



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112771043 B

(45) 授权公告日 2023.04.28

(21) 申请号 201980064157.1

(22) 申请日 2019.09.30

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 112771043 A

(43) 申请公布日 2021.05.07

(66) 本国优先权数据  
201811162497.1 2018.09.30 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2021.03.29

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/CN2019/109502 2019.09.30

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02020/064009 ZH 2020.04.02

(73) 专利权人 北京志健金瑞生物医药科技有限  
公司  
地址 100176 北京市大兴区经济技术开发  
区景园北街2号10号楼10-1

(72) 发明人 王志健 钟俊 王雪冰

(74) 专利代理机构 北京知元同创知识产权代理  
事务所(普通合伙) 11535  
专利代理师 张炳楠

(51) Int.Cl.  
C07D 471/04 (2006.01)  
C07D 487/04 (2006.01)  
A61K 31/4985 (2006.01)  
A61K 31/4162 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61P 1/00 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 108349969 A, 2018.07.31  
TW 201825488 A, 2018.07.16  
WO 2018136661 A1, 2018.07.26  
WO 2019075108 A1, 2019.04.18  
WO 2019075114 A1, 2019.04.18  
US 2018133207 A1, 2018.05.17  
《STN REGISTER》.RN 2222758-45-2, RN  
2222758-41-8, RN 2222758-39-4, RN 2222758-  
12-3, RN 2222758-09-8, RN 2222758-07-6, RN  
2222758-02-1.《STN REGISTER》.2018,

审查员 张建宏

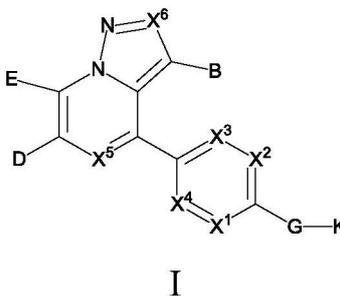
权利要求书6页 说明书81页

(54) 发明名称

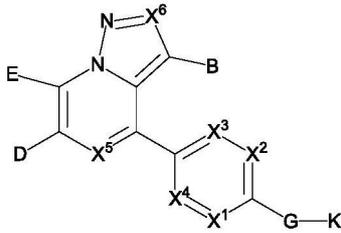
取代吡唑稠环类衍生物及其制备方法和应用

(57) 摘要

涉及药物化学领域, 主要涉及式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、或其药学上可接受的盐及其制备方法和在制备用于治疗RET激酶介导的疾病药物中的用途。



1. 式I所示的化合物或其药学上可接受的盐:



I

其中,  $X^1$ 、 $X^3$ 、 $X^5$ 选自CH;

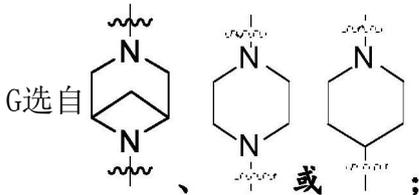
$X^2$ 、 $X^4$ 相同或不同,彼此独立地选自CH或N;

$X^6$ 选自-C-NH<sub>2</sub>;

B选自CN;

D选自被一个、两个或更多个R<sup>d</sup>取代的如下基团:C<sub>1-6</sub>烷基氧基,所述R<sup>d</sup>选自无取代或任选被一个或多个OH取代的C<sub>1-6</sub>烷基;或D选自被C<sub>1-6</sub>烷基取代的吡唑基,

E选自H;



K选自被一个R<sup>g</sup>取代的下列基团:C<sub>1-6</sub>烷基、-C(O)R<sup>4</sup>;

R<sup>g</sup>选自无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>h</sup>取代的下列基团:苯基、吡啶基;

R<sup>4</sup>选自C<sub>1-6</sub>烷基;

R<sup>h</sup>选自卤素、C<sub>1-6</sub>烷氧基。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中:

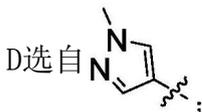
D选自被C<sub>1-6</sub>烷基取代的吡唑-3-基、吡唑-4-基、吡唑-5-基;

K选自被一个R<sup>g</sup>取代的下列基团:甲基、-C(O)CH<sub>3</sub>;

R<sup>g</sup>选自无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>h</sup>取代的下列基团:苯基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基;

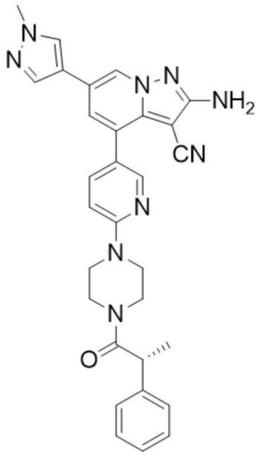
R<sup>h</sup>选自氟、氯、溴、甲氧基、乙氧基。

3. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中:

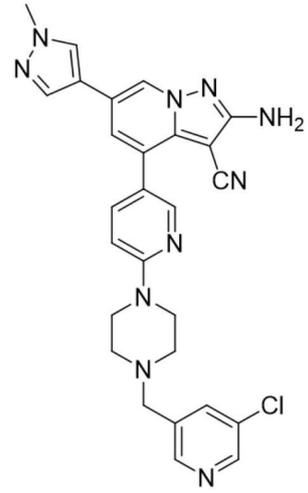


K选自被一个R<sup>g</sup>取代的甲基。

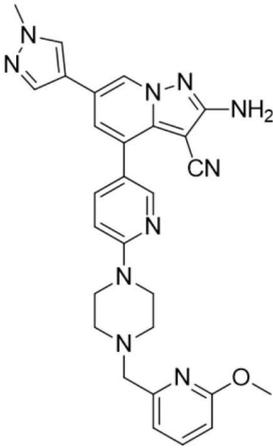
4. 如下化合物:



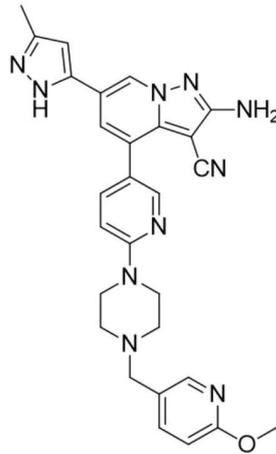
APS007



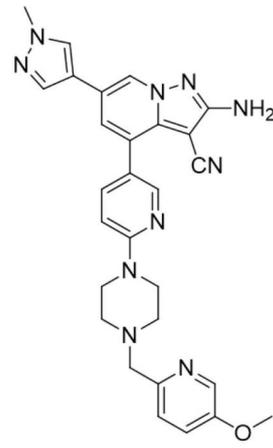
APS021



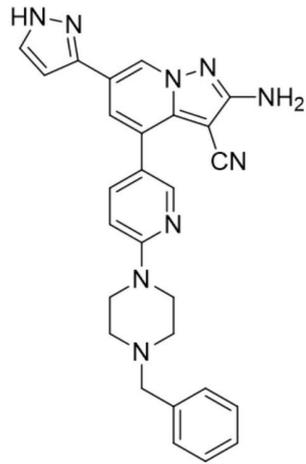
APS030



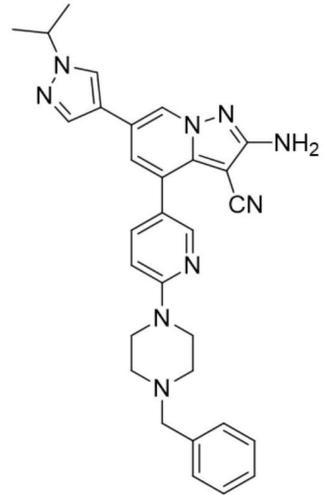
APS032



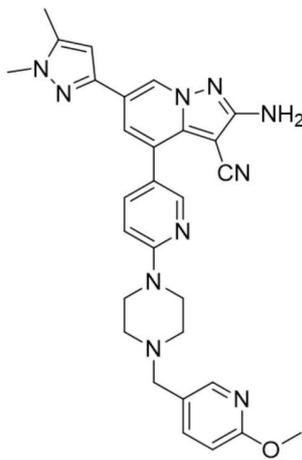
APS033



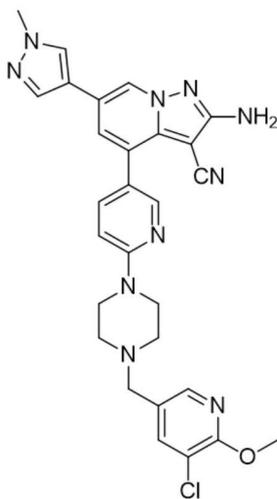
APS036



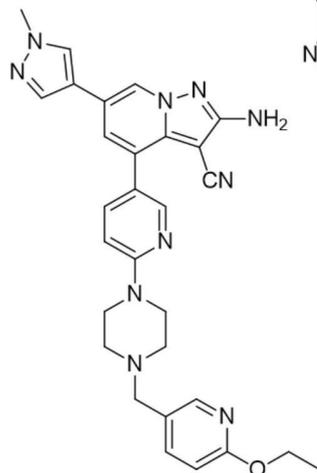
APS037



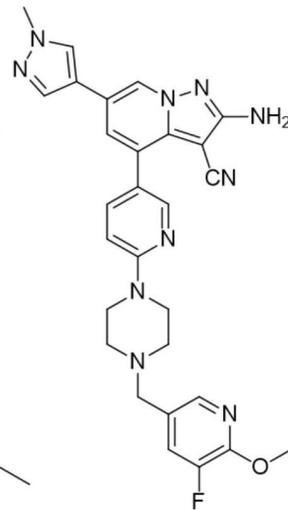
APS039



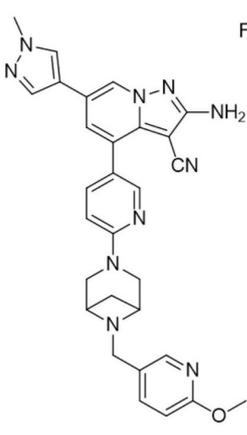
APS042



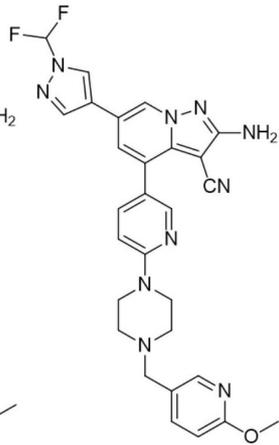
APS043



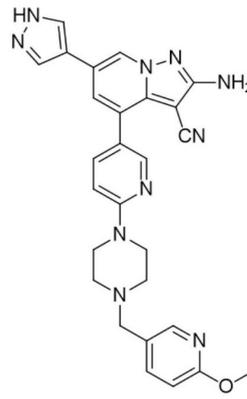
APS044



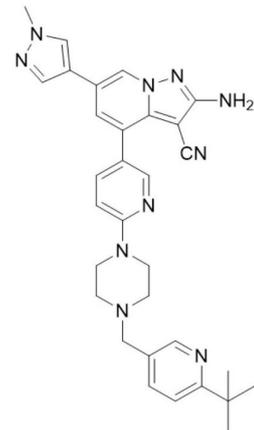
APS046



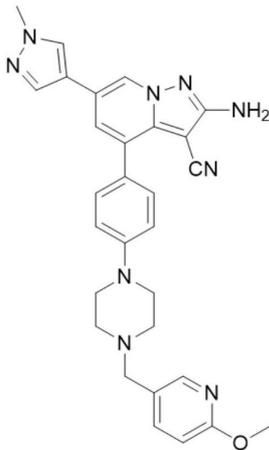
APS047



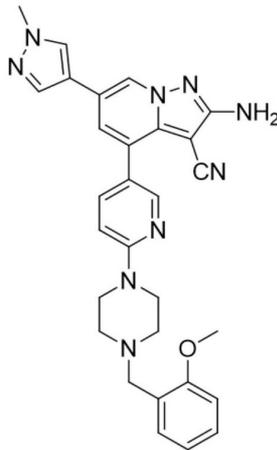
APS048



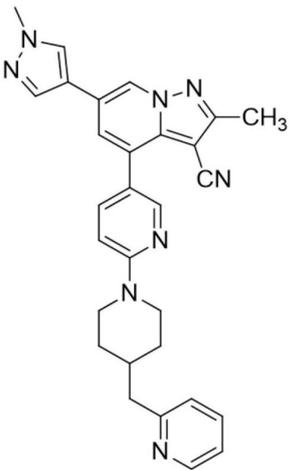
APS052



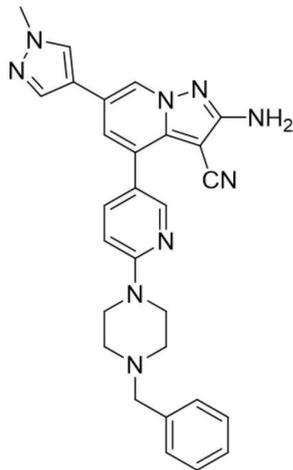
APS060



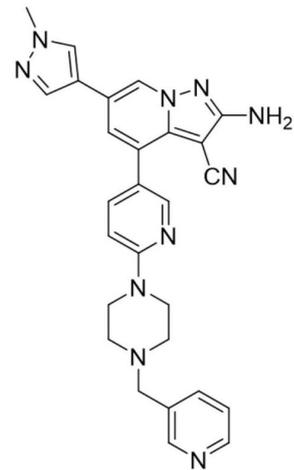
APS063



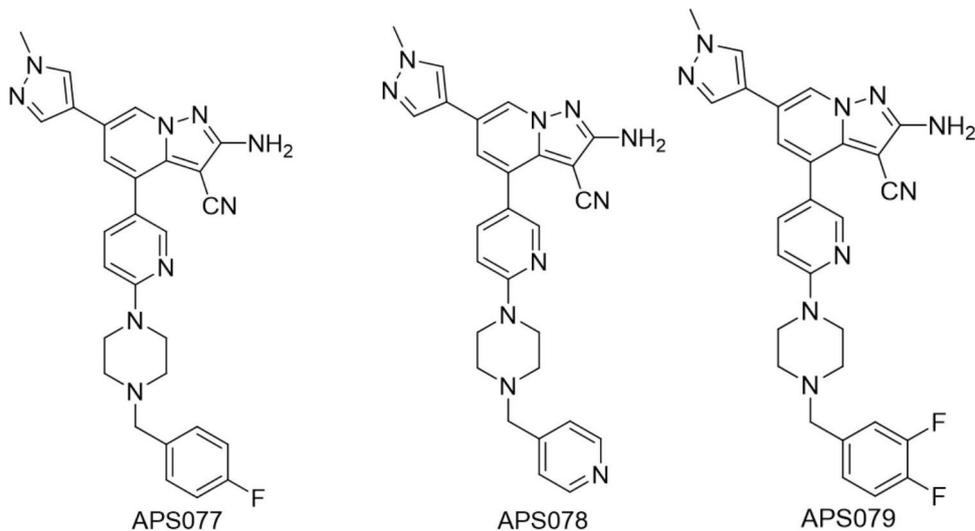
APS072



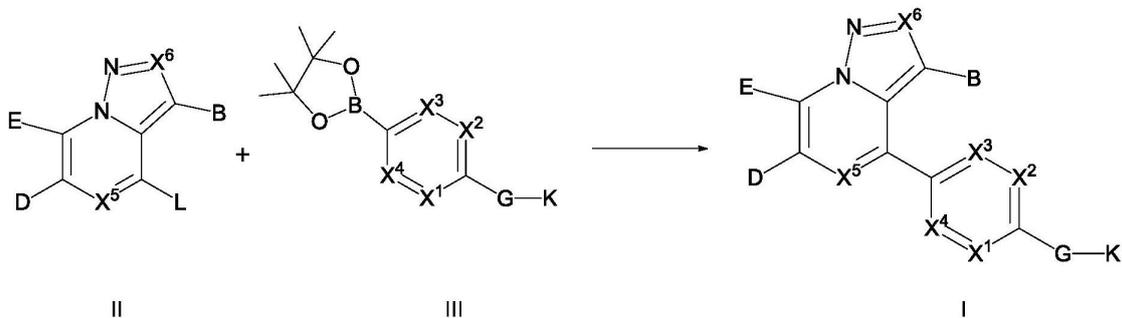
APS074



APS075



5. 权利要求1-4任一项所述化合物的制备方法,其特征在于,包括:



化合物II与化合物III发生铃木反应得到化合物I;

其中,B、D、E、G、K、X<sup>1</sup>、X<sup>2</sup>、X<sup>3</sup>、X<sup>4</sup>、X<sup>5</sup>、X<sup>6</sup>具有权利要求1-4任一项中所述的定义,条件是式III中的B代表硼;L为离去基团。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中L选自卤素或者OTf。

7. 一种药物组合物,其特征在于,包含治疗有效量的权利要求1-4任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐中的至少一种。

8. 根据权利要求7所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物还包括一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

9. 根据权利要求7或8所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物进一步含有一种或多种额外的治疗剂。

10. 权利要求1-4任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐中的至少一种在制备用于治疗RET激酶介导的疾病的药物中的用途。

11. 根据权利要求10所述的用途,其特征在于,所述RET激酶介导的疾病包括癌症、肠易激综合征或与它们相关的疼痛。

12. 根据权利要求10所述的用途,其特征在于,所述药物用于治疗癌症和/或抑制与特定癌症相关的转移;或者用于向癌症患者提供支持护理。

13. 权利要求1-4任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐中的至少一种在制备用于抑制RET激酶活性的药物中的用途。

14. 权利要求1-4任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐中的至少一种在制备用

于治疗RET相关疾病或病症的药物中的用途。

## 取代吡唑稠环类衍生物及其制备方法和应用

[0001] 本申请要求享有2018年9月30日向中国国家知识产权局提交的申请号为201811162497.1、发明名称为“取代吡唑稠环类衍生物及其制备方法和应用”的在先专利申请的优先权权益。该在先专利申请的全文以引用的方式结合至本文中。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及药物化学领域,具体涉及取代吡唑稠环类衍生物及其制备方法和应用。

### 背景技术

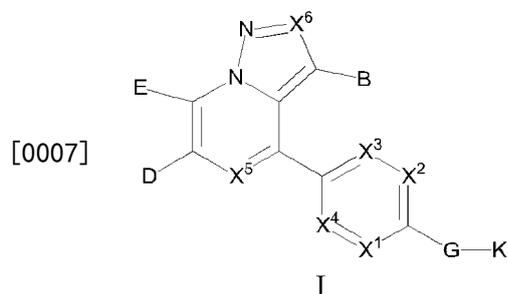
[0003] RET(Rearranged During Transfection)原癌基因最初是在1985年,通过NIH3T3(小鼠胚胎成纤维细胞系)细胞与人类淋巴瘤DNA的转染被证实(Cell,1985,42(2):581-588)。RET原癌基因定位于染色体10q11.2,其DNA全长为60kb,含有外显子21个,编码由1100个氨基酸组成的RET蛋白;这种RET蛋白是一种酪氨酸激酶受体,含有一个由半胱氨酸组成的细胞外区、一个跨膜区和一个具有催化酪氨酸激酶作用的细胞内区(Mol Cell Endocrinol,2010,322(1-2):2-7)。RET参与细胞增殖、神经传导、细胞迁移和细胞分化,通过配体/复合受体/RET多蛋白复合物的信号,激活各种下游途径,如RAS/RAF/MEK/ERK,PI3K/AKT和STAT通路,诱导细胞增生(J Clin Oncol,2012,30(2):200-202)。

[0004] 随着研究的逐步进展,现已发现多种疾病的发生与RET基因突变有密切联系,包括甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma,PTC)(Cell,1990,60(4):557-563)、甲状腺髓样癌(medullary thyroid carcinoma,MTC)(thyroid,2009,19(6):565-612)、多发性内分泌腺瘤病2型(multiple endocrineneoplasia type II,MEN2)(Endocr Rev,2006,27(5):535-560)、先天性巨结肠(Proc Natl Acad Sci USA,2000,97(1):268-273)、肺腺癌(Nat Med,2012,18(3):375-377)等。目前只有KIF5B-RET、CCDC6-RET、TRIM33-RET、NCOA4-RET这四种RET融合基因在非小细胞肺癌中被报道,而KIF5B-RET是非小细胞肺癌中最常见的RET融合基因(Cancer,2013,119(8):1486-1494)。KIF5B-RET是KIF5B(kinesin family member 5B)基因和RET基因的染色体倒置(p11;q11)形成的一种融合基因,通过全基因组和转录组测序,第一次在非吸烟韩国人的腺癌中被证实;KIF5B-RET在肺癌中的比例很低,在非吸烟者和腺癌患者中更常见,并与其它突变,如EGFR、KRAS、BRAF、ErbB2、EML4-ALK相排斥(Genome Res,2012,22(3):436-445)。KIF5B-RET融合蛋白包含马达结构域和KIF5B的卷曲螺旋结构域,通过卷曲螺旋结构域的二聚化作用,该融合蛋白的RET酪氨酸激酶活性可异常活化,从而促进肺肿瘤发生(Cancer,2011,117(12):2709-2718)。在Qian等的研究中(Mol Cancer,2014,13:176),KIF5B-RET融合激酶被证实在体外和体内都具有显著的致癌活性,STAT3的信号转导途径可能是肿瘤发生的主要下游介质。有证据显示KIF5B-RET可调节STAT3的持续活化。KIF5B-RET融合激酶可以结合STAT3,直接磷酸化和激活STAT3-Tyr705;它也可以通过JAK/STAT3依赖性途径,介导激活STAT3-Tyr705,并通过RAS/RAF/MEK/ERK1途径触发Ser727的磷酸化。

[0005] 证明RET融合物在一些癌症中是驱动者,这件事促进了已具有RET抑制活性的多激酶抑制剂(multi-kinase inhibitor)的应用,用于治疗c负载RET融合物蛋白质的肿瘤病人。目前尚未有批准药剂可以用来针对性地靶向这一致癌基因,目前RET特异性癌症的治疗方式仅限于多激酶抑制剂和化疗,但这些非特异性治疗临床表现ORR(客观缓解率)不好并且有很大的脱靶毒性。再者,癌症治疗的最大挑战之一是肿瘤细胞对于治疗一定阶段后出现耐药,一旦耐药,病人的治疗方式通常极为有限,且大多数例子中,癌症一直进展、不受抑制。为了能在这方面获得突破,需要一些化合物可以选择性专门靶向致癌RET融合和基因突变。

### 发明内容

[0006] 为改善上述问题,本发明提供一种如下式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物:



[0008] 其中, $X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、 $X^6$ 相同或不同,彼此独立地选自 $CR^1$ 、-C-A或N,其中每一个 $R^1$ 相同或不同,彼此独立地选自H、卤素、CN、OH,无取代或任选被一个、两个或更多个 $R^a$ 取代的下列基团: $C_{1-40}$ 烷基、 $C_{2-40}$ 烯基、 $C_{2-40}$ 炔基、 $C_{3-40}$ 环烷基、 $C_{3-40}$ 环烯基、 $C_{3-40}$ 环炔基、 $C_{1-40}$ 烷基氧基、 $C_{2-40}$ 烯基氧基、 $C_{2-40}$ 炔基氧基、 $C_{3-40}$ 环烷基氧基、 $C_{3-40}$ 环烯基氧基、 $C_{3-40}$ 环炔基氧基、 $NR^2R^3$ 、-NHC(O) $R^2$ 、-C(O) $R^4$ 、-OCR $^5$ 、-S(O) $_2R^6$ 、OS(O) $_2R^7$ ;A选自H、卤素、CN、OH,无取代或任选被一个、两个或更多个 $R^b$ 取代的下列基团: $C_{1-40}$ 烷基、 $C_{2-40}$ 烯基、 $C_{2-40}$ 炔基、 $C_{3-40}$ 环烷基、 $C_{3-40}$ 环烯基、 $C_{3-40}$ 环炔基、 $C_{1-40}$ 烷基氧基、 $C_{2-40}$ 烯基氧基、 $C_{2-40}$ 炔基氧基、 $C_{3-40}$ 环烷基氧基、 $C_{3-40}$ 环烯基氧基、 $C_{3-40}$ 环炔基氧基、 $NR^2R^3$ 、-C(O) $R^4$ 、-OCR $^5$ 、-S(O) $_2R^6$ 、-OS(O) $_2R^7$ 、-NHC(O) $R^2$ ;

[0009] B选自H、卤素、CN、OH,无取代或任选被一个、两个或更多个 $R^c$ 取代的下列基团: $C_{1-40}$ 烷基、 $C_{2-40}$ 烯基、 $C_{2-40}$ 炔基、 $C_{3-40}$ 环烷基、 $C_{3-40}$ 环烯基、 $C_{3-40}$ 环炔基、 $C_{1-40}$ 烷基氧基、 $C_{2-40}$ 烯基氧基、 $C_{2-40}$ 炔基氧基、 $C_{3-40}$ 环烷基氧基、 $C_{3-40}$ 环烯基氧基、 $C_{3-40}$ 环炔基氧基、 $NR^2R^3$ 、-C(O) $R^4$ 、-NHC(O) $R^4$ 、-OCR $^5$ 、-S(O) $_2R^6$ 、OS(O) $_2R^7$ ;

[0010] D选自无取代或任选被一个、两个或更多个 $R^d$ 取代的 $C_{3-40}$ 环烷基、 $C_{3-40}$ 环烯基、 $C_{3-40}$ 环炔基、 $C_{1-40}$ 烷基氧基、 $C_{2-40}$ 烯基氧基、 $C_{2-40}$ 炔基氧基、 $C_{6-20}$ 芳基、5-20元杂芳基或3-20元杂环基;

[0011] E选自H、卤素、CN、OH,无取代或任选被一个、两个或更多个 $R^e$ 取代的下列基团: $C_{1-40}$ 烷基、 $C_{2-40}$ 烯基、 $C_{2-40}$ 炔基、 $C_{3-40}$ 环烷基、 $C_{3-40}$ 环烯基、 $C_{3-40}$ 环炔基、 $C_{6-20}$ 芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、 $C_{1-40}$ 烷基氧基、 $C_{2-40}$ 烯基氧基、 $C_{2-40}$ 炔基氧基、 $C_{3-40}$ 环烷基氧基、 $C_{3-40}$ 环烯基氧基、 $C_{3-40}$ 环炔基氧基、 $C_{6-20}$ 芳基氧基、5-20元杂芳基氧基或3-20元杂环基氧基;

[0012] G选自无取代或任选被一个、两个或更多个 $R^f$ 取代的下列基团: $C_{3-40}$ 环烷基、 $C_{3-40}$ 环烯基、 $C_{3-40}$ 环炔基、 $C_{6-20}$ 芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、 $C_{3-40}$ 环烷基氧基、 $C_{3-40}$ 环烯基氧基

基、C<sub>3-40</sub>环炔基氧基、C<sub>6-20</sub>芳基氧基、5-20元杂芳基氧基或3-20元杂环基氧基；

[0013] K选自H、卤素、CN、OH，无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>8</sup>取代的下列基团：C<sub>1-40</sub>烷基、C<sub>2-40</sub>烯基、C<sub>2-40</sub>炔基、C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、C<sub>6-20</sub>芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、C<sub>1-40</sub>烷基氧基、C<sub>2-40</sub>烯基氧基、C<sub>2-40</sub>炔基氧基、C<sub>3-40</sub>环烷基氧基、C<sub>3-40</sub>环烯基氧基、C<sub>3-40</sub>环炔基氧基、C<sub>6-20</sub>芳基氧基、5-20元杂芳基氧基、3-20元杂环基氧基、NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、-C(O)R<sup>4</sup>、-OCR<sup>5</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>、OS(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>；

[0014] 每一个R<sup>2</sup>相同或不同，彼此独立地选自H、无取代或任选被OH、NH<sub>2</sub>取代的如下基团：C<sub>1-40</sub>烷基、C<sub>2-40</sub>烯基、C<sub>2-40</sub>炔基、C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、C<sub>6-20</sub>芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、-C(O)R<sup>4</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>；

[0015] 每一个R<sup>3</sup>相同或不同，彼此独立地选自H、C<sub>1-40</sub>烷基、C<sub>2-40</sub>烯基、C<sub>2-40</sub>炔基、C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、C<sub>6-20</sub>芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、-C(O)R<sup>4</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>；

[0016] 或者，R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>与所连的N原子一起形成5-20元杂芳基或3-20元杂环基；

[0017] 每一个R<sup>4</sup>相同或不同，彼此独立地选自H、C<sub>1-40</sub>烷基、C<sub>2-40</sub>烯基、C<sub>2-40</sub>炔基、C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、C<sub>6-20</sub>芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、C<sub>1-40</sub>烷基氧基、C<sub>2-40</sub>烯基氧基、C<sub>2-40</sub>炔基氧基、C<sub>3-40</sub>环烷基氧基、C<sub>3-40</sub>环烯基氧基、C<sub>3-40</sub>环炔基氧基、C<sub>6-20</sub>芳基氧基、5-20元杂芳基氧基、3-20元杂环基氧基、NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>；

[0018] 每一个R<sup>5</sup>相同或不同，彼此独立地选自H、C<sub>1-40</sub>烷基、C<sub>2-40</sub>烯基、C<sub>2-40</sub>炔基、C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、C<sub>6-20</sub>芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、C<sub>1-40</sub>烷基羰基、C<sub>2-40</sub>烯基羰基、C<sub>2-40</sub>炔基羰基、C<sub>3-40</sub>环烷基羰基、C<sub>3-40</sub>环烯基羰基、C<sub>3-40</sub>环炔基羰基、C<sub>6-20</sub>芳基羰基、5-20元杂芳基羰基、3-20元杂环基羰基；

[0019] 每一个R<sup>6</sup>相同或不同，彼此独立地选自H、C<sub>1-40</sub>烷基、C<sub>2-40</sub>烯基、C<sub>2-40</sub>炔基、C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、C<sub>6-20</sub>芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、C<sub>1-40</sub>烷基氧基、C<sub>2-40</sub>烯基氧基、C<sub>2-40</sub>炔基氧基、C<sub>3-40</sub>环烷基氧基、C<sub>3-40</sub>环烯基氧基、C<sub>3-40</sub>环炔基氧基、C<sub>6-20</sub>芳基氧基、5-20元杂芳基氧基、3-20元杂环基氧基、NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>；

[0020] 每一个R<sup>7</sup>相同或不同，彼此独立地选自H、C<sub>1-40</sub>烷基、C<sub>2-40</sub>烯基、C<sub>2-40</sub>炔基、C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、C<sub>6-20</sub>芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基；

[0021] 每一个R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>、R<sup>c</sup>、R<sup>d</sup>、R<sup>e</sup>、R<sup>f</sup>、R<sup>g</sup>相同或不同，彼此独立地选自卤素、CN、OH、SH、氧代(=O)、NO<sub>2</sub>，无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>h</sup>取代的下列基团：C<sub>1-40</sub>烷基、C<sub>2-40</sub>烯基、C<sub>2-40</sub>炔基、C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、C<sub>6-20</sub>芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、C<sub>1-40</sub>烷基氧基、C<sub>2-40</sub>烯基氧基、C<sub>2-40</sub>炔基氧基、C<sub>3-40</sub>环烷基氧基、C<sub>3-40</sub>环烯基氧基、C<sub>3-40</sub>环炔基氧基、C<sub>6-20</sub>芳基氧基、5-20元杂芳基氧基、3-20元杂环基氧基、NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、-C(O)R<sup>4</sup>、-OCR<sup>5</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>、OS(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>；

[0022] 每一个R<sup>h</sup>相同或不同，彼此独立地选自卤素、CN、OH、SH、氧代(=O)、NO<sub>2</sub>，无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>j</sup>取代的下列基团：C<sub>1-40</sub>烷基、C<sub>2-40</sub>烯基、C<sub>2-40</sub>炔基、C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、C<sub>6-20</sub>芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、C<sub>1-40</sub>烷基氧基、C<sub>2-40</sub>烯基氧基、C<sub>2-40</sub>炔基氧基、C<sub>3-40</sub>环烷基氧基、C<sub>3-40</sub>环烯基氧基、C<sub>3-40</sub>环炔基氧基、C<sub>6-20</sub>芳基氧基、5-20元杂芳基氧基、3-20元杂环基氧基、NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、-C(O)R<sup>4</sup>、-OCR<sup>5</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>、OS(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>；或者，当环状基团(包括但不限于C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、3-20元杂环基等)的不同位置被两个或更多个取代基取代时，所述取代基中的两个也可以与所述环状基团形成桥环，其

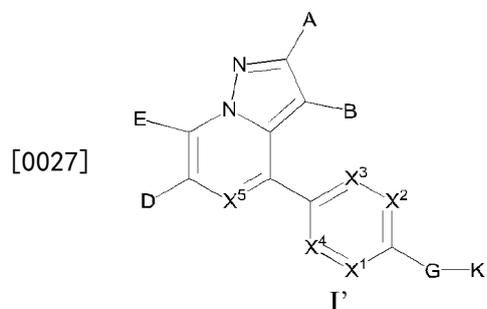
中所述桥环中除桥头原子之外的桥原子可以包含1、2、3、4或5个选自CH<sub>2</sub>、O、NH的二价基团；

[0023] 每一个R<sup>j</sup>相同或不同，彼此独立地选自卤素、CN、OH、SH、氧代(=O)、NO<sub>2</sub>、无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>h</sup>取代的下列基团：C<sub>1-40</sub>烷基、C<sub>2-40</sub>烯基、C<sub>2-40</sub>炔基、C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、C<sub>6-20</sub>芳基、5-20元杂芳基、3-20元杂环基、C<sub>1-40</sub>烷基氧基、C<sub>2-40</sub>烯基氧基、C<sub>2-40</sub>炔基氧基、C<sub>3-40</sub>环烷基氧基、C<sub>3-40</sub>环烯基氧基、C<sub>3-40</sub>环炔基氧基、C<sub>6-20</sub>芳基氧基、5-20元杂芳基氧基、3-20元杂环基氧基、NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、-C(O)R<sup>4</sup>、-OCR<sup>5</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>、OS(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>；

[0024] 或者，当环状基团(包括但不限于C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、3-20元杂环基等)的不同位置被两个或更多个取代基取代时，所述取代基中的两个也可以与所述环状基团形成桥环，其中所述桥环中除桥头原子之外的桥原子可以包含1、2、3、4或5个选自CH<sub>2</sub>、O、NH的二价基团；

[0025] 或者，当一个原子(如碳原子)被两个或更多个取代基取代时，所述取代基中的两个也可以与其共同连接的原子形成环状基团(包括但不限于C<sub>3-40</sub>环烷基、C<sub>3-40</sub>环烯基、C<sub>3-40</sub>环炔基、3-20元杂环基等)。

[0026] 根据本发明的实施方案，式I所示的化合物选自下列式I'所示的化合物：



[0028] 其中，X<sup>1</sup>、X<sup>2</sup>、X<sup>3</sup>、X<sup>4</sup>、X<sup>5</sup>、A、B、D、E、G、K独立地具有上文所述的定义。

[0029] 根据本发明的实施方案，其中：

[0030] X<sup>1</sup>、X<sup>2</sup>、X<sup>3</sup>、X<sup>4</sup>、X<sup>5</sup>、X<sup>6</sup>相同或不同，彼此独立地选自CR<sup>1</sup>、-C-A或N，其中每一个R<sup>1</sup>相同或不同，彼此独立地选自H、卤素、CN、OH，无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>a</sup>取代的下列基团：C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>2-6</sub>烯基、C<sub>2-6</sub>炔基、C<sub>3-8</sub>环烷基、C<sub>3-8</sub>环烯基、C<sub>3-8</sub>环炔基、C<sub>1-6</sub>烷基氧基、C<sub>2-6</sub>烯基氧基、C<sub>2-6</sub>炔基氧基、C<sub>3-8</sub>环烷基氧基、C<sub>3-8</sub>环烯基氧基、C<sub>3-8</sub>环炔基氧基、NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、-NHC(O)R<sup>2</sup>、-C(O)R<sup>4</sup>、-OCR<sup>5</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>、OS(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>；A选自H、卤素、CN、OH，无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>b</sup>取代的下列基团：C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>2-6</sub>烯基、C<sub>2-6</sub>炔基、C<sub>3-8</sub>环烷基、C<sub>3-8</sub>环烯基、C<sub>3-8</sub>环炔基、C<sub>1-6</sub>烷基氧基、C<sub>2-6</sub>烯基氧基、C<sub>2-6</sub>炔基氧基、C<sub>3-8</sub>环烷基氧基、C<sub>3-8</sub>环烯基氧基、C<sub>3-8</sub>环炔基氧基、NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、-C(O)R<sup>4</sup>、-OCR<sup>5</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>、OS(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>；

[0031] B选自H、卤素、CN、OH，无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>c</sup>取代的下列基团：C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>2-6</sub>烯基、C<sub>2-6</sub>炔基、C<sub>3-8</sub>环烷基、C<sub>3-8</sub>环烯基、C<sub>3-8</sub>环炔基、C<sub>1-6</sub>烷基氧基、C<sub>2-6</sub>烯基氧基、C<sub>2-6</sub>炔基氧基、C<sub>3-8</sub>环烷基氧基、C<sub>3-8</sub>环烯基氧基、C<sub>3-8</sub>环炔基氧基、NR<sup>2</sup>R<sup>3</sup>、-C(O)R<sup>4</sup>、-NHC(O)R<sup>4</sup>、-OCR<sup>5</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>、OS(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>；

[0032] D选自无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>d</sup>取代的C<sub>3-8</sub>环烷基、C<sub>3-8</sub>环烯基、C<sub>3-8</sub>环炔基、C<sub>6-10</sub>芳基、5-10元杂芳基或3-10元杂环基；

[0033] E选自H、卤素、CN、OH，无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>e</sup>取代的下列基团：C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>2-6</sub>烯基、C<sub>2-6</sub>炔基、C<sub>3-8</sub>环烷基、C<sub>3-8</sub>环烯基、C<sub>3-8</sub>环炔基、C<sub>6-10</sub>芳基、5-10元杂芳基、3-10

元杂环基、 $C_{1-6}$ 烷基氧基、 $C_{2-6}$ 烯基氧基、 $C_{2-6}$ 炔基氧基、 $C_{3-8}$ 环烷基氧基、 $C_{3-8}$ 环烯基氧基、 $C_{3-8}$ 环炔基氧基、 $C_{6-10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基氧基或3-10元杂环基氧基；

[0034] G选自无取代或任选被一个、两个或更多个 $R^f$ 取代的下列基团： $C_{3-8}$ 环烷基、 $C_{3-8}$ 环烯基、 $C_{3-8}$ 环炔基、 $C_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、 $C_{3-8}$ 环烷基氧基、 $C_{3-8}$ 环烯基氧基、 $C_{3-8}$ 环炔基氧基、 $C_{6-10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基氧基或3-10元杂环基氧基；

[0035] K选自H、卤素、CN、OH，无取代或任选被一个、两个或更多个 $R^g$ 取代的下列基团： $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{2-6}$ 烯基、 $C_{2-6}$ 炔基、 $C_{3-8}$ 环烷基、 $C_{3-8}$ 环烯基、 $C_{3-8}$ 环炔基、 $C_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、 $C_{1-6}$ 烷基氧基、 $C_{2-6}$ 烯基氧基、 $C_{2-6}$ 炔基氧基、 $C_{3-8}$ 环烷基氧基、 $C_{3-8}$ 环烯基氧基、 $C_{3-8}$ 环炔基氧基、 $C_{6-10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基氧基、3-10元杂环基氧基、 $NR^2R^3$ 、 $-C(O)R^4$ 、 $-OCR^5$ 、 $-S(O)_2R^6$ 、 $OS(O)_2R^7$ ；

[0036] 每一个 $R^2$ 相同或不同，彼此独立地选自H、无取代或任选被OH、 $NH_2$ 取代的如下基团： $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{2-6}$ 烯基、 $C_{2-6}$ 炔基、 $C_{3-8}$ 环烷基、 $C_{3-8}$ 环烯基、 $C_{3-8}$ 环炔基、 $C_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、 $-C(O)R^4$ 、 $-S(O)_2R^6$ ；

[0037] 每一个 $R^3$ 相同或不同，彼此独立地选自H、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{2-6}$ 烯基、 $C_{2-6}$ 炔基、 $C_{3-8}$ 环烷基、 $C_{3-8}$ 环烯基、 $C_{3-8}$ 环炔基、 $C_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、 $-C(O)R^4$ 、 $-S(O)_2R^6$ ；

[0038] 或者， $R^2$ 和 $R^3$ 与所连的N原子一起形成5-10元杂芳基或3-10元杂环基；

[0039] 每一个 $R^4$ 相同或不同，彼此独立地选自H、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{2-6}$ 烯基、 $C_{2-6}$ 炔基、 $C_{3-8}$ 环烷基、 $C_{3-8}$ 环烯基、 $C_{3-8}$ 环炔基、 $C_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、 $C_{1-6}$ 烷基氧基、 $C_{2-6}$ 烯基氧基、 $C_{2-6}$ 炔基氧基、 $C_{3-8}$ 环烷基氧基、 $C_{3-8}$ 环烯基氧基、 $C_{3-8}$ 环炔基氧基、 $C_{6-10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基氧基、3-10元杂环基氧基、 $NR^2R^3$ ；

[0040] 每一个 $R^5$ 相同或不同，彼此独立地选自H、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{2-6}$ 烯基、 $C_{2-6}$ 炔基、 $C_{3-8}$ 环烷基、 $C_{3-8}$ 环烯基、 $C_{3-8}$ 环炔基、 $C_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、 $C_{1-6}$ 烷基羰基、 $C_{2-6}$ 烯基羰基、 $C_{2-6}$ 炔基羰基、 $C_{3-8}$ 环烷基羰基、 $C_{3-8}$ 环烯基羰基、 $C_{3-8}$ 环炔基羰基、 $C_{6-10}$ 芳基羰基、5-10元杂芳基羰基、3-10元杂环基羰基；

[0041] 每一个 $R^6$ 相同或不同，彼此独立地选自H、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{2-6}$ 烯基、 $C_{2-6}$ 炔基、 $C_{3-8}$ 环烷基、 $C_{3-8}$ 环烯基、 $C_{3-8}$ 环炔基、 $C_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、 $C_{1-6}$ 烷基氧基、 $C_{2-6}$ 烯基氧基、 $C_{2-6}$ 炔基氧基、 $C_{3-8}$ 环烷基氧基、 $C_{3-8}$ 环烯基氧基、 $C_{3-8}$ 环炔基氧基、 $C_{6-10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基氧基、3-10元杂环基氧基、 $NR^2R^3$ ；

[0042] 每一个 $R^7$ 相同或不同，彼此独立地选自H、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{2-6}$ 烯基、 $C_{2-6}$ 炔基、 $C_{3-8}$ 环烷基、 $C_{3-8}$ 环烯基、 $C_{3-8}$ 环炔基、 $C_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基；

[0043] 每一个 $R^a$ 、 $R^b$ 、 $R^c$ 、 $R^d$ 、 $R^e$ 、 $R^f$ 、 $R^g$ 相同或不同，彼此独立地选自卤素、CN、OH、SH、氧代(=O)、 $NO_2$ ，无取代或任选被一个、两个或更多个 $R^h$ 取代的下列基团： $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{2-6}$ 烯基、 $C_{2-6}$ 炔基、 $C_{3-8}$ 环烷基、 $C_{3-8}$ 环烯基、 $C_{3-8}$ 环炔基、 $C_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、 $C_{1-6}$ 烷基氧基、 $C_{2-6}$ 烯基氧基、 $C_{2-6}$ 炔基氧基、 $C_{3-8}$ 环烷基氧基、 $C_{3-8}$ 环烯基氧基、 $C_{3-8}$ 环炔基氧基、 $C_{6-10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基氧基、3-10元杂环基氧基、 $NR^2R^3$ 、 $-C(O)R^4$ 、 $-OCR^5$ 、 $-S(O)_2R^6$ 、 $-OS(O)_2R^7$ ；

[0044] 每一个 $R^h$ 相同或不同，彼此独立地选自卤素、CN、OH、SH、氧代(=O)、 $NO_2$ ，无取代或任选被一个、两个或更多个 $R^j$ 取代的下列基团： $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{2-6}$ 烯基、 $C_{2-6}$ 炔基、 $C_{3-8}$ 环烷基、 $C_{3-8}$ 环烯基、 $C_{3-8}$ 环炔基、 $C_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、 $C_{1-6}$ 烷基氧基、 $C_{2-6}$ 烯基氧基、 $C_{2-6}$ 炔基氧基、 $C_{3-8}$ 环烷基氧基、 $C_{3-8}$ 环烯基氧基、 $C_{3-8}$ 环炔基氧基、 $C_{6-10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳

基氧基、3-10元杂环基氧基、 $\text{NR}^2\text{R}^3$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ 、 $-\text{OCR}^5$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^6$ 、 $\text{OS}(\text{O})_2\text{R}^7$ ；或者，当环状基团（包括但不限于 $\text{C}_{3-8}$ 环烷基、 $\text{C}_{3-8}$ 环烯基、 $\text{C}_{3-8}$ 环炔基、3-10元杂环基等）的不同位置被两个或更多个取代基取代时，所述取代基中的两个也可以与所述环状基团形成桥环，其中所述桥环中除桥头原子之外的桥原子可以包含1、2、3、4或5个选自 $\text{CH}_2$ 、 $\text{O}$ 、 $\text{NH}$ 的二价基团；

[0045] 每一个 $\text{R}^j$ 相同或不同，彼此独立地选自卤素、 $\text{CN}$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{SH}$ 、氧代(=O)、 $\text{NO}_2$ 、无取代或任选被一个、两个或更多个 $\text{R}^h$ 取代的下列基团： $\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $\text{C}_{2-6}$ 烯基、 $\text{C}_{2-6}$ 炔基、 $\text{C}_{3-8}$ 环烷基、 $\text{C}_{3-8}$ 环烯基、 $\text{C}_{3-8}$ 环炔基、 $\text{C}_{6-10}$ 芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基氧基、 $\text{C}_{2-6}$ 烯基氧基、 $\text{C}_{2-6}$ 炔基氧基、 $\text{C}_{3-8}$ 环烷基氧基、 $\text{C}_{3-8}$ 环烯基氧基、 $\text{C}_{3-8}$ 环炔基氧基、 $\text{C}_{6-20}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基氧基、3-10元杂环基氧基、 $\text{NR}^2\text{R}^3$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ 、 $-\text{OCR}^5$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^6$ 、 $\text{OS}(\text{O})_2\text{R}^7$ ；

[0046] 或者，当环状基团（包括但不限于 $\text{C}_{3-8}$ 环烷基、 $\text{C}_{3-8}$ 环烯基、 $\text{C}_{3-8}$ 环炔基、3-10元杂环基等）的不同位置被两个或更多个取代基取代时，所述取代基中的两个也可以与所述环状基团形成桥环，其中所述桥环中除桥头原子之外的桥原子可以包含1、2、3、4或5个选自 $\text{CH}_2$ 、 $\text{O}$ 、 $\text{NH}$ 的二价基团；

[0047] 或者，当一个原子（如碳原子）被两个或更多个取代基取代时，所述取代基中的两个也可以与其共同连接的原子形成环状基团（包括但不限于 $\text{C}_{3-8}$ 环烷基、 $\text{C}_{3-8}$ 环烯基、 $\text{C}_{3-8}$ 环炔基、3-10元杂环基等）。

[0048] 根据本发明的实施方案，其中 $\text{X}^1$ 、 $\text{X}^2$ 、 $\text{X}^3$ 、 $\text{X}^4$ 、 $\text{X}^5$ 、 $\text{X}^6$ 相同或不同，彼此独立地选自 $\text{CR}^1$ 、 $-\text{C}-\text{A}$ 或 $\text{N}$ ， $\text{R}^1$ 选自 $\text{NH}_2$ 、 $\text{CH}_3$ 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{H}$ 、 $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $\text{NHCH}_3$ 、 $\text{F}$ 、 $\text{OCH}_3$ 、 $\text{NHC}_2\text{H}_4\text{OH}$ ；例如， $\text{X}^1$ ， $\text{X}^2$ ， $\text{X}^3$ ， $\text{X}^4$ 和 $\text{X}^5$ 中的至少一个为 $\text{N}$ ，如1、2、3、4或5个为 $\text{N}$ ；

[0049]  $\text{A}$ 可以选自 $\text{NH}_2$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{H}$ 、卤素、氰基，无取代或任选被一个、两个或更多个卤素、 $\text{OH}$ 或 $\text{NH}_2$ 取代的下列基团： $\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{NR}^2\text{R}^3$ 、 $-\text{NH}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{NR}^2\text{R}^3$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{NR}^2\text{R}^3$ 、 $-\text{NH}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{CO}-\text{NR}^2\text{R}^3$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{COO}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{NH}-\text{C}_{3-8}$ 环烷基、 $-\text{CO}-\text{NR}^2\text{R}^3$ 、 $-\text{NH}-\text{C}_{2-8}$ 烯基、 $-\text{CONR}^2\text{R}^3$ 、 $-\text{NH}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-\text{NH}-\text{R}^2$ 、 $-\text{CONR}^2\text{R}^3$ 或 $-\text{CONH}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{NR}^2\text{R}^3$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-\text{R}^2$ 、 $-\text{NH}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基氧基、 $-\text{NH}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{OH}$ ；

[0050] 根据本发明的实施方案，其中每一个 $\text{R}^2$ 和 $\text{R}^3$ 相同或不同，彼此独立地选自 $\text{H}$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、5-6元杂环基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基酰基或 $\text{C}_{1-6}$ 烷基磺酰基；或者 $\text{R}^2$ 和 $\text{R}^3$ 与所连 $\text{N}$ 原子一起形成无取代或任选被氧代的5-6元杂环基；

[0051] 根据本发明的实施方案，其中 $\text{B}$ 可以选自 $\text{H}$ 、 $\text{Cl}$ 、 $\text{CN}$ 、 $\text{Br}$ 、 $-\text{COOH}$ ，无取代或任选被一个、两个或更多个 $\text{R}^c$ 取代的下列基团： $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{环丙基}$ 、 $-\text{COOCH}_3$ 、 $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CONH}_2$ 和 $-\text{CONHCH}_3$ ；

[0052] 根据本发明的实施方案，其中 $\text{D}$ 可以选自无取代或任选被一个、两个或更多个 $\text{R}^d$ 取代的如下基团： $\text{C}_{1-6}$ 烷基氧基、5-10元杂芳基或3-10元杂环基；

[0053] 根据本发明的实施方案，每一个 $\text{R}^c$ 、 $\text{R}^d$ 相同或不同，彼此独立地选自 $\text{OH}$ 、卤素、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基氧基、 $\text{C}_{1-6}$ 环烷基氧基、羟基 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、单氟代 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、二氟代 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、三氟代 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、氰基 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $(\text{C}_{1-6}$ 烷氧基) $\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $(\text{C}_{1-6}$ 烷氧基) $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$ 、 $(\text{C}_{1-6}$ 烷氧基) $\text{C}(=\text{O})\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $\text{C}_{3-8}$ 环烷基、 $(\text{R}^2\text{R}^3\text{N})\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $(\text{R}^2\text{R}^3\text{N})\text{C}(=\text{O})\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基 $\text{S}(\text{O})_2-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基氧基苄基，无取代或任选被下列基团取代的3-10元杂环基：卤素、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、氟代 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、二氟代 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、三氟代 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $(\text{C}_{1-6}$ 烷氧基) $\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $(\text{C}_{1-6}$ 烷基) $\text{NCH}_2\text{C}(=\text{O})-$ 、 $(\text{C}_{1-6}$ 烷氧基) $\text{C}(=\text{O})-$ 或 $(\text{C}_{1-6}$ 烷氧基) $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$ 、 $(\text{C}_{1-6}$ 烷基) $\text{NC}_{1-6}$ 烷基、 $(\text{C}_{1-6}$ 烷

基)<sub>2</sub>NC(=O)C<sub>1-6</sub>烷基-

[0054] 根据本发明的实施方案,其中E选自H、卤素、CN、无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>e</sup>取代的下列基团:C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基,C<sub>1-6</sub>环烷基,含N、S和O的1~3个环杂原子的5元或6元杂芳基环,所述5元或6元杂芳基环任选被氧代取代;

[0055] 根据本发明的实施方案,其中G可以选自无取代或任选被一个、两个或多个R<sup>f</sup>取代的下列基团:5-10元杂芳基,3-10元杂环基,其中所述杂环基选自例如吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基或吡丁啶基;或者,当所述杂环基的不同位置被两个或更多个取代基取代时,所述取代基中的两个也可以与所述杂环基形成桥环,其中所述桥环中除桥头原子之外的桥原子可以包含1、2、3、4或5个选自CH<sub>2</sub>、O、NH的二价基团;

[0056] 根据本发明的实施方案,其中R<sup>f</sup>可以选自卤素、CN、OH、SH、氧代(=O)、NO<sub>2</sub>、无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>h</sup>取代的下列基团:C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>3-8</sub>环烷基。

[0057] 根据本发明的实施方案,其中K可以选自H、OH,无取代或任选被一个或多个R<sup>g</sup>取代的下列基团:C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>3-8</sub>环烷基、C<sub>6-10</sub>芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基、C<sub>1-6</sub>烷基氧基、C<sub>3-6</sub>环烷基氧基、C<sub>6-10</sub>芳基氧基、5-10元杂芳基氧基、3-10元杂环基氧基、N(C<sub>1-6</sub>烷基)<sub>2</sub>、-C(O)R<sup>4</sup>、-OCR<sup>5</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>、-OS(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>;

[0058] 根据本发明的实施方案,其中K可以选自无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>g</sup>取代的下列基团:C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>3-10</sub>环烷基、-C(O)R<sup>4</sup>、-OCR<sup>5</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>6</sup>、-OS(O)<sub>2</sub>R<sup>7</sup>。

[0059] 根据本发明的实施方案,所述R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>相同或不同,彼此独立地选自C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>2-6</sub>烯基、C<sub>2-6</sub>炔基、C<sub>3-8</sub>环烷基、C<sub>3-8</sub>环烯基、C<sub>3-8</sub>环炔基、C<sub>1-6</sub>烷基氧基。

[0060] 根据本发明的实施方案,其中K可以选自无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>h</sup>取代的下列基团:C<sub>6-10</sub>芳基C<sub>1-6</sub>烷基-或3-10元杂环基C<sub>1-6</sub>烷基-,例如苯基C<sub>1-6</sub>烷基-或吡啶基C<sub>1-6</sub>烷基-;

[0061] 根据本发明的实施方案,其中R<sup>g</sup>可以选自卤素、CN、OH、SH、氧代(=O)、NO<sub>2</sub>,无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>h</sup>取代的下列基团:C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>3-10</sub>环烷基、C<sub>6-10</sub>芳基、5-10元杂芳基、3-10元杂环基;

[0062] 或者,当K中的一个原子(如碳原子)被两个或更多个R<sup>g</sup>取代时,两个R<sup>g</sup>也可以与其共同连接的原子形成环状基团(包括但不限于C<sub>3-6</sub>环烷基、C<sub>3-6</sub>环烯基、C<sub>3-6</sub>环炔基、4-6元杂环基等);

[0063] 根据本发明示例性的实施方案,例如:X<sup>6</sup>选自-C-A或N,A可以选自H,无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>b</sup>取代的下列基团:NH<sub>2</sub>、C<sub>1-6</sub>烷基、-NH(C<sub>1-6</sub>烷基)<sub>2</sub>、OH、F、-NHC(O)C<sub>1-6</sub>烷基、-NHC<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>烷基氧基、-NHC<sub>1-6</sub>烷基-OH;

[0064] 每一个R<sup>b</sup>相同或不同,彼此独立地选自C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基;

[0065] B可以选自H、CN、-CONH<sub>2</sub>,无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>c</sup>取代的C<sub>1-6</sub>烷基;

[0066] 每一个R<sup>c</sup>相同或不同,彼此独立地选自卤素、C<sub>1-6</sub>烷基;

[0067] D可以选自无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>d</sup>取代的如下基团:C<sub>1-6</sub>烷基氧基或5-14元杂芳基,所述R<sup>d</sup>选自无取代或任选被一个或多个如下基团取代的C<sub>1-6</sub>烷基或3-10元杂环基:氧代、卤素、OH、-N(C<sub>1-6</sub>烷基)<sub>2</sub>或-S(O)<sub>2</sub>-C<sub>1-6</sub>烷基;

[0068] E选自H,无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>e</sup>取代的下列基团:C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基;

[0069] 每一个R<sup>e</sup>相同或不同,彼此独立地选自OH、F、C<sub>1-6</sub>烷基;

[0070] G选自无取代或任选被氧代的3-10元杂环基,例如无取代或任选被氧代或被C<sub>1-6</sub>烷基取代的哌嗪基、哌啶基;或者,所述杂环基的间位被两个取代基取代时,所述取代基可以与所述杂环基形成桥环,其中所述桥环中除桥头原子之外的桥原子可以包含1、2、3、4或5个选自CH<sub>2</sub>的二价基团;

[0071] K选自无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>s</sup>取代的下列基团:C<sub>1-6</sub>烷基、-C(O)R<sup>4</sup>,所述R<sup>s</sup>选自氧代、OH、无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>h</sup>取代的C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基,C<sub>3-10</sub>环烷基、C<sub>6-14</sub>芳基、5-14元杂芳基、-SO<sub>2</sub>-C<sub>6-14</sub>芳基;每一个R<sup>4</sup>相同或不同,彼此独立地选自H、C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>2-6</sub>烯基、C<sub>2-6</sub>炔基、C<sub>3-10</sub>环烷基、C<sub>3-10</sub>环烯基、C<sub>3-10</sub>环炔基、C<sub>6-14</sub>芳基、5-14元杂芳基、3-10元杂环基、C<sub>1-6</sub>烷基氧基、C<sub>2-6</sub>烯基氧基、C<sub>2-6</sub>炔基氧基、C<sub>3-10</sub>环烷基氧基、C<sub>3-10</sub>环烯基氧基、C<sub>3-10</sub>环炔基氧基、C<sub>6-14</sub>芳基氧基、5-14元杂芳基氧基、3-10元杂环基氧基、-N(C<sub>1-6</sub>烷基)<sub>2</sub>;所述R<sup>h</sup>选自卤素、C<sub>1-6</sub>烷氧基、NH<sub>2</sub>、-N(C<sub>1-6</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NHC<sub>6-14</sub>芳基、-NHC<sub>1-6</sub>烷基;或者,当K中的一个原子(如碳原子)被两个或更多个R<sup>s</sup>取代时,两个R<sup>s</sup>也可以与其共同连接的原子形成环状基团(包括但不限于C<sub>3-10</sub>环烷基、C<sub>3-10</sub>环烯基、C<sub>3-10</sub>环炔基、3-10元杂环基等);

[0072] 根据本发明示例性的实施方案,例如:

[0073] X<sup>6</sup>选自-C-A或N,A可以选自NH<sub>2</sub>、甲基、乙基或丙基、-NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、OH、F、-NH(O)CH<sub>3</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、甲氧基、-NHC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-OH;

[0074] B可以选自H、CN或-COCH<sub>3</sub>;

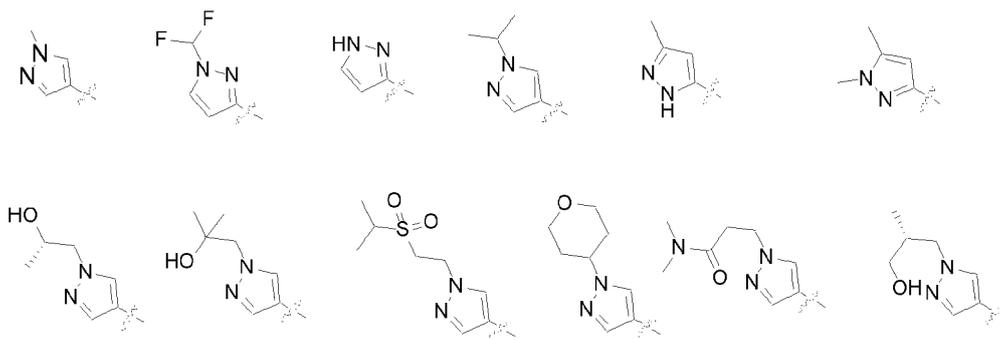
[0075] D可以选自无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>d</sup>取代的如下基团:吡唑基、甲氧基或乙氧基,例如吡唑-1-基、吡唑-3-基、吡唑-4-基、吡唑-5-基;

[0076] 每一个R<sup>d</sup>相同或不同,彼此独立地选自OH、F、C<sub>1-6</sub>烷基、羟基C<sub>1-6</sub>烷基-、二氟代C<sub>1-6</sub>烷基-、C<sub>1-6</sub>烷基S(O)<sub>2</sub>-C<sub>1-6</sub>烷基-、(C<sub>1-6</sub>烷基)<sub>2</sub>N-C(O)C<sub>1-6</sub>烷基-、C<sub>1-6</sub>烷基氧基-、C<sub>1-6</sub>环烷基氧基-、无取代或任选被C<sub>1-6</sub>烷基取代的5-6元杂环基;

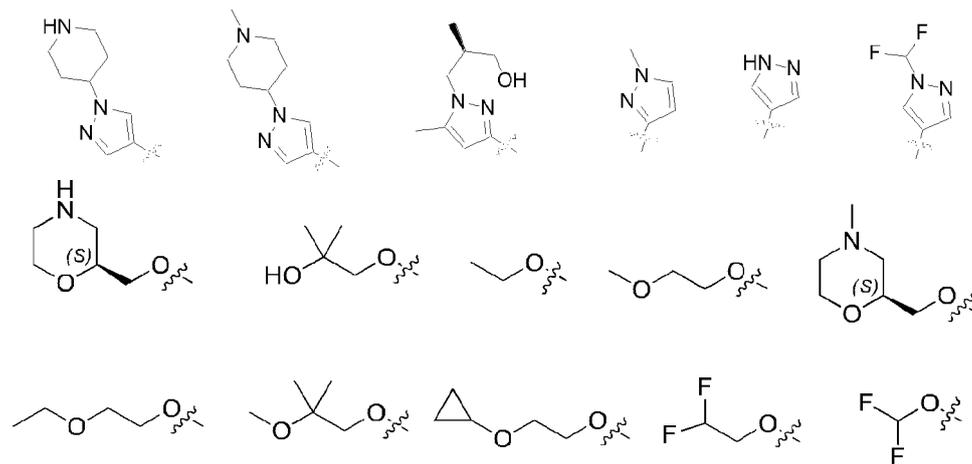
[0077] G选自无取代或任选被氧代的5-6元杂环基,例如无取代或任选被氧代或甲基取代的哌嗪基、哌啶基;或者,当所述杂环基的间位被两个取代基取代时,所述取代基可以与所述杂环基形成桥环,其中所述桥环中除桥头原子之外的桥原子可以包含1、2或3个选自CH<sub>2</sub>的二价基团;

[0078] K选自无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>s</sup>取代的C<sub>1-6</sub>烷基、-C(O)C<sub>1-6</sub>烷基,所述R<sup>s</sup>选自氧代、OH、无取代或任选被一个、两个或更多个R<sup>h</sup>取代的C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基,C<sub>3-10</sub>环烷基、C<sub>6-14</sub>芳基、5-14元杂芳基、-S(O)<sub>2</sub>-C<sub>6-14</sub>芳基;所述R<sup>h</sup>选自卤素、C<sub>1-6</sub>烷氧基、NH<sub>2</sub>、-N(C<sub>1-6</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NHC<sub>6-14</sub>芳基、-NHC<sub>1-6</sub>烷基;或者,当K中的一个原子(如碳原子)被两个或更多个R<sup>s</sup>取代时,两个R<sup>s</sup>也可以与其共同连接的原子形成C<sub>3-10</sub>环烷基。

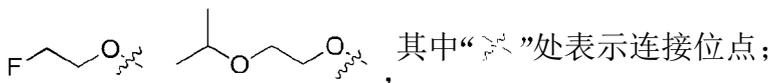
[0079] 作为实例,D可以选自如下基团:



[0080]



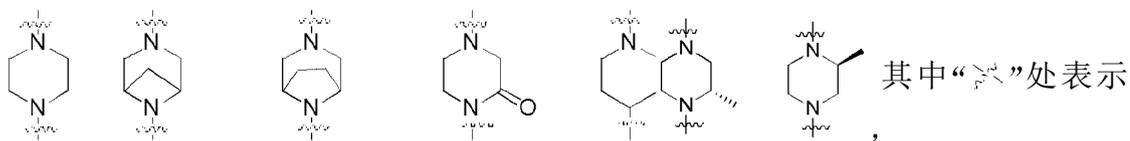
[0081]



[0082]

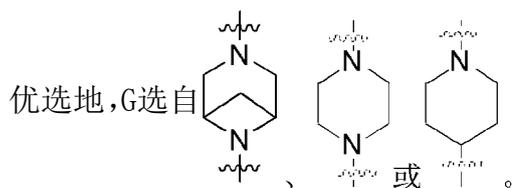
作为实例,G可以选自如下基团:

[0083]



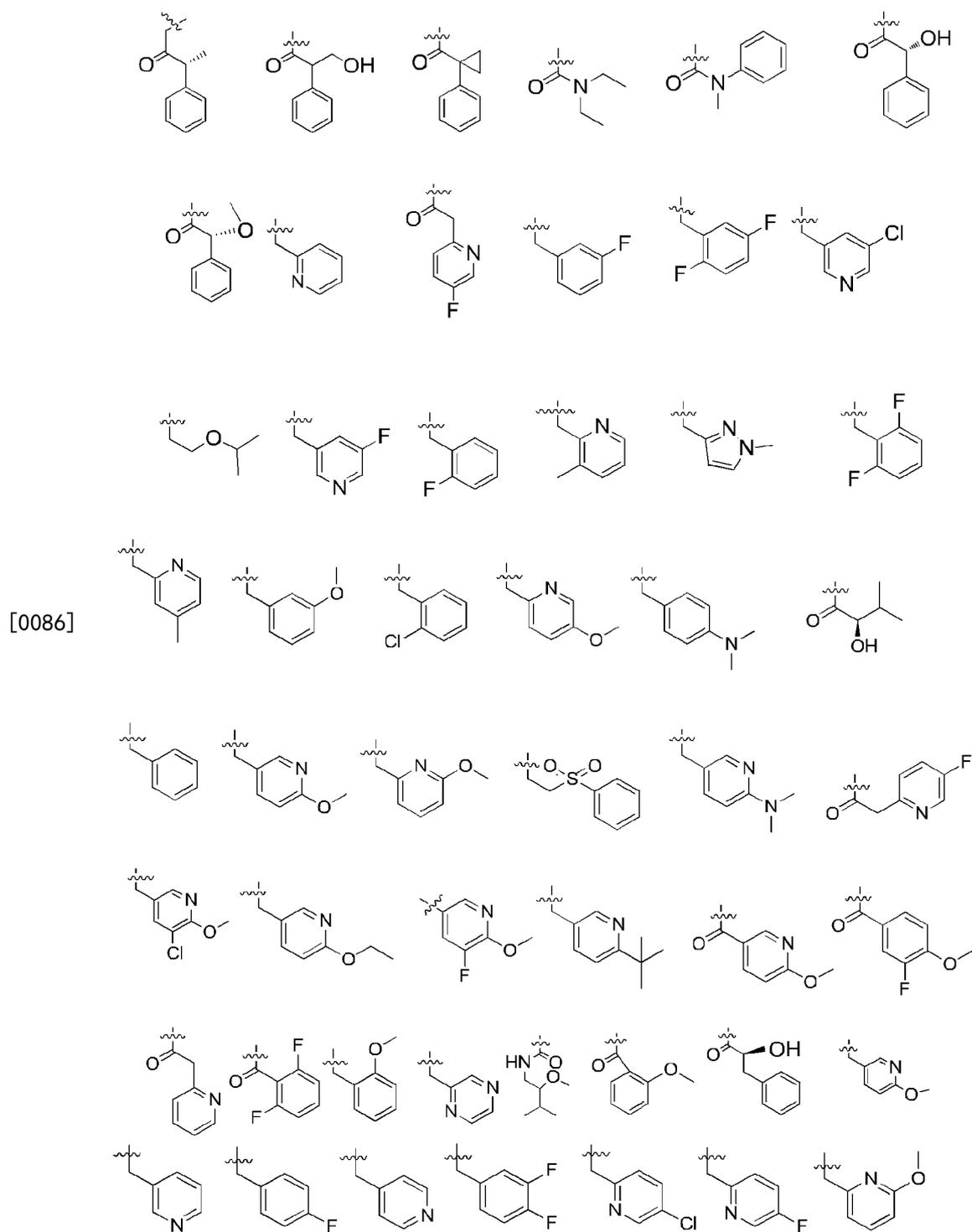
连接位点;

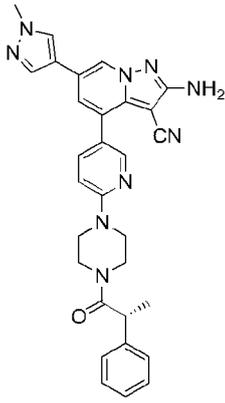
[0084]



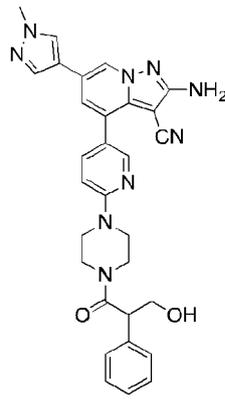
[0085]

根据本发明的实施方案,K选自如下基团:

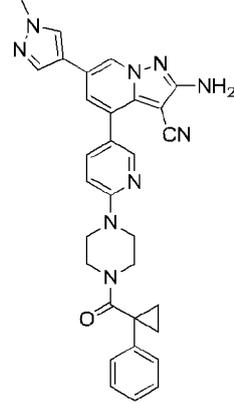




APS007

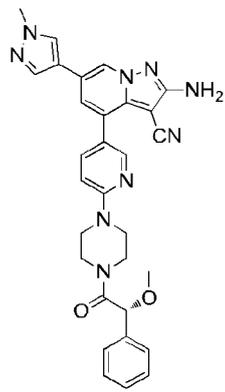


APS008

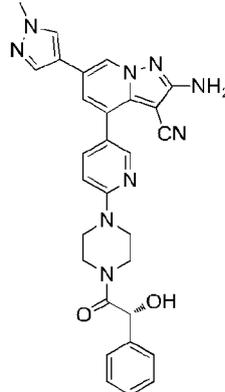


APS009

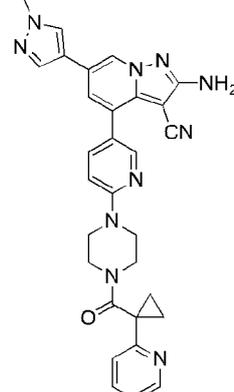
[0090]



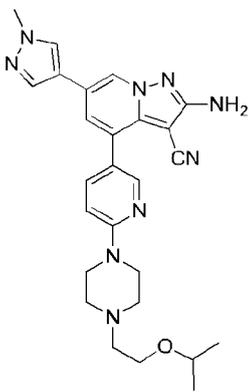
APS010



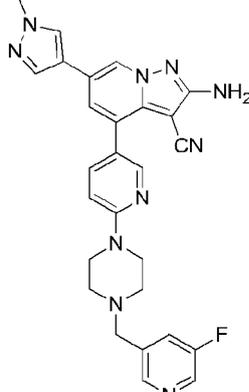
APS011



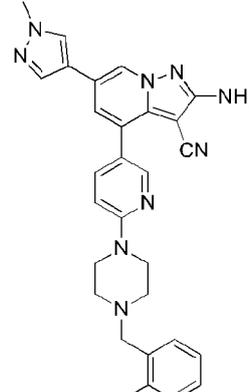
APS012



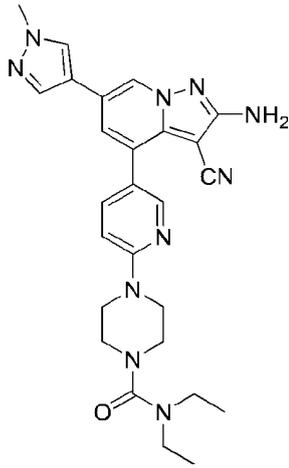
APS013



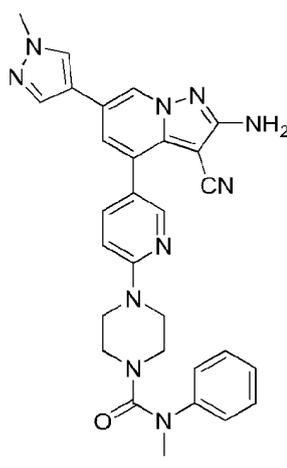
APS014



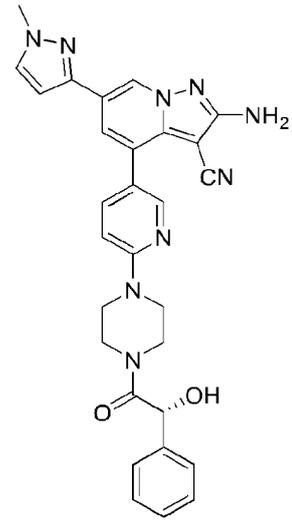
APS015



APS016

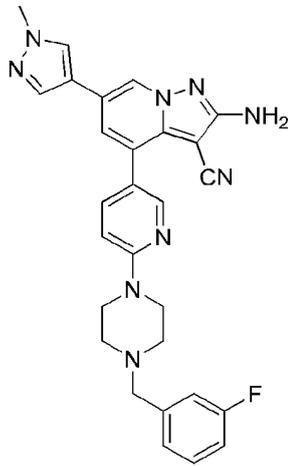


APS017

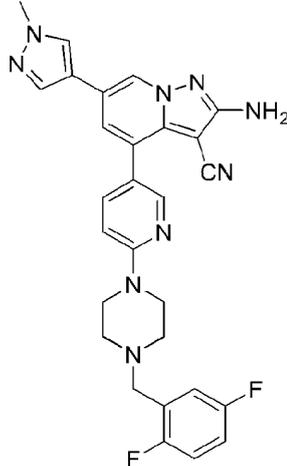


APS018

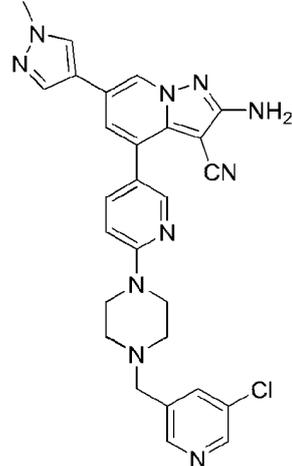
[0091]



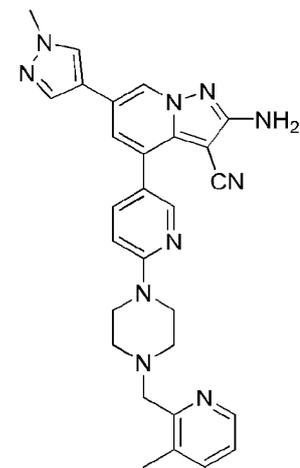
APS019



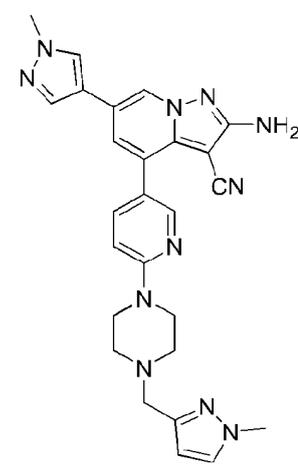
APS020



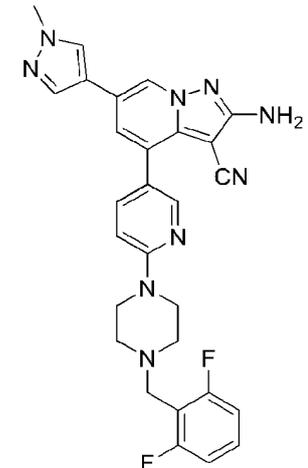
APS021



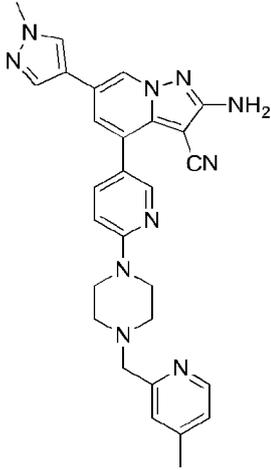
APS022



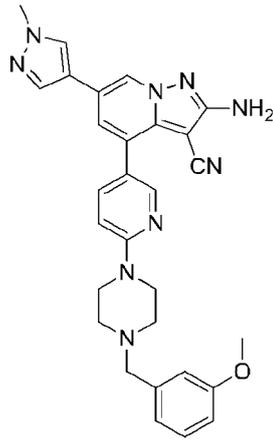
APS023



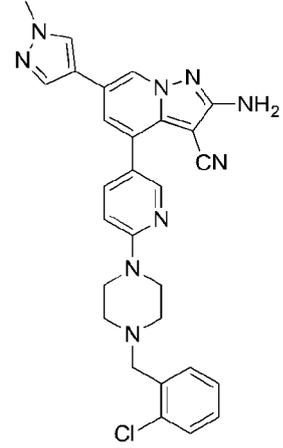
APS024



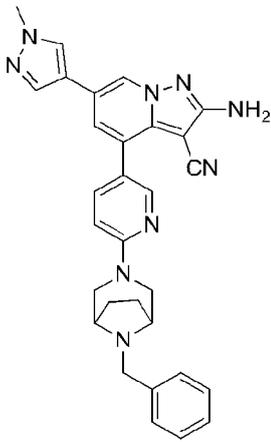
APS025



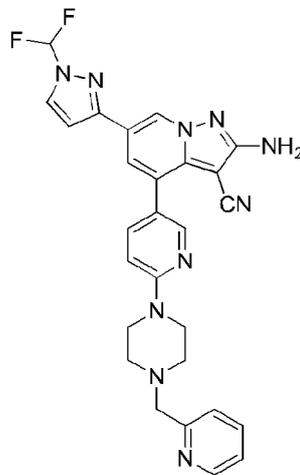
APS026



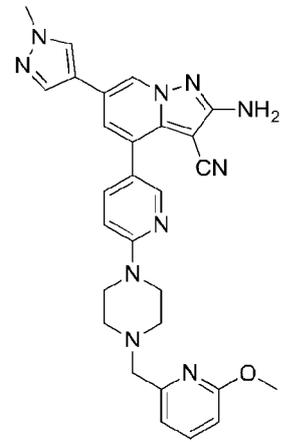
APS027



APS028

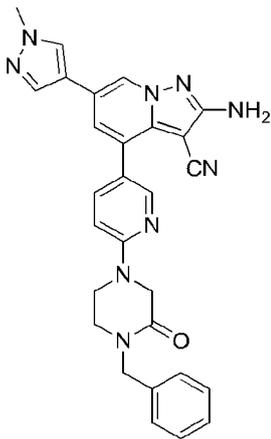


APS029

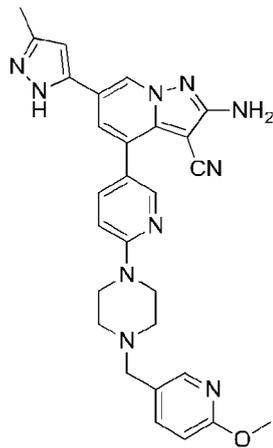


APS030

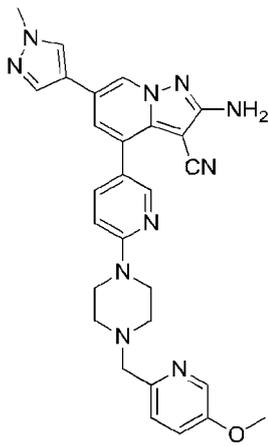
[0092]



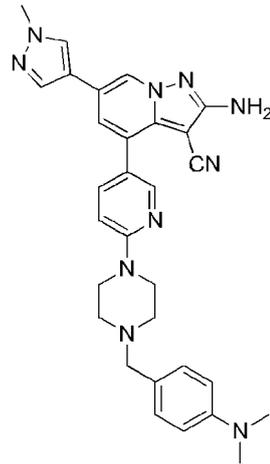
APS031



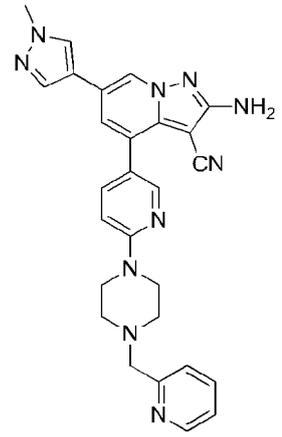
APS032



APS033

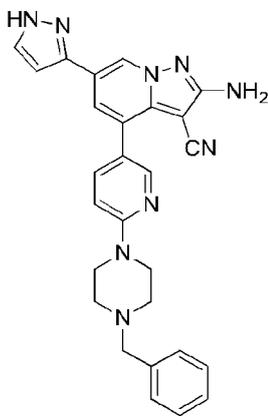


APS034

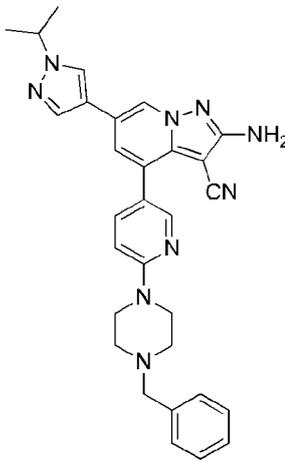


APS035

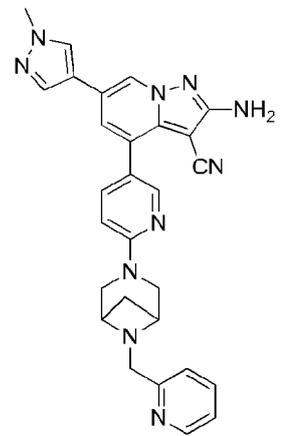
[0093]



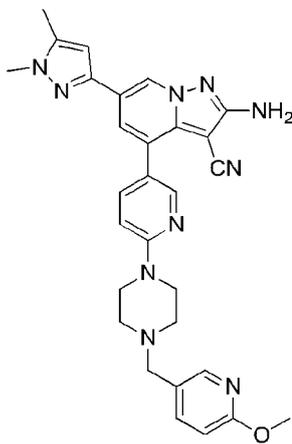
APS036



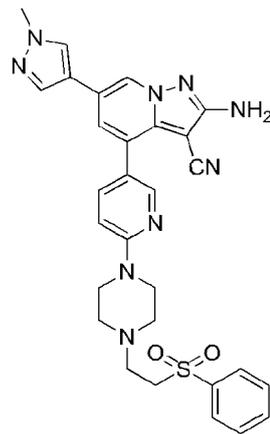
APS037



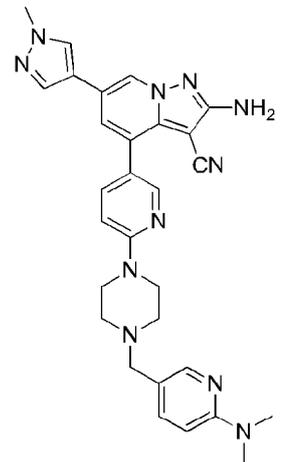
APS038



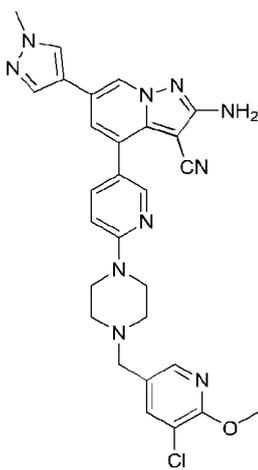
APS039



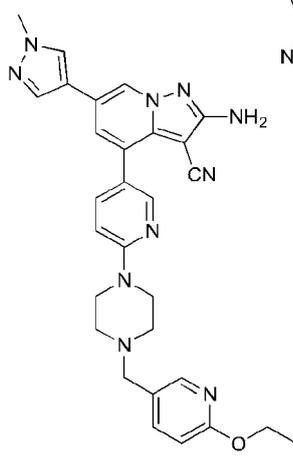
APS040



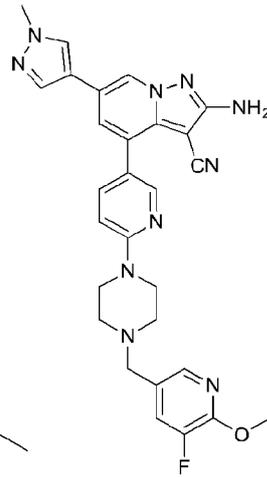
APS041



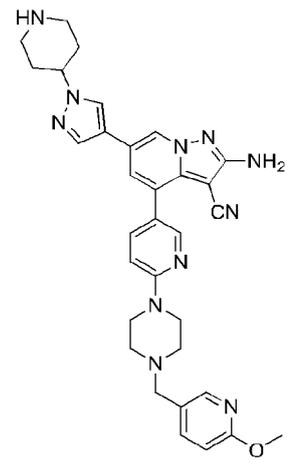
APS042



APS043

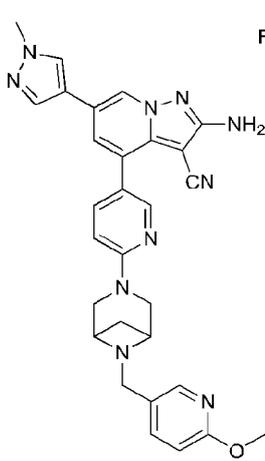


APS044

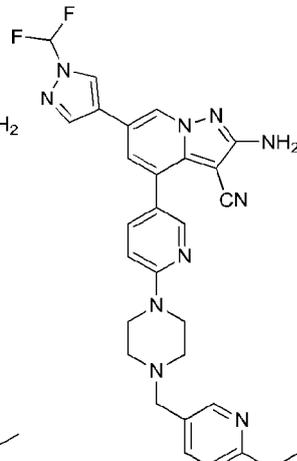


APS045

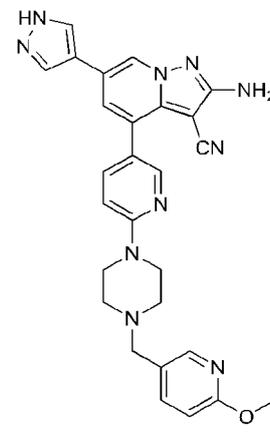
[0094]



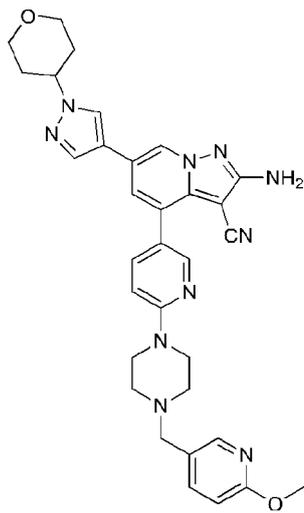
APS046



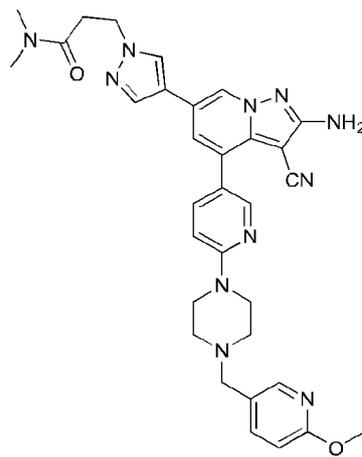
APS047



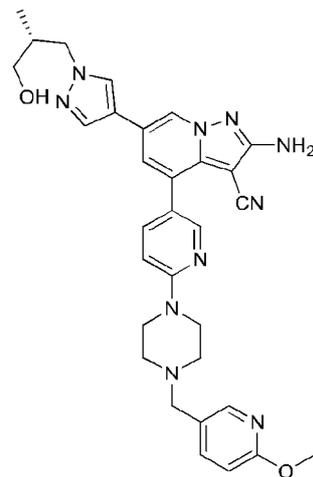
APS048



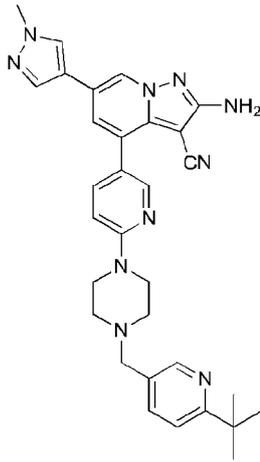
APS049



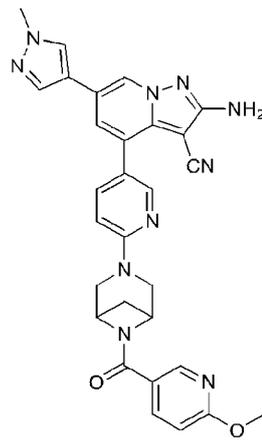
APS050



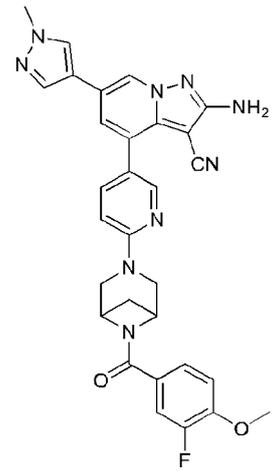
APS051



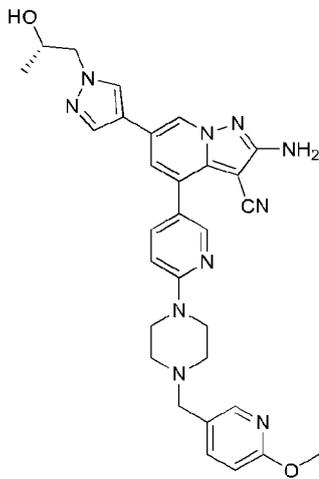
APS052



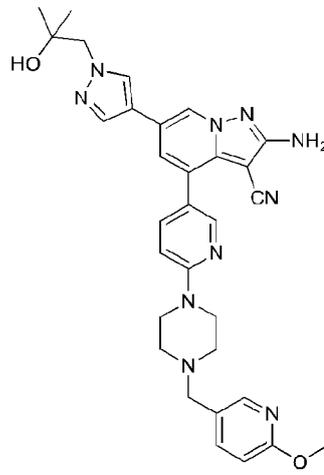
APS053



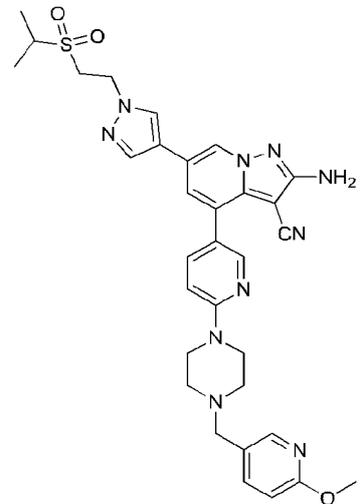
APS054



APS055

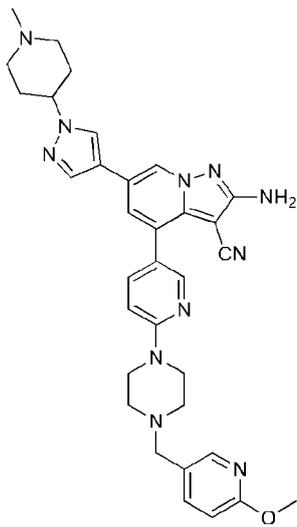


APS056

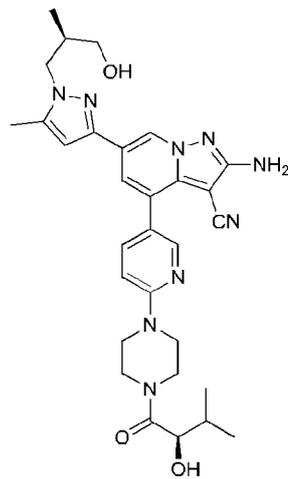


APS057

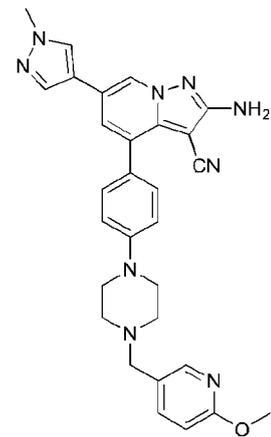
[0095]



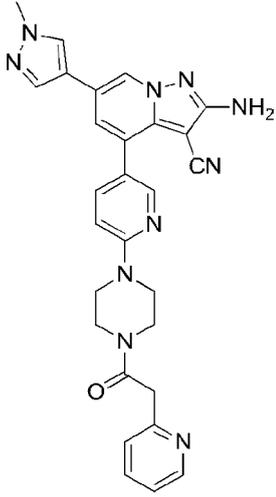
APS058



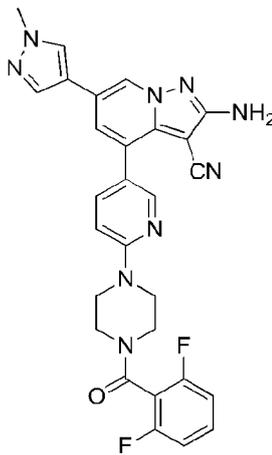
APS059



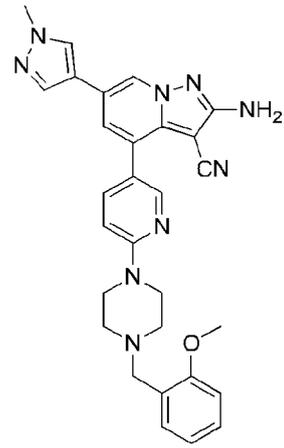
APS060



APS061

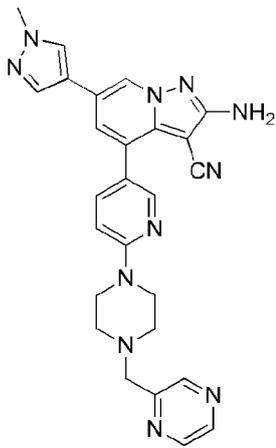


APS062

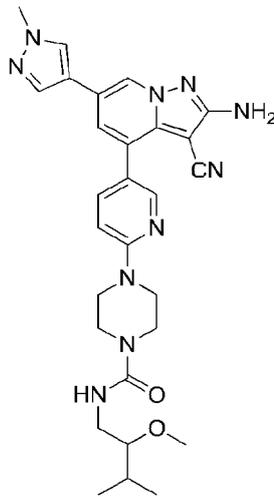


APS063

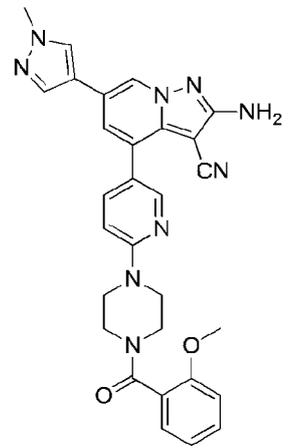
[0096]



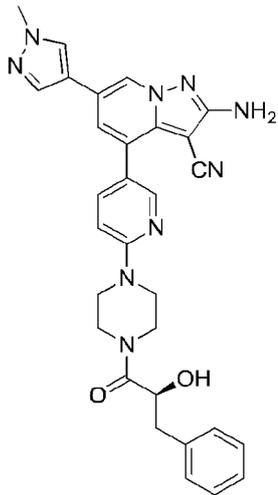
APS064



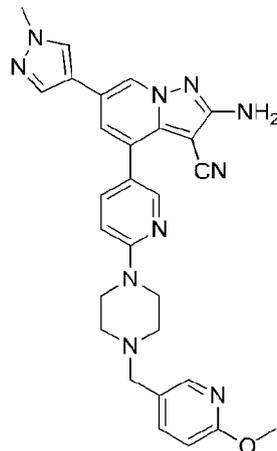
APS065



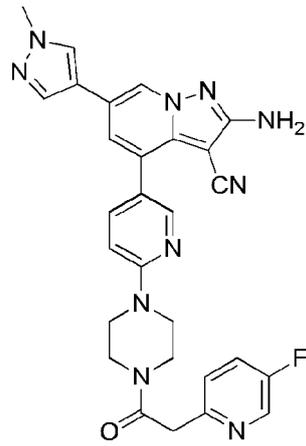
APS066



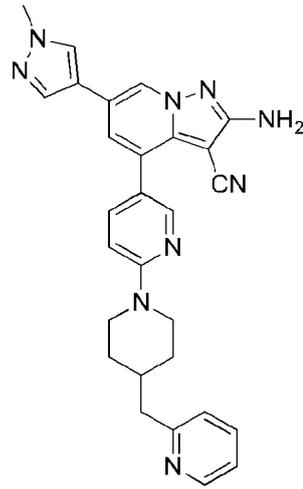
APS067



APS068

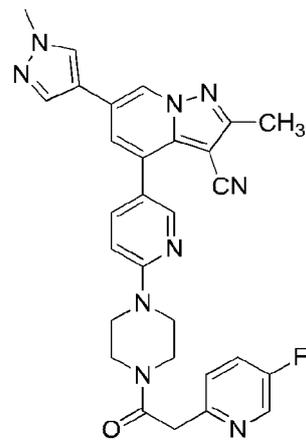


APS069

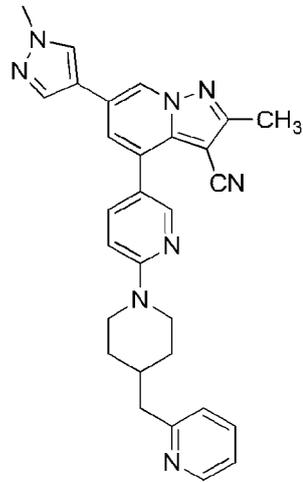


APS070

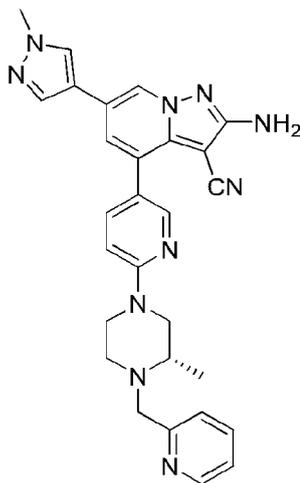
[0097]



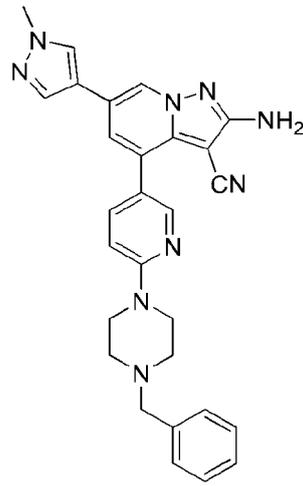
APS071



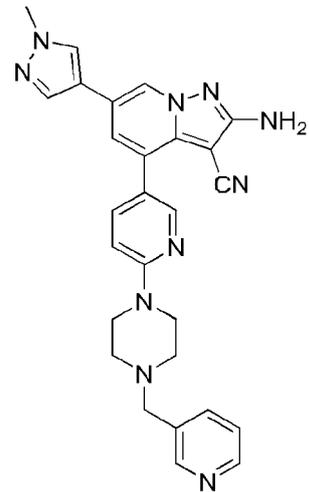
APS072



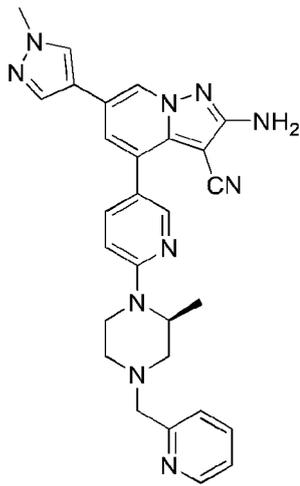
APS073



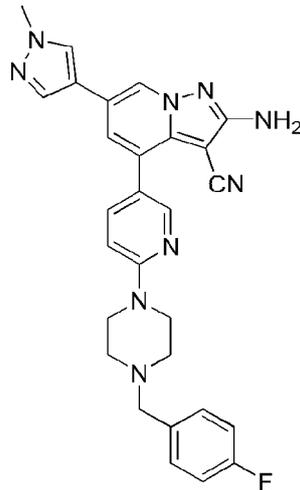
APS074



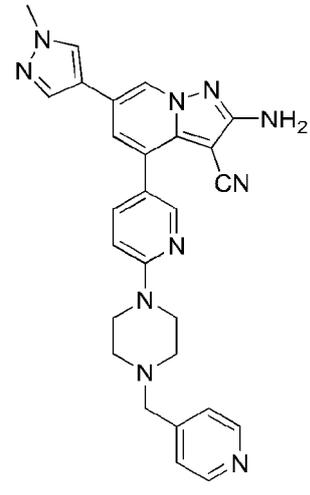
APS075



APS076

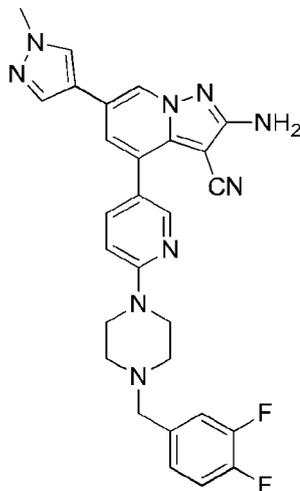


APS077

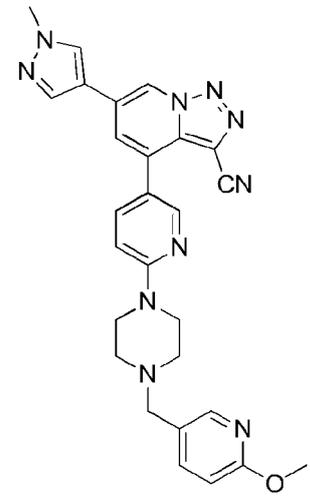


APS078

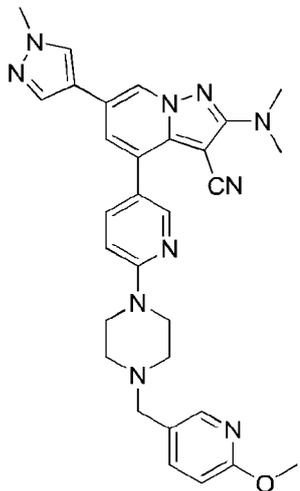
[0098]



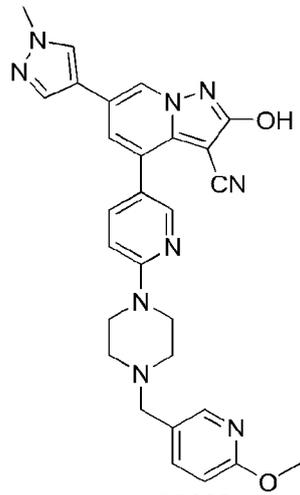
APS079



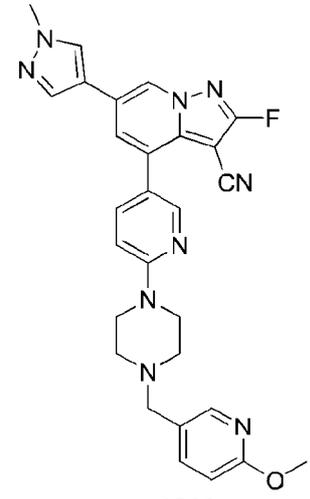
APS081



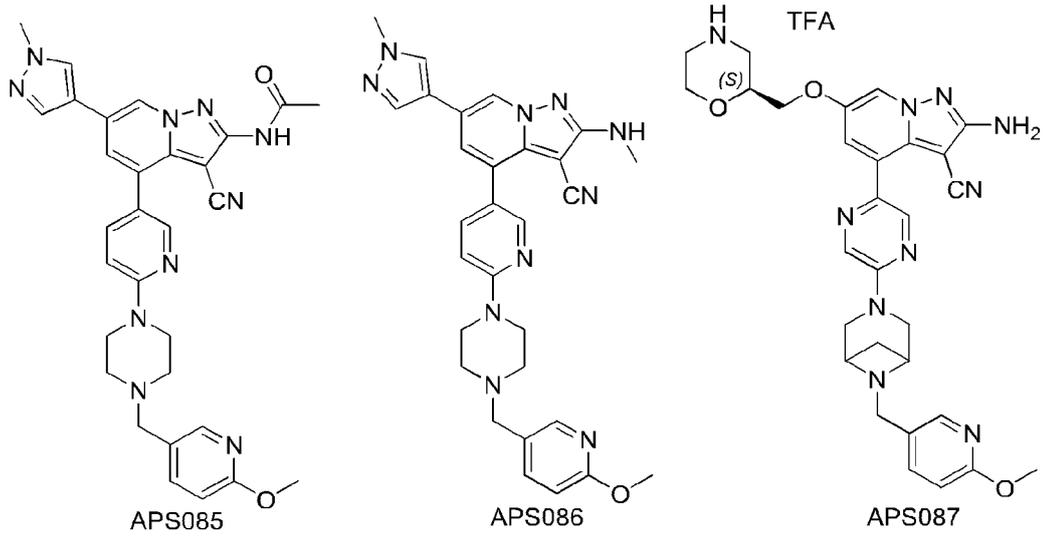
APS082



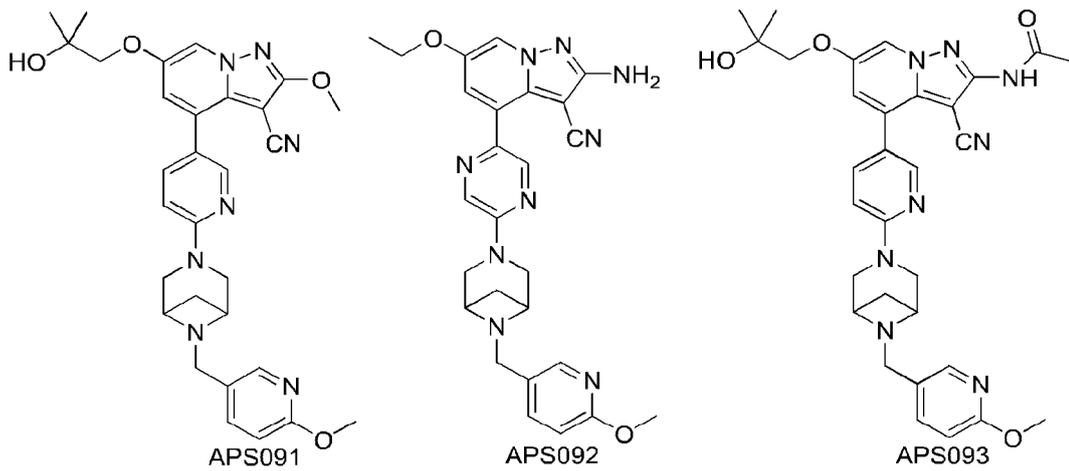
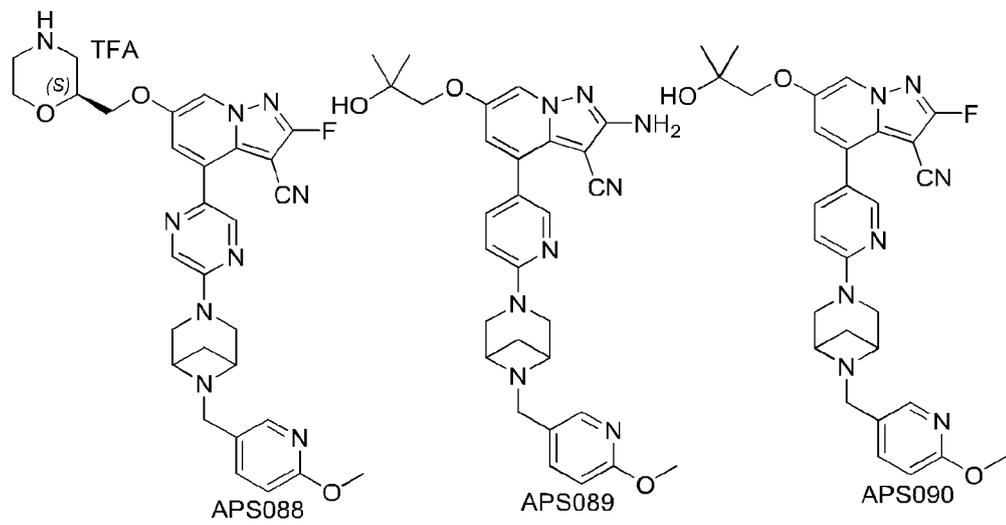
APS083

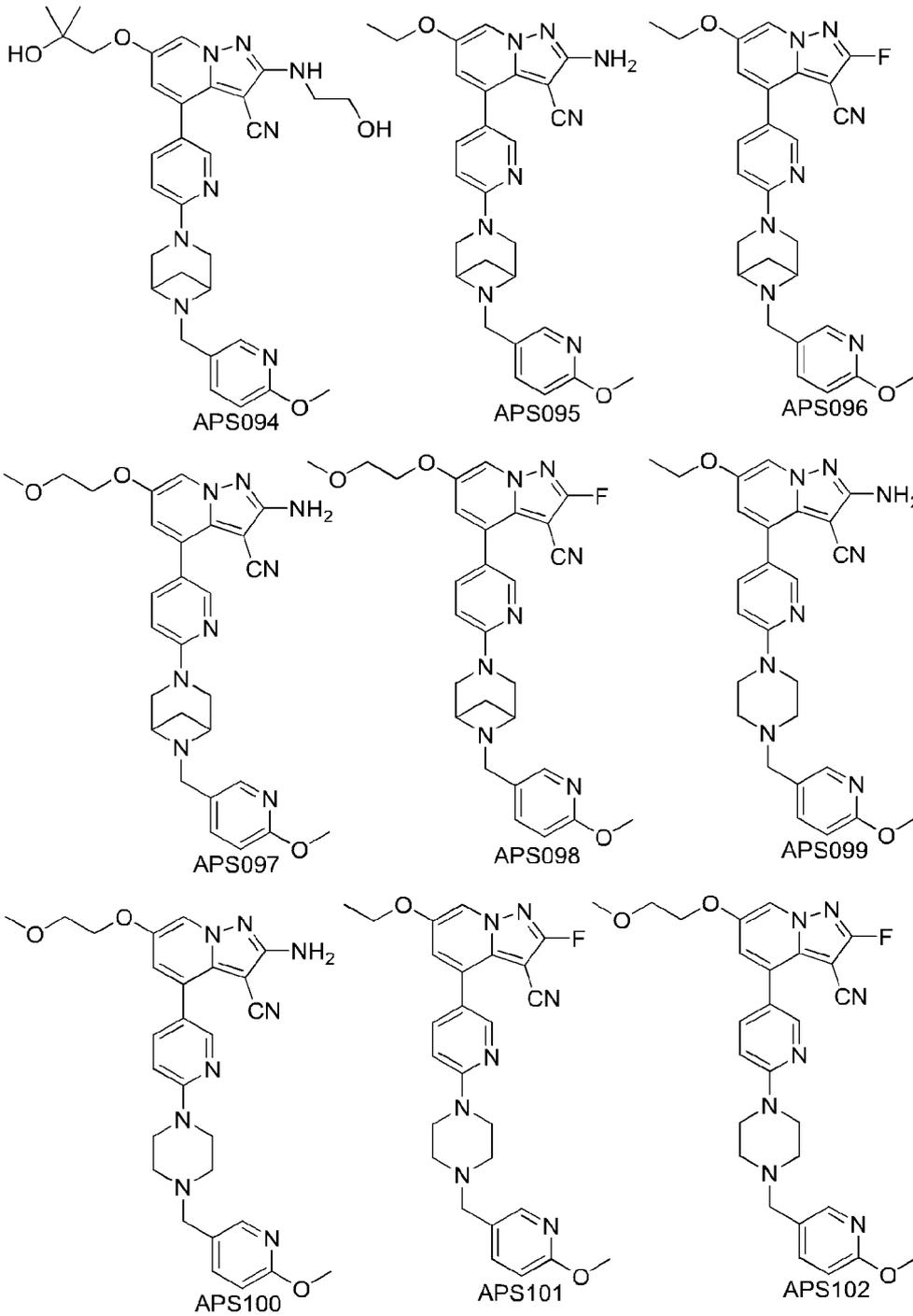


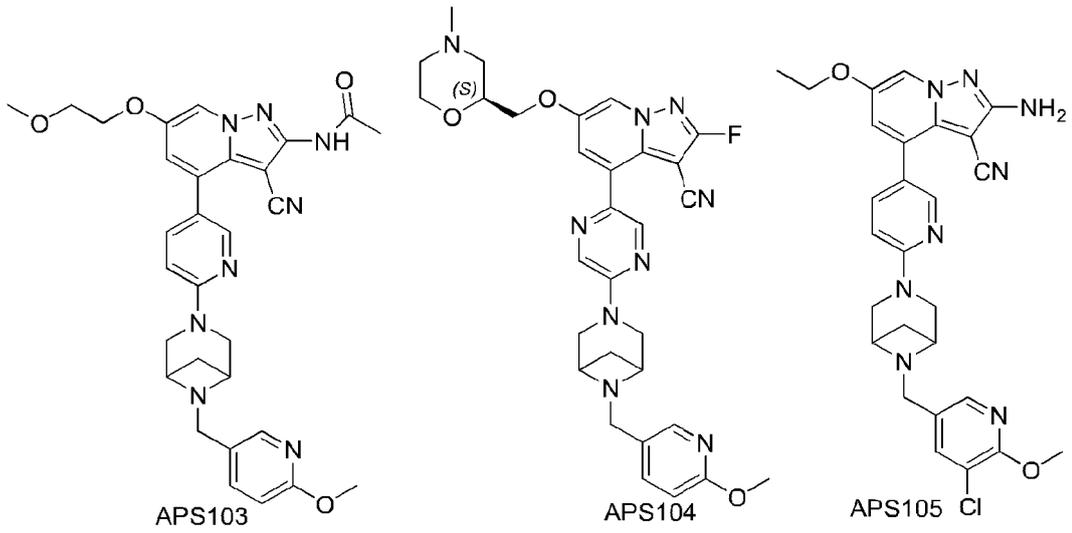
APS084



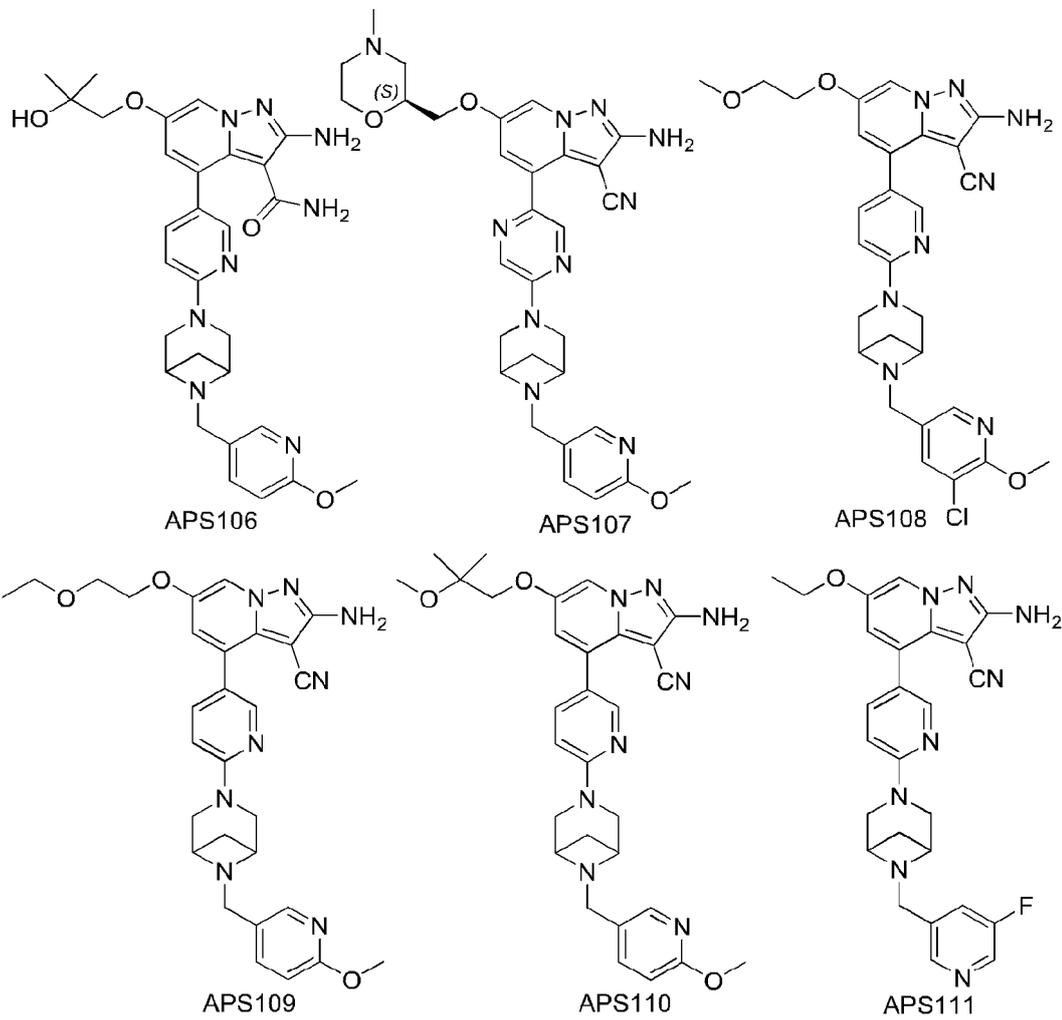
[0099]

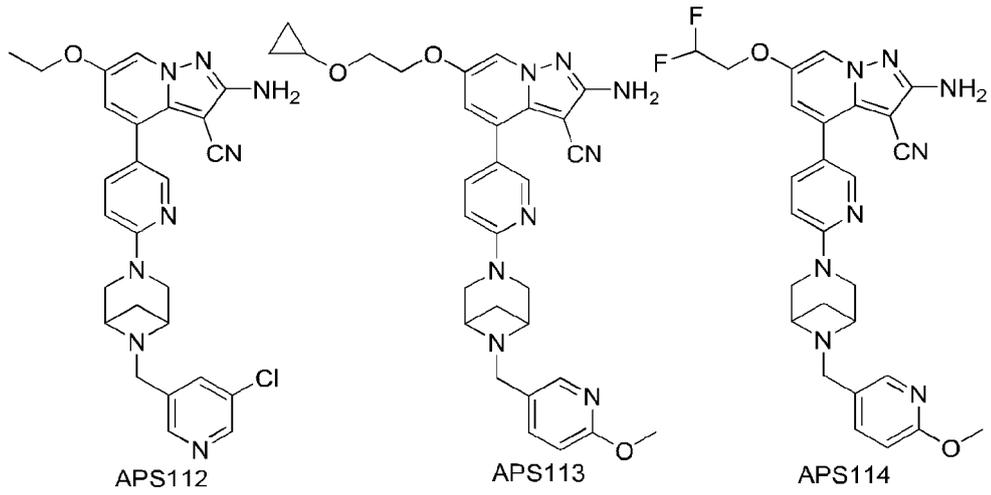




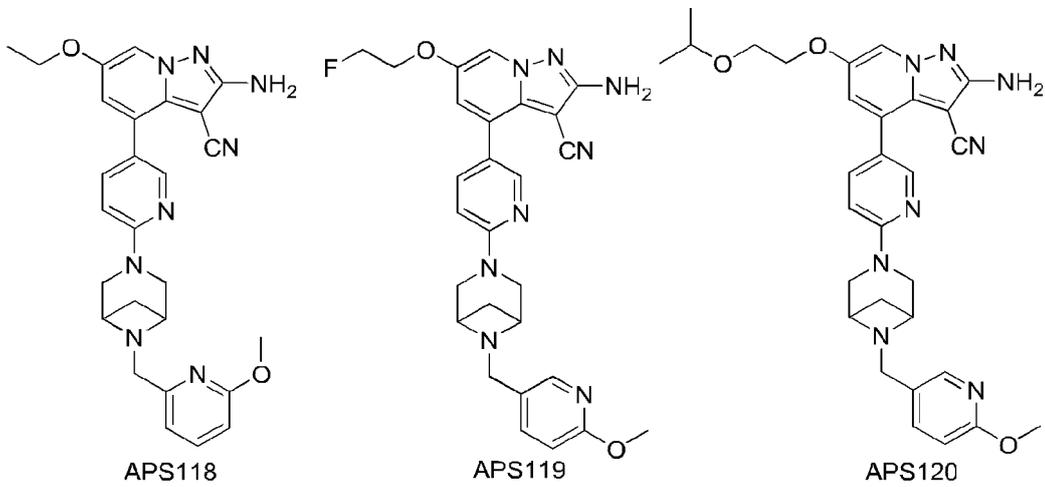
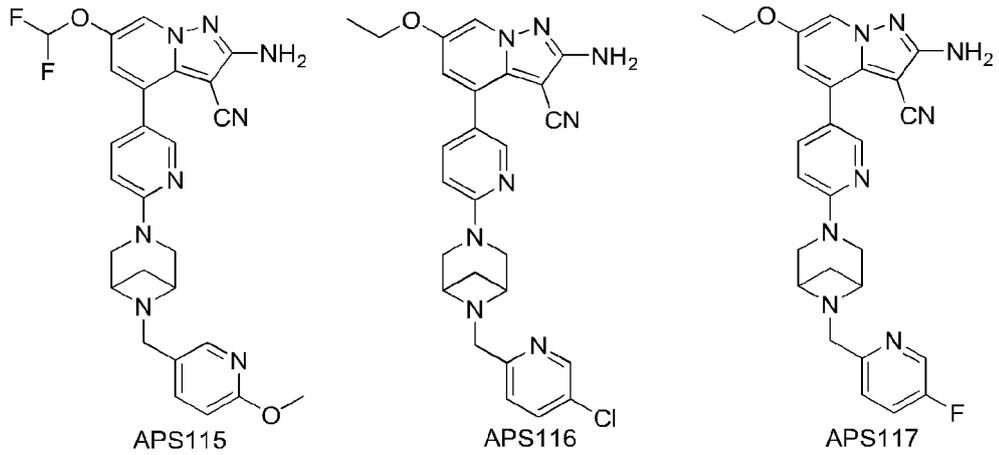


[0101]

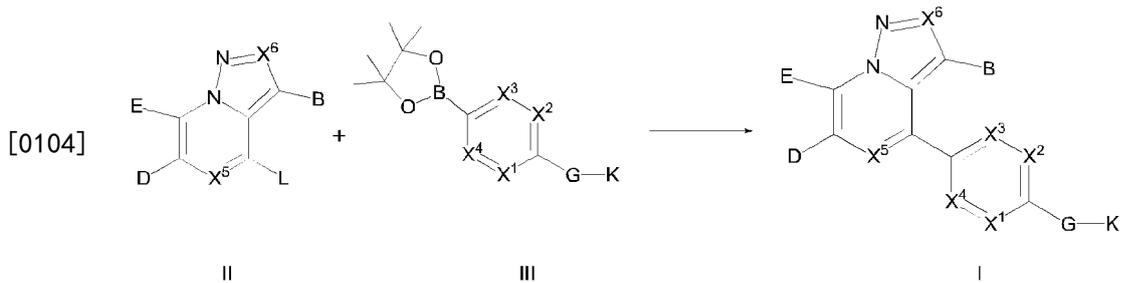




[0102]



[0103] 本发明还提供式I化合物的制备方法,包括:



[0105] 化合物II与化合物III发生铃木反应得到式I化合物;

[0106] 其中,式II和III中B、D、E、G、K、 $X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、 $X^6$ 具有如上所述定义;式III中B为硼元素;L选自离去基团如卤素或者OTf。

[0107] 本领域技术人员应当理解,除非如式III定义中的专门定义,或者根据有机化学反应常识能够确定为硼元素的情况外,其他通式化合物中的B应理解为说明书对于取代基的定义符号。

[0108] 本发明还提供一种药物组合物,其包含治疗有效量的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物中的至少一种。

[0109] 根据本发明,所述药物组合物还包括一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

[0110] 根据本发明,所述药物组合物还可以进一步含有一种或多种额外的治疗剂。

[0111] 本文还提供体外或体内抑制细胞增殖的方法,所述方法包括使细胞与有效量的本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物或其药物组合物接触。

[0112] 本发明还提供一种治疗RET激酶介导的疾病的方法,包括给予患者治疗有效量的如式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物中的至少一种。

[0113] 本文还提供了在有治疗需要的患者中治疗RET相关疾病或病症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物或其药物组合物。

[0114] 本文还提供了在有治疗需要的患者中治疗癌症和/或抑制与特定癌症相关的转移的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物或其药物组合物。

[0115] 本文还提供了在有治疗需要的患者中治疗肠易激综合征(IBS)和/或与IBS相关的疼痛的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物或其药物组合物。

[0116] 本文还提供了为癌症患者提供支持护理的方法,包括预防或最小化与治疗(包括化疗治疗)相关的胃肠疾病(例如腹泻),所述方法包括给予患者治疗有效量的如本文所限定的化合物或其药物组合物。

[0117] 本文还提供了用于治疗如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物,或其药物组合物。

[0118] 本文还提供用于治疗癌症和/或抑制与特定癌症相关的转移的如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物或其药物组合物。

[0119] 本文还提供用于治疗肠易激综合征(IBS)或与IBS相关的疼痛的如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物或其药物组合物。

[0120] 本发明还提供了如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物或其药物组合物,其用于为癌症患者提供支持性护理,包括预防或最小化与治疗(包括化疗治疗)相关的胃肠病症,例如腹泻。

[0121] 本文还提供了用于抑制RET激酶活性的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物。

[0122] 本文还提供用于治疗RET相关疾病或病症的如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物或其药物组合物。

[0123] 本发明还提供式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物中的至少一种在制备用于治疗RET激酶介导的疾病的药物中的用途。

[0124] 本文还提供如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物在制备用于治疗癌症和/或抑制与特定癌症相关的转移的药物中的用途。

[0125] 本文还提供如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物在制备用于治疗肠易激综合征(IBS)或与IBS相关的疼痛的药物中的用途。

[0126] 本文还提供了如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物在制备用于向癌症患者提供支持护理的药物中的用途,所述支持护理包括预防或最小化与治疗(包括化疗治疗)相关的胃肠病症,例如腹泻。

[0127] 本文还提供了如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物在制备用于抑制RET激酶活性的药物中的用途。

[0128] 本文还提供了如本文所限定的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物在制备用于治疗RET相关疾病或病症的药物中的用途。

[0129] 本文还提供用于在有需要的患者中治疗癌症的方法,所述方法包括(a)确定所述癌症是否与下述的失调有关:RET基因、RET激酶、或其中任一者的表达或活性或水平(例如,RET相关的癌症);(b)如果确定所述癌症与下述的失调有关:RET基因、RET激酶、或其中任一者的表达或活性或水平(例如,RET相关的癌症),向患者施用治疗有效量的通式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂合物,或其药物组合物。

[0130] 本文还提供了用于在有需要的患者中治疗癌症(例如,RET相关癌症,如具有一种或多种RET抑制剂抗性突变的RET相关癌症)的药物组合,其包含(a)式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物,(b)其他治疗剂,和(c)任选的至少一种药学上可接受的运载体,其中式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物和所述其他治疗剂被配制成单独的组合物或剂量用于同时、分开或顺序用于治疗癌症,其

中式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物和所述治疗剂的量一起有效治疗所述癌症。本文还提供了包含这种组合的药物组合物。本文还提供了这种组合在制备用于治疗癌症的药物中的用途。本文还提供了商业包装或产品,其包含这种组合作为用于同时、单独或顺序使用的组合制剂;并涉及一种治疗有需要的患者的癌症的方法。

[0131] 本文还提供了用于逆转或预防对抗癌药物的获得性抗性的方法,所述方法包括将治疗有效量的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物给予处于对抗癌药物发展或具有获得性抗性的风险的患者。

[0132] 本文还提供延迟和/或预防个体中抗癌药抗药性发展的方法,所述方法包括在个体中施用有效量的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物,在此之前、期间或之后施用有效量的抗癌药物。

[0133] 本文还提供了治疗患有癌症且对抗癌药物发展抗性的可能性增加的个体的方法,其包括对个体伴随施用(a)有效量的式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物;和(b)有效量的抗癌药物。

[0134] 还提供了治疗患有RET相关癌症的个体的方法,所述癌症具有一种或多种RET抑制剂抗性突变,所述RET抑制剂抗性突变增加所述癌症对不是式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物的RET抑制剂的抗性(例如,在氨基酸位置804处的取代,例如V804M、V804L或V804E),其包括在给予另一种其他的抗癌药物之前、期间或之后,给予式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物。

[0135] 还提供了治疗患有RET相关癌症的个体的方法,所述方法包括在给予另一种其他的抗癌药物之前、期间或之后,给予式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物。

[0136] 本文提供了在有需要的患者中治疗癌症(例如RET相关癌症)的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的通式I的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂合物或其药物组合物。

[0137] 在本文所述的任何方法或用途的一些实施方案中,癌症(例如RET相关癌症)是血液学癌症。在本文所述的任何方法或用途的一些实施方案中,癌症(例如RET相关癌症)是实体瘤。在本文所述的任何方法或用途的一些实施方案中,癌症(例如RET相关癌症)是肺癌(例如,小细胞肺癌或非小细胞肺癌),乳头状甲状腺癌,甲状腺髓样癌,分化型甲状腺癌,复发性甲状腺癌,难治性分化型甲状腺癌,肺腺癌,细支气管肺癌,2A或2B型多发性内分泌肿瘤(分别为MEN2A或MEN2B),嗜铬细胞瘤,甲状旁腺增生,乳腺癌,结直肠癌(例如转移性结肠直肠癌),乳头状肾细胞癌,胃肠粘膜的神经节细胞瘤病,炎性肌纤维母细胞瘤或宫颈癌。在本文所述的任何方法或用途的一些实施方案中,癌症(例如RET相关癌症)选自:急性淋巴细胞白血病(ALL),急性髓性白血病(AML),青少年癌症,肾上腺皮质癌,肛门癌、阑尾癌,星形细胞瘤,非典型性畸胎瘤/横纹肌样瘤,基底细胞癌,胆管癌,膀胱癌,骨癌,脑干胶质瘤,脑肿瘤,乳腺癌,支气管肿瘤,伯基特淋巴瘤,类癌瘤,未知原发癌,心脏肿瘤,宫颈癌,儿童癌症,脊索瘤,慢性淋巴细胞白血病(CLL),慢性骨髓性白血病(CML),慢性骨髓增殖性肿瘤,结

肠癌,结肠直肠癌,颅咽管瘤,皮肤T细胞淋巴瘤,胆管癌,原位导管癌,胚胎性肿瘤,子宫内膜癌,室管膜瘤,食道癌,成感觉神经细胞瘤,尤因肉瘤,颅外生殖细胞肿瘤,性腺外生殖细胞瘤,肝外胆管癌,眼癌,输卵管癌,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),生殖细胞瘤,妊娠滋养细胞疾病,神经胶质瘤,多毛细血管瘤,多毛细细胞白血病,头颈癌,心脏癌,肝细胞癌,组织细胞增多症,霍奇金淋巴瘤,下咽癌,眼内黑色素瘤,胰岛细胞瘤,胰腺神经内分泌瘤,卡波西肉瘤,肾癌,朗格汉斯细胞组织细胞增多症,喉癌,白血病,唇和口腔癌,肝癌,肺癌,淋巴瘤,巨球蛋白血症,骨恶性纤维组织细胞瘤,骨癌,黑色素瘤,梅克尔细胞癌,间皮瘤,转移性鳞状颈癌,中线状癌,口癌,多发性内分泌瘤综合征,多发性骨髓瘤,真菌病蕈样肉芽肿,骨髓增生异常综合征,骨髓增生异常/骨髓增殖性肿瘤,髓性白血病,骨髓性白血病,多发性骨髓瘤,骨髓增殖性肿瘤,鼻腔和鼻窦癌,鼻咽癌,成神经细胞瘤,非霍奇金淋巴瘤,非小细胞肺癌,口部癌,口腔癌,唇癌,口咽癌,骨肉瘤,卵巢癌,胰腺癌,乳头状瘤病,副神经节瘤,鼻旁窦和鼻腔癌,甲状旁腺癌,阴茎癌,咽癌,嗜铬细胞瘤,垂体癌,浆细胞瘤,胸膜肺胚细胞瘤,妊娠和乳腺癌,原发性中枢神经系统淋巴瘤,原发腹膜癌,前列腺癌,直肠癌,肾细胞癌,视网膜母细胞瘤,横纹肌肉瘤,唾液腺癌,肉瘤,塞扎里综合征,皮肤癌,小细胞肺癌,小肠癌,软组织肉瘤,鳞状细胞癌,鳞状颈癌,胃癌,T细胞淋巴瘤,睾丸癌,咽喉癌,胸腺瘤和胸腺癌,甲状腺癌,肾盂和输尿管的移行细胞癌,未知原发癌,尿道癌,子宫癌,子宫肉瘤,阴道癌,外阴癌和威尔姆氏瘤。

[0138] 在一些实施方案中,血液学癌症(例如,与RET相关的癌症的血液学癌症)选自白血病,淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤),霍奇金病(也称霍奇金淋巴瘤)和骨髓瘤,例如,急性淋巴细胞白血病(ALL),急性骨髓性白血病(AML),急性早幼粒细胞白血病(APL),慢性淋巴细胞白血病(CLL),慢性粒细胞白血病(CML),慢性髓单核细胞白血病(CMML),慢性嗜中性白血病(CNL),急性未分化型白血病(AUL),间变性大细胞淋巴瘤(ALCL),幼淋巴细胞白血病(PML),幼年型单核细胞白血病(JMML),成人T细胞ALL,三联型骨髓发育不良的AML(AML/TMDS),混合谱系白血病(MLL),骨髓增生异常综合征(MDS),骨髓增殖性疾病(MPD)和多发性骨髓瘤(MM)。血液癌症的其它示例包括骨髓增殖性疾病(MPD),如真性红细胞增多症(PV),原发性血小板减少症(ET)和特发性原发性骨髓纤维化(IMF/IPF/PMF)。在一个实施方案中,血液学癌症(例如,作为与RET相关癌症的血液学癌症)是AML或CMML。

[0139] 在一些实施方案中,癌症(例如RET相关癌症)是实体瘤。实体瘤(例如,作为与RET相关癌症的实体瘤)的示例包括例如甲状腺癌(例如乳头状甲状腺癌,甲状腺髓样癌),肺癌(例如肺腺癌,小细胞肺癌),胰腺癌,胰腺导管癌,乳腺癌,结肠癌,结直肠癌,前列腺癌,肾细胞癌,头颈肿瘤,神经母细胞瘤和黑素瘤。参见,例如,NatureReviewsCancer,2014,14,173-186。

[0140] 在一些实施方案中,癌症选自肺癌,乳头状甲状腺癌,甲状腺髓样癌,分化的甲状腺癌,复发性甲状腺癌,难治性分化型甲状腺癌,2A或2B型多发性内分泌瘤(分别为MEN2A或MEN2B),嗜铬细胞瘤,甲状旁腺增生,乳腺癌,结直肠癌,乳头状肾细胞癌,胃肠粘膜神经节细胞瘤和宫颈癌。

[0141] 在一些实施方案中,所述患者是人。

[0142] 式I化合物及其药学上可接受的盐和溶剂合物也可用于治疗RET相关的癌症。

[0143] 本文还提供用于在有需要的患者中治疗肠易激综合征(IBS)的方法,所述方法包

括(a)确定IBS是否与下述的失调有关:RET基因、RET激酶、或其中任何一者的表达或活性或水平;(b)如果确定IBS与下述的失调有关:RET基因、RET激酶、或其中任何一者的表达或活性或水平,向患者施用治疗有效量的通式I化合物或其药学上可接受的盐或溶剂合物,或其药物组合物。

[0144] 本文还提供了用于治疗有需要的患者的肠易激综合征(IBS)的药物组合,其包括施用(a)式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物,(b)其他治疗剂,和(c)任选的至少一种药学上可接受的运载体,用于同时、分开或依次用于治疗IBS,其中式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、氮氧化物、药学上可接受的盐或溶剂合物的量和其他治疗剂的量在治疗IBS方面共同有效。本文还提供了包含这种组合的药物组合物。本文还提供了这种组合在制备用于治疗IBS的药物中的用途。本文还提供了商业包装或产品,其包含这种组合作为用于同时、单独或顺序使用的组合制剂;并涉及一种治疗有需要的患者的IBS的方法。

[0145] 作为药物时,可按药物组合物的形式给予本发明化合物。可按药剂领域中熟知的方式制备这些组合物,可通过多种途径给予它们,这取决于是否需要局部或全身治疗和所治疗的区域。可局部(例如,透皮、皮肤、眼和粘膜包括鼻内、阴道和直肠递药)、肺(例如,通过吸入或吹入粉末或气雾剂,包括通过喷雾器;气管内、鼻内)、口服或肠胃外给药。肠胃外给药包括静脉内、动脉内、皮下、腹膜内或肌内注射或输注;或颅内例如鞘内或脑室内给药。可按单次大剂量形式肠胃外给药,或可通过例如连续灌注泵给药。局部给予的药用组合物和制剂可包括透皮贴剂、软膏、洗剂、霜剂、凝胶剂、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体剂和散剂。常规药物载体、水、粉末或油性基质、增稠剂等可能是必须的或需要的。包衣避孕套(Coated condoms)、手套等也可以是有用的。

[0146] 在制备本发明的组合物时,通常将活性成分与赋形剂混合,通过赋形剂稀释或装入例如胶囊、小药囊、纸或其它容器形式的这种载体内。当赋形剂用作稀释剂时,它可以是固体、半固体或液体物质,用作溶媒、载体或活性成分的介质。因此,组合物可以是以下形式:片剂、丸剂、散剂、锭剂、小药囊、扁囊剂、酏剂、混悬剂、乳剂、溶液剂、糖浆剂、气雾剂(固体或溶于液体溶媒);含例如高达10%重量活性化合物的软膏剂、软和硬明胶胶囊、栓剂、无菌注射溶液和无菌包装粉末。

[0147] 适宜的赋形剂的某些实例包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、黄蓍胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆和甲基纤维素。制剂还可含有:润滑剂例如滑石粉、硬脂酸镁和矿物油;湿润剂;乳化剂和悬浮剂;防腐剂例如苯甲酸甲酯和苯甲酸羟基丙酯;甜味剂和矫味剂。可通过使用本领域中已知的方法配制本发明组合物,以便在给予患者后提供速释、缓释或延迟释放活性成分的作用。

[0148] 可按单位剂型配制组合物,每一剂量含约5~1000mg,更通常约100~500mg活性成分。术语“单位剂型”是指物理上分离的适宜作为用于人患者和其它哺乳动物的单一剂量单位,各单位含有与适宜的药物赋形剂混合的经计算可产生所需疗效的预定量的活性物质。

[0149] 活性化合物的有效剂量的范围可很大,通常按药用有效量给药。但是,可以理解实际给予的化合物的量通常由医师根据相关情况决定,它们包括所治疗的病症、所选择的给药途径、所给予的实际化合物;患者个体的年龄、重量和反应;患者症状的严重程度等。

[0150] 对于制备固体组合物例如片剂,将主要的活性成分与药物赋形剂混合,形成含本发明化合物的均匀混合物的固体预制剂组合物。当称这些预制剂组合物为均匀时,是指活性成分通常均匀地分布在整個组合物中,致使该组合物可容易地划分为同等有效的单位剂型例如片剂、丸剂和胶囊剂。然后将该固体预制剂划分为上述类型的含例如约0.1~1000mg本发明活性成分的单位剂型。

[0151] 可将本发明片剂或丸剂包衣或复合,得到提供长效作用优点的剂型。例如,片剂或丸剂含内剂量和外剂量组分,后者是前者的被膜形式。可通过肠溶层将两种组分离,肠溶层用于在胃中阻止崩解,以使内组分完整通过十二指肠或延迟释放。多种物质可用于此类肠溶层或包衣剂,此类物质包括多种高分子酸和高分子酸与此类物质如虫胶、鲸蜡醇和醋酸纤维素的混合物。

[0152] 其中可掺入本发明化合物和组合物,用于口服或注射给药的液体形式包括水溶液、适当矫味的糖浆剂、水或油混悬液;和用食用油例如棉子油、芝麻油、椰子油或花生油矫味的乳剂;以及酞剂和类似的药用溶媒。

[0153] 用于吸入或吹入的组合物包括溶于药学上可接受的水或有机溶剂或其混合物的溶液剂和混悬液、散剂。液体或固体组合物可含有如上所述适宜的药学上可接受的赋形剂。在某些实施方案中,通过口服或鼻呼吸途径给予组合物,实现局部或全身作用。可通过使用惰性气体,使组合物成雾化。可直接由雾化装置吸入雾化溶液,或雾化装置可与面罩帷或间歇正压呼吸机连接。可通过口服或由按适当方式递送制剂的装置通过鼻给予溶液、混悬液或粉末组合物。

[0154] 给予患者的化合物或组合物的量不固定,取决于给予的药物、给药的目的例如预防或治疗;患者的状态、给药的方式等。在治疗应用时,可给予已患疾病的患者足够治愈或至少部分抑制疾病及其并发症症状的量的组合物。有效剂量应取决于所治疗的疾病状态和主治临床医师的判断,该判断取决于例如疾病的严重程度、患者的年龄、体重和一般状况等因素。

[0155] 给予患者的组合物可以是上述药用组合物形式。可通过常规灭菌技术或可过滤灭菌,将这些组合物灭菌。可将水溶液包装原样使用,或冻干,给药前,将冻干制剂与无菌水性载体混合。化合物制剂的pH通常为3~11,更优选5~9,最优选7~8。可以理解,使用某些前述赋形剂、载体或稳定剂会导致形成药物盐。

[0156] 本发明化合物的治疗剂量可根据例如以下而定:治疗的具体用途、给予化合物的方式、患者的健康和状态,以及签处方医师的判断。本发明化合物在药用组合物中的比例或浓度可不固定,取决于多种因素,它们包括剂量、化学特性(例如疏水性)和给药途径。例如可通过含约0.1~10%w/v该化合物的生理缓冲水溶液提供本发明化合物,用于肠胃外给药。某些典型剂量范围为约1 $\mu$ g/kg~约1g/kg体重/日。在某些实施方案中,剂量范围为约0.01mg/kg~约100mg/kg体重/日。剂量很可能取决于此类变量,如疾病或病症的种类和发展程度、具体患者的一般健康状态、所选择的化合物的相对生物学效力、赋形剂制剂及其给药途径。可通过由体外或动物模型试验系统导出的剂量-反应曲线外推,得到有效剂量。

[0157] 术语与定义

[0158] 除非另有说明,本申请说明书和权利要求书中记载的基团和术语定义,包括其作为实例的定义、示例性的定义、优选的定义、表格中记载的定义、实施例中具体化合物的定

义等,可以彼此之间任意组合和结合。这样的组合和结合后的基团定义及化合物结构,应当属于本申请说明书记载的范围内。

[0159] 除非另有说明,本说明书和权利要求书记载的数值范围相当于至少记载了其中每一个具体的整数数值。例如,数值范围“1-40”相当于记载了数值范围“1-10”中的每一个整数数值即1、2、3、4、5、6、7、8、9、10,以及数值范围“11-40”中的每一个整数数值即11、12、13、14、15、……、35、36、37、38、39、40。应当理解,本文在描述取代基时使用的一个、两个或更多个中,“更多个”应当是指 $\geq 3$ 的整数,例如3、4、5、6、7、8、9或10。此外,当某些数值范围被定义为“数”时,应当理解为记载了该范围的两个端点、该范围内的每一个整数以及该范围内的每一个小数。例如,“0~10的数”应当理解为不仅记载了0、1、2、3、4、5、6、7、8、9和10的每一个整数,还至少记载了其中每一个整数分别与0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9的和。

[0160] 术语“卤素”表示氟、氯、溴和碘。

[0161] 术语“ $C_{1-40}$ 烷基”应理解为优选表示具有1~40个碳原子的直链或支链饱和一价烃基。例如,“ $C_{1-6}$ 烷基”表示具有1、2、3、4、5或6个碳原子的直链和支链烷基。所述烷基是例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基、异戊基、2-甲基丁基、1-甲基丁基、1-乙基丙基、1,2-二甲基丙基、新戊基、1,1-二甲基丙基、4-甲基戊基、3-甲基戊基、2-甲基戊基、1-甲基戊基、2-乙基丁基、1-乙基丁基、3,3-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,1-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基或1,2-二甲基丁基等或它们的异构体。

[0162] 术语“ $C_{2-40}$ 烯基”应理解为优选表示直连或支链的一价烃基,其包含一个或多个双键并且具有2~40个碳原子,优选“ $C_{2-6}$ 烯基”。“ $C_{2-6}$ 烯基”应理解为优选表示直连或支链的一价烃基,其包含一个或多个双键并且具有2、3、4、5或6个碳原子,特别是2或3个碳原子(“ $C_{2-3}$ 烯基”),应理解,在所述烯基包含多于一个双键的情况下,所述双键可相互分离或者共轭。所述烯基是例如乙烯基、烯丙基、(E)-2-甲基乙烯基、(Z)-2-甲基乙烯基、(E)-丁-2-烯基、(Z)-丁-2-烯基、(E)-丁-1-烯基、(Z)-丁-1-烯基、戊-4-烯基、(E)-戊-3-烯基、(Z)-戊-3-烯基、(E)-戊-2-烯基、(Z)-戊-2-烯基、(E)-戊-1-烯基、(Z)-戊-1-烯基、己-5-烯基、(E)-己-4-烯基、(Z)-己-4-烯基、(E)-己-3-烯基、(Z)-己-3-烯基、(E)-己-2-烯基、(Z)-己-2-烯基、(E)-己-1-烯基、(Z)-己-1-烯基、异丙烯基、2-甲基丙-2-烯基、1-甲基丙-2-烯基、2-甲基丙-1-烯基、(E)-1-甲基丙-1-烯基、(Z)-1-甲基丙-1-烯基、3-甲基丁-3-烯基、2-甲基丁-3-烯基、1-甲基丁-3-烯基、3-甲基丁-2-烯基、(E)-2-甲基丁-2-烯基、(Z)-2-甲基丁-2-烯基、(E)-1-甲基丁-2-烯基、(Z)-1-甲基丁-2-烯基、(E)-3-甲基丁-1-烯基、(Z)-3-甲基丁-1-烯基、(E)-2-甲基丁-1-烯基、(Z)-2-甲基丁-1-烯基、(E)-1-甲基丁-1-烯基、(Z)-1-甲基丁-1-烯基、1,1-二甲基丙-2-烯基、1-乙基丙-1-烯基、1-丙基乙烯基、1-异丙基乙烯基。

[0163] 术语“ $C_{2-40}$ 炔基”应理解为表示直连或支链的一价烃基,其包含一个或多个三键并且具有2~40个碳原子,优选“ $C_2-C_6$ -炔基”。术语“ $C_2-C_6$ -炔基”应理解为优选表示直连或支链的一价烃基,其包含一个或多个三键并且具有2、3、4、5或6个碳原子,特别是2或3个碳原子(“ $C_2-C_3$ -炔基”)。所述 $C_2-C_6$ -炔基是例如乙炔基、丙-1-炔基、丙-2-炔基、丁-1-炔基、丁-2-炔基、丁-3-炔基、戊-1-炔基、戊-2-炔基、戊-3-炔基、戊-4-炔基、己-1-炔基、己-2-炔基、己-3-炔基、己-4-炔基、己-5-炔基、1-甲基丙-2-炔基、2-甲基丁-3-炔基、1-甲基丁-3-炔

基、1-甲基丁-2-炔基、3-甲基丁-1-炔基、1-乙基丙-2-炔基、3-甲基戊-4-炔基、2-甲基戊-4-炔基、1-甲基戊-4-炔基、2-甲基戊-3-炔基、1-甲基戊-3-炔基、4-甲基戊-2-炔基、1-甲基戊-2-炔基、4-甲基戊-1-炔基、3-甲基戊-1-炔基、2-乙基丁-3-炔基、1-乙基丁-3-炔基、1-乙基丁-2-炔基、1-丙基丙-2-炔基、1-异丙基丙-2-炔基、2,2-二甲基丁-3-炔基、1,1-二甲基丁-3-炔基、1,1-二甲基丁-2-炔基或3,3-二甲基丁-1-炔基。特别地,所述炔基是乙炔基、丙-1-炔基或丙-2-炔基。

[0164] 术语“ $C_{3-40}$ 环烷基”应理解为表示饱和的一价单环、双环烃环或桥环烷烃,其具有3~40个碳原子,优选“ $C_{3-10}$ 环烷基”。术语“ $C_{3-10}$ 环烷基”应理解为表示饱和的一价单环、双环烃环或桥环烷烃,其具有3、4、5、6、7、8、9或10个碳原子。所述 $C_{3-10}$ 环烷基可以是单环烷基,如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基或环癸基,或者是双环烷基如十氢化萘环。

[0165] 术语“3-20元杂环基”意指饱和的一价单环、双环烃环或桥环烷烃,其包含1-5个独立选自N、O和S的杂原子的总环原子数为3-20(如原子数为3、4、5、6、7、8、9、10等)的非芳族环状基团,优选“3-10元杂环基”。术语“3-10元杂环基”意指饱和的一价单环、双环烃环或桥环烷烃,其包含1-5个,优选1-3个选自N、O和S的杂原子。所述杂环基可以通过所述碳原子中的任一个或氮原子(如果存在的话)与分子的其余部分连接。特别地,所述杂环基可以包括但不限于:4元环,如氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基;5元环,如四氢咪喃基、二氧杂环戊烯基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、吡咯啉基;或6元环,如四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、二噁烷基、硫代吗啉基、哌嗪基或三噁烷基;或7元环,如二氮杂环庚烷基。任选地,所述杂环基可以是苯并稠合的。所述杂环基可以是双环的,例如但不限于5,5元环,如六氢环戊并[c]吡咯-2(1H)-基环,或者5,6元双环,如六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-2(1H)-基环。含氮原子的环可以是部分不饱和的,即它可以包含一个或多个双键,例如但不限于2,5-二氢-1H-吡咯基、4H-[1,3,4]噻二嗪基、4,5-二氢恶唑基或4H-[1,4]噻嗪基,或者,它可以是苯并稠合的,例如但不限于二氢异喹啉基。根据本发明,所述杂环基是无芳香性的。所述3-20元杂环基与其它基团相连接构成本发明的化合物时,可以为3-20元杂环基上的碳原子与其它基团相连,也可以为3-20元杂环基环上杂环原子与其它基团相连。例如当3-20元杂环基选自哌嗪基时,可以为哌嗪基上的氮原子与其它基团相连。或当3-20元杂环基选自哌啶基时,可以为哌啶基环上的氮原子和其对位上的碳原子与其它基团相连。

[0166] 术语“ $C_{6-20}$ 芳基”应理解为优选表示具有6~20个碳原子的一价芳香性或部分芳香性的单环、双环或三环烃环,优选“ $C_{6-14}$ 芳基”。术语“ $C_{6-14}$ 芳基”应理解为优选表示具有6、7、8、9、10、11、12、13或14个碳原子的一价芳香性或部分芳香性的单环、双环或三环烃环(“ $C_{6-14}$ 芳基”),特别是具有6个碳原子的环(“ $C_6$ 芳基”),例如苯基;或联苯基,或者是具有9个碳原子的环(“ $C_9$ 芳基”),例如茚满基或茚基,或者是具有10个碳原子的环(“ $C_{10}$ 芳基”),例如四氢化萘基、二氢萘基或萘基,或者是具有13个碳原子的环(“ $C_{13}$ 芳基”),例如茈基,或者是具有14个碳原子的环(“ $C_{14}$ 芳基”),例如蒽基。当所述 $C_{6-20}$ 芳基被取代时,其可以为单取代或者多取代。并且,对其取代位点没有限制,例如可以为邻位、对位或间位取代。

[0167] 术语“5-20元杂芳基”应理解为包括这样的一价单环、双环或三环芳族环系:其具有5~20个环原子且包含1-5个独立选自N、O和S的杂原子,例如“5-14元杂芳基”。术语“5-14元杂芳基”应理解为包括这样的一价单环、双环或三环芳族环系:其具有5、6、7、8、9、10、11、

12、13或14个环原子,特别是5或6或9或10个碳原子,且其包含1-5个,优选1-3各独立选自N、O和S的杂原子并且,另外在每一种情况下可为苯并稠合的。特别地,杂芳基选自噻吩基、呋喃基、吡咯基、恶唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、异恶唑基、异噻唑基、恶二唑基、三唑基、噻二唑基、噻-4H-吡唑基等以及它们的苯并衍生物,例如苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并恶唑基、苯并异恶唑基、苯并咪唑基、苯并三唑基、吡唑基、吡啶基、异吡啶基等;或吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基等,以及它们的苯并衍生物,例如喹啉基、喹唑啉基、异喹啉基等;或吡辛因基、吡嗪基、嘌呤基等以及它们的苯并衍生物;或噌啉基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、茶啶基、蝶啶基、咪唑基、吡啶基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩恶嗪基等。当所述5-20元杂芳基与其它基团相连接构成本发明的化合物时,可以为5-20元杂芳基环上的碳原子与其它基团相连接,也可以为5-20元杂芳基环上的杂原子与其它基团相连接。当所述5-20元杂芳基被取代时,其可以为单取代或者多取代。并且,对其取代位点没有限制,例如可以为杂芳基环上与碳原子相连的氢被取代,或者杂芳基环上与杂原子相连的氢被取代。

[0168] 除非另有说明,杂环基、杂芳基或亚杂芳基包括其所有可能的异构形式,例如其位置异构体。因此,对于一些说明性的非限制性实例,可以包括在其1-、2-、3-、4-、5-、6-、7-、8-、9-、10-、11-、12-位等(如果存在)中的一个、两个或更多个位置上取代或与其他基团键合的形式,包括吡啶-2-基、亚吡啶-2-基、吡啶-3-基、亚吡啶-3-基、吡啶-4-基和亚吡啶-4-基;噻吩基或亚噻吩基包括噻吩-2-基、亚噻吩-2-基、噻吩-3-基和亚噻吩-3-基;吡唑-1-基、吡唑-3-基、吡唑-4-基、吡唑-5-基。

[0169] 术语“氧代”是指取代基中的碳原子、氮原子或硫原子被氧化后形成的氧基取代(=O)。

[0170] 除非另有说明,本文中术语的定义同样适用于包含该术语的基团,例如C<sub>1-6</sub>烷基的定义也适用于C<sub>1-6</sub>烷基氧基、-N(C<sub>1-6</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NHC<sub>1-6</sub>烷基或-S(O)<sub>2</sub>-C<sub>1-6</sub>烷基等。

[0171] 本领域技术人员可以理解,式I所示化合物可以以各种药学上可接受的盐的形式存在。如果这些化合物具有碱性中心,则其可以形成酸加成盐;如果这些化合物具有酸性中心,则其可以形成碱加成盐;如果这些化合物既包含酸性中心(例如羧基)又包含碱性中心(例如氨基),则其还可以形成内盐。本申请中化合物成盐的个数由碱性中心或酸性中心决定。例如当化合物中含有多个成盐位点时,则成盐个数等于成盐位点数。酸加成盐包括但不限于:盐酸盐、氢氟酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、焦硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、2-羟基乙磺酸盐、苯磺酸盐、甲苯磺酸盐、氨基磺酸盐、2-萘磺酸盐、甲酸盐、乙酰乙酸、丙酮酸、月硅酸酯、肉桂酸酯、苯甲酸盐、醋酸盐、二羟乙酸盐、三氟乙酸盐、三甲基乙酸盐、丙酸盐、丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、十一酸盐、硬脂酸盐、抗坏血酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、富马酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、羟基马来酸盐、草酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、葡萄糖酸盐、奎尼酸盐、双羟萘酸盐、甘醇酸盐、酒石酸盐、乳酸盐、2-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、3-羟基-2-萘甲酸盐、烟酸盐、扑酸盐、果胶酯酸盐、3-苯基丙酸盐、苦味酸盐、特戊酸盐、衣康酸盐、三氟甲磺酸盐、十二烷基硫酸盐、对甲苯磺酸盐、萘二磺酸盐、丙二酸盐、己二酸盐、藻酸盐、扁桃酸盐、葡庚酸盐、甘油磷酸盐、磺基水杨酸盐、半硫酸或硫氰酸盐、天冬氨酸盐等;碱加成盐例如碱金属盐、碱土金属盐和铵盐等,具体包括但不限于:钠盐、锂盐、钾盐、铵盐、铝盐、镁盐、钙盐、钡盐、铁盐、亚铁盐、锰盐、亚锰盐、锌盐、铵盐(包括与NH<sub>3</sub>和有机胺形成的盐(NH<sub>4</sub>盐)、甲铵盐、三甲铵盐、二乙铵盐、

三乙铵盐、丙铵盐、三丙铵盐、异丙铵盐、叔丁铵盐、N,N'-二苄基乙二铵盐、二环己铵盐、1,6-己二铵盐、苄铵盐、乙醇铵盐、N,N-二甲基乙醇铵盐、N,N-二乙基乙醇铵盐、三乙醇铵盐、氨丁三醇盐、赖氨酸盐、精氨酸盐、组氨酸盐、葡糖铵盐、N-甲基葡糖铵盐、二甲基葡糖铵盐、乙基葡糖铵盐、葡甲铵盐、甜菜碱盐、咖啡因盐、氯普鲁卡因盐、普鲁卡因盐、利多卡因盐、吡啶盐、甲基吡啶盐、哌啶盐、吗啉盐、哌嗪盐、嘌呤盐、可可碱盐、胆碱盐)等。

[0172] 本发明的化合物可以溶剂合物(如水合物)的形式存在,其中本发明的化合物包含作为所述化合物晶格的结构要素的极性溶剂,特别是例如水、甲醇或乙醇。极性溶剂特别是水的量可以化学计量比或非化学计量比存在。

[0173] 根据其分子结构,本发明的化合物可以是手性的,因此可能存在各种对映异构体形式。因而这些化合物可以以消旋体形式或光学活性形式存在。本发明的化合物或其中间体可以通过本领域技术人员公知的化学或物理方法分离为对映异构体化合物,或者以此形式用于合成。在外消旋的胺的情况中,通过与光学活性的拆分试剂反应,从混合物制得非对映异构体。适当的拆分试剂的示例是光学活性的酸,例如R和S形式的酒石酸、二乙酰酒石酸、二苯甲酰酒石酸、扁桃酸、苹果酸、乳酸、适当的N-保护的氨基酸(例如N-苯甲酰脯氨酸或N-苯磺酰基脯氨酸)或各种光学活性的樟脑磺酸。借助光学活性的拆分试剂(例如固定在硅胶上的二硝基苯甲酰基苯基甘氨酸、三乙酸纤维素或其它碳水化合物的衍生物或手性衍生化的异丁烯酸酯聚合物),也可有利地进行色谱对映体拆分。用于此目的的适当的洗脱剂是含水或含醇的溶剂混合物,例如,己烷/异丙醇/乙腈。

[0174] 术语“互变异构体”是指因分子中某一原子在两个位置迅速移动而产生的官能团异构体。本发明化合物可表现出互变异构现象。互变异构的化合物可以存在两种或多种可相互转化的种类。质子移变互变异构体来自两个原子之间共价键合的氢原子的迁移。互变异构体一般以平衡形式存在,尝试分离单一互变异构体时通常产生一种混合物,其理化性质与化合物的混合物是一致的。平衡的位置取决于分子内的化学特性。例如,在很多脂族醛和酮如乙醛中,酮型占优势;而在酚中,烯醇型占优势。本发明包含化合物的所有互变异构形式。

[0175] 可以根据已知的方法,例如通过萃取、过滤或柱层析来分离相应的稳定异构体。

[0176] 术语“患者”是指包括哺乳动物在内的任何动物,优选小鼠、大鼠、其它啮齿类动物、兔、狗、猫、猪、牛、羊、马或灵长类动物,最优选人。

[0177] 本文中使用的短语“治疗有效量”是指研究人员、兽医、医师或其它临床医师正在组织、系统、动物、个体或人中寻找的引起生物学或医学反应的活性化合物或药物的量,它包括以下一项或多项:(1) 预防疾病:例如在易感染疾病、紊乱或病症但尚未经历或出现疾病病理或症状的个体中预防疾病、紊乱或病症。(2) 抑制疾病:例如在正经历或出现疾病、紊乱或病症的病理或症状的个体中抑制疾病、紊乱或病症(即阻止病理和/或症状的进一步发展)。(3) 缓解疾病:例如在正经历或出现疾病、紊乱或病症的病理或症状的个体中缓解疾病、紊乱或病症(即逆转病理和/或症状)。

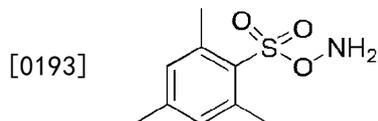
[0178] 有益效果

[0179] 发明人惊讶地发现,本发明制备的化合物具有显著的抑制RET野生型、突变型和融合型抑制活性。并且相对于现有化合物其活性有明显改善。与其他RET抑制剂相比,本发明的代表性实施例化合物还具有特别优异的药代动力学性质,作为活性成分时可以较小的剂



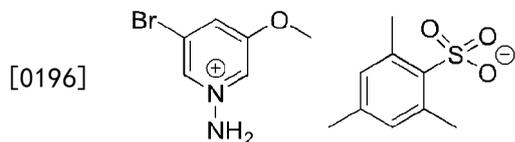
时,减压过滤移去三乙胺盐酸盐,并用甲基叔丁基醚冲洗三次,所有滤液在小于15℃水浴温度下减压浓缩除去大部分甲基叔丁基醚;在冰浴下,向浓缩的残留物中加入正己烷,强烈搅拌10分钟,析出大量白色固体,减压过滤,滤饼用正己烷冲洗两次,真空干燥得到叔丁基((甲磺酰基)氧基)氨基甲酸酯(26.1g,90%收率)。m/z=316[M+1]<sup>+</sup>。

[0192] 步骤B:2-[(氨基氧基)磺酰]-1,3,5-三甲基苯



[0194] 零度下,向三氟乙酸(80mL)中分批次加入叔丁基((甲磺酰基)氧基)氨基甲酸酯(10.0g,31.7mmol),完毕后,反应体系在零度下继续搅拌3小时;TLC点板确认反应完毕,将反应体系倒入大量的冰水中,并搅拌15分钟,析出大量白色固体,减压过滤,大量水洗涤滤饼直到固体PH值为中性,减压抽滤至固体含水量20%左右即可,无须再次纯化,直接用于下一步反应。

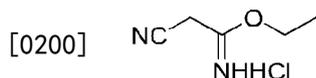
[0195] 步骤C:2,4,6-三甲基苯磺酸1-氨基-3-溴-5-甲氧基吡啶-1-鎓



[0197] 零度下,向2-[(氨基氧基)磺酰]-1,3,5-三甲基苯(6.8g,31.7mmol)的二氯甲烷(50mL)溶液中加入3-溴-5-甲氧基吡啶(6.0g,32.0mmol),并在零度下继续搅拌3小时,析出大量白色固体;反应完毕后,零度下向反应体系中加入乙醚(50mL)并搅拌10分钟,减压过滤,乙醚冲洗,真空干燥得到2,4,6-三甲基苯磺酸1-氨基-3-溴-5-甲氧基吡啶-1-鎓(12.8g,100%收率),无须再次纯化,直接用于下一步反应。

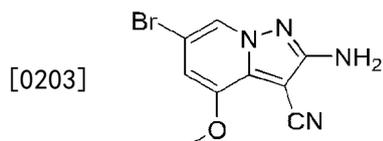
[0198] m/z=204[M+1]<sup>+</sup>。

[0199] 步骤D:乙基2-氰基亚氨代乙酸酯盐酸盐



[0201] 向封管中加入丙二腈(4.9g,74.2mmol)、无水乙醇(3.4g,74.2mmol)和乙酸乙酯(6mL),反应体系冷却至0℃,向反应体系中滴加2M HCl乙醚溶液(41mL,82mmol),加料完毕后升温至室温,析出大量白色固体,室温下反应过夜,TLC点板监测反应完毕,减压过滤,乙醚洗涤,真空干燥得到乙基2-氰基亚氨代乙酸酯盐酸盐(9.0g,82%收率),无须再次纯化,直接用于下一步反应。

[0202] 步骤E:2-氨基-6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

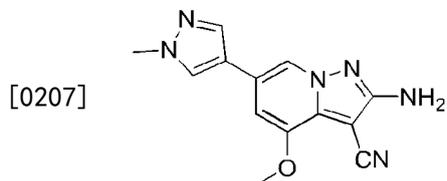


[0204] 室温下,向装有2,4,6-三甲基苯磺酸1-氨基-3-溴-5-甲氧基吡啶-1-鎓(4.0g,10.0mmol)的DMF(30mL)溶液中加入碳酸钾(4.2g,30.0mmol);反应体系冷却至0℃,分批次加入乙基2-氰基亚氨代乙酸酯盐酸盐(3.0g,20.0mmol),升至室温下搅拌1小时,再90℃下搅拌1小时;反应完毕并冷却至室温,加水淬灭,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,

减压浓缩,柱层析分离得到产品2-氨基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(420mg, 16%收率)。

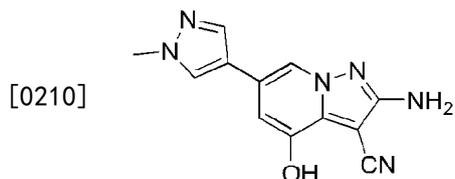
[0205]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.48 (d,  $J=0.8\text{Hz}$ , 1H), 7.08 (s, 1H), 6.34 (brs, 2H), 3.95 (s, 3H)。 $m/z=267[\text{M}+1]^+$ 。

[0206] 步骤F:2-氨基-4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈



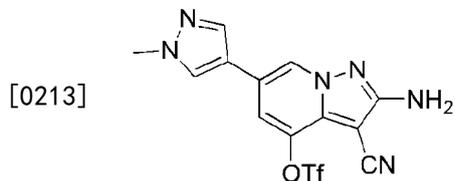
[0208] 室温下,向装有2-氨基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(220mg, 0.824mmol)和1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)-1H-吡唑(206mg, 0.989mmol)的1,4-二氧六环(10mL)溶液中加入碳酸钠(262mg, 2.472mmol, 2M)水溶液,氮气换气2分钟,随后加入四三苯基磷钨(190mg, 0.165mmol),氮气换气2分钟,在80℃下搅拌3小时,TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-氨基-4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(220mg, 100%收率)。 $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.42 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.22 (s, 2H), 4.05 (s, 3H), 3.89 (d, 3H)。 $m/z=269[\text{M}+1]^+$ 。

[0209] 步骤G:2-氨基-4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈



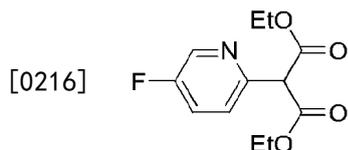
[0211] 室温下,向装有2-氨基-4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(220mg, 0.824mmol)的1,2-二氯乙烷(15mL)的混悬液中加入无水三氯化铝(550mg, 4.12mmol),移至80℃下搅拌3小时,TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-氨基-4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(70mg, 33%收率)。 $m/z=255[\text{M}+1]^+$ 。

[0212] 步骤H:2-氨基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯



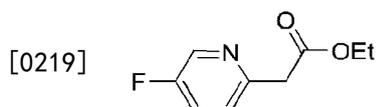
[0214] 室温下,向装有2-氨基-4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(70mg, 0.275mmol)的DMA(5mL)溶液中加入DIEA(71mg, 0.55mmol)和N-苯基双(三氟甲烷)磺酰亚胺(148mg, 0.413mmol),搅拌反应3小时,TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-氨基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(26mg, 25%收率)。 $m/z=387[\text{M}+1]^+$ 。

[0215] 步骤I:2-(5-氟吡啶-2-基)丙二酸二乙酯



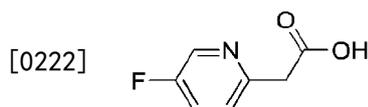
[0217] 向1000mL单口瓶中加入2-溴-5-氟吡啶(20g,0.114mol),二吡啶甲酸(11.22g,0.091mol),丙二酸二乙酯(73g,0.457mol),碘化亚铜(8.66g,0.046mol),碳酸铯(111.49g,0.342mol),1,4-二氧六环(400mL),100℃反应24小时。TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-(5-氟吡啶-2-基)丙二酸二乙酯(16.6g,57%收率)。m/z=256[M+1]<sup>+</sup>。

[0218] 步骤J:2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸乙酯



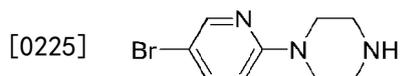
[0220] 向250mL单口瓶中加入2-(5-氟吡啶-2-基)丙二酸二乙酯(16.6g,0.065mol),氯化钠(15.1g,0.26mol),水(4.68g,0.26mol),DMSO(50mL),150℃下反应48小时。TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸乙酯(9.1g,76%收率)。m/z=184[M+1]<sup>+</sup>。

[0221] 步骤K:2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸



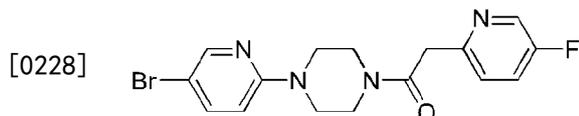
[0223] 室温下,向250mL单口瓶中加入2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸乙酯(5.5g,0.03mol),四氢呋喃(50mL),水(10mL),氢氧化锂(1.44g,0.06mol),60℃反应24小时,TLC检测原料反应完,将反应液浓缩至原反应液的三分之一体积,加乙酸乙酯萃取,分层得水相,水相用1M盐酸调节pH至3左右,再用乙酸乙酯萃取,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩得到产品2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸(2.04g,44%收率)。

[0224] 步骤L:1-(5-溴吡啶)-2-哌嗪



[0226] 室温下,向250mL单口瓶中加入2,5-二溴吡啶(12.2g,0.052mol),哌嗪(5.0g,0.058mol),加入DMSO(20mL)中,120℃下反应过夜。经LCMS确认反应完全,减压除去DMSO,加入甲醇使其溶解,冰水浴下慢慢加入饱和氢氧化钠溶液,调节pH至13左右,再搅拌2小时。减压浓缩出甲醇,二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥,减压浓缩,柱层析分离得到产品(4.6g,37%收率)。m/z=242[M+1]<sup>+</sup>。

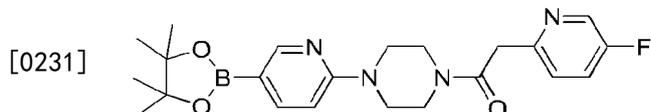
[0227] 步骤M:1-(4-(5-溴吡啶-2-基)哌嗪-1-基)-2-(5-氟吡啶-2-基)乙酮



[0229] 向100mL单口瓶中,加入2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸(500mg,3.22mmol),HATU(1.34g,3.54mmol),DIEA(830mg,6.44mmol),DMF(20mL),室温搅拌15分钟,加入1-(5-溴吡啶)-2-哌

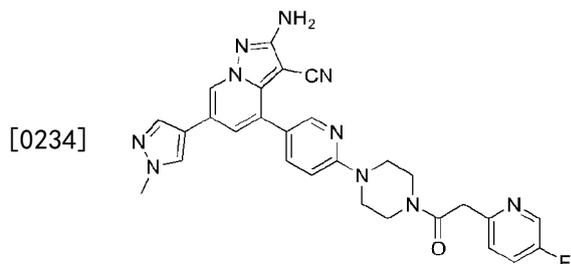
嗪(780mg, 3.22mmol), 搅拌2小时。TLC点板反应完毕, 加入水, 用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 并用水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 柱层析分离得到产品1-(4-(5-溴吡啶-2)哌嗪-1-基)-2-(5-氟吡啶-2-基)乙酮(350mg, 29%收率)。m/z=379[M+1]<sup>+</sup>。

[0230] 步骤N: 2-(5-氟吡啶-2-基)-1-(4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二恶硼酸-2-基)吡啶-2-基)哌嗪-1-基)乙酮



[0232] 向10mL封管中, 加入1-(4-(5-溴吡啶-2)哌嗪-1-基)-2-(5-氟吡啶-2-基)ethan-1-酮(50mg, 0.132mmol), 双联频哪醇硼酸酯(50mg, 0.198mmol), [1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(10mg, 0.013mmol), 醋酸钾(39mg, 0.396mmol), 1,4-二氧六环(20mL), 氮气置换三次, 100℃反应3小时, LCMS确认原料反应完, 有产品生成, 无须后处理, 直接进行下一步反应。m/z=427[M+1]<sup>+</sup>。

[0233] 步骤O: 2-氨基-4-(6-(4-(2-(5-氟吡啶-2-基)乙酰基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

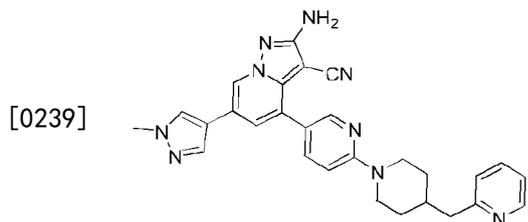


[0235] 向步骤N的反应液中加入2-氨基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(26mg, 0.067mol), 四三苯基磷钯(15mg, 0.013mol), 碳酸钾(36mg, 0.264mol), 1,4-二氧六环(2mL), H<sub>2</sub>O(1mL), 氮气置换三次, 90℃反应2小时, LCMS确认原料反应完, 有产品生成。加入水, 用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 并用水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 柱层析分离得到产品2-氨基-4-(6-(4-(2-(5-氟吡啶-2-基)乙酰基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(5mg, 13%收率)。

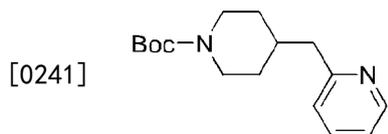
[0236] <sup>1</sup>HNMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.79 (s, 1H), 8.49 (d, J=3.0Hz, 1H), 8.35 (d, J=2.5Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.80-7.78 (m, 1H), 7.71-7.66 (m, 1H), 7.57-7.54 (m, 1H), 7.42-7.38 (m, 1H), 6.98 (d, J=8.8Hz, 1H), 6.29 (s, 2H), 3.98 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.70-3.69 (d, J=4.4Hz, 2H), 3.613-3.604 (d, J=3.6Hz, 6H)。m/z=537[M+1]<sup>+</sup>。

[0237] 实施例2

[0238] 2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(4-(吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS070)

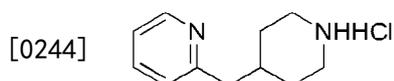


[0240] 步骤A:1-叔丁氧羰基-4-(吡啶-2-基甲基)哌啶



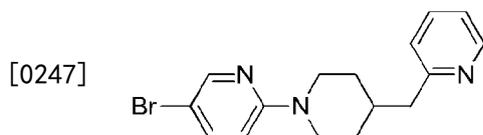
[0242] 将1-叔丁氧羰基-4-亚甲基哌啶(6.0g,30.4mmol)和9-硼杂双环[3,3,2]壬烷(60.8mL,30.4mmol,形成的THF溶液浓度为2M)的混合物在氮气保护下加热回流3小时,冷却至室温,向反应混合物中加入2-溴吡啶(5.28g,33.44mmol),1,1'-二(二苯膦基)二茂铁二氯化钯(II)(666mg,0.91mmol),碳酸钾(5.04g,36.48mmol),DMF(80mL),H<sub>2</sub>O(12mL);反应混合物在60℃下搅拌过夜,TLC点板反应完毕,加入水,用10%氢氧化钠水溶液调节反应混合物pH值至11,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品1-叔丁氧羰基-4-(吡啶-2-基甲基)哌啶(5.8g,69%收率)。m/z=277[M+1]<sup>+</sup>。

[0243] 步骤B:2-(哌啶-4-基甲基)吡啶盐酸盐



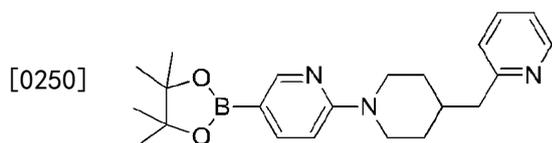
[0245] 室温下,向装有1-叔丁基氧羰基-4-(吡啶2-基甲基)哌啶(5.66g,20.507mmol)的1,4-二氧六环(21mL)溶液中滴加氯化氢的1,4-二氧六环溶液(21mL,84.000mmol,4M),在室温下搅拌1小时,TLC点板反应完毕,减压浓缩,乙酸乙酯(100mL)打浆得到产品2-(哌啶-4-基甲基)吡啶盐酸盐(6.10g,140%收率),直接用于下一步反应。m/z=177[M+1]<sup>+</sup>。

[0246] 步骤C:5-溴-2-(4-(吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)吡啶



[0248] 室温下,向装有2-(哌啶-4-基甲基)吡啶盐酸盐(7.60g,35.681mmol)的二甲基亚砜(80mL)溶液中加入2,5-二溴吡啶(10.00g,42.195mmol),无水磷酸钾(38.00g,179.245mmol),在120℃下搅拌12小时,TLC点板反应完毕,降至室温,过滤出多余的磷酸钾固体,用乙酸乙酯洗滤饼,滤液加入水洗涤,收集有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品5-溴-2-(4-(吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)吡啶(7.00g,59%收率)。m/z=332[M+1]<sup>+</sup>。

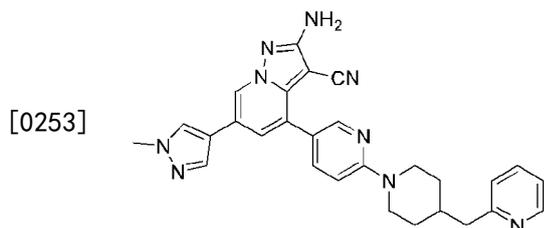
[0249] 步骤D:2-(4-(吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶



[0251] 室温下,向装有5-溴-2-(4-(吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)吡啶(500mg,1.505mmol)和联硼酸频那醇酯(421mg,1.656mmol)的1,4-二氧六环(4.5mL)溶液中加入乙酸钾(443mg,4.515mmol),氮气换气2分钟,随后加入[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(110mg,0.151mmol),氮气换气2分钟,在100℃下搅拌1小时,TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,打浆得到产品2-(4-(吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶(480mg,84%收率)。m/z

=380[M+1]<sup>+</sup>。

[0252] 步骤E:2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(4-吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)哌啶-3-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈

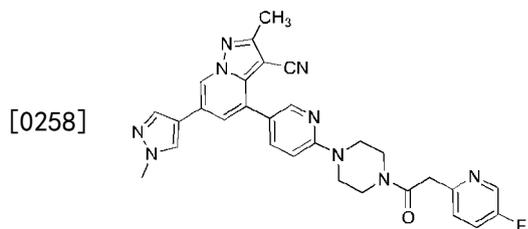


[0254] 室温下,向装有2-(4-(吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶(33mg,0.087mmol)和2-氨基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑[1,5-a]吡啶-4-基-三氟甲磺酸盐(28mg,0.073mmol)的1,4-二氧六环(2.5mL)溶液中加入碳酸钠(38mg,0.358mmol,2M)水溶液,氮气换气2分钟,随后加入四三苯基磷钨(4mg,0.003mmol),氮气换气2分钟,在90℃下搅拌1小时,TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(4-吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)哌啶-3-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈(10mg,28%收率)。

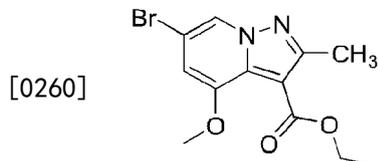
[0255] <sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.77(s,1H),8.50(s,1H),8.30-8.27(t,J=2.4Hz,2H),8.01(s,1H),7.77-7.68(m,2H),7.53(s,1H),7.30-7.19(m,2H),6.96-6.89(m,1H),6.26(brs,2H),4.42-4.31(m,2H),3.86(s,3H),2.90-2.80(m,2H),2.70-2.68(m,2H),2.12-1.99(m,1H),1.70-1.61(m,2H),1.31-1.18(m,2H)。m/z=490[M+1]<sup>+</sup>。

[0256] 实施例3

[0257] 2-甲基-4-(6-(4-(2-(5-氟吡啶-2-基)乙酰基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS071)



[0259] 步骤A:2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯

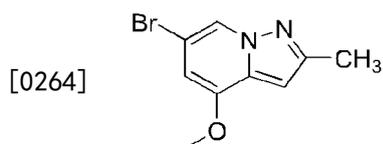


[0261] 室温下,向装有2,4,6-三甲基苯磺酸1-氨基-3-溴-5-甲氧基吡啶-1-鎓(2.79g,6.91mmol)的DMF(25mL)溶液中加入三乙胺(1.93mL,13.82mmol);反应体系冷却至0℃,分批加入丁炔酸乙酯(1.62mL,13.82mmol),升至室温下搅拌过夜;反应完毕,加水淬灭,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯(510mg,24%收率)。

[0262] <sup>1</sup>HNMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>) δ8.13(d,J=1.2Hz,1H),6.58(d,J=13.2Hz,1H),4.31-4.17

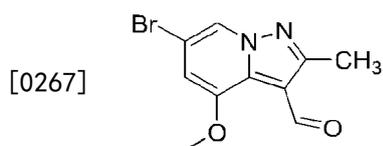
(m, 2H), 3.85 (t, J=20.8Hz, 3H), 2.51 (s, 3H), 1.39-1.31 (m, 3H)。m/z=313[M+1]<sup>+</sup>。

[0263] 步骤B: 2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶



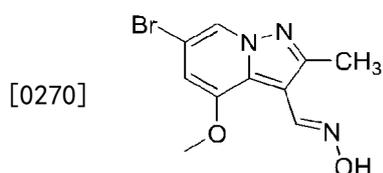
[0265] 室温下,向装有2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸乙酯(510mg, 1.63mmol)的封管中加入48%氢溴酸(10mL),密封好,加热至80℃,并在80℃下搅拌2.0小时,冷却至室温,真空除去溶剂,干法柱层析得到产品2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶(392mg, 100%收率),直接投入下一步反应。m/z=241[M+1]<sup>+</sup>。

[0266] 步骤C: 2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲醛



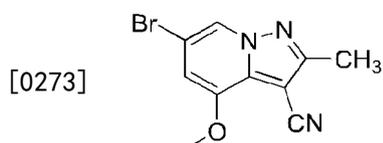
[0268] 在0℃下,向2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶(392mg, 1.63mmol)的DMF(10mL)溶液中加入三氯氧磷(0.45mL, 4.89mmol),升至室温下搅拌4.0小时,TLC点板反应完毕,加入水稀释,混合物用氢氧化钠水溶液(1M)调节PH值为10左右并搅拌1.0小时,真空过滤,滤饼用水洗,甲基叔丁基醚洗,真空干燥得到产品2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲醛(414mg, 100%收率),直接投入下一步反应。m/z=269[M+1]<sup>+</sup>。

[0269] 步骤D: (E)-2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲醛肟



[0271] 将2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲醛(414mg, 1.63mmol)、盐酸羟胺(170mg, 2.45mmol)、水(6mL)和乙醇(3mL)的混合物在50℃下搅拌4.0小时,TLC点板反应完毕,反应体系冷却至室温,减压除去乙醇,饱和碳酸氢钠水溶液中和反应体系,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品(E)-2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲醛肟(463mg, 100%收率),直接投入下一步反应。m/z=284[M+1]<sup>+</sup>。

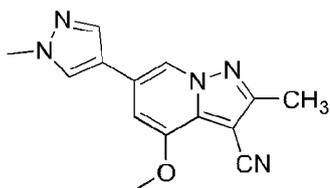
[0272] 步骤E: 2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈



[0274] 将2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(463mg, 1.63mmol)的乙酸酐(10mL)混合物加热到120℃并搅拌过夜,TLC点板反应完毕,反应体系冷却至室温,减压除去乙酸酐,加水稀释,饱和碳酸氢钠水溶液中和反应体系,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(300mg, 69%收率)。m/z=266[M+1]<sup>+</sup>。

[0275] 步骤F: 2-甲基-4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

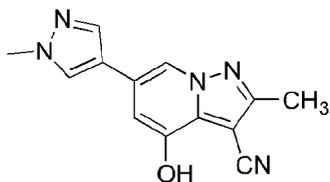
[0276]



[0277] 将2-甲基-6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(300mg,1.13mmol),1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)-1H-吡啶(282mg,1.35mmol),四三苯基磷钼(26mg,0.02mmol),碳酸钾(467mg,3.39mmol),1,4-二氧六环(5mL)和H<sub>2</sub>O(1mL)放于20mL封管中,氮气置换三次,80℃反应3小时,TLC检测反应完,浓缩反应液,乙酸乙酯稀释,水洗,有机相用无水硫酸钠干燥,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-氨基-4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(300mg,99%收率)。m/z=268[M+1]<sup>+</sup>。

[0278] 步骤G:2-甲基-4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

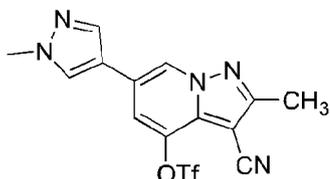
[0279]



[0280] 将2-氨基-4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(300mg,1.12mmol),DCE(20mL),氯化铝(446mg,3.36mmol)放于100mL单口瓶中,氮气保护,80℃加热搅拌,颜色逐渐变深棕色,反应3小时,TLC检测反应完,加水搅拌淬灭,乙酸乙酯萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-甲基-4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(150mg,53%收率)。m/z=254[M+1]<sup>+</sup>。

[0281] 步骤H:2-甲基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

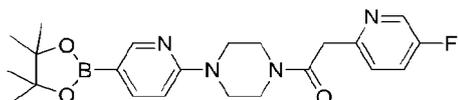
[0282]



[0283] 将2-甲基-4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(150mg,0.59mmol),DMF(15mL),DIEA(152mg,1.17mmol),N-苯基双(三氟甲烷)磺酰亚胺(317mg,0.89mmol)放于100mL单口瓶中,室温搅拌2小时,TLC检测反应完,加水稀释,乙酸乙酯萃取,合并有机层,水洗,饱和食盐水洗,有机相用无水硫酸钠干燥,减压浓缩,柱层析分离得到2-甲基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(180mg,79%收率)。m/z=386[M+1]<sup>+</sup>。

[0284] 步骤I:2-(5-氟吡啶-2-基)-1-(4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二恶硼酸-2-基)吡啶-2-基)哌嗪-1-基)乙酮

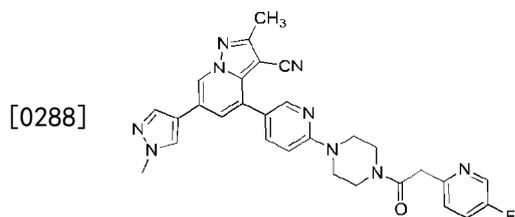
[0285]



[0286] 向10mL封管中,加入1-(4-(5-溴吡啶-2)哌嗪-1-基)-2-(5-氟吡啶-2-基)ethan-1-酮(50mg,0.132mmol),双联频哪醇硼酸酯(50mg,0.198mmol),[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(10mg,0.013mmol),醋酸钾(39mg,0.396mmol),1,4-二氧六环(20mL),氮气

置换三次,100℃反应3小时,LCMS确认原料反应完,有产品生成,无须后处理,直接进行下一步反应。 $m/z=427[M+1]^+$ 。

[0287] 步骤J:2-甲基-4-(6-(4-(2-(5-氟吡啶-2-基)乙酰基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

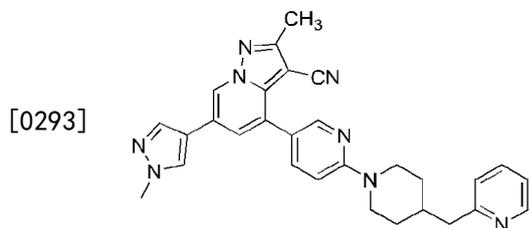


[0289] 向步骤I的反应液中加入2-甲基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(50mg,0.13mol),四三苯基磷钨(15mg,0.01mol),碳酸钾(36mg,0.26mol),1,4-二氧六环(4mL),H<sub>2</sub>O(1mL),氮气置换三次,90℃反应2小时,LCMS确认原料反应完,有产品生成。加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-甲基-4-(6-(4-(2-(5-氟吡啶-2-基)乙酰基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(14mg,20%收率)。

[0290] <sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.12(s,1H),8.49(d,J=1.2Hz,1H),8.39-8.36(m,2H),8.09(s,1H),7.84(brs,1H),7.81-7.65(m,2H),7.48-7.36(m,1H),7.01(d,J=9.2Hz,1H),3.98(s,3H),3.88(s,3H),3.80-3.56(m,8H),3.89(t,J=2.8Hz,2H)。m/z=536[M+1]<sup>+</sup>。

[0291] 实施例4

[0292] 2-甲基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-4-(6-(4-(吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS072)



[0294] 室温下,向装有-(4-(吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶(45mg,0.12mmol)和2-甲基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸盐(38mg,0.10mmol)的1,4-二氧六环(3mL)溶液中加入碳酸钠(53mg,0.50mmol,2M)水溶液,氮气换气2分钟,随后加入四三苯基磷钨(12mg,0.01mmol),氮气换气2分钟,在80℃下搅拌3小时,TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-甲基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-4-(6-(4-(吡啶-2-基甲基)哌啶-1-基)哌啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(12mg,25%收率)。

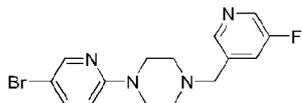
[0295] <sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.1(s,1H),8.55-8.50(m,1H),8.36-8.34(m,2H),8.09(s,1H),7.79-7.76(m,1H),7.73-7.68(m,2H),7.26-7.19(m,2H),6.95-6.93(d,J=9.2Hz,1H),4.40-4.37(d,J=12.8Hz,2H),3.93(s,3H),2.92-2.79(m,2H),2.75-2.66(m,3H),2.33(s,2H),2.07(brs,1H),1.67-1.64(d,J=12.8Hz,2H),1.29-1.19(m,2H)。m/z=489[M+1]<sup>+</sup>。

[0296] 实施例5

[0297] 2-氨基-4-(6-(4-((5-氟吡啶-3-基)甲基)哌嗪-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS014)

[0298] 步骤A:1-(5-溴吡啶-2-基)-4-((5-氟吡啶-3-基)甲基)哌嗪

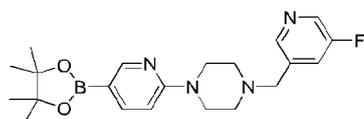
[0299]



[0300] 向100mL单口瓶中,加入5-氟烟醛(2.4g,19.2mmol),1-(5-溴吡啶)-2-哌嗪(4.6g,19.2mmol),醋酸硼氢化钠(12.2g,57.6mmol),二氯甲烷200mL,室温搅拌12小时。TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,柱层析分离得到产品1-(5-溴吡啶-2-基)-4-((5-氟吡啶-3-基)甲基)哌嗪(1.7g,收率25%)。m/z=352[M+1]<sup>+</sup>。

[0301] 步骤B:1-((4-氟吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)哌嗪

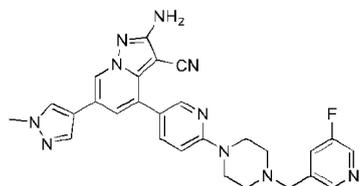
[0302]



[0303] 向10mL封管中,加入1-(5-溴吡啶-2-基)-4-((5-氟吡啶-3-基)甲基)哌嗪(47mg,0.132mmol),双联频哪醇硼酸酯(50mg,0.198mmol),[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(10mg,0.013mmol),醋酸钾(39mg,0.396mmol),1,4-二氧六环(20mL),氮气置换三次,100℃反应3小时,LCMS确认原料反应完,有产品生成,无需后处理,直接进行下一步反应。m/z=399[M+1]<sup>+</sup>。

[0304] 步骤C:2-氨基-4-(6-(4-((5-氟吡啶-3-基)甲基)哌嗪-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0305]

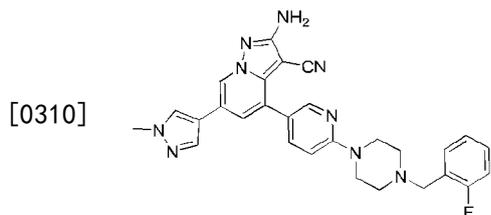


[0306] 室温下,向装有1-((4-氟吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(35mg,0.087mmol)和2-氨基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-4-基-三氟甲磺酸盐(28mg,0.073mmol)的1,4-二氧六环(2.5mL)溶液中加入碳酸钠(38mg,0.358mmol,2M)水溶液,氮气换气2分钟,随后加入四三苯基膦钯(4mg,0.003mmol),氮气换气2分钟,在90℃下搅拌1小时,TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,2-氨基-4-(6-(4-((5-氟吡啶-3-基)甲基)哌嗪-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(17mg,46%收率)。

[0307] <sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(d,1H),8.51(d,1H),8.50(d,1H),8.33(d,1H),8.28(s,1H),8.02(s,1H),7.75-7.78(m,1H),7.72(d,1H),7.55(d,1H),6.95(d,1H),6.29(s,2H),4.08-4.12(m,1H),3.86(s,3H),3.59-3.64(m,6H),3.17(d,2H),2.50(s,3H)。m/z=509[M+1]<sup>+</sup>。

[0308] 实施例6

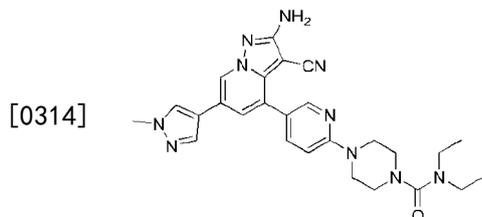
[0309] 2-氨基-4-(6-(4-((2-氟苄基)哌嗪-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS015)



[0311] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为2-氟苯甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-((2-氟苄基)哌嗪-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(12mg,31%收率)。<sup>1</sup>HNMR (400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(d,1H),8.33(d,1H),8.28(s,1H),8.02(s,1H),7.75(d,1H),7.55(s,1H),7.42-7.48(m,1H),7.35(s,1H),7.20-7.21(m,2H),6.94(d,1H),6.29(s,2H),3.86(s,3H),3.61(d,6H),3.49(s,1H),1.24(s,3H).m/z=508[M+1]<sup>+</sup>。

[0312] 实施例7

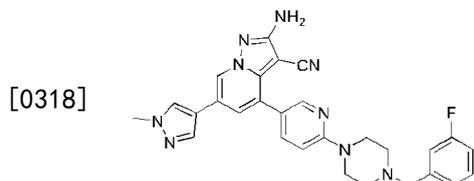
[0313] 4-(5-(2-氨基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基)吡啶-2-基)-N,N-二乙基哌嗪-1-甲酰胺(APS016)



[0315] 制备方法同实施例1,将2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸替换为二乙氨基甲酰氯,得4-(5-(2-氨基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基)吡啶-2-基)-N,N-二乙基哌嗪-1-甲酰胺(5.1mg,收率14%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>) δ8.79(s,1H),8.39(s,1H),8.30(s,1H),7.74-7.83(s,2H),7.70(s,1H),7.52(s,1H),6.83(d,1H),4.00(d,3H),3.70(s,4H),3.39(d,4H),3.24-3.30(m,4H),1.16(t,6H).m/z=489[M+1]<sup>+</sup>。

[0316] 实施例8

[0317] 2-氨基-4-(6-(4-((3-氟苄基)哌嗪-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS019)

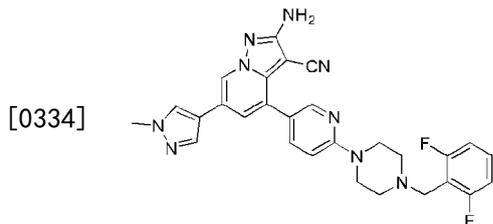


[0319] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为3-氟苯甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-((3-氟苄基)哌嗪-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(26.9mg,收率73%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(s,1H),8.78(d,1H),8.32(s,1H),8.02(s,1H),7.75(d,2H),7.55(d,1H),7.37-7.42(m,1H),7.17-7.21(m,2H),7.08-7.13(m,1H),6.92-6.95(d,1H),6.29(s,2H),4.08-4.12(m,1H),3.86(s,3H),3.57-3.61(m,6H),3.18(d,2H).m/z=508[M+1]<sup>+</sup>。

[0320] 实施例9



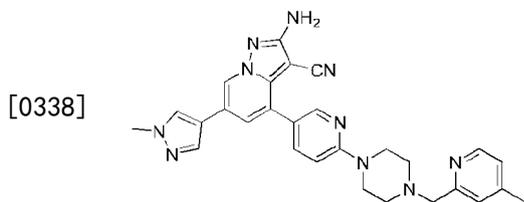
a]吡啶-3-腈(APS024)



[0335] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为2,6-二氟苯甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-(2,6-二氟苄基)哌嗪-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(3.5mg,收率9%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.78(s,1H),8.31(d,2H),8.27-8.31(m,2H),8.01(s,1H),7.73(d,1H),7.54(s,1H),7.42-7.48(m,1H),7.13(t,2H),6.28(s,2H),3.86(s,3H),3.56-3.65(s,7H),3.27(s,1H).m/z=526[M+1]<sup>+</sup>。

[0336] 实施例13

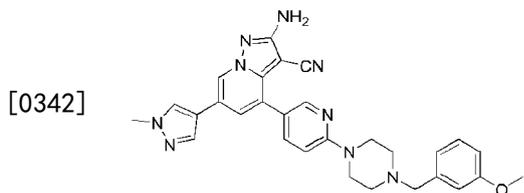
[0337] 2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-4-(6-((4-甲基吡啶-2-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS025)



[0339] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为4-甲基-2-吡啶甲醛得2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-4-(6-((4-甲基吡啶-2-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(3.9mg,收率11%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(d,1H),8.29-8.33(m,3H),8.02(s,1H),8.75(d,1H),7.55(d,1H),7.33(s,1H),7.23(d,1H),6.95(d,2H),6.30(s,2H),3.86(s,3H),3.62(d,6H),3.32(s,2H)2.55(s,4H),2.34(s,3H).1.23(s,1H).m/z=505[M+1]<sup>+</sup>。

[0340] 实施例14

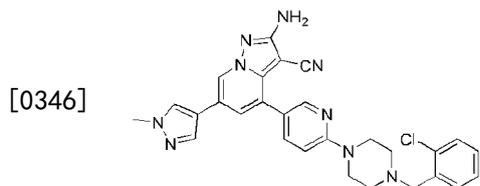
[0341] 2-氨基-4-(6-(4-(3-甲氧基苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS026)



[0343] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为3-甲氧基苯甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-(3-甲氧基苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(14.2mg,收率37%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(d,1H),8.51(d,1H),8.45(s,1H),8.33(d,1H),8.28(s,1H),8.02(s,1H),7.75-7.78(d,1H),7.72(d,1H),7.55(d,1H),6.95(d,1H),6.29(s,2H),4.11(t,1H),3.86(s,3H),3.59-3.64(m,6H),3.17(d,2H),2.53(s,3H).m/z=520[M+1]<sup>+</sup>。

[0344] 实施例15

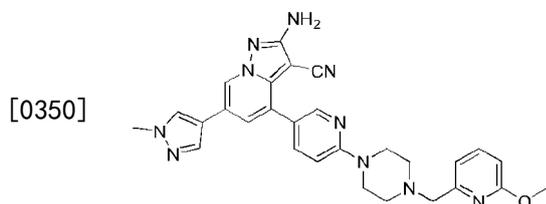
[0345] 2-氨基-4-(6-(4-(2-氯苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS027)



[0347] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为2-氯苯甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-(2-氯苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(9.4mg, 收率25%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(s, 1H), 8.80(d, 1H), 8.28(s, 1H), 8.02(s, 1H), 7.78(d, 1H), 7.56-7.58(m, 3H), 7.45-7.47(m, 2m/z=524[M+1]<sup>+</sup>。

[0348] 实施例16

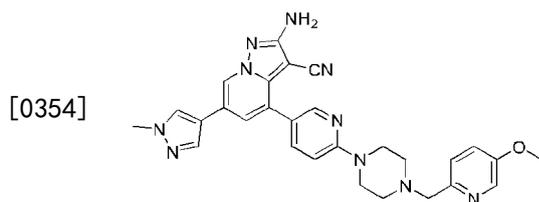
[0349] 2-氨基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-2-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS030)



[0351] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为6-甲氧基-2-吡啶甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-2-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(8.6mg, 收率23%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.27(d, 2H), 7.65-7.68(m, 2H), 7.45-7.54(m, 2H), 7.21(s, 1H), 7.01(s, 1H), 6.71(d, 1H), 6.59(d, 1H), 4.45(s, 2H), 3.86-3.90(d, 6H), 3.66(s, 6H), 2.69(brs, 4H), 1.54(brs, 4H), m/z=521[M+1]<sup>+</sup>。

[0352] 实施例17

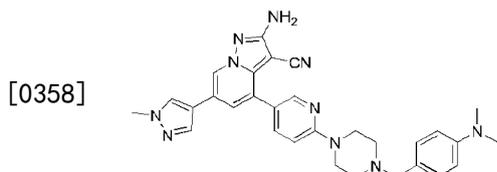
[0353] 2-氨基-4-(6-(4-((5-甲氧基吡啶-2-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS033)



[0355] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为5-甲氧基烟醛,得2-氨基-4-(6-(4-((5-甲氧基吡啶-2-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(21.9mg, 收率58%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.77(s, 1H), 8.32(d, 1H), 8.27(d, 1H), 8.22(d, 1H), 8.01(s, 1H), 7.77(dd, 1H), 7.54(s, 1H), 7.37-7.43(m, 2H), 6.94(d, 1H), 6.26(s, 2H), 4.08(s, 1H), 3.83-3.86(m, 6H), 3.60(s, 6H), 3.28(s, 2H), 3.18(d, 2H). m/z=521[M+1]<sup>+</sup>。

[0356] 实施例18

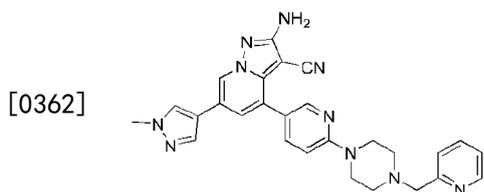
[0357] 2-氨基-4-(6-(4-(4-(二甲氨基)苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS034)



[0359] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为4-二甲氨基苯甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-(4-(二甲氨基)苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(7.0mg,收率18%),<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.78(d,1H),8.28-8.32(m,2H),8.02(s,1H),7.74-7.76(d,1H),7.54(d,1H),7.15(d,2H),6.93(d,1H),6.71(d,1H),6.28(s,2H),4.08-4.11(m,1H),3.86(s,3H),3.56(s,4H),3.41(s,2H),3.17(s,2H),2.88(s,6H),2.44-2.50(m,4H).m/z=533[M+1]<sup>+</sup>。

[0360] 实施例19

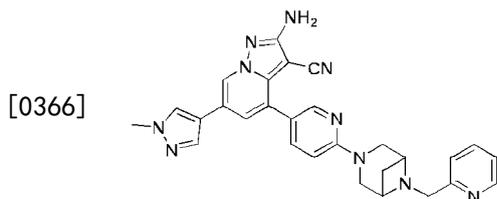
[0361] 2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-4-(6-(4-(4-(吡啶-2-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS035)



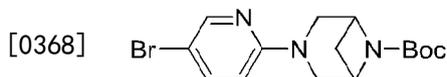
[0363] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为2-吡啶甲醛,得2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-4-(6-(4-(4-(吡啶-2-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(12.7mg,收率35%),<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(d,1H),8.52(d,1H),8.33(d,1H),8.28(s,1H),8.02(s,1H),7.72-8.80(m,2H),7.48-7.51(m,2H),7.24-7.31(m,1H),6.91-6.96(d,1H),6.29(s,2H),3.86(s,3H),3.59-3.67(m,8H),2.56(s,2H).m/z=491[M+1]<sup>+</sup>。

[0364] 实施例20

[0365] 2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-4-(6-(6-(吡啶-2-基甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS038)

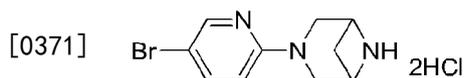


[0367] 步骤A:3-(5-溴吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-碳酸叔丁酯



[0369] 室温下,向250mL单口瓶中加入2,5-二溴吡啶(12.2g,0.052mol),3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-碳酸叔丁酯(11.5g,0.058mol),加入DMSO(20mL)中,120℃下反应过夜。经LCMS确认反应完全,减压除去DMSO,加入甲醇使其溶解,冰水浴下慢慢加入饱和氢氧化钠溶液,调节pH至13左右,再搅拌2小时。减压浓缩出甲醇,二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥,减压浓缩,柱层析分离得到产品(5.2g,28%收率)。m/z=355[M+1]<sup>+</sup>。

[0370] 步骤B:3-(5-溴吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷二盐酸盐



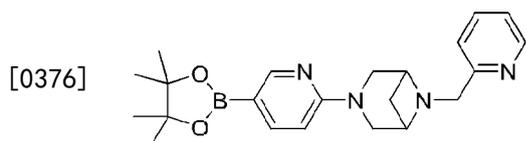
[0372] 向100mL单口瓶中,加入3-(5-溴吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-碳酸叔丁酯(5.0g,14mmol),氯化氢二氧六环溶液(15mL),室温搅拌2h,直接浓缩后用于下步反应。 $m/z=255[M+1]^+$ 。

[0373] 步骤C:3-(5-溴吡啶-2-基)-6-(吡啶-2-基甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷



3-(5-溴吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷二盐酸盐(0.6g,1.9mmol),醋酸硼氢化钠(1.2g,5.8mmol),二氯甲烷20mL,室温搅拌12小时。TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,柱层析分离得到产品3-(5-溴吡啶-2-基)-6-(吡啶-2-基甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(0.6g,收率85%)。 $m/z=346[M+1]^+$ 。

[0375] 步骤D:6-(吡啶-2-基甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷



[0377] 向10mL封管中,加入3-(5-溴吡啶-2-基)-6-(吡啶-2-基甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(46mg,0.132mmol),双联频哪醇硼酸酯(50mg,0.198mmol),[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(10mg,0.013mmol),醋酸钾(39mg,0.396mmol),1,4-二氧六环(20mL),氮气置换三次,100℃反应3小时,LCMS确认原料反应完,有产品生成,无须后处理,直接进行下一步反应。

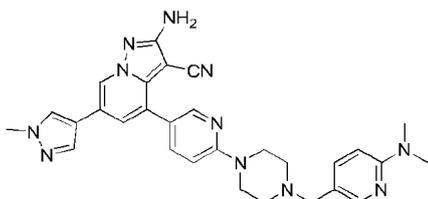
[0378] 步骤E:室温下,向装有6-(吡啶-2-基甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(34mg,0.087mmol)和2-氨基-3-氰基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶[1,5-a]吡啶-4-基-三氟甲磺酸盐(28mg,0.073mmol)的1,4-二氧六环(2.5mL)溶液中加入碳酸钠(38mg,0.358mmol,2M)水溶液,氮气换气2分钟,随后加入四三苯基膦钯(4mg,0.003mmol),氮气换气2分钟,在90℃下搅拌1小时,TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-4-(6-(6-(吡啶-2-基甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(10mg,28%收率)。

[0379]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.79 (d, 1H), 8.46 (d, 1H), 8.39 (d, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.76-7.83 (m, 2H), 7.57 (d, 1H), 7.49 (d, 1H), 6.79 (d, 1H), 6.29 (s, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.73 (d, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.52-3.55 (m, 2H), 3.31 (s, 1H), 1.98-2.00 (m, 1H), 1.74 (brs, 1H).  $m/z=503[M+1]^+$ 。

[0380] 实施例21

[0381] 2-氨基-4-(6-(4-((6-(二甲氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS041)

[0382]

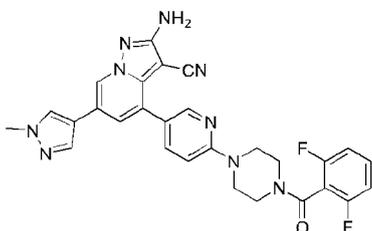


[0383] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为6-二甲氨基烟醛,得2-氨基-4-(6-(4-((6-(二甲氨基)吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(22.2mg,收率56%),<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(d,1H),8.28-8.33(m,2H),8.02(d,2H),7.74-7.77(m,1H),7.55(d,1H),7.46-7.49(m,1H),6.94(d,1H),6.64(d,1H),6.28(s,2H),3.86(s,3H),3.57(s,4H),3.40(s,2H),3.30(s,1H),3.02(s,6H),2.50(s,4H).m/z=534[M+1]<sup>+</sup>。

[0384] 实施例22

[0385] 2-氨基-4-(6-(4-(2,6-二氟苯甲酰基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS062)

[0386]

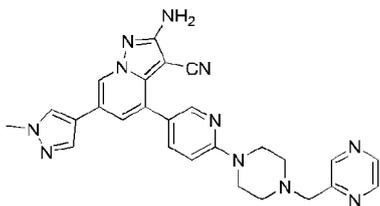


[0387] 制备方法同实施例1,将2-(5-氟吡啶-2-基)乙酸替换为2,6-二氟苯甲酰氯,得2-氨基-4-(6-(4-(2,6-二氟苯甲酰基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(28.7mg,收率73%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.25(d,1H),8.66(s,1H),8.40-8.43(m,2H),8.13(s,1H),7.90(d,1H),7.80(d,1H),7.5-7.63(m,1H),7.25-7.29(m,2H),7.04(d,1H),4.08-4.12(m,1H),3.89(s,3H),3.82-3.85(m,2H),3.72-3.75(d,2H),3.61-3.63(m,2H),3.42(d,2H),3.18(d,3H).m/z=539[M+1]<sup>+</sup>。

[0388] 实施例23

[0389] 2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-4-(6-(4-(吡嗪-2-基甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS064)

[0390]

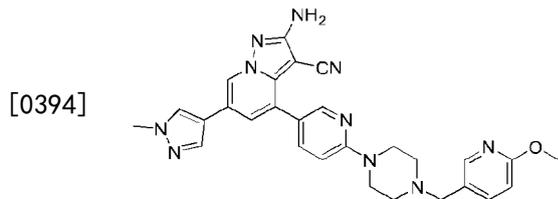


[0391] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为吡嗪-2-甲醛,得2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-4-(6-(4-(吡嗪-2-基甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(9.5mg,收率26%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>) δ8.82(s,1H),8.60(s,1H),8.56(s,1H),8.34-8.37(m,2H),7.75-7.78(m,2H),7.63(s,1H),7.30(s,1H),6.81(d,1H),4.54(s,2H),3.99(s,3H),3.78-3.88(brs,5H),2.76(brs,3H).m/z=492[M+1]<sup>+</sup>。

[0392] 实施例24

[0393] 2-氨基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲

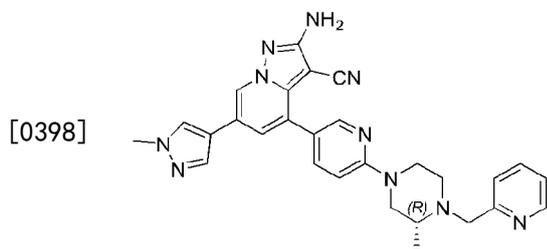
基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS068)



[0395] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为6-甲氧基-3-吡啶甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(20mg,收率53%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(s,1H),8.34(d,2H),8.20(d,2H),7.68-7.77(m,2H),7.55(s,1H),6.81-6.94(dd,2H),6.29(s,2H),3.86(d,6H),3.49-3.58(d,6H).m/z=521[M+1]<sup>+</sup>。

[0396] 实施例25

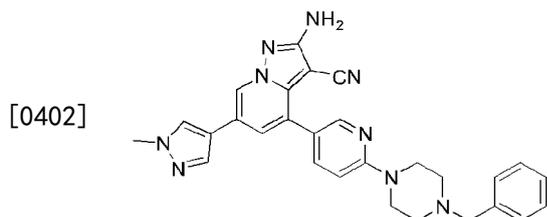
[0397] (R)-2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(3-甲基-4-(吡啶-2-基甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS073)



[0399] 制备方法同实施例20,将3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-碳酸叔丁酯替换为(R)-4-N-叔丁氧羰基-2-甲基哌嗪,得(R)-2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(3-甲基-4-(吡啶-2-基甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(23mg,收率62%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(d,1H),8.52(d,1H),8.32(d,1H),8.28(s,1H),8.02(s,1H),7.74-7.81(m,2H),7.50-7.55(m,2H),7.26-7.29(m,1m/z=505[M+1]<sup>+</sup>。

[0400] 实施例26

[0401] 2-氨基-4-(6-(4-苄基哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS074)



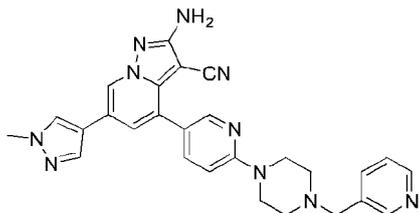
[0403] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为苯甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-苄基哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(27mg,收率75%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(s,1H),8.33(d,1H),8.28(s,1H),8.02(s,1H),7.75-7.77(m,1H),7.55(d,1H),7.37(d,4H),7.29(s,1H),6.95(d,1H),6.28(s,2H),3.86(s,3H),3.55-3.59(m,7H),1.24(s,3H).m/z=490[M+1]<sup>+</sup>。

[0404] 实施例27

[0405] 2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(4-(吡啶-3-基甲基)哌嗪-1-基)吡啶-

## 3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS075)

[0406]

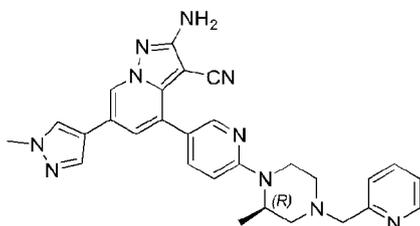


[0407] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为烟醛,得2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(4-(吡啶-3-基甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(7mg, 19%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ8.62(d,2H),8.36(dd,2H),7.74-7.77(m,2H),7.63(s,1H),7.36(s,1H),7.28(s,1H),6.81(d,1H),4.53(s,2H),3.99(s,3H),3.65(s,6H),2.70(s,4H)。m/z=491[M+1]<sup>+</sup>。

[0408] 实施例28

[0409] (R)-2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(2-甲基-4-(吡啶-2-基甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS076)

[0410]

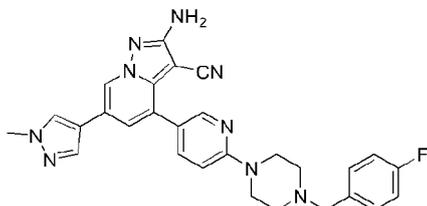


[0411] 制备方法同实施例20,将3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-碳酸叔丁酯替换为(R)-4-N-叔丁氧羰基-3-甲基哌嗪制备得到(R)-2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(2-甲基-4-(吡啶-2-基甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(12mg,33%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.94(s,1H),8.78(s,1H),8.52(d,2H),8.05(s,1H),7.74-7.84(m,2H),7.569d,2H),7.31(t,1H),6.89(d,1H),6.27(s,1H),3.70(s,3H),3.62-3.86(m,1H),3.30(s,5H),3.12(t,1H),2.95(d,1H),2.74(d,1H),1.23(t,3H)。m/z=505[M+1]<sup>+</sup>。

[0412] 实施例29

[0413] 2-氨基-4-(6-(4-(4-氟苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS077)

[0414]

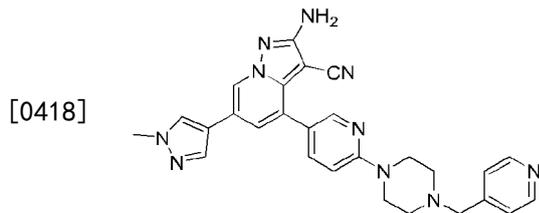


[0415] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为4-氟苯甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-(4-氟苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(10mg,收率27%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(d,1H),8.33(d,1H),8.28(s,1H),8.02(s,1H),7.75(d,1H),7.55(d,1H),7.38-7.40(m,1H),7.17-7.20(m,2H),6.95(d,1H),6.28(s,2H),3.86(s,3H),3.53-3.59(m,6H)。m/z=508[M+1]<sup>+</sup>。

[0416] 实施例30

[0417] 2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(4-(吡啶-4-基甲基)哌嗪-1-基)吡啶-

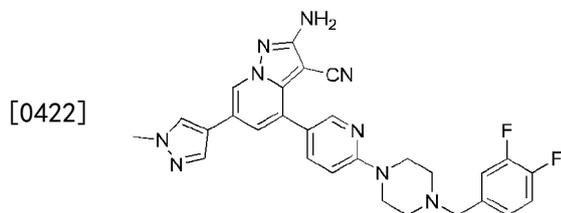
3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS078)



[0419] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为异烟醛,得2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(4-(吡啶-4-基甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(8.4mg,收率23%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(s,1H),8.53(d,2H),8.29-8.32(m,2H),8.02(s,1H),7.78(d,1H),7.52(s,1H),7.40(d,2H),6.98(d,1H),6.29(s,2H),3.86(s,3H),3.62(d,7H)。m/z=491[M+1]<sup>+</sup>。

[0420] 实施例31

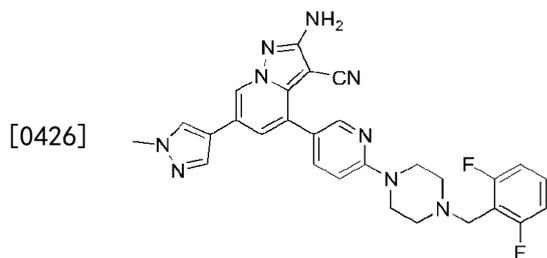
[0421] 2-氨基-4-(6-(4-(3,4-二氟苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS079)



[0423] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为3,4-二氟苯甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-(3,4-二氟苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(12.7mg,收率33%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>) δ8.27(d,1H),7.65(s,1H),7.41(s,1H),7.20(s,4H),7.02-7.08(m,2H),6.70(d,1H),4.45(s,1H),4.07(s,2H),3.59(s,3H),3.45(s,1H),2.50(s,2H),2.01(s,1H)。m/z=526[M+1]<sup>+</sup>。

[0424] 实施例32

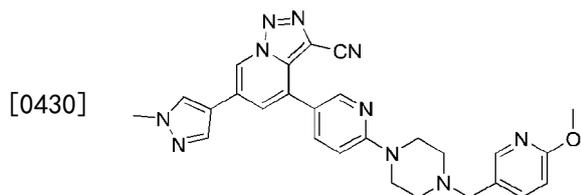
[0425] 2-氨基-4-(6-(4-(2,6-二氟苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS024)



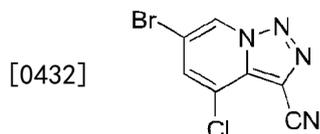
[0427] 制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为2,6-二氟苯甲醛,得2-氨基-4-(6-(4-(2,6-二氟苄基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(27mg,收率70%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.9(brs,1H),9.27(d,1H),8.67(s,1H),8.46(d,1H),8.40(s,1H),8.13(s,1H),7.94-7.97(m,1H),7.80(d,1H),7.75-7.68(m,1H),7.28-7.32(m,2H),7.14(d,1H),7.48-7.56(m,4H),3.89(s,4H),3.25-3.45(m,5H)。m/z=526[M+1]<sup>+</sup>。

[0428] 实施例33

[0429] 4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,2,3]三氮唑[1,5-a]吡啶-3-腈(APS081)

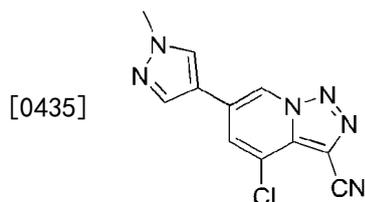


[0431] 步骤A:6-溴-4-氯-[1,2,3]三氮唑[1,5-a]吡啶-3-腈



[0433] 将2-(5-溴-3-氯吡啶-2-基)乙腈(1.2g,5mmol),对甲苯磺酰叠氮(1.2g,6mmol),碳酸铯(3.3g,10mmol)分别加入到DMF(50mL)中,加热100℃反应12h。TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,柱层析分离得到产品6-溴-4-氯-[1,2,3]三氮唑[1,5-a]吡啶-3-腈(450mg,收率35%)。m/z=258[M+1]<sup>+</sup>。

[0434] 步骤B:4-氯-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-[1,2,3]三氮唑[1,5-a]吡啶-3-腈

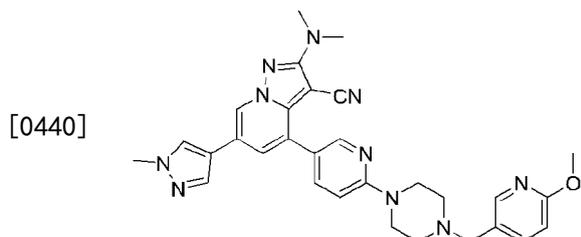


[0436] 制备方法同实施例1步骤F,将2-氨基-6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈替换为6-溴-4-氯-[1,2,3]三氮唑[1,5-a]吡啶-3-腈,得4-氯-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-[1,2,3]三氮唑[1,5-a]吡啶-3-腈(20mg,收率40%)。m/z=259[M+1]<sup>+</sup>。

[0437] 步骤C:制备方法同实施例5,将5-氟烟醛替换为6-甲氧基烟醛,得4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,2,3]三氮唑[1,5-a]吡啶-3-腈(10mg,收率27%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ9.64(d,1H),8.46-8.51(m,2H),8.23(s,1H),8.01(d,1H),7.91(d,1H),7.69(d,2H),7.02(d,1H),6.83(d,1H),3.91(s,3H),3.85(s,3H),3.62(s,4H),3.49(s,2H),3.32(s,1H),2.50(s,3H)。m/z=507[M+1]<sup>+</sup>。

[0438] 实施例34

[0439] 2-(二甲氨基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS082)

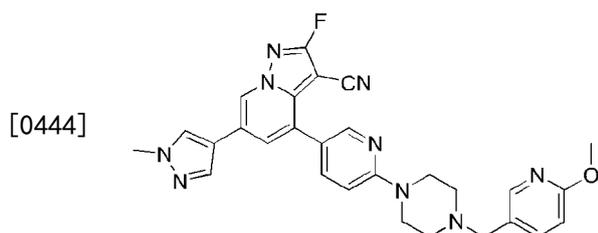


[0441] 将2-氨基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-

甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS068) (50mg, 0.1mmol) 溶于DMF (5.0mL) 中, 冰水冷却至0度, 加入60%矿物油NaH(8mg, 0.2mmol) 搅拌30分钟后, 加入碘甲烷(28mg, 0.2mmol), 自然升至室温反应12h。TLC点板反应完毕, 加入水, 用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 并用水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 柱层析分离得到产品2-(二甲氨基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(9.1mg, 收率16%)。<sup>1</sup>HNMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.31-8.37(m, 2H), 8.09(s, 1H), 7.68-7.72(m, 2H), 7.61-7.63(m, 2H), 7.22(s, 1H), 6.76(d, 2H), 3.97(d, 6H), 3.64(s, 3H), 3.49(s, 2H), 3.19(s, 6H), 2.56(s, 3H)。m/z=549[M+1]<sup>+</sup>。

[0442] 实施例35

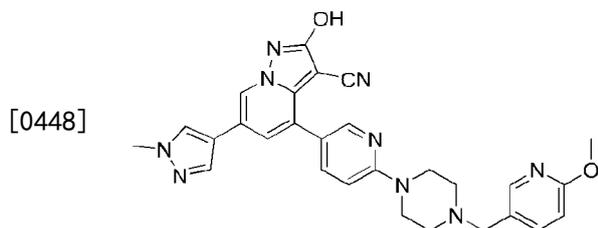
[0443] 2-氟-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS084)



[0445] 制备方法同实施例40, 将2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐替换为2-氨基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈得7-氟-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(20mg, 收率47%)。<sup>1</sup>HNMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.79(s, 1H), 8.37(s, 2H), 8.10(d, 2H), 7.94(d, 1H), 7.70(d, 1H), 7.55(d, 1H), 6.98(d, 1H), 6.81(d, 1H), 3.93(s, 3H), 3.85(s, 3H), 3.60(s, 4H), 3.49(s, 2H), 2.51(s, 4H)。m/z=524[M+1]<sup>+</sup>。

[0446] 实施例36

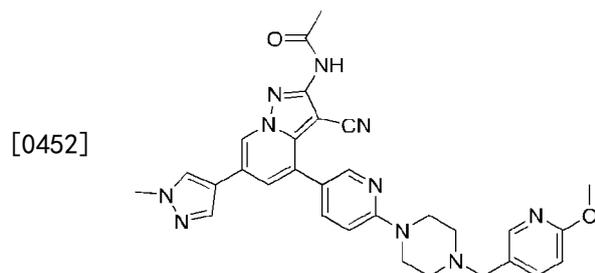
[0447] 2-羟基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS083)



[0449] 将2-氟-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS084) (50mg, 0.1mmol) 和碳酸钾(41mg, 0.3mmol) 加入DMSO(2.0mL) 中, 再加入水(0.5mL) 加热至100℃反应6h。TLC点板反应完毕, 加入水, 用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 并用水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 柱层析分离得到产品2-羟基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(7.3mg, 收率14%)。m/z=522[M+1]<sup>+</sup>。

[0450] 实施例37

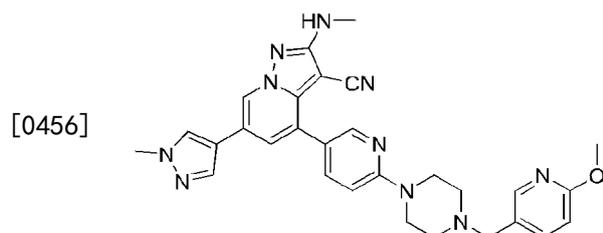
[0451] N-(3-氰基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-2-基)乙酰胺(APS085)



[0453] 将2-氨基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS068) (20mg, 0.038mmol) 溶于醋酸酐 (2.0mL) 加热至80℃反应4h。将反应液加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,柱层析分离得到产品N-(3-氰基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-2-基)乙酰胺(14mg, 收率65%)。m/z=563[M+1]<sup>+</sup>。

[0454] 实施例38

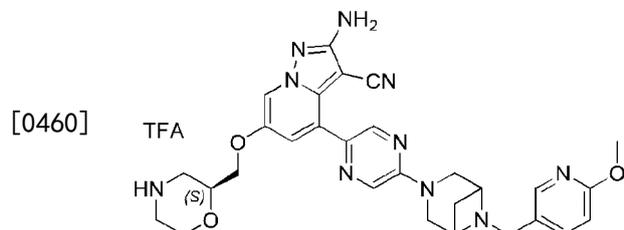
[0455] 2-甲氨基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS086)



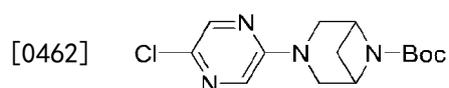
[0457] 制备方法同实施例34,得2-甲氨基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(8mg, 收率15%)。m/z=535[M+1]<sup>+</sup>。

[0458] 实施例39

[0459] 2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(APS087)



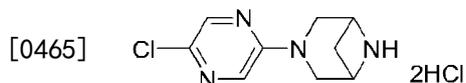
[0461] 步骤A:3-(5-氯吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-碳酸叔丁酯



[0463] 室温下,向250mL单口瓶中加入2-氯-5-氟吡啶 (6.9g, 0.052mol), 3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-碳酸叔丁酯(11.5g, 0.058mol), 加入DMSO (20mL) 中, 120℃下反应过夜。经

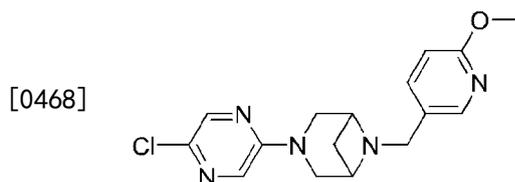
LCMS确认反应完全,减压除去DMSO,加入甲醇使其溶解,冰水浴下慢慢加入饱和氢氧化钠溶液,调节pH至13左右,再搅拌2小时。减压浓缩出甲醇,二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥,减压浓缩,柱层析分离得到产品(12g,74%收率)。m/z=311[M+1]<sup>+</sup>。

[0464] 步骤B:3-(5-氯吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷二盐酸盐



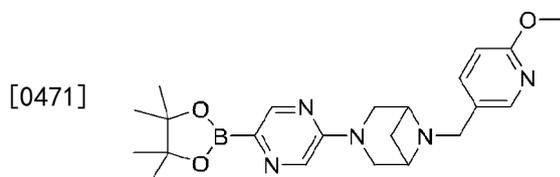
[0466] 向100mL单口瓶中,加入3-(5-氯吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-碳酸叔丁酯(5.0g,14mmol),氯化氢二氧六环溶液(15mL),室温搅拌2h,直接浓缩后用于下步反应。m/z=211[M+1]<sup>+</sup>。

[0467] 步骤C:3-(5-氯吡嗪-2-基)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷



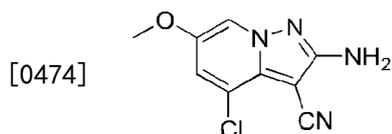
[0469] 向100mL单口瓶中,加入6-甲氧基烟醛(0.21g,1.9mmol),3-(5-氯吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷二盐酸盐(0.4g,1.9mmol),醋酸硼氢化钠(1.2g,5.8mmol),二氯甲烷20mL,室温搅拌12小时。TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,柱层析分离得到产品3-(5-氯吡嗪-2-基)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(0.5g,收率80%)。m/z=332[M+1]<sup>+</sup>。

[0470] 步骤D:6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷



[0472] 向10mL封管中,加入3-(5-氯吡嗪-2-基)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(44mg,0.132mmol),双联频哪醇硼酸酯(50mg,0.198mmol),[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(10mg,0.013mmol),醋酸钾(39mg,0.396mmol),1,4-二氧六环(20mL),氮气置换三次,100℃反应3小时,LCMS确认原料反应完,有产品生成,无须后处理,直接进行下一步反应。

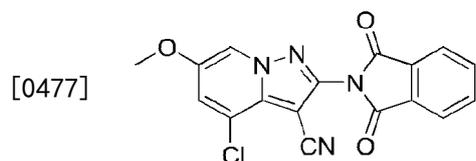
[0473] 步骤E:2-氨基-4-氯-6-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈



[0475] 室温下,向装有2,4,6-三甲基苯磺酸1-氨基-3-氯-5-甲氧基吡啶-1-鎓(4.0g,10.0mmol)的DMF(30mL)溶液中加入碳酸钾(4.2g,30.0mmol);反应体系冷却至0℃,分批次加入乙基2-氰基亚氨代乙酸酯盐酸盐(3.0g,20.0mmol),升至室温下搅拌1小时,再90℃下

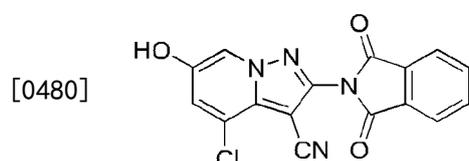
搅拌1小时;反应完毕并冷却至室温,加水淬灭,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-氨基-4-氯-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(89mg, 4%收率)。m/z=223[M+1]<sup>+</sup>。

[0476] 步骤F:4-氯-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈



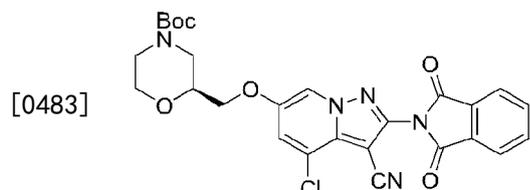
[0478] 将2-氨基-4-氯-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(80mg, 0.35mmol)和邻苯二甲酸酐(78mg, 0.53mmol)加入到冰醋酸(5.0mL),加热至100℃反应5h,减压浓缩,柱层析分离得到产品4-氯-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(80mg, 收率65%)。m/z=353[M+1]<sup>+</sup>。

[0479] 步骤G:4-氯-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)-6-羟基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈



[0481] 将4-氯-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)-6-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(80mg, 0.22mmol)和无水三氯化铝(146mg, 1.1mmol)加入到乙腈(5.0mL)中,加热至80℃反应2h。反应完毕并冷却至室温,加水淬灭,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品4-氯-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)-6-羟基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(62mg, 收率84%)。m/z=339[M+1]<sup>+</sup>。

[0482] 步骤H:(S)-2-(((4-氯-3-氰基-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)甲基)吗啉-4-碳酸叔丁酯



[0484] 将4-氯-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)-6-羟基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(60mg, 0.17mmol), (2S)-2-(溴甲基)-4-吗啉羧酸叔丁酯(52mg, 0.19mmol), 碳酸铯(166mg, 0.51mmol)加入到DMF(10mL)中,加热60℃反应12h。反应完毕并冷却至室温,加水淬灭,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品(S)-2-(((4-氯-3-氰基-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)甲基)吗啉-4-碳酸叔丁酯(77mg, 收率85%)。m/z=538[M+1]<sup>+</sup>。

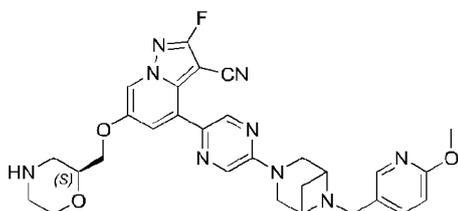
[0485] 步骤I:室温下,向装有6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(37mg, 0.087mmol)和(S)-2-(((4-氯-3-氰基-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)甲基)吗啉-4-碳酸叔丁酯(39mg, 0.073mmol)的1,4-二氧六环(2.5mL)溶液中加入碳酸钠(38mg, 0.358mmol, 2M)水溶液,氮气换气2分钟,随后加入四三苯基膦钯(4mg, 0.003mmol),氮气换气2分钟,在90℃下搅拌1小时,TLC点板反应完毕。加入氯化氢二氧六环

溶液(0.5mL,4.0M)继续反应2h。将至室温,再加入50%氨水室温反应2h。TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,反相柱层析分离得到产品2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(12mg,25%收率)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ9.34(s,1H),8.99(s,2H),8.55-8.65(m,1H),8.25-8.38(m,3H),7.83-7.90(m,1H),7.38-7.44(m,1H),6.91-6.95(m,1H),6.18(s,1H),4.65(d,2H),4.49(d,1H),4.26(s,1H),4.11-4.20(m,5H),4.00-4.11(m,3H),3.93-4.00(m,1H),3.89(s,3H),3.67-3.74(m,1H),3.5-3.26(m,1H),2.97-3.04(m,1H)。m/z=569[M+1]<sup>+</sup>。

[0486] 实施例40

[0487] 2-氟-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(APS088)

[0488]

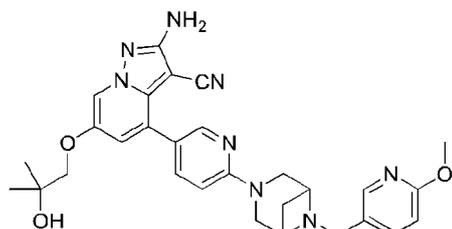


[0489] 将2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(APS087)(50mg,0.08mmol)溶于四氟硼酸(5.0mL)中,冰水浴冷却至0℃,将亚硝酸钠(71mg,1.0mmol)加入,自然升至室温反应12h,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-氟-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(3.4mg,收率7.4%)。m/z=572[M+1]<sup>+</sup>。

[0490] 实施例41

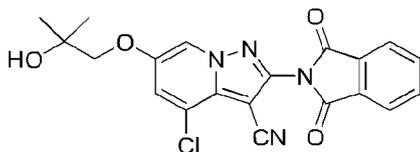
[0491] 2-氨基-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-4-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS089)

[0492]



[0493] 步骤A:4-氯-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

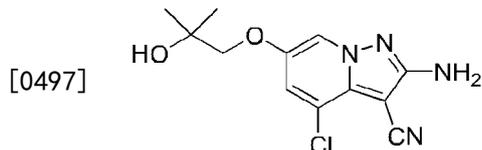
[0494]



[0495] 将4-氯-2-(1,3-邻苯二甲酰亚胺-2-基)-6-羟基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(250mg,0.71mmol),氧化异丁烯(500mg,7.1mmol),碳酸钾(300mg,2.13mmol)加入DMF

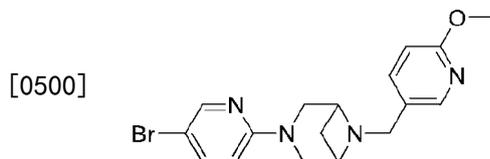
(5.0mL)中,加入60℃反应16h.TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品4-氯-2-(1,3--邻苯二甲酰亚胺-2-基)-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(30mg,收率10%). $m/z=411[M+1]^+$ 。

[0496] 步骤B:2-氨基-4-氯-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈



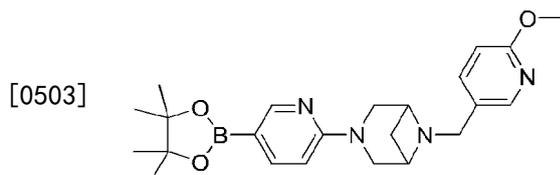
[0498] 将4-氯-2-(1,3--邻苯二甲酰亚胺-2-基)-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(30mg,0.073mmol)溶于THF(4.0mL)中,加入0.5mL 50%氨水,室温搅拌1h.TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-氨基-4-氯-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(18mg,收率87%). $m/z=281[M+1]^+$ 。

[0499] 步骤C:3-(5-溴吡啶-2-基)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷



[0501] 向100mL单口瓶中,加入6-甲氧基烟醛(0.26g,1.9mmol),3-(5-溴吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷二盐酸盐(0.6g,1.9mmol),醋酸硼氢化钠(1.2g,5.8mmol),二氯甲烷20mL,室温搅拌12小时.TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,柱层析分离得到产品3-(5-溴吡啶-2-基)-6-(吡啶-2-基甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(356mg,收率50%). $m/z=375[M+1]^+$ 。

[0502] 步骤D:6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷



[0504] 向10mL封管中,加入3-(5-溴吡啶-2-基)-6-(吡啶-2-基甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(49mg,0.132mmol),双联频哪醇硼酸酯(50mg,0.198mmol),[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]氯化钯(10mg,0.013mmol),醋酸钾(39mg,0.396mmol),1,4-二氧六环(20mL),氮气置换三次,100℃反应3小时,LCMS确认原料反应完,有产品生成,无须后处理,直接进行下一步反应。

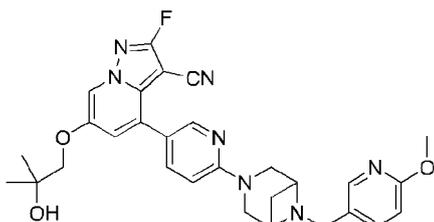
[0505] 步骤E:室温下,向装有6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(37mg,0.087mmol)和2-氨基-4-氯-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(21mg,0.073mmol)的1,4-二氧六环(2.5mL)溶液中加入碳酸钠(38mg,0.358mmol,2M)水溶液,氮气换气2分钟,随

后加入四三苯基膦钾(4mg,0.003mmol),氮气换气2分钟,在110℃下搅拌4小时,TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得2-氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(6-(6-(吡啶-2-基甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(11.3mg,28%收率)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.35(d,1H),8.27(d,1H),8.07(s,1H),7.81(d,1H),7.67(d,1H),7.10(d,1H),6.78(d,2H),6.15(s,2H),4.67(s,1H),3.82(d,5H),3.62-3.68(m,4H),3.48-3.55(m,4H),1.58(s,1H),1.21(s,6H)。m/z=541[M+1]<sup>+</sup>。

[0506] 实施例42

[0507] 2-氟-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-4-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS090)

[0508]

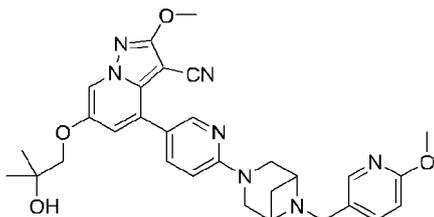


[0509] 制备方法同实施例40,将2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(APS087)替换为2-氨基-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-4-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS089)得产品(2.8mg,收率6.8%)<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.63(s,1H),8.42(s,1H),8.07(s,1H),7.87(s,1H),7.69(s,1H),7.44(s,1H),6.79(s,2H),4.74(s,1H),3.82-3.88(m,5H),3.68-3.72(m,4H),3.51(brs,5H),1.59(s,1H),1.23(s,6H)。m/z=544[M+1]<sup>+</sup>。

[0510] 实施例43

[0511] 6-(2-羟基-2-2-甲基丙氧基)-2-甲氧基-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS091)

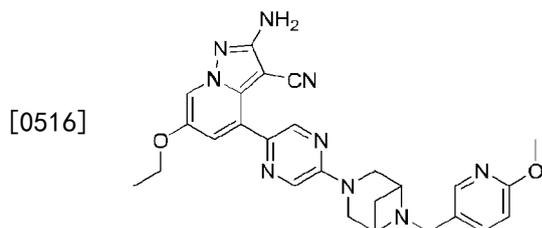
[0512]



[0513] 将2-氟-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-4-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS090)(15mg,0.028mmol),碳酸钾(11mg,0.08mmol)加入甲醇(2.0mL)中,60℃封管反应12h。加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得6-(2-羟基-2-2-甲基丙氧基)-2-甲氧基-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(14mg,收率89%)<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.55(d,1H),8.39(d,1H),8.07(d,1H),7.83(dd,1H),7.69(dd,1H),7.29(d,1H),6.79(dd,2H),4.70(s,1H),4.05(s,3H),3.85(s,2H),3.82(s,3H),3.62-3.78(m,4H),3.50-3.55(m,4H),1.59(d,1H),1.22(s,6H)。m/z=556[M+1]<sup>+</sup>。

[0514] 实施例44

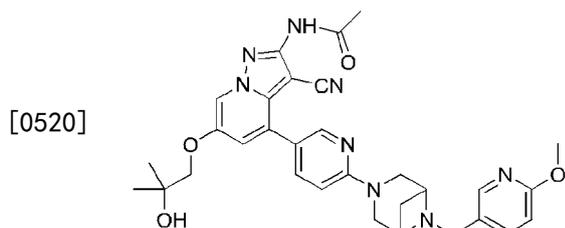
[0515] 2-氨基-6-乙氧基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS092)



[0517] 制备方法同实施例39,将(2S)-2-(溴甲基)-4-吗啉羧酸叔丁酯替换为碘乙烷得2-氨基-6-乙氧基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(2.9mg,收率8%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.56(s,1H),8.30(d,2H),8.10(s,1H),7.83-8.04(m,1H),7.71(d,1H),7.35(s,1H),6.78(d,1H),6.11(s,2H),4.12(d,2H),3.55-3.82(m,12H),1.63(s,1H),1.36(brs,3H)。m/z=498[M+1]<sup>+</sup>。

[0518] 实施例45

[0519] N-(3-氰基-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS093)

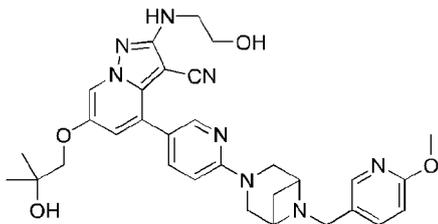


[0521] 将2-氨基-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS089)(50mg,0.093mmol),溶于DCM(2.0mL),加入三乙胺(28mg,0.3mmol),冰水浴冷却至0℃,加入乙酰氯(8mg,0.1mmol)自然升至室温反应12h。加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得N-(3-氰基-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(2.7mg,收率5%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.67(s,1H),8.55(d,1H),8.38(d,1H),8.07(s,1H),7.82(dd,1H),7.69(dd,1H),7.27(d,1H),6.80(t,2H),4.72(s,1H),3.87(s,2H),3.82(s,3H),3.67-3.75(m,4H),3.50-3.59(m,5H),2.10(s,3H),1.60(d,1H),1.23(s,6H)。m/z=583[M+1]<sup>+</sup>。

[0522] 实施例46

[0523] 6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-2-((2-2-羟基乙基)氨基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS094)

[0524]

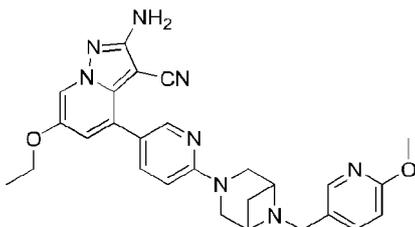


[0525] 2-氨基-6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-4-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS089) (100mg, 0.17mmol) 和2-溴乙醇(21mg, 0.17mmol) 加入到DMF (2.0mL) 中, 加热120℃反应12h。加入水, 用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 并用饱和食盐水洗涤, 减压浓缩, 柱层析分离得6-(2-羟基-2-甲基丙氧基)-2-((2-羟基乙基)氨基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(5.0mg, 收率5%)。<sup>1</sup>HNMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.38 (dd, 2H), 8.07 (s, 1H), 7.79 (dd, 1H), 7.69 (dd, 1H), 7.12 (d, 1H), 6.78 (d, 2H), 6.36 (t, 1H), 4.66-4.72 (m, 2H), 3.82 (d, 5H), 3.62-3.78 (m, 4H), 3.45-3.61 (m, 6H), 1.60 (d, 1H), 1.21 (s, 6H) .m/z=585[M+1]<sup>+</sup>。

[0526] 实施例47

[0527] 2-氨基-6-乙氧基-4-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS095)

[0528]

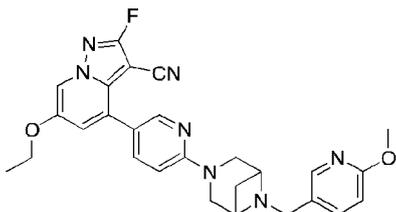


[0529] 制备方法同实施例44, 将6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷替换为6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷得2-氨基-6-乙氧基-4-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(9.2mg, 收率25%)。<sup>1</sup>HNMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.35 (d, 1H), 8.26 (d, 1H), 8.08 (d, 1H), 7.79 (dd, 1H), 7.70 (dd, 1H), 7.08 (d, 1H), 6.75-6.78 (m, 2H), 6.15 (s, 2H), 4.06-4.12 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.67-3.74 (m, 4H), 3.51-3.55 (m, 4H), 2.08 (s, 1H), 1.59 (d, 1H), 1.35 (t, 3H) .m/z=497[M+1]<sup>+</sup>。

[0530] 实施例48

[0531] 6-乙氧基-2-氟-4-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS096)

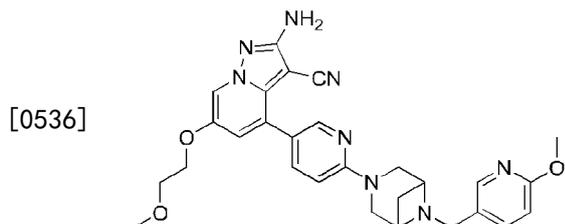
[0532]



[0533] 制备方法同实施例40,将2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(APS087)替换为2-氨基-6-(2-乙氧基-4-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS095)得6-乙氧基-2-氟-4-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(7.1mg,收率19%)。m/z=500[M+1]<sup>+</sup>。

[0534] 实施例49

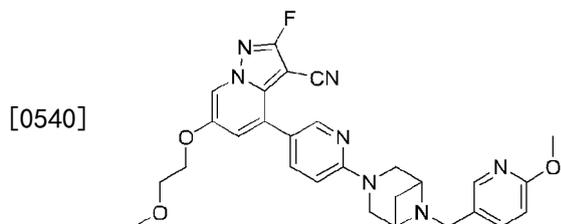
[0535] 2-氨基-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS097)



[0537] 制备方法同实施例47,将碘乙烷替换为2-溴乙基甲基醚得2-氨基-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(20mg,收率52%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.35(d,1H),8.30(d,1H),8.08(d,1H),7.79(dd,1H),7.70(dd,1H),7.10(d,1H),6.77(t,2H),6.16(s,2H),4.19(dd,2H),3.82(s,3H),3.66-3.74(m,6H),3.50(s,4H),1.60(d,1H)。m/z=527[M+1]<sup>+</sup>。

[0538] 实施例50

[0539] 2-氟-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS098)

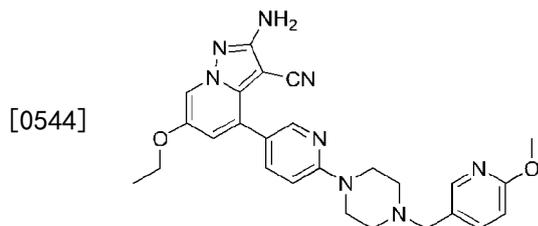


[0541] 制备方法同实施例40,将2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(APS087)替换为2-氨基-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS097)得2-氟-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(5.2mg,收率14%)<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.65(d,1H),8.42(d,1H),8.07(d,2H),7.82(dd,1H),7.70(dd,1H),7.45(d,1H),6.81(t,2H),4.25(t,2H),3.82(s,3H),3.68-3.82(m,6H),3.44-3.58(m,5H),1.23(d,1H),1.21(s,1H)。m/z=530[M+1]<sup>+</sup>。

[0542] 实施例51

[0543] 2-氨基-6-乙氧基-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)

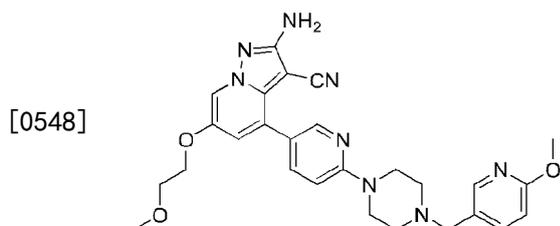
吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS099)



[0545] 制备方法同实施例47,将6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷替换为1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)哌嗪得2-氨基-6-乙氧基-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(8.9mg, 收率25%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.27(dd, 2H), 8.09(d, 1H), 7.66-7.72(m, 2H), 7.06(d, 1H), 6.91(d, 1H), 6.82(d, 1H), 6.14(s, 2H), 4.05-4.10(m, 2H), 3.84(s, 3H), 3.55(brs, 4H), 3.48(s, 2H), 2.49(s, 4H), 1.34(t, 3H). m/z=485[M+1]<sup>+</sup>。

[0546] 实施例52

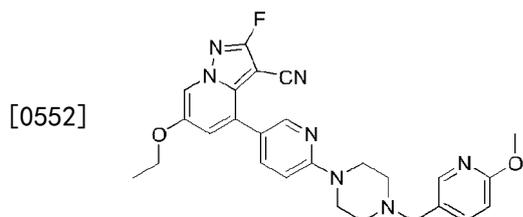
[0547] 2-氨基-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS100)



[0549] 制备方法同实施例49,将6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷替换为1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)哌嗪得2-氨基-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(5.1mg, 收率13%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.29(dd, 2H), 8.09(d, 1H), 7.62-7.71(m, 2H), 7.90(d, 1H), 6.89(d, 1H), 6.82(d, 1H), 6.16(s, 2H), 4.16(d, 2H), 3.84(s, 3H), 3.66-3.67(m, 2H), 3.55-3.57(s, 4H), 3.48(s, 2H), 3.31(s, 3H), 2.46(s, 3H). m/z=515[M+1]<sup>+</sup>。

[0550] 实施例53

[0551] 6-乙氧基-2-氟-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS101)

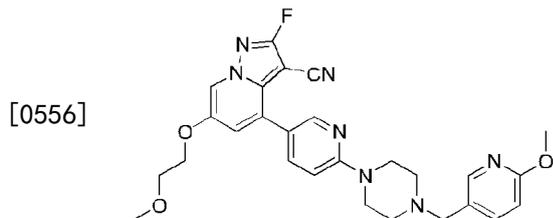


[0553] 制备方法同实施例40,将2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡唑并[1,5-a]吡

啉-3-腈三氟乙酸盐(APS087)替换为2-氨基-6-乙氧基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS099)得6-乙氧基-2-氟-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(3.4mg,收率9%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.61(d,1H),8.33(d,1H),8.09(d,1H),7.78(dd,1H),7.68(dd,1H),7.41(d,1H),6.91(d,1H),6.82(d,1H),4.15(d,2H),3.84(s,3H),3.57-3.59(m,4H),3.48(s,2H),1.39(t,3H).m/z=488[M+1]<sup>+</sup>。

[0554] 实施例54

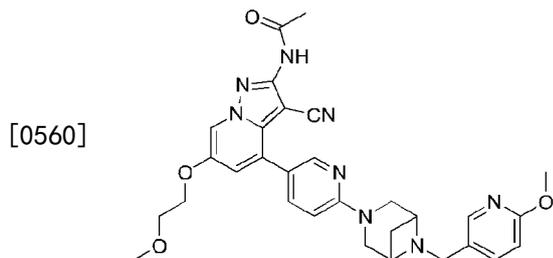
[0555] 2-氟-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS102)



[0557] 制备方法同实施例40,将2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(APS087)替换为2-氨基-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS100)得2-氟-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(5.3mg,14%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.64(d,1H),8.33(d,1H),8.09(d,1H),7.80(dd,1H),7.69(dd,1H),7.44(d,1H),6.95(d,1H),6.82(d,1H),4.24(t,2H),3.84(s,3H),3.68-3.70(m,2H),3.57-3.60(m,4H),3.48(s,4H),2.45(t,3H).m/z=518[M+1]<sup>+</sup>。

[0558] 实施例55

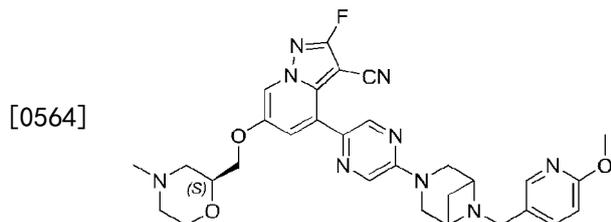
[0559] N-(3-氰基-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS103)



[0561] 将2-氨基-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS097)(50mg,0.09mmol)加入到醋酸酐中(2.0mL),加热至80℃反应4h。加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用饱和食盐水洗涤,减压浓缩,柱层析分离得N-(3-氰基-6-(2-甲氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(30mg,收率58%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.65(s,1H),8.57(d,1H),8.37(d,1H),8.07(d,1H),7.79(d,1H),7.67(d,1H),7.28(d,1H),6.76-6.79(m,2H),4.23-4.25(m,2H),3.82(s,3H),3.66-3.71(m,6H),3.50-3.59(m,4H),2.10(s,3H),1.60(d,1H).m/z=569[M+1]<sup>+</sup>。

[0562] 实施例56

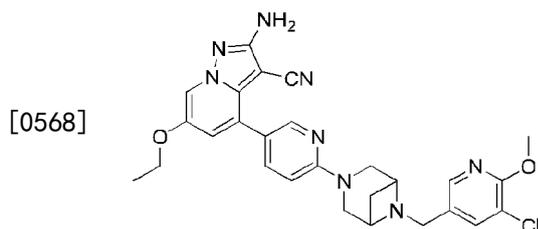
[0563] 2-氟-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-4-甲基吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS104)



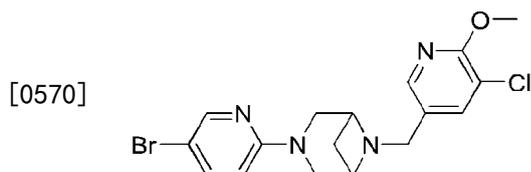
[0565] 将2-氟-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(APS088)(120mg,0.21mmol),37%甲醛水溶液(120mg,1.48mmol),醋酸硼氢化钠(133mg,0.63mmol),二氯甲烷(10mL)室温搅拌12小时。TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,柱层析分离得到产品2-氟-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-4-甲基吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(8.2mg,收率6%)。m/z=586[M+1]<sup>+</sup>。

[0566] 实施例57

[0567] 2-氨基-4-(6-(6-((5-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)-6-乙氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS105)



[0569] 步骤A:3-(5-溴吡啶-2-基)-6-(((5-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷



[0571] 向100mL单口瓶中,加入5-氯-6-甲氧基烟醛(0.32g,1.9mmol),3-(5-溴吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷二盐酸盐(0.6g,1.9mmol),醋酸硼氢化钠(1.2g,5.8mmol),二氯甲烷20mL,室温搅拌12小时。TLC点板反应完毕,加入水,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,并用水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,柱层析分离得到产品3-(5-溴吡啶-2-基)-6-(((5-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(0.4g,收率51%)。m/z=409[M+1]<sup>+</sup>。

[0572] 步骤B:6-(((5-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷

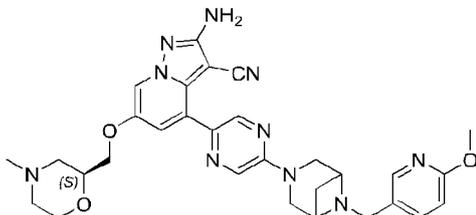


(s, 2H), 4.66 (s, 1H), 3.79-3.82 (m, 5H), 3.61-3.68 (m, 4H), 3.48 (brs, 4H), 1.55 (d, 1H), 1.21 (s, 6H).  $m/z = 559 [M+1]^+$ .

[0583] 实施例59

[0584] 2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-4-甲基吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS107)

[0585]

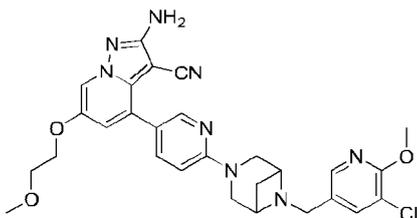


[0586] 制备方法同实施例56,将2-氟-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(APS088)替换为2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈三氟乙酸盐(APS087)得产品2-氨基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(((S)-4-甲基吗啉-2-基)甲氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(30mg, 收率24%)。 $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.48 (d, 1H), 8.25 (d, 1H), 8.11 (d, 1H), 7.94 (d, 1H), 7.64 (dd, 1H), 7.33 (d, 1H), 6.73 (d, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.93-4.18 (m, 4H), 3.90-3.92 (m, 3H), 3.81-3.90 (m, 2H), 3.71-3.80 (m, 3H), 3.67-3.75 (m, 2H), 3.59-3.62 (m, 2H), 2.86 (d, 1H), 2.68-2.75 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.20 (t, 1H), 2.08 (t, 1H), 1.65 (d, 1H).  $m/z = 583 [M+1]^+$ .

[0587] 实施例60

[0588] 2-氨基-4-(6-(6-((5-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)-6-(2-甲氧基乙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS108)

[0589]

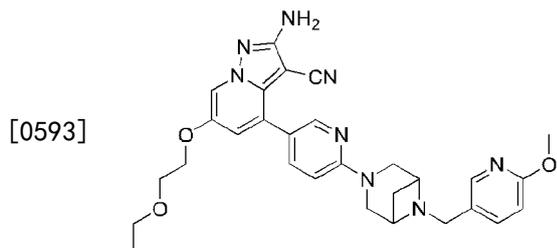


[0590] 制备方法同实施例52,将6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷替换为6-((5-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷得产品2-氨基-4-(6-(6-((5-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)-6-(2-甲氧基乙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(10.6mg, 收率26%)。 $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.38 (d, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.92 (d, 1H), 7.79 (dd, 2H), 7.08 (d, 1H), 6.69 (d, 1H), 4.45 (d, 2H), 4.13-4.15 (m, 2H), 4.03 (d, 3H), 3.78-3.84 (m, 6H), 3.61 (brs, 4H), 3.41 (s, 3H), 2.76 (s, 1H), 1.70 (d, 1H).  $m/z = 561 [M+1]^+$ .

[0591] 实施例61

[0592] 2-氨基-6-(2-乙氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮

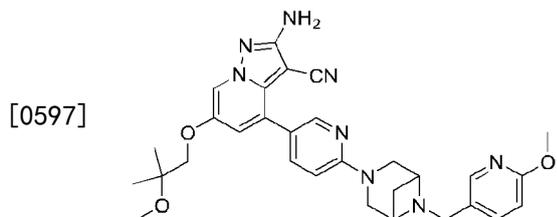
杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS109)



[0594] 制备方法同实施例47,将碘乙烷替换为2-溴乙基乙基醚得产品2-氨基-6-(2-乙氧基乙氧基)-4-(6-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(16.2mg,收率41%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.30-8.36(m,2H),8.08(s,1H),7.77-7.80(m,1H),7.70(d,1H),7.11(d,1H),6.75-6.77(m,2H),6.17(s,2H),4.16-4.18(m,2H),3.82(s,3H),3.70-3.74(m,6H),3.48-3.53(m,6H),1.60(d,1H),1.15(t,3H)。m/z=541[M+1]<sup>+</sup>。

[0595] 实施例62

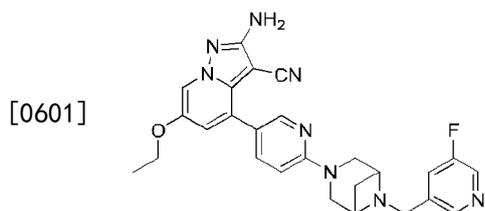
[0596] 2-氨基-6-(2-甲氧基-2-甲基丙氧基)-4-(6-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS110)



[0598] 制备方法同实施例47,将碘乙烷替换为1-溴-2-甲氧基-2-甲基丙烷得产品2-氨基-6-(2-甲氧基-2-甲基丙氧基)-4-(6-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(2.8mg,收率7%)。m/z=555[M+1]<sup>+</sup>。

[0599] 实施例63

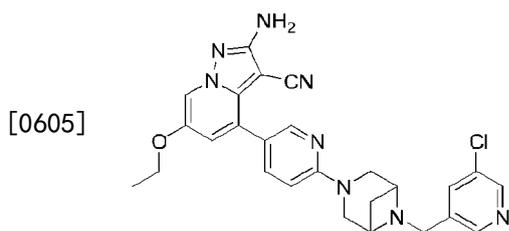
[0600] 2-氨基-6-乙氧基-4-(6-(6-(6-((5-氟吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS111)



[0602] 制备方法同实施例57,将5-氯-6-甲氧基烟醛替换为5-氟烟醛得产品2-氨基-6-乙氧基-4-(6-(6-(6-((5-氟吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(3.6mg,收率10%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.44(d,2H),8.35(d,1H),8.26(d,1H),7.79(dd,1H),7.71(d,1H),7.07(d,1H),6.77(d,1H),6.16(s,1H),4.10(d,2H),3.72-3.74(m,5H),3.65(s,2H),2.51(brs,1H),2.01(d,1H),1.62(d,1H),1.23(s,3H)。m/z=485[M+1]<sup>+</sup>。

[0603] 实施例64

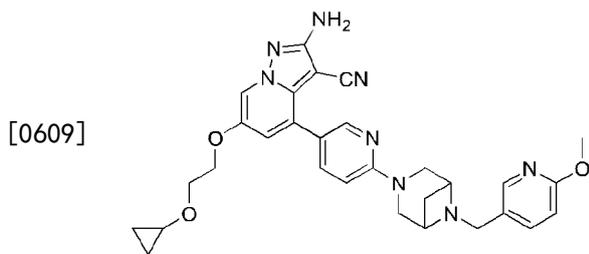
[0604] 2-氨基-4-(6-(6-((5-氯吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)-6-乙氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS112)



[0606] 制备方法同实施例57,将5-氯-6-甲氧基烟醛替换为5-氯烟醛得产品2-氨基-4-(6-(6-((5-氯吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)-6-乙氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(13.6mg,收率37%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.40-8.51(m,2H),8.35(d,1H),8.26(d,1H),7.90(s,1H),7.79(dd,1H),7.07(d,1H),6.77(d,1H),6.16(s,2H),4.90(q,2H),3.72-3.74(d,4H),3.63(s,2H),3.52(brs,2H),2.00(s,1H),1.61(d,1H),1.37(t,3H).m/z=501[M+1]<sup>+</sup>。

[0607] 实施例65

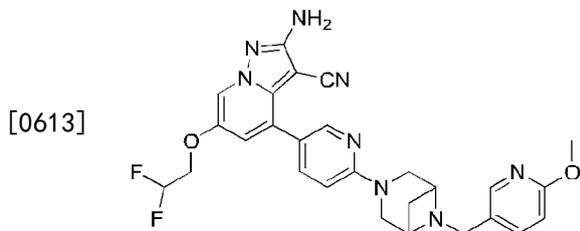
[0608] 2-氨基-6-(2-环丙氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS113)



[0610] 制备方法同实施例47,将碘乙烷替换为对甲苯磺酸2-环丙氧基乙基酯得产品2-氨基-6-(2-环丙氧基乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(31.5mg,收率78%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.36(d,1H),8.30(d,1H),8.08(d,1H),7.80(dd,1H),7.70(dd,1H),7.10(d,1H),6.78(dd,2H),6.18(s,2H),4.18(t,2H),3.82(s,3H),3.64-3.78(m,6H),3.50-3.55(m,4H),3.35-3.40(m,1H),1.60(d,1H),0.43-0.52(m,4H).m/z=553[M+1]<sup>+</sup>。

[0611] 实施例66

[0612] 2-氨基-6-(2,2-二氟乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS114)

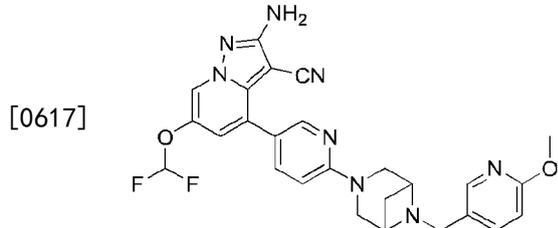


[0614] 制备方法同实施例47,将碘乙烷替换为1,1-二氟-2-碘乙烷得产品2-氨基-6-(2,2-二氟乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(3.8mg,收率9%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ8.43

(d, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.81 (dd, 1H), 7.70 (dd, 1H), 7.18 (d, 1H), 6.78 (d, 2H), 6.23 (s, 2H), 4.39-4.47 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.67-3.74 (m, 4H), 3.50-3.55 (m, 4H), 1.60 (d, 1H).  $m/z = 533 [M+1]^+$ .

[0615] 实施例67

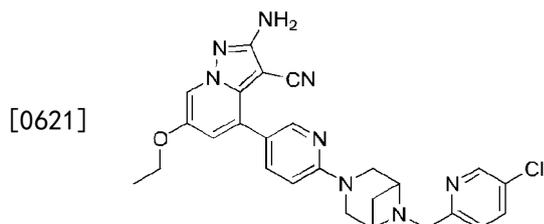
[0616] 2-氨基-6-(二氟甲氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS115)



[0618] 制备方法同实施例47,将碘乙烷替换为二氟碘甲烷得产品2-氨基-6-(二氟甲氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(2.2mg,收率5.8%)。  $m/z = 519 [M+1]^+$ .

[0619] 实施例68

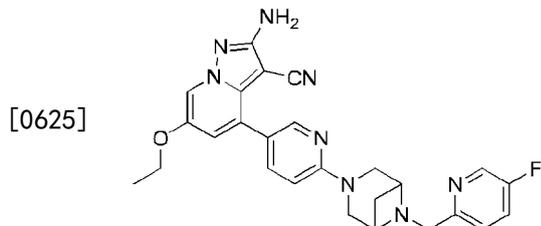
[0620] 2-氨基-4-(6-(6-((5-氯吡啶-2-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)-6-乙氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS116)



[0622] 制备方法同实施例57,将5-氯-6-甲氧基烟醛替换为5-氯吡啶甲醛得产品2-氨基-4-(6-(6-((5-氯吡啶-2-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)-6-乙氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(7.0mg,收率19%)。  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.51 (d, 1H), 8.34 (d, 1H), 8.26 (d, 1H), 7.88 (dd, 1H), 7.78 (dd, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.08 (d, 1H), 6.75 (d, 1H), 6.17 (s, 2H), 4.10 (d, 2H), 3.72-3.74 (m, 4H), 3.65 (s, 2H), 3.55 (brs, 2H), 2.52 (s, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.60 (d, 1H).  $m/z = 501 [M+1]^+$ .

[0623] 实施例69

[0624] 2-氨基-4-(6-(6-((5-氟吡啶-2-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)-6-乙氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS117)

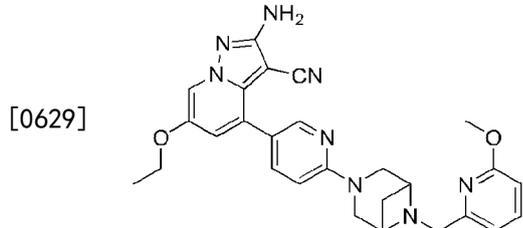


[0626] 制备方法同实施例57,将5-氯-6-甲氧基烟醛替换为5-氟吡啶甲醛得产品2-氨基-4-(6-(6-((5-氟吡啶-2-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)-6-乙氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(10.8mg,收率30%)。  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.46 (d, 1H),

8.34(d,1H), 8.26(d,1H), 7.78(t,1H), 7.67-7.72(m,1H), 7.53-7.56(m,1H), 7.08(d,1H), 6.76(d,1H), 6.17(s,2H), 4.06-4.11(t,2H), 3.71-3.79(m,4H), 3.64(s,2H), 3.55(d,2H), 2.08(s,1H), 1.62(d,1H), 1.37(t,3H).  $m/z=485[M+1]^+$ .

[0627] 实施例70

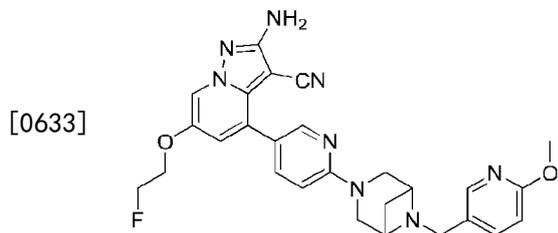
[0628] 2-氨基-6-乙氧基-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS118)



[0630] 制备方法同实施例57,将5-氯-6-甲氧基烟醛替换为6-甲氧基吡啶甲醛得产品2-氨基-6-乙氧基-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(28mg, 收率77%)。 $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.34(d,1H), 8.26(d,1H), 7.78(dd,1H), 7.65(t,1H), 7.02-7.08(m,2H), 6.77(d,1H), 6.66(d,1H), 6.17(s,2H), 4.06-4.11(t,2H), 3.77-3.83(m,7H), 3.60(brs,4H), 2.54-2.57(m,1H), 1.63(d,1H), 1.35(t,3H).  $m/z=497[M+1]^+$ .

[0631] 实施例71

[0632] 2-氨基-6-(2-氟乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS119)

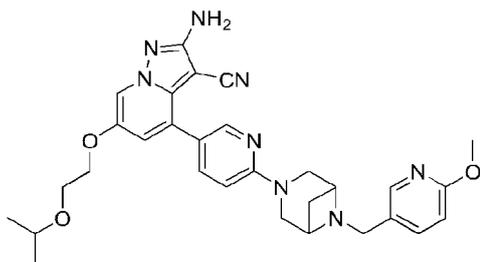


[0634] 制备方法同实施例47,将碘乙烷替换为1-氟-2-碘乙烷得产品2-氨基-6-(2-氟乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(5.0mg, 收率13%)。 $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.36(dd,2H), 8.08(d,1H), 7.80(dd,1H), 7.68(dd,1H), 7.14(d,1H), 6.78(d,2H), 6.20(s,2H), 4.84(t,1H), 4.72(t,1H), 4.38(t,1H), 4.31(t,1H), 3.82(s,3H), 3.64-3.74(m,4H), 3.50-3.55(m,4H), 1.60(d,1H).  $m/z=515[M+1]^+$ .

[0635] 实施例72

[0636] 2-氨基-6-(2-异丙氧乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(APS120)

[0637]



[0638] 制备方法同实施例47,将碘乙烷替换为2-(2-溴乙氧基)丙烷得产品2-氨基-6-(2-异丙氧乙氧基)-4-(6-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(32.6mg,收率80%)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ8.39(s,1H),8.13(s,1H),7.93(s,1H),7.80(d,1H),7.08(d,1H),6.68-6.76(m,2H),4.44(d,1H),4.14(d,2H),3.86(s,4H),3.80-3.82(m,3H),3.64-3.76(m,3H),1.23-1.25(m,10H)。m/z=555[M+1]<sup>+</sup>。

[0639] 参考上述实施例的方法,还制备得到了其他化合物。将这些化合物与上述化合物的表征数据汇总于如下表1中:

[0640] 表1

化合物编号	MS[M+1] <sup>+</sup>	化合物编号	MS [M+1] <sup>+</sup>
[0641]			

	APS007	532	APS038	503
	APS008	548	APS039	535
	APS009	544	APS040	568
	APS010	548	APS041	534
	APS011	534	APS042	555
	APS012	545	APS043	535
	APS013	486	APS044	539
	APS014	509	APS045	590
	APS015	508	APS046	533
	APS016	489	APS047	557
	APS017	533	APS048	507
	APS018	534	APS049	591
	APS019	508	APS050	606
	APS020	526	APS051	579
	APS021	525	APS052	547
[0642]	APS022	505	APS053	547
	APS023	494	APS054	564
	APS024	526	APS055	565
	APS025	505	APS056	579
	APS026	520	APS057	641
	APS027	524	APS058	604
	APS028	516	APS059	572
	APS029	527	APS060	520
	APS030	521	APS061	519
	APS031	504	APS062	540
	APS032	521	APS063	520
	APS033	521	APS064	492
	APS034	533	APS065	543
	APS035	491	APS066	534
	APS036	476	APS067	548
	APS037	518	APS068	521

[0643] 激酶活性测试

[0644] 转染重组基因 (RET) 是一个已经确认的原癌基因。它编码的单次跨膜受体酪氨酸激酶, 是许多组织和细胞类型的发育, 成熟和维持所必需的。在正常条件下, 神经胶质细胞系衍生的神经营养因子 (GDNF) 家族配体与细胞表面上的RET的结合导致细胞内酪氨酸残基的二聚化和自磷酸化。这反过来导致下游RAS-MAPK, PI3K-AKT和磷脂酶C  $\gamma$  (PLC  $\gamma$ ) 通路的激活, 并增加细胞存活和增殖。激活RET突变的实例包括C634W, M918T和关守突变, V804L和V804M。

[0645] 该试验将肽底物和单一专有单克隆抗体与HTRF技术相结合, HTRF技术是一种高灵敏度和稳定的技术, 用于检测蛋白质的分子相互作用。酶将底物磷酸化, 然后Eu标记的抗体结合磷酸化底物, 链霉抗生物素蛋白-XL665结合所有底物。TR-FRET信号由HTRF原理产生。一旦添加抑制剂(受试化合物), 就获得较弱的TR-FRET信号。据此, 评估抑制效果。

[0646] 5.1. 试剂和耗材

[0647]	材料和试剂	供应商	型号
	HTRF KinEASE-TK 试剂盒	Cisbio	62TKOPEC
	Ret wt	Invitrogen	PV3082
	RET (V804L), 活化	Signalchem	R02-12BG-10
	RET (V804M)	Signalchem	R02-12GG
[0648]	DMSO	Sigma	D8418-1L
	ATP	Sigma	A7699
	DTT	Sigma	D0632
	CEP-32496	MCE	HY-15200
		MCE	HY-15141
[0649]	星形孢菌素		
[0650]	(Staurosporine)		
	平板振荡器	Thermo	4625-1CECN/THZ Q
	离心机	Eppendorf	5810R
[0651]	Envision 2104 多标记读板仪		
	Echo	Labcyte	550
[0652]	5.2配制溶液		
[0653]	用DMSO将CEP-32496从10mM和1mM分别梯度稀释3倍,共10个浓度。		
[0654]	其他化合物从10mM的原液用DMSO梯度稀释3倍,共10个浓度。		
[0655]	制备1000×阳性对照(1mM CEP-32496和0.2mMStaurosporine)和1000×阴性对照(100%DMSO)。		
[0656]	在平板振荡器上振荡5分钟。		
[0657]	5.3制备1x激酶缓冲液		
[0658]	将4体积蒸馏水加入1体积酶缓冲液5X;5mM MgCl <sub>2</sub> ;1mM DTT。		
[0659]	5.4筛选方法		
[0660]	a) 将10n1化合物稀释液(5.2中制备)转移到测试板(784075, Greiner)的每个孔中;		
[0661]	b) 在1000g下将化合物板离心1分钟。		
[0662]	c) 密封测试板。		
[0663]	d) 制备1x激酶缓冲液中的5X Ret wt (0.2ng/μl) 和5X Ret V804L (0.5ng/μl) /5X Ret V804M(0.5ng/μl)。		
[0664]	e) 加入2μl的5X Ret wt或2μl的Ret V804L/RET V804M至384孔测试板(784075, Greiner)。		
[0665]	f) 将4μl的1x激酶缓冲液加入测试板的每个孔中,在1000g下离心样品板30秒,在		

室温放置10分钟。

[0666] g) 制备激酶缓冲液中的5x TK-底物-生物素(5 $\mu$ M)和激酶缓冲液中的5x ATP(50 $\mu$ M)的溶液。

[0667] h) 通过加入2 $\mu$ l STK-底物-生物素和2 $\mu$ l ATP(步骤g中制备的)开始反应。

[0668] i) 在1000g下离心样品板30秒。密封测试板,室温放置30分钟。

[0669] j) 制备在HTRF检测缓冲液中的4X Sa-XL 665(250nM)。

[0670] k) 将5 $\mu$ l的Sa-XL 665和5 $\mu$ l的TK-antibody-Cryptate(在步骤i中制备的)加入到测试板的每个孔中。

[0671] l) 在1000g下离心30秒,室温放置1小时。

[0672] m) 在Envision 2104读板仪上读取615nm(Cryptate)和665nm(XL665)的荧光信号值。

[0673] 5.5数据分析

[0674] 计算每个孔的比率(665nm/615nm)。

[0675] 抑制率%通过如下方式计算:

[0676] 抑制率% =  $[1 - (\text{受试化合物荧光信号值} - \text{阳性对照荧光信号值}) / (\text{阴性对照平均比率} - \text{阳性对照平均比率})] * 100\%$

[0677] 比率:由测得的荧光信号值产生

[0678] 阳性对照平均比率为样品板中阳性对照(200nM AT13148)的平均比率;

[0679] 阴性对照平均比率为样品板中阴性对照(0.1%DMSO)的平均比率。

[0680] 利用GraphPad 6.0将抑制率%与化合物浓度的对数拟合为非线性回归(剂量响应-可变斜率)计算IC<sub>50</sub>值。

[0681] 表2

化合物编号	IC <sub>50</sub> (nM)	
	RET wt	RET V804L
[0682] CEP-32496	0.7009	110.6
APS001	0.1480	0.2610
APS002	0.4469	0.2917
APS069	0.3247	0.1243
APS070	0.4177	0.0759

[0683] 细胞抑制活性测试

[0684] 1、在96孔板中配置90 $\mu$ l的细胞悬液,4000细胞/孔。将培养板在培养箱预培养24小时(37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>)。

[0685] 2、向每孔细胞中加入10 $\mu$ l不同浓度的待测化合物,每个化合物均有复孔。

[0686] 3、将培养板在培养箱孵育72小时。

[0687] 4、向每孔加入10 $\mu$ l CCK8溶液(注意不要在孔中生成气泡,它们会影响OD值的读数)。

[0688] 5、将培养板在培养箱内孵育1-2小时。

[0689] 6、用酶标仪测定在450nm处的吸光度。

[0690] 7、根据化合物浓度及吸光度值,利用GraphpadPrism软件计算每个化合物的IC<sub>50</sub>。

[0691] 计算结果如下表所示:

[0692] 表3

化合物	RET Enzyme (wild type) IC <sub>50</sub> (nM)	RET Enzyme (V804M) IC <sub>50</sub> (nM)	TT Cell IC <sub>50</sub> (nM)
APS014	1.0	N/A	44.6
APS015	1.7	N/A	27.7
APS016	N/A	N/A	31.1
APS019	<1.0	N/A	7.8
APS020	1.1	N/A	14.3
APS021	N/A	N/A	119.5

[0693]

[0694]

APS022	2.2	N/A	45.5
APS024	1.0	N/A	7.1
APS025	1.4	N/A	38.2
APS026	1.4	N/A	18.1
APS027	2.4	N/A	85.7
APS030	N/A	N/A	57.6
APS034	N/A	N/A	32.8
APS035	1.7	N/A	65.4
APS038	1.0	N/A	37.7
APS041	N/A	N/A	32.8
APS062	N/A	N/A	34.1
APS064	N/A	N/A	150.4
APS068	N/A	N/A	11.3
APS069	<1.0	N/A	28.8
APS070	<1.0	N/A	15.6
APS071	64.6	N/A	N/A
APS072	78.3	N/A	N/A
APS073	N/A	N/A	143.5
APS074	N/A	N/A	25.2
APS075	N/A	N/A	121.7
APS076	N/A	N/A	96.4
APS077	N/A	N/A	58.3
APS078	N/A	N/A	57.1
APS079	N/A	N/A	119.6
APS083	212	N/A	N/A
APS084	N/A	N/A	342
APS085	865	N/A	N/A
APS086	234	N/A	N/A
APS087	<1.0	<1.0	<1.0
APS088	N/A	N/A	264.8
APS089	1.8	1.6	18.6
APS090	54.0	486.1	31.4
APS091	N/A	957.1	N/A
APS092	4.3	2.7	60
APS093	2891	1553	N/A
APS094	942	492.7	N/A
APS095	<1.0	<1.0	38.6
APS096	122.1	186.4	N/A
APS097	<1.0	<1.0	75.5
APS098	143.5	85.6	N/A
APS099	N/A	N/A	16.2
APS100	N/A	N/A	22.4
APS103	261.4	154.6	N/A
APS104	6.9	14.0	N/A
APS105	<1.0	<1.0	28.1
APS106	744.7	971.1	N/A
APS107	<1.0	<1.0	16.3

	APS108	<1.0	<1.0	10.7
	APS109	<1.0	<1.0	57.9
	APS110	N/A	N/A	198.1
	APS111	N/A	N/A	6.4
	APS112	18.9	N/A	N/A
[0695]	APS113	<1.0	<1.0	83.5
	APS114	2.0	<1.0	N/A
	APS115	45.9	8.8	N/A
	APS116	N/A	N/A	54.8
	APS119	<1.0	<1.0	6.6
	APS120	N/A	N/A	16.9

[0696] 上表中“N/A”表示未测试活性。

[0697] 如上表所示,本发明实施例化合物具有改善的抑制RET野生型、突变型和/或融合型抑制活性,特别是诸如APS014、APS015、APS019、APS020、APS022、APS024、APS025、APS026、APS027、APS035、APS038、APS068、APS069、APS070、APS087、APS089、APS092、APS095、APS097、APS099、APS100、APS104、APS105、APS107、APS108、APS109、APS111、APS113、APS114、APS119、APS120等化合物取得了优异的活性。

[0698] 以上,对本发明的实施方式进行了说明。但是,本发明不限于上述实施方式。凡在本发明的精神和原则之内,所做的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。