



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110354128 A

(43)申请公布日 2019.10.22

(21)申请号 201910565163.7

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2014.10.16

A61K 31/505(2006.01)

(30)优先权数据

A61K 31/506(2006.01)

61/892,881 2013.10.18 US

A61K 31/5377(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

(62)分案原申请数据

201480056358.4 2014.10.16

(71)申请人 卫材R&D管理有限公司

地址 日本东京

(72)发明人 多米尼克·雷诺兹 郝鸣鸿 王渊

苏蒂普·普拉贾巴蒂 佐藤高志

阿南德·瑟瓦拉

(74)专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204

代理人 王达佐 何可

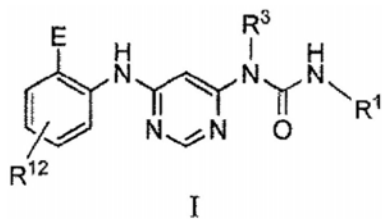
权利要求书11页 说明书120页
序列表1页 附图2页

(54)发明名称

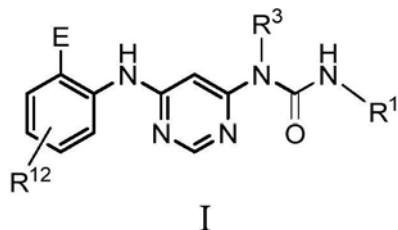
嘧啶FGFR4抑制剂

(57)摘要

本文提供用作FGFR4抑制剂的式I的化合物
以及它们的使用方法。



1. 式I的化合物或其药物可接受的盐在制备用于治疗肉瘤的药物中的用途：



其中：

R^3 选自： C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基、 $NR^{10}R^{11}C_{1-6}$ 烷基、 R^{10} 异噁唑基、 C_{1-6} 烷基、4-吡啶基甲基、3-吡啶基甲基、2-吡啶基甲基、 R^{10} 苯基、 C_{1-6} 烷基和 R^{10} 哌嗪基、 C_{1-6} 烷基，其中 R^{10} 和 R^{11} 各自独立地选自：氢和 C_{1-6} 烷基；

E选自：

$-NR^{13}C(O)CH=CHR^{15}$ ，以及

$-NR^{13}C(O)C\equiv CR^{14}$ ，

其中 R^{13} 选自：氢和甲基，并且 R^{14} 和 R^{15} 各自独立地选自：氢、甲基、氟和氯；

R^{12} 选自：氢、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基、 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 哌嗪基、 R^5R^6 哌啶基、 R^5R^6 吗啉基、 $-C(O)$ 哌嗪基、 R^5R^6 、 $-C(O)$ 哌啶基、 R^5R^6 、 $-C(O)$ 吗啉基、 R^5R^6 、 R^5R^6 哌嗪基、 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 哌啶基、 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 吗啉基、 C_{1-6} 烷基、 NR^5R^6 、 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)NR^5R^6$ 和 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷氧基，其中 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷基、氨基、 C_{1-6} 烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基和 C_{1-6} 烷基磺酰基；以及

R^1 为苯基，其中所述苯基被独立选择的卤素或 C_{1-6} 烷氧基取代2次、3次或4次。

2. 如权利要求1所述的用途，其中 R^3 为 C_{1-6} 烷基。

3. 如权利要求1所述的用途，其中 R^3 选自：甲基、甲氧基乙基、4-吡啶基甲基、3-吡啶基甲基、2-吡啶基甲基、苄基、N,N-二甲基氨基丙基、3-甲基异噁唑-5-基-甲基和4-甲基哌嗪-1-基-丙基。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的用途，其中E为 $-NR^{13}C(O)CH=CHR^{15}$ 或 $-NR^{13}C(O)CF=CH_2$ ，其中 R^{13} 和 R^{15} 如以上所定义。

5. 如权利要求1-3中任一项所述的用途，其中E为 $-NHC(O)CH=CH_2$ 。

6. 如权利要求1-3中任一项所述的用途，其中 R^{12} 选自：氢、氟、氯、甲基、甲氧基、N,N-二甲基氨基乙基、哌嗪-1-基、4-乙基哌嗪-1-基、4-乙基哌嗪-1-基-甲基、1-甲基哌啶-4-基、1-乙基哌啶-4-基、N,N-二甲基氨基甲基、N,N-二甲基氨基丙基、哌啶-4-基、吗啉基、3,5-二甲基哌嗪-1-基、4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基、N,N-二甲基氨基乙氧基、4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基、羟基乙氧基、甲氧基乙氧基、羟甲基、甲氧基甲基、2-甲氧基丙基、2-羟丙基、2-氨基丙基、4-甲基哌嗪-1-基-羰基、4-乙基哌嗪-1-基-羰基、4-[2-丙基]哌嗪-1-基、4-乙酰基哌嗪-1-基、N-甲基-N-羟乙基-氨基、N,N-二甲基酰氨基和4-(2-氨基乙基)哌嗪-1-基。

7. 如权利要求1-3中任一项所述的用途，其中 R^{12} 选自：氢、 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 哌嗪基、 R^5R^6 哌啶基、 R^5R^6 吗啉基、 R^5R^6 哌嗪基、 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 哌啶基、 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 吗啉基、 C_{1-6} 烷基、 $-C(O)NR^5R^6$ 、 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷基、 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基和 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基，其中 R^5 和 R^6 各自独立地选自：氢、 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基和 C_{1-6} 烷基磺酰基。

8. 如权利要求1-3中任一项所述的用途, 其中 R^{12} 为 R^5R^6 哌嗪基、 R^5R^6 哌啶基或 R^5R^6 吗啉基, 其中 R^5 和 R^6 如以上所定义。

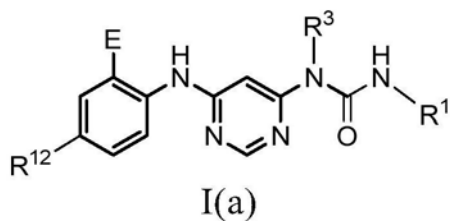
9. 如权利要求1-3中任一项所述的用途, 其中 R^{12} 为 R^5R^6 哌嗪基, 其中 R^5 和 R^6 如以上所定义。

10. 如权利要求1-3中任一项所述的用途, 其中 R^{12} 为4-乙基哌嗪-1-基。

11. 如权利要求1-3中任一项所述的用途, 其中 R^{12} 不是氢。

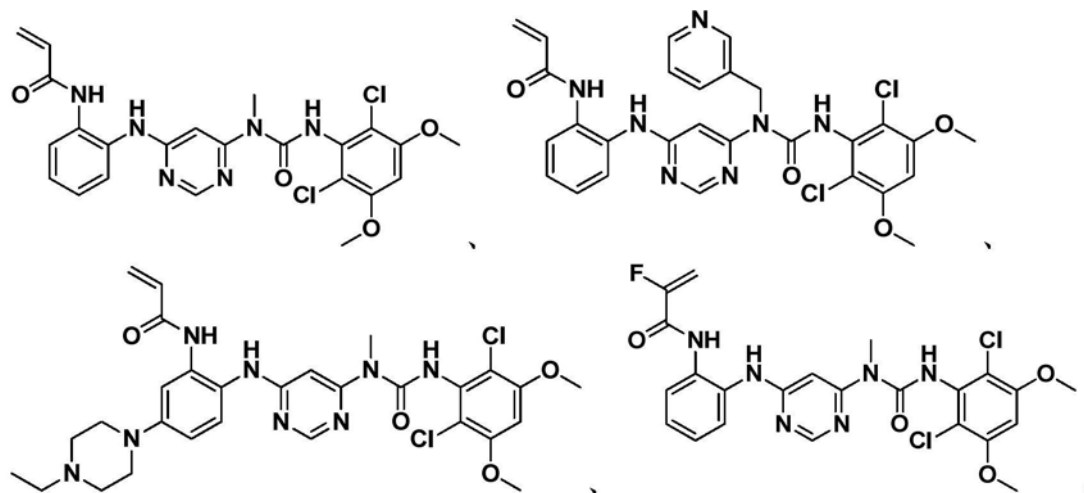
12. 如权利要求1-3中任一项所述的用途, 其中 R^1 为2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基。

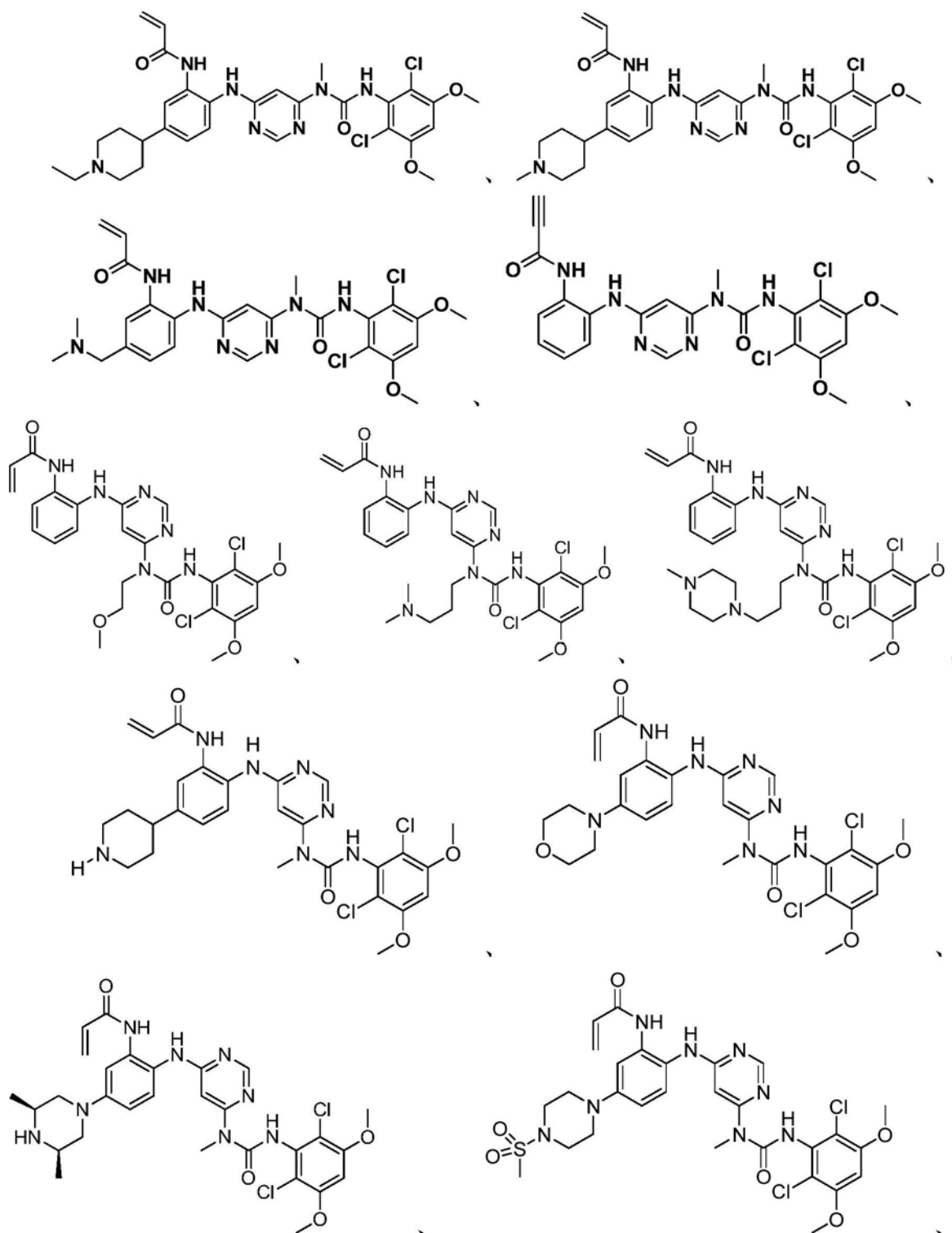
13. 如权利要求1所述的用途, 其中所述化合物为式I(a)的化合物:

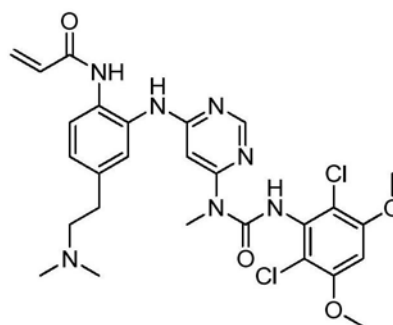
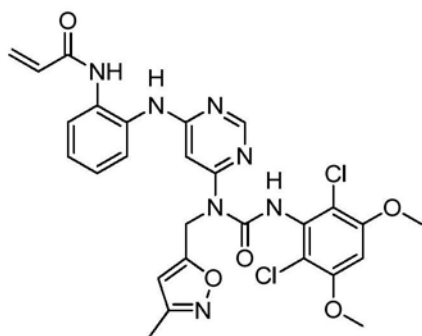
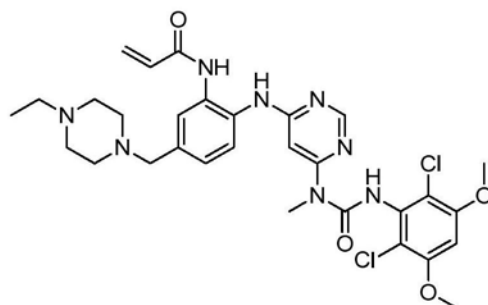
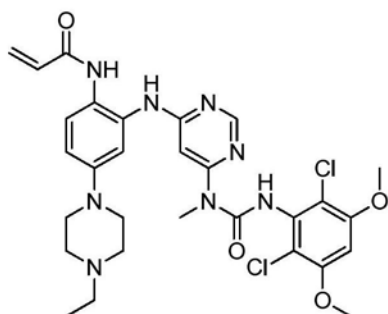
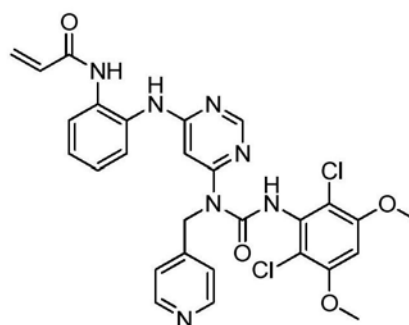
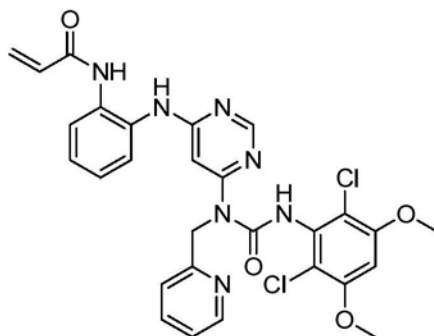
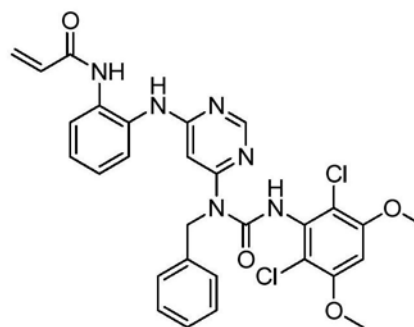
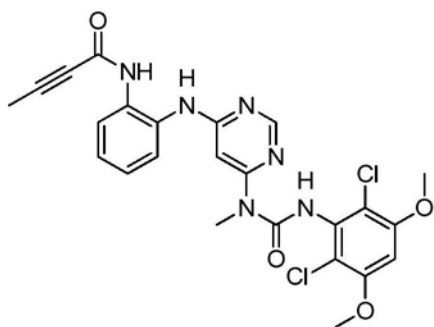
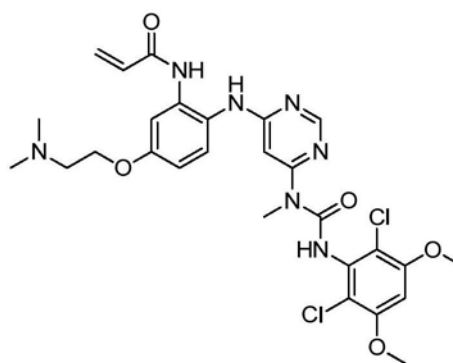
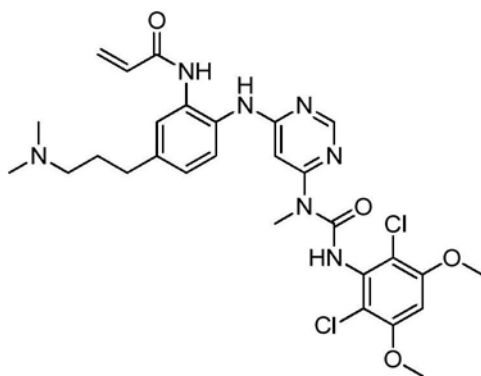


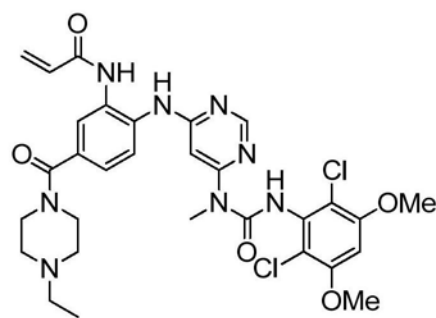
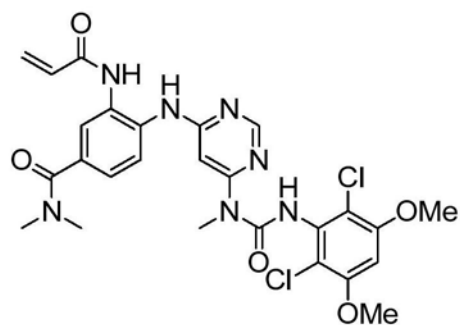
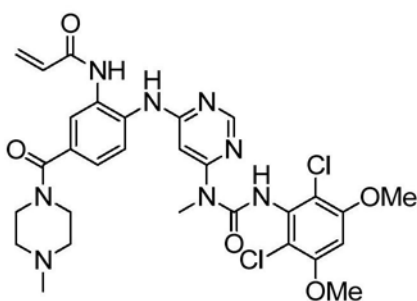
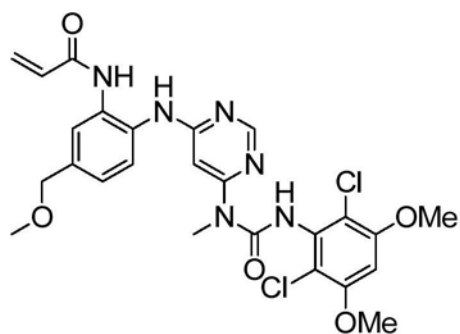
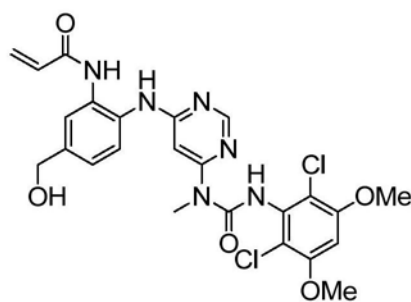
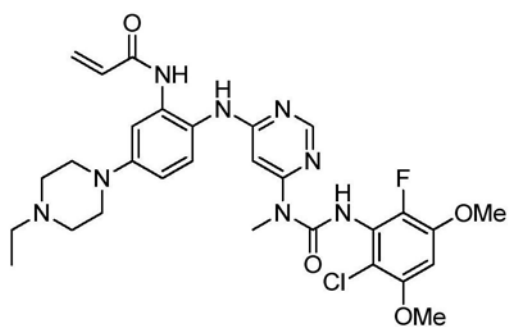
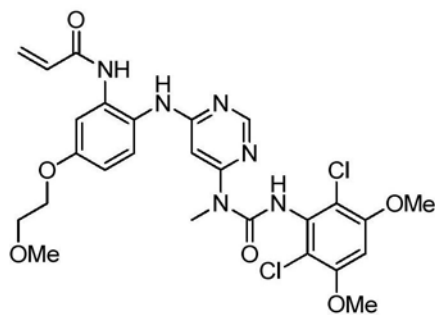
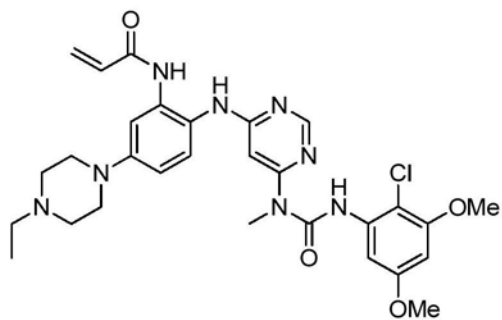
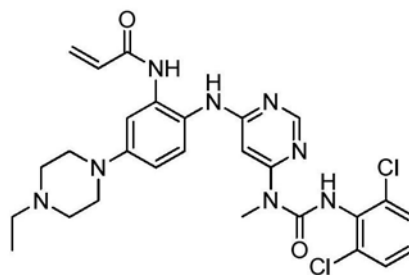
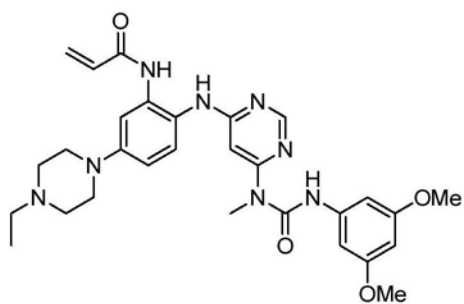
其中 R^3 、E、 R^{12} 和 R^1 如以上所定义。

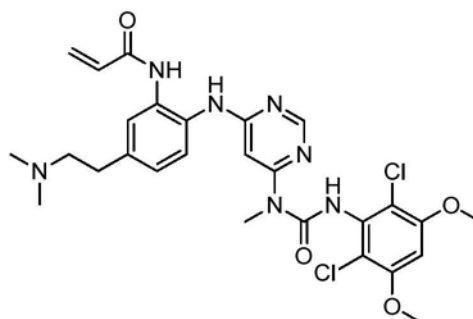
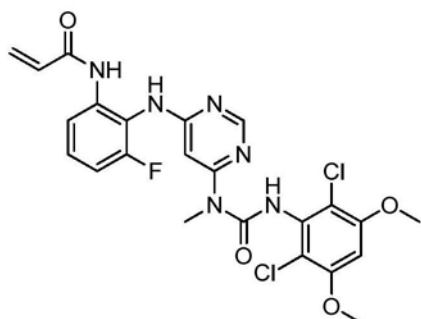
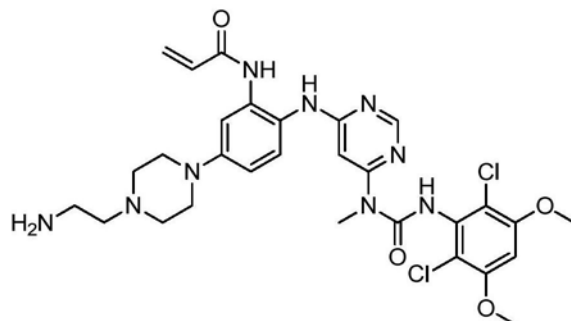
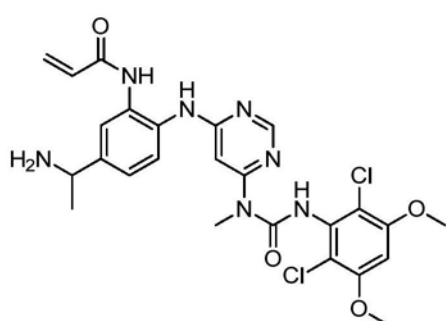
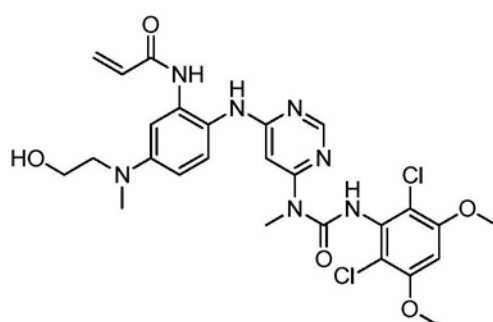
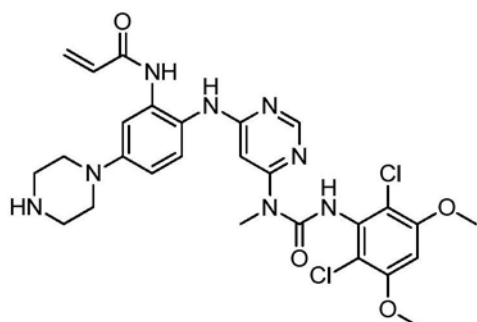
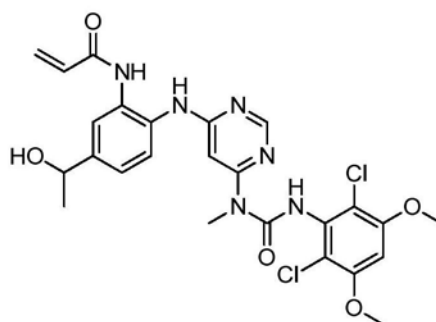
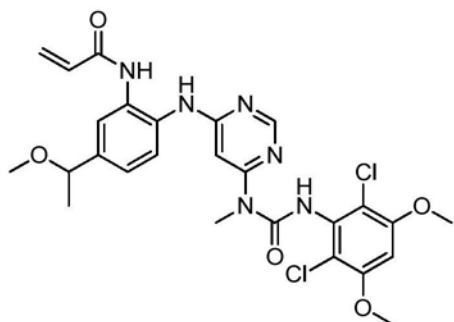
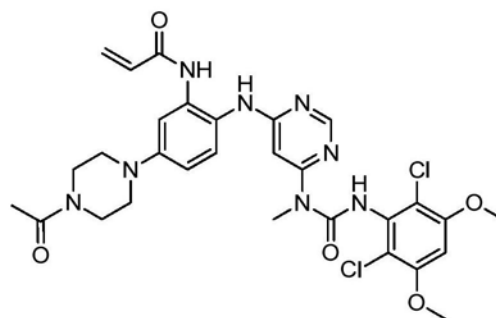
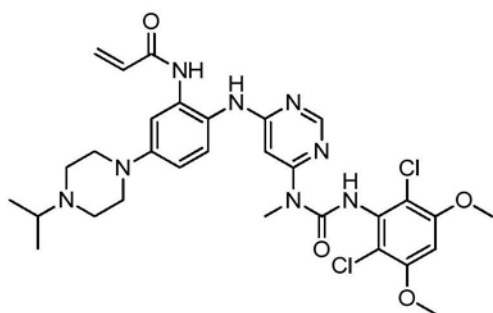
14. 如权利要求1所述的用途, 其中所述化合物选自:

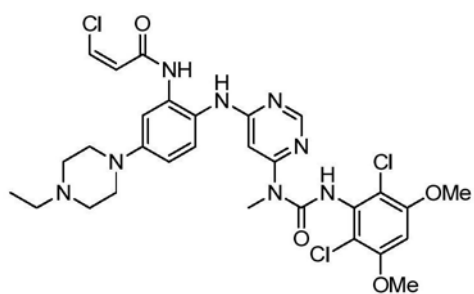
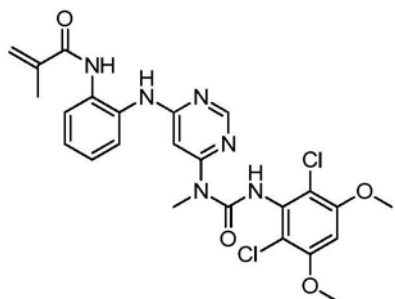
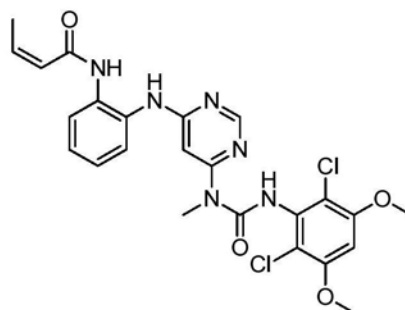
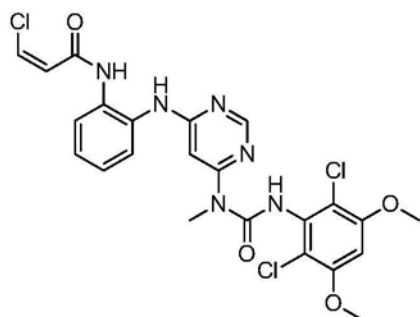
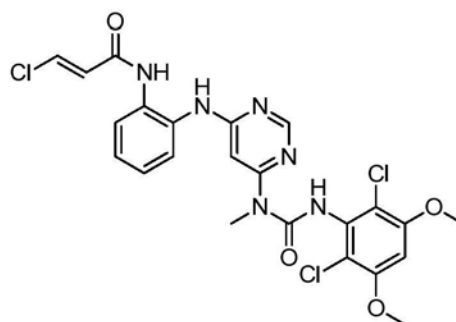
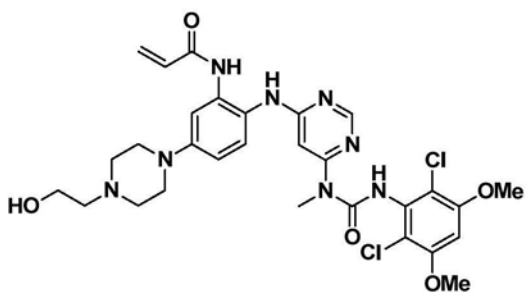
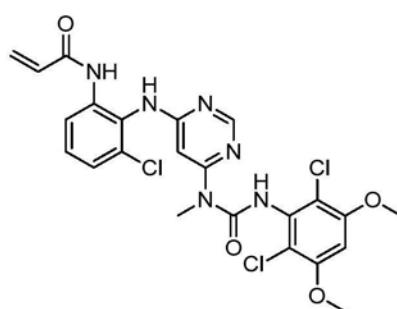
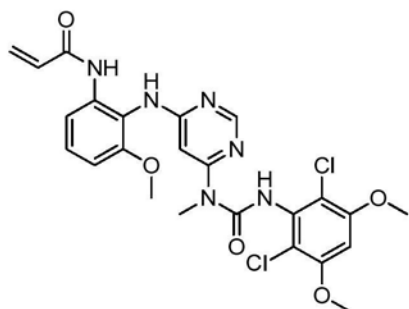
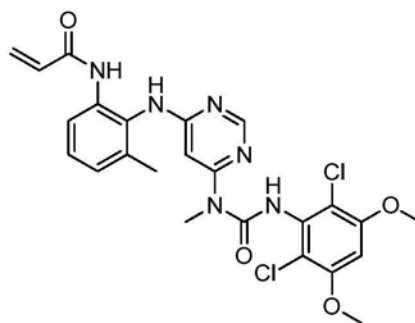
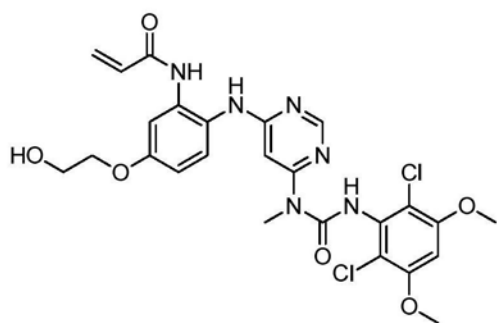




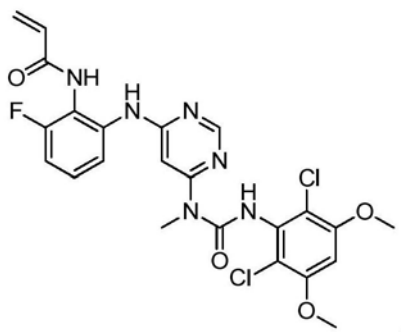




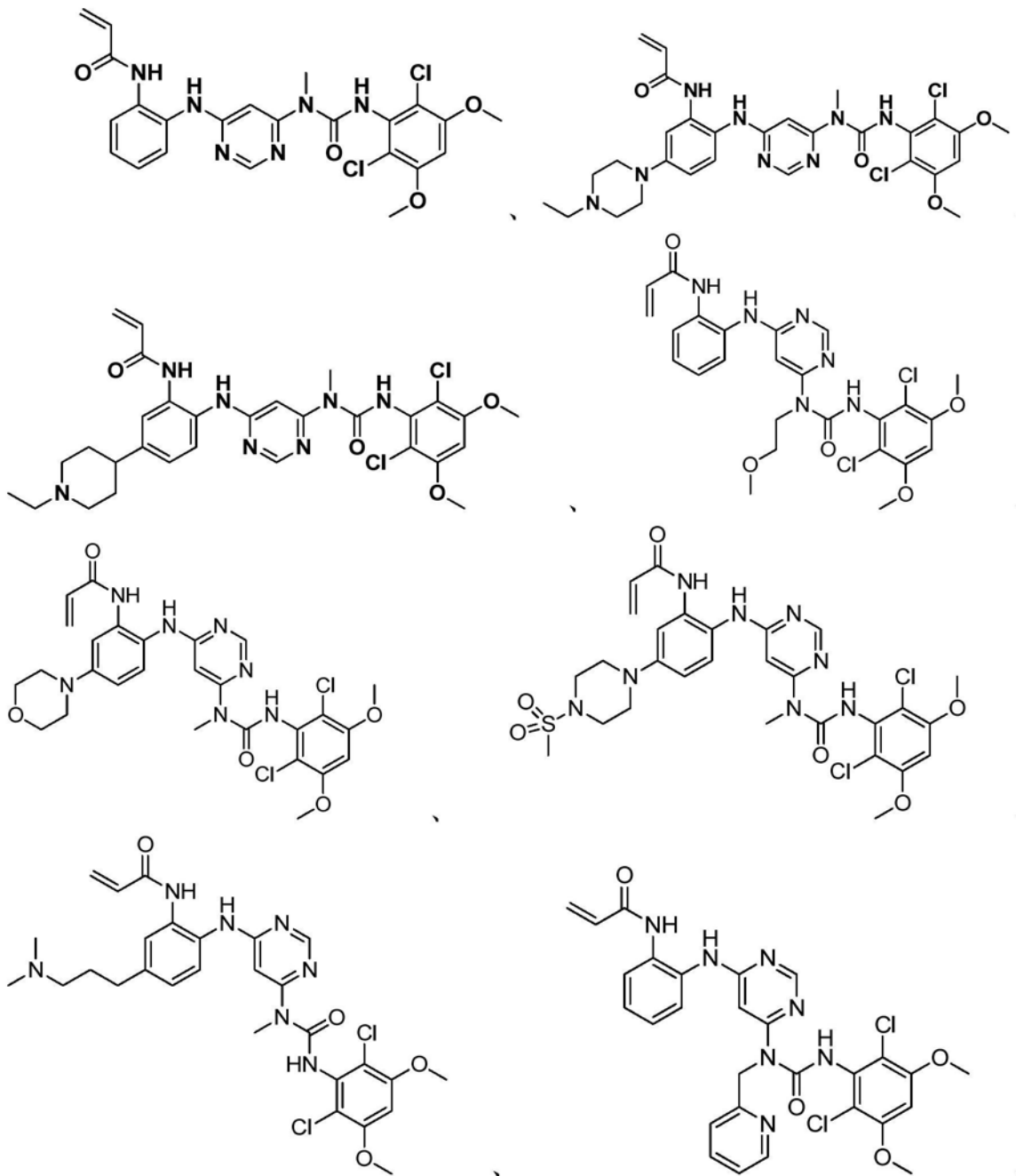


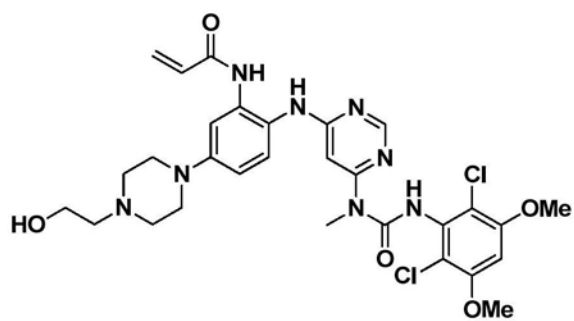
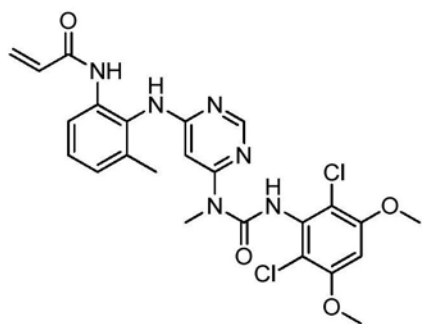
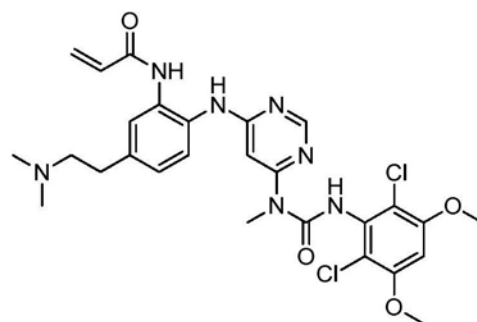
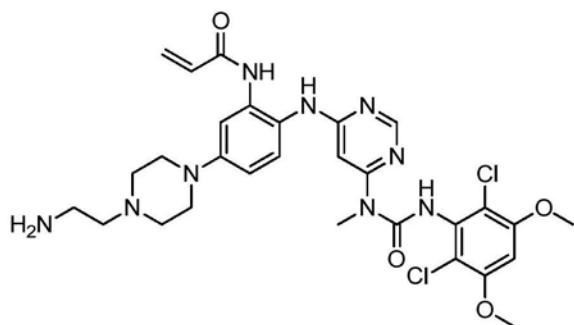
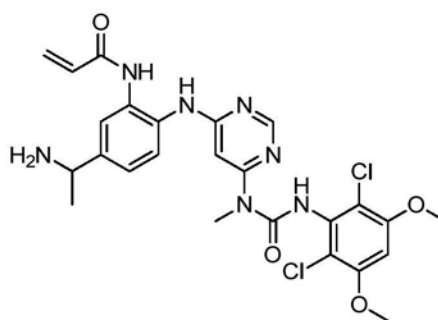
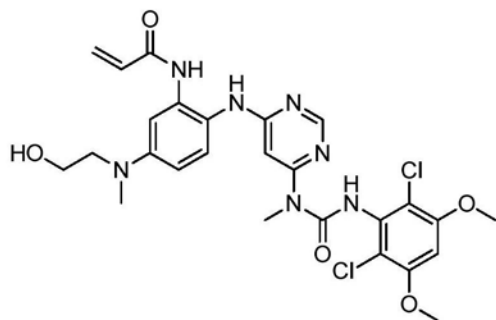
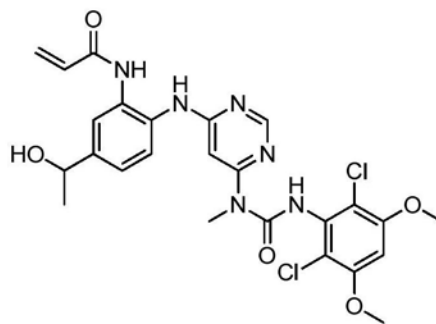
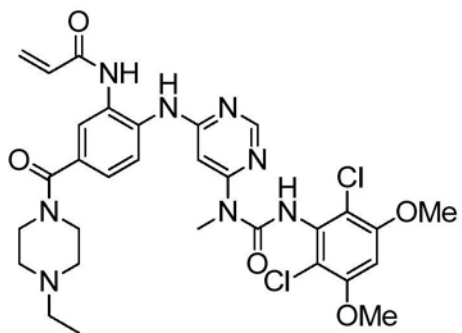
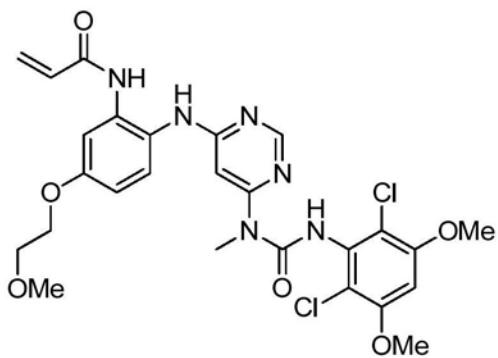
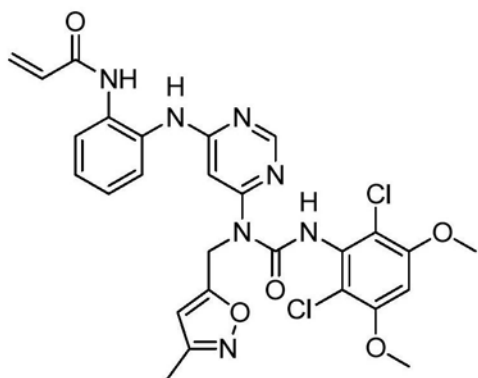


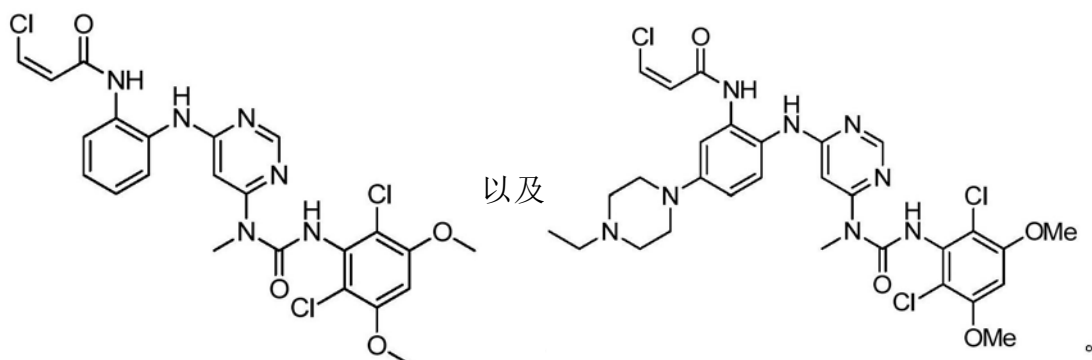
以及



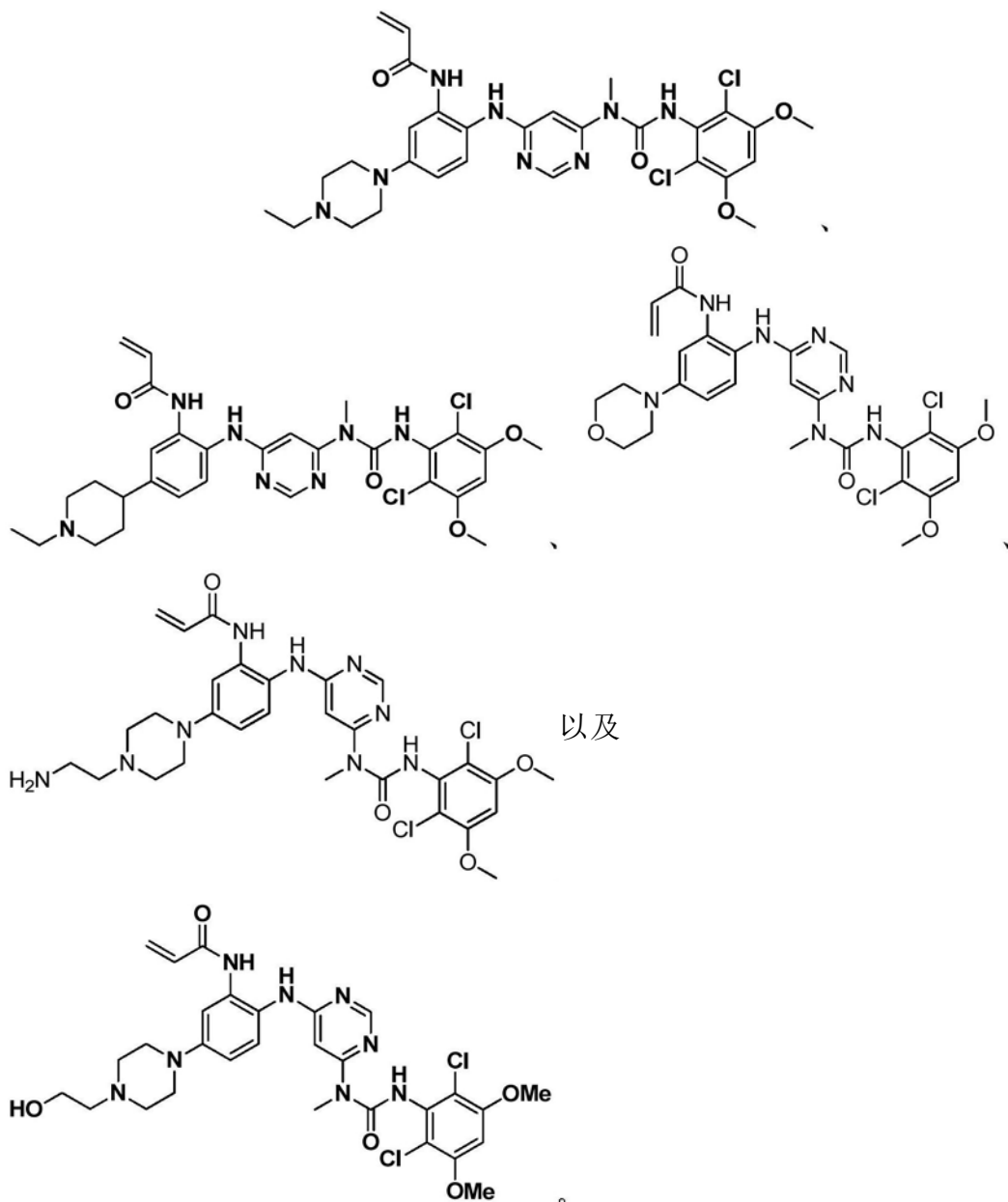
15. 如权利要求1所述的用途,其中所述化合物选自:



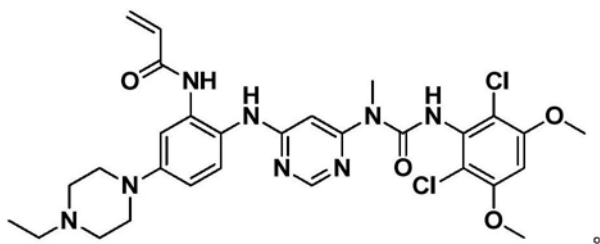




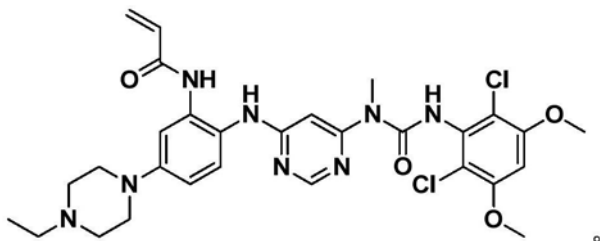
16. 如权利要求1所述的用途,其中所述化合物选自:



17. 如权利要求1所述的用途,其中所述化合物或其药物可接受的盐为:



18. 如权利要求17所述的用途,其中所述化合物为:



19. 如权利要求1-18中任一项所述的用途,其中所述药物还包含药物可接受的载体。

20. 如权利要求19所述的用途,其中所述药物被配制用于口服施用、静脉内施用或皮下施用。

21. 如权利要求1-20中任一项所述的用途,其中所述肉瘤为横纹肌肉瘤。

嘧啶FGFR4抑制剂

[0001] 本申请是申请日为2014年10月16日、发明名称为“嘧啶FGFR4抑制剂”的第201480056358.4号中国专利申请的分案申请。

[0002] 发明背景

[0003] 成纤维细胞生长因子(FGF)是具有多种生物活性的超过20个结构相关蛋白的家族。它们的主要受体(成纤维细胞生长因子受体(FGFR1、FGFR2、FGFR3和FGFR4))是结合FGF的受体酪氨酸激酶的家族,并且涉及细胞增殖和分化的过程。FGFR信号传导网络的失调涉及许多病理生理学病况,包括许多类型的人类癌症。

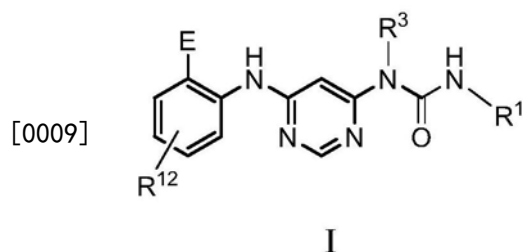
[0004] 已知“成纤维细胞生长因子受体4”或“FGFR4”调节增殖和抗凋亡,并且在许多癌症中表达或高度表达。参见例如Dieci等人2013,Cancer Discovery,0F1-0F16。研究已经表明FGFR4的表达是癌症的更具侵袭性表型的先兆,而敲低或减少FGFR4表达被用于降低增殖和促进细胞凋亡。参见例如Wesche等人2011,Biochem J 437:199-213。

[0005] 例如,FGFR4表达或过表达与以下癌症的癌症侵袭性有关:胃癌(Ye等人2011,Cancer,5304-5313)、前列腺癌(Xu等人2011,BMC Cancer,11;84)、诸如横纹肌肉瘤(Taylor VI等人2009,J Clin Invest,119(11):3395-3407)的肉瘤、诸如黑素瘤(Streit等人2006,British J Cancer,94:1879-1886)的皮肤癌、诸如胆管癌(Sia等人2013,Gastroenterology 144:829-840)和肝细胞癌(French等人2012,PLoS ONE7(5):e367313;Miura等人2012,BMC Cancer 12:56;Chiang等人2008,Cancer Res 68(16):6779-6788;Sawey等人2011,Cancer Cell 19:347-358)的肝癌、诸如胰腺上皮内瘤变和胰腺导管腺癌(Motoda等人2011,Int'l J Oncol 38:133-143)的胰腺癌、诸如非小细胞肺癌(Fawdar等人2013,PNAS 110(30):12426-12431)的肺癌、结肠直肠癌(Pelaez-Garcia等人2013,PLoS ONE 8(5):e63695;Barderas等人2012,J Proteomics75:4647-4655)和卵巢癌(Zaid等人2013,Clin Cancer Res 19:809-820)。

[0006] 若干FGFR抑制剂的临床发展已经确认它们作为抗肿瘤剂的效用。Dieci等人2013,Cancer Discovery,0F1-0F16。然而,需要用于靶向FGFR(特别是FGFR4)的新试剂。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明的目的是提供式I的化合物或其药物可接受的盐:



[0010] 其中:

[0011] R^3 选自: C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基、 $NR^{10}R^{11}C_{1-6}$ 烷基、 R^{10} 杂环基 C_{1-6} 烷基、 R^{10} 芳基 C_{1-6} 烷基和 R^{10} 杂芳基 C_{1-6} 烷基,其中 R^{10} 和 R^{11} 各自独立地选自:氢和 C_{1-6} 烷基;

[0012] E选自:

[0013] $-NR^{13}C(O)CR^{14}=CHR^{15}$,以及

[0014] $-\text{NR}^{13}\text{C}(\text{O})\text{C}\equiv\text{CR}^{14}$,

[0015] 其中 R^{13} 选自:氢和甲基,并且 R^{14} 和 R^{15} 各自独立地选自:氢、甲基、氟和氯;

[0016] R^{12} 选自:氢、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基 C_{1-6} 烷基、羟基 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 杂环基、 $-\text{C}(\text{O})$ 杂环基 R^5R^6 、 R^5R^6 杂环基 C_{1-6} 烷基、 NR^5R^6 、 $\text{NR}^5\text{R}^6\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^5\text{R}^6$ 和 $\text{NR}^5\text{R}^6\text{C}_{1-6}$ 烷氧基,其中 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基、羟基 C_{1-6} 烷基、氨基 C_{1-6} 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-6}$ 烷基和 C_{1-6} 烷基磺酰基;以及

[0017] R^1 为苯基,其中所述苯基被独立选择的卤素或 C_{1-6} 烷氧基取代2次、3次或4次。

[0018] 在一些实施方案中, R^3 是 C_{1-6} 烷基。

[0019] 在一些实施方案中, R^3 选自:甲基、甲氧基乙基、4-吡啶基甲基、3-吡啶基甲基、2-吡啶基甲基、苄基、N,N-二甲基氨基丙基、3-甲基异噻唑-5-基-甲基和4-甲基哌嗪-1-基-丙基。

[0020] 在一些实施方案中,E为 $-\text{NR}^{13}\text{C}(\text{O})\text{CH}=\text{CHR}^{15}$ 或 $-\text{NR}^{13}\text{C}(\text{O})\text{CF}=\text{CH}_2$,其中 R^{13} 和 R^{15} 如以上所定义。在一些实施方案中,E为 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$ 。

[0021] 在一些实施方案中, R^{12} 选自:氢、氟、氯、甲基、甲氧基、N,N-二甲基氨基乙基、哌嗪-1-基、4-乙基哌嗪-1-基、4-乙基哌嗪-1-基-甲基、1-甲基哌啶-4-基、1-乙基哌啶-4-基、N,N-二甲基氨基甲基、N,N-二甲基氨基丙基、哌啶-4-基、吗啉基、3,5-二甲基哌嗪-1-基、4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基、N,N-二甲基氨基乙氧基、4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基、羟基乙氧基、甲氧基乙氧基、羟甲基、甲氧基甲基、2-甲氧基丙基、2-羟丙基、2-氨基丙基、4-甲基哌嗪-1-基-羰基、4-乙基哌嗪-1-基-羰基、4-[2-丙基]哌嗪-1-基、4-乙酰基哌嗪-1-基、N-甲基-N-羟乙基-氨基、N,N-二甲基酰氨基和4-(2-氨基乙基)哌嗪-1-基。

[0022] 在一些实施方案中, R^{12} 选自:氢、 C_{1-6} 烷基、羟基 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 杂环基、 R^5R^6 杂环基 C_{1-6} 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^5\text{R}^6$ 、 $\text{NR}^5\text{R}^6\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $\text{NR}^5\text{R}^6\text{C}_{1-6}$ 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基和 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基,其中 R^5 和 R^6 各自独立地选自:氢、 C_{1-6} 烷基、羟基 C_{1-6} 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-6}$ 烷基和 C_{1-6} 烷基磺酰基。

[0023] 在一些实施方案中, R^{12} 为 R^5R^6 杂环基,其中 R^5 和 R^6 如以上所定义。

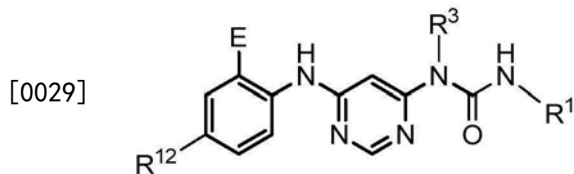
[0024] 在一些实施方案中, R^5R^6 杂环基为 R^5R^6 哌嗪基,其中 R^5 和 R^6 如以上所定义。

[0025] 在一些实施方案中, R^{12} 为4-乙基哌嗪-1-基。

[0026] 在一些实施方案中, R^{12} 不是氢。

[0027] 在一些实施方案中, R^1 为2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基。

[0028] 在一些实施方案中,化合物为式I(a)的化合物或其药物可接受的盐:



[0030] I(a)

[0031] 其中 R^3 、E、 R^{12} 和 R^1 如以上所定义。

[0032] 另一目的为包含如本文所述的化合物或盐以及药物可接受的载体的药物组合物。在一些实施方案中,将组合物配制用于口服或肠胃外施用。

[0033] 另一目的为在有需要的对象中治疗肝细胞癌的方法,其包括向所述对象施用治疗有效量的如本文所述的化合物或盐或组合物。在一些实施方案中,肝细胞癌具有改变的

FGFR4和/或FGF19状态(例如,增加的FGFR4和/或FGF19的表达)。

[0034] 另一目的为在有需要的对象中治疗肝细胞癌的方法,其包括:在包含所述肝细胞癌的细胞的生物样品中测定改变的FGFR4和/或FGF19状态(例如,增加的FGFR4和/或FGF19的表达),并且如果所述肝细胞癌具有所述改变的FGFR4和/或FGF19状态,那么以治疗有效量向所述对象施用本文所述的化合物或组合物。

[0035] 另一目的为本文所述的化合物或盐或组合物在治疗肝细胞癌的方法中的用途。

[0036] 另一目的为本文所述的化合物或盐在制备用于治疗肝细胞癌的药剂中的用途。

[0037] 附图简述

[0038] 图1表示使用HUH7细胞在肝细胞癌模型中进行体内功效测试的结果。通过腹膜内注射施用化合物108 (25mg/kg或37.5mg/kg) 或媒介物对照,并且在15天的过程内每周两次测量肿瘤体积。

[0039] 图2表示使用HEP3B细胞在肝细胞癌模型中进行体内功效测试的结果。通过腹膜内注射施用化合物108 (12.5mg/kg、25mg/kg或37.5mg/kg) 或媒介物对照,并且在15天的过程内每周两次测量肿瘤体积。

[0040] 图3表示使用JHH7细胞在肝细胞癌模型中进行体内功效测试的结果。通过腹膜内注射施用化合物108 (12.5mg/kg、25mg/kg或37.5mg/kg) 或媒介物对照,并且在15天的过程内每周两次测量肿瘤体积。

[0041] 图4表示使用HEP3B细胞在肝细胞癌模型中进行对比性体内功效测试的结果。通过腹膜内注射每天两次施用化合物108 (25mg/kg、37.5mg/kg或50mg/kg),或每天两次口服施用BGJ398 (30mg/kg或60mg/kg)。

[0042] 实施方案详述

[0043] 本文提供用作FGFR4抑制剂的化合物。在一些实施方案中,化合物为相对于FGFR1和/或FGFR2和/或FGFR3具有对FGFR4更大的结合亲和力和/或抑制作用的选择性FGFR4抑制剂(例如,大10倍、100倍或1000倍或更大)。

[0044] A. 定义

[0045] 根据本公开内容用作活性剂的化合物包括上文和下文一般性描述的那些化合物,并且通过本文所公开的实施方案、子实施方案和物质进一步说明。如本文所使用,应使用以下定义,除非另外指明。

[0046] 如本文所描述,本发明的化合物可以任选地被一个或多个取代基取代,例如本文一般性示例的那些取代基,或如本发明的特定类别、亚类和种类所例证的那些取代基。通常,术语“取代的”指的是用指定的取代基替代给定结构中的氢。除非另外指明,取代的基团可以在基团的各个可取代位置具有取代基,并且当在任何给定结构中的一个以上位置可以被选自特定基团的一个以上取代基取代时,取代基可以在每个位置是相同或不同的。由本发明所设想的取代基的组合优选地为导致形成稳定化合物的那些取代基。本文使用的“稳定的”指的是当在40℃或以下温度、不存在水分或其它化学反应性条件下保持至少一周时,基本上无变化的化学上可行的化合物。

[0047] 正如本领域的技术人员所理解,本文使用的“H”为氢,“C”为碳,“N”为氮,“S”为硫以及“O”为氧。

[0048] 如本文使用的“烷基”或“烷基基团”,意指完全饱和的直链(即,无支链的)或支链

烃链。在一些实施方案中,烷基具有1个、2个、3个、4个、5个或6个碳原子。在某些实施方案中,烷基包含1-6个碳原子(C_{1-6} 烷基)。在某些实施方案中,烷基包含1-4个碳原子(C_{1-4} 烷基)。在某些实施方案中,烷基包含1-3个碳原子(C_{1-3} 烷基)。在其它实施方案中,烷基包含2-3个碳原子(C_{2-3} 烷基),以及在其它实施方案中,烷基包含1-2个碳原子(C_{1-2} 烷基)。

[0049] 如本文使用的“烯基”或“烯基基团”指的是具有一个或多个双键的直链(即,无支链的)或支链烃链。在一些实施方案中,烯基具有2个、3个、4个、5个或6个碳原子。在某些实施方案中,烯基包含2-8个碳原子(C_{2-8} 烯基)。在某些实施方案中,烯基包含2-6个碳原子(C_{2-6} 烯基)。在其它实施方案中,烯基包含3-4个碳原子(C_{3-4} 烯基),以及在其它实施方案中,烯基包含2-3个碳原子(C_{2-3} 烯基)。根据另一方面,术语烯基指的是具有两个双键的直链烃,也被称为“二烯”。示例性烯基的非限制性实例包括 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}_3$ 和 $-\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$ 。

[0050] 如本文使用的“炔基”或“炔基基团”指的是具有一个或多个三键的直链(即,无支链的)或支链烃链。在一些实施方案中,炔基具有2个、3个、4个、5个或6个碳原子。在某些实施方案中,炔基包含2-8个碳原子(C_{2-8} 炔基)。在某些实施方案中,炔基包含2-6个碳原子(C_{2-6} 炔基)。在其它实施方案中,炔基包含3-4个碳原子(C_{3-4} 炔基),以及在其它实施方案中,炔基包含2-3个碳原子(C_{2-3} 炔基)。

[0051] “Ar”或“芳基”指的是具有一个或多个闭合环的芳香族碳环部分。实例包括但不限于苯基、萘基、蒽基、菲基(phenanthracenyl)、联苯基和芘基。

[0052] “卤素”指的是氯(Cl)、氟(F)、溴(Br)或碘(I)。

[0053] “卤代烷基”指的是通过烷基与母体分子部分连接的一个或多个卤代基团。实例包括但不限于氯甲基、氟甲基、三氟甲基等。

[0054] “杂芳基”指的是具有一个或多个闭合环以及在至少一个环中具有一个或多个杂原子(氧、氮或硫)的环状部分,并且其中所述环或多个环可以独立地为稠合的和/或桥接的。实例包括但不限于喹啉基、异喹啉基、吲哚基、呋喃基、噻吩基、吡啶基、喹喔啉基、吡咯基、吲唑基、噻吩并[2,3-c]吡啶基、苯并呋喃基、吡啶并[1,5-a]吡啶基、苯硫基吡啶基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、噻唑基、2-苯基噻唑基和异噻唑基。

[0055] “-OR”或“氧基”指的是通过氧原子与母体分子部分连接的R基团,其中R为H、烷基、烯基、炔基等。

[0056] 如本文所定义,“烷氧基”指的是通过氧(“烷氧基”)原子与主碳链连接的烷基基团。“烷氧基”的代表性实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、苯氧基、2-丙氧基、丁氧基、叔丁氧基、戊氧基、己氧基等。

[0057] “羟基”指的是-OH基团。

[0058] “羰基”是具有碳原子与氧原子双键连接的基团($\text{C}=\text{O}$),其通常以化学式描述为C(O)。

[0059] “乙酰基”为基团 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 。

[0060] “胺”或“氨基”指的是基团 $-\text{NH}_2$,其中没有氢、一个氢或两个氢可以被本文所描述的适当取代基,例如烷基、烯基、炔基等所取代。

[0061] “酰胺”或“酰氨基”指的是具有羰基与氮原子键合的基团,例如 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$,其中没有氢、一个氢或两个氢可以被本文所描述的适当取代基,例如烷基、烯基、炔基等所取代。

[0062] “-SR”指的是通过硫原子与母体分子部分连接的R基团,其中R为烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、杂环基或杂芳基。“-SR”的代表性实例包括但不限于乙硫醇、3-甲基-1-丁硫醇、苯基硫醇等。

[0063] 如本文使用的“环烷基”,指的是包含3个至8个碳原子或更多个碳原子的饱和环烃基团。环烷基的代表性实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。

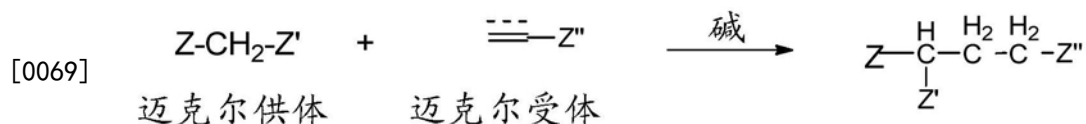
[0064] 如本文使用的“环烯基”,指的是包含3个至8个碳原子或更多个碳原子并且具有一个或多个双键的不饱和环烃基团。

[0065] 如本文使用的“环炔基”,指的是包含3个至8个碳原子或更多个碳原子并且具有一个或多个三键的不饱和环烃基团。

[0066] 如本文使用的“亲电体”指的是具有降低电子密度,通常包含与多个电负性原子例如氧、氮或卤素直接键合的碳原子的基团。示例性亲电体包括但不限于重氮甲烷,三甲基甲硅烷基重氮甲烷,烷基卤化物例如甲基碘、苄基溴等,三氟甲磺酸烷基酯例如三氟甲磺酸甲酯等,磺酸烷基酯例如甲苯磺酸乙酯、甲磺酸丁酯等,酰基卤例如乙酰氯、苯甲酰溴等,酸酐例如乙酸酐、琥珀酸酐、马来酸酐等,异氰酸酯例如异氰酸甲酯、异氰酸苯酯等,异硫氰酸酯例如异硫氰酸甲酯、异硫氰酸苯酯等,氯甲酸酯例如氯甲酸甲酯、氯甲酸乙酯、氯甲酸苄酯等,磺酰卤例如甲磺酰氯、甲磺酰氟、对甲苯磺酰氯等,甲硅烷基卤化物例如三甲基氯硅烷、叔丁基二甲基氯硅烷等,磷酸酯例如氯磷酸二甲酯等,环氧化合物例如2-甲基环氧乙烷,氮丙啶例如2-甲基氮丙啶, α -卤代酮例如1-氯-2-丙酮, α - β -不饱和羰基化合物例如丙烯醛、甲基乙烯基酮、肉桂醛、N,N-二甲基丙烯酰胺等,以及 γ -卤代- α - β -不饱和羰基化合物例如(E)-6-氯己-4-烯-3-酮。在一些实施方案中,亲电体为 α -卤代酮、异硫氰酸酯、环氧化合物、氮丙啶、磺酰卤或 α - β -不饱和羰基。

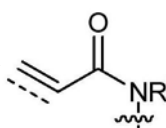
[0067] 在一些实施方案中,亲电体为迈克尔受体(Michael acceptor)。如本领域所知,“迈克尔受体”是形式 ---Z 的烯烃或炔烃;其中Z包含吸电子基团,其包括但不限于CHO、COR、COOR、CONRR'、CONROR'、CN、NO₂、SOR、SO₂R。R可以为H、烷基或芳基;其中R'为烷基、烯基、烷氧基或芳基。在另一实施方案中,偶氮二甲酰胺和醌是迈克尔受体。参见Santos, M.M.M.和Moreira, R., Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 7:1040-1050, 2007。

[0068] 迈克尔反应的实例描述于以下方案中:



[0070] 其中吸电子基团Z、Z'和Z''如以上所描述。在一些实施方案中,迈克尔受体为 α - β -不饱和羰基化合物,其包括但不限于 α - β -不饱和酰胺、 α - β -不饱和酮、 α - β -不饱和酯、共轭的炔基羰基和 α - β -不饱和腈。

[0071] 如本文使用的“ α - β -不饱和酰胺”或“不饱和酰胺”指的是包含与酰胺羰基基团直接键合的烯烃或炔烃的酰胺,并且由结构 $\text{---}\text{C}(\text{O})\text{NR'}$ 表示,其中R'为氢或烷基。



[0072] “杂原子”指的是O、S或N。

[0073] 如本文使用的“杂环”或“杂环基”，意指在环中包含至少一个杂原子的单环杂环、双环杂环或三环杂环。

[0074] 单环杂环为包含独立地选自O、N和S的至少一个杂原子的3元环、4元环、5元环、6元环、7元环或8元环。在一些实施方案中，杂环为包含选自O、N和S的一个杂原子的3元环或4元环。在一些实施方案中，杂环为包含零个或一个双键和选自O、N和S的一个、两个或三个杂原子的5元环。在一些实施方案中，杂环为包含零个、一个或两个双键和选自O、N和S的一个、两个或三个杂原子的6元环、7元环或8元环。单环杂环的代表性实例包括但不限于氮杂环丁烷基、氮杂环庚基、氮丙啶基、二氮杂环庚基、1,3-二氧杂环己基、1,3-二氧戊环基、二氢吡喃基(包括3,4-二氢-2H-吡喃-6-基)、1,3-二硫戊环基、1,3-二噻烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑啉基、异噻唑烷基、异噁唑啉基、异噁唑烷基、吗啉基、噁二唑啉基、噁二唑烷基、噁唑啉基、噁唑烷基、哌嗪基、哌啶基、吡喃基、吡唑啉基、吡唑烷基、吡咯啉基、吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基(包括四氢-2H-吡喃-4-基)、四氢噻吩基、噻二唑啉基、噻二唑烷基、噻唑啉基、噻唑烷基、硫代吗啉基、1,1-二氧硫代吗啉基(硫代吗啉砜)、硫代吡喃基和三噻烷基。

[0075] 本发明的双环杂环可以通过以下来例证：与芳基稠合的单环杂环、或与单环环烷基稠合的单环杂环、或与单环环烯基稠合的单环杂环或与单环杂环稠合的单环杂环。双环杂环的代表性实例包括但不限于3,4-二氢-2H-吡喃基、1,3-苯并间二氧杂环戊烯基、1,3-苯并二硫杂环戊二烯基(benzodithioly1)、2,3-二氢-1,4-苯并二氧杂环己烯基(benzodioxiny1)、2,3-二氢-1-苯并呋喃基、2,3-二氢-1-苯并噻吩基、2,3-二氢-1H-吲哚基、3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮和1,2,3,4-四氢喹啉基。

[0076] 三环杂环为与芳基稠合的双环杂环、或与单环环烷基稠合的双环杂环、或与单环环烯基稠合的双环杂环或与单环杂环稠合的双环杂环。三环杂环的代表性实例包括但不限于2,3,4,4a,9,9a-六氢-1H-咔唑基、5a,6,7,8,9,9a-六氢二苯并[b,d]呋喃基和5a,6,7,8,9,9a-六氢二苯并[b,d]噻吩基。

[0077] 在上述杂芳基和杂环基中，氮原子或硫原子可以任选地被氧化成各种氧化状态。在特定实例中，基团S(O)₀₋₂分别指的是-S- (硫键)、-S(O)- (亚砜) 和-SO₂- (砜)。为了方便起见，氮(特别而不排它地，那些定义为环形芳香族的氮) 意指包括那些相应的N-氧化物形式。

[0078] 本文使用的“药物可接受的盐”指的是本公开内容中的化合物的酸加成盐或碱加成盐。药物可接受的盐是保持母体化合物的活性并且不会对所施用的对象以及在被施用的环境中赋予任何不适当的有害作用或不良作用的任何盐。药物可接受的盐包括但不限于金属配合物以及无机酸和羧酸两者的盐。药物可接受的盐还包括金属盐，例如铝盐、钙盐、铁盐、镁盐、锰盐和配盐。此外，药物可接受的盐包括但不限于酸式盐例如乙酸盐、天冬氨酸盐、烷基磺酸盐、芳基磺酸盐、醋氧乙基(axetil) 盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、碳酸氢盐、硫酸氢盐(bisulfuric)、酒石酸氢盐、丁酸盐、乙二胺四乙酸钙、右旋樟脑磺酸(camsylic) 盐、碳酸盐、氯苯甲酸盐、柠檬酸盐、乙二胺四乙酸盐、乙二磺酸(edisylic) 盐、丙酸酯月桂硫酸(estolic) 盐、esyl、乙磺酸(esylic) 盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸(gluceptic) 盐、葡萄糖酸盐、谷氨酸盐、乙醇酸盐、羟乙酰基氨苯肿酸(glycolylarsanilic) 盐、环己磺酸(hexamic) 盐、己基间苯二酸(hexylresorcinoic) 盐、海巴明(hydrabamic) 盐、氢溴酸盐、盐酸盐、氢碘酸盐、羟基萘甲酸盐、羟基乙磺酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硝酸盐、甲基硫酸盐、粘酸盐、粘康酸(muconic) 盐、萘磺

酸(napsylic)盐、硝酸盐、草酸盐、对硝基甲磺酸盐、双羟萘酸盐、泛酸盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、邻苯二甲酸盐、聚半乳糖醛酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、氨基磺酸盐、磺胺酸盐、磺酸盐、硫酸盐、单宁酸盐、酒石酸盐、茶氯酸(teoclic)盐、甲苯磺酸盐等。药物可接受的盐可以来源于包括但不限于半胱氨酸的氨基酸。生产作为盐的化合物的方法对于本领域的技术人员是已知的(参见例如Stahl等人, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, Wiley-VCH; Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, 2002; Berge等人, J. Pharm. Sci. 66:1, 1977)。

[0079] 除非另外指明,用于描述本文所使用的化学基团或部分的命名法遵从惯例,即从左往右读取名称,与分子其余部分的连接点处于名称的右手边。例如,基团“芳基C₁₋₆烷基”在烷基端与分子的其余部分连接。

[0080] 除非另外指明,化学基团通过其化学式进行描述的情况下,包括通过“-”指明的末端键合部分,应当理解,从左往右读取连接物。例如,-C(O)C₁₋₆烷基在羰基端与分子的其余部分连接。

[0081] 除非另有说明,本文所描述的结构还意指包括结构的所有对映体形式、非对映体形式和几何形式(或构象形式);例如,各个非对称中心的R和S构型,(Z)和(E)双键异构体以及(Z)和(E)构象异构体。因此,本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映体、非对映体和几何型(或构象型)混合物在本发明范围内。除非另有说明,本发明的化合物的所有互变异构形式都在本发明的范围内。此外,除非另有说明,本发明的化合物的所有旋转异构体形式都在本发明的范围内。除非另有说明,本文描述的结构还意指包括仅存在一个或多个富含同位素的原子上有区别的化合物。例如,除了通过氘或氚替代氢,或通过富含¹³C-或¹⁴C-的碳替代碳外,具有本发明结构的化合物都在本发明的范围内。此类化合物可用作,例如,生物测定中的分析工具或探针。

[0082] “异构体”指的是具有相同数目和种类的原子以及因此具有相同分子量,但是关于原子的排列和构型不同的化合物。然而,应当理解,一些异构体或外消旋体或异构体的其它混合物可以显示出比其它更具活性。“立体异构体”指的是原子的排列仅在空间上有区别的异构体。“非对映异构体”指的是彼此不成镜像的立体异构体。“对映体”指的是彼此的镜像不可重叠的立体异构体。

[0083] 在一些实施方案中,本文教导的对映体化合物可以是基本上包含单一对映体,例如大于或等于90%、92%、95%、98%或99%,或等于100%的单一对映体的“对映体纯的”异构体。

[0084] 在一些实施方案中,本文教导的对映体化合物可以是立体异构纯的。本文使用的“立体异构纯的”意指包含化合物的一种立体异构体并且基本上不含那种化合物的其它立体异构体的化合物或其组合物。例如,具有一个手性中心的化合物的立体异构纯的组合物将基本上不含所述化合物的相反对映体。具有两个手性中心的化合物的立体异构纯的组合物将基本上不含所述化合物的非对映体,并且基本上不含所述化合物的相反对映体。典型的立体异构纯的化合物包含大于约80重量%的化合物的一种立体异构体以及小于约20重量%的化合物的其它立体异构体,更优选地,大于约90重量%的化合物的一种立体异构体以及小于约10重量%的化合物的其它立体异构体,甚至更优选地,大于约95重量%的化合物的一种立体异构体以及小于约5重量%的化合物的其它立体异构体,并且最优选地,大于

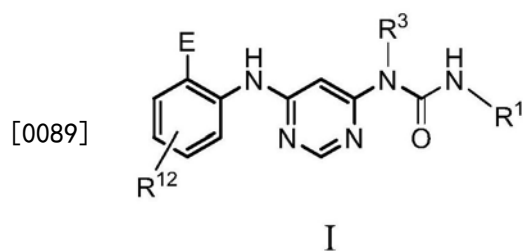
约97重量%的化合物的一种立体异构体以及小于约3重量%的化合物的其它立体异构体。参见例如美国专利No.7,189,715。

[0085] 如描述异构体的术语“R”和“S”是在非对称取代的碳原子上对立体化学构型的描述符。通过Cahn-Ingold-Prelog优先权规则的申请,完成了将非对称取代的碳原子指定为“R”或“S”,正如本领域技术人员所熟知的,并且在对于有机化学(E章节,立体化学)的命名法的国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)规则中进行了描述。

[0086] 对映体的“对映体过量”(ee)为[(主要对映体的摩尔分数)-(次要对映体的摩尔分数)]x 100。

[0087] B. 化合物

[0088] 根据一些实施方案本文提供的活性剂为式I的化合物或其药物可接受的盐:



[0090] 其中:

[0091] R^3 选自: C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基、 $NR^{10}R^{11}C_{1-6}$ 烷基、 R^{10} 杂环基、 C_{1-6} 烷基、 R^{10} 芳基、 C_{1-6} 烷基和 R^{10} 杂芳基、 C_{1-6} 烷基,其中 R^{10} 和 R^{11} 各自独立地选自:氢和 C_{1-6} 烷基;

[0092] E选自:

[0093] $-NR^{13}C(O)CH=CHR^{15}$,以及

[0094] $-NR^{13}C(O)C\equiv CR^{14}$,

[0095] 其中 R^{13} 选自:氢和甲基,并且 R^{14} 和 R^{15} 各自独立地选自:氢、甲基、氟和氯;

[0096] R^{12} 选自:氢、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基、 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 杂环基、 $-C(O)$ 杂环基、 R^5R^6 杂环基、 C_{1-6} 烷基、 NR^5R^6 、 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)NR^5R^6$ 和 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷氧基,其中 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷基、氨基、 C_{1-6} 烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基和 C_{1-6} 烷基磺酰基;以及

[0097] R^1 为苯基,其中所述苯基被独立选择的卤素或 C_{1-6} 烷氧基取代2次、3次或4次。

[0098] 在一些实施方案中, R^3 是 C_{1-6} 烷基。

[0099] 在一些实施方案中, R^3 选自:甲基、甲氧基乙基、4-吡啶基甲基、3-吡啶基甲基、2-吡啶基甲基、苄基、N,N-二甲基氨基丙基、3-甲基异噁唑-5-基-甲基和4-甲基哌嗪-1-基-丙基。

[0100] 在一些实施方案中,E为 $-NR^{13}C(O)CH=CHR^{15}$ 或 $-NR^{13}C(O)CF=CH_2$,其中 R^{13} 和 R^{15} 如以上所定义。在一些实施方案中,E为 $-NHC(O)CH=CH_2$ 。

[0101] 在一些实施方案中, R^{12} 选自:氢、氟、氯、甲基、甲氧基、N,N-二甲基氨基乙基、哌嗪-1-基、4-乙基哌嗪-1-基、4-乙基哌嗪-1-基-甲基、1-甲基哌啶-4-基、1-乙基哌啶-4-基、N,N-二甲基氨基甲基、N,N-二甲基氨基丙基、哌啶-4-基、吗啉基、3,5-二甲基哌嗪-1-基、4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基、N,N-二甲基氨基乙氧基、4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基、羟基乙氧基、甲氧基乙氧基、羟甲基、甲氧基甲基、2-甲氧基丙基、2-羟丙基、2-氨基丙基、4-甲基哌嗪-1-

基-羰基、4-乙基哌嗪-1-基-羰基、4-[2-丙基]哌嗪-1-基、4-乙酰基哌嗪-1-基、N-甲基-N-羟乙基-氨基、N,N-二甲基酰氨基和4-(2-氨基乙基)哌嗪-1-基。

[0102] 在一些实施方案中, R^{12} 选自: 氢、 C_{1-6} 烷基、羟基 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 杂环基、 R^5R^6 杂环基 C_{1-6} 烷基、 $-C(O)NR^5R^6$ 、 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷基、 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基和 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基, 其中 R^5 和 R^6 各自独立地选自: 氢、 C_{1-6} 烷基、羟基 C_{1-6} 烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基和 C_{1-6} 烷基磺酰基。

[0103] 在一些实施方案中, R^{12} 为 R^5R^6 杂环基, 其中 R^5 和 R^6 如以上所定义。

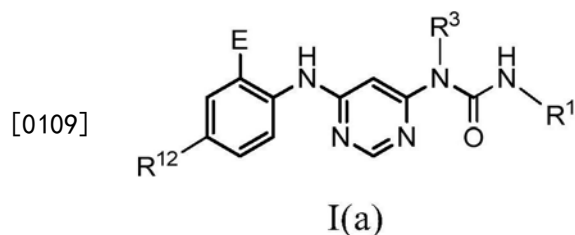
[0104] 在一些实施方案中, R^5R^6 杂环基为 R^5R^6 哌嗪基, 其中 R^5 和 R^6 如以上所定义。

[0105] 在一些实施方案中, R^{12} 为4-乙基哌嗪-1-基。

[0106] 在一些实施方案中, R^{12} 不是氢。

[0107] 在一些实施方案中, R^1 为2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基。

[0108] 在一些实施方案中, 化合物为式I (a) 的化合物或其药物可接受的盐:



[0110] 其中 R^3 、E、 R^{12} 和 R^1 如以上所定义。

[0111] C. 药物制剂

[0112] 本发明的活性剂可以与药物可接受的载体组合以提供其药物制剂。载体和制剂的特定选择将取决于组合物意在施用的特定途径。

[0113] 如本文使用的“药物可接受的载体”指的是与化合物配制时不会破坏其药理活性的无毒载体、佐剂或媒介物。可以用于本发明的组合物中的药物可接受的载体、佐剂或媒介物包括但不限于山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物、水、盐或电解质、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶态二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素基物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙二醇和羊毛脂。

[0114] 本发明的组合物可以适用于肠胃外施用、口服施用、雾化吸入施用、局部施用、直肠施用、鼻腔施用、颊部施用、阴道施用或植入的贮库施用等。在一些实施方案中, 制剂包含来自天然来源或非天然来源的成分。在一些实施方案中, 可以以无菌形式提供制剂或载体。无菌载体的非限制性实例包括无内毒素的水或无热原的水。

[0115] 如本文使用的术语“肠胃外的”包括皮下、静脉内、肌内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内和颅内注射或输注技术。在特定实施方案中, 化合物通过静脉内、口服、皮下施用, 或通过肌内施用。本发明的组合物的无菌可注射形式可以是水性或油性悬浮液。可以根据本领域已知的技术使用适当的分散剂或湿润剂和悬浮剂配制这些悬浮液。无菌可注射制剂还可以是无毒的非肠道可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液。可以采用的可接受媒介物或溶剂为水、林格氏溶液 (Ringer's solution) 和等渗氯化钠溶液。此外, 无菌非挥发性油通常用作溶剂或悬浮介质。

[0116] 为此目的, 可以采用任何温和的非挥发性油, 包括合成的单甘油酯或二甘油酯。与天然的药物可接受的油例如橄榄油或蓖麻油, 尤其和其聚氧乙基化形式一样, 脂肪酸及其甘油酯衍生物可用于制备注射液。这些油溶液或悬浮液还可以包含长链醇稀释剂或分散

剂,例如常用于包括乳液和悬浮液的药物可接受剂型的制剂中的羧甲基纤维素或类似的分散剂。其它常用的表面活性剂,例如Tweens,Spans以及其他常用于制造药物可接受的固体、液体或其他剂型的乳化剂也可用于制剂的目的。

[0117] 对于口服施用,可以以可接受的口服剂型提供化合物或盐,所述可接受的口服剂型包括但不限于胶囊、片剂、水性悬浮液或溶液。在用于口服用途的片剂情况中,常用的载体包括乳糖和玉米淀粉。还可以添加诸如硬脂酸镁的润滑剂。对于以胶囊形式的口服施用,有用的稀释剂包括乳糖和干燥的玉米淀粉。当口服使用需要水性悬浮液时,活性成分可以与乳化剂和悬浮剂组合。如果需要,还可以添加某些甜味剂、调味剂或着色剂。此外,还可以添加防腐剂。药物可接受的防腐剂的适当实例包括但不限于诸如溶剂的各种抗菌剂和抗真菌剂,例如乙醇、丙二醇、苄醇、氯丁醇、季铵盐和对羟基苯甲酸酯(例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯等)。

[0118] D. 对象和使用方法

[0119] 本发明的活性剂可以用于治疗肝细胞癌。

[0120] “治疗(treatment)”、“治疗(treat)”和“治疗(treating)”指的是逆转、减缓、延迟本文所述疾病或病症的发作,抑制疾病或病症的进程或以其它方式减轻疾病或病症。在一些实施方案中,可以在已经发展一种或多种症状之后进行治疗。在其它实施方案中,可以在无症状时进行治疗。例如,可以在症状发作之前对易感个体进行治疗(例如根据症状史和/或根据遗传因素或其它易感性因素)。在症状已经消退之后还可以持续治疗,例如以预防或延迟其复发。

[0121] 如本文使用的“患者”或“对象”意指动物对象,优选地哺乳动物对象,并且特别是人类对象(包括男性对象和女性对象,并且包括新生儿、婴儿、少年、青年、成人和老人对象)。对象还可以包括用于实验室目的或兽医学目的的其它哺乳动物对象(例如,犬、猫、马、牛、绵羊、山羊、猴、鸟等)。

[0122] 在一些实施方案中,向患有具有改变的FGFR4和/或FGF19(成纤维细胞生长因子19)状态的肝细胞癌的对象提供治疗。

[0123] 在一些实施方案中,治疗可以包括或结合分析包含所述肝细胞癌的细胞的生物样品中的FGFR4和/或FGF19状态来进行,并且如果所述肝细胞癌显示了FGFR4和/或FGF19的改变,那么用治疗有效量的本文所述的活性剂来治疗对象。

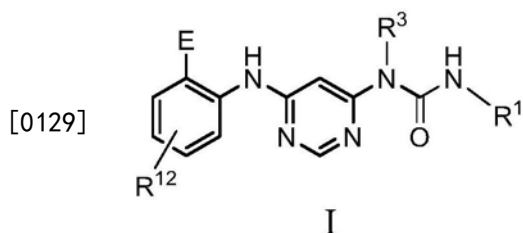
[0124] 如本文使用的关于FGFR4和/或FGF19的“改变的状态”包括相对于相应的非癌组织,由于突变而导致的其增加的表达(例如,增加的mRNA水平或增加的蛋白质水平),增加的基因组的拷贝数和/或增加的编码蛋白的活性等。在一些实施方案中,FGFR4和/或FGF19的改变的状态包括导致活性增加或与更具侵袭性形式的肝细胞癌在其他方面相关的基因突变和/或编码蛋白突变。

[0125] FGFR4和/或FGF19的“表达”意指转录以及优选地翻译编码它们的基因。通常,编码区的表达将导致产生编码的多肽。

[0126] FGFR4和FGF19蛋白质是已知的,并且其改变的状态和/或表达可以使用本领域的技术标准来测量,例如突变或拷贝数畸变的基因组分析,例如通过核酸扩增、序列分析和/或基于杂交的技术,诸如northern印迹或qRT-PCR的RNA表达分析,蛋白质印迹或其它免疫印迹或免疫测定,荧光激活细胞分选(FACS)等。

[0127] 本申请还包括以下实施方案：

[0128] 1. 式I的化合物或其药物可接受的盐：



[0130] 其中：

[0131] R^3 选自： C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基、 $NR^{10}R^{11}C_{1-6}$ 烷基、 R^{10} 杂环基、 C_{1-6} 烷基、 R^{10} 芳基、 C_{1-6} 烷基和 R^{10} 杂芳基、 C_{1-6} 烷基，其中 R^{10} 和 R^{11} 各自独立地选自：氢和 C_{1-6} 烷基；

[0132] E选自：

[0133] $-NR^{13}C(O)CR^{14}=CHR^{15}$ ，以及

[0134] $-NR^{13}C(O)C\equiv CR^{14}$ ，

[0135] 其中 R^{13} 选自：氢和甲基，并且 R^{14} 和 R^{15} 各自独立地选自：氢、甲基、氟和氯；

[0136] R^{12} 选自：氢、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基、 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 杂环基、 $-C(O)$ 杂环基、 R^5R^6 杂环基、 C_{1-6} 烷基、 NR^5R^6 、 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)NR^5R^6$ 和 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷氧基，其中 R^5 和 R^6 各自独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷基、氨基、 C_{1-6} 烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基和 C_{1-6} 烷基磺酰基；以及

[0137] R^1 为苯基，其中所述苯基被独立选择的卤素或 C_{1-6} 烷氧基取代2次、3次或4次。

[0138] 2. 如实施方案1所述的化合物或其药物可接受的盐，其中 R^3 为 C_{1-6} 烷基。

[0139] 3. 如实施方案1所述的化合物或其药物可接受的盐，其中 R^3 选自：甲基、甲氧基乙基、4-吡啶基甲基、3-吡啶基甲基、2-吡啶基甲基、苄基、N,N-二甲基氨基丙基、3-甲基异噁唑-5-基-甲基和4-甲基哌嗪-1-基-丙基。

[0140] 4. 如实施方案1-3中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐，其中E为 $-NR^{13}C(O)CH=CHR^{15}$ 或 $-NR^{13}C(O)CF=CH_2$ ，其中 R^{13} 和 R^{15} 如以上所定义。

[0141] 5. 如实施方案1-3中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐，其中E为 $-NHC(O)CH=CH_2$ 。

[0142] 6. 如实施方案1-5中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐，其中 R^{12} 选自：氢、氟、氯、甲基、甲氧基、N,N-二甲基氨基乙基、哌嗪-1-基、4-乙基哌嗪-1-基、4-乙基哌嗪-1-基-甲基、1-甲基哌啶-4-基、1-乙基哌啶-4-基、N,N-二甲基氨基甲基、N,N-二甲基氨基丙基、哌啶-4-基、吗啉基、3,5-二甲基哌嗪-1-基、4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基、N,N-二甲基氨基乙氧基、4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基、羟基乙氧基、甲氧基乙氧基、羟甲基、甲氧基甲基、2-甲氧基丙基、2-羟丙基、2-氨基丙基、4-甲基哌嗪-1-基-羰基、4-乙基哌嗪-1-基-羰基、4-[2-丙基]哌嗪-1-基、4-乙酰基哌嗪-1-基、N-甲基-N-羟乙基-氨基、N,N-二甲基酰氨基和4-(2-氨基乙基)哌嗪-1-基。

[0143] 7. 如实施方案1-5中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐，其中 R^{12} 选自：氢、 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷基、 R^5R^6 杂环基、 R^5R^6 杂环基、 C_{1-6} 烷基、 $-C(O)NR^5R^6$ 、 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷基、 $NR^5R^6C_{1-6}$ 烷氧基、 C_{1-6} 烷氧基和 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基，其中 R^5 和 R^6 各自独立地选自：氢、 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基和 C_{1-6} 烷基磺酰基。

[0144] 8.如实施方案1-5中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐,其中 R^{12} 为 R^5R^6 杂环基,其中 R^5 和 R^6 如以上所定义。

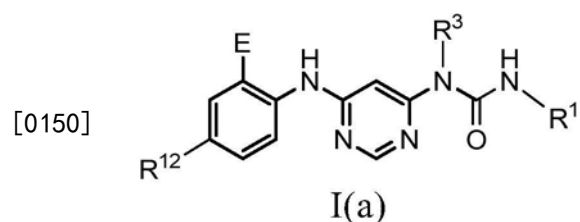
[0145] 9.如实施方案1-8中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐,其中 R^5R^6 杂环基为 R^5R^6 哌嗪基,其中 R^5 和 R^6 如以上所定义。

[0146] 10.如实施方案1-5中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐,其中 R^{12} 为4-乙基哌嗪-1-基。

[0147] 11.如实施方案1-7中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐,其中 R^{12} 不是氢。

[0148] 12.如实施方案1-11中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐,其中 R^1 为2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基。

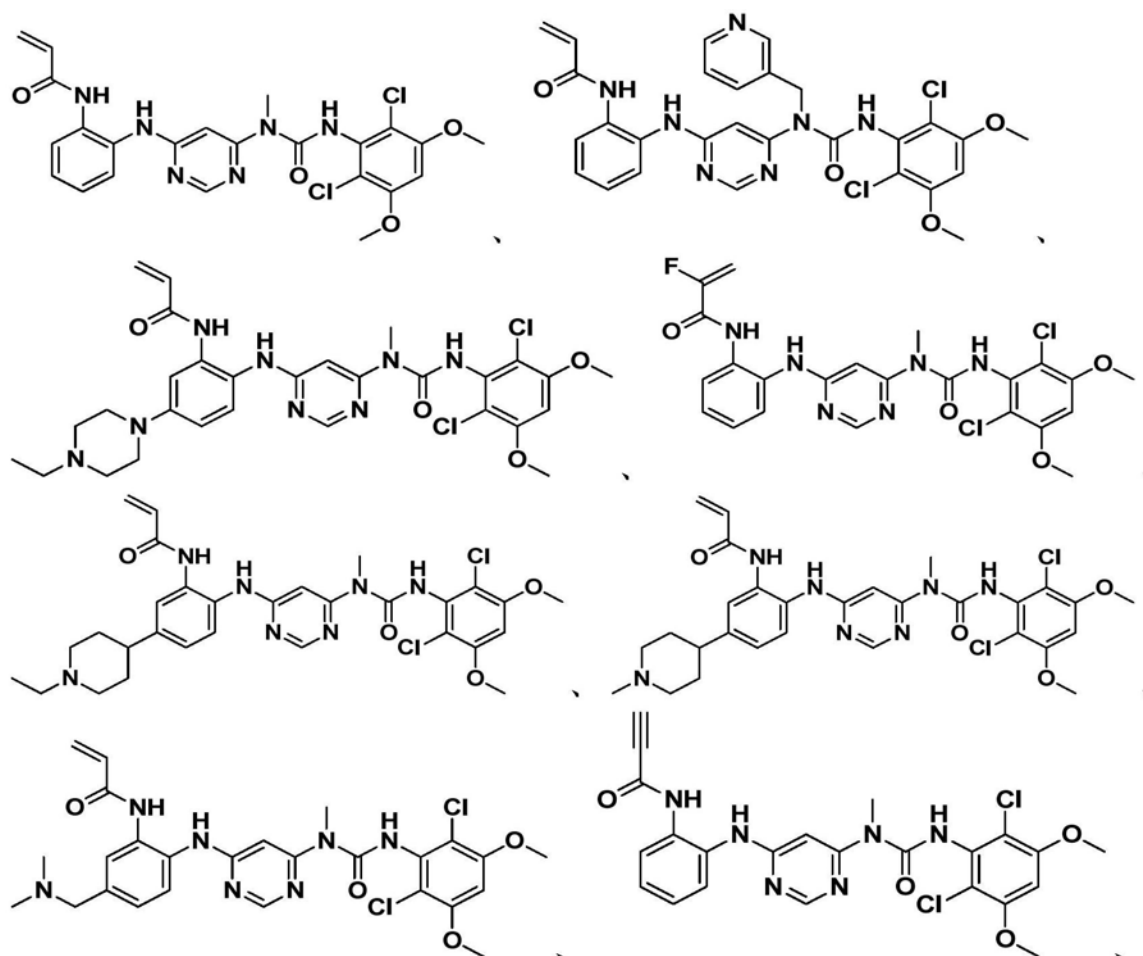
[0149] 13.如实施方案1-12中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐,其中所述化合物为式I(a)的化合物:



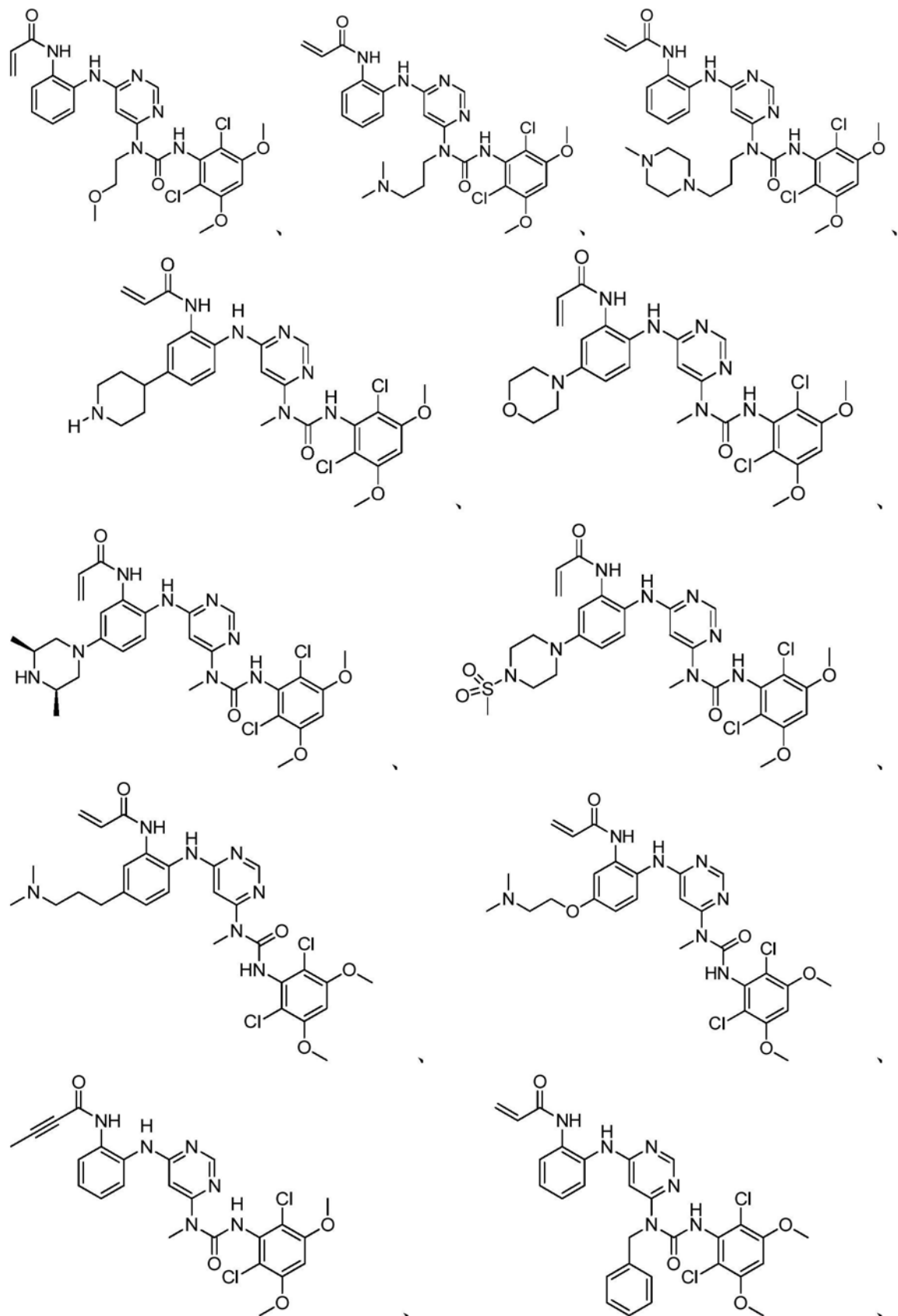
[0151] 其中 R^3 、E、 R^{12} 和 R^1 如以上所定义。

[0152] 14.如实施方案1所述的化合物或其药物可接受的盐,其中所述化合物选自:

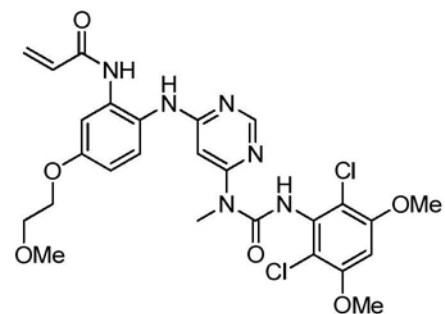
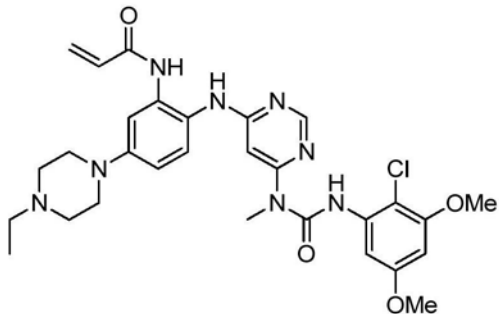
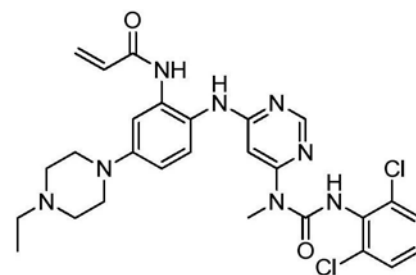
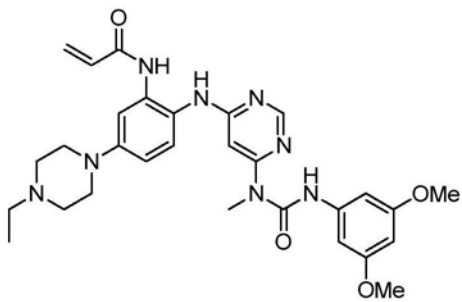
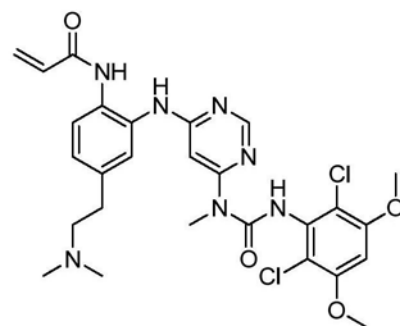
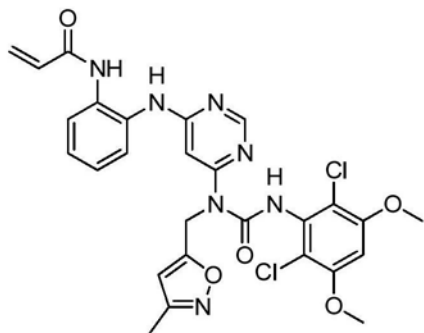
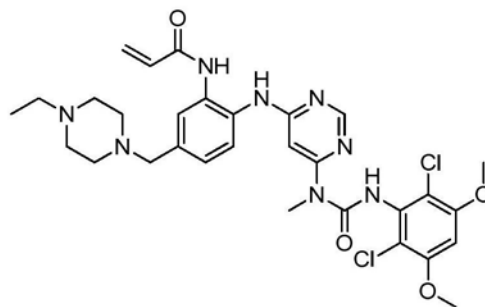
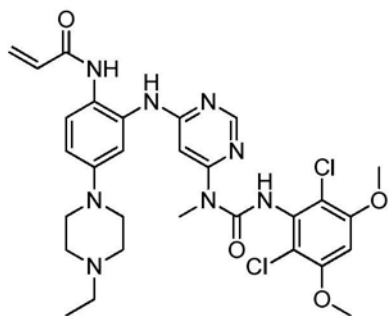
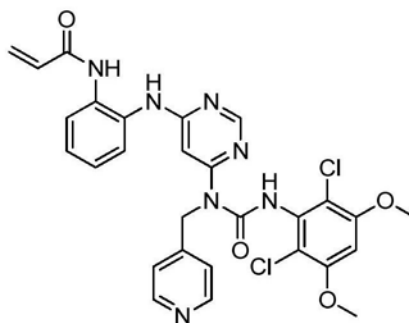
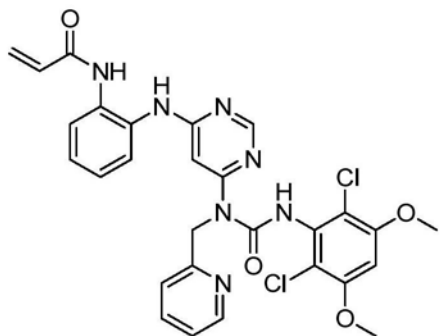
[0153]



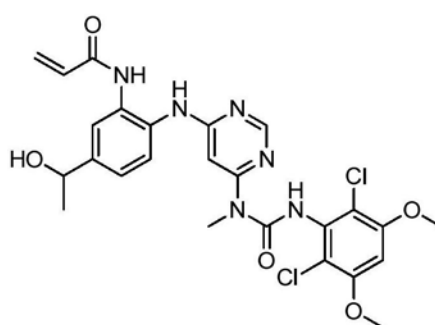
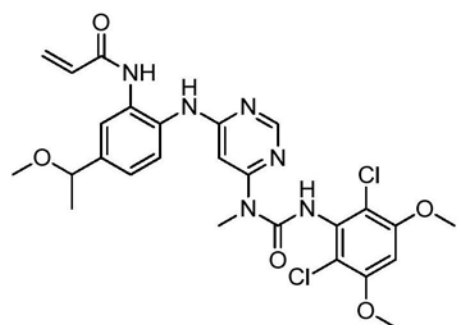
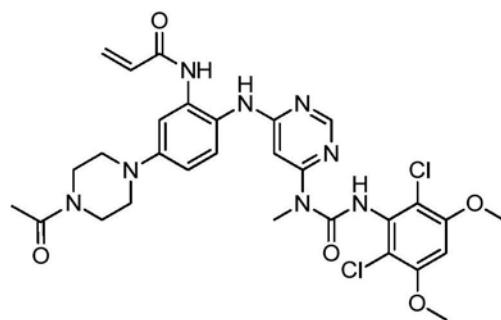
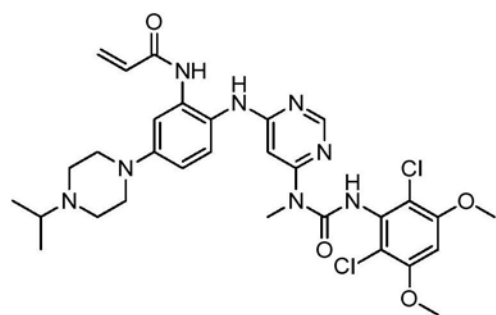
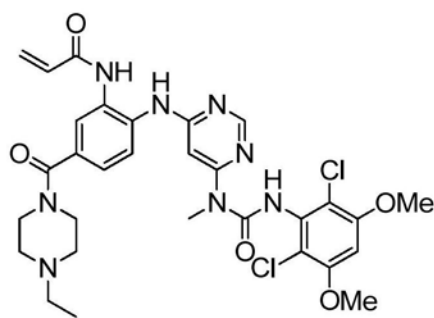
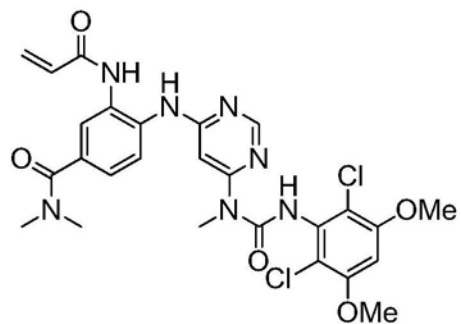
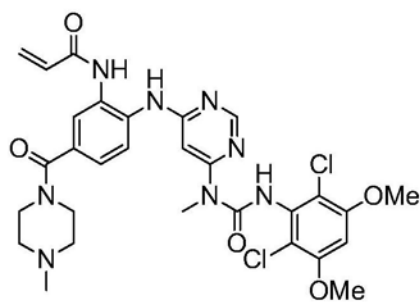
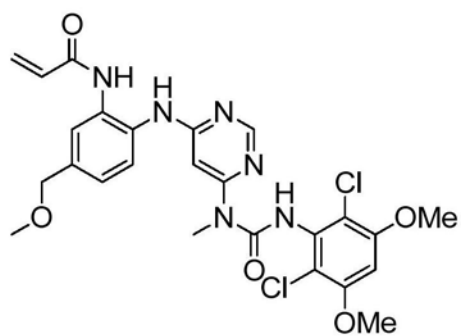
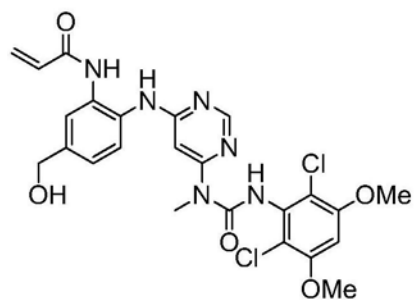
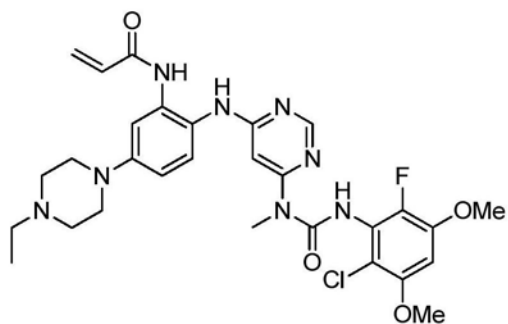
[0154]



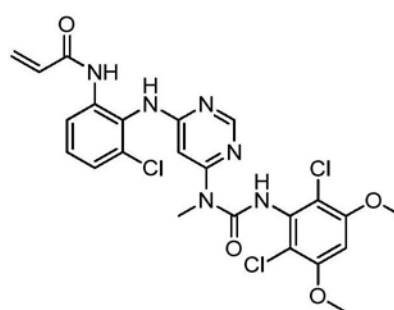
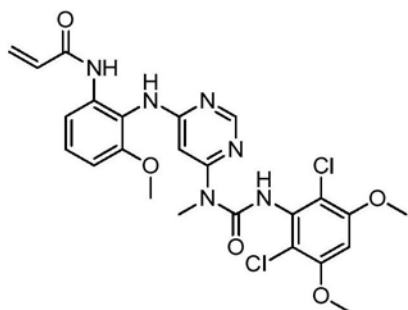
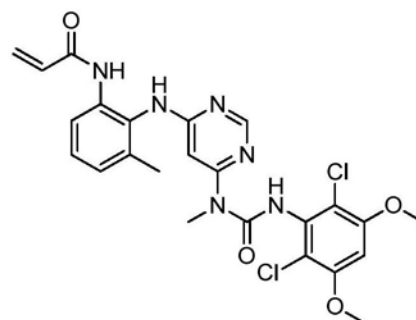
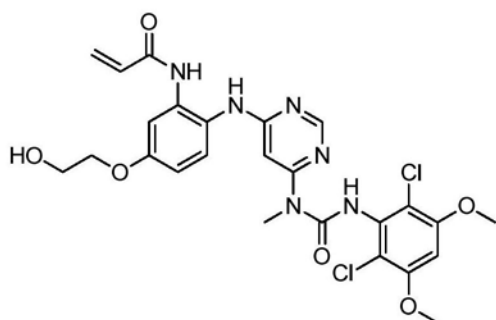
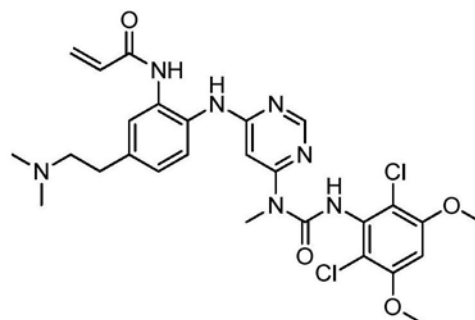
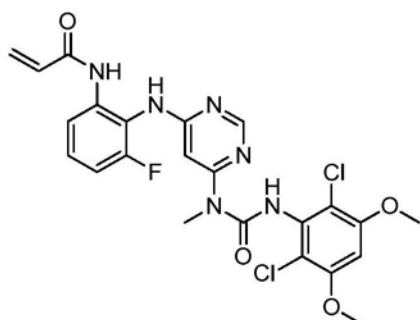
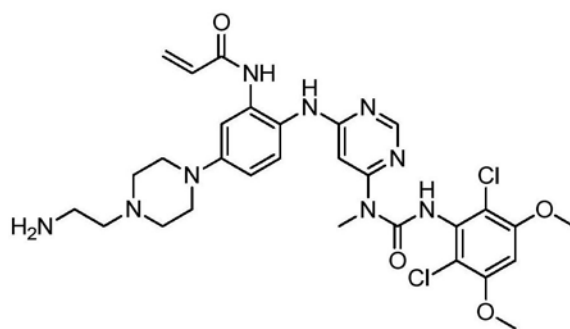
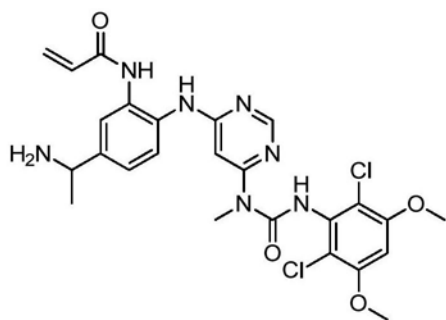
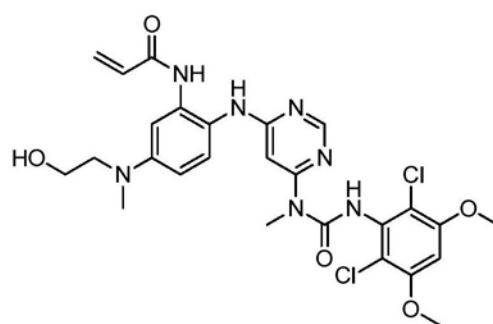
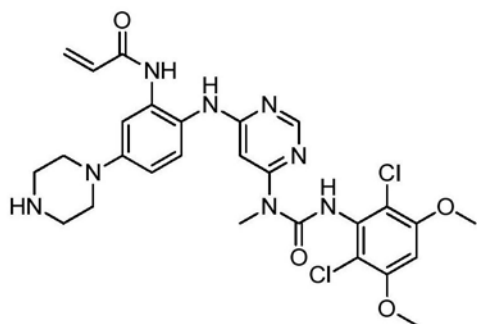
[0155]



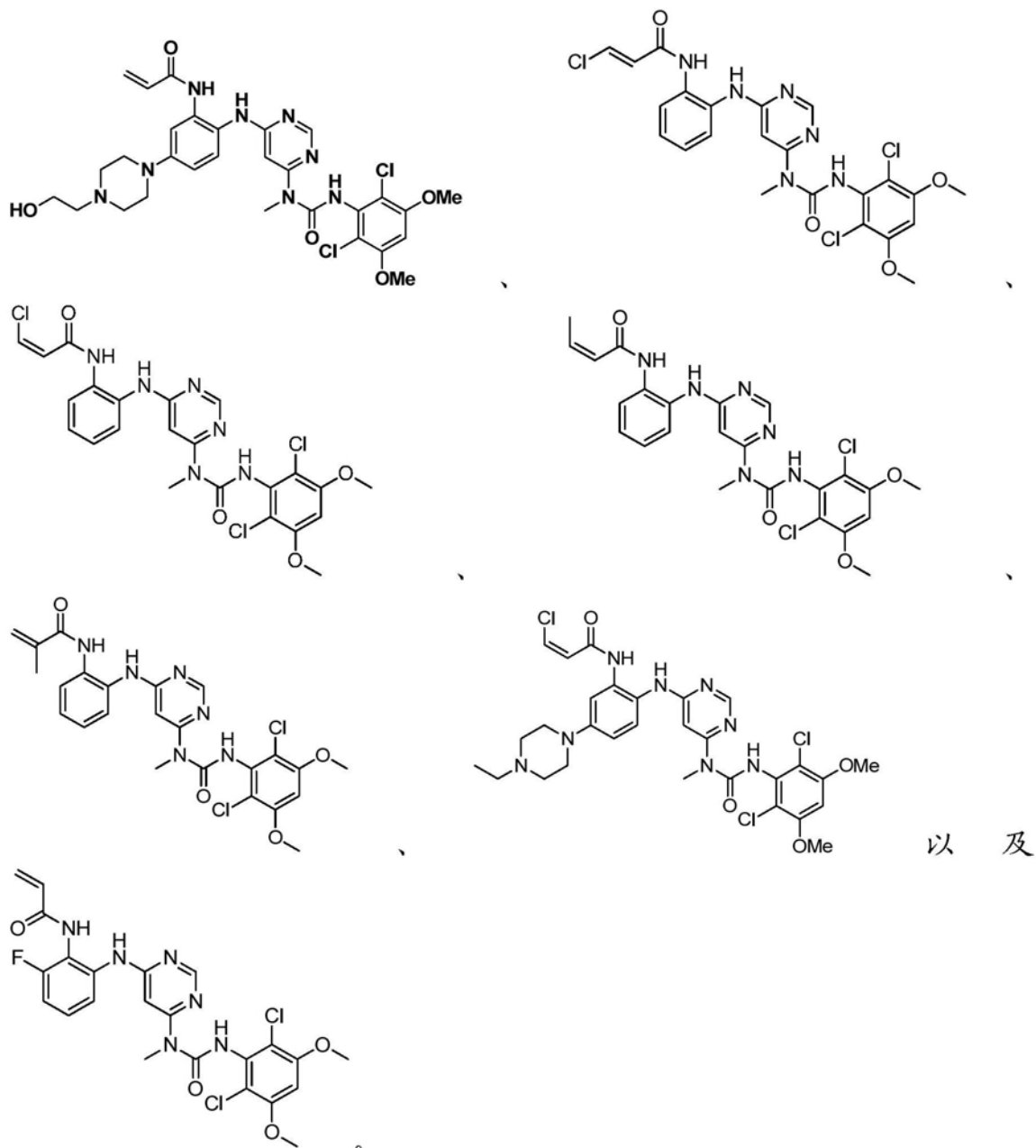
[0156]



[0157]

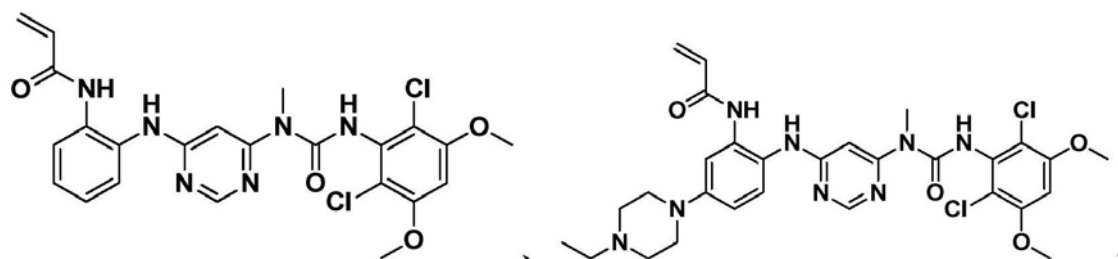


[0158]

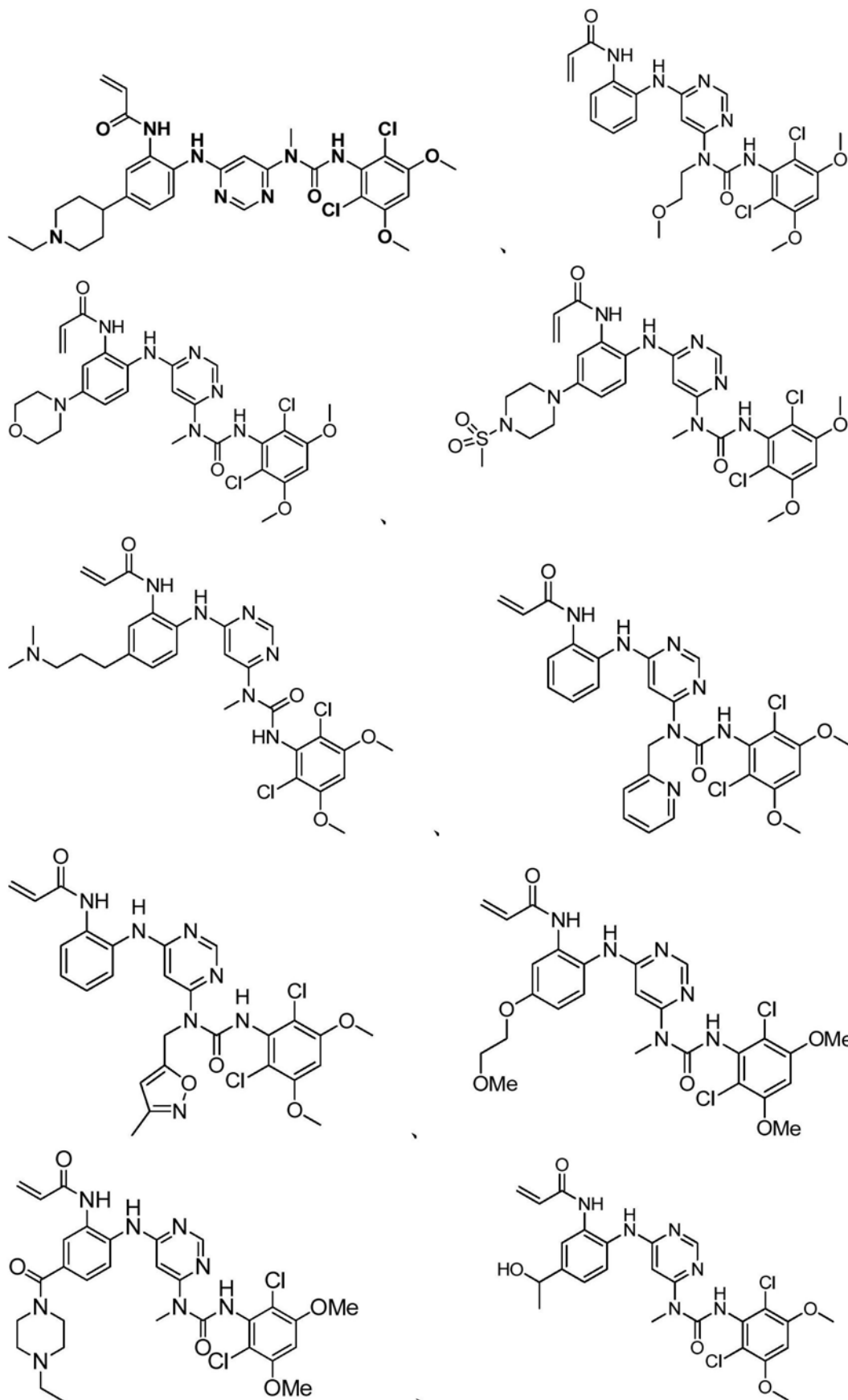


[0159] 15. 如实施方案1所述的化合物或其药物可接受的盐, 其中所述化合物选自:

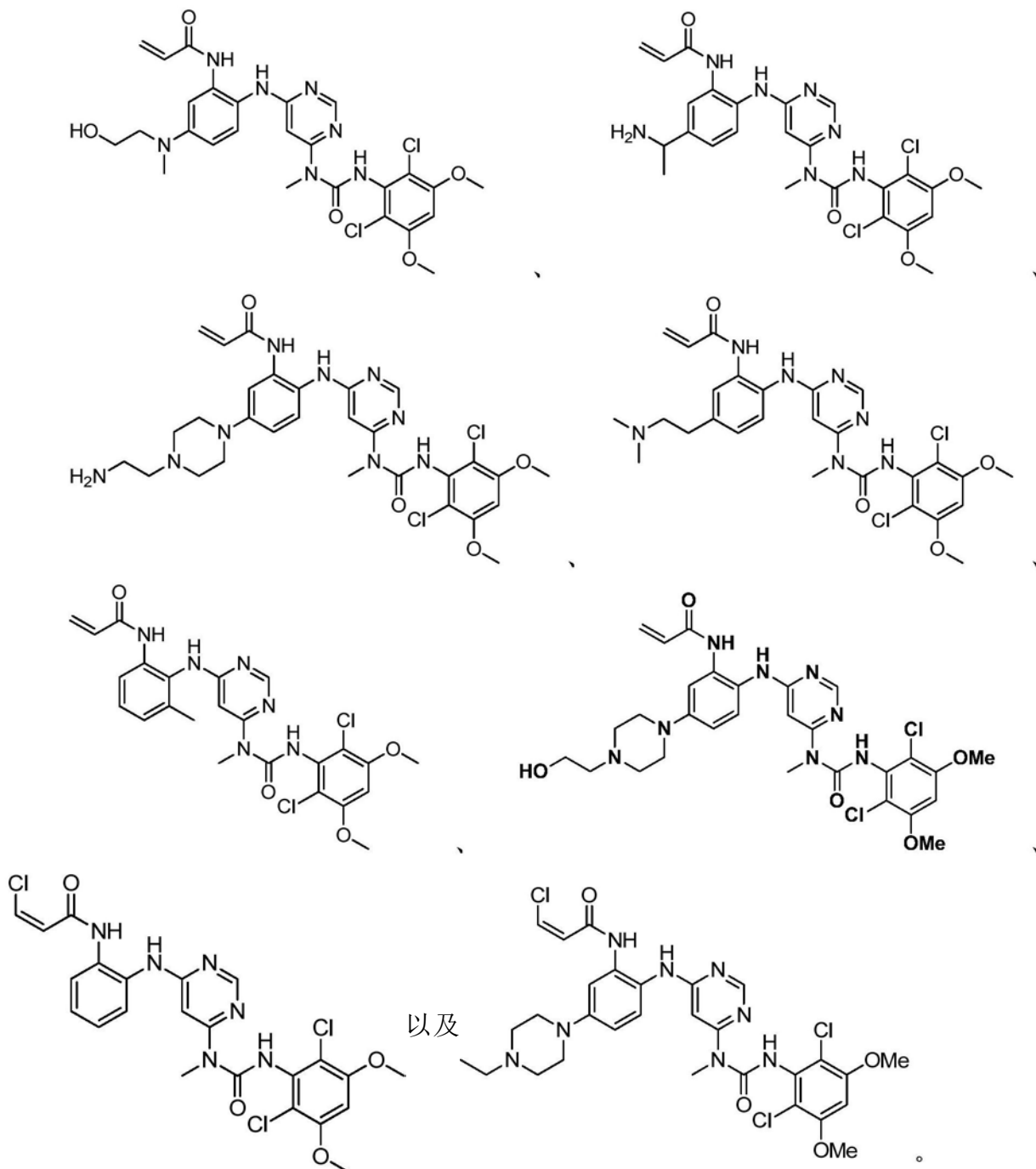
[0160]



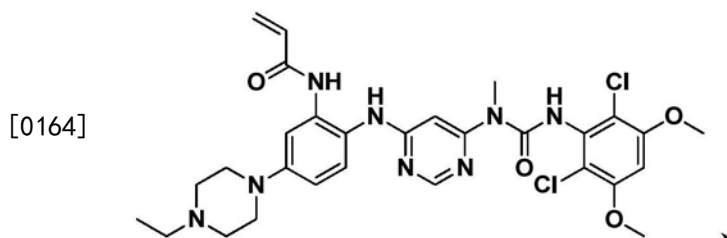
[0161]



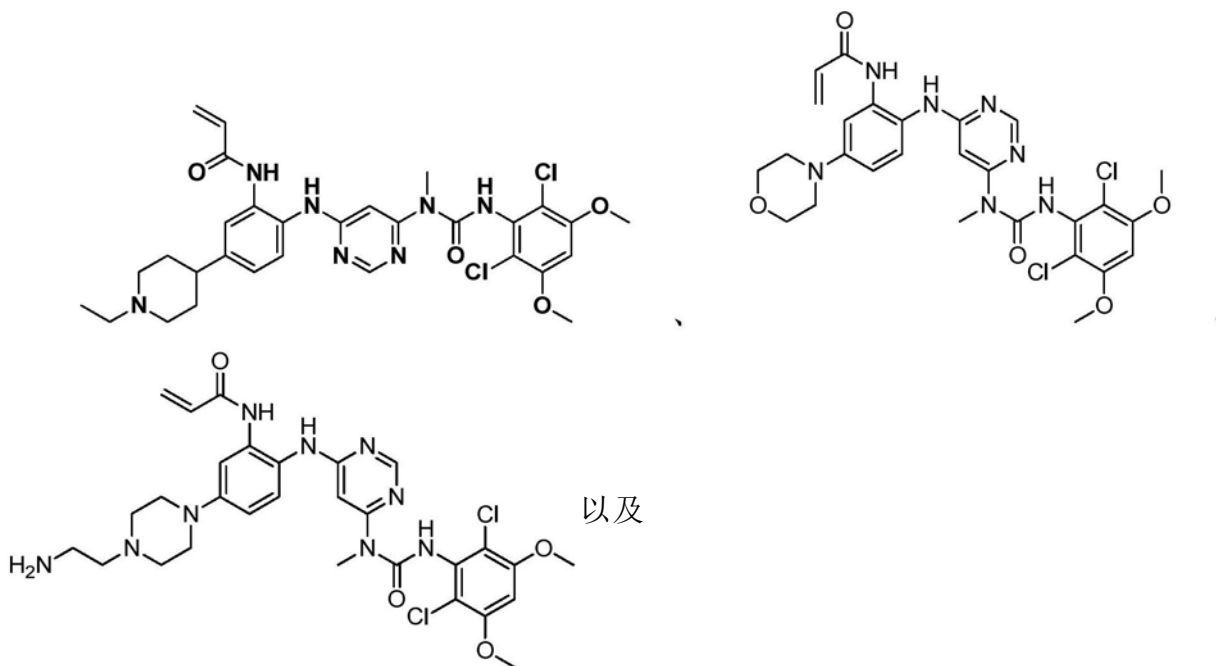
[0162]



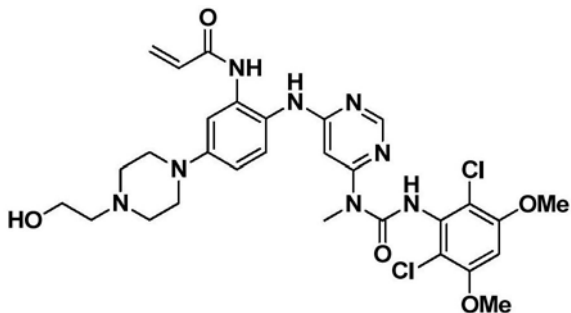
[0163] 16. 如实施方案1所述的化合物或其药物可接受的盐, 其中所述化合物选自:



[0165]

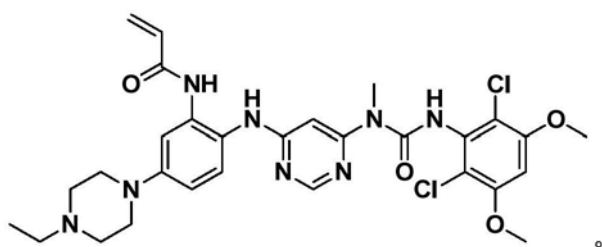


[0166]



[0167] 17. 如实施方案1所述的化合物或其药物可接受的盐, 其为:

[0168]



[0169] 18. 药物组合物, 其包含实施方案1-17中任一项所述的化合物或盐以及药物可接受的载体。

[0170] 19. 如实施方案18所述的药物组合物, 其中所述组合物被配制用于口服施用、静脉内施用或皮下施用。

[0171] 20. 在有需要的对象中治疗肝细胞癌的方法, 其包括向所述对象施用治疗有效量的实施方案1-17中任一项所述的化合物或盐或者实施方案18或19中任一项所述的药物组合物。

[0172] 21. 如实施方案20所述的方法, 其中所述肝细胞癌具有改变的FGFR4和/或FGF19状态。

[0173] 22. 如实施方案21所述的方法, 其中所述改变的FGFR4和/或FGF19状态包括增加的

FGFR4和/或FGF19的表达。

[0174] 23. 在有需要的对象中治疗肝细胞癌的方法,其包括:

[0175] 在包含所述肝细胞癌的细胞的生物样品中测定改变的FGFR4和/或FGF19状态,并且如果所述肝细胞癌具有所述改变的FGFR4和/或FGF19状态,

[0176] 则以治疗有效量向所述对象施用实施方案1-17中任一项所述的化合物或盐或者实施方案18或19中任一项所述的药物组合物。

[0177] 24. 如实施方案23所述的方法,其中所述改变的FGFR4和/或FGF19状态包括增加的FGFR4和/或FGF19的表达。

[0178] 25. 实施方案1-17中任一项所述的化合物或盐或者实施方案18或19中任一项所述的药物组合物在治疗肝细胞癌的方法中的用途。

[0179] 26. 如实施方案25所述的用途,其中所述肝细胞癌具有改变的FGFR4和/或FGF19状态。

[0180] 27. 如实施方案26所述的用途,其中所述改变的FGFR4和/或FGF19状态包括增加的FGFR4和/或FGF19的表达。

[0181] 28. 实施方案1-17中任一项所述的化合物或盐在制备药剂中的用途。

[0182] 29. 如实施方案28所述的用途,其中所述药剂用于治疗肝细胞癌。

[0183] 30. 如实施方案29所述的用途,其中所述肝细胞癌具有改变的FGFR4和/或FGF19状态。

[0184] 31. 如实施方案30所述的用途,其中所述改变的FGFR4和/或FGF19状态包括增加的FGFR4和/或FGF19的表达。

[0185] 为了可以更加充分地理解本文描述的本发明,阐述了以下实施例。应当理解,这些实施例仅用于示例性目的,而不应被理解为是对本发明的限制。

实施例

[0186] 概述:

[0187] 使用Biotage Emrys Liberator或Initiator微波进行微波加热。使用Isco Rf200d进行柱色谱。使用Büchi旋转蒸发仪或Genevac离心蒸发仪进行溶剂去除。使用Waters自动净化器和19x 100mm XTerra 5微米MS C18柱在酸性流动相条件下进行制备型LC/MS。使用Varian 400MHz分光计记录NMR光谱。

[0188] 当术语“惰性的”用于描述反应器(例如,反应容器、烧瓶、玻璃反应器等)时,意味着反应器中的空气已经替换为基本上无水或干燥的惰性气体(例如氮气、氩气等)。

[0189] 以下阐述了制备本发明的化合物的一般方法和实验。在某些情况中,通过举例描述特定的化合物。然而,应当理解,在各个情况中,根据以下所描述的方案和实验制备本发明的一系列化合物。

[0190] 纯化目标化合物的制备型HPLC条件

[0191] 色谱条件:

[0192] 仪器:Waters 2767-SQD Mass trigger Prep System

[0193] 柱:Waters Xbridge C18 150mm*19mm*5 μ m

[0194] 检测器:VWD SQD

[0195] 流速:15mL/min

[0196] 梯度时间:

	时间(min)	B%
	0	5
[0197]	7.5	70
	8	95
	11	95

[0198] 代表性流动相:

[0199] 1)

[0200] 流动相:A:0.1%TFA水溶液

[0201] 流动相:B:ACN

[0202] 2)

[0203] 流动相:A:0.1%NH₄HCO₃水溶液

[0204] 流动相:B:ACN

[0205] 3)

[0206] 流动相:A:0.1%NH₄OAc水溶液

[0207] 流动相:B:ACN

[0208] 4)

[0209] 流动相:A:0.1%NH₄OH水溶液

[0210] 流动相:B:ACN

[0211] 定义:以下缩写具有指定的含义:

[0212] ACN:乙腈

[0213] Boc₂O:二碳酸二叔丁酯

[0214] Brettphos:2-(二环己基膦基)-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯基

[0215] tBuONa:叔丁醇钠

[0216] CH₃I:碘甲烷

[0217] Cs₂CO₃:碳酸铯

[0218] DCC:N,N'-二环己基碳二亚胺

[0219] DCM:二氯甲烷

[0220] DIEA:N,N-二异丙基乙胺

[0221] DIPEA:N,N-二异丙基乙胺

[0222] DMAP:4-(二甲基氨基)吡啶

[0223] DME:二甲醚

[0224] DMF:二甲基甲酰胺

[0225] DMSO:二甲基亚砷

[0226] EGTA:乙二醇四乙酸

[0227] ESI-MS:电喷雾电离-质谱法

[0228] EtOH:乙醇

[0229] HATU:1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐

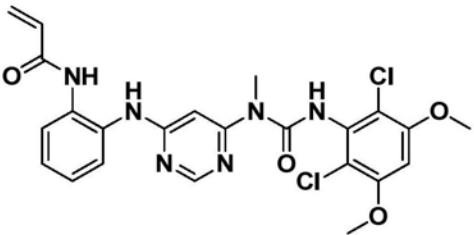
- [0230] H_2SO_4 : 硫酸
- [0231] iPrOH : 异丙醇
- [0232] K_2CO_3 : 碳酸钾
- [0233] KMDS : 双(三甲基甲硅烷基)酰胺钾
- [0234] KOH : 氢氧化钾
- [0235] LCMS : 液相色谱-质谱
- [0236] MeOH : 甲醇
- [0237] MsCl : 甲磺酰氯
- [0238] NaBH_3CN : 氰基硼氢化钠
- [0239] $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$: 三乙酰氧基硼氢化钠
- [0240] NH_4Cl : 氯化铵
- [0241] NH_4HCO_3 : 碳酸氢铵
- [0242] NaI : 碘化钠
- [0243] NaNO_3 : 硝酸钠
- [0244] NaOAc : 乙酸钠
- [0245] nBuOH : 正丁醇
- [0246] prep-HPLC : 制备型高效液相色谱
- [0247] prep-TLC : 制备型薄层色谱
- [0248] TBAF : 四丁基氟化铵
- [0249] TBDMS-Cl : 叔丁基二甲基氯硅烷
- [0250] TBSCl : 叔丁基二甲基氯硅烷
- [0251] TBSOTf : 三氟甲磺酸叔丁基二甲基甲硅烷酯
- [0252] TEA : 三乙胺
- [0253] TESCl : 三乙基氯硅烷
- [0254] TFA : 三氟乙酸
- [0255] THF : 四氢呋喃
- [0256] $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$: 异丙醇钛
- [0257] TLC : 薄层色谱
- [0258] PPTS : 对甲苯磺酸吡啶
- [0259] PE : 石油醚
- [0260] PEG : 聚(乙二醇)
- [0261] PtO_2 : 二氧化铂
- [0262] EtOAc : 乙酸乙酯
- [0263] Pd/C : 钯(0)/碳
- [0264] $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$: 三(二亚苺基丙酮)二钯(0)
- [0265] $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$: [1,1'-双(二苺基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)
- [0266] Ruphos : 2-二环己基膦基-2',6'-二异丙氧基联苺基
- [0267] Xantphos : 4,5-双(联苺基膦基)-9,9-二甲基氧杂蒽
- [0268] 材料: 以下化合物是可商购获得的和/或可以以有机合成领域的技术人员熟知的

许多方法来制备。更具体地,可以使用本文描述的反应和技术制备所公开的化合物。在以下所述的合成方法的描述中,应当理解,所有提出的反应条件(包括溶剂的选择、反应气氛、反应温度、实验持续时间以及后处理程序)可以选择为对于反应标准的条件,除非另外指明。有机合成领域的技术人员所理解的是,存在于分子的不同部分的官能度应当与所提出的试剂和反应相匹配。与反应条件不匹配的取代基对于本领域的技术人员是显而易见的,因此指明替代方法。这些实施例的原材料可商购获得或易于通过标准方法由已知材料制备。

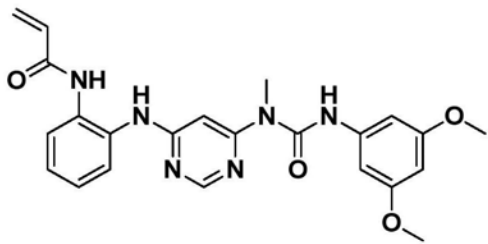
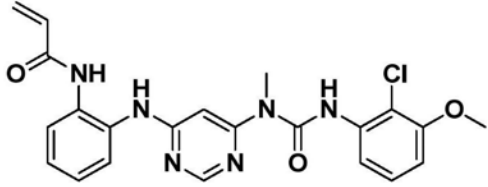
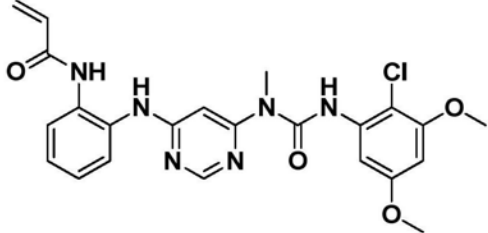
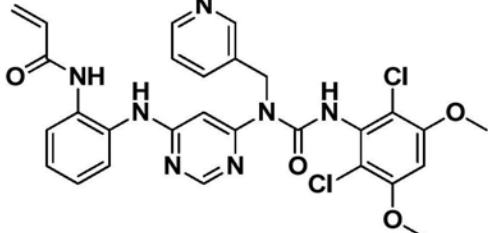
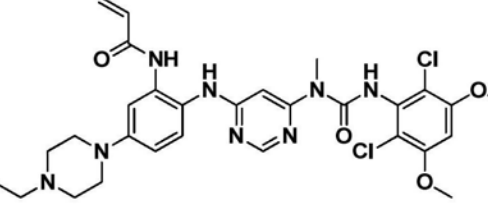
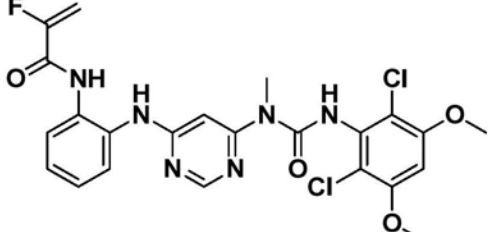
[0269] 示例性化合物的合成和测试

[0270] 通过2A-2L的程序制备表1的化合物。

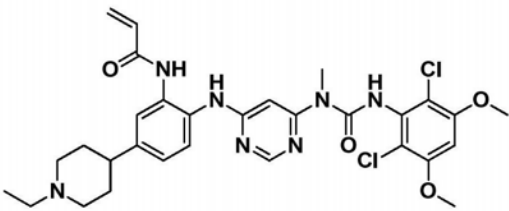
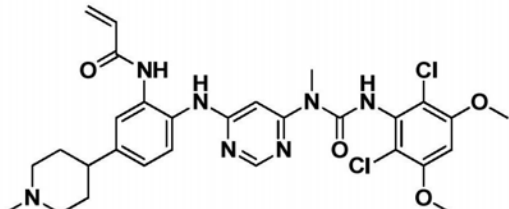
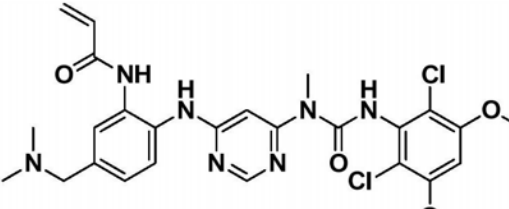
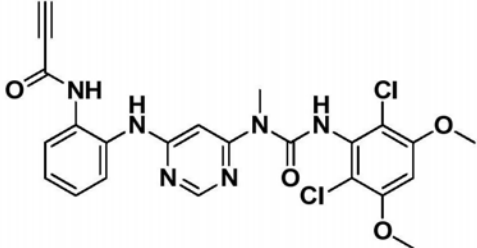
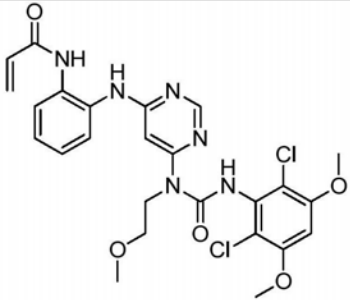
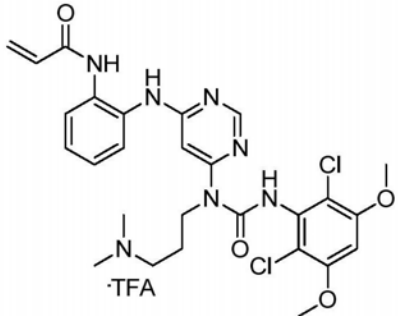
[0271] 表1

结构	化合物#	FGFR4 IC ₅₀ (μM)	FGFR1 IC ₅₀ (μM)
[0272] 	100	<0.001	>10.0

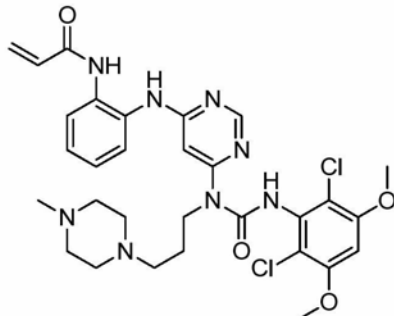
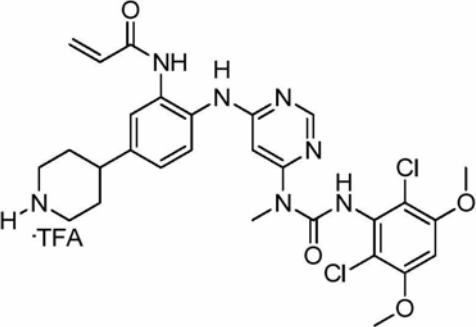
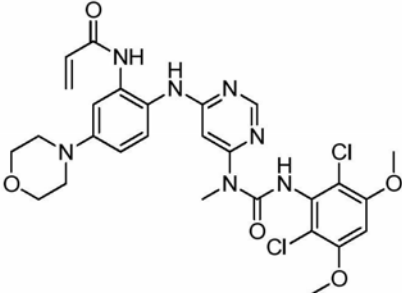
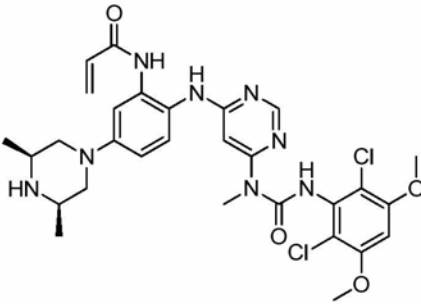
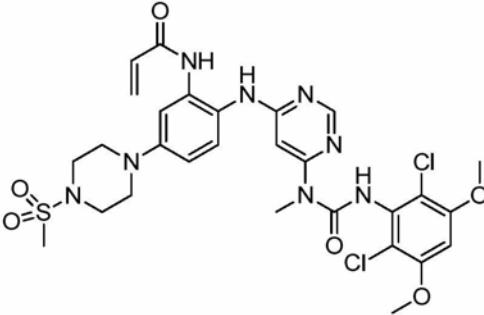
[0273]

	102	0.853	>10.0
	103	0.673	>10.0
	105	0.201	>10.0
	107	<0.001	0.720
	108	<0.001	0.173
	110	0.027	>50.0

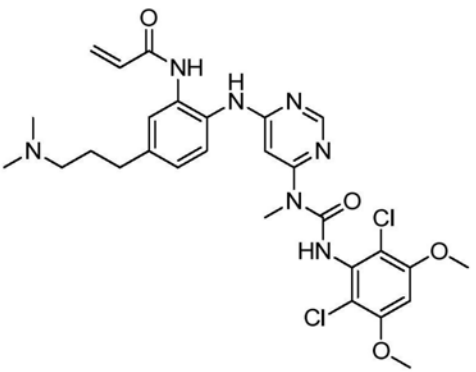
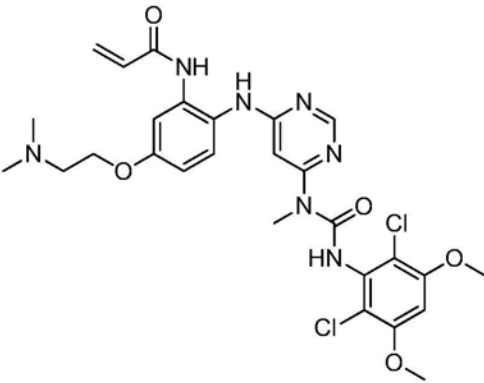
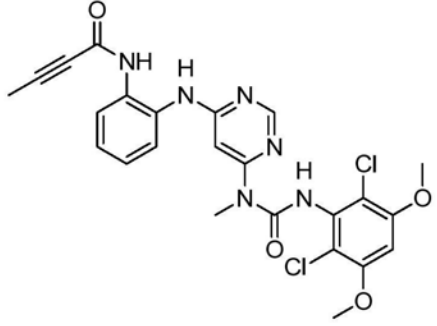
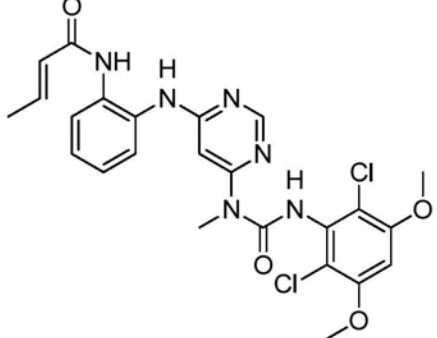
[0274]

	111	<0.001	1.280
	112	<0.001	2.600
	113	<0.001	0.621
	114	<0.001	0.042
	116	0.004	>20.0
	120	<0.001	1.190

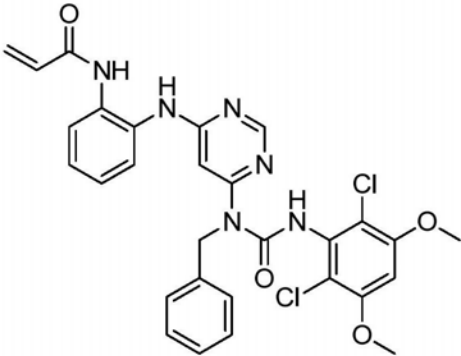
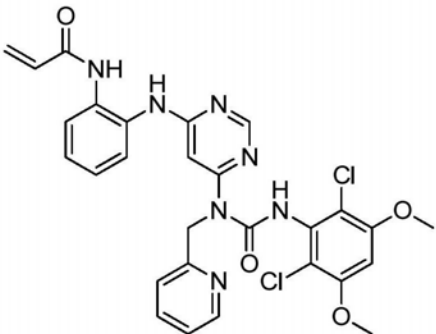
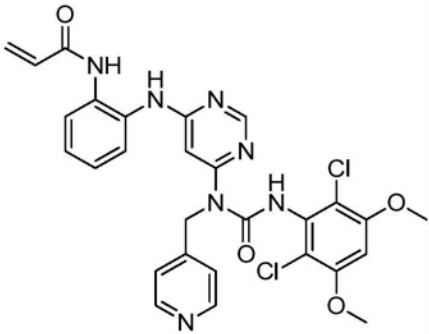
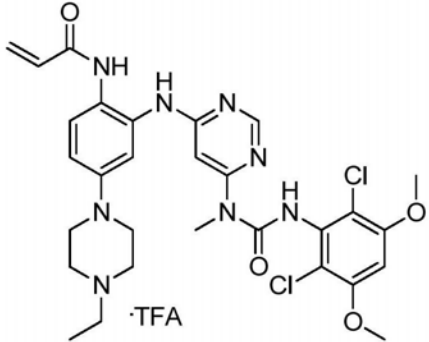
[0275]

	121	<0.001	1.020
	122	<0.001	0.324
	123	<0.001	3.890
	124	<0.001	0.164
	125	<0.001	2.860

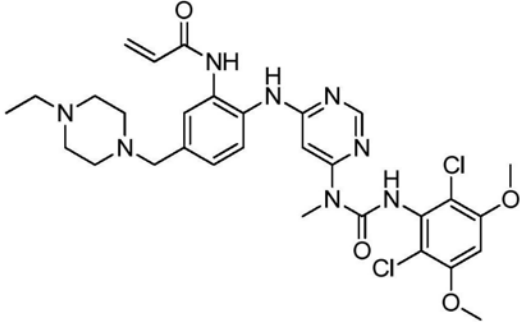
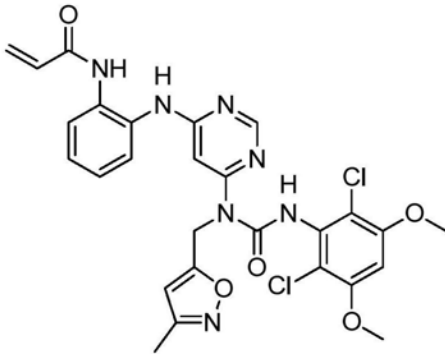
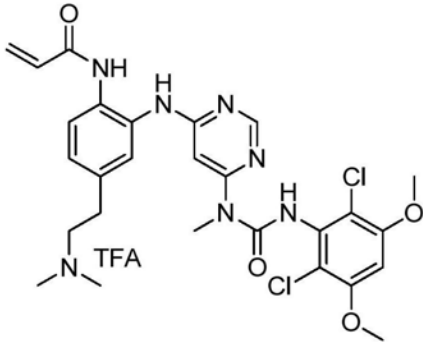
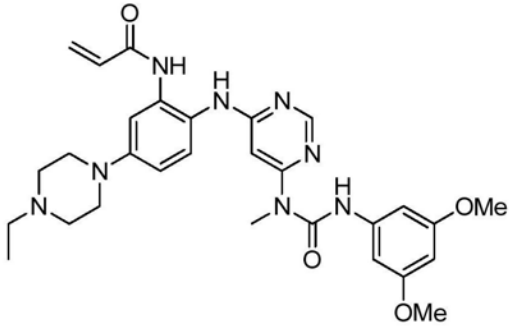
[0276]

	126	<0.001	0.601
	127	<0.001	3.200
	128	0.033	1.680
	129	0.063	>10.0

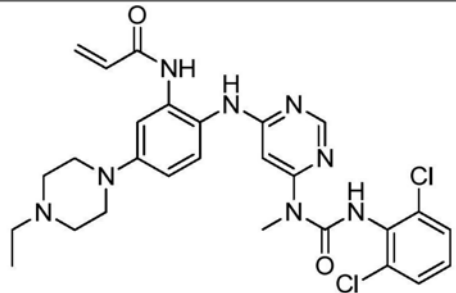
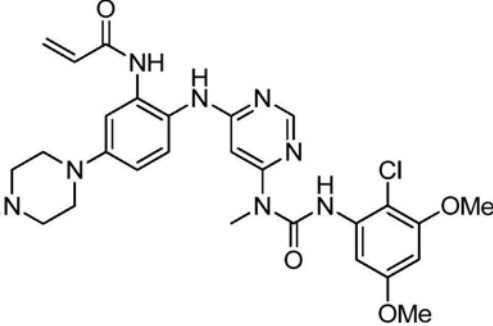
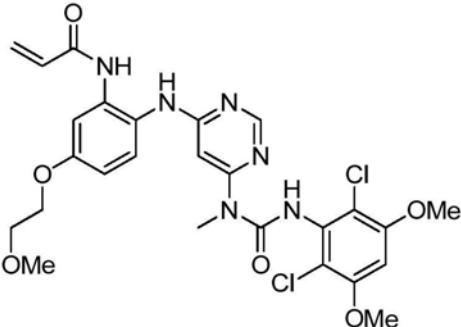
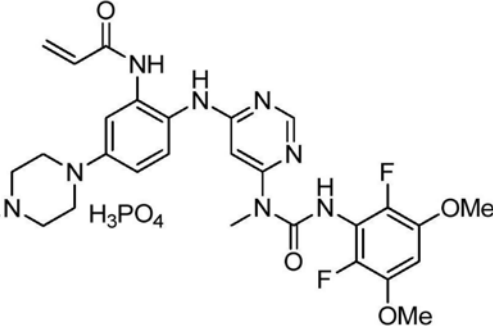
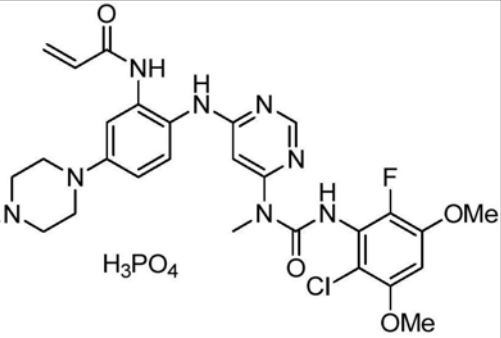
[0277]

	130	0.002	>10.0
	131	<0.001	1.170
	132	< 0.001	0.495
	133	0.004	>10.0

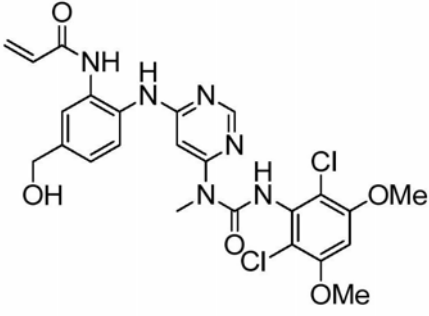
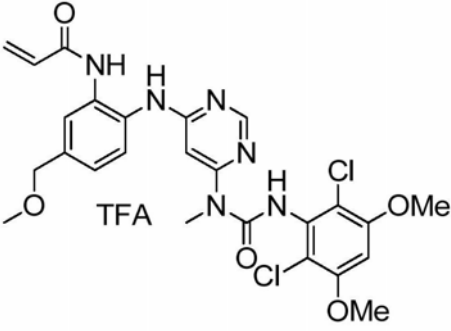
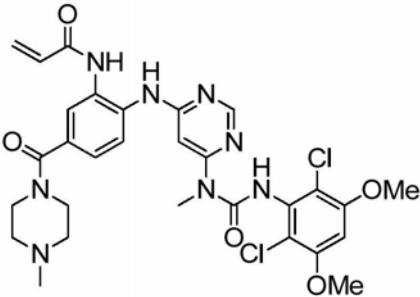
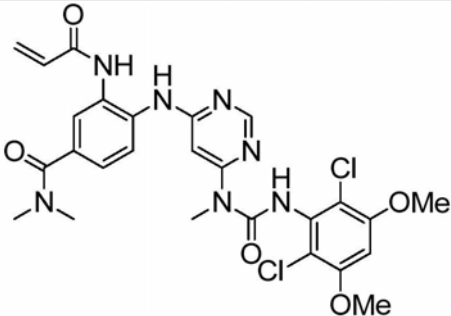
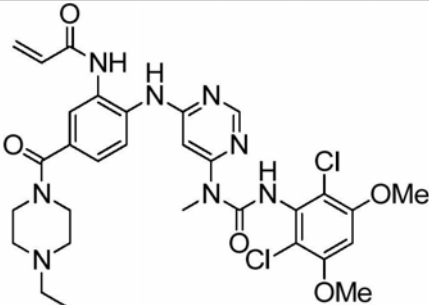
[0278]

	135	< 0.001	2.027
	136	< 0.001	0.112
	137	< 0.001	>10.0
	139	0.006	>20.0

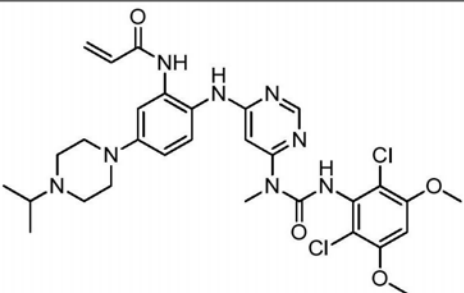
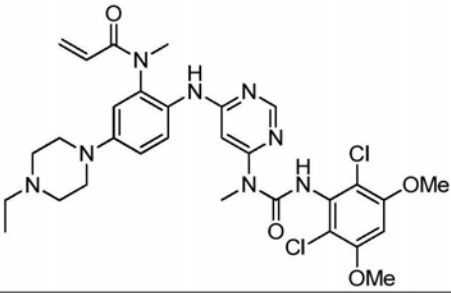
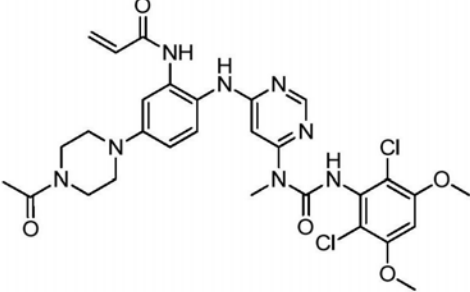
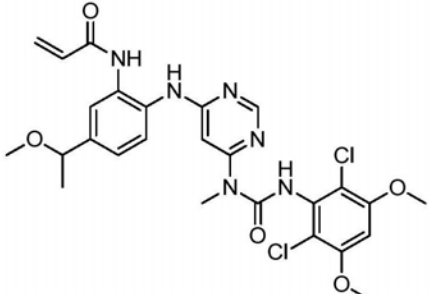
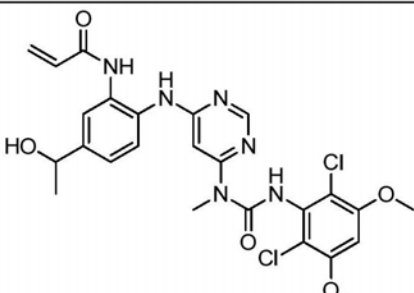
[0279]

	140	< 0.001	>20.0
	141	0.002	>20.0
	142	< 0.001	>10.0
	143	0.010	0.155
	144	< 0.001	0.105

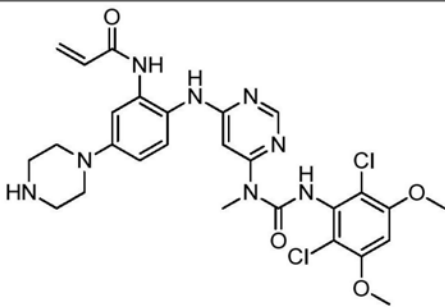
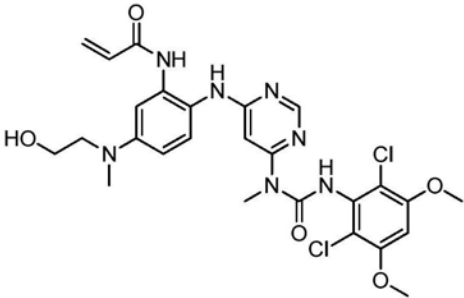
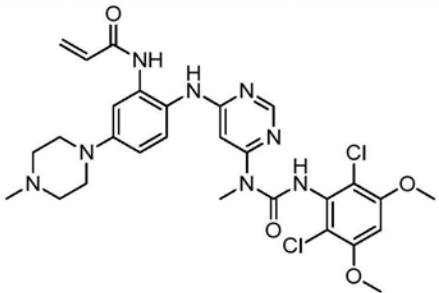
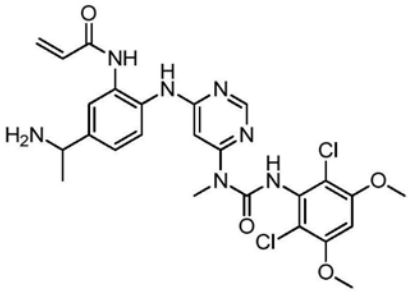
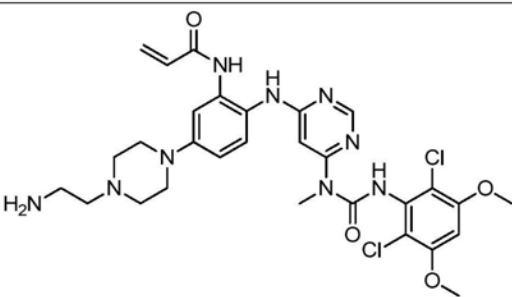
[0280]

	145	< 0.001	2.190
	147	< 0.001	5.940
	148	< 0.001	6.440
	149	< 0.001	7.700
	150	< 0.001	2.290

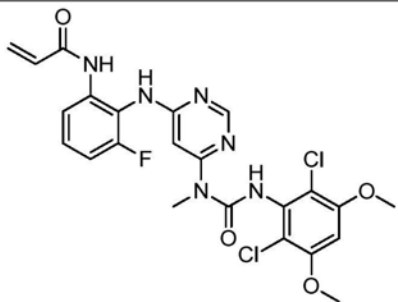
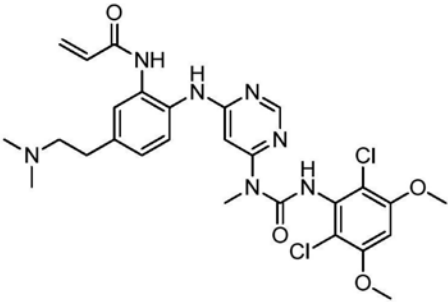
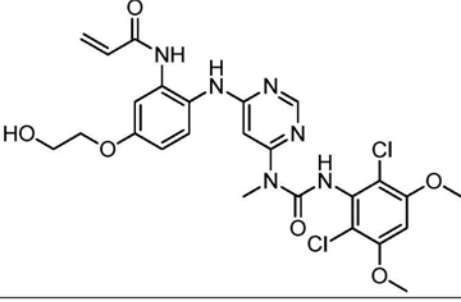
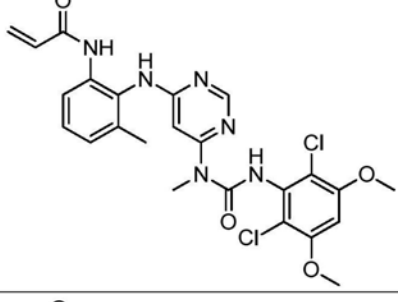
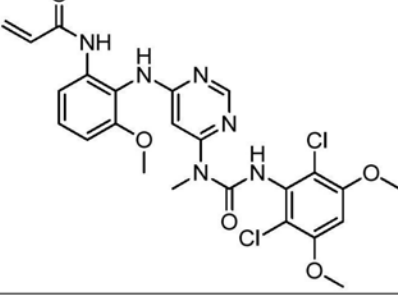
[0281]

	151	< 0.001	0.197
	152	0.014	0.297
	154	< 0.001	0.777
	155	< 0.001	8.030
	156	< 0.001	1.950

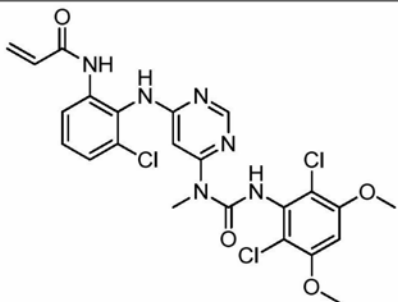
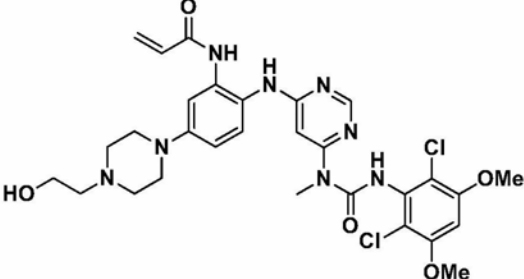
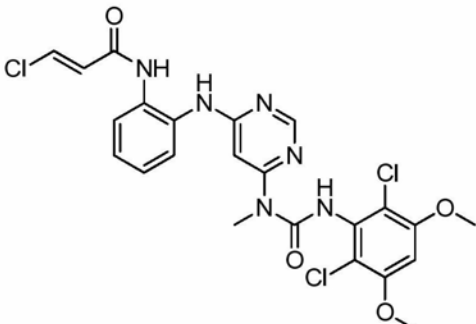
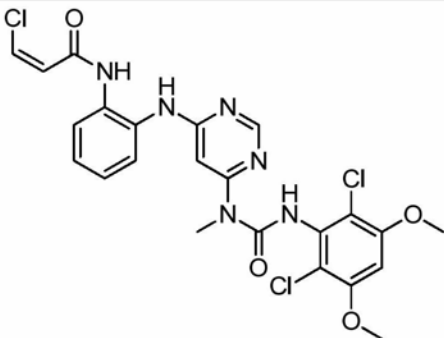
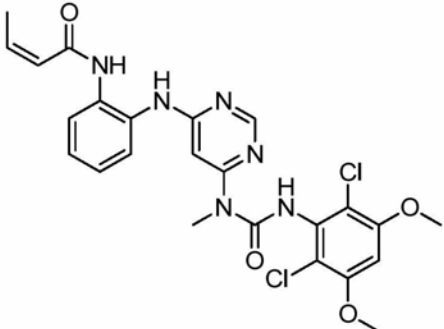
[0282]

	157	< 0.001	0.131
	158	< 0.001	2.152
	159	< 0.001	0.115
	160	< 0.001	0.660
	161	< 0.001	2.694

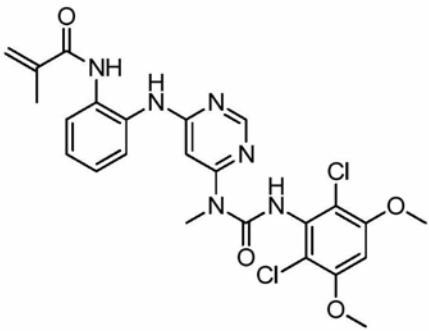
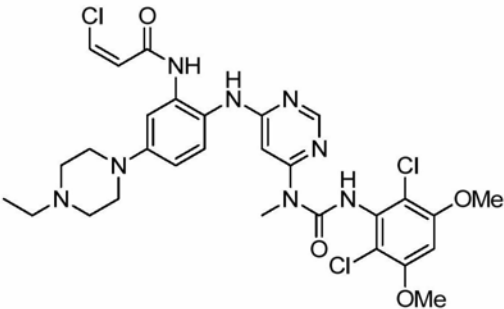
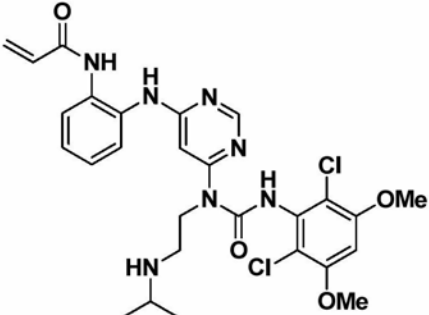
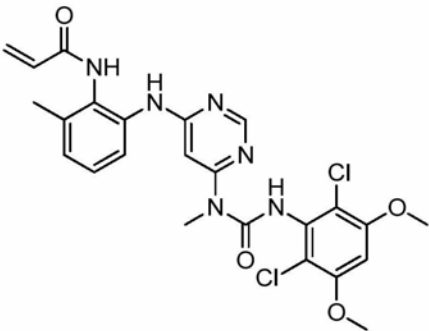
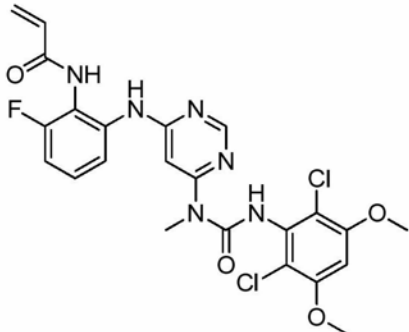
[0283]

	162	< 0.001	>10.0
	163	< 0.001	0.519
	164	< 0.001	3.510
	165	< 0.001	7.370
	166	< 0.001	4.920

[0284]

	167	< 0.001	> 10.0
	168	< 0.001	1.030
	170	0.008	> 10.0
	171	0.003	3.920
	172	0.011	7.370

[0285]

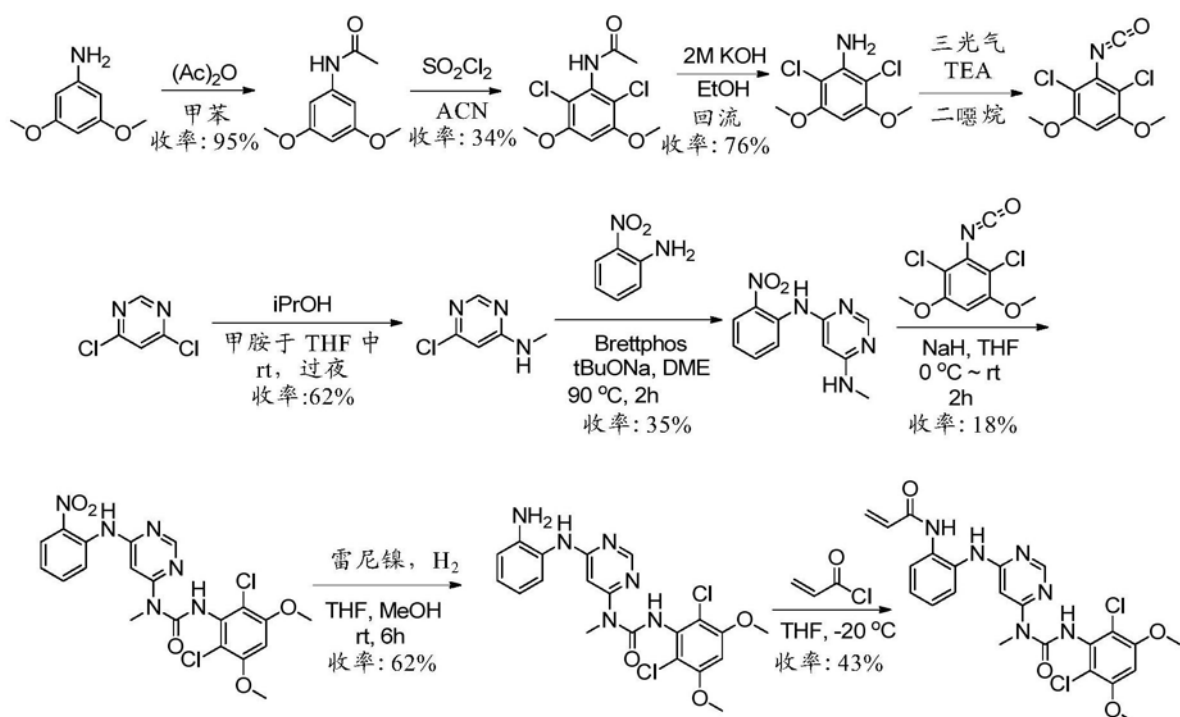
	175	0.015	> 10.0
	181	< 0.001	0.224
	183	0.180	6.210
	184	0.089	6.475
	185	0.013	>10.0

[0286]

	186	0.345	>10.0
--	-----	-------	-------

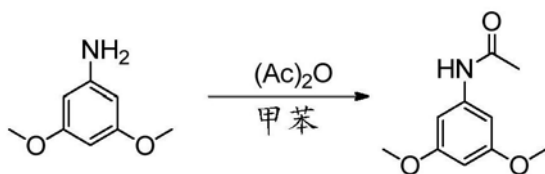
[0287] 程序2A:实施例-100

[0288]



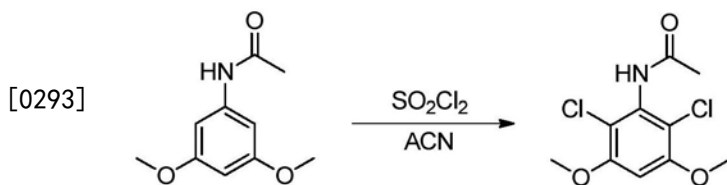
[0289] N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-苯基)-丙烯酰胺

[0290]



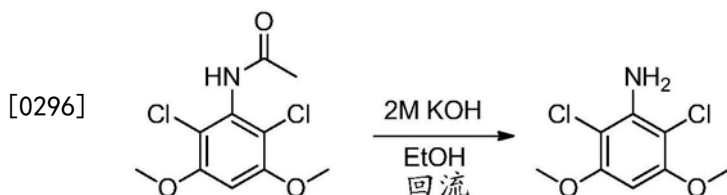
[0291] a. N-(3,5-二甲氧基-苯基)-乙酰胺

[0292] 在室温下,向3,5-二甲氧基-苯胺 (20g, 0.131mol) 在甲苯 (110mL) 中的溶液添加乙酸酐 (14g, 0.137mmol)。将所得的混合物在室温下搅拌18小时。添加PE (55mL), 将沉淀物过滤并且用PE (100mL) 洗涤, 以获得标题化合物 (24.2g, 收率: 95%)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.16 (s, 3H), 3.77 (s, 6H), 6.23 (s, 1H), 6.75 (s, 2H), 7.20 (s, 1H)。



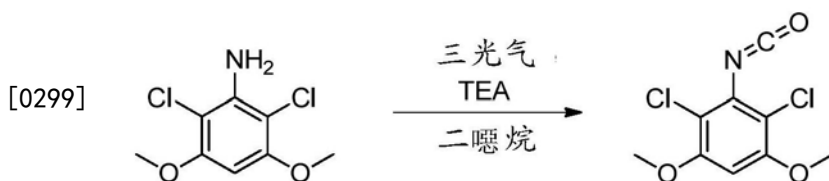
[0294] b. N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-乙酰胺

[0295] 在0℃下于氮气气氛中,向N-(3,5-二甲氧基-苯基)-乙酰胺(5g,25.6mmol)在ACN(75mL)中的溶液添加磺酰氯(6.9g,51.2mmol)。将所得的混合物在该温度下搅拌30分钟,并且用饱和NaHCO₃水溶液(40mL)淬灭。将沉淀物过滤,用水洗涤并且干燥以获得标题化合物(2.3g,收率:34%)。¹H-NMR(400 MHz,CDCl₃) δ2.25(s,3H),3.86(s,6H),6.54(s,1H),6.90(s,1H)。



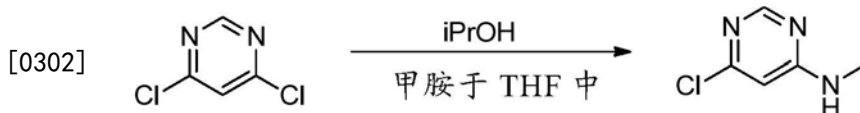
[0297] c. 2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯胺

[0298] 将N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-乙酰胺(3.6g,13.7mmol)在EtOH(130mL)和KOH(2 M,75mL)中的溶液加热回流24小时。将反应冷却至0℃并且在该温度下搅拌1小时。将沉淀物过滤并且干燥以获得标题化合物(2.3g,收率:76%)。¹H-NMR(400 MHz,CDCl₃) δ3.90(s,6H),4.57(bs,2H),6.05(s,1H)。



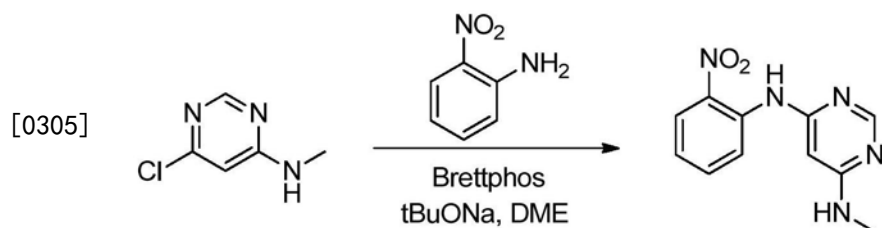
[0300] d. 2,4-二氯-3-异氰酸根合-1,5-二甲氧基-苯

[0301] 将2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯胺(500mg,2.25mmol)、三光气(335mg,1.12mmol)和TEA(342mg,3.38mmol)在二噁烷(15mL)中的混合物在微波下加热至130℃达2小时。浓缩反应物,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上用DCM洗脱进行纯化,以获得标题化合物(450mg,收率:80%)。¹H-NMR(400 MHz,CDCl₃) δ3.92(s,6H),6.42(s,1H)。



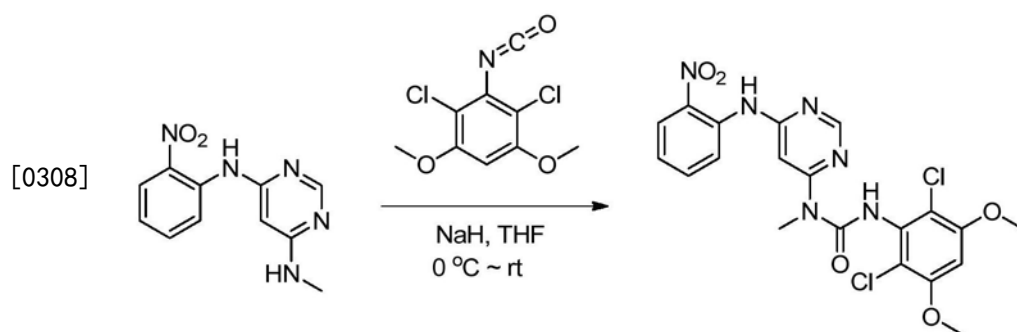
[0303] e. (6-氯-嘧啶-4-基)-甲基-胺

[0304] 在室温下,向4,6-二氯-嘧啶(7.45g,50mmol)在iPrOH(50mL)中的溶液添加甲胺在THF中的溶液(2M,30mL,60mmol)。将所得的混合物搅拌18小时。浓缩混合物,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上用DCM:EtOAc=6:1~1:1洗脱进行纯化,以获得呈白色固体状的标题化合物(4.4g,收率:62%)。¹H-NMR(400 MHz,CDCl₃) δ2.96(d,3H),5.22-5.36(bs,1H),6.35(s,1H),8.35(s,1H);MS(ESI):144[M+H]⁺。



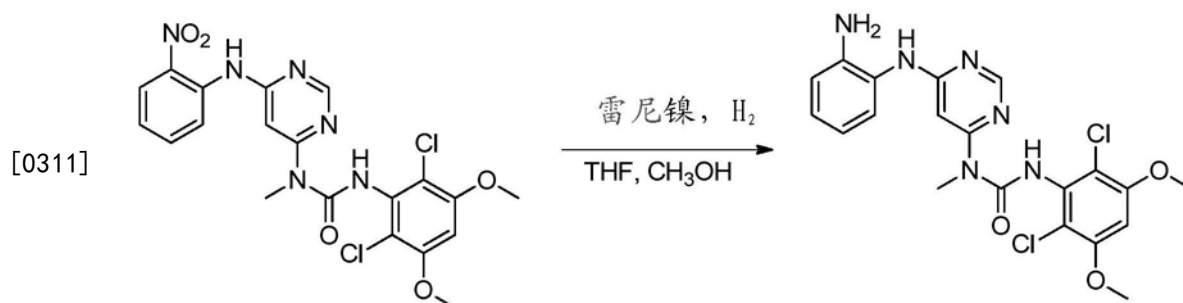
[0306] f. N-甲基-N'-(2-硝基-苯基)-嘧啶-4,6-二胺

[0307] 将(6-氯-嘧啶-4-基)-甲基-胺(1g, 7mmol)、2-硝基-苯胺(965mg, 7mmol)、Brettphos(279mg, 0.35mmol)和tBuONa(2g, 21mmol)在DME(50mL)中的混合物在氮气气氛下加热至90℃达1小时。浓缩反应物,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上用DCM:EtOAc=10:1~1:1洗脱进行纯化,以获得呈黄色固体状的标题化合物(600mg, 收率:35%)。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ2.94(d, 3H), 4.99(bs, 1H), 5.82(s, 1H), 7.04(t, 1H), 7.60(t, 1H), 8.21(d, 1H), 8.33(s, 1H), 8.75(d, 1H), 9.91(s, 1H); MS(ESI): 246[M+H]⁺。



[0309] g. 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-1-[6-(2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-脲

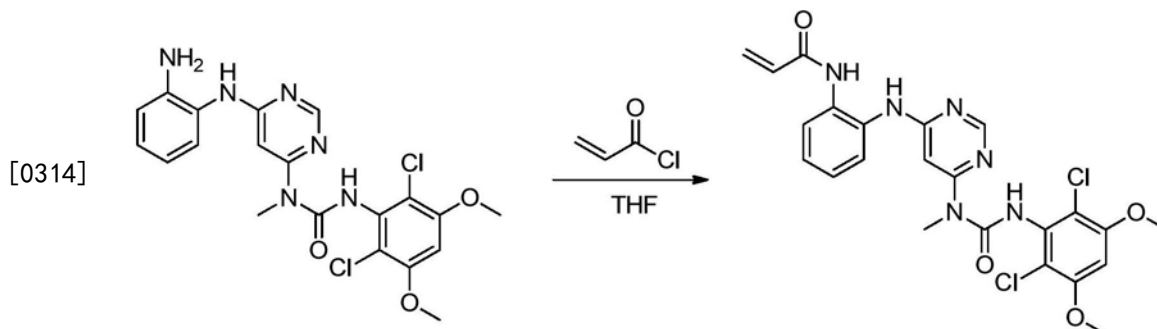
[0310] 在0℃下,向N-甲基-N'-(2-硝基-苯基)-嘧啶-4,6-二胺(150mg, 0.61mmol)在THF(15mL)中的溶液添加NaH(60%, 60mg, 1.5mmol),并且将混合物在室温下搅拌30分钟。在室温下,逐滴添加2,4-二氯-3-异氰酸根合-1,5-二甲氧基-苯(180mg, 0.73mmol)的溶液。将所得的混合物搅拌2小时。添加水(2mL)以淬灭反应。浓缩混合物,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上用DCM:EtOAc=6:1~1:1洗脱进行纯化,以获得呈黄色固体状的标题化合物(54mg, 收率:18%)。¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ3.38(s, 3H), 3.93(s, 6H), 6.75(s, 1H), 6.91(s, 1H), 7.34(t, 1H), 7.72(t, 1H), 7.79(d, 1H), 8.01(d, 1H), 8.38(s, 1H), 9.99(s, 1H), 11.78(s, 1H); MS(ESI): 493[M+H]⁺。



[0312] h. 1-[6-(2-氨基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲

[0313] 在室温下,向3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-1-[6-(2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-脲

基)-嘧啶-4-基]-脲 (50mg, 0.1mmol) 在 THF (10mL) 和 MeOH (10mL) 中的溶液添加雷尼镍 (Raney-Ni) (水中的悬浮液), 将所得的混合物在氢气气氛下搅拌 2 小时。将反应物过滤并且浓缩以获得标题化合物 (38mg, 收率: 82%), 所述化合物直接用于下一步骤。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 3.28 (s, 3H), 3.85 (s, 2H), 3.94 (s, 6H), 5.86 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.78-6.87 (m, 3H), 7.16-7.20 (m, 2H), 8.39 (s, 1H), 12.62 (s, 1H); MS (ESI): 463 [M+H]⁺。

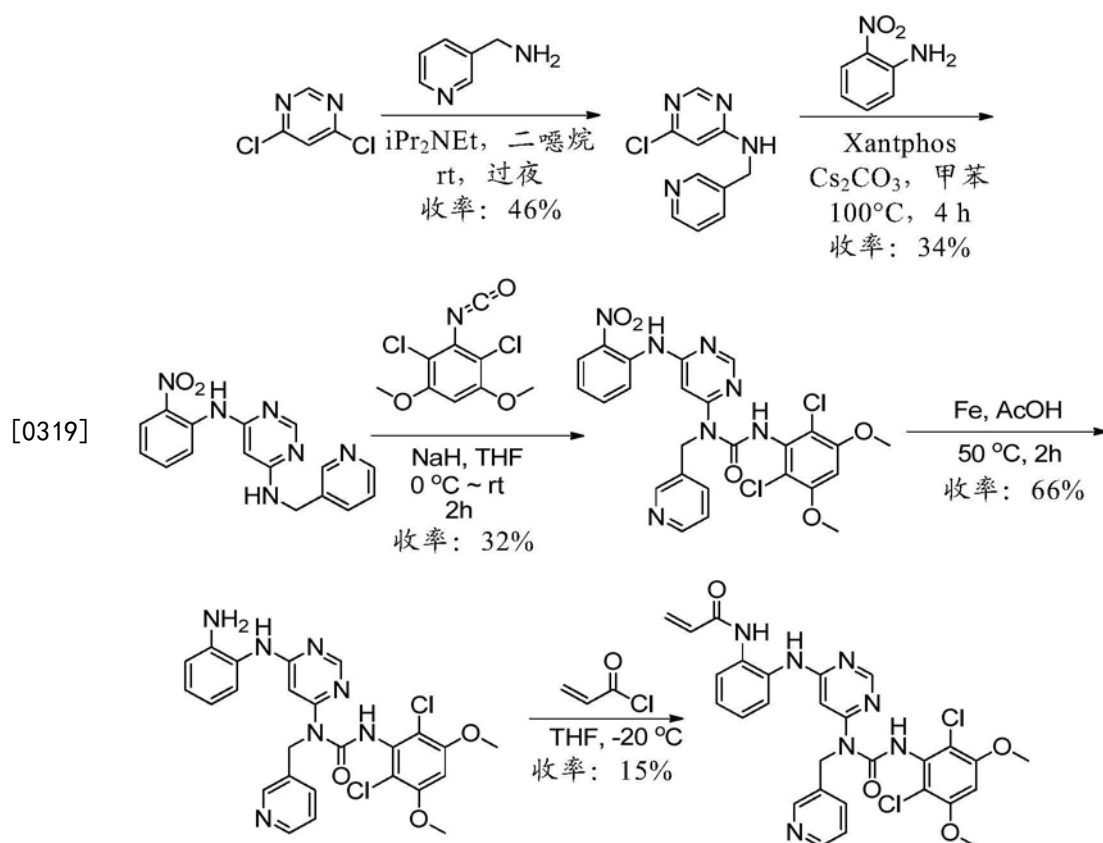


[0315] i. N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基)-苯基)-丙烯酰胺

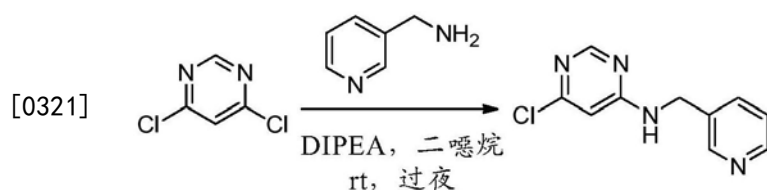
[0316] 在-10℃下,向1-[6-(2-氨基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲(25mg,0.05mmol)在THF(10mL)中的溶液添加丙烯酰氯在THF中的溶液(20mg/mL,0.5mL,0.1mmol),并且将所得的混合物在该温度下搅拌1小时。添加MeOH(1mL)以淬灭反应。浓缩混合物并且将残余物通过prep-TLC纯化以获得标题化合物(12mg,收率:43%)。¹H NMR(400 MHz,DMSO-d₆) δ3.26(s,3H),3.94(s,6H),5.74(d,1H),6.24(d,1H),6.37(s,1H),6.47-6.54(m,1H),6.90(s,2H),7.20(d,2H),7.56-7.58(m,1H),7.66-7.68(m,1H),8.38(s,1H),9.99(s,1H),9.70(s,1H),11.99(s,1H);MS(ESI):517[M+H]⁺。

[0317] 以与化合物100类似的方式合成化合物102、103和105。

[0318] 程序2B: 实施例-107

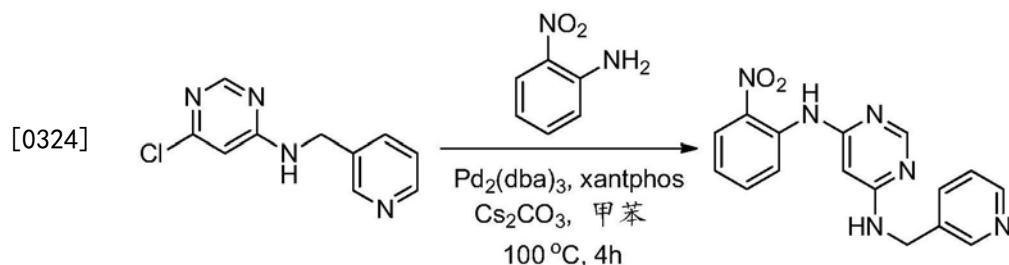


[0320] N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-吡啶-3-基甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-苯基)-丙烯酸酰胺



[0322] a. (6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-3-基甲基-胺

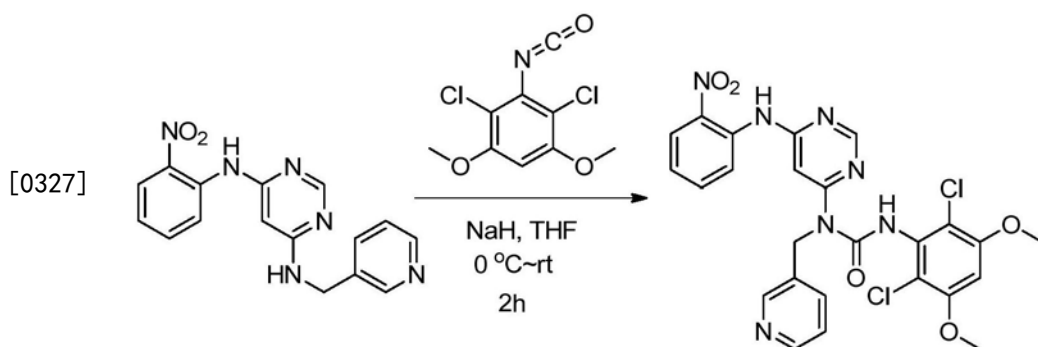
[0323] 在室温下,向4,6-二氯-嘧啶(1g, 6.71mmol)在二噁烷(20mL)中的溶液添加吡啶-3-基-甲胺(745mg, 6.9mmol)的溶液。将所得的混合物在室温下搅拌过夜。浓缩混合物并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(680mg, 收率: 46%)。MS (ESI): 221 [M+H]⁺。



[0325] b. N-(2-硝基-苯基)-N'-吡啶-3-基甲基-嘧啶-4,6-二胺

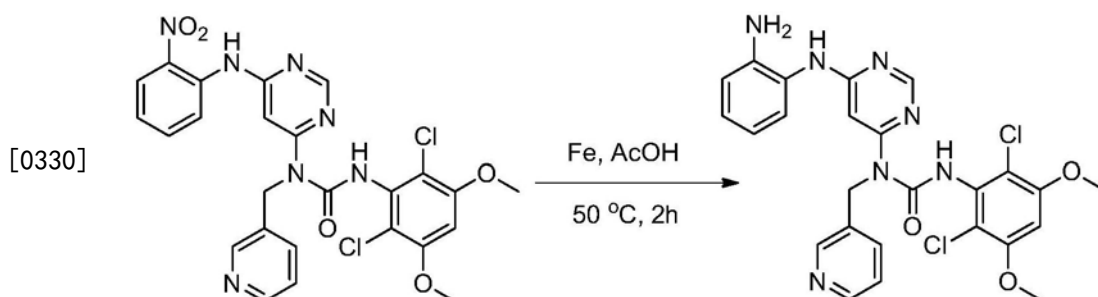
[0326] 将(6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-3-基甲基-胺(300mg, 1.36mmol)、2-硝基-苯胺(188mg, 1.36mmol)、Pd₂(dba)₃(128mg, 0.14mmol)、Xantphos(161mg, 0.28mmol)和Cs₂CO₃(913mg, 2.8mmol)在甲苯(10mL)中的脱气混合物在100°C下加热4小时。浓缩反应物,并且将

残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物 (150mg, 收率: 34%)。MS (ESI): 323 [M+H]⁺。



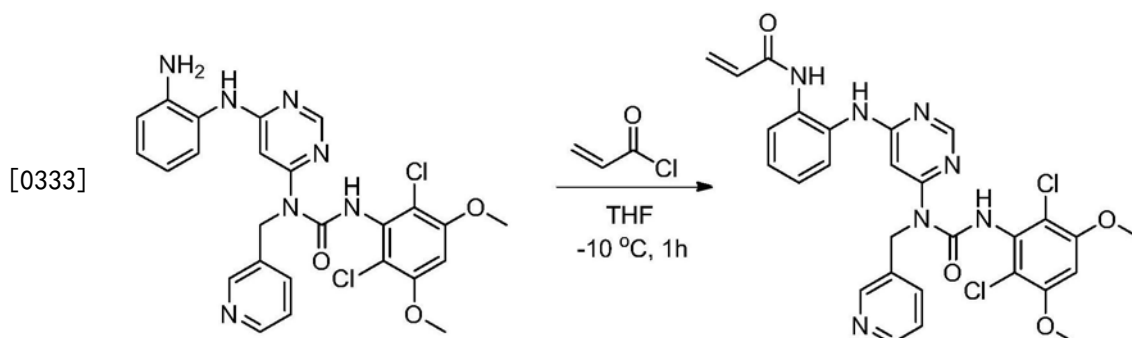
[0328] c. 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-(2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-1-吡啶-3-基甲基-脲

[0329] 在0 °C下, 向N-(2-硝基-苯基)-N'-吡啶-3-基甲基-嘧啶-4,6-二胺 (150mg, 0.467mmol) 在THF (15mL) 中的溶液添加NaH (60%, 48mg, 1.2mmol), 并且将混合物在室温下搅拌30分钟。在室温下逐滴添加2,4-二氯-3-异氰酸根合-1,5-二甲氧基-苯 (程序2A, 步骤a-d; 180mg, 0.73mmol) 的溶液。将所得的混合物搅拌2小时。添加水 (2mL) 以淬灭反应。浓缩混合物, 并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物 (85mg, 收率: 32%)。MS (ESI): 570 [M+H]⁺。



[0331] d. 1-[6-(2-氨基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-吡啶-3-基甲基-脲

[0332] 将3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-(2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-1-吡啶-3-基甲基-脲 (85mg, 0.149mmol) 和Fe (84mg, 1.5mmol) 在AcOH (5mL) 中的混合物在50 °C加热2小时。过滤反应混合物, 并且将滤液在真空中浓缩以得到粗产物, 将所述粗产物通过硅胶柱色谱纯化以得到标题化合物 (53mg, 收率: 66%)。MS (ESI): 540 [M+H]⁺。



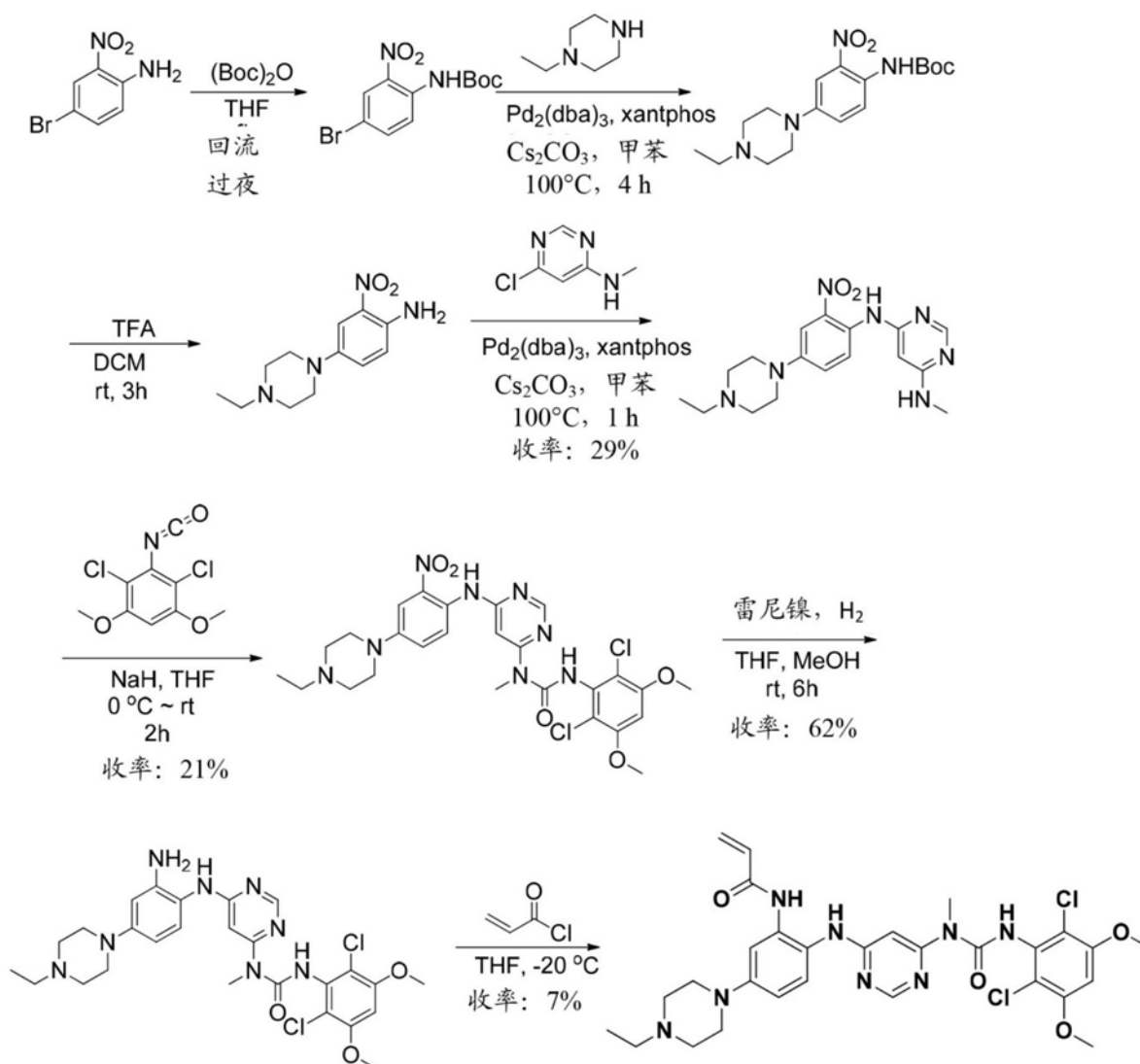
[0334] e. N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-吡啶-3-基甲基-脲基]-嘧啶-4-基}-2-氨基-苯基)-N'-吡啶-3-基甲基-脲

4-基氨基}-苯基)-丙烯酸胺

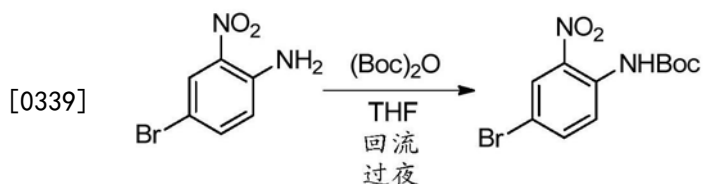
[0335] 在-10℃下,向1-[6-(2-氨基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-吡啶-3-基甲基-脲(53mg,0.1mmol)在THF(10mL)中的溶液添加丙烯酰氯在THF中的溶液(20mg/mL,0.5mL,0.1mmol),并且将混合物在该温度下搅拌1小时。添加MeOH(1mL)以淬灭反应。浓缩混合物并且将残余物通过prep-TLC纯化以获得标题化合物(9mg,收率:15%)。¹H NMR(400 MHz,CDCl₃) δ3.84(s,6H),5.01(s,2H),5.69(d,1H),5.75(s,1H),6.10(dd,1H),6.34(d,1H),6.47(s,1H),7.00(d,1H),7.09-7.24(m,2H),7.28(t,1H),7.32(s,1H),7.47(d,1H),7.69-7.71(m,2H),8.31-8.34(m,2H),8.40-8.42(m,1H),12.60(s,1H);MS(ESI):594[M+H]⁺。

[0336] 程序2C:实施例-108

[0337]

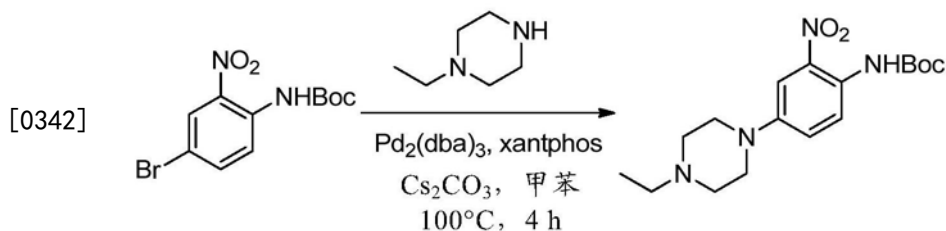


[0338] N-[2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙烯酸胺



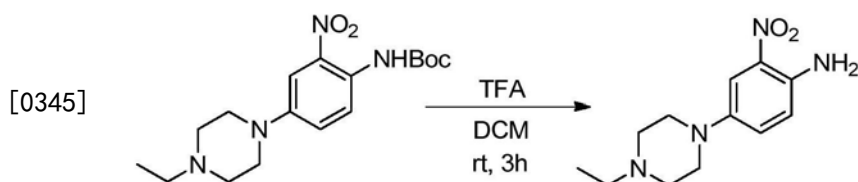
[0340] a. 4-溴-2-硝基苯基氨基甲酸叔丁酯

[0341] 将4-溴-2-硝基苯胺(4g, 18.4mmol)、(Boc)₂O(4.4g, 20.24mmol)在THF(50mL)中的混合物加热回流过夜。浓缩混合物, 并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上用PE:EtOAc=20:1洗脱进行纯化, 以获得标题化合物(5.4g, 收率:93%)。MS (ESI): 317, 319[M+H]⁺。



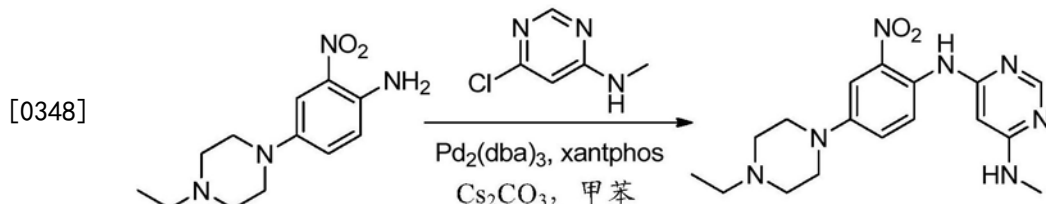
[0343] b. 4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基氨基甲酸叔丁酯

[0344] 将4-溴-2-硝基苯基氨基甲酸叔丁酯(5.4g, 17mmol)、1-乙基哌嗪(2.91g, 25.5mmol)、Pd₂(dba)₃(2.1g, 3.4mmol)、xantphos(3.92g, 6.8mmol)和Cs₂CO₃(11.1g, 34mmol)在甲苯(85mL)中的脱气混合物在100°C下加热4小时。浓缩反应物, 并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上用MeOH:DCM=1:50~1:20洗脱进行纯化, 以获得标题化合物(3.3g, 收率:55%)。MS (ESI): 351[M+H]⁺。



[0346] c. 4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺

[0347] 在0°C下, 向4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基氨基甲酸叔丁酯(3.3g, 9.43mmol)在DCM(50mL)中的溶液添加TFA(20mL), 将所得的混合物在室温下搅拌3小时。在真空中去除所有挥发物之后, 将残余物再溶于DCM中, 用饱和K₂CO₃水溶液中和并且用DCM萃取。将合并的萃取液浓缩以获得标题化合物(2.1g, 收率:90%), 将其直接用于下一步骤。¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ1.02(t, 3H), 2.36(q, 2H), 2.47-2.49(m, 4H), 2.97-3.00(m, 4H), 6.97(d, 1H), 7.20(s, 2H), 7.25(s, 1H), 7.34(dd, 1H); MS (ESI): 251[M+H]⁺。

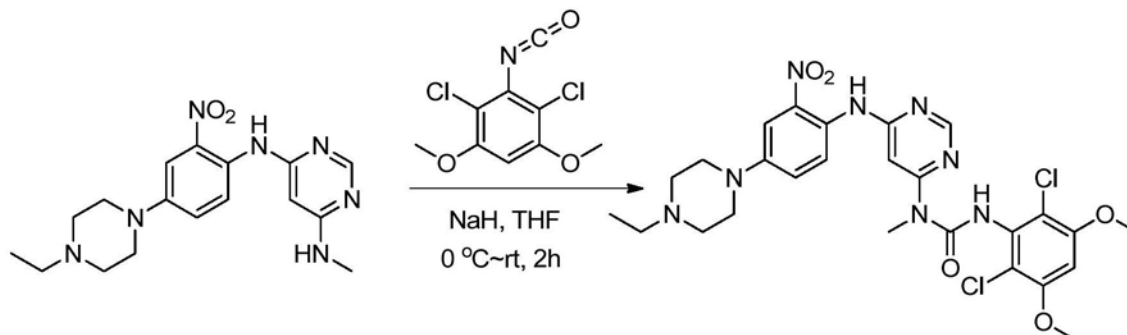


[0349] d. N⁴-(4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)-N⁶-甲基嘧啶-4,6-二胺

[0350] 将4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺(2.1g, 8.4mmol)、6-氯-N-甲基嘧啶-4-胺(程序2A, 步骤e; 1.2g, 8.4mmol)、Pd₂(dba)₃(1.54g, 1.68mmol)、xantphos(1.94g, 3.36mmol)和Cs₂CO₃(5.48g, 16.8mmol)在甲苯(45mL)中的脱气混合物在100°C下加热1小时。浓缩反应

物,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上用MeOH:DCM=1:40~1:20洗脱进行纯化,以获得标题化合物(870mg,收率:29%)。MS (ESI): 358 [M+H]⁺。

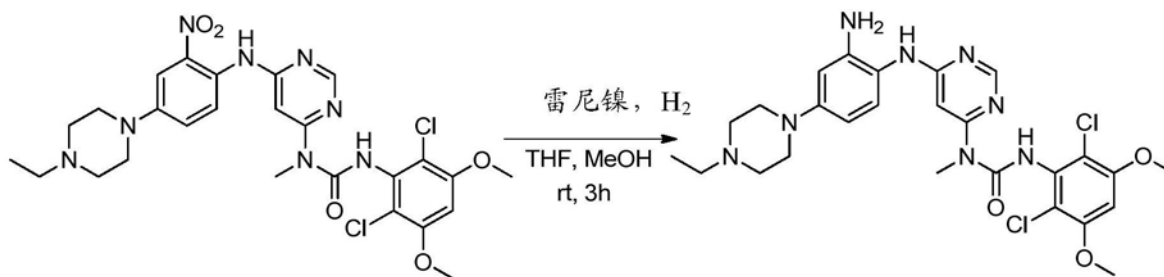
[0351]



[0352] e. 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-(6-(4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基氨基)嘧啶-4-基)-1-甲基脒

[0353] 在0℃下,向N4-(4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)-N6-甲基嘧啶-4,6-二胺(870mg,2.44mmol)在THF(15mL)中的溶液添加NaH(60%,200mg,5mmol),并且将混合物在室温下搅拌30分钟。在0℃下,逐滴添加2,4-二氯-3-异氰酸根合-1,5-二甲氧基-苯(程序2A,步骤a-d;908mg,3.66mmol)在THF中的溶液。将所得的混合物在室温下搅拌2小时。添加饱和NH₄Cl水溶液(2mL)以淬灭反应。浓缩混合物并且用DCM萃取。将合并的萃取液用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且浓缩以得到粗产物,将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得呈红色油状的标题化合物(330mg,收率:21%)。¹H NMR(400 MHz,CDCl₃) δ1.44(t,3H),3.01(t,2H),3.21(q,2H),3.41-3.49(m,5H),3.73-3.80(m,4H),3.92(s,6H),6.27(s,1H),6.55(s,1H),7.25(d,1H),7.69(s,1H),8.32(d,1H),8.52(s,1H),10.28(br s,1H),12.05(br s,1H);MS(ESI):605[M+H]⁺。

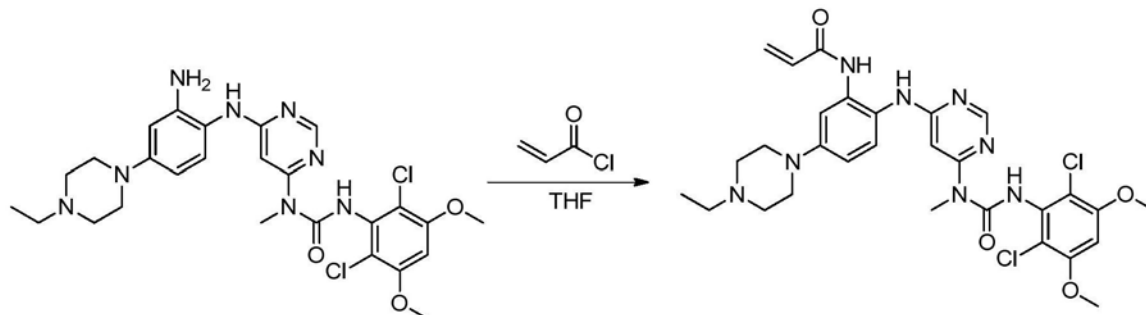
[0354]



[0355] f. 1-(6-(2-氨基-4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒

[0356] 在室温下,向3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-(6-(4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基氨基)嘧啶-4-基)-1-甲基脒(330mg,0.546mmol)在THF(20mL)和MeOH(20mL)中的溶液添加雷尼镍(水中的悬浮液),将所得的混合物在氢气气氛(1atm)下搅拌3小时。将反应物过滤并且浓缩。用MeOH对残余物洗涤两次以获得标题化合物(280mg,纯度:90%),将其直接用于下一步。MS(ESI):575[M+H]⁺。

[0357]

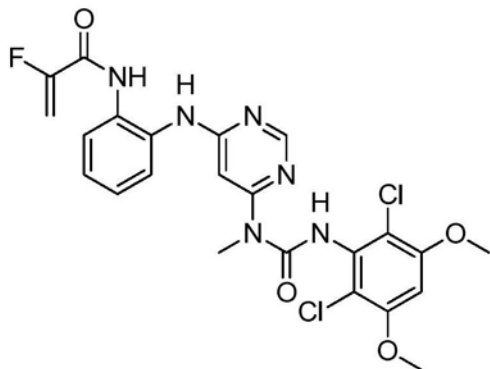


[0358] g. N-(2-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基氨基)-5-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺

[0359] 在-10℃下,向1-[6-(2-氨基-4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲(280mg,纯度:90%,0.44mmol)在THF(30mL)中的溶液添加丙烯酰氯在THF中的溶液(20mg/mL,2mL,0.44mmol),并且将所得的混合物在该温度下搅拌1小时。添加MeOH(1mL)以淬灭反应。浓缩混合物并且将残余物通过prep-HPLC和prep-TLC纯化以获得标题化合物(20mg,收率:7%)。¹H NMR(400 MHz,CDCl₃) δ1.31(t,3H), 2.65(q,2H), 2.62-2.68(m,4H), 3.27(s,3H), 3.36-3.38(m,4H), 3.91(s,6H), 5.76(d,1H), 5.90(s,1H), 6.24(dd,1H), 6.41(d,1H), 6.52(s,1H), 6.74(dd,1H), 7.07(br s,1H), 7.23(d,1H), 7.72(br s,1H), 7.98(br s,1H), 8.37(s,1H), 12.52(s,1H); MS(ESI): 629[M+H]⁺。

[0360] 实施例-110

[0361]

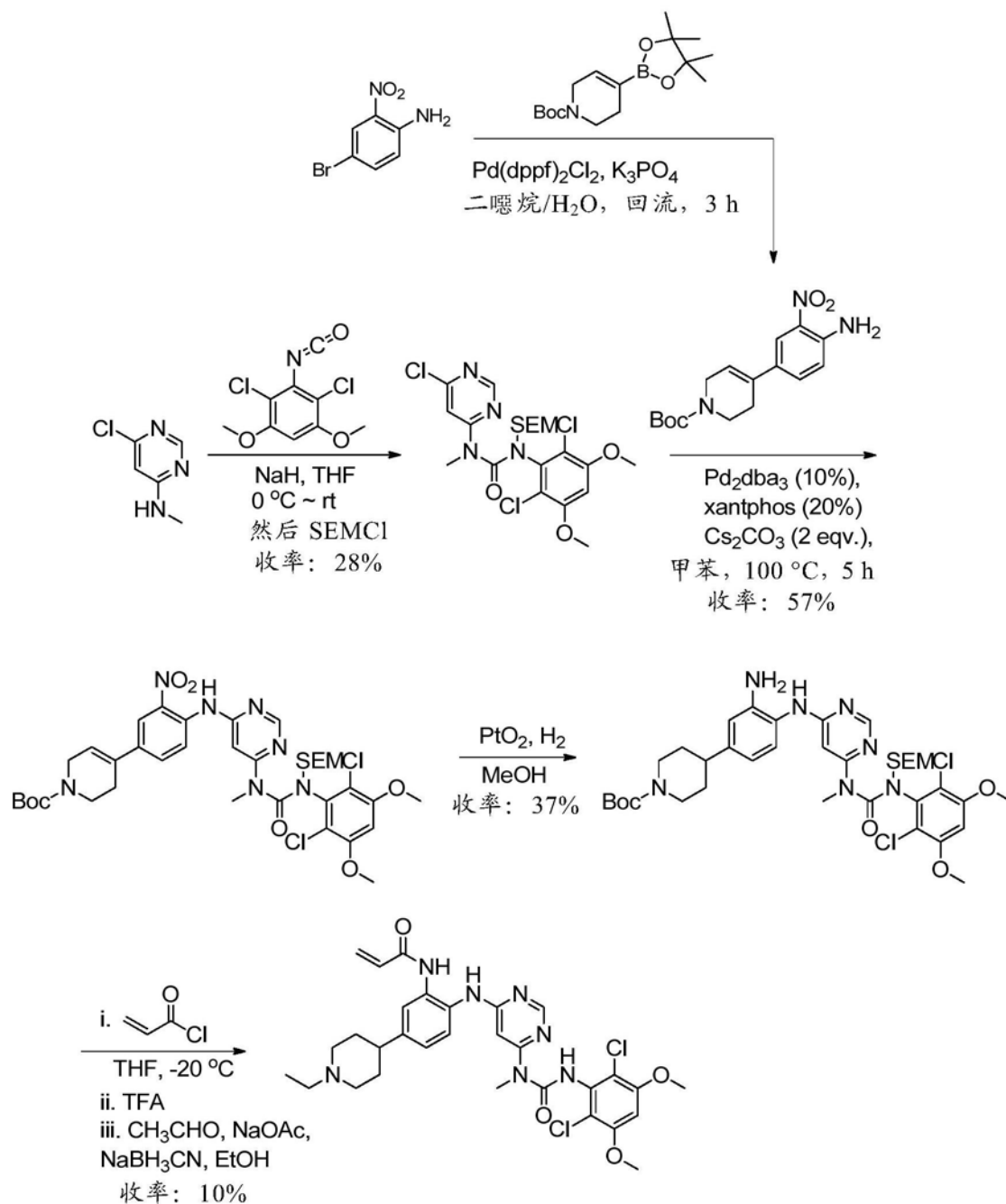


[0362] N-(2-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基氨基)-苯基)-2-氟丙烯酰胺

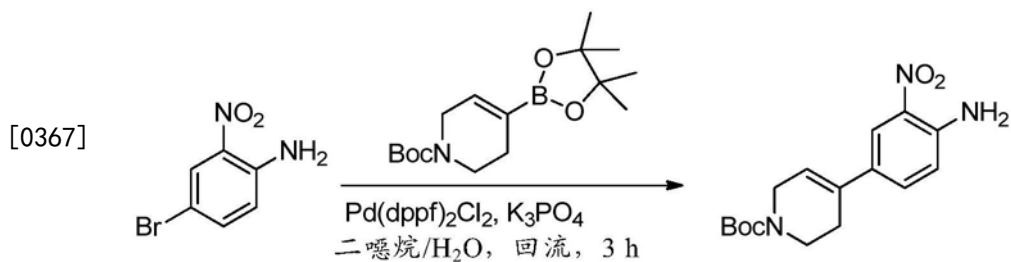
[0363] 按照程序2A(实施例100)中概述的方法合成化合物,其中将步骤(i)修改为以下程序:在0℃下,向1-[6-(2-氨基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲(130mg,与四氯苯胺混合)和DCC(118mg,0.56mmol)在氯仿(100mL)中的溶液添加2-氟丙烯酸(50mg,0.56mmol)在氯仿(50mL)中的溶液,并且将所得的混合物在室温下搅拌过夜。添加水(1mL)以淬灭反应。浓缩混合物并且将残余物通过反相柱和prep-TLC纯化以获得标题化合物(4mg,收率:5%)。¹H NMR(400 MHz,CDCl₃) δ12.17(s,1H), 8.45(s,1H), 8.35(s,1H), 7.84(d,1H), 7.37(d,1H), 7.29(t,1H), 7.26(t,1H), 6.47(s,1H), 5.94(s,1H), 5.78(dd,1H), 5.21(dd,1H), 3.85(s,6H), 3.25(s,3H); MS(ESI): 535[M+H]⁺。

[0364] 程序2E:实施例-111

[0365]



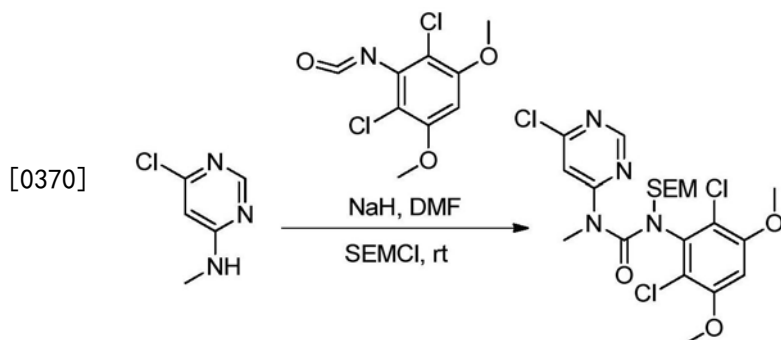
[0366] N-(2-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基氨基)-5-(1-乙基哌啶-4-基)苯基)丙烯酰胺



[0368] a. 4-(4-氨基-3-硝基苯基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯

[0369] 向4-溴-2-硝基苯胺(1g, 4.6mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-

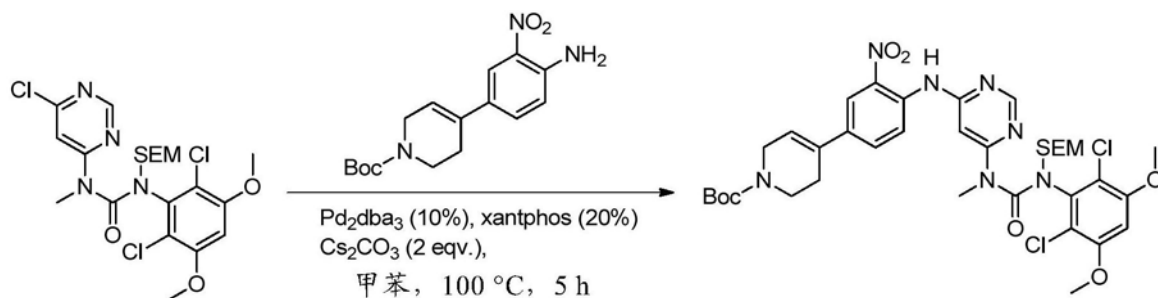
2-基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(1.42g, 4.6mmol)、磷酸三钾三水合物(3.9g, 14.64mmol)在二噁烷和水(30mL, 8:1)中的脱气混合物添加Pd(dppf)₂Cl₂(337mg, 0.46mmol)。将混合物在110℃下回流3小时。过滤并且浓缩以得到粗产物,将所述粗产物通过硅胶柱色谱纯化以得到标题化合物(1.1g, 收率:75%)。MS(ESI):320[M+H]⁺。



[0371] b. 1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基硅烷基)乙氧基)甲基)脲

[0372] 在0℃下,向6-氯-N-甲基嘧啶-4-胺(程序2A,步骤e;460mg, 3.21mmol)在DMF(15mL)中的溶液添加NaH(60%, 193mg, 4.81mmol),并且将混合物在室温下搅拌30分钟。在室温下,逐滴添加2,4-二氯-3-异氰酸根合-1,5-二甲氧基-苯(程序H,步骤a-d;1.03g, 4.17mmol)在DMF(5mL)中的溶液。将所得的混合物搅拌0.5小时。添加含SEMCl(804mg, 4.81mmol)的DMF(2mL)。将反应混合物在室温下搅拌1小时。添加饱和NH₄Cl水溶液以淬灭反应。用水稀释混合物并且用EtOAc萃取。将合并的萃取液用水和盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并且过滤。在真空下蒸发滤液以得到粗产物,将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(470mg, 收率:28%)。MS(ESI):521[M+H]⁺。

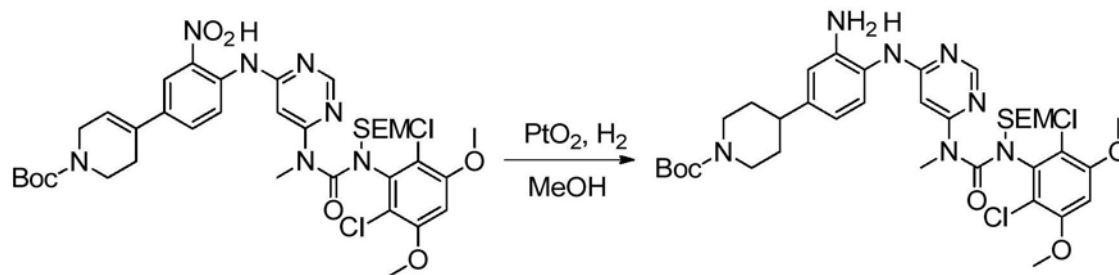
[0373]



[0374] c. (4-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基氨基)-3-硝基苯基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯

[0375] 将1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基硅烷基)乙氧基)甲基)脲(470mg, 0.9mmol)、4-(4-氨基-3-硝基苯基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(320mg, 1mmol)、Pd₂(dba)₃(92mg, 0.1mmol)、xantphos(115mg, 0.2mmol)和Cs₂CO₃(652mg, 2mmol)在甲苯(10mL)中的脱气混合物在100℃下加热5小时。浓缩反应物,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(400mg, 收率:57%)。MS(ESI):804[M+H]⁺。

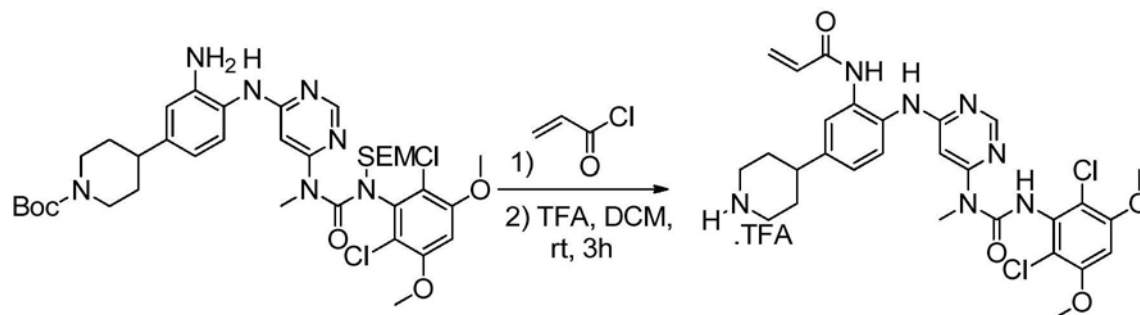
[0376]



[0377] d. 4-(3-氨基-4-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基氨基)苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯

[0378] 在室温下,向4-(4-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基氨基)-3-硝基苯基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(380mg,0.473mmol)在MeOH(10mL)中的溶液添加PtO₂(38mg,10%wt)和一滴氯苯,将所得的混合物在氢气气氛(1atm)下搅拌过夜。将反应物过滤并且浓缩。将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(130mg,收率:37%)。MS (ESI):776[M+H]⁺。

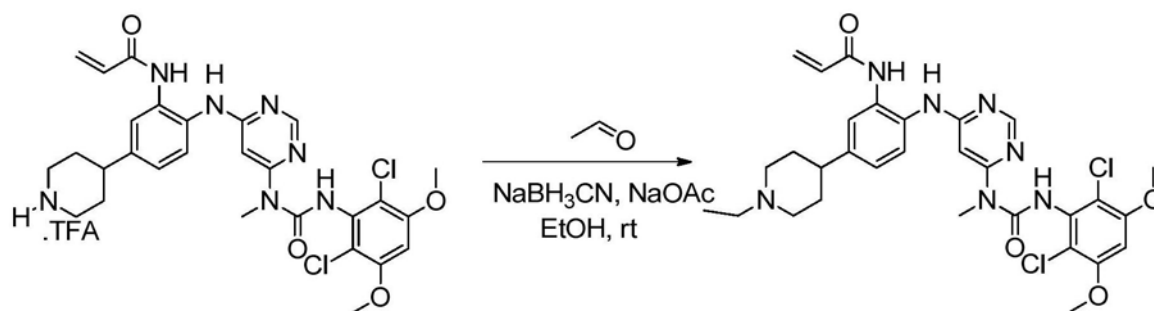
[0379]



[0380] e. N-(2-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基氨基)-5-(哌啶-4-基)苯基)丙烯酰胺TFA盐

[0381] 在-10℃下,向4-(3-氨基-4-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基氨基)苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(130mg,0.168mmol)在THF(15mL)中的溶液逐滴添加丙烯酰氯的溶液(10mg/mL,1.7mL,0.19mmol),并且将所得的混合物在0℃下搅拌1小时。LC-MS显示反应完成。添加MeOH(5mL)以淬灭反应,并且浓缩反应物。将含残余物的DCM(2mL)逐滴添加至DCM/TFA(2/1,v/v,3mL)的混合物中。将混合物在室温下搅拌1小时,然后在真空下浓缩。将残余物(50mg,定量)未经进一步纯化而被直接用于下一步。MS (ESI):600[M+H]⁺。

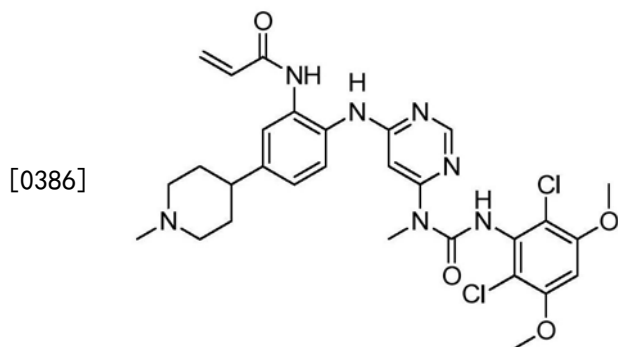
[0382]



[0383] f. N-(2-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基氨基)-5-(1-乙基哌啶-4-基)苯基)丙烯酰胺

[0384] 向N-(2-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基氨基)-5-(哌啶-4-基)苯基)丙烯酰胺TFA盐(35mg, 0.049mmol)在EtOH(1mL)中的溶液添加NaOAc(4mg, 0.05mmol)和乙醛水溶液(1mL, 0.9mmol, 40%)。将混合物在室温下搅拌1小时之后, 添加NaBH₃CN(12mg, 0.18mmol), 并且将溶液在室温下再搅拌3小时。在真空中去除所有挥发物之后, 将残余物分配于DCM与水之间。用氯仿对水层萃取两次。将合并的萃取液用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并且过滤。在真空下蒸发滤液以得到粗产物, 将所述粗产物通过prep-HPLC纯化以得到标题化合物(3mg, 收率: 10%)。¹H NMR (400 MHz, MeOH-d₄) δ 8.38 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.24 (dd, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.46-6.35 (m, 3H), 5.81 (d, 1H), 3.97 (s, 6H), 3.74-3.70 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 3.26 (q, 2H), 3.17-3.11 (m, 2H), 2.99-2.96 (m, 1H), 2.26-2.22 (m, 2H), 2.06-1.99 (m, 2H), 1.43 (t, 3H); MS (ESI): 628 [M+H]⁺。

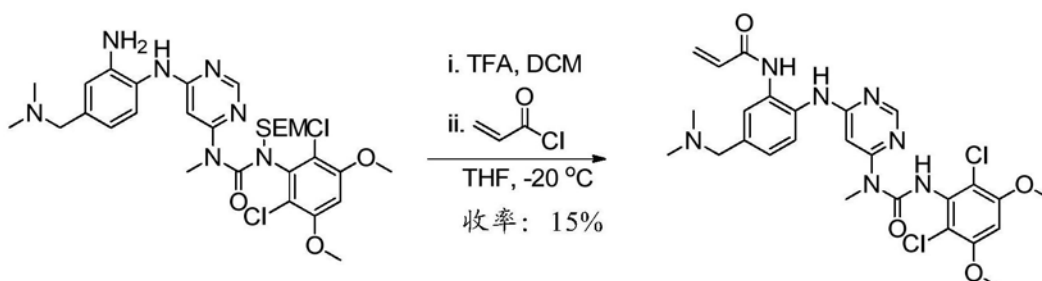
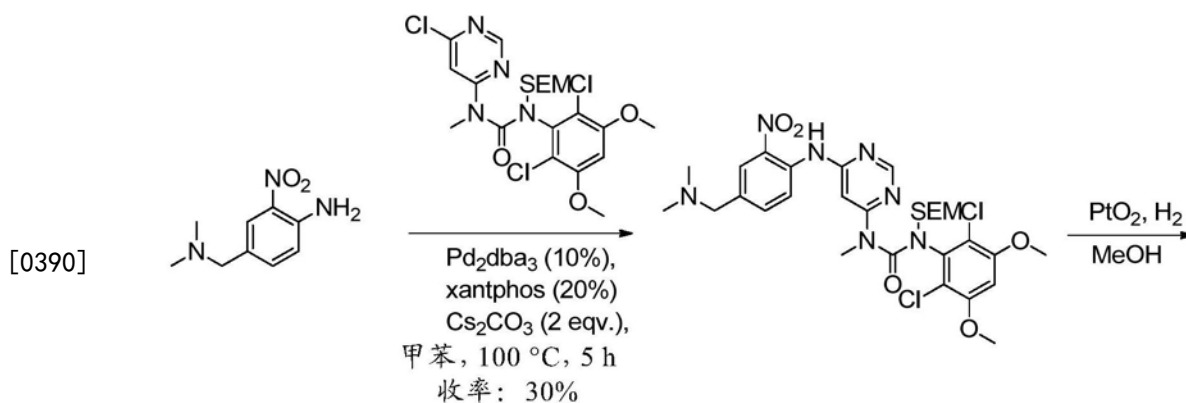
[0385] 实施例-112



[0387] N-(2-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基氨基)-5-(1-甲基哌啶-4-基)苯基)丙烯酰胺

[0388] 按照程序2E(实施例111)中概述的方法合成化合物, 其中在步骤(f)中代用甲醛以得到标题化合物(1.5mg, 收率: 11.6%)。¹H NMR (400MHz, MeOH-d₄) δ 8.26 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.41 (d, 1H), 7.11 (d, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.34-6.22 (m, 3H), 5.68 (d, 1H), 3.84 (s, 6H), 3.55-3.52 (m, 2H), 3.25 (s, 3H), 3.21-3.08 (m, 2H), 2.90-2.83 (m, 4H), 2.11-2.08 (m, 2H), 1.89-1.85 (m, 2H); MS (ESI): 614 [M+H]⁺。

[0389] 程序2F: 实施例-113

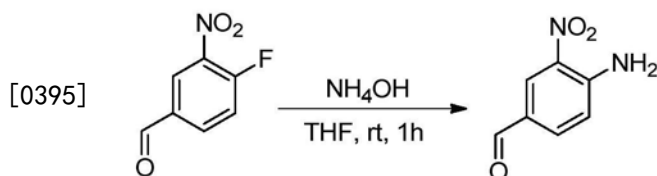


[0391] N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-二甲基氨基甲基-苯基)-丙烯酰胺



[0393] a. 4-氟-3-硝基-苯甲醛

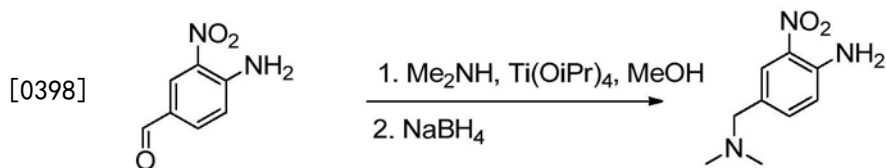
[0394] 在0°C下,向(4-氟-3-硝基-苯基)-甲醇(750mg,4.4mmol)在DCM(40mL)中的搅拌溶液添加戴斯马丁(Dess-Martin)试剂(3.0g,7mmol)。将溶液在室温下搅拌4小时。TLC显示原料消失。用10%NaHCO₃和10%Na₂S₂O₃水溶液淬灭反应,分离DCM层并且用水(100mL)和盐水(50mL)洗涤。浓缩反应物,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(570mg,收率:75%)。¹H-NMR(400 MHz,DMSO-d₆)δ10.09(d,1H),8.36(t,1H),8.06(dd,1H),7.97(m,1H)。



[0396] b. 4-氨基-3-硝基苯甲醛

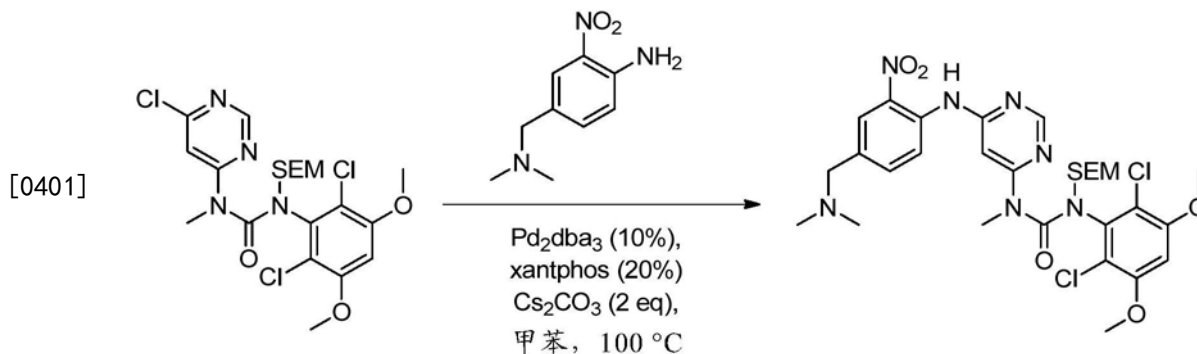
[0397] 向4-氟-3-硝基-苯甲醛(570mg,3.3mmol)在THF(20mL)中的溶液添加NH₄OH(5mL)。

将反应混合物在室温下搅拌1小时。收集所得的黄色固体并且用水洗涤,在真空下干燥以得到标题化合物(300mg,收率:53%)。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 9.76 (s, 1H), 8.57 (d, 1H), 8.18 (br s, 2H), 7.80 (dd, 1H), 7.10 (d, 1H)。



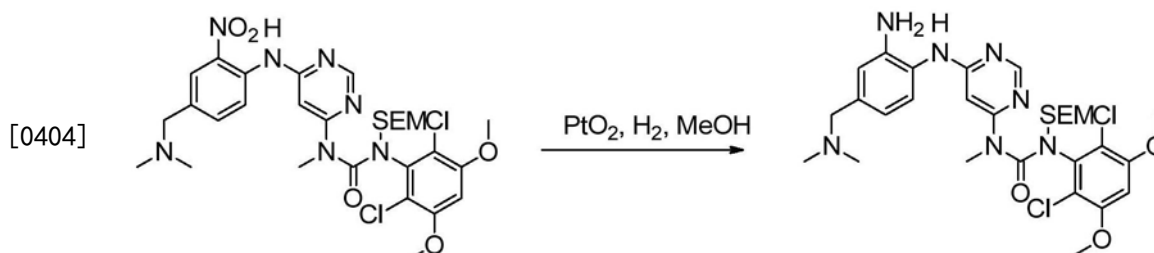
[0399] c. 4-二甲基氨基甲基-2-硝基-苯胺

[0400] 向二甲胺(4.0mL, 2 M, 8.0mmol)在MeOH(4mL)中的搅拌溶液添加Ti(OⁱPr)₄(1.15g, 4mmol),并且将溶液在室温下搅拌15分钟。然后添加含4-氨基-3-硝基-苯甲醛(160mg, 1.0mmol)的MeOH(2mL),并且将溶液在室温下搅拌过夜。然后添加NaBH₄(78mg, 2mmol),并且将溶液在室温下搅拌1小时。LCMS显示主要产物的峰。用EtOAc(60mL)稀释溶液,并且用水(2x 100mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。将溶液蒸发至干燥并且收集130mg粗产物,将所述粗产物未经进一步纯化而被用于下一步。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.82 (s, 1H), 7.35 (br s, 2H), 7.31 (dd, 1H), 6.97 (d, 1H), 3.26 (s, 2H), 2.12 (s, 6H)。



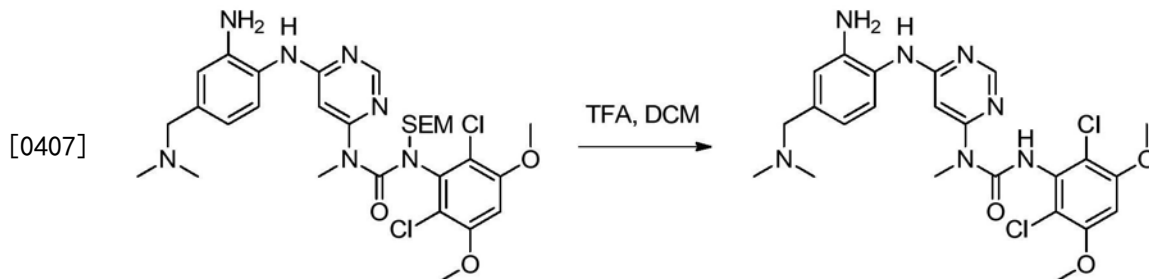
[0402] d. 1-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-3-[6-(4-二甲基氨基甲基-2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-甲基-1-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲

[0403] 向1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲(程序L,步骤b;260mg,0.5mmol)在甲苯(5mL)中的搅拌溶液添加4-二甲基氨基甲基-2-硝基-苯胺(100mg,0.5mmol)、Cs₂CO₃(400mg,1.25mmol)、Pd₂(dba)₃(46mg,0.05mmol)、xantphos(90mg,0.15mmol)。将溶液在100℃下搅拌过夜。LCMS显示主要产物的峰。用硅胶蒸发溶液,并且通过快速色谱在二氧化硅上用EtOAc(w/0.5%TEA):MeOH(w/0.5%TEA)=10~10:0.5洗脱进行纯化,以得到所需产物(100mg,收率:30%)。MS(ESI): 680[M+H]⁺。



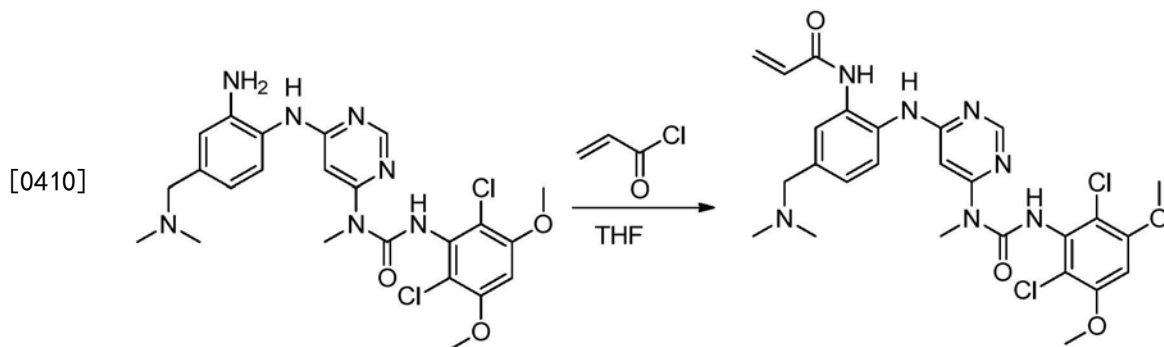
[0405] e. [6-(2-氨基-4-二甲基氨基甲基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲

[0406] 向1-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-3-[6-(4-二甲基氨基甲基-2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-甲基-1-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲(100mg, 0.15mmol)在MeOH(10mL)中的搅拌溶液添加4滴氯苯,然后添加PtO₂(30mg, 30%wt)。将溶液在室温下于氢气气氛中搅拌过夜。将反应物过滤并且浓缩。将残余物未经进一步纯化而被用于下一步。MS (ESI): 650[M+H]⁺。



[0408] f. 1-[6-(2-氨基-4-二甲基氨基甲基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲

[0409] 在室温下,向1-[6-(2-氨基-4-二甲基氨基甲基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲在无水DCM(10mL)中的搅拌溶液添加TFA(10mL),将溶液在室温下搅拌3小时。LCMS显示主要产物的峰。将溶液蒸发至干燥,用DCM(40mL)稀释并且用10%的饱和Na₂CO₃(10mL)洗涤。经无水Na₂SO₄干燥DCM层。在真空中浓缩以得到粗产物,将所述粗产物通过硅胶柱色谱(具有0.5%Et₃N的10%MeOH/DCM)纯化以得到标题化合物(45mg, 收率:58%, 经两个步骤)。MS (ESI): 520[M+H]⁺。

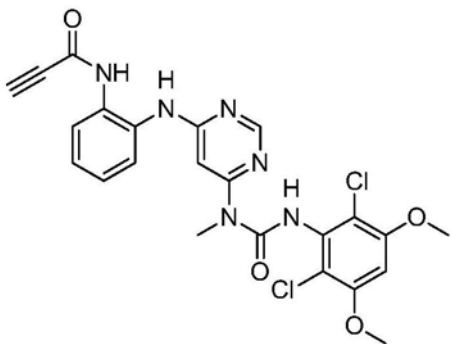


[0411] g. N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-二甲基氨基甲基-苯基)-丙烯酰胺

[0412] 在-10℃下,向1-[6-(2-氨基-4-二甲基氨基甲基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲(45mg, 0.11mmol)在THF(40mL)中的搅拌溶液添加含丙烯酰氯(30mg, 0.33mmol)的THF(3mL)。将溶液在-10℃下搅拌5小时。LCMS显示主要产物的峰。将反应用MeOH(3mL)淬灭并且蒸发。将残余物通过prep-HPLC(在NH₄HCO₃条件中的水/ACN)纯化以得到标题化合物(6mg, 收率:15%)。¹H-NMR(400 MHz, MeOH-d₄) δ8.25(s, 1H), 7.47(d, 1H), 7.44(s, 1H), 7.16(dd, 1H), 6.70(s, 1H), 6.33-6.20(m, 3H), 5.67(dd, 1H), 3.84(s, 6H), 3.43(s, 2H), 3.22(s, 3H), 2.20(s, 6H); MS (ESI): 574[M+H]⁺。

[0413] 实施例-114

[0414]

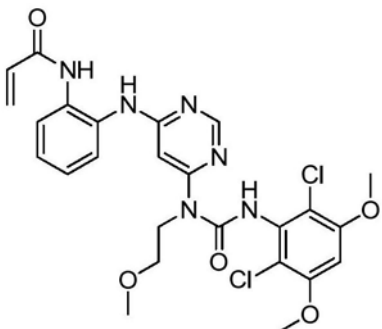


[0415] N-(2-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基氨基)苯基)丙炔酰胺

[0416] 按照程序2C(实施例108)中概述的方法合成化合物,其中将步骤(g)修改为以下程序:在0℃下,向1-[6-(2-氨基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲(50mg,0.108mmol)和DCC(46mg,0.22mmol)在氯仿(50mL)中的溶液添加丙炔酸(16mg,0.22mmol)在氯仿(50mL)中的溶液,并且将所得的混合物在室温下搅拌过夜。添加水(1mL)以淬灭反应。浓缩混合物并且将残余物通过反相柱和prep-TLC纯化以获得标题化合物(5mg,收率:9.1%)。¹H NMR(400 MHz,DMSO-d₆) δ12.04(s,1H),10.36(s,1H),9.03(s,1H),8.45(s,1H),7.67(d,1H),7.59(d,1H),7.30-7.25(m,2H),6.96(s,1H),6.50(s,1H),4.42(s,1H),4.00(s,6H),3.35(s,3H);MS(ESI):515[M+H]⁺。

[0417] 实施例-116

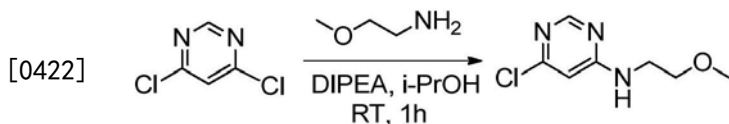
[0418]



[0419] N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-(2-甲氧基-乙基)-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-苯基)-丙烯酰胺

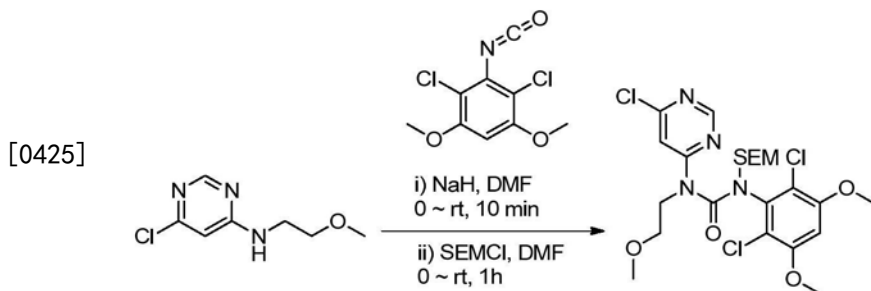
[0420] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-(2-甲氧基-乙基)-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲(制备示于下文),以得到标题化合物(40mg,收率:16%,经五个步骤)。¹H NMR(400 MHz,DMSO-d₆) δ11.28(s,1H),9.71(s,1H),8.85(s,1H),8.38(s,1H),7.70-7.68(m,1H),7.55-7.53(m,1H),7.20-7.18(m,2H),6.89(s,1H),6.69(s,1H),6.50(dd,1H),6.26(d,1H),5.75(d,1H),4.03(t,2H),3.94(s,6H),3.56(t,2H),3.24(s,3H);MS(ESI):437[M+H]⁺。

[0421] 1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-(2-甲氧基-乙基)-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲的制备:



[0423] a. (6-氯-嘧啶-4-基)-(2-甲氧基-乙基)-胺

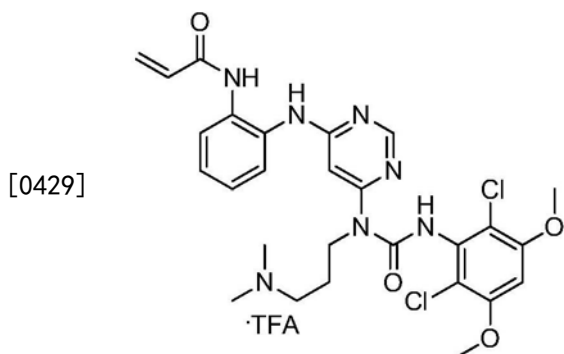
[0424] 在室温下,向4,6-二氯-嘧啶(2g,14mmol)在iPrOH(70mL)和DIPEA(1.94g,15mmol)中的溶液添加2-甲氧基-乙胺(1.13g,15mmol)的溶液。将所得的混合物在室温下搅拌1小时。添加水并且用DCM萃取混合物。将合并的萃取液用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且浓缩以得到粗产物,将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(1.95g,收率:82%)。MS (ESI):188[M+H]⁺。



[0426] b. 1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-(2-甲氧基-乙基)-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲

[0427] 在0℃下,向(6-氯-嘧啶-4-基)-(2-甲氧基-乙基)-胺(300mg,1.6mmol)在DMF(10mL)中的溶液添加NaH(60%,96mg,2.4mmol),并且将混合物在室温下搅拌10分钟。在0℃下,逐滴添加1-异氰酸根合-3,5-二甲氧基-苯(590mg,2.4mmol)在DMF(5mL)中的溶液。将所得的混合物搅拌30分钟。添加含SEMCl(400mg,2.4mmol)的DMF(2mL),并且将反应混合物在室温下搅拌1小时。添加饱和NH₄Cl水溶液以淬灭反应。用水稀释混合物并且用EtOAc萃取。将合并的萃取液用水和盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且浓缩以得到粗产物,将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(720mg,收率:78%)。MS (ESI):565[M+H]⁺。

[0428] 实施例-120

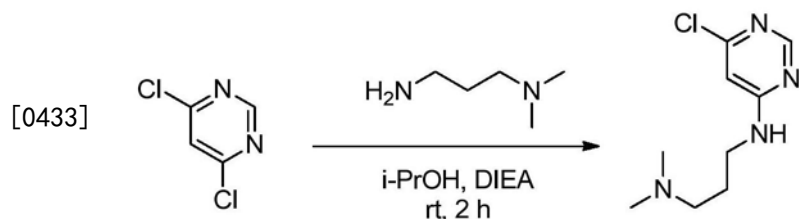


[0430] N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-(3-二甲基氨基-丙基)-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-苯基)-丙烯酸三氟乙酸

[0431] 按照程序2I(实施例142)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(c)中代用2-硝基苯胺和N-(3-二甲基氨基-丙基)-N'-(2-硝基-苯基)-嘧啶-4,6-二胺(通过以下概述的方法制备)以得到标题化合物(11mg,收率:7.5%,经六个步骤)。¹H NMR(300 MHz,DMSO-d₆) δ

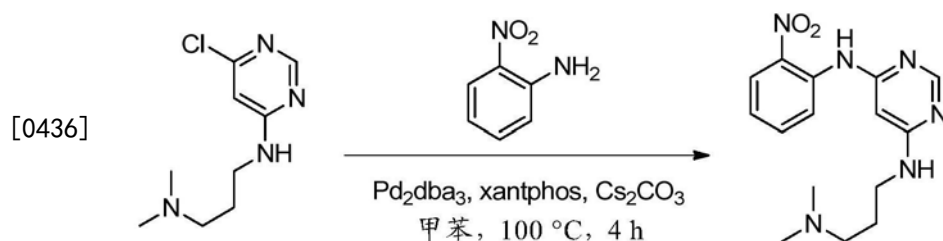
11.30 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.28 (m, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.64 (d, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.24–7.16 (m, 2H), 6.90 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.49 (dd, 1H), 6.25 (d, 1H), 5.76 (d, 1H), 3.95 (s, 6H), 3.91–3.88 (m, 2H), 3.11–3.05 (m, 2H), 2.74 (d, 6H), 1.97–1.92 (m, 2H); MS (ESI): 588 [M+H]⁺。

[0432] N-(3-二甲基氨基-丙基)-N'-(2-硝基-苯基)-嘧啶-4,6-二胺的制备



[0434] a. N'-(6-氯-嘧啶-4-基)-N,N-二甲基-丙烷-1,3-二胺

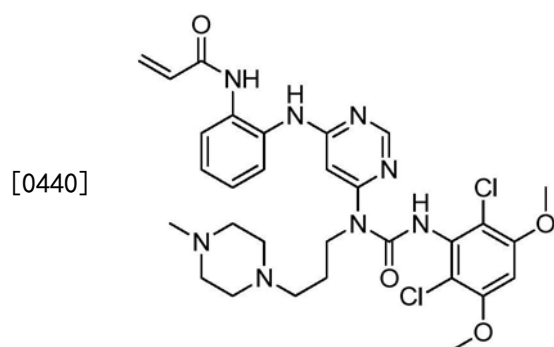
[0435] 在室温下,向4,6-二氯-嘧啶(1g, 6.7mmol)和DIPEA(1.03g, 8mmol)在iPrOH(20mL)中的溶液添加N,N-二甲基-丙烷-1,3-二胺(714mg, 7mmol)。将所得的混合物搅拌2小时。添加水并且用DCM萃取混合物。将合并的萃取液用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且浓缩以得到粗产物,将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(1.15g, 收率: 80%)。MS (ESI): 215 [M+H]⁺。



[0437] b. N-(3-二甲基氨基-丙基)-N'-(2-硝基-苯基)-嘧啶-4,6-二胺

[0438] 将N'-(6-氯-嘧啶-4-基)-N,N-二甲基-丙烷-1,3-二胺(800mg, 3.74mmol)、硝基苯胺(525mg, 3.8mmol)、Pd₂(dba)₃(348mg, 0.38mmol)、Xantphos(438mg, 0.76mmol)和Cs₂CO₃(3.05g, 9.35mmol)在甲苯(15mL)中的脱气混合物在100℃下加热4小时。浓缩反应物,并且将残余物通过反相色谱纯化以获得标题化合物(530mg, 收率: 45%)。MS (ESI): 317 [M+H]⁺。

[0439] 实施例-121

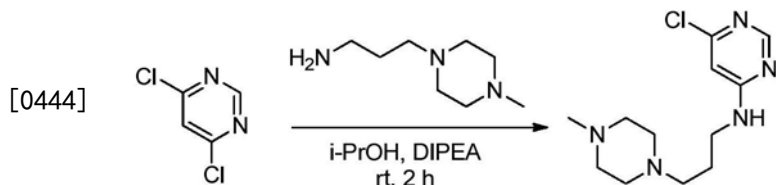


[0441] N-[2-(6-{3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-丙基]-脲基}-嘧啶-4-基氨基)-苯基]-丙烯酰胺

[0442] 按照程序2I(实施例142)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(e)中代用2-硝基苯胺和N-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-丙基]-N'-(2-硝基-苯基)-嘧啶-4,6-二胺(制备示于下

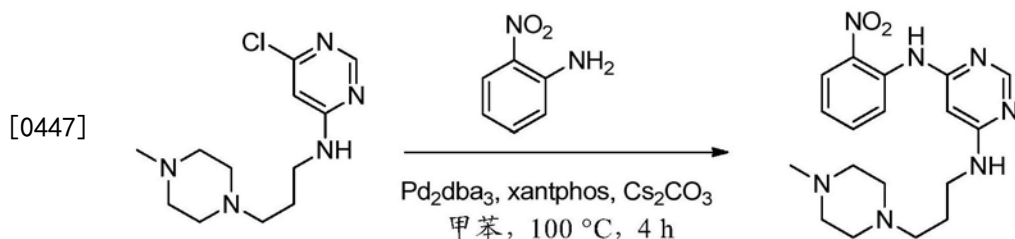
文)以得到标题化合物(8mg, 收率:1.2%, 经六个步骤)。¹H NMR (300 MHz, 甲醇-d₄) δ 8.17 (s, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.12-7.08 (m, 2H), 6.62 (s, 1H), 6.29-6.14 (m, 3H), 5.58 (d, 1H), 3.82 (t, 2H), 3.75 (s, 6H), 2.27-2.19 (m, 8H), 2.06 (s, 3H), 1.67 (t, 2H); MS (ESI): 643 [M+H]⁺。

[0443] N-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-丙基]-N'-(2-硝基-苯基)-嘧啶-4,6-二胺的制备



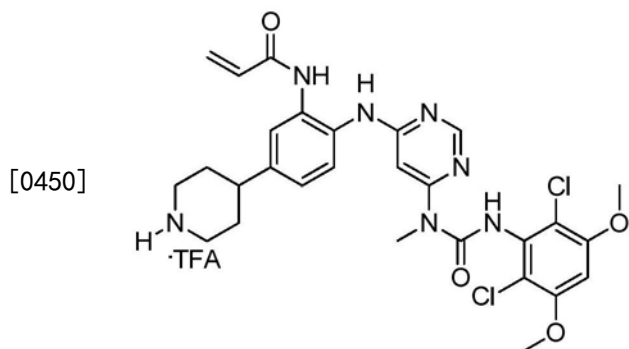
[0445] a. (6-氯-嘧啶-4-基)-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-丙基]-胺

[0446] 在室温下,向4,6-二氯-嘧啶(1.5g, 10mmol)和DIPEA(1.55g, 12mmol)在iPrOH(50mL)中的溶液添加3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-丙胺(1.73g, 11mmol)的溶液。将所得的混合物在室温下搅拌2小时。添加水并且用DCM萃取混合物。将合并的萃取液用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且浓缩以得到标题化合物(1.4g, 51%),其未经进一步纯化而被直接用于下一步。MS (ESI): 270 [M+H]⁺。



[0448] b. N-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-丙基]-N'-(2-硝基-苯基)-嘧啶-4,6-二胺将(6-氯-嘧啶-4-基)-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-丙基]-胺(600mg, 2.22mmol)、硝基苯胺(317mg, 2.3mmol)、Pd₂(dba)₃(210mg, 0.23mmol)、Xantphos(265mg, 0.46mmol)和Cs₂CO₃(1.81g, 5.55mmol)在甲苯(15mL)中的脱气混合物在100℃下加热4小时。浓缩反应物,并且将残余物通过反相色谱纯化以获得标题化合物(400mg, 收率:48%)。MS (ESI): 372 [M+H]⁺。

[0449] 实施例-122

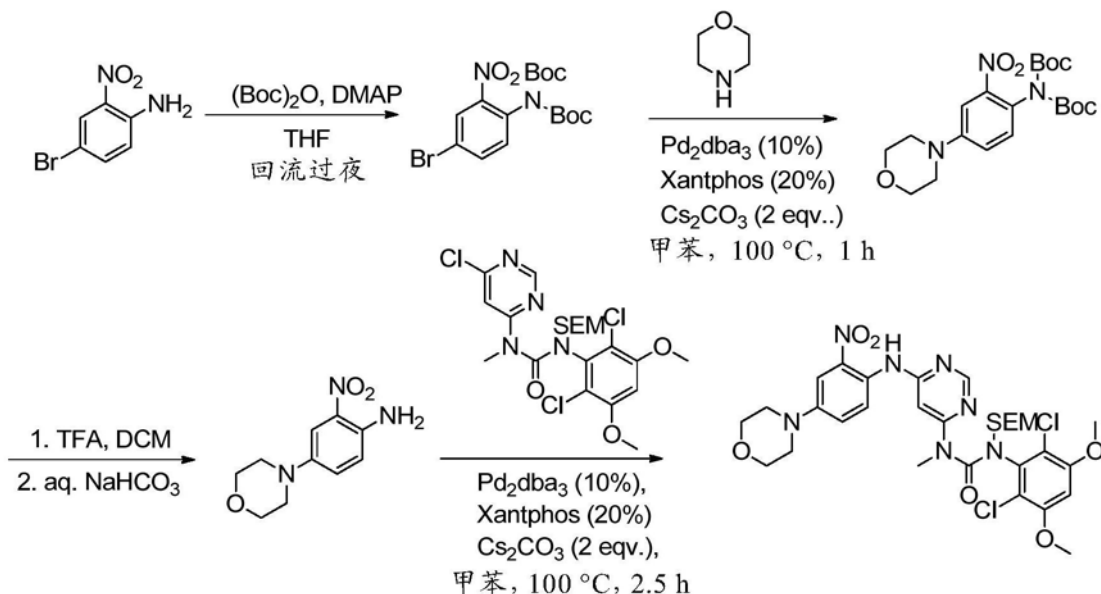


[0451] N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-哌啶-4-基-苯基)-丙烯酸三氟乙酸

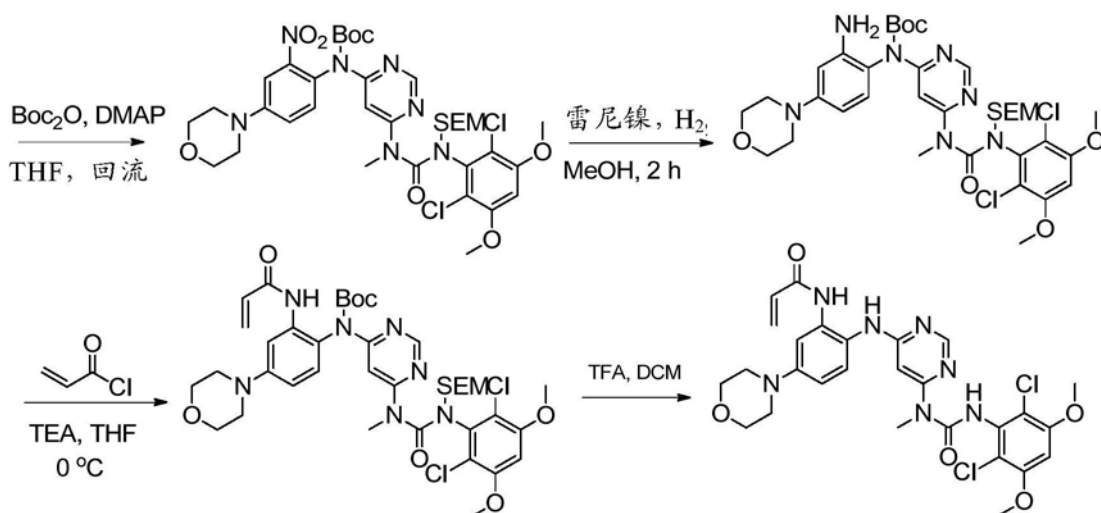
[0452] 按照程序2E(实施例111)中概述的方法合成化合物,其中用以下程序代替步骤(e)和(f):在-10℃下,向4-(3-氨基-4-(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基氨基)苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(程序2E,

实施例111, 65mg, 0.084mmol) 在THF (15mL) 中的溶液逐滴添加丙烯酰氯的溶液 (10mg/mL, 0.9mL, 0.1mmol), 并且将所得的混合物在0℃下搅拌1小时。添加MeOH (5mL) 以淬灭反应, 并且浓缩反应物。将残余物溶于DCM (2mL) 中并且逐滴添加至DCM/TFA (2:1, 3mL) 的混合物中。将混合物在室温下搅拌1小时, 然后浓缩。将残余物通过prep-HPLC纯化以得到标题化合物 (23mg, 收率: 47%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11.92 (s, 1H), 9.64 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.60 (m, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.25 (m, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.05 (d, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.52 (dd, 1H), 6.41 (s, 1H), 6.24 (d, 1H), 5.74 (d, 1H), 3.96 (s, 6H), 3.49 (d, 2H), 3.28 (s, 3H), 3.02 (q, 2H), 2.85 (t, 1H), 1.96 (d, 2H), 1.78 (q, 2H); MS (ESI): 600 [M+H]⁺。

[0453] 程序2G: 实施例-123

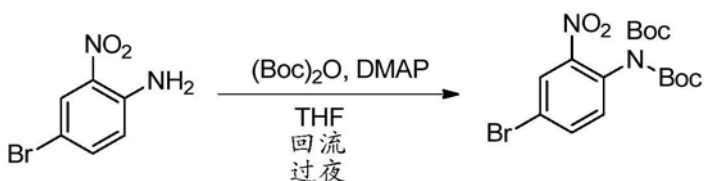


[0454]



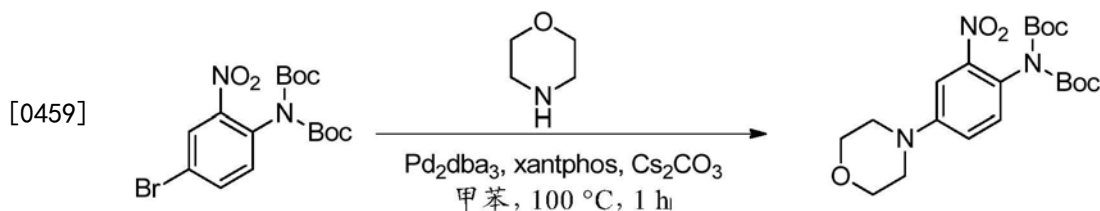
[0455] N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-吗啉-4-基-苯基)-丙烯酰胺

[0456]



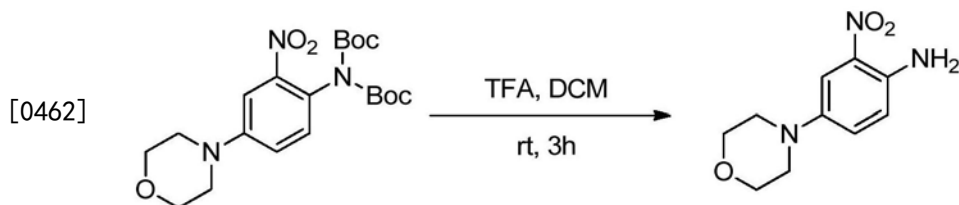
[0457] a. 4-溴-2-硝基苯基氨基甲酸二叔丁酯

[0458] 将4-溴-2-硝基苯胺(10g, 46mmol)、(Boc)₂O(20.7g, 95mmol)在THF(250mL)中的混合物加热回流过夜。浓缩混合物以得到未经进一步纯化而被直接用于下一步的标题化合物(19.2g, 收率: 定量)



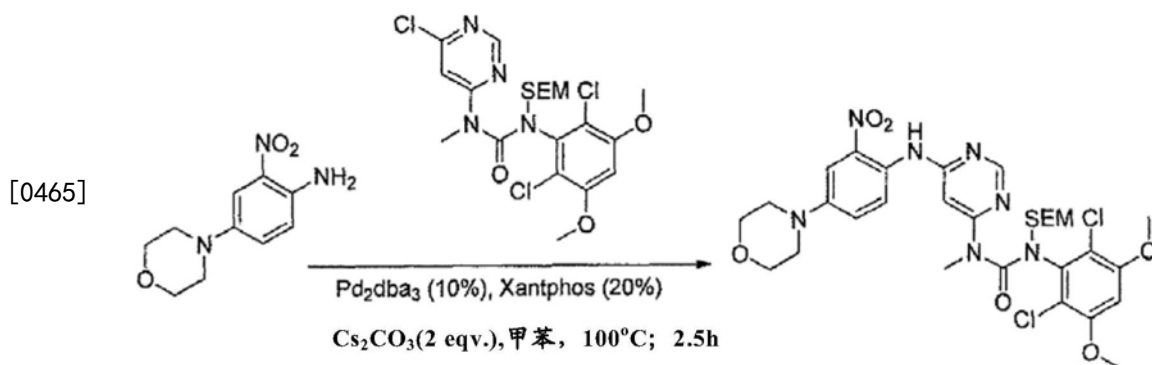
[0460] b. (4-吗啉-4-基-2-硝基-苯基)-氨基甲酸二叔丁酯

[0461] 将4-溴-2-硝基苯基氨基甲酸叔丁酯(1g, 2.4mmol)、吗啉(314mg, 3.6mmol)、Pd₂(dba)₃(220mg, 0.24mmol)、Xantphos(278mg, 0.48mmol)和Cs₂CO₃(1.56g, 4.8mmol)在甲苯(30mL)中的脱气混合物在100℃下加热1小时。浓缩反应物, 并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物和单-Boc产物的粗混合物(744mg)。将混合物未经进一步纯化而被直接用于下一步。MS (ESI): 324[M-Boc+H]⁺。



[0463] c. 4-吗啉-4-基-2-硝基-苯胺

[0464] 在0℃下, 向(4-吗啉-4-基-2-硝基-苯基)-氨基甲酸二叔丁酯和单-Boc产物(744mg)在DCM(20mL)中的溶液添加TFA(10mL), 将所得的混合物在室温下搅拌3小时。在真空中去除所有挥发物之后, 将残余物再溶于DCM中, 通过饱和NaHCO₃水溶液中和并且用DCM萃取。浓缩合并的萃取液, 并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(290mg, 收率: 54%, 经两个步骤)。MS (ESI): 251[M+H]⁺。

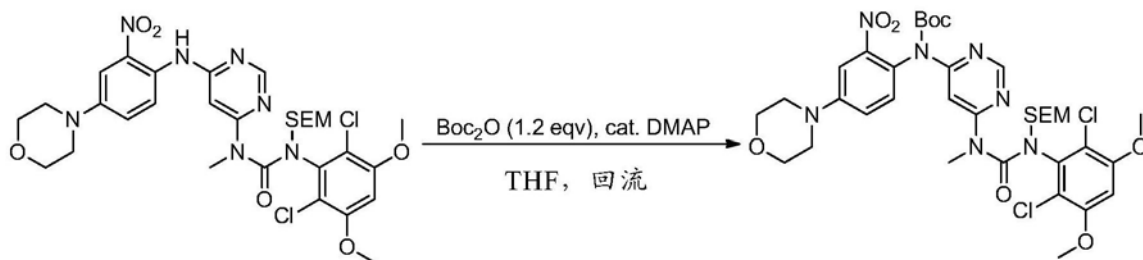


[0466] d. 1-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-3-甲基-3-[6-(4-吗啉-4-基-2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-1-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲

[0467] 将4-吗啉-4-基-2-硝基-苯胺(290mg, 1.3mmol)、1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲(程序2E, 步骤b; 624mg, 1.2mmol)、Pd₂(dba)₃(110mg, 0.12mmol)、Xantphos(139mg, 0.24mmol)和Cs₂CO₃

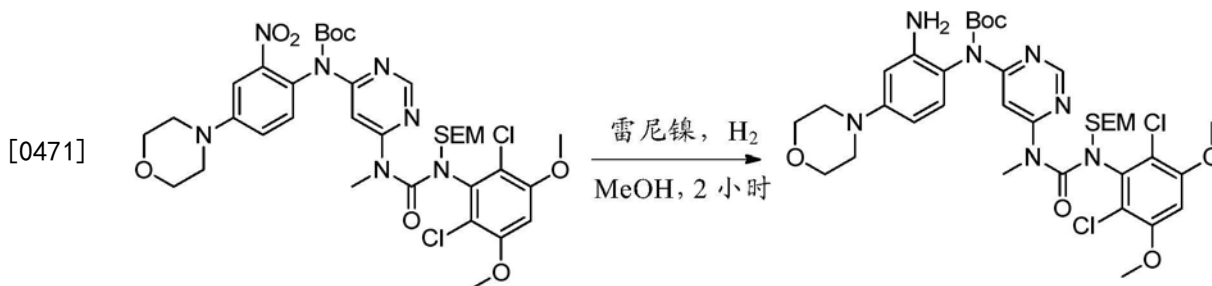
(782mg, 2.4mmol) 在甲苯 (15mL) 中的脱气混合物在 100℃ 下加热 2.5 小时。浓缩反应物, 并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得呈红色固体状的标题化合物 (440mg, 收率: 49%)。MS (ESI): 708 [M+H]⁺。

[0468]



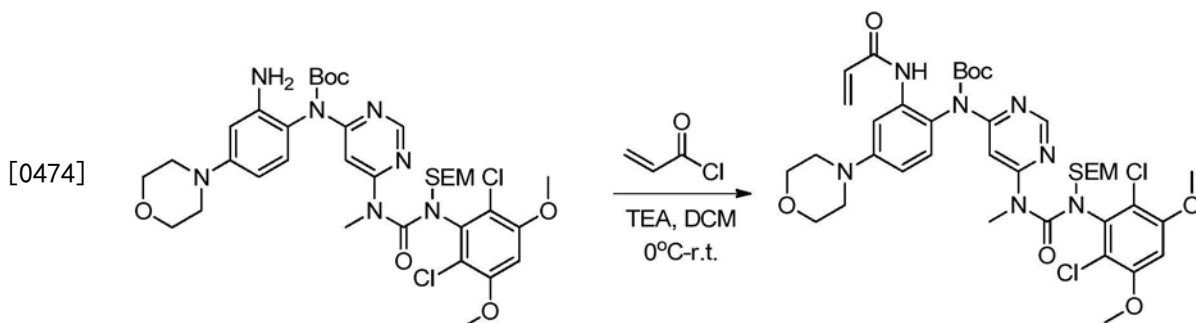
[0469] e. {6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲基]-嘧啶-4-基}-(4-吗啉-4-基-2-硝基-苯基)-氨基甲酸叔丁酯

[0470] 将 1-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-3-甲基-3-[6-(4-吗啉-4-基-2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-1-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲 (200mg, 0.28mmol)、(Boc)₂O (93mg, 0.42mmol) 和催化量的 DMAP 在 THF (10mL) 中的混合物加热回流 1 小时。浓缩混合物并且将残余物未经进一步纯化而被用于下一步。MS (ESI): 808 [M+H]⁺。



[0472] f. (2-氨基-4-吗啉-4-基-苯基)-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲基]-嘧啶-4-基}-氨基甲酸叔丁酯

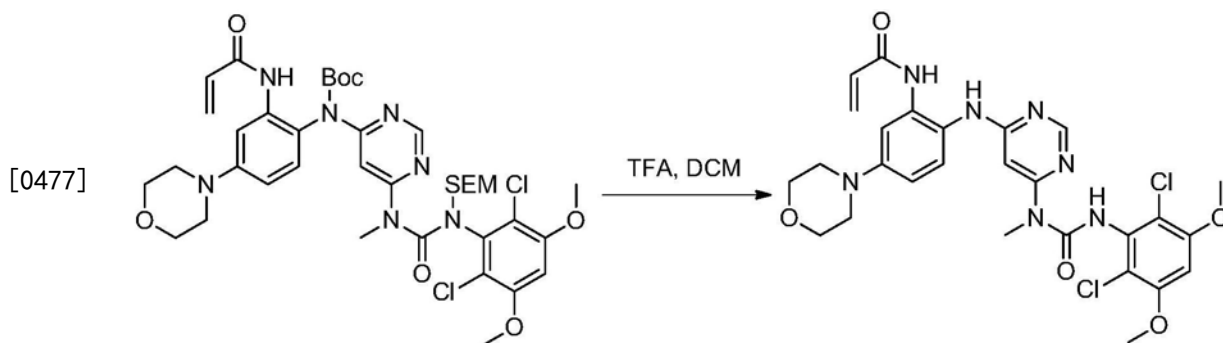
[0473] 在室温下, 向 {6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲基]-嘧啶-4-基}-(4-吗啉-4-基-2-硝基-苯基)-氨基甲酸叔丁酯 (上文制备的粗品) 在 MeOH (20mL) 中的溶液添加雷尼镍 (水中的悬浮液), 将所得的混合物在氢气气氛 (1atm) 下搅拌 2 小时。将反应物过滤并且浓缩。用 MeOH 对残余物洗涤两次以获得标题产物 (160mg, 收率: 70%)。MS (ESI): 778 [M+H]⁺。



[0475] g. (2-丙烯酰氨基-4-吗啉-4-基-苯基)-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲基]-嘧啶-4-基}-氨基甲酸叔丁酯

[0476] 在 0℃ 下, 向 (2-氨基-4-吗啉-4-基-苯基)-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯

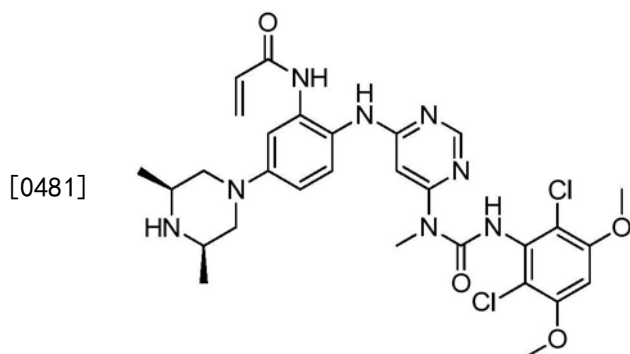
基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲基]-嘧啶-4-基}-氨基甲酸叔丁酯(80mg, 0.103mmol)在DCM(5mL)中的溶液逐滴添加TEA的溶液(10mg/mL, 1.2mL, 0.12mmol)和丙烯酰氯的溶液(10mg/mL, 1mL, 0.11mmol), 并且将所得的混合物在室温下搅拌1小时。LC-MS显示反应完成。添加水(5mL)以淬灭反应, 并且用DCM萃取反应混合物。将合并的萃取液用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥并且过滤。在真空下蒸发滤液以得到粗产物, 所述粗产物未经进一步纯化而被用于下一步。



[0478] h.N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-吗啉-4-基-苯基)-丙烯酰胺

[0479] 在0℃下, 向(2-丙烯酰氨基-4-吗啉-4-基-苯基)-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲基]-嘧啶-4-基}-氨基甲酸叔丁酯(上文制备的粗品)在CH₂Cl₂(10mL)中的溶液添加TFA(3mL), 将所得的混合物在室温下搅拌1小时。浓缩反应混合物并且用NH₃·H₂O中和以得到粗制化合物, 将所述粗制化合物通过Prep-HPLC纯化以获得标题化合物(10mg, 收率: 16%, 经两个步骤)。¹H NMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.05(s, 1H), 9.60(s, 1H), 8.74(s, 1H), 8.32(s, 1H), 7.33-7.30(m, 2H), 6.89(s, 1H), 6.83(d, 1H), 6.48(dd, 1H), 6.25-6.21(m, 2H), 5.72(d, 1H), 3.96(s, 6H), 3.73(br, 4H), 3.44(s, 3H), 3.10(br, 4H); MS(ESI): 602[M+H]⁺。

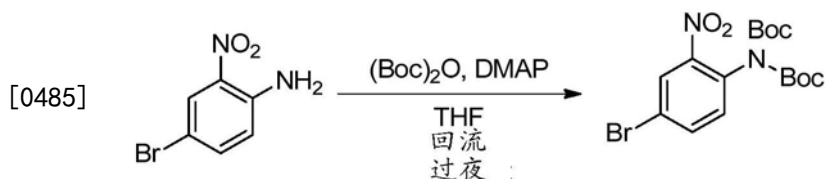
[0480] 实施例-124



[0482] N-[2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-(3,5-二甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙烯酰胺

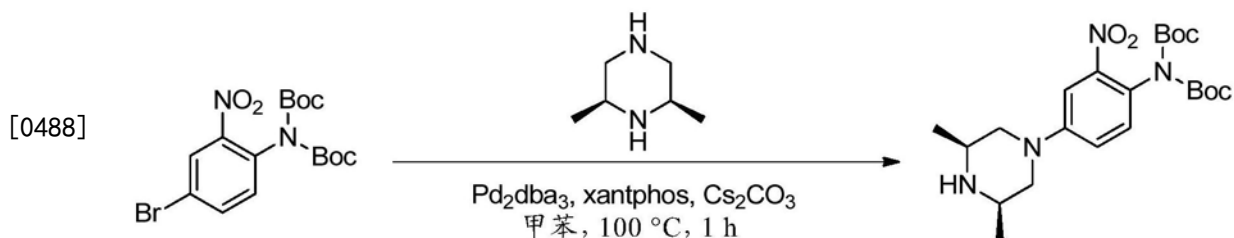
[0483] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物, 其中在步骤(d)中代用4-(3,5-二甲基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺(制备示于下文)以得到标题化合物(26mg, 收率: 30%, 经三个步骤)。¹H NMR(300 MHz, 甲醇-d₄) δ 8.32(s, 1H), 7.36-7.33(m, 2H), 6.95(d, 1H), 6.80(s, 1H), 6.43-6.37(m, 2H), 6.15(s, 1H), 5.77(d, 1H), 3.95(s, 6H), 3.70(d, 2H), 3.29(s, 3H), 3.18-3.13(m, 2H), 2.45(t, 2H), 1.24(d, 6H); MS(ESI): 629[M+H]⁺。

[0484] 4-(3,5-二甲基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺的制备



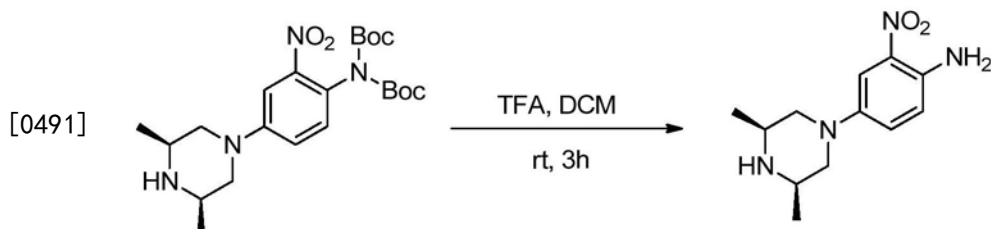
[0486] a. 4-溴-2-硝基苯基氨基甲酸二叔丁酯

[0487] 将4-溴-2-硝基苯胺(10g, 46mmol)、(Boc)₂O(20.7g, 95mmol)在THF(250mL)中的混合物加热回流过夜。浓缩混合物以得到未经进一步纯化而被用于下一步的标题化合物(19.2g, 定量)。



[0489] b. [4-(3,5-二甲基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯基]-氨基甲酸二叔丁酯

[0490] 将4-溴-2-硝基苯基氨基甲酸二叔丁酯(1g, 2.4mmol)、2,6-二甲基-哌嗪(410mg, 3.6mmol)、Pd₂(dba)₃(220mg, 0.24mmol)、Xantphos(278mg, 0.48mmol)和Cs₂CO₃(1.56g, 4.8mmol)在甲苯(30mL)中的脱气混合物在100℃下加热1小时。浓缩反应物,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物和单-Boc产物的混合物(600mg)。混合物未经进一步纯化而被直接用于下一步。MS (ESI): 350 [M-Boc+H]⁺。

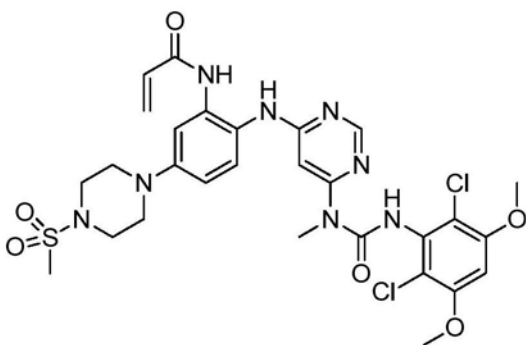


[0492] c. 4-(3,5-二甲基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺

[0493] 在0℃下,向[4-(3,5-二甲基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯基]-氨基甲酸二叔丁酯和单-Boc产物(600mg)在DCM(20mL)中的溶液添加TFA(10mL),将所得的混合物在室温下搅拌3小时。在真空中去除所有挥发物之后,将残余物再溶于DCM中,用饱和NaHCO₃水溶液中和并且用DCM萃取。浓缩合并的萃取液,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(233mg, 收率: 39%, 经两个步骤)。MS (ESI): 251 [M+H]⁺。

[0494] 实施例-125

[0495]

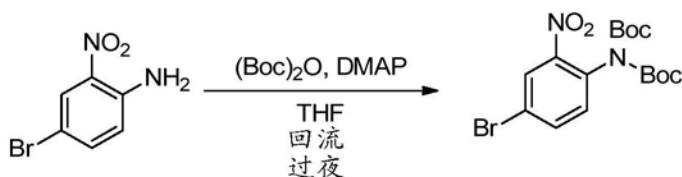


[0496] N-[2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-(4-甲磺酰基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙烯酰胺

[0497] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用4-(4-甲磺酰基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺(制备示于下文)以得到标题化合物(15mg,收率:9.6%,经五个步骤)。¹H NMR(300 MHz,DMSO-d₆) δ12.03(s,1H),9.62(s,1H),8.76(s,1H),8.33(s,1H),7.37-7.32(m,2H),6.89-6.83(m,2H),6.46(dd,1H),6.26-6.21(m,2H),5.72(d,1H),3.93(s,6H),3.34-3.16(m,11H),2.93(s,3H);MS(ESI):679[M+H]⁺。

[0498] 4-(4-甲磺酰基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺的制备

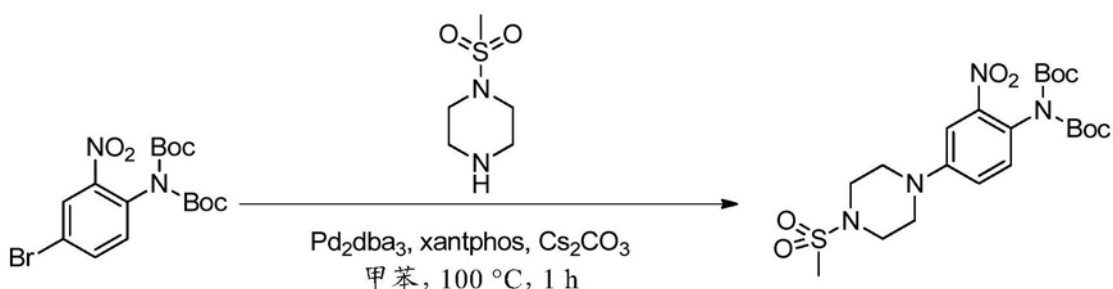
[0499]



[0500] a. 4-溴-2-硝基苯基氨基甲酸二叔丁酯

[0501] 将4-溴-2-硝基苯胺(10g,46mmol)、(Boc)₂O(20.7g,95mmol)在THF(250mL)中的混合物加热回流过夜。浓缩混合物以得到未经进一步纯化而被直接用于下一步的标题化合物(19.2g,定量)。

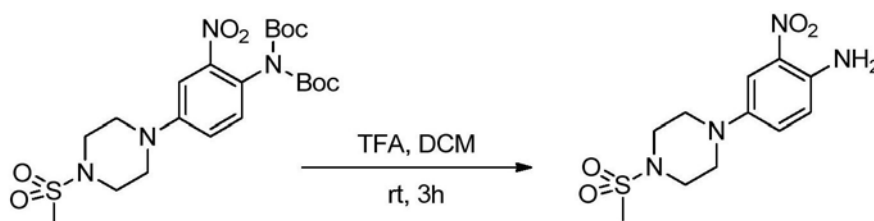
[0502]



[0503] b. [4-(4-甲磺酰基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯基]-氨基甲酸二叔丁酯

[0504] 将4-溴-2-硝基苯基氨基甲酸二叔丁酯(1g,2.4mmol)、1-甲磺酰基-哌嗪(590mg,3.6mmol)、Pd₂(dba)₃(220mg,0.24mmol)、Xantphos(278mg,0.48mmol)和Cs₂CO₃(1.56g,4.8mmol)在甲苯(30mL)中的脱气混合物在100℃下加热1小时。浓缩反应物,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物和单-Boc产物的混合物(755mg)。将混合物未经进一步纯化而直接用于下一步。MS(ESI):400[M-Boc+H]⁺。

[0505]

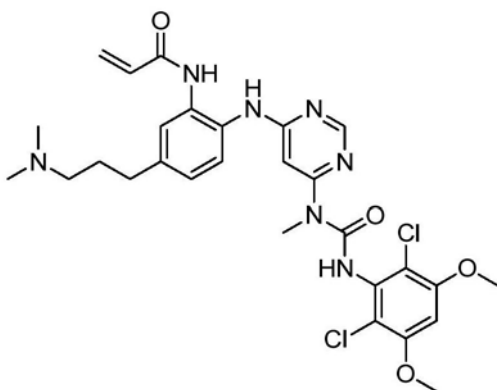


[0506] c. 4-(4-甲磺酰基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺

[0507] 在0℃下,向[4-(4-甲磺酰基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯基]-氨基甲酸二叔丁酯和单-Boc产物(755mg)在DCM(20mL)中的溶液添加TFA(10mL),将所得的混合物在室温下搅拌3小时。在真空中去除所有挥发物之后,将残余物再溶于DCM中,通过饱和NaHCO₃水溶液中和并且用DCM萃取。浓缩合并的萃取液,并且将残余物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(290mg,收率:40%,经两个步骤)。MS (ESI): 301 [M+H]⁺。

[0508] 实施例-126

[0509]

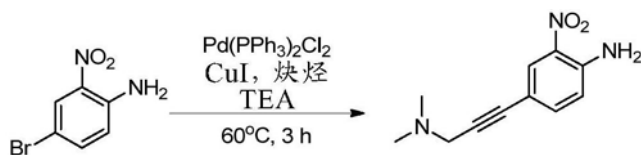


[0510] N-[2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-(3-二甲基氨基-丙基)-苯基]-丙烯酰胺

[0511] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用4-(3-二甲基氨基-丙-1-炔基)-2-硝基-苯胺(制备示于下文)并且在步骤(f)中代用氧化铂,以得到标题化合物(4mg,收率:1.4%,经五个步骤)。¹H-NMR(300 MHz,DMSO-d₆) δ 11.98(s,1H), 9.66(d,1H), 8.88(s,1H), 8.36(s,1H), 7.52(d,1H), 7.44(d,1H), 7.04(dd,1H), 6.90(s,1H), 6.48(dd,1H), 6.34(s,1H), 6.24(dd,1H), 5.72(dd,1H), 3.94(s,6H), 3.25(s,3H), 2.59(t,2H), 2.24(t,2H), 2.11(s,6H), 1.71(m,2H); MS (ESI) 602 [M+H]⁺。

[0512] 4-(3-二甲基氨基-丙-1-炔基)-2-硝基-苯胺的制备

[0513]

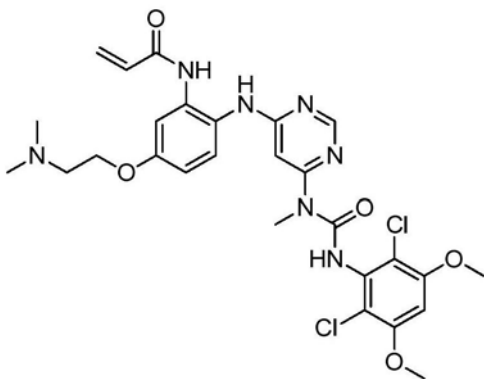


[0514] a. 4-(3-二甲基氨基-丙-1-炔基)-2-硝基-苯胺

[0515] 向4-溴-2-硝基-苯胺(1.08g,5mmol)和二甲基-丙-2-炔基-胺(1.0g,12mmol)在TEA(20mL)中的搅拌溶液添加Pd(PPh₃)₂Cl₂(0.7g,1mmol)和CuI(360mg,2mmol)。将溶液在60℃下于氮气中搅拌3小时。将溶液用硅胶蒸发并且通过快速色谱在二氧化硅上纯化以得到标题化合物(1.1g,70%纯度)。将标题化合物未经进一步纯化而直接用于下一步。MS (ESI) 221 [M+H]⁺。

[0516] 实施例-127

[0517]

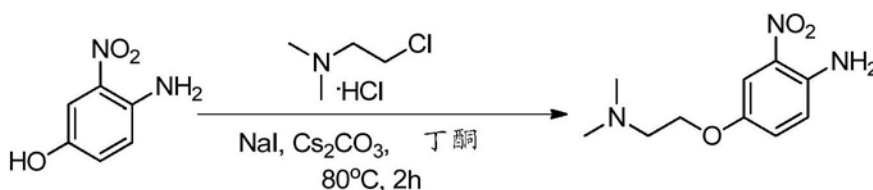


[0518] N-[2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-(2-二甲基氨基-乙氧基)-苯基]-丙烯酸胺

[0519] 按照化合物123的程序2G中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用4-(2-二甲基氨基-乙氧基)-2-硝基-苯胺(制备示于下文)并且在步骤(f)中代用氧化铂,以得到标题化合物(4.3mg, 收率:8%, 经五个步骤)。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.04 (s, 1H), 9.58 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.33 (d, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.79 (dd, 1H), 6.51 (dd, 1H), 6.26~6.20 (m, 2H), 5.73 (dd, 1H), 4.04 (t, 2H), 3.96 (s, 6H), 3.27 (s, 3H), 2.67 (t, 2H), 2.24 (s, 6H); MS (ESI) 604 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0520] 4-(2-二甲基氨基-乙氧基)-2-硝基-苯胺的制备

[0521]

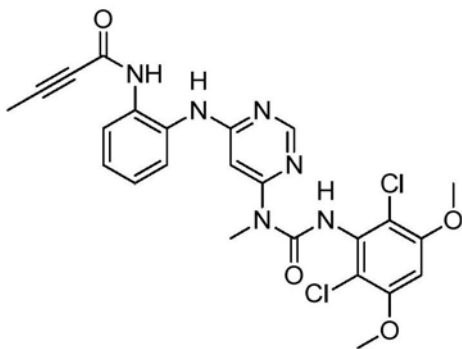


[0522] a. 4-(2-二甲基氨基-乙氧基)-2-硝基-苯胺

[0523] 向4-氨基-3-硝基-苯酚(1.54g, 10mmol)和(2-氯-乙基)-二甲基-胺盐酸盐(1.43g, 10mmol)在丁酮(40mL)中的搅拌溶液添加 Cs_2CO_3 (10g, 30mmol)和NaI (150mg, 1mmol)。将溶液在一小时内缓慢加热至80°C。然后将溶液在80°C下搅拌2小时。将溶液通过Celite[®]过滤并且用丙酮洗涤。将溶液用硅胶蒸发并且通过快速色谱在二氧化硅上纯化以得到呈棕色固体状的标题化合物(1.0g, 收率:45%)。 $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6) δ 7.38 (d, 1H), 7.24 (s, 2H), 7.16 (dd, 2H), 6.99 (d, 1H), 3.98 (t, 2H), 2.58 (t, 2H), 2.20 (s, 6H); MS (ESI) 226 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0524] 实施例-128

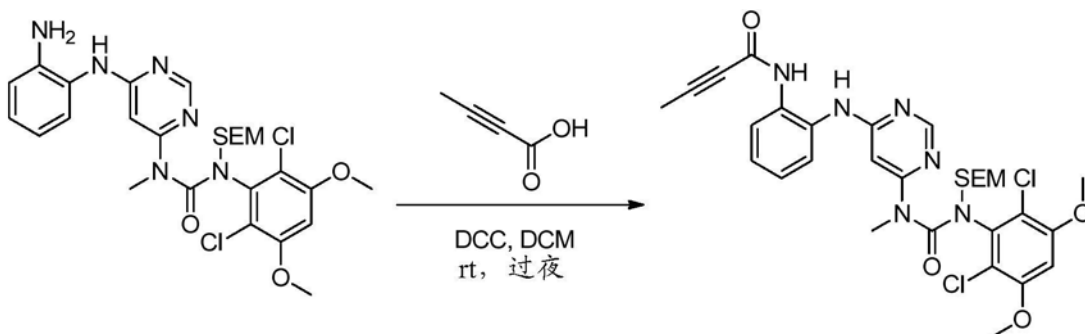
[0525]



[0526] (2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-苯基)-丁-2-炔酰胺

[0527] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用2-硝基-苯胺,省略步骤(e),用以下程序替代步骤(g)以得到标题化合物(7mg,收率:4.8%,经五个步骤)。¹H NMR(300 MHz,DMSO-d₆) δ11.97(s,1H),10.07(s,1H),8.89(s,1H),8.39(s,1H),7.60(d,1H),7.53(d,1H),7.24-7.15(m,2H),6.90(s,1H),6.44(s,1H),3.93(s,6H),3.29(s,3H),2.22(s,3H);MS(ESI):529[M+H]⁺。

[0528]

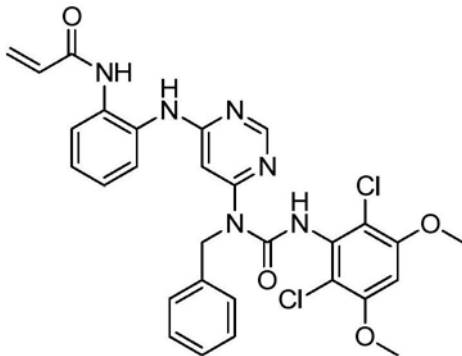


[0529] 在0℃下,向(2-氨基-苯基)-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲基]-嘧啶-4-基}-氨基甲酸叔丁酯(50mg,0.075mmol)和DCC(42mg,0.2mmol)在DCM(50mL)中的溶液添加丁-2-炔酸(13mg,0.15mmol)在DCM(10mL)中的溶液,并且将所得的混合物在室温下搅拌过夜。添加水(1mL)以淬灭反应。浓缩混合物,并且将残余物通过反相色谱纯化以获得标题化合物(20mg,收率:34%)。MS(ESI):659[M+H]⁺。

[0530] 以与化合物100类似的方式合成化合物129。

[0531] 实施例-130

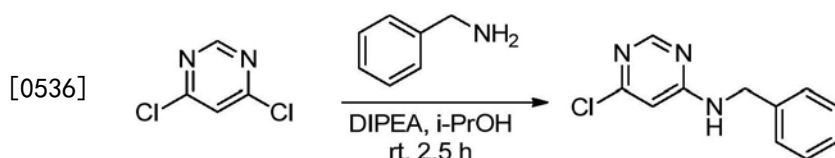
[0532]



[0533] N-(2-{6-[1-苄基-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-苯基)-丙烯酰胺

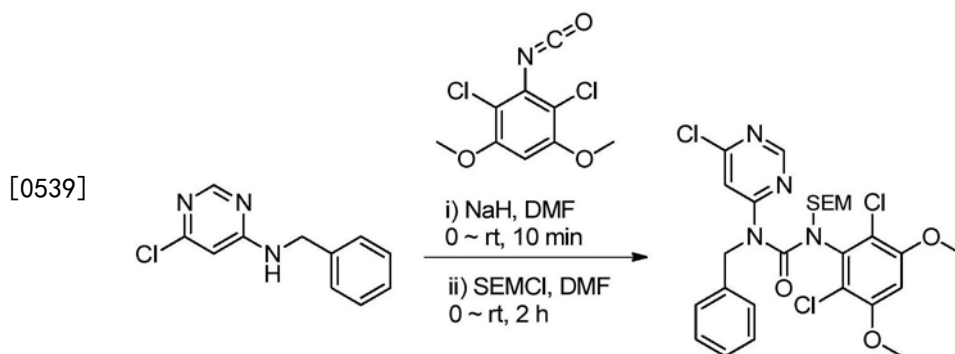
[0534] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用2-硝基-苯胺和1-苄基-1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲(制备示于下文)以得到标题化合物(26mg,收率:20%,经五个步骤)。¹H NMR(300 MHz,DMSO-d₆) δ12.27(s,1H),9.68(s,1H),8.90(s,1H),8.39(s,1H),7.69(d,1H),7.33-7.19(m,6H),6.92(s,1H),6.45(dd,1H),6.24(d,1H),6.18(s,1H),5.74(d,1H),5.07(s,2H),3.95(s,6H);MS(ESI):593[M+H]⁺。

[0535] 1-苄基-1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲的制备



[0537] a. 苄基-(6-氯-嘧啶-4-基)-胺

[0538] 在室温下,向4,6-二氯-嘧啶(1.5g,10mmol)在iPrOH(40mL)和DIPEA(1.55g,12mmol)中的溶液添加苄胺(12g,mmol)的溶液。将所得的混合物在室温下搅拌2.5小时。加水并且用DCM萃取混合物。将合并的萃取液用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且浓缩以得到粗产物,将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得呈白色固体状的标题化合物(1.5g,收率:68%)。¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ8.35(br s,1H),7.20-7.38(m,5 H),6.35(s,1H),4.52(s,2H);MS(ESI):220[M+H]⁺。

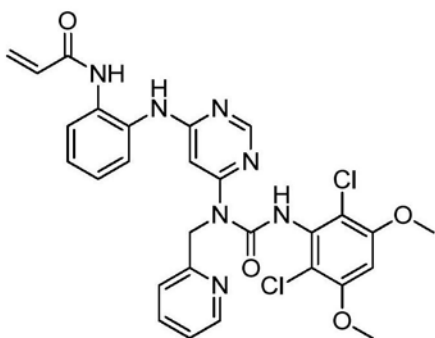


[0540] b. 1-苄基-1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲

[0541] 在0℃下,向苄基-(6-氯-嘧啶-4-基)-胺(800mg,3.64mmol)在DMF(15mL)中的溶液添加NaH(60%,218mg,5.45mmol),并且将混合物在室温下搅拌10分钟。在0℃下,逐滴添加1-异氰酸根合-3,5-二甲氧基-苯(程序2A,步骤a-d;1.35g,5.45mmol)在DMF(2mL)中的溶液。将所得的混合物在室温下搅拌2小时。添加饱和NH₄Cl水溶液(2mL)以淬灭反应。浓缩混合物并且用DCM萃取。将合并的萃取液用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,并且浓缩以得到粗产物,将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(1.7g,收率:77%)。MS(ESI):599[M+H]⁺。

[0542] 实施例-131

[0543]

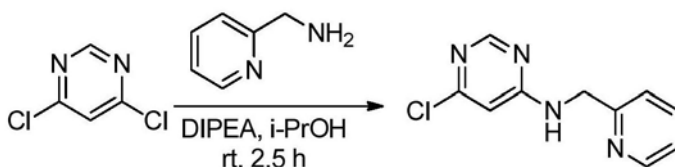


[0544] N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-吡啶-2-基甲基-脒基]-嘧啶-4-基氨基}-苯基)-丙烯酸酰胺

[0545] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用2-硝基-苯胺和1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-吡啶-2-基甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脒(制备示于下文)以得到标题化合物(35mg,收率:13%,经五个步骤)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ12.15(s,1H),9.65(s,1H),8.83(s,1H),8.50(s,1H),8.39(s,1H),7.80(t,1H),7.66(d,1H),7.31-7.25(m,3H),7.17(t,1H),7.09(t,1H),6.91(s,1H),6.45(dd,1H),6.39(s,1H),6.23(d,1H),5.74(d,1H),5.17(s,2H),3.94(s,6H);MS(ESI):594[M+H]⁺。

[0546] 1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-吡啶-2-基甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脒的制备

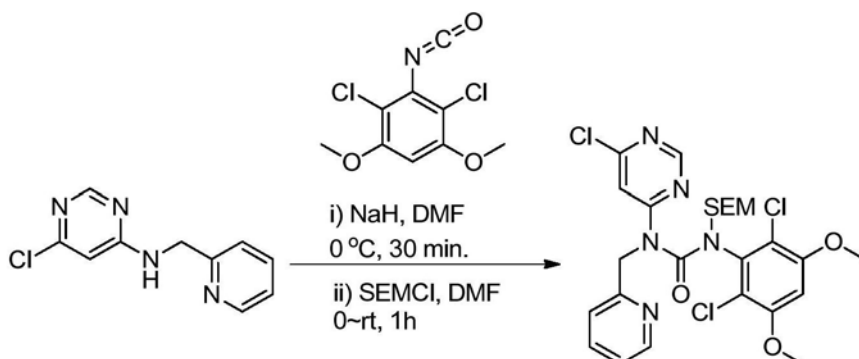
[0547]



[0548] a. (6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-2-基甲基-胺

[0549] 在室温下,向4,6-二氯-嘧啶(1g,7mmol)在iPrOH(40mL)和DIPEA(1.16g,9mmol)中的溶液添加2-吡啶基甲胺(970mg,9mmol)的溶液。将所得的混合物在室温下搅拌2.5小时。添加水并且用DCM萃取混合物。将合并的萃取液用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥并且浓缩以得到粗产物,将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(1.2g,收率:78%)。MS(ESI):221[M+H]⁺。

[0550]

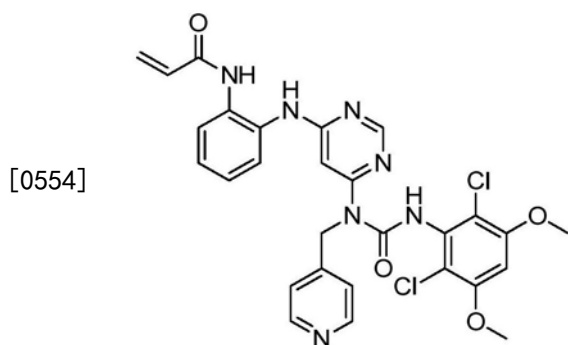


[0551] b. 1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-吡啶-2-基甲基-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脒

[0552] 在0℃下,向(6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-2-基甲基-胺(200mg,0.91mmol)在DMF(5mL)

中的溶液添加NaH (60%, 55mg, 1.37mmol), 并且将混合物在室温下搅拌10分钟。在0℃下, 逐滴添加1-异氰酸根合-3,5-二甲氧基-苯 (程序2A, a-d; 337mg, 1.37mmol) 在DMF (2mL) 中的溶液。将所得的混合物搅拌30分钟。添加含SEMC1 (230mg, 1.37mmol) 的DMF (2mL), 并且将反应混合物在室温下搅拌1小时。添加饱和NH₄Cl水溶液以淬灭反应。用水稀释混合物并且用EtOAc萃取。将合并的萃取液用水和盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥并且过滤。浓缩滤液以得到粗产物, 将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物 (420mg, 收率: 78%)。MS (ESI): 598 [M+H]⁺。

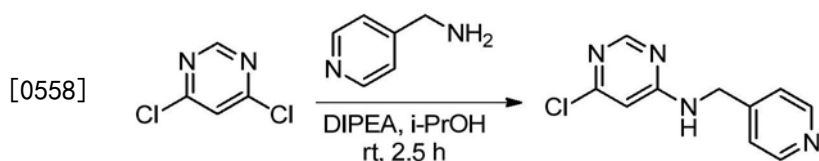
[0553] 实施例-132



[0555] N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-吡啶-4-基甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-苯基)-丙烯酰胺

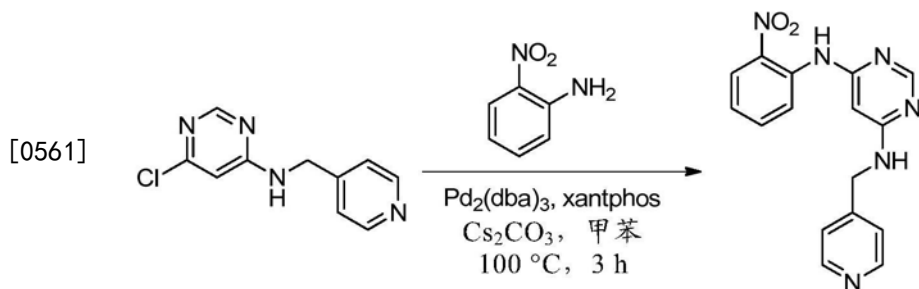
[0556] 按照程序2G (实施例123) 中概述的方法合成化合物, 其中在步骤(e) 中代用3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-(2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-1-吡啶-4-基甲基-脲以得到标题化合物 (14mg, 收率: 8.1%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.03 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.49 (d, 2H), 8.39 (s, 1H), 7.67 (d, 1H), 7.27-7.17 (m, 4H), 7.10 (t, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.48 (dd, 1H), 6.24 (d, 1H), 6.15 (s, 1H), 5.74 (d, 1H), 5.09 (s, 2H), 3.94 (s, 6H); MS (ESI): 594 [M+H]⁺。

[0557] 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-(2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-1-吡啶-4-基甲基-脲的制备



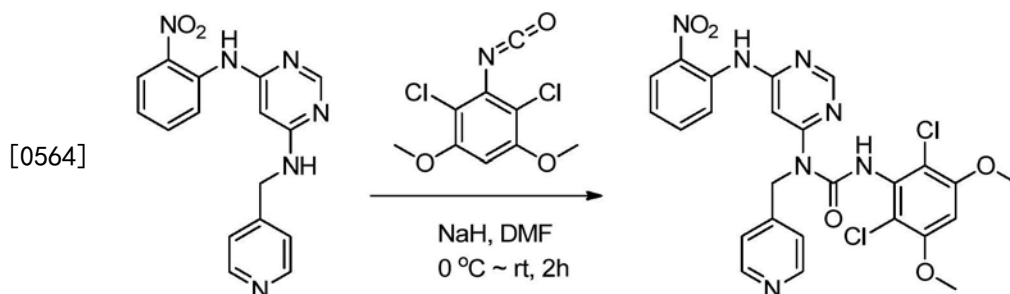
[0559] a. (6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-4-基甲基-胺

[0560] 在室温下, 向4,6-二氯-嘧啶 (1.5g, 10.5mmol) 和DIPEA (1.62g, 12.6mmol) 在iPrOH (40mL) 中的溶液添加4-吡啶基甲胺 (1.2g, 11mmol)。将所得的混合物在室温下搅拌2小时。添加水并且用DCM萃取混合物。将合并的萃取液用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且浓缩以得到粗产物, 将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物 (1.8g, 收率: 80%)。MS (ESI): 221 [M+H]⁺。



[0562] b. N-(2-硝基-苯基)-N'-吡啶-4-基甲基-嘧啶-4,6-二胺

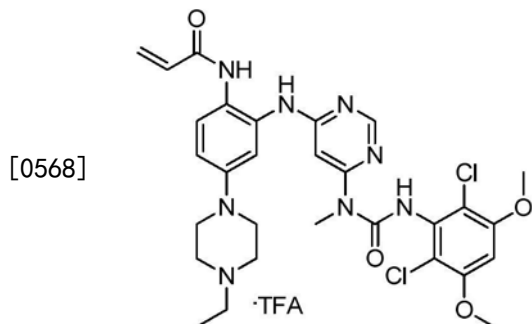
[0563] 将(6-氯-嘧啶-4-基)-吡啶-4-基甲基-胺(500mg, 2.27mmol)、2-硝基苯胺(317mg, 2.3mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (200mg, 0.22mmol)、Xantphos(253mg, 0.44mmol)和 Cs_2CO_3 (1.48g, 9.35mmol)在甲苯(10mL)中的脱气混合物在 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 下加热3小时。浓缩反应物,并且将残余物通过反相色谱纯化,随后通过快速色谱在二氧化硅上纯化,以获得标题化合物(330mg, 收率:45%)。MS (ESI): 323 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。



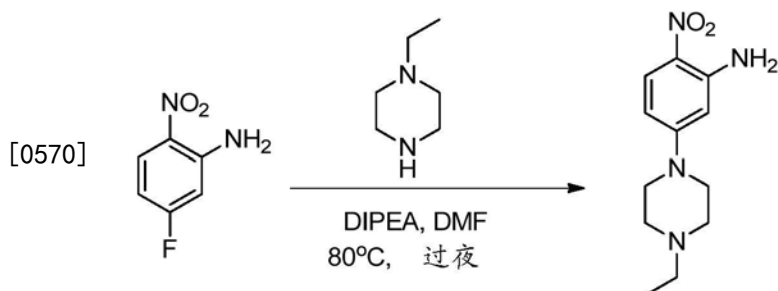
[0565] c. 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-(2-硝基-苯基氨基)-嘧啶-4-基]-1-吡啶-4-基甲基-脲

[0566] 在 $0\text{ }^\circ\text{C}$ 下,向N-(2-硝基-苯基)-N'-吡啶-4-基甲基-嘧啶-4,6-二胺(330mg, 1.02mmol)在DMF(10mL)中的溶液添加NaH(60%, 56mg, 1.4mmol),并且将混合物在室温下搅拌30分钟。在 $0\text{ }^\circ\text{C}$ 下,逐滴添加1-异氰酸根合-3,5-二甲氧基-苯(程序2A,步骤a-d; 345mg, 1.4mmol)在DMF(2mL)中的溶液。将所得的混合物在室温下搅拌2小时。添加饱和 NH_4Cl 水溶液(2mL)以淬灭反应。浓缩混合物并且用DCM萃取。将合并的萃取液用盐水洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,并且浓缩以得到粗产物,将所述粗产物通过prep-TLC纯化以获得标题化合物(190mg, 收率:33%)。MS (ESI): 570 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0567] 实施例-133



[0569] 5-(4-乙基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺的制备



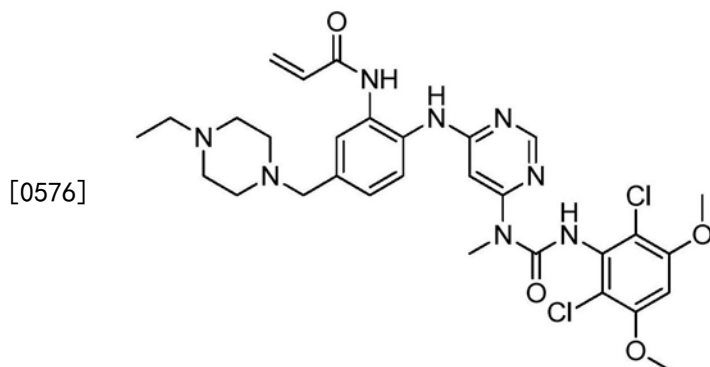
[0571] 1.5-(4-乙基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺

[0572] 将1-乙基-哌嗪(1.2mL, 9.6mmol)、5-氟-2-硝基-苯胺(1g, 6.4mmol)、DIPEA(1.24g, 9.6mmol)在DMF(15mL)中的混合物在80°C加热过夜。将反应混合物倾入冰水中并且用EtOAc萃取。将合并的萃取液用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 并且浓缩以得到粗产物, 将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以得到标题化合物(1mg, 收率: 63%)。ESI-MS: 251 [M+H]⁺。

[0573] N-[2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-吡啶-4-基氨基}-4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙烯酰胺三氟乙酸盐

[0574] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物, 其中在步骤(a)中代用5-(4-乙基-哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺以得到标题化合物(20mg, 收率: 39%)。¹H NMR(300 MHz, 甲醇-d₄) δ 8.37(s, 1H), 7.49(d, 1H), 7.25(s, 1H), 6.98(d, 1H), 6.82(s, 1H), 6.43-6.38(m, 3H), 5.78(d, 1H), 3.96-3.88(m, 8H), 3.68-3.64(m, 2H), 3.37(s, 3H), 3.33-3.08(m, 6H), 1.40(t, 3H); MS(ESI): 629 [M+H]⁺。

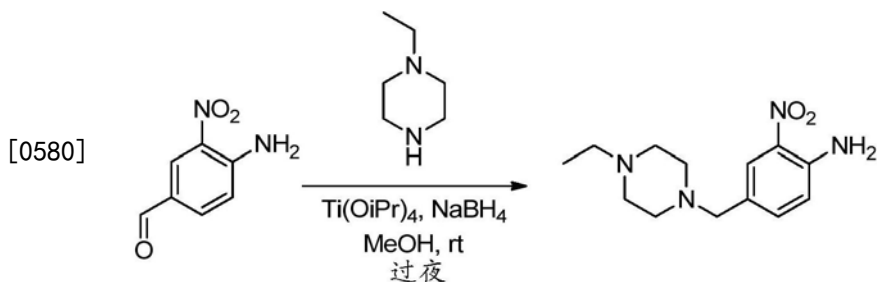
[0575] 实施例-135



[0577] N-[2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-苯基]-丙烯酰胺

[0578] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物, 其中在步骤(d)中代用4-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-2-硝基-苯胺(制备示于下文)以得到标题化合物(30mg, 收率: 31%, 经五个步骤)。¹H NMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ 11.97(s, 1H), 9.71(s, 1H), 8.95(s, 1H), 8.37(s, 1H), 7.60(s, 1H), 7.50(d, 1H), 7.12(d, 1H), 6.90(s, 1H), 6.50(dd, 1H), 6.39(s, 1H), 6.25(d, 1H), 5.73(d, 1H), 3.93(s, 6H), 3.48(s, 2H), 3.32(s, 3H), 2.50-2.25(m, 10H), 0.98(t, 3H); MS(ESI): 643 [M+H]⁺。

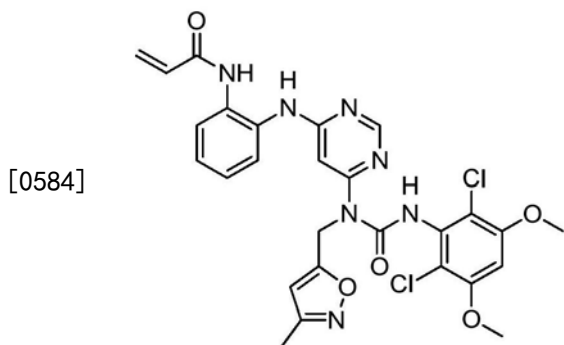
[0579] 4-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-2-硝基-苯胺的制备



[0581] a. 4-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-2-硝基-苯胺

[0582] 向1-乙基-哌嗪(1.37g, 12mmol)在MeOH(30mL)中的搅拌溶液添加Ti(OⁱPr)₄(1.73g, 6mmol)。然后将溶液在室温下搅拌15min。然后添加含4-氨基-3-硝基-苯甲醛(程序2F, 步骤a-b, 1.5g, 9mmol)的MeOH(10mL), 并且将溶液在室温下搅拌过夜。然后添加NaBH₄(380mg, 10mmol), 并且将溶液在室温下搅拌1小时。用EtOAc稀释溶液并且过滤。将滤液用水和盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥。浓缩得到产物, 将所述产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物(800mg, 收率: 34%)。MS (ESI): 265 [M+H]⁺。

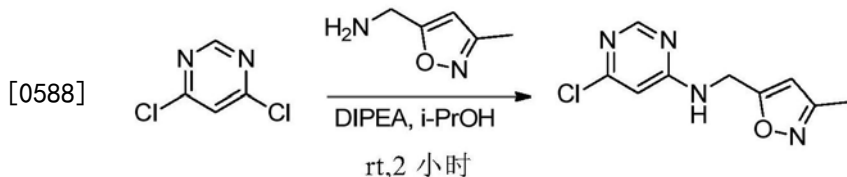
[0583] 实施例-136



[0585] N-(2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-(3-甲基-异噁唑-5-基甲基)-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-苯基)-丙烯酰胺

[0586] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物, 其中在步骤(d)中代用1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-(3-甲基-异噁唑-5-基甲基)-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲(制备示于下文)并且在步骤(f)中在60°C下代用铁/乙酸, 以得到标题化合物(26mg, 收率: 12%, 经五个步骤)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11.78 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.21-7.15 (m, 2H), 6.90 (s, 1H), 6.52-6.43 (m, 2H), 6.26 (d, 1H), 6.09 (s, 1H), 5.74 (d, 1H), 5.16 (s, 2H), 3.93 (s, 6H), 2.18 (s, 3H); MS (ESI): 598 [M+H]⁺。

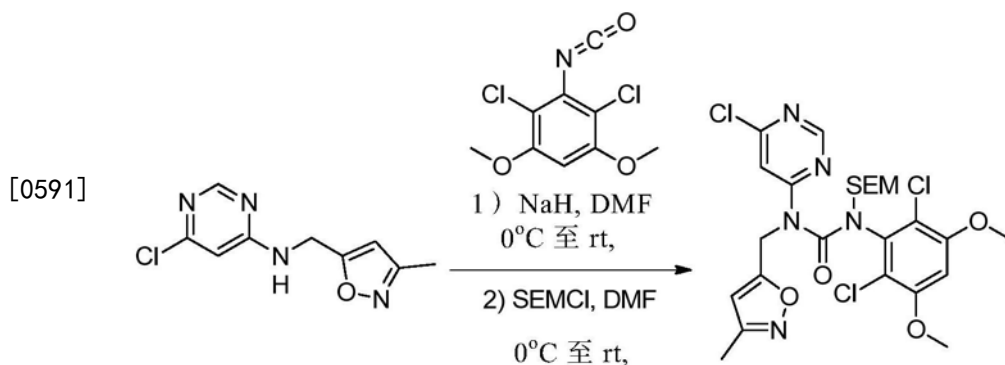
[0587] 1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-(3-甲基-异噁唑-5-基甲基)-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲的制备



[0589] a. (6-氯-嘧啶-4-基)-(3-甲基-异噁唑-5-基甲基)-胺。

[0590] 在室温下, 向4,6-二氯-嘧啶(660mg, 4.46mmol)在i-PrOH(40mL)和DIEA(690mg,

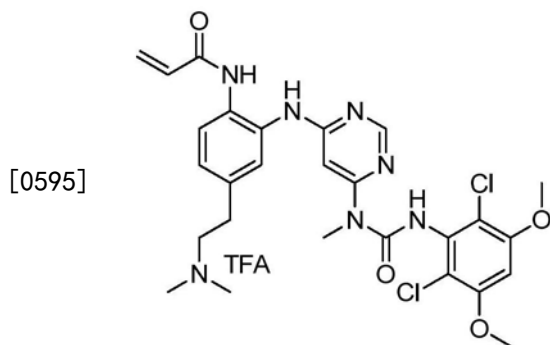
5.35mmol) 中的溶液添加C-吡啶-2-基-甲胺 (560mg, 5mmol) 的溶液。将所得的混合物在室温下搅拌2小时。添加水并且用DCM萃取混合物。将合并的萃取液用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并且在真空下浓缩以得到粗产物。将粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题化合物 (650mg, 收率: 65%)。MS (ESI): 225 [M+H]⁺。



[0592] b. 1-(6-氯-嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-(3-甲基-异噁唑-5-基甲基)-3-(2-三甲基硅烷基-乙氧基甲基)-脲。

[0593] 在0°C下, 向(6-氯-嘧啶-4-基)-(3-甲基-异噁唑-5-基甲基)-胺 (300mg, 1.34mmol) 在DMF (5mL) 中的溶液添加NaH (60%, 80mg, 2mmol), 并且将混合物在室温下搅拌10分钟。在0°C下, 逐滴添加1-异氰酸根合-3,5-二甲氧基-苯 (程序2A, 步骤a-d; 337mg, 1.37mmol) 在DMF (2mL) 中的溶液。将所得的混合物搅拌0.5小时。添加含SEMCl (230mg, 1.37mmol) 的DMF (2mL)。将反应混合物在室温下搅拌1小时。添加饱和NH₄Cl水溶液以淬灭反应。用水稀释混合物并且用EtOAc萃取。将合并的萃取液用水和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥并且过滤。在真空下蒸发滤液以得到粗产物, 将所述粗产物通过快速色谱在二氧化硅上纯化以获得标题产物 (440mg, 收率: 55%)。MS (ESI): 604 [M+H]⁺。

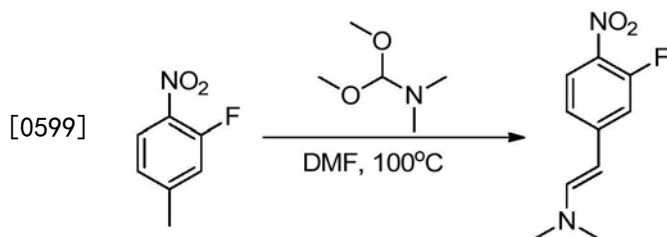
[0594] 实施例-137



[0596] N-[2-{6-[3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-甲基-脲基]-嘧啶-4-基氨基}-4-(2-二甲基氨基-乙基)-苯基]-丙烯酸TFA盐

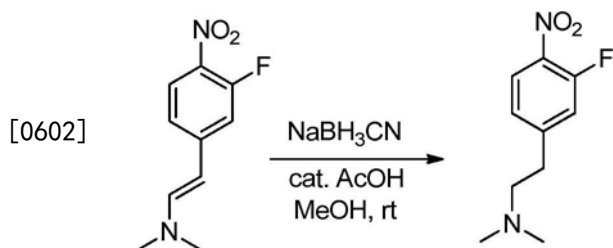
[0597] 按照程序2G中概述的方法合成化合物, 其中在步骤(d)中代用5-(2-二甲基氨基-乙基)-2-硝基-苯胺 (通过以下概述的方法制备), 以得到作为TFA盐的标题化合物 (39mg, 收率: 29%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11.86 (s, 1H), 9.76-9.70 (m, 2H), 9.02 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.86 (d, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.12 (d, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.57-6.48 (m, 2H), 6.24 (d, 1H), 5.74 (d, 1H), 3.94 (s, 6H), 3.35-3.28 (m, 5H), 2.98-2.92 (m, 2H), 2.79 (s, 6H); MS (ESI): 588 [M+H]⁺。

[0598] 5-(2-二甲基氨基-乙基)-2-硝基-苯胺的制备



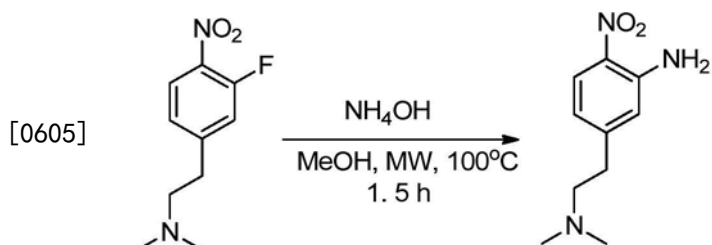
[0600] a. [2-(3-氟-4-硝基-苯基)-乙烯基]-二甲基-胺

[0601] 将2-氟-4-硝基-1-硝基-苯 (3g, 19.3mmol)、N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛 (10mL) 和3mL DMF的混合物 (30mL) 在125℃下加热1小时。将混合物冷却并且在减压下浓缩以得到紫色固体。用己烷研磨得到纯的标题产物 (2.5g, 收率:63%)。MS (ESI): 211 [M+H]⁺。



[0603] b. [2-(3-氟-4-硝基-苯基)-乙基]-二甲基-胺

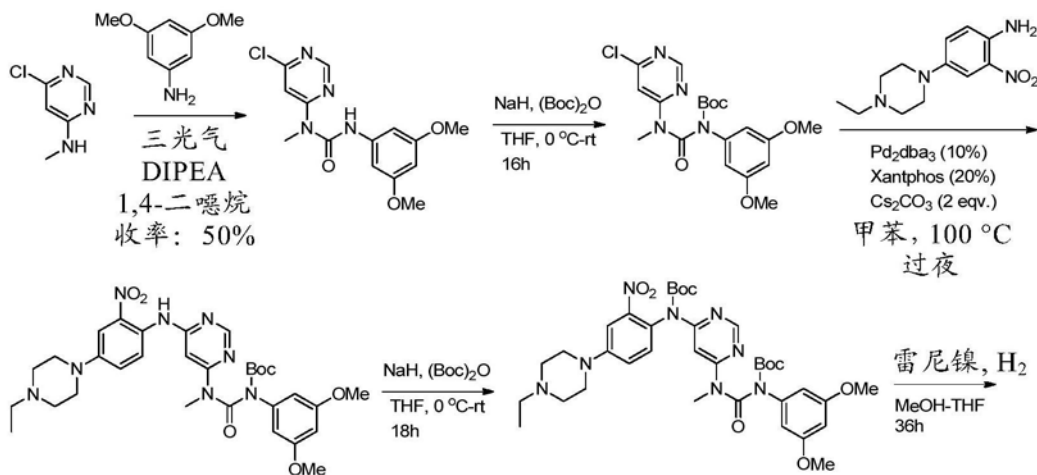
[0604] 向[2-(3-氟-4-硝基-苯基)-乙烯基]-二甲基-胺 (1.7g, 8mmol) 在MeOH中的溶液添加NaBH₃CN (770mg, 12mmol) 和一滴AcOH。将反应混合物在室温下搅拌2小时并且用水淬灭。在真空中去除所有挥发物之后,用含10%甲醇的DCM对残余物萃取两次。将合并的萃取液用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。在真空中浓缩得到粗产物,将所述粗产物通过反相柱纯化以得到标题化合物 (1.08g, 收率:63%)。MS (ESI): 213 [M+H]⁺。



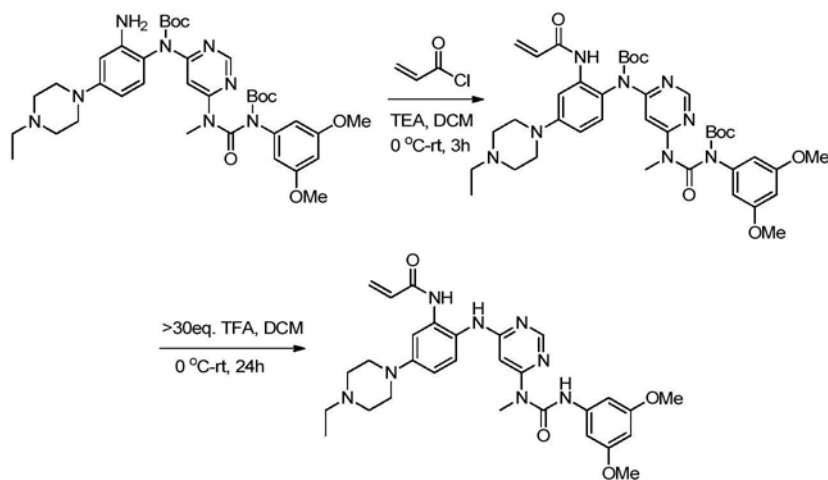
[0606] c. 5-(2-二甲基氨基-乙基)-2-硝基-苯胺

[0607] 向[2-(3-氟-4-硝基-苯基)-乙基]-二甲基-胺 (800mg, 3.76mmol) 在MeOH (20mL) 中的溶液添加氢氧化铵 (5mL)。将反应混合物在100℃下于微波加热中加热1.5小时。收集所得的黄色固体并且用水洗涤,在真空中干燥并且与先前的批次合并以得到纯的标题化合物 (560mg, 收率:55%)。MS (ESI): 210 [M+H]⁺。

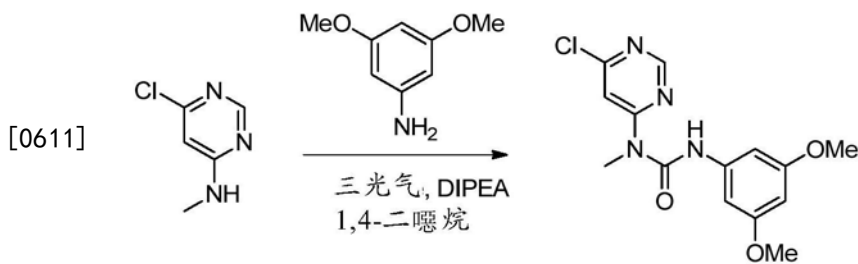
[0608] 程序2H: 实施例-139



[0609]



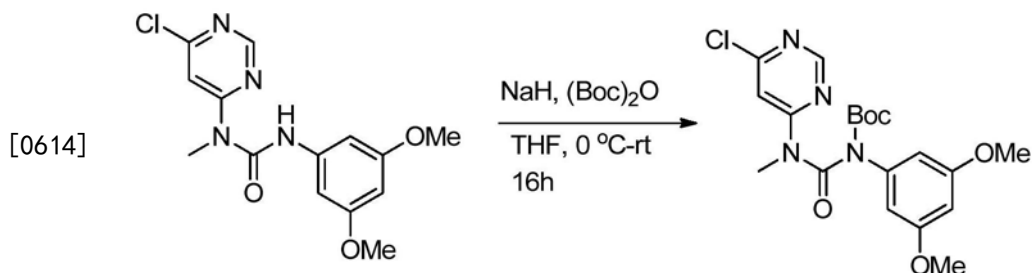
[0610] N-(2-((6-(3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺



[0612] a. 1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲

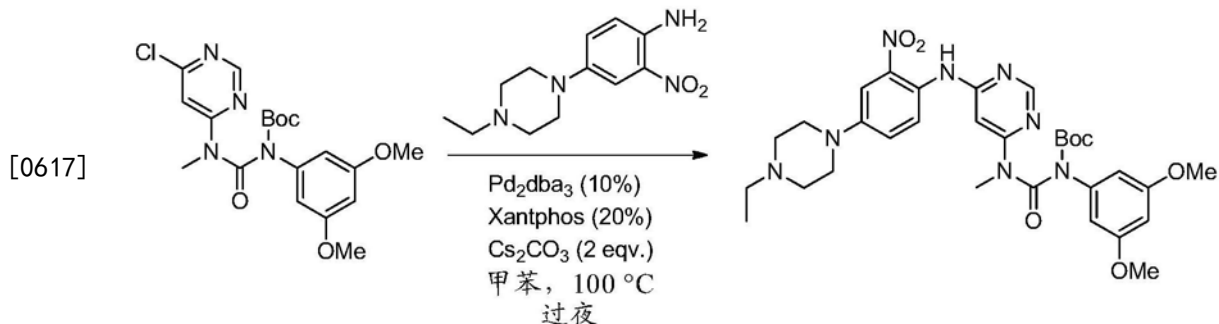
[0613] 在0℃下于氩气氛中,向6-氯-N-甲基嘧啶-4-胺(1g,6.965mmol)在二噁烷(10mL)中的搅拌溶液添加DIPEA(3.6mL,20.895mmol)和三光气(0.81g,2.786mmol)。将所得的混合物在70℃下搅拌1h,然后使得冷却至室温。在0℃下于氩气氛中,将所得的混合物通过插管添加至3,5-二甲氧基苯胺(1.2g,8.358mmol)和DIPEA(1.2mL,6.965mmol)在二噁烷(4mL)中的溶液。使反应混合物升温至室温并且搅拌12h。通过TLC(己烷:EtOAc,7:3)确定反应完成后,用乙酸乙酯和饱和NaHCO₃水溶液稀释反应混合物。分离水层并且用乙酸乙酯(2x 50mL)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱(己烷:EtOAc,70:30)纯化以得到呈白色固体状的1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲(1.1g,收率:50%)。¹HNMR(CDCl₃,300MHz):δ12.38

(s, 1H), 8.71 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.79 (d, 2H), 6.26 (t, 1H), 3.81 (s, 6H), 3.45 (s, 3H); MS (ESI): 323.10 [M+H]⁺.



[0615] b. 1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲

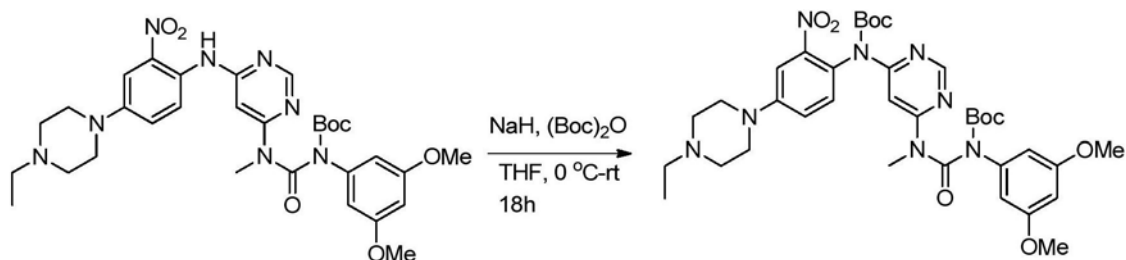
[0616] 在0℃下于氩气气氛中,将NaH(0.124g,3.098mmol)添加至1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲(0.5g,1.549mmol)在无水DMF(4mL)中的搅拌溶液。将所得的混合物搅拌15min,并且在0℃下添加二碳酸二叔丁酯(0.50mL,2.323mmol)。使所得的混合物升温至室温并且搅拌16h。用乙酸乙酯和过量的冷水稀释反应混合物。分离水层并且用乙酸乙酯(3x 25mL)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱(己烷:EtOAc,80:20)纯化以得到呈白色固体状的标题化合物(0.45g,收率为69%)。¹HNMR(CDCl₃,300MHz):δ8.72(d,1H),8.78(d,1H),6.43-6.37(m,3H),3.77(s,6H),3.49(s,3H),1.40(s,9H);MS(ESI):424.10[M+2]⁺。



[0618] c. 1-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(6-((4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)氨基)嘧啶-4-基)-3-甲基-1-碳酸叔丁酯脲

[0619] 在室温下于氩气气氛中,将Pd₂(dba)₃(0.095g,0.104mmol)和Xantphos(0.1202g,0.208mmol)加入到密封管中的10mL无水甲苯中。氩气吹扫再持续5-10min。然后添加1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-二甲基-3-碳酸叔丁酯脲(0.43g,1.042mmol)和4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺(程序2C,步骤a-c;0.317g,1.25mmol),并且用氩气对所得的反应混合物吹扫5min,然后添加Cs₂CO₃(0.676g,2.08mmol)。在密封反应小瓶之前,氩气吹扫再持续5min。然后将反应混合物在100℃加热12h。通过TLC(DCM:MeOH,98:2)确定反应完成之后,将反应物质分配于EtOAc与水之间。用EtOAc(2x 25mL)萃取水层,并且将合并的有机层用水、盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并且在真空下蒸发。将粗制残余物通过柱色谱在硅胶(DCM:MeOH/97:3)上纯化以得到标题化合物(0.250g,收率为37%)。¹HNMR(CDCl₃,300MHz):δ9.30(s,1H),8.58(s,1H),8.17(d,1H),7.59(d,1H),7.14(s,1H),7.08(dd,1H),6.42(d,2H),6.36(t,1H),3.75(s,6H),3.49(s,3H),3.23(t,4H),2.62(t,4H),2.49(q,2H),1.39(s,9H),1.14(t,3H);MS(ESI):637.4[M+H]⁺。

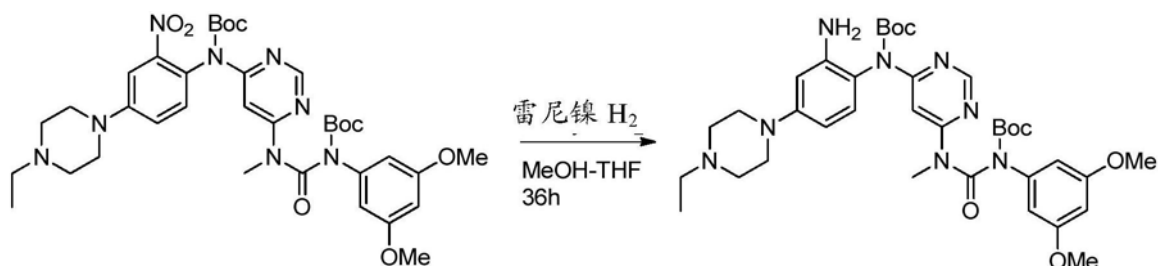
[0620]



[0621] d. (6-(3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)(4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯

[0622] 在0℃下于氩气气氛中,将NaH(0.0314g,0.786mmol)添加至1-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(6-((4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)氨基)嘧啶-4-基)-3-甲基-1-碳酸叔丁酯脲(0.25g,0.393mmol)在无水DMF(4mL)中的搅拌溶液。将所得的混合物搅拌15min。然后在0℃下添加二碳酸二叔丁酯(0.12mL,0.589mmol)。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌18h。用乙酸乙酯和冷水稀释反应混合物。分离水层并且用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱(DCM:MeOH,97:3)纯化以得到呈棕色固体状的标题化合物(0.280g,收率为96%)。¹HNMR(CDCl₃,300MHz):δ8.44(s,1H),8.30(s,1H),7.60(d,1H),7.14-7.03(m,2H),6.48(d,1H),6.44-6.21(m,2H),3.75(s,6H),3.49(s,3H),3.49(t,4H),2.62(t,4H),2.49(q,2H),1.38(d,18H),1.14(t,3H);MS(ESI):737.5[M+H]⁺。

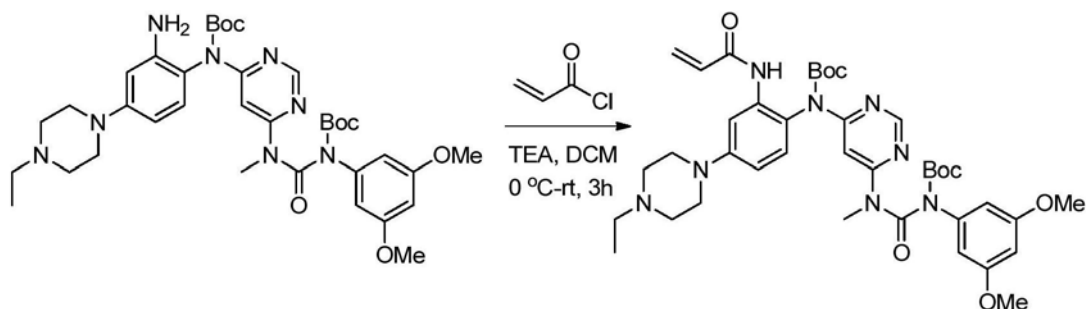
[0623]



[0624] e. (2-氨基-4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)(6-(3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

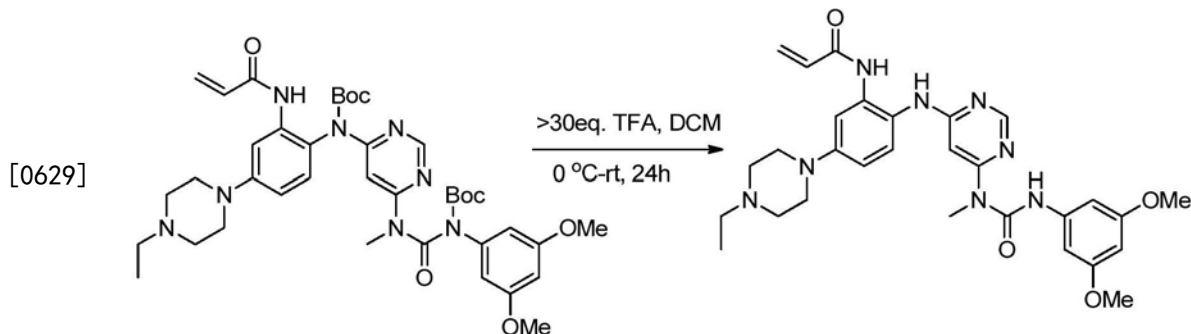
[0625] 将(6-(3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)(4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯(0.280g,0.380mmol)和雷尼镍(Raney nickel)(0.05g)在MeOH和THF(1:1)的混合物(10mL)中的混合物在室温下于氢气气氛(气球)中搅拌36h。通过硅藻土衬垫过滤反应混合物。浓缩滤液以得到标题化合物(0.14g,收率为52%)。MS(ESI):707.7[M+H]⁺。

[0626]



[0627] f. (2-丙烯酰氨基-4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基) (6-(3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

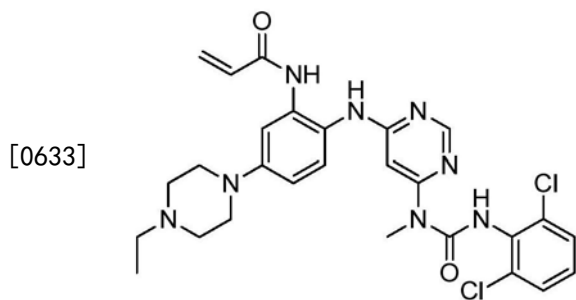
[0628] 在0℃下于氩气气氛中,向(2-氨基-4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基) (6-(3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.14g,0.183mmol)在无水DCM(5mL)中的搅拌溶液添加TEA(0.08mL,0.594mmol)。将所得的混合物搅拌15min,并且在0℃下缓慢添加丙烯酰氯(0.03mL,0.396mmol)。使所得的反应混合物升温至室温搅拌3h。用DCM和水稀释反应混合物。分离水层并且用DCM(3x 20mL)萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱(DCM:MeOH,97:3)纯化以得到呈棕色固体状的标题化合物(0.070g,收率为46%)。MS(ESI):761.4[M+H]⁺。



[0630] g. N-(2-((6-(3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺

[0631] 在0℃下于氩气气氛中,将TFA(0.35mL,5vol)缓慢添加至(2-丙烯酰氨基-4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基) (6-(3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.070g,0.124mmol)在无水DCM(2mL)中的搅拌溶液中。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌24h。通过LCMS监控反应进程,在反应完成之后,在减压下去除过量的溶剂。用DCM和饱和NaHCO₃水溶液稀释所得的残余物。分离水层并且用DCM(3x 10mL)萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱(DCM/MeOH,97:3)纯化以得到HPLC纯度为80%的45mg所需产物,将所述产物通过制备型HPLC(条件:柱:XBRIDGE-C18(19.0x 150mm,5微米);(流动相:A;0.1%TFA水溶液,B;ACN))纯化以得到呈灰白色固体状的标题化合物(19mg,收率为37%)。¹HNMR(CDCl₃,300MHz):δ 12.85(s,1H),8.39(s,1H),7.72(s,1H),7.55(s,1H),7.19(d,1H),6.79(s,2H),6.75(d,1H),6.64(s,1H),6.39(d,1H),6.22-6.13(m,2H),5.80-5.73(m,2H),3.78(s,6H),3.28(t,4H),3.21(s,3H),2.60(t,4H),2.47(q,2H),1.12(t,3H);MS(ESI):561.60[M+H]⁺;HPLC:96.04%,rt:6.40min。

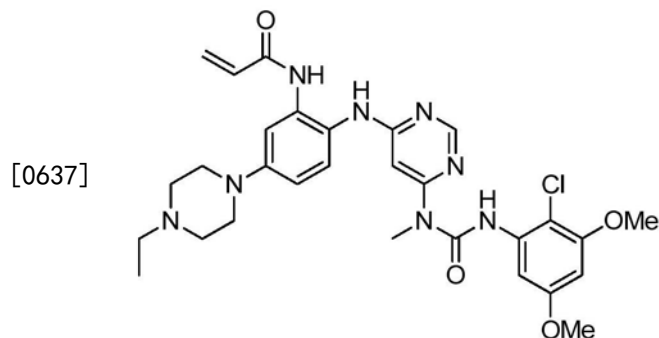
[0632] 实施例-140



[0634] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺

[0635] 按照程序2H(实施例139)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(a)中代用2,6-二氯苯胺并且在步骤(b)中代用(2-(氯甲氧基)乙基)三甲基硅烷,以得到呈灰白色固体状的标题化合物(18mg,收率为3.2%)。¹HNMR(CDCl₃,300MHz): δ 12.58(s,1H),8.39(s,1H),7.75(s,1H),7.61(s,1H),7.37(d,2H),7.22(d,1H),7.14(t,1H),6.77(dd,1H),6.67(s,1H),6.42(d,1H),6.25-6.16(m,1H),5.85(s,1H),5.78(d,1H),3.35-3.24(m,7H),2.62(t,4H),2.49(q,2H),1.14(t,3H);MS(ESI):569.10[M]⁺;HPLC:96.98%,rt:3.49min。

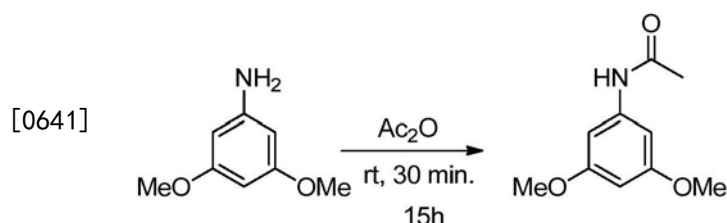
[0636] 实施例-141



[0638] N-(2-((6-(3-(2-氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺

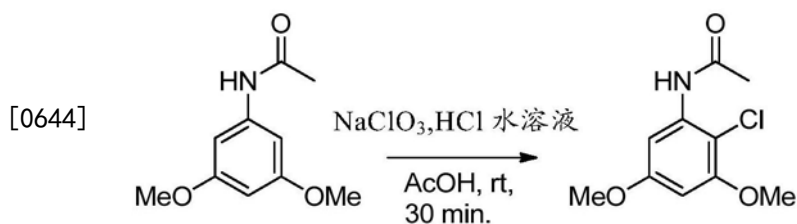
[0639] 按照程序2H(实施例139)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(a)中代用2-氯-3,5-二甲氧基苯胺(程序示于下文),以得到呈灰白色固体状的标题化合物(20mg,收率为6.8%)。¹H-NMR(CDCl₃,400MHz): δ 13.46(s,1H),8.43(s,1H),7.79-7.71(m,2H),7.56(s,1H),7.18(d,1H),6.74(dd,1H),6.61(s,1H),6.38(d,1H),6.26(d,1H),6.21-6.15(m,1H),5.79-5.74(m,2H),3.86(s,3H),3.81(s,3H),3.28(t,4H),3.23(s,3H),2.59(t,4H),2.47(q,2H),1.12(t,3H);MS(ESI):595.15[M]⁺;HPLC:98.14%,rt:3.49min。

[0640] 2-氯-3,5-二甲氧基苯胺的制备



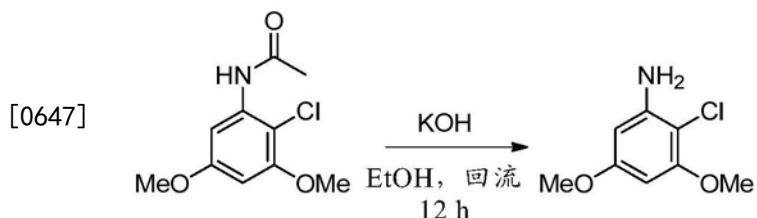
[0642] a.N-(3,5-二甲氧基苯基)乙酰胺

[0643] 在室温下于氩气气氛中,将乙酸酐(6.5mL)缓慢添加至3,5-二甲氧基苯胺(10g,65.359mmol)在甲苯(50mL)中的搅拌溶液,并且将所得的反应混合物搅拌15小时。在反应完成之后,用己烷稀释反应物并且通过过滤收集所得的沉淀,在真空下干燥以得到呈灰白色固体状的标题化合物(12.5g,收率为98%)。¹HNMR(CDCl₃,300MHz): δ 7.38(s,1H),6.75(d,2H),6.23(s,1H),3.76(s,6H),2.15(s,3H);MS(ESI):196.1[M+H]⁺。



[0645] b. N-(2-氯-3,5-二甲氧基苯基)乙酰胺

[0646] 在 0°C 下,向N-(3,5-二甲氧基-苯基)-乙酰胺(5g, 25.64mmol)在乙酸(17mL)中的搅拌溶液添加32%盐酸水溶液(14mL),随后添加氯酸钠(1.16g, 11mmol)在水(1.5mL)中的溶液。将所得的反应混合物在 0°C 下搅拌30min。此后,将反应混合物倾入冰水中,并且用 K_2CO_3 粉末使其呈碱性。将沉淀物滤出并且用水洗涤。将残余物通过硅胶柱色谱(己烷: EtOAc , 88:12)纯化以得到呈白色固体状的标题化合物(1.8g, 收率为31%)。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz): δ 9.36 (s, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.53 (d, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 2.08 (s, 3H); MS (ESI): 230.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

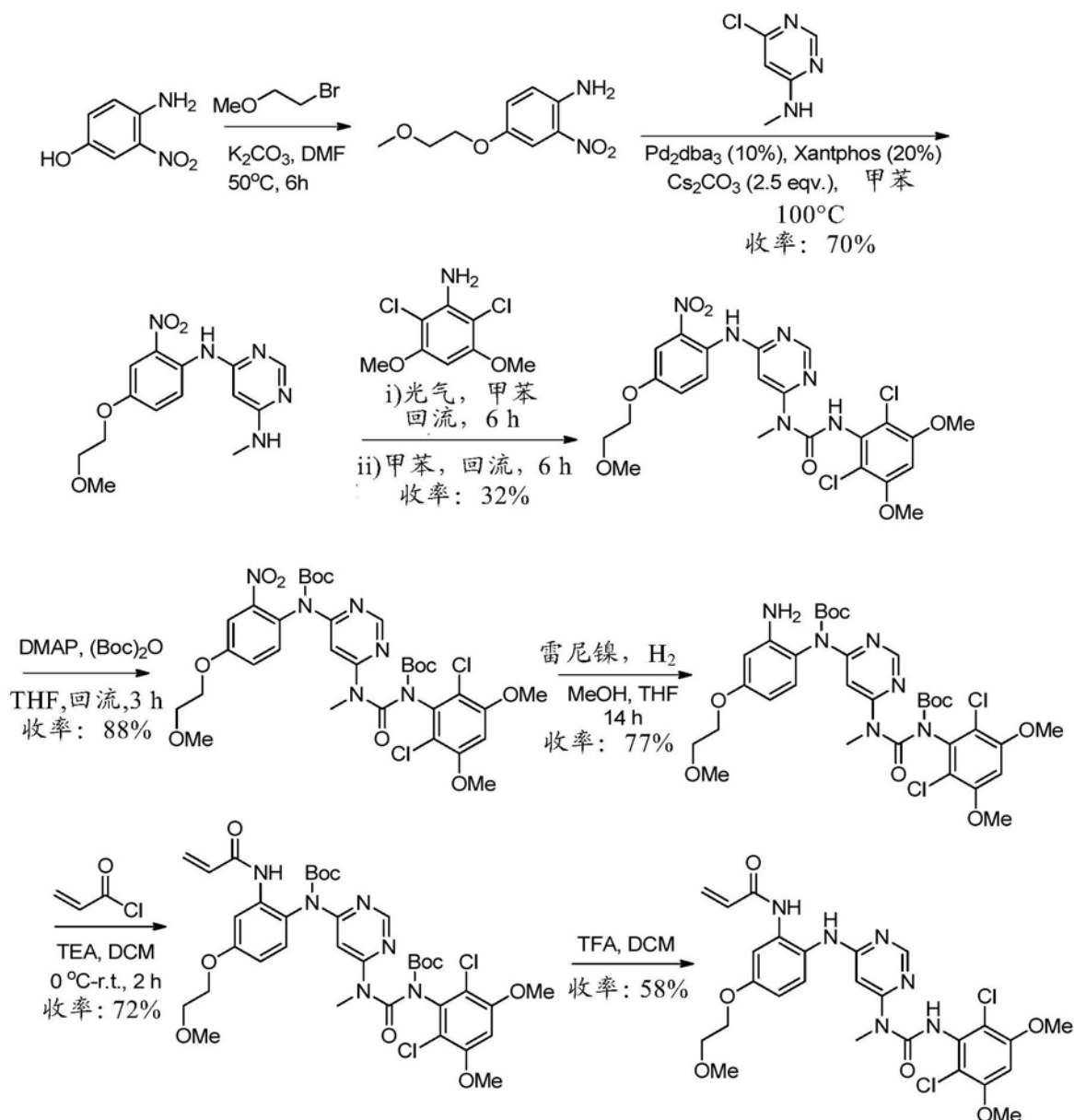


[0648] c. 2-氯-3,5-二甲氧基苯胺

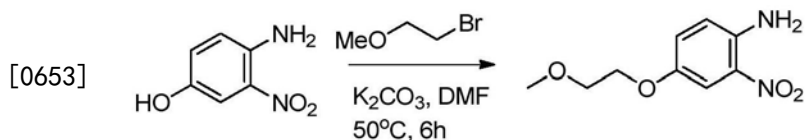
[0649] 将氢氧化钾(2.19g, 39.18mmol)添加至N-(2-氯-3,5-二甲氧基苯基)乙酰胺(1.8g, 7.837mmol)在 EtOH (100mL)和水(10mL)中的溶液,并且将反应混合物加热回流12h。在减压下去除过量的 EtOH 以获得残余物。然后将残余物分配于水与乙醚之间。将有机层分离,经硫酸钠干燥,过滤并且在真空中浓缩以得到呈白色固体状的标题化合物(1.2g, 收率为82%)。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 5.97 (s, 2H), 4.08 (brs, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.75 (s, 3H); MS (ESI): 188.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0650] 程序2I: 实施例-142

[0651]

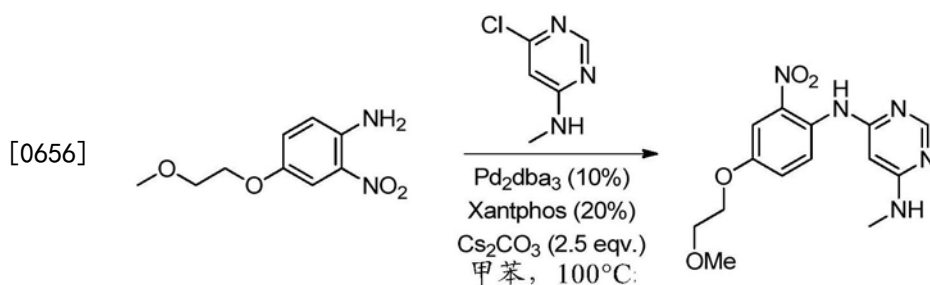


[0652] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(2-甲氧基乙氧基)苯基)丙烯酰胺



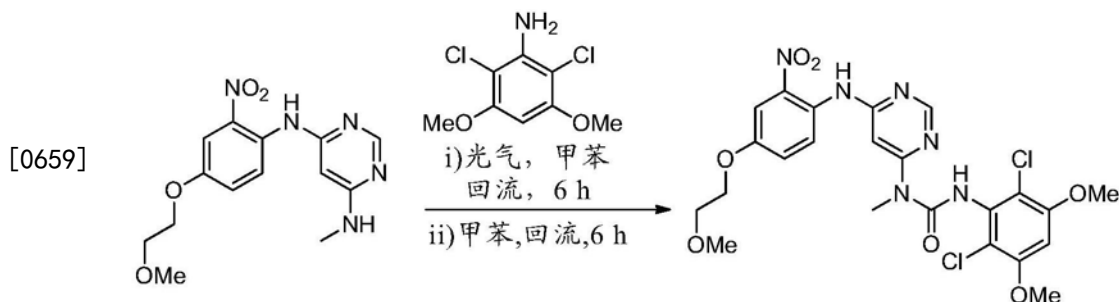
[0654] a. 4-(2-甲氧基乙氧基)-2-硝基苯胺

[0655] 在0℃下于氮气气氛中,将粉末状的无水碳酸钾(3.58g,0.025mol)添加至4-氨基-3-硝基苯酚(2g,0.012mol)在DMF(20mL)中的溶液。将1-溴-2-甲氧基乙烷(1.34mL,0.014mol)逐滴添加至该溶液中,并且将所得的反应混合物回流过夜。然后,通过硅藻土过滤反应混合物。浓缩滤液并且用乙酸乙酯和水稀释。分离水层并且用乙酸乙酯(3x30mL)萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以获得呈固体状的标题化合物(0.6g,收率:24%)。MS(ESI):213.15[M+H]⁺。



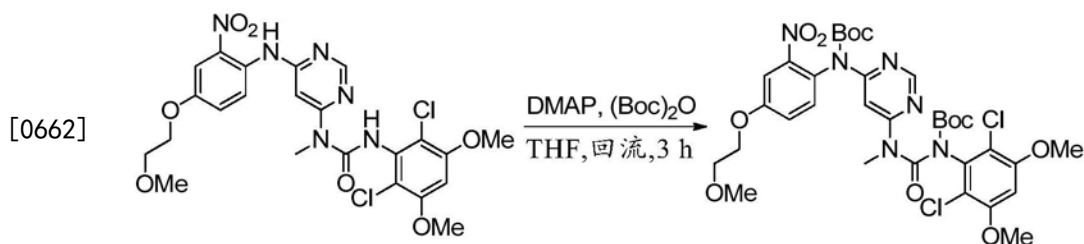
[0657] b. N⁴-(4-(2-甲氧基乙氧基)-2-硝基苯基)-N⁶-甲基嘧啶-4,6-二胺

[0658] 在室温下于氩气气氛中,将4-(2-甲氧基乙氧基)-2-硝基苯胺(0.6g,2.830mmol)和6-氯-N-甲基嘧啶-4-胺(0.404g,2.830mmol)加入密封管中的10mL无水甲苯中。氩气吹扫再持续5-10min。然后,添加Cs₂CO₃(2.3g,7.075mmol,2.5eq)和Xantphos(0.490g,0.849mmol),将所得的反应混合物用氩气吹扫5min,随后添加Pd₂(dba)₃(0.518g,0.566mmol)。在密封反应小瓶之前,氩气吹扫再持续5min。然后将反应混合物在100°C下加热7h。通过TLC(DCM:MeOH,98:2)确定反应完成之后,通过硅藻土过滤反应物质,并且在真空下蒸发滤液以得到粗制残余物。将粗制残余物通过柱色谱在硅胶上纯化以得到标题化合物(0.93g,收率:70%);MS(ESI):320.3[M+H]⁺。



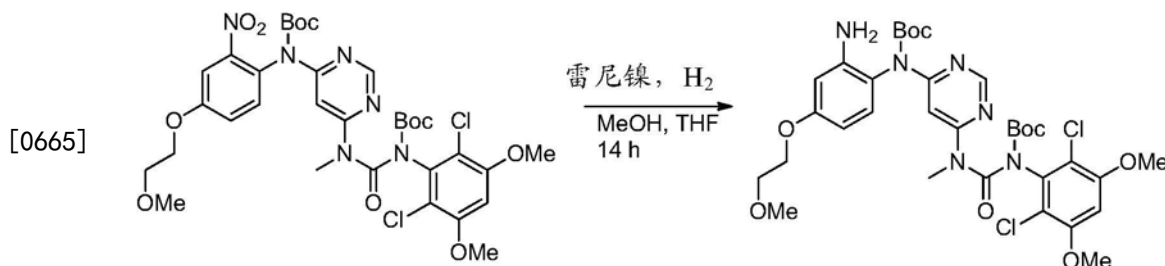
[0660] c. 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-(6-((4-(2-甲氧基乙氧基)-2-硝基苯基)氨基)嘧啶-4-基)-1-甲基脒

[0661] 在0°C下于氩气气氛中,向2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯胺(500mg,2.252mmol)在二噁烷(10mL)中的搅拌溶液添加含20%光气的甲苯(4.4mL,9.0mmol)。将所得的混合物在90°C下搅拌6h,然后使得冷却至室温。去除溶剂并且将残余物溶于甲苯(10mL)中。将N⁴-(4-(2-甲氧基乙氧基)-2-硝基苯基)-N⁶-甲基嘧啶-4,6-二胺(0.718g,8.358mmol,1.0eq)添加至该溶液中。然后将所得的反应混合物回流6h。通过TLC(己烷:EtOAc,7:3)确定反应完成之后,将反应混合物冷却至室温,在真空下浓缩以获得粗制反应混合物。将乙酸乙酯添加至粗制反应混合物时沉淀的固体过滤,用乙醚和戊烷洗涤以得到呈白色固体状的标题化合物(0.285,收率:32%)。MS(ESI):567.0[M+H]⁺。



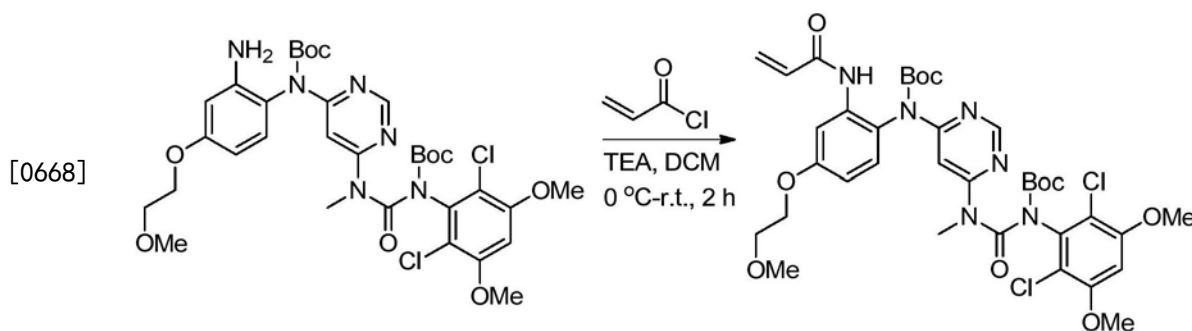
[0663] d. (6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脒基)嘧啶-4-基)(4-(2-甲氧基乙氧基)-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯

[0664] 在0℃下于氩气气氛中,将DMAP (0.025g, 0.2mmol) 和二碳酸二叔丁酯 (0.438g, 2.009mmol) 添加至3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-(6-((4-(2-甲氧基乙氧基)-2-硝基苯基)氨基)嘧啶-4-基)-1-甲基脲 (0.285g, 0.502mmol) 在无水THF (10mL) 中的搅拌溶液中。将所得的混合物回流3-4h。通过TLC (己烷:EtOAc, 1:1) 确定反应完成之后,将反应混合物冷却至室温,在真空下浓缩以获得粗制残余物。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈灰白色固体状的标题化合物 (0.35g, 收率:88%)。MS (ESI): 767.1 [M+H]⁺。



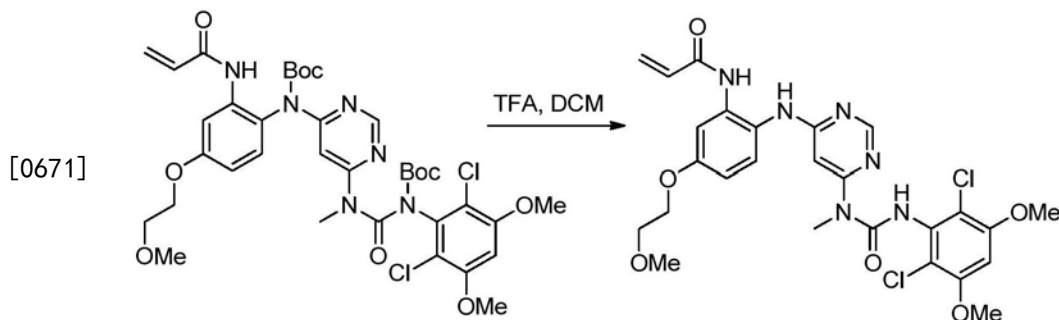
[0666] e. (2-氨基-4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

[0667] 将雷尼镍 (0.05g) 添加至 (6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)(4-(2-甲氧基乙氧基)-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯 (0.350g, 0.456mmol) 在THF和MeOH的混合物 (10mL) 中的溶液中,并且将所得的反应混合物在室温下于氢气气氛 (气球) 中搅拌14h。通过硅藻土衬垫过滤反应混合物。浓缩滤液以得到粗制残余物。将残余物通过硅胶柱色谱 (MeOH:DCM, 5:95) 纯化以得到呈固体状的标题化合物 (0.26g, 收率77%)。MS (ESI): 737.2 [M+H]⁺。



[0669] f. (2-丙烯酰氨基-4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

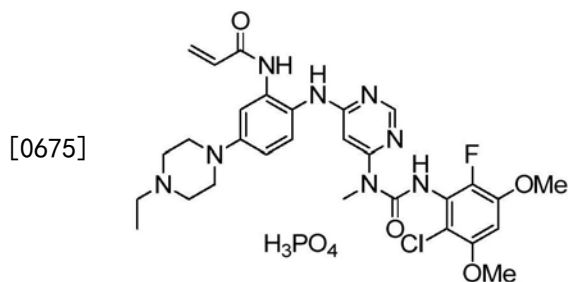
[0670] 在0℃下于氩气气氛中,向 (2-氨基-4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯 (0.26g, 0.352mmol) 在无水DCM (6mL) 中的搅拌溶液添加TEA (0.09mL, 0.704mmol)。将所得的混合物搅拌15min,并且在0℃下缓慢添加丙烯酰氯 (0.04mL, 0.528mmol)。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌2h。用DCM和水稀释反应混合物。分离水层并且用DCM (3x 30mL) 萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈固体状的标题化合物 (0.200g, 收率:72%)。MS (ESI): 791.2 [M+H]⁺。



[0672] g.N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(2-甲氧基乙氧基)苯基)丙烯酰胺

[0673] 在0℃下于氩气气氛中,将TFA(0.38mL,5.05mmol)缓慢添加至(2-丙烯酰氨基-4-(2-甲氧基乙氧基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.2g,0.252mmol)在无水DCM(2mL)中的溶液。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌12h。通过LCMS监控反应进程。在反应完成之后,在减压下去除过量的溶剂。用乙醚洗涤粗固体以得到呈白色固体状的标题化合物(86mg,收率:58%)。¹HNMR(DMSO-d₆,400MHz): δ 12.01(s,1H),9.60(s,1H),8.85(s,1H),8.33(s,1H);7.42(s,1H),7.34(d,1H),6.89(s,1H),6.79(d,1H),6.51(dd,1H),6.23(d,2H),5.72(d,1H),4.08(m,2H),3.93(s,6H),3.66(m,2H),3.31(s,3H),3.23(s,3H)。MS(ESI):591.3[M+H]⁺;HPLC:96.04%,rt:3.72min。

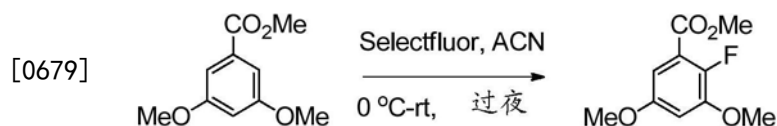
[0674] 实施例:144



[0676] N-(2-((6-(3-(2-氯-6-氟-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺

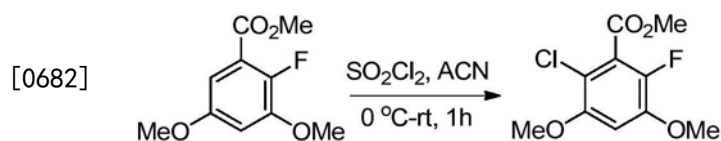
[0677] 按照程序2I(实施例142)中概述的方法合成标题化合物,其中在步骤(c)中代用N⁴-(4-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)-N⁶-甲基嘧啶-4,6-二胺(程序2C,实施例108,步骤a-d)和2-氯-6-氟-3,5-二甲氧基苯胺(程序示于下文)以得到呈灰白色固体状的次末级的(pen-ultimate)标题化合物(0.46mg,收率:2.6%,经五个步骤)。MS(ESI):813.1[M+H]⁺。将游离胺(46mg,0.075mmol)溶于乙酸乙酯:DCM:MeOH的混合物中,并且用磷酸(7mg,0.075mmol)处理。在搅拌1h之后,过滤沉淀的固体并且用乙醚和戊烷洗涤,以得到呈灰白色固体状的标题化合物(34.7mg,收率:65%)。¹HNMR(DMSO-d₆,300MHz): δ 12.15(s,1H),9.60(s,1H),8.76(s,1H),8.32(s,1H),7.29(d,2H),6.9(d,2H),6.81(dd,1H),6.51-6.45(m,1H),6.25-6.20(m,2H),5.72(d,1H),3.91(s,3H),3.89(s,3H),3.23(t,4H),3.14(t,4H),2.54-2.50(m,5H),1.05(t,3H);MS(ESI):613.2[M-H₃PO₄]⁺;HPLC:98.6%,rt:6.13min。

[0678] 2-氯-6-氟-3,5-二甲氧基苯胺的制备



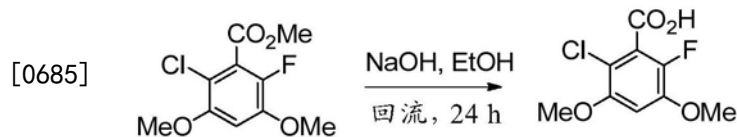
[0680] a. 2-氟-3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯

[0681] 在0℃下于氮气气氛中,将Selectfluor (48.9g, 0.15mol) 在乙腈 (1.1L) 中的悬浮液添加至甲基-3,5-二甲氧基苯甲酸酯 (20g, 0.10mol) 在乙腈中的溶液。将所得的反应混合物升温至室温并且搅拌过夜。在真空下浓缩反应混合物,用饱和碳酸钠溶液和乙酸乙酯稀释。分离水层并且用乙酸乙酯 (3x 200mL) 萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱 (梯度为己烷/乙醚:30:1至4:1) 纯化以得到标题化合物 (4g, 收率:16.9%)。



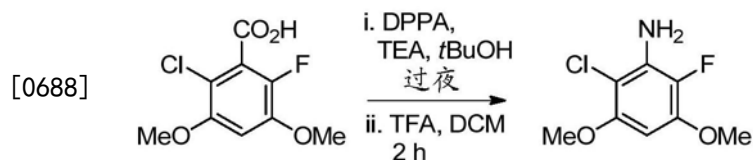
[0683] b. 2-氯-6-氟-3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯

[0684] 在0℃下于氮气气氛中,将SO₂Cl₂ (2.20g, 0.016mol) 逐滴添加至甲基-2-氟-3,5-二甲氧基苯甲酸酯 (3.5g, 0.016mol) 在乙腈 (40mL) 中的溶液。将所得的反应混合物缓慢升温至室温并且搅拌1h。用饱和碳酸氢钠溶液淬灭反应混合物,并且用乙酸乙酯 (3x 30mL) 萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱使用洗脱液 (梯度为己烷/乙醚 (20:1) 至己烷/乙醚 (5:1)) 进行纯化以得到呈固体状的标题化合物 (2.7g, 收率:67%)。



[0686] c. 2-氯-6-氟-3,5-二甲氧基苯甲酸

[0687] 将2-氯-6-氟-3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯 (2.7g, 0.010mol) 和氢氧化钠 (1.088g, 0.0272mol) 在无水乙醇 (30mL) 中的悬浮液回流24h。将所得的反应混合物冷却至室温并且在真空下浓缩以得到粗制残余物。将粗制残余物溶于水中并且用乙醚 (3x 30mL) 萃取。用浓HCl酸化水层,并且过滤沉淀的固体,用冷水洗涤并且在真空中干燥以得到呈固体状的标题化合物 (1.8g, 收率:71%)。



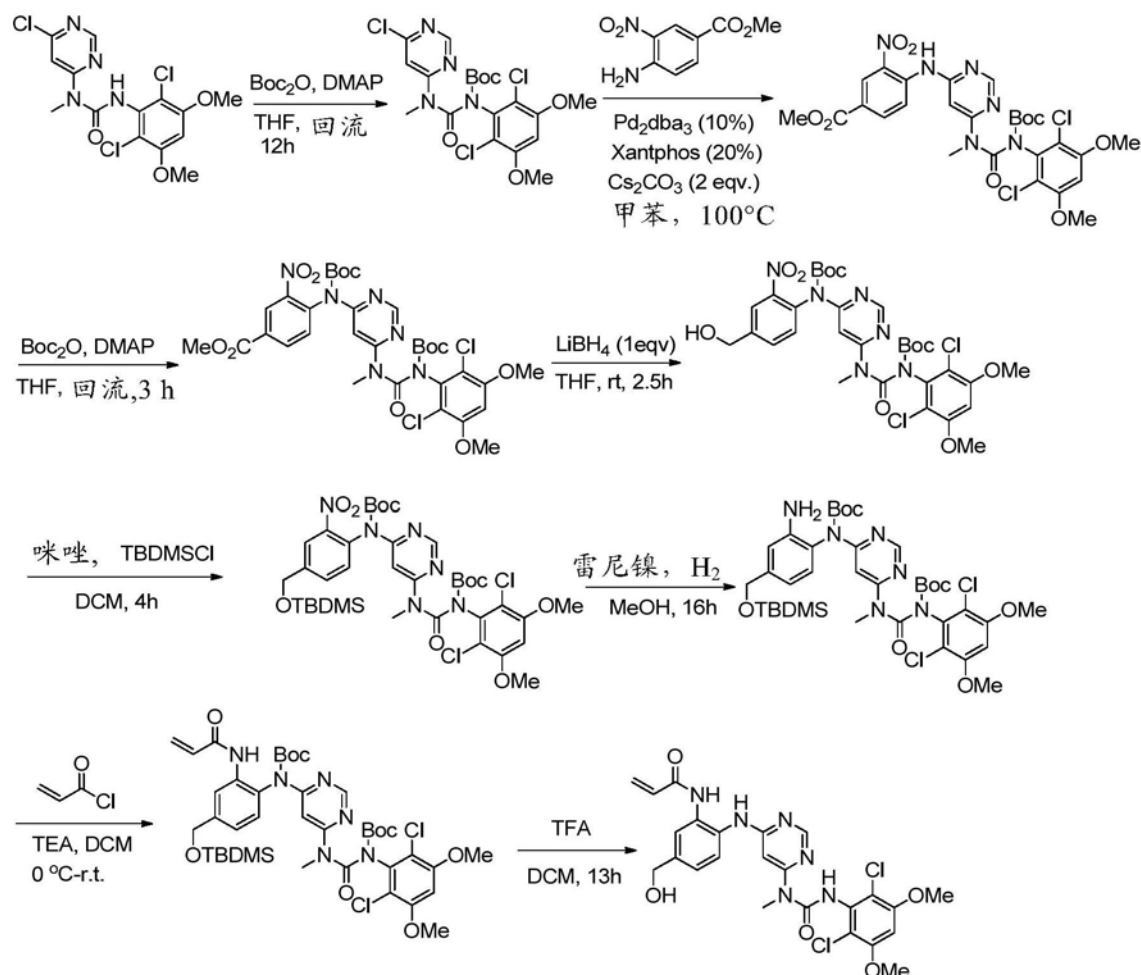
[0689] d. 2-氯-6-氟-3,5-二甲氧基苯胺

[0690] 将2-氯-6-氟-3,5-二甲氧基苯甲酸 (1.8g, 0.0077mol) 和三乙胺 (0.934g, 0.0092mol) 在叔-BuOH (50mL) 中的悬浮液搅拌5min。向所得的反应混合物中添加二苯基磷酰基叠氮化物 (2.53g, 0.0092mol), 加热至82℃以及保持在该温度过夜。然后将反应混合物在真空下浓缩以获得粗制残余物。将粗制残余物溶于二氯甲烷 (20mL) 中并且冷却至0℃。将TFA (4mL) 添加至反应混合物,然后将所得的反应混合物在室温下搅拌2h。在真空下去除溶

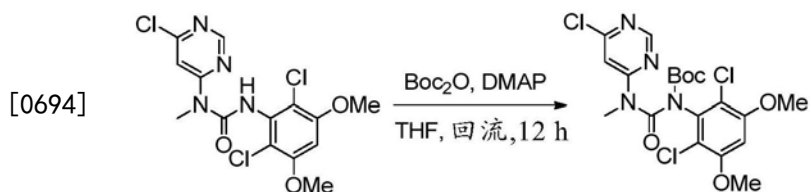
剂并且用乙酸乙酯和饱和碳酸钠溶液稀释粗制残余物。分离水层并且用乙酸乙酯 (3x 30mL) 萃取。将有机相用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并且浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱使用洗脱液 (梯度为已烷/已烷-乙醚 (65:35)) 进行纯化以得到呈固体状的标题化合物 (0.95g, 收率: 60%)。MS (ESI): 205.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0691] 程序2J: 实施例145

[0692]



[0693] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(羟甲基)苯基)丙烯酰胺



[0695] a. 1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脒

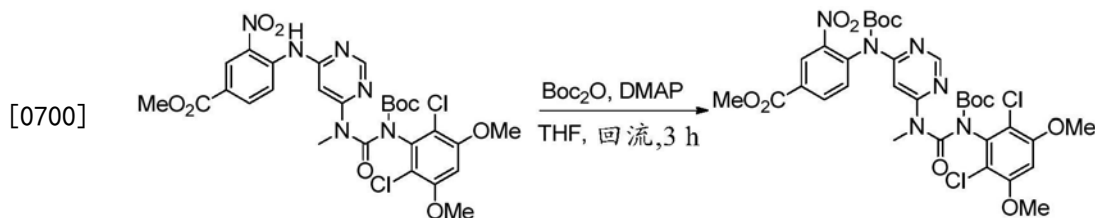
[0696] 在 0°C 下于氩气氛中, 将DMAP (0.080g, 0.655mmol) 和二碳酸二叔丁酯 (2.9mL, 12.6mmol) 添加至1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒 (程序2E, 步骤b; 2.6g, 6.632mmol) 在无水THF (20mL) 中的搅拌溶液中。然后将所得的混合物回流2h。通过TLC (EtOAc: 己烷, 3:7) 确定反应完成之后, 将反应混合物冷却至室温, 在真空下浓

缩以获得粗制残余物。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈固体状的标题化合物 (2.5g, 收率: 69.4%)。¹H-NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 8.73 (d, 1H), 7.95 (d, 1H), 6.61 (s, 1H), 3.95 (s, 6H), 3.63 (s, 3H), 1.35 (s, 9H)。



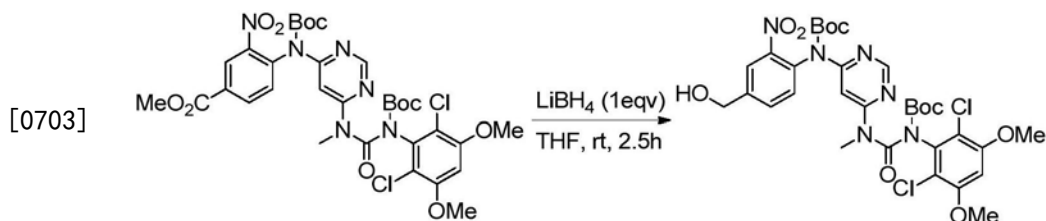
[0698] b. 4-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯甲酸甲酯

[0699] 在室温下, 将4-氨基-3-硝基苯甲酸甲酯 (0.956g, 0.004mol) 和1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲 (2g, 0.004mol) 加入密封管中的10mL无水甲苯中, 并且用氩气吹扫5-10min。然后, 添加Cs₂CO₃ (3.25g, 0.01mmol) 和Xantphos (0.46g, 0.0008mol), 并且将所得的反应混合物用氩气吹扫5min, 随后添加Pd₂(dba)₃ (0.36g, 0.0004mol)。在密封反应小瓶之前, 氩气吹扫再持续5min。然后将反应混合物在100 °C下加热12h。通过TLC确定反应完成之后, 通过硅藻土过滤反应物质, 并且在真空下蒸发滤液以得到粗制残余物。将粗制残余物通过柱色谱在硅胶上纯化以得到标题化合物 (2.10g, 收率: 79%); ¹H-NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 10.3 (s, 1H), 9.00-8.95 (m, 2H), 8.75 (s, 1H), 8.22 (dd, 1H), 7.63 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 3.95 (s, 6H), 3.94 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 1.39 (s, 9H)。



[0701] c. 4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-叔丁基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯甲酸甲酯

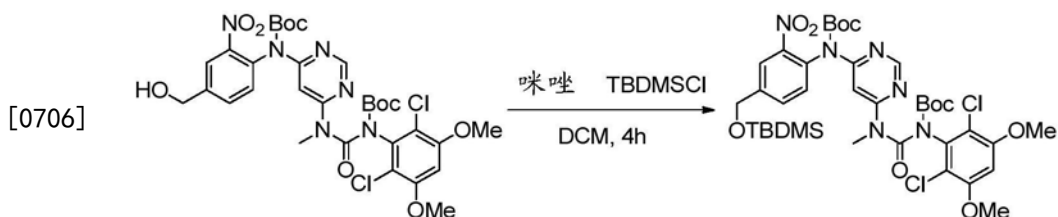
[0702] 在0 °C下于氩气气氛中, 将DMAP (0.039g, 0.322mmol) 和二碳酸二叔丁酯 (1.48mL, 6.45mmol) 添加至4-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯甲酸甲酯 (2.1g, 3.22mmol) 在无水THF (5mL) 中的搅拌溶液中。将所得的混合物回流12h。通过TLC (EtOAc:己烷40:60) 确定反应完成之后, 将反应混合物冷却至室温, 在真空下浓缩以获得粗制残余物。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈固体状的标题化合物 (2.1g, 收率: 87%)。MS (ESI): 751.0 [M]⁺。



[0704] d. (6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-

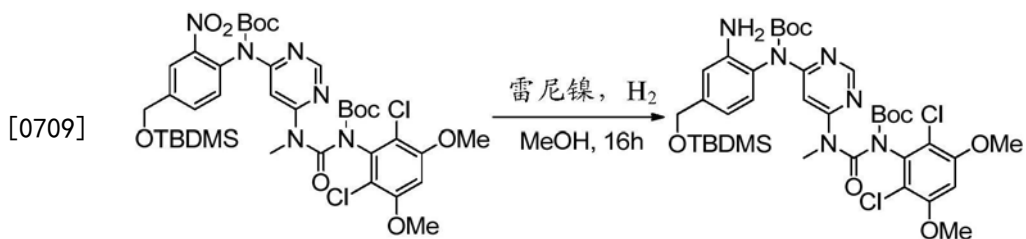
基) (4-(羟甲基)-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯

[0705] 在0℃下,于氩气气氛中,将硼氢化锂(0.049g,2.26mmol)添加至4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-叔丁基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯甲酸甲酯(1.7g,2.26mmol)在无水THF(18mL)中的溶液。然后使所得的反应混合物升温至室温持续2.5h。然后用冰水淬灭反应混合物并且用乙酸乙酯稀释。分离水层并且用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈固体状的标题化合物(0.480g,收率:29%)。MS (ESI): 723.2[M]⁺。



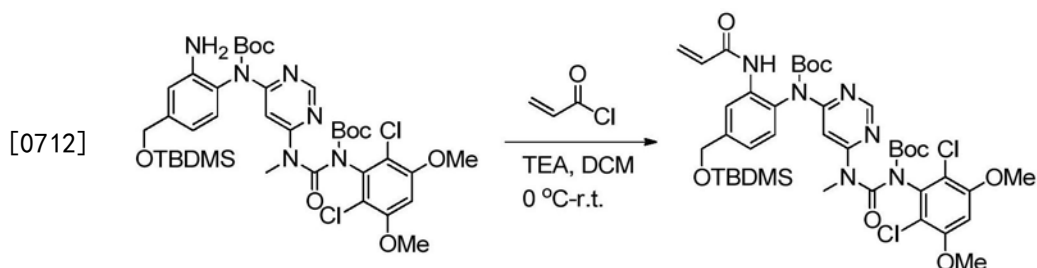
[0707] e. (4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-2-硝基苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

[0708] 在0℃下,于氩气气氛中,将咪唑(0.071g,1.051mmol)和TBDMSCl(0.118g,0.787mmol)添加至(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)(4-(羟甲基)-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯(0.380g,0.525mmol)在无水二氯甲烷(5mL)中的搅拌溶液。将所得的反应混合物在室温下搅拌4h。然后用DCM和水稀释反应混合物。分离水层并且用DCM(3x 10mL)萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈固体状的标题化合物(0.330g,收率:75%)。MS (ESI): 837.4[M]⁺。



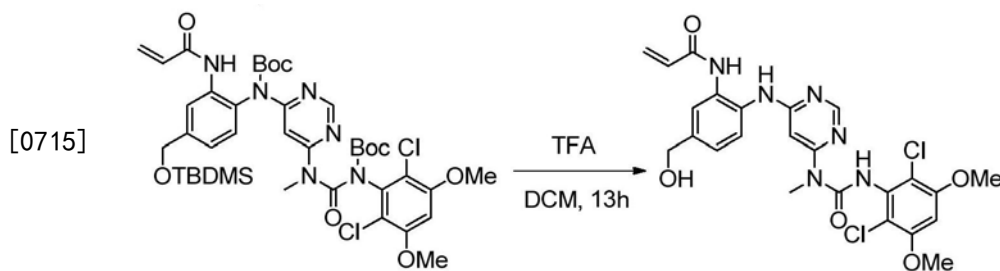
[0710] f. (2-氨基-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

[0711] 将雷尼镍(0.06g)添加至4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-2-硝基苯基(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.3g,0.358mmol)在MeOH(5mL)中的溶液,并且将所得的反应混合物在室温下于氢气气氛(气球)中搅拌12h。通过硅藻土衬垫过滤反应混合物。浓缩滤液以得到粗制残余物,然后将所述粗制残余物通过柱色谱纯化以得到呈固体状的标题化合物(0.180g,收率:64%)。MS (ESI): 807.2[M]⁺。



[0713] g. (2-丙烯酰氨基-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

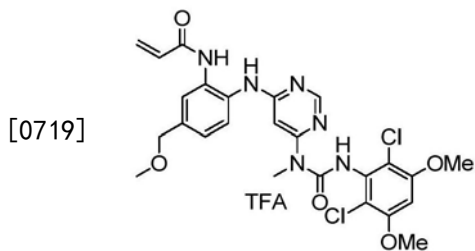
[0714] 在0℃下于氩气气氛中,向(2-氨基-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.180g,0.223mmol)在无水DCM(5mL)中的搅拌溶液添加TEA(0.08mL,0.557mmol)。将所得的混合物搅拌15min,并且在0℃下缓慢添加丙烯酰氯(0.03mL,0.334mmol)。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌4h。然后浓缩反应混合物,并且将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈固体状的所需标题化合物(0.130g,收率:68%)。MS (ESI):861.3[M]⁺。



[0716] h. N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(羟甲基)苯基)丙烯酰胺

[0717] 在0℃下,于氩气气氛中,将TFA(1.0mL)缓慢添加至(2-丙烯酰氨基-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-碳酸叔丁酯脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.130g,0.150mmol)在无水DCM(3mL)中的搅拌溶液。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌13h。通过LCMS监控反应进程,在反应完成之后,在减压下去除过量的溶剂。用DCM和饱和NaHCO₃水溶液稀释所得的残余物。分离水层并且用DCM(3x 10mL)萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到HPLC纯度为84%的95mg所需产物,然后将所述产物通过制备型HPLC(条件:柱:X bridge C18(19mm x 150mm,5μm);(流动相:A;0.01%TFA水溶液,B;ACN))纯化以得到呈白色固体状的标题化合物(16mg,收率:16%)。¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz):δ12.08(s,1H),9.70(s,1H),8.95(s,1H),8.37(s,1H),7.64(s,1H),7.49(d,1H),7.15(s,1H),6.90(s,1H),6.53-7.46(q,1H),6.32(s,1H),6.25(d,1H),5.74(d,1H),5.42(s,1H),5.35(s,1H),4.49(s,2H),3.94(s,6H),3.25(s,3H);MS(ESI):547.0[M+H]⁺;HPLC:97.4%,rt:3.83min。

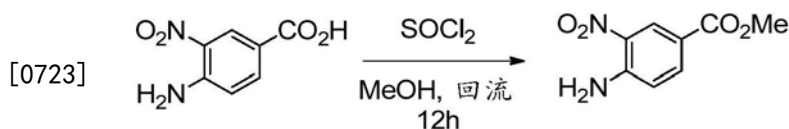
[0718] 实施例147



[0720] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基咪唑-4-基)氨基)-5-(甲氧基甲基)苯基)丙酰胺

[0721] 按照程序2I(实施例142)中概述的方法合成标题化合物,其中在步骤(c)中代用 N^4 -(4-(甲氧基甲基)-2-硝基苯基)- N^6 -甲基咪唑-4,6-二胺(程序示于下文),以得到呈灰白色固体状的标题化合物(5.0mg,收率:1.8%)。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz): δ 12.30 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.30 (d, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.46 (d, 1H), 6.26 (dd, 1H), 6.07 (s, 1H), 5.83 (d, 1H), 5.18 (s, 2H), 3.93 (s, 6H), 3.82 (s, 3H), 3.34 (s, 3H); MS (ESI): 561.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HPLC: 95.76%, rt: 4.36min。

[0722] N^4 -(4-(甲氧基甲基)-2-硝基苯基)- N^6 -甲基咪唑-4,6-二胺的制备



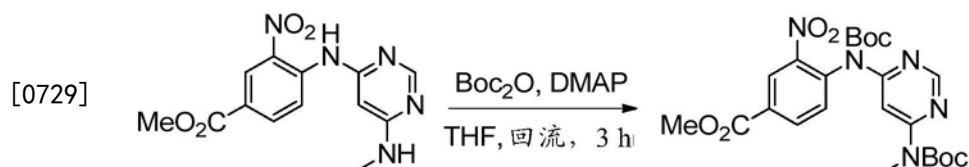
[0724] a. 4-氨基-3-硝基苯甲酸甲酯

[0725] 在0℃下,将亚硫酰氯(19.4g, 164.85mmol)添加至4-氨基-3-硝基苯甲酸(20g, 109.89mmol)在甲醇(200mL)中的溶液。然后将所得的混合物回流12h。使得反应混合物冷却至室温。过滤沉淀的黄色固体并且干燥以获得呈固体状的标题化合物(22g, 收率:100%)。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz): δ 8.85 (d, 1H), 7.99 (dd, 1H), 6.83 (d, 1H), 6.40 (s, 2H), 3.90 (s, 3H)。



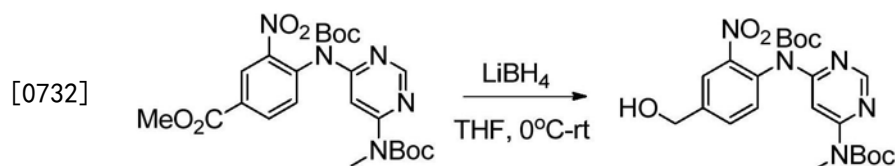
[0727] b. 4-((6-(甲基氨基)咪唑-4-基)氨基)-3-硝基苯甲酸甲酯

[0728] 在室温下于氩气气氛中,将6-氯-N-甲基咪唑-4-胺,3(3g, 20.97mmol)和4-氨基-3-硝基苯甲酸甲酯(3.9g, 20.97mmol)加入密封管中的甲苯(5mL)中。氩气吹扫5-10min。然后添加 Cs_2CO_3 (17.0g, 52.4mmol)和Xantphos(3.6g, 6.29mmol),并且将所得的反应混合物用氩气吹扫5min,随后添加 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (3.8g, 4.19mmol)。在密封反应小瓶之前,氩气吹扫再持续5min。然后将反应混合物在110℃下加热16h。通过TLC确定反应完成之后,将反应混合物冷却至室温,通过硅藻土床过滤并且在真空下蒸发滤液以得到粗制残余物。将粗制残余物通过柱色谱在硅胶上纯化以得到呈固体状的标题化合物(3.2g, 收率:51%); MS (ESI): 304.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。



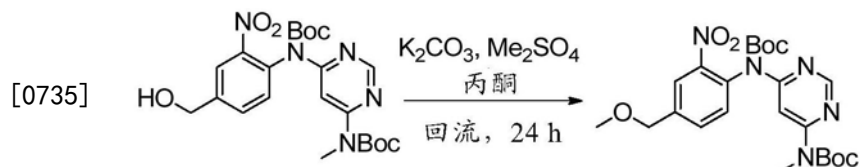
[0730] c. 4-((叔丁氧基羰基)(6-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯甲酸甲酯

[0731] 在室温下于氩气气氛中,将DMAP (0.497g, 4.078mmol) 和二碳酸二叔丁酯 (8.89g, 40.78mmol) 添加至中间体-4 (3.1g, 10.197mmol) 在无水THF (35mL) 中的搅拌溶液。将所得的混合物回流2-3h。通过TLC确定反应完成之后,将反应混合物冷却至室温,在真空下浓缩以获得粗制残余物。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈固体状的标题化合物 (1.9g, 收率:37%)。MS (ESI): 504.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。



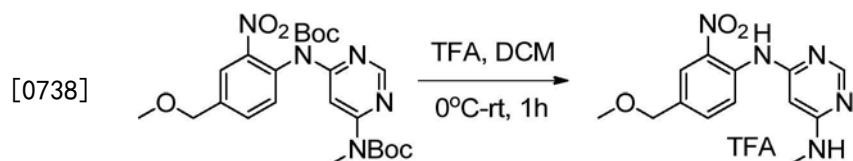
[0733] d. (6-((叔丁氧基羰基)(4-(羟甲基)-2-硝基苯基)氨基)嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯

[0734] 在 0°C 下于氩气气氛中,将硼氢化锂 (0.157g, 7.14mmol) 添加至4-((叔丁氧基羰基)(6-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯甲酸甲酯 (1.8g, 3.57mmol) 在THF (20mL) 中的溶液。然后使所得的混合物升温至室温并且搅拌12h。然后用冰水淬灭反应混合物并且用乙酸乙酯稀释。分离水层并且用乙酸乙酯 (3x 40mL) 萃取。将有机相用盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且浓缩以得到粗制残余物。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈固体状的所需中间体-6 (1.2g, 75%)。MS (ESI): 476.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。



[0736] e. (6-((叔丁氧基羰基)(4-(甲氧基甲基)-2-硝基苯基)氨基)嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯

[0737] 在 0°C 下于氩气中,向(6-((叔丁氧基羰基)(4-(羟甲基)-2-硝基苯基)氨基)嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯 (1.5g, 3.488mmol) 在丙酮 (20mL) 中的溶液添加碳酸钾 (0.48g, 6.97mmol), 随后添加硫酸二甲酯 (0.87g, 6.97mmol)。然后将所得的反应混合物回流24h, 然后使其冷却至室温。将反应混合物在真空下浓缩以获得粗制残余物。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈固体状的标题化合物 (0.3g, 收率:19%)。MS (ESI): 490.55 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

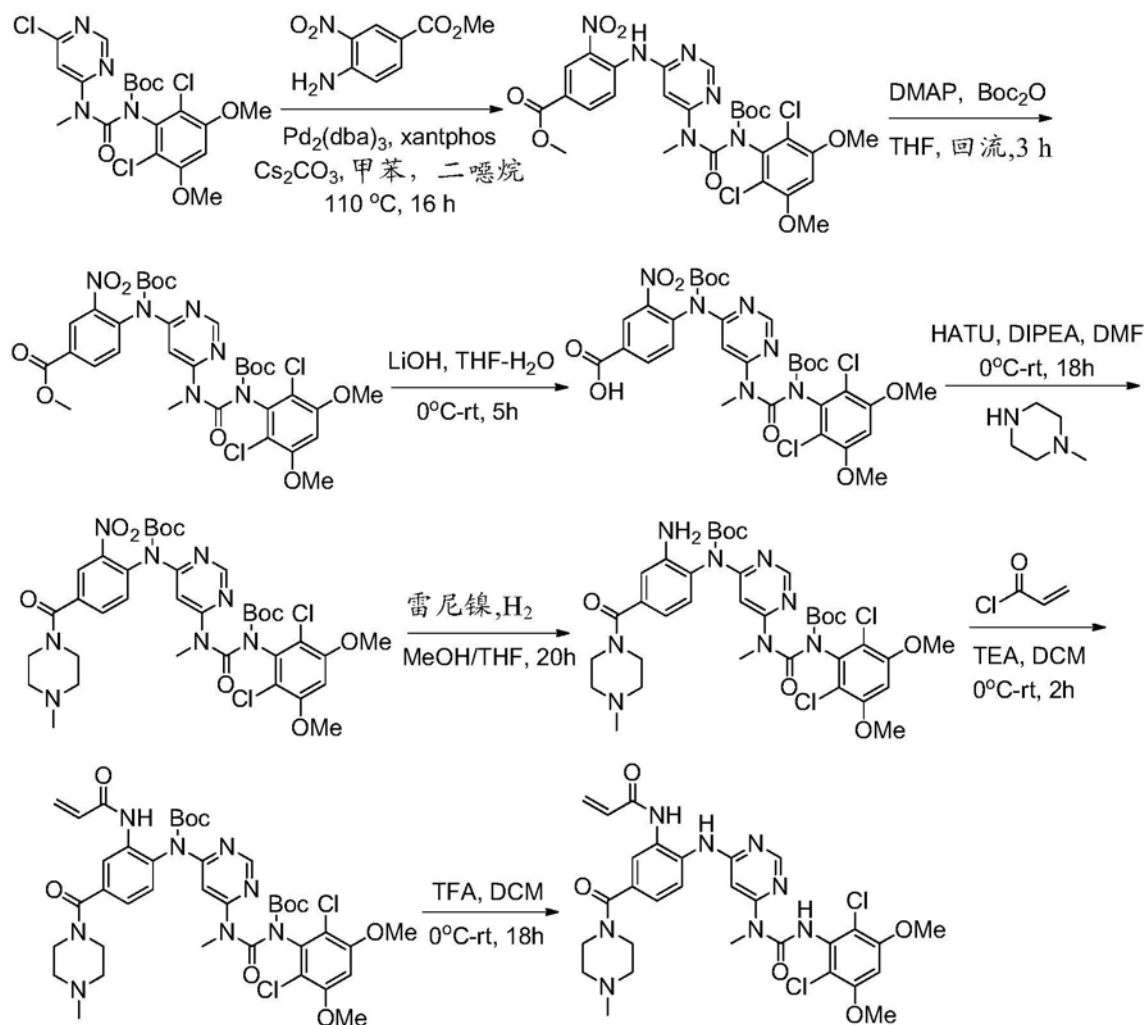


[0739] f. N^4 -(4-(甲氧基甲基)-2-硝基苯基)- N^6 -甲基嘧啶-4,6-二胺

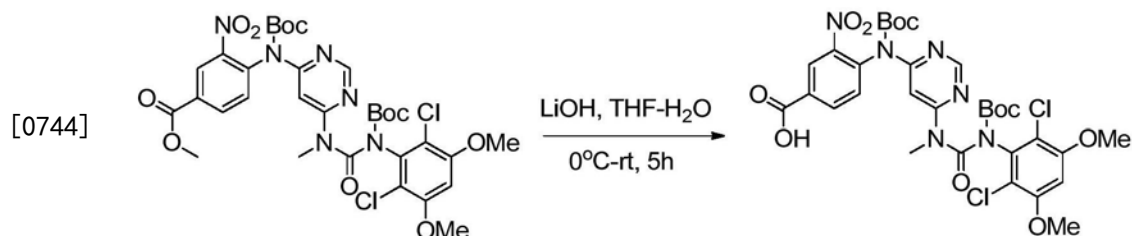
[0740] 在0℃下于氩气气氛中,将TFA (5mL) 缓慢添加至(6-((叔丁氧基羰基)(4-(甲氧基甲基)-2-硝基苯基)氨基)嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.85g)在无水DCM(10mL)中的搅拌溶液。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌1h。在反应完成之后,在减压下去除过量的溶剂并且用乙醚洗涤以得到呈固体状的标题化合物(0.7g粗品)。MS (ESI): 290.2[M+H]⁺。

[0741] 程序2K: 实施例148

[0742]



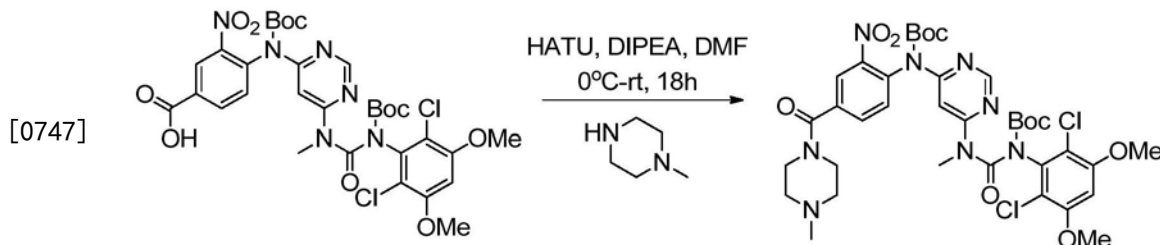
[0743] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯基)丙烯酰胺



[0745] a. 4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(叔丁氧基羰基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯甲酸

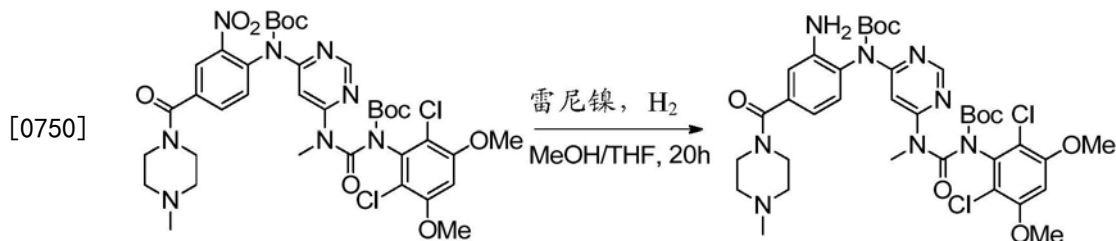
[0746] 在0℃下,将氢氧化锂(0.08g, 2.99mmol)添加至4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(叔丁

氧基羰基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯甲酸甲酯(1.5g,1.997mmol)(程序2J,步骤c)在THF(10mL)和水(2mL)的混合物中的溶液。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌5h。通过TLC(EtOAc:己烷3:7)确定反应完成之后,在真空下浓缩反应混合物以获得粗制残余物。将粗制残余物溶于水并且用乙醚(3x 30mL)萃取。用10%柠檬酸溶液酸化水层并且过滤沉淀的固体,用冷水洗涤并且在真空中干燥以得到呈淡棕色固体状的标题化合物(1.3g,收率:93%)。MS(ESI):737.2[M+H]⁺。



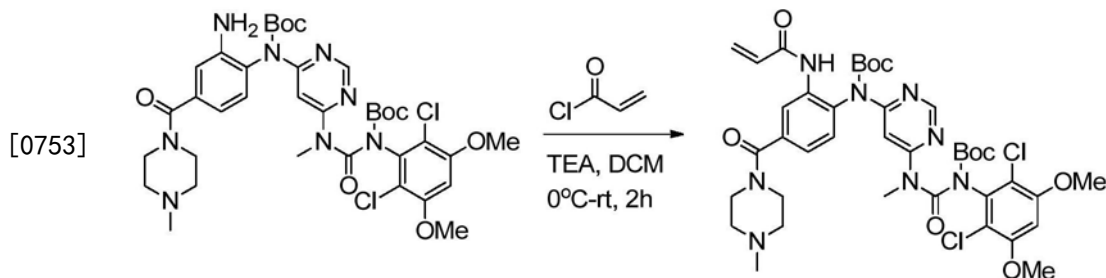
[0748] b. (2-硝基-4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-3-叔丁氧基羰基-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

[0749] 在0℃下于氩气气氛中,将DIPEA(0.3mL,1.62mmol)、HATU(0.515g,1.355mmol)和N-甲基哌嗪,6(0.09mL,0.813mmol)添加至4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(叔丁氧基羰基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯甲酸(0.4g,0.542mmol)在DMF(5mL)中的溶液。然后使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌18h。通过TLC(MeOH:DCM1:19)确定反应完成之后,将水添加至反应混合物。将沉淀的粗固体过滤、干燥并且通过硅胶柱色谱纯化以获得呈固体状的标题化合物(0.27g,收率:61%)。MS(ESI):819.1[M+H]⁺。



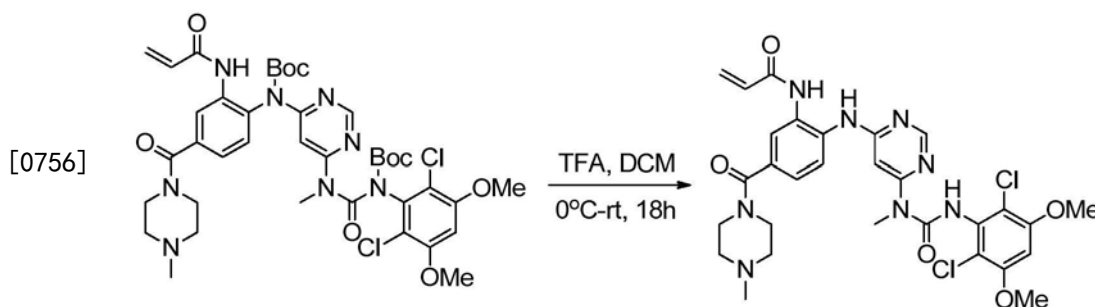
[0751] c. (2-氨基-4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-3-叔丁氧基羰基-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

[0752] 将雷尼镍(0.06g)添加至(2-硝基-4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-3-叔丁氧基羰基-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.27g,0.329mmol)在MeOH(4mL)和THF(4mL)的混合物中的溶液,并且将所得的反应混合物在室温下于氢气气氛中搅拌20h。通过硅藻土床过滤反应混合物。浓缩滤液以得到呈固体状的粗制标题化合物(0.22g,收率:84%)。MS(ESI):789.4[M+H]⁺。



[0754] d. (2-丙烯酰氨基-4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯基) (6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-3-叔丁氧基羰基-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯

[0755] 在0℃下于氩气气氛中,向(2-氨基-4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯基) (6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-3-叔丁氧基羰基-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.22g,0.278mmol)在无水DCM(5mL)中的搅拌溶液添加TEA(0.08mL,0.557mmol)。将所得的混合物搅拌15min,并且在0℃下缓慢添加丙烯酰氯(0.037g,0.417mmol)。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌2h。用饱和碳酸氢钠溶液淬灭反应混合物并且用DCM稀释。分离水层并且用DCM(3x 20mL)萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩以得到粗制残余物。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到呈固体状的标题化合物(0.060g,收率:25%)。MS (ESI):843.3[M+H]⁺。

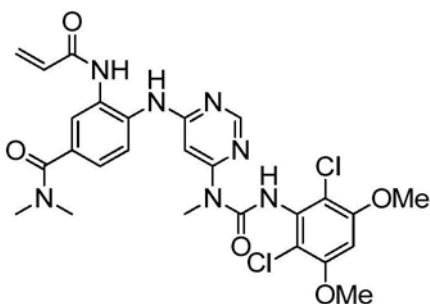


[0757] e. N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯基)丙烯酰胺

[0758] 在0℃下于氩气气氛中,将TFA(0.2mL)缓慢添加至(2-丙烯酰氨基-4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯基) (6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-3-叔丁基羰基-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(0.060g,0.0711mmol)在无水DCM(2mL)中的溶液。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌18h。通过LCMS监控反应进程,在反应完成之后,在减压下去除过量的溶剂。用DCM稀释所得的残余物并且用饱和NaHCO₃水溶液淬灭。分离水层并且用DCM(3x 10mL)萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩以得到粗制残余物。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以得到HPLC纯度为35%的70mg所需产物,然后将所述产物通过制备型HPLC(条件:柱:Gemini NX C18(21.2mm x 150mm粒径5μm);(流动相:A;0.01%碳酸氢铵水溶液,B;ACN))纯化以得到所需化合物。然后用二氯甲烷和水稀释化合物。分离水层并且用DCM(3x 10mL)萃取。将有机相用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩,以得到呈白色固体状的标题化合物(0.005g,收率:11%)。1H-NMR(CD₃OD,400MHz):δ8.41(s,1H),7.79-7.76(m,2H),7.36(dd,1H),6.82(s,1H),6.47-6.42(m,3H),5.82(d,1H),3.96(s,6H),3.81-3.55(m,8H),2.54(s,3H),2.37(s,3H);MS(ESI):643.1[M+H]⁺;HPLC:97.26%,rt:6.19min。

[0759] 实施例149

[0760]

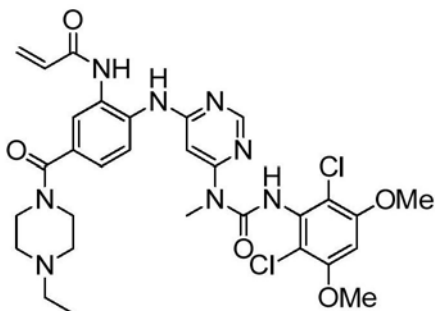


[0761] 3-丙烯酰氨基-4-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-N,N-二甲基苯甲酰胺

[0762] 按照程序2K(实施例148)中概述的方法合成标题化合物,其中在步骤(b)中代用二甲胺以得到呈灰白色固体状的标题化合物(12.0mg,收率:6.1%)。¹H-NMR(CD₃OD,400MHz): δ8.38(s,1H),7.78-7.72(m,2H),7.34(dd,1H),6.80(s,1H),6.46-6.38(m,3H),5.80(dd,1H),3.94(s,6H),3.36(s,3H),3.10(s,6H);MS(ESI):587.9[M+H]⁺;HPLC:99.04%,rt:3.98min。

[0763] 实施例150

[0764]

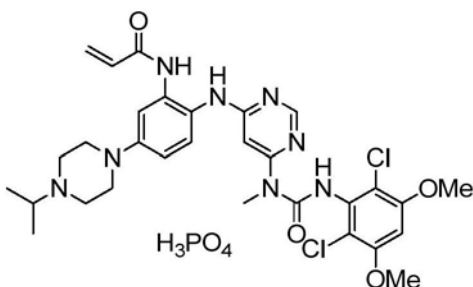


[0765] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-乙基哌嗪-1-羰基)苯基)丙烯酰胺

[0766] 按照程序2K(实施例148)中概述的方法合成标题化合物,其中在步骤(b)中代用1-乙基哌嗪以得到呈灰白色固体状的标题化合物(10.0mg,收率:9.7%)。¹H-NMR(CD₃OD,400MHz): δ8.41(s,1H),7.76-7.79(m,2H),7.36(d,1H),6.82(s,1H),6.38-6.47(m,3H),5.82(d,1H),3.96(s,6H),3.72-3.82(m,2H),3.53-3.65(m,3H),3.39(s,4H),2.49-2.54(m,6H),1.15(t,3H);MS(ESI):657.0[M+H]⁺;HPLC:95.98%,rt:6.25min。

[0767] 实施例151

[0768]



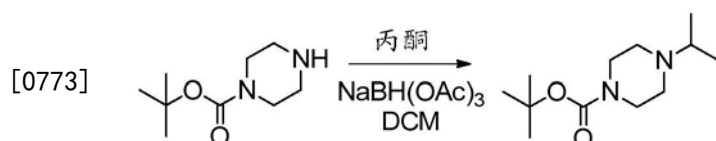
[0769] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-异丙基吡咯-1-基)苯基)丙烯酰胺磷酸

[0770] 按照程序2J(实施例145)中概述的方法合成标题化合物,其中在步骤(b)中代用4-

(4-异丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺(程序示于下文),并且省略步骤(d)和(e)以得到呈灰白色固体状的标题化合物的游离碱(0.1g,总收率:9.7%)

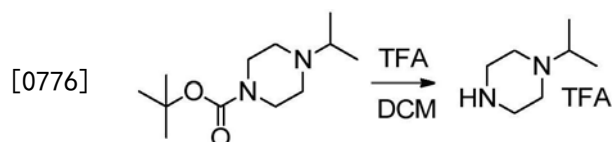
[0771] MS (ESI): 643.1 $[M+H]^+$. 将85% H_3PO_4 缓慢添加至N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-异丙基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺(0.1g)在95% THF-MeOH (5mL) 中的溶液。然后使所得的反应混合物在室温下搅拌30min,蒸发溶剂并且用乙醚研磨,在真空下干燥以得到呈灰白色固体状的标题化合物(0.16g)。 1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz): δ 12.08 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.30 (d, 2H), 6.89 (d, 1H), 6.81 (d, 1H), 6.46-6.49 (m, 1H), 6.21-6.25 (m, 2H), 5.72 (d, 1H), 3.93 (s, 6H), 3.35-3.41 (m, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.12-3.17 (m, 4H), 2.67-2.70 (m, 4H), 1.05-1.11 (m, 6H); MS (ESI): 643.3 (M+1); HPLC: 95.41%, rt: 6.48min。

[0772] 4-(4-异丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺的制备



[0774] a. 4-异丙基哌嗪-1-甲酸叔丁酯

[0775] 将Boc哌嗪(piperizine) 1 (10g, 53.76mmol) 和丙酮(4mL) 加入无水DCM(100mL) 和乙酸(3.2mL) 的混合物中。在室温下搅拌20min。添加Na(OAc)₃BH(17g, 80.2mmol) 并且在室温下持续搅拌12h。用水稀释反应混合物,用乙酸乙酯(3x 25mL) 萃取。将有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩,以得到粗制标题化合物(13g,粗品)。MS (ESI): 229.2 $[M+H]^+$ 。



[0777] b. 1-异丙基哌嗪

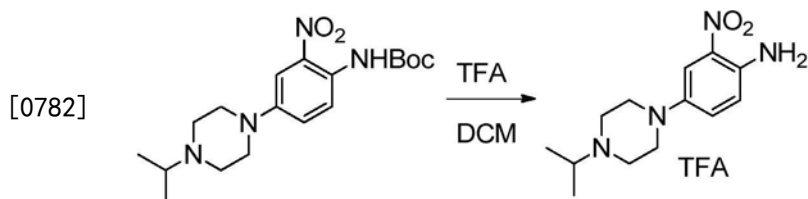
[0778] 在0℃下于氩气气氛中,将TFA(15mL) 缓慢添加至4-异丙基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(13g粗品) 在无DCM(20mL) 中的搅拌溶液。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌18h。在真空下浓缩反应物质,并且用正己烷和乙醚研磨残余物。在真空下干燥以得到标题化合物(7g,收率:97%)。MS (ESI): 129.1 $[M+H]^+$ 。



[0780] c. (4-(4-异丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯

[0781] 在室温下于氩气气氛中,将1-异丙基哌嗪(1.29g, 5.66mmol) 和(4-溴-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯(1.5g, 4.71mmol) 加入密封管中的无水甲苯(15mL) 和二噁烷(2mL) 的混合物中。氩气吹扫5-10min。然后添加Cs₂CO₃ (3.06g, 9.43mmol) 和Xantphos (0.54g,

0.94mmol), 并且将所得的反应混合物用氩气吹扫5min, 随后添加 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.43g, 0.47mmol)。在密封反应小瓶之前, 氩气吹扫再持续5min。然后将反应混合物在100℃下加热12h。通过TLC确定反应完成之后, 将反应混合物冷却至室温, 通过硅藻土床过滤并且浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱 (DCM:MeOH/97:3) 纯化以得到标题化合物 (1.2g, 收率:70.5%)。MS (ESI): 365.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

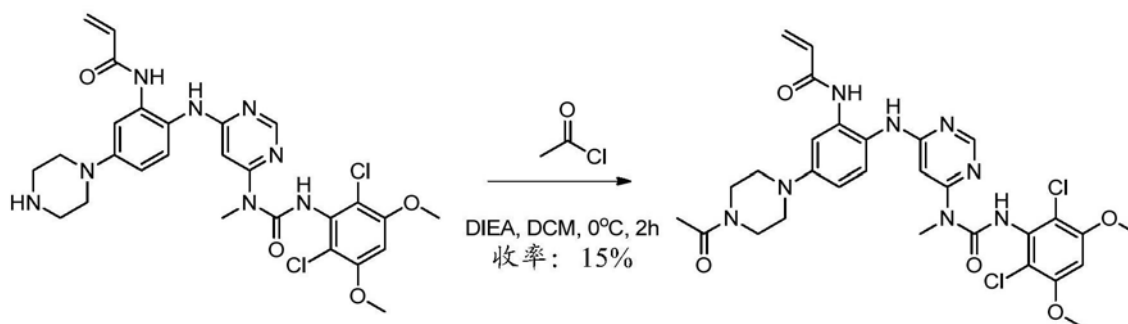


[0783] d. 4-(4-异丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺

[0784] 在0℃下于氩气氛中, 将TFA (3mL) 缓慢添加至 (4-(4-异丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基) 氨基甲酸叔丁酯 (1.2g, 3.29mmol) 在无水的DCM (5mL) 中的搅拌溶液。使所得的反应混合物升温至室温并且搅拌12h。通过LCMS监控反应进程, 在反应完成之后, 在减压下去除过量的溶剂以得到粗制残余物。用乙醚重复洗涤粗制残余物以得到呈红色固体状的标题化合物 (1g, 收率80.6%)。MS (ESI): 265.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0785] 实施例-154

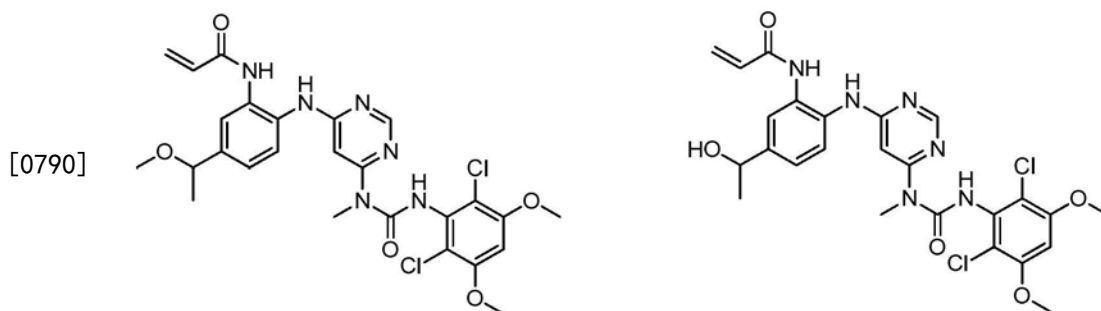
[0786]



[0787] N-(5-(4-乙酰基哌嗪-1-基)-2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺的制备

[0788] 在室温下于氮气气氛中, 将N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺 (程序2L, 实施例157) (8.6mg, 0.014mmol) 和DIEA (7.5μl, 0.043mmol) 在DCM (1.0mL) 中搅拌。添加乙酰氯 (1.0μl, 0.016mmol) 在DCM (11μl) 中的溶液, 并且将反应混合物在室温下搅拌2小时。蒸发溶剂并且将所得的材料溶于400μl DMSO中。用1.0mL MeOH稀释DMSO溶液并且通过prep-HPLC (在甲酸条件中的水/ACN) 纯化以得到标题化合物 (1.4mg, 收率:15%)。 ^1H -NMR (400MHz, MeOH- d_4) δ 2.16 (s, 3H) 3.65-3.80 (m, 4H) 3.94 (s, 6H) 5.76 (dd, 1H) 6.15 (s, 1H) 6.28-6.49 (m, 2H) 6.78-6.82 (m, 1H) 6.95 (dd, 2.89Hz, 1H) 7.28-7.38 (m, 2H) 8.31 (d, 1H) 8.58 (br. s., 1H); ESI-MS: 643 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0789] 实施例-155和实施例-156



[0791] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(1-甲氧基乙基)苯基)丙烯酰胺和N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(1-羟乙基)苯基)的制备

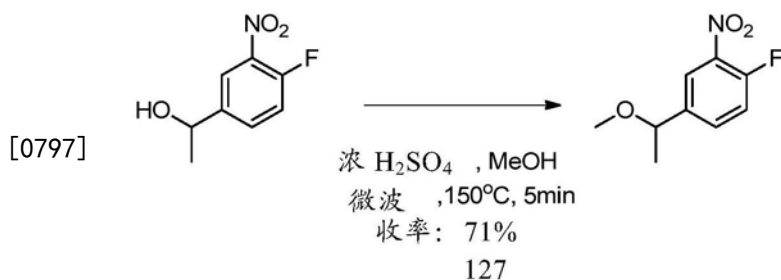
[0792] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用4-(1-甲氧基乙基)-2-硝基苯胺(程序示于下文),以在使用快速色谱在二氧化硅上用90%至100%EtOAc/己烷洗脱进行纯化后得到标题化合物。非极性部分为N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(1-甲氧基乙基)苯基)丙烯酰胺(16mg,收率:6%,经五个步骤)。¹H-NMR(400MHz, MeOH-d₄) δ1.46(d, 3H) 3.29(s, 3H) 3.96(s, 6H) 4.12(d, 1H) 4.40(q, 1H) 5.78-5.82(m, 1H) 6.33-6.50(m, 3H) 6.82(s, 1H) 7.27(dd, 1H) 7.55-7.64(m, 2H) 8.37(d, 1H); ESI-MS: 575[M+H]⁺。极性部分为N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(1-羟乙基)苯基)丙烯酰胺(22mg,收率:8%,经五个步骤)。¹H-NMR(400MHz, MeOH-d₄) δ1.53(d, 3H) 4.00(s, 6H) 5.83(dd, 1H) 6.29-6.56(m, 3H) 6.86(s, 1H) 7.38(dd, 1H) 7.57(d, 1H) 7.69(s, 1H) 8.40(d, 1H); ESI-MS: 661[M+H]⁺。

[0793] 4-(1-甲氧基乙基)-2-硝基苯胺的制备



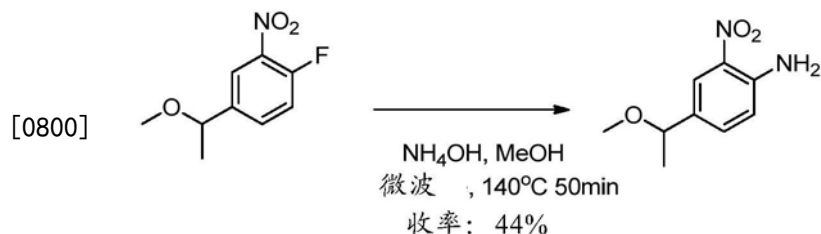
[0795] a. 1-(4-氟-3-硝基苯基)乙醇

[0796] 将1-(4-氟-3-硝基苯基)乙酮(1.0g, 5.46mmol)溶于MeOH(15.0ml)中,并且在冰浴上搅拌。分批加入NaBH₄(0.62g, 16.0mmol)。在完成添加时,将反应混合物在室温下搅拌10分钟。将反应混合物倾入EtOAc和盐水中。分离有机层,经MgSO₄干燥并且蒸发。将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用20%至70%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(881mg,收率:87%)。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ1.53(d, 4H) 4.99(dd, 1H) 7.22-7.33(m, 1H) 7.66(ddd, 1H) 8.09(dd, 1H)。



[0798] b. 1-氟-4-(1-甲氧基乙基)-2-硝基苯

[0799] 将1-(4-氟-3-硝基苯)乙醇(870mg, 4.7mmol)溶于MeOH(10ml)中并且小心地添加浓硫酸(2.5ml, 47mmol)。使用微波(Biotage Initiator)将反应混合物在150℃下加热5分钟。在冷却至室温后,将反应混合物倾入EtOAc/水中。用盐水洗涤有机层,经MgSO₄干燥并且蒸发。将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用0%至50%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(664mg, 收率:71%)。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ1.45(d, 3H) 3.27(s, 3H) 4.36(q, 1H) 7.28-7.32(m, 1H) 7.56-7.63(m, 1H) 7.98-8.04(m, 1H)。

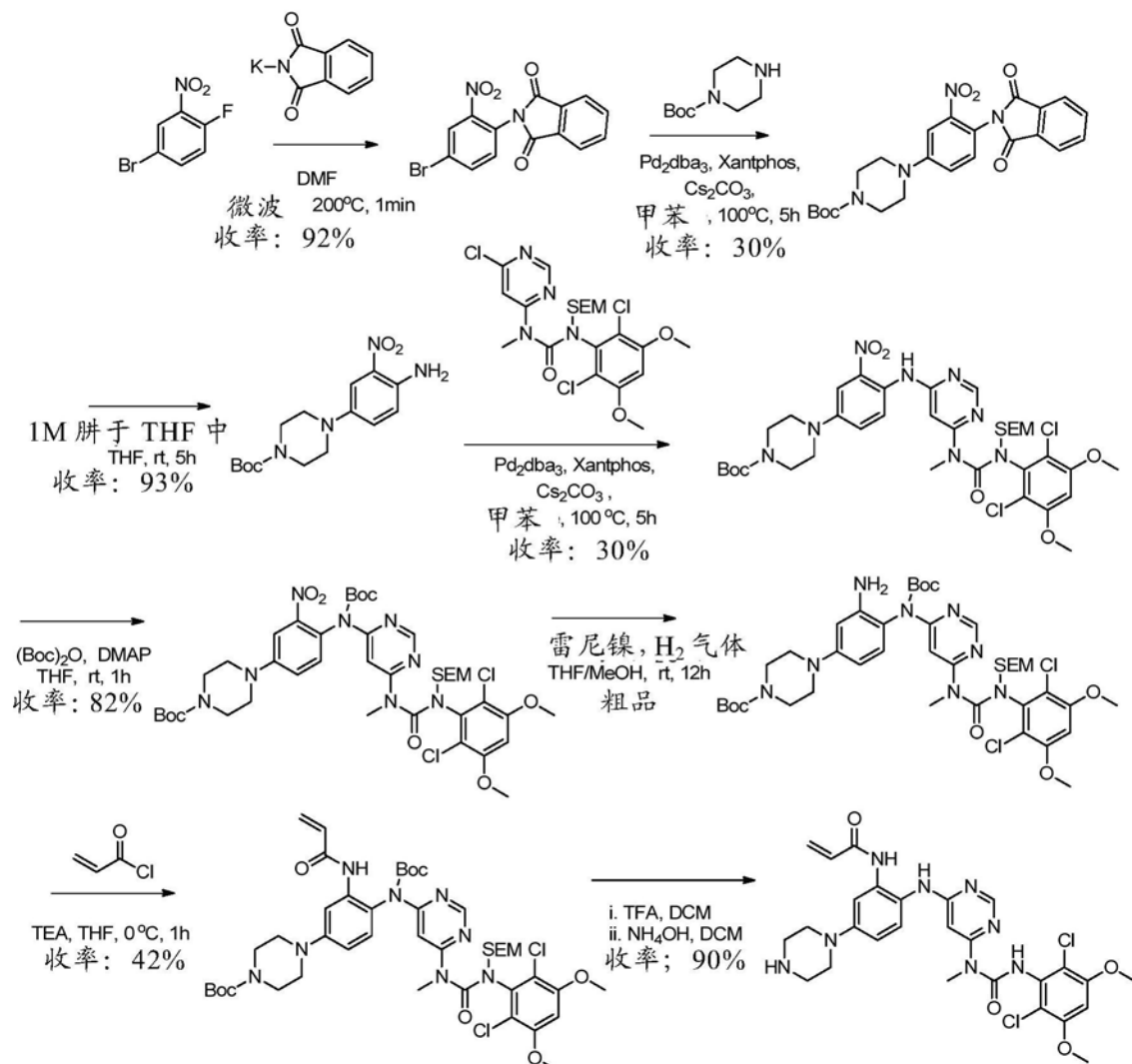


[0801] c. 4-(1-甲氧基乙基)-2-硝基苯胺

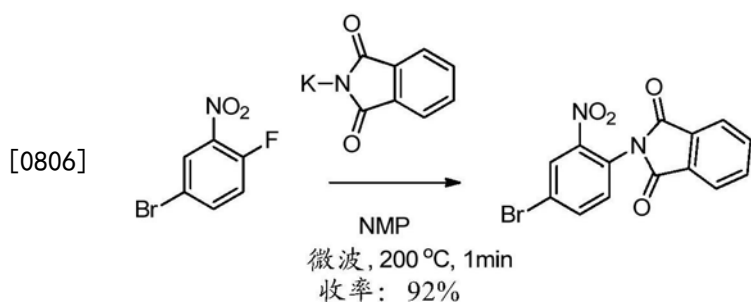
[0802] 将1-氟-4-(1-甲氧基乙基)-2-硝基苯(664mg, 3.33mmol)在THF(10ml)中搅拌。添加NH₄OH(0.39ml, 10.0mmol)并且将反应混合物在室温下搅拌2小时。再添加780μl NH₄OH并且使用微波(Biotage Initiator)将反应混合物在120℃下加热10分钟,然后在140℃下加热50分钟。在冷却至室温后,将反应混合物倾入EtOAc/水中。用盐水洗涤有机层,经MgSO₄干燥并且蒸发。将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用0%至50%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(290mg, 收率:44%)。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ1.42(d, 3H) 3.22(s, 3H) 4.24(q, 1H) 6.05(br. s., 2H) 6.83(d, 1H) 7.38(dd, 2.01Hz, 1H) 8.04(d, 1H)。

[0803] 程序2L: 实施例-157

[0804]



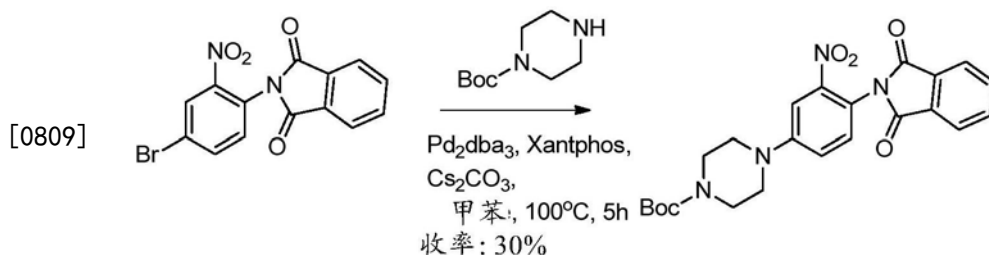
[0805] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺的制备



[0807] a. 2-(4-溴-2-硝基苯基)异吲哚啉-1,3-二酮

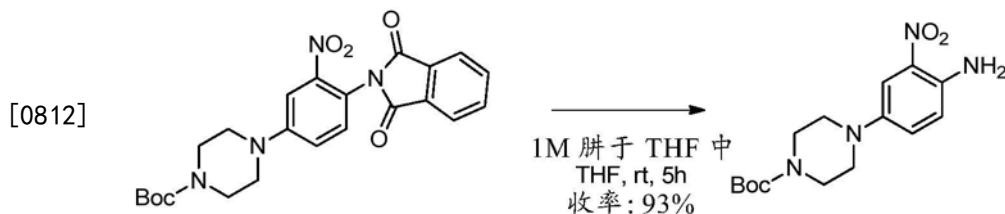
[0808] 将4-溴-1-氟-2-硝基苯 (2.0g, 9.1mmol) 和1,3-二氧代异吲哚啉-2-钾 (potassium 1,3-dioxoisindolin-2-ide) (2.0g, 10.9mmol) 置于微波小瓶 (0.5-2ml) 中, 并且添加NMP (12.0ml)。使用微波 (Biotage, Initiator) 将反应混合物在200°C下加热1min。在冷却至室温后, 将反应混合物逐滴添加至搅拌的水中, 这导致形成沉淀物。收集固体, 用水洗涤并且在氮气流下干燥以得到标题化合物 (2.89g, 收率: 92%)。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.26 (s,

2H) 7.43 (d, 2H) 7.81-7.87 (m, 3H) 7.91 (dd, , 2H) 7.95-8.05 (m, 3H) 8.33 (d, 1H)。



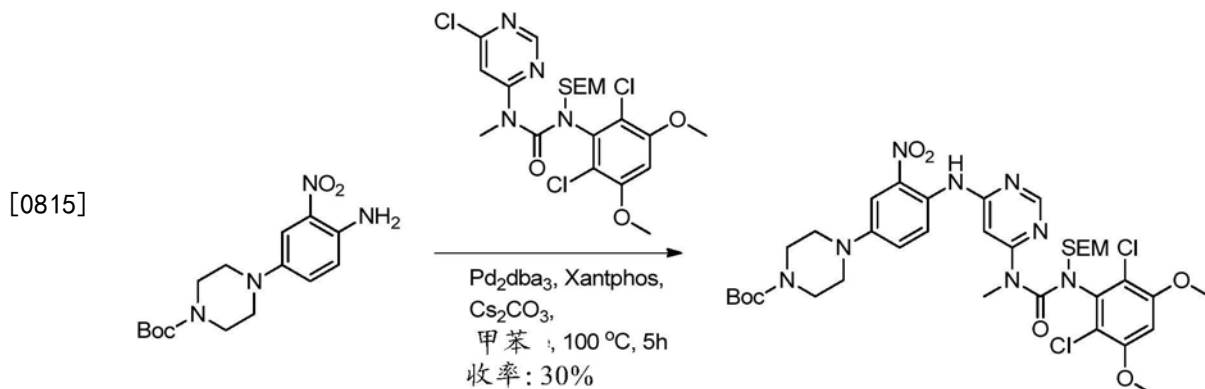
[0810] b. 4-(4-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-3-硝基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯

[0811] 将2-(4-溴-2-硝基苯基)异吲哚啉-1,3-二酮(500mg, 1.4mmol)、哌嗪-1-甲酸叔丁酯(402mg, 2.2mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (66.0mg, .07mmol)、Xantphos (83mg, .144mmol) 和 Cs_2CO_3 (939mg, 2.9mmol) 置于反应小瓶(微波反应小瓶10-20ml)中, 并且用氮气吹扫。添加甲苯(5.0ml) 并且用鼓泡通入氮气10min。将反应混合物在100°C下加热5小时。停止加热并且冷却至室温。通过硅藻土衬垫过滤反应混合物并且蒸发滤液。将剩余的材料通过快速色谱在二氧化硅上用20%至70%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(275mg, 收率: 42%)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 1.51 (s, 6H) 3.28-3.39 (m, 2H) 3.57-3.70 (m, 2H) 7.20-7.24 (m, 1H) 7.35 (d, 1H) 7.66 (d, 1H) 7.75-7.87 (m, 1H) 7.96 (dd, 1H)。



[0813] c. 4-(4-氨基-3-硝基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯

[0814] 在室温下, 向4-(4-(1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)-3-硝基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(275.4mg, 0.6mmol) 在THF (5.0ml) 中的悬浮液添加含1.0M肼的THF (1.8ml, 1.8mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物倾入EtOAc/水中, 并且用盐水洗涤有机层, 经 MgSO_4 干燥并且蒸发。将所得的油状物通过快速色谱在二氧化硅上用20%至70%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(182mg, 收率: 93%)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 1.42 (s, 9H) 2.89-2.99 (m, 4H) 3.44 (d, 4H) 6.98 (d, 1H) 7.22 (s, 2H) 7.26-7.38 (m, 2H)。

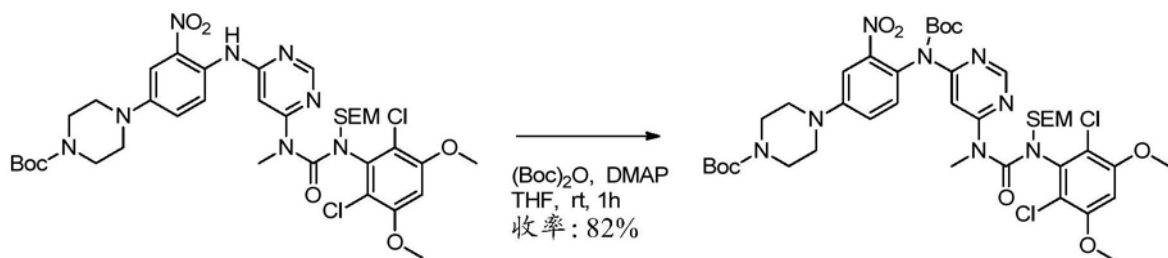


[0816] d. 4-(4-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯

[0817] 将1-(6-氯嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲

基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲(175mg, 0.34mmol)、4-(4-氨基-3-硝基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(90mg, 0.28mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (13mg, 0.014mmol)、Brettphos(13mg, 0.028mmol)和叔丁醇钠(54mg, 0.56mmol)置于反应小瓶(2ml至5ml)中,并且用氮气吹扫。添加甲苯(1.0ml)并且鼓泡通入氮气5min,然后将反应混合物在100℃下加热过夜。停止加热并且冷却至室温。通过Celite®衬垫过滤反应混合物。蒸发滤液并且将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用20%至70%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(102.4mg, 收率:45%)。¹H-NMR(400MHz, CDCl_3) δ 0.01(s, 9H) 0.85-0.98(m, 2H) 1.50(s, 9H) 3.03(s, 3H) 3.17(br. s., 4H) 3.56-3.66(m, 4H) 3.75-3.97(m, 8H) 5.22(s, 2H) 6.50(s, 1H) 6.95(s, 1H) 7.65(s, 1H) 8.46(s, 1H)。

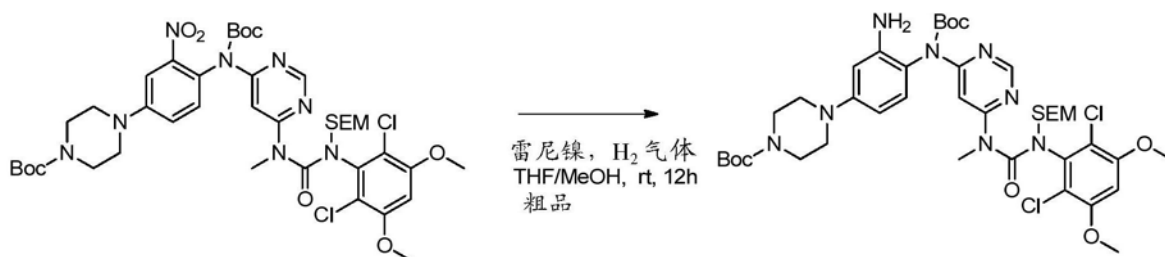
[0818]



[0819] e. 4-(4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯

[0820] 在室温下于氮气气氛中,将4-(4-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(162mg, 0.2mmol)、二碳酸二叔丁酯(53mg, 0.24mmol)和DMAP(4.9mg, 0.04mmol)在THF(2.0ml)中搅拌1小时。将反应混合物倾入EtOAc和水中。用盐水洗涤有机层,经 MgSO_4 干燥并且蒸发。将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用10%至70%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(148mg, 收率:82%)。¹H-NMR(400MHz, CDCl_3) δ 0.01(s, 9H) 0.80-1.04(m, 2H) 1.4(s, 9H) 1.49(s, 9H) 3.12(s, 3H) 3.19-3.36(m, 4H) 3.50-3.70(m, 4H) 3.83-3.92(m, 9H) 3.96(d, 1H) 5.14(d, 1H) 5.42(d, 1H) 6.46(s, 1H) 7.05-7.19(m, 2H) 7.58(d, 1H) 8.03(s, 1H) 8.29(s, 1H)。

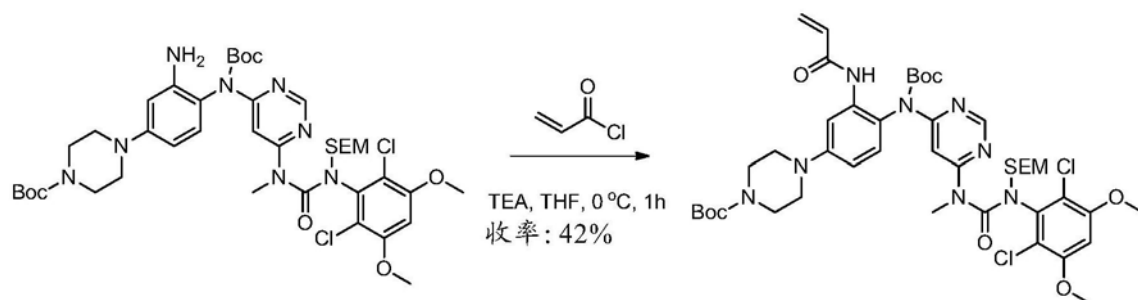
[0821]



[0822] f. 4-(3-氨基-4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯

[0823] 将4-(4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-硝基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯

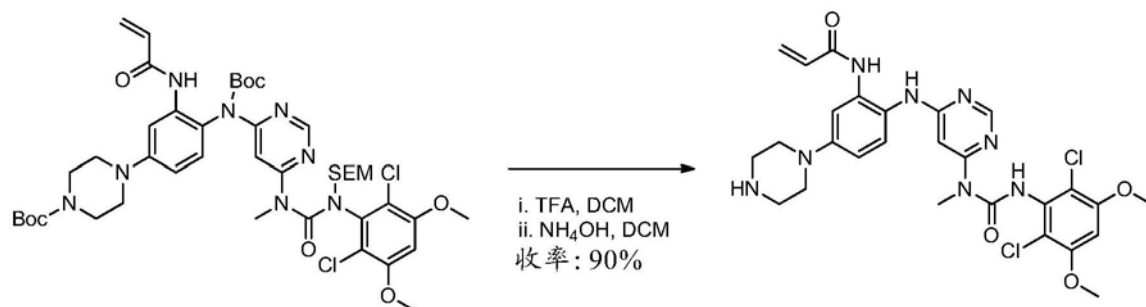
(149mg, 0.164mmol) 在 THF (1.5ml) 和 MeOH (1.5ml) 中搅拌。添加五滴雷尼镍在水中的悬浮液。将溶液在室温下于氢气气氛中搅拌过夜。通过 Celite® 衬垫过滤反应物, 并且浓缩滤液以得到粗制标题化合物, 所述化合物未经进一步纯化而被用于下一步。ESI-MS: 877 [M+H]⁺。
[0824]



[0825] g. 4-(3-丙烯酰氨基-4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯

[0826] 将粗制 4-(3-氨基-4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (95mg, 0.11mmol) 溶于 THF (1.5ml) 中, 并且在氮气气氛下在冰浴上搅拌。添加 DIEA (57μl, 0.30mmol), 随后添加丙烯酰氯 (13μl, 0.16mmol), 并且将反应混合物在室温下搅拌 1 小时。将反应混合物倾入 EtOAc 和盐水中。分离有机层, 经 MgSO₄ 干燥并且蒸发。将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用 30% 至 100% EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物 (47mg, 收率: 47%)。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 0.02 (s, 9H) 0.79-1.04 (m, 2H) 1.36 (s, 9H) 1.49 (s, 9H) 3.08 (s, 4H) 3.05 (s, 3H) 3.25 (br. s., 4H) 3.64 (br. s., 4H) 3.86 (s, 6H) 5.27 (s, 1H) 5.67-5.79 (m, 1H) 6.15-6.56 (m, 2H) 6.48 (s, 1H) 7.03-7.14 (m, 1H) 7.87-8.09 (m, 2H) 8.19-8.29 (br. s., 1H) 8.44 (s, 1H)。

[0827]

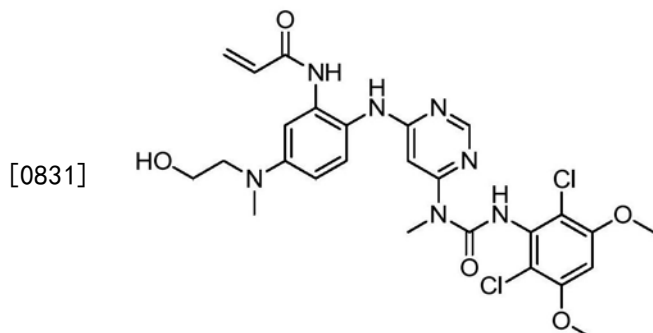


[0828] h. N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺

[0829] 将 4-(3-丙烯酰氨基-4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (59mg, 0.06mmol) 在 DCM (2.0ml) 中搅拌。添加 TFA (97μl, 1.3mmol) 并且将混合物在室温下搅拌 6 小时。蒸发反应混合物。将剩余的残余物溶于 DCM 中并且用饱和 NaHCO₃ 洗涤, 经 MgSO₄ 干燥并且蒸发。将所得的材料溶于 THF (2.0ml) 中, 并且添加 NH₄OH (74μl, 1.9mmol)。将

反应混合物在室温下搅拌5分钟。蒸发反应混合物以获得未经进一步纯化而被用于下一步的标题化合物(34mg, 收率:90%)。¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ2.62 (br. s., 4H) 3.08-3.27 (m, 7H) 3.77-4.03 (m, 6H) 5.72 (d, 1H) 6.11-6.34 (m, 2H) 6.40-6.62 (m, 1H) 6.70-6.98 (m, 2H) 7.22-7.37 (m, 2H) 8.32 (s, 1H) 8.70 (s, 1H) 9.58 (br. s., 1H) 12.06 (s, 1H); ESI-MS: 601 [M+H]⁺。

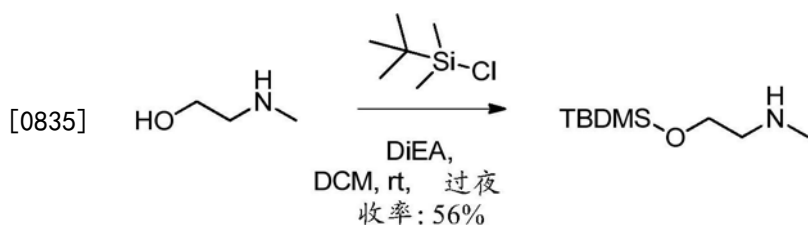
[0830] 实施例-158



[0832] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-((2-羟乙基)(甲基)氨基)苯基)丙烯酰胺

[0833] 按照程序2L(实施例157)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(b)中代用2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-N-甲基乙胺、Pd(dba)₂和Ruphos,并且在步骤(d)中代用Pd(dba)₂、Brettphos和叔丁醇钠以得到标题化合物(64mg, 收率:16%, 经七个步骤)。¹H-NMR (400MHz, MeOH-d₄) δ3.04 (s, 3H) 3.26 (s, 3H) 3.51 (s, 2H) 3.69-3.81 (m, 2H) 3.94 (s, 6H) 5.71-5.78 (m, 1H) 6.03-6.10 (m, 1H) 6.26-6.45 (m, 2H) 6.72 (d, 1H) 6.79 (s, 1H) 7.04-7.10 (m, 1H) 7.23 (d, 1H) 8.28 (d, 1H); ESI-MS: 590 [M+H]⁺。

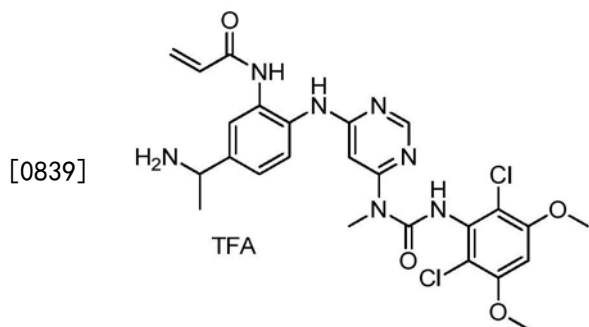
[0834] 2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-N-甲基乙胺的制备



[0836] a. 2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-N-甲基乙胺

[0837] 将2-(甲基氨基)乙醇(1.0g, 13.3mmol)在氮气气氛下于DCM(25.0ml)中搅拌。添加DIEA(3.23ml, 18.6mmol),随后添加叔丁基氯二甲基硅烷(2.0g, 13.3mmol),并且将反应混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物倾入乙醚/水中。用乙醚对水层萃取三次。经MgSO₄干燥合并的有机层以及蒸发,并且将剩余材料在高真空下干燥以得到标题化合物(1.4g, 收率:56%)。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ0.08 (s, 6H) 0.91 (s, 9H) 1.93 (br. s., 1H) 2.48 (s, 3H) 2.71 (t, 2H) 3.75 (t, 2H)。

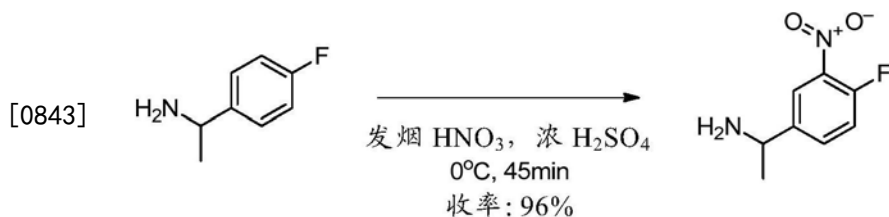
[0838] 实施例-160



[0840] N-(5-(1-氨基乙基)-2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基咪唑基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺TFA盐

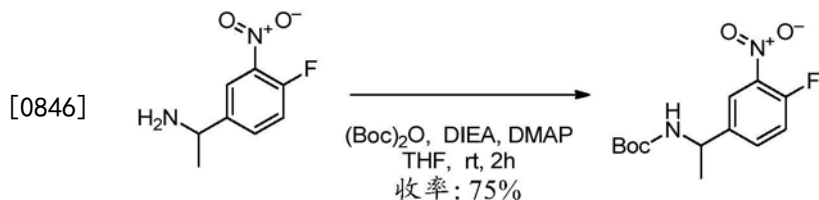
[0841] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用(1-(4-氨基-3-硝基苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯、Pd(dba)₂、Brettphos和叔丁醇钠,以得到转化为TFA盐的游离碱。将游离碱溶于DCM中,并且添加1当量的TFA。蒸发混合物并且用乙醚研磨以得到标题化合物(65mg,收率:23%,经五个步骤)。¹H-NMR(400MHz, MeOH-d₄) δ1.67(d, 3H) 3.33-3.37(s, 3H) 3.92-3.97(s, 6H) 4.49(m, 1H) 5.75-5.83(m, 1H) 6.30-6.50(m, 3H) 6.81(s, 1H) 7.36(dd, 1H) 7.69(d, 1H) 7.82(d, 1H) 8.36-8.43(m, 1H); ESI-MS: 560[M+H]。

[0842] (1-(4-氨基-3-硝基苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备



[0844] a. 1-(4-氟-3-硝基苯基)乙胺

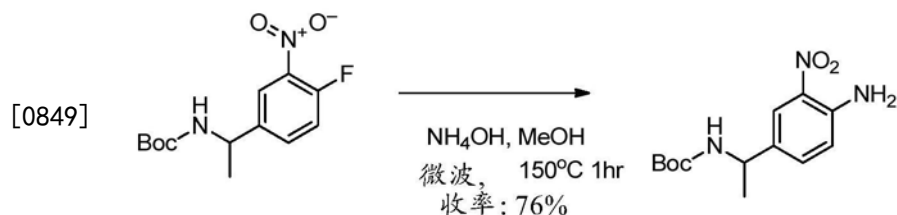
[0845] 将发烟HNO₃(0.48ml, 10.8mmol)小心地加入冰浴冷却的浓H₂SO₄(3.6ml, 68.2mmol)中。向混合物中逐滴添加1-(4-氟苯基)乙胺(1.0g, 7.2mmol)。将反应混合物边搅拌边冷却50分钟。将反应混合物倾入冰中,并且用3MNaOH溶液(24ml, 72.00mmol)碱化至约pH8.0。用DCM对碱性溶液萃取两次。将合并的有机层经Na₂SO₄干燥并且蒸发以得到标题化合物(1.3g, 收率:96%)。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ1.41(d, 6H) 4.25(q, 1H) 7.21-7.26(m, 1H) 7.67(ddd, 1H) 8.10(dd, 1H)。



[0847] b. (1-(4-氟-3-硝基苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯

[0848] 向1-(4-氟-3-硝基苯基)乙胺(1.3g, 6.9mmol)在THF(10.0ml)中的悬浮液添加DIEA(2.4ml, 13.8mmol),然后添加二碳酸二叔丁酯(1.9ml, 8.3mmol)。将反应混合物在室温下于氮气气氛中搅拌2小时。将反应混合物倾入EtOAc/水中,并且用盐水洗涤有机层,经MgSO₄干燥并且蒸发。将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用10%至70%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(1.5g, 收率:75%)。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ1.37-1.50(m,

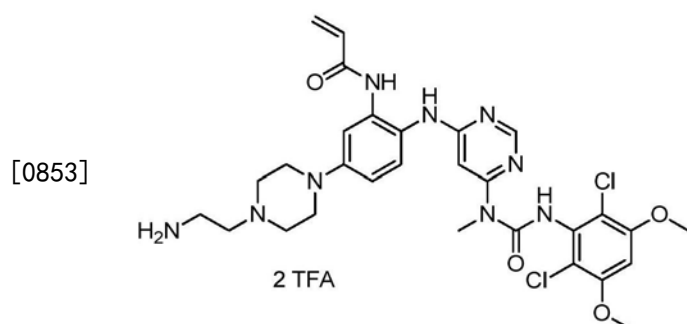
12H) 4.81 (br. s., 2H) 7.23–7.26 (m, 1H) 7.59 (ddd, 1H) 8.01 (dd, 1H)。



[0850] c. (1-(4-氨基-3-硝基苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯

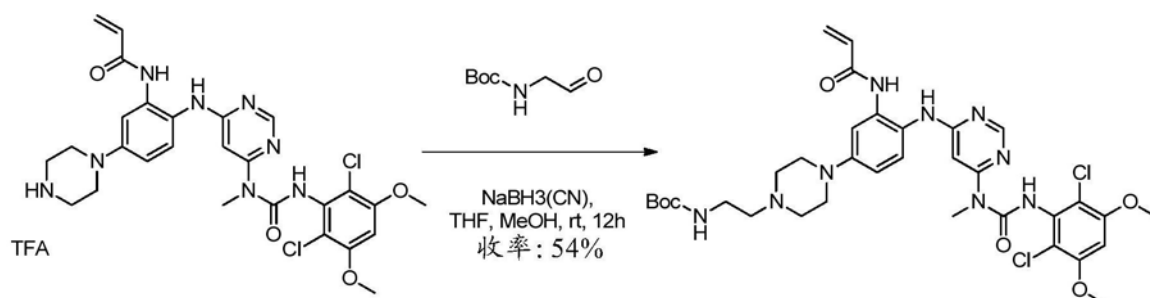
[0851] 将(1-(4-氟-3-硝基苯基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(500mg, 1.75mmol)在THF(2ml)中搅拌。添加 NH_4OH (0.978ml, 7.0mmol)并且使用微波(Biotage Initiator)将反应混合物在150°C下加热30分钟。添加 NH_4OH (0.600ml), 然后在180°C下加热。在冷却至室温后, 将反应混合物倾入 EtOAc /水中。用盐水洗涤有机层, 经 MgSO_4 干燥并且蒸发。将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用0%至50% EtOAc /己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(376mg, 收率: 76%)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 1.43–1.48 (m, 12H) 4.71 (br. s., 2H) 6.79 (d, 1H) 7.34 (dd, 1H) 8.05 (d, 1H)。

[0852] 实施例-161



[0854] N-(5-(4-(2-氨基乙基)哌嗪-1-基)-2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺2TFA盐

[0855]

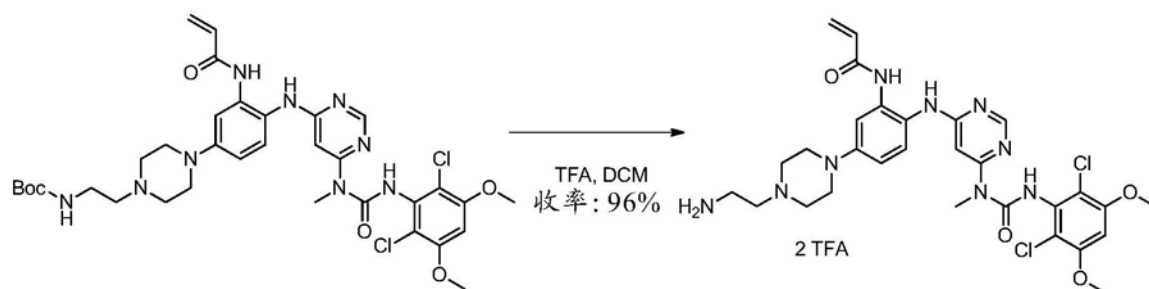


[0856] a. (2-(4-(3-丙烯酰氨基-4-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙基)氨基甲酸叔丁酯

[0857] 向N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(程序2L, 实施例157)(30mg, 0.042mmol)在THF(1.0ml)和MeOH(1.0ml)中的溶液添加(2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯(13mg, 0.08mmol)。将反应混合物在室温下搅拌10分钟。添加氰基硼氢化钠(7.0mg, 0.12mmol)并且将反应混合物在室温下搅拌过夜。蒸发溶剂并且添加饱和 NaHCO_3 溶液。用DCM对混合物萃取

三次。经Na₂SO₄干燥合并的有机层并且蒸发。将剩余的材料通过快速色谱在二氧化硅上用含0%至15%MeOH的DCM洗脱进行纯化以得到标题化合物(17mg, 收率:54%)。ESI-MS:744[M+H]⁺。

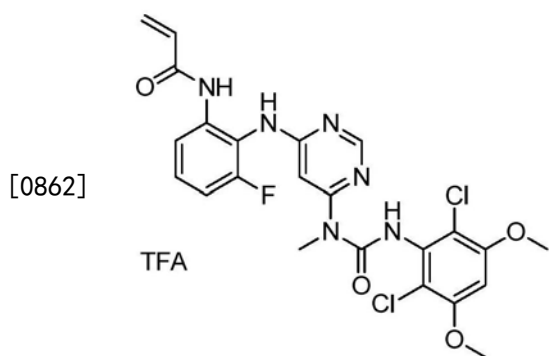
[0858]



[0859] N-(5-(4-(2-氨基乙基)哌嗪-1-基)-2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丙酰胺2TFA盐

[0860] 将(2-丙烯酰氨基-4-(4-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)哌嗪-1-基)苯基)(6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲基)嘧啶-4-基)氨基甲酸叔丁酯(17mg, 0.017mmol)在DCM(1.0ml)中搅拌。添加TFA(200μl, 2.6mmol)并且将混合物在室温下搅拌2小时。蒸发溶剂并且用乙醚研磨剩余的材料。收集所得的固体,用乙醚洗涤并且在氮气流下干燥以得到标题化合物(15mg, 收率:96%)。¹H-NMR(400MHz, MeOH-d₄) δ2.90(br.s., 6H) 3.15-3.22(m, 2H) 3.33-3.41(m, 4H) 3.94(s, 6H) 5.74-5.79(m, 1H) 6.17(s, 1H) 6.32-6.44(m, 2H) 6.81(s, 1H) 6.92-6.98(m, 1H) 7.35(d, 2H) 8.32(d, 1H); ESI-MS:644[M+H]⁺。

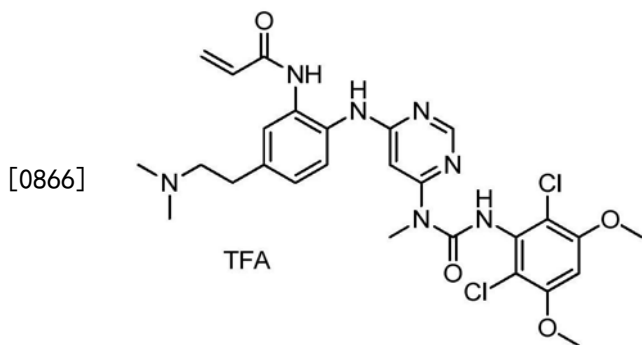
[0861] 实施例-162



[0863] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-氟苯基)丙酰胺2,2,2-三氟乙酸盐

[0864] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用2-氟-6-硝基苯胺、Pd(dba)₂、Brettphos和叔丁醇钠以得到游离碱,其转化为TFA盐。将游离碱溶于DCM中,并且添加1当量的TFA。蒸发混合物并且用乙醚研磨以得到标题化合物(47mg, 收率:22%, 经四个步骤)。¹H-NMR(400MHz, MeOH-d₄) δ3.30(s, 3H) 3.93(s, 6H) 5.72-5.78(m, 2H) 6.21-6.29(m, 1H) 6.23(d, 1H) 6.27(d, 1H) 6.32-6.40(m, 1H) 6.56(dd, 1H) 6.90(s, 1H) 7.10(t, 1H) 7.25-7.37(m, 1H) 7.76(d, 1H) 8.32(s, 1H) 8.89(s, 1H) 9.66(s, 1H) 11.96(s, 1H); ESI-MS:535[M+H]⁺。

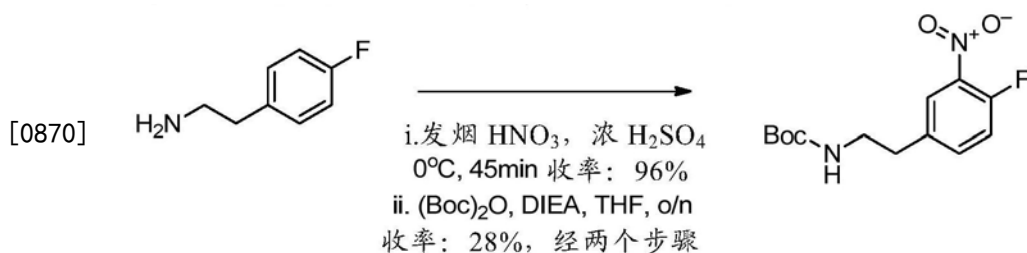
[0865] 实施例-163



[0867] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(2-(二甲基氨基)乙基)苯基)丙烯酰胺2,2,2-三氟乙酸盐

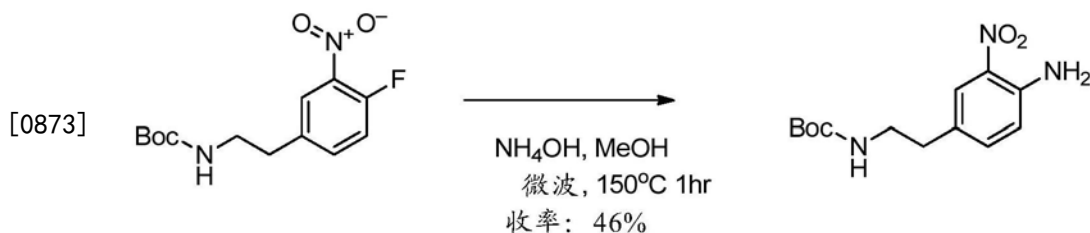
[0868] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用4-氨基-3-硝基苯乙基氨基甲酸叔丁酯(程序示于下文)、Pd(dba)₂和Brettphos以得到游离末端胺基的粗TFA盐,其直接用于以下其它步骤:向N-(5-(2-氨基乙基)-2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-3-(羟甲基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺2,2,2-三氟乙酸盐(9.2mg, 0.014mmol)在THF(1.0ml)和MeOH(1.0ml)中的溶液添加甲醛(5.1μl, 0.068mmol)。将反应混合物在室温下搅拌10分钟。添加氰基硼氢化钠(3.4mg, 0.055mmol)并且将反应混合物在室温下搅拌过夜。蒸发溶剂并且添加饱和NaHCO₃溶液。用DCM对混合物萃取三次。经Na₂SO₄干燥合并的有机层并且蒸发。将剩余的材料通过快速色谱在二氧化硅上用含10%至70%MeOH的DCM洗脱进行纯化以得到游离碱。向游离碱在DCM中的溶液添加TFA(11μl, 0.014mmol)。蒸发溶剂并且在高真空下干燥以得到标题化合物(6.3mg, 收率:66%)。¹H-NMR(400MHz, MeOH-d₄) δ2.97(s, 6H) 3.10(dd, 2H) 3.34(s, 3H) 3.45(dd, 2H) 3.94(s, 6H) 4.63-4.63(m, 1H) 5.76-5.81(m, 1H) 6.31-6.48(m, 3H) 6.81(s, 1H) 7.25(dd, 1H) 7.55(d, 1H) 7.62-7.72(m, 1H) 8.35(s, 1H); ESI-MS: 588[M+H]。

[0869] 4-氨基-3-硝基苯乙基氨基甲酸叔丁酯的制备



[0871] a. 4-氟-3-硝基苯乙基氨基甲酸叔丁酯

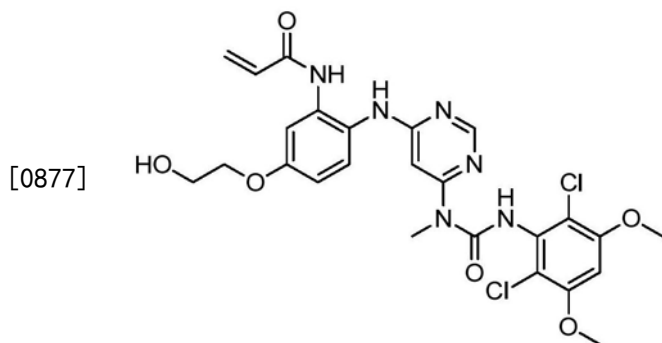
[0872] 将2-(4-氟苯基)乙胺(1.0g, 7.2mmol)溶于浓H₂SO₄(4.0ml, 75mmol)中并且在冰浴上冷却。向混合物小心地逐滴添加发烟HNO₃(0.48ml, 10.8mmol)。将反应混合物冷却搅拌45分钟并且倾入冰中。用3MNaOH溶液(60ml, 180mmol)使混合物碱化并且用DCM对碱性溶液萃取三次。经Na₂SO₄干燥合并的有机层并且蒸发以得到粗胺。将粗材料溶于THF(15.0ml)中。添加二碳酸二叔丁酯(1.7g, 7.9mmol)和DIEA(2.5ml, 14.4mmol), 并且将反应混合物在室温下搅拌12小时。将反应混合物倾入水中并且用EtOAc萃取。将有机层用盐水洗涤, 经MgSO₄干燥并且蒸发。将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用0%至20%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(569mg, 收率:28%)。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ1.44(s, 9H) 2.88(t, 2H) 3.40(d, 2H) 7.24(t, 1H) 7.42-7.54(m, 1H) 7.89(dd, 1H)。



[0874] b. 4-氨基-3-硝基苯乙基氨基甲酸叔丁酯

[0875] 将4-氟-3-硝基苯乙基氨基甲酸叔丁酯(569mg, 2.00mmol)在THF(2.64ml)中搅拌。添加 NH_4OH (2.50ml, 17.97mmol)并且使用微波(Biotage Initiator)将反应混合物在150°C下加热30分钟。添加 NH_4OH (0.600ml)并且然后在180°C下加热。在冷却至室温后,将反应混合物倾入EtOAc/水中。用盐水洗涤有机层,经 MgSO_4 干燥并且蒸发。将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用0%至30%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(257mg, 收率: 46%)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 1.44 (s, 9H) 2.73 (t, $J=7.03\text{Hz}$, 2H) 3.34 (m, 2H) 4.46-4.62 (m, 1H) 6.78 (d, $J=8.53\text{Hz}$, 1H) 7.24 (dd, $J=8.53, 1.76\text{Hz}$, 1H) 7.94 (d, $J=1.76\text{Hz}$, 1H)。

[0876] 实施例-164



[0878] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(2-(二甲基氨基)乙基)苯基)丙烯酰胺2,2,2-三氟乙酸盐

[0879] 按照程序2L(实施例157)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用2-硝基-4-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙氧基)苯胺(制备示于下文)和叔丁醇钠,以得到标题化合物(7mg, 收率: 2.7%, 经四个步骤)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, MeOH-d_4) δ 3.28 (s, 3H) 3.88-3.97 (m, 8H) 4.06-4.14 (m, 2H) 5.76 (dd, 1H) 6.12 (s, 1H) 6.32-6.46 (m, 2H) 6.79 (s, 1H) 6.91 (dd, 1H) 7.34-7.41 (m, 2H) 8.31 (d, 1H); ESI-MS: 577 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0880] 2-硝基-4-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙氧基)苯胺的制备

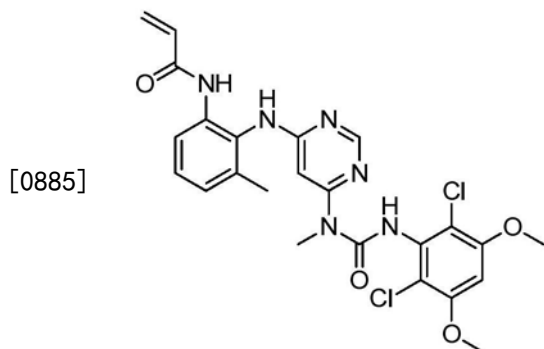


[0882] a. 2-硝基-4-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙氧基)苯胺

[0883] 将4-氨基-3-硝基苯酚(2.0g, 12.977mmol)溶于DMF(20ml)中并且添加碳酸钾(3.59g, 25.953mmol)。向混合物添加2-(2-溴乙氧基)四氢-2H-吡喃(2.55ml, 16.87mmol),并且将反应混合物在50°C下搅拌6小时,然后在室温下搅拌3天。将反应混合物倾入EtOAc/

盐水中。用EtOAc对水层萃取两次。将合并的有机层用盐水洗涤三次,经MgSO₄干燥并且蒸发。将所得的材料通过快速色谱在二氧化硅上用5%至40%EtOAc/己烷洗脱进行纯化以得到标题化合物(1.4g,收率:38%)。¹H-NMR(400MHz,CDCl₃) δ1.51-1.68(m,4H) 1.71-1.89(m,2H) 3.46-3.61(m,1H) 3.72-3.99(m,2H) 4.03-4.24(m,3H) 4.64-4.79(m,1H) 6.78(d,1H) 7.09-7.17(m,1H) 7.60(d,1H)。

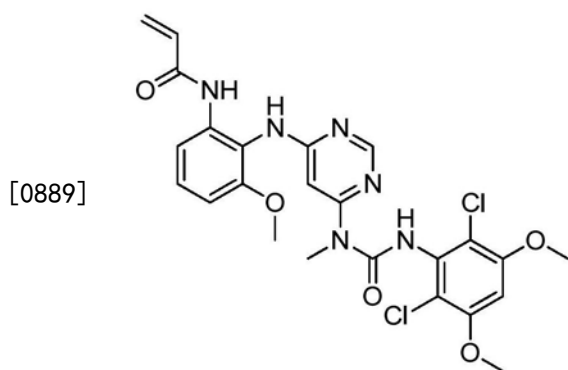
[0884] 实施例-165



[0886] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲基苯基)丙烯酰胺

[0887] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用2-甲基-6-硝基苯胺、Pd(dba)₂、Brettphos和叔丁醇钠以得到标题化合物(3.0mg,收率:6%,经五个步骤)。¹H-NMR(400MHz,MeOH-d₄) δ3.52(m,3H) 3.95(m,6H) 5.69(dd,1H) 6.21(dd,1H) 6.46(dd,1H) 6.64(d,1H) 6.73(d,1H) 6.82(s,1H) 7.11(t,1H) 8.06(d,1H) 8.55(d,1H);ESI-MS:531[M+H]⁺。

[0888] 实施例-166

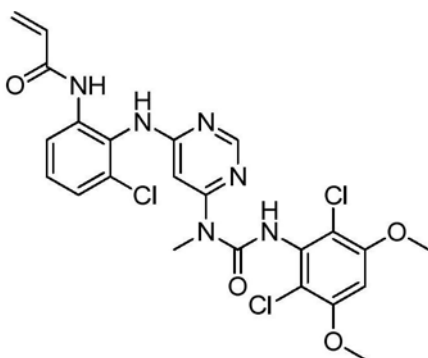


[0890] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)丙烯酰胺

[0891] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用2-甲氧基-6-硝基苯胺、Pd(dba)₂、Brettphos和叔丁醇钠以得到标题化合物(33.0mg,收率:6.1%,经五个步骤)。¹H-NMR(400MHz,MeOH-d₄) δ3.76(s,3H) 3.93(s,6H) 5.70(dd,1H) 6.23(d,1H) 6.52(d,1H) 6.88-6.95(m,2H) 7.27(t,1H) 7.44-7.56(m,1H) 8.28(s,1H) 8.57(br.s.,1H) 9.40-9.57(m,1H) 12.15(s,1H);ESI-MS:547[M+H]⁺。

[0892] 实施例-167

[0893]

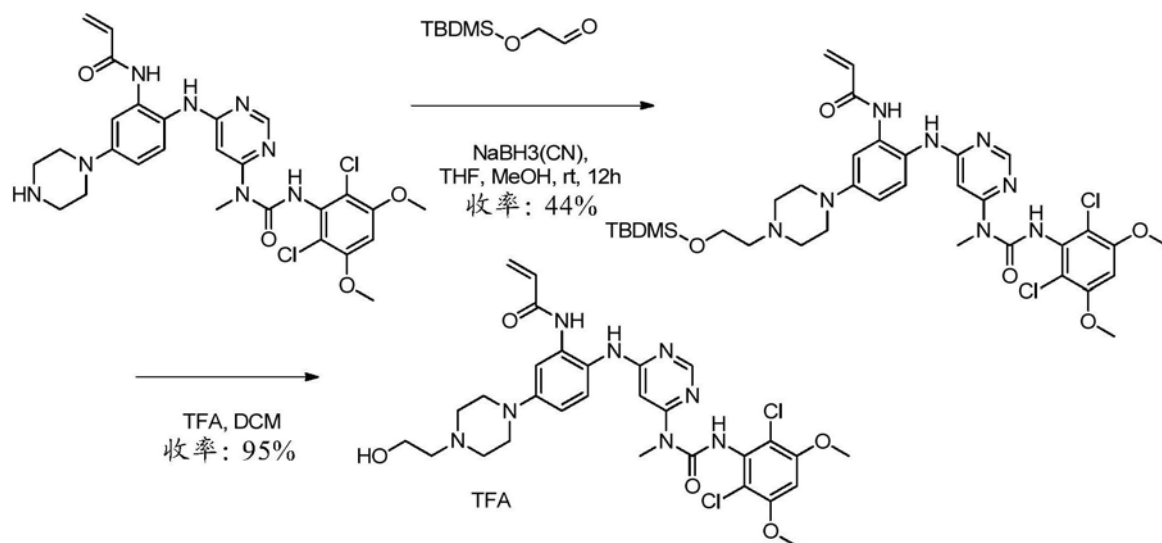


[0894] N-(3-氯-2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基咪唑基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺

[0895] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用2-氯-6-硝基苯胺、Pd(dba)₂、Brettphos和叔丁醇钠以得到标题化合物(11.0mg,收率:5%,经五个步骤)。¹H-NMR(400MHz, MeOH-d₄) δ3.29(s, 3H) 3.94(s, 6H) 5.71-5.75(m, 1H) 6.23(dd, 1H) 6.56(dd, 1H) 6.90(s, 1H) 7.31-7.39(m, 2H) 7.94(d, 1H) 8.30(s, 1H) 9.01(s, 1H) 9.51-9.70(m, 1H) 12.04(s, 1H); ESI-MS: 551[M+H]⁺。

[0896] 实施例-168

[0897]

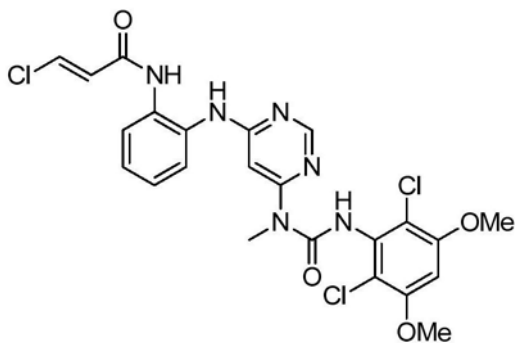


[0898] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基咪唑基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-(2-羟乙基)吡嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺TFA盐的制备

[0899] 按照实施例161中概述的方法合成化合物,其中在步骤(a)中代用2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙醛以得到标题化合物(13mg,收率:42%,经两个步骤)。¹H-NMR(400MHz, MeOH-d₄) δ3.14-3.20(m, 2H) 3.35-3.37(m, 2H) 3.73-3.76(m, 2H) 3.84-3.96(m, 10H) 5.75-5.79(m, 1H) 6.24(s, 1H) 6.37-6.47(m, 2H) 6.81(s, 1H) 6.99(dd, 1H) 7.37-7.46(m, 2H) 8.34-8.36(m, 1H); ESI-MS: 645[M+H]⁺。

[0900] 实施例-170

[0901]

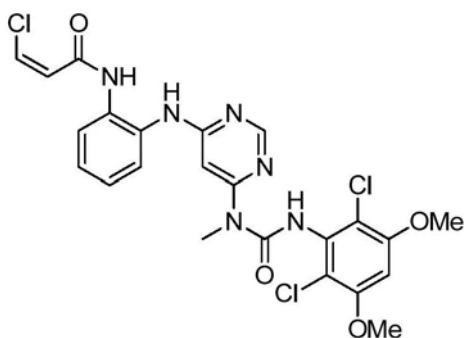


[0902] (E)-3-氯-N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基咪唑-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺

[0903] 按照程序2A(实施例100)中概述的方法合成标题化合物,其中将步骤(i)修改为以下程序:向冷却至0℃的1-(6-((2-氨基苯基)氨基)咪唑-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒(10mg,0.022mmol)、三乙胺(10.9mg,0.11mmol)和(E)-3-氯丙烯酸(2.76mg,0.026mmol)在DCM(0.4ml,6.22mmol)中的溶液添加2,4,6-三丙基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三磷(trioxatriphosphinane)2,4,6-三氧化物(0.023ml,0.039mmol,50%溶液于EtOAc中)。将所得的混合物在室温下搅拌4h并且浓缩。将剩余的残余物通过硅胶快速色谱纯化以获得标题化合物(7.2mg,收率:61%)。¹HNMR(400MHz,CDC13) δ3.30(s,3H) 3.90(s,6H) 6.02(s,1H) 6.36(d,J=12.92Hz,1H) 6.49(s,1H) 7.21-7.33(m,2H) 7.36-7.50(m,2H) 7.75(d,J=6.53Hz,1H) 7.93(br.s.,1H) 8.41(s,1H) 12.50(s,1H);MS(ESI):551.0[M+H]⁺。

[0904] 实施例-171

[0905]

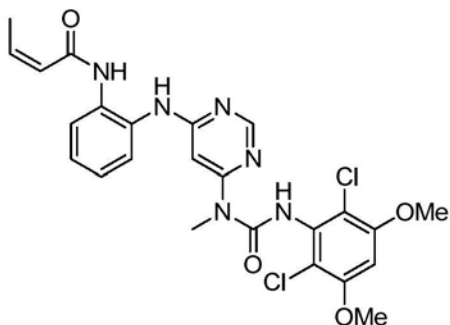


[0906] (Z)-3-氯-N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基咪唑-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺

[0907] 按照程序2A(实施例100)中概述的方法合成标题化合物,其中将步骤(i)修改为以下程序:向冷却至0℃的1-(6-((2-氨基苯基)氨基)咪唑-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒(20mg,0.043mmol)、三乙胺(21.8mg,0.22mmol)和(Z)-3-氯丙烯酸(5.5mg,0.052mmol)在DCM(0.86ml,13.3mmol)中的溶液添加2,4,6-三丙基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三磷2,4,6-三氧化物(49mg,0.78mmol,50%溶液于EtOAc中)。将所得的混合物在室温下搅拌2h并且浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱纯化以获得标题化合物(15mg,收率:63%)。¹HNMR(400MHz,CDC13) δX;MS(ESI):551.0[M+H]⁺。

[0908] 实施例-172

[0909]

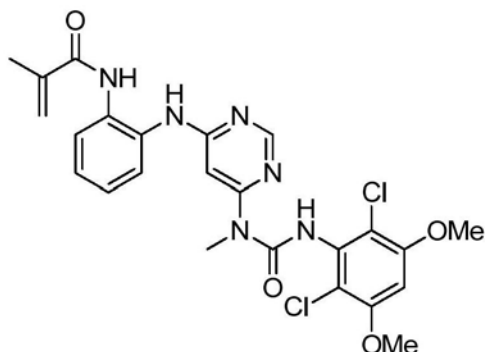


[0910] (Z)-N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)丁-2-烯酰胺

[0911] 按照程序2A(实施例100)中概述的方法合成标题化合物,其中将步骤(i)修改为以下程序:在0℃下,向1-(6-((2-氨基苯基)氨基)嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲(20mg,0.043mmol)、三乙胺(21.8mg,0.22mmol)和(Z)-丁-2-烯酸(4.5mg,0.052mmol)在DCM(0.86ml,13.3mmol)中的溶液添加2,4,6-三丙基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三磷2,4,6-三氧化物(49.4mg,0.78mmol,50%溶液于EtOAc中)的溶液,并且将所得的混合物在室温下搅拌2h。浓缩混合物并且将残余物通过硅胶柱纯化以获得标题化合物(8.5mg,收率:37%)。¹H NMR(400MHz,CDC13) δ2.20(dd,J=7.28,1.76Hz,3H)3.30(s,3H)3.92(s,6H)5.85(dd,J=11.42,1.76Hz,1H)5.99(s,1H)6.29(dd,J=11.36,7.34Hz,1H)6.52(s,1H)7.23-7.34(m,2H)7.46(d,J=7.40Hz,1H)7.55(br.s.,1H)7.78(d,J=7.53Hz,1H)8.40(d,J=0.88Hz,1H)12.50(s,1H);MS(ESI):531.3[M+H]⁺。

[0912] 实施例-175

[0913]

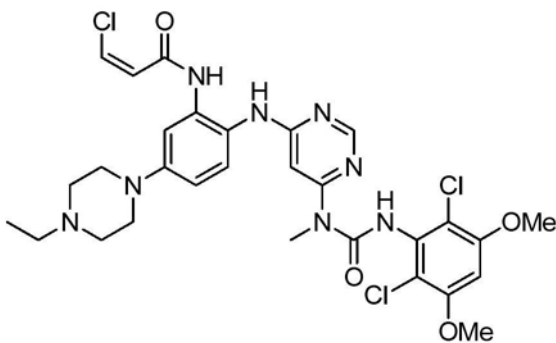


[0914] (S,Z)-N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)-4-羟基戊-2-烯酰胺

[0915] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用2-硝基苯胺并且在步骤(g)中代用甲基丙烯酰氯,以得到标题化合物(13mg,收率:72%)。¹H NMR(400MHz,CDC13) 2.03(br.s.,3H)3.31(s,3H)3.92(s,6H)5.49(s,1H)5.81(s,1H)6.00(s,1H)6.53(s,1H)7.29(m,3H)7.44(d,J=7.91Hz,1H)7.83(d,J=7.53Hz,1H)7.92(s,1H)8.41(s,1H)12.34(s,1H)。MS(ESI):531.1[M+H]⁺。

[0916] 实施例-181

[0917]

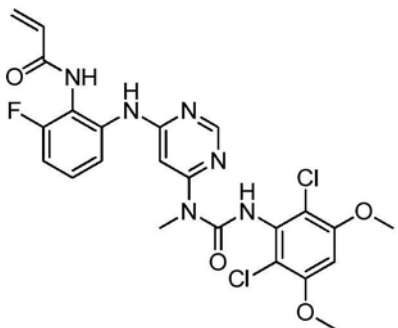


[0918] (Z)-3-氯-N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)丙烯酰胺

[0919] 按照程序2C(实施例108)中概述的方法合成标题化合物,其中将步骤(g)修改为以下程序:在0℃下,向1-(6-((2-氨基-4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲(11mg,0.019mmol)、三乙胺(9.67mg,0.096mmol)和(Z)-3-氯丙烯酸(2.43mg,0.023mmol)在DCM(0.4ml,6.21mmol)中的溶液添加2,4,6-三丙基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三磷2,4,6-三氧化物(21.9mg,0.034mmol)的溶液,并且将所得的混合物在室温下搅拌30min。浓缩混合物并且将残余物通过硅胶柱纯化以获得标题化合物(7.5mg,收率:59%)。¹H NMR(400MHz,CDC13) δ1.29(t,J=8.0Hz,3H) 2.90(br.s.,4H) 3.27(s,3H) 3.45(t,J=4.64Hz,4H) 3.91(s,6H) 5.90(s,1H) 6.32(d,J=8.41Hz,1H) 6.52(s,1H) 6.59(d,J=8.41Hz,1H) 6.73(dd,J=8.78,2.76Hz,1H) 7.09(br.s.,1H) 7.24(s,2H) 7.83(br.s.,1H) 8.36(s,1H) 8.69(br.s.,1H) 12.52(s,1H);MS(ESI):663.1[M+H]⁺。

[0920] 实施例-185

[0921]



[0922] N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)嘧啶-4-基)氨基)-6-氟苯基)丙烯酰胺

[0923] 按照程序2G(实施例123)中概述的方法合成化合物,其中在步骤(d)中代用3-氟-2-硝基苯胺,省略步骤(e)并且将步骤(g)修改为以下程序:在0℃下,向1-(6-((2-氨基-3-甲基苯基)氨基)嘧啶-4-基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基-3-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)脲(31mg,0.051mmol)、二异丙基乙胺(13.1mg,0.103mmol)和丙烯酸(39.9mg,0.055mmol)在DCM(1ml,15.54mmol)中的溶液添加2,4,6-三丙基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三磷2,4,6-三氧化物(48.1mg,0.076mmol,50%溶液于EtOAc中),并且将所得的混合物在室温下搅拌2h。浓缩混合物并且将残余物通过硅胶柱纯化以获得SEM保护的标题化合物(24mg,收率:71%,经三个步骤)。在最终步骤(g)之后,分离标题化合物(12mg,收率:62%)。¹H-NMR(400MHz,CDC13) δ3.40(s,3H) 3.93(m,6H) 5.91(d,1H) 6.20(s,1H) 6.30-6.45(m,1H)

6.50–6.58 (m, 2H) 7.01 (t, 1H) 7.28–7.35 (m, 1H) 7.42–7.63 (m, 2H) 8.41 (s, 1H) 12.43 (br. s., 1H); ESI-MS: 535 [M+H]⁺。

[0924] 生物活性的测定

[0925] 与FGFR4结合的测定。将纯化的重组FGFR4用10μM化合物在4℃下预孵育过夜,或在室温下预孵育1小时。在预孵育后,使用SDS-PAGE分离蛋白质样品,并且用SimplyBlue™ SafeStain (Life Technologies, Grand Island, New York) 对凝胶进行染色。切出FGFR带并且用凝胶内胰蛋白酶消化试剂盒 (In-Gel Tryptic Digestion Kit) (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts) 进行消化。在Thermo Scientific Q Exactive™ LCMS上使用反相分离和串联质谱运行消化的样品以鉴定修饰的肽。

[0926] 或者,在预孵育之后,将FGFR4在OPTI-TRAP蛋白质浓缩和脱盐C4柱 (Optimize Technologies) 上进行浓缩和缓冲液交换。在包含0.1%甲酸的乙腈中洗脱蛋白质并且在Thermo Scientific Q Exactive™ LCMS上通过直接注射运行,以鉴定修饰的完整FGFR4。

[0927] 通过肽-配体加成物的预期质量与观测质量的一致性,以下表2中提供的结果确认了所测试的化合物与肽的共价加成物的形成。

[0928] 表2

[0929]	化合物#	预期质量 [Da]	观测质量 [Da]
	100	3133.50	3134.48
	化合物#	预期质量 [Da]	观测质量 [Da]
	100	35835.9	35836.1
	108	35948.0	35948.1

[0930] 激酶活性抑制的IC₅₀特性。在Reaction Biology Corporation (Malvern, Pennsylvania) 用其激酶HotSpotSM测定对化合物进行FGFR抑制活性的特性。参见Anastassiadis等人, 2011, Comprehensive assay of kinase catalytic activity reveals features of kinase inhibitor selectivity. Nat Biotechnol 29, 1039–1045。

[0931] 在激酶反应缓冲液 (20mM HEPES-HCl, pH 7.5, 10mM MgCl₂, 2mM MnCl₂, 1mM EGTA, 0.02% Brij35, 0.1mM Na₃VO₄, 0.02mg/ml BSA, 2mM DTT和1% DMSO) 中, 将重组FGFR1 (2.5nM)、FGFR2 (1nM)、FGFR3 (5nM) 或FGFR4 (12nM) (Invitrogen™) 制备成与底物KKKSPGEYVNIEFG (SEQ ID NO:1) (20μM, FGFR1底物); 以及Poly[E,Y]4:1 (0.2mg/ml, FGFR2、FGFR3、FGFR4底物) 的混合物。使用声学技术Labcyte® Echo 550, Sunnyvale, California) (参见Olechno等人, 2006, Improving IC₅₀ results with acoustic droplet ejection. JALA11, 240–246) 将化合物添加至酶/底物混合物中, 并且在室温下预孵育0分钟、15分钟或60分钟。在化合物预孵育后, 将ATP (Sigma-Aldrich®) 和³³P-γ-ATP (PerkinElmer) 的混合物以10μM的最终浓度添加以引发激酶反应。将反应在室温下孵育120

分钟,然后点样在Whatman™ P81离子交换滤纸上。通过在0.75%磷酸中广泛地洗涤过滤器去除未结合的磷酸盐。参见Anastassiadis等人,2011,Comprehensive assay of kinase catalytic activity reveals features of kinase inhibitor selectivity.Nat Biotechnol 29,1039-1045。

[0932] 在上表1中所列的各个化合物以后,显示了对于FGFR4和FGFR1的结果。化合物显示出对FGFR4的选择性抑制,对FGFR1具有较高的IC₅₀。

[0933] 不希望受理论束缚,对于FGFR1的IC₅₀活性通常代表对于FGFR1、FGFR2和FGFR3的活性。还参见Diec等人,2013,Fibroblast Growth Factor Receptor Inhibitors as a Cancer Treatment:From a Biologic Rationale to Medical Perspectives.Cancer Discovery,F1-F16。

[0934] 为了确认这种情况,还测试了一些化合物对FGFR2和FGFR3的抑制。显示于以下表3中的这些结果与通常代表FGFR1、FGFR2和FGFR3的活性的FGFR1的IC₅₀活性一致,并且还显示了这些FGFR4抑制剂的选择性。

[0935] 表3

[0936]

化合物#	FGFR2 IC ₅₀ (μM)	FGFR3 IC ₅₀ (μM)	FGFR1 IC ₅₀ (μM)	FGFR4 IC ₅₀ (μM)
100	4.18	1.98	>10.1	<0.001
108	1.98	2.00	0.173	<0.001

[0937] 在肿瘤模型中的体内功效。在具有来自三种不同人肝细胞癌肿瘤细胞系的肿瘤异种移植物的裸小鼠中评估了化合物108抑制肿瘤生长的能力。这些细胞系代表具有改变的FGFR4和/或FGF19状态的癌症。参见Sawey等人,Cancer Cell 19(3):347-358(2011)。

[0938] 动物:6-8周龄并且体重约为19-25g的裸鼠购买自Taconic (Taconic,Hudson,New York)。所有动物实验根据动物管理与使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee)批准的方案来进行。

[0939] 肿瘤异种移植和治疗:将各自在总体积为100μl的1:1基质胶(Corning Inc, Corning,NY)中的7.5x 10⁶个HUH7细胞(HSRRB目录号JCRB0403)、5x 10⁶个Hep3B(ATCC目录号HB8064)或2.5x 10⁶个JHH7细胞(HSRRB目录号JCRB1031)经皮下(s.c.)注入右侧腹。当肿瘤达到150-200mm³时,将小鼠随机分成5-10只动物的治疗组。使用化合物108以指定的剂量通过腹膜内注射每天两次进行给药15天,所述化合物108在5%DMSO(Alfa Aesar,Ward Hill,MA)、10%PEG300(Sigma,St.Louis,MO)、8%TWEEN®80(Sigma,St.Louis,MO)、77%USP盐水的媒介物中以所需的浓度配制。使用公式体积=(长度x宽度²)/2每周采集肿瘤体积两次。每周也采集体重两次。根据第8版的实验室动物护理与使用指南(National Academies Press,Washington D.C.)观察和护理所有动物。

[0940] 统计方法:在实验结束时,使用用于比较治疗组的重复测量方差分析以及邦弗朗尼(Bonferroni)后检验,使用GraphPad Prism 5进行统计比较。以下标准用于测定进行性疾病、稳定性疾病、部分退化和完全退化。将进行性疾病定义为三次连续测量值从最佳反应

增加或>120%初始肿瘤体积。稳定性疾病为三次连续测量值<120%初始肿瘤体积并且>50%初始肿瘤体积,而三次连续测量值<50%初始肿瘤体积作为部分退化。完全退化为三次连续测量值<30mm³。将卡方检验(Chi-squared test)用于比较治疗组之间的反应(Microsoft Excel)。

[0941] 来自具有HUH7、HEP3B和JHH7癌细胞的肿瘤的动物的结果分别显示在图1-3中,并且也体现在表4中。

[0942] 表4-在FGF19扩增的HCC异种移植物中的肿瘤生长的抑制HUH7 (每组n=10)

[0943]

剂量 (mg/kg)	完全退化	部分退化	稳定性疾病	进行性疾病
25	1	4	3	2
37.5	2	5	3	0

[0944] HEP3B (每组n=5)

[0945]

剂量 (mg/kg)	完全退化	部分退化	稳定性疾病	进行性疾病
12.5	0	0	0	5
25	0	1	4	0
37.5	5	0	0	0

[0946] JHH7 (每组n=10)

[0947]

剂量 (mg/kg)	完全退化	部分退化	稳定性疾病	进行性疾病
12.5	0	0	0	10
25	0	0	0	10
37.5	0	0	0	10

[0948] 这些数据证明化合物108在所有模型中是有效的。在三种模型中,HEP3B是最敏感的,JHH7是最不敏感的,而HUH7对化合物108显示居中的敏感度。尽管在图3中可以观察到对JHH7的剂量反应,但是在测试的所有剂量水平中存在进行性疾病。

[0949] 化合物108与BGJ398的对比研究。用化合物108和已知的FGFR抑制剂BJG398进行对比研究。

[0950] 获得IC₅₀的生物化学激酶测定方案:在激酶反应缓冲液(20mM HEPES-HCl,pH 7.5, 10mM MgCl₂,2mM MnCl₂,1mM EGTA,0.02%Brij 35,0.1mM Na₃V0₄,0.02mg/ml BSA,2mM DTT

和1%DMSO)中,将重组FGFR1 (2.5nM) 或FGFR4 (12nM) 制备成与底物KKKSPGEYVNIEFG (SEQ ID NO:1) (20μM,FGFR1底物);Poly[E,Y]4:1 (0.2mg/ml,FGFR2、FGFR3、FGFR4底物)的混合物。使用声学技术将化合物添加至酶/底物混合物中,并且在室温下预孵育0分钟、15分钟或60分钟。在化合物预孵育之后,将³³P-γ-ATP以10μM的最终浓度添加以引发激酶反应。将反应在室温下孵育120分钟。如上所述,通过过滤测定监控底物磷酸化。结果显示于表5中。所报告的结果显示化合物108是更有效的FGFR4抑制剂,而BGJ398是更有效的FGFR1抑制剂。

[0951] 表5-使用生物化学激酶测定对化合物108和BGJ398的对比测试

[0952]	激酶	化合物 108 IC ₅₀ (nM)	BGJ398 IC ₅₀ (nM)
	FGFR4	< 0.2	13
	FGFR1	513	1.0

[0953] 获得GI₅₀的细胞活力测定方案:在37℃、5%CO₂和95%湿度下培养细胞系。培养基购买自GIBCO®,USA。为了活力测定,以2000个细胞/孔接种于96孔板中,在化合物治疗之前孵育24h。在添加化合物之后,将板在37℃、5%CO₂下孵育72h,然后通过CTG测定(CellTiter-Glo®发光细胞活力测定,目录号:G7572,Promega)进行测量。结果显示于表6中。所述表显示在Hep3B细胞(FGF19扩增的系)中化合物108比BGJ398更有效。HUH7和JHH7(其它两种FGF19扩增的系)中的效能在化合物108与BGJ398之间是相当的。HepG2(ATCC目录号HB-8065)、SNU398(ATCC目录号CRL-2233)和SNU449(ATCC目录号CRL-2234)是用作对照的FGF19非扩增的细胞系。

[0954] GI₅₀是测试药物的浓度,其中 $100 \times (T - T_0) / (C - T_0) = 50$ 。参见例如Monks等人,Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines,J Natl Cancer Inst(1991) 83(11):757-766;Boyd等人,Data Display and Analysis Strategies for the NCI Disease-oriented In Vitro Antitumor Drug Screen,in CYTOTOXIC ANTICANCER DRUGS:MODELS AND CONCEPTS FOR DRUG DISCOVERY AND DEVELOPMENT,Valerio等人编辑,(1990),pp.11-34。在暴露于测试药物72h之后,测试孔的发光为T,在时间零点的发光为T₀,并且对照发光为C。GI₅₀测量了测试试剂的生长抑制能力。

[0955] 表6-化合物108和BGJ398在细胞活力测定中的对比测试

[0956]

细胞系	化合物 108 GI ₅₀ (nM)	BGJ398 GI ₅₀ (nM)
HEP3B	18 ± 6 nM (n=27)	74 ± 23 nM (n=6)
JHH7	216 ± 70 nM (n=4)	178 ± 30 nM (n=2)
HUH7	408 ± 128 nM (n=4)	231 ± 100 nM (n=2)
HEPG2	6506±1424 nM (n=27)	2260±1182 nM (n=6)
SNU398	> 10000 (n=2)	未测量
SNU449	> 10000 (n=2)	未测量

[0957] 体内功效对比：将裸鼠用于以上所述的这些实验。将在总体积为100μl的1:1基质胶(Corning Inc, Corning, New York)中的 5.0×10^6 个Hep3B细胞经皮下注入右侧腹。当肿瘤达到150-200mm³时,将小鼠随机分成5-10只动物的治疗组。然后使用化合物108开始治疗,所述化合物108在5%DMSO (Alfa Aesar, Ward Hill, MA)、10%PEG300 (Sigma, St. Louis, MO)、8% **TWEEN®** 80 (Sigma, St. Louis, MO)、77% USP盐水的媒介物中以所需浓度配制。将作为0.5%甲基纤维素 (Sigma) / 0.2% **TWEEN®** 80中的悬浮液配制的BGJ398以所需浓度悬浮。除了一个治疗组(见以下)以外,将两种药物给药18天。使用公式体积 = (长度x宽度²) / 2每周采集肿瘤体积两次。每周也采集体重两次。根据第8版的实验室动物护理与使用指南(National Academies Press, Washington D.C.) 观察和护理所有动物。在图4中显示了这种对比性体内研究的结果。

[0958] 数据显示化合物108在耐受剂量水平方面比BGJ398更有效。尽管60mg/kgBGJ398显示出与化合物108相当的功效,但是该60mg/kgBGJ398组的给药由于动物较差的健康状况不得不在第11天终止。这种毒性的差异并不是由施用路径引起的,因为以30mg/kg口服给药BGJ398的动物组并未显示出较差的健康状况。

[0959] 上述内容是对本发明的示例性说明,而不应解释为限制本发明。本发明由所附实施方案书以及包括于其中的实施方案的等同物进行限定。

序列表

- <110> 卫材R&D管理有限公司 (EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD.)
多米尼克·雷诺兹 (Reynolds, Dominic)
郝鸣鸿 (Hao, Ming-Hong)
王渊 (Wang, Yuan)
苏蒂普·普拉贾巴蒂 (Prajapati, Sudeep)
佐藤 高志 (Satoh, Takashi)
阿南德·瑟瓦拉 (Selvaraj, Anand)
- <120> FGFR4抑制剂
- <130> 1162-3XW0
- <150> US 61/892,881
- <151> 2013-10-18
- <160> 1
- <170> SIPOSequenceListing 1.0
- <210> 1
- <211> 14
- <212> PRT
- <213> 人工序列 (Artificial)
- <220>
- <221> PEPTIDE
- <222> ()..()
- <223> FGFR1底物
- <400> 1
- Lys Lys Lys Ser Pro Gly Glu Tyr Val Asn Ile Glu Phe Gly
1 5 10

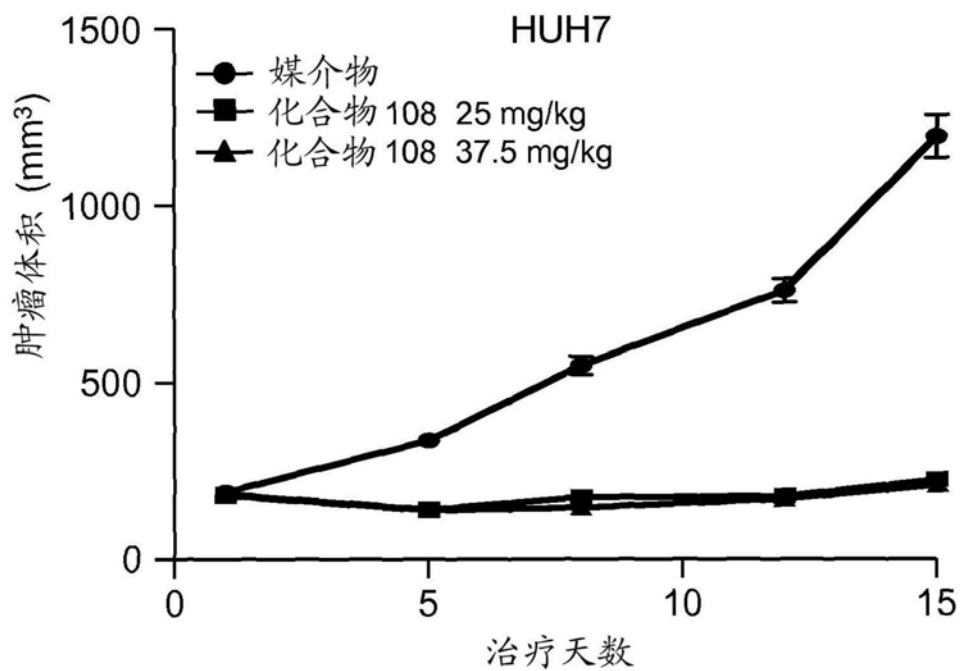


图1

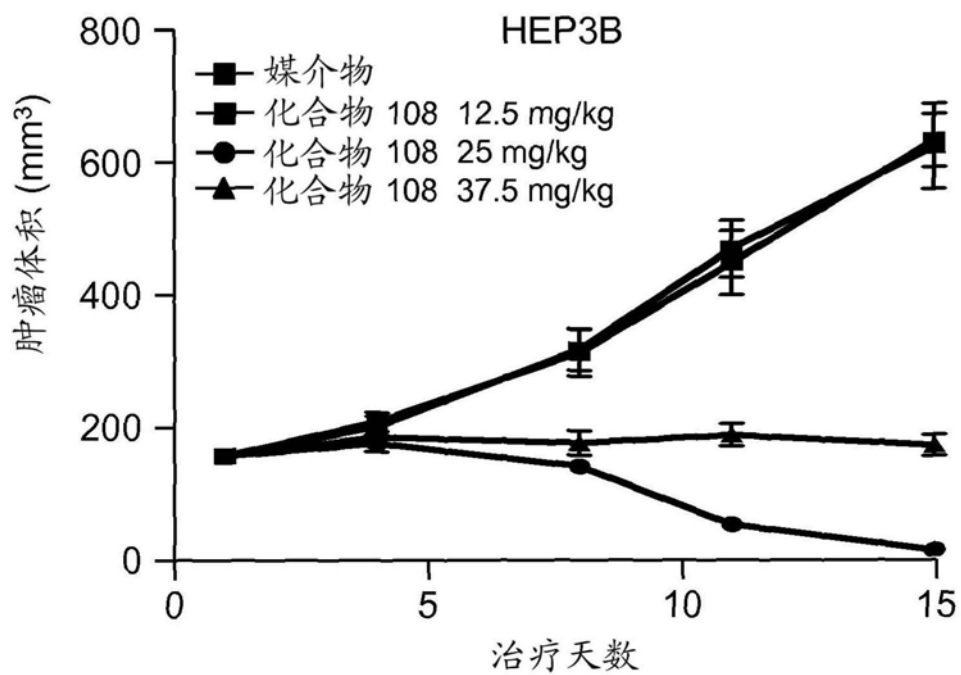


图2

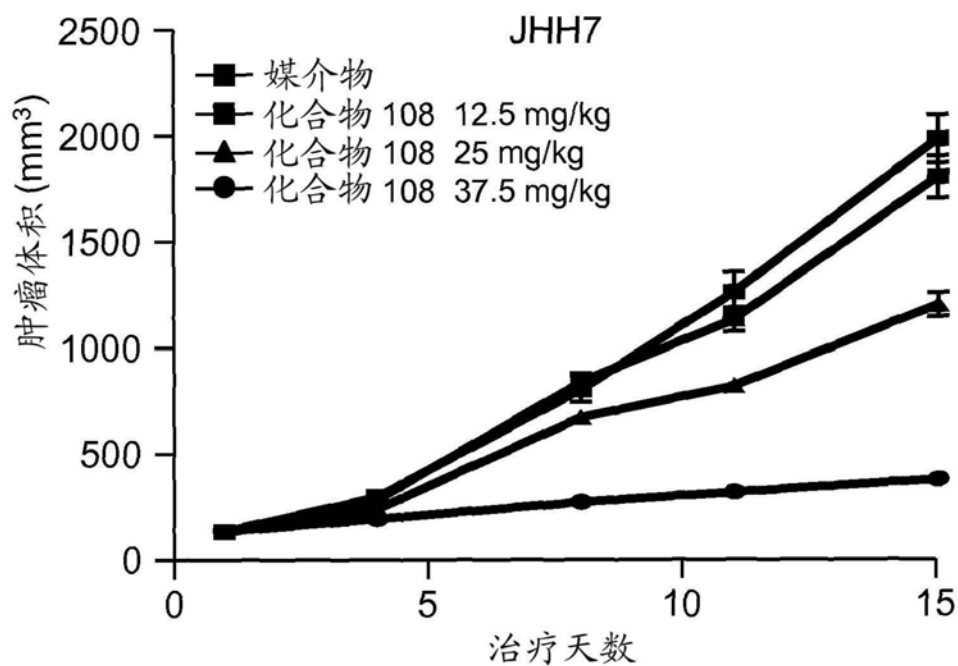


图3

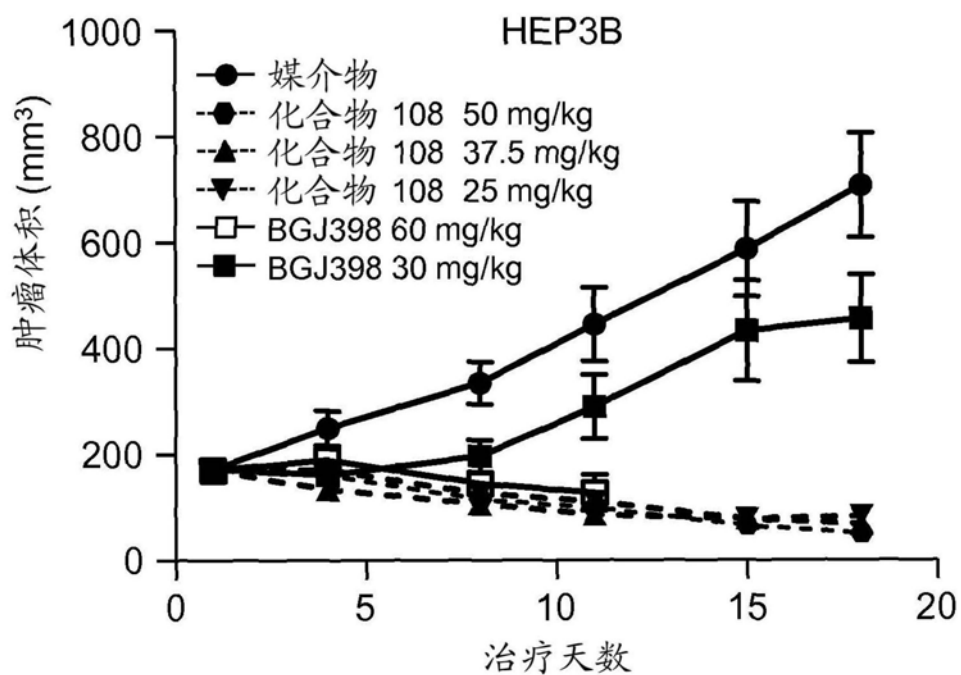


图4