

B302, 广东 518067 (CN)。包丽茗(BAO, Liming); 中国广东省深圳市南山区高新南七道19号清华大学研究院B302, Guangdong 518067 (CN)。徐良亮(XU, Liangliang); 中国广东省深圳市南山区高新南七道19号清华大学研究院B302, Guangdong 518067 (CN)。郭玉函(GUO, Yuhan); 中国广东省深圳市南山区高新南七道19号清华大学研究院B302, Guangdong 518067 (CN)。

(74) 代理人: 北京彩和律师事务所(BEIJING CAI HE LAW FIRM); 中国北京市海淀区大柳树路17号富海国际港1602室, Beijing 100081 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

pharmaceutical compositions comprising the compounds or salts thereof, and a method for using the compounds or salts thereof to treat various diseases mediated by EGFR or HER2 or HER4.

(57) 摘要: 涉及用于治疗癌症的氮杂芳环酰胺衍生物。具体而言, 涉及氮杂芳环酰胺衍生物的制备方法和用途。涉及式(I)、式(II)、式(III)、式(IV)、式(V)所示的氮杂芳环酰胺衍生物和苯胺基-嘧啶化合物及其药学上可接受的盐, 所述化合物或其盐可通过调节某些突变形式的表皮生长因子受体而用于治疗或预防疾病或病症。还涉及包含所述化合物或其盐的药物组合物, 以及使用所述化合物及其盐治疗由EGFR或HER2或HER4所介导的多种疾病的方法。

用于治疗癌症的氮杂芳环酰胺衍生物

技术领域

本文提供了一种具有调节 ErbB 家族激酶活性的嘧啶衍生物。具体而言，本文涉及氮杂芳环酰胺类化合物的制备方法和用途。本文涉及氮杂芳环酰胺化合物及其药学上可接受的盐，所述化合物或其盐可通过调节某些突变形式的表皮生长因子受体而用于治疗或预防疾病或病症。本文还涉及包含所述化合物或其盐的药物组合物，以及使用所述化合物及其盐治疗由各种不同形式的 EGFR 或 HER2 或 HER4 所介导的多种疾病的方法，包括非小细胞肺癌等。

背景技术

在抗癌药物领域中，对于新的具有更好的活性/选择性的抗癌化合物一直存在需求。已知 EGFR、HER2 和 HER4 是 erbB 受体家族的跨膜蛋白酪氨酸激酶成员，erbB 受体的同源二聚化和/或异源二聚化导致胞内结构域中某些酪氨酸残基的磷酸化，并且激活参与细胞增殖和生存的多种细胞内信号传导通路，包括 PI3K-AKT-mTOR 信号通路和 RAS-RAF-MEK-ERK 信号通路。erbB 家族信号传导的失调可导致细胞增殖、侵入、转移和血管生成，并且已在肺癌、头颈部癌和乳腺癌等癌症中有报道。例如，在新英格兰医学杂志(New England Journal of medicine), 2008 年第 358 期, 1160-1174 页以及生物化学和生物物理研究通讯(Biochemical and Biophysical Research Communications), 2004 年第 319 卷, 1-11 页中给出了对 erbB 受体信号传导及其参与肿瘤发生的综述。因此，作为抗癌药物开发的靶点，靶向于 EGFR 或 HER2 或 HER4 的许多药物目前在临床上已得到应用。

据报道在亚洲大约有 35% 的非小细胞肺癌(NSCLC)病人具有肿瘤相关的 EGFR 突变(新英格兰杂志, New England Journal of Medicine, 2004 年 350 期, 2129 页)。EGFR 突变绝大部分发生在位于编码激酶作用域的 18-21 外显子处，并且这些突变通常是具有突变等位基因拷贝数扩增的杂合子，其中 90% 的 EGFR 突变是由于 19 外显子缺失或 21 外显子 L858R 错义导致的。这些最普遍的 EGFR 激活突变 (21 外显子 L858R 错义和 19 外显子缺失 delE746_A750) 相对于野生型 (WT) EGFR 而言，对小分子酪氨酸激酶抑制剂 (例如吉非替尼和厄洛替尼) 的亲合力增加，同时对三磷酸腺苷 (ATP) 的亲合力下降。最后，产生对吉非替尼或厄洛替尼治疗的获得性耐药，例如 EGFR 20 外显子由于看门残基 T790M (gatekeeper mutation) 的突变。EGFR 突变也包含上述两个以上的突变共同发生，例如：DT 突变表示 T790M 的错义和 19 外显子的缺失 (delE746_A750)；LT 突变表示 T790M 和 L858R 的错义。

在非小细胞肺癌中，EGFR 20 外显子插入突变的频率从 4-9.2% 不等 (自然综述 (Nature Reviews) 杂质, 2017 年第 17 期, 637 页)，绝大多数 EGFR 20 外显子插入发生在氨基酸 767-774 之间的编码区，包括 A767、S768、D770、P772、和 H773。这些 EGFR 20 外显子插入突变对

吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、奥希替尼等临床批准的可逆或不可逆 EGFR 激酶抑制剂的亲和力有不同程度的降低，从而导致这种突变产生对 EGFR 现有靶向药物的抗性。本领域中仍然需要能够有效抑制包括 EGFR 20 外显子插入等突变的新化合物，针对这一类尚未被满足的临床需求进行新药研究和开发。换言之，本领域需要对 20 外显子插入的 EGFR 突变体显示较高的抑制、同时对野生型 EGFR 显示相对较低的抑制的化合物，从而不仅能够发挥抗癌效力，而且能够降低与抑制野生型 EGFR 相关的不良反应和毒理学（例如皮疹和/或腹泻）。

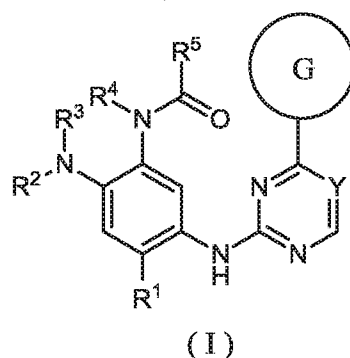
HER2 的过表达常发生在乳腺癌、卵巢癌、膀胱癌、以及非小细胞肺癌中。在目前临床治疗方案中，尽管可以使用 Herceptin 靶向于 HER2 治疗 HER2 扩增的乳腺癌，但依然有一部分 HER2 阳性乳腺癌患者对 Herceptin 没有响应，这可能是由于 HER2 耐药所导致的。另外，在 2-4% 非吸烟人群患有非小细胞肺癌的患者中，HER2 的 Exon20 插入了氨基酸序列 YVMA，使得这类患者对已知的 HER2 抑制剂具有耐药性。因此，临床上也缺乏靶向针对 HER2 20 外显子插入突变的有效药物。

HER4 同样被证明其突变或扩增与癌症有关，尤其是小细胞肺癌，另外 HER4 对乳腺癌的治疗和预后也有一定的影响。据统计，HER4 突变存在于 1-2% 东亚癌症患者。而目前临床上仍然缺乏靶向 HER4 的有效药物。

为了解决这一问题，发明人经过研究后，令人惊讶地发现了一类氮杂芳环酰胺类化合物，其对于 EGFR 20 外显子插入突变具有较高的抑制活性，部分化合物展示出对于 20 外显子点突变（如 S768I, L861Q）、HER2 20 外显子插入突变以及 HER4 具有较高的抑制活性。

发明内容

一方面，本文提供了式(I)的化合物或其药学上可接受的盐：



其中

Y 选自 C, N, C-CF₃, 和 C-Cl;

G 选自芳基、杂芳基或杂环基，优选 C₆₋₁₀ 芳基、C₅₋₁₀ 杂芳基或 C₄₋₁₀ 杂环基，所述芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、氧代、卤素或 C₁₋₆ 卤代烷基的取代基所取代；

R¹ 选自氢、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、卤素、C₁₋₆ 卤代烷基或 C₁₋₆ 卤代烷氧基；

R² 选自 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 杂烷基、C₆₋₁₀ 芳基、C₅₋₁₀ 杂芳基、C₄₋₁₀ 杂环基、C₆₋₁₀ 芳基-C₁₋₆ 亚

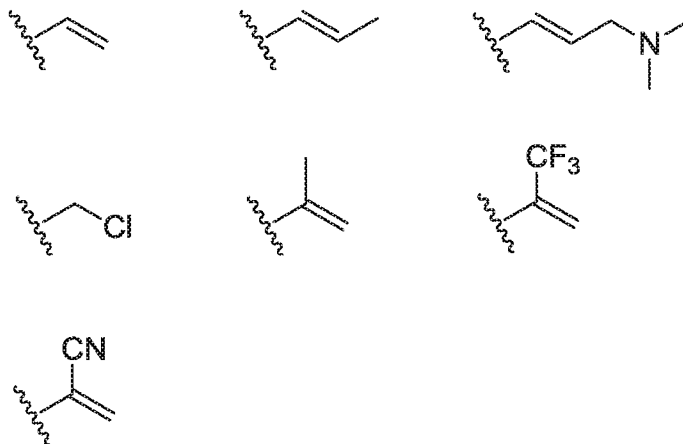
烷基、C₅₋₁₀ 杂芳基-C₁₋₆ 亚烷基、或 C₄₋₁₀ 杂环基-C₁₋₆ 亚烷基，其中所述烷基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₁₋₆ 烷基氨基、二-C₁₋₆ 烷基氨基、氧代、卤素、C₁₋₆ 卤代烷基、氨基酰基、C₁₋₆ 烷基氨基酰基或二-C₁₋₆ 烷基氨基酰基的取代基所取代；

R³ 选自氢或 C₁₋₆ 烷基；

或者 R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基，优选 C₃₋₁₀ 杂环基，其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₁₋₆ 烷基氨基、二-C₁₋₆ 烷基氨基、氧代、卤素、C₁₋₆ 卤代烷基、氨基酰基、C₁₋₆ 烷基氨基酰基或二-C₁₋₆ 烷基氨基酰基的取代基所取代；

R⁴ 选自氢或 C₁₋₆ 烷基；

R⁵ 选自以下基团：



另一方面，本文还提供了如上所述的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的制备方法。

另一方面，本文提供了药物组合物，其包含如上所述的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的稀释剂或载体。

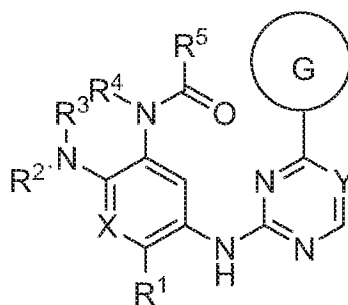
另一方面，本文提供了如上所述的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，其用作药物。

另一方面，本文还提供了在需要这种治疗的温血动物例如人中产生抗癌作用的方法，其包括：向所述动物施用有效量的如上所述的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。

另一方面，本文还提供了本文上述化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

另一方面，本文还提供了上述本文化合物或其药学上可接受的盐在制备用于抑制 EGFR(也称为 HER1)或 HER2 途径的药物中的用途。

另一方面，本发明提供了式(II)的化合物或其药学上可接受的盐：



(II)

其中

Y 选自 C, N, C-CF₃, 和 C-Cl;

X 选自 C 和 N;

G 选自芳基、杂芳基或杂环基, 优选 C₆-10 芳基、C₅-10 杂芳基或 C₄-10 杂环基, 所述芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C₁-6 烷基、C₁-6 烷氧基、氧代、卤素、C₆-C₁₀ 芳基、C₅-10 杂芳基或 C₄-10 杂环基、C₁-6 卤代烷基或 C₁-C₆ 胺基烷基的取代基所取代;

R¹ 选自氢、C₁-6 烷基、C₁-6 烷氧基、卤素、C₁-6 卤代烷基或 C₁-6 卤代烷氧基;

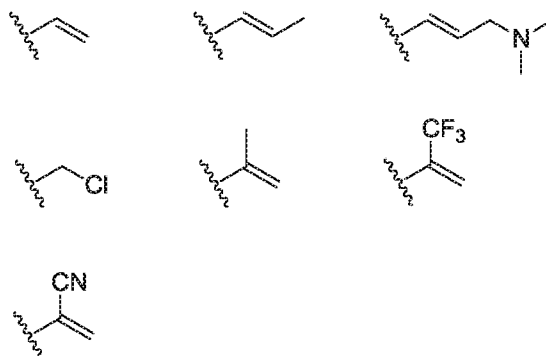
R² 选自 C₁-6 烷基、C₁-6 杂烷基、C₆-10 芳基、C₅-10 杂芳基、C₄-10 杂环基、C₆-10 芳基-C₁-6 亚烷基、C₅-10 杂芳基-C₁-6 亚烷基、或 C₄-10 杂环基-C₁-6 亚烷基, 其中所述烷基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C₁-6 烷基、C₁-6 烷氧基、C₁-6 烷基氨基、二-C₁-6 烷基氨基、氧代、卤素、C₁-6 卤代烷基、氨基酰基、C₁-6 烷基氨基酰基或二-C₁-6 烷基氨基酰基的取代基所取代;

R³ 选自氢或 C₁-6 烷基;

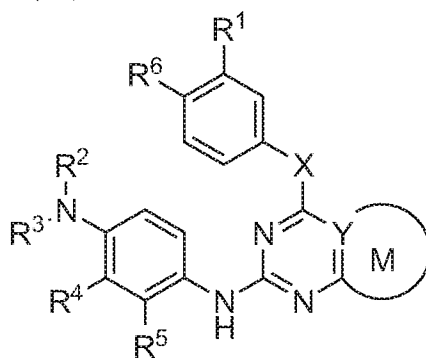
或者 R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基, 优选 C₃-10 杂环基, 其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C₁-6 烷基、C₁-6 烷氧基、C₁-6 烷基氨基、二-C₁-6 烷基氨基、氧代、卤素、C₁-6 卤代烷基、氨基酰基、C₁-6 烷基氨基酰基或二-C₁-6 烷基氨基酰基的取代基所取代;

R⁴ 选自氢或 C₁-6 烷基;

R⁵ 选自以下基团:



另一方面，本发明提供了式(III)的化合物或其药学上可接受的盐：



(III)

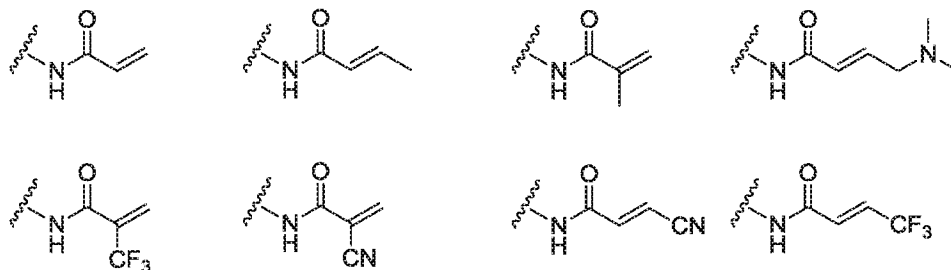
Y 选自 C;

X 选自 CH₂, NH, 和 O;

M 与嘧啶环(Y=C)组成稠合杂芳基或杂环基, M 选自与嘧啶环稠合的杂芳基或杂环基, 优选包括嘧啶环在内的 C5-C10 的杂芳基、C4-C10 杂环基、所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、氧代、卤素或 C1-6 卤代烷基的取代基所取代;

或者当 M 未与嘧啶环(Y=C)组成稠合杂芳基或杂环基, 则 Y 选自 C-Cl 和 C-CF₃;

R¹ 选自以下基团:

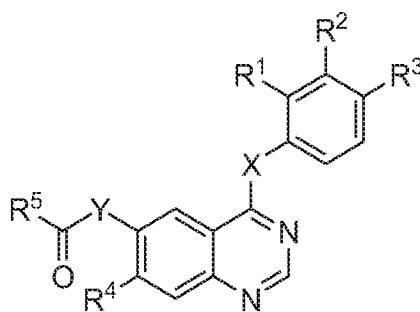


R³ 选自氢或 C1-6 烷基;

或者 R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基, 优选 C3-10 杂环基, 其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 烷基氨基、二-C1-6 烷基氨基、氧代、卤素、C1-6 卤代烷基、氨基酰基、C1-6 烷基氨基酰基或二-C1-6 烷基氨基酰基的取代基所取代;

R⁴、R⁵ 和 R⁶ 选自氢、硝基、氰基、羟基、卤素、C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基、烷基酰基、C1-6 烷基酰基、烷氧基酰基、C1-6 烷氧基酰基、氨基酰基或 C1-6 烷基氨基酰基;

另一方面，本发明提供了式(IV)的化合物或其药学上可接受的盐：



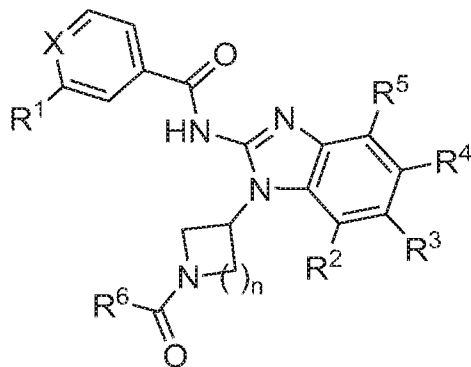
(IV)

X和Y选自O, NH;

R¹、R²、R³和R⁴选自选自氢、硝基、氰基、羟基、卤素、C1-6烷基、C1-6烷氧基、C1-6卤代烷基或C1-6卤代烷氧基、烷基酰基、C1-6烷基酰基、烷氧基酰基、C1-C6烷氧基酰基、氨基酰基或C1-6烷基氨基酰基;

R⁵选自C3-10杂环基,其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自C1-6烷基、C1-6烷氧基、C1-6烷基氨基、二-C1-6烷基氨基、氧代、卤素、C1-6卤代烷基、氨基酰基、C1-6烷基氨基酰基或二-C1-6烷基氨基酰基的取代基所取代;

另一方面,本发明提供了式(V)的化合物或其药学上可接受的盐:



(V)

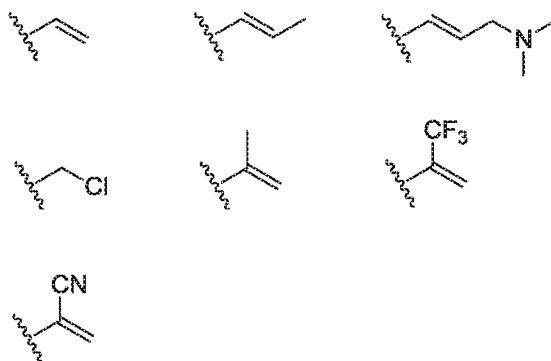
其中

X选自C和N;

R¹、R²、R³、R⁴和R⁵选自氢、硝基、氰基、羟基、卤素、C1-6烷基、C1-6烷氧基、C1-6卤代烷基或C1-6卤代烷氧基、烷基酰基、C1-6烷基酰基、烷氧基酰基、C1-C6烷氧基酰基、氨基酰基或C1-6烷基氨基酰基;

n选自1、2、3和4;

R⁶选自以下基团:



另一方面，本发明还提供了在需要这种治疗的温血动物例如人中产生抗癌作用的方法，其包括：向所述动物施用有效量的如上所述的式(II)、式(III)、式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐。

另一方面，本发明还提供了如上所述的式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐和另外的抗肿瘤物质的用途，用于癌症的同时、独立或序贯治疗。

另一方面，本文提供了药物组合物，其包含如上所述的式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的稀释剂或载体。

另一方面，本文提供了如上所述的式(II)的化合物或其药学上可接受的盐，其用作药物。

另一方面，本文还提供了在需要这种治疗的温血动物例如人中产生抗癌作用的方法，其包括：向所述动物施用有效量的如上所述的式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐。另一方面，本文还提供一种 EGFR 外显子 20 插入突变的抑制剂和/或 HER2 外显子 20 插入突变的抑制剂和/或 HER4 激酶抑制剂，所述抑制剂中包含如上所述的式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐。

另一方面，本文还提供了如上所述的式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐在制备 EGFR 20 外显子突变的抑制剂和/或 HER2 外显子 20 插入突变的抑制剂和/或 HER4 激酶抑制剂中的应用。

另一方面，本文还提供了如上所述的组合物，其用于抑制 EGFR20 外显子突变的 EGFR 激酶的活性、和/或 20 外显子突变的 HER2 激酶的活性、和/或 HER4 激酶的活性。

在一个优选的实施方案中，本文还提供一种抑制 EGFR 或 HER2 或 HER4 途径的方法，其包括：向有此需要的受试者给药上述本文所述的化合物。

本文在一个优选的实施方案中，所述癌症选自：卵巢癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、黑色素瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、肺癌、肝细胞癌、胃癌、胃肠道间质瘤、甲状腺癌、胆管癌、子宫内膜癌、肾癌、间变性大细胞淋巴瘤、急性髓细胞白血病、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、间皮瘤。

在一个优选的实施方案中，所述癌症为非小细胞肺癌。

在一个优选的实施方案中，本文还提供一种用于治疗癌症的方法，其包括：向有此需要

的受试者给药上述本文所述的化合物。

在一个优选的实施方案中，本文还提供一种抑制 EGFR(也称为 HER1)或 HER2 或 HER4 途径的方法，其包括：向有此需要的受试者给药上述本文所述的化合物。

在上述实施方案中，受试者可以是哺乳动物或人。

具体实施方式

定义

在本文中，下列术语具有以下所述的含义：

单独或与其他基团组合的术语“烷基”表示由碳和氢原子组成的直链或支链的单价饱和烃基团。“C₁₋₆ 烷基”表示具有 1 至 6 个碳原子的支链或直链烷基，例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、正己基。

单独或与其他基团组合的术语“亚烷基”表示由碳和氢原子组成的直链或支链的二价饱和烃基团。“C₁₋₆ 亚烷基”表示具有 1 至 6 个碳原子的支链或直链烷基，例如亚甲基、亚乙基、亚丙基等。

单独或与其他基团组合的术语“烷氧基”表示基团 R'-O-，其中 R' 是如上所述的烷基。“C₁₋₆ 烷氧基”表示基团 R'-O-，其中 R' 是如上所述的 C₁₋₆ 烷基。

“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

“卤代烷基”表示被一个或多个卤素取代的如上所定义的烷基，例如 C₁₋₆ 卤代烷基。卤代烷基的非限定性实例包括氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、氯甲基、二氯甲基、三氯甲基、五氟乙基、七氟丙基、二氟氯甲基、二氯氟甲基、二氟乙基、二氟丙基、二氯乙基和二氯丙基。全卤代烷基是指全部氢原子都被卤素原子代替的烷基，例如三氟甲基。

“卤代烷氧基”表示一个或多个被卤素取代的如上定义的烷基 (R'-O-)，其中 R' 如上所述的烷基，例如 C₁₋₆ 卤代烷氧基。卤代烷氧基的非限定性实例包括氟甲氧基、二氟甲氧基、氯甲氧基、二氯甲氧基等。

术语“环烷基”是指 4-7 元单环饱和烃环系。环烷基基团可以任选地被一个或多个本文所定义的取代基取代。环烷基包括环丁基、环戊基、环己基和环庚基。

术语“环烯基”是指 5-7 元单环不饱和(但是非芳香性)烃环系。环烯基基团可以任选地被一个或多个本文所定义的取代基取代。环烯基包括环戊烯基、环己烯基和环庚烯基。

术语“芳基”是指含有碳原子的单环或稠合双环的芳香环。“C₆₋₁₀ 芳基”是指含有 6-10 个碳原子的芳基。例如，C₆₋₁₀ 芳基可以是苯基或萘基。

如本文所用，术语“杂原子”是指氮(N)、氧(O)和硫(S)原子。

术语“杂烷基”和“杂亚烷基”是指如上所述的烷基和亚烷基，其中的一个或多个碳原子被杂原子所替代。

如本文所用，除非另外指明，术语“杂芳基”是指 5-10 元的单环芳香环系或二环稠合芳香环系，其具有 1-4 个杂原子。杂芳基还可以指 8-10 元环系，其中杂芳环与一个苯基、环烷基、

环烯基或杂环基环稠合，其中连接基或连接点是在杂芳环上。杂芳基非限定性的实例包括 2-或 3-噻吩基；2-或 3-呋喃基；2-或 3-吡咯基；2-、4-或 5-咪唑基；3-、4-或 5-吡唑基；2-、4-或 5-噻唑基；3-、4-或 5-异噻唑基；2-、4-或 5-噁唑基；3-、4-或 5-异噁唑基；3-或 5-1,2,4-三唑基；4-或 5-1,2,3-三唑基；呋咱基；噻二唑基；四唑基；2-、3-或 4-吡啶基；3-或 4-哒嗪基；3-、4-或 5-吡嗪基；2-吡嗪基和 2-、4-或 5-嘧啶基；1-、2-、3-、5-、6-、7-或 8-喹啉基；1-、3-、4-、5-、6-或 7-异喹啉基；2-、3-、4-、5-、6-或 7-喹啉基；2-、3-、4-、5-、6-或 7-吲唑基；2-、4-、5-、6-、7-或 8-嘌呤基；1-、2-、3-、4-、6-、7-、8-或 9-喹啶基；2-、3-、4-、5-、6-、7-或 8-喹啶基；1-、3-、4-、5-、6-、7-或 8-异喹啶基；1-、4-、5-、6-、7-或 8-酞嗪基；2-、3-、4-、5-或 6-茶啶基；2-、3-、5-、6-、7-或 8-喹啶基；3-、4-、5-、6-、7-或 8-噌啶基；2-、4-、6-或 7-蝶啶基；1-、2-、3-、4-、5-、6-、7-或 8-4aH 吡啶基；1-、2-、3-、4-、5-、6-、7-或 8-吡啶基；1-、3-、4-、5-、6-、7-、8-或 9-吡啶基；1-、2-、3-、4-、6-、7-、8-、9-或 10-菲啶基；1-、2-、3-、4-、5-、6-、7-、8-或 9-吡啶基；1-、2-、4-、5-、6-、7-、8-或 9-萘嵌间二氮杂苯基；2-、3-、4-、5-、6-、8-、9-或 10-菲咯啶基；1-、2-、3-、4-、6-、7-、8-或 9-酚嗪基；1-、2-、3-、4-、6-、7-、8-、9-或 10-吩噻嗪基；1-、2-、3-、4-、6-、7-、8-、9-或 10-吩噻嗪基；2-、3-、4-、5-、6-或 1-、3-、4-、5-、6-、7-、8-、9-或 10-苯并异喹啶基；2-、3-、4-或噻吩并[2,3-b]呋喃基；2-、3-、5-、6-、7-、8-、9-、10-或 11-7H-吡嗪并[2,3-c]吡唑基；2-、3-、5-、6-或 7-2H-呋喃并[3,2-b]-吡喃基；2-、3-、4-、5-、7-或 8-5H-吡啶并[2,3-d]-o-噁嗪基；1-、3-或 5-1H-吡唑并[4,3-d]-噁唑基；2-、4-或 5-4H-咪唑并[4,5-d]噻唑基；3-、5-或 8-吡嗪并[2,3-d]哒嗪基；2-、3-、5-或 6-咪唑并[2,1-b]噻唑基；1-、3-、6-、7-、8-或 9-呋喃并[3,4-c]噌啶基；1-、2-、3-、4-、5-、6-、8-、9-、10 或 11-4H-吡啶并[2,3-c]吡啶基；2-、3-、6-或 7-咪唑并[1,2-b][1,2,4]三嗪基；7-苯并[b]噻吩基；2-、4-、5-、6-或 7-苯并噁唑基；2-、4-、5-、6-或 7-苯并咪唑基；2-、4-、4-、5-、6-或 7-苯并噻唑基；2-、4-、5-、6-、7-或 8-苯并噁嗪基。通常稠合的杂芳基基团还包括但不限于 2-、3-、4-、5-、6-、7-或 8-喹啶基；1-、3-、4-、5-、6-、7-或 8-异喹啶基；2-、3-、4-、5-、6-或 7-喹啶基；2-、3-、4-、5-、6-或 7-苯并[b]噻吩基；2-、4-、5-、6-或 7-苯并噁唑基；2-、4-、5-、6-或 7-苯并咪唑基；2-、4-、5-、6-或 7-苯并噻唑基；环庚二烯并[d]咪唑基；7,8-二氢-5H-吡喃并[4,3-d]嘧啶基；1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶基；噻吩并[3,2-d]嘧啶基；6,7-二氢-5H-环戊二烯并嘧啶基；5,6-二氢-噻唑并[2,3-c][1,2,4]三唑基；[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡啶基；7,8-二氢-5H-吡喃并[3,4-d]哒嗪基；和异噁唑并[5,4-b]吡啶基。

除非另外指明，包含超过一个杂原子的杂芳基基团可以包含不同的杂原子。杂芳基基团可以任选地被一个或多个本文所定义的取代基取代。

如本文所用的术语“杂环基”是指含有 1-4 个杂原子的 4-10 元单环或二环的饱和或不饱和环，包括桥联的杂环或螺环。杂环基环不是芳香性的。包含超过一个杂原子的杂环基可以包含不同的杂原子。杂环基基团可以任选地被一个或多个本文所定义的取代基取代。杂环基的实例包括四氢呋喃、二氢呋喃、1,4-二噁烷、吗啉、1,4-二噻烷、哌嗪、哌啶、1,3-二氧杂环

戊烷、咪唑烷、咪唑啉、吡咯啉、吡咯烷、四氢吡喃、二氢吡喃、氮杂环丁烷、氧杂硫杂环戊烷、二硫杂环戊烷、1,3-二噁烷、1,3-二噻烷、氧杂硫杂环己烷、硫吗啉等。杂环基与分子的其他部分可以直接连接，也可以通过 C₁₋₆ 亚烷基或 C₁₋₆ 杂亚烷基链进行连接。

当任何基团或部分(例如烷基、芳基、杂芳基或杂环基)被本文定义为“任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代”时，应当理解，所述基团或部分是被未取代的或者被一个、一个或两个、或者一至三个取代基取代，其中各个取代基独立地选自所述取代基的组。

在本文中，所述的任选被取代的杂芳基或杂环基的实例包括但不限于 4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基、1H-咪唑-3-基、1-甲基-1H-咪唑-3-基和吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基、(3R)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、(3S)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、3-(二甲氨基)氮杂环丁烷-1-基、5-甲基-2,5-二氮杂螺环[3.4]辛-2-基、(3aR, 6aR)-5-甲基六氢-吡咯并[3,4-b]吡咯-1(2H)-基、1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、4-甲基哌嗪-1-基、4-[2-(二甲氨基)-2-氧代乙基]哌嗪-1-基、甲基[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]氨基、甲基[2-(吗啉-4-基)乙基]氨基、1-氨基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、或 4-[(2S)-2-氨基丙酰基]哌嗪-1-基。

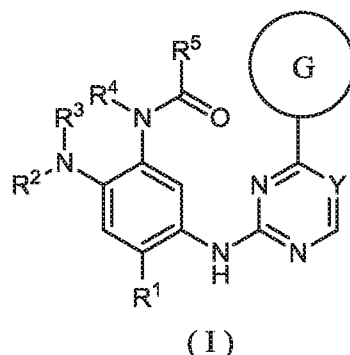
术语“酰基”是指基团-CO-R，其中 R 为如上所述的烷基、芳基、杂芳基或杂环基。

术语“氧代”是指基团(=O)。

在本说明书的上下文中，除非有相反的指示，术语“治疗”也包含“预防”。本文中使用的术语“治疗”意在具有其如下的普通含义：处理疾病以完全地或部分地缓解其症状中的一种、部分或全部，或者纠正或补偿潜在的病理。本文中使用的术语“预防”意在具有其正常日常含义，并且包括防止疾病发展的初级预防和防止已发生疾病的二级预防，暂时或持续地防止患者疾病的加剧或恶化或者与疾病相关的新症状的发生。

本文的化合物

本文的第一方面提供了式(I)的化合物或其药学上可接受的盐：



其中

Y 选自 C, N, C-CF₃, 和 C-Cl;

G 选自芳基、杂芳基或杂环基，优选 C₆₋₁₀ 芳基、C₅₋₁₀ 杂芳基或 C₄₋₁₀ 杂环基，所述芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、氧代、卤素或 C₁₋₆ 卤代烷基的取代基所取代；

R^1 选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤素、 C_{1-6} 卤代烷基和 C_{1-6} 卤代烷氧基；

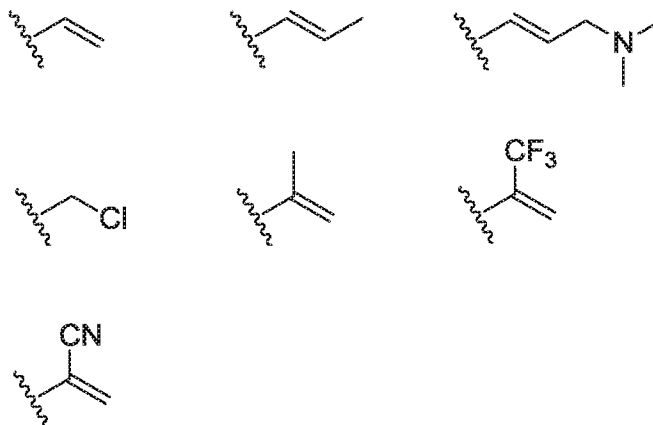
R^2 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 杂烷基、 C_{6-10} 芳基、 C_{5-10} 杂芳基、 C_{4-10} 杂环基、 C_{6-10} 芳基- C_{1-6} 亚烷基、 C_{5-10} 杂芳基- C_{1-6} 亚烷基、或 C_{4-10} 杂环基- C_{1-6} 亚烷基，其中所述烷基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基氨基、二- C_{1-6} 烷基氨基、氧代、卤素、 C_{1-6} 卤代烷基、氨基酰基、 C_{1-6} 烷基氨基酰基或二- C_{1-6} 烷基氨基酰基的取代基所取代；

R^3 选自氢或 C_{1-6} 烷基；

或者 R^2 和 R^3 与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基，优选 C_{3-10} 杂环基，其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基氨基、二- C_{1-6} 烷基氨基、氧代、卤素、 C_{1-6} 卤代烷基、氨基酰基、 C_{1-6} 烷基氨基酰基或二- C_{1-6} 烷基氨基酰基的取代基所取代；

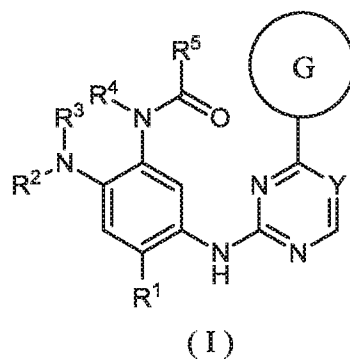
R^4 选自氢或 C_{1-6} 烷基；

R^5 选自以下基团：



在一个优选的实施方案中， R^2 和 R^3 与它们所连接的氮原子一起形成选自下述的基团：
 (3R)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、(3S)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、3-(二甲氨基)氮杂环丁烷-1-基、[2-(二甲氨基)乙基](甲基)氨基、[2-(甲氨基)乙基](甲基)氨基、5-甲基-2,5-二氮杂螺环[3.4]辛-2-基、(3aR, 6aR)-5-甲基六氢-吡咯并[3,4-b]吡咯-1(2H)-基、1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、4-甲基哌嗪-1-基、4-[2-(二甲氨基)-2-氧代乙基]哌嗪-1-基、甲基[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]氨基、甲基[2-(吗啉-4-基)乙基]氨基、1-氨基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、或 4-[(2S)-2-氨基丙酰基]哌嗪-1-基。

在一个更优选的实施方案中，本文提供了式(I)的化合物或其药学上可接受的盐：



其中

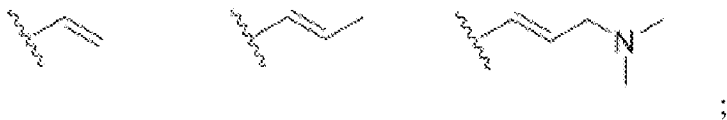
Y 选自 C, N, C-CF₃, 和 C-Cl;

G 选自 4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基, 3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-1-基, 1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-1-基, 1H-吲哚-3-基, 3-甲基-1H-吲哚-1-基, 1H-苯并[d]咪唑-1-基, 1H-咪唑-1-基, 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 3-甲基-1H-咪唑-1-基, 5-氟-3-甲基-1H-咪唑-1-基, 3-甲基-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基, 6-氟-3-甲基-1H-咪唑-1-基, 8-甲基-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-三氟甲基-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 3-氟-1H-咪唑-1-基, 1-甲基-1H-吲哚-3-基, 咪唑并[1,5-a]吡啶-3-基和 8-碘-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 4-氟-3-甲氧基苯氧基, 5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基, 5-氟代-1-甲基-1H-吲哚-3-基, 6-氟-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基、5-氟-1-甲基-1H-吲哚-3-基;

R¹ 选自甲氧基、甲基、氯、氟、二氟甲氧基、三氟乙氧基、三氟甲基;

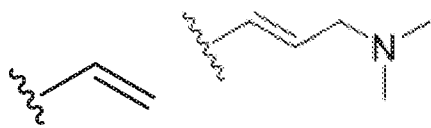
R⁴ 是氢;

R⁵ 是以下基团:



在一个更优选的实施方案中, Y 选自 C, N.

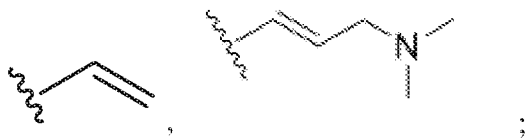
在一个更优选的实施方案中, R⁵ 是以下基团:



R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成选自下述的基团: (3R)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、(3S)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、3-(二甲氨基)氮杂环丁烷-1-基、[2-(二甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、[2-(甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、5-甲基-2,5-二氮杂螺环[3.4]辛-2-基、(3aR, 6aR)-5-甲基六氢-吡咯并[3,4-b]吡咯-1(2H)-基、1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、4-甲基哌嗪-1-基、4-[2-(二甲氨基)-2-氧代乙基]哌嗪-1-基、甲基[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]氨基、甲基[2-(吗啉-4-基)乙基]

氨基、1-氨基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、或 4-[(2S)-2-氨基丙酰基]哌嗪-1-基。

在一个更优选的实施方案中，Y 选自 C, N;



R⁵ 是以下基团:

G 选自 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 3-氟-1H-吡啶-1-基, 8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-碘-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-三氟甲基-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 4-氯-3-甲氧基苯氧基, 5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基, 5-氯代-1-甲基-1H-吡啶-3-基, 6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基, 5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基。

R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成选自下述的基团: (3R)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、(3S)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、3-(二甲氨基)氮杂环丁烷-1-基、[2-(二甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、[2-(甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、5-甲基-2,5-二氮杂螺环[3.4]辛-2-基、(3aR, 6aR)-5-甲基六氢-吡咯并[3,4-b]吡啶-1(2H)-基、1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、4-甲基哌嗪-1-基、4-[2-(二甲氨基)-2-氧代乙基]哌嗪-1-基、甲基[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]氨基、甲基[2-(吗啉-4-基)乙基]氨基、1-氨基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、或 4-[(2S)-2-氨基丙酰基]哌嗪-1-基。

在一个更优选的实施方案中，Y 选自 N;



R⁵ 是以下基团:

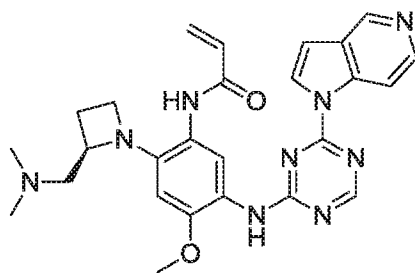
G 选自 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 3-氟-1H-吡啶-1-基, 8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-碘-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-三氟甲基-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 4-氯-3-甲氧基苯氧基, 5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基, 5-氯代-1-甲基-1H-吡啶-3-基, 6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基, 5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基;

R¹ 选自甲氧基、二氟甲氧基、三氟乙氧基、三氟甲基;

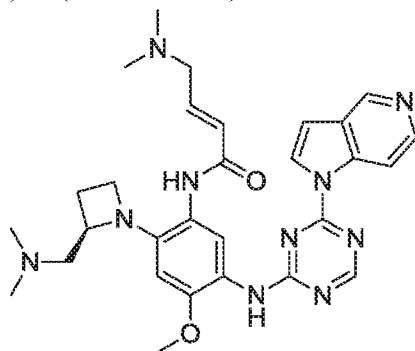
R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成选自下述的基团: (3R)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、(3S)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、3-(二甲氨基)氮杂环丁烷-1-基、[2-(二甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、[2-(甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、5-甲基-2,5-二氮杂螺环[3.4]辛-2-基、(3aR, 6aR)-5-甲基六氢-吡咯并[3,4-b]吡啶-1(2H)-基、1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、4-甲基哌嗪-1-基、4-[2-(二甲氨基)-2-氧代乙基]哌嗪-1-基、甲基[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]氨基、甲基[2-(吗啉-4-基)乙基]氨基、1-氨基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、或 4-[(2S)-2-氨基丙酰基]哌嗪-1-基。

根据本文第一方面所述的式 (I) 化合物, 其选自如下化合物:

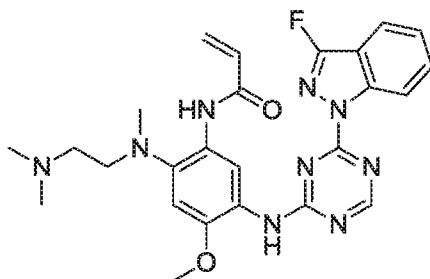
(R)-N-(5-((4-(1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 1);



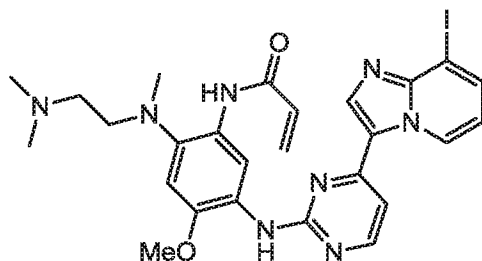
(R, E)-N-(5-((4-(1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)-4-(二甲基氨基)丁烯-2-酰胺 (化合物 2) ;



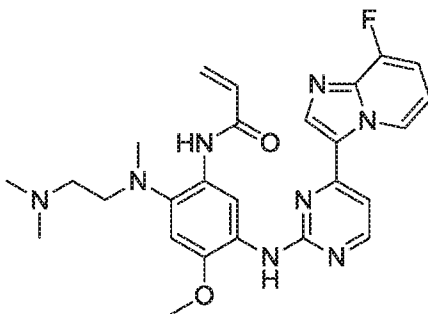
N-(2-(2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(3-氟代-1H-咪唑-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 3) ;



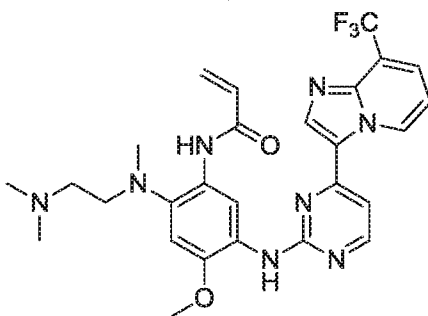
N-(2-(2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(8-碘代咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 4) ;



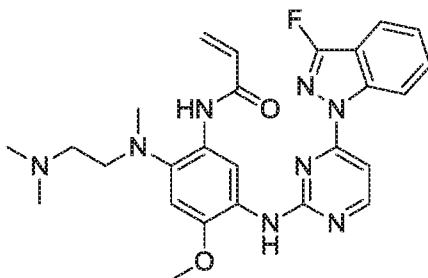
N-(2-(2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 5) ;



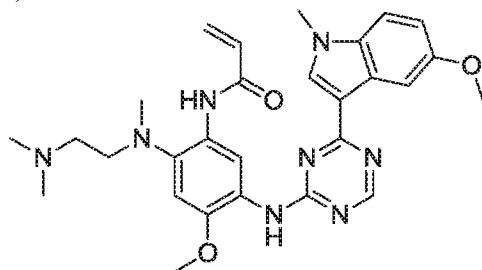
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(8-三氟甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 6) ;



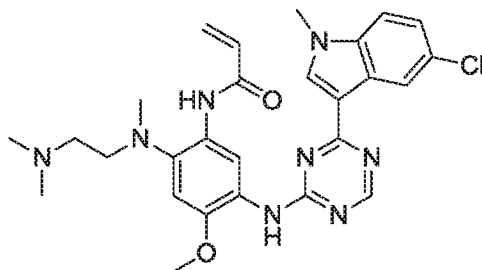
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(3-氟代-1H-咪唑-1-基)嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 7) ;



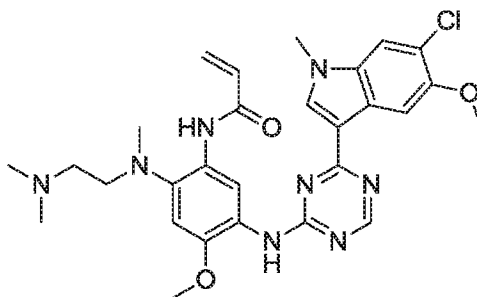
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 8) ;



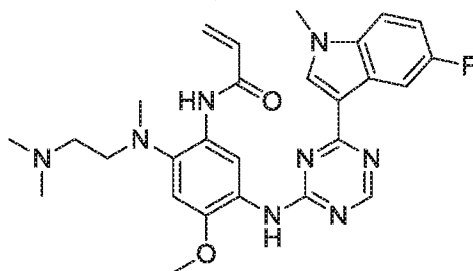
N-(5-((4-(5-氯代-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 9) ;



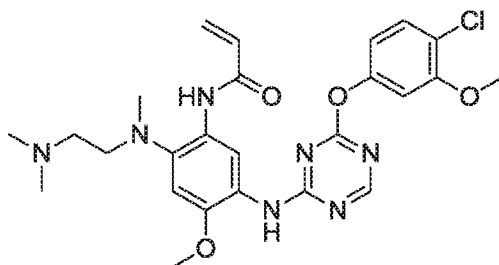
N-(5-((4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(化合物10);



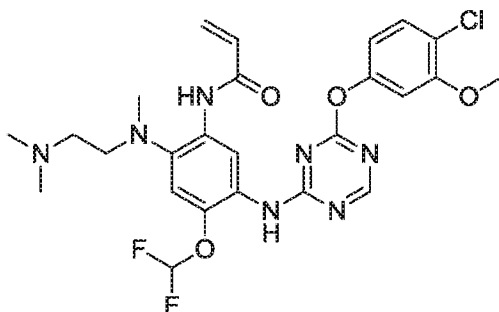
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(化合物11);



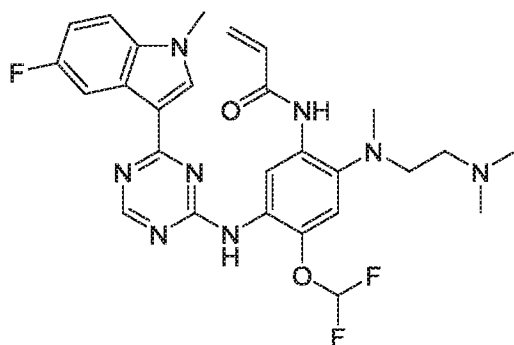
N-(5-((4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(化合物12);



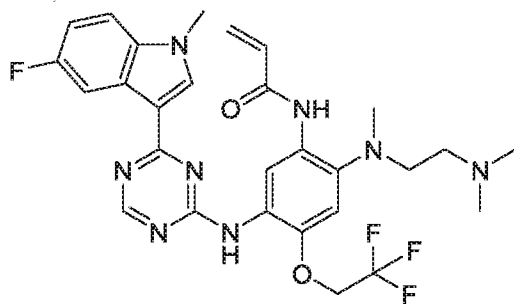
N-(5-((4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-(二氟甲氧基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物13);



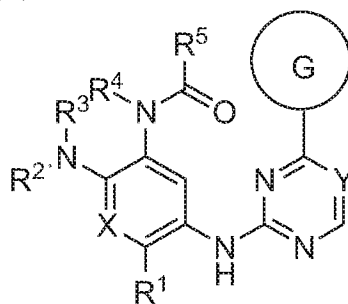
N-(4-(二氟甲氧基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物14);



N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 15) ;



另一方面, 本发明提供了式(II)的化合物或其药学上可接受的盐:



(II)

其中

Y 选自 C, N, C-CF₃, 和 C-Cl;

X 选自 C 和 N;

G 选自芳基、杂芳基或杂环基, 优选 C₆₋₁₀ 芳基、C₅₋₁₀ 杂芳基或 C₄₋₁₀ 杂环基, 所述芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、氧代、卤素、C₆₋₁₀ 芳基、C₅₋₁₀ 杂芳基或 C₄₋₁₀ 杂环基、C₁₋₆ 卤代烷基或 C₁₋₆ 胺基烷基的取代基所取代;

R¹ 选自氢、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、卤素、C₁₋₆ 卤代烷基或 C₁₋₆ 卤代烷氧基;

R² 选自 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 杂烷基、C₆₋₁₀ 芳基、C₅₋₁₀ 杂芳基、C₄₋₁₀ 杂环基、C₆₋₁₀ 芳基-C₁₋₆ 亚烷基、C₅₋₁₀ 杂芳基-C₁₋₆ 亚烷基、或 C₄₋₁₀ 杂环基-C₁₋₆ 亚烷基, 其中所述烷基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₁₋₆ 烷基氨基、二-C₁₋₆ 烷基氨基、氧代、卤素、C₁₋₆ 卤代烷基、氨基酰基、C₁₋₆ 烷基氨基酰基或二

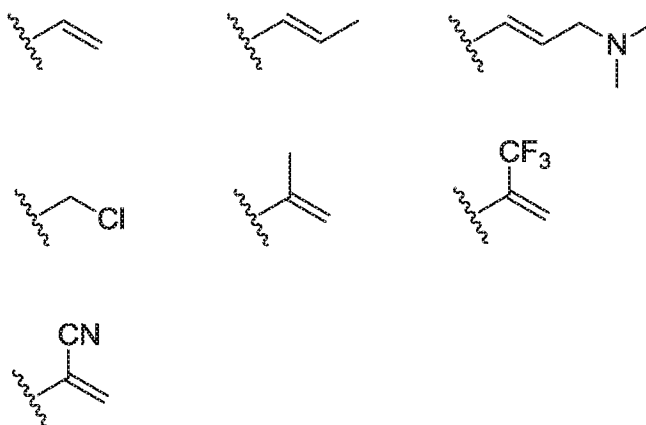
-C1-6 烷基氨基酰基的取代基所取代;

R^3 选自氢或 C1-6 烷基;

或者 R^2 和 R^3 与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基, 优选 C3-10 杂环基, 其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 烷基氨基、二-C1-6 烷基氨基、氧代、卤素、C1-6 卤代烷基、氨基酰基、C1-6 烷基氨基酰基或二-C1-6 烷基氨基酰基的取代基所取代;

R^4 选自氢或 C1-6 烷基;

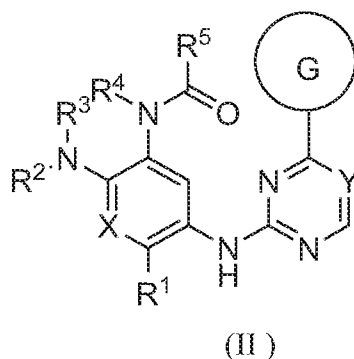
R^5 选自以下基团:



在一个优选的实施方案中, R^2 和 R^3 与它们所连接的氮原子一起形成选自下述的基团:
 (3R)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、(3S)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、3-(二甲氨基)氮杂环丁烷-1-基、[2-(二甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、[2-(甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、5-甲基-2,5-二氮杂螺环[3.4]辛-2-基、(3aR, 6aR)-5-甲基六氢-吡咯并[3,4-b]吡咯-1(2H)-基、1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、4-甲基哌嗪-1-基、4-乙酰基-哌嗪-1-基、吗啉-1-基、4-[2-(二甲氨基)-2-氧代乙基]哌嗪-1-基、甲基[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]氨基、甲基[2-(吗啉-4-基)乙基]氨基、1-氨基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、或 4-[(2S)-2-氨基丙酰基]哌嗪-1-基。

G 选自 4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基, 3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-1-基, 1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-1-基, 1H-吡啶-3-基, 3-甲基-1H-吡啶-1-基, 1H-苯并[d]咪唑-1-基, 1H-咪唑-1-基, 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 3-甲基-1H-咪唑-1-基, 5-氟-3-甲基-1H-咪唑-1-基, 3-甲基-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基, 6-氟-3-甲基-1H-咪唑-1-基, 8-甲基-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-三氟甲基-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 3-氟-1H-咪唑-1-基, 1-环丙基-1H-咪唑-3-基, 1-甲基-1H-咪唑-3-基和吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基, 8-三氟甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-碘代咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 5-氟代-1-甲基-1H-咪唑-3-基, 4-((二甲基氨基)甲基)-3-苯基-1H-咪唑-1-基, 5-氟代-1-甲基-1H-咪唑-3-基, 5-甲氧基-1-甲基-1H-咪唑-3-基, 6-氟-5-甲氧基-1-甲基-1H-咪唑-3-基, 4-氟-3-甲氧基苯氧基;

在一个更优选的实施方案中, 本发明提供了式(II)的化合物或其药学上可接受的盐:



其中

Y 选自 C, N, C-CF₃, 和 C-Cl;

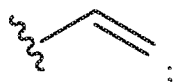
X 选自 C 和 N;

G 选自 1-甲基-1H-吡唑-3-基, 1-环丙基-1H-吡唑-3-基, 3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-1-基, 3-甲基-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 4-(1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-基), 8-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-3-基, 8-碘代咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-三氟甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 5-氟代-1-甲基-1H-吡唑-3-基, 4-((二甲基氨基)甲基)-3-苯基-1H-吡唑-1-基, 5-氟代-1-甲基-1H-吡唑-3-基, 5-甲氧基-1-甲基-1H-吡唑-3-基, 6-氟-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡唑-3-基, 4-(4-氟-3-甲氧基苯氧基)。

R¹ 选自甲氧基、乙氧基、二氟甲氧基和 2,2,2-三氟乙氧基;

R⁴ 是氢;

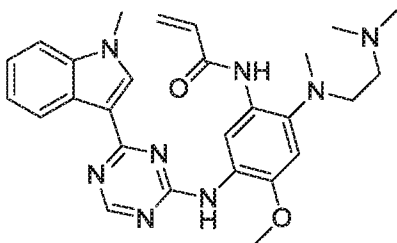
R⁵ 是以下基团:



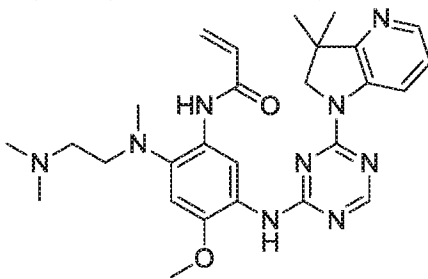
R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成选自下述的基团: 3-(二甲氨基)氮杂环丁烷-1-基、[2-(二甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、[2-(甲氨基)乙基](甲基)氨基、4-乙酰基-哌嗪-1-基、吗啉-1-基、4-甲基哌嗪-1-基、4-[2-(二甲氨基)-2-氧代乙基]哌嗪-1-基、甲基[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]氨基、甲基[2-(吗啉-4-基)乙基]氨基、1-氨基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、或 4-[(2S)-2-氨基丙酰基]哌嗪-1-基。

根据本发明第一方面所述的式 (II) 化合物, 其化学合成和制备可以参考 Zeng, QB 等发表在 Journal of Medicinal Chemistry, 2015, 58, 8200-8215 的文章, 以及专利 WO2018/210246(A1), CN105461695A, CN201410365911A, CN201610126987A, CN109761960 和 CN106928200A, 其选自如下化合物:

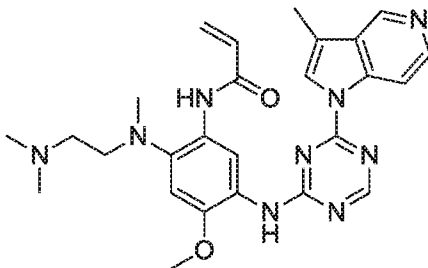
N-(2-((2-(二甲氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 16);



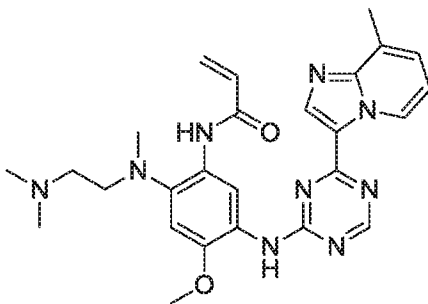
N-(5-((4-(3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(化合物17);



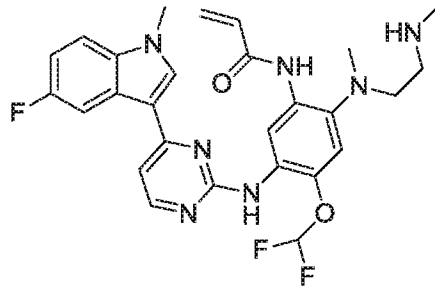
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(3-甲基-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物18);



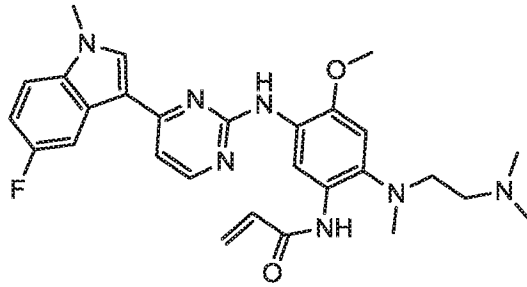
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(8-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物19);



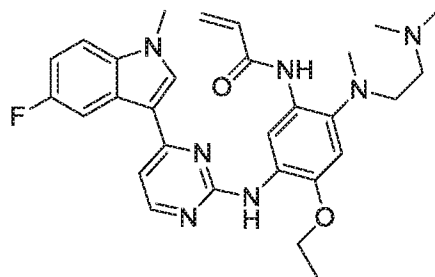
N-(4-(二氟甲氧基)-5-((4-(5-氟代-1-甲基-1H-咪唑[3,2-b]吡啶-3-基)氨基)-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物20);



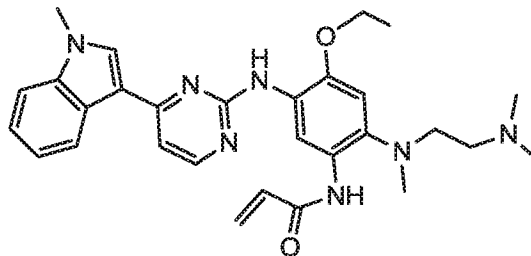
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟代-1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 21) ;



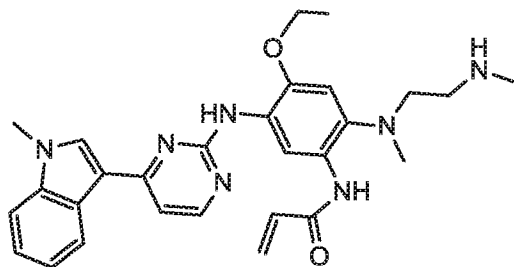
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-乙氧基-5-((4-(5-氟代-1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 22) ;



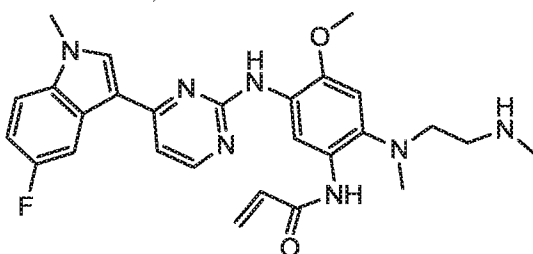
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-乙氧基-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 23) ;



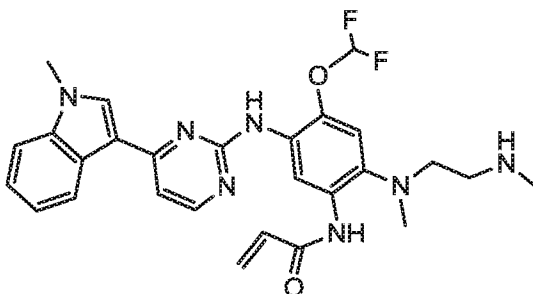
N-(4-乙氧基-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 24) ;



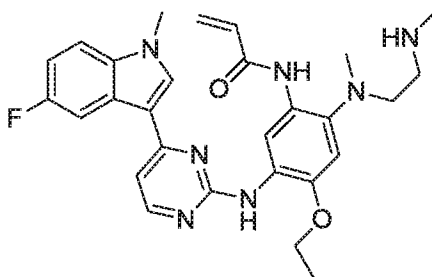
N-(5-((4-(5-氟代-1-甲基-1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧基-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 25);



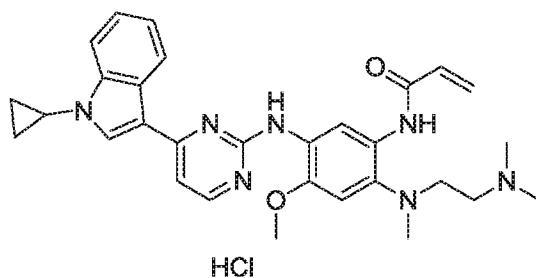
N-(4-(二氟甲氧基)-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)-5-((4-(1-甲基-1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 26);



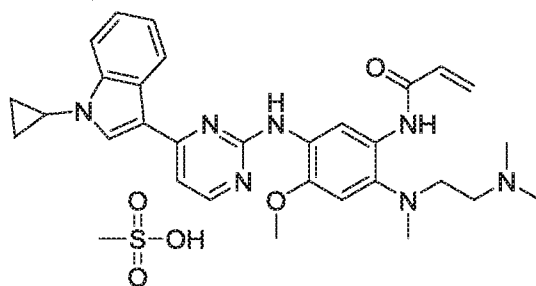
N-(4-乙氧基-5-((4-(5-氟代-1-甲基-1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-基)氨基)-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 27);



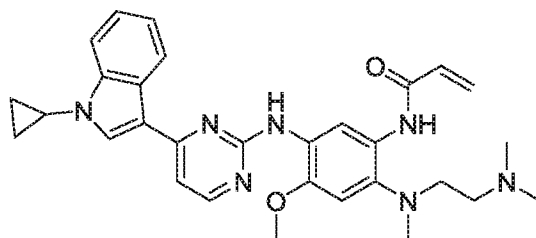
N-(5-((4-(1-环丙基-1H-吲哚)嘧啶-2-基)-2-((2-(二甲基胺基)乙基(甲基)胺基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺盐酸盐 (化合物 28);



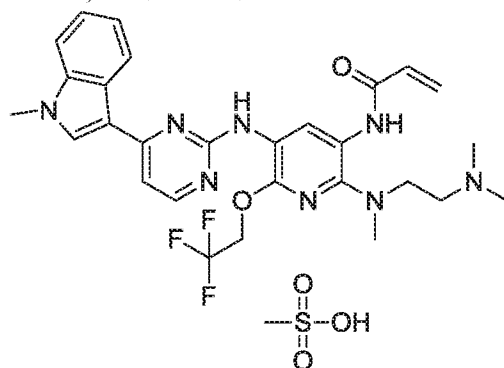
N-(5-((4-(1-环丙基-1H-咪唑)嘧啶-2-基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺甲磺酸盐 (化合物 29) ;



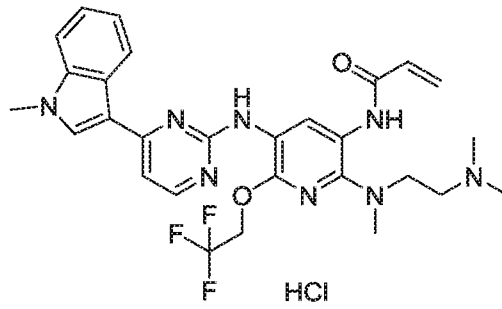
N-(5-((4-(1-环丙基-1H-咪唑)嘧啶-2-基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 30) ;



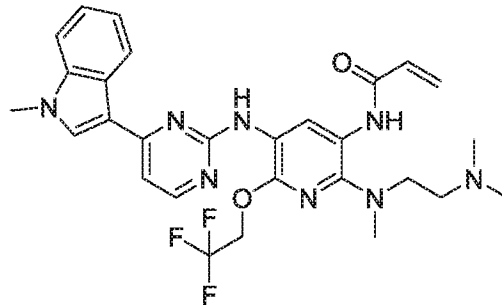
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)胺基)-6-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-3-基)丙烯酰胺甲磺酸盐 (化合物 31) ;



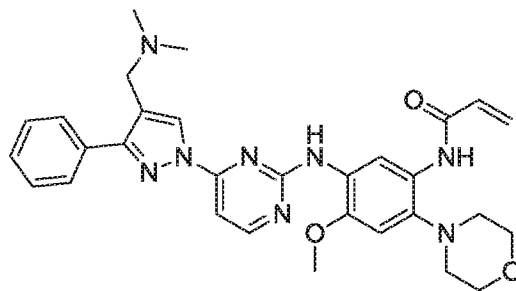
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)胺基)-6-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-3-基)丙烯酰胺盐酸盐 (化合物 32) ;



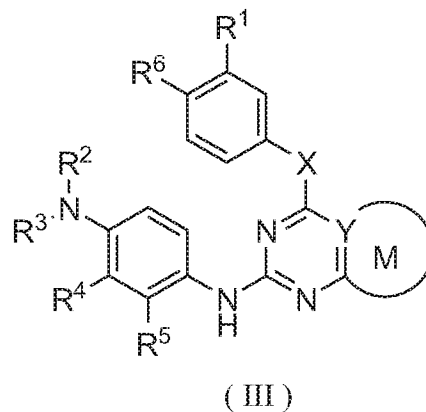
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)胺基)-6-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-3-基)丙烯酰胺 (化合物 33)



N-(5-((4-(4-((二甲基氨基)甲基)-3-苯基-1H-吡唑-1-基)嘧啶-2-基)胺基)-4-甲氧基-2-吗啉基苯基)丙烯酰胺 (化合物 34) ;



另一方面, 本发明提供了式(III)的化合物或其药学上可接受的盐:



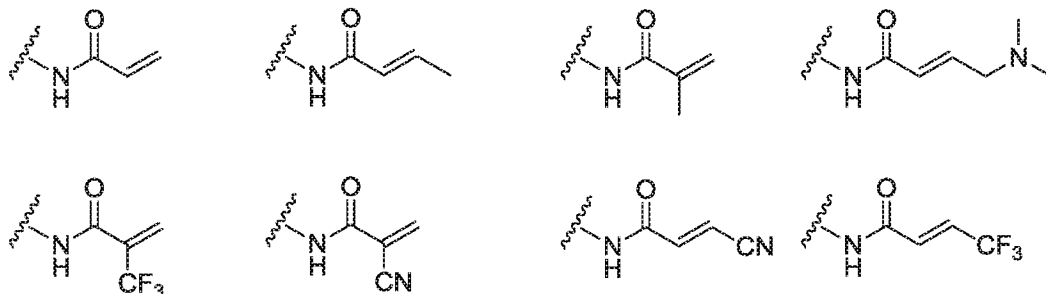
Y 选自 C;

X 选自 CH₂, NH, 和 O;

M 与嘧啶环(Y=C)组成稠合杂芳基或杂环基, M 选自与嘧啶环稠合的杂芳基或杂环基, 优选包括嘧啶环在内的 C5-C10 的杂芳基、C4-C10 杂环基、所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、氧代、卤素或 C1-6 卤代烷基的取代基所取代;

或者当 M 未与嘧啶环(Y=C)组成稠合杂芳基或杂环基, 则 Y 选自 C-Cl 和 C-CF₃;

R¹ 选自以下基团:



R³ 选自氢或 C1-6 烷基;

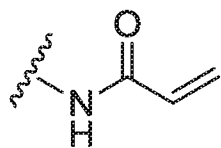
或者 R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基, 优选 C3-10 杂环基, 其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 烷基氨基、二-C1-6 烷基氨基、氧代、卤素、C1-6 卤代烷基、氨基酰基、C1-6 烷基氨基酰基或二-C1-6 烷基氨基酰基的取代基所取代;

R⁴、R⁵ 和 R⁶ 选自氢、硝基、氰基、羟基、卤素、C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基、烷基酰基、C1-6 烷基酰基、烷氧基酰基、C1-6 烷氧基酰基、氨基酰基或 C1-6 烷基氨基酰基;

在一个优选的实验方案中, 当 Y 选自 C 时, M 与嘧啶环组成的稠合杂芳环选自 7H-吡唑并[2,3-d]嘧啶基、噻吩并[3,2-d]嘧啶基;

X 选自 O;

R1 选自以下基团:



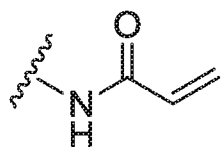
R² 和 R³ 选自与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基, 4-甲基哌嗪-1-基、4-乙酰基-哌嗪-1-基;

R⁴、R⁵ 和 R⁶ 选自氢、氟、氯、甲氧基;

在另一个优选的实验方案中, Y 选自 C-CF₃, M 未与嘧啶环组成稠合杂芳环;

X 选自 NH, O;

R1 选自以下基团:



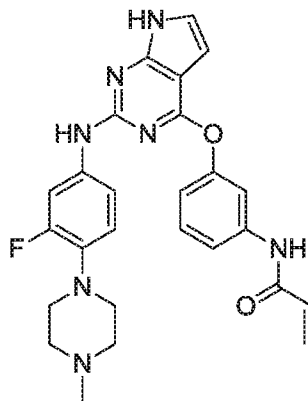
R² 和 R³ 选自与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基, 4-甲基哌嗪-1-基、4-乙酰

基-哌嗪-1-基;

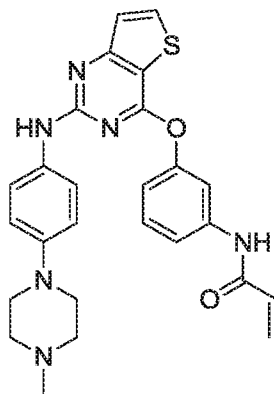
R⁴和R⁵选自氢、氟、氯、甲氧基。

根据本发明第二方面所述的式(III)化合物,其化合物化学合成和制备可以参考Chen, LF等发表在Journal of Medicinal Chemistry, 2018, 61, 4290-4300的文章和参考文献,其选自如下化合物:

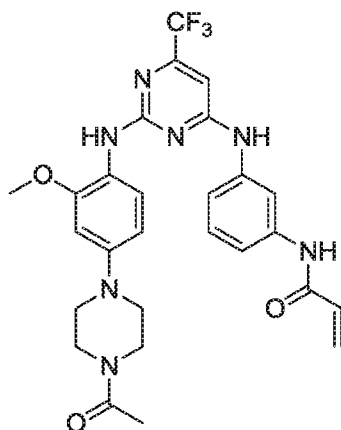
N-(3-((2-((3-氟-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)氨基)-7H-吡唑[2,3-d]嘧啶-4-基)氧代)苯基)丙烯酰胺(化合物35);



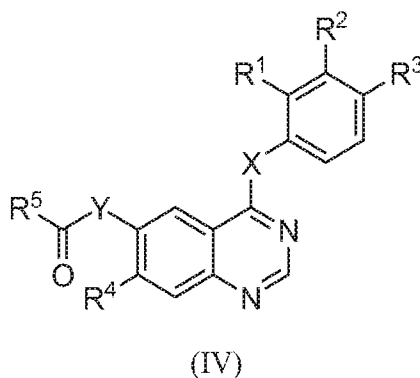
N-(3-((2-((4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)氨基)噻吩并[3,2-d]嘧啶-4-基)氧代)苯基)丙烯酰胺(化合物36);



N-(3-((2-((4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-6-(三氟甲氧基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物37);



另一方面，本发明提供了式(IV)的化合物或其药学上可接受的盐：



X 和 Y 选自 O, NH;

R¹、R²、R³ 和 R⁴ 选自选自氢、硝基、氰基、羟基、卤素、C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基、烷基酰基、C1-6 烷基酰基、烷氧基酰基、C1-6 烷氧基酰基、氨基酰基或 C1-6 烷基氨基酰基；

R⁵ 选自 C3-10 杂环基，其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 烷基氨基、二-C1-6 烷基氨基、氧代、卤素、C1-6 卤代烷基、氨基酰基、C1-6 烷基氨基酰基或二-C1-6 烷基氨基酰基的取代基所取代；

在一个优选的方案中，X 选自 NH，Y 选自 O；

R¹、R²、R³ 和 R⁴ 选自氢、卤素、C1-6 烷氧基；

R⁵ 选自-(二甲氨基)氮杂环丁烷-1-基、[2-(二甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、[2-(甲氨基)乙基](甲基)氨基、4-乙酰基-哌嗪-1-基、吗啉-1-基、4-甲基哌嗪-1-基、4-[2-(二甲氨基)-2-氧代乙基]哌嗪-1-基、甲基[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]氨基、甲基[2-(吗啉-4-基)乙基]氨基、1-氨基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、或 4-[(2S)-2-氨基丙酰基]哌嗪-1-基、(2R)-2,4-二甲基哌嗪基-1-基；

在另一个更优选的方案中，X 选自 NH，Y 选自 O；

R¹ 选自 F；

R² 选自 Cl；

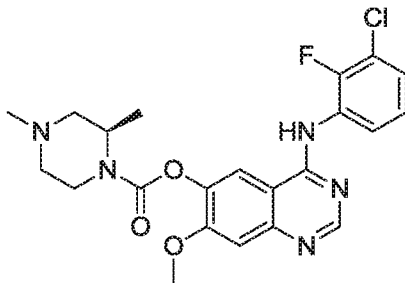
R³ 选自 H；

R⁴选自甲氧基;

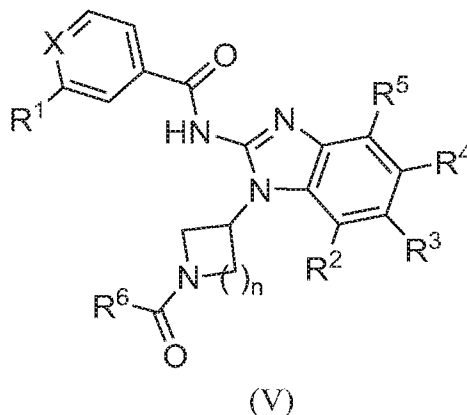
R⁵选自(2R)-2,4-二甲基哌嗪基-1-基;

根据本发明另一方面所述的式(IV)化合物,其化学合成可以参考 Zeng,QB 等发表在 Journal of Medicinal Chemistry, 2015, 58, 8200-8215 的文章,其选自如下化合物:

(R)-4-((3-氯-2-氟苯基)氨基)氨基)-7-甲氧基喹唑啉-6-基-2,4-二甲基哌嗪基-1-羧酸酯(化合物 38);



另一方面,本发明提供了式(V)的化合物或其药学上可接受的盐:



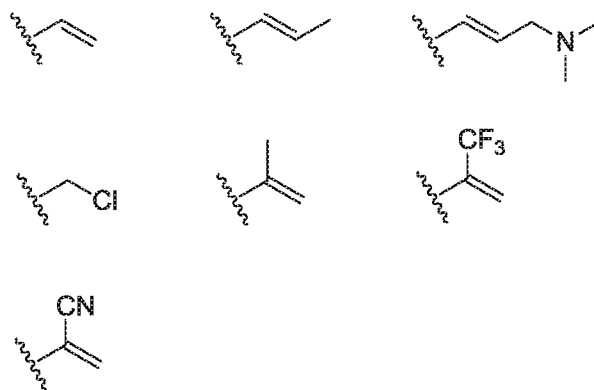
其中

X选自C和N;

R¹、R²、R³、R⁴和R⁵选自氢、硝基、氟基、羟基、卤素、C1-6烷基、C1-6烷氧基、C1-6卤代烷基或C1-6卤代烷氧基、烷基酰基、C1-6烷基酰基、烷氧基酰基、C1-C6烷氧基酰基、氨基酰基或C1-6烷基氨基酰基;

n选自1、2、3和4;

R⁶选自以下基团:



在一个优选的方案中，X选自N；

R^1 选自C1-6烷基；

R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 选自选自氢、卤素、C1-6烷氧基；

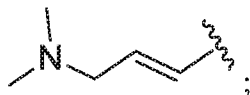
在另一个更优选的方案中， R^1 选自甲氧基；

R^2 选自F或Cl；

R^3 、 R^4 和 R^5 选自选自氢；

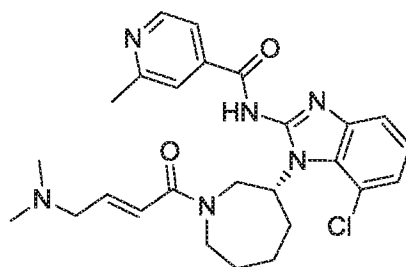
n选自4；

R^6 选自



根据本发明所述的式(V)化合物，其化学合成可以参考 Lelais, G 等发表在 Journal of Medicinal Chemistry, 2016, 59, 6671-6689 的文章，其选自如下化合物：

(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)-2-丁烯酰基)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺（化合物 39）；



另一方面，本发明还提供了在需要这种治疗的温血动物例如人中产生抗癌作用的方法，其包括：向所述动物施用有效量的如上所述的式(II)、式(III)、式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐。

另一方面，本发明还提供了如上所述的式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐和另外的抗肿瘤物质的用途，用于癌症的同时、独立或序贯治疗。

本领域技术人员应当理解，可以制备式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物的盐，包括药学上可接受的盐。这些盐类可以在所述化合物最终分离和纯化过程中原位制

备, 或者通过独立地分别将其游离酸或游离碱形式的纯化的化合物与适合的碱或酸反应制备。

可以与无机酸和有机酸形成药学上可接受的酸加成盐, 例如, 乙酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、溴化物/氢溴酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、樟脑磺酸盐、氯化物/盐酸盐、柠檬酸盐、乙二磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、马尿酸盐、氢碘化物/碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、茶甲酸盐、茶磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、硬脂酸盐、油酸盐、草酸盐、软脂酸盐、双羟萘酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、聚半乳糖醛酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、磺基水杨酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和三氟乙酸盐。

可以生成盐的无机酸包括, 例如, 盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。

可以生成盐的有机酸包括, 例如, 乙酸、丙酸、羟乙酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、甲苯磺酸、磺基水杨酸等。药学上可接受的碱加成盐可以与无机或有机碱形成。

可以生成盐的无机碱包括, 例如, 铵盐和元素周期表的 I 至 XII 族的金属。在某些实施方案中, 所述盐是衍生自钠、钾、铵、钙、镁、铁、银、锌和铜; 特别适合的盐包括铵盐、钾盐、钠盐、钙盐和镁盐。

可以生成盐的有机碱包括, 例如, 伯胺、仲胺和叔胺, 取代的胺包括天然产生的取代胺类, 环胺、碱离子交换树脂等。某些有机胺类包括异丙胺、二乙醇胺、二乙胺、赖氨酸、葡甲胺、哌嗪及氨基丁三醇。

本文的药学上可接受的盐能够通过常规的化学方法由碱性或酸性部分合成而来。通常, 这些盐能够通过将这些化合物的游离酸形式与化学量的合适的碱(Na、Ca、Mg 或 K 的氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等)反应、或者通过将这些化合物的游离碱形式与化学量的合适的酸反应而进行制备。这些反应通常在水中或在有机溶剂中、或在两者的混合物中进行。通常, 在适宜时, 需要使用非水介质, 例如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈。其它合适的盐的列表可在“Remington's Pharmaceutical Sciences”, 第 20 版, Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); 以及 Stahl 和 Wermuth 的“Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use”(Wiley-VCH, Weinheim, 德国, 2002)中找到。

还可以制备式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物的溶剂化物, 包括药学上可接受的溶剂化物。“溶剂化物”是指由溶质和溶剂形成的可变化学量的复合物。为了本文目的的此类溶剂不影响所述溶质的生物活性。适合溶剂的实例包括但不限于水、MeOH、EtOH 和 AcOH。其中水是溶剂分子的溶剂化物通常是指水合物。水合物包括包含化学计量的量的水的组分, 以及包含可变量的水的组分。

如本文所用, 术语“药学上可接受的”的含义是适用于药物用途的化合物。适用于药物的本文化合物的盐和溶剂化物(例如水合物和盐的水合物)是其中平衡离子或结合溶剂是药学上

可接受的那些。但是，具有非药学上可接受的平衡离子或结合溶剂的盐和溶剂化物也包含在本文范围内，例如，用作制备其它本文化合物和其药学上可接受的盐和溶剂化物的中间体。

式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物(包括其盐和溶剂化物)可以以结晶形式、非结晶形式或其混合物存在。所述化合物或其盐或溶剂化物还可以表现出多晶现象，即以不同结晶形式出现的能力。这些不同的结晶形式通常已知为“多晶型”。多晶型具有相同的化学组成，但是结晶固体状态的堆积、几何排列和其它描述特性不同。因此，多晶型可以具有不同的物理性质，例如形状、密度、硬度、变形性、稳定性和溶解度性质。多晶型通常表现出不同的熔点、IR光谱和X-射线粉末衍射图谱，其全部都可以用于鉴别。本领域技术人员能够了解，例如，通过改变或调整在式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物的结晶/重结晶中所使用的条件而可能产生不同的多晶型。

本文还包含式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物的不同异构体。“异构体”是指具有相同构成和分子量，但是物理和/或化学性质不同的化合物。结构的区别可以是在结构中(几何异构体)或者在旋转平面偏振光的能力上(立体异构体)。关于立体异构体，式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物可以具有一个或多个不对称碳原子，并可以以外消旋体、外消旋混合物以及以单个对映异构体或非对映异构体出现。全部此类异构体形式都包含在本文范围内，包括其混合物。如果所述化合物含有双键，取代基可以是E或Z构型。如果所述化合物包含二取代的环烷基，该环烷基的取代基可以具有顺式-或反式-构型。也期望包含全部的互变异构体形式。

式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物的任意不对称原子(例如碳等)都能够以外消旋或对映异构体富集存在，例如(R)-、(S)-或(R,S)-构型。在某些实施方案中，每一个不对称原子在(R)-或(S)-构型中有至少50%对映异构体过量、至少60%对映异构体过量、至少70%对映异构体过量、至少80%对映异构体过量、至少90%对映异构体过量、至少95%对映异构体过量、或至少99%对映异构体过量。如有可能，在具有不饱和双键的原子上的取代基以顺式-(Z)-或反式-(E)-形式存在。

因此，如本文所用，式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物能够是可能的异构体、旋转异构体、阻转异构体、互变异构体或其混合物之一的形式，例如作为基本上纯的几何异构体(顺式或反式)、非对映异构体、旋光异构体(对映异构体)、外消旋体或其混合物。

任何所得的异构体的混合物都能够基于组分的物理化学差异被分离成纯的或基本上纯的几何或旋光异构体、非对映异构体、外消旋体，例如通过色谱法和/或分步结晶。

任何所得的终产物或中间体的外消旋体能够通过已知的方法(例如通过其非对映体盐的分离)被拆分成旋光对映异构体，其用有光学活性的酸或碱获得，并且释放出有光学活性的酸性或碱性化合物。特别地，碱性部分因此可以用于将本文的化合物拆分成其旋光对映异构体，例如通过与有光学活性的酸(例如酒石酸、二苯甲酰酒石酸、二乙酰酒石酸、二-O,O'-对甲苯酰酒石酸、扁桃酸、苹果酸或樟脑-10-磺酸)形成的盐的分步结晶。外消旋产物也能够通过手性色谱法进行拆分，例如使用手性吸附剂的高压液相色谱法(HPLC)。

本文包括式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物的未标记的形式以及同位素标记的形式。同位素标记的化合物具有由本文所给出的化学式描述的结构,除了一个或多个原子被具有所选择的原子量或质量数的原子替换。能够被掺入本文化化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,分别例如 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}F 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{125}I 。本文包括如本文所定义的各种同位素标记的化合物,例如其中出现放射性同位素(例如 ^3H 和 ^{14}C)的那些或其中出现非放射性同位素(例如 ^2H 和 ^{13}C)的那些。这些同位素标记的化合物可用于代谢研究(例如使用 ^{14}C)、反应动力学研究(例如用 ^2H 或 ^3H)、检测或成像技术,例如正电子发射断层扫描术(PET)或单光子发射计算机层摄影术(SPECT),包括药物底物组织分布分析,或者用于患者的放射治疗。特别地,对于PET或SPECT研究可能特别需要 ^{18}F 或标记的化合物。同位素标记的式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物通常能够通过本领域的技术人员已知的常规技术或者通过与所附实施例和制备例中所述方法类似的方法、使用合适的同位素标记的试剂代替以前所用的未标记的试剂进行制备。

此外,用较重的同位素、特别是氘(即 ^2H 或D)的取代可能带来由更强的代谢稳定性导致的某些治疗优势,例如增加的体内半衰期或减少的剂量需求或治疗指数的改善。可以理解,在本文中氘被视为式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物的取代基。该较重同位素、特别是氘的浓度可能由同位素富集因子决定。如本文所用的术语“同位素富集因子”是指特定同位素的同位素丰度和天然丰度之间的比例。如果本文化合物中的取代基被标为氘,那么对于每一个标出的氘原子,该化合物具有至少3500(在每一个标出的氘原子处52.5%氘掺入)、至少4000(60%氘掺入)、至少4500(67.5%氘掺入)、至少5000(75%氘掺入)、至少5500(82.5%氘掺入)、至少6000(90%氘掺入)、至少6333.3(95%氘掺入)、至少6466.7(97%氘掺入)、至少6600(99%氘掺入)、或至少6633.3(99.5%氘掺入)的同位素富集因子。

本文的第二方面提供了本文第一方面所述式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物或其药学上可接受的盐的制备方法。在下文列出了说明性的一般合成方法,并且在实施例中提供了所制备的本文的具体化合物。

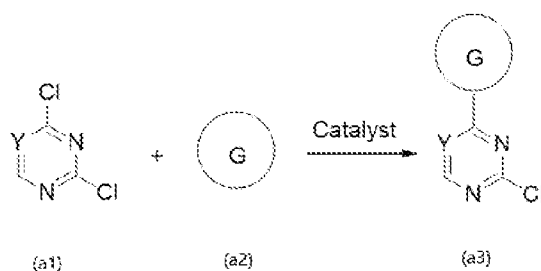
可以通过有机合成领域中已知的方法制备式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物。在参考下文所述的实施例的方法时,应当理解,可以对部分取代基进行本领域中熟知的基团替换,从而在不偏离本文的主旨的情况下得到类似的衍生物。如果必要,按照一般原理或化学方法对敏感性或反应性基团使用保护基团。保护基团是按照有机合成的标准方法进行的操作(T. W. Greene和P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 第三版, Wiley, New York 1999)。这些基团在化合物合成的方便阶段使用本领域技术人员很清楚的方法除去。选择方法以及反应条件和其处理次序,应当与式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物的制备相符。

本领域技术人员将能够识别在式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)化合物中是否存在立体中心。因此,本文包括可能的立体异构体,并且既包括外消旋化合物又包括单个对映异构体。当所需化合物是单个对映异构体时,其可以通过立体特异性合成或通过终产物

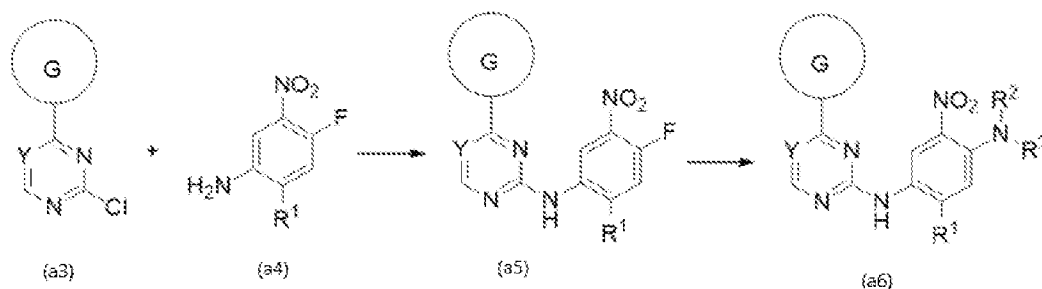
或任何方便的中间体拆分获得。终产物、中间体或起始原料的拆分可以通过本领域已知的任何适合的方法实现。参见，例如 E. L. Eliel, S. H. Wilen 和 L. N. Mander 的“Stereochemistry of Organic Compounds”(Wiley-interscience, 1994)。

本文所述的化合物可以从市售的起始原料制备或者使用已知的有机、无机和/或酶促的方法合成。例如，本文式(I)的化合物可以按照与 PCT 申请 PCT/GB2012/051783 所述的合成方法类似的方法，采用适宜的化合物原料进行制备。

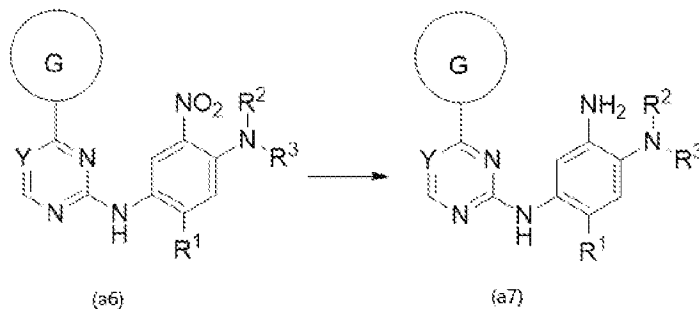
(1) 在路易斯酸或其他催化剂的存在下，由式(a1)(a2)化合物与式化合物反应得到中间体(a3):



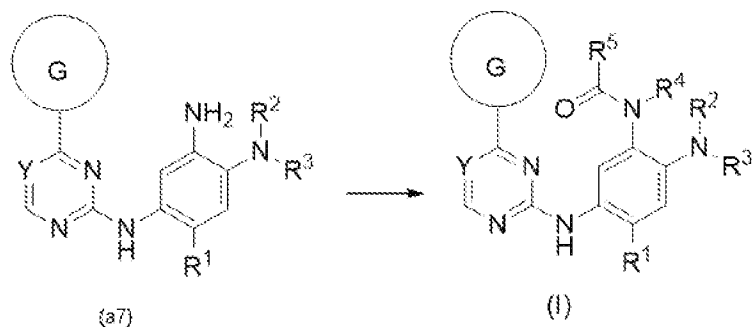
(2) 中间体 (a3) 在适宜酸存在下与化合物 (a4) 得到中间体 (a5)，中间体 (a5) 在适宜碱作用下与胺反应中间体 (a6):



(3) 中间体(a6)经还原剂还原后得到中间体(a7):



(4) 中间体(a7) 与丙烯酰氯、丙烯酰胺酐或丙烯酸反应得到式(I)化合物:



(5) 式 I 化合物与相应的酸反应得到式 I 化合物的药学上可接受的盐，或者经过调碱到相应式 I 的碱基。

步骤 (1) 中，所述无水溶剂选自乙二醇二甲醚，二甲醚，二甲苯等，所述路易斯酸或催化剂选自 AlCl_3 、 FeCl_3 ；所述催化剂选自 Pd/C、四(三苯基膦)钯 ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$)，[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯 ($\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$)；步骤 (2) 中，所述的适宜酸选自对甲苯磺酸、盐酸、氢溴酸，优选对甲苯磺酸；所述的适宜碱选自有机碱或无机碱，优选三乙胺、二异丙基乙胺、吡啶、氢氧化钠、碳酸钾和氯化钙；所述还原剂选自 SnCl_2 浓盐酸、Zn 粉醋酸、Fe 粉醋酸、Fe 粉氯化铵、Pd/C 催化加氢；优选 Fe 粉氯化铵、Pd/C 催化加氢。在必要情况下，为防止某些基团(如氨基、羟基等)发生不希望的反应，需要对相应的基团进行保护，同时，在适当的时候予以去除保护基。

下面通过具体的制备实施例进一步说明本文，本领域技术人员清楚，在下文中，如果未特别说明，所用的材料和操作方法是本领域公知的。除非另外说明，其中：(i) 温度以摄氏度 ($^{\circ}\text{C}$) 表示，操作在室温下进行，所述室温一般指 $15\text{-}35^{\circ}\text{C}$ ，优选 $20\text{-}30^{\circ}\text{C}$ ，更优选 $25\text{-}30^{\circ}\text{C}$ ；(ii) 有机溶剂用无水硫酸钠干燥，溶剂的去除采用旋转蒸发仪加压蒸馏，浴温不超过 60°C ；(iii) 反应过程用薄层色谱 (TLC) 跟踪；(iv) 终产物具有满意的氢核磁共振光谱 ($^1\text{H-NMR}$)、纯度数据 (高效液相色谱 HPLC) 和质谱 (MS) 数据。

药物组合物

本文提供了药物组合物，其包含如上所述的式 (I)、式 (II)、式 (III)、和式 (IV) 和式 (V) 的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的稀释剂或载体。

药物组合物能够针对特定的给药途径进行配制，例如口服给药、肠胃外给药和直肠给药等。此外，本文的药物组合物能够以固体形式(非限制性地包括胶囊、片剂、丸剂、颗粒剂、粉末剂或栓剂)或以液体形式(非限制性地包括溶液剂、混悬剂或乳剂)制成。药物组合物能够经历常规的制药操作(例如灭菌)和/或能够含有常规的惰性稀释剂、润滑剂或缓冲剂以及辅料，例如防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂和缓冲剂等。

通常，药物组合物是片剂或明胶胶囊，其包含活性成分以及

- a) 稀释剂，例如乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纤维素和/或甘氨酸；
- b) 润滑剂，例如二氧化硅、滑石粉、硬脂酸、其镁或钙盐和/或聚乙二醇；对于片剂也包

含

c) 粘合剂, 例如硅酸镁铝、淀粉糊、明胶、黄耆胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮; 如果需要, 还有

d) 崩解剂, 例如淀粉、琼脂、海藻酸或其钠盐、或泡腾混合物; 和/或

c) 吸收剂、着色剂、调味剂和增甜剂。

根据本领域中已知的方法, 片剂可以是薄膜包衣或肠溶包衣的。

用于口服给药的合适的组合物包括有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐, 其为片剂、锭剂、水或油混悬液、可分散的粉末或颗粒、乳剂、硬或软胶囊、或糖浆或酞剂的形式。根据本领域中已知的用于制备药物组合物的任意方法制备用于口服使用的组合物, 并且为了提供精制和适口的制剂该组合物能够含有一种或多种选自增甜剂、调味剂、着色剂和防腐剂的试剂。片剂可以含有与适合于制备片剂的无毒的药学上可接受的赋形剂混合在一起的活性成分。这些赋形剂是例如惰性的稀释剂(例如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠); 成粒剂和崩解剂(例如玉米淀粉、或海藻酸); 粘合剂(例如淀粉、明胶或阿拉伯胶); 和润滑剂(例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉)。片剂是未经包衣的或者通过已知的技术进行包衣从而延缓在胃肠道的崩解和吸收, 从而在较长的时期内提供持久的作用。例如, 能够使用延时材料, 例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。用于口服的制剂能够以硬明胶胶囊呈递, 其中活性成分与惰性的固体稀释剂(例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合, 或者以软明胶胶囊呈递, 其中活性成分与水或油介质(例如花生油、液体石蜡或橄榄油)混合。

某些可注射的组合物是等渗水溶液或混悬液, 栓剂有利地由脂肪乳或混悬液制得。所述的组合物可以进行灭菌和/或含有辅料, 例如防腐、稳定、润湿或乳化剂、溶解促进剂、用于调节渗透压的盐和/或缓冲剂。此外, 其也可以含有其他的治疗上有价值的物质。所述的组合物分别根据常规的混合、制粒或包衣法进行制备, 并且含有大约 0.1-75%或含有大约 1-50%的活性成分。

由于水可能促进某些化合物的降解, 本文还提供无水的药物组合物和剂型, 其包含作为活性成分的本文化合物。

使用无水或低水含量的成分和低水含量或低湿度的条件能够制备本文的无水的药物组合物和剂型。可以制备和贮存无水的药物组合物以便保持其无水的性质。因此, 使用已知防止与水接触的材料包装无水的组合物以便其能够包含于合适的配方药盒中。合适的包装的实例非限制性地包括气密的箔、塑料、单位剂量容器(例如管形瓶)、泡罩包装和条带包装。

本文进一步提供药物组合物和剂型, 其包含 1 种或多种降低作为活性成分的本文化化合物的分解速率的试剂。该试剂(其在本文中称作“稳定剂”)非限制性地包括抗氧化剂(例如抗坏血酸)、pH 缓冲剂或盐缓冲剂等。

对于大约 50-70 kg 的个体, 本文的药物组合物或组合产品能够是大约 1-1000 mg 活性成分的单位剂量, 或者大约 1-500 mg 或大约 1-250 mg 或大约 1-150 mg 或大约 0.5-100 mg、或大约 1-50 mg 活性成分。化合物、药物组合物或其组合产品的治疗有效剂量取决于个体的物

种、体重、年龄和个体情况、其正在接受治疗的病症或疾病或其严重程度。普通技术的内科医生、临床医师或兽医能够容易地确定为了预防、治疗或抑制病症或疾病的发展所需的每一种活性成分的有效量。

治疗用途

另一方面，本文提供了式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐，其用作药物。在另一方面，本文还提供了式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

另一方面，本文还提供了在需要这种治疗的温血动物例如人中产生抗癌作用的方法，其包括：向所述动物给药有效量的式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐。

另一方面，本文还提供了式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐和另外的抗肿瘤物质的用途，用于癌症的同时、独立或序贯治疗。

另一方面，本文还提供了式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

另一方面，本文还提供了式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于抑制EGFR(也称为HER1)或HER2或HER4途径的药物中的用途。

在一个优选的实施方案中，本文还提供一种用于治疗癌症的方法，其包括：向有此需要的受试者给药式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐。

在一个优选的实施方案中，本文还提供一种抑制EGFR(也称为HER1)或HER2或HER4途径的方法，其包括：向有此需要的受试者给药式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。

在上述实施方案中，受试者可以是哺乳动物或人。

另一方面，本文还提供了如上所述的式(II)、式(III)、式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐在制备EGFR20外显子突变抑制剂和/或HER2、HER4激酶抑制剂中的应用。

另一方面，本文还提供了如上所述的组合物，其用于抑制EGFR20外显子突变的EGFR激酶的活性、和/或20外显子突变的HER2激酶的活性、和/或20外显子突变的HER4激酶的活性。

式(I)、式(II)、式(III)、和式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐如上文所定义。

在上文提及的任一方面或实施方案中，所述癌症可以选自卵巢癌、非小细胞肺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、黑色素瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、肺癌、肝细胞癌、胃癌、胃肠道间质瘤(GIST)、甲状腺癌、胆管癌、子宫内膜癌、肾癌、间变性大细胞淋巴瘤、急性髓细胞白血病(AML)、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、间皮瘤。

在一个优选实施方案中，所述癌症为非小细胞肺癌。

上述的式(I)、式(II)、式(III)、式(IV)式(V)的化合物或其药学上可接受的盐可作为单独治疗应用，或者除了本发明化合物以外还涉及到常规的手术或放射疗法或化学疗法或免疫疗法。这种化学疗法与本发明化合物可以并列地、同时地、序贯地、或分别地给药，并且可包含以下类型的抗肿瘤剂的一种或多种：

(i) 医学肿瘤学中所使用的抗增殖/抗肿瘤药物及其组合，例如烷化剂(例如顺铂、奥沙利铂、卡铂、环磷酰胺、氮芥、美法仑、苯丁酸氮芥、白消安、替莫唑胺、亚硝基脲类)；抗代谢药(例如吉西他滨和抗叶酸剂，例如氟嘧啶(如5-氟尿嘧啶和替加氟)、雷替曲塞、甲氨喋呤、阿糖胞苷、羟基脲)；抗肿瘤抗生素(例如蒽环类，如阿霉素、博来霉素、多柔比星、道诺霉素、表柔比星、伊达比星、丝裂霉素 C、放线菌素、光神霉素)；抗有丝分裂药剂(例如长春花生物碱，如长春新碱、长春碱、长春地辛、长春瑞滨；以及紫杉烷类，如紫杉醇、泰索帝)；拓扑异构酶抑制剂(例如表鬼臼毒素(如依托泊苷、替尼泊苷)，安吡啶、托泊替康、喜树碱)；

(ii) 细胞生长抑制剂，例如抗雌激素药(例如他莫昔芬、氟维司群、托瑞米芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬、抗雄激素药(例如比卡鲁胺、氟他胺、尼鲁米特、醋酸环丙孕酮)、LHRH 拮抗剂或 LHRH 激动剂(例如戈舍瑞林、亮丙瑞林、和布舍瑞林)、孕激素类(例如醋酸甲地孕酮)、芳香酶抑制剂(例如阿那曲唑、来曲唑、伊西美坦)、5 α -还原酶抑制剂(例如非那雄胺)；

(iii) 抗侵袭剂，例如 c-Src 激酶家族抑制剂，例如达沙替尼和波舒替尼(SKI-606)，以及金属蛋白酶抑制剂(如马立马司他)、尿激酶纤溶酶原激活物受体功能的抑制剂或者类肝素酶的抗体；

(iv) 生长因子功能的抑制剂：例如这种抑制剂包括生长因子抗体和生长因子受体抗体(例如抗 erbB2 抗体曲妥珠单抗、抗 EGFR 抗体帕尼单抗、抗 erbB1 抗体西妥昔单抗以及任何生长因子或生长因子受体抗体)；这种抑制剂还包括：酪氨酸激酶抑制剂，例如表皮生长因子家族的抑制剂(例如 EGFR 家族酪氨酸激酶抑制剂，如 N-(3-氯-4-氟苯基)-7-甲氧基-6-(3-吗啉基丙氧基)-喹唑啉-4-胺(吉非替尼, ZD1839)、N-(3-乙炔基苯基)-6,7-双(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-胺(厄洛替尼, OSI-774)、6-丙烯酰胺基-N-(3-氯-4-氟苯基)-7-(3-吗啉基丙氧基)-喹唑啉-4-胺(CI 1033)、erbB2 酪氨酸激酶抑制剂(例如拉帕替尼)；肝细胞生长因子家族的抑制剂；胰岛素生长因子家族的抑制剂；血小板衍生的生长因子家族的抑制剂，例如伊马替尼和/或尼洛替尼(AMN107)；丝氨酸/苏氨酸激酶的抑制剂(例如 Ras/Raf 信号传导抑制剂，例如法呢基转移酶抑制剂，例如索拉非尼(BAY43-9006)、替匹法尼(R115777)、氯那法尼(SCH66336)、通过 mEK 和/或 AKT 激酶的细胞信号传导抑制剂、c-kit 抑制剂、abl 激酶抑制剂、PI3 激酶抑制剂、Plt3 激酶抑制剂、CSF-1R 激酶抑制剂、IGF 受体(胰岛素样生长因子) 激酶抑制剂；极光激酶(aurora kinase)抑制剂(例如 AZD1152、PH739358、VX-680、MLN8054、R763、MP235、MP529、VX-528、AX39459)，细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂，例如 CDK2 和/或 CDK4 抑制剂；

(v) 抗血管生成剂，例如抑制血管内皮生长因子作用的药剂，例如抗人血管内皮细胞生长因子抗体贝伐珠单抗以及例如 VEGF 受体酪氨酸激酶抑制剂，例如凡德他尼(ZD6474)、伐

他拉尼(PTK787)、舒尼替尼(SU11248)、阿西替尼(AG-013736)、帕唑帕尼(GW786034)、4-(4-氟-2-甲基吡啶-5-基氧基)-6-甲氧基-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹唑啉(AZD2171; WO 00/47212 中的实施例 240), 例如 WO 97/22596、WO 97/30035、WO 97/32856 和 WO 98/13354 中公开的那些;

(vi) 血管损伤剂, 例如康普瑞汀 A4 以及 WO 99/02166、WO 00/40529、WO00/41669、WO 01/92224、WO 02/04434 和 WO 02/08213 中公开的化合物;

(vii) 内皮素受体拮抗剂, 例如齐泊腾坦(ZD4054)或者阿曲生坦;

(viii) 基因治疗方法, 包括例如替换异常基因(例如异常 p53 或者异常 BRCA1 或 BRCA2)的方法; GDEPT(基因定向的酶前药治疗)法, 例如使用胞嘧啶脱氨酶、胸苷激酶或者细菌硝基还原酶的那些; 提高患者对化学治疗或放射治疗的耐受性的方法, 例如多重耐药基因治疗; 和

(ix) 免疫治疗方法, 包括例如提高患者肿瘤细胞的免疫原性的体外和体内方法, 例如用细胞因子(例如白细胞介素 2、白细胞介素 4 或者粒细胞巨噬细胞集落刺激因子)进行转染; 降低 T 细胞无效能的方法; 使用转染的免疫细胞(例如细胞因子转染的树突状细胞)的方法; 使用细胞因子转染的肿瘤细胞系的方法; 使用抗独特型抗体的方法; 降低免疫抑制性细胞(例如调节性 T 细胞、髓源性抑制细胞、或表达 IDO(吡啶胺 2,3-脱氢酶)的树突状细胞)的功能的方法; 以及使用衍生自肿瘤相关抗原(例如 NY-ESO-1, mAGE-3、WT1 或 Her2/neu)的蛋白质类或肽类组成的癌症疫苗的方法。

本文中, 如果术语“联合治疗”是用来描述组合治疗, 则应理解这可以表示同时给药、独立给药或序贯给药。关于“联合给药”应类似地理解。在本发明的一个方面, “联合治疗”是指同时给药。在本发明的另一方面, “联合治疗”是指独立给药。在本发明的另一方面, “联合治疗”是指序贯给药。当序贯给药或独立给药时, 给药第二组分的延迟不应例如失去使用组合产生的效果的效果的利益。

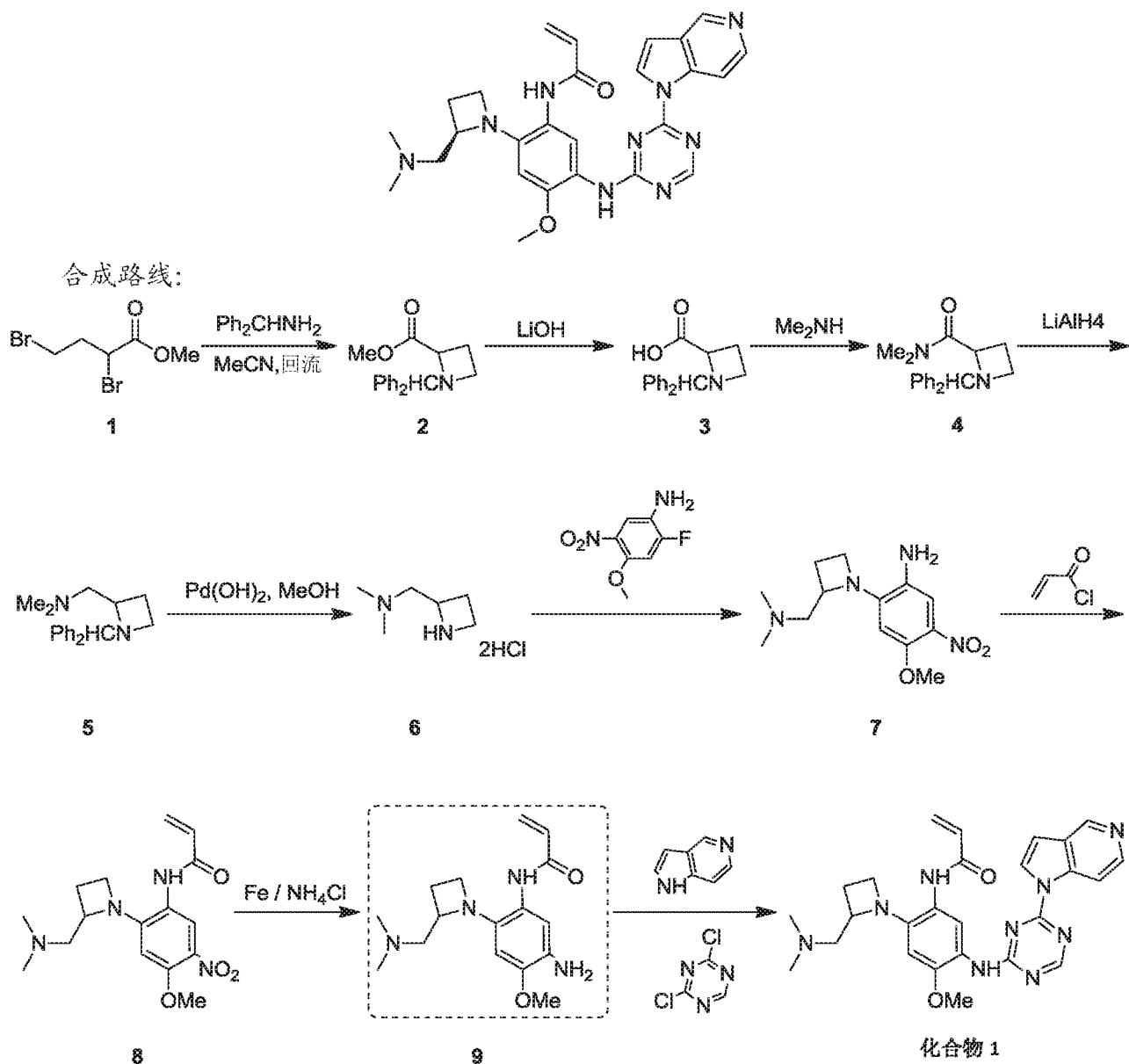
实施例

下面结合实施例进一步说明本文, 应当理解, 实施例仅用于进一步说明和阐释本文, 并非用于限制本文。

除非另外定义, 本说明书中有关技术的和科学的术语与本领域内的技术人员所通常理解的意思相同。虽然在实验或实际应用中可以应用与此间所述相似或相同的方法和材料, 本文还是在下文中对材料和方法做了描述。在相冲突的情况下, 以本说明书包括其中定义为准, 另外, 材料、方法和例子仅供说明, 而不具限制性。以下结合具体实施例对本文作进一步的说明, 但不用来限制本文的范围。

实施例 1:

(R)-N-(5-((4-(1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 1) 的合成:



a. 1-二苯甲基氮杂环丁烷基-2-羧酸甲酯 (2) 的合成

在 2,4-二溴丁酸甲酯 (40.0 g, 154 mmol) 的乙腈溶液 (300 mL) 中于 20℃ 缓慢滴加入二苯甲胺 (49.9 g, 274 mmol), 反应液体在 20℃ 搅拌 2 小时。加入三乙胺 (23.4 g, 231 mmol), 反应在 55℃ 搅拌 48 小时后, TLC (PE:EA=10:1) 显示有新的点出现, 通过减压蒸馏将反应混合液浓缩干。加入水 (1 L) 和饱和碳酸氢钠溶液 (500 mL), 用乙酸乙酯 (1 L x 3) 进行萃取。合并后的有机相用无水硫酸钠进行干燥, 过滤, 浓缩硅胶拌样, 过柱 (PE:EA = 100:1 至 20:1) 得到无色胶状半固体 1-二苯甲基氮杂环丁烷基-2-羧酸甲酯 (16.0 g, 收率: 35%)。

$^1\text{H NMR}$: (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.49 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.34-7.20 (m, 6H), 4.49 (s, 1H), 3.76 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 3.44 (dt, $J = 4.2$ Hz, 6.8 Hz, 1H), 3.40 (s, 3H), 2.99-2.90 (m, 1H), 2.39-2.33 (m, 1H), 2.24-2.18 (m, 1H)。

b. 1-二苯甲基氮杂环丁烷基-2-羧酸 (3) 的合成

在 1-二苯甲基氮杂环丁烷基-2-羧酸甲酯 (44 g, 156 mmol) 的 THF (200 mL), MeOH (200 mL) 和水 (100 mL) 的混合溶液, 加入 LiOH·H₂O (32.8 g, 782 mmol), 反应液在 30°C 搅拌 16 小时后, TLC (PE:EA=10:1) 显示反应完全。在减压浓缩除去 THF 和 MeOH 后, 加入水 (500 mL) 和二氯甲烷 (500 mL), 静置分层得到水相后, 并用 2M 稀盐酸调节 pH 至 5 左右, 再用乙酸乙酯 (500 mL x 10) 萃取。有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩后得到 1-二苯甲基氮杂环丁烷基-2-羧酸的粗品 (40.0 g, 收率: 86%), 粗品无需纯化, 直接用于下一步反应。

¹H NMR: (CD₃OD, 400MHz) δ7.58 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.54 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 7.46-7.36 (m, 6H), 5.63 (s, 1H), 4.58 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 4.03-3.96 (m, 1H), 3.94-3.86 (m, 1H), 2.76-2.70 (m, 1H), 2.46-2.40 (m, 1H)。

c. 1-二苯甲基-N,N-二甲基氮杂环丁烷基-2-甲酰胺 (4) 的合成

在 1-二苯甲基氮杂环丁烷基-2-羧酸 (30 g, 112 mmol) 的 DMF(300 mL) 的溶液中, 加入 N-二甲胺 (27.5 g, 337 mmol) 和 HATU (64.0 g, 168 mmol), 然后再在 0°C 滴加三乙胺 (56.8 g, 561 mmol), 反应液在 20°C 搅拌 16 小时后, LCMS 显示反应完全。反应液用水 (1L) 淬灭后, 加入乙酸乙酯 (1 L x 3), 分层, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩硅胶拌样, 过柱 (PE:EA = 20:1 至 1:1) 得到白色固体 1-二苯甲基-N,N-二甲基氮杂环丁烷基-2-甲酰胺 (25.0 g, 收率: 68%)。

¹H NMR: (CD₃OD, 400MHz) δ7.51 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.41 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.28-7.16 (m, 6H), 4.58 (s, 1H), 4.25 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.38-3.34 (m, 1H), 2.98-2.95 (m, 1H), 2.63 (s, 3H), 2.53 (s, 3H), 2.36-2.20 (m, 1H), 2.18-2.10 (m, 1H)。

d. 1-(1-二苯甲基氮杂环丁烷-2-基)-N,N-二甲基甲胺 (5) 的合成

在 1-二苯甲基-N,N-二甲基氮杂环丁烷基-2-甲酰胺的 THF 溶液 (200 mL), 于 0°C 分批加入 LiAlH₄ (2.30 g, 60.6 mmol), 反应液在 0°C 搅拌 0.5 小时后, TLC (PE:EA = 1:1) 显示反应完全。反应液在用水 (2 mL), 15% 氢氧化钠水溶液 (5 mL) 的混合溶液淬灭后, 过滤后得到的滤液浓缩至干, 得到无色油状液体 1-(1-二苯甲基氮杂环丁烷-2-基)-N,N-二甲基甲胺 (12.0 g, 收率: 76%), 无需进一步纯化, 直接用于下一步反应。

¹H NMR: (CD₃OD, 400MHz) δ7.45-7.40 (m, 4H), 7.30-7.26 (m, 6H), 4.47 (s, 1H), 3.51-3.46 (m, 1H), 3.36-3.34 (m, 1H), 2.85-2.80 (m, 1H), 2.28-2.21 (m, 2H), 1.97 (s, 6H), 1.96-1.94 (m, 1H), 1.56 (dd, *J* = 2.8 Hz, 12 Hz, 1H)。

e. 1-(氮杂环丁烷-2-基)-N,N-二甲基甲胺盐酸盐 (6) 的合成

将 1-(1-二苯甲基氮杂环丁烷-2-基)-N,N-二甲基甲胺 (12.0 g, 42.8 mmol) 和 Pd(OH)₂ (3.0 g, 20% 纯度, 50% 湿度) 溶于乙醇 (250 mL), 通入氢气 (30 psi), 并在 35°C 下搅拌 16 小时后, TLC (DCM:MeOH = 20:1) 显示反应完全。经过过滤后, 将 HCl/MeOH (30 mL, 4M) 加入滤液, 在 20°C 搅拌 0.5 小时后浓缩至干。加入 PE/DCM (2/1, 30 mL), 搅拌 5 分钟, 将多余的液体倾倒入去, 将剩余的胶状物减压干燥得到 1-(氮杂环丁烷-2-基)-N,N-二甲基甲胺盐酸盐

(7.0 g, 收率: 70%, 2HCl), 不需纯化, 直接用于下一步反应。

¹H NMR: (CD₃OD, 400MHz)δ5.11-5.04 (m, 1H), 4.18-4.14 (m, 1H), 4.06-3.98 (m, 2H), 3.65 (dd, *J* = 4.0 Hz, 14.4 Hz, 1H), 3.00 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 2.74-2.70 (m, 1H), 2.62-2.54 (m, 1H)。

f. 2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-硝基苯胺 (7) 的合成

在1-(氮杂环丁烷-2-基)-N,N-二甲基甲胺盐酸盐(6.5 g, 34.9 mmol, 2HCl)的DMF(200 mL)溶液中, 于25℃加入2-氟代-4-甲氧基-5-硝基苯胺(5.0 g, 26.8 mmol), 和碳酸铯(43.7 g, 134 mmol), 反应液加热到130℃并在该温度下搅拌16小时后, TLC(DCM:MeOH = 20:1)显示反应完全。待反应液温度降低至20℃后, 倾倒入水(200mL)中, 用乙酸乙酯(200 mL x 4)进行萃取, 有机相合并后用饱和食盐水洗, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩硅胶拌样, 过柱(PE:EA = 5:1 至 2:1, 然后 DCM:MeOH = 50:1 至 20:1)得到棕黑色固体2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-硝基苯胺(3.7 g, 收率: 49%)。

¹H NMR: (CD₃OD, 400 MHz)δ7.39 (s, 1H), 6.35 (s, 1H), 4.49-4.47 (m, 1H), 4.31-4.29 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.71-3.69 (m, 1H), 2.79-2.75 (dd, *J*₁ = 4.0 Hz, *J*₂ = 12.8 Hz, 1H), 2.58-2.54 (m, 1H), 2.53-2.46 (m, 1H), 2.31 (s, 6H), 2.19-2.15 (m, 1H)。

g. N-(2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-硝基苯基)丙烯酰胺 (8) 的合成

在2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-硝基苯胺(1.5 g, 5.4 mmol)的DCM(20 mL)溶液中, 于0℃下加入TEA(1.62 g, 16.1 mmol)和滴加丙烯酰氯(969 mg, 10.7 mmol), 反应在0℃下搅拌1小时后, 升温至25℃并搅拌16小时, LCMS显示反应完全。反应液用水(100 mL)淬灭后, 用DCM(100 mL x 3)萃取, 合并后的有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩硅胶拌样, 过柱(DCM:MeOH = 100:1 至 20:1)得到棕褐色固体N-(2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-硝基苯基)丙烯酰胺(1.0g, 收率: 56%)。

¹H NMR: (CDCl₃, 400 MHz)δ6.88 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 6.47-6.34 (m, 2H), 5.83-5.80 (dd, *J*₁ = 2.8 Hz, *J*₂ = 8.8 Hz, 1H), 4.51-4.49 (m, 1H), 4.18-4.16 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.95-3.82 (m, 4H), 2.85-2.80 (dd, *J*₁ = 4.8 Hz, *J*₂ = 12.8 Hz, 1H), 2.60-2.49 (m, 2H), 2.32 (s, 6H), 2.30-2.15 (m, 1H)。

h. N-(5-氨基-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (9) 的合成

N-(2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-硝基苯基)丙烯酰胺(1.6 g, 4.8 mmol), Fe粉(1.3 g, 23.8 mmol)的乙醇(100 mL)和水(50 mL)的混合反应液在50℃下搅拌16小时后, TLC(DCM:MeOH = 10:1)显示反应完全。用硅藻土过滤后得到的反应液浓缩硅胶拌样, 过柱(DCM:MeOH = 10:1)得到黄色固体N-(5-氨基-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(990 mg)。

¹H NMR: (CD₃OD, 400 MHz)δ6.95 (s, 1H), 6.94-6.36 (m, 2H), 6.36-6.32 (m, 1H), 5.79-5.76 (m, 1H), 4.56-4.54 (dd, *J*₁ = 3.6 Hz, *J*₂ = 7.2 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.90-3.86 (m, 1H), 3.39-3.31 (m, 3H), 2.89 (s, 6H), 2.44-2.42 (m, 1H), 2.32-2.30 (m, 1H)。

i. (R)-N-(5-((4-(1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺的合成

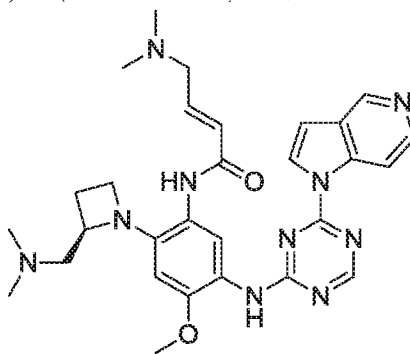
在 N-(5-氨基-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (400 mg, 1.30 mmol) 的 DMF (10 mL) 溶液中, 于 10°C 加入 2,4-二氯-1,3,5-三嗪 (197 mg, 1.30 mmol) 和 DIPEA (180 mg, 1.40 mmol)。反应在 0°C 下搅拌 1 小时后, 加入 DIPEA (180 mg, 1.40 mmol) 和 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶 (155 mg, 1.31 mmol), 反应在 25°C 搅拌 5 小时后, LCMS 显示反应完全。粗产物经 prep-HPLC (色谱柱: Waters Xbridge 150*25 5u; 流动相: [水(10mM NH₄HCO₃)-ACN]; B%: 20%-40%, 10 min) 和第二次 prep-HPLC (色谱柱: Waters Xbridge 150*25 5u; 流动相: [水(10mM NH₄HCO₃)-ACN]; B%: 32%-62%, 10min) 纯化后得到黄色固体 (R)-N-(5-((4-(1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (67 mg, 收率: 10%)。

¹H NMR: (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.90 (s, 1H), 8.72-8.43 (m, 6H), 6.79-6.78 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.49-6.44 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 6.35-6.29 (m, 1H), 5.79-5.76 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.34 (s, 1H), 3.95-3.91 (m, 4H), 3.65-3.59 (dd, *J*₁ = 8.0 Hz, *J*₂ = 15.6 Hz, 1H), 2.74-2.69 (dd, *J*₁ = 5.2 Hz, *J*₂ = 12.8 Hz, 1H), 2.50-2.46 (m, 2H), 2.30 (s, 7H), 2.12-2.06 (m, 1H)。

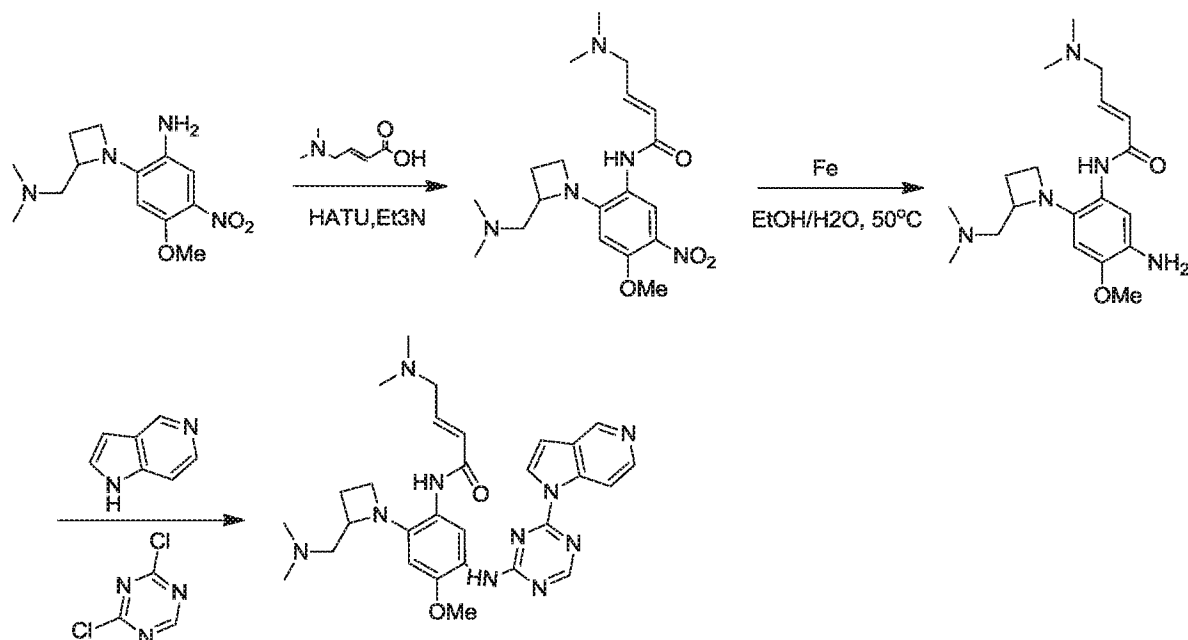
ESI-MS(*m/z*): [M+H]⁺500.2, HPLC: 99.1%(220 nm)。

实施例 2:

(R, E)-N-(5-((4-(1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)-4-(二甲基氨基)丁烯-2-酰胺 (化合物 2) 的合成:



合成路线:



在(E)-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酸 (1.8 g, 11.0 mmol, HCl) 的 DCM (120 mL) 溶液中, 于 25°C 加入 HATU (4.2 g, 11.0 mmol), 2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-硝基苯胺 (2.4g, 8.6 mmol), 和三乙胺 (3.5 g, 34.3mmol), 反应在 25°C 搅拌 16 小时后, TLC (DCM:MeOH = 10:1) 显示反应完全。反应液经水洗, 静置分层, 有机相用饱和食盐水洗后, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到粗品。粗品经硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 100:1 至 10:1) 得到棕色固体(E)-(二甲基氨基)-N-(2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-硝基苯基)-丁烯-2-酰胺 (2.3 g, 收率: 69%)。

$^1\text{H NMR}$: (CDCl_3 , 400 MHz) δ 9.54 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 6.99-6.93 (m, 1H), 6.14-6.10 (m, 2H), 4.66-4.64 (t, $J = 4.0\text{Hz}$, 1H), 4.15-4.12 (m, 1H), 3.94-3.95 (m, 4H), 3.12-3.09 (m, 2H), 3.06-2.95 (m, 1H), 2.83-2.79 (m, 1H), 2.56-2.52 (m, 2H), 2.34 (s, 6H), 2.29 (s, 6H), 1.94-1.92 (s, 6H)。

将(E)-(二甲基氨基)-N-(2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-硝基苯基)-丁烯-2-酰胺 (1.5 g, 3.8 mmol), 氯化铵 (1.1 g, 19.2 mmol), Fe 粉 (1.1 g, 19.0 mmol) 溶于乙醇 (100 mL) 和水 (50mL) 的混合液, 反应在 50°C 下搅拌 16 小时后, TLC 显示反应完全。反应混合液用硅藻土过滤后, 浓缩得到粗品, 再经 prep-HPLC (色谱柱: Waters Xbridge 150*25 5u; 流动相: [水(10mM NH_4HCO_3)-ACN]; B%: 3%-33%, 10min) 纯化冻干后得到(E)-N-(5-氨基-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)-4-(二甲基氨基)-丁烯-2-酰胺 (300mg, 收率: 44%)。

$^1\text{H NMR}$: (CD_3OD , 400 MHz) δ 6.99 (s, 1H), 6.89-6.81 (m, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.33-6.29 (d, $J = 15.6\text{Hz}$, 1H), 4.18-4.15 (dd, $J_1 = 3.2\text{Hz}$, $J_2 = 7.2\text{Hz}$, 1H), 3.86-3.83 (m, 4H), 3.31-3.29 (m, 1H), 3.18-3.16 (m, 2H), 2.65-2.64 (m, 1H), 2.53-2.51 (m, 1H), 2.34-2.32 (m, 16H), 2.29-2.13 (s, 1H)。

在(E)-N-(5-氨基-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)-4-(二甲基氨基)-丁烯-2-酰胺 (130 mg, 0.36 mmol) 的 DMF (4 mL) 溶液中, 于 0°C 缓慢滴加 2,4-二氯-1,3,5-三嗪 (54 mg, 0.36 mmol) 和 DIPEA (49 mg, 0.38 mmol), 反应在 0°C 反应 1 小时。加入 DIPEA

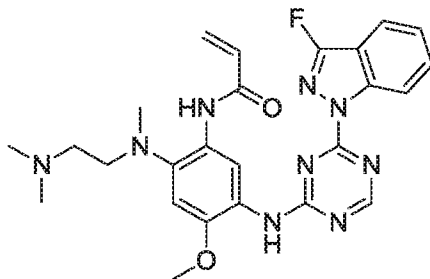
(49 mg, 0.38 mmol), 再加入 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶 (43 mg, 0.36 mmol), 反应在 25°C 搅拌 16 小时后, LCMS 显示反应完全。反应混合液经 prep-HPLC (色谱柱: Waters Xbridge 150*25 5u; 流动相: [水(10mM NH₄HCO₃)-ACN]; B%: 23%-43%, 8min) 纯化后, 冻干得到白色固体(R, E)-N-(5-((4-(1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-(2-((二甲基氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基苯基)-4-(二甲基氨基)丁烯-2-酰胺 (13 mg, 收率: 6%)。

¹H NMR: (CDCl₃, 400MHz) δ 8.90 (s, 1H), 8.72-8.43 (m, 6H), 6.79-6.78 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.49-6.44 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 6.35-6.29 (m, 1H), 5.79-5.76 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.34 (s, 1H), 3.95-3.91 (m, 4H), 3.65-3.59 (dd, *J*₁ = 8.0 Hz, *J*₂ = 15.6 Hz, 1H), 2.74-2.69 (dd, *J*₁ = 5.2 Hz, *J*₂ = 12.8 Hz, 1H), 2.50-2.46 (m, 2H), 2.30 (s, 7H), 2.12-2.06 (m, 1H)。

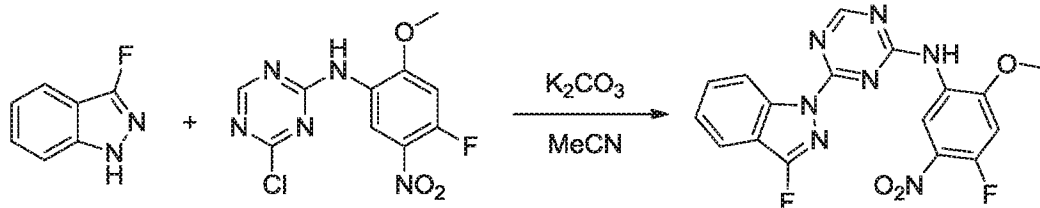
ESI-MS(*m/z*): [M+H]⁺ 556.2, HPLC: 99.1%(220 nm)。

实施例 3:

N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(3-氟代-1H-吡唑-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 3) 的合成:

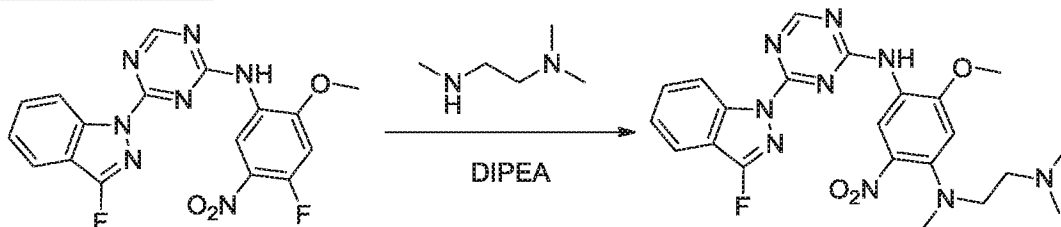


a. 4-(3-氟-1H-吡唑-1-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺的合成



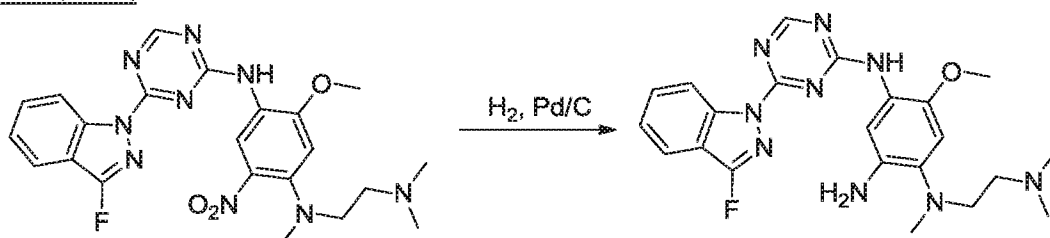
将 3-氟-1H-吡唑 (200 mg, 1.47 mmol) 和 4-氯-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (420 mg, 1.40 mmol) 溶于乙腈(20 ml)中, 加入 K₂CO₃ (386.7 mg, 2.80 mmol), 在常温下搅拌过夜。LC-MS 检测反应进程, 反应完毕后加水淬灭, 乙酸乙酯萃取 (50 ml × 3), 无水硫酸钠干燥, 旋干得到粗产物 4-(3-氟-1H-吡唑-1-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺。

b. N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(3-氟-1H-吡唑-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺的合成



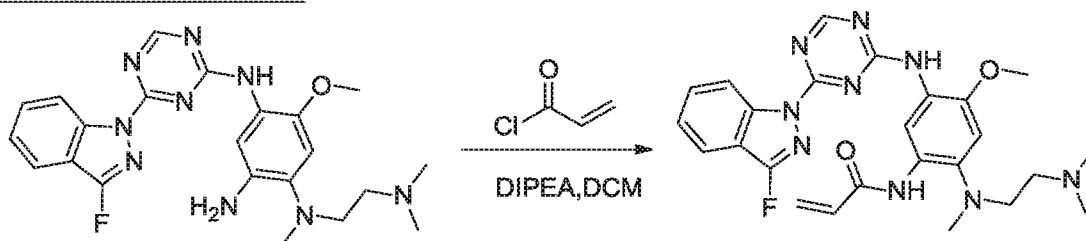
将上步得到的粗品 4-(3-氟-1H-吲唑-1-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺和 N¹,N¹,N²-三甲基乙基-1,2-二胺 (123.5 mg, 1.2 mmol) 溶于 DMA (10 ml) 中, 加入 DIPEA (260.4 mg, 2.0 mmol), 在微波条件下, 80°C 反应 1 小时。LC-MS 检测反应进程, 反应完毕后加水淬灭, 乙酸乙酯萃取 (3 ml × 3), 无水硫酸钠干燥, 旋干得到粗产物 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(3-氟-1H-吲唑-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺。

c. N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(3-氟-1H-吲唑-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺的合成



将上步得到的粗产物 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(3-氟-1H-吲唑-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺溶于 CH₃OH (20 ml) 中, 加入 Pd/C (50 mg), 在 1 标准大气压 H₂ 氛围下过夜还原, LC-MS 检测反应进程, 反应完毕后抽滤掉 Pd/C, 乙酸乙酯洗涤 (5 ml × 3), 旋干得到粗产物 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(3-氟-1H-吲唑-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺。

d. N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(3-氟代-1H-吲唑-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺的合成



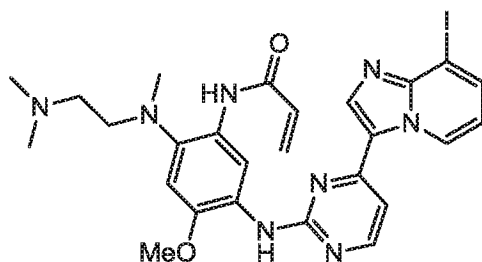
将上步得到的粗产物 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(3-氟-1H-吲唑-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺和 DIPEA (219.7 mg, 1.7 mmol) 溶于 DCM (20 ml) 中, 加入丙烯酰氯 (67.7 mg, 0.75 mmol), 室温下反应 30min, LC-MS 检测反应进程, 反应完毕后用饱和碳酸氢钠溶液淬灭, 乙酸乙酯萃取 (30 ml × 3), 旋干后得到粗产物 8, 用制备液相色谱分离得到白色固体 N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(3-氟代-1H-吲唑-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (10 mg)。

¹H NMR: (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.84 (br, 1H), 9.58 (br, 1H), 9.38 (br, 1H), 8.66 (br, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.88 (br, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.08 (m, 1H), 6.66 (m, 1H), 6.28 (d, *J* = 17 Hz, 1H), 5.78 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.33 (m, 7H), 2.83 (s, 3H), 2.82 (s, 3H), 2.64 (m, 4H). ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-*d*₆)δ-73.7.

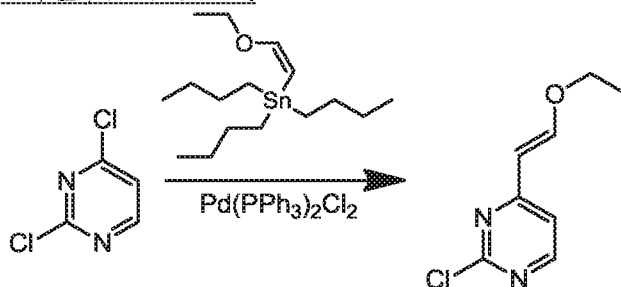
MS (ESI) [C₂₅H₂₈FN₉O₂H]⁺ (M+H)⁺: m/z 506.24.

实施例 4:

N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(8-碘代咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 4) 的合成:

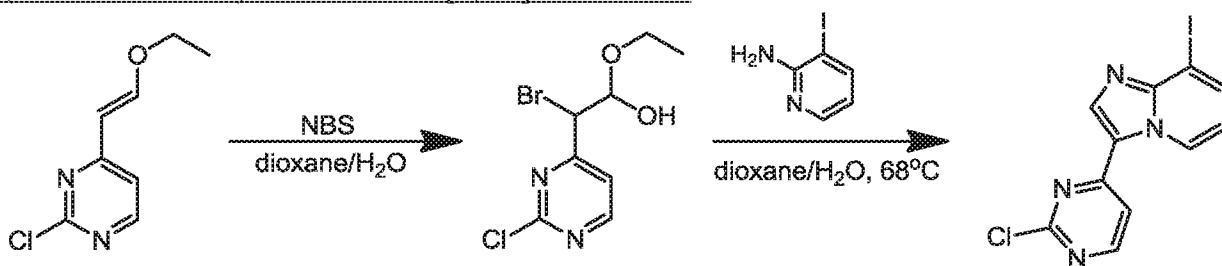


a. (E)-2-氯代-4-(2-乙氧基乙烯基)嘧啶的合成



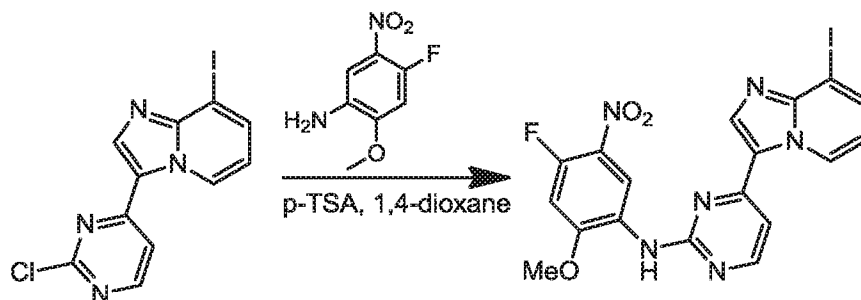
把 2,4-二氯嘧啶 (1.00 g, 6.71 mmol) 和 (Z)-三丁基(2-乙氧基乙烯基)锡烷 (2.67 g, 7.38 mmol) 溶于乙腈 (20 mL), 在氮气保护下加入 Pd(PPh₃)₂Cl₂ (471 mg, 671 μmol)。反应混合液在 80°C 下搅拌 3 小时后, TLC 显示反应完全。加入 CsF 溶液 (15 mL), 反应混合液在 25°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完全, 反应液用乙酸乙酯 (30 mL x 2) 萃取, 水洗 (30 mL), 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后硅胶拌样, 过柱 (PE:EA = 10:1) 后, 得到白色固体 (E)-2-氯代-4-(2-乙氧基乙烯基)嘧啶 (1.00 g, 收率: 75%)。

b. 3-(2-氯代嘧啶-4-基)-8-碘代咪唑并[1,2-a]吡啶的合成



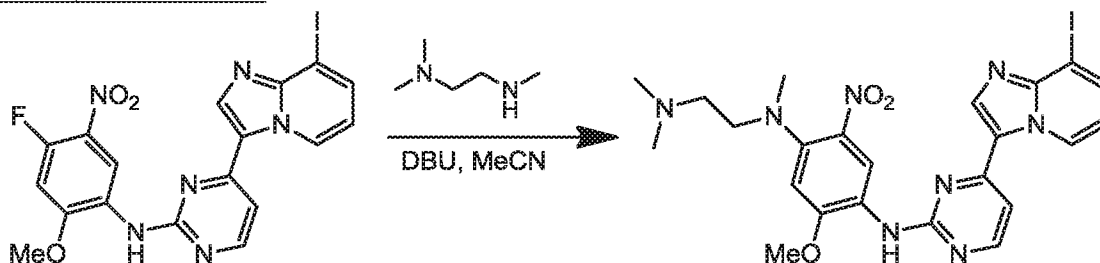
将得到白色固体 (E)-2-氯代-4-(2-乙氧基乙烯基)嘧啶 (1.00 g, 5.42 mmol) 溶于二氧六环 (20 mL) 和水 (4 mL), 加入 NBS (1.06 g, 5.96 mmol), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时。分批加入 3-碘代嘧啶基-2-胺 (1.19 g, 5.42 mmol), 反应混合液在 68°C 下搅拌 3 小时。LCMS 显示反应完全后, 加入水 (40 mL), 减压蒸馏除去溶剂。水溶液用乙酸乙酯 (30 mL x 3) 萃取, 合并的有机相用水 (20 mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩硅胶拌样, 过柱 (PE:EA = 5:1 至 2:1) 后得到黄色固体 3-(2-氯代嘧啶-4-基)-8-碘代咪唑并[1,2-a]吡啶 (1.93 g, 收率: 60.9%)。

c. N-(4-氯-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(8-碘代咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶基-2-胺的合成



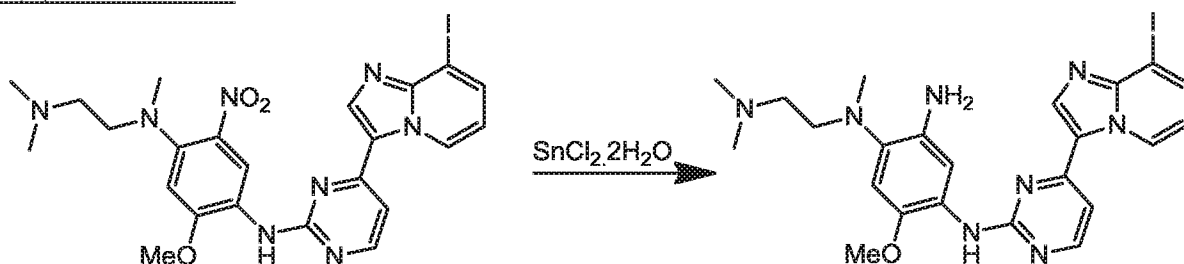
将 3-(2-氯代咪唑-4-基)-8-碘代咪唑并[1,2-a]吡啶 (1.93 g, 5.41 mmol) 和 4-氟代-2-甲氧基-5-硝基苯胺 (1.31 g, 7.04 mmol) 溶于二氧六环 (20 mL) 后, 加入对甲苯磺酸 (1.12 g, 6.50 mmol), 反应液在 85°C 下搅拌 16 小时。LCMS 显示反应完全后, 加入水 (70 mL) 搅拌 30 分钟, 过滤, 得到固体粗品, 用水 (20 mL) 洗涤滤饼。将固体溶于 THF (50 mL), 减压蒸馏除去溶剂后, 得到黄色固体 N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(8-碘代咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)咪唑基-2-胺 (1.0 g, 收率: 27%)。

d. N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(8-碘代咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)咪唑-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺的合成



将 N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(8-碘代咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)咪唑基-2-胺 (1.00g, 1.46 mmol) 和 N¹, N¹, N²-三甲基乙烷基-1,2-二胺 (133 mg, 1.30 mmol) 溶于乙腈 (20 mL), 加入 DBU (200 mg, 1.32 mmol), 反应混合液在 85°C 下搅拌 16 小时。TLC 显示反应完全后, 加入水 (50 mL), 减压蒸馏除去溶剂。水相用 DCM (50 mL x 3) 萃取, 合并的有机相用水 (50 mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩硅胶拌样, 过柱 (DCM:MeOH = 10:1) 得到 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(8-碘代咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)咪唑-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺 (0.9g, 收率: 75.3%)。

e. N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(8-碘代咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)咪唑-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺的合成

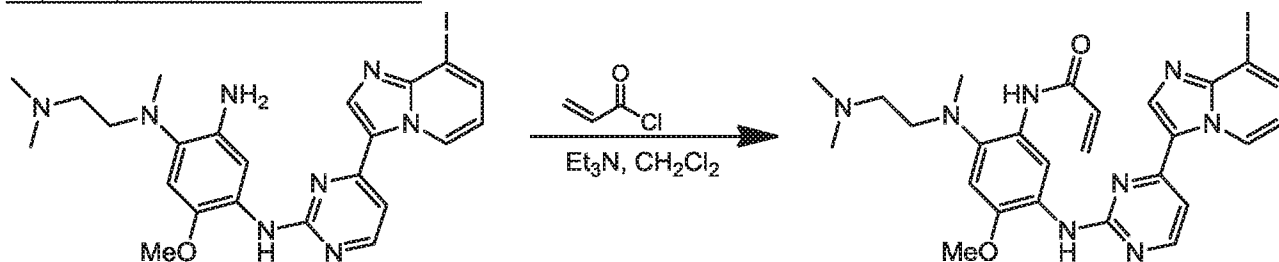


将 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(8-碘代咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)咪唑-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺 (0.9g, 1.53 mmol) 溶于乙醇 (20 mL), 加入 SnCl₂·2H₂O (1.73 g, 7.65

mmol)和 HCl (12 M, 2.70 mL), 反应液在 45°C 下搅拌 2.5 小时。LCMS 显示反应完全后, 加入水 (100 mL), 减压浓缩除去溶剂。水相用二氯甲烷 (50 mL x 3) 萃取, 合并的有机相用水 (50 mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩。经 prep-HPLC (色谱柱: Xtimate C18 150*25mm*5um; 流动相: [水(0.225%FA)-ACN]; B%: 4%-34%, 7min) 纯化后得到 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(8-碘代咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺 (350 mg, 收率: 41.0%)。

¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz): δ 8.50 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.17 (dd, *J*₁ = 1.2 Hz, *J*₂ = 6.8 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.73 - 7.71 (m, 1H), 7.66 - 7.63 (m, 2H), 6.71 (s, 1H), 6.59 - 6.56 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 2.99 - 2.96 (m, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.45 - 2.41 (m, 2H), 2.28 (s, 6H)。

f. N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4-甲氧基-5-((4-(8-碘代咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺的合成



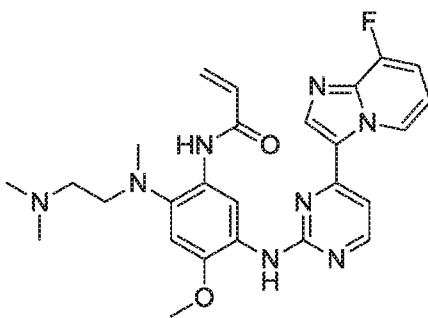
将 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(8-碘代咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺 (350 mg, 627 umol), 三乙胺 (76.1 mg, 752 umol) 溶于二氯甲烷 (10 mL), 加入在二氯甲烷 (3 mL) 稀释后的丙烯酰氯 (68.1 mg, 752 umol), 反应在 25°C 下搅拌 3 小时。LCMS 显示反应完全。反应液用水 (20 mL) 淬灭, 二氯甲烷 (20 mL x 3) 萃取, 合并后的有机相用水 (20 mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 硅胶拌样, 过柱 (DCM:MeOH = 10:1) 得到 N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4-甲氧基-5-((4-(8-碘代咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (190 mg, 收率: 49.5%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 10.12 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 8.49 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H) 7.86 (s, 1 H), 7.72 - 7.68 (m, 2H), 6.78 (s, 1H), 6.57 - 6.48 (m, 3H), 5.78 - 6.75 (m, 1H), 3.89 (s, 3H) 2.96 (s, 2H) 2.71 (s, 3H) 2.35 (s, 8H)。

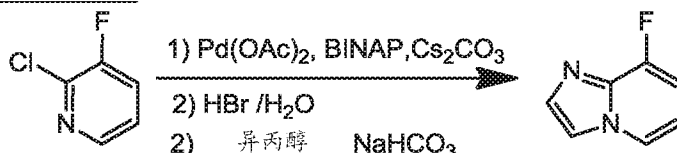
ESI-MS(*m/z*): [M+H]⁺613.3。

实施例 5:

N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-5-((4-(8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 5) 的合成:



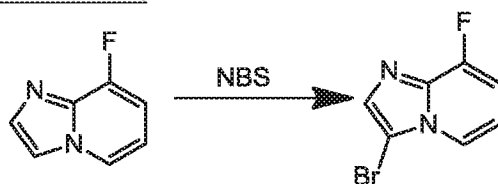
a. 8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶的合成



将 2-氯-3-氟吡啶 (21 g, 159 mmol), 二苯甲酮亚胺 (32 g, 176 mmol), BINAP (4.96 g, 7.97 mmol) 和碳酸铯 (73 g, 224 mmol) 溶于甲苯 (370 mL), 在氮气保护下加入 Pd(OAc)₂ (1.45 g, 6.46 mmol), 反应在 100°C 下搅拌 48 小时。LCMS 显示反应完全, 反应混合液用硅藻土过滤, 并用乙酸乙酯润洗滤饼。有机相用水 (200 mL x 2) 萃取, 减压浓缩, 除去溶剂。将粗品溶于 HBr (29.8 g, 147 mmol, 20 mL) 和水 (20 mL), 反应在 90°C 下搅拌 30 分钟后, 加入异丙醇 (300 mL) 和碳酸氢钠 (68.4 g, 814 mmol), 反应在 25°C 下搅拌 20 分钟。过滤后, 固体用异丙醇 (200 mL) 润洗, 滤液在 55°C 下搅拌 16 小时后, LCMS 显示反应完全。减压浓缩后, 溶于乙酸乙酯 (300 mL), 水 (200 mL) 洗, 水相再用乙酸乙酯 (200 mL x 2) 萃取, 合并后的有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 硅胶拌样, 过柱 (PE:EA = 1:1) 得到棕色固体 8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶 (14.0 g, 收率: 64.4%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.94 - 7.91 (m, 1H), 7.62 - 7.61 (m, 2H), 6.85 - 6.81 (m, 1H), 6.70 - 6.65 (m, 1H)。

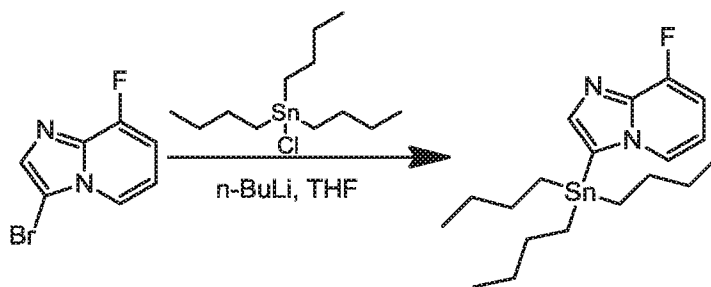
b. 3-溴代-8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶的合成



将 8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶 (3.00 g, 22.0 mmol) 溶于二氯甲烷 (30 mL), 分批加入 NBS (3.92 g, 22.0 mmol), 反应在 25°C 下搅拌 16 小时。LCMS 显示反应完全, 反应液用二氯甲烷 (50 mL) 稀释, 水 (50 mL x 2) 洗。用无水硫酸钠干燥有机相, 减压蒸馏除去溶剂, 过柱纯化 (PE:EA = 5:1) 得到棕色固体 3-溴代-8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶 (3.50 g, 收率: 73.8%)。

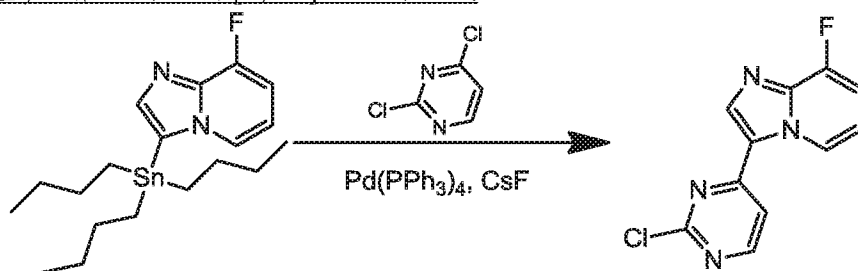
¹H NMR ES10609-7-PIB (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.97 - 7.95 (m, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.98 - 7.94 (m, 1H), 7.89 - 7.84 (m, 1H)。

c. 8-氟代-3-(三正丁基锡基)咪唑并[1,2-a]吡啶的合成



将 3-溴代-8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶 (1.00 g, 4.65 mmol) 溶于 THF (20 mL), 在零下 70°C 滴加 n-BuLi (2.5M, 2.23 mL), 反应在零下 70°C 下搅拌 30 分钟。将三正丁基氯化锡溶于 THF (5 mL), 在零下 70°C 下并缓慢滴加到反应液中, 反应升温至 25°C 后搅拌 3 小时。LCMS 显示反应完全。用水 (20 mL) 淬灭, 水相用乙酸乙酯萃取 (20 mL x 3), 合并后的有机相用水 (20 mL x 2) 洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到棕色油状化合物 8-氟代-3-(三正丁基锡基)咪唑并[1,2-a]吡啶 (2.39 g), 不经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

d. 3-(2-氯嘧啶-4-基)-8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶的合成



将 8-氟代-3-(三正丁基锡基)咪唑并[1,2-a]吡啶 (2.00g, 4.70 mmol), 2,4-二氯嘧啶 (771 mg, 5.17 mmol) 和碳酸铯 (1.43 g, 9.41 mmol) 溶于甲苯 (40 mL), 在氮气的保护下加入 Pd(PPh₃)₄ (544mg, 470 umol), 反应在 90°C 下搅拌 16 小时。TLC (PE:EA = 2:1) 显示反应完全, 加入水 (50 mL), 水相用乙酸乙酯 (50 mL x 3) 进行萃取, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 硅胶拌样, 过柱纯化 (PE:EA = 2:1 至 1:1) 得到 3-(2-氯嘧啶-4-基)-8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶 (650mg, 收率: 48.4%)。

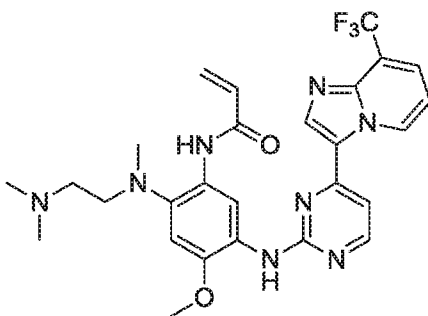
剩下的中间体和终产物的合成, 参考与实施例 19 类似的方法, 可以得到 N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(8-氟代咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (170 mg, 收率: 39.9%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 10.14 (s, 1H), 9.70 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.46 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.09 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 6.99 - 6.97 (m, 1H), 6.82 - 6.78 (m, 2H), 6.37 - 6.28 (m, 2H), 5.69 - 5.66 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 2.89 (s, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.33 (s, 2H), 2.28 (s, 6H)。

ESI-MS(m/z): [M+H]⁺505.5。

实施例 6:

N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(8-三氟甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 6) 的合成:



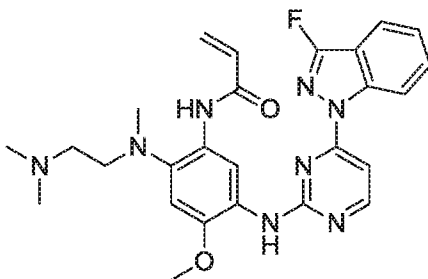
与实施例 4 类似的方法, 可以得到 N-(2-((2-(2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4-甲氧基-5-((4-(8-三氟甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)咪唑-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (200mg, 39.2%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 10.3 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 9.89 (s, 1H), 8.51 - 8.45 (m, 2H), 7.89 (s, 1H), 7.72 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.90 - 6.86 (m, 1H), 6.53 - 6.37 (m, 2H), 5.77 (d, $J_1 = 2.0$ Hz, d, $J_2 = 9.6$ Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 2.92 - 2.89 (m, 2H), 2.75 - 2.72 (m, 3H), 2.27 (s, 8H)。

ESI-MS(m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ 555.3$ 。

实施例 7:

N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-5-((4-(3-氟代-1H-吡唑-1-基)咪唑-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 7) 的合成:



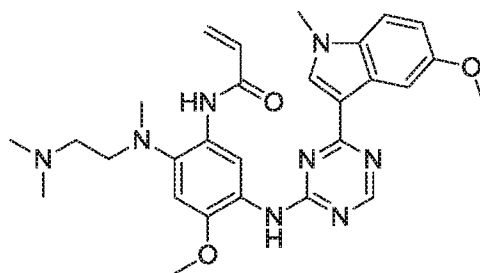
与实施例 4 类似的方法, 可以得到 N-(2-((2-(2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-5-((4-(3-氟代-1H-吡唑-1-基)咪唑-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (100mg, 收率: 22.3%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 10.3 (s, 1H), 8.78 - 8.74 (m, 2H), 8.41 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.58 - 7.54 (m, 1H), 7.33 - 7.30 (m, 2H), 6.95 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.46 - 6.42 (m, 1H), 6.34 - 6.27 (m, 1H), 5.73 - 5.71 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 2.94 - 2.88 (m, 2H), 2.74 (s, 3H), 2.35 - 2.33 (m, 2H), 2.29 (s, 6H)。

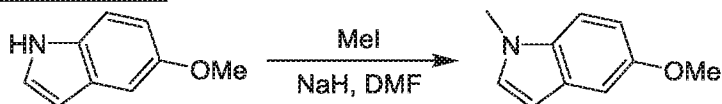
ESI-MS(m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ 505.3$ 。

实施例 8:

N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4-甲氧基-5-((4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吡唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 8) 的合成:



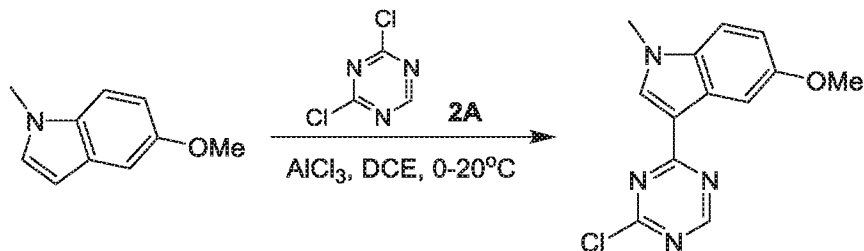
a. 5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚的合成



将 NaH (3.10g, 77.5 mmol, 纯度为 60%) 加入到 DMF (200 mL), 在 0°C 下加入 5-甲氧基吲哚 (9.50 g, 64.5 mmol), 在该温度下搅拌 20 分钟, 加入已溶于 DMF (20mL) 的碘甲烷 (10.9g, 77.5 mmol, 4.82 mL), 反应在 0-20°C 下搅拌 2 小时后, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入水 (500mL) 中, 将过滤得到的固体溶于乙酸乙酯 (300 mL), 用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 粗品通过硅胶柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯 =10:1) 得到淡黄色固体 5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚 (10.0g, 62.0 mmol, 收率: 96.1%)。

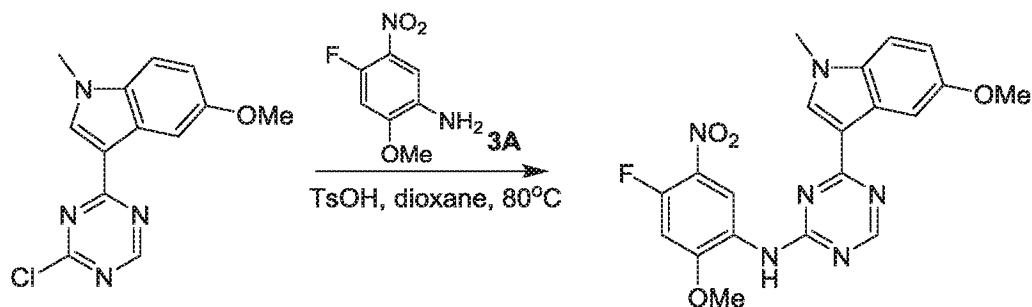
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ7.22 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.90 (dd, J₁ = 2.4 Hz, J₂ = 8.8 Hz, 1H), 6.41 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.77 (s, 3H).

b. 3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚的合成



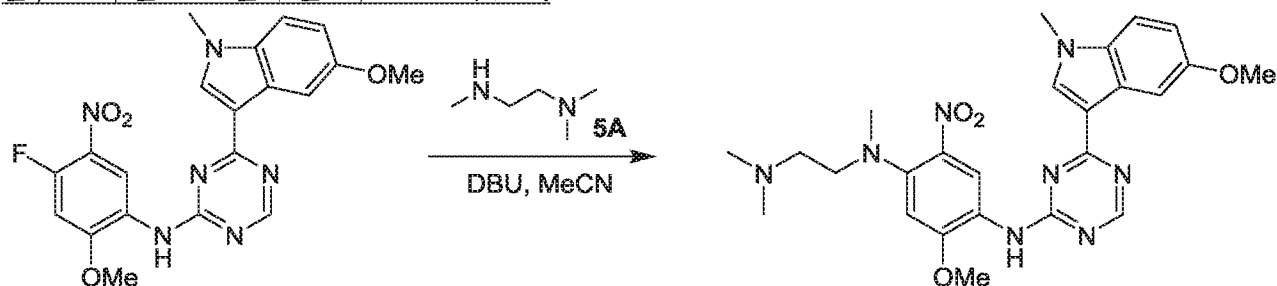
将化合物 2A (8.70 g, 58.0 mmol) 溶于二氯乙烷 DCE (200 mL) 中后, 在 0°C 下加入 AlCl₃ (8.44g, 63.3 mmol), 反应在该温度下搅拌 40 分钟, 将溶于二氯乙烷 DCE (40 mL) 的 5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚 (8.5 g, 52.7 mmol) 在 40 分钟内分批加入到反应混合液中, 在 0-20°C 下搅拌 3 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入冰水 (400 mL) 中过滤, 得到的固体溶于二氯甲烷 DCM (300 mL), 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 得到黄色固体 3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚 (1.00g, 1.60 mmol, 收率: 3.04%)。

c. N-(4-氯-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-胺的合成



在 3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚 (1.00 g, 3.64 mmol) 和化合物 3A (813mg, 4.37 mmol) 的 2,4-二氧六环 (40 mL) 溶液中加入 TsOH (815 mg, 4.73 mmol), 反应在 80°C 下搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入冰水 (300 mL), 固体过滤后经 MeCN:H₂O (1:1, 50 mL) 滴定纯化得到棕色固体 N-(4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺的合成

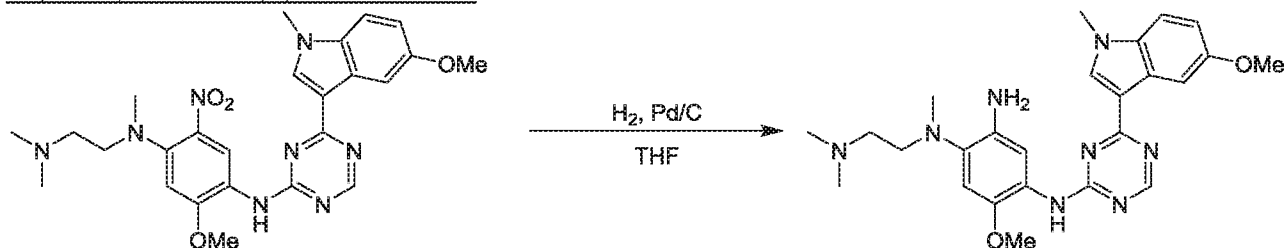
d. N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N⁴-(4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺的合成



将 N-(4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺 (860 mg, 2.03 mmol) 溶于乙腈 ACN (30 mL), 加入化合物 5A (414 mg, 4.05 mmol, 527 μL) 和 DBU (617 mg, 4.05 mmol, 611 μL), 反应混合液在 80°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完全。减压浓缩后再溶于二氯甲烷 DCM (200 mL), 用水 (100 mL) 进行萃取, 水相再用二氯甲烷 DCM (100 mL) 进行萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到红色固体 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N⁴-(4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺 (1.00 g, 1.97 mmol, 收率: 97.4%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 9.57 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.12 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.96 (dd, J₁ = 2.8 Hz, J₂ = 8.8 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.31 (t, J = 2.8 Hz, 2H), 2.91 (s, 3H), 2.57 (t, J = 2.8 Hz, 2H), 2.26 (s, 6H).

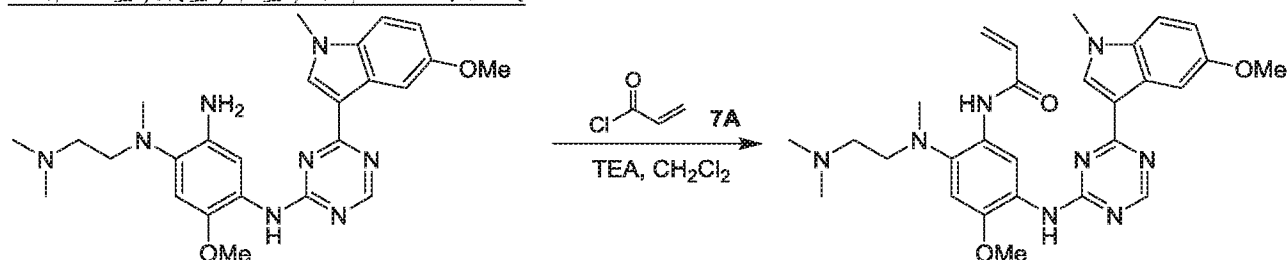
e. N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N⁴-(4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺的合成



将 N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基- N^4 -(4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)- N^1 -甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺 (500 mg, 987 μmol) 溶于 THF (30 mL), 加入 Pd/C (0.1 g, 纯度为 10%), 将反应液在 20°C 和氢气 (16 psi) 下搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液用硅藻土进行过滤, 滤饼用 THF (50 mL) 进行洗涤, 得到的滤液减压浓缩后经硅胶柱层析 (DCM:MeOH:NH₄OH = 10:1:0.1) 得到棕色固体 N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基- N^4 -(4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)- N^1 -甲基苯基-1,2,4-三胺 (360 mg, 755 μmol 收率: 76.5%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 8.62 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.28 (s, 2H), 6.97 (dd, J₁ = 2.4 Hz, J₂ = 8.8 Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 2.98 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.66 (s, 3H), 2.43 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.28 (s, 6H).

f. N -(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺的合成



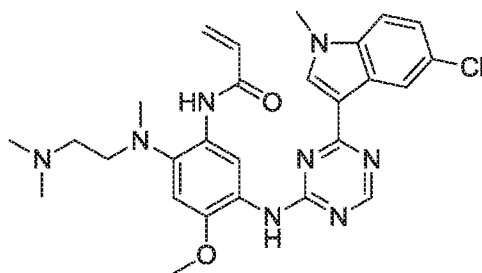
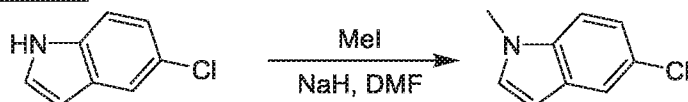
将 N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基- N^4 -(4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)- N^1 -甲基苯基-1,2,4-三胺 (360 mg, 755 μmol) 和三乙胺 (91.7 mg, 906 μmol , 126 μL) 溶于二氯甲烷 DCM (30 mL), 向反应混合液中加入预先溶于二氯甲烷 DCM (5 mL) 化合物 7A (82.0 mg, 906 μmol , 73.9 μL), 反应在 20°C 下搅拌 3 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液加入二氯甲烷 DCM (30 mL), 用水 (30 mL) 进行萃取, 所得水相再用二氯甲烷 DCM (20 mL) 进行萃取, 合并有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到黄色固体 N -(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (220 mg, 414 μmol , 收率: 54.8%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 10.0 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.14 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.27 (s, 3H), 6.92 (dd, J₁ = 2.4 Hz, J₂ = 8.8 Hz, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.49 - 6.45 (m, 2H), 5.74 - 5.69 (m, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 2.96 (s, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.43 (s, 2H), 2.35 (s, 6H).

ESI-MS(m/z): $[M+H]^+$ 531.3.

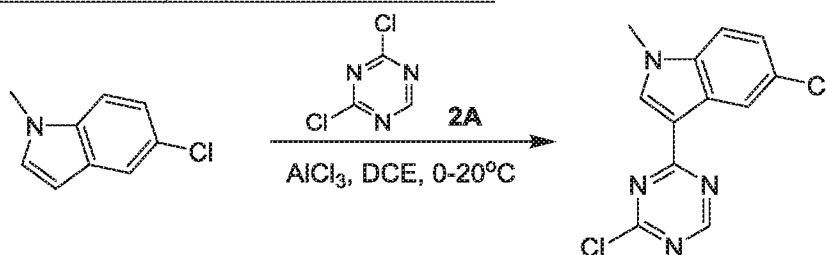
实施例 9:

N -(5-((4-(5-氯代-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 9) 的合成:

a. 5-氯-1-甲基-1H-吲哚的合成

将 NaH (3.17 g, 79.5 mmol, 纯度为 60%) 加入到 DMF (200 mL), 在 0°C 下加入 5-氯-吲哚 (10.0 g, 65.9 mmol), 在该温度下搅拌 20 分钟, 加入已溶于 DMF (20 mL) 的碘甲烷 (11.2 g, 79.2 mmol, 4.93 mL), 反应在 0-20°C 下搅拌 2 小时后, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入水 (500 mL) 中, 将过滤得到的固体溶于乙酸乙酯 (300 mL), 用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 粗品通过硅胶柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1) 得到淡黄色液体 5-氯-1-甲基-1H-吲哚 (10.7 g, 64.6 mmol, 收率: 97.9%)。

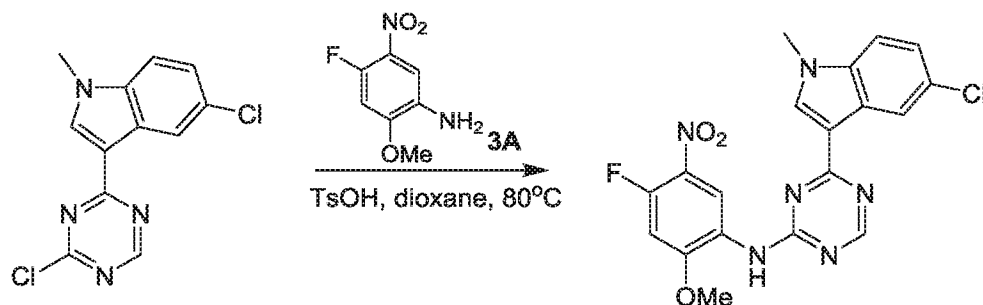
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.58 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.24 - 7.22(m, 1H), 7.18 - 7.15 (m, 1H), 7.06 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.42 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H).

b. 5-氯-3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-1H-吲哚的合成

将化合物 2A (9.96 g, 66.4 mmol) 溶于二氯乙烷 DCE (200 mL) 中后, 在 0°C 下加入 AlCl₃ (9.66g, 72.5 mmol), 反应在该温度下搅拌 40 分钟, 将溶于二氯乙烷 DCE (40 mL) 的 5-氯-1-甲基-1H-吲哚 (10.0 g, 60.4 mmol) 在 40 分钟内分批加入到反应混合液中, 在 0-20°C 下搅拌 3 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入冰水 (400 mL) 中过滤, 得到的固体溶于二氯甲烷 DCM (400 mL), 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 得到黄色固体 5-氯-3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-1H-吲哚 (990mg, 3.55 mmol, 收率: 5.87%)。

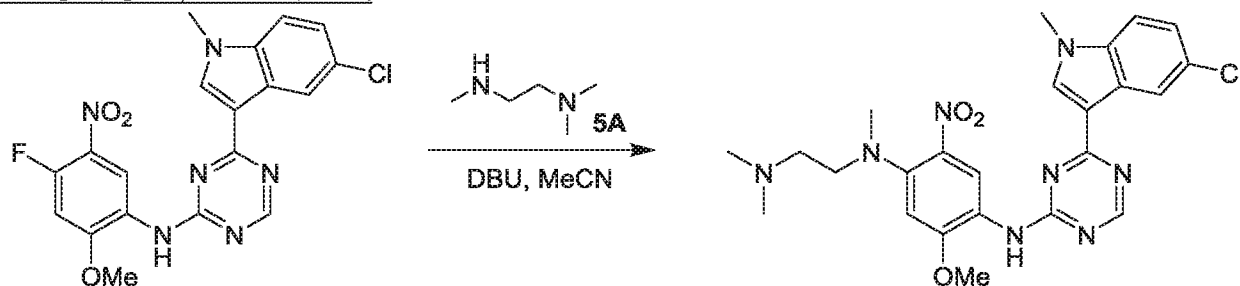
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 8.84 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 3.89 (s, 3H).

c. 4-(5-氯-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺的合成



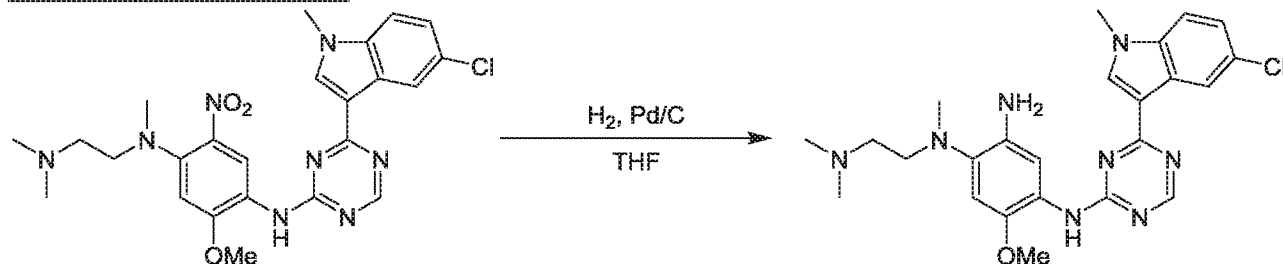
在 5-氯-3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-1-甲基-1H-咪唑 (990mg, 3.55 mmol) 和化合物 3A (792 mg, 4.26 mmol) 的 2,4-二氧六环 (50 mL) 溶液中加入 TsOH (794 mg, 4.61 mmol), 反应在 80°C 下搅拌 4 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入冰水 (200 mL), 固体过滤后用水 (50 mL) 洗涤后减压浓缩后得到棕色固体 4-(5-氯-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (1.50 g, 3.50 mmol, 收率: 98.6%)。

d. N¹-4-(5-氯-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺的合成



将 4-(5-氯-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (1.50 g, 3.50 mmol) 溶于乙腈 ACN (30 mL), 加入化合物 5A (715 mg, 7.00 mmol, 909 μ L) 和 DBU (1.07 g, 7.00 mmol, 1.05mL), 反应混合液在 80°C 下搅拌 5 小时, LCMS 显示反应完全。减压浓缩后再溶于二氯甲烷 DCM (300 mL), 用水 (100 mL) 进行萃取, 水相再用二氯甲烷 DCM (100 mL) 进行萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到粗品红色固体 N¹-4-(5-氯-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺 (1.80 g)。

e. N¹-4-(5-氯-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺的合成

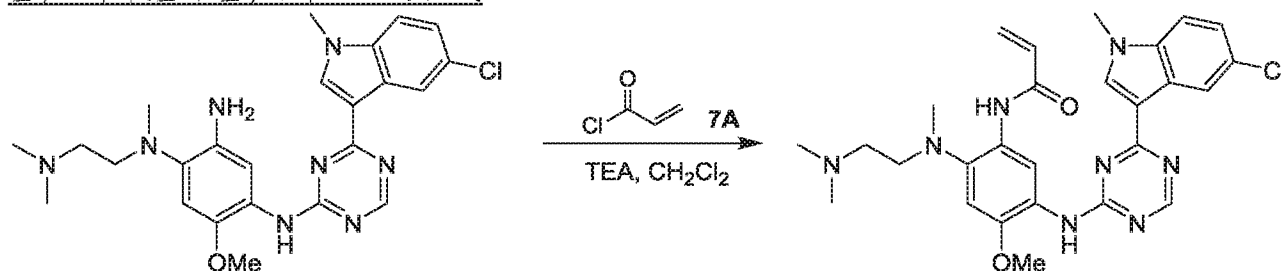


将 N¹-4-(5-氯-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺 (1 g, 1.96mmol) 溶于 THF (30 mL), 加入 Pd/C (0.2 g, 纯度为 10%), 将反应液在 20°C 和氢气 (16 psi) 下搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完全。反应混

合液用硅藻土进行过滤，滤饼用 THF (50 mL) 进行洗涤，得到的滤液减压浓缩后经硅胶柱层析 (DCM:MeOH:NH₄OH = 10:1:0.1) 得到棕色固体 N⁴-(4-(5-氯-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺 (570 mg, 1.19mmol 收率: 60.5%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ8.62 (s, 2H), 8.14 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.27 - 7.26 (m, 3H), 6.73 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 2.98 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.43 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.27 (s, 6H).

f. N-(5-((4-(5-氯代-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺的合成



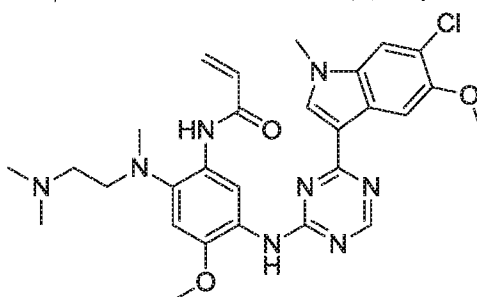
将 N⁴-(4-(5-氯代-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺 (570 mg, 1.19mmol) 和三乙胺 (144 mg, 1.42 mmol, 197.9 μL) 溶于二氯甲烷 DCM (30 mL)，向反应混合液中加入预先溶于二氯甲烷 DCM (5 mL) 化合物 7A (128.0 mg, 1.42mmol, 116μL)，反应在 20°C 下搅拌 3 小时，LCMS 显示反应完全。反应混合液加入二氯甲烷 DCM (30 mL)，用水 (30 mL) 进行萃取，所得水相再用二氯甲烷 DCM (20 mL) 进行萃取，合并有机相用无水硫酸钠干燥，减压浓缩后进行硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到黄色固体 N-(5-((4-(5-氯代-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (340 mg, 635μmol, 收率: 53.0%)。

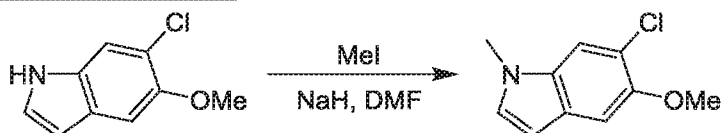
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ10.20 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.62 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.29 - 7.22 (m, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.48 - 6.44 (m, 2H), 5.74 - 6.71 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 2.90 (s, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.27 (m, 8H).

ESI-MS(m/z): [M+H]⁺535.1.

实施例 10:

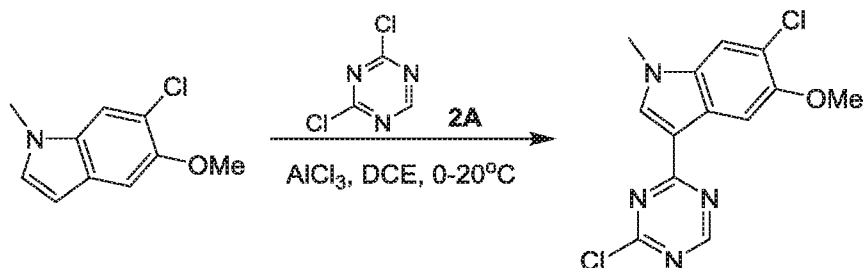
N-(5-((4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 10) 的合成:



a. 6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚的合成

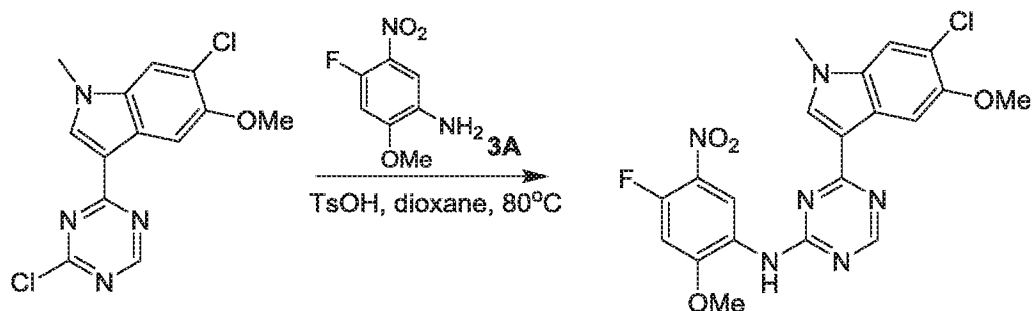
将 NaH (1.32 g, 33.0 mmol, 纯度为 60%) 加入到 THF (100 mL), 在 0°C 下加入 6-氯-5-甲氧基吲哚 (5.0 g, 27.5 mmol), 在该温度下搅拌 20 分钟, 加入已溶于 THF (5 mL) 的碘甲烷 (4.69 g, 33.0 mmol, 2.06 mL), 反应在 0-20°C 下搅拌 2 小时后, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入水 (500 mL) 中, 将过滤得到的固体溶于乙酸乙酯 (300 mL), 用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 粗品通过硅胶柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1) 得到白色固体 6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚 (4.8 g, 24.5 mmol, 收率: 89.1%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.34 (s, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.01 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 6.39 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.71 (s, 3H)。

b. 6-氯-3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚的合成

将化合物 2A (2.95 g, 19.7 mmol) 溶于二氯乙烷 DCE (200 mL) 中后, 在 0°C 下加入 AlCl_3 (2.62g, 19.7 mmol), 反应在该温度下搅拌 40 分钟, 将溶于二氯乙烷 DCE (40 mL) 的 6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚 (3.5 g, 17.9 mmol) 在 40 分钟内分批加入到反应混合液中, 在 0-20°C 下搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入冰水 (200 mL) 中过滤, 得到的固体溶于二氯甲烷 DCM (200 mL), 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 得到黄色固体 6-氯-3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚 (410mg, 1.33 mmol, 收率: 7.41%)。

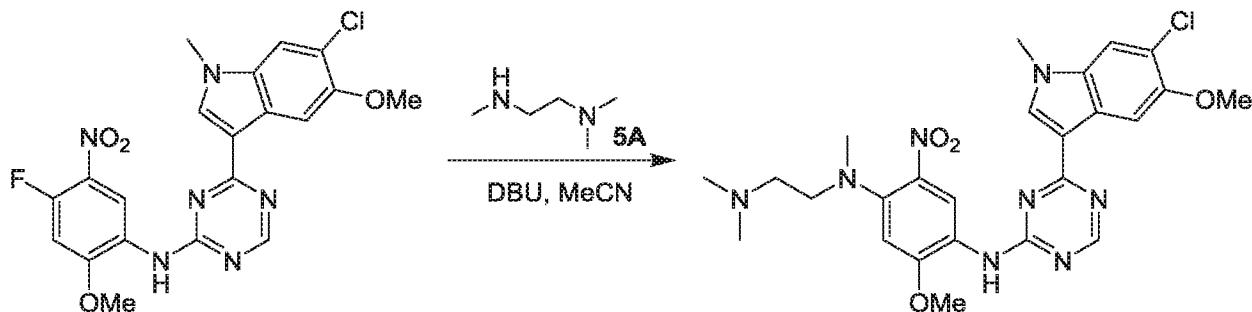
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 8.83 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 4.03 (s, 3H), 3.85 (s, 3H)。

c. 4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺的合成

在 6-氯-3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚 (410mg, 1.33 mmol) 和化合物

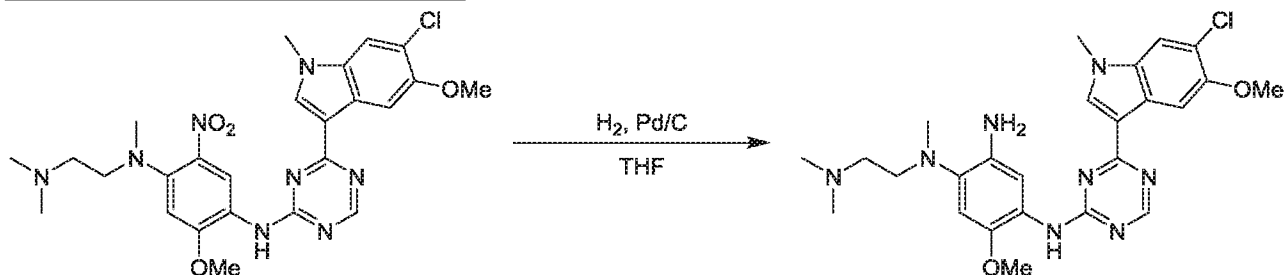
3A (296mg, 1.59 mmol) 的 2,4-二氧六环 (30 mL) 溶液中加入 TsOH (297 mg, 1.72 mmol), 反应在 80°C 下搅拌 4 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入冰水 (200 mL), 固体过滤后用水 (50 mL) 洗涤后减压浓缩后得到棕色固体 4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (560mg, 1.22 mmol, 收率: 92.0%)。

- d. N¹-(4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺的合成



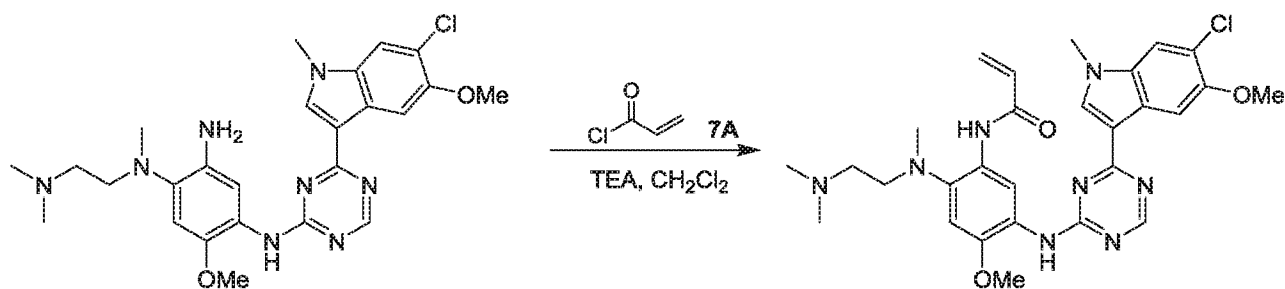
将 4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (560mg, 1.22 mmol) 溶于乙腈 ACN (30 mL), 加入化合物 5A (249 mg, 2.44 mmol, 317 μ L) 和 DBU (371 mg, 2.44 mmol, 368 μ L), 反应混合液在 80°C 下搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完全。减压浓缩后再溶于二氯甲烷 DCM (300 mL), 用水 (100 mL) 进行萃取, 水相再用二氯甲烷 DCM (100 mL) 进行萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到粗品红色固体 N¹-(4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺 (700 mg)。

- e. N¹-(4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺的合成



将 N¹-(4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺 (350mg, 646.95 μ mol) 溶于 THF (30 mL), 加入 Pd/C (100 mg, 纯度为 10%), 将反应液在 25°C 和氢气 (16 psi) 下搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液用硅藻土进行过滤, 滤饼用 THF (50 mL) 进行洗涤, 得到的滤液减压浓缩后经硅胶柱层析 (DCM:MeOH:NH₄OH = 10:1:0.1) 得到棕色固体 N¹-(4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺 (260 mg, 508 μ mol 收率: 78.6%)。

- f. N-(5-((4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺的合成



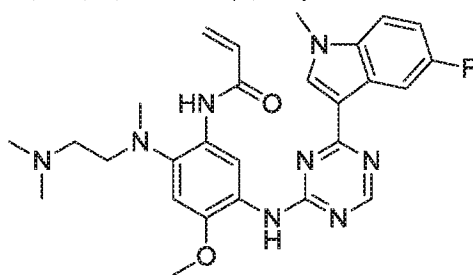
将 N^4 -(4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)- N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基- N^1 -甲基苄基-1,2,4-三胺 (260 mg, 508 μmol) 和三乙胺 (61.8 mg, 610 μmol , 85 μL) 溶于二氯甲烷 DCM (30 mL), 向反应混合液中加入预先溶于二氯甲烷 DCM (5 mL) 化合物 7A (55.3 mg, 610 μmol , 85.0 μL), 反应在 20 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 3 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液加入二氯甲烷 DCM (30 mL), 用水 (30 mL) 进行萃取, 所得水相再用二氯甲烷 DCM (20 mL) 进行萃取, 合并有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到黄色固体 N -(5-((4-(6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-(2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苄基)丙烯酰胺 (160 mg, 283 μmol , 收率: 55.6%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 10.25 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 9.40 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.49 - 6.37 (m, 2H), 5.75 - 5.72 (m, 1H), 4.04 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 2.88 (s, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.27 (s, 8H).

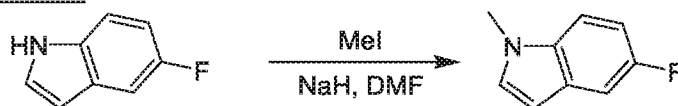
ESI-MS(m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 565.1.

实施例 11:

N -(2-(2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-甲氧基苄基)丙烯酰胺 (化合物 11) 的合成:



a. 5-氟-1-甲基-1H-吲哚的合成

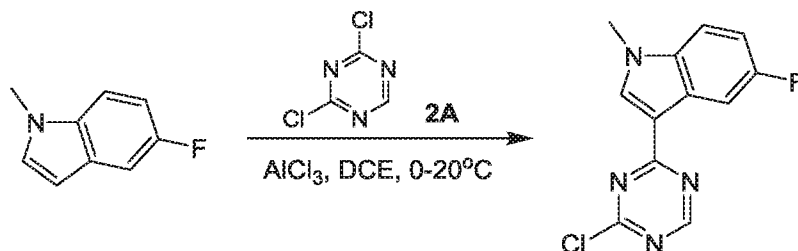


将 NaH (3.55 g, 88.7 mmol, 纯度为 60%) 加入到 THF (200 mL), 在 0 $^{\circ}\text{C}$ 下加入 5-氟-吲哚 (12.6 g, 88.7 mmol), 在该温度下搅拌 20 分钟, 加入已溶于 THF (20 mL) 的碘甲烷 (12.6 g, 88.7 mmol, 5.53 mL), 反应在 0-20 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 2 小时后, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入水 (500 mL) 中, 将过滤得到的固体溶于乙酸乙酯 (300 mL), 用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 粗品通过硅胶柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1) 得到棕色固体 5-氟-1-甲基

-1H-吡啶 (11.0 g, 73.7 mmol, 收率: 90.6%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.29 - 7.26 (m, 1H), 7.22 - 7.21 (m, 1H), 7.09 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 6.98 - 6.97 (m, 1H), 6.44 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 3.79 (s, 3H)。

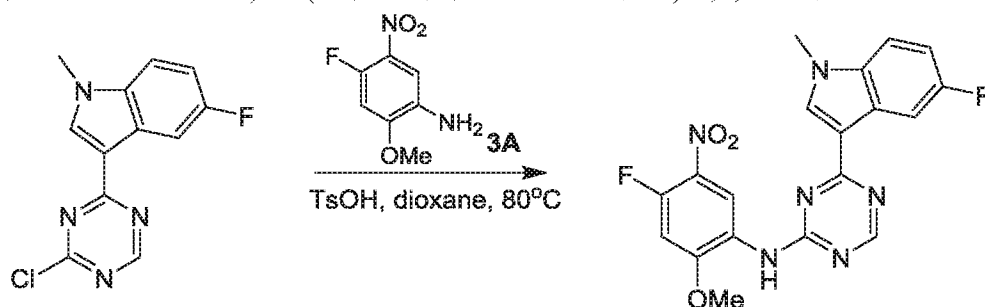
b. 3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-5-氟-1-甲基-1H-吡啶的合成



将化合物 2A (5.03 g, 33.5 mmol) 溶于二氯乙烷 DCE (200 mL) 中后, 在 0°C 下加入 AlCl_3 (4.92g, 36.8 mmol), 反应在该温度下搅拌 40 分钟, 将溶于二氯乙烷 DCE (40 mL) 的 5-氟-1-甲基-1H-吡啶 (5.0 g, 33.5 mmol) 在 40 分钟内分批加入到反应混合液中, 在 $0-20^\circ\text{C}$ 下搅拌 3 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入冰水 (500 mL) 中过滤, 得到的固体溶于二氯甲烷 DCM (500 mL), 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 得到浅红色固体 3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-5-氟-1-甲基-1H-吡啶 (790mg, 2.62 mmol, 收率: 7.81%)。

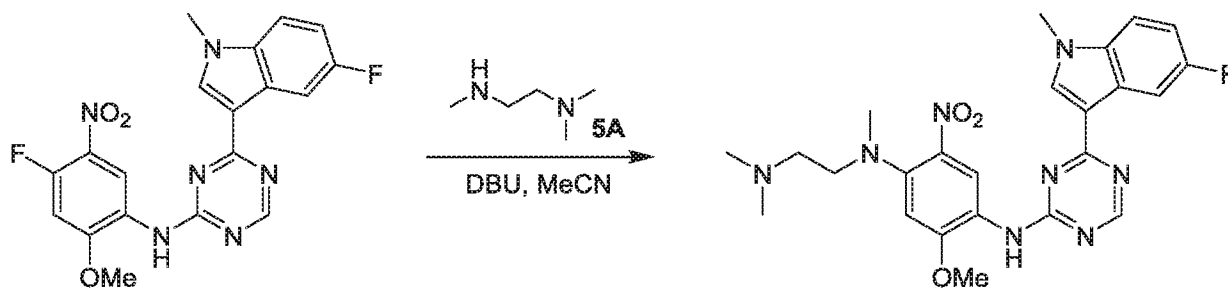
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 8.82 (s, 1H), 8.26 - 8.23 (m, 2H), 7.33 - 7.29 (m, 1H), 7.12 - 7.07 (m, 1H), 3.89 (s, 3H)。

c. 4-(5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺的合成



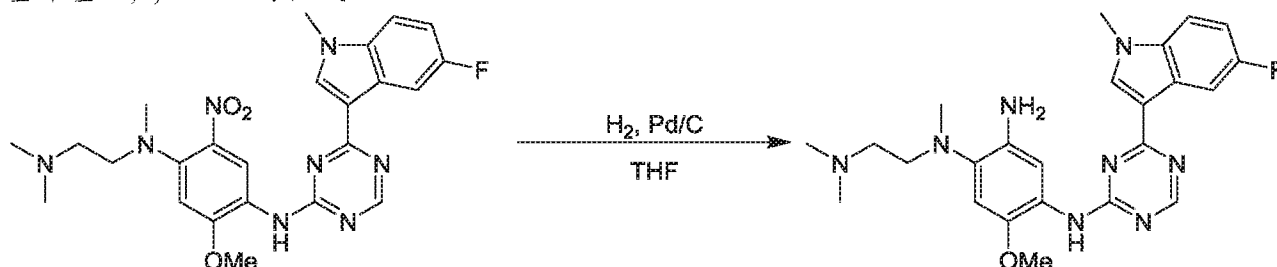
在 3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-5-氟-1-甲基-1H-吡啶 (790mg, 3.01 mmol) 和化合物 3A (672mg, 3.61 mmol) 的 2,4-二氧六环 (30 mL) 溶液中加入 TsOH (673 mg, 3.91 mmol), 反应在 80°C 下搅拌 4 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入冰水 (200 mL), 固体过滤后用水 (50 mL) 洗涤后减压浓缩后得到棕色固体 4-(5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (1.20g, 2.24 mmol, 收率: 74.5%)。

d. N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)- N^4 -(4-(5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基- N^1 -甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺的合成



将 4-(5-氟-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (1.2g, 2.91 mmol) 溶于乙腈 ACN (30 mL), 加入化合物 5A (595 mg, 5.82 mmol, 756 μ L) 和 DBU (886 mg, 5.82 mmol, 877 μ L), 反应混合液在 80 $^{\circ}$ C 下搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完全。减压浓缩后再溶于二氯甲烷 DCM (300 mL), 用水 (100 mL) 进行萃取, 水相再用二氯甲烷 DCM (100 mL) 进行萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到粗品红色固体 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(5-氟-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺 (1.5 g)。

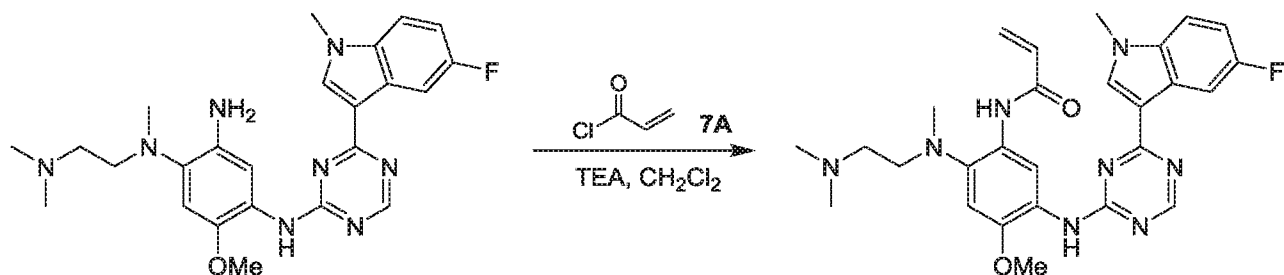
- e. N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(5-氟-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺的合成



将 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(5-氟-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基-2-硝基苯基-1,4-二胺 (800mg, 1.62mmol) 溶于 THF (30 mL), 加入 Pd/C (100 mg, 纯度为 10%), 将反应液在 25 $^{\circ}$ C 和氢气 (16 psi) 下搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液用硅藻土进行过滤, 滤饼用 THF (50 mL) 进行洗涤, 得到的滤液减压浓缩后经硅胶柱层析 (DCM:MeOH:NH₄OH = 10:1:0.1) 得到棕色固体 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(5-氟-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺 (550 mg, 1.18mmol 收率: 73.2%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 8.60 (s, 1H), 8.34 (dd, J₁ = 2.8 Hz, J₂ = 10.0 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.30 - 7.26 (m, 2H), 6.07 - 7.04 (m, 1H), 6.72 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.00 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.46 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.27 (s, 6H)。

- f. N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-吲哚-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙酰胺的合成



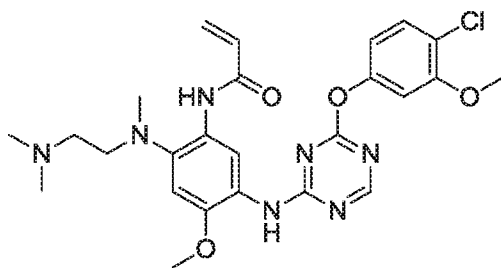
将 N^1 -(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙酰胺 (500 mg, 1.08 mmol) 和三乙胺 (131 mg, 1.30 mmol, 180 μ L) 溶于二氯甲烷 DCM (30 mL), 向反应混合液中加入预先溶于二氯甲烷 DCM (5 mL) 化合物 7A (117 mg, 1.30 mmol, 105.0 μ L), 反应在 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 3 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液加入二氯甲烷 DCM (50 mL), 用水 (30 mL) 进行萃取, 所得水相再用二氯甲烷 DCM (20 mL) 进行萃取, 合并有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到棕色固体 N -(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-吡咯-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙酰胺 (380 mg, 732 μ mol, 收率: 67.8%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 10.22 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 9.39 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.30 (dd, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 10.0$ Hz, 1H), 7.78 (s, 3H), 7.29 - 7.26 (s, 1H), 7.04 - 6.99 (m, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.48 - 6.37 (m, 2H), 5.73 - 5.70 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 2.89 (s, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.27 (s, 8H).

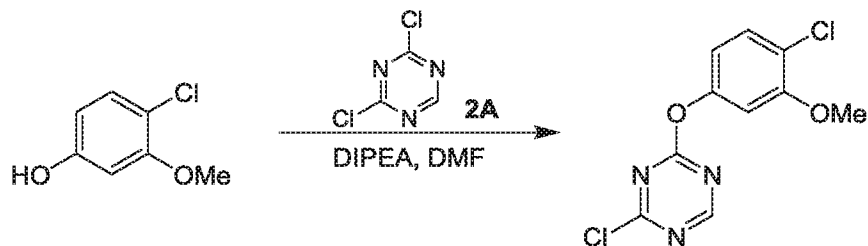
ESI-MS(m/z): $[M+H]^+$ 519.5.

实施例 12:

N -(5-((4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙酰胺 (化合物 12) 的合成:



a. 2-氯-4-(4-氯-3-甲氧基苯基)-1,3,5-三嗪的合成

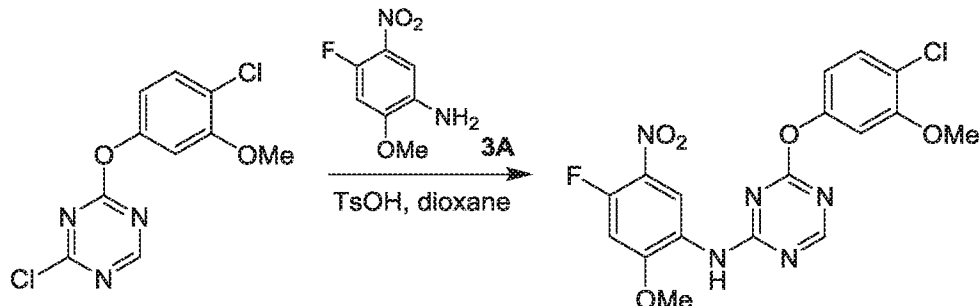


将化合物 2A (3.12 g, 20.8 mmol) 溶于 THF (30.0 mL) 后加入 DIPEA (3.67 g, 28.4 mmol, 4.94 mL) 和 4-氯-3-甲氧基苯酚 (3.00 g, 18.9 mmol), 反应混合液在 15 $^{\circ}$ C 下搅拌 16 小时,

LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入乙酸乙酯 (50.0 mL) 和水 (100 mLx 2) 中进行萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压干燥, 反应混合液用乙酸乙酯 (50.0 mL) 滴定后过滤得到白色固体 2-氯-4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪 (2.70 g, 9.92 mmol, 收率: 52.5%)。

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 9.01 (s, 1H), 7.54 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.95 - 6.88 (m, 1H), 3.83 (s, 3H)。

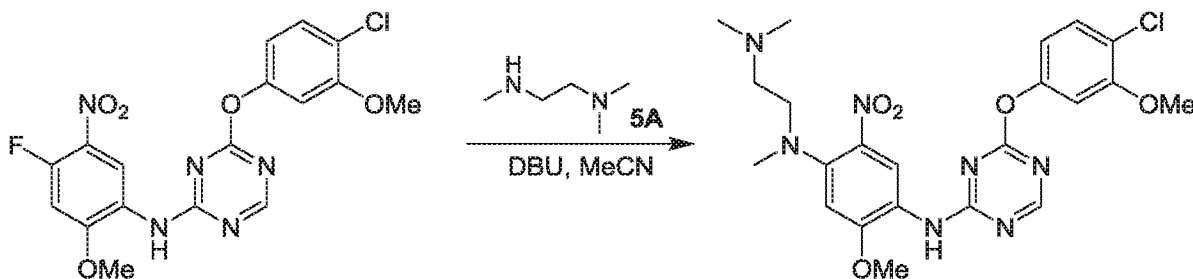
b. 4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-N-(4-氯-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺的合成



在 2-氯-4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪 (700mg, 2.57 mmol) 和化合物 3A (575mg, 3.09 mmol) 的 2,4-二氧六环 (25 mL) 溶液中加入 TsOH (532 mg, 3.09 mmol), 反应在 80°C 下搅拌 4 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入水 (50 mL) 中, 用乙酸乙酯 (80 mL x 3) 进行萃取, 合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (石油醚:乙酸乙酯 = 1:2) 得到棕色固体 4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-N-(4-氯-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (585 mg, 1.39 mmol, 收率: 53.9%)。

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 9.69 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.32 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.47 - 7.31 (m, 2H), 7.09 (s, 1H), 6.83 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.79 (s, 3H)。

c. N^1 -(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)- N^4 -(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基- N^4 -甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺的合成

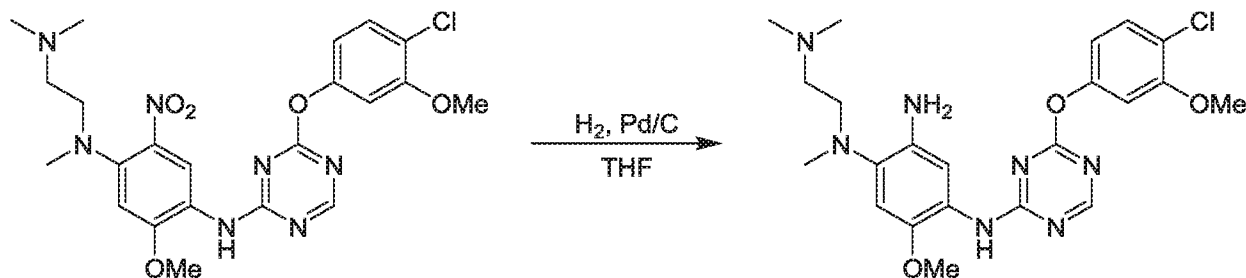


4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-N-(4-氯-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (585mg, 1.39 mmol) 溶于乙腈 ACN (10 mL), 加入化合物 5A (212 mg, 2.08 mmol, 270 μ L) 和 DBU (317 mg, 2.08 mmol, 313 μ L), 反应混合液在 20°C 下搅拌 5 小时, LCMS 显示反应完全。减压浓缩后再溶于二氯甲烷 DCM (50 mL), 用水 (50 mL) 进行萃取, 水相再用二氯甲烷 DCM (30 mL) 进行萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩经硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到黄色油状物 N^1 -(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)- N^4 -(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基- N^4 -甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺 (425 mg, 收率: 60.8%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 8.62 - 8.51 (m, 1H), 7.73 - 7.52 (m, 1H), 7.43 - 7.40 (m, 1H),

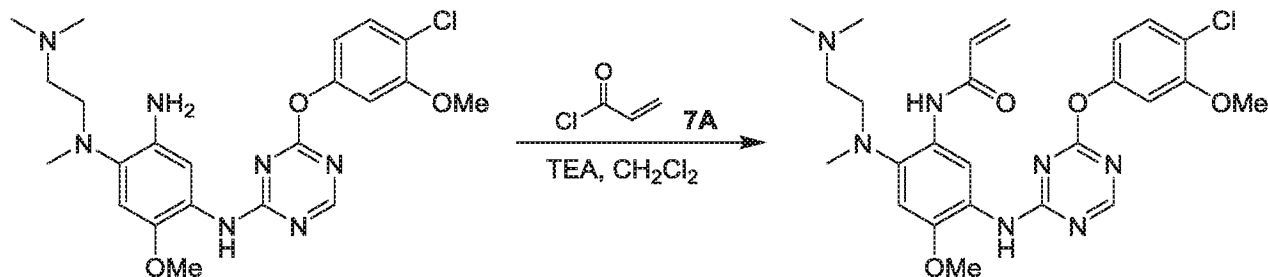
6.78 - 6.76 (m, 2H), 6.64 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.28 (s, 2H), 2.86 (s, 3H), 2.56 - 2.54 (m, 2H), 2.25 (s, 6H).

d. N¹-(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺的合成



将 N¹-(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基-N¹-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺 (425mg, 843 μ mol) 溶于 THF (10 mL), 加入 Pd/C (50 mg, 纯度为 10%), 将反应液在 25 $^{\circ}$ C 和氢气 (16 psi) 下搅拌 3 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液用硅藻土进行过滤, 滤饼用 THF (10 mL) 进行洗涤, 得到的滤液减压浓缩后经硅胶柱层析 (DCM:MeOH:NH₄OH = 10:1:0.1) 得到棕色油状化合物 N¹-(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺 (310 mg, 收率: 77.5%)。

e. N-(5-((4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺)的合成



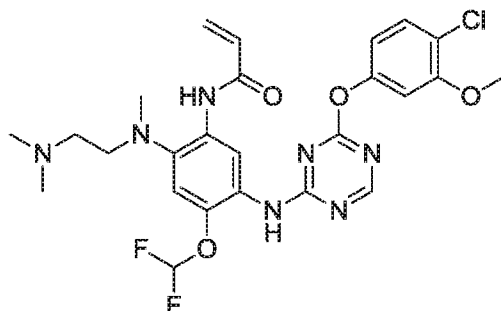
将 N¹-(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺 (435 mg, 0.92 mmol) 和三乙胺 (185 mg, 1.84 mmol, 255 μ L) 溶于二氯甲烷 DCM (30 mL), 向反应混合液中加入预先溶于二氯甲烷 DCM (5 mL) 化合物 7A (107 mg, 1.19 mmol, 97.3 μ L), 反应在 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 5 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液加入二氯甲烷 DCM (50 mL), 用水 (30 mL) 进行萃取, 所得水相再用二氯甲烷 DCM (20 mL) 进行萃取, 合并有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到黄色固体 N-(5-((4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (160 mg, 收率: 33.0%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 10.09 (s, 1H), 9.94 - 9.02 (m, 1H), 8.67 - 8.47 (m, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 6.80 - 6.76 (m, 3H), 6.46 - 6.42 (m, 2H), 5.73 - 5.70 (m, 1H), 3.88 - 3.85 (s, 6H), 2.90 (s, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.32 (s, 8H).

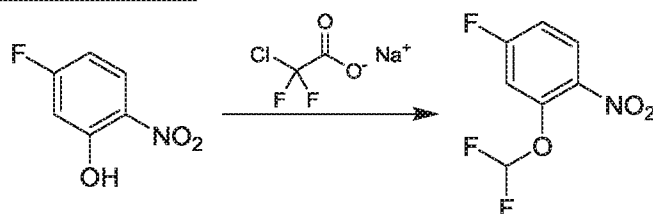
ESI-MS(m/z): [M+H]⁺528.1.

实施例 13:

N-(5-((4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-(二氟甲氧基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 13)的合成:



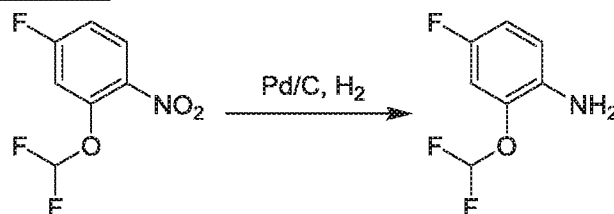
a. 2-(二氟甲氧基)-4-氟-1-硝基苯的合成



将 5-氟-2-硝基苯酚(5.00 g, 31.83 mmol)和碳酸钠(10.1 g, 95.5mmol)溶于 DMF(50 mL), 在 90℃下分批加入 2-氯-2,2-二氟醋酸钠(17.7g, 116 mmol), 反应混合液在该温度下搅拌 2 小时, TLC(石油醚:乙酸乙酯=5:1)显示反应完全, 反应混合液冷却到 25℃后倒入冰水(400 mL)中, 用乙酸乙酯(100 mL x 3)萃取, 合并有机相后用水(200 mL x 2)洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后经硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=10:1)得到黄色油状物 2-(二氟甲氧基)-4-氟-1-硝基苯(6.00 g, 收率: 91.0%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):δ8.07 - 7.96 (m, 1H), 7.15 - 7.07 (m, 2H), 6.64 (t, *J* = 72.4 Hz, 1H).

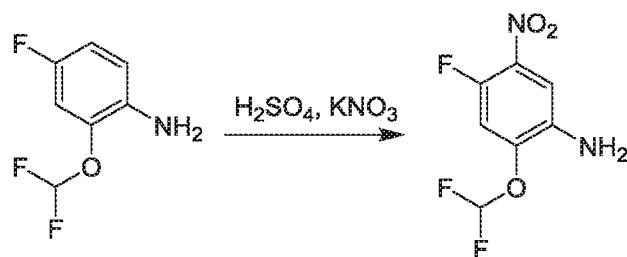
b. 2-(二氟甲氧基)-4-氟苯胺的合成



将 2-(二氟甲氧基)-4-氟-1-硝基苯(6 g, 28.97 mmol)溶于乙醇(100 mL), 加入 Pd/C(600 mg, 纯度为 10%), 将反应液在 25℃和氢气(16 psi)下搅拌 3 小时, TLC(石油醚:乙酸乙酯=3:1)显示反应完全。反应混合液用硅藻土进行过滤, 滤饼用甲醇(200 mL)进行洗涤得到粗品棕色油状化合物 2-(二氟甲氧基)-4-氟苯胺(4.0g, 收率: 77.9%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):δ6.83 - 6.76 (m, 1H), 6.75 - 6.72 (m, 2H), (t, *J* = 74.0 Hz, 1H), 3.71 (s, 2H).

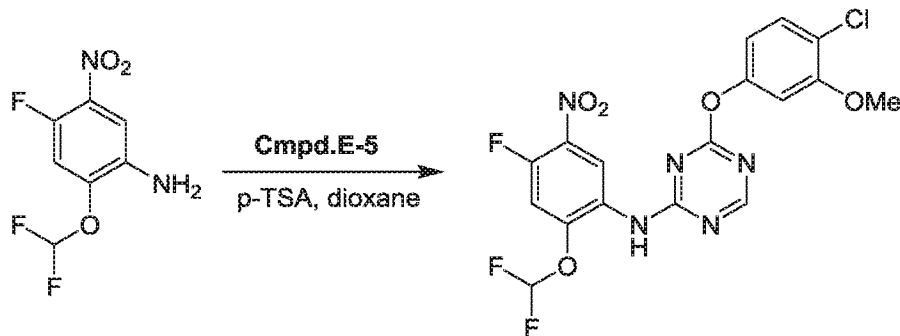
c. 2-(二氟甲氧基)-4-氟-5-硝基苯胺的合成



将 2-(二氟甲氧基)-4-氟苯胺 (4.00 g, 19.3 mmol) 溶于浓硫酸 (50 mL) 后在 0°C 下加入 KNO₃ (2.15 g, 21.3 mmol), 反应混合液在 0-20°C 下搅拌 2.5 小时, TLC (石油醚:乙酸乙酯 =5:1) 显示反应完全。反应混合液倒入冰水 (500 mL), 并用二氯甲烷 DCM (200 mL x 3) 萃取, 有机相合并后用水 (200 mL x 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到黄色固体 2-(二氟甲氧基)-4-氟-5-硝基苯胺 (4.00 g, 收率: 93.2%)。

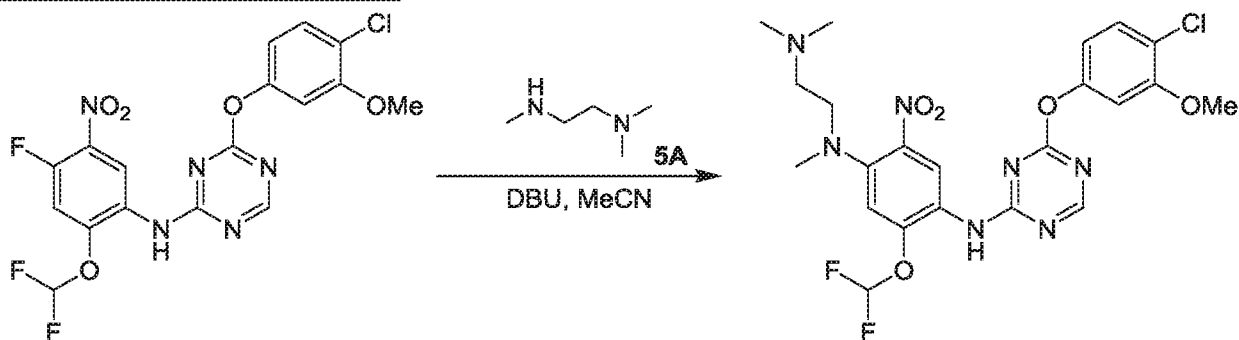
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ7.47 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.59 (t, *J* = 72.0 Hz, 1H), 4.02 (s, 2H).

d. 4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-N-(2-(二氟甲氧基)-4-氟-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺的合成



在 (化合物 E-5) 2-氯-4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪 (1.00 g, 3.68 mmol) 和 2-(二氟甲氧基)-4-氟-5-硝基苯胺 (979mg, 4.41 mmol) 的 2,4-二氧六环 (50 mL) 溶液中加入 TsOH (823 mg, 4.78 mmol), 反应在 20°C 下搅拌 5 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入水 (100 mL) 中, 用乙酸乙酯 (100 mL x 2) 进行萃取, 合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (石油醚:乙酸乙酯 =1:1) 得到棕色固体 4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-N-(2-(二氟甲氧基)-4-氟-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (700 mg, 1.39 mmol, 收率: 41.6%)。

e. N¹-(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)-2-(二氟甲氧基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺的合成

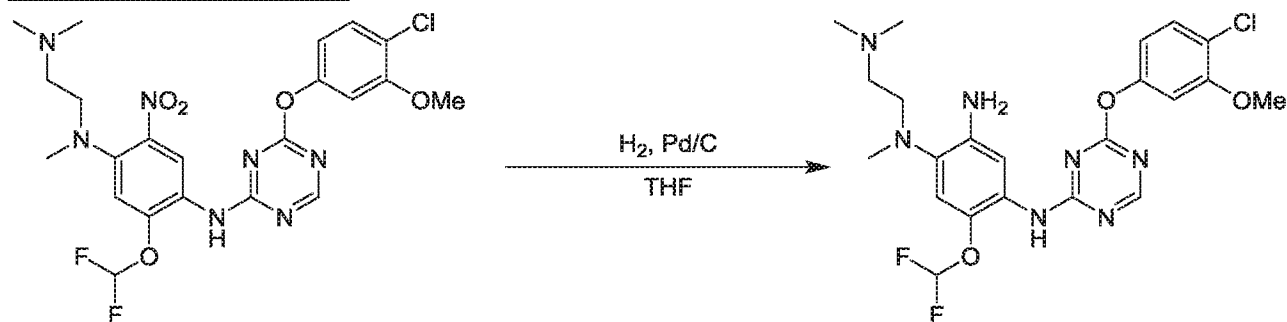


4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-N-(2-(二氟甲氧基)-4-氟-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (700mg,

1.53 mmol) 溶于乙腈 ACN (30 mL), 加入化合物 5A (234 mg, 2.29 mmol, 298 μ L) 和 DBU (349 mg, 2.29 mmol, 345 μ L), 反应混合液在 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 5 小时, LCMS 显示反应完全。减压浓缩后再溶于二氯甲烷 DCM (50 mL), 用水 (50 mL x 3) 进行萃取, 水相再用二氯甲烷 DCM (30 mL) 进行萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩经硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到黄色油状物 N^1 -(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)-2-(二氟甲氧基)- N^4 -(2-(二甲基氨基)乙基)- N^4 -甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺 (560 mg, 收率: 67.8%)。

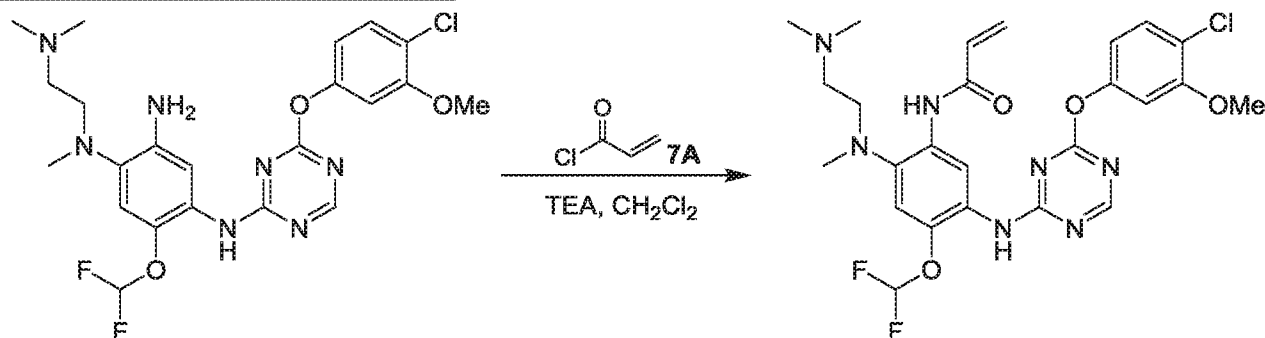
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 8.55 (s, 1H), 7.55 - 7.52 (m, 2H), 7.41 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.80 - 6.44 (m, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.28 - 3.25 (m, 2H), 2.83 (s, 3H), 2.54 - 2.51 (m, 2H), 2.25 (s, 6H)。

f. N^1 -(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-(二氟甲氧基)- N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)- N^1 -甲基苯基-1,2,4-三胺的合成



将 N^1 -(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)-2-(二氟甲氧基)- N^4 -(2-(二甲基氨基)乙基)- N^4 -甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺 (550mg, 1.02mmol) 溶于 THF (10 mL), 加入 Pd/C (50 mg, 纯度为 10%), 将反应液在 25 $^{\circ}$ C 和氢气 (16 psi) 下搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液用硅藻土进行过滤, 滤饼用 THF (10 mL) 进行洗涤, 得到的滤液减压浓缩后经硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到粉色固体 N^1 -(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-(二氟甲氧基)- N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)- N^1 -甲基苯基-1,2,4-三胺 (445 mg, 收率: 85.6%)。

g. N -(5-((4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-(二氟甲氧基)-2-(2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)苯基)丙烯酰胺的合成



将 N^1 -(4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)-5-(二氟甲氧基)- N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)- N^1 -甲基苯基-1,2,4-三胺 (435 mg, 0.85 mmol) 和三乙胺 (172 mg, 1.71 mmol, 237 μ L) 溶于二氯甲烷 DCM (30 mL), 向反应混合液中加入预先溶于二氯甲烷 DCM (5 mL) 化合物 7A

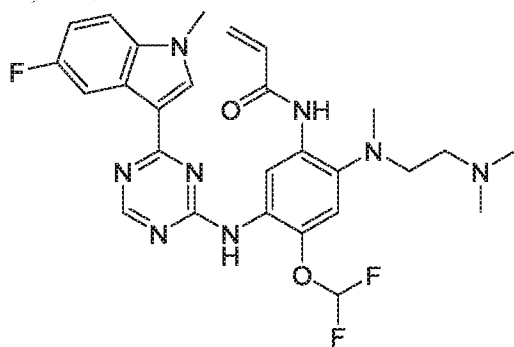
(115 mg, 1.28 mmol, 104 μ L), 反应在 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 5 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液加入二氯甲烷 DCM (50 mL x 3), 用水 (30 mL) 进行萃取, 所得水相再用二氯甲烷 DCM (20 mL) 进行萃取, 合并有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到黄色固体 N-(5-((4-(4-氯-3-甲氧基苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-(二氟甲氧基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (300 mg, 收率: 62.4%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 10.30 (s, 1H), 9.40 - 9.10 (m, 1H), 8.57 (s, 1H), 7.37 (s, 2H), 7.02 (s, 1H), 6.80 - 6.78 (m, 2H), 6.63 (s, 1H), 6.47 - 6.43 (m, 2H), 6.33 - 6.27 (s, 1H), 5.75 - 5.73 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 2.81 (s, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.33 (s, 2H), 2.28 (s, 6H)。

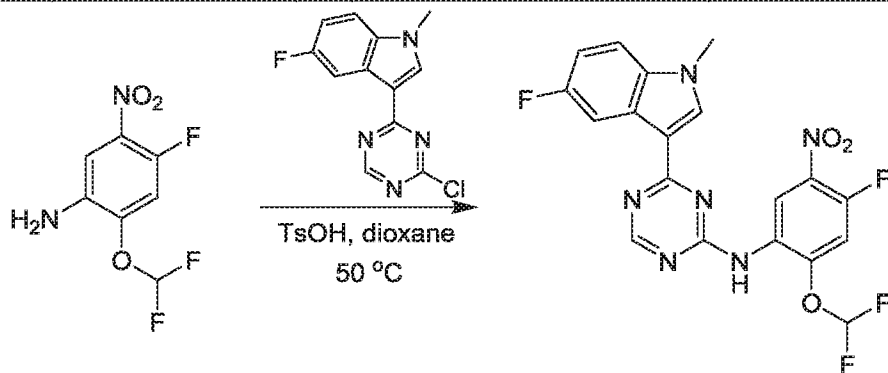
ESI-MS(m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 564.1。

实施例 14:

N-(4-(二氟甲氧基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 14) 的合成:

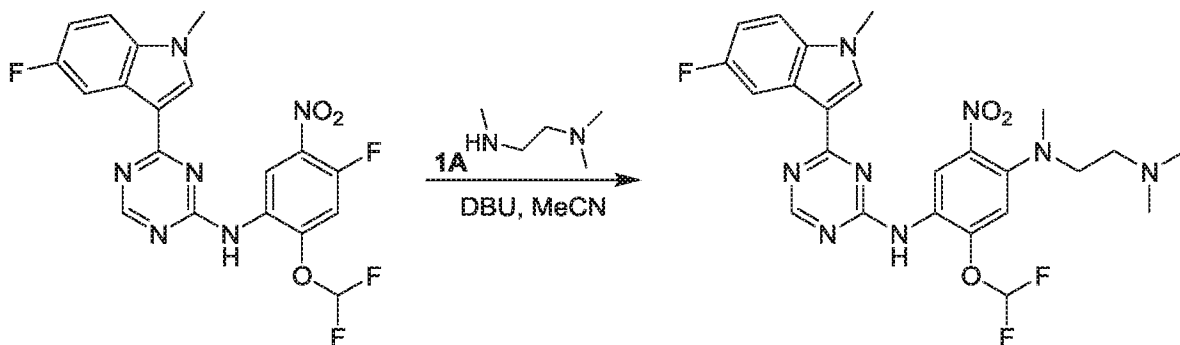


a. N-(2-(二氟甲氧基)-4-氟-5-硝基苯基)-4-(5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-胺的合成



在 3-(4-氯-1,3,5-三嗪-2-基)-5-氟-1-甲基-1H-吡啶 (130 mg, 0.50 mmol) 和 2-(二氟甲氧基)-4-氟-5-硝基苯胺 (132 mg, 0.59 mmol) 的 2,4-二氧六环 (20 mL) 溶液中加入 TsOH (111 mg, 0.64 mmol), 反应在 80 $^{\circ}$ C 下搅拌 3 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入水 (50 mL) 中, 将固体过滤并用水 (10 mL) 洗, 减压浓缩后得到棕色固体 N-(2-(二氟甲氧基)-4-氟-5-硝基苯基)-4-(5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (220 mg, 收率: 98.2%)。

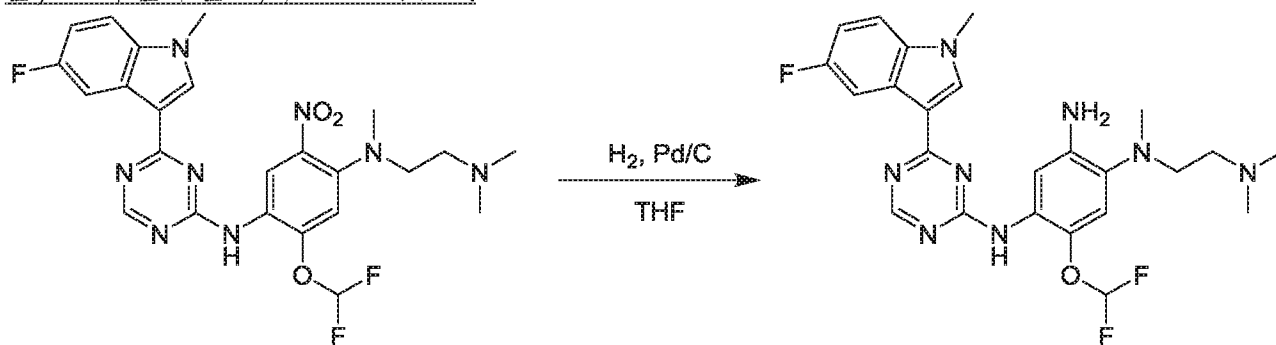
b. 2-(二氟甲氧基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-N¹-(4-(5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺的合成



N-(2-(二氟甲氧基)-4-氟-5-硝基苯基)-4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (220mg, 0.49 mmol) 溶于乙腈 ACN (30 mL), 加入化合物 1A (75.2 mg, 0.74 mmol, 95.7 μ L) 和 DBU (112 mg, 0.74 mmol, 111 μ L), 反应混合液在 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 5 小时, LCMS 显示反应完全。减压浓缩后再溶于二氯甲烷 DCM (50 mL), 用水 (40 mL x 2) 进行萃取, 水相再用二氯甲烷 DCM (30 mL) 进行萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩经硅胶柱层析 (DCM:MeOH:NH₄OH = 10:1:0.1) 得到黄色固体 2-(二氟甲氧基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-N¹-(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺 (225 mg, 收率: 84.5%)。

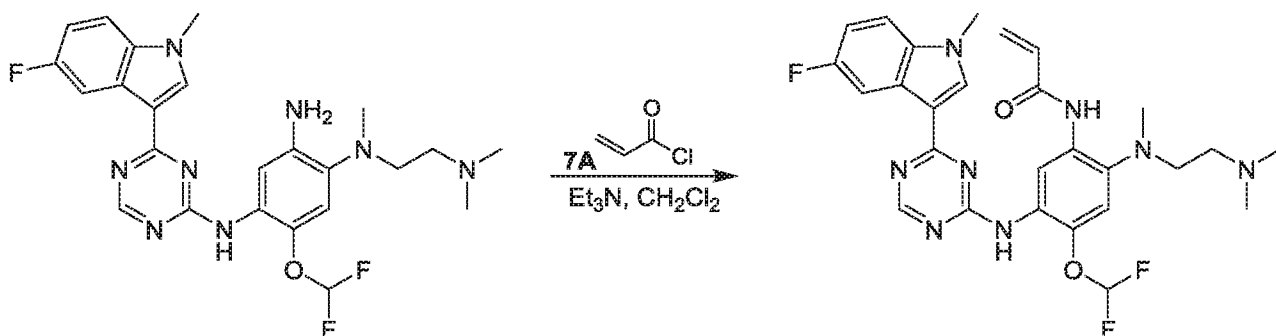
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 9.27 (br, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.29-8.21 (m, 2H), 7.33-7.27 (m, 2H), 7.08-7.04 (m, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.32 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.89 (s, 3H), 2.59 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.28 (s, 6H)。

c. 5-(二氟甲氧基)-N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺的合成



将 2-(二氟甲氧基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-N¹-(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺 (220mg, 0.42 mmol) 溶于 THF (10 mL) 和甲醇 (3 mL), 加入 Pd/C (50 mg, 纯度为 10%), 将反应液在 25 $^{\circ}$ C 和氢气 (16 psi) 下搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液用硅藻土进行过滤, 滤饼用 THF (10 mL) 进行洗涤, 得到的滤液减压浓缩后得到黑色固体 5-(二氟甲氧基)-N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺 (205 mg, 收率: 97.3%)。

d. N-(4-(二氟甲氧基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺的合成



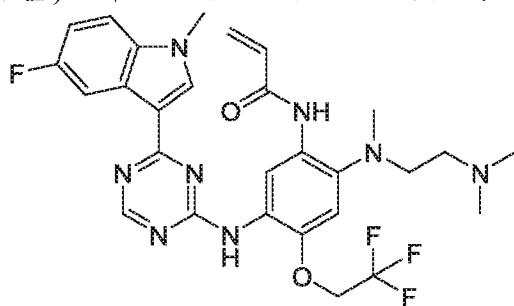
将 5-(二氟甲氧基)-N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺 (205 mg, 0.41 mmol) 和三乙胺 (49.7 mg, 0.49 mmol, 40.1 μ L) 溶于二氯甲烷 DCM (20 mL), 向反应混合液中加入预先溶于二氯甲烷 DCM (2 mL) 化合物 7A (44.5 mg, 0.49 mmol, 40.1 μ L), 反应在 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 5 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液加入二氯甲烷 DCM (20 mL), 用水 (30 mL) 进行萃取, 所得水相再用二氯甲烷 DCM (20 mL x 2) 进行萃取, 合并有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到黄色固体 N-(4-(二氟甲氧基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (150 mg, 收率: 64.5%)。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 10.4 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 9.23 (br, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.27 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.29-7.27 (m, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.05-7.00 (m, 1H), 6.70-6.33 (m, 3H), 5.76 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.96 (s, 3H), 2.88 (s, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.29 (m, 8H).

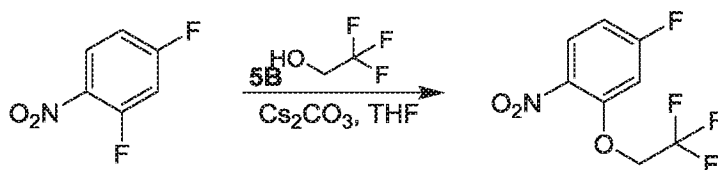
ESI-MS(m/z): [M+H]⁺555.1.

实施例 15:

N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 15) 的合成:



a. 4-氟-1-硝基-2-(2,2,2-三氟乙氧基)苯的合成

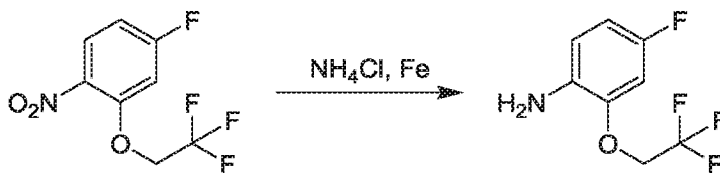


将 2,4-二氟硝基苯 (10.0 g, 62.8 mmol) 和 Cs₂CO₃ (20.5 g, 62.8 mmol) 溶于 THF (100 mL) 后, 滴加化合物 5B (6.29g, 62.8 mmol), 反应混合物在 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 6 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合物倒入冰水 (200 mL), 用乙酸乙酯 (150 mL x 3) 萃取, 合并后的有

机相用饱和食盐水 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤后减压浓缩, 经硅胶柱层析 (石油醚:乙酸乙酯=10:1) 得到黄色固体 4-氟-1-硝基-2-(2,2,2-三氟乙氧基)苯 (14.0 g, 收率: 93.1%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 8.03-7.91 (m, 1H), 6.91-6.82 (m, 2H), 4.54-4.43 (m, 2H).

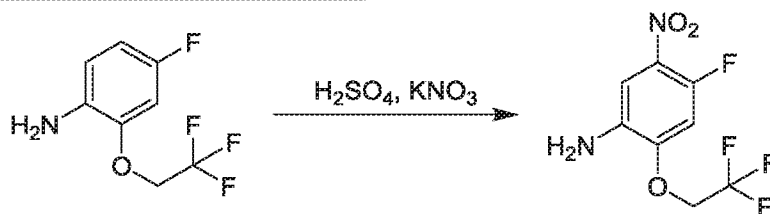
b. 4-氟-2-(2,2,2-三氟乙氧基)苯胺的合成



将 4-氟-1-硝基-2-(2,2,2-三氟乙氧基)苯 (14.0 g, 58.6 mmol) 溶于乙醇 (40 mL) 和水 (10 mL) 的混合液, 加入 NH_4Cl (9.40 g, 175 mmol), 加入铁粉 (19.6g, 351 mmol), 反应混合物在 80°C 下搅拌 6 小时, LCMS 显示反应完全。降温到 20°C , 用硅藻土过滤反应混合物, 滤液减压浓缩经硅胶柱层析 (石油醚:乙酸乙酯 =10:1) 得到红色油状物 4-氟-2-(2,2,2-三氟乙氧基)苯胺 (10.0 g, 收率: 81.1%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6.69-6.55 (m, 3H), 4.37-4.31 (m, 2H), 3.69 (br, 2H).

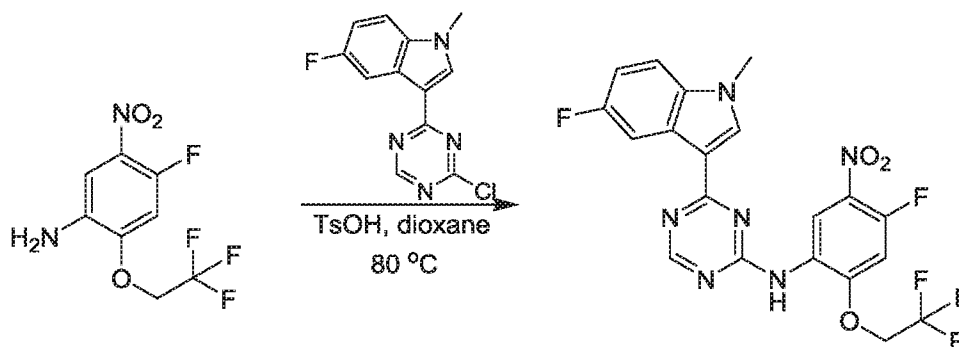
c. 2-(2,2,2-三氟乙氧基)-4-氟-5-硝基苯胺的合成



将 4-氟-2-(2,2,2-三氟乙氧基)苯胺 (10.0 g, 47.8 mmol) 溶于浓硫酸 (35 mL) 后在 0°C 下加入 KNO_3 (5.80 g, 57.4 mmol), 反应混合液在 $0-20^\circ\text{C}$ 下搅拌 2.5 小时, TLC (石油醚:乙酸乙酯 =5:1) 显示反应完全。反应混合液倒入冰水 (500 mL), 并用二氯甲烷 DCM (50 mL x 10) 萃取, 有机相合并后用饱和食盐水 (200 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩经硅胶柱层析 (石油醚:乙酸乙酯 =8:1) 得到黄色固体 2-(2,2,2-三氟乙氧基)-4-氟-5-硝基苯胺 (8.20 g, 收率: 64.8%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.43 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 4.48-4.42 (m, 2H), 3.99 (br, 2H).

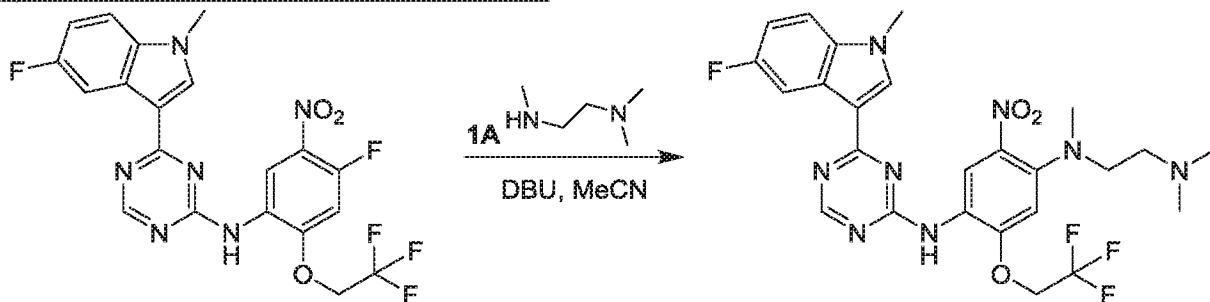
d. 4-(5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基)-N-(4-氟-5-硝基-2-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺的合成



在 3-(4-氟-1,3,5-三嗪-2-基)-5-氟-1-甲基-1H-咪唑 (300 mg, 1.14 mmol) 和 2-(2,2,2-三氟乙氧基)-4-氟-5-硝基苯胺 (348mg, 1.37 mmol) 的 2,4-二氧六环 (20 mL) 溶液中加入 TsOH (256 mg, 1.48 mmol), 反应在 80°C 下搅拌 3 小时, LCMS 显示反应完全。将反应混合液倒入水 (50 mL) 中, 将固体过滤并用水 (10 mL) 洗, 减压浓缩后得到黄色固体 4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-N-(4-氟-5-硝基-2-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (549 mg, 收率: 98.1%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 9.56 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.53 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.63-7.54 (m, 2H), 7.12-7.08 (m, 1H), 5.01-4.95 (m, 2H), 3.89 (s, 3H)。

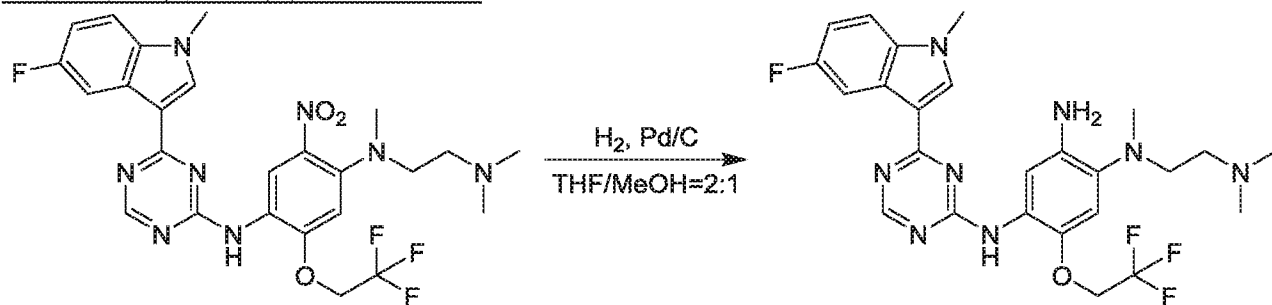
e. N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)- N^4 -(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)- N^1 -甲基-2-硝基-5-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基-1,4-二胺的合成



4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-N-(4-氟-5-硝基-2-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺 (519mg, 1.08 mmol) 溶于乙腈 ACN (30 mL), 加入化合物 1A (166 mg, 1.62 mmol) 和 DBU (247 mg, 1.62 mmol), 反应混合液在 80°C 下搅拌 15 小时, LCMS 显示反应完全。减压浓缩后再溶于二氯甲烷 DCM (100 mL), 用水 (40 mL x 2) 进行萃取, 水相再用二氯甲烷 DCM (30 mL) 进行萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩经硅胶柱层析 (DCM:MeOH: $\text{NH}_4\text{OH} = 10:1:0.1$) 得到黄色固体 N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)- N^4 -(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)- N^1 -甲基-2-硝基-5-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基-1,4-二胺 (600 mg, 收率: 98.7%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 10.6 (br, 1H), 9.38 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.56-7.53 (m, 1H), 7.10 (s, 2H), 4.96 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.65 (s, 2H), 3.56-3.45 (m, 1H), 2.86 (s, 3H), 2.75 (s, 6H), 2.55-2.33 (m, 1H), 1.94-1.89 (s, 0.5H), 1.67-1.61 (m, 1.5H)。

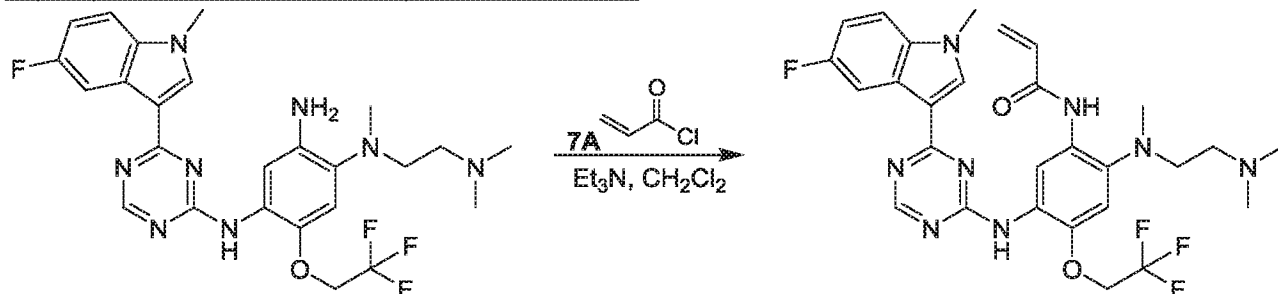
f. N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)- N^4 -(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)- N^1 -甲基-5-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基-1,2,4-三胺的合成



将 N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)- N^4 -(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)- N^1 -甲基-2-硝基-5-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基-1,4-二胺 (250mg, 0.44 mmol) 溶于 THF (20 mL) 和甲醇

(10mL), 加入 Pd/C (50 mg, 纯度为 10%), 将反应液在 25°C 和氢气 (16 psi) 下搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液用硅藻土进行过滤, 滤饼用 THF (10 mL) 进行洗涤, 得到的滤液减压浓缩后得到黑色固体 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-甲基-5-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基-1,2,4-三胺 (230 mg, 收率: 96.4%)。

g. N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基)丙烯酰胺的合成



将 N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-N¹-甲基-5-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基-1,2,4-三胺 (230 mg, 0.43 mmol) 和三乙胺 (52.4 mg, 0.52 mmol, 40.1μL) 溶于二氯甲烷 DCM (20 mL), 向反应混合液中加入预先溶于二氯甲烷 DCM (2 mL) 化合物 7A (46.9 mg, 0.52 mmol, 40.1μL), 反应在 20°C 下搅拌 5 小时, LCMS 显示反应完全。反应混合液加入二氯甲烷 DCM (20 mL), 用水 (30 mL) 进行萃取, 所得水相再用二氯甲烷 DCM (20 mL x 2) 进行萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后进行硅胶柱层析 (DCM:MeOH = 10:1) 得到黄色固体 N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-4-(2,2,2-三氟乙氧基)苯基)丙烯酰胺 (140 mg, 收率: 53.9%)。

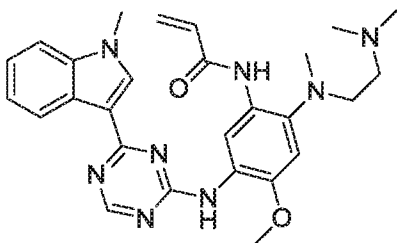
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 10.2 (s, 1H), 9.92 (br, 1H), 9.30 (br, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.27 (dd, J₁ = 2.0 Hz, J₂ = 10.0 Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.29-7.27 (m, 1H), 7.04-6.99 (m, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.46-6.42 (m, 2H), 5.76-5.71 (m, 1H), 4.49-4.37 (m, 2H), 3.97 (s, 3H), 2.91-2.88 (m, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.36 (s, 2H), 2.31 (s, 6H).

ESI-MS(m/z): [M+H]⁺ 587.1.

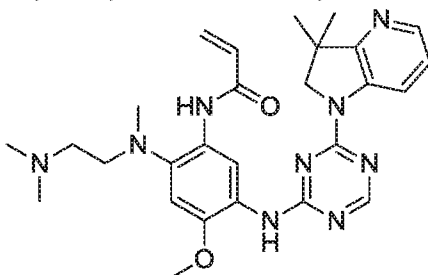
实施例 16:

根据本发明第一方面所述的式(II)化合物, 其化学合成和制备可以参考 Zeng, QB 等发表在 Journal of Medicinal Chemistry, 2015, 58, 8200-8215 的文章, 以及专利 WO2018/210246(A1), CN105461695A, CN201410365911A, CN201610126987A, CN109761960 和 CN106928200A, 其选自如下化合物:

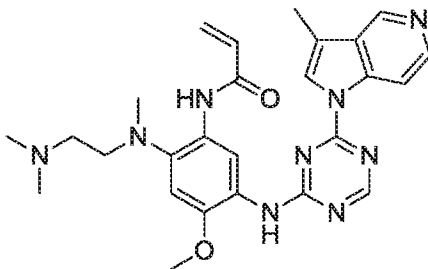
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 16);



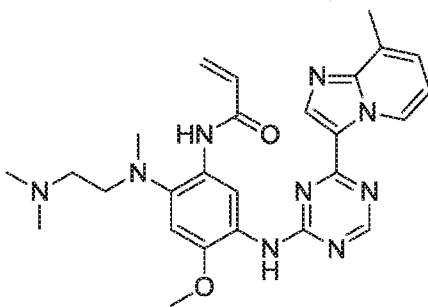
N-(5-((4-(3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(化合物17);



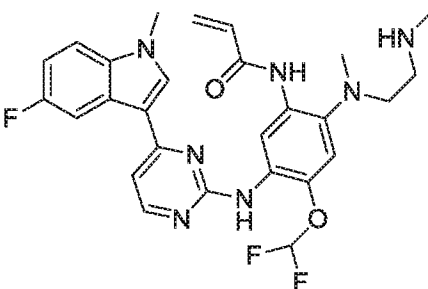
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(3-甲基-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物18);



N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(8-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物19);

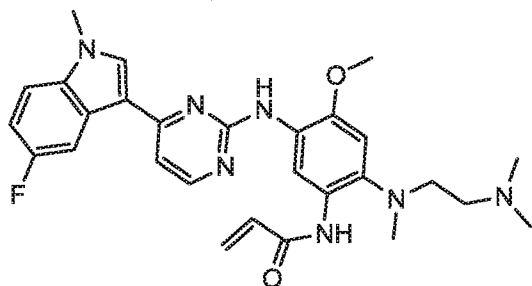


N-(4-(二氟甲氧基)-5-((4-(5-氟代-1-甲基-1H-咪唑[3,2-b]吡啶-2-基)氨基)-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物20);

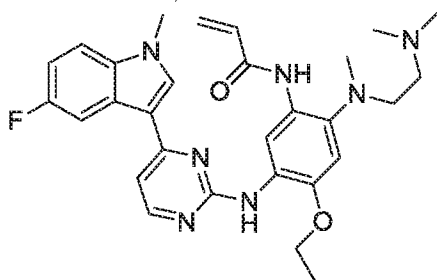


N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((4-(5-氟代-1-甲基-1H-咪唑[3,2-b]吡啶-2-基)氨基)-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物21);

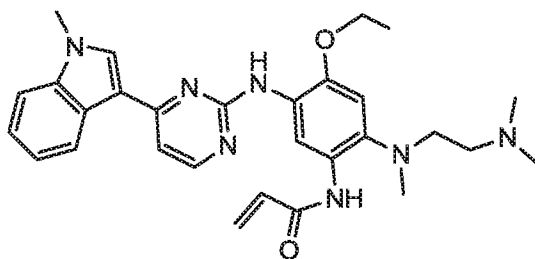
基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 21) ;



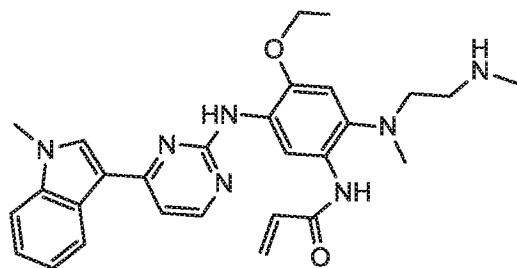
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-乙氧基-5-((4-(5-氟代-1-甲基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 22) ;



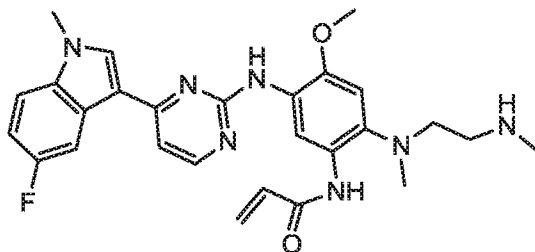
N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-乙氧基-5-((4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 23) ;



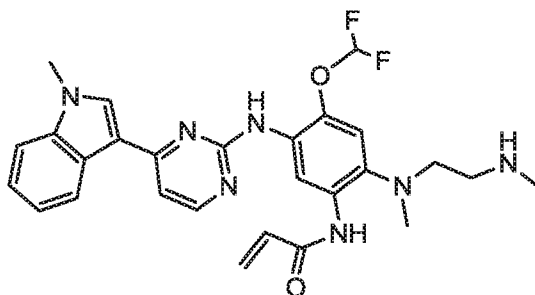
N-(4-乙氧基-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)-5-((4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 24) ;



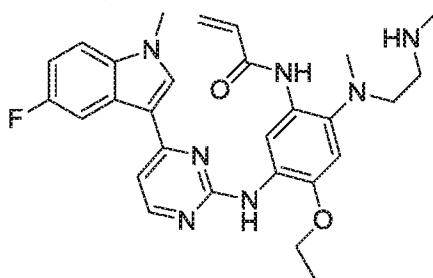
N-(5-((4-(5-氟代-1-甲基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧基-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 25) ;



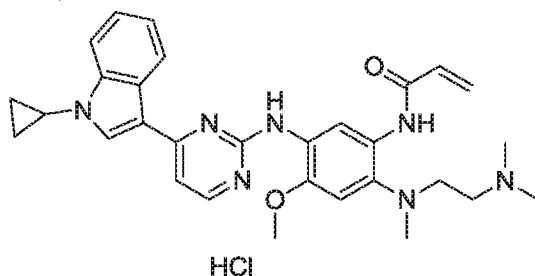
N-(4-(二氟甲氧基)-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)-5-((4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 26) ;



N-(4-乙氧基-5-((4-(5-氟代-1-甲基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-2-基)氨基)-2-(甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 27) ;

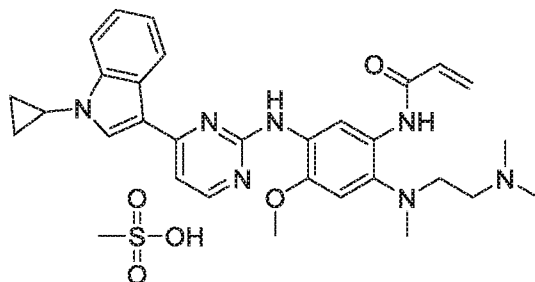


N-(5-((4-(1-环丙基-1H-吡啶)嘧啶-2-基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺盐酸盐 (化合物 28) ;

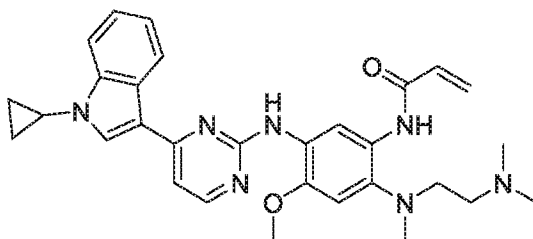


其中, 化合物 28 可在 MedChemExpress 上购买, 货号为 HY-112823B。

N-(5-((4-(1-环丙基-1H-吡啶)嘧啶-2-基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺甲磺酸盐 (化合物 29) ;

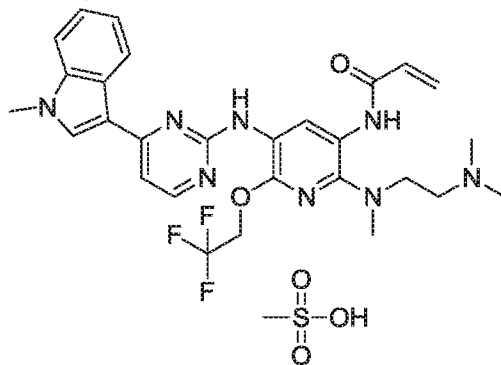


N-(5-((4-(1-环丙基-1H-吡啶)嘧啶-2-基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺 (化合物 30) ;



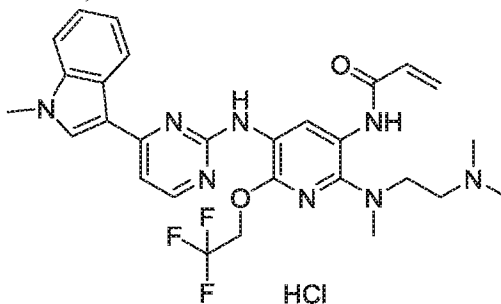
其中，化合物 30 可在 Selleckchem 上购买，货号为 S-8817。

N-(2-((2-(2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)胺基)-6-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-3-基)丙烯酰胺甲磺酸盐(化合物 31)；

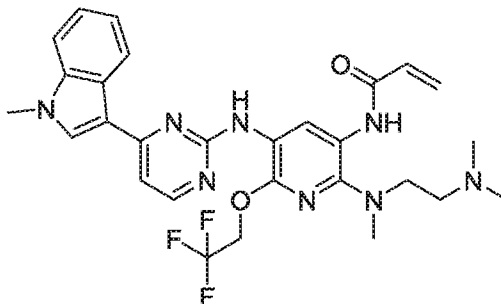


其中，化合物 31 可在 MedChemExpress 上购买，货号为 HY-112870A。

N-(2-((2-(2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)胺基)-6-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-3-基)丙烯酰胺盐酸盐(化合物 32)；

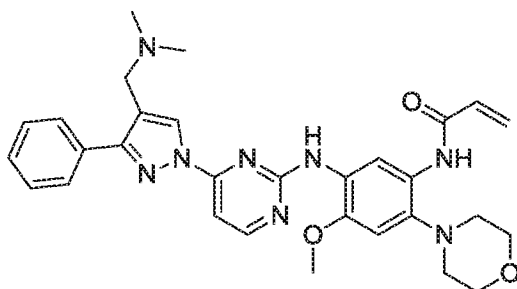


N-(2-((2-(2-(二甲基氨基)乙基(甲基)氨基)-5-((4-(1-甲基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-2-基)胺基)-6-(2,2,2-三氟乙氧基)吡啶-3-基)丙烯酰胺(化合物 33)



其中，化合物 33 可在 ProbeChem 上购买，货号为 PC-35640。

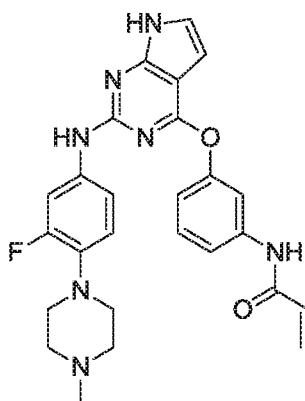
N-(5-((4-(4-((二甲基氨基)甲基)-3-苯基-1H-吡唑-1-基)嘧啶-2-基)胺基)-4-甲氧基-2-吗啉基苯基)丙烯酰胺(化合物 34)；



其中，化合物 34 可在 MedChemExpress 上购买，货号为 HY-109061。

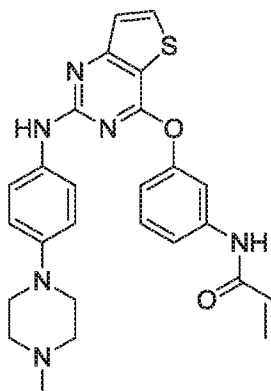
根据本发明第二方面所述的式 (II) 化合物，其化合物化学合成和制备可以参考 Chen, LF 等发表在 Journal of Medicinal Chemistry, 2018, 61, 4290-4300 的文章和参考文献，其选自如下化合物：

N-(3-((2-((3-氟-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)氨基)-7H-吡唑[2,3-d]嘧啶-4-基)氧代)苯基)丙烯酰胺 (化合物 35)；



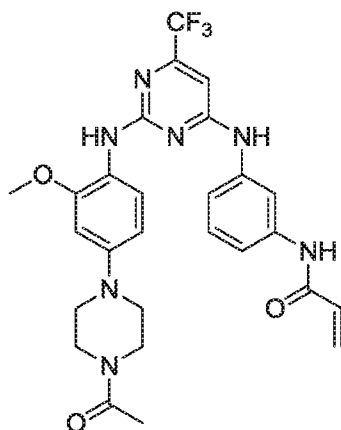
其中，化合物 35 可在 AdooQ Bioscience 上购买，货号为 A16826。

N-(3-((2-((4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)氨基)噻吩并[3,2-d]嘧啶-4-基)氧代)苯基)丙烯酰胺 (化合物 36)；



其中，化合物 36 可在 MedChemExpress 上购买，货号为 HY-19730。

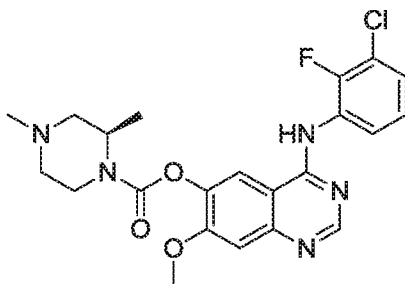
N-(3-((2-((4-(4-乙酰基哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-6-(三氟甲氧基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 37)；



其中，化合物 37 可在 MedChemExpress 上购买，货号为 HY-15729。

根据本发明第二方面所述的式 (IV) 化合物，其化学合成可以参考 Zeng, QB 等发表在 Journal of Medicinal Chemistry, 2015, 58, 8200-8215 的文章，其选自如下化合物：

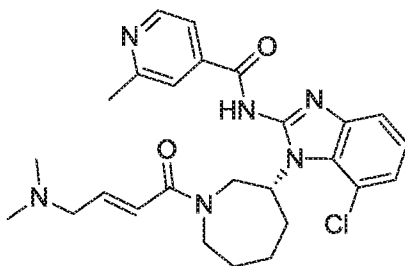
(R)-4-((3-氯-2-氟苯基)胺基)胺基)-7-甲氧基喹唑啉-6-基-2,4-二甲基哌嗪基-1-羧酸酯(化合物 38)；



其中，化合物 38 可在 MedChemExpress 上购买，货号为 HY-18750。

根据本发明第二方面所述的式 (V) 化合物，其化学合成可以参考 Lelais, G 等发表在 Journal of Medicinal Chemistry, 2016, 59, 6671-6689 的文章，其选自如下化合物：

(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基胺基)-2-丁烯酰基)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物 39)；



其中，化合物 39 可在 MedChemExpress 上购买，货号为 HY-12872。

试验 1: EGFR L858R/T790M (EGFR 双突变型) 细胞增殖试验

人肺细胞系 NCI-H1975 (EGFR L858R/T790M 双突变) 是从美国典型培养物保藏中心获得。将 NCI-H1975 细胞培养在含有 10%胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号

#G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (8,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50% 抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 1 显示了本文的实施例 1-15 中的化合物在上述 EGFR L858R/T790M (EGFR 双突变型) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 1

实施例编号	试验 1 — IC ₅₀ (nM)
1	19.82
2	129.6
3	56.97
4	66.70
5	19.50
6	91.04
7	56.97
8	39.6
9	15.3
10	182.7
11	13.5
12	66.3
13	42.1
14	16.8
15	12.7
Osimertinib (AZD9291)	18.23

* Osimertinib (AZD9291) 是阿斯利康开发的第三代 EGFR 抑制剂, 用于治疗非小细胞肺癌, 下同。

试验 2: BaF3 (EGFR-D770insSVD) 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (EGFR-D770insSVD) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3 (EGFR-D770insSVD) 培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 2 显示了本文的实施例 1, 4-6, 8-15 中的化合物在上述 BaF3 (EGFR- D770insSVD) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 2

实施例编号	试验 2 — IC ₅₀ (nM)
1	412
4	592.2
5	144.4
6	518.1
8	30.04
9	48.69
10	565.7
11	22.3
12	183.1
13	88.65
14	16.36
15	24.39
Osimertinib (AZD9291)	305

试验 3: BaF3 (EGFR-A763insFQEA) 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (EGFR-A763insFQEA) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.) 将 BaF3 (EGFR-A763insFQEA) 培养在含有 10%胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养

72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞，并轻柔混合。随后，在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测，得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包（例如 Prism）以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 3 显示了本文的实施例 1, 4-6, 8-15 中的化合物在上述 BaF3(EGFR-A763insFQEA) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 3

实施例编号	试验 3 — IC ₅₀ (nM)
1	279.8
4	312.6
5	42.61
6	277.1
8	16.57
9	14.33
10	182.7
11	9.45
12	57.28
13	43.12
14	7.60
15	14.04
Osimertinib (AZD9291)	118.6

试验 4: BaF3 (EGFR-V769insASV) 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (EGFR-V769insASV) 是由发明人自己构建（细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.）将 BaF3 (EGFR-V769insASV) 培养在含有 10%胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案，来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞（3,000 细胞/孔）培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中，并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞，并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞，并轻柔混合。随后，在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测，得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包（例如 Prism）以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获

得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 4 显示了本文的实施例 1, 4-6, 8-15 中的化合物在上述 BaF3 (EGFR-V769insASV) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 4

实施例编号	试验 4 — IC ₅₀ (nM)
1	385.8
4	470
5	147.7
6	476.6
8	57.6
9	45.51
10	465.5
11	47.86
12	121.5
13	88.62
14	25.88
15	45
Osimertinib (AZD9291)	307.1

试验 5: BaF3 (EGFR-N771insH) 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (EGFR-N771insH) 是由发明人自己构建(细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.) 将 BaF3 (EGFR-N771insH) 培养在含有 10%胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μl 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μl 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 5 显示了本文的实施例 8-15 中的化合物在上述 BaF3 (EGFR-N771insH) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 5

实施例编号	试验 5 — IC ₅₀ (nM)
8	18.21
9	15.33
10	145.7
11	9.19
12	82.5
13	35.6
14	9.21
15	7.66
Osimertinib (AZD9291)	33.53

试验 6: BaF3 (EGFR-D770insNPG) 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (EGFR-D770insNPG) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.) 将 BaF3 (EGFR-D770insNPG) 培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μl 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μl 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50% 抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 6 显示了本文的实施例 8-15 中的化合物在上述 BaF3 (EGFR-D770insNPG) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 6

实施例编号	试验 6 — IC ₅₀ (nM)
8	22.76
9	12.76
10	180.5
11	10.24
12	75.3
13	40.9

14	10.02
15	8.87
Osimertinib (AZD9291)	31.68

试验 7: BaF3 (EGFR-S768I) 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (EGFR-S768I) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.) 将 BaF3 (EGFR-S768I) 培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μl 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μl 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50% 抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 7 显示了本文的实施例 8-15 中的化合物在上述 BaF3 (EGFR-S768I) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 7

实施例编号	试验 7 — IC ₅₀ (nM)
8	7.82
9	9.17
10	44.5
11	38.1
12	29.4
13	13.6
14	8.91
15	7.41
Osimertinib (AZD9291)	37.15

试验 8: BaF3 (EGFR-L861Q) 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (EGFR-L861Q) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May;

24(5): 638-646.) 将 BaF3 (EGFR-L861Q) 培养在含有 10%胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 8 显示了本文的实施例 8-15 中的化合物在上述 BaF3 (EGFR-L861Q) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 8

实施例编号	试验 8 — IC ₅₀ (nM)
8	5.82
9	5.01
10	36.1
11	22.5
12	17.2
13	10.8
14	4.58
15	3.87
Osimertinib (AZD9291)	11.58

试验 9: BaF3 (HER2-A775insYVMA) 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (HER2-A775insYVMA) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.) 将 BaF3 (HER2-A775insYVMA) 培养在含有 10%胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并

轻柔混合。随后,在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测,得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包(例如 Prism)以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 9 显示了本文的实施例 8-15 中的化合物在上述 BaF3 (HER2-A775insYVMA) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 9

实施例编号	试验 9 — IC ₅₀ (nM)
8	21.8
9	13.9
10	45.2
11	14.2
12	98.2
13	85.2
14	12.44
15	10.78
Osimertinib (AZD9291)	61.19

试验 10: BaF3 (HER2-P780insGSP) 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (HER2-P780insGSP) 是由发明人自己构建(细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.) 将 BaF3 (HER2-P780insGSP) 培养在含有 10%胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案,来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μl 细胞(3,000 细胞/孔)培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中,并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞,并将细胞再培养 72 小时。将 100 μl 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞,并轻柔混合。随后,在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测,得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包(例如 Prism)以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 10 显示了本文的实施例 8-15 中的化合物在上述 BaF3 (HER2-P780insGSP) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 10

实施例编号	试验 10 — IC ₅₀ (nM)
-------	-------------------------------

8	11.6
9	7.59
10	32.6
11	8.76
12	47.8
13	29.6
14	6.92
15	6.58
Osimertinib (AZD9291)	32.15

试验 11: BaF3 (HER2-G776insVC) 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (HER2- G776insVC) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.) 将 BaF3 (HER2-G776insVC) 培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。使细胞在有 5%CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5%CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50% 抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 11 显示了本文的实施例 8-15 中的化合物在上述 BaF3 (HER2-G776insVC) 细胞增殖试验中的 IC₅₀ 值。

表 11

实施例编号	试验 11 — IC ₅₀ (nM)
8	2.73
9	1.80
10	9.56
11	1.07
12	11.4
13	8.36
14	1.95

15	1.83
Osimertinib (AZD9291)	21.53

试验 12: HER4 激酶筛选试验

大多数激酶活性试验是通过表达激酶的 T7 噬菌体, 在大肠杆菌体系中表达。待大肠杆菌生长至对数期, 用 T7 噬菌体 (moi=0.4) 感染大肠杆菌, 并在 32°C 下振荡培养至裂解 (90-150 分钟)。溶菌产物用离心机 (6,000g) 和滤膜过滤 (0.2 μm) 以去除细胞碎片。其他个别待测激酶则通过 HEK-293 细胞表达, 并用 DNA 进行标记以用于 qPCR 检测。

检测方法如下: 在室温下, 用生物素化小分子配体处理亲和素包被的磁珠 30 分钟, 以生成亲和树脂用于激酶测定。接下来用过量的生物素封闭配体磁珠, 并用封闭缓冲液 (SeaBlock (Pierce)、1% BSA、0.05% Tween-20、1mM DTT) 清洗, 以去除未结合的配体, 减少噬菌体的非特异性结合。下一步的结合反应通过结合激酶、配体亲和珠和测试化合物在 1x 结合缓冲液 (20% SeaBlock, 0.17x PBS, 0.05% Tween-20, 6 mM DTT) 中进行。将 100% DMSO 配制 40x 浓度的待测化合物, 直接稀释到反应体系中。所有反应均在聚丙烯 384 孔板上进行, 反应体系最终体积为 0.02 ml。试验板在室温下振荡孵育 1 小时后, 用洗涤缓冲液 (1x PBS, 0.05% Tween-20) 洗涤亲和珠。随后珠子被重悬在洗脱缓冲液 (1 x PBS, 0.05% Tween-20, 0.5 μM non-biotinylated 亲和配体) 中, 并在室温下孵化振荡 30 分钟后, 用 qPCR 法测定洗脱液中的激酶浓度。

下表 12 显示了本文的实施例 11、14 和 15 的化合物在浓度为 1 μM 和 10 μM 下对 HER4 激酶的抑制率。

表 12

实施例编号	1 μM 抑制率 (%)	10 μM 抑制率 (%)
11	>95%	>95%
14	>98%	>98%
15	>98%	>98%

通过对 EGFR 和 HER2 的细胞增殖试验发现, 本文的式(I)化合物的 IC₅₀ 值相对较小, 这说明本文的化合物能同时很好的抑制 EGFR 和 HER2 细胞的增殖。同时, 与对照化合物 Osimertinib (AZD9291) 相比, 大多化合物的 IC₅₀ 值都远低于 Osimertinib (AZD9291), 说明本文的化合物对 EGFR 和 HER2 的抑制作用大大提高。另外, 本文的化合物对 HER4 的蛋白活性也有着显著的抑制作用。

试验 13: EGFR Exon 20 插入 D770insSVD 细胞增殖试验

人肺细胞系 BaF3 (EGFR/D770insSVD) 是由申请人自己建立 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3 (EGFR/D770insSVD) 细胞培养在含有 10% 胎牛血清

和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中,使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案,来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中,并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞,并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞,并轻柔混合。随后,在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测,得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包(例如 Prism)以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

试验 14: EGFR Exon 20 插入 A763insFQEA 细胞增殖试验

人肺细胞系 BaF3 (EGFR/A763insFQEA) 是由申请人自己建立(细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3 (EGFR/A763insFQEA) 细胞培养在含有 10%胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中,使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案,来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中,并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞,并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞,并轻柔混合。随后,在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测,得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包(例如 Prism)以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

试验 15: EGFR Exon 20 插入 V769insASV 细胞增殖试验

人肺细胞系 BaF3 (EGFR/V769insASV) 是由申请人自己建立(细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3 (EGFR/V769insASV) 细胞培养在含有 10%胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中,使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案,来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中,并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞,并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞,并

轻柔混合。随后,在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测,得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包(例如 Prism)以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

试验 16: EGFR Exon 20 插入 N771insH 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3(EGFR/N771insH)是由发明人自己构建(细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3 (EGFR/N771insH) 培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中,使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案,来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μl 细胞(3,000 细胞/孔)培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中,并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞,并将细胞再培养 72 小时。将 100 μl 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞,并轻柔混合。随后,在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测,得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包(例如 Prism)以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

试验 17: EGFR Exon 20 插入 D770insNPG 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3(EGFR/D770insNPG)是由发明人自己构建(细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3 (EGFR/D770insNPG) 培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中,使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案,来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μl 细胞(3,000 细胞/孔)培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中,并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞,并将细胞再培养 72 小时。将 100 μl 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞,并轻柔混合。随后,在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测,得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包(例如 Prism)以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

试验 18: EGFR Exon 20 插入 V774insHV 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3(EGFR/V774insHV)是由发明人自己构建(细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med.

2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3 (EGFR/V774insHV) 培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中, 使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50% 抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

试验 19: EGFR/S768I 突变细胞株增殖试验

人肺细胞系 BaF3 (EGFR/S768I) 是由申请人建立 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquylne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3(EGFR-S768I) 细胞培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中, 使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50% 抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

试验 20: EGFR/L861Q 突变细胞株增殖试验

工程细胞株 BaF3(EGFR/L861Q) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquylne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3(EGFR/L861Q) 细胞培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中, 使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并

轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50%抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 13 显示了本文的实施例 16 中的化合物在上述细胞增殖试验 13-20 中的 IC₅₀ 值, 其中试验 16-20 仅对化合物 1 进行了试验。

表 13

化合物编号	试验 13 IC ₅₀ (nM)	试验 14 IC ₅₀ (nM)	试验 15 IC ₅₀ (nM)	试验 16 IC ₅₀ (nM)	试验 17 IC ₅₀ (nM)	试验 18 IC ₅₀ (nM)	试验 19 IC ₅₀ (nM)	试验 20 IC ₅₀ (nM)
16	35.85	12.82	24.85	8.67	4.69	7.59	8.63	21.59
17	58.04	14.75	36.43	-	-	-	-	-
18	319.7	131.3	244	-	-	-	-	-
19	144.4	42.61	147.7	-	-	-	-	-
20	89.21	75.06	154.7	-	-	-	-	-
21	80.99	50.15	98.59	-	-	-	-	-
22	247.7	193.1	365.4	-	-	-	-	-
23	218.8	121.9	264.4	-	-	-	-	-
24	207.2	212.9	266.2	-	-	-	-	-
25	78.94	51.05	103.6	-	-	-	-	-
26	142.2	38.28	126.2	-	-	-	-	-
27	195.2	176.8	318.6	-	-	-	-	-
28	236.9	66.36	175.9	-	-	-	-	-
29	240.2	60.74	173.8	-	-	-	-	-
30	239.5	63.58	177.0	-	-	-	-	-
31	45.01	13.01	28.39	9.43	4.58	-	-	-
32	54.52	15.72	26.87	10.24	4.73	-	-	-
33	49.51	15.01	25.73	10.08	5.87	-	-	-
34	598.5	53.82	406.1	-	-	-	-	-
35	146.1	106.2	105.1	-	-	-	-	-

36	454	170.1	324.6	-	-	-	-	-
37	900.8	542.5	669	-	-	-	-	-
38	>3333	71.16	>3333	-	-	-	-	-
39	963.3	309.2	455.3	-	-	-	-	-
Osimertinib (AZD9291)	305.0	118.6	307.1	33.54	11.58	33.53	31.68	69.91

备注：“-”表示未检测。

由上述试验结果发现，上述化合物在上述细胞增殖试验中大部分都具有较小的 IC₅₀ 值，大多显著低于 Osimertinib (AZD9291) 的 IC₅₀ 值，最低降低了 10 倍以上，这说明本文的化合物能很好的抑制细胞的增殖。具体的，化合物 1、2、4、5、6、10、16、17、18 中所述化合物均展示出了显著优于 Osimertinib (AZD9291) 针对 EGFR 20 外显子插入突变 A763insFQEA、V769insASV、D770insSVD 的细胞活性；化合物 1 展示出了显著优于 Osimertinib (AZD9291) 针对 EGFR 20 外显子插入突变 N771insH、D770insNPG、V774insHV 的细胞活性；化合物 16、31、32、33 展示出了优于 Osimertinib (AZD9291) 针对 EGFR S768I 和 EGFR L861Q 突变的活性。

试验 21: HER2 Exon 20 插入 A775insYVMA 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (HER2/A775insYVMA) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3 (HER2/A775insYVMA) 培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中，使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案，来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μl 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中，并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞，并将细胞再培养 72 小时。将 100 μl 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞，并轻柔混合。随后，在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测，得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50% 抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

试验 22: HER2 Exon 20 插入 P780insGSP 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (HER2/P780insGSP) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquelyne P. Robichaux 等, Nat Med.

2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3 (HER2/P780insGSP) 培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中, 使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50% 抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

试验 23: HER2 Exon 20 插入 G776insVC 细胞增殖试验

工程细胞株 BaF3 (HER2/G776insVC) 是由发明人自己构建 (细胞株构建的方法参见 Jingrui Jiang 等, Cancer Res. 2005 Oct 1; 65(19): 8964-74; Jacquylne P. Robichaux 等, Nat Med. 2018 May; 24(5): 638-646.)。将 BaF3 (HER2/G776insVC) 培养在含有 10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基中, 使细胞在有 5% CO₂ 的加湿培养箱中于 37°C 生长。

依照 Promega 公司的 Cell Titer-Glo Luminescent cell Viability Assay (Promega 目录号 #G7570) 中所描述的方案, 来进行检测培养物中活细胞的数目。将 90 μ l 细胞 (3,000 细胞/孔) 培养在 Corning 黑色透明底 96 孔板里的生长培养基中, 并于 37°C 下在 5% CO₂ 加湿培养箱中培养过夜。使用移液器将 100% DMSO 中连续稀释的化合物加至细胞, 并将细胞再培养 72 小时。将 100 μ l 混合好的 Cell Titer-Glo 试剂加入到 96 孔培养板中的细胞中裂解细胞, 并轻柔混合。随后, 在 Envision 微孔板检测仪上进行自发荧光的检测, 得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50% 抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 14 显示了本文的化合物 16 在上述细胞增殖试验 21-23 中的 IC₅₀ 值。

表 14

化合物编号	试验 21 IC ₅₀ (nM)	试验 22 IC ₅₀ (nM)	试验 23 IC ₅₀ (nM)
16	7.67	1.64	12.05
Osimertinib (AZD9291)	32.15	21.53	61.19

由上述试验结果发现, 化合物 16 中的 IC₅₀ 值显著低于 Osimertinib (AZD9291) 的 IC₅₀ 值, 降低了 3-8 倍, 这说明化合物 1 能有效的抑制 HER2 外显子 20 插入突变的细胞增殖, 展示出了优于 Osimertinib (AZD9291) 针对 HER2 外显子 20 插入突变的细胞活性。

试验 24: HER4 激酶抑制试验

为测定化合物针对 HER4 激酶活性的抑制，首先配置 1x 激酶缓冲液，其中包括 50 mM HEPES, pH 7.5, 0.0015% Brij-35, 和反应终止液，包括 100 mM HEPES, pH 7.5, 0.015% Brij-35, 0.2% Coating 试剂#3, 50 mM EDTA。接下来用 100% DMSO 将待测化合物配置成 50x 于最终待测浓度的溶液，并依次稀释成 10 个待测浓度；在空白对照孔中加入 100 μ L 100% DMSO 作为不加入化合物和不加入激酶的阴性对照组。将 10 μ L 的上述待测化合物 (50x) 转移到新的 96 孔板中，并加入 1x 激酶缓冲液 90 μ L 到每个孔，振荡 10 分钟；随后将 5 μ L 的混合液从 96 孔板转移到一个新的 384 孔板，之后加入 1x 激酶缓冲液 10 μ L，并在室温下孵育 10 分钟。最后加入 2.5x 多肽溶液 10 μ L 到 384 孔板中，在 25 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟后加入 25 μ L 反应终止液。最终在 Envision 微孔板检测仪上进行吸光度的检测，得到各个化合物的数据。最后将数据输入合适的软件包 (例如 Prism) 以进行曲线拟合分析。基于此数据并通过计算获得 50% 抑制效果所需的化合物浓度来确定 IC₅₀ 值。

下表 15 显示了本文的化合物 1 在上述 HER4 激酶抑制试验中的 IC₅₀ 值。

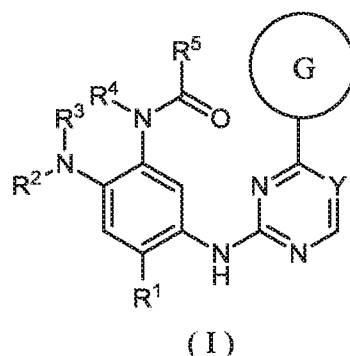
表 15

化合物编号	试验 12 HER4 IC ₅₀ (nM)
16	29
Osimertinib (AZD9291)	47

由上述试验结果发现，化合物 16 的 IC₅₀ 值显著低于 Osimertinib (AZD9291) 的 IC₅₀ 值，降低了 1 倍左右，这说明化合物 1 能有效的抑制 HER4 激酶的活性，展示出了优于 Osimertinib (AZD9291) 针对 HER4 的激酶抑制活性。

权利要求书

1. 式(I)的化合物或其药学上可接受的盐:



其中

Y选自C, N, C-CF₃, 和 C-Cl;

G选自芳基、杂芳基或杂环基, 优选C₆₋₁₀芳基、C₅₋₁₀杂芳基或C₄₋₁₀杂环基, 所述芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、氧代、卤素或C₁₋₆卤代烷基的取代基所取代;

R¹选自氢、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、卤素、C₁₋₆卤代烷基或C₁₋₆卤代烷氧基;

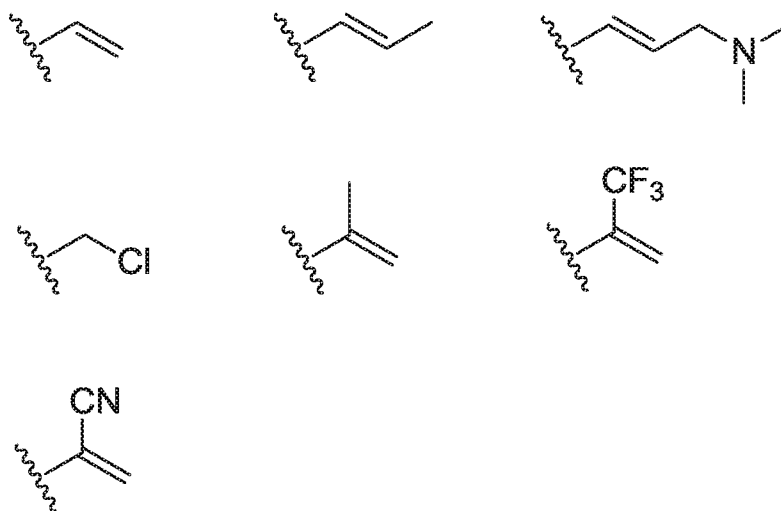
R²选自C₁₋₆烷基、C₁₋₆杂烷基、C₆₋₁₀芳基、C₅₋₁₀杂芳基、C₄₋₁₀杂环基、C₆₋₁₀芳基-C₁₋₆亚烷基、C₅₋₁₀杂芳基-C₁₋₆亚烷基、或C₄₋₁₀杂环基-C₁₋₆亚烷基, 其中所述烷基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷基氨基、二-C₁₋₆烷基氨基、氧代、卤素、C₁₋₆卤代烷基、氨基酰基、C₁₋₆烷基氨基酰基或二-C₁₋₆烷基氨基酰基的取代基所取代;

R³选自氢或C₁₋₆烷基;

或者R²和R³与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基, 优选C₃₋₁₀杂环基, 其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷基氨基、二-C₁₋₆烷基氨基、氧代、卤素、C₁₋₆卤代烷基、氨基酰基、C₁₋₆烷基氨基酰基或二-C₁₋₆烷基氨基酰基的取代基所取代;

R⁴选自氢或C₁₋₆烷基;

R⁵选自以下基团:



2. 根据权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,

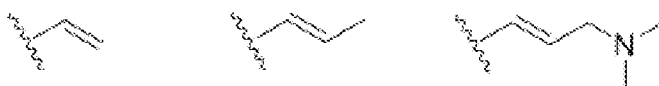
Y 选自 C, N, C-CF₃, 和 C-Cl;

G 选自 4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基, 3,3-二甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-1-基, 1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-1-基, 1H-吡啶-3-基, 3-甲基-1H-吡啶-1-基, 1H-苯并[d]咪唑-1-基, 1H-咪唑-1-基, 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 3-甲基-1H-咪唑-1-基, 5-氟-3-甲基-1H-咪唑-1-基, 3-甲基-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基, 6-氟-3-甲基-1H-咪唑-1-基, 8-甲基-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-三氟甲基-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 3-氟-1H-咪唑-1-基, 1-甲基-1H-咪唑-3-基, 咪唑并[1,5-a]吡啶-3-基, 8-碘-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 4-氯-3-甲氧基苯氧基, 5-甲氧基-1-甲基-1H-咪唑-3-基, 5-氯代-1-甲基-1H-咪唑-3-基, 6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-咪唑-3-基, 5-氟-1-甲基-1H-咪唑-3-基;

R¹ 选自甲氧基、甲基、氯、氟、二氟甲氧基、三氟乙氧基、三氟甲基;

R⁴ 是氢;

R⁵ 是以下基团:

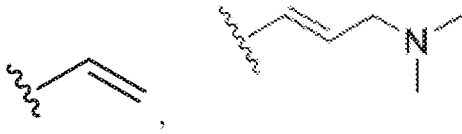


R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成选自下述的基团: (3R)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、(3S)-3-(二甲氨基)吡咯烷-1-基、3-(二甲氨基)氮杂环丁烷-1-基、[2-(二甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、[2-(甲氨基)乙基]-(甲基)氨基、5-甲基-2,5-二氮杂螺环[3.4]辛-2-基、(3aR, 6aR)-5-甲基六氢-吡咯并[3,4-b]吡咯-1(2H)-基、1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、4-甲基哌嗪-1-基、4-[2-(二甲氨基)-2-氧代乙基]哌嗪-1-基、甲基[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]氨基、甲基[2-(吗啉-4-基)乙基]氨基、1-氨基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基、或 4-[(2S)-2-氨基丙酰基]哌嗪-1-基。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,

Y 选自 C, N.

4. 根据权利要求 3 所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,
R⁵ 选自以下基团:



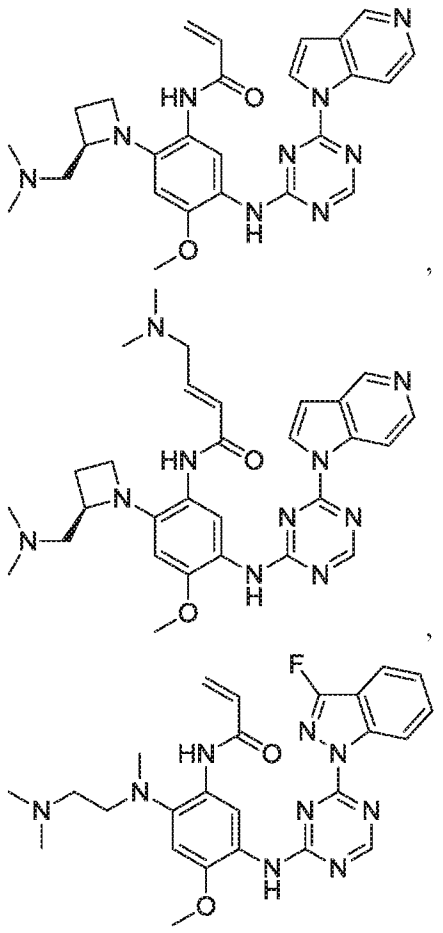
5. 根据权利要求 4 所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,
Y 选自 N.

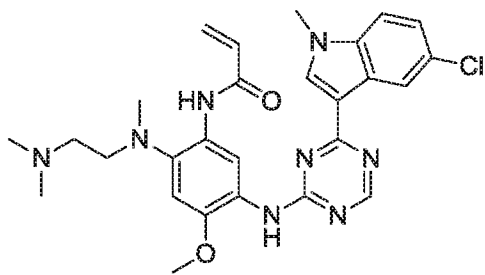
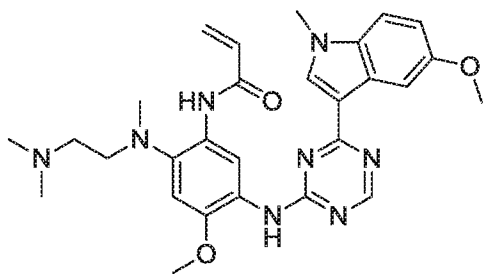
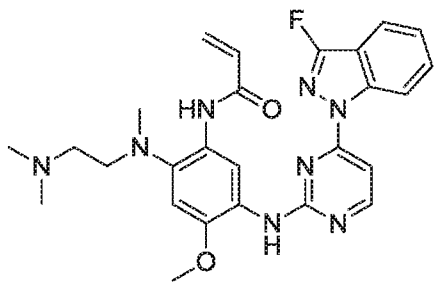
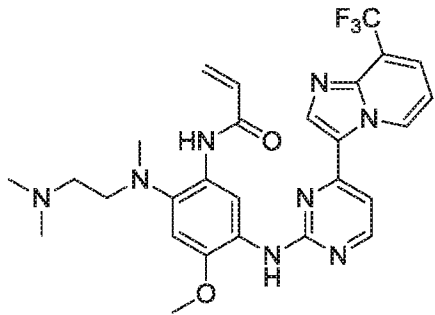
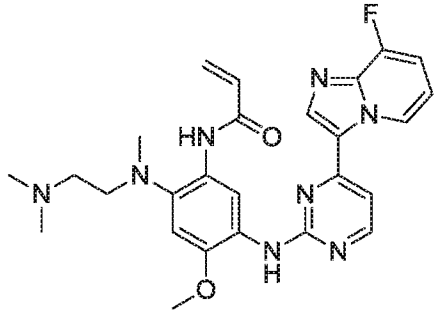
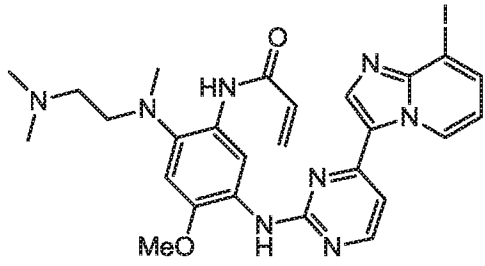
6. 根据权利要求 5 所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,

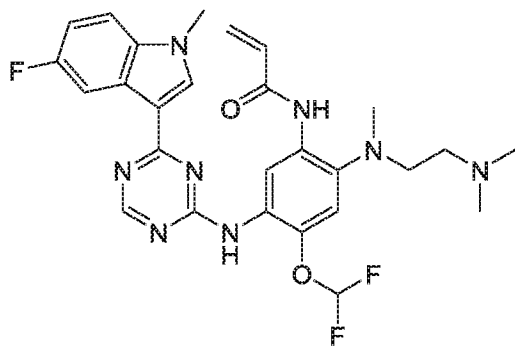
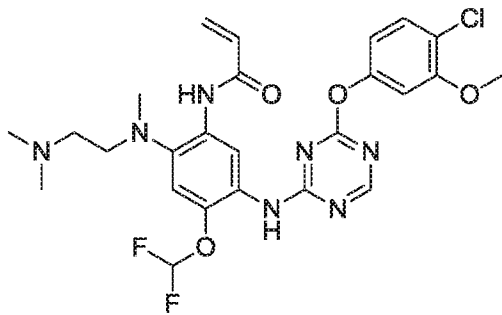
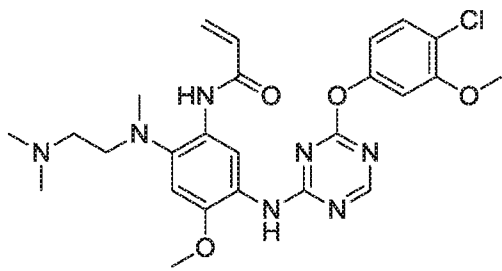
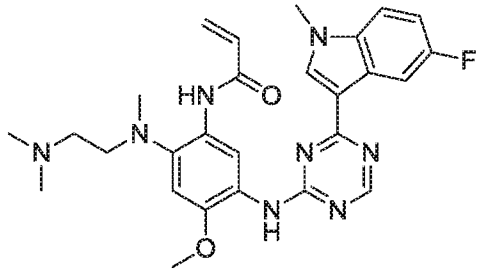
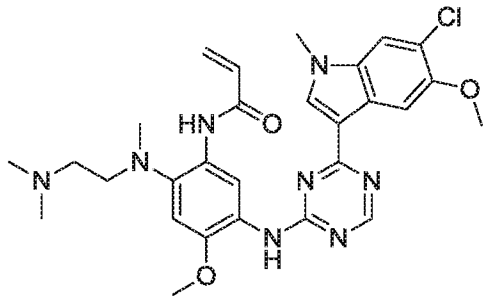
G 选自 1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-基, 3-氟-1H-吡唑-1-基, 8-氟-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-碘-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 8-三氟甲基-咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基, 4-氯-3-甲氧基苯氧基, 5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基, 5-氟代-1-甲基-1H-吡啶-3-基, 6-氯-5-甲氧基-1-甲基-1H-吡啶-3-基、5-氟-1-甲基-1H-吡啶-3-基。

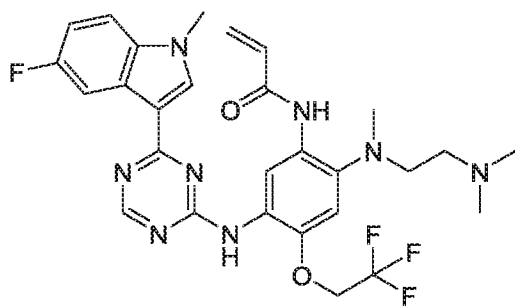
7. 根据权利要求 6 所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,
R¹ 选自甲氧基、二氟甲氧基、三氟乙氧基、三氟甲基。

8. 根据权利要求 7 所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中所述化合物选自:









9. 权利要求 1 至 8 任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

10. 根据权利要求 9 所述的用途, 所述癌症选自: 卵巢癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、黑色素瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、肺癌、肝细胞癌、胃癌、胃肠道间质瘤、甲状腺癌、胆管癌、子宫内膜癌、肾癌、间变性大细胞淋巴瘤、急性髓细胞白血病、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、间皮瘤。

11. 根据权利要求 10 所述的用途, 所述癌症为非小细胞肺癌。

12. 权利要求 1 至 8 任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于抑制 EGFR 或 HER2 或 HER4 途径的药物中的用途。

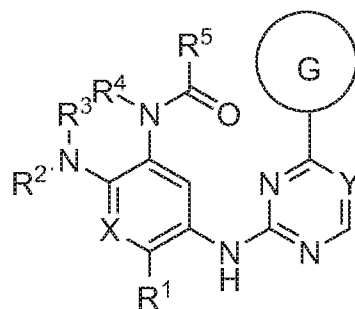
13. 一种药物组合物, 其包含根据权利要求 1 至 8 任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐。

14. 根据权利要求 13 所述的组合物, 所述组合物用于治疗癌症, 所述癌症选自: 卵巢癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、黑色素瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、肺癌、肝细胞癌、胃癌、胃肠道间质瘤、甲状腺癌、胆管癌、子宫内膜癌、肾癌、间变性大细胞淋巴瘤、急性髓细胞白血病、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、间皮瘤。

15. 根据权利要求 14 所述的组合物, 所述癌症为非小细胞肺癌。

16. 根据权利要求 14 所述的组合物, 所述组合物用于抑制 EGFR 或 HER2 或 HER4 途径。

17. 式(II)的化合物或其药学上可接受的盐:



(II)

其中

Y 选自 C, N, C-CF₃, 和 C-Cl;

X 选自 C 和 N;

G 选自芳基、杂芳基或杂环基, 优选 C6-10 芳基、C5-10 杂芳基或 C4-10 杂环基, 所述芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、氧代、卤素、C6-C10 芳基、C5-10 杂芳基或 C4-10 杂环基、C1-6 卤代烷基或 C1-C6 胺基烷基的取代基所取代;

R¹ 选自氢、C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、卤素、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基;

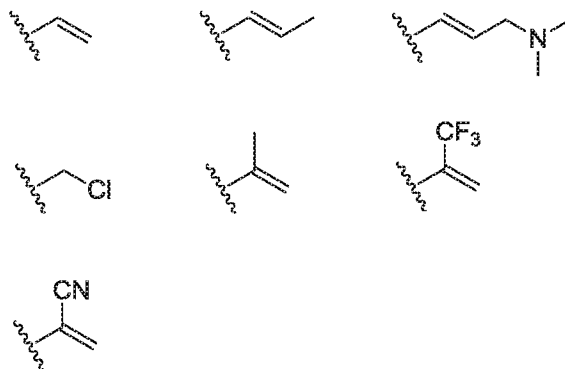
R² 选自 C1-6 烷基、C1-6 杂烷基、C6-10 芳基、C5-10 杂芳基、C4-10 杂环基、C6-10 芳基-C1-6 亚烷基、C5-10 杂芳基-C1-6 亚烷基、或 C4-10 杂环基-C1-6 亚烷基, 其中所述烷基、芳基、杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 烷基氨基、二-C1-6 烷基氨基、氧代、卤素、C1-6 卤代烷基、氨基酰基、C1-6 烷基氨基酰基或二-C1-6 烷基氨基酰基的取代基所取代;

R³ 选自氢或 C1-6 烷基;

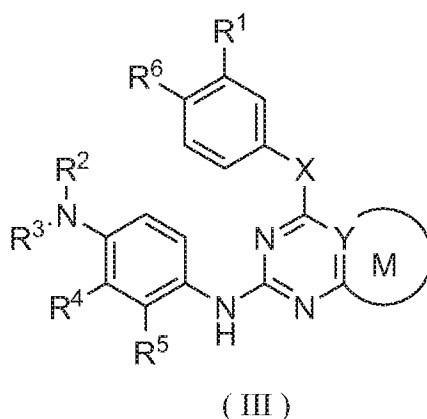
或者 R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基, 优选 C3-10 杂环基, 其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 烷基氨基、二-C1-6 烷基氨基、氧代、卤素、C1-6 卤代烷基、氨基酰基、C1-6 烷基氨基酰基或二-C1-6 烷基氨基酰基的取代基所取代;

R⁴ 选自氢或 C1-6 烷基;

R⁵ 选自以下基团:



18. 式(III)的化合物或其药学上可接受的盐:



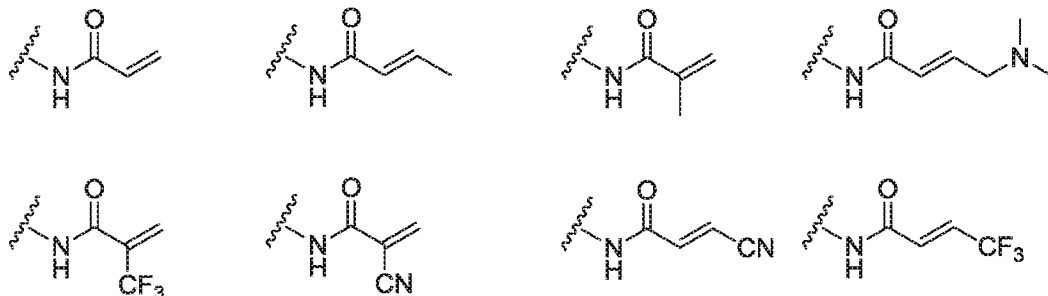
Y 选自 C;

X 选自 CH₂, NH, 和 O;

M 与嘧啶环(Y=C)组成稠合杂芳基或杂环基, M 选自与嘧啶环稠合的杂芳基或杂环基, 优选包括嘧啶环在内的 C5-C10 的杂芳基、C4-C10 杂环基、所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、氧代、卤素或 C1-6 卤代烷基的取代基所取代;

或者当 M 未与嘧啶环(Y=C)组成稠合杂芳基或杂环基, 则 Y 选自 C-Cl 和 C-CF₃;

R¹ 选自以下基团:

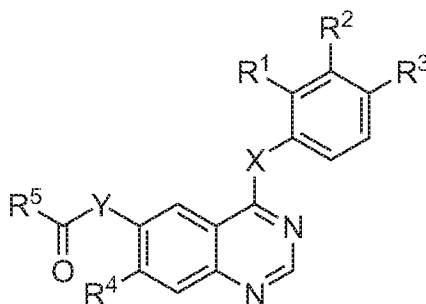


R³ 选自氢或 C1-6 烷基;

或者 R² 和 R³ 与它们所连接的氮原子一起形成杂芳基或杂环基, 优选 C3-10 杂环基, 其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 烷基氨基、二-C1-6 烷基氨基、氧代、卤素、C1-6 卤代烷基、氨基酰基、C1-6 烷基氨基酰基或二-C1-6 烷基氨基酰基的取代基所取代;

R⁴ 和 R⁵ 选自氢、硝基、氰基、羟基、C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、卤素、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基、烷基酰基、C1-6 烷基酰基、烷氧基酰基、C1-C6 烷氧基酰基、氨基酰基或 C1-6 烷基氨基酰基。

19. 式(IV)的化合物或其药学上可接受的盐:



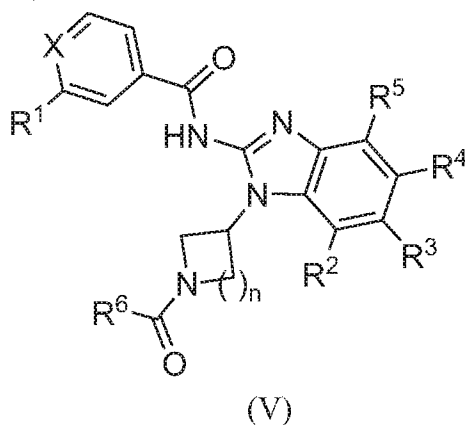
(IV)

X 和 Y 选自 O, NH;

R¹、R²、R³ 和 R⁴ 选自氢、硝基、氰基、羟基、卤素、C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 卤代烷基或 C1-6 卤代烷氧基、烷基酰基、C1-6 烷基酰基、烷氧基酰基、C1-C6 烷氧基酰基、氨基酰基或 C1-6 烷基氨基酰基;

R⁵ 选自 C3-10 杂环基, 其中所述杂芳基或杂环基任选地被一个或多个独立地选自 C1-6 烷基、C1-6 烷氧基、C1-6 烷基氨基、二-C1-6 烷基氨基、氧代、卤素、C1-6 卤代烷基、氨基酰基、C1-6 烷基氨基酰基或二-C1-6 烷基氨基酰基的取代基所取代;

20. 式(V)的化合物或其药学上可接受的盐



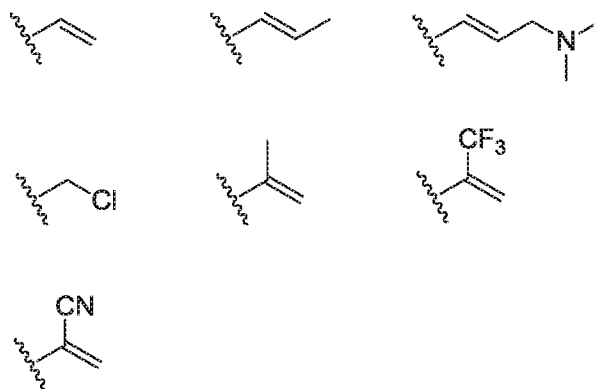
其中

X选自C和N;

R¹、R²、R³、R⁴和R⁵选自氢、硝基、氰基、羟基、卤素、C1-6烷基、C1-6烷氧基、C1-6卤代烷基或C1-6卤代烷氧基、烷基酰基、C1-6烷基酰基、烷氧基酰基、C1-C6烷氧基酰基、氨基酰基或C1-6烷基氨基酰基;

n选自1、2、3和4;

R⁶选自以下基团:



21. 药物组合物, 其包含如权利要求17至20中任一项所述的式(II)、式(III)、式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的稀释剂或载体。

22. 如权利要求17至20中任一项所述的式(II)、式(III)、式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐, 其用作药物。

23. 如权利要求17至20中任一项所述的式(II)、式(III)、式(IV)和式(V)的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

24. 如权利要求23中所述的用途, 所述癌症选自: 卵巢癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、黑色素瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、肺癌、肝细胞癌、胃癌、胃肠道间质瘤、甲状腺癌、胆管癌、子宫内膜癌、肾癌、间变性大细胞淋巴瘤、急性髓细胞白血病、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、间皮瘤。

25. 如权利要求24中所述的用途, 其中所述癌症为非小细胞肺癌或小细胞肺癌。

26. 如权利要求 17 至 20 中任一项所述的式 (II)、式 (III)、式 (IV) 和式 (V) 的化合物或其药学上可接受的盐和另外的抗肿瘤物质的用途, 用于癌症的同时、独立或序贯治疗。

27. 一种 EGFR 外显子 20 突变抑制剂和/或 HER2 外显子 20 突变抑制剂和/或 HER4 激酶抑制剂, 其特征在于, 所述抑制剂中包含权利要求 17-20 任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐。

28. 如权利要求 17-20 任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备 EGFR20 外显子突变抑制剂和/或 HER2 外显子 20 突变抑制剂和/或 HER4 激酶抑制剂中的应用。

29. 如权利要求 21 所述的组合物, 所述组合物用于治疗癌症, 所述癌症选自: 卵巢癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、宫颈癌、结肠直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、黑色素瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、胃癌、肺癌、肝细胞癌、胃癌、胃肠道间质瘤、甲状腺癌、胆管癌、子宫内膜癌、肾癌、间变性大细胞淋巴瘤、急性髓细胞白血病、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、间皮瘤。

30. 如权利要求 29 所述的组合物, 所述癌症为非小细胞肺癌或小细胞肺癌。

31. 如权利要求 21 所述的组合物, 所述组合物用于抑制 20 外显子突变的 EGFR 激酶的活性、20 外显子突变的 HER2 激酶的活性、和/或 20 外显子突变的 HER4 激酶的活性。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/082033

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07D 471/04(2006.01)i; C07D 487/04(2006.01)i; C07D 403/04(2006.01)i; C07D 473/16(2006.01)i; C07D 403/14(2006.01)i; C07D 403/12(2006.01)i; C07D 403/04(2006.01)i; A61K 31/53(2006.01)i; A61K 31/519(2006.01)i; A61K 31/495(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D; A61K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) DWPI, SIPOABS, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNTXT, CATXT, GBTXT, JPTXT, KRABS, CNABS, CNKI, STNext, ISI Web of Science: 表皮生长因子受体, 非小细胞肺癌, 酰胺, 氮杂芳环, Epidermal growth factor receptor, EGFR, HER, NSCLC, Non-small cell lung cancer, amide, heterocycle, 深圳福沃药业有限公司, SHENZHEN FORWARD, 朱程刚, 杨铨, 张朝春, TALLEY, J.J., 陈超乐, 包丽茗		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	LEIGHL, N.B. et al. "Patient-reported outcomes from FLAURA: Osimertinib versus erlotinib or gefitinib in patients with EGFRmutated advanced non-small-cell lung cancer" <i>European Journal of Cancer</i> , Vol. 125, 12 December 2019 (2019-12-12), pp. 49-57	1-17, 21-31
PX	US 2019298687 A1 (UNIV.TEXAS TECH SYSTEM) 03 October 2019 (2019-10-03) claims 22, 24-25	18, 21-31
PX	WO 2020043757 A1 (UNIV.NICE SOPHIA ANTIPOLIS et al.) 05 March 2020 (2020-03-05) claims 1 and 8	19, 21-31
PX	WO 2019197605 A2 (UMC UTRECHT HOLDING B.V.) 17 October 2019 (2019-10-17) abstract and claim 5	20-31
X	CN 108864079 A (SHENZHEN FORWARD PHARMA CO., LTD.) 23 November 2018 (2018-11-23) abstract and description paragraphs [0078]-[0079]	1-17, 21-31
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 15 June 2020		Date of mailing of the international search report 03 July 2020
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088 China		Authorized officer
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/082033

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 102482277 A (DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC.) 30 May 2012 (2012-05-30) abstract, description, page 54, and claim 102	18, 21-31
X	CN 105209456 A (ASTRAZENECA AB) 30 December 2015 (2015-12-30) abstract	19, 21-31
X	CN 106536506 A (CAPELLA THERAPEUTICS INC.) 22 March 2017 (2017-03-22) title of invention, and description, paragraphs [0473]-[0474]	20-31

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **26**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claim 26 relates to a disease treatment method, and therefore does not satisfy the criteria of PCT Rule 39.1(iv). A search has been performed for claim 26 on the basis of a pharmaceutical use of the product.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/082033

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
US	2019298687	A1	03 October 2019	None	
WO	2020043757	A1	05 March 2020	None	
WO	2019197605	A2	17 October 2019	WO	2019197605 A3 21 November 2019
CN	108864079	A	23 November 2018	CN	110891950 A 17 March 2020
				WO	2018210246 A1 22 November 2018
CN	102482277	A	30 May 2012	IL	216140 A 29 March 2018
				IL	216140 D0 31 January 2012
				EP	2440559 A4 21 November 2012
				ES	2659725 T3 19 March 2018
				EP	2440559 A2 18 April 2012
				US	2012094999 A1 19 April 2012
				WO	2010129053 A3 24 March 2011
				US	2019040065 A1 07 February 2019
				WO	2010129053 A2 11 November 2010
				JP	5918693 B2 18 May 2016
				KR	101705158 B1 09 February 2017
				JP	2012526113 A 25 October 2012
				KR	20120047208 A 11 May 2012
				EP	2440559 B1 10 January 2018
				WO	2010129053 A8 15 December 2011
				CN	102482277 B 19 September 2017
				CA	2760794 C 25 July 2017
				US	9908884 B2 06 March 2018
				CA	2760794 A1 11 November 2010
CN	105209456	A	30 December 2015	NO	2964638 T3 06 January 2018
				ME	03041 B 20 October 2018
				JP	2016511225 A 14 April 2016
				TW	201520206 A 01 June 2015
				EP	3342770 A1 04 July 2018
				MX	2015011818 A 08 January 2016
				WO	2014135876 A1 12 September 2014
				US	9375432 B2 28 June 2016
				ZA	201507353 B 29 March 2017
				PE	20152000 A1 22 January 2016
				CR	20150450 A 01 December 2015
				BR	112015020787 A2 18 July 2017
				AP	201508696 A0 31 August 2015
				PT	2964638 T 14 November 2017
				RU	2656597 C2 06 June 2018
				UA	115686 C2 11 December 2017
				MA	38380 A1 31 January 2017
				ES	2642201 T3 15 November 2017
				DK	2964638 T3 30 October 2017
				TW	1543977 B 01 August 2016
				IL	240578 D0 24 September 2015
				SI	2964638 T1 30 November 2017
				EP	2964638 A1 13 January 2016
				US	2018016259 A1 18 January 2018
				KR	20150083782 A 20 July 2015

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/082033

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		TN 2015000368 A1	03 January 2017
		US 2016340342 A1	24 November 2016
		MX 362247 B	09 January 2019
		UY 35369 A	29 August 2014
		CN 105209456 B	08 May 2018
		KR 101645112 B1	02 August 2016
		IL 240578 A	31 March 2019
		US 2015320751 A1	12 November 2015
		GT 201500251 A	09 October 2017
		LT 2964638 T	27 December 2017
		RS 56566 B1	28 February 2018
		CY 1119487 T1	07 March 2018
		US 9066979 B2	30 June 2015
		AU 2014224382 A1	03 September 2015
		AR 095039 A1	16 September 2015
		US 9718806 B2	01 August 2017
		JP 5894714 B1	30 March 2016
		PE 20002015 A1	22 January 2016
		RU 2015139513 A	10 April 2017
		HU E034568 T2	28 February 2018
		DO P2015000189 A	31 August 2015
		SG 11201506487 Y A	29 September 2015
		HR P20171689 T1	23 February 2018
		CL 2015002361 A1	04 January 2016
CN	106536506 A	22 March 2017	
		JP 6577012 B2	18 September 2019
		CA 2943220 A1	24 September 2015
		RU 2016141052 A3	30 October 2018
		JP 2017512833 A	25 May 2017
		KR 20170004968 A	11 January 2017
		AU 2015231202 A1	06 October 2016
		MX 2016012097 A	27 April 2017
		JP 2020007327 A	16 January 2020
		TW 201620896 A	16 June 2016
		RU 2016141052 A	26 April 2018
		SG 11201607706 S A	28 October 2016
		AU 2015231202 B2	22 August 2019
		WO 2015143148 A1	24 September 2015
		US 10005765 B2	26 June 2018
		EP 3119762 A1	25 January 2017
		US 2018291012 A1	11 October 2018
		US 2017183330 A1	29 June 2017
		AU 2015231202 B9	24 October 2019
		IL 247852 D0	30 November 2016

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07D 471/04(2006.01)i; C07D 487/04(2006.01)i; C07D 403/04(2006.01)i; C07D 473/16(2006.01)i; C07D 403/14(2006.01)i; C07D 403/12(2006.01)i; C07D 403/04(2006.01)i; A61K 31/53(2006.01)i; A61K 31/519(2006.01)i; A61K 31/495(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07D; A61K; A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>DWPI, SIPOABS, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNTXT, CATXT, GBTXT, JPTXT, KRABS, CNABS, CNKI, STNext, ISI Web of Science:表皮生长因子受体, 非小细胞肺癌, 酰胺, 氮杂芳环, Epidermal growth factor receptor, EGFR, HER, NSCLC, Non-small cell lung cancer, amide, heterocycle, 深圳福沃药业有限公司, SHENZHEN FORWARD, 朱程刚, 杨铨, 张朝春, TALLEY, J. J., 陈超乐, 包丽茗</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>LEIGHL, N.B. et al. "Patient-reported outcomes from FLAURA: Osimertinib versus erlotinib or gefitinib in patients with EGFRmutated advanced non-small-cell lung cancer" European Journal of Cancer, 第125卷, 2019年 12月 12日 (2019 - 12 - 12), 第49-57页</td> <td>1-17, 21-31</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>US 2019298687 A1 (UNIV. TEXAS TECH SYSTEM) 2019年 10月 3日 (2019 - 10 - 03) 权利要求22, 24-25</td> <td>18, 21-31</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>WO 2020043757 A1 (UNIV. NICE SOPHIA ANTIPOLIS et al.) 2020年 3月 5日 (2020 - 03 - 05) 权利要求1和8</td> <td>19, 21-31</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>WO 2019197605 A2 (UMC UTRECHT HOLDING B. V.) 2019年 10月 17日 (2019 - 10 - 17) 摘要和权利要求5</td> <td>20-31</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 108864079 A (深圳福沃药业有限公司) 2018年 11月 23日 (2018 - 11 - 23) 摘要和说明书第[0078-0079]段</td> <td>1-17, 21-31</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	LEIGHL, N.B. et al. "Patient-reported outcomes from FLAURA: Osimertinib versus erlotinib or gefitinib in patients with EGFRmutated advanced non-small-cell lung cancer" European Journal of Cancer, 第125卷, 2019年 12月 12日 (2019 - 12 - 12), 第49-57页	1-17, 21-31	PX	US 2019298687 A1 (UNIV. TEXAS TECH SYSTEM) 2019年 10月 3日 (2019 - 10 - 03) 权利要求22, 24-25	18, 21-31	PX	WO 2020043757 A1 (UNIV. NICE SOPHIA ANTIPOLIS et al.) 2020年 3月 5日 (2020 - 03 - 05) 权利要求1和8	19, 21-31	PX	WO 2019197605 A2 (UMC UTRECHT HOLDING B. V.) 2019年 10月 17日 (2019 - 10 - 17) 摘要和权利要求5	20-31	X	CN 108864079 A (深圳福沃药业有限公司) 2018年 11月 23日 (2018 - 11 - 23) 摘要和说明书第[0078-0079]段	1-17, 21-31
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
PX	LEIGHL, N.B. et al. "Patient-reported outcomes from FLAURA: Osimertinib versus erlotinib or gefitinib in patients with EGFRmutated advanced non-small-cell lung cancer" European Journal of Cancer, 第125卷, 2019年 12月 12日 (2019 - 12 - 12), 第49-57页	1-17, 21-31																		
PX	US 2019298687 A1 (UNIV. TEXAS TECH SYSTEM) 2019年 10月 3日 (2019 - 10 - 03) 权利要求22, 24-25	18, 21-31																		
PX	WO 2020043757 A1 (UNIV. NICE SOPHIA ANTIPOLIS et al.) 2020年 3月 5日 (2020 - 03 - 05) 权利要求1和8	19, 21-31																		
PX	WO 2019197605 A2 (UMC UTRECHT HOLDING B. V.) 2019年 10月 17日 (2019 - 10 - 17) 摘要和权利要求5	20-31																		
X	CN 108864079 A (深圳福沃药业有限公司) 2018年 11月 23日 (2018 - 11 - 23) 摘要和说明书第[0078-0079]段	1-17, 21-31																		
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2020年 6月 15日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2020年 7月 3日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>崔义文</p> <p>电话号码 (86-10)53961855</p>																		

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 102482277 A (达纳-法伯癌症研究所有限公司) 2012年 5月 30日 (2012 - 05 - 30) 摘要、说明书第54页和权利要求第102项	18, 21-31
X	CN 105209456 A (阿斯利康瑞典有限公司) 2015年 12月 30日 (2015 - 12 - 30) 摘要	19, 21-31
X	CN 106536506 A (卡佩拉医疗公司) 2017年 3月 22日 (2017 - 03 - 22) 发明名称和说明书第[0473-0474]段	20-31

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a), 对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

1. 权利要求: 26
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题, 即:
[1] 权利要求26涉及疾病的治疗方法, 因此权利要求26不符合PCT细则39.1 (iv)的规定。对于权利要求26的检索是基于所述产品的制药用途所作出的。
2. 权利要求:
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索, 具体地说:
3. 权利要求:
因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/082033

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
US	2019298687	A1	2019年 10月 3日	无			
WO	2020043757	A1	2020年 3月 5日	无			
WO	2019197605	A2	2019年 10月 17日	WO	2019197605	A3	2019年 11月 21日
CN	108864079	A	2018年 11月 23日	CN	110891950	A	2020年 3月 17日
				WO	2018210246	A1	2018年 11月 22日
CN	102482277	A	2012年 5月 30日	IL	216140	A	2018年 3月 29日
				IL	216140	D0	2012年 1月 31日
				EP	2440559	A4	2012年 11月 21日
				ES	2659725	T3	2018年 3月 19日
				EP	2440559	A2	2012年 4月 18日
				US	2012094999	A1	2012年 4月 19日
				WO	2010129053	A3	2011年 3月 24日
				US	2019040065	A1	2019年 2月 7日
				WO	2010129053	A2	2010年 11月 11日
				JP	5918693	B2	2016年 5月 18日
				KR	101705158	B1	2017年 2月 9日
				JP	2012526113	A	2012年 10月 25日
				KR	20120047208	A	2012年 5月 11日
				EP	2440559	B1	2018年 1月 10日
				WO	2010129053	A8	2011年 12月 15日
				CN	102482277	B	2017年 9月 19日
				CA	2760794	C	2017年 7月 25日
				US	9908884	B2	2018年 3月 6日
				CA	2760794	A1	2010年 11月 11日
CN	105209456	A	2015年 12月 30日	NO	2964638	T3	2018年 1月 6日
				ME	03041	B	2018年 10月 20日
				JP	2016511225	A	2016年 4月 14日
				TW	201520206	A	2015年 6月 1日
				EP	3342770	A1	2018年 7月 4日
				MX	2015011818	A	2016年 1月 8日
				WO	2014135876	A1	2014年 9月 12日
				US	9375432	B2	2016年 6月 28日
				ZA	201507353	B	2017年 3月 29日
				PE	20152000	A1	2016年 1月 22日
				CR	20150450	A	2015年 12月 1日
				BR	112015020787	A2	2017年 7月 18日
				AP	201508696	A0	2015年 8月 31日
				PT	2964638	T	2017年 11月 14日
				RU	2656597	C2	2018年 6月 6日
				UA	115686	C2	2017年 12月 11日
				MA	38380	A1	2017年 1月 31日
				ES	2642201	T3	2017年 11月 15日
				DK	2964638	T3	2017年 10月 30日
				TW	1543977	B	2016年 8月 1日
				IL	240578	D0	2015年 9月 24日
				SI	2964638	T1	2017年 11月 30日
				EP	2964638	A1	2016年 1月 13日
				US	2018016259	A1	2018年 1月 18日
				KR	20150083782	A	2015年 7月 20日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/082033

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		TN 2015000368 A1	2017年 1月 3日
		US 2016340342 A1	2016年 11月 24日
		MX 362247 B	2019年 1月 9日
		UY 35369 A	2014年 8月 29日
		CN 105209456 B	2018年 5月 8日
		KR 101645112 B1	2016年 8月 2日
		IL 240578 A	2019年 3月 31日
		US 2015320751 A1	2015年 11月 12日
		GT 201500251 A	2017年 10月 9日
		LT 2964638 T	2017年 12月 27日
		RS 56566 B1	2018年 2月 28日
		CY 1119487 T1	2018年 3月 7日
		US 9066979 B2	2015年 6月 30日
		AU 2014224382 A1	2015年 9月 3日
		AR 095039 A1	2015年 9月 16日
		US 9718806 B2	2017年 8月 1日
		JP 5894714 B1	2016年 3月 30日
		PE 20002015 A1	2016年 1月 22日
		RU 2015139513 A	2017年 4月 10日
		HU E034568 T2	2018年 2月 28日
		DO P2015000189 A	2015年 8月 31日
		SG 11201506487Y A	2015年 9月 29日
		HR P20171689 T1	2018年 2月 23日
		CL 2015002361 A1	2016年 1月 4日
CN 106536506 A	2017年 3月 22日	JP 6577012 B2	2019年 9月 18日
		CA 2943220 A1	2015年 9月 24日
		RU 2016141052 A3	2018年 10月 30日
		JP 2017512833 A	2017年 5月 25日
		KR 20170004968 A	2017年 1月 11日
		AU 2015231202 A1	2016年 10月 6日
		MX 2016012097 A	2017年 4月 27日
		JP 2020007327 A	2020年 1月 16日
		TW 201620896 A	2016年 6月 16日
		RU 2016141052 A	2018年 4月 26日
		SG 11201607706S A	2016年 10月 28日
		AU 2015231202 B2	2019年 8月 22日
		WO 2015143148 A1	2015年 9月 24日
		US 10005765 B2	2018年 6月 26日
		EP 3119762 A1	2017年 1月 25日
		US 2018291012 A1	2018年 10月 11日
		US 2017183330 A1	2017年 6月 29日
		AU 2015231202 B9	2019年 10月 24日
		IL 247852 D0	2016年 11月 30日