

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2017 年 11 月 23 日 (23.11.2017)



(10) 国际公布号
WO 2017/198221 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 471/10 (2006.01) **A61K 31/506** (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)

C07D 487/10 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/085135

(22) 国际申请日: 2017 年 5 月 19 日 (19.05.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201610341444.0 2016 年 5 月 20 日 (20.05.2016) CN

(71) 申请人: 浙江海正药业股份有限公司 (ZHEJIANG HISUN PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国浙江省台州市椒江区外沙路 46 号, Zhejiang 318000 (CN)。

(72) 发明人: 陈磊 (CHEN, Lei); 中国浙江省台州市椒江区外沙路 46 号浙江海正药业股份有限公司, Zhejiang 318000 (CN)。关东亮 (GUAN, Dongliang); 中国浙江省台州市椒江区外沙路 46 号浙江海正药业股份有限公司, Zhejiang 318000 (CN)。白骅 (BAI, Hua); 中国浙江省台州市椒江区外沙路 46 号浙江海正药业股份有限公司, Zhejiang 318000 (CN)。苟俊 (GOU, Jun); 中国浙江省台州市椒江区外沙路 46 号浙江海正药业股份有限公司, Zhejiang 318000 (CN)。赵伟峰 (ZHAO, Weifeng); 中国浙江省台州市椒江区外沙路 46 号浙江海正药业股份有限公司, Zhejiang 318000 (CN)。王中利 (WANG, Zhongli); 中国浙江省台州市椒江区外沙路 46 号浙江海正药业股份有限公司, Zhejiang 318000 (CN)。凌龙

(LING, Long); 中国浙江省台州市椒江区外沙路 46 号浙江海正药业股份有限公司, Zhejiang 318000 (CN)。马玉涛 (MA, Yutao); 中国浙江省台州市椒江区外沙路 46 号浙江海正药业股份有限公司, Zhejiang 318000 (CN)。

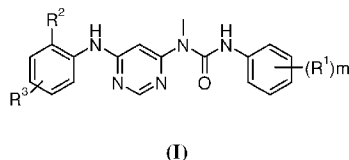
(74) 代理人: 北京邦信阳专利商标代理有限公司 (BOSS&YOUNG PATENT AND TRADEMARK LAW OFFICE); 中国北京市朝阳区建国门外大街永安东里甲 3 号通用时代国际中心 A 座 5 层, Beijing 100022 (CN)。

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

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

(54) Title: PYRIMIDINE DERIVATIVE, METHOD FOR PREPARING SAME AND USE THEREOF IN MEDICINE

(54) 发明名称: 嘧啶类衍生物、其制备方法和其在医药上的用途



(57) Abstract: The present invention relates to a pyrimidine derivative, a method for preparing same and use thereof in medicine. In particular, the present invention relates to a pyrimidine derivative represented by general formula (I), a method for preparing same and a pharmaceutically acceptable salt thereof as well as use thereof as a therapeutic agent, in particular as a FGFR4 kinase inhibitor, definitions of each substituent in the general formula (I) being the same as those defined in the description.

(57) 摘要: 本发明涉及嘧啶类衍生物及其制备方法和医药用途。具体而言, 本发明涉及一种通式(I)所示的嘧啶类衍生物、其制备方法及其可药用的盐, 以及它们作为治疗剂, 特别是作为FGFR4激酶抑制剂的用途, 其中通式(I)中的各取代基的定义与说明书中的定义相同。

本国际公布：

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

嘧啶类衍生物、其制备方法和其在医药上的用途

发明领域

本发明涉及一种新的嘧啶类衍生物、其制备方法及其含有该衍生物的药物组合物以及其作为治疗剂特别是作为 FGFR4 抑制剂的用途。

发明背景

成纤维细胞生长因子受体(FGFR)家族是由四个成员(FGFR1、FGFR2、FGFR3和FGFR4)组成,其属于受体酪氨酸激酶家族的激酶,FGF结合导致FGFR二聚化,随后为受体自体磷酸化和下游信号通路的激活。受体活化足以复元和活化参与如细胞生长、细胞新陈代谢和细胞存活的多元化过程调控的特定下游信号伙伴。因此,在对于肿瘤细胞增殖、迁移、浸润、血管形成、细胞关键性的许多生物过程中,FGF/FGFR信号通路具有多效应作用。FGFR家族的四个成员在其配体亲和力及组织分布方面彼此不同。FGFR-4基因的基因组结构含有18个外显子。

人类FGF19基因位于11q13.1,FGFR4与其配体FGF19特异性结合抑制细胞凋亡和NF- κ B信号,并且上调细胞增殖相关基因的表达;FGFR4的激活在TNF- α 处理的细胞中可以导致I κ B β 活性的下降,伴随NF- κ B在细胞中分布的减少并且减弱细胞凋亡效应。四种FGFR基因在人体肝脏中均有表达,但成熟肝实质细胞(Hepatocyte)仅大量表达FGFR4。FGFR4与其配体结合还可以对胆汁酸的代谢有调控作用,机体中胆固醇向胆汁酸转化的平衡与机体多种正常生理功能有密切的关系,这一平衡的破坏会引起机体多种疾病如脂肪肝和动脉硬化等心脑血管疾病,因此FGFR4和FGF19相互作用成为高脂血症等降胆固醇药物的新的靶标。

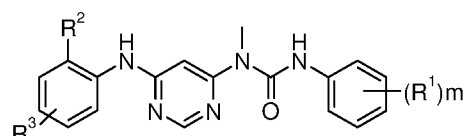
近年来,越来越多的证据表明,在多种类型的癌症中有FGFR1、FGFR2、FGFR3和FGFR4的基因扩增突变。大量的证据表明:FGFR1在乳腺癌、非小细胞性肺癌和成胶质细胞瘤中有基因突变,在急性骨髓性白血病中有由基因转座导致的融合蛋白形成,在胰腺癌、膀胱癌、前列腺癌、食道癌中有过量表达;FGFR2在胃癌、乳腺癌和子宫癌中有基因突变和扩增的现象,同时在前列腺癌、食道癌、卵巢癌、胰腺癌、脑瘤、大肠癌中有过量表达;FGFR3在多发骨髓瘤和膀胱癌中有基因突变,在卵巢癌、非小细胞性肺癌、肝细胞瘤中有过量表达;FGFR4在肺癌、卵巢癌、前列腺癌、肝癌和胆管癌等中有突变和过量表达,在甲状腺癌、卵巢癌等中也有过量的表达(French et al. 2012 PLoS ONE 7(5): e367313; Sia et al. 2013 Gastroenterology 144: 829-840)。

目前已经公开了一系列的FGFR抑制剂专利,但对于FGFR4选择性抑制的专利公开较少,对于FGFR4选择性的抑制剂,相对于FGFR抑制剂具有毒性小的优势(Brown, AP et al (2005), Toxicol. Pathol., 449-455)。目前处于临床的FGFR4抑制剂,包括FGF-401(诺华,临床II期)、BLU-554(Blueprint,临床I期)和H3B6527(卫材,临床I期)。FGFR4选择性抑制的专利包括WO2015059668、WO2015057938和WO2015057963等,目前对于FGFR4抑制剂对于抗肝癌等肿瘤的研究是远远不够的,仍有必要研究和开发新的FGFR4抑制剂。

发明内容

本发明的目的之一在于公开了一类新的嘧啶类衍生物及其药学上的盐。

本发明提供一种通式(I)所示的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐:



(I)

其中:

R^1 各自独立地选自烷基、卤素、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$, 其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 的取代基所取代;

R^2 选自如下基团:

$-NR^4C(O)CR^5=CHR^6$ 或 $-NR^4C(O)C\equiv CR^5$;

R^3 选自螺杂环基, 其中所述的螺杂环基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、卤代烷氧基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 的取代基所取代; 或者

R^3 选自单环杂环基, 其中所述的单环杂环基进一步被一个或多个选自环烷基或 $-NR^7R^8$ 的取代基所取代;

R^4 各自独立地选自氢原子或烷基, 其中所述的烷基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、卤代烷氧基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 的取代基所取代;

R^5 和 R^6 各自独立地选自氢原子、烷基或卤素, 其中所述的烷基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、卤代烷氧基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 的取代基所取代;

R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自氢原子、烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基, 其中所述烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)R^{12}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 或 $-NR^{10}C(O)R^{11}$ 的取代基所取代;

或者, R^7 和 R^8 与相连接的N原子一起形成一个4~8元杂环基, 其中4~8元杂环内含有一个或多个N、O、S(O)_n原子, 并且4~8元杂环上进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $=O$ 、 $-NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)R^{12}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 或 $-NR^{10}C(O)R^{11}$ 的取代基所取代;

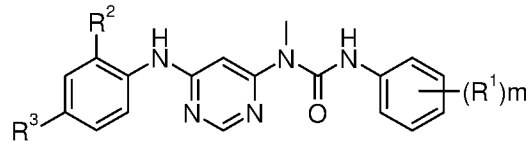
R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 各自独立地选自氢原子、烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基, 其中所述烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、羧酸或羧酸酯的取代基所取代;

m 为 1、2、3 或 4; 且

n 为 0、1 或 2。

本发明的优选方案, 一种通式(I)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐, 其中 R^3 选自螺杂环基, 其中所述的螺杂环基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、卤代烷氧基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 的取代基所取代, R^7 、 R^8 和 R^9 的定义如通式(I)中所述。

本发明的优选方案, 一种通式(I)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐, 其为通式(II)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐:



(II)

其中： $R^1 \sim R^3$ 和 m 的定义如通式(I)中所述。

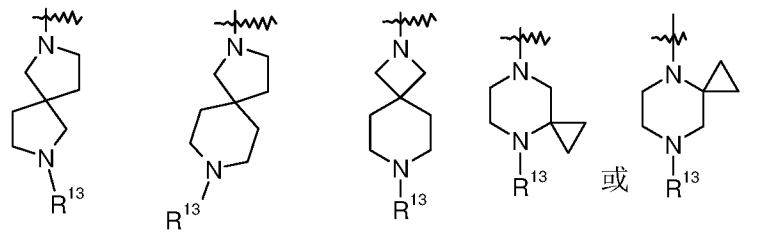
本发明的优选方案，一种通式(I)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^1 选自卤素或烷氧基，优选为氯或甲氧基。

本发明的优选方案，一种通式(I)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^2 选自 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$ 。

本发明的优选方案，一种通式(I)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^3 选自单螺杂环基，优选为 3 元/6 元、4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/5 元或 5 元/6 元单螺杂环基，其中所述的单螺杂环基任选进一步被烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基的取代基所取代。

本发明的优选方案，一种通式(I)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^2 选自 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$ ， R^3 选自 3 元/6 元、4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/5 元或 5 元/6 元单螺杂环基，其中所述的单螺杂环基任选进一步被烷基所取代，所述烷基优选为甲基或乙基。

本发明的优选方案，一种通式(I)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^2 选自 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$ ， R^3 选自：



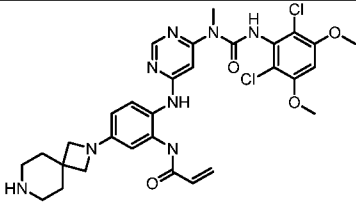
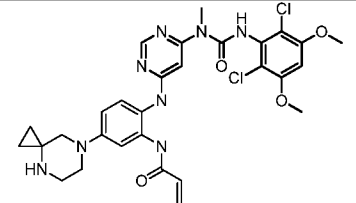
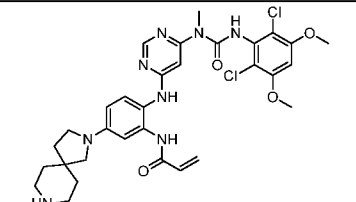
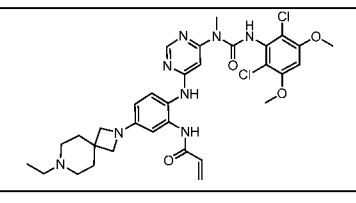
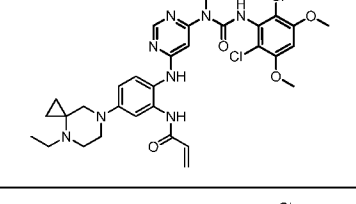
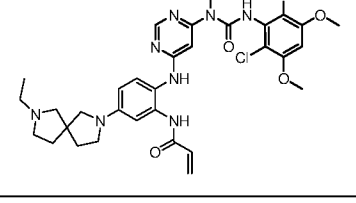
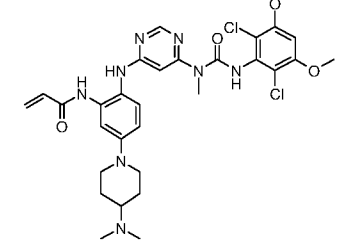
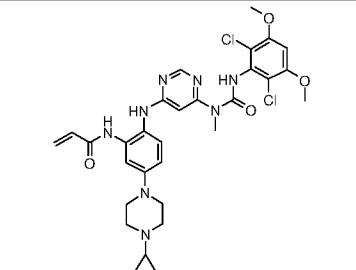
R^{13} 各自独立地选自氢原子、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，优选为氢原子或烷基，所述烷基优选为乙基。

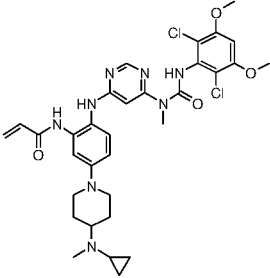
本发明的优选方案，一种通式(I)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^2 选自 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$ ； R^3 选自 4 元~6 元单环杂环基，优选为哌啶基或哌嗪基，其中所述的哌啶基或哌嗪基进一步被一个或多个选自环烷基或 $-\text{NR}^7\text{R}^8$ 的取代基所取代，其中 R^7 和 R^8 的定义如通式(I)中所述。

进一步，本发明的优选方案，一种通式(I)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^2 选自 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$ ； R^3 选自 4 元~6 元单环杂环基，优选为哌啶基或哌嗪基，其中所述的哌啶基或哌嗪基进一步被一个或多个选自 C_{3-8} 的环烷基或 $-\text{NR}^7\text{R}^8$ 的取代基所取代，其中，所述 C_{3-8} 的环烷基优选为环丙基，所述 R^7 和 R^8 各自独立地优选为氢原子或烷基，所述烷基优选为甲基。

本发明的典型化合物包括，但不限于：

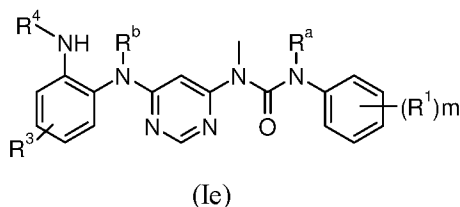
实施例编号	结构	命名
-------	----	----

1		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-(2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺
2		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-(4,7-二氮杂螺[2.5]辛-7-基)苯基)丙烯酰胺
3		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-(2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-7-基)苯基)丙烯酰胺
4		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-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺
5		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-4,7-二氮杂螺[2.5]辛-7-基)苯基)丙烯酰胺
6		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-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-基)苯基)丙烯酰胺
7		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-(二甲基氨基)哌啶-1-基)苯基)丙烯酰胺
8		N-(5-(4-环丙基哌嗪-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

9		N-(5-(4-(环丙基(甲基)氨基)哌啶-1-基)-2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺
---	---	--

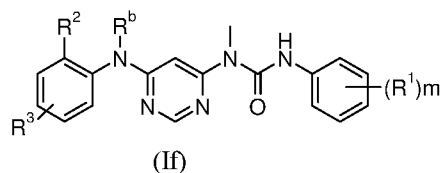
或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐。

进一步，本发明提供一种通式(I)化合物的制备方法，该方法包括：

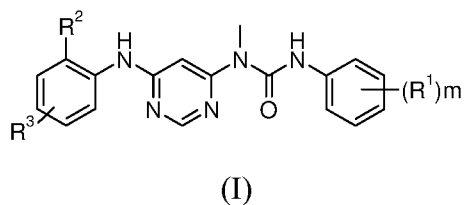


通式(Ie)化合物与酰卤化合物，优选为 $X-C(O)CR^5=CHR^6$ 或 $X-C(O)C\equiv CR^5$ 反应，进一步脱去氨基保护基 R^a 得到通式(If)化合物；

其中：当 R^3 中含有 $-NH_2$ 或 $-NH-$ 时， $-NH_2$ 或 $-NH-$ 任选可以被 N 保护基团保护；所述 N 保护基团优选为 $-C(O)R^9$ ，更优选为叔丁氧基羰基；



通式(If)化合物进一步脱去氨基保护基 R^b 得到通式(I)化合物；



其中：

R^a 和 R^b 各自独立选自 N 保护基，优选为苯磺酰基、苄基氧羰基、甲酰基、三氟乙酰基和叔丁氧基羰基；更优选为苯磺酰基和叔丁氧基羰基；

X 为卤素；

$R^1 \sim R^6$ 、 R^9 和 m 的定义如通式(I)中所述。

更进一步，本发明提供一种药物组合物，所述的药物组合物含有有效剂量的通式(I)或(II)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，及可药用的载体、赋形剂或它们的组合。

本发明提供一种抑制 FGFR4 的方法，该方法包括将所述的受体与通式(I)或(II)任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或其药物组合物相接触。

本发明提供一种通式(I)或(II)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或其药物组合物在制备 FGFR4 抑制剂的药物中的用途。

本发明提供一种通式(I)或(II)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或其药物组合物在制备治疗 FGFR4 过表达的疾病中的用途。

本发明提供一种通式(I)或(II)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或其药物组合物在制备治疗 FGF19 扩增的疾病的药物中的用途。

本发明提供一种通式(I)或(II)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或其药物组合物在制备治疗癌症药物中的用途，其中所述的癌症选自非小细胞肺癌、胃癌、多发性骨髓瘤、肝癌、胆管癌，优选为肝癌和胆管癌。

本发明提供一种治疗癌症的方法，该方法包括给予需要治疗的患者有效剂量的通式(I)或(II)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或其药物组合物，其中所述的癌症选自非小细胞肺癌、胃癌、多发性骨髓瘤、肝癌、胆管癌，优选为肝癌和胆管癌。

本发明提供一种治疗 FGFR4 过表达的疾病的方法，该方法包括给予需要治疗的患者有效剂量的通式(I)或(II)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或其药物组合物。

本发明提供一种治疗 FGF19 扩增的疾病的方法，该方法包括给予需要治疗的患者有效剂量的通式(I)或(II)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或其药物组合物。

发明的详细说明

除非有相反陈述，否则本发明在说明书和权利要求书中所使用的部分术语定义如下：

“烷基”当作一基团或一基团的一部分时是指包括 C₁-C₂₀ 直链或者带有支链的脂肪烃基团。优选为 C₁-C₁₀ 烷基，更优选为 C₁-C₆ 烷基。烷基基团的实施例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。烷基可以是取代或未取代的。

“环烷基”是指饱和或部分饱和的单环、稠环、桥环和螺环的碳环。优选为 C₃-C₁₂ 环烷基，更优选为 C₃-C₈ 环烷基，最优选为 C₃-C₆ 环烷基。单环环烷基的实施例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基、环辛基等，优选环丙基、环己烯基。

“螺环烷基”指 5 至 18 元，两个或两个以上环状结构，且单环之间彼此共用一个碳原子(称螺原子)的多环基团，环内含有 1 个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据环与环之间共用螺原子的数目将螺环烷基分为单螺、双螺或多螺环烷基，优选为单螺和双螺环烷基，优选为 4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/5 元或 5 元/6 元。“螺环烷基”的非限制性实施例包括但不限于：螺[4.5]癸基、螺[4.4]壬基、螺[3.5]壬基、螺[2.4]庚基。

“稠环烷基”指 5 至 18 元，含有两个或两个以上环状结构彼此公用一对碳原子的全碳多环基团，一个或多个环可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统，优选为 6 至 12 元，更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环稠环烷基，优选为双环或三环，更优选为 5 元/5 元或 5 元/6 元双环烷基。“稠环烷基”

的非限制性实施例包括但不限于：二环[3.1.0]己基、二环[3.2.0]庚-1-烯基、二环[3.2.0]庚基、十氢化萘基或十四氢菲基。

“桥环烷基”指 5 至 18 元，含有两个或两个以上环状结构，彼此共用两个不直接相连接碳原子的全碳多环基团，一个或多个环可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统，优选为 6 至 12 元，更优选为 7 至 10 元。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环桥环烷基，优选为双环、三环或四环，更有选为双环或三环。“桥环烷基”的非限制性实施例包括但不限于：(1s,4s)-二环[2.2.1] 庚基、二环[3.2.1]辛基、(1s,5s)-二环 o[3.3.1]壬基、二环[2.2.2]辛基、(1r,5r)-二环[3.3.2]癸基。

所述环烷基环可以稠合于芳基、杂芳基或杂环基环上，其中与母体结构连接在一起的环为环烷基，非限制性实施例包括茚满基、四氢萘基、苯并环庚烷基等。环烷基可以是任选取代的或未取代的。

“杂环基”、“杂环”或“杂环的”在本申请中可交换使用，都是指非芳香性杂环基，其中一个或多个成环的原子是杂原子，如氧、氮、硫原子等，包括单环、稠环、桥环和螺环。优选具有 5 至 7 元单环或 7 至 10 元双-或三环，其可以包含 1, 2 或 3 个选自氮、氧和/或硫中的原子。“杂环基”的实例包括但不限于吗啉基，硫代吗啉基，四氢吡喃基，1, 1-二氧化-硫代吗啉基，哌啶基，2-氧代-哌啶基，吡咯烷基，2-氧代-吡咯烷基，哌嗪-2-酮，8-氧杂-3-氮杂-二环[3.2.1]辛基和哌嗪基。杂环基可以是取代或未取代的。

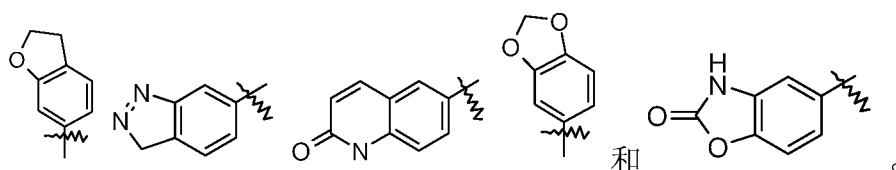
“螺杂环基”指 5 至 18 元，两个或两个以上环状结构，且单环之间彼此共用一个原子的多环基团，环内含有 1 个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统，其中一个或多个环原子选自氮、氧或 S(O)_n (其中 n 选自 0、1 或 2) 的杂原子，其余环原子为碳。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据环与环之间共用螺原子的数目将螺杂环基分为单螺杂环基、双螺杂环基或多螺杂环基，优选为单螺杂环基和双螺杂环基。更优选为 3 元/6 元、4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/5 元或 5 元/6 元单螺杂环基。其中“a 元/b 元单螺杂环基”指 a 元单环和 b 元单环彼此公用一个原子的螺杂环基。“螺杂环基”的非限制性实施例包括但不限于：1,7-二氧杂螺[4.5] 癸基、2-氧杂-7-氮杂螺[4.4]壬基、7-氧杂螺[3.5] 壬基和 5-氧杂螺[2.4]庚基。

“稠杂环基”指含有两个或两个以上环状结构彼此共用一对原子的全碳多环基团，一个或多个环可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统，其中一个或多个环原子选自氮、氧或 S(O)_n (其中 n 选自 0、1 或 2) 的杂原子，其余环原子为碳。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环稠杂环基，优选为双环或三环，更优选为 5 元/5 元或 5 元/6 元双环稠杂环基。“稠杂环基”的非限制性实施例包括但不限于：八氢吡咯并[3,4-c]吡咯基、八氢-1H-异吲哚基，3-氮杂二环[3.1.0]己基，八氢苯并[b][1,4] 二噁英(dioxine)。

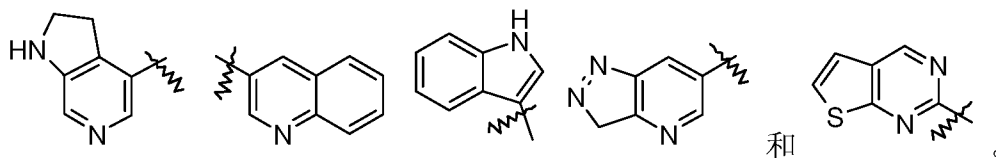
“桥杂环基”指 5 至 14 元，5 至 18 元，含有两个或两个以上环状结构，彼此共用两个不直接相连接的原子或多环基团，一个或多个环可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统，其中一个或多个环原子选自氮、氧或 S(O)_n (其中 n 选自 0、1 或 2) 的杂原子，其余环原子为碳。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环桥杂环基，优选为双环、三环或四环，更有选为双环或三环。“稠杂环基”的非限制性实施例包括但不限于：2-氮杂二环[2.2.1] 庚基，2-氮杂二环[2.2.2]

辛基和 2-氮杂二环[3.3.2] 癸基。所述杂环基环可以稠合于芳基、杂芳基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂环基。杂环基可以是任选取代的或未取代的。

“芳基”是指含有一个或者两个环的碳环芳香系统，其中所述环可以以稠合的方式连接在一起。术语“芳基”包括比如苯基、萘基、四氢萘基的芳香基团。优选芳基为 C₆-C₁₀ 芳基，更优选芳基为苯基和萘基，最优选为苯基。芳基可以是取代或未取代的。所述“芳基”可与杂芳基、杂环基或环烷基稠合，其中与母体结构连接在一起的为芳基环，非限制性实施例包括但不限于：



“杂芳基”是指芳香族 5 至 6 元单环或 9 至 10 元双环，其可以包含 1 至 4 个选自氮、氧和/或硫中的原子。“杂芳基”的实施例包括但不限于呋喃基，吡啶基，2-氧代-1, 2-二氢吡啶基，哒嗪基，嘧啶基，吡嗪基，噻吩基，异噻唑基，噻唑基，噻二唑基，咪唑基，吡咯基，吡唑基，三唑基，四唑基，噻唑基，异噻唑基，1, 2, 3-噻二唑基，苯并间二氧杂环戊烯基，苯并咪唑基，吲哚基，异吲哚基，1, 3-二氧代-异吲哚基，喹啉基，吲唑基，苯并异噻唑基，苯并噻唑基和苯并异噻唑基。杂芳基可以是取代或未取代的。所述杂芳基环可以稠合于芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂芳基环，非限制性实施例包括但不限于：



“烷氧基”是指（烷基-O-）的基团。其中，烷基见本文有关定义。C₁-C₆ 的烷氧基为优先选择。其实例包括，但不限于：甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基等。

“羟基”指-OH 基团。

“卤素”是指氟、氯、溴和碘，优选氯、溴和碘。

“氨基”指-NH₂。

“氰基”指-CN。

“硝基”指-NO₂。

“苄基”指-CH₂-苯基。

“羧基”指-C(O)OH。

“羧酸酯基”指-C(O)O(烷基)或(环烷基)，其中烷基、环烷基的定义如上所述。

“Boc”指叔丁氧基羰基。

“N 保护基”指在有机合成中，含有 2 个或多个官能团的分子，为了使-NH₂ 或-NH-免遭反应的破坏，常用某种试剂先将其保护，待反应完成后，再脱去保护基。N 保护基包括但不限于叔丁氧基羰基、苄氧羰基、甲酰基或三氟乙酰基。

“取代的”指基团中的一个或多个氢原子，优选为最多 5 个，更优选为 1~3 个氢原子彼此

独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定(通过实验或理论)可能或不可能的取代。例如，具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和(如烯属)键的碳原子结合时可能是不稳定的。

本说明书所述的“取代”或“取代的”，如无特别指出，均是指基团可被一个或多个选自以下的基团取代：烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氨基、卤代烷基、羟烷基、羧基、羧酸酯基、 $=O$ 、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 。

R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自氢原子、烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其中所述烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)R^{12}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 或 $-NR^{10}C(O)R^{11}$ 的取代基所取代；

或者， R^7 和 R^8 与相连接的N原子一起形成一个4~8元杂环基，其中4~8元杂环内含有一个或多个N、O、S(O)_n原子，并且4~8元杂环上进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $=O$ 、 $-NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)R^{12}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 或 $-NR^{10}C(O)R^{11}$ 的取代基所取代；

R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 各自独立地选自氢原子、烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其中所述烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、羧酸或羧酸酯的取代基所取代。

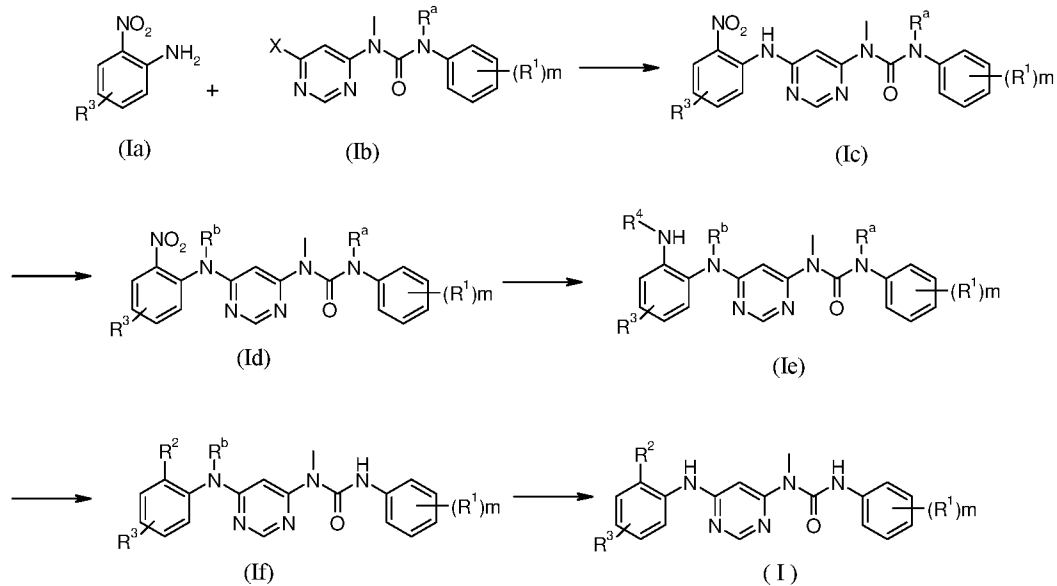
“可药用的盐”是指上述化合物能保持原有生物活性并且适合于医药用途的某些盐类。式(I)所表示的化合物的可药用的盐可以为金属盐、与合适的酸形成的胺盐，金属盐优选碱金属、碱土金属盐，合适的酸包括无机酸和有机酸，例如乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡糖酸、谷氨酸、氢溴酸、盐酸、羟乙磺酸、乳酸、苹果酸、马来酸、扁桃酸、甲磺酸、硝酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、对甲苯磺酸等。特别优选的是盐酸、氢溴酸、磷酸和硫酸，最优选的是盐酸盐。

“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

本发明化合物的合成方法

为了完成本发明的目的，本发明采用如下技术方案：

本发明通式(I)所述的化合物或其盐的制备方法，包括以下步骤：



通式(Ia)化合物和通式(Ib)化合物进行 Buchwald 反应, 优选在 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽、钯催化三(二亚苄基丙酮)二钯和碳酸铯的存在下, 得到通式(Ic)化合物; 将通式(Ic)化合物中的氨基进行保护, 优选与二碳酸二叔丁酯反应, 得到 R^b 保护的通式(Id)化合物; 通式(Id)化合物的硝基在氢气条件下还原, 任选进一步烷基化, 得到通式(Ie)化合物; 通式(Ie)化合物与酰卤化合物, 优选为 $\text{X}-\text{C}(\text{O})\text{CR}^5=\text{CHR}^6$ 或 $\text{X}-\text{C}(\text{O})\text{C}\equiv\text{CR}^5$ 反应, 进一步脱去氨基保护基 R^a 得到通式(If)化合物; 通式(If)化合物进一步脱去氨基保护基 R^b 得到通式(I)化合物;

其中:

R^a 和 R^b 各自独立选自 N 保护基, 优选为苯磺酰基、苄基氧羰基、甲酰基、三氟乙酰基和叔丁氧基羰基; 更优选为苯磺酰基和叔丁氧基羰基;

X 为卤素;

在反应通式路线中, 当 R^3 中含有 $-\text{NH}_2$ 或 $-\text{NH}-$ 时, $-\text{NH}_2$ 或 $-\text{NH}-$ 任选可以被 N 保护基团保护; 所述 N 保护基团优选为 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^9$, 更优选为叔丁氧基羰基;

$\text{R}^1 \sim \text{R}^6$ 、 R^9 和 m 的定义如通式(I)中所述。

附图说明

图 1 为测试例 3 中 WO2015057938 的实施例 108 和本发明实施例 5 化合物对肝癌 Huh7 荷瘤 BALB/c 裸鼠移植瘤平均肿瘤体积变化图。

图 2 为测试例 3 中 WO2015057938 的实施例 108 和本发明实施例 5 化合物对肝癌 Huh7 荷瘤 BALB/c 裸鼠移植瘤平均相对肿瘤体积变化图。

图 3 为测试例 3 中 WO2015057938 的实施例 108 和本发明实施例 5 化合物对肝癌 Huh7 荷瘤 BALB/c 裸鼠体重变化图。

具体实施方式

以下结合实施例用于进一步描述本发明, 但这些实施例并非限制着本发明的范围。

实施例

实施例给出了式 (I) 所表示的代表性化合物的制备及相关结构鉴定数据。必须说明, 下述实施例是用于说明本发明而不是对本发明的限制。 ^1H NMR 图谱是用 Bruker 仪器(400MHz)测定而得, 化学位移用 ppm 表示。使用四甲基硅烷内标准 (0.00ppm)。 ^1H NMR 的表示方法: s=单峰, d=双重峰, t=三重峰, m=多重峰, br=变宽的, dd=双重峰的双重峰, dt=三重峰的双

重峰。若提供偶合常数时，其单位为 Hz。

质谱是用 LC/MS 仪测定得到，离子化方式可为 ESI 或 APCI。

薄层层析硅胶板使用烟台黄海 HSGF254 或青岛 GF254 硅胶板，薄层色谱法 (TLC) 使用的硅胶板采用的规格是 0.15mm~0.2 mm，薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4mm~0.5mm。

柱层析一般使用烟台黄海硅胶 200~300 目硅胶为载体。

在下列实施例中，除非另有指明，所有温度为摄氏温度，除非另有指明，各种起始原料和试剂来自市售或者是根据已知的方法合成，市售原料和试剂均不经进一步纯化直接使用，除非另有指明，市售厂家包括但不限于 Aldrich Chemical Company, ABCR GmbH & Co.KG, Acros Organics, 广赞化工科技有限公司和景颜化工科技有限公司等处购买。

CD₃OD: 氘代甲醇。

CDCl₃: 氘代氯仿。

DMSO-d₆: 氘代二甲基亚砜。

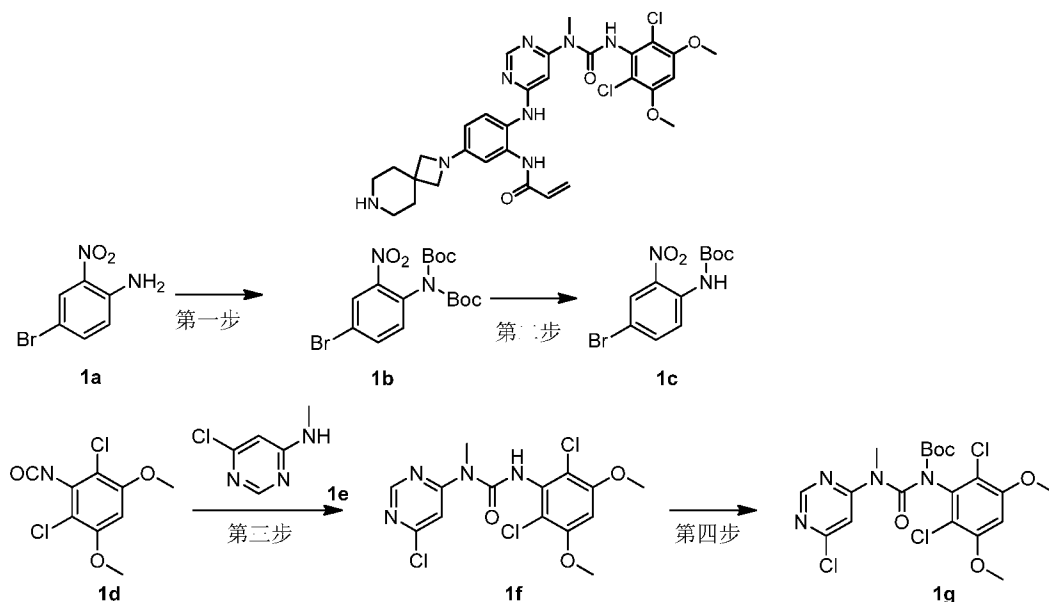
氩气氛是指反应瓶连接一个约 1L 容积的氩气气球。

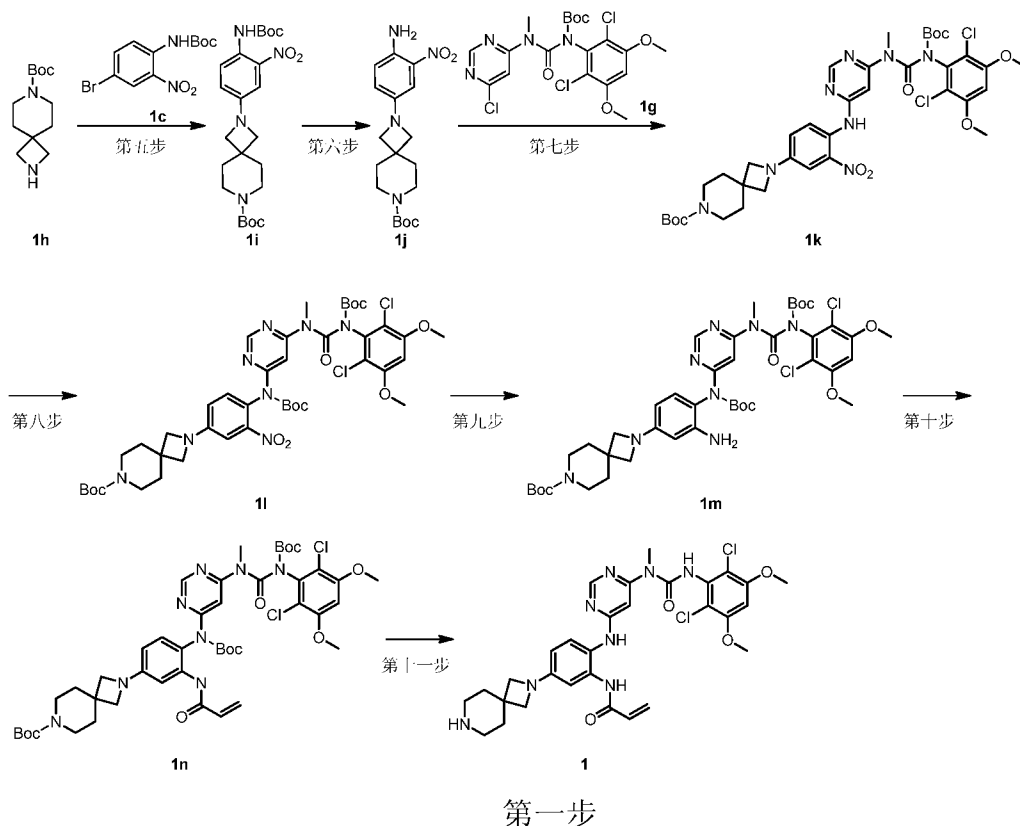
实施例中无特殊说明，反应中的溶液是指水溶液。

对化合物进行纯化，采用硅胶柱层析洗脱剂体系和薄层色谱法，其中洗脱剂体系选自：A: 石油醚和乙酸乙酯体系；B: 二氯甲烷和甲醇体系；其中溶剂的体积比根据化合物的极性不同而不同，也可以加入少量的酸性或碱性试剂进行条件，如醋酸或三乙胺等。

实施例 1

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-(2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺





N-(4-溴-2-硝基-苯基)-N-叔丁氧羰基氨基甲酸叔丁酯

将 4-溴-2-硝基苯胺 **1a** (7.50 g, 34.56 mmol) 溶于 90 mL 四氢呋喃中, 加入二碳酸二叔丁酯 (15.08 g, 69.12 mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (200 mg, 1.64 mmol), 升温至 80°C 反应 2 小时。反应液减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法 (洗脱剂: A 体系) 纯化, 得到 N-(4-溴-2-硝基-苯基)-N-叔丁氧羰基氨基甲酸叔丁酯 **1b** (12.6 g, 黄色固体), 产率: 87.4%。

MS m/z (ESI): 361.0 [M+1-56]

第二步

(4-溴-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯

将 N-(4-溴-2-硝基-苯基)-N-叔丁氧羰基氨基甲酸叔丁酯 **1b** (7.12 g, 17.1 mmol) 和碳酸钾 (7.08 g, 51.2 mmol) 溶于 140 mL 乙腈中, 升温至 35°C 反应 1.5 小时。反应液过滤, 滤液减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法 (洗脱剂: A 体系) 纯化, 得到 (4-溴-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1c** (4.49 g, 亮黄色固体), 产率: 82.8%。

MS m/z (ESI): 216.8 [M+1-100]

第三步

3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-(6-氯嘧啶-4-基)-1-甲基脒

将 6-氯-N-甲基嘧啶-4-胺 **1e** (300 mg, 2.09 mmol) 溶于 10 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 冷却至 0°C, 加入 60% 氢化钠 (167 mg, 4.18 mmol), 室温搅拌 30 分钟。将 2,4-二氯-3-异氰-1,5-甲氧基-4-甲基苯 **1d** (674 mg, 2.72 mmol) 溶于 5 mL N,N-二甲基甲酰胺中并滴加到反应液中, 室温反应 0.5 小时。向反应液中加入 50 mL 水, 有白色固体析出, 过滤后滤饼用乙酸乙酯重结晶, 得到 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-(6-氯嘧啶-4-基)-1-甲基脒 **1f** (710 mg, 白色固体), 产率: 86.8%。

MS m/z (ESI): 392.8 [M+1]

第四步

(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酰基-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁酯

将 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-(6-氯嘧啶-4-基)-1-甲基脲 **1f** (1.20 g, 3.06 mmol) 溶于 20 mL 四氢呋喃中, 冷却至 0°C, 加入二碳酸二叔丁酯 (1.34 g, 6.13 mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (187 mg, 1.53 mmol), 升温至 75°C 回流 1 小时。反应液减压下浓缩, 加入 30 mL 二氯甲烷溶解, 依次用水 (20 mL x2) 和饱和氯化钠溶液 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酰基-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1g** (1.34 g, 白色固体), 产率: 88.9%。

MS m/z(ESI): 492.8 [M+1]

第五步

2-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯

将 2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1h** (440 mg, 1.94 mmol)、(4-溴-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1c** (616 mg, 1.94 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽 (229 mg, 0.388 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (352 mg, 0.388 mmol) 和碳酸铯 (1.90 g, 5.83 mmol) 溶于 15 mL 甲苯中, 氩气保护下 115°C 反应 4 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 2-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1i** (600 mg, 红色固体), 产率: 66.7%。

MS m/z(ESI): 485.0 [M+23]

第六步

2-(4-氨基-3-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯

将 2-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1i** (600 mg, 1.30 mmol) 和氢氧化钾 (218 mg, 3.89 mmol) 溶于 10 mL 水和乙醇的混合溶液 (V/V=1/4) 中, 加热至回流反应 3 小时。反应液减压下浓缩, 加入 20 mL 乙酸乙酯, 分层, 水相用乙酸乙酯 (20 mL x2) 萃取, 合并有机相用水 (20 mL x2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 2-(4-氨基-3-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1j** (400 mg, 红色固体), 产率: 85.1%。

MS m/z(ESI): 362.1 [M+1]

第七步

2-(4-((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-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯

将(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酰基-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1g** (450 mg, 0.909 mmol)、2-(4-氨基-3-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1j** (300 mg, 0.828 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽 (96 mg, 0.165 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (75 mg, 0.082 mmol) 和碳酸铯 (810 mg, 2.40 mmol) 溶于 15 mL 甲苯中, 110°C 反应 4 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 2-(4-((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-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1k** (427 mg, 红色固体), 产率: 63.3%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.15 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.11 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 6.75-6.71 (m, 1H), 6.59 (s, 1H), 3.93 (s, 6H), 3.70 (s, 4H), 3.63 (s, 2H), 3.46-3.36 (m, 4H), 1.82-1.76 (m, 4H), 1.49 (s, 9H), 1.41 (s, 9H)。

第八步

2-(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-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯

将 2-(4-((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-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1k** (500 mg, 0.611 mmol) 溶于 10 mL 四氢呋喃中, 冷却至 0°C, 加入二碳酸二叔丁酯(200 mg, 0.917 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(37.3 mg, 0.306 mmol), 反应液加热至回流反应 3 小时。反应液减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 2-(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-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1l** (500 mg, 黄色固体), 产率: 89.1%。

第九步

2-(3-氨基-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)苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯

将 2-(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-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1l** (500 mg, 0.545 mmol) 溶于 10 mL 甲醇中, 加入雷尼镍(200 mg), 氢气保护下, 室温反应 12 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 2-(3-氨基-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)苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1m** (300 mg, 红色固体), 产率: 62.0%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.66 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 6.81 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.59 (s, 1H), 5.9-5.85 (m, 1H), 5.84-5.79 (m, 1H), 3.94 (s, 6H), 3.63 (s, 3H), 3.6 (s, 4H), 3.43-3.32 (m, 4H), 1.82-1.72 (m, 4H), 1.46 (s, 9H), 1.42 (s, 9H), 1.41 (s, 9H)。

第十步

2-(3-丙烯酰氨基-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)苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯

将 2-(3-氨基-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)苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1m** (200 mg, 0.225 mmol) 溶于 10 mL 二氯甲烷中, 冰浴下加入 N, N-二异丙基乙胺(87 mg, 0.676 mmol)和丙烯酰氯(22 mg, 0.248 mmol), 室温反应 0.5 小时。反应液减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 2-(3-丙烯酰氨基-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)苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1n** (200 mg, 淡黄色固体), 产率: 94.3%。

第十一步

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-(2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺

将 2-(3-丙烯酰氨基-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)苯基)-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1n** (200 mg, 0.84 mmol) 溶于 10 mL 二氯甲烷中, 冰浴下加 5 mL 三氟乙酸, 氮气保护室温反应 12 小时。反应液减压浓缩, 加入 20 mL 二氯甲烷和甲醇的混合溶液 (V/V=10/1), 用饱和碳酸氢钠溶液 (10 mL) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶薄层层析法(洗

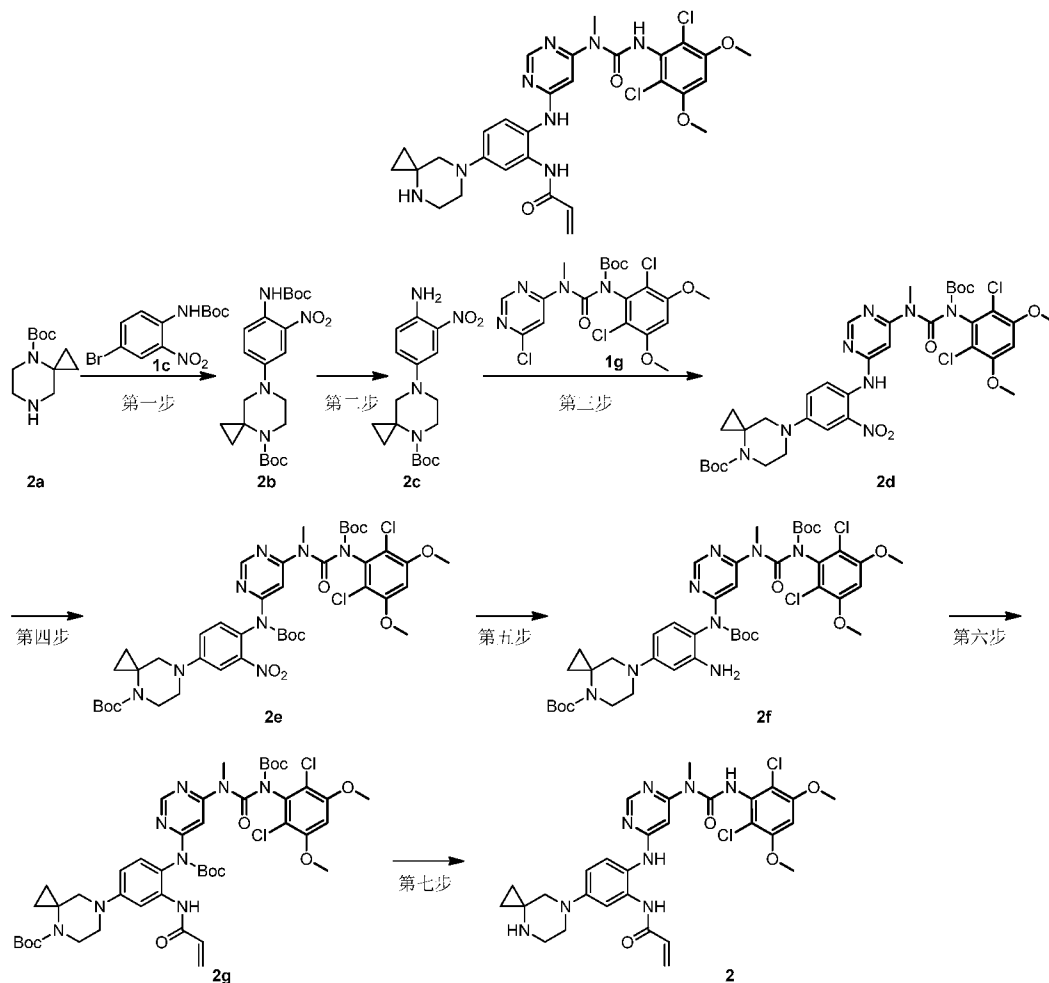
脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺 **1** (80 mg, 淡黄色固体), 产率: 58.8%。

MS m/z(ESI): 640.8 [M+1]

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.1 (s, 1H), 9.64 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.3 (s, 1H), 7.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.95-6.86 (m, 2H), 6.58-6.48 (m, 1H), 6.28 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.22 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.71 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 3.93 (s, 6H), 3.63 (s, 4H), 3.21 (s, 3H), 3.12-3.01 (m, 4H), 2.0-1.91 (m, 4H).

实施例 2

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-(4,7-二氮杂螺[2.5]辛-7-基)苯基)丙烯酰胺



第一步

7-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-硝基苯基)-4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯

将 4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2a** (803 mg, 3.78 mmol)、(4-溴-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1c** (1.02 g, 3.15 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲氧基杂蒽(35 mg, 0.063 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(115 mg, 0.126 mmol)和碳酸铯(3.08 g, 9.46 mmol)溶于 30 mL 甲苯中, 氩气保护下 110°C 反应 6 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 7-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-硝基苯基)-4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2b** (240 mg, 红色固体), 产率: 17.0%。

MS m/z(ESI): 348 [M-100]

第二步

7-(4-氨基-3-硝基苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯

将 7-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-硝基苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2b** (240 mg, 0.53 mmol) 和氢氧化钾 (90 mg, 1.61 mmol) 溶于 8 mL 水和乙醇的混合溶液 (V/V=1/3) 中, 加热至回流反应 6 小时。反应液减压下浓缩, 加入 20 mL 乙酸乙酯和 10 mL 水, 分层, 水相用乙酸乙酯 (10 mL x2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠溶液 (20 mL x2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到粗品 7-(4-氨基-3-硝基苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2c** (160 mg, 红色固体), 产率: 86.6%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.5 (s, 1H), 7.19-7.15 (m, 1H), 6.76 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.95-5.75 (m, 2H), 3.75-3.65 (m, 2H), 3.10-3.02 (m, 2H), 2.95-2.80 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.10-1.04 (m, 2H), 0.89-0.84 (m, 2H)。

第三步

7-(4-((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-硝基苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯

将(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酸酯基-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1g** (248 mg, 0.51 mmol)、7-(4-氨基-3-硝基苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2c** (160 mg, 0.46 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽 (53 mg, 0.092 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (42 mg, 0.046 mmol) 和碳酸铯 (449 mg, 1.38 mmol) 溶于 10 mL 甲苯中, 110°C 反应 4 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 7-(4-((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-硝基苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2d** (262 mg, 红色固体), 产率: 71.0%。

MS m/z (ESI): 803.8 $[M+1]$

第四步

7-(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-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯

将 7-(4-((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-硝基苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2d** (262 mg, 0.326 mmol) 溶于 10 mL 四氢呋喃中, 冷却至 0°C, 加入二碳酸二叔丁酯 (107 mg, 0.489 mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (20 mg, 0.163 mmol), 反应液加热至回流反应 1 小时。反应液减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 7-(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-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2e** (260 mg, 黄色固体), 产率: 88.4%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.55 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.22-7.05 (m, 2H), 6.59 (s, 1H), 3.94 (s, 6H), 3.78 (t, $J = 4.4$ Hz, 2H), 3.66 (s, 3H), 3.33 (t, $J = 4.4$ Hz, 2H), 3.12 (s, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.44-1.38 (m, 18H), 1.14-1.09 (m, 2H), 0.96-0.89 (m, 2H)。

第五步

7-(3-氨基-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)苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯

将 7-(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-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2e** (260 mg, 0.288 mmol) 溶于

9 mL 四氢呋喃和甲醇的混合溶液(V/V=1/2)中, 加入雷尼镍(100 mg), 氢气保护下, 室温反应 6 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 7-(3-氨基-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)苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2f** (200 mg, 黄色固体), 产率: 79.7%。

第六步

7-(3-丙烯酰氨基-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)苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯

将 7-(3-氨基-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)苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2f** (200 mg, 0.229 mmol) 溶于 10 mL 二氯甲烷中, 冰浴下加入 N,N-二异丙基乙胺(89 mg, 0.687 mmol)和丙烯酰氯(23 mg, 0.252 mmol), 室温反应 0.5 小时。反应液减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 7-(3-丙烯酰氨基-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)苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2g** (180 mg, 黄色固体), 产率: 84.8%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.64 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.11-8.0 (m, 1H), 7.07-7.02 (m, 1H), 6.59 (s, 1H), 6.37 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 6.25-6.15 (m, 1H), 5.75 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.95 (s, 6H), 3.85-3.77 (m, 2H), 3.64 (s, 3H), 3.35-3.25 (m, 2H), 3.12 (s, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.42 (s, 9H), 1.34 (s, 9H), 1.14-1.06 (m, 2H), 0.97-0.91 (m, 2H)。

第七步

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-(4,7-二氮杂螺[2.5]辛-7-基)苯基)丙烯酰胺

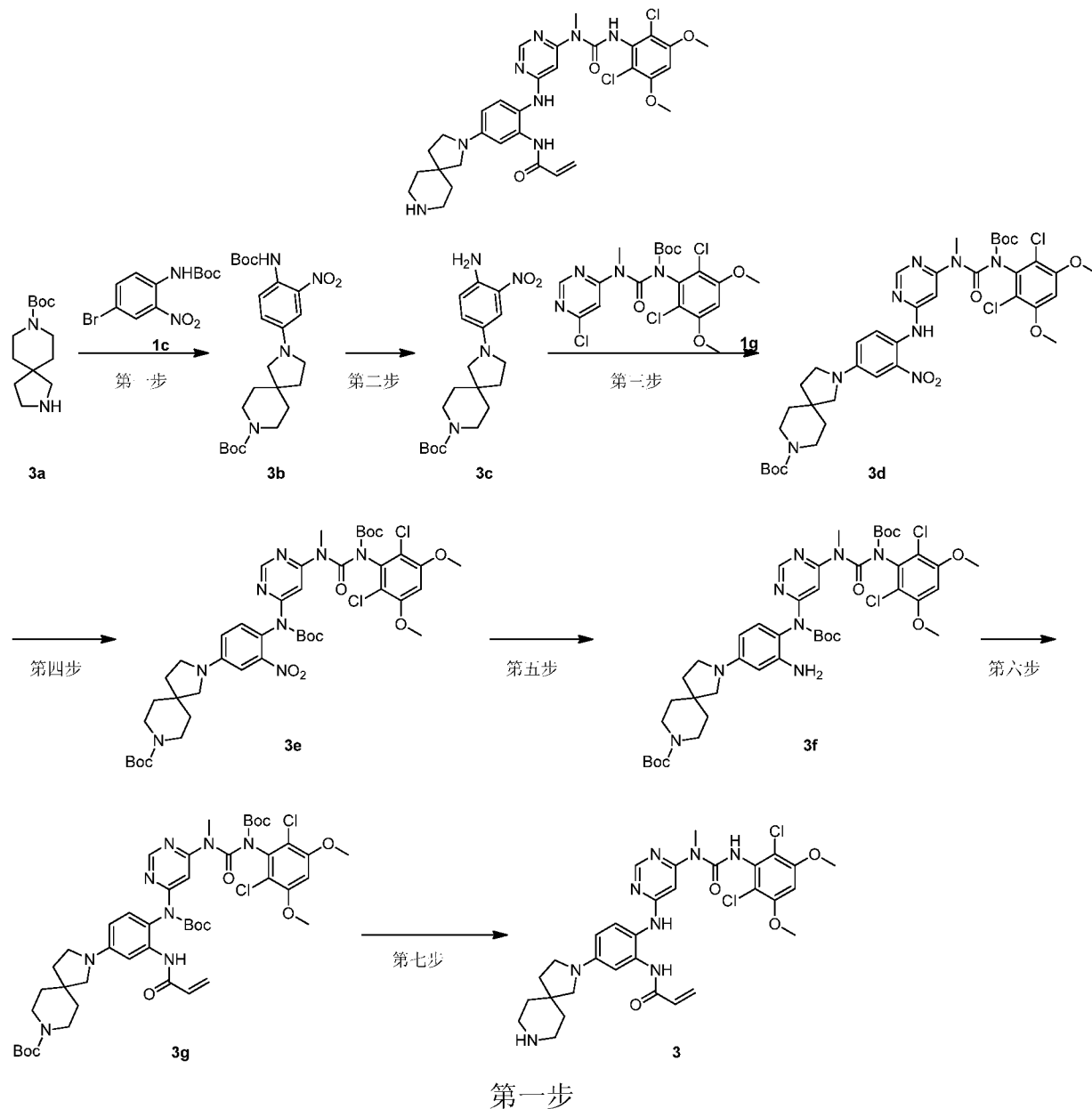
将 7-(3-丙烯酰氨基-4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(叔丁氧基羰基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2g** (170 mg, 0.183 mmol) 溶于 6 mL 二氯甲烷中, 冰浴下加 3 mL 三氟乙酸, 氮气保护室温反应 12 小时。反应液减压浓缩, 加入 20 mL 二氯甲烷和甲醇的混合溶液 (V/V=10/1), 用饱和碳酸氢钠溶液 (10 mL) 洗涤, 有机相减压浓缩, 得到的残留物用硅胶薄层层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4,7-二氮杂螺[2.5]辛-7-基)苯基)丙烯酰胺 **2** (40 mg, 淡黄色固体), 产率: 34.8%。

MS *m/z*(ESI): 626.9 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.09 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.46-7.31 (m, 2H), 6.89 (s, 1H), 6.85 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.63-6.48 (m, 1H), 6.39-6.13 (m, 2H), 5.73 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 3.93 (s, 6H), 3.29-3.11 (m, 9H), 1.13-0.99 (m, 2H), 0.97-0.78 (m, 2H)。

实施例 3

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-(2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-7-基)苯基)丙烯酰胺



2-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[2.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯

将 2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3a** (500 mg, 2.08 mmol)、(4-溴-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1c** (660 mg, 2.08 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽 (230 mg, 0.42 mmol)、三(二亚苺基丙酮)二钯 (380 mg, 0.42 mmol) 和碳酸铯 (2.03 g, 6.24 mmol) 溶于 20 mL 甲苯中, 120℃ 反应 4 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法 (洗脱剂: A 体系) 纯化, 得到 2-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[2.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3b** (260 mg, 红色固体), 产率: 26.2%。

MS m/z (ESI): 477.0 [M+1]

第二步

2-(4-氨基-3-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯

将 2-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[2.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3b** (260 mg, 0.54 mmol) 和氢氧化钾 (91.83 mg, 1.64 mmol) 溶于 8 mL 水和乙醇的混合溶液 (V/V=1/3) 中, 加热至 90℃ 反应 6 小时。反应液减压下浓缩, 加入 10 mL 乙酸乙酯, 分层, 水相用乙酸乙酯 (10 mL x2) 萃取, 合并有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到粗品 2-(4-氨基

基-3-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3c** (160 mg, 黑红色固体), 产率: 75.5%。
MS m/z(ESI): 377.0 [M+1]

第三步

2-(4-((6-(3-(叔丁氧羰基)-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-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯

将(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯 **1g** (216 mg, 0.44 mmol)、2-(4-氨基-3-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3c** (150 mg, 0.40 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(46 mg, 0.08 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(146 mg, 0.04 mmol)和碳酸铯(390 mg, 1.20 mmol)溶于 10 mL 甲苯中, 110℃ 反应 4 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 2-(4-((6-(3-(叔丁氧羰基)-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-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3d** (80 mg, 红色固体), 产率: 27.1%。

第四步

2-(4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(叔丁氧羰基)-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-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯

将 2-(4-((6-(3-(叔丁氧羰基)-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-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3d** (80 mg, 0.096 mmol)溶于 10 mL 四氢呋喃中, 加入二碳酸二叔丁酯(32 mg, 0.144 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(6 mg, 0.046 mmol), 反应液加热至 78℃ 反应 1 小时。反应液减压下浓缩, 得到粗品 2-(4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(叔丁氧羰基)-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-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3e** (89 mg, 黄色固体), 产率: 100%。

第五步

2-(3-氨基-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)苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯

将 2-(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-硝基苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3e** (89 mg, 0.0955 mmol)溶于 6 mL 四氢呋喃和甲醇的混合溶液(V/V=1/2)中, 加入雷尼镍(50 mg), 氢气保护下, 室温反应 12 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 2-(3-氨基-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)苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3f** (85 mg, 黄色固体), 产率: 98.7%。

第六步

2-(3-丙烯酰氨基-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)苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯

将 2-(3-氨基-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)苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3f** (85 mg, 0.094 mmol)溶于 10 mL 二氯甲烷中, 加入 N, N-二异丙基乙胺(36.5 mg, 0.283 mmol)和丙烯酰氯(10 mg, 0.104 mmol), 室温反应 1 小时。反应液减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 2-(3-丙烯酰氨基-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)苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3g** (80

mg, 黄色固体), 产率: 88.8%。

第七步

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-(2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-7-基)苯基)丙烯酰胺

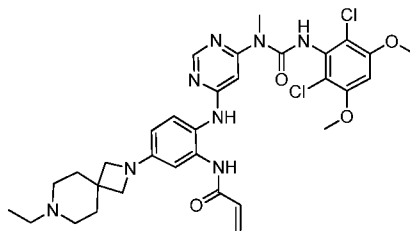
将 2-(3-丙烯酰氨基-4-((叔丁氧基羰基)(6-(3-(叔丁氧基羰基)-3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)-2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-8-羧酸叔丁酯 **3g** (80 mg, 0.084 mmol) 溶于 6 mL 二氯甲烷中, 冰浴下加 3 mL 三氟乙酸, 氮气保护室温反应 12 小时。反应液减压浓缩, 加入 20 mL 二氯甲烷和甲醇的混合溶液 (V/V=10/1), 用饱和碳酸氢钠溶液 (10 mL) 洗涤, 有机相减压浓缩, 得到的残留物用硅胶薄层层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(2,8-二氮杂螺[4.5]癸烷-7-基)苯基)丙烯酰胺 **3** (17 mg, 黄色固体), 产率: 31.0%。

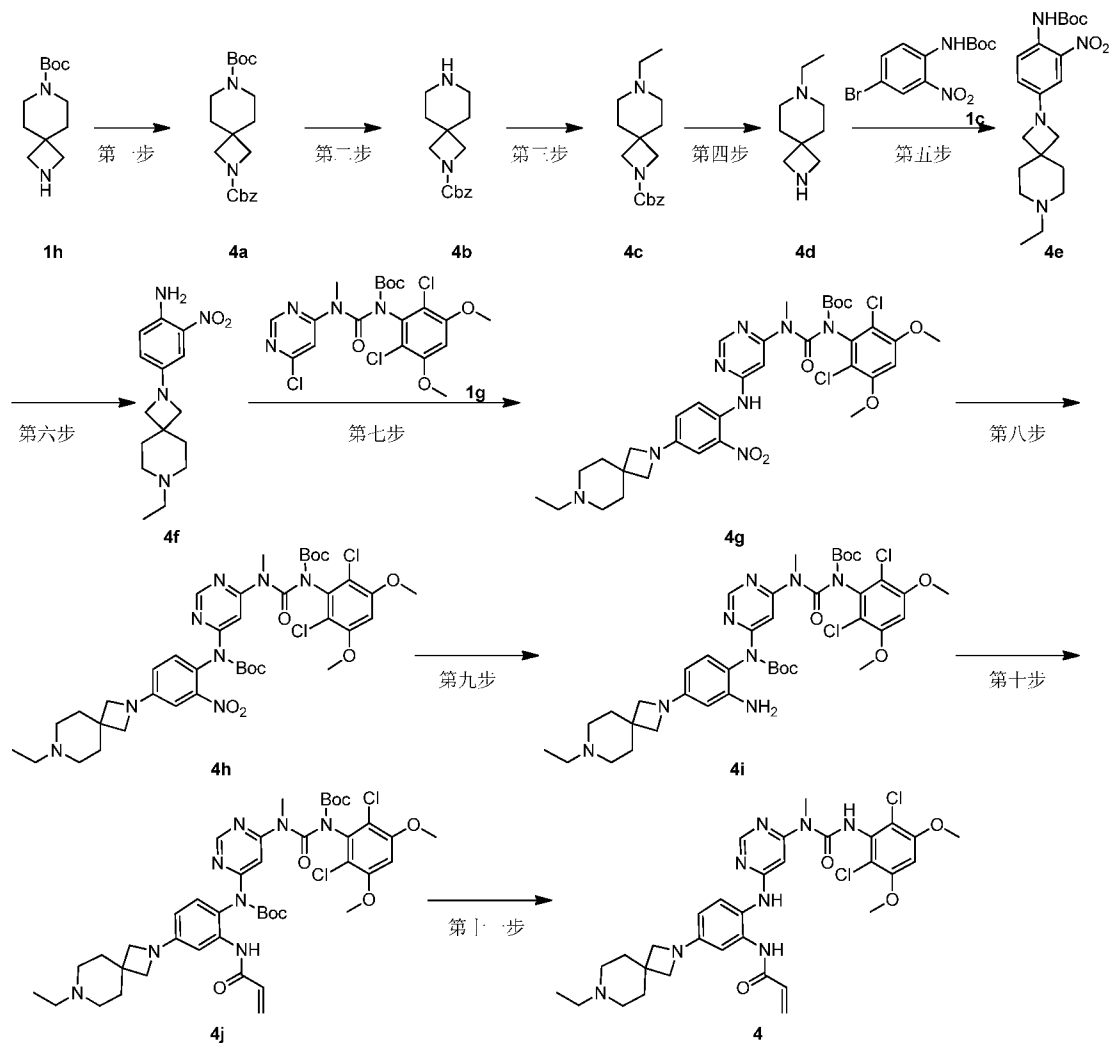
MS m/z(ESI): 656.8 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.11 (s, 1H), 9.60 (s, 1H), 8.71-8.63 (m, 2H), 8.29 (s, 1H), 7.21 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.56-6.46 (m, 1H), 6.42 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.2 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 5.69 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 3.93 (s, 6H), 3.32 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.25-3.16 (m, 5H), 3.15-3.05 (m, 4H), 1.93 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.81-1.68 (m, 4H).

实施例 4

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-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺





第一步

2-苄基-7-叔丁基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2,7-二羧酸

将 2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 **1h** (2.0 g, 8.84 mmol) 溶于 20 mL 二氯甲烷中, 加入氯甲酸苄酯 (3.06 g, 17.67 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (4.57 g, 35.35 mmol), 室温反应 12 小时。反应液减压浓缩, 加入 20 mL 乙酸乙酯溶解, 用依次用 1M 的盐酸溶液 (10 mL) 和饱和氯化钠溶液 (10 mL) 洗涤, 有机相减压下浓缩, 得到 2-苄基-7-叔丁基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2,7-二羧酸 **4a** (3.18 g, 黄色油状物), 产率: 100%。

第二步

2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-羧酸苄酯

将 2-苄基-7-叔丁基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2,7-二羧酸 **4a** (3.20 g, 8.88 mmol) 溶于 20 mL 二氯甲烷中, 加入 10 mL 三氟乙酸, 室温反应 4 小时。反应液减压浓缩, 加入 30 mL 乙酸乙酯溶解, 用依次用碳酸氢钠溶液 (10 mL x2) 和饱和氯化钠溶液 (10 mL) 洗涤, 有机相减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法 (洗脱剂: A 体系) 纯化, 得到 2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-羧酸苄酯 **4b** (2.30 g, 无色粘稠物), 产率: 99.6%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.41 (s, 1H), 7.43-7.29 (m, 5H), 5.09 (s, 2H), 3.77 (s, 4H), 3.16-2.96 (m, 4H), 2.09-1.96 (m, 4H).

第三步

7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-羧酸苄酯

将 7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-羧酸苄酯 **4b** (2.3 g, 8.83 mmol) 溶于 20 mL 甲醇中, 加入 10 mL 乙醛、醋酸(1.50 g, 26.5 mmol)和氰基硼氢化钠(2.22 g, 35.34 mmol), 室温反应 12 小时。反应液减压浓缩, 加入 20 mL 乙酸乙酯和 10 mL 水, 分层, 有机相用依次用饱和碳酸氢钠溶液 (10 mL) 和饱和氯化钠溶液 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-羧酸苄酯 **4c** (2.0 g, 无色粘稠物), 产率: 78.4%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42-7.31 (m, 5H), 5.1 (s, 2H), 3.9-3.7 (m, 4H), 3.58-3.38 (m, 2H), 3.15-3.02 (m, 2H), 2.85-2.55 (m, 2H), 2.3-2.06 (m, 4H), 1.39 (t, $J = 12\text{Hz}$, 3H).

第四步

7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷

将 7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-羧酸苄酯 **4c** (2.00 g, 6.94 mmol) 溶于 20 mL 甲醇中, 加入钯炭(70 mg), 氢气氛围下, 室温反应 12 小时。反应液过滤, 滤液减压浓缩, 得到 7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷 **4d** (1.0 g, 油状物), 产率: 93.4%。

第五步

(4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯

将 7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷 **4d** (1.50 g, 4.73 mmol)、(4-溴-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1c** (1.09 g, 7.09 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(821 mg, 1.42 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(649 mg, 0.71 mmol)和碳酸铯(4.62 g, 14.19 mmol)溶于 50 mL 甲苯中, 110°C 反应 4 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到(4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **4e** (1.00 g, 红色固体), 产率: 54.1%。

MS m/z (ESI): 391.0 $[\text{M}+1]$

第六步

(4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基苯基)氨基甲酸

将(4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **4e** (1.00 g, 2.56 mmol) 溶于 10 mL 二氯甲烷中, 加入 5 mL 三氟乙酸, 室温反应 4 小时。反应液减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到(4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基苯基)氨基甲酸 **4f** (680 mg, 红色固体), 产率: 91.5%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.11 (s, 1H), 6.76 (d, $J = 8.8\text{ Hz}$, 1H), 6.73-6.67 (m, 1H), 3.65-3.58 (m, 4H), 3.19-3.03 (m, 4H), 2.72-2.56 (m, 2H), 2.45-2.35 (m, 2H), 2.17-2.08 (m, 2H), 1.41 (t, $J = 5.6\text{ Hz}$, 3H).

第七步

叔丁基-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸

将(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酰基-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1g** (1.00 g, 2.03 mmol)、(4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基苯基)氨基甲酸 **4f** (650 mg, 2.24 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(259 mg, 0.447 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(205 mg, 0.224 mmol)和碳酸铯(2.65 g, 6.13 mmol)溶于 20 mL 甲苯中, 115°C 反应 6 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得

到叔丁基-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸 **4g** (800 mg, 红色固体), 产率: 52.9%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.17 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.21 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.11 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.77-6.71 (m, 1H), 6.61 (s, 1H), 3.95 (s, 6H), 3.71 (s, 4H), 3.64 (s, 3H), 3.52-2.25 (m, 6H), 2.08-1.96 (m, 4H), 1.29-1.25 (m, 3H).

第八步

叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基-苯基]氨基甲酸

将叔丁基-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸 **4g** (800 mg, 1.07 mmol)溶于 20 mL 四氢呋喃中, 加入二碳酸二叔丁酯(351 mg, 1.61 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(131 mg, 1.07 mmol), 反应液加热至 80℃反应 1 小时。反应液减压下浓缩, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基-苯基]氨基甲酸 **4h** (850mg, 黄色固体), 产率: 93.7%。

MS *m/z*(ESI): 423.0 [M/2+1]

第九步

叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-氨基-苯基]氨基甲酸

将叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-硝基-苯基]氨基甲酸 **4h** (850 mg, 1.01 mmol)溶于 20 mL 甲醇中, 加入雷尼镍(500 mg), 氢气保护下, 室温反应 20 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-氨基-苯基]氨基甲酸 **4i** (210 mg, 淡黄色固体), 产率: 25.6%。

MS *m/z*(ESI): 408.0 [M/2+1]

第十步

叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-(丙-2-烯酰基氨基)苯基]氨基甲酸

将叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-氨基-苯基]氨基甲酸 **4i** (210 mg, 0.257 mmol)溶于 10 mL 二氯甲烷中, 加入 N, N-二异丙基乙胺(133 mg, 1.03 mmol)和丙烯酰氯(46.6 mg, 0.815 mmol), 室温反应 48 小时。反应液减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-(丙-2-烯酰基氨基)苯基]氨基甲酸 **4j** (120 mg, 黄色固体), 产率: 53.6%。

MS *m/z*(ESI): 435.0 [M/2+1]

第十一步

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-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺

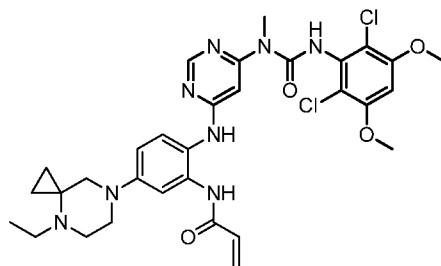
将叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)-2-(丙-2-烯酰基氨基)苯基]氨基甲酸 **4j** (120 mg, 0.138 mmol)溶于 10 mL 二氯甲烷中, 加入 5 mL 三氟乙酸, 室温反应 14 小时。反应液减压浓缩, 加入 20 mL 二氯甲烷和甲醇的混合溶液 (V/V=10/1), 用饱和碳酸钠溶液 (10 mL) 和饱和氯化钠溶液 (10 mL) 洗涤, 有机相减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 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-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[3.5]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺 **4** (25 mg, 黄色固体), 产率: 27.1%。

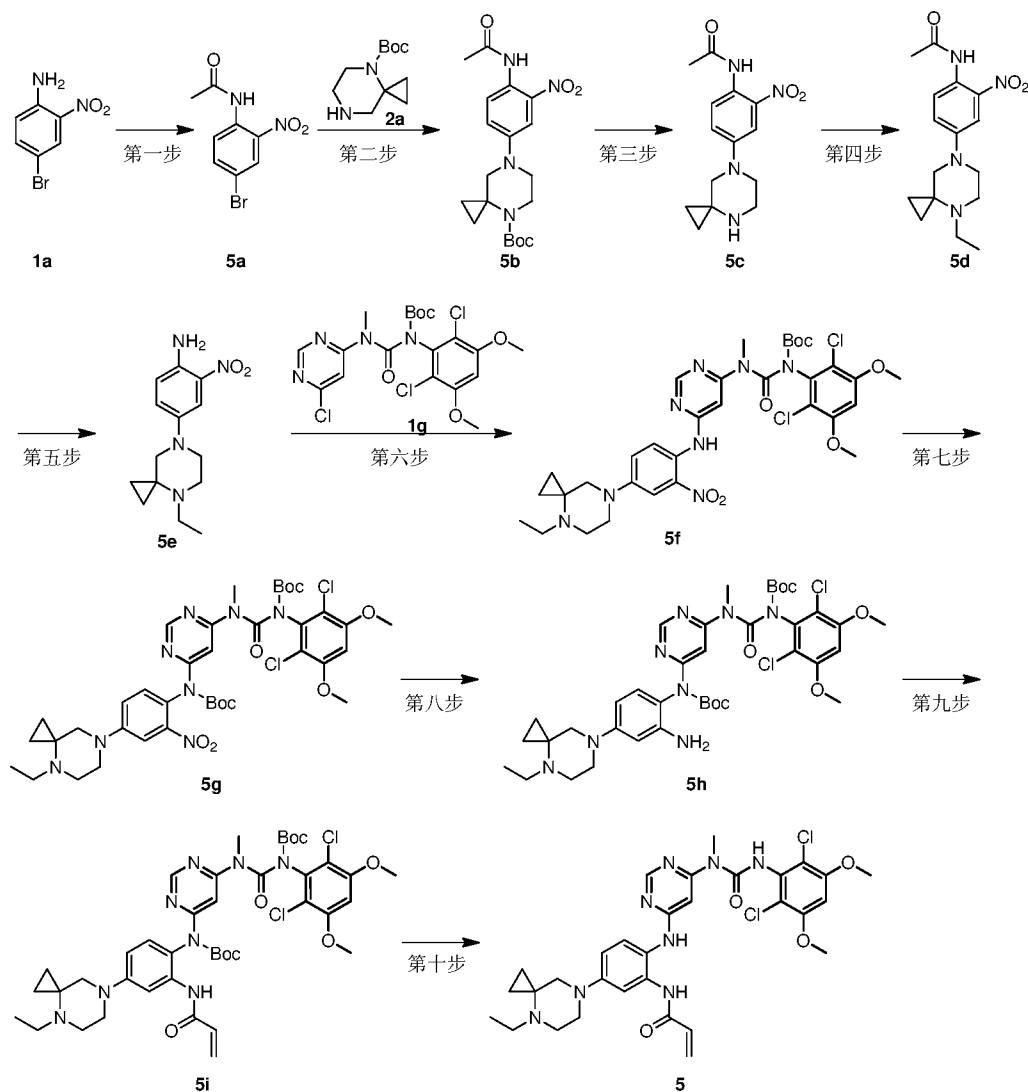
MS m/z(ESI): 668.8 [M+1]

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.09 (s, 1H), 10.48 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.23 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.63-6.45 (m, 1H), 6.32-6.15 (m, 2H), 5.71 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 3.93 (s, 6H), 3.75-3.55 (m, 4H), 3.48-3.38 (m, 2H), 3.22 (s, 3H), 3.25-2.81 (m, 4H), 2.19-1.92 (m, 4H), 1.28-1.19 (m, 3H).

实施例 5

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-乙基-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)苯基)丙烯酰胺





第一步

N-(4-溴-2-硝基苯基)乙酰胺

将 4-溴-2-硝基苯胺 **1a** (6.00 g, 27.65 mmol) 溶于 45 mL 醋酸中, 加入乙酸酐 (2.85 mL, 30.41 mmol), 加热至 100℃ 反应 5 小时。反应液中加入 100 mL 水, 有固体析出, 过滤, 滤饼用 50 mL 二氯甲烷溶解, 有机相用依次用水 (20 mL x2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压下浓缩, 得到 N-(4-溴-2-硝基苯基)乙酰胺 **5a** (6.60 g, 黄色固体), 产率: 92.1%。

MS m/z (ESI): 258.8 [M+1]

第二步

7-(4-乙酰氨基-3-硝基苯基)-4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯

将 N-(4-溴-2-硝基苯基)乙酰胺 **5a** (1.00 g, 3.86 mmol)、4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **2a** (820 mg, 3.86 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽 (450 mg, 0.772 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (350 mg, 0.386 mmol) 和碳酸铯 (3.77 g, 11.6 mmol) 溶于 50 mL 甲苯中, 氩气保护下 115℃ 反应 4 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法 (洗脱剂: A 体系) 纯化, 得到 7-(4-乙酰氨基-3-硝基苯基)-4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **5b** (920 mg, 红色固体), 产率: 61.3%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.01 (s, 1H), 8.61 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.32-7.27 (m,

2H), 3.85-3.65 (m, 2H), 3.31-3.15 (m, 2H), 3.02 (s, 2H), 2.27 (s, 3H), 1.49 (s, 9H), 1.14-1.08 (m, 2H), 0.98-0.88 (m, 2H).

第三步

(N-(2-硝基-4-(4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)苯基)乙酰胺

将 7-(4-乙酰氨基-3-硝基苯基)-4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-4-羧酸叔丁酯 **5b** (720 mg, 2.36 mmol) 溶于 10 mL 二氯甲烷中, 加入 5 mL 三氟乙酸, 室温反应 4 小时。反应液减压浓缩, 加入 20 mL 乙酸乙酯溶解, 分层, 有机相用依次用饱和碳酸钠溶液 (10 mL) 和饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压下浓缩, 得到(N-(2-硝基-4-(4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)苯基)乙酰胺 **5c** (650 mg, 红色固体), 产率: 95.0%。

MS m/z(ESI): 291.0 [M+1]

第四步

N-(4-(4-乙基-4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)-2-硝基苯基)乙酰胺

将(N-(2-硝基-4-(4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)苯基)乙酰胺 **5c** (600 mg, 2.06 mmol)溶于 20 mL 甲醇中, 加入 40%的乙醛 2 mL、醋酸(250 mg, 4.13 mmol)和氰基硼氢化钠(260 mg, 4.13 mmol), 室温反应 12 小时。反应液减压浓缩, 加入 20 mL 乙酸乙酯, 有机相用依次用饱和碳酸钠溶液 (10 mL x2) 和饱和氯化钠溶液 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压下浓缩, 得到 N-(4-(4-乙基-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)-2-硝基苯基)乙酰胺 **5d** (660 mg, 红色固体), 产率: 100%。

MS m/z(ESI): 319.0 [M+1]

第五步

4-(4-乙基-4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)-2-硝基苯胺

将 N-(4-(4-乙基-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)-2-硝基苯基)乙酰胺 **5d** (700 mg, 2.20 mmol) 溶于 20 mL 乙醇中, 加入 4 mL 氢氧化钾(493.4 mg, 8.79 mmol), 加热至 90℃反应 3 小时。反应液减压浓缩, 加入 20 mL 乙酸乙酯和 10 mL 水, 分层, 有机相用饱和氯化钠溶液 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 4-(4-乙基-4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)-2-硝基苯胺 **5e** (6.60 g, 红色固体), 产率: 98.8%。

MS m/z(ESI): 277.0 [M+1]

第六步

叔丁基-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛烷-5-基)-2-硝基苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸

将(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酰基-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1g** (1.00 g, 2.03 mmol)、4-(4-乙基-4,7-氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)-2-硝基苯胺 **5e** (618 mg, 2.24 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(235 mg, 0.407 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(186 mg, 0.203 mmol)和碳酸铯(1.99 g, 6.10 mmol)溶于 30 mL 甲苯中, 氩气保护下 115℃反应 4 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到叔丁基-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛烷-5-基)-2-硝基苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸 **5f** (800 mg, 红色固体), 产率: 53.7%。

MS m/z(ESI): 366.0 [M/2+1]

第七步

叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛-5-基)-2-硝基-苯基]氨基甲酸

将叔丁基-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛烷-5-基)-2-硝基苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸 **5f** (800 mg, 1.09 mmol)溶于 20 mL 四氢呋喃中,加入二碳酸二叔丁酯(358 mg, 1.64 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(134 mg, 1.09 mmol),反应液加热至 80℃反应 1 小时。反应液减压下浓缩,得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化,得到叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛-5-基)-2-硝基-苯基]氨基甲酸 **5g** (850 mg, 黄色固体), 产率: 93.5%。

MS m/z(ESI): 832.8[M+1]

第八步

叔丁基-N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛烷-5-基)苯胺]嘧啶-4-基]甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸

将叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛-5-基)-2-硝基-苯基]氨基甲酸 **5g** (850 mg, 1.02 mmol)溶于 20 mL 甲醇中,加入雷尼镍(400 mg),氢气保护下,室温反应 6 小时。反应液过滤,减压浓缩,得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化,得到叔丁基-N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛烷-5-基)苯胺]嘧啶-4-基]甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸 **5h** (600 mg, 黄色固体), 产率: 73.2%。

MS m/z(ESI): 401.9 [M/2+1]

第九步

叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛烷-5-基)-2-(丙-2-烯酰基氨基)苯基]氨基甲酸

将叔丁基-N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛烷-5-基)苯胺]嘧啶-4-基]甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸 **5h** (600 mg, 0.748 mmol)溶于 15 mL 二氯甲烷中,加入 N, N-二异丙基乙胺(463 mg, 3.73 mmol)和丙烯酰氯(135 mg, 1.50 mmol),室温反应 4 小时。反应液减压浓缩,得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化,得到叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛烷-5-基)-2-(丙-2-烯酰基氨基)苯基]氨基甲酸 **5i** (440 mg, 红色固体), 产率: 68.7%。

MS m/z(ESI): 378.6[(M-100)/2+1]

第十步

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-乙基-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)苯基)丙烯酰胺

将叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(8-乙基-5,8-二氮杂螺[2.5]辛烷-5-基)-2-(丙-2-烯酰基氨基)苯基]氨基甲酸 **5i** (440 mg, 0.514 mmol)溶于 15 mL 二氯甲烷中,加入 5 mL 三氟乙酸,室温反应 12 小时。反应液减压浓缩,加入 20 mL 乙酸乙酯,依次用饱和碳酸钠溶液(20 mL)和饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,得到的残留物用硅胶薄层层析法(洗脱剂: B 体系)纯化,得到 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-乙基

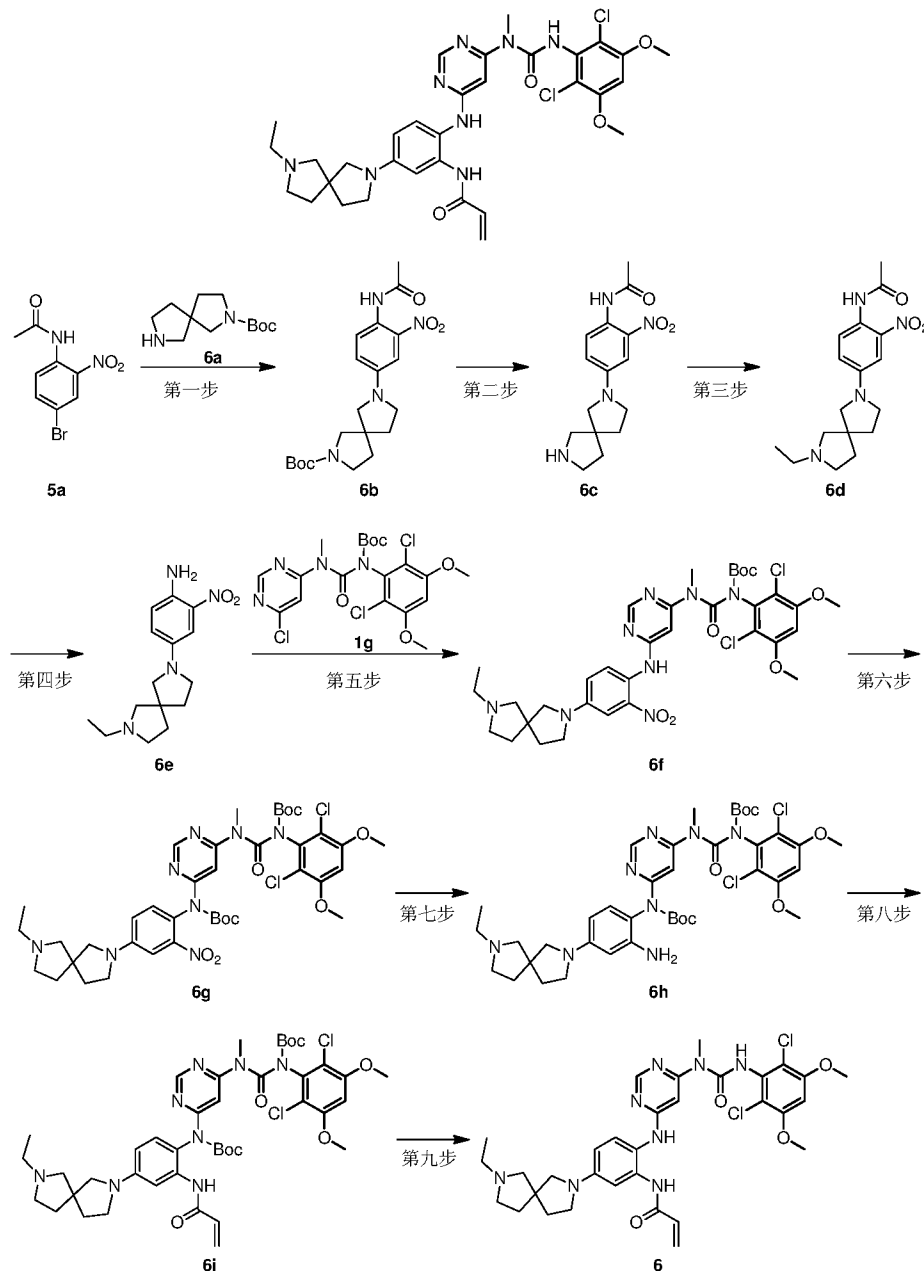
-4,7-二氮杂螺[2.5]辛烷-7-基)苯基)丙烯酰胺 **5** (100 mg, 白色固体), 产率: 29.7%。

MS m/z(ESI): 678.8 [M+23]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 12.53 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 6.76-6.66 (m, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.62 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.26-6.17 (m, 1H), 5.9-5.84 (m, 1H), 5.79 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 3.92 (s, 6H), 3.8-2.1 (m, 11H), 1.69-1.42 (m, 3H), 1.32-1.02 (m, 2H), 0.98-0.6 (m, 2H).

实施例 6

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-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺



第一步

7-(4-乙酰氨基-3-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-羧酸叔丁酯

将 N-(4-溴-2-硝基苯基)乙酰胺 **5a** (550 mg, 2.12 mmol)、2,7-氮杂螺[4.4]壬烷-2-羧酸叔丁酯 **6a** (460.5 mg, 2.12 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽 (246 mg, 0.425 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (194 mg, 0.212 mmol) 和碳酸铯 (2.08 g, 6.37 mmol) 溶于 20 mL 甲苯中, 氩气

保护下 115℃反应 4 小时。反应液冷却至室温，过滤，减压浓缩，得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂：A 体系)纯化，得到(7-(4-乙酰氨基-3-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-羧酸叔丁酯 **6b** (490 mg，红色固体)，产率：57.1%。

MS m/z(ESI): 405.0 [M+1]

第二步

(N-(2-硝基-4-(2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)苯基)乙酰胺

将(7-(4-乙酰氨基-3-硝基苯基)-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-羧酸叔丁酯 **6b** (490 mg，1.21 mmol)溶于 10 mL 二氯甲烷中，加入 5 mL 三氟乙酸，室温反应 2 小时。反应液减压浓缩，加入 20 mL 乙酸乙酯溶解，减压下浓缩，得到(N-(2-硝基-4-(2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)苯基)乙酰胺 **6c** (368 mg，红色固体)，产率：100%。

MS m/z(ESI): 305.0 [M+1]

第三步

N-(4-(7-乙基-2,7-氮杂螺[4.4]辛烷-2-基)-2-硝基苯基)乙酰胺

将(N-(2-硝基-4-(2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)苯基)乙酰胺 **6c** (368 mg，1.21 mmol)溶于 10 mL 甲醇中，加入 40%的乙醛 2 mL、醋酸(145 mg，2.42 mmol)和氰基硼氢化钠(304 mg，4.84 mmol)，室温反应 12 小时。反应液减压浓缩，加入 20 mL 乙酸乙酯和 10 mL 水，分层，有机相用依次用饱和碳酸钠溶液(20 mL)和饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，减压下浓缩，得到 N-(4-(7-乙基-2,7-氮杂螺[4.4]辛烷-2-基)-2-硝基苯基)乙酰胺 **6d** (401 mg，红色固体)，产率：100%。

MS m/z(ESI): 333.0 [M+1]

第四步

4-(7-乙基-2,7-氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-2-硝基苯胺

将 N-(4-(7-乙基-2,7-氮杂螺[4.4]辛烷-2-基)-2-硝基苯基)乙酰胺 **6d** (401 mg，2.20 mmol)溶于 20 mL 乙醇中，加入 4 mL 氢氧化钾(271 mg，4.83 mmol)，加热至 90℃反应 4 小时。反应液减压浓缩，加入 20 mL 乙酸乙酯和 10 mL 水，分层，水相用乙酸乙酯(10 mL x2)萃取，合并有机相用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，减压下浓缩，得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂：B 体系)纯化，得到 4-(7-乙基-2,7-氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-2-硝基苯胺 **6e** (270 mg，红色固体)，产率：77.1%。

MS m/z(ESI): 291.0 [M+1]

第五步

叔丁基-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬烷-8-基)-2-硝基苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸

将(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酰基-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1g** (400 mg，0.813 mmol)、4-(7-乙基-2,7-氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)-2-硝基苯胺 **6e** (260 mg，0.895 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(94 mg，0.163 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(75 mg，0.0813 mmol)和碳酸铯(795 mg，2.44 mmol)溶于 20 mL 甲苯中，氩气保护下 115℃反应 4 小时。反应液冷却至室温，过滤，减压浓缩，得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂：B 体系)纯化，得到叔丁基-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬烷-8-基)-2-硝基苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸 **6f** (400 mg，红色固体)，产率：66.0%。

MS m/z(ESI): 323.0 [M/2+1]

第六步

叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬烷-8-基)-2-硝基-苯基]氨基甲酸

将叔丁基-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬烷-8-基)-2-硝基苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸 **6f** (400 mg, 0.536 mmol)溶于 15 mL 四氢呋喃中,加入二碳酸二叔丁酯(175 mg, 0.805 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(66 mg, 0.576 mmol),反应液加热至 80℃反应 1 小时。反应液减压下浓缩,得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化,得到叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬-8-基)-2-硝基-苯基]氨基甲酸 **6g** (410 mg, 黄色固体), 产率: 90.5%。

第七步

叔丁基-N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬烷-8-基)苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸

将叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬-8-基)-2-硝基-苯基]氨基甲酸 **6g** (450 mg, 0.532 mmol)溶于 15 mL 甲醇中,加入雷尼镍(200 mg),氢气保护下,室温反应 6 小时。反应液过滤,减压浓缩,得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化,得到叔丁基-N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬烷-8-基)苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸 **6h** (310 mg, 红色固体), 产率: 71.4%。

MS m/z(ESI): 408.7 [M/2+1]

第八步

叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬烷-8-基)-2-(丙-2-烯酰基氨基)苯基]氨基甲酸

将叔丁基-N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬烷-8-基)苯胺]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸 **6h** (310 mg, 0.380 mmol)溶于 10 mL 二氯甲烷中,加入 N,N-二异丙基乙胺(246 mg, 1.90 mmol)和丙烯酰氯(69 mg, 0.760 mmol),室温反应 4 小时。反应液减压浓缩,得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化,得到叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬烷-8-基)-2-(丙-2-烯酰基氨基)苯基]氨基甲酸 **6i** (150 mg, 红色固体), 产率: 45.5%。

MS m/z (ESI): 385.9 [M+1/2]

第九步

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-(7-乙基-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺

将叔丁基-N-[6-[[叔丁氧基羰基(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]甲基氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-(3-乙基-3,8-二氮杂螺[4.4]壬烷-8-基)-2-(丙-2-烯酰基氨基)苯基]氨基甲酸 **6i** (150 mg, 0.172 mmol)溶于 10 mL 二氯甲烷中,加入 5 mL 三氟乙酸,室温反应 12 小时。反应液减压浓缩,加入 20 mL 乙酸乙酯,依次用饱和碳酸钠溶液(10 mL x2)和饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,得到的残留物用硅胶薄层层析法(洗脱剂: B 体系)纯化,得到 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-(7-乙

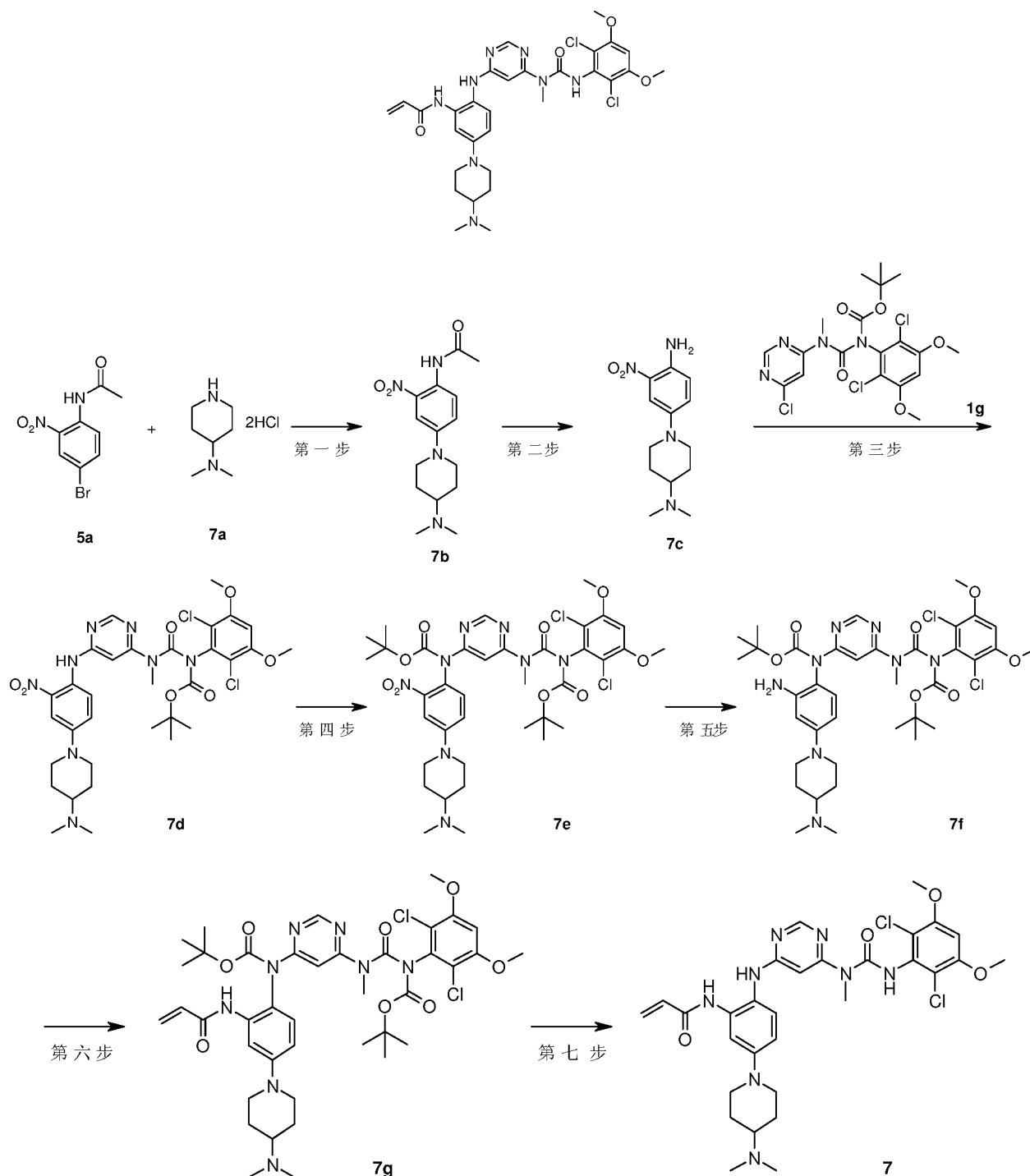
基-2,7-二氮杂螺[4.4]壬烷-2-基)苯基)丙烯酰胺 **6** (20 mg, 白色固体), 产率: 17.3%。

MS m/z (ESI): 335.8 $[M/2+1]$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.11 (s, 1H), 10.43-10.19 (m, 1H), 9.55 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.1 (s, 1H), 7.21 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.09-6.94 (m, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.58-6.44 (m, 1H), 6.42-6.34 (m, 1H), 6.28-6.18 (m, 1H), 5.74-5.66 (m, 1H), 3.93 (s, 6H), 3.8-3.46 (m, 2H), 3.38-3.28 (m, 4H), 3.24-3.92 (m, 7H), 2.22-1.78 (m, 4H), 1.32-1.12 (m, 3H).

实施例 7

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-(二甲基氨基)哌啶-1-基)苯基)丙烯酰胺



第一步

N-(4-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-2-硝基苯基)乙酰胺

氮气保护下, 将 N-(4-溴-2-硝基苯基)乙酰胺 **5a** (14.17 g, 49.72 mmol)、N,N-二甲基哌啶-4-胺二盐酸盐 **7a** (10.00 g, 54.69 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(11.5 g, 19.88 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(9.1 g, 9.94 mmol)和碳酸铯(48.40 g, 148.6 mmol)溶于 150 mL 甲苯中, 加热回流 4 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-(4-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-2-硝基苯基)乙酰胺 **7b** (6.40 g, 棕黑色固体), 产率: 42%。

MS m/z(ESI): 307.0 [M+1]

第二步

1-(4-氨基-3-硝基苯基)-N,N-二甲基哌啶-4-胺

将 N-(4-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)-2-硝基苯基)乙酰胺 **7b** (6.40 g, 20.89 mmol)和氢氧化钾(5.86 g, 104.4 mmol)溶于 80 mL 甲醇和水的混合溶剂 (V/V=1/1) 中, 加热回流 2 小时。反应液减压浓缩, 加入 100 mL 水, 用乙酸乙酯 (50 mL x3) 萃取, 合并有机相, 依次用水 (50 mL x3) 和饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 1-(4-氨基-3-硝基苯基)-N,N-二甲基哌啶-4-胺 **7c** (5.4 g, 棕黑色固体), 产率: 97.8%。

MS m/z(ESI): 265.0 [M+1]

第三步

N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]-2-硝基-苯胺基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸叔丁酯

氮气保护下, 将(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酰基-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1g** (500 mg, 1.02 mmol)、1-(4-氨基-3-硝基苯基)-N,N-二甲基哌啶-4-胺 **7c** (285.07 mg, 1.02 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(117.66 mg, 0.203 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(93.11 mg, 0.101 mmol)和碳酸铯(662.57 mg, 2.03 mmol)溶于 15 mL 甲苯中, 加热至 120°C 反应 4 小时。反应液减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]-2-硝基-苯胺基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸叔丁酯 **7d** (420 mg, 棕红色固体), 产率: 57.4%。

MS m/z(ESI): 718.8 [M+1]

第四步

N-[6-[[叔丁氧基羰基-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基]氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]-2-硝基-苯基]氨基甲酸叔丁酯

将 N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-N-[[6-[4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]-2-硝基-苯胺基]-甲基-氨基甲酰基]氨基甲酸叔丁酯 **7d** (400 mg, 0.536 mmol)溶于 20 mL 四氢呋喃中, 加入二碳酸二叔丁酯(242.63 mg, 1.11 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(20.37 mg, 0.167 mmol), 反应液加热至 75°C 反应 2 小时。反应液减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-[6-[[叔丁氧基羰基-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基]氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]-2-硝基-苯基]氨基甲酸叔丁酯 **7e** (323 mg, 橙黄色固体), 产率: 70.9%。

MS m/z(ESI): 818.8 [M+1]

第五步

N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧基羰基-4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯

将 N-[6-[[叔丁氧基羰基-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]-甲基-氨基]嘧啶-4-基]-N-[4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]-2-硝基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **7e** (322 mg, 0.393 mmol) 溶于 10 mL 甲醇中, 加入雷尼镍(300 mg), 氢气保护下, 室温反应 3 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧基羰基-4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **7f** (202 mg, 黄色固体), 产率: 65.1%。

MS m/z(ESI): 788.8 [M+1]

第六步

N-[[6-[2-丙烯酰胺基-N-叔丁氧基羰基-4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯

将 N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧基羰基-4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **7f** (188 mg, 0.238 mmol) 溶于 10 mL 二氯甲烷中, 加入 N, N-二异丙基乙胺(131.42 mg, 0.952 mmol)和丙烯酰氯(43.09 mg, 0.476 mmol), 室温反应 2 小时。反应液减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到叔 N-[[6-[2-丙烯酰胺基-N-叔丁氧基羰基-4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **7g** (162 mg, 淡黄色固体), 产率: 80.6%。

MS m/z(ESI): 842.8 [M+1]

第七步

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-(二甲基氨基)哌啶-1-基)苯基)丙烯酰胺

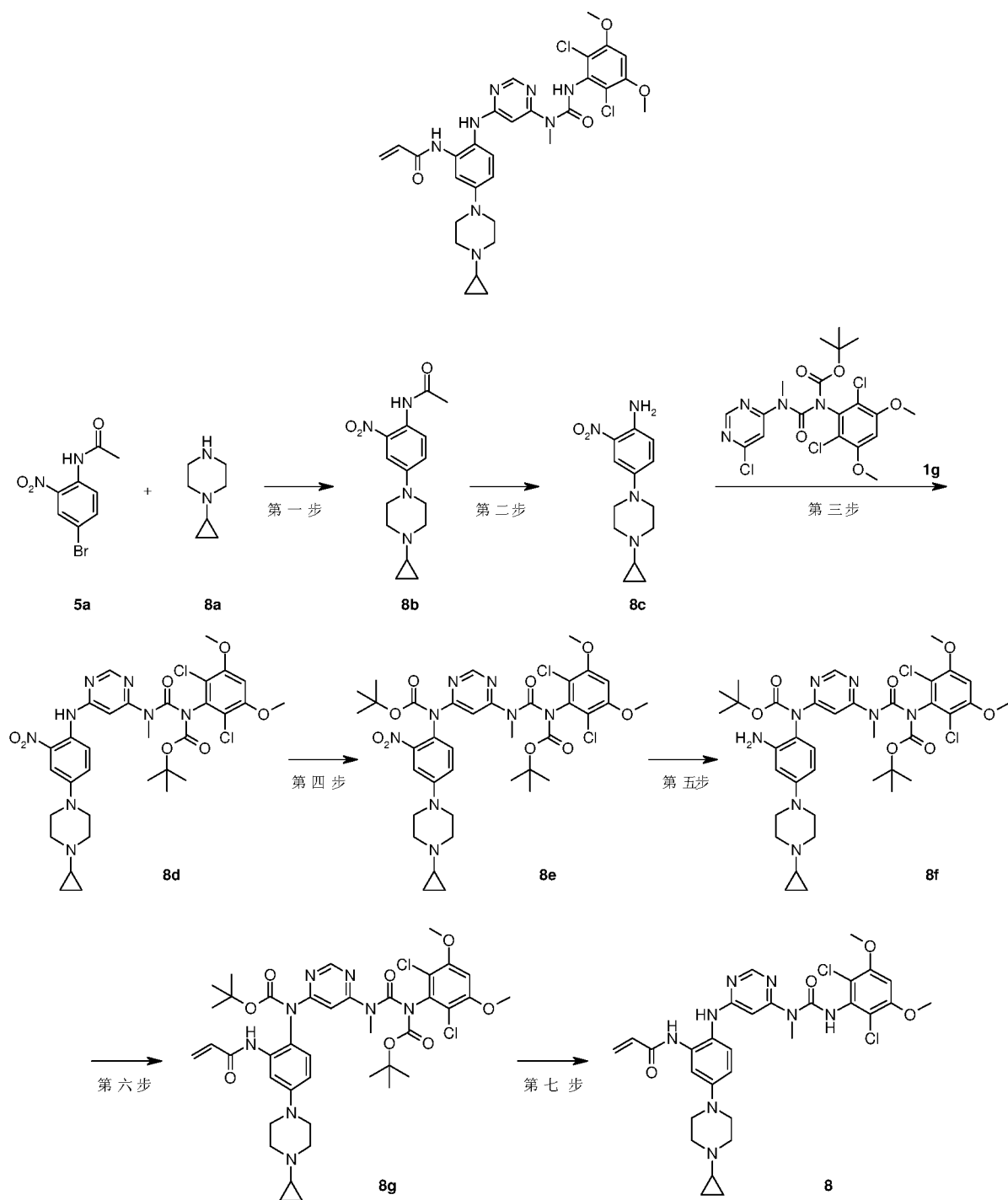
将 N-[[6-[2-丙烯酰胺基-N-叔丁氧基羰基-4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **7g** (162 mg, 0.192 mmol) 溶于 5 mL 二氯甲烷中, 加入 5 mL 三氟乙酸, 室温反应 1 小时。反应液减压浓缩, 加入 10 mL 二氯甲烷, 用饱和碳酸钠溶液 (10 mL x2) 洗涤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-(2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脒基)嘧啶-4-基)氨基)-5-(4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)苯基)丙烯酰胺 **7** (66 mg, 淡黄色固体), 产率: 53.4%。

MS m/z(ESI): 642.8 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.56 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.23 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.77 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 6.41 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 6.24 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 5.93 (s, 1H), 5.76 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 3.91 (s, 6H), 3.80 (d, J = 12.1 Hz, 2H), 3.28 (s, 3H), 2.76 (s, 3H), 2.56 (s, 6H), 2.01 (s, 2H), 1.74 (s, 2H).

实施例 8

N-(5-(4-环丙基哌嗪-1-基)-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)苯基)丙烯酰胺



第一步

N-(4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)乙酰胺

氩气保护下, 将 N-(4-溴-2-硝基苯基)乙酰胺 **5a** (1.00 g, 3.86 mmol)、1-环丙基哌嗪 **8a** (483.26 mg, 3.86 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(446.71 mg, 0.772 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(353.48 mg, 0.386 mmol)和碳酸铯(2.52 g, 7.72 mmol)溶于 10 mL 甲苯中, 加热至 120℃反应 4 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-(4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)乙酰胺 **8b** (500 mg, 红色固体), 产率: 42.7%。

MS m/z(ESI): 304.9 [M+1]

第二步

4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺

将 N-(4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯基)乙酰胺 **8b** (424 mg, 1.39 mmol) 溶于 50 mL 乙醇和水的混合溶剂 (V/V=3/2) 中, 加热至 95℃ 反应 4 小时。反应液减压浓缩, 用二氯甲烷 (20 mL x3) 萃取, 合并有机相, 减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺 **8c** (311 mg, 红棕色固体), 产率: 85.2%。

MS m/z(ESI): 263.0 [M+1]

第三步

N-[[6-[4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯

氩气保护下, 将(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酰基-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1g** (500 mg, 1.02 mmol)、4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺 **8c** (266.71 mg, 1.02 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲氧基杂蒽(117.66 mg, 0.203 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钨(93.11 mg, 0.102 mmol)和碳酸铯(662.57 mg, 2.03 mmol)溶于 20 mL 甲苯中, 加热至 120℃ 反应 4 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-[[6-[4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **8d** (612 mg, 红棕色固体), 产率: 83.9%。

MS m/z(ESI): 716.8 [M+1]

第四步

N-[[6-[N-叔丁氧羰基-4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯

将 N-[[6-[4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **8d** (612 mg, 0.853 mmol) 溶于 20 mL 四氢呋喃中, 加入二碳酸二叔丁酯(372.26 mg, 1.71 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(52.09 mg, 0.426 mmol), 反应液加热至 75℃ 反应 2 小时。反应液减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-[[6-[N-叔丁氧羰基-4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **8e** (655 mg, 橙黄色固体), 产率: 93.9%。

MS m/z(ESI): 816.8 [M+1]

第五步

N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-(4-环丙基哌嗪-1-基)苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯

将 N-[[6-[N-叔丁氧羰基-4-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-硝基-苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **8e** (650 mg, 0.795 mmol) 溶于 20 mL 甲醇中, 加入雷尼镍(1.00 g), 氢气氛围下, 室温反应 2 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 得到粗品 N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-(4-环丙基哌嗪-1-基)苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **8f** (596 mg, 橙黄色固体), 产率: 95.2%。

第六步

N-[[6-[2-丙烯酰胺基-N-叔丁氧羰基-4-(4-环丙基哌嗪-1-基)苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯

将 N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-(4-环丙基哌嗪-1-基)苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **8f** (596 mg, 0.795 mmol) 溶于 20 mL 甲醇中, 加入雷尼镍(1.00 g), 氢气氛围下, 室温反应 2 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 得到粗品 N-[[6-[2-丙烯酰胺基-N-叔丁氧羰基-4-(4-环丙基哌嗪-1-基)苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **8g** (596 mg, 橙黄色固体), 产率: 95.2%。

基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **8f** (565 mg, 0.717 mmol)溶于 10 mL 二氯甲烷中, 加入 N, N-二异丙基乙胺(411.04 mg, 2.87 mmol)和丙烯酰氯(129.83 mg, 1.43 mmol), 室温反应 10 分钟。向反应液中加入 10 mL 饱和碳酸氢钠溶液, 用二氯甲烷 (20 mL x3) 萃取, 合并有机相, 减压浓缩, 得到粗品 N-[[6-[2-丙烯酰胺基-N-叔丁氧羰基-4-(4-环丙基哌嗪-1-基)苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **8g** (600 mg, 黄色固体), 产率: 99.5%。

MS m/z(ESI): 842.8 [M+1]

第七步

N-(5-(4-环丙基哌嗪-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

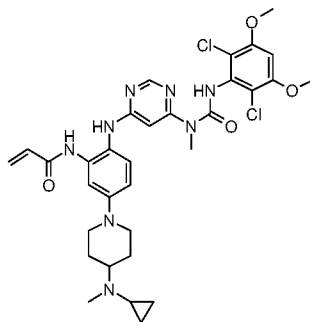
将 N-[[6-[2-丙烯酰胺基-N-叔丁氧羰基-4-(4-环丙基哌嗪-1-基)苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **8g** (600 mg, 0.713 mmol)溶于 5 mL 二氯甲烷中, 加入 5 mL 三氟乙酸, 室温反应 4 小时。反应液减压浓缩, 加入 10 mL 饱和碳酸氢钠溶液和 10 mL 二氯甲烷, 分液, 水相用二氯甲烷 (10 mL x2) 萃取, 合并有机相, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶薄层层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-(5-(4-环丙基哌嗪-1-基)-2-((6-(3-(2,6-二氯-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 **8** (200 mg, 淡黄色固体), 产率: 43.9%。

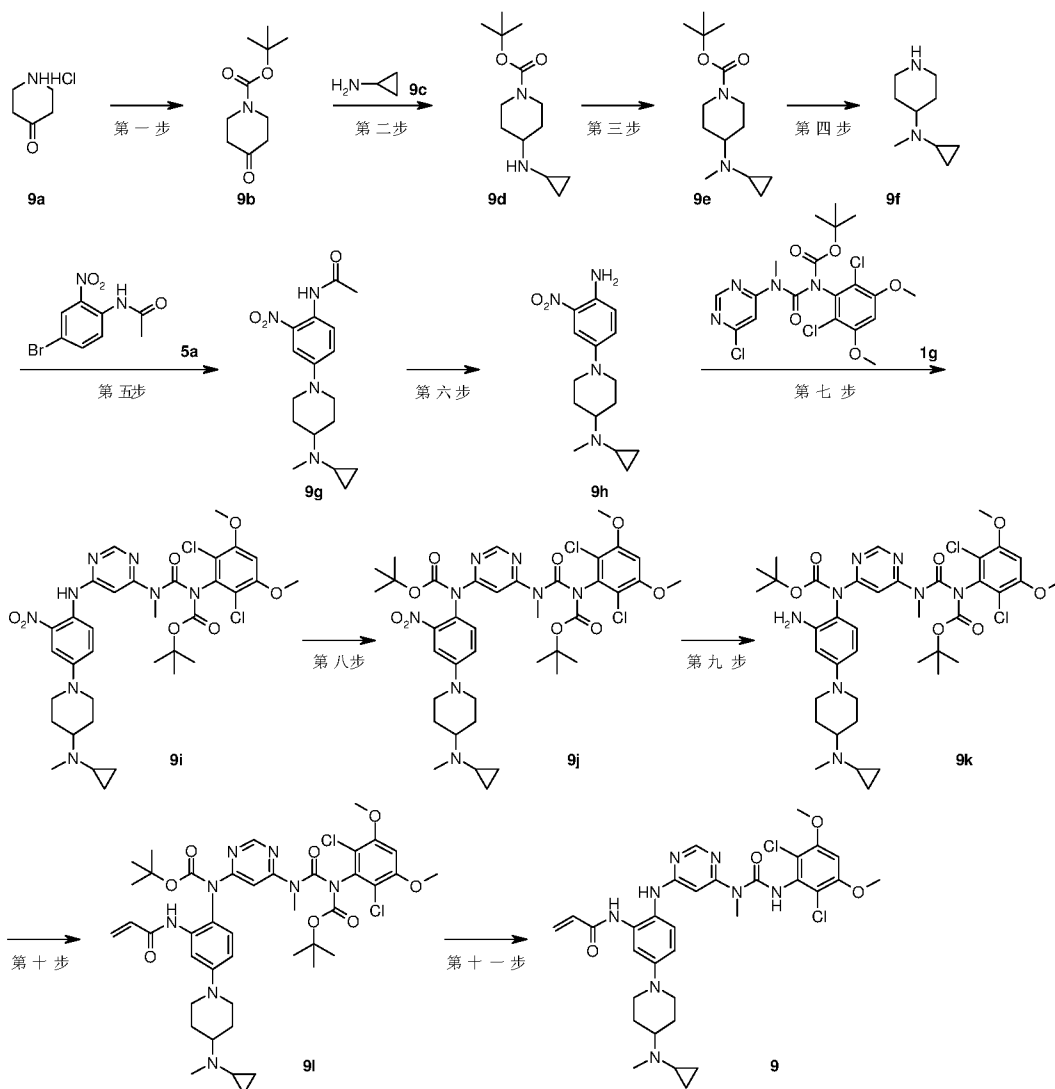
MS m/z(ESI): 640.8 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.55 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.71 (s, 2H), 7.21 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.76 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.52 (s, 1H), 6.42 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 6.21 (dd, *J* = 16.8, 10.0 Hz, 1H), 5.86 (s, 1H), 5.77 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 3.92 (s, 6H), 3.27 (s, 7H), 2.80 (s, 4H), 1.62 (s, 1H), 0.51 (s, 4H).

实施例 9

N-(5-(4-(环丙基(甲基)氨基)哌嗪-1-基)-2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺





第一步

4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯

将哌啶-4-酮盐酸盐 **9a** (5.0 g, 36.8 mmol) 溶于 100 mL 四氢呋喃中, 加入三乙胺 (7.7 mL, 55.2 mmol), 搅拌 5 分钟, 加入二碳酸二叔丁酯 (9.6 g, 44.2 mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (225 mg, 1.84 mmol), 室温反应 12 小时。反应液减压下浓缩, 加入 100 mL 二氯甲烷, 依次用 1M 盐酸溶液 (50 mL × 2)、饱和碳酸钠溶液 (50 mL) 和饱和氯化钠溶液 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到 4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯 **9b** (6.7g, 无色固体), 产率: 91.8%。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.71-3.74 (m, 4H), 2.43-2.46 (m, 4H), 1.50 (s, 9H)

第二步

4-(环丙基氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯

将 4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯 **9b** (12.0 g, 60.2 mmol) 溶于 40 mL 乙醇中, 加入 40 mL 冰醋酸和环丙胺 **9c** (4.2 mL, 60.2 mmol), 搅拌 0.5 小时, 加入氰基硼氢化钠 (7.56 g, 120.4 mmol), 室温反应 2 小时。反应液减压下浓缩, 加入 500 mL 饱和氯化铵溶液, 用乙酸乙酯 (500 mL) 萃取, 依次用饱和碳酸钠溶液 (400 mL) 和饱和氯化钠溶液 (500 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到 4-(环丙基氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 **9d** (11.1 g, 无色液体), 产率: 77.1%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.01-4.06 (m, 2H), 2.75-2.83 (m, 3H), 2.14-2.17 (m, 1H), 1.90-1.94

(m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.26-1.30 (m, 2H), 0.46-0.50 (m, 2H), 0.38-0.40 (m, 2H)

第三步

4-(环丙基(甲基)氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯

将 4-(环丙基氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 **9d** (11.1 g, 46.2 mmol) 溶于 300 mL 乙腈中, 加入碳酸钾 (19.15 g, 138.6 mmol) 和碘甲烷 (3.45 mL, 55.44 mmol), 室温反应 2 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 4-(环丙基(甲基)氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 **9e** (8.0 g, 无色液体), 产率: 68%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.13-4.19 (m, 2H), 2.63-2.69 (m, 3H), 2.39 (s, 3H), 1.82-1.99 (m, 3H), 1.47-1.54 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 0.54-0.56 (m, 4H)

第四步

N-环丙基-N-甲基哌啶-4-胺

将 4-(环丙基(甲基)氨基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 **9e** (8.0 g, 31.4 mmol) 溶于 30 mL 二氯甲烷中, 加入 5 mL 三氟乙酸, 室温反应 2 小时。反应液减压下浓缩, 所得残留物加入 20 mL 二氯甲烷继续减压浓缩, 再次加入 50 mL 二氯甲烷溶解, 然后加入碳酸钾粉末至无气泡产生, 过滤, 减压浓缩, 得到 N-环丙基-N-甲基哌啶-4-胺 **9f** (3.8 g, 棕色液体), 产率: 78.3%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.12-3.15 (m, 2H), 2.60-2.63 (m, 2H), 2.52-2.56 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.85-1.95 (m, 2H), 1.75-1.78 (m, 1H), 1.46-1.50 (m, 2H), 0.46-0.50 (m, 2H), 0.40-0.42 (m, 2H)

第五步

N-(4-(4-(环丙基(甲基)氨基)哌啶-1-基)-2-硝基苯基)乙酰胺

氩气保护下, 将 N-(4-溴-2-硝基苯基)乙酰胺 **5a** (6.18 g, 23.8 mmol)、N-环丙基-N-甲基哌啶-4-胺 **9f** (3.35 g, 21.7 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽 (2.51 g, 4.34 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (3.97 g, 4.34 mmol) 和碳酸铯 (21.2 g, 65.1 mmol) 溶于 100 mL 甲苯中, 加热至 110°C 反应 4 小时。反应液冷却至室温, 用 500 mL 乙酸乙酯萃取, 依次用水 (300 mL $\times$ 2) 和饱和氯化钠溶液 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 N-(4-(4-(环丙基(甲基)氨基)哌啶-1-基)-2-硝基苯基)乙酰胺 **9g** (5.0 g, 棕色固体), 产率: 69.4%。

MS m/z (ESI): 333.0 $[M+1]$

第六步

1-(4-氨基-3-硝基苯基)-N-环丙基-N-甲基哌啶-4-胺

将 N-(4-(4-(环丙基(甲基)氨基)哌啶-1-基)-2-硝基苯基)乙酰胺 **9g** (5.0 g, 15.0 mmol) 和氢氧化钾 (8.4 g, 150.0 mmol) 溶于 320 mL 水和乙醇的混合溶液 ($V/V=1/15$) 中, 加热至 90°C 反应 2 小时。反应液减压下浓缩, 加入 500 mL 乙酸乙酯, 分层, 有机相用水 (400 mL)、饱和氯化钠溶液 (400 mL) 和饱和碳酸氢钠溶液 (400 mL) 洗涤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 1-(4-氨基-3-硝基苯基)-N-环丙基-N-甲基哌啶-4-胺 **9h** (2.60 g, 棕色油状物), 产率: 57.5%。

MS m/z (ESI): 291.0 $[M+1]$

第七步

N-[[[6-[4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]-2-硝基苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯

氩气保护下, 将(6-氯嘧啶-4-基)(甲基)氨基甲酰基-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酸叔丁酯 **1g** (491.8 mg, 1.00 mmol)、1-(4-氨基-3-硝基苯基)-N-环丙基-N-甲基哌啶-4-胺 **9h** (290.4 mg, 1.00 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(115.7 mg, 0.20 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钼(183.0 mg, 0.20 mmol)和碳酸铯(977 mg, 3.00 mmol)溶于 10 mL 甲苯中, 110℃ 反应 5 小时。反应液冷却至室温, 过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-[[6-[4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]-2-硝基苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **9i** (310 mg, 棕色固体), 产率: 41.6%。
MS m/z(ESI): 744.8 [M+1]

第八步

N-[[6-[N-叔丁氧羰基-4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]-2-硝基苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯

将 N-[[6-[4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]-2-硝基苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **9i** (300 mg, 0.40 mmol)溶于 10 mL 四氢呋喃中, 加入二碳酸二叔丁酯(176 mg, 0.80 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(48.8 mg, 0.40 mmol), 反应液加热至 80℃ 反应 4 小时。反应液减压下浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-[[6-[N-叔丁氧羰基-4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]-2-硝基苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **9j** (200 mg, 棕黄色固体), 产率: 58.1%。

MS m/z(ESI): 846.8 [M+1]

第九步

N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸酯

将 N-[[6-[N-叔丁氧羰基-4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]-2-硝基苯胺基]嘧啶-4-基]甲基氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸叔丁酯 **9j** (200 mg, 0.23 mmol)溶于 10 mL 甲醇和四氢呋喃的混合溶剂 (V/V=1/1) 中, 加入雷尼镍(200 mg), 氢气氛围下, 室温反应 3 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸酯 **9k** (90 mg, 白色固体), 产率: 46.6%。

MS m/z(ESI): 817.8 [M+1]

第十步

N-[[6-[2-丙烯酰氨基-N-叔丁氧羰基-4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸酯

将 N-[[6-[2-氨基-N-叔丁氧羰基-4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸酯 **9k** (90 mg, 0.11 mmol)溶于 5 mL 二氯甲烷中, 冰浴下加入 N, N-二异丙基乙胺(0.1 mL, 0.55 mmol)和丙烯酰氯(20 mg, 0.22 mmol), 室温反应 1 小时。加入 50 mL 二氯甲烷, 分液, 有机相用饱和碳酸钠溶液 (500 mL) 和饱和氯化钠溶液 (50 mL) 洗涤, 减压浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析法(洗脱剂: B 体系)纯化, 得到 N-[[6-[2-丙烯酰氨基-N-叔丁氧羰基-4-[4-[环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸酯 **9l** (70 mg, 淡黄色固体), 产率: 72.9%。

MS m/z(ESI): 869.8 [M+1]

第十一步

N-(5-(4-(环丙基(甲基)氨基)哌啶-1-基)-2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)-4-基)氨基)苯基)丙烯酸酰胺

将 N-[[6-[2-丙烯酰氨基-N-叔丁氧羰基-4-[4-(环丙基(甲基)氨基]-1-哌啶基]苯胺基]嘧啶-4-基]-甲基-氨基甲酰基]-N-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酸酯 **9I** (68 mg, 0.078 mmol)溶于 2 mL 二氯甲烷中,冰浴下加入 1 mL 三氟乙酸,室温反应 2 小时。反应液中加入 50 mL 二氯甲烷,用饱和碳酸钠溶液(50 mL×2)洗涤,有机相减压浓缩,得到的残留物用硅胶薄层层析法(洗脱剂: B 体系)纯化,得到 N-(5-(4-(环丙基(甲基)氨基)哌啶-1-基)-2-((6-(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-甲基脲基)-4-基)氨基)苯基)丙烯酸酰胺 **9** (30 mg, 淡黄色固体), 产率: 57.6%。

MS m/z(ESI): 669.9 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.56 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.24 (m, 1H), 6.76 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.51 - 6.53 (m, 1H), 6.41 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.21-6.27 (m, 1H), 5.95 (s, 1H), 5.76 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.91 (s, 6H), 3.74-3.81 (m, 2H), 3.35 (s, 3H), 2.83-2.86 (m, 1H), 2.71-2.77 (m, 2H), 2.55 (s, 3 H), 2.02-2.10 (m, 3H), 1.80-1.82 (m, 2H), 0.85-0.87 (m, 2H), 0.68-0.84 (m, 2H)

生物学评价

测试例 1、本发明化合物对 FGFR 激酶活性测定

以下方法用于测定本发明化合物在体外条件下对重组人源FGFR蛋白的激酶活性的抑制程度。本方法使用Cisbio公司的HTRF®KinEASE-TK酪氨酸激酶试剂盒(货号62TK0PEB),该试剂盒原理基于时间分辨荧光能量共振转移(TF-FRET),通过测定FGFR蛋白介导的生物素化的多肽底物的磷酸化程度来反映化合物对FGFR激酶活性的抑制强弱。详细实验操作可参考试剂盒说明书。重组人源FGFR蛋白购于Carna bioscience(日本,货号分别为FGFR1 #08-133, FGFR2 #08-134, FGFR3 #08-135, FGFR4 #08-136)。

将实验流程简述如下:受试化合物首先溶解于DMSO中制备为贮存液,随后以试剂盒中提供的缓冲液进行梯度稀释,受试化合物在反应体系中的终浓度范围为10 μM~0.1 nM。测试所用的ATP溶液(生工生物工程(上海)股份有限公司, A600311)的浓度为预先测定的对应每个FGFR亚型的ATP K_m值浓度,FGFR1~4对应的ATP K_m值浓度分别为100 μM, 40 μM, 40 μM和120 μM。反应在384孔微孔板中进行,首先向孔中加入化合物和一定量的FGFR蛋白,并在室温下孵育5-30分钟,随后向反应液中加入ATP溶液和生物素化的多肽底物溶液,并在室温下振荡孵育50分钟。随后向反应中加入偶联有钨系元素化合物的抗磷酸化酪氨酸抗体和偶联有修饰化的别藻蓝蛋白XL665的链酶亲和素,并在室温下继续振荡孵育1小时。孵育结束后,在酶标仪以TF-FRET模式上测定各孔在激发波长为304nm,发射波长为620nm和665nm的荧光强度值。通过与对照组(0.1% DMSO)的荧光强度比值进行比较计算化合物在各浓度下的百分比抑制率,并通过GraphPad Prism 5软件以化合物浓度对数值-抑制率进行非线性回归分析,或得化合物的IC₅₀值,见表1。

表 1 本发明化合物对 FGFR 酶活性抑制的 IC₅₀ 数据

实施例编号	IC ₅₀ (nM)			
	FGFR1	FGFR2	FGFR3	FGFR4
WO2015057938 的 实施例 108 化合物	210	579	575	14
1	160	777	557	5
2	87	189	179	4.6
3	465	2428	715	2
4	382	165	439	1.3
5	624	533	989	2.4
6	544	368	731	2.2
7	176	405	729	1.1
8	618	644	880	2.5
9	244	228	311	3.8

从表1可以看出,本发明的化合物对FGFR4的抑制作用较好,选择性优于FGFR1、FGFR2和FGFR3,且本发明化合物对于FGFR4的抑制活性优于WO2015057938的实施例108的化合物(其按照WO2015057938的实施例108制备并鉴定)。

测试例 2、本发明化合物对肝癌细胞 Huh7 活性测定

以下方法用于测定本发明化合物对肿瘤细胞增殖的影响。针对FGFR4亚型,采用肝癌细胞Huh7(购于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心)进行化合物抑制肝癌细胞活性测定,Huh7细胞培养于含10%胎牛血清、100 U青霉素和100 μg/mL链霉素的DMEM培养基中。培养在37℃,5%CO₂培养箱内。肝癌细胞活性通过采用Cell Counting Kit-8试剂盒(Dojindo,东仁化学科技)来进行测定。

实验方法按照试剂盒说明书的步骤操作,简述如下:受试化合物首先溶解于DMSO中制备为贮存液,随后以对应细胞的培养基进行梯度稀释,配制成测试样品,化合物的终浓度范围在30 μM-0.01 nM。将处于对数生长期的肿瘤细胞以适宜的密度接种至96孔细胞培养板中,在37℃,5%CO₂培养箱内过夜后,加入测试化合物样品后继续培养细胞72小时。培养结束后,向每孔加入适宜体积的CCK-8检测液,并在37℃下孵育1~4小时,随后在酶标仪上读取样品各孔在450 nm下的吸光度数值。通过与对照组(0.3% DMSO)的吸光度数值进行比较计算化合物在各浓度点的百分比抑制率,之后在GraphPad Prism 5软件中以化合物浓度对数-抑制率进行非线性回归分析,得到化合物抑制细胞增殖的IC₅₀值,见表2。

表2 本发明化合物对肝癌细胞Huh7活性抑制的IC₅₀数据

实施例编号	IC ₅₀ (nM)/ Huh7
WO2015057938 的实 例 108 化合物	18
5	12
6	10
7	4.8

从表2可以看出,本发明的化合物对FGFR4异常的肝癌细胞具有显著增殖抑制作用,且优

于WO2015057938的实施例108化合物。

测试例 3 本发明化合物对人肝癌 Huh7 荷瘤 BALB/c 裸鼠移植瘤的生长抑制作用的测试

1. 实验目的

本测试用来评价连续 22 天, 每天两次, 口服或腹腔注射给予实施例 5 化合物以及 WO2015057938 的实施例 108 化合物对 Huh7 荷瘤 BALB/c 裸鼠移植瘤的生长抑制作用。

2. 受试物配制

2.1 空白给药制剂配制:

配制适量体积的含有 5% DMSO、10% PEG 300、8% Tween 80 和 77% 生理盐水(v/v)的制剂作为空白组给药试液。

2.2 WO2015057938 的实施例 108 化合物给药制剂配制

称取适量 WO2015057938 的实施例 108 化合物, 装入玻璃瓶中; 加入适量体积 DMSO, 涡旋振荡使药物完全溶解, 再加入适量体积的溶剂 TPS (Tween80: PEG300: 生理盐水= 8%: 10%: 77% (v/v/v)溶液), 涡旋振荡均匀, 使 DMSO:PEG300:Tween-80:生理盐水比例为 5:10:8:77 (v/v/v/v), 配制成浓度为 2.5 mg/mL 的给药制剂。

2.3 实施例 5 化合物腹腔注射给药制剂配制

称取适量实施例 5 化合物, 装入玻璃瓶中; 加入适量体积 DMSO, 涡旋振荡使药物完全溶解, 再加入适量体积的溶剂 TPS (Tween80:PEG300:生理盐水 = 8%:10%:77% (v/v/v)溶液), 涡旋振荡均匀, 使 DMSO:PEG300:Tween-80:生理盐水比例为 5:10:8:77 (v/v/v/v), 配制成浓度为 2.5 mg/mL 和 5 mg/mL 的给药制剂。

2.4 实施例 5 化合物口服给药制剂配制

称取 600 mg 实施例 5 化合物, 装入玻璃瓶中; 加入适量体积 3.92 mL EtOH, 加入 9.8 mL 的 PEG400, 然后再加入 5.88 mL 的 1M HCl, 涡旋振荡均匀, 使 EtOH:PEG400:水比例为 20:50:30 (v/v/v), 配制成浓度为 30 mg/mL 的给药制剂。

3. 实验动物

品种和品系: BALB/c 裸鼠, SPF, 雌性, 7~9 周龄(16~22 克), 健康状况良好, 45 只, 适应环境时间 5~7 天。合格证号: 1140070017310, 购买于北京维通利华实验动物技术有限公司。

4. 肝癌细胞 Huh7 培养

第 0 天, Huh7 细胞培养于含 10%胎牛血清、100 U 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素的 DMEM 培养基中。培养在 37°C, 5%CO₂培养箱内。接种前取对数生长期细胞, 以 0.25%胰蛋白酶消化后 PBS(Phosphate Buffered Saline,磷酸盐缓冲液)洗涤, 用不含血清的培养基重新悬浮细胞计数, 调整细胞浓度至 3.3×10^7 cells/mL (1:1 基质胶(Matrigel), PBS)。

5. 动物接种及分组

每个小鼠在无菌状态下, 右侧腋下皮下接种 150 μ L 细胞悬液(5.0×10^6 cells/mouse)。接种后第 12 天, 肿瘤长至体积 200~300 mm³左右时, 选出肿瘤体积相近、形状较好的小鼠(形状尽量为单一圆球形, 无不规则的形状或多个肿瘤聚在一起)每组 9 只, 分为 5 组。

6. 动物给药和观察

各组动物每天固定时间根据动物体重给予受试物 1 天 2 次(bid), 腹腔注射给药(ip)或是口服给药(po), 于分组当天(接种后第 13 天), 开始第一次给药, 连续 22 天, 并记录每天动物体重。

第 1 组, 溶剂对照组, 腹腔注射给予空白给药制剂, bid, 给药体积为 10 mL/kg; 第 2 组, 腹腔注射给药 WO2015057938 的实施例 108 化合物, 给药剂量为 25 mg/kg, 每天两次(bid); 第 3 组和第 4 组, 腹腔注射给药实施例 5 化合物, 给药剂量分别为 25 mg/kg 和 50 mg/kg, bid; 第 5 组, 灌胃给药实施例 5 化合物, 给药剂量为 300 mg/kg, bid。

观察各组动物接种部位肿瘤的形成状况, 每周 2 次用游标卡尺测量肿瘤结节的长径(Y)和短径(X), 并按如下公式计算:

肿瘤结节的体积(V): $V = (X^2 Y)/2$ 。

抗肿瘤活性的评价指标: 肿瘤生长抑制率 TGI(%), 相对肿瘤增殖率 T/C(%)。

相对肿瘤体积 (RTV) 的计算公式为:

$$RTV = 100 \times TV_t / TV_{initial}$$

其中, $TV_{initial}$ 为分组给药时测量到的肿瘤体积; TV_t 为给药期间每一次测量时的肿瘤体积。

相对肿瘤增殖率 (%T/C) 的计算公式为:

$$\%T/C = 100\% \times (RTV_T / RTV_C)$$

其中, RTV_T 表示治疗组 RTV; RTV_C 表示溶剂对照组 RTV。

肿瘤生长抑制率 TGI (%) 的计算公式为:

$$TGI = 100\% \times [1 - (TV_{t(T)} - TV_{initial(T)}) / (TV_{t(C)} - TV_{initial(C)})]$$

其中, $TV_{t(T)}$ 表示治疗组每次测量的肿瘤体积; $TV_{initial(T)}$ 表示分组给药时治疗组的肿瘤体积; $TV_{t(C)}$ 表示溶剂对照组每次测量的肿瘤体积; $TV_{initial(C)}$ 表示分组给药时溶剂对照组的肿瘤体积。

瘤重抑瘤率 IR (%) 的计算公式为:

$$IR = 100\% \times (W_C - W_T) / W_C$$

其中, W_C 表示对照组瘤重; W_T 表示治疗组瘤重。

动物体重下降率的计算公式为(结果见图 3):

$$\text{动物体重下降率} = 100\% \times (BW_{initial} - BW_t) / BW_{initial}$$

其中, BW_t 表示给药期间每次测量的动物体重; $BW_{initial}$ 表示分组给药时的动物体重。

7. 结果

WO2015057938 的实施例 108 化合物和本发明实施例 5 化合物对肝癌 Huh7 荷瘤 BALB/c 裸鼠移植瘤平均肿瘤体积变化图见图 1;

WO2015057938 的实施例 108 化合物和本发明实施例 5 化合物对肝癌 Huh7 荷瘤 BALB/c 裸鼠移植瘤平均相对肿瘤体积变化图见图 2。

WO2015057938 的实施例 108 和本发明实施例 5 化合物对肝癌 Huh7 荷瘤 BALB/c 裸鼠体重变化图见图 3。

表 3 本发明化合物对肝癌细胞 Huh7 荷瘤 BALB/c 裸鼠移植瘤的生长抑制率(TGI%)

接种天数 组别	肿瘤生长抑制率 (TGI%)					
	第 16 天	第 20 天	第 23 天	第 27 天	第 30 天	第 34 天
WO2015057938 的实施例 108 化合物 25 mg/kg (IP, bid)	34%	21%	21%	29%	24%	16%
实施例 5 化合物 25 mg/kg (IP, bid)	33%	31%	40%	40%	32%	20%
实施例 5 化合物 50 mg/kg(IP, bid)	78%	81%	95%	89%	76%	57%
实施例 5 化合物 300 mg/kg (PO, bid)	147%	172%	153%	137%	135%	129%

表 4 本发明化合物对肝癌细胞 Huh7 荷瘤 BALB/c 裸鼠移植瘤的相对肿瘤增殖率 T/C(%)

接种天数 组别	相对肿瘤增殖率 T/C(%)						
	第 13 天	第 16 天	第 20 天	第 23 天	第 27 天	第 30 天	第 34 天
WO2015057938 的实施例 108 化合物 25 mg/kg (IP, bid)	100%	91%	90%	87%	81%	83%	87%
实施例 5 化合物 25 mg/kg (IP, bid)	100%	91%	86%	78%	76%	79%	85%
实施例 5 化合物 50 mg/kg (IP, bid)	100%	80%	65%	48%	44%	49%	60%
实施例 5 化合物 300 mg/kg (PO, bid)	100%	61%	25%	16%	13%	9.4%	9.0%

表 5.实验结束时各组动物瘤重及瘤重抑瘤率

组别	给药剂量 (mg/kg)	给药方法	瘤重(g)	瘤重抑瘤率 (%)
			均数 ±标准误	
溶剂对照组	-	IP, BID	0.9306±0.0924	/
WO2015057938 的实施例 108 化合物	25	IP, bid	0.9106±0.0583	2.2%
实施例 5 化合物	25	IP, bid	0.8393±0.0602	10%
实施例 5 化合物	50	IP, bid	0.6473±0.0597	30%
实施例 5 化合物	300	PO, bid	0.0562±0.0069	94%

表 6. 给药期间各组动物体重及体重下降率

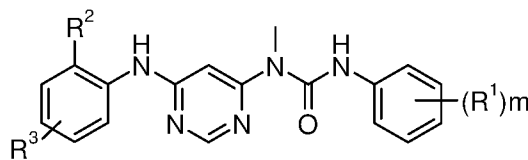
接种天数 组别		动物体重±标准误(g) 或体重下降率(%)						
		第 13 天	第 16 天	第 20 天	第 23 天	第 27 天	第 30 天	第 34 天
溶剂对照组	g	19.1±0.3	19.2 ±0.3	19.2±0.4	19.5±0.4	19.6±0.4	19.8±0.4	20.1±0.4
	%	0%	-0.64%	-0.52%	-2.3%	-2.9%	-3.7%	-5.4%
WO2015057938 的 实施例 108 化合物 25 mg/kg (IP, bid)	g	18.0±0.3	18.1±0.3	19.2±0.4	18.3±0.2	18.4±0.3	18.7±0.2	18.9±0.3
	%	0%	-0.62%	-6.7%	-2.0%	-2.7%	-4.2%	-5.0%
实施例 5 化合物 25 mg/kg (IP, bid)	g	18.3±0.3	18.9±0.3	18.9±0.3	19.2±0.3	19.4±0.3	19.6±0.3	19.9±0.3
	%	0%	-3.1%	-3.0%	-5.0%	-5.8%	-7.0%	-8.6%
实施例 5 化合物 50 mg/kg (IP, bid)	g	17.5±0.3	18.1±0.3	18.4±0.3	18.6±0.3	18.7±0.3	19.0±0.4	18.9±0.4
	%	0%	-3.2%	-5.0%	-6.1%	-6.8%	-8.0%	-7.5%
实施例 5 化合物 300 mg/kg(PO, bid)	g	18.0±0.3	17.9±0.3	18.2±0.3	18.8±0.2	19.1±0.3	19.3±0.3	19.8±0.3
	%	0%	0.43%	-0.93%	-4.4%	-6.0%	-7.4%	-9.9%

由表3~6、图1~3可知，在25 mg/kg (IP, bid)，50 mg/kg (IP, bid)和300 mg/kg (PO, bid)剂量下，本发明实施例5化合物在22天内对基于Huh-7细胞建立小鼠体内肿瘤模型具有明显的生长抑制作用，且无明显的体重变化。通过表3~6、附图1和附图2可知，在25mg，IP剂量下，实施例5的活性优于WO2015057938的实施例108的化合物。

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

权利要求书:

1、一种通式(I)所示的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐:



(I)

其中:

R^1 各自独立地选自烷基、卤素、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$, 其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 的取代基所取代;

R^2 选自如下基团:

$-NR^4C(O)CR^5=CHR^6$ 或 $-NR^4C(O)C\equiv CR^5$;

R^3 选自螺杂环基, 其中所述的螺杂环基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、卤代烷氧基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 的取代基所取代; 或者

R^3 选自单环杂环基, 其中所述的单环杂环基进一步被一个或多个选自环烷基或 $-NR^7R^8$ 的取代基所取代;

R^4 各自独立地选自氢原子或烷基, 其中所述的烷基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、卤代烷氧基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 的取代基所取代;

R^5 和 R^6 各自独立地选自氢原子、烷基或卤素, 其中所述的烷基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、卤代烷氧基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 的取代基所取代;

R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自氢原子、烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基, 其中所述烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)R^{12}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 或 $-NR^{10}C(O)R^{11}$ 的取代基所取代;

或者, R^7 和 R^8 与相连接的N原子一起形成一个4~8元杂环基, 其中4~8元杂环内含有一个或多个N、O、S(O)_n原子, 并且4~8元杂环上进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、=O、 $-NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)NR^{10}R^{11}$ 、 $-C(O)R^{12}$ 、 $-C(O)OR^{12}$ 或 $-NR^{10}C(O)R^{11}$ 的取代基所取代;

R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 各自独立地选自氢原子、烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基, 其中所述烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、羧酸或羧酸酯的取代基所取代;

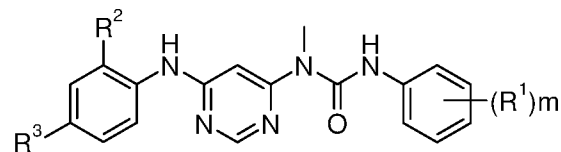
m 为 1、2、3 或 4; 且

n 为 0、1 或 2。

+

2、根据权利要求1所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^3 选自螺杂环基，其中所述的螺杂环基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、卤代烷氧基、 $-NR^7R^8$ 、 $-C(O)NR^7R^8$ 、 $-C(O)R^9$ 、 $-C(O)OR^9$ 或 $-NR^7C(O)R^8$ 的取代基所取代， R^7 、 R^8 和 R^9 的定义如权利要求1中所述。

3、根据权利要求1或2所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其为通式(II)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐：



(II)

其中： $R^1 \sim R^3$ 和 m 的定义如权利要求1中所述。

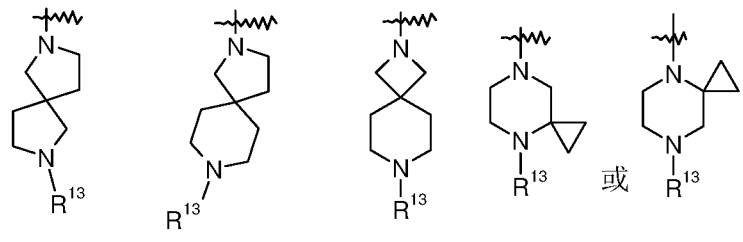
4、根据权利要求1至3任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^1 选自卤素或烷氧基，优选为氯或甲氧基。

5、根据权利要求1至3任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^2 为 $-NHC(O)CH=CH_2$ 。

6、根据权利要求1至3任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^3 选自单螺杂环基，优选为3元/6元、4元/4元、4元/5元、4元/6元、5元/5元或5元/6元单螺杂环基，其中所述的单螺杂环基任选进一步被烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基的取代基所取代。

7、根据权利要求5所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^3 选自3元/6元、4元/4元、4元/5元、4元/6元、5元/5元或5元/6元单螺杂环基，其中所述的单螺杂环基任选进一步被烷基所取代，所述烷基优选为甲基或乙基取代。

8、根据权利要求5所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^3 选自：



;

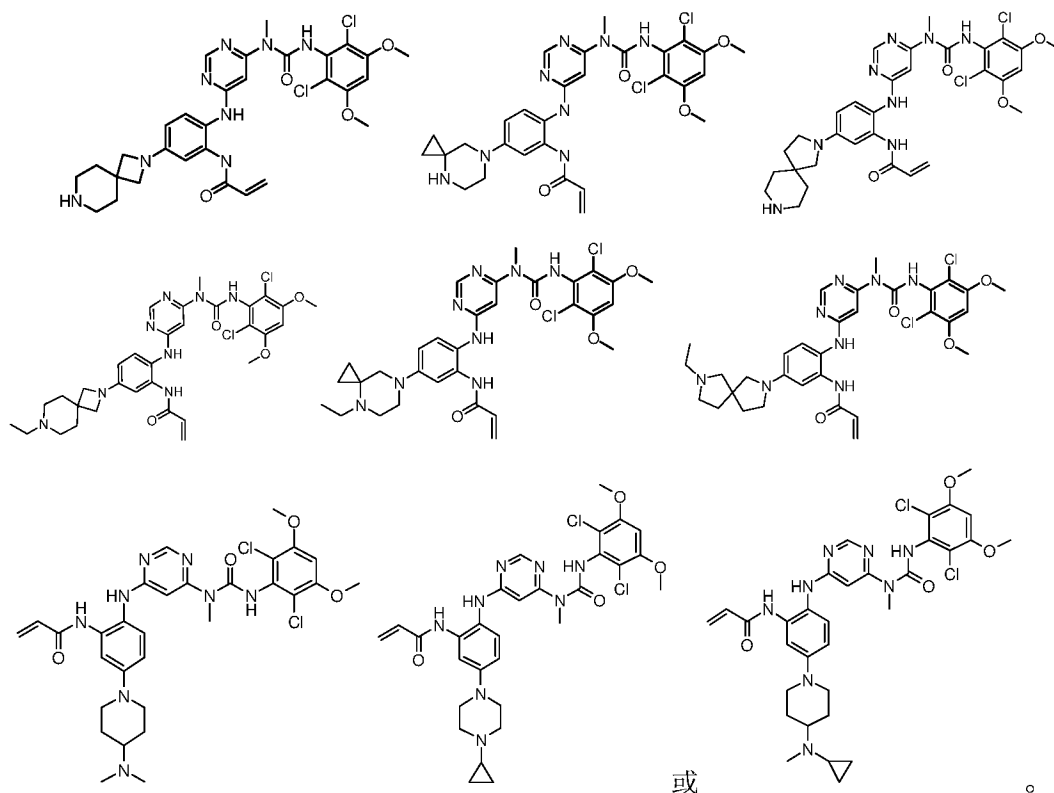
R^{13} 各自独立地选自氢原子、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，优选为氢原子或烷基，所述烷基优选为乙基。

9、根据权利要求5所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R^3 选自4元~6元单环杂环基；优选为哌啶基或哌嗪基，其中所述的哌啶基或哌嗪基进一步被一个或多个选自环烷基或 $-NR^7R^8$ 的取代基所取代，其中 R^7 和 R^8 的定义如权利要求1中所述。

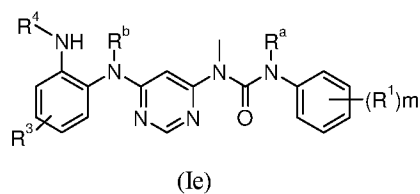
10、根据权利要求9所述化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中所

述环烷基优选为 C₃₋₈ 元的环烷基，更优选为环丙基，所述 R⁷ 和 R⁸ 各自独立地优选为氢原子或烷基，所述烷基优选为甲基。

11、根据权利要求1所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中所述的化合物包括：

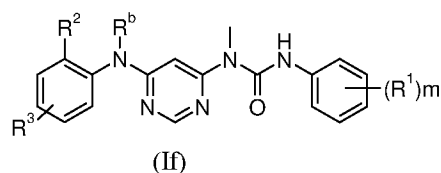


12、一种根据权利要求1所述的式(I)化合物的制备方法,所述方法包括:

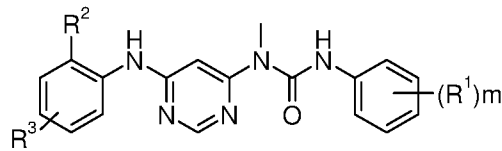


通式(Ie)化合物与酰卤化合物, 优选为 $X-C(O)CR^5=CHR^6$ 或 $X-C(O)C\equiv CR^5$ 反应, 进一步脱去氨基保护基 R^a 得到通式(If)化合物;

当 R^3 中含有 $-NH_2$ 或 $-NH-$ 时, $-NH_2$ 或 $-NH-$ 任选可以被 N 保护基团保护; 所述 N 保护基团优选为 $-C(O)R^9$, 更优选为叔丁氧基羰基;



通式(If)化合物进一步脱去氨基保护基R^b得到通式(I)化合物;



(I)

其中：

R^a和R^b各自独立选自N保护基，优选为苯磺酰基、苄基氧羰基、甲酰基、三氟乙酰基和叔丁氧基羰基；更优选为苯磺酰基和叔丁氧基羰基；

X为卤素；

R¹~R⁶、R⁹和m的定义如权利要求1中所述。

13、一种药物组合物，所述的药物组合物含有有效剂量的根据权利要求1~11中任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，及可药用的载体、赋形剂或它们的组合。

14、一种抑制FGFR4的方法，其中包括将所述的受体与根据权利要求1~11中任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或根据权利要求13所述的药物组合物相接触。

15、根据权利要求1~11中任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或根据权利要求13所述的药物组合物在制备FGFR4抑制剂的药物中的用途。

16、根据权利要求1~11中任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或根据权利要求13所述的药物组合物在制备治疗FGFR4过度表达的疾病的药物中的用途。

17、根据权利要求1~11中任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或根据权利要求13所述的药物组合物在制备治疗FGF19扩增的疾病的药物中的用途。

18、根据权利要求1~11中任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或根据权利要求13所述的药物组合物在制备治疗癌症药物中的用途，其中所述的癌症选自非小细胞肺癌、胃癌、多发性骨髓瘤、肝癌、胆管癌，优选为肝癌和胆管癌。

19、一种治疗癌症的方法，该方法包括给予需要治疗的患者有效剂量的根据权利要求1~11中任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或根据权利要求13所述的药物组合物，其中所述的癌症选自非小细胞肺癌、胃癌、多发性骨髓瘤、肝癌、胆管癌，优选为肝癌和胆管癌。

20、一种治疗FGFR4过度表达的疾病的方法，该方法包括给予需要治疗的患者有效剂量的根据权利要求1~11中任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或根据权利要求13所述的药物组合物。

21、一种治疗FGF19扩增的疾病的方法，该方法包括给予需要治疗的患者有效剂量的根据权利要求1~11中任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或根据权利要求13所述的药物组合物。

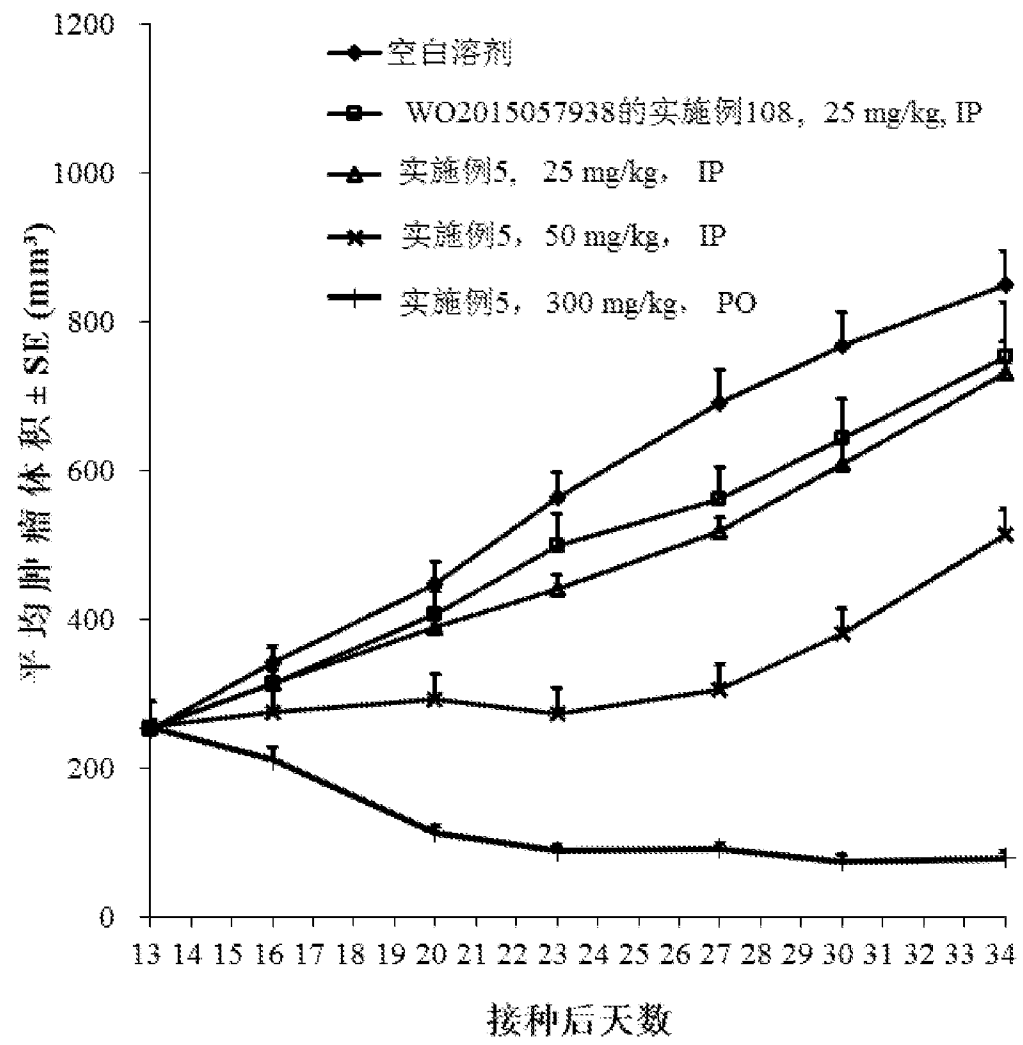


图 1

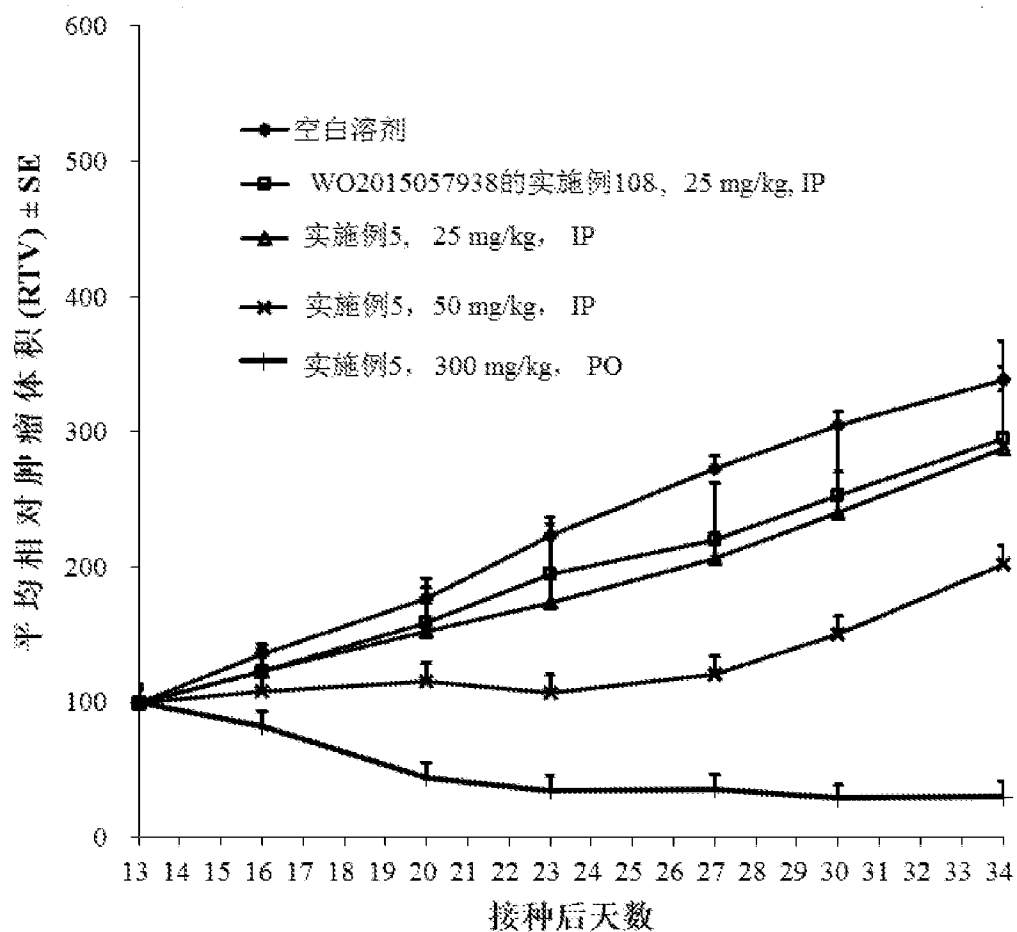


图 2

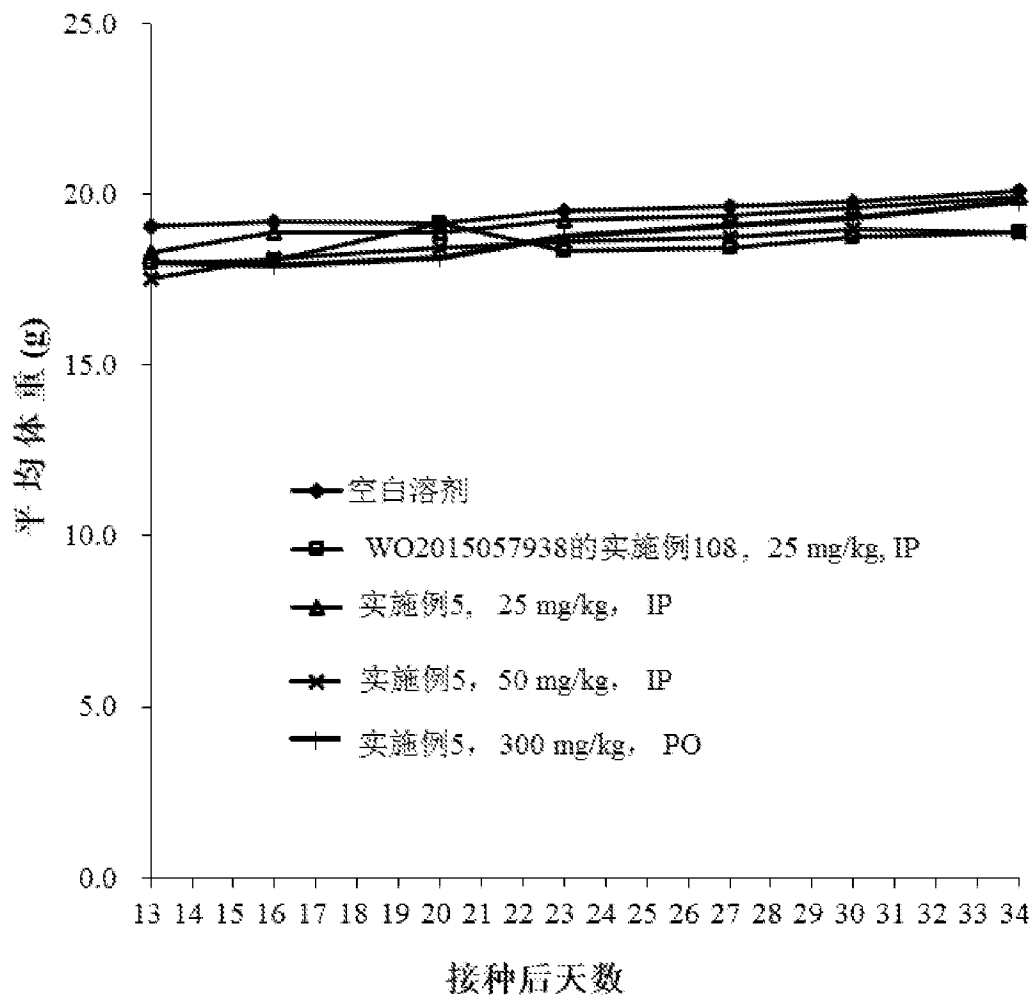


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/085135

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 471/10 (2006.01) i; C07D 403/12 (2006.01) i; C07D 487/10 (2006.01) i; A61K 31/506 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 471; C07D 403; C07D 487; A61K 31; A61P 35

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

DWPI, SIPOABS, CNABS, CPRSABS, CNKI, REGISTRY, CAPLUS (STN), carbamide, +pyrimidin+, +phenyl+, +amino+, +carbonyl+, +spiro+, +propen+, +amide+, +piperazin+, fibroblast w growth w factor, FGF+, kinase?, inhibit+, +cancer+, +tumor+, +tumour+, a structure search carried out according to the compound of claim 1

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015057938 A1 (EISAI R&D MAN CO., LTD.), 23 April 2015 (23.04.2015), see the abstract, and description, pages 12, 30, 83 and 114, and claims 18 and 28-31	1-13 and 15-18
X	WO 2015057963 A1 (EISAI R&D MAN CO., LTD.), 23 April 2015 (23.04.2015), see the abstract, claims, and description, page 115, process 2H and page 146, process 2L	1-13 and 15-18

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 15 June 2017 (15.06.2017)	Date of mailing of the international search report 02 August 2017 (02.08.2017)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer LIN, Lin Telephone No.: (86-10) 62086337

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2017/085135

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2015057938 A1	23 April 2015	PH 12016500676 A1	30 May 2016
		PE 06792016 A1	04 August 2016
		IL 244373 D0	21 April 2016
		SG 11201602069W A	28 April 2016
		KR 20160072113 A	22 June 2016
		US 2017007601 A1	12 January 2017
		US 9434697 B2	06 September 2016
		MX 2016004933 A	20 December 2016
		CA 2924206 A1	23 April 2015
		AU 2014337291 A1	17 March 2016
		TW 201605802 A	16 February 2016
		CN 105899490 A	24 August 2016
		US 2016130237 A1	12 May 2016
		JP 6139788 B2	31 May 2017
		JP 2016535000 A	10 November 2016
		EP 3057943 A1	24 August 2016
		AR 098048 A1	27 April 2016
		WO 2015057963 A1	23 April 2015
WO 2015057963 A1	23 April 2015	PH 12016500676 A1	30 May 2016
		PE 06792016 A1	04 August 2016
		IL 244373 D0	21 April 2016
		SG 11201602069W A	28 April 2016
		KR 20160072113 A	22 June 2016
		US 2017007601 A1	12 January 2017
		US 9434697 B2	06 September 2016
		MX 2016004933 A	20 December 2016
		CA 2924206 A1	23 April 2015
		AU 2014337291 A1	17 March 2016
		WO 2015057938 A1	23 April 2015
		TW 201605802 A	16 February 2016
		CN 105899490 A	24 August 2016
		US 2016130237 A1	12 May 2016
		JP 6139788 B2	31 May 2017
		JP 2016535000 A	10 November 2016
		EP 3057943 A1	24 August 2016
		AR 098048 A1	27 April 2016

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/085135

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

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

1. ☒ Claims Nos.: 14 and 19-21
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] claim 14 relates to a method for inhibiting FGFR4, claim 19 relates to a method for treating cancer, claim 20 relates to a method for treating diseases in which FGFR4 is overexpressed and claim 21 relates to a method for treating diseases in which FGF19 is amplified; all of them fall within methods for treating diseases. Therefore, the subject matter of claims 14 and 19-21 falls within the subject matter on which a search is not required by the International Searching Authority (PCT Rule 39.1(iv)). Since claims 15-18 relate to the corresponding pharmaceutical use, the search for claims 14 and 19-21 has not been performed.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2017/085135

A. 主题的分类

C07D 471/10(2006.01)i; C07D 403/12(2006.01)i; C07D 487/10(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07D 471; C07D 403; C07D 487; A61K 31; A61P 35

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

DWPI, SIPOABS, CNABS, CPRSABS, CNKI, REGISTRY, CAPLUS (STN), 嘧啶, 苯基, 脲, 氨基, 螺, 丙烯, 酰胺, 哌嗪, 成纤维细胞生长因子, 激酶, 抑制, 癌, 瘤, +pyrimidin+, +phenyl+, +amino+, +carbonyl+, +spiro+, +propent+, +amide+, +piperazin+, fibroblast w growth w factor, FGF+, kinase?, inhibit+, +cancer+, +tumour+, +tumour+, 根据权利要求1化合物的结构检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	WO 2015057938 A1 (EISAI R&D MAN CO LTD) 2015年 4月 23日 (2015 - 04 - 23) 参见摘要、说明书第12、30、83和114页以及权利要求18和28-31	1-13和15-18
X	WO 2015057963 A1 (EISAI R&D MAN CO LTD) 2015年 4月 23日 (2015 - 04 - 23) 参见摘要、权利要求书以及说明书第115页流程2H和第146页流程2L	1-13和15-18

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2017年 6月 15日

国际检索报告邮寄日期

2017年 8月 2日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

受权官员

林琳

电话号码 (86-10)62086337

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第I页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求： 14和19-21
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求14涉及抑制FGFR4的方法，权利要求19涉及治疗癌症的方法，权利要求20涉及治疗FGFR4过度表达的疾病的方法，以及权利要求21涉及治疗FGF19扩增的疾病的方法，它们均属于疾病的治疗方法，因此，权利要求14和19-21的主题属于不需要国际检索单位进行检索的主题（PCT细则39.1(iv)）。由于权利要求15-18涉及相应的制药用途，则未对权利要求14和19-21进行检索。
2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/085135

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2015057938	A1	2015年 4月 23日	PH	12016500676	A1	2016年 5月 30日
				PE	06792016	A1	2016年 8月 4日
				IL	244373	D0	2016年 4月 21日
				SG	11201602069W	A	2016年 4月 28日
				KR	20160072113	A	2016年 6月 22日
				US	2017007601	A1	2017年 1月 12日
				US	9434697	B2	2016年 9月 6日
				MX	2016004933	A	2016年 12月 20日
				CA	2924206	A1	2015年 4月 23日
				AU	2014337291	A1	2016年 3月 17日
				TW	201605802	A	2016年 2月 16日
				CN	105899490	A	2016年 8月 24日
				US	2016130237	A1	2016年 5月 12日
				JP	6139788	B2	2017年 5月 31日
				JP	2016535000	A	2016年 11月 10日
				EP	3057943	A1	2016年 8月 24日
				AR	098048	A1	2016年 4月 27日
				WO	2015057963	A1	2015年 4月 23日
WO	2015057963	A1	2015年 4月 23日	PH	12016500676	A1	2016年 5月 30日
				PE	06792016	A1	2016年 8月 4日
				IL	244373	D0	2016年 4月 21日
				SG	11201602069W	A	2016年 4月 28日
				KR	20160072113	A	2016年 6月 22日
				US	2017007601	A1	2017年 1月 12日
				US	9434697	B2	2016年 9月 6日
				MX	2016004933	A	2016年 12月 20日
				CA	2924206	A1	2015年 4月 23日
				AU	2014337291	A1	2016年 3月 17日
				WO	2015057938	A1	2015年 4月 23日
				TW	201605802	A	2016年 2月 16日
				CN	105899490	A	2016年 8月 24日
				US	2016130237	A1	2016年 5月 12日
				JP	6139788	B2	2017年 5月 31日
				JP	2016535000	A	2016年 11月 10日
				EP	3057943	A1	2016年 8月 24日
				AR	098048	A1	2016年 4月 27日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)