



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112939967 B

(45) 授权公告日 2024. 08. 27

(21) 申请号 201911266900.X

(22) 申请日 2019.12.11

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112939967 A

(43) 申请公布日 2021.06.11

(73) 专利权人 深圳众格生物科技有限公司
地址 518017 广东省深圳市福田区福保街
道福保社区红柳道2号289数字半岛1
层C101

(72) 发明人 程辉敏 方磊 温晓明 刘志强
陈誉 马松龄 陈萍 齐珍珍
牛春意 张佩宇 赖力鹏 马健
温书豪

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
有限公司 11038

专利代理师 闫业超

(51) Int.Cl.
C07D 471/04 (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/4995 (2006.01)
A61K 31/5386 (2006.01)
A61K 31/55 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 108349969 A, 2018.07.31
CN 110382494 A, 2019.10.25

审查员 蒋维

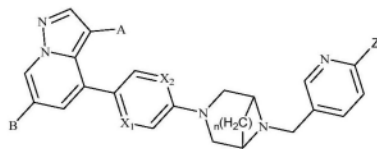
权利要求书3页 说明书66页

(54) 发明名称

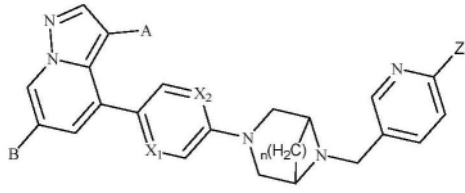
吡啶并[1,5-a]吡啶类化合物及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及一种吡啶并[1,5-a]吡啶类化合物及其制备方法和应用,包括所述化合物作为活性成分的药物组合物或其药学上可接受的盐。本发明进一步涉及式(I)化合物在用于治疗 and 预防可用RET激酶抑制剂治疗的疾病,包括由RET激酶介导的疾病或病症。



1. 式I化合物或其药学上可接受的盐；



I

其中，

A选自-CN；

B选自下组： $-O-(L_1)_{m_1}-R_8$ 、 $-NR_{10}R_{11}$ ；

其中， L_1 独立地选自： $-CR_fR_g-$ ； R_f 和 R_g 各自独立地选自H；

X_1 为CH或N， X_2 为N；

Z选自C1-C6烷氧基；

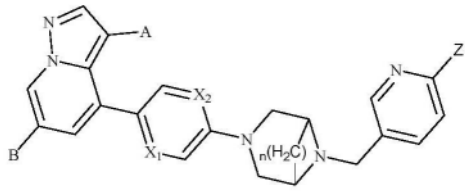
R_8 选自取代或未取代的下组基团：5-12元饱和稠合杂双环、7-12元饱和螺杂双环；其中，所述取代是指被1、2、3或4个选自下组的基团取代：H、氧代(=O)、C1-C6烷基；杂原子选自氧或氮；

R_{10} 为H、C1-C6烷基； R_{11} 选自取代或未取代的C1-C6烷基；所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代：6元杂芳基，所述杂芳基含有的杂原子为氮；

n为0, 1, 2；

m_1 为1、2、3、4、5或6。

2. 式I化合物或其药学上可接受的盐；



I

B为 R_7 ，A选自下组： $-COOR_1$ 、 $-CONR_2R_3$ 、 $-NHCOR_4$ ；

其中， R_7 为取代或未取代的5-6元杂芳基；其中，所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代：C1-C6烷基；所述杂芳基含有的杂原子为氮；

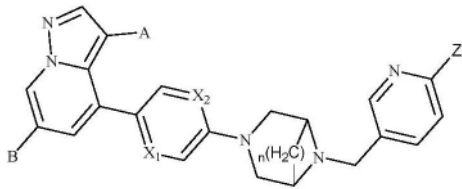
R_1 选自C1-C6烷基； R_2 选自H； R_3 选自H或甲基； R_4 选自C1-C6烷基；

X_1 为CH或N， X_2 为N；

Z选自C1-C6烷氧基；

n为0。

3. 式I化合物或其药学上可接受的盐；



I

A为CN, B选自下组: $-(L_2)_{m_2}-R_{12}$ 、 $-(L_2)_{m_2}-NR_{10}R_{11}$;

其中, L_2 选自 $-O-CO-$;

R_{12} 独立地选自取代或未取代的4-7元饱和环杂烷基, 所述环杂烷基含有的杂原子选自氮、氧; 所述取代是指被选自下组的一个或多个基团: C1-C6烷基;

R_{10} 和 R_{11} 各自独立选自H、C1-C6烷基; 或者, R_{10} 和 R_{11} 与相连的N一起构成4-7元的取代或未取代的饱和杂环, 所述杂环含有的杂原子选自氮、氧; 所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代: C1-C6烷基;

X_1 为CH或N, X_2 为N;

Z选自C1-C6烷氧基;

n为1;

m_2 为1。

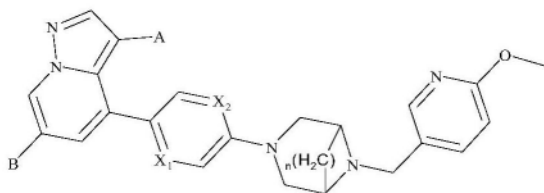
4. 如权利要求2所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_4 选自C1-C3烷基。

5. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, $-(L_1)_{m_1}-$ 选自: $-(CH_2)_2-$ 。

6. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_8 选自取代或未取代的下组基团: 5-12元饱和稠合杂双环或7-12元饱和螺杂双环, 所述杂双环含有1-3个N原子和0、1或2个O原子作为环原子, 杂双环中的N原子与 L_1 部分相连; 其中, 所述取代是指被1、2、3或4个选自下组的基团取代: H、氧代(=O)、C1-C6烷基。

7. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_{10} 为H、C1-C3烷基; R_{11} 选自取代或未取代的C1-C3烷基; 所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代: 6元杂芳基, 所述杂芳基含有的杂原子为氮。

8. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 所述化合物具有式II所示的结构;



II

其中, A为-CN;

B为 $NR_{10}R_{11}$, 其中, R_{10} 为H、C1-C6烷基; R_{11} 选自取代或未取代的C1-C6烷基; 所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代: 6元杂芳基, 所述杂芳基含有的杂原子为氮;

X_1 为CH或N, X_2 为N;

n为0, 1, 2。

9. 如权利要求8所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, B选自下组: $-NH-C1-C6$ 烷

基。

10. 一种药物组合物,其包含如权利要求1至9任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,和药用载体或稀释剂。

11. 一种如权利要求1至9中任一项所述的化合物或如权利要求10所述的药物组合物在制备用于抑制癌细胞或受试者中的RET激酶活性的药物中的用途。

12. 如权利要求11所述的用途,其中,所述药物用于治疗与RET相关疾病与下述失调:RET基因、RET激酶、或其中任何一者的表达或活性或水平失调。

吡唑并[1,5-a]吡啶类化合物及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于药物领域,具体涉及吡唑并[1,5-a]吡啶类化合物及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 转染重排 (RET) 激酶是一种单次跨膜的受体酪氨酸激酶,对肾脏、肠神经系统的发育,神经、内分泌、造血、雄性生殖系统等的稳态维持具有重要作用。RET的结构分为胞外区、跨膜区和胞内激酶区。其配体神经营养因子 (GDNF) 家族不直接与RET结合,而是先与GDNF家族受体 α 形成复合物GFL-GFR α ,继而催化RET同源二聚,使RET在胞内区域自磷酸化,继而招募衔接蛋白和通路蛋白来激活包括MAPK、PI3K、JAK-STAT、PKA和PKC在内的多种信号通路,从而参与细胞增殖、神经传导、细胞迁移和细胞分化(Alexander Drilon, Nature Reviews Clinical Oncology, 2018, 15:151-167)。

[0003] 编码RET蛋白的基因位于人类10号染色体长臂,其异常(基因融合、突变等)可引起多种疾病,包括甲状腺乳头状癌(PTC)、甲状腺髓样癌(MTC)、先天性巨结肠、肺腺癌,肠易激综合征等。

[0004] RET基因的染色体重排可能导致RET基因断裂,断裂后RET基因的3'端可以与KIF5B、TRIM33、CCDC6或NCOA4等不同的基因发生融合,形成融合基因,表达的融合蛋白表现为持续激活,驱动肿瘤的发生。据报道,RET基因融合存在于约10-20%的PTC患者中,主要为CCDC6-RET以及NCOA4-RET融合。约1%~2%的肺腺癌患者的体内存在RET融合基因,主要为KIF5B-RET、CCDC6-RET、TRIM33-RET、NCOA4-RET这四种,其中KIF5B-RET最为常见(Rose11 R, and Karachaliou N, Lancet Oncol., 2016, 17:1623-1625)。

[0005] 点突变导致的RET基因激活突变可引起多发性内分泌腺瘤2型(MEN2)的发生,表现为甲状腺、肾上腺髓质和甲状旁腺内神经内分泌细胞的增生或肿瘤(Mulligan LM, Nat Rev Cancer., 2014, 14:173-86)。约60%的MTC患者存在RET突变。

[0006] 因此,可抑制基因融合或突变RET激酶的化合物对于RET驱动肿瘤的预防和治疗是非常有用的。

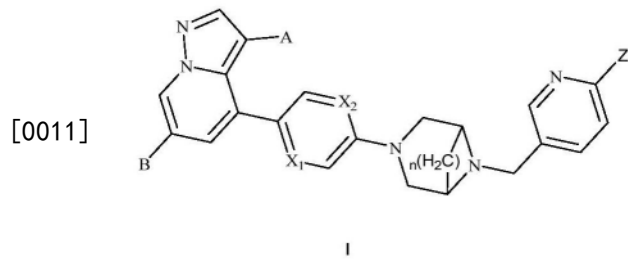
[0007] 数个多靶点激酶抑制剂对RET有一定的抑制活性,如卡博替尼(Cabozantinib)、凡德他尼(Vandetanib)、乐伐替尼(Lenvatinib)和普纳替尼(Ponatinib),但均为非特异性的RET抑制剂。此外,由于RET与VEGFR2的激酶结构域存在大量的同源,因此这些化合物除了抑制RET,还对于包括VEGFR2在内的多个靶点都有一定抑制作用,这导致脱靶毒性风险高,难以发挥令人满意的疗效。

[0008] 因此,本领域迫切需要开发高特异性的、高效抑制RET激酶的药物。

发明内容

[0009] 本发明的目的是提供一类新型的具有RET激酶抑制活性和/或具有更好药效学/药代动力学性能的化合物及其用途。

[0010] 本发明的第一方面,提供了一种式I化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、同位素化合物或前药;



[0012] 其中,

[0013] A选自下组: -CN、-COOR₁、-CONR₂R₃、-NHCOR₄或-NHCONR₂R₃;

[0014] B选自下组: R₇、-O-(L₁)_{m1}-R₈、-OCOR₉、-NR₁₀R₁₁、-COOR₁₂、-CONR₁₀R₁₁、-(L₂)_{m2}-R₁₂、-(L₂)_{m2}NR₁₀R₁₁;其中,各L₁独立地选自下组: -CR_fR_g-、-CO-;各L₂独立地选自下组: -CR_fR_g-、-CO-;

[0015] X₁和X₂各自独立地为CR或N;其中,R选自取代或未取代的下组基团: C1-C6烷基、H、卤素或氰基;其中,所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代: C1-C6烷基、卤素、氰基、羟基、氨基;

[0016] Z选自取代或未取代的下组基团: C1-C6烷基、C1-C6烷氧基、C1-C6卤烷基、C3-C8环烷基、C3-C8环烷氧基、C1-C6卤代烷氧基、C1-C6烷氨基、C1-C6烷硫基;其中,所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代: C1-C6烷基、卤素、氰基、羟基、氨基;

[0017] R₁、R₂、R₃和R₄各自独立地选自取代或未取代的下组基团: H、C1-C6烷基、C3-C8环烷基、3-8元环杂烷基、C2-C6烯基、C5-C10芳基或5-10元杂芳基;或者R₂和R₃与其连接的N原子一起构成取代或未取代的3-12元杂环基;其中,所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代: C1-C6烷基、卤素、氰基、羟基、氨基;

[0018] R₇为取代或未取代的5-10杂芳基;其中,所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代: C1-C6烷基、卤素、氰基、羟基、氨基;

[0019] R₈选自取代或未取代的下组基团: E-C1-C6烷基-、C5-C12稠合双环、5-12元稠合杂双环、C5-C12元螺双环或5-12元螺杂双环,E选自下组: -CN、-COOR₁、-OCOR₁、-CONR₂R₃、-NHCOR₄或-NHCONR₂R₃;其中,所述取代是指被1、2、3或4个选自下组的基团取代: H、氧代(=O)、卤素、氰基、羟基、C1-C6烷基、C3-C8环烷基、C1-C6卤烷基、C1-C6烷氧基、C3-C8环烷氧基、C1-C6卤烷氧基、C1-C6烷氨基、C1-C6烷硫基;

[0020] R₉选自取代或未取代的下组基团: C1-C6烷氧基、C1-C6卤烷氧基、-NR₁₀R₁₁、-(L₃)_{m3}-3-8元环杂烷基、-(L₃)_{m3}-C5-C10芳基、-(L₃)_{m3}-5-10元杂芳基,其中,各L₃独立地选自下组: -CR_fR_g-、-NR_h-;其中,所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代: C1-C6烷基、卤素、氰基、羟基、氨基;

[0021] R₁₀和R₁₁各自独立选自取代或未取代下组基团: H、C1-C6烷基、-(L₂)_{m2}N-Q₁Q₂、C3-C8环烷基、3-8元环杂烷基、C6-C10芳基、5-10元杂芳基;或者,R₁₀和R₁₁与相连的N一起构成3-12元的取代或未取代的杂环,所述杂环含有1-3个N原子和0、1或2个O或S原子;其中,Q₁、Q₂各自独立选自: H、取代或未取代的C1-C6烷基,或者Q₁和Q₂与相连的N构成一个3-10元的取代或未取代的杂环,所述杂环含有1-3个N原子和0、1或2个O或S原子;其中,所述取代是指被选自

下组的一个或多个基团取代：C1-C6烷基、氰基、卤素、羟基、C3-C8环烷基、3-8元环杂烷基、C6-C10芳基、5-10元杂芳基；

[0022] 各 R_{12} 独立地选自取代或未取代的下组基团：C1-C6烷基、C3-C8环烷基、3-8元环杂烷基、C6-C10芳基、5-10元杂芳基；其中，所述取代是指被选自下组的一个或多个基团：C1-C6烷基、氰基、卤素、羟基、C3-C8环烷基、3-8元环杂烷基、C6-C10芳基、5-10元杂芳基；

[0023] R_f 和 R_g 各自独立地选自下组：H、卤素、C1-C4烷基、C1-C4卤代烷基、OH、 $-NH_2$ 、C3-C6环烷基；

[0024] R_h 独立地选自下组：H、C1-C4烷基、C1-C4卤代烷基、C3-C6环烷基；

[0025] n为0, 1, 2；

[0026] m_1 为1、2、3、4、5或6；

[0027] m_2 为1、2、3、4、5或6；

[0028] m_3 为0、1或2；

[0029] 限定条件为，当B为 R_7 时，A选自下组： $-COOR_1$ 、 $-CONR_2R_3$ 、 $-NHCOR_4$ 、 $-NHCONR_2R_3$ 。

[0030] 在另一优选例中， R_{12} 独立地选自取代或未取代的下组基团：C1-C3烷基、C3-C6环烷基、3-6元环杂烷基、苯基、吡唑、吡啶、呋喃、噻吩、恶唑、异恶唑、三氮唑；其中，所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代C1-C3烷基、氰基、卤素、羟基。

[0031] 在另一优选例中，所述的“ $-(L_2)_{m_2}-$ ”为 $-CH_2-$ ；其中， L_2 、 m_2 的定义如上所述。

[0032] 在另一优选例中，B选自下组： $-NR_{10}R_{11}$ 或 $-(L_2)_{m_2}NR_{10}R_{11}$ ；其中， R_{10} 、 R_{11} 、 L_2 和 m_2 的定义如上所述。

[0033] 在另一优选例中，B选自下组： $-NH-C1-C8$ 烷基或 $-NH-C3-C8$ 环烷基。

[0034] 在另一优选例中，B选自下组： $-O-(L_1)_{m_1}-R_8$ 或 $-OCOR_9$ ，其中， L_1 、 m_1 、 R_8 和 R_9 的定义如上所述。

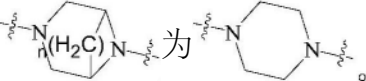
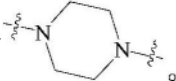
[0035] 在另一优选例中， m_1 为1、2、3或4。

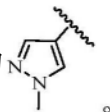
[0036] 在另一优选例中，B选自下组： $-O-(CH_2)_{m_1}-R_8$ ，其中， m_1 为1、2、或3； R_8 的定义如上所述。

[0037] 在另一优选例中，B选自下组： $-COOR_{12}$ 、 $-CONR_{10}R_{11}$ 、 $-(L_2)_{m_2}-R_{12}$ ，其中， R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 L_2 和 m_2 的定义如上所述。

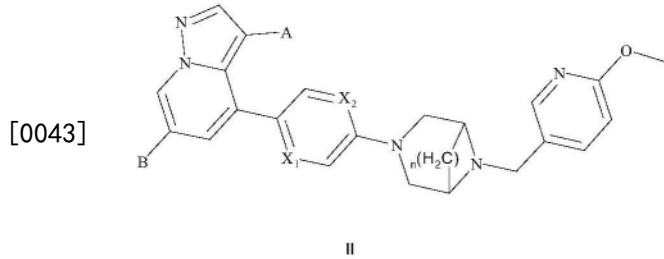
[0038] 在另一优选例中，B选自下组： $-O-(L_1)_{m_1}-R_8$ 、 $-OCOR_9$ 、 $-NR_{10}R_{11}$ ；其中， L_1 、 m_1 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 和 R_{11} 的定义如上所述。

[0039] 在另一优选例中，B为 $-NR_{10}R_{11}$ ，其中， R_{10} 、 R_{11} 各自独立选自取代或未取代下组基团：H、C1-C3烷基、 $-(CH_2)_2N-Q_1Q_2$ 、C3-C6环烷基、3-6元环杂烷基、苯基、吡唑、吡啶、呋喃、噻吩、恶唑、异恶唑、三氮唑；或者， R_{10} 和 R_{11} 与相连的N一起构成3-12元的取代或未取代的杂环，所述杂环含有1-3个N原子和0、1或2个O或S原子； Q_1 、 Q_2 各自独立选自：H、C1-C3烷基；其中，所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代：C1-C3烷基、氰基、卤素、羟基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、苯基、吡唑、吡啶、呋喃、噻吩、恶唑、异恶唑、三氮唑。

[0040] 在另一优选例中，当n为0时，所述的  为 。

[0041] 在另一优选例中, R_7 为 。

[0042] 在另一优选例中, 式I化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、同位素化合物或前药具有式II所述的结构:



[0044] 其中, A、B、 X_1 、 X_2 和n的定义如上所述。

[0045] 在另一优选例中, A选自下组: $-CN$ 、 $-COOR_1$ 、 $-CONR_2R_3$ 、 $-NHCOR_4$ 或 $-NHCONR_2R_3$; 其中, R_1 、 R_2 和 R_3 各自独立地选自下组: H、C1-C6烷基、C3-C8环烷基、3-8元环杂烷基、C2-C6烯基、C5-C10芳基或者5-10元杂芳基; R_4 选自取代或未取代的下组基团: C1-C3烷基、C3-C6环烷基、3-6元环杂烷基、C2-C4烯基、苯基、吡唑、吡啶、呋喃、噻吩、恶唑、异恶唑、三氮唑; 其中, 所述取代是指被C1-C3烷基取代。

[0046] 在另一优选例中, B选自下组: R_7 、 $-O-(L_1)_{m_1}-R_8$ 、 $-NR_{10}R_{11}$ 、 $-CONR_{10}R_{11}$ 、 $-(L_2)_{m_2}-R_{12}$ 、 $-(L_2)_{m_2}NR_{10}R_{11}$;

[0047] 限定条件为, 当B为 R_7 时, A选自下组: $-COOR_1$ 、 $-CONR_2R_3$ 、 $-NHCOR_4$ 、 $-NHCONR_2R_3$;

[0048] 其中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_7 、 L_1 、 L_2 、 m_1 、 m_2 、 R_8 、 R_{10} 、 R_{11} 和 R_{12} 的定义如上所述。

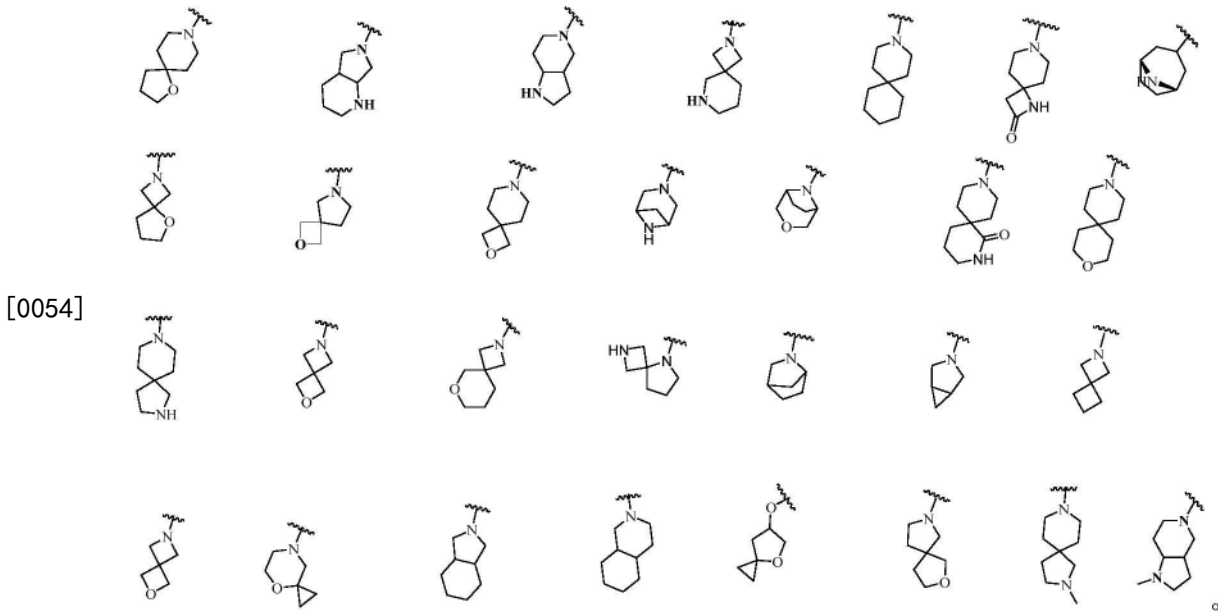
[0049] 在另一优选例中, $-(L_1)_{m_1}-$ 选自下组: $-(CH_2)_2-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-NH-$ 。

[0050] 在另一优选例中, $-(L_2)_{m_2}-$ 选自下组: $-(CH_2)_2-$ 、 $-CO-$ 、 $-O-CO-$ 。

[0051] 在另一优选例中, R_8 选自取代或未取代的下组基团: E-C1-C6烷基-、5-12元稠合杂双环或5-12元螺杂双环, 其中, E选自下组: $-CN$ 、 $-COOR_1$ 、 $-OCOR_1$ 、 $-CONR_2R_3$ 、 $-NHCOR_4$ 或 $-NHCONR_2R_3$; 所述杂双环含有1-3个N原子和0、1或2个O或S原子作为环原子, 杂双环中的N原子与 L_1 部分相连; 其中, 所述取代是指被1、2、3或4个选自下组的基团取代: H、氧代(=O)、卤素、氰基、羟基、C1-C6烷基、C3-C8环烷基、C1-C6卤烷基、C1-C6烷氧基、C3-C8环烷氧基、C1-C6卤烷氧基、C1-C6烷氨基、C1-C6烷硫基; R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 的定义如上所述。

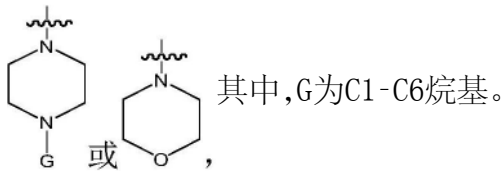
[0052] 在另一优选例中, R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自独立地选自下组: H、C1-C6烷基、C3-C8环烷基、3-8元环杂烷基、C2-C6烯基、C5-C10芳基或者5-10元杂芳基。

[0053] 在另一优选例中, R_8 选自下组:



[0054]

[0055] 在另一优选例中, R_9 选自下组: C1-C3烷氧基、C1-C3卤烷氧基、C1-C3烷基氨基、

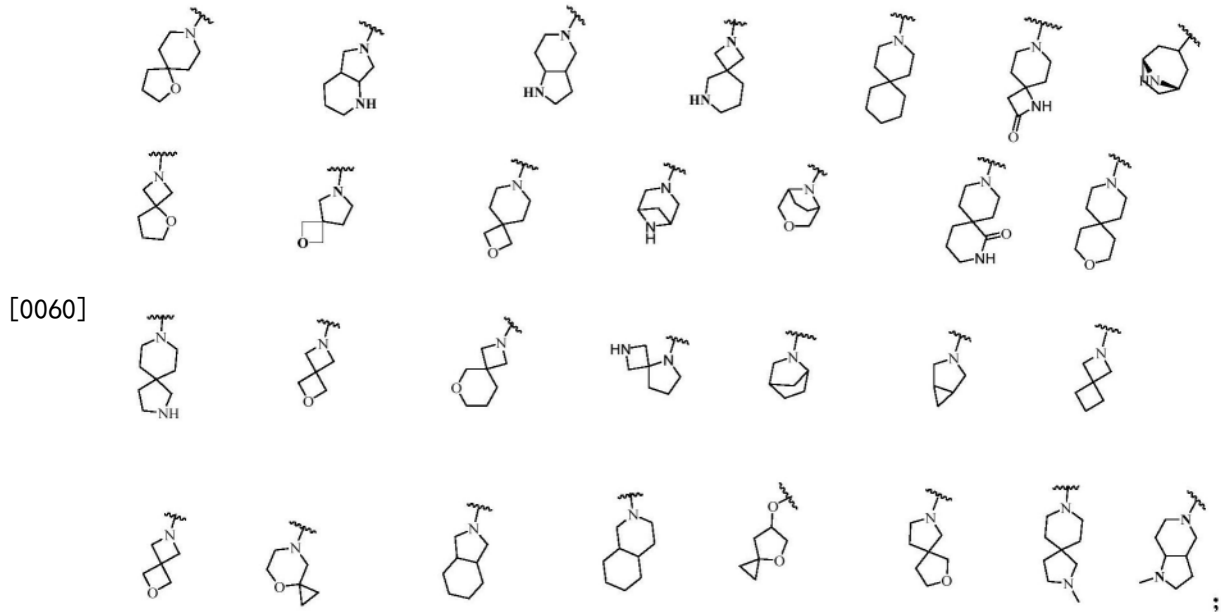


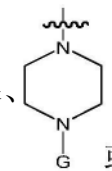
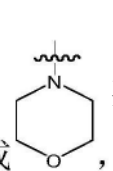
[0056] 在另一优选例中, R_{10} 和 R_{11} 各自独立选自取代或未取代下组基团: H、C1-C3烷基、 $-(CH_2)_2N-Q_1Q_2$ 、C3-C6环烷基、3-6元环杂烷基、苯基、吡唑、吡啶、呋喃、噻吩、恶唑、异恶唑、三氮唑;; 或者, R_{10} 和 R_{11} 与相连的 N 一起构成 3-8 元的取代或未取代的杂环, 所述杂环含有 1-3 个 N 原子和 0、1 或 2 个 O 或 S 原子; 其中, Q_1 、 Q_2 各自独立选自: H、C1-C3烷基; 或者 Q_1 和 Q_2 与相连的 N 构成一个 3-10 元的取代或未取代的杂环, 所述杂环含有 1-3 个 N 原子和 0、1 或 2 个 O 或 S 原子, 所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代 C1-C3 烷基、氰基、卤素、羟基。

[0057] 在另一优选例中, B 选自下组: R_7 、 $-O(CH_2)_mR_8$ 、 $-OCOR_9$ 、 $-NR_{10}R_{11}$ 、 $-COOR_{12}$ 、 $-CONR_{10}R_{11}$ 、 $-CH_2R_{12}$ 、 $-CH_2NR_{10}R_{11}$;

[0058] 其中, R_7 选自取代或未取代的下组基团: C5-C10杂芳基; 其中, 所述取代是指 C1-C6 烷基、卤素、氰基、羟基、氨基;

[0059] R_8 选自下组:



[0061] R_9 选自下组: C1-C3烷氧基、C1-C3卤烷氧基、C1-C3烷氨基、 或  其中, G

为C1-C6烷基;

[0062] R_{10} 和 R_{11} 各自独立选自取代或未取代下组基团:H、C1-C3烷基、 $-(CH_2)_2N-Q_1Q_2$ 、C3-C6环烷基、3-6元环杂烷基、苯基、吡唑、吡啶、呋喃、噻吩、恶唑、异恶唑、三氮唑;其中, Q_1 、 Q_2 各自独立选自选自:H、C1-C3烷基;所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代C1-C3烷基、氰基、卤素、羟基;

[0063] R_{12} 各自独立地选自取代或未取代的下组基团:C1-C3烷基、C3-C6环烷基、3-6元环杂烷基、苯基、吡唑、吡啶、呋喃、噻吩、恶唑、异恶唑、三氮唑;其中,所述取代是指被选自下组的一个或多个基团取代C1-C3烷基、氰基、卤素、羟基;

[0064] m为1、2、3;

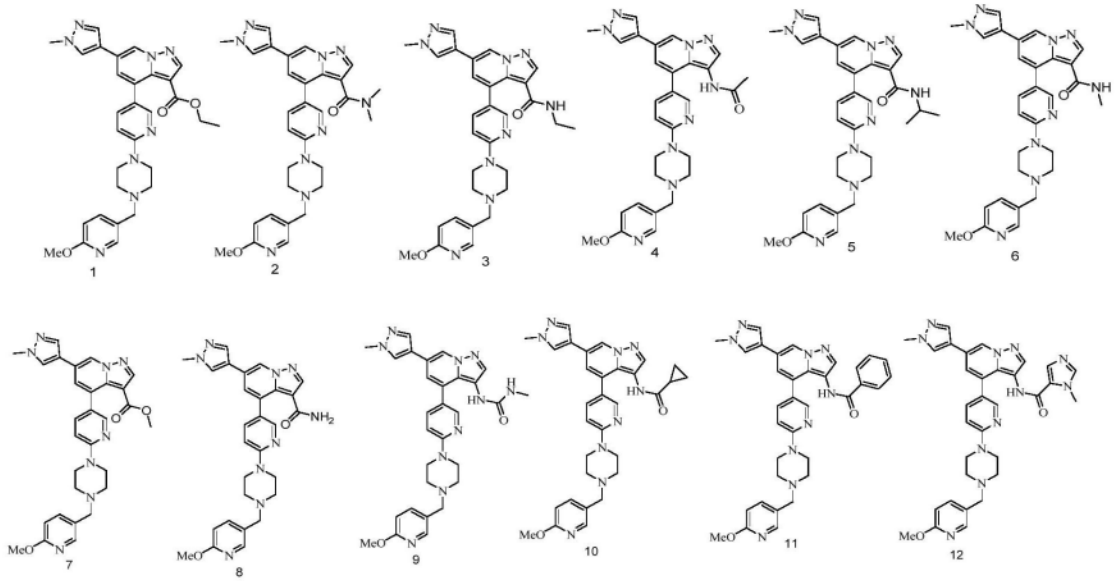
[0065] 限定条件:

[0066] 当B为 R_7 时,A选自下组: $-COOR_1$ 、 $-CONR_2R_3$ 、 $-NHCOR_4$ 、 $-NHCONR_2R_3$ 。

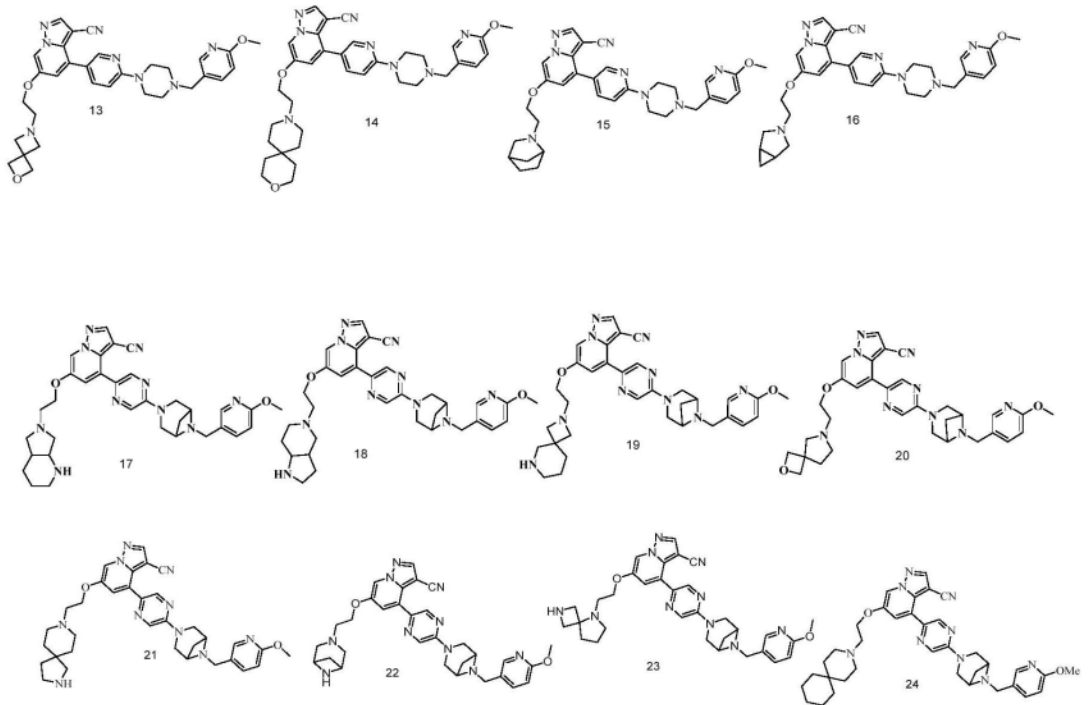
[0067] 在另一优选例中,B为实施例制备的各具体化合物中的对应基团。

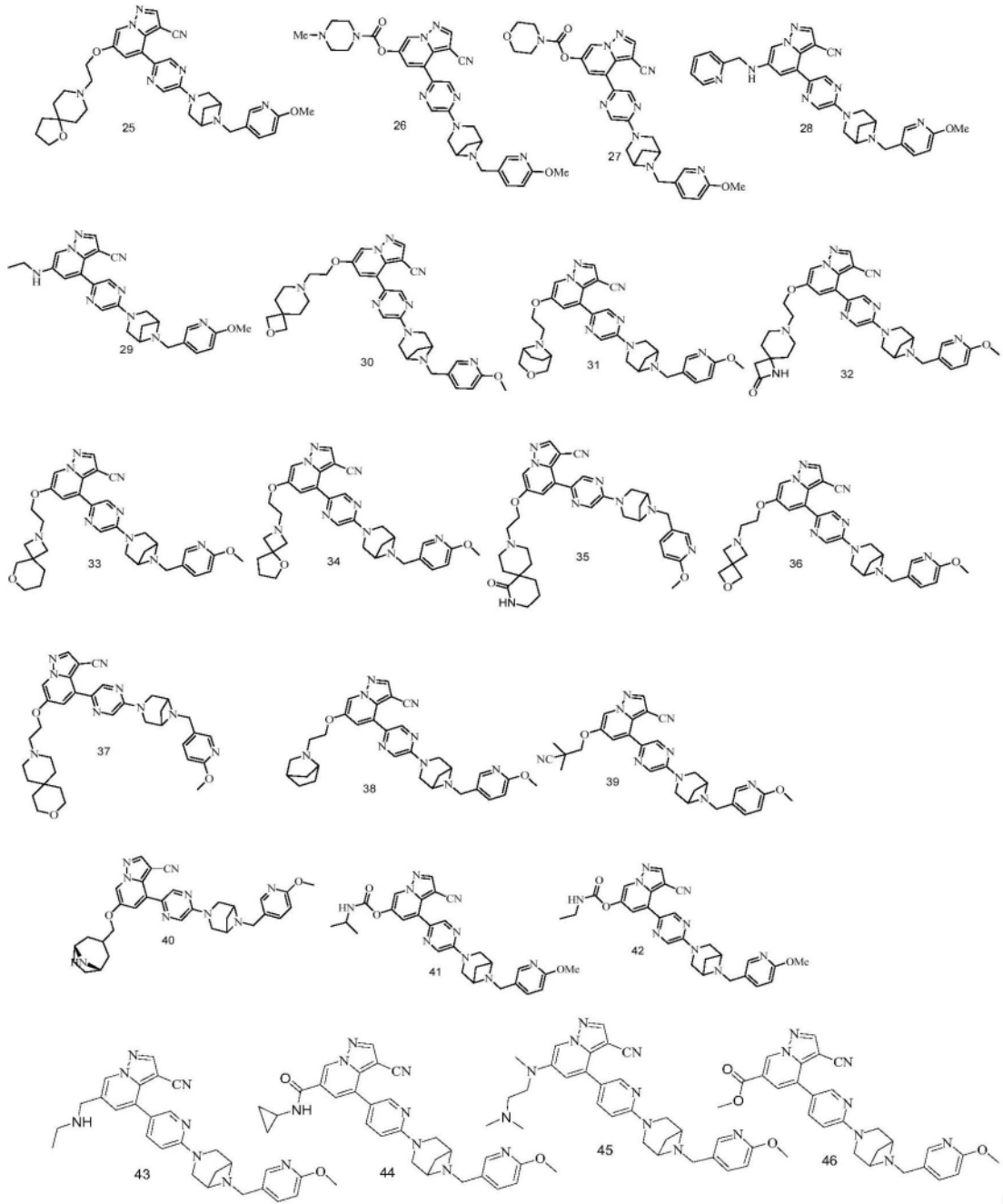
[0068] 在另一优选例中,A为实施例制备的各具体化合物中的对应基团。

[0069] 在另一优选例中,所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、同位素化合物或前药,选自下组:



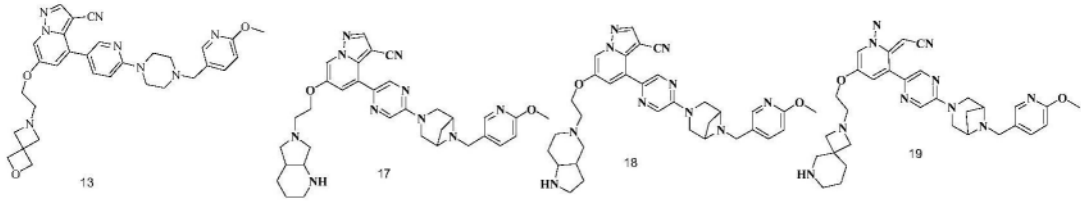
[0070]



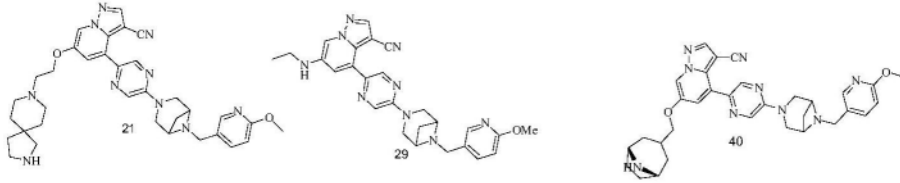


[0071]

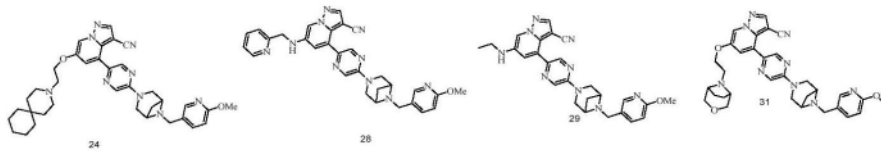
[0072] 在另一优选例中,所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、同位素化合物或前药,选自下组:



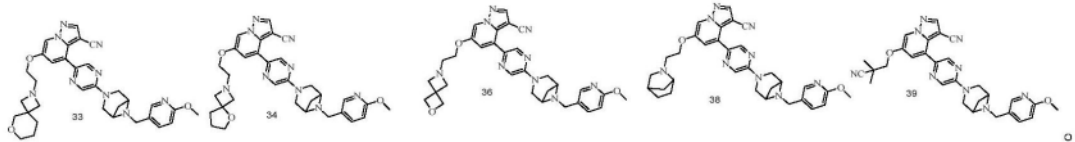
[0073]



[0074] 在另一优选例中,所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、同位素化合物或前药,选自下组:



[0075]



[0076] 本发明第二方面,提供一种药物组合物,其包含第一方面所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、同位素化合物或前药;和药用载体或稀释剂。

[0077] 在另一优选例中,所述药物组合物还包括第二癌症治疗剂。

[0078] 在另一优选例中,所述的第二癌症治疗剂包括放射剂、细胞毒试剂、激酶抑制剂、免疫靶向抑制剂和血管生成抑制剂。

[0079] 在另一优选例中,所述第二癌症治疗剂是选自下组的一种或多种:

[0080] PD-1抑制剂(如纳武单抗、派姆单抗、JS-001、SHR-120、BGB-A317、IBI-308、GLS-010、GB-226、STW204、HX008、HLX10、BAT1306、AK105、LZM 009或上述药物的生物类似药等)、PD-L1抑制剂(如德瓦鲁单抗、阿特珠单抗、CS1001、KN035、HLX20、SHR-1316、BGB-A333、JS003、CS1003、KL-A167、F 520、GR1405、MSB2311或上述药物的生物类似药等)、CD20抗体(如利妥昔单抗、奥滨尤妥珠单抗、奥法木单抗、托西莫单抗、替伊莫单抗等)、CD47抗体(如Hu5F9-G4、CC-90002、TTI-621、TTI-622、OSE-172、SRF-231、ALX-148、NI-1701、SHR-1603、IBI188、IMM01)、ALK抑制剂(如色瑞替尼、艾乐替尼、布加替尼、劳拉替尼、奥卡替尼)、PI3K抑制剂(如艾代拉里斯、Dactolisib、Taselisib、Buparlisib等)、BTK抑制剂(如依鲁替尼、Tirabrutinib、Acalabrutinib等)、EGFR抑制剂(如阿法替尼、吉非替尼、厄洛替尼、拉帕替尼、达克替尼、埃克替尼、卡奈替尼等)、VEGFR抑制剂(如索拉非尼、帕唑帕尼、瑞伐替尼、卡博替尼、舒尼替尼、多纳非尼等)、HDAC抑制剂(如Givinostat、Droxinostat、恩替诺特、达西司特、泰克地那林等)、CDK抑制剂(如帕博西尼、瑞博西尼、Abemaciclib、Lerociclib等)、MEK抑制剂(如司美替尼(AZD6244)、曲美替尼(GSK1120212)、PD0325901、U0126、AS-703026、PD184352(CI-1040)等)、Akt抑制剂(如MK-2206、Ipatasertib、Capivasertib、Afuresertib、Uprosertib等)、mTOR抑制剂(如Vistusertib等)、SHP2抑制剂(如RMC-4630、

JAB-3068、TN0155等)、IGF-1R抑制剂(如Ceritinib、奥卡替尼、linsitinib、BMS-754807、GSK1838705A等)或其组合。

[0081] 本发明第三方面,提供一种第一方面所述的化合物或第二方面所述的药物组合物在制备用于抑制细胞或受试者中的RET激酶活性的药物中的用途。

[0082] 在另一优选例中,所述药物用于治疗与RET相关疾病与下述失调:RET基因、RET激酶、或其中任何一者的表达或活性或水平失调。

[0083] 在另一优选例中,所述疾病选自下组:眼疾疾病、风湿性关节炎、肺纤维化、肝纤维化、肿瘤,所述肿瘤包括:膀胱癌、卵巢癌、腺癌、胃癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠癌、肺癌、骨癌、脑癌、神经细胞瘤、直肠癌、结肠癌、家族性腺瘤性息肉性癌、遗传性非息肉性结直肠癌、食管癌、唇癌、喉癌、下咽癌、舌癌、唾液腺癌、胃癌、腺癌、甲状腺髓样癌、乳头状甲状腺癌、肾癌、肾实质癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫体癌、子宫内膜癌、绒毛膜癌、胰腺癌、前列腺癌、睾丸癌、泌尿癌、黑素瘤、急性淋巴性白血病、慢性淋巴性白血病、急性骨髓性白血病、慢性粒细胞白血病、肝细胞癌、胆囊癌、支气管癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、多发性骨髓瘤。

[0084] 另一方面,提供了一种治疗RET相关疾病的方法,所述方法包括给予被鉴定或诊断为具有RET相关疾病的受试者治疗有效量的如上所述的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如上所述的药物组合物。

[0085] 另一方面,本发明提供了一种用于抑制细胞或受试者中的RET激酶活性的方法,所述方法包括使所述细胞接触或向所述受试者施用如上所述的化合物或药物组合物的步骤。

[0086] 在另一优选例中,所述细胞为哺乳动物细胞。

[0087] 在另一优选例中,所述受试者为哺乳动物,优选为人。

[0088] 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。限于篇幅,在此不再一一累述。

具体实施方式

[0089] 本发明人经过广泛而深入的研究,意外地发现了一类具有较好的RET激酶活性,同时对VEGFR2激酶具有较好的选择性的化合物。此外,所述化合物对RET激酶敏感的细胞均具有优异的抑制活性,并且具有更好药效学/药代动力学性能。在此基础上,完成了本发明。

[0090] 术语

[0091] 在本发明中,除非特别指出,所用术语具有本领域技术人员公知的一般含义。

[0092] 当通过从左向右书写的常规化学式描述取代基时,该取代基也同样包括从右向左书写结构式时所得到的在化学上等价的取代基。举例而言, $-\text{CH}_2\text{O}-$ 等同于 $-\text{OCH}_2-$ 。

[0093] 术语“烷基”本身或作为另一取代基的一部分,是指具有指定的碳原子数的直链或支链烃基(即,C1-C6是指一个至六个碳原子)。烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、正戊基、正己基及其类似烷基。烷基中的一个或多个位置被取代,尤其是1-4个取代基,可在任何位置上取代。

[0094] 术语“C1-C6烷氧基”是指具有1至6个碳原子的直链或支链或环状烷氧基(如C3-C6环烷氧基),代表性的例子包括(但并不限于):甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基和丁氧基等。优选为C1-C3烷氧基。

嗪基、三氮唑基及四氮唑基等。“杂芳基”可以是取代的或者未取代的,当被取代时,取代基优选为一个或多个以下基团,其独立地选自烷基、氘代烷基、卤代烷基、烷氧基、卤代烷氧基、烯基、炔基、烷硫基、烷基氨基、卤素、氨基、硝基、羟基、巯基、氰基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、环烷硫基、氧代基、羧基和羧酸酯基。

[0104] 术语“杂环”、“杂环基”或“杂环基团”指稳定的3元、4元、5元、或7元单环或二环或7元、8元、9元、10元、11元、12元、13元或14元多环杂环,包括稠环、螺环和/或桥环结构,其为饱和的、部分不饱和的或完全不饱和的,且其含有碳原子和1个、2个、3个或4个独立地选自N、O和S的杂原子。该术语还包括杂环与芳环(如苯环)稠合所形成的多环基团。“杂环”可以是取代的或者未取代的。作为环原子的氮和硫杂原子可任选地被氧化。氮原子为取代的或未取代的(即N或NR,其中R为H或如果被定义,则为另一取代基)。杂环可在得到稳定结构的任何杂原子或碳原子处连接至其侧基。如果所得化合物是稳定的,则本文所述的杂环基可在碳或氮原子上被取代。杂环中的氮可任选地被季铵化。优选地,当杂环中S和O原子的总数超过1时,则这些杂原子彼此不相邻。优选地,杂环中S和O原子的总数不大于1。当使用术语“杂环”时,其意欲包括杂芳基。杂环的实施例包括但不限于吡啶基、氮杂环丁基、吡辛因基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并硫代呋喃基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并噁唑啉基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并异噁唑基、苯并异噻唑基、苯并咪唑啉基、咪唑基、4aH-咪唑基、咪唑基、色满基、色烯基、噌啉基、十氢喹啉基、2H,6H-1,5,2-二噻嗪基、二氢呋喃并[2,3-b]四氢呋喃基、呋喃基、呋喃基、咪唑烷基、咪唑啉基、咪唑基、1H-吡啶基、咪唑并吡啶基、假吡啶基(indolonyl)、二氢吡啶基、吡嗪基、吡啶基、3H-吡啶基、靛红酰基(isatinoyl)、异苯并呋喃基、异色满基、异吡啶基、异二氢吡啶基、异吡啶基、异喹啉基、异噻唑基、异噻唑并吡啶基、异噁唑基、异噁唑并吡啶基、亚甲基二氧基苯基、吗啉基、二氮杂萘基、八氢异喹啉基、噁二唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、噁唑烷基、噁唑基、噁唑并吡啶基、噁唑烷基、萘嵌间二氮杂苯基、羟吡啶基、嘧啶基、菲啶基、菲咯啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁噻基、吩噁嗪基、酞嗪基、哌嗪基、哌啶基、哌啶酮基、4-哌啶酮基、胡椒基、喋啶基、嘌呤基、吡喃基、吡嗪基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡唑并吡啶基、吡唑基、哒嗪基、吡啶并噁唑基、吡啶并咪唑基、吡啶并噻唑基、吡啶基、嘧啶基、吡咯烷基、吡咯啉基、2-吡咯烷酮基、2H-吡咯基、吡咯基、喹唑啉基、喹啉基、4H-喹嗪基、喹啉基、奎宁环基、四唑基、四氢呋喃基、四氢异喹啉基、四氢喹啉基、6H-1,2,5-噻二嗪基、1,2,3-噻二唑基、1,2,4-噻二唑基、1,2,5-噻二唑基、1,3,4-噻二唑基、噻蒎基、噻唑基、噻吩基、噻唑并吡啶基、噻吩并噻唑基、噻吩并噁唑基、噻吩并咪唑基、噻吩基、三嗪基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,5-三唑基、1,3,4-三唑基和咕吨基。本发明还包括含有例如上述杂环的稠环和螺环化合物。

[0105] 术语“螺环”、“稠合环”表示一个环起源于另一个环上的特殊的环状碳,例如,一个饱和的桥环体系(环B和环B'共享两个碳原子)称为“稠合环”,而环B和环B'在两个饱和的环体系中共享一个碳原子,则称为“螺环”。“螺环”“稠合环”体系可以在任何环杂原子或者环碳原子上连接到主结构上从而形成稳定化合物。在一些实施例中,稠合环为5-12元的稠合环。

[0106] 如本文使用,术语“稠合双环杂环”或“双环杂环”基团指稳定的5-12元杂环体系,其含有两个稠环,且由碳原子和1个、2个、3个或4个独立地选自N、O和S的杂原子构成。在所

述两个稠环中,一个环为C3-C8元烷环,其稠合至第二环。第二环为饱和的、部分不饱和的或不饱和的C3-C8单环且双环杂环基团可在得到稳定结构的任何杂原子或碳原子处连接至其侧基。如果所得化合物是稳定的,则本文所述的双环杂环基团可在碳或氮原子上被取代。当杂环基中S和O原子的总数超过1时,则这些杂原子彼此不相邻。

[0107] 术语“羟基”指-OH。

[0108] 在本发明中,上述的烷基、卤代烷基、烷氧基、环烷基、芳基、杂芳基、环杂烷基、烯基、杂环、杂环基等中各基团可以是取代的或未取代的。

[0109] 在本发明中,术语“取代”指特定的基团上的一个或多个氢原子被特定的取代基所取代。特定的取代基为在前文中相应描述的取代基,或各实施例中所出现的取代基。除非特别说明,某个取代的基团可以在该基团的任何可取代的位点上具有一个选自特定组的取代基,所述的取代基在各个位置上可以是相同或不同的。本领域技术人员应理解,本发明所预期的取代基的组合是那些稳定的或化学上可实现的组合。典型的取代包括但不限于一个或多个以下基团:如氢、氘、卤素(例如,单卤素取代基或多卤素取代基,后者如三氟甲基或包含C1₃的烷基)、腈基、硝基、氧代(如=O)、三氟甲基、三氟甲氧基、环烷基、烯基、炔基、杂环、芳环、OR_a、SR_a、S(=O)R_e、S(=O)₂R_e、P(=O)₂R_e、S(=O)₂OR_e、P(=O)₂OR_e、NR_bR_c、NR_bS(=O)₂R_e、NR_bP(=O)₂R_e、S(=O)₂NR_bR_c、P(=O)₂NR_bR_c、C(=O)OR_d、C(=O)R_a、C(=O)NR_bR_c、OC(=O)R_a、OC(=O)NR_bR_c、NR_bC(=O)OR_e、NR_dC(=O)NR_bR_c、NR_dS(=O)₂NR_bR_c、NR_dP(=O)₂NR_bR_c、NR_bC(=O)R_a、或NR_bP(=O)₂R_e,其中,R_a可以独立表示氢、氘、烷基、环烷基、烯基、炔基、杂环或芳环,R_b、R_c和R_d可以独立表示氢、氘、烷基、环烷基、杂环或芳环,或者R_b和R_c与N原子一起可以形成杂环;R_e可以独立表示氢、烷基、环烷基、烯基、炔基、杂环或芳环。上述典型的取代基,如烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、杂环或芳环可以任选取代。所述取代基例如(但并不限于):卤素、羟基、氰基、羧基(-COOH)、C1-C6烷基、C2-C6烯基、C2-C6炔基、C3-C8环烷基、3-12元杂环基、芳基、杂芳基、C1-C8醛基、C2-C10酰基、C2-C10酯基、胺基、C1-C6烷氧基、C1-C10磺酰基、及C1-C6脲基等。

[0110] 除非另外说明,假定任何不满价态的杂原子有足够的氢原子补充其价态。

[0111] 当取代基为非末端取代基时,其为相应基团的亚基,例如烷基对应于亚烷基、环烷基对应于亚环烷基、杂环基对应于亚杂环基、烷氧基对应于亚烷氧基等。

[0112] 术语“卤代”或“卤素”包括氟、氯、溴和碘。

[0113] 术语“氰基”指-CN。

[0114] 活性成分

[0115] 如本文所用,术语“本发明的化合物”或“本发明的活性成分”可互换使用,指式I化合物、或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、同位素化合物(如氘代化合物)或前药。该术语还包括外消旋体、光学异构体。

[0116] 本发明中的化合物可能形成的盐也是属于本发明的范围。除非另有说明,本发明中的化合物被理解为包括其盐类。在此使用的术语“盐”,指用无机或有机酸和碱形成酸式或碱式的盐。此外,当本发明中的化合物含一个碱性片段时,它包括但不限于吡啶或咪唑,含一个酸性片段时,包括但不限于羧酸,可能形成的两性离子(“内盐”)包含在术语“盐”的范围内。药学上可接受的(即无毒,生理可接受的)盐是首选,虽然其他盐类也有用,例如可以用在制备过程中的分离或纯化步骤。本发明的化合物可能形成盐,例如,化合物I与一定

量如等当量的酸或碱反应,在介质中盐析出来,或在水溶液中冷冻干燥得来。

[0117] 本发明中的化合物含有的碱性片段,包括但不限于胺或吡啶或咪唑环,可能会和有机或无机酸形成盐。可以成盐的典型的酸包括醋酸盐(如用醋酸或三卤代醋酸,如三氟乙酸)、己二酸盐、藻朊酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二甘醇酸盐、十二烷基硫酸盐、乙烷磺酸盐、延胡索酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、羟基乙磺酸盐(如,2-羟基乙磺酸盐)、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、萘磺酸盐(如,2-萘磺酸盐)、烟酸盐、硝酸盐、草酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、苯丙酸盐(如3-苯丙酸盐)、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐,水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐(如与硫酸形成的)、磺酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐如对甲苯磺酸盐、十二烷酸盐等等。

[0118] 本发明的某些化合物可能含有的酸性片段,包括但不限于羧酸,可能会和各种有机或无机碱形成盐。典型的碱形成的盐包括铵盐、碱金属盐如钠、锂、钾盐,碱土金属盐如钙、镁盐和有机碱形成的盐(如有机胺),如苄星、二环己基胺、海巴胺(与N,N-二(去氢枞基)乙二胺形成的盐)、N-甲基-D-葡萄糖胺、N-甲基-D-葡萄糖酰胺、叔丁基胺,以及和氨基酸如精氨酸、赖氨酸等等形成的盐。碱性含氮基团可以与卤化物季铵盐,如小分子烷基卤化物(如甲基、乙基、丙基和丁基的氯化物、溴化物及碘化物),二烷基硫酸盐(如,硫酸二甲酯、二乙酯,二丁酯和二戊酯),长链卤化物(如癸基、十二烷基、十四烷基和十四烷基的氯化物、溴化物及碘化物),芳烷基卤化物(如苄基和苯基溴化物)等等。

[0119] 本发明中化合物的前药及溶剂合物也在涵盖的范围之内。此处术语“前药”是指一种化合物,在治疗相关疾病时,经过代谢或化学过程的化学转化而产生本发明中的化合物、盐、或溶剂合物。本发明的化合物包括溶剂合物,如水合物。

[0120] 本发明中的化合物、盐或溶剂合物,可能存在的互变异构形式(例如酰胺和亚胺醚)。所有这些互变异构体都是本发明的一部分。

[0121] 所有化合物的立体异构体(例如,那些由于对各种取代可能存在的不对称碳原子),包括其对映体形式和非对映形式,都属于本发明的设想范围。本发明中的化合物独立的立体异构体可能不与其他异构体同时存在(例如,作为一个纯的或者实质上是纯的光学异构体具有特殊的活性),或者也可能是混合物,如消旋体,或与所有其他立体异构体或其中的一部分形成的混合物。本发明的手性中心有S或R两种构型,由理论与应用化学国际联合会(IUPAC)1974年建议定义。外消旋形式可通过物理方法解决,例如分步结晶,或通过衍生为非对映异构体分离结晶,或通过手性柱色谱法分离。单个的光学异构体可通过合适的方法由外消旋体得到,包括但不限于传统的方法,例如与光学活性酸成盐后再结晶。

[0122] 本发明中的化合物,依次通过制备、分离纯化获得的该化合物其重量含量等于或大于90%,例如,等于或大于95%,等于或大于99% (“非常纯”的化合物),在正文描述列出。此处这种“非常纯”本发明的化合物也作为本发明的一部分。

[0123] 本发明的化合物所有的构型异构体都在涵盖的范围之内,无论是混合物、纯的或非常纯的形式。在本发明化合物的定义包含顺式(Z)和返式(E)两种烯烃异构体,以及碳环和杂环的顺式和反式异构体。

[0124] 在整个说明书中,基团和取代基可以被选择以提供稳定的片段和化合物。

[0125] 特定官能团和化学术语定义都详细介绍如下。对本发明来说,化学元素与

Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed. 中定义的一致。特定官能团的定义也在其中描述。此外,有机化学的基本原则以及特定官能团和反应性在“Organic Chemistry”, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, 也有说明,其全部内容纳入参考文献之列。

[0126] 本发明的某些化合物可能存在于特定的几何或立体异构体形式。本发明涵盖所有的化合物,包括其顺式和反式异构体、R和S对映异构体、非对映体、(D)型异构体、(L)型异构体、外消旋混合物和其它混合物。另外不对称碳原子可表示取代基,如烷基。所有异构体以及它们的混合物,都包涵在本发明中。

[0127] 按照本发明,同分异构体的混合物含有异构体的比率可以是多样的。例如,在只有两个异构体的混合物可以有以下组合:50:50,60:40,70:30,80:20,90:10,95:5,96:4,97:3,98:2,99:1,或100:0,异构体的所有比率都在本发明范围之内。本专业内一般技术人员容易理解的类似的比率,及为更复杂的异构体的混合物的比率也在本发明范围之内。

[0128] 本发明还包括同位素标记的化合物,等同于原始化合物在此公开。不过实际上对一个或更多的原子被与其原子量或质量序数不同的原子取代通常会出现。可以列为本发明的化合物同位素的例子包括氢,碳,氮,氧,磷,硫,氟和氯同位素,分别如²H、³H、¹³C、¹¹C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F和³⁶Cl。本发明中的化合物,或对映体,非对映体,异构体,或药学上可接受的盐或溶剂化物,其中含有上述化合物的同位素或其他同位素原子都在本发明的范围之内。本发明中某些同位素标记化合物,例如³H和¹⁴C的放射性同位素也在其中,在药物和底物的组织分布实验中是有用的。氘,即³H和碳-14,即¹⁴C,它们的制备和检测比较容易。是同位素中的首选。此外,较重同位素取代如氘,即²H,由于其很好的代谢稳定性在某些疗法中有优势,例如在体内增加半衰期或减少用量,因此,在某些情况下可以优先考虑。同位素标记的化合物可以用一般的方法,通过用易得的同位素标记试剂替换为非同位素的试剂,用批露在示例中的方案可以制备。

[0129] 如果要设计一个本发明的化合物特定的对映体的合成,它可以不对称合成制备,或用手性辅剂衍生化,将所产生的非对映混合物分离,再除去手性辅剂而得到纯的对映体。另外,如果分子中含有一个碱性官能团,如氨基酸,或酸性官能团,如羧基,可以用合适的光学活性的酸或碱的与之形成非对映异构体盐,再通过分离结晶或色谱等常规手段分离,然后就得到了纯的对映体。

[0130] 如本文所述,本发明中的化合物可与任何数量取代基或官能团取而扩大其包涵范围。通常,术语“取代”不论在术语“可选”前面或后面出现,在本发明配方中包括取代基的通式,是指用指定结构取代基,代替氢自由基。当特定结构中的多个在位置被多个特定的取代基取代时,取代基每一个位置可以是相同或不同。本文中所使用的术语“取代”包括所有允许有机化合物取代。从广义上讲,允许的取代基包括非环状的、环状的、支链的非支链的、碳环的和杂环的,芳环的和非芳环的有机化合物。在本发明中,如杂原子氮可以有氢取代基或任何允许的上文所述的有机化合物来补充其价态。此外,本发明是无意以任何方式限制允许取代有机化合物。本发明认为取代基和可变基团的组合在以稳定化合物形式在疾病的治疗上是很好的。此处术语“稳定”是指具有稳定的化合物,在足够长的时间内检测足以维持化合物结构的完整性,最好是在足够长的时间内都在效,本文在此用于上述目的。

[0131] 本申请所涉及的化合物及其药学可接受的盐的代谢产物,以及可以在体内转变为

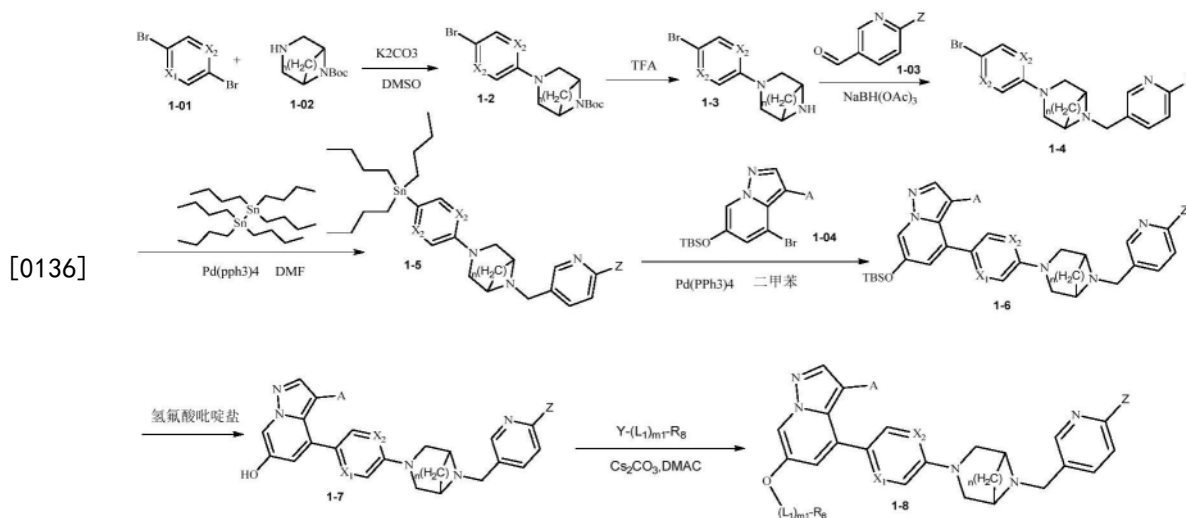
本申请所涉及的化合物及其药学可接受的盐的结构的前药,也包含在本申请的权利要求中。

[0132] 制备方法

[0133] 下面更具体地描述本发明式(I)结构化合物的制备方法,但这些具体方法不对本发明构成任何限制。本发明化合物还可以任选将在本说明书中描述的或本领域已知的各种合成方法组合起来而方便的制得,这样的组合可由本发明所属领域的技术人员容易的进行。

[0134] 通常,在制备流程中,各反应通常惰性气体保护下,适当溶剂中,在室温到90℃下进行,反应时间通常为2-24小时。

[0135] 方法一:



[0137] 方法一中:Y可以是Cl、Br、I;A、X₁、X₂、n、Z、L₁、m₁、R₈具有本发明所述的定义。所述方法包括以下步骤:

[0138] (i) 在惰性溶剂(例如DMSO)中,碱性条件下(例如,K₂CO₃、Na₂CO₃、Cs₂CO₃等),化合物1-01和化合物1-02反应,得到化合物1-2;

[0139] (ii) 在惰性溶剂中,在酸性条件(例如,三氟乙酸)下,化合物1-2脱胺保护得到化合物1-3;

[0140] (iii) 在惰性溶剂中,还原剂(例如,NaBH(OAc)₃)存在下,化合物1-3与化合物1-03进行还原胺化,得到化合物1-4;

[0141] (iv) 在惰性溶剂(例如,DMF)中,催化剂作用(例如,钯催化剂)下,化合物1-4与锡试剂反应,得到化合物1-5;

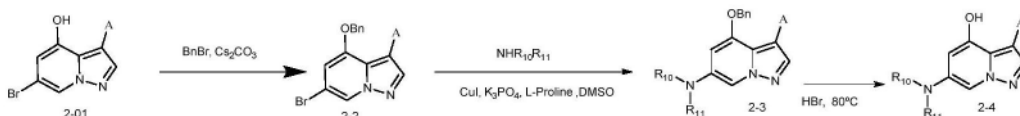
[0142] (v) 在惰性溶剂中,催化剂作用(例如,钯催化剂)下,化合物1-5与化合物1-04反应,得到化合物1-6;

[0143] (vi) 在惰性溶剂(例如,二甲苯)中,在酸性条件(例如,氢氟酸吡啶盐)下,化合物1-6脱保护,得到化合物1-7;

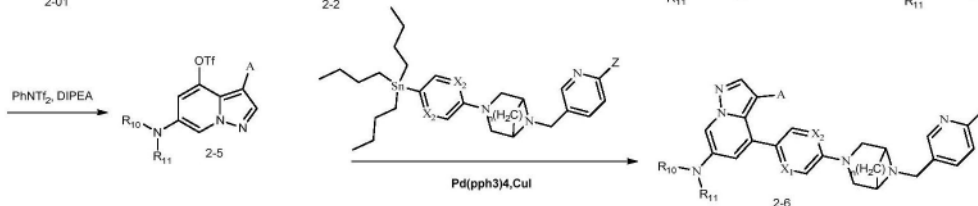
[0144] (vii) 在惰性溶剂(例如,DMSO)中,碱性条件下(例如,Cs₂CO₃),化合物1-7与化合物Y-(L₁)_{m₁}-R₈反应得到化合物1-8。

[0145] 以上反应步骤中,反应溶剂、反应温度、反应时间、催化剂等可以根据具体的反应物进行选择。

[0146] 方法二:



[0147]



[0148] 方法二中:A、X₁、X₂、n、Z、R₁₀、R₁₁具有本发明所述的定义。所述方法包括以下步骤:

[0149] (i) 在惰性溶剂中,碱性条件下(例如,Cs₂CO₃等),化合物2-01和羟基保护试剂(例如,苄基溴)反应,得到化合物2-2;

[0150] (ii) 在惰性溶剂中,碱性条件(例如,K₃PO₄)和催化剂(例如,碘化亚铜和L-脯氨酸)作用下,化合物2-2与胺化合物NHR₁₀R₁₁反应,得到化合物2-3;

[0151] (iii) 在惰性溶剂中,酸性条件(例如,HBr)下,化合物2-3脱保护,得到化合物2-4;

[0152] (iv) 在惰性溶剂中,化合物2-4与PhNTf₂反应,得到化合物2-5;

[0153] (v) 在惰性溶剂中,催化剂作用(例如,钯催化剂和卤化亚铜)下,化合物2-5与化合物1-5反应,得到化合物2-6。

[0154] 以上反应步骤中,反应溶剂、反应温度、反应时间、催化剂等可以根据具体的反应物进行选择。

[0155] 药物组合物和施用方法

[0156] 本发明所述的药物组合物用于预防和/或治疗以下疾病:炎症、癌症、心血管疾病、感染、免疫性疾病、代谢性疾病。

[0157] 通式(I)所述化合物可以与已知的治疗或改进相似病状的其他药物联用。联合给药时,原来药物的给药方式和剂量可以保持不变,而同时或随后服用式I的化合物。当式I化合物与其它一种或几种药物同时服用时,可以优选使用同时含有一种或几种已知药物和式I化合物的药用组合物。药物联用也包括在重叠的时间段服用式I化合物与其它一种或几种已知药物。当式I化合物与其它一种或几种药物进行药物联用时,式I化合物或已知药物的剂量可能比它们单独用药的剂量低。

[0158] 可以与通式(I)所述化合物进行药物联用的药物或活性成分包括但不限于:PD-1抑制剂(如纳武单抗、派姆单抗、JS-001、SHR-120、BGB-A317、IBI-308、GLS-010、GB-226、STW204、HX008、HLX10、BAT1306、AK105、LZM 009或上述药物的生物类似药等)、PD-L1抑制剂(如德瓦鲁单抗、阿特珠单抗、CS1001、KN035、HLX20、SHR-1316、BGB-A333、JS003、CS1003、KL-A167、F 520、GR1405、MSB2311或上述药物的生物类似药等)、CD20抗体(如利妥昔单抗、奥滨尤妥珠单抗、奥法木单抗、托西莫单抗、替伊莫单抗等)、CD47抗体(如Hu5F9-G4、CC-90002、TTI-621、TTI-622、OSE-172、SRF-231、ALX-148、NI-1701、SHR-1603、IBI188、IMM01)、ALK抑制剂(如色瑞替尼、艾乐替尼、布加替尼、劳拉替尼、奥卡替尼)、PI3K抑制剂(如艾代拉里斯、Dactolisib、Taselisib、Buparlisib等)、BTK抑制剂(如依鲁替尼、Tirabrutinib、Acalabrutinib等)、EGFR抑制剂(如阿法替尼、吉非替尼、厄洛替尼、拉帕替尼、达克替尼、埃克替尼、卡奈替尼等)、VEGFR抑制剂(如索拉非尼、帕唑帕尼、瑞伐替尼、卡博替尼、舒尼替

尼、多纳非尼等)、HDAC抑制剂(如Givinostat、Droxinostat、恩替诺特、达西司特、泰克地那林等)、CDK抑制剂(如帕博西尼、瑞博西尼、Abemaciclib、Lerociclib等)、MEK抑制剂(如司美替尼(AZD6244)、曲美替尼(GSK1120212)、PD0325901、U0126、AS-703026、PD184352(CI-1040)等)、Akt抑制剂(如MK-2206、Ipatasertib、Capivasertib、Afuresertib、Uprosertib等)、mTOR抑制剂(如Vistusertib等)、SHP2抑制剂(如RMC-4630、JAB-3068、TN0155等)、IGF-1R抑制剂(如Ceritinib、奥卡替尼、linsitinib、BMS-754807、GSK1838705A等)或其组合。

[0159] 本发明药物组合物的剂型包括(但并不限于):注射剂、片剂、胶囊剂、气雾剂、栓剂、膜剂、滴丸剂、外用擦剂、控释型或缓释型或纳米制剂。

[0160] 本发明的药物组合物包含安全有效量范围内的本发明化合物或其药理上可接受的盐及药理上可以接受的赋形剂或载体。其中“安全有效量”指的是:化合物的量足以明显改善病情,而不至于产生严重的副作用。通常,药物组合物含有1-2000mg本发明化合物/剂,更佳地,含有10-1000mg本发明化合物/剂。较佳地,所述的“一剂”为一个胶囊或药片。

[0161] “药学上可以接受的载体”指的是:一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质,它们适合于人使用,而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此指的是组合物中各组份能和本发明的化合物以及它们之间相互掺和,而不明显降低化合物的药效。药学上可以接受的载体部分例子有纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等)、明胶、滑石、固体润滑剂(如硬脂酸、硬脂酸镁)、硫酸钙、植物油(如豆油、芝麻油、花生油、橄榄油等)、多元醇(如丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇等)、乳化剂(如吐温®)、润湿剂(如十二烷基硫酸钠)、着色剂、调味剂、稳定剂、抗氧化剂、防腐剂、无热原水等。

[0162] 本发明化合物或药物组合物的施用方式没有特别限制,代表性的施用方式包括(但并不限于):口服、瘤内、直肠、肠胃外(静脉内、肌肉内或皮下)、和局部给药。

[0163] 用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中,活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂(或载体)混合,如柠檬酸钠或磷酸二钙,或与下述成分混合:(a) 填料或增容剂,例如,淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸;(b) 粘合剂,例如,羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶;(c) 保湿剂,例如,甘油;(d) 崩解剂,例如,琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠;(e) 缓溶剂,例如石蜡;(f) 吸收加速剂,例如,季胺化合物;(g) 润湿剂,例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;(h) 吸附剂,例如,高岭土;和(i) 润滑剂,例如,滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠,或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中,剂型也可包含缓冲剂。

[0164] 固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备,如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂,并且,这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时,活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

[0165] 用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。除了活性化合物外,液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂,如水或其它溶剂,增溶剂和乳化剂,例知,乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油,特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物等。

[0166] 除了这些惰性稀释剂外,组合物也可包含助剂,如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料。

[0167] 除了活性化合物外,悬浮液可包含悬浮剂,例如,乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物等。

[0168] 用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液和用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水和非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

[0169] 用于局部给药的本发明化合物的剂型包括软膏剂、散剂、贴剂、喷射剂和吸入剂。活性成分在无菌条件下与生理上可接受的载体及任何防腐剂、缓冲剂,或必要时可能需要的推进剂一起混合。

[0170] 本发明治疗方法可以单独施用,或者与其它治疗手段或者治疗药物联用。

[0171] 使用药物组合物时,是将安全有效量的本发明化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人),其中施用剂量为药学上认为的有效给药剂量,对于60kg体重的人而言,日给药剂量通常为1~2000mg,优选50~1000mg。当然,具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素,这些都是熟练医师技能范围内的。

[0172] 本发明还提供了一种药物组合物的制备方法,包括步骤:将药学上可接受的载体与本发明所述通式(I)化合物或其晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物进行混合,从而形成药物组合物。

[0173] 本发明还提供了一种治疗方法,它包括步骤:给需要治疗的对象施用本发明中所述通式(I)化合物,或其晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物,或施用本发明所述的药物组合物,用于选择性地抑制RET。

[0174] 本发明具有以下主要优点:

[0175] (1) 本发明化合物对RET激酶具有优良的抑制能力,以及对RET激酶具有优良选择性,对VEGFR2等其他激酶的抑制活性低;

[0176] (2) 本发明化合物具有更低的毒副作用。

[0177] (3) 本发明化合物更好的药效学、药代动力学性能。

[0178] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件如Sambrook等人,分子克隆:实验室手册(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)中所述的条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数按重量计算。

[0179] 除非另行定义,文中所使用的所有专业与科学用语与本领域熟练人员所熟悉的意义相同。此外,任何与所记载内容相似或均等的方法及材料皆可应用于本发明方法中。文中所述的较佳实施方法与材料仅作示范之用。

[0180] 本发明的化合物结构是通过核磁共振(NMR)和液质联用色谱(LC-MS)来确定的。

[0181] NMR是使用Bruker AVANCE-400和Bruker AVANCE-500核磁仪检测的,测定溶剂包含氘代二甲亚砜(DMSO-d₆)、氘代丙酮(CD₃COCD₃)、氘代氯仿(CDCl₃)及氘代甲醇(CD₃OD)等,内标采用四甲基硅烷(TMS),化学位移以百万分之一(ppm)的单位计量。

[0182] 液质联用色谱(LC-MS)是使用Agilent 1260质谱仪检测的。HPLC的测定使用

Agilent 1100高压色谱仪(Microsorb 5micron C18 100x 3.0mm色谱柱)。

[0183] 薄层层析硅胶板使用青岛GF254硅胶板,TLC采用的是0.15-0.20mm,制备薄层色谱采用的是0.4mm-0.5mm。柱层析一般使用青岛硅胶200-300目硅胶作为载体。

[0184] 本发明实施例中的起始原料都是已知并有市售的,或者可以采用或按照本领域已报道的文献资料合成的。

[0185] 除特殊说明外,本发明所有反应均在干燥的惰性气体(如氮气或氩气)保护下通过连续磁力搅拌进行,反应温度均为摄氏度。

[0186] 下列简写词的使用贯穿本发明

[0187] THF:四氢呋喃

[0188] MeOH:甲醇

[0189] HCl:盐酸

[0190] Pd(PPh₃)₄:四三苯基膦钯

[0191] K₂CO₃:碳酸钾

[0192] AcOK:醋酸钾

[0193] NaOH:氢氧化钠

[0194] H₂O:水

[0195] TEA:三乙胺

[0196] DIEA:N,N-二异丙基乙胺

[0197] DMF:N,N-二甲基甲酰胺

[0198] DMA:N,N-二甲基乙酰胺

[0199] Py:吡啶

[0200] DCE:1,2-二氯乙烷

[0201] DMSO:二甲基亚砷

[0202] TFA:三氟乙酸

[0203] NaBH(AcO)₃:三乙酰基硼氢化钠

[0204] Sn₂(Bu-n)₆:六己基二锡

[0205] AlCl₃:三氯化铝

[0206] CuI:碘化亚铜

[0207] DPPA:叠氮磷酸二苯酯

[0208] BuOH:叔丁醇

[0209] Cs₂CO₃:碳酸铯

[0210] K₃PO₄:磷酸钾

[0211] BnBr:苄溴

[0212] Pd₂(dba)₃:三(二亚苄基丙酮)二钯

[0213] X-Phos:2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯

[0214] EA:乙酸乙酯

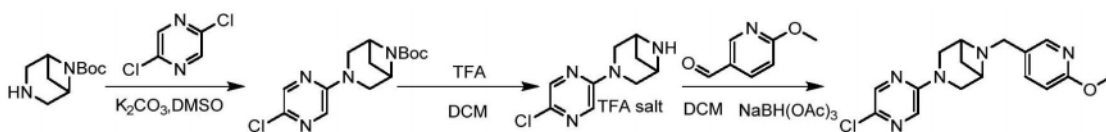
[0215] NaHCO₃:碳酸氢钠

[0216] DIPEA:N,N-二异丙基乙胺

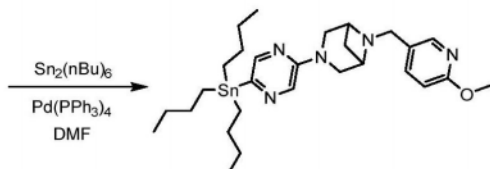
[0217] HBr:溴化氢

[0218] 实施例

[0219] 中间体1的合成:



[0220]



[0221] 步骤1:合成3-(5-氯吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-6-羧酸叔丁酯

[0222] 将3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-6-羧酸叔丁酯(6.2g, 31.3mmol)溶解在二甲基亚砜(40mL)中,然后加入2,5-二氯吡嗪(6.02g, 40.7mmol)和碳酸钾(21.6g, 156.5mmol),反应液80℃搅拌过夜。反应完全后冷却至室温,加入水(50mL)和乙酸乙酯(100mL),分出有机相,水洗,干燥,柱层析(PE:EA=3:1),得到叔丁基3-(5-氯吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-6-羧酸叔丁酯7g,收率72.2%。MS m/z (ESI): 311.2[M+H]⁺。

[0223] 步骤2:合成3-(5-氯吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷三氟乙酸盐

[0224] 室温下,将3-(5-氯吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-6-羧酸叔丁酯(5g, 16.12mmol)溶解在二氯甲烷(30mL)中,然后加入三氟乙酸(30mL),该溶液在室温下反应1小时。监测反应完全,反应液浓缩,加入乙醚(150mL)析出固体,过滤,得到3-(5-氯吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷三氟乙酸盐4.9g,收率98.5%。MS m/z (ESI): 211.1[M+H]⁺。

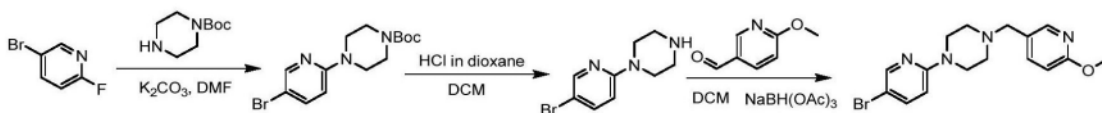
[0225] 步骤3:合成3-(5-氯吡嗪-2-基)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷

[0226] 将3-(5-氯吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷三氟乙酸盐(4.9g, 15.96mmol)溶解在二氯甲烷(100mL)中,加入三乙酰基硼氢化钠(17.2g, 81.2mmol)和6-甲氧基烟醛(6.66g, 48.6mmol),然后室温搅拌反应2h,监测反应完全后,加二氯甲烷稀释,用氯化铵溶液(50mL)淬灭反应,二氯甲烷(50mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到3-(5-氯吡嗪-2-基)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷4.3g,收率81.4%。MS m/z (ESI): 332.2[M+H]⁺。

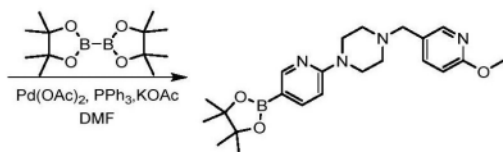
[0227] 步骤4:合成6((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(三丁基锡基)吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷

[0228] 将3-(5-氯吡嗪-2-基)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷(4.3g, 12.99mmol)溶解在DMF(40mL)中,加入六丁基二锡(9.79g, 16.89mmol)和四三苯基磷钯(1.5g, 1.299mmol),然后在140℃搅拌反应16h,监测反应完全后,用氯化铵溶液(50mL)淬灭反应,乙酸乙酯(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(三丁基锡基)吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(中间体1)2g。MS m/z (ESI): 588.3[M+H]⁺。

[0229] 中间体2的合成:



[0230]



[0231] 步骤1:合成4-(5-溴吡啶-2-基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯

[0232] 将5-溴-2-氟吡啶(10g, 56.8mmol)、碳酸钾(31g, 227.3mmol)和叔丁基哌嗪-1-羧酸叔丁酯(10.6g, 56.8mmol)溶解在DMF(50mL)中,反应液120℃搅拌反应16h,监测反应完全后,加水(50mL)和EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到4-(5-溴吡啶-2-基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯15g。MS m/z (ESI): 342.5[M+H]⁺。

[0233] 步骤2:合成1-(5-溴吡啶-2-基)哌嗪

[0234] 室温下,将4-(5-溴吡啶-2-基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(15g, 43.99mmol)溶解在二氯甲烷(20mL)中,然后加入盐酸二氧六环(80mL),该溶液在室温下反应1小时,监测反应完全,反应液浓缩,用碳酸钾溶液调到pH=9,用乙酸乙酯萃取,有机相水洗,干燥,浓缩,柱层析,得到1-(5-溴吡啶-2-基)哌嗪8.5g。MS m/z (ESI): 242.2[M+H]⁺。

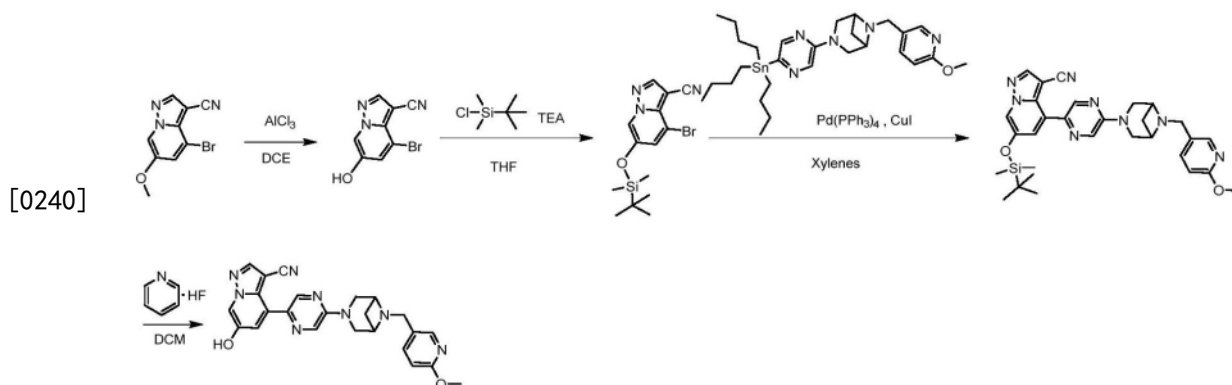
[0235] 步骤3:合成1-(5-溴吡啶-2-基)-4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪

[0236] 将1-(5-溴吡啶-2-基)哌嗪(8.5g, 35.3mmol)溶解在二氯甲烷(150mL)中,加入三乙酰基硼氢化钠(22.5g, 105.9mmol)和6-甲氧基烟醛(9.7g, 70.6mmol),然后室温搅拌反应2h,监测反应完全后,加二氯甲烷稀释,用氯化铵溶液(50mL)淬灭反应,二氯甲烷(50mL*2.)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到1-(5-溴吡啶-2-基)-4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪8.3g。MS m/z (ESI): 363.3[M+H]⁺。

[0237] 步骤4:合成1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧戊环-2-基)吡啶-2-基)哌嗪

[0238] 将1-(5-溴吡啶-2-基)-4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪(8.3g, 22.93mmol)溶解在DMF(40mL)中,加入联硼酸频那醇酯(11.65g, 45.86mmol)、醋酸钯(0.26g, 1.15mmol),三苯基膦(1.2g, 4.586mmol)和醋酸钾(6.74g, 68.78mmol)。然后80℃搅拌反应16h,监测反应完全后,加水稀释,乙酸乙酯(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧戊环-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(中间体2)4.98g。MS m/z (ESI): 411.2[M+H]⁺。

[0239] 中间体3的合成:



[0241] 步骤1:合成4-溴-6-((叔丁基二甲基硅氧基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈

[0242] 将4-溴-6-羟基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(1.6g,6.75mmol)和叔丁基二甲基氯硅烷(1.12g,7.43mmol)溶解在四氢呋喃(50mL)中,然后滴加三乙胺(1.87mL),反应液室温搅拌2h,加适量水,乙酸乙酯萃取,有机相水洗,干燥,浓缩,柱层析,得到4-溴-6-((叔丁基二甲基硅氧基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈1.55g。MS m/z (ESI):352.0[M+H]⁺。

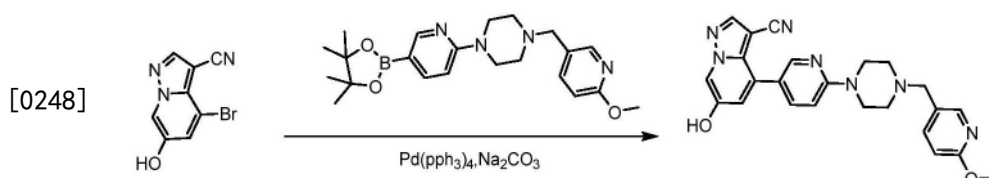
[0243] 步骤2:合成6-((叔丁基二甲基硅基)氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0244] 将4-溴-6-((叔丁基二甲基硅氧基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈(1.55g,4.43mmol)、6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(三丁基锡基)吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(2.6g,4.43mmol)、碘化亚铜(84mg,0.443mmol)和四三苯基膦钯(512mg,0.443mmol)溶解在二甲苯(40mL)中,反应液室温搅拌16h。监测反应完全后,用水(10mL)淬灭反应,EA(20mL*3)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-((叔丁基二甲基硅基)氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈1.57g。MS m/z (ESI):569.3[M+H]⁺。

[0245] 步骤3:合成6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈

[0246] 将6-((叔丁基二甲基硅基)氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(1.57g,2.76mmol)溶解在二氯甲烷(40mL)中,然后滴加氟化氢吡啶(0.75mL),反应液室温搅拌2h,用饱和碳酸氢钠水溶液调pH至中性,乙酸乙酯萃取,有机相水洗,干燥,浓缩,柱层析,得到6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈(中间体3)1g。MS m/z (ESI):455.4[M+H]⁺。

[0247] 中间体4的合成:

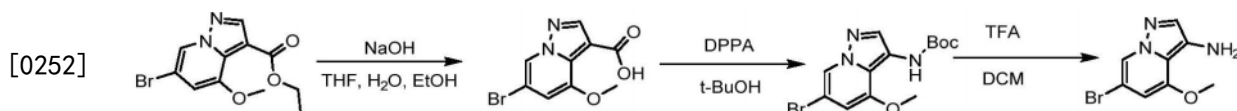


[0249] 步骤:合成6-羟基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0250] 将4-溴-6-羟基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(1.0mg,4.2mmol)与1-((6-甲氧基吡啶-

3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(2.07g, 5.04mmol)溶解在二恶烷:水=(3:1, 20mL)中,然后分别加入Pd(PPh_3)₄(0.5g, 0.42mmol)与碳酸钠(1.34g, 12.6mmol),氮气保护,85℃搅拌过夜,反应完全后加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(PE:EA=1:1),得到6-羟基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(中间体4)0.7g。MS m/z (ESI):442.2[M+H]⁺。

[0251] 中间体5的合成:



[0253] 步骤1:合成6-溴-4-甲氧基吡啶[1,5-a]吡啶-3-甲酸

[0254] 将6-溴-4-甲氧基吡啶[1,5-a]吡啶-3-羧酸乙酯(7.8g, 26.17mmol)溶解在四氢呋喃(10mL)中,加入氢氧化钠溶液(5mol/L, 10ml)和乙醇(10mL),反应液室温搅拌反应2h,监测反应完全后,浓缩,用稀盐酸将pH调到3,EA(20mL*3)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-溴-4-甲氧基吡啶[1,5-a]吡啶-3-甲酸6g。MS m/z (ESI):271.1[M+H]⁺

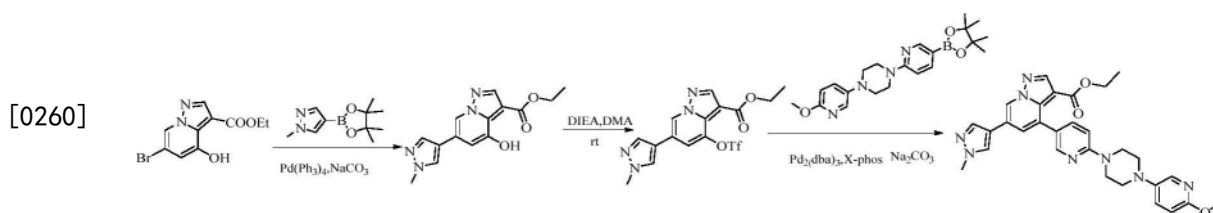
[0255] 步骤2:合成叔丁基(6-溴-4-甲氧基吡啶[1,5-a]吡啶-3-基)氨基甲酸酯

[0256] 将6-溴-4-甲氧基吡啶[1,5-a]吡啶-3-甲酸(6g, 22.2mmol)、叠氮磷酸二苯酯(31g, 227.3mmol)溶解在叔丁醇(50mL)中,反应液80℃搅拌反应4h,监测反应完全后,浓缩,得到叔丁基(6-溴-4-甲氧基吡啶[1,5-a]吡啶-3-基)氨基甲酸酯粗品,留到下一步使用。MS m/z (ESI):342.5[M+H]⁺。

[0257] 步骤3:合成6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-胺

[0258] 室温下,将叔丁基(6-溴-4-甲氧基吡啶[1,5-a]吡啶-3-基)氨基甲酸酯(粗品)溶解在二氯甲烷(50mL)中,然后加入三氟乙酸(50mL),该溶液在室温下反应1小时,监测反应完全,反应液浓缩,用碳酸钾溶液调到pH=9,用乙酸乙酯萃取,有机相水洗,干燥,浓缩,柱层析,得到6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-胺(中间体5)3.1g。MS m/z (ESI):242.3[M+H]⁺。

[0259] 实施例1化合物1的合成



[0261] 步骤1:合成4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)H-吡啶并[1,5-a]吡啶-3-羧酸乙酯

[0262] 将6-溴-4-羟基-吡啶并[1,5-a]吡啶-3-羧酸乙酯(400mg, 1.4mmol)与1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶(351mg, 1.7mmol)溶解在二恶烷:水=(3:1, 20mL)中,然后分别加入Pd(PPh_3)₄(145mg, 0.14mmol)与碳酸钠(450mg, 4.2mmol),氮气保护,85℃搅拌过夜,反应完全后加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(PE:EA=1:1),得到4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)H-吡啶并[1,5-a]吡啶-3-羧

酸乙酯250mg,收率62%。MS m/z (ESI): 287.4[M+H]⁺。

[0263] 步骤2: 6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(三氟甲基磺酰氧基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸乙酯

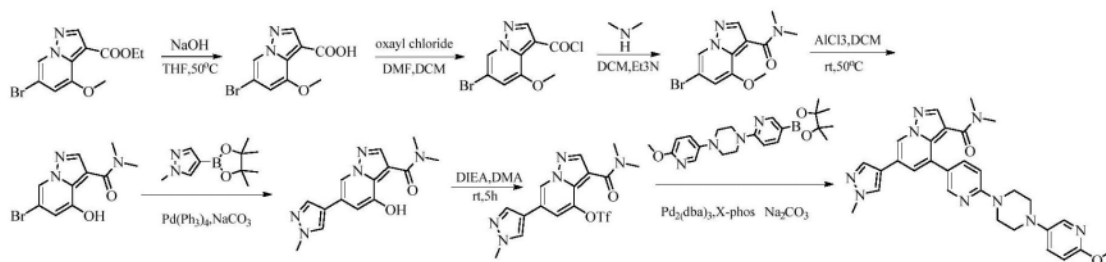
[0264] 室温下,将4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸乙酯(250mg,0.87mmol)与DIEA(224mg,1.74mmol)溶解在DMA(5mL)中,然后加入N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(343mg,1.0mmol),氮气保护,室温搅拌6小时。反应完全后加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得到6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(三氟甲基磺酰氧基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸乙酯230mg,收率63%。MS m/z (ESI): 419.3[M+H]⁺。

[0265] 步骤3: 4-(6-(4-(6-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸甲酯

[0266] 室温下将6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-(三氟甲基磺酰氧基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸乙酯(230mg,0.55mmol)、1-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(293mg,0.71mmol)、Pd₂(dba)₃(50mg,0.055mmol)、X-phos(45mg,0.11mmol)溶解在二恶烷:水=(3:1,20mL)中,然后加入碳酸钠(291mg,2.75mmol),氮气保护,85℃搅拌过夜,反应完全后加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得到4-(6-(4-(6-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸甲酯(化合物1)121mg,收率39.9%。MS m/z (ESI): 553.0[M+H]⁺。

[0267] ¹H NMR(400MHz,DMSO) δ 9.12(s,1H),8.41(s,1H),8.37(s,1H),8.19(d,1H),8.09(s,1H),8.08(d,1H),7.66-7.68(m,2H),7.56-7.58(m,1H),6.68(d,1H),6.80(d,1H),3.82-3.87(m,8H),3.55(s,4H),3.47(s,2H),2.49-2.50(s,3H),0.89(t,3H)。

[0268] 实施例2: 化合物2的合成



[0270] 步骤1: 6-溴-4-甲氧基H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸

[0271] 室温下,6-溴-4-甲氧基H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸乙酯(1.56g,5.26mmol)溶解在THF/MeOH=(1:1,20mL)中,然后加入NaOH(4M,10mL),50℃搅拌1h,反应完全,减压浓缩掉有机溶剂,盐酸酸化pH=2-3,0℃搅拌0.5h,固体被过滤,水洗,浓缩,得到6-溴-4-甲氧基H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸1.3g,收率92%,MS m/z (ESI): 268.9[M+H]⁺。

[0272] 步骤2: 6-溴-4-甲氧基H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-碳酰氯

[0273] 氮气保护下,将6-溴-4-甲氧基H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸(400mg,1.48mmol)溶解在20(mL)DCM中,冷却到0℃,添加草酰氯(282mg,2.22mmol)及1滴DMF,室温搅拌过夜,反应完全,移除溶剂,直接用于下一步。

[0274] 步骤3: 6-溴-4-甲氧基-N,N-二甲基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0275] 室温下,将二甲胺四氢呋喃溶液(0.96mL,1.48mmol)与三乙胺(448mg,4.44mmol)溶解在DCM(20mL)中,冷却到0℃,然后加入6-溴-4-甲氧基H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-碳酸酐(426mg,1.48mmol),保温反应0.5h,反应完全,加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析,得到6-溴-4-甲氧基-N,N-二甲基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺494mg,收率100%。MS m/z (ESI):297.9[M+H]⁺。

[0276] 步骤4:6-溴-4-羟基-N,N-二甲基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0277] 氮气保护下,室温将6-溴-4-甲氧基-N,N-二甲基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(494mg,1.6mmol)溶解在DCE(20mL)中,然后加入AlCl₃(665mg,4.98mmol)。50℃搅拌0.5h,反应完全,反应液用稀盐酸调pH至5-6,DCM萃取,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得到6-溴-4-羟基-N,N-二甲基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺341mg,收率91.4%。MS m/z (ESI):281.9[M+H]⁺。

[0278] 步骤5:4-羟基-N,N-二甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0279] 将6-溴-4-甲氧基-N,N-二甲基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(341mg,1.2mmol)与1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑(123mg,1.44mmol)溶解在二恶烷:水=(10:1,22mL)中,然后分别加入Pd(Ph₃)₄(123mg,0.12mmol)与碳酸钠(381mg,3.6mmol),氮气保护,90℃搅拌过夜,反应完全后加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得到4-羟基-N,N-二甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺409mg,收率100%。MS m/z (ESI):284.2[M+H]⁺。

[0280] 步骤6:3-(二甲基氨基甲酰基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

[0281] 室温下,将4-羟基-N,N-二甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(400mg,1.4mmol)与DIEA(310mg,2.8mmol)溶解在DMA(5mL)中,然后加入N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(600mg,1.68mmol),氮气保护,室温搅拌3小时。反应完全后加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得到3-(二甲基氨基甲酰基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯300mg,收率85%。MS m/z (ESI):417.9[M+H]⁺。

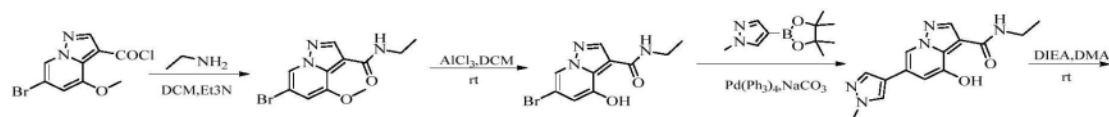
[0282] 步骤7:4-(6-(4-(6-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-N,N-二甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0283] 室温下将3-(二甲基氨基甲酰基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(300mg,0.72mmol),1-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(383mg,0.93mmol),Pd₂(dba)₃(65mg,0.072mmol),X-phos(60mg,0.144mmol),溶解在二恶烷:水=(10:1,20mL)中,然后加入碳酸钠(381mg,3.6mmol),氮气保护,90℃搅拌过夜,反应完全后加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=10:1),得到4-(6-(4-(6-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-N,N-二甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(化合物2)188mg,收率50%,MS m/z (ESI):552.2[M+H]⁺。

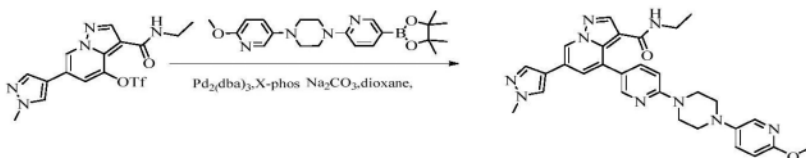
[0284] ¹H NMR(400MHz,DMSO)δ9.03(s,1H),8.34(s,1H),8.24(d,1H),8.07(t,1H),7.66-7.69(m,1H),7.56-7.59(m,1H),6.89(d,1H),6.81(d,1H),4.14(s,3H),3.84(s,3H),3.57

(s, 4H), 3.48 (s, 2H), 2.56 (s, 3H), 2.45-2.47 (m, 3H), 2.41 (s, 2H)。

[0285] 实施例3:化合物3的合成



[0286]



[0287] 步骤1:6-溴-N-乙基-4-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0288] 室温下,将乙胺四氢呋喃溶液(1mL,1.92mmol)与DIEA(448mg,4.44mmol)溶解在DCM(10mL)中,冷却到0℃,然后加入6-溴-4-甲氧基H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-碳酰氯(426mg,1.48mmol),保温反应0.5h,反应完全,加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析,得到6-溴-N-乙基-4-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺420mg,收率90%。

[0289] 步骤2:6-溴-N-乙基-4-羟基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0290] 氮气保护下,室温将6-溴-N-乙基-4-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(420mg,1.4mmol)溶解在DCE 20(mL)中,然后加入AlCl₃ 567mg,4.25mmol),50℃搅拌2h,反应完全,反应pH调至5-6,DCM萃取,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(PE:EA=5:1),得到6-溴-N-乙基-4-羟基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺336mg,收率83%。MS m/z(ESI):286.1[M+H]⁺。

[0291] 步骤3:N-乙基-4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0292] 将6-溴-N-乙基-4-羟基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(336mg,1.1mmol)与1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑(324mg,1.4mmol)溶解在二恶烷:水=(10:1,22mL)中,然后分别加入Pd(PPh₃)₄(124mg,0.11mmol)与碳酸钠(385mg,3.3mmol),氮气保护,90℃搅拌过夜,反应完全后加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得到N-乙基-4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺284mg,收率77%。

[0293] 步骤4:3-(乙基氨基甲酰基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

[0294] 室温下,将N-乙基-4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(284mg,1.40mmol)与DIEA(256mg,2.80mmol)溶解在DMA(5mL)中,然后加入N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(428mg,1.2mmol),氮气保护,室温搅拌2小时。反应完全后加入水淬灭反应,分出有机相,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得到3-(乙基氨基甲酰基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯360mg,收率87%,MS m/z(ESI):416.0[M+H]⁺。

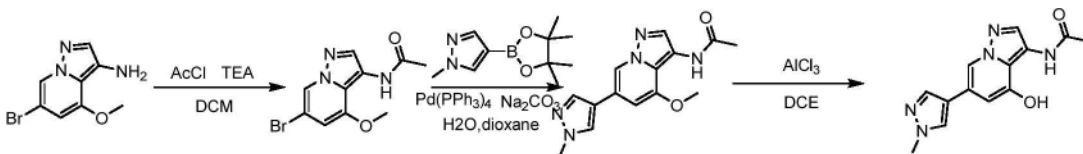
[0295] 步骤5:N-乙基-4-(6-(4-(6-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0296] 室温下将3-(乙基氨基甲酰基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)H-吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(200mg,0.4mmol),1-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(256mg,0.62mmol),Pd₂(dba)₃(37mg,

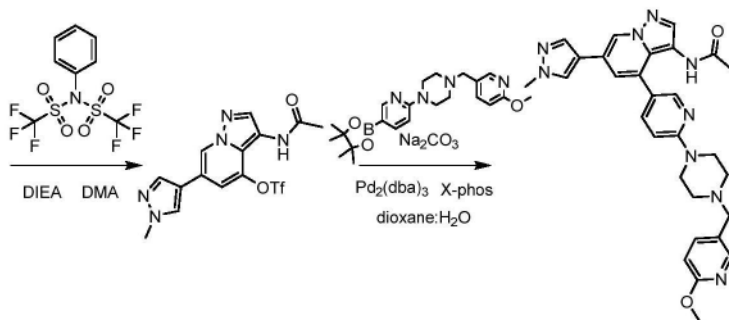
0.04mmol), X-phos (38mg, 0.04mmol), 溶解在二恶烷:水 = (10:1, 20mL) 中, 然后加入碳酸钠 (212mg, 2.0mmol), 氮气保护, 90℃ 搅拌过夜, 反应完全后加入水淬灭反应, 分出有机相, 水洗, 干燥, 柱层析 (DCM:MeOH = 10:1), 得到 N-乙基-4-(6-(4-(6-甲氧基吡啶-3-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)H-吡啶并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺 (化合物3) 113mg, 收率 42%。MS m/z (ESI): 552.1 [M+H]⁺。

[0297] ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 9.02 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.08 (m, 1H), 7.66-7.69 (m, 1H), 6.62-7.64 (d, 1H), 7.54-7.59 (m, 1H), 7.52 (d, 1H), 6.80-6.87 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.55 (s, 4H), 3.48 (s, 2H), 2.86-2.92 (m, 2H), 2.44-2.47 (m, 4H), 0.79 (m, 3H)。

[0298] 实施例4: 化合物4的合成



[0299]



[0300] 步骤1: 合成 N-(6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺

[0301] 将 6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-胺 (600mg, 2.49mmol) 和三乙胺 (0.517ml) 溶解在二氯甲烷 (15ml) 中, 然后冰浴滴加乙酰氯 (0.27ml), 该反应液在室温反应 1h, 监测反应完全后, 冷却, 加入水淬灭反应, EA (10mL*3) 萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到 N-(6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺 580mg。MS m/z (ESI): 284.2 [M+H]⁺。

[0302] 步骤2: 合成 N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺

[0303] 将 N-(6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺 (580mg, 2.05mmol), 四三苯基磷钯 (237mg, 0.205mmol), 碳酸钠 (652mg, 6.15mmol) 和 1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊环-2-基)-吡啶 (512mg, 2.46mmol) 溶解在二氧六环 (15ml) 和水 (5ml) 中, 该反应 80℃ 搅拌反应 16h, 监测反应完全后, 冷却, 加入水淬灭反应, EA (30mL*2) 萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到 N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺 520mg。MS m/z (ESI): 286.0 [M+H]⁺。

[0304] 步骤3: 合成 N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺

[0305] 将 N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺 (520mg, 1.82mmol) 溶解在 1,2-二氯乙烷 (20mL) 中, 然后再加入三氯化铝 (850mg,

6.39mmol), 该反应液再室温下搅拌反应16h, 用水(10mL)淬灭反应, EA (20mL*3) 萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺250mg, MS m/z (ESI): 272.5[M+H]⁺。

[0306] 步骤4: 合成3-乙酰氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

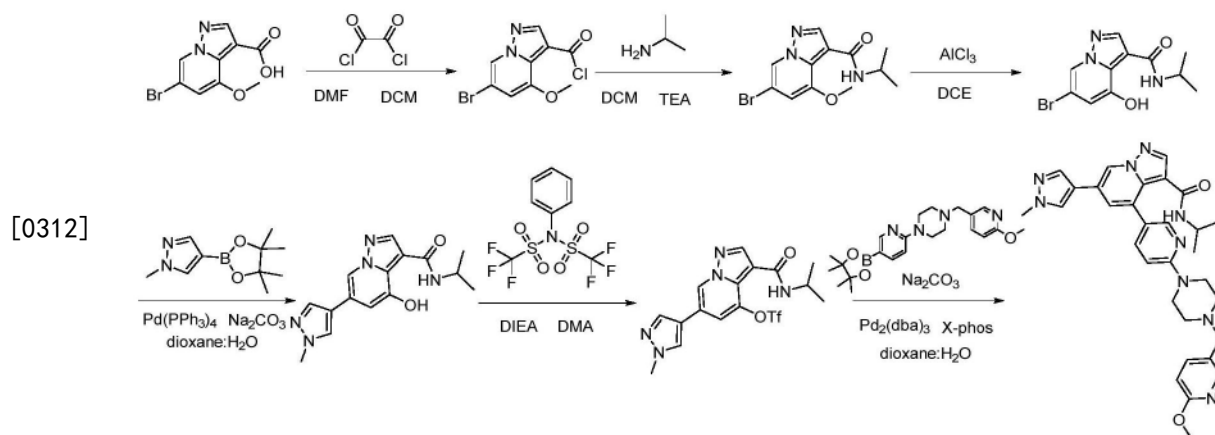
[0307] 将N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺(250mg, 0.92mmol)、N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(396mg, 1.11mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.33ml, 1.85mmol)溶解在DMA(20ml)中, 该反应室温搅拌反应16h, 监测反应完全后, 加入水淬灭反应, EA (30mL*2) 萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到3-乙酰氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯300mg。MS m/z (ESI): 404.4[M+H]⁺。

[0308] 步骤5: 合成N-(4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺

[0309] 将3-乙酰氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(150mg, 0.372mmol)、1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧戊环-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(183mg, 0.447mmol)、碳酸钠(197mg, 1.86mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(34mg, 0.037mmol)和2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(35.5mg, 0.074mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中, 该反应80℃搅拌反应16h, 监测反应完全后, 冷却, 加入水淬灭反应, EA (30mL*2) 萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到N-(4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-基)乙酰胺(化合物4)100mg。MS m/z (ESI): 537.1[M+H]⁺。

[0310] ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 9.02 (s, 1H), 8.91 (d, J=1.4Hz, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.23-8.18 (m, 1H), 8.09 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.05 (d, J=0.8Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.68 (dd, J=8.5, 2.4Hz, 1H), 7.58 (dd, J=8.8, 2.5Hz, 1H), 7.37 (d, J=1.4Hz, 1H), 6.89 (d, J=8.7Hz, 1H), 6.82 (dd, J=8.4, 0.7Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.57 (t, J=5.0Hz, 4H), 3.49 (s, 2H), 2.47 (t, J=5.0Hz, 4H), 1.66 (s, 3H)。

[0311] 实施例5: 化合物5的合成



[0313] 步骤1: 合成6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧基氯

[0314] 将6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸(400mg)溶解在二氯甲烷(10ml)中, 再慢慢滴加草酰氯(282mg), 然后加入2滴DMF, 反应液在室温下搅拌反应1h, LCMS监测反应完全后, 浓缩, 得到6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧基氯(426mg)。

[0315] 步骤2:合成6-溴-N-异丙基-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0316] 将6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羰基氯(426mg)溶解在二氯甲烷(10ml)中,加入异丙胺(113mg),然后滴加三乙胺(448mg),反应液在室温下搅拌反应1h,LCMS监测反应完全后,加水(10ml)淬灭反应,水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-溴-N-异丙基-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(350mg)。MS m/z (ESI):312.1[M+H]⁺。

[0317] 步骤3:合成6-溴-4-羟基-N-异丙基吡咯并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0318] 将6-溴-N-异丙基-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(350mg)溶解在1,2-二氯乙烷(10ml)中,加入三氯化铝(446mg),反应液在室温下搅拌反应16h,LCMS监测反应完全后,加水(20ml)淬灭反应,二氯甲烷萃取,水洗,干燥浓缩,得到6-溴-4-羟基-N-异丙基吡咯并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(300mg)。MS m/z (ESI):297.2[M+H]⁺。

[0319] 步骤4:合成4-羟基-N-异丙基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0320] 将6-溴-4-羟基-N-异丙基吡咯并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(300mg,1.01mmol)、四三苯基磷钨(117mg,0.101mmol),碳酸钠(321mg,3.03mmol)和1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊环-2-基)-吡唑(252mg,1.21mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应16h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到200mg 4-羟基-N-异丙基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺。MS m/z (ESI):300.1[M+H]⁺。

[0321] 步骤5:合成3-(异丙基碳酰)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

[0322] 将4-羟基-N-异丙基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(200mg,0.67mmol),N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(287mg,0.802mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.24ml,1.34mmol)溶解在DMA(20ml)中,该反应室温搅拌反应16h,监测反应完全后,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到150mg 3-(异丙基碳酰)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯。MS m/z (ESI):432.2[M+H]⁺。

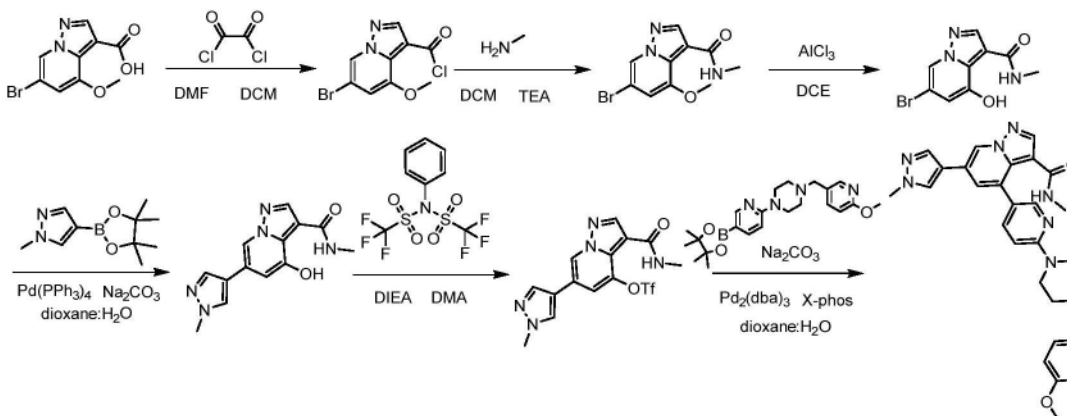
[0323] 步骤6:合成N-异丙基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0324] 将3-(异丙基碳酰)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(150mg,0.348mmol)、1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧戊环-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(171mg,0.418mmol)、碳酸钠(185mg,1.74mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钨(32mg,0.035mmol)和2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(33.2mg,0.070mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应16h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-异丙基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(化合物5)40mg。MS m/z (ESI):566.1[M+H]⁺。

[0325] ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 9.00 (d, J=1.5Hz, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.22 (d, J=2.5Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.08 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.07 (d, J=0.8Hz, 1H), 7.67 (dd, J=8.5, 2.4Hz, 1H), 7.57 (dd, J=8.8, 2.5Hz, 1H), 7.53-7.47 (m, 2H), 6.85 (d, J=8.9Hz, 1H), 6.81

(d, J=8.5Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.63 (dq, J=13.5, 6.6Hz, 1H), 3.54 (t, J=5.0Hz, 4H), 3.48 (s, 2H), 2.46 (t, J=5.0Hz, 4H), 0.86 (s, 3H), 0.85 (s, 3H).

[0326] 实施例6:化合物6的合成



[0328] 步骤1:合成6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羰基氯

[0329] 将6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸(400mg)溶解在二氯甲烷(10ml)中,再慢慢滴加草酰氯(282mg),然后加入2滴DMF,反应液在室温下搅拌反应1h,LCMS监测反应完全后,浓缩,得到6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羰基氯(430mg)。

[0330] 步骤2:合成6-溴-4-甲氧基-N-甲基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0331] 将6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羰基氯(430mg)溶解在二氯甲烷(10ml)中,加入甲胺(59mg)四氢呋喃溶液,然后滴加三乙胺(448mg),反应液在室温下搅拌反应1h,LCMS监测反应完全后,加水(10ml)淬灭反应,水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-溴-4-甲氧基-N-甲基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(350mg)。MS m/z (ESI): 284.2[M+H]⁺。

[0332] 步骤3:合成6-溴-4-羟基-N-甲基吡唑并吡啶-3-甲酰胺

[0333] 将6-溴-4-甲氧基-N-甲基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(350mg)溶解在1,2-二氯乙烷(10ml)中,加入三氯化铝(490mg),反应液在室温下搅拌反应16h,LCMS监测反应完全后,加水(20ml)淬灭反应,二氯甲烷萃取,水洗,干燥浓缩,得到6-溴-4-羟基-N-甲基吡唑并吡啶-3-甲酰胺(300mg)。MS m/z (ESI): 270.7[M+H]⁺。

[0334] 步骤4:合成4-羟基-N-甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0335] 将6-溴-4-羟基-N-甲基吡唑并吡啶-3-甲酰胺(300mg, 1.12mmol)、四三苯基膦钾(129mg, 0.111mmol)、碳酸钠(355mg, 3.35mmol)和1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊环-2-基)-吡唑(279mg, 1.34mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应16h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到4-羟基-N-甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺260mg。MS m/z (ESI): 272.4[M+H]⁺。

[0336] 步骤5:合成6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(4-甲氧基苯基)-N-甲基-1H-吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

[0337] 将4-羟基-N-甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(260mg, 0.96mmol)、N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(411mg, 1.15mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.34ml, 1.92mmol)溶解在DMA(20ml)中,该反应室温搅拌反应16h,监测反应完全后,加入

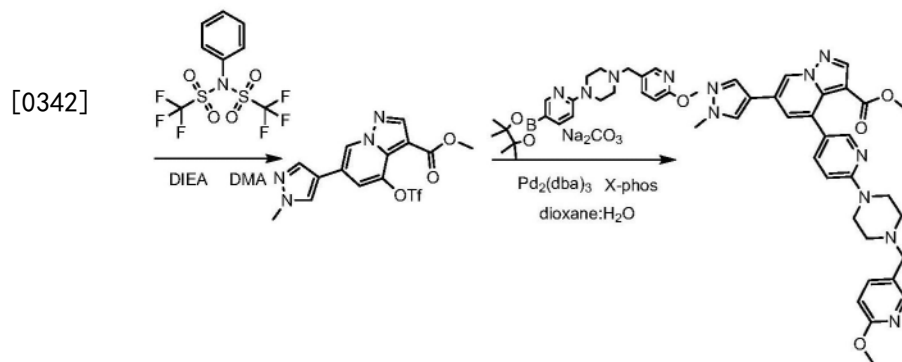
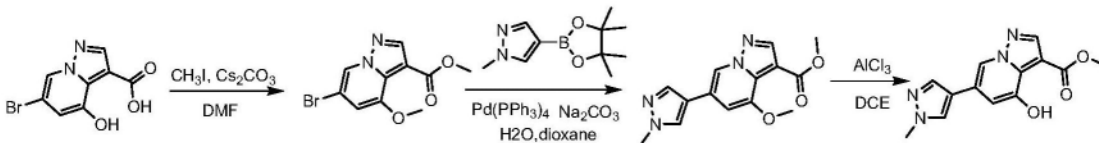
水淬灭反应,EA (30mL*2) 萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(甲基氨基甲酰)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯200mg。MS m/z (ESI): 404.3 [M+H]⁺。

[0338] 步骤6:合成4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-N-甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0339] 将6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(甲基氨基甲酰)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(200mg,0.496mmol)、1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧戊环-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(244mg,0.596mmol)、碳酸钠(263mg,2.48mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(45mg,0.0496mmol)和2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(47mg,0.099mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应16h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA (30mL*2) 萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-N-甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(化合物6)60mg。MS m/z (ESI): 538.2 [M+H]⁺。

[0340] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.03 (d, J=1.5Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.21 (d, J=2.5Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.08 (d, J=0.8Hz, 1H), 7.68 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.61 (d, J=4.8Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.53 (d, J=1.5Hz, 1H), 6.86 (d, J=8.9Hz, 1H), 6.82 (d, J=8.4Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.56 (s, 4H), 3.49 (s, 2H), 2.47 (s, 4H), 2.39 (d, J=4.6Hz, 3H)。

[0341] 实施例7:化合物7的合成



[0343] 步骤1:合成6-溴-4-甲氧基吡唑并吡啶-3-羧酸甲酯

[0344] 将6-溴-4-羟基吡唑并吡啶-3-甲酸(1.8g,7.04mmol)溶解在DMF(25ml)中,加入碳酸铯(4.59g,14.08mmol),然后加入碘甲烷(0.57ml,9.15mmol),反应液在室温下搅拌反应16h,LCMS监测反应完全后,加水(30ml),乙酸乙酯萃取,水洗,干燥浓缩,得到6-溴-4-甲氧基吡唑并吡啶-3-羧酸甲酯(1.8g)。MS m/z (ESI): 285.2 [M+H]⁺。

[0345] 步骤2:合成4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸甲酯

[0346] 将6-溴-4-甲氧基吡唑并吡啶-3-羧酸甲酯(600mg,2.11mmol)、四三苯基磷钯

(244mg, 0.211mmol)、碳酸钠(672mg, 6.34mmol)和1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊环-2-基)-吡唑(527mg, 2.54mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应16h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸甲酯600mg。MS m/z (ESI): 287.3[M+H]⁺。

[0347] 步骤3:合成4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸甲酯

[0348] 将4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸甲酯(600mg, 2.10mmol)溶解在1,2-二氯乙烷(20ml)中,加入三氯化铝(977mg, 7.34mmol),反应液在室温下搅拌反应16h,LCMS监测反应完全后,加水(20ml)淬灭反应,二氯甲烷萃取,水洗,干燥浓缩,得到4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸甲酯(300mg)。MS m/z (ESI): 273.0[M+H]⁺。

[0349] 步骤4:合成6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-((三氟甲基)磺酰)氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸甲酯

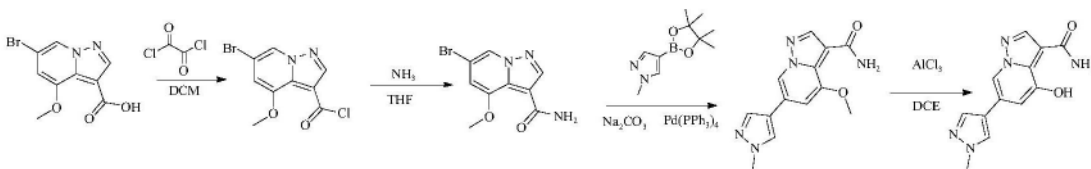
[0350] 将4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酸甲酯(300mg, 1.1mmol)、N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(473mg, 1.32mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.36ml, 2.2mmol)溶解在DMA(20ml)中,该反应室温搅拌反应16h,监测反应完全后,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-((三氟甲基)磺酰)氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸甲酯220mg。MS m/z (ESI): 405.5[M+H]⁺。

[0351] 步骤5:合成甲基4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸甲酯

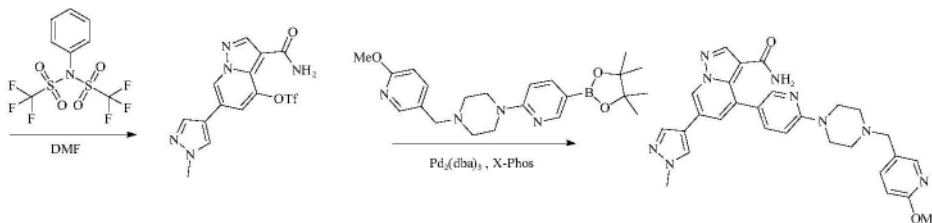
[0352] 将6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-4-((三氟甲基)磺酰)氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸甲酯(220mg, 0.54mmol)、1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧戊环-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(266mg, 0.65mmol)、碳酸钠(286mg, 2.7mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(49.5mg, 0.054mmol)和2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(52mg, 0.109mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应16h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到甲基4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸甲酯(化合物7)320mg。MS m/z (ESI): 539.3[M+H]⁺。

[0353] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.13 (d, J=1.5Hz, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.36 (d, J=0.7Hz, 1H), 8.20-8.15 (m, 1H), 8.09 (d, J=0.8Hz, 1H), 8.08-8.05 (m, 1H), 7.69-7.63 (m, 2H), 7.55 (dd, J=8.8, 2.5Hz, 1H), 6.86 (d, J=8.9Hz, 1H), 6.80 (dd, J=8.5, 0.7Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.54 (t, J=4.9Hz, 3H), 3.47 (s, 2H), 3.37 (s, 4H), 2.45 (d, J=5.0Hz, 4H)。

[0354] 实施例8:化合物8的合成



[0355]



[0356] 步骤1:合成6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰氯

[0357] 将6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-羧酸(0.6g, 2.23mmol)溶解在二氯甲烷(15ml)中,然后0℃下滴加草酰氯(0.56g, 4.46mmol),该反应液在室温反应2h,监测反应完全后,直接旋干反应液投下一步。

[0358] 步骤2:合成6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0359] 将上一步得到的产物6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-酰氯溶解在四氢呋喃(10mL)中,然后在0℃下加入氨水(1mL),在室温下搅拌1小时,反应完全后,旋干大部分反应液,二氯甲烷(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺0.4g。MS m/z (ESI): 270.1 [M+H]⁺。

[0360] 步骤3:合成4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0361] 将6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(400mg, 1.48mmol)、四三苯基膦钯(170mg, 0.148mmol)、碳酸钠(470mg, 4.44mmol)和1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊环-2-基)-吡唑(462mg, 2.22mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应16h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺0.2g。MS m/z (ESI): 272.3 [M+H]⁺。

[0362] 步骤4:合成4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

[0363] 将4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(0.4g, 1.47mmol)溶解在1,2-二氯乙烷(20mL)中,然后再加入三氯化铝(0.7g, 2.98mmol),该反应液再室温下搅拌反应4h,用水(10mL)淬灭反应,DCM(30mL*3)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺0.3g。MS m/z (ESI): 258.3 [M+H]⁺。

[0364] 步骤5:合成3-氨基甲酰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

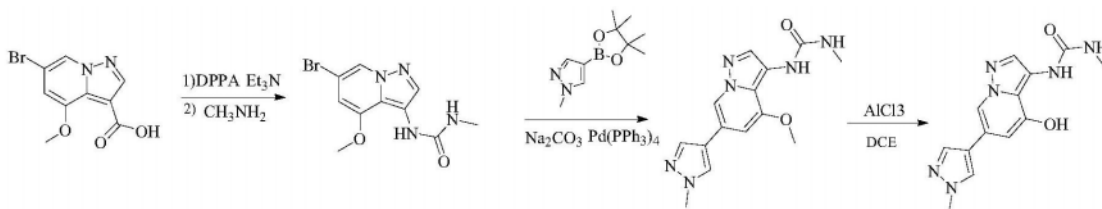
[0365] 将4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(0.2g, 0.78mmol), N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(0.33g, 0.93mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.2g, 1.56mmol)溶解在DMA(10ml)中,该反应室温搅拌反应8h,监测反应完全后,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到3-氨基甲酰基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯0.3g。MS m/z (ESI): 390.2 [M+H]⁺。

[0366] 步骤6:合成4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺

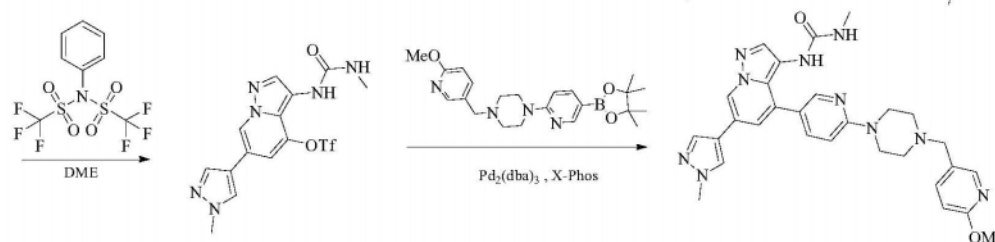
[0367] 将3-氨基甲酰基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(0.2g,0.52mmol)、1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(0.25g,0.62mmol)、碳酸钠(0.17g,1.56mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(48mg,0.052mmol)和2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(50mg,0.104mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应过夜,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-甲酰胺(化合物8)120mg。MS m/z (ESI):524.3[M+H]⁺。

[0368] ¹H NMR (500MHz, DMSO) δ8.89 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.21 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.65 (dd, J=30.6, 7.0Hz, 2H), 7.40 (d, J=1.2Hz, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.89-6.76 (m, 2H), 5.72 (d, J=4.4Hz, 1H), 3.89 (d, J=8.8Hz, 6H), 3.57 (d, J=30.1Hz, 5H), 2.50 (d, J=10.0Hz, 5H)。

[0369] 实施例9:化合物9的合成



[0370]



[0371] 步骤1:合成1-(6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲

[0372] 将6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-羧酸(0.55g,2.04mmol)、叠氮磷酸二苯酯(0.84g,3.06mmol)、三乙胺(1.23g,12.24mmol)溶解在甲苯(20mL)中,反应液50℃搅拌反应6h,然后再加入甲胺盐酸盐(0.55g,8.16mmol),混合液回流反应过夜,监测反应完全后,浓缩大部分溶剂,DCM(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到1-(6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲0.4g。MS m/z (ESI):300.0[M+H]⁺。

[0373] 步骤2:合成1-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲

[0374] 将1-(6-溴-4-甲氧基吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲(400g,1.33mmol)、四三苯基磷钯(153mg,0.133mmol)、碳酸钠(422mg,3.99mmol)和1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊-2-基)吡啶(332mg,1.6mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应16h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到1-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲0.3g。MS m/z (ESI):300.1[M+H]⁺。

[0375] 步骤3:合成1-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲

[0376] 将1-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲(0.3g,1.0mmol)溶解在1,2-二氯乙烷(20mL)中,然后再加入三氯化铝(0.49g,2.0mmol),该反应液再室温下搅拌反应4h,用水(10mL)淬灭反应,DCM(30mL*3)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到1-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲0.2g。MS m/z (ESI):287.3[M+H]⁺。

[0377] 步骤4:合成6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(3-甲基脲基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

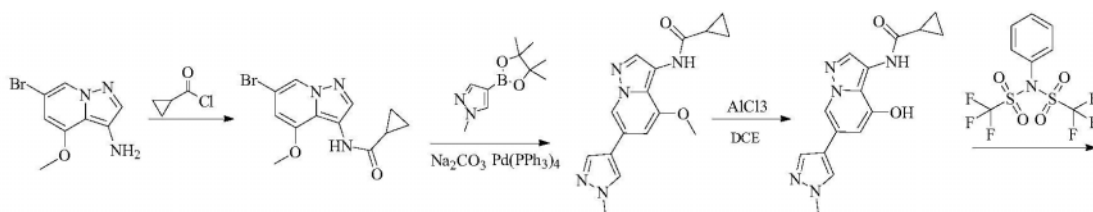
[0378] 将1-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲(0.2g,0.70mmol),N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(0.38g,1.04mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.18g,1.4mmol)溶解在DMA(10ml)中,该反应室温搅拌反应8h,监测反应完全后,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(3-甲基脲基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯0.25g。MS m/z (ESI):419.4[M+H]⁺。

[0379] 步骤5:合成1-(4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲

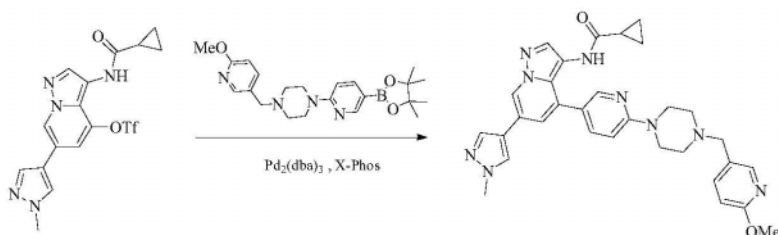
[0380] 将6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-3-(3-甲基脲基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(0.25g,0.6mmol)、1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧戊环-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(0.3g,0.72mmol)、碳酸钠(0.19g,1.8mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(55mg,0.06mmol)和2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(58mg,0.12mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应过夜,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到1-(4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-3-甲基脲(化合物9)100mg。MS m/z (ESI):553.1[M+H]⁺。

[0381] ¹H NMR (500MHz, DMSO) δ8.87 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.24 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.65 (dd, J=30.6, 7.0Hz, 2H), 7.30 (d, J=1.2Hz, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.89-6.76 (m, 2H), 5.72 (d, J=4.4Hz, 1H), 3.86 (d, J=8.8Hz, 6H), 3.52 (d, J=30.1Hz, 5H), 2.49 (d, J=10.0Hz, 5H), 2.43 (d, J=4.5Hz, 3H)。

[0382] 实施例10:化合物10的合成



[0383]



[0384] 步骤1:合成N-(6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺

[0385] 将6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-胺(0.5g,2.07mmol)和三乙胺(0.42g,4.14mmol)溶解在二氯甲烷(15ml)中,然后冰浴滴加环丙甲酰氯(0.26g,2.5mmol),该反应液在室温反应1h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,DCM(20mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺450mg。MS m/z (ESI):310.1[M+H]⁺。

[0386] 步骤2:合成N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺

[0387] 将N-(6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺(0.45g,1.45mmol),四三苯基膦钯(167mg,0.145mmol),碳酸钠(0.46g,4.35mmol)和1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊环-2-基)-吡唑(0.36g,1.7mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应16h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺0.35g。MS m/z (ESI):311.2[M+H]⁺。

[0388] 步骤3:合成N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺

[0389] 将N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺(0.35g,1.1mmol)溶解在1,2-二氯乙烷(20mL)中,然后再加入三氯化铝(0.54g,2.2mmol),该反应液再室温下搅拌反应4h,用水(10mL)淬灭反应,DCM(30mL*3)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺0.25g。MS m/z (ESI):298.2[M+H]⁺。

[0390] 步骤4:合成3-(环丙烷甲酰胺基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

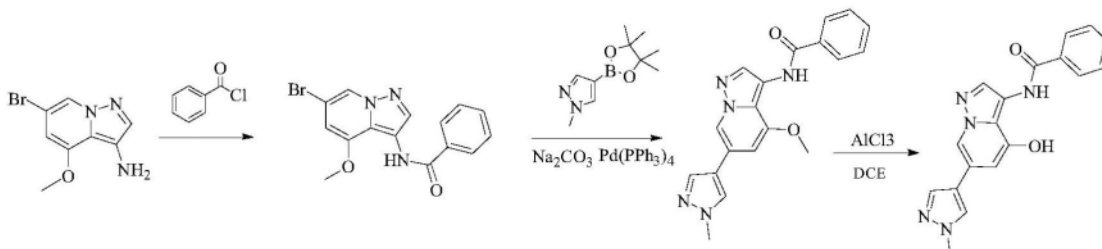
[0391] 将N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺(0.25g,0.84mmol),N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(0.36g,1.00mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.22g,1.68mmol)溶解在DMA(10ml)中,该反应室温搅拌反应8h,监测反应完全后,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到3-(环丙烷甲酰胺基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯0.22g。MS m/z (ESI):430.1[M+H]⁺。

[0392] 步骤5:合成N-(4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺

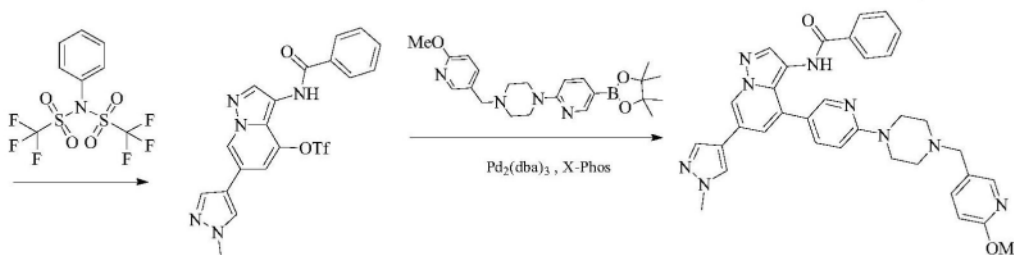
[0393] 将3-(环丙烷甲酰胺基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(0.22g,0.51mmol)、1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧戊环-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(0.25g,0.62mmol)、碳酸钠(0.16g,1.53mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(59mg,0.051mmol)和2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(49mg,0.11mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应过夜,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)环丙烷甲酰胺(化合物10)80mg。MS m/z (ESI):564.2[M+H]⁺。

[0394] ^1H NMR (500MHz, DMSO) δ 9.27 (s, 1H), 8.90 (d, $J=1.3\text{Hz}$, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.19 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.68 (dd, $J=8.5, 1.9\text{Hz}$, 1H), 7.56 (dd, $J=8.8, 2.4\text{Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J=1.3\text{Hz}$, 1H), 6.90-6.75 (m, 2H), 3.86 (d, $J=11.5\text{Hz}$, 6H), 3.64-3.39 (m, 6H), 2.48 (s, 4H), 1.46-1.37 (m, 1H), 0.57-0.48 (m, 2H), 0.46-0.36 (m, 2H).

[0395] 实施例11: 化合物11的合成



[0396]



[0397] 步骤1: 合成N-(6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺

[0398] 将6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-胺(0.5g, 2.07mmol)和三乙胺(0.42g, 4.14mmol)溶解在二氯甲烷(15ml)中,然后冰浴滴加苯甲酰氯(0.35g, 2.5mmol),该反应液在室温反应1h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,DCM(20mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺0.5g。MS m/z (ESI): 346.5[M+H]⁺。

[0399] 步骤2: 合成N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺

[0400] 将N-(6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺(0.5g, 1.45mmol), 四三苯基磷钯(167mg, 0.145mmol)、碳酸钠(0.46g, 4.35mmol)和1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊环-2-基)-吡唑(0.36g, 1.7mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80°C搅拌反应12h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺0.41g。MS m/z (ESI): 348.1[M+H]⁺。

[0401] 步骤3: 合成N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺

[0402] 将N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺(0.42g, 1.2mmol)溶解在1,2-二氯乙烷(20mL)中,然后再加入三氯化铝(0.58g, 2.4mmol),该反应液再室温下搅拌反应4h,用水(10mL)淬灭反应,DCM(30mL*3)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺0.31g。MS m/z (ESI): 334.2[M+H]⁺。

[0403] 步骤4: 合成3-苯甲酰氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基

三氟甲磺酸酯

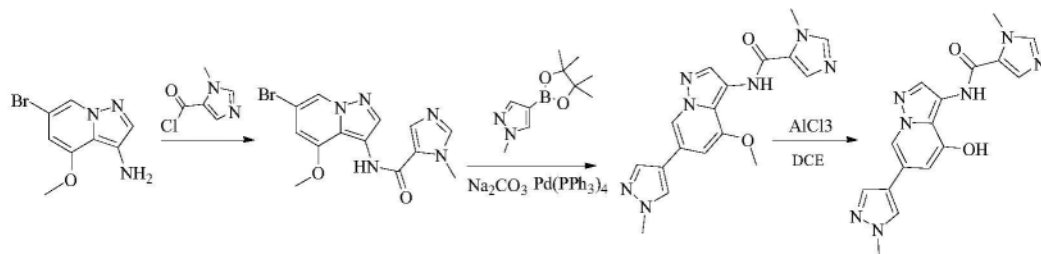
[0404] 将N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺(0.31g,0.93mmol)、N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(0.40g,1.12mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.24g,1.86mmol)溶解在DMA(10ml)中,该反应室温搅拌反应8h,监测反应完全后,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到3-苯甲酰氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯0.26g。MS m/z (ESI):466.0[M+H]⁺。

[0405] 步骤5:合成N-(4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺

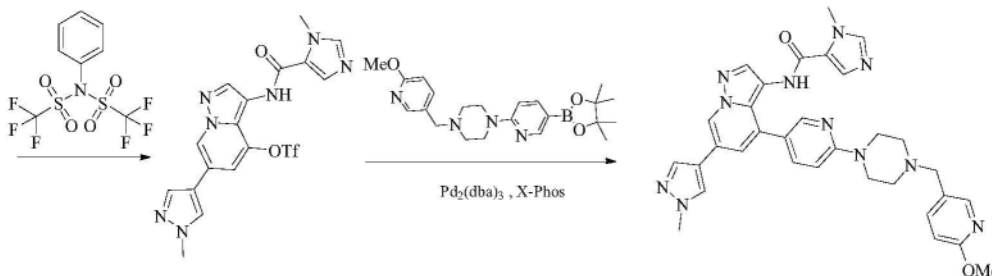
[0406] 将3-苯甲酰氨基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(0.26g,0.56mmol)、1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧戊环-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(0.28g,0.67mmol)、碳酸钠(0.18g,1.68mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(52mg,0.056mmol)和2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(49mg,0.11mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应过夜,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)苯甲酰胺(化合物11)90mg。MS m/z (ESI):601.5[M+H]⁺。

[0407] ¹H NMR (500MHz, DMSO) δ9.50 (s, 1H), 8.96 (d, J=1.3Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.23 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.07 (dd, J=21.0, 9.0Hz, 3H), 7.70-7.64 (m, 1H), 7.64-7.57 (m, 3H), 7.52 (t, J=7.4Hz, 1H), 7.40 (dd, J=10.8, 4.6Hz, 3H), 6.83 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.64 (d, J=8.8Hz, 1H), 3.86 (t, J=9.6Hz, 6H), 3.54-3.35 (m, 6H), 2.36 (s, 4H)。

[0408] 实施例12:化合物12的合成



[0409]



[0410] 步骤1:合成N-(6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺

[0411] 将6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-胺(0.5g,2.07mmol)和三乙胺(0.42g,4.14mmol)溶解在二氯甲烷(15ml)中,然后冰浴滴加1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰氯(0.36g,2.5mmol),该反应液在室温反应1h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,DCM(20mL*2)

萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺0.52g。MS m/z (ESI):350.7[M+H]⁺。

[0412] 步骤2:合成N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺

[0413] 将N-(6-溴-4-甲氧基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺(0.52g,1.48mmol)、四三苯基磷钨钼(171mg,0.148mmol)、碳酸钠(0.47g,4.44mmol)和1-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊环-2-基)-吡唑(0.37g,1.78mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应12h,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺0.4g。MS m/z (ESI):352.1[M+H]⁺。

[0414] 步骤3:合成N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺

[0415] 将N-(4-甲氧基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺(0.4g,1.14mmol)溶解在1,2-二氯乙烷(20mL)中,然后再加入三氯化铝(0.55g,2.28mmol),该反应液再室温下搅拌反应4h,用水(10mL)淬灭反应,DCM(30mL*3)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺0.26g。MS m/z (ESI):338.2[M+H]⁺。

[0416] 步骤4:合成3-(1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

[0417] 将N-(4-羟基-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺(0.26g,0.77mmol)、N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(0.33g,0.93mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.20g,1.54mmol)溶解在DMA(10ml)中,该反应室温搅拌反应8h,监测反应完全后,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到3-(1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯0.33g。MS m/z (ESI):470.1[M+H]⁺。

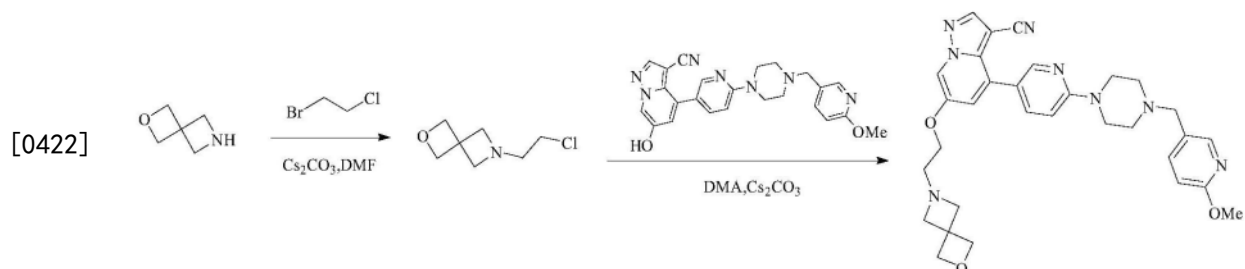
[0418] 步骤5:合成N-(4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺

[0419] 将3-(1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(0.33g,0.71mmol)、1-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧戊环-2-基)吡啶-2-基)哌嗪(0.35g,0.84mmol)、碳酸钠(0.23g,2.13mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钨(65mg,0.071mmol)和2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(68mg,0.14mmol)溶解在二氧六环(15ml)和水(5ml)中,该反应80℃搅拌反应过夜,监测反应完全后,冷却,加入水淬灭反应,EA(30mL*2)萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到N-(4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)-6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-基)-1-甲基-1H-咪唑-5-甲酰胺(化合物12)100mg。MS m/z (ESI):605.3[M+H]⁺。

[0420] ¹H NMR(500MHz,DMSO) δ9.36(s,1H),8.94(d,J=1.3Hz,1H),8.32(s,1H),8.21(d,J=2.4Hz,1H),8.10(d,J=2.1Hz,1H),8.06(s,1H),7.99(s,1H),7.75-7.66(m,2H),7.60

(dd, $J=8.8, 2.5\text{Hz}$, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.39 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 6.83 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.62 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 3.87 (d, $J=12.9\text{Hz}$, 6H), 3.59 (s, 3H), 3.43 (d, $J=46.0\text{Hz}$, 6H), 2.40 (s, 4H).

[0421] 实施例13:化合物13的合成



[0423] 步骤1:合成6-(2-氯乙基)-2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷

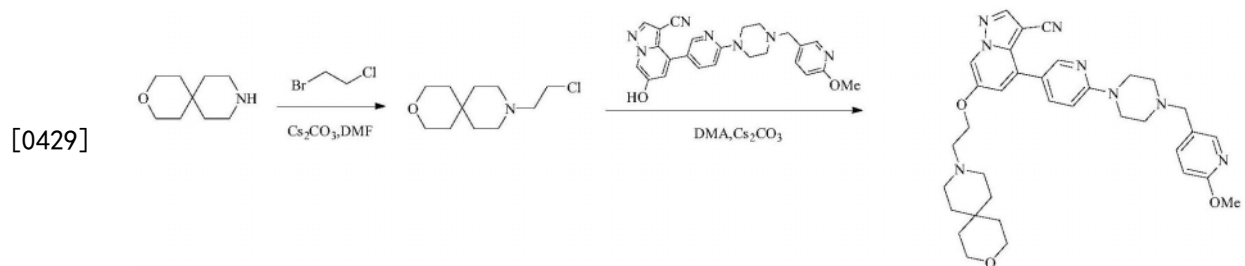
[0424] 将2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷(0.3g, 3.03mmol)、碳酸铯(2.96g, 9.09mmol)加入到DMF(5mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(1.3g, 9.09mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-氯乙基)-2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷150mg。MS m/z (ESI): 162.3[M+H]⁺。

[0425] 步骤2:合成6-(2-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚-6-基)乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0426] 将6-羟基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.1g, 0.23mmol)、6-(2-氯乙基)-2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷(74mg, 0.45mmol)、碳酸铯(0.15g, 0.45mmol)溶于DMA(5mL)中,50℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚-6-基)乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物13)50mg。MS m/z (ESI): 567.1[M+H]⁺。

[0427] ¹H NMR (500MHz, DMSO) δ 8.64 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.64 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.32 (d, $J=2.5\text{Hz}$, 1H), 8.08 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 7.76 (dd, $J=8.8, 2.5\text{Hz}$, 1H), 7.67 (dd, $J=8.5, 2.4\text{Hz}$, 1H), 7.26 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 6.93 (d, $J=8.9\text{Hz}$, 1H), 6.81 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 4.59 (s, 4H), 4.04 (t, $J=5.3\text{Hz}$, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.55 (dd, $J=29.6, 24.6\text{Hz}$, 8H), 2.72 (t, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 2.49-2.39 (m, 5H), 2.08-1.88 (m, 2H)。

[0428] 实施例14:化合物14的合成



[0430] 步骤1:合成9-(2-氯乙基)-3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一烷

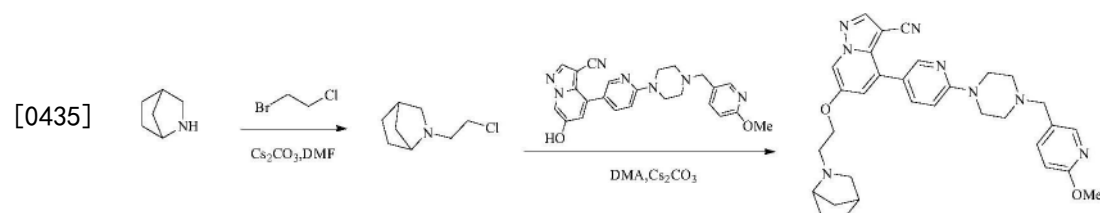
[0431] 将3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一烷(0.3g, 1.93mmol)、碳酸铯(1.88g, 5.80mmol)加入到DMF(5mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(0.83g, 5.80mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到9-(2-氯乙基)-3-氧

杂-9-氮杂螺[5.5]十一烷180mg。MS m/z (ESI) : 218.5 [M+H]⁺。

[0432] 步骤2:合成6-(2-(3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一碳-9-基)乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0433] 将6-羟基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.1g,0.23mmol),9-(2-氯乙基)-3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一烷(98mg,0.45mmol),碳酸铯(0.15g,0.45mmol)溶于DMA(5mL)中,50°C下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-(3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一碳-9-基)乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物14)48mg。MS m/z (ESI) : 623.3 [M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,DMSO) δ 8.73(s,1H),8.58(s,1H),8.32(d,J=2.4Hz,1H),8.09(s,1H),7.76(dd,J=8.8,2.5Hz,1H),7.67(dd,J=8.4,1.8Hz,1H),7.31(s,1H),6.93(d,J=8.9Hz,1H),6.80(d,J=8.4Hz,1H),4.23(d,J=62.7Hz,2H),3.84(s,3H),3.66-3.42(m,13H),2.47(s,4H),1.62-1.33(m,11H)。

[0434] 实施例15:化合物15的合成



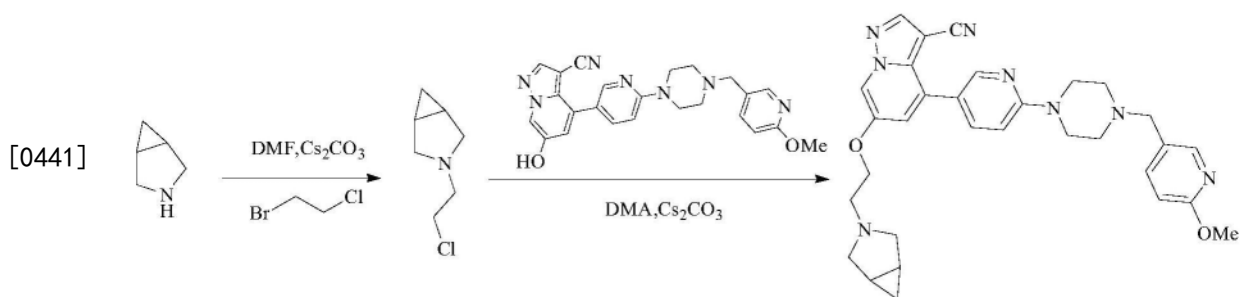
[0436] 步骤1:合成2-(2-氯乙基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷

[0437] 将2-氮杂双环[2.2.1]庚烷(0.2g,2.06mmol)、碳酸铯(2.01g,6.18mmol)加入到DMF(5mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(0.88g,6.18mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到2-(2-氯乙基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷100mg,MS m/z (ESI) : 160.7 [M+H]⁺。

[0438] 步骤2:合成6-(2-(2-氮杂双环[2.2.1]庚-2-基)乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0439] 将6-羟基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.12g,0.27mmol),2-(2-氯乙基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷(87mg,0.54mmol),碳酸铯(0.18g,0.54mmol)溶于DMA(5mL)中,50°C下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-(2-氮杂双环[2.2.1]庚-2-基)乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物15)90mg。MS m/z (ESI) : 565.3 [M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,DMSO) δ 8.74(s,1H),8.59(s,1H),8.32(d,J=2.5Hz,1H),8.08(d,J=2.1Hz,1H),7.77(dd,J=8.8,2.5Hz,1H),7.67(dd,J=8.5,2.4Hz,1H),7.33(s,1H),6.93(d,J=8.9Hz,1H),6.81(d,J=8.5Hz,1H),4.30(s,2H),3.84(s,3H),3.55(dd,J=29.6,24.7Hz,8H),2.49-2.40(m,5H),1.99(dt,J=12.5,7.1Hz,1H),1.84(s,2H),1.63-1.28(m,6H)。

[0440] 实施例16:化合物16的合成



[0442] 步骤1:合成3-(2-氯乙基)-3-氮杂二环[3.1.0]己烷

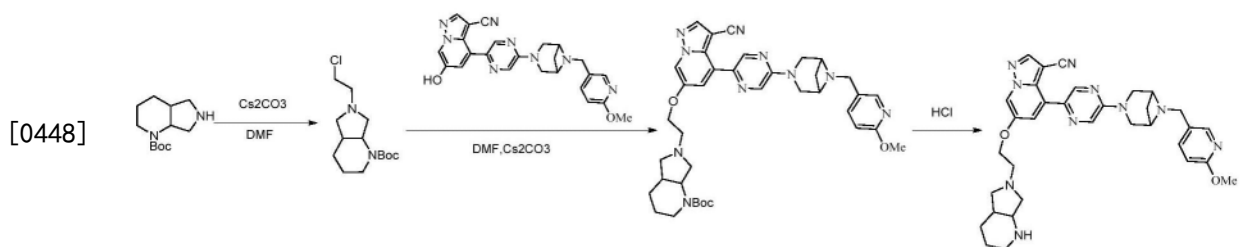
[0443] 将3-氮杂二环[3.1.0]己烷(0.2g,2.41mmol)、碳酸铯(1.56g,4.82mmol)加入到DMF(5mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(0.75g,4.82mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到3-(2-氯乙基)-3-氮杂二环[3.1.0]己烷110mg。MS m/z (ESI):146.6[M+H]⁺。

[0444] 步骤2:合成6-(2-(3-氮杂二环[3.1.0]己-3-基)乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0445] 将6-羟基-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.1g,0.23mmol)、3-(2-氯乙基)-3-氮杂二环[3.1.0]己烷(66mg,0.45mmol)、碳酸铯(0.15g,0.45mmol)溶于DMA(5mL)中,50℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-(3-氮杂二环[3.1.0]己-3-基)乙氧基)-4-(6-(4-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)哌嗪-1-基)吡啶吡啶-3-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物16)60mg。MS m/z (ESI):551.2[M+H]⁺。

[0446] ¹H NMR(500MHz,DMSO) δ 8.68(s,1H),8.57(s,1H),8.32(d,J=2.5Hz,1H),8.08(d,J=2.0Hz,1H),7.76(dd,J=8.8,2.5Hz,1H),7.67(dd,J=8.5,2.3Hz,1H),7.28(s,1H),6.92(d,J=8.9Hz,1H),6.80(d,J=8.4Hz,1H),4.15(s,2H),3.84(s,3H),3.53(d,J=48.6Hz,7H),2.91(d,J=97.1Hz,4H),2.48-2.30(m,5H),1.34(d,J=10.2Hz,2H),0.56(s,1H),0.29(s,1H)。

[0447] 实施例17:化合物17的合成



[0449] 步骤1:叔丁基-3-(5-溴吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-6-甲酰基酯

[0450] 将1-BOC-八氢-吡咯[3,4-B]吡啶(350mg,1.5mmol)、碳酸铯(1.5g,4.6mmol)溶解到DMF(5mL)当中,室温加入1-溴-2-氯乙烷(665mg,4.6mmol),室温搅拌反应过夜,反应完全。乙酸乙酯稀释,过滤,加水淬灭反应,萃取,减压浓缩移除溶剂,柱层析(PE:EA=3:1)得到6-(2-氯乙基)八氢-1H-吡咯并[3,4-b]吡啶-1-羧酸叔丁酯270mg,收率60%。MS m/z (ESI):289[M+H]⁺。

[0451] 步骤2:2-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)八氢-1h-异吲哚-4-羧酸

叔丁酯

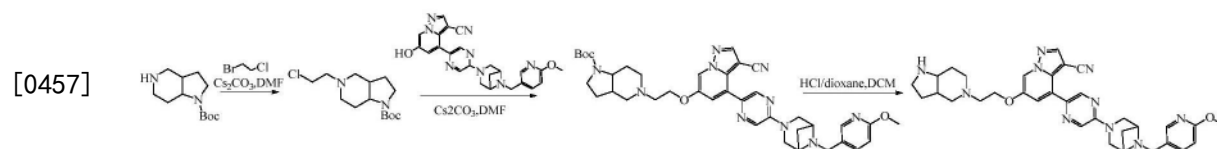
[0452] 将6-(2-氯乙基)八氢-1H-吡咯并[3,4-b]吡啶-1-羧酸叔丁酯(126mg,0.44mmol),6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-3-腈(100mg,0.22mmol)溶解到DMF(4mL)当中,加入碳酸铯(214mg,0.66mmol),50℃搅拌反应3小时,反应完全。DCM稀释,减压浓缩移除溶剂,柱层析(DCM:MeOH=20:1)得到2-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)八氢-1h-异吲哚-4-羧酸叔丁酯129mg,收率83%。MS m/z (ESI):707[M+H]⁺。

[0453] 步骤3:4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)-6-(2-(八氢-6H-吡咯[3,4-b]吡啶-6-基)乙氧基)吡啶[1,5-a]吡啶-3-腈

[0454] 将2-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)八氢-1h-异吲哚-4-羧酸叔丁酯(126mg,0.178mmol)溶解到DCM(2mL)当中,然后加入盐酸二氧六环2mL,搅拌反应1小时,反应完全。饱和NaHCO₃水溶液淬灭反应,DCM萃取,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=10:1),得到4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)-6-(2-(八氢-6H-吡咯[3,4-b]吡啶-6-基)乙氧基)吡啶[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物17)62mg,收率57%。MS m/z (ESI):607[M+H]⁺。

[0455] ¹H NMR(400MHz,DMSO)δ8.73(s,1H),8.67(s,1H),8.60(s,1H),8.29(s,1H),8.09(d,1H),7.68-7.70(m,1H),7.62(d,2H),6.76(d,1H),4.18(m,1H),3.82(m,3H),3.79(s,1H),3.68(d,2H),3.61(d,2H),3.54(s,2H),3.10-3.13(m,1H),2.91-2.95(m,3H),2.69-2.79(m,3H),2.41-2.47(m,2H),2.00-2.04(m,2H),1.57-1.63(m,3H),1.23-1.34(m,2H)。

[0456] 实施例18:化合物18的合成



[0458] 步骤1:叔丁基5-(2-氯乙基)八氢-1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-羧酸酯

[0459] 将八氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-羧酸叔丁酯(350mg,1.5mmol)、碳酸铯(1.5g,4.6mmol)溶解到DMF(3mL)当中,室温加入1-溴-2-氯乙烷(665mg,4.6mmol),室温搅拌反应过夜,反应完全。乙酸乙酯稀释,过滤,加水淬灭反应,萃取,减压浓缩移除溶剂,柱层析(PE:EA=3:1),得到叔丁基5-(2-氯乙基)八氢-1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-羧酸酯250mg,收率56%。MS m/z (ESI):289[M+H]⁺。

[0460] 步骤2:叔丁基5-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)八氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-羧酸酯

[0461] 将叔丁基5-(2-氯乙基)八氢-1H-吡咯[3,2-c]吡啶-1-羧酸酯(250mg,0.86mmol)、6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-3-腈(100mg,0.22mmol)溶解到DMF(4mL)当中,加入碳酸铯(214mg,0.66mmol),50℃搅拌反应18小时,反应完全。DCM稀释,过滤,减压浓缩移除溶剂,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得到叔丁基5-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,

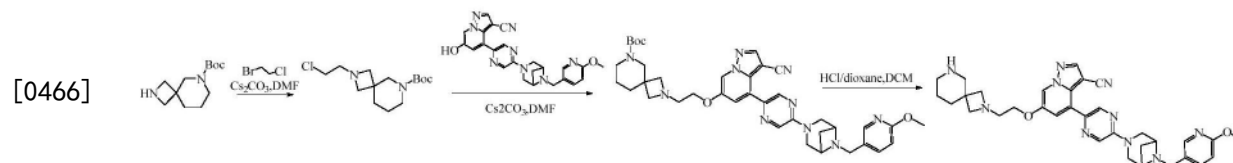
6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)八氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-羧酸148mg,收率95%。MS m/z (ESI): 707 [M+H]⁺。

[0462] 步骤3: 4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚-3-基)吡嗪-2-基)-6-(2-(八氢-5H-吡咯并[3,2-c]吡啶-5-基)乙氧基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈

[0463] 将叔丁基5-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)八氢-1H-吡咯并[3,2-c]吡啶-1-羧酸酯(148mg, 0.2mmol)溶解到DCM 3mL当中,然后加入盐酸二氧六环6mL,搅拌反应1小时,反应完全。移除溶剂,NaHCO₃水溶液稀释,DCM萃取,水洗,干燥,浓缩,柱层析(DCM:MeOH=10:1),得到4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚-3-基)吡嗪-2-基)-6-(2-(八氢-5H-吡咯并[3,2-c]吡啶-5-基)乙氧基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物18)35mg,收率27%。MS m/z (ESI): 607 [M+H]⁺。

[0464] ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.74 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.09 (d, 1H), 7.68-7.70 (m, 1H), 7.62 (d, 2H), 6.76 (d, 1H), 4.23 (m, 2H), 3.82 (m, 3H), 3.79 (s, 1H), 3.68 (d, 2H), 3.61 (d, 2H), 3.54 (s, 2H), 3.92-3.00 (m, 2H), 2.78-2.82 (m, 1H), 2.70-2.72 (m, 2H), 2.53-2.55 (m, 2H), 2.40-2.43 (m, 2H), 2.16-2.22 (m, 1H), 2.03-2.09 (m, 1H), 1.67-1.76 (m, 2H), 1.57-1.63 (m, 2H), 1.44-1.50 (m, 1H), 1.23 (s, 2H)。

[0465] 实施例19: 化合物19的合成



[0467] 步骤1: 叔丁基2-(2-氯乙基)-2,6-二氮螺环[3.5]壬烷-6-2-甲酸酯

[0468] 将2,6-二氮杂螺[3.5]壬烷-6-甲酸叔丁酯(300mg, 0.55mmol)、碳酸铯(899mg, 2.76mmol)溶解到DMF (5mL)当中,室温加入1-溴-2-氯乙烷(238mg, 1.66mmol),室温搅拌反应过夜,反应完全。乙酸乙酯稀释,过滤,加水淬灭反应,萃取,减压浓缩移除溶剂,柱层析(PE:EA=3:1),得到叔丁基2-(2-氯乙基)-2,6-二氮螺环[3.5]壬烷-6-羧酸酯250mg,收率100%。MS m/z (ESI): 289 [M+H]⁺。

[0469] 步骤2: 叔丁基2-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-2,6-二氮螺环[3.5]壬烷-6-羧酸酯

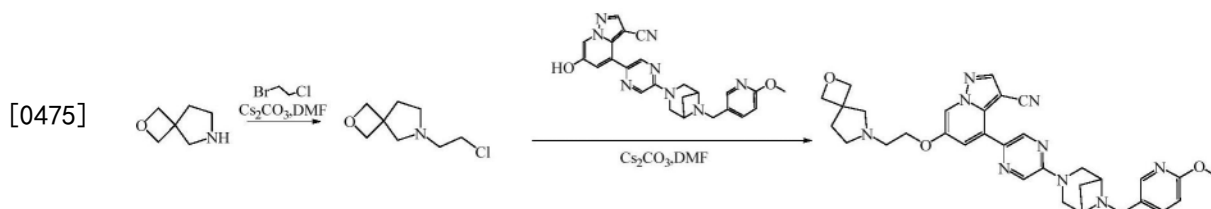
[0470] 将叔丁基2-(2-氯乙基)-2,6-二氮螺环[3.5]壬烷-6-羧酸酯(126mg, 0.44mmol)、6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈(100mg, 0.22mmol)溶解到DMF (2mL)当中,加入碳酸铯(214mg, 0.66mmol),50°C搅拌反应18小时,反应完全。DCM稀释,过滤,减压浓缩移除溶剂,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得到叔丁基2-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-2,6-二氮螺环[3.5]壬烷-6-羧酸酯61mg,收率39%。MS m/z (ESI): 706 [M+H]⁺。

[0471] 步骤3: 6-(2-(2,6-二氮螺环[3.5]壬-2-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0472] 将叔丁基-2-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-2,6-二氮螺环[3.5]壬烷-6-羧酸酯(61mg,0.086mmol)溶解到DCM(3mL)当中,然后加入TFA(1mL),搅拌反应1小时,反应完全。移除溶剂,饱和NaHCO₃水溶液中中和,DCM萃取,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=10:1),得到6-(2-(2,6-二氮螺环[3.5]壬-2-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物19)20mg,收率38%。MS m/z (ESI):607[M+H]⁺。

[0473] ¹H NMR(400MHz,DMSO) δ8.71(d,1H),8.66(d,1H),8.61(s,1H),8.29(d,1H),8.09(d,1H),7.68-7.70(m,1H),7.57(d,1H),6.76(d,1H),4.09(m,2H),3.82(m,3H),3.79(s,1H),3.68(d,2H),3.61(d,2H),3.54(s,2H),3.15(d,2H),3.00(s,1H),2.95(d,2H),2.79-2.85(m,4H),2.55-2.58(m,1H),1.67-1.70(t,2H),1.61(d,1H),1.51-1.52(m,2H),1.25-1.27(m,2H)。

[0474] 实施例20:化合物20的合成



[0476] 步骤1:6-(2-氯乙基)-2-氧杂-6-氮螺环[3.4]辛烷

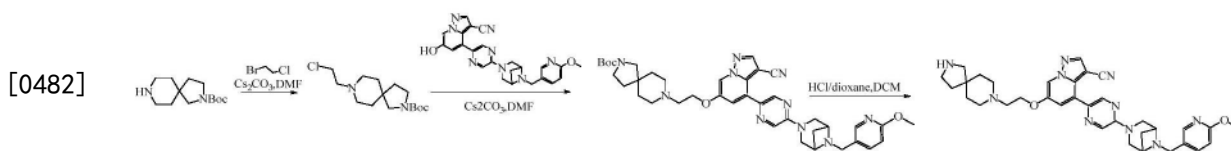
[0477] 将2-氧杂-6-氮螺[3.4]辛烷(300mg,0.94mmol)、碳酸铯(925mg,2.84mmol)溶解到DMF(5mL)当中,室温加入1-溴-2-氯乙烷(407mg,2.84mmol),室温搅拌反应过夜,反应完全。乙酸乙酯稀释,过滤,加水淬灭反应,萃取,减压浓缩移除溶剂,柱层析(PE:EA=3:1)得到6-(2-氯乙基)-2-氧杂-6-氮螺环[3.4]辛烷100mg,收率18%。MS m/z (ESI):176[M+H]⁺。

[0478] 步骤2:6-(2-(2-氧杂-6-氮螺环[3.4]辛-6-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0479] 将6-(2-氯乙基)-2-氧杂-6-氮螺环[3.4]辛烷(77mg,0.44mmol)、6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-3-腈(100mg,0.22mmol)溶解到DMF(2mL)当中,加入碳酸铯(214mg,0.66mmol),50℃搅拌反应18小时,反应完全。DCM稀释,过滤,减压浓缩移除溶剂,柱层析(DCM:MeOH=20:1)得到6-(2-(2-氧杂-6-氮螺环[3.4]辛-6-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物20)10mg,收率7.6%。MS m/z (ESI):594[M+H]⁺。

[0480] ¹H NMR(400MHz,DMSO) δ8.71(d,1H),8.64(d,1H),8.58(s,1H),8.27(d,1H),8.07(d,1H),7.66-7.68(m,1H),7.60(d,1H),6.74(d,1H),4.21(t,2H),3.80(m,3H),3.77(s,1H),3.66(d,2H),3.58-3.61(d,3H),3.55(s,3H),2.80(m,5H),2.47-2.57(m,5H),2.01(t,2H),1.59-1.62(m,1H)。

[0481] 实施例21:化合物21的合成



[0483] 步骤1:叔丁基8-(2-氯乙基)-2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-羧酸酯

[0484] 将2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-2-甲酸叔丁酯(350mg,1.45mmol),碳酸铯(1.5g,4.36mmol)溶解到DMF(5mL)当中,室温加入1-溴-2-氯乙烷(624mg,4.36mmol),室温搅拌反应过夜,反应完全。乙酸乙酯稀释,过滤,加水淬灭反应,萃取,减压浓缩移除溶剂,柱层析(PE:EA=3:1),得到叔丁基8-(2-氯乙基)-2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-羧酸酯192mg,收率43%。

[0485] 步骤2:叔丁基8-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-羧酸酯

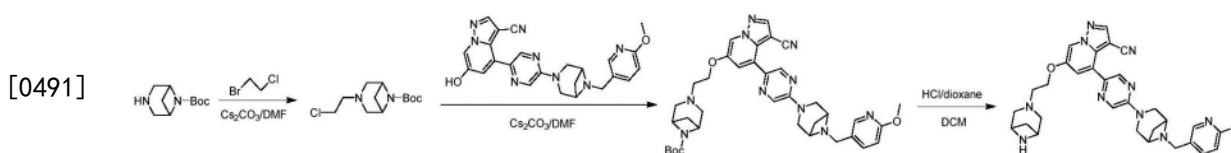
[0486] 将叔丁基8-(2-氯乙基)-2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-羧酸酯(192mg,0.66mmol)、6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-3-腈(100mg,0.22mmol)溶解到DMF(2mL)当中,加入碳酸铯(214mg,0.66mmol),50℃搅拌反应3小时,反应完全。DCM稀释,过滤,减压浓缩移除溶剂,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得叔丁基8-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-羧酸酯158mg,收率100%。MS m/z(ESI):721[M+H]⁺。

[0487] 步骤3:6-(2,8-二氮螺[4.5]癸-8-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0488] 将叔丁基8-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-羧酸酯(158mg,0.21mmol)溶解到DCM(6mL)当中,然后加入TFA(2mL),搅拌反应1小时,反应完全。移除溶剂,饱和NaHCO₃水溶液中和,DCM萃取,水洗,干燥,柱层析(DCM:MeOH=10:1),得到6-(2,8-二氮螺[4.5]癸-8-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物21)54mg,收率39%。MS m/z(ESI):621[M+H]⁺。

[0489] ¹H NMR(400MHz,DMSO)δ8.71(d,1H),8.64(d,1H),8.58(s,1H),8.26(d,1H),8.07(d,1H),7.65-7.68(m,1H),7.59(d,1H),6.73(d,1H),4.21(t,2H),3.80(m,3H),3.77(s,1H),3.66(d,2H),3.61(d,2H),3.58(s,2H),3.51(s,2H),2.98(t,1H),2.71-2.73(m,3H),2.54-2.55(m,1H),2.39-2.43(m,4H),1.54-1.60(m,3H),1.48(m,4H)。

[0490] 实施例22:化合物22的合成



[0492] 步骤1:合成3-(2-氯乙基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-羧酸叔丁酯

[0493] 将3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-羧酸叔丁酯(300.0mg,1.51mmol)、碳酸铯

(1.47g, 4.51mmol) 溶于DMF (3mL) 中, 加入1-溴-2-氯乙烷 (650.0mg, 4.51mmol), 室温下搅拌过夜, 监测反应完全。加水, 二氯甲烷萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到3-(2-氯乙基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-羧酸叔丁酯170mg, 收率43%。MS m/z (ESI): 261.0 [M+H]⁺。

[0494] 步骤2: 合成3-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚-3-基)叔丁基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-羧酸乙酯

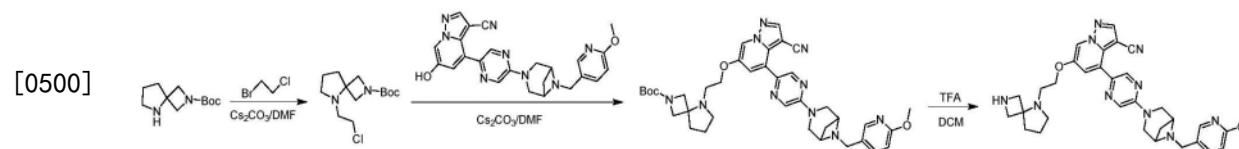
[0495] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈 (100.0mg, 0.22mmol), 3-(2-氯乙基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-羧酸叔丁酯 (170.0mg, 0.65mmol), 碳酸铯 (210.0mg, 0.65mmol) 溶于DMF (3mL) 中, 50℃下搅拌过夜, 监测反应完全。加水, 二氯甲烷萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到3-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚-3-基)叔丁基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-羧酸乙酯130mg, 收率87%。MS m/z (ESI): 679.2 [M+H]⁺。

[0496] 步骤3: 合成6-(2-(3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0497] 将3-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚-3-基)叔丁基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-6-羧酸乙酯 (130.0mg, 0.20mmol) 溶于二氯甲烷 (2mL) 中, 加入4M HCl/dioxane (5mL), 室温下搅拌2h, 监测反应完全。浓缩反应液, 加水, 加入饱和碳酸氢钠溶液调节pH至中性或者偏碱性, 二氯甲烷萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到6-(2-(3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈 (化合物22) 15mg, 收率14%。MS m/z (ESI): 579.1 [M+H]⁺。

[0498] ¹H NMR (500MHz, DMSO) δ 8.77 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.67 (d, J=1.4Hz, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.30 (d, J=1.4Hz, 1H), 8.10 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.70 (dd, J=8.5, 2.4Hz, 1H), 7.63 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.32 (t, J=5.5Hz, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.69 (d, J=5.9Hz, 2H), 3.62 (d, J=12.3Hz, 2H), 3.54 (s, 2H), 3.26 (d, J=11.3Hz, 4H), 3.06 (dd, J=12.5, 8.4Hz, 4H), 2.00 (dd, J=19.4, 8.0Hz, 2H), 1.62 (d, J=8.7Hz, 1H), 1.35 (d, J=8.9Hz, 1H)。

[0499] 实施例23: 化合物23的合成



[0501] 步骤1: 合成5-(2-氯乙基)-2,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸叔丁酯

[0502] 将2,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸叔丁酯 (200.0mg, 0.94mmol), 碳酸铯 (0.92g, 2.83mmol) 溶于DMF (3mL) 中, 加入1-溴-2-氯乙烷 (400.0mg, 2.83mmol), 室温下搅拌过夜, 监

测反应完全。加水,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到5-(2-氯乙基)-2,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸叔丁酯155mg,收率60%。MS m/z (ESI):275.0[M+H]⁺。

[0503] 步骤2:合成5-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚-3-基叔丁基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-2,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸甲酯

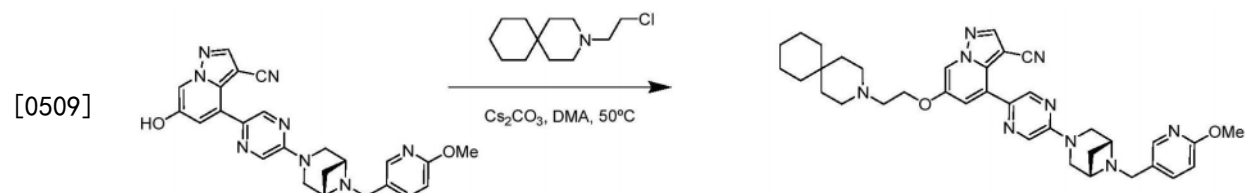
[0504] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(100.0mg,0.22mmol),5-(2-氯乙基)-2,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸叔丁酯(155.0mg,0.57mmol),碳酸铯(210.0mg,0.65mmol)溶于DMF(3mL)中,50℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到5-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚-3-基叔丁基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-2,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸甲酯123mg,收率81%。MS m/z (ESI):693.2[M+H]⁺。

[0505] 步骤3:合成6-(2-(2,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-5-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0506] 将5-(2-((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚-3-基叔丁基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)乙基)-2,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-2-羧酸甲酯(123.0mg,0.18mmol)溶于二氯甲烷(3mL)中,加入TFA(0.1mL),室温下搅拌3h,监测反应完全。浓缩反应液,加水,加入饱和碳酸氢钠溶液调节pH至中性或者偏碱性,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-(2,5-二氮杂螺[3.4]辛烷-5-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物23)80mg,收率76%。MS m/z (ESI):593.2[M+H]⁺。

[0507] ¹H NMR(500MHz,DMSO) δ8.80(d,J=32.2Hz,1H),8.69(s,1H),8.59(d,J=5.1Hz,1H),8.28(s,1H),8.14(d,J=23.3Hz,1H),7.69(s,2H),6.78(d,J=7.0Hz,1H),4.26(s,2H),3.88(s,3H),3.82(d,J=13.5Hz,3H),3.75-3.62(m,2H),3.61(d,J=12.4Hz,2H),3.53(s,2H),2.16(d,J=13.5Hz,2H),1.33(d,J=8.7Hz,1H),1.25(dd,J=18.1,13.5Hz,8H),0.84(d,J=7.0Hz,2H)。

[0508] 实施例24:化合物24的合成



[0510] 步骤1:合成3-(2-氯乙基)-3-氮杂螺[5.5]十一烷

[0511] 将3-氮杂螺[5.5]十一烷(300mg,1.96mmol)、碳酸铯(1.91g,5.87mmol)溶解到DMF(5mL)当中,室温加入1-溴-2-氯乙烷(1.12g,7.83mmol),室温搅拌反应过夜,反应完全。乙酸乙酯稀释,过滤,加水淬灭反应,萃取,减压浓缩移除溶剂,柱层析(PE:EA=3:1)得到3-(2-氯乙基)-3-氮杂螺[5.5]十一烷192mg。MS m/z (ESI):216.1[M+H]⁺。

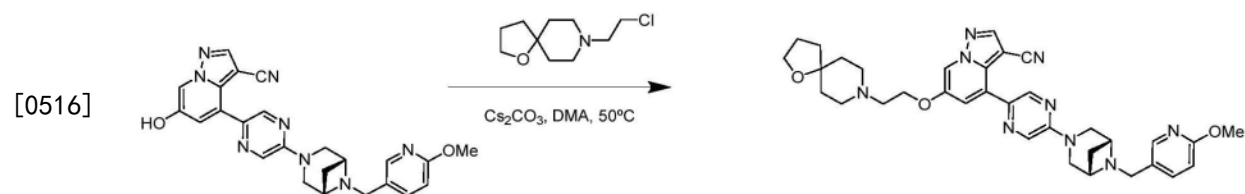
[0512] 步骤2:合成6-(2-(3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-基)乙氧基)-4-(5-((1R,5S)-6-((6-

甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0513] 将3-(2-氯乙基)-3-氮杂螺[5.5]十一烷(192mg, 8.9mmol)、6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈(100mg, 0.22mmol)溶解到DMF(6mL)当中,加入碳酸铯(215.04mg, 0.66mmol), 50℃搅拌反应3小时,反应完全。DCM稀释,过滤,减压浓缩移除溶剂,柱层析(DCM:MeOH=20:1),得6-(2-(3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-基)乙氧基)-4-(5-((1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈35mg。MS m/z (ESI): 634.2 [M+H]⁺。

[0514] ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ8.74 (d, J=1.9Hz, 1H), 8.66 (d, J=1.4Hz, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.28 (d, J=1.3Hz, 1H), 8.09 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.69 (dd, J=8.5, 2.4Hz, 1H), 7.62 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.77 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.23 (t, J=5.4Hz, 2H), 3.82 (s, 4H), 3.82-3.77 (m, 2H), 3.69 (d, J=5.7Hz, 2H), 3.62 (d, J=12.2Hz, 2H), 3.54 (s, 2H), 2.78-2.68 (m, 2H), 2.48-2.38 (m, 4H), 1.42-1.34 (m, 10H), 1.32-1.26 (m, 4H), 1.24 (d, J=7.2Hz, 2H), 1.05 (t, J=7.0Hz, 1H)。

[0515] 实施例25:化合物25的合成



[0517] 步骤1:合成8-(2-氯乙基)-1-氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸烷

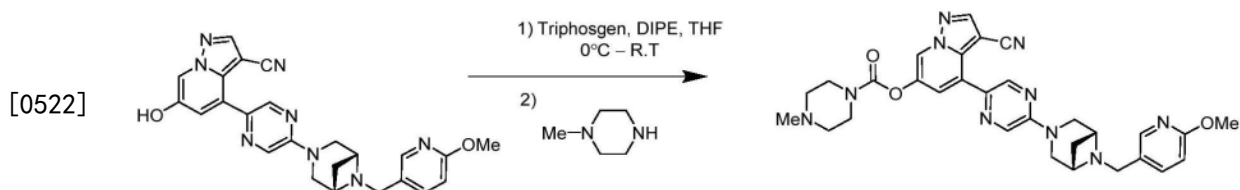
[0518] 将1-氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸烷(300mg, 1.69mmol)、碳酸铯(1.65g, 5.07mmol)溶解到DMF(5mL)当中,室温加入1-溴-2-氯乙烷(968.01mg, 6.75mmol),室温搅拌反应过夜,反应完全。乙酸乙酯稀释,过滤,加水淬灭反应,萃取,减压浓缩移除溶剂,柱层析(PE:EA=3:1),得到8-(2-氯乙基)-1-氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸烷150mg。MS m/z (ESI): 204.1 [M+H]⁺。

[0519] 步骤2:合成6-(2-(1-氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸烷-8-基)乙氧基)-4-(5-((1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0520] 将8-(2-氯乙基)-1-氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸烷(150mg, 0.73mmol)、6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑[1,5-a]吡啶-3-腈(100mg, 0.22mmol)溶解到DMF(6mL)当中,加入碳酸铯(215.04mg, 0.66mmol), 50℃搅拌反应3小时,反应完全。DCM稀释,过滤,减压浓缩移除溶剂,柱层析(DCM:MeOH=20:1)得6-(2-(3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-基)乙氧基)-4-(5-((1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物25)45mg。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ8.74 (d, J=1.9Hz, 1H), 8.66 (d, J=1.4Hz, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.28 (d, J=1.3Hz, 1H), 8.09 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.69 (dd, J=8.5, 2.4Hz, 1H), 7.62 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.77 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.23 (t, J=5.4Hz, 2H), 3.82 (s, 4H), 3.82-3.77 (m, 2H), 3.69 (d, J=5.7Hz, 2H), 3.62 (d, J=12.2Hz, 2H), 3.54 (s, 2H), 2.78-2.68 (m, 2H), 2.48-2.38 (m, 4H), 1.42-1.34 (m, 10H), 1.32-1.26 (m, 4H), 1.24 (d, J=7.2Hz,

2H), 1.05 (t, J=7.0Hz, 1H). MS m/z (ESI): 622.1 [M+H]⁺.

[0521] 实施例26: 化合物26的合成

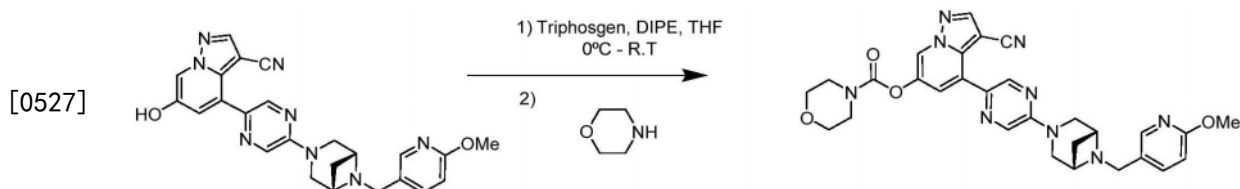


[0523] 步骤1: 合成3-氰基-4-(5-((1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基-4-甲基哌嗪-1-羧酸酯

[0524] 在0℃条件下, 氮气保护, 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-3-腈(100mg, 0.22mmol)溶解到THF(10mL)当中, 加入DIPEA(113.8mg, 0.88mmol), 缓慢加入三光气(65.3mg, 0.22mmol), 搅拌反应2小时后, 滴加N-甲基哌嗪(66.1mg, 0.66mmol)至反应体系中继续搅拌过夜, 反应完。饱和碳酸氢钠淬灭, EA(2*10mL)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20mL)洗, 减压浓缩移除溶剂, 柱层析(DCM:MeOH=10:1), 得3-氰基-4-(5-((1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基-4-甲基哌嗪-1-羧酸酯(化合物26)65mg。MS m/z (ESI): 581.1 [M+H]⁺。

[0525] ¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ9.10(d, J=1.9Hz, 1H), 8.74(s, 1H), 8.66(d, J=1.4Hz, 1H), 8.32(d, J=1.3Hz, 1H), 8.10(s, 1H), 7.83(d, J=1.9Hz, 1H), 7.70(dd, J=8.5, 2.3Hz, 1H), 6.78(d, J=8.5Hz, 1H), 3.83(s, 4H), 3.80(s, 2H), 3.74-3.43(m, 11H), 2.41(d, J=17.1Hz, 4H), 2.25(s, 3H)。

[0526] 实施例27: 化合物27的合成



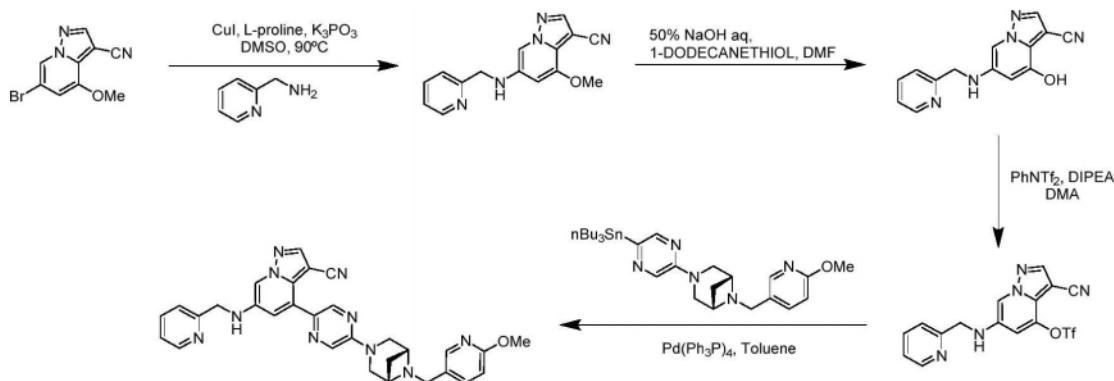
[0528] 步骤1: 合成3-氰基-4-(5-((1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基吗啉-4-羧酸酯

[0529] 在0℃条件下, 氮气保护, 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶[1,5-a]吡啶-3-腈(100mg, 0.22mmol)溶解到THF(10mL)当中, 加入DIPEA(113.8mg, 0.88mmol), 缓慢加入三光气(65.3mg, 0.22mmol), 搅拌反应2小时后, 滴加吗啉(57.6mg, 0.66mmol)至反应体系中继续搅拌过夜, 反应完。饱和碳酸氢钠淬灭, EA(2*10mL)萃取, 合并有机相, 饱和食盐水(20mL)洗, 减压浓缩移除溶剂, 柱层析(DCM:MeOH=10:1), 得3-氰基-4-(5-((1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基吗啉-4-羧酸酯(化合物27)36mg。MS m/z (ESI): 721 [M+H]⁺。

[0530] ¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ9.10(d, J=1.9Hz, 1H), 8.73(s, 1H), 8.65(d, J=1.3Hz, 1H), 8.31(d, J=1.3Hz, 1H), 8.09(d, J=1.9Hz, 1H), 7.84(d, J=1.9Hz, 1H), 7.69(dd, J=8.5, 2.4Hz, 1H), 6.77(d, J=8.5Hz, 1H), 3.81(d, J=12.0Hz, 5H), 3.74-3.59(m, 11H), 3.54

(s, 2H), 3.46 (s, 2H), 2.55 (d, J=6.7Hz, 1H), 1.62 (d, J=8.5Hz, 1H). MS m/z (ESI): 568.3 [M+H]⁺.

[0531] 实施例28: 化合物28的合成



[0532]

[0533] 步骤1: 合成4-甲氧基-6-((吡啶-2-基甲基)氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0534] 将化合物6-溴-4-甲氧基-吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(1.0g, 3.96mmol)、吡啶-2-基甲胺(643.4mg, 5.95mmol)、CuI(75.4mg, 0.396mmol)、L-脯氨酸(91.3mg, 0.793mmol)和K₃PO₄(1.68mg, 7.93mmol), 溶解在DMSO(8mL)中, 然后切换氮气保护, 该反应液在90°C下搅拌过夜, 反应完全后, 饱和食盐水(10mL)洗, 浓缩有机相, 柱层析纯化(PE:EA=3:1), 得到4-甲氧基-6-((吡啶-2-基甲基)氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈300mg。MS m/z (ESI): 280.1 [M+H]⁺。

[0535] 步骤2: 合成4-羟基-6-((吡啶-2-基甲基)氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0536] 将4-甲氧基-6-((吡啶-2-基甲基)氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.2g, 0.71mmol)溶解在DMF(4mL)中, 然后再加入正十二硫醇(0.34mL), 加热反应至45°C, 缓慢加入NaOH水溶液12N(0.13mL)升温至50°C反应液在氮气保护下搅拌过夜, 反应完全后, 加水(10mL)稀释, 50%柠檬酸水溶液调pH至5-6, EA(2*10mL), 合并有机相饱和食盐水(20mL)洗, 浓缩ISCO柱层析纯化(DCM/MeOH=10:1), 得4-羟基-6-((吡啶-2-基甲基)氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈100mg。MS m/z (ESI): 266.2 [M+H]⁺。

[0537] 步骤3: 合成3-氰基-6-((吡啶-2-基甲基)氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

[0538] 将4-羟基-6-((吡啶-2-基甲基)氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(100mg, 0.38mmol), 溶于DMA(10mL), 加入DIPEA(0.13mL, 0.76mmol), 缓慢向反应液中加入N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺(161.7mg, 0.45mmol), 然后在室温下搅拌反应2h, LCMS监测反应完全后, 用水(10mL)淬灭反应, EA(10mL*3)萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到3-氰基-6-((吡啶-2-基甲基)氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯88mg。MS m/z (ESI): 398.2 [M+H]⁺。

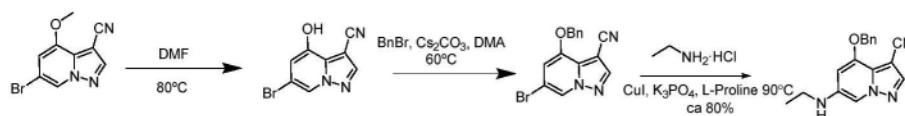
[0539] 步骤4: 合成4-(5-((1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-((吡啶-2-基甲基)氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0540] 在0°C条件下, 氮气保护将化合物3-氰基-6-((吡啶-2-基甲基)氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯(88mg, 0.22mmol)、(1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(三丁基锡烷基)吡啶-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷(195.2mg, 0.33mmol)、Pd(Ph₃P)₄(25.4mg, 0.022mmol)和CuI(4.2mg, 0.022mmol), 溶解在1,4-二甲苯(10mL)中, 反应体系搅拌均匀, 缓慢升温至140°C, 继续搅拌反应过夜, LCMS监测反应完全后, 用饱和NaHCO₃

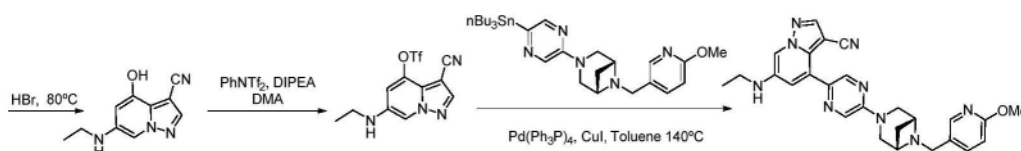
水溶液 (10mL) 淬灭反应, EA (10mL*3) 萃取, 有机相饱和NaCl水洗, 干燥浓缩, 柱层析纯化 DCM/MeOH (10:1) 得到 (4- (5- ((1R, 5S) -6- ((6-甲氧基吡啶-3-基) 甲基) -3, 6-二氮杂双环 [3.1.1] 庚烷-3-基) 吡啶-2-基) -6- ((吡啶-2-基甲基) 氨基) 吡啶并 [1, 5-a] 吡啶-3-腈 (化合物28) 32mg。

[0541] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.57 (d, $J=4.1\text{Hz}$, 1H), 8.53 (d, $J=1.3\text{Hz}$, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.29 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.95 (d, $J=1.8\text{Hz}$, 1H), 7.79 (td, $J=7.7, 1.8\text{Hz}$, 1H), 7.70 (dd, $J=8.4, 2.1\text{Hz}$, 1H), 7.48 (t, $J=4.6\text{Hz}$, 2H), 7.30 (dd, $J=6.7, 5.0\text{Hz}$, 1H), 6.75 (dd, $J=16.2, 7.3\text{Hz}$, 2H), 5.43-5.40 (m, 1H), 4.46 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 2H), 3.82 (s, 4H), 3.79 (s, 2H), 3.74-3.48 (m, 7H), 2.55 (s, 1H), 1.62 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H). MS m/z (ESI): 545.3 [M+H] $^+$ 。

[0542] 实施例29: 化合物29的合成



[0543]



[0544] 步骤1: 合成6-溴-4-(苄氧基)-吡啶并 [1, 5-a] 吡啶-3-腈

[0545] 将6-溴-4-甲氧基-吡啶并 [1, 5-a] 吡啶-3-腈 (1.0g, 0.71mmol) 溶解在DMF (4mL) 中, 然后再加入正十二硫醇 (1.5mL), 加热反应至45°C, 缓慢加入NaOH水溶液12N (0.6ml) 升温至50°C 反应液在氮气保护下搅拌过夜, 反应完全后, 加水 (10mL) 稀释, 50% 柠檬酸水溶液调pH至5-6, EA (2*10mL), 合并有机相饱和食盐水 (20mL) 洗, 浓缩得到产物6-溴-4-羟基-吡啶并 [1, 5-a] 吡啶-3-腈0.8g, 直接投入下一步反应。将产物溶解在 (10mL) DMA溶剂中, 加入苄溴 (1.2g, 0.67mmol) 和Cs₂CO₃ (3.28g, 10.08mmol), 加热搅拌过夜, 反应完后, 饱和食盐水 (30mL) 洗, 浓缩有机相, ISCO柱层析纯化 (PE:EA=1:2), 得6-溴-4-(苄氧基)-吡啶并 [1, 5-a] 吡啶-3-腈1.0g。MS m/z (ESI): 328.1 [M+H] $^+$ 。

[0546] 步骤2: 合成4-(苄氧基)-6-(乙基氨基)吡啶并 [1, 5-a] 吡啶-3-腈

[0547] 预先将乙胺盐酸盐 (0.92g, 9.14mmol) 溶于 (30mL) DMSO溶剂中, 加入K₂CO₃ (0.92g, 9.14mmol), 中和体系中的盐酸, 反应搅拌2h后静置, 离心取上层清液。

[0548] 用100mL高压反应瓶, 将化合物6-溴-4-(苄氧基)-吡啶并 [1, 5-a] 吡啶-3-腈 (1.0g, 3.07mmol), CuI (16.2mg, 0.61mmol), L-脯氨酸 (141.6mg, 1.23mmol) 和K₃PO₄ (1.3g, 6.14mmol), 溶解在乙胺的DMSO (30mL) 溶液中, 然后切换氮气保护, 密封, 该反应液在90°C下搅拌过夜, 反应完全后, 饱和食盐水 (30mL) 洗, 浓缩有机相, 柱层析纯化 (PE:EA=3:1) 得到4-(苄氧基)-6-((吡啶-2-基甲基) 氨基) 吡啶并 [1, 5-a] 吡啶-3-腈0.68g。MS m/z (ESI): 293.2 [M+H] $^+$ 。

[0549] 步骤3: 合成6-(乙基氨基)-4-羟基吡啶并 [1, 5-a] 吡啶-3-腈

[0550] 将4-(苄氧基)-6-((吡啶-2-基甲基) 氨基) 吡啶并 [1, 5-a] 吡啶-3-腈 (0.6g, 2.05mmol) 溶解在HBr (20mL) 中, 缓慢升温至80°C回流反应2h, 反应完全后, 加水 (10mL) 稀

释, 4N的NaOH水溶液调pH至4-5, EA (2*10mL), 合并有机相饱和食盐水 (20mL) 洗, 浓缩ISCO柱层析纯化 (DCM/MeOH=10:1), 得6-(乙基氨基)-4-羟基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈0.26g。MS m/z (ESI): 203.5[M+H]⁺。

[0551] 步骤4: 3-氰基-6-(乙基氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯

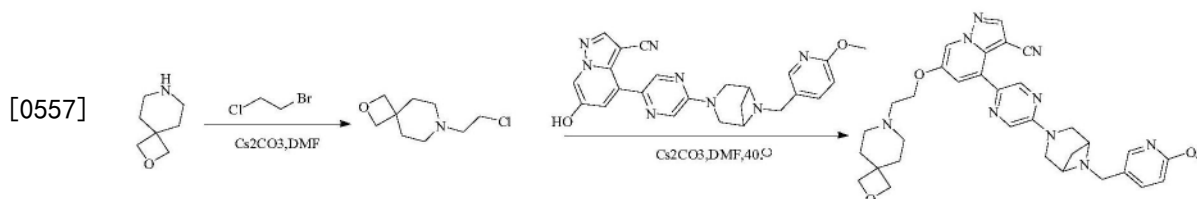
[0552] 将6-(乙基氨基)-4-羟基吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈 (160mg, 0.79mmol), 溶于DMA (10mL), 加入DIPEA (0.27mL, 1.58mmol), 缓慢向反应液中加入PhNTf₂ (340mg, 0.95mmol), 然后在室温下搅拌反应2h, LCMS监测反应完全后, 用水 (10mL) 淬灭反应, EA (10mL*3) 萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到3-氰基-6-(乙基氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯270mg。MS m/z (ESI): 335.2[M+H]⁺。

[0553] 步骤5: 合成6-(乙基氨基)-4-(5-((1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪吡啶-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0554] 在0℃条件下, 氮气保护将化合物3-氰基-6-(乙基氨基)吡唑并[1,5-a]吡啶-4-基三氟甲磺酸酯 (100mg, 0.30mmol)、(1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-(5-(三丁基锡烷基)吡嗪-2-基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷 (263.6mg, 0.45mmol)、Pd (Ph₃P)₄ (34.65mg, 0.03mmol) 和CuI (5.7mg, 0.03mmol), 溶解在1,4-二甲苯 (10ml) 中, 反应体系搅拌均匀, 缓慢升温至140℃, 继续搅拌反应过夜, LCMS监测反应完全后, 用饱和NaHCO₃水溶液 (10mL) 淬灭反应, EA (10mL*3) 萃取, 有机相饱和NaCl水洗, 干燥浓缩, 柱层析纯化DCM/MeOH (10:1), 得到6-(乙基氨基)-4-(5-((1R,5S)-6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪吡啶-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈 (化合物29) 34mg。MS m/z (ESI): 482.2[M+H]⁺。

[0555] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8.52 (d, J=1.3Hz, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.28 (d, J=1.2Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.97 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.69 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.32 (d, J=1.9Hz, 1H), 6.76 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.95 (t, J=5.3Hz, 1H), 3.81 (s, 1H), 3.80 (d, J=8.1Hz, 1H), 3.74-3.47 (m, 2H), 3.13-2.99 (m, 1H), 1.21 (t, J=7.1Hz, 1H)。

[0556] 实施例30: 化合物30的合成



[0558] 步骤1: 合成7-(2-氯乙基)-2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷

[0559] 将2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷 (0.2g, 1.57mmol)、碳酸铯 (1.54g, 4.72mmol) 加入到DMF (5mL) 中, 再加入1-溴-2-氯乙烷 (0.68g, 4.72mmol), 室温下搅拌过夜, 监测反应完全。加水淬灭反应, 二氯甲烷萃取, 有机相水洗, 干燥浓缩, 柱层析, 得到7-(2-氯乙基)-2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷150mg。MS m/z (ESI): 190.1[M+H]⁺。

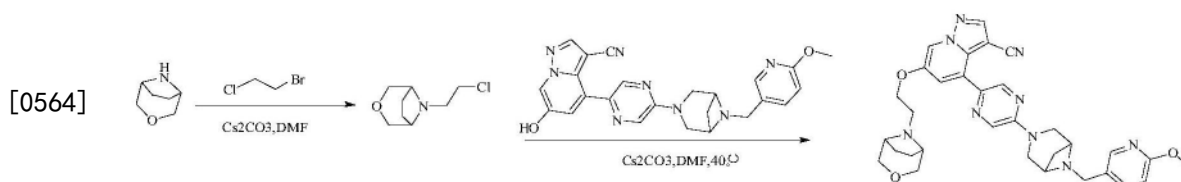
[0560] 步骤2: 合成6-(2-(2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬-7-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0561] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-

3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.1g,0.22mmol)、7-(2-氯乙基)-2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷(84mg,0.44mmol)、碳酸铯(0.15g,0.44mmol)溶于DMA(5mL)中,50℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-(2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬-7-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物30)50mg。MS m/z (ESI):608.3[M+H]⁺。

[0562] ¹H NMR(500MHz,DMSO) δ8.83(s,1H),8.58(s,1H),8.32(d,J=2.4Hz,1H),8.19(s,1H),7.67(dd,J=8.4,1.8Hz,1H),7.31(s,1H),6.93(d,J=8.9Hz,1H),6.80(d,J=8.4Hz,1H),4.23(d,J=62.7Hz,2H),3.84(s,3H),3.66-3.42(m,13H),2.27(s,4H),1.62-1.33(m,7H)。

[0563] 实施例31:化合物31的合成



[0565] 步骤1:合成8-(2-氯乙基)-3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷

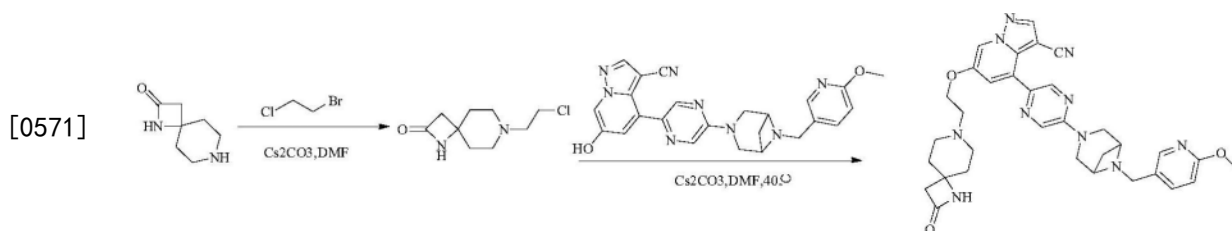
[0566] 将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷(0.3g,2.65mmol)、碳酸铯(1.72g,5.30mmol)加入到DMF(5mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(0.76g,5.30mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到8-(2-氯乙基)-3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷120mg。MS m/z (ESI):176.1[M+H]⁺。

[0567] 步骤2:合成6-(2-(3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛-8-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0568] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.1g,0.22mmol)、8-(2-氯乙基)-3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷(78mg,0.44mmol)、碳酸铯(0.15g,0.44mmol)溶于DMA(5mL)中,50℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-(3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛-8-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物31)60mg。MS m/z (ESI):594.3[M+H]⁺。

[0569] ¹H NMR(500MHz,DMSO) δ8.75(d,J=1.8Hz,1H),8.67(d,J=1.0Hz,1H),8.61(s,1H),8.30(s,1H),8.10(s,1H),7.70(d,J=6.4Hz,1H),7.63(d,J=2.0Hz,1H),6.78(d,J=8.5Hz,1H),4.23(s,2H),3.81(d,J=14.3Hz,5H),3.74-3.49(m,8H),3.42(d,J=10.0Hz,2H),3.19(s,2H),2.68(s,2H),2.55(s,1H),1.88(s,2H),1.75(d,J=7.1Hz,2H),1.63(d,J=8.5Hz,1H)。

[0570] 实施例32:化合物32的合成



[0572] 步骤1:合成7-(2-氯乙基)-1,7-二氮杂螺[3.5]壬-2-酮

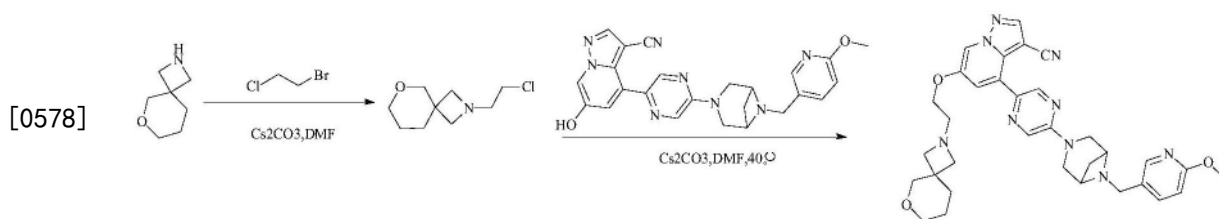
[0573] 将1,7-二氮杂螺[3.5]壬-2-酮(0.3g,2.12mmol)、碳酸铯(2.09g,6.43mmol)加入到DMF(5mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(0.91g,6.43mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到7-(2-氯乙基)-1,7-二氮杂螺[3.5]壬-2-酮150mg。MS m/z (ESI):203.12[M+H]⁺。

[0574] 步骤2:合成4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)-6-(2-(2-氧代-1,7-二氮杂螺[3.5]壬-7-基)乙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0575] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.15g,0.33mmol)、7-(2-氯乙基)-1,7-二氮杂螺[3.5]壬-2-酮(134mg,0.66mmol)、碳酸铯(0.22g,0.66mmol)溶于DMA(5mL)中,50°C下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)-6-(2-(2-氧代-1,7-二氮杂螺[3.5]壬-7-基)乙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈40mg。MS m/z (ESI):621.3[M+H]⁺。

[0576] ¹H NMR(500MHz,DMSO)δ8.74(d,J=2.1Hz,1H),8.67(d,J=1.4Hz,1H),8.61(s,1H),8.29(d,J=1.3Hz,1H),8.21(s,1H),8.10(d,J=2.1Hz,1H),7.70(dd,J=8.5,2.4Hz,1H),7.62(d,J=2.1Hz,1H),6.77(d,J=8.5Hz,1H),4.25(t,J=5.6Hz,2H),3.84-3.75(m,5H),3.62(dt,J=49.8,10.5Hz,7H),2.77(t,J=5.4Hz,2H),2.60(dd,J=33.9,6.2Hz,4H),2.42(s,2H),1.67(dd,J=19.3,11.5Hz,4H),1.47(s,1H)。

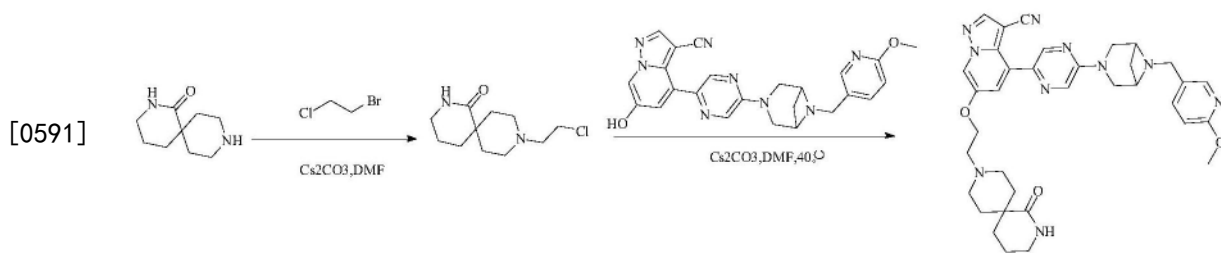
[0577] 实施例33:化合物33的合成



[0579] 步骤1:合成2-(2-氯乙基)-6-氧杂-2-氮杂螺[3.5]壬烷

[0580] 将6-氧杂-2-氮杂螺[3.5]壬烷(0.3g,2.36mmol)、碳酸铯(1.53g,4.72mmol)加入到DMF(5mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(0.68g,4.72mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到2-(2-氯乙基)-6-氧杂-2-氮杂螺[3.5]壬烷120mg。MS m/z (ESI):190.2[M+H]⁺。

[0581] 步骤2:合成6-(2-(6-氧杂-2-氮杂螺[3.5]壬-2-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈



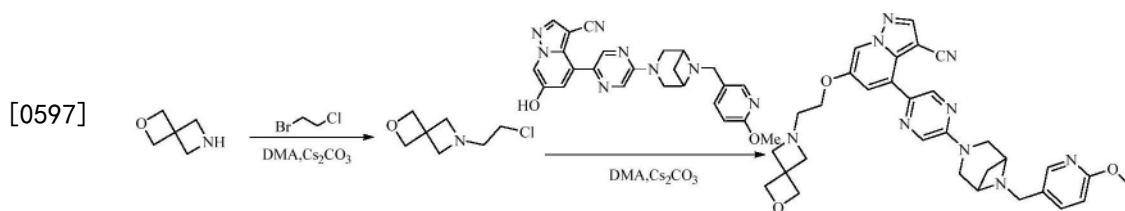
[0592] 步骤1:合成9-(2-氯乙基)-2,9-二氮杂螺[5.5]十一烷-1-酮

[0593] 将2,9-二氮杂螺[5.5]十一烷-1-酮(0.4g,2.17mmol)、碳酸铯(2.12g,6.51mmol)加入到DMF(10mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(0.94g,6.51mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到9-(2-氯乙基)-2,9-二氮杂螺[5.5]十一烷-1-酮160mg。MS m/z (ESI):247.3[M+H]⁺。

[0594] 步骤2:合成4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(2-(2-(1-氧代-2,9-二氮杂螺[5.5]十一烷-9-基)乙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)吡啶-3-腈将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.15g,0.33mmol)、9-(2-氯乙基)-2,9-二氮杂螺[5.5]十一烷-1-酮(163mg,0.66mmol)、碳酸铯(0.22g,0.66mmol)溶于DMA(5mL)中,50℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)-6-(2-(2-(1-氧代-2,9-二氮杂螺[5.5]十一烷-9-基)乙氧基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-基)吡啶-3-腈40mg。MS m/z (ESI):649.6[M+H]⁺。

[0595] ¹H NMR (500MHz, DMSO) δ8.77 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.67 (d, J=1.4Hz, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.29 (d, J=1.3Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.00 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.70 (dd, J=8.5, 2.4Hz, 1H), 7.62 (d, J=2.1Hz, 1H), 6.77 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.25 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.84-3.75 (m, 5H), 3.62 (dt, J=49.8, 10.5Hz, 7H), 2.77 (t, J=5.4Hz, 4H), 2.60 (dd, J=33.9, 6.2Hz, 6H), 2.42 (s, 2H), 1.67 (dd, J=19.3, 11.5Hz, 4H), 1.57 (s, 1H)。

[0596] 实施例36:化合物36的合成



[0598] 步骤1:合成6-(2-氯乙基)-2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷

[0599] 将2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷(0.3g,3.03mmol)、碳酸铯(2.96g,9.09mmol)加入到DMF(5mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(1.3g,9.09mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-氯乙基)-2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷180mg。MS m/z (ESI):162.3[M+H]⁺。

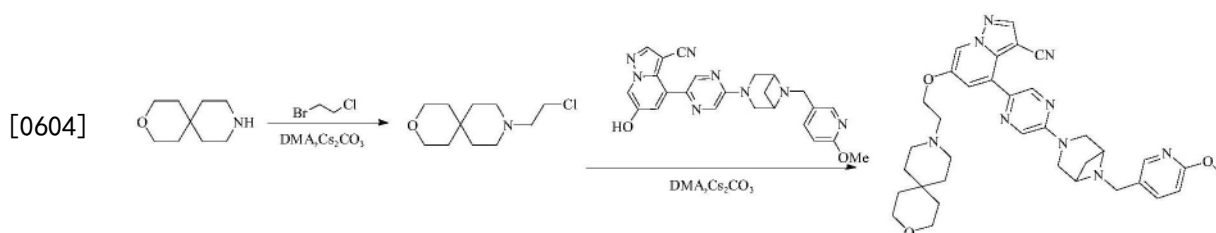
[0600] 步骤2:合成6-(2-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚-6-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0601] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-

3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.1g,0.22mmol)、6-(2-氯乙基)-2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷(74mg,0.44mmol)、碳酸铯(0.15g,0.44mmol)溶于DMA(5mL)中,50℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚-6-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物36)60mg。MS m/z (ESI):580.5[M+H]⁺。

[0602] ¹H NMR(400MHz,DMSO) δ8.66(dd,J=7.0,1.7Hz,2H),8.59(s,1H),8.28(d,J=1.3Hz,1H),8.08(d,J=2.0Hz,1H),7.68(dd,J=8.5,2.4Hz,1H),7.58(d,J=2.1Hz,1H),6.76(d,J=8.5Hz,1H),4.59(s,4H),4.05(t,J=5.2Hz,2H),3.79(d,J=10.8Hz,5H),3.71-3.48(m,7H),3.37(s,5H),2.73(t,J=4.9Hz,2H)。

[0603] 实施例37:化合物37的合成



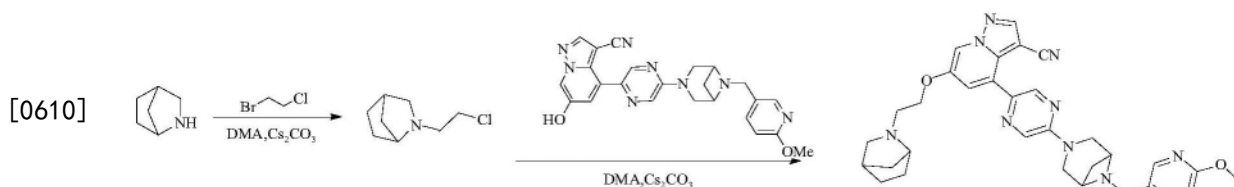
[0605] 步骤1:合成9-(2-氯乙基)-3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一烷

[0606] 将3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一烷(0.3g,1.93mmol)、碳酸铯(1.88g,5.80mmol)加入到DMF(5mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(0.83g,5.80mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到9-(2-氯乙基)-3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一烷180mg。MS m/z (ESI):218.5[M+H]⁺。

[0607] 步骤2:合成6-(2-(3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一碳-9-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0608] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.1g,0.22mmol)、9-(2-氯乙基)-3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一烷(97mg,0.44mmol)、碳酸铯(0.15g,0.44mmol)溶于DMA(5mL)中,50℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-(3-氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一碳-9-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡唑并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物37)50mg。MS m/z (ESI):636.4[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,DMSO) δ8.73(s,1H),8.58(s,1H),8.32(d,J=2.4Hz,1H),7.76(dd,J=8.8,2.5Hz,1H),7.67(dd,J=8.4,1.8Hz,1H),7.31(s,1H),6.93(d,J=8.9Hz,1H),6.80(d,J=8.4Hz,1H),4.23(d,J=62.7Hz,2H),3.84(s,3H),3.66-3.42(m,13H),2.47(s,4H),1.62-1.33(m,11H)。

[0609] 实施例38:化合物38的合成



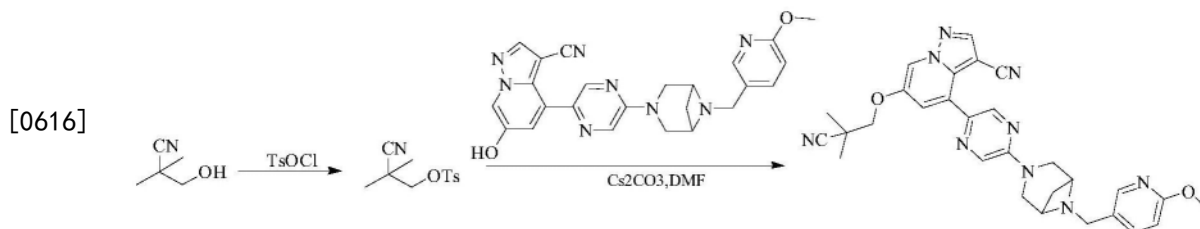
[0611] 步骤1:合成2-(2-氯乙基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷

[0612] 将2-氮杂双环[2.2.1]庚烷(0.2g,2.06mmol)、碳酸铯(2.01g,6.18mmol)加入到DMF(5mL)中,再加入1-溴-2-氯乙烷(0.88g,6.18mmol),室温下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到2-(2-氯乙基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷100mg。MS m/z (ESI):160.7[M+H]⁺。

[0613] 步骤2:合成6-(2-(2-氮杂双环[2.2.1]庚-2-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0614] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.1g,0.22mmol)、2-(2-氯乙基)-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷(71mg,0.44mmol)、碳酸铯(0.15g,0.44mmol)溶于DMA(5mL)中,50℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-(2-氮杂双环[2.2.1]庚-2-基)乙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物38)45mg。MS m/z (ESI):578.1[M+H]⁺。¹HNMR(400MHz,DMSO)δ8.81(s,1H),8.69-8.60(m,2H),8.29(d,J=1.2Hz,1H),8.08(s,1H),7.67(t,J=5.1Hz,2H),6.76(d,J=8.5Hz,1H),5.75(s,1H),4.44(s,2H),3.79(d,J=8.8Hz,5H),3.61(dd,J=28.5,15.9Hz,7H),2.53(s,2H),2.02-1.79(m,2H),1.68-1.21(m,7H),0.91-0.74(m,2H)。

[0615] 实施例39:化合物39的合成



[0617] 步骤1:合成2-氰基-2-甲基丙基4-甲基苯磺酸盐

[0618] 将3-羟基-2,2-二甲基丙腈(1.0g,10.1mmol)、三乙胺(1.53g,15.2mmol)加入到DCM(10mL)中,将反应液降温至0℃,然后再慢慢加入对甲苯磺酰氯(1.92g,10.1mmol),反应液室温下搅拌反应2小时,加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到2-氰基-2-甲基丙基4-甲基苯磺酸盐1.5g。

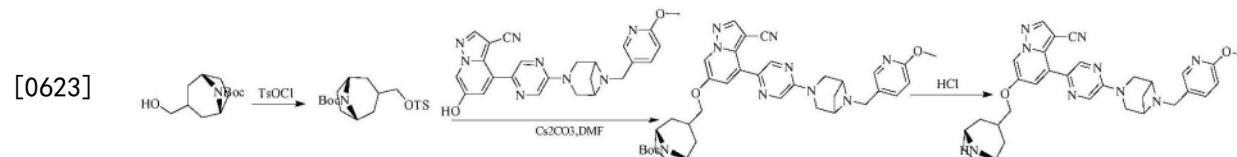
[0619] 步骤2:合成6-(2-氰基-2-甲基丙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0620] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.15g,0.33mmol)、2-氰基-2-甲基丙基4-甲基苯磺酸盐(170mg,0.66mmol)、碳酸铯(0.22g,0.66mmol)溶于DMF(5mL)中,80℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(2-氰基-

2-甲基丙氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(化合物39)60mg。MS m/z (ESI):536.1[M+H]⁺。

[0621] ¹H NMR (500MHz, DMSO) δ 8.79 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.68 (d, J=1.4Hz, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.28 (d, J=1.4Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.68 (dd, J=7.4, 2.2Hz, 2H), 6.75 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.20 (s, 2H), 3.79 (d, J=11.5Hz, 5H), 3.71-3.49 (m, 7H), 2.53 (s, 1H), 1.44 (s, 6H)。

[0622] 实施例40:化合物40的合成



[0624] 步骤1:合成(1R,5S)-3-((甲苯磺酰氧基)甲基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸叔丁酯

[0625] 将(1R,5S)-3-(羟甲基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸叔丁酯(0.5g, 2.07mmol),三乙胺(0.32g,3.11mmol)加入到DCM(10mL)中,将反应液降温至0℃,然后再慢慢加入对甲苯磺酰氯(0.4g,2.07mmol),反应液室温下搅拌反应2小时,加水淬灭反应,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到(1R,5S)-3-((甲苯磺酰氧基)甲基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸叔丁酯0.6g。

[0626] 步骤2:合成叔丁基(1R,3s,5S)-3-(((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)甲基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯

[0627] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.15g,0.33mmol)、(1R,5S)-3-((甲苯磺酰氧基)甲基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸叔丁酯(182mg,0.66mmol)、碳酸铯(0.22g,0.66mmol)溶于DMF(8mL)中,80℃下搅拌过夜,监测反应完全。加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到叔丁基(1R,3s,5S)-3-(((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)甲基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯110mg。MS m/z (ESI):678.4[M+H]⁺。

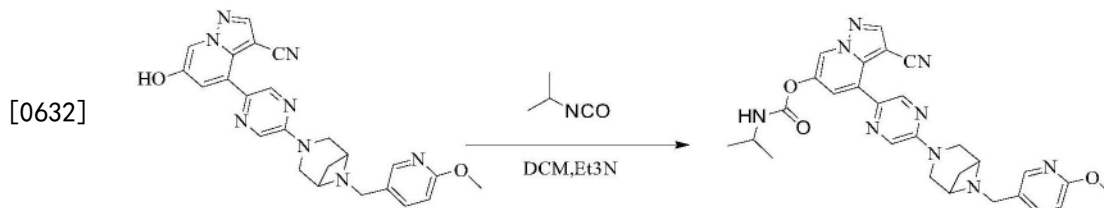
[0628] 步骤3:合成6-(((1R,5S)-8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)甲氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈

[0629] 将叔丁基(1R,3s,5S)-3-(((3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基)氧基)甲基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯(0.11g,0.16mmol)溶于DCM(5mL)中,然后降温至0℃,将二氧六环盐酸液(2mL,4mol/L)加入其中,室温反应2小时,监测反应完全。旋干反应液,再加入少量水,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到6-(((1R,5S)-8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)甲氧基)-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡嗪-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈40mg,MS m/z (ESI):578.3[M+H]⁺。

[0630] ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.77 (d, J=2.0Hz, 1H), 8.65 (d, J=1.2Hz, 1H), 8.59 (s,

1H), 8.27 (d, J=1.1Hz, 1H), 8.08 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.68 (dd, J=8.5, 2.4Hz, 1H), 7.59 (d, J=2.0Hz, 1H), 6.75 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.06 (d, J=7.9Hz, 2H), 3.79 (d, J=11.4Hz, 5H), 3.71-3.48 (m, 7H), 3.44 (s, 4H), 2.22 (dd, J=15.8, 7.9Hz, 1H), 2.03-1.89 (m, 2H), 1.69 (s, 3H), 1.56 (dd, J=24.8, 11.3Hz, 3H).

[0631] 实施例41:化合物41的合成

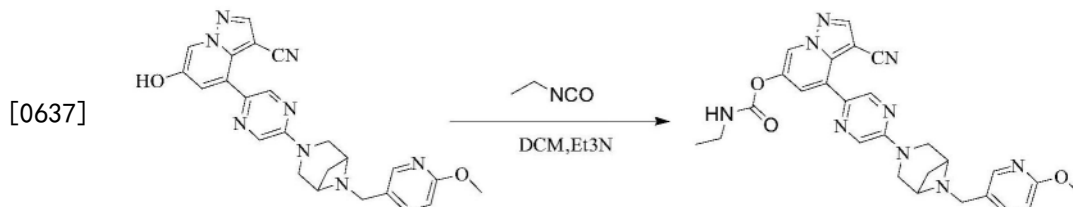


[0633] 步骤:合成3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基异丙基氨基甲酸酯

[0634] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.1g, 0.22mmol)、三乙胺(0.067g, 0.66mmol)溶于DCM(5mL)中,混合液降温至0℃,然后再加入异氰酸异丙酯(0.057g, 0.66mmol),反应1小时,加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基异丙基氨基甲酸酯(化合物41)45mg。MS m/z (ESI): 540.7 [M+H]⁺。

[0635] ¹H NMR (500MHz, DMSO) δ 9.04 (d, J=1.8Hz, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.66 (d, J=1.1Hz, 1H), 8.31 (d, J=1.2Hz, 1H), 8.10 (d, J=1.9Hz, 1H), 7.99 (d, J=7.7Hz, 1H), 7.75-7.65 (m, 2H), 6.76 (d, J=8.5Hz, 1H), 3.81 (d, J=12.0Hz, 5H), 3.74-3.50 (m, 7H), 2.55 (d, J=7.0Hz, 1H), 1.62 (d, J=8.5Hz, 1H), 1.16 (d, J=6.6Hz, 6H)。

[0636] 实施例42:化合物42的合成



[0638] 步骤:合成3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基乙基氨基甲酸酯

[0639] 将6-羟基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-3-腈(0.1g, 0.22mmol)、三乙胺(0.067g, 0.66mmol)溶于DCM(5mL)中,混合液降温至0℃,然后再加入异氰酸乙酯(0.047g, 0.66mmol),反应1小时,加水淬灭,二氯甲烷萃取,有机相水洗,干燥浓缩,柱层析,得到3-氰基-4-(5-(6-((6-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3,6-二氮杂双环[3.1.1]庚烷-3-基)吡啶-2-基)吡啶并[1,5-a]吡啶-6-基乙基氨基甲酸酯(化合物42)35mg。MS m/z (ESI): 526.3 [M+H]⁺。

[0640] ¹H NMR (500MHz, DMSO) δ 9.05 (d, J=1.9Hz, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.66 (d, J=1.2Hz, 1H), 8.31 (d, J=1.2Hz, 1H), 8.13-8.01 (m, 2H), 7.76-7.65 (m, 2H), 6.77 (d, J=8.5Hz, 1H), 3.81 (d, J=12.3Hz, 5H), 3.72-3.49 (m, 7H), 3.14 (dt, J=12.9, 6.5Hz, 2H), 2.98 (dd, J=

7.1, 5.7Hz, 1H), 2.55 (d, J=7.4Hz, 1H), 1.12 (t, J=7.2Hz, 3H)。

[0641] 生物活性测试例1:

[0642] (a) 体外筛选实验-HTRF方法检测化合物对RET的抑制活性

[0643] 方法如下:

[0644] 1. 1x激酶缓冲液的配制: 5x酶缓冲液与蒸馏水以1:4混匀, 终浓度是5mM氯化镁; 1mM二硫苏糖醇。

[0645] 2. 用100%二甲基亚砷将测试化合物(5mM储液)稀释5倍至1mM, 在384孔稀释板中以1:3进行等比稀释10个浓度。

[0646] 3. 使用Echo 550移液系统将0.2μL梯度稀释的化合物加到384孔板中, 每个浓度2个复孔, 二甲基亚砷终浓度为0.5% (v/v)。测试化合物的梯度浓度为5000、1666.7、555.5、185.18、61.72、20.57、6.858、2.286、0.764、0.254nM。

[0647] 4. 用1x激酶缓冲液配制2x RET (0.1ng/μl)。

[0648] 5. 在384孔板加入5μl的2x RET, 1000g离心30s, 室温孵育10min。

[0649] 6. 用1x激酶缓冲液配制2x酪氨酸激酶-生物素标记的底物(2μM)和腺嘌呤核苷三磷酸(20μM)混合液。

[0650] 7. 加入5μl酪氨酸激酶-生物素标记的底物和腺嘌呤核苷三磷酸混合液以启动反应。1000g离心30s, 封板, 室温孵育30min。

[0651] 8. 用均相时间分辨荧光技术检测缓冲液配制2x Sa-XL 665 (注: 一种试剂) (125μM)和酪氨酸激酶-抗体-穴状化合物混合液。

[0652] 9. 每空加入10μl Sa-XL 665和酪氨酸激酶-抗体-穴状化合物混合液, 1000g离心30s, 室温孵育1h。

[0653] 10. Envision 2104酶标仪615nm和665nm读板, 计算比率(665/615nm)。

[0654] 11. %抑制率计算如下:

$$[0655] \quad \text{抑制率}\% = \left[1 - \frac{R1 - R2}{R0 - R2} \right] \times 100$$

[0656] 式中,

[0657] R0是溶媒空白组的酶标仪板平均比率

[0658] R1是测试化合物酶标仪板比率

[0659] R2是100%抑制RET酶活性的酶标仪板平均比率

[0660] 通过将化合物浓度的抑制率值和对数拟合到非线性回归(剂量反应-可变斜率)中, 用GraphPad 6.0软件计算IC₅₀。

[0661] (b) 体外筛选实验-HTRF方法检测化合物抑制VEGFR2活性测试

[0662] 实验步骤:

[0663] 1. 1x激酶缓冲液配制: 5x酶缓冲液与蒸馏水以1:4混匀, 终浓度是5mM氯化镁; 1mM二硫苏糖醇; 1mM氯化锰。

[0664] 2. 用100%二甲基亚砷将测试化合物(5mM储液)稀释5倍至1mM, 在384孔稀释板中以1:3进行等比稀释10个浓度。

[0665] 3. 使用Echo 550移液系统将0.2μL梯度稀释的化合物加到384孔细胞培养板(Corning, 3570)中, 每个浓度2个复孔, 二甲基亚砷终浓度为0.5% (v/v)。测试化合物的梯

度浓度为5000、1666.7、555.5、185.18、61.72、20.57、6.858、2.286、0.764、0.254nM。

[0666] 4. 用1x激酶缓冲液配制2x VEGFR2 (0.02ng/ μ l)。

[0667] 5. 在384孔板加入5 μ l的2x VEGFR2, 1000g离心30s, 室温孵育10min。

[0668] 6. 用1x激酶缓冲液配制2x酪氨酸激酶-生物素标记的底物 (2 μ M) 和ATP (8 μ M) 混合液。

[0669] 7. 加入5 μ l酪氨酸激酶-生物素标记的底物和腺嘌呤核苷三磷酸混合液以启动反应。1000g离心30s, 封板, 室温孵育40min。

[0670] 8. 用均相时间分辨荧光技术检测缓冲液配制2x Sa-XL 665 (125 μ M) 和酪氨酸激酶-抗体-穴状化合物混合液。

[0671] 9. 每孔加入10 μ l Sa-XL 665和酪氨酸激酶-抗体-穴状化合物混合液, 1000g离心30s, 室温孵育1h。

[0672] 10. Envision 2104酶标仪615nm和665nm读板, 计算比率 (665/615nm)。

[0673] 11. %抑制率计算如下:

$$[0674] \quad \text{抑制率}\% = \left[1 - \frac{R1 - R2}{R0 - R2} \right] \times 100$$

[0675] 式中,

[0676] R0是溶媒空白组的酶标仪板平均比率

[0677] R1是测试化合物酶标仪板比率

[0678] R2是100%抑制RET酶活性的酶标仪板平均比率

[0679] 12. 通过将化合物浓度的抑制率值和对数拟合到非线性回归 (剂量反应-可变斜率) 中, 用GraphPad 6.0计算IC₅₀。

[0680] (c) 体外筛选实验-CellTiter-Glo发光法检测化合物抑制Ba/F3-KIF5B-RET细胞活力测试

[0681] 实验步骤:

[0682] 1. 利用Neon®转染系统方法将包含人源KIF5B-RET cDNA的哺乳动物细胞表达载体导入Ba/F3细胞, 经嘌呤霉素筛选过后存活的克隆进行细胞生长抑制功能实验和蛋白免疫印迹法验证RET稳定高表达的细胞系。

[0683] 2. 细胞培养于RPMI 1640培养液、10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素、2 μ g/mL嘌呤霉素的培养基中, 置于37°C、5%二氧化碳细胞培养箱中培养。

[0684] 3. 用100%二甲基亚砜将测试化合物 (5mM储液) 稀释2.5倍至2mM, 在384孔稀释板中以1:3进行等比稀释10个浓度。

[0685] 4. 使用Echo 550移液系统将0.2 μ L梯度稀释的化合物加到384孔细胞培养板 (Corning, 3570) 中, 每个浓度2个复孔, 二甲基亚砜终浓度为0.5% (v/v)。测试化合物的梯度浓度为5000、1666.7、555.5、185.18、61.72、20.57、6.858、2.286、0.764、0.254nM。

[0686] 5. 每孔加入40 μ L含800个Ba/F3-KIF5B-RET细胞悬液, 于5%二氧化碳细胞培养箱培养72h。

[0687] 6. 按每孔20 μ L Cell Titer-Glo试剂加入细胞培养板, 震荡混匀2min以裂解细胞, 然后室温孵育30min, 用Envision 2104酶标仪读取荧光信号值。

[0688] 7. 数据由XLFit 5.0按4参数公式:

[0689] $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{\wedge}((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{HillSlope}))$ 拟合计算 IC_{50} 值。

[0690] 化合物活性汇总如下表1

[0691] 表1

[0692]

化合物	RET激酶活性 (nM)	细胞活性(nM)	VEGFR2激酶活性 (nM)
1	3.1	271.2	
2	>10000		
3	>10000		
4	6594		

[0693]

5	>10000		
6	678		
7	12.74		201.5
8	249.6		5000
9	>10000		
10	>10000		
11	>10000		
12	>10000		
13	0.80	223.9	
14	1.6	259.8	
15	1.4	225.1	
16	1.1	203.5	
17	0.32	61.1	
18	0.50	123.2	
19	0.77	182.6	
20	2.63	19.1	
21	0.72	191.7	
22	1.24	151.3	
23	1.35	1125.1	
24	2.19	21.3	
25	2.89	27.7	
26	12.73	64.2	
27	15.65	51.7	
28	1.3	12.6	
29	0.181	4.43	56.0
30	3.98	63.4	
31	1.40	5.1	
32	4.14	83.3	
33	5.73	26.0	
34	2.04	13.8	
35	3.08	81.5	
36	2.44	32.1	453.7
37	5.70		800.9

[0694]	38	3.22	37.3	665.9
	39	1.25	15.6	258.7
	40	0.86	207.7	112.1
	41	6.2	265.6	
	42	9.2		

[0695] 结果表明:本专利所设计的化合物均具有较好的RET激酶活性,同时对VEGFR2激酶具有较好的选择性。此外,所述化合物均具有较好的RET激酶敏感的细胞抑制活性。

[0696] 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。