



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104703983 B

(45)授权公告日 2017.09.05

(21)申请号 201380053179.0

李钟国 郑熙静 赵成伦 蔡钟学

(22)申请日 2013.05.30

催祥雲 河在斗

(65)同一申请的已公布的文献号

(74)专利代理机构 北京瑞恒信达知识产权代理  
事务所(普通合伙) 11382

申请公布号 CN 104703983 A

代理人 曹津燕 侯淑红

(43)申请公布日 2015.06.10

(30)优先权数据

(51)Int.Cl.

10-2012-0087716 2012.08.10 KR

G07D 403/14(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

G07D 403/12(2006.01)

2015.04.10

A61K 31/506(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

(56)对比文件

PCT/KR2013/004767 2013.05.30

WO 2005/012294 A1,2005.02.10,

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2014/025128 KO 2014.02.13

WO 2007/120980 A1,2007.10.25,

WO 2009/145856 A1,2009.12.03,

WO 2004080980 A1,2004.09.23,

(73)专利权人 韩国化学研究院

审查员 吴峥

地址 韩国大田市

(72)发明人 李光浩 金亨来 朴志勋 李廷玉

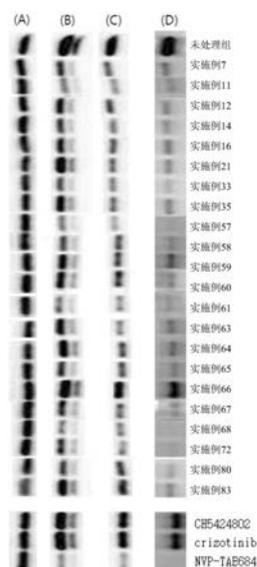
权利要求书6页 说明书84页 附图2页

(54)发明名称

N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐,及其作为活性成分用于预防或治疗癌症的组合物

(57)摘要

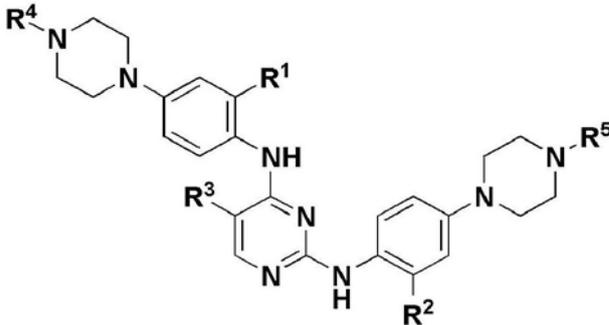
本发明公开了一种新的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐,以及将其作为活性成分用于预防或治疗癌症的药物组合物。本发明化合物对间变性淋巴瘤激酶(ALK)和激活的Cdc42相关激酶(ACK1)的活性具有很好的抑制效果,因而可以提高对具有间变性淋巴瘤激酶融合蛋白诸如EML4-ALK和NPM-ALK的癌细胞的治疗效果,并且还有效预防癌症发生,因而作为用于预防和治疗癌症的药物组合物是有用的。



CN 104703983 B

1. 一种如以下化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐:

[化学式1]



在化学式1中,

R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地为-OR<sup>6</sup>,

其中R<sup>6</sup>为未取代的或被卤素取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基;

R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>独立地为H、未取代的或被羟基取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基、-C(=O)R<sup>9</sup>或-SO<sub>2</sub>-R<sup>10</sup>;

其中R<sup>9</sup>为未取代的或被羟基取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷氧基、未取代的或被C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基取代的氨基;和R<sup>10</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基、未取代的或被C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基取代的氨基;和

R<sup>3</sup>为卤素;或被至少一种卤素取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基。

2. 根据权利要求1所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐,

其特征在于,R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地为-OR<sup>6</sup>;

其中R<sup>6</sup>为未被取代的或被选自氯、溴、氟和碘中的至少一种取代的甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基或叔丁基;

R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>独立地为H、未取代的或被羟基取代的甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、-C(=O)R<sup>9</sup>或-SO<sub>2</sub>-R<sup>10</sup>;其中R<sup>9</sup>为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基、羟甲基、羟乙基、羟丙基、羟基异丙基、羟丁基、羟基异丁基、氨基、甲氨基、乙氨基、丙氨基、异丙氨基、丁氨基或异丁氨基;R<sup>10</sup>为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或氨基;和

R<sup>3</sup>为氯、溴、氟、碘,或被选自氯、溴、氟和碘中的至少一种取代的甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基或叔丁基。

3. 根据权利要求1所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐,

其特征在于,R<sup>1</sup>为甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、或二氟甲氧基;

R<sup>2</sup>为甲氧基;

R<sup>3</sup>为氯、氟、溴或三氟甲基;和

R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>独立地为H、甲基、羟乙基、甲基羰基、乙基羰基、叔丁基羰基、羟甲基羰基、乙氨基羰基、甲氧基羰基、叔丁氧基羰基、甲磺酰基或氨基磺酰基。

4. 根据权利要求1所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药理学上可接受的盐,

其特征在于,化学式1的衍生物选自以下化合物中的任意一种:

(1) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-乙氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(2) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-丙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(3) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-异丙氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(5) 1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-氟嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮;

(7) 1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮;

(11) 1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮;

(12) 1-(4-(4-(5-氯-4-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(13) 1-(4-(4-(5-氯-4-(2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(14) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;

(15) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

(16) 1-(4-(4-(5-氯-4-(4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(18) 1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-溴嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮;

(20) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯;

(21) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-磺酰胺;

(22) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)丙烷-1-酮;

(23) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2,2-二甲基丙烷-1-酮;

(25) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

(26) 1-(4-(4-(5-氟-4-(2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(27) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯;

(28) 1-(4-(4-(5-氟-4-(4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(29) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-乙氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(30) 1-(4-(4-(5-氟-4-(2-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(31) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)-N-乙基哌嗪-1-甲酰胺;

(32) 1-(4-(4-(5-氟-4-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(33) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

(34) 1-(4-(4-(5-氯-4-(2-(二氟甲氧基)-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(35) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(二氟甲氧基)苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(36) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;

(37) 1-(4-(4-(4-(2-(二氟甲氧基)-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(38) 1-(4-(4-(4-(2-(二氟甲氧基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(39) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

(40) 1-(4-(4-(4-(2-(二氟甲氧基)-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(41) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯;

(42) 1-(4-(4-(4-(2-(二氟甲氧基)-4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(43) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)-N-乙基哌嗪-1-甲酰胺;

(44) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;

(45) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(52) 4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-

甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

(55) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

(56) 1-(4-(3-甲氧基-4-(4-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(57) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)-N-乙基哌嗪-1-甲酰胺;

(58) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;

(59) 1-(4-(3-甲氧基-4-(4-(2-甲氧基-4-(4-甲氧基哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(60) N-(4-(3-甲氧基-4-(4-(2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(61) 1-(4-(4-(4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(62) 4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

(63) 1-(4-(3-甲氧基-4-(2-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(64) 4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)-N-乙基哌嗪-1-羧酸酯;

(65) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;

(66) 1-(4-(3-甲基-4-(2-(2-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(67) 1-(4-(3-甲氧基-4-(2-(2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基-苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(68) 1-(4-(4-(2-(4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(69) N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>-双(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二胺;

(70) 4,4'-(((5-三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-1-羧酸酯);

(71) 4,4'-(((5-三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(N-乙基哌嗪-1-甲酰胺);

(72) 4,4'-(((5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(N-乙基哌嗪-1-甲酰胺);

(73) 1,1'-(4,4'-(((5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-二氟甲氧基)-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮;

(77) 5-氯-N<sub>2</sub>-N<sub>4</sub>-双(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺;

(78) 4,4'-(((5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(N-乙基哌嗪-1-甲酰胺);

(79) 5-氯-N2,N4-双(2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺;

(80) 1,1'-(4,4'-(((5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基)双(哌嗪-4,1-二基))双(2-羟基乙酮));

(83) 1-(4-(4-((4-((4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;

(84) 4-(4-((4-((4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯;

(85) 1-(4-(4-((5-氯-2-((4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(86) 4-(4-((4-((4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-磺酰胺;

(87) 1-(4-(4-((5-氯-2-((2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

(88) 1-(4-(4-((2-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;和

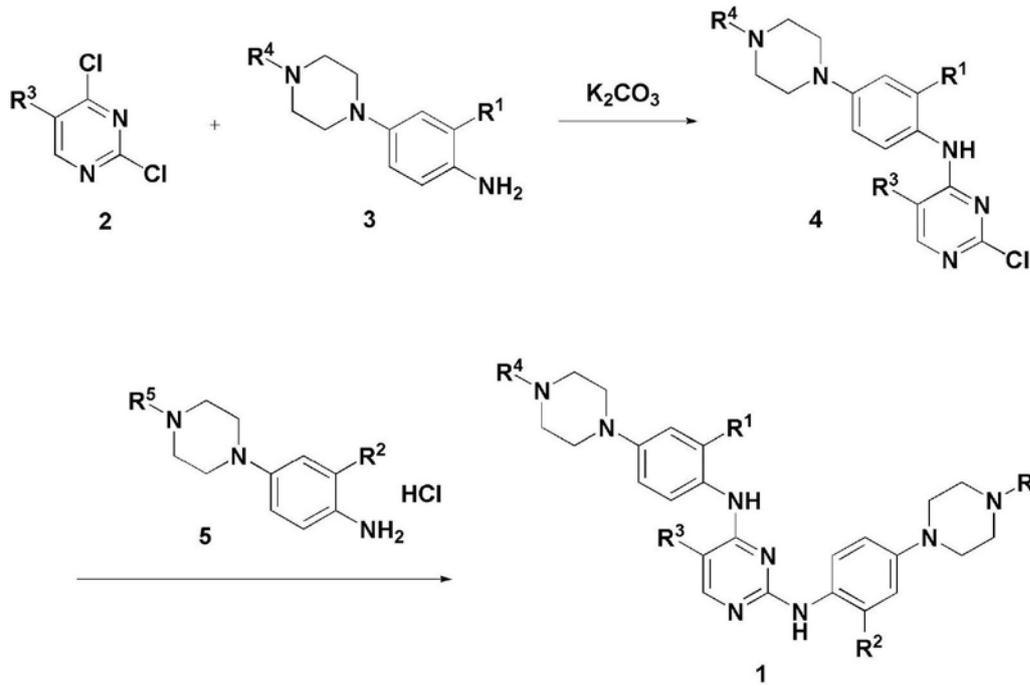
(89) 1-(4-(3-(二氟甲氧基)-4-(5-氟-2-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮。

5. 一种制造根据权利要求1中所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐的方法,如下述反应方案1所示,包括:

通过使化学式2所示的化合物4号位上的氯基与化学式3所示化合物上的氨基反应,来制备化学式4所示的化合物(步骤1);和

通过使步骤1中获得化学式4所示的化合物其嘧啶2号位上的氯基与化学式5所示的化合物反应,来制备化学式1所示的化合物(步骤2),

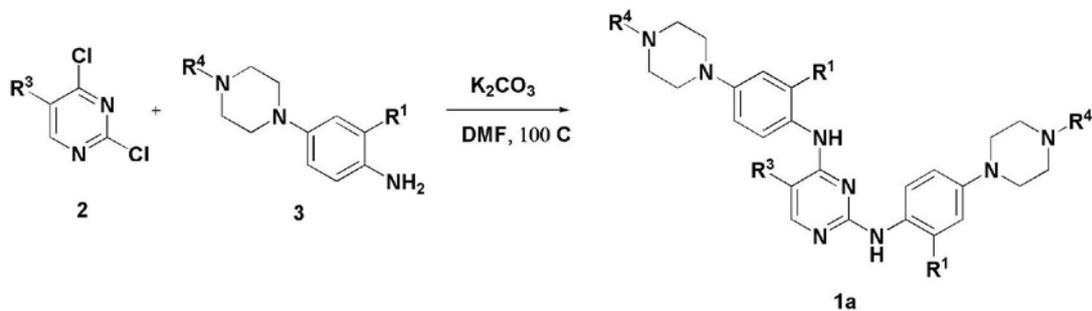
[反应方案1]



在反应方案1中,R<sup>1</sup>-R<sup>5</sup>与权利要求1中化学式1所限定的相同。

6. 一种制造根据权利要求1中所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐的方法,如反应方案2中所示,通过使化学式2所示化合物的氯基与至少2当量的化学式3所示化合物的氨基反应,用于制造化学式1a所示的化合物:

[反应方案2]



在反应方案2中,R<sup>1</sup>、R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>与权利要求1中化学式1所限定的相同;和化学式1a的化合物是化学式1的化合物。

7. 一种含有根据权利要求1中所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物。

8. 根据权利要求7所述的药物组合物,其用于预防或治疗癌症,其特征在于,所述癌症为非小细胞肺癌、神经母细胞瘤、炎性肌纤维母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肌纤维母细胞瘤、乳腺癌、胃癌、肺癌、黑素瘤、大B细胞淋巴瘤、全身性组织细胞增多病、炎性肌纤维母细胞瘤或食管鳞状细胞癌,其中,间变性淋巴瘤激酶(ALK)的活性被抑制,从而抑制癌细胞的表达和生长。

9. 根据权利要求7所述的药物组合物,其特征在于,(i) 激活的Cdc42相关激酶(ACK1)的活性被抑制;或者(ii) ACK1的活性和间变性淋巴瘤激酶(ALK)的活性被抑制,从而抑制癌细胞的表达和生长。

## N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐,及其作为活性成分用于预防或治疗癌症的组合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本专利申请要求于2012年8月10日递交的韩国专利申请号为10-2012-0087716的优先权的权益,其内容通用引用并入本文。

### 背景技术

#### 技术领域

[0003] 本公开涉及一种新型N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐,以及一种用于预防或治疗癌症的、包含所述化合物作为活性成分的药物组合物。

[0004] 相关技术的描述

[0005] 与能够规律可控生长并在必要时抑制生长的正常细胞不同,癌症是由无视组织内部所需状态而无限增殖的未分化细胞组成的细胞群,也被称为肿瘤。无限增殖的癌细胞侵入邻近组织,在严重的情况下,会引起癌症转移至体内的其他器官,因此伴随剧烈疼痛最终导致死亡。

[0006] 根据美国癌症协会(American Cancer Society)的报告,2007年世界上超过一千两百万人被新近诊断出癌症,并且有七百六十万死于癌症,也就是说,每天约20,000人死于癌症。在韩国,根据韩国统计局(Statistic Korea)2006年的报告,排在第一位的死亡原因便是癌症。因此,亟需开发具有极佳治疗效果的肿瘤治疗剂,以确保能够减少因癌症的发生及与癌症抗争时精神和身体上的疼痛,并提高生活质量。尽管付出了许多努力,但是正常细胞如何转变为癌细胞的确切机制仍然无法确知,然而各种影响因素诸如外在因素(例如,环境因素、化学品、辐射和病毒)和内在因素(例如,遗传因素和免疫因素)与癌症的发生复杂相关。与癌症的发生相关的基因为致癌基因和抑癌基因,当这两种基因由于外在或内在因素的影响而无法维持平衡时癌症便发生了。

[0007] 癌症主要分为血癌和实体癌。癌症几乎能在身体的各个部位产生,包括肺癌、胃癌、乳腺癌、肝癌、子宫癌、食道癌、皮肤癌等等。对于癌症的治疗,一些靶向治疗剂诸如格列卫(Gleevec®)或赫赛汀(Herceptin®)已经被用于治疗特定癌症,但是大多数癌症的治疗只能借助于外科手术、放射治疗和抑制癌症细胞增殖的化学治疗。但是,因为现有的化学治疗不是靶标特异性治疗,因此其由于毒性和抗药性而具有副作用,并且这些治疗往往会导致治疗失败,而不论治疗最初是否成功。因此,为了克服化学治疗的局限,仍然需要开发一种抗癌机制明确的靶标特异性治疗剂。

[0008] 正因如此,众多研究已专注于与肿瘤发生相关的特异性分子生物因子来开发靶标特异性治疗剂。具体地,分子生物因子被广泛应用于癌症的预后,以及确定应该时候化学治疗还是放射治疗。

[0009] 能够抑制特异性分子生物因子的酪氨酸激酶受体的最具代表性的一种药物为格列卫(Gleevec®)。格列卫(Gleevec®),作为一种通过抑制由慢性髓细胞性白血病患者中观察到的费城染色体上发生染色体易位形成的Bcr-Abl融合基因活性的抗癌剂,并且作为一种酪氨酸激酶酪氨酸激酶抑制剂,在向慢性髓细胞性白血病患者施用显示出令人满意的治疗效果。具有抗癌效果的药物如酪氨酸激酶抑制剂的实例包括用作非小细胞肺癌治疗剂的表皮生长因子受体(EGFR)、作为酪氨酸激酶抑制剂的吉非替尼(gefitinib)和厄洛替尼(erlotinib),以及用作肾细胞癌治疗药物的索拉非尼(sorafenib)和舒尼替尼(sunitinib),但是已知它们具有诸如出血、心脏病、心力衰竭和肝衰竭的副作用。

[0010] 近来,间变性淋巴瘤激酶(ALK)已在人体多种肿瘤中发现,并因此作为靶标特异性治疗的靶产物而进行研究。

[0011] ALK的肿瘤发生主要通过研究在间变性大细胞淋巴瘤中所观察到的间变性淋巴瘤激酶-核磷蛋白(ALK-NPM)融合基因来确定。一旦ALK通过基因融合被激活,ALK所具有的酪氨酸激酶便开始表现异常并诱发癌症。也就是说,被异常激活的ALK诱导了细胞的增殖,抑制了细胞凋亡以阻止细胞程序化死亡,重排了细胞框架并改变了细胞的形状。ALK的致癌转变通过与下游分子(即ALK的靶物)的相互作用而发生,其中,该下游分子是一种调节细胞内信号转导的物质。ALK可与其它或正常或致癌转变的酪氨酸激酶相连接,随后相互作用,或可激活其它类型的通路。

[0012] 尤其是,肺癌细胞中ALK基因与棘皮动物微管相关蛋白4(EML4)基因融合并产生EML4-ALK,EML4-ALK是酪氨酸激酶的一种激活形式。此处,EML4-ALK的致癌能力众所周知是依赖于酶活性的,并且Mosse等人已报道在491例神经母细胞瘤受试者中约26%的ALK基因发生了扩增。此外,已知ALK基因在多种非造血细胞瘤中表达,诸如大B细胞淋巴瘤、全身性组织细胞增多病、炎性肌纤维母细胞瘤、食管鳞状细胞癌、非小细胞肺癌、横纹肌肉瘤、肌纤维母细胞瘤、乳腺癌和黑素瘤细胞系。在被称为炎性肌纤维母细胞瘤的罕见病中,多种ALK融合蛋白被频繁发现,因而这些融合蛋白被确信与肿瘤发生密切相关。

[0013] 因此,通过阻断ALK激活通路用于癌症治疗的ALK-NPM治疗剂正在进行开发。近来,Crizotinib®(PF-02341066),一种由辉瑞(Pfizer)开发的作为致癌突变的选择性抑制剂的药物和小分子酪氨酸激酶抑制剂的其中一种,已知在治疗非小细胞肺癌中是有效的,并且于2011年被FDA批准为一种新药。

[0014] 此外,诺华(Novartis)的NVP-TAE684和LDK-378,以及中外制药(Chugai)的CH5424802也是已知的可以有效减小间变性大细胞淋巴瘤以外的神经母细胞瘤细胞系的肿瘤大小的药物。

[0015] W02009143389、W02008051547、W02004080980、W02012061415、W02009145856、US2009/7589200、US2009/7517886和W02005016893指出用于抑制ALK活性的、具有多框架的候选治疗物质正在进行开发,并指出嘧啶类衍生物选择性地抑制ALK活性,因而可被开发为抗癌剂。这些化合物尽管都具有体内和体外活性,但是据报道它们仍存在问题,诸如对不同激酶如胰岛素受体的选择性的退化,并具有对心脏的副作用。

[0016] 与此同时,激活的Cdc42-相关激酶(ACK1),一种非受体酪氨酸激酶,是一种促进生长的酪氨酸激酶基因。ACK1可通过多种信号通路激活Cdc42、Rac和FAK,并且也被称为一种

用于通过网格蛋白调节内吞作用的元件(device)。

[0017] 近来,已经对ACK1与肿瘤发生和转移之间的相关性进行了积极的研究。

[0018] 首先,Mahajan,N.P.发现雄激素受体(AR)的活动产生去势抵抗性前列腺癌,其中,ACK1对雄激素受体进行磷酸化以增强其活性因而导致癌症的发生(Cancer Res.Vol.65,(2005)p.10514;Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.Vol.104,(2007)p.8438)。此外,van der Horst,E.H.揭示ACK1的过度表达提高了癌细胞系的运动性及侵袭能力,从而促进了癌症的转移(Proc.natl.Acad.Sci.U.S.A.Vol.1032,(2005)p.15901)。尤其是,ACK1对含有氧化还原酶(Wwox)的WW结构域进行磷酸化,这已知可以抑制癌细胞,而伴随的泛素化诱导其发展以引起Wwox分解,从而促进癌细胞的转移而妨碍癌症的治疗(Cancer Res.Vol.65,(2005)p.10514;Cancer res.Vol.61,(2001)p.8068)。

[0019] 因此,显然ACK1与癌症的发生和转移高度关联,因而亟需对ACK1进行研究和开发,并且这对于预防和治疗癌症也是必要的。

[0020] 因此,本申请发明人在致力于开发一种对ALK有抑制效果的化合物时,发现具有特定结构的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物可作为ALK和ACK1活性的抑制剂,从而完成了本发明。

[0021] 发明概述

[0022] 本发明的一个目的是提供一种N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐。

[0023] 本发明的另一个目的是提供一种制备N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐的方法。

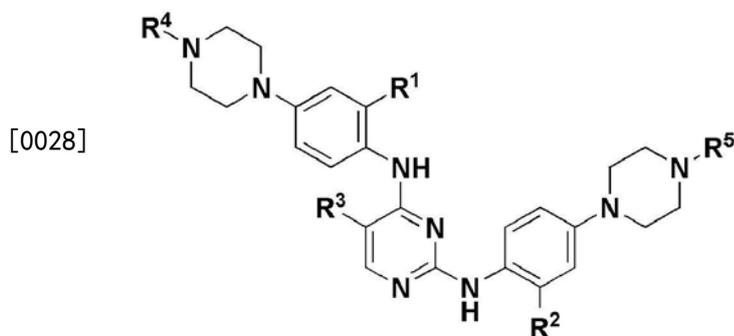
[0024] 本发明的另一个目的是提供一种用于预防或治疗癌症的、含有N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物。

[0025] 本发明的又一个目的是提供一种含有N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的ALK抑制剂。

[0026] 本发明的再一个目的是提供一种含有N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的ACK1抑制剂。

[0027] 为了实现上述目的,本发明提供了一种以下化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐:

[化学式 1]



[0029] (化学式1中,R<sup>1</sup>-R<sup>5</sup>与本文所限定的相同)。

[0030] 此外,本发明提供了一种制备上述化学式1的化合物的方法。

[0031] 此外,本发明提供了一种用于预防或治疗癌症的、含有上述化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物。

[0032] 此外,本发明提供了一种含有上述化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的ALK抑制剂。

[0033] 此外,本发明提供了一种含有上述化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的ACK1抑制剂。

[0034] 有益效果

[0035] 本发明的化合物对ALK和ACK1具有很好的抑制效果,因此可以提高对具有ALK融合蛋白诸如EML4-ALK和NPM-ALK的癌细胞的治疗效果,并能有效预防癌症的复发,因此作为一种用于预防和治疗癌症的药物组合物是有用的。

## 附图说明

[0036] 本发明的上述及其他目的、特征及其他优点以下的详细描述结合附图将会被更好的理解,其中:

[0037] 图1为示出了间变性淋巴瘤激酶(ALK)磷酸化的抑制效果的图(A:微管蛋白,B:p-Erk激酶,C:p-Akt激酶,D:p-ALK激酶);

[0038] 图2为一幅示出了激活的Cdc42相关激酶(ACK1)磷酸化的抑制效果的图(A:pY284蛋白,B:Ack1(长期接触),C:Ack1(短期接触));和

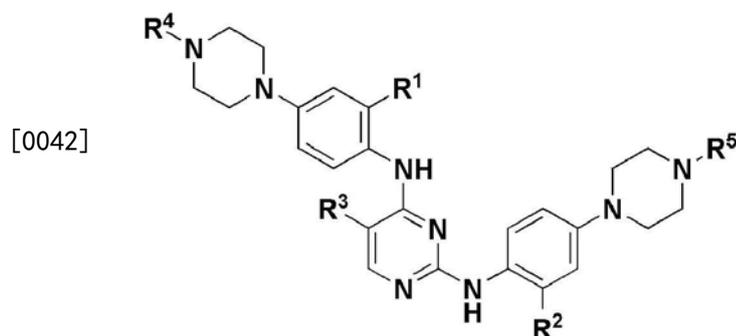
[0039] 图3为示出了施用了实施例7的化合物和Crizotinib<sup>®</sup>的具有肺癌细胞系H3122NSCLC的异种移植小鼠的肿瘤体积和体重随给药时间的变化。

## 具体实施方式

[0040] 以下,将对本发明进行详细描述。

[0041] 本发明提供了一种下述化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐。

### [化学式1]



[0043] 在上述化学式1中,

[0044] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地为H、卤素、-OR<sup>6</sup>或-NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>,

[0045] 其中R<sup>6</sup>为未取代的或被选自卤素和C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>芳基中的至少一种取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基;R<sup>7</sup>和R<sup>8</sup>独立地为H、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基羰基或C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>芳基;

[0046]  $R^4$ 和 $R^5$ 独立地为H、未取代的或被羟基取代的 $C_1$ - $C_4$ 直链或支链烷基、 $-C(=O)R^9$ 或 $-SO_2-R^{10}$ ;

[0047] 其中 $R^9$ 为未取代的或被羟基取代的 $C_1$ - $C_4$ 直链或支链烷基、 $C_1$ - $C_4$ 直链或支链烷氧基、未取代的或被 $C_1$ - $C_4$ 直链或支链烷基取代的氨基;和 $R^{10}$ 为 $C_1$ - $C_4$ 直链或支链烷基未取代的或被 $C_1$ - $C_4$ 直链或支链烷基取代的氨基;和

[0048]  $R^3$ 为卤素、或被至少一种卤素取代的 $C_1$ - $C_4$ 直链或支链烷基。

[0049] 优选地,

[0050]  $R^1$ 和 $R^2$ 独立地为H、氯、溴、氟、 $-OR^6$ 或 $-NR^7R^8$ ;

[0051] 其中 $R^6$ 为未取代的或被选自氯、溴、氟、碘和苯基中的至少一种取代的甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基或叔丁基; $R^7$ 和 $R^8$ 独立地为H、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、甲基羰基、乙基羰基、丙基羰基、异丙基羰基、丁基羰基、异丁基羰基或苯基;

[0052]  $R^4$ 和 $R^5$ 独立地为H、未取代的或被羟基取代的甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、 $-C(=O)R^9$ 或 $-SO_2-R^{10}$ ,其中 $R^9$ 为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基、羟甲基、羟乙基、羟丙基、羟基异丙基、羟丁基、羟基异丁基、氨基、甲氨基、乙氨基、丙氨基、异丙氨基、丁氨基或异丁氨基; $R^{10}$ 为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或氨基;和

[0053]  $R^3$ 为氯、溴、氟、碘,或被选自氯、溴、氟和碘中的至少一种取代的甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基或叔丁基。

[0054] 更优选地,

[0055]  $R^1$ 为H、氯、溴、氟、甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、苄氧基、二氟甲氧基、二甲氨基、叔丁氨基、苯氨基、乙基羰基甲氨基或丙基羰基甲氨基;

[0056]  $R^2$ 为H或甲氧基或二氟甲氧基;

[0057]  $R^3$ 为氯、氟、溴或三氟甲基;和

[0058]  $R^4$ 和 $R^5$ 独立地为H、甲基、羟乙基、甲基羰基、乙基羰基、叔丁基羰基、羟甲基羰基、乙氨基羰基、甲氧基羰基、叔丁氧基羰基、甲磺酰基或氨基磺酰基。

[0059] 此外,化学式1所示的化合物的更具体的实例如下所示:

[0060] (1) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-乙氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0061] (2) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-丙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0062] (3) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-异丙氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0063] (4) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-丙氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0064] (5) 1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-氟嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮;

[0065] (6) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-乙氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0066] (7) 1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(3-甲氧基-4,1-亚

苯基) 双(哌嗪-4,1-二基) 二乙酮;

[0067] (8) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基) 苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮;

[0068] (9) 1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-氯嘧啶-2,4-二基) 双(氮烷二基) 双(4,1-亚苯基)) 双(哌嗪-4,1-二基)) 二乙酮;

[0069] (10) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基) 苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮;

[0070] (11) 1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-(三氟甲基) 嘧啶-2,4-二基) 双(氮烷二基) 双(3-甲氧基-4,1-亚苯基)) 双(哌嗪-4,1-二基)) 二乙酮;

[0071] (12) 1-(4-(4-(5-氯-4-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基) 苯基氨基) 嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮;

[0072] (13) 1-(4-(4-(5-氯-4-(2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基) 哌嗪-1-基) 苯基氨基) 嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮;

[0073] (14) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;

[0074] (15) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

[0075] (16) 1-(4-(4-(5-氯-4-(4-(4-(2-羟乙基) 哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基) 嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮;

[0076] (17) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(苄氧基) 苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮;

[0077] (18) 1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-溴嘧啶-2,4-二基) 双(氮烷二基) 双(3-甲氧基-4,1-亚苯基)) 双(哌嗪-4,1-二基)) 二乙酮;

[0078] (19) 1,1'-(4,4'-(4,4'-(嘧啶-2,4-二基) 双(氮烷二基)) 双(3-甲氧基-4,1-亚苯基)) 双(哌嗪-4,1-二基)) 二乙酮;

[0079] (20) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-羧酸甲酯;

[0080] (21) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-磺酰胺;

[0081] (22) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-基) 丙烷-1-酮;

[0082] (23) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-基)-2,2-二甲基丙烷-1-酮;

[0083] (24) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基) 苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮;

[0084] (25) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

[0085] (26) 1-(4-(4-(5-氟-4-(2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基) 哌嗪-1-基) 苯基氨基) 嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1-基) 乙酮;

- [0086] (27) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯;
- [0087] (28) 1-(4-(4-(5-氟-4-(4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0088] (29) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-乙氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0089] (30) 1-(4-(4-(5-氟-4-(2-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0090] (31) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)-N-乙基哌嗪-1-甲酰胺;
- [0091] (32) 1-(4-(4-(5-氟-4-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0092] (33) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;
- [0093] (34) 1-(4-(4-(5-氯-4-(2-(二氟甲氧基)-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0094] (35) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(二氟甲氧基)苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0095] (36) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;
- [0096] (37) 1-(4-(4-(4-(2-(二氟甲氧基)-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0097] (38) 1-(4-(4-(4-(2-(二氟甲氧基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0098] (39) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;
- [0099] (40) 1-(4-(4-(4-(2-(二氟甲氧基)-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0100] (41) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯;
- [0101] (42) 1-(4-(4-(4-(2-(二氟甲氧基)-4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0102] (43) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)-N-乙基哌嗪-1-甲酰胺;
- [0103] (44) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;
- [0104] (45) 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0105] (46) 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(叔丁基氨基)苯基氨基)-5-氯嘧啶-

2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0106] (47) 1-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(苯基氨基)苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0107] (48) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-(N-甲基丙酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

[0108] (49) 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-(N-甲基丁酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

[0109] (50) N-(2-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-5-(哌嗪-1-基)苯基)-N-甲基丙酰胺;

[0110] (51) N-(2-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-5-(哌嗪-1-基)苯基)-N-甲基丁酰胺;

[0111] (52) 4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

[0112] (53) N-(5-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)苯基)-N-甲基丙酰胺;

[0113] (54) N-(5-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)苯基)-N-甲基丁酰胺;

[0114] (55) 4-(4-((2-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

[0115] (56) 1-(4-(3-甲氧基-4-((4-((2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0116] (57) 4-(4-((2-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)-N-乙基哌嗪-1-甲酰胺;

[0117] (58) 1-(4-(4-((2-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;

[0118] (59) 1-(4-(3-甲氧基-4-((4-((2-甲氧基-4-(4-甲氧基哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0119] (60) N-(4-(3-甲氧基-4-((4-((2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0120] (61) 1-(4-(4-((4-((4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0121] (62) 4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯;

[0122] (63) 1-(4-(3-甲氧基-4-((2-((2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0123] (64) 4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)-N-乙基哌嗪-1-羧酸酯;

[0124] (65) 1-(4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;

- [0125] (66) 1-(4-(3-甲基-4-((2-((-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0126] (67) 1-(4-(3-甲氧基-4-((2-((2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基-苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0127] (68) 1-(4-(4-((2-((4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0128] (69) N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>-双(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二胺;
- [0129] (70) 4,4'-(((5-三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-1-羧酸酯);
- [0130] (71) 4,4'-(((5-三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(N-乙基哌嗪-1-甲酰胺);
- [0131] (72) 4,4'-(((5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(N-乙基哌嗪-1-甲酰胺);
- [0132] (73) 1,1'-(4,4'-(((5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-二氟甲氧基)-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮;
- [0133] (74) 1-(4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-氯苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0134] (75) 1,1'-(4,4'-(((5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-氯-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基)二乙酮);
- [0135] (76) 1-(4-(4-((2-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)氨基)-3-苯氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0136] (77) 5-氯-N<sub>2</sub>-N<sub>4</sub>-双(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺;
- [0137] (78) 4,4'-(((5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(N-乙基哌嗪-1-甲酰胺);
- [0138] (79) 5-氯-N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>-双(2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺;
- [0139] (80) 1,1'-(4,4'-(((5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基)双(哌嗪-4,1-二基))双(2-羟基乙酮));
- [0140] (81) 1-(4-(4-((5-氯-4-((2-氟-4-(哌嗪-1-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0141] (82) 1-(4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-氟苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0142] (83) 1-(4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;
- [0143] (84) 4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯;
- [0144] (85) 1-(4-(4-((5-氯-2-((4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;
- [0145] (86) 4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)

氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-磺酰胺;

[0146] (87) 1-(4-(4-((5-氯-2-((2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮;

[0147] (88) 1-(4-(4-((2-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮;和

[0148] (89) 1-(4-(3-(二氟甲氧基)-4-(5-氟-2-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮。

[0149] 本发明上述化学式1所示的N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物可以以药学上可接受的盐的形式使用,并且作为一种盐、一种由药学上可接受的游离酸形成的酸加成盐是有用的。所述酸加成盐从下列项中获得:无机酸诸如盐酸、硝酸、磷酸、硫酸、氢溴酸、氢碘酸、亚硝酸或亚磷酸,脂肪单羧酸酯和双羧酸酯、苯取代的链烷酸酯、羟基链烷酸酯和链烷二酸酯(alkanedioate)、芳香酸,无毒有机酸如脂肪磺酸和芳香磺酸,和有机酸诸如乙酸、苯甲酸、柠檬酸、乳酸、马来酸、葡萄糖酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、酒石酸和富马酸。这些药学上的无毒盐的实例包括硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、硝酸盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、氟化物、醋酸盐、丙酸盐、癸酸盐(decanoate)、辛酸盐、丙烯酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、癸酸酯(caprate)、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸酯、延胡索酸盐、马来酸盐、丁烷-1,4-二酸盐、己-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、苯甲酸甲酯、二硝基苯甲酸盐、羟苯酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、对苯二甲酸盐、苯磺酸盐、甲苯磺酸盐(toluenesulfonate)、氯苯磺酸盐、二甲苯磺酸盐、苯乙酸盐、苯丙酸盐、苯丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、β-羟丁酸盐、乙醇酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、丙磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐或扁桃酸盐。

[0150] 本发明所述的酸加成盐可以通过常规方法制备,例如,通过将化学式1所示的N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物溶解于诸如甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷和乙腈的有机溶剂中,加入有机酸或无机酸,过滤所得沉淀物随后干燥来制备,或者可通过减压蒸馏溶剂和过量的酸随后干燥来制备,或者通过在有机溶剂中结晶来制备。

[0151] 此外,本发明不仅包含化学式1所示的N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐,而且还包括从中可能制得的其溶剂化物、水合物等。

[0152] 此外,本发明提供了一种制备上述化学式1所示的N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物的方法。

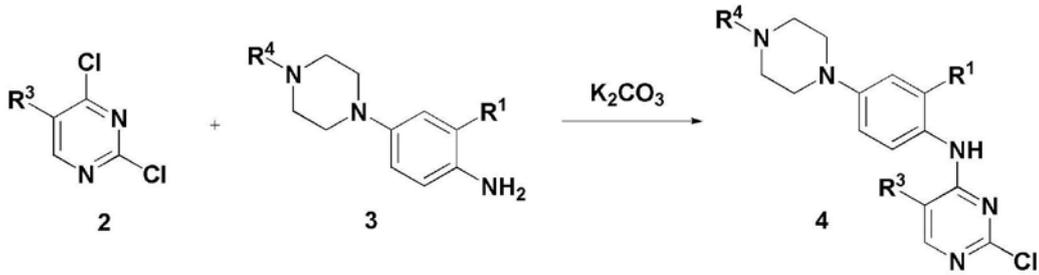
#### [0153] 制备方法1

[0154] 一种制备根据本发明所述的化学式1的衍生物的方法,如以下反应方案1所示,其中所述制备化学式1的N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐的方法包括:

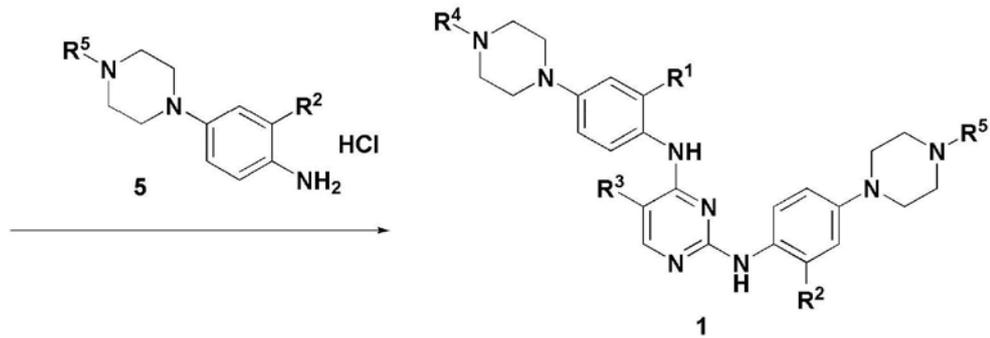
[0155] 通过使化学式2所示化合物4号位上的氯基与化学式3所示化合物的氨基反应,来制备化学式4的化合物(步骤1);和

[0156] 通过使步骤1中获得的化学式4所示化合物其嘧啶2号位上的氯基与化学式5所示的化合物反应,来制备化学式1的化合物(步骤2),

[0157] [反应方案1]



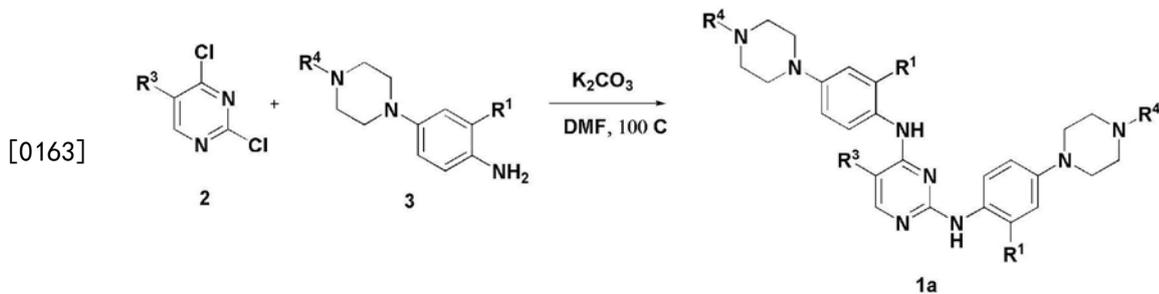
[0158]

[0159] (在反应方案1中,  $R^1$ - $R^5$ 与权利要求1中化学式1所限定的相同)。

[0160] 制备方法2

[0161] 另一种制备根据本发明所述的化学式1的衍生物的方法,如以下反应方案2所示,是一种制备N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐的方法,通过使本发明化学式2所示化合物的氯基与至少2当量的化学式3所示化合物的氨基反应,从而制得化学式1a的化合物:

[0162] [反应方案2]

[0164] (在反应方案2中,  $R^1$ 、 $R^3$ 和 $R^4$ 与权利要求1中化学式1所限定的相同;和

[0165] 化学式1a的化合物为化学式1的化合物)。

[0166] 此外,本发明提供一种用于预防或治疗癌症的、含有上述化学式1的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物。

[0167] 当本发明的组合物被用作医用药物时,含有化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐作为活性成分的药物组合物可以被制成各类口服或肠道外制剂用于临床施用,但并不限于此。

[0168] 用于口服施用的制剂的实例包括片剂、丸剂、硬/软胶囊剂、液体制剂、混悬剂、乳剂、糖浆剂、颗粒剂、酏剂、锭剂等等,它们除了含有活性成分,还含有稀释剂(如乳糖、葡萄

糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纤维素和/或甘氨酸),助流剂(如二氧化硅、滑石粉、硬脂酸及其镁盐或钙盐和/或聚乙二醇)。片剂可以进一步含有粘合剂诸如硅酸铝、淀粉糊、明胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮,并且必要时可以含有崩解剂诸如淀粉、琼脂、海藻酸或其钠盐或共沸混合物和/或吸收剂、着色剂、芳香剂和甜味剂。

[0169] 含有上述化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物作为活性成分的药物组合物可经肠道外施用,并且肠道外施用将通过皮下注射、静脉注射、肌肉注射或胸腔内注射进行。

[0170] 尤其是,对于肠道外施用制剂的制备,上述化学式1的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐可以与稳定剂或缓冲剂混合以制备成溶液或混悬液,并且制备成单位制剂以安瓿或小瓶的形式施用。

[0171] 所述组合物还可以含有防腐剂、稳定剂、可湿性粉剂或乳化促进剂,用于控制渗透作用的盐和/或佐剂诸如缓冲剂及其它有益于治疗的物质,可以按照常规的混合、造粒或包衣的方法配制。

[0172] 含有化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物作为活性成分的药物组合物用于人体的剂量随患者年龄、体重、性别、施用方式、健康状况和疾病严重程度而不同,优选剂量为0.01-1000mg/kg/天,并且根据医生或药剂师的决定而不同,可以每天以一定的时间间隔多次施用,优选每天一次或三次通过口服或肠道外途径施用。

[0173] 根据本发明所述的药物组合物是一种用于预防或治疗癌症的药物组合物,其通过抑制间变性淋巴瘤激酶(ALK)的活性来抑制癌细胞的表达和生长。

[0174] ALK是存在于癌细胞内诱发癌细胞增殖的基因,并且通过基因融合的过程被激活,其中,ALK所具有的酪氨酸激酶表现异常,阻止细胞凋亡以阻碍程序化细胞死亡,并且重排细胞框架和改变细胞形态。此外,ALK可与其它或正常或致癌转变的酪氨酸激酶相连接,并随后相互作用,或可激活其它类型的通路。

[0175] 因此,为了检测上述化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物对ALK活性的抑制活性,用ALK酶处理本发明化合物,并测量其IC<sub>50</sub>值。结果显示在化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物中约70%的化合物即使在0.008μM至0.036μM的低浓度仍能表现出抑制活性(详见实验实施例1)。

[0176] 结果表明可以有效地抑制ALK活性。此外,本发明化合物比用作非小细胞肺癌治疗剂的Crizotinib<sup>®</sup>(0.036μM,阳性对照组)具有优越的抑制活性。

[0177] 因此,本发明的化合物可用作通过抑制ALK活性来预防或治疗癌症的药物组合物。

[0178] 此外,本发明的药物组合物是一种用于预防或治疗癌症药物组合物通过抑制活化的Cdc42-相关激酶(ACK1)的活性来抑制癌细胞的表达和生长。

[0179] ACK1不仅去除了含有已知是癌症抑制酶的氧化还原酶(WWwox)的WW结构域,而且促进了癌症转移,并激活了导致前列腺癌的雄激素受体。

[0180] 因此,为了检测上述化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物对ACK1活性的抑制活性,用ACK1处理本发明的化合物,并测量其抑制活性。结果显示,当大多数化合物在0.1μM时,ACK1的活性降低至10%或更低。尤其是,在实施例13、21、26、66、74、77、79和80中制备的化合物,ACK1活性显著降低至0%(参见实验实施例2)。

[0181] 上述结果表明本发明的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物即

使在低浓度对ACK1活性仍然具有很好的抑制活性。因此,本发明化合物可用作有效的药物组合物,通过抑制ACK1的活性来预防和治疗癌症。

[0182] 根据本发明所述的化学式1的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物通过抑制ALK和ACK1的活性用于预防和治疗癌症。优选地,所述癌症可以包括,例如,非小细胞肺癌、神经母细胞瘤、炎性肌纤维母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肌纤维母细胞瘤、乳腺癌、胃癌、肺癌、黑素瘤、大B细胞淋巴瘤、全身性组织细胞增多病、炎性肌纤维母细胞瘤、食管鳞状细胞癌、子宫癌、前列腺癌,等等。

[0183] 此外,化学式1的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐对ALK活性具有很好的抑制活性,因而可以被用作有效的ALK抑制剂。

[0184] 此外,化学式1的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物或其药学上可接受的盐对ACK1活性具有很好的抑制活性,因而可以被用作有效的ACK1抑制剂。

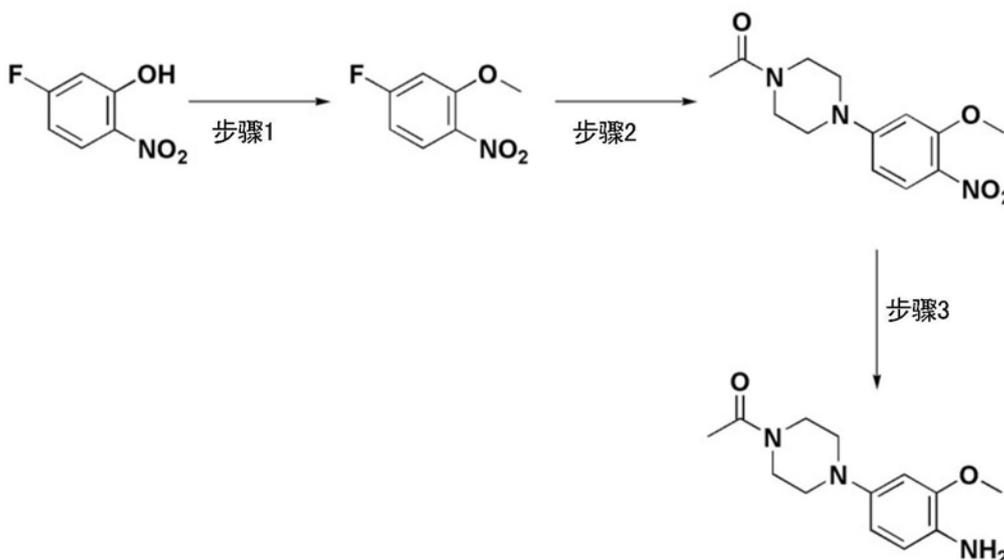
#### [0185] 发明详述

[0186] 制备本发明上述化学式1的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物的方法将结合以下的制备实施例或实施例具体说明。

[0187] 以下提供的制备实施例或实施例仅用于阐述制备上述化学式1的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物的具体实施方式,而不应当将其理解为对本发明范围的限制。

[0188] 此外,在制备实施例或实施例中阐明的制备方法可采用有机合成领域内所熟知的合成条件、合适的试剂等等。

#### [0189] <制备实施例1>1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0190]

#### [0191] 步骤1:4-氟-2-甲氧基-1-硝基苯的制备

[0192] 将5-氟-2-硝基酚(300mg)、碘甲烷(0.50mL)和碳酸钾(500mg)溶于二甲基甲酰胺(DMF,3mL)中,于50℃反应过夜。减压浓缩反应混合物中的二甲基甲酰胺,加水,用乙酸乙酯萃取有机层。有机层用盐水洗涤,用硫酸钠除去水,减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

#### [0193] 步骤2:1-(4-(3-甲氧基-4-硝基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0194] 将上述步骤1中所得到的化合物(300mg)、N-乙酰哌嗪(300mg)、碳酸钾(500mg)溶

于二甲基甲酰胺 (3mL) 中,并于80℃反应过夜。减压除去反应混合液中的二甲基甲酰胺,加水以析出固体。过滤固体,得到为黄色固体的目标化合物。

[0195]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.00 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H) , 6.42 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H) , 6.32 (s, 1H) , 3.96 (s, 3H) , 3.80-3.79 (m, 2H) , 3.67-3.65 (m, 2H) , 3.47-3.40 (m, 4H) , 2.15 (s, 3H) ;

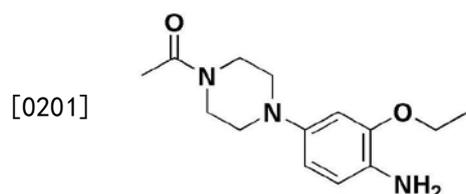
[0196] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ : 计算值为279.12, 实测值为279.20

[0197] 步骤3:1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0198] 将步骤2制备的化合物溶于乙醇中,加入10% Pd/C,在氢气氛下搅拌2小时。反应完毕后,用硅藻土除去反应混合液中的Pd/C,减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

[0199]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 6.65 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H) , 6.51 (s, 1H) , 6.41 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) , 3.88 (s, 3H) , 3.76 (s, 4H) , 3.59 (s, 4H) , 2.13 (s, 3H) .

[0200] <制备实施例2>1-(4-(4-氨基-3-乙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0202] 步骤1:4-氟-2-乙氧基-1-硝基苯的制备

[0203] 将5-氟-2-硝基酚 (300mg) 、碘乙烷 (0.50mL) 和碳酸钾 (500mg) 溶于二甲基甲酰胺 (DMF, 3mL) 中,于50℃反应过夜。减压浓缩反应混合液中的二甲基甲酰胺,加水,并用乙酸乙酯萃取有机层。有机层用盐水洗涤,用硫酸钠除去水,减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

[0204] 步骤2:1-(4-(3-乙氧基-4-硝基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

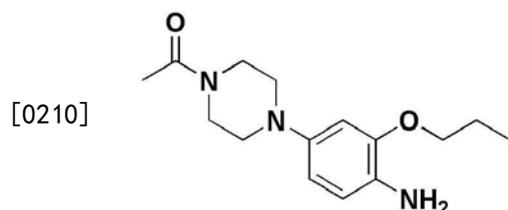
[0205] 将上述步骤1所得到的化合物 (300mg) 、N-乙酰哌嗪 (300mg) 和碳酸钾 (500mg) 溶于二甲基甲酰胺 (3mL) 中,于80℃反应过夜。减压除去反应混合液中的二甲基甲酰胺,并加水以析出固体。过滤固体,得到为黄色固体的目标化合物。

[0206]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.97 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H) , 6.40 (dd,  $J=2.5, 9.3\text{Hz}$ , 1H) , 6.32 (d,  $J=2.5\text{Hz}$ , 1H) , 4.15 (q,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H) , 3.79 (m, 2H) , 3.66 (m, 2H) , 3.40 (m, 4H) , 2.15 (s, 3H) , 1.50 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H) .

[0207] 步骤3:1-(4-(4-氨基-3-乙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0208] 将步骤2制备的化合物溶于乙醇中,加入10% Pd/C,并在氢气氛下搅拌2小时。反应完毕后,使用硅藻土除去反应混合液中的Pd/C,减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

[0209] <制备实施例3>1-(4-(4-氨基-3-丙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0211] 步骤1:4-氟-2-丙氧基-1-硝基苯的制备

[0212] 将5-氟-2-硝基酚(300mg)、碘代正丙烷(0.50mL)和碳酸钾(500mg)溶于二甲基甲酰胺(DMF, 3mL)中,并于50℃反应过夜。减压浓缩反应混合液中的二甲基甲酰胺,加水,并用乙酸乙酯萃取有机层。有机层用盐水洗涤,用硫酸钠除去水,减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

[0213] 步骤2:1-(4-(3-丙氧基-4-硝基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

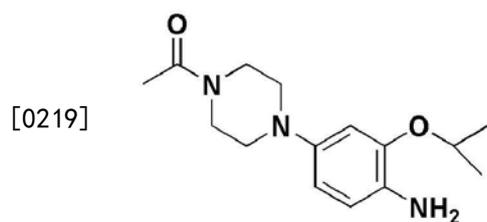
[0214] 将上述步骤1所得到的化合物(300mg)、N-乙酰哌嗪(300mg)和碳酸钾(500mg)溶于二甲基甲酰胺(3mL)中,并于80℃反应过夜。减压除去反应混合液中的二甲基甲酰胺,并加水以析出固体。过滤固体,得到为黄色固体的目标化合物。

[0215]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.98 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.40 (dd,  $J=2.5, 9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.32 (d,  $J=2.5\text{Hz}$ , 1H), 4.03 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 3.79 (m, 2H), 3.66 (m, 2H), 3.40 (m, 4H), 2.15 (s, 3H), 1.89 (m, 2H), 1.09 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 3H) .

[0216] 步骤3:1-(4-(4-氨基-3-丙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0217] 将步骤2制备的化合物溶于乙醇中,加入10% Pd/C,在氢气氛下搅拌2小时。反应完毕后,用硅藻土除去反应混合液中的Pd/C,减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

[0218] <制备实施例4>1-(4-(4-氨基-3-异丙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0220] 步骤1:4-氟-2-异丙氧基-1-硝基苯的制备

[0221] 将5-氟-2-硝基酚(300mg)、碘代异丙烷(0.50mL)和碳酸钾(500mg)溶于二甲基甲酰胺(DMF, 3mL)中,并于50℃反应过夜。减压浓缩反应混合液中的二甲基甲酰胺,加水,并用乙酸乙酯萃取有机层。有机层用盐水洗涤,用硫酸钠除去水,减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

[0222] 步骤2:1-(4-(3-异丙氧基-4-硝基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

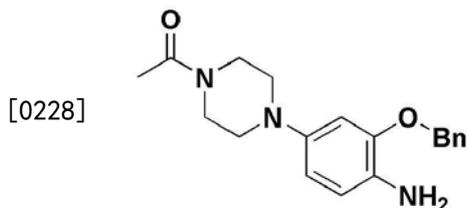
[0223] 将上述步骤1所得到的化合物(300mg)、N-乙酰哌嗪(300mg)和碳酸钾(500mg)溶于二甲基甲酰胺(3mL)中,并于80℃反应过夜。减压除去反应混合液中的二甲基甲酰胺,并加水以析出固体。过滤固体,得到为黄色固体的目标化合物。

[0224]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.95 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.42 (dd,  $J=2.5, 9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.36 (d,  $J=2.5\text{Hz}$ , 1H), 4.61 (d,  $J=6.1\text{Hz}$ , 1H), 3.79 (m, 2H), 3.65 (m, 2H), 3.42 (m, 4H), 2.15 (s, 3H), 1.41 (d,  $J=6.1\text{Hz}$ , 6H) .

[0225] 步骤3:1-(4-(4-氨基-3-异丙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0226] 将步骤2制备的化合物溶于乙醇中,加入10% Pd/C,在氢气氛下搅拌2小时。反应完毕后,用硅藻土除去反应混合液中的Pd/C,减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

[0227] <制备实施例5>1-(4-(4-氨基-3-苄氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0229] 步骤1:4-氟-2-苄氧基-1-硝基苯的制备

[0230] 将5-氟-2-硝基酚 (300mg)、苄基碘 (0.50mL) 和碳酸钾 (500mg) 溶于二甲基甲酰胺 (DMF, 3mL) 中, 并于50℃反应过夜。减压浓缩反应混合液中的二甲基甲酰胺, 加水, 用乙酸乙酯萃取有机层。有机层用盐水洗涤, 用硫酸钠除去水, 减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

[0231] 步骤2:1-(4-(3-苄氧基-4-硝基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0232] 将上述步骤1所得到的化合物 (300mg)、N-乙酰哌嗪 (300mg) 和碳酸钾 (500mg) 溶于二甲基甲酰胺 (3mL) 中, 并于80℃反应过夜。减压除去反应混合液中的二甲基甲酰胺, 并加水以析出固体。过滤固体, 得到为黄色固体的目标化合物。

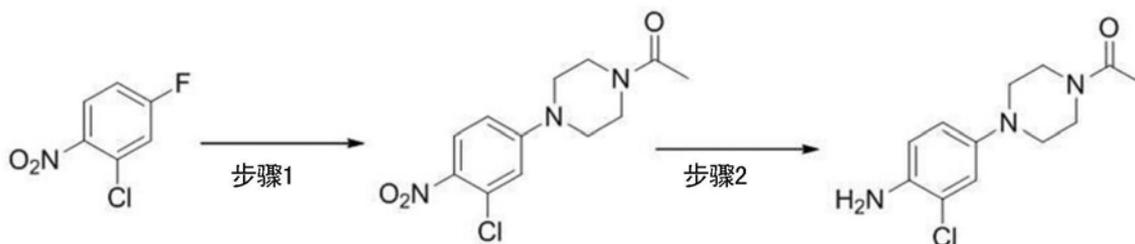
[0233]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.02 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 7.4 (m, 5H), 6.42 (dd,  $J=2.5, 9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.35 (d,  $J=2.5\text{Hz}$ , 1H), 5.23 (s, 2H), 3.77 (m, 2H), 3.77 (m, 2H), 3.63 (m, 2H), 3.36 (m, 4H), 2.15 (s, 3H) .

[0234] 步骤3:1-(4-(4-氨基-3-苄氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0235] 将步骤2制备的化合物溶于乙醇中, 加入10% Pd/C, 在氢气氛下搅拌2小时。反应完毕后, 用硅藻土除去反应混合液中的Pd/C, 减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

[0236] <制备实施例6>1-(4-(4-氨基-3-氯苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0237]



[0238] 步骤1:1-(4-(3-氯-4-硝基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0239] 将2-氯-4-氟硝基苯 (350mg)、N-乙酰基哌嗪 (0.5ml) 和碳酸钾 (500mg) 溶于二甲基甲酰胺 (3mL) 中, 并于50℃搅拌过夜。减压蒸馏反应混合液以除去二甲基甲酰胺, 加入蒸馏水。然后滤出再结晶的黄色固体, 未进一步纯化直接继续进行后续反应。

[0240]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.04 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.86 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H), 6.74 (dd,  $J=2.0, 9.3\text{Hz}$ , 1H), 3.80 (m, 2H), 3.66 (m, 2H), 3.42 (m, 4H), 2.16 (s, 3H) .

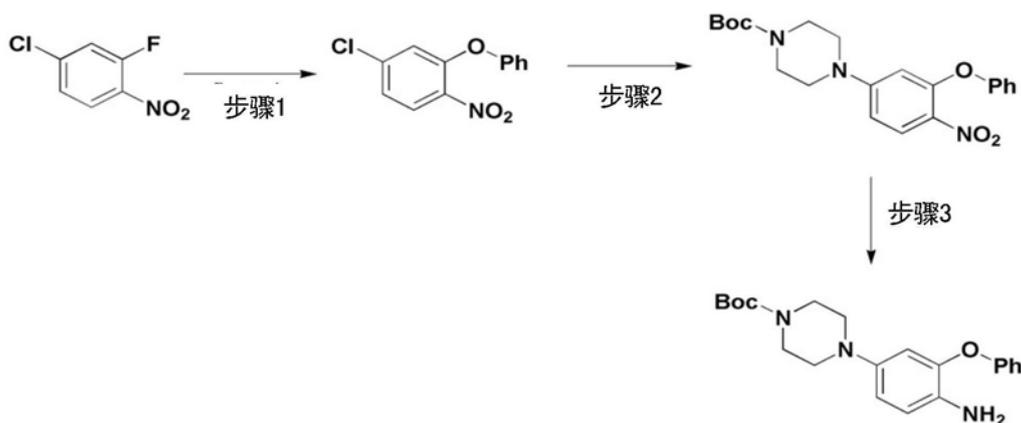
[0241] 步骤2:1-(4-(4-氨基-3-氯苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0242] 将步骤1制备的化合物溶于乙醇 (10ml) 和蒸馏水 (1.0ml) 中, 加入铁 (粉状, 2.0g) 和氯化铵 (1.0g), 并于90℃搅拌2小时。然后, 用硅藻土过滤生成物, 减压蒸馏滤液以除去溶剂。生成的白色固体未进一步纯化直接用于后续反应。

[0243]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.88 (m, 1H), 6.73 (m, 2H), 3.75 (m, 1H), 3.59 (m, 1H), 2.99

(m, 4H), 2.13 (s, 3H).

[0244] <制备实施例7>4-(4-氨基-3-苯氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯



[0245]

[0246] 步骤1:4-氯-1-硝基-2-联苯醚的制备

[0247] 将4-氯-2-氟-硝基苯 (500mg)、苯酚 (270mg) 和碳酸钾 (400mg) 溶于二甲亚砜 (10ml) 中,并于室温下搅拌2小时。向混合物中加入水,用乙醚来萃取有机层。产生的有机层用饱和盐水洗涤,用硫酸钠去除水,减压蒸馏除去溶剂。除去溶剂所得到的黄色目标产物未进一步纯化直接用于后续反应 (500mg)。

[0248]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.94 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.44 (m, 2H), 7.25 (m, 1H), 7.14 (dd,  $J=2.1, 8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.09 (m, 2H), 6.94 (d,  $J=2.1\text{Hz}$ , 1H)

[0249] 步骤2:4-(4-硝基-3-苯氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0250] 将步骤1制备的化合物 (500mg)、N-叔丁氧羰基 (Boc)-哌嗪 (500mg) 和碳酸钾 (2.0g) 溶于二甲基甲酰胺 (3ml) 中,并于90℃搅拌2小时。减压蒸馏除去混合液中的二甲基甲酰胺,并用乙酸乙酯萃取。萃取的有机层用饱和盐水洗涤,并用硫酸钠去除水,并减压蒸馏除去溶剂。除去溶剂的混合物通过柱层析纯化,得到黄色的目标化合物。

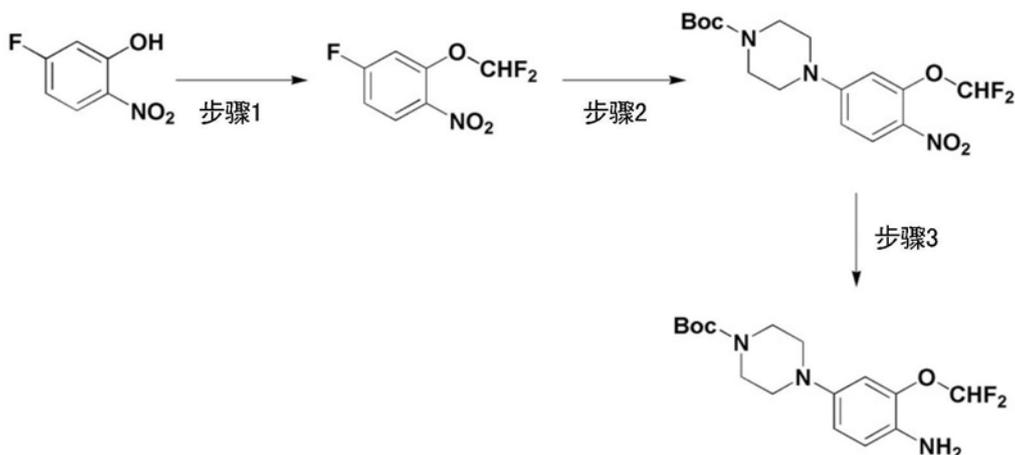
[0251]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.08 (d,  $J=9.4\text{Hz}$ , 1H), 7.36 (m, 2H), 7.14 (m, 1H), 7.01 (m, 2H), 6.58 (dd,  $J=2.7, 9.4\text{Hz}$ , 1H), 6.31 (d,  $J=2.7\text{Hz}$ , 1H), 3.54 (m, 4H), 3.28 (m, 4H), 1.46 (s, 9H).

[0252] 步骤3:4-(4-氨基-3-苯氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0253] 将步骤2制备的化合物溶于乙醇中,加入10% Pd/C,在氢气氛下搅拌2小时。反应完毕后,用硅藻土除去反应混合液中的Pd/C,减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化直接用于后续反应。

[0254]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.30 (m, 2H), 7.05 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 6.78 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 6.65 (dd,  $J=2.6, 8.6\text{Hz}$ , 1H), 6.56 (d,  $J=2.6\text{Hz}$ , 1H), 3.53 (t,  $J=5.1\text{Hz}$ , 1H), 2.93 (d,  $J=5.1\text{Hz}$ , 1H), 1.46 (s, 9H).

[0255] <制备实施例8>4-(4-氨基-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备



[0256]

[0257] 步骤1:2-(二氟甲氧基)-4-氟-1-硝基苯的制备

[0258] 将5-氟-2-硝基酚(3.1g)溶于二甲基甲酰胺(40mL)中,室温下缓慢滴加碳酸钾(4.2g)和氯代二氟乙酸甲酯(3.2mL)中。将混合液等温保持在100℃,搅拌2小时,然后冷却至室温。随后,生成物中加入水(100mL),用二乙醚(200mL)萃取。得到的有机层用饱和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤。得到的混合物通过柱层析纯化(硅胶,己烷/乙酸乙酯)得到为亮黄色的目标化合物。

[0259]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.03 (dd,  $J=9.0, 5.9\text{Hz}$ , 1H), 7.17-7.06 (m, 2H), 6.65 (t,  $J=72.3\text{Hz}$ , 1H) .

[0260] 步骤2:4-(N-叔丁氧羰基-哌嗪-1-基)-2-(二氟甲氧基)-1-硝基苯的制备

[0261] 将步骤1制备的化合物(7.0g)、N-叔丁氧羰基-哌嗪(7.0g)溶于二甲基甲酰胺(100mL)中,加入碳酸钾(6.0g)。混合液于45℃搅拌过夜,缓慢滴加水(200mL)以重结晶出黄色固体。混合物过滤后干燥,悬于乙酸乙酯中(100mL),再加入己烷(200mL)以重结晶出黄色固体,过滤固体得到目标化合物(9.0g,71%)。

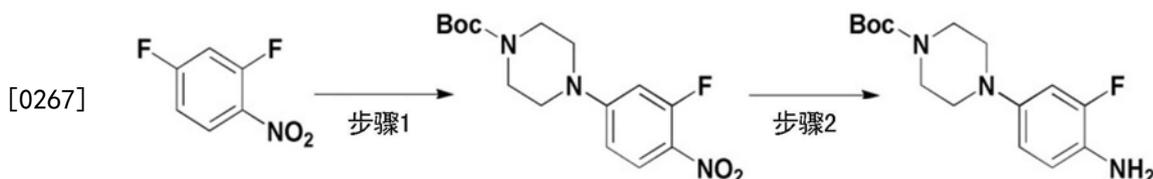
[0262]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.04 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.77 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.63 (s, 1H), 6.62 (t,  $J=74.2\text{Hz}$ , 1H), 3.63-3.58 (m, 4H), 3.35-3.39 (m, 4H), 1.49 (s, 9H) .

[0263] 步骤3:4-(4-氨基-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0264] 将步骤2制备的化合物(9.0g)溶于乙醇/乙酸乙酯(200mL/40mL)中,加入10% Pd/C( $\sim 0.5\text{g}$ ),在氢气氛下搅拌过夜。然后过滤混合液以除去Pd/C,浓缩滤液得到为亮紫色固体的目标化合物(8.0g,88%)。

[0265]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 6.83-6.74 (m, 3H), 6.71 (t,  $J=73.2\text{Hz}$ , 1H), 3.71-3.63 (m, 4H), 3.05-2.96 (m, 4H), 1.49 (s, 9H) .

[0266] &lt;制备实施例9&gt;4-(4-氨基-3-氟苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备



[0267]

[0268] 步骤1:叔丁基-4-(3-氟-4-硝基苯基)哌嗪-1-羧酸酯的制备

[0269] 将2,4-二硝基苯(1.2g)、N-叔丁氧羰基-哌嗪(1.4g)和碳酸钾(1.2g)溶于二甲基甲酰胺(5mL)中,并于50℃搅拌过夜。然后减压蒸馏混合液除去二甲基甲酰胺,加入水,并用

乙酸乙酯萃取。萃取所得的有机层用盐水洗涤,用硫酸钠去除水,减压蒸馏除去溶剂。混合物通过柱层析(硅胶)纯化,得到目标化合物( $R_f=0.3$ ,己烷:乙酸乙酯=2:1)和(4-(5-氟-2-硝基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯( $R_f=0.6$ ,己烷:乙酸乙酯=2:1)。

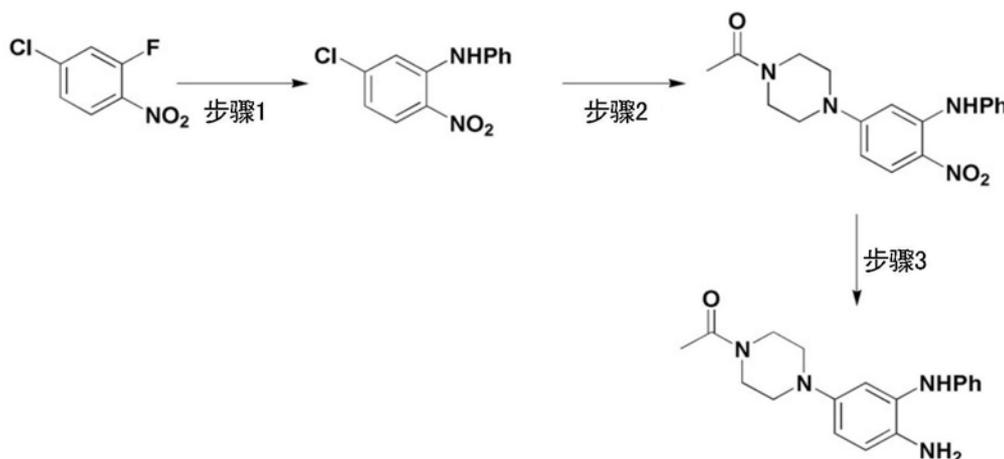
[0270]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.04 (t,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 6.58 (dd,  $J=3.0, 9.4\text{Hz}$ , 1H), 6.52 (dd,  $J=2.7, 14.7\text{Hz}$ , 1H), 3.60 (m, 4H), 3.41 (m, 4H), 1.49 (s, 9H)。

[0271] 步骤2:4-(4-氨基-3-氟苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0272] 将步骤1制备的化合物溶于乙醇(10ml)和蒸馏水(1.0ml)中,加入铁(粉状,2.0g)和氯化铵(1.0g),并于80℃搅拌2小时。然后用硅藻土过滤生成物,减压蒸馏除去溶剂。得到的白色固体目标化合物未进一步纯化直接进行后续反应。

[0273] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_2$ : 计算值为295.17,实测值为296.09。

[0274] <制备实施例10>1-(4-(4-氨基-3-(苯基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0275]

[0276] 步骤1:5-氯-2-硝基-N-苯基苯胺的制备

[0277] 将4-氯-2-氟硝基苯(250mg)、苯胺(0.40mL)和碳酸钾(500mg)溶于二甲基亚砜(1.5mL)中,并于50℃搅拌过夜。向混合物中加入水,用乙酸乙酯萃取,用饱和盐水洗涤有机层,用硫酸钠去除水。通过减压蒸馏除去反应溶液的溶剂,并且未对得到的目标化合物进一步纯化就继续进行后续反应。

[0278]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 9.54 (br, 1H), 8.16 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H), 7.1-7.5 (m, 5H), 6.71 (m, 2H)。

[0279] 步骤2:1-(4-(4-硝基-3-(苯基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0280] 将步骤1制备的化合物(300mg)和N-乙酰哌嗪(300mg)溶于二甲亚砜(3mL)中,并于90℃搅拌3小时。向混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。得到的有机层用饱和盐水洗涤,用硫酸钠去除水,并通过减压蒸馏除去溶剂。然后向化合物中加入乙醚以形成固体,滤出固体得到为黄色固体的目标化合物。

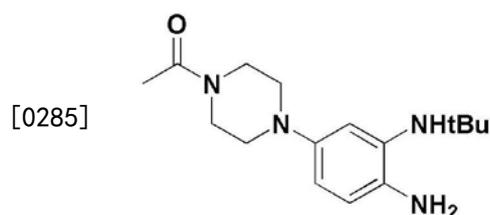
[0281]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 9.83 (br, 1H), 8.15 (d,  $J=9.6\text{Hz}$ , 1H), 7.3-7.5 (m, 5H), 6.37 (d,  $J=2.6\text{Hz}$ , 1H), 6.30 (dd,  $J=2.6, 9.6\text{Hz}$ , 1H), 3.71 (m, 2H), 3.58 (m, 2H), 3.31 (m, 4H), 2.11 (s, 3H)。

[0282] 步骤3:1-(4-(4-氨基-3-(苯基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0283] 将步骤2制备的化合物溶于乙醇中,加入10% Pd/C,在氢气氛下搅拌2小时。反应完毕后,用硅藻土除去反应混合液中的Pd/C,减压除去溶剂。所得到的化合物未进一步纯化

直接用于后续反应。

[0284] <制备实施例11>1-(4-(4-氨基-3-(叔丁基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0286] 步骤1:N-(叔丁基)-5-氯-2-硝基苯胺的制备

[0287] 将4-氯-2-氟硝基苯(250mg)、叔丁胺(0.40mL)溶于二甲亚砜(3.0mL)中,并于室温搅拌过夜。然后向混合物中加入水,并用乙酸乙酯萃取。得到的有机层用饱和盐水洗涤,用硫酸钠去除水分,通过减压蒸馏除去溶剂。未对得到的目标化合物进一步纯化就继续进行后续反应。

[0288]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.42 (br, 1H), 8.13 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 7.07 (d,  $J=2.1\text{Hz}$ , 1H), 6.56 (dd,  $J=2.1, 9.2\text{Hz}$ , 1H), 1.51 (s, 9H).

[0289] 步骤2:1-(4-(3-(叔丁基氨基)-4-硝基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

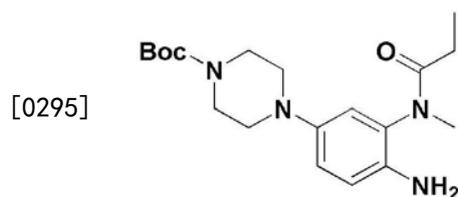
[0290] 以与制备实施例10步骤2相同的方式,只是使用N-(叔丁基)-5-氯-2-硝基苯胺(300mg)代替5-氯-2-硝基-N-苯基苯胺,得到目标化合物。

[0291]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.71 (br, 1H), 8.11 (d,  $J=9.5\text{Hz}$ , 1H), 6.18 (m, 2H), 3.80 (m, 2H), 3.66 (m, 2H), 3.42 (m, 4H), 2.15 (s, 3H), 1.51 (s, 9H).

[0292] 步骤3:1-(4-(4-氨基-3-(叔丁基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0293] 以与制备实施例10步骤3相同的方式,只是使用1-(4-(3-(叔丁基氨基)-4-硝基苯基)哌嗪-1-基)乙酮代替1-(4-(4-硝基-3-(苯基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮,得到目标化合物。

[0294] <制备实施例12>4-(4-氨基-3-(N-甲基丙酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备



[0296] 步骤1:5-氯-N-甲基-2-硝基苯胺的制备

[0297] 以与制备实施例11步骤1相同的方式,只是使用甲胺(2.0mL,于THF中)代替叔丁胺,得到目标化合物。

[0298]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.12 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 6.83 (d,  $J=2.1\text{Hz}$ , 1H), 6.62 (dd,  $J=2.1, 9.2\text{Hz}$ , 1H), 3.02 (d,  $J=5.1\text{Hz}$ , 3H).

[0299] 步骤2:N-(5-氯-2-硝基苯基)-N-甲基丙酰胺的制备

[0300] 将5-氯-N-甲基-2-硝基苯胺(500mg)溶于无水二氯甲烷(9mL),加入三乙胺(3mL)和丙酰氯(1mL),然后回流。加入饱和碳酸氢钠,并用乙酸乙酯萃取。萃取的有机层用饱和碳酸氢钠洗涤,用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。浓缩的滤液通过柱层析(硅胶,己烷/乙酸乙酯)纯化得到为黄色固体的目标化合物。

[0301]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.14 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.83 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.61 (s, 1H), 3.69–3.54 (m, 4H), 3.49–3.37 (m, 4H), 3.20 (s, 3H), 2.13–1.92 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.05 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H).

[0302] 步骤3:4-(3-(N-甲基丙酰胺基)-4-硝基苯基)哌嗪-1-羧酸酯的制备

[0303] 将步骤2制备的化合物 (460mg) 溶于二甲基甲酰胺 (7ml) 中, 加入N-叔丁氧羰基-哌嗪 (460mg) 和碳酸钾 (340mg), 并于90°C 搅拌过夜。然后, 减压蒸馏混合液以除去溶剂, 加水, 并用乙酸乙酯萃取。萃取的有机层用饱和盐水洗涤, 并用硫酸钠干燥, 过滤。滤液减压浓缩并通过柱层析 (硅胶, 己烷/乙酸乙酯) 纯化, 得到为黄色固体的目标化合物 (272.3mg)。

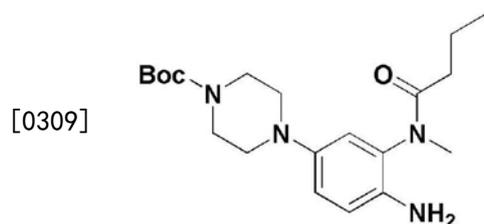
[0304]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.14 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.83 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.61 (s, 1H), 3.69–3.54 (m, 4H), 3.49–3.37 (m, 4H), 3.20 (s, 3H), 2.13–1.92 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.05 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H).

[0305] 步骤4:4-(4-氨基-3-(N-甲基丙酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0306] 将步骤3制备的化合物 (272.3mg, 0.69mmol) 溶于乙酸乙酯与乙醇的混合液 (2mL) 中, 加入10% Pd/C (70mg), 在氢气氛下室温搅拌过夜。然后, 用硅藻土将从Pd/C混合液中除去, 减压浓缩, 得到为黄色固体的目标化合物 (231.2mg)。

[0307]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.84–6.80 (m, 1H), 6.79–6.72 (m, 1H), 6.66 (br, 1H), 3.67–3.46 (m, 6H), 3.18 (s, 3H), 3.01–2.92 (m, 4H), 2.20–1.99 (m, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.05 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 3H).

[0308] <制备实施例13>4-(4-氨基-3-(N-甲基丁酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备



[0310] 步骤1:N-(5-氯-2-硝基苯基)-N-甲基丁酰胺的制备

[0311] 以与制备实施例12步骤2相同的方式, 只是使用丁基氯 (1mL) 代替丙酰氯, 得到为黄色目标的化合物。

[0312]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.01 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.55 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.38 (s, 1H), 3.21 (s, 3H), 1.96 (q,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 1.65–1.52 (m, 2H), 0.84 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H).

[0313] 步骤2:4-(3-(N-甲基丁酰胺基)-4-硝基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0314] 以与制备实施例12步骤3相同的方式, 只是使用由步骤1得到的N-(5-氯-2-硝基苯基)-N-甲基丁酰胺代替N-(5-氯-2-硝基苯基)-N-甲基丙酰胺, 得到目标化合物 (240mg)。

[0315]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.15 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 6.81 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 6.62–6.56 (m, 1H), 3.68–3.54 (m, 4H), 3.50–3.34 (m, 4H), 3.20 (s, 3H), 1.95 (q,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H), 1.65–1.54 (m, 4H), 1.50 (s, 9H), 1.26 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 2H), 1.01 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 0.83 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 3H).

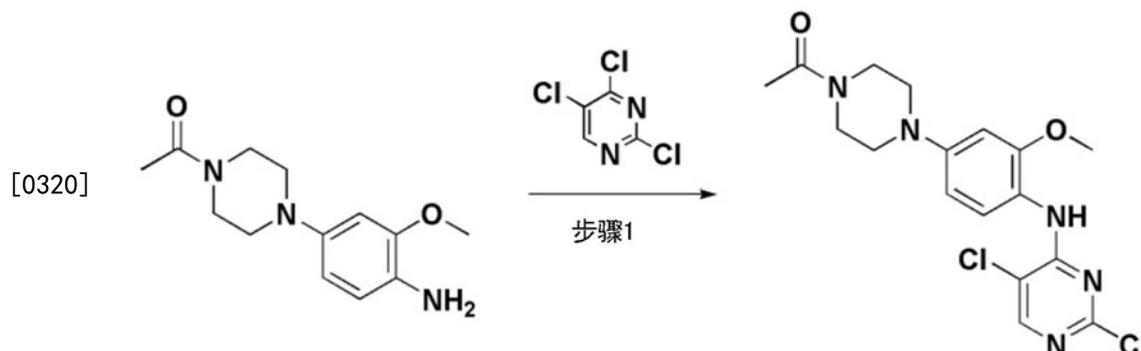
[0316] 步骤3:4-(4-氨基-3-(N-甲基丁酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0317] 以与制备实施例12步骤4相同的方式, 只是使用由步骤2得到的化合物代替4-(3-

(N-甲基丙酰胺基)-4-硝基苯基)哌嗪-1-羧酸酯,得到目标化合物(220mg)。

[0318]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 6.84 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.75 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 6.61 (s, 1H), 3.66-3.39 (m, 6H), 3.18 (s, 3H), 3.03-2.92 (m, 4H), 2.15-1.96 (m, 2H), 1.69-1.53 (m, 4H), 1.48 (s, 9H), 1.25 (t,  $J=6.6\text{Hz}$ , 2H), 1.10-1.01 (m, 2H), 0.84 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H)。

[0319] <制备实施例14>1-(4-(4-(2,5-二氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

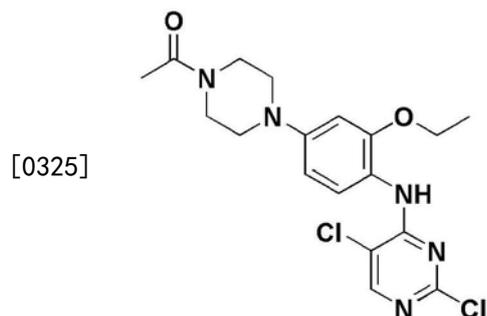


[0321] 将由制备实施例1制备的1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮(150mg), 2,4,5-三氯嘧啶(120mg)和碳酸钾(120mg)溶于二甲基甲酰胺(2mL)中,并于80°C搅拌过夜。减压除去混合液中的二甲基甲酰胺,并加水以析出固体。滤出固体得到目标化合物。

[0322]  $^1\text{H}$ -NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.32 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 8.14 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 6.58 (dd,  $J=2.5, 8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.54 (d,  $J=2.5\text{Hz}$ , 1H), 3.93 (s, 3H), 3.78 (m, 2H), 3.64 (m, 2H), 3.16 (m, 4H), 2.15 (s, 3H) ;

[0323] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_2$ : 计算值为395.09, 实测值为396.1。

[0324] <制备实施例15>1-(4-(4-(2,5-二氯嘧啶-4-基氨基)-3-乙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

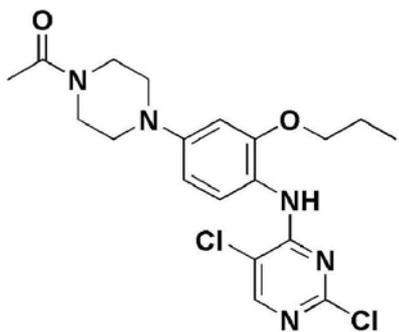


[0326] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用由制备实施例2制备的化合物代替1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮作为起始原料,得到目标化合物。

[0327]  $^1\text{H}$ -NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.37 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 8.16 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 6.61-6.59 (m, 1H), 6.56 (s, 1H), 4.15 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 3.81 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 2H), 3.66 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 2H), 3.21-3.14 (m, 4H), 2.17 (s, 3H), 1.51 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H)。

[0328] <制备实施例16>1-(4-(4-(2,5-二氯嘧啶-4-基氨基)-3-丙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0329]

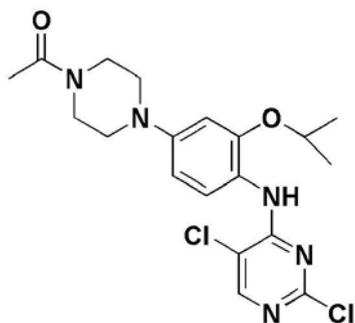


[0330] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用由制备实施例3制备的化合物代替1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮作为起始原料,得到目标化合物。

[0331]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.37 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H), 8.15 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 6.60-6.58 (m, 1H), 6.55 (s, 1H), 4.04 (t,  $J=6.3\text{Hz}$ , 2H), 3.80 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 2H), 3.65 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 2H), 3.18 (t,  $J=5.2\text{Hz}$ , 2H), 3.15 (t,  $J=5.2\text{Hz}$ , 2H), 2.17 (s, 3H), 1.91 (sextet,  $J=14.3, 7.1\text{Hz}$ , 2H), 1.11 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 3H).

[0332] <制备实施例17>1-(4-(4-(2,5-二氯嘧啶-4-基氨基)-3-异丙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0333]

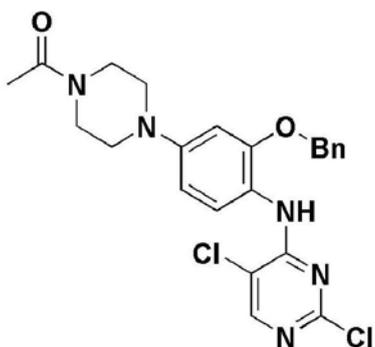


[0334] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用由制备实施例4制备的化合物代替1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮作为起始原料,得到目标化合物。

[0335]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.38 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 8.13 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 6.61-6.54 (m, 2H), 4.64-4.55 (m, 1H), 3.80-3.77 (m, 2H), 3.65-3.62 (m, 2H), 3.17-3.08 (m, 4H), 2.15 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.39 (s, 3H).

[0336] <制备实施例18>1-(4-(3-(苄氧基)-4-(2,5-二氯嘧啶-4-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0337]

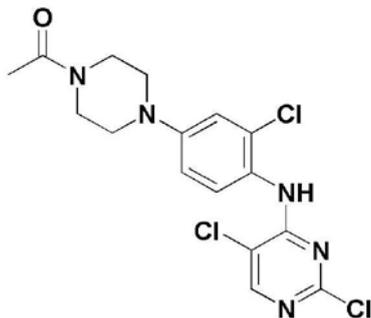


[0338] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用由制备实施例5制备的化合物代替1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮作为起始原料,得到目标化合物。

[0339] Mass (M+H<sup>+</sup>) C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>: 计算值为471.12, 实测值为471.77。

[0340] <制备实施例19>1-(4-(3-氯-4-(2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0341]

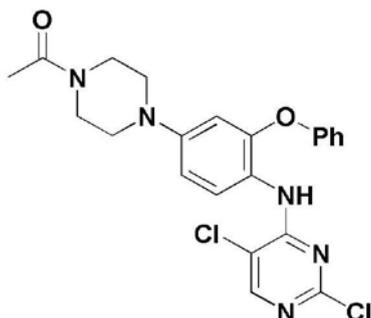


[0342] 以与制备实施例14相同的方式, 只是使用由制备实施例6制备的化合物代替1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮作为起始原料, 得到目标化合物。

[0343] <sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.20 (d, J=9.0Hz, 1H), 8.18 (s, 1H), 6.89 (dd, J=2.8, 9.1Hz, 1H), 6.76 (dd, J=2.8, 9.1Hz, 1H), 3.75 (m, 2H), 3.61 (m, 2H), 3.41 (m, 4H), 2.12 (s, 3H) .

[0344] <制备实施例20>1-(4-(4-(2,5-二氯嘧啶-4-基氨基)-3-苯氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0345]

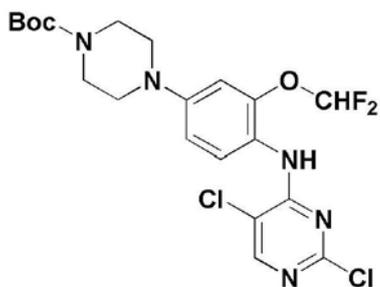


[0346] 将以制备实施例14相同的方式, 只是使用由制备实施例7制备的化合物代替1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮作为起始原料得到的固体化合物溶于二氯甲烷 (4ml), 加入三氟乙酸 (2ml), 并于室温下搅拌10分钟。混合液减压浓缩, 加入乙酸酐 (0.01ml)、三乙胺 (0.2ml) 和二氯甲烷 (2ml), 搅拌2小时。然后加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用乙酸乙酯萃取, 萃取的有机层用饱和碳酸氢钠洗涤。洗涤后的有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。混合物通过柱层析分离 (硅胶, 己烷/乙酸乙酯), 得到目标化合物。

[0347] <sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.32 (d, J=9.0Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 5.6-7.4 (m, 7H), 3.73 (m, 2H), 3.59 (m, 2H), 3.15 (m, 4H), 2.12 (s, 3H) .

[0348] <制备实施例21>4-(4-((2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯

[0349]



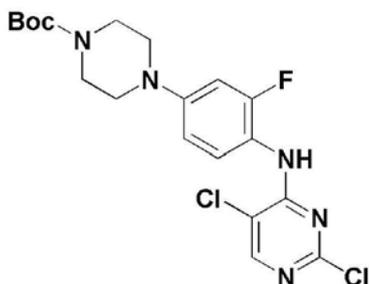
[0350] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用由制备实施例8制备的化合物代替1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮作为起始原料,得到目标化合物。

[0351]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.82 (d,  $J=14\text{Hz}$ , 1H), 8.24 (s, 1H), 6.7-7.2 (m, 3H), 3.40 (m, 4H), 3.19 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 1.37 (s, 9H);

[0352] Mass ( $M+H^+$ )  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_3$ : 计算值为489.11, 实测值为489.65。

[0353] <制备实施例22>4-(4-((2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)-3-氟苯基)哌嗪-1-羧酸酯的制备

[0354]



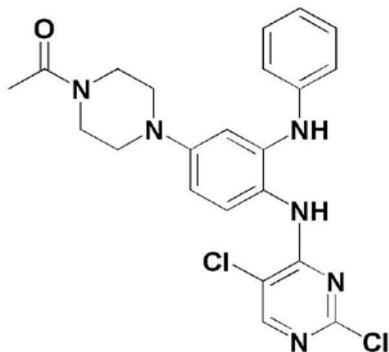
[0355] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用由制备实施例9制备的化合物代替1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮作为起始原料,得到目标化合物。

[0356]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.15 (s, 1H), 6.65-6.8 (m, 3H), 3.58 (m, 4H), 3.15 (m, 4H), 1.55 (s, 9H);

[0357] Mass ( $M+H^+$ )  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{FN}_5\text{O}_2$ : 实测值为441.11, 计算值为441.94。

[0358] <制备实施例23>1-(4-(4-(2,5-二氯嘧啶-4-基氨基)-3-(苯基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0359]

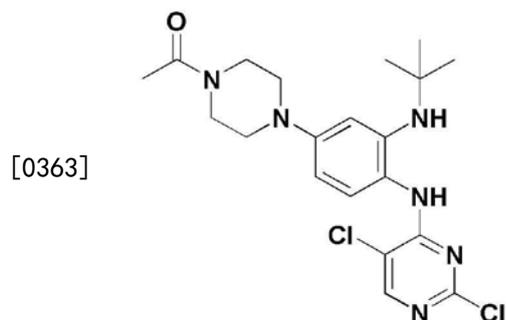


[0360] 将由制备实施例10制备的化合物(114.5mg), 2,4,5-三氯嘧啶(40 $\mu$ l)和碳酸钾(80mg)溶于二甲基甲酰胺(1.5ml)中,并于80 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌过夜。然后将混合物于室温下冷却,于室温下蒸馏以去除溶剂,加水,并用乙酸乙酯萃取。萃取的有机层用饱和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,减压浓缩。混合物通过柱层析分离(硅胶,乙酸乙酯/己烷/甲醇=4/4/1)得到为棕

色固体的目标化合物(115mg)。

[0361]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.24 (s, 1H), 7.67 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.37-7.08 (m, 5H), 6.92 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.84 (br, 2H), 6.59 (s, 1H), 3.80-3.68 (m, 2H), 3.67-1.54 (m, 2H), 3.20-3.05 (m, 4H), 2.12 (s, 3H)。

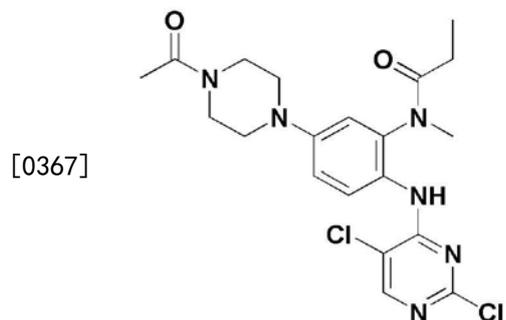
[0362] <制备实施例24>1-(4-(3-(叔丁基氨基)-4-(2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0364] 以与制备实施例23相同的方式,只是使用由制备实施例11制备的化合物(110mg)代替由制备实施例10制备的化合物作为起始原料,得到为棕色固体的目标化合物(115mg)。

[0365]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OH}$ )  $\delta$ 8.17 (s, 1H), 7.53 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.73 (s, 1H), 6.45 (dd,  $J=1.9, 9.0\text{Hz}$ , 1H), 3.80-3.61 (m, 5H), 3.30-3.11 (m, 5H), 2.15 (s, 3H), 1.28 (s, 9H)。

[0366] <制备实施例25>N-(5-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(2,5-二氯嘧啶-4-基氨基)苯基)-N-甲基丙酰胺的制备

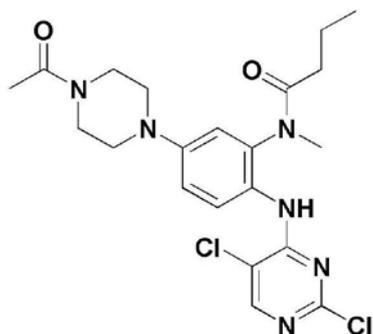


[0368] 以与制备实施例23相同的方式,只是使用由制备实施例12制备的化合物(231mg)代替由制备实施例10制备的化合物作为起始原料,得到为棕色固体的目标化合物(115mg)。

[0369]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.31 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 8.19 (s, 1H), 7.04-6.96 (m, 1H), 6.73 (s, 1H), 3.67-3.53 (m, 4H), 3.37 (s, 1H), 3.22 (s, 3H), 3.19-3.08 (m, 4H), 2.19-1.96 (m, 2H), 1.50 (s, 9H), 1.26 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H)。

[0370] <制备实施例26>4-(4-(2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)-3-(N-甲基丁酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0371]



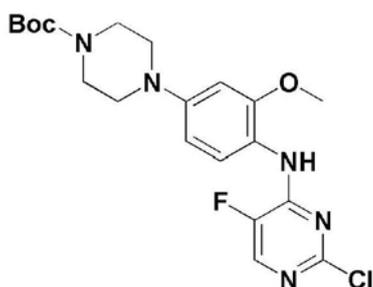
[0372] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用由制备实施例13制备的化合物(231mg)代替由制备实施例1制备的化合物作为起始原料,得到为棕色固体的目标化合物(87mg)。

[0373]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.29 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 8.19 (s, 1H), 7.01 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 6.72 (s, 1H), 3.61 (s, 4H), 3.48-3.35 (m, 1H), 3.22 (s, 3H), 3.16 (s, 4H), 2.14-1.93 (m, 2H), 1.65-1.50 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 0.82 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H);

[0374] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_3$ : 计算值为522.19, 实测值为522.85。

[0375] <制备实施例27>4-(4-((2-氯-5-氟嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0376]

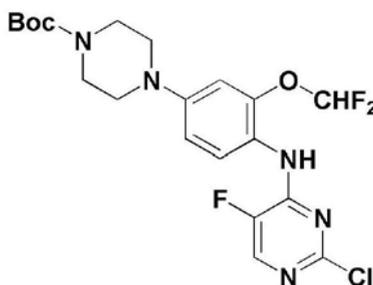


[0377] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用2,4-二氯-5-氟嘧啶代替2,4,5-三氯嘧啶作为起始原料,得到为灰色固体的目标化合物(900mg)。

[0378]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.31 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 8.00 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 6.58 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.54 (s, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.60 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 4H), 3.12 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 4H), 1.49 (s, 9H).

[0379] <制备实施例28>4-(4-((2-氯-5-氟嘧啶-4-基)氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0380]

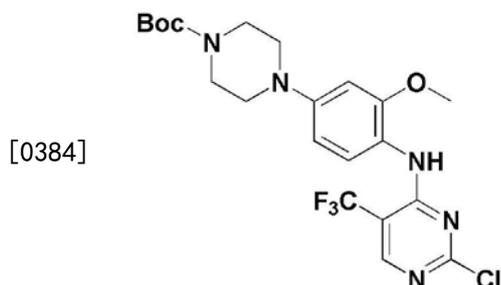


[0381] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用2,4-二氯-5-氟嘧啶代替2,4,5-三氯嘧啶作为起始原料并使用制备实施例8中制备的化合物代替制备实施例1制备的化合物,得到为灰色固体的目标化合物(850mg)。

[0382]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.19 (d,  $J=5.4\text{Hz}$ , 1H), 8.07 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 6.86 (d,

$J=5.4\text{Hz}$ , 1H), 6.76 (s, 1H), 6.56 (t,  $J=7.45\text{Hz}$ , 1H), 3.63-3.59 (m, 4H), 3.20-3.15 (m, 4H), 1.51 (s, 6H).

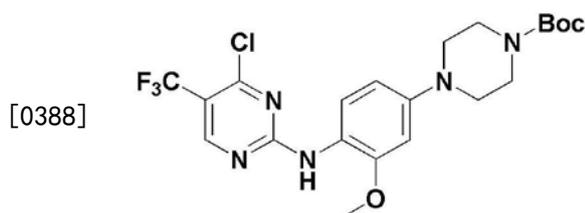
[0383] <制备实施例29> 4-(4-(2-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基-氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯



[0385] 将2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(800mg)和碳酸钾(510mg)溶于正丁醇(15ml),滴加溶有4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸酯(1.13g)的正丁醇(5ml)反应溶液,并于室温搅拌过夜。然后减压蒸馏混合液以除去溶剂,加入乙酸乙酯,并用饱和盐水洗涤。洗涤后的有机层用硫酸钠干燥,减压浓缩。浓缩后的混合物通过柱层析纯化,得到目标产物(430mg)。

[0386]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.35 (s, 1H), 8.22 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.79 (s, 1H), 6.57 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.53 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.59 (s, 4H), 3.13 (s, 4H), 1.49 (s, 9H).

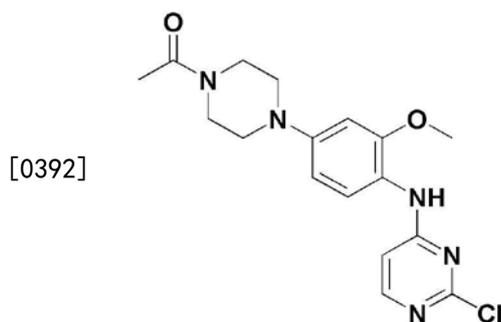
[0387] <制备实施例30> 4-(4-((4-氯-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备



[0389] 以与制备实施例29的相同的方式得到为副反应产物的目标化合物(286mg)。

[0390]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.52 (s, 1H), 8.16 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 7.85 (s, 1H), 6.54 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 6.53 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.59 (s, 4H), 3.11 (s, 4H), 1.48 (s, 9H).

[0391] <制备实施例31> 1-(4-(4-((2-氯嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

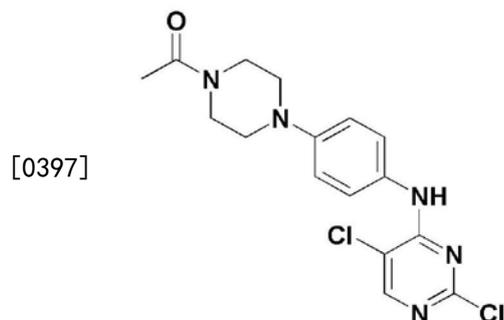


[0393] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用2,4-二氯-嘧啶代替2,4,5-三氯嘧啶,得到为棕色固体的目标化合物。

[0394]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.21 (s, 1H), 8.00 (d,  $J=6.0\text{Hz}$ , 1H), 7.33 (m, 1H), 6.68 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.53 (dd,  $J=2.4, 8.6\text{Hz}$ , 1H), 3.79 (s, 3H), 3.58 (s, 4H), 3.20 (s, 2H), 3.12 (m, 2H), 2.05 (s, 3H);

[0395] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{17}H_{20}ClN_5O_2$ : 计算值为361.13, 实测值为361.90。

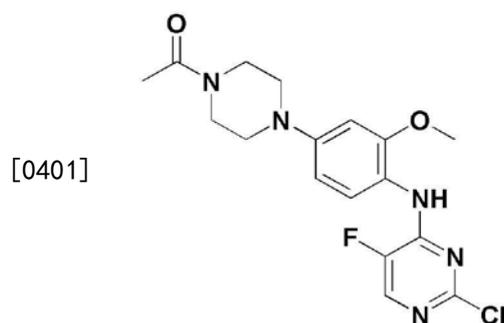
[0396] <制备实施例32>1-(4-(4-((2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0398] 以与制备实施例14相同的方式,只是使用1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮代替制备实施例1制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0399] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{16}H_{17}Cl_2N_5O$ : 计算值为365.08, 实测值为366.1。

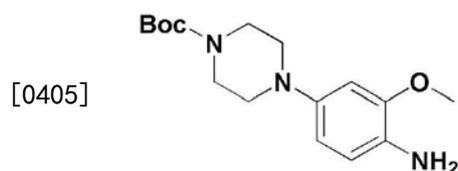
[0400] <制备实施例33>1-(4-(4-((2-氯-5-氟嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0402] 以与制备实施例14相同的方式,使用2,4,5-三氟嘧啶代替制备实施例1制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0403]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.34 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 8.02 (d,  $J=2.8\text{Hz}$ , 1H), 7.54 (s, 1H), 6.62-6.59 (m, 1H), 6.56 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.82-3.80 (m, 2H), 3.67-3.65 (m, 2H), 3.20-3.15 (m, 4H), 2.17 (s, 3H).

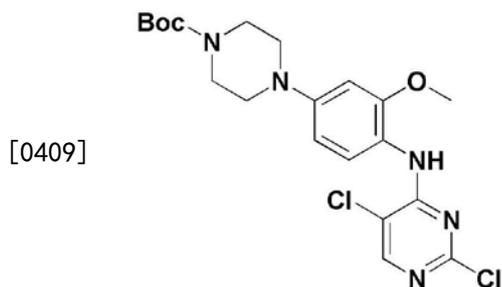
[0404] <制备实施例34>4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备



[0406] 以与制备实施例1步骤2相同的方式,只是使用N-叔丁氧羰基-哌嗪代替N-乙酰哌嗪,得到目标化合物。

[0407]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  6.65 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 6.51 (s, 1H), 6.41 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 3.84 (s, 3H), 3.56 (m, 4H), 2.98 (m, 4H), 1.48 (s, 9H).

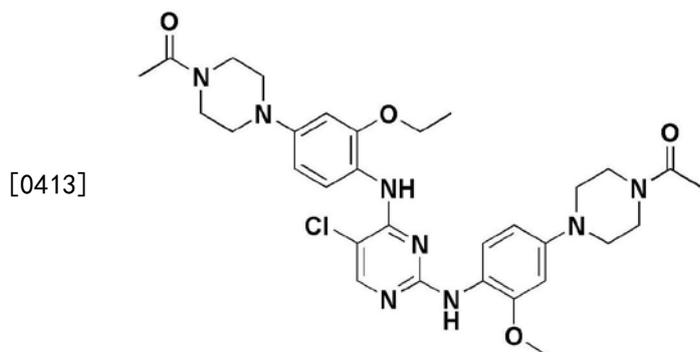
[0408] <制备实施例35>4-(4-((2,5-二氯嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备



[0410] 以与制备实施例21相同的方式,只是使用制备实施例34中制备的化合物代替制备实施例8制备的化合物,得到目标化合物。

[0411]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.30 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 8.13 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 6.62-6.53 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.60 (m, 4H), 3.14 (m, 4H), 1.49 (s, 9H).

[0412] <实施例1>1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-乙氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



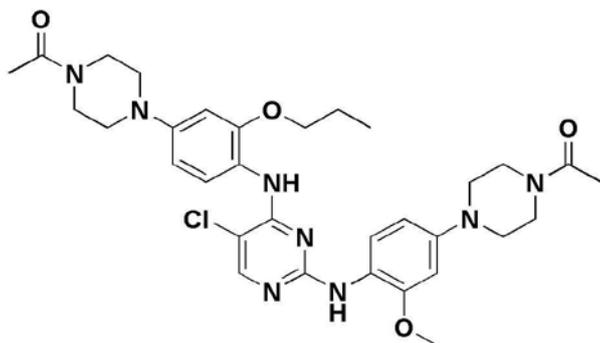
[0414] 将由制备实施例1制备的1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮(40mg)和由制备实施例15制备的1-(4-(4-(2,5-二氯嘧啶-4-基氨基)-3-乙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮(50mg)溶于0.08M HCl乙氧基乙醇溶液(1.2mL)中,并于115°C反应过夜。反应完毕后,减压除去混合液中的溶剂,用乙酸乙酯稀释,以饱和碳酸钠水溶液中和,用硫酸钠将水从有机层中去除,减压去除溶剂。混合物通过柱层析纯化,得到目标产物。

[0415]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.36 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 8.19 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 8.03 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 6.57-6.52 (m, 4H), 4.14 (q,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 3.90 (s, 3H), 3.82-3.78 (m, 4H), 3.68-3.65 (m, 4H), 3.18-3.10 (m, 8H), 2.19 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.51 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 3H);

[0416] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{ClN}_8\text{O}_4$ : 计算值为622.27, 实测值为623.01。

[0417] <实施例2>1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-丙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0418]



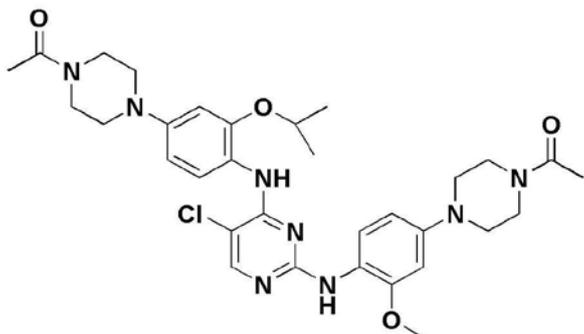
[0419] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例16中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0420]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.34 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H), 8.14 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H), 8.02 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 6.57 (s, 2H), 6.53 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H), 4.03 (t,  $J=6.2\text{Hz}$ , 2H), 3.90 (s, 3H), 3.82 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 4H), 3.69–3.65 (m, 4H), 3.19–3.11 (m, 8H), 2.19 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.91 (sextet,  $J=13.4, 7.1\text{Hz}$ , 2H), 1.12 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 3H);

[0421] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{ClN}_8\text{O}_4$ : 计算值为636.29, 实测值为637.05。

[0422] <实施例3>1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-异丙氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0423]



[0424] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例17中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

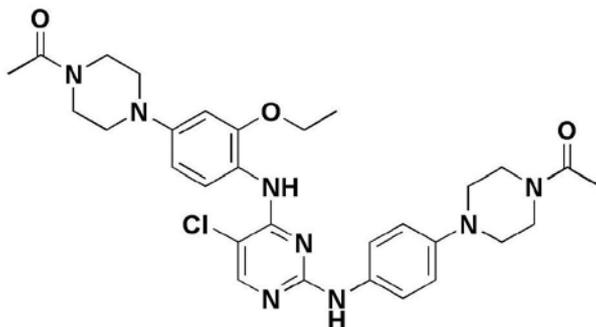
[0425]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.31 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 8.11–8.03 (m, 1H), 7.98–7.90 (m, 2H), 6.60–6.46 (m, 4H), 4.64–4.35 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.85–3.75 (m, 4H), 3.69–3.60 (m, 4H), 3.20–3.07 (m, 8H), 2.16 (s, 6H), 1.42 (s, 3H), 1.40 (s, 3H);

[0426] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{ClN}_8\text{O}_4$ : 计算值为636.29, 实测值为637.05。

[0427] <实施例4>1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-丙氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0437]



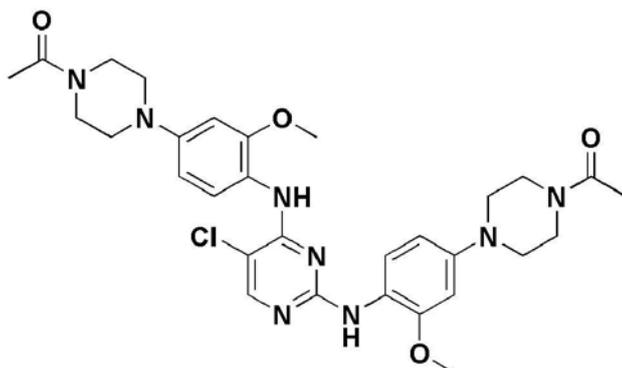
[0438] 以与实施例1相同的方式,只是使用1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮代替制备实施例1制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0439]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.55 (s, 1H), 8.05 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.81 (s, 1H), 7.61-7.51 (m, 2H), 4.19-4.10 (m, 2H), 4.06-3.95 (m, 2H), 3.93-3.81 (m, 4H), 3.80-3.72 (m, 2H), 3.40-3.19 (m, 8H), 2.18 (s, 6H), 2.15 (t,  $J=7.24\text{Hz}$ , 3H);

[0440] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_3$ : 计算值为592.26, 实测值为591.15。

[0441] <实施例7>1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮

[0442]



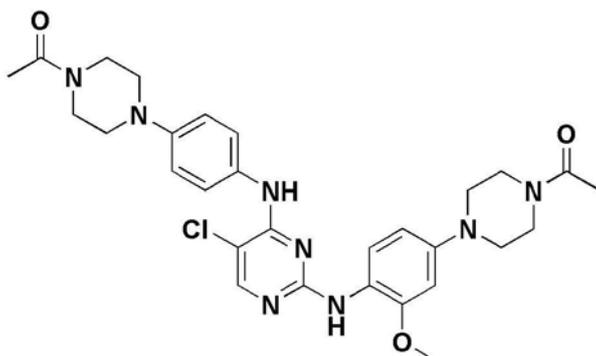
[0443] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例14中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0444]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.29 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 8.15 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 8.01 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 6.53 (m, 4H), 3.92 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.81 (m, 4H), 3.67 (m, 4H), 3.12 (m, 8H), 2.16 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0445] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_4$ : 计算值为608.26, 实测值为609.17。

[0446] <实施例8>1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0447]



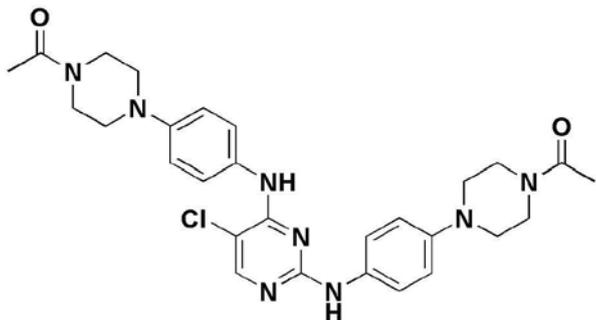
[0448] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例32中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0449]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.12 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 8.02 (s, 1H), 7.50 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H), 7.28 (s, 1H), 6.95 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H), 6.92 (s, 1H), 6.52 (d,  $J=2.5\text{Hz}$ , 1H), 6.42 (dd,  $J=2.5, 8.0\text{Hz}$ , 1H), 3.86 (s, 3H), 3.80 (m, 4H), 3.62 (m, 4H), 3.19 (m, 4H), 3.08 (m, 4H), 2.16 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0450] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{ClN}_8\text{O}_3$ : 计算值为578.25, 实测值为579.13。

[0451] <实施例9>1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮的制备

[0452]

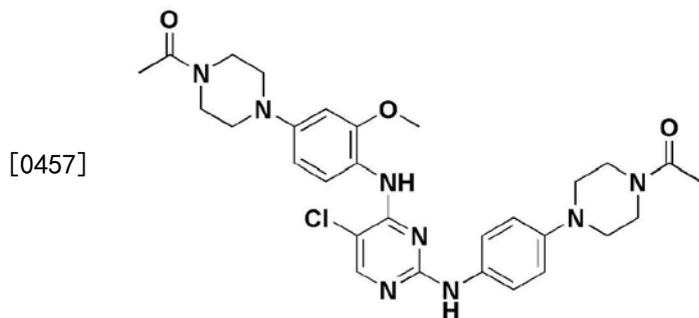


[0453] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例32中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,并用1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮代替制备实施例1中制备的化合物,得到目标化合物。

[0454]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.01 (s, 1H), 7.48 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H), 7.41 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 2H), 6.93 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H), 6.92 (s, 1H), 6.87 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 2H), 6.76 (s, 1H), 3.79 (m, 4H), 3.63 (m, 4H), 3.16 (m, 4H), 3.10 (m, 4H), 2.16 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0455] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{ClN}_8\text{O}_2$ : 计算值为548.24, 实测值为549.17。

[0456] <实施例10>1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

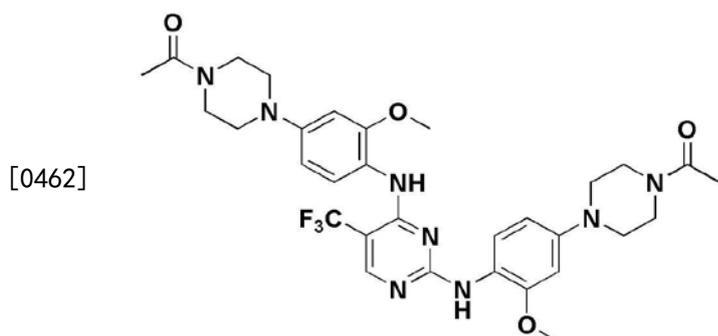


[0458] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例14中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,并用1-(4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-基)乙酮代替制备实施例1中制备的化合物,得到目标化合物。

[0459]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.26 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 8.00 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.43 (m, 2H), 6.90 (m, 2H), 6.79 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.49 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 3.90 (s, 3H), 3.80 (m, 4H), 3.63 (m, 4H), 3.12 (m, 8H), 2.16 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0460] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{ClN}_8\text{O}_3$ : 计算值为578.25, 实测值为579.07。

[0461] <实施例11>1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮的制备

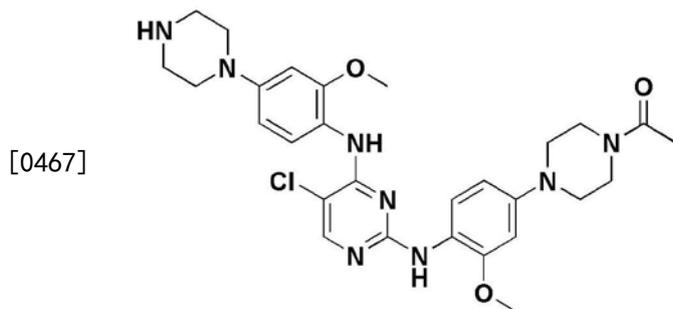


[0463] 将由制备实施例1制备的1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮(250mg)和碳酸钾(120mg)溶于DMF(2mL),于0℃缓慢加入2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(100mg),并于110℃搅拌过夜。反应完毕后,减压除去混合液中的二甲基甲酰胺,加水以析出固体,过滤,得到为白色固体的目标产物。

[0464]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.27 (s, 1H), 8.15 (m, 2H), 7.44 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 6.54 (m, 2H), 6.51 (m, 1H), 6.42 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.80 (m, 4H), 3.70 (m, 4H), 3.16 (m, 8H), 2.17 (s, 6H);

[0465] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_4$ : 计算值为642.29, 实测值为643.06。

[0466] <实施例12>1-(4-(4-(5-氯-4-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0468] 步骤1: 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0469] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例35中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

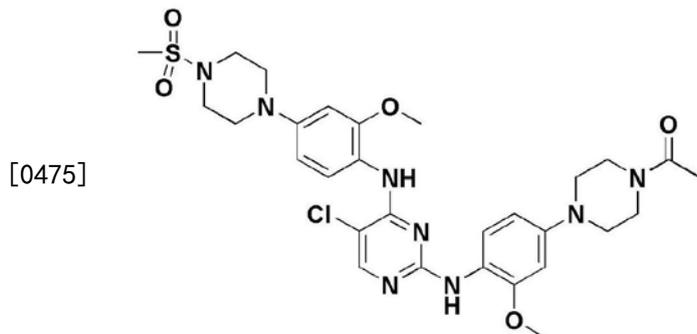
[0470] 步骤2: 1-(4-(4-(5-氯-4-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0471] 将步骤1制备的化合物溶于二氯甲烷(10ml)中,加入4M HCl(二氧杂环己烷溶液, 2ml),并于室温下搅拌过夜。然后混合液经减压蒸馏后,溶于二氯甲烷中。混合液用饱和碳酸氢钠水溶液中和,用盐水洗涤,有机层用硫酸钠干燥。干燥后的有机层减压浓缩,无需进一步纯化就得到目标化合物。

[0472]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.89 (s, 1H), 7.77-7.70 (m, 2H), 6.67-6.64 (m, 2H), 6.49-6.47 (m, 1H), 6.41-6.38 (m, 1H), 3.84 (s, 6H), 3.75-3.64 (m, 4H), 3.17-3.06 (m, 8H), 3.02-2.97 (m, 4H), 2.15 (s, 3H);

[0473] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{ClN}_8\text{O}_3$ : 计算值为566.25, 实测值为566.92。

[0474] <实施例13> 1-(4-(4-(5-氯-4-(2-甲氧基-4-(4-(甲磺酰基)哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



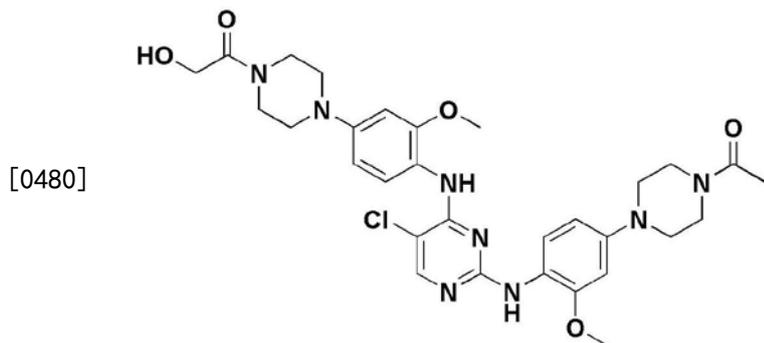
[0476] 将由实施例12制备的化合物(20mg)溶于二氯甲烷(1ml)中,于0℃搅拌,加入三乙胺(10 $\mu$ l)和甲磺酰氯(10 $\mu$ l),并于0℃搅拌。在5分钟内,加入少量的甲醇,减压浓缩除去反应混合液中的溶剂。混合物经HPLC纯化得到目标化合物。

[0477]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.37 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.35-7.26 (m, 2H), 6.75 (s, 1H), 6.65 (s, 1H), 6.54 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 6.35-6.30 (m, 1H), 3.79 (s, 6H), 3.59-3.57 (m, 4H), 3.30-3.27 (m, 8H), 3.16-3.10 (m, 4H), 2.96 (s, 3H), 2.20 (s, 3H);

[0478] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_5\text{S}$ : 计算值为644.23, 实测值为644.88。

[0479] <实施例14> 1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-

4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮的制备

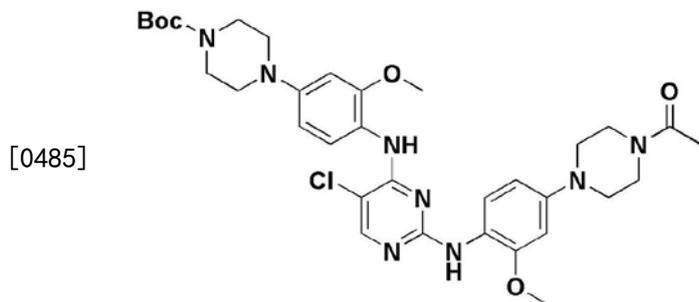


[0481] 将由实施例12制备的化合物(20mg)、乙醇酸(8mg)、EDCI(20mg)和DMAP(5.4mg)溶于二氯甲烷(1ml)中,并于室温搅拌3小时。反应完毕后,减压除去溶剂,除去溶剂的混合物用乙酸乙酯稀释,并用饱和氯化铵水溶液洗涤。以硫酸钠除去所得有机层中的水,减压除去溶剂。反应混合液通柱层析纯化,得到为白色固体的目标化合物。

[0482]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.59 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 8.13 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 8.01 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.59-6.47 (m, 3H), 4.24 (s, 2H), 3.94-3.74 (m, 10H), 3.69-3.60 (m, 2H), 3.53-3.44 (m, 2H), 3.22-3.00 (m, 8H), 2.16 (s, 3H);

[0483] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_5$ : 计算值为624.25, 实测值为624.90。

[0484] <实施例15>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

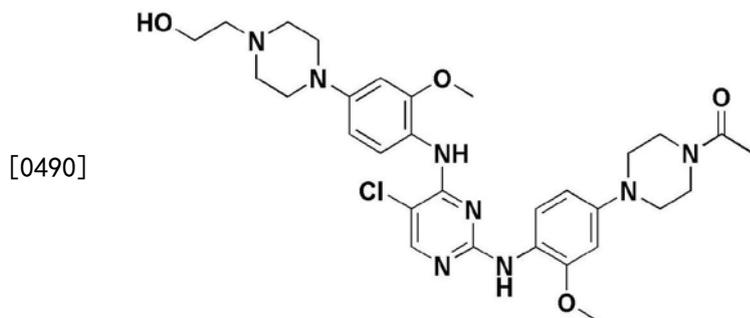


[0486] 以与实施例12步骤1相同的方式得到为白色固体的目标化合物。

[0487]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.27 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 8.16 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 8.01 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 6.58-6.48 (m, 5H), 3.67-3.56 (m, 6H), 3.16-3.05 (m, 8H), 2.15 (s, 3H), 1.49 (s, 9H);

[0488] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{ClN}_8\text{O}_5$ : 计算值为666.30, 实测值为667.02。

[0489] <实施例16>1-(4-(4-(5-氯-4-(4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

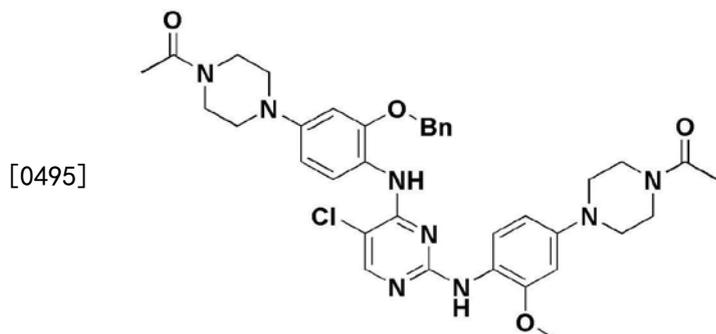


[0491] 将实施例12制备的化合物 (30mg)、2-溴乙醇 (5.7 $\mu$ l) 和碳酸钾 (22mg) 溶于二甲基甲酰胺 (1.5ml) 中,并于60 $^{\circ}$ C反应过夜。反应完毕后,减压除去二甲基甲酰胺,加水,并用乙酸乙酯萃取。由此得到的有机层用饱和盐水洗涤,并用硫酸钠去除水,减压除去溶剂。混合物通过HPLC纯化,得到为黄色油状物的目标化合物。

[0492]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.98 (s, 1H), 7.70 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.35 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 6.78 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.59 (d,  $J=9.9\text{Hz}$ , 1H), 6.50 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 4.05-3.99 (m, 2H), 3.96 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 2H), 3.90 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.83-3.69 (m, 6H), 3.56-3.45 (m, 2H), 3.39 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 2H), 3.29-3.19 (m, 6H), 2.17 (s, 3H);

[0493] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{ClN}_8\text{O}_4$ : 计算值为610.27, 实测值为610.93。

[0494] <实施例17>1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(苄氧基)苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



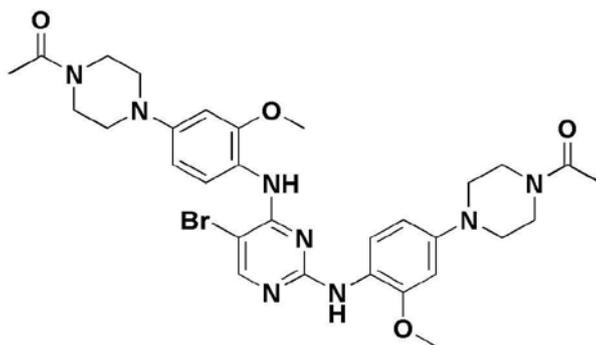
[0496] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例18中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物,得到目标化合物。

[0497]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  9.25 (br, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.31 (m, 7H), 6.84 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.65 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.53 (dd,  $J=2.4, 8.6\text{Hz}$ , 1H), 6.32 (br, 1H), 5.13 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.15 (m, 7H), 2.07 (s, 3H), 2.05 (s, 3H);

[0498] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{36}\text{H}_{41}\text{ClN}_8\text{O}_4$ : 计算值为684.29, 实测值为684.84。

[0499] <实施例18>1,1'-(4,4'-(4,4'-(5-溴嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮的制备

[0500]



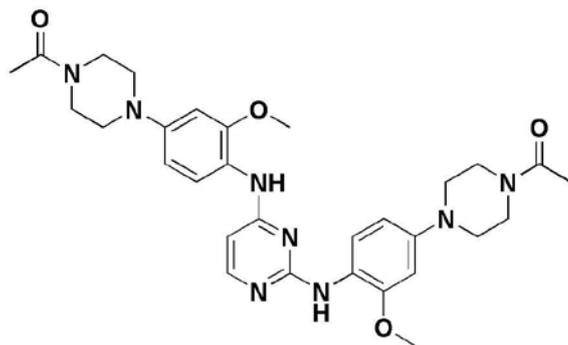
[0501] 将1-(4-(4-氨基-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮(200mg)和碳酸钾(230mg)溶于二甲基甲酰胺(3mL)中,于0℃缓慢加入5-溴-2,4-二氯嘧啶(70mg),并于100℃搅拌过夜。反应完毕后,减压除去反应混合液中的二甲基甲酰胺,加水以析出固体,过滤,得到为白色固体的目标产物。

[0502]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.10 (br, 1H), 8.15 (br, 1H), 7.30 (br, 1H), 7.20 (br, 1H), 6.68 (br, 1H), 6.60 (br, 1H), 6.42 (m, 1H), 6.23 (br, 1H), 3.71 (s, 6H), 3.50 (m, 4H), 3.41 (m, 4H), 3.08 (m, 8H), 1.99 (s, 6H);

[0503] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{30}H_{37}BrN_8O_4$ : 计算值为652.21, 实测值为652.85。

[0504] <实施例19>1,1'-(4,4'-(4,4'-(嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮的制备

[0505]



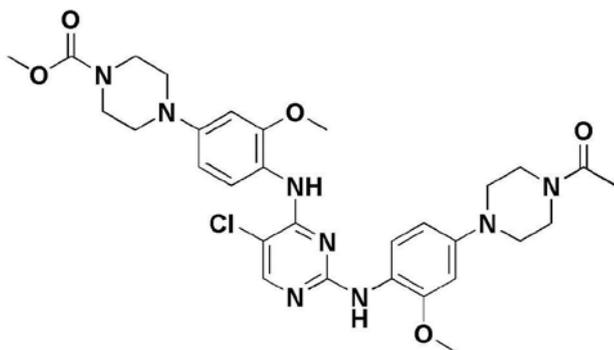
[0506] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例31中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,然后通过反相HPLC进一步纯化,得到目标化合物。

[0507]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.64 (br, 1H), 10.0 (s, 1H), 9.51 (br, 1H), 7.72 (br, 1H), 7.46 (br, 1H), 7.28 (br, 1H), 6.69 (s, 2H), 6.56 (br, 1H), 6.48 (s, 1H), 6.46 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.16 (m, 8H), 2.01 (s, 6H);

[0508] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{30}H_{38}FN_8O_4$ : 计算值为574.30, 实测值为574.95。

[0509] <实施例20>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯的制备

[0510]



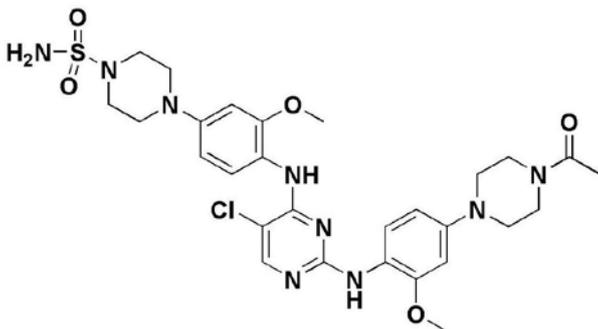
[0511] 以与实施例13相同的方式,只是使用氯甲酸甲酯(methylcarbonochloridate)代替甲磺酰氯,得到为白色固体的目标化合物。

[0512]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 7.98 (s, 1H) , 7.55 (s, 1H) , 7.59 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H) , 6.76-6.69 (m, 3H) , 6.52 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H) , 6.47 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H) , 3.92 (s, 1H) , 3.90-3.83 (m, 6H) , 3.79-3.73 (m, 3H) , 3.72-3.61 (m, 8H) , 3.29-3.17 (m, 8H) , 2.17 (s, 3H) ;

[0513] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_5$ : 计算值为624.26, 实测值为624.90。

[0514] <实施例21>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-磺酰胺的制备

[0515]



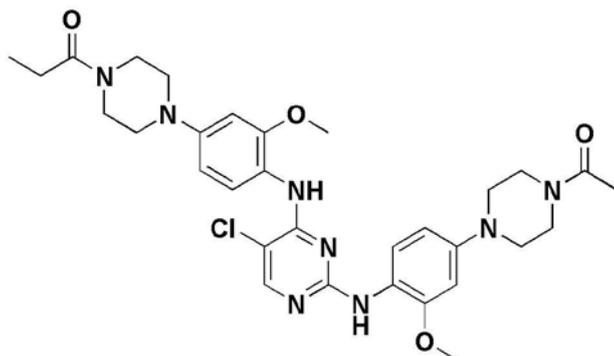
[0516] 以与实施例14相同的方式,只是使用二硫化物代替乙醇酸加入三乙胺(10 $\mu$ l),并回流2小时,得到为白色固体的目标化合物。

[0517]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 7.99 (s, 1H) , 7.48 (s, 1H) , 7.28 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H) , 6.73 (s, 1H) , 6.68 (s, 1H) , 6.58 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H) , 6.42 (s, 1H) , 4.22 (s, 1H) , 3.84 (s, 6H) , 3.76-3.69 (m, 4H) , 3.35-3.17 (m, 12H) , 2.16 (s, 3H) ;

[0518] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{ClN}_9\text{O}_5\text{S}$ : 计算值为645.22, 实测值为645.89。

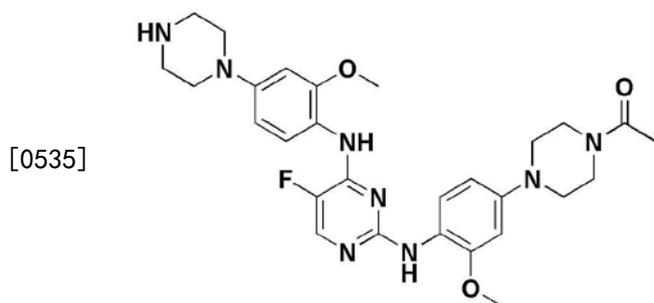
[0519] <实施例22>1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)丙烷-1-酮

[0520]





[0534] <实施例25>1-(4-(4-(5-氟-4-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0536] 步骤1:4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0537] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例27制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

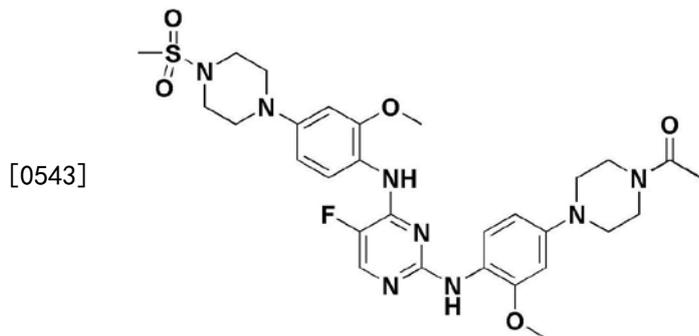
[0538] 步骤2:1-(4-(4-(5-氟-4-(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0539] 以与实施例12的步骤2相同的方式,只是使用上述步骤1制备的化合物代替实施例12步骤1制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0540]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.81 (s, 1H), 7.79 (d,  $J=11\text{Hz}$ , 1H), 7.69 (d,  $J=8\text{Hz}$ , 1H), 6.69 (s, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.53 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 6.40 (d,  $J=11\text{Hz}$ , 1H), 3.84 (s, 6H), 3.75-3.67 (m, 4H), 3.18-2.99 (m, 12H), 2.15 (s, 3H);

[0541] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{FN}_8\text{O}_3$ : 计算值为550.63, 实测值为551.16。

[0542] <实施例26>1-(4-(4-(5-氟-4-(2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



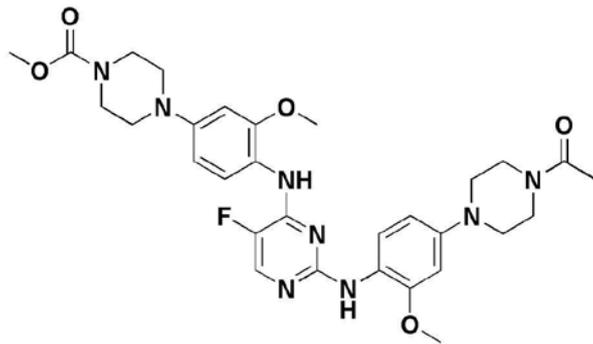
[0544] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例25制备的化合物代替制备实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0545]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.35 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 8.18 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.91 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.55 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H), 3.91 (s, 3H), 3.88 (m, 3H), 3.78 (d,  $J=4.0\text{Hz}$ , 2H), 3.64 (s, 2H), 3.42 (d,  $J=4.0\text{Hz}$ , 4H), 3.27 (d,  $J=4.0\text{Hz}$ , 4H), 3.10 (s, 4H), 2.85 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0546] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{FN}_8\text{O}_5\text{S}$ : 计算值为628.72, 实测值为628.88。

[0547] <实施例27>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯的制备

[0548]



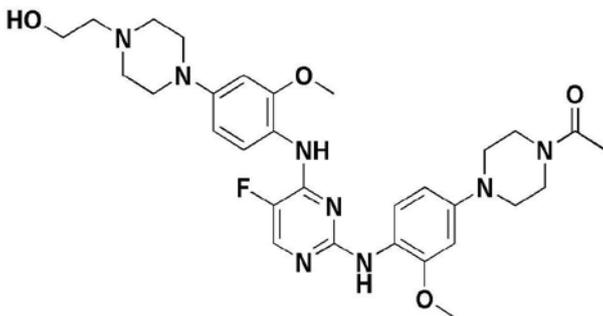
[0549] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例25制备的化合物代替制备实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0550]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.31 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 8.18 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 7.89 (s, 1H), 6.55 (d,  $J=5.1\text{Hz}$ , 3H), 3.90 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.78 (d,  $J=4.2\text{Hz}$ , 2H), 3.74 (s, 3H), 3.65 (s, 6H), 3.11 (d,  $J=4.2\text{Hz}$ , 8H), 2.15 (s, 3H);

[0551] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{FN}_8\text{O}_5$ : 计算值为608.66, 实测值为608.97。

[0552] <实施例28>1-(4-(4-(5-氟-4-(4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0553]



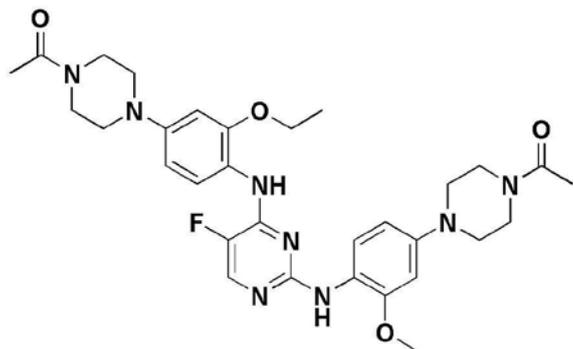
[0554] 以与实施例16相同的方式,只是使用实施例25制备的化合物代替制备实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0555]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.29 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 8.17 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 7.89 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.55 (s, 2H), 6.54 (s, 1H), 6.51 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 3.90 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.79 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 2H), 3.71 (t,  $J=5.1\text{Hz}$ , 2H), 3.63 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 2H), 3.22 (t,  $J=4.6\text{Hz}$ , 4H), 3.11 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 2H), 3.08 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 2H), 2.76 (t,  $J=4.6\text{Hz}$ , 4H), 2.67 (t,  $J=5.1\text{Hz}$ , 2H), 2.15 (s, 3H);

[0556] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{FN}_8\text{O}_4$ : 计算值为594.68, 实测值为594.93。

[0557] <实施例29>1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-乙氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0558]



[0559] 步骤1:1-(4-(4-(2-氯-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-乙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0560] 以与制备实施例33相同的方式,只是使用制备实施例2制备的化合物代替制备实施例1制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0561] 步骤2:1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-乙氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

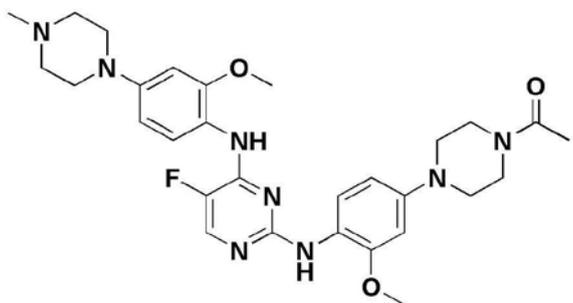
[0562] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例29步骤1制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物(21mg,28%)。

[0563]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.35 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 8.19 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.90 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.52 (s, 3H), 6.51 (s, 1H), 4.12 (q,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H), 3.88 (s, 3H), 3.79 (s, 4H), 3.64 (s, 4H), 3.16-3.08 (m, 8H), 2.15 (s, 6H), 1.47 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H);

[0564]  $\text{Mass (M+H}^+)$   $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{FN}_8\text{O}_4$ : 计算值为606.69, 实测值为606.94。

[0565] <实施例30>1-(4-(4-(5-氟-4-(2-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0566]



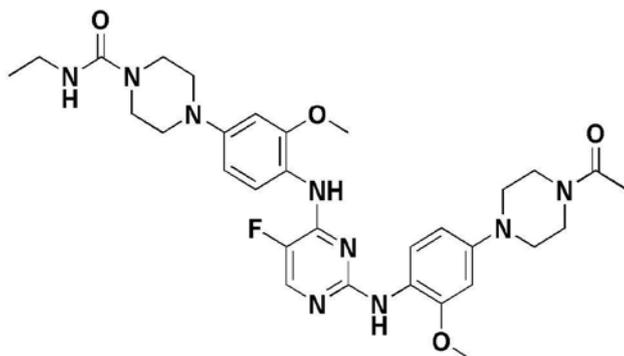
[0567] 以与实施例13相同的方式,只是使用碘甲烷代替甲磺酰氯得到目标化合物。

[0568]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.28 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 8.19 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.88 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 6.55 (d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 3H), 3.90 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.77 (s, 2H), 3.64 (s, 2H), 3.19 (s, 4H), 3.09 (s, 4H), 2.62 (s, 4H), 2.38 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0569]  $\text{Mass (M+H}^+)$   $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{FN}_8\text{O}_3$ : 计算值为564.65, 实测值为564.83。

[0570] <实施例31>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)-N-乙基哌嗪-1-甲酰胺的制备

[0571]



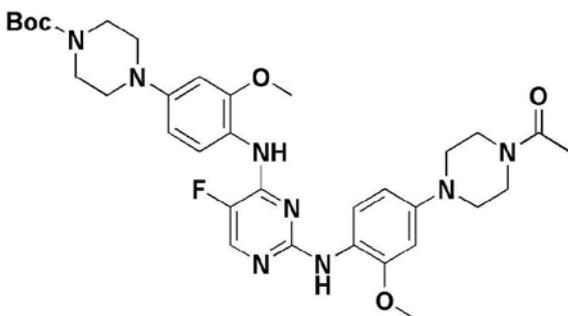
[0572] 以与实施例13相同的方式,只是使用异氰酸乙酯代替甲磺酰氯得到目标化合物。

[0573]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.29 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 8.13 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 7.89 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.55 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 4.63 (br, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.80 (t,  $J=4.1\text{Hz}$ , 2H), 3.66 (t,  $J=4.4\text{Hz}$ , 2H), 3.55 (t,  $J=4.1\text{Hz}$ , 4H), 3.30 (q,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 3.13 (t,  $J=4.4\text{Hz}$ , 8H), 2.15 (s, 3H), 3.30 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H);

[0574] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{FN}_9\text{O}_4$ : 计算值为621.71, 实测值为622.00。

[0575] <实施例32>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0576]



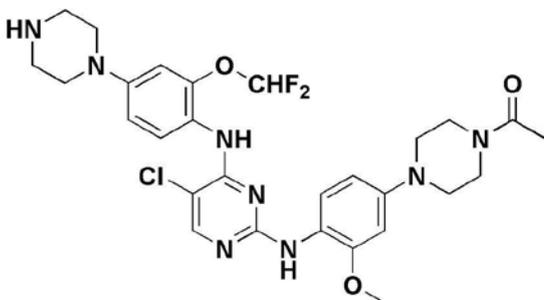
[0577] 以与实施例25步骤1相同的方式得到目标化合物。

[0578]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.32 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 8.19 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.90 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.55 (d,  $J=6.4\text{Hz}$ , 1H), 3.90 (s, 3H), 3.88 (m, 3H), 3.79 (s, 2H), 3.61 (s, 6H), 3.11 (s, 8H), 2.15 (s, 3H), 1.49 (s, 9H);

[0579] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{FN}_8\text{O}_5$ : 计算值为650.74, 实测值为651.02。

[0580] <实施例33>1-(4-(4-(5-氯-4-(2-(二氟甲氧基)-4-(哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0581]

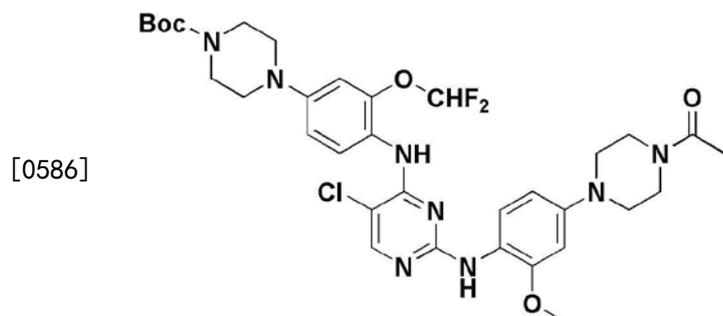


[0582] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例21制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0583]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.85 (br, 2H), 8.13 (s, 1H), 7.42 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.29 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.01 (t,  $J=74\text{Hz}$ , 1H), 6.90 (m, 2H), 6.64 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.32 (br, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.58 (m, 4H), 3.41 (m, 4H), 3.26 (m, 4H), 3.15 (m, 2H), 3.08 (m, 2H), 2.05 (s, 3H);

[0584] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{28}H_{33}ClF_2N_8O_3$ : 计算值为602.23, 实测值为602.89。

[0585] <实施例34>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

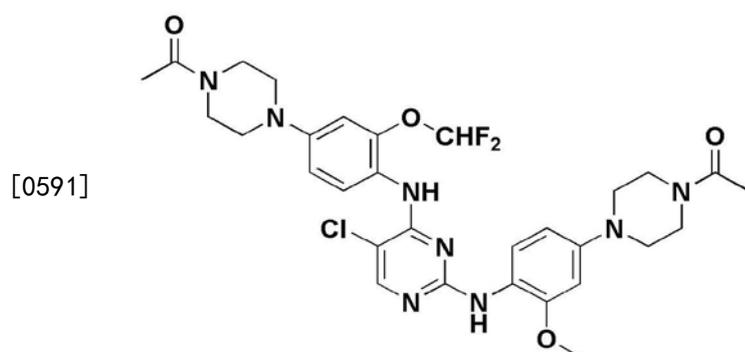


[0587] 将实施例33制备的化合物溶于二氯甲烷, 加入二碳酸二叔丁酯, 并于室温搅拌1小时。然后, 混合液经减压浓缩, 通过柱层析(硅胶)纯化, 得到目标化合物。

[0588]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 8.21 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 8.08 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 8.05 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.81 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.77 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.50 (t,  $J=74\text{Hz}$ , 1H), 6.45 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 3.88 (s, 3H), 3.79 (m, 2H), 3.60 (m, 6H), 3.30 (m, 8H), 2.16 (s, 3H), 1.26 (s, 9H);

[0589] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{33}H_{41}ClF_2N_8O_5$ : 计算值为702.29, 实测值为702.94。

[0590] <实施例35>1-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(二氟甲氧基)苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



[0592] 以与实施例34相同的方式, 只是使用乙酸酐代替二碳酸二叔丁酯得到目标化合物。

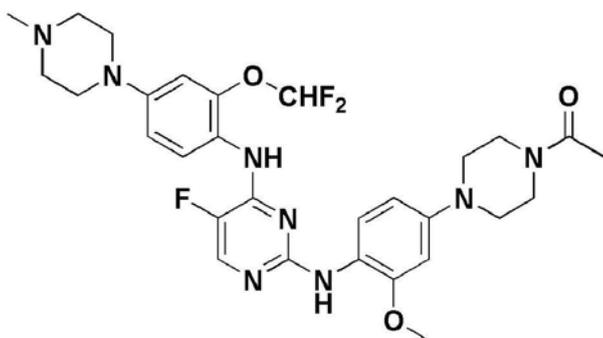
[0593]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.34 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.40 (m, 2H), 6.94 (t,  $J=74\text{Hz}$ , 1H), 6.83 (m, 2H), 6.60 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.23 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.57 (m, 4H), 3.17 (m, 4H), 3.04 (m, 4H), 2.07 (s, 3H), 2.05 (s, 3H);

[0594] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{30}H_{35}ClF_2N_8O_4$ : 计算值为644.24, 实测值为644.95。

[0595] <实施例36>1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮的制备



[0609]



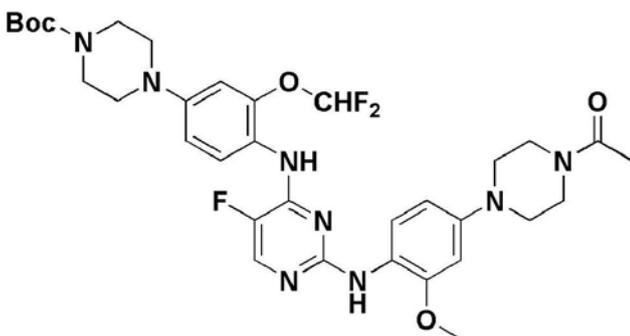
[0610] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例37制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,并用碘甲烷代替甲磺酰氯,得到目标化合物(8.4mg,24%)。

[0611]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.18 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 8.11 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 7.93 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.81 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 6.74 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.50 (t,  $J=74.3\text{Hz}$ , 1H), 6.46 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 3.87 (s, 3H), 3.78 (s, 2H), 3.62 (s, 2H), 3.21 (s, 4H), 3.09 (s, 4H), 2.60 (s, 4H), 2.38 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0612] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_3$ : 计算值为600.64, 实测值为601.19。

[0613] <实施例39>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0614]

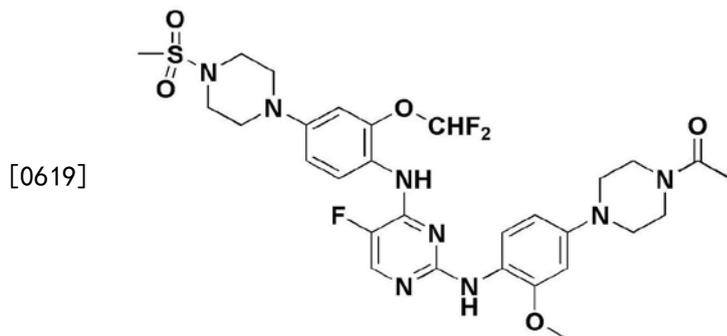


[0615] 以与实施例34相同的方式,只是使用实施例37制备的化合物代替实施例33制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0616]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.23 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H), 8.12 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.94 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.81 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H), 6.75 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.51 (t,  $J=73.5\text{Hz}$ , 1H), 6.48 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 3.87 (s, 3H), 3.78 (s, 2H), 3.61 (s, 6H), 3.21 (s, 8H), 2.15 (s, 3H), 1.49 (s, 9H);

[0617] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_3$ : 计算值为686.72, 实测值为687.24。

[0618] <实施例40>1-(4-(4-(4-(2-(二氟甲氧基)-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

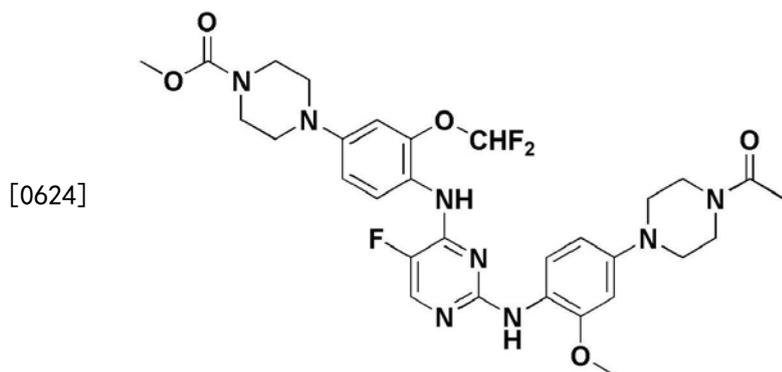


[0620] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例37制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0621]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.27 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 8.10 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.94 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.82 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 6.78 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.52 (t,  $J=75.6\text{Hz}$ , 1H), 6.47 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 3.87 (s, 3H), 3.78 (s, 2H), 3.63 (s, 2H), 3.41 (s, 4H), 3.28 (s, 4H), 3.09 (s, 4H), 2.85 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0622] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_5\text{S}$ : 计算值为664.70, 实测值为665.24。

[0623] <实施例41> 4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯的制备



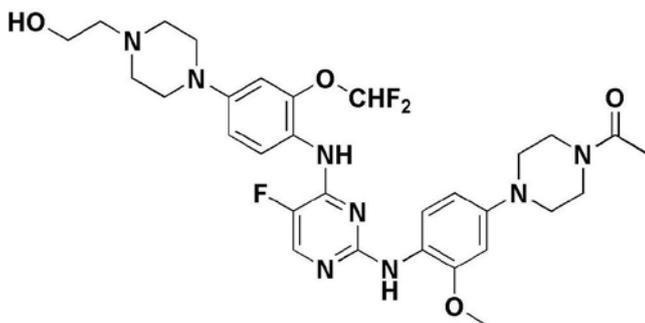
[0625] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例37制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,并用甲基碳酰氯代替甲磺酰氯,得到目标化合物。

[0626]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.23 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 8.11 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.94 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.81 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 6.75 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.50 (t,  $J=75.6\text{Hz}$ , 1H), 6.47 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 3.87 (s, 3H), 3.77 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.64-3.60 (m, 6H), 3.13-3.06 (m, 8H), 2.14 (s, 3H);

[0627] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_5$ : 计算值为644.64, 实测值为645.19。

[0628] <实施例42> 1-(4-(4-(4-(2-(二氟甲氧基)-4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)苯基氨基)-5-氟嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0629]



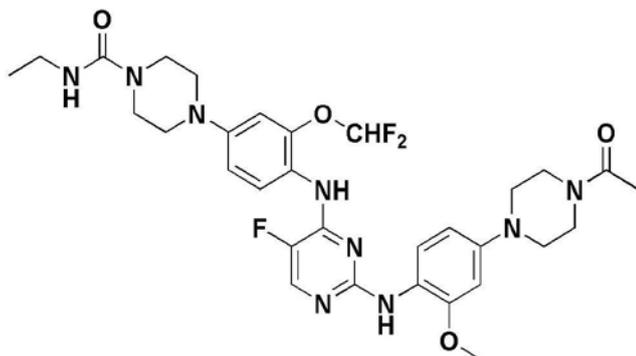
[0630] 以与实施例16相同的方式,只是使用实施例37制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0631]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.19 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 8.10 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 7.93 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.81 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 6.75 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.50 (t,  $J=74.2\text{Hz}$ , 1H), 6.47 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 3.87 (s, 3H), 3.77 (s, 2H), 3.71-3.66 (m, 2H), 3.63 (s, 2H), 3.22 (s, 4H), 3.09 (s, 4H), 2.71 (s, 4H), 2.66-2.63 (m, 2H), 2.15 (s, 3H);

[0632] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_4$ : 计算值为630.66, 实测值为631.22。

[0633] <实施例43>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)-N-乙基哌嗪-1-甲酰胺的制备

[0634]



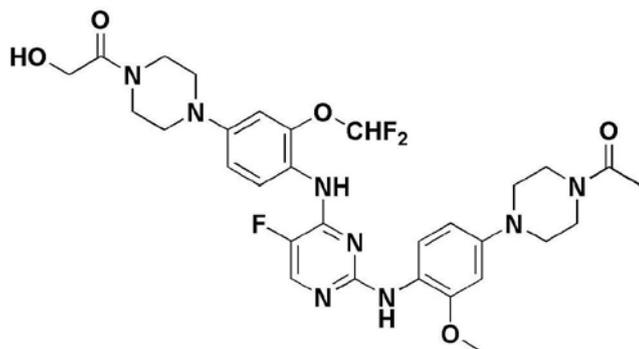
[0635] 以与实施例14相同的方式,只是使用实施例37制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,并用乙基氨基甲酸代替乙醇酸,得到目标化合物。

[0636]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.20 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 8.05 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 7.94 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.78 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.75 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.50 (t,  $J=74.5\text{Hz}$ , 1H), 6.46 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 4.68 (brs, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.79 (s, 2H), 3.64 (m, 2H), 3.55 (s, 4H), 3.30 (q,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 3.18-3.09 (m, 8H), 2.15 (s, 4H), 1.17 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 3H);

[0637] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{F}_3\text{N}_9\text{O}_4$ : 计算值为657.69, 实测值为658.22。

[0638] <实施例44>1-(4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氟嘧啶-4-基氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮的制备

[0639]



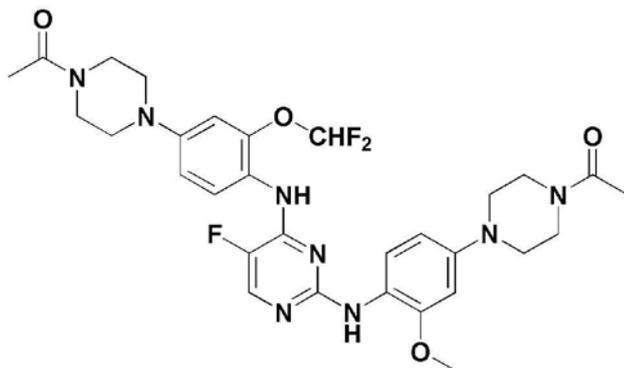
[0640] 以与实施例14相同的方式,只是使用实施例37制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0641]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.28 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 8.12 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 7.95 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.81 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 6.77 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.52 (t,  $J=73.4\text{Hz}$ , 1H), 6.48 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 4.23 (s, 2H), 3.87 (s, 5H), 3.78 (s, 2H), 3.63 (m, 2H), 3.47 (s, 2H), 3.18 (s, 4H), 3.09 (s, 4H), 2.15 (s, 3H);

[0642] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_5$ : 计算值为644.64, 实测值为645.19。

[0643] <实施例45> 1-(4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(二氟甲氧基)苯基)氨基)-5-氟嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0644]



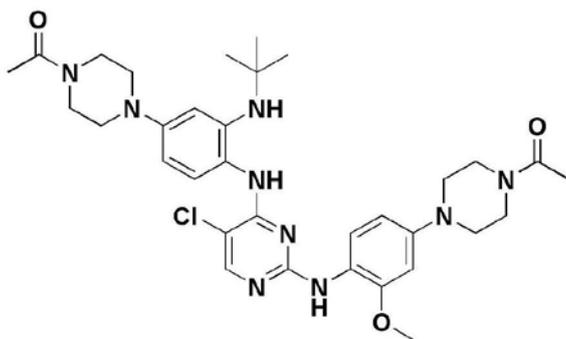
[0645] 将实施例37制备的化合物 (30mg)、乙酸酐 (7 $\mu$ l) 和三乙胺 (11 $\mu$ l) 溶于二氯甲烷 (1ml) 中, 室温搅拌过夜。反应完毕后, 减压蒸馏除去溶剂, 通过制备TLC (pre. TLC) 纯化, 得到目标化合物 (26.9mg, 79%)。

[0646]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.25 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 8.11 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 7.94 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.81 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 6.76 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.52 (t,  $J=73.4\text{Hz}$ , 1H), 6.47 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 3.87 (s, 3H), 3.79 (s, 4H), 3.63 (m, 4H), 3.16-3.09 (m, 8H), 2.15 (s, 6H);

[0647] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_4$ : 计算值为628.65, 实测值为629.20。

[0648] <实施例46> 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(叔丁基氨基)苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0649]



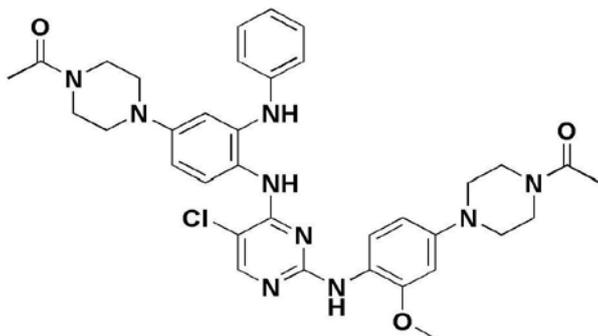
[0650] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例24制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0651]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.92 (s, 1H), 7.72 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.33 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 6.76-6.70 (m, 1H), 6.63-6.54 (m, 2H), 6.32-6.24 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.79-3.47 (m, 11H), 3.25-3.17 (m, 4H), 3.12-3.00 (m, 4H), 2.15 (d,  $J=5.7\text{Hz}$ , 6H);

[0652]  $\text{Mass (M+H}^+)$   $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{ClN}_9\text{O}_3$ : 计算值为649.33, 实测值为650.08。

[0653] <实施例47> 1-(4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(苯基氨基)苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0654]



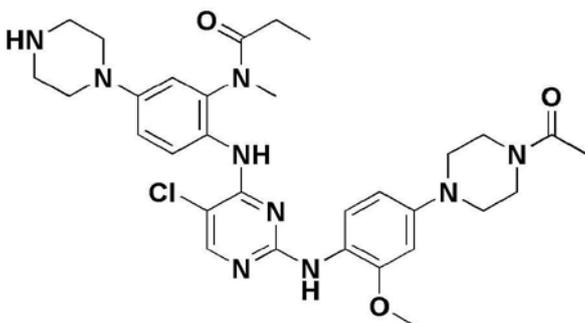
[0655] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例23制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0656]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.20 (d,  $J=9.6\text{Hz}$ , 1H), 8.06-7.95 (m, 1H), 7.76-7.64 (m, 1H), 7.63-7.47 (m, 3H), 7.44-7.33 (m, 1H), 7.10-6.95 (m, 2H), 6.65-6.47 (m, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.69-3.41 (m, 10H), 3.40-3.31 (m, 1H), 3.21-3.00 (m, 8H), 2.12 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 6H);

[0657]  $\text{Mass (M+H}^+)$   $\text{C}_{35}\text{H}_{40}\text{ClN}_9\text{O}_3$ : 计算值为669.29, 实测值为669.93。

[0658] <实施例48> N-(2-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-5-(哌嗪-1-基)苯基)-N-甲基丙酰胺的制备

[0659]



[0660] 步骤1:4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-(N-甲基丙酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0661] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例25制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0662] 步骤2:N-(2-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-5-(哌嗪-1-基)苯基)-N-甲基丙酰胺的制备

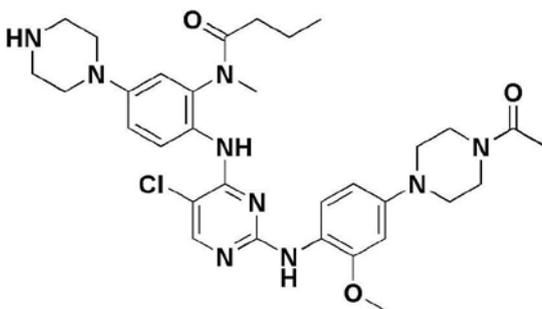
[0663] 以与实施例12步骤2相同的方式,只是使用上述步骤1制备的化合物代替实施例12步骤1制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0664]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.91 (s, 1H), 7.51 (dd,  $J=9.3\text{Hz}$ , 2H), 7.15-7.08 (m, 1H), 6.9 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.21 (dd,  $J=1.2, 9.0\text{Hz}$ , 1H), 3.78-3.63 (m, 8H), 3.31 (s, 3H), 3.14-3.01 (m, 8H), 2.15 (s, 3H), 2.11-1.99 (m, 2H), 0.80 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H);

[0665]  $\text{Mass (M+H}^+)$   $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{ClN}_9\text{O}_3$ : 计算值为621.19, 实测值为622.11。

[0666] <实施例49>N-(2-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-5-(哌嗪-1-基)苯基)-N-甲基丁酰胺的制备

[0667]



[0668] 步骤1:4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-(N-甲基丁酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0669] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例26制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0670] 步骤2:N-(2-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-5-(哌嗪-1-基)苯基)-N-甲基丁酰胺的制备

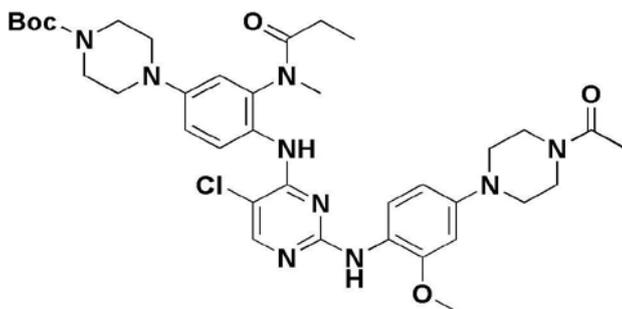
[0671] 以与实施例12步骤2相同的方式,只是使用上述步骤1制备的化合物代替实施例12步骤1制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0672]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.91 (s, 1H), 7.58 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.47 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.11 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.93 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.21 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 3.83 (s, 3H), 3.74-3.71 (m, 4H), 3.31 (s, 3H), 3.26-3.20 (m, 4H), 3.14-2.98 (m, 8H), 2.15 (s, 3H), 2.08-1.96 (m, 2H), 1.42-1.82 (m, 2H), 0.58 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H);

[0673]  $\text{Mass (M+H}^+)$   $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{ClN}_9\text{O}_3$ : 计算值为635.31, 实测值为636.15。

[0674] <实施例50>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-(N-甲基丙酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0675]



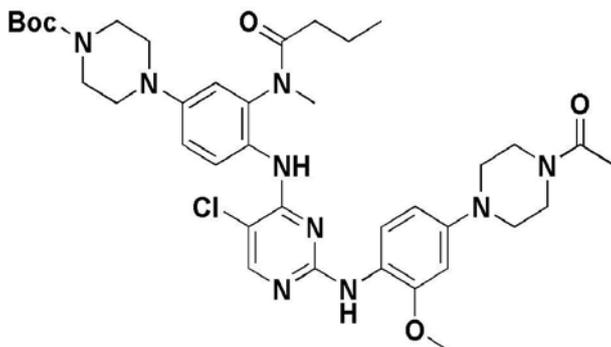
[0676] 以与实施例34相同的方式,只是使用实施例48制备的化合物代替实施例33制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0677]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.32 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 8.14–8.02 (m, 2H), 7.04 (s, 1H), 6.98 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 6.40–6.70 (m, 1H), 6.59–6.43 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.71–3.48 (m, 8H), 3.23 (s, 3H), 3.14–3.03 (m, 8H), 2.16 (s, 3H), 1.50 (s, 9H), 1.04 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 3H);

[0678] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{ClN}_9\text{O}_5$ : 计算值为721.35, 实测值为722.34。

[0679] <实施例51>4-(4-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)-3-(N-甲基丁酰胺基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0680]

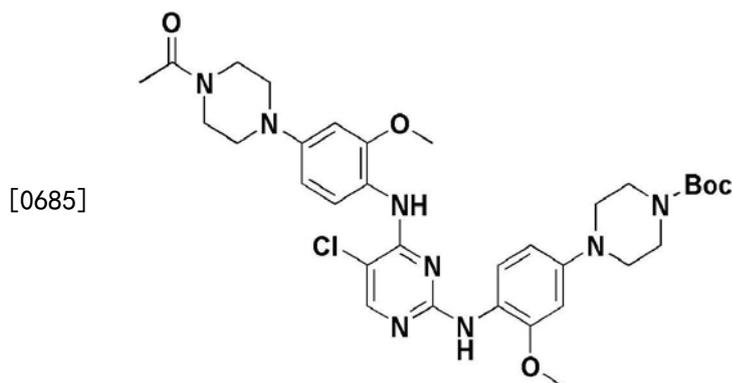


[0681] 以与实施例34相同的方式,只是使用实施例49制备的化合物代替实施例33制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0682]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.32 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 8.11 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 8.04 (s, 1H), 6.99–6.93 (m, 1H), 6.76–6.69 (m, 1H), 6.55 (m, 1H), 6.50 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 3.89 (s, 3H), 3.763–3.52 (m, 8H), 3.22 (s, 3H), 3.14–3.13 (m, 8H), 2.16 (s, 3H), 1.61–1.53 (m, 2H), 1.50 (s, 9H), 1.28–1.20 (m, 2H), 0.80 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H);

[0683] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{37}\text{H}_{45}\text{ClN}_9\text{O}_5$ : 计算值为735.36, 实测值为736.38。

[0684] <实施例52>4-(4-(4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

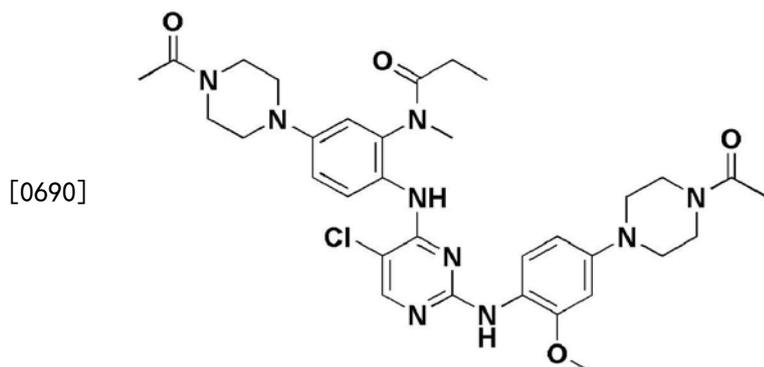


[0686] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例14制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,并用制备实施例34制备的化合物代替制备实施例1制备的化合物,得到目标化合物。

[0687]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.28 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H) , 8.12 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H) , 8.00 (s, 1H) , 7.57 (s, 1H) , 7.23 (s, 1H) , 6.52 (m, 4H) , 3.91 (s, 3H) , 3.87 (s, 3H) , 3.80 (m, 2H) , 3.65 (m, 2H) , 3.59 (m, 4H) , 3.14 (m, 4H) , 3.07 (m, 4H) , 2.16 (s, 3H) , 1.48 (s, 9H) ;

[0688] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{ClN}_8\text{O}_5$ : 计算值为666.30, 实测值为667.19。

[0689] <实施例53>N-(5-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)苯基)-N-甲基丙酰胺的制备

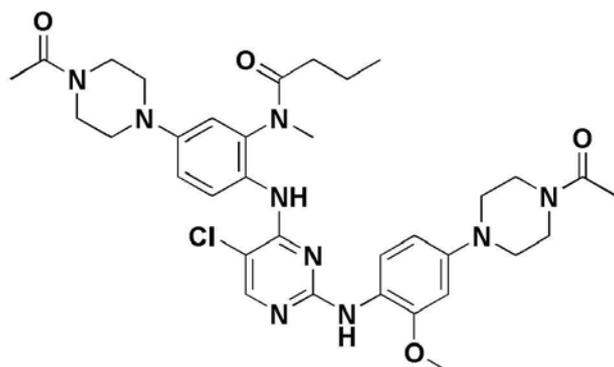


[0691] 以与实施例45相同的方式,只是使用实施例48制备的化合物代替实施例37制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0692]  $^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.35 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H) , 8.09 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H) , 8.05 (s, 1H) , 7.06 (s, 1H) , 6.97 (ddd,  $J=0.5, 2.0, 9.5\text{Hz}$ , 1H) , 6.73 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H) , 6.54 (d,  $J=1.5\text{Hz}$ , 1H) , 6.48 (dd,  $J=1.5, 8.5\text{Hz}$ , 1H) , 3.89 (s, 3H) , 3.80-3.75 (m, 4H) , 3.68-3.62 (m, 4H) , 3.23 (s, 3H) , 3.20-3.00 (m, 2H) , 2.17 (s, 3H) , 2.16 (s, 3H) , 2.10-2.00 (m, 2H) , 1.10-1.00 (m, 3H) .

[0693] <实施例54>N-(5-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-(2-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基氨基)-5-氯嘧啶-4-基氨基)苯基)-N-甲基丁酰胺的制备

[0694]

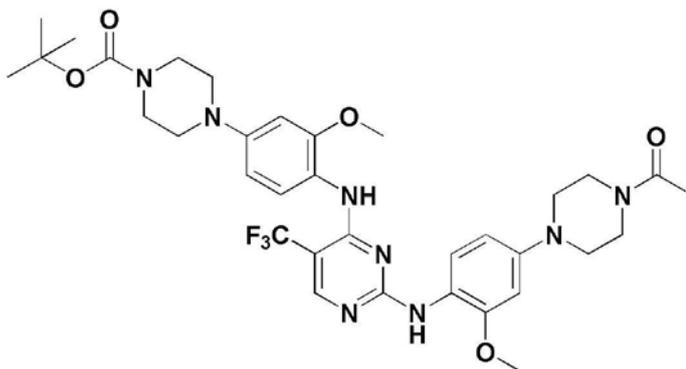


[0695] 以与实施例45相同的方式,只是使用实施例49制备的化合物代替实施例37制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0696]  $^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.35 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 8.09 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 8.05 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.97 (ddd,  $J=0.5, 2.0, 9.5\text{Hz}$ , 1H), 6.73 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H), 6.54 (d,  $J=1.5\text{Hz}$ , 1H), 6.48 (dd,  $J=1.5, 8.5\text{Hz}$ , 1H), 3.89 (s, 3H), 3.80-3.75 (m, 4H), 3.68-3.62 (m, 4H), 3.23 (s, 3H), 3.20-3.00 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.10-2.00 (m, 2H), 1.70-1.45 (m, 2H), 0.90-0.75 (m, 3H)。

[0697] <实施例55>4-(4-((2-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

[0698]



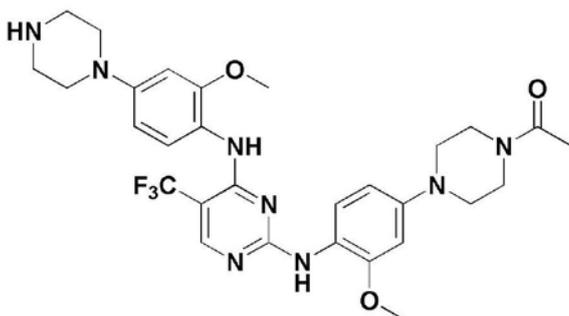
[0699] 将制备实施例29制备的化合物(928mg)和制备实施例1制备的化合物(474mg)溶于0.08M HCl (19ml, 于乙氧基乙醇溶液中),并于50°C搅拌过夜。反应完毕后,减压蒸馏除去溶剂,然后溶于乙酸乙酯。混合液以饱和碳酸氢钠水溶液中中和,进行层分离,用饱和盐水洗涤。洗涤后的混合液用硫酸钠干燥,减压蒸馏除去溶剂。使用乙醚使浓缩后的混合物形成晶体,过滤,得到目标化合物(1.07mg, 80%)。

[0700]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.25 (s, 1H), 8.12 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H), 7.43 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 6.54 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 6.45 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 3.88 (s, 6H), 3.79 (s, 2H), 3.66-3.65 (m, 6H), 3.14-3.08 (m, 8H), 2.15 (s, 3H), 1.45 (s, 9H) ;

[0701] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_5$ : 计算值为700.5, 实测值为701.28。

[0702] <实施例56>1-(4-(3-甲氧基-4-((4-((2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0703]



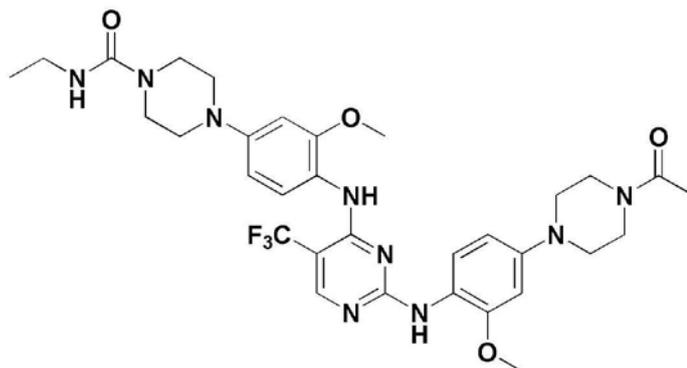
[0704] 将制备实施例55制备的化合物(1.07g)溶于二氯甲烷,加入4M HCl(二氧杂环己烷溶液,2ml),室温搅拌过夜。然后生成物通过减压蒸馏除去溶剂,再用二氯甲烷稀释。用饱和碳酸氢钠水溶液中中和生成物,薄层分离。分离出的有机层用饱和盐水洗涤,用硫酸钠干燥。然后有机层通过减压蒸馏除去溶剂,无需进一步纯化就得到目标化合物(721.4mg,77%)。

[0705]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.23 (s, 1H), 8.10-8.04 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.53-6.41 (m, 4H), 3.85 (s, 6H), 3.77 (s, 2H), 3.61 (s, 2H), 3.13-3.07 (m, 12H), 2.13 (s, 3H);

[0706] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_3$ : 计算值为600.64, 实测值为601.19。

[0707] <实施例57>4-(4-(2-((4-(4-乙酰哌嗪)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)-N-乙基哌嗪-1-甲酰胺的制备

[0708]



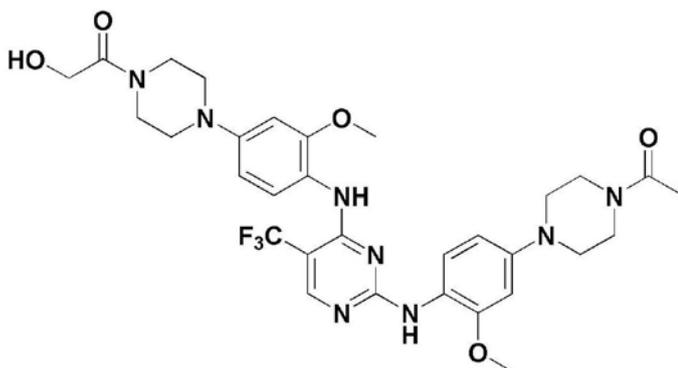
[0709] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例56制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,并用异氰酸乙酯代替甲磺酰氯,得到目标化合物(26mg,77%)。

[0710]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.25 (s, 1H), 8.07 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 8.01 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 7.42 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 6.53 (s, 2H), 6.45 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 4.86 (br, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.79 (s, 2H), 3.65 (s, 2H), 3.56 (s, 4H), 3.31 (dd,  $J=6.2, 12.2\text{Hz}$ , 2H), 3.14 (s, 4H), 2.15 (s, 3H), 1.18 (t,  $J=6.2\text{Hz}$ , 3H);

[0711] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{F}_3\text{N}_9\text{O}_4$ : 计算值为671.71, 实测值为672.258。

[0712] <实施例58>1-(4-(4-(2-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮的制备

[0713]



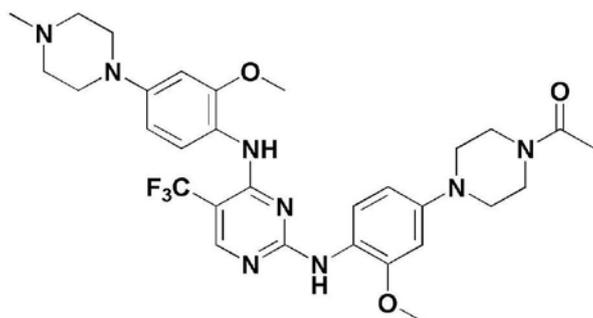
[0714] 以与实施例14相同的方式,只是使用实施例56制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到的目标化合物(23.9mg,72%)。

[0715]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.26 (s, 1H), 8.15–8.08 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 6.53–6.43 (m, 4H), 4.23 (s, 2H), 3.87 (s, 8H), 3.78 (s, 2H), 3.64 (s, 2H), 3.47 (s, 2H), 3.17 (s, 4H), 3.12 (s, 4H), 2.15 (s, 3H);

[0716] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_5$ : 计算值为658.67, 实测值为659.23。

[0717] <实施例59>1-(4-(3-甲氧基-4-((4-((2-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0718]



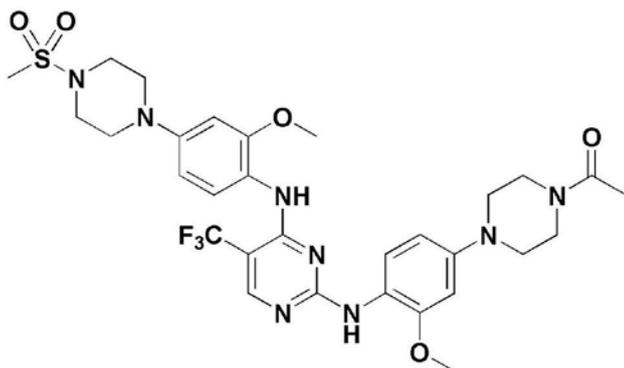
[0719] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例56制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,并用碘甲烷代替甲磺酰氯过夜反应,得到目标化合物(7.4mg,24%)。

[0720]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.24 (s, 1H), 8.10 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 7.44 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.55–6.51 (m, 3H), 6.44 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H), 3.87 (s, 6H), 3.79 (s, 2H), 3.63 (s, 2H), 3.22 (s, 4H), 3.11 (s, 4H), 2.62 (s, 4H), 2.38 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0721] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_3$ : 计算值为614.66, 实测值为615.23。

[0722] <实施例60>N1-(4-(3-甲氧基-4-((4-((2-甲氧基-4-(4-甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0723]



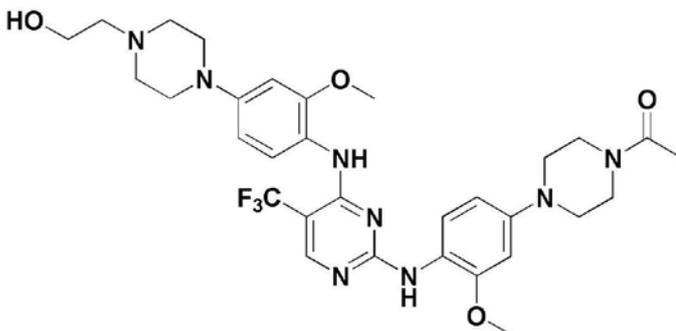
[0724] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例56制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物(12.4mg,36%)。

[0725]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.26 (s, 1H), 8.13 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H), 8.08 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 7.45 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 6.54 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 3H), 6.43 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 3.88 (s, 6H), 3.78 (s, 6H), 3.64 (s, 2H), 3.42 (s, 4H), 3.28 (s, 4H), 3.12 (s, 4H), 2.86 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0726] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_5\text{S}$ : 计算值为678.73, 实测值为679.14。

[0727] <实施例61>1-(4-(4-((4-((4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0728]

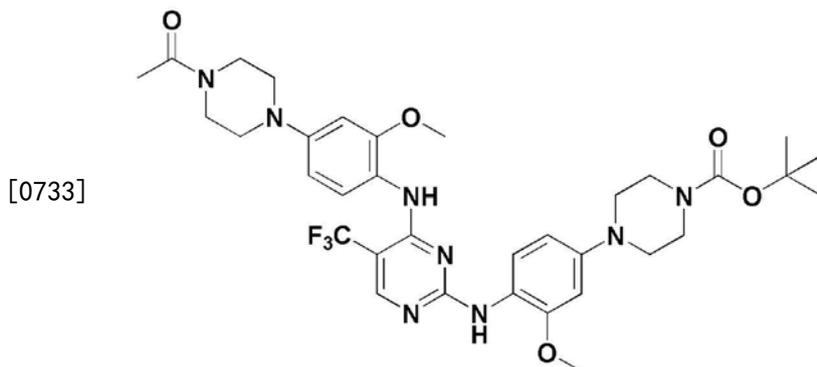


[0729] 以与实施例16相同的方式,只是使用实施例56制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物(18.2mg,56%)。

[0730]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.24 (s, 1H), 8.08 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.44 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.54-6.50 (m, 3H), 6.43 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 3.87 (s, 6H), 3.79 (s, 2H), 3.69 (s, 2H), 3.63 (s, 2H), 3.22 (s, 4H), 3.11 (s, 4H), 2.72 (s, 4H), 2.64 (s, 2H), 2.15 (s, 3H);

[0731] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_4$ : 计算值为644.69, 实测值为645.12。

[0732] <实施例62>4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯的制备

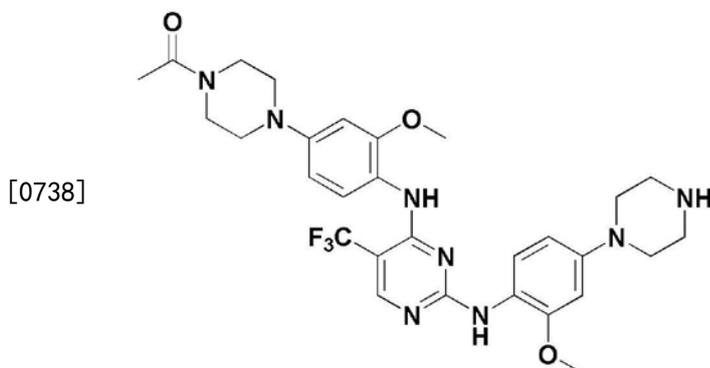


[0734] 将制备实施例30制备的化合物(337mg)和制备实施例1制备的化合物(172mg)溶于0.08M HCl(乙氧基乙醇,7ml),并于50℃搅拌过夜。反应完毕后,混合液减压蒸馏除去溶剂,溶于乙酸乙酯。溶于有机溶剂中的混合物用饱和碳酸氢钠水溶液中和,薄层分离出有机层,并用饱和盐水洗涤有机层。有机层用硫酸钠干燥,减压蒸馏除去溶剂。浓缩后的混合物中加入乙醚以形成晶体,滤出由此形成的晶体,得到目标化合物(412mg,85%)。

[0735]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.26 (s, 1H), 8.17-8.07 (m, 2H), 7.41 (s, 2H), 6.54-6.44 (m, 4H), 3.89 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.80 (s, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 3.60-3.56 (m, 2H), 3.16-3.08 (m, 8H), 2.16 (s, 3H), 1.49 (s, 9H);

[0736] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_5$ : 计算值为700.75, 实测值为701.28。

[0737] <实施例63>1-(4-(3-甲氧基-4-((2-((2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



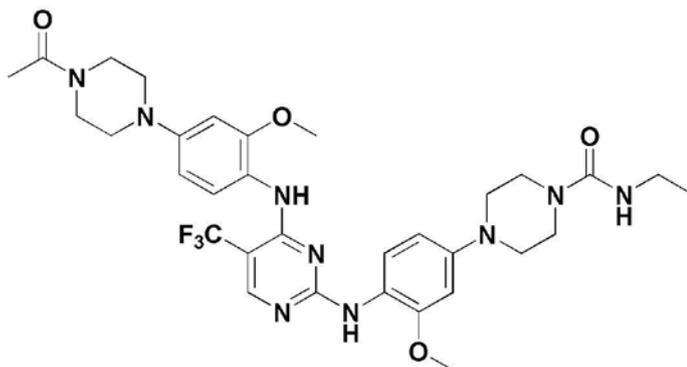
[0739] 将实施例62制备的化合物(410mg)溶于二氯甲烷(10ml),加入4M HCl(二氧杂环己烷溶液,1.5ml),室温搅拌过夜。反应完毕后,混合液通过减压蒸馏除去溶剂,用二氯甲烷稀释。用饱和碳酸氢钠水溶液中和混合物,分离出有机层,并用饱和盐水洗涤。然后,洗涤后的有机层用硫酸钠干燥,减压蒸馏以除去溶剂,无需进一步纯化就得到目标化合物(322.1mg,55%)。

[0740]  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.26 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 6.55-6.43 (m, 4H), 3.88 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.80-3.75 (m, 6H), 3.67-3.63 (m, 6H), 3.17 (s, 4H), 2.17 (s, 3H);

[0741] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_3$ : 计算值为600.64, 实测值为601.19。

[0742] <实施例64>4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)-N-乙基哌嗪-1-甲酰胺的制备

[0743]



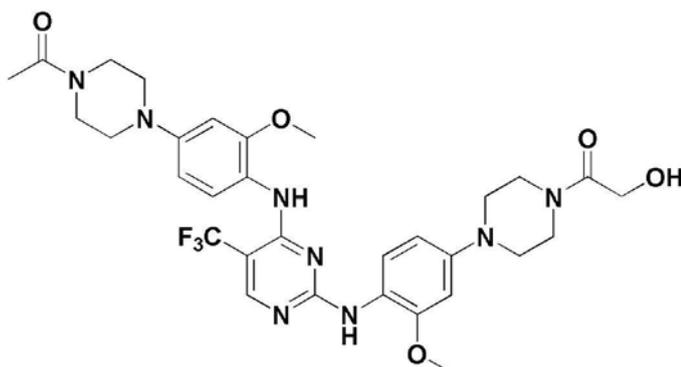
[0744] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例63制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,并用异氰酸乙酯代替甲磺酰氯,得到目标化合物(26mg,77%)。

[0745]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.25 (s, 1H), 8.01 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.47 (s, 1H), 6.56 (s, 1H), 6.52 (s, 2H), 6.35 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 4.91 (brs, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.67 (s, 2H), 3.54 (s, 4H), 3.31 (p,  $J=6.2, 12.2\text{Hz}$ , 2H), 3.18 (s, 4H), 3.09 (s, 4H), 2.16 (s, 3H), 1.18 (t,  $J=6.2\text{Hz}$ , 3H);

[0746] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{F}_3\text{N}_9\text{O}_4$ : 计算值为671.71, 实测值为672.25。

[0747] <实施例65>1-(4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮的制备

[0748]



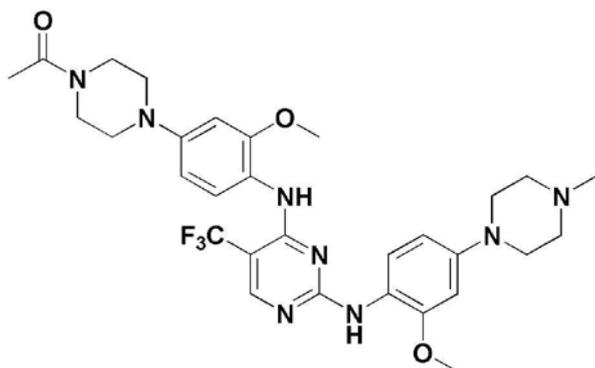
[0749] 以与实施例14相同的方式,只是使用实施例63制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物(24.5mg,74%)。

[0750]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.26 (s, 1H), 8.12 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.47 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 6.55-6.43 (m, 4H), 4.23 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.84-3.80 (m, 4H), 3.65 (s, 2H), 3.47 (s, 2H), 3.14 (s, 8H), 2.16 (s, 3H);

[0751] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_5$ : 计算值为658.67, 实测值为659.23。

[0752] <实施例66>1-(4-(3-甲氧基-4-((2-((2-甲氧基-4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0753]



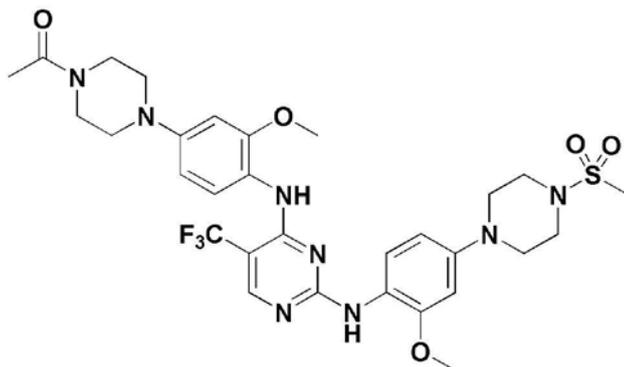
[0754] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例63制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,并用碘甲烷代替甲磺酰氯,得到目标化合物(9.3mg,30%)。

[0755]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.25 (s, 1H), 8.13 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 8.03 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 7.40–7.38 (m, 2H), 6.53–6.49 (m, 3H), 6.45 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 3.88 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.80 (s, 2H), 3.65 (s, 2H), 3.17 (s, 8H), 2.61 (s, 4H), 2.37 (s, 3H), 2.16 (s, 3H);

[0756] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_3$ : 计算值为614.66, 实测值为615.23。

[0757] <实施例67>1-(4-(3-甲氧基-4-((2-((2-甲氧基-4-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0758]



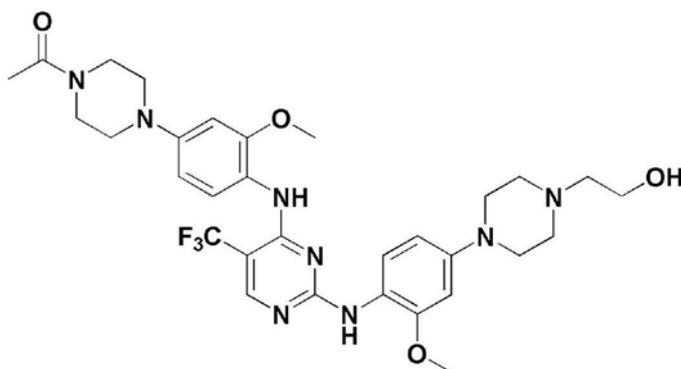
[0759] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例63制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物(7.8mg,23%)。

[0760]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.26 (s, 1H), 8.14–8.10 (m, 2H), 7.43 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 6.55–6.45 (m, 4H), 3.88 (s, 6H), 3.80 (s, 2H), 3.66 (s, 2H), 3.41 (s, 4H), 3.24 (s, 4H), 3.16 (s, 4H), 2.85 (s, 3H), 2.16 (s, 3H);

[0761] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_5\text{S}$ : 计算值为678.73, 实测值为679.14。

[0762] <实施例68>1-(4-(4-((2-((4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-(三氟甲基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0763]



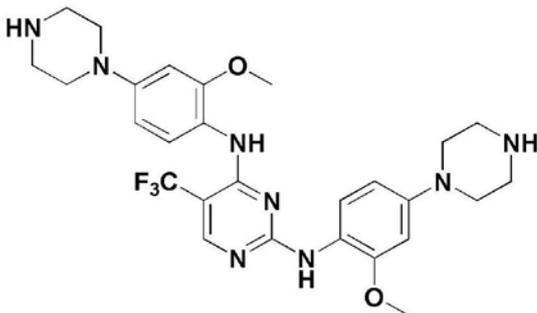
[0764] 以与实施例16相同的方式,只是使用实施例63制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物(15.6mg,48%)。

[0765]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.25 (s, 1H), 8.11 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 8.03 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 7.42 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 6.53 (s, 2H), 6.51 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 6.44 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 3.88 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.80 (s, 2H), 3.70–3.64 (m, 4H), 3.17 (s, 8H), 2.70 (s, 4H), 2.65 (s, 2H), 2.15 (s, 3H);

[0766] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_4$ : 计算值为644.69, 实测值为645.12。

[0767] <实施例69>N2,N4-双(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二胺的制备

[0768]



[0769] 步骤1:4,4'-(((5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-1-羧酸)二叔丁酯的制备

[0770] 将2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(500mg)、碳酸钾(796mg)和制备实施例27制备的化合物(1.42g)溶于二甲基甲酰胺(5ml),室温搅拌过夜。反应完毕后,减压蒸馏混合液以除去溶剂,并用乙酸乙酯稀释。稀释后的混合液用饱和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥有机层。减压蒸馏有机层除去溶剂,通过柱层析分离得到目标化合物(489mg,28%)。

[0771]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.25 (s, 1H), 8.09 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 7.39 (s, 1H), 6.64 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 6.49–6.39 (m, 3H), 6.46 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 3.88 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.61–3.56 (m, 8H), 3.12–3.06 (m, 4H), 2.98 (s, 4H), 1.49 (s, 18H)。

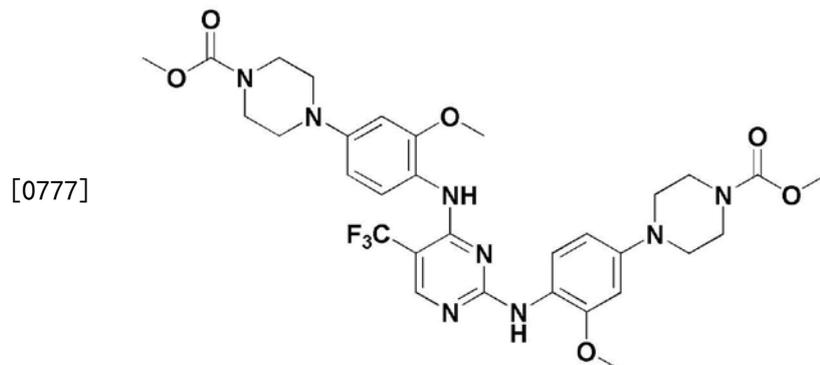
[0772] 步骤2:N2,N4-双(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)-5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二胺的制备

[0773] 将步骤1中制备的化合物(489mg)溶于二氯甲烷(6ml),加入4M HCl(二氧杂环己烷溶液,5ml),室温搅拌过夜。反应完毕后,减压蒸馏混合液以除去溶剂,再次溶于二氯甲烷。然后,生成物用饱和碳酸氢钠溶液中和,用饱和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。干燥后的有机层通过减压蒸馏除去溶剂,得到目标化合物(320mg,89%)。

[0774]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.22 (s, 1H), 7.70 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 7.35 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 6.57 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.47 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 3.88 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.52 (s, 8H), 3.43 (s, 8H);

[0775] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_2$ : 计算值为558.60, 实测值为559.08。

[0776] <实施例70> 二甲基-4,4'-((5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-1-羧酸酯)的制备

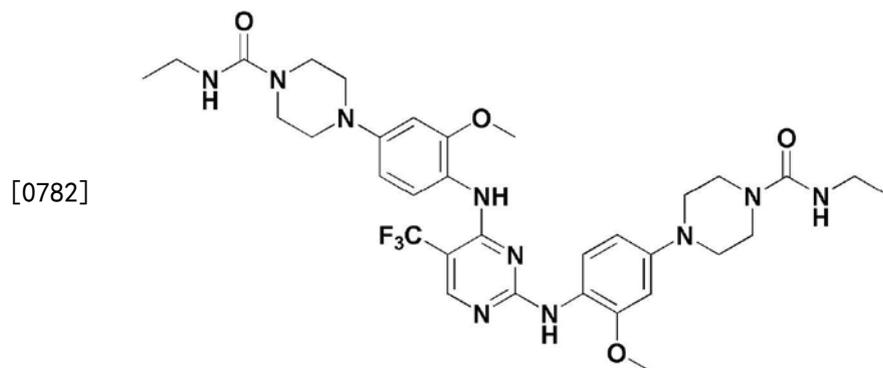


[0778] 将实施例69制备的化合物 (50mg) 溶于二氯甲烷 (1ml), 加入氯甲酸甲酯 (15 $\mu$ l), 室温搅拌过夜。反应完毕后, 减压蒸馏除去溶剂, 并通过制备TLC纯化得到目标化合物 (5.6mg, 15%)。

[0779]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.25 (s, 1H), 8.12-8.05 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 6.54-6.42 (m, 4H), 3.88 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.75 (s, 6H), 3.66 (s, 8H), 3.14-3.09 (m, 8H);

[0780] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_6$ : 计算值为674.67, 实测值为675.11。

[0781] <实施例71> 4,4'-((5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(N-乙基哌嗪-1-甲酰胺)的制备

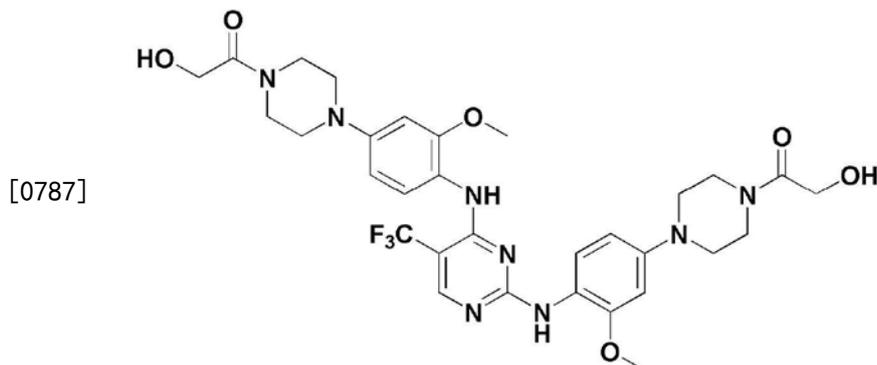


[0783] 以与实施例13相同的方式, 只是使用实施例69中制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料, 并用异氰酸乙酯代替甲磺酰氯, 得到目标化合物 (22.2mg, 50%)。

[0784]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.24 (s, 1H), 7.95 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 2H), 7.40 (s, 1H), 6.53 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 2H), 6.47 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 6.37 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 4.87-4.78 (m, 2H), 3.85 (s, 6H), 3.56 (s, 8H), 3.32 (q,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 3.17 (s, 4H), 3.11 (s, 4H), 1.18 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 6H);

[0785] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{F}_3\text{N}_{10}\text{O}_4$ : 计算值为700.75, 实测值为701.28。

[0786] <实施例72> 1,1'-(4,4'-((5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1))双(2-羟基乙酮)的制备

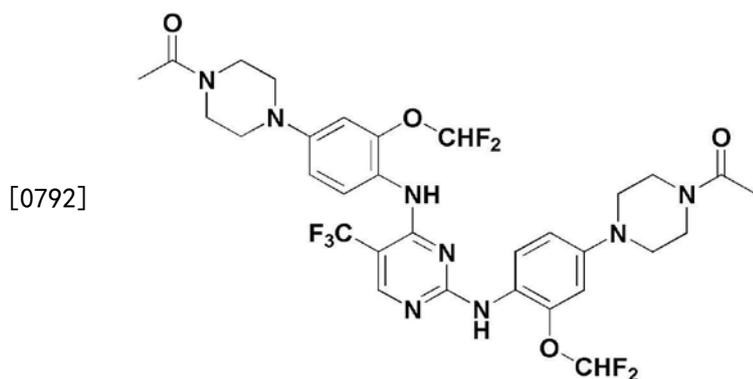


[0788] 以与实施例14相同的方式,只是使用实施例69中制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物(8mg,19%)。

[0789]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 8.27 (s, 1H), 8.18–8.11 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 6.54–6.44 (m, 4H), 4.23 (s, 4H), 3.89 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 4H), 3.65 (br, 2H), 3.46 (s, 4H), 3.18–3.14 (m, 8H);

[0790]  $\text{Mass (M+H}^+)$   $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_6$ : 计算值为674.67, 实测值为675.22。

[0791] <实施例73>1,1'-(4,4'-((5-(三氟甲基)嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-二氟甲氧基)-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮的制备



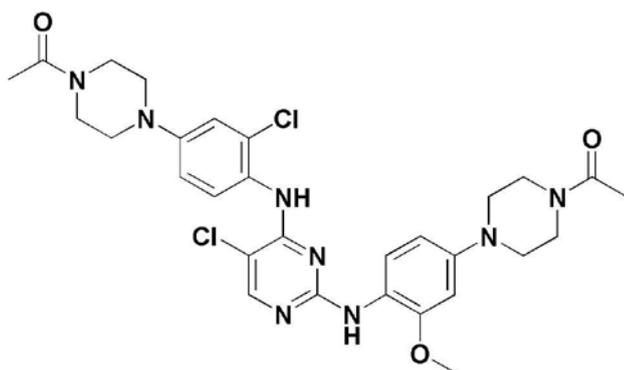
[0793] 将2,4-二氯-5-(三氟甲基)嘧啶(50mg)、1-(4-(4-氨基-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-基)乙酮(140mg)和碳酸钾(90mg)溶于二甲基甲酰胺(1ml),室温搅拌过夜。反应完毕后,减压蒸馏混合液除去溶剂,并用乙酸乙酯稀释。稀释后的混合液用饱和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,并减压蒸馏除去溶剂。浓缩后的混合物通过柱层析纯化,得到目标化合物(100mg,18%)。

[0794]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.28 (s, 1H), 7.94 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.31 (s, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.81–6.63 (m, 5H), 6.47 (d,  $J=3.9\text{Hz}$ , 1H), 3.79 (dd,  $J=5.0, 9.8\text{Hz}$ , 4H), 3.64 (dd,  $J=5.1, 9.9\text{Hz}$ , 4H), 3.24–3.03 (m, 8H), 2.16 (s, 3H), 2.15 (s, 3H);

[0795]  $\text{Mass (M+H}^+)$   $\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{F}_7\text{N}_6\text{O}_4$ : 计算值为714.25, 实测值为715.18。

[0796] <实施例74>1-(4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-氯苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0797]



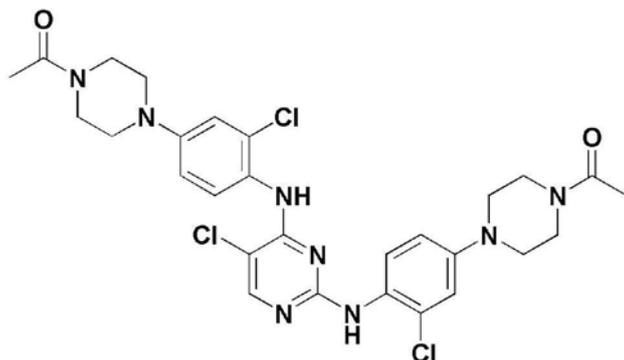
[0798] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例19中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0799]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 9.78 (br, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.32 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 7.26 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 7.13 (d,  $J=2.7\text{Hz}$ , 1H), 7.00 (dd,  $J=2.7, 8.9\text{Hz}$ , 1H), 6.61 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.20 (br, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.57 (m, 8H), 3.25 (m, 4H), 3.08 (m, 4H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H);

[0800] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{29}H_{34}Cl_2N_8O_3$ : 计算值为612.21, 实测值为613.13.

[0801] <实施例75>1,1'-(4,4'-(((5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-氯-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))二乙酮的制备

[0802]



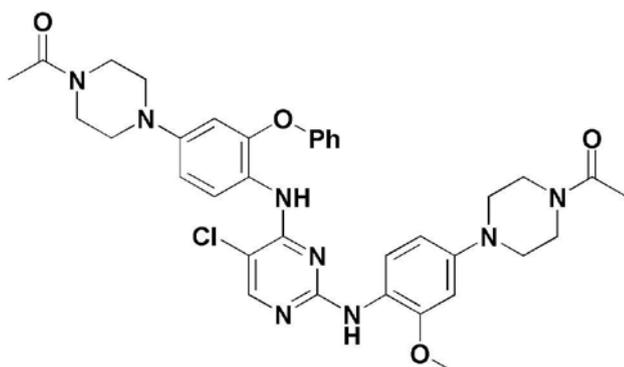
[0803] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例19中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,并用制备实施例6制备的化合物代替制备实施例1制备的化合物,得到目标化合物。

[0804]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 9.18 (br, 1H), 8.86 (br, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.37 (d,  $J=4.0\text{Hz}$ , 1H), 7.34 (d,  $J=4.0\text{Hz}$ , 1H), 7.10 (d,  $J=2.7\text{Hz}$ , 1H), 7.00 (d,  $J=2.7\text{Hz}$ , 1H), 6.92 (d,  $J=2.7\text{Hz}$ , 1H), 6.89 (d,  $J=2.7\text{Hz}$ , 1H), 6.75 (dd,  $J=2.6, 9.1\text{Hz}$ , 1H), 3.57 (m, 8H), 3.14 (m, 8H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H);

[0805] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{28}H_{31}Cl_3N_8O_2$ : 计算值为616.16, 实测值为617.07.

[0806] <实施例76>1-(4-(4-((2-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)氨基)-3-苯氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0807]



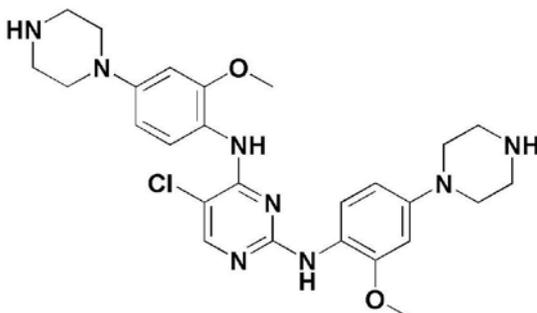
[0808] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例20中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0809]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.55 (br, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.30 (m, 4H), 7.05 (t, J=7.4Hz, 1H), 6.89 (br, 1H), 6.86 (br, 1H), 6.82 (dd, J=2.6, 8.9Hz, 1H), 6.67 (d, J=2.4Hz, 1H), 6.59 (d, J=2.4Hz, 1H), 6.29 (br, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.56 (m, 8H), 3.11 (m, 8H), 2.05 (s, 3H), 2.03 (s, 3H);

[0810] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{35}H_{39}ClN_8O_4$ : 计算值为670.28, 实测值为671.24。

[0811] <实施例77>5-氯-N2,N4-双(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺的制备

[0812]



[0813] 步骤1:4,4'-(4,4'-(5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基)双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))二哌嗪-1-羧酸二叔丁酯的制备

[0814] 将制备实施例34制备的化合物(40mg)和制备实施例35制备的化合物(60mg)溶于0.08M HCl乙氧基乙醇溶液(1.2mg),并于115 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌过夜。反应完毕后,减压蒸馏混合液除去溶剂,用乙酸乙酯稀释。稀释后的混合液用饱和碳酸钠溶液中和,萃取出有机层。萃取出有机层用硫酸钠干燥。干燥后的有机层通过减压蒸馏除去溶剂,并通过柱层析纯化得到目标化合物。

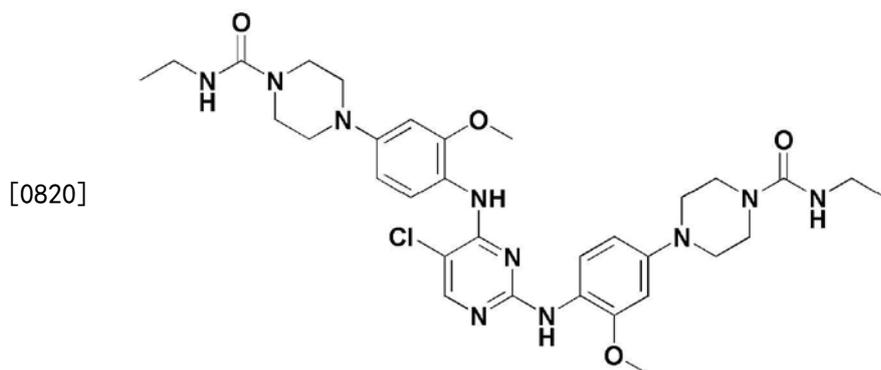
[0815] 步骤2:5-氯-N2,N4-双(2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺的制备

[0816] 以与实施例69步骤2相同的方式,只是使用上述步骤1制备的化合物代替实施例69步骤1制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0817]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.84 (br, 4H), 8.52 (br, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.65 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.50 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.75 (d, J=2.4Hz, 1H), 6.67 (d, J=2.4Hz, 1H), 6.52 (dd, J=2.4, 8.7Hz, 1H), 6.40 (dd, J=2.0, 8.6Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.33 (m, 16H);

[0818] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{26}H_{33}ClN_8O_2$ : 计算值为524.24, 实测值为525.15。

[0819] <实施例78>4,4'-(((5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(N-乙基哌嗪-1-甲酰胺)的制备

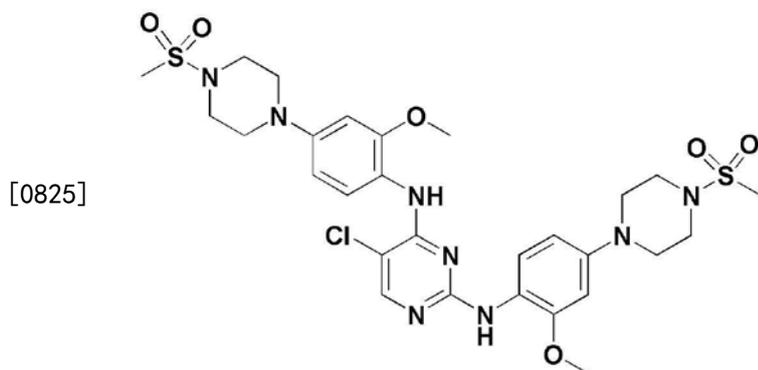


[0821] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例77中制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,并用异氰酸乙酯代替甲磺酰氯,得到目标化合物(22mg)。

[0822]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 9.17 (br, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.36 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 7.30 (m, 1H), 6.72 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.65 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.55 (m, 2H), 6.51 (dd,  $J=2.2, 8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.33 (m, 1H), 3.79 (s, 6H), 3.14 (m, 20H), 1.02 (m, 6H);

[0823] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{32}H_{43}ClN_{10}O_4$ : 计算值为666.32, 实测值为667.26。

[0824] <实施例79>5-氯-N2,N4-双(2-甲氧基-4-(4-甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺的制备



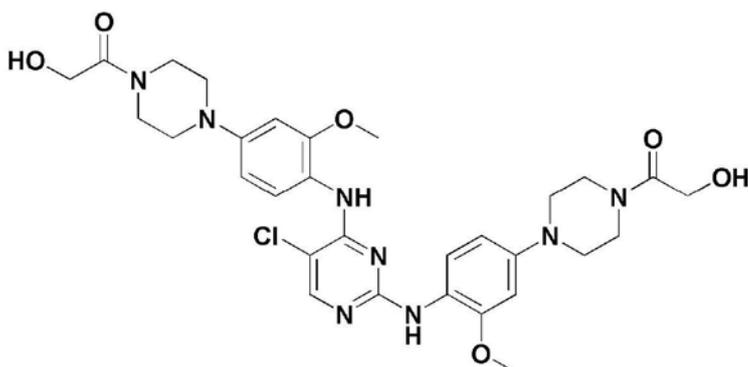
[0826] 以与实施例13相同的方式,只是使用实施例77中制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料得到目标化合物(8mg, 23%)。

[0827]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 8.11 (s, 1H), 7.42 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.35 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 6.74 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.65 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.52 (dd,  $J=2.4, 8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.37 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 3.795 (s, 3H), 3.789 (s, 3H), 3.3 (m, 16H), 2.94 (s, 3H), 2.93 (s, 3H);

[0828] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{28}H_{37}ClN_8O_6S_2$ : 计算值为680.20, 实测值为681.16。

[0829] <实施例80>1,1'-(4,4'-(((5-氯嘧啶-2,4-二基)双(氮烷二基))双(3-甲氧基-4,1-亚苯基))双(哌嗪-4,1-二基))双(2-羟基乙酮)的制备

[0830]



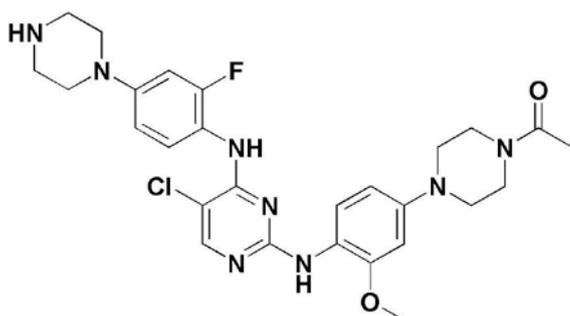
[0831] 以与实施例14相同的方式,只是使用实施例77中制备的化合物代替实施例12制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物(19mg)。

[0832]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.30 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 8.17 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 8.02 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 6.53 (m, 4H), 4.24 (s, 2H), 4.23 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.84 (m, 4H), 3.46 (m, 4H), 3.14 (m, 8H);

[0833] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_6$ : 计算值为640.25, 实测值为641.10。

[0834] <实施例81>1-(4-(4-((5-氯-4-((2-氟-4-(哌嗪-1-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0835]



[0836] 步骤1:4-(4-(4-(4-(叔丁氧羰基)哌嗪-1-基)-2-氟苯基氨基)-5-氯嘧啶-2-基氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯的制备

[0837] 以与实施例1相同的方式,只是使用制备实施例22中制备的化合物代替制备实施例15制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0838] 步骤2:1-(4-(4-((5-氯-4-((2-氟-4-(哌嗪-1-基)苯基)氨基)嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

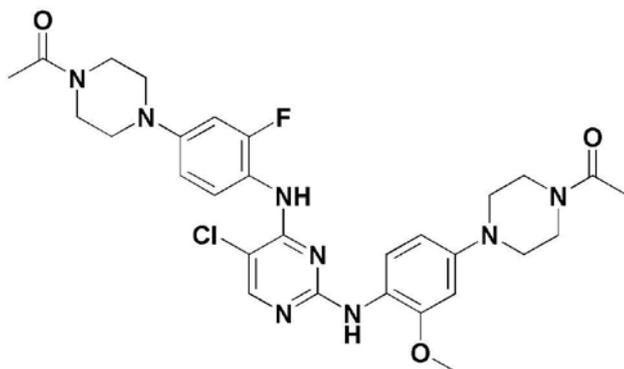
[0839] 以与实施例12步骤2相同的方式,只是使用上述步骤1制备的化合物代替实施例12步骤1制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物。

[0840]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.39 (br, 1H), 8.81 (br, 2H), 8.14 (s, 1H), 7.40 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 7.30 (t,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 7.02 (dd,  $J=2.6, 13.6\text{Hz}$ , 1H), 6.84 (dd,  $J=2.3, 8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.63 (d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.29 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 3.79 (s, 3H), 3.59 (m, 4H), 3.42 (m, 4H), 3.25 (m, 4H), 3.13 (m, 2H), 3.06 (m, 2H), 2.05 (s, 3H);

[0841] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{ClFN}_8\text{O}_2$ : 计算值为554.23, 实测值为555.13。

[0842] <实施例82>1-(4-(4-((4-(4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-氟苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基-乙酮的制备

[0843]



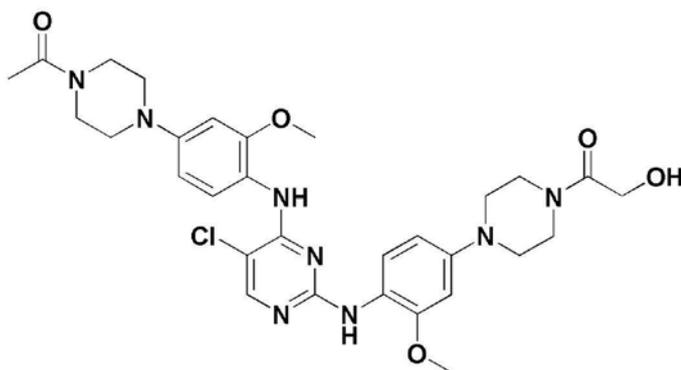
[0844] 以与实施例35相同的方式,只是使用实施例81制备的化合物代替实施例33制备的化合物作为起始原料,得到目标化合物(23mg)。

[0845]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.36 (br, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.37 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 7.24 (t,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 6.95 (dd,  $J=2.5, 13.7\text{Hz}$ , 1H), 6.81 (dd,  $J=2.1, 8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.62 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 6.21 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.0-3.6 (m, 16H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H);

[0846] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{29}H_{34}ClFN_8O_3$ : 计算值为596.24, 实测值为597.17。

[0847] <实施例83>1-(4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮的制备

[0848]

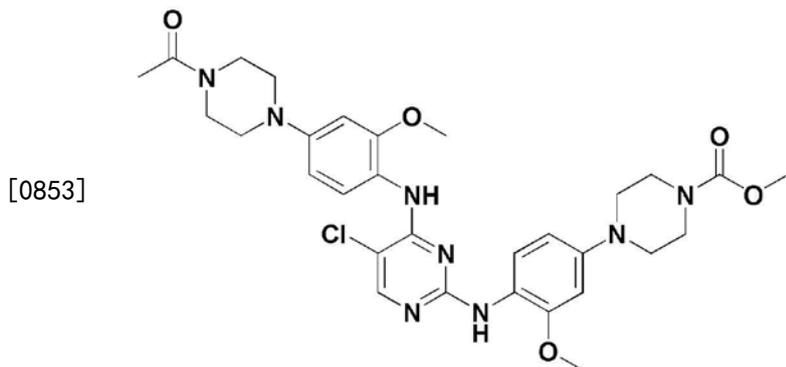


[0849] 将制备实施例52制备的化合物(30mg)溶于二氯甲烷(1ml),加入三氟乙酸(91ml),室温搅拌5分钟,减压干燥。将干燥的反应物溶于二氯甲烷(1ml),加入乙醇酸(95mg)、EDCI(11mg)和DMAP(7mg),室温搅拌过夜。反应完毕后,减压蒸馏混合液以除去溶剂,通过制备TLC纯化得到目标化合物(22mg)。

[0850]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.30 (d,  $J=7.86\text{Hz}$ , 1H), 8.18 (d,  $J=10.62\text{Hz}$ , 1H), 8.02 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 6.58-6.48 (m, 4H), 3.92 (d,  $J=2.31\text{Hz}$ , 3H), 3.88 (d,  $J=2.19\text{Hz}$ , 3H), 3.87-3.78 (m, 4H), 3.69-3.62 (m, 3H), 3.50-3.44 (m, 2H), 3.20-3.10 (m, 7H), 2.15 (s, 4H);

[0851] Mass ( $M+H^+$ )  $C_{30}H_{37}ClN_8O_5$ : 计算值为624.26, 实测值为625.11。

[0852] <实施例84>4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-羧酸甲酯的制备

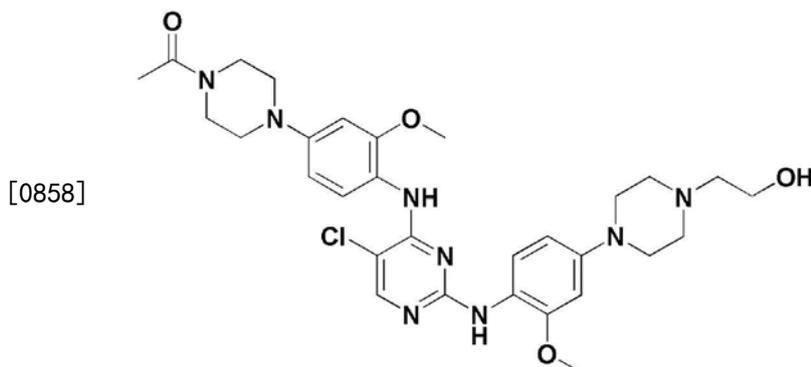


[0854] 将实施例52制备的化合物(30mg)溶于二氯甲烷(1ml),加入三氟乙酸(1 $\mu$ l),室温搅拌5分钟,减压干燥。干燥的反应物溶于二氯甲烷(1ml),加入氯甲酸甲酯(10 $\mu$ l),三乙胺(20 $\mu$ l),于0 $^{\circ}$ C搅拌30分钟。反应完毕后,减压蒸馏混合液以除去溶剂,通过制备TLC纯化得到目标化合物(18mg)。

[0855]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.29 (d,  $J=7.35\text{Hz}$ , 1H), 8.13 (d,  $J=8.64\text{Hz}$ , 1H), 8.01 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 6.55–6.47 (m, 4H), 3.94 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.83–3.75 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.65 (s, 6H), 3.19–3.07 (m, 7H), 2.16 (s, 3H);

[0856] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_5$ : 计算值为624.26, 实测值为625.24。

[0857] <实施例85>1-(4-(4-((5-氯-2-((4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备



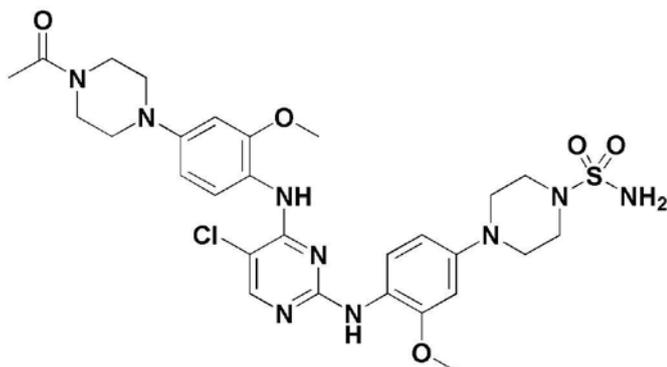
[0859] 将实施例52制备的化合物(30mg)溶于二氯甲烷(1ml),加入三氟乙酸(1mL),室温搅拌5分钟,减压干燥。将干燥后的反应物与溴乙醇(5 $\mu$ l)和碳酸钾(21mg)一起溶于二甲基甲酰胺(1ml),并于60 $^{\circ}$ C搅拌过夜。反应完毕后,减压蒸馏生成物以除去二甲基甲酰胺,通过制备TLC纯化得到目标化合物(11mg)。

[0860]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.26 (d,  $J=8.64\text{Hz}$ , 1H), 8.08 (d,  $J=8.61\text{Hz}$ , 1H), 7.54 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.55–6.47 (m, 4H), 5.59 (s, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.22–4.19 (m, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.73–3.62 (m, 6H), 3.18–3.12 (m, 8H), 2.74–2.72 (m, 4H), 2.67–2.63 (m, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.10 (s, 3H);

[0861] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{ClN}_8\text{O}_4$ : 计算值为610.28, 实测值为611.27。

[0862] <实施例86>4-(4-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-2-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-磺酰胺的制备

[0863]



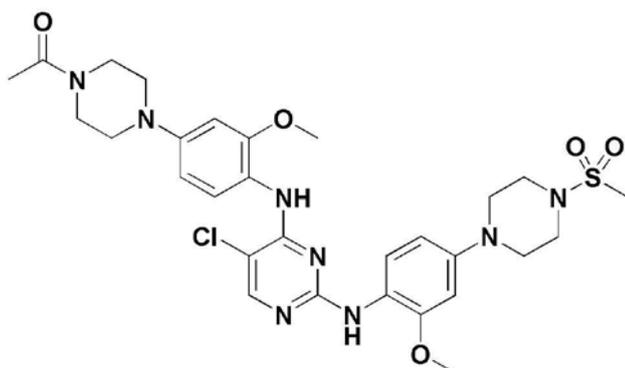
[0864] 将实施例52制备的化合物(30mg)溶于二氯甲烷(1ml),加入三氟乙酸(1mL),室温搅拌5分钟,减压干燥。将干燥后的反应物,二磺酰胺(20mg)和三乙胺(10 $\mu$ l)溶于1,4-二氧杂环己烷(1ml),回流2小时。然后,减压蒸馏生成物以除去溶剂,通过HPLC纯化得到为白色固体的目标化合物。

[0865]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.16 (d,  $J=8.61\text{Hz}$ . 1H), 8.02 (d,  $J=10.44\text{Hz}$ . 2H), 7.48 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.55-6.46 (m, 4H), 3.90 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.82-3.79 (m, 2H), 3.67-3.65 (m, 2H), 3.35 (d,  $J=4.23\text{Hz}$ . 4H), 3.24 (d,  $J=4.11\text{Hz}$ . 4H), 3.17-3.15 (m, 4H), 2.17 (d,  $J=6.99\text{Hz}$ . 2H), 1.25 (s, 1H);

[0866] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{ClN}_9\text{O}_5\text{S}$ : 计算值为645.22, 实测值为646.16。

[0867] <实施例87> 1-(4-(4-((5-氯-2-((2-甲氧基-4-(4-甲基磺酰基)哌嗪-1-基)苯基)氨基)-3-氨基)嘧啶-4-基)氨基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酮的制备

[0868]



[0869] 以与实施例84相同的方式,只是使用甲磺酰氯代替氯甲酸甲酯得到目标化合物。

[0870]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.29 (d,  $J=5.22\text{Hz}$ . 1H), 8.18 (d,  $J=5.16\text{Hz}$ . 1H), 8.03 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 6.58-6.52 (m, 5H), 3.90 (s, 3H), 3.67 (s, 2H), 3.43 (d,  $J=2.82\text{Hz}$ . 4H), 3.25 (d,  $J=2.74\text{Hz}$ . 4H), 3.20-3.16 (m, 5H), 2.86 (s, 3H), 2.18 (s, 3H);

[0871] Mass ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_5\text{S}$ : 计算值为644.23, 实测值为645.29。

[0872] <实施例88> 1-(4-(4-((2-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基)氨基)-5-氯嘧啶-4-基)氨基)-3-(二氟甲氧基)苯基)哌嗪-1-基)-2-羟基乙酮的制备



[0884] 为了测定对ALK的抑制活性,向Grainer 96孔圆型底板中加入实施例1-89中制备的化合物 (2 $\mu$ l),并与ALK酶 (1 $\mu$ l) 及生物素衔接的多肽底物 (2 $\mu$ l) 混合15分钟后培养。此时,将ATP溶液 (5 $\mu$ l) 加入其中,并于室温进行激酶反应30分钟。反应液中加入衔接有溶于乙二醇四乙酸溶液的链霉亲和素的XL 665 (5 $\mu$ l) 和衔接有铕 (Eu<sup>3+</sup>) 的抗磷酸酪氨酸抗体 (5 $\mu$ l) 来结束反应,培养1小时,并使用均相时间分辨荧光 (HTRF, Cisbio) 进行分析。结果由Wallac Envision 2103装置在波长范围615/665nm读取。上述实验中使用的测试化合物的IC<sub>50</sub>通过prism (版本5.01graphpad) 软件获取。

[0885] 使ALK酶活性降低的化合物的IC<sub>50</sub>在下表1中示出。

[0886] 【表1】

[0887]

实施例	ALK野生型 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	ALK L1196M IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	实施例	ALK野生型 IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	ALK L1196M IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
1	0.025	0.0234	46	0.58	-
2	0.038	0.364	47	> 1	-
3	0.033	0.361	48	0.76	-
4	0.15	-	49	1.2	-
5	0.029	0.305	50	> 1	-
6	0.065	0.247	51	> 1	-
7	0.012	0.075	52	0.025	0.55
8	0.064	0.3266	53	0.99	-

[0888]

9	0.3	-	54	4.5	-
10	0.018	0.207	55	0.12	-
11	0.009	0.049	56	0.004	0.004
12	0.009	0.043	57	0.003	0.002
13	0.025	0.113	58	0.004	0.002
14	0.016	0.063	59	0.007	0.003
15	0.085	0.301	60	0.01	0.003
16	0.014	0.056	61	0.004	0.011
17	1.0	-	62	0.031	0.033
18	0.011	0.086	63	0.003	0.003
19	0.12	0.751	64	0.006	0.008
20	0.13	1.101	65	0.007	0.003
21	0.012	0.043	66	0.006	0.003
22	0.01	0.257	67	0.014	0.039
23	0.023	0.183	68	0.003	0.005
24	0.067	0.846	69	0.003	0.004
25	0.015	-	70	0.16	-
26	0.022	0.235	71	0.02	0.046
27	0.019	0.567	72	0.003	0.005
28	0.011	0.169	73	0.016	0.058
29	0.079	0.698	74	0.007	0.044
30	0.014	0.265	75	0.04	0.26
31	0.031	0.394	76	> 1	-
32	0.21	-	77	0.003	0.004
33	0.005	0.01	78	0.018	-
34	0.570	-	79	0.02	0.064
35	0.01	0.041	80	0.006	0.011
36	0.01	0.031	81	0.017	0.13
37	0.012	0.049	82	0.011	0.28
38	0.017	0.11	83	0.004	0.027
39	0.35	-	84	0.010	0.094
40	0.029	-	85	0.002	0.021
41	0.073	-	86	0.009	0.091
42	0.016	0.14	87	0.010	0.053
43	0.032	-	88	0.004	0.027
44	0.008	0.036	89	0.013	0.17
45	0.01	-	对照组	0.036	0.22

[0889] 在上述表1中，“-”表示未进行实验。

[0890] 如表1所示，根据本发明所述的实施例1、3、5、7、10-14、16、18、21-23、25-28、30-31、33、35-38、40、42-45、52、56-69、71-75和77-89中制备的化合物的IC<sub>50</sub>比使用对照组 Crizotinib<sup>®</sup>时低。其中，实施例7、11、12、14、16、18、21-23、25-28、30-31、32、35-38、40、42-

45、52、56-69、71-75和77-89中制备的化合物的IC<sub>50</sub>即使在含有ALK酶的癌细胞L1196M中也比使用对照组 **Crizotinib**<sup>®</sup>时低。

[0891] 这表明根据本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物在酶水平上对ALK活性具有抑制活性,尤其是,它们比通过抑制ALK活性而被用作非小细胞肺癌治疗剂的 **Crizotinib**<sup>®</sup> (0.036μM,阳性对照)具有更优越的抑制活性,。

[0892] 因此,本发明的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物对ALK活性具有很好的抑制活性,因而可以被用作一种有效的ALK活性抑制剂,以及一种用于预防或治疗诸如非小细胞肺癌、神经母细胞瘤、炎性肌纤维母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肌纤维母细胞瘤、乳腺癌、胃癌、肺癌、黑素瘤等的癌症的药物组合物。

[0893] <实验实施例2>ACK1抑制活性的评估

[0894] 为了测定根据本发明所述的化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物在酶水平上对ACK1增殖的抑制活性,进行了如下实验。

[0895] 为了测定对ACK1的抑制活性,向Grainer 96孔圆型底板中按以1μM和0.1μM的量分别加入实施例1-14、10、21-31、35-38、40-45、56-75、77-85和88中制备的化合物。ACK1酶在8mM MOPS、0.2mM EDTA和10mM醋酸镁缓冲液中与400μM EFPOYDFLPAKKK多肽培养。此时,加入ATP溶液(5μl),并于室温下进行激酶反应40分钟。然后向反应液中加入3%磷酸来结束反应。将一滴10μl的反应液滴加到P30滤垫(filtermat)上,用75mM磷酸洗涤5分钟,洗涤三次。洗过的反应液进行干燥,并闪烁计数,结果如以下表2所示。

[0896] 【表2】

[0897]

实施例	Ack1 激活率 % (1 μM)	Ack1 激活率 % (0.1 μM)	实施例	Ack1 激活率 % (1 μM)	Ack1 激活率 % (0.1 μM)
1	1	4	44	1	2
2	2	9	45	0	1
3	2	2	56	0	1
4	1	12	57	0	1

[0898]

5	0	2	58	1	5
7	1	2	59	0	2
8	1	7	60	0	1
9	1	8	61	0	2
10	0	2	62	1	19
11	0	2	63	0	2
12	0	3	64	2	1
13	0	0	65	1	2
14	0	1	66	3	0
19	0	6	67	0	2
21	0	0	68	0	1
22	0	1	69	0	1
23	0	1	70	0	3
24	0	2	71	0	3
25	0	4	72	0	1
26	1	0	73	0	1
27	0	1	74	0	0
28	2	1	75	0	2
29	2	11	77	0	0
30	0	2	78	0	1
31	0	2	79	0	0
35	0	1	80	0	0
36	0	2	81	1	3
37	0	2	82	0	2
38	0	1	83	0	0
40	0	2	84	0	1
41	0	1	85	0	0
42	0	2	88	0	0
43	1	1			

[0899] 如以上表2中所示,本发明实施例29和实施例62制备的化合物在浓度为0.1 $\mu$ M时使ACK1激活率减少至10%或更低,在浓度为1 $\mu$ M时减少至3%或更低。尤其是,实施例13、21、26、66、74、77、79和80制备的化合物,ACK1激活率显著降低至0%。因此,本发明N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物即使以低浓度在酶水平上仍对ACK1活性有很好的抑制活性。

[0900] 因此,本发明的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物对ACK1活性具有很好的抑制活性,因而可以作为一种有效的ALK活性抑制剂,也可以作为一种用于预防或治疗诸如前列腺癌、子宫癌、胃癌等癌症的药物组合物。

[0901] <实验实施例3>对癌细胞增殖抑制活性的评估

[0902] 为了测定根据本发明所述的化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物对癌细胞增殖的抑制活性,进行了如下实验。

[0903] <3-1>实验材料

**[0904] 试剂**

[0905] RPMI 1640作为细胞培养液,胎牛血清(FBS)和胰蛋白酶购自Gibco有限公司(Gibco Inc.,Grand Island,NY,USA),碳酸氢钠、两性霉素B和庆大霉素购自Sigma化学品公司(Sigma Chemical Co.)。

[0906] 相应地,用于细胞毒性的试剂诸如磺酰罗丹明B(SRB)、tris碱、三氯乙酸(TCA)等购自Sigma化学品公司。对于MTS试验,CellTiter 96<sup>R</sup> Aqueous非放射性细胞增殖检测试剂盒购自Promega公司(Promega Corporation)。

[0907] 此外,用于细胞培养的T-25培养瓶、96孔板及其它一次性玻璃器皿购自Falcon Transfer公司(Lincoln Park,NJ)。

**[0908] 实验装置**

[0909] 用于细胞毒性测量的ELISA酶标仪为Molecular Devices公司(Sunnyvale,CA,USA)的E-max或SpectraMax250。

**[0910] <3-2>实验方法****[0911] 步骤1:细胞培养**

[0912] 二甲亚砜的最终浓度设定为0.5%或更低。

[0913] 实验中所用的癌细胞系均为人源癌细胞系,使用了H3122、H2228、Hs746T和H1993。

[0914] 培养使用含有10%的胎牛血清(FBS)的RPMI 1640培养基在培养箱中于37℃、5%CO<sub>2</sub>的条件下进行培养,在3-4天内传代培养一次。

**[0915] 步骤2:评估化合物处理后对增殖的抑制活性**

[0916] 将等份的 $1 \times 10^4$ 细胞分于96孔平底微孔板的每一个孔中,培养24小时以使细胞附着在底部,然后移除培养基。加入分别稀释了实施例1-45、实施例55-73和实施例77-83的化合物的培养基,培养72小时。用这些化合物培养完成后,使用SRB(一种染色试剂)或通过MTS试验来测量这些化合物的细胞毒性。用实施例1-45,实施例55-73以及实施例77-83的化合物完成培养后,移除培养基并且用冷TCA溶液处理每个孔,并于4℃放置1小时以固定细胞。除去TCA溶液并于室温下干燥后,往细胞中添加染色溶液(其中0.4% SRB溶于1%乙酸溶液),并于室温中放置30分钟以对细胞进行染色。未与细胞结合的多余SRB通过乙酸溶液洗涤除去,被染色的细胞中加入10mM pH为10.3-10.5的Tris缓冲液(Tris碱;无缓冲的)以洗脱SRB。用ELISA酶标仪测定每个孔于520nm的吸光度。

[0917] 从未经药物处理的孔(C)、经药物处理的孔(T)以及正在用药物处理的孔(Tz)的OD值中计算出药物的细胞毒性:

[0918] 当 $T_z = T$ 时,通过方程式 $[(T - T_z) / (C - T_z)] \times 100$ 计算,和

[0919] 当 $T_z > T$ 时,通过方程式 $[(T - T_z) / (T_z)] \times 100$ 计算。

[0920] 用MTS试验对癌细胞增殖抑制作用的测量按如下所述进行。具体地,用实施例1-45、实施例55-73以及实施例77-83的化合物的培养完成时,构成Promega公司的CellTiter 96<sup>R</sup> Aqueous非放射性细胞增殖检测试剂盒的PMS溶液和MTS溶液进行混合,按20L的量加到每个孔中。置于培养瓶4小时后,将生成物从培养瓶中取出,并室温放置10分钟。使用Molecular Device公司的仪器SpectraMax250测出490nm处的吸光度之后,计算出半数生长抑制浓度(Growth Inhibition 50,GI<sub>50</sub>),结果如下表3所示。

**[0921] 【表3】**

[0922]

实施例	Hs746TCP GI <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	H1993CP GI <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	H2228CP GI <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	H3122CP GI <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
1	3.43	6.91	1.59	0.96
2	2.86	7.25	1.42	0.874
3	2.92	5.94	1.17	0.41
4	1.38	3.47	0.32	0.19
5	9.43	> 10	4.61	0.16

[0923]

6	0.90	0.93	0.36	0.22
7	3.04	3.62	1.41	0.10
8	2.88	9.14	2.06	0.81
9	1.46	2.14	1.39	0.91
10	1.047	0.977	0.281	0.096
11	1.304	1.442	0.162	0.007
12	2.304	1.328	0.093	0.009
13	3.621	2.482	0.126	0.218
14	3.419	7.436	0.093	0.012
15	3.739	8.861	0.692	0.918
16	3.686	6.732	0.488	0.051
17	3.413	9.726	2.766	1.382
18	3.54	1.63	0.133	0.020
19	> 10	> 10	0.961	1.104
20	> 10	> 10	0.93	1.261
21	3.37	3.44	0.098	0.012
22	3.42	9.91	0.174	0.126
23	3.92	1.87	0.446	0.237
24	1.86	13.07	0.932	0.734
25	> 10	1.08	0.148	0.022
26	> 10	3.38	0.406	0.029
27	> 10	7.93	0.364	0.185
28	> 10	4.28	0.112	0.011
29	> 10	9.85	0.411	0.347
30	> 10	7.81	0.224	0.017
31	> 10	3.68	0.492	0.196
32	7.92	3.51	0.714	0.196
33	2.63	1.26	0.094	0.002
34	3.86	3.24	0.285	1.023
35	3.40	2.12	0.095	0.024
36	6.49	> 10	1.143	0.014
37	9.24	> 10	0.331	0.009
38	7.84	> 10	1.285	0.0091
39	5.73	> 10	1.297	0.844
40	9.56	> 10	0.981	0.276
41	6.14	9.88	0.780	0.306
42	9.68	> 10	0.126	0.032
43	6.33	> 10	0.963	0.187
44	8.04	> 10	0.952	0.020

	45	9.93	> 10	0.971	0.144
	55	2.67	9.17	1.09	0.43
	56	2.74	2.33	0.127	0.0010
	57	0.33	0.98	0.037	0.0010
	58	1.86	8.26	0.143	0.0014
	59	2.27	9.34	0.351	0.0009
	60	1.59	6.27	0.338	0.0124
	61	2.51	> 10	0.116	0.0011
	62	2.19	2.46	0.72	0.22
	63	3.13	2.38	0.132	0.0009
	64	2.14	5.47	0.38	0.018
	65	2.93	7.27	0.883	0.0064
	66	3.25	5.38	0.365	0.0007
	67	1.73	> 10	0.281	0.0143
[0924]	68	2.25	3.36	0.119	0.0003
	69	2.44	2.96	0.47	0.82
	70	4.08	> 10	0.98	0.47
	71	2.06	5.70	1.41	0.115
	72	3.16	8.85	1.14	0.0081
	73	0.37	7.92	8.09	0.941
	77	1.38	1.41	0.18	0.21
	78	5.06	> 10	0.93	0.43
	79	8.11	> 10	0.29	0.30
	80	7.87	> 10	0.095	0.0011
	81	0.96	4.02	0.37	0.17
	82	6.92	> 10	1.19	1.86
	83	0.67	> 10	0.064	0.0008
	对照组	0.00012	0.083	0.851	0.277

[0925] 如表3中所示,根据本发明的化合物显示出抑制了Hs746TCP(胃癌细胞)以及H1993CP、H2228CP和H3122CP(肺癌细胞)的ALK和ACK1的活性,从而降低了它们的增值活性。特别地,在本发明实施例的化合物中,约88%的化合物在H2228CP和H3122CP(肺癌细胞)中示出的GI<sub>50</sub>值为0.093-0.78和0.003-0.276,因此证明了这些化合物对抗癌细胞增殖较之对照组更好的抑制活性。此外,84%的化合物在H2228CP和H3122CP中显现出较之对照组显著更强的对抗癌细胞增殖的抑制活性。以上结果证实了本发明的化合物较之对照组具有很好的抑制活性,该对照组是目前作为用于治疗非小细胞肺癌的治疗剂。结论是,根据本发明化学式1所示的N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物被证实具有通过抑制ALK和ACK1的活性来对抗癌细胞增殖的抑制活性,特别是,被证实较之Crizotinib<sup>®</sup>(阳性对照)具有更优的抑制活性,Crizotinib<sup>®</sup>是一种通过抑制ALK活性用于治疗非小细胞肺癌的常规治疗剂。

[0926] 因此,根据本发明的N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物不仅具

有很好的对抗ALK活性的抑制活性,而且还具有很好的对抗ACK1活性的抑制活性,因此可以有效地作为一种用于预防或治疗的药物组合物,诸如非小细胞肺癌、神经母细胞瘤、炎性肌纤维母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肌纤维母细胞瘤、乳腺癌、胃癌、肺癌和和黑素瘤,而且还可用作一种有用的ALK和ACK1的抑制剂。

[0927] <实验实施例4>通过磷酸化评估对ALK抑制活性

[0928] 为了测定根据本发明化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物在酶水平上对ALK的细胞增殖活性的抑制活性,进行了如下所述的实验。

[0929] 为了通过ALK磷酸化率来确定本发明N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物对ALK的抑制活性,测量了用ALK处理的肺癌细胞系H3122的磷酸化率。特别地,通过用本发明实施例7、11、12、14、16、21、33、35、57-61、63-68、72、80和83中制备的化合物处理的组,用二甲亚砜(DMSO)处理的未处理组,以及用CH5424802(Chugai)、**Crizotinib**<sup>®</sup>(Pfizer)和NVP-TAE684(Novartis)处理的对照组来确定ALK的磷酸化率,并通过与本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物比较进行分析。

[0930] 采用的肺癌细胞系为H3122,其使用含有10%胎牛血清(FBS)的RPMI-1640培养基在培养装置中于37℃、5% CO<sub>2</sub>的条件下培养,用浓度为50nM的化合物处理,细胞在细胞培养装置中进一步培养6小时。然后,收集培养的细胞以得到细胞蛋白,采用ALK抗体通过免疫沉淀反应从中仅得到ALK蛋白。对于以上获得的蛋白,用Western印迹测量ALK的磷酸化率,结果如图1所示。

[0931] 如图1中所示,根据本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物被证实对ALK具有很好的抑制活性。更具体地,当用根据本发明所述的实施例7、11、12、14、16、21、33、35、57-61、63-68、72、80和83中制备的化合物处理时,ALK被这些处理化合物抑制,因而ALK的浓度显著降低。与此相反地,当使用与癌细胞增殖相关的Akt和Erk处理时,抑制效果则不显著,并且当使用微管蛋白(小管形成蛋白)处理时,未发现对微管蛋白活性具有抑制活性,因而证明了其对人体血管而言有很好安全性。此外,已知的常规ALK抑制剂**Crizotinib**<sup>®</sup>与本发明的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物相比,其ALK的抑制率明显更低,而对于CH5424802,其抑制率也明显更低。从上述内容可知,本发明的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物与传统的ALK抑制剂相比,对ALK具有明显提高的抑制活性,并且同样由于缺乏对微管的抑制活性,其对人体是安全的。

[0932] 因此,本发明的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物显示出对ALK活性有很好的抑制活性,因而可以作为一种用于预防或治疗癌症的药物组合物,诸如非小细胞肺癌、神经母细胞瘤、炎性肌纤维母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肌纤维母细胞瘤、乳腺癌、胃癌、肺癌以及黑素瘤等,也可作为一种有用的ALK活性抑制剂。

[0933] <实验实施例5>通过磷酸化评估对ACK1抑制活性

[0934] 为了测定本发明化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物在酶水平上对ACK1的细胞增殖活性的抑制活性,进行了如下实验。

[0935] 为了通过ACK1磷酸化率来确定本发明N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物对ACK1的抑制活性,测量了用ACK1处理前列腺癌细胞系LNCaP的磷酸化率。特别地,在用根据本发明所述的实施例1、5、7和11中制备的化合物处理之后,确定ACK1的磷酸化

率,也确定了用二甲亚砜(DMSO)处理的未处理组、以及用CH5424802(Chugai)、达沙替尼(Dasatinib<sup>®</sup>, Bristol-Myers Squibb)和免疫球蛋白G(Ig G)处理的对照组的ACK1磷酸化率,而且通过与根据本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物比较进行分析。

[0936] 采用的前列腺癌细胞系为LNCaP,其使用含有10%胎牛血清(FBS)的RPMI-1640培养基在培养装置中于37℃、5% CO<sub>2</sub>的条件下培养,用浓度为500nM的化合物处理,细胞在细胞培养装置中进一步培养3小时。然后,收集培养的细胞以获得细胞蛋白,采用ACK1抗体通过免疫沉淀反应从中仅获得ACK1蛋白。对于上述获得的蛋白,用Western印迹测量ACK1的磷酸化率,结果如图2所示。

[0937] 如图2中所示,根据本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物被证实对ACK1具有很好的抑制活性。更具体地,当用根据本发明所述的实施例1、5、7和11中制备的化合物处理时,ACK1被这些处理化合物抑制,因而ACK1的浓度显著降低。与此相反地,对于达沙替尼(Dasatinib<sup>®</sup>),作为已知的传统酪氨酸激酶抑制剂,其抑制效果明显低于本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物的效果;对于CH5424802,其抑制率也明显更低。从上述内容可知,根据本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物与传统的ACK1抑制剂相比具有明显提高的对ACK1的抑制活性。

[0938] 因此,根据本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物显示出对ACK1活性有很好的抑制活性,因而可以作为一种用于预防或治疗诸如前列腺癌、子宫癌和胃癌的癌症的药物组合物,也可以作为一种有用的ACK1活性抑制剂。

[0939] <实验实施例6>通过动物模型评估对肿瘤细胞增殖的抑制活性

[0940] 为了评估根据本发明化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物对癌细胞增殖的抑制活性,进行了如下实验。

[0941] 对一只约6周大的小鼠异种移植肺癌细胞系H3122NSCLC,并施用根据本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物,测定抑制肺癌细胞增殖的激活率。首先,根据实验动物指南获得实验动物,根据获准的动物实验方案进行习服(habituat)并驯化(progress)。所有实验均使用H3122NSCLC细胞系异种移植的小鼠进行。实验条件设定温度21±2℃、湿度50±5%,光暗循环周期设定为12小时(早7点-晚7点)。实验过程中,动物自由采食和饮水。在约6周大时,将H3122NSCLC细胞系移植到异种移植小鼠上,并施用根据本发明所述的实施例7的化合物,并用Crizotinib<sup>®</sup>处理的组作为对照组。具体地,给药时间为14天,在本发明化合物的组中,将样品溶解于20%聚乙二醇400和3%吐温80的混合溶液中,通过腹腔内注射每天给药一次。在Crizotinib<sup>®</sup>组中,每天口服给药一次。此外,每组分配的动物数量为8只,并且采用辅料处理组作为未经处理的组。对于经样品处理的小鼠,测量其肿瘤的体积及其体重,结果如图3所示。

[0942] 根据本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物不仅对抑制癌细胞增殖有很好的效果,而且对本体安全。更具体地,当经根据本发明所述的实施例7中制备的化合物处理时,移植瘤的体积为190mm<sup>3</sup>-280mm<sup>3</sup>,因而证明了与实验第一天的肿瘤

体积相比并未显示出明显区别。与此相反,在未处理组,超过27天后,肿瘤体积为约560mm<sup>3</sup>,与第一天相比增大了约2.8倍。在经Crizotinib<sup>®</sup>处理的对照组中,超过27天后,肿瘤的体积与第一天相比增大了2.3倍。此外,当经根据本发明所述的实施例7中制备的化合物处理时,异种移植肺癌细胞系的小鼠的体重变化可以忽略不计。

[0943] 从上述内容可以看出,根据本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物被证明与传统抗癌剂相比对癌细胞增殖具有很好的抑制效果,并且还不具有细胞毒性,因而可以安全地用于人体。

[0944] 因此,根据本发明所述的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物具有很好的体内肿瘤抑制效果,因而可有效地作为一种用于预防或治疗前列腺癌、子宫癌、胃癌的药物组合物。

[0945] 同时,根据本发明所述的化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物可以配制成多种形式。以下提供了几个含有上述化学式1所示的N2,N4-双(4-(哌嗪-1-基)苯基)嘧啶-2,4-二胺衍生物的配制方法的示例性实施例,但本发明并不局限于此。

[0946] <配制实施例1>药物制剂的制备

[0947] 1-1.粉剂的制备

[0948] 化学式1的化合物 500mg

[0949] 乳糖 100mg

[0950] 滑石粉 10mg

[0951] 混合以上组份,装入密封袋内以制备粉剂。

[0952] 1-2.片剂的制备

化学式1的化合物 500 mg

玉米粉 100 mg

[0953] 乳糖 100 mg

硬脂酸镁 2 mg

[0954] 混合以上组份,压片以制备片剂。

[0955] 1-3.胶囊剂的制备

化学式1的化合物 500 mg

玉米粉 100 mg

[0956] 乳糖 100 mg

硬脂酸镁 2 mg

[0957] 根据制备胶囊剂的常规方法,混合上述组分,装入胶囊中以制备胶囊剂。

[0958] 1-4.注射剂的制备

[0959] 化学式1的化合物 500mg

[0960] 注射用无菌蒸馏水 足量

[0961] pH调节剂 足量

[0962] 根据制备注射剂的常规方法,将以上组分封装于每个安瓿中(2mL)。

[0963] 1-5.液体剂的制备

化学式1的化合物	100 mg
----------	--------

[0964] 异构糖	10 g
------------	------

甘露醇	5 g
-----	-----

[0965] 蒸馏水	足量
------------	----

[0966] 根据制备液体剂的常规方法,加入蒸馏水分别溶解各组份,加入足量的柠檬香精。然后混合以上组份,加蒸馏水至终体积100mL,装入棕色瓶中,灭菌以制备液体剂。尽管本发明以说明的目的公开了优选的实施方式,但本领域的技术人员将理解,各种修改、添加及替换均是可能的,并不会背离如所附权利要求书中公开的范围和精神。

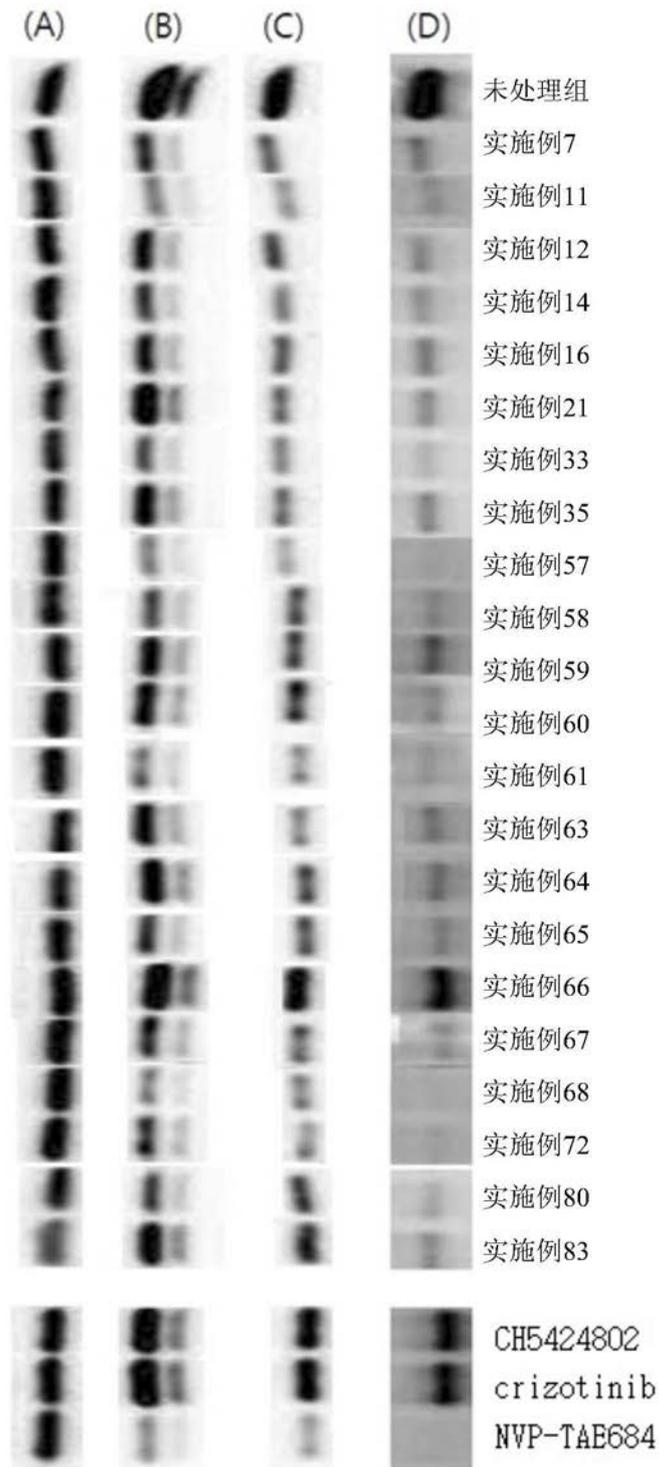


图1

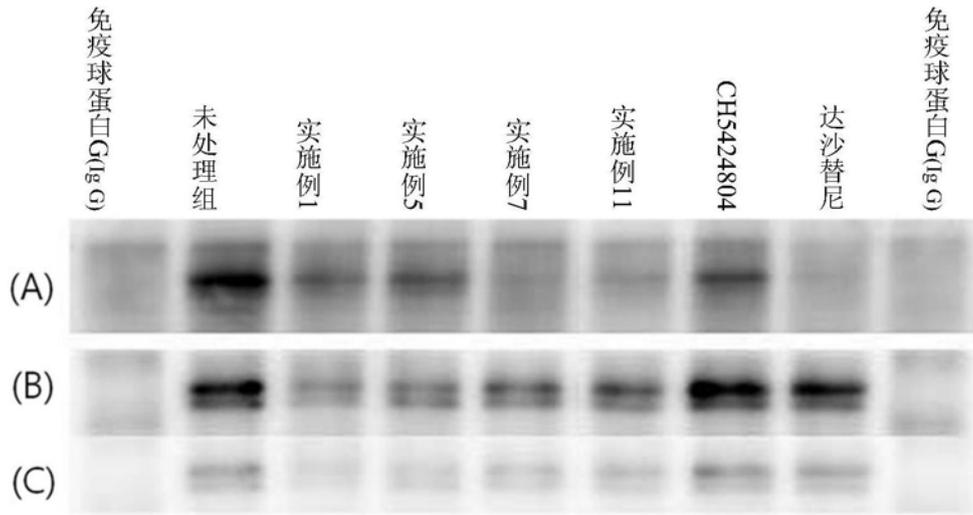


图2

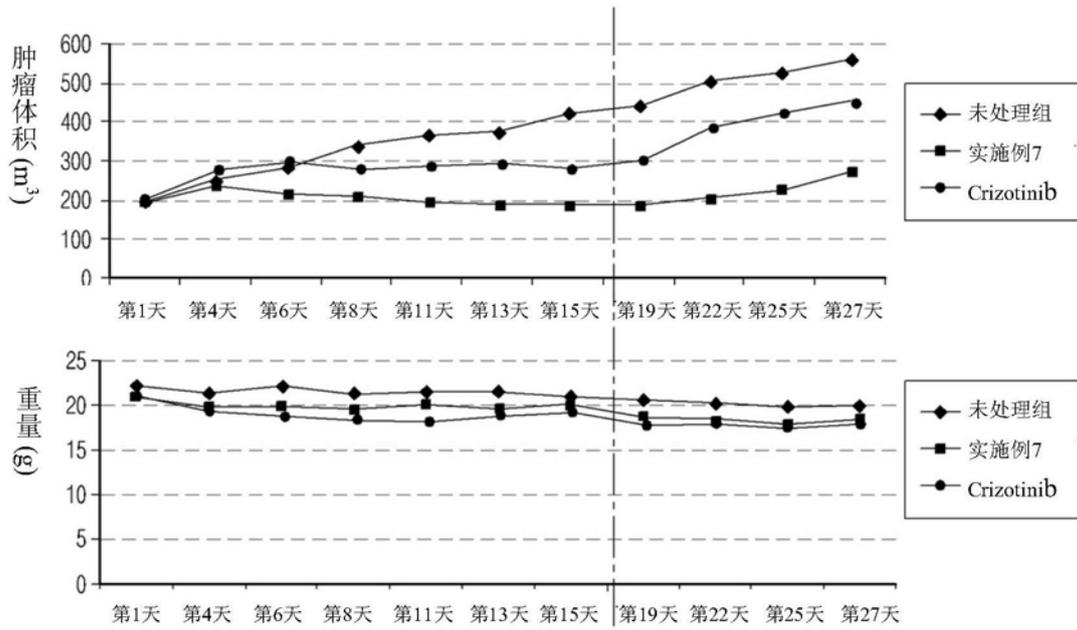


图3