

2,4-二取代苯-1,5-二胺衍生物及其应用以及由其制备的药物组合物和药用组合物

技术领域

本发明涉及医药技术领域，特别涉及一种 2,4-二取代苯-1,5-二胺衍生物及其作为 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂的应用，以及由其制备的药物组合物和药用组合物。

背景技术

肺癌是全球发病率最高的癌症，在中国肺癌发病率位居所有癌症中第一位，也是中国发病率和死亡率最高的癌症，在中国肺癌病人中，30%病人具有 EGFR 突变，其中 L858R 和外显子 19 缺失突变占 90%以上，这类病人对 EGFR 抑制剂更为敏感。现有已上市第一代 EGFR 抑制剂例如厄洛替尼，吉非替尼对这类病人效果良好，能够使其中 60%以上病人肿瘤缩小，明显延长病人无进展生存期。但绝大多数病人在 6-12 个月获得耐药，第一代 EGFR 抑制剂将不再起效，而这类病人目前处于无药可用状态。临床发现对第一代 EGFR 抑制剂产生耐药的病人中有 50%检测到 EGFR T790M 突变。在 T790M 突变细胞系 H1975 中第一代 EGFR 抑制剂，吉非替尼和厄洛替尼，均大于 3 μ M，基本没有活性。

目前开发上市的第二代不可逆 pan-EGFR 抑制剂 (Afinib (BIBW2992)) 对 EGFR 突变肺癌病人疗效显著好于第一代 EGFR 抑制剂。但第二代抑制剂同时也具有很强的野生型 EGFR 抑制活性，对野生型 EGFR 的抑制活性显著高于耐药 T790M 突变，病人皮疹等毒副作用严重且对耐药病人疗效较差，仅有小部分第一代 EGFR 抑制剂耐药病人对这类药物产生应答。

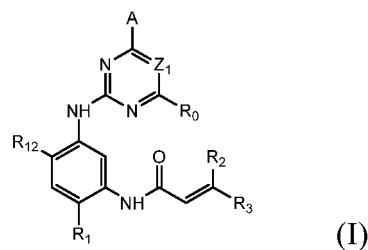
为了提高对耐药 EGFR T790M 突变抑制活性的同时降低对野生型 EGFR 的抑制活性，开发活性更高、选择性更好、毒性更低的第三代 EGFR 突变体选择性抑制剂具有重要的意义。

发明内容

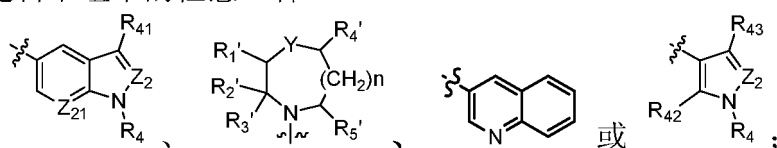
本发明的目的是提供一种 2,4-二取代苯-1,5-二胺衍生物，或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药；以及包含上述衍生物的药物组合物。

本发明的第二个目的是提供上述衍生物或组合物在制备调节 EGFR 酪氨酸激酶活性或治疗 EGFR 相关疾病的药物中的应用。

本发明第一方面提供了一种结构如式(I)所示的化合物，或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药：



式(I)中，A 为选自下组中的任意一种：

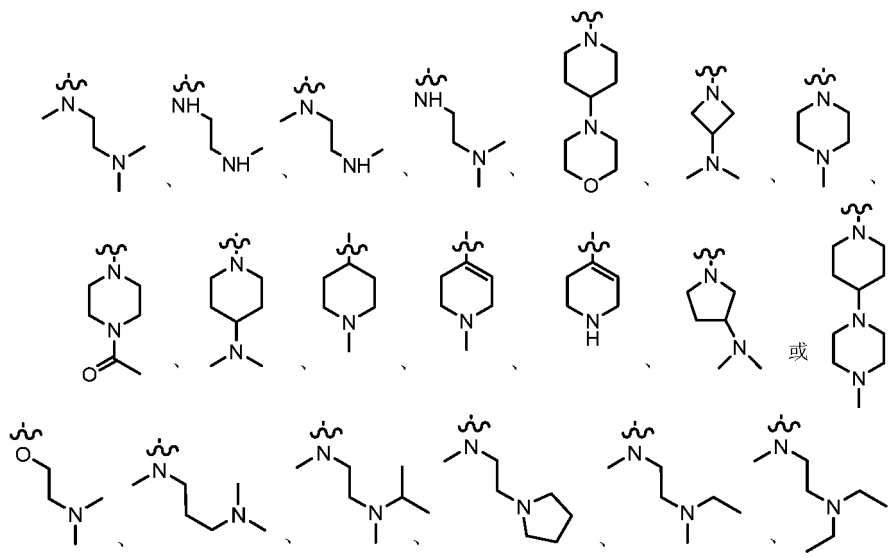


其中，Z₂ 为 CR₅ 或 N；R₅ 为氢、卤素、三氟甲基或 C₁₋₁₀ 烷氧基；Z₂₁ 为 N 或 CH；R₄、

R_{42} 、 R_{43} 各自独立地为氢或 C_{1-10} 烷基、 C_{3-10} 环烷基、 C_{3-10} 杂环烷基(如哌啶基)、或卤代的 C_{1-10} 烷基; R_{41} 为氢、卤素、三氟甲基、 C_{1-10} 烷基或 C_{1-10} 烷氧基; (优选地, R_4 、 R_{42} 、 R_{43} 各自独立地为氢、甲基或乙基; R_{41} 为氢、氯、氟、三氟甲基、甲基或甲氧基;) R_1' 、 R_2' 和 R_5' 各自独立地为氢、 C_{1-10} 烷基; (优选地, R_1' 、 R_2' 和 R_5' 各自独立地为氢、甲基或乙基;) R_3' 、 R_4' 各自独立地为氢、 C_{1-10} 烷基, 或 R_3' 与 R_4' 相连形成桥环结构; (优选地, R_3' 、 R_4' 各自独立地为氢、甲基或乙基; 或者 R_3' 与 R_4' 相连为 $-CH_2-$;) Y 为 O 、 CH_2 、 NR_a ; 其中 R_a 为氢、甲基、叔丁氧羰基、乙酰基、甲磺酰基; n 为 0 或 1;

R_0 为氢、卤素、 C_{1-10} 烷基、 $-NR_aR_b$ 或 $-CO-NR_aR_b$, 其中, R_a 、 R_b 各自独立地为 C_{1-10} 烷基; Z_1 为 CR_6 或 N ; 其中, R_6 为氢、卤素、三氟甲基、甲氧基或 $-CO_2C_{1-10}$ 烷基;

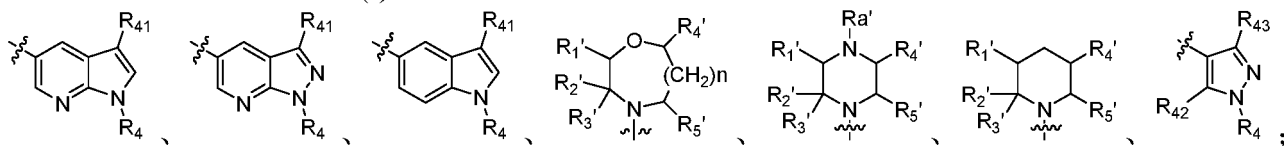
R_1 为氢, 或选自下组中的任意一种:



R_2 和 R_3 各自独立地为氢或 $-CH_2NR_7R_8$; 其中, (1) R_7 、 R_8 各自独立地为氢或甲基; 或(2) R_7 、 R_8 和相连的氮原子共同形成 5-6 元含氮饱和杂环;

R_{12} 为氢、卤素、 C_{1-10} 烷基或 C_{1-10} 烷氧基(优选地为甲氧基)。

在另一优选例中, 式(I)中, A 为选自下组中的任意一种:



其中, n 、 R_4 、 R_{41} 、 R_{42} 、 R_{43} 、 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 、 R_5' 、 R_a 如式(I)中所定义。

在另一优选例中, 式(I)中, R_4 为氢、甲基、乙基、异丙基、环丙基、二氟甲基或哌啶基;

R_{41} 为氢、氯、氟、三氟甲基、甲基或甲氧基; R_{42} 为氢、甲基或乙基; R_{43} 为氢、甲基或乙基。

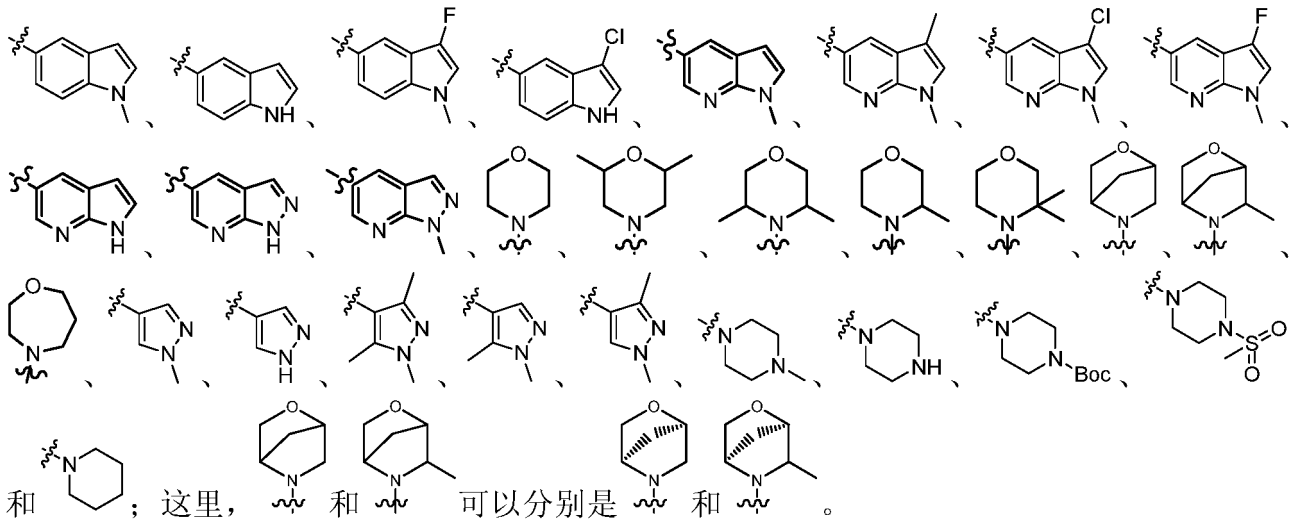
在另一优选例中, 式(I)中, R_2 和 R_3 各自独立地为氢; 且 R_{12} 为甲氧基。

在另一优选例中, 式(I)中, Z_1 为 CR_6 或 N ; 其中, R_6 为氢、氟、氯、三氟甲基、甲氧基或 $-CO_2C_{1-10}$ 烷基;

在另一优选例中, 式(I)中, Z_1 为 CR_6 , 其中, R_6 为氢、氟、氯、三氟甲基、甲氧基或 $-CO_2CH_3$ 。

在另一优选例中, 式(I)中, R_0 为氢。

在另一优选例中, 式(I)中, A 为选自下组中的任意一种:

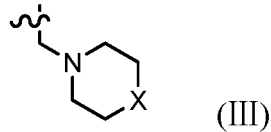


5 在另一优选例中, 式(I)中, R_2 和 R_3 各自独立地为氢。

在另一优选例中, 式(I)中, R_2 和 R_3 各自独立地为氢或 $-\text{CH}_2\text{NR}_7\text{R}_8$, 且 R_7 、 R_8 各自独立地为氢或甲基。

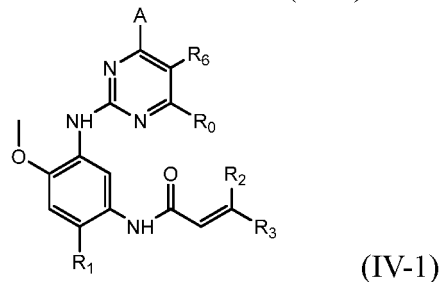
在另一优选例中, 式(I)中, R_2 和 R_3 各自独立地为氢或 $-\text{CH}_2\text{NR}_7\text{R}_8$, 且 R_7 、 R_8 和相连的氮原子共同形成 5-6 元含氮饱和杂环。

10 在另一优选例中, 式(I)中, R_2 和 R_3 各自独立地为氢或 $-\text{CH}_2\text{NR}_7\text{R}_8$, 且 R_7 、 R_8 和相邻的氮原子共同形成 5-6 元含氮饱和杂环, 所述 5-6 元含氮饱和杂环的结构如式(III)所示:



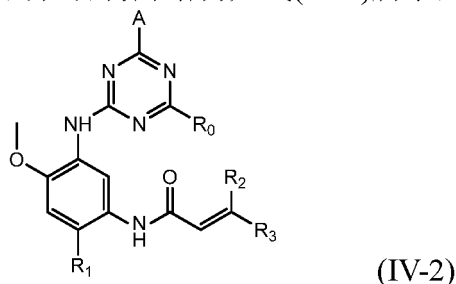
式中, X 为 O、S、 NR_9 或 $\text{CR}_{10}\text{R}_{11}$; 其中, R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 各自独立地为氢、 C_{1-10} 烷氧基或 $-\text{CO}-\text{C}_{1-10}$ 烷基。

15 在另一优选例中, 式(I)所示的化合物为结构如式(IV-1)所示化合物:



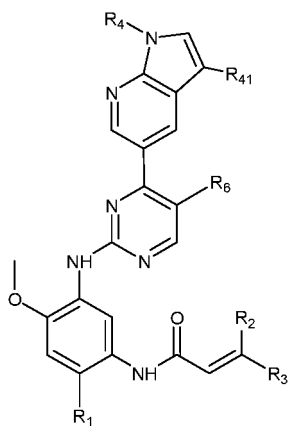
式中, A、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_6 如式(I)中所定义。

在另一优选例中, 式(I)所示的化合物为结构如式(IV-2)所示的化合物:



20 式中, A、 R_0 、 R_1 、 R_2 和 R_3 如式(I)中所定义。

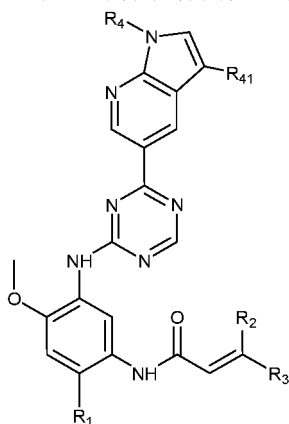
在另一优选例中, 式(I)所示的化合物为结构如式(V-1)所示的化合物:



(V-1)

式中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{41} 和 R_6 如式(I)中所定义。

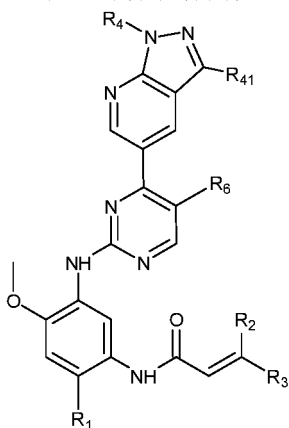
在另一优选例中，式(I)所示的化合物为结构如式(V-2)所示的化合物：



(V-2)

5 式中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_{41} 如式(I)中所定义。

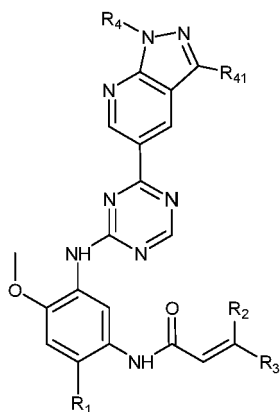
在另一优选例中，式(I)所示的化合物为结构如式(VI-1)所示：



(VI-1)

式中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{41} 和 R_6 如式(I)中所定义。

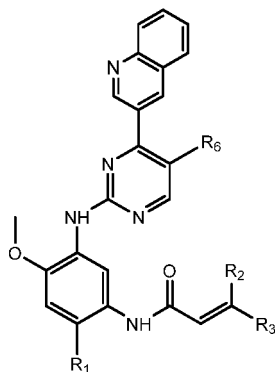
在另一优选例中，式(I)所示的化合物为结构如式(VI-2)所示：



(VI-2)

式中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_{41} 如式(I)中所定义。

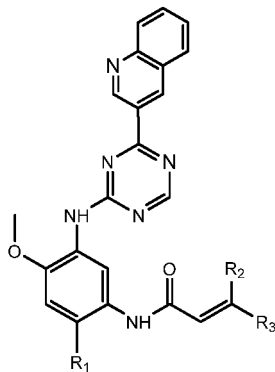
在另一优选例中, 式(I)所示的化合物为结构如式(VII-1)所示:



(VII-1)

5 式中, R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_6 如式(I)中所定义。

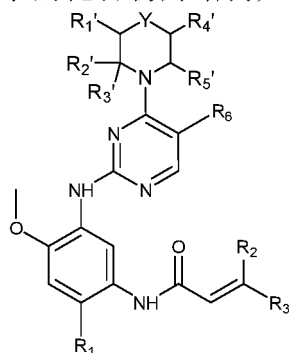
在另一优选例中, 式(I)所示的化合物为结构如式(VII-2)所示:



(VII-2)

式中, R_1 、 R_2 和 R_3 如式(I)中所定义。

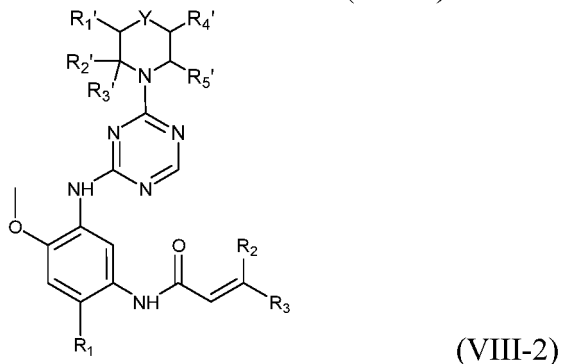
在另一优选例中, 式(I)所示的化合物为结构如式(VIII-1)所示的化合物:



(VIII-1)

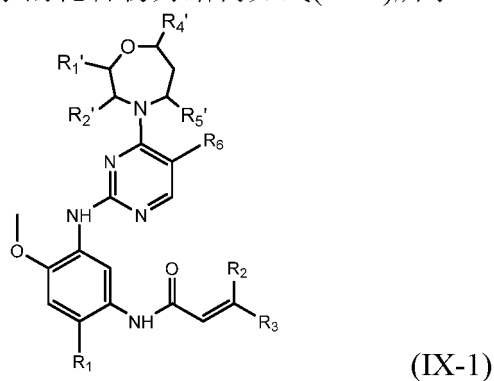
式中, R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 、 R_5' 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_6 和 Y 如式(I)中所定义。

在另一优选例中，式(I)所示的化合物为结构如式(VIII-2)所示的化合物：



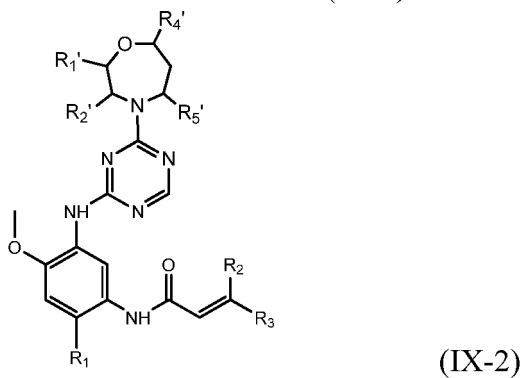
式中， R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 、 R_5' 、 R_1 、 R_2 、 R_3 和 Y 如式(I)中所定义。

在另一优选例中，式(I)所示的化合物为结构如式(IX-1)所示：



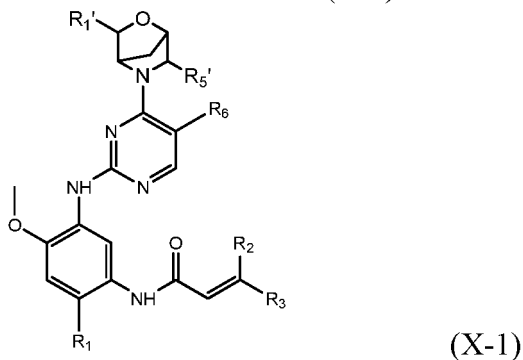
式中， R_1' 、 R_2' 、 R_4' 、 R_5' 、 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_6 如式(I)中所定义。

在另一优选例中，式(I)所示的化合物为结构如式(IX-2)所示：



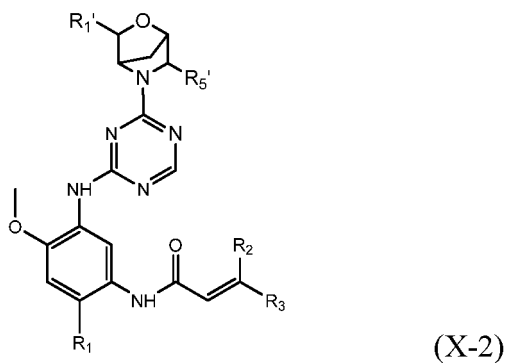
式中， R_1' 、 R_2' 、 R_4' 、 R_5' 、 R_1 、 R_2 和 R_3 如式(I)中所定义。

在另一优选例中，式(I)所示的化合物为结构如式(X-1)所示的化合物：



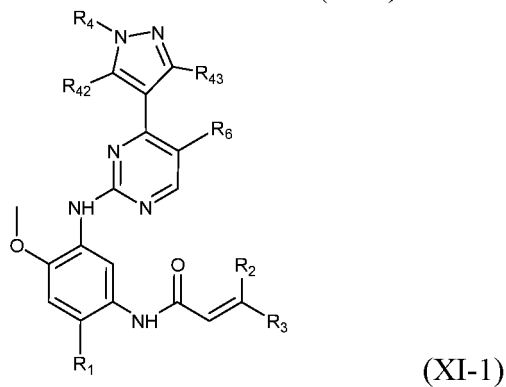
式中， R_1' 、 R_5' 、 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_6 如式(I)中所定义。

在另一优选例中，式(I)所示的化合物为结构如式(X-2)所示的化合物：



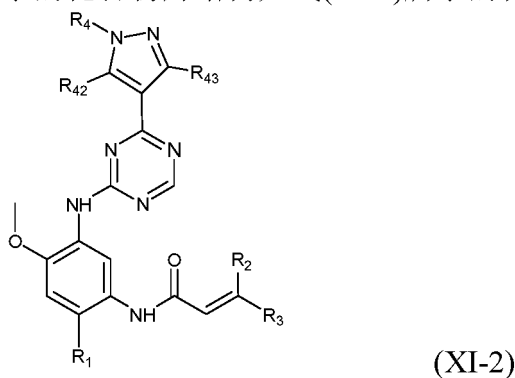
式中, R_1' 、 R_5' 、 R_1 、 R_2 和 R_3 如式(I)中所定义。

在另一优选例中, 式(I)所示的化合物为结构如式(XI-1)所示的化合物:



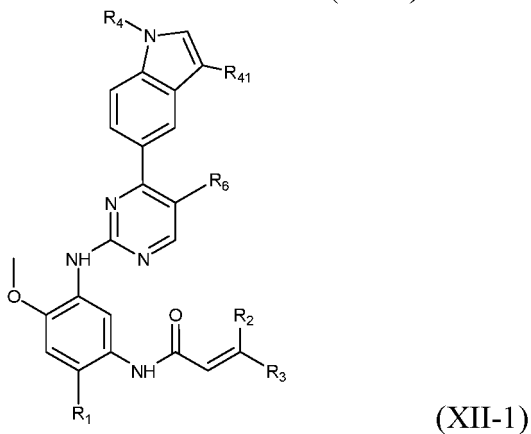
5 式中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{42} 、 R_{43} 和 R_6 如式(I)中所定义。

在另一优选例中, 式(I)所示的化合物为结构如式(XI-2)所示的化合物:



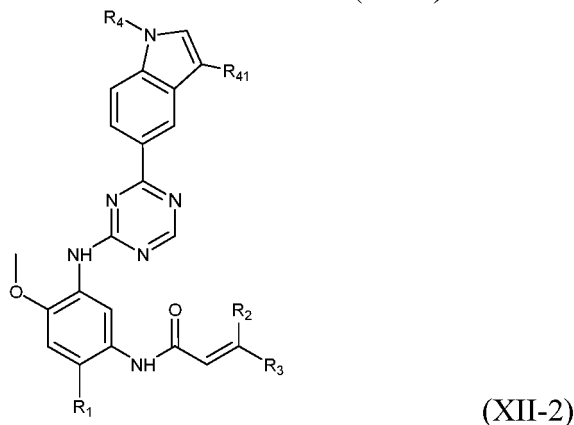
式中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{42} 和 R_{43} 如式(I)中所定义。

在另一优选例中, 式(I)所示的化合物为结构如式(XII-1)所示的化合物:



10 式中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{41} 和 R_6 如式(I)中所定义。

在另一优选例中，式(I)所示的化合物为结构如式(XII-2)所示的化合物：

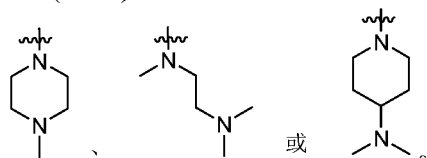


式中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_{41} 如式(I)中所定义。

在另一优选例中，式(XI-1)化合物中， R_6 为氢、氟、氯、三氟甲基。

5 在另一优选例中，式(XI-1)或式(XI-2)化合物中， R_2 和 R_3 各自独立地为氢。

在另一优选例中，式(XI-1)或式(XI-2)化合物中， R_1 选自：



在另一优选例中，式(XI-1)或式(XI-2)化合物中， R_4 、 R_{42} 、 R_{43} 各自独立地为氢、 C_{1-10} 烷基、卤代的 C_{1-10} 烷基或哌啶基；

10 在另一优选例中，式(XI-1)或式(XI-2)化合物中， R_4 、 R_{42} 、 R_{43} 各自独立地为氢、甲基、乙基、二氟甲基或哌啶基。

在另一优选例中，式(XI-1)或式(XI-2)化合物中， R_4 为氢、甲基、二氟甲基或哌啶基； R_{42} 、 R_{43} 各自独立地为氢或甲基。

15 在另一优选例中，式(V-1)、式(V-2)、式(VI-1)、式(VI-2)、式(XII-1)或式(XII-2)化合物中， R_4 为氢、 C_{1-10} 烷基、 C_{3-10} 环烷基或卤代的 C_{1-10} 烷基。

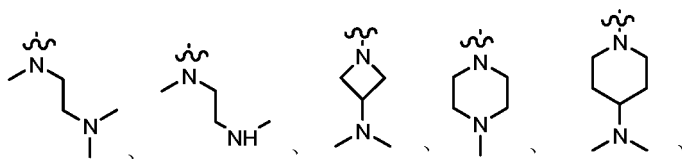
在另一优选例中，式(V-1)、式(V-2)、式(VI-1)、式(VI-2)、式(XII-1)或式(XII-2)化合物中， R_4 为氢、甲基、乙基、异丙基、环丙基或二氟甲基。

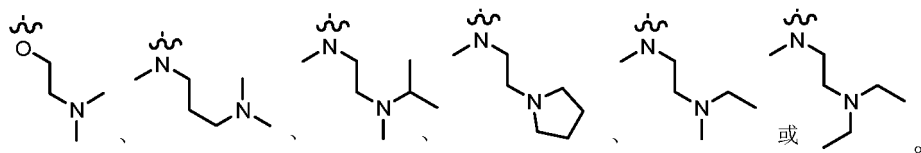
在另一优选例中，式(V-1)、式(V-2)、式(VI-1)、式(VI-2)、式(XII-1)或式(XII-2)化合物中， R_{41} 为氢、氯、氟、三氟甲基、甲基或甲氧基。

20 在另一优选例中，式(V-1)、式(V-2)、式(VI-1)、式(VI-2)、式(XII-1)或式(XII-2)化合物中， R_2 和 R_3 各自独立地为氢。

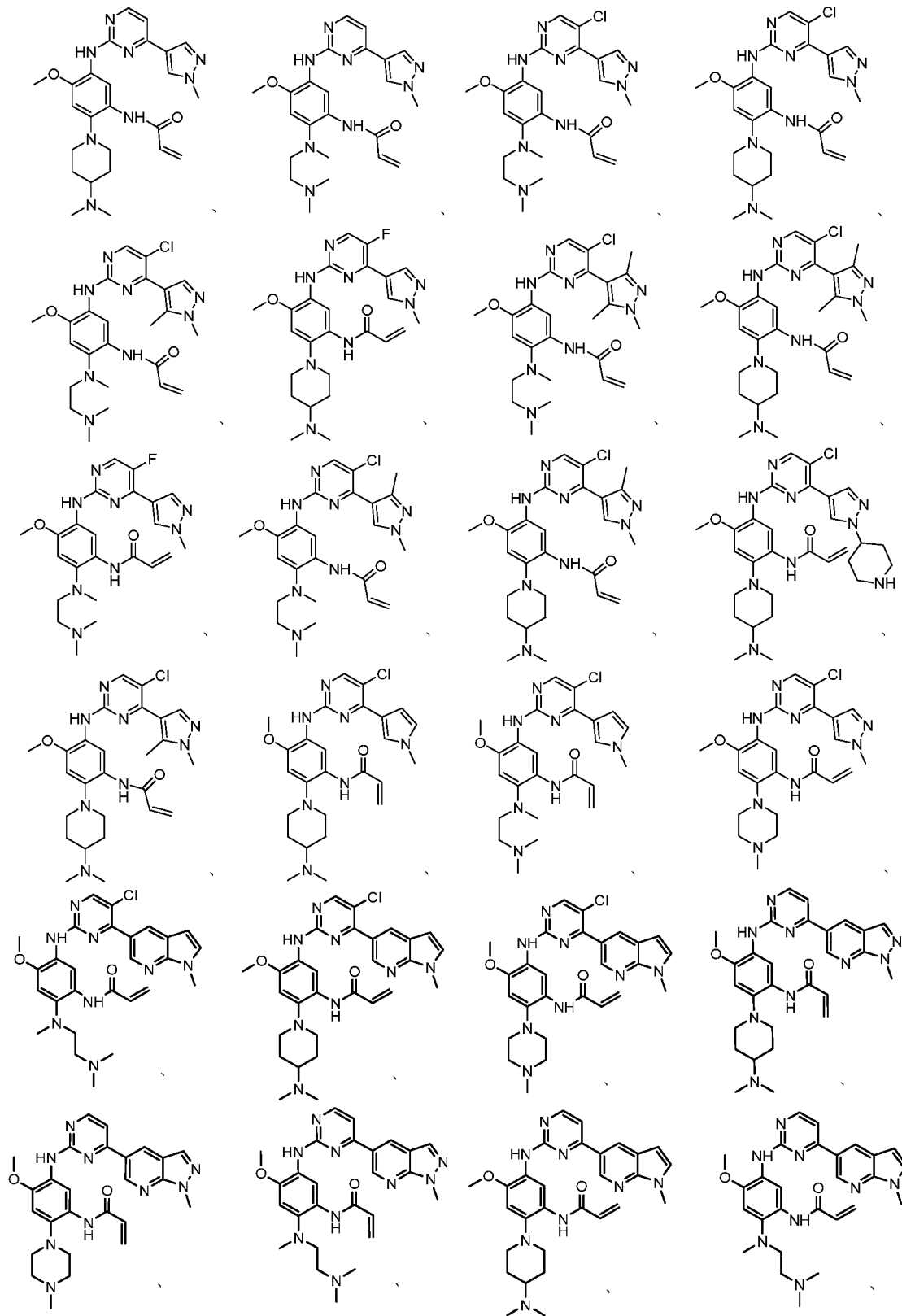
在另一优选例中，式(V-1)、式(VI-1)或式(XII-1)化合物中， R_6 为氢、氟、氯、三氟甲基、甲氧基或 $-CO_2CH_3$ 。

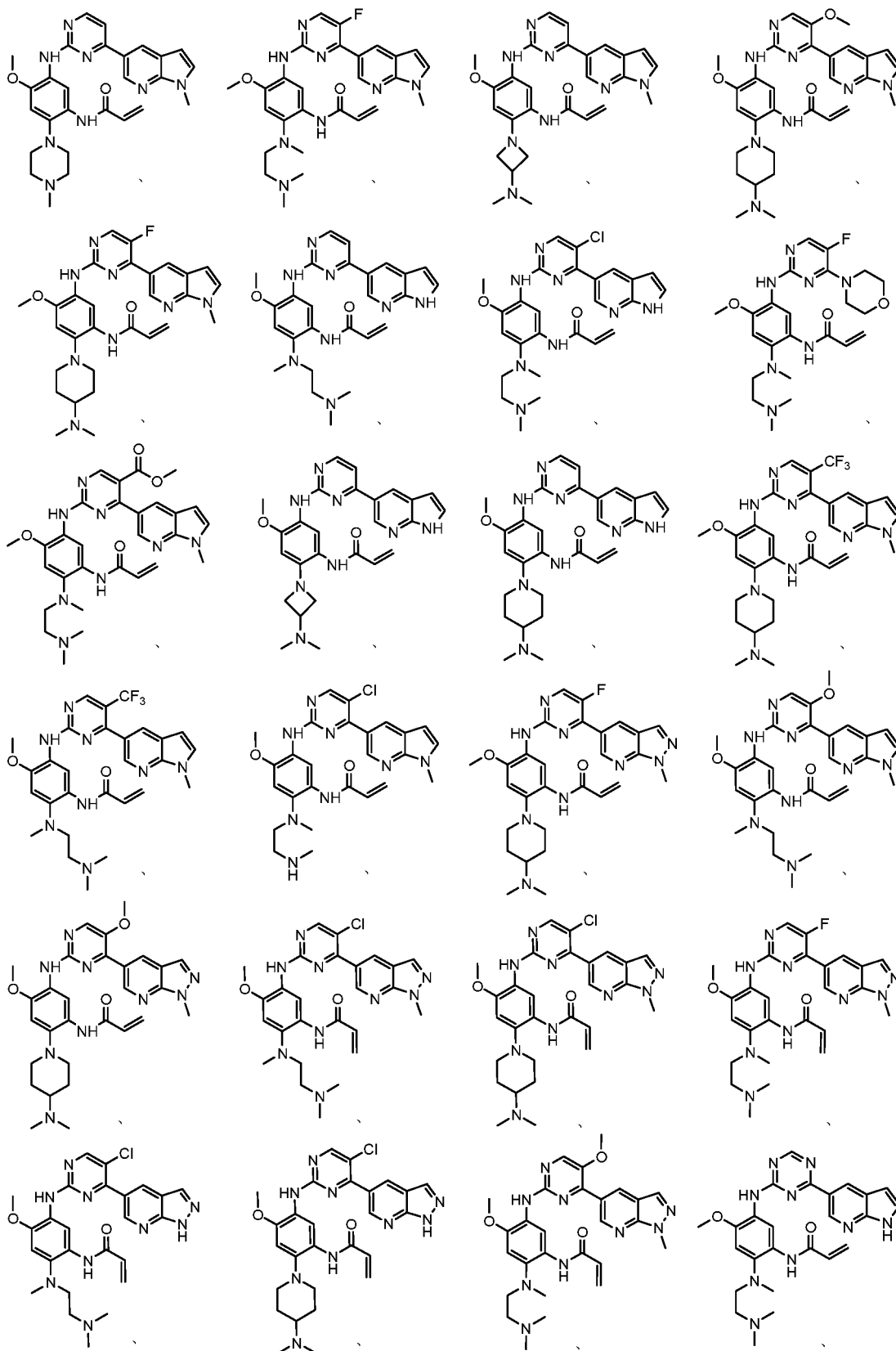
25 在另一优选例中，式(V-1)、式(V-2)、式(VI-1)、式(VI-2)、式(XII-1)或式(XII-2)化合物中， R_1 选自：

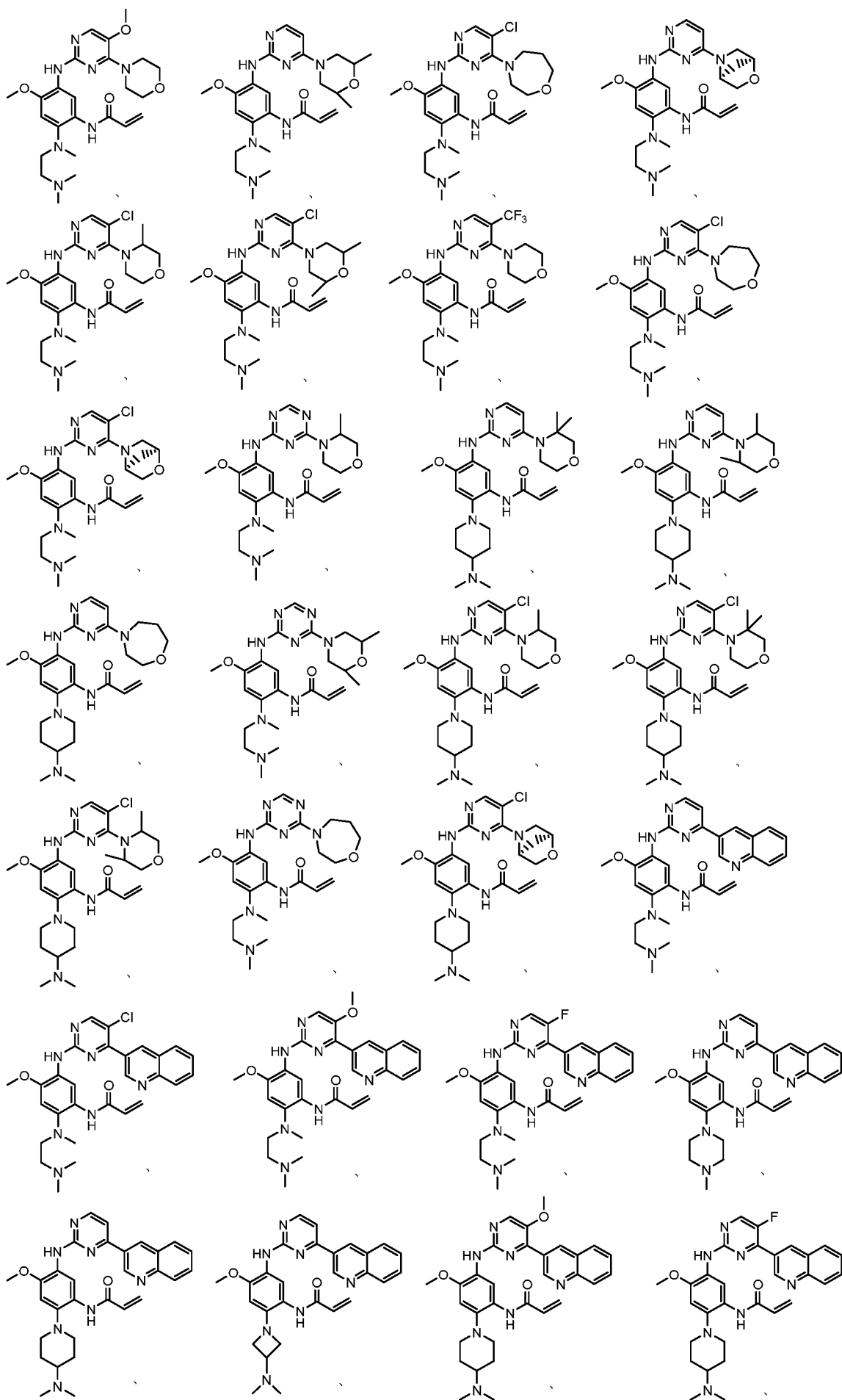


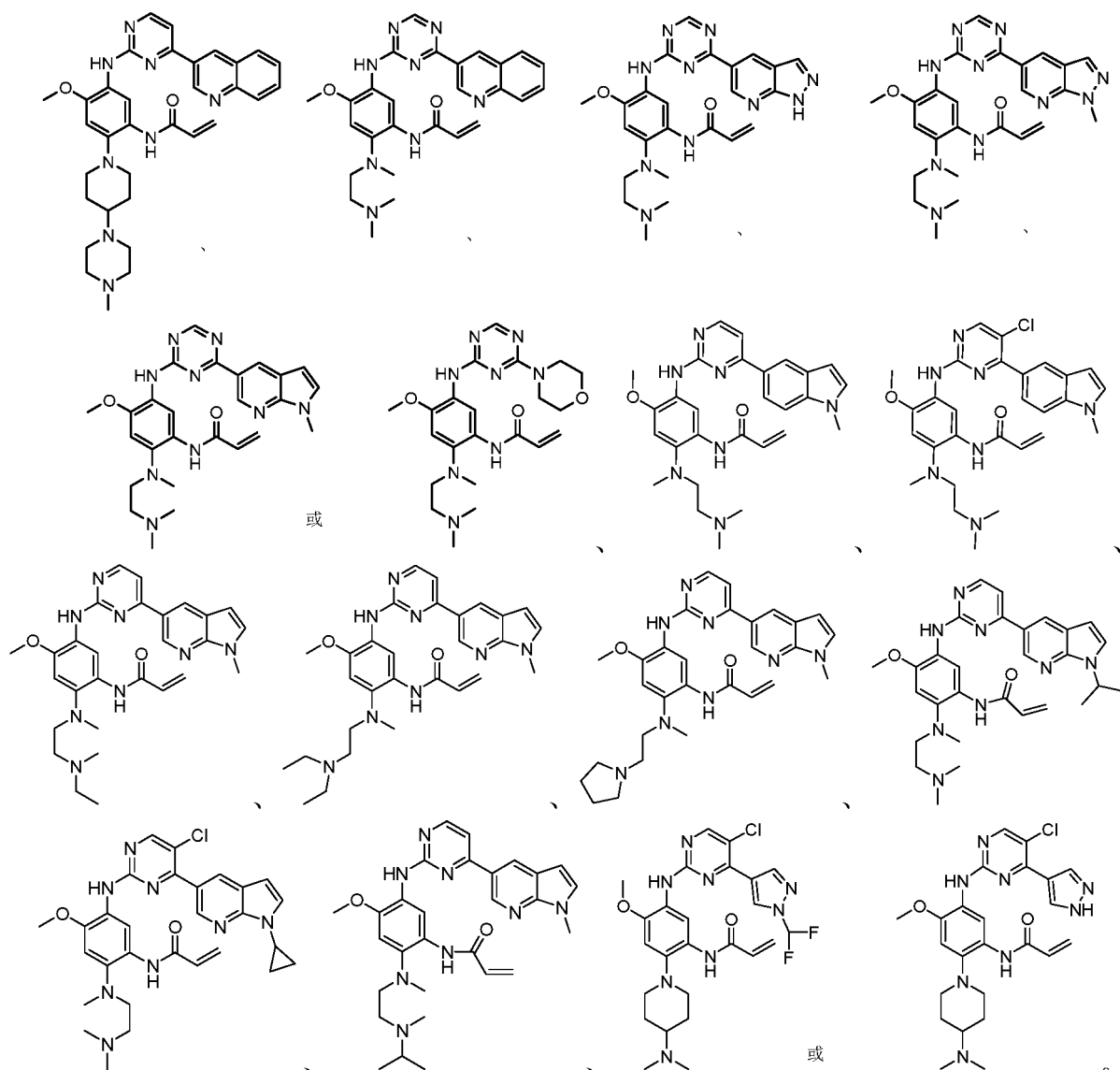


在另一优选例中，所述的化合物选自下组：









5 本发明第二方面提供了一种药物组合物，它包括本发明第一方面所述的化合物，或其药学可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药，并且还包括药学可接受的载体。

10 在另一优选例中，所述药物组合物包括治疗有效量的本发明第一方面所述的化合物，如上述式(I)化合物、式(IV-1)化合物、式(IV-2)化合物、式(V-1)化合物、式(V-2)化合物、式(VI-1)化合物、式(VI-2)化合物、式(VII-1)化合物、式(VII-2)化合物、式(VIII-1)化合物、式(VIII-2)化合物、式(IX-1)化合物、式(IX-2)化合物、式(X-1)化合物、式(X-2)化合物、式(XI-1)化合物、或式(XI-2)化合物、或上述示例化合物，或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药；以及药学可接受的载体。

15 通常，本发明化合物或其药学可接受的盐可以与一种或多种药用载体形成适合的剂型施用。这些剂型适用于口服、直肠给药、局部给药、口内给药以及其他非胃肠道施用(例如，皮下、肌肉、静脉等)。例如，适合口服给药的剂型包括胶囊、片剂、颗粒剂以及糖浆等。这些制剂中包含的本发明的化合物可以是固体粉末或颗粒；水性或非水性液体中的溶液或是混悬液；油包水或水包油的乳剂等。上述剂型可由活性化合物与一种或多种载体或辅料经由通用的药剂学方法制成。上述的载体需要与活性化合物或其他辅料兼容。对于固体制剂，常用的无毒载体包括但不限于甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、纤维素、葡萄糖、蔗糖等。用于液体制剂的载体包括水、生理盐水、葡萄糖水溶液、乙二醇和聚乙二醇等。活性化合物可与上

述载体形成溶液或是混悬液。

本发明的组合物以符合医学实践规范的方式配制，定量和给药。给予化合物的“有效量”由要治疗的具体病症、治疗的个体、病症的起因、药物的靶点以及给药方式等因素决定。

5 本发明第三方面提供了本发明第一方面所述的化合物，或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药可用于制备调控 EGFR 酪氨酸激酶活性或治疗 EGFR 相关疾病的药物中的应用。

作为优选，所述 EGFR 相关疾病为癌症，糖尿病，免疫系统疾病，神经退行性疾病或心血管疾病。

10 作为优选，所述癌症为非小细胞肺癌、头颈癌、乳腺癌、肾癌、胰腺癌、子宫颈癌、食道癌、胰腺癌、前列腺癌、膀胱癌、结肠直肠癌、卵巢癌、胃癌、脑恶性肿瘤包括成胶质细胞瘤等，或它们的任何组合。

作为优选，所述非小细胞肺癌是由 EGFR 突变引起的，包括敏感型突变(如 L858R 突变或外显子 19 缺失)和耐药性突变(如 EGFR T790M 突变)。

15 作为优选，所述的化合物，或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药还可用于制备治疗 EGFR 异常表达的疾病或在使用 EGFR 调节剂治疗期间具有获得性耐药性的疾病的药物中的应用。

作为优选，所述获得性耐药性是由 EGFR 外显子 20 编码的 T790 突变引起的或者是包含 EGFR 外显子 20 编码的 T790 突变所引起的耐药性，如 T790M。

20 在本发明中，EGFR 调节剂是指靶向 EGFR 的小分子酪氨酸激酶抑制剂，如吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼、拉帕替尼或阿法替尼。

本发明第四方面提供了一种药用组合物，其包括治疗有效量的本发明第一方面所述的化合物，或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药，以及选自下组药物中的一种或多种其它药物：吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼、拉帕替尼、XL647、NVP-AEE-788、ARRY-334543、EKB-569、BIBW2992、HKI272、BMS-690514、CI-1033、凡德他尼、PF00299804、WZ4002、西妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕尼单抗、马妥珠单抗、尼妥珠单抗、扎鲁木单抗、帕妥珠单抗、MDX-214、CDX-110、IMC-11F8、Zemab、Her2 疫苗 PX 1041、HSP90 抑制剂、CNF2024、坦螺旋霉素、阿螺旋霉素、IPI-504、SNX-5422、NVP-AUY922、或其组合。除本发明的化合物，或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药以外，上述药用组合物中的其它药物均为本领域技术人员熟知的抗肿瘤药物。

30 如本文所用，“治疗有效量”是指可对人和/或动物产生功能或活性的且可被人或/或动物所接受的量。

本发明的药物组合物或所述药用组合物中含有的本发明化合物，或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药的治疗有效量优选为 0.1mg-5g/kg(体重)。

35 本发明的药用组合物可用于治疗 EGFR 相关疾病，如癌症、糖尿病、免疫系统疾病、神经退行性疾病或心血管疾病，或使用 EGFR 调节剂治疗期间具有获得性耐药性的疾病。

所述获得性耐药性的疾病是由 EGFR 外显子 20 编码的 T790 突变所引起的，或者是包含 EGFR 外显子 20 编码的 T790 突变所引起的。

在另一优选例中，所述的 EGFR 外显子 20 编码的 T790 为 T790M。

本发明所述的化合物在某些疾病中可以与其它药物联合应用，以达到预期的治疗效果。

一个联合应用的例子是用来治疗晚期 NSCLC。例如，将治疗有效量的本发明式 I 所示化合物与 mTOR 抑制剂联用(例如雷帕霉素)；或与 Met 抑制剂(包括 Met 抗体 MetMAb 和 Met 小分子抑制剂 PF02341066) 联用；或与 IGF1R 抑制剂联用(例如 OSI-906)；或与热休克蛋白抑制剂联用等。

5 应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。

具体实施方式

10 发明人经过长期而深入的研究，意外地发现了一类 EGFR 突变选择性抑制剂，体外实验表明其在纳摩尔浓度下即可抑制 EGFR T790M/L858R 双突变酶和细胞株 H1975 的增殖，同时对 EGFR 敏感性突变细胞株 HCC827(外显子 19 缺失)也有很高的抑制强度，而对野生型 EGFR 酶和细胞株 A431 的抑制则相对较弱。因此，此类结构不但可用于 EGFR 敏感型突变癌症的治疗，还适用于目前 EGFR-TKI 治疗中产生继发性耐药的病例；同时其突变选择性大大减小了因抑制野生型 EGFR 而产生的毒副作用，此外，该类化合物在正常细胞系(如 3T3 细胞)中
15 具有较低的细胞毒性，从而大大降低了非特异性毒副作用，是第二代 EGFR-TKI 的理想替代物。

术语定义

如本文所用，“C₁₋₁₀ 烷基”是指具有 1 至 10 个碳原子的直链或支链的饱和脂族烃基。例如
20 甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基等。

如本文所用，“C₁₋₁₀ 烷氧基”指 C₁₋₁₀ 烷基-O-。例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基等。

如本文所用，“卤素”指氟、氯、溴或碘。

如本文所用，“C₃₋₁₀ 环烷基”指包括 3 至 10 个碳原子饱和或部分不饱和单环或多环环状
25 烃取代基，优选环烷基包含 3 至 8 个碳原子 (C₃₋₈ 环烷基)，最优选环烷基包含 3 至 6 个碳原子 (C₃₋₆ 环烷基)。单环环烷基的非限制性实施例包含环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基、环辛基等，优选环丙基、环戊基、环己烯基。多环环烷基包括螺环、稠环和桥环的环烷基。

如本文所用，“C₃₋₁₀ 杂环烷基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基，其包括 3
30 至 10 个环原子，其中一个或多个环原子选自氮、氧或 S(O)_t(其中 t 是整数 0 至 2)的杂原子，但不包括 -O-O-、-O-S-或-S-S-的环部分，其余环原子为碳。优选包括 3 至 8 个环原子，其中 1-3 个是杂原子，更优选杂环烷基包含 3 至 6 个环原子，更优选杂环烷基包含 5 至 6 个环原子。单环杂环基的非限制性实施例包含吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基、吡喃基、四氢呋喃基等。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基。

35 如本文所用，“卤代的 C₁₋₁₀ 烷基”指烷基被 1、2、3、4 或 5 个卤素取代，其中烷基的定义如上所述。优选卤代 C₁₋₁₀ 烷基，更优选卤代 C₁₋₆ 烷基，最优选卤代 C₁₋₃ 烷基。包括(但不限于)一氯乙基、二氯甲基、1,2-二氯乙基、一溴乙基、一氟乙基、一氟甲基、二氟甲基、三氟甲基等。

活性成分

术语“本发明的活性物质”或“本发明的活性化合物”是指本发明式(I)化合物、或其药学上可接受的盐、或其溶剂化物、或其立体异构体、或其前药，其具有显著耐药 EGFR T790M 突变(特别是 EGFR T790M/L858R 双突变)抑制活性。

如本文所用，所述“药学上可接受的盐”包括药学可接受的酸加成盐和药学可接受的碱加成盐。“药学上可接受的酸加成盐”是指能够保留游离碱的生物有效性而无其他副作用的，与无机酸或有机酸所形成的盐。无机酸盐包括但不限于盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐等；有机酸盐包括但不限于甲酸盐、乙酸盐、丙酸盐、乙醇酸盐、葡糖酸盐、乳酸盐、草酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、谷氨酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、对甲苯磺酸盐和水杨酸盐等。这些盐可通过本专业已知的方法制备。“药学可接受的碱加成盐”，包括但不限于无机碱的盐如钠盐，钾盐，钙盐和镁盐等。包括但不限于有机碱的盐，比如铵盐，三乙胺盐，赖氨酸盐，精氨酸盐等。这些盐可通过本专业已知的方法制备。

如本文所用，式(I)化合物可以存在于一种或多种晶型，本发明的活性化合物包括各种晶型及其混合物。

本发明中提及的“溶剂化物”是指本发明的化合物与溶剂形成的配合物。它们或者在溶剂中反应或者从溶剂中沉淀析出或者结晶出来。例如，一个与水形成的配合物称为“水合物”。式(I)化合物的溶剂化物属于本发明范围之内。

本发明式(I)所示的化合物可以含有一个或多个手性中心，并以不同的光学活性形式存在。当化合物含有一个手性中心时，化合物包含对映异构体。本发明包括这两种异构体和异构体的混合物，如外消旋混合物。对映异构体可以通过本专业已知的方法拆分，例如结晶以及手性色谱等方法。当式(I)化合物含有多于一个手性中心时，可以存在非对映异构体。本发明包括拆分过的光学纯的特定异构体以及非对映异构体的混合物。非对映异构体可由本专业已知方法拆分，比如结晶以及制备色谱。

本发明包括上述化合物的前药。前药包括已知的氨基保护基和羧基保护基，在生理条件下被水解或经由酶反应释放得到母体化合物。具体的前药制备方法可参照(Saulnier, M.G.; Frennesson, D.B.; Deshpande, M.S.; Hansel, S.B and Vysa, D.M.Bioorg.Med.Chem Lett.1994, 4, 1985-1990; 和 Greenwald, R.B.; Choe, Y.H.; Conover, C.D.; Shum, K.; Wu, D.; Royzen, M.J.Med.Chem.2000, 43, 475.)。

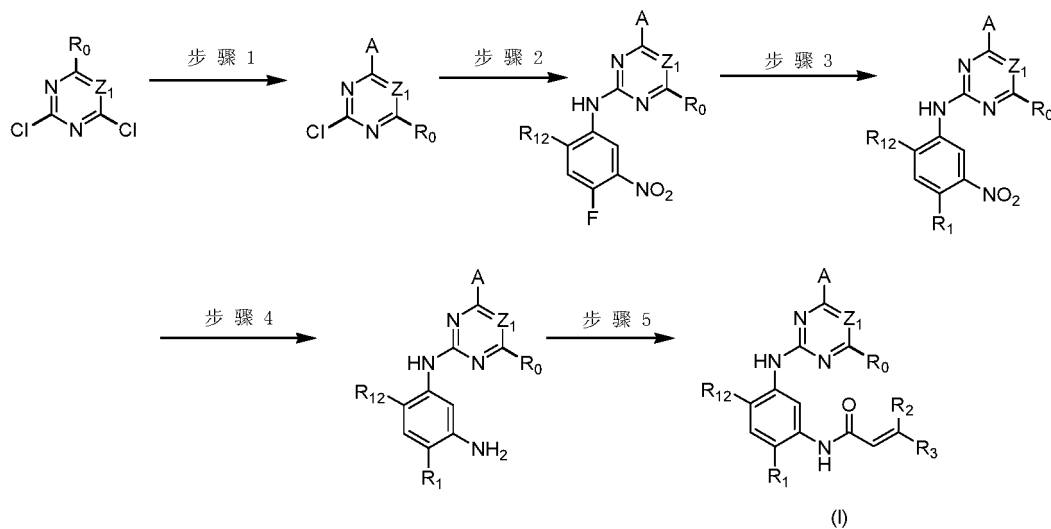
制备方法

本发明提供了式(I)化合物的制备方法，本发明中的化合物可以通过多种合成操作容易地制备，这些操作是所属领域技术人员熟练掌握的。这些化合物的示例性制备方法可以包括(但不限于)下文所述的流程。

较佳地，本发明式(I)化合物可以通过以下方案及实施例中所述的示例性方法以及本领域技术人员所用的相关公开文献操作完成。

在具体操作过程中，可以根据需要对方法中的步骤进行扩展或合并。

方案 1:



步骤 1: 嘧啶 4 位的氯与硼酸酯或者硼酸, 或者合适的胺反应, 需在一定温度下, 使用合适的催化剂及适当的溶剂可以进行。使用 Suzuki 方法, 所用的钯催化剂可以是但不限于 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$, 所用的碱可以是但不限于碳酸钠。

步骤 2: 嘧啶 2 位的氯以胺取代, 需在一定温度下, 使用合适的催化剂及适当的溶剂才能进行。使用酸催化, 催化剂可以是但不限于 TFA 或对甲苯磺酸。使用 Buchwald-Hartwig 胺化法, 所用的钯催化剂可以是但不限于 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, 所用的配体可以是但不限于 XantPhos(4,5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基氧杂蒽), 所用的碱可以是但不限于碳酸铯。

步骤 3: 苯基 4 位的氟以胺取代, 需在一定温度下, 使用合适的碱及适当的溶剂才能进行。所用的碱可以是但不限于碳酸钾。

步骤 4: 该硝基化合物转化为相应的胺基化合物可在酸性条件下, 用金属(可以是但不限于铁粉, 锌粉)或者氯化亚锡进行还原; 或者在钯碳催化下, 加氢还原。

步骤 5: 该胺基化合物可在碱性条件下与相应的酰氯缩合成酰胺, 或者在缩合剂存在下与相应的羧酸缩合成酰胺。

以上各步骤中的反应均是本领域技术人员已知的常规反应。

本发明公开的式(I)化合物以及化合物的制备方法、药物组成和治疗方案, 本领域技术人员可以借鉴本文内容, 适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是, 所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的, 它们都被视为包括在本发明。本发明的产品、方法及应用已经通过较佳实施例进行了描述, 相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的方法和应用进行改动或适当变更与组合, 来实现和应用本发明技术。

与现有技术相比, 本发明的主要优点在于:

(1) 本发明化合物对 EGFR T790M 突变型(特别是 EGFR T790M/L858R 双突变型)酶和细胞具有高抑制活性, 且对 EGFR 野生型(EGFR WT)酶和细胞具有低抑制活性, 因此具有高选择抑制性。

(2) 本发明化合物对 EGFR 双突变型酶和细胞表现高选择抑制性的同时还具有低非特异性细胞毒性。

(3) 与其他已知的 EGFR 突变抑制剂相比, 本发明化合物还显示出有利的物理性质(例如, 较高的水溶性), 有利的毒性特征(例如较低的 hERG 阻断倾向), 有利的代谢特征(例如, 较好

的药代动力学特征, 如生物利用度)。

为了使本领域技术人员更好地理解本发明的技术方案, 下面结合具体实施例对本发明作进一步的详细说明。

5 试剂与仪器

本发明中, 化合物的结构和纯度通过核磁共振(¹H NMR)和/或液质联用质谱(LC-MS)来确定。¹H NMR: Bruker AVANCE-400 核磁仪, 内标为四甲基硅烷(TMS)。LC-MS: Agilent 1200 HPLC System/6140 MS 液质联用质谱仪(购自安捷伦), 柱子 Waters X-Bridge, 150×4.6mm, 3.5μm。制备高效液相色谱(pre-HPLC): 用 Waters PHW007, 柱子 XBridge C18, 4.6*150mm, 3.5μm。

采用 ISCO Combiflash-Rf75 或 Rf200 型自动过柱仪, Agela 4 g、12g、20g、40g、80g、120g 一次性硅胶柱。

薄层层析硅胶板使用烟台黄海 HSGF254 或青岛 GF254 硅胶板, 薄层色谱法(TLC), 检测反应使用的硅胶板采用的规格是 0.15mm - 0.2mm, 薄层色谱法分离纯化产品使用的硅胶板采用的规格是 0.4mm - 0.5mm。硅胶一般使用烟台黄海硅胶 200 - 300 目硅胶为载体。碱性氧化铝柱一般使用国药层析用 FCP200 - 300 目碱性氧化铝为载体。

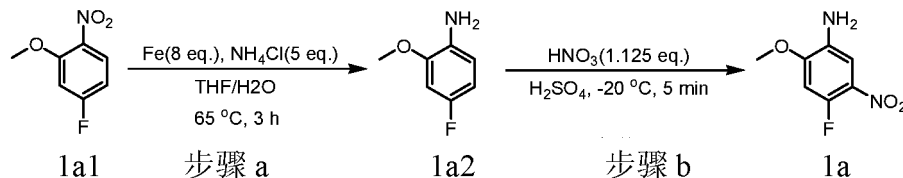
本发明的已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成, 或可以于 ABCR GmbH&Co.KG, Acros Organics, Aldrich Chemical Company, 韶远化学科技 (Accela ChemBio Inc)和达瑞化学品等公司处购买。

实施例中无特殊说明, 反应均在氮气或氩气氛下进行。实施例中无特殊说明, 溶液是指水溶液。

如本文所用, DMF 表示二甲基甲酰胺, DMSO 表示二甲基亚砜, THF 表示四氢呋喃, DIEA 表示 N,N-二异丙基乙胺, EA 表示乙酸乙酯, PE 表示石油醚。BINAP 表示(2R,3S)-2,2'-双二苯膦基-1,1'-联萘, NBS 表示 N-溴代丁二酰亚胺, NCS 表示 N-氯代丁二酰亚胺, Pd₂(dba)₃ 表示三(二亚苄基丙酮)二钯, Pd(dppf)Cl₂ 表示[1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯。

如本文所用, 室温指的是约 25℃。

化合物 1a 的制备:

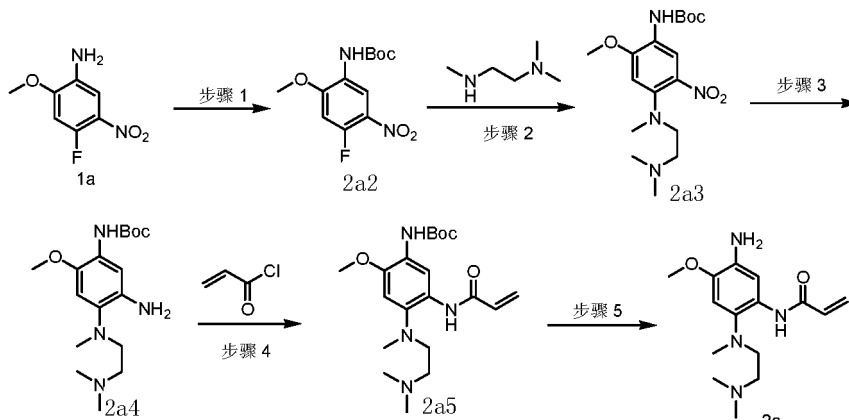


步骤 a: 将化合物 1a1 (10.6 g, 58 mmol)置于 500 mL 反应瓶中, 加入 THF/水 (100 mL / 60 mL)混合溶液溶解。在室温下, 边搅拌边依次加入氯化铵 (15.5 g, 292 mmol)和还原铁粉(26 g, 467 mmol), 随后将反应体系加热至 65℃并持续搅拌 3h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 过滤除去多余铁粉, 滤饼用 EA 淋洗三次。滤液用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄干燥后, 减压浓缩得到化合物 1a2 (8.0 g), 直接用于下一步反应。产率: 93%; 纯度: 90%; MS m/z(ESI):142.0 [M+H]⁺。

步骤 b: 将化合物 1a2 (8.0 g, 43 mmol)置于 500 mL 反应瓶中, 匀速搅拌下加入浓硫酸 (100 mL)使底物溶解。在零下 20℃下, 边搅拌边缓慢滴加浓硝酸(6.15 mL, 48 mmol), 并保温

搅拌 5min。TLC 检测反应进度，待反应完成后，倒入冰水中。保持零下 20℃冰浴，向反应体系中缓慢加入氢氧化钠/水溶液(150 mL / 300 mL)，调节 pH 值至 8-9。然后反应液用 EA/水体系萃取三次，分离出有机层，经水洗，饱和食盐水洗涤，无水 Na₂SO₄干燥后，减压浓缩得到化合物 1a (8.7g)，直接用于下一步反应。产率：80%；纯度：100%；MS m/z(ESI): 187.0 [M+H]⁺;¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7.34 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 5.25 (brs, 2H), 3.90 (s, 3H)。

中间体 2a 的制备



步骤 1：将化合物 1a (11.16g, 60mmol)溶于 150mL 二氯甲烷，加入二碳酸二叔丁酯 (15.60g, 72mmol)、三乙胺 (12.24g, 120mmol)和 4-二甲氨基吡啶 (0.74g, 6mmol)室温下搅拌反应 18 h。TLC 检测反应进度，待反应完成后，减压浓缩反应液，柱层析[PE:EA=80:20]分离纯化得到目标产物化合物 2a2 (12.56g, 73%)。MS m/z(ESI): 285 [M-H]⁺。

步骤 2：将化合物 2a2 (11.46g, 40mmol)溶于 60mL N,N-二甲基乙酰胺，加入 N,N,N',N'-三甲基乙二胺 (4.90 g, 48 mmol), N,N-二异丙基乙基胺 (7.74 g, 60mmol)，加热至 90℃搅拌反应 6h。TLC 检测反应进度，待反应完成后，将反应液冷却至室温，倒入冰水中，用乙酸乙酯萃取，饱和食盐水洗涤，无水 Na₂SO₄干燥，减压浓缩得目标产物化合物 2a3(12.51g, 85%)。直接用于下一步反应。MS m/z(ESI): 369 [M+H]⁺。

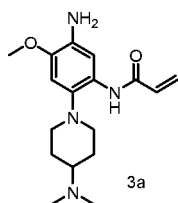
步骤 3：将化合物 2a3 (12 g, 32.6 mmol)溶于 200mL 甲醇，加入 1.0g 10% Pd/C。以氢气置换空气后，于室温下以氢气球加氢，搅拌反应 1h。TLC 检测反应进度，待反应完成后，经砂芯漏斗抽滤，以少量甲醇洗涤滤饼，将滤液浓缩得到目标产物化合物 2a4 (10.70g, 97%)。直接用于下一步反应。MS m/z(ESI): 339 [M+H]⁺。

步骤 4：将化合物 2a4 (10.1g, 30mmol)和三乙胺 (6.12g, 60mmol)溶于 200mL 二氯甲烷，冷却至 0℃，加入丙烯酰氯 (3.24g, 36mmol)，在氮气保护下，室温搅拌 3h。TLC 检测反应进度，待反应完成后，以饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水顺次洗涤，无水 Na₂SO₄干燥，抽滤，经减压浓缩得到目标产物化合物 2a5(9.64g, 82%)。直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):393 [M+H]⁺。

步骤 5：将化合物 2a5 (9.41 g, 24 mmol) 溶解在 100mL 二氯甲烷中，冷却到 0℃，加入 20mL 三氟乙酸，在氮气保护下室温搅拌 18h。TLC 检测反应进度，待反应完成后，减压浓缩反应液。将残留物以 300mL 二氯甲烷溶解，用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水顺次洗涤，无水 Na₂SO₄干燥，抽滤，减压浓缩得到粗品。经柱层析[DCM: MeOH=10: 1]纯化得到目标产

物化合物 2a (3.26g, 46.5%)。MS m/z(ESI): 293 [M+H]⁺。

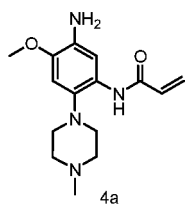
中间体 3a 的制备



制备方法同化合物 2a, 不同的是将化合物 2a 制法中步骤 2 中的 N,N,N'-三甲基乙二胺换成 4-二甲氨基哌啶。MS m/z(ESI): 319.2 [M+H]⁺。

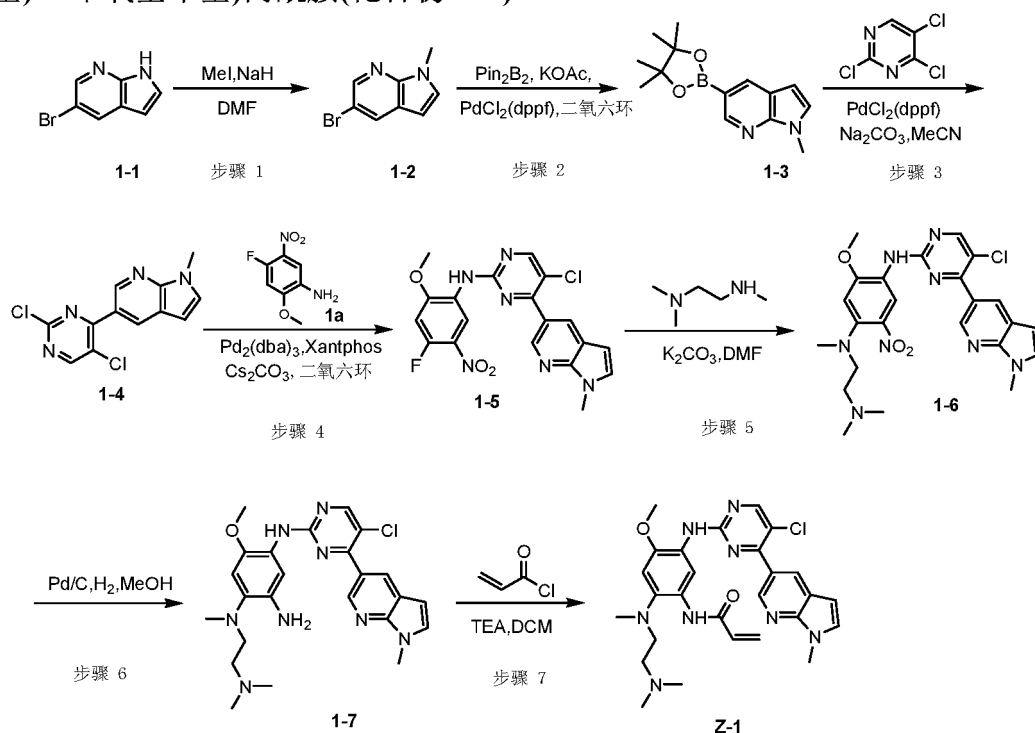
5

中间体 4a 的制备



制备方法同化合物 2a, 不同的是将化合物 2a 制法中步骤 2 中的 N,N,N'-三甲基乙二胺换成甲基哌啶。MS m/z(ESI): 291 [M+H]⁺。

实施例 1: N-(5-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-氨基)-2-((2-(二甲氨基)乙基)甲基氨基)-4-甲氧基苯基)丙酰胺(化合物 Z-1)



10 步骤 1: 5-溴-1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶 (化合物 1-2)

在 0℃ 下, 将化合物 5-溴-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(5 g, 25.4 mmol, 市购)的 DMF 溶液加入到氢化钠(4.32 g, 30.5 mmol)的 40mLDMF 中, 0℃ 下剧烈搅拌 0.5 h 后, 加入碘甲烷(1.22 g, 30.5 mmol), 室温下剧烈搅拌 3h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 将反应体系倒入冰水中。待固体完全析出后, 过滤, 固体用二氯甲烷和甲醇(10:1)溶解, 水洗 3 次, 干燥, 分离出有机层, 减压浓缩得到化合物 1-2(5.4 g, 99%), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI): 211.0 [M+H]⁺。

15

步骤 2: 1-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(化合物 1-3)

将双联频哪醇硼酸酯(11.26 g, 43.6 mmol), PdCl₂(dppf)(814 mg, 1.11 mmol)和乙酸钾(6.53 g, 32.7 mmol)加入到化合物 1-2(4.6 g, 21.8 mmol)的 50mL 1,4-二氧六环溶液中。90℃下, 在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 8h。反应结束后, 过滤, 滤液浓缩, 得粗产品化合物 1-3(13.9 g), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI): 259.1 [M+H]⁺。

步骤 3: 5-(2,5-二氯嘧啶-4-基)-1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(化合物 1-4)

将 2,4,5-三氯嘧啶(4.93 g, 26.2 mmol), PdCl₂(dppf)(1.66 g, 2.26 mmol, 市购)和 23mL 的 2.0 mol/L 的碳酸钠溶液加入到化合物 1-3(13.9 g, 21.8 mmol)的 50mL 乙腈溶液中。85℃下, 在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 4h。反应结束后, 加水稀释, 用 EA/水体系萃取, 水洗 3 次, 干燥, 有机层减压浓缩得粗产品。经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0 - 20: 80]纯化后得化合物 1-4(2.16 g, 36%)。MS m/z(ESI): 279.0 [M+H]⁺。

步骤 4: 5-氯-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺(化合物 1-5)

将化合物 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺(1.13 g, 6.09 mmol), Pd₂(dba)₃(558 mg, 0.61 mmol), Xantphos(705 mg, 1.22 mmol)和碳酸铯(3.97 g, 12.2 mmol)加入到化合物 1-4(1.70 g, 6.09 mmol)的 20mL 1,4-二氧六环溶液中。120℃下, 在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 5h。反应结束后, 过滤, 滤液减压浓缩后得粗产品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0 - 0: 100]纯化后得化合物 1-5(420 mg, 16%)。MS m/z(ESI): 429.0 [M+H]⁺。

步骤 5: N¹-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-N⁴-(2-(二甲氨基)乙基)-2-甲氧基-N⁴-甲基-5-硝基苯基-1,4-二胺(化合物 1-6)

将 N,N,N'-三甲基乙二胺(72 mg, 0.70 mmol)和碳酸钾(193 mg, 1.40 mmol)加入到化合物 1-5(200 mg, 0.47 mmol)的 4mL 的 DMF 中, 100℃下剧烈搅拌 2h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加入 10mL 水, 用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 减压浓缩得到化合物 1-6(240 mg, 90%)MS m/z(ESI): 511.3 [M+H]⁺。

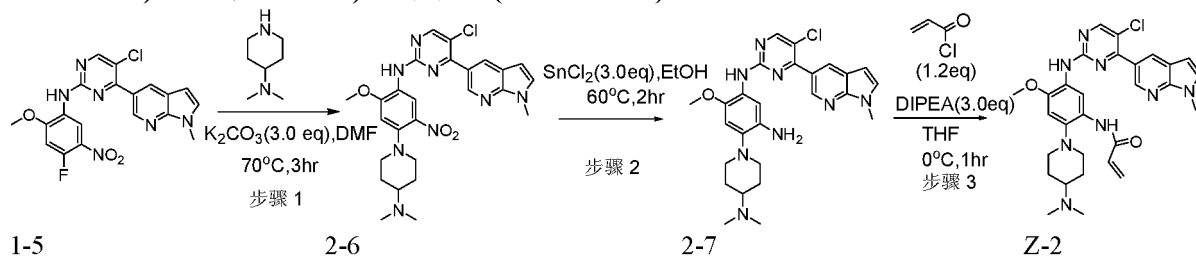
步骤 6: N⁴-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-N¹-(2-(二甲氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基苯基-1,2,4-三胺(化合物 1-7)

将 Pd/C(20 mg)加入到化合物 1-6(100 mg, 0.20 mmol)的 20mL 甲醇溶液中。室温下, 在 H₂ 氛围中剧烈搅拌 4h。反应结束后, 过滤, 滤液浓缩, 得化合物 1-7(80 mg, 83%), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI): 481.2 [M+H]⁺。

步骤 7: N-(5-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺基)-2-((2-(二甲氨基)乙基)甲基胺基)-4-甲氧基苯基)丙酰胺(化合物 Z-1)

在 0℃下, 将丙烯酰氯(17 mg, 0.17 mmol)与三乙胺(28 mg, 0.25 mmol)加入到化合物 1-7(80 mg, 0.17 mmol)的 2mL 二氯甲烷溶液中, 0℃下剧烈搅拌 2h。反应结束后, 加水稀释, 用二氯甲烷/水体系萃取三次, 有机层减压浓缩得到粗产物。经制备液相分离纯化得化合物 Z-1(2.39 mg, 6%)。MS m/z(ESI): 534.9 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.11 (s, 1H), 8.87 - 8.75 (m, 2H), 8.57 (d, *J* = 17.2 Hz, 3H), 7.62 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.57 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 6.44 - 6.35 (m, 1H), 6.29 (d, *J* = 16.7 Hz, 1H), 5.77 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 2.85 (s, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.29 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H)。

实施例 2: N-(5-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺基)-2-(4-(二甲氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-2)



步骤 1: 5-氯-N-(4-(4-(二甲氨基)哌啶-1-基)-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺(化合物 2-6)

将化合物 1-5 (260 mg, 0.607 mmol) 和碳酸钾 (251 mg, 1.822 mmol) 置于 25 mL 反应瓶中, 加入 DMF (10 mL) 使底物部分溶解。之后加入 N,N-二甲氨基哌啶 (85.4 mg, 0.667 mmol) 并保持反应体系在 70°C 条件下加热 3h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 反应液用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥后, 减压浓缩得到粗产物 2-6, 220 mg, 产率 68%。MS M/Z (ESI) 537.2 [M+H]⁺。

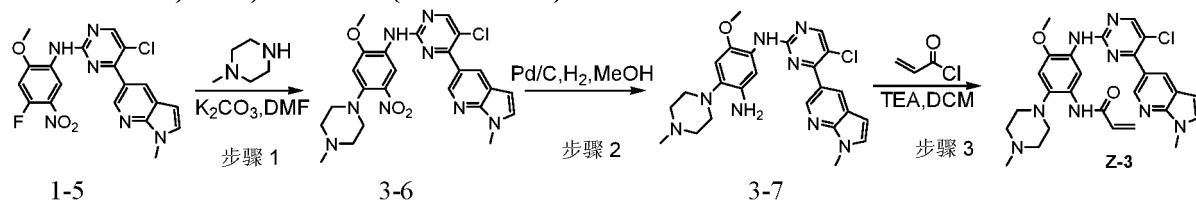
步骤 2: N¹-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-4-(4-(二甲氨基)哌啶-1-基)-6-甲氧基苯基-1,3-二胺(化合物 2-7)

将反应底物 2-6 (110 mg, 0.205 mmol) 置于 25 mL 反应瓶中, 加入乙醇 (6 mL)。在室温条件下, 向搅拌的反应瓶中加入氯化亚锡 (138 mg, 0.615 mmol) 并保持反应体系在 60°C 条件下加热 2h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 反应液浓缩旋干, 用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥后。滤液减压浓缩得到粗产物 2-7 (80 mg, 76.9%), 直接用于下一步反应。

步骤 3: N-(5-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺基)-2-(4-(二甲氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-2)

在 0°C 下, 将丙烯酰氯 (17.0 mg, 0.188 mmol) 与 DIEA (60.8 mg, 0.471 mmol) 加入到化合物 2-7 (80 mg, 0.157 mmol) 的 3 mL THF 溶液中, 0°C 下剧烈搅拌 2h。反应结束后, 加水稀释, 用二氯甲烷/水体系萃取三次, 有机层减压浓缩得到粗产物。经制备液相分离纯化得化合物 Z-2 (9.0 mg, 10%)。MS m/z (ESI): 560.8 [M+H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.98 (s, 1H), 8.75-8.74 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 8.48-8.53 (m, 4H), 7.62-7.61 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.71-6.57 (m, 2H), 6.29-6.25 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 5.77-5.74 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.05-3.02 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 2.69-2.63 (m, 2H), 2.30-2.19 (m, 7H), 1.91-1.83 (m, 2H), 1.70-1.68 (m, 2H)。

实施例 3: N-(5-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺基)-4-甲氧基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-3)



步骤 1: 5-氯-N-(2-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺(化合物 3-6)

将 N-甲基哌嗪(126 mg, 1.26 mmol)和碳酸钾(261 mg, 1.89 mmol)加入到化合物 1-5(200 mg, 0.47 mmol)的 4mL 的 DMF 中, 100℃下剧烈搅拌 2h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加入 10mL 水, 用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 减压浓缩得到化合物 3-6 (200 mg, 84%)MS m/z(ESI):509.2[M+H]⁺。

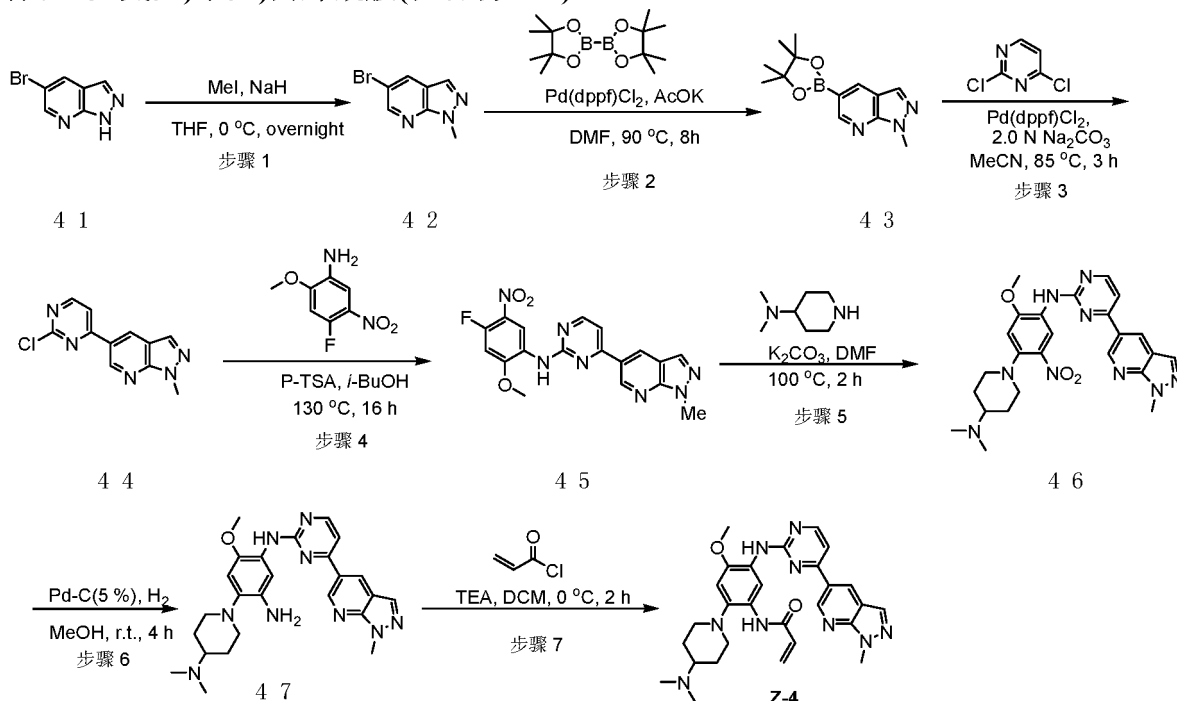
步骤 2: N¹-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-6-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基-1,3-二胺(化合物 3-7)

以化合物 3-6(200 mg, 0.39 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 进行合成, 得化合物 3-7(140 mg, 75%), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):479.1 [M+H]⁺。

步骤 3: N-(5-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺基)-4-甲氧基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-3)

以化合物 3-7(140 mg, 0.29 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 进行合成, 得化合物 Z-3(1.60 mg, 1%)。MS m/z(ESI):533.2 [M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.98 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.51 (d, J = 32.1 Hz, 3H), 7.63 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.63 (d, J = 28.9 Hz, 2H), 6.27 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 5.76 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 5.33 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 2.86 (s, 4H), 2.55 (s, 2H), 2.26 (s, 3H), 1.99 (s, 2H)。

实施例 4: N-(2-(4-(二甲氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基-5-(4-(1-甲基-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-4)



步骤 1: 5-溴-1-甲基-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶(化合物 4-2)

将氢化钠(720 mg, 30 mmol)置于 100 mL 反应瓶中, 向反应瓶中加入无水 THF(40 mL)。0℃条件下搅拌 5 min, 将反应底物 5-溴-1H-吡啶并[3,4-b]吡啶(4.0 g, 20 mmol, 市购)溶于 THF(20 mL)中, 通过恒压滴液漏斗缓慢滴加到反应瓶中, 搅拌 30 min, 向反应体系中滴加碘甲烷(1.6 mL, 26 mmol)。滴加完毕, 缓慢升温至室温反应, 搅拌过夜。TLC 检测反应进度, 待反应完

成后,向反应体系中加入冰水 10 mL 猝灭反应,减压浓缩蒸除 THF,残留物经二氯甲烷(60 mL)和水(20 mL×3)萃取,有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥、减压浓缩得 4.1 g 褐色固体,经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 10: 90 - 40: 60]分离纯化得目标化合物 4-2(3.1 g, 73%)。MS m/z(ESI): 211.9 [M+H]⁺

5 步骤 2: 1-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶(化合物 4-3)

将化合物 4-2(3.1 g, 14.6 mmol)和双联频哪醇硼酸酯 (11.1g, 43.8 mmol)置于 250 mL 反应瓶中,加入 DMF(150 mL)和乙酸钾 (4.3 g, 43.8 mmol)。反应体系用氩气置换空气三次后,加入 Pd(dppf)Cl₂ (0.55 g, 0.73 mmol),之后再用氮气置换空气三次。将反应体系加热至 90℃,并且持续搅拌 8h。LC-MS 检测反应进度,待反应完成后,抽滤,滤饼经 EA(30 mL×3)洗涤,滤液减压浓缩蒸除 DMF 得到化合物 4-3(13.5 g),褐色固体,直接用于下一步反应。MS m/z(ESI): 260.2 [M+H]⁺

步骤 3: 5-(2-氯嘧啶-4-基)-1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶(化合物 4-4)

15 将反应底物 4-3(3.8 g, 14.6 mmol)和 2,4-二氯嘧啶 (2.6 g, 17.5 mmol)置于 250 mL 反应瓶中,加入乙腈(130 mL)和碳酸钠溶液 (22 mL, 2M)。反应体系用氩气置换空气三次后,加入 Pd(dppf)Cl₂ (0.55 g, 0.73 mmol),之后再用氮气置换空气三次。将反应体系加热至 85℃,并且持续搅拌 3h。LC-MS 检测反应进度,待反应完成后,冷却至室温,析出大量固体,抽滤,滤饼经 EA(10 mL×3)洗涤,烘干至恒重得 2.2 g 黄色固体,滤液经 EA 和水萃取,干燥浓缩后,再经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 10: 90 - 70: 30]分离纯化得 0.6 g 黄色固体,将固体合并得目标化合物 4-4(2.8 g, 78 %)。MS m/z(ESI): 246.1 [M+H]⁺

20 步骤 4: N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺(化合物 4-5)

将反应底物 4-4(420 mg, 1.7 mmol)和 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺(316 mg, 1.7 mmol)置于 100 mL 的封管反应瓶中,加入异丁醇(40 mL)使底物部分溶解。之后加入对甲苯磺酸 (807 mg, 4.25 mmol),并保持反应体系在 130℃条件下封管加热 16h。待反应结束后,冷却至室温,溶液中析出大量固体。布氏漏斗过滤得到滤饼,经过乙醇回流打浆后,得到目标化合物 4-5 (524 mg, 78%),直接用于下一步反应。纯度: 47 %。MS m/z(ESI):396.2 [M+H]⁺

步骤 5: N-(4-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺(化合物 4-6)

30 将反应底物 4-5(146 mg, 0.25 mmol)和碳酸钾(104 mg, 0.75 mmol)置于 25 mL 反应瓶中,加入 DMF(10 mL)使底物完全溶解。之后加入 4-二甲氨基哌啶 (42 mg, 0.325mmol)并保持反应体系在 100℃条件下加热反应 2h。TLC 检测反应进度,待反应完成后,反应液用 EA/水体系萃取三次,分离出有机层,经水洗,饱和食盐水洗涤,无水 Na₂SO₄干燥后,减压浓缩得到目标化合物 4-6(120 mg, 98 %)。MS m/z(ESI): 504.2 [M+H]⁺。

35 步骤 6: 4-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-6-甲氧基-N¹-(4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)苯-1,3-二胺(化合物 4-7)

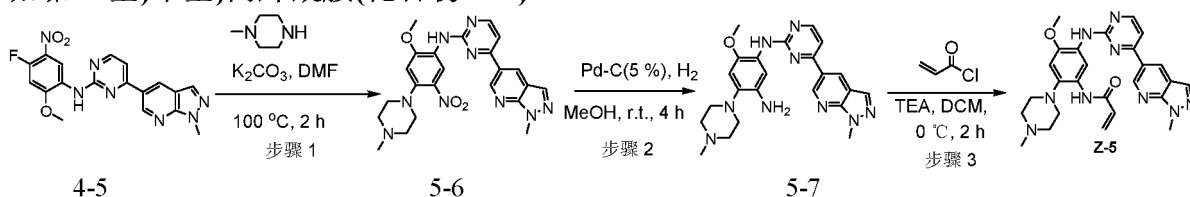
以化合物 4-6(120 mg, 0.24 mmol)为原料,参照实施例 1 中的步骤 6 进行合成,得到化合物 4-7(113 mg),直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):474.3 [M+H]⁺。

步骤 7: N-(2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基-5-(4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)

嘧啶-2-基氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-4)

以化合物 4-7(113 mg, 0.24 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 进行合成, 得到的粗产物经 Prep-TLC 柱层析 [DCM: MeOH:NH₄OH = 9:1:0.1]纯化后, 得到目标化合物 Z-4(6 mg, 5 %)。MS m/z(ESI):528.3 [M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.33 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.51-8.50 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 8.13 (s, 1H), 7.53-7.51 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 6.86(s, 1H), 6.74-6.67(m, 1H), 6.32-6.28 (d, J = 17.0 Hz, 2H), 5.79-5.67 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 4.24(s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.33 (s, 1H), 3.05-3.03 (d, J = 10.7 Hz, 2H), 2.70-2.64(t, J = 11.7 Hz, 3H), 2.22(s, 6H), 1.85-1.82(d, J = 11.3 Hz, 2H), 1.70-1.67(d, J = 12.1 Hz, 2H)。

实施例 5: N-(4-甲氧基-5-(4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基氨基)-2-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-5)



步骤 1: N-(2-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺(化合物 5-6)

将化合物 4-5(146 mg, 0.25 mmol)和碳酸钾(104 mg, 0.75 mmol)置于 25 mL 反应瓶中, 加入 DMF(10 mL)使底物完全溶解。之后加入 N-甲基哌嗪 (32 mg, 0.325 mmol)并保持反应体系在 100℃条件下加热反应 2h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 反应液用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄干燥后, 减压浓缩得到目标化合物 5-6, 直接用于下一步反应。纯度: 88 %。MS m/z(ESI):476.2 [M+H]⁺

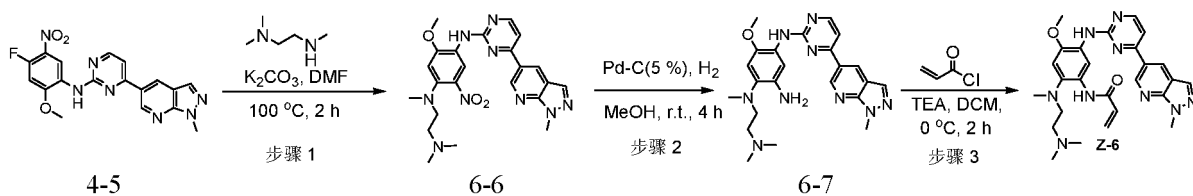
步骤 2: 6-甲氧基-N¹-(4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基-1,3-二胺(化合物 5-7)

以化合物 5-6(119 mg, 0.25 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 进行合成, 得到化合物 5-7, 直接用于下一步反应。纯度: 59 %。MS m/z(ESI):446.2 [M+H]⁺。

步骤 3: N-(4-甲氧基-5-(4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基氨基)-2-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-5)

以化合物 5-7 (111 mg, 0.25 mmol) 为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 进行合成, 得到的粗产物经 Prep-TLC 柱层析 [DCM: MeOH:NH₄OH = 9:1:0.1]纯化后得到目标化合物 Z-5(8 mg, 6 %)。纯度: 96.5 %。MS m/z(ESI):500.2 [M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.33 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.51-8.50 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.52-7.51 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 6.88(s, 1H), 6.68-6.61(m, 1H), 6.31-6.27 (d, J = 16.9 Hz, 2H), 5.78-5.76 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 4.24(s, 3H), 3.87 (s, 3H), 2.86 (s, 4H), 2.53-2.49 (d, J = 13.6 Hz, 4H), 2.25(s, 3H)。

实施例 6: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4-甲氧基-5-(4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-6)



4-5

6-6

6-7

步骤 1: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基-N⁴-(4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-2-硝基苯基-1,4-二胺(化合物 6-6)

将化合物 4-5(146 mg, 0.25 mmol)和碳酸钾(104 mg, 0.75 mmol)置于 25 mL 反应瓶中, 加入 DMF(10 mL)使底物完全溶解。之后加入 N,N'-三甲基乙二胺 (34 mg, 0.325 mmol)并保持反应体系在 100℃条件下加热反应 2h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 反应液用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄干燥后, 减压浓缩得到目标产物化合物 6-6, 直接用于下一步反应。纯度: 94 %。MS m/z(ESI):478.2 [M+H]⁺

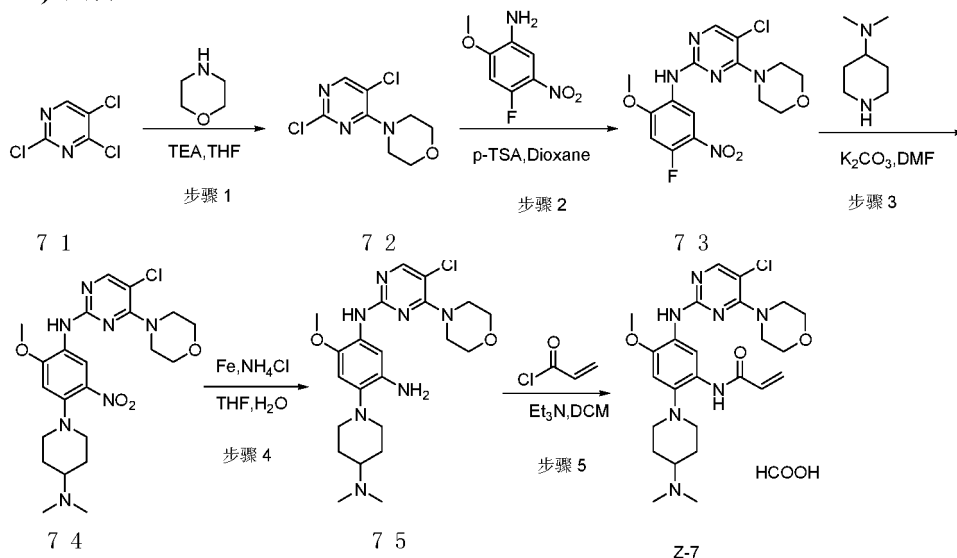
步骤 2: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基-N⁴-(4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)苯基-1,2,4-三胺(化合物 6-7)

以化合物 6-6(119 mg, 0.25 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 进行合成, 得到化合物 6-7, 直接用于下一步反应。纯度: 83 %。MS m/z(ESI):448.2 [M+H]⁺。

步骤 3: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-(4-(1-甲基-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-6)

以化合物 6-7(111 mg, 0.25 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 进行合成, 得到的粗产物经 Prep-HPLC 分离纯化后得到目标产品化合物 Z-6(1 mg, 1 %)。纯度: 96.5 %。MS m/z(ESI):502.2 [M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.13 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 9.12 (s, 1H), 8.52-8.51 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 8.50 (s, 2H), 8.20 (s, 1H), 8.14(s, 1H), 7.54-7.53(d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.50-6.44 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.34-6.29(d, J = 17.3 Hz, 1H), 5.80-5.78 (d, J = 10.6 Hz, 1H), 4.24 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 2.92-2.90(d, J = 5.4 Hz, 2H), 2.69(s, 3H), 2.39-2.36(t, J = 5.4 Hz, 2H), 2.25(s, 6H)。

实施例 7:N-(5-((5-氯-4-吗啉嘧啶-2-基)氨基)-2-(4-(二甲氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-7)甲酸盐



步骤 1: 4-(2,5-二氯嘧啶-4-基)吗啉(化合物 7-2)

在 25℃下,将化合物 2,4,5-三氯嘧啶(5 g, 27.0 mmol)加入到 25mLTHF 中,加入三乙胺(5.5 g, 54.0 mmol),将吗啉(2.37g, 27.0mmol)滴加至反应液中,室温下搅拌 1h。TLC 检测反应进度,待反应完成后,加入水和 EA,分离出有机层,有机层经饱和食盐水系,干燥,减压浓缩得到化合物 7-2(5.2 g),产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):234.0 [M+H]⁺

步骤 2: 5-氯-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-吗啉嘧啶-2-胺(化合物 7-3)

将化合物 7-2(1.0 g, 4.2 mmol), 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺(0.83 g, 4.4 mmol)和对甲苯磺酸(2.57 g, 15.0 mmol)加入到 10mL1,4-二氧六环溶液中。110℃下,在 N₂ 氛围中搅拌 8h。反应结束后,过滤,用 EA 洗滤饼,将滤饼于 50℃下烘干,得粗产品化合物 7-3(1.16 g),产物直接用于下一步。MS m/z(ESI): 284.1 [M+H]⁺

步骤 3: 5-氯-N-(4-(4-(二甲氨基)哌啶-1-基)-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-吗啉嘧啶-2-胺(化合物 7-4)

将化合物 7-3(0.1 g, 0.26 mmol), 4-二甲氨基哌啶(0.033 g, 0.26 mmol)和碳酸钾(0.072g, 0.52mmol)加入到 DMF 溶液中。100℃下,在 N₂ 氛围中搅拌 2h。反应结束后,加水稀释,用 EA/水体系萃取,水洗 3 次,干燥,有机层减压浓缩得粗产品化合物 7-4(0.21 g),产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):492.2[M+H]⁺;

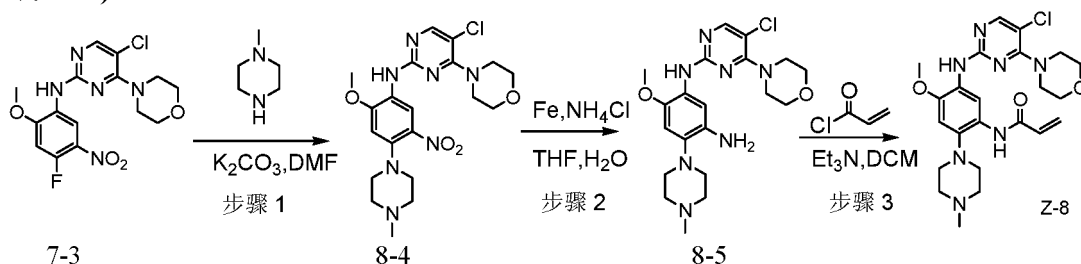
步骤 4: N-(5-氯-4-吗啉嘧啶-2-基)-4-(4-(二甲氨基)哌啶-1-基)-6-甲氧基苯-1,3-二胺(化合物 7-5)

将化合物 7-4(0.2 g, 0.41 mmol), 铁粉(0.51 g, 8.1 mmol)和氯化铵(0.11 g, 2.0 mmol)加入到 16mLTHF 和水的混合溶液中。65℃下,在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 3h。反应结束后,过滤,滤液经 EA 萃取,水洗,干燥,减压浓缩得化合物 7-5(0.19 g),产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):462.2[M+H]⁺

步骤 5: N-(5-((5-氯-4-吗啉嘧啶-2-基)氨基)-2-(4-(二甲氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-7)甲酸盐

在 0℃下,将丙烯酰氯(40 mg, 0.43 mmol)与三乙胺(50 mg, 0.49 mmol)加入到化合物 7-5(190 mg, 0.41 mmol)的 5mL 二氯甲烷溶液中,0℃下剧烈搅拌 2h。反应结束后,加水稀释,用二氯甲烷/水体系萃取三次,有机层减压浓缩得到粗产物。经制备液相分离纯化得化合物 Z-7 的甲酸盐(4.27 mg, 五步收率 3.1%)。MS m/z(ESI):562.2 [M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.98 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.65 (dd, J = 17.0, 10.1 Hz, 1H), 6.21 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 5.72 (d, J = 10.3 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.65 (d, J = 7.6 Hz, 8H), 3.02 (d, J = 11.0 Hz, 2H), 2.64 (t, J = 11.0 Hz, 2H), 2.27 (overlap, 7H), 1.84 (d, J = 10.7 Hz, 2H), 1.68 (d, J = 9.6 Hz, 2H)。

实施例 8: N-(5-((5-氯-4-吗啉嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-8)



步骤 1: 5-氯-N-(2-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)-5-硝基苯基)-4-吗啉嘧啶-2-胺(化合物 8-4)

将化合物 7-3(0.5 g, 1.3 mmol), N-甲基哌嗪(0.13 g, 1.3 mmol)和碳酸钾(0.36g, 2.6mmol)加入到 DMF 溶液中。100℃下, 在 N₂ 氛围中搅拌 2h。反应结束后, 加水稀释, 用 EA/水体系萃取, 水洗 3 次, 干燥, 有机层减压浓缩得粗产品化合物 8-4(0.6 g), 产物直接用于下一步。

5 MS m/z(ESI):464.1[M+H]⁺;

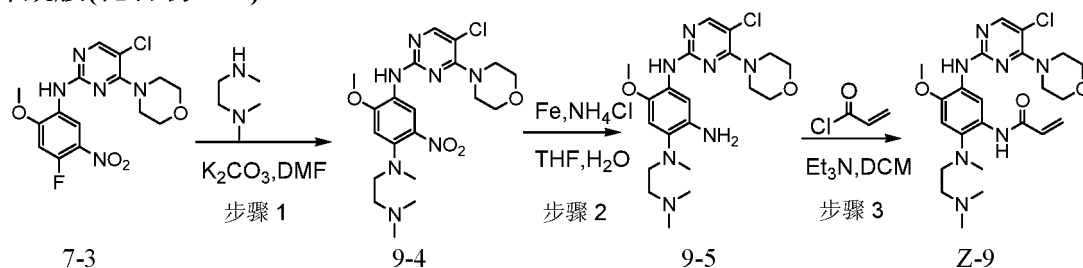
步骤 2: N-(5-氯-4-吗啉嘧啶-2-基)-6-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯-1,3-二胺(化合物 8-5)

以化合物 8-4(0.6 g, 1.3 mmol)为原料, 参照实施例 7 中步骤 4 进行合成, 得化合物 8-5(0.56 g), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):434.2[M+H]⁺

10 步骤 3: N-(5-((5-氯-4-吗啉嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-8)

以化合物 8-5(0.56 g, 1.3 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 进行合成, 得到的粗产物经制备液相分离纯化后得化合物 Z-8 (44.51 mg, 三步收率 7.0%)。MS m/z(ESI):488.2 [M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.26 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.29 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 6.18 (dd, J = 16.8, 10.0 Hz, 1H), 5.66 (dd, J = 10.0, 1.3 Hz, 1H), 3.78 (s, 15 3H), 3.76 (s, 8H), 2.82 (d, J = 4.2 Hz, 4H), 2.55 (d, J = 13.4 Hz, 4H), 2.32 (s, 3H)。

实施例 9: N-(5-((5-氯-4-吗啉嘧啶-2-基)氨基)-2-((2-(二甲氨基)乙基)甲氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-9)



20 步骤 1: N-(5-氯-4-吗啉嘧啶-2-基)-N-(2-(二甲氨基)乙基)-2-甲氧基-N-甲基-5-硝基苯-1,4-二胺(化合物 9-4)

将化合物 7-3(0.5 g, 1.3 mmol), N,N,N'-三甲基乙二胺(0.26 g, 2.6 mmol)和碳酸钾(0.36g, 2.6mmol)加入到 DMF 溶液中。100℃下, 在 N₂ 氛围中搅拌 2h。反应结束后, 加水稀释, 用 EA/水体系萃取, 水洗 3 次, 干燥, 有机层减压浓缩得粗产品化合物 9-4(0.6 g), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):466.1[M+H]⁺。

25 步骤 2: N-(5-氯-4-吗啉嘧啶-2-基)-N-(2-(二甲氨基)乙基)-5-甲氧基-N-甲基苯-1,2,4-三胺(化合物 9-5)

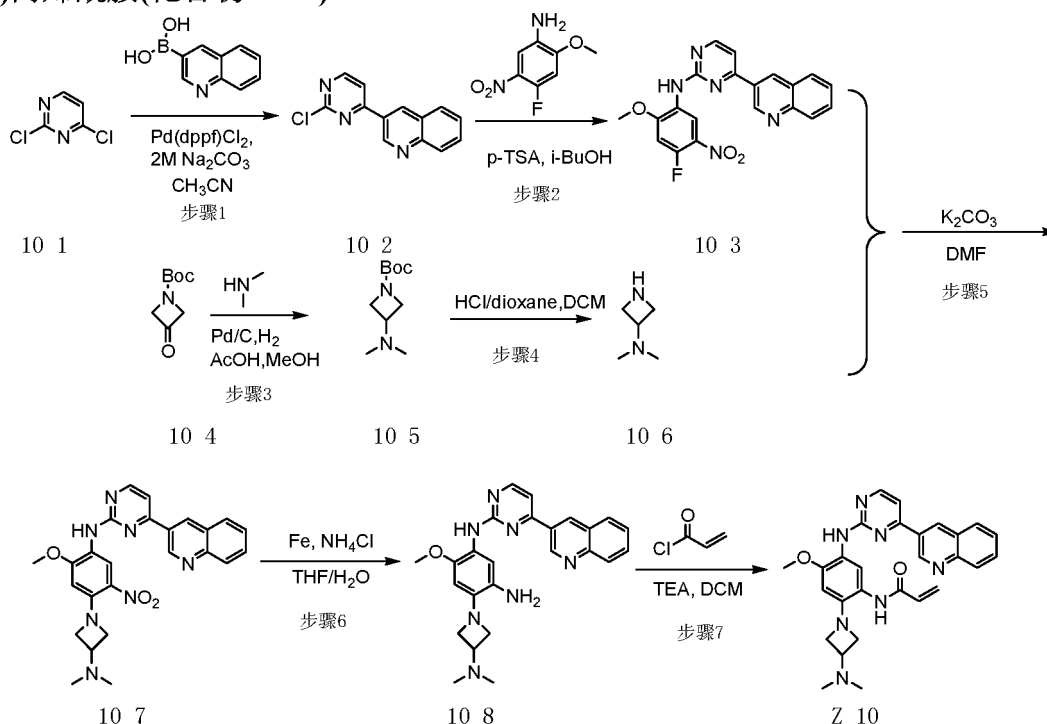
以化合物 9-4(0.6 g, 1.3 mmol)为原料, 参照实施例 7 中步骤 4 进行合成, 得化合物化合物 9-5(0.56 g), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):436.2[M+H]⁺。

30 步骤 3: N-(5-((5-氯-4-吗啉嘧啶-2-基)氨基)-2-((2-(二甲氨基)乙基)甲氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-9)

以化合物 9-5(0.50 g, 1.2 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 进行合成, 得到的粗产物经制备液相分离纯化后得化合物 Z-9 (77.19 mg, 三步收率 12.1%)。MS m/z(ESI):490.2 [M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.00 (s, 1H), 9.29 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.31 (dd, J = 16.9, 1.8 Hz, 1H), 6.21 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 5.59 (dd, J = 10.0, 1.8 Hz, 1H), 3.78 (d, J =

7.3 Hz, 9H), 2.79 (s, 2H), 2.62 (s, 3H), 2.18 (s, 6H), 1.53 (s, 4H)。

实施例 10: N-(2-(3-(二甲基氨基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-((4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-10)



步骤 1: 3-(2-氯嘧啶-4-基)喹啉(化合物 10-2)

将化合物 2,4-二氯嘧啶 (5.0 g, 34 mmol, 市购)和喹啉-3-硼酸 (5.8 g, 34 mmol, 市购)加入到乙腈(120 mL)和碳酸钠溶液(50 mL, 2M)中。反应体系用氮气置换空气三次后, 加入 Pd(dppf)Cl₂ (494 mg, 0.68 mmol), 之后再用氮气置换空气三次。将反应体系加热至 80℃, 并且持续搅拌 6h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加水稀释, 析出灰色固体, 布氏漏斗过滤, 滤饼经水洗后, 烘干至恒重, 得到化合物 10-2 (4.6 g, 57%), 直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):242.7 [M+H]⁺

步骤 2: N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-胺(化合物 10-3)

将 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺 (2.2 g, 12 mmol)和化合物 10-2 (2.9 g, 12 mmol)加入对甲苯磺酸(p-TSA) (2.1 g, 12 mmol) 40 ml 正丁醇溶液中, 130℃条件下封管加热 6h。待反应结束后, 冷却至室温, 溶液中析出大量固体。布氏漏斗过滤得到滤饼, 经过乙醇回流打浆后, 得到化合物 10-3 (4.3 g, 64%), 直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):392.0[M+H]⁺

步骤 3: 叔丁基 3-(二甲基氨基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(化合物 10-5)

将化合物 3-氧氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(2.0 g, 11.7 mmol, 市购)和二胺盐酸盐 (1.3 g, 17 mmol)加入 100 ml 乙酸(1 ml)的甲醇溶液中, 加入钯碳 (1.4 g), 氢气换气三次后在氢气环境下搅拌 5h, 反应结束后过滤掉剩余钯碳, 将滤液减压浓缩后得到化合物 10-5(2.2 g, 80%), 直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):200.1[M+H]⁺

步骤 4: 3-(二甲基氨基)氮杂环丁烷(化合物 10-6)盐酸盐

将盐酸的 1,4-二氧六环溶液 (10 ml) 加入到 15 ml 化合物 10-5(2.2 g, 11 mmol)中, 常温搅拌 3h。反应结束减压浓缩得到化合物 10-6 (1.3 g, 90%), 直接用于下一步反应。MS

m/z(ESI):100.1[M+H]⁺

步骤 5: N-(4-(3-(二甲基氨基)氮杂环丁烷-1-基)-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-胺(化合物 10-7)

将化合物 10-6(160 mg, 1.16 mmol)和碳酸钾 (350 mg, 2.3 mmol) 加入到化合物 10-3 (300 mg, 0.58 mmol) 的 4 ml DMF 溶液中, 100 度下搅拌 2h, TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加入 10mL 水, 用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 减压浓缩得到化合物化合物 10-7 (130 mg, 50%), 直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):472.2[M+H]⁺

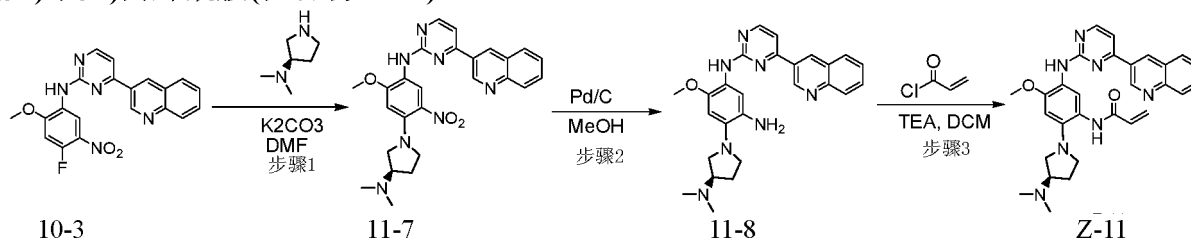
步骤 6: 4-(3-(二甲基氨基)氮杂环丁烷-1-基)-6-甲氧基-N¹-(4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)苯-1,3-二胺(化合物 10-8)

以化合物 10-7(130 mg, 0.27 mmol)为原料, 参照实施例 7 中步骤 4 进行合成, 得化合物化合物 10-8 (80 mg, 70%), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):441.2 [M+H]⁺。

步骤 7: N-(2-(3-(二甲基氨基)氮杂环丁烷-1-基)-4-甲氧基-5-((4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-10)

以化合物 10-8(80 mg, 0.17 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 进行合成, 得到的粗产物经制备液相分离纯化后得化合物 Z-10 (30.69 mg, 30%)。MS m/z(ESI):496.2 [M+H]⁺, ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.40 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 9.32 (s, 1H), 9.16 (s, 1H), 8.45 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.06 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.68 (dd, J = 18.2, 10.0 Hz, 2H), 7.54 - 7.43 (m, 2H), 7.22 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 6.49 - 6.37 (m, 2H), 6.33 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 5.73 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.92 - 3.78 (m, 5H), 3.58 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.07 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 2.13 (d, J = 17.8 Hz, 6H)。

实施例 11: (R)-N-(2-(3-(二甲基氨基)吡咯烷-1-基)-4-甲氧基-5-((4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-11)



步骤 1: (R)-N-(4-(3-(二甲基氨基)吡咯烷-1-基)-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-胺(化合物 11-7)

将(R)-N, N-二甲基吡咯烷-3-胺(80 mg, 0.70 mmol, 市购)和碳酸钾(193 mg, 1.40 mmol)加入到化合物化合物 10-3(200 mg, 0.47 mmol)的 4mL 的 DMF 中, 100℃下剧烈搅拌 2h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加入 10mL 水, 用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 减压浓缩得到化合物化合物 11-7(180 mg, 79%)MS m/z(ESI):486.2 [M+H]⁺。

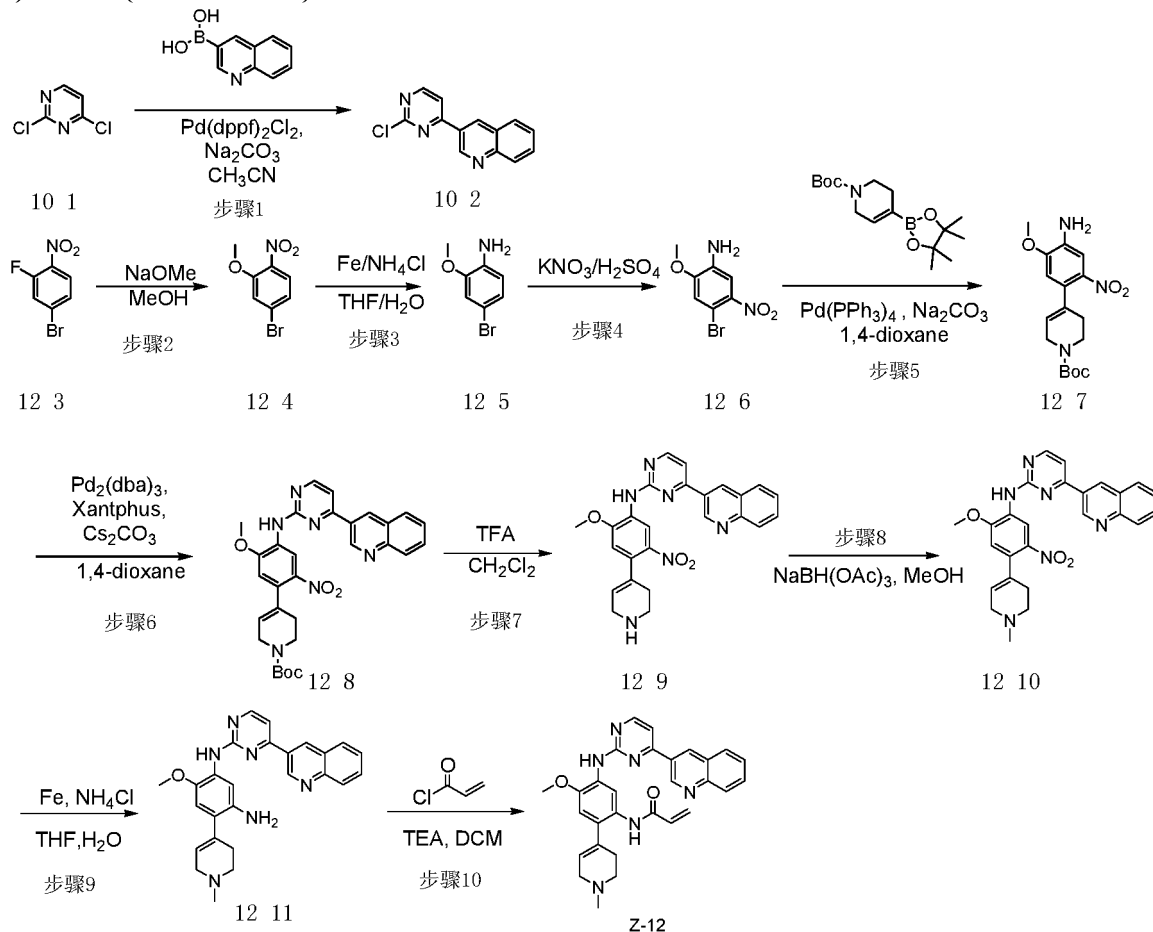
步骤 2: (R)-4-(3-(二甲基氨基)吡咯烷-1-基)-6-甲氧基-N¹-(4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)苯-1,3-二胺(化合物 11-8)

以化合物 11-7(180 mg, 0.37 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 进行合成, 得化合物化合物 11-8(150mg, 89%), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):456.2 [M+H]⁺。

步骤 3: (R)-N-(2-(3-(二甲基氨基)吡咯烷-1-基)-4-甲氧基-5-((4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-11)

以化合物 11-8(150 mg, 0.3 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 进行合成, 得到的粗产物经制备液相分离纯化后得化合物 Z-11(23.58 mg, 9.87%)。MS m/z (ESI):509.9 $[M+H]^+$;
 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9.67(1s, 1H), 9.40(1s, 1H), 8.59(d, $J=4\text{Hz}$, 1H), 8.39(s, 1H),
 8.31(s, 1H), 8.07(d, $J=8\text{Hz}$, 1H), 7.70(m, 2H), 7.50(m, 1H), 7.27(m, 1H), 6.74(s, 1H), 6.35(m, 2H),
 5.73(d, $J=8\text{Hz}$, 1H), 3.83(s, 3H), 3.05(m, 4H), 1.16(m, 1H), 2.24(s, 6H), 2.05(m, 2H)。

实施例 12: N-(4-甲氧基-2-(1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-5-((4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)胺基)苯基)丙酰胺(化合物 Z-12)



步骤 1: 3-(2-氯嘧啶-4-基)喹啉(化合物 10-2, 按照实施例 10 的步骤 1)

步骤 2: 4-溴-2-甲氧基-1-硝基苯 (化合物 12-4)

在室温条件下, 将化合物 12-3(10.0 g, 46 mmol, 市购)溶解于 150mL 无水甲醇中, 加入甲醇钠(4.37 g, 81mmol), 加热至回流并剧烈搅拌 8h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加水稀释, 用 EA/水体系萃取, 水洗 3 次, 干燥, 有机层减压浓缩得粗产品化合物 12-4(9.5 g),
 产物直接用于下一步。MS m/z (ESI):231.0 $[M+H]^+$

步骤 3: 4-溴-2-甲氧基苯胺(化合物 12-5)

在室温条件下, 将还原铁粉(4.48 g, 80 mmol)和氯化铵(2.65 g, 50 mmol)加入到化合物 12-4 (2.3 g, 10.0 mmol)的 60mLTHF/水(THF 与水的体积比为 2:1)混合溶液中。65℃下, 剧烈搅拌 4h。反应结束后, 过滤, 滤液加水稀释, 用 EA/水体系萃取, 水洗 3 次, 干燥, 有机层减压浓缩得粗产品化合物 12-5(2.0 g), 产物直接用于下一步。MS m/z (ESI):201.9 $[M+H]^+$

步骤 4: 4-溴-2-甲氧基-5-硝基苯胺(化合物 12-6)

在-20℃条件下,将硝酸钾(217 mg, 2.25 mmol)加入到化合物 12-5(400 mg, 2.0 mmol)的 3.5 mL 浓硫酸溶液中。 -20℃下,剧烈搅拌 5min。反应结束后,加水稀释,用 EA/水体系萃取,水洗 3 次,干燥,有机层减压浓缩得粗产品化合物 12-6(300 mg),产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):246.9[M+H]⁺。

步骤 5: 4-(4-氨基-5-甲氧基-2-硝基苯基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁酯(化合物 12-7)

将化合物 12-6(100 mg, 0.40 mmol), Pd(PPh₃)₄(24 mg, 0.02 mmol)和 0.5mL 的 2.0 mol/L 的碳酸钠溶液加入到化合物 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(125 mg, 0.40 mmol), 的 5mL 1,4-二氧六环溶液中。 100℃下,在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 4h。反应结束后,过滤,滤液减压浓缩后得粗产品,经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0 - 0: 100]纯化后得化合物 12-7(50 mg, 35%)。MS m/z(ESI):350.1 [M+H]⁺

步骤 6: 4-(5-甲氧基-2-硝基-4-((4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(化合物 12-8)

将化合物 12-7 (500 mg, 1.43 mmol), Pd₂(dba)₃(131 mg, 0.143 mmol), Xantphos(165 mg, 0.286 mmol)和碳酸铯(925 mg, 2.86 mmol)加入到化合物 10-2(345 mg, 1.43 mmol)的 30mL 1,4-二氧六环溶液中。 100℃下,在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 5h。反应结束后,过滤,滤液减压浓缩后得粗产品,经 Combi-flash 柱层析[DCM: MeOH = 100: 0 - 0: 100]纯化后得化合物 12-8 (600 mg, 76%)。MS m/z(ESI):545.0[M+H]⁺

步骤 7: N-(2-甲氧基-5-硝基-4-(1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)苯基)-4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-胺(化合物 12-9)

在室温下,向化合物化合物 12-8(150 mg, 0.27 mmol)的二氯甲烷(10 ml)溶液滴加 1 ml 三氟乙酸,滴加完毕后室温下搅拌 3h。反应液用饱和碳酸氢钠水溶液中和,分离有机相,水相用二氯甲烷萃取(2*10 ml),合并有机相,用饱和食盐水(10 ml)洗涤,无水 Na₂SO₄ 干燥,过滤,减压浓缩得化合物化合物 12-9(115 mg, 93%),产物直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):455.2[M+H]⁺。

步骤 8: N-(2-甲氧基-4-(1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-5-硝基苯)-4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-胺(化合物 12-10)

在室温下,向化合物化合物 12-9(115 mg, 0.25 mmol)的甲醇 (5ml) 溶液中加入多聚甲醛 (45 mg, 0.5 mmol)和醋酸硼氢化钠 (106 mg, 0.5 mmol), 室温下继续搅拌 3h 后,加入 20mL 二氯甲烷,有机相依次用水洗 (10ml), 饱和食盐水洗(10 ml), 无水 Na₂SO₄ 干燥,过滤,减压浓缩得化合物化合物 12-10 (95 mg, 81%),产物直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):469.2[M+H]⁺。

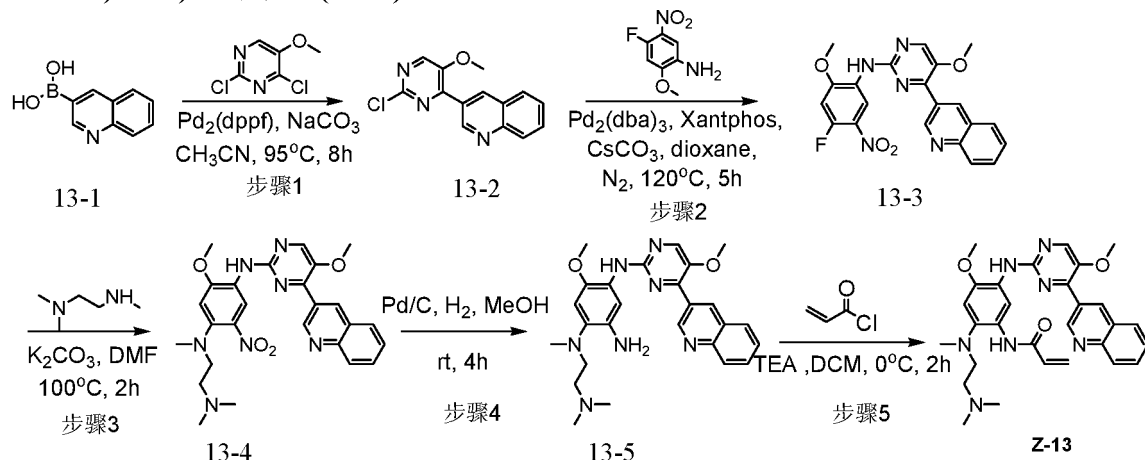
步骤 9: 6-甲氧基-4-(1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-N¹-(4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)苯-1,3-二胺(化合物 12-11)

以化合物 12-10(95 mg, 0.2 mmol)为原料,参照实施例 7 中步骤 4 进行合成,得化合物化合物 12-11(74 mg, 84%),产物直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):439.2[M+H]⁺。

步骤 10: N-(4-甲氧基-2-(1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-5-((4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)胺基)苯基)丙酰胺(化合物 Z-12)

以化合物 12-11(74 mg, 0.17 mmol)为原料,参照实施例 1 中步骤 7 合成,得到的粗产物经制备液相分离后得化合物 Z-12 (14 mg, 17%)。MS m/z(ESI):493.2[M+H]⁺。

实施例 13: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-(5-甲氧基-4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙烯酰胺(Z-13)



步骤 1: 3-(2-氯-5-甲氧基嘧啶-4-基)喹啉(化合物 13-2)

将喹啉-3-硼酸(2.93 g, 16.9 mmol), PdCl₂(dppf)(250 mg, 0.34 mmol)和 50mL 的 2.0 mol/L 的碳酸钠溶液加入到化合物 13-1(3 g, 16.9 mmol, 市购)的 80mL 乙腈溶液中。95°C下, 在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 8h。反应结束后, 倒入大量的冷水中, 至固体完全析出。过滤, 用水充分洗涤, 干燥后得化合物化合物 13-2(4 g, 100%)。MS m/z(ESI):272.7[M+H]⁺。

步骤 2: N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-5-甲氧基-4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-胺(化合物 13-3)

将化合物 4-硝基-2-甲氧基-5-硝基苯胺(343 mg, 1.85 mmol), Pd₂(dba)₃(169 mg, 0.18 mmol), Xantphos(214 mg, 0.37 mmol)和碳酸铯(1.2 g, 3.69 mmol)加入到化合物化合物 13-2(500 mg, 1.85 mmol)的 9mL1,4-二氧六环溶液中。120°C下, 在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 5h。反应结束后, 过滤, 滤液减压浓缩后得粗产品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0 - 0: 100]纯化后得化合物化合物 13-3(180 mg, 65%)。MS m/z(ESI):422.1[M+H]⁺。

步骤 3: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N⁴-(5-甲氧基-4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)-N-甲基-2-硝基苯-1, 4-二胺(化合物 13-4)

将 N,N,N'-三甲基乙二胺(65 mg, 0.64 mmol)和碳酸钾(193 mg, 1.29 mmol)加入到化合物化合物 13-3(180 mg, 0.43 mmol)的 3mL 的 DMF 中, 100°C下剧烈搅拌 2h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加入 10mL 水, 用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 减压浓缩得到化合物化合物 13-4(200 mg, 91%)。MS m/z(ESI):504.3[M+H]⁺。

步骤 4: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N⁴-(5-甲氧基-4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基)-N¹-甲基苯-1,2,4-三胺(化合物 13-5)

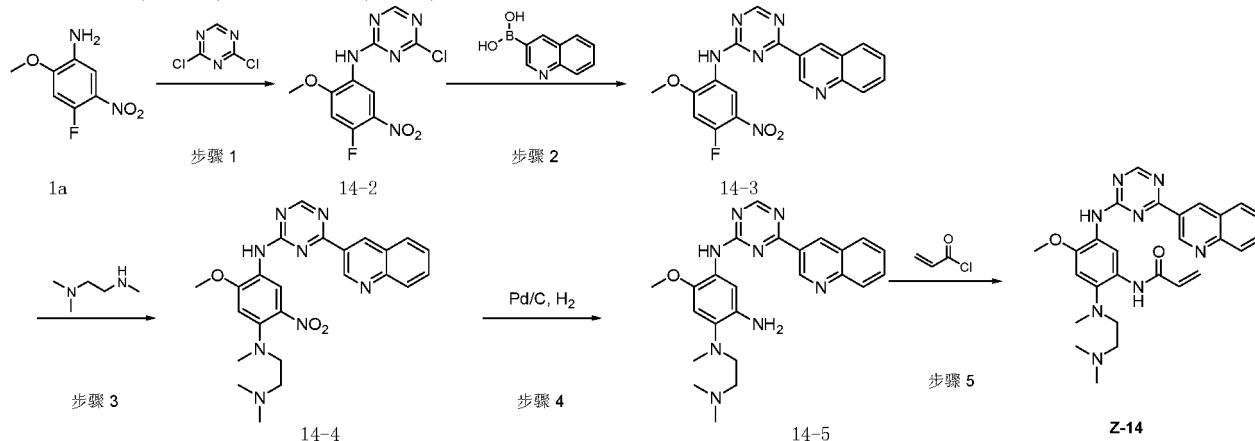
以化合物 13-4(200 mg, 0.40 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 合成, 得化合物化合物 13-5(100 mg, 92%), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):474.1 [M+H]⁺。

步骤 5: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-(5-甲氧基-4-(喹啉-3-基)嘧啶-2-基氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-13)

以化合物 13-5(100 mg, 0.21 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经制备液相分离纯化后得化合物 Z-13(4.55 mg, 4%)。MS m/z(ESI):527.8 [M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ9.57 (s, 1H), 9.21 (d, J = 16.7 Hz, 2H), 8.57 (s, 1H), 8.28 - 8.19 (m, 2H), 8.07 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.85 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.65 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.61 -

6.47 (m, 1H), 6.32 (d, J = 17.1 Hz, 1H), 5.80 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 2.94 (s, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.45 (s, 2H), 2.30 (s, 6H)。

5 实施例 14: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4-甲氧基-5-(4-(喹啉-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基氨基)苯基)丙烯酰胺(Z-14)



步骤 1: 4-氯-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺(化合物 14-2)

将化合物 1a (200 mg, 1.1 mmol, 市购) 置于 250 mL 反应瓶中, 加入 THF(10 mL)使底物溶解。在 80℃下, 向搅拌的反应瓶中加入 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺 (200 mg, 1.1 mmol)的 THF(30 mL)溶液, 保持温度滴加 50min。滴加完毕后继续反应 10min。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 减压浓缩得到粗品。经 Combi-Flash 柱层析纯化得到目标产品化合物 14-2 (110 mg, 34%)。MS m/z(ESI):300.0 [M+H]⁺。

步骤 2: N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(喹啉-3-基)-1,3,5-三嗪-2-胺(化合物 14-3)

将反应底物化合物 14-2 (1.2 g, 4 mmol), 3-喹啉硼酸 (5.8 g, 34 mmol), 碳酸钾 (1.11 g, 8 mmol)置于 250 mL 反应瓶中, 加入乙二醇二甲醚 (20 mL)和水 (5 mL)。反应体系用氮气置换空气三次后, 加入 Pd(dppf)Cl₂ (300 mg, 0.4 mmol), 之后再用氮气置换空气三次。将反应体系加热至 100℃, 并且持续搅拌 4h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 减压浓缩得到粗品。经 Combi-Flash 柱层析纯化得到目标产品化合物 14-3 (700 mg, 45%)。MS m/z(ESI):393.1 [M+H]⁺。

步骤 3: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N¹-甲基-2-硝基-N⁴-(4-(喹啉-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)苯-1,4-二胺(化合物 14-4)

将反应底物化合物 14-3 (400 mg, 1 mmol), N,N,N',N'-三甲基乙二胺 (156 mg, 1.5 mmol)和碳酸铯(670 mg, 2 mmol)置于 50 mL 反应瓶中, 加入二甲氨基甲酰胺(6 mL)。反应体系用氮气置换空气三次后, 将反应体系加热至 80℃, 并且持续搅拌 4h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加水稀释反应液, 过滤得粗品, 经 Combi-Flash 柱层析纯化得到目标产品化合物 14-4 (200 mg, 42%)。MS m/z(ESI):475.2 [M+H]⁺。

步骤 4: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N-甲基-N⁴-(4-(喹啉-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)苯-1,2,4-三胺(化合物 14-5)

以化合物 14-4 (190 mg, 0.4 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 合成, 得到化合物化合物 14-5 (180 mg), 直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):445.2 [M+H]⁺。

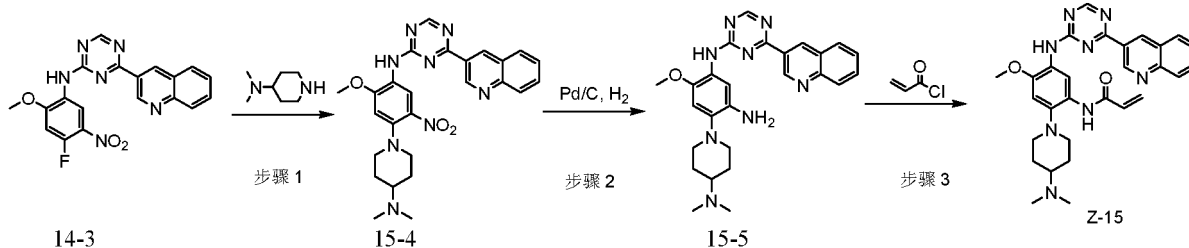
步骤 5: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4-甲氧基-5-(4-(喹啉-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基

氨基)苯基)丙烯酰胺 (化合物 Z-14)

以化合物 14-5 (180 mg, 0.41 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经 Prep-TLC 纯化后得到目标产品化合物 Z-14 (2.01 mg, 1%)。纯度: 94.99%。MS m/z(ESI):499.3 $[M+H]^+$ 。

5

实施例 15: N-(2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基-5-(4-(喹啉-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基氨基)苯基)丙烯酰胺(Z-15)



步骤 1: N-(4-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(喹啉-3-基)-1,3,5-三嗪-2-胺(化合物 15-4)

10 将化合物 14-3 (100 mg, 0.25 mmol), 4-二甲氨基哌啶 (66 mg, 0.51 mmol)和碳酸钾(140 mg, 1.02 mmol)置于 20 mL 反应瓶中, 加入二甲氨基甲酰胺(4 mL)。反应体系用氮气置换空气三次后, 将反应体系加热至 100℃, 并且持续搅拌 4h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 反应液用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥后, 减压浓缩得到粗产物。经 Combi-Flash 柱层析纯化得到目标产品化合物 15-4 (110 mg, 43%)。

15 MS m/z(ESI):501.2 $[M+H]^+$ 。

步骤 2: 4-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-6-甲氧基-N¹-(4-(喹啉-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基)苯-1,3-二胺(化合物 15-5)

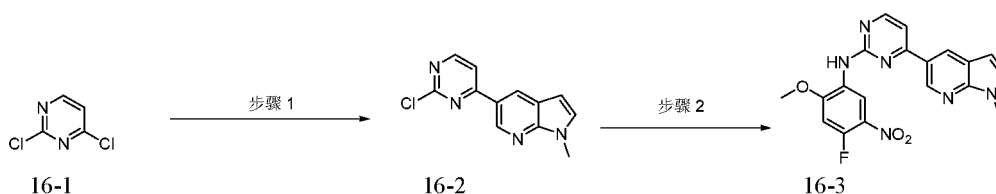
以化合物 15-4 (100 mg, 0.2 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 合成, 得到化合物化合物 15-5 (90 mg), 直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):471.3 $[M+H]^+$ 。

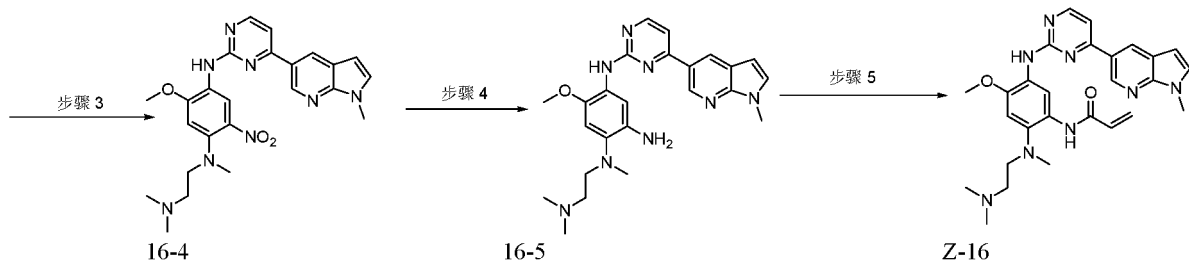
20 步骤 3: N-(2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基-5-(4-(喹啉-3-基)-1,3,5-三嗪-2-基氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-15)

以化合物 15-5 (90 mg, 0.2 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经 Prep-HPLC 柱层析纯化后得到目标产品化合物 Z-15 (2.09 mg, 2%, FA salt)。纯度: 100.0%。MS m/z(ESI):525.3 $[M+H]^+$ 。

25

实施例 16: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-4-甲氧基-5-((4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-16)





步骤 1: 5-(2-氯嘧啶-4-基)-1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(化合物 16-2)

将化合物 16-1(2.0 g, 13.5 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (1.04 g, 1.35 mmol)和 13.5mL 的 2.0 mol/L 的碳酸钠溶液加入到化合物 1-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(8.6 g, 13.5 mmol)的 50mL 乙腈溶液中。80℃下, 在 N_2 氛围中剧烈搅拌 4h。反应结束后, 加水稀释, 用 EA/水体系萃取, 水洗 3 次, 干燥, 有机层减压浓缩得粗产品。经 Combi-flash 柱层析 [PE:EA = 100:0 - 20:80] 纯化后得化合物 16-2(2.1 g, 36%)。MS $m/z(\text{ESI}):245.0[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺(化合物 16-3)

将 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺 (1.6 g, 8.6 mmol)和化合物 16-2 (2.1 g, 8.6 mmol)加入对甲苯磺酸 (3.7 g, 21.5 mmol) 20 ml 异丁醇溶液中, 130℃条件下封管加热 6h。待反应结束后, 冷却至室温, 溶液中析出大量固体。布氏漏斗过滤得到滤饼, 经过乙醇回流打浆后, 得到化合物 16-3(1.2 g, 44%), 直接用于下一步反应。MS $m/z(\text{ESI}):429.0[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 3: N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N-甲基-N⁴-(4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-2-硝基苯-1,4-二胺(化合物 16-4)

以化合物 16-3(370 mg, 0.62 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 5 合成, 得到化合物 16-4(300 mg, 90%)。MS $m/z(\text{ESI}):477.2[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

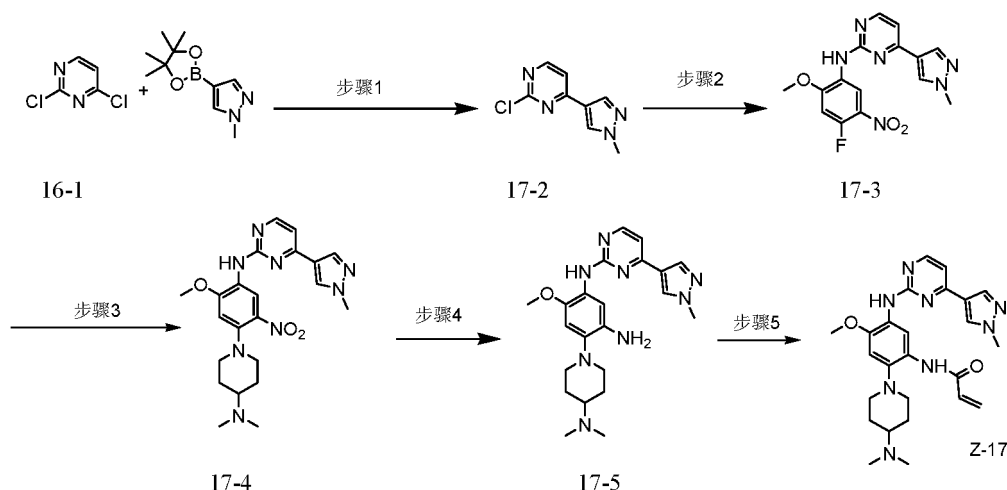
步骤 4: N^1 -(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N-甲基-N⁴-(4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)苯-1,2,4-三胺(化合物 16-5)

以化合物 16-4(300 mg, 0.6 mmol)为原料, 参照实施例 7 中步骤 4 合成, 得化合物 16-5(200 mg), 产物直接用于下一步。MS $m/z(\text{ESI}):447.2[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 5: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-16)

以化合物 16-5 (200 mg, 0.44 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经制备液相分离纯化后得化合物 Z-16(23 mg, 10%)。MS $m/z(\text{ESI}):501.3[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 10.04 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.90 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.41 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.15 (dd, $J = 6.9, 4.4$ Hz, 2H), 6.73 (s, 1H), 6.59 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.49 - 6.42 (m, 1H), 6.30 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 5.65 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 3.84 (d, $J = 13.7$ Hz, 6H), 2.86 - 2.77 (m, 2H), 2.64 (s, 3H), 2.22 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 2.19 (s, 6H)。

实施例 17: N-(2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基-5-((4-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(Z-17)



步骤 1: 2-氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶(化合物 17-2)

将化合物 16-1(745 mg, 5 mmol)和甲基-4-吡唑频哪醇硼酸酯 (1.092 g, 5.25 mmol, 市购)置于 100 mL 反应瓶中, 加入乙腈(30 mL)和碳酸钠溶液(5 mL, 2M)。反应体系用氮气置换空气三次后, 加入 Pd(dppf)Cl₂ (109.7 mg, 0.15 mmol), 之后再用氮气置换空气三次。将反应体系加热至 110℃, 并且持续搅拌 6h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加水稀释, 反应液用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥后, 减压浓缩得到粗产物 1.1g。经 Combi-Flash 柱层析[EA: PE = 1: 5 - 1:2] 纯化得到目标产品化合物 17-2(600 mg, 93%)。MS m/z(ESI):195.1 [M+H]⁺。

步骤 2: N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-胺(化合物 17-3)

将化合物 17-2(500 mg, 2.577 mmol)和 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺(479 g, 2.577 mmol)置于 50 mL 的封管反应瓶中, 加入正丁醇(12 mL)使底物部分溶解。之后加入对甲苯磺酸 (1.108 g, 6.44 mmol), 并保持反应体系在 130℃ 条件下封管加热 5h。待反应结束后, 冷却至室温, 溶液中析出大量固体。布氏漏斗过滤得到滤饼, 经过乙醇回流打浆后, 得到目标产物化合物 17-3 (600 mg, 67.8%), 直接用于下一步反应。

步骤 3: N-(4-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-胺(化合物 17-4)

将化合物 17-3 (70 mg, 0.203mmol)和碳酸钾(84 mg, 0.609mmol)置于 25 mL 反应瓶中, 加入 DMF(5 mL)使底物部分溶解。之后加入 N,N-二甲氨基哌啶 (31.2 mg, 0.244 mmol)并保持反应体系在 70℃ 条件下加热 2h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 反应液用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥后, 减压浓缩得到化合物 17-4(70 mg, 76%)。MS m/z(ESI):453.2 [M+H]⁺。

步骤 4: 4-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-6-甲氧基-N 1-(4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基)苯-1,3-二胺(化合物 17-5)

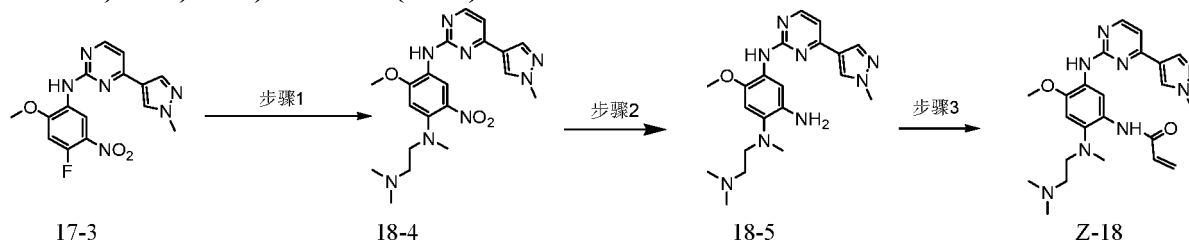
以化合物 17-4(70 mg, 0.155 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 合成, 得到粗产物化合物 17-5 (60 mg, 92%), 直接用于下一步反应。

步骤 5: N-(2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基-5-((4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-17)

以化合物 17-5 (50 mg, 0.118 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经制备板[DCM: MeOH = 10:1]纯化后得到目标产品化合物 Z-17(30 mg, 44%)。MS

m/z(ESI):477.2 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9.14(s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.36-8.35(d, $J=4.0$ Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.10-7.09(d, $J=4.0$ Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.76-6.69 (m, 1H), 6.33-6.29 (d, $J=16.0$ Hz, 1H), 5.80-5.77 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.03-3.00(m, 2H), 2.69-2.64(m, 2H), 2.27-2.15(m, 7H), 1.85-1.82(m, 2H), 1.73-1.68(m, 2H)。

实施例 18: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(Z-18)



步骤 1: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N-甲基-N 4-(4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基)-2-硝基苯-1, 4-二胺(化合物 18-4)

将化合物 17-3(130 mg, 0.378 mmol, 制备方法参照实施例 17 步骤 2)和碳酸钾(156 mg, 1.133 mmol)置于 50 mL 反应瓶中, 加入 DMF(5 mL)使底物部分溶解。之后加入 N,N,N'-三甲基乙二胺 (57.8 mg, 0.567 mmol)并保持反应体系在 70℃条件下加热 3h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 反应液用 EA/水体系萃取三次, 分离出有机层, 经水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥后, 减压浓缩得到粗产物化合物 18-4(110 mg, 68%)。MS m/z(ESI):427.2 $[M+H]^+$ 。

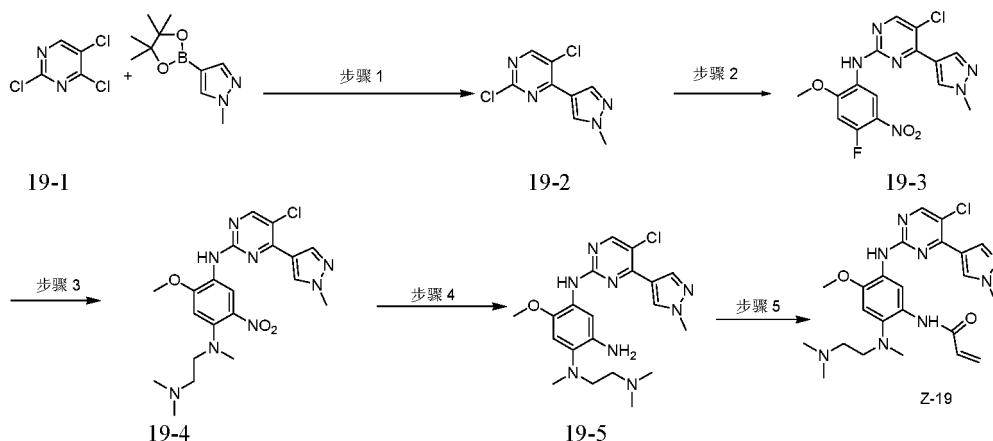
步骤 2: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N-甲基-N 4-(4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基)苯-1,2,4-三胺(化合物 18-5)

以化合物 18-4(110 mg, 0.258 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 合成, 得到粗产物化合物 18-5(110 mg, 100%), 直接用于下一步反应。

步骤 3: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-18)

以化合物 18-5 (110 mg, 0.278 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经制备板纯化, DCM: MeOH 体积比为 10:1, 纯化后得到目标产品化合物 Z-18 (10.0 mg, 8.2%)。MS m/z(ESI):451.1 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10.18 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.38-8.37 (d, $J=4.0$ Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.12-7.11 (d, $J=4.0$ Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.46-6.32 (m, 2H), 5.82-5.76 (m, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 2.97-2.93 (m, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.08-2.47 (m, 8H)。

实施例 19: N-(5-((5-氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧苯基)丙烯酰胺(Z-19)



步骤 1: 2,5-二氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶(化合物 19-2)

以 2,4,5 三氯嘧啶 (1.32 g, 7.21mmol)和甲基-4-吡唑频哪醇硼酸酯(1.5 g, 7.21 mmol)为原料, 参照实施例 17 中步骤 1 合成, 得到的粗产物经 Combi-Flash 柱层析(EA: PE = 1:5)纯化后得到 化合物 19-2(1.4 g, 84.8%)。MS m/z(ESI):229.3[M+H]⁺。

5 步骤 2: 5-氯-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-胺(化合物 19-3)

10 将化合物 19-2(1.1 g, 4.8 mmol), Pd₂(dba)₃(439 mg, 0.48 mmol), Xantphos(277 mg, 0.48 mmol)和碳酸铯(4.68 g, 14.4 mmol)加入到 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺(892 mg, 4.8 mmol)的 30mL1,4-二氧六环溶液中。100℃下, 在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 5h。反应结束后, 过滤, 滤液减压浓缩后得粗产品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0 - 0: 100]纯化后得到化合物化合物 19-3(600 mg, 33.1%)。MS m/z(ESI):379.3[M+H]⁺。

步骤 3: N¹-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基-N⁴-甲基-5-硝基苯-1,4-二胺(化合物 19-4)

15 以 化合物 19-3(600 mg,1.587mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 5 合成, 得到粗产物化合物 19-4(400 mg, 57.7%), 直接下一步。MS m/z(ESI):461.1[M+H]⁺。

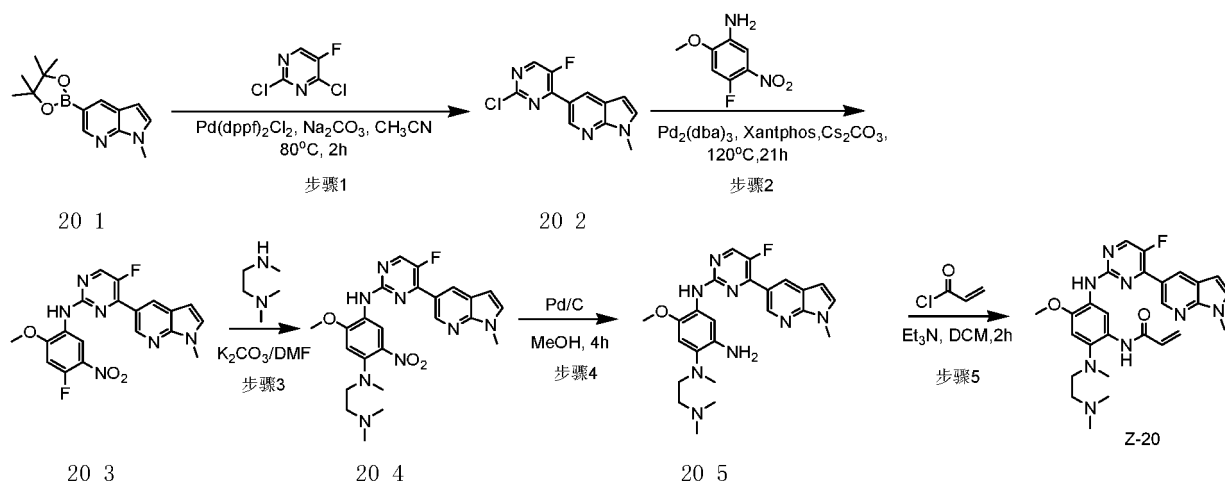
步骤 4: N⁴-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基)-N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N-甲基苯-1, 2,4-三胺(化合物 19-5)

以化合物 19-4(200 mg, 0.435 mmol)为原料, 参照实施例 2 中步骤 2 合成, 得到粗产物化合物 19-5 (200 mg), 直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):431.3[M+H]⁺。

20 步骤 5: N-(5-((5-氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-19)

25 以化合物 19-5 (200 mg, 0.465 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经 Prep-HPLC 柱层析纯化后得到目标产品化合物 Z-19(23 mg, 10%)。MS m/z(ESI):485.2 ¹HNMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.21 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.37(s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.29-6.47(m, 2H), 5.79-5.81 (m, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 2.89 (m, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.15-2.39(m, 8H)。

实施例 20: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((5-氟-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧苯基)丙烯酰胺(Z-20)



步骤 1: 5-(2-氯-5-氟嘧啶-4-基)-1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(化合物 20-2)

将 2,4-二氯-5-氟嘧啶(2.0 g, 7.8 mmol), PdCl₂(dppf)₂(0.57 g, 0.78 mmol)和碳酸钠(1.64 g, 15.6mmol)加入到化合物 1-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(2.0 g, 7.8 mmol, 市购)的 20mL 乙腈和 4mL 水的混合溶液中。80℃下, 在氮气氛围中剧烈搅拌 2h。反应结束后, 过滤, 滤液减压浓缩后得粗产品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0 - 60: 40]纯化后得化合物化合物 20-2(1.12 g, 55%)。MS m/z(ESI):263.1[M+H]⁺。

步骤 2: 5-氟-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺(化合物 20-3)

以化合物 20-2(1.5 g, 5.46 mmol)为原料, 参照实施例 19 中步骤 2 合成, 不同的是, 120℃下, 在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 21h, 得到的粗产品经 Combi-flash 柱层析(PE: EA = 50 : 50)纯化后得化合物化合物 20-3(0.8 g, 45%)。MS m/z(ESI):413.1[M+H]⁺。

步骤 3: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(5-氟-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-5-甲氧基-N-甲基-2-硝基苯-1,4-二胺(化合物 20-4)

以化合物 20-3(300 mg, 1.18 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 5 合成, 得到化合物化合物 20-4(330 mg, 92%), 产物直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):495.2[M+H]⁺。

步骤 4: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-N⁴-(5-氟-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-5-甲氧基-N-1-甲基苯-1,2,4-三胺(化合物 20-5)

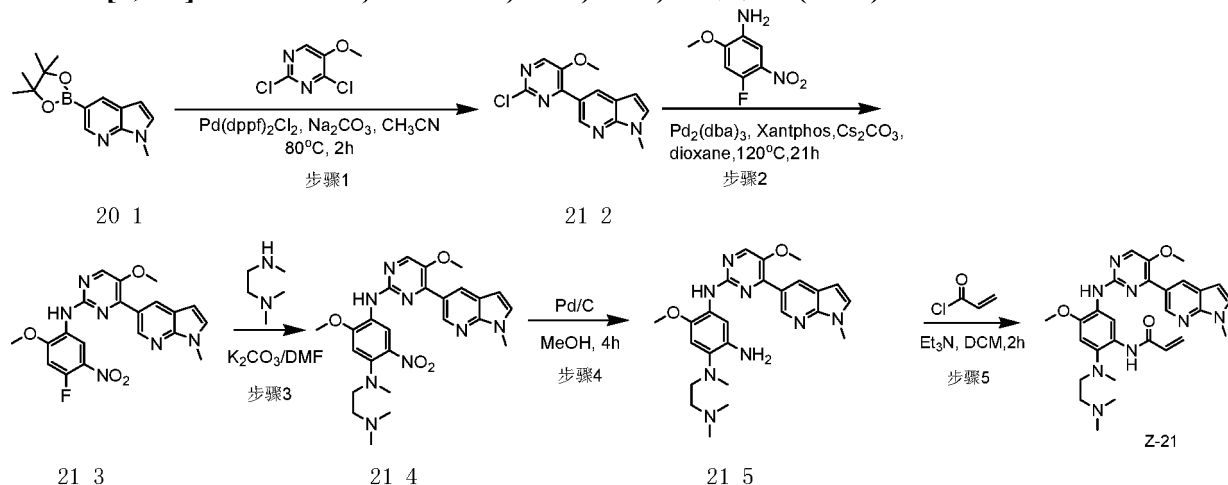
以化合物 20-4(330 mg, 0.67 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 合成, 得化合物 20-5(317 mg, 100%), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):465.2[M+H]⁺。

步骤 5: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-5-((5-氟-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)氨基)-4-甲氧基)苯基)丙酰胺(化合物 Z-20)

以 化合物 20-5(317 mg, 0.68 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经制备板层析[DCM : MeOH : NH₄OH = 90 : 10 : 1] 分离纯化后得化合物 Z-20 (11.9 mg, 3.4%)。MS m/z(ESI):519.2[M+H]⁺; ¹HNMR (400MHz, CDCl₃) = 9.92 (br. s., 1 H), 9.64 (s, 1 H), 9.07 (d, J = 9.2 Hz, 2 H), 8.31 (d, J = 2.8 Hz, 1 H), 7.66 (s, 1 H), 7.14 (d, J = 1.6 Hz, 1 H), 6.70 (s, 1 H), 6.59 (d, J = 1.6 Hz, 1 H), 6.42 (br. s., 2 H), 5.66-5.63 (m, 1 H), 3.86 (s, 3 H), 3.81 (s, 3 H), 2.87 (br. s., 2 H), 2.63 (s, 3 H), 2.25 (br. s., 8 H)。

实施例 21: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((5-甲氧基-4-(1-甲基-1H-

吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(Z-21)



步骤 1: 5-(2-氯-5-甲氧基嘧啶-4-基)-1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(化合物 21-2)

将 2,4-二氯-5-甲氧基嘧啶(1.25 g, 7.0 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ (0.5 g, 0.7 mmol)和碳酸钠(1.5 g, 14.0mmol)加入到化合物 1-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(1.8 g, 7.0 mmol, 市购)的 20mL 乙腈和 4mL 水的混合溶液中。80℃下, 在 N_2 氛围中剧烈搅拌 2h。反应结束后, 过滤, 滤液减压浓缩后得粗产品, 经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0 - 60: 40]纯化后得化合物化合物 21-2(1.54 g, 80%)。MS m/z (ESI):275.1[M+H]⁺。

步骤 2: N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-5-甲氧基-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-胺(化合物 21-3)

以化合物 21-2(1.5 g, 5.46 mmol)为原料, 参照实施例 19 中步骤 2 合成, 不同的是, 120℃下, 在 N_2 氛围中剧烈搅拌 21h, 得粗产品经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 50 : 50]纯化后得化合物化合物 21-3(1.2 g, 52%)。MS m/z (ESI):425.2[M+H]⁺。

步骤 3: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N⁴-(5-甲氧基-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-N¹-甲基-2-硝基苯-1,4-二胺(化合物 21-4)

以化合物 21-3(500 mg, 1.18 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 5 合成, 得到化合物化合物 21-4(620 mg, 100%), 产物直接用于下一步反应。MS m/z (ESI):507.3[M+H]⁺。

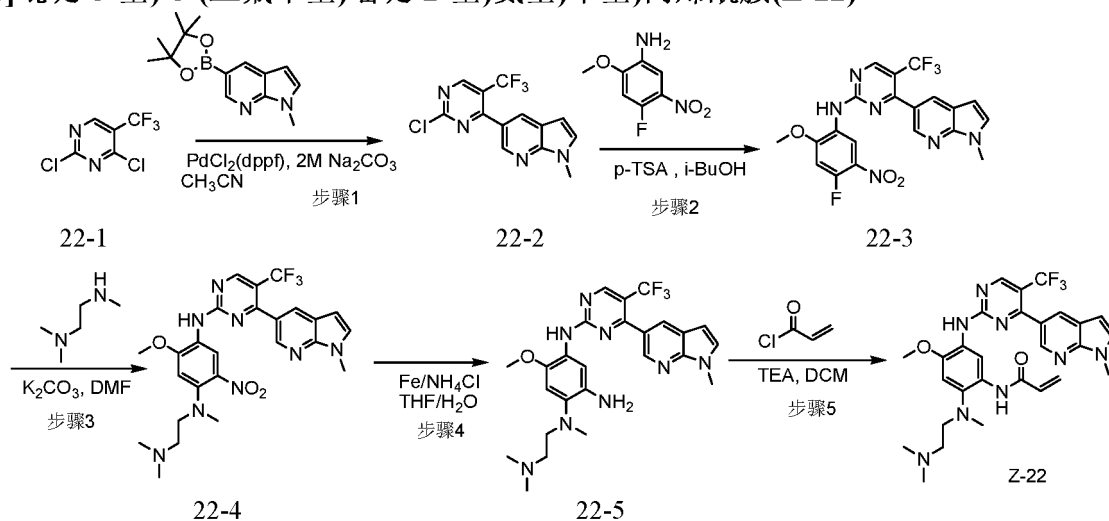
步骤 4: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N⁴-(5-甲氧基-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)-N¹-甲基苯-1,2,4-三胺(化合物 21-5)

以化合物化合物 21-4(500 mg, 0.99 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 6 合成, 得化合物化合物 21-5(332 mg, 70.3%), 产物直接用于下一步。MS m/z (ESI):477.2[M+H]⁺。

步骤 5: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((5-甲氧基-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-21)

以化合物 21-5(332 mg, 0.7 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经制备板层析[DCM : MeOH : HN4OH = 90 : 10 : 1] 分离纯化后得化合物 Z-21 (59 mg, 15.6%)。MS m/z (ESI):531.2[M+H]⁺; ¹HNMR (400MHz, CDCl_3): 9.83 (br. s., 1 H), 9.63 (s, 1 H), 9.13 (d, J = 1.6 Hz, 1 H), 8.93 (s, 1 H), 8.23 (s, 1 H), 7.52 (s, 1 H), 7.11 (d, J = 3.6 Hz, 1 H), 6.67 (s, 1 H), 6.53 (d, J = 3.2 Hz, 1 H), 6.48-6.34 (m, 2 H), 5.63 (d, J = 11.6 Hz, 1 H), 3.84 (s, 3 H), 3.81 (s, 3 H), 3.80 (s, 3 H), 2.87 (br. s., 2 H), 2.61 (s, 3 H), 2.37 (br. s., 2 H), 2.28 (br. s., 6 H)。

实施例 22: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(Z-22)



步骤 1: 5-(2-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)-1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(化合物 22-2)

将 2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(1.0 g, 6.5 mmol), PdCl₂(dppf)(0.5 g, 0.65 mmol)和 6.5mL 的 2.0 mol/L 的碳酸钠溶液加入到化合物 1-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶(4.3 g, 6.5 mmol)的 25mL 乙腈溶液中。80℃下, 在 N₂ 氛围中剧烈搅拌 4h。反应结束后, 加水稀释, 用 EA/水体系萃取, 水洗 3 次, 干燥, 有机层减压浓缩得粗产品。经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100: 0 - 20: 80]纯化后得化合物化合物 22-2(0.6 g, 36%)。MS m/z(ESI):313.0[M+H]⁺。

步骤 2: N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-胺(化合物 22-3)

将 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺 (760 mg, 4.1 mmol)和化合物 22-2(1.0 g, 4.1 mmol)加入对甲苯磺酸(p-TSA) (1.7 g, 10.5 mmol) 20 ml 异丁醇溶液中, 130℃条件下封管加热 6h。待反应结束后, 冷却至室温, 溶液中析出大量固体。布氏漏斗过滤得到滤饼, 经过乙醇回流打浆后, 得到化合物 22-3。(740 mg, 44%), 直接用于下一步反应。MS m/z(ESI):463.1[M+H]⁺。

步骤 3: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N-甲基-N 4-(4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)-5-(三氟基)嘧啶-2-基)-2-硝基苯-1,4-二胺(化合物 22-4)

以 化合物 22-3 (370 mg, 0.62 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 5 合成, 得到化合物化合物 22-4(300 mg, 90%)MS m/z(ESI):544.2[M+H]⁺。

步骤 4: N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N-甲基-N 4-(4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)-5-(三氟基)嘧啶-2-基)苯-1,2,4-三胺(化合物 22-5)

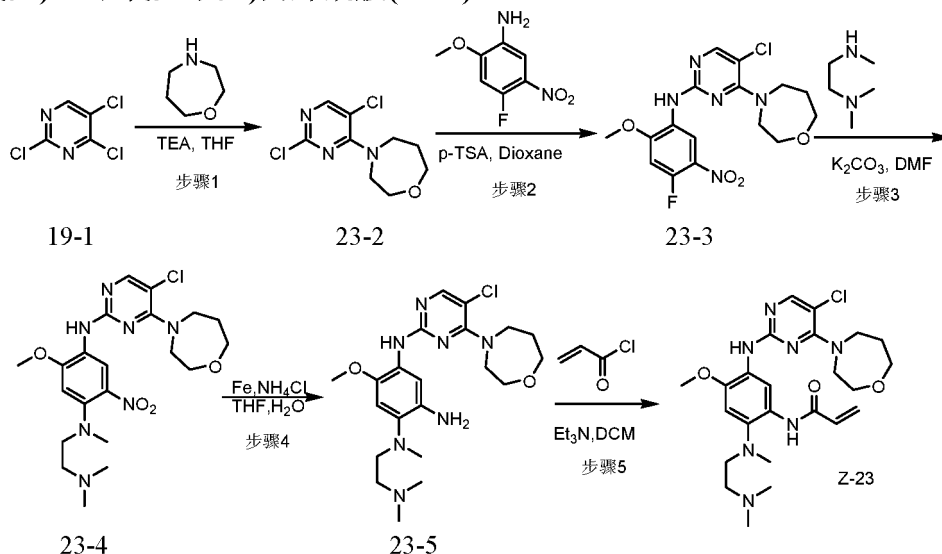
以 化合物 22-4(300 mg, 0.6 mmol)为原料, 参照实施例 7 中步骤 4 合成, 得化合物 化合物 22-5(200 mg), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI):514.2[M+H]⁺。

步骤 5: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧基-5-((4-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-22)

以 化合物 22-5 (200 mg, 0.44 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经制备液相分离纯化后得化合物 Z-22(44.9 mg, 20%)。MS m/z(ESI):568.8 [M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.03 (s, 1H), 9.60 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.16 (s, 2H), 6.72 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.42 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 6.24 (dd, J = 17.0, 10.1 Hz, 1H), 5.64 (d, J =

10.2 Hz, 1H), 3.83 (d, $J = 24.8$ Hz, 6H), 2.79 (s, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.20 (d, $J = 12.4$ Hz, 8H)。

实施例 23: N-(5-((5-氯-4-(1,4-氧氮杂环庚-4-基)嘧啶-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(Z-23)



步骤 1: 4-(2,5-二氯嘧啶-4-基)-1,4-氧氮杂庚环(化合物 23-2)

在 0℃下, 将化合物 2,4,5-三氯嘧啶(0.3 g, 1.65 mmol)加入到 10mLTHF 中, 加入三乙胺(0.49 g, 4.9 mmol), 将高吗啉(0.22 g, 1.65 mmol, 市购)加至反应液中, 室温下搅拌 1h。TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加入水和 EA, 分离出有机层, 有机层经饱和食盐水系, 干燥, 减压浓缩得到化合物化合物 23-2(0.5 g), 产物直接用于下一步。MS m/z (ESI):248.0 $[M+H]^+$ 。

步骤 2: 5-氯-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)-4-(1,4-氧氮杂环庚-4-基)嘧啶-2-胺(化合物 23-3)

将化合物 23-2(0.5 g, 2.0 mmol), 4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯胺(0.37 g, 2.0 mmol)和对甲苯磺酸(0.87 g, 5.0 mmol)加入到 10mL1,4-二氧六环溶液中。110℃下, 在 N_2 保护下搅拌 8h。反应结束后, 过滤, 用 EA 洗滤饼, 将滤饼于 50℃下烘干, 得粗产品化合物化合物 23-3(0.45 g), 产物直接用于下一步。MS m/z (ESI):398.1 $[M+H]^+$ 。

步骤 3: N¹-(5-氯-4-(1,4-氧氮杂环庚-4-基)嘧啶-2-基)-N⁴-(2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基-N⁴-甲基-5-硝基苯-1,4-二胺(化合物 23-4)

以化合物 23-3(0.45 g, 1.1 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 5 合成, 得粗产品化合物 23-4(0.4 g), 产物直接用于下一步。MS m/z (ESI):480.2 $[M+H]^+$ 。

步骤 4: N⁴-(5-氯-4-(1,4-氧氮杂环庚-4-基)嘧啶-2-基)-N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)-5-甲氧基-N-甲基苯-1, 2, 4-三胺(化合物 23-5)

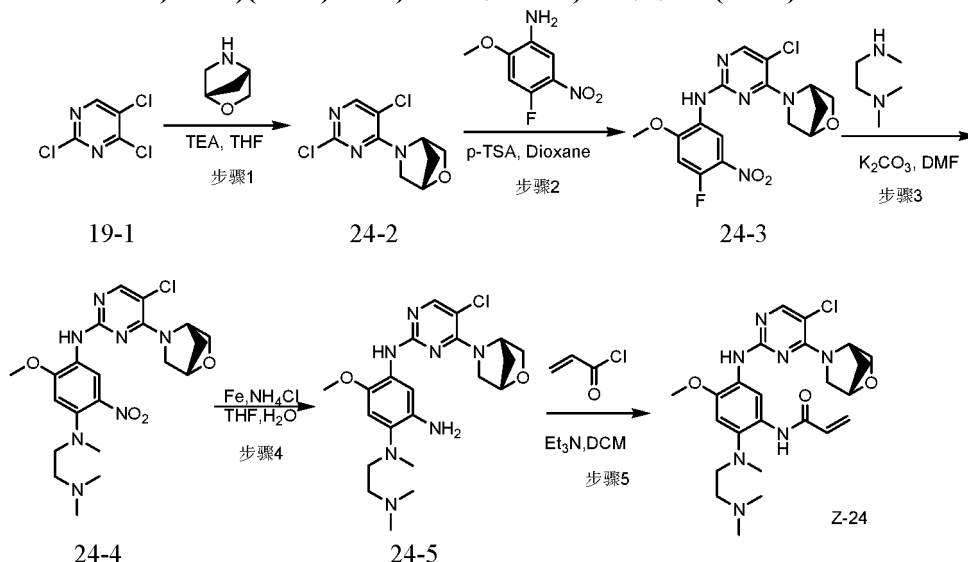
以化合物 23-4(0.4 g, 0.83 mmol)为原料, 参照实施例 7 中步骤 4 合成, 得化合物化合物 23-5(0.25 g), 产物直接用于下一步。MS m/z (ESI):450.2 $[M+H]^+$ 。

步骤 5: N-(5-((5-氯-4-(1,4-氧氮杂环庚-4-基)嘧啶-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 Z-23)

以化合物 23-5(0.25 g, 0.55 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经制备液相分离纯化后得化合物 Z-23 (69.8 mg, 8.4%)。MS m/z (ESI):504.2 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.99 (s, 1H), 9.18 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.30 (dd, $J = 17.0$,

1.9 Hz, 1H), 6.20 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 5.58 (dd, J = 10.0, 1.9 Hz, 1H), 4.03-3.98 (m, 2H), 3.96 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.83-3.79 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.72-3.66 (m, 2H), 2.84-2.75 (m, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.19 (s, 2H), 2.17 (s, 6H), 1.98 (dd, J = 11.9, 5.9 Hz, 2H)。

5 实施例 24: N-(5-((4-((1S, 4S)-2-氧杂-5 α -氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)-5-氯吡啶-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧苯基)丙烯酰胺(Z-24)



步骤 1: (1S, 4S)-5-(2,5-二氯吡啶-4-基)-2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷(化合物 24-2)

在 0℃下, 将化合物 2,4,5-三氯吡啶(0.3 g, 1.65 mmol)加入到 10mLTHF 中, 加入三乙胺(0.5 g, 4.9 mmol), 将桥环吗啉(0.22 g, 1.65 mmol, 市购)滴加至反应液中, 室温下搅拌 1h。
10 TLC 检测反应进度, 待反应完成后, 加入水和 EA, 分离出有机层, 有机层经饱和食盐水系, 干燥, 减压浓缩得到化合物化合物 24-2(0.36 g), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI): 246.0 [M+H]⁺。

步骤 2: 4-((1S, 4S)-2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)-5-氯-N-(4-氟-2-甲氧基-5-硝基苯基)吡啶-2-胺(化合物 24-3)

15 以化合物 24-2(0.36 g, 1.4 mmol)为原料, 参照实施例 23 中步骤 2 合成, 得粗产品化合物化合物 24-3(0.32 g), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI): 396.1 [M+H]⁺。

步骤 3: N¹-(4-((1S, 4S)-2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)-5-氯吡啶-2-基)-N⁴-2-(二甲基氨基)乙基)-2-甲氧基-N⁴-甲基-5-硝基苯-1,4-二胺(化合物 24-4)

20 以化合物 24-3(0.32 g, 0.81 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 5 合成, 得粗产品化合物 24-4(0.31 g), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI): 478.1 [M+H]⁺。

步骤 4: N⁴-(4-((1S, 4S)-2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)-5-氯吡啶-2-基)-N¹-(2-(二甲基氨基)乙基)基-5-甲氧基-N¹-甲基苯-1,2,4-三胺(化合物 24-5)

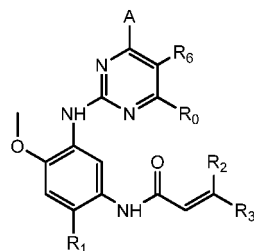
以化合物 24-4(0.31 g, 0.65 mmol)为原料, 参照实施例 7 中步骤 4 合成, 得化合物化合物 24-5(0.22 g), 产物直接用于下一步。MS m/z(ESI): 448.2 [M+H]⁺。

25 步骤 5: N-(5-((4-((1S, 4S)-2-氧杂-5 α -氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)-5-氯吡啶-2-基)氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基)氨基)-4-甲氧苯基)丙烯酰胺(化合物 Z-24)

以化合物 24-5(0.2 g, 0.44 mmol)为原料, 参照实施例 1 中步骤 7 合成, 得到的粗产物经制备液相分离纯化后得化合物 Z-24 (60.1 mg, 7.3%)。MS m/z(ESI): 502.2 [M+H]⁺; ¹HNMR (400

MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.09 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.37 (dd, *J* = 16.9, 10.0 Hz, 1H), 6.22 (dd, *J* = 16.9, 2.1 Hz, 1H), 5.73 (dd, *J* = 10.0, 2.1 Hz, 1H), 5.32 (s, 1H), 4.61 (s, 1H), 3.88 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.81 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 3.73 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 3.59 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 2.85 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.25 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 1.90 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 1.78 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H)。

实施例 25-78、87、88:



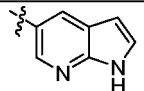
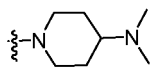
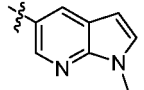
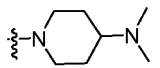
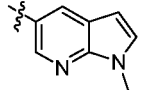
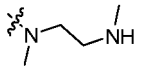
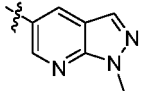
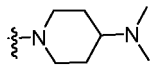
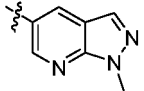
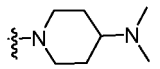
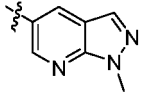
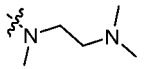
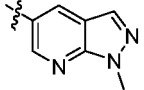
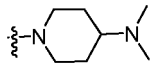
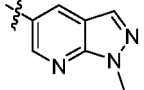
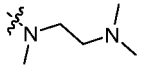
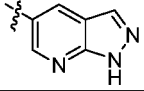
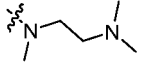
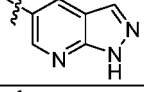
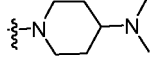
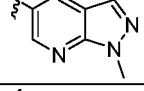
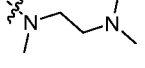
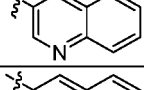
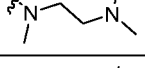
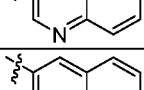
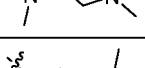
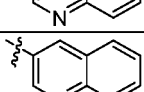
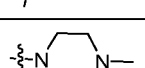
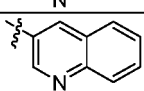
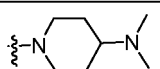
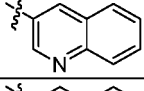
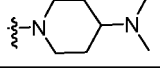
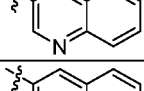
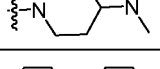
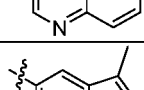
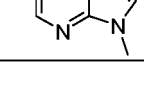
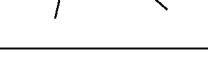
(IV-1)

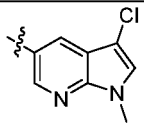
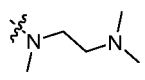
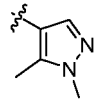
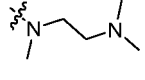
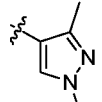
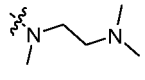
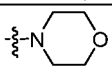
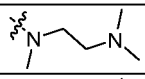
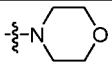
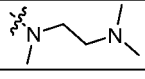
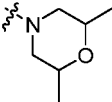
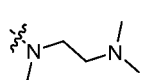
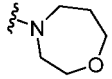
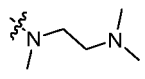
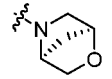
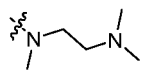
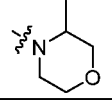
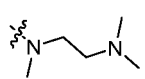
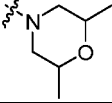
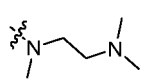
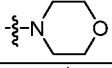
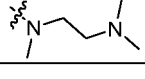
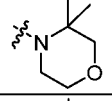
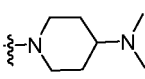
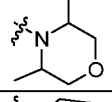
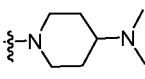
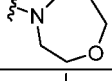
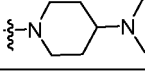
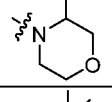
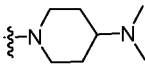
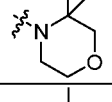
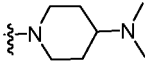
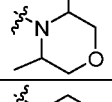
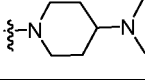
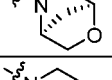
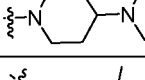
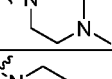
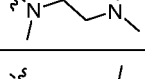
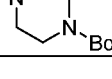
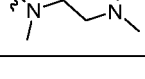
实施例 25-78、87 和 88 中的目标化合物如式(IV-1)所示, 其中, 取代基 R_0 、 R_2 和 R_3 都为氢, 其余的取代基 A、 R_1 、 R_6 如下表所示。

通用步骤: 化合物 Z-25 至 Z-56、Z-87、Z-88 以不同取代的硼酸酯或者硼酸、5 位取代的 2,4-二氯嘧啶为原料, 参照实施例 1 的类似的方法进行制备。

化合物 Z-57 至 Z-78 以不同胺、5 位取代的 2,4-二氯嘧啶为原料, 参照实施例 7 的类似的方法进行制备。

实施例编号	化合物	A	R_1	R_6	MS[M+H] ⁺
25	Z-25			H	527.3
26	Z-26			H	499.2
27	Z-27			H	499.2
28	Z-28			OCH ₃	557.3
29	Z-29			F	545.2
30	Z-30			H	486.9
31	Z-31			Cl	521.3
32	Z-32			CO ₂ CH ₃	559.2
33	Z-33			H	485.2

34	Z-34			H	513.3
35	Z-35			CF ₃	595.3
36	Z-36			Cl	521.2
37	Z-37			F	546.7
38	Z-38			OCH ₃	558.3
39	Z-39			Cl	536.7
40	Z-40			Cl	562.7
41	Z-41			F	520.7
42	Z-42			Cl	522.2
43	Z-43			Cl	548.2
44	Z-44			OCH ₃	532.3
45	Z-45			H	498.7
46	Z-46			Cl	532.7
47	Z-47			F	516.2
48	Z-48			H	496.2
49	Z-49			H	524.7
50	Z-50			OCH ₃	554.3
51	Z-51			F	542.3
52	Z-52			H	579.4
53	Z-53			Cl	549.2

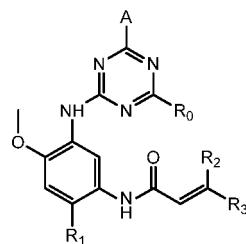
54	Z-54			H	535.2
55	Z-55			Cl	499.2
56	Z-56			H	465.3
57	Z-57			F	474.1
58	Z-58			OCH ₃	486.3
59	Z-59			H	483.9
60	Z-60			H	470.3
61	Z-61			H	468.3
62	Z-62			Cl	504.2
63	Z-63			Cl	518.3
64	Z-64			CF ₃	524.3
65	Z-65			H	510.3
66	Z-66			H	510.3
67	Z-67			H	496.3
68	Z-68			Cl	530.3
69	Z-69			Cl	544.3
70	Z-70			Cl	544.3
71	Z-71			Cl	528.2
72	Z-72			Cl	503.2
73	Z-73			Cl	589.3

74	Z-74			Cl	567.0
75	Z-75			Cl	489.3
76	Z-76			Cl	488.2
77	Z-77			Cl	486.2
78	Z-78			Cl	514.2
87	Z-87			H	500.7
88	Z-88			Cl	534.7

化合物	¹ HNMR
Z-25	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.79 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.98 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.47 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.23 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.65 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.47 (dd, J = 16.9, 1.3 Hz, 1H), 6.36-6.28 (m, 1H), 5.77 (dd, J = 10.8, 0.8 Hz, 1H), 3.91 (d, J = 13.4 Hz, 6H), 3.05 (d, J = 11.5 Hz, 2H), 2.74 (dt, J = 11.9, 5.9 Hz, 2H), 2.36 (s, 6H), 2.28 - 2.19 (m, 1H), 2.05 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 1.72 - 1.64 (m, 2H).
Z-26	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.06 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 8.99 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.49 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.52 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.73-6.62 (m, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.32 (d, J = 17.7 Hz, 1H), 5.79 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 3.89 (d, J = 8.2 Hz, 6H), 2.87 (s, 7H), 2.27 (s, 4H).
Z-27	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.09 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.43 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.21 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.49 (d, J = 17.3 Hz, 1H), 6.42 (s, 1H), 6.37-6.30 (m, 1H), 5.78 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 3.92 (s, 6H), 3.89 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.62 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.16-3.08 (m, 1H), 2.20 (s, 6H).
Z-32	¹ HNMR (CHLOROFORM-d ₆ , 400MHz): δ 9.96 (br. s., 1 H), 9.66 (s, 1 H), 8.93 (s, 1 H), 8.66 (br. s., 1 H), 8.39 (s, 1 H), 7.89 (s, 1 H), 7.11 (d, J=2.8 Hz, 1 H), 6.70 (s, 1 H), 6.52 (br. s., 1 H), 6.41 - 6.50 (m, 1 H), 6.36 (br. s., 1 H), 5.65 (d, J=10.8 Hz, 1 H), 3.83 (s, 3 H), 3.79 (s, 3 H), 3.68 (s, 3 H), 2.81 (br. s., 2 H), 2.61 (s, 3 H), 2.21 ppm (br. s., 8 H)。
Z-37	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.60 (s, 1H), 9.44 (s, 1H), 9.43 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.40-8.39 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.40-6.38 (m, 2H), 5.81-5.78 (dd, J ₁ = 2.9 Hz, J ₂ = 8.2 Hz, 1H), 4.29 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.11-3.08 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 2.79-2.74 (m, 3H), 2.59 (s, 6H), 2.16-2.13 (d, J = 12.3 Hz, 2H), 1.88-1.84 (dd, J ₁ = 3.3 Hz, J ₂ = 11.8 Hz, 2H).
Z-38	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.27 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 9.04 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.69 (m, 1H), 6.30 (d, J = 17.6 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 4.24 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.04 (m, 2H), 2.70 (m, 2H), 2.34 (s, 7H), 1.86 (m, 2H), 1.72 (m, 2H).
Z-39	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 10.14 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 9.12 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.45-6.41 (d, J = 16.9 Hz, 1H),

	6.35-6.33(d, J = 9.2 Hz, 1H), 5.72-5.69 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.29(s, 3H), 3.88(s, 3H), 3.48(s, 2H), 2.85(s, 2H), 2.69(s, 3H), 2.24(s, 6H).
Z-40	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.54 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.58(s, 1H), 8.49(s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.70(s,1H), 6.74(s, 1H), 6.40-6.25 (m, 2H), 5.77-5.75 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 4.29 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.03-3.00 (d, J = 11.4 Hz, 2H), 2.73-2.68(t, J = 10.6 Hz, 2H), 2.34(s, 6H), 2.24-2.19(t, J = 10.6 Hz, 1H), 2.05-2.02(d, J = 11.2 Hz, 1H), 1.65(s, 2H).
Z-41	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 10.17 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 9.44(s, 1H), 8.41-8.40 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 8.14(s, 1H), 7.77 (s, 1H), 6.80(s, 1H), 6.47-6.42 (dd, J1 = 2.2 Hz, J2 = 17.0 Hz, 1H), 6.39-6.33 (dd, J1 = 9.7 Hz, J2 = 17.2 Hz, 1H), 5.74-5.71(dd, J1 = 2.3 Hz, J2 = 9.7 Hz, 1H), 4.29 (s, 3H), 3.89(s, 3H), 2.89-2.87(t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.70(s, 3H), 2.29-2.27(d, J = 5.8 Hz, 2H), 2.25(s, 6H).
Z-44	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 10.06 (s, 1H), 9.67 (s, 1H), 9.36 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.44 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 6.30 (m, 1H), 5.67 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 4.12 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.80 (s, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.18 (s, 8H).
Z-54	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 10.13 (s, 1H), 9.17 (d, J=1.6Hz, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.74 (d, J=2.0Hz, 1H), 8.50 (d, J=5.2Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.56 (d, J=5.2Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.39 (dd, J = 17.2, 10.0 Hz, 1H), 6.24 (dd, J = 17.2, 2.0Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 10.0, 2.0 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 2.88(t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.36-2.28 (m, 2H), 2.22 (s, 6H).
Z-55	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.37 (br. s., 1H), 9.26 (s, 1H), 8.44 (br. s., 1H), 8.35 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 6.81 (dd, J = 10.4, 16.8 Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.36 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 5.64 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.12 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.91 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.61 (s, 6H), 2.58 (s, 3H), 2.45 (s, 3H)。
Z-87	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.80 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.60(s, 1H), 8.46-8.44 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 8.12-8.10(d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.41-7.38 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.22-7.21(d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.08-7.07(d, J = 3.0 Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.63-6.63(d, J = 3.1 Hz, 1H), 6.55-6.50(dd, J1 = 1.7 Hz, J2 = 16.9 Hz, 1H), 5.74-5.72(d, J = 10.0 Hz, 1H), 3.88(s, 3H), 3.83(s, 3H), 2.70-2.68(d, J = 5.6 Hz, 2H), 2.66(s, 3H), 2.63-2.62(d, J = 5.6 Hz, 2H), 2.48(s, 6H).
Z-88	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.88 (s, 1H), 9.61 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.37(s, 1H), 7.93-7.91 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.68(s, 1H), 7.42-7.40 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.09-7.08 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 6.73(s, 1H), 6.61-6.61(d, J = 3.0 Hz, 1H), 6.50-6.49 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 5.72-5.69(dd, J1 = 4.5 Hz, J2 = 7.4 Hz, 1H), 3.86(s, 3H), 3.83(s, 3H), 2.97-2.94(t, J = 5.4 Hz, 2H), 2.67(s, 3H), 2.49-2.47(d, J = 5.1 Hz, 2H), 2.36(s, 6H), 2.01(s, 3H).

实施例 79-86



(IV-2)

5 实施例 79-86 中的目标化合物如式(IV-2)所示, 其中, 取代基 R₀、R₂ 和 R₃ 都为氢, 其余的取代基 A、R₁ 如下表所示。

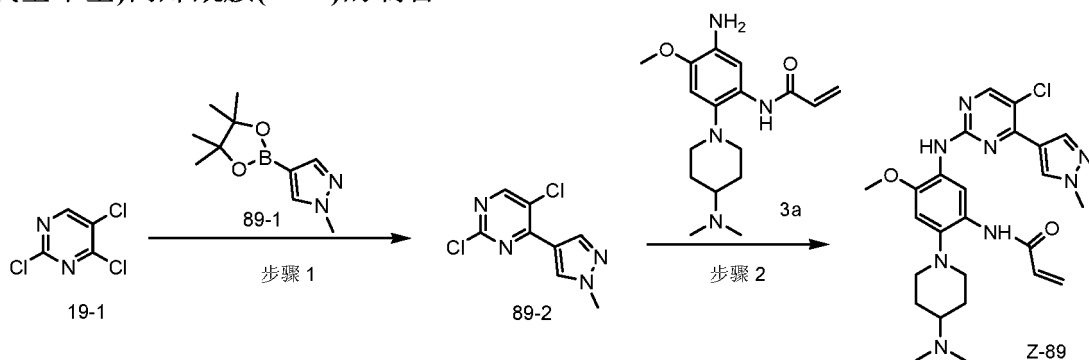
通用步骤: 化合物 Z-79 至 Z-82 以不同的胺、2,4-二氯-1,3,5-三嗪为原料, 参照实施例 23

的类似的方法进行制备。

化合物 Z-83 至 Z-86 以不同取代的硼酸酯或者硼酸、以及 2,4-二氯-1,3,5-三嗪为原料，参照实施例 14 的类似的方法进行制备。

实施例编号	化合物	A	R ₁	MS [M+H] ⁺
79	Z-79			471.3
80	Z-80			485.2
81	Z-81			471.3
82	Z-82			457.0
83	Z-83			589.2
84	Z-84			503.3
85	Z-85			488.2
86	Z-86			502.3

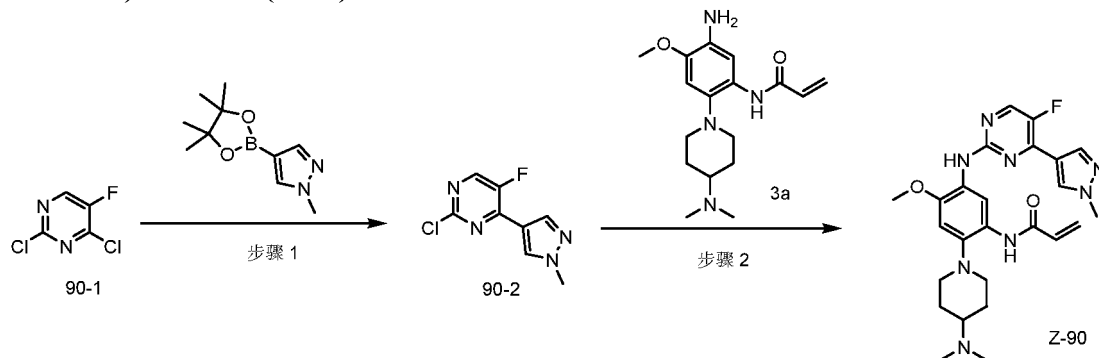
5 实施例 89: N-(5-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-89)的制备



步骤 1: 在氮气气氛下, 将 1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-1H-吡唑(1.1g, 5.25 mmol)、化合物 19-1(745mg, 4mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (109.7mg, 0.15 mmol)和碳酸钠溶液 (5 mL, 2M)的混合物的乙腈(30 mL)溶液在 85℃下搅拌 6h。待反应完成后, 加水淬灭, 向反应混合物中加入 EA(150ml)分层后, 水相用 EA(50 mL×2)萃取两次, 合并的有机相用 Na₂SO₄干燥后浓缩, 得到的粗产品经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 5: 1 - 2:1]分离纯化得 0.6g 目标产物 89-2。MS m/z(ESI): 229[M+H]⁺。步骤 2: 向化合物 3a(159mg, 0.5mmol)、化合物 89-2(114mg, 0.5mmol)、Pd₂(dba)₃(45.75 mg, 0.05mmol)和 Xantphos(28.4 mg, 0.05 mmol)的 1,4-二氧六环(4ml)溶液中加入碳酸铯(487.5mg, 0.5 mmol), 反应化合物在 100℃下搅拌 3h 后, 向反应混合物中加入 EA(50ml×2)和水(10ml), 有机相用水(10ml×3)洗涤后经 Na₂SO₄干燥, 浓缩得到粗产品,

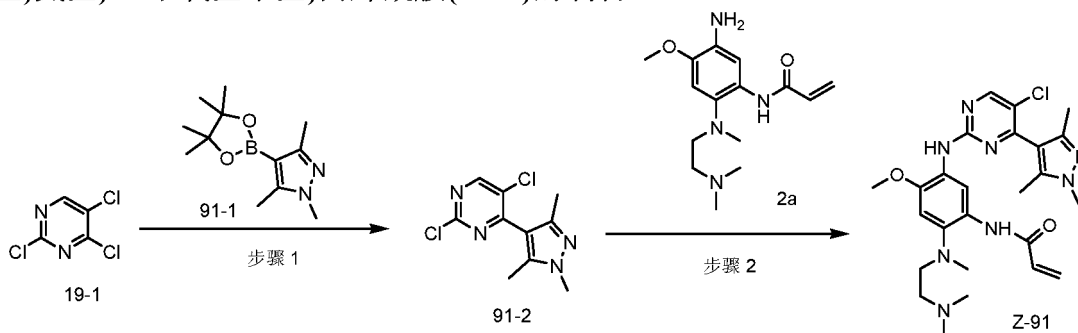
将所得粗产品经制备液相分离纯化得标题化合物 Z-89(19mg, 4%), MS m/z(ESI):511.2[M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.50 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.28 (ddd, J = 26.8, 16.9, 5.7 Hz, 2H), 5.69 (dd, J = 9.9, 1.6 Hz, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.96 (d, J = 12.1 Hz, 2H), 2.66 (t, J = 10.9 Hz, 2H), 2.15 (dd, J = 9.3, 5.5 Hz, 1H), 2.04 - 1.91 (m, 2H), 1.62 (s, 2H)。

实施例 90: N-(2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-5-(5-氟-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-90)的制备



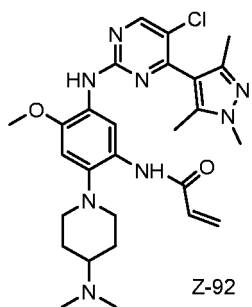
制备方法同实施例 89, 不同的是将实施例 89 步骤 1 中的化合物 19-1 换成化合物 90-1, 标题化合物 Z-90(42mg, 产率 9%)。MS m/z(ESI):495.0 [M+H]⁺; ¹HNMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 9.05(1s, 1H), 9.01(1s, 1H), 8.80(s, 1H), 8.48(d, J=4Hz, 1H), 8.18(s, 1H), 7.89(s, 1H), 6.87(s, 1H), 6.73(m, 1H), 6.32(m, 1H), 5.78(t, 1H), 3.97(s, 3H), 3.88(s, 3H), 3.01(d, J=12Hz, 2H), 2.66(t, 2H), 2.19(s, 6H), 2.16(m, 1H), 1.84(m, 2H), 1.71(m, 2H)。

实施例 91: N-(5-(5-氯-4-(1,3,5-三甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-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(Z-91)的制备



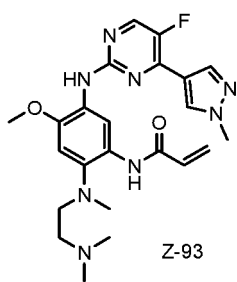
制备方法同实施例 89, 不同的是将实施例 89 步骤 1 中的化合物 89-1 换成化合物 91-1, 步骤 2 中的化合物 3a 换成化合物 2a, 得标题化合物 Z-91(22mg, 产率 11%)。为黄色固体。MS m/z(ESI):513.2 [M+H]⁺; ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.32 (br. s., 1H), 8.43 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.35 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 5.62 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 2.92 (br. s., 2H), 2.63 (s, 3H), 2.34 (br. s., 6H), 2.21 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 1.60 (br. s., 2H)。

实施例 92: N-(5-(5-氯-4-(1,3,5-三甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-92)的制备



制备方法同实施例 91, 不同的是将实施例 91 步骤 2 中化合物 2a 换成化合物 3a, 得标题化合物 Z-92(4.9mg, 产率 2.3%), 为白色固体, MS m/z (ESI):539.2 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 12.78 (br. s., 1H), 9.28 (br. s., 1H), 8.42 (s, 1H), 7.59 (br. s., 1H), 6.62 (br. s., 1H), 6.20 - 6.40 (m, 2H), 5.70 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.08 - 3.17 (m, 2H), 2.77 (s, 3H), 2.76 (s, 3H), 2.71 (br. s., 2H), 2.28 (br. s., 2H), 2.13 - 2.25 (m, 7H), 1.95 - 2.11 (m, 2H)。

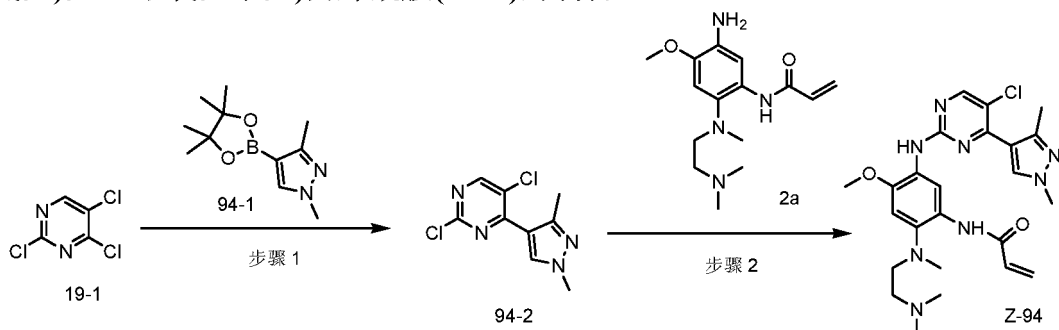
实施例 93: N-(2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)-5-(5-氟-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-93)的制备



制备方法同实施例 90, 不同的是将实施例 90 步骤 2 中化合物 3a 换成化合物 2a, 得标题化合物 Z-93(86mg, 产率 20%), 为黄色固体, MS m/z (ESI):469.0 $[M+H]^+$; ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.25(s, 1H), 9.33(s, 1H), 8.90(s, 1H), 8.50(s, 1H), 8.22(d, $J=4$ Hz, 1H), 7.91(s, 1H), 7.04(s, 1H), 6.35(m, 2H), 5.80(m, 1H), 3.98(s, 3H), 3.89(s, 3H), 2.87(t, 2H), 2.70(s, 3H), 2.27(m, 2H), 2.21(s, 6H)。

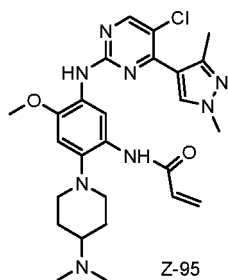
5

实施例 94: N-(5-(5-氯-4-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-2-((2-(二甲基氨基)乙基)(甲基氨基)基-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-94)的制备



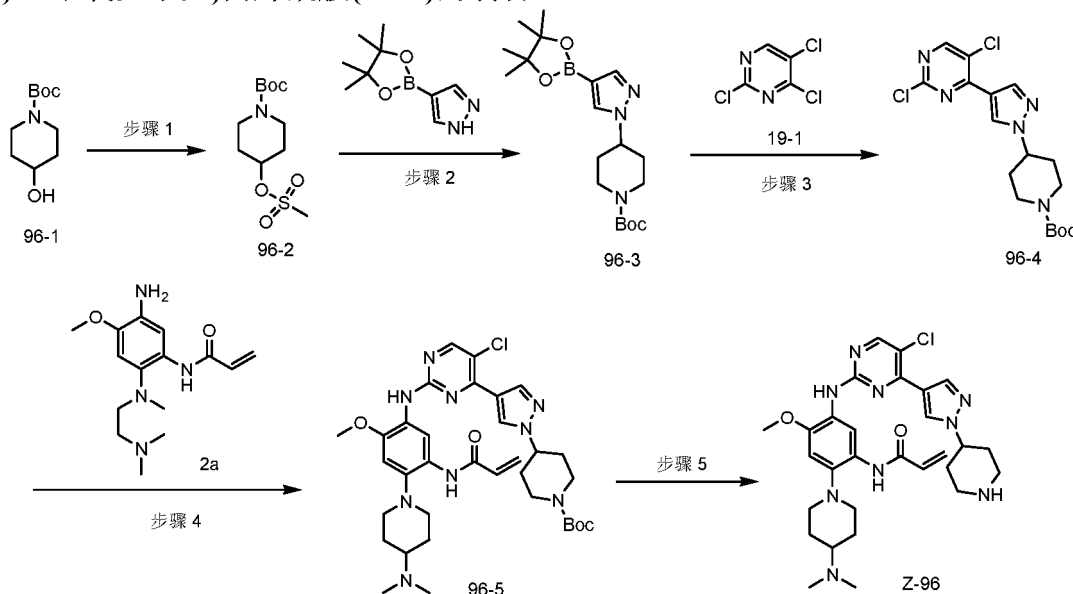
制备方法同实施例 91, 不同的是将实施例 91 步骤 1 中化合物 91-1 换成化合物 94-1, 得标题化合物 Z-94(13mg, 2.6%), MS m/z (ESI):499.2 $[M+H]^+$; ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.13 (s, 1H), 8.46 (d, $J = 3.1$ Hz, 3H), 8.40 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.41 (dd, $J = 16.7, 10.0$ Hz, 1H), 6.22 (dd, $J = 16.9, 2.0$ Hz, 1H), 5.75 (dd, $J = 10.1, 1.9$ Hz, 1H), 3.81 (d, $J = 17.7$ Hz, 6H), 2.90 (s, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.33 (s, 2H), 2.21 (d, $J = 24.6$ Hz, 9H)。

实施例 95: N-(5-(5-氯-4-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-96)的制备



制备方法同实施例 94,不同的是将实施例 94 步骤 2 中化合物 2a 换成化合物 3a,得标题化合物 Z-95(75mg, 产率 17.4%),为黄色固体, MS m/z (ESI):525.2[M+H]⁺; ¹HNMR (400MHz, CDCl₃) δ = 9.30 (br. s., 1 H), 8.26 - 8.37 (m, 2 H), 8.20 (s, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 6.64 (s, 1 H), 6.29 - 6.38 (m, 1 H), 6.11 - 6.29 (m, 1 H), 5.68 (d, J=10.3 Hz, 1 H), 3.84 (s, 3 H), 3.81 (s, 3 H), 3.03 (d, J=12.0 Hz, 2 H), 2.67 (t, J=11.2 Hz, 3 H), 2.44 - 2.58 (m, 7 H), 2.39 (s, 3 H), 2.11 (d, J=11.5 Hz, 2 H), 1.80 (d, J=9.8 Hz, 2 H)。

实施例 96: N-(5-(5-氯-4-(1-(哌啶-4-基)-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-96)的制备



5 步骤 1: 0℃下,向 4-羟基哌啶-1-甲酸叔丁酯(2.0g, 10mmol)的二氯甲烷(20ml)溶液中加入三乙胺(2.0g, 20mmol),再滴加甲基磺酰氯(1.73g, 15mmol)的二氯甲烷(5ml)溶液。反应混合物搅拌 1h 后,将反应混合物倒入冰水中,用二氯甲烷萃取,有机相用盐水洗涤后经无水 Na₂SO₄干燥,浓缩,得到 2.5g 粗产品 96-2,未经纯化直接下一步; MS m/z (ESI):223 [M-56]⁺。

10 步骤 2: 向 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-1H-吡唑(97mg, 0.5mmol)的 DMF 溶液中加入化合物 96-2 (134mg, 0.5mmol)和碳酸铯(245mg, 0.75mmol),反应混合物在 90℃下搅拌 12-16h,反应液冷却至室温,加水稀释。用 EA 萃取,合并的有机相用盐水洗涤,无水 Na₂SO₄干燥,浓缩得到粗产品,粗产品经 Combi-flash 柱层析[PE: EA=100:0 - 50:50]分离纯化得目标产物 96-3(2g, 产率 44%), MS m/z (ESI):378.2[M+1]⁺。

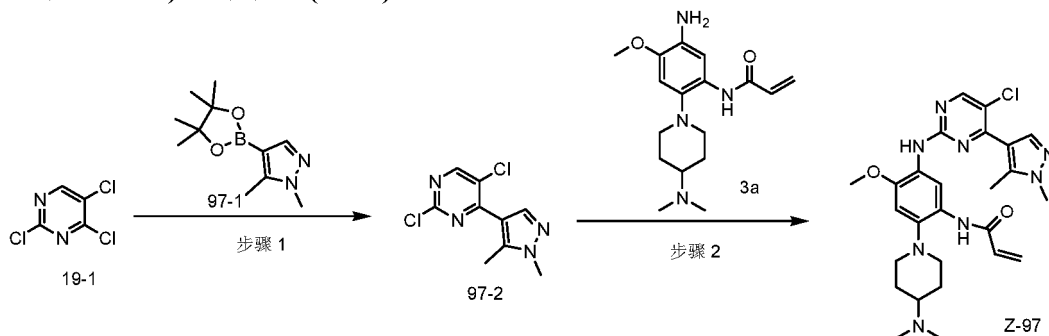
15 步骤 3: 以化合物 19-1 (549mg, 3.0mmol)和化合物 96-3 (754mg, 2.0mmol)为原料,参照实施例 89 中步骤 1 进行制备,得到目标物 96-4(580mg, 产率 73%), MS m/z (ESI): 398 [M+H]⁺。

20 步骤 4: 向化合物 96-4(298mg, 0.75mmol)、化合物 2a(159mg, 0.5mmol)、碳酸铯(326mg, 1.0 mmol)和 Xantphos(58 mg, 0.1 mmol)的 1,4-二氧六环(2ml)溶液中加入 Pd₂(dba)₃(46mg, 0.05mmol),反应液经氮气置换三次,在 160℃下微波反应 0.5h 后,将反应液过滤并浓缩,得粗产品。粗产品经 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 100:0 - 0:100]分离纯化得标题化合物 96-5(250mg),为黄色固体。 MS m/z (ESI): 680.3[M+H]⁺。

步骤 5: 室温下,向化合物 96-5 (240mg, 0.35mmol)的二氯甲烷(10ml)溶液中加入盐酸/1,4-

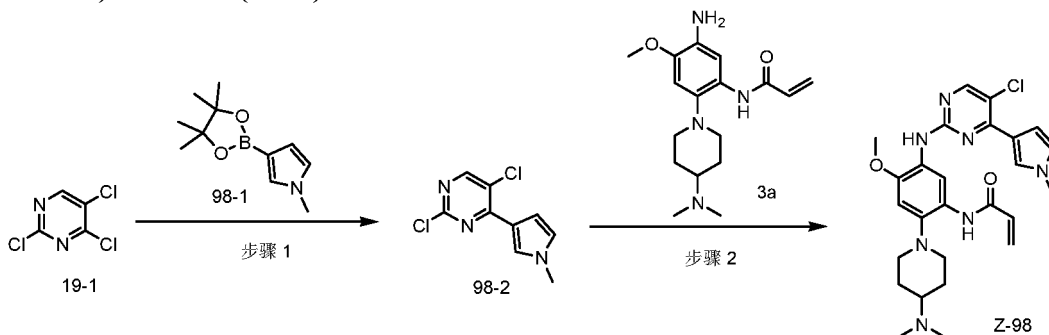
二氧六环的混合液，反应混合物室温搅拌 2h，加入 Na_2CO_3 调 PH 为 9，加入二氯甲烷。有机相用盐酸洗涤，浓缩得到粗产品。将所得粗产品经制备液相分离纯化得 20mg 标题化合物 Z-96，为黄色固体。MS $m/z(\text{ESI}):580[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

5 实施例 97: N-(5-(5-氯-4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-97)的制备



制备方法同实施例 89，不同的是将实施例 89 步骤 1 中化合物 89-1 换成化合物 97-1，得标题化合物 Z-97(56.5mg，产率 26%)，为黄色固体。MS $m/z(\text{ESI}):525.2[\text{M}+\text{H}]^+$ ；
 10 $^1\text{H NMR}(400\text{MHz}, \text{DMSO}-d_6) \delta$ 8.99 (s, 1 H), 8.44 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 8.20 (s, 1.5 H), 7.99 (s, 1 H), 6.81 (s, 1 H), 6.66 (dd, $J=16.8, 10.0$ Hz, 1 H), 6.22 (dd, $J=16.8$ Hz, 2.0 Hz, 1 H), 5.73 (d, $J=10.4$ Hz, 1 H), 3.79 (s, 3 H), 3.76 (s, 3 H), 3.07 (d, $J=11.0$ Hz, 2 H), 2.68 (t, $J=11.0$ Hz, 2 H), 2.46 (br. s., 1 H), 2.37(s, 6 H), 2.34 (s, 3 H), 1.89 (d, $J=10.5$ Hz, 2 H), 1.75 (t, $J=11.0$ Hz, 2 H)。

15 实施例 98: N-(5-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯-3-基)嘧啶-2-基氨基)-2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-98)的制备

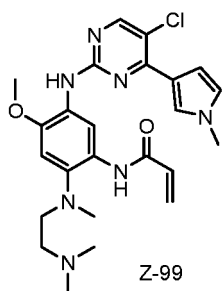


步骤 1: 以化合物 19-1(400mg, 2.2mmol)和 1-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-1H-吡咯(250mg, 2.0mmol)为原料，参照实施例 89 中步骤 1 进行制备，得到的粗产品经
 20 Combi-flash 柱层析[PE: EA = 3: 1]分离纯化得目标产物 98-2(80mg，产率 17.6%)。MS $m/z(\text{ESI}):228[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 向化合物 98-2(100mg, 0.44mmol)的 1,4-二氧六环(6ml)溶液中加入化合物 3a(140mg, 0.4mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (41 mg, 0.044mmol)、BINAP(55mg, 0.088mmol)和碳酸铯(286mg, 0.88 mmol)。将反应液在 130℃下微波反应 30 分钟。将反应液过滤后减压浓缩得到
 25 粗产品，将所得粗产品经制备液相分离纯化得 94.47mg 标题化合物 Z-98，为黄色粉末。MS $m/z(\text{ESI}):510.3 [\text{M}+\text{H}]^+$ ； $^1\text{H NMR}(400\text{MHz}, \text{DMSO}-d_6) \delta$ 9.06 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.84 (dd, $J = 5.6, 3.2$ Hz, 2H), 6.71 (dd, $J =$

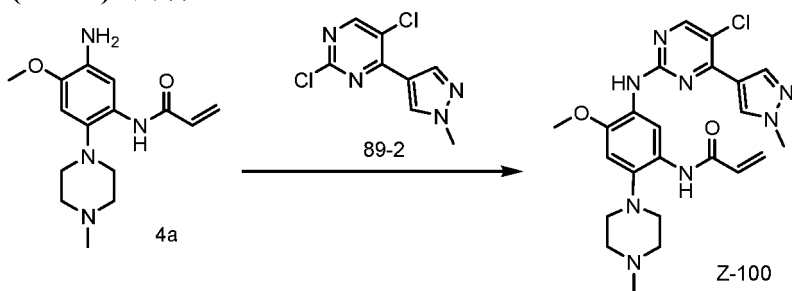
16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.29 (dd, $J = 17.0, 1.6$ Hz, 1H), 5.77 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.05 (d, $J = 11.4$ Hz, 2H), 2.68 (t, $J = 11.0$ Hz, 2H), 2.42 (t, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.34 (s, 6H), 1.89 (d, $J = 10.6$ Hz, 2H), 1.79 - 1.67 (m, 2H)。

5 实施例 99: N-(5-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡咯-3-基)嘧啶-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(Z-99)的制备



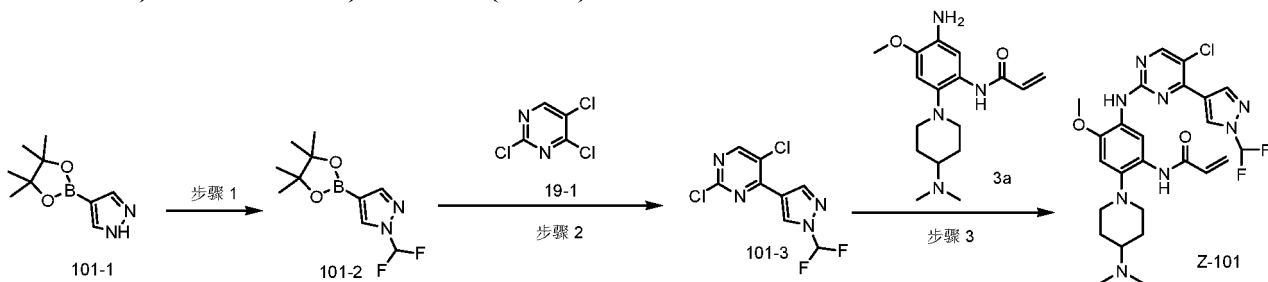
制备方法同实施例 98, 不同的是将实施例 98 步骤 2 中化合物 3a 换成化合物 2a, 得 103mg 标题化合物 Z-99, 为黄色粉末。MS m/z (ESI):484.2 $[M+H]^+$; ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 10.16 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.05 - 6.98 (m, 2H), 6.84 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.48 (dd, $J = 16.9, 10.1$ Hz, 1H), 6.29 (dd, $J = 16.9, 1.9$ Hz, 1H), 5.78 (dd, $J = 10.1, 1.8$ Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 2.92 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.38 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 2.26 (s, 6H)。

10 实施例 100: N-(5-(5-氯-4-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-4-甲氧基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺(Z-100)的制备



以化合物 4a(100mg, 0.34mmol)和化合物 89-2(80mg, 0.34 mmol)为原料, 参照实施例 89 步骤 2 的方法进行合成, 得标题化合物 Z-100(200mg, 产率 70%); MS m/z (ESI):483 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.51 (s, 1H), 9.10 (s, 1H), 8.41 (s, 2H), 8.26 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.43 - 6.32 (m, 1H), 6.26 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 5.82 - 5.65 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.03 (s, 8H), 2.62 (s, 4H)。

20 实施例 101: N-(5-(5-氯-4-(1-(二氟甲基)-1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-101)的制备



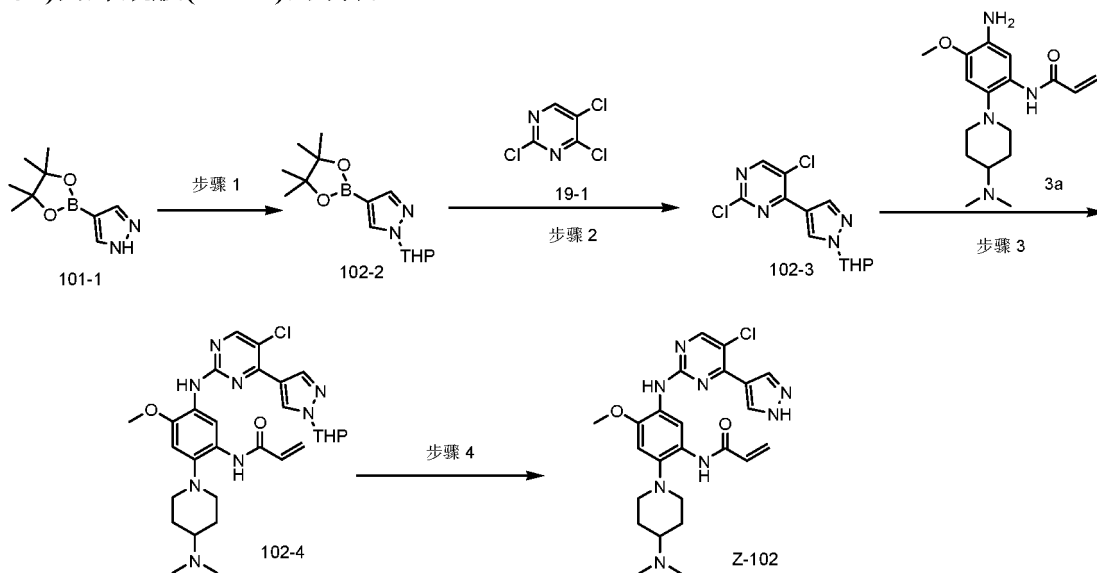
步骤 1: 向乙腈(100ml)加入化合物 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-1H-吡唑 101-1(4.0g, 0.21mol), 二氟氯乙酸钠(3.77g 0.25mol), 15-冠-5(103.8g, 0.65mol), 氮气保护下

加热到回流, 搅拌 24h, 冷却至室温, 反应液倒入水(50 mL)中淬灭, 用 EA(100 ml X 3)萃取, 饱和食盐水(20 ml)洗涤, Na_2SO_4 干燥, 过滤, 滤液旋干得到化合物 101-2(4.1g, 产率 80%) 白色固体。MS m/z (ESI): 245.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 向装有四三苯基磷钨(0.264g, 2.58×10^{-4} mol)的反应瓶中加入溶有化合物 101-2 (2.1g, 8.9×10^{-3} mol)的二甲氧基乙烷(20ml)溶液, 溶有化合物 19-1(1.4g, 8.0×10^{-3} mol)的二甲氧基乙烷(20ml)溶液和溶有碳酸钠(1.8g, 1.72×10^{-2} mol)的水溶液(11ml)液, 氮气保护下, 加热至 100 °C, 搅拌过夜, 降至室温, 水(50ml)淬灭反应液, EA(3X100ml)萃取, 饱和食盐水(30ml)洗涤, Na_2SO_4 干燥, 过滤浓缩得到油状物, 柱层析(硅胶; 300-400 目), 石油醚: EA=30: 1 洗脱得到化合物 101-3(870mg, 收率 30%), 白色固体。MS m/z (ESI): 265.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 纯度 = 96.08 % (UV214); ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ : 9.21(s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.94(t, $J=58\text{Hz}$, 1H)。

步骤 3: 以化合物 101-3 和化合物 3a 为原料, 参照实施例 89 中步骤 2 进行合成, 所得粗产品经制备液相分离纯化得标题化合物 Z-101, 为黄色固体。MS m/z (ESI): 547 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ 9.28 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.28 (d, $J = 3.6$ Hz, 2H), 7.92 (t, $J = 58.6$ Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.70 (dd, $J = 17.0, 10.2$ Hz, 1H), 6.29 (dd, $J = 16.9, 1.7$ Hz, 1H), 5.87 - 5.65 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.04 (d, $J = 11.6$ Hz, 2H), 2.68 (t, $J = 10.9$ Hz, 2H), 2.26 (s, 7H), 1.85 (d, $J = 10.5$ Hz, 2H), 1.71 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H)。

实施例 102: N-(5-(5-氯-4-(1H-吡唑-4-基)嘧啶-2-基氨基)-2-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-4-甲氧基苯基)丙烯酰胺(Z-102)的制备



步骤 1: 搅拌下, 向化合物 101-1(5.0g, 25.8mmol)和 2,3-二氢吡啶(4.33g, 51.5mmol)的二氯甲烷(100ml)溶液中加入 DTSA(463mg, 2.6mmol), 反应混合物在 40 °C 下搅拌 2h。反应结束后, 反应液用水洗涤, EA 萃取后, 减压浓缩得到粗产品 102-2(7.0g, 60%); 不经纯化直接下一步, MS m/z (ESI): 279 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 以化合物 19-1 (4.5g, 25mmol)和化合物 102-2 (7.0g, 25 mmol)为原料, 参照实施例 89 中步骤 1 进行制备, 得到的粗产品经 Combi-flash 柱层析分离纯化得目标产物 102-3(850mg, 产率 10%)。MS m/z (ESI): 299 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 3: 以化合物 102-3 (300mg, 1mmol) 和化合物 3a (320mg, 1mmol) 为原料, 参照实施例 89 中步骤 2 进行制备, 得粗产品 102-4 (60mg, 产率 70%); 不经纯化直接下一步, MS m/z (ESI): 581 $[M+H]^+$ 。

步骤 4: 搅拌下, 向化合物 102-4 (700mg, 1mmol) 的二氯甲烷 (5ml) 溶液中加入盐酸/1,4-二氧六环溶液 (2ml), 反应液室温下搅拌 4h, 得粗产品, 将所得粗产品经制备液相分离纯化得标题化合物 Z-102 (80mg, 产率 60%), 为黄色固体。MS m/z (ESI): 497 $[M+H]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.55 (s, 1H), 8.92 (s, 2H), 8.70 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.32 (dt, $J = 17.0, 12.9$ Hz, 2H), 5.76 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.04 (d, $J = 11.9$ Hz, 2H), 2.73 (t, $J = 11.0$ Hz, 2H), 2.36 (s, 6H), 2.24 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 2.05 (d, $J = 11.5$ Hz, 2H), 1.70 (s, 2H)。

10

实施例 103-127

实施例 103 至 127 中的目标化合物如式 (IV-1) 所示, 其中, 取代基 R_0 、 R_2 和 R_3 都为氢, 其余的取代基 A、 R_1 、 R_6 如下表所示。通用步骤: 化合物 Z-103 至 Z-127 以不同取代的硼酸酯或者硼酸、5 位取代的 2,4-二氯嘧啶为原料, 参照实施例 1 的类似方法进行制备。

实施例编号	化合物	A	R_1	R_6	MS $[M+H]^+$
103	Z-103			CO_2Me	560
104	Z-104			CO_2Me	586
105	Z-105			H	515
106	Z-106			H	487
107	Z-107			H	529
108	Z-108			H	515
109	Z-109			Cl	549
110	Z-110			Cl	563
111	Z-111			Cl	549
112	Z-112			H	527
113	Z-113			Cl	533

114	Z-114			Cl	535
115	Z-115			H	529
116	Z-116			Cl	521
117	Z-117			H	488
118	Z-118			F	506
119	Z-119			H	526
120	Z-120			Cl	560
121	Z-121			Cl	569
122	Z-122			F	579
123	Z-123			F	553
124	Z-124			H	529
125	Z-125			Cl	563
126	Z-126			Cl	561.2
127	Z-127			Cl	587

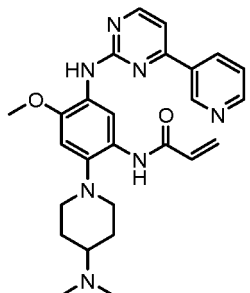
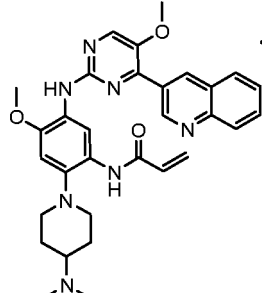
化合物	¹ HNMR
Z-105	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.94 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 9.06 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 8.49 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.60 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.57 (d, J = 3.1 Hz, 2H), 6.55-6.47 (m, 1H), 6.36 (s, 1H), 5.81 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 3.88 (d, J = 5.3 Hz, 6H), 2.93 (s, 2H), 2.69 (s, 2H), 2.26 (s, 2H), 2.09 (s, 6H), 1.02 (t, J = 6.9 Hz, 3H).
Z-106	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.76 (s, 1H), 9.07 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 9.00 (s, 1H), 8.49 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.61 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 5.3 Hz,

	1H), 6.96 (s, 1H), 6.86-6.69 (m, 1H), 6.56 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.35 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.80 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 3.88 (d, J = 8.5 Hz, 6H), 3.16-3.09 (m, 2H), 3.02-2.93 (m, 2H), 2.60 (s, 3H), 2.54 (s, 3H).
Z-107	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.78 (s, 1H), 9.18 (s, 1H), 9.07 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.49 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.60 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.56 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.54-6.47 (m, 1H), 6.37-6.30 (m, 1H), 5.81 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 3.88 (d, J = 4.1 Hz, 6H), 2.87 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.61-2.52 (m, 6H), 1.05-0.92 (m, 6H).
Z-108	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.77 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 8.91 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.41 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.17-7.13 (m, 2H), 6.71 (s, 1H), 6.59 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.42 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 6.33-6.24 (m, 1H), 5.70 (d, J = 10.7 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 2.82 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.23 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.12 (s, 6H), 1.18 (s, 2H).
Z-109	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.74 (s, 1H), 9.57 (s, 1H), 8.92 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.15 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.55 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.43 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 6.27 (s, 1H), 5.64 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 2.81 (s, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.49-2.37 (m, 2H), 2.35-2.24 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 0.99 (t, J = 7.0 Hz, 3H).
Z-110	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.71 (s, 1H), 8.75 (s, 2H), 8.57 (s, 1H), 8.53 (s, 2H), 7.61-7.60 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.56-6.55 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.50-6.43 (dd, J ₁ = 10.2 Hz, J ₂ = 17.0 Hz, 1H), 6.30-6.26 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 5.78-5.75 (d, J = 10.3 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 2.84-2.81 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.50 (s, 4H), 2.45 (s, 2H), 0.95-0.91 (t, J = 7.0 Hz, 6H).
Z-112	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.85 (s, 1H), 9.14 (s, 1H), 9.07 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 9.04 (s, 1H), 8.49 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.61 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.71-6.61 (m, 1H), 6.57 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.37-6.29 (m, 1H), 5.80 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.04 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.69 (d, J = 10.1 Hz, 9H), 1.80 (s, 4H).
Z-113	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.95 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.22 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.59 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.45 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 6.37 (s, 1H), 6.34-6.25 (m, 1H), 5.76 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.88 (d, J = 8.3 Hz, 5H), 3.61 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.16-3.06 (m, 1H), 2.18 (s, 6H).
Z-114	¹ HNMR (400 MHz, CDCl ₃) δ 9.26 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.44-8.43 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 8.42 (s, 2H), 7.61-7.60 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 6.58-6.57 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.49-6.42 (dd, J ₁ = 10.2 Hz, J ₂ = 17.0 Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 6.23-6.18 (dd, J ₁ = 2.0 Hz, J ₂ = 17.0 Hz, 1H), 5.72-5.69 (dd, J ₁ = 2.0 Hz, J ₂ = 10.2 Hz, 1H), 5.16-5.14 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.15-3.11 (dd, J ₁ = 6.4 Hz, J ₂ = 12.2 Hz, 2H), 2.33-2.29 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.12 (s, 6H), 1.73-1.68 (dd, J ₁ = 6.5 Hz, J ₂ = 13.2 Hz, 2H).
Z-115	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.90 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 9.15 (d, J = 1.8 Hz, 2H), 8.56 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.68 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.65 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 17.0, 10.0 Hz, 1H), 6.42 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, 1H), 5.93-5.86 (m, 1H), 3.96 (d, J = 3.0 Hz, 6H), 3.01-2.87 (m, 3H), 2.80 (s, 3H), 2.51 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.28 (s, 3H), 1.06 (d, J = 6.6 Hz, 6H).
Z-117	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.80 (s, 1H), 9.05 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.47 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.61 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.57 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.54-6.46 (m, 1H), 6.31 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.79 (dd, J = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 4.19 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.88 (d, J = 2.7 Hz, 6H), 2.58 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.28 (s, 6H).
Z-118	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.75 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.56 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.63 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.61 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.49 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.36-6.22 (m, 1H), 5.83-5.72 (m, 1H), 4.19 (t, J =

	5.5 Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 2.60 (s, 2H), 2.29 (s, 6H).
Z-121	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 10.00 (s, 1H), 8.84 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.41 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.16 (s, 0.3H), 7.86 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.41 (dd, J = 16.9, 10.2 Hz, 1H), 6.27-6.20 (m, 1H), 5.75 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 2.92 (s, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.43 (s, 2H), 2.28 (s, 6H).
Z-122	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 9.01 (d, J = 13.8 Hz, 2H), 8.57 (d, J = 3.5 Hz, 2H), 8.51 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.67 (dd, J = 17.0, 10.2 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 17.0, 1.8 Hz, 1H), 5.73 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.85 (d, J = 12.6 Hz, 6H), 3.05 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 2.67 (t, J = 10.8 Hz, 2H), 2.25 (s, 7H), 1.85 (d, J = 10.2 Hz, 2H), 1.79-1.63 (m, 2H).
Z-123	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 10.07 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.63-8.56 (m, 2H), 8.43 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.44 (dd, J = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.24 (dd, J = 16.9, 1.9 Hz, 1H), 5.78-5.69 (m, 1H), 3.92-3.79 (m, 6H), 2.92 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.41 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.27 (s, 6H).
Z-124	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 10.15 (s, 1H), 9.24 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.49 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.76 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.60 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 6.54-6.40 (m, 1H), 6.35 (d, J = 17.1 Hz, 1H), 5.81 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 5.19-5.09 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 2.91 (s, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.46-2.01 (m, 7H), 1.51 (d, J = 6.7 Hz, 6H).
Z-125	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 10.10 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.75-8.74 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.58-8.57 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.77-7.76 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.59-6.58 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 6.43-6.36 (dd, J1 = 10.2 Hz, J2 = 16.8 Hz, 1H), 6.31-6.26 (dd, J1 = 2.1 Hz, J2 = 16.8 Hz, 1H), 5.78-5.75 (dd, J1 = 2.1 Hz, J2 = 9.8 Hz, 1H), 5.15-5.09 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.30 (s, 1H), 2.86-2.83 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.29-2.26 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 1.50-1.48 (d, J = 6.8 Hz, 6H).
Z-126	¹ HNMR (400 MHz, DMSO) δ 10.11 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.78 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.57 (m, 3H), 8.29 (s, 1H), 7.58 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.54 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 6.45 (dd, J = 16.4 Hz, 9.6 Hz, 1H), 6.32 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 5.79 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.68 (m, 1H), 2.88 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.33 (m, 2H), 2.21 (s, 6H), 1.09 (m, 4H).

对比例

对比化合物 2 和 3 分别以相应的硼酯和 5 位取代或未取代的 2,4-二氯嘧啶为原料, 参照实施例 1 的类似方法制备。

对比化合物		
MS [M+H] ⁺	474	554

5

测试例 1: 对野生型 EGFR 和突变型 EGFR 激酶的活性抑制测试

以下 z-lyte 测试方法中所用试剂均可购自 Invitrogen。

利用 z-lyte 方法测定待测物对双突变型 EGFR 激酶 (EGFR T790M/L858R 激

酶)(Invitrogen, PV4879)、野生型 EGFR 激酶(EGFR WT)(Invitrogen, PV3872)活性的抑制作用。

10 μ L T790M/L858R 激酶反应体系中各组分的工作浓度为: 25 μ M ATP, 0.08(或 0.1) ng/ μ L EGFR T790M/L858R 激酶, 2 μ M Tyr04 底物 (Invitrogen, PV3193, 下同)。加入本发明上述实施例制备的化合物(即待测物)后 DMSO 的浓度为 2 %。

5 10 μ L EGFR WT 激酶反应体系中各组分的工作浓度为: 10 μ M ATP, 0.8 ng/ μ L EGFR WT 激酶, 2 μ M Tyr04 底物。加入待测物后 DMSO 的浓度为 2 %。

测试方法:

10 室温溶解 10 mM 的待测化合物储存液经 4% DMSO 的水梯度稀释至终浓度 10⁻⁶~0.005 μ M。每孔中加入 2.5 μ L 的待测物溶液以及 5 μ L 经反应缓冲液稀释的 EGFR T790M/L858R 激酶(或 EGFR WT 激酶)与 Tyr04 底物的混合物, 再加入 2.5 μ L 的 ATP 启动反应。C1 孔用反应缓冲液代替 ATP, C2 孔不加入任何药物, C3 孔按说明书描述加入磷酸化的底物。

在室温摇床反应 60 min 后。加入 5 μ L Development Reagent B(Invitrogen), 于室温摇床反应 60min。在 VictorX⁵ 荧光酶标仪 (PerkinElmer)上读板, 测定激发波长为 405 nm, 发射波长为 450 nm 和 520 nm 的光吸收。(例如, C3_{520nm} 表示 C3 孔在 520 nm 的读值)。

15 抑制率计算方法如下:

1、ER=Coumarin Emission (450nm)/Fluorescein Emission (520nm)

2、磷酸化率= $(1 - ((ER \times C3_{520nm} - C3_{450nm}) / ((C1_{450nm} - C3_{450nm}) + ER \times (C3_{520nm} - C1_{520nm})))) \times 100\%$

3、抑制率 (IR)=(1-(测试化合物的磷酸化率)/(C2 的磷酸化率)) $\times 100\%$

20 用 XLFIT 5.0 软件(英国 IDBS 公司)拟合计算半数抑制浓度 IC₅₀。对酶的抑制活性和选择抑制活性结果参见表 1 至表 3。

表 1 酶的抑制活性

化合物编号	T790M/L858R (IC ₅₀ /nM)	EGFR WT (IC ₅₀ /nM)
Z-1	3	25
Z-2	17	272
Z-4	14	45
Z-5	43	105
Z-6	4	10
Z-16	1	4
Z-20	2	4
Z-21	4	9
Z-22	9	57
Z-25	12	61
Z-26	27	114
Z-27	4	19
Z-29	38	118
Z-32	2	4
Z-37	5	89
Z-38	16	35
Z-39	4	33
Z-40	13	233
Z-41	9	20
Z-44	8	30
Z-54	0.5	2
Z-87	3	8

Z-88	3	11
对比化合物 1	2	3

表 2 酶的选择抑制活性

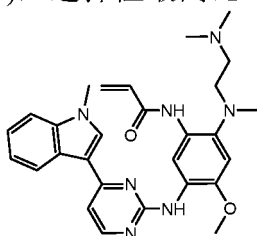
化合物编号	对酶的选择抑制活性 [IC ₅₀ (EGFR WT)/ IC ₅₀ (T790M/L858R)]
Z-1	8.33
Z-2	16
Z-3	7.27
Z-4	3.2
Z-5	2.4
Z-6	2.5
Z-16	4
Z-20	2
Z-21	2.25
Z-22	6.3
Z-25	5.1
Z-26	4.2
Z-27	4.8
Z-29	3.1
Z-32	2
Z-37	17.8
Z-38	2.2
Z-39	8.25
Z-40	17.9
Z-41	2.2
Z-44	3.8
Z-54	4
Z-87	2.7
Z-88	3.7
对比化合物 1	1.5

表 3 酶抑制活性与选择抑制活性

化合物	T790M/L858R (IC ₅₀ /nM)	EGFR WT (IC ₅₀ /nM)	对酶的选择抑制活性 [IC ₅₀ (EGFRWT)/IC ₅₀ (T790M/L858R)]
Z-17	23	218	9.5
Z-18	16	197	12.3
Z-19	3	28	9.3
Z-89	4	228	57
Z-55	2	21	10.5
Z-90	8	102	12.75
Z-91	25	195	7.8
Z-93	11	42	3.8
Z-94	2	20	10
Z-95	16	328	20.5
Z-96	2	41	20.5
Z-97	14	341	24.4
Z-98	15	407	27.1
Z-99	4	38	9.5
Z-100	11	297	27
Z-101	7	112	16
Z-102	2	62	31

Z-105	3	7	2.3
Z-106	2	4	2
Z-107	4	16	4
Z-109	6	28	4.7
Z-110	7	40	5.7
Z-112	7	22	3.1
Z-113	15	121	8.1
Z-114	14	116	8.3
Z-115	6	22	3.7
Z-116	6	37	6.2
Z-117	2	8	4
Z-118	2	6	3
Z-121	3	14	4.7
Z-122	5	25	5
Z-123	1	3	3
Z-124	4	13	3.25
Z-125	2	14	7
Z-126	2	7	3.5
BIBW2992	5	1	0.2
对比化合物 1	2	3	1.5

从表 1、表 2 和表 3 可以看出，本发明的示例化合物对 EGFR 突变型酶(T790M/L858R 和 L858R)表现出较强的抑制活性，而对 EGFR 野生型酶(T790M WT)抑制活性较弱，与阳性对照物 BIBW2992 (Afatinib)相比，本发明的化合物对 EGFR 突变型酶具有明显的选择抑制活性。并且本发明示例化合物对 EGFR 突变型酶的选择抑制活性超过了对比化合物 1(具体结构如下所示，并可参见 WO2013014448A1)，选择性最高对比化合物 1 提高了 18 倍。



对比化合物 1

测试例 2：MTT(3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐)方法检测细胞抑制活性

MTT 测试方法步骤采用本领域技术人员熟知的方法进行，方法中所用试剂均可市购得到。

2.1 测试方法：

首先，移除培养基并加入 0.25 %的胰酶/EDTA (Gibco, 25200-056)。洗一次后，再加入 1.5 mL 胰酶/EDTA 消化贴壁细胞，至细胞分离，然后加入 3.5 mL 培养基终止消化。将消化完的细胞悬浮液移至 15 mL 离心管，1300 rpm 离心 3min 后弃上清，并用新鲜的培养基悬浮细胞。然后细胞计数，并稀释细胞至以下浓度：A431 和 H1975 细胞每 mL 2.78 万，NIH3T3 每 mL 3.33 万。将细胞种入 96 孔板(BD 3072)，每孔 90 μ L，培养过夜。

A431 细胞培养基为：10%FBS (Gibco, 10099-141) DMEM (Hyclone SH30243.01B);

NIH3T3 细胞培养基：10% FBS (Gibco, 10099-141) DMEM (Hyclone SH30243.01B);

H1975 细胞培养基: 10%FBS(Gibco, 10099-141) RPMI-1640 (Hyclone SH30809.01B);

取 20 μL 10mM 待测化合物, 按照如下浓度梯度(2000, 666.67, 222.22, 74.07, 24.69, 8.23, 2.74, 0.91 μM)稀释 10X 药品, 再加入无血清培养基(终浓度为: 10, 3.333, 1.111, 0.370, 0.123, 0.041, 0.014, 0.005 μM), 并加入每孔 10 μL 药品到细胞培养板内, 其中 DMSO 终浓度为 0.5%。

加药后将细胞放入培养箱, 培养 72h 后, 每孔加入 10 μL 的 5 mg/ml 的 MTT (Sigma, M5655) 溶液, 然后将 96 孔板放入 37°C 5%CO₂ 培养箱孵育 4h。

再在 2000 rpm, 5min 的条件下离心平板, 移除上清后, 每孔加入 150 μL DMSO, 并在摇床中震荡平板至所有结晶紫溶解(约 10-20min)。最后使用酶标仪测定 492 nm 光吸收, 使用 XLFIT 5.0 软件(英国 IDBS 公司)计算 IC₅₀。示例化合物对细胞的抑制活性或选择抑制活性见表 4 至表 7。

表 4 化合物对细胞生长抑制活性和选择性

化合物	H1975 细胞 (IC ₅₀ /nM)	A431 细胞 (IC ₅₀ /nM)	对细胞生长的选择抑制活性 [IC ₅₀ (A431 细胞)/ IC ₅₀ (H1975 细胞)]
Z-6	17	773	45.5
Z-16	9	871	97
Z-22	29	1899	65.5
Z-27	49	2479	50.1
Z-30	25	1111	44.4
Z-39	16	918	57.4
Z-44	32	1814	56.7
Z-54	3	327	109
对比化合物 1	13	478	36.77

表 5 化合物对 NIH3T3 细胞的毒性测试结果

化合物	IC ₅₀ /nM	化合物	IC ₅₀ /nM
Z-1	6587	Z-32	>10000
Z-3	8158	Z-33	>10000
Z-16	>10000	Z-38	>10000
Z-25	6906	Z-39	8887
Z-26	>10000	Z-41	>10000
Z-27	7964	Z-44	8877
Z-30	5793	对比化合物 1	3552

表 6 化合物对细胞生长的抑制活性和选择性

化合物编号	H1975 细胞 (IC ₅₀ /nM)	A431 细胞 (IC ₅₀ /nM)	对细胞生长的选择抑制活性 [IC ₅₀ (A431 细胞)/ IC ₅₀ (H1975 细胞)]
Z-19	22	757	34.4
Z-89	19	1730	91
Z-55	7	660	94.3
Z-90	17	2391	140.6
Z-91	36	3609	100.3
Z-94	8	645	80.6
Z-95	45	5450	121.1
Z-98	108	1641	15.2
Z-99	40	1038	26
Z-100	24	1226	51.1

Z-101	43	2244	52.2
Z-102	15	597	39.8
Z-106	13	685	52.7
Z-107	37	1412	38.2
Z-108	77	2904	37.7
Z-115	38	2495	66
Z-117	19	1302	68.5
Z-123	26	1044	40.2
Z-124	38	1780	46.8
Z-125	13	1316	101.2
Z-126	10	495	49.5
BIBW2992	88	29	0.33
对比化合物 1	13	478	36.77
对比化合物 2	277	6659	24
对比化合物 3	437	2967	6.8

表 7 化合物对 NIH3T3 细胞的毒性测试结果

化合物编号	NIH3T3 细胞 MTT 测试 (IC ₅₀ /nM)	化合物编号	NIH3T3 细胞 MTT 测试 (IC ₅₀ /nM)
Z-19	4514	Z-110	6835
Z-89	4038	Z-111	4012
Z-55	5424	Z-112	>10000
Z-90	>10000	Z-113	5321
Z-91	>10000	Z-114	8282
Z-93	>10000	Z-115	>10000
Z-94	>10000	Z-116	>10000
Z-95	>10000	Z-117	>10000
Z-98	4356	Z-118	3325
Z-99	5989	Z-121	8531
Z-100	3876	Z-123	4737
Z-101	3426	Z-124	3244
Z-105	9356	Z-125	4656
Z-108	3616	Z-126	4907
Z-109	6005	BIBW2992	2750
对比化合物 1	3552		

从表 4 和表 6 可以看出, 本发明的示例化合物对 EGFR 突变型细胞(H1975 细胞)表现出较强的抑制活性, 而对 EGFR 野生型细胞(A431 细胞)表现出较弱抑制活性, 与阳性对照物 BIBW2992 相比, 本发明的化合物对 EGFR 突变型细胞生长具有明显的选择抑制活性。并且大部分示例化合物对 EGFR 突变型细胞生长的选择抑制活性均超过了对比化合物 1、2 和 3。选择性最高对比化合物 1 提高至近 4 倍。而研究发现将 A 换成吡啶环或喹啉环后, 对 H1975 细胞活性和对细胞生长的选择抑制活性明显降低。

从表 5 和表 7 可以看出, 本发明的示例化合物对 NIH3T3 细胞具有较高的 IC₅₀ 值, 因此显示出较小的毒性。

测试例 3: EGFR T790M 抑制剂细胞活性 ELISA 法测定

以下方法中的试剂、溶液的配置方法以及细胞处理和裂解液制备步骤、ELISA 检测步骤均按照 R&D DYC3570, R&D DYC1095E 以及 R&D DYC1095BE 的说明书进行操作。

一、试剂和溶液

细胞裂解缓冲液: 1% NP-40, 20 mM Tris (pH 8.0), 137 mM NaCl, 10% glycerol, 1 mM NaVO₃, 2 mM EDTA。

细胞裂解液: 细胞裂解缓冲液 + 10 µg/mL 抑肽酶(Aprotinin) (Sigma), 10 µg/mL 亮抑蛋白肽酶(Leupeptin) (Sigma), 现配现用。

1 x PBS 缓冲液: NaCl: 0.137 M, KCl: 0.0027 M, Na₂PO₄-12H₂O: 0.01M, KH₂PO₄: 0.0015M, pH7.4。

洗涤缓冲液: 含有 0.05% Tween-20 的 PBS 缓冲液。

检测抗体稀释液: 20 mM Tris, 137 mM NaCl, 0.05% Tween-20, 0.1% BSA, pH 7.2-7.4。

10 封闭液: 含有 1%BSA 的 PBS 缓冲液。

ELISA 试剂盒: R&D DYC3570, R&D DYC1095E 和 R&D DYC1095BE。

二、H1975 细胞

2.1 H1975 细胞处理和裂解液制备

15 (1) 将 H1975 细胞以 1×10^4 /孔的密度种到 96 孔板中, 每孔 90 微升 10%FBS, 1640 培养基, 37°C、5% CO₂ 培养过夜。

(2) 将待测化合物按照 MTT 实验中药物稀释方法稀释, 将 10µL 稀释后的化合物或稀释后的 DMSO 加入到细胞培养板的对应孔中, DMSO 终浓度为 0.5%, 37°C、5% CO₂ 培养 1 小时。以纯 DMSO 处理的细胞培养体系作为细胞对照。

20 (3) 吸掉培养基后加入 100µL 细胞裂解液, 封板模封置于 -80°C 冰箱中过夜。以细胞裂解缓冲液作为空白对照。

2.2 ELISA 检测步骤

按照 R&D DYC1095E 或 R&D DYC1095BE 给定说明书进行操作。

25 (1) R&D 捕获抗体((DYC1095BE 或 DYC1095E))用 PBS 1:180 稀释, 稀释好的抗体 100µL/孔加入 ELISA 反应板(Corning costar 42592), 25°C 摇床包被过夜;

(2) 360µL 洗涤缓冲液洗 3 次;

(3) 加入 300µL 封闭液, 25°C 摇床孵育 2 小时;

(4) 360µL 洗涤缓冲液洗 3 次;

(5) 加入 40µL 细胞裂解缓冲液和 60µL 细胞裂解液, 25°C 摇床孵育 2 小时;

30 (6) 360µL 洗涤缓冲液洗 3 次;

(7) 检测抗体用检测抗体稀释液以试剂盒说明规定比例稀释, 每孔加入 100µL, 25°C 摇床避光孵育 1 小时;

(8) 360µL 洗涤缓冲液洗 3 次;

35 (9) 将 TMB 底物(R&D DY999)中的 A 试剂和 B 试剂以 1:1 进行混合, 每孔 100µL, 25°C 摇床避光孵育 20 分钟;

(10) 2N H₂SO₄ 每孔加入 50µL;

(11) 用酶标仪读板(Thermo Multiskan K3)分别测定细胞对照、空白对照以及药物处理情况下的 OD 450 值和 OD570 值, 并用相同孔的 OD 450 值减去相应 OD570 值分别得到 OD_{细胞}、OD_{空白}和 OD_{药物处理}。

2.3 数据分析

抑制率(%)=100%×(OD_{细胞}-OD_{药物处理})/(OD_{细胞}-OD_{空白})

2.4 将计算得到的抑制率用 XLFIT 5.0 软件计算出 IC₅₀ 值, 参见表 8。

5 三、A431 细胞

3.1 A431 细胞的处理和测试步骤

(1) 将 A431 细胞以 1×10^4 /孔的密度种到 96 孔板中, 每孔 90 微升含有 10%FBS 的 DMEM 培养基 37℃、5% CO₂ 培养过夜。

(2) 将 A431 细胞培养基更换为 90 微升无血清 DMEM 培养基, 继续培养过夜。

10 (3) 将待测化合物按照 MTT 实验中药物稀释方法稀释, 将 10μL 稀释后的化合物或稀释后的 DMSO 加入到细胞培板的对应孔中, DMSO 终浓度为 0.5%, 37℃、5% CO₂ 培养 1 小时。然后在除细胞对照孔外的每孔中加入 10 微升 2μg/L 的 EGF, 在细胞孔加入 10 微升无血清 DMEM 培养 45 分钟; 以不加入 EGF 与药物处理的细胞作为细胞对照, 以不加入药物的只加入 EGF 处理的细胞作为 EGF 对照。

15 (4) 吸掉培养基后加入 100μL 细胞裂解液, 封板模封置于 -80℃ 冰箱中过夜。

3.2 ELISA 检测步骤

参照 R&D DYC3570E 说明书进行操作。

(1) R&D 捕获抗体(DYC3570E)用 PBS 1:180 稀释, 稀释好的抗体 100μL/孔加入 ELISA 反应板(Corning costar 42592), 25℃摇床包被过夜;

20 (2) 360μL 洗涤缓冲液洗 3 次;

(3) 加入 200μL 封闭液, 25℃摇床孵育 2 小时;

(4) 360μL 洗涤缓冲液洗 3 次;

(5) 加入 40μL 细胞裂解缓冲液和 60μL 细胞裂解液, 25℃摇床孵育 2 小时;

(6) 360μL 洗涤缓冲液洗 3 次;

25 (7) 检测抗体用检测抗体稀释液以试剂盒说明规定比例稀释, 每孔加入 100μL, 25℃摇床避光孵育 1 小时;

(8) 360μL 洗涤缓冲液洗 3 次;

(9) 将 TMB 底物(R&D DY999)中的 A 试剂和 B 试剂以 1:1 进行混合, 每孔 100μL, 25℃摇床避光孵育 20 分钟;

30 (10) 2N H₂SO₄ 每孔加入 50μL;

(11) 用酶标仪读板(Thermo Multiskan K3)分别测定细胞对照、空白对照以及药物处理情况下的 OD₄₅₀ 值和 OD₅₇₀ 值, 并用相同孔的 OD₄₅₀ 值减去相应 OD₅₇₀ 值分别得到 OD_{EGF}、OD_{药物}、OD_{细胞}。

3.3 数据分析

35 抑制率(%)=100%×(OD_{EGF}-OD_{药物})/(OD_{EGF}-OD_{细胞})

3.4 将计算得到的抑制率用 XLFIT 5.0 软件计算出 IC₅₀ 值, 参见表 8。

表 8 细胞活性 ELISA 法测定结果

化合物编号	H1975 细胞 (IC ₅₀ /nM)	A431 细胞 (IC ₅₀ /nM)	对细胞水平靶点的选择抑制活性 [IC ₅₀ (A431 细胞)/ IC ₅₀ (H1975 细胞)]
Z-1	30	471	15.7

Z-6	34	194	5.7
Z-16	10	153	15.3
Z-20	22	167	7.6
Z-21	11	113	10.3
Z-22	23	1233	53.6
Z-27	44	955	21.7
Z-37	57	481	8.4
Z-39	41	660	16.1
Z-40	70	2138	30.5
Z-41	31	954	30.8
Z-54	4	18	4.5
Z-87	31	210	6.8
Z-88	18	449	24.9
Z-17	77	3079	40
Z-19	21	675	32.1
Z-89	15	4790	319.3
Z-55	15	200	13.3
Z-90	34	1693	50
Z-91	90	3277	36.4
Z-93	77	821	10.7
Z-94	16	372	23.3
Z-95	41	4961	121
Z-96	94	969	10.3
Z-97	104	7503	72.1
Z-99	57	663	11.6
Z-100	24	8430	351.2
Z-101	111	3619	32.6
Z-102	11	1024	93.1
Z-105	28	181	6.5
Z-106	12	193	16.1
Z-107	55	855	15.5
Z-109	85	434	5.1
Z-112	77	486	6.3
Z-113	99	2254	22.8
Z-115	90	469	5.2
Z-117	18	164	9.1
Z-125	47	291	6.2
Z-126	20	229	11.5
BIBW2992	21	5	0.24
对比化合物 1	29	114	3.9
对比化合物 2	241	199	0.83
对比化合物 3	1139	3113	2.7

从表 8 可以看出, 与阳性对照物 BIBW2992 相比, 本发明的示例化合物对细胞水平靶点具有明显的选择抑制活性。并且与对比化合物 1、2 和 3 相比, 对细胞水平靶点的选择抑制活性最高提高至 90 倍。而研究发现将 A 换成吡啶环或喹啉环后, 对 H1975 细胞活性和细胞水平靶点的选择抑制活性明显降低, 甚至没有选择抑制活性。

5 从体外酶、细胞生长抑制实验显示, 本发明化合物对 EGFR 突变型酶、细胞表现出较强的抑制活性, 而对 EGFR 野生型酶、细胞表现出较弱抑制活性, 因此对 EGFR 突变株细胞具

有较好的选择性；细胞毒性实验中对 NIH-3T3 细胞有极弱的抑制作用，故表现出较低的细胞毒性；因此此类化合物对 T790M 突变的 EGFR 有较好的选择抑制活性和较低的细胞毒性。

测试例 4：大鼠或小鼠体内试验

应用 LC/MS/MS 法测定了大鼠或小鼠分别灌胃和静注给予实施例化合物后不同时刻血浆中的药物浓度，研究本发明化合物在大鼠或小鼠体内的药代动力学行为，评价其药动学特征。

实验方案：

试验动物：健康成年雄性 SD 大鼠(体重 200-300g, 6 只, 禁食)或雄性 CD1 小鼠(体重 20-30g, 18 只, 自由饮水和饮食)，由斯莱克公司提供；

给药方式与剂量：给予 SD 大鼠足背静脉给药(1 mg/kg, 5 mL/kg, 5% DMAC(二甲基乙酰胺), 5% Solutol HS 15(聚乙二醇硬脂酸脂 15)和 90%盐水和灌胃给药(20 mg/kg, 10 mL/kg, 0.5% CMC-Na 水溶液)；给予 CD1 小鼠尾静脉给药(1 mg/kg, 5 mL/kg, 5% DMAC, 5% Solutol HS 15 和 90% Saline)和灌胃给药(5 mg/kg, 10 mL/kg, 0.5% CMC-Na 水溶液)

血样采集：首先对给药前挑选符合实验要求的动物，称重标记。采集血样前，绑定大鼠或小鼠，每一只给药的大鼠在预定的采血时间点(静脉给药：分别于给药前，给药后的 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24h 采血,共 9 个时间点；灌胃给药：分别于给药前，给药后的 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24h 采血,共 9 个时间点)，通过尾静脉采血，或经心脏采血(终末采血)约 150 μ L。每一只给药的小鼠在预定的采血时间点(尾静脉给药于 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24 采血,共 8 个时间点；灌胃给药：于 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24h 采血,共 7 个时间点)，通过眼眶采血，或经心脏采血(终末采血)约 150 μ L。血液转移至预先加入 K₂EDTA 的 1.5 mL 试管中。采完的血样放在湿冰上，离心 5 min (2000 g, 4℃)，取出血浆，整个过程在采血后 15 min 内完成。所有的样品都需要存放于 -70℃ 冰箱直到样品分析。

应用 LC/MS/MS 法测定药物浓度，本发明部分实施例化合物在相同剂量和给药方式下，大鼠和小鼠体内的药代动力学性质参数如表 9 所示：

表 9 化合物在大鼠和小鼠体内药代动力学参数

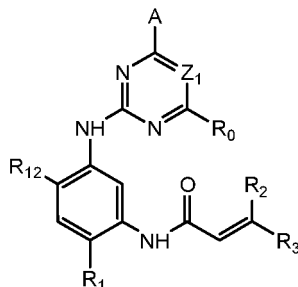
	大鼠			小鼠		
	Z-89	Z-90	对比化合物 1	Z-89	Z-90	对比化合物 1
清除率 CL (mL/min/kg)	43.5	43.9	54.3	47.7	65.5	89.0
半衰期 T _{1/2} (hr)	7.05(IV)	7.02(IV)	8.28(IV)	4.43(IV)	4.65(IV)	1.99(IV)
口服相对生物利用度 F	102%	92.6%	18.5%	59.7%	66.4%	30.2%
最高血药浓度 C _{max} (ng/mL)	437	408	118	85.3	90.6	67.9
曲线下面积 AUC (hr*ng/mL)	7190	6478	1119	1037	657	272

从表 9 可以看出，本发明示例化合物的药代吸收好，具有明显的药代吸收效果，同时表现出良好的生物利用度。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

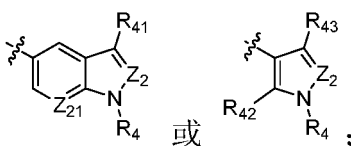
权 利 要 求

1. 一种结构如式(I)所示的化合物, 或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药,



(I)

式中,



A 为选自下组中的任意一种:

其中, Z_2 为 CR_5 或 N; R_5 为氢、卤素、三氟甲基或 C_{1-10} 烷氧基;

Z_{21} 为 N 或 CH ;

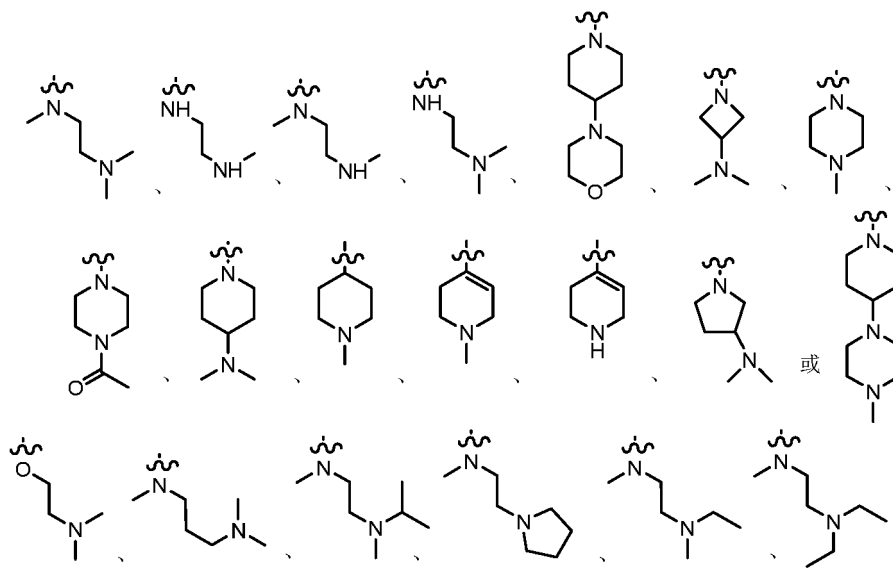
R_4 、 R_{42} 、 R_{43} 各自独立地为氢或 C_{1-10} 烷基、 C_{3-10} 环烷基、 C_{3-10} 杂环烷基、或卤代的 C_{1-10} 烷基;

R_{41} 为氢、卤素、三氟甲基、 C_{1-10} 烷基或 C_{1-10} 烷氧基;

R_0 为氢、卤素、 C_{1-10} 烷基、 $-NR_aR_b$ 或 $-CO-NR_aR_b$, 其中 R_a 、 R_b 各自独立地为 C_{1-10} 烷基;

Z_1 为 CR_6 或 N; 其中, R_6 为氢、卤素、三氟甲基、甲氧基或 $-CO_2C_{1-10}$ 烷基;

R_1 为氢, 或选自下组中的任意一种:

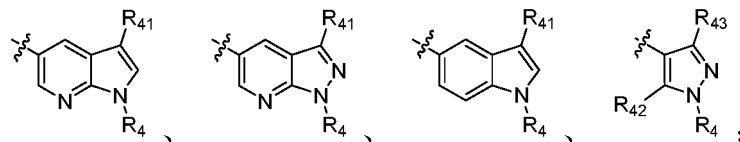


R_2 和 R_3 各自独立地为氢或 $-CH_2NR_7R_8$; 其中, (1) R_7 、 R_8 各自独立地为氢或甲基; 或(2) R_7 、 R_8 和相连的氮原子共同形成 5-6 元含氮饱和杂环;

R_{12} 为氢、卤素、 C_{1-10} 烷基或 C_{1-10} 烷氧基。

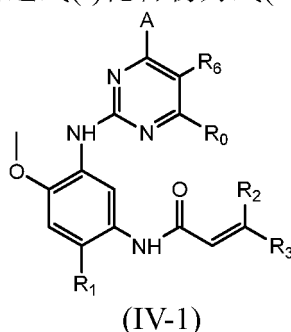
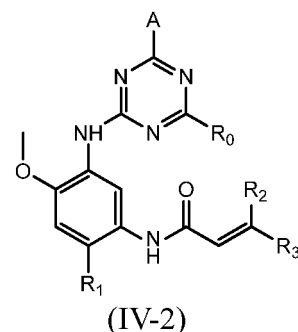
2. 如权利要求 1 所述的化合物, 或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前

药, 其中, A 为选自下组中的任意一种:



其中, R_4 、 R_{41} 、 R_{42} 、 R_{43} 如权利要求 1 中所定义。

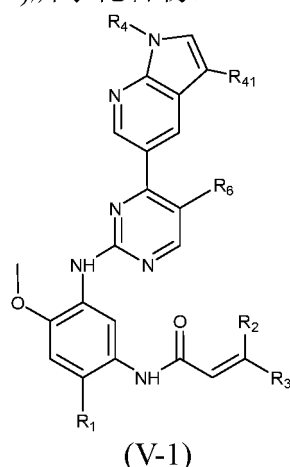
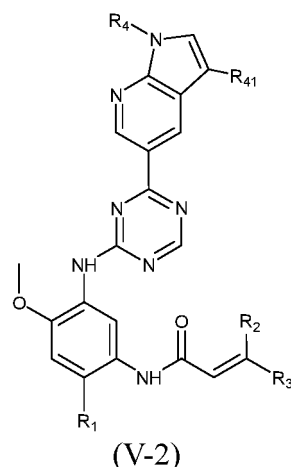
3. 如权利要求 1 所述的化合物, 或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药, 其中, 所述式(I)化合物为式(IV-1)或式(IV-2)所示化合物:



式(IV-1)中, A、 R_0 、 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_6 如权利要求 1 中所定义;

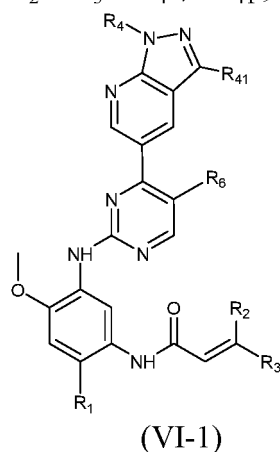
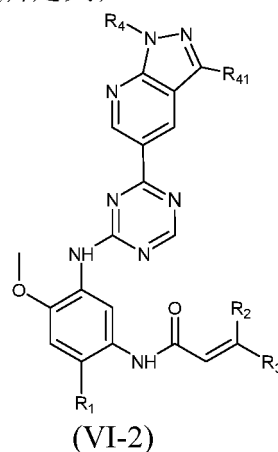
式(IV-2)中, A、 R_0 、 R_1 、 R_2 和 R_3 如权利要求 1 中所定义。

4. 如权利要求 1 所述的化合物, 或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药, 其中, 所述式(I)化合物为式(V-1)、式(V-2)、式(VI-1)、式(VI-2)、式(XI-1)、式(XI-2)、式(XII-1)或式(XII-2)所示化合物:



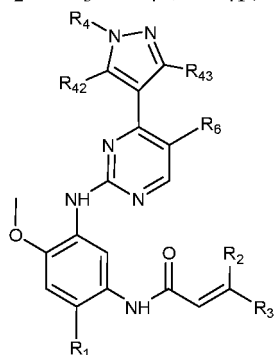
式(V-1)中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{41} 和 R_6 如权利要求 1 中所定义;

式(V-2)中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_{41} 如权利要求 1 中所定义;

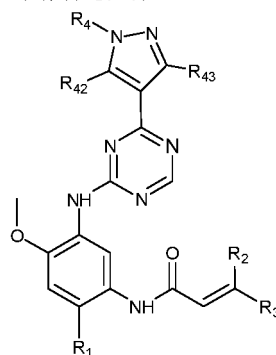


式(VI-1)中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{41} 和 R_6 如权利要求 1 中所定义;

式(VI-2)中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_{41} 如权利要求 1 中所定义;



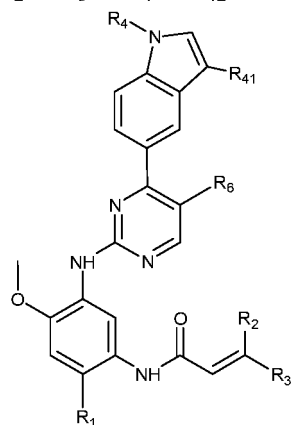
(XI-1)



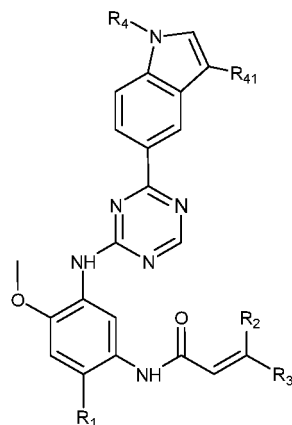
(XI-2)

5 式(XI-1)中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{42} 、 R_{43} 和 R_6 如权利要求 1 中所定义;

式(XI-2)中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{42} 和 R_{43} 如权利要求 1 中所定义;



(XII-1)

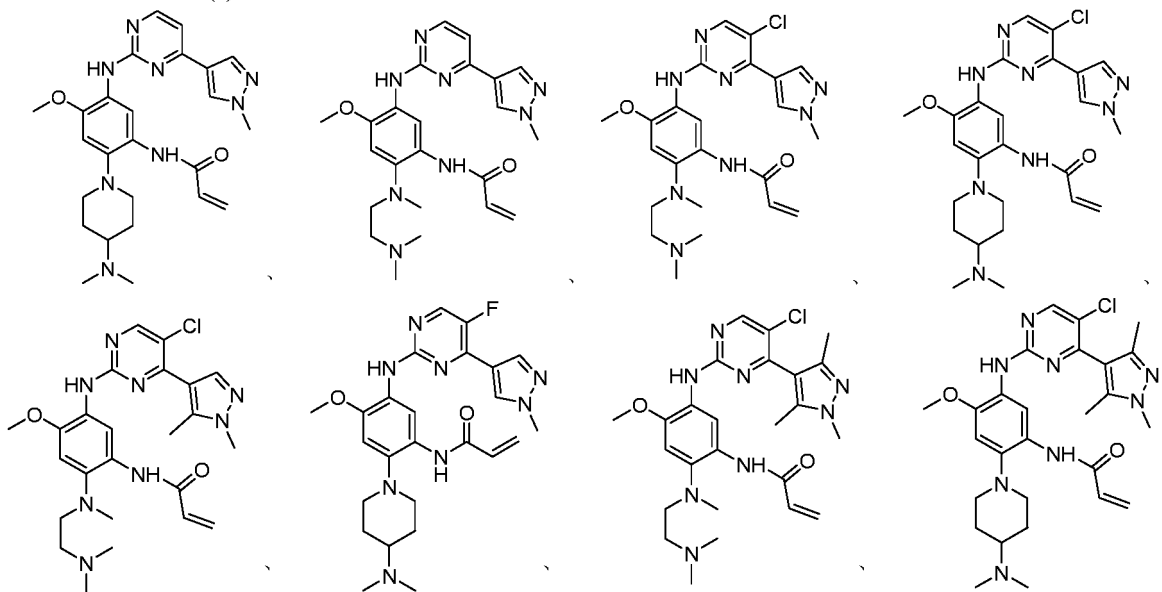


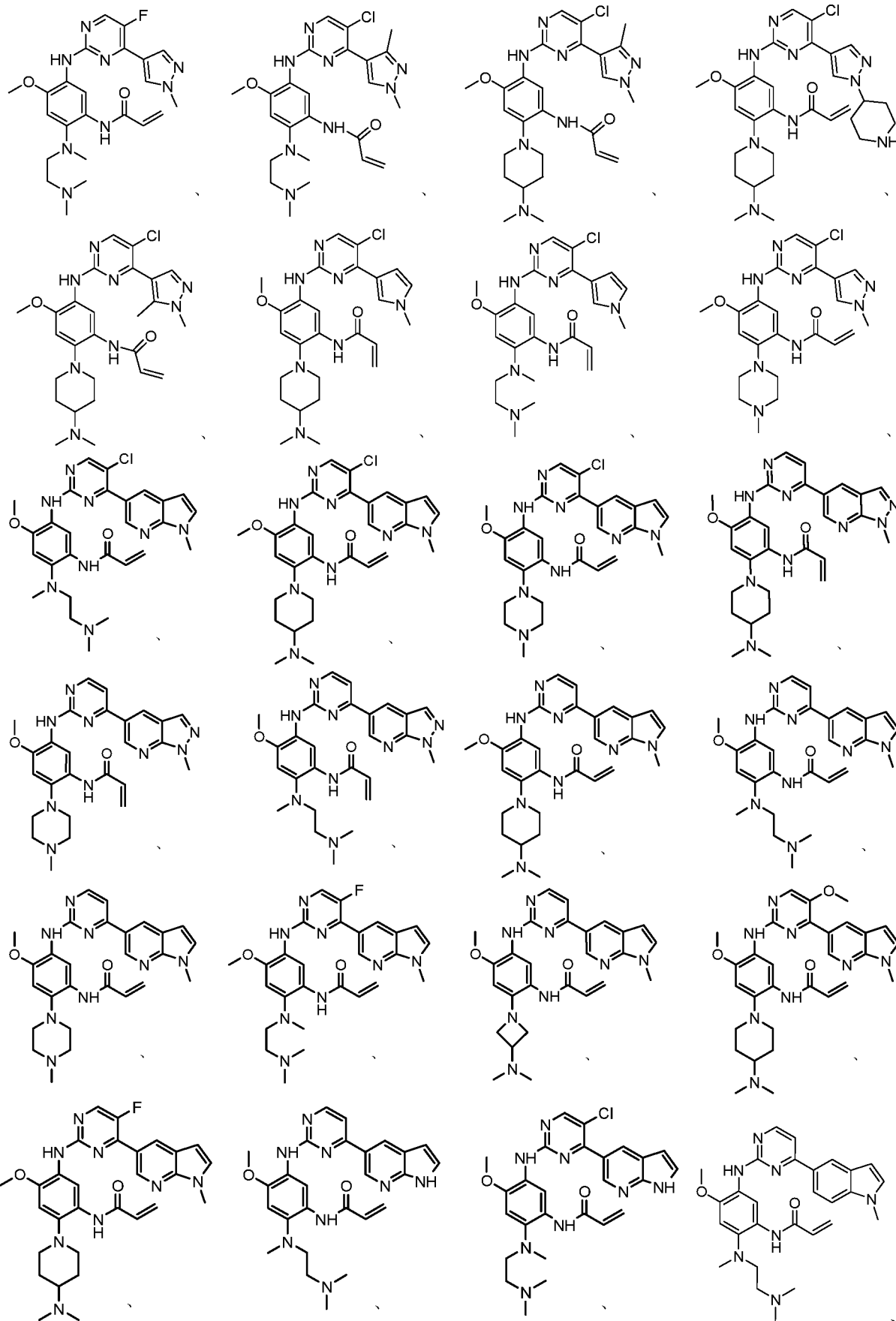
(XII-2)

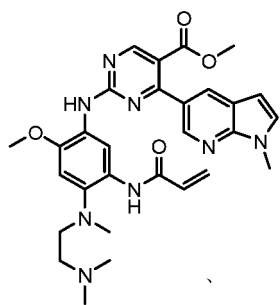
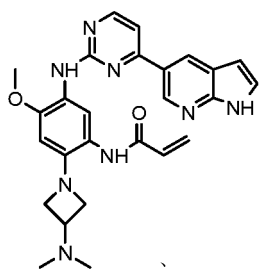
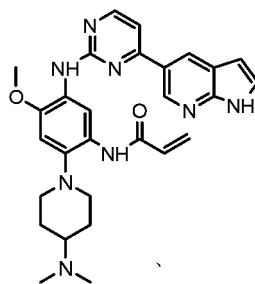
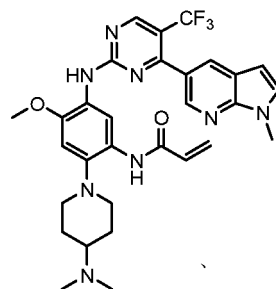
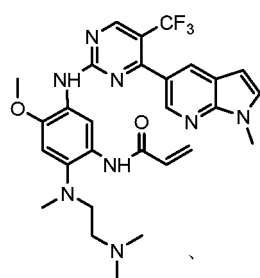
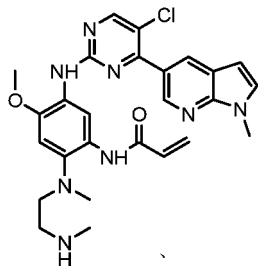
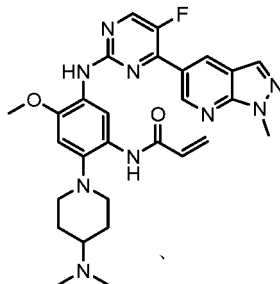
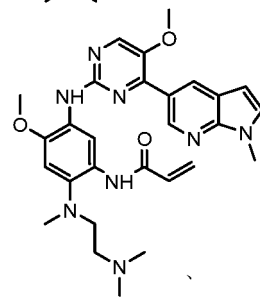
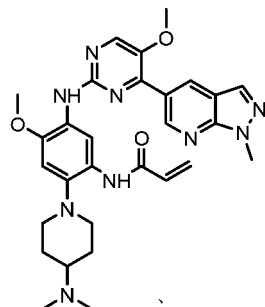
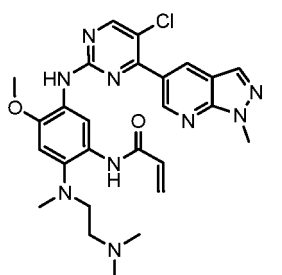
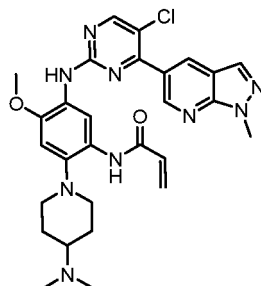
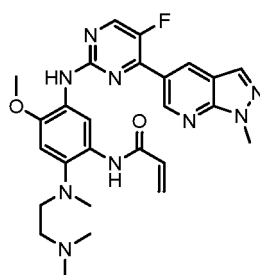
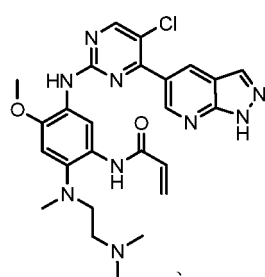
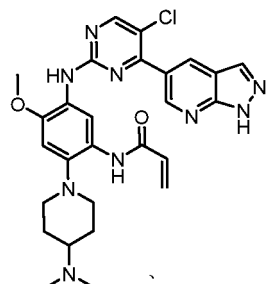
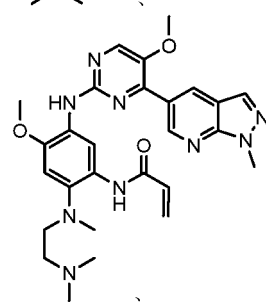
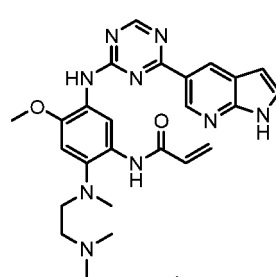
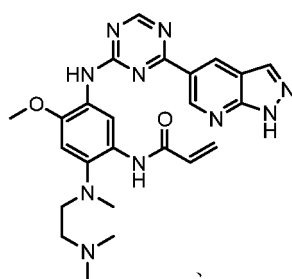
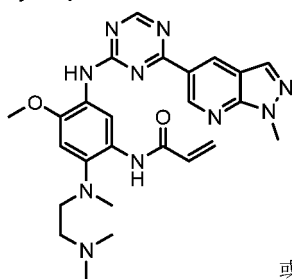
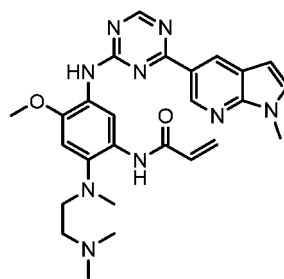
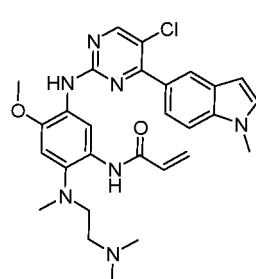
式(XII-1)中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{41} 和 R_6 如权利要求 1 中所定义;

10 式(XII-2)中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_{41} 如权利要求 1 中所定义。

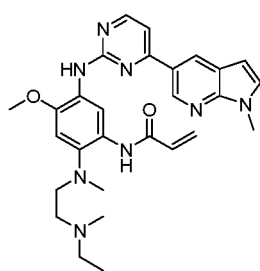
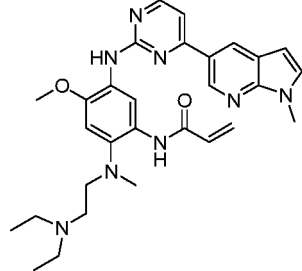
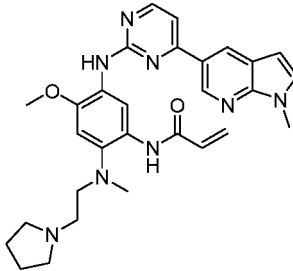
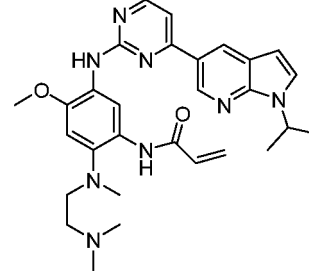
5. 如权利要求 1 所述的化合物, 或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药, 其中, 所述式(I)化合物为选自下组的化合物:

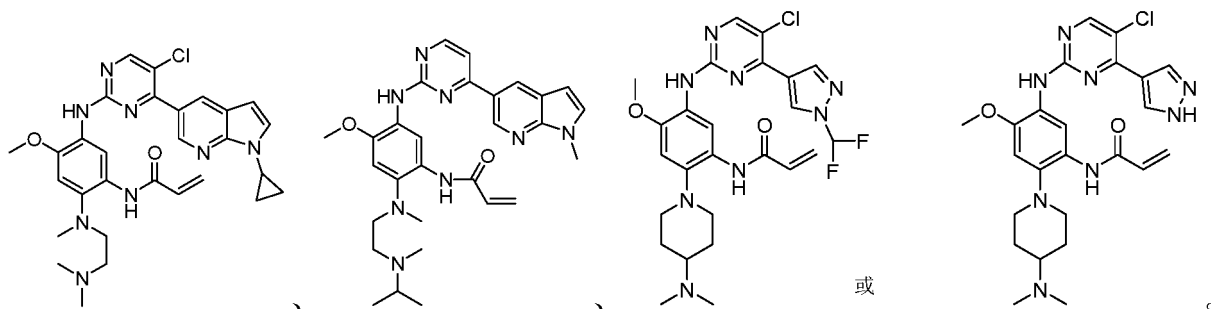






或





6. 一种药物组合物, 所述药物组合物包括: 权利要求 1-5 中任一权利要求所述的化合物, 或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药; 以及药学可接受的载体。

7. 权利要求 1-5 中任一权利要求所述的化合物, 或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药在制备调控 EGFR 酪氨酸激酶或者治疗 EGFR 相关疾病的药物中的应用。

8. 如权利要求 7 所述的应用, 其中, 所述的 EGFR 相关疾病选自下组: 癌症、糖尿病、免疫系统疾病、神经退行性疾病、心血管疾病、使用 EGFR 调节剂治疗期间具有获得性耐药性的疾病。

9. 如权利要求 8 所述的应用, 其中, 所述获得性耐药性的疾病是由 EGFR 外显子 20 编码的 T790 突变所引起的或者是包含 EGFR 外显子 20 编码的 T790 突变所引起的。

10. 一种药用组合物, 所述药用组合物包括: 权利要求 1-5 中任一权利要求所述的化合物、或其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物或其前药; 以及其它药物, 所述其它药物为选自下组的一种或多种: 吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼、拉帕替尼、XL647、NVP-AEE-788、ARRY-334543、EKB-569、BIBW2992、HKI272、BMS-690514、CI-1033、凡德他尼、PF00299804、WZ4002、西妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕尼突单抗、马妥珠单抗、尼妥珠单抗、扎鲁木单抗、帕妥珠单抗、MDX-214、CDX-110、IMC-11F8、Zemab、Her2 疫苗 PX 1041、HSP90 抑制剂、CNF2024、坦螺旋霉素、阿螺旋霉素、IPI-504、SNX-5422、NVP-AUY922、或其组合。