17)。

[0196] 然后可通过本领域技术人员当前或预期已知的任何适当的治疗方法和技术实现化合物和/或含有其的组合物的治疗应用。此外,本文公开的化合物和组合物具有在其它有用的化合物和组合物的制备中作为原料或中间体的用途。

[0197] 本文公开的化合物和组合物可任选地与药学上可接受的载体诸如惰性稀释剂组合局部施用在一个或多个解剖位点处诸如非所需的细胞生长位点(诸如肿瘤位点或良性皮肤生长,如注射或局部施加至肿瘤或皮肤生长)。本文公开的化合物和组合物可任选地与药学上可接受的载体诸如惰性稀释剂或可吸收食用载体组合以用于经口递送诸如静脉内或经口全身施用。它们可封闭在硬质或软质外壳明胶胶囊中,可压制成片剂,或可直接与患者的膳食的食物合并。对于经口治疗性施药,活性化合物可与一种或多种赋形剂组合且以可摄取片剂、经颊片剂、锭剂、胶囊剂、酏剂、混悬液、糖浆剂、糯米纸囊剂 (wafer)、气溶胶喷雾剂等形式使用。

[0198] 片剂、锭剂、丸剂、胶囊剂等也可含有以下各物:粘合剂,诸如黄蓍树胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;赋形剂,诸如磷酸二钙;崩解剂,诸如玉米淀粉、马铃薯淀粉、海藻酸等;润滑剂,诸如硬脂酸镁;以及甜味剂,诸如蔗糖、果糖、乳糖或阿斯巴甜 (aspartame) 或调味剂,诸如胡椒薄荷、冬青油,或可添加樱桃调味剂。当单位剂型是胶囊时,除以上类型的物质之外,它也可含有液体载体,诸如植物油或聚乙二醇。各种其它物质可作为包衣存在或可存在以另外改善固体单位剂型的物理形式。例如,片剂、丸剂或胶囊剂可用明胶、蜡、虫胶或糖等包衣。糖浆或酏剂可含有活性化合物、作为甜味剂的蔗糖或果糖、作为防腐剂的对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯、染料和调味剂诸如樱桃或橙调味剂。当然,用于制备任何单位剂型的任何物质都应为药学上可接受的且在所用量下基本上无毒。此外,活性化合物可并入持续释放制剂和装置中。

[0199] 可静脉内、肌内或腹腔内通过输注或注射施用本文公开的化合物和组合物,包括其药学上可接受的盐、水合物或类似物。活性剂或其盐的溶液可在任选地与无毒性表面活性剂混合的水中制备。也可于甘油、液体聚乙二醇、三乙酸甘油酯及其混合物中以及于油中制备分散液。在储存和使用的普通条件下,这些制剂含有防腐剂以防止微生物生长。

[0200] 适于注射或输注的医药剂型可包括无菌水溶液或分散液或包含适合于临时制备无菌可注射或可输注溶液或分散液,任选囊封于脂质体中的活性成分的无菌粉末。最终的剂型应为无菌、流体并且在制造和贮藏的条件下稳定。液体载体或媒介物可为溶剂或液体分散介质,其包括例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)、植物油或无毒甘油酯及其适合混合物。适当流动性可例如通过形成脂质体、在分散液的情况下通过维持所需粒度或通过使用表面活性剂加以维持。任选地,防止微生物作用可通过各种抗细菌

剂和抗真菌剂(例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等)来达成。在许多情况下,将为优选的是包括等渗剂,例如糖、缓冲剂或氯化钠。延长可注射组合物的吸收可通过在组合物中使用延迟吸收的试剂,例如单硬脂酸铝和明胶来实现。

[0201] 通过以下方式制备无菌可注射溶液:将本文公开的化合物和/或试剂以要求的量连同上文列举的多种其他成分一起并入适宜的溶剂中,根据需要,随后过滤器灭菌。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术,其产生活性成分外加存在于先前无菌过滤溶液中的任何其它所需成分的粉末。

[0202] 对于局部施用,本文公开的化合物和试剂可以液体或固体形式施加。然而,将通常合乎需要的是与皮肤病学上可接受的可为固体或液体的载体组合,以组合物形式向皮肤局部施用它们。本文公开的组合物和试剂可局部施加至受试者皮肤以减小尺寸(并可包括完全去除)恶性或良性生长,或治疗感染位点。本文公开的组合物和试剂可直接施加至生长或感染位点。优选地,将所述化合物和试剂以制剂的形式诸如软膏剂、乳膏剂、洗剂、溶液、酊剂等施加至生长或感染位点。还可使用用于递送药理学物质至真皮病变的药物递送系统,诸如美国专利No.5,167,649所述的那种。

[0203] 有用的固体载体包括微细固体,如滑石、粘土、微晶纤维素、二氧化硅、氧化铝等。有用的液体载体包括所述化合物可任选借助于无毒表面活性剂在有效水平下溶解或分散于其中的水、醇或二醇或水-醇/二醇掺合物。诸如芳香剂及其它抗微生物剂的佐剂可被添加来使给定用途的性质最优化。例如,所得液体组合物可自吸收垫施加,用于浸渍绷带和其它敷料,或使用泵型喷雾器或气溶胶喷雾器喷雾于受影响区域上。

[0204] 诸如合成聚合物、脂肪酸、脂肪酸盐和酯、脂肪醇、改性纤维素或改性矿物质的增稠剂也可与液体载体一起用于形成用于直接向使用者的皮肤施加的可涂敷糊剂、凝胶剂、软膏剂、皂剂等。可用于向皮肤递送化合物的有用皮肤学组合物的实例公开于美国专利No.4,608,392;美国专利No.4,992,478;美国专利No.4,559,157;和美国专利No.4,820,508中。

[0205] 本文公开的组合物和试剂及药物组合物的有用剂量可通过比较其在动物模型中的体外活性和体内活性来测定。用于将小鼠和其它动物中的有效剂量外推至人的方法为本领域所知;例如参见美国专利No.4,938,949。

[0206] 还公开了包含与药学上可接受的载体组合的本文公开的化合物的药物组合物。包含一定量的化合物的适用于经口、局部或胃肠外施用的药物组合物构成优选的方面。向患者(特别是人)施用的剂量应该足以在患者中经合理的时间范围内实现治疗响应,而无致命毒性并优选地导致不超过可接受水平的副作用或死亡。本领域的技术人员将认识到,剂量取决于多种因素,包括受试者的状况(健康)、受试者体重、并行治疗的种类、(如果存在)治疗的频率、治疗比率以及病理状况的严重性和阶段。

[0207] 为了治疗肿瘤学病症,本文公开的化合物和试剂及组合物可在其它抗肿瘤或抗癌剂或物质(如化疗剂、免疫治疗剂、放疗剂、细胞毒性剂等)和/或放射疗法和/或手术治疗之前、之后或与其组合施用给需要治疗的患者以移除肿瘤。例如本文公开的化合物和试剂及组合物可用于治疗癌症的方法中,其中患者待用以下试剂治疗或用或已经用以下试剂治疗:有丝分裂抑制剂诸如泰素或长春碱、烷化剂诸如环磷酰胺或异环磷酰胺、抗代谢药诸如5-氟尿嘧啶或羟基脲、DNA嵌入剂诸如阿霉素或博来霉素、拓扑异构酶抑制剂诸如依托泊苷

或喜树碱、抗血管生成剂诸如血管生长抑素、抗雌激素诸如他莫昔芬和/或其它抗癌药物或抗体诸如例如分别为GLEEVEC (Novartis Pharmaceuticals Corporation; East Hanover, NJ) 和HERCEPTIN (Genentech, Inc.; South San Francisco, CA)。这些其它物质或放射疗法可与本文公开的化合物同时或不同时给予。其它适当的化疗剂的实例包括但不限于六甲蜜胺、博来霉素、硼替佐米 (VELCADE)、白消安、亚叶酸钙、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、顺铂、克拉屈滨、克立他酶 (crisantaspase)、环磷酰胺、阿糖胞苷、达卡巴嗪、更生霉素、柔红霉素、多西他赛、多柔比星、表柔比星、依托泊苷、氟达拉滨、氟尿嘧啶、吉非替尼 (IRESSA)、吉西他滨、羟基脲、伊达比星、异环磷酰胺、伊马替尼 (GLEEVEC)、伊立替康、脂质体多柔比星、洛莫司汀、美法仑、巯嘌呤、甲氨蝶呤、丝裂霉素、米托蒽醌、奥沙利铂、紫杉醇、喷司他丁、丙卡巴肼、雷替曲塞、链佐星、替加氟-尿嘧啶、替莫唑胺、塞替派、硫鸟嘌呤/硫代鸟嘌呤、托泊替康、曲奥舒凡、长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨。在一个示例性实施方案中, 化疗剂为美法仑。适合的免疫治疗剂的实例包括但不限于阿伦珠单抗、西妥昔单抗 (ERBITUX)、吉姆单抗、碘131托西莫单抗、利妥昔单抗、曲妥珠单抗 (HERCEPTIN)。细胞毒性剂包括例如放射性同位素 (如I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、P³²等) 和细菌、真菌、植物或动物来源的毒素 (如蓖麻毒素、肉毒杆菌毒素、炭疽霉素、黄曲霉毒素、水母毒液 (如箱型水母等))。还公开了治疗肿瘤学病症的方法, 所述方法包括在施用化疗剂、免疫治疗剂或放疗剂或放疗之前、之后和/或与其组合施用有效量的本文公开的化合物和/或试剂。

[0208] 试剂盒

[0209] 还提供了用于实施本文公开的方法的试剂盒。“试剂盒”意指包括至少一种试剂如表1公开的任何化合物的任何制造 (如包装或容器)。可将所述试剂盒以进行本文公开的方法的单元推广、分发或销售。另外地, 试剂盒可含有描述试剂盒和其使用方法的包装插入页。任何或所有试剂盒试剂可在使得其远离外部环境的容器内提供, 诸如在密封容器中或小袋中。

[0210] 为了提供施用此类剂量用于所需的治疗性治疗, 在一些实施方案中, 基于总组合物的重量 (包含载体或稀释剂), 本文公开的药物组合物可包含约0.1%至45%, 且特别地1至15重量%的全部一种或多种化合物。说明性地, 施用的活性成分的剂量水平可为: 静脉内, 0.01至约20mg/kg; 腹腔内, 0.01至约100mg/kg; 皮下, 0.01至约100mg/kg; 肌内, 0.01至约100mg/kg; 经口, 0.01至约200mg/kg, 并且优选约1至100mg/kg; 鼻内滴注, 0.01至约20mg/kg; 及气溶胶, 0.01至约20mg/kg的动物 (身体) 重量。

[0211] 还公开了一个或多个容器中的包含组合物的试剂盒, 所述组合物包含本文公开的化合物。公开的试剂盒可任选地包括药学上可接受的载体和/或稀释剂。在一个实施方案中, 试剂盒包括一种或多种如本文所述的组分、辅助剂或佐剂。在另一个实施方案中, 试剂盒包括一种或多种抗癌剂, 诸如本文所述的那些试剂。在一个实施方案中, 试剂盒包括描述如何施用试剂盒的化合物或组合物的说明书或包装材料。试剂盒的容器可具有任何适合的材料, 如玻璃、塑料、金属等, 并且有适合的尺寸、形状或构型。在一个实施方案中, 本文公开的化合物和/或试剂呈固体诸如片剂、丸剂或粉末形式提供在试剂盒中。在另一个实施方案中, 本文公开的化合物和/或试剂可呈液体或溶液提供在试剂盒中。在一个实施方案中, 所述试剂盒包括含有呈液体或溶液形式的本文公开的化合物和/或试剂的安瓿或注射器。

[0212] 筛选方法

[0213] 本文还公开了鉴定包含推测抗癌化合物的方法,所述方法包括使Ack1酪氨酸激酶与靶化合物接触并测定所述化合物是否结合呈DFG-外构型的激酶,其中结合DFG-外构型的化合物被鉴定为推测抗癌化合物。

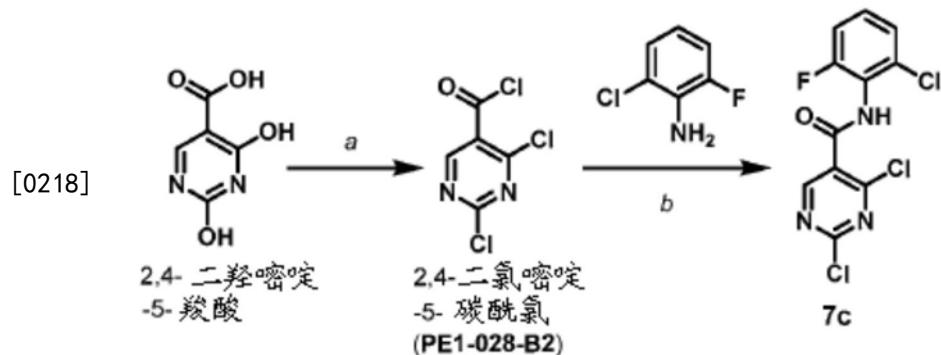
实施例

[0214] 提出以下实施例以向本领域的普通技术人员提供就本文所要求保护的化合物、组合物、制品、装置和/或方法如何制备和评估的全部公布内容和描述,且旨在仅仅为本发明的示例且不旨在限制发明人认为是其发明的范围。已经做出努力以确保关于数字(例如量、温度等)的正确性,但是应该考虑一些错误和偏差。除非另外指出,否则份为重量份,温度以℃计或为室温,并且压力为或接近大气压。

[0215] ACK1,激活的CDC42相关激酶1;DMF,二甲基甲酰胺;DMSO,二甲亚砜;DCM,二氯甲烷;ELISA,酶联免疫吸附试验;ESI,电喷雾电离;HRMS,高分辨率质谱;HPLC,高效液相色谱;HCl,盐酸;LC-MS,液相色谱质谱;mCPBA,间氯过氧苯甲酸;SAR,结构活性关系;TFA,三氟乙酸;THF,四氢呋喃。

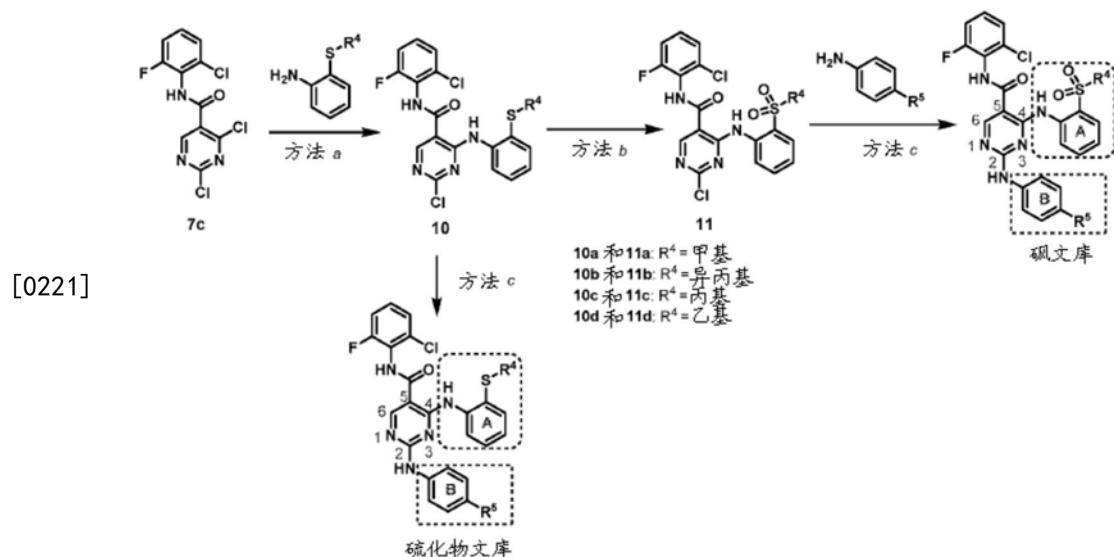
[0216] 化合物合成

[0217] 化合物7c,为用于本文公开的另外化合物的构建单元,如方案1所示合成。

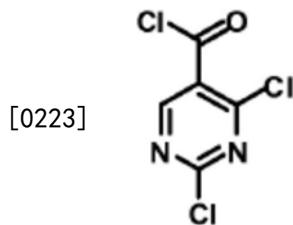


[0219] 方案1:用于文库合成的构建单元7c合成。a:POCl₃,0℃,PCl₅,16h,99%。b:THF,15h,75%。

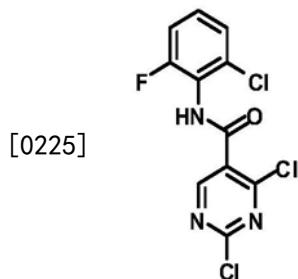
[0220] 在可使用7c的情况下,方案2说明了另外化合物的合成。



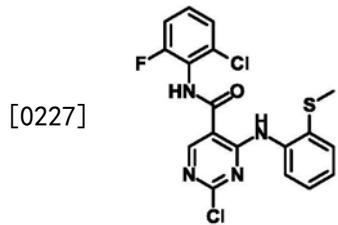
[0222] 方案2:双苯胺基嘧啶文库与砜-取代的A-环的合成。并且硫化物-取代的A环。方法a:DIPEA,THF,120℃,1h,77-90%。方法b:mCPBA,EtOAc,0℃-室温,2h,70-96%。方法c:催化剂4M于二噁烷中的HCl,微波加热180℃,30分钟,68-97%。



[0224] 2,4-二氯嘧啶-5-碳酸氯 (PE1-028-B2,方案1):向于圆底烧瓶中的POCl₃ (45mL, 0.071mol) 在0℃下分批添加2,4-二羟基嘧啶-5-羧酸 (10.00g, 0.064mol) ,然后缓慢添加PCl₅ (46.60g, 0.229mol)。将反应混合物升温至室温并加热至回流持续16h。将混合物浓缩至干、用DCM (30mL) 浆化,并将沉淀的固体过滤并用DCM (2x 20mL) 洗涤。将滤液减压蒸发以得到呈黄色油状物的标题化合物 (13.900g, 99%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) :89.25 (s, 1H)。

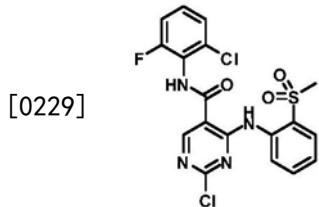


[0226] 2,4-二氯-N-(2-氯-6-氟苯基) 嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-011, 7c):向从上步获得的PE1-028-B2酰氯 (6.36g, 0.030mol) 于THF (40mL) 中的溶液在惰性条件下,分批添加2-氯-6-氟苯胺 (4.38g, 0.03mol) ,并将反应混合物在室温下搅拌15h。将所得的沉淀物过滤、用DCM (15mL) 洗涤,并将获得的固体于HCl (1M, 100mL) 中超声处理、过滤且依次用水 (20mL) 、DCM (20mL) 洗涤,并在高真空下干燥以获得呈白色固体的标题化合物7c (5.529g)。将第一滤液 (即THF和DCM) 浓缩、用DCM (15mL) 浆化并过滤以得到固体。将所述固体用HCl (1M, 30mL) 再次超声处理、过滤并依次用水 (20mL) 、DCM (15mL) 洗涤并在高真空下干燥以获得另一批也呈白色固体的纯产物7c (1.702g)。7c的合并产率 (7.231g, 75%) ,mp 207-211℃。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) :810.71 (s, 1H) ,9.03 (s, 1H) ,7.48-7.36 (m, 3H) ;¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) :-115.25, -115.28 (m) ;LC-MS (ESI+) m/z 319.96 (M+H)⁺;HRMS (ESI+) m/z C₁₁H₆Cl₃FN₃O (M+H)⁺计算值319.9555,实测值319.9562。

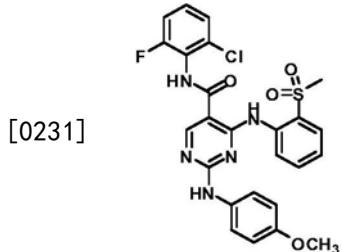


[0228] 2-氯-N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(甲基硫代)苯基氨基) 嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-031-B2):向YL7-011, (7c) (1.00g, 3.12mmol) 于THF (5mL) 中的溶液添加2-(甲基硫代) 苯胺 (0.522g, 3.750mmol) 和DIPEA (0.652mL, 3.750mmol) 并在微波反应器中在120℃下加热1h。

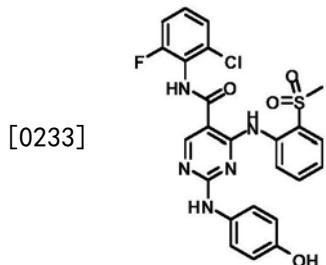
减压去除溶剂并使用SiO₂色谱 (EtOAc于己烷中,梯度洗脱) 纯化粗混合物,得到呈白色固体的标题化合物10a (1.202g, 91%) ,mp 204–206°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ10.85 (s, 1H) , 10.66 (s, 1H) , 8.99 (s, 1H) , 7.87 (dd, J=8.0, 1.6Hz, 1H) , 7.78–7.34 (m, 4H) , 7.27 (td, J=7.6, 1.6Hz, 1H) , 7.21 (td, J=7.6, 1.6Hz, 1H) , 2.39 (s, 3H) ;LC-MS (ESI+) m/z 423.03 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₈H₁₄Cl₂FN₄OS (M+H)⁺计算值423.0244, 实测值423.0241



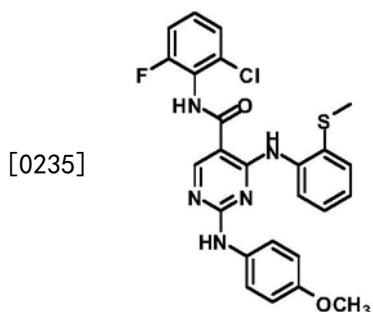
[0230] 2-氯-N- (2-氯-6-氟苯基) -4- (2- (甲基磺酰基) 苯基氨基) 噻啶-5-甲酰胺 (YL7-034) :向YL7-031-B2 (0.634g, 1.50mmol) 于EtOAc (40mL) 中的混悬液在0°C下添加m-CPBA (77%最大值, 1.014g, 4.50mmol)。将混合物升温至室温并搅拌2h。将反应物用EtOAc (20mL) 稀释, 并依次用饱和Na₂S₂O₃/NaHCO₃ (1:1, 20mL) 、饱和NaHCO₃ (20mL) 和盐水 (20mL) 洗涤。将有机层经Na₂SO₄干燥、过滤并蒸发至干。将获得的固体用DCM/己烷 (1:5比率, 5mL) 浆化、过滤并在高真空下干燥以得到呈纯米色固体的标题化合物 (0.657g, 96%) ,mp 211–214°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ11.10 (s, 1H) , 10.63 (s, 1H) , 9.03 (s, 1H) , 8.02 (d, J=8.0Hz, 1H) , 7.90 (dd, J=8.0, 1.6Hz, 1H) , 7.79–7.71 (m, 1H) , 7.55–7.33 (m, 4H) , 3.16 (s, 3H) ;LC-MS (ESI+) m/z 455.02 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₈H₁₄Cl₂FN₄O₃S (M+H)⁺计算值455.0142, 实测值455.0134。



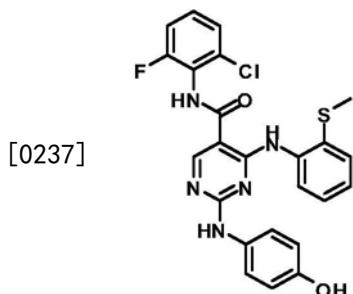
[0232] N- (2-氯-6-氟苯基) -2- (4-甲氧基苯基氨基) -4- (2- (甲基磺酰基) 苯基氨基) 噻啶-5-甲酰胺 (YL7-037) :将YL7-034 (0.050g, 0.110mmol) 、4-甲氧基苯胺 (0.016g, 0.132mmol) 、4M于二噁烷中的HCl (0.033mL, 0.132mmol) 于二噁烷 (1mL) 中的混合物在微波反应器中在180°C下加热30分钟。将混合物蒸发至干、添加EtOAc (5mL) 并超声处理。将所得的固体过滤、用饱和NaHCO₃ (5mL x 2) 、水 (5mL x 2) 洗涤并真空干燥以得到呈纯米色固体的标题化合物 (0.058g, 97%) ,mp 267°C (dec) 。HPLC 98.8% (t_R=10.18min, 55%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min) ;¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ11.08 (s, 1H经D₂O摇动就消失) , 10.09 (s, 1H经D₂O摇动就消失) , 9.79 (brs, 1H经D₂O摇动就消失) , 8.94 (s, 1H) , 8.12 (brs, 1H) , 7.87 (dd, J=7.6, 1.2Hz, 1H) , 7.73 (t, J=7.2Hz, 1H) , 7.46–7.33 (m, 6H) , 6.75 (brs, 2H) , 3.68 (s, 3H) , 3.01 (s, 3H) ;¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ-115.91--115.95 (m) ;LC-MS (ESI+) m/z 542.10 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₅H₂₂ClFN₅O₄S (M+H)⁺计算值542.1060, 实测值542.1062。



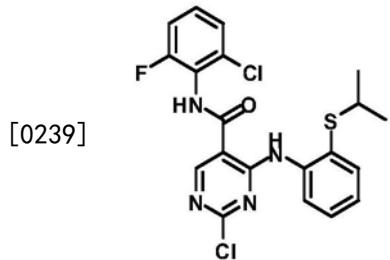
[0234] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(4-羟基苯基氨基)-4-(2-(甲基磺酰基)苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-038) : 使用针对YL7-037所述的程序(除了使用4-氨基苯酚(0.014g, 0.132mmol)和YL7-034(0.050g, 0.110mmol)之外)合成该化合物以获得呈纯浅褐色固体的标题化合物(0.056g, 97%) ,mp:238°C (dec) 。HPLC 96.7% ($t_R=7.34\text{min}$, 50%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min) ;¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ11.09 (s, 1H经D₂O摇动就消失) , 10.09 (s, 1H经D₂O摇动就消失) , 9.72 (brs, 1H经D₂O摇动就消失) , 9.15 (brs, 1H经D₂O摇动就消失) , 8.92 (s, 1H) , 8.12 (brs, 1H) , 7.87 (dd, $J=8.0, 1.6\text{Hz}$, 1H) , 7.70 (t, $J=7.8\text{Hz}$, 1H) , 7.52-7.23 (m, 6H) , 6.58 (brs, 2H) , 3.11 (s, 3H) ;¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ-115.99--116.03 (m) ;LC-MS (ESI+) m/z 528.09 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₄H₂₀C1FN₅O₄S (M+H)⁺计算值528.0903, 实测值528.0899。



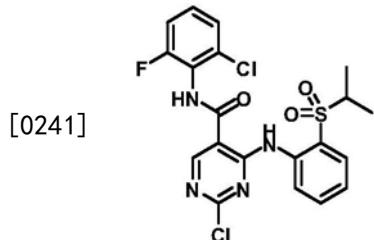
[0236] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(4-甲氧基苯基氨基)-4-(2-(甲基硫代)苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-039-1) : 使用针对YL7-037所述的程序(除了使用4-甲氧基苯胺(0.018g, 0.142mmol)和YL7-031B2(0.050g, 0.118mmol)之外)合成该化合物, 以获得呈纯灰色固体的标题化合物(0.056g, 93%) ,mp:261°C (dec) 。HPLC 95.7% ($t_R=12.03\text{min}$, 65%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min) ;¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ10.85 (s, 1H经D₂O摇动就消失) , 10.10 (s, 1H经D₂O摇动就消失) , 9.72 (brs, 1H经D₂O摇动就消失) , 8.91 (s, 1H) , 7.94 (brs, 1H) , 7.50-7.35 (m, 6H) , 7.23-7.14 (m, 2H) , 6.78 (brs, 2H) , 3.70 (s, 3H) , 2.37 (s, 3H) ;¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ-116.18--116.21 (m) ;LC-MS (ESI+) m/z 510.12 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₅H₂₂C1FN₅O₂S (M+H)⁺计算值510.1161, 实测值510.1151。



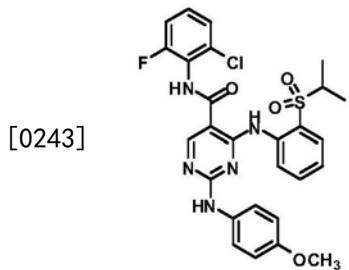
[0238] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(4-羟基苯基氨基)-4-(2-(甲基硫代)苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺(YL7-039-2)：使用针对YL7-037所述的程序(除了使用4-氨基苯酚(0.016g,0.142mmol)和YL7-031B2(0.050g,0.118mmol)之外)合成该化合物以获得呈纯灰色固体的标题化合物(0.055g,93%)，mp:246°C(dec)。HPLC 99.3% (t_R=9.81min,60%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min);¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)：δ11.04(s,1H),10.34(s,1H),9.99(s,1H),8.91(s,1H),7.86(brs,1H),7.48-7.18(m,8H),6.63(brs,2H),2.38(s,3H);¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆)：δ-116.06(s);LC-MS(ESI+)m/z 496.11(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₂₄H₂₀C1FN₅O₂S(M+H)⁺计算值496.1005,实测值496.0996。



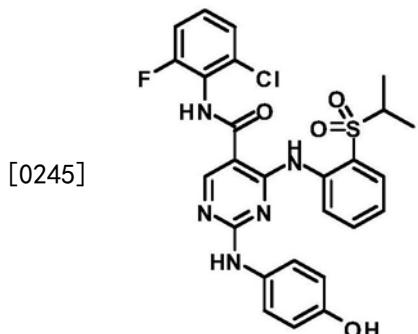
[0240] 2-氯-N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(异丙基硫代)苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺(YL7-040)：将YL7-011(7c)、(1.000g,3.125mmol)、2-异丙基硫代苯胺盐酸盐(0.770g,3.750mmol)和DIPEA(1.30mL,7.500mmol)于THF(5mL)中的溶液在微波反应器中在120°C下加热1h。将反应混合物蒸发至干、添加水(20mL)并将混合物超声处理10分钟。将所得的沉淀物过滤并用水(20mL)洗涤。将在该点获得的黄色固体在DCM(10mL)中超声处理、过滤、用DCM(2mL)洗涤和真空干燥以得到呈白色固体的标题化合物10b(1.187g,84%)，mp:202-205°C。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)：δ11.28(s,1H),10.66(s,1H),8.98(s,1H),8.22(d,J=8.4Hz,1H),7.54(d,J=7.6Hz,1H),7.50-7.38(m,4H),7.17(t,J=7.6Hz,1H),3.23-3.14(m,1H),1.11(d,J=6.4Hz,6H);LC-MS(ESI+)m/z 451.06(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₂₀H₁₈C1₂FN₄OS(M+H)⁺计算值451.0557,实测值451.0552。



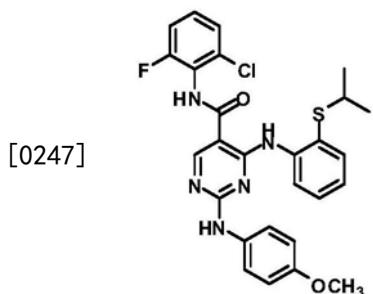
[0242] 2-氯-N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(异丙基磺酰基)苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺(YL7-041)：使用针对YL7-034所述的程序(除了使用YL7-040(0.676g,1.500mmol)和m-CPBA(77%最大值,1.014g,4.500mmol)之外)合成该化合物,以获得呈纯白色固体的标题化合物(0.657g,91%)，mp:225-227°C。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)：δ11.14(s,1H),10.62(s,1H),9.01(s,1H),8.07(d,J=8.0Hz,1H),7.85(dd,J=7.6,1.6Hz,1H),7.78(appt,1H),7.50-7.37(m,4H),1.09(d,J=6.8Hz,6H);LC-MS(ESI+)m/z 483.04(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₂₀H₁₈C1₂FN₄O₃S(M+H)⁺计算值483.0455,实测值483.0458。



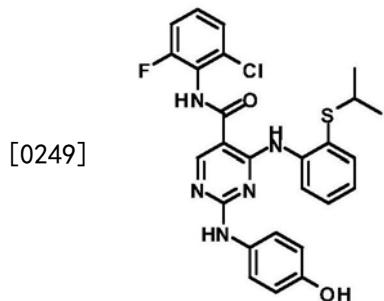
[0244] N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(异丙基磺酰基)苯基氨基)-2-(4-甲氧基苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺(YL7-045-1):使用针对YL7-037所述的程序(除了使用YL7-041(0.054g,0.111mmol)和4-甲氧基苯胺(0.016g,0.133mmol)之外),合成该化合物以获得呈白色固体的标题化合物(0.058g,91%),mp:246°C(dec).HPLC 99.5%($t_R=5.49\text{min}$,65%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min);¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ11.13(s,1H经D₂O摇动就消失),10.15(s,1H经D₂O摇动就消失),9.91(brs,1H经D₂O摇动就消失),9.15(brs,1H经D₂O摇动就消失),8.92(s,1H),8.06(brs,1H),7.83(dd,J=7.6,1.2Hz,1H),7.70(appt,1H),7.47-7.34(m,6H),6.74(brs,2H),3.69(s,3H),3.30-3.25(m,1H),1.06(d,J=6.8Hz);¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆):δ-116.13--116.16(m);LC-MS (ESI+) m/z 570.14 (M+H)⁺;HRMS (ESI+) m/z C₂₇H₂₆ClFN₅O₄S (M+H)⁺计算值570.1373,实测值570.1372。



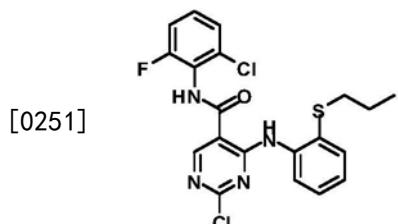
[0246] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(4-羟基苯基氨基)-4-(2-(异丙基磺酰基)苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺(YL7-045-2):使用针对YL7-037所述的程序(除了使用4-氨基苯酚(0.015g,0.133mmol)和YL7-041(0.054g,0.111mmol)之外)合成该化合物以获得呈纯褐色固体的标题化合物(0.045g,73%),mp:168°C(dec)。HPLC 95.7%($t_R=3.10\text{min}$,65%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min);¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ11.06(s,1H),10.06(s,1H),9.72(brs,1H),9.11(brs,1H),8.90(s,1H),8.05(brs,1H),7.83(d,J=8.0Hz,1H),7.70(t,J=7.6Hz,1H),7.46-7.30(m,6H),6.54(brs,2H),1.06(d,J=6.8Hz);¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆):δ-116.12--116.16(m);LC-MS(ESI+)m/z 556.12(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₂₆H₂₄C1FN₅O₄S(M+H)⁺计算值556.1216,实测值556.1216。



[0248] N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(异丙基硫代)苯基氨基)-2-(4-甲氧基苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-045-3) : 使用针对YL7-037的程序(除了使用YL7-040 (0.050g, 0.111mmol) 和4-甲氧基苯胺 (0.016g, 0.113mmol) 之外) 合成该化合物以获得呈纯白色固体的标题化合物 (0.031g, 52%) , mp: 237-240 °C 。HPLC 99.7% ($t_R = 7.03\text{min}$, 75% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min) ; ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 11.41 (s, 1H) , 10.29 (s, 1H) , 10.03 (brs, 1H) , 8.88 (s, 1H) , 8.16 (brs, 1H) , 7.49-7.34 (m, 6H) , 7.28 (brs, 1H) , 7.11 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H) , 6.86 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H) , 3.72 (s, 3H) , 3.20-3.13 (m, 1H) , 1.09 (d, $J = 6.8\text{Hz}$, 6H) ; ^{19}F NMR (376MHz, DMSO-d_6) : δ -116.19--116.22 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 538.15 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{ClFN}_5\text{O}_2\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 计算值 538.1474, 实测值 538.1472。

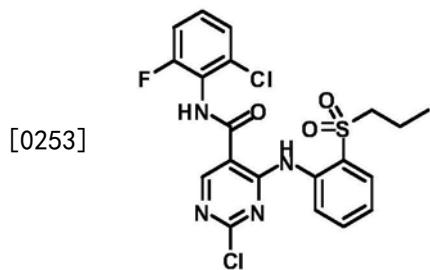


[0250] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(4-羟基苯基氨基)-4-(2-(异丙基硫代)苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-045-4) : 使用针对YL7-037的程序(除了使用YL7-040 (0.050g, 0.111mmol) 和4-氨基苯酚 (0.015g, 0.113mmol) 之外) 合成该化合物以获得呈纯米色固体的标题化合物 (0.057g, 99%) , mp: 232 °C (dec) 。HPLC 99.3% ($t_R = 12.68\text{min}$, 65% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min) ; ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 11.29 (s, 1H) , 10.10 (s, 1H) , 9.68 (brs, 1H) , 9.21 (brs, 1H) , 8.85 (s, 1H) , 8.19 (brs, 1H) , 7.47-7.33 (m, 6H) , 7.23 (brs, 1H) , 7.07 (t, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H) , 6.66 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H) , 3.19-3.12 (m, 1H) , 1.08 (d, $J = 6.4\text{Hz}$, 6H) ; ^{19}F NMR (376MHz, DMSO-d_6) : δ -116.19--116.23 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 524.14 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{ClFN}_5\text{O}_2\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 计算值 524.1318, 实测值 524.1310。

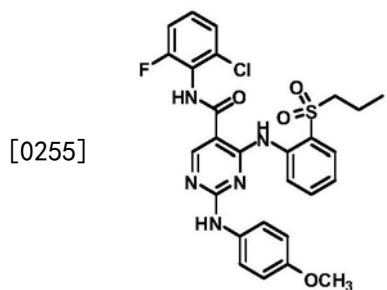


[0252] 2-氯-N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(丙基硫代)苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-051) : 将YL7-011 (7c) (1.00g, 3.12mmol) 、2-(丙基硫代)苯胺盐酸盐 (0.70g, 3.43mmol) 和 DIPEA (1.19mL, 6.87mmol) 于 THF (5mL) 中的溶液在微波反应器中在 120 °C 下加热 1h。将反应混合物蒸发至干、添加水 (20mL) 并将混合物超声处理 10 分钟。将所得的沉淀物过滤并用水 (20mL) 洗涤。将获得的黄色固体在 DCM:己烷 (6mL, 1:2) 中超声处理、过滤并真空干燥以得到呈纯白色固体的标题化合物 (1.08g, 77%) , mp: 197-200 °C 。 ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 11.04 (s, 1H) , 10.66 (s, 1H) , 8.99 (s, 1H) , 8.04 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H) , 7.52-7.38 (m, 4H) , 7.34 (appt, 1H) , 7.18 (td, $J = 7.6, 1.2\text{Hz}$, 1H) , 2.79 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H) , 1.49-1.40 (m, 2H) , 0.86 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H) ; LC-MS (ESI+) m/z 451.05 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{FN}_4\text{OS}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 计

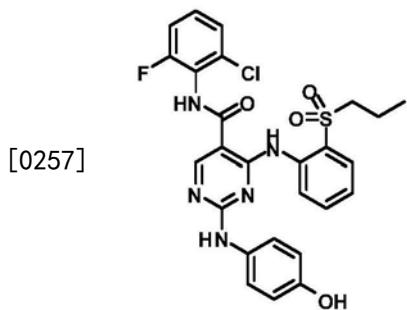
算值451.0557,实测值451.0551。



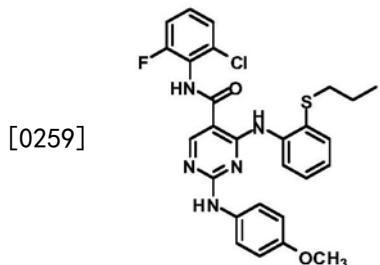
[0254] 2-氯-N- (2-氯-6-氟苯基) -4- (2- (丙基磺酰基) 苯基氨基) 嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-052) :向YL7-051 (0.676g, 1.500mmol) 于EtOAc (40mL) 中的混悬液在0°C下添加m-CPBA (77% 最大值, 1.014g, 4.500mmol)。将混合物升温至室温并搅拌2h。将所得的沉淀过滤并用EtOAc (5mL x 2) 洗涤, 得到呈白色固体的纯YL7-052 (0.510g)。将滤液浓缩至干并用EtOAc (5mL) 浆化、过滤和用EtOAc (3mL) 洗涤, 得到第二批的纯产物, 将其与第一批的固体合并, 得到标题化合物11c (0.629g, 87%) , mp:226-229°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ11.10 (s, 1H) , 10.63 (s, 1H) , 9.03 (s, 1H) , 8.03 (d, J=8.0Hz, 1H) , 7.88 (dd, J=7.6, 1.6Hz, 1H) , 7.78 (appt, 1H) , 7.50-7.40 (m, 4H) , 3.20 (t, J=7.6Hz, 2H) , 1.55-1.46 (m, 2H) , 0.81 (t, J=7.6Hz, 3H) ; LC-MS (ESI+) m/z 483.04 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₀H₁₈Cl₂FN₄O₃S (M+H)⁺计算值483.0455, 实测值483.0449。



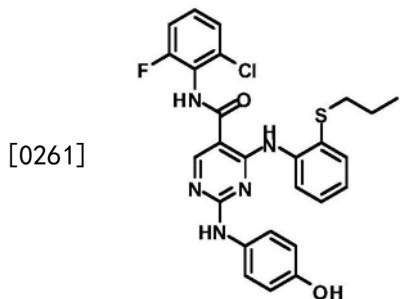
[0256] N- (2-氯-6-氟苯基) -2- (4-甲氧基苯基氨基) -4- (2- (丙基磺酰基) 苯基氨基) 嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-055-1) :使用针对YL7-037所述的程序 (除了使用YL7-052 (0.054g, 0.111mmol) 和4-甲氧基苯胺 (0.016g, 0.133mmol) 之外) 合成该化合物以获得呈米色固体的标题化合物 (0.043g, 68%) , mp:234-235°C。HPLC 99.2% (t_R=5.79min, 65%CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min) ; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ11.01 (s, 1H) , 10.09 (s, 1H) , 9.80 (brs, 1H) , 9.15 (brs, 1H) , 8.94 (s, 1H) , 8.05 (brs, 1H) , 7.86 (dd, J=8.0, 1.6Hz, 1H) , 7.75 (t, J=7.6Hz, 1H) , 7.47-7.34 (m, 6H) , 6.71 (brs, 2H) , 3.68 (s, 3H) , 3.12 (appt, 2H) , 1.47-1.42 (m, 2H) , 0.69 (brs, 3H) ; ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ-116.07--116.10 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 570.13 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₇H₂₆ClFN₅O₄S (M+H)⁺计算值570.1373, 实测值570.1364。



[0258] N- (2-氯-6-氟苯基) -2- (4-羟基苯基氨基) -4- (2- (丙基磺酰基) 苯基氨基) 噻啶-5-甲酰胺 (YL7-055-2) : 使用针对YL7-037所述的程序(除了使用YL7-052 (0.054g, 0.111mmol) 和4-氨基苯酚 (0.015g, 0.133mmol) 之外) 合成该化合物以获得呈灰色固体的标题化合物 (0.056g, 90%) , mp:165°C (dec) 。HPLC 95.9% ($t_R=3.20\text{min}$, 65% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min) ; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 11.05 (s, 1H) , 10.15 (s, 1H) , 9.81 (brs, 1H) , 8.93 (s, 1H) , 8.01 (brs, 1H) , 7.86 (dd, $J=8.0\text{Hz}$, 1H) , 7.72 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 1H) , 7.47-7.27 (m, 6H) , 6.53 (brs, 2H) , 3.13 (appt, 2H) , 1.47-1.41 (m, 2H) , 0.69 (brs, 3H) ; ^{19}F NMR (376MHz, DMSO- d_6) : δ -116.03--116.07 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 556.11 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{ClFN}_5\text{O}_4\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 计算值 556.1216, 实测值 556.1209。

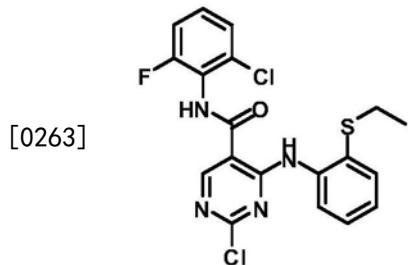


[0260] N- (2-氯-6-氟苯基) -2- (4-甲氧基苯基氨基) -4- (2- (丙基硫代) 苯基氨基) 噻啶-5-甲酰胺 (YL7-055-3) : 使用针对YL7-037所述的程序(除了使用YL7-051 (0.050g, 0.111mmol) 和4-甲氧基苯胺 (0.016g, 0.133mmol) 之外) 合成该化合物以获得呈米色固体的标题化合物 (0.040g, 67%) , mp:248-249°C。HPLC 98.8% ($t_R=6.99\text{min}$, 75% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min) ; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) : δ 11.01 (s, 1H) , 10.07 (s, 1H) , 9.69 (brs, 1H) , 8.90 (s, 1H) , 8.10 (brs, 1H) , 7.50-7.34 (m, 6H) , 7.25 (appt, 1H) , 7.11 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 1H) , 6.80 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 1H) , 3.71 (s, 3H) , 2.76 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H) , 1.48-1.39 (m, 2H) , 0.85 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H) ; ^{19}F NMR (376MHz, DMSO- d_6) : δ -116.15--116.18 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 538.14 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{ClFN}_5\text{O}_2\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 计算值 538.1474, 实测值 538.1464。

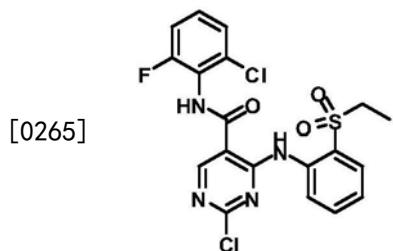


[0262] N- (2-氯-6-氟苯基) -2- (4-羟基苯基氨基) -4- (2- (丙基硫代) 苯基氨基) 噻啶-5-

甲酰胺 (YL7-055-4) : 使用针对YL7-037所述的程序 (除了使用YL7-051 (0.050g, 0.111mmol) 和4-氨基苯酚 (0.015g, 0.133mmol) 之外) 合成该化合物以获得呈米色固体的标题化合物 (0.047g, 81%) , mp: 208°C (dec) 。HPLC 99.1% (t_R =12.16min, 65% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min) ; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 11.08 (s, 1H) , 10.15 (s, 1H) , 9.73 (brs, 1H) , 9.20 (brs, 1H) , 8.87 (s, 1H) , 8.04 (brs, 1H) , 7.47-7.35 (m, 6H) , 7.20 (brs, 1H) , 7.12 (t, J =7.6Hz, 1H) , 6.64 (d, J =6.4Hz, 1H) , 2.76 (t, J =7.2Hz, 2H) , 1.48-1.39 (m, 2H) , 0.85 (t, J =7.2Hz, 3H) ; ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ -116.13--116.17 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 524.13 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₆H₂₄ClFN₅O₂S (M+H)⁺计算值524.1318, 实测值524.1307。

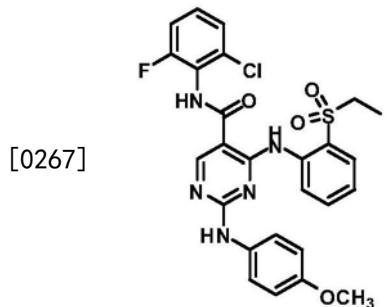


[0264] 2-氯-N- (2-氯-6-氟苯基) -4- (2- (乙基硫代) 苯基氨基) 嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-053) : 将YL7-011 (7c) (1.000g, 3.125mmol) 、2- (乙基硫代) 苯胺 (0.526g, 3.438mmol) 和 DIPEA (0.652mL, 3.75mmol) 于THF (5mL) 中的溶液在微波反应器中在120°C下加热1h。将反应混合物蒸发至干、添加水 (20mL) 并超声处理10分钟。将所得的沉淀通过过滤分离并用水 (10mL) 洗涤。将所得的浅黄色固体在DCM:己烷 (10mL, 1:1) 中超声处理、过滤并用DCM (2mL) 快速洗涤，并在高真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物 (1.35g, 99%) , mp: 205-208°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 11.04 (s, 1H) , 10.67 (s, 1H) , 8.99 (s, 1H) , 8.04 (d, J =8.4Hz, 1H) , 7.51-7.38 (m, 4H) , 7.34 (t, J =7.6Hz, 1H) , 7.19 (t, J =7.6Hz, 1H) , 2.83 (q, J =7.2Hz, 2H) , 1.10 (t, J =7.2Hz, 3H) ; LC-MS (ESI+) m/z 437.04 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₉H₁₆Cl₂FN₄OS (M+H)⁺计算值437.0400, 实测值437.0390。

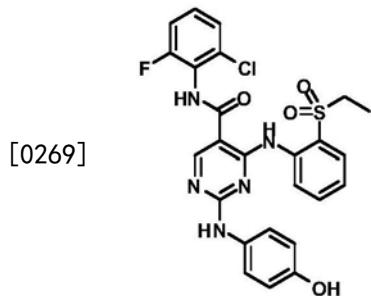


[0266] 2-氯-N- (2-氯-6-氟苯基) -4- (2- (乙基磺酰基) 苯基氨基) 嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-054) : 向YL7-053 (0.740g, 1.695mmol) 于EtOAc (40mL) 中的混悬液在0°C下添加m-CPBA (77% 最大值, 1.146g, 5.086mmol) 。将混合物升温至室温并搅拌2h。将所得的沉淀过滤并用EtOAc (10mL x 2) 洗涤, 得到纯YL7-054 (0.183g) 。将滤液用饱和Na₂S₂O₃/NaHCO₃ (30mL, 1:1) 洗涤, 然后用饱和NaHCO₃ (25mL) 、盐水 (25mL) 洗涤。将有机相经Na₂SO₄干燥、过滤并浓缩至干, 得到浅褐色固体。将固体用DCM (5mL) 超声处理、过滤并用DCM (3mL) 洗涤, 得到第二批纯产物, 将其与第一批固体合并得到呈白色固体的标题化合物 (0.555g, 70%) , mp: 230-233°C。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 11.11 (s, 1H) , 10.63 (s, 1H) , 9.02 (s, 1H) , 8.04 (d, J =8.0Hz, 1H) , 7.87 (dd, J =8.0, 1.2Hz, 1H) , 7.78 (appt, 1H) , 7.50-7.40 (m, 4H) , 3.23 (q, J =7.2Hz, 2H) , 1.03

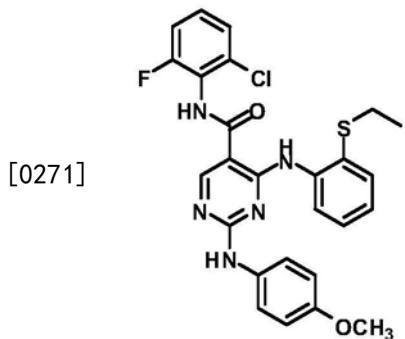
($t, J = 7.2\text{Hz}, 3\text{H}$) ; LC-MS (ESI+) m/z 469.03 ($M+\text{H}$)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₉H₁₆Cl₂FN₄O₃S ($M+\text{H}$)⁺ 计算值469.0299, 实测值469.0295。



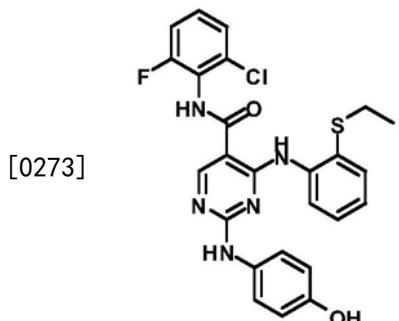
[0268] N- (2-氯-6-氟苯基)-4- (2- (乙基磺酰基) 苯基氨基)-2- (4-甲氧基苯基氨基) 噻啶-5-甲酰胺 (YL7-058-1) : 使用针对YL7-037所述的程序 (除了使用YL7-054 (0.055g, 0.117mmol) 和4-甲氧基苯胺 (0.017g, 0.141mmol) 之外) 合成该化合物以获得呈浅褐色固体的标题化合物 (0.045g, 69%) , $\text{mp}: 263\text{--}265\text{ }^\circ\text{C}$ 。HPLC 95.7% ($t_{\text{R}}=4.95\text{min}$, 65% CH₃OH于 0.1% TFA水中, 20min) ; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 11.03 (s, 1H) , 10.08 (s, 1H) , 9.78 (brs, 1H) , 9.15 (brs, 1H) , 8.93 (s, 1H) , 8.08 (brs, 1H) , 7.85 (dd, $J=8.0, 1.2\text{Hz}$, 1H) , 7.74 (appt, 1H) , 7.47-7.34 (m, 6H) , 6.74 (brs, 2H) , 3.69 (s, 3H) , 3.16 (q, $J=7.2\text{Hz}$, 2H) , 0.98 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H) ; ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ -116.00--116.03 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 556.13 ($M+\text{H}$)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₆H₂₄ClFN₅O₄S ($M+\text{H}$)⁺ 计算值556.1216, 实测值556.1199。



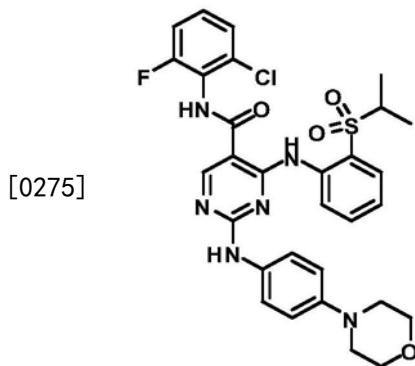
[0270] N- (2-氯-6-氟苯基)-4- (2- (乙基磺酰基) 苯基氨基)-2- (4-羟基苯基氨基) 噻啶-5-甲酰胺 (YL7-058-2) : 使用针对YL7-037所述的程序 (除了使用YL7-054 (0.051g, 0.117mmol) 和4-氨基苯酚 (0.015g, 0.141mmol) 之外) 合成该化合物以获得呈米色固体的标题化合物 (0.043g, 68%) , $\text{mp}: 201\text{ }^\circ\text{C}$ (dec) 。HPLC 96.1% ($t_{\text{R}}=5.53\text{min}$, 55% CH₃OH于 0.1% TFA水中, 20min) ; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 11.16 (s, 1H) , 10.25 (s, 1H) , 9.96 (brs, 1H) , 8.93 (s, 1H) , 8.02 (brs, 1H) , 7.86 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H) , 7.72 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 1H) , 7.45-7.26 (m, 6H) , 6.56 (brs, 2H) , 3.13 (appq, 2H) , 0.98 (brs, 3H) ; ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ -115.98 (brs) ; LC-MS (ESI+) m/z 542.11 ($M+\text{H}$)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₅H₂₂ClFN₅O₄S ($M+\text{H}$)⁺ 计算值542.1060, 实测值542.1052。



[0272] N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(乙基硫代)苯基氨基)-2-(4-甲氧基苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-058-3) : 使用针对YL7-037所述的程序(除了使用YL7-053 (0.051g, 0.117mmol) 和4-甲氧基苯胺 (0.017g, 0.141mmol) 之外) 合成该化合物以获得呈米色固体的标题化合物 (0.043g, 70%) , mp: 250°C (dec) 。HPLC 98.5% (t_R =5.66min, 75%CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min) ; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 11.15 (s, 1H) , 10.26 (s, 1H) , 9.96 (brs, 1H) , 8.90 (s, 1H) , 8.02 (brs, 1H) , 7.48-7.35 (m, 6H) , 7.25 (appt, 1H) , 7.15 (t, J=7.6Hz, 1H) , 6.56 (appd, J=5.6Hz, 2H) , 3.72 (s, 3H) , 2.81 (q, J=7.2Hz, 2H) , 1.09 (t, J=7.2Hz, 3H) ; ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ-116.11—116.14 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 524.13 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₆H₂₄ClFN₅O₂S (M+H)⁺计算值524.1318, 实测值524.1317。

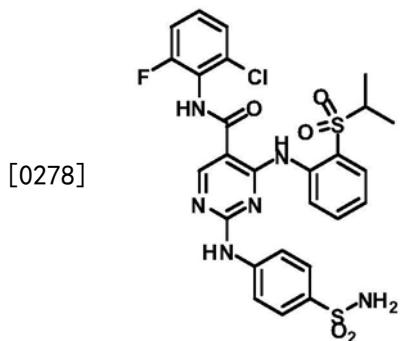


[0274] N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(乙基硫代)苯基氨基)-2-(4-羟基苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺(YL7-058-4):使用针对YL7-037所述的程序(除了使用YL7-053(0.051g,0.117mmol)和4-氨基苯酚(0.015g,0.141mmol)之外)合成该化合物以获得呈浅褐色固体的标题化合物(0.058g,97%),mp:233°C(dec)。HPLC 98.6% ($t_R=7.86\text{min}$,65%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min);¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ10.99(s,1H),10.05(s,1H),9.60(brs,1H),9.14(s,1H),8.88(s,1H),8.08(brs,1H),7.46-7.34(m,6H),7.21(brs,1H),7.10(t,J=7.6Hz,1H),6.62(appd,J=6.8Hz,2H),2.80(q,J=7.2Hz,2H),1.09(t,J=7.2Hz,3H);¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆):δ-116.12--116.16;MS (ESI+) m/z 510.13 (M+H)⁺;HRMS (ESI+) m/z C₂₅H₂₂C1FN₅O₂S (M+H)⁺计算值510.1161,实测值510.1154。



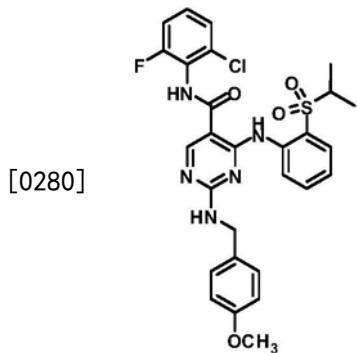
[0276] N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(异丙基磺酰基)苯基氨基)-2-(4-吗啉代苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺(YL7-097-1)：将YL7-041 (0.054g, 0.112mmol)、4-吗啉代苯胺 (0.024g, 0.134mmol)、4M于二噁烷中的HCl (0.035mL, 0.132mmol)于二噁烷 (0.5mL) 中的混合物在微波反应器中在180℃下加热30分钟。去除溶剂，并将混合物再溶解于DMC (15mL) 中并用饱和NaHCO₃ (10mL) 洗涤。将有机层经Na₂SO₄干燥、过滤并浓缩至干。将粗物质用EtOAC/己烷 (5mL, 1:1) 结晶，得到呈灰色固体的标题化合物 (0.051g, 73%)，mp: 220℃ (dec)。HPLC 99.3% (t_R = 12.33min, 55%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min)；¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 11.08 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 9.77 (brs, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.09 (brs, 1H), 7.83 (dd, J = 8.0, 1.2Hz, 1H), 7.74 (appt, 1H), 7.47-7.34 (m, 6H), 6.74 (brs, 2H), 3.71 (t, J = 4.4Hz, 4H), 3.00 (appt, 4H), 1.07 (d, J = 6.4Hz, 6H)；¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ -116.13--116.17 (m)；

[0277] LC-MS (ESI+) m/z 625.17 (M+H)⁺；HRMS (ESI+) m/z C₃₀H₃₁ClFN₆O₄S (M+H)⁺计算值 625.1795, 实测值 625.1784。

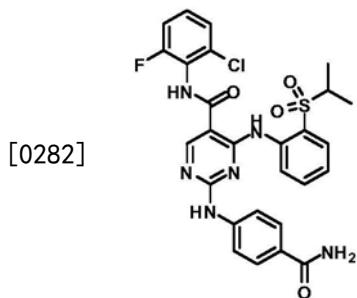


[0279] N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(异丙基磺酰基)苯基氨基)-2-(4-氨基磺酰苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺(YL7-100-1)：将YL7-041 (0.054g, 0.112mmol)、4-氨基苯磺酰胺 (0.023g, 0.134mmol)、4M于二噁烷中的HCl (0.035mL, 0.132mmol)于二噁烷 (0.5mL) 中的混合物在微波反应器中在180℃下加热30分钟。去除溶剂并将混合物用EtOAC (20mL) 再溶解，并用HCl水溶液 (1M, 15mL) 洗涤，然后用饱和NaHCO₃ (15mL) 洗涤。将有机层经Na₂SO₄干燥、过滤并浓缩至干，得到呈乳白色固体的标题化合物 (0.058g, 84%)，mp: 192℃ (dec)。HPLC 92.1% (t_R = 9.38min, 55%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min)；¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 11.08 (s, 1H 经D₂O摇动就消失), 10.29 (brs, 1H 经D₂O摇动就消失), 10.23 (s, 1H 经D₂O摇动就消失), 9.02 (s, 1H), 8.07 (brd, J = 7.6Hz, 1H), 7.89 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.79 (t, J = 7.6Hz, 1H), 7.72 (d, J = 6.8Hz, 2H), 7.56-7.35 (m, 6H), 7.19 (brs, 2H 经D₂O摇动就消失), 3.31-3.24 (m, 1H), 1.06 (d, J = 6.8Hz, 6H)；¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ -116.09--116.13 (m)；LC-MS (ESI+) m/z 619.07

(M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₆H₂₅C1FN₆O₅S₂ (M+H)⁺计算值619.0995, 实测值619.0988。

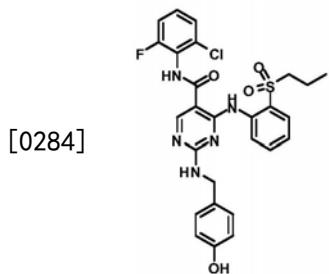


[0281] N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(异丙基磺酰基)苯基氨基)-2-(4-甲氧基苄基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-106-1) : 将YL7-041 (0.054g, 0.112mmol)、(4-甲氧基苯基)甲胺 (0.018g, 0.134mmol) 和4M于二噁烷中的HCl (0.034mL) 于二噁烷中的混合物在微波反应器中在180℃下加热30分钟。减压去除二噁烷。将所得的沉淀在乙酸乙酯 (3mL) 中浆化并超声处理。过滤沉淀。然后将固体浆化并在饱和NaHCO₃ (3mL x 2) 中超声处理、过滤、用水 (3mL x 3) 洗涤并在高真空下干燥, 得到呈白色固体的标题化合物 (0.058g, 89%)。Mp: 227℃ (dec); HPLC 99.1% (t_R=5.66min, 65%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min); ¹H NMR显示了2:1比率的阻转异构体。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ11.04 (s, 1H, [11.02少量异构体]), 9.93 (s, 1H, [9.95少量异构体]), 8.80 (s, 1H, [8.82少量异构体]), 8.31-8.27 (m, 1H), 7.93 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.79 (dd, J=7.6, 1.2Hz, 1H), 7.58 (appt, J=7.6Hz, 1H, [7.68少量异构体]), 7.45-7.30 (m, 4H), 6.99 (d, J=8.4Hz, 2H, [7.23少量异构体]), 6.74 (d, J=8.8Hz, 2H, [6.85少量异构体]), 4.24 (d, J=6.4Hz, 2H, [4.44少量异构体]), 3.66 (s, 3H, [3.70少量异构体]), 3.22-3.15 (m, 1H), 1.00 (d, J=6.8Hz, [1.09少量异构体]); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ-114.49 (s, [-114.10少量异构体]); LC-MS (ESI+) m/z 584.12 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₈H₂₈C1FN₅O₄S (M+H)⁺计算值584.1529, 实测值584.1515。



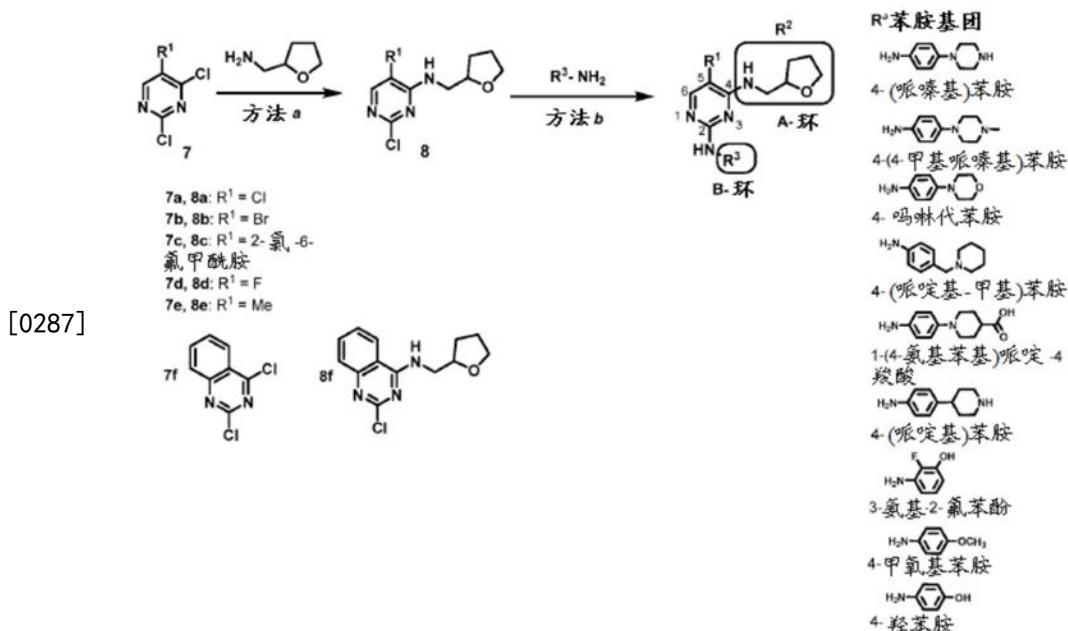
[0283] 2-(4-氨基甲酰基苯基氨基)-N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(异丙基磺酰基)苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-106-3) : 根据针对YL7-106-1所述的程序 (除了使用YL7-041 (0.054g, 0.112mmol) 和4-氨基苯甲酰胺 (0.018g, 0.134mmol) 之外) 合成该化合物, 得到呈米色固体的标题化合物 (0.051g, 78%)。Mp: 230℃ (dec); HPLC 93.9% (t_R=10.61min, 55%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min); ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ11.09 (s, 1H), 10.21 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.08 (br d, J=7.6Hz, 1H), 7.88 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.83-7.79 (m, 2H), 7.64 (br s, 4H), 7.52-7.35 (m, 4H), 7.20 (br s, 1H), 3.31-3.24 (m, 1H), 1.07 (d, J=6.8Hz, 6H); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ-116.09--116.12 (m); LC-MS (ESI+) m/z 583.12 (M+H)⁺计算值583.1529, 实测值583.1515。

H⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₇H₂₄ClFN₆O₄Na (M+Na)⁺计算值605.1145, 实测值605.1138。

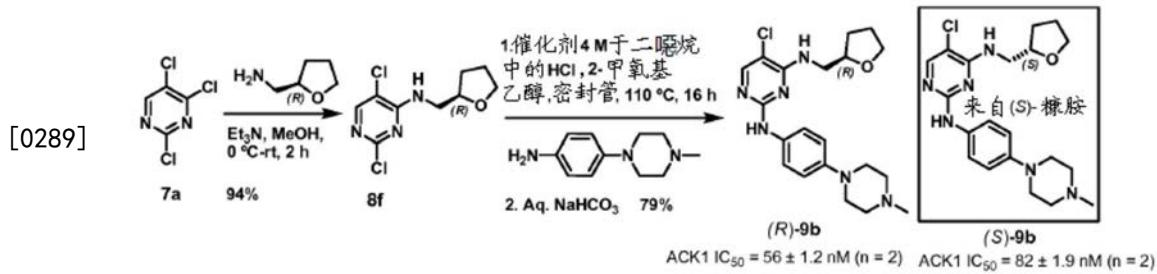


[0285] N-(2-氯-6-氟苯基)-4-(2-(异丙基磺酰基)苯基氨基)-2-(4-氨磺酰苯基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (YL7-109) : 向4-(氨基甲基)苯酚 (0.015g, 0.124mmol) 于DMF (0.7mL) 中的溶液在0℃下添加Et₃N (iPr)₂ (0.016g, 0.124mmol) 并搅拌一小时, 然后添加11c YL7-052 (0.050g, 0.104mmol)。将混合物在100℃下加热20h (反应通过HPLC-MS监测)。将1M HCl (20mL) 在冷却后添加。将所得的溶液用EtOAc (50mL) 萃取。将有机相用饱和NaHCO₃ (20mL) 洗涤、然后经Na₂SO₄ 干燥、过滤并浓缩至干。将所得的固体用EtOAc/己烷 (3mL/5mL) 再结晶、超声处理并过滤, 并在高真空下干燥, 得到呈白色固体的标题化合物 (0.053g, 90%)。Mp: 187 °C (dec)。HPLC 93.9% (t_R=7.87min, 55%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min); ¹H NMR显示了2:1比率的阻转异构体。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 10.98 (s, 1H, [10.96少量异构体]), 9.94 (s, 1H, [9.97少量异构体]), 9.20 (s, 1H, [9.24少量异构体]), 8.82 (s, 1H, [8.84少量异构体]), 8.24 (t, J=6.4Hz, 1H), 7.92 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.82 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.57 (t, J=7.6Hz, 1H, [7.66少量异构体]), 7.44-7.30 (m, 4H), 6.85 (d, J=8.4Hz, 2H, [7.09少量异构体]), 6.57 (d, J=8.4Hz, 2H, [6.66少量异构体]), 4.18 (d, J=6.0Hz, 2H, [4.40少量异构体]), 3.04 (t, J=7.6Hz, 2H, [3.15少量异构体]), 1.40-1.34 (m, 2H, [1.52-1.46少量异构体]), 0.66 (t, J=7.6Hz, [0.78少量异构体]); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆): δ -116.12--116.18 (m); LC-MS (ESI+) m/z 570.13 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₇H₂₆ClFN₅O₄S (M+H)⁺计算值570.1373, 实测值570.1387。

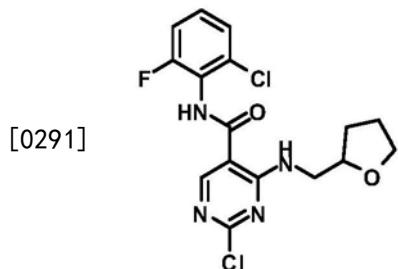
[0286] 以下合成参照了方案3和4。



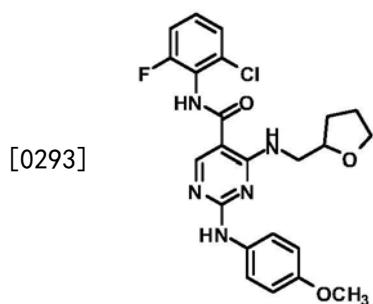
[0288] 方案3具有(±)-四氢糠胺A-环双苯胺基嘧啶文库的设计和合成。方法a: (±)-四氢糠胺, Et₃N, MeOH, 0℃-室温, 2h。方法b: 催化剂4M于二噁烷中的HCl, 2-甲氧基乙醇, 密封管, 110℃和NaHCO₃水溶液后处理。



[0290] 方案4: 合成为ACK1抑制剂的(R)-9b和(S)-9b。另一种代表性手性化合物使用方案4中的方案合成。

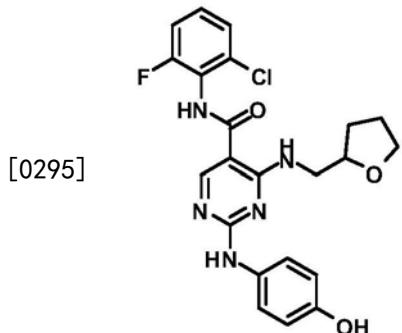


[0292] 2-氯-N-(2-氯-6-氟苯基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-5-甲酰胺(YL7-102, 8c): 向(四氢呋喃-2-基)甲胺(0.121g, 1.2mmol)于MeOH(2mL)中的溶液在0℃下在惰性气氛下添加Et₃N(0.167mL, 1.2mmol)。在0℃下搅拌10分钟后, 滴加于DMF(0.5mL)中的YL7-011(7c)(0.320g, 1.0mmol)。将混合物升温至室温并搅拌30分钟。去除溶剂并将粗混合物通过SiO₂色谱(硅胶, 10g, 0-30%梯度EtOAc/己烷)纯化, 得到呈白色固体的标题化合物(0.283g, 74%), mp: 142℃(dec)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): δ 8.88 (appt, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.58 (brs, 1H), 7.30-7.23 (m, 2H), 7.15-7.12 (m, 1H), 4.12-4.06 (m, 1H), 3.91-3.85 (m, 1H), 3.80-3.72 (m, 2H), 3.54-3.48 (m, 1H), 2.07-1.99 (m, 1H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.64-1.56 (m, 1H); LC-MS (ESI+) m/z 385.07 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₆H₁₆Cl₂FN₄O₂ (M+H)⁺计算值385.0629, 实测值385.0623。

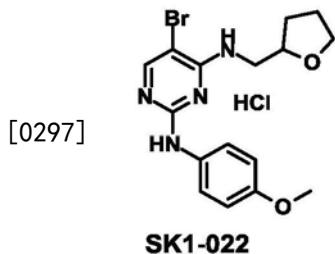


[0294] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(4-甲氧基苯基氨基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-5-甲酰胺(YL7-104-1): 使用针对YL7-037所述的程序(除了使用YL7-102(8c, 方案3)(0.050g, 0.130mmol)和4-甲氧基苯胺(0.019g, 0.156mmol)之外)合成该化合物, 以获得呈白色固体的标题化合物(0.051g, 84%), mp: 201℃(dec)。HPLC 99.5% (t_R=4.37min, 65% CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min); ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 10.22 (s, 1H), 10.06 (brs, 1H),

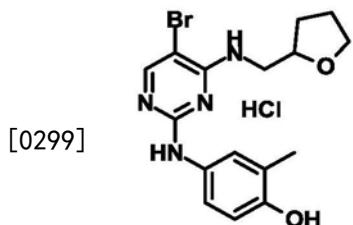
9.27 (brs, 1H) , 8.72 (s, 1H) , 7.54 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 2H) , 7.45–7.32 (m, 3H) , 6.93 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H) , 4.04–3.98 (m, 1H) , 3.75–3.70 (m, 4H) , 3.61–3.55 (m, 3H) , 1.95–1.87 (m, 1H) , 1.82–1.76 (m, 2H) , 1.56–1.48 (m, 1H) ; ^{19}F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ –116.16–116.19 (m) ; LC–MS (ESI+) m/z 472.14 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₃H₂₄ClFN₅O₃ (M+H)⁺计算值472.1546, 实测值472.1548。



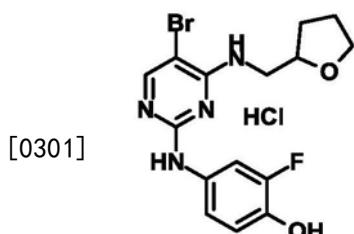
[0296] N–(2–氯–6–氟苯基)–2–(4–羟基苯基氨基)–4–((四氢呋喃–2–基)甲基氨基)嘧啶–5–甲酰胺 (YL7–104–2) : 使用针对YL7–037所述的程序(除了使用YL7–102 (8c, 方案3) (0.050g, 0.130mmol) 和4–氨基苯酚 (0.017g, 0.156mmol) 之外) 合成该化合物, 以获得呈米色固体的标题化合物 (0.046g, 78%) 。Mp: 263°C (dec) 。HPLC 99.4% ($t_{\text{R}}=6.77\text{min}$, 55% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min) ; ^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : 89.82 (s, 1H) , 9.41 (brs, 1H) , 9.09 (s, 1H) , 8.83 (s, 1H) , 8.72 (s, 1H) , 7.49 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H) , 7.43–7.30 (m, 3H) , 6.67 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H) , 4.02–3.98 (m, 1H) , 3.76–3.71 (m, 1H) , 3.62–3.57 (m, 2H) , 3.42–3.37 (m, 1H) , 1.93–1.87 (m, 1H) , 1.84–1.75 (m, 2H) , 1.56–1.47 (m, 1H) ; ^{19}F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : 8–116.15–116.19 (m) ; LC–MS (ESI+) m/z 458.13 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₂H₂₂ClFN₅O₃ (M+H)⁺计算值458.1390, 实测值458.1390。



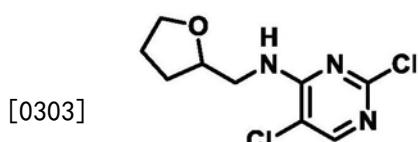
[0298] 5–溴–N2–(4–甲氧基苯基)–N4–((四氢呋喃–2–基)甲基)嘧啶–2,4–二胺 (SK1–022) 。将SK1–008 (8b, 方案3) (100mg, 0.34mmol) 和4–氨基–2–氯苯酚 (40mg, 0.32mmol) 于EtOH (2mL) 中的混悬液在微波反应器中在150°C下加热20分钟。将混合物浓缩、添加EtOAc (3mL) 并将所得的混合物超声处理5分钟并过滤。将沉淀用EtOAc (2mL) 再次洗涤并在高真空下干燥, 得到呈灰色固体的标题化合物 (129mg, 99%) 。HPLC–MS (ESI+) m/z 379.1和381.1, 对于Br–同位素 (M+H)⁺; LC–MS (ESI+) m/z 381.0754; HRMS (ESI+) m/z C₁₆H₁₉BrN₄O₂ (M+H)⁺计算值379.0764, 实测值379.0766。

**SK1-040**

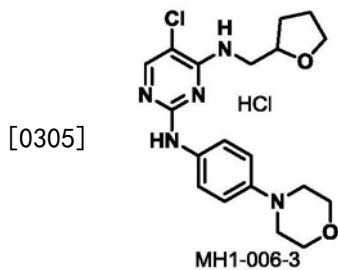
[0300] 4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)-2-甲基苯酚 (SK1-040)；将SK1-008 (8b, 方案3) (400mg, 1.4mmol) 和4-氨基-2-氯苯酚 (168mg, 1.4mmol) 于EtOH (3-4mL) 中的混悬液在微波反应器中在150℃下加热20分钟。将混合物浓缩、添加EtOAc (3mL) 并将所得的混合物超声处理5分钟并过滤。将沉淀用EtOAc (2-5mL) 再次洗涤并在高真空下干燥, 得到呈灰色固体的标题化合物 (600mg, 99%)。HPLC-MS (ESI+) m/z 379.1和381.1, 对于Br-同位素 ($M+H$)⁺; LC-MS (ESI+) m/z 381.0754; HRMS (ESI+) m/z C₁₆H₁₉BrN₄O₂ ($M+H$)⁺计算值379.0764, 实测值379.0760。

**SK1-044**

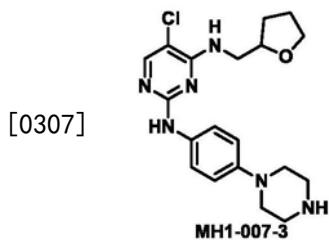
[0302] 4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)-2-氟苯酚 (SK1-044)；将SK1-008 (8b, 方案3) (400mg, 1.4mmol) 和4-氨基-2-氯苯酚 (168mg, 1.4mmol) 于EtOH (3mL) 中的混悬液在微波反应器中在150℃下加热20分钟。将混合物浓缩、添加EtOAc (3mL) 并将所得的混合物超声处理5分钟并过滤。将沉淀再次用EtOAc (2-5mL) 洗涤并在高真空下干燥, 得到呈灰色固体的标题化合物 (600mg, 98%)。HPLC-MS (ESI+) m/z 383.1和385.2, 针对Br-同位素 ($M+H$)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₅H₁₆BrFN₄O₂ ($M+H$)⁺计算值383.0531, 实测值383.0525。

**MH1-004, (8a)**

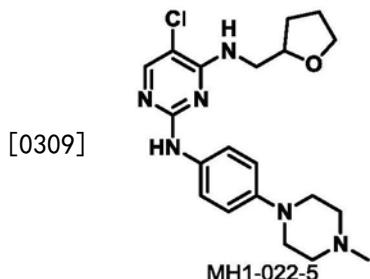
[0304] 2,5-二氯-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-4-胺 (MH1-004) (8a)：滴加于MeOH (10ml) 中的四氢糠胺 (1.103g, 10.90mmol) 至0℃的2,4,5-三氯嘧啶 (2.000g, 10.90mmol) 和三乙胺 (1.103g, 10.90mmol) 于MeOH (10ml) 中的溶液, 并使其在氩气下反应一小时。之后, 使混合的反应物升温至室温。减压去除溶剂, 并将固体再悬浮于水中, 然后滤出 (用水洗涤) 并真空干燥, 得到呈白色固体的标题 (2.387g, 9.62mmol, 88%)。HPLC-MS (m/z 248.1) 98.6% [R_t=11.14min, Grad. MeOH-水5-95 (具有0.1% 甲酸) 20min]; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.01 (s, 1H), 5.91 (s, 1H), 4.09 (qd, $J=7.3, 3.3$ Hz, 1H), 3.94-3.86 (m, 1H), 3.86-3.75 (m, 2H), 3.41 (ddd, $J=13.7, 7.7, 4.8$ Hz, 1H), 2.11-2.00 (m, 1H), 1.98-1.89 (m, 2H), 1.64-1.54 (m, 1H)。



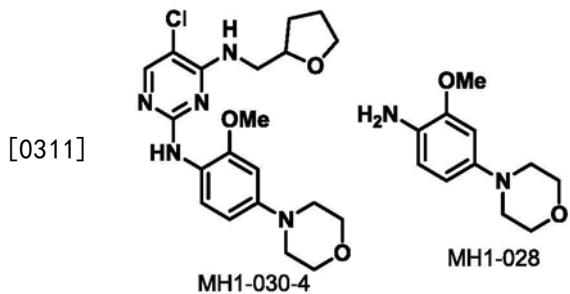
[0306] 5-氯-N2-(4-吗啉代苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺盐酸盐 (MH1-006-3) : 将MH1-004 (0.100g, 0.403mmol) 和4-吗啉代苯胺 (0.072g, 0.403mmol) 在于 5ml微波小瓶内的EtOH (1ml) 中混合, 并于微波中加热至150℃持续20分钟。从所得混合物中滤出固体产物、用乙酸乙酯洗涤并随后减压干燥, 得到呈灰白色固体的产物 (0.072g, 0.185mmol, 46%)。HPLC-MS (m/z 390.2 ($M-Cl$)⁺) 99.0% [R_t=9.90min, Grad. MeOH-水5-95 (具有0.1% 甲酸) 20min]; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 10.32 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.45 (d, J=9.0Hz, 2H), 6.91 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.62 (t, J=5.2Hz, 1H), 4.09 (qd, J=7.1, 3.2Hz, 1H), 3.95-3.75 (m, 7H), 3.44 (ddd, J=13.1, 7.6, 5.0Hz, 1H), 3.22-3.10 (m, 4H), 2.11-1.99 (m, 1H), 1.99-1.88 (m, 2H), 1.64-1.51 (m, 1H) . LC-MS (ESI+) m/z 390.17 ($M-Cl$)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₉H₂₅ClN₅O₂⁺ ($M-Cl$)⁺ 计算值390.1691, 实测值390.1694。



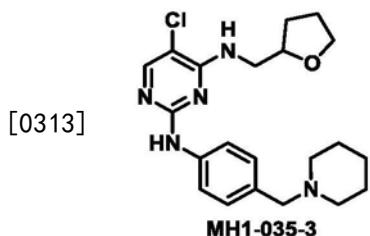
[0308] 5-氯-N2-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (MH1-007-3) : 将MH1-004 (0.100g, 0.403mmol) 和1-boc-4-(4'-氨基苯基)哌嗪 (0.112g, 0.403mmol) 于5ml微波小瓶内的EtOH (1ml) 中混合, 并在微波中加热至150℃持续20分钟, 此后添加一滴浓HCl, 之后在150℃下对其再次进行微波20分钟。将产生的固体沉淀从混合物滤出, 并用NaHCO₃的饱和溶液洗涤, 并将固体产物再次通过过滤收集。将所得的白色固体减压干燥 (0.074g, 0.190mmol, 47%)。HPLC-MS { m/z 195.2 [($M+2H$)/2]²⁺} 97.8% [R_t=6.99min, Grad. MeOH-水5-95 (具有0.1% 甲酸) 20min]; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 88.93 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.50 (d, J=9.0Hz, 2H), 7.00 (t, J=5.7Hz, 1H), 6.79 (d, J=9.1Hz, 2H), 4.10-4.03 (m, 1H), 3.75 (dd, J=13.6, 7.5Hz, 1H), 3.60 (dd, J=14.5, 7.4Hz, 1H), 3.41 (t, J=6.0Hz, 3H), 2.96-2.88 (m, 4H), 2.84-2.76 (m, 4H), 1.94-1.72 (m, 3H), 1.64-1.53 (m, 1H) . LC-MS (ESI+) m/z 389.19 ($M+H$)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₉H₂₆ClN₆O⁺ ($M+H$)⁺ 计算值389.1851, 实测值389.1860。



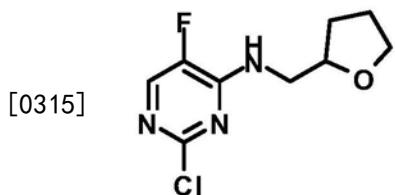
[0310] 5-氯-N2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (MH1-022-5) : 将MH1-004 (0.100g, 0.403mmol) 和4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯胺 (0.077g, 0.403mmol) 在于5ml微波小瓶内的t-BuOH (2ml) 中在氩气下与Xphos (0.019g, 0.040mmol) 、Pd (dba)₂ (0.023g, 0.040mmol) 和K₂CO₃ (0.122g, 0.887mmol) 混合。将反应混合物在加热块上在105℃下加热80小时。将反应混合物过滤以去除催化剂、用MeOH洗涤, 然后将粗产物使用自动快速色谱(己烷/EtOAc/MeOH)纯化, 并去除溶剂, 得到黄色固体 (0.014g, 0.035mmol, 9%)。HPLC-MS {m/z 202.3 [(M+2H)/2]²⁺} 95.3% [R_t=7.10min, Grad. MeOH-水5-95 (具有0.1%甲酸) 20min]; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ7.77 (s, 1H), 7.46 (d, J=6.1Hz, 2H), 6.93 (d, J=6.0Hz, 2H), 4.20-4.09 (m, 1H), 3.86 (m, 1H), 3.78-3.70 (m, 1H), 3.54 (ddd, J=20.5, 13.6, 5.9Hz, 2H), 3.19-3.11 (m, 4H), 2.71-2.62 (m, 4H), 2.38 (s, 3H), 2.04-1.80 (m, 3H), 1.70-1.59 (m, 1H) .LC-MS (ESI+) m/z 403.20 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₀H₂₈C1N₆O⁺ (M+H)⁺ 计算值403.2008, 实测值403.2040。



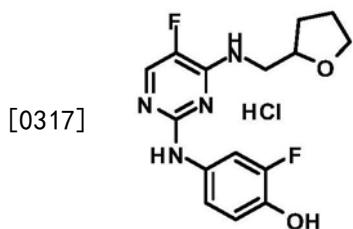
[0312] 5-氯-N2-(2-甲氧基-4-吗啉代苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (MH1-030-4) : 将MH1-004 (0.100g, 0.403mmol) 和MH1-028 (0.084g, 0.403mmol) 在于密封5ml微波小瓶内的EtOH (1ml) 中混合, 并于微波中在150℃下运行20分钟循环。添加饱和NaHCO₃ (10ml) 和EtOAc (20ml) , 并分离有机层、干燥 (MgSO₄) 、过滤并减压去除溶剂。将粗产物使用快速色谱(EtOAc/己烷/MeOH)纯化。将获得的固体悬浮于MeOH中, 过滤并用MeOH洗涤, 然后用二乙醚洗涤, 得到呈浅黄色固体的产物 (0.061g, 0.145mmol, 36%)。HPLC-MS (m/z 420.3 (M+H)⁺) 95.2% [R_t=9.76min, Grad. MeOH-水5-95 (具有0.1%甲酸) 20min]; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ8.02 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 6.65 (d, J=2.5Hz, 1H), 6.54 (dd, J=8.8, 2.5Hz, 1H), 4.21-4.13 (m, 1H), 3.93 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.86-3.81 (m, 4H), 3.75 (dd, J=14.4, 7.4Hz, 1H), 3.56 (ddd, J=20.5, 13.6, 5.9Hz, 2H), 3.41-3.37 (m, 1H), 3.14-3.07 (m, 4H), 2.06-1.84 (m, 3H), 1.73-1.61 (m, 1H) .LC-MS (ESI+) m/z 420.18 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₀H₂₇C1N₅O₃⁺ (M+H)⁺ 计算值420.1797, 实测值420.1825。



[0314] 5-氯-N2-(4-(哌啶-1-基甲基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (MH1-035-3) : 将MH1-004 (0.100g, 0.403mmol) 和4-哌啶-1-基甲基苯基胺 (0.107g, 0.564mmol) 在2-甲氧基乙醇 (1.5ml) 中混合, 并添加0.05ml的12M HCl水溶液溶液。将反应混合物在油浴中在120℃下搅拌加热5.5小时, 然后使其冷却至室温。减压蒸发去除溶剂, 并添加饱和NaHCO₃溶液 (10ml), 然后添加EtOAc (20ml)。萃取有机层并用无水MgSO₄干燥, 并蒸发溶剂。将所得固体于二乙醚中浆化并过滤, 得到呈白色粉末的产物 (0.051g, 0.127mmol, 31%)。HPLC-MS {m/z 201.7 [(M+2H)/2]²⁺} 98.0% [R_t=8.09min, Grad. MeOH-水5-95 (具有0.1%甲酸) 20min]; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ7.82 (s, 1H), 7.58 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.23 (d, J=8.6Hz, 2H), 4.22-4.13 (m, 1H), 3.89 (dd, J=13.3, 6.6Hz, 1H), 3.75 (dd, J=14.3, 7.4Hz, 1H), 3.58 (ddd, J=20.6, 13.7, 5.9Hz, 2H), 3.45 (s, 2H), 2.43 (s, 4H), 2.08-1.83 (m, 3H), 1.73-1.64 (m, 1H), 1.64-1.55 (m, 4H), 1.46 (s, 2H) .LC-MS (ESI+) m/z 317.12 (M-哌啶)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₁H₂₉C1N₅O⁺ (M+H)⁺ 计算值402.2055, 实测值402.2063。

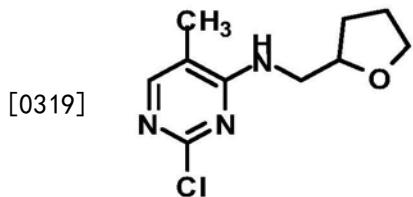


[0316] 2-氯-5-氟-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-4-胺 (YL7-160, 8d, 方案3) : 向 (四氢呋喃-2-基) 甲胺 (0.607g, 6mmol) 于MeOH (10mL) 中的溶液在氩气下于0℃下添加三乙胺。将混合物在0℃下搅拌10分钟, 然后在0℃下滴加于MeOH (4mL) 中的2,4-二氯-5-氟嘧啶7d (0.835g, 5mmol)。将反应混合物升温至室温并搅拌2小时。去除溶剂并将所得的沉淀溶解于EtOAc (30mL) 中, 用水 (2x 20mL) 洗涤。将有机层经Na₂SO₄干燥、过滤并浓缩至干。将获得的粗物质通过SiO₂色谱 (硅胶, 20g, EtOAc/己烷, 0%-25%) 纯化, 得到呈白色固体的标题化合物 (0.936g, 81%)。Mp: 77-78℃; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) : δ7.86 (d, J=2.8Hz, 1H), 5.63 (br s, 1H), 4.08 (ddd, J=14.8, 7.2, 3.2Hz, 1H), 3.92-3.76 (m, 3H), 3.37 (ddd, J=13.6, 8.0, 4.4Hz, 1H), 2.10-2.02 (m, 1H), 1.97-1.90 (m, 2H), 1.64-1.56 (m, 2H); HPLC-MS (ESI+) m/z 232.1 (M+H)⁺。

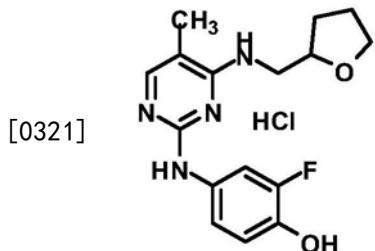


[0318] 2-氟-4-(5-氟-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯酚盐酸盐 (YL7-164) : 将YL7-160 (8d) (0.116g, 0.5mmol) 和4-氨基-2-氟苯酚 (0.064g, 0.5mmol) 于EtOH

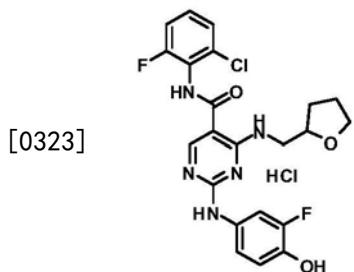
(2mL) 中的混合物用微波反应器在150℃下加热20分钟。去除溶剂并将所得残余物浆化并用EtOAc (3mL) 超声处理；将所得混合物过滤，并将沉淀用EtOAc (2mL) 洗涤，然后高真空干燥，得到呈深褐色固体的标题化合物 (0.152g, 84%)。Mp: 201℃ (dec.)。HPLC 98.5% (t_R = 7.72min, 35% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min) ; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 10.23 (s, 1H) , 9.87 (br s, 1H) , 10.18 (s, 1H) , 9.19 (br s, 1H) , 8.08 (d, J =5.2Hz, 1H) , 7.43 (dd, J =13.2, 2.0Hz, 1H) , 7.01 (dd, J =8.8, 1.6Hz, 1H) , 6.94 (t, J =9.6Hz, 1H) , 4.07-4.01 (m, 1H) , 3.75-3.69 (m, 1H) , 3.63-3.58 (m, 1H) , 1.93-1.85 (m, 1H) , 1.83-1.75 (m, 2H) , 1.59-1.51 (m, 1H) ; ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ -134.70 (s) , -163.23 (s) ; LC-MS (ESI+) m/z 323.14 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₅H₁₇F₂N₄O₂ (M+H)⁺ 计算值323.1314, 实测值323.1314。



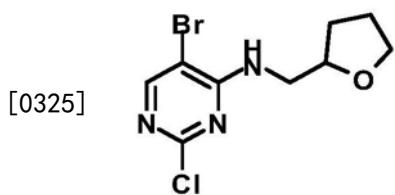
[0320] 2-氯-5-甲基-N-((四氢呋喃-2-基)甲基) 嘧啶-4-胺 (YL7-167 8e, 方案3) : 根据针对YL7-160 (8d, 方案3) 所述的程序 (除了使用于MeOH (20mL) 中的2,4-二氯-5-甲基嘧啶 (2.680g, 16.440mmol) 和于MeOH (5mL) 和三乙胺 (2.750mL) 中的 (四氢呋喃-2-基) 甲胺 (1.997g, 19.730mmol) 之外) 合成该化合物, 以得到呈白色固体的标题化合物 (1.997g, 53%)。Mp: 86-89℃; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) : δ 7.78 (d, J =0.8Hz, 1H) , 5.24 (br t, 1H) , 4.10-4.04 (m, 1H) , 3.90-3.81 (m, 2H) , 3.80-3.74 (m, 1H) , 3.33 (ddd, J =13.6, 8.0, 4.4Hz, 1H) , 2.08-2.01 (m, 2H) , 1.99 (d, J =0.8Hz, 3H) , 1.95-1.88 (m, 2H) , 1.63-1.54 (m, 1H) ; HPLC-MS (ESI+) m/z 228.1 (M+H)⁺。



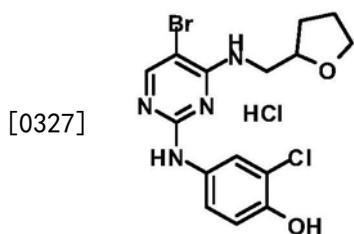
[0322] 2-氟-4-(5-甲基-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基) 苯酚盐酸盐 (YL7-170-1) : 向YL7-167 (8e, 方案3) (0.114g, 0.5mmol) 和4-氨基-2-氟苯酚 (0.064g, 0.5mmol) 于EtOH (1mL) 中的混悬液在微波反应器中在150℃下加热20分钟。将混合物浓缩至干, 然后将所得的残余物用MeOH/EtOAc再结晶, 过滤并用EtOAc (2mL) 洗涤, 得到呈深褐色固体的标题化合物。将滤液浓缩并用MeOH/EtOAc再次再结晶, 得到第二批固体。将所述固体合并, 得到呈深褐色固体的标题化合物 (0.163g, 92%)。Mp: 199℃ (dec.)。HPLC 98.8% (t_R = 12.26min, 35% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min) ; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) : δ 7.45 (s, 1H) , 7.29 (dd, J =12.0, 1.6Hz, 1H) , 7.03-6.93 (m, 2H) , 4.20-4.13 (m, 1H) , 3.88-3.83 (m, 1H) , 3.78-3.72 (m, 1H) , 3.64-3.51 (m, 2H) , 2.04 (s, 3H) , 1.96-1.87 (m, 2H) , 1.66-1.57 (m, 1H) ; ¹⁹F NMR (376MHz, CD₃OD) : δ -136.94 (s) ; LC-MS (ESI+) m/z 319.16 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₆H₂₀FN₄O₂ (M+H)⁺ 计算值319.1565, 实测值319.1566。



[0324] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(3-氟-4-羟基苯基氨基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-5-甲酰胺盐酸盐(YL7-170-2)：使用针对YL7-170-1所述的程序(除了使用YL7-102(8c,方案3)(0.050g,0.130mmol)、4-氨基-2-氟苯酚(0.017g,0.130mmol)和EtOH(1mL)之外)合成该化合物。将EtOAc/己烷用于再结晶,得到呈褐色固体的标题化合物(0.051g,76%)。Mp:183°C (dec.)。HPLC 99.4% ($t_R=6.53\text{min}$, 55% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min); ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) : δ 8.54 (s, 1H), 7.43–7.38 (m, 3H), 7.24–7.19 (m, 1H), 7.10 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.96 (t, J=8.4Hz, 1H), 4.15–4.09 (m, 1H), 3.90–3.85 (m, 1H), 3.77–3.59 (m, 3H), 2.05–1.99 (m, 1H), 1.96–1.88 (m, 1H), 1.67–1.58 (m, 1H); ¹⁹F NMR (376MHz, CD₃OD) : δ -118.25 (d); LC-MS (ESI+) m/z 476.12 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₂H₂₁F₂N₅O₃ (M+H)⁺计算值476.1296, 实测值476.1290。

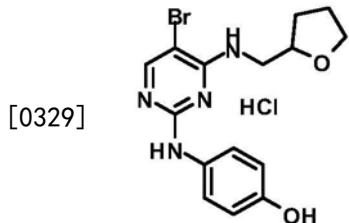


[0326] 5-溴-2-氯-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-4-胺(SK1-008-B2 8b,方案3)：使用针对YL7-160(8d,方案3)所述的程序(除了使用于MeOH(2mL)中的5-溴-2,4-二氯嘧啶7b(方案3)(0.500g,2.195mmol)和于MeOH(2mL)和三乙胺(0.305mL,2.195mmol)中的(四氢呋喃-2-基)甲胺(0.222g,2.195mmol)之外)合成该化合物,得到呈白色固体的标题化合物(0.620g,97%)。Mp:85–86°C; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 8.23 (s, 1H), 7.62 (t, J=6.0Hz, 1H), 4.03–3.98 (m, 1H), 3.77–3.71 (m, 1H), 3.62–3.57 (m, 1H), 3.45–3.38 (m, 1H), 3.36–3.30 (m, 1H), 1.90–1.75 (m, 3H), 1.60–1.52 (m, 1H)。HPLC-MS (ESI+) m/z 292和294.1,对于Br-同位素 (M+H)⁺。

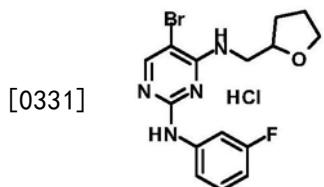


[0328] 4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)-2-氯苯酚盐酸盐(YL7-172-1)：将SK1-008(8b,方案3)(0.073g,0.250mmol)和4-氨基-2-氯苯酚(0.036g,0.250mmol)于EtOH(1mL)中的混悬液在微波反应器中于150°C下加热20分钟。将混合物浓缩、添加EtOAc(3mL)并将所得的混合物超声处理5分钟并过滤。将沉淀用EtOAc(2mL)再次洗涤并在高真空下干燥,得到呈灰色固体的标题化合物(0.071g,65%)。Mp:193°C (dec.) ;

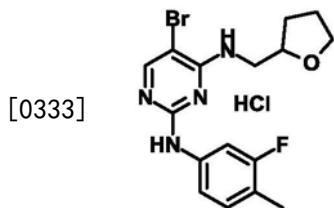
HPLC 94.0% ($t_R=6.50\text{min}$, 45% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min); ^1H NMR (400MHz, CD_3OD): δ 7.96 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.15 (dd, $J=8.8, 2.4\text{Hz}$, 1H), 6.96 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.18–4.11 (m, 1H), 3.86–3.80 (m, 1H), 3.76–3.71 (m, 1H), 3.56 (appt. d, $J=6.0\text{Hz}$, 2H), 2.05–1.97 (m, 1H), 1.93–1.86 (m, 2H), 1.65–1.56 (m, 1H); LC-MS (ESI+) m/z 399.02 和 401.02, 对于 Br -同位素 $(\text{M}+\text{H})^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{BrClN}_4\text{O}_2$ $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 399.0218, 实测值 399.0213。



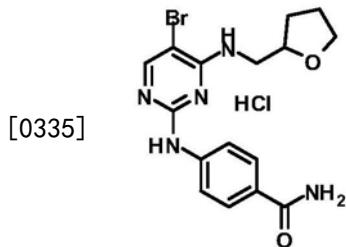
[0330] 4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯酚盐酸盐 (SK1-028): 使用针对 YL7-172-1 所述的程序 (除了使用于 EtOH (1mL) 中的 SK1-008 (8b, 方案3) (0.073g, 0.250mmol) 和 4-氨基苯酚 (0.027g, 0.250mmol) 之外) 合成该化合物。将产物用 $\text{DCM}/\text{己烷}$ (3mL) 浆化, 得到呈白色固体的标题化合物 (0.078g, 78%)。Mp: 206–207°C。HPLC 99.4% ($t_R=6.50\text{min}$, 35% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min); ^1H NMR (400MHz, CD_3OD): δ 87.89 (s, 1H), 7.21 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 6.85 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 4.18–4.13 (m, 1H), 3.86–3.81 (m, 1H), 3.77–3.71 (m, 1H), 3.57 (appt. d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 2.01–1.88 (m, 3H), 1.65–1.59 (m, 1H); LC-MS (ESI+) m/z 365.07 和 367.07, 对于 Br -同位素 $(\text{M}+\text{H})^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{BrN}_4\text{O}_2$ $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 365.0608, 实测值 365.0606。



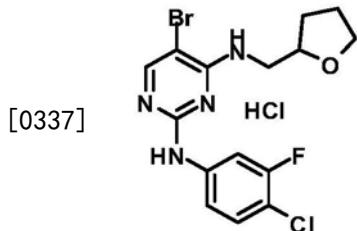
[0332] 5-溴-N2-(3-氟苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺盐酸盐 (YL7-172-3): 使用针对 YL7-172-2 所述的程序 (除了使用于 EtOH (1mL) 中的 SK1-008 (8b, 方案3) (0.073g, 0.250mmol)、3-氟苯胺 (0.028g, 0.250mmol) 之外) 合成该化合物。用 $\text{DCM}/\text{己烷}$ (2/5) 使产物再结晶化, 得到呈白色固体的标题化合物 (0.080g, 79%)。Mp: 194–197°C; HPLC 98.4% ($t_R=15.31\text{min}$, 45% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min); ^1H NMR (400MHz, CD_3OD): δ 8.06 (s, 1H), 7.49–7.40 (m, 2H), 7.25 (ddd, $J=8.0, 2.0, 0.8\text{Hz}$, 1H), 7.00 (tdd, $J=8.4, 2.4, 0.8\text{Hz}$, 1H), 4.20–4.14 (m, 1H), 3.87–3.82 (m, 1H), 3.77–3.71 (m, 1H), 3.62 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 2H), 2.07–1.99 (m, 1H), 1.96–1.87 (m, 2H), 1.67–1.59 (m, 1H); ^{19}F NMR (376MHz, CD_3OD): δ -113.53; LC-MS (ESI+) m/z 367.05 和 369.05, 对于 Br -同位素 $(\text{M}+\text{H})^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{BrFN}_4\text{O}$ $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 367.0564, 实测值 367.0562。



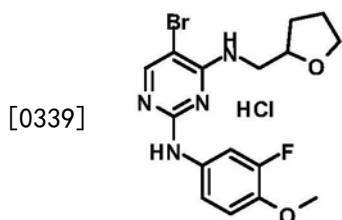
[0334] 5-溴-N2-(3-氟-4-甲基苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺盐酸盐(YL7-172-4):使用针对YL7-172-2所述的程序(除了使用3-氟-4-甲基苯胺(0.031g,0.250g)之外)合成该化合物,得到呈白色固体的标题化合物(0.090g,87%)。Mp:189°C (dec.) ;HPLC 98.2% (t_R =8.67min,45%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min);¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ 8.03 (s, 1H), 7.36 (d, J =11.2Hz, 1H), 7.29 (t, J =8.4Hz, 1H), 7.13 (dd, J =8.4, 2.0Hz, 1H), 4.20-4.13 (m, 1H), 3.87-3.82 (m, 1H), 3.77-3.71 (m, 1H), 3.60 (d, J =6.4Hz, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.06-1.98 (m, 1H), 1.96-1.87 (m, 2H), 1.67-1.58 (m, 1H);¹⁹F NMR (376MHz, CD₃OD): δ -117.36;LC-MS (ESI+) m/z 381.08和383.08,对于Br-同位素 (M+H)⁺;HRMS (ESI+) m/z C₁₆H₁₉BrFN₄O (M+H)⁺计算值381.0721,实测值381.0720。



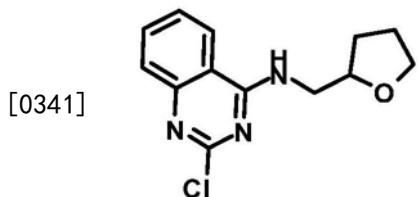
[0336] 4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯甲酰胺盐酸盐(YL7-172-5):使用针对YL7-172-2所述的程序(除了使用4-氨基苯甲酰胺(0.034g,0.250mmol)之外)合成该化合物,并用MeOH/DCM(1/2)再结晶,得到呈白色固体的标题化合物(0.079g,75%)。Mp:251°C (dec.) ;HPLC 98.8% (t_R =7.44min,35%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min);¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ 8.08 (s, 1H), 7.93 (d, J =8.8Hz, 2H), 7.65 (d, J =8.4Hz, 2H), 4.21-4.14 (m, 1H), 3.87-3.82 (m, 1H), 3.77-3.72 (m, 1H), 3.64-3.62 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.07-1.99 (m, 1H), 1.96-1.90 (m, 2H), 1.70-1.62 (m, 1H);LC-MS (ESI+) m/z 392.07和394.07,对于Br-同位素 (M+H)⁺;HRMS (ESI+) m/z C₁₆H₁₉BrN₅O₂ (M+H)⁺计算值392.0717,实测值392.0711。



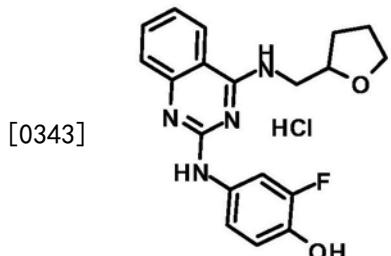
[0338] 5-溴-N2-(4-氯-3-氟苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺盐酸盐(YL7-172-7):使用针对YL7-172-2所述的程序(除了使用4-氯-3-氟苯胺(0.035g,0.250mmol)之外)合成该化合物,得到呈白色固体的标题化合物(0.076g,70%)。Mp:172°C (dec.) ;HPLC 98.5% (t_R =14.23min,55%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min);¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ 8.07 (s, 1H), 7.68 (dd, J =11.2, 2.4Hz, 1H), 7.49 (t, J =8.4Hz, 1H), 7.26 (ddd, J =8.8, 2.4, 1.2Hz, 1H), 4.19-4.13 (m, 1H), 3.86-3.83 (m, 1H), 3.77-3.72 (m, 1H), 3.61 (d, J =6.0Hz, 2H), 2.07-1.99 (m, 1H), 1.97-1.89 (m, 2H), 1.68-1.60 (m, 1H);¹⁹F NMR (376MHz, CD₃OD): δ -115.76;LC-MS (ESI+) m/z 401.03和403.01,对于Br-同位素 (M+H)⁺;HRMS (ESI+) m/z C₁₅H₁₆BrClFN₄O (M+H)⁺计算值401.0175,实测值401.0175。



[0340] 5-溴-N2-(3-氟-4-甲氧基苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺盐酸盐 (YL7-172-8) : 使用针对YL7-172-2所述的程序(除了使用3-氟-4-甲氧基苯胺(0.035g, 0.250mmol)之外)合成该化合物, 得到呈紫色固体的标题化合物(0.070g, 65%)。Mp: 169 °C (dec.)。HPLC 97.4% (t_R =4.21min, 55% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min); ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) : δ 7.98 (s, 1H), 7.38 (d, J =12.8Hz, 1H), 7.18-7.13 (m, 2H), 4.18-4.12 (m, 1H), 3.87-3.81 (m, 1H), 3.77-3.71 (m, 1H), 3.58 (d, J =6.0Hz, 2H), 2.05-1.96 (m, 1H), 1.95-1.89 (m, 2H), 1.66-1.57 (m, 1H); ¹⁹F NMR (376MHz, CD₃OD) : δ -134.79; LC-MS (ESI+) m/z 397.07 and 399.07 for Br-同位素 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₆H₁₉BrFN₄O₂ (M+H)⁺ 计算值397.0670, 实测值397.0667。

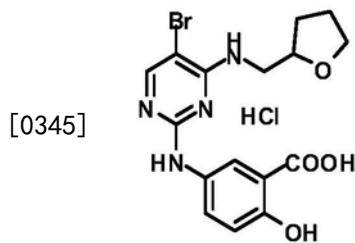


[0342] 2-氯-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)唑唑啉-4-胺 (YL7-176, 8f, 方案3) : 向(四氢呋喃-2-基)甲胺(0.620mL, 6.000mmol)于MeOH(10mL)中的溶液在0°C下在氩气下添加三乙胺(0.836mL)。将混合物在0°C下搅拌10分钟, 并在0°C下滴加于DCM(5mL)中的2,4-二氯唑唑啉(7f) (1.000g, 5.000mmol)。在添加后, 将反应混合物升温至室温并搅拌30分钟。去除溶剂并添加水(30mL)至所得残余物。将混悬液超声处理、过滤并用水(10mL x 2)洗涤, 过滤并用水(10mL x 2)洗涤、然后高真空干燥, 得到呈白色固体的标题化合物(1.309g, 99%)。Mp: 132-135 °C; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) : δ 7.78-7.71 (m, 3H), 7.45 (td, J =8.0, 1.6Hz, 1H), 6.46 (s, 1H), 4.18 (ddd, J =16.0, 7.6, 3.6Hz, 1H), 4.05 (ddd, J =13.6, 6.4, 3.2Hz, 1H), 3.97-3.91 (m, 1H), 3.86-3.80 (m, 1H), 2.15-2.07 (m, 1H), 2.00-1.93 (m, 2H), 1.71-1.62 (m, 1H); HPLC-MS (ESI+) m/z 264.2 (M+H)⁺。

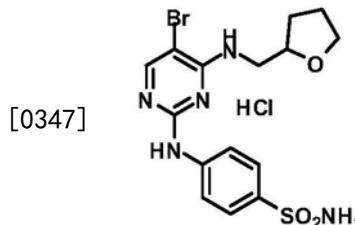


[0344] 2-氟-4-((4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)唑唑啉-2-基氨基)苯酚盐酸盐 (YL8-001) : 使用针对YL7-172-2所述的程序(除了使用YL7-176 (8f, 方案3) (0.066g, 0.250mmol) 和4-氨基-2-氟苯酚(0.032g, 0.250mmol)之外)合成该化合物, 并用MeOH/DCM/己烷(5mL, 1:4:5)再结晶, 得到呈灰色固体的标题化合物(0.077g, 79%)。Mp.: 144 °C (dec.) ; HPLC 98.6%

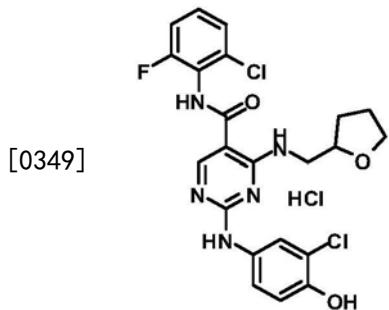
($t_R=9.31\text{min}$, 45% CH_3OH 于0.1% TFA水中, 20min); ^1H NMR (400MHz, CD_3OD): δ 8.14 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.81 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.52 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.47 (td, $J=7.6, 0.8\text{Hz}$, 1H), 7.32 (d, $J=12.4\text{Hz}$, 1H), 7.07 (ddd, $J=8.4, 2.4, 1.2\text{Hz}$, 1H), 7.00 (t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.27-4.21 (m, 1H), 3.79-3.74 (m, 2H), 3.67-3.63 (m, 1H), 2.08-2.00 (m, 1H), 1.97-1.87 (m, 2H), 1.69-1.61 (m, 1H); LC-MS (ESI+) m/z 355.15 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{FN}_4\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 计算值355.1565, 实测值355.1564。



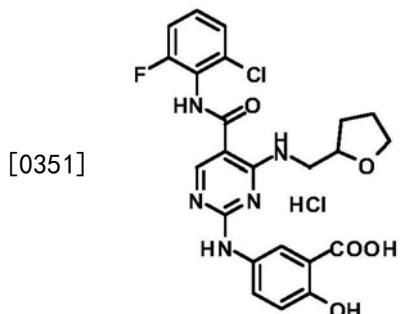
[0346] 5-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)-2-羟基苯甲酸盐酸盐 (YL8-003-1): 使用针对YL7-172-2所述的程序(除了使用SK1-008 (8b, 方案3) (0.073g, 0.250mmol) 和5-氨基-2-羟基苯甲酸 (0.038g, 0.250mmol) 之外) 合成化合物。然后将化合物用 MeOH/DCM (4mL, 1:1) 浆化并超声处理。将混合物过滤并将所得固体干燥, 得到呈灰色固体的标题化合物 (0.068g, 61%)。Mp.: 211 $^\circ\text{C}$ (dec.); HPLC 98.4% ($t_R=6.77\text{min}$, 45% CH_3OH 于0.1% TFA水中, 20min); ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 11.09 (br s, 1H经 D_2O 摆动就消失), 9.98 (s, 1H经 D_2O 摆动就消失), 8.15 (s, 1H经 D_2O 摆动就消失), 8.07 (s, 1H与br s重叠), 8.03 (br s, 1H与单重峰重叠, 经 D_2O 摆振就消失), 7.58 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 6.95 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 4.06-4.00 (m, 1H), 3.70-3.65 (m, 2H与水峰重叠), 1.83-1.73 (m, 3H), 1.54-1.48 (m, 1H); LC-MS (ESI+) m/z 409.05 和 411.05, 对于Br-同位素 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{BrN}_4\text{O}_4$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 计算值409.0506, 实测值409.0509。



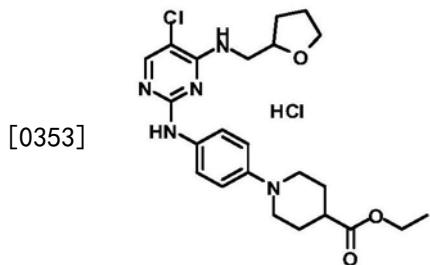
[0348] 4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯磺酰胺盐酸盐 (YL8-003-3): 使用针对YL7-172-2所述的程序(除了使用SK1-008 (8b, 方案3) (0.073g, 0.250mmol) 和4-氨基苯磺酰胺 (0.043g, 0.250mmol) 之外) 合成该化合物。将所得的沉淀在冷却后过滤并用 MeOH (1mL x 2) 洗涤得到呈白色固体的标题化合物 (0.066g, 57%)。Mp.: 214 $^\circ\text{C}$ (dec.); HPLC 96.3% ($t_R=6.21\text{min}$, 35% CH_3OH 于0.1% TFA水中, 20min); ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 10.20 (s, 1H经 D_2O 摆动就消失), 8.19 (s, 1H), 7.81 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 3H与单重峰重叠), 7.24 (br s, 2H经 D_2O 摆动就消失), 4.13-4.07 (m, 1H), 3.79-3.73 (m, 2H与水峰重叠), 1.94-1.77 (m, 3H), 1.66-1.59 (m, 1H); LC-MS (ESI+) m/z 428.03 和 430.03, 对于Br-同位素 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{BrN}_5\text{O}_3\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 计算值428.0387, 实测值428.0384。



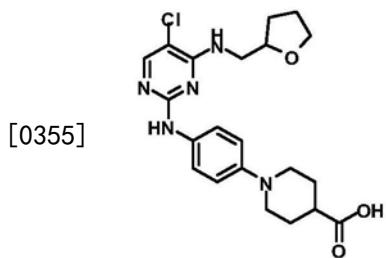
[0350] 2-(3-氯-4-羟基苯基氨基)-N-(2-氯-6-氟苯基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-5-甲酰胺盐酸盐 (YL8-009-1) : 使用针对YL7-172-2所述的程序(除了使用YL7-102 (8c, 方案3) (0.050g, 0.130mmol) 和4-氨基-2-氯苯酚 (0.019g, 0.130mmol) 之外) 合成该化合物。将所得的混合物浓缩并将所得残余物用DCM/己烷 (1:2) 再结晶, 得到呈灰色固体的标题化合物 (0.053g, 77%)。Mp.: 158°C (dec.) ; HPLC 97.5% ($t_R=9.27\text{min}$, 55% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min) ; ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) : δ 8.53 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.60 (br s, 1H), 7.41-7.38 (m, 2H), 7.25-7.20 (m, 2H), 6.97 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.16-4.10 (m, 1H), 3.89-3.84 (m, 1H), 3.77-3.59 (m, 3H), 2.08-2.00 (m, 1H), 1.95-1.89 (m, 2H), 1.66-1.60 (m, 1H) ; ^{19}F NMR (376MHz, CD_3OD) : δ -118.23--118.26 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 492.09 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{FN}_5\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ 计算值 492.1000, 实测值 492.0992。



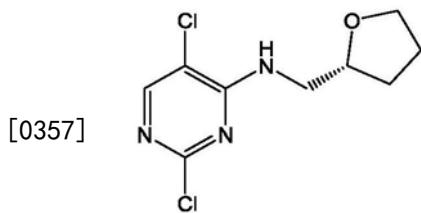
[0352] 5-(5-(2-氯-6-氟苯基氨基甲酰基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)-2-羟基苯甲酸盐酸盐 (YL8-009-2) : 使用针对YL7-172-2所述的程序(除了使用YL7-102 (8c, 方案3) (0.050g, 0.130mmol) 和5-氨基-2-羟基苯甲酸 (0.020g, 0.130mmol) 之外) 合成该化合物。将所得的沉淀在冷却后过滤, 并用MeOH (2mL) 洗涤。将固体真空干燥, 得到呈白色固体的标题化合物 (0.050g, 71%)。Mp.: 298°C (dec.) ; HPLC 99.7% ($t_R=11.31\text{min}$, 55% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min) ; ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 10.99 (br s, 1H 经 D_2O 摆动就消失), 9.91 (s, 1H 经 D_2O 摆动就消失), 9.74 (br s, 1H 经 D_2O 摆动就消失), 8.93 (s, 1H 经 D_2O 摆动就消失), 8.76 (s, 1H), 8.57 (br s, 1H), 7.64 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.42-7.33 (m, 3H), 6.90 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 4.01-3.95 (m, 1H), 3.74-3.66 (m, 2H), 3.63-3.57 (m, 1H), 3.44-3.38 (m, 2H), 1.96-1.87 (m, 1H), 1.83-1.75 (m, 2H), 1.57-1.48 (m, 1H) ; ^{19}F NMR (376MHz, DMSO-d_6) : δ -116.22--116.26 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 502.12 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ 计算值 502.1288, 实测值 502.1294。



[0354] 1-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-羧酸乙酯盐酸盐 (YL8-047B2) : 是根据与YL7-172-2相同的程序(除了使用于EtOH (4mL) 中的N JL25 (0.100g, 0.403mmol) 和1-(4-氨基苯基)哌啶-4-羧酸乙酯 (0.200g, 0.806mmol) 之外)合成的。将所得的混合物经由旋转蒸发器浓缩, 并将残余物用EtOAc/己烷 (5mL, 1:2) 再结晶。将所得混合物过滤并将残余物高真空干燥, 得到呈灰色固体的标题化合物 (0.273g, 68%)。HPLC 99.0% ($t_R=5.65\text{min}$, 45% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min); ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) : δ 7.88 (s, 1H), 7.49 (br s, 2H), 7.26 (br s, 2H), 4.19-4.14 (m, 3H), 3.88-3.82 (m, 1H), 3.77-3.68 (m, 3H), 3.58 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.13-3.03 (m, 2H), 2.61 (appt. t, 1H), 2.10 (appt. d, 2H), 2.03-1.85 (m, 5H), 1.69-1.60 (m, 1H), 1.27 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 3H); LC-MS (ESI+) m/z 460.2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{ClN}_5\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ 计算值 460.2110, 实测值 460.2112。

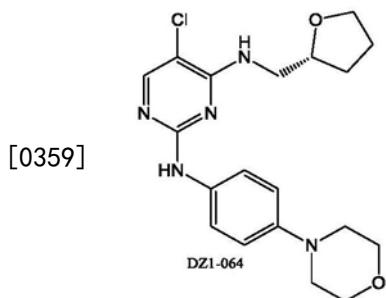


[0356] 1-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-羧酸: (YL8-050B2) : 向YL8-047B2 (0.272g, 0.548mmol) 于THF (2.192mL) 中的混悬液添加NaOH (2M, 1.096mL)。将反应混合物在室温下搅拌18h。通过旋转蒸发器去除THF。添加水 (2mL) 并用DCM (2mL) 萃取。将水溶液用HCl (1M) 酸化至pH为4-5。将所得的沉淀过滤并用水 (5mL x 4) 洗涤, 然后用MeOH (2mL) 快速洗涤并在高真空下干燥, 得到第一批标题化合物 (0.112g)。将滤液中沉淀的固体过滤并用水 (5mL x 2) 洗涤, 并在高真空下干燥, 得到第二批标题化合物 (0.096g)。将固体合并以得到呈深灰色固体的标题化合物 (0.208g, 81%)。Mp. : 93 °C (dec.) ; HPLC 99.0% ($t_R=8.59\text{min}$, 30% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min); ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) : δ 7.81 (s, 1H), 7.46 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.09 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 4.20-4.13 (m, 1H), 3.89-3.84 (m, 1H), 3.77-3.72 (m, 1H), 3.62-3.48 (m, 4H), 2.79 (t, $J=11.2, 2.4\text{Hz}$, 2H), 2.45 (tt, $J=11.2, 4.0\text{Hz}$, 1H), 2.06-1.80 (m, 7H), 1.70-1.62 (m, 1H); LC-MS (ESI+) m/z 432.17; ($\text{M}+\text{H}$)⁺; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{ClN}_5\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ 计算值 431.1719, 实测值 431.1717。



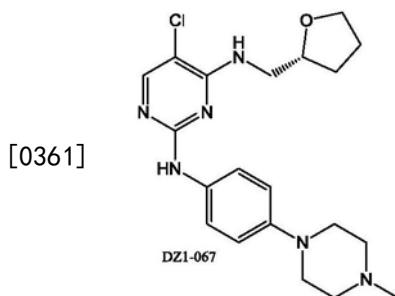
DZ1-061

[0358] (R)-2,5-二氯-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-4-胺(DZ1-061,方案4):添加(R)-(-)-四氢糠胺(0.992g,9.81mmol)至0℃的2,4,5-三氯嘧啶(1.00g,5.45mmol)于MeOH(10mL)和三乙胺中的溶液、搅拌十分钟并使其在氩气下反应一小时。然后将溶液升温至室温并搅拌两小时。减压去除溶剂。将获得的固体悬浮于氯仿中,并用NaHCO₃(水溶液)洗涤。收集有机层,用Na₂SO₄干燥、过滤、真空干燥,得到呈白色固体的(R)-2,5-二氯-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-4-胺DZ1-061(1.354g,87%)。HPLC 97.3% [R_t=3.36min,70%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min];¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ8.01(s,1H),5.91(s,1H),4.12-4.06(m,1H),3.94-3.88(m,1H),3.85-3.77(m,2H),3.44-3.37(m,1H),2.09-2.01(m,1H),1.97-1.90(m,2H),1.60-1.57(m,1H);LC-MS(ESI+)m/z 247.02792(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₉H₁₁C₁₂N₃O⁺(M+H)⁺计算值248.0356,实测值248.03683。

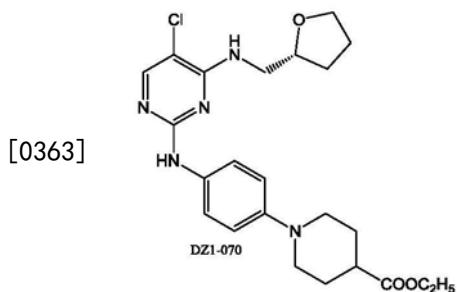


DZ1-064

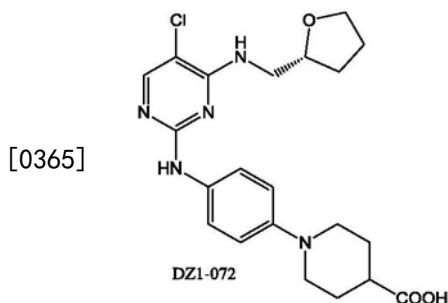
[0360] (R)-5-氯-N2-(4-吗啉代苯基)-N4-(四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺(DZ1-064,方案4):将DZ1-061(0.100g,0.403mmol)和4-吗啉代丙氨酸(0.093g,0.484mmol)在5mL微波小瓶内的EtOH(1mL)中混合并在微波反应器中加热至150℃持续20分钟。将在冷却后形成的所得沉淀过滤、用乙酸乙酯洗涤并随后真空干燥,得到呈白色固体的5-氯-N2-(4-吗啉代苯基)-N4-(四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺DZ1-064(0.176g,51.3%)。Mp:140℃(分解)。HPLC 99.6% [R_t=5.06min,45%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min];¹H NMR(400MHz,CD₃OD)δ7.84(s,1H),7.32(d,J=8.4Hz,2H),7.05(d,J=9.2Hz,2H),4.19-4.12(m,1H),3.85-3.79(m,4H),3.76-3.70(m,1H),3.58(d,J=5.2,2H),3.17(t,J=4.8,4H),2.02-1.88(m,4H),1.67-1.7(m,1H).¹³C NMR(100MHz,CD₃OD)δ159.13[159.20少量异构体],151.82,149.53,139.21,124.69,116.19,105.03,76.72,67.63,66.37,49.32,45.14,28.53,25.03.LC-MS(ESI+)m/z 389.1616(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₁₉H₂₄C₁N₅O₂⁺(M+H)⁺计算值389.1613,实测值390.1610。



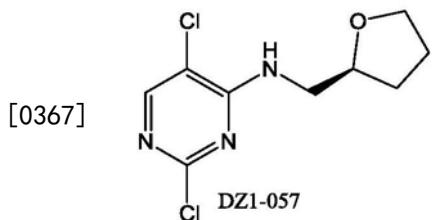
[0362] (R)-5-氯-N2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (DZ1-067) : 将底物DZ1-061 (0.200g, 0.806mmol) 和4-4-甲基哌嗪子基苯胺 (0.170g, .889mmol) 在具有4.0M于二噁烷中的HCl (200μL) 的密封管中混合。将2-甲氧基乙醇 (6.50mL) 添加至混合物并升温至110℃持续48小时。将所得溶液减压浓缩, 并将产物在CHCl₃与饱和NaHCO₃水溶液之间分配。然后将有机相经Na₂SO₄干燥, 过滤并减压浓缩。将所得产物使用硅胶柱 (使用5:95甲醇-二氯甲烷) 纯化, 得到呈白色固体的纯化合物DZ1-067 (0.220g, 68%)。Mp: 148–150℃. HPLC 96.1% [R_t=6.11min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.77 (s, 1H), 7.46 (d, J=9.2Hz, 2H), 6.94 (d, J=8.8Hz, 2H), 4.18–4.12 (m, 1H), 3.89–3.82 (t, J=7.6, 10H), 3.78–3.72 (m, 1H), 3.59–3.47 (d, J=4.8Hz, 2H), 3.14 (t, J=4.8, 6H), 2.63 (t, J=4.8Hz, 2H), 2.02–1.88 (m, 4H), 1.67–1.7 (m, 1H); ¹³C NMR (100MHz, CD₃OD) δ 158.08 [158.36少量异构体], 152.18, 146.37, 139.41, 133.53, 120.95, 116.79, 103.54, 77.46 [76.94少量异构体], 67.61, 54.48, 49.32, 44.46 [44.18少量异构体], 28.44, 25.15. LC-MS (ESI+) m/z 403.20076 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₀H₂₇ClN₆O⁺ (M+H)⁺计算值403.2008, 实测值403.2008。



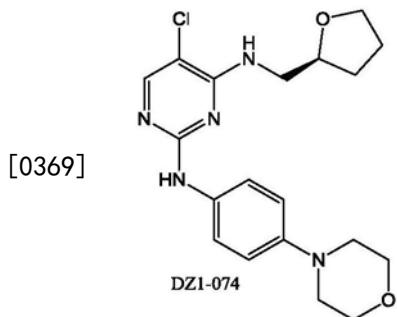
[0364] (R)-1-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-羧酸乙酯 (DZ1-070, 方案4) : 将DZ1-061 (0.100g, 0.403mmol) 和1-(4-氨基苯基)哌啶-4-羧酸乙酯 (0.119g, 0.443mmol) 于密封管内的EtOH (2mL) 中混合并在微波反应器中加热至150℃持续60分钟。将所得溶液减压浓缩, 并将所得残余物用EtOAc和己烷再结晶。将获得的固体过滤并在高真空下干燥, 得到呈灰色固体的纯产物DZ1-070 (0.127g, 69%)。Mp: 184–186℃. HPLC 97.7% [R_t=5.473min, 45%CH₃OH于1%TFA水中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.85 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 4.20–4.14 (m, 2H), 3.87–3.82 (dd, J=4.0, 1H), 3.75–3.67 (m, 3H), 3.58 (d, J=8.0, 1H), 3.07 (s, 1H), 2.61 (s, 1H), 2.12–2.08 (宽d, 2H), 2.05–1.85 (m, 4H), 1.69–1.60 (m, 1H), 1.27 (t, J=8.0Hz, 3H). LC-MS (ESI+) m/z 460.21099 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₃H₃₀ClN₅O₃⁺ (M+H)⁺计算值460.2101, 实测值460.2112。



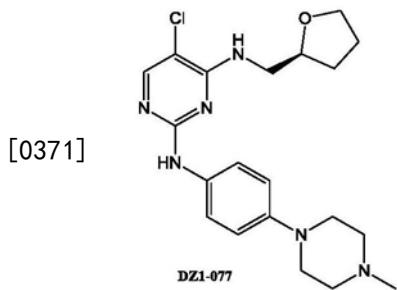
[0366] (R)-1-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-羧酸 (DZ1-072, 方案4) : 将DZ1-070 (0.257g, 0.518mmol)、THF (2.09mL) 和2M NaOH (1.045mL) 在室温下搅拌18小时。将所得溶液浓缩并将获得的固体溶解于水 (2mL) 中。将水溶液用1M HCl (pH4-5) 酸化。然后将获得的固体过滤, 得到呈白色固体的 (R)-1-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基) 哌啶-4-羧酸 (DZ1-072) (0.095g, 42%)。Mp: 140 °C (分解)。HPLC 95.0% [R_t=8.57min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ7.79 (s, 1H), 7.46 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.03 (d, J=8.8Hz, 2H), 4.19-4.13 (m, 1H), 3.90-3.84 (m, 1H), 3.78-3.72 (m, 1H), 3.61-3.49 (m, 4H), 2.83 (t, J=4.8, 11.6Hz, 2H), 2.49-2.44 (m, 1H), 2.07-1.81 (m, 7H), 1.70-1.63 (m, 1H)。¹³C NMR (100MHz, CD₃OD) δ177.21, 158.32, 156.83, 149.226, 146.39, 133.08, 121.64, 117.80, 104.01, 77.28, 67.63, 50.63, 44.42, 40.19, 28.47, 27.74, 25.12. LC-MS (ESI+) m/z 432.179 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₁H₂₆ClN₅O₃⁺ (M+H)⁺ 计算值431.1797, 实测值432.1794。



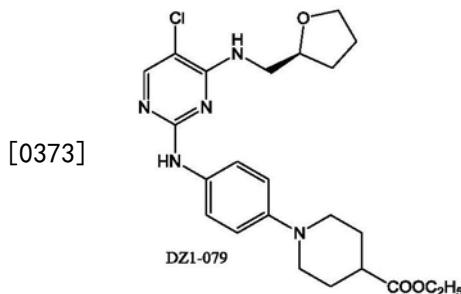
[0368] (S)-2,5-二氯-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-4-胺 (DZ1-057, 方案4) : 将 (S)-(-)-四氢糠胺 (0.992g, 9.81mmol) 添加至2,4,5-三氯嘧啶 (1.00g, 5.45mmol) 于MeOH (10mL) 中的溶液。在0°C下添加三乙胺, 搅拌十分钟, 并使其在氩气下反应一小时。然后将溶液升温至室温并搅拌两小时。减压去除溶剂。将固体溶解于氯仿中, 并用饱和NaHCO₃洗涤。收集有机层, 经Na₂SO₄干燥、过滤并真空干燥, 得到呈白色固体的 (S)-2,5-二氯-N-((四氢呋喃-2-基)甲基) 嘧啶-4-胺DZ1-057) (1.054g, 68%)。HPLC 95.4% [R_t=3.36min, 70%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.01 (s, 1H), 5.91 (s, 1H), 4.12-4.06 (m, 1H), 3.94-3.88 (m, 1H), 3.85-3.77 (m, 1H), 3.44-3.37 (m, 1H), 2.09-2.01 (m, 1H), 1.97-1.90 (m, 3H); LC-MS (ESI+) m/z 247.02792 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₉H₁₁C₁₂N₃O⁺ (M+H)⁺ 计算值248.0356, 实测值248.0353。



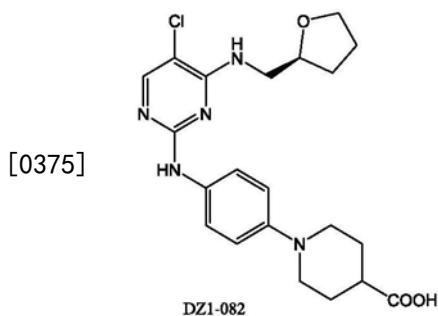
[0370] (S)-5-氯-N2-(4-吗啉代苯基)-N4-(四氢呋喃-2-基)甲基嘧啶-2,4-二胺 (DZ1-074, 方案4) : 将DZ1-057 (0.100g, 0.403mmol) 和4-吗啉代丙氨酸 (0.093g, 0.484mmol) 混合于5mL微波小瓶内的EtOH (1mL) 中并在微波反应器中加热至150℃持续20分钟。将在冷却后形成的所得沉淀过滤、用乙酸乙酯洗涤并随后真空干燥, 得到呈白色固体的 (S)-5-氯-N2-(4-吗啉代苯基)-N4-(四氢呋喃-2-基)甲基嘧啶-2,4-二胺DZ1-074 (0.254g, 74.1%)。Mp: 129℃ (分解)。HPLC 99.9% [R_t=5.140min, 45%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ7.84 (s, 1H), 7.32 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.05 (d, J=9.2Hz, 2H), 4.15-4.18 (m, 1H), 3.85-3.72 (t, J=4.4, 4H), 3.78-3.72 (m, 1H), 3.59-3.57 (d, J=5.2, 2H), 3.17 (t, J=4.8, 6H), 2.02-1.88 (m, 4H), 1.67-1.7 (m, 1H); ¹³C NMR (100MHz, CD₃OD) δ159.14, 151.85, 149.62, 139.16, 124.77, 116.19, 105.05, 76.72, 67.63, 66.37, 49.31, 45.13, 28.53, 25.02. LC-MS (ESI+) m/z 389.1616 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₉H₂₄C1N₅O₂⁺ (M+H)⁺ 计算值 389.1691, 实测值 390.1694。



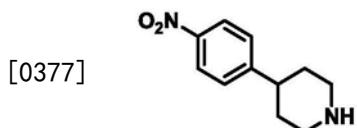
[0372] (S)-5-氯-N2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (DZ1-077方案4) : 将底物DZ1-057 (0.200g, 0.806mmol) 和4-4-甲基哌嗪子基苯胺 (0.170g, 0.889mmol) 在具有4.0M于二噁烷中的HCl (200μL) 的微波小瓶中混合。将2-甲氧基乙醇 (6.50mL) 添加至混合物, 密封小瓶并加热至110℃持续48小时。将所得溶液浓缩并将产物在CHCl₃与饱和NaHCO₃水溶液之间分配。将有机相分离, 然后经Na₂SO₄干燥、过滤并浓缩。将获得的产物使用硅胶柱 (5:95甲醇-二氯甲烷) 纯化得到呈白色固体的纯化合物DZ1-077。[R_t=6.09min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ7.77 (s, 1H), 7.45 (d, J=9.2Hz, 2H), 6.94 (d, J=8.8Hz, 2H), 4.17-4.14 (m, 1H), 3.89-3.84 (m, 1H), 3.78-3.72 (m, 1H), 3.61-3.47 (m, 3H), 3.14 (t, J=4.8Hz, 2H), 2.63 (t, J=4.8Hz, 2H), 2.02-1.88 (m, 4H), 1.67-1.7 (m, 1H). ¹³C NMR (100MHz, CD₃OD) δ158.09 [158.38少量异构体], 152.19, 146.50, 139.42, 133.46, 120.98, 116.75, 103.51, 77.47 [76.95少量异构体], 67.61, 54.58, 49.49, 44.66 [44.17少量异构体], 28.43, 25.15. LC-MS (ESI+) m/z 403.20076 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₀H₂₇C1N₆O⁺ (M+H)⁺ 计算值 402.19349, 实测值 403.20079。



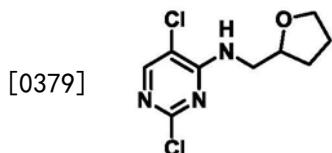
[0374] (S)-1-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-羧酸乙酯(DZ1-079, 方案4): 将DZ1-057 (0.100g, 0.403mmol) 和1-(4-氨基苯基)哌啶-4-羧酸乙酯 (0.119g, .443mmol) 在5mL微波小瓶内的EtOH (2mL) 中混合并在微波反应器中加热至150℃持续60分钟。将所得溶液浓缩, 并将获得的固体使用EtOAc和己烷再结晶。将所得的固体过滤并在高真空下干燥, 得到呈灰色固体的纯产物DZ1-079 (0.127g, 69%)。Mp: 179-181.8℃。HPLC 97.7% [R_t=5.59min, 45%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.85 (s, 1H), 7.45 (宽d, 1H), 7.19 (宽d, 1H), 4.20-4.14 (m, 2H), 3.87-3.82 (dd, J=4.0Hz, 1H), 3.75-3.67 (m, 3H), 3.58 (d, J=8.0, 1H), 3.07 (宽s, 1H), 2.61 (宽s, 1H), 2.12-2.08 (宽d, 2H), 2.05-1.85 (m, 4H), 1.69-1.60 (m, 1H), 1.26 (t, J=7.2Hz, 3H) .LC-MS (ESI+) m/z 460.210 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₃H₃₀C1N₅O₃⁺ (M+H)⁺计算值460.2109, 实测值460.2106。



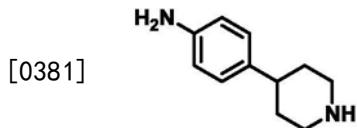
[0376] (S)-1-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-羧酸(DZ1-082, 方案4): 将DZ1-079 (0.100g, 0.201mmol) 、THF (1.02mL) 和2M NaOH (0.508mL) 在室温下搅拌18小时, 将所得溶液浓缩并将获得的产物溶解于水 (2mL) 中。将水溶液用1M HCl酸化至pH为4-5。然后将溶液过滤, 得到呈白色固体的(R)-1-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-羧酸(DZ1-082) (0.058g, 67%)。HPLC 99.7% [R_t=8.67min, 30%CH₃OH于1%TFA水中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.84 (s, 1H), 7.44 (宽d, 2H), 7.018 (宽d, 2H), 4.19-4.13 (m, 2H), 3.987-3.82 (m, 1H), 3.78-3.66 (m, 2H), 3.58 (d, J=6.0Hz, 1H), 2.83 (t, J=11.6, 2H), 2.49-2.44 (m, 1H), 2.07-1.81 (m, 7H), 1.70-1.63 (m, 1H) .¹³C NMR (100MHz, CD₃OD) δ 177.28, 158.29, 157.01, 149.61, 146.47, 133.14, 121.53, 117.77, 103.94, 77.30, 67.63, 50.59, 44.39, 40.25, 28.46, 27.78, 25.12. LC-MS (ESI+) m/z 432.17969 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₁H₂₆C1N₅O₃⁺ (M+H)⁺计算值431.17242, 实测值432.17969。



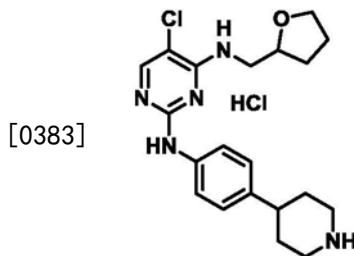
[0378] 4-(4-硝基苯基)哌啶(NT1-001):将浓H₂SO₄(2.65mL)于乙酸(40mL)中的溶液和浓HNO₃(2.1mL)于乙酸(20mL)中的溶液顺序添加并滴加至4-苯基哌啶(8.15g,53.9mmol)于乙酸(40mL)中的溶液,维持温度低于20℃。然后添加浓H₂SO₄(不施加冷却,内部温度达到45℃)。使得反应混合物冷却至室温,然后冷藏过夜。然后将混合物倾倒至冰/水(100g)上、通过添加固体NaHCO₃(150g)中和并用DCM萃取。将有机相用盐水洗涤、干燥(Na₂SO₄)、过滤并浓缩。将残余物通过用二乙醚研磨纯化,得到呈白色粉末的4-(4-硝基苯基)哌啶(NT1-001)(5.5g,50%)。HPLC 95.4% [R_t=6.74min,30%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min].¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ8.21(d,J=8.9Hz,2H),7.43(d,J=8.9Hz,2H),3.72-3.62(m,2H),3.08-2.98(m,1H),2.95-2.86(m,2H),2.33-2.21(m,2H),2.12-2.03(m,2H).LC-MS (ESI+) m/z 207.11218 (M+H)⁺;HRMS (ESI+) m/z C₁₁H₁₄N₂O₂⁺ (M+H)⁺计算值207.1128,实测值207.1132 (J.Med.Chem.2011;54:7066-7083)。



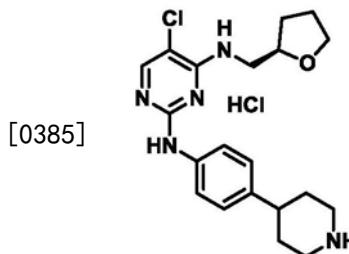
[0380] 2,5-二氯-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-4-胺(NT1-003):将于MeOH(11mL)中的四氢糠胺(1.251g,12.36mmol)滴加至2,4,5-三氯嘧啶(2.27g,12.36mmol)和三乙胺(1.251g,12.36mmol)于MeOH(11mL)中的0℃溶液并使其在氩气下反应1.5小时。此后,使反应混合物升温至室温。减压去除溶剂,将残余物溶解于DCM中、用水洗涤、干燥并蒸发,得到呈黄色固体的2,5-二氯-N-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-4-胺(NT1-003)(2.86g,93%)。HPLC 92.0% [R_t=11.167min,30%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min].¹H NMR(400MHz,甲醇-d4) δ8.01(s,1H),4.16-4.09(m,1H),3.91-3.85(m,1H),3.78-3.72(m,1H),3.60-3.48(m,2H),2.06-1.83(m,3H),1.70-1.58(m,1H).LC-MS (ESI+) m/z 248.03536 (M+H)⁺;HRMS (ESI+) m/z C₉H₁₁Cl₂N₃O⁺ (M+H)⁺计算值248.0352,实测值248.0359。



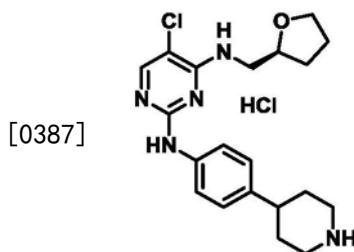
[0382] 4-(哌啶-4-基)苯胺(NT1-004):将于MeOH(30mL)中的NT1-001(400mg,1.942mmol)与钯催化剂(144mg)在氩气下合并。去除氩气并将H₂气引入至系统中。在室温下3.5个小时,过滤钯催化剂,减压去除溶剂。将残余物通过用DCM研磨来纯化,得到呈白色固体的4-(哌啶-4-基)苯胺(NT1-004)(340mg,99%)。HPLC 95.0% [R_t=6.74min,30%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min].¹H NMR(400MHz,甲醇-d4) δ6.99(d,J=8.4Hz,2H),6.69(d,J=8.4Hz,2H),3.46-3.22(m,2H),2.95(td,J=12.8,3.0Hz,2H),2.70-2.62(m,1H),1.96-1.84(m,2H),1.82-1.70(m,2H).LC-MS (ESI+) m/z 177.13808 (M+H)⁺;HRMS (ESI+) m/z C₁₁H₁₆N₂⁺ (M+H)⁺计算值177.1386,实测值177.1382。



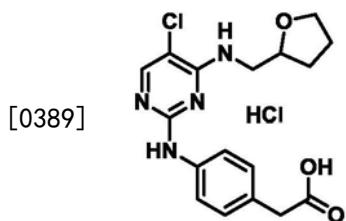
[0384] 5-氯-N²-(4-(哌啶-4-基)苯基)-N⁴-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (NT1-005) : 将底物NT1-003 (80mg, 0.32mmol) 和NT1-004 (28.4mg, 0.32mmol) 在微波管中与EtOH (1mL) 混合。然后将0.1N HCl (1mL) 添加至管。将容器密封并加热至150℃持续40分钟。减压去除溶剂、将残余物用DCM洗涤并过滤, 得到呈桃色固体的5-氯-N²-(4-(哌啶-4-基)苯基)-N⁴-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (NT1-005) (90mg, 72.0%) , mp 160℃ (dec.)。HPLC 85.6% [R_t=7.51min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]. ¹H NMR (400MHz, 甲醇-d4) δ 7.94 (s, 1H) , 7.49 (d, J=8.2Hz, 2H) , 7.35 (d, J=8.4Hz, 2H) , 4.16 (p, J=6.2Hz, 1H) , 3.86-3.68 (m, 2H) , 3.65-3.46 (m, 4H) , 3.22-3.09 (m, 2H) , 3.00-2.90 (m, 1H) , 2.14-1.82 (m, 8H) , 1.69-1.58 (m, 1H) . ¹³C NMR (101MHz, 甲醇-d4) δ 159.20, 151.43, 141.84, 139.72, 135.04, 127.16, 122.99, 105.19, 76.74, 67.63, 45.23, 44.15, 39.15, 29.68, 28.54, 25.01. LC-MS (ESI+) m/z 388.18965 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₀H₂₆C1N₅O⁺ (M+H)⁺计算值388.1899, 实测值388.1900。



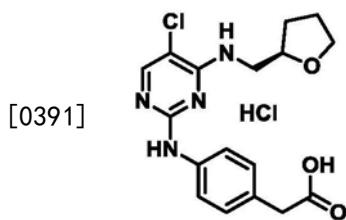
[0386] (R)-5-氯-N²-(4-(哌啶-4-基)苯基)-N⁴-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (NT1-010) : 将底物NT1-008 (100mg, 0.403mmol) 和NT1-004 (71mg, 0.403mmol) 在微波管内与EtOH (1.5mL) 混合。然后将0.1N HCl (1mL) 添加至管。将容器密封并加热至150℃持续40分钟。减压去除溶剂, 并将残余物用DCM洗涤并过滤, 得到呈白色固体的(R)-5-氯-N²-(4-(哌啶-4-基)苯基)-N⁴-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (NT1-010) (87mg, 56%) , mp 160℃ (dec.) , HPLC 95.3% [R_t=7.55min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]. ¹H NMR (400MHz, 甲醇-d4) δ 7.94 (s, 1H) , 7.48 (d, J=8.2Hz, 2H) , 7.36 (d, J=8.4Hz, 2H) , 4.16 (p, J=6.2Hz, 1H) , 3.86-3.67 (m, 2H) , 3.64-3.44 (m, 4H) , 3.22-3.09 (m, 2H) , 3.02-2.90 (m, 1H) , 2.14-1.84 (m, 8H) , 1.69-1.58 (m, 1H) . ¹³C NMR (101MHz, 甲醇-d4) δ 159.18, 151.36, 141.70, 139.82, 135.13, 128.13, 127.11, 122.75, 105.10, 76.76, 67.64, 45.27, 44.16, 39.16, 29.68, 28.57, 25.03. LC-MS (ESI+) m/z 388.19139 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₀H₂₆C1N₅O⁺ (M+H)⁺计算值388.1899, 实测值388.1913。



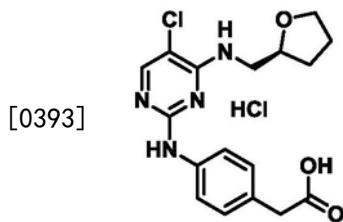
[0388] (S)-5-氯-N²-(4-(哌啶-4-基)苯基)-N⁴-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺(NT1-011)：将底物NT1-009(100mg,0.403mmol)和NT1-004(71mg,0.403mmol)混合在具有EtOH(1.5mL)的微波管中。然后将0.1N HCl(1mL)添加至管。将容器密封并加热至150℃持续40分钟。减压去除溶剂、将残余物用DCM洗涤并过滤，得到呈白色固体的(S)-5-氯-N²-(4-(哌啶-4-基)苯基)-N⁴-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺(NT1-011)(12.9mg,86%)，mp 160℃(dec.)。HPLC 92.3%[R_t=7.58min,30%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min].¹H NMR(400MHz,甲醇-d4)δ7.94(s,1H),7.48(d,J=8.2Hz,2H),7.36(d,J=8.4Hz,2H),4.16(p,J=6.2Hz,1H),3.85-3.66(m,2H),3.62-3.44(m,4H),3.20-3.10(m,2H),3.02-2.92(m,1H),2.14-1.85(m,8H),1.69-1.56(m,1H).¹³C NMR(101MHz,甲醇-d4)δ159.27,151.02,142.26,138.84,134.66,127.29,123.33,105.34,76.70,67.63,45.30,44.15,39.16,29.65,28.55,25.01.LC-MS(ESI+)m/z 388.19163(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₂₀H₂₆C1N₅O⁺(M+H)⁺计算值388.1899,实测值388.1913。



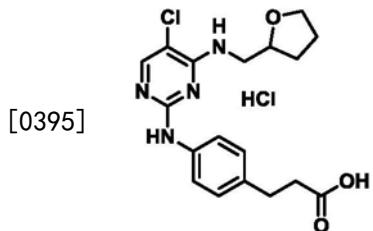
[0390] 2-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙酸(NT1-006)：将底物NT1-003(60mg,0.242mmol)和4-氨基苯基乙酸(24.32mg,0.161mmol)混合在具有乙腈(2mL)的微波管中。然后将3滴2M HCl添加至管。将容器密封并加热至150℃持续120分钟。冷却后，沉淀形成。将反应混合物过滤并将固体通过用DCM研磨来纯化，得到呈黄色固体的2-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙酸(NT1-006)(40mg,69%)，mp 160℃(dec.)。HPLC 91.9%[R_t=9.40min,30%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min].¹H NMR(400MHz,甲醇-d4)δ7.92(s,1H),7.44(d,J=8.4Hz,2H),7.37(d,J=8.5Hz,2H),4.16(p,J=6.5Hz,1H),3.85-3.68(m,2H),3.64(s,2H),3.62-3.56(m,2H),2.05-1.82(m,3H),1.67-1.56(m,1H).¹³C NMR(101MHz,甲醇-d4)δ173.82,159.25,151.11,138.86,130.02,123.14,105.33,76.75,67.64,45.33,39.86,28.53,25.00.LC-MS(ESI+)m/z 363.12267(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₁₇H₁₉C1N₄O₃⁺(M+H)⁺计算值363.1218,实测值363.1226。



[0392] (R)-2-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙酸(NT1-012):将底物NT1-008(100mg,0.403mmol)和4-氨基苯基乙酸(40.63mg,0.269mmol)混合于具有乙腈(3mL)的微波管内。然后将五滴0.1M HCl添加至管。将容器密封并加热至150℃持续120分钟。冷却后,沉淀形成。将反应混合物过滤并通过用DCM研磨来纯化固体,得到呈黄色固体的(R)-2-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙酸(NT1-012)(85mg,87%),mp 160℃(dec.)。HPLC 96.3%[R_t=9.45min,30%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min]。¹H NMR(400MHz,甲醇-d4)δ7.89(s,1H),7.46(d,J=8.4Hz,2H),7.32(d,J=8.5Hz,2H),4.16(p,J=6.5Hz,1H),3.87-3.68(m,2H),3.62(s,2H),3.60-3.56(m,2H),2.05-1.85(m,3H),1.68-1.59(m,1H)。¹³C NMR(101MHz,甲醇-d4)δ173.89,159.16,139.82,135.15,132.43,129.86,122.66,105.13,76.80,67.63,45.27,39.87,28.53,25.00.LC-MS(ESI+)m/z 363.12289(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₁₇H₁₉C1N₄O₃⁺(M+H)⁺计算值363.1218,实测值363.1228。

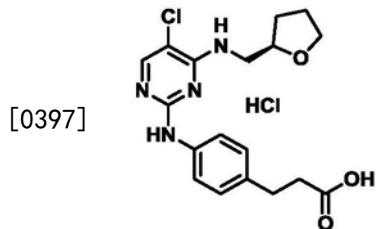


[0394] (S)-2-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙酸(NT1-013):将底物NT1-009(100mg,0.403mmol)和4-氨基苯基乙酸(40.63mg,0.269mmol)在具有乙腈(3mL)的微波管中混合。然后添加5滴0.1M HCl至管。将容器密封并加热至150℃持续120分钟。冷却后,沉淀形成。将反应混合物过滤并通过用DCM研磨来纯化固体,得到呈黄色固体的(S)-2-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙酸(NT1-013)(79mg,81%),mp 160℃(dec.)。HPLC 96.4%[R_t=9.43min,30%CH₃OH于0.1%TFA水中,20min]。¹H NMR(400MHz,甲醇-d4)δ7.90(s,1H),7.46(d,J=8.4Hz,2H),7.33(d,J=8.5Hz,2H),4.16(p,J=6.5Hz,1H),3.86-3.68(m,2H),3.62(s,2H),3.60-3.57(m,2H),2.05-1.84(m,3H),1.67-1.58(m,1H)。¹³C NMR(101MHz,甲醇-d4)δ173.88,159.17,151.50,139.78,135.14,132.46,129.87,122.68,105.16,76.80,67.63,45.28,39.87,28.53,25.00.LC-MS(ESI+)m/z 363.12285(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₁₇H₁₉C1N₄O₃⁺(M+H)⁺计算值363.1218,实测值363.1231。

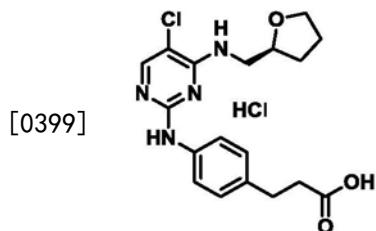


[0396] 3-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙酸(NT1-007):将底物NT1-003(240mg,0.966mmol)和3-(4-氨基苯基)丙酸(106.5mg,0.644mmol)在具有乙腈(8mL)的微波管内混合。然后将12滴2M HCl添加至管。将容器密封并加热至150℃持续120分钟。冷却后,沉淀形成。将反应混合物过滤并通过用DCM研磨来纯化固体,得到呈浅黄色固体的3-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙酸。

(NT1-007) (230mg, 95%) ,mp °C (dec.) 。HPLC 95.9% [R_t=9.79min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]。¹H NMR (400MHz, 甲醇-d4) 87.91 (s, 1H) , 7.39 (d, J=8.2Hz, 2H) , 7.32 (d, J=8.2Hz, 2H) , 4.16 (p, J=6.5Hz, 1H) , 3.89-3.65 (m, 2H) , 3.65-3.54 (m, 2H) , 2.94 (t, J=7.5Hz, 2H) , 2.62 (t, J=7.5Hz, 2H) , 2.05-1.85 (m, 3H) , 1.68-1.57 (m, 1H) 。¹³C NMR (101MHz, 甲醇-d4) δ173.47, 159.25, 138.73, 128.96, 123.31, 105.31, 76.72, 67.63, 45.29, 34.99, 29.90, 28.54, 25.01. LC-MS (ESI+) m/z 377.13904 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₈H₂₁ClN₄O₃⁺ (M+H)⁺计算值377.1375, 实测值377.1383。

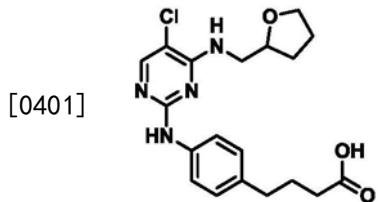


[0398] (R)-3-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙酸 (NT1-014) : 将底物NT1-008 (80mg, 0.323mmol) 和3-(4-氨基苯基)丙酸 (35.4mg, 0.215mmol) 密封在具有乙腈 (3mL) 的微波管中。然后添加5滴2M HCl至管。将容器密封并加热至150°C 持续120分钟。冷却后, 沉淀形成。将反应混合物过滤并通过用DCM研磨来纯化固体, 得到呈浅黄色固体的 (R)-3-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙酸 (NT1-014) (80mg, 99%) , mp 180°C (dec.) 。HPLC 96.7% [R_t=9.83min, 30%CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min]。¹H NMR (400MHz, DMSO-d6) δ10.56 (s, 1H) , 8.74 (s, 1H) , 8.20 (s, 1H) , 7.51-7.39 (m, 2H) , 7.31 (s, 1H) , 7.24-7.15 (m, 2H) , 4.07 (p, J=6.3Hz, 1H) , 3.74-3.66 (m, 1H) , 3.62-3.54 (m, 1H) , 3.49-3.39 (m, 2H) , 2.78 (t, J=7.6Hz, 2H) , 2.54-2.44 (m, 2H) , 1.91-1.72 (m, 3H) , 1.62-1.52 (m, 1H) 。¹³C NMR (101MHz, DMSO-d6) δ174.16, 158.73, 137.33, 135.73, 129.08, 121.38, 104.26, 76.62, 67.58, 45.76, 35.71, 30.18, 29.03, 25.38. LC-MS (ESI+) m/z 377.13859 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₈H₂₁ClN₄O₃⁺ (M+H)⁺计算值377.1375, 实测值377.1386。

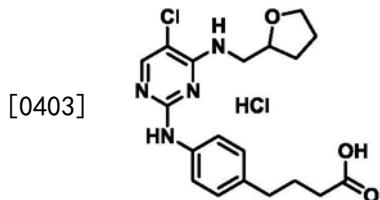


[0400] (S)-3-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙酸 (NT1-015) : 将底物NT1-009 (80mg, 0.323mmol) 和3-(4-氨基苯基)丙酸 (35.4mg, 0.215mmol) 混合于具有乙腈 (3mL) 的微波管中。然后将5滴2M HCl添加至管。将容器密封并加热至150°C 持续120分钟。冷却后, 沉淀形成。将反应混合物过滤并通过用DCM研磨来纯化固体, 得到呈浅黄色固体的 (S)-3-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙酸 (NT1-015) (77mg, 95%) , mp 180°C (dec.) 。HPLC 96.4% [R_t=9.82min, 30%CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min]。¹H NMR (400MHz, DMSO-d6) δ10.56 (s, 1H) , 8.75 (s, 1H) , 8.21 (s, 1H) , 7.48-7.39 (m, 2H) , 7.29 (s, 1H) , 7.24-7.13 (m, 2H) , 4.07 (p, J=6.4Hz, 1H) , 3.75-3.66 (m, 1H) , 3.63-3.54 (m, 1H) , 3.47-3.39 (m, 2H) , 2.78 (t, J=7.7Hz, 2H) , 2.54-2.44 (m, 2H) , 1.94-1.69

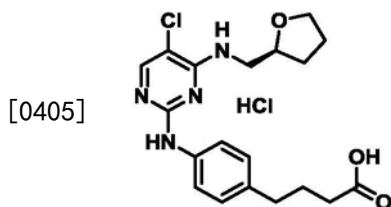
(m, 3H), 1.65-1.47 (m, 1H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO-d6) δ 174.16, 158.74, 151.89, 142.40, 137.39, 135.69, 129.09, 121.47, 104.29, 76.61, 67.59, 45.76, 35.70, 30.18, 29.03, 25.38. LC-MS (ESI+) m/z 377.13848 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₈H₂₁ClN₄O₃⁺ (M+H)⁺ 计算值 377.1375, 实测值 377.1389。



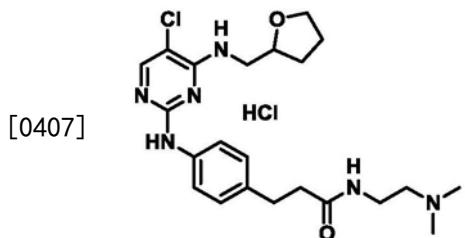
[0402] 4-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丁酸 (NT1-025) : 将底物NT1-003 (200mg, 0.806mmol) 和4-(4-氨基苯基)-丁酸 (96.3mg, 0.537mmol) 混合于具有乙腈 (6mL) 的微波管中。然后添加10滴2M HCl至管。将容器密封并加热至150℃持续120分钟。冷却后, 沉淀形成。将反应混合物过滤并通过用DCM研磨来纯化固体, 得到呈白色固体的4-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丁酸 (NT1-025) (164mg, 78%) , mp 180℃ (dec.) 。HPLC 94.1% [R_t=10.34min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]。 ^1H NMR (400MHz, 甲醇-d4) δ 7.90 (s, 1H), 7.38 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.30 (d, J=8.1Hz, 2H), 4.21-4.11 (m, 1H), 3.86-3.69 (m, 2H), 3.60-3.53 (m, 2H), 2.69 (t, J=8.0Hz, 2H), 2.31 (t, J=8.0Hz, 2H), 2.04-1.83 (m, 4H), 1.67-1.57 (m, 2H). ^{13}C NMR (101MHz, 甲醇-d4) δ 175.77, 159.25, 138.71, 129.09, 123.45, 105.28, 76.72, 67.61, 45.27, 34.10, 32.68, 28.53, 26.45, 24.99. LC-MS (ESI+) m/z 391.15401 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₉H₂₃ClN₄O₃⁺ (M+H)⁺ 计算值 391.1531, 实测值 391.1541。



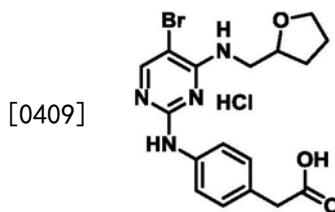
[0404] (R)-4-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丁酸 (NT1-026) : 将底物NT1-008 (80mg, 0.323mmol) 和4-(4-氨基苯基)-丁酸 (38.5mg, 0.215mmol) 混合于具有乙腈 (3mL) 的微波管内。然后添加5滴2M HCl至管。将容器密封并加热至150℃持续120分钟。冷却后, 沉淀形成。将反应混合物过滤并通过用DCM研磨来纯化固体, 得到呈白色固体的(R)-4-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丁酸 (NT1-026) (67mg, 80%) , mp 180℃ (dec.) 。HPLC 95.4% [R_t=10.35min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]。 ^1H NMR (400MHz, 甲醇-d4) δ 7.90 (s, 1H), 7.38 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.30 (d, J=8.1Hz, 2H), 4.21-4.11 (m, 1H), 3.86-3.69 (m, 2H), 3.60-3.53 (m, 2H), 2.69 (t, J=8.0Hz, 2H), 2.31 (t, J=8.0Hz, 2H), 2.04-1.83 (m, 4H), 1.67-1.57 (m, 2H). ^{13}C NMR (101MHz, 甲醇-d4) δ 175.77, 174.19, 159.25, 138.72, 129.08, 123.41, 105.28, 76.72, 67.61, 45.27, 34.08, 32.59, 28.53, 26.36, 24.99. LC-MS (ESI+) m/z 391.15439 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₉H₂₃ClN₄O₃⁺ (M+H)⁺ 计算值 391.1531, 实测值 391.1550。



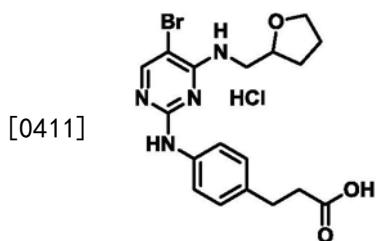
[0406] (S)-4-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丁酸 (NT1-027) : 将底物NT1-009 (8.0mg, 0.323mmol) 和4-(4-氨基苯基)-丁酸 (38.5mg, 0.215mmol) 密封于具有乙腈 (3mL) 的微管内。然后添加5滴2M HCl至管。将容器密封并加热至150°C持续120分钟。冷却后,沉淀形成。将反应混合物过滤并通过用DCM研磨来纯化固体,得到呈白色固体的(S)-4-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丁酸 (NT1-027) (83mg, 99%) ,mp 180°C (dec.) 。HPLC 94.7% [R_t=10.36min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]。¹H NMR (400MHz, 甲醇-d4) δ7.90 (s, 1H), 7.38 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.29 (d, J=8.0Hz, 2H), 4.16 (p, J=6.5z, 1H), 3.85-3.69 (m, 2H), 3.61-3.55 (m, 2H), 2.69 (t, J=7.6H, 2H), 2.31 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.04-1.83 (m, 4H), 1.66-1.57 (m, 2H)。¹³C NMR (101MHz, 甲醇-d4) δ174.19, 159.25, 138.71, 129.08, 123.42, 105.29, 76.71, 67.61, 45.26, 34.06, 32.58, 28.53, 26.35, 24.99. LC-MS (ESI+) m/z 391.15333 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₉H₂₃ClN₄O₃⁺ (M+H)⁺计算值391.1531, 实测值391.1545。



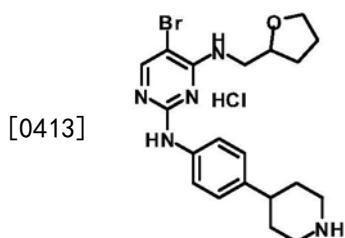
[0408] 3-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-(2-(二甲基氨基)乙基)丙酰胺 (NT1-028) : 将EDC-HCl (66.26mg, 0.346mmol) 添加至NT1-007 (100mg, 0.266mmol) 、N,N-二甲基乙二胺 (30.5mg, 0.346mmol) 、HOBT (46.68mg, 0.346mmol) 和三乙胺 (61.92mg, 0.612mmol) 于DMF (1mL) 中的溶液并在氩气下在室温下搅拌18小时。减压去除溶剂、将反应残余物溶解于乙酸乙酯中,并将溶液用饱和Na₂CO₃溶液洗涤。将有机相干燥、过滤并蒸发,得到呈浅黄色粉末的3-(4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)-N-(2-(二甲基氨基)乙基)丙酰胺 (NT1-028) (60mg, 51%) ,mp 120°C (dec.) 。HPLC 92.0% [R_t=7.79min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]。¹H NMR (400MHz, 甲醇-d4) δ7.80 (s, 1H), 7.51 (d, J=8.7Hz, 2H), 7.11 (d, J=8.0Hz, 2H), 4.16 (p, 1H), 3.92-3.85 (m, 1H), 3.79-3.70 (m, 1H) 3.64-3.48 (m, 2H), 3.27 (t, J=7.7Hz, 2H), 2.86 (t, J=7.7Hz, 2H), 2.45 (t, J=7.7Hz, 2H), 2.39 (t, J=7.7Hz, 2H), 2.25 (s, 6H), 2.08-1.84 (m, 3H), 1.73-1.63 (m, 1H)。¹³C NMR (101MHz, 甲醇-d4) δ173.96, 158.17, 158.09, 152.26, 138.49, 134.17, 128.08, 119.36, 103.87, 77.46, 67.63, 57.67, 44.26, 43.93, 37.77, 36.39, 30.84, 28.46, 25.17. LC-MS (ESI+) m/z 447.22732 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z 计算值C₂₂H₃₂ClN₆O₂⁺ (M+H)⁺ 447.2270, 实测值447.2270。



[0410] 2-(4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙酸 (NT1-022) : 将底物DZ1-090 (100mg, 0.242mmol) 和4-氨基苯基乙酸 (34.4mg, 0.228mmol) 混合于具有乙腈 (3mL) 的微波管中。然后添加5滴2M HCl至管。将容器密封并加热至150℃持续120分钟冷却后, 沉淀形成。将反应混合物过滤并通过用DCM研磨来纯化固体, 得到呈浅灰色固体的2-(4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)乙酸 (NT1-022) (70mg, 76%) , mp 120℃ (dec.) 。HPLC 81.3% [R_t=9.48min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]。¹H NMR (400MHz, DMSO-d6) δ10.47 (s, 1H) , 8.23 (s, 1H) , 7.55-7.41 (m, 2H) , 7.35 (s, 1H) , 7.27-7.13 (m, 2H) , 4.06 (p, J=6.8, 6.3Hz, 1H) , 3.75-3.65 (m, 1H) , 3.62-3.54 (m, 1H) , 3.51 (s, 2H) , 3.47-3.35 (m, 2H) , 1.94-1.68 (m, 3H) , 1.63-1.46 (m, 1H) . LC-MS (ESI+) m/z 409.06954 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₇H₁₉BrN₄O₃⁺ (M+H)⁺计算值407.0713, 实测值407.0718。

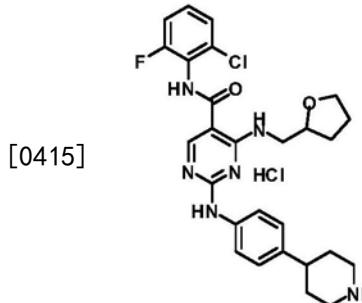


[0412] 3-(4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙酸 (NT1-023) : 将底物DZ1-090 (100mg, 0.34mmol) 和3-(4-氨基苯基)丙酸 (37.6mg, 0.228mmol) 混合在具有乙腈 (3mL) 的微波管中。然后添加5滴2M HCl至管。将容器密封并加热至150℃持续120分钟。冷却后, 沉淀形成。将反应混合物过滤并通过用DCM研磨来纯化固体, 得到呈浅灰色固体的3-(4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙酸 (NT1-023) (69mg, 72.6%) , mp 180℃ (dec.) 。HPLC 81.0% [R_t=9.85min, 30%CH₃OH于0.1%TFA水中, 20min]。¹H NMR (400MHz, DMSO-d6) δ10.53 (s, 1H) , 8.46 (s, 1H) , 8.25 (s, 1H) , 7.44 (d, J=8.2Hz, 2H) , 7.20 (d, J=8.2Hz, 2H) , 4.05 (q, J=6.6Hz, 1H) , 3.74-3.64 (s, 1H) , 3.62-3.53 (m, 1H) , 3.50-3.33 (m, 2H) , 2.77 (t, J=7.7Hz, 1H) , 2.56-2.30 (m, 2H) , 1.90-1.68 (m, 3H) , 1.61-1.46 (m, 1H) . LC-MS (ESI+) m/z 421.08660 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₇H₁₉BrN₄O₃⁺ (M+H)⁺计算值421.0870, 实测值421.0878。

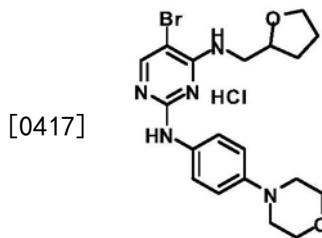


[0414] 5-溴-N2-(4-(哌啶-4-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (DZ1-088) : 将SK1-008 (8b, 方案3) (0.047g, 0.161mmol) 和NT1-004 (0.028g, 0.161mmol) 于

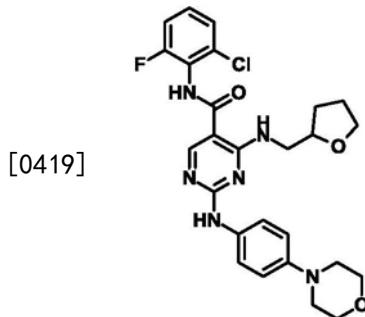
EtOH (1mL) 和 0.1M HCl 水溶液 (1mL) 中的混合物用微波反应器在 150°C 下加热 40 分钟。去除溶剂并将所得残余物用 DCM 浆化、过滤并在高真空下干燥，得到呈白色固体的标题化合物 (0.014mg, 19%)。HPLC 98.8% ($R_t = 2.50\text{min}$, 45% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min); ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 8.01 (s, 1H), 7.47 (d, $J = 9.2\text{Hz}$, 2H), 7.37 (d, $J = 9.2\text{Hz}$, 2H), 4.17–4.14 (m, 1H), 3.83–3.70 (m, 2H), 3.60–3.50 (m, 4H), 3.15 (t, $J = 11.2\text{Hz}$, 2H), 2.96 (t, $J = 12.0\text{Hz}$, 1H), 2.10–1.87 (m, 6H), 1.66–1.58 (m, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 432.13; $(\text{M}+\text{H})^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}$ ($\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 432.1394, 实测值 432.1392。



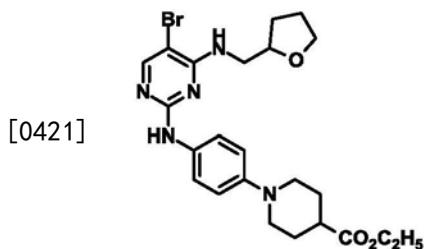
[0416] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(4-(哌啶-4-基)苯基氨基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (DZ1-089) : 将 YL7-102 (0.062g, 0.161mmol) 和 NT1-004 (0.028g, 0.161mmol) 于 EtOH (1mL) 和 0.1M HCl 水溶液 (1mL) 中的混合物用微波反应器在 150°C 下加热 40 分钟。去除溶剂并将所得残余物用 DCM 浆化、过滤并在高真空下干燥, 得到呈固体的标题化合物 (0.032mg, 36%) ; HPLC 89.4% ($R_t = 10.37\text{min}$, 45% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min) ; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$) : 88.60 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 1H), 7.55 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 2H), 7.40 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 2.8\text{Hz}$, 2H), 7.25-7.19 (m, 1H), 4.19-4.10 (m, 1H), 3.93-3.80 (m, 1H), 3.75-3.60 (m, 3H), 3.53-3.50 (d, $J = 12.0\text{Hz}$, 2H), 3.16 (t, $J = 10.4\text{Hz}$, 2H), 3.00-2.93 (t, $J = 12.0\text{Hz}$, 1H), 2.11-1.89 (m, 6H), 1.67-1.60 (m, 1H). LC-MS (ESI+) m/z 525.2; $(\text{M}+\text{H})^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{ClFN}_6\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ 计算值 525.2176, 实测值 525.2175。



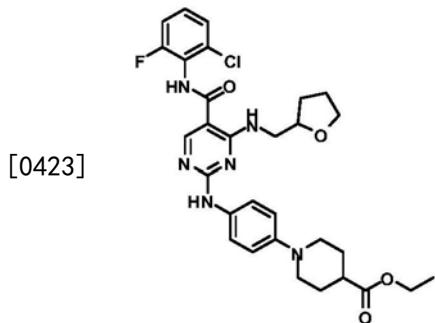
[0418] 5-溴-N2-(4-吗啉代苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (DZ1-091): 将SK1-008 (8b, 方案3) (0.100g, 0.342mmol) 和4-吗啉代苯胺 (0.067g, 0.376mmol) 于 EtOH (1mL) 中的混合物用微波反应器在150℃下处理20分钟。将所得沉淀过滤并用乙酸乙酯洗涤并在高真空下干燥, 得到呈白色固体的标题化合物 (0.115mg, 65%)。HPLC 82.6% (R_t = 6.00min, 45% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min); ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 7.94 (s, 1H), 7.36 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.13 (d, J=9.2Hz, 2H), 4.19–4.10 (m, 1H), 3.95–3.80 (m, 6H), 3.76–3.70 (m, 1H), 3.63–3.57 (m, 3H), 3.25–3.22 (t, J=4.8Hz, 4H), 2.01–1.88 (m, 3H), 1.67–1.59 (m, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 434.13; (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₉H₂₅BrN₅O₂ (M+H)⁺ 计算值434.1186, 实测值434.1182。



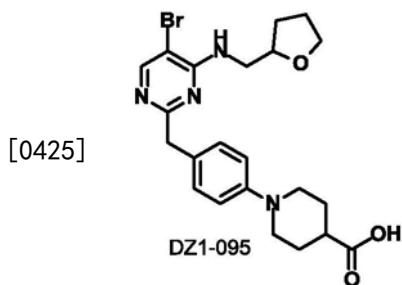
[0420] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(4-吗啉代苯基氨基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (DZ1-092) : 将底物YL7-102 (100mg, 0.26mmol) 和4-吗啉代苯胺 (0.069g, 0.38mmol) 在具有4.0M于二噁烷中的HCl (110μL) 和2-甲氧基乙醇 (4.00mL) 的微波管内混合, 并在110℃下加热16小时。将所得溶液浓缩并将产物在CHCl₃与饱和NaHCO₃水溶液之间分配。然后将有机相经Na₂SO₄干燥、过滤并浓缩。将所得固体用二氯甲烷和己烷浆化两次、过滤并减压干燥, 得到呈浅绿色固体的DZ1-092。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : 8.50 (s, 1H), 7.38 (m, 3H), 7.24-7.19 (m, 1H), 7.08 (d, J=8.8Hz, 2H), 4.16-4.10 (m, 1H), 3.85 (t, J=4.8Hz, 4H), 3.76-3.59 (m, 3H), 3.20 (t, J=4.8Hz, 4H), 2.01-1.91 (m, 3H), 1.66-1.58 (m, 1H). HPLC-MS (ESI+) m/z 527.2 (100%), HRMS (ESI+) m/z C₂₇H₃₁ClFN₆O₃ (M+H) 计算值527.1968, 实测值527.1962。



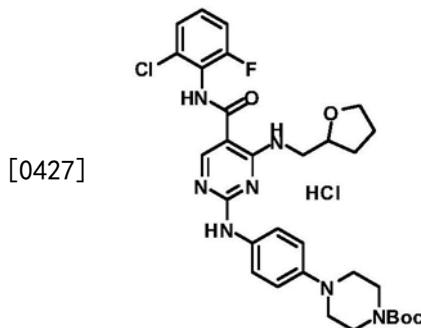
[0422] 1-(4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-羧酸乙酯(DZ1-093):将SK1-008(8b,方案3)(0.200g,0.683mmol)和1-(4-氨基苯基)哌啶-4-羧酸乙酯(0.186g,0.752mmol)于EtOH(2mL)中的混合物用微波反应器在150℃下加热20分钟。将所得沉淀用微波反应器在150℃下过滤20分钟。将所得沉淀过滤并用乙酸乙酯洗涤并在高真空下干燥,得到呈褐色固体的标题化合物(0.070mg,22%)。HPLC 99.7% [R_t=6.55min,45%CH₃OH于水(0.1%TFA)中,20min];¹H NMR(400MHz,DMSO)δ7.86(s,1H),7.45(d,J=9.2Hz,2H),6.96(d,J=9.2Hz,2H),4.16-4.12(m,3H),3.90-3.86(m,1H),3.78-3.72(m,1H),3.62-3.45(m,4H),2.76-2.72(t,J=12Hz,2H),2.50-2.42(m,1H),2.03-1.78(m,7H),1.69-1.60(m,1H).LC-MS(ESI+)m/z 503.2(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₂₃H₃₀BrN₅O₃(M+H)⁺计算值504.16048,实测值504.15966。



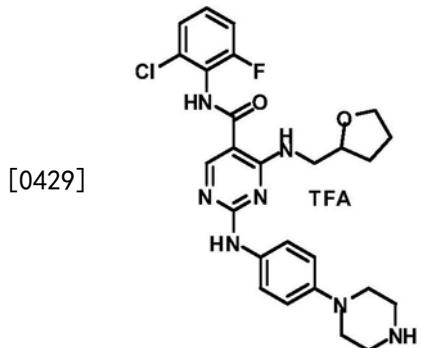
[0424] 1-(4-(5-(2-氯-6-氟苯基氨基甲酰基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌啶-4-羧酸乙酯(DZ1-094)：将YL8-102(0.200g,0.519mmol)和1-(4-氨基苯基)哌啶-4-羧酸乙酯(0.141g,0.571mmol)于EtOH(2mL)中的混合物在微波反应器中在150℃下加热20分钟。将所得沉淀过滤并用乙酸乙酯洗涤并在高真空下干燥，得到呈灰色固体的标题化合物(0.215mg,71%)。HPLC 94.1% [R_t=12.01min,Grad.5-95%CH₃OH于水(0.1%甲酸)中,20min];¹H NMR(400MHz,DMSO)δ8.99(s,1H),7.94(s,1H),7.53(d,J=8.8Hz,2H),6.84(d,J=8.8Hz,2H),6.76(t,J=4.8Hz,1H),4.10-4.03(m,1H),3.78-3.73(m,1H),3.42(t,J=5.6Hz,2H),3.13-3.04(m,4H),2.44-2.35(m,4H),1.92-1.75(m,4H),1.62-1.56(m,2H).LC-MS(ESI+)m/z 596.2(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₃₀H₃₇C1FN₆O₄(M+H)⁺计算值597.23778,实测值597.23778。



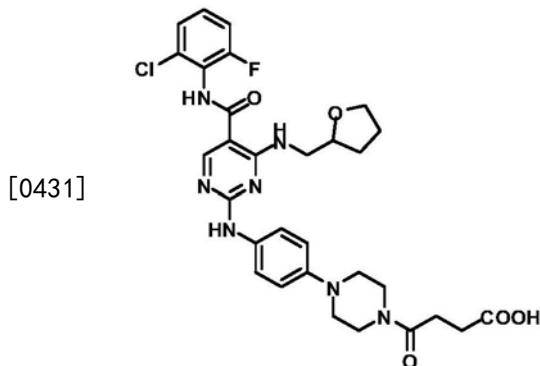
[0426] 1-(4-((5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基)甲基)苯基)哌啶-4-羧酸(DZ1-095)：将DZ1-093(0.025g,0.050mmol)、THF(0.248mL)和2M NaOH(0.200mL)在室温下搅拌18小时，将所得溶液浓缩并将获得的产物溶解于水(2mL)中。将水溶液用1M HCl酸化至4-5的pH。然后将水溶液过滤，得到呈浅褐色固体的DZ1-095(0.019g,81%)。¹H NMR(400MHz,DMSO)δ12.27(s,1H),8.95(s,1H),7.93(s,1H),7.51-7.48(d,J=9.2Hz,2H),6.83-6.81(d,J=4.8Hz,2H),6.75-6.73(t,J=4.4Hz,1H),4.09-4.03(m,1H),3.78-3.73(m,1H),3.63-3.57(m,2H),3.46-3.39(m,3H),2.66-2.60(t,J=9.2Hz,2H),2.35-2.30(m,1H),1.89-1.73(m,5H),1.67-1.53(m,2H).LC-MS(ESI+)m/z 475.12190(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₂₁H₂₆BrN₅O₃(M+H)⁺计算值476.12918,实测值476.12854。



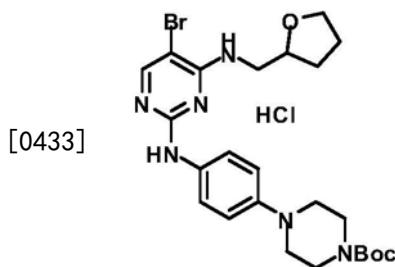
[0428] 4-(4-(5-(2-氯-6-氟苯基氨基甲酰基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯盐酸盐 (YL9-161) : 将YL7-102 (8c, 方案3) (0.308g, 0.8mmol) 和4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (0.222g, 0.8mmol) 于2-丙醇 (4mL) 中的混合物在80℃下于密封管中加热5h。将所得的沉淀在冷却后过滤并用2-丙醇 (2mL x 3) 洗涤, 然后高真空干燥, 得到呈浅绿色固体的标题化合物 (0.440g, 83%)。Mp.: 184–186℃; HPLC 99.8% (t_R =5.23min, 70% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min); ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 10.26 (brs, 1H经D₂O摇动就消失), 10.12 (brs, 1H经D₂O摇动就消失), 9.31 (brs, 1H经D₂O摇动就消失), 8.71 (s, 1H), 7.51–7.33 (m, 4H), 7.02 (appd, J =6.0Hz, 2H), 4.05–3.98 (m, 1H), 3.75–3.70 (m, 1H与水峰重叠), 3.63–3.57 (m, 1H与水峰重叠), 3.47–3.42 (m, 6H), 3.10 (brs, 4H), 1.96–1.88 (m, 1H), 1.83–1.76 (m, 2H), 1.56–1.48 (m, 1H), 1.40 (s, 9H); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ -116.16–116.20 (m); LC-MS (ESI+) m/z 626.25; (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₃₁H₃₈C₁FN₇O₄ (M+H)⁺计算值626.2652, 实测值626.2651。



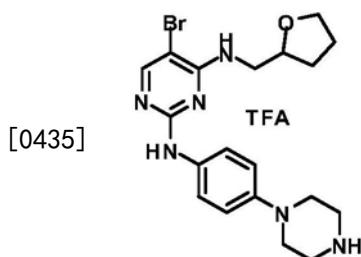
[0430] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-5-甲酰胺TFA盐 (YL9-162) : 向YL9-161 (0.408g, 0.616mmol) 于DCM (4mL) 中的溶液在0℃下添加TFA (4mL)。将反应混合物升温至室温并搅拌1h。减压去除溶剂。将所得残余物在EtOAC/己烷 (1:2) 中浆化并超声处理。将沉淀过滤并用EtOAC/己烷 (1:1) (3mL x 2) 洗涤并在高真空下干燥, 得到呈灰色固体的标题化合物 (0.400g, 102%)。Mp.: 205℃ (dec.); HPLC 99.5% (t_R =4.44min, 50% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min); ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : 89.99 (s, 1H经D₂O摇动就消失), 9.80 (brs, 1H经D₂O摇动就消失), 9.04 (brs, 1H经D₂O摇动就消失) 8.73 (s, 1H), 7.60 (d, J =8.8Hz, 2H), 7.44–7.31 (m, 3H), 6.96 (d, J =8.8Hz, 2H), 4.04–3.98 (m, 1H), 3.77–3.71 (m, 1H), 3.63–3.58 (m, 2H), 3.46–3.39 (m, 1H), 3.27–3.23 (m, 8H), 1.94–1.88 (m, 1H), 1.83–1.77 (m, 2H), 1.57–1.49 (m, 1H); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : 8–74.24 (s, 3H), -116.17–116.21 (m, 1H); LC-MS (ESI+) m/z 526.22; (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₆H₃₀C₁FN₇O₂ (M+H)⁺计算值526.2128, 实测值526.2123。



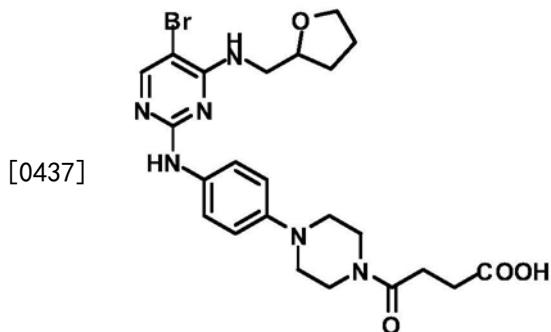
[0432] 4-(4-(4-(5-(2-氯-6-氟苯基氨基甲酰基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸 (YL9-163) : 向 YL9-162 (0.096g, 0.15mmol) 于氯仿中的混悬液在惰性气氛下添加 DIPEA (0.194g, 1.5mmol)。混合物变为澄清溶液并冷却至 0 °C。缓慢添加琥珀酸酐 (0.015g, 0.15mmol) 并将反应混合物升温至室温并搅拌 1h。减压去除溶剂并将所得残余物在水 (5mL) 中超声处理、过滤并用水 (3mL) 洗涤, 然后真空干燥, 得到呈浅绿色固体的标题化合物 (0.084g, 89%)。Mp. : 189 °C (dec.) ; HPLC 99.0% ($t_R = 3.71\text{min}$, 60% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min) ; ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 12.03 (s, 1H 经 D_2O 摆动就消失), 9.84 (s, 1H 经 D_2O 摆动就消失), 9.51 (s, 1H 经 D_2O 摆动就消失), 8.85 (s, 1H 经 D_2O 摆动就消失), 8.73 (s, 1H), 7.61 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.43–7.30 (m, 3H), 6.90 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 4.03–3.97 (m, 1H), 3.77–3.72 (m, 1H), 3.63–3.57 (m, 6H), 3.44–3.39 (m, 1H), 3.07 (appt, 2H), 3.00 (appt, 2H), 2.56 (t, $J = 6.4\text{Hz}$, 2H), 2.42 (t, $J = 5.6\text{Hz}$, 2H), 1.96–1.89 (m, 1H), 1.85–1.78 (m, 2H), 1.57–1.49 (m, 1H) ; ^{19}F NMR (376MHz, DMSO-d_6) : δ –116.16––116.19 (m) ; LC-MS (ESI+) m/z 626.22; $(\text{M}+\text{H})^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{ClFN}_7\text{O}_5$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ 计算值 626.2289, 实测值 626.2289。



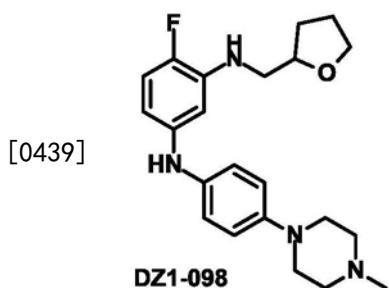
[0434] 4-(4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯盐酸盐 (YL9-157) : 将SK1-008 (8b, 方案3) (0.176g, 0.6mmol) 和4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (0.167g, 0.6mmol) 于2-丙醇 (3mL) 中的混合物在80℃下于密封管中加热40h (用HPLC-MS监测)。将所得沉淀在冷却后过滤并用2-丙醇 (2mL x 2) 洗涤、然后高真空干燥, 得到呈浅绿色固体的标题化合物 (0.300g, 88%)。Mp.: 124°C (dec.) ; HPLC 98.5% (t_R = 7.51min, 60% CH_3OH 于 0.1% TFA 水中, 20min) ; ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 9.00 (s, 1H 经 D_2O 摆动就消失), 7.94 (s, 1H), 7.53 (d, J = 8.8Hz, 2H), 6.84 (d, J = 8.8Hz, 2H), 6.77 (brt, J = 5.6Hz, 1H 经 D_2O 摆动就消失), 4.10-4.03 (m, 1H), 3.78-3.73 (m, 1H), 3.63-3.58 (m, 1H), 3.43-3.40 (m, 6H), 2.96 (t, J = 4.8Hz, 4H), 1.90-1.77 (m, 3H), 1.62-1.56 (m, 1H), 1.40 (s, 9H) ; LC-MS (ESI+) m/z 533.19, 535.19 (Br同位素) ; $(\text{M}+\text{H})^+$; HRMS (ESI+) m/z $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{BrN}_6\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 533.1870, 实测值 533.1862。



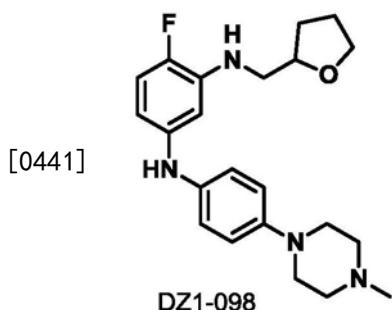
[0436] 5-溴-N2-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺TFA盐 (YL9-167) :向YL9-157 (0.291g, 0.511mmol) 于DCM (2mL) 中的0℃溶液添加TFA (2mL)。将反应混合物升温之后室温并搅拌1h。减压去除溶剂。将所得残余物在DCM/EtOAC/己烷 (1:1:2) 中浆化,并超声处理。将沉淀过滤并用EtOAC/己烷 (1:1) (3mL x 2) 洗涤并在高真空下干燥,得到呈灰色固体的标题化合物 (0.340g, 98%)。Mp.: 200℃ (dec.) ; HPLC 100% (t_R =4.28min, 35% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min); ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 89.50 (brs, 1H 经 D₂O 摆动就消失), 8.76 (s, 1H 经 D₂O 摆动就消失), 8.04 (s, 1H), 7.49 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.92 (d, J=8.85Hz, 2H), 4.08-4.03 (m, 1H), 3.74-3.71 (m, 1H), 3.63-3.57 (m, 1H), 3.41 (t, J=6.4Hz, 2H), 3.24-3.22 (m, 8H), 1.91-1.74 (m, 3H), 1.61-1.54 (m, 1H); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) : δ -74.19 (s); LC-MS (ESI+) m/z 433.12, 435.12 (Br同位素); (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₉H₂₆BrN₆O (M+H)⁺计算值433.1346, 实测值433.1335。



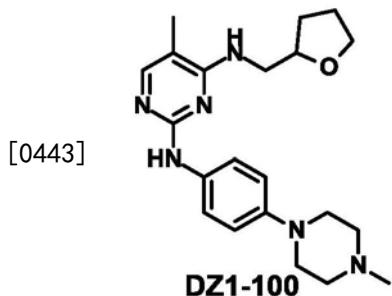
[0438] 4-(4-(4-(5-溴-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸 (YL9-168) :向YL9-167 (0.129g, 0.20mmol) 于氯仿中混悬液在氮气氛下添加DIPEA (0.259g, 2.0mmol)。混合物变为澄清溶液并冷却至0℃。缓慢添加琥珀酸酐 (0.020g, 0.20mmol)。然后将反应混合物升温至室温,并搅拌1h。减压去除溶剂。将残余物用DCM/己烷 (1:1) 浆化并过滤,得到呈灰色固体的标题化合物 (0.095g, 89%)。Mp.: 177℃ (dec.) ; HPLC 98.5% (t_R =3.20min, 50% CH₃OH于0.1% TFA水中, 20min); ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : δ 12.03 (s, 1H 经 D₂O 摆动就消失), 9.00 (s, 1H 经 D₂O 摆动就消失), 7.94 (s, 1H), 7.54 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.85 (d, J=9.2Hz, 2H), 6.77 (appt., J=5.2Hz, 1H 经 D₂O 摆动就消失), 4.10-4.04 (m, 1H), 3.78-3.73 (m, 1H), 3.63-3.56 (m, 5H), 3.42 (apt, 2H), 3.03 (apt, 2H), 2.96 (apt, 2H), 2.56 (t, J=6.0Hz, 2H), 2.42 (t, J=6.0Hz, 2H), 1.92-1.77 (m, 3H), 1.62-1.54 (m, 1H); LC-MS (ESI+) m/z 533.16, 535.16 (Br同位素); (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₃H₃₀BrN₆O₄ (M+H)⁺计算值533.1506



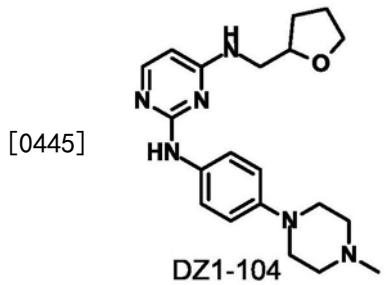
[0440] 5-氟-N2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (DZ1-098) : 将底物YL7-160 (0.150g, 0.650mmol) 和4-4-甲基哌嗪子基苯胺 (0.138g, 0.720mmol) 混合在具有4.0M于二噁烷中的HCl (180μL) 的微波管中, 并将2-甲氧基乙醇 (4.00mL) 添加至混合物并在110℃下加热16小时。将所得溶液减压浓缩并将产物在CHCl₃与饱和NaHCO₃水溶液之间分配。然后将有机相经Na₂SO₄干燥、过滤并浓缩。将所得固体用二氯甲烷和己烷浆化、过滤并减压干燥, 得到呈深灰色固体的DZ1-098 (0.184g, 73%)。Mp: 86℃ (分解)。HPLC 97.7% [R_t = 6.15min, 梯度5-95%CH₃OH于水 (0.1%甲酸) 中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 7.79 (d, J = 3.7Hz, 1H), 7.51 (d, J = 9.0Hz, 2H), 7.37 (t, J = 5.5Hz, 1H), 6.79 (d, J = 9.2Hz, 2H), 4.09-3.98 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.05-2.93 (m, 4H), 2.45-2.36 (m, 4H), 2.19 (s, 3H), 1.98-1.71 (m, 3H), 1.65-1.51 (m, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 386.22304 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₀H₂₇FN₆O (M+H) 计算值387.23031, 实测值387.22950。



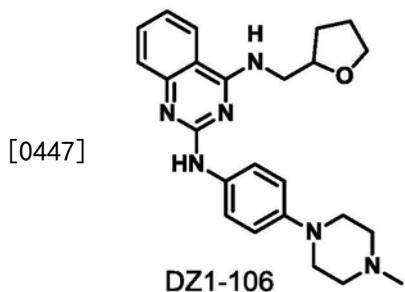
[0442] 5-氟-N2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺 (DZ1-098) : 将底物YL7-160 (0.150g, 0.650mmol) 和4-4-甲基哌嗪子基苯胺 (0.138g, 0.720mmol) 在具有4.0M于二噁烷中的HCl (180μL) 的微波管中混合。将2-甲氧基乙醇 (4.00mL) 添加至混合物并升温至110℃持续16小时。将所得溶液减压浓缩并将产物在CHCl₃与饱和NaHCO₃水溶液之间分配。然后将有机相经Na₂SO₄干燥、过滤并浓缩。将所得固体用二氯甲烷和己烷浆化、过滤并干燥, 得到呈深灰色固体的DZ1-098 (0.184g, 73%)。Mp: 86℃ (分解)。HPLC 97.7% [R_t = 6.15min, 梯度5-95%CH₃OH于水 (0.1%甲酸) 中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 7.79 (d, J = 3.7Hz, 1H), 7.51 (d, J = 9.0Hz, 2H), 7.37 (t, J = 5.5Hz, 1H), 6.79 (d, J = 9.2Hz, 2H), 4.09-3.98 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.05-2.93 (m, 4H), 2.45-2.36 (m, 4H), 2.19 (s, 3H), 1.98-1.71 (m, 3H), 1.65-1.51 (m, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 386.22304 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₀H₂₇FN₆O (M+H) 计算值387.23031, 实测值387.22950。



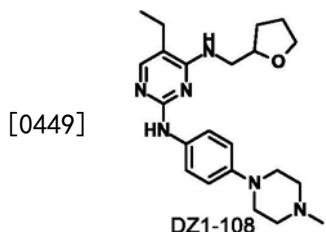
[0444] 5-甲基-N2- (4- (4-甲基哌嗪-1-基) 苯基) -N4- ((四氢呋喃-2-基) 甲基) 嘧啶-2,4-二胺 (DZ1-100) : 将底物YL7-167 (0.150g, 0.660mmol) 和4-4-甲基哌嗪子基苯胺 (0.140g, 0.730mmol) 混合在具有4.0M于二噁烷中的HCl (180μL) 和2-甲氧基乙醇 (4.00mL) 的微波管中混合, 并将2-甲氧基乙醇 (4.00mL) 添加至混合物并升温至110℃持续16小时。将所得溶液减压浓缩并将产物在CHCl₃与饱和NaHCO₃水溶液之间分配。然后将有机相经Na₂SO₄干燥, 过滤并减压浓缩。将所得固体用二氯甲烷和己烷浆化两次, 过滤并减压干燥, 得到呈深灰色固体的DZ1-100 (0.162g, 63%)。Mp: 151.7℃ (分解)。HPLC 97.7% [R_t = 6.70min, 梯度5-95% CH₃OH于水 (0.1% 甲酸) 中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.52 (s, 1H), 7.56 (t, J = 7.2, 2H), 6.78 (d, J = 9.2Hz, 2H), 6.54 (t, J = 5.6Hz, 1H), 4.12-3.99 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.47-3.33 (m, 2H), 3.05-2.87 (t, J = 4.4Hz, 4H), 2.43-2.36 (t, J = 5.2Hz, 4H), 2.19 (s, 3H), 1.90-1.63 (m, 5H), 1.59 (m, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 382.24811 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₁H₃₀N₆O (M+H) 计算值383.25539, 实测值383.25539。



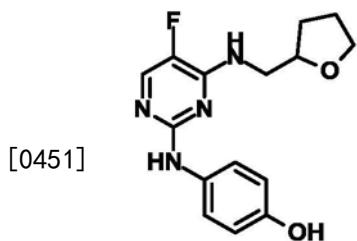
[0446] 2- (4- (4-甲基哌嗪-1-基) 苯基) -N- ((四氢呋喃-2-基) 甲基) 嘧啶-4-胺 (DZ1-104) : 将底物SK1-008 (8b, 方案3) (0.150g, 0.510mmol) 和4-4-甲基哌嗪子基苯胺 (0.107g, 0.560mmol) 在具有4.0M于二噁烷中的HCl (140μL) 和2-甲氧基乙醇 (4.00mL) 的微波管中混合并升温至110℃持续16小时。将所得溶液浓缩并将产物在CHCl₃与饱和NaHCO₃水溶液之间分配。然后将有机相经Na₂SO₄干燥、过滤并减压浓缩。将所得固体用二氯甲烷和己烷浆化两次, 过滤并减压干燥, 得到呈深褐色固体的DZ1-104 (0.108g, 58%)。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.64 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.57-7.55 (d, J = 9.2Hz, 2H), 7.16 (s, 1H), 6.81-6.79 (d, J = 9.2, 2H), 5.90-5.88 (d, J = 5.6Hz, 1H), 3.99-3.93 (m, 1H), 3.77-3.74 (m, 1H), 3.64-3.62 (m, 2H), 3.01-2.99 (t, J = 5.2Hz, 4H), 2.43-2.41 (t, J = 4.8Hz, 4H), 2.19 (s, 1H), 1.92-1.77 (m, 3H), 1.57-1.50 (m, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 369.23246 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₀H₂₈N₆O (M+H) 计算值369.23974, 实测值369.24075。



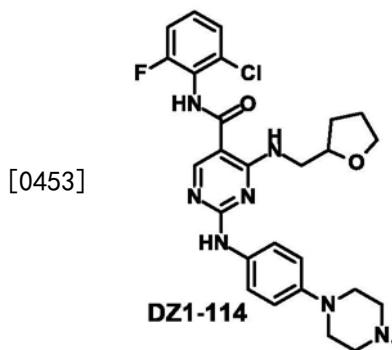
[0448] N2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)喹唑啉e-2,4-二胺(DZ1-106)：将底物YL7-176(0.150g,0.570mmol)和4-4-甲基哌嗪子基苯胺(0.120g,0.330mmol)在具有4.0M于二噁烷中的HCl(160μL)和2-甲氧基乙醇(4.00mL)的微波管中混合并升温至110℃持续16小时。将所得溶液减压浓缩并将产物在CHCl₃与饱和NaHCO₃水溶液之间分配。然后将有机相经Na₂SO₄干燥、过滤并减压浓缩。然后将有机相经Na₂SO₄干燥、过滤并浓缩。将所得固体用二氯甲烷和己烷浆化两次，过滤并减压干燥，得到呈深褐色固体的DZ1-106(0.158g,66%)。Mp:60.1℃(分解)。HPLC 96.8% [R_t=8.00min, 梯度5-95%CH₃OH于水(0.1%甲酸)中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, DMSO) 88.75 (s, 1H), 8.08-8.03 (t, J=8.4Hz, 2H), 7.72-7.69 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.54-7.50 (t, J=7.2Hz, 1H), 7.32-7.30 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.10-7.07 (t, J=8.0Hz, 1H), 6.85-6.83 (d, J=9.2Hz, 2H), 4.19-4.13 (m, 1H), 3.82-3.77 (m, 1H), 3.66-3.62 (m, 1H), 3.59-3.56 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.04-3.01 (t, J=4.4Hz, 4H), 2.44-2.42 (t, J=4.8Hz, 4H), 2.20 (s, 3H), 1.98-1.78 (m, 3H), 1.67-1.59 (m, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 418.24811 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₄H₃₀N₆O (M+H) 计算值419.25539, 实测值419.25639。



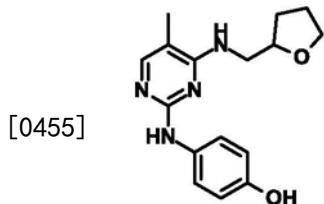
[0450] 5-乙基-N2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺(DZ1-108)：将底物DZ1-102(0.150g,0.620mmol)和4-4-甲基哌嗪子基苯胺(0.130g,0.680mmol)在具有4.0M于二噁烷中的HCl(170μL)的微波管中混合、添加2-甲氧基乙醇(4.00mL)至混合物并升温至110℃持续16小时。将所得溶液浓缩并将产物分配于CHCl₃与饱和NaHCO₃水溶液之间。然后将有机相经Na₂SO₄干燥、过滤并减压浓缩。将所得固体用二氯甲烷和己烷浆化两次，过滤并减压干燥，得到呈浅灰色固体的DZ1-108(0.141g,62%)。Mp: 209.5℃(分解)。HPLC 97.1% [R_t=7.22min, 梯度5-95%CH₃OH于水(0.1%甲酸)中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, DMSO) 88.54 (s, 1H), 7.59-7.55 (t, J=7.2Hz, 3H), 6.80-6.77 (d, J=9.2Hz, 2H), 6.61-6.59 (t, J=5.6Hz, 1H), 4.10-4.04 (m, 1H), 3.79-3.74 (m, 1H), 3.63-3.60 (m, 1H), 3.43-3.39 (m, 2H), 3.00-2.98 (t, J=4.4Hz, 4H), 2.43-2.41 (t, J=4.4Hz, 4H), 2.32-2.27 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.94-1.75 (m, 3H), 1.64-1.56 (m, 1H), 1.07-1.03 (t, J=7.2Hz, 3H)。LC-MS (ESI+) m/z 396.26376 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₂H₃₂N₆O (M+H) 计算值397.27104, 实测值397.27199。

**DZ1-112**

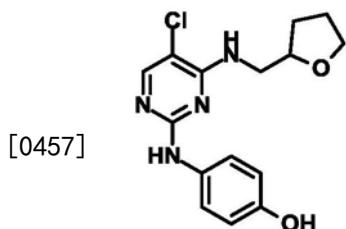
[0452] 4-(5-氟-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯酚 (DZ1-112) : 将YL7-160 (0.050g, 0.22mmol) 和4-氨基苯酚 (0.027g, 0.24mmol) 在于2mL微波小瓶内的EtOH (0.500mL) 中混合, 并在微波反应器中加热至150℃持续20分钟。将冷却混合物后形成的沉淀过滤、用乙酸乙酯洗涤并真空干燥。将获得的固体用二氯甲烷和己烷浆化并过滤, 得到呈白色固体的DZ1-112 (0.040g, 59%)。Mp:214.5℃ (分解)。HPLC 97.8% [R_t=8.13min, 梯度5-95%CH₃OH于水 (0.1%甲酸) 中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ9.88 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.00-7.98 (d, J=4.8Hz, 1H), 7.25-7.22 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.76-6.74 (d, J=8.8Hz, 2H), 4.06-4.00 (m, 1H), 3.74-3.69 (m, 1H), 3.63-6.57 (m, 1H), 1.94-1.77 (m, 3H), 1.58-1.50 (m, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 305.14083 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₅H₁₇N₄O₂ (M+H) 计算值305.14093, 实测值305.14074。



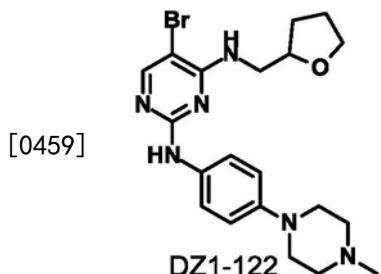
[0454] N-(2-氯-6-氟苯基)-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-5-甲酰胺 (DZ1-114) : 将底物YL7-102 (0.150g, 0.390mmol) 和4-4-甲基哌嗪子基苯胺 (0.082g, 0.430mmol) 在具有4.0M于二噁烷中的HCl (110μL) 的微波管中混合, 添加2-甲氧基乙醇 (4.00mL) 至混合物并升温至110℃持续16小时。将所得溶液浓缩并将产物分配于CHCl₃与饱和NaHCO₃水溶液之间。然后将有机相经Na₂SO₄干燥、过滤和浓缩。将获得的固体用二氯甲烷和己烷浆化两次, 过滤并真空干燥, 得到呈深灰色固体的DZ1-114 (0.097g, 47%)。Mp:210.4℃ (分解)。HPLC 90.8% [R_t=10.2min, 梯度5-95%CH₃OH于水 (0.1%甲酸) 中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ9.83 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 7.59-7.57 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.43-7.30 (m, 3H), 6.88-6.85 (d, J=8.8Hz, 2H), 4.01-3.99 (m, 1H), 3.77-3.72 (m, 1H), 3.61-3.59 (m, 2H), 3.44-3.39 (m, 2H), 3.06-3.04 (t, J=4.0Hz, 4H), 2.44-2.42 (t, J=4.4Hz, 4H), 2.20 (s, 3H), 1.96-1.78 (m, 3H), 1.57-1.49 (m, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 539.22118 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₂₇H₃₁C1N₇O₂ (M+H) 计算值540.22846, 实测值540.22830。

**DZ1-116**

[0456] 4-(5-甲基-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯酚 (DZ1-116) : 将YL7-167 (0.050g, 0.22mmol) 和4-氨基苯酚 (0.027g, 0.24mmol) 混合于2mL微波小瓶内的EtOH (0.500mL) 中并在微波反应器中加热至150℃持续20分钟。将冷却至混合物后形成的所得沉淀过滤、用乙酸乙酯洗涤, 随后经真空干燥, 得到固体。所述固体用二氯甲烷和己烷浆化并过滤, 得到呈白色固体的DZ1-116 (0.045g, 61%)。Mp:145.4℃ (分解)。HPLC 99.6% [R_t = 8.82min, 梯度5-95%CH₃OH于水 (0.1%甲酸) 中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ11.55 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 9.50 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.24-7.22 (d, J = 8.4Hz, 2H), 6.78-6.75 (d, J = 8.8Hz, 2H), 4.05-3.98 (m, 1H), 3.75-3.69 (m, 1H), 3.63-3.57 (m, 1H), 3.42-3.39 (t, J = 6.0Hz, 2H), 1.97 (s, 3H), 1.97-1.77 (m, 3H), 1.57-1.51 (m, 1H), 1.17-1.14 (t, J = 7.2Hz, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 300.15863 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₆H₂₀N₄O₂ (M+H) 计算值301.16590, 实测值301.16688。

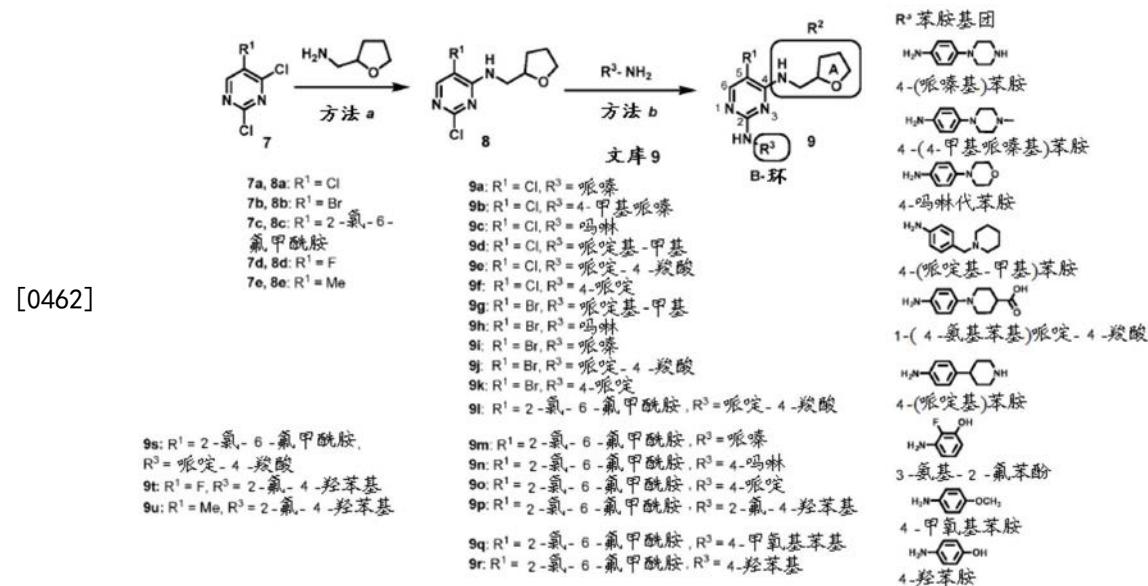
**DZ1-120**

[0458] 4-(5-氯-4-((四氢呋喃-2-基)甲基氨基)嘧啶-2-基氨基)苯酚 (DZ1-120) : 将8a (0.050g, 0.20mmol) 和4-氨基苯酚 (0.024g, 0.22mmol) 在2mL微波小瓶内的EtOH (0.500mL) 中混合, 并在微波反应器中加热至150℃持续20分钟。将冷却至混合物后形成的所得沉淀过滤、用乙酸乙酯洗涤, 随后减压干燥。将固体用二氯甲烷和己烷浆化并过滤, 得到呈褐色固体的DZ1-120 (0.027g, 42%)。Mp:214.0℃ (分解)。HPLC 100% [R_t = 8.90min, 梯度5-95% CH₃OH于水 (0.1%甲酸) 中, 20min]; ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ9.85 (s, 1H), 9.43 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.28-7.26 (d, J = 8.8Hz, 2H), 6.75-6.73 (d, J = 8.8Hz, 2H), 4.08-4.01 (m, 1H), 3.73-3.68 (m, 1H), 3.62-3.57 (m, 2H), 1.90-1.74 (m, 3H), 1.58-1.50 (m, 1H)。LC-MS (ESI+) m/z 320.10400 (M+H)⁺; HRMS (ESI+) m/z C₁₅H₁₇ClN₄O₂ (M+H) 计算值321.11128, 实测值321.11161。



[0460] 5-溴-N2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-N4-((四氢呋喃-2-基)甲基)嘧啶-2,4-二胺(DZ1-122):将YL7-167(0.055g,0.10mmol)、碘甲烷(0.014g,0.10mmol)和碳酸钾(0.55g,0.40mmol)混合于MeOH(2mL)中并在室温下搅拌8小时。然后将混合物浓缩,并将固体通过SiO₂色谱(0-5%MeOH)纯化,得到呈黄色固体的DZ1-122(0.012g,27%)。¹H NMR(400MHz,DMSO)δ8.99(s,1H),7.94(s,1H),7.54-7.51(d,J=8.8Hz,2H),6.85-6.83(d,J=8.8Hz,2H),6.77-6.75(t,J=5.6Hz,1H),4.08-4.03(m,1H),3.78-3.73(m,1H),3.63-3.58(m,1H),3.43-3.40(m,2H),3.09-3.06(t,J=5.6Hz,4H),2.44-2.40(t,J=4.8Hz,4H),1.91-1.56(m,3H),1.63-1.56(m,1H).LC-MS(ESI+)m/z 446.14297(M+H)⁺;HRMS(ESI+)m/z C₁₅H₁₇ClN₄O₂(M+H)计算值447.15025,实测值447.14936。

[0461] 合成具有R¹、R²和R³基团的文库9是从一组2,4-二氯嘧啶构建单元7(方案5)通过与两个胺片段连续反应获得的。使用方法a(方案5),使原料7与(±)-四氢糠胺反应获得中间体文库8,随后使用方法b使其与必需苯胺(R³-NH₂,方案5)反应获得具有A-和B-环的最终文库9(方案5)。构建单元7c的合成如方案1所示,从二羟基嘧啶-5-羧酸经由二氯嘧啶-5-碳酰氯以良好产率容易地获得。



[0463] 方案5:设计和合成具有(±)-四氢糠胺A-环的双苯胺基嘧啶文库9。方法a:(±)-四氢糠胺,Et₃N,MeOH,0℃-室温,2h。方法b:催化剂4M于二噁烷中的HCl,2-甲氧基乙醇,密封管,110℃和NaHCO₃水溶液后处理。

[0464] SAR研究

[0465] 首先使用ELISA(酶联免疫吸附测定)检测化合物文库抑制ACK1激酶活性的能力。该测定测量了ACK1特异性磷酸化来源于AKT的肽(序列ATGRYYAMKIL (SEQ ID NO.:1)中酪氨酸残基的能力,然后通过基于抗体的方法检测磷酸化(Mahajan等,PLOS ONE,2010)。随后,在ELISA中在32P Hotspot测定(Reaction Biology)中测定在10μM的浓度下>80%抑制ACK1活性的那些化合物的IC₅₀。结构活性关系(SAR)研究使用ELISA和剂量响应数据获自³²P Hotspot测定。将AIM-100(图1(b))(±)-四氢糠胺片段并入以设计和合成文库9(即R²基团,方案5),并且获得呈外消旋混合物的最终化合物文库9,其纯度如通过HPLC所测定>95%。文库9中嘧啶5-位处的R¹取代基和R³苯胺片段(方案5和图1(d))选自Amgen#2(图1(a))和

TAE684(图1(c))。选择方案5所示的R³苯胺构建单元以有助于抑制剂结合相互作用以及有助于调控药物样-性质诸如溶解度、疏水性(cLogP<5)、细胞渗透性、极性表面积<140 Å。将具有极性疏水性基团的苯胺(或水溶性基团诸如吗啉、哌嗪、哌啶)作为R³掺入。来自文库9(方案5)的初始SAR表明在嘧啶环的5-位处(即R¹)携带C1、Br或2-氯-6-氟甲酰胺基团的化合物对于ACK1抑制活性是重要的,而嘧啶核的5-位处的甲基和F基团削弱ACK1抑制。这一观察与文库9一致。例如分别具有Br和2-氯-6-氟甲酰胺作为R¹且间-F-对-羟基苯胺作为R³的化合物13(76%,10μM,条目3,表2)和14(66%,10μM,条目4,表2)显示了与相应F和Me类似物9t(41%,10μM)和9u(49%,10μM)(条目1、2,表2)相比改善的ACK1抑制。类似地,分别含有5-位的Br和2-氯-6-氟甲酰胺片段作为R¹(条目6和7,表2)且邻-羟基苯胺作为R³的化合物16(83%,10μM)和9r(85%,10μM)显示与具有F(41%,10μM)和甲基(8%,10μM)作为R¹的类似物相比ACK1抑制改善2-10倍。具有疏水甲氧基苯胺作为R³的相关的化合物18和9q(条目9和10,表2)显示适当的ACK1抑制,分别为67%和68%,表明作为R³的亲水苯胺有益于维持体外ACK1抑制活性。

[0466] 基于可从文库9(方案5)获得的初始SAR信息,并行进行文库12(方案2)的合成。构建单元7c用作起点,其中嘧啶环的5-位占据2-氯-6-氟甲酰胺基团(类似于文库9中的R¹基团)并引入磺酰基取代的苯胺作为R²(A-环,方案2)(其类似于含有TAE684的A-环的异丙基磺酰胺(图1(c)))。将亲水基团诸如对-羟基苯胺引入作为B-环(方案2)。来自文库12的所有类似物显示在ELISA中的弱ACK1抑制活性(即<60%,在10μM下)。这些观察对于指导另外的SAR和合成/医疗化学努力是重要的。随后的合成化学主要集中于含有C1、Br或2-氯-6-氟甲酰胺作为R¹基团(8a、8b和8c,方案5)同时保持(±)四氢糠胺基团作为R²的构建单元。

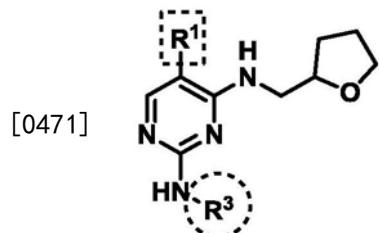
[0467] 接下来,使用方案5中显示的苯胺同时保持C1、Br和2-氯-6-氟甲酰胺基团作为R¹,来进一步修饰文库9中的R³基团。含有对-吗啉代-苯胺片段(条目11、12和13,表2)作为R³且C1、Br和2-氯-6-氟甲酰胺基团作为R¹的化合物9c、9h和9n显示改善的ACK1抑制活性,其IC₅₀与早期类似物相比分别为67.5nM、106nM和48nM并且该观察进一步表明具有亲水性/水溶性部分的苯胺片段在R³结合区域中良好耐受。具有对-哌嗪苯胺作为R³的9a、9i和9m还显示高ACK1抑制活性(条目14-16,表2)(其IC₅₀分别为81nM、94nM和33nM),类似于吗啉类似物,进一步表明具有亲水基团作为R³的苯胺对ACK1抑制活性具有积极效果。如所预期的,具有甲基哌嗪苯胺作为R³的化合物9b、19和20(条目17、18和19,表2)遵循在ACK1抑制活性方面类似的趋势,其IC₅₀分别为54nM、48nM和48nM。具有哌啶羧酸的化合物9s(条目25,表2)显示显著改善的ACK1抑制活性,其分别与相关的C1和Br类似物9e和9j相比IC₅₀为34nM(条目23、24,表2)。缺乏溴-类似物9j的活性可能由于在测定培养基中较差的溶解度。有趣地,如化合物21(条目26,表2)所示,用羧酸系链取代化合物22(条目27,表2)中的甲基导致ACK1抑制剂>1.5-倍改善,其IC₅₀为28nM。具有羧酸系链作为H-键供体/受体的化合物9e、9s和22(条目24、26和27,表2)总共改善了ACK1抑制活性,并且这表明这可用作柄进一步探索ACK1结合区域中的SAR。

[0468] 2-氯-6-氟甲酰胺作为R¹基团显著有助于化合物9n、9m、20、9o和22中的ACK1抑制活性(条目13、16、19、23和27,表2)。2-氯-6-氟甲酰胺作为R¹且对-4-哌啶苯胺作为R³的9o(条目23,表2)显示显著改善的ACK1抑制,其IC₅₀为53.3nM,其与相关9f(其IC₅₀为231nM)和9k(其IC₅₀为169nM)相比是3-4倍有效(条目21、22,表2),所述化合物分别具有C1和Br。类似

地,具有哌啶羧酸作为R³且2-氯-6-氟甲酰胺作为R¹的化合物9s(条目26,表2)显示显著改善的ACK1抑制,与分别其相关C1和甲基类似物9e (IC₅₀为85nM) 和9j (17%抑制,在10μM下) 相比,其IC₅₀在酶促测定中为32nM(条目24和25,表2)。9n、9m、20、9o和9s的改善的抑制活性(条目13、16、20、23、26,表2)可有助于经历看门者区域中关键H-键接触的嘧啶5-位中的2-氯-6-氟甲酰胺基团。总而言之,SAR表明C1和Br基团在嘧啶核的5-位中耐受,并且如化合物21所示用氢取代5-位(条目20,表2)显著降低了ACK1亲和力(19%,在10μM下,ELISA)。

[0469] 尽管具有2-氯-6-氟甲酰胺部分的化合物9n、9m、20、9o和22显示对酶促测定中ACK1有更高的效能,所以这些化合物不展现预期的细胞效能,这最可能是由于缺乏细胞渗透性。选择从文库9选择的化合物以评估LAPC4人前列腺癌细胞中ACK1抑制的作用,其细胞生长抑制作为读出。哌嗪取代的氯-嘧啶(±)-9b(条目17,表2)显示细胞测定中有希望的ACK1抑制活性。基于来自细胞培养数据的发现,合成9b的对映异构体以理解各个立体异构体的ACK1抑制活性。(R)-9b异构体(方案4)表明在³²P热点测定中1.5倍更佳的ACK1抑制活性,其IC₅₀为56nM,而(S)-9b显示IC₅₀为82nM。合成(R)-9b和(S)-9b显示于方案4中,并且还使用方案4中的方法合成对映异构纯化合物(并未本文报道的)的其它实例。(R)-9b和(S)-9b两者能够在前列腺癌细胞中抑制ACK1自磷酸化(图8(a))并抑制细胞生长(图8(b-d))。

[0470] 表2:文库9和相关化合物的SAR和体外抑制活性



[0472]

条目	ID	R ¹	R ³	在10 μM下的抑制% (ELISA)	IC ₅₀ (³² P热点测定)
1	9t	F		41 ± 6.3	ND
2	9u	CH ₃		49 ± 2.8	ND
3	13	Br		76 ± 14	299 nM
4	14			66 ± 1.5	ND
5	15	Cl		65	ND
6	16	Br		83 ± 2.8	164 nM
7	9r			85 ± 0.2	54.4 nM
8	17	Br		75.5 ± 20	99 nM
9	18	Br		67 ± 0.2	ND

10	9q			68 ± 10	ND
11	9c	Cl		89 ± 1.4	67.5 nM
12	9h	Br		89 ± 1.4	106 nM
13	9n			82 ± 7.7	47.7 nM
14	9a	Cl		82 ± 12.7	81.3 nM
15	9i	Br		85.5 ± 0.70	94.7 nM
16	9m			89.5 ± 2.1	33.2 nM
17	9b	Cl		90.5 ± 0.70	54.4 nM
18	19	Br		93 ± 3	48.0 nM
19	20			97 ± 3	48.3 nM

[0473]

[0475] ND:未测定,测定在ELISA测定中显示>80%的化合物的IC₅₀值。

[0476] 从文库9选择的化合物的细胞培养数据

[0477] ACK1是一种在Tyr284处自身-磷酸化的酪氨酸激酶,其表明了其激酶激活。为了测定来自文库9的化合物的抑制潜能,单独用EGF配体处理前列腺癌来源的细胞系LAPC4或将其添加至用化合物预处理的细胞,并使等量的细胞裂解物经受免疫印迹。EGF(表皮生长因子)配体引起快速激活EGFR(表皮生长因子受体),其继而导致激活ACK1激酶(图8(a),泳道2,上图)。相反,用(R)-9b和(S)-9b处理LAPC细胞导致几乎完全失去ACK1激活。TAE684和AIM-100还展示了ACK1激活减少。肌动蛋白用作对照,其表明等上样量的细胞裂解物(图8(a),下图)。

[0478] 如本文所述,除了(R)-9b和(S)-9b之外,使用免疫印迹,评估来自文库9的许多其它化合物抑制ACK1激酶活性的潜力。ACK1激酶活性的百分比抑制示于表2中。

[0479] 人癌细胞中 (R)-9b 和 (S)-9b 的作用

[0480] 三种不同的人前列腺癌来源的细胞系, LNCaP、LAPC4 和 VCaP 是 DMSO 处理的或用 1、2.5、5、7.5 和 10 μ M 抑制剂、AIM-100、(R)-9b 和 (S)-9b 处理 36 小时, 并且活力细胞的数目通过台盼蓝排斥测定计数。(R)-9b 和 (S)-9b 两者在抑制 LNCaP 细胞中细胞生长方面比 AIM-100 ($IC_{50}=7\mu M$) 显著更佳 ($IC_{50}=1.8\mu M$) (图 8 (b))。然而, 在 LAPC4 细胞中, 所有三种抑制剂在其抑制细胞增殖方面相当 (图 8 (c))。相反, 观察到高度转移性去势难治性前列腺癌 (CRPC) 形成 VCaP 细胞对 (R)-9b 高度敏感 ($IC_{50}=2\mu M$), 而 AIM-100 和 (S)-9b 展现出 IC_{50} 为 4 μM (图 8 (d))。总而言之, (R)-9b 似乎是一种优良的体内 ACK1 抑制剂, 并且最显著地显示抑制雄激素-依赖性或 CRPC VCaP 细胞增殖的能力。

[0481] 对于合成为 ACK1 抑制剂的化合物, 保持 R^2 基团稳定, 同时改变嘧啶 (R^1) 和苯胺 (R^3) 基团的 5-位。SAR 改变在图 9 (a) 中突出显示。因为细胞培养基数据表明 (R)-9b 和 (S)-9b 在人癌细胞中有效, 所以将 C1 部分纳入随后类似物合成。因此, 基于细胞培养数据, 从文库 9 获得的 SAR 并通过查看诸如在 9e、9j、9s 和 22 中含有羧酸系链的化合物的抑制活性 (条目 24-27, 表 2), 合成具有嘧啶的 5-位处的 C1 作为 R^1 的图 9 (b) 中显示的化合物以探索 SAR。具有 1 或 2 个碳栓系的羧酸的化合物 23、24、26 和 28 (图 9 (b)) 显示适当的 ACK1 抑制。带着促进细胞渗透性和溶解度的希望, 掺入化合物 26 中的双-胺基团 (图 9 (b))。类似于化合物 22 (条目 27, 表 2), 具有哌嗪-酰胺栓系的羧酸的化合物 29 (图 9 (b)) 显示显著的 ACK1 抑制。图 9 (b) 中显示的化合物的体外活性表明哌嗪部分维持有效 ACK1 抑制活性的重要性。

[0482] 根据细胞培养数据, (R)-9b 和 (S)-9b 两者可穿透人癌细胞系并以 ACK1 依赖性方式抑制细胞生长。使用 HPLC 分析, 在时程实验中, 评估化合物 (R)-9b 和 (S)-9b 的体外人血浆稳定性长达 24 小时 (参见实验)。数据显示 (R)-9b 和 (S)-9b 两者适用于人血浆中 (图 10) 长达 24 小时并且表现出较长半衰期 ($t_{1/2}>6$ 小时)。普鲁卡因和普鲁卡因酰胺用作标准品 (参见实验和 SI) 以使用 HPLC 分析产生 (R)-9b 和 (S)-9b 的人血浆稳定性数据。(R)-9b 和 (S)-9b 的溶解度在具有 10% DMSO 的 PBS (澄清溶液) 中被分别测定为 1 mg/mL 和 0.9 mg/mL , 这表明 (R)-9b 和 (S)-9b 两者适于进一步的体内动物实验。

[0483] 基于片段产生小分子抑制剂文库的方式和基于新型 ELISA 的筛选化合物文库抑制潜力的测定的组合导致鉴定一种新型类别的 ACK1 抑制剂。这些抑制剂, (R)-9b 和 (S)-9b, 不仅能够抑制体外 ACK1 激酶活性而且还显示是有效的体内 ACK1 抑制剂, 抑制前列腺癌来源的细胞系的生长。此外, (R)-9b 和 (S)-9b 化合物当与其它相关酪氨酸激酶诸如 Src 和 ALK 相比时针对 ACK1 展现出相当的选择性。

[0484] 去势难治性前列腺癌中 ACK1 表观遗传信号传导: ACK1 小分子抑制剂的作用

[0485] 雄激素受体 (AR) 在前列腺癌 (PC) 的发作和进展中起到极其重要的作用 (Burnstein KL. Regulation of androgen receptor levels: implications for prostate cancer progression and therapy. J. Cell. Biochem. 2005; 95 (4): 657-69; Chen CD, 等 Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy. Nature Med. 2004; 10 (1): 33-9)。这一特有的方面成为雄激素剥夺疗法 (ADT) (即一种优选的对求反对晚期 PC 具有 AR 转录共-激活子活性的治疗)。当使用 AR 拮抗剂的化学治疗或通过睾丸切除术的手术治疗提供立即的减轻益处时, 这些 ADT 是长期无效的, 因为不顺应的疾病在 2-3 年内复发。结果, 对 ADT 的耐受性已成为前列腺癌疗法中最令人烦恼的问题之一 (Feldman BJ,

等The development of androgen-independent prostate cancer.Nature Rev.2001;1 (1) :34-45;Edwards J,等The androgen receptor and signal-transduction pathways in hormone-refractory prostate cancer.Part 1:Modifications to the androgen receptor.BJU Intl.2005;95 (9) :1320-6。此外,大部分PC患者进展至疾病的致死阶段被称为去势难治性前列腺癌(CRPC)。在显著数目的人CRPC中,AR mRNA是上调的,表明PC细胞通过ADT已重振AR转录作为对损失现有的AR活性的响应。尽管作出了大量努力,但并未获得与小分子抑制剂一起有效地调控AR mRNA表达的靶向因素。

[0486] ACK1酪氨酸激酶与AR相互作用、通过酪氨酸磷酸化(pY267-A R)修饰其并且该ACK1/pY267-AR复合物靶向染色质以在PC细胞中调控AR-依赖性基因表达(Mahajan NP,等Activated Cdc42-associated kinase Ack1promotes prostate cancer progression via androgen receptor tyrosine phosphorylation.Proc.Nat.Acad.Sci.U.S.A.2007;104 (20) :8438-43;Mahajan NP,等Activated tyrosine kinase Ack1promotes prostate tumorigenesis:role of Ack1in polyubiquitination of tumor suppressor Wwox.Cancer Res.2005;65 (22) :10514-2;Mahajan K,等Ack1mediated AKT/PKB tyrosine 176phosphorylation regulates its activation.PloS one.2010;5 (3) :e9646;Mahajan K,等Shepher ding AKT and androgen receptor by Ack1tyrosine kinase.J.Cell.Physiol.2010;224 (2) :327-33;Mahajan K,等Ack1tyrosine kinase activation correlates with pancreatic cancer progression.Am.J.Pathol.2012;180 (4) :1386-9;Mahajan K,等Ack1-mediated androgen receptor phosphorylation modulates radiation resistance in castration-resistant prostate cancer.J.Biol.Chem.2012;287 (26) :22112-22;Mahajan K,等ACK1tyrosine kinase:targeted inhibition to block cancer cell proliferation.Cancer Lett.2013;338 (2) :185-92)。PC发病机理中ACK1的主要作用通过若干观察得以进一步理解;即,ACK1mRNA不仅在前列腺癌中上调,而且激活的ACK1表达与进展至恶性CRPC阶段正相关(Mahajan K,等Effect of Ack1tyrosine kinase inhibitor on ligand-independent androgen receptor activity.Prostate.2010;70 (12) :1274-85)。的确,13例CRPC肿瘤中的10例展现出5-至>100-倍的ACK1过表达(van der Horst EH,等Metastatic properties and genomic amplification of the tyrosine kinase gene ACK1.Proc.Nat.Acad.Sci.U.S.A.2005;102 (44) :15901-6)。一致地,表达激活的ACK1的LN CaP细胞在去势的裸雄性小鼠中形成较强的异种移植肿瘤。此外,在前列腺中表达激活的ACK1的转基因小鼠出现前列腺上皮内瘤(mPIN)和罕见癌。值得注意的是,与针对没有ACK1改变的PC患者的110个月(cBioPortal)相比,ACK1表达中的改变与仅1.3个月的中位无病状态相关。这些发现强调了ACK1在激素难治性PC中的主要作用。

[0487] ACK1在多个PC细胞系中直接调控了AR转录。ACK1经由在新位点处(酪氨酸88(pY88-H4))磷酸化组蛋白H4修饰了染色质。重要的是,pY88-H4外基因标记以雄激素依赖性方式沉积于AR基因自身内。令人惊讶地,通过ACK1抑制获得的这种pY88-H4组蛋白修饰的逆转显著抑制了AR转录。此外,我们初步数据揭示了WDR5/MLL2,组氨酸-赖氨酸N-甲基转移酶复合物的成员(Shahbazian MD,等Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation.Ann.Rev.Biochem.2007;76:75-100;Shilatifard A.Molecular

implementation and physiological roles for histone H3lysine 4 (H3K4) methylation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2008; 20 (3) :341-8) 与pY88-H4外基因标记相互作用, 揭示了一种新型AR表观遗传调节模式。肿瘤PC细胞通过募集AR/ACK1复合物至AR基因快速适应了ADT。在该缺乏雄激素的环境中, ACK1催化了Y88-H4磷酸, 这继而募集染色质重塑蛋白WDR5以调控AR转录和促进CRPC发展。

[0488] CRPC仍然是一种具有有限治疗选项的不可治愈的恶性肿瘤, 并且是美国和全球男性中死亡的主要病因 (Greenlee RT, 等*Cancer Statistics*, 2000. *CA:a cancer journal for clinicians*. 2000; 50 (1) :7-33)。雄激素受体信号传导是可操作的去势阶段之前和之后, 虽然不同的机制在不同的中起作用以促进雄激素依赖性和非依赖性AR转录共-激活子活性。这些不同的AR调控活性显示为在PC细胞中可操作的不同转录程序, 其有利地促进细胞存活、增殖和生长。最近, 恩杂鲁胺或MDV3100 (作为Xtandi销售), 一种AR拮抗剂已被FDA批准用于治疗转移性CRPC患者 (Tran C, 等*Development of a second-generation antiandrogen for treatment of advanced prostate cancer*. *Science*. 2009; 324 (5928) :787-90)。尽管在抑制AR转录活性以及核易位方面高度有效 (由血清PSA水平显著降低可见), 但其仅在CRPC患者子集 (30名患者中的12名) 中有效。此外, 发现总存活优势是适度的 (4-6个月) 并且甚至最响应的患者在~2年内复发 (Bennett LL, 等*Enzalutamide (Xtandi) for patients with metastatic, resistant prostate cancer*. *Ann. Pharmacotherapy*. 2014; 48 (4) :530-7)。这些复发患者展现出通过多种机制更新的AR靶基因表达, 表明CRPC已绕过恩杂鲁胺阻断 (Balbas MD, 等*Overcoming mutation-based resistance to antiandrogens with rational drug design*. *eLife*. 2013; 2: e00499; Arora VK, 等*Glucocorticoid receptor confers resistance to antiandrogens by bypassing androgen receptor blockade*. *Cell*. 2013; 155 (6) :1309-22; Joseph JD, 等*A clinically relevant androgen receptor mutation confers resistance to second-generation antiandrogens enzalutamide and ARN-509*. *Cancer Discovery*. 2013; 3 (9) :1020-9; Korpal M, 等*An F876L mutation in androgen receptor confers genetic and phenotypic resistance to MDV3100 (enzalutamide)*. *Cancer Discovery*. 2013; 3 (9) :1030-43)。这些挫折揭示了两种主要的对阻断该复杂疾病的警告; 首先, 并非所有CRPC是相同的, 并且其次, 其它信号传导事件可驱动该疾病, 这解释了恩杂鲁胺在有限数目的CRPC患者中的功效。此外, 因为CRPC展现出从头或固有的提高AR水平的能力, 所以抑制AR蛋白质活性是不够的 (Knuutila M, 等*Castration Induces Up-Regulation of Intratumoral Androgen Biosynthesis and Androgen Receptor Expression in an Orthotopic VCaP Human Prostate Cancer Xenograft Model*. *Am. J. Pathol.* 2014)。为了获得完全的缓解, 去除AR转录看起来对于所有AR-依赖性前列腺癌是关键的。然而, 用小分子抑制剂靶向抑制AR转录尚未实现。

[0489] 转录调控AR基因自身是值得彻底研究的范式。表观遗传修饰与转录事件复杂相关, 特别是当被核激素激活时 (Xu K, 等*EZH2oncogenic activity in castration-resistant prostate cancer cells is Polycomb-independent*. *Science*. 2012; 338 (6113) :1465-9; Cai C, 等*Androgen receptor gene expression in prostate cancer is directly suppressed by the androgen receptor through recruitment of lysine-*

specific demethylase 1. *Cancer Cell*. 2011; 20 (4) :457-71)。获得的数据已表明ACK1激酶是一种不仅在缺乏雄激素的环境中紧密结合至AR而且还‘背负式装运’AR至核以结合染色质的独特酪氨酸激酶。AR是否利用ACK1促进其转录共-激活子功能是未知的。针对理解雄激素-依赖性AR/ACK1串音(cross talk)的结果,选择一种无偏方式,其中用双氢睾酮LNCaP(DHT)或恩杂鲁胺处理缺乏雄激素的前列腺癌细胞LNCaP。还用ACK1-特异性小分子抑制剂(DZ1-067或AIM-100)处理细胞。有趣的是,DZ1-067抑制ACK1激酶导致AR蛋白质显著下调,相反,恩杂鲁胺和PLX4032(一种具有适宜ACK1抑制活性的B-Raf抑制剂)两者(Bollag G, 等 *Clinical efficacy of a RAF inhibitor needs broad target blockade in BRAF-mutant melanoma*. *Nature*. 2010; 467 (7315) :596-9)对AR表达几乎没有影响(图2a)。预期地,DHT治疗导致升高的AR水平,主要由于AR的稳定化。

[0490] 为了评估AR水平的损失是否依赖于ACK1激酶活性的特异性抑制,使用升高浓度的DZ1-067。观察到AR蛋白质水平的伴随降低与增加量的AIM-100在两种不同的PC系,LNCaP和VCaP细胞(图2b)中相关,表明ACK1激酶活性对于维持前列腺癌细胞的缺乏雄激素的环境中的AR水平是重要的。为了确定AR水平的损失不是由于ACK1抑制剂的‘脱靶作用’导致的,将LAPC4细胞用ACK1siRNA转染。免疫印迹揭示了在损失ACK1之后AR水平的显著降低(图2c)。

[0491] 针对以各种组合的2种激酶,ACK1,Src和ALK测试8种化合物。以10-剂量IC₅₀模式以3-倍连续稀释度(从10μM开始)测试化合物。以10-剂量IC₅₀模式以4-倍连续稀释度(从20uM开始)测试对照化合物星形孢菌素。在10μM ATP下进行反应。IC₅₀总结显示于表3和表4中。

表 3. IC₅₀ 总结

化合物 ID:	化合物 IC ₅₀ * (M):	
	ACK1	c-Src
DZ1-067	6.05E-08	4.38E-07
DZ1-114	4.83E-08	
DZ1-122	4.80E-08	
YL9-162	3.32E-08	
YL9-167	9.47E-08	
SK1-028	1.64E-07	
YL9-163	2.84E-08	
DZ1-120	1.63E-07	
星形孢菌素 IC ₅₀ * (M)	3.69E-08	2.76E-09

[0493] 表4. 化合物IC₅₀ (M)

[0494]

激酶	DZ1-067	DZ1-077	结构21	DZ1-096	MH1-022-5	星形孢菌素
ACK1	5.78E-08	8.33E-08	1.71E-07	3.22E-08	5.44E-08	4.75E-08
ALK	1.43E-07	2.96E-07	6.08E-10			1.47E-09

[0495] AR已知可与泛素E3连接酶RNF6相互作用,从而导致AR泛素化,这继而促进AR转录活性(Xu K, 等 *Regulation of androgen receptor transcriptional activity and specificity by RNF6-induced ubiquitination*. *Cancer Cell*. 2009; 15 (4) :270-82)。为了确定翻译后修饰是否在ACK1激酶抑制后的AR水平抑制中起作用,用变幻虫抑制剂处理LNCaP细胞,在存在和缺乏DZ1-067的情况下测量MG-132和AR水平。变幻虫抑制剂不预防由ACK1激酶抑制导致的AR损失减少,表明ACK1在转录阶段调控AR水平。

[0496] 为了进一步验证该数据,用DZ1-067、DHT、恩杂鲁胺、康士得或PLX4032处理缺乏雄激素的LAPC4和LNCaP细胞。分离总RNA,然后进行实时PCR,其揭示了AR mRNA水平在DZ1-067处理后受到显著抑制,然而在DHT、恩杂鲁胺、康士得或PLX4032处理之后AR mRNA水平没有显著改变(图3a,b)。前列腺特异性抗原(PSA)是一种主要的AR靶基因,其表达反映了AR转录共-激活子能力,也在ACK1抑制剂处理后展现出显著损失(图3c,d)。有趣的是,如文献中报道,第一代(康士得)和第二代(恩杂鲁胺)的抗-雄激素不翻转AR mRNA水平,显著抑制PSA mRNA水平(图3c,d)。总而言之,这些数据表明ACK1激酶在不存在雄激素的情况下在维持AR mRNA水平方面通过调控其转录起到重要作用。

[0497] 还评估了ACK1抑制剂抑制前列腺癌细胞系的增殖的能力。AIM-100(一种开始通过Amgen筛选的ACK1抑制剂)用作对照。DZ1-067和DZ1-077两者在其抑制LNCaP细胞中细胞生长方面显著比AIM-100($IC_{50}=7\mu M$)更佳($IC_{50}=1.8\mu M$)(图4a)。此外,观察到雄激素-非依赖性VCaP细胞对DZ1-067高度敏感($IC_{50}=2\mu M$),而AIM-100和DZ1-077展现出 IC_{50} 为 $4\mu M$ (图4b)。总之,ACK1似乎为前列腺癌细胞的雄激素-非依赖性生长所需。并且这是为何DZ1-067(一种优良的ACK1抑制剂)展现出抑制雄激素-非依赖性或CRPC细胞增殖的显著潜力。

[0498] 一批较大群组的数据最近可从cBioPortal获得。在216名前列腺癌患者中,33名具有高ACK1mRNA表达或突变的患者展现出1.3个月的中值无病存活率(表5)。相反,这些不具有ACK1改变的患者具有显著更长的无病存活率(110个月)。这些数据表明前列腺癌患者中具有异常ACK1表达的比例可能快速进展至CRPC(一种主要的死因)。有趣的是,ACK1改变和AR基因扩增或突变不具有关联性(比值比:1.36;95%置信区间:0.54-3.43;费希尔精确检验(Fisher's Exact Test) p-值:0.32),表明了ACK1介导的AR转录上调是非依赖性机制。

[0499]

表5.	#总病例	#复发的病例	中值无病月
具有ACK1改变的病例	33	10	1.38
不具有ACK1改变的病例	163	50	110.33

[0500] 为了评估ACK1直接结合至H4,使用纯化的ACK1和H4(New England Biolabs)进行体外激酶测定。在昆虫细胞中表达人ACK1并将其纯化为均一的。使用pY88-H4和pTyr抗体的免疫印迹确认了的确H4直接被ACK1Tyr-磷酸化(图5a)。此外,H4Tyr-磷酸化通过用ACK1抑制剂(DZ1-067)处理消除(图5a),表明了ACK1直接结合和磷酸化组蛋白H4。

[0501] 用DZ1-067、DHT或恩杂鲁胺处理LNCaP细胞。LNCaP细胞展现出了H4的内源性pY88-磷酸化的较强表达,这在用DZ1-067处理后消除(图5b),但不受DHT或恩杂鲁胺的影响。这些数据确定了ACK1酪氨酸激酶是一种新型的遗传表位修饰剂并且由ACK1沉积的外基因标记可由ACK1抑制剂DZ1-067清除。

[0502] AR不仅在正常前列腺中而且对于恶性前列腺肿瘤生长是必需的(Edwards J,等The androgen receptor and signal-transduction pathways in hormone-refractory prostate cancer.第2部分:Androgen-receptor cofactors and bypass pathways.BJU Int.2005;95(9):1327-35)。现在,该激素受体的办事方式得以不可推翻地确认,其中雄激素-结合的AR通过结合至启动子区内的雄激素-响应元件(ARE)启动靶基因如PSA的转录。然而,当发现CRPC肿瘤不仅在低去势水平的雄激素下旺盛而且其还维持功能性AR时,摇振该

范式至核心,从而表明AR已经`学会'处理降低雄激素水平。

[0503] 观察到不仅AR/ACK1复合物在缺乏雄激素的环境中结合至染色质,但我们的研究揭示ACK1抑制剂还引起AR转录损失的显著损失。总而言之,数据揭示了一种不同的表观遗传机制,其中AR在缺乏雄激素的环境中通过有助于ACK1激酶的染色质修饰活性调控其自身的转录。

[0504] 为了确定ACK1是否在AR基因座处修饰染色质,LNCaP和LAPC4细胞在缺乏雄激素的情况下生长并且用DZ1-067处理。使用pY88-H4抗体进行染色质免疫沉淀(ChIP),然后进行使用对应于AR、内含子2和3' UTR启动子的引物的实时PCR(图6a)。ChIP数据揭示了主要在内含子2处存在pY88-H4标记。这些标记还沉积在AR基因的3' UTR处,但不沉积在启动子区(图6b,c)。显著地,这些外基因标记在DZ1-067处理的样品中清除,表明pY88-H4外基因标记沉积在AR基因内是可逆转的事件并且可使用ACK1抑制剂完成。

[0505] 共同地,数据揭示了新型染色质改变事件、由致癌激酶ACK1介导的组蛋白H4酪氨酸磷酸化作为驱动CRPC中AR mRNA表达重要因素的作用。

[0506] 为了确定pY88-H4/WDR5相互作用的功能和生理相关性,并且给定AR与MLL相关复合物之间的相互作用(Grasso CS,等The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer.Nature.2012;487 (7406):239-43)。进行ChIP实验以确定内含子2处的AR和H3K4me3水平。发现在雄激素不存在的情况下,AR和H3K4me3甲基标记两者特别富集在内含子2区域处,所述标记可用DZ1-067处理来去除(图7)。

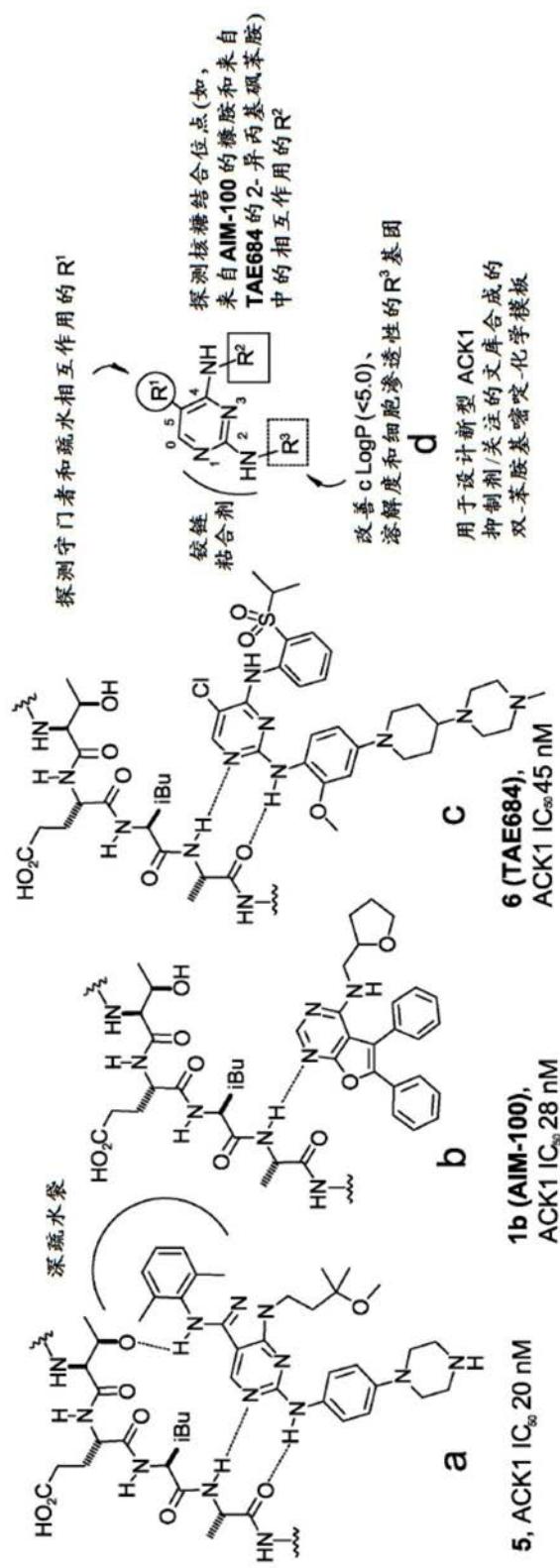


图1

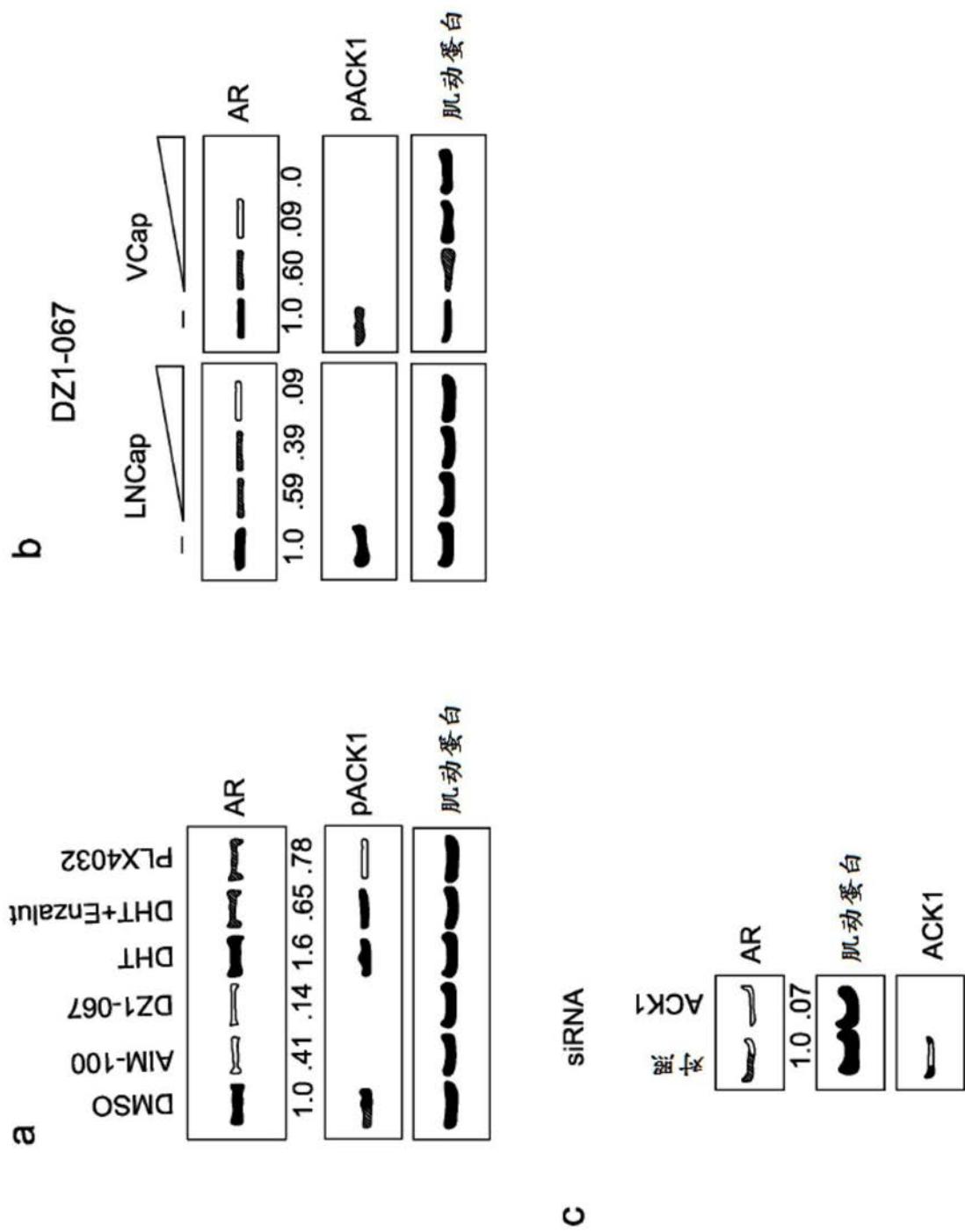


图2

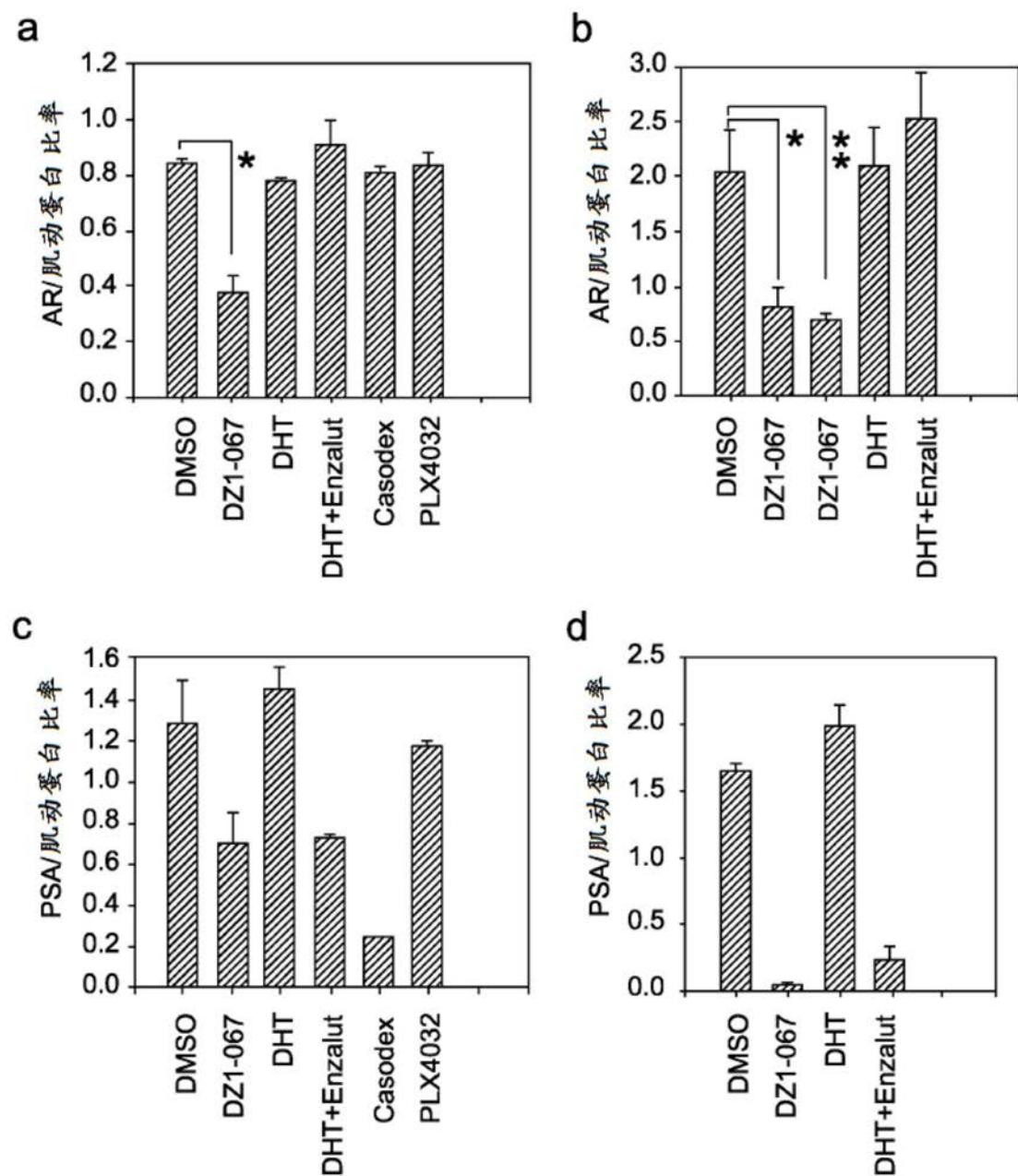
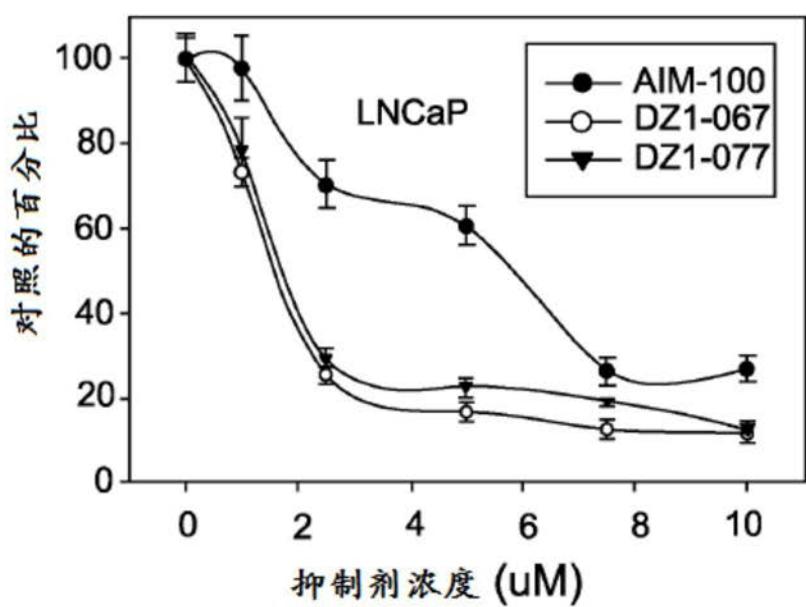


图3

a



b

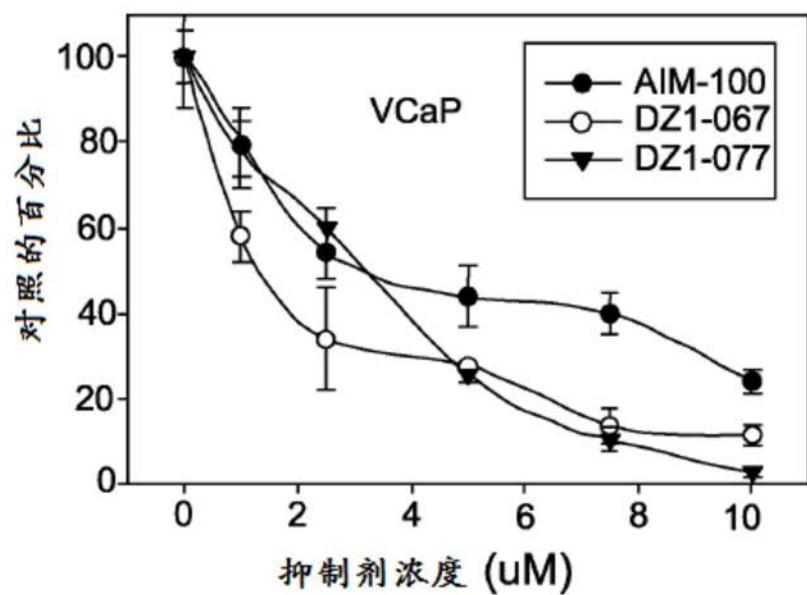


图4

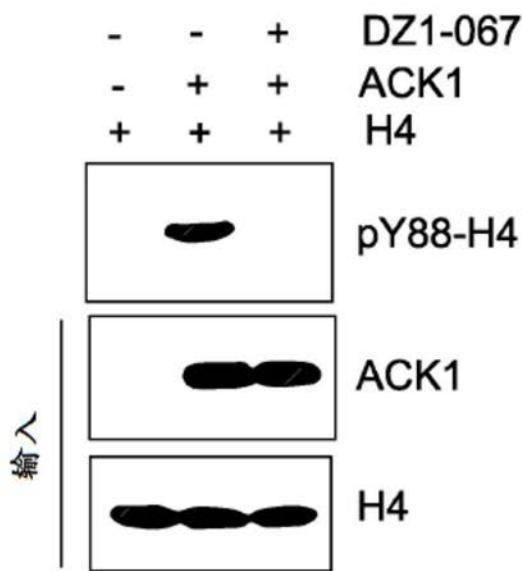
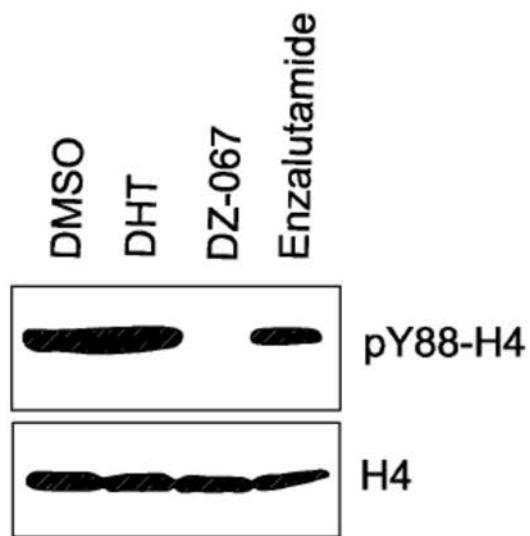
a**b**

图5

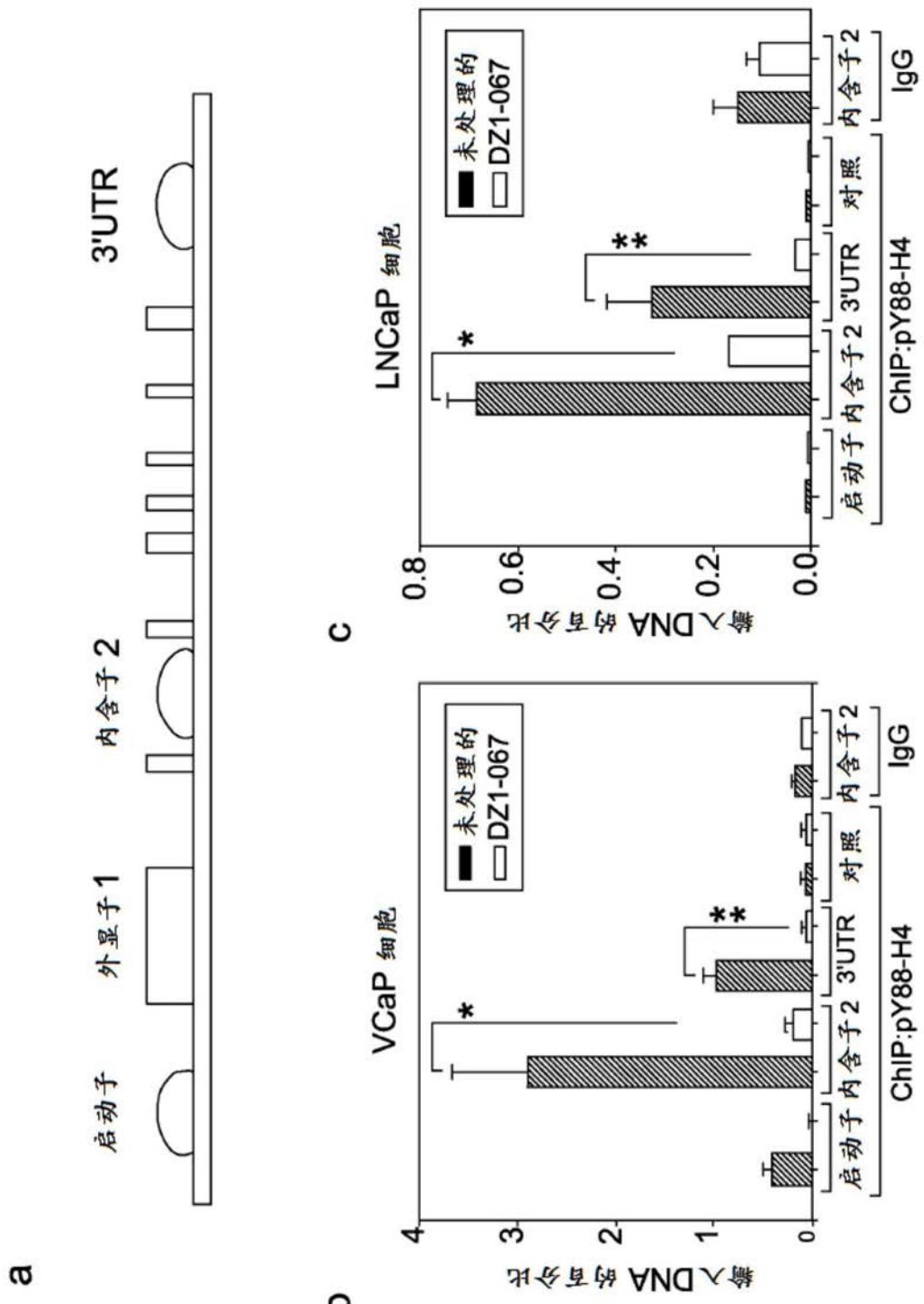


图6

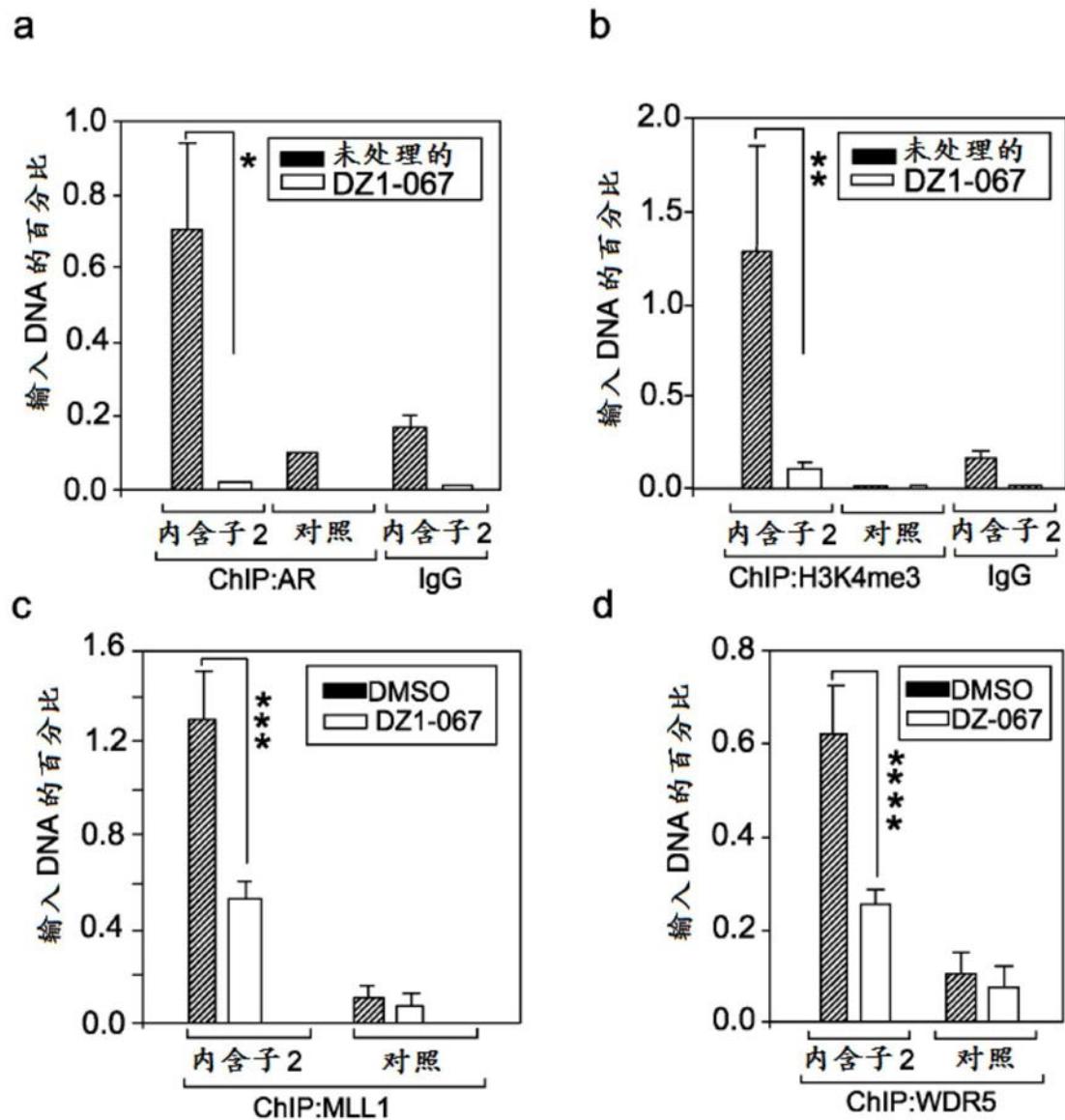


图7

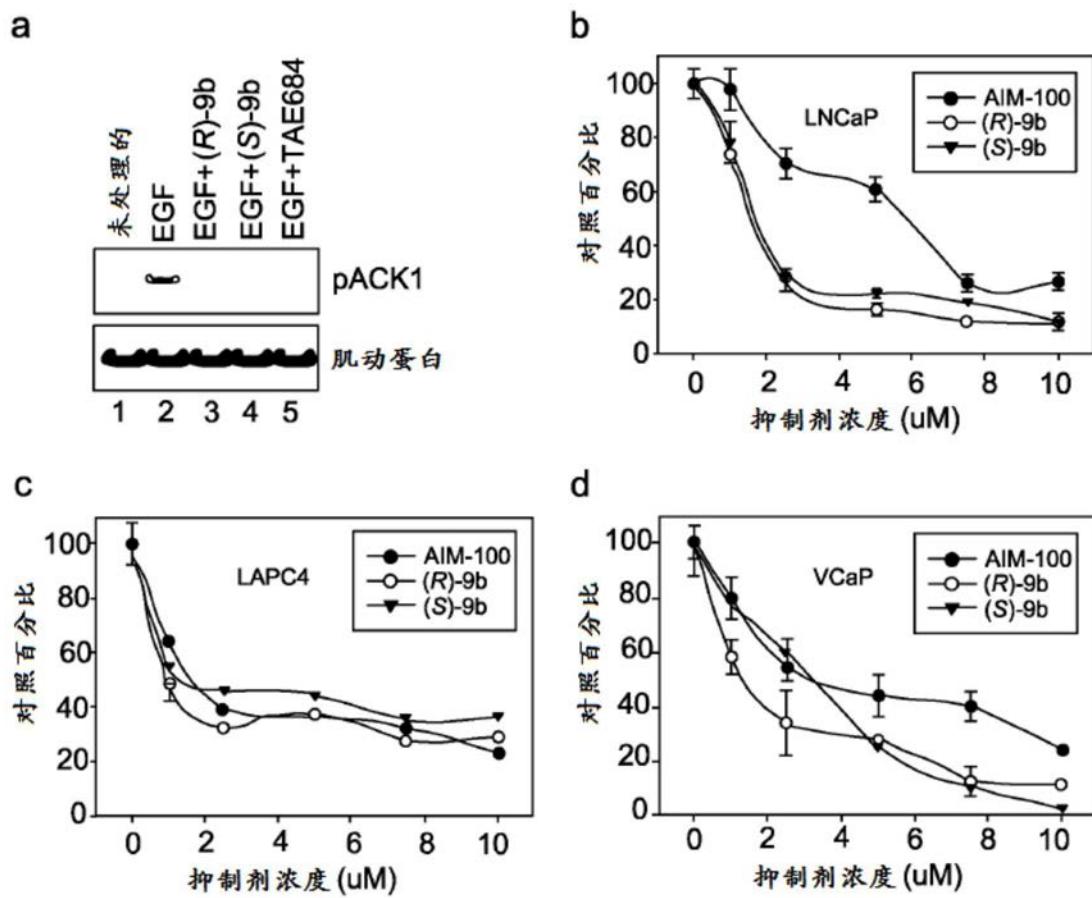


图8

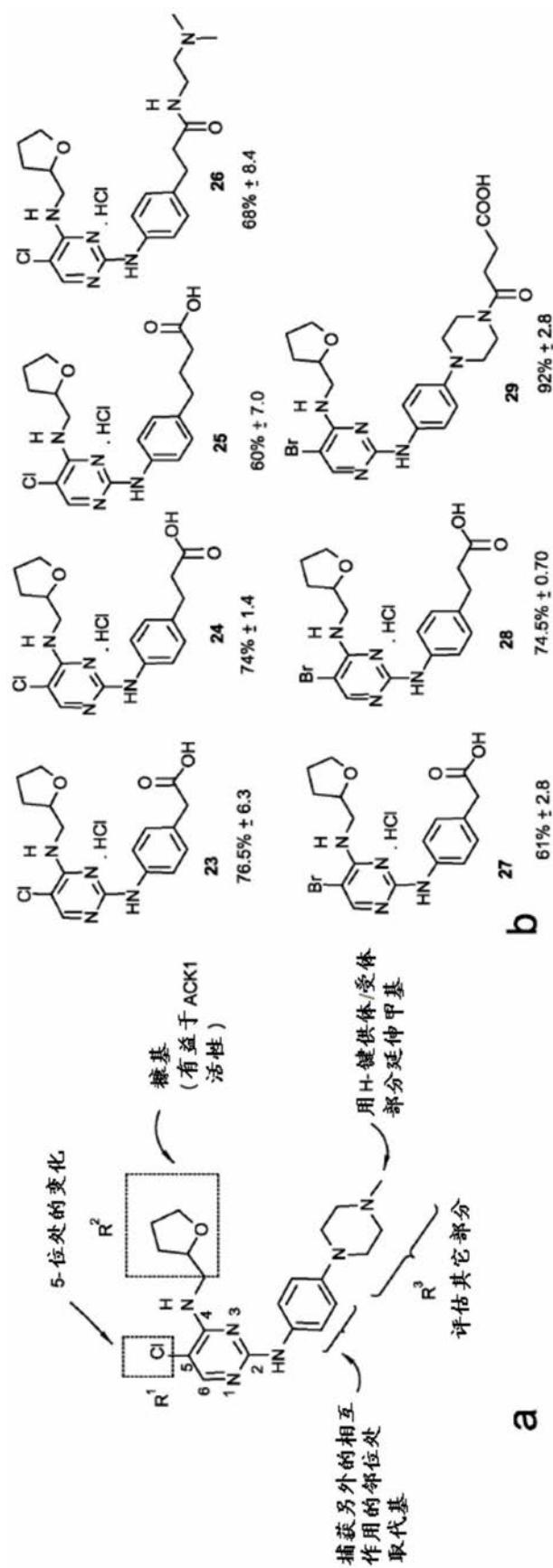


图9

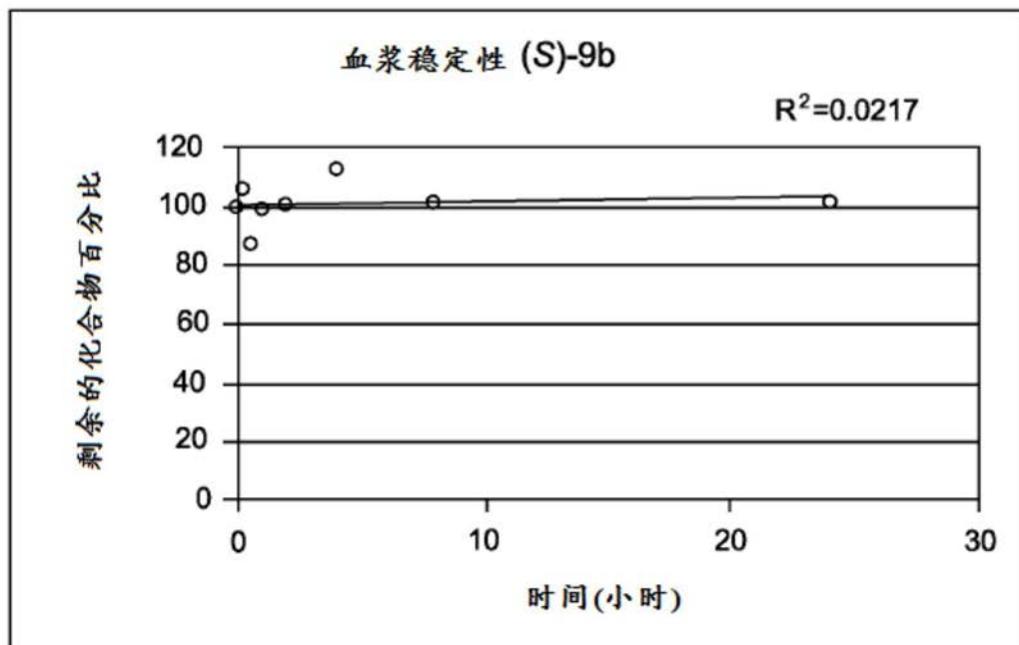
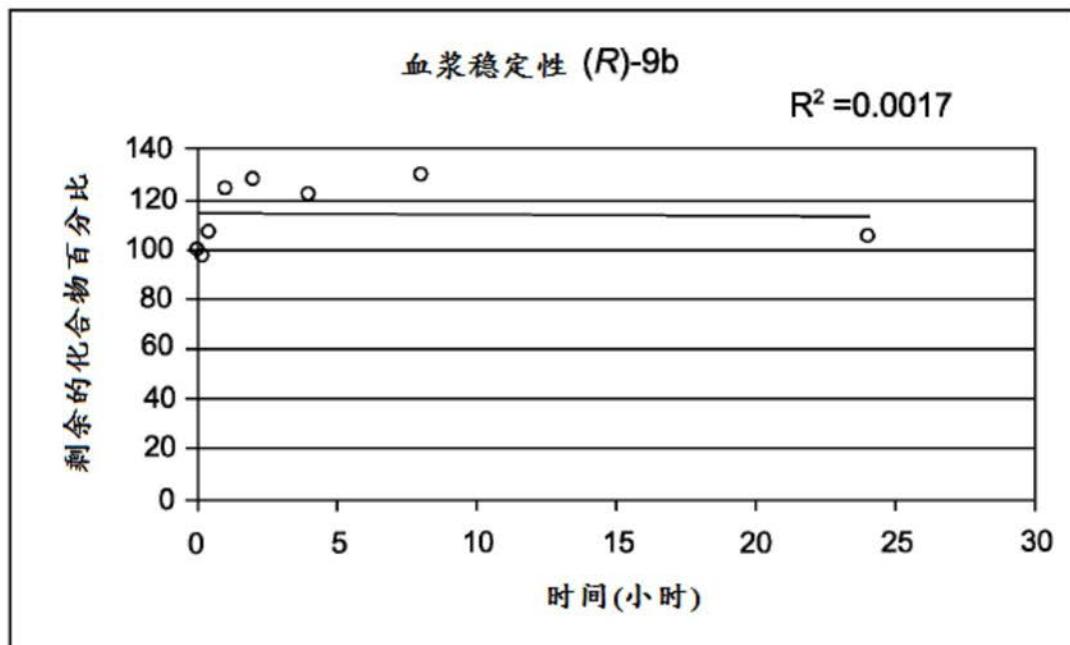


图10