

杂环类免疫调节剂

5 技术领域

本发明涉及作为免疫调节剂的杂环类化合物或其可药用的盐。本发明还涉及所述化合物或其可药用的盐的制备方法。本发明进一步涉及所述化合物或其可药用的盐在免疫调节、抗癌以及抗炎等方面的用途和使用方法。

10

背景技术

来那度胺等度胺类化合物是一种免疫调节剂 (immunomodulatory drug; IMiD), 具有多种作用机制。在分子水平上, 这类免疫调节剂通过结合 E3 泛素连接酶, 调控 CRL4^{CRBN}-E3 泛素连接酶复合物的功能, 引致 Ikaros (IKZF1)、Aiolos (IKZF3)、蛋白激酶 CK1 α (CK1 α)、转化终止因子 GSPT1 等泛素化而被 26S 蛋白酶体降解, 从而改变多种细胞因子 (比如 IL-2、IL-6、IL-10、TNF α 、IL-1 β 等) 的分泌, 影响免疫细胞活性。不同的度胺类化合物和 CRL4^{CRBN}-E3 泛素连接酶复合物结合后, 表现出不同的底物蛋白降解特异性, 因此具有不同的适应症。来那度胺和泊马度胺都能诱导 cereblon (CRBN) 降解在血液发展与分化过程中起重要作用的转录因子 Ikaros 和 Aiolos, 被用于治疗多发性骨髓瘤; 但其中只有来那度胺能引起 CK1 α 降解而被用于治疗 5q 缺失相关骨髓增生异常综合征。此外, CC-885 能促进 GSPT1 的降解, 而来那度胺和泊马度胺都无此作用。在非免疫调节方面, 度胺类化合物可通过抑制血管内皮生长因子 (VEGF), 而抑制肿瘤细胞的血管生成, 也可直接抑制肿瘤细胞的增生及诱发异常细胞的分解。

通过免疫及非免疫的调节, 度胺类化合物在多类恶性肿瘤和免疫性疾病的治疗中受到广泛关注, 比如多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合症、血液瘤/实体瘤 (比如淋巴瘤、非小细胞肺癌、胰脏、前列腺、脑部、肾脏、卵巢等), 以及系统性红斑狼疮等。此外, 度胺类化合物还可与其它药物进行联合治疗疾病, 比如与小分子靶向药和化疗药、大分子药物 (比如 PD-1 抗体、CD20 抗体、CD19 抗体等) 的联用。随着这类化合物在免疫调节、抗癌以及抗炎等方面研发的进一步开展, 其临床适应症也在不断增加。

虽然度胺类化合物的化学结构相似, 但各却具有不同的作用机理、临床治疗效果和毒副作用。沙利度胺在临床上的常见副作用, 如神经疾病、便秘、嗜睡, 在来那度胺却很少见; 而泊马度胺则没有来那度胺的皮疹副作用。因此, 需要开发新的免疫调节剂, 扩展适应症, 以满足不同临床需求。本发明涉及具有通式 (I) 所示结构的化合物, 作为免疫

调节剂，通过与 E3 泛素连接酶结合而有效地调控 IL-2、IL-6、IL-10、TNF α 、VEGF 等蛋白的表达和/或生物功能。

发明内容

5 定义

除非另有相反陈述，否则下列用在说明书和权利要求书中的术语具有下述含义。

“C_{x-y}”表示碳原子数的范围，其中x和y均为整数，例如C₃₋₈环烷基表示具有3-8个碳原子的环烷基，即具有3、4、5、6、7或8个碳原子的环烷基。还应理解，“C₃₋₈”还包含其中的任意亚范围，例如C₃₋₇、C₃₋₆、C₄₋₇、C₄₋₆、C₅₋₆等。

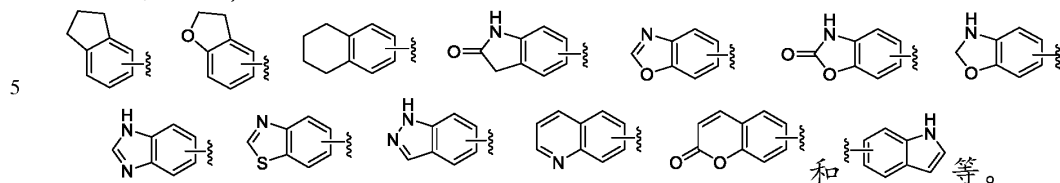
“烷基”指含有1至20个碳原子，例如1至8个碳原子、1至6个碳原子或1至4个碳原子的饱和的直链或支链的烃基基团。烷基的非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基等。

“亚烷基”指含有1至20个碳原子，例如1至6个碳原子或1至4个碳原子的直链或支链的饱和烃的二价基团。亚烷基的非限制性实例包括-CH₂-、-CH(CH₃)-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂-、-(CH₃)C(CH₃)-、-CH₂CH₂CH₂CH₂-、-CH₂CH(CH₃)CH₂-等。

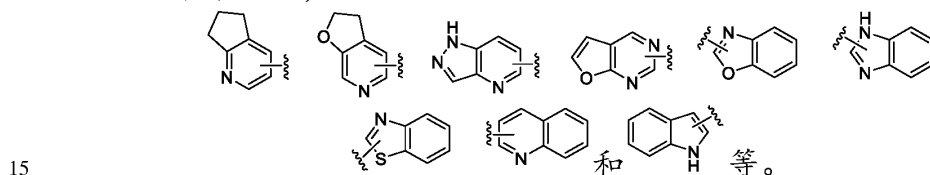
“环烷基”指含有3至14个碳环原子的饱和环状烃基取代基。环烷基可以是单碳环，通常含有3至8个、3至7个或3至6个碳环原子。单环环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等。环烷基还可以是稠合、桥接或螺合到一起的双或三环，如十氢萘基、二环[2.2.2]辛烷、螺[3.3]庚烷等。

“杂环基或杂环”指饱和或部分不饱和的单环或多环环状基团，其包括3至20个环原子，例如可以是3至14个、3至12个、3至10个、3至8个、3至6个或5至6个环原子，其中一个或多个环原子选自氮、氧或S(O)_m（其中m是整数0至2），但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-的环部分，其余环原子为碳。优选包括3至12个环原子，更优选3至10个环原子，更优选4至7个环原子，更优选4至6个环原子，最优选5或6个环原子，其中1~4个是杂原子，更优选1~3个是杂原子，最优选1~2个是杂原子。单环杂环基的非限制性实例包含吡咯烷基、噁丁环基、哌啶基、哌嗪基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢噻喃基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基、吡丁啶基等。多环杂环基包括稠、桥或螺多环杂环基，如八氢环戊二烯并[c]吡咯、八氢吡咯并[1,2-a]吡嗪、3,8-二氮杂二环[3.2.1]辛烷、5-氮杂螺[2.4]庚烷、2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷等。

“芳基或芳环”指含有 6 至 14 个碳原子的芳香族单环或稠合多环基团，优选为 6 至 10 元，例如苯基和萘基，最优选苯基。所述芳基环可以稠合于杂芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为芳基环，非限制性实例包括：



“杂芳基或杂芳环”指包含 5 至 14 个环原子的杂芳族体系，其中 1 至 4 个环原子选自包括氧、硫和氮的杂原子。杂芳基优选为 5 至 10 元，更优选杂芳基是 5 元或 6 元，例如呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、嘧啶基、吡嗪基、吡唑基、咪唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、喹啉基、异喹啉基、吲哚基、异吲哚基等。所述杂芳基环可以稠合于芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂芳基环，非限制性实例包括：



“卤素”指氟、氯、溴或碘。

“氰基”指-CN。

“氧代”指=O。

“羰基”指-C(O)-基团。

20 “磺酰基”指-S(O)₂-基团。

“亚磺酰基”指-S(O)-基团。

“任选”意味着随后所描述的事件或环境可以但不必发生，该表述包括该事件或环境发生或不发生的情形。例如，“任选被烷基取代的杂环基团”意味着烷基可以但不必须存在，该表述包括杂环基团被烷基取代的情形和杂环基团不被烷基取代的情形。

“取代”指基团中的一个或多个氢原子，优选为 5 个，更优选为 1~3 个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定（通过实验或理论）可能或不可能的取代。例如，具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和（如烯属）键的碳原子结合时可能是不稳定的。所述取代基包括但不限于卤素、氰基、硝基、氧代、-SF₅、C₁₋₄ 烷基、C₃₋₇ 环烷基、4-7 元杂环基、苯基、5-6 元杂芳基等。

“异构体”指具有相同分子式但其原子结合的性质或顺序或其原子的空间排列不同的化合物。原子空间排列不同的异构体称为“立体异构

体”。立体异构体包括旋光异构体、几何异构体和构象异构体。

本发明的化合物可以以旋光异构体形式存在。旋光异构体包括对映异构体和非对映异构体。对映异构体是指两个立体异构体彼此镜像但相互不可重叠。外消旋混合物或外消旋体是指手性分子的左右手对映异构体数量相等的混合物。非对映异构体是指两个立体异构体不是彼此的镜像且不可重叠。当旋光异构体为单一异构体且其绝对构型确定，根据手性碳原子上取代基的构型，其为“R”或“S”的绝对构型；当旋光异构体的绝对构型未确定，依据所测的旋光值，其为(+)或(-)。制备和分离光学异构体的方法是本领域中已知的。

本发明的化合物也可以存在几何异构体。本发明考虑由碳-碳双键、碳-氮双键、环烷基或杂环基团周围的取代基的分布所产生的各种几何异构体和其混合物。碳-碳双键或碳-氮键周围的取代基指定为Z或E构型，环烷基或杂环周围的取代基指定为顺式或反式构型。

本发明的化合物还可能显示互变异构现象，例如酮-烯醇互变异构。应该理解，本发明包括任何互变异构或立体异构形式和其混合物，并且不仅仅限于化合物的命名或化学结构式中所使用的任何一个互变异构或立体异构形式。

“同位素”是指在本发明化合物中出现的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子序数但不同质量数的那些原子。适合并入本发明化合物中的同位素的实例是氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯，分别例如但不限于 ^2H (D)、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 和 ^{36}Cl 。本发明的同位素标记化合物通常可通过本领域技术人员已知的传统技术或通过所附实施例中描述的那些类似的方法使用适当的同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂来制备。这样的化合物具有各种潜在用途，例如作为测定生物活性中的标样和试剂。在稳定同位素的情况下，这样的化合物具有有利地改变生物、药理学或药代动力学性质的潜力。氘(D)为本发明的优选同位素，比如甲基、亚甲基或次甲基中的氢可被氘取代。

本发明的化合物可以以前药的形式给予。“前药”是指在活体内的生理条件下例如通过氧化、还原、水解等(它们各自利用酶或在没有酶参与下进行)转化成本发明的生物活性化合物的衍生物。前药的实例有下述化合物：其中本发明的化合物中的氨基被酰化、烷基化或磷酸化，例如二十烷酰基氨基、丙氨酰氨基、新戊酰氧基甲基氨基，或其中羟基被酰化、烷基化、磷酸化或转化成硼酸盐，例如乙酰氧基、棕榈酰氧基、新戊酰氧基、琥珀酰氧基、富马酰氧基、丙氨酰氧基，或其中羧基被酯化或酰胺化，或其中巯基与选择性地靶向和/或向细胞的胞质溶胶递送药物的载体分子，例如肽形成二硫桥键。这些化合物可以由本发明的化合物根据公知方法制备。

“可药用的盐”或者“药学上可接受的盐”是指由可药用的碱或酸，包

括无机碱或酸和有机碱或酸制成的盐。在本发明的化合物含有一个或多个酸性或碱性基团的情况下，本发明还包含它们相应的可药用盐。因此，含有酸性基团的本发明的化合物可以以盐形式存在并可根据本发明使用，例如作为碱金属盐、碱土金属盐或作为铵盐。这样的盐的更确切实例包括钠盐、钾盐、钙盐、镁盐或与氨或有机胺，例如乙胺、乙醇胺、三乙醇胺或氨基酸的盐。含有碱性基团的本发明的化合物可以以盐形式存在并可根据本发明以它们与无机或有机酸的加成盐的形式使用。合适的酸的实例包括盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸、硝酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、苯二磺酸、草酸、乙酸、酒石酸、乳酸、水杨酸、苯甲酸、甲酸、丙酸、特戊酸、丙二酸、琥珀酸、庚二酸、富马酸、马来酸、苹果酸、氨基磺酸、苯基丙酸、葡萄糖酸、抗坏血酸、异烟酸、柠檬酸、己二酸和本领域技术人员已知的其它酸。如果本发明的化合物在分子中同时含有酸性和碱性基团，本发明除所提到的盐形式外还包括内盐或内铵盐。各盐可通过本领域技术人员已知的常规方法获得，例如通过在溶剂或分散剂中使这些与有机或无机酸或碱接触或通过与其它盐阴离子交换或阳离子交换。

“药物组合物”指含有一种或多种本发明所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体、前药及其混合物形式以及其他组分例如可药用的载体和赋形剂的组合物。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

因此，在本申请中当提及“化合物”、“本发明化合物”或“本发明所述化合物”时，包括所有所述化合物形式，例如其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体、前药及其混合物。

“癌症/肿瘤”包括但不限于消化道/胃肠道癌、结肠癌、肝癌、皮肤癌（包括肥大细胞瘤和鳞状细胞癌）、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、淋巴瘤、白血病（包括急性骨髓性白血病和慢性髓细胞性白血病）、肾癌、肺癌、肌肉癌、骨癌、膀胱癌、脑癌、黑素瘤（包括口腔和转移性黑素瘤）、卡波西肉瘤（包括多发性骨髓瘤的骨髓瘤）、骨髓增殖性疾病、增殖性糖尿病视网膜病变、血管增生相关病症/肿瘤等。

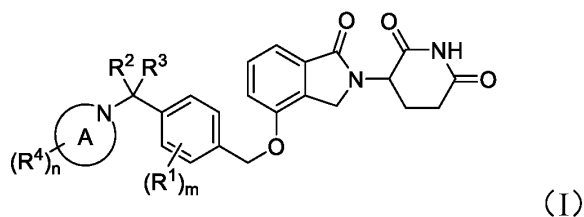
“炎性疾病”包括但不限于关节炎、桥本氏甲状腺炎、自身免疫性溶血性贫血、恶性贫血的自身免疫性萎缩性胃炎、自身免疫性脑脊髓炎、自身免疫性睾丸炎、古德帕斯丘病、自身免疫性血小板减少症、交感性眼炎、重症肌无力、格雷夫斯病、原发性胆汁性肝硬化、肝炎、原发性硬化性胆管炎、慢性侵袭性肝炎、非酒精性脂肪性肝病、非酒精性脂肪性肝炎、溃疡性结肠炎、膜性肾小球病、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、牛皮癣性关节炎、干燥综合征、赖特综合征、多肌炎、皮炎、I-型干扰素病包括 Aicardi-Goutières 综合征和其他过度表达 I-型干扰素的系统性硬化症、孟德尔疾病、结节性多动脉炎、多发性硬化症、复发缓解型多发性硬化症、原发性进行性多发性硬化症、继发性进展性多发

性硬化症、大疱性类天疱疮；另外基于 O-细胞（体液）或 T-细胞的自身免疫性疾病，包括科根综合征、强直性脊柱炎、韦格纳肉芽肿病、自身免疫性脱发、I-型或青少年型糖尿病、甲状腺炎。

“治疗有效量”是指包括可有效治疗或防止所述疾病的本发明化合物的量。

“患者”是指哺乳动物，尤其是人类。

本发明涉及一种通式 (I) 所示的化合物，或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体及其前药：



其中：

环 A 为含 N 的 4-10 元杂环；

R¹ 为 D 或卤素；

R² 和 R³ 各自独立地选自 H、D、卤素、氰基、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基或 3-8 元杂环基，但两者不可同时为 H 和/或 D，或者 R² 和 R³ 与其相连的碳原子共同组成 C₃₋₆ 环烷烃或 3-8 元杂环；

R⁴ 为 D、卤素、氰基、氧代、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、-OC₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₃₋₆ 环烷基、-S(O)₂C₁₋₆ 烷基、-S(O)₂C₃₋₆ 环烷基、芳基或杂芳基，其中所述烷基、环烷基、芳基和杂芳基的一个或多个氢任选被 D、卤素、氰基、C₁₋₂ 烷基或氟代 C₁₋₂ 烷基所取代；

m 为整数 0-4；且

n 为整数 0-2。

在一个实施方案中，环 A 为含一个 N 原子的 4-10 元单环杂环，或稠合、桥接或螺双环杂环（比如吗啉、哌啶、硫代吗啉-1,1-二氧化物、2-氧杂-5-氮双环[2.2.1]庚烷等）；R⁴ 为 H、D、卤素、氧代、-CF₃ 或 C₁₋₆ 烷基。

在一个实施方案中，环 A 为含两个 N 原子的 6-10 元单杂环，或稠合、桥接或螺双环杂环（比如哌嗪、3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷、2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷等）；R⁴ 为与第二个 N 原子相连的 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₃₋₆ 环烷基、-S(O)₂C₁₋₆ 烷基、-S(O)₂C₃₋₆ 环烷基、苯基或 5-6 元含 N、O 和/或 S 的杂芳基，其中所述烷基、环烷基、苯基和杂芳基的一个或多个氢任选被 D、卤素、氰基、C₁₋₂ 烷基或氟代 C₁₋₂ 烷基所取代。

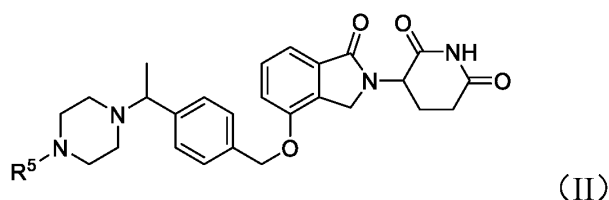
在一个优选实施方案中，环 A 为哌嗪；R⁴ 为与哌嗪的第二个 N 原

子相连的 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)C_{3-6}$ 环烷基、 $-S(O)_2C_{1-6}$ 烷基、苯基、吡啶基或嘧啶基，其中所述烷基、环烷基、苯基、吡啶基或嘧啶基的一个或多个氢任选被 D、卤素、氰基或 C_{1-2} 烷基所取代；n 为 0 或 1。

- 5 在一个实施方案中， R^2 为 H； R^3 为氰基、 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基。
 在一个实施方案中， R^2 和 R^3 都为甲基。
 在一个实施方案中， R^2 和 R^3 与其相连的碳原子共同组成 C_{3-6} 环烷烃。
 在一个优选实施方案中，m 为 0。

10

在一些实施方案中，所述通式 (I) 化合物具有以下通式 (II) 所示的结构：



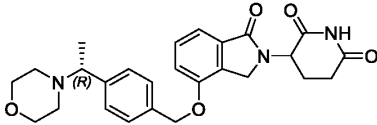
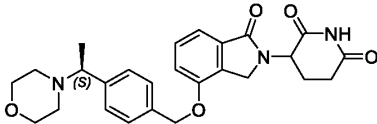
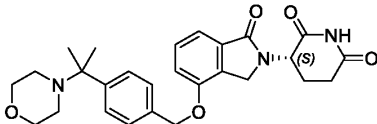
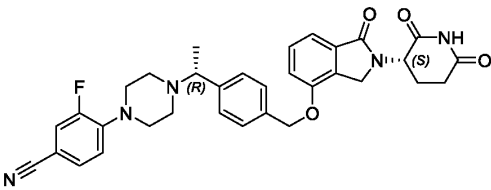
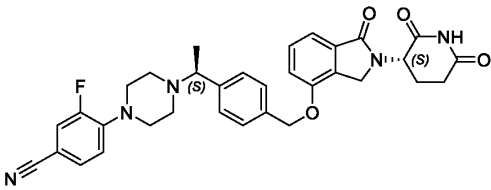
其中：

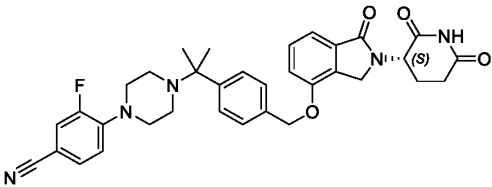
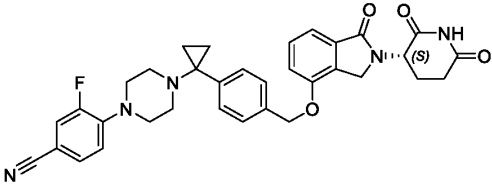
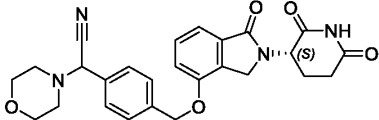
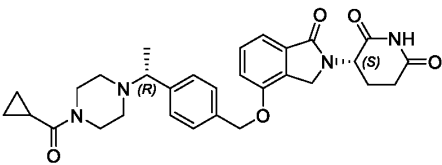
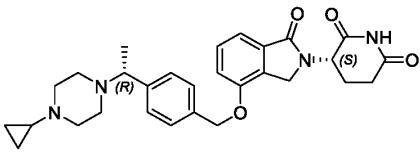
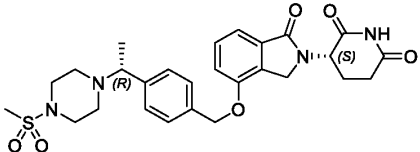
- 15 R^5 为 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)C_{3-6}$ 环烷基、 $-S(O)_2C_{1-6}$ 烷基、苯基或 5-6 元含 N、O 和/或 S 的杂芳基，其中所述烷基、环烷基、苯基和杂芳基的一个或多个氢任选被 D、卤素、氰基或 C_{1-2} 烷基所取代。

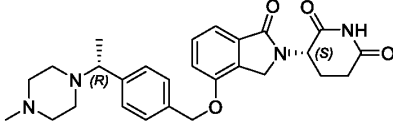
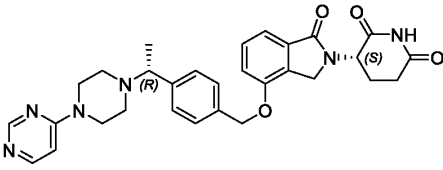
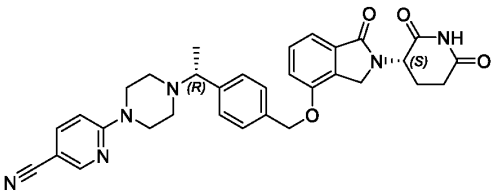
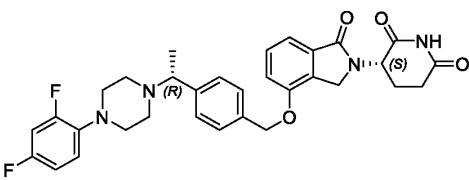
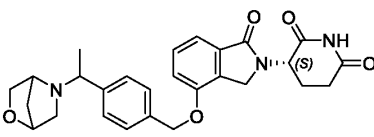
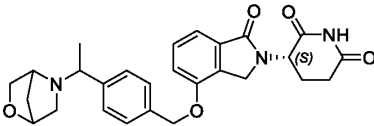
- 20 在一个优选实施方案中， R^5 为苯基、吡啶基或嘧啶基，其中所述苯基、吡啶基和嘧啶基的一个或两个氢任选被 F 或氰基所取代。

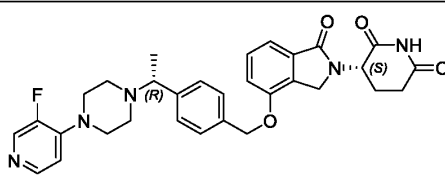
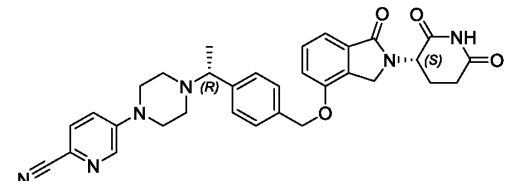
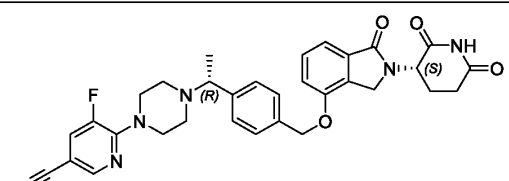
本发明进一步涉及以下化合物 1-22，或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体、前药及其混合物：

化合物编号	化合物结构与命名
1.	
	3-(4-((4-(1-吗啉代乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
2.	
	3-(4-((4-(1-吗啉代环丙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚

	啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
3.	 3-(4-((4-((R)-1-吗啉代乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲啉啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
4.	 3-(4-((4-((S)-1-吗啉代乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲啉啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
5.	 (S)-3-(4-((4-(2-吗啉代丙烷-2-基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲啉啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
6.	 4-(4-((R)-1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲啉啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌啶-1-基)-3-氟苄腈
7.	 4-(4-((S)-1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲啉啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌啶-1-基)-3-氟苄腈

8.	 (S)-4-(4-(2-(4-(((2-(2,6-二氧代嘧啶-3-基)-1-氧代异咪唑啉-4-基)氧基)甲基)苯基)丙-2-基)嘧啶-1-基)-3-氟苄腈
9.	 (S)-4-(4-(1-(4-(((2-(2,6-二氧代嘧啶-3-基)-1-氧代异咪唑啉-4-基)氧基)甲基)苯基)环丙基)嘧啶-1-基)-3-氟苄腈
10.	 2-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代嘧啶-3-基)-1-氧代异咪唑啉-4-基)氧基)甲基)苯基)-2-吗啉代乙腈
11.	 (S)-3-(4-(((4-((R)-1-(4-(环丙烷羧基)嘧啶-1-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异咪唑啉-2-基)嘧啶-2,6-二酮
12.	 (S)-3-(4-(((4-((R)-1-(4-环丙基嘧啶-1-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异咪唑啉-2-基)嘧啶-2,6-二酮
13.	

	(S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
14.	 (S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-(甲基哌嗪-1-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
15.	 (S)-3-(1-氧代-4-((4-((R)-1-(4-(嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲基)氧基)异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
16.	 6-(4-((R)-1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)烟腈
17.	 (S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-(2,4-二氟苯基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
18.	 (3S)-3-(4-((4-(1-(2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (异构体 1)
19.	

	(3S)-3-(4-((4-(1-(2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (异构体 2)
20.	 (S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-(3-氟吡啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮
21.	 5-(4-((R)-1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-2-氰基吡啶
22.	 6-(4-((R)-1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-5-氟烟腈

本发明的化合物能够有效抑制 NCI-H929 细胞的增殖，优选其 IC_{50} 小于 50 nM，更优选 IC_{50} 小于 10 nM。本发明的化合物对人 PBMC 细胞中 $TNF\alpha$ 的分泌具有显著抑制效应，优选其 IC_{50} 小于 20 nM，更优选 IC_{50} 小于 10 nM。本发明的化合物也对人 PBMC 细胞中 IL-2 的分泌具有显著刺激作用，优选其 EC_{50} 小于 50 nM，更优选 EC_{50} 小于 10 nM。

本发明还涉及一种药物组合物，所述药物组合物包含通式 (I) 所示的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体、前药及其混合物和一种或多种药学上可接受的载体或辅料。

本发明的一方面提供通式 (I) 所示的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体、前药及其混合物，或所述药物组合物用于调控或抑制 E3 泛素连接酶的活性，从而影响包括但不限于 Aiolos、Ikaros、

Helios、CK1 α 、GSPT1、IL-2、IL-6、TNF α 、IFN γ 、VEGF 等蛋白的表达和/或生物功能。

本发明的另一方面提供一种治疗或者预防 Aiolos、Ikaros、Helios、CK1 α 、GSPT1、IL-2、IL-6、TNF α 、IFN γ 、VEGF 等介导的相关疾病的方法，所述方法包括给予有需要的患者治疗有效量的通式 (I) 所示的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体、前药及其混合物，或包含所述化合物的药物组合物，所述疾病包括但不限于血液瘤（比如多发性骨髓瘤、淋巴瘤、白血病等）、实体瘤（比如肺癌、前列腺癌、头颈癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫癌、胰脏癌、结肠癌、直肠癌、胃癌、食道癌、脑癌、肝癌、肾癌、皮肤癌、上皮癌、膀胱癌、成神经细胞瘤等）、自身免疫性疾病（比如系统性红斑狼疮、银屑病、炎症肠病等）、炎症（比如类风湿性关节炎）、神经退行性疾病（比如多发性硬化、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病）、纤维化（比如肺纤维化）、皮肤疾病（比如黑色素瘤）、眼病、慢性阻塞性肺部疾病等，尤其是多发性骨髓瘤、淋巴瘤、骨髓增生异常综合征、系统性红斑狼疮、实体瘤等。

本发明还涉及一种药物组合物，所述药物组合物包含通式 (I) 所示的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体、前药及其混合物和至少一种额外的药物，其中所述至少一种额外的药物可为小分子化学治疗剂（比如 NSAIDs、类固醇抗炎药、激酶靶向药、细胞毒类药物、DNA 损伤相关药物等）或大分子免疫和/或炎症调节剂（比如 PD-1 抗体、CD20 抗体、CD19 抗体、TNF α 抗体、IL-6 抗体等）。

根据本发明，所述药物可以是任何药物剂型，包括但不限于片剂、胶囊剂、溶液剂、冻干制剂、注射剂。

本发明的药物制剂可以以每剂量单位包含预定量的活性成分的剂量单位形式给药。这种单位可根据治疗的病症、给药方法和患者的年龄、体重和状况包含例如 0.1 毫克至 500 毫克，优选 0.5 毫克至 100 毫克的本发明的化合物。此外，可以使用制药领域中所知的方法制备这种类型的药物制剂，比如把活性成分与一种或多种辅料和/或佐剂混合。

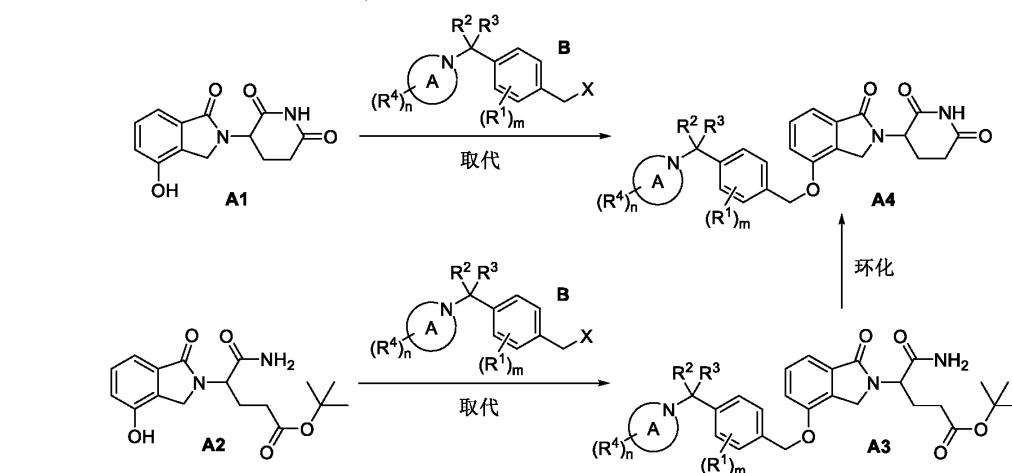
本发明药物制剂可适于通过任何所需的合适方法给药，例如通过经口（包括口腔或舌下）、直肠、经鼻、局部（包括口腔、舌下或经皮）、阴道或肠道外（包括皮下、肌内、静脉内或皮内）方法给药。

本发明还提供制备所述化合物的方法。本发明通式 (I) 所述化合物的制备可通过以下示例性方法和实施例完成，但这些方法和实施例不应以任何方式被认为是对本发明范围的限制。也可通过本领域技术人员所知的合成技术合成本发明所述的化合物，或者综合使用本领域已知方法和本发明所述方法。每步反应所得的产物用本领域已知的分离技术得到，包括但不限于萃取、过滤、蒸馏、结晶、色谱分离等。合成所需的起始物料和化学试剂可以根据文献（可从 SciFinder 上查询）常规合成或购买。

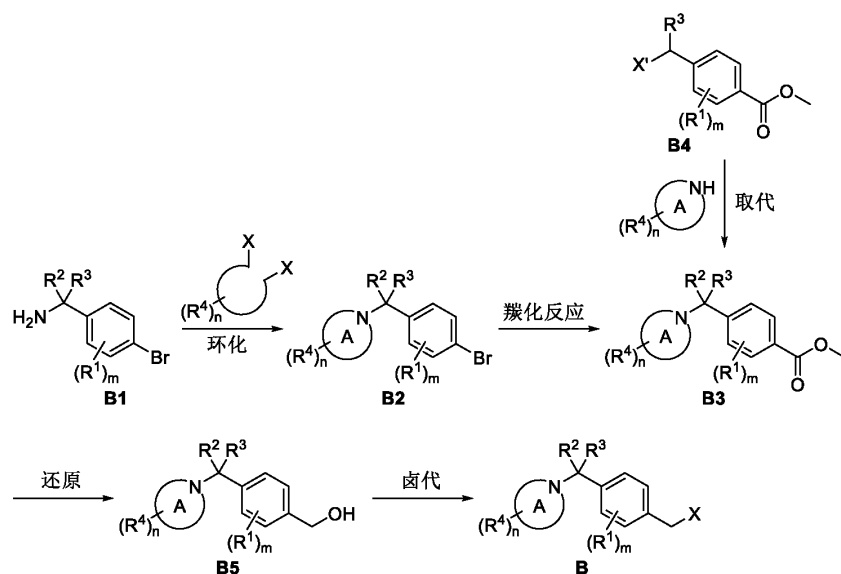
合成方法

本发明通式 (I) 所述的杂环类化合物可按照以下所示的路线合成：

- 1) 度胺类化合物 A1 与带有离去基团 X (比如卤素) 的中间体 B 在碱 (比如碳酸钾) 催化下加热取代反应得到目标化合物 A4, 其中度胺类化合物 A1 可购买或按照文献方法合成 (比如 CN107739389)。本目标化合物 A4 还可由化合物 A2 先与中间体 B 进行取代反应得到 A3, A3 再在酸 (比如 TsOH) 催化下加热关环而得到, 其中化合物 A2 可购买或按照文献方法合成 (比如 WO2014025978)。



- 10 中间体 B 可按照以下所示的路线合成：1) 起始原料 B1 与带有双离去基团 X (比如卤素) 的原料或试剂在碱性条件下 (比如 DMF 中有机碱 DIPEA 或无机碱碳酸钾) 加热环合生成中间体 B2；2) B2 的甲醇溶液在钯催化剂 (比如 PdCl₂(dppf)) 催化下在一氧化碳气氛中进行插羰反应得到中间体酯 B3, B3 也可由 B4 与含 NH 杂环 A 的原料或试剂在碱 (比如碳酸钾) 催化下进行取代反应而得到；3) B3 中的酯基被 LAH 还原生成中间体醇 B5；4) B5 进一步被卤化 (比如使用 CBr₄/PPh₃ 或 SOCl₂)，从而得到重要中间体 B。
- 15



实施例

本发明的起始原料可以按照本领域已知的方法来合成，或可购自 ABCR GmbH&Co. KG、Acros Organics、Aldrich Chemical Company、韶远化学科技 (Accela ChemBio Inc.)、北京偶合等化学品公司。

本发明化合物的结构是通过核磁共振 (NMR) 和/或质谱 (MS) 来确定的。NMR 的测定使用 Bruker ASCEND-400 核磁仪，所用溶剂为氘代二甲基亚砷 ($\text{DMSO}-d_6$)、氘代氯仿 (CDCl_3) 或氘代甲醇 (CD_3OD) 等，内标为四甲基甲硅烷 (TMS)，化学位移是以 10^{-6} (ppm) 作为单位给出。MS 的测定使用 Agilent SQD (ESI) 质谱仪 (安捷伦 6120)。

HPLC 使用安捷伦 1260 DAD 高压液相色谱仪 (Poroshell 120 EC-C18, 50×3.0 mm, $2.7 \mu\text{m}$ 色谱柱) 或 Waters Arc 高压液相色谱仪 (Sunfire C18, 150×4.6 mm, $5 \mu\text{m}$ 色谱柱)。

实施例中如无特殊说明，反应温度为室温 ($20^\circ\text{C} - 30^\circ\text{C}$)。

实施例中如无特殊说明，反应均在氩气气氛或氮气气氛下进行。氩气气氛或氮气气氛是指反应瓶连接一个约 1 L 容积的氩气或氮气气球。

氩气气氛是指反应瓶在抽真空再充入氩气 (反复 3 次) 后，连接一个约 1 L 容积的氩气气球。

微波反应使用 CEM Discover-SP 型微波反应器。

实施例中的反应进程的监测使用安捷伦的液质联用色谱仪 (1260/6120)，也可采用薄层层析 (TLC)，所用硅胶板的厚度为 $0.15 \sim 0.2$ mm (青岛海洋 GF254)。

化合物的纯化采用柱层析或薄层层析，其中柱层析使用青岛海洋的 200~300 目硅胶，薄层层析使用青岛海洋的厚度为 $0.4 \sim 0.5$ mm 的 GF254 硅胶板。

柱层析或薄层层析展开溶剂体系通常有 a) 二氯甲烷和甲醇体系, b) 石油醚和乙酸乙酯体系, 或如实施例中所示。溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节, 也可以加入少量的三乙胺、或其它酸性或碱性试剂进一步调节。

5 化合物的纯化还采用 Waters 的质谱导向自动制备系统(质谱检测器: SQD2), 根据化合物的极性用适当的乙腈/水(含 0.1%三氟乙酸或甲酸, 或 0.05%氨水)梯度于 20 mL/min 的流速洗脱反相高压柱(XBridge-C18, 19×150 mm, 5 μm)。部分实施例可在使用自动制备系统纯化后加入 1 N 稀盐酸, 然后减压除去溶剂, 得到盐酸盐。

10 缩写 PdCl₂(dppf)是指[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯。

缩写 LAH 是指氢化铝锂。

缩写 DIPEA 是指 N,N-二异丙基乙胺。

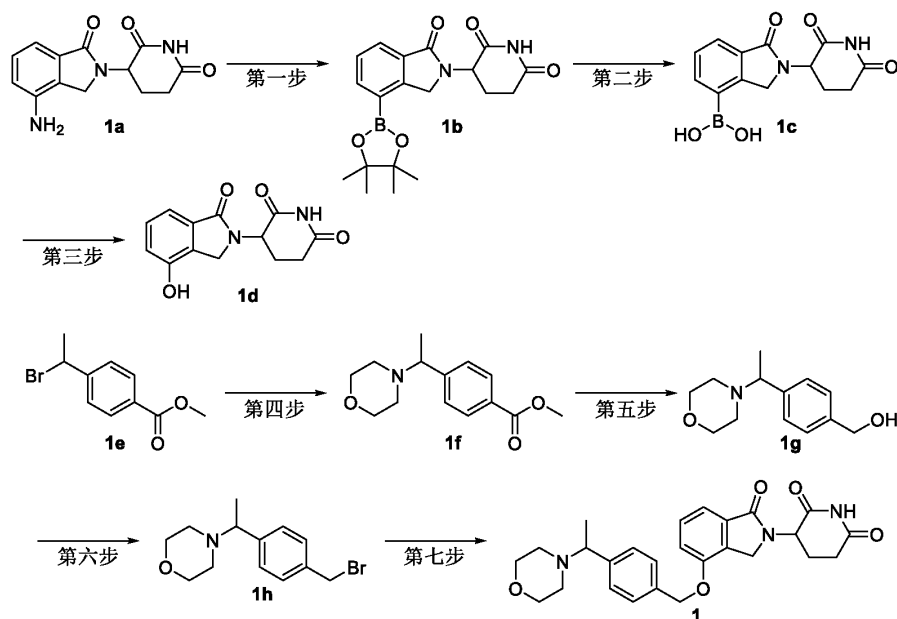
缩写 TsOH·H₂O 是指对甲基苯磺酸一水合物。

缩写 THF 是指四氢呋喃。

15 缩写 DMF 是指 N,N-二甲基甲酰胺。

实施例 1

3-((4-((1-吗啉代乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (化合物 1)



20

第一步

3-(1-氧代-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (1b)

25 室温下将 3-(7-氨基-3-氧代-1H-异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 **1a** (5 g, 19.3 mmol)、联硼酸频那醇酯 (7.35 g, 29.0 mmol) 和乙腈 (100 mL)

混合，然后加入亚硝酸叔丁酯 (2.19 g, 21.3 mmol)。将混合物在室温搅拌 18 小时，然后减压除去溶剂。残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 100/1) 纯化，得到目标产物 **1b** (3.9 g, 55%)。

MS m/z (ESI): 371 [M+1]

5 第二步

(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)硼酸 (**1c**)

室温下将 **1b** (3.9 g, 10.5 mmol)、THF (100 mL) 和水 (20 mL) 混合，然后缓慢地加入偏高碘酸钠 (6.7 g, 31.6 mmol)。将混合物在室温下搅拌 2 小时，然后加入稀盐酸 (1 N, 7.3 mL, 7.3 mmol)。将混合物在室温下搅拌 18 小时后，减压除去溶剂，残余物溶于二氯甲烷 (20 mL) 和水 (20 mL)。室温搅拌 18 小时后过滤，得到目标产物 **1c** (2.3 g, 76%)。

MS m/z (ESI): 289 [M+1]

第三步

15 3-(4-羟基-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (**1d**)

氮气气氛下向 (**1c** (1 g, 3.5 mmol) 的二甲基亚砜 (20 mL) 溶液中加入过氧化氢水溶液 (2.76 mL, 27 mmol)。将混合物在室温搅拌 18 小时后，加入水 (30 mL)，然后用乙酸乙酯 (3×50 mL) 萃取。合并的有机相用饱和食盐水 (3×50 mL) 洗涤，然后用无水硫酸钠干燥。过滤后，滤液在减压条件下浓缩至干，残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 100/1 至 85/15) 纯化，得到目标产物 **1d** (110 mg, 12%)。

MS m/z (ESI): 261 [M+1]

第四步

4-(1-吗啉代乙基)苯甲酸甲酯 (**1f**)

25 室温下将 4-(1-溴乙基)苯甲酸甲酯 **1e** (242 mg, 1 mmol)、吗啉 (87 mg, 1 mmol)、碳酸钾 (151.8 mg, 1.1 mmol) 和乙腈 (1 mL) 混合并搅拌 18 小时，然后加入水 (3 mL) 并用乙酸乙酯 (3×3 mL) 萃取。合并的有机相用水 (3×2 mL) 洗涤，然后用无水硫酸钠干燥。过滤后，滤液在减压条件下浓缩至干，得到目标产物 **1f** (280 mg, 粗品)。该产品未经进一步纯化，直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 250 [M+1]

第五步

(4-(1-吗啉代乙基)苯基)甲醇 (**1g**)

35 将 **1f** (280 mg, 粗品) 溶于 THF (2 mL) 并冷却到 0°C，然后在氮气气氛下加入 LAH (128 mg, 3.37 mmol)。0°C 下搅拌 1 小时后，然后在室温下再搅拌 3 小时。向混合物中加入水 (2 mL)，然后用乙酸乙酯 (3×3 mL) 萃取。合并的有机相用水 (3×2 mL) 洗涤，然后用无水硫酸钠干燥。过滤后，滤液在减压条件下浓缩至干，残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/1 至 1/1) 纯化，得到目标产物 **1g** (160 mg,

73%)。

MS m/z (ESI): 222 [M+1]

第六步

4-(1-(4-(溴甲基)苯基)乙基)吗啉 (1h)

- 5 将 **1g** (80 mg, 0.36 mmol)、四溴化碳 (143 mg, 0.43 mmol) 和二氯甲烷 (5 mL) 混合, 然后在氮气气氛下加入三苯基膦 (114 mg, 0.43 mmol)。室温下搅拌 48 小时后, 减压除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/1 至 7/3) 纯化, 得到目标产物 **1h** (20 mg, 20%)。

10 MS m/z (ESI): 284 [M+1]

第七步

3-(4-((4-(1-吗啉代乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (1)

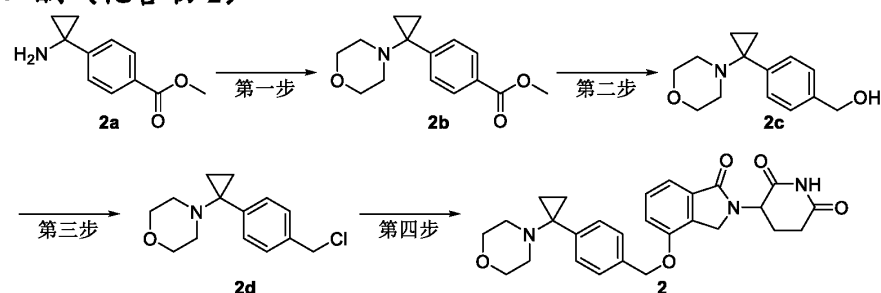
- 15 室温下将 **1h** (20 mg, 0.07 mmol)、**1d** (18.4 mg, 0.07 mmol)、碘化钾 (17.6 mg, 0.11 mmol)、碳酸钾 (14.6 mg, 0.11 mmol) 和乙腈 (1 mL) 混合, 加热到 80°C 并搅拌 18 小时。冷却到室温后, 减压除去溶剂, 残余物用反相制备高效液相色谱纯化, 得到目标产物 **1** (6.1 mg, 19%)。

MS m/z (ESI): 464 [M+1]

- 20 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.41 - 7.36 (m, 3H), 7.32 - 7.27 (m, 3H), 7.19 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.14 (s, 2H), 5.06 - 5.02 (m, 1H), 4.35 (q, *J* = 17.4 Hz, 3H), 3.63 - 3.57 (m, 4H), 2.80 - 2.75 (m, 1H), 2.72 - 2.67 (m, 1H), 2.48 - 2.34 (m, 4H), 2.12 - 2.01 (m, 2H), 1.36 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H)。

25 实施例 2

3-(4-((4-(1-吗啉代环丙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (化合物 2)



第一步

- 30 4-(1-吗啉代环丙基)苯甲酸甲酯 (2b)

室温下将 4-(1-氨基环丙基)苯甲酸甲酯 **2a** (191 mg, 1 mmol)、1-溴-2-(2-溴乙氧基)乙烷 (696 mg, 3 mmol)、DIPEA (645 mg, 5 mmol) 和 DMF (3 mL) 混合, 加热到 110°C 并搅拌 18 小时。冷却到室温后, 加入水 (10 mL), 然后用乙酸乙酯 (3 × 10 mL) 萃取。合并的有机相

用水 (3×5 mL) 洗涤, 然后用无水硫酸钠干燥。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/1 至 19/1) 纯化, 得到目标产物 **2b** (150 mg, 57%)。

MS m/z (ESI): 262 [M+1]

5 第二步

(4-(1-吗啉代环丙基)苯基)甲醇 (2c)

0°C下向 **2b** (150 mg, 0.57 mmol) 的 THF (5 mL) 溶液中加入 LAH (43.6 mg, 1.15 mmol), 室温下搅拌 2 小时后, 加入水 (2 mL), 然后用乙酸乙酯 (3×10 mL) 萃取。合并的有机相用水 (3×5 mL) 洗涤, 10 然后用无水硫酸钠干燥。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 得到目标产物 **2c** (110 mg, 84%)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 234 [M+1]

第三步

15 4-(1-(4-(氯甲基)苯基)环丙基)吗啉 (2d)

室温下向 **2c** (110 mg, 0.47 mmol) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中加入氯化亚砷 (84 mg, 0.71 mmol)。室温下搅拌 2 小时后, 减压除去溶剂, 得到目标产物 **2d** (100 mg, 20%)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

20 MS m/z (ESI): 252 [M+1]

第四步

3-(4-((4-(1-吗啉代环丙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (2)

室温下将 **2d** (100 mg, 0.4 mmol)、**1d** (52 mg, 0.2 mmol)、碘化钾 (66 mg, 0.4 mmol)、碳酸钾 (55 mg, 0.4 mmol) 和乙腈 (5 mL) 混合, 25 加热到 100°C 并搅拌 18 小时。冷却到室温后过滤, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用反相制备高效液相色谱纯化, 得到目标产物 **2** (5.2 mg, 固体, 5.5%)。

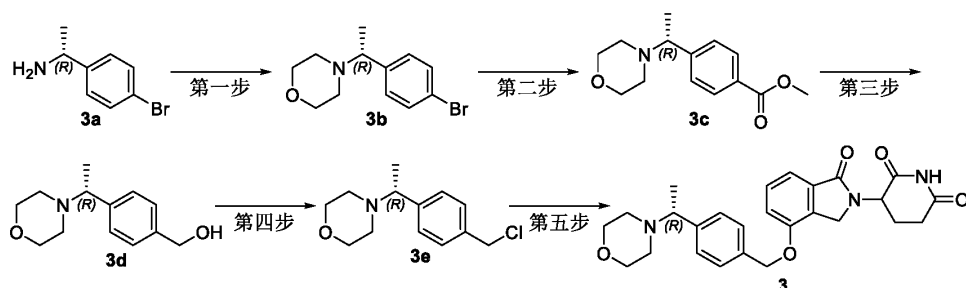
MS m/z (ESI): 476 [M+1]

30 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.48 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 7.41 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 7.29 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 5.25 (s, 2H), 5.14 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.45 (q, *J* = 17.3 Hz, 2H), 3.73 - 7.55 (m, 4H), 2.91 - 2.85 (m, 1H), 2.81 - 2.64 (m, 4H), 2.50 (dd, *J* = 13.2, 4.7 Hz, 1H), 2.20 - 2.13 (m, 1H), 1.31 - 1.23 (m, 1H), 1.15 - 1.03 (m, 2H), 0.98 - 0.88 (m, 2H).

35

实施例 3

3-(4-((4-((R)-1-吗啉代乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (化合物 3)



第一步

(R)-4-(1-(4-溴苯基)乙基)吗啉 (3b)

将(R)-1-(4-溴苯基)乙胺 **3a** (2 g, 10 mmol) 溶解在 DMF (40 mL) 中, 然后加入碳酸钾 (4.15 g, 30 mmol) 和 1-溴-2-(2-溴乙氧基)乙烷 (2.58 g, 11.1 mmol)。将混合物在室温搅拌 3 小时, 然后加热至 80°C 并搅拌 3 小时。冷却到室温后, 补加 1-溴-2-(2-溴乙氧基)乙烷 (258 mg, 1.11 mmol), 加热到 80°C 并搅拌 2 小时。冷却到室温后, 用水 (250 mL) 稀释, 然后用乙酸乙酯 (2×150 mL) 萃取。合并的有机相依次用饱和碳酸氢钠溶液 (2×150 mL) 和饱和食盐水 (150 mL) 洗涤, 然后经无水硫酸钠干燥。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇=100/0 至 96/4) 纯化, 得到目标产物 **3b** (2.14 g, 79%)。

MS m/z (ESI): 270 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.44 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.21 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.77 -3.60 (m, 4H), 3.27 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 2.46 (s, 2H), 2.36 (s, 2H), 1.30 (t, *J* = 9.0 Hz, 3H)。

第二步

(R)-4-(1-吗啉代乙基)苯甲酸甲酯 (3c)

将 **3b** (2.14 g, 7.92 mmol) 溶于甲醇 (80 mL), 加入三乙胺 (4 g, 39.6 mmol) 并冷却至 -40°C。用一氧化碳气体鼓泡 30 分钟, 然后加入 PdCl₂(dppf) (1.16 g, 1.58 mmol)。将混合物在密封管中加热至 100°C 并搅拌 20 小时。冷却到室温后过滤, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=100/0 至 3/7) 纯化, 得到目标产物 **3c** (1.7 g, 86%)。

MS m/z (ESI): 250 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.99 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H), 7.41 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.69 (s, 4H), 3.36 (s, 1H), 2.49 (s, 2H), 2.35 (s, 2H), 1.34 (s, 3H)。

第三步

(R)-4-(1-吗啉代乙基)苯基)甲醇 (3d)

将 **3c** (1.7 g, 6.82 mmol) 溶于无水 THF (40 mL) 并冷却至 0°C, 然后加入 LAH (600 mg, 15.8 mmol)。将混合物在室温下搅拌 16 小时后, 冷却至 0°C, 然后用 NaOH 溶液 (1 N, 8 mL) 淬灭。过滤后, 滤

液经无水硫酸钠干燥, 然后再次过滤, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇=100/0 至 98/2)纯化, 得到目标产物 **3d** (1.45 g, 96%)。

MS m/z (ESI): 222 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.33 (s, 4H), 4.68 (s, 2H), 3.70 (s, 4H), 3.33 (s, 1H), 2.50 (s, 2H), 2.39 (s, 2H), 1.72 (s, 1H), 1.37 (s, 3H).

第四步

(R)-4-(1-(4-(氯甲基)苯基)乙基)吗啉 (**3e**)

将 **3d** (98 mg, 0.44 mmol) 溶于二氯甲烷 (10 mL), 然后加入氯化亚砷 (1 mL)。室温下搅拌 2 小时后, 浓缩至干, 得到目标产物 **3e** (120 mg, 粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 240 [M+1]

第五步

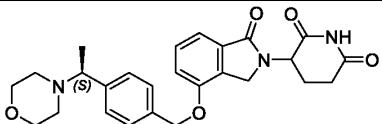
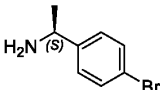
3-(4-((4-((R)-1-吗啉代乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮甲酸盐 (**3**)

将 **3e** (120 mg, 粗品)、碳酸钾 (182 mg, 1.32 mmol)、**1d** (92 mg, 0.35 mmol)、碘化钾 (73 mg, 0.44 mmol) 和乙腈 (10 mL) 混合, 加热到 80°C 并搅拌 3 小时。冷却到室温后, 减压除去溶剂, 残余物用水 (20 mL) 稀释, 然后用乙酸乙酯 (2×20 mL) 萃取。合并的有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用反相制备高效液相色谱纯化, 得到目标产物 **3** (34.5 mg, 固体, 19%)。

MS m/z (ESI): 464 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.29 (s, 1H), 7.48 (dd, *J* = 7.9, 6.3 Hz, 3H), 7.40 (dd, *J* = 7.7, 3.0 Hz, 3H), 7.28 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.23 (s, 2H), 5.14 (dd, *J* = 13.3, 5.2 Hz, 1H), 4.45 (q, *J* = 17.4 Hz, 2H), 3.71 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H), 3.62 (dd, *J* = 13.5, 6.7 Hz, 1H), 2.95 - 2.84 (m, 1H), 2.80 - 2.66 (m, 3H), 2.58 - 2.44 (m, 3H), 2.16 (dtd, *J* = 12.8, 5.2, 2.3 Hz, 1H), 1.46 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H).

化合物 **4** 参照化合物 **3** 中第一步至第五步的实验步骤操作, 但在第一步中用(S)-1-(4-溴苯基)乙胺代替 **3a**。

化合物编号	化合物结构	代替 3a 的化合物	MS m/z (ESI)
4			464

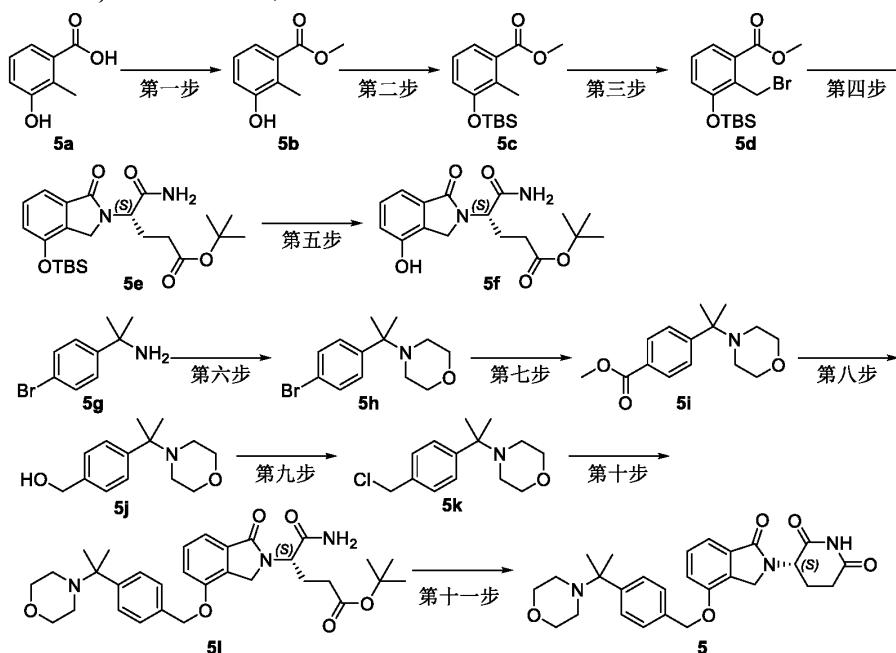
化合物 **4** 的核磁数据如下:

化合物	¹ H NMR
3-(4-((4-((S)-1-吗啉代乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮甲酸盐	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8.30 (s, 1H), 7.48 (dd,

咪代乙基)苯甲 基)氧基)-1-氧代 异吲哚啉-2-基) 哌啶-2,6-二酮 (4)	$J = 7.8, 6.1 \text{ Hz}, 3\text{H}), 7.40 (\text{dd}, J = 7.8, 3.3 \text{ Hz}, 3\text{H}), 7.29 (\text{d}, J = 8.0 \text{ Hz}, 1\text{H}), 5.24 (\text{s}, 2\text{H}), 5.14 (\text{dd}, J = 13.3, 5.1 \text{ Hz}, 1\text{H}), 4.45 (\text{d}, J = 12.3 \text{ Hz}, 2\text{H}), 3.71 (\text{t}, J = 4.7 \text{ Hz}, 4\text{H}), 3.65 - 3.59 (\text{m}, 1\text{H}), 2.94 - 2.85 (\text{m}, 1\text{H}), 2.82 - 2.65 (\text{m}, 3\text{H}), 2.53 (\text{d}, J = 11.1 \text{ Hz}, 3\text{H}), 2.16 (\text{ddd}, J = 10.3, 5.2, 2.9 \text{ Hz}, 1\text{H}), 1.46 (\text{d}, J = 6.8 \text{ Hz}, 3\text{H}).$
--	---

实施例 4

(S)-3-(4-((4-(2-咪啉代丙烷-2-基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (化合物 5)



第一步

3-羟基-2-甲基苯甲酸甲酯 (5b)

将 3-羟基-2-甲基苯甲酸 **5a** (5 g, 33 mmol) 溶于甲醇 (50 mL) 中, 然后加入浓硫酸 (980 mg, 9.9 mmol)。将混合物加热至 70°C 并搅拌 20 小时。冷却到室温后, 浓缩至约 10 mL, 然后将残余物缓慢加入冷水 (100 mL) 中, 然后用饱和碳酸氢钠溶液调节至 pH = 4 并搅拌 20 分钟。过滤收集沉淀物, 得到目标产物 **5b** (4.48 g, 82%)。

MS m/z (ESI): 167[M+1]

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.67 (s, 1H), 7.17 (d, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 7.08 (t, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 1H), 6.99 (d, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.27 (s, 3H)。

第二步

3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-甲基苯甲酸甲酯 (5c)

将 **5b** (4.48 g, 27 mmol) 溶于 DMF (25 mL), 冷却到 0°C 并依次

加入咪唑(4.59 g, 67 mmol)和叔丁基二甲基氯硅烷(4.47 g, 30 mmol)。将混合物升温至室温并搅拌 16 小时, 然后用水(125 mL)稀释并用乙酸乙酯(2×100 mL)萃取。合并的有机相用水(3×100 mL)洗涤, 然后用无水硫酸钠干燥。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物
5 用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=100/0 至 93/7)纯化, 得到目标产物 **5c** (7.57g, 100%)。

MS m/z (ESI): 281[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.21 (dd, *J* = 7.8, 1.0 Hz, 1H), 6.87 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.71 (dd, *J* = 8.0, 0.9 Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 0.83 -
10 0.77 (m, 9H), 0.02 - -0.04 (m, 6H).

第三步

2-(溴甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)苯甲酸甲酯 (5d)

将 **5c** (561 mg, 2 mmol) 溶于四氯化碳(30 mL)中, 加入 N-溴代琥珀酰亚胺(374 mg, 2.1 mmol)和过氧化二苯甲酰(41 mg, 0.2 mmol)。
15 将混合物加热至 80°C 并搅拌 3 小时。冷却到室温后过滤, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯 = 100/0 至 97/3)纯化, 得到目标产物 **5d** (630 mg, 88%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.52 (dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.23 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.00 (dd, *J* = 8.2, 1.1 Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 1.10 -
20 1.03 (m, 9H), 0.33 - 0.26 (m, 6H).

第四步

(S)-5-氨基-4-(4-((叔丁基二甲基硅烷基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-5-氧代戊酸叔丁酯 (5e)

将 **5d** (630 mg, 1.75 mmol) 和(S)-4,5-二氨基-5-氧代戊酸叔丁酯盐酸盐(460 mg, 1.93 mmol)溶于乙腈(5 mL)中, 然后加入 DIPEA (566 mg, 4.38 mmol)。将混合物加热至 50°C 并搅拌 18 小时。冷却到室温后, 减压除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯 = 44/56 至 0/100)纯化, 得到目标产物 **5e** (545 mg, 69%)。

MS m/z (ESI): 449[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.47 - 7.43 (m, 1H), 7.38 - 7.32 (m, 1H), 6.98 - 6.94 (m, 1H), 6.33 (s, 1H), 5.36 - 5.31 (m, 1H), 4.91 - 4.85 (m, 1H), 4.43 - 4.30 (m, 2H), 2.48 - 2.09 (m, 4H), 1.42 (s, 9H), 1.03 - 0.98 (m, 9H), 0.28 - 0.22 (m, 6H).

第五步

(S)-5-氨基-4-(4-羟基-1-氧代异吲哚啉-2-基)-5-氧代戊酸叔丁酯 (5f)

室温下将 **5e** (545 mg, 1.21 mmol) 溶于 THF (3 mL) 中, 加入四丁基氟化铵的 THF 溶液(1 M, 1.5 mL, 1.5 mmol)并搅拌 30 分钟。将混合物用水(20 mL)稀释, 然后用乙酸乙酯(3×20 mL)萃取。合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯 = 1/1 至 0/100)纯化, 得到目
40

标产物 **5f** (270 mg, 67%)。

MS m/z (ESI): 335[M+1]

第六步

4-(2-(4-溴苯基)丙-2-基)吗啉 (**5h**)

- 5 将 2-(4-溴苯基)丙-2-胺 **5g** (214 mg, 1 mmol) 溶于 DMF (4 mL), 加入碳酸钾 (415 mg, 3 mmol) 和 1-溴-2-(2-溴乙氧基)乙烷 (278 mg, 1.2 mmol)。将混合物加热到 80°C 并搅拌 20 小时。冷却到室温后, 用水 (80 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (3×40 mL) 萃取。合并的有机相依次用水 (2×40 mL) 和盐水 (40 mL) 洗涤, 然后用无水硫酸钠干燥。过
10 滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/0 至 3/2) 纯化, 得到目标产物 **5h** (207 mg, 73%)。

MS m/z (ESI): 284 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.42 (s, 4H), 3.73 - 3.61 (m, 4H), 2.50 - 2.41 (m, 4H), 1.31 (s, 6H).

- 15 第七步

4-(2-吗啉代丙烷-2-基)苯甲酸甲酯 (**5i**)

- 将 **5h** (207 mg, 0.73 mmol) 溶于甲醇 (20 mL), 然后加入三乙胺 (369 mg, 3.64 mmol)。冷却至 -40°C 后用一氧化碳气体鼓泡 20 分钟, 然后加入 PdCl₂(dppf) (107 mg, 0.15 mmol)。将混合物在封管中加热至
20 100°C 并搅拌 20 小时。冷却到室温后, 混合物通过硅藻土过滤。滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/0 至 1/1) 纯化, 得到目标产物 **5i** (189 mg, 98%)。

MS m/z (ESI): 264 [M+1]

- 25 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.97 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.62 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.71 - 3.63 (m, 4H), 2.50 - 2.41 (m, 4H), 1.35 (s, 6H).

第八步

(4-(2-吗啉代丙烷-2-基)苯基)甲醇 (**5j**)

- 将 **5i** (189 mg, 0.72 mmol) 溶于 THF (20 mL) 并冷却至 0°C, 然后加入 LAH (35 mg, 1.44 mmol)。将混合物在室温下搅拌 2 小时, 然后用 NaOH 溶液 (1 N, 0.2 mL) 淬灭并过滤。滤液用无水硫酸钠干燥,
30 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 1/1 至 3/7) 纯化, 得到目标产物 **5j** (77 mg, 46%)。

MS m/z (ESI): 236 [M+1]

第九步

- 35 4-(2-(4-(氯甲基)苯基)丙-2-基)吗啉 (**5k**)

将 **5j** (77 mg, 0.33 mmol) 溶于二氯甲烷 (2 mL), 然后加入氯化亚砷 (0.5 mL)。将混合物在室温下搅拌 16 小时, 然后浓缩至干, 得到目标产物 **5k** (固体, 粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 254 [M+1]

第十步

(S)-5-氨基-4-(4-((4-(2-吗啉代丙烷-2-基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-5-氧戊酸叔丁酯 (5l)

- 5 将 **5k** (粗品, 约 0.33 mmol) 溶于 DMF (2 mL), 然后加入碳酸钾 (138 mg, 1 mmol) 和 **5f** (110 mg, 0.33 mmol)。将混合物加热到 50°C 并搅拌 24 小时。冷却到室温后, 用水 (20 mL) 稀释, 然后用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并的有机相用水 (3×20 mL) 洗涤, 然后用无水硫酸钠干燥。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物通过硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 100/0 至 19/1) 纯化, 得到目标产物 **5l** (163 mg, 两步 90%)。

MS m/z (ESI): 552 [M+1]

第十一步

- 15 (S)-3-(4-((4-(2-吗啉代丙烷-2-基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮甲酸盐

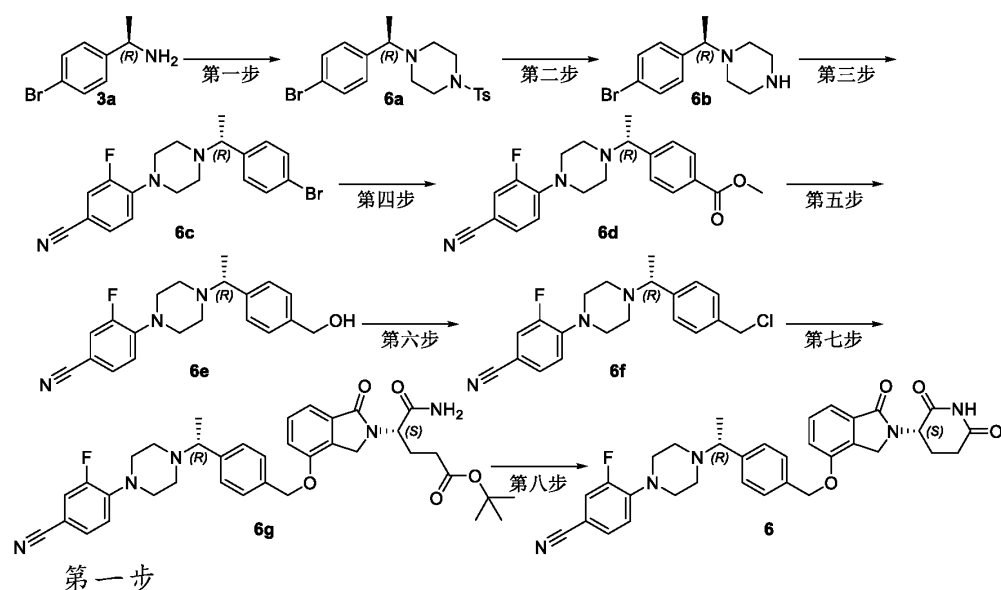
- 20 将 **5l** (163 mg, 0.3 mmol) 溶于乙腈 (2 mL) 中, 加入 TsOH·H₂O (56 mg, 0.3 mmol)。将混合物加热至 90°C 并搅拌 18 小时。冷却到室温后, 再次加入 TsOH·H₂O (56 mg, 0.3 mmol), 然后加热至 90°C 并搅拌 2 小时。冷却至室温后, 加入饱和碳酸氢钠溶液 (20 mL), 然后用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并的有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用反相制备高效液相色谱纯化, 得到目标产物 **5** (37 mg, 固体, 26%)。

MS m/z (ESI): 478 [M+1]

- 25 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.26 (s, 1H), 7.62 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.52 - 7.45 (m, 3H), 7.42 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.25 (s, 2H), 5.16 (dd, *J* = 13.3, 5.2 Hz, 1H), 4.47 (q, *J* = 17.3 Hz, 2H), 3.75 - 3.67 (m, 4H), 2.96-2.87 (m, 1H), 2.82-2.76 (m, 1H), 2.69 - 2.61 (m, 4H), 2.57-2.46 (m, 1H), 2.21-2.15 (m, 1H), 1.50 (s, 6H).

30 实施例 5

4-(4-((R)-1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-3-氟苄腈 (化合物 6)



第一步

(R)-1-(1-(4-溴苯基)乙基)-4-甲苯磺酰基哌嗪 (6a)

将(R)-1-(4-溴苯基)乙胺 **3a** (2 g, 10 mmol)、N,N-双(2-氯乙基)-4-甲基苯磺酰胺 (3.11 g, 10.5 mmol) 和 DIPEA (2.58 g, 20 mmol) 放入 30 mL 封管中, 加热到 125°C 并搅拌 18 小时。冷却至室温后, 加入乙醇 (80 mL) 并搅拌, 在搅拌的过程中逐渐滴加水 (120 mL)。将所得混合物搅拌 30 分钟后, 过滤收集沉淀物, 得到目标产物 **6a** (3.97 g, 94%)。

MS m/z (ESI): 423 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.62 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.40 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.11 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.32 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H), 2.97 (s, 4H), 2.61 - 2.49 (m, 2H), 2.49 - 2.36 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 1.27 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H)。

第二步

(R)-1-(1-(4-溴苯基)乙基)哌嗪 (6b)

将 **6a** (1 g, 2.36 mmol) 溶解在三氟乙酸 (2.69 g, 23.6 mmol) 中, 然后加入浓硫酸 (1.62 g, 16.5 mmol)。将混合物加热至 75°C 并搅拌 16 小时。冷却至室温后, 缓慢加入饱和碳酸氢钠溶液 (100 mL), 然后用乙酸乙酯 (3 × 100 mL) 萃取。合并的有机相无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 得到目标产物 **6b** (860 mg, 粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 269 [M+1]

第三步

(R)-4-(4-(1-(4-(溴代苯基)乙基)哌嗪-1-基)-3-氟苄腈 (6c)

将 **6b** (860 mg, 粗品, 约 2.36 mmol) 和 3,4-二氟苄腈 (328 mg, 2.36 mmol) 溶于 DMF (15 mL) 中, 然后加入碳酸钾 (978 mg, 7.08 mmol)。将混合物加热至 110°C 并搅拌 16 小时。冷却至室温后, 加入

水 (150 mL) 并搅拌 1 小时。通过过滤收集沉淀物, 得到目标产物 **6c** (506 mg, 55%)。

MS m/z (ESI): 388 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.29-7.15 (m, 3H), 6.88 (t, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.39 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 3.19 (s, 4H), 2.63 (s, 2H), 2.54 (s, 2H), 1.36 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H).

第四步

(R)-4-(1-(4-(4-氟基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲酸甲酯 (**6d**)

将 **6c** (506 mg, 1.3 mmol) 和甲醇 (40 mL) 混合, 然后加入三乙胺 (659 mg, 6.5 mmol)。冷却至 -40°C 后, 用一氧化碳鼓泡 20 分钟, 然后加入 PdCl₂(dppf) (190 mg, 0.26 mmol)。将混合物加热至 100°C 并搅拌 18 小时。冷却到室温后, 将反应混合物通过硅藻土过滤。滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/0 至 1/1) 纯化, 得到目标产物 **6d** (360 mg, 75%)。

MS m/z (ESI): 368 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.01 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.42 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 6.89 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.48 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 3.20 (s, 4H), 2.66 (s, 2H), 2.54 (s, 2H), 1.39 (d, *J* = 5.7 Hz, 3H).

第五步

(R)-3-氟-4-(4-(1-(4-(羟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)苄腈 (**6e**)

将 **6d** (360 mg, 0.98 mmol) 溶于 THF (20 mL), 冷却至 0°C, 然后加入 LAH (45 mg, 1.18 mmol)。将混合物在室温下搅拌 2 小时, 冷却至 0°C, 然后用 NaOH 溶液 (1 N, 1 mL) 淬灭。将反应液用无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/乙酸乙酯 = 7/3 至 4/1) 纯化, 得到目标产物 **6e** (100 mg, 30%)。

MS m/z (ESI): 340 [M+1]

第六步

(R)-4-(4-(1-(4-(氟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-3-氟苄腈 (**6f**)

将 **6e** (100 mg, 0.29 mmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL), 然后加入氯化亚砷 (69 mg, 0.58 mmol)。将混合物在室温下搅拌 16 小时, 浓缩至干, 得到目标产物 **6f** (油状物, 粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 358 [M+1]

第七步

(S)-5-氨基-4-(4-((4-((R)-1-(4-(4-氟基-2-氟苯基)哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-5-氧代戊酸叔丁酯 (**6g**)

将 **6f** (粗品, 约 0.29 mmol) 溶于 DMF (5 mL), 然后加入 **5f** (97 mg, 0.29 mmol) 和碳酸钾 (200 mg, 1.45 mmol)。将混合物加热至 50°C

并搅拌 20 小时。冷却到室温后，混合物用水 (80 mL) 稀释，过滤收集沉淀物，得到目标产物 **6g** (197 mg, 两步 104%)。

MS m/z (ESI): 656 [M+1]

第八步

5 4-(4-((R)-1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-3-氟苄腈 (**6**)

将 **6g** (197 mg, 0.29 mmol) 溶于乙腈 (10 mL)，然后加入 TsOH·H₂O (110 mg, 0.58 mmol)。将混合物加热至 90°C 并搅拌 3 小时。冷却至室温后，用饱和碳酸氢钠溶液 (30 mL) 稀释，然后用乙酸乙酯 (3×30 mL) 萃取。合并的有机相用无水硫酸钠干燥，过滤后，滤液在减压条件下浓缩至干，残余物用反相制备高效液相色谱纯化，得到目标产物 (21 mg, 固体, 12%)。

MS m/z (ESI): 582 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.50 – 7.34 (m, 8H), 7.28 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.05 (t, *J* = 8.6 Hz, 1H), 5.21 (s, 2H), 5.12 (dd, *J* = 13.4, 5.2 Hz, 1H), 4.43 (q, *J* = 17.4 Hz, 2H), 3.47 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.25 – 3.15 (m, 4H), 2.94 – 2.82 (m, 1H), 2.75 (ddd, *J* = 17.6, 4.6, 2.4 Hz, 1H), 2.71 – 2.63 (m, 2H), 2.58 – 2.41 (m, 3H), 2.15 (tdd, *J* = 7.6, 5.8, 3.1 Hz, 1H), 1.41 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H).

20

化合物 7、8、9 参照化合物 6 中第一步至第八步的实验步骤合成，但在第一步中用不同的化合物代替(R)-1-(4-溴苯基)乙胺 **3a**。

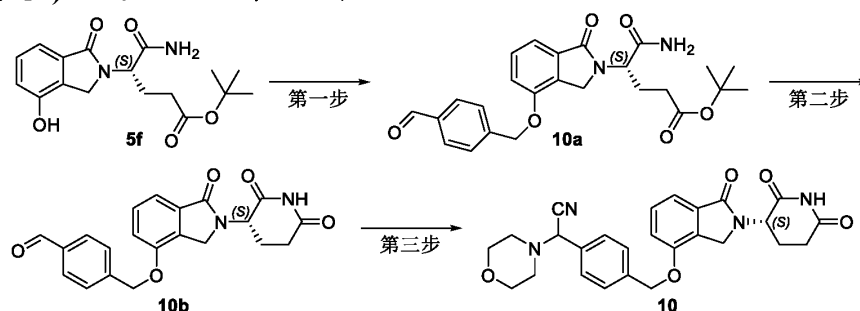
化合物 编号	化合物结构	代替 3a 的化 合物	MS m/z (ESI)
7			582
8			596
9			594

化合物 7、8、9 的核磁数据如下：

化合物	¹ H NMR
4-(4-((S)-1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-3-氟苄腈 (7)	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7.52 - 7.33 (m, 8H), 7.29 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 7.06 (t, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H), 5.21 (s, 2H), 5.13 (dd, <i>J</i> = 13.3, 5.2 Hz, 1H), 4.44 (q, <i>J</i> = 17.4 Hz, 2H), 3.47 (q, <i>J</i> = 6.7 Hz, 1H), 3.25 - 3.17 (m, 4H), 2.93 - 2.84 (m, 1H), 2.76 (ddd, <i>J</i> = 17.6, 4.6, 2.4 Hz, 1H), 2.71 - 2.63 (m, 2H), 2.58 - 2.42 (m, 3H), 2.15 (dtd, <i>J</i> = 12.8, 5.2, 2.3 Hz, 1H), 1.41 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz, 3H).
(S)-4-(4-(2-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)丙-2-基)哌嗪-1-基)-3-氟苄腈 (8)	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7.61 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 2H), 7.52 - 7.36 (m, 6H), 7.29 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 7.06 (t, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H), 5.21 (s, 2H), 5.13 (dd, <i>J</i> = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.44 (q, <i>J</i> = 17.4 Hz, 2H), 3.19 (t, <i>J</i> = 10.0 Hz, 4H), 3.03 - 2.84 (m, 1H), 2.84 - 2.72 (m, 1H), 2.72 - 2.56 (m, 4H), 2.49 (ddd, <i>J</i> = 26.8, 13.3, 4.9 Hz, 1H), 2.17 (dd, <i>J</i> = 15.7, 9.9 Hz, 1H), 1.56 - 1.37 (m, 6H).
(S)-4-(4-(1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)环丙基)哌嗪-1-基)-3-氟苄腈 (9)	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7.79 - 7.19 (m, 9H), 7.00 (t, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H), 5.22 (s, 2H), 5.11 (dd, <i>J</i> = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.43 (q, <i>J</i> = 17.4 Hz, 2H), 3.11 (d, <i>J</i> = 23.5 Hz, 4H), 2.94 - 2.82 (m, 1H), 2.81 - 2.71 (m, 1H), 2.64 (d, <i>J</i> = 21.8 Hz, 4H), 2.46 (ddd, <i>J</i> = 26.3, 13.2, 5.0 Hz, 1H), 2.19 - 2.07 (m, 1H), 1.03 - 0.94 (m, 2H), 0.89 - 0.88 (s, 2H).

实施例 6

2-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)-2-吗啉代乙腈 (化合物 10)



第一步

(S)-5-氨基-4-(4-((4-甲酰基苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-5-氧代戊酸叔丁酯 (10a)

将 **5f** (167 mg, 0.5 mmol) 和 4-(氯甲基)苯甲醛 (77 mg, 0.5 mmol)

溶于 DMF (3 mL) 中, 然后加入碳酸钾 (207 mg, 1.5 mmol), 加热到

50°C并搅拌 18 小时。冷却到室温后过滤,滤液在减压条件下浓缩至干,残余物用硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇=100/0至9/1)纯化,得到目标产物 **10a** (164 mg, 72%)。

MS m/z (ESI): 453 [M+1]

5 第二步

(S)-4-(((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯甲醛 (**10b**)

将 **10a** (164 mg, 0.36 mmol) 溶于乙腈 (20 mL), 然后加入 TsOH·H₂O (138 mg, 0.72 mmol), 加热至 90°C 并搅拌 18 小时。冷却到室温后, 10 减压除去溶剂, 残余物中加入用饱和碳酸氢钠溶液 (20 mL), 然后用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇=100/0至47/3)纯化, 得到目标产物 **10b** (48 mg, 35%)。

MS m/z (ESI): 379 [M+1]

15 第三步

2-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)-2-吗啉代乙腈 (**10**)

将 **10b** (48 mg, 0.13 mmol) 和二氯甲烷 (10 mL) 混合, 然后加入吗啉 (23 mg, 0.26 mmol), 三甲基氰硅烷 (26 mg, 0.26 mmol) 和三 20 氟甲磺酸镱 (III) (8 mg, 0.013 mmol)。将混合物在室温下搅拌 61 小时, 然后减压除去溶剂。残余物用硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇=100/0至91/9)和薄层硅胶色谱(二氯甲烷/甲醇=8/1)纯化, 得到目标产物 **10** (44.6 mg, 固体, 72%)。

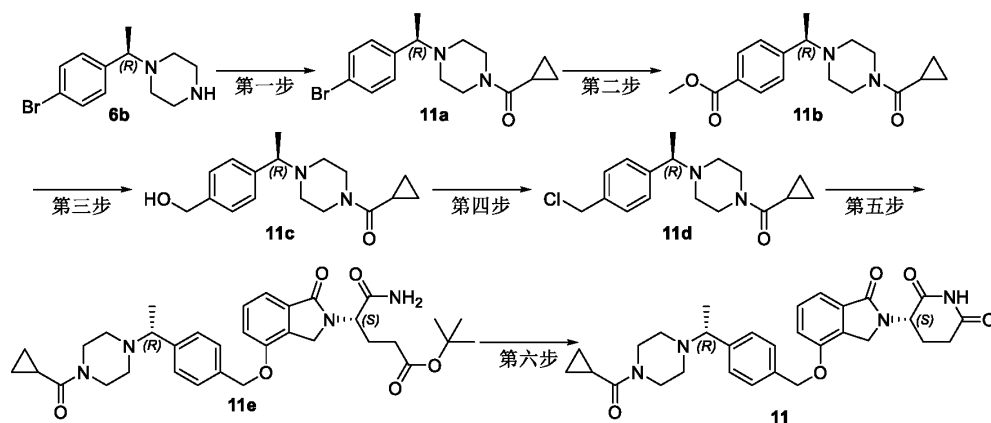
MS m/z (ESI): 475 [M+1]

25 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.97 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.52 - 7.46 (m, 3H), 7.33 (dd, *J* = 7.7, 3.1 Hz, 2H), 5.40 (s, 1H), 5.28 (s, 2H), 5.12 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.43 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 4.27 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 3.66 - 3.52 (m, 4H), 2.96 - 2.85 (m, 1H), 2.58 (d, *J* = 19.0 Hz, 2H), 2.48 - 2.34 (m, 4H), 1.99 (dd, *J* = 9.0, 3.7 Hz, 1H).

30

实施例 7

(S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-(环丙烷羰基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (化合物 11)



第一步

(R)-4-(1-(4-溴苯基)乙基)哌嗪-1-基(环丙基)甲酮 (11a)

将 **6b** (200 mg, 0.75 mmol)、环丙烷甲酰氯 (93 mg, 0.89 mmol) 和二氯甲烷 (5 mL) 混合, 然后加入三乙胺 (225 mg, 2.23 mmol)。将反应混合物室温下搅拌过夜, 然后在减压条件下浓缩至干。残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 19/1 至 4/1) 纯化, 得到目标产物 **11a** (200 mg, 80%)。

MS m/z (ESI): 337 [M+1]

第二步

(R)-4-(1-(4-(环丙烷羰基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲酸甲酯 (11b)

将 **11a** (200 mg, 0.59 mmol)、三乙胺 (299 mg, 2.97 mmol) 和甲醇 (20 mL) 混合, 冷却到 -40°C 后用一氧化碳鼓泡 30 分钟, 然后加入 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (43 mg, 0.06 mmol)。将混合物在封管中加热至 100°C 并搅拌 18 小时。冷却到室温后, 减压除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 9/1 至 3/2) 纯化, 得到目标产物 **11b** (120 mg, 75%)。

MS m/z (ESI): 317 [M+1]

第三步

(R)-环丙基(4-(1-(4-(羟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)甲酮 (11c)

0°C 下向 **11b** (120 mg, 0.38 mmol) 的 THF (5 mL) 溶液中加入 LAH (22 mg, 0.57 mmol)。搅拌 1 小时后, 加入十水合硫酸钠 (100 mg)。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 1/1 至 0/100) 纯化, 得到目标产物 **11c** (100 mg, 59%)。

MS m/z (ESI): 289 [M+1]

第四步

(R)-4-(1-(4-(氯甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基(环丙基)甲酮 (11d)

向 **11c** (100 mg, 0.35 mmol) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中添加氯化亚砷 (0.5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌过夜, 然后减压除去溶剂, 得到目标产物 **11d** (100 mg, 粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 307 [M+1]

第五步

(S)-5-氨基-4-(4-((4-((R)-1-(4-(环丙烷羰基)哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-5-氧代戊酸叔丁酯 (11e)

- 5 将 **11d** (100 mg, 粗品)、**5f** (101 mg, 0.30 mmol)、碳酸钾 (83 mg, 0.60 mmol) 和 DMF (5 mL) 混合, 加热到 50°C 并搅拌过夜。冷却到室温后, 将混合物用水 (10 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并的有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 100/0 至 19/1) 纯化, 得到目标产物 **11e** (100 mg, 53%)。

MS m/z (ESI): 605 [M+1]

第六步

(S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-(环丙烷羰基)哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (11)

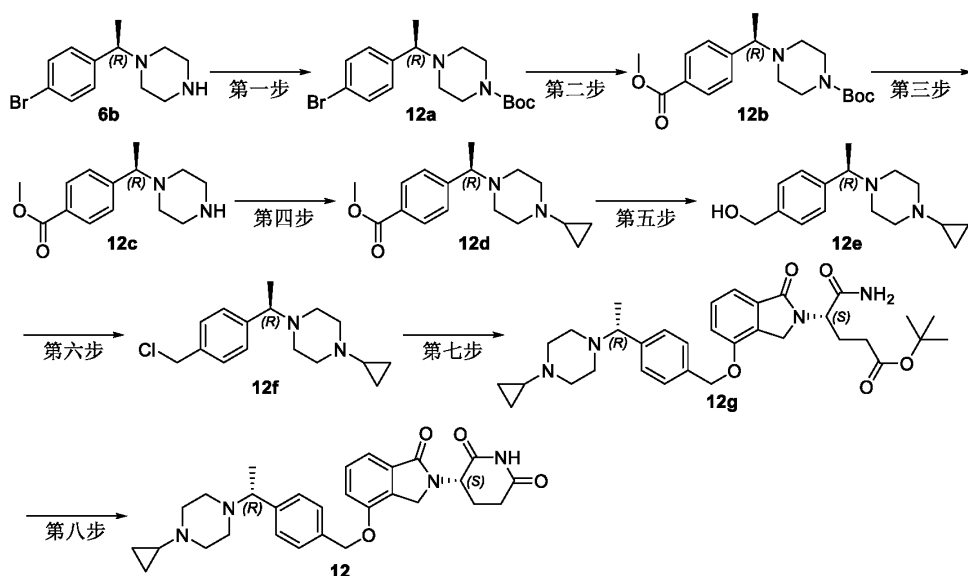
- 15 将 **11e** (100 mg, 0.17 mmol)、TsOH·H₂O (66 mg, 0.35 mmol) 和乙腈 (2 mL) 混合, 加热到 90°C 下并搅拌过夜。冷却到室温后, 减压除去溶剂, 残余物用反相制备高效液相色谱纯化, 得到目标产物 **11** (10 mg, 固体, 22%)。

MS m/z (ESI): 531 [M+1]

- 20 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.54 – 7.32 (m, 6H), 7.29 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 5.22 (s, 2H), 5.13 (dd, *J* = 13.4, 5.2 Hz, 1H), 4.45 (q, *J* = 17.3 Hz, 2H), 3.74 (s, 1H), 3.57 (s, 1H), 3.50 – 3.41 (m, 1H), 3.01 – 2.83 (m, 2H), 2.83 – 2.71 (m, 1H), 2.62 – 2.42 (m, 4H), 2.37 (s, 1H), 2.22 – 2.10 (m, 1H), 1.90 (ddd, *J* = 12.8, 7.9, 4.7 Hz, 1H), 1.40 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 1.36 – 1.26 (m, 1H), 0.87 – 0.73 (m, 4H).

实施例 8

(S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-环丙基哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (化合物 12)



第一步

(R)-4-(1-(4-溴苯基)乙基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (12a)

将 **6b** (对甲基苯磺酸盐, 4 g, 9 mmol) 和 THF (80 mL) 混合, 然后加入三乙胺 (3.7 g, 36 mmol)。将混合物冷却至 0°C, 滴加二碳酸二叔丁酯 (2.2 g, 9.9 mmol)。室温搅拌 17 小时后, 加入水 (160 mL), 然后用乙酸乙酯 (2×100 mL) 萃取。将合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/0 至 1/1) 纯化, 得到目标产物 **12a** (3.07 g, 92%)。

10 MS m/z (ESI): 369 [M+1]

第二步

(R)-4-(1-(4-(甲氧基羰基)苯基)乙基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (12b)

在封管中将 **12a** (3.07 g, 8.3 mmol) 溶于甲醇 (120 mL) 中, 加入三乙胺 (4.21 g, 41.6 mmol)。冷却至 -40℃ 后, 用一氧化碳鼓泡 30 分钟, 然后加入 PdCl₂(dppf) (1.21 g, 1.66 mmol)。将混合物加热至 100℃ 并搅拌 18 小时。冷却到室温后, 垫硅藻土过滤。滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/0 至 1/1) 纯化, 得到目标产物 **12b** (2.7 g, 93%)。

MS m/z (ESI): 349 [M+1]

20 第三步

(R)-4-(1-(哌嗪-1-基)乙基)苯甲酸甲酯 (12c)

向 **12b** (350 mg, 1.01 mmol) 的二氯甲烷 (4 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (1 mL)。室温下搅拌 4 小时, 减压除去溶剂, 得到目标产物 **12c** (350 mg, 粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

25 MS m/z (ESI): 249 [M+1]

第四步

(R)-4-(1-(4-(环丙基哌嗪-1-基)乙基)苯甲酸甲酯 (12d)

将 **12c** (140 mg, 0.56 mmol), (1-乙氧基环丙氧基)三甲基硅烷 (295 mg, 1.69 mmol), 乙酸 (100 mg, 1.69 mmol) 和甲醇 (5 mL) 的混合物中加入氰基硼氢化钠 (106 mg, 1.69 mmol)。将反应混合物在室温下
5 搅拌过夜后, 减压除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 9/1 至 7/3) 纯化, 得到目标产物 **12d** (100 mg, 62%)。

MS m/z (ESI): 289 [M+1]

第五步

(R)-4-(1-(4-(环丙基哌嗪-1-基)乙基)苯基)甲醇 (12e)

10 0°C下向 **12d** (100 mg, 0.35 mmol) 的 THF (3 mL) 溶液中加入 LAH (20 mg, 0.52 mmol)。搅拌 1 小时后, 加入十水合硫酸钠 (100 mg)。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 99/1 至 19/1) 纯化, 得到目标产物 **12e** (75 mg, 83%)。

MS m/z (ESI): 261 [M+1]

15 第六步

(R)-1-(1-(4-(氯甲基)苯基)乙基)-4-环丙基哌嗪 (12f)

向 **12e** (80 mg, 0.31 mmol) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中加入氯化亚砷 (1 mL)。室温搅拌过夜后, 减压除去溶剂, 得到目标产物 **12f** (80 mg, 粗品), 该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

20 MS m/z (ESI): 279 [M+1]

第七步

(S)-5-氨基-4-(4-(((4-((R)-1-(4-环丙基哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-5-氧代戊酸叔丁酯 (12g)

将 **12f** (80 mg, 粗品)、**5f** (101 mg, 0.30 mmol)、碳酸钾 (83 mg, 0.60 mmol) 和 DMF (5 mL) 混合, 加热至 50°C 并搅拌过夜。冷却到
25 室温后, 用水 (10 mL) 稀释混合物, 然后用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。有机相合并后, 经无水硫酸钠干燥。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 得到目标产物 **12g** (120 mg, 粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

30 MS m/z (ESI): 577 [M+1]

第八步

(S)-3-(4-(((4-((R)-1-(4-环丙基哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮甲酸盐 (12)

35 将 **12g** (120 mg, 粗品)、TsOH·H₂O (95 mg, 0.50 mmol) 和乙腈 (2 mL) 混合, 加热至 90°C 并搅拌过夜。冷却到室温后, 减压除去溶剂, 残余物用反相制备高效液相色谱纯化, 得到目标产物 **12** (10.0 mg, 固体, 6.5%)。

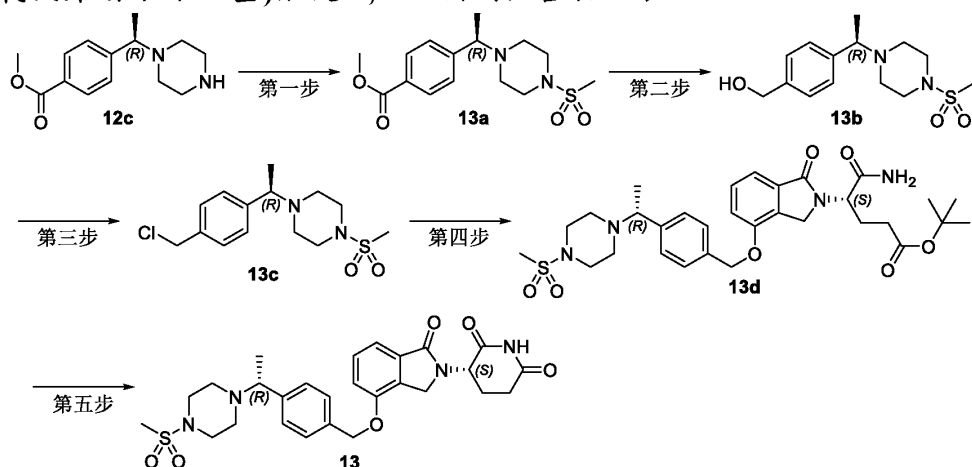
MS m/z (ESI): 503 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.45 (s, 1H), 7.48 (dd, *J* = 12.7, 7.9 Hz,

3H), 7.40 (d, $J = 7.8$ Hz, 3H), 7.28 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.24 (s, 2H), 5.14 (dd, $J = 13.3, 5.1$ Hz, 1H), 4.45 (q, $J = 17.3$ Hz, 2H), 3.79 (dd, $J = 13.4, 6.6$ Hz, 1H), 2.98 – 2.71 (m, 8H), 2.67 (d, $J = 15.8$ Hz, 2H), 2.56 – 2.45 (m, 1H), 2.16 (ddd, $J = 10.3, 5.2, 2.9$ Hz, 1H), 1.85 – 1.76 (m, 1H), 1.51 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.50 (dd, $J = 12.1, 5.7$ Hz, 2H), 0.48 – 0.38 (m, 2H).

实施例 9

(S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (化合物 13)



第一步

(R)-4-(1-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲酸甲酯 (13a)

将 **12c** (140 mg, 0.56 mmol)、甲基磺酰氯 (97 mg, 0.85 mmol)、三乙胺 (90 mg, 0.90 mmol) 和二氯甲烷 (5 mL) 混合, 室温搅拌过夜后, 减压除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 9/1 至 1/1) 纯化, 得到目标产物 **13a** (100 mg, 54%)。

MS m/z (ESI): 327 [M+1]

第二步

(R)-4-(1-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)乙基)苯基)甲醇 (13b)

0°C 下向 **13a** (100 mg, 0.31 mmol) 的 THF (3 mL) 溶液加入 LAH (18 mg, 0.46 mmol) 并搅拌 1 小时, 然后加入十水合硫酸钠 (100 mg)。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 1% 至 5%) 纯化, 得到目标产物 **13b** (80 mg, 88%)。

MS m/z (ESI): 299 [M+1]

第三步

(R)-1-(1-(4-(氯甲基)苯基)乙基)-4-(甲基磺酰基)哌嗪 (13c)

向 **13b** (40 mg, 0.13 mmol) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中加入氯化亚砷 (1 mL)。室温下搅拌过夜后, 减压除去溶剂, 得到目标产物 **13c** (40 mg, 粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 317 [M+1]

第四步

(S)-5-氨基-4-(4-((4-((R)-1-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-5-氧代戊酸叔丁酯 (13d)

将 **13c** (40 mg, 粗品)、**5f** (101 mg, 0.30 mmol)、碳酸钾 (83 mg, 0.60 mmol) 和 DMF (5 mL) 混合, 加热到 50°C 并搅拌过夜。冷却到室温后, 将混合物用水 (20 mL) 稀释, 然后用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并的有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 得到目标产物 **13d** (60 mg, 粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 615 [M+1]

第五步

(S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-(甲基磺酰基)哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (13)

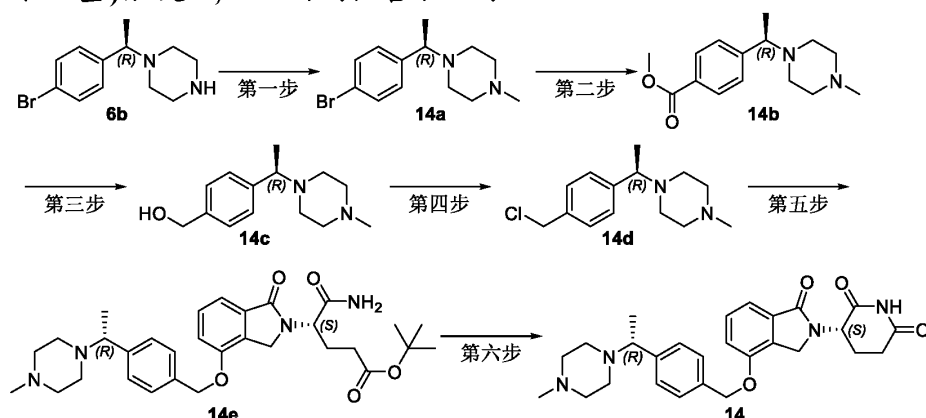
将 **13d** (60 mg, 粗品)、TsOH·H₂O (95 mg, 0.50 mmol) 和乙腈 (2 mL) 混合, 加热到 90°C 并搅拌过夜。冷却到室温后, 在减压条件下浓缩至干, 残余物用反相制备高效液相色谱纯化, 得到目标产物 **13** (9.2 mg, 固体, 13%)。

MS m/z (ESI): 541 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.52 – 7.33 (m, 6H), 7.29 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.21 (s, 2H), 5.13 (dd, *J* = 13.4, 5.2 Hz, 1H), 4.44 (q, *J* = 17.4 Hz, 2H), 3.50 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.19 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 2.97 – 2.84 (m, 1H), 2.81 (s, 3H), 2.76 (ddd, *J* = 17.6, 4.5, 2.3 Hz, 1H), 2.61 (dt, *J* = 10.0, 5.0 Hz, 2H), 2.48 (dd, *J* = 10.6, 4.9 Hz, 3H), 2.25 – 2.10 (m, 1H), 1.39 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H).

实施例 10

(S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (化合物 14)



第一步

(R)-1-(1-(4-(溴代苄基)乙基)-4-甲基哌嗪 (14a)

将 **6b** (200 mg, 0.75 mmol), 甲醛水溶液 (40%, 0.3 mL), 乙酸 (122 mg, 2.0 mmol) 和甲醇 (10 mL) 混合, 然后加入氰基硼氢化钠 (127 mg, 2.0 mmol)。室温搅拌过夜后, 减压除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 3/2 至 1/4) 纯化, 得到目标产物 **14a** (200 mg, 95%)。

MS m/z (ESI): 283 [M+1]

第二步至第六步

(S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (**14**)

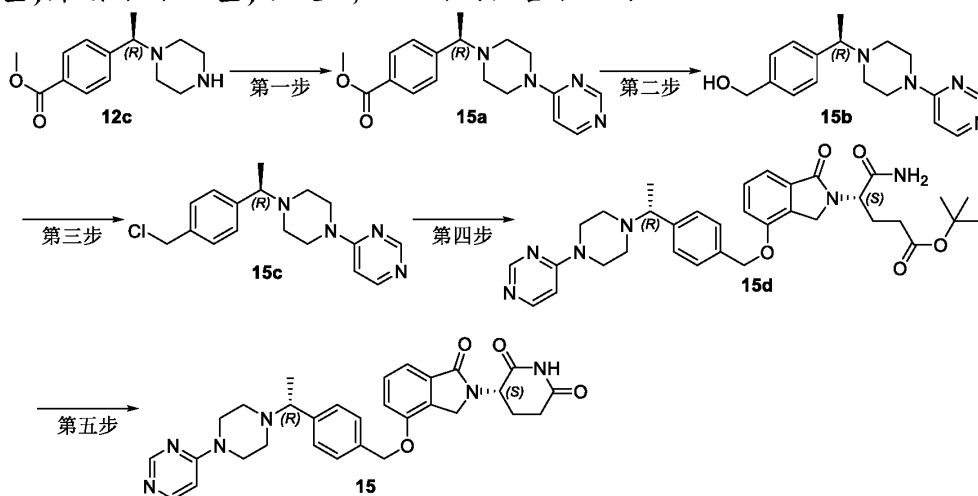
参照化合物 **11** 中第二步至第六步的操作合成 **14**, 但在第二步中用 **14a** 代替 **11a**。

MS m/z (ESI): 283 [M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.55 – 7.43 (m, 3H), 7.38 (t, $J = 9.6$ Hz, 3H), 7.28 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 5.23 (s, 2H), 5.14 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.44 (q, $J = 17.3$ Hz, 2H), 3.58 (dd, $J = 12.0, 5.9$ Hz, 1H), 3.03 (d, $J = 27.6$ Hz, 4H), 2.96 – 2.73 (m, 4H), 2.70 (s, 3H), 2.64 (s, 2H), 2.54 – 2.42 (m, 1H), 2.17 (dt, $J = 8.5, 6.3$, 1H), 1.41 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H)。

实施例 11

(S)-3-(1-氧代-4-((4-((R)-1-(4-(嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲基)氧基)异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (化合物 **15**)



第一步

(R)-4-(1-(4-(嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲酸甲酯 (**15a**)

将 **12c** (200 mg, 0.81 mmol)、4-氯嘧啶盐酸盐 (243 mg, 1.61 mmol)、碳酸钾 (334 mg, 2.42 mmol) 和 DMF (2 mL) 混合, 加热到 110°C 并搅拌过夜。冷却到室温后, 用水 (10 mL) 稀释混合物, 然后用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 9/1

至 1/1) 纯化, 得到目标产物 **15a** (100 mg, 38%)。

MS m/z (ESI): 327 [M+1]

第二步

(R)-(4-(1-(4-(嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)苯基)甲醇 (**15b**)

5 在 0°C 下向 **15a** (100 mg, 0.31 mmol) 的 THF (5 mL) 溶液中加入 LAH (18 mg, 0.46 mmol) 并搅拌 1 小时, 然后加入十水合硫酸钠 (100 mg)。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 99/1 至 19/1) 纯化, 得到目标产物 **15b** (40 mg, 44%)。

MS m/z (ESI): 299 [M+1]

10 第三步

(R)-4-(4-(1-(4-(氯甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)嘧啶 (**15c**)

向 **15b** (40 mg, 0.13 mmol) 的二氯甲烷 (4 mL) 溶液中加入氯化亚砷 (1 mL)。将反应混合物搅拌过夜后, 减压浓缩至干, 得到目标产物 **15c** (40 mg, 粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

15 MS m/z (ESI): 317 [M+1]

第四步

(S)-5-氨基-5-氧代-4-(1-氧代-4-((4-((R)-1-(4-(嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)异吲哚啉-2-基)戊酸叔丁酯 (**15d**)

20 将 **15c** (40 mg, 粗品)、**5f** (67 mg, 0.20 mmol)、碳酸钾 (56 mg, 0.40 mmol) 和 DMF (1 mL) 混合, 加热至 50°C 并搅拌过夜。冷却到室温后, 将混合物用水 (10 mL) 稀释, 然后用乙酸乙酯 (3 × 10 mL) 萃取。合并的有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 99/1 至 19/1) 纯化, 得到目标产物 **15d** (40 mg, 两步 49%)。

25 MS m/z (ESI): 615 [M+1]

第五步

(S)-3-(1-氧代-4-((4-((R)-1-(4-(嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (**15**)

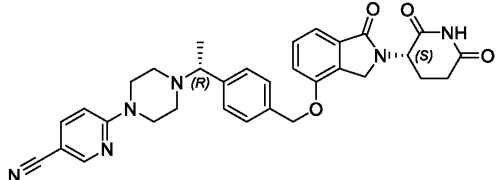
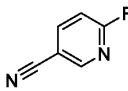
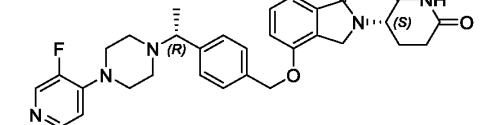
30 将 **15d** (40 mg, 0.07 mmol)、TsOH·H₂O (37 mg, 0.20 mmol) 和乙腈 (1 mL) 混合, 加热到 90°C 并搅拌过夜。冷却到室温后, 在减压条件下浓缩至干, 残余物用反相制备高效液相色谱纯化, 得到目标产物 (20.0 mg, 固体, 57%)。

MS m/z (ESI): 541 [M+1]

35 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.52 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.50 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.47 – 7.37 (m, 2H), 7.29 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.23 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.88 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 5.25 (s, 2H), 5.14 (dd, *J* = 13.3, 5.2 Hz, 1H), 4.45 (q, *J* = 17.3 Hz, 2H), 3.85 (s, 4H), 3.00 – 2.66 (m, 6H), 2.60–2.41 (m, 1H), 2.36 (s, 1H), 2.24 – 2.09 (m, 1H), 1.53 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H).

40

化合物 16 和 20 参照化合物 15 中第一步至第五步的实验步骤合成,但在第一步中用不同的化合物代替 4-氯嘧啶盐酸盐。

化合物编号	化合物结构	代替 4-氯嘧啶盐酸盐的化合物	MS m/z (ESI)
16			565
20			558

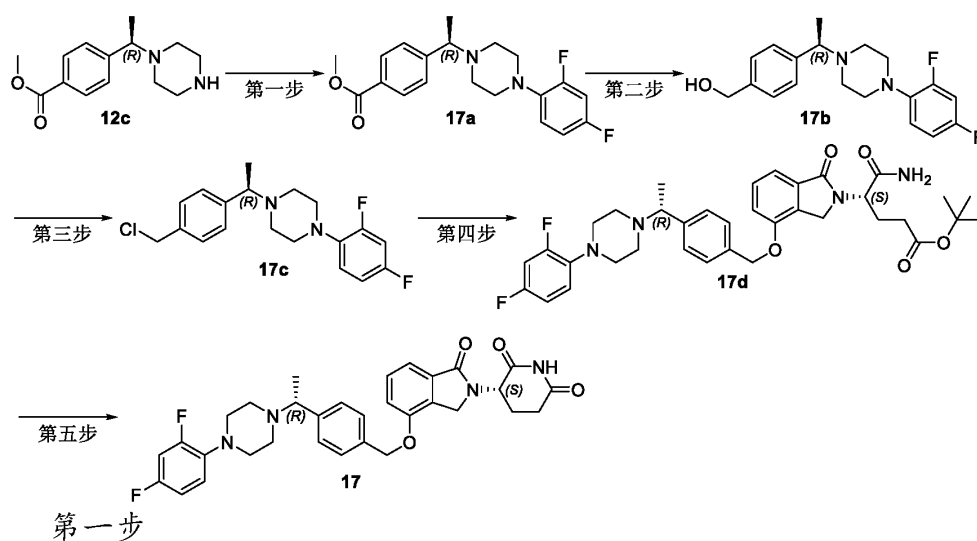
化合物 16 和 20 的核磁数据如下:

化合物	¹ H NMR
6-(4-((R)-1-(4-(((S)-2,6-二氧代嘧啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)嘧啶-1-基)烟腈 (16)	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8.36 (s, 1H), 7.69 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 1H), 7.52 – 7.34 (m, 6H), 7.29 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 6.80 (d, <i>J</i> = 9.1 Hz, 1H), 5.22 (s, 2H), 5.13 (dd, <i>J</i> = 13.4, 5.0 Hz, 1H), 4.44 (q, <i>J</i> = 17.3 Hz, 2H), 3.68 (t, <i>J</i> = 4.8 Hz, 4H), 3.56 – 3.46 (m, 1H), 3.03 – 2.71 (m, 3H), 2.65 (dd, <i>J</i> = 17.8, 11.8 Hz, 2H), 2.57 – 2.44 (m, 2H), 2.23 – 2.10 (m, 1H), 1.43 (d, <i>J</i> = 6.6 Hz, 3H).
(S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-(3-氟吡啶-4-基)嘧啶-1-基)乙基)苯基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)嘧啶-2,6-二酮 (20)	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8.11 (dd, <i>J</i> = 29.1, 5.2 Hz, 2H), 7.48 (t, <i>J</i> = 7.5 Hz, 3H), 7.44 – 7.36 (m, 3H), 7.29 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 6.97 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 1H), 5.24 (s, 2H), 5.13 (dd, <i>J</i> = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.45 (q, <i>J</i> = 17.3 Hz, 2H), 3.68 (t, <i>J</i> = 11.7 Hz, 1H), 3.42 (s, 4H), 3.04 – 2.59 (m, 6H), 2.49 (dd, <i>J</i> = 13.1, 4.2 Hz, 1H), 2.17 (dd, <i>J</i> = 15.2, 9.8 Hz, 1H), 1.49 (d, <i>J</i> = 6.8 Hz, 3H).

5

实施例 12

(S)-3-(4-((4-((R)-1-(4-(2,4-二氟苯基)嘧啶-1-基)乙基)苯基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)嘧啶-2,6-二酮 (化合物 17)



(R)-4-(1-(4-(2,4-二氟苯基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲酸甲酯 (17a)

将 **12c** (150 mg, 0.60 mmol)、1-溴-2,4-二氟苯 (232 mg, 1.20 mmol)、叔丁醇钾 (202 mg, 1.80 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (35 mg, 0.06 mmol)、XPhos (58 mg, 0.12 mmol) 和甲苯 (2 mL) 混合, 然后在氮气气氛下用微波反应器加热至 130°C 并搅拌 1 小时。冷却到室温后, 减压除去溶剂, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/: 10% 至 50%) 纯化, 得到目标产物 **17a** (40 mg, 19%)。

MS m/z (ESI): 361 [M+1]

第二步至第五步

(S)-3-(4-((R)-1-(4-(2,4-二氟苯基)哌嗪-1-基)乙基)苯甲氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (17)

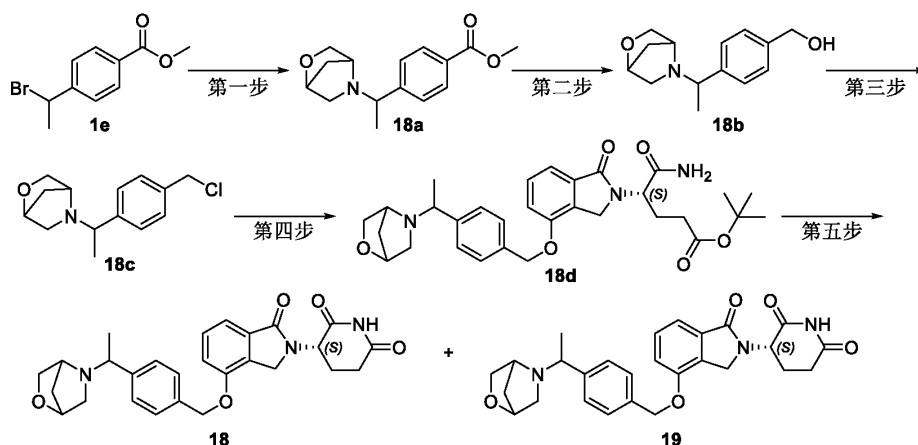
参照化合物 15 中第二步至第五步的操作合成 **17**, 但在第二步中用 **17a** 代替 **15a**。

MS m/z (ESI): 575 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.54 – 7.44 (m, 3H), 7.43 – 7.35 (m, 3H), 7.30 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.07 – 6.98 (m, 1H), 6.93 – 6.82 (m, 2H), 5.23 (s, 2H), 5.13 (dd, *J* = 13.4, 5.2 Hz, 1H), 4.45 (q, *J* = 17.3 Hz, 2H), 3.57 (dd, *J* = 18.3, 11.8 Hz, 1H), 3.04 (t, *J* = 4.7 Hz, 3H), 2.95 – 2.84 (m, 1H), 2.82 – 2.70 (m, 3H), 2.66 – 2.58 (m, 2H), 2.57 – 2.42 (m, 2H), 2.21 – 2.12 (m, 1H), 1.45 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H).

实施例 13

(3S)-3-(4-((R)-1-(2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)乙基)苯甲氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (化合物 18 和 19)



第一步

4-(1-(2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)乙基)苯甲酸甲酯 (18a)

将 4-(1-溴乙基)苯甲酸甲酯 **1e** (243 mg, 1 mmol) 和 2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷盐酸盐 (136 mg, 1 mmol) 溶于 DMF (4 mL), 然后加入碳酸钾 (553 mg, 4 mmol)。室温搅拌 19 小时后, 用水 (50 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (3×30 mL) 萃取。合并的有机相用水 (3×30 mL) 洗涤, 然后用无水硫酸钠干燥。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/0 至 4/1) 纯化, 得到目标产物 **18a** (212 mg, 81%)。

MS m/z (ESI): 262 [M+1]

第二步

(4-(1-(2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)乙基)苯基)甲醇 (18b)

将 **18a** (212 mg, 0.81 mmol) 溶于 THF (5 mL), 冷却至 0°C, 然后加入 LAH (46 mg, 1.22 mmol)。将混合物在 0°C 下搅拌 30 分钟, 然后用 NaOH 水溶液 (2.5 N, 1 mL) 淬灭并用无水硫酸钠干燥。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 100/0 至 19/1) 纯化, 得到目标产物 **18b** (158 mg, 84%)。

MS m/z (ESI): 234 [M+1]

第三步

5-(1-(4-(氯甲基)苯基)乙基)-2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷 (18c)

向 **18b** (158 mg, 0.68 mmol) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中加入氯化亚砷 (161 mg, 1.35 mmol)。将混合物在室温下搅拌 2 小时, 然后减压除去溶剂, 得到目标产物 **18c** (粗品)。该产品未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 252 [M+1]

第四步

(4S)-4-(4-((4-(1-(2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-5-氨基-5-氧代戊酸叔丁酯 (18d)

将 **18c** (粗品, 约 0.68 mmol)、**5f** (226 mg, 0.68 mmol)、碳酸钾 (376 mg, 2.72 mmol) 和 DMF (5 mL) 混合, 加热至 50°C 并搅拌 48 小时。冷却到室温后, 用水 (80 mL) 稀释, 然后过滤收集沉淀物, 得到目标产物 **18d** (280 mg, 两步 75%)。

5 MS m/z (ESI): 550 [M+1]

第五步

(3S)-3-(4-((4-(1-(2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基)乙基)苯甲基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮 (**18** 和 **19**)

向 **18d** (280 mg, 0.51 mmol) 的乙腈 (30 mL) 溶液中加入 TsOH·H₂O (194 mg, 1.02 mmol), 加热到 90°C 并搅拌 18 小时。冷却到室温后, 减压除去溶剂, 然后加入饱和碳酸氢钠溶液 (50 mL) 并用乙酸乙酯 (2 × 50 mL) 萃取。合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤后滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用反相制备高效液相色谱纯化, 得到目标产物 **18** (异构体 1, 45 mg, 固体, 19%) 和 **19** (异构体 2, 19 mg, 固体, 8%)。

15 **18** 的表征数据如下:

MS m/z (ESI): 476 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.51 - 7.36 (m, 6H), 7.29 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.21 (s, 2H), 5.13 (dd, *J* = 13.4, 5.2 Hz, 1H), 4.51 - 4.38 (m, 3H), 4.13 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.78 (dd, *J* = 12.2, 5.9 Hz, 2H), 3.46 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.09 (dd, *J* = 10.4, 1.5 Hz, 1H), 2.95 - 2.84 (m, 1H), 2.76 (ddd, *J* = 17.6, 4.6, 2.4 Hz, 1H), 2.60 - 2.43 (m, 2H), 2.20 - 2.11 (m, 1H), 1.88 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 1.68 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 1.38 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H).

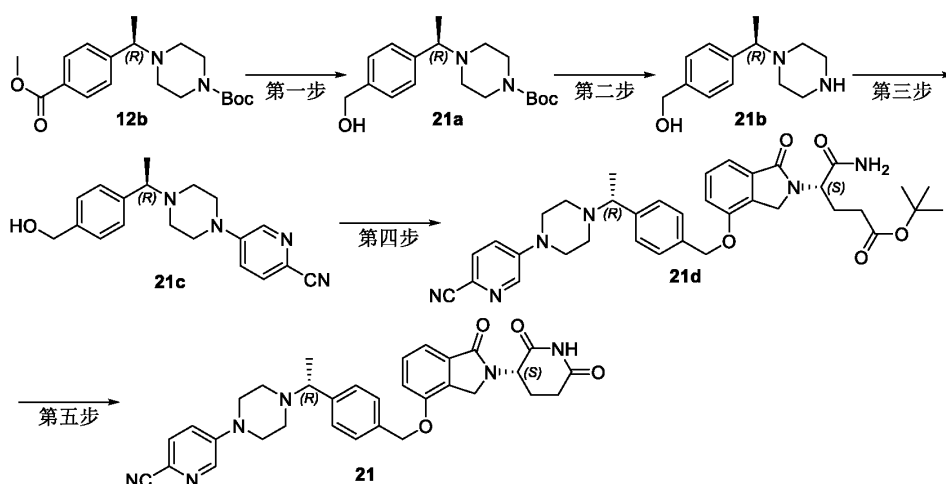
19 的表征数据如下:

25 MS m/z (ESI): 476 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.50 - 7.37 (m, 6H), 7.30 - 7.26 (m, 1H), 5.20 (s, 2H), 5.13 (dd, *J* = 13.3, 5.2 Hz, 1H), 4.43 (dd, *J* = 30.0, 19.2 Hz, 3H), 4.07 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.72 - 3.64 (m, 2H), 3.60 (dd, *J* = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 2.94 - 2.84 (m, 1H), 2.80 - 2.71 (m, 2H), 2.54 - 2.43 (m, 2H), 2.15 (dtd, *J* = 12.7, 5.2, 2.3 Hz, 1H), 1.92 (dd, *J* = 9.4, 2.3 Hz, 1H), 1.73 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 1.31 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H).

实施例 14

5-(4-((R)-1-(4-(((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-2-氧基吡啶 (化合物 21)



第一步

(R)-4-(1-(4-(羟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (21a)

0°C下向 **12b** (2.7 g, 7.75 mmol) 的 THF (30 mL) 溶液中加入 LAH (353 mg, 9.30 mmol)。0°C下搅拌 1 小时后, 将混合物用水 (0.5 mL) 淬灭, 然后加入 NaOH 溶液 (2.5 N, 4 mL)。得到的混合物用 THF (60 mL) 稀释后, 用无水硫酸钠干燥。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 得到目标产物 **21a** (2.75 g, 粗品)。其中 1.97 g 粗品通过硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/0 至 1/4) 纯化, 得到目标产物 **21a** (1.75 g)。

MS m/z (ESI): 321 [M+1]

第二步

(R)-4-(1-(哌嗪-1-基)乙基)苯基)甲醇双盐酸盐 (21b)

将 **21a** (1.75 g, 5.46 mmol) 溶于 1,4-二氧六环 (20 mL), 然后加入氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4 M, 20 mL)。室温搅拌 18 小时后, 减压除去溶剂, 残余物反相制备高效液相色谱纯化, 得到目标产物 **21b** (560 mg, 35%)。

MS m/z (ESI): 221 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.37 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 7.60 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.41 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.60 (s, 1H), 4.53 (s, 2H), 4.18 (s, 2H), 3.84 (s, 1H), 3.69 - 3.29 (m, 4H), 3.05 (d, *J* = 51.8 Hz, 2H), 1.71 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H)。

第三步

(R)-5-(4-(1-(4-(羟甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-2-氰基吡啶 (21c)

将 **21b** (110 mg, 0.38 mmol)、2-氰基-5-氟吡啶 (51 mg, 0.42 mmol)、碳酸铯 (371 mg, 1.14 mmol) 和 DMF (4 mL) 混合, 加热至 60°C 并搅拌 2 小时。冷却到室温后, 反应混合物通过硅藻土过滤。滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 100/0 至 19/1) 纯化, 得到目标产物 **21c** (24 mg, 52%)。

MS m/z (ESI): 323 [M+1]

第四步

(S)-5-氨基-4-(4-((4-((R)-1-(4-(6-氟基吡啶-3-基)哌嗪-1-基)乙基)苄基)氧基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)-5-氧代戊酸叔丁酯 (21d)

- 5 将 **21c** (64 mg, 0.20 mmol) 溶于二氯甲烷 (10 mL), 然后加入氯化亚砷 (48 mg, 0.40 mmol)。室温搅拌 2 小时后, 在减压条件下浓缩至干。将残余物溶于 DMF (4mL) 中, 然后加入 **5f** (67 mg, 0.20 mmol) 和碳酸钾 (138 mg, 1 mmol)。将混合物加热至 50°C 并搅拌 20 小时。冷却到室温后过滤, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 100/0 至 19/1) 纯化, 得到目标产物 **21d** (92 mg, 72%)。

MS m/z (ESI): 639 [M+1]

第五步

- 15 5-(4-((R)-1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-2-氟基吡啶甲酸盐 (21)

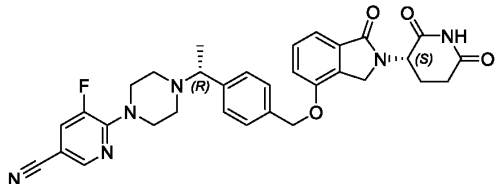
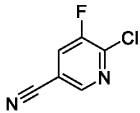
- 将 **21d** (156 mg, 0.29 mmol)、TsOH·H₂O (110 mg, 0.58 mmol) 和乙腈 (10 mL) 混合, 加热至 90°C 并搅拌 20 小时。冷却至室温后, 用饱和碳酸氢钠溶液调节至 pH=8, 然后用乙酸乙酯 (3×50 mL) 萃取。合并的有机相依次用饱和碳酸氢钠溶液 (50 mL) 和饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 然后用无水硫酸钠干燥。过滤后, 滤液在减压条件下浓缩至干, 残余物用反相制备高液相色谱纯化, 得到目标产物 **22** (62 mg, 固体, 含 0.65 当量甲酸, 45%)。

MS m/z (ESI): 565 [M+1]

- 25 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.95 (s, 1H), 8.37 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 8.16 (s, 0.65H), 7.72 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.48 (dd, *J* = 16.8, 8.1 Hz, 3H), 7.38 – 7.28 (m, 5H), 5.23 (s, 2H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.42 (d, *J* = 17.4 Hz, 1H), 4.26 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 3.48 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H), 3.37 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 2.96 – 2.85 (m, 1H), 2.56 (dd, *J* = 15.0, 10.7 Hz, 3H), 2.48 – 2.38 (m, 3H), 1.98 (dt, *J* = 10.2, 5.0 Hz, 1H), 1.33 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H)。

30

化合物 22 参照化合物 21 中第一步至第五步的实验步骤合成, 但在第三步中用 6-氟-5-氟烟腈代替 2-氟基-5-氟吡啶。

化合物 编号	化合物结构	代替 2-氟基- 5-氟吡啶的 化合物	MS m/z (ESI)
22			583

化合物 22 的核磁数据如下：

化合物	¹ H NMR
6-(4-((R)-1-(4-(((2-((S)-2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异喹啉-4-基)氧基)甲基)苯基)乙基)哌嗪-1-基)-5-氟烟腈半甲酸盐 (22)	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8.26 (t, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H), 8.19 (s, 0.5H), 7.65 (dd, <i>J</i> = 13.8, 1.8 Hz, 1H), 7.47 (dd, <i>J</i> = 7.8, 6.0 Hz, 3H), 7.41 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 7.29 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 5.24 (s, 2H), 5.13 (dd, <i>J</i> = 13.3, 5.2 Hz, 1H), 4.45 (q, <i>J</i> = 17.3 Hz, 3H), 3.77 (t, <i>J</i> = 5.0 Hz, 4H), 3.66 (dd, <i>J</i> = 13.4, 6.7 Hz, 1H), 2.96 – 2.82 (m, 1H), 2.77 (qd, <i>J</i> = 6.9, 3.7 Hz, 3H), 2.70 – 2.58 (m, 2H), 2.49 (ddd, <i>J</i> = 26.4, 13.2, 4.7 Hz, 1H), 2.16 (dtd, <i>J</i> = 7.7, 5.4, 2.5 Hz, 1H), 1.50 (t, <i>J</i> = 9.7 Hz, 3H).

生物学实验

5 实施例 15
NCI-H929 细胞增殖抑制的测定

使用发光细胞活力测试实验评估本发明的化合物对 NCI-H929 人骨髓瘤细胞增殖的影响。

实验方法概述如下：

10 将化合物在 DMSO 中溶解并稀释至 5 mM，然后用 DMSO 进行 4 倍的系列稀释至最低浓度为 0.31 μM，每个浓度点再用 RPMI 1640 培养基（Thermo Fisher，货号为 72400-047）稀释 50 倍。如果化合物 IC₅₀ 值较低，可降低化合物的起始浓度。

15 NCI-H929（南京科佰，货号为 CBP60243）细胞被培养在 RPMI 1640 完全培养基[其中含 10% FBS（GBICO，货号为 10099-141）和 100 units/mL 青链霉素混合液（Thermo Fisher，货号为 15140122）]中。将细胞（15000 个细胞/mL）接种于 96 孔板的 90 μL 完全培养基中，培养过夜后每孔加入 10 μL 化合物溶液，于 37°C、5% CO₂ 的培养箱中培养 6 天，然后按 CellTiter-Glo（CTG）试剂盒（Promega，货号为 G7572）说明书操作，将细胞培养板取出平衡至室温，加 50 μL CTG 试剂充分裂解，室温放置 10 分钟后用酶标仪（EnVision，Perkin Elmer）读取冷光信号。以含 0.2% DMSO 培养基组作为 0%抑制，使用 XLfit 软件绘制化合物抑制曲线并计算其抑制的 IC₅₀，实验结果见表 1。

25 实施例 16
影响人外周血单个核细胞的细胞中 TNFα、IL-2 分泌的测定

通过酶联免疫吸附（ELISA）的方法检测本发明的化合物对人外周血单个核细胞的细胞（hPBMC）中 TNFα 和 IL-2 分泌量的影响，从而评估其免疫调节功能。

实验方法概述如下：

用 EDTA 抗凝管采集健康自愿者的外周血, 用含 2% 胎牛血清 (Gibco, 货号为 10099-141) 的磷酸盐缓冲液 (PBS) 按等体积稀释后, 转移 30 mL 至预先加入 15 mL 密度梯度离心液 (Sigma, 货号为 10771) 的 Sepmate-50 离心管 (Stemcell, 货号为 86450) 中, 室温下 1200×g 离心 10 分钟后, 上层含 PBMC 的液体转移至新的 50 mL 离心管, 室温下 300×g 离心 8 分钟, 弃上清, 将 PBMC 用 RPMI 1640 培养基 (Gibco, 货号为 72400-047) 重悬至 5×10⁶/mL, 在 96 孔板中每孔加入 80 μL。

将化合物在 DMSO 中溶解并稀释至 5 mM (如果化合物 IC₅₀ 值较低, 可降低此起始浓度), 然后用 DMSO 进行 4 倍的系列稀释至最低浓度为 0.31 μM, 每个浓度点再用 RPMI 1640 培养基稀释 50 倍, 取 10 μL 加入上述 96 孔板的细胞中。将该 96 孔板置于 37°C、5% CO₂ 的培养箱中培养 1 小时后, 加入 10 μL 浓度为 100 ng/mL 的 LPS (Sigma, 货号 L-2880), 于 37°C、5% CO₂ 的培养箱中继续培养过夜。收集上清, 用于 TNFα 的检测。

也可将上述 96 孔板置于 37°C、5% CO₂ 的培养箱中培养 1 小时后, 加入 10 μL 浓度为 500 ng/mL 的 anti-CD3 抗体 (Thermo Fisher, 货号为 14-0037-82), 于 37°C、5% CO₂ 的培养箱中继续培养 72 小时。收集上清, 用于 IL-2 的检测。

TNFα 和 IL-2 的检测分别按照各自的 ELISA 试剂盒 (R&D, 货号分别为 DY210 和 DY202) 说明书进行, 得到各孔的 OD₄₅₀ 值。以含 0.2% DMSO 培养基组作为 0% 抑制或刺激, 使用 XLfit 软件绘制化合物抑制或刺激曲线并计算相应的 IC₅₀ 或 EC₅₀, 实验结果见表 1。

表 1

化合物编号	NCI-H929 细胞增殖抑制 IC ₅₀ (nM)	抑制 TNFα 分泌的 IC ₅₀ (nM)	刺激 IL-2 分泌的 EC ₅₀ (nM)
1	7.7		
2	35	7.8	10
3	7.0	1.1	8.0
4	5.0	0.9	4.1
5	7.8		
6	0.1	2.8	2.3
7	0.2	2.8	3.2
8	0.5		4.0
9	1.1		
10	11	2.1	46
11	2.2		
12	0.3		

13	1.2		
14	1.4		
15	0.4	1.7	19
16	0.1	1.3	5.5
17	0.3	3.7	
18	3.1		11
19	3.8	0.8	11
20	0.1		1.9
21	0.04	0.5	3.8
22	0.6	4.7	26

实施例 17

hERG 钾离子通道阻断的测定

通过测定对 hERG 钾离子通道阻断作用评估本发明的化合物对可能
5 心律失常的影响。

实验方法概述如下：

细胞外液：140 mM NaCl、3.5 mM KCl、1 mM MgCl₂、2 mM CaCl₂、
10 mM D-glucose、10 mM HEPES、1.25 mM NaH₂PO₄、pH = 7.4。

电极内液：20 mM KCl、115 mM K-aspartate、1 mM MgCl₂、5 mM
10 EGTA、10 mM HEPES、2 mM Na₂-ATP、pH = 7.2。

化合物溶液：将待测化合物在 DMSO 中溶解并配成 10 mM 的储液，
再用 DMSO 将其稀释为 3 mM，接着用细胞外液稀释成 3 μM 的溶液，
以备后续使用。

细胞培养：hERG 钾通道稳定过表达的 HEK293 细胞系（Creacell，
15 货号为 A-0320）在含有 10%胎牛血清（Gibco，货号为 1428478）和 0.8
mg/mL G418（Amresco，货号为 E859-5G）的 DMEM 培养基（Gibco，
货号为 11995-065）中培养，培养温度为 37°C，二氧化碳浓度为 5%。
除去旧培养基并用 PBS（Gibco，货号为 1009-141）洗一次，然后加入
1 mL TrypLE™ Express 溶液（Gibco，货号为 12604021），37°C 孵育 30
20 秒。当细胞从培养皿底脱离，加入 5 mL 37°C 预热的完全培养基，转移
细胞悬液至无菌的离心管中，于 1000 rpm 离心 5 分钟后收集细胞。将
细胞接种于 6 cm 细胞培养皿，每个细胞培养皿接种细胞量为 2.5*10⁵
（最终体积：5 mL）。膜片钳检测实验之前将 3*10³ 个细胞铺到盖玻片
上，在 24 孔板中培养（最终体积：500 μL），18 个小时后进行检测。

25 全细胞膜片钳记录全细胞 hERG 钾电流的电压刺激方案：当形成全
细胞封接后细胞膜电压钳制于 -80 mV。钳制电压由 -80 mV 除极至 -50
mV 并维持 0.5 秒（作为漏电流检测），然后阶跃至 30 mV 并维持 2.5
秒，再迅速恢复至 -50 mV 并维持 4 秒以激发出 hERG 通道的尾电流
（Peak tail current），每隔 10 秒记录 1 次 hERG 钾电流。实验数据由

EPC-10 放大器(HEKA)进行采集并储存于 PatchMaster(HEKA v2x73) 软件中。

测定：用微电极拉制仪（Sutter Instruments）将毛细玻璃管（Sutter Instruments）拉制成记录电极。将载有细胞的盖玻片从放置于培养箱的 24 孔板中取出，然后置于倒置显微镜下。记录电极内灌注电极内液，然后操纵微电极操纵仪（Sutter Instruments），将记录电极接触到细胞表面，给予负压抽吸，形成 GΩ 封接；接着进行快速电容补偿；然后继续给予负压抽吸，直至吸破细胞膜，形成全细胞记录模式。在全细胞记录模式下，进行慢速电容的补偿并记录膜电容及串联电阻，期间不给予漏电补偿。当全细胞记录的 hERG 尾电流稳定 3-5 分钟后，将 8 mL 不含化合物的细胞外液（空白对照）和 8 mL 3 μM 待测化合物溶液利用重力灌注的方法，依次流经记录浴槽从而作用于细胞 5 分钟（或者至电流稳定）。每一个细胞在不含化合物的细胞外液中检测到的电流作为自己的对照组。独立重复检测 2-3 个细胞。所有电生理实验在室温下进行。

数据分析：首先将待测化合物作用后的电流和空白对照电流标准化 ($\frac{\text{peak tail current compound}}{\text{peak tail current vehicle}}$)，然后计算与这个化合物浓度对应的抑制率 ($1 - \frac{\text{peak tail current compound}}{\text{peak tail current vehicle}}$)，结果见表 2。

表 2

化合物编号	3 μM 溶度下对 hERG 电流抑制百分率 (n = 2)
6	52%
16	58%
21	49%
22	20%
CC-92480	76%

实施例 18
大鼠体内药代动力学实验

将待测化合物溶解在 5% DMA+20% Solutol+75% Saline 溶媒中，配制成 0.5 mg/mL 的给药溶液。

在 1 mg/kg 剂量下以静脉注射方式 (IV) 分别给予 3 只进食雄性 Sprague-Dawley 大鼠 2 mL/kg 的给药溶液，在给药后 0.083、0.25、0.5、1、2、4、8 和 24 小时采集血样。在 5 mg/kg 剂量下以灌胃方式 (PO) 分别给予另 3 只进食雄性 Sprague-Dawley 大鼠 10 mL/kg 的给药溶液，在给药后 0.25、0.5、1、2、4、8 和 24 小时采集血样。

血浆中待测化合物的浓度用 API-4500 质谱仪进行 LC-MS/MS 定量分析，血浆定量限 (LOQ) 为 1 ng/mL。用 WinNonlin 计算药代动力学

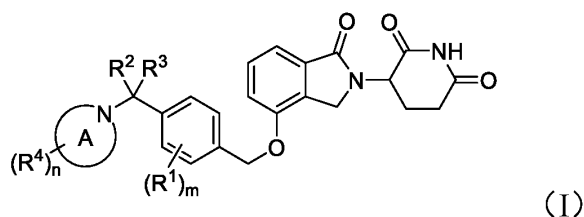
(PK) 参数, 结果汇总在表 3。

表 3

化合物	IV (1 mpk) (n=3)		PO (5 mpk) (n=3)		
	CL (mL/min/kg)	V _{ss} (L/kg)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{last} (h*ng/mL)	F (%)
3	61	4.2	105	270	20
5	110	3.3	1.6	8.8	4
6	1.0	0.27	1797	11797	14
7	13	2.4	121	1198	19
16	5.2	0.56	555	4275	27
21	14	0.65	318	1008	18
22	2.2	0.36	1437	13029	30

权利要求书

- 5 1. 一种通式 (I) 所示的化合物, 或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体:



其中:

环 A 为含 N 的 4-10 元杂环;

10 R^1 为 D 或卤素;

R^2 和 R^3 各自独立地选自 H、D、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基或 3-8 元杂环基, 但两者不可同时为 H 和/或 D, 或者 R^2 和 R^3 与其相连的碳原子共同组成 C_{3-6} 环烷烃或 3-8 元杂环;

15 R^4 为 D、卤素、氰基、氧代、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 $-OC_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)C_{3-6}$ 环烷基、 $-S(O)_2C_{1-6}$ 烷基、 $-S(O)_2C_{3-6}$ 环烷基、芳基或杂芳基, 其中所述烷基、环烷基、芳基和杂芳基的一个或多个氢任选被 D、卤素、氰基、 C_{1-2} 烷基或氟代 C_{1-2} 烷基所取代;

m 为整数 0-4; 且

n 为整数 0-2。

20

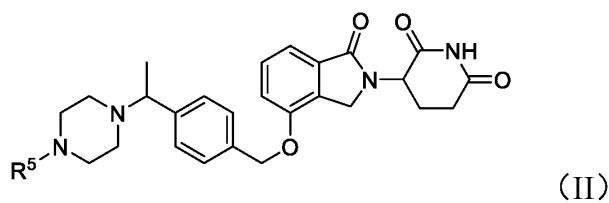
2. 根据权利要求 1 所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体, 其中环 A 为含一个 N 原子的 4-10 元单环杂环, 或稠合、桥接或螺双环杂环 (比如吗啉、哌啶、硫代吗啉-1,1-二氧化物、2-氧杂-5-氮双环[2.2.1]庚烷等); R^4 为 D、卤素、氧代、 $-CF_3$ 或 C_{1-6} 烷基。

25

3. 根据权利要求 1 所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体, 其中环 A 为含两个 N 原子的 6-10 元单杂环, 或稠合、桥接或螺双环杂环 (比如哌嗪、3,6-二氮杂二环[3.1.1]庚烷、2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷等), 优选环 A 为哌嗪; R^4 为与第二个 N 原子相连的 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)C_{3-6}$ 环烷基、 $-S(O)_2C_{1-6}$ 烷基、 $-S(O)_2C_{3-6}$ 环烷基、苯基或 5-6 元含 N、O 和/或 S 的杂芳基, 其中所述烷基、环烷基、苯基和杂芳基的一个或多个氢任选被 D、卤素、氰基、 C_{1-2} 烷基或氟代 C_{1-2} 烷基所取代; n 为 0 或 1。

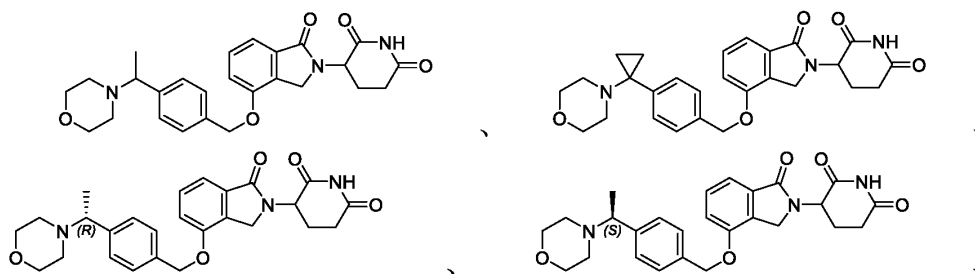
30

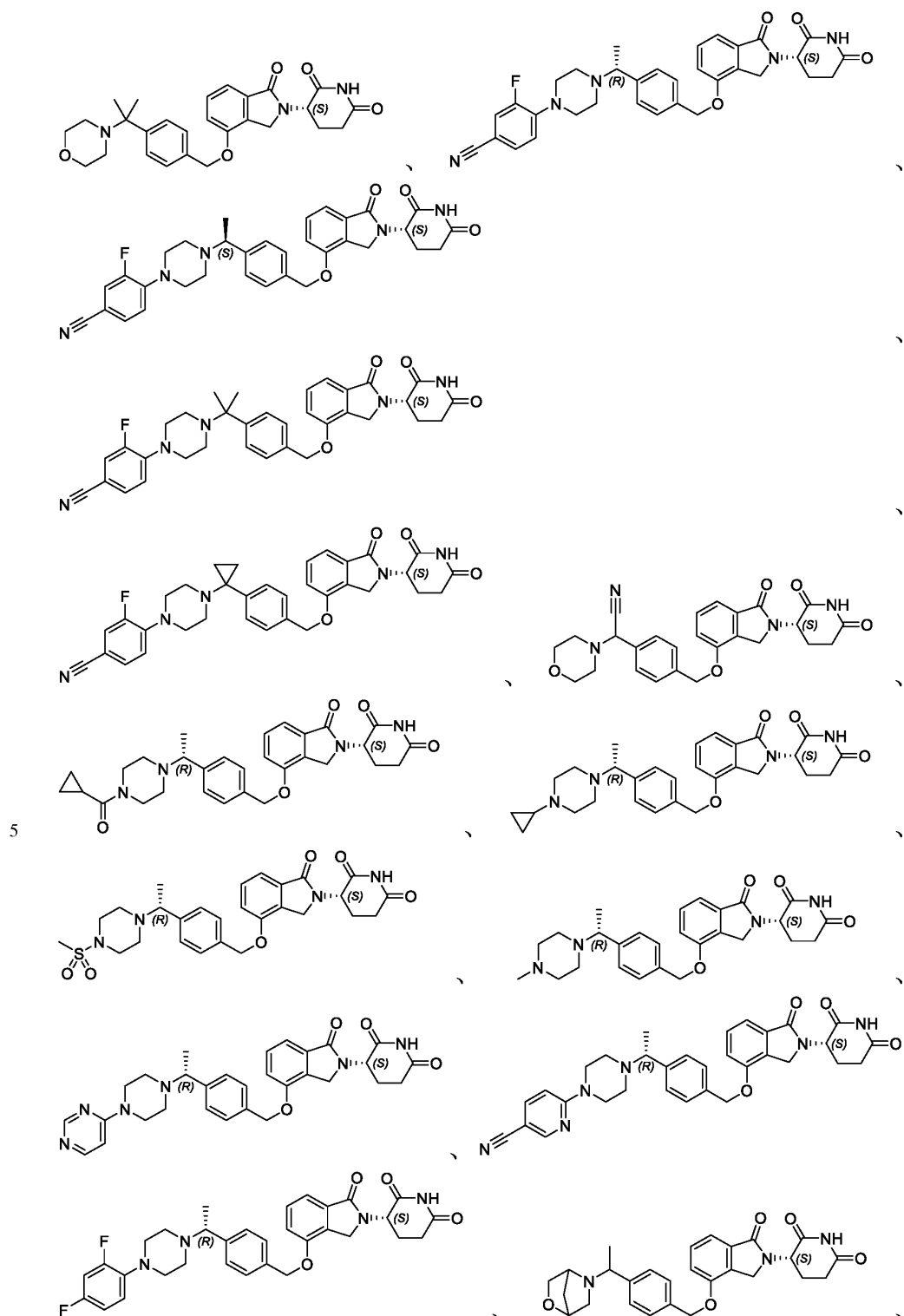
4. 根据权利要求 1-3 任一项所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体, 其中 R^2 为 H; R^3 为氰基、 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基, 优选 R^3 为甲基或氰基。
5. 根据权利要求 1-3 任一项所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体, 其中 R^2 和 R^3 都为甲基。
6. 根据权利要求 1-3 任一项所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体, 其中 R^2 和 R^3 与其相连的碳原子共同组成 C_{3-6} 环烷烃。
7. 根据前述权利要求任一项所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体, 其中 m 为 0。
8. 根据权利要求 1 所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体, 其为以下通式 (II) 的化合物:

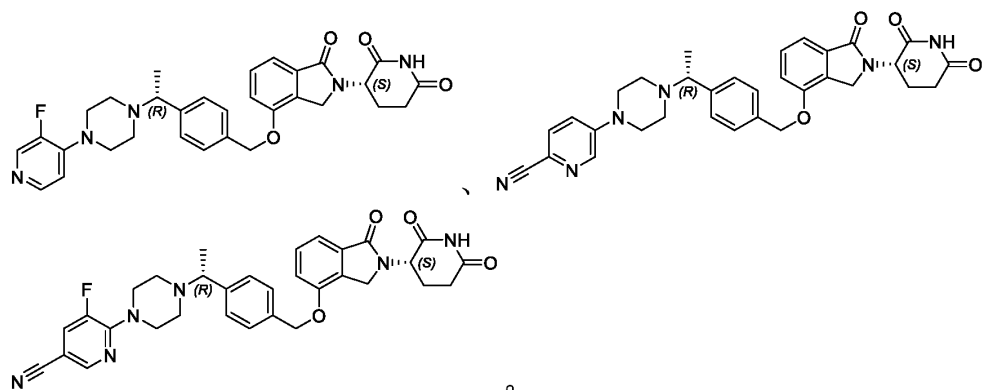


其中:

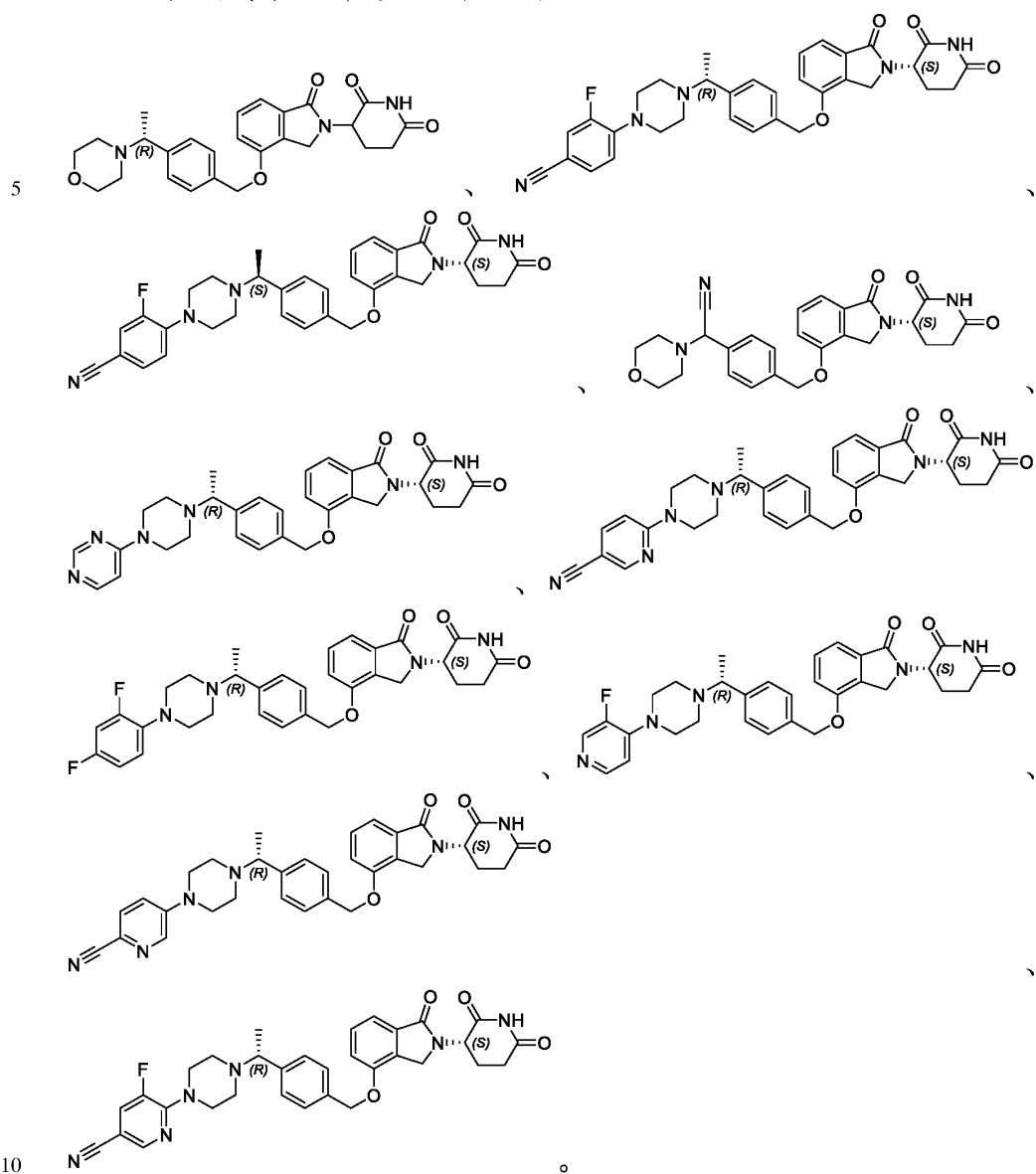
- R^5 为 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基、 $-C(O)C_{3-6}$ 环烷基、 $-S(O)_2C_{1-6}$ 烷基、苯基或 5-6 元含 N、O 和/或 S 的杂芳基, 其中所述烷基、环烷基、苯基和杂芳基的一个或多个氢任选被 D、卤素、氰基或 C_{1-2} 烷基所取代, 优选 R^5 为苯基、吡啶基或嘧啶基, 其中所述苯基、吡啶基和嘧啶基的一个或两个氢任选被 F 或氰基所取代。
9. 根据权利要求 1 所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体, 所述化合物选自:







10. 权利要求 9 所述的化合物为:



11. 药物组合物，其中包含权利要求 1-10 任一项所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体和药学上可接受的载体或辅料。

5 12. 药物组合物，其中包含权利要求 1-10 任一项所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体和至少一种额外的药物，其中所述至少一种额外的药物为化学治疗剂、免疫和/或炎症调节剂、神经相关疾病调节剂等。

10 13. 一种治疗或者预防 Aiolos、Ikaros、Helios、CK1 α 、GSPT1、IL-2、IL-6、TNF α 、IFN γ 、VEGF 等介导的相关疾病的方法，所述方法包括给予有需要的患者治疗有效量的权利要求 1-12 任一项所述的化合物或其可药用的盐、稳定同位素衍生物、异构体，或包含所述化合物的药物组合物，所述疾病包括但不限于血液瘤、实体瘤、自身免疫性疾病、
15 炎症、神经退行性疾病、皮肤疾病等。