



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116003405 A

(43) 申请公布日 2023.04.25

(21) 申请号 202211661974.5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2018.09.07

G07D 471/04 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 31/519 (2006.01)

62/556223 2017.09.08 US

A61P 35/00 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

201880057368.8 2018.09.07

(71) 申请人 美国安进公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 B.A. 兰曼 S. 布克 C. 古德曼

A.B. 里德 J.D. 罗 H-L. 王 N. 陈

A.E. 米纳蒂 R. 乌尔斯 V.J. 西

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

专利代理师 罗文锋 彭昶

权利要求书2页 说明书83页
序列表(电子公布)

(54) 发明名称

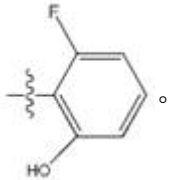
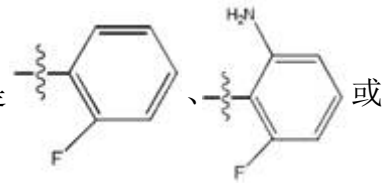
KRAS G12C的抑制剂及其使用方法

(57) 摘要

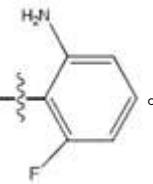
本文涉及KRASG12C的抑制剂及其使用方法。本文提供KRAS G12C抑制剂、其组合物及其使用方法。这些抑制剂可用于治疗多种病症,包括胰腺癌、结肠直肠癌及肺癌。

6. 如权利要求5所述的化合物,其中R¹及R²是被一个或多个独立地选自以下的取代基取代的CH₃: -C₁₋₈烷基、-C₂₋₈烯基和-C₃-C₁₀环烷基。

7. 如权利要求1-2和6中任一项所述的化合物,其中R³是



8. 如权利要求7所述的化合物,其中R³是



9. 如权利要求1-2、6和8中任一项所述的化合物,其中R⁴是Cl。

10. 如权利要求1-2、6和8中任一项所述的化合物,其中R⁴是F。

11. 一种药物组合物,其包含如权利要求1-10中任一项所述的化合物和药学上可接受的赋形剂。

12. 一种抑制细胞中的KRAS G12C的体外方法,该方法包括使该细胞与如权利要求1-10中任一项所述的化合物或如权利要求11所述的药物组合物接触。

13. 如权利要求1-10中任一项所述的化合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

14. 如权利要求13所述的用途,其中该癌症是非小细胞肺癌、小肠癌、阑尾癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胰腺癌、皮肤癌、胃癌、鼻腔癌或胆管癌。

15. 如权利要求13或14所述的用途,其中所述癌症是非小细胞肺癌。

16. 如权利要求13或14所述的用途,其中所述癌症是结肠直肠癌。

17. 如权利要求13或14所述的用途,其中所述癌症是胰腺癌。

18. 如权利要求13或14所述的用途,其中所述癌症具有KRAS G12C突变。

KRAS G12C的抑制剂及其使用方法

[0001] 本申请为分案申请,原申请的申请日为2018年9月7日,申请号为201880057368.8 (PCT/US2018/050044),发明名称为“KRAS G12C的抑制剂及其使用方法”。

技术领域

[0002] 本申请与电子格式的序列列表一起提交。序列列表以标题为A-2202-US-NP_SeqList_090618_ST25.txt的文件提供,该文件创建于2018年9月7日,大小为15.13kb。电子格式的序列列表的信息通过引用以其全文并入本文。

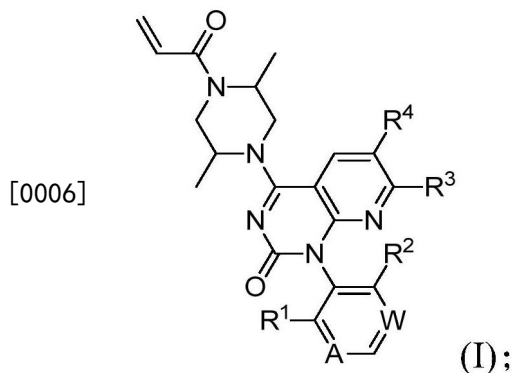
[0003] 本发明涉及能够用作KRAS G12C突变体的抑制剂的化合物以及包括作为KRAS G12C突变体的抑制剂的化合物的组合物。所述化合物及组合物可用于使KRAS G12C突变体不活化且用于治疗各种疾病病症。其中此类化合物可使用的一个领域的实例是治疗肿瘤性病症。

背景技术

[0004] KRAS基因突变在胰腺癌、肺腺癌、结肠直肠癌、胆囊癌、甲状腺癌及胆管癌中常见。在约25%的NSCLC患者中也观察到KRAS突变,并且一些研究已指示,KRAS突变在NSCLC患者中是阴性预后因子。最近,已发现V-Ki-ras2 Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(KRAS)突变在结肠直肠癌中赋予对表皮生长因子受体(EGFR)靶向疗法的抗性;因此,KRAS的突变状态可以在开具TKI疗法之前提供重要信息。总体而言,需要针对胰腺癌、肺腺癌或结肠直肠癌的患者的新的医学治疗,所述患者特别是那些已被诊断出患有以KRAS突变表征的此类癌症的患者并且包括那些化疗后进展的患者。

发明内容

[0005] 在本发明的一个方面,一个实施例包含具有式(I)的结构化合物



[0007] 其中

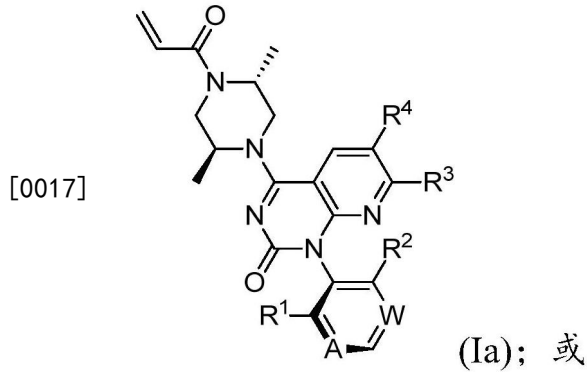
[0008] A独立地是N或CH;

[0009] W独立地是N或CH;

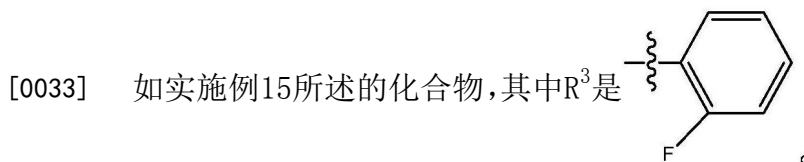
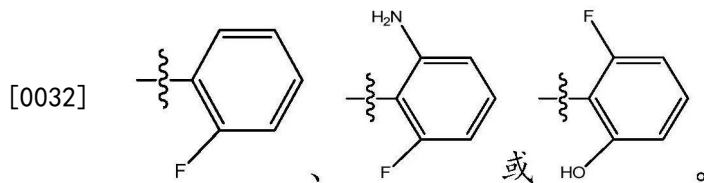
[0010] 其中A和W中的一个或两个是N;

[0011] R¹及R²独立地是支链或直链C₁₋₆烷基;

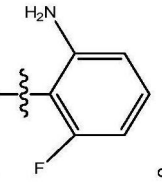
- [0012] R^3 是由1或2个 R^5 取代基取代的苯基；
 [0013] R^5 独立地选自一个或多个卤基、-OH或 NH_2 ；
 [0014] R^4 是卤基；或
 [0015] 其立体异构体、其药学上可接受的盐、其立体异构体的药学上可接受的盐。
 [0016] 在本发明的另一方面，本发明的另一实施例包含具有式(Ia)的结构的实施例1的化合物



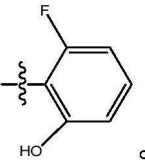
- [0018] 其药学上可接受的盐。
 [0019] 如实施例1或2所述的化合物，其中A是N。
 [0020] 如实施例1或2所述的化合物，其中A是CH。
 [0021] 如实施例1或2所述的化合物，其中W是N。
 [0022] 如实施例1或2所述的化合物，其中W是CH。
 [0023] 如实施例1-6中任一项所述的化合物，其中 R^1 是 CH_3 。
 [0024] 如实施例1-6中任一项所述的化合物，其中 R^1 是 $CH(CH_3)_2$ 。
 [0025] 如实施例1-8中任一项所述的化合物，其中 R^2 是 CH_3 。
 [0026] 如实施例1-8中任一项所述的化合物，其中 R^2 是 $CH(CH_3)_2$ 。
 [0027] 如实施例1-10中任一项所述的化合物，其中 R^5 是卤基。
 [0028] 如实施例11所述的化合物，其中 R^5 是F。
 [0029] 如实施例1-10中任一项所述的化合物，其中 R^5 是-OH。
 [0030] 如实施例1-10中任一项所述的化合物，其中 R^5 是 $-NH_2$ 。
 [0031] 如实施例1-10中任一项所述的化合物，其中 R^3 是



[0034] 如实施例15所述的化合物,其中R³是



[0035] 如实施例15所述的化合物,其中R³是



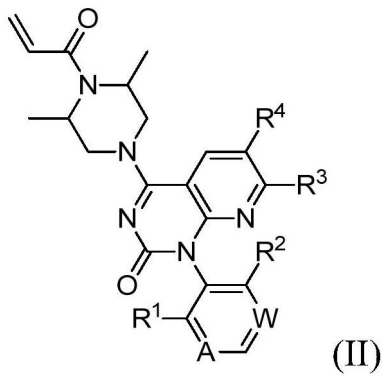
[0036] 如实施例1-18中任一项所述的化合物,其中R⁴是卤基。

[0037] 如实施例19所述的化合物,其中R⁴是Cl。

[0038] 如实施例19所述的化合物,其中R⁴是F。

[0039] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有式(II)的结构的化合物

[0040]



[0041] 其中

[0042] A独立地是N或CH;

[0043] W独立地是N或CH;

[0044] 其中A和W中的一个或两个是N;

[0045] R¹及R²独立地是支链或直链C₁₋₆烷基;

[0046] R³是由一个或两个R⁵取代基取代的苯基;

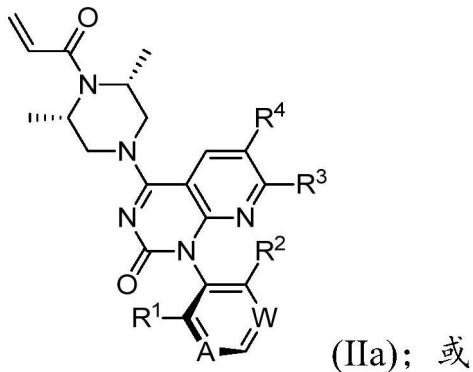
[0047] R⁵独立地选自一个或多个卤基、-OH或NH₂;并且

[0048] R⁴是卤基;或

[0049] 或其立体异构体、其药学上可接受的盐、其立体异构体的药学上可接受的盐。

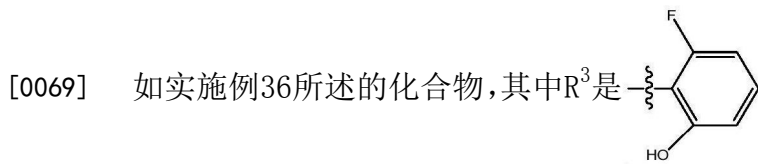
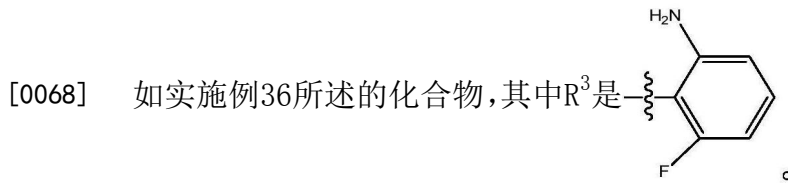
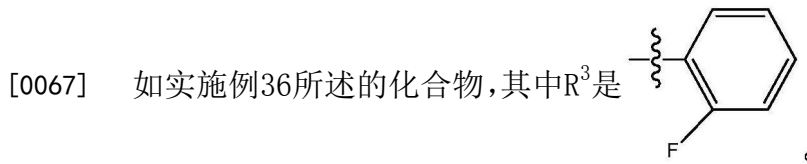
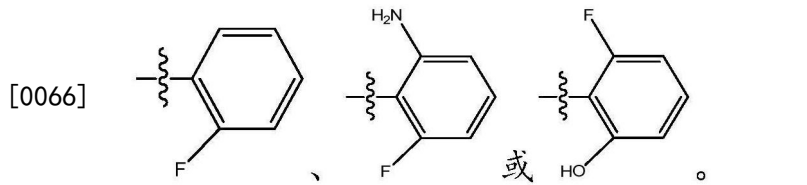
[0050] 如实施例22所述的化合物,其具有式(IIa)的结构

[0051]



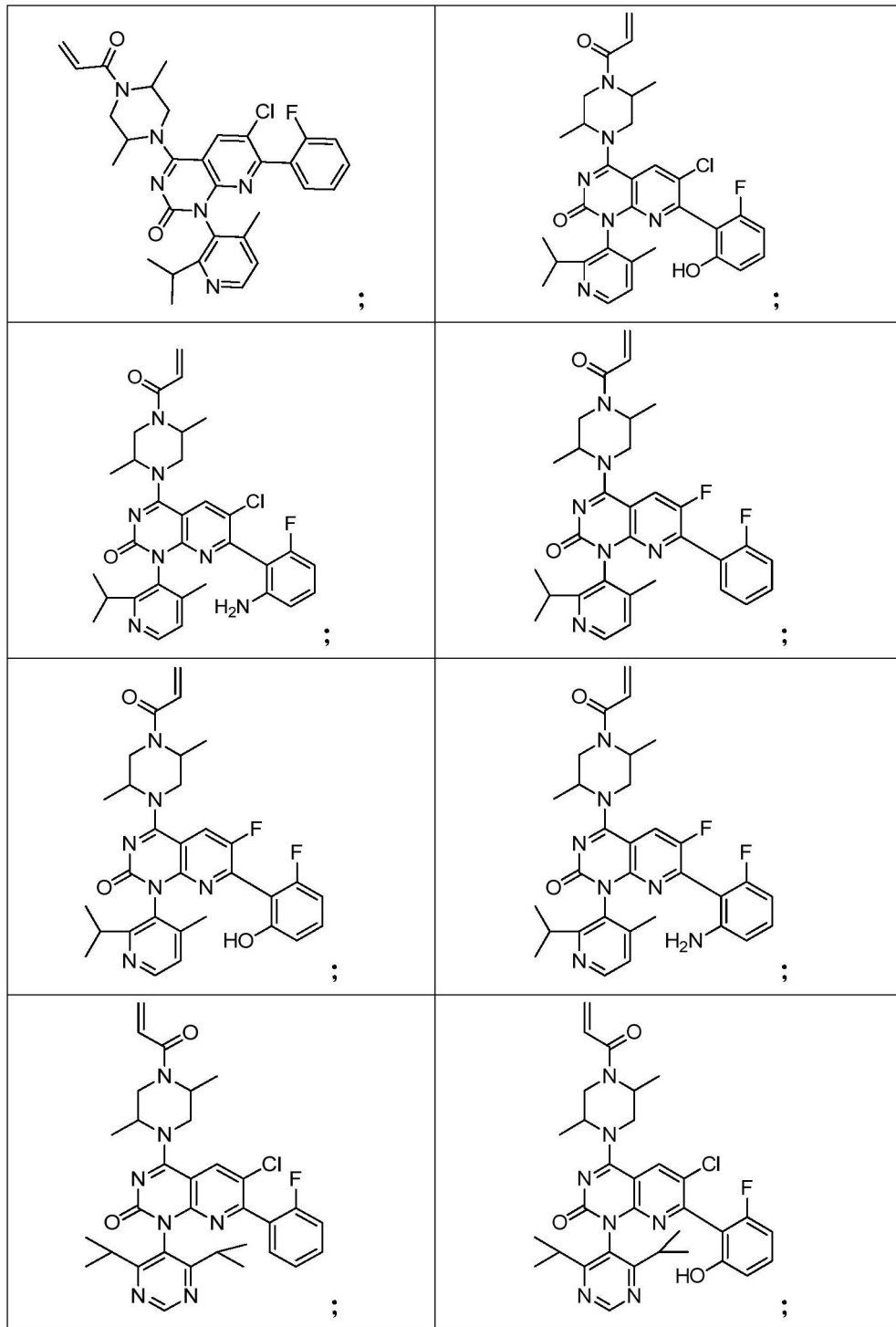
[0052] 其药学上可接受的盐。

- [0053] 如实施例22或23所述的化合物,其中A是N。
- [0054] 如实施例22或23所述的化合物,其中A是CH。
- [0055] 如实施例22或23所述的化合物,其中W是N。
- [0056] 如实施例22或23所述的化合物,其中W是CH。
- [0057] 如实施例22-27中任一项所述的化合物,其中R¹是CH₃。
- [0058] 如实施例22-27中任一项所述的化合物,其中R¹是CH(CH₃)₂。
- [0059] 如实施例22-29中任一项所述的化合物,其中R²是CH₃。
- [0060] 如实施例22-29中任一项所述的化合物,其中R²是CH(CH₃)₂。
- [0061] 如实施例22-31中任一项所述的化合物,其中R⁵是卤基。
- [0062] 如实施例32所述的化合物,其中R⁵是F。
- [0063] 如实施例22-31中任一项所述的化合物,其中R⁵是-OH。
- [0064] 如实施例22-31中任一项所述的化合物,其中R⁵是-NH₂。
- [0065] 如实施例22-31中任一项所述的化合物,其中R³是

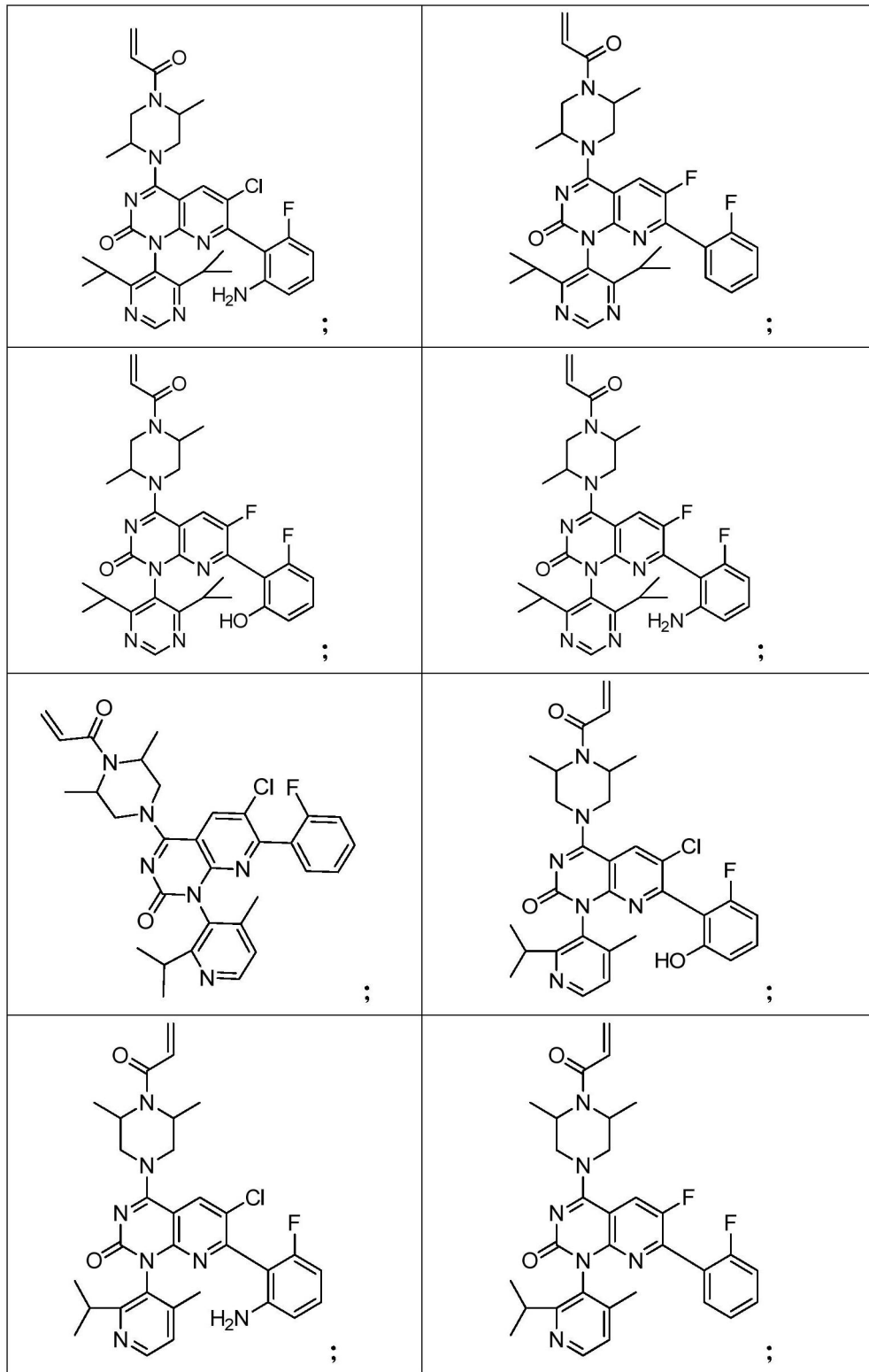


- [0070] 如实施例22-39中任一项所述的化合物,其中R⁴是卤基。
- [0071] 如实施例40所述的化合物,其中R⁴是Cl。
- [0072] 如实施例40所述的化合物,其中R⁴是F。
- [0073] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有选自以下的结构的化合物:

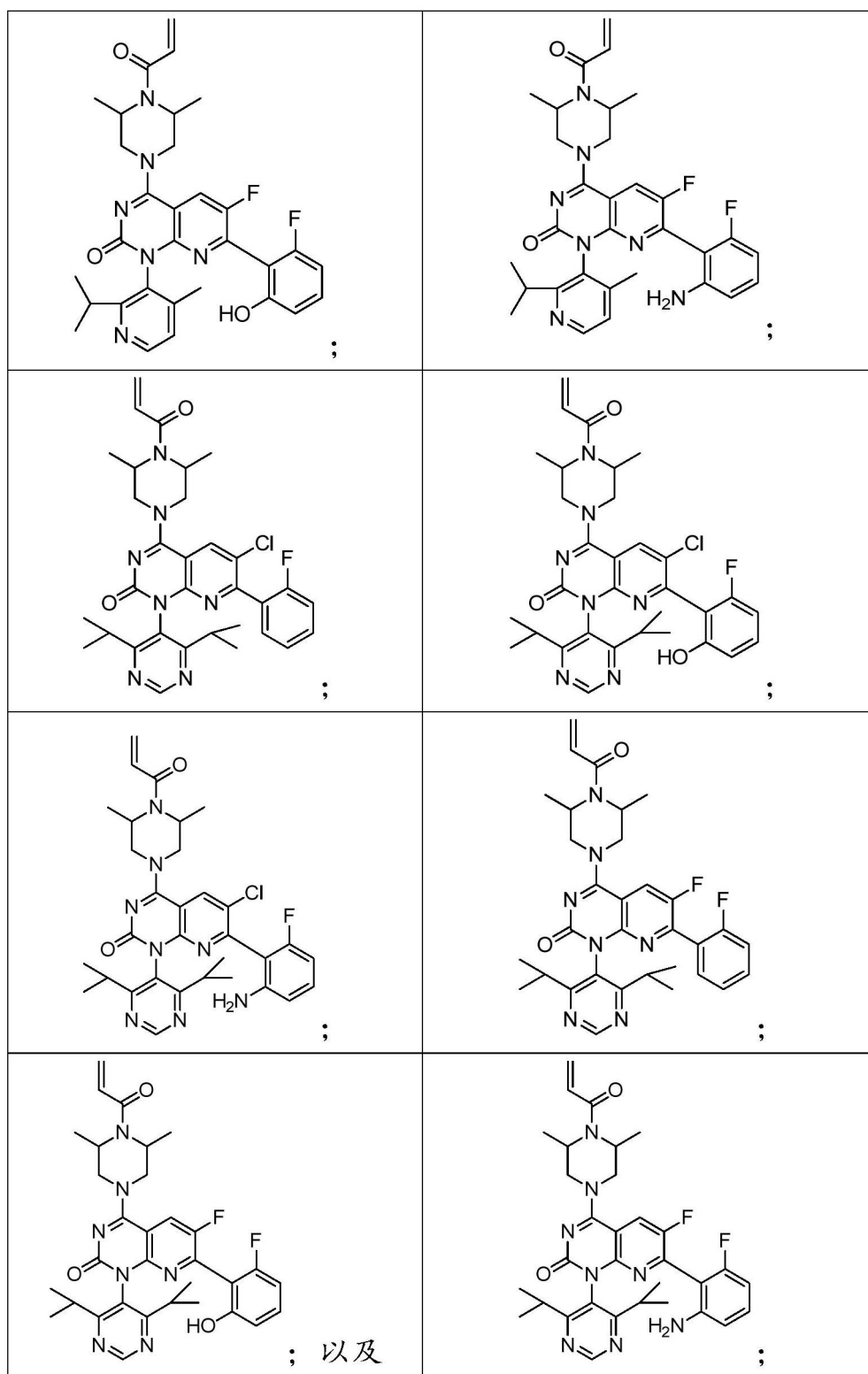
[0074]



[0075]



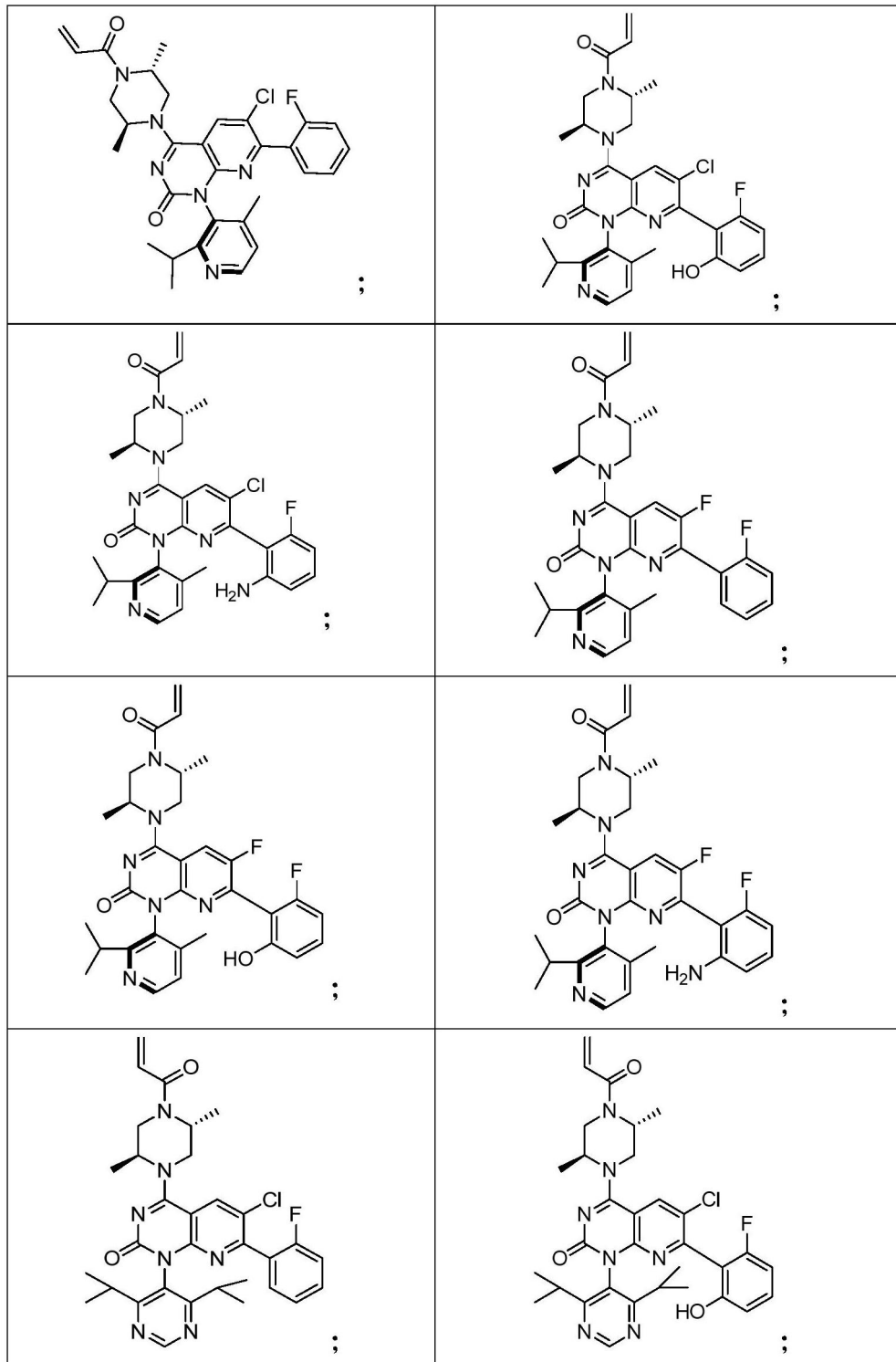
[0076]



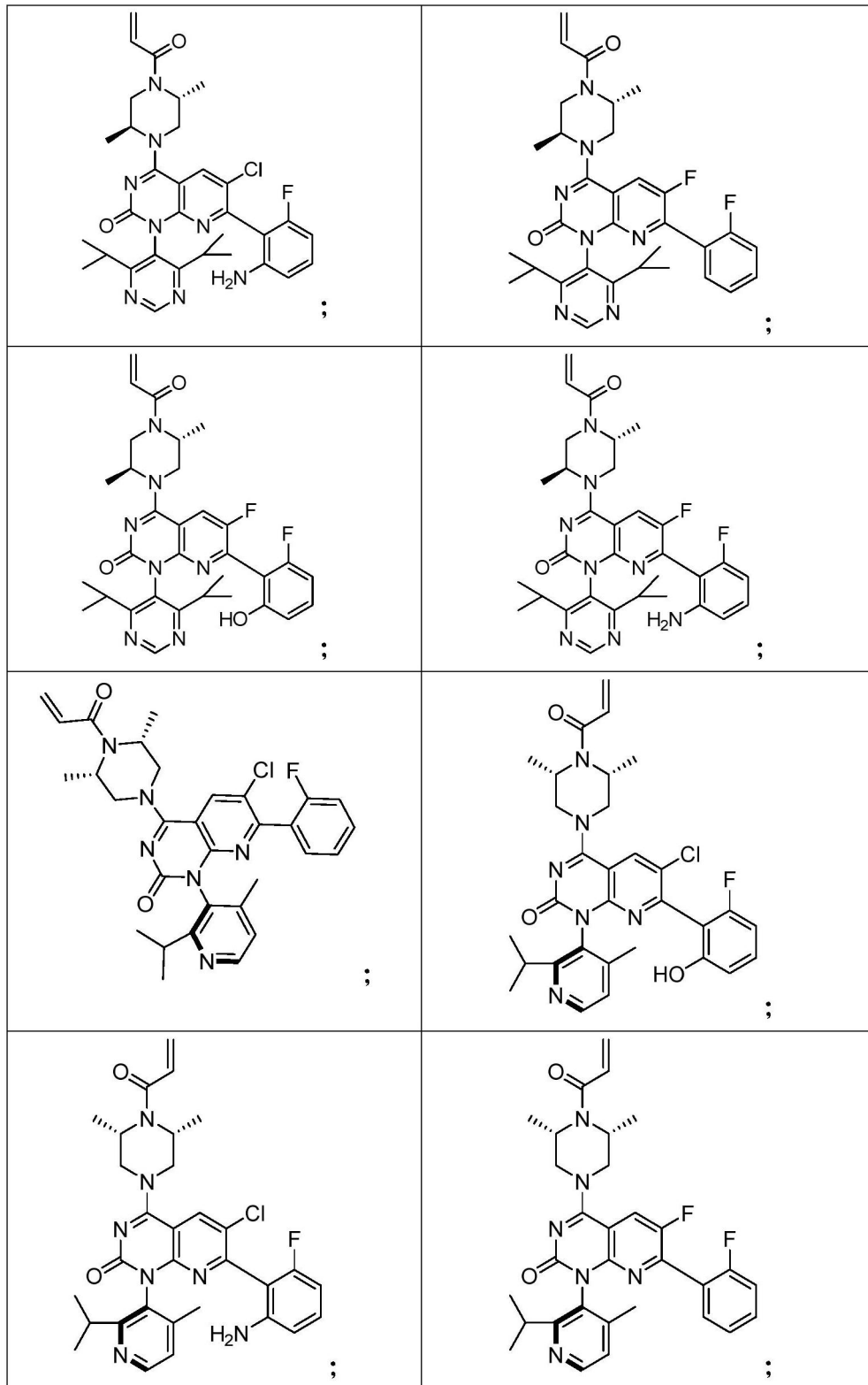
[0077] 或其立体异构体、其药学上可接受的盐、其立体异构体的药学上可接受的盐。

[0078] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有选自以下的结构的化合物:

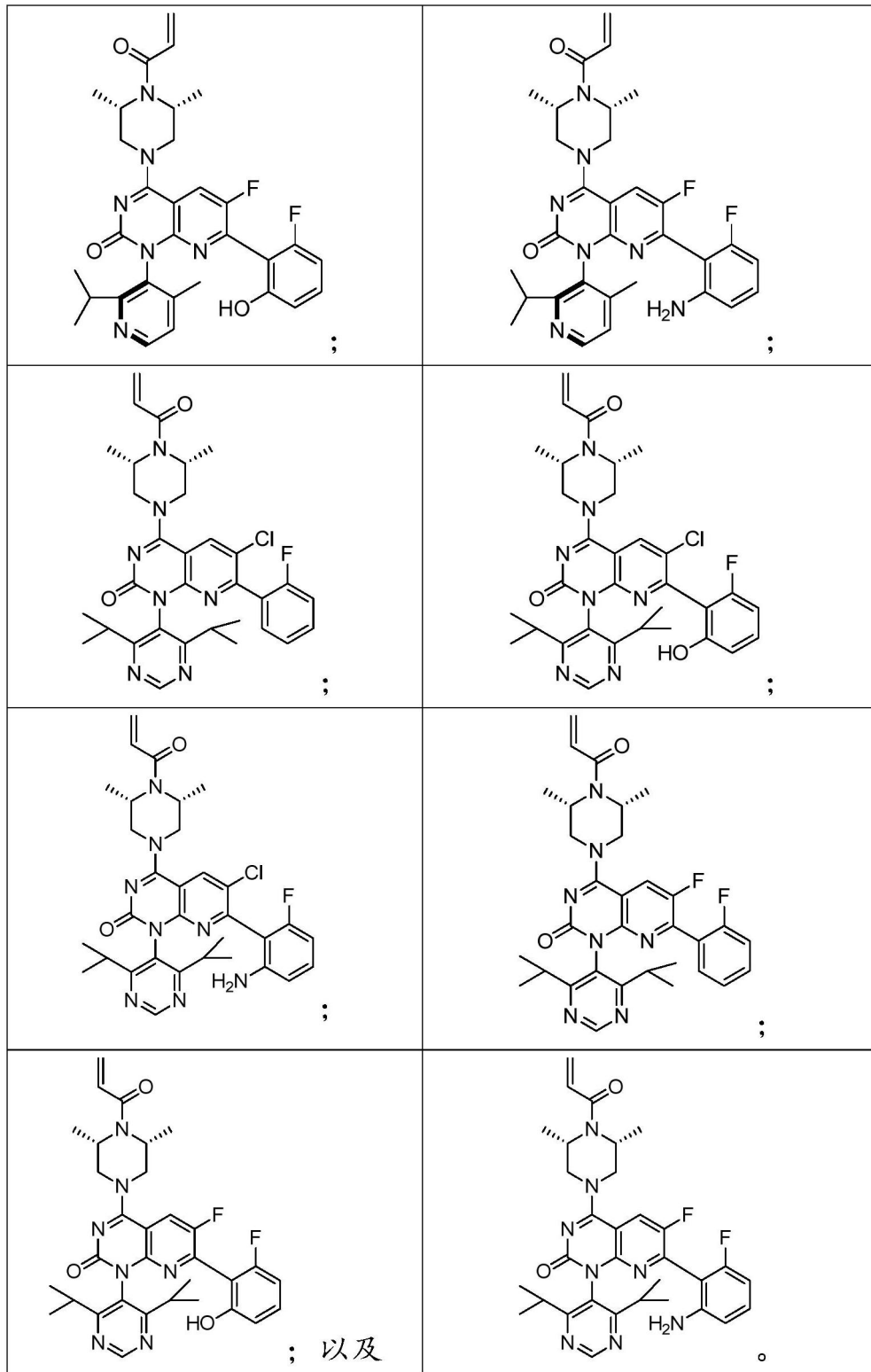
[0079]



[0080]



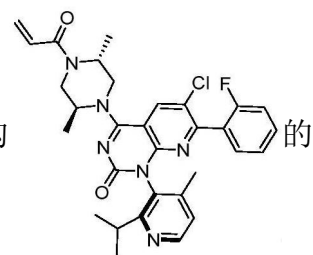
[0081]



[0082] 如实施例44所述的化合物,其呈药学上可接受的盐形式。

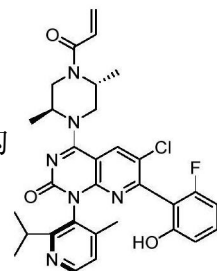
[0083] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含药物组合物,该药物组合物包含如实施例1-45中任一项所述的化合物及药学上可接受的赋形剂。

[0084] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



化合物。

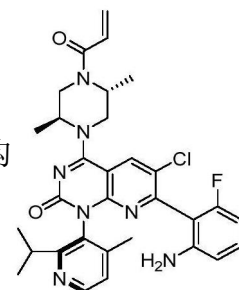
[0085] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化合

物。

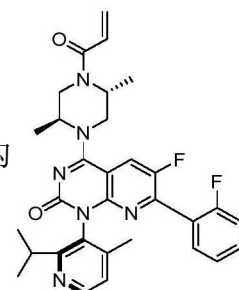
[0086] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化

合物。

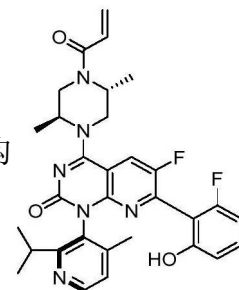
[0087] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化

合物。

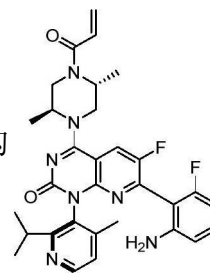
[0088] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化

合物。

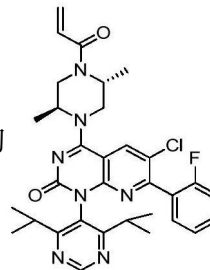
[0089] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化合物。

物。

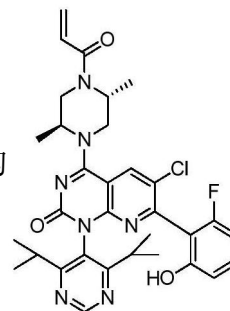
[0090] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化合物。

物。

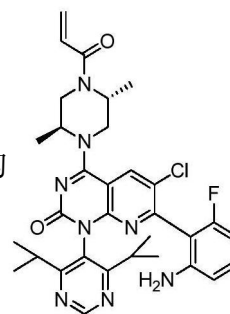
[0091] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化合物。

物。

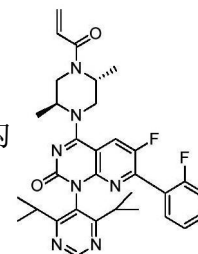
[0092] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化合物。

物。

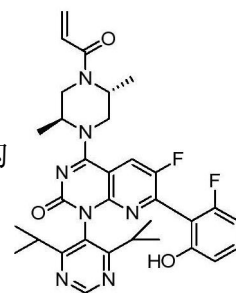
[0093] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化合物。

物。

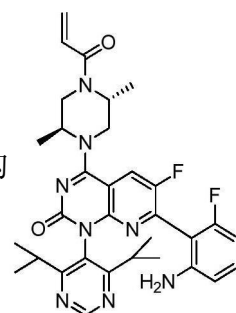
[0094] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化

合物。

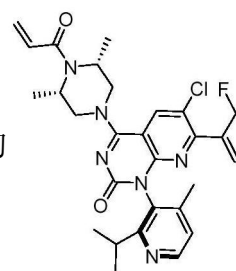
[0095] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化

合物。

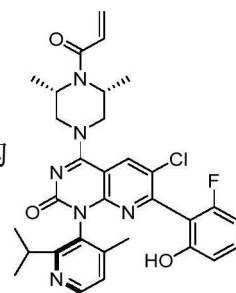
[0096] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的

化合物。

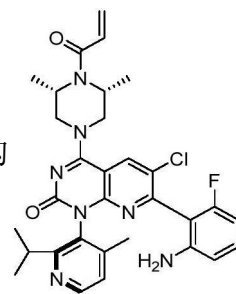
[0097] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化

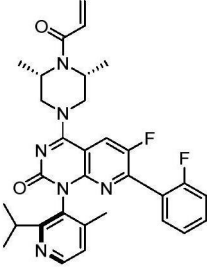
合物。

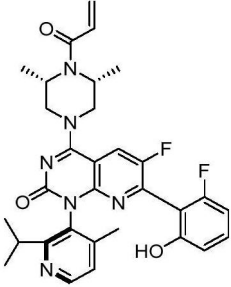
[0098] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构

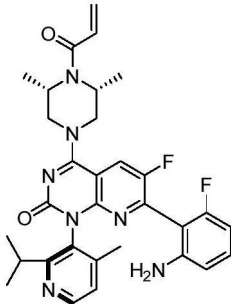


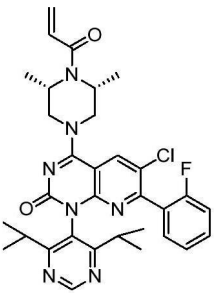
的化

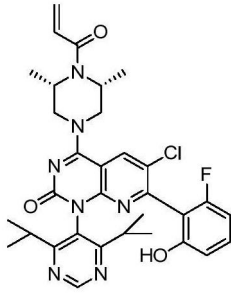
合物。

[0099] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构  的化合物。

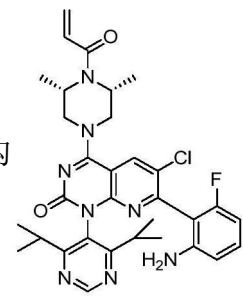
[0100] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构  的化合物。

[0101] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构  的化合物。

[0102] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构  的化合物。

[0103] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构  的化合物。

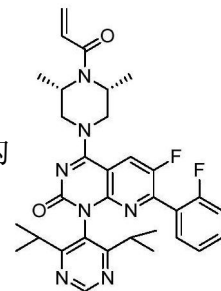
[0104] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化

合物。

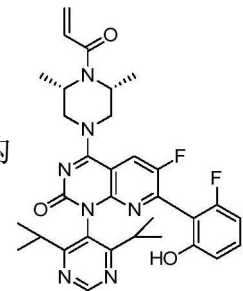
[0105] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化合

物。

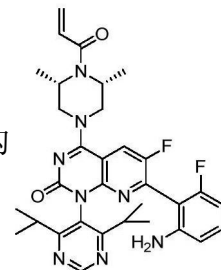
[0106] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化

合物。

[0107] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含具有结构



的化合

物。

[0108] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含如实施例47至70中任一项所述的化合物,其呈药学上可接受的盐形式。

[0109] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含药物组合物,该药物组合物包含如实施例1-45及47-71中任一项所述的化合物及药学上可接受的赋形剂。

[0110] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含抑制细胞中的KRAS G12C的方法,该方法包括使该细胞与如实施例1-45及47-71中任一项所述的化合物或如实施例46或72所述的组合物接触。

[0111] 在本发明的另一方面,本发明的另一实施例包含治疗个体的癌症的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的如实施例1-45及47-71中任一项所述的化合物或如实施例

46或72所述的组合物。

[0112] 如实施例74所述的方法,其中该癌症是肺癌、胰腺癌或结肠直肠癌。

[0113] 本文中阐述具有式I、Ia、II及IIa的化合物的各种其他实施例。

[0114] 还提供药物组合物,其包括至少一种药学上可接受的赋形剂、载剂或稀释剂及如实施例中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其互变异构体、互变异构体的药学上可接受的盐、上述中任一种的立体异构体或其混合物。

[0115] 本文所披露的化合物可以呈药学上可接受的盐形式。所提供的化合物可以配制为包含本文所披露的化合物及药学上可接受的赋形剂的药物配制品。

[0116] 还提供抑制细胞中的KRAS G12C的方法,该方法包括使该细胞与本文所披露的化合物或组合物接触。另外提供治疗受试者的癌症的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的本文所披露的化合物或组合物。在一些实施例中,该癌症是肺癌、胰腺癌或结肠直肠癌。

[0117] 自以下说明及权利要求,本领域技术人员将明了本发明的其他目标、特征及优点。

具体实施方式

[0118] 定义

[0119] 缩写:本文中可以使用以下缩写:

	AcOH	乙酸
	aq或aq.	水性
	BOC或Boc	叔丁氧基羰基
	cpme	环戊基甲醚
	DCE	1,2-二氯乙烷
[0120]	DABCO	1,4-二氮杂二环[2.2.2]辛烷
	DCM	二氯甲烷
	DMA	N,N-二甲基乙酰胺
	DMAP	4-二甲基氨基吡啶
	DME	1,2-二甲氧基乙烷
	DMF	N,N-二甲基甲酰胺
	DMSO	二甲基亚砷

[0121]

Dppf、DPPF或dppf	1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁
eq或eq.或equiv.	当量
ESI或ES	电喷雾电离
Et	乙基
Et ₂ O	二乙醚
EtOAc	乙酸乙酯
g	克
h	小时
HPLC	高压液相色谱
iPr	异丙基
iPr ₂ NEt或DIPEA	N-乙基二异丙胺(休格尼氏碱(Hünig's base))
KHMDS	六甲基二硅烷胺化钾
KOAc	乙酸钾
劳森氏试剂(Lawesson's reagent)	2,4-双(4-甲氧基苯基)-2,4-二硫代-1,3,2,4-二硫杂二磷杂环丁烷、2,4-双(4-甲氧基苯基)-1,3-二硫杂-2,4-二磷杂环丁烷2,4-二硫化物
LC MS、LCMS、LC-MS或LC/MS	液相色谱质谱
LG	离去基团(例如卤素、甲磺酸酯、三氟甲磺酸酯)
LHMDS或LiHMDS	六甲基二硅烷胺化锂
m/z	质荷比
Me	甲基
MeCN	乙腈
MeOH	甲醇
Met	用于交叉偶联的金属物质(例如, MgX、ZnX、SnR ₃ 、SiR ₃ 、B(OR) ₂)
mg	毫克
min	分钟
mL	毫升
MS	质谱
NaHMDS	六甲基二硅烷胺化钠
NBS	N-溴代琥珀酰亚胺
n-BuLi	正丁基锂

	NCS	N-氯琥珀酰亚胺
	NMR	核磁共振
	Pd ₂ (dba) ₃	三(二亚苺基丙酮)二钯(0)
	Pd(dppf)Cl ₂ ·DCM	与二氯甲烷复合的[1,1'-双(二苺基苺基)二茂铁]二氯钯(II)
	Pd(PPh ₃) ₄	四(三苺基苺)钯(0)
	Ph	苺基
	PR或PG或Prot.基团	保护基团
	rbf	圆底烧瓶
	RP-HPLC	反相高压液相色谱
	RT或rt	室温
[0122]	sat.或satd.	饱和
	SFC	超临界流体色谱
	SPhos Pd G3或SPhos G3	甲磺酸(2-二环己基苺基-2',6'-二甲氧基联苺基)[2-(2'-氨基-1,1'-联苺)]钯(II)
	TBAF	四正丁基氟化铵
	TBTU	N,N,N',N'-四甲基-O-(苺并三唑-1-基)脲鎊四氟硼酸盐
	<i>t</i> -BuOH	叔丁醇
	TEA或Et ₃ N	三甲胺
	TFA	三氟乙酸
	THF	四氢呋喃
	UV	紫外

[0123] 除非另外指示,否则在描述本发明的上下文中(尤其是在申请专利范围的上下文中)术语“一个(种)”及“该(这些)”及类似参考物的使用应解释为涵盖单数及复数两者。除非本文另外指示,否则本文有关值的范围的陈述仅意欲用作个别地提及在该范围内的每一独立值的简写方法,且每一独立值是并入说明书中,就如同在本文个别地陈述该值一般。除非另外要求,否则本文所提供的任何及所有实例,或示例性语言(例如“例如”)的使用旨在更好地说明本发明且并非对本发明范围的限制。本说明书中的语言均不应解释为指示任何非要求的要素为实践本发明必不可少的。

[0124] 如本文所用,术语“烷基”是指直链或支链C1-C8烃基,包括但不限于甲基、乙基、正-丙基、异-丙基、正-丁基、仲-丁基、叔-丁基、正-戊基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、2,2-二甲基丙基、正-己基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,2-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、3,3-二甲基丁基和2-乙基丁基。术语C_m-n意指具有“m”至“n”个碳原子的烷基。术语“亚烷基”是指具有取代基的烷基。烷基(例如,甲基)或亚烷基(例如,-CH₂-)可被一个或多个、且通常1至3个独立地选自以下的取代基取代:例如,卤基、三氟甲基、三氟甲氧基、羟基、烷氧基、硝基、氰基、烷基氨基、-C1-8烷基、-C2-8烯基、-C2-8炔基、-NC、氨基、-CO₂H、-CO₂C1-C8烷基、-OCOC1-C8烷基、-C3-C10环烷基、-C3-C10杂环烷基、-C5-C10芳基及-C5-C10杂芳

基。术语“卤代烷基”特别地指烷基基团,其中该烷基基团的至少一个(例如,1至6个)或所有氢被卤基原子取代。

[0125] 术语“烯基”及“炔基”分别指另外包括双键及三键的烷基基团。

[0126] 如本文所用,术语“卤基”是指氟、氯、溴及碘。术语“烷氧基”定义为-OR,其中R是烷基。

[0127] 如本文所用,术语“氨基”或“胺”可互换地指-NR₂基团,其中每个R是例如H或取代基。在一些实施例中,氨基进一步被取代以形成铵离子,例如NR₃⁺。铵部分特别地包括于“氨基”或“胺”的定义中。取代基可以是例如烷基、烷氧基、环烷基、杂环烷基、酰胺或甲酸酯。R基团可以进一步例如经一个或多个(例如一个至四个)选自以下的基团取代:卤基、氰基、烯基、炔基、烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、脲、羰基、甲酸酯、胺及酰胺。“酰胺”或“酰氨基”基团可互换地指与胺或氨基基团类似但另外包括-C(O)的基团,例如-C(O)NR₂。一些考虑到的氨基或酰氨基(一些具有任选亚烷基,例如亚烷基-氨基或亚烷基-酰氨基)包括-CH₂NH₂、-CH(CH₃)NH₂、-CH(CH₃)₂NH₂、-CH₂CH₂NH₂、-CH₂CH₂N(CH₃)₂、-CH₂NHCH₃、-C(O)NHCH₃、-C(O)N(CH₃)₂、-CH₂C(O)NH苯基、-CH₂NHC(O)CH₃、-CH₂NHCH₂CH₂OH、-CH₂NHCH₂CO₂H及-CH₂NH(CH₃)CH₂CO₂CH₃。

[0128] 总而言之,抗体形成称为免疫球蛋白的血浆蛋白的家族,并且由免疫球蛋白结构域组成。(Janeway等人,Immunobiology:The Immune System in Health and Disease[免疫生物学:健康与疾病的免疫系统],第4版,爱思唯尔科学有限公司(Elsevier Science Ltd.)/加兰出版社(Garland Publishing),1999。如本文所用,术语“抗体”是指具有常规免疫球蛋白形式、包含重链及轻链且包含可变区及恒定区的蛋白质。例如,抗体可以是IgG,其是两对相同多肽链的“Y形”结构,每对具有一条“轻”链(典型地具有约25kDa的分子量)和一条“重”链(通常具有约50-70kDa的分子量)。抗体具有可变区和恒定区。在IgG形式中,可变区通常为约100-110或更多个氨基酸,包含三个互补决定区(CDR),主要负责抗原识别,并且与结合不同抗原的其他抗体差异很大。恒定区允许抗体募集免疫系统的细胞和分子。可变区由每条轻链和重链的N末端区域构成,而恒定区由每条重链和轻链的C末端部分构成。(Janeway等人,“Structure of the Antibody Molecule and the Immunoglobulin Genes”[抗体分子和免疫球蛋白基因的结构],Immunobiology:The Immune System in Health and Disease[免疫生物学:健康与疾病的免疫系统],第4版.爱思唯尔科学有限公司(Elsevier Science Ltd.)/加兰出版社(Garland Publishing),(1999))。

[0129] 本领域已经描述了抗体CDR的一般结构和特性。简而言之,在抗体支架中,CDR嵌埋于重链及轻链可变区中的框架内,其中,其构成主要负责抗原结合及识别的区域。可变区通常包含至少三个重链CDR或三个轻链CDR(Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫相关蛋白质序列],Public Health Service[公共卫生署]N.I.H.,贝塞斯达,马里兰州;还参见Chothia和Lesk,1987,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196:901-917;Chothia等人,1989,Nature[自然]342:877-883),位于框架区内(由Kabat等人,1991指定框架区1-4,FR1,FR2,FR3,和FR4;还参见Chothia和Lesk,1987,同上)。

[0130] 抗体可以包含本领域已知的任何恒定区。人类轻链分类为κ轻链及λ轻链。重链分类为μ、δ、γ、α或ε,并且将抗体的同种型分别定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。IgG具有若干个亚类,包括但不限于IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。IgM具有亚类,包括但不限于IgM1和IgM2。本

披露的实施例包括所有这种抗体类别或同种型。轻链恒定区可为例如 κ 型或 λ 型轻链恒定区,例如人类 κ 型或 λ 型轻链恒定区。重链恒定区可为例如 α 型、 δ 型、 ϵ 型、 γ 型或 μ 型重链恒定区,例如人类 α 型、 δ 型、 ϵ 型、 γ 型或 μ 型重链恒定区。因此,在示例性实施例中,该抗体为同种型IgA、IgD、IgE、IgG或IgM的抗体,包括IgG1、IgG2、IgG3或IgG4中的任一种。

[0131] 抗体可以是单克隆抗体或多克隆抗体。在一些实施例中,抗体包含与由哺乳动物(例如,小鼠、兔、山羊、马、鸡、仓鼠、人等)产生的天然存在的抗体基本上相似的序列。在这方面,抗体可以被认为哺乳动物抗体,例如小鼠抗体、兔抗体、山羊抗体、马抗体、鸡抗体、仓鼠抗体、人抗体等。在某些方面,抗体是人抗体。在某些方面,抗体是嵌合抗体或人源化抗体。术语“嵌合抗体”是指含有来自两种或更多种不同抗体的结构域的抗体。嵌合抗体可以例如含有来自一个物种的恒定结构域,和来自第二物种的可变结构域,或更一般地,可以含有来自至少两个物种的氨基酸序列的区段。嵌合抗体还可以含有同一物种内的两种或更多种不同抗体的结构域。术语“人源化”在关于抗体使用时是指至少具有来自经工程改造以具有比原始来源抗体更类似于真人类抗体的结构和免疫学功能的非人类来源CDR区的抗体。例如,人源化可涉及将来自非人类抗体(例如小鼠抗体)的CDR接枝到人类抗体中。人源化还可以涉及所选择的氨基酸取代以使非人序列更类似于人序列。

[0132] 抗体可以通过酶(例如像木瓜蛋白酶和胃蛋白酶)切割成片段。木瓜蛋白酶切割抗体以产生两个Fab片段和单个Fc片段。胃蛋白酶裂解抗体从而产生F(ab')₂片段和pFc'片段。如本文所用,术语“抗原结合抗体片段”是指能够结合抗体的抗原,并且也被称为“抗原结合片段”或“抗原结合部分”的抗体分子的一部分。在示例性实例中,抗原结合抗体片段是Fab片段或F(ab')₂片段。

[0133] 抗体架构已经被用于产生越来越多的替代形式,其跨越至少约12-150kDa的分子量范围和具有从单体($n=1$)、二聚体($n=2$)和三聚体($n=3$)到四聚体($n=4$)并且可能更高的化合价(n)范围;此类替代形式在本文中称为“抗体蛋白质产物”。抗体蛋白产物包括基于完整抗体结构的那些和模拟保留完整抗原结合能力的抗体片段的那些,例如scFv、Fab和VHH/VH(以下讨论的)。保留其完整抗原结合位点的最小抗原结合抗体片段为Fv片段,其完全由可变(V)区组成。使用可溶性柔性氨基酸肽接头将V区连接至scFv片段(可变单链片段)以使该分子稳定,或将恒定(C)结构域添加至V区以产生Fab片段[抗原结合片段]。scFv和Fab片段可以容易地在宿主细胞中产生,例如原核宿主细胞。其他抗体蛋白产物包括经二硫键稳定的scFv(ds-scFv)、单链Fab(scFab)以及二聚及多聚抗体形式,如双功能抗体、三功能抗体和四功能抗体,或包含由与寡聚结构域连接的scFv组成的不同形式的迷你抗体(miniAb)。最小的片段是骆驼科重链Ab的VHH/VH以及单结构域Ab(sdAb)。最常用于建造新颖抗体形式的构件为单链可变(V)结构域抗体片段(scFv),其包含由具有约15个氨基酸残基的肽接头连接的来自重链和轻链的V结构域(VH结构域和VL结构域)。肽体(peptibody)或肽-Fc融合体是另一种抗体蛋白产物。肽体的结构由接枝到Fc结构域上的生物活性肽组成。此项技术中已充分描述了肽抗体。参见,例如,Shimamoto等人.,mAbs 4(5):586-591(2012)。

[0134] 其他抗体蛋白产物包括单链抗体(SCA)、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、双特异性或三特异性抗体等。双特异性抗体可分成五个主要类别:BsIgG、附加IgG、BsAb片段、双特异性融合蛋白以及BsAb缀合物。参见,例如,Spiess等人,Molecular Immunology[分子

[0141] 如本文所用,术语Cbz是指结构 。

[0142] 本披露的化合物

[0143] 本文提供具有式I、Ia、II、和IIa之一的结构的KRAS抑制剂,这些结构将于下文更详细地论述。

[0144] 本文所披露的化合物包括所有药学上可接受的同位素标记的化合物,其中本文所披露的化合物的一个或多个原子经具有相同原子数但原子质量或质量数不同于自然界通常发现的原子质量或质量数的原子替代。可掺入所披露化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟、氯和碘的同位素,例如分别为²H、³H、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹³N、¹⁵N、¹⁵O、¹⁷O、¹⁸O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F、³⁶Cl、¹²³I和¹²⁵I。这些放射性标记的化合物可用于帮助通过表征例如作用位点或方式,或与药理学上重要的作用位点的结合亲和性,来确定或测量化合物的有效性。本披露的某些同位素标记的化合物(例如,那些掺入放射性同位素的化合物)可用于药物和/或底物组织分布研究中。鉴于易于掺入以及即用的检测方式,放射性同位素氘(即³H)和碳-14(即¹⁴C)尤其可用于这个目的。

[0145] 用较重同位素(例如氘,即²H)取代可以提供源自较高代谢稳定性的某些治疗优势(例如,延长的体内半衰期或降低的剂量要求),并且因此在一些情况下是优选的。

[0146] 用正电子发射同位素(例如¹¹C、¹⁸F、¹⁵O和¹³N)取代可用于正电子发射断层扫描(PET)研究,以检查底物受体占有率。结构(I)的同位素标记的化合物通常可以通过本领域技术人员已知的常规技术,或者通过与如下文所述的制备和实例(Preparations and Examples)中所述的那些类似的方法,使用适当的同位素标记的试剂代替先前采用的未经标记的试剂来制备。

[0147] 本文所披露的同位素标记的化合物一般可以通过本领域技术人员已知的常规技术,或通过所附实例及方案中所描述的方法类似的方法,使用适当同位素标记的试剂代替先前采用的未标记的试剂来制备。

[0148] 如本文所披露的某些化合物可以作为立体异构体(即,只有原子的空间排布不同的异构体)存在,包括光学异构体和构象异构体(或构象体)。本文所披露的化合物包括作为纯的个别立体异构体制剂和每一种的富集制剂的所有立体异构体、以及此类立体异构体的外消旋混合物以及可以根据本领域技术人员已知的方法分离的个别非对映异构体和对映异构体。另外,本文所披露的化合物包括这些化合物的所有互变异构体形式。

[0149] 某些本文所披露的化合物可以作为阻转异构体存在,其为在由于与分子其他部分的空间相互作用,围绕分子中单键的旋转被阻止或大大减慢时出现的构象立体异构体。本文所披露的化合物包括作为纯的个别阻转异构体制剂、每一种的富集制剂或者每一种的非特定混合物的所有阻转异构体。如果围绕单键的旋转势垒足够高,并且构象之间的互变足够缓慢,那么可以容许异构体种类的分离和分开。异构体种类的分离和分开通过熟知并且广为接受的符号“M”或“P”适当表示。

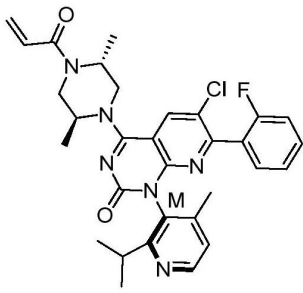
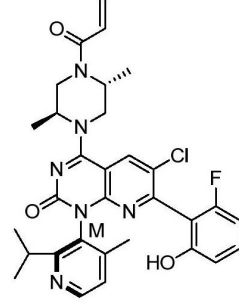
[0150] 在另一个实施例中,这些化合物可用作制备本申请案中的化合物的方法中的中间体。

[0151] 在另一实施例中,这些化合物可以呈药学上可接受的盐的形式并且在与药学上可

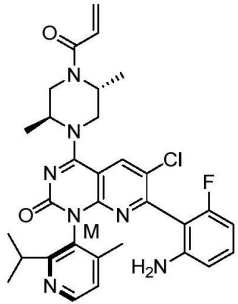
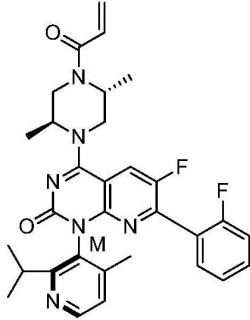
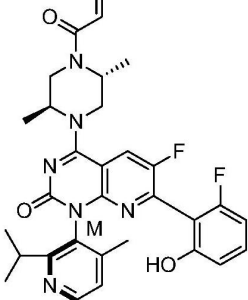
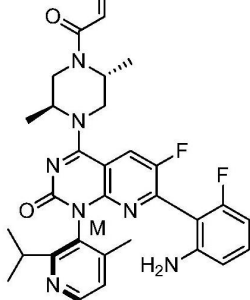
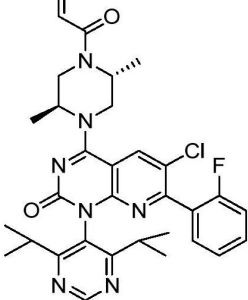
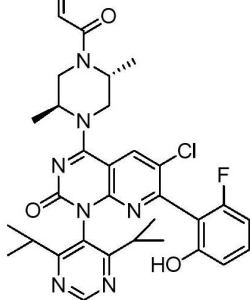
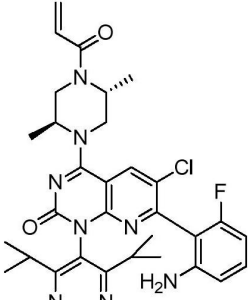
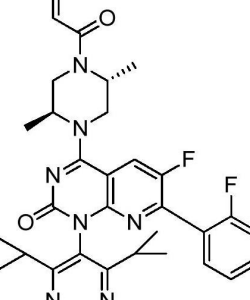
接受的赋形剂的药物配制品中。

[0152] 具体考虑到的化合物包括表1中所列的那些：

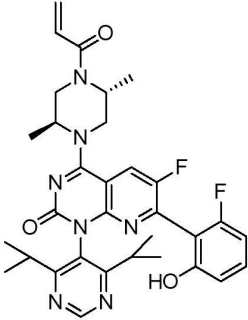
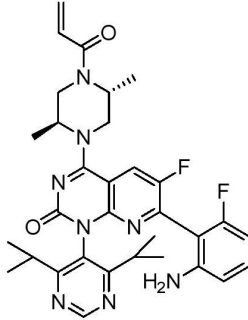
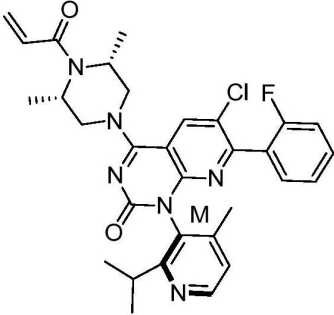
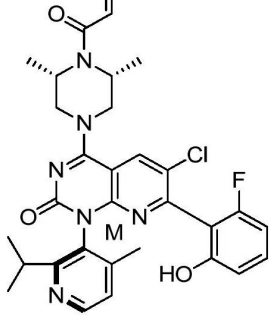
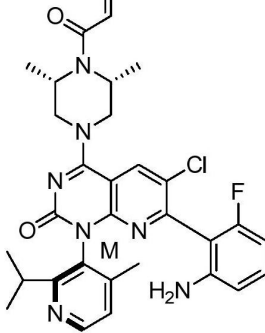
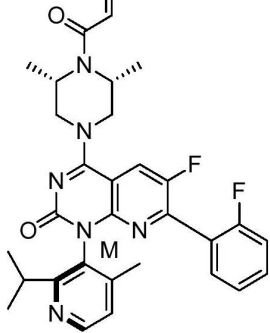
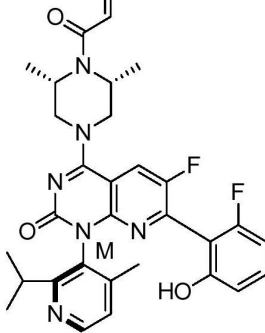
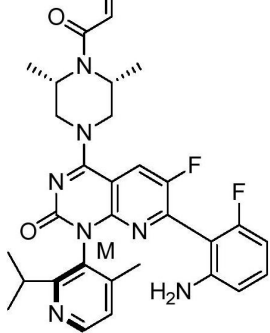
[0153] 表1

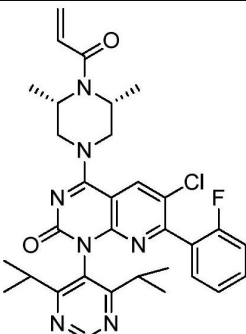
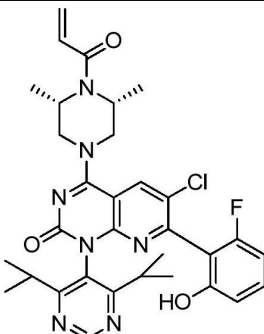
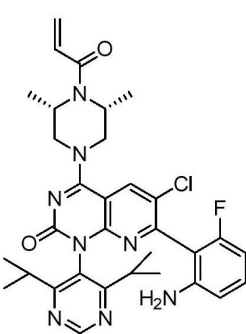
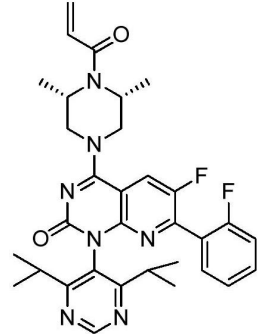
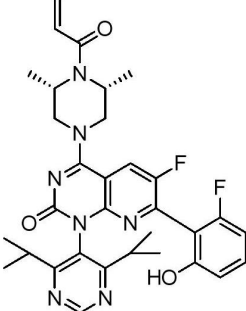
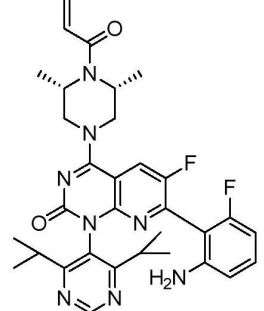
实例编号	结构	实例编号	结构
[0154] 1		2	

[0155]

3		4	
5		6	
7		8	
9		10	

[0156]

11		12	
13		14	
15		16	
17		18	

19		20	
[0157] 21		22	
23		24	

[0158] 合成所披露的化合物

[0159] 本文所披露的化合物可以经由多种特定方法合成。下文概述具体合成途径和一般方案的实例意欲向普通合成化学家提供指导,他们将容易了解,可以视需要修改溶剂、浓度、试剂、保护基团、合成步骤的顺序、时间、温度等,这些完全在普通技术人员的技术和判断范围内。

[0160] 适当保护基团及脱保护试剂是本领域技术人员已知的,例如,如Greene's Protective Groups in Organic Synthesis[Greene的有机合成中的保护基团]中所论述。

[0161] 考虑到的卤化剂包括但不限于氯、溴、N-氯代琥珀酰亚胺及N-溴代琥珀酰亚胺,任选地存在催化剂,例如铁或铝存在下。普通合成化学家将容易理解,可以使用其他卤化剂和催化剂。

[0162] 考虑到的酰胺化剂包括但不限于,N,N'-二异丙基碳化二亚胺、N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳化二亚胺、六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡啶基磷鎓盐、六氟磷酸O-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓盐、亚硫酸氯、氯甲酸异丁酯、氰基磷酸二乙酯、羰基二咪唑及聚磷酸酐。普通合成化学家将容易理解,可以使用其他酰胺化剂。

[0163] 考虑到的硫化剂包括但不限于硫、五硫化二磷和劳森试剂。普通合成化学家将容易理解,可以使用其他硫化剂。

[0164] 考虑到的氧化剂包括但不限于过氧化氢、二乙酸碘苯、叔丁基过氧化氢、N-溴代琥

珀酰亚胺和过氧二硫酸铵。普通合成化学家将容易理解,可以使用其他氧化剂。

[0165] 考虑到的激活剂包括但不限于亚硝酸钠和亚硝酸叔丁酯。普通合成化学家将容易理解,可以使用其他激活剂。

[0166] 考虑到的交叉偶联反应包括但不限于Suzuki偶联、Negishi偶联、Hiyama偶联、Kumada偶联和Stille偶联。

[0167] 药物组合物、给药及施用途径

[0168] 本文还提供了药物组合物,这些药物组合物包含如本文所披露的化合物以及药学上可接受的赋形剂,例如稀释剂或载体。适合用于本发明的化合物和药物组合物包括能以有效量施用化合物以实现其既定目的的那些。化合物的施用更详细地描述于下文中。

[0169] 适合药物配制品可以由技术人员根据施用途径及所需剂量决定。参见例如, Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学],1435-712(第18版,宾夕法尼亚州伊斯顿市马克出版公司(Mack Publishing Co),1990)。配制品可以影响所施用的药剂的物理状态、稳定性、或体内释放速率及活体内清除速率。取决于施用途径,可以根据体重、体表面积或器官大小来计算适合剂量。本领域普通技术人员在不进行过度实验的情况下,尤其根据本文所披露的剂量信息和测定以及可通过动物或人类临床试验获得的药物代谢动力学数据,以常规方式进行决定适当治疗剂量所需计算的进一步精化。

[0170] 短语“药学上可接受的”或“药理学上可接受的”是指在施用动物或人类时不产生不良反应、过敏反应或其他不利反应的分子实体和组合物。如本文所用,“药学上可接受”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。此类赋形剂用于药学活性物质的使用是本领域所熟知的。除非任何常规介质或药剂与治疗组合物不相容,否则考虑将其用于治疗组合物中。还可以将补充性活性成分掺入组合物中。在示例性实施例中,配制品可以包含玉米糖浆固体、高油酸红花油、椰子油、大豆油、L-亮氨酸、磷酸三钙、L-酪氨酸、L-脯氨酸、乙酸L-赖氨酸、DATEM(乳化剂)、L-谷氨酰胺、L-缬氨酸、磷酸氢二钾、L-异亮氨酸、L-精氨酸、L-丙氨酸、甘氨酸、L-天冬酰胺一水合物、L-丝氨酸、柠檬酸钾、L-苏氨酸、柠檬酸钠、氯化镁、L-组氨酸、L-甲硫氨酸、抗坏血酸、碳酸钙、L-谷氨酸、L-胱氨酸二盐酸盐、L-色氨酸、L-天冬氨酸、氯化胆碱、牛磺酸、m-肌醇、硫酸亚铁、抗坏血酸棕榈酸酯、硫酸锌、L-肉碱、 α -生育酚乙酸酯、氯化钠、烟酰胺、混合生育酚、泛酸钙、硫酸酮、氯化硫胺素盐酸盐、维生素A棕榈酸酯、硫酸锰、核黄素、盐酸吡哆辛、叶酸、 β -胡萝卜素、碘化钾、叶绿醌、生物素、硒酸钠、氯化铬、钼酸钠、维生素D3和氰钴胺。

[0171] 化合物可以作为药学上可接受的盐存在于药物组合物中。如本文所用,“药学上可接受的盐”包括例如碱加成盐和酸加成盐。

[0172] 药学上可接受的碱加成盐可以用金属或胺(例如碱金属和碱土金属或有机胺)来形成。化合物的药学上可接受的盐也可以用药学上可接受的阳离子来制备。适合的药学上可接受的阳离子是本领域技术人员所熟知的并且包括碱金属阳离子、碱土金属阳离子、铵阳离子和季铵阳离子。碳酸盐或碳酸氢盐也是可能的。用作阳离子的金属的实例是钠、钾、镁、铵、钙或三价铁等。适合的胺的实例包括异丙胺、三甲胺、组氨酸、N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、二环己胺、乙二胺、N-甲基葡糖胺和普鲁卡因。

[0173] 药学上可接受的酸加成盐包括无机酸盐或有机酸盐。适合的酸盐的实例包括盐酸盐、甲酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、水杨酸盐、硝酸盐、磷酸盐。其他适合的药学上可接受的盐是

本领域技术人员所熟知的并且包括例如甲酸、乙酸、柠檬酸、草酸、酒石酸或扁桃酸、盐酸、氢溴酸、硫酸或磷酸；与有机甲酸、磺酸、磺酸基酸或磷酸基酸或N-取代的氨基磺酸，例如乙酸、三氟乙酸(TFA)、丙酸、乙醇酸、琥珀酸、马来酸、羟基马来酸、甲基马来酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、乳酸、草酸、葡糖酸、葡糖二酸、葡糖醛酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、2-苯氧基苯甲酸、2-乙酰氧基苯甲酸、扑酸、烟酸或异烟酸的盐；以及与氨基酸，例如在自然界中参与蛋白质合成的20种 α 氨基酸，例如谷氨酸或天冬氨酸，以及与苯乙酸、甲磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、乙烷1,2-二磺酸、苯磺酸、4-甲基苯磺酸、萘2-磺酸、萘1,5-二磺酸、2-磷酸甘油酸或3-磷酸甘油酸、葡萄糖6-磷酸、N-环己基氨基磺酸(用于环己氨基磺酸盐的形成)，或其他酸性有机化合物，例如抗坏血酸的盐。

[0174] 含有本文所披露的化合物的药物组合物能以常规方式来制造，例如通过常规混合、溶解、造粒、糖衣丸制备、磨细、乳化、囊封、捕集或冻干方法。适当的配制品取决于所选的施用途径。

[0175] 对于口服施用，可以通过将本文所披露的化合物与本领域熟知的药学上可接受的赋形剂(例如载体)组合来容易地配制适合的组合物。此类赋形剂和载体使得能将本发明化合物配制为片剂、丸剂、糖衣丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液等，以供要治疗的患者口服摄食。用于口服使用的药物制剂可以通过以下方式来获得：向如本文所披露的化合物添加固体赋形剂，任选地研磨所得混合物，并且在添加适合的辅助剂后(如果需要)加工颗粒混合物，获得片剂或糖衣丸核心。适合的赋形剂包括例如填充剂和纤维素制剂。如果需要，可以添加崩解剂。用于各种类型的配制品的药学上可接受的成分是熟知的，并且可以是例如用于各种配制品类型的粘合剂(例如，天然或合成聚合物)、润滑剂、表面活性剂、甜味和矫味剂、包衣材料、防腐剂、染料、增稠剂、佐剂、抗微生物剂、抗氧化剂和载体。

[0176] 在口服施用治疗有效量的本文所披露的化合物时，组合物典型地呈固体(例如，片剂、胶囊、丸剂、粉末或糖锭)或液体配制品(例如，水性悬浮液、溶液、酞剂或糖浆)的形式。

[0177] 在以片剂形式施用时，组合物可以另外含有功能性固体和/或固体载体，例如明胶或佐剂。片剂、胶囊和粉末可以含有约1%至约95%化合物，并且优选地约15%至约90%化合物。

[0178] 在以液体或悬浮液形式施用时，可以添加功能性液体和/或液体载体，例如水、石油或动物或植物来源的油。组合物的液体形式可以进一步含有生理盐水溶液、糖醇溶液、右旋糖或其他糖溶液或二醇。在以液体或悬浮液形式施用时，组合物可以含有以重量计约0.5%至约90%的本文所披露的化合物，并且优选地约1%至约50%的本文所披露的化合物。在考虑到的一个实施例中，液体载体是非水性的或基本上非水性的。对于以液体形式施用，组合物可以作为快速溶解的固体配制品来供应，用于在即将施用前溶解或悬浮。

[0179] 在通过静脉内、经皮肤或皮下注射施用治疗有效量的本文所披露的化合物时，组合物呈无热原、肠胃外可接受的水溶液的形式。此类肠胃外可接受的溶液的制备应充分考虑pH、等渗性、稳定性等，是在本领域技术范围的。除了本文所披露的化合物以外，用于静脉内、经皮肤或皮下注射的优选组合物通常含有等渗媒剂。此类组合物可以经制备用于作为与表面活性剂(例如羟丙基纤维素)适当混合的游离碱或药理学上可接受的盐于水中的溶液来施用。还可以在甘油、液体聚乙二醇及其混合物中以及在油中制备分散液。在普通的储存和使用条件下，这些制剂可以任选地含有防腐剂以防止微生物生长。

[0180] 可注射组合物可以包括无菌水性溶液、悬浮液或分散液,以及用于临时制备无菌可注射溶液、悬浮液或分散液的无菌粉末。在所有实施例中,该形式必须是无菌的,并且流动性必须达到存在易可注射性的程度。其必须在制造和储存条件下稳定,并且必须通过任选地包括防腐剂来抵抗微生物(例如细菌和真菌)的污染作用。载体可以是溶剂或分散介质,其含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)、其适合的混合物以及植物油。在考虑到的一个实施例中,载体是非水性的或基本上非水性的。适当流动性可以例如通过以下方式来保持:通过使用包衣,例如卵磷脂;在分散液的实施例中通过保持化合物的所需粒径;以及通过使用表面活性剂。对微生物作用的防止可以通过各种抗细菌剂和抗真菌剂来实现,例如对羟苯甲酸酯、氯丁醇、酚、山梨酸、硫柳汞等。在许多实施例中,包括等渗剂(例如,糖或氯化钠)将是优选的。可注射组合物的延长吸收可以通过在组合物中使用吸收延迟剂(例如,单硬脂酸铝和明胶)来实现。

[0181] 无菌可注射溶液通过以下方式来制备:将活性化合物以所需量掺入视需要含有上文所列举的各种其他成分的适当溶剂中,之后过滤灭菌。通常,分散液通过以下方式来制备:将各种经灭菌活性成分掺入无菌媒剂中,该媒剂含有基础分散介质和来自上文所列举的那些的其他所需成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的实施例中,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术,其产生活性成分加来自其预先经无菌过滤的溶液的任何所需的其它成分的粉末。

[0182] 还可以制备缓慢释放或持续释放配制品,以实现在胃肠道中与体液接触的活性化合物的受控释放,并且在血浆中提供基本上恒定且有效的活性化合物水平。例如,可以通过溶解、扩散和离子交换中的一种或多种来控制释放。另外,缓慢释放方法可以通过胃肠道内的可饱和或限制通路促进吸收。例如,出于这个目的,可以将化合物包埋于生物可降解聚合物、水溶性聚合物或二者的混合物以及任选地适合的表面活性剂的聚合物基质中。在这种情况下,包埋可以意指在聚合物基质中掺入微粒。还通过经由已知的分散液或乳液包衣技术囊封经分散的微粒或经乳化的微滴来获得受控释放配制品。

[0183] 对于通过吸入施用,本发明的化合物便捷地以气溶胶喷雾呈递的形式从加压包装或雾化器使用适合的推进剂来递送。在加压气溶胶的实施例中,可以通过提供阀来确定剂量单位,以递送经计量的量。用于吸入器或吹入器的例如明胶的胶囊和药筒可以经配制含有化合物与适合的粉末基质(例如乳糖或淀粉)的粉末混合物。

[0184] 本文所披露的化合物可以经配制用于通过注射(例如,通过推注或连续输注)肠胃外施用。注射用配制品能以单位剂型(例如,于安瓿中或于多剂量容器中)呈现,并添加有防腐剂。组合物可以采取例如以下等形式:于油性或水性媒剂中的悬浮液、溶液或乳液,并且可以含有配制剂,例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。

[0185] 用于肠胃外施用的药物配制品包括呈水溶性形式的化合物的水溶液。另外,可以将化合物的悬浮液制备为适当的油性注射悬浮液。适合的亲脂性溶剂或媒剂包括脂肪油或合成脂肪酸酯。水性注射悬浮液可以含有提高悬浮液粘度的物质。任选地,悬浮液还可以含有适合的稳定剂或提高化合物的溶解度并允许制备高度浓缩的溶液的试剂。可替代地,本发明组合物可以呈粉末形式以供在使用前用适合的媒剂(例如,无菌无热原水)构造。

[0186] 本文所披露的化合物还可以配制于直肠组合物中,例如栓剂或滞留型灌肠剂(例如,含有常规栓剂基质)。除了先前所述的配制品以外,还可以将化合物配制为长效制剂。此

类长效配制品可以通过植入(例如,皮下或肌内)或通过肌内注射来施用。因此,例如,化合物可以用适合的聚合或疏水材料(例如,作为可接受的油中的乳液)或离子交换树脂,或作为微溶衍生物(例如,作为微溶盐)来配制。

[0187] 特别地,本文所披露的化合物能以含有赋形剂(例如淀粉或乳糖)的片剂的形式,或以单独的或与赋形剂混合的胶囊或珠囊(ovule),或以含有矫味剂或着色剂的酏剂或悬浮液的形式,口服、经颊或舌下施用。此类液体制剂可以用药学上可接受的添加剂(例如悬浮剂)来制备。还可以肠胃外注射化合物,例如静脉内、肌内、皮下或冠状动脉内。对于肠胃外施用,化合物最佳地以无菌水溶液的形式来使用,其可以含有其他物质,例如盐或糖醇(例如甘露醇)或葡萄糖,以使溶液与血液等渗。

[0188] 对于兽用,本文所披露的化合物根据正规兽医实践作为适合地可接受的配制品来施用。兽医可以容易地确定对于特定动物最适合的给药方案和施用途径。

[0189] 在一些实施例中,可以将用于使用如本文所披露的化合物(单独的或与传统地用于治疗这种疾病的另一种药剂或干预组合的)治疗KRAS相关障碍的所有所需组分包装至剂盒中。具体地,本发明提供了用于疾病的治疗干预的剂盒,该剂盒包含经包装的成套药物,包括本文所披露的化合物以及用于制备所述药物的可递送形式的缓冲液和其他组分;和/或用于递送此类药物的装置;和/或用于与本文所披露的化合物的组合疗法的任何药剂;和/或与药物一起包装的疾病治疗说明书。说明书可以固定于任何可触摸介质中,例如印刷纸张、或计算机可读的磁性或光学介质、或参考远程计算机数据源的说明,例如可通过互联网访问的万维网网页。

[0190] “治疗有效量”意指有效治疗或预防所治疗受试者的已有症状的发展或减轻已有症状的量。尤其根据本文所提供的详细披露,有效量的确定完全在本领域技术人员的能力范围内。通常,“治疗有效剂量”是指导致实现所需效果的化合物的量。例如,在一个优选实施例中,与对照相比,治疗有效量的本文所披露的化合物将KRAS活性降低至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%或至少90%。

[0191] 所施用的化合物的量可以取决于所治疗的受试者、受试者的年龄、健康状况、性别和体重、并行治疗(如果有)的种类、病情的严重程度、所需效果的性质、治疗的方式和频率以及开处方医师的判断。给药频率还可以取决于对动脉氧分压的药效学作用。然而,可以根据个别受试者调整最优选的剂量,如本领域技术人员所理解并且不经过度实验即可确定的。这通常包括调整标准剂量(例如,如果患者体重低,那么减小剂量)。

[0192] 虽然个体需求不同,但化合物的有效量的最佳范围的确定是在本领域技术范围的。对于在本文所鉴别的病症和障碍的治愈性或预防性治疗中施用人类,例如,本发明的化合物的典型剂量可以是约0.05mg/kg/天至约50mg/kg/天,例如至少0.05mg/kg、至少0.08mg/kg、至少0.1mg/kg、至少0.2mg/kg、至少0.3mg/kg、至少0.4mg/kg或至少0.5mg/kg,并且优选地50mg/kg或更少、40mg/kg或更少、30mg/kg或更少、20mg/kg或更少或10mg/kg或更少,例如,其可以是约2.5mg/天(0.5mg/kg x 5kg)至约5000mg/天(50mg/kg x 100kg)。例如,化合物的剂量可以是约0.1mg/kg/天至约50mg/kg/天、约0.05mg/kg/天至约10mg/kg/天、约0.05mg/kg/天至约5mg/kg/天、约0.05mg/kg/天至约3mg/kg/天、约0.07mg/kg/天至约3mg/kg/天、约0.09mg/kg/天至约3mg/kg/天、约0.05mg/kg/天至约0.1mg/kg/天、约0.1mg/

kg/天至约1mg/kg/天、约1mg/kg/天至约10mg/kg/天、约1mg/kg/天至约5mg/kg/天、约1mg/kg/天至约3mg/kg/天、约3mg/天至约500mg/天、约5mg/天至约250mg/天、约10mg/天至约100mg/天、约3mg/天至约10mg/天或约100mg/天至约250mg/天。此类剂量能以单一剂量来施用,或者可以将其分为多个剂量。

[0193] 使用KRAS G12C抑制剂的方法

[0194] 本披露提供了抑制RAS介导的细胞信号传导的方法,该方法包括使细胞与有效量的一种或多种本文所披露的化合物接触。对RAS介导的信号转导的抑制可以通过本领域已知的众多种方式来评估和证实。非限制性实例包括显示以下项:(a) RAS的GTP酶活性的降低;(b) GTP结合亲和性的降低或GDP结合亲和性的增加;(c) GTP的K解离的增加或GDP的K解离的减小;(d) RAS途径中下游的信号传导分子水平的降低,例如pMEK、pERK或pAKT水平的降低;和/或(e) RAS复合物与下游信号传导分子(包括但不限于Raf)的结合的降低。可以利用试剂盒和市售测定来确定上述项中的一种或多种。

[0195] 本披露还提供了使用本披露的化合物或药物组合物治疗疾病病症的方法,这些疾病病症包括但不限于受累于G12C KRAS、HRAS或NRAS突变的病症(例如,癌症)。

[0196] 在一些实施例中,提供了治疗癌症的方法,该方法包括向有需要的受试者施用有效量的任一种包含如本文所披露的化合物的前述药物组合物。在一些实施例中,癌症是由KRAS、HRAS或NRAS G12C突变介导的。在各个实施例中,癌症是胰腺癌、结肠直肠癌或肺癌。在一些实施例中,癌症是胆囊癌、甲状腺癌和胆管癌。

[0197] 在一些实施例中,本披露提供了治疗有需要的受试者的障碍的方法,其中所述方法包括确定受试者是否具有KRAS、HRAS或NRAS G12C突变,以及如果确定受试者具有KRAS、HRAS或NRAS G12C突变,那么向受试者施用治疗有效剂量的至少一种如本文所披露的化合物或其药学上可接受的盐。

[0198] 所披露化合物抑制非锚定依赖性细胞生长,并且因此具有抑制肿瘤转移的潜力。因此,本披露的另一个实施例提供了抑制肿瘤转移的方法,所述方法包括施用有效量的本文所披露的化合物。

[0199] 还已经在血液恶性肿瘤(例如,影响血液、骨髓和/或淋巴结的癌症)中鉴别出KRAS、HRAS或NRAS G12C突变。因此,某些实施例涉及将所披露化合物(例如,呈药物组合物形式)施用需要治疗血液恶性肿瘤的患者。此类恶性肿瘤包括但不限于白血病和淋巴瘤。例如,当前所披露的化合物可以用于治疗例如以下等疾病:急性淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)、慢性髓性白血病(CML)、急性单核细胞白血病(AMoL)和/或其他白血病。在其他实施例中,这些化合物可用于治疗淋巴瘤,例如所有亚型的霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。在各个实施例中,这些化合物可用于治疗浆细胞恶性肿瘤,例如多发性骨髓瘤、套细胞淋巴瘤和华氏巨球蛋白血症。

[0200] 确定肿瘤或癌症是否包含G12C KRAS、HRAS或NRAS突变可以通过评估编码KRAS、HRAS或NRAS蛋白的核苷酸序列,通过评估KRAS、HRAS或NRAS蛋白的氨基酸序列,或通过评估推定的KRAS、HRAS或NRAS突变体蛋白的特征来进行。野生型人类KRAS、HRAS或NRAS的序列是本领域已知的(例如,登录号NP203524)。

[0201] 检测KRAS、HRAS或NRAS核苷酸序列中的突变的方法是本领域技术人员已知的。这些方法包括但不限于聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)测定、聚合酶链

式反应-单链构象多态性 (PCR-SSCP) 测定、实时PCR测定、PCR测序、突变体等位基因特异性PCR扩增 (MASA) 测定、直接测序、引物延伸反应、电泳、寡核苷酸连接测定、杂交测定、TaqMan 测定、SNP基因分型测定、高分辨率熔解测定和微阵列分析。在一些实施例中,通过实时PCR针对G12C KRAS、HRAS或NRAS突变评估样品。在实时PCR中,使用对KRAS、HRAS或NRAS G12C突变具特异性的荧光探针。在突变存在时,探针结合并检测到荧光。在一些实施例中,使用KRAS、HRAS或NRAS基因中的特定区域(例如,外显子2和/或外显子3)的直接测序方法来鉴别KRAS、HRAS或NRAS G12C突变。这种技术将鉴别所测序区域中所有可能的突变。

[0202] 用于检测KRAS、HRAS或NRAS蛋白中的突变的方法是本领域技术人员已知的。这些方法包括但不限于使用对突变体蛋白具特异性的结合剂(例如,抗体)检测KRAS、HRAS或NRAS突变体、蛋白质电泳和蛋白质印迹法、以及直接肽测序。

[0203] 用于确定肿瘤或癌症是否包含G12C KRAS、HRAS或NRAS突变的方法可以使用多种样品。在一些实施例中,样品取自患有肿瘤或癌症的受试者。在一些实施例中,样品是新鲜肿瘤/癌症样品。在一些实施例中,样品是冷冻肿瘤/癌症样品。在一些实施例中,样品是福尔马林固定且石蜡包埋的样品。在一些实施例中,样品是循环肿瘤细胞(CTC)样品。在一些实施例中,样品经处理成细胞溶解产物。在一些实施例中,样品经处理成DNA或RNA。

[0204] 本披露还涉及治疗哺乳动物的过度增生障碍的方法,该方法包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的如本文所披露的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,所述方法涉及治疗患有癌症的受试者,该癌症是例如急性髓样白血病、青少年癌症、儿童肾上腺皮质癌、AIDS相关癌症(例如,淋巴瘤和卡波西肉瘤)、肛门癌、阑尾癌、星形细胞瘤、非典型畸胎样瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑干细胞神经胶质瘤、脑瘤、乳腺癌、支气管肿瘤、伯基特淋巴瘤、类癌瘤、非典型畸胎样瘤、胚胎瘤、胚细胞瘤、原发性淋巴瘤、宫颈癌、儿童癌症、脊索瘤、心脏肿瘤、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、慢性骨髓增生性障碍、结肠癌、结肠直肠癌、颅咽管瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、肝外导管原位癌(DCIS)、胚胎瘤、CNS癌症、子宫内膜癌、室管膜瘤、食管癌、鼻腔神经胶质瘤、尤文肉瘤、颅外胚细胞瘤、性腺外胚细胞瘤、眼癌、骨纤维组织细胞瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠类癌瘤、胃肠道间质瘤(GIST)、胚细胞瘤、妊娠滋养细胞瘤、毛细胞白血病、头颈癌、心脏癌症、肝癌、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、眼内黑色素瘤、胰岛细胞瘤、胰腺神经内分泌肿瘤、肾癌、喉癌、嘴唇和口腔癌、肝癌、^{[[SEP]]}小叶原位癌(LCIS)、^{[[SEP]]}肺癌、淋巴瘤、转移性伴隐匿性原发性鳞状颈癌、^{[[SEP]]}中线癌、^{[[SEP]]}口腔癌、^{[[SEP]]}多发性内分泌瘤综合征、^{[[SEP]]}多发性骨髓瘤/浆细胞肿瘤、^{[[SEP]]}蕈样真菌病、骨髓增生异常综合征、脊髓发育不良/骨髓增生肿瘤、多发性骨髓瘤、梅克尔细胞癌、恶性间皮瘤、骨恶性纤维组织细胞瘤和骨肉瘤、鼻腔和副鼻窦癌、^{[[SEP]]}鼻咽癌、神经母细胞瘤、^{[[SEP]]}非霍奇金淋巴瘤、^{[[SEP]]}非小细胞肺癌(NSCLC)、口癌、嘴唇和口腔癌、口咽癌、卵巢癌、胰腺癌、乳头瘤病、副神经节瘤、^{[[SEP]]}副鼻窦和鼻腔癌、^{[[SEP]]}甲状旁腺癌、^{[[SEP]]}阴茎癌、^{[[SEP]]}咽癌、^{[[SEP]]}胸膜肺母细胞瘤、原发性中枢神经系统(CNS)淋巴瘤、^{[[SEP]]}前列腺癌、直肠癌、移行细胞癌、^{[[SEP]]}视网膜母细胞瘤、^{[[SEP]]}横纹肌肉瘤、涎腺癌、皮肤癌、胃(stomach/gastric)癌、小细胞肺癌、^{[[SEP]]}小肠癌、^{[[SEP]]}软组织肉瘤、T细胞淋巴瘤、^{[[SEP]]}睾丸癌、咽喉癌、^{[[SEP]]}胸腺瘤和胸腺癌、甲

状腺癌、肾盂和输尿管移行细胞癌、滋养细胞瘤、儿童罕见癌症、 $[SEP]$ 尿道癌、子宫肉瘤、阴道癌、外阴癌或病毒诱发的癌症。在一些实施例中，所述方法涉及治疗非癌性过度增生障碍，例如皮肤的良性增生（例如，银屑病）、再狭窄或前列腺（例如，良性前列腺肥大（BPH））。

[0205] 在一些实施例中，治疗方法涉及治疗肺癌，这些方法包括向有需要的受试者施用有效量的任一种上述化合物（或包含该化合物的药物组合物）。在某些实施例中，肺癌是非小细胞肺癌（NSCLC），例如腺癌、鳞状细胞肺癌或大细胞肺癌。在一些实施例中，肺癌是小细胞肺癌。可用所披露化合物治疗的其他肺癌包括但不限于腺瘤、类癌瘤和未分化癌。

[0206] 本披露进一步提供了调节G12C突变体KRAS、HRAS或NRAS蛋白活性的方法，其通过使该蛋白质与有效量的本披露的化合物接触来进行。调节可以是抑制或激活蛋白质活性。在一些实施例中，本披露提供了抑制蛋白质活性的方法，其通过使G12C突变体KRAS、HRAS或NRAS蛋白与有效量的本披露的化合物在溶液中接触来进行。在一些实施例中，本披露提供了抑制G12C突变体KRAS、HRAS或NRAS蛋白活性的方法，其通过接触表达感兴趣的蛋白质的细胞、组织或器官来进行。在一些实施例中，本披露提供了在包括但不限于啮齿动物和哺乳动物（例如，人类）的受试者中抑制蛋白质活性的方法，其通过向该受试者施用有效量的本披露的化合物来进行。在一些实施例中，调节百分比超过25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施例中，抑制百分比超过25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。

[0207] 在一些实施例中，本披露提供了抑制细胞中的KRAS、HRAS或NRAS G12C活性的方法，其通过使所述细胞与一定量的本披露的化合物接触来进行，该量足以抑制所述细胞中KRAS、HRAS或NRAS G12C的活性。在一些实施例中，本披露提供了抑制组织中的KRAS、HRAS或NRAS G12C活性的方法，其通过使所述组织与一定量的本披露的化合物接触来进行，该量足以抑制所述组织中KRAS、HRAS或NRAS G12C的活性。在一些实施例中，本披露提供了抑制生物体中的KRAS、HRAS或NRAS G12C活性的方法，其通过使所述生物体与一定量的本披露的化合物接触来进行，该量足以抑制所述生物体中KRAS、HRAS或NRAS G12C的活性。在一些实施例中，本披露提供了抑制动物中的KRAS、HRAS或NRAS G12C活性的方法，其通过使所述动物与一定量的本披露的化合物接触来进行，该量足以抑制所述动物中KRAS、HRAS或NRAS G12C的活性。在一些实施例中，本披露提供了抑制哺乳动物中的KRAS、HRAS或NRAS G12C活性的方法，其通过使所述哺乳动物与一定量的本披露的化合物接触来进行，该量足以抑制所述哺乳动物中KRAS、HRAS或NRAS G12C的活性。在一些实施例中，本披露提供了抑制人类中的KRAS、HRAS或NRAS G12C活性的方法，其通过使所述人类与一定量的本披露的化合物接触来进行，该量足以抑制所述人类中KRAS、HRAS或NRAS G12C的活性。本披露提供了治疗需要这种治疗的受试者的由KRAS、HRAS或NRAS G12C活性介导的疾病的方法。

[0208] 组合疗法：

[0209] 本披露还提供了用于组合疗法的方法，其中将已知可调节其他途径或相同途径的其他组分、或甚至靶标酶的重叠集合的药剂与本披露的化合物或其药学上可接受的盐组合使用。在一个方面中，这种疗法包括但不限于一种或多种本披露的化合物与化学治疗剂、治疗性抗体和辐射治疗的组合，以提供协同或累加的治疗效果。

[0210] 许多化学治疗剂目前是本领域已知的，并且可以与本披露的化合物组合使用。在一些实施例中，化学治疗剂选自由以下组成的组：有丝分裂抑制剂、烷基化剂、抗代谢药、嵌

入抗生素、生长因子抑制剂、细胞周期抑制剂、酶、拓扑异构酶抑制剂、生物反应修饰剂、抗激素药、血管发生抑制剂和抗雄激素。非限制性实例是化学治疗剂、细胞毒性剂和非肽小分子，例如 **Gleevec®** (甲磺酸伊马替尼)、**Kyprolis®** (卡非佐米 (carfilzomib))、**Velcade®** (硼替佐米)、Casodex (比卡鲁胺)、**Iressa®** (吉非替尼) 和阿霉素 (Adriamycin) 以及多种化学治疗剂。化学治疗剂的非限制性实例包括烷基化剂，例如噻替派和环磷酰胺 (CYTOXANTM™)；烷基磺酸酯，例如白消安、英丙舒凡 (improsulfan) 和哌泊舒凡 (piposulfan)；氮丙啶，例如苯佐替哌 (benzodopa)、卡波醌、美妥替哌 (meturedopa) 和乌瑞替哌 (uredopa)；乙烯亚胺和甲基蜜胺 (methylamelamine)，包括六甲蜜胺、三亚乙基蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺 (triethylenethiophosphoramidate) 和三羟甲基蜜胺 (trimethylolomelamine)；氮芥，例如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺 (cholophosphamide)、雌氮芥、异环磷酰胺、二氯甲基二乙胺、盐酸甲氧氮芥 (mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑、新恩比兴 (novembichin)、苯芥胆甾醇 (phenesterine)、泼尼莫司汀、曲磷胺、尿嘧啶氮芥；亚硝基脲，例如卡莫司汀、氯脲霉素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀；抗生素，例如阿克拉霉素 (aclacinomycin)、放线菌素 (actinomycin)、安曲霉素 (authramycin)、重氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素 (cactinomycin)、卡奇霉素 (calicheamicin)、卡柔比星 (carabycin)、洋红霉素、嗜癌菌素 (carzinophilin)、Casodex™、色霉素、更生霉素、道诺霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、多柔比星、表柔比星、依索比星、伊达比星、麻西罗霉素 (marcellomycin)、丝裂霉素、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素 (potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素 (quelamycin)、罗多比星、链黑菌素、链脲霉素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星；抗代谢药，例如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶 (5-FU)；叶酸类似物，例如二甲叶酸 (denopterin)、甲氨蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙；嘌呤类似物，例如氟达拉滨、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤；嘧啶类似物，例如安西他滨 (azacitidine)、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟 (carmofur)、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷，雄激素例如卡普睾酮、屈他雄酮丙酸酯 (dromostanolone propionate)、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯；抗肾上腺药，例如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦；叶酸补充剂，例如亚叶酸 (frolinic acid)；醋葡萄糖内酯 (aceglatone)；醛磷酰胺糖苷 (aldophosphamide glycoside)；氨基乙酰丙酸 (aminolevulinic acid)；安吡啶 (amsacrine)；倍曲布西 (bestrabucil)；比生群 (bisantrene)；依达曲沙 (edatraxate)；地磷酰胺 (defofamine)；秋水仙胺 (demecolcine)；地吡醌 (diaziquone)；依氟鸟氨酸 (elfomithine)；依利醋铵 (elliptinium acetate)；依托格鲁 (etoglucid)；硝酸镓 (gallium nitrate)；羟基脲 (hydroxyurea)；香菇多糖 (lentinan)；氯尼达明 (lonidamine)；米托胍脲 (mitoguazone)；米托蒽醌 (mitoxantrone)；莫哌达醇 (mopidamol)；硝氨丙吡啶 (nitracrine)；喷司他汀 (pentostatin)；蛋胺氮芥 (phenamet)；吡柔比星 (pirarubicin)；鬼臼酸 (podophyllinic acid)；2-乙基酰肼 (2-ethylhydrazide)；丙卡巴肼 (procarbazine)；PSK；丙亚胺 (razoxane)；西佐喃 (sizofiran)；锗螺胺 (spirogermanium)；细交链孢菌酮酸 (tenuazonic acid)；三亚胺醌 (triaziquone)；2,2',2''-三氯三乙胺；乌拉坦 (urethan)；长春地辛 (vindesine)；达卡巴嗪 (dacarbazine)；甘露莫司汀 (mannomustine)；二溴甘露醇 (mitobronitol)；二溴卫矛醇 (mitolactol)；哌泊溴烷 (pipobroman)；加赛特辛 (gacytosine)；阿拉伯糖苷 (“Ara-C”)；环

磷酰胺；噻替派；紫杉烷(taxane)，例如太平洋紫杉醇(paclitaxel)及多西他赛(docetaxel)；视黄酸(retinoic acid)；埃斯波霉素(esperamicin)；卡培他滨(capecitabine)；以及上述任何一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0211] 作为适合的化学治疗性细胞调理剂还包括用于调节或抑制激素对肿瘤的作用的抗激素剂，例如抗雌激素药，包括例如他莫昔芬(NolvadexTM)、雷洛昔芬、芳香酶抑制性4(5)-咪唑、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、可莫昔芬(keoxifene)、LY 117018、奥那司酮和托瑞米芬(法乐通)；和抗雄激素药，例如氟他胺(flutamide)、尼鲁米特(nilutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)及戈舍瑞林(goserelin)；苯丁酸氮芥(chlorambucil)；吉西他滨(gemcitabine)；6-硫鸟嘌呤；巯嘌呤；甲氨蝶呤；铂类似物，例如顺铂和卡铂；长春碱(vinblastine)；铂；依托泊苷(etoposide)(VP-16)；异环磷酰胺；丝裂霉素C；米托蒽醌(mitoxantrone)；长春新碱(vincristine)；长春瑞滨(vinorelbine)；诺维本(navelbine)；诺安托(novantrone)；替尼泊苷(teniposide)；道诺霉素(daunomycin)；氨基蝶呤；希罗达(xeloda)；伊班膦酸盐(ibandronate)；喜树碱-11(CPT-11)；拓朴异构酶抑制剂RFS 2000；二氟甲基鸟氨酸(DMFO)。

[0212] 如果需要，本披露的化合物或药物组合物可以与通常开具的抗癌药物组合使用，例如 Herceptin®、Avastin®、Erbix®、Rituxan®、Taxol®、Arimidex®、Taxotere®、ABVD、阿维金(AVICINE)、阿巴伏单抗(Abagovomab)、吡啶羧酰胺(Acridine carboxamide)、阿德木单抗(Adecatumumab)、17-N-烯丙基氨基-17-去甲氧基格尔德霉素、阿法雷丁(Alpharadin)、阿瓦昔地(Alvocidib)、3-氨基吡啶-2-甲醛氨基硫脲、氨茶非特(Amonafide)、蒽二酮(Anthracenedione)、抗CD22免疫毒素、抗肿瘤药、抗肿瘤发生草药(Antitumorigenic herbs)、阿帕兹醌(Apaziquone)、阿替莫德(Atiprimod)、硫唑嘌呤(Azathioprine)、贝洛替康(Belotecan)、苯达莫司汀(Bendamustine)、BIBW 2992、比立考达(Biricodar)、伯斯塔利辛(Brostallicin)、苔藓抑素(Bryostatin)、丁硫氨酸亚砷胺(Buthionine sulfoximine)、CBV(化学疗法)、花萼海绵诱癌素(Calyculin)、细胞周期非特异性抗肿瘤剂、二氯乙酸、圆皮海绵内酯(Discodermolide)、依沙芦星(Elsamitrucin)、依诺他滨(Enocitabine)、埃博霉素(Epothilone)、艾日布林(Eribulin)、依维莫司(Everolimus)、依沙替康(Exatecan)、依昔舒林(Exisulind)、铁锈醇(Ferruginol)、氟罗德辛(Forodesine)、磷雌酚(Fosfestrol)、ICE化学治疗方案、IT-101、伊美克(Imexon)、咪喹莫特(Imiquimod)、吲哚并咪唑(Indolocarbazole)、伊罗夫文(Irofulven)、拉尼喹达(Laniquidar)、拉洛他赛(Larotaxel)、来那度胺(Lenalidomide)、硫蒽酮(Lucanthone)、勒托替康(Lurtotecan)、马磷酰胺(Mafosfamide)、米托唑胺(Mitozolomide)、萘福昔定(Nafoxidine)、奈达铂(Nedaplatin)、奥拉帕尼(Olaparib)、沃塔紫杉醇(Ortaxel)、PAC-1、木瓜(Pawpaw)、匹杉琼(Pixantrone)、蛋白酶体抑制剂、蝴蝶霉素(Rebeccamycin)、瑞喹莫德(Resiquimod)、鲁比特康(Rubitecan)、SN-38、盐孢菌酰胺A(Salinosporamide A)、沙帕他滨(Sapacitabine)、斯坦福V(Stanford V)、苦马豆素(Swainsonine)、他拉泊芬(Talaporfin)、塔利喹达(Tariquidar)、优福定(Tegafur-uracil)、特莫多(Temodar)、替司他赛(Tesetaxel)、四硝酸三铂(Triplatin tetranitrate)、三(2-氯乙基)胺、曲沙他滨(Troxacitabine)、乌拉莫司汀(Uramustine)、瓦帝莫泽(Vadimezan)、长春氟宁(Vinflunine)、ZD6126或唑喹达(Zosuquidar)。

[0213] 本披露进一步涉及使用本文所提供的化合物或药物组合物与放射疗法的组合在哺乳动物中抑制异常细胞生长或治疗过度增生障碍的方法。施用放射疗法的技术是本领域已知的,并且这些技术可以用于本文所述的组合疗法中。这种组合疗法中本披露的化合物的施用可以如本文所述来确定。

[0214] 放射疗法可以通过若干种方法之一或方法的组合来施用,包括但不限于外射束疗法、内放射疗法、植入物放射、立体定位性放射外科手术、全身放射疗法、放射疗法和永久性或临时性间质近距离放射疗法。如本文所用,术语“近距离放射疗法”是指通过空间受限的放射性材料递送的放射疗法,该放射性材料是在肿瘤或其他增生性组织患病位点处或附近插入体内的。该术语意图不受限制地包括暴露于放射性同位素(例如,At-211、I-131、I-125、Y-90、Re-186、Re-188、Sm-153、Bi-212、P-32和Lu的放射性同位素)。用作本披露的细胞调理剂的适合的放射源包括固体和液体。通过非限制性实例,放射源可以是放射性核素,例如作为固体来源的I-125、I-131、Yb-169、Ir-192,作为固体来源的I-125,或发射光子、 β 粒子、 γ 辐射或其他治疗性射线的其他放射性核素。放射性材料还可以是从一种或多种放射性核素的任何溶液(例如,I-125或I-131的溶液)制备的流体,或者放射性流体可以使用含有固体放射性核素(例如Au-198、Y-90)的小颗粒的适合的流体的浆液产生。此外,可以将一种或多种放射性核素包埋于凝胶或放射性微球中。

[0215] 本披露的化合物或药物组合物可以与一定量的一种或多种选自以下的物质组合使用:抗血管发生剂、信号转导抑制剂、抗增殖剂、糖酵解抑制剂或自体吞噬抑制剂。

[0216] 抗血管发生剂可以结合本披露的化合物和本文所述的药物组合物使用,这些抗血管发生剂是例如MMP-2(基质金属蛋白酶2)抑制剂、MMP-9(基质金属蛋白酶9)抑制剂和COX-11(环氧酶11)抑制剂。抗血管发生剂包括例如雷帕霉素、替西罗莫司(temsirolimus, CCI-779)、依维莫司(RAD001)、索拉非尼、舒尼替尼和贝伐单抗。有用COX-II抑制剂的实例包括阿来昔布(alecoxib)、伐地昔布和罗非昔布。有用基质金属蛋白酶抑制剂的实例描述于以下专利中:W096/33172、W0 96/27583、欧洲专利公开案EP 0818442、欧洲专利公开案EP 1004578、W0 98/07697、W0 98/03516、W0 98/34918、W098/34915、W0 98/33768、W0 98/30566、欧洲专利公开案606046、欧洲专利公开案931 788、W0 90/05719、W0 99/52910、W0 99/52889、W0 99/29667、W0 1999007675、欧洲专利公开案EP 1786785、欧洲专利公开案号EP1181017、美国公开案号US 20090012085、美国公开案US 5863 949、美国公开案US 5861 510和欧洲专利公开案EP0780386,将所有这些专利通过引用以其整体并入本文。优选的MMP-2和MMP-9抑制剂是具有极小或无抑制MMP-1的活性的那些。更优选的是相对于其他基质金属蛋白酶(即,MAP-1、MMP-3、MMP-4、MMP-5、MMP-6、MMP-7、MMP-8、MMP-10、MMP-11、MMP-12和MMP-13)选择性抑制MMP-2和/或AMP-9的那些。可用于本披露中的MMP抑制剂的一些具体实例是AG-3340、R0 32-3555和RS13-0830。

[0217] 本发明化合物还可以用于与其他抗癌剂的共同疗法中,这些其他抗癌剂是例如醋孟南(acemannan)、阿柔比星、阿地白介素、阿仑单抗(alemtuzumab)、阿利维A酸(alitretinoin)、六甲蜜胺、氨磷汀、氨基乙酰丙酸、氨柔比星、安吡啶、阿那格雷、阿那曲唑、ANCER、安西司亭(ancestim)、阿加来必(ARGLABIN)、三氧化二砷、BAM002(诺夫洛斯公司(Novelos))、贝沙罗汀(bexarotene)、比卡鲁胺、溴尿苷、卡培他滨、西莫白介素、西曲瑞克、克拉屈滨、克霉唑、阿糖胞苷十八烷基磷酸盐(cytarabine ocfosphate)、DA 3030(Dong-A)、

达克珠单抗(daclizumab)、地尼白介素(denileukin diftitox)、地洛瑞林(deslorelin)、右雷佐生、地拉卓(dilazep)、多西他赛、二十二醇、度骨化醇(doxercalciferol)、去氧氟尿苷、多柔比星、溴隐亭、卡莫司汀、阿糖胞苷、氟尿嘧啶、HIT双氯酚酸、干扰素- α 、道诺霉素、多柔比星、维甲酸、依地福新、依决洛单抗、依氟鸟氨酸(eflornithine)、乙嘧替氟、表柔比星、红细胞生成素 β 、磷酸依托泊苷、依西美坦、依昔舒林(exisulind)、法倔唑、非格司亭(filgrastim)、非那雄胺、磷酸氟达拉滨、福美司坦(formestane)、福莫司汀、硝酸镓、吉西他滨、吉妥珠单抗奥唑米星(gemtuzumab zogamicin)、吉美拉西(gimeracil)/奥替拉西(oteracil)/替加氟组合、格莱克滨(glycopine)、戈舍瑞林、庚铂(heptaplatin)、人绒毛膜促性腺素、人类胎儿甲胎蛋白、伊班膦酸、伊达比星、咪唑莫特、干扰素- α 、干扰素- α 、天然干扰素- α -2、干扰素- α -2a、干扰素- α -2b、干扰素- α -N1、干扰素- α -n3、干扰素alfacon-1、干扰素 α 、天然干扰素 β 、干扰素 β -1a、干扰素 β -1b、干扰素 γ 、天然干扰素 γ -1a、干扰素 γ -1b、白介素-1 β 、碘苄胍、伊立替康、伊索拉定(irsogladine)、兰瑞肽(lanreotide)、LC 9018(养乐多集团(Yakult))、来氟米特、来格司亭(lenograstim)、硫酸香菇多糖、来曲唑、白细胞 α 干扰素、亮丙瑞林、左旋咪唑+氟尿嘧啶、利阿唑(liarozole)、洛铂、氯尼达明、洛伐他汀、马索罗酚、美拉肿醇、甲氧氯普胺、米非司酮、米替福新、米立司亭、错配双链RNA、米托胍脞、二溴卫矛醇、米托蒽醌、莫拉司亭(molgramostim)、那法瑞林、纳洛酮+喷他佐辛、那托司亭(nartograstim)、奈达铂、尼鲁米特(nilutamide)、那可丁、新颖红细胞生成刺激蛋白、NSC 631570奥曲肽、奥普瑞白介素(oprelvekin)、奥沙特隆、奥沙利铂(oxaliplatin)、紫杉酚、帕米膦酸(pamidronic acid)、培门冬酶、聚乙二醇干扰素- α -2b、木聚硫钠(pentosan polysulfate sodium)、喷司他丁、毕西巴尼(picibanil)、吡柔比星、兔抗胸腺细胞多克隆抗体、聚乙二醇干扰素- α -2a、吡吩姆钠、雷洛昔芬、雷替曲塞、拉斯伯门特(rasburiembodiment)、羟乙膦酸铼(Re 186)、RII维甲酰胺(RII retinamide)、利妥昔单抗、罗莫肽、来昔决南钐(^{153}Sm) (samarium (^{153}Sm) lexicidronam)、沙格司亭(sargramostim)、西佐喃、索布佐生、索纳明(sonermin)、氯化镨-89、苏拉明、他索那明(tasonermin)、他扎罗汀、替加氟、替莫泊芬(temoporfin)、替莫唑胺、替尼泊苷、四氯十氧化物、沙利度胺、胸腺法新、促甲状腺素 α 、托泊替康(topotecan)、托瑞米芬、托西莫单抗(tositumomab)-碘 131 、曲妥珠单抗、曲奥舒凡、维甲酸、曲洛司坦、三甲曲沙、曲普瑞林、肿瘤坏死因子 α 、天然乌苯美司、膀胱癌疫苗、丸山(Maruyama)疫苗、黑色素瘤裂解物疫苗、戊柔比星(valrubicin)、维替泊芬、长春瑞滨、维鲁利秦(VIRULIZIN)、净司他丁斯酯(zinostatin stimalamer)或唑来膦酸;阿巴瑞克(abarelix);AE 941(依特纳公司(Aeterna))、氨莫司汀(ambamustine)、反义寡核苷酸、bcl-2(珍塔公司(Genta))、APC 8015(丹德里昂公司(Dendreon))、西妥昔单抗、地西他滨(decitabine)、德氨基鲁米特(dexaminoglutethimide)、地吡醌、EL 532(义隆公司(Elan))、EM 800(英杜里奇公司(Endorecherche))、恩尿嘧啶、依他硝唑、芬维A铵(fenretinide)、非格司亭SD01(安进公司(Amgen))、氟维司群、加洛他滨、胃泌素17免疫原、HLA-B7基因疗法(伟科公司(Vical))、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、组胺二盐酸盐、替伊莫单抗、伊洛马司他、IM 862(兴创公司(Cytran))、白介素-2、艾泼昔芬(iproxifene)、LDI 200(米克豪公司(Milkhaus))、来立司亭(leridistim)、林妥珠单抗(lintuzumab)、CA 125MAb(巴米拉公司(Biomira))、癌症MAb(日本制药发展公司(Japan Pharmaceutical Development))、HER-2和Fc MAb(梅达拉公司

(Medarex))、独特型105AD7 MAb(CRC技术公司(CRC Technology))、独特型CEA MAb(特里莱公司(Trilex))、LYM-1-碘131MAb(特尼克隆公司(Techniclone))、多态性上皮粘液素-钇90MAb(安特索玛公司(Antisoma))、马立马司他(marimastat)、美诺立尔、米妥莫单抗(mitumomab)、莫特沙芬钆(motexafin gadolinium)、MX 6(高德美公司(Galderma))、奈拉滨(nelarabine)、诺拉曲塞(nolatrexed)、P 30蛋白、培维索孟(pegvisomant)、培美曲塞、泊非霉素(porfiromycin)、普马司他(prinomastat)、RL 0903(夏尔公司(Shire))、鲁吡替康、沙铂(satraplatin)、苯乙酸钠、斯帕磷酸(sparfosic acid)、SRL 172(SR制药公司(SR Pharma))、SU 5416(苏根公司(SUGEN))、TA 077(田边公司(Tanabe))、四硫钼酸盐、厚果糖松草碱(thaliblastine)、血小板生成素、本紫红素乙酯锡(tin ethyl etiopurpurin)、替拉扎明、癌症疫苗(巴米拉公司)、黑色素瘤疫苗(纽约大学(New York University))、黑色素瘤疫苗(斯隆-凯特琳研究所(Sloan Kettering Institute))、黑色素瘤肿瘤裂解物疫苗(纽约医学院(New York Medical College))、病毒黑色素瘤细胞溶解产物疫苗(皇家纽卡斯尔医院(Royal Newcastle Hospital))或伐司朴达(valsopodar)。

[0218] 本发明的化合物可以进一步与VEGFR抑制剂一起使用。以下专利和专利申请案中所述的其他化合物可以用于组合疗法中:US6,258,812、US 2003/0105091、WO 01/37820、US 6,235,764、W001/32651、US 6,630,500、US 6,515,004、US 6,713,485、US 5,521,184、US 5,770,599、US 5,747,498、WO 02/68406、WO 02/66470、W002/55501、WO 04/05279、WO 04/07481、WO 04/07458、WO 04/09784、WO 02/59110、WO 99/45009、WO 00/59509、WO 99/61422、US5,990,141、WO 00/12089和WO 00/02871。

[0219] 在一些实施例中,该组合包含本发明的组合物与至少一种抗血管发生剂的组合。药剂包括但不限于在体外以合成方式制备的化学组合物、抗体、抗原结合区、放射性核素及其组合和缀合物。药剂可以是激动剂、拮抗剂、变构调节剂、毒素,或者更通常地,可以用于抑制或刺激其靶标(例如,受体或酶激活或抑制),并且由此促进细胞死亡或阻止细胞生长。

[0220] 示例性抗血管发生剂包括ERBITUX™(IMC-C225)、KDR(激酶结构域受体)抑制剂(例如,特异性结合至激酶结构域受体的抗体和抗原结合区)、抗VEGF剂(例如,特异性结合VEGF的抗体或抗原结合区、或可溶VEGF受体或其配体结合区)(例如AVASTIN™或VEGF-TRAPT™)和抗VEGF受体剂(例如,与其特异性结合的抗体或抗原结合区)、EGFR抑制剂(例如,与其特异性结合的抗体或抗原结合区)(例如维克替比(Vectibix)(帕尼单抗)、IRESSAT™(吉非替尼)、TARCEVA™(厄洛替尼)、抗Ang1剂和抗Ang2剂(例如,与其或与其受体(例如Tie2/Tek)特异性结合的抗体或抗原结合区)以及抗Tie2激酶抑制剂(例如,与其特异性结合的抗体或抗原结合区)。本发明的药物组合物还可以包含一种或多种特异性结合生长因子并抑制生长因子的活性的药剂(例如,抗体、抗原结合区或可溶受体),例如肝细胞生长因子(HGF,还称为散射因子)的拮抗剂、以及特异性结合其受体“c-met”的抗体或抗原结合区。

[0221] 其他抗血管发生剂包括阿仑单抗(Campath)、IL-8、B-FGF、Tek拮抗剂(Ceretti等人,美国公开案号2003/0162712;美国专利号6,413,932)、抗TWEAK剂(例如特异性结合抗体或抗原结合区、或可溶性TWEAK受体拮抗剂;参见,Wiley,美国专利号6,727,225)、ADAM解整联蛋白结构域拮抗整联蛋白与其配体的结合(Fanslow等人,美国公开案号2002/0042368)、特异性结合抗-eph受体和/或抗-ephrin抗体或抗原结合区(美国专利号5,981,245、5,728,8135,969,110、6,596,852、6,232,447、6,057,124及其专利家族成员)、抗PDGF-BB拮抗剂

(例如,特异性结合抗体或抗原结合区)以及特异性结合PDGF-BB配体的抗体或抗原结合区和PDGFR激酶抑制剂(例如,与其特异性结合的抗体或抗原结合区)。

[0222] 其他抗血管发生/抗肿瘤剂包括:SD-7784(美国辉瑞公司(Pfizer,USA));西仑吉肽(cilengitide)(德国默克集团(Merck KGaA,Germany),EPO 770622);哌加他尼八钠(pegaptanib octasodium)(美国吉利德科学公司(Gilead Sciences,USA));阿尔法他汀(Alphastatin)(英国BioActa公司(BioActa,UK));M-PGA(美国新基公司(Celgene,USA),US 5712291);伊洛马司他(ilomastat)(美国爱瑞发公司(Arriva,USA),US 5892112);依马西尼(emaxanib)(美国辉瑞公司(Pfizer,USA),US 5792783);瓦他拉尼(vatalanib)(瑞士诺华公司(Novartis,Switzerland));2-甲氧基雌二醇(美国恩特尔公司(EntreMed,USA));TLC ELL-12(爱尔兰义隆公司(Elan,Ireland));阿奈可他乙酸酯(anecortave acetate)(美国爱尔康公司(Alcon,USA)); α -D148 Mab(美国安进公司(Amgen,USA));CEP-7055(美国塞法隆公司(Cephalon,USA));抗-Vn Mab(荷兰克鲁赛尔公司(Crucell,Netherlands))DAC:抗血管发生剂(加拿大康古公司(ConjuChem,Canada));安吉西丁(Angiocidin)(美国英肯制药公司(InKine Pharmaceutical,USA));KM-2550(日本协和发酵工业株式会社(Kyowa Hakko,Japan));SU-0879(美国辉瑞公司(Pfizer,USA));CGP-79787(瑞士诺华公司(Novartis,Switzerland),EP 970070);ARGENT技术(美国阿瑞雅德公司(Ariad,USA));YIGSR-Stealth(美国强生公司(Johnson&Johnson,USA));纤维蛋白原E片段(英国BioActa公司(BioActa,UK));血管发生抑制剂(英国特里根公司(Trigen,UK));TBC-1635(美国恩赛斯夫制药公司(Encysive Pharmaceuticals,USA));SC-236(美国辉瑞公司(Pfizer,USA));ABT-567(美国雅培公司(Abbott,USA));转移抑素(美国恩特尔公司(EntreMed,USA));血管发生抑制剂(瑞典特里普公司(Tripep,Sweden));丝氨酸蛋白酶抑制剂(maspin)(日本创生公司(Sosei,Japan));2-甲氧基雌二醇(美国肿瘤科学公司(Oncology Sciences Corporation,USA));ER-68203-00(美国安维世公司(IVAX,USA));氟草胺(美国莱恩实验室(Lane Labs,USA));Tz-93(日本津村公司(Tsumura,Japan));TAN-1120(日本武田公司(Takeda,Japan));FR-111142(日本藤泽公司(Fujisawa,Japan),JP 02233610);血小板因子4(美国瑞普利金公司(RepliGen,USA),EP 407122);血管内皮生长因子拮抗剂(丹麦波登公司(Borean,Denmark));贝伐单抗(pINN)(美国基因泰克公司(Genentech,USA));血管发生抑制剂(美国苏根公司(SUGEN,USA));XL 784(美国伊克力西斯公司(Exelixis,USA));XL 647(美国伊克力西斯公司(Exelixis,USA));Mab, α 5 β 3整联蛋白,第二代(美国应用分子进化公司(Applied Molecular Evolution,USA)和美国医学免疫公司(MedImmune,USA));基因疗法,视网膜病(英国牛津生物技术公司(Oxford BioMedica,UK));盐酸泽兰素(USAN)(美国礼来公司(Lilly,USA));CEP 7055(美国赛福龙公司(Cephalon,USA)和法国赛诺菲圣德拉堡(Sanofi-Synthelabo,France));BC 1(意大利热那亚癌症研究院(Genoa Institute of Cancer Research,Italy));血管发生抑制剂(澳大利亚Alchemia公司(Alchemia,Australia));VEGF拮抗剂(美国再生元制药公司(Regeneron,USA));rBPI 21和BPI-衍生的抗血管生成剂(XOMA,USA);PI 88(澳大利亚培罗成公司(Progen,Australia));西仑吉肽(cilengitide)(pINN)(德国默克集团(Merck KGaA,Germany));德国慕尼黑工业大学(Munich Technical University,Germany);美国斯克里普斯诊所和研究基金会(Scripps Clinic and Research Foundation,USA));西妥昔单抗(cetuximab)(INN)(法国安万特公

司(Aventis,France));AVE8062(日本味子素公司(Ajinomoto,Japan));AS 1404(新西兰癌症研究实验室(Cancer Research Laboratory,New Zealand));SG 292(美国特留斯公司(Telios,USA));内皮他丁(Endostatin)(美国波士顿儿童医院(Boston Childrens Hospital,USA));ATN 161(美国艾登公司(Attenuon,USA));血管抑制素(美国波士顿儿童医院(Boston Childrens Hospital,USA));2-甲氧基雌二醇(美国波士顿儿童医院(Boston Childrens Hospital,USA));ZD 6474(英国阿斯利康公司(AstraZeneca,UK));ZD 6126(英国Angiogene制药公司(Angiogene Pharmaceuticals,UK));PPI 2458(美国普雷西斯公司(Praecis,USA));AZD 9935(英国阿斯利康公司(AstraZeneca,UK));AZD 2171(英国阿斯利康公司(AstraZeneca,UK));瓦他拉尼(pINN)(瑞士诺华公司(Novartis,Switzerland)和德国先灵制药公司(Schering AG,Germany));组织因子途径抑制剂(美国恩特尔公司(EntreMed,USA));哌加他尼(pegaptanib)(Pinn)(美国吉利德科学公司(Gilead Sciences,USA));束骨姜黄醇(韩国延世大学(Yonsei University, South Korea));疫苗,基于基因的,VEGF-2(美国斯克里普斯诊所和研究基金会(Scripps Clinic and Research Foundation,USA));SPV5.2(加拿大苏拉特(Supratek,Canada));SDX 103(美国加州大学圣地亚哥分校(University of California at San Diego,USA));PX 478(美国派克斯公司(ProIX,USA));转移抑素(美国恩特尔公司(EntreMed,USA));肌钙蛋白I(美国哈佛大学(Harvard University,USA));SU 6668(美国苏根公司(SUGEN,USA));OXI 4503(OXiGENE, USA);o-胍类促进剂(美国三维制药公司(Dimensional Pharmaceuticals,USA));莫曲霉胺 C(motuporamine C)(加拿大不列颠哥伦比亚大学(British Columbia University, Canada));CDP 791(英国希尔泰克公司(Celltech Group,UK));阿替莫德(atiprimod)(pINN)(英国葛兰素史克公司(GlaxoSmithKline,UK));E 7820(日本卫材公司(Eisai, Japan));CYC 381(美国哈佛大学(Harvard University,USA));AE 941(加拿大依特钠公司(Aeterna,Canada));疫苗,血管发生抑制剂(美国恩特尔公司(EntreMed,USA));尿激酶致纤溶酶原激活物抑制剂(美国特拉华公司(Dendreon,USA));奥谷法奈(oglufanide)(pINN)(美国麦尔墨特公司(Melmotte,USA));HIF-1 α 抑制剂(英国诺瓦公司(Xenova,UK));CEP 5214(美国赛福龙公司(Cephalon,USA));BAY RES 2622(德国拜耳公司(Bayer,Germany));安吉西丁(Angiocidin)(美国英肯公司(InKine,USA));A6(Angstrom,USA);KR 31372(韩国化学技术研究所(Korea Research Institute of Chemical Technology, South Korea));GW 2286(英国葛兰素史克公司(GlaxoSmithKline,UK));EHT 0101(法国埃克森希特公司(ExonHit,France));CP 868596(美国辉瑞公司(Pfizer,USA));CP 564959(OSI,USA);CP 547632(美国辉瑞公司(Pfizer,USA));786034(英国葛兰素史克公司(GlaxoSmithKline, UK));KRN 633(日本麒麟麦酒株式会社(Kirin Brewery,Japan));药物递送系统内,眼内,2-甲氧基雌二醇(美国恩特尔公司(EntreMed,USA));吡卡酯(anginex)(荷兰马斯特里赫特大学(Maastricht University, Netherlands)和美国明尼苏达大学(Minnesota University,USA));ABT 510(美国雅培公司(Abbott,USA));AAL 993(瑞士诺华公司(Novartis,Switzerland));VEGI(美国ProteomTech公司(ProteomTech,USA));肿瘤坏死因子- α 抑制剂(美国国家老龄研究所(National Institute on Aging,USA));SU 11248(美国辉瑞公司(Pfizer,USA)和美国苏根公司(SUGEN,USA));ABT 518(美国雅培公司(Abbott, USA));YH16(中国烟台荣昌公司(Yantai Rongchang,China));S-3APG(美国波士顿儿童医

院(Boston Childrens Hospital,USA)和美国恩特尔公司(EntreMed,USA);Mab,KDR(美国英克隆公司(ImClone Systems,USA));Mab, $\alpha 5\beta 1$ (美国蛋白质设计(Protein Design, USA));KDR激酶抑制剂(英国希尔泰克公司(Celltech Group,UK)和美国强生公司(Johnson&Johnson,USA));GFB 116(美国南佛罗里达大学(South Florida University, USA)和美国耶鲁大学(Yale University,USA));CS 706(日本三共株式会社(Sankyo, Japan));康他汀A4前药(美国亚利桑那州立大学(Arizona State University,USA));软骨素酶AC(IBEX,加拿大(Canada));BAY RES 2690(德国拜耳公司(Bayer,Germany));AGM 1470(美国哈佛大学(Harvard University,USA)、日本武田公司(Takeda,Japan)和美国TAP公司(TAP,USA));AG 13925(美国阿古伦公司(Agouron,USA));四硫钼酸盐(Tetrathiomolybdate)(美国密西根大学(University of Michigan,USA));GCS 100(美国韦恩州立大学(Wayne State University,USA))CV 247(英国常青藤医学团体(Ivy Medical,UK));CKD 732(韩国钟根堂公司(Chong Kun Dang, South Korea));Mab,血管内皮生长因子(英国诺瓦公司(Xenova,UK));伊索拉定(irsogladine)(INN)(日本新药株式会社(Nippon Shinyaku,Japan));RG 13577(法国安万特公司(Aventis,France));WX 360(德国威尔克斯公司(Wilex,Germany));角鲨胺(squalamine)(pINN)(美国金纳莱公司(Genaera, USA));RPI 4610(美国锡尔纳公司(Sirna,USA));癌症疗法(澳大利亚马里诺娃公司(Marinova,Australia));类肝素酶抑制剂(以色列InSight公司(InSight,Israel));KL 3106(韩国科隆公司(Kolon, South Korea));和厚朴酚(Honokiol)(美国埃默里大学(Emory University,USA));ZK CDK(德国先灵公司(Schering AG,Germany));ZK Angio(德国先灵公司(Schering AG,Germany));ZK 229561(瑞士诺华公司(Novartis,Switzerland)和德国先灵公司(Schering AG,Germany));XMP 300(XOMA,USA);VGA 1102(日本大正公司(Taisho,Japan));VEGF受体调节剂(Pharmacopeia,USA[美国药典]);VE-钙黏着蛋白-2拮抗剂(美国英克隆公司(ImClone Systems,USA));血管形成抑制素(美国国立卫生研究院(National Institutes of Health,USA));疫苗,Flk-1(美国英克隆公司(ImClone Systems,USA));TZ 93(日本津村公司(Tsumura,Japan));肿瘤抑素(TumStatin)(美国贝斯以色列医院(Beth Israel Hospital,USA));短的可溶性FLT 1(血管内皮生长因子受体1)(美国默克公司(Merck&Co,USA));Tie-2配体(美国再生元制药公司(Regeneron,USA));和血小板反应蛋白1抑制剂(美国阿勒格尼健康、教育和研究基金会(Allegheny Health, Education and Research Foundation,USA))。

[0223] 自体吞噬抑制剂包括但不限于氯喹、3-甲基腺嘌呤、羟氯喹(Plaquenil™)、巴弗洛霉素A1(bafilomycin A1)、5-氨基-4-咪唑甲酰胺核糖核苷(AICAR)、冈田酸、抑制2A型或1型蛋白磷酸酶的自体吞噬抑制性海藻毒素、cAMP类似物以及升高cAMP水平的药物例如腺苷、LY204002、N6-巯嘌呤核糖核苷和长春碱。另外,还可以使用抑制蛋白质表达的反义或siRNA,这些蛋白质包括但不限于ATG5(其参与自体吞噬)。

[0224] 可以用于治疗癌症并且可以与本发明的一种或多种化合物组合使用的其他药理学活性化合物/药剂包括:阿法依伯汀(epoetin alfa);阿法达贝泊汀(darbepoetin alfa);帕尼单抗;聚乙二醇非格司亭(pegfilgrastim);帕利夫明(palifermin);非格司亭(filgrastim);地诺单抗(denosumab);安西司亭(ancestim);AMG 102;AMG 386;AMG 479;AMG 655;AMG 745;AMG 951;和AMG 706,或其药学上可接受的盐。

[0225] 在某些实施例中,将本文所提供的组合物与化学治疗剂联合给予。适合的化学治疗剂可以包括天然产物,例如长春花生物碱(例如,长春碱、长春新碱和长春瑞滨)、紫杉酚、表鬼臼毒素(Epidipodophyllotoxin)(例如,依托泊苷和替尼泊苷)、抗生素(例如,更生霉素(放线菌素D)、道诺霉素、多柔比星和伊达比星)、蒽环类抗生素、米托蒽醌、博来霉素、普卡霉素(光辉霉素)、丝裂霉素、酶(例如,L-天冬酰胺酶,其系统性地代谢L-天冬酰胺并剥夺不具有合成自身天冬酰胺的能力的细胞)、抗血小板剂、抗增殖/抗有丝分裂烷基化剂(例如氮芥,例如,二氯甲基二乙胺、环磷酰胺和类似物、美法仑和苯丁酸氮芥)、乙烯亚胺和甲基蜜胺(例如,六甲基蜜胺(hexaamethylmelamine)和噻替派)、CDK抑制剂(例如,塞利西利(seliciclib)、UCN-01、P1446A-05、PD-0332991、迪那西利(dinaciclib)、P27-00、AT-7519、RGB286638和SCH727965)、烷基磺酸酯(例如,白消安)、亚硝基脲(例如,卡莫司汀(BCNU)和类似物和链脲霉素)、三氮烯-达卡巴嗪(Trazenes-dacarbazine)(DTIC)、抗增殖/抗有丝分裂抗代谢药例如叶酸类似物(例如,甲氨蝶呤)、嘧啶类似物(例如,氟尿嘧啶、氟尿苷和阿糖胞苷)、嘌呤类似物和相关抑制剂(例如,巯嘌呤、硫鸟嘌呤、喷司他丁和2-氯脱氧腺苷)、芳香酶抑制剂(例如,阿那曲唑、依西美坦和来曲唑)和铂配位复合物(例如,顺铂和卡铂)、丙卡巴肼、羟基脲、米托坦、氨鲁米特、组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂(例如,曲古抑菌素、丁酸钠、阿匹西坦(apicidan)、辛二酰苯胺异羟肟酸(hydroamic acid)、伏立诺他(vorinostat)、LBH 589、罗米地辛(romidepsin)、ACY-1215和帕比司他(panobinostat))、mTor抑制剂(例如,替西罗莫司、依维莫司、地磷莫司(ridaforolimus)和西罗莫司)、KSP(Eg5)抑制剂(例如,Array 520)、DNA结合剂(例如,扎利普斯(Zalypsis))、PI3K δ 抑制剂(例如,GS-1101和TGR-1202)、PI3K δ 和 γ 抑制剂(例如,CAL-130)、多激酶抑制剂(例如,TG02和索拉非尼)、激素(例如,雌激素)和激素激动剂例如黄体化激素释放激素(LHRH)激动剂(例如,戈舍瑞林、亮丙瑞林和曲普瑞林)、BAFF中和性抗体(例如,LY2127399)、IKK抑制剂、p38MAPK抑制剂、抗IL-6(例如,CNT0328)、端粒酶抑制剂(例如,GRN 163L)、极光激酶抑制剂(例如,MLN8237)、细胞表面单克隆抗体(例如,抗CD38(HUMAX-CD38)、抗CS1(例如,埃罗妥珠单抗(elotuzumab))、HSP90抑制剂(例如,17AAG和KOS 953)、P13K/Akt抑制剂(例如,哌立福辛(perifosine))、Akt抑制剂(例如,GSK-2141795)、PKC抑制剂(例如,恩扎妥林)、FTI(例如,ZarnestraTM)、抗CD138(例如,BT062)、Torc1/2特异性激酶抑制剂(例如,INK128)、激酶抑制剂(例如,GS-1101)、ER/UPR靶向剂(例如,MKC-3946)、cFMS抑制剂(例如,ARRY-382)、JAK1/2抑制剂(例如,CYT387)、PARP抑制剂(例如,奥拉帕尼和维利帕尼(veliparib)(ABT-888))、和BCL-2拮抗剂。其他化学治疗剂可以包括二氯甲基二乙胺、喜树碱、异环磷酰胺、他莫昔芬、雷洛昔芬、吉西他滨、诺维本、索拉非尼或前述项的任何类似物或衍生物变体。

[0226] 本发明化合物亦可与放射疗法、激素疗法、手术及免疫疗法结合使用,这些疗法是本领域技术人员熟知的。

[0227] 在某些实施例中,将本文所提供的药物组合物与类固醇联合施用。适合的类固醇可以包括但不限于21-乙酰氧基孕烯醇酮、阿氯米松、阿尔孕酮、安西奈德、倍氯米松(beclomethasone)、倍他米松、布地奈德、氯泼尼松(chloroprednisone)、氯倍他索(clobetasol)、氯可托龙、氯泼尼醇、皮质酮、可的松、可的伐唑、地夫可特、地奈德、去羟米松、地塞米松、二氟拉松(diflorasone)、二氟可龙(diflucortolone)、二氟孕甾丁酯(difuprednate)、甘草次酸、氟扎可特、氟氯奈德(flucoronide)、氟米松(flumethasone)、

氟尼缩松、氟轻松 (fluocinolone acetonide)、醋酸氟轻松、氟考丁酯 (fluocortin butyl)、氟可龙、氟米龙 (fluorometholone)、醋酸甲氟龙 (fluperolone acetate)、醋酸氟泼尼定 (fluprednidene acetate)、氟泼尼龙 (fluprednisolone)、氟氢缩松 (flurandrenolide)、丙酸氟替卡松、福莫可他 (formocortal)、氯氟舒松 (halcinonide)、丙酸卤倍他索 (halobetasol propionate)、卤米松 (halometasone)、氢化可的松 (hydrocortisone)、依碳酸氯替泼诺 (loteprednol etabonate)、马泼尼酮、甲羟松、甲泼尼松、甲泼尼龙 (methylprednisolone)、糠酸莫米松 (mometasone furoate)、帕拉米松、泼尼卡酯、泼尼松龙 (prednisolone)、泼尼松龙25-二乙氨基乙酸酯、泼尼松龙磷酸钠、泼尼松 (prednisone)、泼尼松龙戊酸酯 (prednival)、泼尼立定 (prednylidene)、利美索龙、替可的松 (tixocortol)、曲安西龙 (triamcinolone)、曲安奈德 (triamcinolone acetonide)、苯曲安奈德 (triamcinolone benetonide)、己曲安奈德 (triamcinolone hexacetonide) 及其盐和/或衍生物。在一个特定实施例中,本发明的化合物还可以与治疗恶心的其他药学活性剂组合使用。可以用于治疗恶心的药剂的实例包括:屈大麻酚 (dronabinol)、格拉司琼 (granisetron)、甲氧氯普胺 (metoclopramide)、昂丹司琼 (ondansetron) 和丙氯拉嗪 (prochlorperazine)、或其药学上可接受的盐。

[0228] 本发明的化合物还可以与破坏或抑制RAS-RAF-ERK或PI3K-AKT-TOR信号传导途径的其他药学活性化合物组合使用。在其他此类组合中,其他药学活性化合物是PD-1和PD-L1拮抗剂。本披露的化合物或药物组合物还可以与定量的一种或多种选自以下的物质组合使用:EGFR抑制剂、MEK抑制剂、PI3K抑制剂、AKT抑制剂、TOR抑制剂、Mcl-1抑制剂、BCL-2抑制剂、SHP2抑制剂、蛋白酶体抑制剂和免疫疗法,包括单克隆抗体、免疫调节性酰亚胺 (IMiD)、抗PD-1、抗PDL-1、抗CTLA4、抗LAG1和抗OX40剂、GITR激动剂、CAR-T细胞和BiTE。

[0229] EGFR抑制剂包括但不限于小分子拮抗剂、抗体抑制剂或特定反义核苷酸或siRNA。有用的EGFR抗体抑制剂包括西妥昔单抗 (爱必妥)、帕尼单抗 (维克替比)、扎鲁木单抗 (zalutumumab)、尼妥珠单抗 (nimotuzumab) 和 马妥珠单抗 (matuzumab)。EGFR的小分子拮抗剂包括吉非替尼、厄洛替尼 (特罗凯 (Tarceva)) 和最近的拉帕替尼 (lapatinib) (泰克博 (TykerB))。参见例如Yan L等人,Pharmacogenetics and Pharmacogenomics In Oncology Therapeutic Antibody Development [肿瘤治疗抗体开发中的药物遗传学和药物基因组学],BioTechniques [生物技术]2005;39 (4):565-8和Paez J G等人,EGFR Mutations In Lung Cancer Correlation With Clinical Response To Gefitinib Therapy [肺癌中的EGFR突变与对吉非替尼疗法的临床反应的相关性],Science [科学]2004;304 (5676):1497-500。

[0230] 小分子EGFR抑制剂的非限制性实例包括以下专利公开案中描述的任何EGFR抑制剂、以及所述EGFR抑制剂的所有药学上可接受的盐和溶剂化物:欧洲专利申请案EP 520722,1992年12月30日公开;欧洲专利申请案EP 566226,1993年10月20日公开;PCT国际公开案W0 96/33980,1996年10月31日公开;美国专利号5,747,498,1998年5月5日授权;PCT国际公开案W0 96/30347,1996年10月3日公开;欧洲专利申请案EP 787772,1997年8月6日公开;PCT国际公开案W0 97/30034,1997年8月21日公开;PCT国际公开案W097/30044,1997年8月21日公开;PCT国际公开案W0 97/38994,1997年10月23日公开;PCT国际公开案W0 97/49688,1997年12月31日公开;欧洲专利申请案EP 837063,1998年4月22日公开;PCT国际公

开案W0 98/02434,1998年1月22日公开;PCT国际公开案W0 97/38983,1997年10月23日公开;PCT国际公开案W095/19774,1995年7月27日公开;PCT国际公开案W0 95/19970,1995年7月27日公开;PCT国际公开案W0 97/13771,1997年4月17日公开;PCT国际公开案W0 98/02437,1998年1月22日公开;PCT国际公开案W0 98/02438,1998年1月22日公开;PCT国际公开案W0 97/32881,1997年9月12日公开;德国申请案DE 19629652,1998年1月29日公开;PCT国际公开案W0 98/33798,1998年8月6日公开;PCT国际公开案W0 97/32880,1997年9月12日公开;PCT国际公开案W0 97/32880,1997年9月12日公开;欧洲专利申请案EP 682027,1995年11月15日公开;PCT国际公开案W097/02266,197年1月23日公开;PCT国际公开案W0 97/27199,1997年7月31日公开;PCT国际公开案W0 98/07726,1998年2月26日公开;PCT国际公开案W0 97/34895,1997年9月25日公开;PCT国际公开案W0 96/31510',1996年10月10日公开;PCT国际公开案W0 98/14449,1998年4月9日公开;PCT国际公开案W0 98/14450,1998年4月9日公开;PCT国际公开案W0 98/14451,1998年4月9日公开;PCT国际公开案W0 95/09847,1995年4月13日公开;PCT国际公开案W0 97/19065,1997年5月29日公开;PCT国际公开案W0 98/17662,1998年4月30日公开;美国专利号5,789,427,1998年8月4日授权;美国专利号5,650,415,1997年7月22日授权;美国专利号5,656,643,1997年8月12日授权;PCT国际公开案W099/35146,1999年7月15日公开;PCT国际公开案W0 99/35132,1999年7月15日公开;PCT国际公开案W0 99/07701,1999年2月18日公开;和PCT国际公开案W0 92/20642,1992年11月26日公开。小分子EGFR抑制剂的其他非限制性实例包括描述于Traxler,P.,1998,Exp.Opin.Ther.Patents[治疗术专利专家评述]8(12):1599-1625中的任何EGFR抑制剂。

[0231] 基于抗体的EGFR抑制剂包括可以部分或完全阻断EGFR被其天然配体激活的任何抗EGFR抗体或抗体片段。基于抗体的EGFR抑制剂的非限制性实例包括以下文献中描述的那些:Modjtahedi,H.等人,1993,Br.J.Cancer[英国癌症杂志]67:247-253;Teramoto,T.等人,1996,Cancer[癌症]77:639-645;Goldstein等人,1995,Clin.Cancer Res.[临床癌症研究]1:1311-1318;Huang,S.M.等人,1999,Cancer Res.[癌症研究]15:59(8):1935-40;和Yang,X.等人,1999,Cancer Res.[癌症研究]59:1236-1243。因此,EGFR抑制剂可以是单克隆抗体Mab E7.6.3(Yang,1999,同上)、或Mab C225(ATCC登录号HB-8508)、或具有其结合特异性的抗体或抗体片段。

[0232] MEK抑制剂包括但不限于CI-1040、AZD6244、PD318088、PD98059、PD334581、RDEA119、ARRY-142886、ARRY-438162和PD-325901。

[0233] PI3K抑制剂包括但不限于渥曼青霉素、W0 06/044453中描述的17-羟基渥曼青霉素类似物、4-[2-(1H-吡啶-4-基)-6-[[4-(甲磺酰基)哌嗪-1-基]甲基]噻吩并[3,2-d]嘧啶-4-基]吗啉(还称为GDC 0941,并且描述于PCT公开案号W0 09/036,082和W0 09/055,730中)、2-甲基-2-[4-[3-甲基-2-氧代-8-(喹啉-3-基)-2,3-二氢咪唑并[4,5-c]喹啉-1-基]苯基]丙腈(还称为BEZ 235或NVP-BEZ 235,并且描述于PCT公开案号W0 06/122806中)、(S)-1-(4-((2-(2-氨基嘧啶-5-基)-7-甲基-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基)哌嗪-1-基)-2-羟基丙-1-酮(描述于PCT公开案号W0 2008/070740中)、LY294002(2-(4-吗啉基)-8-苯基-4H-1-苯并吡喃-4-酮,可从艾克松医学化学公司(Axon Medchem)获得)、PI 103盐酸盐(3-[4-(4-吗啉基吡啶并-[3',2':4,5]呋喃并[3,2-d]嘧啶-2-基]苯酚盐酸盐,可从艾克松医学化学公司获得)、PIK 75(N'-[(1E)-(6-溴代咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)亚

甲基]-N,2-二甲基-5-硝基苯磺酰基-酰肼盐酸盐,可从艾克松医学化学公司获得)、PIK 90 (N-(7,8-二甲氧基-2,3-二氢-咪唑并[1,2-c]喹唑啉-5-基)-烟酰胺,可从艾克松医学化学公司获得)、GDC-0941二甲磺酸盐(2-(1H-吡啶-4-基)-6-(4-甲磺酰基-哌嗪-1-基甲基)-4-吗啉-4-基-噻吩并[3,2-d]嘧啶二甲磺酸盐,可从艾克松医学化学公司获得)、AS-252424 (5-[1-[5-(4-氟-2-羟基-苯基)-咪唑-2-基]-甲-(Z)-亚基]-噻唑烷-2,4-二酮,可从艾克松医学化学公司获得)以及TGX-221(7-甲基-2-(4-吗啉基)-9-[1-(苯基氨基)乙基]-4H-吡啶并-[1,2-a]嘧啶-4-酮,可从艾克松医学化学公司获得)、XL-765和XL-147。其他PI3K抑制剂包括去甲氧基绿胶霉素(demethoxyviridin)、哌立福辛、CAL101、PX-866、BEZ235、SF1126、INK1117、IPI-145、BKM120、XL147、XL765、帕罗米德529(Palomid 529)、GSK1059615、ZSTK474、PWT33597、IC87114、TG100-115、CAL263、PI-103、GNE-477、CUDC-907和AEZS-136。

[0234] AKT抑制剂包括但不限于Akt-1-1(抑制Akt1)(Barnett等人(2005)Biochem.J.[生物化学杂志],385(Pt.2),399-408);Akt-1-1,2(抑制Akt1和2)(Barnett等人(2005)Biochem.J.[生物化学杂志]385(Pt.2),399-408);API-59CJ-Ome(例如,Jin等人(2004)Br.J.Cancer[英国癌症杂志]91,1808-12);1-H-咪唑并[4,5-c]吡啶基化合物(例如,WO 05011700);吡啶-3-甲醇及其衍生物(例如,美国专利号6,656,963;Sarkar和Li(2004)J Nutr.[营养杂志]134(12增刊),3493S-3498S);哌立福辛(perifosine)(例如,干扰Akt膜定位;Dasmahapatra等人,(2004)Clin.Cancer Res.[临床癌症研究]10(15),5242-52,2004);磷脂酰肌醇醚脂类似物(例如Gills和Dennis(2004)Expert.Opin.Investig.Drugs[研究药物专家评论]13,787-97);和曲西立滨(triciribine)(TCN或API-2或NCI鉴定剂:NSC 154020;Yang等人,2004,Cancer Res.[癌症研究]64:4394-9)。

[0235] TOR抑制剂包括但不限于,抑制剂包括AP-23573、CCI-779、依维莫司、RAD-001、雷帕霉素、替西罗莫司、ATP竞争性TORC1/TORC2抑制剂,包括PI-103、PP242、PP30和托林1(Torin 1)。其他TOR抑制剂包括FKBP12增强剂;雷帕霉素及其衍生物,包括:CCI-779(替西罗莫司)、RAD001(依维莫司;WO 9409010)和AP23573;雷帕霉素类似物(rapalog),例如如WO 98/02441和WO 01/14387中所披露,例如AP23573、AP23464或AP23841;40-(2-羟乙基)雷帕霉素、40-[3-羟基(羟甲基)甲基丙酸酯]-雷帕霉素(还称为CC1779)、40-表-(四唑基)-雷帕霉素(还称为ABT578)、32-脱氧雷帕霉素、16-戊炔氧基-32(S)-二氢雷帕霉素和WO 05005434中披露的其他衍生物;以下专利中披露的衍生物:美国专利号5,258,389、WO 94/090101、WO 92/05179、美国专利号5,118,677、美国专利号5,118,678、美国专利号5,100,883、美国专利号5,151,413、美国专利号5,120,842、WO93/111130、WO 94/02136、WO 94/02485、WO 95/14023、WO 94/02136、WO 95/16691、WO 96/41807、WO 96/41807和美国专利号5,256,790;含磷雷帕霉素衍生物(例如,WO 05016252);4H-1-苯并吡喃-4-酮衍生物(例如,美国临时申请案号60/528,340)。

[0236] MCL-1抑制剂包括但不限于AMG-176、MIK665和S63845。髓样细胞白血病-1(MCL-1)蛋白是B细胞淋巴瘤2(BCL-2)蛋白家族的关键抗凋亡成员之一。MCL-1的过表达与肿瘤进展以及不仅针对传统化学疗法还针对包括BCL-2抑制剂(例如ABT-263)的靶向疗法的抗性密切相关。

[0237] SHP抑制剂包括但不限于SHP099。

[0238] 蛋白酶体抑制剂包括但不限于 **Kyprolis[®]** (卡非佐米)、**Velcade[®]** (硼替佐米) 和奥普佐米 (oprozomib)。

[0239] 免疫疗法包括但不限于抗PD-1剂、抗PDL-1剂、抗CTLA-4剂、抗LAG1剂和抗OX40剂。

[0240] 单克隆抗体包括但不限于 **Darzalex[®]** (达雷木单抗 (daratumumab))、**Herceptin[®]** (曲妥珠单抗 (trastuzumab))、**Avastin[®]** (贝伐珠单抗 (bevacizumab))、**Rituxan[®]** (利妥昔 (rituximab))、**Lucentis[®]** (雷珠单抗 (ranibizumab))、和 **Eylea[®]** (阿柏西普 (aflibercept))。

[0241] 免疫调节剂 (IMiD) 是一类含有酰亚胺基团的免疫调节药物 (调节免疫反应的药物)。IMiD类包括沙利度胺及其类似物 (来那度胺、泊马利度胺和阿米司特)。

[0242] 示例性抗PD-1抗体及其使用方法描述于以下文献中: Goldberg等人, Blood [血液] 110 (1): 186-192 (2007); Thompson等人, Clin. Cancer Res. [临床癌症研究] 13 (6): 1757-1761 (2007); 和 Korman等人, 国际申请案号 PCT/JP 2006/309606 (公开案号 WO 2006/121168 A1), 将其各自通过引用明确并入本文。包括: Yervoy[™] (伊匹单抗 (ipilimumab)) 或曲美目单抗 (Tremelimumab) (针对CTLA-4)、加利昔单抗 (galiximab) (针对B7.1)、BMS-936558 (针对PD-1)、MK-3475 (针对PD-1)、AMP224 (针对B7DC)、BMS-936559 (针对B7-H1)、MPDL3280A (针对B7-H1)、MEDI-570 (针对ICOS)、AMG557 (针对B7H2)、MGA271 (针对B7H3)、IMP321 (针对LAG-3)、BMS-663513 (针对CD137)、PF-05082566 (针对CD137)、CDX-1127 (针对CD27)、抗OX40 (普罗维登斯卫生服务 (Providence Health Services))、huMAbOX40L (针对OX40L)、阿塞西普 (Atacicept) (针对TACI)、CP-870893 (针对CD40)、鲁卡木单抗 (Lucatumumab) (针对CD40)、达西珠单抗 (Dacetuzumab) (针对CD40)、莫罗单抗-CD3 (Muromonab-CD3) (针对CD3)、伊匹单抗 (针对CTLA-4)。免疫疗法还包括遗传工程化的T细胞 (例如, CAR-T细胞) 和双特异性抗体 (例如, BiTE)。

[0243] 在特定的实施例中, 本发明的化合物与抗PD-1抗体组合使用。在特定的实施例中, 抗PD-1抗体 (或其抗原结合抗体片段) 包括 SEQ ID NO: 1-6 的 1、2、3、4、5 或所有 6 个 CDR 氨基酸序列 (依次表示 HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2 和 LC CDR3)。在特定实施例中, 抗PD-1抗体 (或其抗原结合抗体片段) 包含 SEQ ID NO: 1-6 的所有 6 个 CDR 氨基酸序列。在其他实施例中, 抗PD-1抗体 (或其抗原结合抗体片段) 包含 (a) SEQ ID NO: 7 中的重链可变区氨基酸序列或仅相差一个或两个氨基酸或具有至少或约 70% 序列同一性的其变体序列, 或 (b) SEQ ID NO: 8 中的轻链可变区氨基酸序列或仅相差一个或两个氨基酸或具有至少或约 70% 序列同一性的其变体序列。在一个示例性实施例中, 抗PD-1抗体 (或其抗原结合抗体片段) 包含 SEQ ID NO: 7 中的重链可变区氨基酸序列和 SEQ ID NO: 8 中的轻链可变区氨基酸序列。在其他实施例中, 抗PD-1抗体 (或其抗原结合抗体片段) 包含 (a) SEQ ID NO: 9 的重链氨基酸序列或仅相差一个或两个氨基酸或具有至少或约 70% 序列同一性的其变体序列, 或 (b) SEQ ID NO: 10 的轻链氨基酸序列或仅相差一个或两个氨基酸或具有至少或约 70% 序列同一性的其变体序列。在一个示例性实施例中, 抗PD-1抗体 (或其抗原结合抗体片段) 包含 SEQ ID NO: 9 的重链氨基酸序列和 SEQ ID NO: 10 的轻链氨基酸序列。

[0244] 本披露进一步提供了编码抗PD-1抗体 (或其抗原结合部分) 的核酸序列。在示例性

方面,抗体包含由SEQ ID NO:11-16的核酸编码的1、2、3、4、5或所有6个CDR(依次表示HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3)。在另一个示例性方面,该抗体包含由SEQ ID NO:11-16的核酸编码的所有6个CDR。在一些实施例中,抗PD-1抗体(或其抗原结合部分)包含(a)由SEQ ID NO:17编码的重链可变区或仅相差1、2、3、4、5或6个核酸或具有至少或约70%、85%、90%或95%序列同一性的其变体序列,或(b)由SEQ ID NO:18编码的轻链可变区或仅相差1、2、3、4、5或6个核酸或具有至少或约70%、85%、90%或95%序列同一性的其变体序列。在一个示例性的实施例中,抗PD-1抗体(或其抗原结合部分)包含由SEQ ID NO:17编码的重链可变区和由SEQ ID NO:18编码的轻链可变区。在其他实施例中,抗PD-1抗体(或其抗原结合部分)包含(a)SEQ ID NO:19编码的重链或仅相差1、2、3、4、5或6个核酸或具有至少或约70%、85%、90%或95%序列同一性的其变异序列,或(b)SEQ ID NO:20编码的轻链或仅相差1、2、3、4、5或6个核酸或具有至少或约70%、85%、90%或95%序列同一性的其变异序列。在一个示例性的实施例中,抗PD-1抗体(或其抗原结合部分)包含SEQ ID NO:19编码的重链和SEQ ID NO:20编码的轻链。

[0245] GITR激动剂包括但不限于GITR融合蛋白和抗GITR抗体(例如,二价抗GITR抗体),例如描述于以下专利中的GITR融合蛋白:美国专利号6,111,090b_{ox.c}、欧洲专利号:090505B1、美国专利号8,586,023、PCT公开案号:WO 2010/003118和2011/090754;或描述于例如以下专利中的抗GITR抗体:美国专利号7,025,962、欧洲专利号:1947183B1、美国专利号7,812,135、美国专利号8,388,967、美国专利号8,591,886、欧洲专利号:EP 1866339、PCT公开案号:W02011/028683、PCT公开案号:W0 2013/039954、PCT公开案号:W02005/007190、PCT公开案号:W0 2007/133822、PCT公开案号:W02005/055808、PCT公开案号:W0 99/40196、PCT公开案号:W02001/03720、PCT公开案号:W0 99/20758、PCT公开案号:W02006/083289、PCT公开案号:W0 2005/115451、美国专利号7,618,632和PCT公开案号:W0 2011/051726。

[0246] 本文所述的化合物可以与本文所披露的药剂或其他适合的药剂组合使用,这取决于所治疗的病症。因此,在一些实施例中,本披露的一种或多种化合物将与如上所述的其他药剂共施用。在用于组合疗法中时,本文所述的化合物与第二药剂同时或分开施用。这种组合施用可以包括以相同剂型同时施用两种药剂、以单独剂型同时施用和分开施用。也就是说,本文所述的化合物和上述任何药剂可以一起配制于相同剂型中并同时施用。可替代地,本披露的化合物和上述任何药剂可以同时施用,其中两种药剂存在于单独配制品中。在另一个替代方案中,可以在施用本披露的化合物后立即施用上述任何药剂,或反之亦然。在单独施用方案的一些实施例中,本披露的化合物和上述任何药剂的施用相隔几分钟,或相隔几小时,或相隔几天。

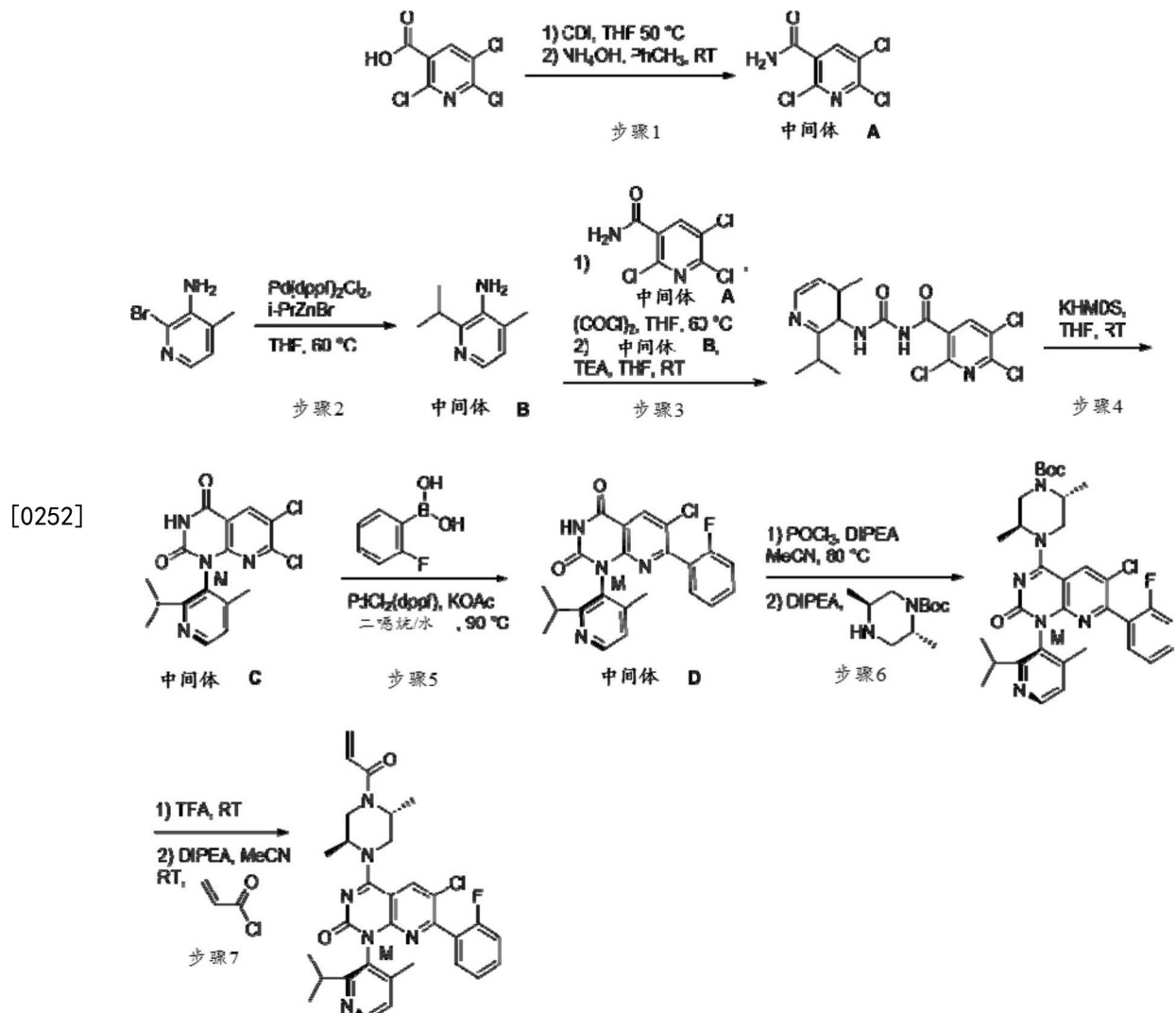
[0247] 由于本发明的一个方面考虑了用可以分开施用的药学活性化合物的组合治疗疾病/病症,本发明进一步涉及以试剂盒形式组合单独的药物组合物。该试剂盒包含两种单独的药物组合物:本发明的化合物和第二药物化合物。该试剂盒包含用于容纳单独组合物的容器,例如分开的瓶子或分开的箔袋。容器的其他实例包括注射器、盒和袋。在一些实施例中,该试剂盒包含单独组分的使用说明。在优选地以不同剂型(例如,口服和肠胃外)施用单独组分时,以不同剂量间隔施用时,或在开方的医护专业人员需要组合中个别组分的滴定时,试剂盒形式特别有利。

[0248] 实例

[0249] 基于共结晶分配实例1 4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮、5 4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮、6 4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮和13 (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮的绝对构型。基于自这些中间体(例如实例1、5、6及13)制备的共结晶分子分配中间体C及G的绝对构型。

[0250] 实例1

[0251] 4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0253] 步骤1: 2,5,6-三氯烟酰胺(中间体A)。将1,1'-羰基二咪唑(40g, 247mmol)分批添加至于THF(400mL)中的2,5,6-三氯烟酸(50.7g, 224mmol, 加利福尼亚州圣地亚哥康比乐公司(Combi-blocks))中,使每次添加之间的气体放出停止。将所得混合物搅拌5min且然后用室内真空脱气并用氮气吹扫。将所得混合物加热至50°C持续60min,然后用甲苯(100mL)稀释并浓缩至初始体积的一半。将所得混合物冷却至0°C并经由注射器缓慢添加氢氧化铵

(60mL, 437mmol)。将反应物在室温下搅拌10min, 用EtOAc(200mL)稀释并且用水(3×100mL)洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在真空中浓缩。将残余物悬浮于9:1庚烷/EtOAc(300mL)中并过滤。收集过滤的固体并且将剩余母液部分蒸发至初始体积的一半, 冷却至0℃并且过滤。合并两批过滤的固体, 以提供2,5,6-三氯烟酰胺。

[0254] 步骤2: 2-异丙基-4-甲基吡啶-3-胺(中间体B)。向3-氨基-2-溴-4-甲基吡啶(360mg, 1.9mmol, 加利福尼亚州圣地亚哥康比乐公司(Combi-Blocks))在THF(4mL)中的浆液中添加[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钨(II)复合物(密苏里州圣路易斯西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich))和DCM(79mg, 0.10mmol)。将所得浆液用氩脱气2min并且然后添加2-丙基溴化锌(THF中的0.5M溶液, 5.40mL, 2.7mmol, 密苏里州圣路易斯西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich))。将所得溶液在60℃下加热17h, 然后停止加热并允许反应冷却至rt。将反应混合物用水(10mL)和1N NaOH溶液(20mL)淬灭并且然后用EtOAc萃取。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥且并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱(洗脱液: 0-15% MeOH/DCM)纯化, 以提供2-异丙基-4-甲基吡啶-3-胺。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 7.66(d, J=4.6Hz, 1H), 6.78(d, J=4.8Hz, 1H), 4.72(br s, 2H), 3.14-3.25(m, 1H), 2.08(s, 3H), 1.14(d, J=6.8Hz, 6H)。m/z(ESI, +ve离子): 151.1(M+H)⁺。

[0255] 步骤3: 2,5,6-三氯-N-((2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)氨基甲酰基)烟酰胺。经由注射器向2,5,6-三氯烟酰胺(中间物A, 3.10g, 13.8mmol)在THF(46mL)中的-78℃浆液中缓慢添加草酰氯(DCM中的2M溶液, 7.4mL, 14.7mmol)。将所得浆液在60℃下加热3.5h, 然后停止加热并将反应冷却至-78℃。添加三乙胺(6.0mL, 42.6mmol), 随后经由导管添加2-异丙基-4-甲基吡啶-3-胺的溶液(中间体B, 2.12g, 14.1mmol)。将所得浆液升温至rt并搅拌1h, 然后使其在水(120mL)和EtOAc(175mL)之间分配。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并且在真空中浓缩。将残余物悬浮于9:1庚烷/EtOAc中并过滤。收集过滤的固体, 以提供2,5,6-三氯-N-((2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)氨基甲酰基)烟酰胺。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 11.31(s, 1H), 9.54(s, 1H), 8.66(s, 1H), 8.34(d, J=4.8Hz, 1H), 7.16(d, J=5.0Hz, 1H), 3.24-3.33(m, 1H), 2.22(s, 3H), 1.17(d, J=6.6Hz, 6H)。m/z(ESI, +ve离子): 400.9(M+H)⁺。

[0256] 步骤4: (M)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体C)。经由注射器向2,5,6-三氯-N-((2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)氨基甲酰基)烟酰胺(4.71g, 11.7mmol)在THF(55mL)中的冰冷溶液中缓慢添加KHMDs(THF中的1M溶液, 23.5mL, 23.5mmol)。10min后, 移除冰浴并将所得溶液在rt下再搅拌30min。将反应用饱和氯化铵水溶液(125mL)淬灭并用EtOAc(250mL)萃取。将有机层用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并且在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱(洗脱液: 0-11% MeOH/DCM)纯化, 以提供呈阻转异构体的混合物的6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 12.27(br s, 1H), 8.59(s, 1H), 8.52(d, J=5.0Hz, 1H), 7.28(d, J=5.0Hz, 1H), 2.82-2.92(m, 1H), 2.04(s, 3H), 1.08(d, J=6.6Hz, 3H), 1.01(d, J=6.8Hz, 3H)。m/z(ESI, +离子): 365.0(M+H)⁺。

[0257] 通过SFC(AD, 250x 50mm, 5μm, 50% MeOH/CO₂, 180g/min, 102巴)纯化6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮阻转异构体的混合物(55.1g)以获得两个峰: 峰1((P)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮, 22.1g, >99% ee)和峰2((M)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡

啉-3-基)吡啉并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮,23.2g,>99% ee)。

[0258] 步骤5: (M)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啉并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体D)。向(M)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啉并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体C,4.40g,12.1mmol)、(2-氟苯基)硼酸(2.53g,18.1mmol;加利福尼亚州圣地亚哥康比乐公司(Combi-Blocks))、K₂OAc(9.46g,96mmol)和(1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁)二氯化钡(0.882g,1.21mmol)在1,4-二噁烷(57mL)/水(1.7mL)中的混合物充入氮气,然后在90℃下搅拌2h。添加另外的(2-氟苯基)硼酸(0.5g),并且将反应混合物再搅拌15min。将反应混合物用EtOAc(200mL)稀释,添加至分液漏斗中,并且用水(2×100mL)洗涤。将有机层分离,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空中浓缩。将粗产物吸附至二氧化硅上并且通过硅胶色谱(硅胶,0-100% EtOAc/庚烷)纯化,以给出呈灰白色泡沫的(M)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啉并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(4.03g,9.49mmol,79%产率)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.91(br s,1H)8.60(s,1H)8.50-8.55(m,1H)7.37-7.46(m,1H)7.06-7.17(m,4H)2.81(spt,J=6.7Hz,1H)2.10(s,3H)1.24(br d,J=6.8Hz,3H)1.09(br d,J=6.6Hz,3H)。¹⁹F NMR(377MHz,CDCl₃) δ-112.87(s,1F)。m/z(ESI,+ve离子):424.9(M+H)⁺。

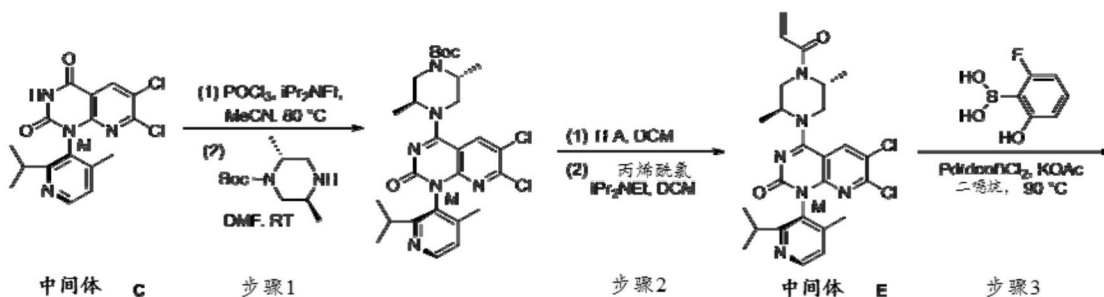
[0259] 步骤6: (2R,5S,M)-4-(6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啉并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。将(M)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啉并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体D,1.08g,2.54mmol)、磷酰三氯(0.284mL,3.05mmol)和DIPEA(1.33mL,7.63mmol)在乙腈(6mL)中的溶液在80℃下搅拌30min。从加热块移出反应混合物并且添加(2R,5S)-1-Boc-2,5-二甲基哌嗪(0.545g,2.54mmol;AstaTech公司,宾夕法尼亚州布里斯托尔(Bristol,PA))和DIPEA(1.328mL,7.63mmol)。将反应混合物在rt下搅拌15min。将反应混合物用EtOAc(100mL)稀释,添加至分液漏斗中,并且用饱和NaHCO₃水溶液(2×75mL)洗涤。将有机层分离,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空中浓缩。将粗产物吸附至二氧化硅上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-70% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以给出呈浅黄色固体的(2R,5S,M)-4-(6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啉并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(861mg,1.39mmol,55%产率)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.45-8.52(m,1H)8.11(s,1H)7.41(br d,J=5.4Hz,1H)7.04-7.21(m,4H)4.90-5.06(m,1H)4.34-4.69(m,1H)4.03-4.20(m,1H)3.78-4.01(m,2H)3.46-3.65(m,1H)2.63-2.80(m,1H)2.03(br s,3H)1.52(s,9H)1.25-1.31(m,6H)1.23(br d,J=7.0Hz,3H)1.08(br d,J=6.6Hz,3H)。¹⁹F NMR(377MHz,CDCl₃) δ-112.51(br s,1F)。m/z(ESI,+ve离子):621.0(M+H)⁺。

[0260] 步骤7: 4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啉并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。将(2R,5S,M)-4-(6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啉并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.861g,1.39mmol)在2,2,2-三氟乙酸(11mL,140mmol)中的溶液在室温下搅拌15min。将反应混合物在真空中浓缩。将所得油、DIPEA(0.724mL,4.16mmol)和丙烯酰氯(DCM中的0.5M,2.77mL,1.39mmol)在DCM(7mL)中的溶液在室温下搅拌15min。将反应混合物用EtOAc(100mL)稀释,添加至分液漏斗中,并且用饱和NaHCO₃水溶液(2×75mL)洗涤。将有机层分离,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空中浓缩。将粗产

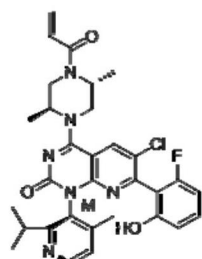
物吸附至二氧化硅上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-100% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以给出呈浅黄色固体的4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(562mg,4.93mmol,77%产率)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ8.44-8.53(m,1H)8.11(s,1H)7.41(br d,J=6.2Hz,1H)7.04-7.22(m,4H)6.52-6.71(m,1H)6.40(br t,J=15.2Hz,1H)5.75-5.84(m,1H)5.02-5.21(m,1H)4.29-4.53(m,1H)3.46-4.09(m,4H)2.63-2.75(m,1H)2.03(br s,3H)1.39-1.49(m,3H)1.24-1.36(m,3H)1.23(br d,J=5.0Hz,3H)1.08(br d,J=6.2Hz,3H)。¹⁹F NMR(377MHz,CDCl₃) δ-112.52(s,1F),-112.48(s,1F)。m/z(ESI,+ve离子):574.8(M+H)⁺。

[0261] 实例2

[0262] 4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0263]



[0264] 步骤1:(2R,5S,M)-4-(6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向250-mL圆底烧瓶中装入在乙腈(91mL)中的(M)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体C,6.65g,18.2mmol)和DIPEA(4.8mL,27.3mmol),随后装入三氯氧磷(2.6mL,27.3mmol)。将所得混合物在80°C下搅拌30min并且然后在真空中浓缩,以给出呈棕色固体的(M)-4,6,7-三氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。将粗制棕色固体不经进一步纯化即用于下一步骤。m/z(ESI,+ve):383.0(M+H)⁺。

[0265] 向粗制(M)-4,6,7-三氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮及DIPEA(4.8mL,27.3mmol)在DMF(50mL)中的混合物中添加(2R,5S)-1-Boc-2,5-二甲基哌嗪(4.29g,20.03mmol,AstaTech公司,宾夕法尼亚州布里斯托尔(Bristol,PA))并且将混合物在室温下搅拌15min。将混合物添加至冰水(80mL)中并且搅拌15min。通过过滤收集所得沉淀,用水洗涤,并且干燥,以给出呈黄色固体的(2R,5S,M)-4-(6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(4.70g,8.37mmol,46.0%产率)。用EtOAc(2×100mL)萃取滤液。经MgSO₄干燥合并的有机萃取物。过滤溶液且在真空中浓缩,以给出呈黄色固体的另外的标题化合物

(5.51g, 9.81mmol, 53.9%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.59 (br d, J=4.8Hz, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.40 (br d, J=2.7Hz, 1H), 4.87 (br s, 1H), 4.23-4.44 (m, 1H), 4.01-4.09 (m, 1H), 3.95 (br s, 1H), 3.73 (br dd, J=13.7, 2.5Hz, 1H), 3.46-3.65 (m, 1H), 2.67-2.76 (m, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.45-1.57 (m, 9H), 1.36 (d, J=6.6Hz, 3H), 1.08-1.18 (m, 9H)。m/z (ESI, +ve): 561.2 (M+H)⁺。

[0266] 步骤2: 4-((2S, 5R, M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体E)。在室温下向(2R, 5S, M)-4-(6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(5.51g, 9.81mmol)在DCM(20mL)中的溶液中添加三氟乙酸(10mL, 134mmol)并且将混合物搅拌1h。反应完成后,在真空中浓缩混合物,以得到(M)-6,7-二氯-4-((2S, 5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮, m/z (ESI, +ve): 461.2 (M+H)⁺。

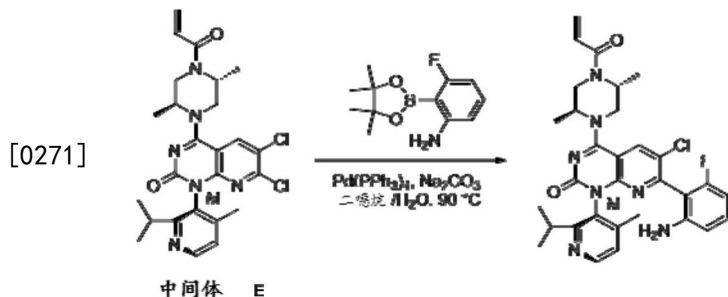
[0267] 在0℃下向DCM(20mL)中的上述(M)-6,7-二氯-4-((2S, 5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮'N,N'-二异丙基乙胺(8.6mL, 49.1mmol)中添加丙烯酰氯(0.8mL, 9.81mmol)并且将混合物搅拌1h。将反应混合物用DCM(50mL)稀释并且用饱和氯化铵溶液(50mL)洗涤。向水层中添加饱和氯化钠(25mL)并且将混合物用DCM(50mL×2)萃取。合并有机萃取物并且经MgSO₄干燥。过滤溶液并且在真空中浓缩以给出棕色油。将粗制棕色油吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-10% MeOH/DCM)纯化,以给出呈浅黄色泡沫的(M)-4-((2S, 5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(4.66g, 9.04mmol, 92%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.46-8.54 (m, 2H), 7.30 (d, J=5.0Hz, 1H), 6.82 (ddd, J=16.5, 14.0, 10.5Hz, 1H), 6.18 (dd, J=16.7, 2.2Hz, 1H), 5.74 (dt, J=10.4, 2.7Hz, 1H), 4.78-4.91 (m, 1H), 4.39-4.75 (m, 1H), 3.97-4.16 (m, 1H), 3.94 (br s, 1H), 3.83 (br d, J=3.9Hz, 1H), 3.49 (br dd, J=13.9, 3.7Hz, 1H), 2.59-2.70 (m, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.25-1.32 (m, 3H), 1.09-1.20 (m, 3H), 1.05 (dd, J=11.4, 6.6Hz, 6H)。m/z (ESI, +ve): 515.2 (M+H)⁺。

[0268] 步骤3: 4-((2S, 5R, M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向50-mL圆底烧瓶中添加4-((2S, 5R, M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体E, 188mg, 0.37mmol)、(2-氟-6-羟基苯基)硼酸(114mg, 0.73mmol, 加利福尼亚州圣地亚哥康比乐公司(Combi-Blocks))、二氯[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加成物(27mg, 0.04mmol)、K₂OAc(179mg, 1.82mmol)和1,4-二噁烷(4.0mL)与2滴水。搅拌反应混合物并且在90℃下加热18h。将所得混合物在真空中浓缩。将所得粗产物吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-10% EtOAc(具有10% MeOH)/庚烷)纯化,以给出呈黄色固体的4-((2S, 5R, M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(16mg, 0.03mmol, 7.4%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 10.10 (br d, J=17.6Hz, 1H), 8.44 (br s, 1H), 8.38 (d, J=4.8Hz, 1H), 7.10-7.31 (m, 2H), 6.78-6.96 (m, 1H), 6.59-6.75 (m, 2H), 6.20 (dd, J=16.7, 2.0Hz, 1H), 5.68-5.84 (m, 1H), 4.78-

4.88 (m, 1H), 4.50 (br d, J=1.7Hz, 1H), 4.08-4.29 (m, 2H), 3.86 (br d, J=9.1Hz, 2H), 2.61-2.80 (m, 1H), 1.91 (br s, 3H), 1.35 (br d, J=6.4Hz, 3H), 1.18-1.30 (m, 3H), 1.07 (d, J=6.8Hz, 3H), 0.95 (br d, J=6.4Hz, 3H)。¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δppm-115.82 (br d, J=266.2Hz, 1F)。m/z (ESI, +ve): 591.2 (M+H)⁺。

[0269] 实例3

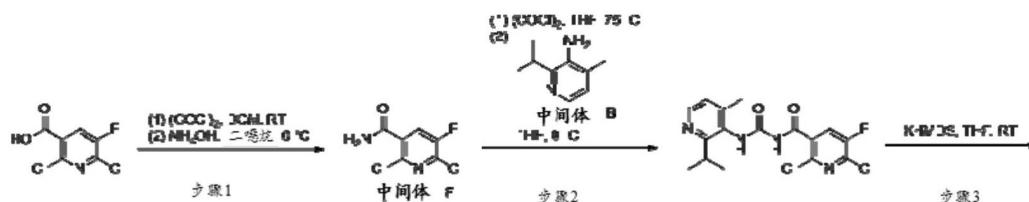
[0270] 4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



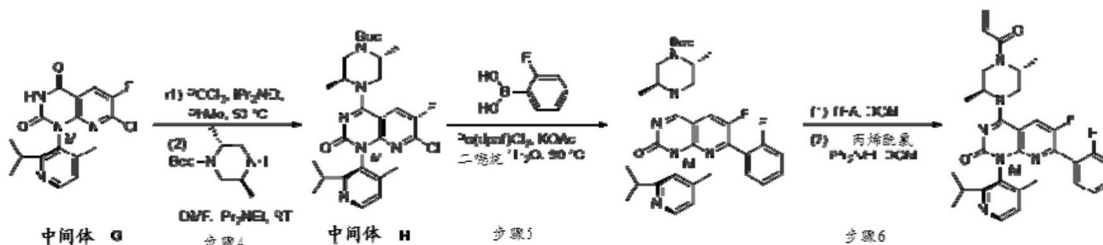
[0272] 将4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体E, 3.07g, 5.96mmol)、四(三苯基膦)钯(0.34g, 0.30mmol)、(2-氨基-6-氟苯基)硼酸频哪醇酯(1.55g, 6.55mmol, CombiPhos公司, 新泽西州特伦顿(Trenton, NJ))和碳酸钠无水粉末(3.16g, 29.8mmol)在1,4-二噁烷(20mL)/水(10mL)中的混合物在90℃下搅拌40min。向所得混合物中添加水(25mL)并且将混合物用EtOAc(2×50mL)萃取。合并有机萃取物并且经MgSO₄干燥。过滤溶液且在真空中浓缩以给出呈黄色固体的粗产物。将所得粗产物吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液: 0-10% EtOAc(具有10% MeOH)/庚烷)纯化, 以给出呈黄色固体的4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(1.83g, 3.09mmol, 52.0%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.43 (s, 1H), 8.39 (d, J=4.8Hz, 1H), 7.19 (d, J=4.8Hz, 1H), 7.00-7.11 (m, 1H), 6.82 (br dd, J=16.6, 10.6Hz, 1H), 6.45 (d, J=8.3Hz, 1H), 6.27-6.35 (m, 1H), 6.19 (dd, J=16.6, 2.3Hz, 1H), 5.76 (ddd, J=10.1, 5.5, 2.2Hz, 1H), 5.07-5.19 (m, 2H), 4.45-4.90 (m, 2H), 3.47-4.24 (m, 4H), 2.60-2.88 (m, 1H), 1.85-1.99 (m, 3H), 1.30-1.39 (m, 3H), 1.16-1.29 (m, 3H), 1.03-1.11 (m, 3H), 0.87-1.03 (m, 3H)。¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δppm-116.01--115.34 (m, 1F)。m/z (ESI, +ve): 590.2 (M+H)⁺。

[0273] 实例4

[0274] 4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0275]



[0276] 步骤1: 2,6-二氯-5-氟烟酰胺(中间体F)。向2,6-二氯-5-氟-烟碱酸(4.0g, 19.1mmol, AstaTech公司, 宾夕法尼亚州布里斯托尔(Bristol, PA))在DCM(48mL)中的混合物中添加草酰氯(DCM中的2M溶液, 11.9mL, 23.8mmol), 随后添加催化量的DMF(0.05mL)。将反应混合物在rt下搅拌过夜并且然后在真空中浓缩。将残余物溶解在1,4-二噁烷(48mL)中并且冷却至0°C。经由注射器缓慢添加氢氧化铵溶液(28%-30% NH₃基, 3.6mL, 28.6mmol)。将所得混合物在0°C下搅拌30min并且然后浓缩。将残余物用EtOAc/庚烷的1:1混合物稀释, 搅动5min, 并且然后过滤。弃去过滤的固体, 并且将剩余母液部分浓缩至初始体积的一半并且过滤。将过滤的固体用庚烷洗涤, 并在减压烘箱(45°C)中干燥过夜, 提供2,6-二氯-5-氟烟酰胺。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.23(d, J=7.9Hz, 1H) 8.09(br s, 1H) 7.93(br s, 1H)。m/z(ESI, +ve离子): 210.9(M+H)⁺。

[0277] 步骤2: 2,6-二氯-5-氟-N-((2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)氨基甲酰基)烟酰胺。通过注射器向冰冷却的2,6-二氯-5-氟烟酰胺(中间体F, 5.0g, 23.9mmol)在THF(20mL)中的浆液中缓慢添加草酰氯(2M DCM溶液, 14.4mL, 28.8mmol)。将所得混合物在75°C下加热1h, 然后停止加热, 并且将反应物浓缩至初始体积的一半。冷却至0°C后, 经由导管逐滴添加THF(20mL), 随后添加2-异丙基-4-甲基吡啶-3-胺(中间体B, 3.59g, 23.92mmol)于THF(10mL)中的溶液。将所得混合物在0°C下搅拌1h并且然后将反应物用盐水和饱和氯化铵水溶液的1:1混合物淬灭。将混合物用EtOAc萃取并且将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥且浓缩以提供2,6-二氯-5-氟-N-((2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)氨基甲酰基)烟酰胺。该材料不经进一步纯化即用于以下步骤。m/z(ESI, +ve离子): 385.1(M+H)⁺。

[0278] 步骤3: (M)-7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体G)。经由注射器向冰冷却的2,6-二氯-5-氟-N-((2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)氨基甲酰基)烟酰胺(9.2g, 24.0mmol)的THF(40mL)溶液中缓慢添加KHMDS(1M THF溶液, 50.2mL, 50.2mmol)。移除冰浴, 并将所得混合物在rt下搅拌40min。用饱和氯化铵水溶液淬灭反应, 并用EtOAc萃取。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥且并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱(洗脱液: 0-50% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以提供呈阻转异构体的混合物的7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 12.27(br s, 1H), 8.48-8.55(m, 2H), 7.29(d, J=4.8Hz, 1H), 2.87(quin, J=6.6Hz, 1H), 1.99-2.06(m, 3H), 1.09(d, J=6.6Hz, 3H), 1.01(d, J=

6.6Hz, 3H)。¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δ: -126.90 (s, 1F)。m/z (ESI, +ve 离子): 349.1 (M+H)⁺。

[0279] 通过SFC (AD, 150×50mm, 5μm, 50% MeOH/CO₂, 180g/min, 102巴) 纯化7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮阻转异构体的混合物(648g)以获得两个峰:峰1 (P-7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮, 230.6g, >99% ee) 和峰2 ((M)-7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮, 227.8g, 97.1% ee)。

[0280] 步骤4: (2R,5S,M)-4-(7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体H)。向(M)-7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体G, 4.75g, 13.62mmol)在甲苯(54.5mL)中的溶液中添加DIPEA(4.76mL, 27.2mmol), 随后添加三氯氧磷(2.54mL, 27.2mmol)。将反应加热至50℃持续50min。将反应在真空中浓缩以给出呈棕色固体的粗制(M)-4,7-二氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮, 将其直接用于下一步骤。m/z (ESI, +ve): 367.0 (M+H)⁺。

[0281] 向粗制(M)-4,7-二氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮中添加DMF(113mL), 随后添加(2R,5S)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(2.92g, 13.62mmol, AstaTech公司, 宾夕法尼亚州布里斯托尔(Bristol, PA))。在搅拌下向溶液中逐滴添加DIPEA(11.9mL, 68.1mmol)。搅拌5min后, 将反应用水和EtOAc稀释。将有机层用1M LiCl及盐水洗涤, 然后经MgSO₄干燥。将该材料通过硅胶色谱(洗脱液: 0-80% EtOAc:EtOH(3:1), 于庚烷中)纯化, 以得到橙黄色固体的(2R,5S,M)-4-(7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(6.85g, 12.57mmol, 92% 产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.49 (d, J=4.77Hz, 1H) 8.39 (d, J=8.50Hz, 1H) 7.26 (d, J=4.98Hz, 1H) 4.80 (br s, 1H) 4.18-4.38 (m, 1H) 3.99 (br d, J=14.72Hz, 1H) 3.78-3.90 (m, 1H) 3.64-3.73 (m, 1H) 3.45-3.61 (m, 1H) 2.60 (dt, J=13.37, 6.58Hz, 1H) 1.95 (s, 3H) 1.45 (s, 9H) 1.29 (br d, J=6.63Hz, 3H) 1.11 (br d, J=6.01Hz, 3H) 1.06 (d, J=6.84Hz, 3H) 1.03 (d, J=6.63Hz, 3H)。¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δ ppm -128.25 (s, 1F)。m/z (ESI, +ve): 545.2 (M+H)⁺。

[0282] 步骤5: (2R,5S,M)-4-(6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向具有铁氟龙螺旋盖的打兰小瓶中装入KOAc(0.330g, 3.36mmol)。将小瓶密封并且用氮抽真空/回填。添加(2S,5R,M)-4-(7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体H, 0.366g, 0.671mmol)在二噁烷(4.26mL)中的溶液, 随后添加水(0.2mL)。将反应加热至90℃并保持2min。添加二氯[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加成物(0.049g, 0.067mmol, 斯特伦公司(Strem Chemicals), 马萨诸塞州纽伯里波特(Newburyport, MA))及(2-氟苯基)硼酸(0.188g, 1.343mmol, 加利福尼亚州圣地亚哥康比乐公司(Combi-Blocks))并且将反应在90℃下搅拌3h。将反应冷却至rt并且用水和EtOAc稀释。将有机相用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 并且在真空中浓缩。将制粗残余物经由硅胶快速色谱(洗脱液: 0-60% EtOAc:EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以得到呈黄色固体的(2R,5S,M)-4-(6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯

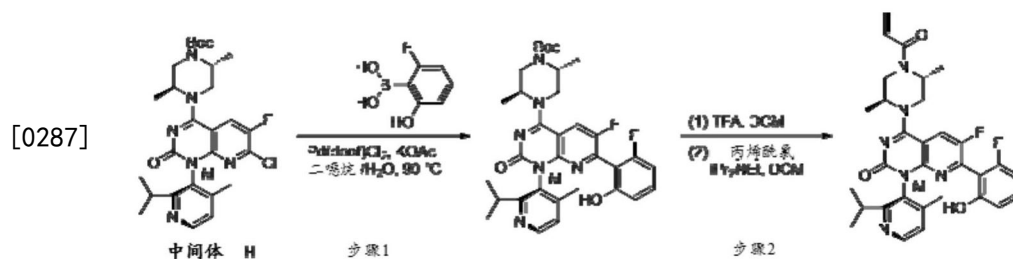
(0.336g, 0.555mmol, 83%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.44 (d, J=4.98Hz, 1H) 8.32 (d, J=9.54Hz, 1H) 7.51-7.60 (m, 1H) 7.26-7.38 (m, 3H) 7.22 (d, J=4.98Hz, 1H) 4.84 (br s, 1H) 4.25-4.42 (m, 1H) 4.12 (br d, J=13.89Hz, 1H) 3.83 (br d, J=12.44Hz, 1H) 3.65-3.75 (m, 1H) 3.46-3.63 (m, 1H) 2.70 (dt, J=13.48, 6.74Hz, 1H) 1.95 (s, 3H) 1.46 (s, 9H) 1.33 (d, J=6.63Hz, 3H) 1.16-1.20 (m, 3H) 1.08 (d, J=6.84Hz, 3H) 0.98 (d, J=6.63Hz, 3H)。¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δppm -113.72 (m, 1F) -129.04 (m, 1F)。m/z (ESI, +ve): 605.2 (M+H)⁺。

[0283] 步骤6: 4-((2S, 5R, M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向(2R, 5S, M)-4-(6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.335g, 0.554mmol)在DCM(11.1mL)中的溶液中添加三氟乙酸(1.65mL, 22.2mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1h。将反应混合物在真空中浓缩以提供粗制4-((2S, 5R, M)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮, 将其不经进一步纯化即使用。

[0284] 将粗制4-((2S, 5R, M)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮吸收在DCM(15mL)中。添加DIPEA(0.484mL, 2.77mmol), 随后添加丙烯酰氯(DCM中的1.1M溶液, 0.453mL, 0.499mmol)。将反应混合物搅拌5min。将反应混合物在真空中浓缩。将粗材料经由硅胶色谱(洗脱液: 20%-80% EtOAc:EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以得到4-((2S, 5R, M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.184g, 0.329mmol, 59.5%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.44 (d, J=4.98Hz, 1H) 8.33-8.39 (m, 1H) 7.52-7.60 (m, 1H) 7.25-7.39 (m, 3H) 7.23 (d, J=4.77Hz, 1H) 6.77-6.93 (m, 1H) 6.14-6.26 (m, 1H) 5.71-5.81 (m, 1H) 4.11-4.97 (m, 4H) 3.48-3.93 (m, 2H) 2.71 (td, J=6.27, 3.63Hz, 1H) 1.95 (s, 3H) 1.32 (br t, J=7.26Hz, 3H) 1.17-1.28 (m, 3H) 1.08 (d, J=6.63Hz, 3H) 0.98 (br d, J=6.63Hz, 3H)。¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δppm -113.88--113.54 (m, 1F) -129.19--128.86 (m, 1F)。m/z (ESI, +ve): 559.2 (M+H)⁺。

[0285] 实例5

[0286] 4-((2S, 5R, M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0288] 步骤1: (2S, 5R, M)-4-(6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向具有铁氟龙螺旋盖的打兰小瓶中装入K₂OAc(0.315g, 3.21mmol)。将小瓶加盖且用氮抽真空/回填。添加(2S, 5R, M)-4-(7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体H, 0.35g, 0.642mmol)在

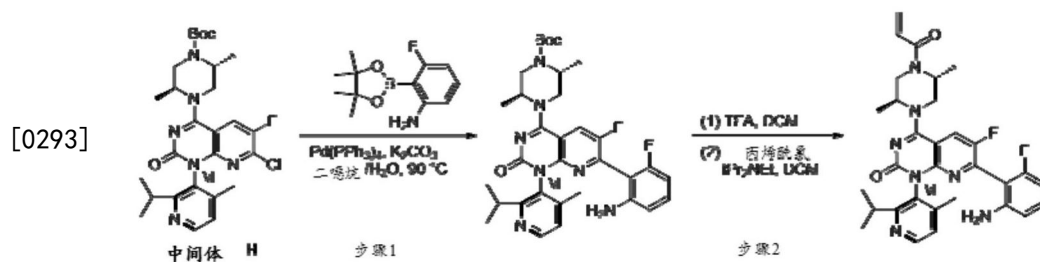
二噁烷(4.08mL)中的溶液,随后加水(0.2mL)。将反应混合物加热至90℃并保持2min。添加二氯[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加成物(0.047g,0.064mmol,斯特伦公司(Strem Chemicals),马萨诸塞州纽伯里波特(Newburyport,MA))和(2-氟-6-羟基苯基)硼酸(0.200g,1.28mmol,Wuxi)并且将反应物在90℃下搅拌3h。将反应冷却至rt并且用水和EtOAc稀释。将有机相用盐水洗涤,经MgSO₄干燥,并且在真空中浓缩。将制粗残余物通过硅胶色谱(洗脱液:0-60% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以得到黄色固体的(2R,5S,M)-4-(6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.375g,0.604mmol,94%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 10.19(br s,1H) 8.39(d,J=4.77Hz,1H) 8.26(d,J=8.91Hz,1H) 7.24-7.32(m,1H) 7.19(d,J=4.77Hz,1H) 6.74(d,J=8.50Hz,1H) 6.69(t,J=8.81Hz,1H) 4.76-4.88(m,1H) 4.26-4.44(m,1H) 4.15(br d,J=14.30Hz,1H) 3.76-3.84(m,1H) 3.71(m,1H) 3.41-3.66(m,1H) 2.69(quin,J=6.63Hz,1H) 1.91(s,3H) 1.46(s,9H) 1.34(d,J=6.43Hz,3H) 1.19(m,3H) 1.07(d,J=6.43Hz,3H) 0.95(d,J=6.84Hz,3H)。¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆) δppm-115.55(m,1F) -128.46(br s,1F)。m/z(ESI,+ve):621.2(M+H)⁺。

[0289] 步骤2:4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向(2R,5S,M)-4-(6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.375g,0.604mmol)在DCM(12.1mL)中的溶液中添加三氟乙酸(1.80mL,24.2mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2h。将反应混合物在真空中浓缩,以提供粗制4-((2S,5R,M)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮,将其不经纯化即使用。

[0290] 将粗制4-((2S,5R,M)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮吸收在DCM(15mL)中并且冷却至0℃。添加N,N'-二异丙基乙胺(0.528mL,3.02mmol),随后逐滴添加丙烯酰氯(DCM中的1.1M溶液,0.549mL,0.604mmol)。将反应混合物搅拌5min。将反应混合物在真空中浓缩并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-80% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化。获得的产物含有少量双酰基化(除哌嗪氮外,苯酚羟基也酰化)杂质。将该材料用THF(3mL)和1N NaOH(0.6mL)处理。将反应混合物搅拌15min。将反应用饱和氯化铵淬灭并且将混合物用水和EtOAc稀释。将有机相分离且并用另外的EtOAc萃取水相。合并有机相,用盐水洗涤,经MgSO₄干燥并且在真空中浓缩,以得到4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.17g,0.296mmol,49.0%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 10.20(br s,1H) 8.39(br d,J=4.35Hz,1H) 8.26-8.32(m,1H) 7.24-7.33(m,1H) 7.19(br d,J=4.15Hz,1H) 6.78-6.94(m,1H) 6.65-6.77(m,2H) 6.16-6.25(m,1H) 5.73-5.82(m,1H) 4.10-4.94(m,4H) 3.45-3.93(m,2H) 2.65-2.75(m,1H) 1.91(s,3H) 1.33(br t,J=6.01Hz,3H) 1.19-1.30(m,3H) 1.07(br d,J=6.63Hz,3H) 0.95(br d,J=5.80Hz,3H)。¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆) δppm-115.59--115.51(m,1F) -128.49--128.38(m,1F)。m/z(ESI,+ve):575.2(M+H)⁺。

[0291] 实例6

[0292] 4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0294] 步骤1: (2S,5R,M)-4-(7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向具有铁氟龙螺旋盖的打兰小瓶中装入碳酸钾(0.152mL,2.52mmol)、(2-氨基-6-氟苯基)硼酸频哪醇酯(0.132mL,0.555mmol,CombiPhos公司,新泽西州特伦顿(Trenton,NJ))、(2R,5S,M)-4-(7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体H,0.275g,0.505mmol)和四(三苯基膦)钯(0.058g,0.050mmol,斯特伦公司(Strem Chemicals),马萨诸塞州纽伯里波特(Newburyport,MA))。将小瓶加盖且用氮抽真空/回填。添加1,4-二噁烷(1.68mL),随后添加水(0.841mL)。将反应混合物在预加热的90°C油浴中搅拌16h。将反应混合物用水和EtOAc稀释。将各相混合并且分离有机层。将水相用另外的EtOAc萃取并且将合并的有机相用盐水洗涤,经MgSO₄干燥并且在真空中浓缩。将粗残余物通过硅胶色谱(洗脱液:20%-100% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以得到呈黄色/橙色固体的(2R,5S,M)-4-(7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.3g,0.484mmol,96%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 8.44(d,J=4.98Hz,1H)8.27(d,J=9.54Hz,1H)7.23(d,J=4.98Hz,1H)7.07-7.14(m,1H)6.49(d,J=8.29Hz,1H)6.34-6.41(m,1H)5.37(s,2H)4.81(br s,1H)4.25-4.44(m,1H)4.13(br d,J=13.89Hz,1H)3.77-3.86(m,1H)3.72(br d,J=13.89Hz,1H)3.48-3.64(m,1H)2.66-2.79(m,1H)1.94(s,3H)1.46(s,8H)1.43-1.49(m,1H)1.34(d,J=6.43Hz,3H)1.20(br dd,J=6.84,2.90Hz,3H)1.07(d,J=6.63Hz,3H)0.96(d,J=6.63Hz,3H)。¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆) δppm-114.23(br d,J=28.61Hz,1F)-127.15(br d,J=28.61Hz,1F)。m/z(ESI,+ve):620.3(M+H)⁺。

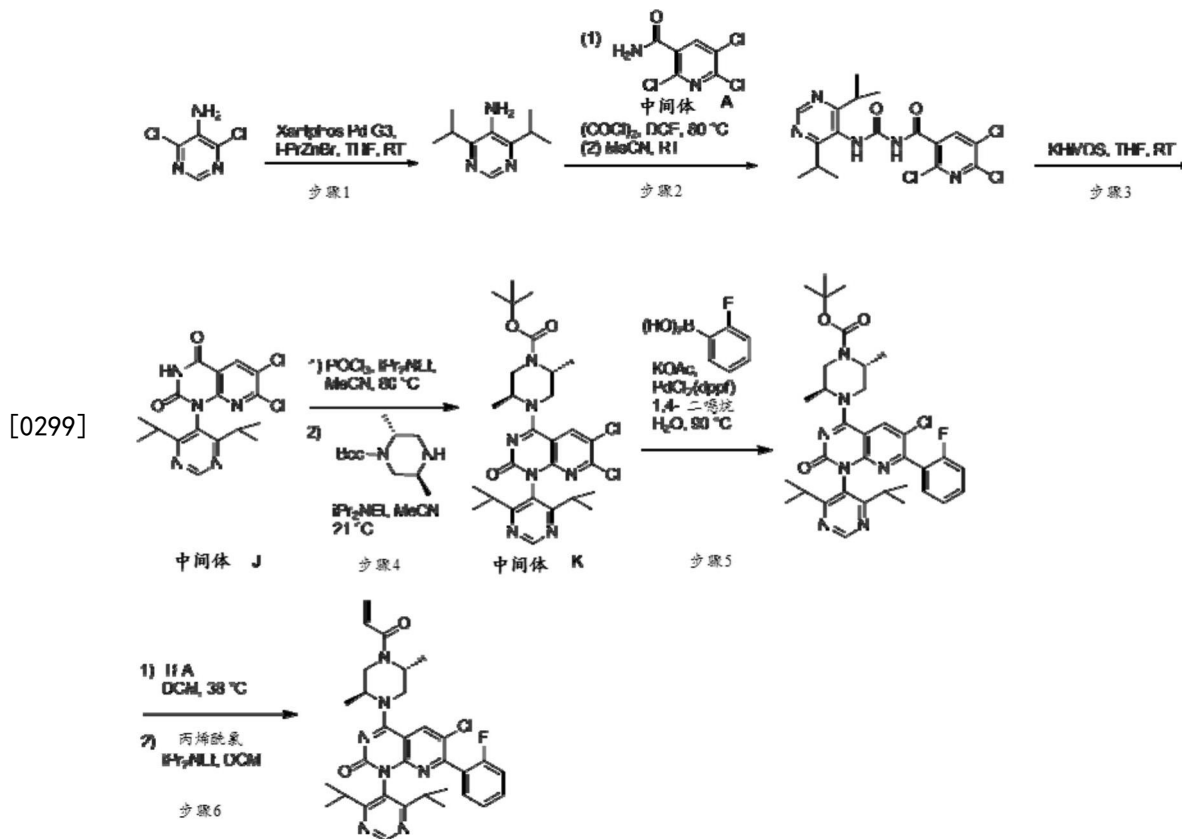
[0295] 步骤2:4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向(2R,5S,M)-4-(7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.3g,0.484mmol)在DCM(9.68mL)中的溶液中添加三氟乙酸(1.44mL,19.4mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2h。在真空中浓缩反应混合物,以提供粗制(M)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-4-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮,将其不经进一步纯化即使用。

[0296] 向粗制(M)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-4-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮中添加DCM(10mL)。将溶液冷

却至 -20°C 。添加DIPEA(0.423mL,2.42mmol),随后逐滴添加丙烯酰氯(DCM中的1.1M溶液,0.396mL,0.436mmol)。将反应混合物搅拌5min。在真空中浓缩反应混合物并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-80% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化。将获得的黄色固体吸收在EtOAc中并且用1:1饱和 NaHCO_3 :水和盐水依序洗涤,然后经 MgSO_4 干燥并且在真空中浓缩,以得到4-((2S,5R,M)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.184g,0.321mmol,66.3%产率)。 ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ_{ppm} 8.44(d,J=4.77Hz,1H)8.27-8.32(m,1H)7.21-7.24(m,1H)7.07-7.14(m,1H)6.78-6.92(m,1H)6.48(d,J=8.29Hz,1H)6.34-6.41(m,1H)6.20(dd,J=16.59,2.28Hz,1H)5.73-5.79(m,1H)5.37(s,2H)4.12-4.91(m,4H)3.47-3.89(m,2H)2.66-2.78(m,1H)1.94(s,3H)1.33(t,J=6.53Hz,3H)1.18-1.29(m,3H)1.07(d,J=6.63Hz,3H)0.96(d,J=6.63Hz,3H)。 ^{19}F NMR(376MHz,DMSO- d_6) δ_{ppm} -114.36--114.15(m,1F)-127.28--127.04(m,1F)。m/z(ESI,+ve):573.6(M+H) $^+$ 。

[0297] 实例7

[0298] 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0300] 步骤1:4,6-二异丙基嘧啶-5-胺。通过使氩鼓泡进入混合物持续5min使4,6-二氯-5-氨基嘧啶(3.00g,18.29mmol,加利福尼亚州圣地亚哥康比乐公司(Combi-Blocks))在THF(18mL)中的溶液脱气。经由注射器添加2-丙基溴化锌(THF中的0.5M溶液,91.0mL,45.5mmol,密苏里州圣路易斯西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich)),随后添加XantPhos Pd G3(434mg,0.46mmol,密苏里州圣路易斯西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich))。将所得混合物在rt下搅拌16h并且然后经由硅藻土垫过滤。用EtOAc冲洗滤饼,并且收集滤液且

在真空中浓缩,以得到4,6-二异丙基嘧啶-5-胺(3.45g)。该材料不经进一步纯化即用于以下步骤。 m/z (ESI,+ve离子)180.2(M+H)⁺。

[0301] 步骤2:2,5,6-三氯-N-((4,6-二异丙基嘧啶-5-基)氨基甲酰基)烟酰胺。将2,5,6-三氯烟酰胺(中间体A,3.30g,14.6mmol)在1,2-二氯乙烷(49mL)中的溶液用草酰氯(DCM中的2M溶液,11.0mL,22.0mmol)处理。将混合物在80℃下加热45min,然后停止加热并且将反应在真空中浓缩。将残余物溶解于乙腈(49mL)中,冷却至-10℃,并且经由导管添加4,6-二异丙基嘧啶-5-胺(3.15g,17.6mmol)在乙腈(5mL)中的溶液。将所得混合物在室温下搅拌过夜,并且然后在真空中浓缩。将残余物悬浮于温10:1庚烷/EtOAc(110mL)中并且过滤。将滤液浓缩并且将残余物通过硅胶色谱(洗脱液:0-40%EtOAc/庚烷)纯化,以提供2,5,6-三氯-N-((4,6-二异丙基嘧啶-5-基)氨基甲酰基)烟酰胺。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ ppm 11.30-11.46(m,1H),9.66(br s,1H),8.95-9.01(m,1H),8.65-8.72(m,1H),3.26(s,2H),1.17(d,J=6.6Hz,12H)。 m/z (ESI,+ve离子):430.0(M+H)⁺。

[0302] 步骤3:6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体J)。向2,5,6-三氯-N-((4,6-二异丙基嘧啶-5-基)氨基甲酰基)烟酰胺(2.10g,4.9mmol)在THF(49mL)中的-20℃溶液中添加KHMDs(THF中的1M溶液,12.2mL,12.2mmol)。移除冷却浴并且将所得混合物在rt下搅拌2h。将反应混合物用饱和氯化铵水溶液(50mL)淬灭,用盐水稀释,并用3:1EtOAc/MeOH萃取。分离各层并将水层再用EtOAc萃取。将合并的有机层经无水MgSO₄干燥并且在真空中浓缩。将残余物悬浮于正庚烷/EtOAc中并且过滤。将滤液浓缩,以提供6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ ppm12.33(s,1H),9.18(s,1H),8.61(s,1H),2.90-3.02(m,2H),1.10(d,J=6.6Hz,6H),0.99(d,J=6.6Hz,6H)。 m/z (ESI,+ve离子):394.1(M+H)⁺。

[0303] 步骤4:(2R,5S)-4-(6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体K)。向150-mL圆底烧瓶中添加乙腈(5.07mL)中的6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体J,0.400g,1.01mmol)和N,N'-二异丙基乙胺(0.230mL,1.32mmol)。然后向反应混合物中缓慢添加三氯氧磷(0.113mL,1.22mmol)。烧瓶配备有空气冷却的冷凝器,然后将混合物搅拌且在80℃下、同时在惰性(N₂)气氛下加热30min。此时停止反应并且将混合物从加热浴移出且冷却至rt。将反应混合物冷却至0℃。向混合物中缓慢添加DIPEA(0.5mL)。然后向反应混合物中缓慢添加(2R,5S)-1-Boc-2,5-二甲基哌嗪(0.435g,2.03mmol)在乙腈(5mL)中的混合物。移除冰浴并且经10min使整个混合物缓慢升温至室温。将反应混合物在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-50%EtOAc/庚烷)纯化,以得到呈浅黄色固体的(2R,5S)-4-(6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.402g,0.681mmol,67.1%产率)。 m/z (ESI,+ve离子):590.2(M+H)⁺。

[0304] 步骤5:(2R,5S)-4-(6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向100-mL圆底烧瓶中添加在1,4-二噁烷(2.12mL)中的(2R,5S)-4-(6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体K,0.250g,0.423mmol)及KOAc(0.125g,1.27mmol)。通过使N₂鼓泡进入混合物5min使反应混合

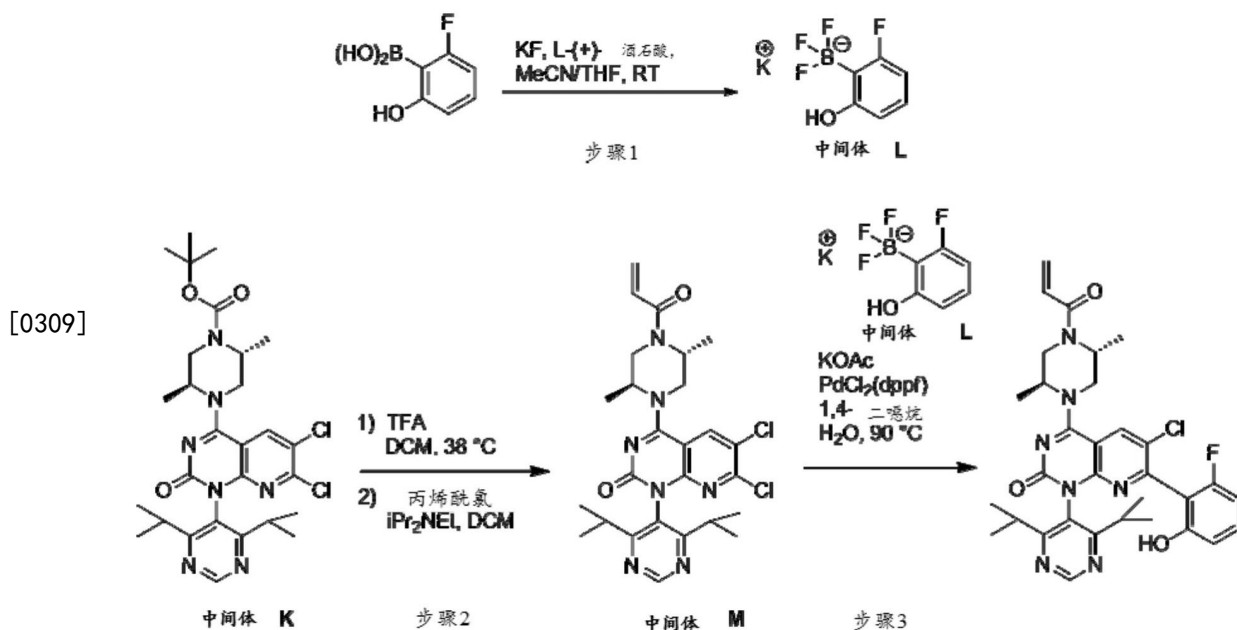
物脱气。然后向反应混合物中添加(1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁)二氯化钡(0.031g, 0.042mmol),随后添加2-氟苯基硼酸(0.118g,0.847mmol)和水(0.3mL)。将混合物搅拌并且在90°C下加热15min。将反应混合物用饱和氯化铵水溶液和EtOAc稀释。分离各层且用EtOAc萃取水层。将合并的有机萃取物经Mg₂SO₄干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-100% EtOAc/庚烷)纯化,以提供呈浅黄色固体的(2R,5S)-4-(6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.245g,0.377mmol,89%产率)。m/z (ESI,+ve离子):650.3(M+H)⁺。

[0305] 步骤6:4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向100-mL圆底烧瓶中添加在DCM(3.61mL)中的(2R,5S)-4-(6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.235g,0.361mmol)和三氟乙酸(0.269mL,3.61mmol)。将反应混合物搅拌并且在38°C下、同时在惰性(N₂)气氛下加热2.5h。在真空中浓缩反应混合物,以提供粗制6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮,其不经进一步纯化即直接用于合成的下一步骤。

[0306] 将6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮溶解于二氯甲烷(3.61mL)中,并且将混合物冷却至0°C。向反应混合物中添加DIPEA(0.758mL,4.34mmol)并且将混合物搅拌2min。向混合物中逐滴添加丙烯酰氯(0.029mL,0.361mmol)。将混合物用EtOAc和饱和NaHCO₃水溶液稀释,并且分离各层。用EtOAc萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈白色固体的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.110g,0.182mmol,50.4%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 9.07(s,1H)8.50(d,J=4.98Hz,1H)7.49-7.56(m,1H)7.26-7.35(m,2H)7.20(t,J=6.91Hz,1H)6.78-6.91(m,1H)6.20(br d,J=17.21Hz,1H)5.73-5.79(m,1H)4.89(br s,1H)4.79(br s,1H)4.14-4.28(m,1H)4.08(br d,J=5.18Hz,1H)3.88(br t,J=13.58Hz,2H)3.16-3.28(m,2H)2.66-2.80(m,2H)1.32-1.39(m,3H)1.19-1.22(m,1H)1.09(dd,J=6.63,2.70Hz,6H)0.95(br d,J=6.43Hz,6H)。m/z (ESI,+ve离子):604.4(M+H)⁺。

[0307] 实例8

[0308] 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0310] 步骤1: 三氟硼酸(2-氟-6-羟基苯基)钾(中间体L)。向(2-氟-6-羟基苯基)硼酸(30g, 192mmol, 加利福尼亚州圣地亚哥康比乐公司(Combi-Blocks))在乙腈(750mL)中的悬浮液中添加氟化钾(44.7g, 770mmol)在水(75mL)中的溶液。将混合物搅拌2min且然后经10min时间经由加料漏斗添加L-(+)-酒石酸(72.2g, 481mmol)于THF(375mL)中的溶液。将混合物用机械搅拌器剧烈搅拌1h, 且将所得悬浮液过滤, 并且将过滤的固体用少量THF洗涤。丢弃固体并部分浓缩滤液, 直至固体开始从溶液沉淀析出。然后将混合物冷却至-20℃并且搅拌16h。将反应缓慢升温并添加2-丙醇(20mL)。过滤所得悬浮液且将过滤的固体用2-丙醇洗涤。将滤液再部分浓缩直至形成悬浮液, 且然后冷却至-20℃并再搅拌20min。将所得悬浮液用2-丙醇稀释并过滤, 且用2-丙醇洗涤过滤的固体。将两批固体合并以提供三氟硼酸2-氟-6-羟基苯基)钾。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.07 (q, J=14.7Hz, 1H) 6.93 (q, J=7.5Hz, 1H) 6.30-6.38 (m, 2H)。

[0311] 步骤2: 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体M)。向100-mL圆底烧瓶中添加在1,2-二氯乙烷(4.06mL)中的(2R,5S)-4-(6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体K, 0.479g, 0.811mmol)和三氟乙酸(1.21mL, 16.2mmol)。将反应混合物搅拌并且在70℃下、同时在惰性(N₂)气氛下加热1h。在真空中浓缩反应混合物以提供粗制6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮, 将其不经进一步纯化即直接用于合成的下一步骤中。

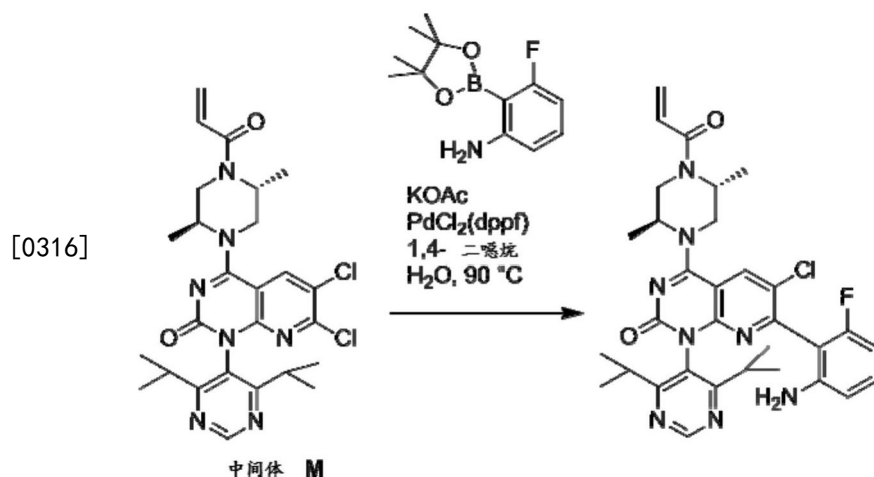
[0312] 将6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮用DCM(4mL)稀释, 然后将反应混合物冷却至0℃。向反应混合物中添加DIPEA(1.70mL, 9.73mmol)并且将混合物搅拌2min。向反应混合物中逐滴添加丙烯酰氯(0.066mL, 0.811mmol)。将混合物用DCM和饱和NaHCO₃水溶液稀释, 然后分离各层。用DCM萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥, 过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液: 0-100% EtOAc/庚烷, 然后利用0-5% MeOH/DCM的梯

度)纯化,以得到呈浅棕色固体的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.397g,0.729mmol,90%产率)。m/z(ESI,+ve离子):544.1(M+H)⁺。

[0313] 步骤3:4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向100-mL圆底烧瓶中添加在1,4-二噁烷(1.40mL)中的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体M,0.152g,0.279mmol)和KOAc(0.082g,0.837mmol)。通过使氩鼓泡进入混合物5min使反应混合物脱气。然后向混合物中添加(1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁)二氯化钯(0.020g,0.028mmol)。将混合物搅拌并且在90°C下加热10min。然后向反应混合物中缓慢添加三氟(2-氟-6-羟基苯基)硼酸钾(中间体L,0.183g,0.837mmol)在1,4-二噁烷(1mL)中的混合物,随后添加水(0.8mL)。搅拌反应混合物并且在90°C下加热1h。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-5% MeOH/DCM)纯化,以提供呈灰白色固体的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.115g,0.185mmol,66.4%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 10.12(br d,J=13.27Hz,1H)9.05(s,1H)8.48(br s,1H)7.20-7.28(m,1H)6.84(td,J=17.52,10.57Hz,1H)6.64-6.75(m,2H)6.20(dd,J=16.69,2.18Hz,1H)5.73-5.80(m,1H)4.75-4.98(m,2H)4.14-4.30(m,1H)3.80-3.95(m,2H)3.39-3.54(m,1H)2.56-2.78(m,2H)1.19-1.39(m,6H)1.03-1.15(m,6H)0.95(br s,6H)。m/z(ESI,+ve离子):620.0(M+H)⁺。

[0314] 实例9

[0315] 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮

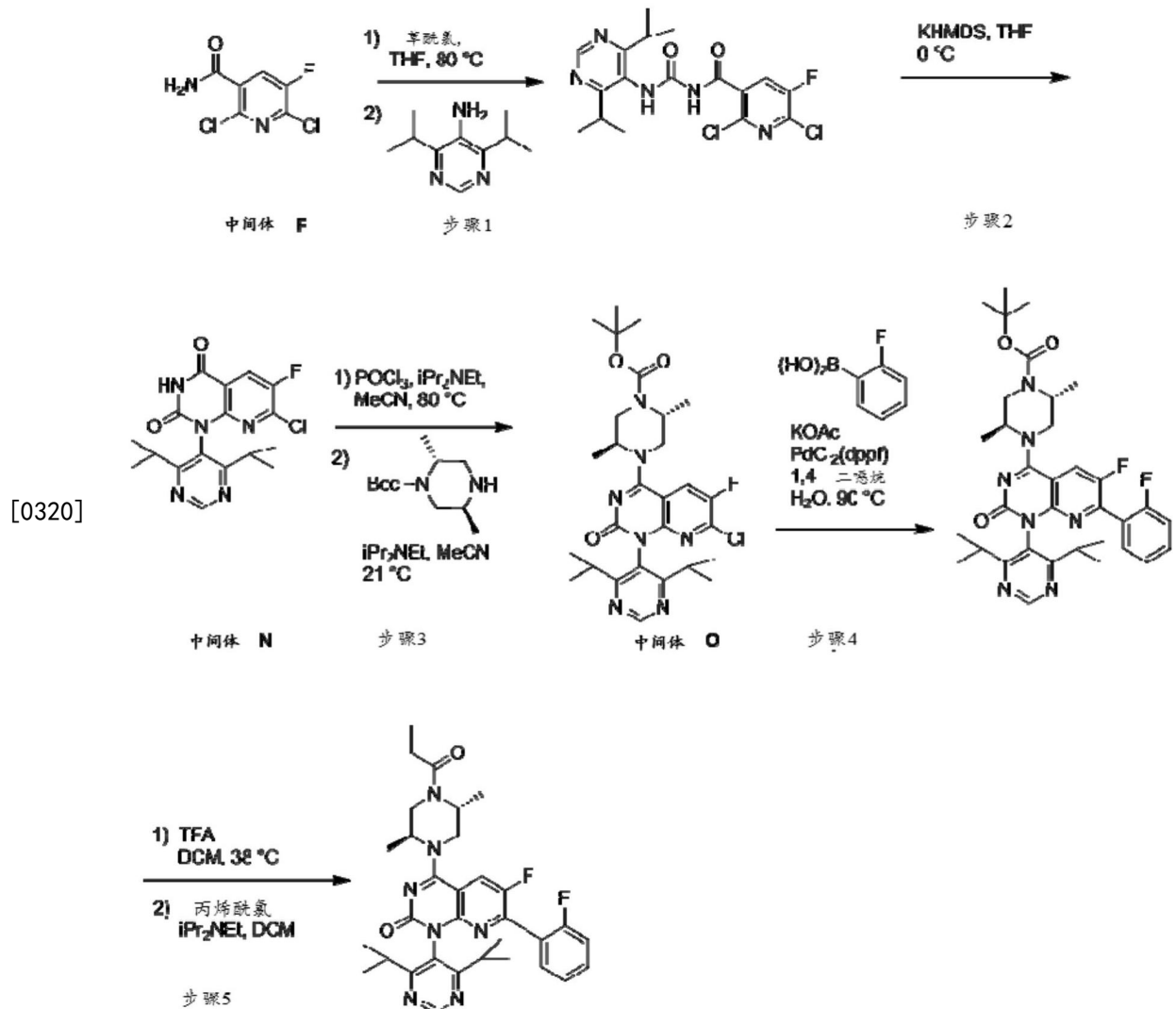


[0317] 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向100-mL圆底烧瓶中添加在1,4-二噁烷(2.11mL)中的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体M,0.230g,0.422mmol)和KOAc(0.124g,1.27mmol)。通过使氩鼓泡进入混合物5min使反应混合物脱气。然后向混合物中添加(1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁)二氯化钯(0.031g,0.042mmol)。将混合物搅拌并且在90°C下加热10min。然后向反应混合物中缓慢添加(2-氨基-6-氟苯基)硼酸频哪醇酯

(0.200g, 0.845mmol, CombiPhos公司, 新泽西州特伦顿 (Trenton, NJ)) 在1,4-二噁烷(1mL)中的混合物, 随后添加6滴水。将整个反应混合物搅拌并且在90°C下加热1h。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液: 0-5% MeOH/DCM)纯化, 以提供呈黄色固体的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.155g, 0.250mmol, 59.3%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 9.05 (s, 1H) 8.45-8.49 (m, 1H) 7.00-7.09 (m, 1H) 6.78-6.91 (m, 1H) 6.44 (d, J=8.29Hz, 1H) 6.31 (q, J=9.12Hz, 1H) 6.19 (dd, J=16.59, 2.07Hz, 1H) 5.72-5.79 (m, 1H) 5.11 (br d, J=11.40Hz, 2H) 4.72-4.95 (m, 2H) 4.09-4.24 (m, 1H) 3.82-4.01 (m, 2H) 3.44-3.61 (m, 1H) 2.78-2.94 (m, 1H) 2.53-2.68 (m, 1H) 1.17-1.37 (m, 6H) 1.07 (s, 6H) 0.87-1.03 (m, 6H)。m/z (ESI, +ve离子): 619.2 (M+H)⁺。

[0318] 实例10

[0319] 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0321] 步骤1: 2,6-二氯-N-((4,6-二异丙基嘧啶-5-基)氨基甲酰基)-5-氟烟酰胺。向250-mL圆底烧瓶中添加在THF (71.0mL) 中的2,6-二氯-5-氟烟酰胺(中间体F, 4.45g, 21.3mmol) 和草酰氯(16.0mL, 31.9mmol)。烧瓶配备有空气冷却的冷凝器, 并且将混合物搅

拌并且在80℃下加热1h。将反应混合物在真空中浓缩,以提供(2,6-二氯-5-氟烟酰基)氨基甲酰氯,将其不经进一步纯化即用于合成的下一步骤中。

[0322] 向250-mL圆底烧瓶中添加在四氢呋喃(71.0mL)中的异氰酸(2,6-二氯-5-氟烟酰基)氨基甲酰基酯(来自先前步骤的粗材料)。然后向反应混合物中逐滴添加4,6-二异丙基嘧啶-5-胺(4.01g,22.4mmol)在THF(10mL)中的溶液。将混合物在惰性(N₂)气氛、同时在室温下搅拌1.5h。将反应混合物在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-40% EtOAc/庚烷)纯化,以得到呈浅黄色固体的2,6-二氯-N-((4,6-二异丙基嘧啶-5-基)氨基甲酰基)-5-氟烟酰胺(7.74g,18.7mmol,88%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 11.41(br s,1H)9.66(br s,1H)8.99(s,1H)8.54(br d,J=7.88Hz,1H)3.20-3.28(m,2H)1.17(d,J=6.84Hz,12H)。m/z(ESI,+ve离子):414.0(M+H)⁺。

[0323] 步骤2:7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体N)。向250-mL圆底烧瓶中添加在THF(48.3mL)中的2,6-二氯-N-((4,6-二异丙基嘧啶-5-基)氨基甲酰基)-5-氟烟酰胺(4.00g,9.66mmol)。将反应混合物在湿的冰/水浴中冷却至0℃。然后经5min经由加料漏斗向反应混合物中逐滴添加双(三甲基硅基)酰胺钾在THF中的1M溶液(12.1mL,12.1mmol)。移除冰浴并且将反应混合物缓慢升温至室温,同时在惰性(N₂)气氛下搅拌1h。向反应混合物中逐滴添加更多KHMDS(0.5当量;6mL),直至起始材料几乎消耗完为止。将反应混合物用饱和氯化铵水溶液(50mL)淬灭,然后将混合物用EtOAc-MeOH(3:1)和盐水溶液稀释。分离各层且用EtOAc萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥,过滤且在真空中浓缩,以得到呈浅棕色固体的7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(2.58g,6.84mmol,70.9%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 12.03-12.52(m,1H)8.97-9.23(m,1H)8.25-8.58(m,1H)2.80(dt,J=13.22,6.56Hz,2H)0.96(d,J=6.63Hz,6H)0.85(d,J=6.63Hz,6H)。m/z(ESI,+ve离子):378.0(M+H)⁺。

[0324] 步骤3:(2R,5S)-4-(7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体O)。向100-mL圆底烧瓶中添加在乙腈(7.94mL)中的7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体N,0.300g,0.794mmol)和DIPEA(0.180mL,1.03mmol)。然后向反应混合物中缓慢添加三氯氧磷(0.089mL,0.953mmol)。烧瓶配备有空气冷却的冷凝器并且将混合物搅拌并且在80℃下、同时在惰性(N₂)气氛下加热45min。从热浴移出反应混合物并且使其冷却至rt。将反应混合物冷却至0℃。然后向反应混合物中缓慢添加DIPEA(0.5mL)。然后向反应混合物中缓慢添加(2R,5S)-1-Boc-2,5-二甲基哌嗪(0.213g,0.993mmol)在乙腈(1mL)中的混合物。移除冰浴并且经1h使整个混合物缓慢升温至室温。将混合物用EtOAc稀释并且分离各层。用EtOAc和盐水萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-100% EtOAc/庚烷)纯化,以得到呈浅棕色固体的(2R,5S)-4-(7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.247g,0.430mmol,54.2%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 9.15(s,1H)8.39(d,J=8.29Hz,1H)5.14(t,J=5.81Hz,1H)4.49(d,J=5.80Hz,3H)4.06(br d,J=13.89Hz,1H)3.66(br s,1H)2.66-2.72(m,2H)1.44(s,9H)1.31(d,J=6.63Hz,3H)1.10-1.14(m,3H)1.09(s,6H)

0.98-1.04(m, 6H) 。m/z (ESI, +ve离子) :574.2 (M+H)⁺。

[0325] 步骤4: (2R, 5S) -4- (1- (4, 6-二异丙基嘧啶-5-基) -6-氟-7- (2-氟苯基) -2-氧代-1, 2-二氢吡啶并[2, 3-d]嘧啶-4-基) -2, 5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向100-mL圆底烧瓶中添加在1, 4-二噁烷(2.54mL)中的(2R, 5S) -4- (7-氯-1- (4, 6-二异丙基嘧啶-5-基) -6-氟-2-氧代-1, 2-二氢吡啶并[2, 3-d]嘧啶-4-基) -2, 5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体0, 0.225g, 0.392mmol) 和K0Ac (0.115g, 1.18mmol) 。通过使N₂鼓泡进入混合物5min使反应混合物脱气。然后向反应混合物中添加(1, 1'-双(二苯基膦基) 二茂铁) 二氯化钡(0.029g, 0.039mmol) , 随后添加2-氟苯基硼酸(0.066g, 0.470mmol) 和水(0.1mL) 。将混合物搅拌并且在80°C下加热45min。将反应混合物用饱和氯化铵水溶液和EtOAc稀释。分离各层且用EtOAc萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥, 过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液: 0-100% EtOAc/庚烷) 纯化, 以得到呈浅棕色固体的(2R, 5S) -4- (1- (4, 6-二异丙基嘧啶-5-基) -6-氟-7- (2-氟苯基) -2-氧代-1, 2-二氢吡啶并[2, 3-d]嘧啶-4-基) -2, 5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.225g, 0.355mmol, 91%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 9.09(s, 1H) 8.34(d, J=9.54Hz, 1H) 7.55(br d, J=7.46Hz, 1H) 7.22-7.25(m, 3H) 4.85(br s, 1H) 4.27-4.40(m, 1H) 4.16(br d, J=14.10Hz, 1H) 3.71(br d, J=13.48Hz, 2H) 3.46-3.61(m, 1H) 2.68-2.77(m, 2H) 1.45(s, 9H) 1.34(d, J=6.63Hz, 3H) 1.18(br d, J=6.22Hz, 3H) 1.09(s, 6H) 0.94(d, J=6.63Hz, 6H) 。m/z (ESI, +ve离子) :634.4 (M+H)⁺。

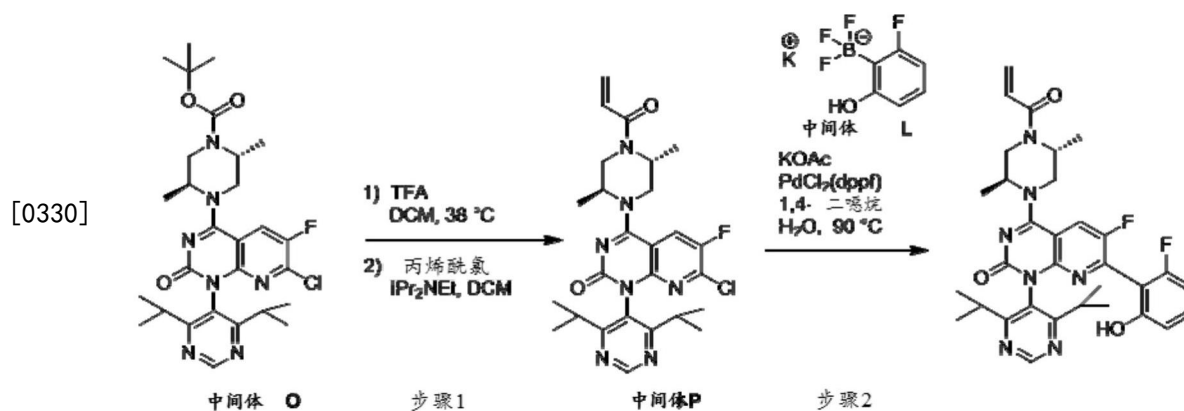
[0326] 步骤5: 4- ((2S, 5R) -4-丙烯酰基-2, 5-二甲基哌嗪-1-基) -1- (4, 6-二异丙基嘧啶-5-基) -6-氟-7- (2-氟苯基) 吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H) -酮。向100-mL圆底烧瓶中添加在DCM(3.37mL)中的(2R, 5S) -4- (1- (4, 6-二异丙基嘧啶-5-基) -6-氟-7- (2-氟苯基) -2-氧代-1, 2-二氢吡啶并[2, 3-d]嘧啶-4-基) -2, 5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.225g, 0.355mmol) 和三氟乙酸(0.265mL, 3.55mmol) 。将反应混合物搅拌并且在38°C下、同时在惰性(N₂) 气氛下加热2.5h。将反应混合物在真空中浓缩以提供1- (4, 6-二异丙基嘧啶-5-基) -4- ((2S, 5R) -2, 5-二甲基哌嗪-1-基) -6-氟-7- (2-氟苯基) 吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H) -酮。该材料不经进一步纯化即直接用于合成的下一步骤中。

[0327] 将粗制1- (4, 6-二异丙基嘧啶-5-基) -4- ((2S, 5R) -2, 5-二甲基哌嗪-1-基) -6-氟-7- (2-氟苯基) 吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H) -酮用二氯甲烷(3.37mL) 稀释并且冷却至0°C。然后向反应混合物中添加N, N'-二异丙基乙胺(0.744mL, 4.26mmol) , 并且将混合物搅拌2min。向反应混合物中逐滴添加丙烯酰氯(0.029mL, 0.355mmol) 并且将其在惰性(N₂) 气氛下搅拌30min。将混合物用DCM和饱和NaHCO₃水溶液稀释, 然后分离各层。用DCM萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥, 过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液: 0-5% MeOH/DCM) 纯化, 以得到呈浅棕色固体的4- ((2S, 5R) -4-丙烯酰基-2, 5-二甲基哌嗪-1-基) -1- (4, 6-二异丙基嘧啶-5-基) -6-氟-7- (2-氟苯基) 吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H) -酮(0.070g, 0.119mmol, 33.5%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 9.03(s, 1H) 8.30(dd, J=9.43, 4.87Hz, 1H) 7.48(q, J=6.98Hz, 1H) 7.16-7.30(m, 3H) 6.71-6.84(m, 1H) 6.12(br d, J=17.00Hz, 1H) 5.69(br d, J=10.16Hz, 1H) 4.67-4.89(m, 2H) 4.06-4.19(m, 1H) 3.74-3.85(m, 2H) 2.65(dq, J=12.75, 6.39Hz, 2H) 1.27(t, J=5.91Hz, 3H) 1.19(br d, J=6.63Hz, 2H) 1.12(d, J=6.63Hz, 2H) 1.02(dd, J=6.63, 1.87Hz, 6H) 0.87(d, J=

6.63Hz, 6H) 。m/z (ESI, +ve离子) : 588.2 (M+H)⁺。

[0328] 实例11

[0329] 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0331] 步骤1: 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体P)。向100-mL圆底烧瓶中添加在DCM(3.37mL)中的(2R,5S)-4-(7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-2,5-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体O, 0.590g, 1.03mmol)和三氟乙酸(1.53mL, 20.5mmol)。将反应混合物搅拌并且在38°C下、同时在惰性(N₂)气氛下加热16h。在真空中浓缩反应混合物以提供7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。该材料不经进一步纯化即直接用于合成的下一步骤中。

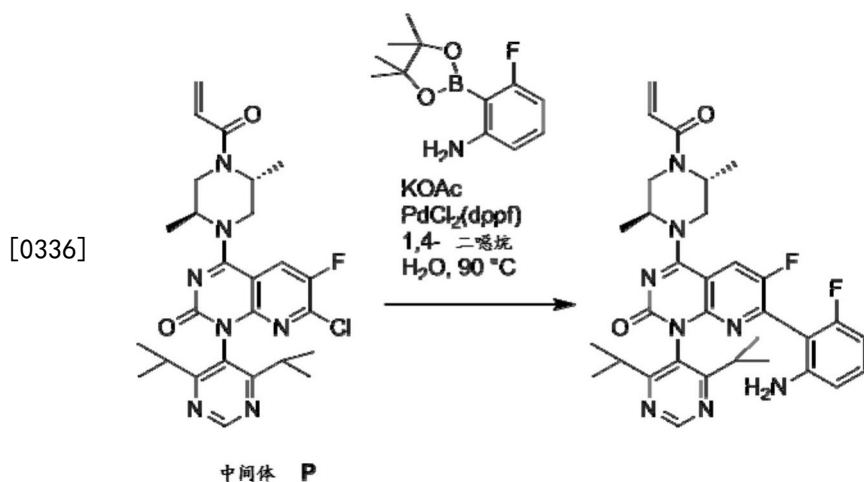
[0332] 将粗制7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-((2S,5R)-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮用DCM(3.37mL)稀释,并且将反应混合物冷却至0°C。向反应混合物中添加DIPEA(2.15mL, 12.3mmol)并且将混合物搅拌2min。向反应混合物中逐滴添加丙烯酰氯(0.084mL, 1.03mmol)。用DCM和饱和NaHCO₃水溶液稀释混合物并且分离各层。用DCM萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液: 0-100% EtOAc/庚烷,随后0-5% MeOH/DCM的梯度)纯化,以得到呈浅棕色固体的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.472g, 0.894mmol, 87%产率)。m/z (ESI, +ve离子) : 528.1 (M+H)⁺。

[0333] 步骤2: 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向100-mL圆底烧瓶中添加在1,4-二噁烷(2.0mL)中的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体P, 0.210g, 0.398mmol)和KOAc(0.117g, 1.19mmol)。通过使氩鼓泡进入混合物5min使反应混合物脱气。向混合物中添加(1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁)二氯化钯(0.029g, 0.040mmol)。将混合物搅拌并且在90°C下加热10min。然后向反应混合物中缓慢添加在1,4-二噁烷(1mL)中的三氟(2-氟-6-羟基苯基)硼酸钾(中间体L, 0.173g, 0.795mmol),随后添加水(0.8mL)。搅拌反应混合物并且在90°C下加热1h。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液: 0-5%

MeOH,在DCM中)纯化,以得到呈浅黄色固体的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.180g,0.298mmol,75.0%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 10.20(s,1H) 9.05(s,1H) 8.32(dd,J=8.91,4.15Hz,1H) 7.22-7.30(m,1H) 6.65-6.90(m,3H) 6.18(dd,J=16.59,2.07Hz,1H) 5.72-5.78(m,1H) 4.73-4.96(m,2H) 4.13-4.22(m,1H) 3.85(br s,2H) 3.41-3.56(m,1H) 2.62-2.74(m,2H) 1.19-1.36(m,6H) 1.08(dd,J=6.63,1.45Hz,6H) 0.93(br d,J=5.39Hz,6H)。m/z(ESI,+ve离子):604.1(M+H)⁺。

[0334] 实例12

[0335] 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮

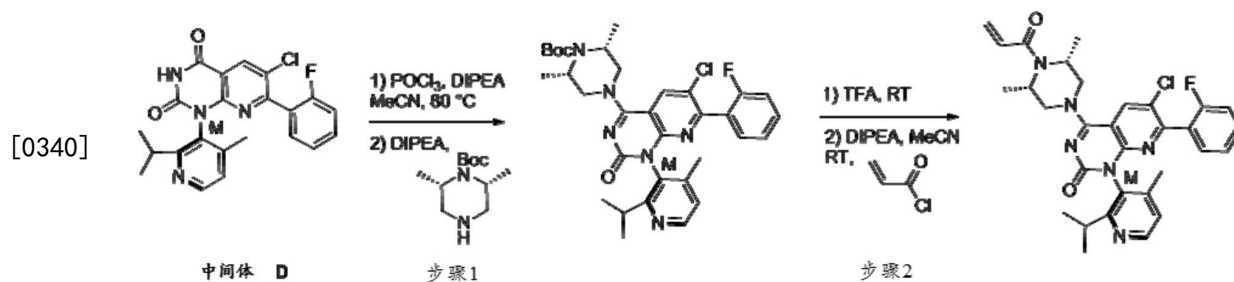


[0337] 4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向100-mL圆底烧瓶中添加在1,4-二噁烷(2.37mL)中的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体P,0.250g,0.473mmol)和KOAc(0.139g,1.420mmol)。通过使氩鼓泡进入混合物5min使反应混合物脱气。然后向混合物中添加(1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁)二氯化钯(0.035g,0.047mmol)。将混合物搅拌并且在90℃下加热10min。然后向反应混合物中缓慢添加(2-氨基-6-氟苯基)硼酸频哪醇酯(0.224g,0.947mmol,CombiPhos公司,新泽西州特伦顿(Trenton,NJ))在1,4-二噁烷(1mL)中的混合物,随后添加6滴水。将整个反应混合物搅拌并且在90℃下加热1h。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈黄色固体的4-((2S,5R)-4-丙烯酰基-2,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.138g,0.229mmol,48.4%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 9.09(s,1H) 8.35(br d,J=9.33Hz,1H) 7.07-7.14(m,1H) 6.78-6.92(m,1H) 6.48(d,J=8.47Hz,1H) 6.36(t,J=9.12Hz,1H) 6.20(dd,J=16.69,2.18Hz,1H) 5.73-5.80(m,1H) 5.31(s,2H) 4.76-4.94(m,2H) 4.15-4.22(m,1H) 3.82-3.91(m,2H) 3.45-3.57(m,1H) 2.67-2.79(m,2H) 1.30-1.37(m,3H) 1.18-1.29(m,3H) 1.05-1.09(m,6H) 0.95(br d,J=6.63Hz,6H)。m/z(ESI,+ve离子):603.2(M+H)⁺。

[0338] 实例13

[0339] (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异

丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0341] 步骤1: (M)-4-(6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。将(M)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体D, 0.143g, 0.337mmol)、磷酰三氯(0.038mL, 0.40mmol)和DIPEA(0.176mL, 1.01mmol)在乙腈(0.8mL)中的溶液在80°C下搅拌30min。从加热块移出反应混合物,并且添加顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.072g, 0.337mmol; Enamine, Monmouth Jct., NJ)和DIPEA(0.176mL, 1.01mmol)。将反应混合物在RT下搅拌15min。将反应混合物用EtOAc(100mL)稀释,添加至分液漏斗中,并且用饱和NaHCO₃水溶液(2×75mL)洗涤。将有机层分离,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空中浓缩。将粗产物吸附至二氧化硅上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-70%EtOAc/EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以给出呈琥珀色油状的(M)-4-(6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ8.45-8.52(m, 1H) 8.34(s, 1H) 7.41(br d, J=6.6Hz, 1H) 7.04-7.20(m, 4H) 4.45(br s, 2H) 4.31(br d, J=13.3Hz, 2H) 3.54(br d, J=13.3Hz, 2H) 2.74(dt, J=13.1, 6.5Hz, 1H) 2.04(s, 3H) 1.53(s, 9H) 1.25-1.32(m, 6H) 1.23(br d, J=6.8Hz, 3H) 1.06(br d, J=6.6Hz, 3H)。¹⁹F NMR(377MHz, CDCl₃) δ-112.61(s, 1F)。m/z (ESI, +ve离子): 621.0(M+H)⁺。

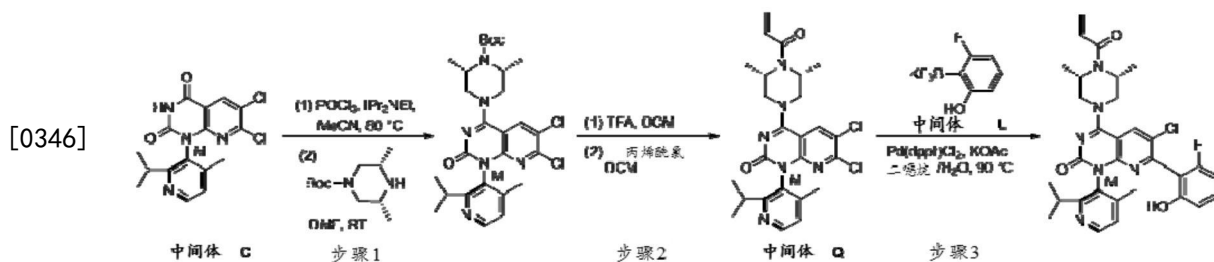
[0342] 步骤2: (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。将(M)-4-(6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.209g, 0.336mmol)在三氟乙酸(2.6mL, 34mmol)中的溶液在室温下搅拌15min。将反应混合物在真空中浓缩以提供呈油状的粗制(M)-6-氯-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。

[0343] 将粗制(M)-6-氯-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮、DIPEA(0.176mL, 1.01mmol)和丙烯酰氯(0.5M在DCM中, 0.673mL, 0.336mmol)在DCM(1.7mL)中的溶液在室温下搅拌15min。将反应混合物用EtOAc(100mL)稀释,添加至分液漏斗中,并且用饱和NaHCO₃水溶液(2×75mL)洗涤。将有机层分离,经无水Na₂SO₄干燥,并在真空中浓缩。将粗产物吸附至二氧化硅上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-100% EtOAc/EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以给出呈灰白色蜡质固体的(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(85mg, 0.15mmol, 44%产率)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ8.49(br s, 1H) 8.33(br s, 1H) 7.42(br d, J=3.3Hz, 1H) 7.03-7.21(m,

4H) 6.58-6.72 (m, 1H) 6.44 (br d, $J=15.8\text{Hz}$, 1H) 5.81 (br d, $J=9.1\text{Hz}$, 1H) 4.73 (br s, 2H) 4.35 (br d, $J=13.1\text{Hz}$, 2H) 3.62 (br d, $J=11.8\text{Hz}$, 2H) 2.64-2.79 (m, 1H) 2.04 (br s, 3H) 1.58 (br s, 6H) 1.19-1.25 (m, 3H) 1.02-1.09 (m, 3H)。 ^{19}F NMR (377MHz, CDCl_3) δ -112.58 (s, 1F)。m/z (ESI, +ve离子): 574.8 (M+H)⁺。

[0344] 实例14

[0345] (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0347] 步骤1: (M)-4-(6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向(M)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(1.17g, 3.20mmol, 中间体C)和DIPEA(0.74mL, 4.25mmol)在乙腈(3.27mL)中的溶液中逐滴添加三氯氧磷(0.37mL, 3.92mmol)。将混合物加热至80℃保持1h,然后冷却至0℃。添加DIPEA(1.71mL, 9.80mmol)和顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.70g, 3.27mmol, Enamine公司, 加利福尼亚圣地亚哥(San Diego, CA))。将此混合物升温至rt, 搅拌1h, 然后倾倒入饱和 NaHCO_3 的冷溶液中并且剧烈搅拌10min。将混合物分配在EtOAc与盐水之间, 分离各层, 用EtOAc反萃取水层并且经 MgSO_4 干燥合并的有机萃取物, 过滤并且在真空中浓缩。通过硅胶色谱(洗脱液: 0-40% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化粗物质, 以提供呈白色固体的(M)-4-(6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.65g, 2.94mmol, 90%产率)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8.58-8.47 (m, 2H), 7.26 (m, 1H), 4.23 (m, 4H), 3.58 (m, 2H), 2.66-2.61 (m, 1H), 1.94 (s, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.32-1.27 (m, 6H), 1.08-0.97 (m, 6H)。m/z (ESI, +ve离子): 561.0 (M+H)⁺。

[0348] 步骤2: (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体Q)。向小瓶中装载(M)-4-(6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.65g, 2.94mmol)、二氯甲烷(14.7mL)和三氟乙酸(4.4mL, 58.8mmol)。将混合物在rt下搅拌1h, 分配在EtOAc与 NaHCO_3 之间, 用 NaHCO_3 洗涤, 用盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 并且在真空中浓缩, 以提供粗制(M)-6,7-二氯-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。

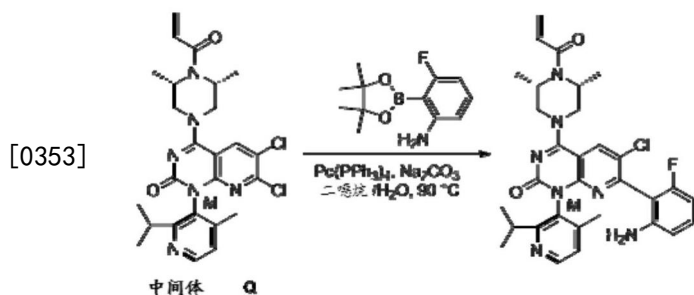
[0349] 将(M)-6,7-二氯-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮的残余物重新溶解在DCM(14.7mL)中, 随后逐滴添加丙烯酰氯(2.80mL, 3.09mmol)。将反应在RT下搅拌30min, 分配在EtOAc与饱和 NaHCO_3 之间, 用饱和 NaHCO_3 洗涤, 用盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥并且通过硅胶色谱(洗脱液: 30-100% tOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以提供呈白色固体的(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-

基)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(1.18g, 78%产率), 将其不经进一步纯化即使用。 m/z (ESI, +ve离子): 515.0 (M+H)⁺。

[0350] 步骤3: (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向小瓶中装入(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体Q, 0.30g, 0.57mmol)、三氟(2-氟-6-羟基苯基)硼酸钾(0.15g, 0.69mmol, 中间体L)、二氯[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加成物(0.04g, 0.06mmol)和KOAc(0.28g, 2.86mmol)。将烧瓶用N₂抽真空且回填, 随后添加1,4-二噁烷(2.30mL)和水(0.57mL)。将混合物在90°C下搅拌18h并且通过硅胶色谱(洗脱液30-100% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以提供0.26g粗材料, 使用制备型SFC(洗脱液20% MeOH)对其进一步纯化以提供呈黄色固体的(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.12g, 34.3%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.13(br s, 1H), 8.51(s, 1H), 8.38(d, J=5.0Hz, 1H), 7.27-7.14(m, 2H), 6.81(dd, J=10.6, 16.6Hz, 1H), 6.74-6.62(m, 2H), 6.20(dd, J=2.4, 16.7Hz, 1H), 5.79-5.71(m, 1H), 4.58(br s, 2H), 4.32(br t, J=15.7Hz, 2H), 3.63(m, 2H), 2.76-2.68(m, 1H), 1.91(m, 3H), 1.41(m, 6H), 1.07(d, J=6.8Hz, 3H), 0.92(br d, J=6.6Hz, 3H)。¹⁹F NMR(376MHz, DMSO-d₆) δ ppm -113.91(s, 1F)。 m/z (ESI, +离子): 591.0 (M+H)⁺。

[0351] 实例15

[0352] (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮

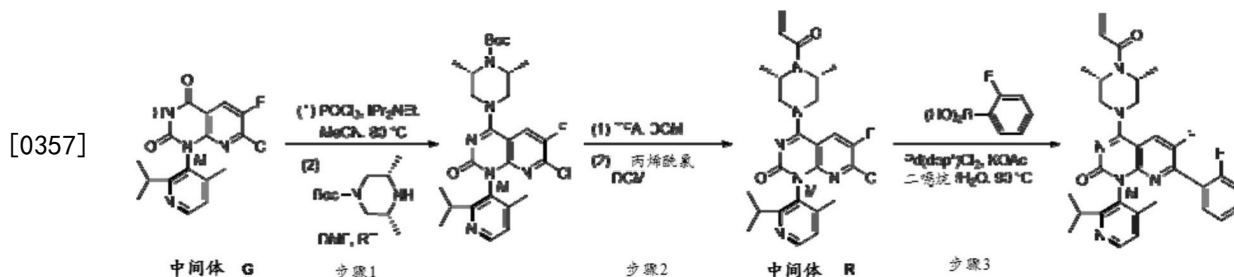


[0354] (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向小瓶中装入(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体Q, 0.30g, 0.57mmol)、(2-氨基-6-氟苯基)硼酸频哪醇酯(0.15g, 0.63mmol, CombiPhos公司, 新泽西州特伦顿(Trenton, NJ))、四(三苯基膦)钯(0)(0.07g, 0.06mmol)和KOAc(0.28g, 2.86mmol)。将烧瓶用N₂抽真空且回填, 随后添加1,4-二噁烷(2.30mL)和水(0.57mL)。将混合物在90°C下搅拌18h并且通过硅胶色谱(洗脱液:30-100% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以提供粗材料, 使用制备型SFC(洗脱液15% MeOH)对其进一步纯化以提供呈黄色固体的(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.17g, 49%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.50(s, 1H), 8.39(d, J=5.0Hz, 1H),

7.19 (d, J=4.8Hz, 1H), 7.09-7.02 (m, 1H), 6.81 (dd, J=10.5, 16.5Hz, 1H), 6.44 (m, 1H), 6.31 (t, J=8.9Hz, 1H), 6.20 (dd, J=2.2, 16.5Hz, 1H), 5.77-5.73 (m, 1H), 5.11 (br s, 2H), 4.60 (m, 2H), 4.37-4.24 (m, 2H), 3.64 (m, 2H), 2.91-2.68 (m, 1H), 1.99 (s, 3H), 1.39-1.41 (m, 6H), 1.11-1.02 (m, 3H), 0.88 (d, J=6.6Hz, 3H). ^{19}F NMR (376MHz, DMSO- d_6) δ ppm-115.73 (s, 1F). m/z (ESI, +ve离子): 591.0 (M+H) $^+$.

[0355] 实例16

[0356] (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0358] 步骤1: (M)-4-(7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向 (M)-7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体G, 1.03g, 2.96mmol) 和休尼格碱(0.69mL, 3.93mmol) 在乙腈(3.02mL) 中的溶液中逐滴添加三氯氧磷(0.34mL, 3.63mmol)。将混合物加热至80°C 保持1h, 然后冷却至0°C。添加DIPEA(1.58mL, 9.07mmol) 和顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.64g, 3.62mmol, Enamine公司, 加利福尼亚圣地亚哥(San Diego, CA))。将此混合物升温至rt, 搅拌1h, 然后倾倒入饱和NaHCO₃的冷溶液中并且剧烈搅拌10min。将混合物分配在EtOAc与盐水之间, 分离各层, 用EtOAc反萃取水层并且经MgSO₄干燥合并的有机萃取物, 过滤并且在真空中浓缩。将粗材料通过硅胶色谱(洗脱液: 0-40%EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以提供呈白色固体的(M)-4-(7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.38g, 84%产率)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.48 (d, J=4.8Hz, 1H), 8.40 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.26 (d, J=4.8Hz, 1H), 4.32-4.16 (m, 4H), 3.66-3.55 (m, 2H), 2.65-2.56 (m, 1H), 1.94 (s, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.29 (dd, J=3.1, 6.6Hz, 6H), 1.14-0.95 (m, 6H)。 ^{19}F NMR (376MHz, DMSO- d_6) δ ppm-128.10 (s, 1F); m/z (ESI, +ve离子): 545.2 (M+H) $^+$ 。

[0359] 步骤2: (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体R)。向小瓶中装载 (M)-4-(7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.38g, 2.53mmol)、DCM(12.7mL) 和三氟乙酸(3.77mL, 50.6mmol)。将混合物在rt下搅拌1h, 分配在EtOAc与NaHCO₃之间, 用NaHCO₃洗涤, 用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 并且在真空中浓缩, 以提供呈粗残余物的(M)-7-氯-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。

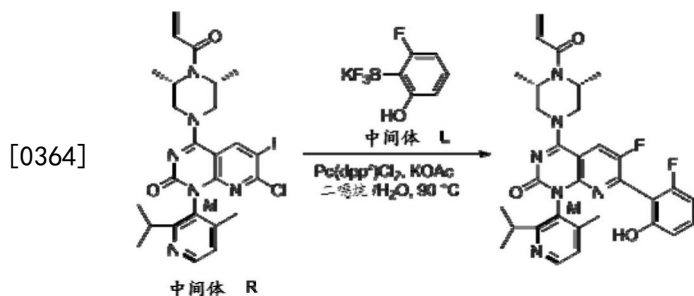
[0360] 将 (M)-7-氯-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮的残余物重新溶解于二氯甲烷(12.7mL) 中并且逐滴添

加丙烯酰氯 (2.42mL, 2.66mmol)。将反应在rt下搅拌30min, 分配在EtOAc/NaHCO₃之间, 用NaHCO₃洗涤, 用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥, 并且通过硅胶色谱(洗脱液: 30%-100% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以提供呈白色固体的(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.88g, 1.77mmol, 70.0%产率), 将其不经进一步纯化即使用。 m/z (ESI, +ve离子): 499.0 (M+H)⁺。

[0361] 步骤3: (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向小瓶中装入(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体R, 0.30g, 0.59mmol)、(2-氟苯基)硼酸(0.10g, 0.71mmol)、二氯[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加成物(0.04g, 0.06mmol)和KOAc(0.29g, 2.96mmol)。将烧瓶用N₂抽真空且回填, 随后添加1,4-二噁烷(2.37mL)和水(0.59mL)。将混合物在90℃下搅拌2h, 然后冷却至rt, 并且通过硅胶色谱(洗脱液: 30-100% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以提供呈橙色固体的(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.20g, 63%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.43(d, J=5.0Hz, 1H), 8.39(d, J=9.7Hz, 1H), 7.60-7.45(m, 1H), 7.37-7.21(m, 4H), 6.80(dd, J=10.6, 16.6Hz, 1H), 6.19(dd, J=2.4, 16.7Hz, 1H), 5.77-5.73(m, 1H), 4.57(br s, 2H), 4.33(m, 2H), 3.73-3.65(m, 2H), 2.75-2.68(m, 1H), 1.97-1.90(m, 3H), 1.39(t, J=6.5Hz, 6H), 1.07(d, J=6.6Hz, 3H), 0.95(d, J=6.8Hz, 3H)。¹⁹F NMR(376MHz, DMSO-d₆) δppm -113.83(d, J=32Hz, 1F), -128.96(d, J=32Hz, 1F)。 m/z (ESI, +ve离子): 559.0 (M+H)⁺。

[0362] 实例17

[0363] (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮

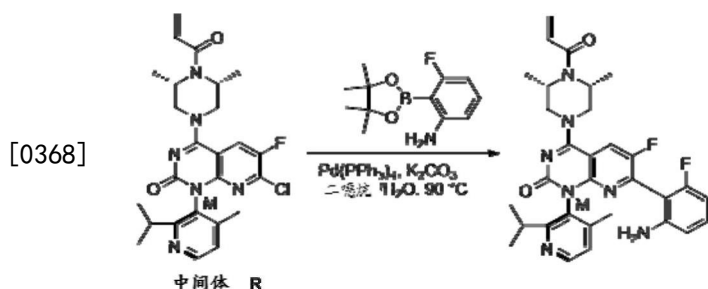


[0365] (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向小瓶中装入(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体R, 0.30g, 0.59mmol)、三氟(2-氟-6-羟基苯基)硼酸钾(0.15g, 0.69mmol, 中间体L)、二氯[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加成物(0.04g, 0.06mmol)和KOAc(0.28g, 2.86mmol)。将烧瓶用N₂抽真空且回填, 随后添加1,4-二噁烷(2.30mL)和水(0.57mL)。将混合物在90℃下搅拌18h并且通过硅胶色谱(洗脱液: 30%-100%EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以提供呈橙色固体的(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并

[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.21g,0.37mmol)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 10.20(br s, 1H), 8.39(d, J=5.0Hz, 1H), 8.33(d, J=9.1Hz, 1H), 7.31-7.23(m, 1H), 7.19(d, J=4.8Hz, 1H), 6.84-6.66(m, 3H), 6.19(dd, J=2.5, 16.6Hz, 1H), 5.77-5.73(m, 1H), 4.56(br s, 2H), 4.42-4.21(m, 2H), 3.66(ddd, J=3.8, 4.0, 13.3Hz, 2H), 2.74-2.68(m, 1H), 1.99-1.88(m, 3H), 1.41-1.39(m, 6H), 1.09-1.03(m, 3H), 0.92(d, J=6.6Hz, 3H)。¹⁹F NMR(377MHz,DMSO-d₆) δppm-115.68(s, 1F), -128.36(s, 1F)。m/z(ESI,+离子):575.2(M+H)⁺。

[0366] 实例18

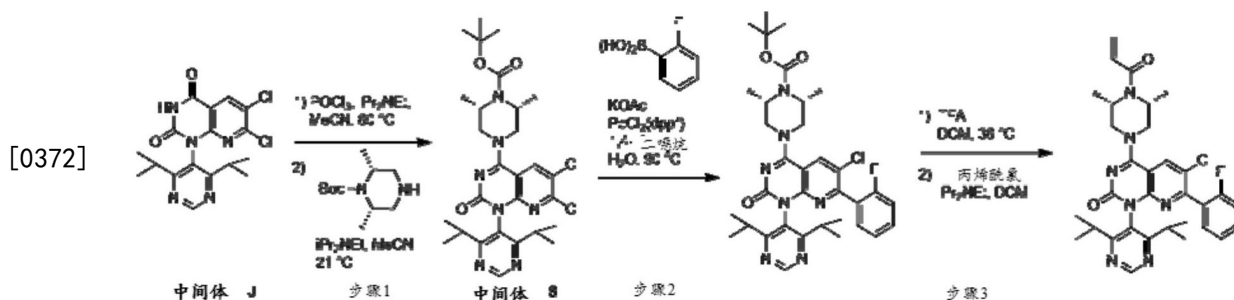
[0367] (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0369] (M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向小瓶中装入(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体R,0.3g,0.59mmol)、碳酸钾(178mg,2.96mmol)、(2-氨基-6-氟苯基)硼酸频哪醇酯(0.15g,0.65mmol,CombiPhos公司,新泽西州特伦顿(Trenton,NJ))、四(三苯基膦)钯(0)(68mg,0.06mmol)和1,4-二噁烷(2.0mL)。将混合物用N₂脱气,添加水(1.0mL),并且将混合物在90℃下搅拌2h,然后冷却至rt,直接吸附至SiO₂上,并且通过硅胶色谱(洗脱液:30%-100% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以提供呈橙色固体的(M)-4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氟-1-(2-异丙基-4-甲基吡啶-3-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.30g,88%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 8.44(d, J=4.8Hz, 1H), 8.34(d, J=9.5Hz, 1H), 7.22(d, J=4.8Hz, 1H), 7.14-7.07(m, 1H), 6.81(dd, J=10.4, 16.6Hz, 1H), 6.48(d, J=8.3Hz, 1H), 6.37(t, J=8.8Hz, 1H), 6.19(dd, J=2.4, 16.7Hz, 1H), 5.78-5.72(m, 1H), 4.57(br s, 2H), 4.33(m, 2H), 4.27(m, 2H), 3.73-3.64(m, 2H), 2.77-2.68(m, 1H), 1.99-1.90(m, 3H), 1.39(br d, J=14.1Hz, 3H), 1.40(br d, J=13.9Hz, 3H), 1.06(d, J=6.6Hz, 3H), 0.94(d, J=6.8Hz, 3H)。¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆) δppm-114.27(d, J=32Hz, 1F), -126.96(d, J=32Hz, 1F)。m/z(ESI,+ve离子)574.1(M+H)⁺。

[0370] 实例19

[0371] 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0373] 步骤1: 4-(6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体S)。向100-mL圆底烧瓶中添加在乙腈(3.80mL)中的6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体J,0.300g,0.761mmol)和DIPEA(0.173mL,0.989mmol)。然后向反应混合物中缓慢添加三氯氧磷(0.085mL,0.913mmol)。烧瓶配备有空气冷却的冷凝器,然后将混合物搅拌并且在80°C下、同时在惰性(N₂)气氛下加热30min。从热浴移出反应混合物并且使其冷却至rt。将反应混合物冷却至0°C。向混合物中缓慢添加DIPEA(0.5mL)。向反应混合物中缓慢添加顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.204g,0.951mmol)在MeCN(5mL)中的混合物。移除冰浴并且经10min使整个混合物升温至室温。将反应混合物在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-50% EtOAc/庚烷)纯化,以得到呈浅棕色固体的4-(6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.233g,0.395mmol,51.9%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 9.15(s,1H) 8.55(s,1H) 4.21-4.30(m,4H) 3.61(br dd,J=13.58,4.46Hz,2H) 2.70(quin,J=6.63Hz,2H) 1.45(s,9H) 1.30(d,J=6.63Hz,6H) 1.09(d,J=6.63Hz,6H) 1.01(d,J=6.63Hz,6H)。m/z(ESI,+ve离子):590.1(M+H)⁺。

[0374] 步骤2: 4-(6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向100-mL圆底烧瓶中添加在1,4-二噁烷(2.54mL)中的4-(6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体S,0.225g,0.381mmol)和KOAc(0.112g,1.143mmol)并且通过使N₂鼓泡进入混合物5min使反应混合物脱气。向反应混合物中添加(1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁)二氯化钨(0.028g,0.038mmol),随后添加2-氟苯基硼酸(0.064g,0.457mmol)和水(0.1mL)。将混合物搅拌并且在80°C下加热45min。将反应混合物用饱和氯化铵水溶液和EtOAc稀释。分离各层且用EtOAc萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-100% EtOAc/庚烷)纯化,以得到呈浅黄色固体的4-(6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.219g,0.337mmol,88%产率)。m/z(ESI,+ve离子):650.2(M+H)⁺。

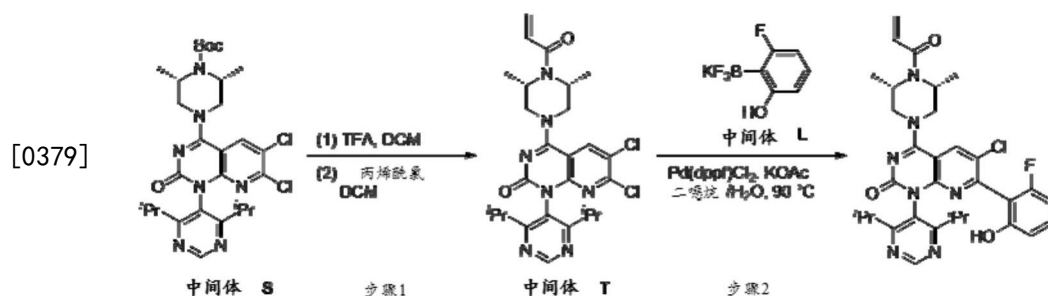
[0375] 步骤3: 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向100-mL圆底烧瓶中添加在DCM(3.37mL)中的4-(6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.219g,0.337mmol)和三

氟乙酸(0.251mL, 3.37mmol)。将反应混合物搅拌并且在38°C下、同时在惰性(N₂)气氛下加热2.5h。在真空中浓缩反应混合物以提供粗制6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。该材料不经进一步纯化即直接用于合成的下一步骤中。

[0376] 将粗制6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮用二氯甲烷(3.37mL)稀释,然后将反应混合物冷却至0°C。向反应混合物中添加DIPEA(0.706mL, 4.04mmol)并且将混合物搅拌2min。向反应混合物中逐滴添加丙烯酰氯(0.027mL, 0.337mmol)并且将混合物搅拌30min。将混合物用DCM和饱和NaHCO₃水溶液稀释,然后分离各层。用DCM萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥,过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液:0-5% MeOH/DCM)纯化,以得到呈浅黄色固体的4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.080g, 0.132mmol, 39.3%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 8.99(s, 1H) 8.50(s, 1H) 7.42-7.48(m, 1H) 7.19-7.27(m, 2H) 7.11(t, J=7.07Hz, 1H) 6.74(dd, J=16.59, 10.57Hz, 1H) 6.13(dd, J=16.59, 2.28Hz, 1H) 5.68(dd, J=10.37, 2.28Hz, 1H) 4.52(br s, 2H) 4.27(br d, J=13.68Hz, 2H) 3.62(dd, J=13.68, 4.56Hz, 2H) 2.61-2.72(m, 2H) 1.34(br d, J=6.63Hz, 6H) 1.02(d, J=6.84Hz, 6H) 0.86(d, J=6.63Hz, 6H)。m/z (ESI, +ve离子): 604.0 (M+H)⁺。

[0377] 实例20

[0378] 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0380] 步骤1: 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体T)。向小瓶中装载4-(6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(中间体S, 0.76g, 1.28mmol)、DCM(6.4mL)和三氟乙酸(1.91mL, 25.6mmol)。将混合物在rt下搅拌1h,分配在EtOAc与NaHCO₃之间,用NaHCO₃洗涤,用盐水洗涤,经MgSO₄干燥并且在真空中浓缩,以提供呈粗残余物的6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。

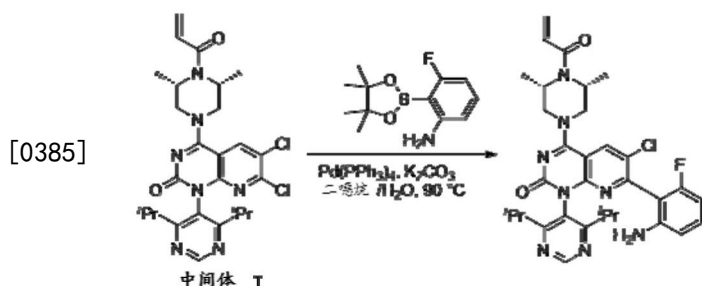
[0381] 将6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮的残余物重新溶解于二氯甲烷(6.4mL)中,随后逐滴添加丙烯酰氯(1.74mL, 1.92mmol)。将反应在RT下搅拌30min,分配在EtOAc与NaHCO₃之间,用NaHCO₃洗涤,用盐水洗涤,经MgSO₄干燥,并且通过硅胶色谱(洗脱液:30-100% EtOAc/EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以提供呈白色固体的4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.51g, 73%产率)。¹H NMR

(400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} 9.16 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 6.79 (dd, $J=10.6, 16.6$ Hz, 1H), 6.19 (dd, $J=2.4, 16.7$ Hz, 1H), 5.74 (dd, $J=2.8, 10.1$ Hz, 1H), 4.55 (br s, 2H), 4.30 (br d, $J=13.3$ Hz, 2H), 3.69 (dd, $J=4.9, 13.6$ Hz, 2H), 2.75-2.68 (m, 2H), 1.35 (d, $J=6.8$ Hz, 6H), 1.09 (d, $J=6.6$ Hz, 6H), 1.01 (d, $J=6.6$ Hz, 6H)。m/z (ESI, +ve离子) 544.0 (M+H)⁺。

[0382] 步骤2: 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向小瓶中装入4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体T, 0.26g, 0.47mmol)、三氟(2-氟-6-羟基苯基)硼酸钾(0.12g, 0.56mmol, 中间体L)、二氯[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加成物(0.03g, 0.05mmol)和K₂CO₃(0.23g, 2.34mmol)。将烧瓶用N₂抽真空且回填, 随后添加1,4-二噁烷(1.8mL)和水(0.47mL)。将混合物在90℃下搅拌18h并且通过硅胶色谱(洗脱液: 30%-60% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以提供呈黄色固体的4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.13g, 44.8%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} 10.13 (br s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.27-7.19 (m, 1H), 6.81 (dd, $J=10.6, 16.6$ Hz, 1H), 6.73-6.63 (m, 2H), 6.20 (dd, $J=2.4, 16.7$ Hz, 1H), 5.78-5.72 (m, 1H), 4.58 (br s, 2H), 4.34 (br d, $J=13.7$ Hz, 2H), 3.66 (dd, $J=4.6, 13.7$ Hz, 2H), 2.75-2.68 (m, 2H), 1.42 (br d, $J=6.6$ Hz, 6H), 1.08 (d, $J=6.6$ Hz, 6H), 0.97-0.90 (m, 6H)。¹⁹F NMR (376MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} -116.05 (s, 1F)。m/z (ESI, +离子) 620.0 (M+H)⁺。

[0383] 实例21

[0384] 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮

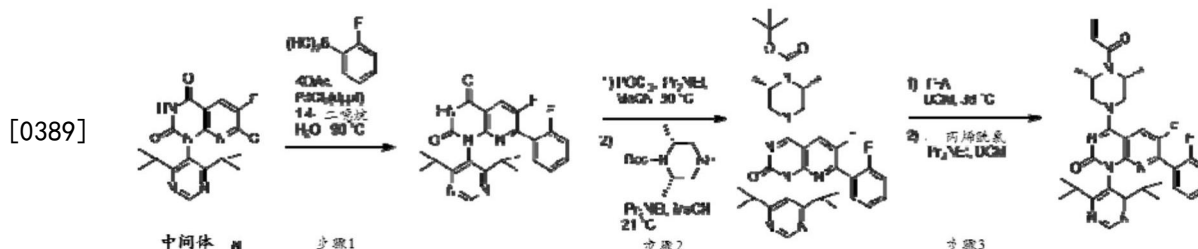


[0386] 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向小瓶中装入4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6,7-二氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体T, 0.26g, 0.47mmol)、碳酸钾(0.14g, 2.31mmol)、(2-氨基-6-氟苯基)硼酸频哪醇酯(0.12g, 0.52mmol, Enamine公司, 加利福尼亚圣地亚哥(San Diego, CA))、四(三苯基膦)钯(0)(54mg, 0.05mmol)和1,4-二噁烷(1.6mL)。将混合物用N₂脱气, 添加水(0.7mL), 并且将混合物在90℃下搅拌2h, 然后冷却至rt, 直接吸附至SiO₂上, 并且通过硅胶色谱(洗脱液: 30%-60% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化, 以提供呈黄色固体的4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-6-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.045g, 0.073mmol, 15.5%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} 9.05 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.11-6.97 (m, 1H), 6.82 (dd, $J=10.5, 16.7$ Hz,

1H), 6.44 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.31 (t, J=9.0Hz, 1H), 6.20 (dd, J=2.4, 16.7Hz, 1H), 5.78-5.73 (m, 1H), 5.09 (br s, 2H), 4.60 (br s, 2H), 4.32 (br d, J=13.3Hz, 2H), 3.68 (ddd, J=4.8, 8.8, 13.6Hz, 2H), 2.92-2.81 (m, 1H), 2.66-2.61 (m, 1H), 1.47-1.35 (m, 6H), 1.12-0.93 (m, 12H). ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δppm-116.31 (s, 1F). m/z (ESI, +ve离子) 619.6 (M+H)⁺.

[0387] 实例22

[0388] 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0390] 步骤1: 1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮。向100-mL圆底烧瓶中添加在1,4-二噁烷(5.56mL)中的7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体N, 0.420g, 1.11mmol)和KOAc(0.327g, 3.34mmol)。通过使(N₂)气体鼓泡进入混合物5min使反应混合物脱气。然后向反应混合物中添加(1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁)二氯化钨(0.081g, 0.111mmol)。将混合物搅拌并且在95°C下加热10min。向反应混合物中添加2-氟苯基硼酸(0.187g, 1.33mmol)和水(0.1mL)。使整个混合物在95°C下搅拌16h。将反应混合物用饱和氯化铵水溶液和EtOAc稀释。分离各层且用EtOAc萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥, 过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液: 0-100% EtOAc/庚烷)纯化, 以得到呈浅黄色固体的1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(0.235g, 0.537mmol, 48.3%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 12.27 (br s, 1H) 9.12 (s, 1H) 8.46 (d, J=8.50Hz, 1H) 7.48-7.57 (m, 1H) 7.20-7.36 (m, 3H) 2.88-3.08 (m, 2H) 1.10 (d, J=6.63Hz, 6H) 0.94 (d, J=6.63Hz, 6H)。m/z (ESI, +ve离子): 438.1 (M+H)⁺。

[0391] 步骤2: 4-(1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向100-mL圆底烧瓶中添加在乙腈(1.20mL)中的1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(0.105g, 0.240mmol)和DIPEA(0.054mL, 0.312mmol)。然后向反应混合物中缓慢添加三氯氧磷(0.027mL, 0.288mmol)。烧瓶配备有空气冷却的冷凝器, 然后将混合物搅拌且在80°C下、同时在惰性(N₂)气氛下加热30min。从加热浴移出反应混合物并且使其冷却至rt。将反应混合物冷却至0°C。然后向混合物中缓慢添加DIPEA(0.5mL)。然后向反应混合物中缓慢添加(2R,6S)-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.064mL, 0.300mmol)在乙腈(1mL)中的混合物。移除冰浴并且经10min使整个混合物升温至室温。将反应混合物在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过色谱(洗脱液: 0-70% EtOAc/庚烷)纯化, 以得到呈浅黄色固体的4-(1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.105g, 0.166mmol,

69.0%产率)。m/z (ESI, +ve离子): 634.3 (M+H)⁺。

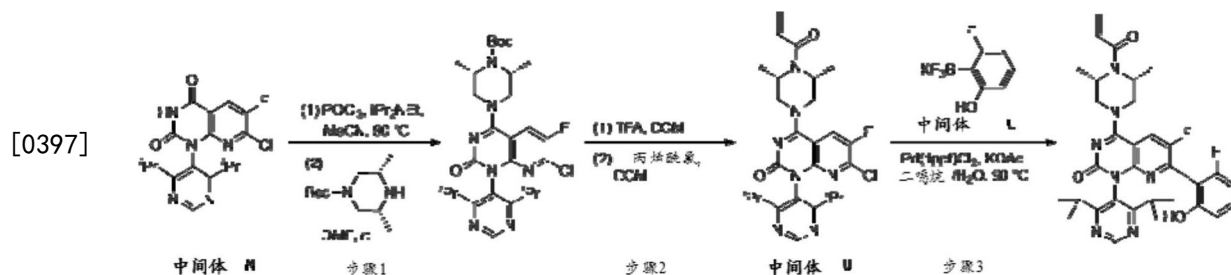
[0392] 步骤3: 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。

[0393] 向100-mL圆底烧瓶中添加DCM(1.97mL)中的4-(1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.100g, 0.158mmol)和三氟乙酸(0.118mL, 1.58mmol)。将反应混合物搅拌并且在38°C下、同时在惰性(N₂)气氛下加热2.5h。将反应混合物在真空中浓缩, 以提供呈粗残余物的1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。该材料不经进一步纯化即直接用于合成的下一步骤中。

[0394] 将1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮的残余物用二氯甲烷(1.97mL)稀释并且将反应混合物冷却至0°C。然后向反应混合物中添加DIPEA(0.331mL, 1.89mmol)且将其搅拌2min。向反应混合物中逐滴添加丙烯酰氯(0.013mL, 0.158mmol)。将反应混合物搅拌30min。将混合物用DCM和饱和NaHCO₃水溶液稀释, 然后分离各层。用DCM萃取水层。将合并的有机萃取物经MgSO₄干燥, 过滤并且在真空中浓缩。将粗材料吸附至硅胶塞上并且通过硅胶色谱(洗脱液: 0-4% MeOH/DCM)纯化, 以得到呈灰白色固体的4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.080g, 0.136mmol, 86%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 9.10(s, 1H) 8.43(d, J=9.74Hz, 1H) 7.56(q, J=7.05Hz, 1H) 7.23-7.38(m, 3H) 6.81(dd, J=16.48, 10.47Hz, 1H) 6.20(dd, J=16.69, 1.97Hz, 1H) 5.73-5.79(m, 1H) 4.57(br s, 2H) 4.30-4.40(m, 2H) 3.73(dd, J=13.58, 4.66Hz, 2H) 2.54-2.79(m, 2H) 1.41(br d, J=6.63Hz, 6H) 1.10(d, J=6.63Hz, 6H) 0.94(d, J=6.63Hz, 6H)。m/z (ESI, +ve离子): 588.2 (M+H)⁺。

[0395] 实例23

[0396] 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0398] 步骤1: 4-(7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。向7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(中间体N, 0.5g, 1.32mmol)和DIPEA(0.69mL, 3.93mmol)在乙腈(1.3mL)中的溶液中逐滴添加三氯氧磷(0.34mL, 3.63mmol)。将混合物加热至80°C持续1h, 然后冷却至0°C。添加DIPEA(1.58mL, 9.07mmol)和顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.30g, 1.39mmol, Enamine公司, 加利福尼亚圣地亚哥(San Diego, CA))。将混合物升温至rt, 搅拌1h, 然后倾倒入饱和NaHCO₃的冷溶液中且剧烈搅拌10min。将混合物分配在EtOAc与盐水之间, 分离各层, 用EtOAc反萃取水层并且经MgSO₄干燥

合并的有机萃取物,过滤并且在真空中浓缩。通过硅胶色谱(洗脱液:0-40% EtOAc-EtOH (3:1)/庚烷)纯化粗物质,以提供呈白色固体的4-(7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.59g,78%产率),将其不经进一步纯化即使用。 m/z (ESI,+ve离子)574.0(M+H)⁺。

[0399] 步骤2:4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体U)。向小瓶中装载4-(7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-2-氧代-1,2-二氢吡啶并[2,3-d]嘧啶-4-基)-顺式-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.59g,1.03mmol)、DCM(5.2mL)和三氟乙酸(1.53mL,20.5mmol)。将混合物在室温下搅拌1h并且分配在EtOAc与NaHCO₃之间。将有机层用NaHCO₃洗涤,用盐水洗涤,经MgSO₄干燥并且在真空中浓缩,以提供呈粗残余物的7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。

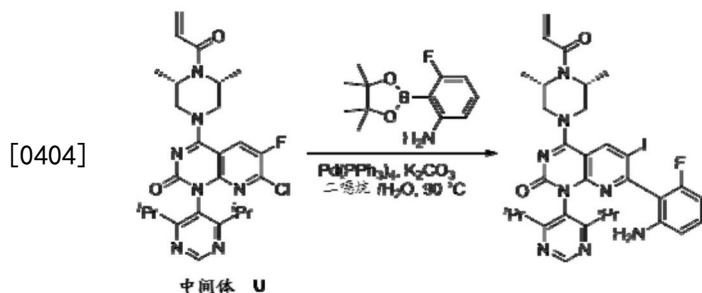
[0400] 将7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮的残余物重新溶解于二氯甲烷(5.2mL)中并且逐滴添加丙烯酰氯(2.42mL,2.66mmol)。将反应混合物在rt下搅拌30min,并且在EtOAc与NaHCO₃之间分配。将有机层用NaHCO₃洗涤,用盐水洗涤,经MgSO₄干燥,并且通过硅胶色谱(洗脱液:30-100% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以提供呈白色固体的4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.44g,82%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ ppm 9.16(s,1H),8.46(d,J=8.5Hz,1H),6.79(dd,J=10.6,16.6Hz,1H),6.18(dd,J=2.4,16.7Hz,1H),5.78-5.72(m,1H),4.54(br s,2H),4.30(dd,J=2.5,13.7Hz,2H),3.71(dd,J=4.8,13.7Hz,2H),2.73-2.65(m,2H),1.34(d,J=6.6Hz,6H),1.09(d,J=6.6Hz,6H),1.00(d,J=6.6Hz,6H)。¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆) δ ppm-127.69(s,1F)。 m/z (ESI,+ve离子)528.0(M+H)⁺。

[0401] 步骤3:4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向小瓶中装入4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体U,0.22g,0.42mmol)、三氟(2-氟-6-羟基苯基)硼酸钾(0.11g,0.51mmol,中间体L)、二氯[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加成物(0.03g,0.04mmol)和KOAc(0.21g,2.10mmol)。将烧瓶抽真空且用N₂回填,随后添加1,4-二噁烷(1.7mL)和水(0.4mL)。将混合物在90℃下搅拌2h,然后冷却至室温,并且通过硅胶色谱(洗脱液:30%-60% EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以提供呈黄色固体的4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟-7-(2-氟-6-羟基苯基)吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.13g,49%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ ppm 10.21(br s,1H),9.05(s,1H),8.36(d,J=9.3Hz,1H),7.30-7.23(m,1H),6.84-6.65(m,3H),6.19(dd,J=2.4,16.7Hz,1H),5.78-5.72(m,1H),4.56(br s,2H),4.33(dd,J=2.4,13.6Hz,2H),3.69(dd,J=4.7,13.6Hz,2H),2.74-2.64(m,2H),1.41(d,J=6.8Hz,6H),1.08(d,J=6.6Hz,6H),0.93(d,J=6.6Hz,6H)。¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆) δ ppm-115.89(s,1F),-128.23(s,1F)。 m/z (ESI,+ve离子)604.1(M+H)⁺。

[0402] 实例24

[0403] 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-1-(4,6-二

异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮



[0405] 4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮。向小瓶中装入4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-氯-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(中间体U,0.22g,0.42mmol)、碳酸钾(0.29g,2.10mmol)、(2-氨基-6-氟苯基)硼酸频哪醇酯(0.11g,0.46mmol,CombiPhos公司,新泽西州特伦顿(Trenton,NJ))、四(三苯基膦)钯(0)(49mg,0.042mmol)、水(0.7mL)和1,4-二噁烷(1.4mL)。将混合物用氮脱气,在90℃下搅拌2h,然后冷却至室温,并且通过硅胶色谱(洗脱液:30%-60%EtOAc-EtOH(3:1)/庚烷)纯化,以提供呈黄色固体的4-(4-丙烯酰基-顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-7-(2-氨基-6-氟苯基)-1-(4,6-二异丙基嘧啶-5-基)-6-氟吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H)-酮(0.10g,40%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 9.09(s,1H),8.37(d,J=9.5Hz,1H),7.13-7.06(m,1H),6.81(dd,J=10.6,16.8Hz,1H),6.47(d,J=8.3Hz,1H),6.36(t,J=9.1Hz,1H),6.20(dd,J=2.5,16.6Hz,1H),5.78-5.73(m,1H),5.29(s,2H),4.58(m,2H),4.34-4.30(m,2H),3.71(dd,J=4.8,13.7Hz,2H),2.78-2.68(m,2H),1.41(d,J=6.6Hz,6H),1.08(d,J=6.6Hz,6H),0.94(d,J=6.6Hz,6H)。¹⁹F NMR(376MHz,DMSO-d₆) δppm-115.21(d,J=22.5Hz,1F),-127.18(d,J=22.5Hz,1F)。m/z(ESI,+ve离子)603.6(M+H)⁺。

[0406] 表2:化合物的生物化学及细胞活性

[0407] 对于表2中的化合物,采用以下测定条件:

[0408] 偶联核苷酸交换测定:将含有G12C及C118A氨基酸取代及N末端His标签的纯化的GDP结合KRAS蛋白(aa 1-169)与化合物剂量反应滴定液一起在测定缓冲液(25mM HEPES pH 7.4、10mM MgCl₂及0.01% Triton X-100)中预孵育5min。化合物预孵育后,将纯化的SOS蛋白(aa 564-1049)及GTP(罗氏公司(Roche)10106399001)添加至测定孔中并且再孵育30min。为了确定对SOS介导的核苷酸交换的抑制程度,将纯化的GST标记的cRAF(aa1-149)、镍螯合剂AlphaLISA受体珠粒(PerkinElmer AL108R)及AlphaScreen谷胱甘肽供体珠粒(PerkinElmer 6765302)添加至测定孔中并孵育5分钟。然后在PerkinElmer EnVision多标记读取器上,使用AlphaScreen®技术读取测定盘,并使用4参数逻辑模型分析数据以计算IC₅₀值。

[0409] 磷酸-ERK1/2MSD测定:在含有10%胎牛血清(赛默飞世尔科技公司(ThermoFisher Scientific)16000044)及1x青霉素-链霉素-谷酰氨酸(赛默飞世尔科技公司(ThermoFisher Scientific)10378016)的RPMI 1640培养基(赛默飞世尔科技公司(ThermoFisher Scientific)11875093)中培养MIA PaCa-2(ATCC®CRL-1420TM)及A549(ATCC®CCL-185TM)细胞。在化合物处理前十六小时,将MIA PaCa-2或A549细胞以25,000

个细胞/孔的密度接种于96孔细胞培养盘中并在37℃、5% CO₂下孵育。在生长培养基中稀释化合物剂量反应滴定液,将其添加至细胞培养盘的适当孔中,且然后在37℃、5%CO₂下孵育2小时。在化合物处理后,用10ng/mL EGF(罗氏公司(Roche) 11376454001)刺激细胞10min,用不含Ca²⁺或Mg²⁺的冰冷杜贝卡式磷酸盐缓冲生理食盐水(赛默飞世尔科技公司(ThermoFisher Scientific) 14190144)洗涤,且然后将其溶解于含有蛋白酶抑制剂(罗氏公司(Roche) 4693132001)及磷酸酶抑制剂(罗氏公司(Roche) 4906837001)的RIPA缓冲液(50mM Tris-HCl pH 7.5、1%Igepal、0.5%脱氧胆酸钠、150mM NaCl及0.5%十二烷基硫酸钠)中。根据制造商的方案,使用磷酸ERK1/2全细胞溶解产物试剂盒(Meso Scale Discovery K151DWD)测定化合物处理的溶解产物中ERK1/2的磷酸化情况。在Meso Scale Discovery Sector Imager 6000上读取测定盘,并使用4参数逻辑模型分析数据以计算IC₅₀值。

[0410] 下表2中的“--”表示未执行测定。

实例编号	偶联交换 IC ₅₀ (μM)	p-ERK IC ₅₀ (MIA PaCa-2, μM)	
[0411]	1	0.040	
	2	0.027	
	3	0.013	
	4	0.206	
[0412]	5	0.079	
	6	0.038	
	7	0.049	
	8	0.030	
	9	0.054	
	10	0.160	
	11	0.136	
	12	0.214	
	13	0.053	
	14	0.016	
	15	0.014	
	16	0.512	--
	17	0.117	0.105
	18	0.069	0.075
	19	0.042	0.061
	20	0.034	0.022
	21	0.092	0.036
	22	0.560	--
	23	0.173	0.132
	24	0.396	--

[0413] 本发明结合优选实施例进行描述。然而,应了解,本发明并不限于所披露的实施例。应理解,鉴于本文中对本发明的实施例的描述,本领域技术人员可以做出多种修改。此类修改涵盖于下文的权利要求书中。