(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 120035583 A
(43)申请公布日 2025.05.23

(21)申请号 202380058301.7
(22)申请日 2023.06.13
(30)优先权数据
63/352,490 2022.06.15 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2025.02.07
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/025191 2023.06.13
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/244599 EN 2023.12.21
(71)申请人 米拉蒂治疗股份有限公司
地址 美国新泽西州
(72)发明人 S·库利克 王晓仑
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
*C07D 239/32*(2006.01)
*C07D 333/66*(2006.01)
*A61K 31/506*(2006.01)
*A61P 35/00*(2006.01)

权利要求书5页 说明书31页

(54)发明名称

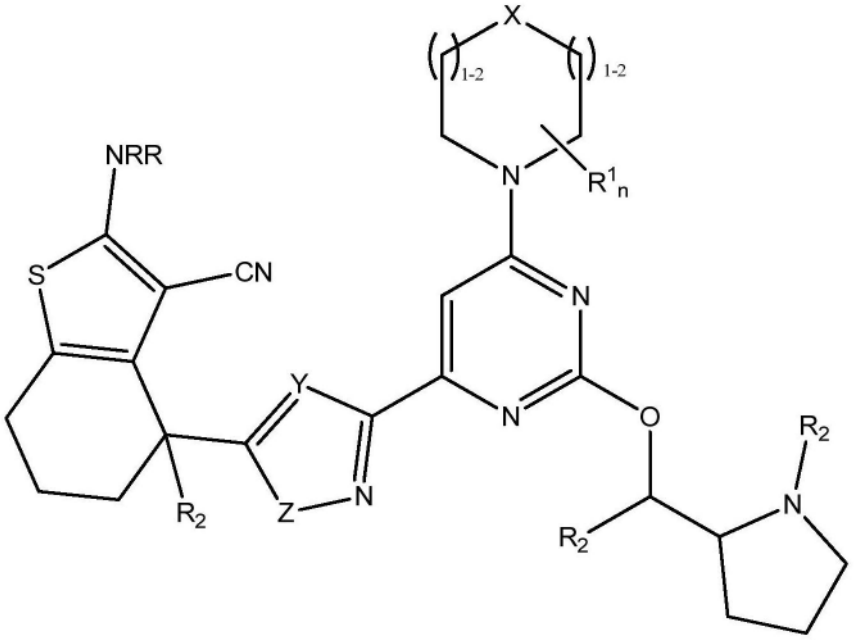
# PAN-KRAS抑制剂

(57)摘要

本发明涉及抑制KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和KRas Q61H中的至少一种的化合物、包含这些化合物的药物组合物及其使用方法。

CN 120035583 A

1.一种具有式(I)的化合物:




式 (I)

或其药学上可接受的盐,其中:

X是CR、O或N;

Y是CR或N;

Z是O或S;

n是1至4的整数;

每个R独立地是H或C1-C3烷基;

R1是C1-C3烷基或羟基;或者

n是至少二,并且两个$R^1$任选地连接以形成亚甲基或亚乙基桥;或者

n是至少2,并且两个$R^1$任选地连接以形成螺环或稠合环,其中该环是杂环或杂芳基,并且其中该环任选地被1-2个选自氧代和-C(O)N(CH3)(CH3)的取代基取代;以及

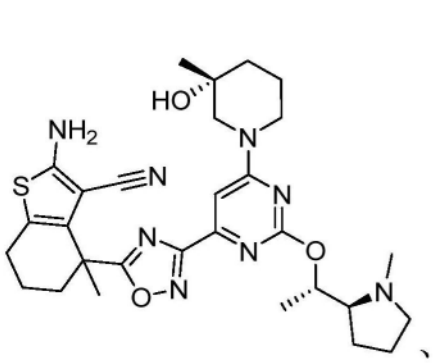
每个$R^2$独立地是C1-C3烷基。

2.如权利要求1所述的化合物或盐,其中n是2,并且两个$R^1$形成含有S和N原子的饱和杂环。

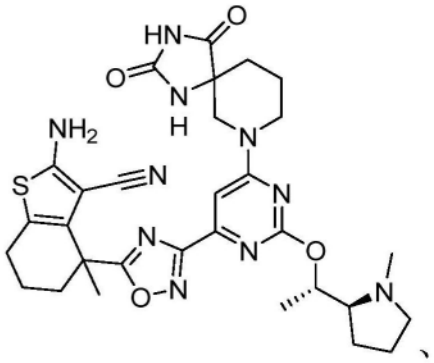
3.如权利要求2所述的化合物或盐,其中由两个$R^1$形成的饱和杂环被两个氧代取代。

4.如权利要求1所述的化合物或盐,其中n是2,一个$R^1$是OH并且另一个$R^1$是$CH_3$。

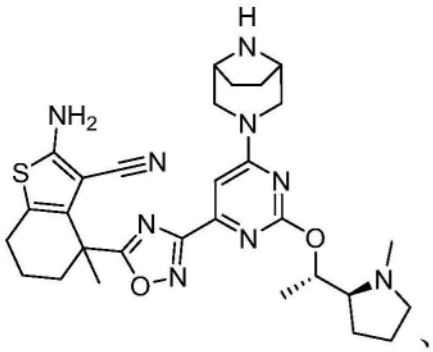
5.一种化合物,其选自:



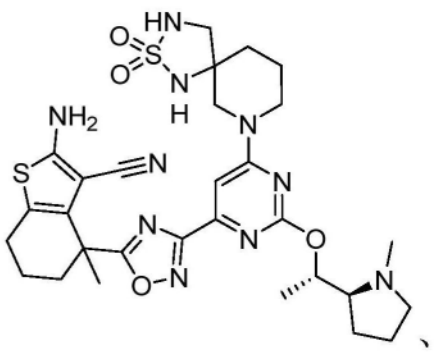
、



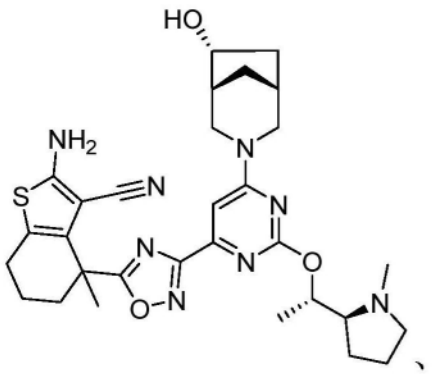
、



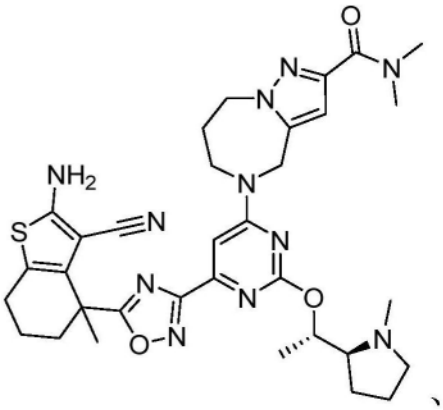
、



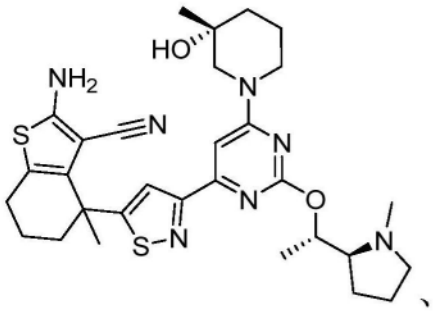
、



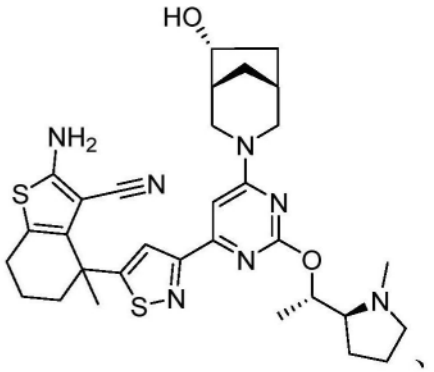
、



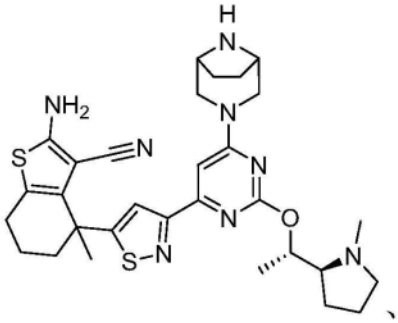
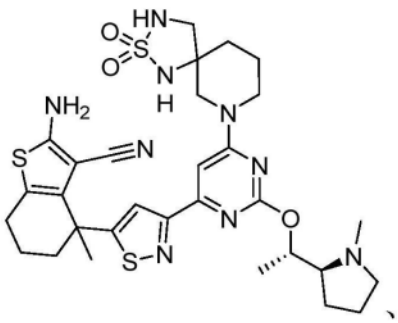
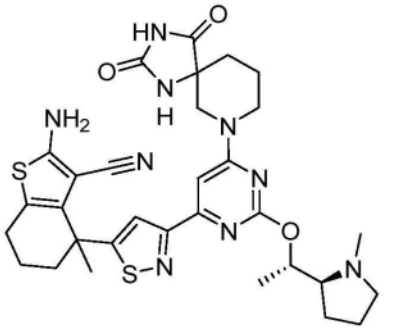
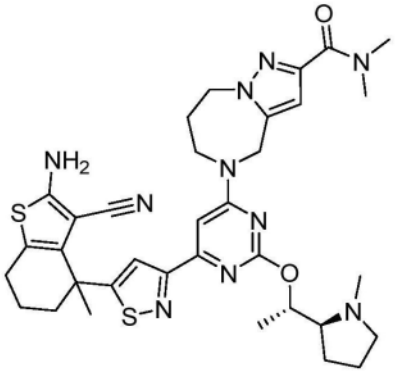
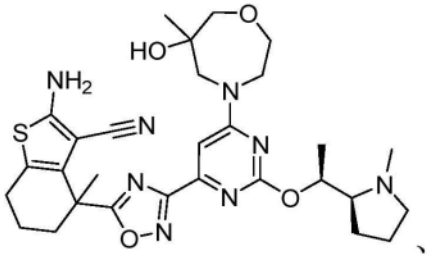
、



、



、


、

、

、

、

、

及其药学上可接受的盐。

6.一种药物组合物,其包含治疗有效量的如权利要求1-5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的赋形剂。

7.一种用于抑制细胞中野生型KRas、KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D或KRas Q61H活性的方法,该方法包括使其中希望抑制KRas活性的细胞与有效量的如权利要求1-5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或如权利要求6所述的药物组合物接触。

8.一种用于治疗癌症的方法,该方法包括向患有癌症的患者施用治疗有效量的如权利要求1-5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或如权利要求6所述的药物组合物。

9.如权利要求8所述的方法,其中该化合物的治疗有效量为约0.01至100mg/kg/天。

10.如权利要求9所述的方法,其中该化合物的治疗有效量为约0.1至50mg/kg/天。

11.如权利要求8所述的方法,其中该癌症选自由以下组成的组:心脏:肉瘤(血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤)、黏液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂肪瘤和畸胎瘤;肺:支气管肺癌(鳞状细胞癌、未分化型小细胞癌、未分化型大细胞癌、腺癌)、肺泡(细支气管)癌、支气管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、软骨错构瘤、间皮瘤;胃肠:食管(鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃(癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰(管腺癌、胰岛素瘤、高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌肿瘤、舒血管肠肽瘤)、小肠(腺癌、淋巴瘤、类癌肿瘤、卡波西肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、

神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤);泌尿生殖道:肾(腺癌、维尔姆斯瘤(肾母细胞瘤)、淋巴瘤、白血病)、膀胱和尿道(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤)、睾丸(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎癌、畸胎癌、绒毛膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样瘤、脂肪瘤);肝:肝癌(肝细胞癌)、胆管癌、肝母细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤、血管瘤;胆道:胆囊癌、壶腹癌、胆管癌;骨:骨原性肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因肉瘤、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨瘤(骨软骨外生骨疣)、良性软骨瘤、软骨母细胞瘤、软骨粘液样纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞瘤;神经系统:头骨(骨瘤、血管瘤、肉芽肿、黄色瘤、畸形性骨炎)、脑脊膜(脑膜瘤、脑膜肉瘤、神经胶质过多)、脑(星形细胞瘤、髓母细胞瘤、胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤(松果体瘤)、多形性胶质母细胞瘤、少突胶质瘤、神经鞘瘤、视网膜母细胞瘤、先天性肿瘤)、脊髓神经纤维瘤、脑膜瘤、胶质瘤、肉瘤);妇科学:子宫(子宫内膜癌(浆液性囊腺癌、粘液性囊腺癌、未分类的癌症)、粒膜细胞肿瘤、塞-莱二氏细胞瘤、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤)、阴门(鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑色素瘤)、阴道(透明细胞癌、鳞状细胞癌、葡萄状肉瘤(胚胎性横纹肌肉瘤)、输卵管(癌);血液学:血液(髓细胞性白血病(急性和慢性)、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、骨髓增生性疾病、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征)、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤(恶性淋巴瘤);皮肤:恶性黑色素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波西肉瘤、痣、发育不良痣、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤、瘢痕瘤、银屑病;和肾上腺:成神经细胞瘤。

12.如权利要求11所述的方法,其中该癌症是KRas G12A相关癌症。

13.如权利要求11所述的方法,其中该癌症是KRas G12C相关癌症。

14.如权利要求11所述的方法,其中该癌症是KRas G12D相关癌症。

15.如权利要求11所述的方法,其中该癌症是KRas G12R相关癌症。

16.如权利要求11所述的方法,其中该癌症是KRas G12S相关癌症。

17.如权利要求11所述的方法,其中该癌症是KRas G12V相关癌症。

18.如权利要求11所述的方法,其中该癌症是KRas G13D相关癌症。

19.如权利要求11所述的方法,其中该癌症是KRas Q61H相关癌症。

20.如权利要求11所述的方法,其中该癌症是KRas G12A相关癌症。

21.如权利要求11所述的方法,其中该癌症与野生型KRas、KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D或KRas Q61H中的至少一个相关。

22.如权利要求7-21中任一项所述的方法,其中该癌症是非小细胞肺癌、小细胞肺癌、结肠直肠癌、直肠癌或胰腺癌。

23.一种用于在有需要的患者中治疗癌症的方法,该方法包括(a)确定该癌症与野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D或KRas Q61H突变相关;以及(b)向该患者施用治疗有效量的如权利要求1-5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或如权利要求6所述的药物组合物。

24.如权利要求7-23中任一项所述的方法,其中该施用是经由选自下组的途径进行的,该组由以下组成:肠胃外、腹膜内、皮内、心内、室内、颅内、脑脊髓内、滑膜内、鞘内施用、肌内注射、玻璃体内注射、静脉注射、动脉内注射、口服、口腔、舌下、透皮、局部、气管内、直肠内、皮下和局部施用。

25.如权利要求24所述的方法,其中该施用途径是口服。

26.如权利要求24所述的方法,其中该施用是静脉注射。

27.如权利要求24所述的方法,其中该施用途径是肌内注射。

28.如权利要求24所述的方法,其中该施用途径利用递送装置。

29.如权利要求24所述的方法,其中在医院环境中进行施用。

# PAN-KRAS抑制剂

## 技术领域

[0001] 本发明涉及抑制多种突变形式的KRas的化合物,即pan-KRas抑制剂。特别地,本发明涉及pan-KRas化合物、包含这些化合物的药物组合物及其使用方法。

## 背景技术

[0002] Kirsten大鼠肉瘤2型病毒癌基因同源物("KRas")是一种小GTP酶和Ras致癌基因家族的成员。KRas充当在失活(GDP结合)与活性(GTP结合)状态之间循环的分子开关以将从多种酪氨酸激酶接收的上游细胞信号转换至下游效应物,以调节多种过程,包括细胞增殖(例如,参见Alamgeer等人,(2013)Current Opin Pharmcol.[当前药理学观点]13:394-401)。

[0003] 在三十多年前观察到激活的KRas在恶性肿瘤中的作用(例如,参见Santos等人,(1984)Science[科学]223:661-664)。KRas的异常表达占所有癌症和致癌性KRas突变的高达20%,这些突变稳定GTP结合并导致KRas的组成型激活。在KRas主要氨基酸序列的密码子12、13、61和其他位置处的KRas突变存在于88%的所有胰腺癌患者、50%的所有结肠/直肠腺癌患者和32%的肺腺癌患者中(例如,参见Prior等人,(2020)Cancer Res[癌症研究]80:2969-74)。最近的出版物还表明,野生型Kras抑制可以是治疗$KRas^{WT}$依赖性癌症的可行治疗策略(例如,参见Bery等人,(2020)Nat.Commun.[自然通讯]11:3233)。

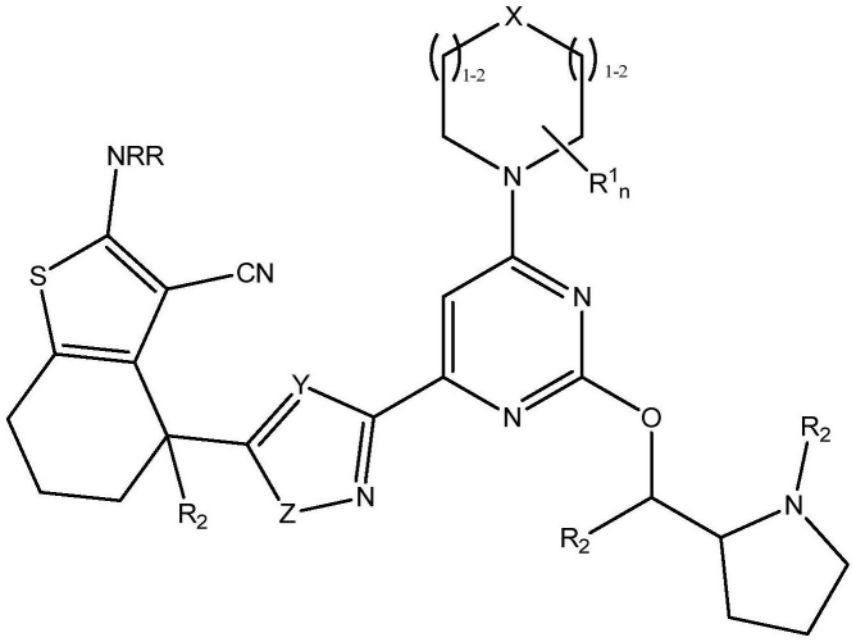
[0004] KRas在恶性肿瘤中的众所周知的作用以及在各种肿瘤类型中KRas中发现这些频繁突变使得KRas成为制药工业用于癌症疗法的高度有吸引力的靶标。尽管进行了三十年的大规模发现努力来开发用于治疗癌症的KRas抑制剂,但还没有KRas抑制剂证明其具有足够的安全性和/或功效来获得监管批准(例如,参见McCormick(2015)Clin Cancer Res.[临床癌症研究]21(8):1797-1801)。

[0005] 抑制KRas活性的化合物仍然是非常令人希望的并且正在研究中,包括破坏效应物如鸟嘌呤核苷酸交换因子的那些(例如,参见Sun等人,(2012)Agnew Chem Int Ed Engl.[德国应用化学国际英文版]51(25):6140-6143doi:10.1002/anie201201358)以及共价靶向KRas G12C的别构口袋的最新进展(例如,参见Ostrem等人,(2013)Nature[自然]503:548-551和Fell等人,(2018)ACS Med.Chem.Lett.[ACS药物化学快报]9:1230-1234)。显然,仍然存在开发KRas抑制剂、特别是激活KRas突变体的抑制剂的持续兴趣和努力。

[0006] 因此,需要开发新的pan-KRas抑制剂,这些抑制剂显示出用于治疗KRas介导的癌症的足够功效。

## 发明内容

[0007] 在本发明的一个方面,提供了抑制KRas活性的化合物。在某些实施例中,这些化合物由式(I)表示:




[0008] 式(I)

[0009] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0010] X是CR、O或N;

[0011] Y是CR或N;

[0012] Z是O或S;

[0013] n是1至4的整数;

[0014] 每个R独立地是H或C1-C3烷基;

[0015] $R^1$是C1-C3烷基或羟基;或者

[0016] n是至少二,并且两个$R^1$任选地连接以形成亚甲基或亚乙基桥;或者

[0017] n是至少二,并且两个$R^1$任选地连接以形成螺环或稠合环,其中该环是杂环或杂芳基,并且其中该环任选地被1-2个选自氧代和-C(O)N(CH3)(CH3)的取代基取代;

[0018] 每个$R^2$独立地是C1-C3烷基。

[0019] 在本发明的另一个方面,提供了药物组合物,这些药物组合物包含治疗有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的赋形剂。

[0020] 在本发明的又另一个方面,提供了用于抑制在细胞中含有野生型KRas或一个或多个KRas突变(例如KRas突变G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H)的细胞的活性的方法,该方法包括使该细胞与如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或其药物组合物接触。在一个实施例中,接触在体外进行。在一个实施例中,接触在体内进行。

[0021] 本文还提供了在体外或体内抑制细胞增殖的方法,该方法包括使细胞与有效量的如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或其药物组合物接触。

[0022] 还提供了用于治疗患者的癌症的方法,这些方法包括向对其有需要的患者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物组合物或其药学上可接受的盐。

[0023] 本文还提供了在需要这种治疗的患者中治疗KRas野生型,KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H相关疾病或障碍的方法,该方法包括向该患者施用治疗有

效量的如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或其药物组合物。

[0024] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物,用于在疗法中使用。

[0025] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物,用于在治疗癌症中使用。

[0026] 本文还提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,用于在抑制KRas野生型或多种类型的KRas突变,例如KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H突变中使用。

[0027] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或其药物组合物,用于在治疗KRas野生型相关疾病或障碍或KRas突变G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H相关疾病或障碍中使用。

[0028] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗癌症的药物中的用途。

[0029] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于抑制野生型形式的KRas或突变形式的KRas的活性的药物中的用途,这些突变形式的KRas包括突变:G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H。

[0030] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗KRas野生型相关疾病或障碍或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H相关疾病或障碍的药物中的用途。

[0031] 本文还提供了用于在有需要的患者中治疗癌症的方法,该方法包括(a)确定该癌症与KRas野生型或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H突变相关(即,KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H相关癌症);以及(b)向该患者施用治疗有效量的具有式(I)的化合物,或其药学上可接受的盐,或其药物组合物。

[0032] 本文描述的pan-KRas抑制剂的一个潜在效用是用于治疗在用KRas G12C抑制剂长期治疗后发展出抗性的癌症。因此,本发明的实施例包括其中患有癌症的患者在用G12C抑制剂治疗后用本文所述的pan-KRas抑制剂治疗由于出现赋予抗性的突变而变得无效或不太有效的那些。

[0033] 用共价KRas G12C抑制剂(如阿达格拉西布(MRTX849)或索托拉西布(AMG510)治疗KRas G12C突变型癌症可能导致掺入赋予对阿达格拉西布抗性的另外的突变。这些突变可以通过许多机制赋予抗性。

[0034] 将密码子12处的突变半胱氨酸改变为另一个氨基酸的突变将使得当前共价KRas G12C抑制剂无效,因为当前抑制剂与突变型半胱氨酸氨基酸侧链形成共价键。同样地,在除了KRas G12C突变型等位基因之外还具有一个野生型KRas等位基因的患者中,野生型密码子12甘氨酸至另一密码子的突变将允许这些肿瘤中通过新颖突变型蛋白进行旁路信号传导。可以在野生型基因(甘氨酸密码子)中以单核苷酸取代发生的密码子12突变的库包括癌症中通常观察到的突变,如G12S、G12V、G12R、G12C。除了G12S和G12R之外,可以与半胱氨酸密码子12的单核苷酸碱基取代一起发生的密码子12突变的库包括在癌症中不经常观察到的突变,G12Y、G12F和G12W。

[0035] 第二位点突变也可以发生在KRas G12C突变型基因中赋予对KRas G12C抑制剂治

疗抗性的另一个位置。这些突变可以通过不同机制赋予抗性。RAS蛋白是小GTP酶,其通常在活性GTP结合状态与失活GDP结合状态之间循环。RAS蛋白通过鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF;例如,SOS1)负载有GTP,这些鸟嘌呤核苷酸交换因子由上游受体酪氨酸激酶激活,从而触发随后与激活RAS依赖性信号传导的效应蛋白的相互作用。RAS蛋白通过其内在GTP酶活性将GTP水解为GDP,该内在GTP酶活性被GTP酶激活蛋白(GAP)显著增强。RAS蛋白中密码子12和13的突变损害GAP刺激的GTP水解,使RAS主要处于GTP结合的活性状态。在当前临床发展中,共价KRas G12C抑制剂仅结合GDP结合的KRas G12C。突变如Q61密码子突变(其可以发生或可以不发生在与G12C突变相同的等位基因上)降低了KRas的内在GTP酶活性,并且可以代表通过将KRas转移到GTP加载状态(其中它不易受共价抑制影响)来对KRas G12C抑制剂治疗具有抗性的机制。共突变(如R68、H95和Y96)可以与KRas G12C突变一起存在,并且可以降低KRas G12C抑制剂与Switch II结合口袋的结合亲和力。

[0036] 本文所述的pan-KRas抑制剂可以展示针对KRas蛋白中发生的减少KRas G12C抑制剂与KRas蛋白的结合的一个或多个常见和不常见密码子12突变的活性。

[0037] 本文还提供了一种用于制备具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的方法。

[0038] 本文还提供了通过如本文所定义的制备具有式(I)的化合物的方法获得的该化合物或其药学上可接受的盐。

## 具体实施方式

[0039] 本发明涉及KRas野生型和/或多种突变形式的KRas(例如,KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H突变)的抑制剂。特别地,本发明涉及抑制KRas野生型和/或KRas突变例如G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H的活性的化合物,包含治疗有效量的这些化合物的药物组合物及其使用方法。

定义

[0040] 除非另外限定,否则本文使用的所有技术术语和科学术语均具有与本发明所属领域的技术人员通常理解的相同的含义。本文提及的所有专利、专利申请和出版物均通过引用并入。

[0041] 如本文所用,“野生型KRas”是指哺乳动物KRas蛋白的非突变形式。人KRas的氨基酸密码子和残基位置的分配基于UniProtKB/Swiss-Prot P01116鉴定的氨基酸序列:Variantp.Gly12Asp。如本文所用,“野生型KRas抑制剂”是指如本文所述的由式(I)表示的本发明化合物。这些化合物能够负调节或抑制野生型KRas G12A的全部或部分酶活性。如本文所用,“野生型KRas相关疾病或障碍”是指与野生型KRas相关或由其介导或具有野生型KRas的疾病或障碍。野生型KRas相关疾病或障碍的非限制性实例是野生型KRas相关癌症。

[0042] 如本文所用,“KRas G12A”是指哺乳动物KRas蛋白的突变形式,其在氨基酸位置12处含有丙氨酸取代甘氨酸的氨基酸取代。人KRas的氨基酸密码子和残基位置的分配基于UniProtKB/Swiss-Prot P01116鉴定的氨基酸序列:Variantp.Gly12Asp。如本文所用,“KRas G12A抑制剂”是指如本文所述的由式(I)表示的本发明化合物。这些化合物能够负调节或抑制KRas G12A的全部或部分酶活性。如本文所用,“KRas G12A相关疾病或障碍”是指与KRas G12A突变相关或由其介导或具有KRas G12A突变的疾病或障碍。KRas G12A相关疾病或障碍的非限制性实例是KRas G12A相关癌症。

[0043] 如本文所用,“KRas G12C”是指哺乳动物KRas蛋白的突变形式,其在氨基酸位置12处含有半胱氨酸取代甘氨酸的氨基酸取代。人KRas的氨基酸密码子和残基位置的分配基于UniProtKB/Swiss-Prot P01116鉴定的氨基酸序列:Variantp.Gly12Asp。如本文所用,“KRas G12C抑制剂”是指如本文所述的由式(I)表示的本发明化合物。这些化合物能够负调节或抑制KRas G12C的全部或部分酶活性。如本文所用,“KRas G12C相关疾病或障碍”是指与KRas G12C突变相关或由其介导或具有KRas G12C突变的疾病或障碍。KRas G12C相关疾病或障碍的非限制性实例是KRas G12CD相关癌症。

[0044] 如本文所用,“KRas G12D”是指哺乳动物KRas蛋白的突变形式,其在氨基酸位置12处含有天冬氨酸取代甘氨酸的氨基酸取代。人KRas的氨基酸密码子和残基位置的分配基于UniProtKB/Swiss-Prot P01116鉴定的氨基酸序列:Variantp.Gly12Asp。如本文所用,“KRas G12D抑制剂”是指如本文所述的由式(I)表示的本发明化合物。这些化合物能够负调节或抑制KRas G12D的全部或部分酶活性。如本文所用,“KRas G12D相关疾病或障碍”是指与KRas G12D突变相关或由其介导或具有KRas G12D突变的疾病或障碍。KRas G12D相关疾病或障碍的非限制性实例是KRas G12D相关癌症。

[0045] 如本文所用,“KRas G12R”是指哺乳动物KRas蛋白的突变形式,其在氨基酸位置12处含有精氨酸取代甘氨酸的氨基酸取代。人KRas的氨基酸密码子和残基位置的分配基于UniProtKB/Swiss-Prot P01116鉴定的氨基酸序列:Variantp.Gly12Asp。如本文所用,“KRas G12R抑制剂”是指如本文所述的由式(I)表示的本发明化合物。这些化合物能够负调节或抑制KRas G12R的全部或部分酶活性。如本文所用,“KRas G12R相关疾病或障碍”是指与KRas G12R突变相关或由其介导或具有KRas G12R突变的疾病或障碍。KRas G12R相关疾病或障碍的非限制性实例是KRas G12R相关癌症。

[0046] 如本文所用,“KRas G12S”是指哺乳动物KRas蛋白的突变形式,其在氨基酸位置12处含有丝氨酸取代甘氨酸的氨基酸取代。人KRas的氨基酸密码子和残基位置的分配基于UniProtKB/Swiss-Prot P01116鉴定的氨基酸序列:Variantp.Gly12Asp。如本文所用,“KRas G12S抑制剂”是指如本文所述的由式(I)表示的本发明化合物。这些化合物能够负调节或抑制KRas G12S的全部或部分酶活性。如本文所用,“KRas G12S相关疾病或障碍”是指与KRas G12S突变相关或由其介导或具有KRas G12S突变的疾病或障碍。KRas G12S相关疾病或障碍的非限制性实例是KRas G12S相关癌症。

[0047] 如本文所用,“KRas G12V”是指哺乳动物KRas蛋白的突变形式,其在氨基酸位置12处含有缬氨酸取代甘氨酸的氨基酸取代。人KRas的氨基酸密码子和残基位置的分配基于UniProtKB/Swiss-Prot P01116鉴定的氨基酸序列:Variantp.Gly12Asp。如本文所用,“KRas G12V抑制剂”是指如本文所述的由式(I)表示的本发明化合物。这些化合物能够负调节或抑制KRas G12V的全部或部分酶活性。如本文所用,“KRas G12V相关疾病或障碍”是指与KRas G12V突变相关或由其介导或具有KRas G12V突变的疾病或障碍。KRas G12V相关疾病或障碍的非限制性实例是KRas G12V相关癌症。

[0048] 如本文所用,“KRas G13D”是指哺乳动物KRas蛋白的突变形式,其在氨基酸位置13处含有天冬氨酸取代甘氨酸的氨基酸取代。人KRas的氨基酸密码子和残基位置的分配基于UniProtKB/Swiss-Prot P01116鉴定的氨基酸序列:Variantp.Gly12Asp。如本文所用,“KRas G13D抑制剂”是指如本文所述的由式(I)表示的本发明化合物。这些化合物能够负调

节或抑制KRas G13D的全部或部分酶活性。如本文所用,“KRas G13D相关疾病或障碍”是指与KRas G13D突变相关或由其介导或具有KRas G13D突变的疾病或障碍。KRas G13D相关疾病或障碍的非限制性实例是KRas G13D相关癌症。

[0049] 如本文所用,“KRas Q61H”是指哺乳动物KRas蛋白的突变形式,其在氨基酸位置61处含有组氨酸取代谷氨酰胺的氨基酸取代。人KRas的氨基酸密码子和残基位置的分配基于UniProtKB/Swiss-Prot P01116鉴定的氨基酸序列:Variantp.Gly12Asp。如本文所用,“KRas Q61H抑制剂”是指如本文所述的由式(I)表示的本发明化合物。这些化合物能够负调节或抑制KRas Q61H的全部或部分酶活性。如本文所用,“KRas Q61H相关疾病或障碍”是指与KRas Q61H突变相关或由其介导或具有KRas Q61H突变的疾病或障碍。KRas Q61H相关疾病或障碍的非限制性实例是KRas Q61H相关癌症。

[0050] 如本文所用,术语“受试者”、“个体”或“患者”可互换使用,是指任何动物,包括哺乳动物,如小鼠、大鼠、其他啮齿类动物、兔、狗、猫、猪、牛、绵羊、马、灵长类动物和人类。在一些实施例中,患者是人。在一些实施例中,受试者已经历和/或表现出要治疗和/或预防的疾病或障碍的至少一种症状。在一些实施例中,受试者已经被鉴定或诊断为患有具有野生型KRas或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H突变的癌症(例如,如使用监管机构批准的,例如FDA批准的测定或试剂盒确定的)。在一些实施例中,受试者患有对野生型KRas或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H突变为阳性的肿瘤(例如,如使用监管机构批准的测定或试剂盒确定的)。受试者可以是患有一种或多种肿瘤的受试者,该一种或多种肿瘤对野生型KRas或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H突变为阳性(例如,使用监管机构批准的,例如FDA批准的测定或试剂盒鉴定为阳性)。受试者可以是其肿瘤具有野生型KRas或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H突变的受试者(例如,其中使用监管机构批准的,例如FDA批准的试剂盒或测定将肿瘤如此鉴定)。在一些实施例中,受试者疑似患有野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D或KRas Q61H基因相关癌症。在一些实施例中,受试者具有指示受试者患有肿瘤的临床记录,该肿瘤具有野生型KRas或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H突变(并且任选地,临床记录指示应该用本文提供的任何组合物治疗受试者)。

[0051] 在本文所述的任何方法或用途的一些实施例中,使用来自患者(例如,疑似患有野生型KRas相关或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H相关癌症的患者,具有野生型KRas相关或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H相关癌症的一种或多种症状的患者,和/或患野生型KRas相关或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H相关癌症风险增加的患者)的样品(例如,生物样品或活检样品(例如,石蜡包埋的活检样品)),使用测定来确定该患者是否具有野生型KRas或KRas G12A、G12C、G12D、G12R、G12S、G12V、G13D和/或Q61H突变,该测定可以包括,例如,下一代测序、免疫组织化学、荧光显微镜术、分解FISH分析、DNA印迹法、蛋白质免疫印迹法、FACS分析、核糖核酸印迹法和基于PCR的扩增(如RT-PCR和定量实时RT-PCR)。如本领域中熟知的,这些测定典型地例如用至少一种经标记的核酸探针或至少一种经标记的抗体或其抗原结合片段进行。

[0052] 术语“监管机构”是国家批准负责药品的医疗用途的机构。例如,监管机构的非限制性实例是美国食品药品监督管理局(FDA)。

[0053] 术语“酰基”是指-C(O)CH3。

[0054] 如本文所用的术语“C1-C6烷基”、“C1-C4烷基”和“C1-C3烷基”分别是指具有1-6个碳原子、或1-4个碳原子、或1-3个碳原子的直链和支链脂肪族基团。烷基基团的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基和己基。

[0055] 术语“C1-C3卤代烷基”和“C1-C4卤代烷基”分别是指如本文所定义的C1-C3烷基链或C1-C4烷基链,其中一个或多个氢已被卤素替代。实例包括三氟甲基、二氟甲基和氟甲基。

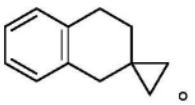
[0056] “C1-C4亚烷基”是如上文所定义的C1-C4烷基基团,其位于两个其他化学基团之间并用于连接这两个化学基团。示例性亚烷基基团包括但不限于亚甲基、亚乙基、亚丙基、和亚丁基。

[0057] 术语“C1-C3烷氧基”和“C1-C4烷氧基”分别是指-OC1-C3烷基和-OC1-C4烷基,其中烷基部分如上文所定义。

[0058] 如本文所用的术语“环烷基”包括具有3至12个碳(例如3至8个碳)并且作为另外的实例,3至6个碳的饱和和部分不饱和的环状烃基,其中该环烷基基团另外任选地被如本文所定义的一个或多个$R^8$或$R^9$基团取代。环烷基基团的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基和环辛基。术语“环烷基”还包括桥接的环烷基,如双环[1.1.1]戊烷基。

[0059] 如本文所用,术语“C1-C3羟烷基”和“C1-C4羟烷基”分别是指-C1-C3亚烷基-OH和-C1-C4亚烷基-OH。

[0060] 如本文所用,术语“C2-C4羟基炔基”是指-C2-C4亚炔基-OH。

[0061] “芳基”基团是包含一至三个芳族环的$C_6$-$C_{14}$芳族部分,其任选地被一个或多个如本文所定义的$R^8$或$R^9$基团取代。作为一个实施例,芳基基团是$C_6$-$C_{10}$芳基基团。芳基基团的实例包括但不限于苯基、萘基、蒽基、芴基和二氢苯并呋喃基。“芳基”还指双环或三环系统,其中所述芳基环系统的一个或两个环可以分别是饱和或部分饱和的,并且其中如果所述环系统包括两个饱和环,则所述饱和环可以是稠合或螺环的。包含两个饱和环(其中这些环是螺环的)的芳基环系统的实例包括以下环系统:。

[0062] “芳基C1-C6烷基”或“芳烷基”基团包括共价连接到烷基基团的芳基基团,其中任何一个可以独立地任选地被取代或未被取代。芳烷基基团的实例是($C_6$-$C_{10}$)芳基($C_1$-$C_6$)烷基-,包括但不限于苄基、苯乙基、以及萘基甲基。取代的芳基C1-C6烷基的实例是其中烷基基团被羟烷基取代。

[0063] “杂环基”或“杂环”基团是具有3至12个原子,例如4至8个原子的环结构,其中一个或多个原子选自由N、O和S组成的组,其中环N原子可以被氧化为N-O,并且环S原子可以氧化为SO或$SO_2$,其余的环原子是碳。杂环基可以是单环、双环、螺环或桥环系统。杂环基团任选地在一个或多个位置处被环碳或环氮上的一个或多个$R^8$或$R^9$基团取代,其中$R^6$如式I所定义。杂环基团还独立地任选地在环氮原子上被烷基、芳烷基、烷基羰基取代,或在硫上被低级烷基取代。杂环基团的实例包括但不限于,环氧、氮杂环丁烷基、氮丙啶基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、吡咯烷基、吡咯烷酮基、哌啶基、哌嗪基、咪唑烷基、咪唑并吡啶基、噻唑烷基、二噻烷基、三噻烷基、二氧戊环基、噁唑烷基、噁唑烷酮基、十氢喹啉基、哌啶酮基、4-哌啶酮基、奎宁环基、硫代吗啉基、硫代吗啉基1,1二氧化物、吗啉基、氮杂环庚烷基、氧杂氮杂环庚

烷基、氮杂双环已烷基、氮杂双环庚烷基、氮杂双环辛烷基、氮杂双环壬烷基(例如,八氢吲嗪基)、氮杂螺庚烷基、二氢-1H,3H,5H-噁唑并[3,4-c]噁唑基、四氢-1'H,3'H-螺[环丙烷-1,2'-吡咯嗪]、六氢-1H-吡咯嗪基、六氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]噁嗪基、八氢吲嗪基、氧杂氮杂螺壬烷基、氧杂氮杂螺辛烷基、二氮杂螺壬烷基、氧杂氮杂双环庚烷基、六氢吡咯嗪基4(1H)-氧化物、四氢-2H-噻喃基1-氧化物和四氢-2H-噻喃基1,1-二氧化物。具有相邻环状O和/或S原子的化合物特别排除在该术语的范围之外。

[0064] 如本文使用,术语"杂芳基"是指具有5至14个环原子,优选5、6、9或10个环原子;在环状阵列中共享6、10或14π电子;并且除了碳原子外,每个环还具有一到三个杂原子,或者在至少一个环中具有一个到三个选自由N、O和S组成的杂原子的基团。杂芳基基团的实例包括吖啶基、吖辛因基(azocinyl)、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并硫代呋喃基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并异噁唑基、苯并异噻唑基、苯并咪唑啉基、咔唑基、4aH-咔唑基、咔啉基、苯并二氢吡喃基、苯并吡喃基、噌啉基、6,7-二氢-5H-吡咯并[1,2-a]咪唑、呋喃基、呋哌基、呋咱基、咪唑啉基、咪唑基、1H-吲唑基、吲哚啉基、二氢吲哚基、吲嗪基、吲哚基、3H-吲哚基、异苯并呋喃基、异苯并二氢吡喃基、异吲唑基、异二氢吲哚基、异吲哚基、异喹啉基、异噻唑基、异噁唑基、亚甲基二氧基苯基、萘啶基、八氢异喹啉基、噁二唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、噁唑烷基、噁唑基、噁唑烷基、嘧啶基、菲啶基、菲咯啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁噻基(phenoxathiinyl)、吩噁嗪基、酞嗪基、胡椒基、蝶啶基、嘌呤基、吡喃基、吡嗪基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡唑基、哒嗪基、吡啶并噁唑、吡啶并咪唑、吡啶并噻唑、吡啶基(pyridinyl)、吡啶基(pyridyl)、嘧啶基、吡咯啉基、2H-吡咯基、吡咯基、喹唑啉基、喹啉基、4H-喹嗪基、喹喔啉基、奎宁环基、四氢异喹啉基、四氢喹啉基、四唑基、6H-1,2,5-噻二嗪基、1,2,3-噻二唑基、1,2,4-噻二唑基、1,2,5-噻二唑基、1,3,4-噻二唑基、噻蒽基、噻唑基、噻吩基、噻吩并噻唑基、噻吩并噁唑基、噻吩并咪唑基、硫苯基、三嗪基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,5-三唑基、1,3,4-三唑基、和呫吨基。"杂芳基"还指双环系统,除了碳原子外,每个环还具有一至三个选自由N、O和S组成的组的杂原子,其中一个环系统可以是饱和的或部分饱和的。

[0065] 如本文所用,化合物的"有效量"是指足以负调节或抑制野生型KRas、KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D或KRas Q61H中一种或多种的活性的量。这样的量可以作为单一剂量施用或可以根据方案施用,由此它是有效的。

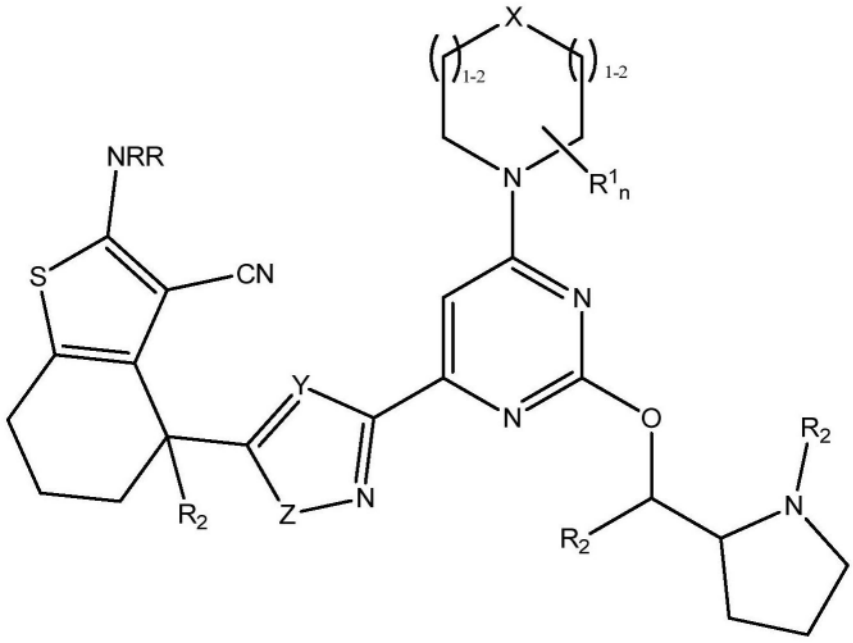
[0066] 如本文所用,化合物的"治疗有效量"是足以改善或以某种方式减少病症的症状或停止或逆转病症的进展,或负调节或抑制野生型KRas、KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D或KRas Q61H中一种或多种的活性的量。这样的量可以作为单一剂量施用或可以根据方案施用,由此它是有效的。

[0067] 如本文所用,治疗意指病症、障碍或疾病的症状或病理学改善或以其他方式有益地改变的任何方式。治疗还涵盖本文组合物的任何药物用途。

[0068] 如本文所用,通过施用特定药物组合物来缓解特定障碍的症状是指任何因为施用该组合物或与其有关的减轻,无论是永久的还是暂时的,持久的还是短暂的。

化合物

[0069] 在本发明的一个方面,提供了由式(I)表示的化合物:




[0070] 式(I)

[0071] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0072] X是CR、O或N;

[0073] Y是CR或N;

[0074] Z是O或S;

[0075] n是1至4的整数;

[0076] 每个R独立地是H或C1-C3烷基;

[0077] $R^1$是C1-C3烷基或羟基;或者

[0078] n是至少二,并且两个$R^1$任选地连接以形成亚甲基或亚乙基桥;或者

[0079] n是至少二,并且两个$R^1$任选地连接以形成螺环或稠合环,其中该环是杂环或杂芳基,并且其中该环任选地被1-2个选自氧代和-C(O)N(CH3)(CH3)的取代基取代;

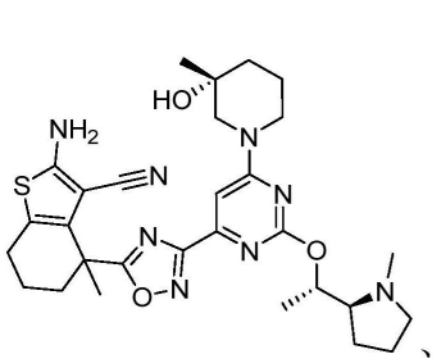
[0080] 每个$R^2$独立地是C1-C3烷基。

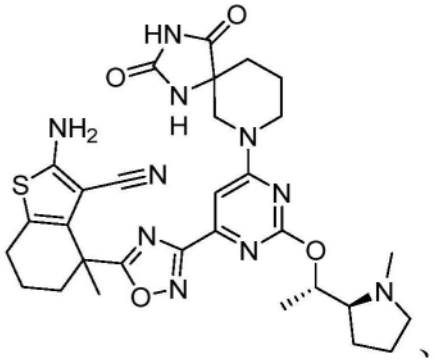
[0081] 在本发明的某些实施例中,n是2,并且两个$R^1$形成含有S和N原子的饱和杂环。

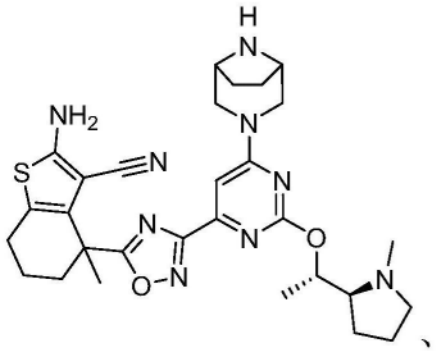
[0082] 在本发明的某些实施例中,由两个$R^1$形成的饱和杂环被两个氧代取代。

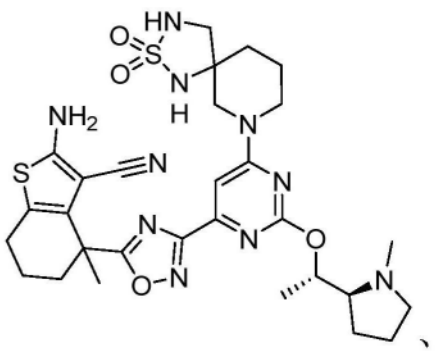
[0083] 在本发明的某些实施例中,n是2;并且一个$R^1$是OH并且另一个$R^1$是$CH_3$。

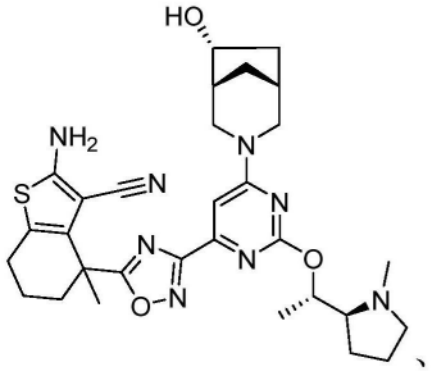
[0084] 具有式(I)的化合物的非限制性实例选自由以下组成的组:

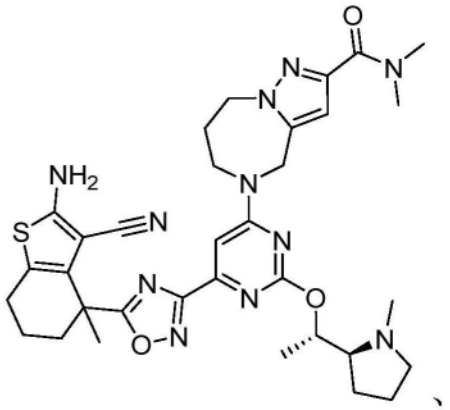


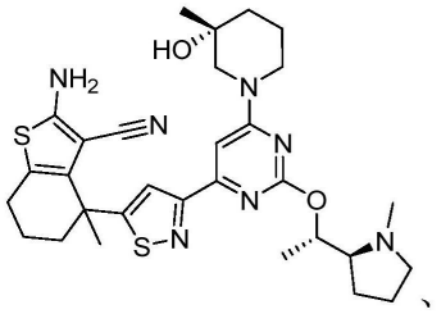


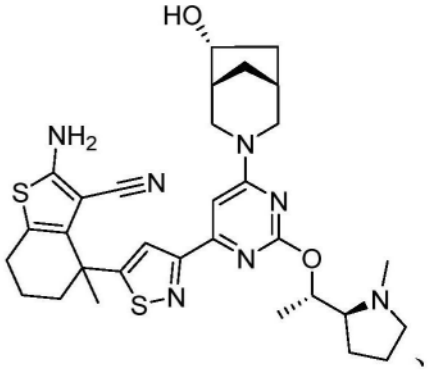


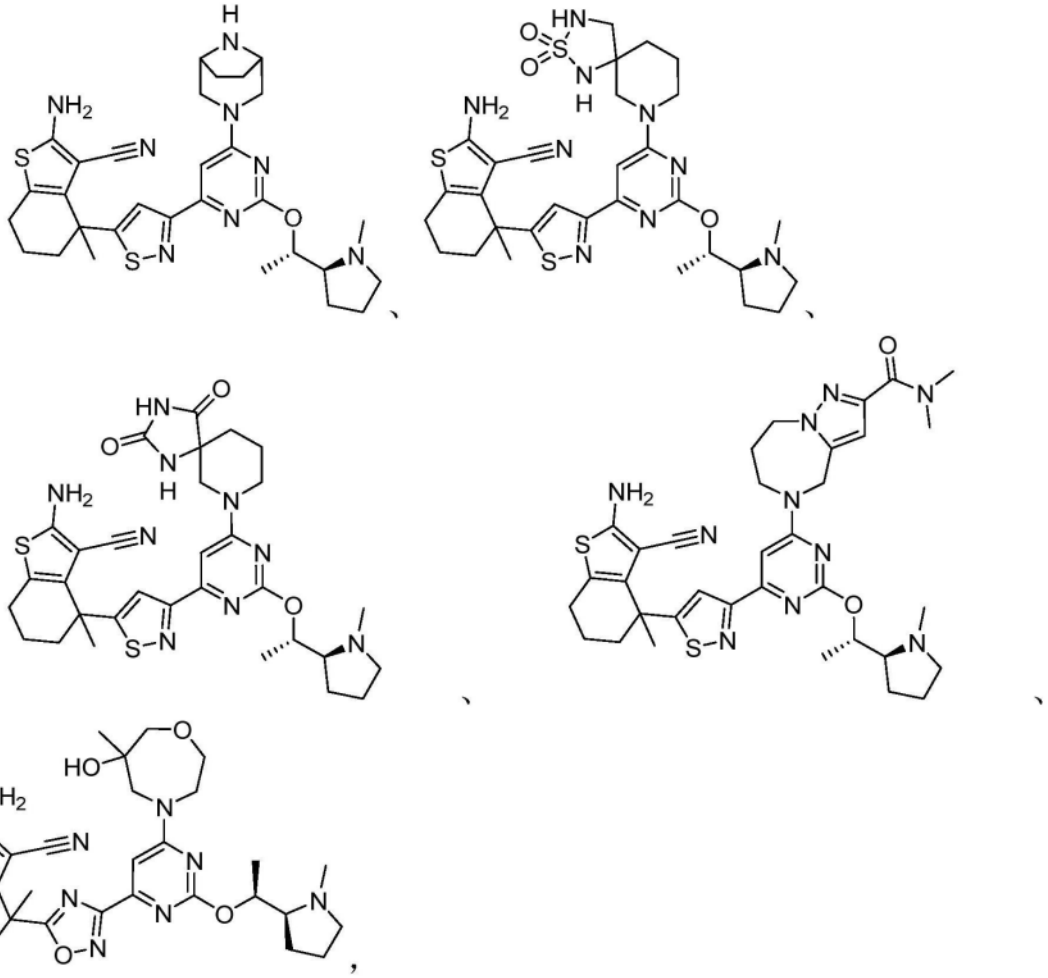












[0100] 及其药学上可接受的盐。

[0085] 在一个实施例中,具有式(I)的化合物包括以上化合物的双盐酸盐、三盐酸盐、三氟乙酸盐、双三氟乙酸盐和三三氟乙酸盐。可以将具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐配制成药物组合物。

药物组合物

[0086] 在另一个方面,本发明提供了药物组合物,这些药物组合物包含根据本发明的野生型KRas、KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H抑制剂以及药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。本发明的化合物可以通过本领域熟知的任何方法配制,并且可以制备用于通过任何途径施用,包括但不限于肠胃外、腹膜内、皮内、心内、室内、颅内、脑脊髓内、滑膜内、鞘内施用、肌内注射、玻璃体内注射、静脉注射、动脉内注射、口服、口腔、舌下、透皮、局部、鼻内、气管内、直肠内、皮下和局部施用。在某些实施例中,本发明的化合物在医院环境中静脉施用。在一个实施例中,施用可以通过口服途径进行。在一些实施例中,所提供的药物组合物可以通过全身注射(例如通过静脉注射)施用至需要治疗的受试者;或通过注射或施加到相关部位,如通过经由注射器直接注射,或当该部位在手术中暴露时直接施加到该部位;或通过局部施用。

[0087] 肠胃外施用可以通过推注或连续输注进行。用于注射的药物组合物为可以以单位剂型而存在,例如在添加有防腐剂的安瓿中或在多剂量容器中。

[0088] 所提供的药物组合物还可以被配制为贮库制剂。此类长效型配制品可通过植入

(例如,皮下或肌内)或通过肌内注射进行施用。因此,例如,配制品可以用合适的聚合或疏水性材料修饰(例如作为可接受的油中的乳液)或用离子交换树脂修饰,或作为难溶性衍生物,例如作为难溶性盐。

[0089] 如果希望的话,药物组合物可以存在于小瓶、包装或医疗装置中,包括但不限于分配器装置,该分配器装置可以包含含有活性成分的一种或多种单位剂型。在一个实施例中,分配器装置可以包括注射器,该注射器具有准备注射的单剂量液体配制品。注射器可以附有施用说明书。

[0090] 载体的特征将取决于施用途径。如本文所用,术语"药学上可接受的"意指与生物系统(如细胞、细胞培养物、组织或生物体)相容并且不干扰一种或多种活性成分的生物活性的有效性的无毒材料。因此,除了抑制剂之外,根据本发明的组合物还可以含有稀释剂、填充剂、盐、缓冲剂、稳定剂、增溶剂、以及本领域熟知的其他材料。药学上可接受的配制品的制备描述于例如Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学],第18版,A.Gennaro编辑,Mack Publishing Co.[麦克出版公司],伊斯顿,宾夕法尼亚州,1990。

[0091] 如本文所用,术语药学上可接受的盐是指保留上述鉴定的化合物的所希望的生物活性并且展现出最小或没有不希望的毒理学作用的盐。这样的盐的实例包括但不限于与无机酸(例如,盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、硝酸等)形成的酸加成盐,以及与有机酸(例如乙酸、草酸、酒石酸、琥珀酸、苹果酸、抗坏血酸、苯甲酸、鞣酸、扑酸、海藻酸、聚谷氨酸、萘磺酸、萘二磺酸、以及聚半乳糖醛酸)形成的盐。这些化合物也可以作为本领域技术人员已知的药学上可接受的季盐施用,其特别地包括式-NR+Z-的季铵盐,其中R是氢、烷基或苄基,并且Z是抗衡离子,包括氯化物、溴化物、碘化物、-O-烷基、甲苯磺酸盐、甲基磺酸盐、磺酸盐、磷酸盐或羧酸盐(如苯甲酸盐、琥珀酸盐、乙酸盐、乙醇酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、抗坏血酸盐、苯甲酸盐、肉桂酸盐、扁桃酸盐、苄基酸盐(benzyloate)和二苯基乙酸酯)。

[0092] 活性化合物以足以向患者递送治疗有效量而不在所治疗的患者体内引起严重毒性作用的量被包括在药学上可接受的载体或稀释剂中。在一个实施例中,对于所有上述病症的活性化合物剂量的范围为约0.01至300mg/kg,例如每天0.1至100mg/kg,并且作为另一个实例0.5至约25mg/千克接受者体重/天。在合适的载体中,典型的局部剂量范围为0.01%-3%wt/wt。药学上可接受的衍生物的有效剂量范围可以基于待递送的母体化合物的重量来计算。如果衍生物本身表现出活性,则有效剂量可以如上使用衍生物的重量或通过本领域技术人员已知的其他手段来估计。

[0093] 包含本发明的化合物的药物组合物可以用于本文所述的使用方法中。

使用方法

[0094] 在又另一个方面,本发明提供了抑制细胞中野生型KRas、KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、和/或KRas Q61H活性的方法,该方法包括使该细胞(其中抑制野生型KRas、KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、和/或KRas Q61H活性是希望的)与有效量的具有式(I)的化合物、其药学上可接受的盐或含有该化合物或其药学上可以接受的盐的药物组合物接触。在一个实施例中,接触在体外进行。在一个实施例中,接触在体内进行。

[0095] 如本文所用,术语"接触"是指使体外系统或体内系统中的指示部分在一起。例如,

使野生型KRas、KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H与本文提供的化合物“接触”包括向个体或患者(例如人类,具有野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H突变)施用本文提供的化合物,以及例如将本文提供的化合物引入含有细胞或纯化制剂的样品中,该细胞或纯化制剂含有野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D或KRas Q61H突变。

[0096] 在一个实施例中,使细胞(其中抑制野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H活性是希望的)与有效量的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐接触,以负调节野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和KRas Q61H中的一种或多种的活性。

[0097] 通过负调节野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和KRas Q61H中的一种或多种的活性,本文所述的方法被设计用于抑制由细胞内增强的野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H活性导致的不希望的细胞增殖。可以根据特定治疗方案以单一剂量或多剂量接触细胞,以影响野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H的希望的负调节。化合物结合野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和KRas Q61H中的一种或多种的能力可以使用熟知的方法在体外监测,包括在以下实例A和B中描述的那些。此外,示例性化合物在细胞中的抑制活性可以例如通过测量对一定量的磷酸化ERK中野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H活性中的一种或多种的抑制来监测,例如使用以下实例C中所描述的方法。

[0098] 在另一个方面,提供了治疗有需要的患者的癌症的方法,这些方法包括向所述患者施用治疗有效量的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,或包含该化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0099] 本文提供的组合物和方法可以用于在有需要的患者中治疗野生型KRas相关或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H相关癌症,该方法包括向所述患者施用治疗有效量的具有式(I)的化合物、其药学上可接受的盐,或包含该化合物或其药学上可以接受的盐的药物组合物。在一个实施例中,野生型KRas相关或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H相关癌症是肺癌。

[0100] 本文提供的组合物和方法可以用于治疗多种癌症,包括肿瘤,如肺癌、前列腺癌、乳腺癌、脑癌、皮肤癌、宫颈癌、睾丸癌等。更特别地,可以通过本发明的组合物和方法治疗的癌症包括但不限于肿瘤类型,如星形胶质细胞瘤、乳腺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、食管癌、胃癌、头颈癌、肝细胞癌、喉癌、肺癌、口腔癌、卵巢癌、前列腺癌和甲状腺癌和肉瘤。更特别地,这些化合物可以用于治疗:心脏:肉瘤(血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤)、黏液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂肪瘤和畸胎瘤;肺:支气管肺癌(鳞状细胞癌、未分化型小细胞癌、未分化型大细胞癌、腺癌)、肺泡(细支气管)癌、支气管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、软

骨错构瘤、间皮瘤;胃肠:食管(鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃(癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰(管腺癌、胰岛素瘤、高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌肿瘤、舒血管肠肽瘤)、小肠(腺癌、淋巴瘤、类癌肿瘤、卡波西肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤);泌尿生殖道:肾(腺癌、维尔姆斯瘤(Wilm's tumor)(肾母细胞瘤(nephroblastoma))、淋巴瘤、白血病)、膀胱和尿道(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤)、睾丸(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎癌、畸胎癌、绒毛膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样瘤、脂肪瘤);肝:肝癌(肝细胞癌)、胆管癌、肝母细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤、血管瘤;胆道:胆囊癌、壶腹癌、胆管癌;骨:骨原性肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因肉瘤、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨瘤(骨软骨外生骨疣)、良性软骨瘤、软骨母细胞瘤、软骨粘液样纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞瘤;神经系统:头骨(骨瘤、血管瘤、肉芽肿、黄色瘤、畸形性骨炎)、脑脊膜(脑膜瘤、脑膜肉瘤、神经胶质过多)、脑(星形细胞瘤、髓母细胞瘤、胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤(松果体瘤)、多形性胶质母细胞瘤、少突胶质瘤、神经鞘瘤、视网膜母细胞瘤、先天性肿瘤)、脊髓神经纤维瘤、脑膜瘤、胶质瘤、肉瘤);妇科学:子宫(子宫内膜癌)、宫颈(宫颈癌、前肿瘤子宫颈不典型增生)、卵巢(卵巢癌(浆液性囊腺癌、粘液性囊腺癌、未分类的癌症)、粒膜细胞肿瘤、塞-莱二氏细胞瘤(Sertoli-Leydig cell tumor)、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤)、女阴(鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑色素瘤)、阴道(透明细胞癌、鳞状细胞癌、葡萄状肉瘤(胚胎性横纹肌肉瘤)、输卵管(癌);血液学:血液(髓细胞性白血病(急性和慢性)、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、骨髓增生性疾病、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征)、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤(恶性淋巴瘤);皮肤:恶性黑色素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波西肉瘤、痣、发育不良痣、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤、瘢痕瘤、银屑病;和肾上腺:成神经细胞瘤。在某些实施例中,癌症是非小细胞肺癌、小细胞肺癌、结肠直肠癌、直肠癌或胰腺癌。在某些实施例中,癌症是非小细胞肺癌。

[0101] 施用至患者的浓度和途径将取决于待治疗的癌症而变化。化合物、其药学上可接受的盐以及包含这样的化合物和盐的药物组合物还可以与其他抗肿瘤化合物(例如化学疗法)共同施用,或与其他治疗(例如放射或手术干预)组合使用,两者中任一在手术前或手术后作为辅佐。

[0102] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物,用于在疗法中使用。

[0103] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物,用于在治疗癌症中使用。

[0104] 本文还提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物,用于在抑制野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H中使用。

[0105] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物,用于在治疗野生型KRas相关或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H相关疾病或障碍中使用。

[0106] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制造

用于治疗癌症的药物中的用途。

[0107] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于抑制野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H的活性的药物中的用途。

[0108] 本文还提供了如本文所定义的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗野生型KRas相关或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H相关疾病或障碍的药物中的用途。

[0109] 本文还提供了一种用于在有需要的患者中治疗癌症的方法,该方法包括(a)确定该癌症与野生型KRas或KRas G12A、KRas G12C、KRas G12D、KRas G12R、KRas G12S、KRas G12V、KRas G13D和/或KRas Q61H突变相关(例如,如使用监管机构批准的,例如FDA批准的测定或试剂盒确定的);以及(b)向该患者施用治疗有效量的具有式(I)的化合物,或其药学上可接受的盐,或其药物组合物。

[0110] 本领域技术人员将认识到,使用合适的、已知的和普遍接受的细胞和/或动物模型的体内和体外试验均预测了测试化合物治疗或预防给定障碍的能力。

[0111] 本领域技术人员将进一步认识到,在健康患者和/或患有给定障碍的患者中的人类临床试验(包括首次人体、剂量范围和疗效试验)可以根据临床和医学领域熟知的方法完成。

反应方案和实例

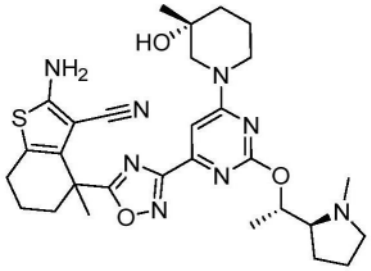
[0112] 本发明的化合物可以使用本文描述的合成方法和反应方案,或使用本领域技术人员熟知的其他试剂和常规方法从可商购的试剂制备。例如,本发明的化合物可以根据以下反应方案和实例概述来制备。

[0113] 本发明的化合物可以具有一个或多个手性中心并且可以合成为立体异构体混合物,这些异构体具有相同构成但原子在空间上的排列不同。这些化合物可以作为混合物使用,或者单独的组分/异构体可以根据制造商说明书,使用可商购的试剂和本领域技术人员熟知的用于分离立体异构体和对映异构体的常规方法分离,例如使用CHIRALPAK®(西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich))或CHIRALCEL®(迪塞尔公司(Diacel Corp))手性色谱HPLC柱。可替代地,本发明的化合物可以使用光学纯的手性试剂和中间体合成以制备单独的异构体或对映异构体。除非另外指明,否则所有手性(对映异构体和非对映异构体)和外消旋形式都在本发明的范围内。除非另外说明,否则每当说明书(包括权利要求书)涉及本发明的化合物时,术语“化合物”应理解为涵盖所有手性(对映异构体和非对映异构体)和外消旋形式。

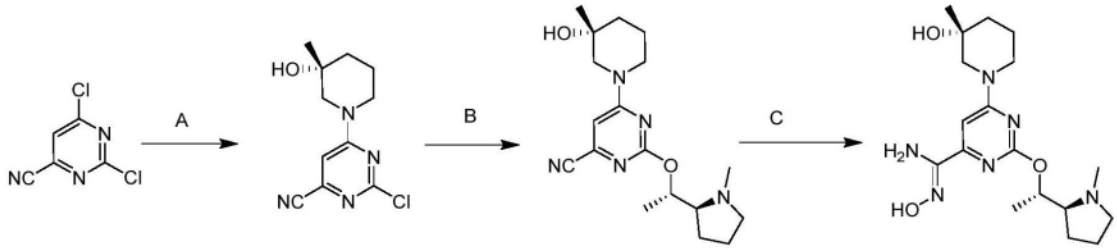
[0114] 本发明的化合物可以呈无水、溶剂化或水合形式,并且所有这样的形式都包括在本发明的范围内。

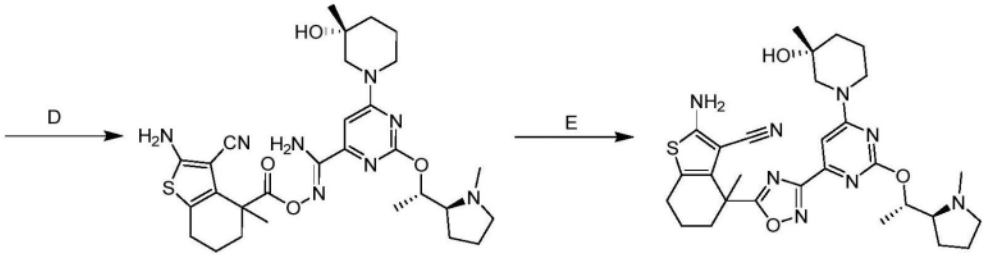
[0115] 以下中间体旨在进一步说明本发明的某些实施例并且不旨在限制本发明的范围。

实例1



2-氨基-4-(3-(6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈





[0116] 步骤A.(R)-2-氯-6-(3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)嘧啶-4-甲腈:在0℃下,向2,6-二氯嘧啶-4-甲腈(2.00g,11.5mmol,1.00当量)在DCM(20.0mL)中的溶液中滴加DIEA(2.97g,23.0mmol,4.00mL,2.00当量)。然后在0℃下,将(3R)-3-甲基哌啶-3-醇(1.74g,11.5mmol,1.00eq,HCl)添加至混合物中。将所得混合物在0℃下搅拌2小时。在0℃下,将反应混合物与$H_2O$(10.0mL)一起,并然后用DCM 15.0mL(10.0mL×3)萃取。将合并的有机层用盐水(20.0mL)洗涤,经$Na_2SO_4$干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到残余物。将残余物通过柱色谱法($SiO_2$,石油醚/乙酸乙酯20:1至1:1)纯化以得到呈黄色固体的标题化合物(1.70g,6.66mmol,57.9%产率,99.0%纯度)。$^1$HNMR:(400MHz,$CDCl_3$)δ6.83(s,1H),4.60-3.50(m,2H),3.20-3.12(m,2H),2.00-1.65(m,2H),1.64-1.51(m,2H),1.33(s,3H)。

[0117] 步骤B.6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲腈:向(R)-2-氯-6-(3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)嘧啶-4-甲腈(500mg,1.98mmol,1.00当量)在ACN(5.00mL)中的溶液中滴加DIPEA(767mg,5.94mmol,1.03mL,3.00当量)和(S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙-1-醇(383mg,2.97mmol,1.50eq)。将反应在80℃下搅拌14小时。将另一批(S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙-1-醇(256mg,1.98mmol,1.00当量)添加至反应中。将所得混合物在80℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(10.0mL)淬灭并用DCM(5.00mL×3)萃取。将合并的有机层用盐水(10.0mL)洗涤,经$Na_2SO_4$干燥,过滤并在减压下浓缩,以得到残余物。将残余物通过柱色谱法($SiO_2$,石油醚/乙酸乙酯=10:1至

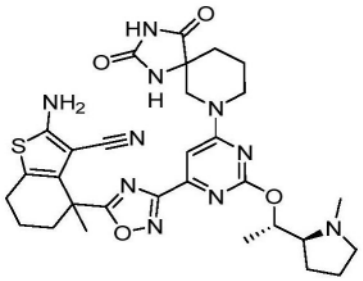
DCM/MeOH 50:1)纯化以得到呈黄色油状物的标题化合物(400mg,1.07mmol,53.8%产率,92.0%纯度)。$^1$H NMR:(400MHz,CDCl3)δ6.59(s,1H),5.30-5.19(m,1H),3.80-3.70(m,1H),3.50-3.30(m,1H),3.25-3.05(m,3H),2.74-2.60(m,1H),2.48(s,3H),2.30-2.25(m,1H),2.10-1.75(m,8H),1.60-1.50(m,3H),1.30-1.25(m,6H)。

[0118] 步骤C.(Z)-N'-羟基-6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲脒:向6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲腈(500mg,1.45mmol,1.00当量)在EtOH(5.00mL)中的溶液中添加$Na_2CO_3$(199mg,1.88mmol,1.30当量)和$NH_2OH \cdot HCl$(262mg,3.76mmol,2.60当量)。将所得溶液在80℃下搅拌1小时。将反应混合物过滤并且将滤液在减压下浓缩以给出呈黄色固体的标题化合物(540mg,粗品)。LCMS(ESI):m/z=379.3(M+1)$^+$;

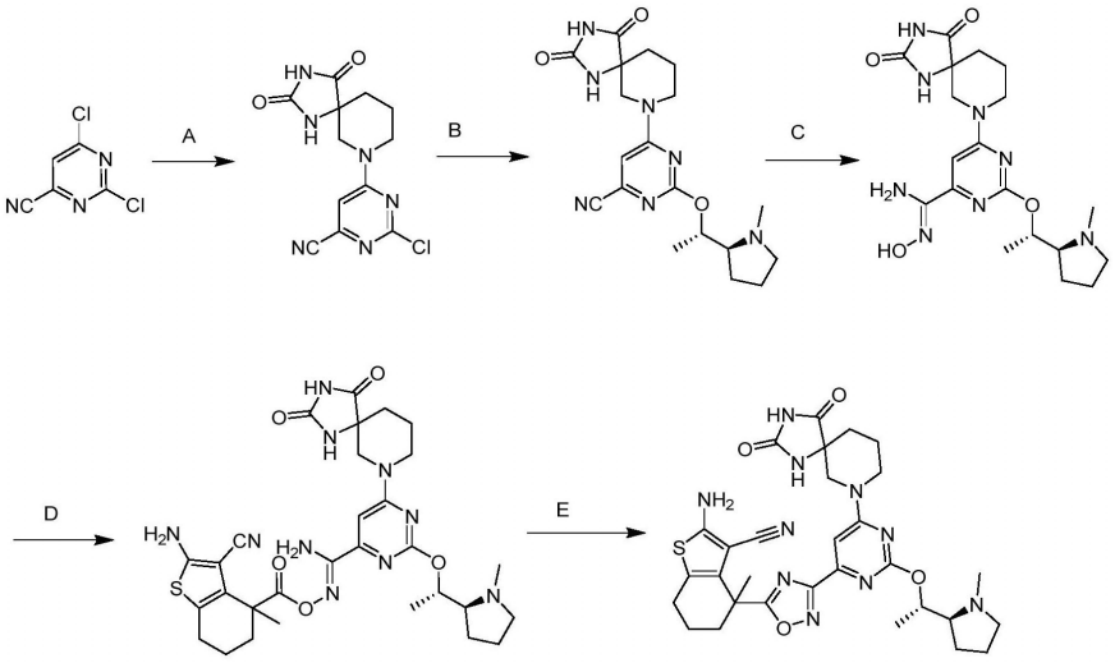
[0119] 步骤D.(Z)-N'-((2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-羰基)氧基)-6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲脒:在0℃下,向(Z)-N'-羟基-6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲脒(120mg,317μmol,1.00当量)和2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-甲酸(82.4mg,349μmol,1.10当量)在DMF(1.00mL)中的溶液中添加DIEA(123mg,951μmol,165.68μL,3.00当量)和PyBOP(248mg,476μmol,1.50当量)。将所得溶液在0℃下搅拌至rt持续1小时。将反应浓缩并通过制备型HPLC(柱:Waters Xbridge 150*25mm*5um;流动相:[水($NH_4HCO_3$)-ACN];B%:38%-68%,8min)纯化以得到呈黄色固体的标题化合物(100mg,153μmol,48.2%产率,91.2%纯度)。LCMS(ESI):m/z=597.3(M+1)$^+$。

[0120] 步骤E.2-氨基-4-(3-(6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈:在0℃下,向(Z)-N'-((2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-羰基)氧基)-6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲脒(100mg,153μmol,91.2%纯度,1.00当量)在THF(1.00mL)中的溶液中添加Triton B(56.2mg,134μmol,61.1μL,40.0%纯度,0.9当量)。将所得溶液在0℃下搅拌1小时。将反应在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC(柱:Waters Xbridge150*25mm*5um;流动相:[水($NH_4HCO_3$)-ACN];B%:45%-75%,8min)纯化并冻干以得到呈黄色固体的标题化合物(5.20mg,9.60μmol,6.28%产率,92.6%纯度)。LCMS(ESI):m/z=579.3(M+1)$^+$;$^1$H NMR(400MHz,MeOD)δ7.13(s,1H),5.27-5.10(m,1H),4.73-4.51(m,5H),3.91-3.68(m,1H),3.13(s,1H),2.90-2.72(m,1H),2.64-2.55(m,4H),2.50-2.45(m,1H),2.25-2.18(m,1H),2.10-2.00(m,2H),1.98-1.92(m,2H),1.90-1.68(m,9H),1.65-1.56(m,1H),1.38-1.32(m,3H),1.25(s,3H)。

实例2



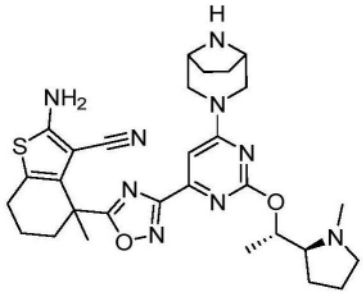
2-氨基-4-(3-(6-(2,4-二氧代-1,3,7-三氮杂螺[4.5]癸烷-7-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈



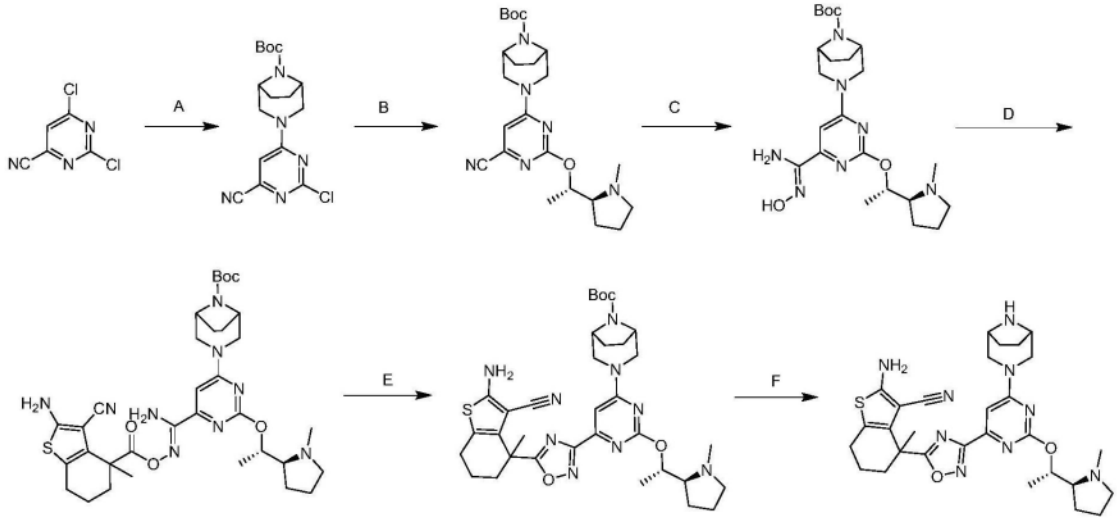
[0121] 步骤A至D如实例1步骤A至D进行。

[0122] 步骤E.2-氨基-4-(3-(6-(2,4-二氧代-1,3,7-三氮杂螺[4.5]癸烷-7-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈:向(Z)-N'-((2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-羰基)氧基)-6-(2,4-二氧代-1,3,7-三氮杂螺[4.5]癸烷-7-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲脒(110mg,149μmol,88.0%纯度,1.00当量)在DMF(1.00mL)中的溶液中添加$K_2CO_3$(41.12mg,297.50μmol,2.00当量)。将混合物在60℃至100℃下搅拌12小时。将反应混合物过滤,并且然后将有机层在减压下浓缩以得到残余物。将粗产物通过反相HPLC(柱:Waters Xbridge 150*25mm*5um;流动相:[水($NH_4HCO_3$)-ACN];B%:29%-59%,8min)纯化以得到呈黄色固体的标题化合物(15.0mg,22.2μmol,14.9%产率,93.5%纯度)。LCMS(ESI):m/z=633.3$(M+1)^+$;$^1H$ NMR(400MHz,MeOD)δ7.17(s,1H),3.18-3.15(m,8H),3.14(s,1H),2.60(s,1H),2.61(m,1H),2.52(m,2H),2.39-2.35(m,1H),2.24-2.12(m,2H),1.98-1.93(m,3H),1.88-1.69(m,14H),1.32(d,J=6Hz,3H)。

实例3



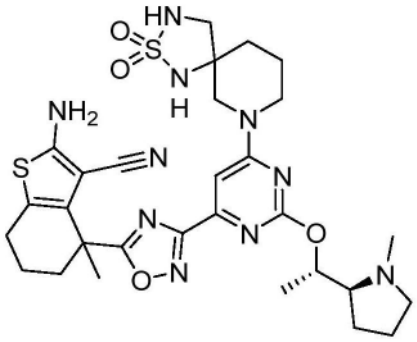
4-(3-(6-((1R,5S)-3,8-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-2-氨基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈



[0123] 步骤A至E如实例1步骤A至E进行。

[0124] 步骤F.4-(3-(6-((1R,5S)-3,8-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-2-氨基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈:向(1R,5S)-3-(6-(5-(2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-3,8-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯(20.0mg,28.7μmol,97.0%纯度,1.00当量)在二噁烷(1.00mL)中的溶液中添加HCl/二噁烷(4.0M,0.50mL,92.9当量)。将混合物在25℃下搅拌4小时。将反应混合物在减压下浓缩。将残余物用水(4.00mL)稀释并用DCM(4.00mL×3)萃取。将水相的pH用固体$NaHCO_3$调节至8并用DCM(4.00mL×4)萃取。将合并的有机层用盐水(4.00mL×2)洗涤、经$Na_2SO_4$干燥、过滤、并浓缩,以得到残余物。添加ACN/H2O(1/5,20V)并在25℃下研磨1小时,然后冷冻干燥以得到呈黄色固体的标题化合物(10.0mg,15.8μmol,54.9%产率)。LCMS(ESI):m/z=576.3(M+1)$^+$;$^1$H NMR(400MHz,MeOD)δ 7.08(s,1H),5.27-5.21(m,1H),3.68-3.66(m,2H),3.31-3.30(m,1H),3.29-3.28(m,1H),3.06(m,1H)。2.69-2.62(m,3H),2.61(m,2H),2.22-2.19(m,2H),2.00-1.79(m,11H),1.76(m,2H),1.40-1.37(m,3H),1.33-1.29(m,4H)。

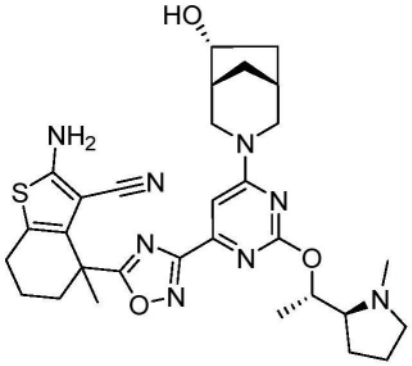
实例4



2-氨基-4-(3-(6-(2,2-二氧化-2-硫杂-1,3,7-三氮杂螺[4.5]癸烷-7-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈

[0125] 根据实例2合成。获得呈黄色固体的标题化合物。LCMS:M/Z＝655.4[M+1]$^{+}$。$^{1}$H NMR:400MHz MeOD-d$^{4}$,δ8.52(s,1H),7.28-7.26(m,1H),5.34-5.33(m,1H),4.05-3.99(m,1H),3.71-3.59(m,3H),3.50-3.34(m,3H),3.21-3.13(m,2H),3.03-2.99(m,3H),2.63(t,J＝6.00Hz 2H),2.37-2.34(m,1H),2.26-2.09(m,3H),2.04-1.92(m,6H),1.90(s,3H),1.84-1.78(m,2H),1.48-1.47(d,J＝6.00Hz 3H)。

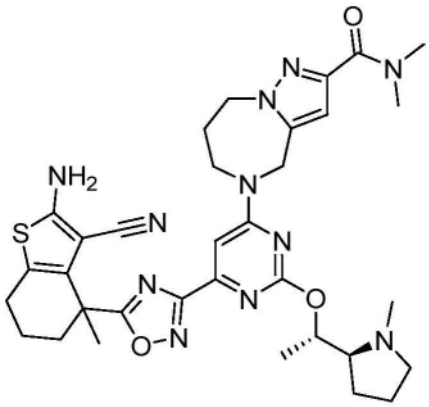
实例5



2-氨基-4-(3-(6-((1R,5R,6R)-6-羟基-3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈

[0126] 根据实例2合成。获得呈黄色固体的标题化合物(500mg,0.804mmol,30.5%产率,94.3%纯度,甲酸盐)。LCMS(ESI):m/z＝591.3[M+1]$^{+}$。$^{1}$H NMR(400MHz MeOD-d$^{4}$)δ8.53(s,1H),7.17-7.15(m,1H),5.27(s,1H),4.76-4.47(m,2H),4.33-4.30(m,1H),4.20-4.18(m,1H),3.69-3.60(m,2H),3.16-3.08(m,3H),3.07-3.05(m,3H),2.81-2.61(m,2H),2.27-2.22(m,2H),2.19-2.08(m,4H),2.06-1.98(m,5H),1.90(s,2H),1.85-1.75(m,2H),1.49-1.44(m,3H),1.24-1.21(m,1H)。

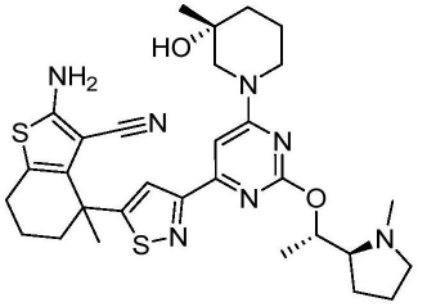
实例6



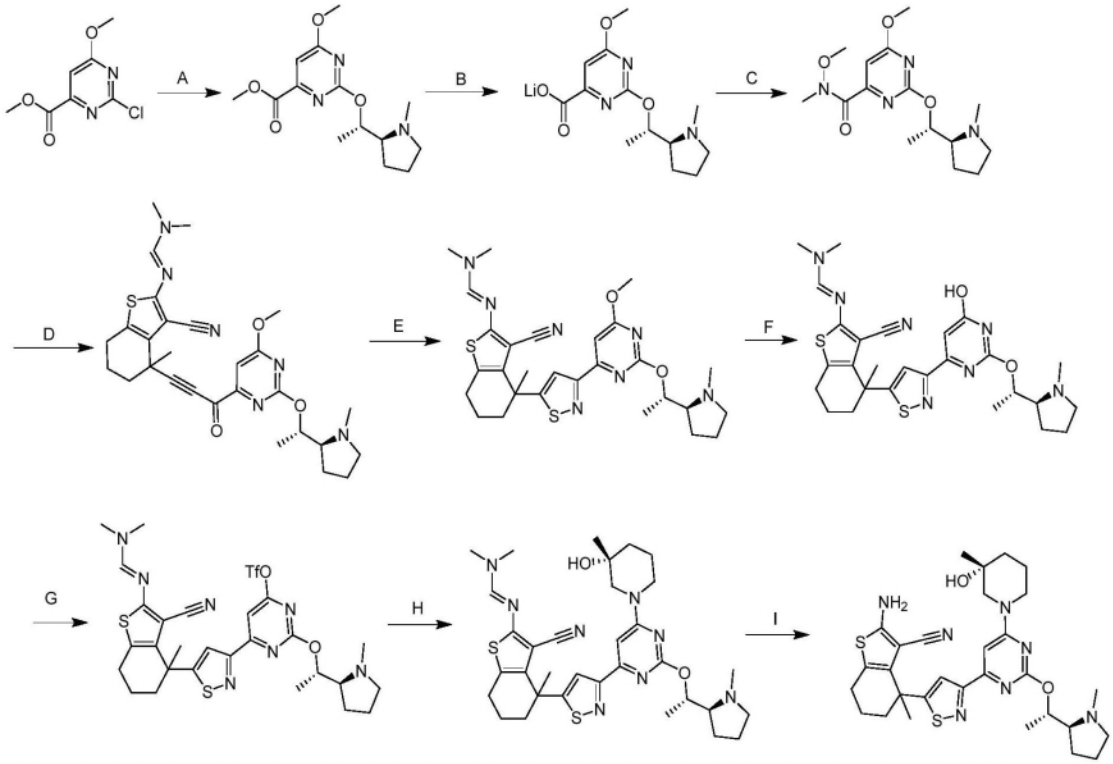
5-(6-(5-(2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-N,N-二甲基-5,6,7,8-四氢-4H-吡唑并[1,5-a][1,4]二氮杂䓬-2-甲酰胺

[0127] 根据实例2合成。获得呈白色固体的标题化合物(15.4mg,21.6μmol,14.9%产率,94.5%纯度,甲酸盐)。LCMS(ESI):m/z=672.3[M+1]+。$^1$H NMR(400MHz MeOD-d$^4$)δ8.53(s,1H),7.23(s,1H),6.68(s,1H),5.24(s,1H),4.78(m,8H),4.10(m,1H),3.31-3.30(m,2H),3.05(s,3H),2.85(m,4H),2.61(t,J=4.00Hz,2H),2.23(m,2H),2.09-1.85(m,11H),1.44(s,3H)。

实例7



2-氨基-4-(3-(6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈



[0128] 步骤A:6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲酸甲酯.在$N_2$下,在20℃下,向2-氯-6-甲氧基嘧啶-4-甲酸甲酯(20.0g,98.7mmol)和(S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙-1-醇(15.3g,118mmol)在ACN(200mL)中的混合物中一次性添加DIPEA(25.5g,197mmol,34.3mL)。将反应加热至80℃并搅拌40小时。将残余物倒入水(200mL)中。将水性混合物用二氯甲烷(100mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(100mL)洗涤、用无水$Na_2SO_4$干燥、过滤、浓缩并通过柱色谱法($SiO_2$,石油醚:乙酸乙酯=10:1-1:0)纯化以得到呈黄色固体的标题化合物(18.0g,48.7mmol,49.4%产率,80.0%纯度)。LCMS:m/z=296.2$(M+1)^+$。

[0129] 步骤B:6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲酸锂.向6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲酸甲酯(18.0g,48.7mmol)在MeOH(180mL)和$H_2O$(90.0mL)中的溶液中添加$LiOH.H_2O$(2.92g,121mmol)。将反应在20℃下搅拌2小时。将混合物用水(200mL)稀释并用MTBE(300mL x 2)洗涤。将水性混合物冻干以得到呈黄色固体的标题化合物(14.0g,41.3mmol,84.9%产率,83.1%纯度)。

[0130] 步骤C:N,6-二甲氧基-N-甲基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲酰胺.向6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲酸锂(14.0g,49.7mmol)和N,O-二甲基羟胺盐酸盐(9.71g,99.5mmol)在DMF(100mL)中的溶液中添加DIEA(32.1g,248mmol)和HATU(22.7g,59.7mmol)。将反应在25℃下搅拌1小时。将混合物用水(500mL)稀释并用二氯甲烷(100mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(500mL)洗涤,用无水$Na_2SO_4$干燥,过滤,浓缩,并用反相HPLC(0.1%FA条件)纯化以得到呈黄色油状物的标题化合物(8.70g,26.8mmol,53.9%产率)。

[0131] 步骤D:(E)-N'-(3-氰基-4-(3-(6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-3-氧代丙-1-炔-1-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-基)-N,N-二甲基甲脒.在-78℃下,向(E)-N'-(3-氰基-4-乙炔基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻

吩-2-基)-N,N-二甲基甲脒(8.01g,29.50mmol)在THF(50.0mL)中的溶液中滴加LiHMDS(1M,67.0mL)。将混合物在-78℃搅拌0.5小时。在-78℃下,添加N,6-二甲氧基-N-甲基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲酰胺(8.70g,26.8mmol)在THF(50.0mL)中的溶液。将反应在-78℃下搅拌2小时。将残余物倒入$NH_4Cl$(水溶液)(50.0mL)中并搅拌,并将混合物用乙酸乙酯(50.0mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(50.0mL)洗涤、用无水$Na_2SO_4$干燥、过滤、并用柱色谱法($SiO_2$,石油醚/乙酸乙酯:10:1-0:1)纯化以得到呈黄色固体的标题化合物(11.0g,18.1mmol,67.5%产率,84.2%纯度)。LCMS:m/z=535.3(M+1)$^+$。

[0132] 步骤E:(E)-N'-(3-氰基-4-(3-(6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-基)-N,N-二甲基甲脒.向(E)-N'-(3-氰基-4-(3-(6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-3-氧代丙-1-炔-1-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-基)-N,N-二甲基甲脒(1.00g,1.87mmol)在MeOH(10.0mL)中的溶液中分批添加$NH_2OSO_3H$(232mg,2.06mmol)。将反应在25℃下搅拌4小时。向反应混合物中添加NaHS(262mg,4.68mmol)和$NaHCO_3$(172mg,2.06mmol)。将反应在50℃下搅拌1小时。将残余物用水(20.0mL)稀释并用二氯甲烷(20.0mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(20.0mL)洗涤、用无水$Na_2SO_4$干燥、过滤、浓缩并通过反相HPLC(柱:Phenomenex Luna C18 150*25mm*10um;流动相:[水(FA)-ACN];B%:23%-53%,10min)纯化以得到呈黄色固体的标题化合物(200mg,0.33mmol,17.8%产率,85.0%纯度)。$^1H$ NMR:(400MHz MeOD-$d^4$)δ7.90(s,1H),7.75(d,J=10.8Hz 1H),7.17(d,J=2.00Hz 1H),5.35-5.31(m,1H),4.02(s,3H),3.14(s,3H),3.07(s,3H),2.78-2.70(m,3H),2.58-2.53(m,3H),2.39-2.38(m,1H),2.09-2.03(m,2H),2.02-2.00(m,1H),1.95(s,3H),1.92-1.86(m,2H),1.83-1.77(m,4H),1.39-1.37(m,3H)

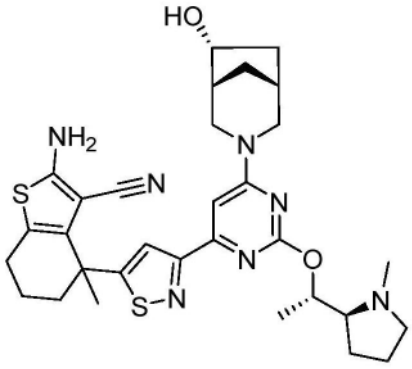
[0133] 步骤F:(E)-N'-(3-氰基-4-(3-(6-羟基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-基)-N,N-二甲基甲脒.在$N_2$下,在20℃下,向(E)-N'-(3-氰基-4-(3-(6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-基)-N,N-二甲基甲脒(2.00g,3.54mmol)和ACN(4.00mL)的混合物中一次性添加TMSCl(1.92g,17.68mmol,2.24mL)和NaI(2.65g,17.6mmol)。将反应在60℃下加热2小时。将反应倒入冰水(20.0mL)并将混合物用二氯甲烷(10.0mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(10.0mL)洗涤,用无水$Na_2SO_4$干燥,过滤,并浓缩,并通过柱色谱法纯化以得到呈黄色固体的标题化合物(600mg,1.02mmol,28.9%产率,94.7%纯度)。LCMS:m/z=552.2(M+1)$^+$。

[0134] 步骤G:三氟甲磺酸6-(5-(3-氰基-2-(((E)-(二甲基氨基)亚甲基)氨基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-基)异噻唑-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基酯.在$N_2$下,在20℃下,向(E)-N'-(3-氰基-4-(3-(6-羟基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-基)-N,N-二甲基甲脒(400mg,725μmol)和DCM(4.00mL)的混合物中一次性添加DIEA(18.7mg,145μmol)和$Tf_2O$(40.9mg,145μmol,23.92uL)。将反应搅拌4小时。将混合物倒入冰水(10.0mL)中并将水性混合物用二氯甲烷(10.0mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(10.0mL)洗涤,用无水$Na_2SO_4$干燥,过滤,并浓缩以得到呈黄色固体的标题化合物(400mg,584μmol,80.6%产率)。

[0135] 步骤H.(E)-N'-(3-氰基-4-(3-(6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-基)-N,N-二甲基甲脒.在$N_2$下,在25℃下,向化合物(R)-3-甲基哌啶-3-醇(25.9mg,171μmol,HCl)和三氟甲磺酸6-(5-(3-氰基-2-(((E)-(二甲基氨基)亚甲基)氨基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-基)异噻唑-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基酯(65.0mg,95.0μmol)在THF(2.00mL)中的混合物中一次性添加DIEA(36.8mg,285μmol,49.6uL)。将反应在25℃下搅拌2小时并且倒入水(2.00mL)中。将水性混合物用乙酸乙酯(2.00mL x 3)萃取。将合并的有机相用盐水(2.00mL)洗涤,用无水$Na_2SO_4$干燥,过滤,并浓缩以得到呈黄色固体的标题化合物。LCMS:m/z=649.4(M+1)$^+$

[0136] 步骤I:2-氨基-4-(3-(6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈.在$N_2$下,在20℃下,向(E)-N'-(3-氰基-4-(3-(6-((R)-3-羟基-3-甲基哌啶-1-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-2-基)-N,N-二甲基甲脒(50.0mg,粗品)在MeOH(2.00mL)中的溶液中一次性添加HCl(12M,1.00mL)。将反应在100℃下搅拌2小时。将混合物浓缩并用反相HPLC(柱:Phenomenex Luna C18 150*25mm*10um;流动相:[水(FA)-ACN];B%:15%-45%,9min)纯化以得到呈灰白色固体的标题化合物(12.0mg,16.5μmol,17.3%产率,98.8%纯度,FA盐)。LCMS:m/z=594.3(M+1)$^+$.$^1$H NMR:400MHz MeOD-$d^4$:δ7.73(d,J=6.40Hz,1H),7.17(s,1H),5.30-5.27(m,1H),3.83(d,J=13.2Hz,1H),3.47-3.41(m,2H),3.25(s,1H),3.02(s,1H),2.69(s,3H),2.62-2.59(m,3H),2.05-2.02(m,4H),1.91(s,3H),1.88-1.75(m,7H),1.65-1.62(m,2H),1.40(d,J=2.00Hz,1H),1.26(s,3H)。

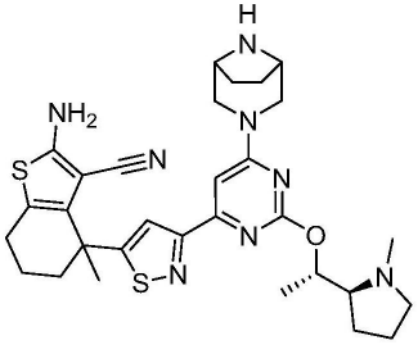
实例8




2-氨基-4-(3-(6-((1R,5R,6R)-6-羟基-3-氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈

[0137] 根据实例7合成。获得呈灰白色固体的标题化合物(甲酸盐)。$^1$H NMR:400MHz MeOD-$d^4$:δ7.73(d,J=6.40Hz,1H),7.12(s,1H),5.32-5.28(m,1H),4.32-4.29(s,1H),3.48-3.36(m,2H),3.17-3.08(m,3H),2.77(s,3H),2.74-2.62(m,1H),2.61-2.58(m,2H),2.36(s,1H),2.28-2.19(m,3H),2.05-2.03(m,2H),1.99-1.95(m,2H),1.90(s,3H),1.87-1.76(m,5H),1.42(d,J=6.00Hz,3H),1.28-1.24(m,2H)。LCMS:m/z=606.3(M+1)$^+$。

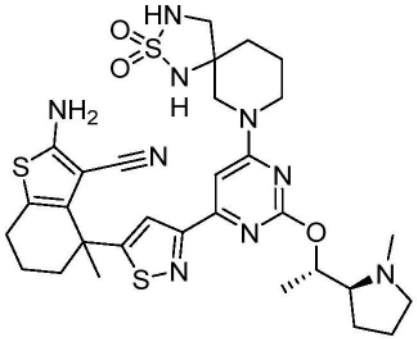
实例9



4-(3-(6-((1R,5S)-3,8-二氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-2-氨基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈

[0138] 根据实例7合成。获得呈灰白色固体的标题化合物(甲酸盐)。$^{1}$H NMR:400MHz MeOD-$d^{4}$:δ8.55(s,1H),7.75(d,J=7.20Hz,1H),7.15(s,1H),5.30-5.27(m,1H),3.79(s,2H),3.41-3.39(m,3H),3.25-3.24(m,2H),2.85(s,4H),2.61(t,J=6.40Hz 2H),2.26(s,1H),2.06-2.04(m,3H),1.98-1.93(m,3H),1.91-1.88(m,5H),1.82-1.80(m,4H),1.44(d,J=6.00Hz,3H)。LCMS:m/z=591.3(M+1)$^{+}$。

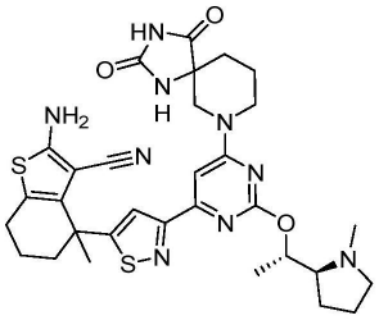
实例10



2-氨基-4-(3-(6-(2,2-二氧化-2-硫杂-1,3,7-三氮杂螺[4.5]癸烷-7-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈

[0139] 根据实例7合成。获得呈灰白色固体的标题化合物(甲酸盐)。1H NMR:400MHz MeOD-$d^{4}$:δ7.76-7.74(m,1H),7.23-7.22(m,1H),5.37-5.34(m,1H),3.72(s,1H),3.39-3.35(m,4H),3.19-3.16(m,2H),2.74-2.61(m,4H),2.61(s,2H),2.31-2.15(m,1H),2.03-1.96(m,6H),1.91(s,3H),1.86-1.81(m,6H),1.44-1.39(m,3H)。LCMS:m/z=670.2(M+1)$^{+}$。

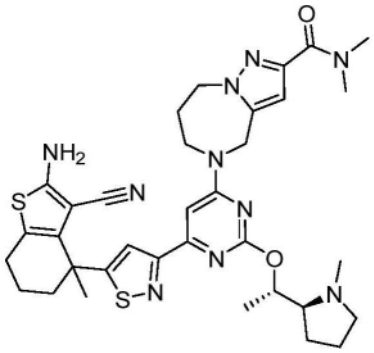
实例11



2-氨基-4-(3-(6-(2,4-二氧代-1,3,7-三氮杂螺[4.5]癸烷-7-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)异噻唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈

[0140] 根据实例7合成。获得呈灰白色固体的标题化合物(甲酸盐)。1H NMR:400MHz MeOD-$d^4$:δ7.76-7.74(m,1H),7.24(s,1H),5.25-5.22(m,1H),3.55-3.46(m,2H),2.92-2.88(m,1H),2.82(s,3H),2.63-2.59(m,3H),2.23-2.17(m,3H),2.05-1.98(m,6H),1.91(s,3H),1.87-1.80(m,4H),1.42(d,J=6.00Hz,3H),1.35-1.30(m,2H)。LCMS:m/z=648.3(M+1)$^+$。

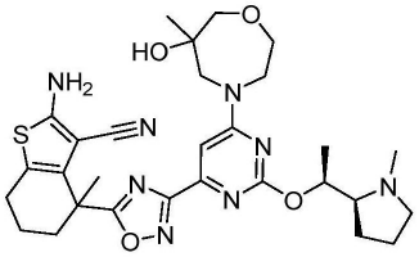
实例12



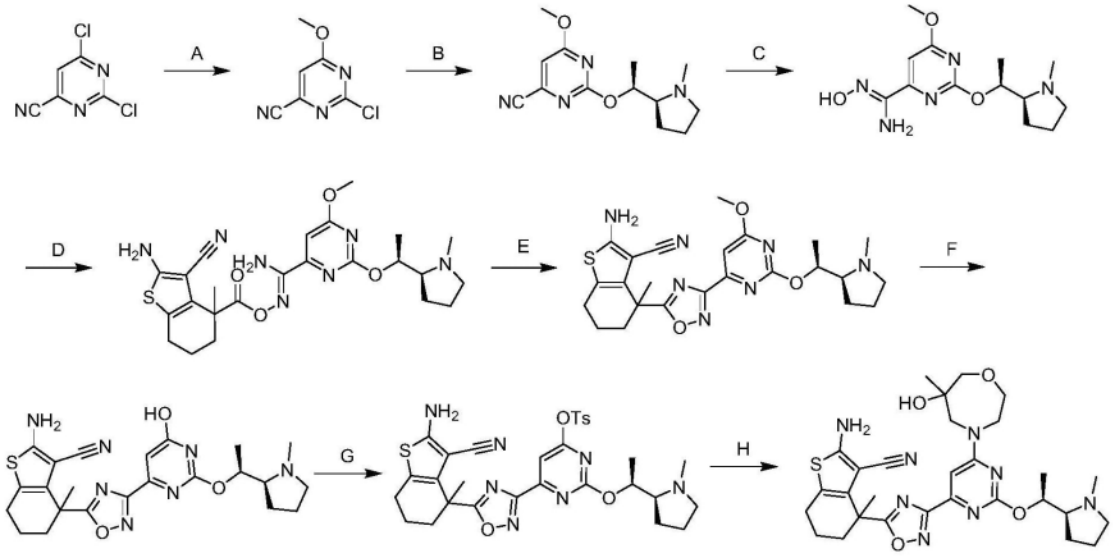
5-(6-(5-(2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-基)异噻唑-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-N,N-二甲基-5,6,7,8-四氢-4H-吡唑并[1,5-a][1,4]二氮杂䓬-2-甲酰胺

[0141] 根据实例7合成。获得呈灰白色固体的标题化合物(甲酸盐)。1H NMR:400MHz MeOD-$d^4$:δ7.62(d,J=6.40Hz,1H),7.13(s,1H),6.61(s,1H),5.18(s,1H),4.05(s,2H),3.34-3.22(m,2H),3.17(s,3H),2.95(s,3H),2.74(s,4H),2.50-2.41(m,3H),2.05-2.02(m,2H),1.94-1.90(m,7H),1.78(s,3H),1.71-1.66(m,2H),1.34-1.33(m,3H),1.31-1.19(m,2H)。LCMS:m/z=687.3(M+1)$^-$。

实例13



2-氨基-4-(3-(6-(6-羟基-6-甲基-1,4-氧杂氮杂环庚烷-4-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈



[0142] 步骤A.2-氯-6-甲氧基嘧啶-4-甲腈:向2,6-二氯嘧啶-4-甲腈(18.6g,1.0当量)在MeOH(200mL)中的溶液中添加$CH_3ONa$(19.3g,30%纯度,1.0当量)。将反应在-40℃下搅拌2小时。将混合物用水(500mL)稀释并用乙酸乙酯(2×500mL)萃取。将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,浓缩并用柱色谱法[$SiO_2$,石油醚/乙酸乙酯=20/1至5/1]纯化,以得到呈黄色固体的标题化合物(15.8g,87%产率);$^1H$ NMR(400MHz,氯仿-d)δ=7.04(s,1H),4.10(s,3H)。

[0143] 步骤B.6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲腈:向2-氯-6-甲氧基嘧啶-4-甲腈(15.8g,1.0当量)和(1S)-1-[(2S)-1-甲基吡咯烷-2-基]乙醇(12.0g,1.0当量)在乙腈(200mL)中的溶液中添加DIEA(36.1g,3.0当量)。将反应在70℃下搅拌12小时。将混合物用水(500mL)稀释并用乙酸乙酯(2×500mL)萃取。将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,浓缩并用柱色谱法[$SiO_2$,石油醚/乙酸乙酯=20/1至0/1]纯化,以得到呈黄色油状物的标题化合物(17.8g,73%产率);LCMS(ESI,M+1):m/z=263.3。

[0144] 步骤C.(Z)-N'-羟基-6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲脒:在0℃下,向6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲腈(12.5g,1.0当量)在乙醇(300mL)中的溶液中添加$NH_2OH \cdot HCl$(4.30g,1.3当量)和$Na_2CO_3$(13.1g,2.6当量)。将反应在25℃下搅拌3小时。将混合物浓缩,用水(50mL)稀释并用乙酸乙酯(2×50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并浓缩,以得到呈黄色固体的标题化合物(13.8g,粗品);LCMS(ESI,M+1):m/z=296.2。

[0145] 步骤D.(Z)-N'-((2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-羰基)氧基)-6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲脒:向2-氨基-3-氰基-4-甲基-6,7-二氢-5H-苯并噻吩-4-甲酸(9.94g,0.9当量)在DMF(150mL)中的溶液中添加TEA(14.2g,3.0当量)、HOBt(9.47g,1.5当量)和EDCI(11.2g,1.3当量)。将反应在25℃下搅拌0.5小时。然后将(Z)-N'-羟基-6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲脒(13.8g,1.0当量)在DMF(150mL)中的溶液添加至混合物中。将反应在45℃下搅拌12小时。将混合物用水(1L)稀释并用乙酸乙酯(2×1L)萃取。将合并的有机层用盐水(1L)洗涤,经无水硫酸钠干燥,浓缩并用柱色谱法[$SiO_2$,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1]纯

化,以得到呈黄色固体的标题化合物(20.0g,71%产率);LCMS(ESI,M+1):m/z=514.2。

[0146] 步骤E.2-氨基-4-(3-(6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈:向(Z)-N'-((2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-羰基)氧基)-6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-甲脒(20.0g,1.0当量)在THF(200mL)中的溶液中添加$Cs_2CO_3$(21.6g,2.0当量)。将反应在70℃下搅拌1小时。将混合物用水(200mL)稀释并用乙酸乙酯(2×200mL)萃取。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,浓缩并用柱色谱法[$SiO_2$,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1]纯化,以得到呈黄色固体的标题化合物(15.0g,74%产率);LCMS(ESI,M+1):m/z=496.4。

[0147] 步骤F.2-氨基-4-(3-(6-羟基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈:向2-氨基-4-(3-(6-甲氧基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈(8.00g,1.0当量)在DMAc(80mL)中的溶液中添加NaSEt(5.47g,5.0当量)。将反应在60℃下搅拌1小时。将混合物用水(250mL)稀释并用乙酸乙酯(2×250mL)洗涤。将水相浓缩并用制备型HPLC[柱:Phenomenex luna C18(250×70mm,10μm);流动相:水(FA)-ACN;B%:7%-37%,20min]纯化,以得到呈黄色固体的标题化合物(3.80g,61%产率);LCMS(ESI,M+1):m/z=482.3。

[0148] 步骤G.4-甲基苯磺酸6-(5-(2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基酯:在0℃下,向2-氨基-4-(3-(6-羟基-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈(3.80g,1.0当量)和TEA(2.40g,3.0当量)在DCM(40mL)中的溶液中滴加4-甲基苯磺酰氯(2.26g,1.5当量)。将反应在20℃下搅拌1小时。将混合物用水(200mL)稀释并用DCM(2x 200mL)萃取。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥,浓缩并用柱色谱法[$Al_2O_3$,乙酸乙酯]纯化,以得到呈黄色固体的标题化合物(4.00g,80%产率);LCMS(ESI,M+1):m/z=636.2。

[0149] 步骤H.2-氨基-4-(3-(6-(6-羟基-6-甲基-1,4-氧杂氮杂环庚烷-4-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基)-1,2,4-噁二唑-5-基)-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-3-甲腈:向4-甲基苯磺酸6-(5-(2-氨基-3-氰基-4-甲基-4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩-4-基)-1,2,4-噁二唑-3-基)-2-((S)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)乙氧基)嘧啶-4-基酯(100mg,1.0当量)和4Å分子筛(100mg)在DMF(1mL)中的溶液中添加6-甲基-1,4-氧杂氮杂环庚烷-6-醇(39.5,1.5当量,HCl)和DIEA(102mg,5.0当量)。将反应在80℃下搅拌1小时。将混合物进行过滤。将滤液用水(5mL)稀释并用乙酸乙酯(3×8mL)萃取。将合并的有机层用盐水(10mL)洗涤、经无水硫酸钠干燥、浓缩并用制备型HPLC[柱:Waters Xbridge 150×25mm×5um;流动相:水($NH_4HCO_3$)-ACN;梯度:经9min,30%-60% B]纯化,以得到呈灰白色固体的标题化合物(5.50mg,5.8%产率);$^1H$ NMR(400MHz,甲醇-$d_4$)δ=7.36-7.04(m,1H),5.29-5.19(m,1H),4.05-3.82(m,4H),3.75-3.50(m,4H),3.10-3.05(m,1H),2.75-2.67(m,1H),2.63(br t,J=6.0Hz,2H),2.54(s,3H),2.37(q,J=8.4Hz,1H),2.28-2.20(m,1H),2.05-1.95(m,4H),1.90(s,3H),1.83-1.74(m,3H),1.37-1.33(m,3H),1.26(s,3H);LCMS(ESI,M+1):m/z=595.4。

实例A

KRas结合测定

[0150] 此实例说明了本发明的示例性化合物结合至KRas并且能够置换占据KRas结合位点的标记的示踪配体。在测定中使用$KRas^{WT}$、$KRas^{G12A}$、$KRas^{G12C}$、$KRas^{G12D}$、$KRas^{G12R}$、$KRas^{G12S}$、$KRas^{G12V}$、$KRas^{G13D}$或$KRas^{Q61H}$。

[0151] 使用TR-FRET置换测定测量化合物结合至KRas的能力。将生物素化的KRas(对应于氨基酸1-169,由Accelegan公司生产)与定制的Cy5标记的示踪剂、铽链亲和素(Cisbio公司)和化合物(1% DMSO终浓度)在缓冲液(50mM HEPES,pH 7.5,5mM $MgCl_2$,0.005% Tween-20和1mM DTT)中孵育。在室温下孵育60分钟后,使用BMG LABTECH CLARIO star Plus通过TR-FRET测量反应。通过使用DMSO对照来确定100%的对照(POC),使用完全抑制示踪剂与KRas结合的对照化合物浓度来确定0POC。将POC值拟合为4参数$IC_{50}$方程,并报告$IC_{50}$值。

表1

示例性具有式(I)的化合物与KRas的结合($IC_{50}$nM)

| 实例编号 | G12D | G12V | G12R | WT | G13D | Q61H | G12A | G12C | G12S |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 42 | 43 | 28 | 22 | 74 | 117 | 82 | 106 | 90 |
| 2 | 18 | 6 | 4 | 14 | 37 | 36 | 49 | 54 | 41 |
| 3 | 18 | 767 | 728 | 195 | 315 | 656 | 879 | 1057 | 912 |
| 4 | 6 | 5 | 4 | 10 | 24 | 26 | 29 | 26 | 23 |
| 5 | 413 | 62 | 38 | 69 | 269 | 233 | 250 | 313 | 265 |
| 6 | 1835 | 746 | 669 | 474 | 1078 | 1110 | 1587 | 1107 | 1516 |
| 7 | 127 | 46 | 23 | 129 | 128 | 170 | 132 | 174 | 158 |
| 8 | 505 | 96 | 59 | 160 | 167 | 224 | 204 | 275 | 296 |
| 9 | 36 | 1042 | 1340 | 566 | 1322 | 2285 | 3076 | 3493 | 3423 |
| 10 | 3 | 4 | <2 | 31 | 24 | 9 | 35 | 15 | 25 |
| 11 | 93 | 76 | 34 | 326 | 190 | 263 | 240 | 262 | 188 |
| 12 | 623 | 163 | 156 | 417 | 584 | 533 | 551 | 457 | 596 |
| 13 | 11 | 6 | 4 | | | | | | |

实例B

具有式(I)的示例性化合物对ERK(HTRF)KRas磷酸化的抑制作用Cisbio HTRF高级pERK测定目录号64AERPEH

➢细胞:MKN1,PSN1

程序:

• 第1天:在384孔白色固体底板中接种6,000个细胞/孔-25µl/孔;RPM1_10%

FBS。在37℃/5% CO2下孵育过夜。

• 第2天:回声转移25nl的10mM化合物,10点稀释,1:3(Cf＝10uM),并在37℃/5% CO2下孵育3小时。

• 添加8.5μl/孔的4X裂解缓冲液/25X阻断剂(不要倾倒培养基),并在室温下在摇床上孵育30min。

• 添加4.25ul/孔的1X-pERK-D2和1X-pERK-K的共轭混合物,在检测缓冲液中稀释至总共8.5μl/孔。

• 在室温下覆盖孵育4小时。

• 使用ClarioStar读取HTRF

➢细胞:ASPC1、H727、A549、H460、HCT116、H358培养/测定培养基:RPMI-1640+10% FBS

程序:

细胞接种

1.使用0.05%胰蛋白酶/EDTA溶液从烧瓶中收获细胞。添加10mL培养基以停止胰蛋白酶消化。将细胞移液到圆锥形底部50mL离心管中,离心5min x 1000rpm。

2.将细胞沉淀重悬于培养基中,进行细胞计数,并且然后使用新鲜培养基调节细胞密度。

3.将6,000个细胞接种到含有50μL培养基的细胞培养板中。

4.将细胞板在37℃、5% CO2培养箱中孵育过夜。

化合物滴定

1.使用Tecan完成化合物添加。化合物从10uM顶部开始,稀释3倍,10剂。最终DMSO浓度是0.8%。分配0.2uM曲美替尼作为最小对照。

2.将细胞板在培养箱中孵育3小时。

用cisbio pERK HTRF试剂盒检测

1.用3体积的去离子水稀释1体积的4x裂解缓冲液。然后,添加100X封闭剂。将裂解缓冲液保存在冰上。

2.在化合物处理结束时,弹掉培养基。

3.使用Multidrop Combi,每孔添加35μL的裂解缓冲液。然后置于板式搅拌器上,在4℃下以300rpm振荡40min。

4.配制HTRF抗体缓冲液。对于每个测定板,将50μL的d2偶联抗体与950μL的检测缓冲液混合。类似地,将50μL的穴状化合物(Cryptate)抗体与950μL的检测缓冲液混合。然后将两种稀释的抗体混合在一起。

5.将3.4μL抗体缓冲液分配到空测定板的孔中。密封板并离心板30秒×1000rpm。

6.在4℃裂解结束时,将裂解物板离心3min x 1500rpm。

7.使用Bravo将13.6μL的裂解物从细胞培养板转移到测定板上。然后将测定板在室温下孵育2小时。

8.在孵育结束时,在离心板30秒x 1000rpm之后在Envision上读取板。

表2

示例性具有式(I)的化合物对KRas介导的ERK磷酸化的抑制(HTRF $IC_{50}$nM)

| 实例编号 | AsPC-1 | H727 | MKN1 | HCT116 | A549 | H460 | H358 | H2009 | PSN1 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3738 | 6445 | 593 | | | | | | > 10000 |
| 3 | 5945 | > 10000 | > 10000 | | | | | | > 10000 |
| 6 | 7724 | > 10000 | | | | | | | |

| 实例编号 | AsPC-1 | H727 | MKN1 | HCT116 | A549 | H460 | H358 | H2009 | PSN1 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7 | 5835 | 4474 | | | | | | | |
| 8 | 7401 | 3376 | | | | | | | |
| 9 | 3011 | 10000 | | | | | | | |
| 10 | 898 | 3895 | 10 | 962 | 727 | 288 | 216 | | 9303 |
| 13 | 507 | 469 | 44 | 899 | 689 | 394 | 43 | | > 10000 |

[0152] 虽然本发明已结合其特定实施例予以描述,但是应理解其能够进行进一步修改,并且希望本申请涵盖本发明的通常遵循本发明原则并且涉及与本申请的偏差的任何变化形式、应用或改造,这些偏差在本发明所属技术的已知或常规实践范围内,并且可适用于如上阐明并且在所附权利要求范围内出现的基本特征。