

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023年3月2日 (02.03.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/024545 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 487/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01) *A61P 35/02* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/088850

(22) 国际申请日: 2022年4月24日 (24.04.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202110965475.4 2021年8月23日 (23.08.2021) CN

(71) 申请人: 中南大学湘雅医院 (XIANGYA HOSPITAL, CENTRAL SOUTH UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国湖南省长沙市开福区湘雅路87号, Hunan 410008 (CN)。

(72) 发明人: 陈永恒(CHEN, Yongheng); 中国湖南省长沙市开福区湘雅路87号, Hunan 410008 (CN)。 陈小娟(CHEN, Xiaojuan); 中国湖南省长沙市开福区湘雅路87号, Hunan 410008 (CN)。 徐广宇(XU, Guangyu); 中国湖南省长沙市开福区湘雅路87号, Hunan 410008 (CN)。 付莹(FU, Ying); 中国湖南省长沙市开福区湘雅路87号, Hunan 410008 (CN)。 陈主初(CHEN, Zhuchu); 中国湖南省长沙市开福区湘雅路87号, Hunan 410008 (CN)。

(74) 代理人: 北京美智年华知识产权代理事务所(普通合伙)(MEICHITIMES IP LAW FIRM); 中国北京市怀柔区融城北路10号院46号楼1014, Beijing 101400 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,

MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

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

根据细则4.17的声明:

- 关于发明人身份(细则4.17(i))
- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))
- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: FGFR4 INHIBITOR AND COMPOSITION, AND USES THEREOF IN DRUG PREPARATION

(54) 发明名称: FGFR4抑制剂、组合物及其在药物制备中的用途

(57) Abstract: An FGFR4 inhibitor taking 3,4-dihydropyrimidine[4,5-d]pyrimidine-2(1H)-ketone as a mother nucleus and having a covalent structure. Compounds such as LX01, LX05, LX06, LX07, and LX08 can only be covalently bound to Cys552 in the FGFR4 and cannot be covalently bound to Cys477 in the FGFR4, while a compound LX09 can be covalently bound to the two cysteines Cys552 and Cys477 in the FGFR4.

(57) 摘要: 一种以3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-2(1H)-酮为母核且具有共价结构的FGFR4抑制剂, 其中LX01、LX05、LX06、LX07、LX08等化合物只能和FGFR4中的Cys552共价结合, 不能和FGFR4中的Cys477共价结合, 而化合物LX09可以与FGFR4中两个半胱氨酸Cys552和Cys477进行共价结合。



WO 2023/024545 A1

FGFR4 抑制剂、组合物及其在药物制备中的用途

技术领域

本发明描述的是一种化合物、制备该化合物的方法、以及使用所述化合物和组合物用以抑制酪氨酸激酶活性的方法。

背景技术

成纤维细胞生长因子受体(FGFR)是一个受体酪氨酸激酶家族,包含FGFR1, FGFR2, FGFR3、FGFR4 和其他 18 种不同 FGF 配体的高亲和力受体。这些配体-受体组合可调节人类组织发育过程中多种信号传导和内分泌活动。FGFR 的遗传改变,包括突变、融合和基因扩增都会导致异常的信号通路激活并驱动癌细胞的生长。研究者已在多种癌症类型中检测到 FGFR 的遗传改变,包括乳腺癌,肝癌,鳞状非小细胞肺癌,鳞状头颈癌和胆管癌等。而以 FGFR 作为治疗靶标的临床验证已在膀胱癌,肝癌,肺癌,乳腺癌和胃癌中得到证实。

近年来,异常的成纤维细胞生长因子受体 4 (FGFR4) 信号已被确定为 HCC 肿瘤发生和发展的主要驱动力。FGFR4 是肝细胞中表达最高的同种型,其配体 FGF19 与共受体 β -Klotho 独家结合于 FGFR4 以调节肝细胞的增殖,FGF19 蛋白过多会增加 HCC 细胞系的增殖和侵袭的几率。FGFR4 高表达的肝癌异型移植的小鼠在抑制 FGF19-FGFR4 生成或使用 FGFR4 抗体,能有效消除了小鼠模型中的肝癌发生。临床研究表明,在所有 HCC 的患者中有一半患者 FGFR4 过表达,大部分 HCC 患者 FGF19 和 FGFR4 均上调,而 FGF19 水平与肿瘤大小和肝切除术后复发呈正相关,FGF19 过表达的 HCC 患者比 FGF19 低表达的 HCC 患者生存时间短五年。因此,可开发 FGFR4 选择性抑制剂来治疗由异常 FGFR4 信号驱动的癌症患者。

FGFR4 在癌细胞转移和耐药性方面起着非常重要的作用,具有良好抑制 FGFR4 效力的 FGFR 不可逆抑制剂将显示出广阔的应用前景。在对 FGFR4 的抑制具有高效力和选择性的共价抑制剂中, BLU9931、BLU-554 和 H3B-6527 都是与 FGFR4 蛋白铰链区的 Cys552 巯基共价结合,而 PRN1371、FIIN-2 和 TAS-120 是与 FGFR4 蛋白 p 环中的 Cys477 共价结合,都只能和其中的一个半胱氨酸残基进行共价结合,还没有发现可以和 FGFR4 蛋白中的两个半胱氨酸残基同时共价结合的抑制剂。且这些不可逆抑制剂在临床试验过程中有些产生了耐药突变,如 BLU-554 的临床 I 期试验中发现肝癌细胞的 Cys552 突变。本发明则是通过药物拼合、基团替换、碳链增长、结构简化等策略开发出一种可以和 FGFR4 蛋白中的两个半胱氨酸同时进行共价结合的 FGFR4 双共价抑制剂。

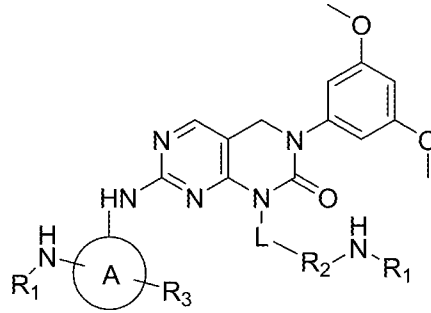
发明内容

本发明的目的提出一种结构优化的 FGFR4 抑制剂,其具有优异的抑制成纤维细胞生长因子受体 4 的效果。

本发明还提出一种 FGFR4 的抑制剂,其中含有一种可以和 FGFR4 蛋白中的两个半胱氨酸 (Cys477 和 Cys552) 同时进行共价结合的 FGFR4 双共价抑制剂。

本发明的化合物具有式 I 的结构:

式 I



其中, R₁指的是能够与亲核剂形成共价键的部分; R₂是芳基或杂环基团; L 是-[C(R5)(R6)]_q-,其中 R5 和 R6 各自独立地是 H 或 C1-C6 烷基,其中 q 是 1-3; 其中 A 为苯基, R₃为 A 苯基上的氢或甲基。

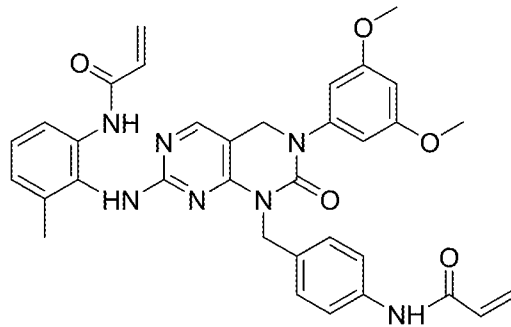
在一种具体实施方式中, R₁为丙烯酰基。

在一种具体实施方式中, L 独立地为 C1-C3 的烷基。

在一种具体实施方式中, R₂为苯基。

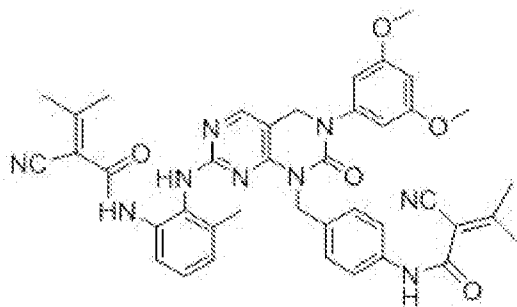
在本发明的合成实施例中, 合成了下述化合物:

N-(4-((7-((2-丙烯酰胺基-6-甲基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-2-氧-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)甲基)苯基)丙烯酰胺;



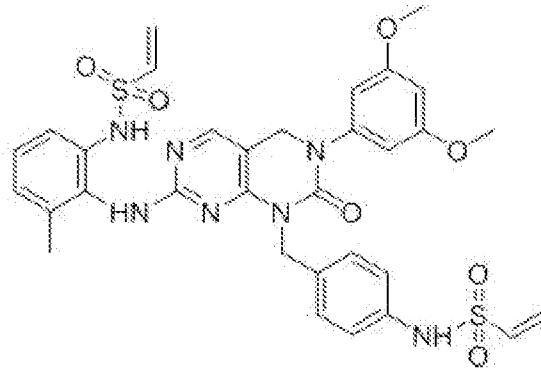
LX01

2-氰基-N-(4-((7-((2-(2-氰基-3-甲基-2-丁烯酰胺基)-6-甲基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-2-氧代-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)甲基)苯基)-3-甲基-2-丁烯酰胺;



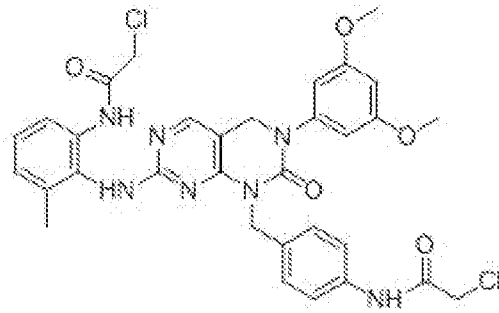
LX02

N-(4-((3-(3,5-二甲氧基苯基)-7-((2-甲基-6-(乙烯磺酰胺基)苯基)氨基)-2-氧代-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)甲基)苯基)乙烯磺酰胺;



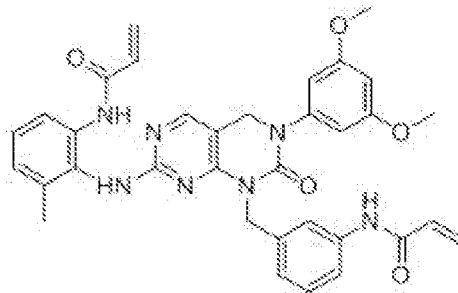
LX03

2-氯-N-(4-((7-((2-(2-氯代乙酰胺基)-6-甲基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-2-氧代-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)甲基)苯基)乙酰胺;



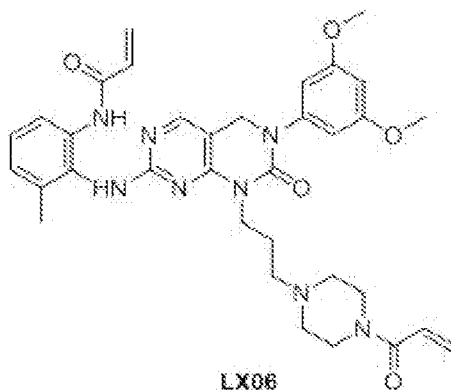
LX04

N-(3-((7-((2-丙烯酰胺基)-6-甲基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-2-氧代-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)甲基)苯基)丙烯酰胺;



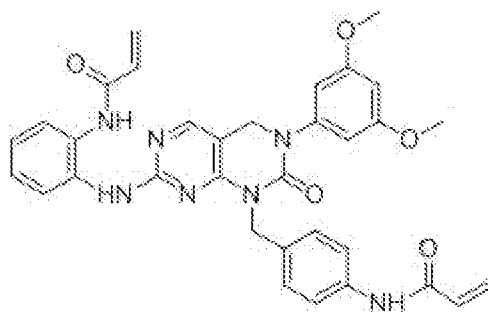
LX05

N-(2-((8(3-(4-丙烯酰基哌嗪-1-基)丙基)-6-(3,5-二甲氧基苯基)-7-氧代-5,6,7,8-四氢嘧啶基[4,5-d]嘧啶-2-基)氨基)-3-甲基苯基)丙烯酰胺;



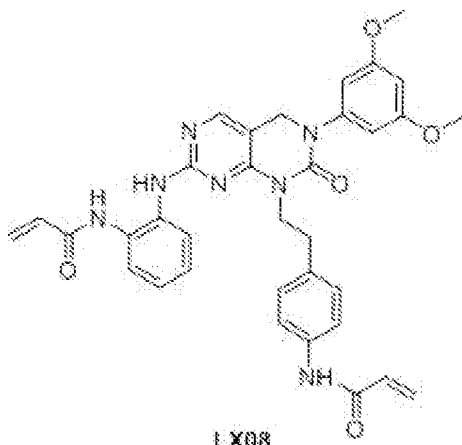
LX06

N-(2-((8-(4-丙烯酰胺基苄基)-6-(3,5-二甲氧基苯基)-7-氧代-5,6,7,8-四氢嘧啶基[4,5-d]嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺;



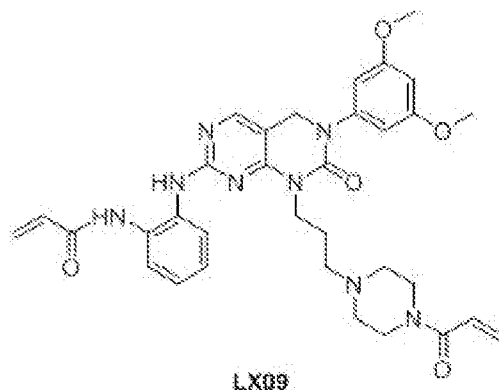
LX07

N-(2-((8-(4-丙烯酰胺基苯乙基)-6-(3,5-二甲氧基苯基)-7-氧代-5,6,7,8-四氢嘧啶基[4,5-d]嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺;



LX08

N-(2-((8-(3-(4-丙烯酰胺基哌嗪-1-基)丙基)-6-(3,5-二甲氧基苯基)-7-氧代-5,6,7,8-四氢嘧啶基[4,5-d]嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺;



根据本发明的化合物是一种高效的 FGFR4 特异性的共价抑制剂。

附图说明

图 1 为化合物 LX01 与 FGFR4 的两个半胱氨酸 (Cys477 和 Cys552) 结合前后的质谱图比较;

图 2 为化合物 LX05 与 FGFR4 的两个半胱氨酸 (Cys477 和 Cys552) 结合前后的质谱图比较;

图 3 为化合物 LX06 与 FGFR4 的两个半胱氨酸 (Cys477 和 Cys552) 结合前后的质谱图比较;

图 4 为化合物 LX07 与 FGFR4 的两个半胱氨酸 (Cys477 和 Cys552) 结合前后的质谱图比较;

图 5 为化合物 LX08 与 FGFR4 的两个半胱氨酸 (Cys477 和 Cys552) 结合前后的质谱图比较;

图 6 为化合物 LX09 与 FGFR4 的两个半胱氨酸 (Cys477 和 Cys552) 结合前后的质谱图比较。

具体实施方式

除非特别说明, 本文单独或作为另一基团的部分所使用的术语“环烷基”包括包含 1 至 2 个环的饱和或部分不饱和(包含 1 或多个双键)环状烃基团, 优选包括 3 至 10 个碳, 例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基和环癸基。“取代的环烷基”包括环烷基, 其被一个或多个取代基如卤素、烷基、烷氧基、羟基、芳基、芳氧基、芳基烷基、环烷基、烷基酰氨基、烷酰基氨基、氧代、酰基、芳基羰基氨基、氨基、硝基、氰基、硫醇和/或烷基硫代和/或包括在“取代的烷基”定义中的任何取代基任选取代。

除非特别说明, 本文中单独或作为另一基团的部分使用的术语“芳基”或“Ar”是指在环部分中包含 6 至 10 个碳的单环和多环芳香基团(如苯基或萘基, 包括 1-萘基和 2-萘基)和可任选地包括稠合至碳环或杂环(如芳基、环烷基、杂芳基或环杂烷基环)上的一个至三个额外的环。

除非另有所指, 本文所用的术语“杂环”或“杂环”表示未取代的或取代的稳定 5-至 10-元单环体系, 其可为饱和或不饱和的, 由碳原子和选自 N、O 或 S 的 1 至 4 个杂原子组成, 且其中氮和硫杂原子可任选地被氧化, 且氮杂原子

可任选地被季铵化。这种杂环基团的例子包括，哌啶基、哌嗪基、氧哌嗪基、吡咯基、吡咯烷基、呋喃基、噻吩基、吡唑基、吡唑烷基、咪唑基。

式 I 的化合物可作为可药用盐存在，这也在本发明的范围内。如果式 I 化合物具有例如至少一个碱性中心，它们可形成酸加成盐。这些例如使用强无机酸、强有机羧酸或有机磺酸形成，该强无机酸如矿物酸例如硫酸、磷酸或氢卤酸，该强有机羧酸如未取代的或取代(例如被卤素取代)的 1 至 4 个碳原子的烷烃羧酸例如乙酸、如饱和或不饱和二羧酸例如草酸、丙二酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、邻苯二甲酸或对苯二甲酸、如羟基羧酸例如抗坏血酸、乙醇酸、乳酸、苹果酸、酒石酸或柠檬酸、如氨基酸(例如天冬氨酸或谷氨酸或赖氨酸或精氨酸)、或苯甲酸，该有机磺酸如未取代的或取代(例如被卤素取代)的(C1-C4)烷基或芳基磺酸例如甲基或对甲苯-磺酸而形成。如果需要，也可额外衍生一个碱性中心以形成相应的酸加成盐。

本发明化合物可以药物组合物的形式使用，其中包含治疗有效量的本文所限定的本发明化合物和可药用载体或稀释剂。

本发明的药物可用于治疗 FGR4 介导的病症，尤其是癌症。这些癌症包括肝细胞癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、头颈部癌、肾癌、肝癌、卵巢癌、前列腺癌、食管癌、胆囊癌、胰脏癌、肺癌、间皮瘤、睾丸癌、鳞状细胞癌、甲状腺癌、皮肤癌、白血病、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性淋巴瘤、成人 T 细胞白血病、B 细胞淋巴瘤、急性骨髓性白血病、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、瓦尔登斯特伦士巨球蛋白血症、毛状细胞淋巴瘤、伯克特淋巴瘤、神经胶母细胞瘤、黑素瘤以及横纹肌肉瘤。

可以调节根据本发明的药物组合物的形式，以适于用多种给药途径向需要治疗的患者例如哺乳动物如人患者给药，例如口服给药、鼻内给药、腹膜内给药、或非消化道给药、通过静脉内、肌内、局部或皮下路径给药、或通过注射入组织给药。这种组合物和制剂应该包含至少 0.01% 的一种或多种本发明化合物。组合物和制剂的百分数当然可以变化和可以例如是给定单元剂型的约 0.05% 至约 2% 重量。化合物在这种治疗有用的组合物中的量使得获得有效的剂量水平。

本发明化合物可全身给药，如口服、与可药用载体如惰性稀释剂或可同化的食用载体组合、或通过吸入或吹入。它们可被包封在硬或软壳胶囊中、可被压成片剂、或可与病人食用的食品直接混合。对于口服治疗给药，本发明化合物可与一种或多种赋形剂组合和以可摄取的片剂、口含片剂、锭剂、胶囊、酞剂、悬浮液、糖浆、干胶片(wafer))等的形式使用。该化合物可与细的惰性粉状载体组合和由患者吸入或吹入。这种组合物和制剂应该包含至少 0.1% 的一种或多种本发明化合物。

片剂、锭剂、丸剂、胶囊等也可包含：粘合剂如西黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；赋形剂如磷酸二钙；崩解剂如玉米淀粉、马铃薯淀粉、藻酸等；润滑剂如硬脂酸镁；和甜味剂如蔗糖、果糖、乳糖或阿司帕坦，或可加入芳香剂如薄荷、冬青油或樱桃调味剂。当单元剂型是胶囊时，除了以上类型的材料，它还可包含液体载体如植物油或聚乙二醇。各种其它材料可存在作为涂层或以

其它方式改变固体单元剂型的外形 (physical form)。例如, 片剂、丸剂或胶囊可涂有明胶、蜡、虫胶、糖等。糖浆或酏剂可包含活性化合物、作为甜味剂的蔗糖或果糖、作为防腐剂的羟苯甲酸甲酯和羟苯甲酸丙酯、染料、和调味剂如樱桃或橙子调味剂。当然, 用于制备任何单元剂型的任何材料在用量上应该是可药用的和实质上无毒的。另外, 本发明化合物可引入持续释放制剂和设备。例如, 化合物可引入延时释放 (time release) 胶囊、延时释放片剂和延时释放丸剂。

本发明化合物也可通过输注或注射而静脉内或腹膜内给药。化合物的溶液可在水中制备, 任选地与非毒性表面活性剂混合。适用于注射或输注的药物剂型可包括无菌水溶液或分散体或无菌粉末。液体载体可以是溶剂或液体介质, 包括例如水、乙醇、多元醇 (例如甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)、植物油、非毒性甘油酯、和其合适的混合物。

对于局部给药, 本发明化合物可以纯的形式使用。但是, 通常期望将它们作为组合物或制剂与可以是固体或液体的皮肤学上可接受载体一起向皮肤给药。

有用的固体载体包括细分散的固体如滑石、粘土、微晶纤维素、硅石、矾土等。其它固体载体包括非毒性聚合物纳米颗粒或微颗粒。有用的液体载体包括水、醇或二醇或水/醇/二醇共混物, 其中本发明化合物可在有效的水平下任选地借助于非毒性表面活性剂而溶解或分散。可加入助剂如香料和另外的抗微生物剂以针对给定用途而优化性能。所得液体组合物可由吸收剂垫施用、用于浸渍绷带和其它敷料、或使用泵-型或气溶胶喷雾器喷雾到受影响的区域上。

增稠剂如合成聚合物、脂肪酸、脂肪酸盐和酯、脂肪醇、改性的纤维素或改性的矿物材料也可与液体载体一起使用以形成可铺展的糊、凝胶、软膏、皂等, 用于直接施用到使用者的皮肤上。

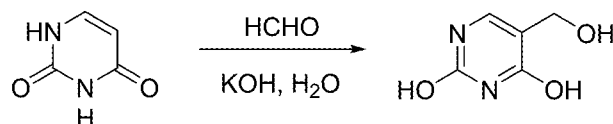
化合物在液体组合物如洗剂中的浓度可以是约 0.1 至约 25% 重量, 或约 0.5 至约 10% 重量。在半固体或固体组合物如凝胶或粉末中的浓度可以是约 0.1 至约 5% 重量, 或约 0.5 至约 2.5% 重量。

本发明化合物用于治疗所需的量不仅随着所选的特定盐变化, 而且随着给药路径、正在治疗的病况的性质以及病人的年龄和病况而变化, 且最终由主治医师或临床医师决定。

本发明试剂给药的有效剂量和路径是常规的。试剂的精确量 (有效剂量) 因患者不同而变化, 取决于例如患者的种类、年龄、重量和一般或临床状态、正在治疗的任何病症的严重性或机理、所用的特定试剂或载体、给药的方法和进度等。治疗有效剂量可通过本领域技术人员已知的常规程序经验地确定。

合成实施例 1 共价化合物 LX01 的合成

步骤 1: 5-(羟甲基)嘧啶-2, 4-二醇的合成

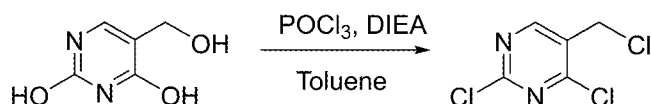


于 100 mL 单口烧瓶中依次加入尿嘧啶 (20.0 g, 178 mmol)、多聚甲醛 (6.50

g, 72.1 mmol)、氢氧化钾 (6.50 g, 116 mmol) 和 160 mL 水, 在 60 °C 下反应 72 h, 65 °C 下减压抽除溶剂, 残余物加入 50 ml 丙酮, 搅拌 2 h 后过滤, 干燥得 26.3 g 目标化合物, 白色固体, 收率 100%。mp: 290°C

步骤 2: 2,4-二氯-5-(氯甲基)嘧啶的合成

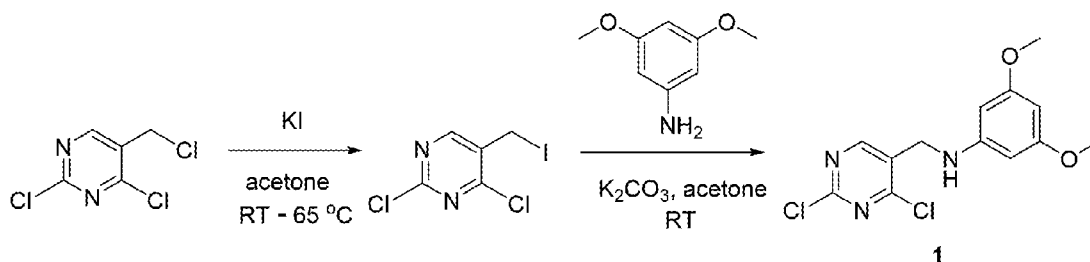
于 100 mL 单口烧瓶中加入 5-羟甲基嘧啶-2,4-二醇 (5.00 g, 35.2 mmol)、



三氯氧磷 (27.2 g, 177 mmol) 和 10 mL 甲苯, 冰浴下通过恒压滴管往单口烧瓶中缓慢滴加 DIEA (14.5 g, 112 mmol), 搅拌 5 min 后升温至 115 °C 反应 1 h, 再升温至 125 °C 反应 5 h, TLC 监控至反应完全 (乙酸乙酯:石油醚=1:1), 冷却反应至室温, 缓慢加入 50 mL 冰水淬灭反应, 甲苯 (50 mL×3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 5.2 g 目标化合物, 无色油状物, 收率 74.9%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.97 (s, 1H), 4.86 (s, 2H).

步骤 3: N-((2,4-二氯嘧啶)-5-甲基)-3,5-二甲氧基苯胺 (**1**) 的合成

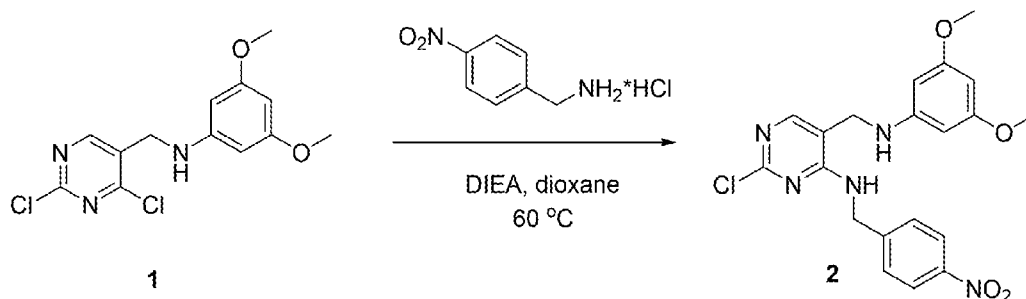
在 50 mL 单口烧瓶中依次加入 2,4-二氯-5-(氯甲基)嘧啶 (4.00 g, 20.3



mmol)、碘化钾 (3.50 g, 21.0 mmol)、25 mL 丙酮, 25 °C 反应 15 min, 再将反应升温至 60 °C 反应 30 min, 趁热过滤得母液, 待母液冷却至室温加入 3,5-二甲氧基苯胺 (3.70 g, 24.2 mmol) 和碳酸钾 (4.80 g, 34.5 mmol), 25 °C 搅拌 10 h。TLC 监控反应, 反应完全后减压抽除溶剂, 加入 25 mL 乙醇, 冰浴下搅拌 30 min, 析出白色固体, 过滤干燥得 5.3 g 化合物 **1**, 白色固体, 收率 84.4%。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.51 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.72 (s, 2H), 4.39 (s, 2H), 4.27 (s, 1H), 3.72 (s, 6H).

步骤 4: 2-氯-5-(((3,5-二甲氧基苯基)氨基)甲基)-N-(4-硝基苄基)嘧啶-4-胺 (**2**) 的合成

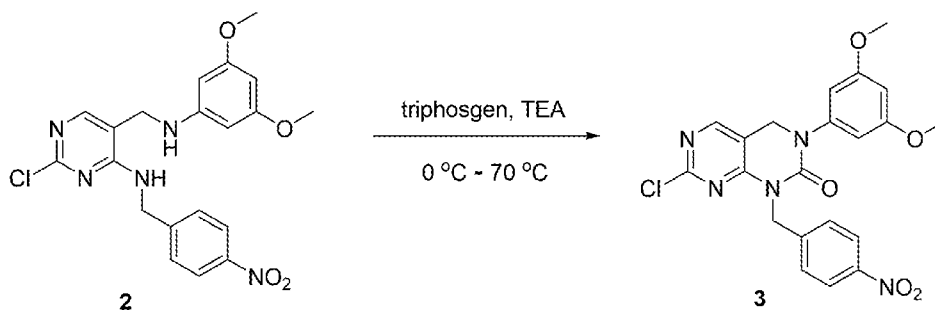
往 50 mL 单口烧瓶中加入化合物 **1** (2.51 g, 8.00 mmol)、4-硝基苄胺盐



酸盐 (2.00 g, 10.6 mmol)、DIEA (3.28 g, 25.4 mmol) 和 20 mL 二氧六环。

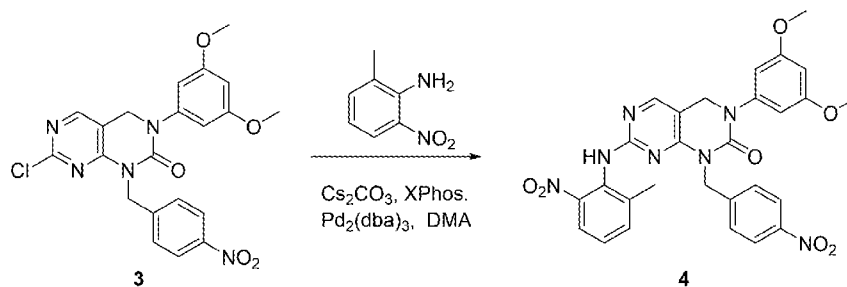
60 °C 温度下反应 10 h, TLC 监控反应 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇:三乙胺=20:8:1:1), 待反应完全后直接抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得粗品 2.86 g, 再用少量乙酸乙酯打浆, 过滤干燥后得 2.4 g 化合物 **2**, 黄色固体, 收率 70.0 %。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.12 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.46 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.98 (s, 2H), 4.78 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 4.26 (s, 2H), 3.71 (s, 6H)。

步骤 5: 7-氯-3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-(4-硝基苄基)-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-2(1H)-酮 (**2**) 的合成



往 25 mL 单口烧瓶中加入化合物 **2** (2.00 g, 4.65 mmol)、三光气 (695 mg, 2.31 mmol) 和 15 mL 干燥的 THF, 冰浴下缓慢滴加三乙胺 (940 mg, 9.32 mmol) 搅拌 1 h, 再将反应升温至 70 °C 反应 10 h, TLC 监控至原料反应完全 (石油醚:乙酸乙酯=2:1), 加入 5 mL 冰水淬灭反应, 减压抽除溶剂 THF, 乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取, 依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 1.76 g 化合物 **3**, 淡黄色固体, 收率 82.9 %。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.41 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.61 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H), 6.47 (s, 1H), 5.25 (s, 2H), 4.92 (s, 2H), 3.75 (s, 6H)。¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ 160.51, 158.06, 157.60, 154.72, 151.33, 146.56, 145.32, 143.54, 128.24, 123.52, 111.86, 104.41, 98.68, 55.42, 46.37, 43.87。

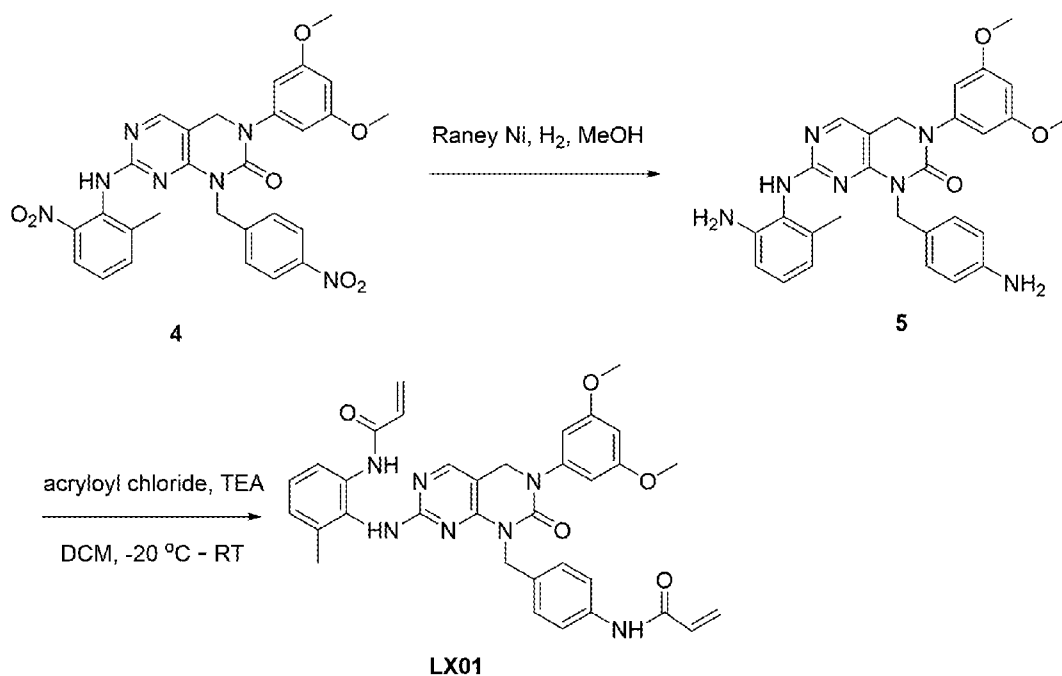
步骤 6: 3-(3,5-二甲氧基苯基)-7-((2-甲基-6-硝基苯基)氨基)-1-(4-硝基苄基)-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-2(1H)-酮 (**4**) 的合成



依次称取化合物 **3** (1.14 g, 2.5 mmol)、2-甲基-6-硝基苯胺 (570 mg, 3.75 mmol)、碳酸铯 (2.44 g, 7.50 mmol)、XPhos (238 mg, 0.50 mmol)

和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (229 mg, 0.25 mmol) 于 25 mL Schlenk 管中, 再加入 4 mL 干燥的 DMA, 氮气保护下 110 °C 反应 3 h. TLC 监控至原料反应完全 (石油醚: 乙酸乙酯: 甲醇=10:10:1), 乙酸乙酯 (30 mL \times 3) 萃取, 饱和碳酸氢钠洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 756 mg 化合物 **4**, 淡黄色固体, 收率 52.9%. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9.17 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.01 (s, 2H), 7.80 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.40 (t, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.60 (s, 2H), 6.45 (s, 1H), 5.04 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 3.75 (s, 6H), 2.18 (s, 3H).

步骤 7: N-(4-((7-((2-丙烯酰胺基-6-甲基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-2-氧-3,4-二氯嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)甲基)苯基)丙烯酰胺 (**LX01**) 的合成

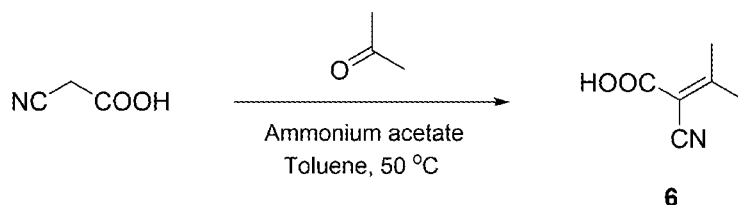


往 50 mL 单口烧瓶中加入化合物 **4** (500 mg, 0.88 mmol)、2 mL Raney nickel/ H_2 和 20 mL 甲醇, 氢气置换三次后于 25 °C 反应 10 h, TLC 监控反应至原料反应完全, 反应液经过硅藻土过滤得母液, 减压抽除溶剂, 真空干燥 12 h 得 430 mg 化合物 **5**, 淡黄色固体, 收率 96.1%。取化合物 **5** (200 mg, 0.39 mmol) 于 25 mL 双口瓶中, 加入 10 mL 干燥的 DCM, 三乙胺 (87 mg, 0.86 mmol), 氮气保护, 在冰盐浴下搅拌 10 min, 缓慢滴加丙烯酰氯 (68 mg, 0.76 mmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液, TLC 监控原料至反应完全 (石油醚: 乙酸乙酯: 甲醇=10:10:1), 加入 2 mL 冰水淬灭反应, 乙酸乙酯 (20 mL \times 3) 萃取, 依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 45 mg 化合物 **LX01**, 白色固体, 收率 18.6%。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10.05 (s, 1H), 9.49 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.45 (s, 2H), 7.22 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J = 1.9$ Hz, 2H), 6.51 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H),

6.42 (q, $J = 4.3$ Hz, 2H), 6.23 (m, $J = 7.1$ Hz, 2H), 5.72 (t, $J = 11.8$ Hz, 2H), 4.81 (s, 2H), 4.66 (s, 2H), 3.74 (s, 6H), 2.09 (s, 3H). ^{13}C NMR (500 MHz, $\text{MeOD}-d_4$): δ 166.51, 166.06, 162.73, 161.93, 157.98, 155.03, 145.36, 139.08, 138.47, 136.22, 135.37, 132.49, 132.24, 131.77, 130.37, 128.74, 128.05, 128.00, 127.70, 122.71, 121.17, 105.62, 100.34, 55.99, 44.67, 18.68. HRMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z calculated for $\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{N}_7\text{O}_5$, 620.2577; found, 620.2612.

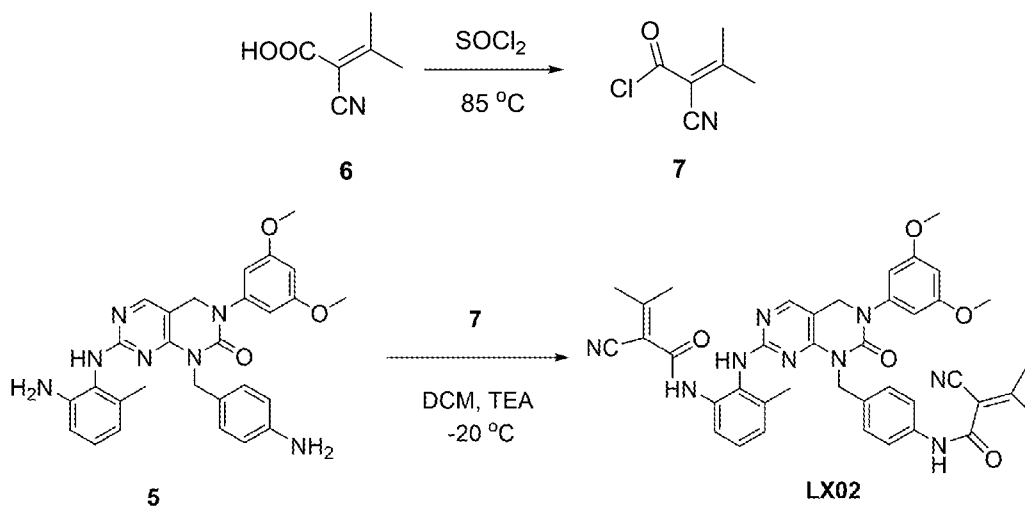
合成实施例 2 共价化合物 LX02 的合成

步骤 1: 2-氰基-3-甲基-2-丁烯酸 (**6**) 的合成



往 50 mL 单口烧瓶中加入氰乙酸 (2.55 g, 30.0 mmol)、丙酮 (3.48 g, 60.0 mmol) 和 25 mL 甲苯, 50 °C 反应 10 h, TLC 监控反应至原料反应完全 (乙酸乙酯:石油醚=2:1), 甲苯 (20 mL×3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂得 2.25 g 化合物 **6**, 白色晶体, 收率 60.0 %。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 10.03 (s, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.37 (s, 3H).

步骤 2: 2-氰基-N-(4-((7-((2-(2-氰基-3-甲基-2-丁烯酰胺基)-6-甲基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-2-氧代-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)甲基)苯基)-3-甲基-2-丁烯酰胺 (**LX02**) 的合成

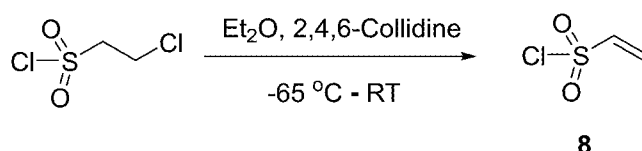


往 25 mL 单口烧瓶中加入 **6** (500 mg, 4.0 mmol) 和 12 mL 二氯亚砷, 85 °C 反应 4 h, ^{13}C 监控反应至原料反应完全 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇=10:10:1), 减压抽除溶剂, 得 550 mg 化合物 **7**。往 25 mL 双口烧瓶中加入 **5** (200 mg, 0.39 mmol), 12 mL 干燥的二氯甲烷, 三乙胺 (87 mg, 0.86 mmol), 氮气保护, 在冰盐浴下搅拌 10 min, 缓慢加入化合物 **7** (108 mg, 0.76 mmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液, TLC 监控原料反应完全 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇=10:10:1),

加入 2 mL 冰水淬灭反应，二氯甲烷 (20 mL×3) 萃取，依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤，合并有机相，用无水硫酸钠干燥，减压抽除溶剂，残余物经硅胶柱层析纯化得到 25 mg 化合物 **LX02**，白色固体，收率 8.8 %。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.75 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.89 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.30 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.12 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.47 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.39 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.64 (s, 2H), 3.78 (s, 6H), 2.40 (d, *J* = 18.4 Hz, 6H), 2.30 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H), 2.23 (s, 3H). ¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 171.23, 170.98, 161.30, 160.43, 159.77, 159.44, 157.45, 153.52, 153.09, 144.04, 135.94, 134.94, 130.11, 127.65, 120.51, 117.03, 116.80, 106.80, 106.53, 104.37, 102.96, 99.46, 55.68, 47.60, 44.01, 27.49, 18.67.

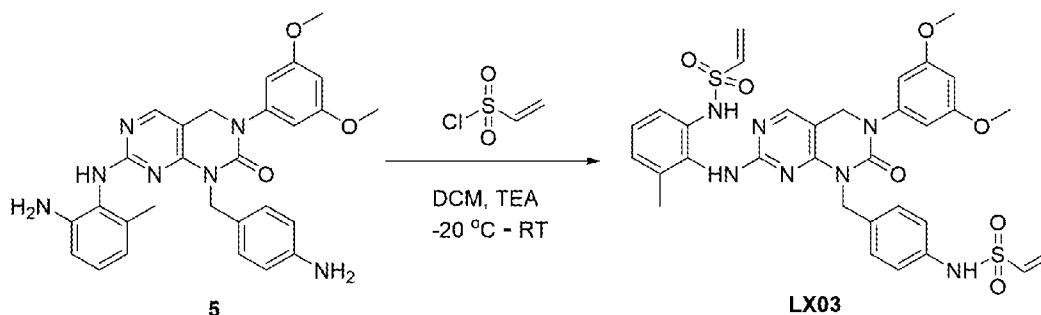
合成实施例 3 共价化合物 LX03 的合成

步骤 1: 乙烯磺酰氯 (**8**) 的合成



往 25 mL 单口烧瓶中加入 2-氯乙烷磺酰氯 (2.57 g, 15.8 mmol) 和 10 mL 乙醚，在 -60 °C 温度下缓慢滴加 2,4,6-三甲基吡啶 (2.30 g, 19.0 mmol) 的乙醚 (5 mL) 溶液，反应 10 min 后移至 25 °C 再反应 50 min，冰浴下加入 2 mL 浓度为 1 % 的硫酸溶液淬灭反应，再用乙酸乙酯 (2×20 mL) 萃取，饱和 NaCl 洗涤，合并有机相，无水硫酸钠干燥，减压抽除溶剂后得 1.5 g 化合物 **8**，无色油状物，收率 75.2 %。

步骤 2: N-(4-((3-(3,5-二甲氧基苯基)-7-((2-甲基-6-(乙烯磺酰胺基)苯基)氨基)-2-氧代-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)甲基)苯基)乙烯磺酰胺 (**LX03**) 的合成

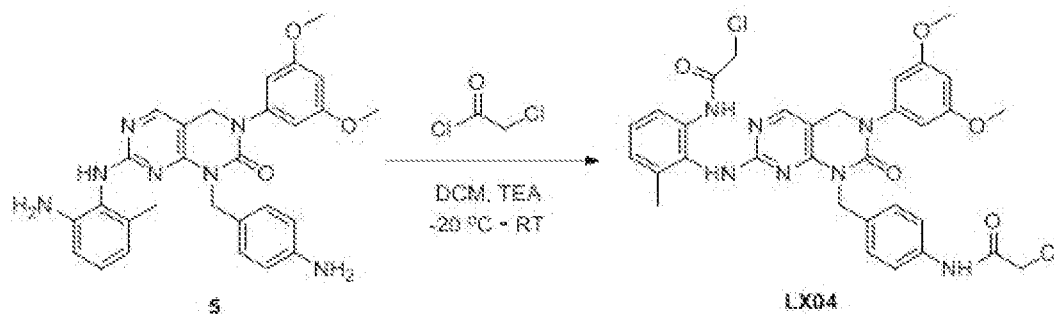


往 25 mL 双口烧瓶中加入 **5** (200 mg, 0.39 mmol)、三乙胺 (87 mg, 0.86 mmol) 和 12 mL 干燥的二氯甲烷，氮气保护，在冰盐浴下搅拌 10 min，缓慢加入化合物 **8** (108 mg, 0.76 mmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液，反应 4 h，TLC 监控原料至反应完全 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇=10:10:1)，加入 5 mL 冰水淬灭反应，乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取，依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤，合并有机相，无水硫酸钠干燥，减压抽除溶剂，残余物经硅胶柱层析纯化得到 56 mg 化合物 **LX03**，白色固体，收率 21.3 %。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9.90 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.22 (t, *J* = 8.9 Hz,

2H), 7.13(d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 6.95 (s, 3H), 6.73 (q, $J = 10$ Hz, 2H), 6.57 (d, $J = 1.9$ Hz, 2H), 6.44 (s, 2H), 6.09 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 6.00 (d, $J = 9.9$ Hz, 2H), 5.66 (s, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.69 (s, 2H), 3.74 (s, 6H), 2.04 (s, 3H). HRMS $[M+H]^+$ m/z calculated for $C_{32}H_{33}N_7O_7S_2$, 692.1916; found, 692.1954.

合成实施例 4 共价化合物 LX04 的合成

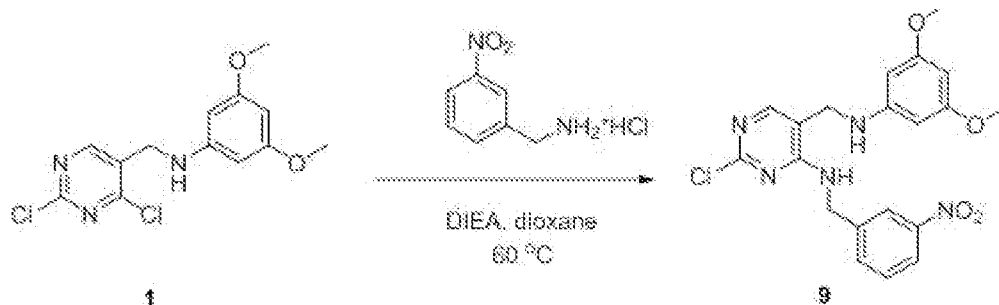
步骤 1: 2-氯-N-(4-((7-((2-(2-氯代乙酰胺基)-6-甲基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-2-氧代-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)甲基)苯基)乙酰胺(LX04)的合成



往 25 mL 双口烧瓶中加入 **5** (160 mg, 0.31 mmol)、三乙胺 (84 mg, 0.78 mmol) 和 10 mL 干燥的二氯甲烷, 氮气保护, 在冰盐浴下搅拌 10 min, 缓慢加入氯乙酰氯 (70 mg, 0.62 mmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液, TLC 监控原料至反应完全 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇=10:10:1), 加入 5 mL 冰水淬灭反应, 乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取, 依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 36 mg 化合物 **LX04**, 白色固体, 收率 17.3%。 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$): δ 10.23 (s, 1H), 9.43 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.35 (q, $J = 4.8$ Hz, 2H), 7.23 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.12 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.54 (d, $J = 2.0$ Hz, 2H), 6.43 (s, 1H), 4.67 (s, 2H), 4.29 (s, 2H), 4.23 (s, 2H), 3.74 (s, 6H), 2.54 (s, 2H), 2.10 (s, 3H). HRMS $[M+H]^+$ m/z calculated for $C_{32}H_{31}Cl_2N_7O_5$, 664.1797; found, 664.1838.

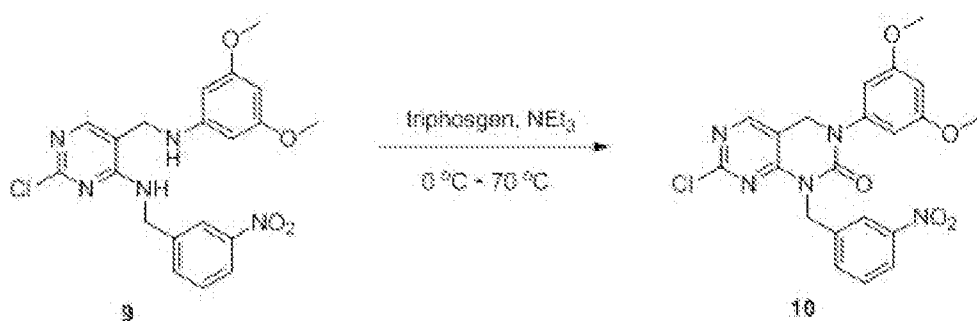
合成实施例 5 共价化合物 LX05 的合成

步骤 1: 2-氯-5-(((3,5-二甲氧基苯基)氨基)甲基)-N-(3-硝基苄基)嘧啶-4-胺(9)的合成



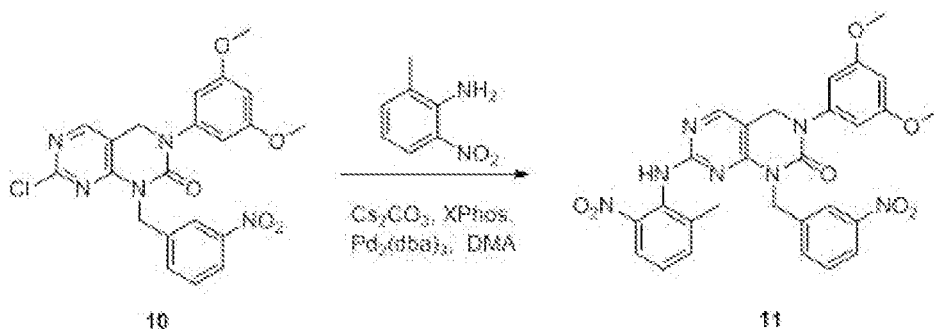
往 50 mL 单口烧瓶中加入化合物 **1** (2.51 g, 8.0 mmol)、3-硝基苄胺盐酸盐 (2.00 g, 10.6 mmol)、DIEA (3.28 g, 25.4 mmol) 和 20 mL 二氧六环, 60 °C 反应 10 h, TLC 监控原料至反应完全 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇:三乙胺=20:8:1:1), 抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得 2.8 g 化合物 **9**, 淡黄色油状物, 收率 51.0%。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.11 (s, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.63 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.46 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.91 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 5.93 (s, 1H), 5.87 (d, *J* = 1.8 Hz, 2H), 4.76 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 4.11 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.89 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.70 (s, 6H).

步骤 2: 7-氯-3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-(3-硝基苄基)-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-2(1H)-酮 (**10**) 的合成



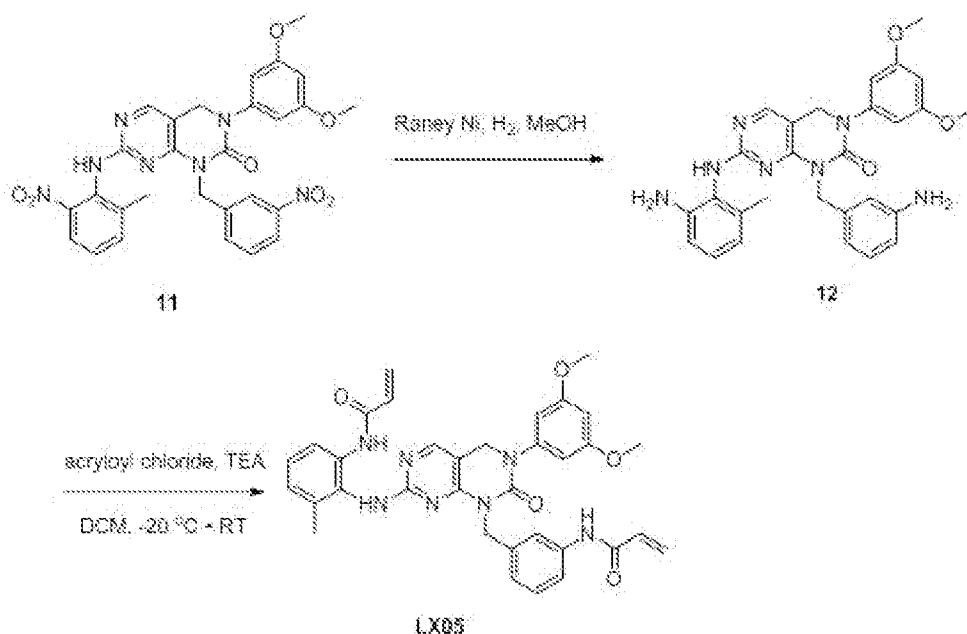
往 25 mL 单口烧瓶中加入化合物 **9** (1.50 g, 3.5 mmol)、三光气 (517 mg, 2.3 mmol) 和 15 mL 干燥的 THF, 冰浴下缓慢滴加三乙胺 (940 mg, 7.0 mmol), 搅拌 1 h 后将反应升温至 70 °C 反应 10 h, TLC 监控原料至反应完全 (石油醚:乙酸乙酯=2:1), 加入 5 mL 冰水淬灭反应, 乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取, 依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 1.12 g 化合物 **10**, 淡黄色固体, 收率 70.2%。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.40 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.13 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.46 (d, *J* = 1.9 Hz, 2H), 6.42 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 4.79 (s, 2H), 3.79 (s, 6H).

步骤 3: 3-(3,5-二甲氧基苯基)-7-((2-甲基-6-硝基苯基)氨基)-1-(3-硝基苄基)-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-2(1H)-酮 (**11**) 的合成



依次称取化合物 **10** (1.00 g, 2.5 mmol)、2-甲基-6 硝基苯胺 (570 mg, 3.8 mmol)、碳酸铯 (2.44 g, 7.5 mmol)、XPhos (238 mg, 0.50 mmol) 和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (229 mg, 0.25 mmol) 于 25 mL Schlenk 管中, 再加入 4 mL 无水 DMA, 氮气保护下 110 °C 反应 3 h。TLC 监控至原料反应完全 (石油醚: 乙酸乙酯: 甲醇=10:10:1), 乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取, 饱和碳酸氢钠洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 756 mg 化合物 **11**, 淡黄色固体, 收率 52.9 %。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 8.07 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 8.00 (s, 1H), 7.88 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.54 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.37 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.32 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 6.43 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.71 (s, 2H), 3.82 (s, 6H), 2.31 (s, 3H).

步骤 4: N-(3-((7-((2-丙烯酰胺基-6-甲基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-2-氧-3,4-二氯嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)甲基)苯基)丙烯酰胺 (**LX05**) 的合成

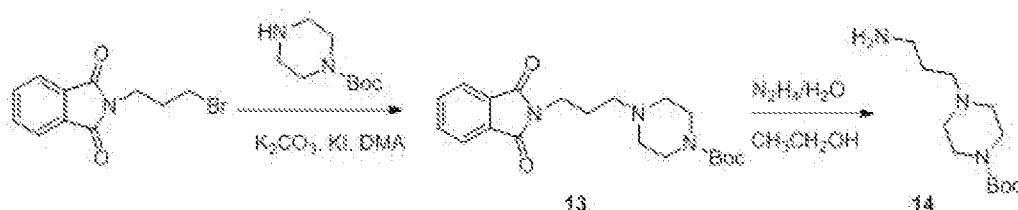


往 50 mL 单口烧瓶中加入化合物 **11** (500 mg, 0.87 mmol)、2 mL Raney nickel/ H_2O 和 20 mL 甲醇, 氢气置换三次后于 25 °C 反应 10 h, TLC 监控反应至原料反应完全 (石油醚: 乙酸乙酯: 甲醇=10:20:1)。将反应液经过硅藻土过滤得母液, 减压抽除溶剂, 真空干燥 12 h, 得 430 mg 化合物 **12**, 灰白色固体, 收率 96.0 %。取化合物 **12** (400 mg, 0.76 mmol) 于 25 mL 双口瓶中, 再加入三乙胺 (87 mg, 0.86 mmol) 和 10 mL 干燥的二氯甲烷, 氮气保护, 在冰盐浴下搅拌 10 min, 缓慢滴加丙烯酰氯 (68 mg, 0.76 mmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液, TLC 监控原料反应完全 (石油醚: 乙酸乙酯: 甲醇=10:10:1), 加入 2 mL 冰水淬灭反应, 再用乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取, 饱和碳酸氢钠洗涤, 合并有

机相，无水硫酸钠干燥，减压抽除溶剂经柱层析纯化得到 45 mg 化合物 **LX05**，白色固体，收率 18.6 %。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.27 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.70 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.18 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 6.58 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.48 (q, *J* = 10.2 Hz, 1H), 6.42 (q, *J* = 3.1 Hz, 2H), 6.23 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H), 6.20 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 5.71 (m, *J* = 1.7 Hz, 2H), 4.86 (s, 2H), 4.70 (s, 2H), 3.74 (s, 6H), 2.02 (s, 3H). HRMS [M+H]⁺ *m/z* calculated for C₃₄H₃₃N₇O₅, 620.2577; found, 620.2618.

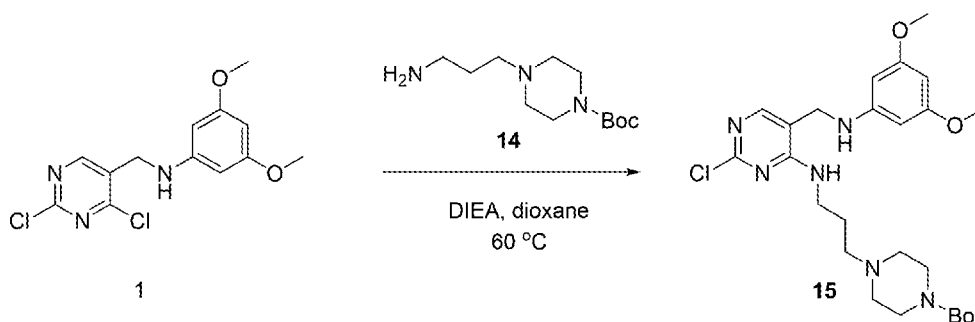
合成实施例 6 共价化合物 LX06 的合成

步骤 1: 4-(3-氨基丙基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (**14**) 的合成



往 50 mL 单口烧瓶中加入 N-(3-溴丙基)苯二胺 (10.00 g, 37.3 mmol)、1-Boc-哌嗪 (7.00 g, 37.6 mmol)、碘化钾 (12.40 g, 74.6 mmol)、碳酸钾 (8.88 g, 63.4 mmol) 和 50 mL N,N-二甲基乙酰胺, 30 °C 反应 18 h, TLC 监控原料反应完全 (乙酸乙酯:石油醚=1:8), 乙酸乙酯 (50 mL×3) 萃取, 依次用饱和碳酸氢钠洗涤、饱和 NaCl 洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂后加入 20 mL 乙酸乙酯打浆, 过滤得 12.2 g 中间体 **13**, 白色固体, 收率 87.6 %。取中间体 **13** (7.40 g, 19.8 mmol) 于 50 mL 单口烧瓶中, 加入 30 mL 乙醇和 8 mL 水合肼, 70 °C 反应 3 h, TLC 监控原料至反应完全 (乙酸乙酯:石油醚=1:5), 冷却反应液至常温, 减压抽滤得母液, 减压抽除溶剂, 冷却后加入 20 mL 乙醚和少量无水硫酸钠, 于 0 °C 下搅拌 10 min, 再减压抽滤得母液, 抽除溶剂得 3.9 g 化合物 **14**, 无色油状物, 收率 81.2 %。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 3.41 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 2.74 (t, *J* = 6.8 Hz, 4H), 2.38 (q, *J* = 7.2 Hz, 6H), 1.62 (m, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.44 (s, 9H).

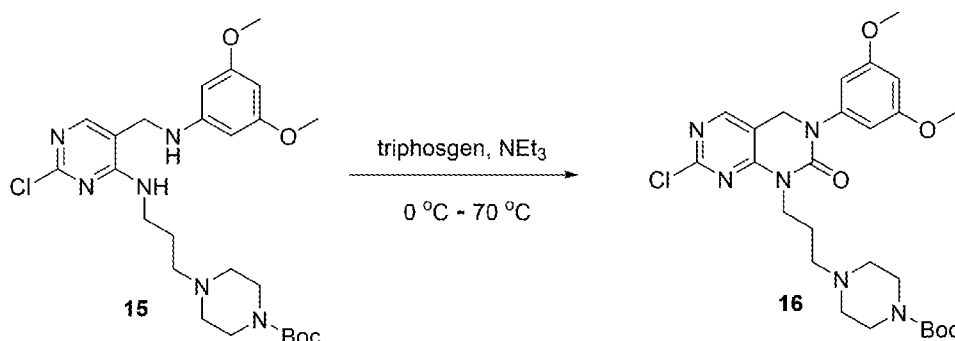
步骤 2: 4-(3-((2-氯-5-(((3,5-二甲氧基苯基)氨基)甲基)嘧啶-4-基)氨基)丙基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (**15**) 的合成



往 50 mL 单口烧瓶中加入化合物 **1** (2.51 g, 8.00 mmol)、化合物 **14** (2.58 g, 10.6 mmol)、DIEA (3.28 g, 25.4 mmol) 和 20 mL 二氧六环于 60 °C 反应 10 h, TLC 监控反应至原料反应完全(石油醚:乙酸乙酯:甲醇:三乙胺=16:8:1:1), 减压抽除溶剂, 残余物通过柱层析纯化得 3.16 g 化合物 **15**, 淡黄色油状物, 收率 76.0 %。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.89 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.97 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H), 5.86 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 4.07 (d, *J* = 3.3 Hz, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.73 (s, 2H), 3.55 (q, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.37 (s, 4H), 2.35 (s, 4H), 1.45 (s, 2H), 1.44 (s, 9H).

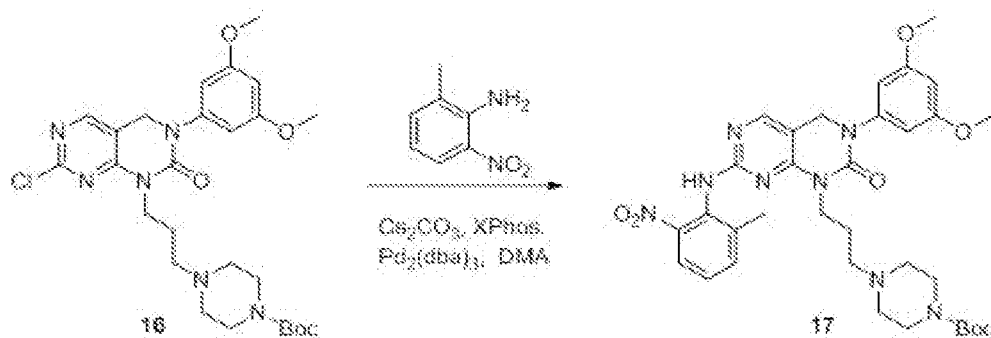
步骤 3: 4-(3-(7-氯-3-(3,5-二甲氧基苯基)-2-氧代-3,4-二氢嘧啶基[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)丙基)-1-甲酸叔丁酯 (**16**) 的合成

往 25 mL 单口烧瓶中加入化合物 **15** (1.50 g, 2.88 mmol)、三光气 (427



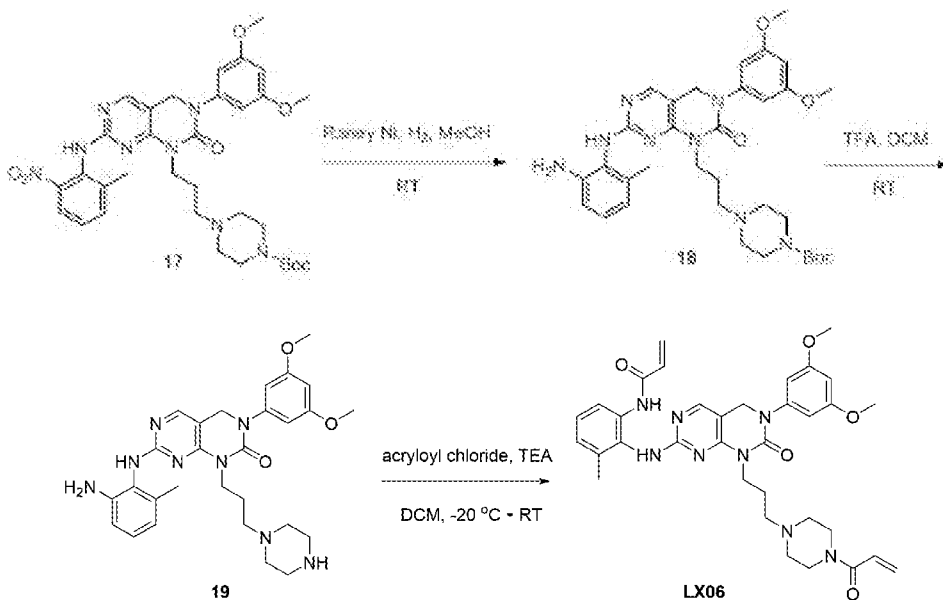
m g, 1.44 mmol) 和 15 mL 干燥的 THF, 冰浴下缓慢滴加三乙胺 (58.2 mg, 5.76 mmol), 搅拌 1 h 后将反应升温至 70 °C 反应 10 h, TLC 监控反应(石油醚:乙酸乙酯=2:1), 反应完全后冷却至 0 °C, 加入 5 mL 冰水淬灭反应, 减压抽除溶剂, 乙酸乙酯 (20 mL × 3) 萃取, 饱和碳酸氢钠洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 1.36 g 粗品, 再用异丙醇/石油醚重结晶得 920 mg 化合物 **16**, 白色固体, 收率 58.4 %。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.12 (s, 1H), 6.45 (d, *J* = 2.15 Hz, 2H), 6.41 (t, *J* = 2.15 Hz, 1H), 4.74 (s 2H), 4.15 (t, *J* = 7.25 Hz, 2H), 3.79 (s, 6H), 3.51 (s, 4H), 2.58 (s, 4H), 2.52 (s, 2H), 1.99 (s, 2H), 1.45 (s, 9H).

步骤 4: 4-(3-(3-(3,5-二甲氧基苯基)-7-((2-甲基-6-硝基苯基)氨基)-2-氧代-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)丙基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (**17**) 的合成



依次称取化合物 **16** (850 mg, 1.55 mmol)、2-甲基-6 硝基苯胺 (354 mg, 2.33 mmol)、碳酸铯 (1.51 g, 4.65 mmol)、XPhos (151 mg, 0.31 mmol) 和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (146 mg, 0.16 mmol) 于 25 mL Schlenk 管中, 再加入 3 mL 干燥的 DMA, 氮气保护下 110 °C 反应 3 h。TLC 监控至原料反应完全 (石油醚: 乙酸乙酯: 甲醇=10:10:1), 乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取, 依次用饱和碳酸氢钠洗涤、饱和 NaCl 洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 620 mg 化合物 **17**, 淡黄色固体, 收率 60.4 %。

步骤5: N-(2-((8(3-(4-丙烯酰基哌嗪-1-基)丙基)-6-(3,5-二甲氧基苯基)-7-氧代-5,6,7,8-四氢嘧啶基[4,5-d]嘧啶-2-基)氨基)-3-甲基苯基)丙烯酰胺 (LX06) 的合成

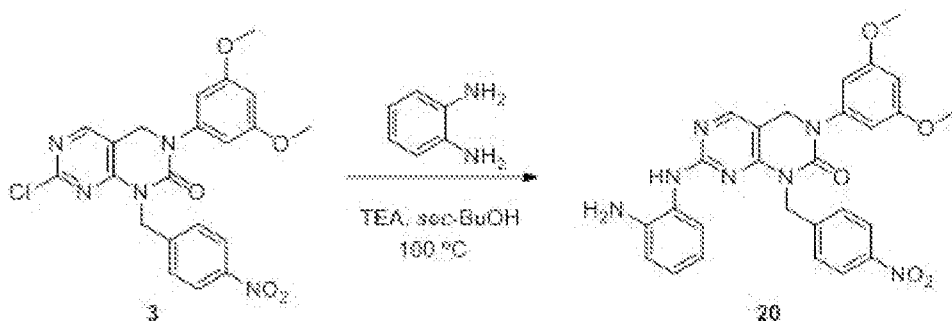


往 50 mL 单口烧瓶中加入化合物 **17** (600 mg, 0.91 mmol)、1 mL Raney nickel/ H_2 、20 mL 甲醇, 氢气置换三次后于 25 °C 反应 10 h, TLC 监控反应至原料反应完全, 将反应液经过硅藻土过滤得母液, 减压抽除溶剂, 真空干燥 12

h, 得 561 mg 化合物 **18**, 白色固体, 收率 97.1%。取化合物 **18** (561 mg, 0.89 mmol) 于 25 mL 单口瓶中, 加入 15 mL 干燥的二氯甲烷, 1 mL 三氟乙酸, 27 °C 搅拌过夜, TLC 监控原料反应完全 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇=10:10:1), 冰浴下将反应液加入到 30 mL 的饱和碳酸氢钠溶液中, 搅拌 10 min, 再用二氯甲烷 (20 mL×3) 萃取, 饱和碳酸氢钠洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂得 450 mg 化合物 **19**。取化合物 **19** (200 mg, 0.38 mmol) 于 25 mL 双口瓶中, 加入 10 mL 干燥的二氯甲烷、三乙胺 (94 mg, 0.86 mmol), 氮气保护, 冰盐浴下搅拌 10 min, 缓慢滴加丙烯酰氯 (68 mg, 0.76 mmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液, TLC 监控原料反应完全, 加入 2 mL 冰水淬灭反应, 乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取, 依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 32 mg 化合物 **LX06**, 白色固体, 收率 13.1%。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.32 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.21 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.07 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.54 (q, *J* = 10.6 Hz, 1H), 6.44 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 6.37 (m, *J* = 2.8 Hz, 2H), 6.28 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H), 6.20 (q, *J* = 10.4 Hz, 1H), 5.69 (m, *J* = 8.2 Hz, 2H), 4.61 (s, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.77 (s, 6H), 3.63 (s, 2H), 3.51 (s, 2H), 2.34 (s, 4H), 2.25 (s, 3H), 1.72 (s, 3H)。¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 165.46, 161.36, 161.23, 161.02, 157.55, 153.14, 152.85, 143.88, 136.23, 131.48, 128.00, 127.73, 127.55, 127.38, 126.91, 104.22, 102.83, 99.13, 55.60, 53.05, 52.60, 47.48, 45.76, 41.94, 40.12, 24.77, 18.74. HRMS [M+H]⁺ *m/z* calculated for C₃₄H₄₀N₈O₅, 641.3155; found, 641.3198.

合成实施例 7 共价化合物 LX07 的合成

步骤 1: 7-((2-氨基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-(4-硝基苯基)-3,4-二氢嘧啶基[4,5-d]嘧啶-2(1H)-酮 (**20**) 的合成

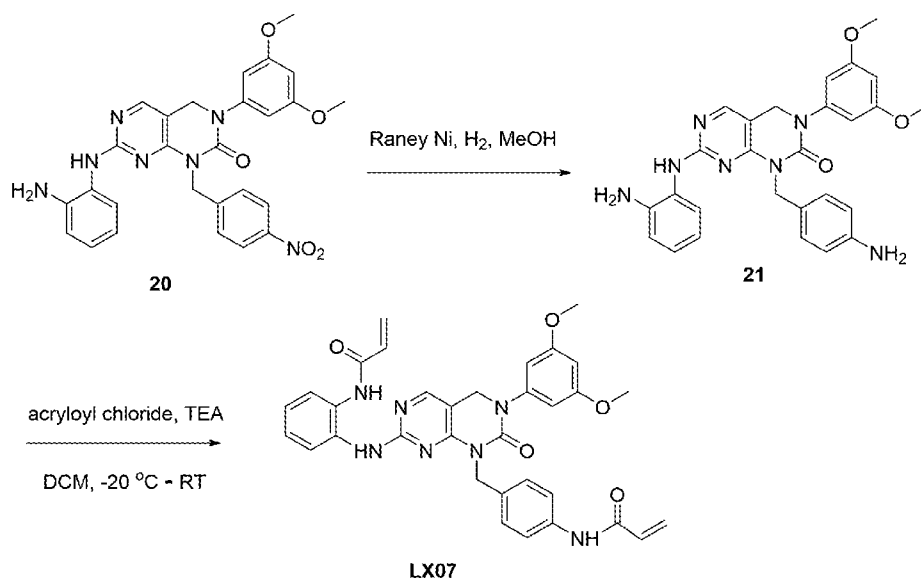


依次称取化合物 **3** (500 mg, 1.25 mmol)、邻苯二胺 (570 mg, 1.88 mmol)、三氟乙酸 (214 mg, 1.88 mmol) 和 4 mL 仲丁醇于 25 mL Schlenk 管中, 氮气保护下 100 °C 反应 10 h。TLC 监控反应至反应完全 (乙酸乙酯:石油醚:TEA=10:10:1), 乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取, 饱和碳酸氢钠洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 346 mg

化合物 **20**, 黄色固体, 收率 52.5 %。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.49 (s, 1H), 8.09 (s, 3H), 7.46 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.10 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.89 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 6.75 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 6.58 (s, 2H), 6.47 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 5.14 (s, 2H), 4.83 (s, 2H), 4.73 (s, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.63 (s, 2H), 3.51 (s, 2H), 2.34 (s, 4H), 2.25 (s, 3H), 1.72 (s, 3H)。¹³C NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 160.44, 160.26, 155.73, 153.99, 152.46, 146.35, 146.15, 144.16, 142.54, 128.89, 125.69, 125.23, 124.66, 123.25, 116.06, 115.56, 104.33, 101.52, 98.34, 55.38, 46.62, 43.28。

步骤 2: N-(2-((8-(4-丙烯酰胺基苄基)-6-(3,5-二甲氧基苯基)-7-氧代-5,6,7,8-四氢嘧啶基[4,5-*d*])嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (**LX07**) 的合成

往 50 mL 单口烧瓶中加入化合物 **20** (346 mg, 0.66 mmol)、2 mL Raney

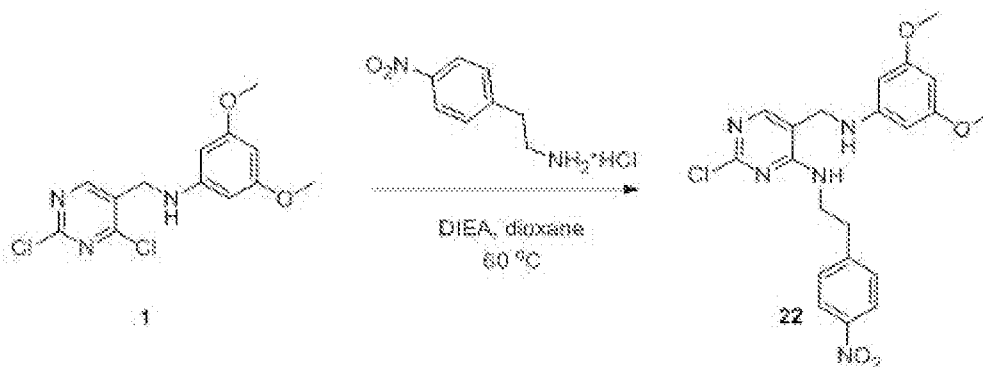


nickel/H₂O 和 20 mL 甲醇, 氢气置换三次后于 25 °C 反应 10 h TLC 监控反应至原料反应完全 (乙酸乙酯:石油醚:TEA=10:5:1)。将反应液经过硅藻土过滤得母液,减压抽除溶剂,真空干燥 12 h 得 312 mg 化合物 **21**, 白色固体,收率 97.6 %。取化合物 **21** (312 mg, 0.63 mmol) 于 25 mL 双口瓶中,加入三乙胺 (171 mg, 1.57 mmol) 和 10 mL 干燥的二氯甲烷,氮气保护,在冰盐浴下搅拌 10 min,再缓慢滴加丙烯酰氯 (115 mg, 0.76 mmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液, TLC 监控原料至反应完全 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇=10:10:1),加入 2 mL 冰水淬灭反应,二氯甲烷 (30 mL×2) 萃取,依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤,合并有机相,无水硫酸钠干燥,减压抽除溶剂,残余物经硅胶柱层析纯化得到 56 mg 化合物 **LX07**, 白色固体,收率 14.6 %。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10.11 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 8.60 (s, 2H), 8.11 (s, 1H), 7.55 (d, *J* = 7.6 Hz, 4H), 7.19 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.11 (s, 2H), 6.59 (s, 2H), 6.52 (q, *J* = 10.3 Hz, 1H), 6.42 (q, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.30 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 6.24 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H), 5.78 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 6.24 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 5.04 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 3.75 (s, 6H)。¹³C NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 163.78, 163.03, 160.45, 159.28, 155.95, 153.78, 152.50, 144.25,

137.71, 133.13, 132.37, 131.90, 131.50, 129.96, 128.16, 127.25, 126.81, 125.17, 124.57, 124.44, 123.67, 119.19, 104.32, 102.81, 98.38, 55.40, 46.53, 43.03. HRMS $[M+H]^+$ m/z calculated for $C_{33}H_{31}N_7O_5$, 606.2420; found, 606.2615.

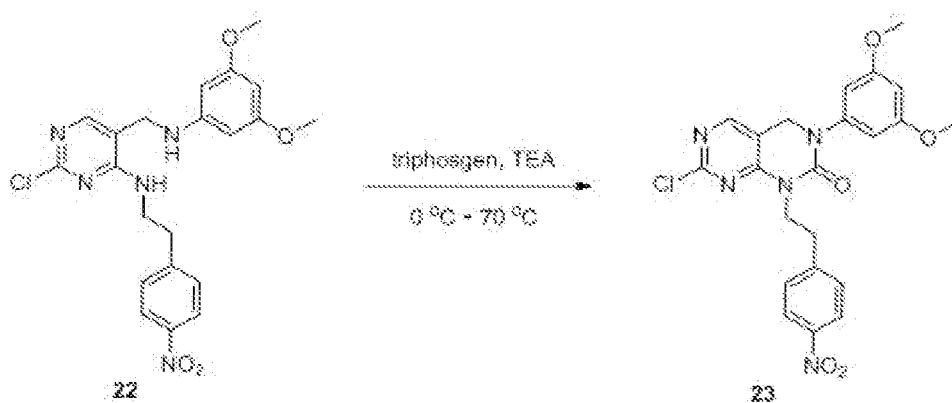
合成实施例 8 共价化合物 LX08 的合成

步骤 1: 2-氯-5-(((3,5-二甲氧基苯基)氨基)甲基)-N-(4-硝基苯乙基)嘧啶-4-胺 (**22**) 的合成



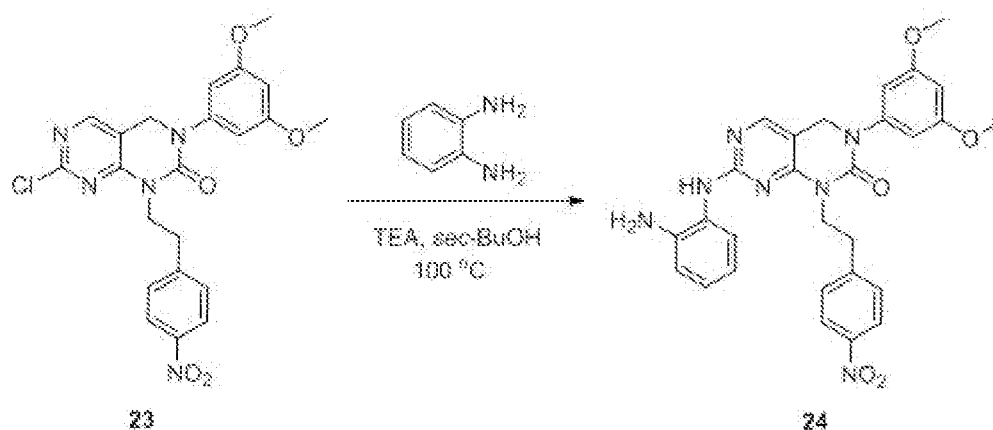
往 50 mL 单口烧瓶中加入化合物 **1** (2.00 g, 6.41 mmol)、4-硝基苯乙胺盐酸盐 (1.67 g, 8.32 mmol)、DIEA (3.28 g, 25.4 mmol) 和 20 mL 二氧六环, 60 °C 温度下反应 10 h, TLC 监控反应至原料反应完全 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇:三乙胺=20:8:1:1), 减压抽除溶剂, 残余物通过柱层析纯化得 2.05 g 化合物 **22**, 黄色油状物, 收率 72.3%。¹H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 8.01 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.35 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 5.99 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 5.77 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.78 (q, $J = 6.1$ Hz, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.00 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H). ¹³C NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 162.45, 161.81, 160.29, 154.82, 149.00, 146.71, 146.44, 129.65, 123.79, 112.72, 93.288, 91.42, 55.256, 43.78, 41.41, 35.00.

步骤 2: 7-氯-3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-(4-硝基苯乙基)-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-2(1H)-酮 (**23**) 的合成



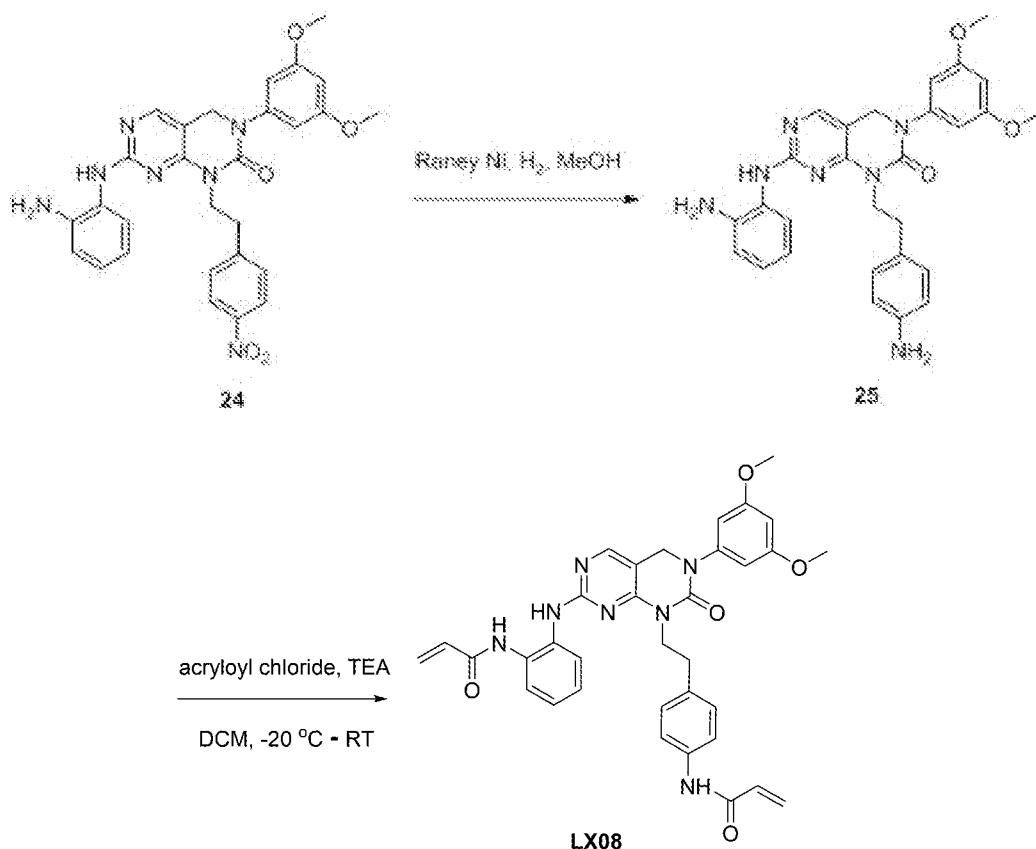
往 25 mL 单口烧瓶中加入化合物 **2** (1.00 g, 2.25 mmol)、三光气 (335 mg, 1.13 mmol) 和 15 mL 干燥的 THF, 冰浴下缓慢滴加三乙胺 (4.24 g, 5.76 mmol), 搅拌 1 h 后将反应升温至 70 °C 反应 10 h, TLC 监控反应至原料反应完全 (石油醚:乙酸乙酯=2:1), 加入 5 mL 冰水淬灭反应, 减压抽除溶剂 THF, 乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取, 依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 812 mg 化合物 **23**, 淡黄色固体, 收率 76.9%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.35 (s, 1H), 8.16 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 6.50 (s, 2H), 6.44 (s, 1H), 4.81 (s, 2H), 4.20 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.73 (s, 6H), 3.06 (t, *J* = 3.5 Hz, 2H)。¹³C NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 160.44, 158.17, 157.60, 154.48, 151.17, 147.27, 146.16, 143.58, 130.24, 123.45, 111.71, 104.16, 98.61, 55.37, 46.09, 45.35, 33.17。

步骤 3: 7-((2-氨基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-1-(4-硝基苯乙基)-3,4-二氢嘧啶基[4,5-*d*]嘧啶-2(1H)-酮 (**24**) 的合成



依次称取化合物 **23** (469 mg, 1.00 mmol)、邻苯二胺 (162 mg, 1.50 mmol)、三氟乙酸 (171 mg, 1.50 mmol) 和 3 mL 仲丁醇于 25 mL Schlenk 管中, 氮气保护下 100 °C 反应 10 h。TLC 监控反应至原料反应完全 (乙酸乙酯:石油醚:TEA=10:10:1), 乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取, 饱和碳酸氢钠洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 302 mg 化合物 **24**, 黄色固体, 收率 55.8%。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.07 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.37 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.19 (t, *J* = 7.45 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 6.94 (s, 2H), 6.88 (d, *J* = 5.25 Hz, 1H), 6.84 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.46 (d, *J* = 1.95 Hz, 1H), 6.41 (s, 1H), 4.64 (s, 2H), 4.10 (t, *J* = 8.25 Hz, 2H), 3.79 (s, 6H), 2.99 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H)。

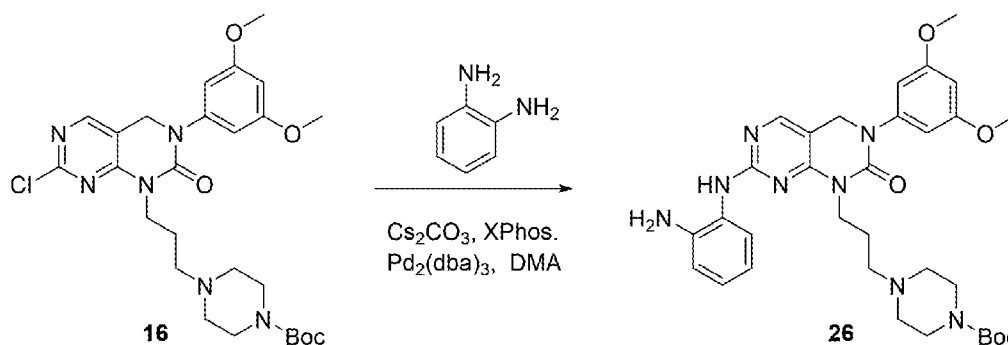
步骤 4: N-(2-((8-(4-丙烯酰胺基苯乙基)-6-(3,5-二甲氧基苯基)-7-氧代-5,6,7,8-四氢嘧啶基[4,5-*d*]嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (**LX08**) 的合成



往 50 mL 单口烧瓶中加入化合物 **24** (200 mg, 0.37 mmol)、1 mL Raney nickel/H₂O 和 20 mL 甲醇, 氢气置换三次后于 25 °C 反应 10 h, TLC 监控反应至原料反应完全 (乙酸乙酯:石油醚:TEA=10:10:1)。将反应液经过硅藻土过滤得母液, 减压抽除溶剂, 真空干燥 12 h 得 183 mg 化合物 **25**, 白色固体。取化合物 **25** (180 mg, 0.36 mmol) 于 25 mL 双口瓶中, 加入 10 mL 干燥的二氯甲烷, 三乙胺 (98 mg, 0.89 mmol), 氮气保护, 在冰盐浴下搅拌 10 min, 缓慢滴加丙烯酰氯 (65 mg, 0.72 mmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液, 反应 2 h, TLC 监控原料至反应完全 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇=10:10:1), 加入 2 mL 冰水淬灭反应, 二氯甲烷 (30 mL×2) 萃取, 依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 36 mg 化合物 **LX08**, 白色固体, 收率 16.1%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10.10 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.81 (q, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 3H), 7.18 (m, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.05 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.54 (m, *J* = 3.9 Hz, 3H), 6.43 (m, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.31 (q, *J* = 17.0 Hz, 1H), 6.25 (q, *J* = 17.0 Hz, 1H), 5.79 (t, *J* = 10.9 Hz, 1H), 5.75 (q, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.68 (s, 2H), 3.99 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 3.74 (s, 6H), 2.78 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H)。¹³C NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164.29, 163.45, 160.86, 159.99, 156.57, 154.14, 152.63, 144.68, 137.74, 134.41, 133.01, 132.41, 131.95, 130.56, 129.52, 127.74, 127.17, 125.77, 125.11, 124.17, 119.80, 104.62, 103.37, 98.83, 55.84, 46.90, 42.87, 33.51。HRMS [M+H]⁺ *m/z* calculated for C₃₄H₃₃N₇O₅, 620.2577; found, 620.2616。

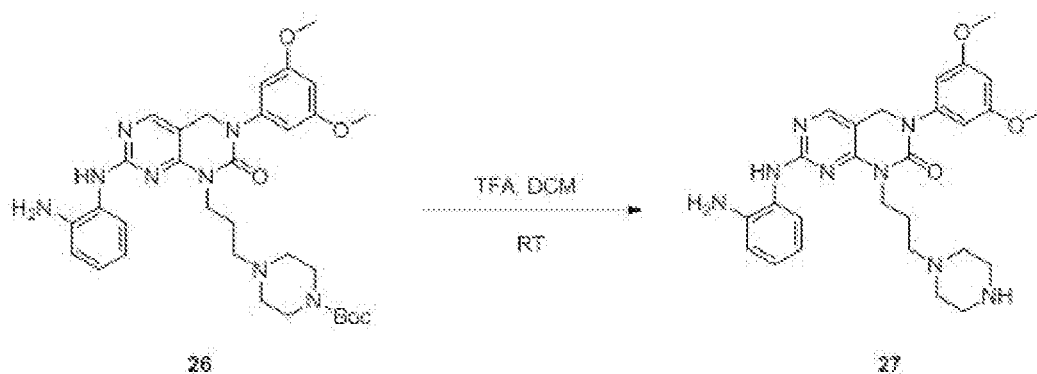
合成实施例 9 共价化合物 LX09 的合成

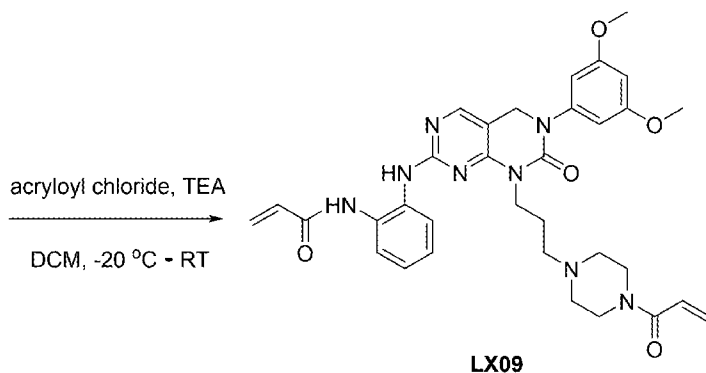
步骤 1: 4-(3-(7-((2-氨基苯基)氨基)-3-(3,5-二甲氧基苯基)-2-氧代-3,4-二氢嘧啶[4,5-d]嘧啶-1(2H)-基)丙基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (**26**) 的合成



依次称取化合物 **16** (547 mg, 1.00 mmol)、邻苯二胺 (162 mg, 1.50 mmol)、碳酸铯 (975 mg, 3.00 mmol)、XPhos (98 mg, 0.20 mmol) 和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (92 mg, 0.10 mmol) 于 25 mL Schlenk 管中, 再加入 3 mL 无水 DMA, 氮气保护下 110 °C 反应 3 h。TLC 监控原料至反应完全 (乙酸乙酯:石油醚:TEA=10:10:1), 乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取, 饱和碳酸氢钠洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 328 mg 化合物 **26**, 黄色油状, 收率 53.1%。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7.93 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 6.80 (s, 2H), 6.45 (s, 2H), 6.37 (s, 1H), 4.59 (s, 2H), 3.97 (s, 2H), 3.85 (s, 2H), 3.77 (s, 6H), 3.38 (s, 1H), 2.32 (s, 6H), 1.84 (s, 2H), 1.44 (s, 9H)。 ^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 161.07, 160.677, 157.15, 154.77, 153.16, 152.96, 143.94, 141.37, 126.48, 125.83, 125.68, 119.14, 116.98, 104.05, 102.27, 99.01, 79.60, 55.99, 55.50, 52.84, 47.41, 40.07, 28.45, 25.06。

步骤 2: N-(2-((8-(3-(4-丙烯酰基哌嗪-1-基)丙基)-6-(3,5-二甲氧基苯基)-7-氧代-5,6,7,8-四氢嘧啶基[4,5-d]嘧啶-2-基)氨基)苯基)丙烯酰胺 (**LX09**) 的合成





取化合物 **26** (320 mg, 0.52 mmol) 于 25 mL 单口瓶中, 加入 15 mL 干燥的二氯甲烷和 1 mL 三氟乙酸, 27 °C 搅拌过夜, TLC 监控至原料反应完全 (乙酸乙酯:石油醚:TEA=10:5:1), 冰浴下将反应液加入到 30 mL 饱和碳酸氢钠溶液中, 搅拌 10 min, 二氯甲烷 (20 mL×3) 萃取, 饱和碳酸氢钠洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂得 254 mg 化合物 **19**。取化合物 **19** (200 mg, 0.39 mmol) 于 25 mL 双口瓶中, 加入三乙胺 (94 mg, 0.86 mmol) 和 10 mL 干燥的二氯甲烷, 氮气保护, 在冰盐浴下搅拌 10 min, 缓慢滴加丙烯酰氯 (70 mg, 0.78 mmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液, TLC 监控原料反应完全 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇=10:10:1), 加入 2 mL 冰水淬灭反应, 二氯甲烷 (20 mL×3) 萃取, 依次用饱和碳酸氢钠、饱和 NaCl 洗涤, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压抽除溶剂, 残余物经硅胶柱层析纯化得到 36 mg 化合物 **LX09**, 白色固体, 收率 14.7%。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.62 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.63 (q, *J* = 8.4 Hz, 3H), 7.16 (t, *J* = 8.2 Hz, 3H), 6.53 (q, *J* = 5.9 Hz, 1H), 6.45 (s, 2H), 6.39 (t, *J* = 12.2 Hz, 2H), 6.25 (t, *J* = 9.7 Hz, 2H), 5.69 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.60 (s, 2H), 3.97 (s, 2H), 3.76 (s, 6H), 3.58 (s, 2H), 3.47 (s, 2H), 2.34 (s, 4H), 2.30 (s, 2H), 1.81 (s, 2H). HRMS [M+H]⁺ *m/z* calculated for C₃₄H₄₀N₈O₅, 627.2999; found, 627.3036.

化合物对 FGFR 激酶的抑制活性检测

采用 ADP-Glo™ Kinase Assay (promega, Part No #V9101) 测定化合物对 FGFR1-4 及 FGFR4 突变体的抑制活性。具体实验过程如下:

1、在白色不透光 384 孔板中进行激酶反应, 用本实验室表达纯化的激酶 (0.1 μM)、ATP (10 μM)、底物 (50 μg/ml, Part No #ab204877, abcam) 以及等倍稀释的化合物, 在激酶反应缓冲液 (40 mM Tris-HCl pH 7.5, 20 mM MgCl₂, 20 mM NaCl, 0.1 mg/mL BSA, 1 mM TCEP, and 4% DMSO) 中室温下孵育反应 30 分钟;

2、添加反应终止液 ADP-Glo 室温孵育 40 分钟, 终止反应;

3、加入检测液避光室温孵育 30-60 分钟, 使激酶反应产生的 ADP 转化为 ATP, 产生冷发光;

4、在酶标仪中测量发光值, 用 GraphPad Prism 软件中计算化合物的 IC₅₀, 其结果如下表 1 所示。

表 1 激酶活性检测结果 (IC₅₀, nM)

激酶	LX01	LX02	LX03	LX04	LX05	LX06	LX07	LX08	LX09
FGFR1	>5000	/	/	/	>5000	4958	951	420	2579
FGFR2	>5000	/	/	/	>5000	3575	239	150	2408
FGFR3	>5000	/	/	/	>5000	1726	466	201	977
FGFR4	55	>5000	>5000	>5000	36	157	63	7	48
FGFR4 (C477A)	/	/	/	/	/	/	307	29	193
FGFR4 (C552A)	/	/	/	/	/	/	1588	189	602

从激酶活性来看，这些具有双共价结构的化合物主要对 FGFR4 具有较强的抑制活性，而对 FGFR1-3 的活性较弱。对比 LX01、LX02、LX03、LX04 对 FGFR4 的激酶活性，丙烯酰胺基团在我们所选亲电基团中表现最优。尾巴 R₂ 结构是六元环的活性比苯环减弱约 3-6 倍，比如 LX01、LX05 与 LX06 的 IC₅₀ 对比，LX08 和 LX09 的 IC₅₀ 对比。对于 FGFR4 中的两个半胱氨酸(Cys477 和 Cys552)，C552A 对活性的影响比 C477A 大，化合物 LX07、LX08 对 C552A 活性比野生型至少降低约 25 倍，LX09 对 C552A 的活性降低约 12 倍，而 LX07、LX08、LX09 对 C477A 活性仅比野生型降低 4-5 倍。在这 9 个化合物当中，化合物 LX01、LX05、LX07、LX08 和 LX09 对 FGFR4 具有较高的抑制活性，具有潜在的药用前景。

化合物对 FGFR 高表达的细胞的增殖实验

本发明通过存活率的实验来评价化合物对依赖于 FGFR 信号通路的细胞增殖的抑制效果，使用 CCK-8 (Vazyme, Part No #A311) 来测量。选用本实验构建的 FGFR 高表达的 Ba\F3 细胞，具体实验过程如下：

- 1、将 50 μ L 的 Ba\F3 细胞接种到 96 孔板中（约 2000 个/孔），在 37° C 5% 二氧化碳培养箱中培养过夜；
- 2、次日加入 50 μ L 预热的用培养基稀释的化合物，混匀后培养 72 小时；
- 3、每孔加入 10 μ L CCK-8 检测试剂，混匀后于培养箱中反应 1-2 小时；
- 4、在酶标仪中检测 450 nm 的吸光值，用 GraphPad Prism 软件中计算化合物的 IC₅₀，其结果如下表 2 所示。

表 2 细胞活性检测结果 (IC₅₀, nM)

Ba\F3 细胞	LX01	LX02	LX03	LX04	LX05	LX06	LX07	LX08	LX09
Parental	>5000	>5000	>5000	3402	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000
FGFR1	>5000	>5000	>5000	460	>5000	4776	995	530	1562
FGFR2	>5000	>5000	4458	260	>5000	2916	606	445	1971
FGFR3	>5000	>5000	>5000	522	>5000	1885	535	170	777

FGFR4	18	>5000	>5000	322	12	111	56	1	38
-------	----	-------	-------	-----	----	-----	----	---	----

从细胞活性来看，这些化合物对 Ba\F3 细胞抑制效果与激酶的抑制效果一致，对 FGFR4 信号通路激活的 Ba\F3 细胞有较强的抑制增殖效果。综合激酶和细胞活性结果，本发明系列化合物对 FGFR4 具有非常好的选择性。

化合物与 FGFR4 共价结合检测

为测试根据本发明的对 FGFR4 具有显著抑制效果的化合物与 FGFR4 中的两个半胱氨酸 (Cys477 和 Cys552) 共价结合情况，采用基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱法 (MALDI-TOF-MS) 检测结合化合物前后激酶突变体 FGFR4 (C477A) 和 FGFR4 (C552A) 的分子量变化。具体实验过程如下：

- 1、将蛋白与化合物按摩尔比 1: 5 在室温反应 1 h；
- 2、用 ddH₂O 稀释至 1 ml，用 3 kD 的超滤管浓缩至约 0.5-1mg/mL；
- 3、选择检测大分子量的线性正离子模式的一级质谱的方法，以芥子酸为基质 (20 mg/mL)，将样品与饱和基质溶液按 1:1 的体积比混合，放入质谱仪 (AB SCIEX, 5800 MADI-TOF) 中检测；
- 4、在 data explorer 和 origin 程序中处理数据，结果如图 1-6 所示。

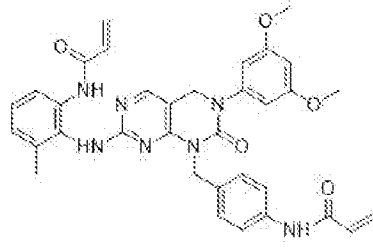
从质谱结果来看，化合物 LX01、LX05、LX06、LX07、LX08 都只与 FGFR4 中的 Cys552 共价结合，不与 FGFR4 中的 Cys477 共价结合，而化合物 LX09 可以与 FGFR4 中两个半胱氨酸 Cys552 和 Cys477 进行共价结合。

综合激酶活性、细胞活性及质谱结果，本发明系列化合物对于 FGFR4 具有较好的选择性，与 FGFR4 单一半胱氨酸 (Cys552) 共价结合或者同时与 FGFR4 两个半胱氨酸 (Cys477 和 Cys552) 共价结合，有望开发成新一代选择性的 FGFR4 抑制剂，满足临床应用要求。

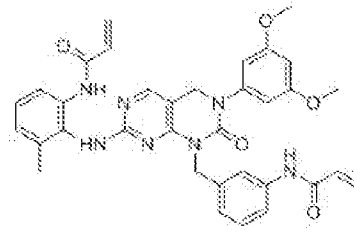
在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

权利要求书

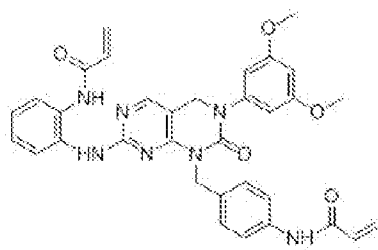
1. 一种 FGFR4 抑制剂，其选自下列化合物构成的组：



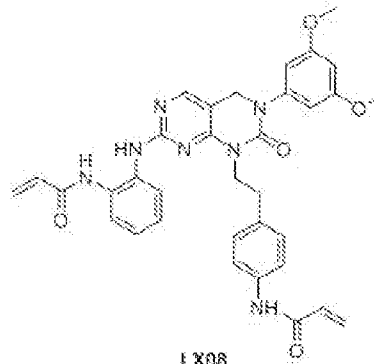
LX01



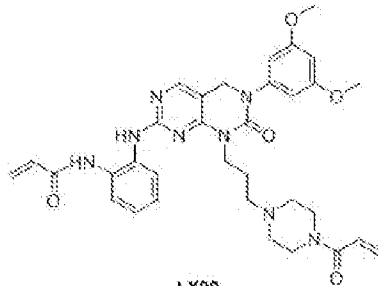
LX05



LX07



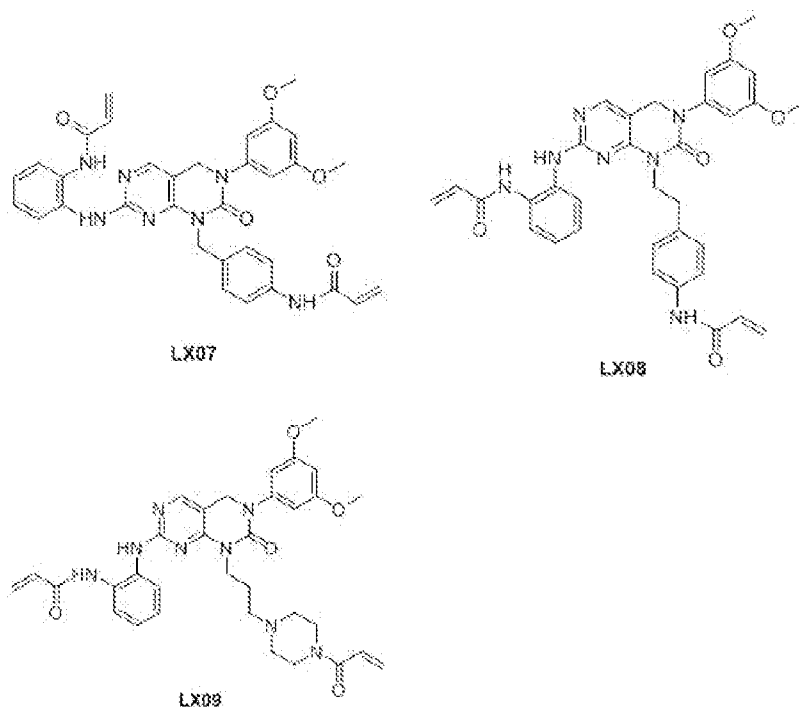
LX08



LX09

2. 一种药物组合物，包含治疗有效量的权利要求 1 所述的 FGFR4 抑制剂或其可药用盐，以及可药用载体。
3. 一种药物组合物，包含治疗有效量的权利要求 1 所述的 FGFR4 抑制剂或其可药用盐，以及可药用稀释剂。
4. 一种药物组合物，包含治疗有效量的权利要求 1 所述的 FGFR4 抑制剂或其可药用盐，以及可药用助剂。
5. 如权利要求 1 所述的 FGFR4 抑制剂或其可药用盐在制造用于治疗 FGFR4 介导的病症的药物中的用途。
6. 如权利要求 5 所述的用途，其中所述病症为癌症。
7. 如权利要求 6 所述的用途，其中所述癌症选自膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、头颈部癌、肾癌、肝癌、卵巢癌、前列腺癌、食管癌、胆囊癌、胰脏癌、肺癌、间皮瘤、睾丸癌、鳞状细胞癌、甲状腺癌、皮肤癌、白血病、B 细胞淋巴瘤、神经胶母细胞瘤、黑素瘤以及横纹肌肉瘤。
8. 如权利要求 6 所述的用途，其中所述病症为肝细胞癌。

9. 如权利要求 6 所述的用途, 其中所述癌症为成人 T 细胞白血病或急性骨髓性白血病。
10. 如权利要求 6 所述的用途, 其中所述癌症为霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤。
11. 如权利要求 6 所述的用途, 其中所述癌症为多发性骨髓瘤。
12. 如权利要求 6 所述的用途, 其中所述癌症是慢性淋巴细胞性淋巴瘤。
13. 如权利要求 6 所述的用途, 其中所述癌症是瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症。
14. 如权利要求 6 所述的用途, 其中所述癌症是毛状细胞淋巴瘤。
15. 如权利要求 6 所述的用途, 其中所述癌症是伯克特淋巴瘤。
16. 下列任一化合物在制备用于抑制 FGFR4 或其突变体在患者或者生物样品中的活性的药物中的用途:



17. 如权利要求 16 所述的用途, 其中所述 FGFR4 或其突变体的活性被不可逆地抑制。
18. 如权利要求 17 所述的用途, 其中所述 FGFR4 或其突变体的活性通过共价修饰 FGFR4 的 Cys477 和 Cys552 被不可逆地抑制。

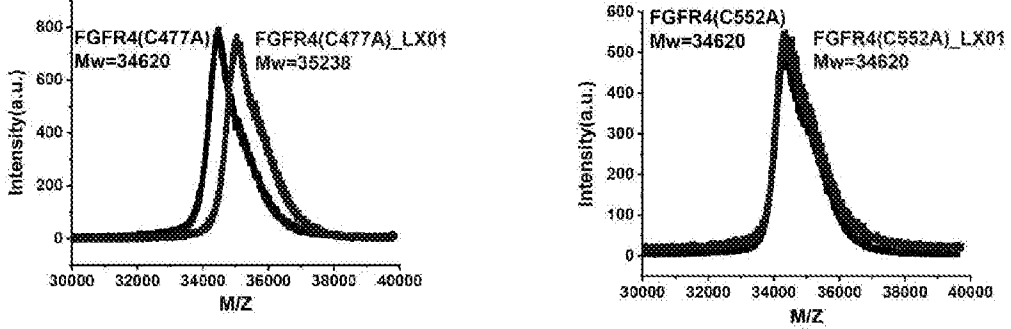


图 1

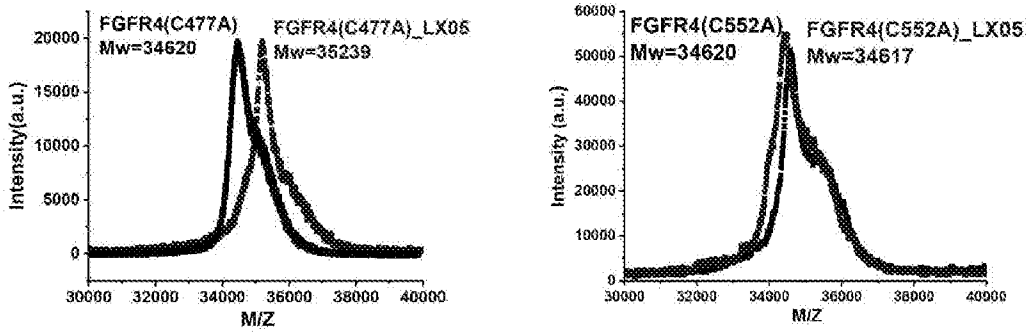


图 2

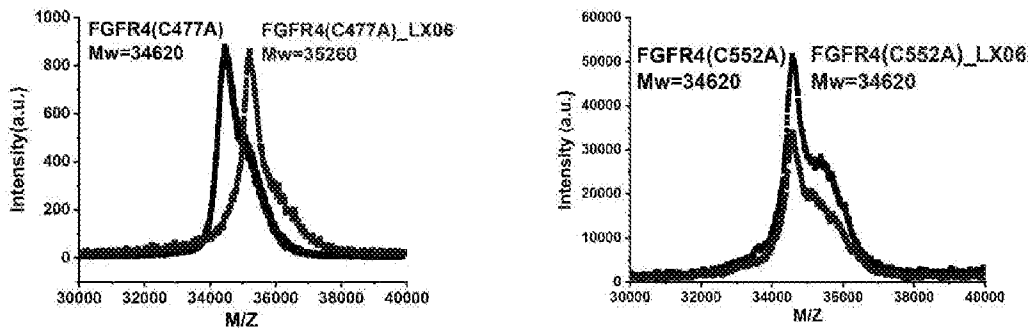


图 3

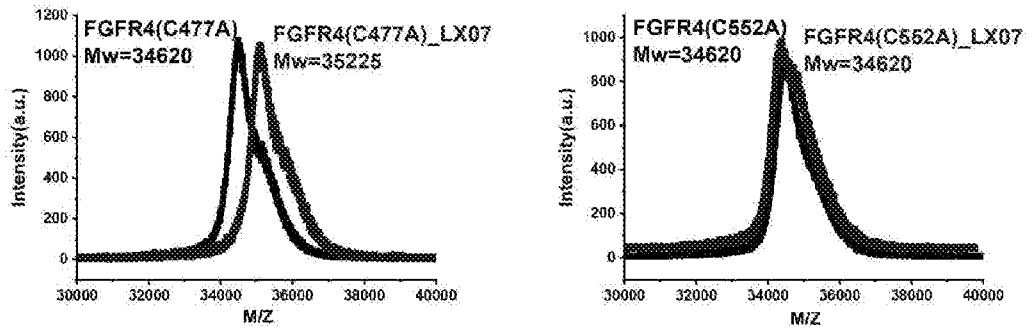


图 4

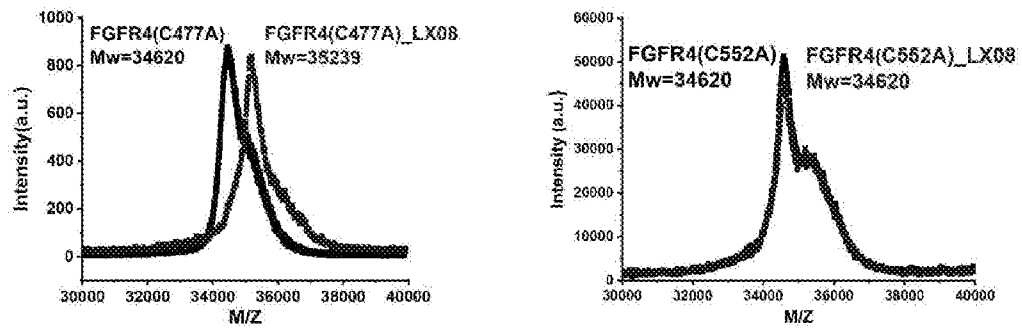


图 5

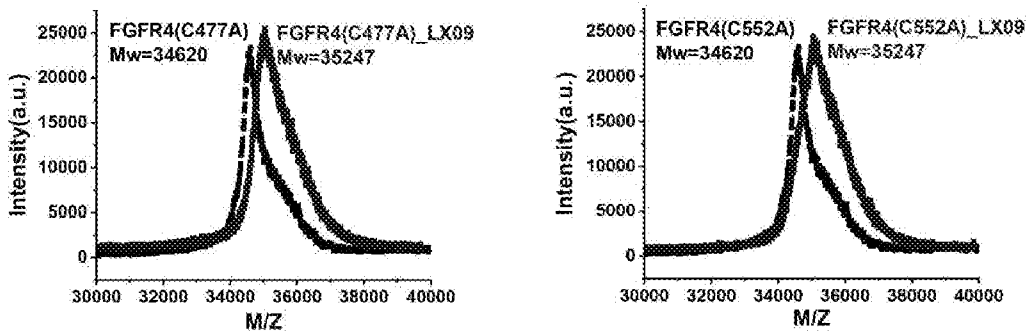


图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/088850

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07D 487/04(2006.01)i; A61K 31/519(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D; A61K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS; CNTXT; CJFD; VEN; WPABS; USTXT; EPTXT; WOTXT; STN; CNKI; 万方学位论文, Wanfang Dissertation: 中南大学湘雅医院, 湘雅医院, 中南大学, 陈永恒, 陈小娟, 徐广宇, 付莹, 陈主初, 烯酰胺, 二氢嘧啶, 二甲氧基苯基, 四氢嘧啶, FGFR4, 癌症, 肿瘤, amide, dimethoxyphenyl, dihydropyrimidin+, tetrahydropyrimidin+, cancer, tumor, tumour, LX01, LX05, LX07, LX08, LX09的结构式		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 113527311 A (XIANGYA HOSPITAL CENTRAL SOUTH UNIVERSITY) 22 October 2021 (2021-10-22) claims 1-15	1-18
A	CN 105307657 A (CELGENE AVILOMICS RESEARCH INC. et al.) 03 February 2016 (2016-02-03) claims 1-67, and description, paragraphs [0247], [0253], and [0555]-[0610]	1-18
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 08 June 2022		Date of mailing of the international search report 20 July 2022
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/088850

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	113527311	A	22 October 2021	CN	113527311	B	06 May 2022
CN	105307657	A	03 February 2016	CA	2907243	A1	18 September 2014
				WO	2014144737	A1	18 September 2014
				US	2014296233	A1	02 October 2014
				TW	201444805	A	01 December 2014
				AU	2014228746	A1	10 September 2015
				AR	095464	A1	21 October 2015
				SG	11201507478	A1	29 October 2015
				KR	20150131237	A	24 November 2015
				PH	12015502041	A1	18 January 2016
				EP	2968337	A1	20 January 2016
				US	2016046634	A1	18 February 2016
				VN	45892	A	25 February 2016
				US	9321786	B2	26 April 2016
				JP	2016519673	A	07 July 2016
				IN	201507973	P1	29 July 2016
				US	2016221966	A1	04 August 2016
				MX	2015011514	A1	11 August 2016
				ID	201605252	A	23 September 2016
				HK	1220357	A0	05 May 2017
				US	9663524	B2	30 May 2017
				US	9695132	B2	04 July 2017
				US	2017267685	A1	21 September 2017
				BR	112015022191	A2	10 October 2017
				US	2018022713	A1	25 January 2018
				SG	11201507478	B	30 January 2018
				AU	2014228746	B2	30 August 2018
				US	10065966	B2	04 September 2018
				TW	647220	B1	11 January 2019
				US	10189794	B2	29 January 2019
				US	2019218220	A1	18 July 2019
				JP	6576325	B2	18 September 2019
				US	2019375719	A1	12 December 2019
				NZ	711376	A2	31 January 2020
				US	10618902	B2	14 April 2020
				IL	240605	A	30 April 2020
				CN	105307657	B	10 July 2020
				MX	374558	B	02 September 2020
				US	10774052	B2	15 September 2020
				VN	10025554	B	25 September 2020
				EA	036160	B1	08 October 2020
				CN	111793068	A	20 October 2020
				KR	102219695	B1	25 February 2021
				KR	20210022140	A	02 March 2021
				PH	12015502041	B1	12 March 2021
				ZA	201507607	A	28 April 2021
				EP	2968337	B1	21 July 2021
				CA	2907243	C	28 December 2021
				KR	102350704	B1	13 January 2022
				EP	3943087	A1	26 January 2022

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/088850

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
<hr/> <p style="text-align: center;">ES 2892423 T3 04 February 2022</p>			

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07D 487/04(2006.01)i; A61K 31/519(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>														
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07D; A61K; A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS;CNTXT;CJFD;VEN;WPABS;USTXT;EPTXT;WOTXT;STN;CNKI;万方学位论文: 中南大学湘雅医院, 湘雅医院, 中南大学, 陈永恒, 陈小娟, 徐广宇, 付莹, 陈主初, 烯酰胺, 二氢嘧啶, 二甲氧基苯基, 四氢嘧啶, FGFR4, 癌症, 肿瘤, amide, dimethoxyphenyl, dihydropyrimidin+, tetrahydropyrimidin+, cancer, tumor, tumour, LX01、LX05、LX07、LX08、LX09的结构式</p>														
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 113527311 A (中南大学湘雅医院) 2021年10月22日 (2021 - 10 - 22) 权利要求1-15</td> <td>1-18</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 105307657 A (西建阿维拉米斯研究公司等) 2016年2月3日 (2016 - 02 - 03) 权利要求1-67、说明书第[0247]、[0253]、[0555]-[0610]段</td> <td>1-18</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 113527311 A (中南大学湘雅医院) 2021年10月22日 (2021 - 10 - 22) 权利要求1-15	1-18	A	CN 105307657 A (西建阿维拉米斯研究公司等) 2016年2月3日 (2016 - 02 - 03) 权利要求1-67、说明书第[0247]、[0253]、[0555]-[0610]段	1-18			
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
PX	CN 113527311 A (中南大学湘雅医院) 2021年10月22日 (2021 - 10 - 22) 权利要求1-15	1-18												
A	CN 105307657 A (西建阿维拉米斯研究公司等) 2016年2月3日 (2016 - 02 - 03) 权利要求1-67、说明书第[0247]、[0253]、[0555]-[0610]段	1-18												
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文件的具体类型:</td> <td>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</td> </tr> <tr> <td>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</td> <td>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</td> </tr> <tr> <td>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</td> <td>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</td> </tr> <tr> <td>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</td> <td>“&” 同族专利的文件</td> </tr> <tr> <td>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</td> <td></td> </tr> <tr> <td>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文件的具体类型:	“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件	“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件	“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性	“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利	“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性	“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)	“&” 同族专利的文件	“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件		“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	
* 引用文件的具体类型:	“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件													
“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件	“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性													
“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利	“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性													
“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)	“&” 同族专利的文件													
“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件														
“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件														
国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期													
2022年6月8日	2022年7月20日													
ISA/CN的名称和邮寄地址	授权官员													
中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	吴姗姗													
传真号 (86-10)62019451	电话号码 (86-512) 88996534													

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/088850

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	113527311	A	2021年10月22日	CN	113527311	B	2022年5月6日
CN	105307657	A	2016年2月3日	CA	2907243	A1	2014年9月18日
				WO	2014144737	A1	2014年9月18日
				US	2014296233	A1	2014年10月2日
				TW	201444805	A	2014年12月1日
				AU	2014228746	A1	2015年9月10日
				AR	095464	A1	2015年10月21日
				SG	11201507478	A1	2015年10月29日
				KR	20150131237	A	2015年11月24日
				PH	12015502041	A1	2016年1月18日
				EP	2968337	A1	2016年1月20日
				US	2016046634	A1	2016年2月18日
				VN	45892	A	2016年2月25日
				US	9321786	B2	2016年4月26日
				JP	2016519673	A	2016年7月7日
				IN	201507973	P1	2016年7月29日
				US	2016221966	A1	2016年8月4日
				MX	2015011514	A1	2016年8月11日
				ID	201605252	A	2016年9月23日
				HK	1220357	A0	2017年5月5日
				US	9663524	B2	2017年5月30日
				US	9695132	B2	2017年7月4日
				US	2017267685	A1	2017年9月21日
				BR	112015022191	A2	2017年10月10日
				US	2018022713	A1	2018年1月25日
				SG	11201507478	B	2018年1月30日
				AU	2014228746	B2	2018年8月30日
				US	10065966	B2	2018年9月4日
				TW	647220	B1	2019年1月11日
				US	10189794	B2	2019年1月29日
				US	2019218220	A1	2019年7月18日
				JP	6576325	B2	2019年9月18日
				US	2019375719	A1	2019年12月12日
				NZ	711376	A2	2020年1月31日
				US	10618902	B2	2020年4月14日
				IL	240605	A	2020年4月30日
				CN	105307657	B	2020年7月10日
				MX	374558	B	2020年9月2日
				US	10774052	B2	2020年9月15日
				VN	10025554	B	2020年9月25日
				EA	036160	B1	2020年10月8日
				CN	111793068	A	2020年10月20日
				KR	102219695	B1	2021年2月25日
				KR	20210022140	A	2021年3月2日
				PH	12015502041	B1	2021年3月12日
				ZA	201507607	A	2021年4月28日
				EP	2968337	B1	2021年7月21日
				CA	2907243	C	2021年12月28日
				KR	102350704	B1	2022年1月13日
				EP	3943087	A1	2022年1月26日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2022/088850

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
<hr/> <p style="text-align: center;">ES 2892423 T3 2022年2月4日</p>			