

新型三环芳香杂环化合物，及其制备方法、药物组合物和应用

技术领域

本发明涉及小分子药物领域，具体地，本发明提供了一种可以用于治疗与PD-1/PD-L1信号通路有关的疾病的小分子化合物。

发明背景

免疫系统对控制及根治很多疾病起着至关重要的作用，像各种癌症、病毒引起的疾病等。但癌症细胞经常能通过一些途径躲避或抑制免疫系统，从而快速繁殖。其中一个方式就是改变免疫细胞上表达的激活和抑制分子。阻断抑制免疫检查点，像PD-1，证明是一个非常有效的抑制癌细胞的方法。

PD-1是程序性细胞死亡蛋白-1，也称之为CD279。它主要在激活的T细胞和B细胞中表达，功能是抑制细胞的激活，这是免疫系统的一种正常的自稳机制，因为过度的T/B细胞激活会引起自身免疫病，所以PD-1是我们人体的一道保护墙。PD-1是由268个氨基酸组成的I型跨膜糖蛋白，它的结构主要包括外免疫球蛋白可变区、疏水跨膜区以及胞内区。胞内区包含两个磷酸化位点，分别位于免疫受体酪氨酸抑制基序和免疫受体酪氨酸转换基序，这也证明PD-1能够反向调节T细胞受体介导的信号。PD-1有两个配体，PD-L1和PD-L2，它们在表达方式上不同。PD-L1在多种肿瘤细胞中均有上调表达，它与T细胞上的PD-1结合，抑制T细胞增殖和活化，使T细胞处于失活状态，最终诱导免疫逃逸。

PD-1/PD-L1发挥着反向免疫调节作用。当PD-1与PD-L1结合后，可致使T细胞的免疫受体酪氨酸转换基序结构域的酪氨酸多磷酸化，磷酸化的酪氨酸可结合磷酸酶蛋白酪氨酸酶2和蛋白酪氨酸酶1。这样即可阻碍细胞外信号调节激酶的活化，还可阻断磷脂肌醇3-激酶(PI3K)和丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(Akt)的激活，从而抑制T淋巴细胞增殖和相关细胞因子的分泌。PD-1/PD-L1信号抑制T细胞活化和增殖的同时，还可使细胞因子白细胞介素2、干扰素 γ 和IL-10的分泌。此外，PD-1/PD-L1信号对B细胞也有类似的免疫功能，当PD-1与B细胞抗原受体结合后，PD-1细胞质区与含有蛋白酪氨酸酶2结合位点的酪氨酸酶发生作用，从而阻碍B细胞的活化。

基于PD-1/PD-L1的免疫疗法是新一代备受关注的免疫疗法。最近几年，一系列令人惊喜的研究结果证实PD-1/PD-L1抑制剂对多种肿瘤具有强大的抗肿瘤活性。目前已经上市的PD-1/PD-L1抗体调节剂有BMS的Ninolumab、Merck的Lambrolizumab以及Roche的Atezolizumab。除此之外还有很多在研的PD-1/PD-L1抗体调节剂，包括Cure Tech的Pidilizumab、GSK的AMP-224和AstraZeneca的MEDI-4736。

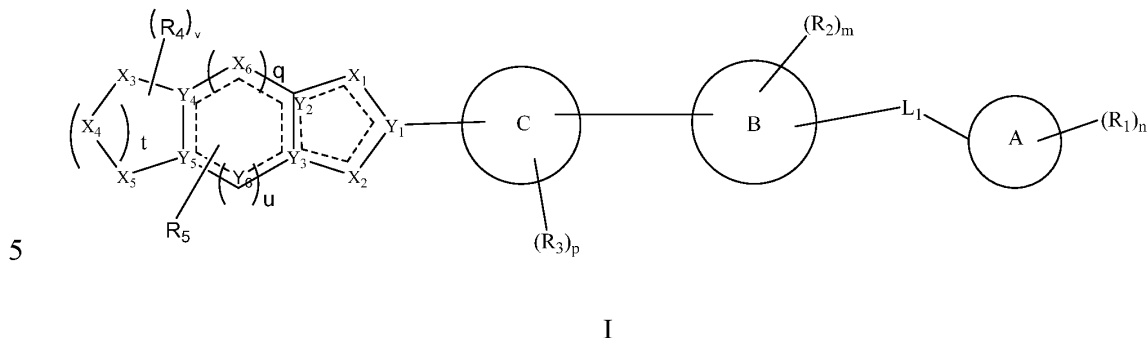
虽然肿瘤免疫治疗被认为是靶向治疗后癌症治疗的新一代革命。但是目前上市和在研的PD-1单抗药有其自身的缺陷，包括只能注射给药，不能口服，在体内不稳定，易被蛋白酶分解，易产生免疫交叉反应，纯化比较困难且生产成本高等。所以PD-1/PD-L1相互作用的小分子调节剂是肿瘤免疫治疗的更好选择。

综上所述，本领域迫切需要开发新型PD-1/PD-L1相互作用的小分子调节剂。

发明内容

本发明的目的是提供一种新型PD-1/PD-L1相互作用的小分子调节剂。

本发明的第一方面，一种如下式I所示的化合物，或其光学异构体、水合物、溶剂合物，或其药学上可接受的盐：



其中，n为0、1、2、3、4或5；

m、p、q和t，v，u各自独立地选自0、1、2、3、4；

10 X₁、X₂、X₃、X₄、X₅和X₆各自独立地选自下组：N、O、S、SO、SO₂、C(R)₂、CHR、NR；

Y₁、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅和Y₆各自独立地选自下组：N、CH、C；

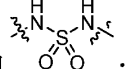
其中，X₃、X₄、X₅、X₇、X₈、X₉的碳原子上的氢(如存在的情况下)均可各自独立的被氘替换；

15 、各自独立地选自下组：取代或未取代的C₆-C₁₀亚芳基、或取代或未取代的具有1-3个杂原子的5-12元(优选5-7元)亚杂芳基、取代或未取代的5-12元亚杂环基、取代或未取代的5-12元的C₃-C₁₂(优选为C₅-C₁₂)亚环烷基；

选自下组：取代或未取代的5-12元杂芳基、取代或未取代的C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的5-12元杂环基、取代或未取代的5-12元的C₃-C₁₂(优选为C₅-C₁₂)环基，
20 其中，所述的杂环基具有1-3个杂原子；

L₁选自下组：化学键、取代或未取代的C₁-C₄亚烷基、取代或未取代的C₂-C₄亚烯基、取代或未取代的C₂-C₄亚炔基、-S-、-O-、取代或未取代的-NH-、-S(O)-、-S(O)₂-、

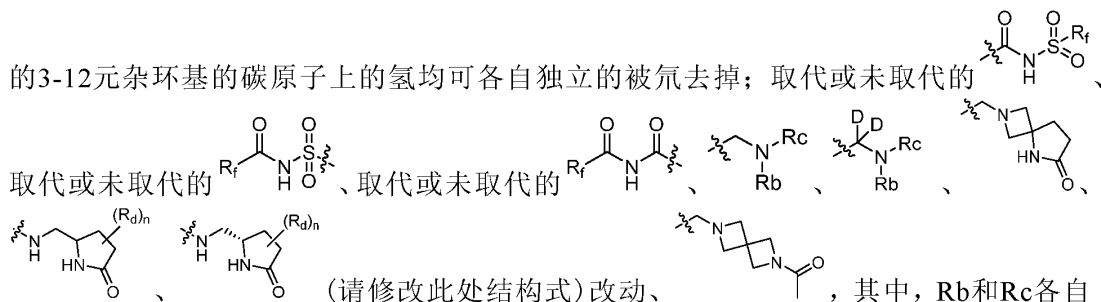
取代或未取代的-NHC(O)NH-、、取代或未取代的、取代或未取代的、

取代或未取代的；

25 且表示单键或双键；

R、R₁、R₂、R₃、R₄和R₅各自独立地选自下组：H、-CN、三氟甲基、-CHF₂、-OCF₃、
-OCHF₂、磺酰氨基、硝基、羟基、卤素、-S-R₈、-S(O)-R₈、-S(O)₂-R₈、取代或未取代
的C₁-C₁₀烷基、取代或未取代的C₂-C₆烯基、取代或未取代的C₂-C₆炔基、取代或未
取代的C₁-C₆烷氧基、取代或未取代的C₃-C₈环烷基、氧代(即=O)、=NR_f、-CN、羟基
30 (此处两个取代基建议保留)、NR_dR_e(例如氨基)、取代或未取代的C₁-C₆胺基、取代或
未取代的-(C₁-C₆亚烷基)-NH-(C₁-C₆亚烷基)、羧基、取代或未取代的C₆-C₁₀芳基、取

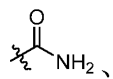
- 代或未取代的具有1-3个杂原子的5-12元杂芳基、取代或未取代的具有1-4个杂原子的3-12元杂环基，其中，取代或未取代的C1-C10烷基、取代或未取代的C2-C6烯基、取代或未取代的C2-C6炔基、取代或未取代的C1-C6烷氧基、取代或未取代的C3-C8环烷基、氧代(即=O)、=NR_f、羟基、NR_dR_e(例如氨基)、取代或未取代的C1-C6胺基、取代或未取代的-(C1-C6亚烷基)-NH-(C1-C6亚烷基)、羧基、取代或未取代的C6-C10芳基、取代或未取代的具有1-3个杂原子的5-12元杂芳基、取代或未取代的具有1-4个杂原子的

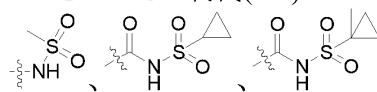


R_d 、 R_e 和 R_g 各自独立地选自下组：H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀环烷基、取代或未取代的C₆-C₁₀芳基；或 R_d 和 R_e 共同形成取代或未取代的具有1-3个选自N、S和O的杂原子的4-10(优选为5-10)元杂环基；

- 5 所述的 R_f 选自下组：H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的5-10元杂芳基、氰基、-C(=O)-NR_dR_e、-C(=O)-取代或未取代的C₁-C₆烷氧基、-C(=O)-取代或未取代的C₁-C₆烷基、-C(=O)-取代或未取代的C₃-C₁₀环烷基、-C(=O)-取代或未取代的C₂-C₆烯基、-C(=O)-取代或未取代的C₂-C₆炔基；

除非特别说明，所述的“取代”是指被选自下组的一个或多个(例如2个、3个、4个等)取代基所取代：卤素(包括-F、-Cl、-Br、-I)、-CH₂Cl、-CHCl₂、-CCl₃、-CH₂F、-

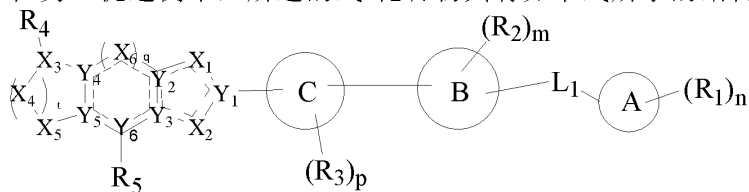
- 10 CHF₂、-CF₃、氧代(=O)、-CN、羟基、氨基、C₁-C₆烷胺基、羧基、-NHAc、

 未取代或被一个或多个取代基取代的选自下组的基团：C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₆-C₁₀芳基、C₃-C₈环烷基、卤代的C₆-C₁₀芳基、具有1-3个选自N、S和O的杂原子的5-10元杂芳基、具有1-3个选自N、S和O的杂原子的5-10元杂环基；所述的取代基选自下组：卤素、羟基、羧基、氧基、氰基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷胺基；

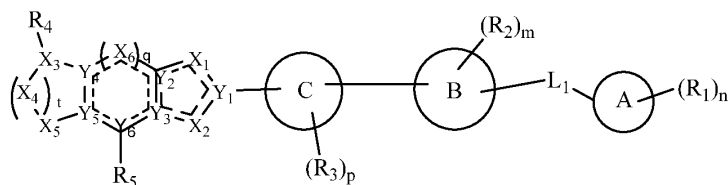
- 15 上述各式中，任一所述杂原子选自下组：B、P、N、S和O。

在另一优选例中，当A和L₁均为无时，B为选自下组的基团：取代或未取代的C₆-C₁₀芳基、或取代或未取代的具有1-3个杂原子的5-12元(优选5-7元)杂芳基、取代或未取代的5-12元杂环基、取代或未取代的5-12元的C₃-C₁₂(优选为C₅-C₁₂)环烷基。

- 20 在另一优选例中，所述的式I化合物具有如下式所示的结构：



在另一优选例中，本发明提供了一种如下式I所示的化合物，或其光学异构体、水合物、溶剂合物，或其药学上可接受的盐：

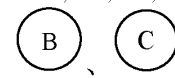


- 25 其中，n为0、1、2或3；

m、p、q和t各自独立地选自0、1、2、3或4；

X₁, X₂, X₃, X₄, X₅和X₆各自独立地选自下组：N、O、S、SO、SO₂、C(R)₂、NR；

Y₁, Y₂, Y₃, Y₄, Y₅和Y₆各自独立地选自下组：N、CH、C；

- 30  各自独立地选自下组：取代或未取代的C₆-C₁₀亚芳基、或取代或未

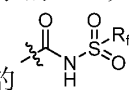
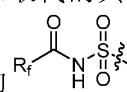
取代的具有1-3个杂原子的5-12元(优选5-7元)亚杂芳基、取代或未取代的5-12元亚杂环基、取代或未取代的5-12元的C5-C12亚环烷基;

- 5 A 选自下组: 取代或未取代的5-12元杂芳基、取代或未取代的C6-C10芳基、取代或未取代的5-12元杂环基、取代或未取代的5-12元的C5-C12环基, 其中, 所述的杂环基具有1-3个杂原子;

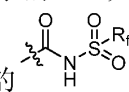
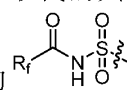
L_1 选自下组: 化学键、取代或未取代的C1-C4亚烷基、取代或未取代的C2-C4亚烯基、取代或未取代的C2-C4亚炔基、-S-、-O-、取代或未取代的-NH-、-S(O)-、-S(O)₂-、

取代或未取代的-NHC(O)NH-、、取代或未取代的、取代或未取代的、取代或未取代的;

- 10 R、R₁、R₂、R₃、R₄和R₅各自独立地选自下组: H、-CN、三氟甲基、磺酰氨基、硝基、羟基、卤素、-S-R₈、-S(O)-R₈、-S(O)₂-R₈、取代或未取代的C1-C10烷基、取代或未取代的C2-C6烯基、取代或未取代的C2-C6炔基、取代或未取代的C1-C6烷氧基、取代或未取代的C3-C8环烷基、氧代(即=O)、=NR_f、-CN、羟基、NRdRe(例如氨基)、取代或未取代的C1-C6胺基、取代或未取代的-(C1-C6亚烷基)-NH-(C1-C6烷基)、羧基、
- 15 取代或未取代的C6-C10芳基、取代或未取代的具有1-3个杂原子的5-12元杂芳基、取代

或未取代的具有1-4个杂原子的3-12元杂环基, 取代或未取代的、取代或未取代的; 或-(L_{1a})_r-(L_{2a})_s-(L_{3a})_s-; -C₀₋₈-O-R₈, -C₀₋₈-C(O)OR₈, -C₀₋₈-OC(O)OR₈, -C₀₋₈-NR₈R₉, -C₀₋₈-N(R₈)C(O)R₉, -C₀₋₈-C(O)NR₈R₉;

- 20 R₈和R₉各自独立地选自下组: H、羟基, 取代或未取代的C1-C10烷基、取代或未取代的C2-C6烯基、取代或未取代的C2-C6炔基、取代或未取代的C1-C6烷氧基、取代或未取代的C3-C8环烷基、氧代(即=O)、=NR_f、-CN、羟基、NRdRe(例如氨基)、取代或未取代的C1-C6胺基、取代或未取代的-(C1-C6亚烷基)-NH-(C1-C6亚烷基)、羧基、取代或未取代的C6-C10芳基、取代或未取代的具有1-3个杂原子的5-12元杂芳基、取代

- 25 或未取代的具有1-4个杂原子的3-12元杂环基, 取代或未取代的、取代或未取代的; 或-(L_{1a})_r-(L_{2a})_s-(L_{3a})_s-;

各个L_{1a}各自独立地为选自下组的基团: 化学键、取代或未取代的C₁-C₇亚烷基、取代或未取代的C₂-C₄亚烯基、取代或未取代的C₂-C₄亚炔基、-S-、-O-、取代或未取代的-NH-、-S(O)-、或-S(O)₂-;

- 30 L_{2a}选自下组: 取代或未取代的C6-C12亚芳基、取代或未取代的具有1-3个杂原子的5-12元亚杂芳基、取代或未取代的C3-C8亚环烷基、取代或未取代的具有1-3个杂原子的5-10元亚杂环基;

L_{3a}选自下组: 取代或未取代的C1-C10烷基、C1-C10芳基、-CN、羟基、氨基、羧

基、 $-\text{CO}-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{R}_g$ 、 $-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{R}_g$ 、 $-\text{SO}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{R}_g$;

r为1、2、3、4、5、6;

s分别为0、1、2;

- 5 Rd 、 Re 和 Rg 各自独立地选自下组: H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 环烷基、取代或未取代的 C_6 - C_{10} 芳基; 或 Rd 和 Re 共同形成取代或未取代的具有1-3个选自N、S和O的杂原子的5-10元杂环基;

- 10 所述的 Rf 选自下组: H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_6 - C_{10} 杂芳基、氰基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NRdRe}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})$ -取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基、 $-\text{C}(=\text{O})$ -取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、 $-\text{C}(=\text{O})$ -取代或未取代的 C_3 - C_{10} 环烷基、 $-\text{C}(=\text{O})$ -取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、 $-\text{C}(=\text{O})$ -取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基;

- 15 除非特别说明, 所述的“取代”是指被选自下组的一个或多个(例如2个、3个、4个等)取代基所取代: 卤素: 包括但不限于-F、Cl、Br、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CHCl}_2$ 、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、氧代、-CN、羟基、氨基、 C_1 - C_6 烷胺基、羧基、 $-\text{NHAc}$ 、未取代或被一个或多个选自下组的取代基取代的选自下组的基团: C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_3 - C_8 环烷基、卤代的 C_6 - C_{10} 芳基、具有1-3个选自N、S和O的杂原子的5-10元杂芳基、具有1-3个选自N、S和O的杂原子的5-10元杂环基; 所述的取代基选自下组: 卤素、羟基、羧基、氰基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷胺基;

上述各式中, 任一所述杂原子选自下组: B、P、N、S和O。

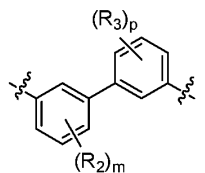
- 20 在另一优选例中, 所述的 、各自独立地为选自下组的环形成的二价基
- 图: 、、、、、、、、、、、、、、、、、、、，其中, 所述的环的成键位置可以为N或C(环上的取代基未示出)。

在另一优选例中, 所述的 R_2 和 R_3 各自独立地选自下组: 甲基、-F、Cl、Br、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CHCl}_2$ 、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、-CN、羟基、氨基。

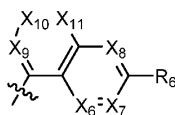
- 25 在另一优选例中, 所述的 、的成键位置可以是o、p、m位

在另一优选例中, 所述的 、的在一个成键位置处, 一个与N或C相连的H被键所取代。

在另一优选例中, 所述的 -为如下所示的结构:



- 30 在另一优选例中, 所述的 具有如下式所示的结构:



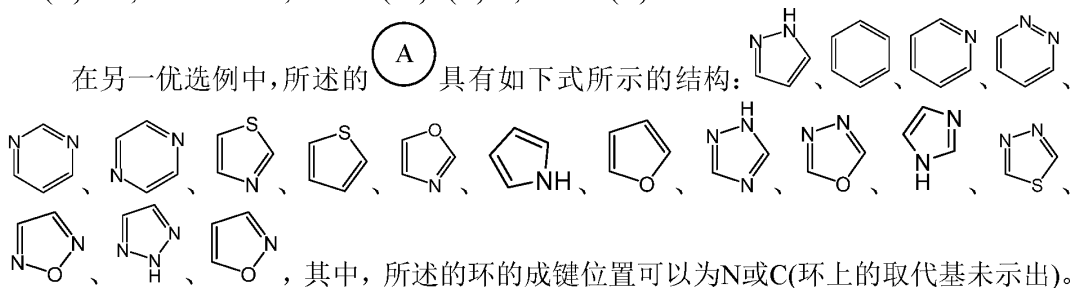
其中,

X_6 、 X_7 、 X_8 、 X_9 、 X_{10} 和 X_{11} 各自独立地选自下组: N、CR;

- R_6 选自下组: H、卤素、取代或未取代的C1-C6烷基、取代或未取代的C2-C6烯基、取代或未取代的C2-C6炔基、取代或未取代的C1-C6烷氧基、取代或未取代的C3-C8环烷基、氧代(即=O)、=NR_f、-CN、羟基、NRdRe(例如氨基)、取代或未取代的C1-C6胺基、取代或未取代的-(C1-C6亚烷基)-NH-(C1-C6亚烷基)、羧基、取代或未取代的C6-C10芳基、取代或未取代的具有1-3个杂原子的5-12元杂芳基、取代或未取代的具有1-4个杂原子的5-12元杂环基, 取代或未取代的

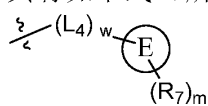
- 10 取代或未取代的 ; 或 -(L1a)_r-(L2a)_s-(L3a)_s-, -C0-8-O-R8, -C0-8-C(O)OR8, -C0-8-OC(O)OR8, -C0-8-NR8R9, -C0-8-N(R8)C(O)R9, -C0-8-C(O)NR8R9。

在另一优选例中,所述的 (A) 具有如下式所示的结构:



- 15 在另一优选例中,所述的 R_6 为 R_1 ; 或为 ; 其中, R_b 和 R_c 各自独立地选自下组: H、取代或未取代的C1-C8烷基; 或所述的 R_b 和 R_c 与相邻的N原子共同构成取代或未取代的具有1-3个选自N、S和O的杂原子的3-10元杂环基。

在另一优选例中,所述的环 (A) 具有如下式IV所示的取代基:



20

IV

其中, w 为0, 1, 2, 3, 4, 5, 6;

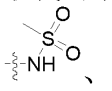
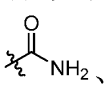
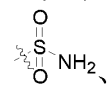
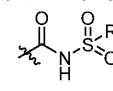
- 25 所述的各个 L_4 独立地选自下组: 取代或未取代的C1-C4亚烷基、-S-、-O-、NR_f、-S(O)-、-S(O)₂-; 优选为取代或未取代的C1-C4亚烷基, 其中, 取代或未取代的C1-C4亚烷基上碳原子上的氢均可各自独立地被氘替换; 前提条件是各个 L_4 共同形成的结构是化学稳定的;

(E) 选自下组: 取代或未取代的C3-C10环烷基、取代或未取代的具有1-3个选自B、P、N、S和O的杂原子的3-10元杂环基; 优选地, 所述的 (E) 为或取代或未取代的

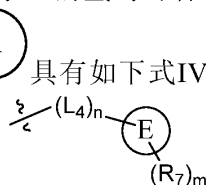
3-8元含氮杂环基, 或取代或未取代的4-10元环酰胺, 其中, 3-8元含氮杂环基取代或未取代的4-10元环酰胺基的成环碳原子上的氢均可各自独立被氘替换;

各个 R_7 各自独立地选自下组: 取代或未取代的C1-C6烷基、-CN、羟基、氨基、羧基、-OR_g、-N(R_g)₂、-CO-NH-SO₂-R_g、-NH-SO₂-R_g、-SO₂-NH-CO-R_g、-CO₂R_g、-CON(R_g)₂、
5 CONHCOR_g、NR_g-CO-N(R_g)₂、-NR_g-SO₂-N(R_g)₂; R_f和R_g的定义如前所述, 其中R_f和R_g的碳原子上的氢均可各自独立地被氘替换, 其中, 所述的取代基选自下组: 卤素、羟基、羧基、氰基、C1-C6烷氧基。

在另一优选例中, 至少一个R₄为选自下组的基团: NR_dRe; 所述的R_d和Re各自独立地选自下组: H、取代或未取代的C1-C6烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀环烷基、-C₀₋₈-O-R₈、
10 -C₀₋₈-C(O)OR₈、-C₀₋₈-OC(O)OR₈、-C₀₋₈-NR₈R₉、-C₀₋₈-N(R₈)C(O)R₉、-C₀₋₈-C(O)NR₈R₉、取代或未取代的C₆-C₁₀芳基; 或R_d和Re共同形成取代或未取代的3-10元环烷基, 或具有1-3个选自N、S和O的取代或未取代的杂原子的3-10元杂环基。在另一优选例中, 此处所述

的取代基为羧基、羟基、、、、; R₁₀为取代或未取代的C1-C6烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀环烷基, 优选地, R₁₀为甲基、异丙基、环丙基和1-甲
15 基环丙基, 其中R_d、Re和R₁₀的碳原子上的氢均可各自独立被氘替换。

在另一优选例中, 所述的环A具有如下式IV所示的取代基:



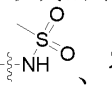
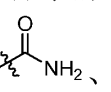
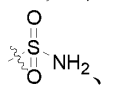
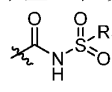
IV

其中, 所述的各个L₄独立地选自下组: 取代或未取代的C1-C4亚烷基、-S-、-O-、
20 -NR_a-、-NR_f-、-S(O)-、-S(O)₂-; 优选为取代或未取代的C1-C4亚烷基, 前提条件是各个L₄共同形成的结构是化学稳定的;

选自下组: 取代或未取代的C5-C₁₀环烷基、取代或未取代的具有1-3个选自
B、P、N、S和O的杂原子的3-10元杂环基; 优选地, 所述的E为3-8元含氮杂环基;

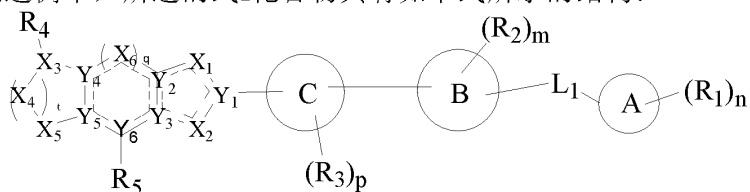
各个 R_7 各自独立地选自下组: 取代或未取代的C1-C6烷基、-CN、羟基、氨基、
25 羧基、-OR_g、-N(R_g)₂、-CO-NH-SO₂-R_g、-NH-SO₂-R_g、-SO₂-NH-CO-R_g、-CO₂R_g、-CON(R_g)₂、CONHCOR_g、NR_g-CO-N(R_g)₂、-NR_g-SO₂-N(R_g)₂; 其中, 所述的取代基选自下组: 卤素、羟基、羧基、氰基、C1-C6烷氧基。

在另一优选例中, 至少一个R₄为选自下组的基团: NR_dRe; 所述的R_d和Re各自独立地选自下组: H、取代或未取代的C1-C6烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀环烷基、-C₀₋₈-O-
30 R₈、-C₀₋₈-C(O)OR₈、-C₀₋₈-OC(O)OR₈、-C₀₋₈-NR₈R₉、-C₀₋₈-N(R₈)C(O)R₉、-C₀₋₈-C(O)NR₈R₉、取代或未取代的C₆-C₁₀芳基; 或R_d和Re共同形成取代或未取代的3-10元环烷基, 或具有1-3个选自N、S和O的取代或未取代的杂原子的3-10元杂环基。在另一优选例中, 此处

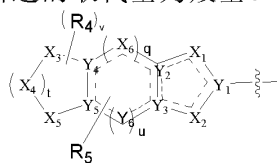
所述的取代基为羧基、羟基、、、、; R₁₀为取代或未取代的C1-C6烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀环烷基, 优选地, R₁₀为甲基、异丙基、环丙基和

1-甲基环丙基，其中Rd、Re和R₁₀的碳原子上的氢均可各自独立被氘替换。

在另一优选例中，所述的式I化合物具有如下式所示的结构：

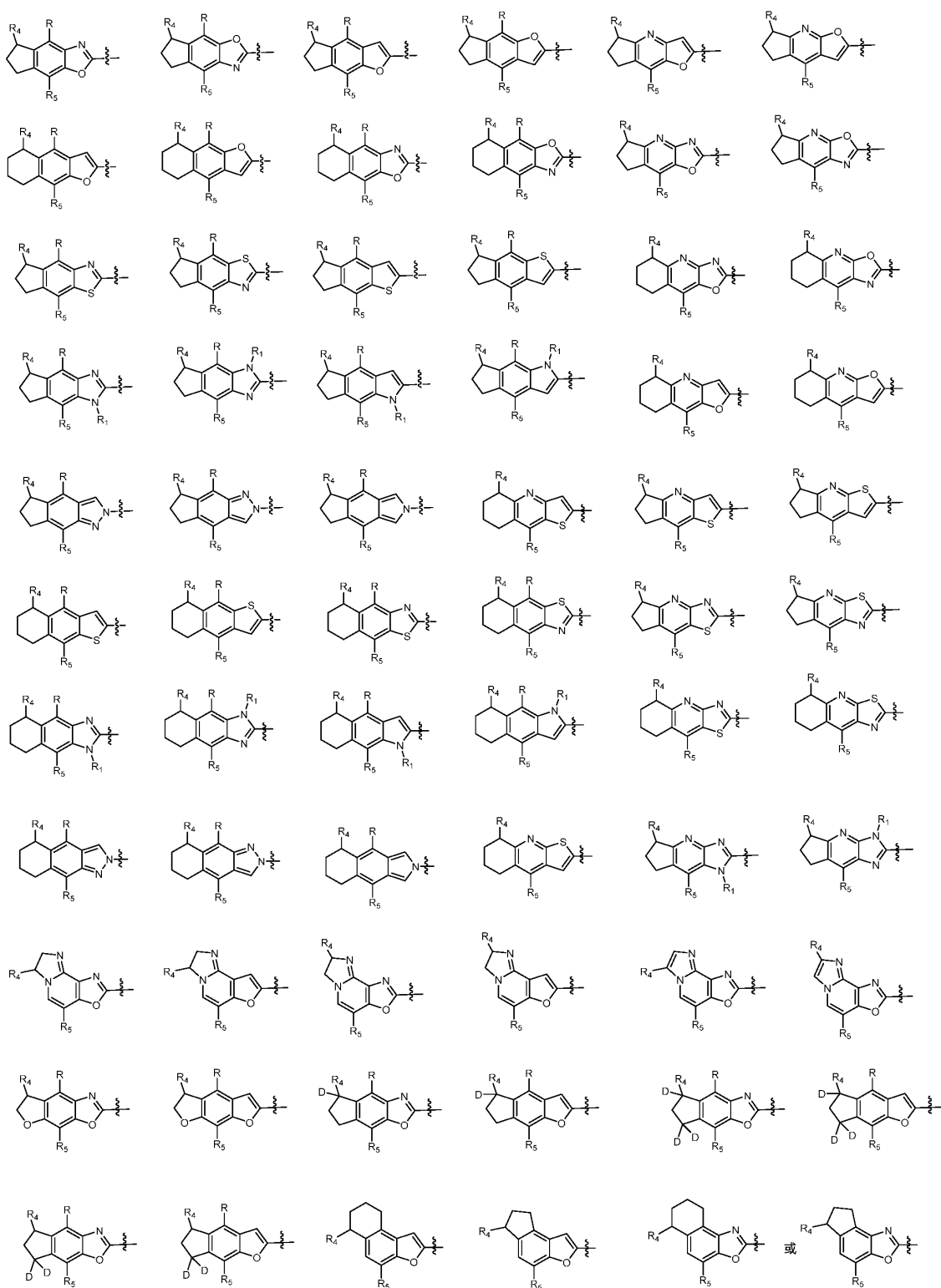


- 5 在另一优选例中，至少一个所述的R₄选自下组：NRdRe；所述的Rd和Re各自独立地选自下组：H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀环烷基、-C₀₋₈-O-R₈、-C₀₋₈-C(O)OR₈、-C₀₋₈-OC(O)OR₈、-C₀₋₈-NR₈R₉、-C₀₋₈-N(R₈)C(O)R₉、-C₀₋₈-C(O)NR₈R₉、取代或未取代的C₆-C₁₀芳基；或Rd和Re共同形成取代或未取代的具有1-3个选自N、S和O的杂原子的5-10元杂环基；优选地，所述的取代基为羧基。



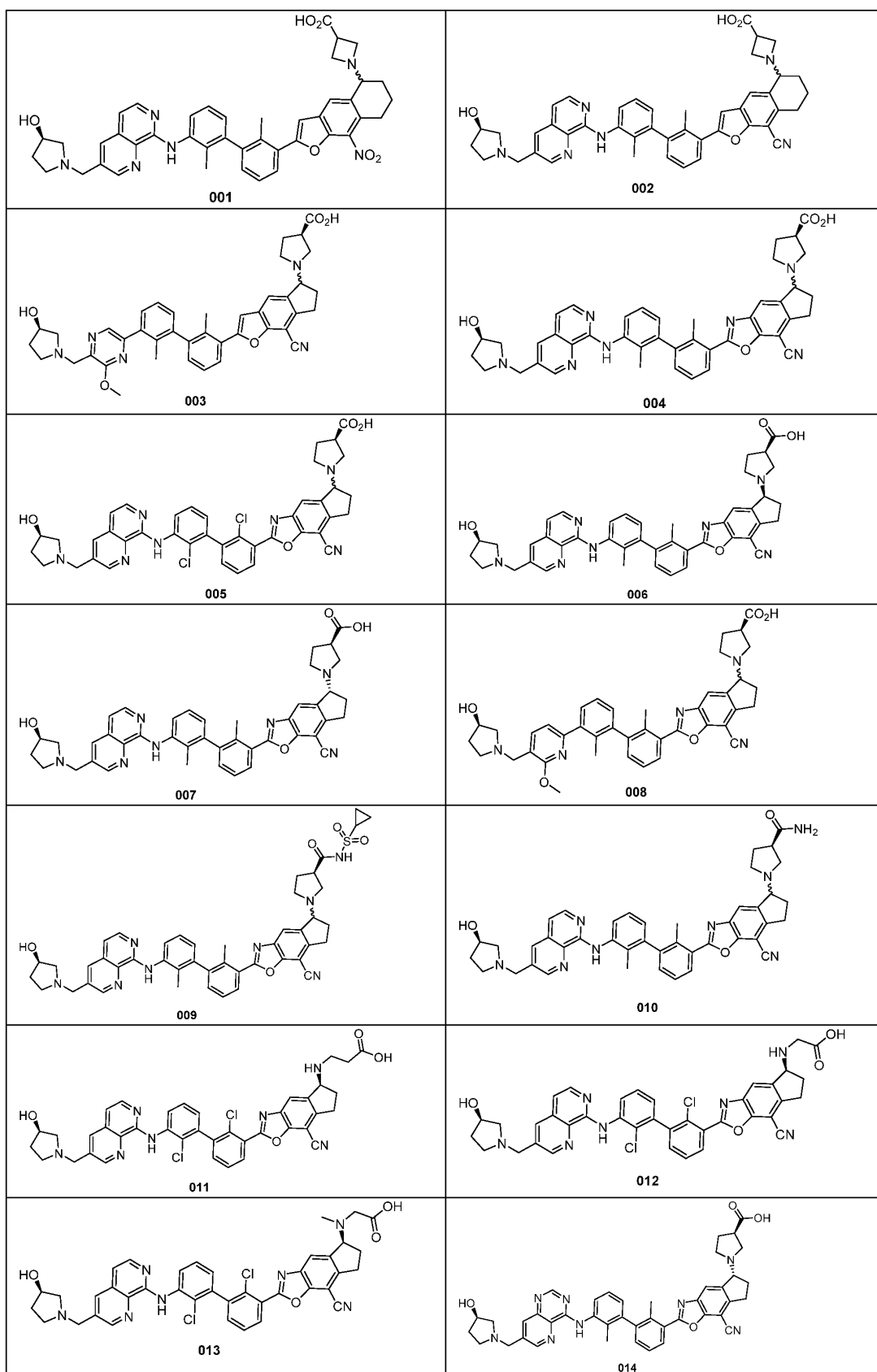
在另一优选例中，所述的

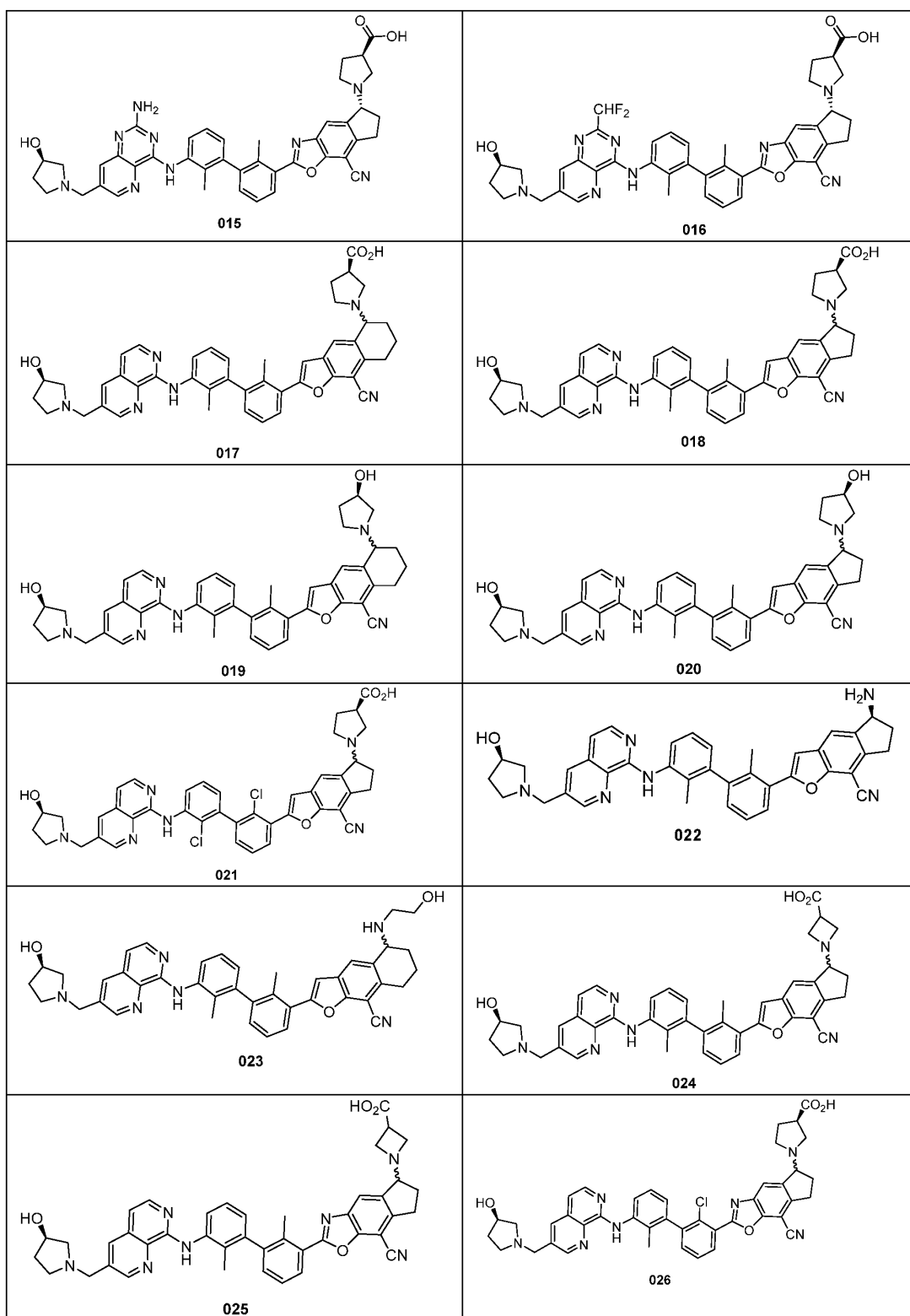
为选自下组的结构：

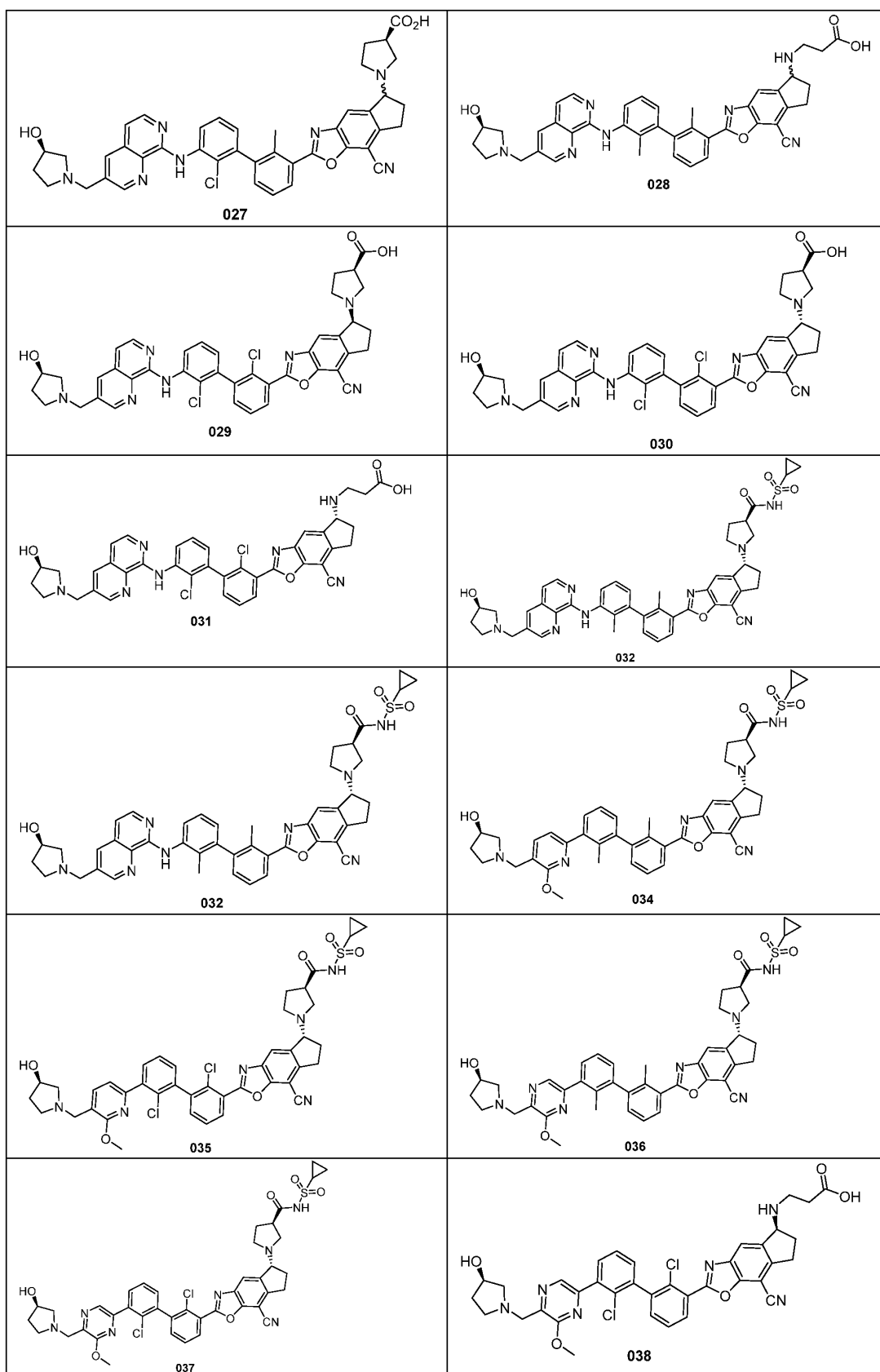


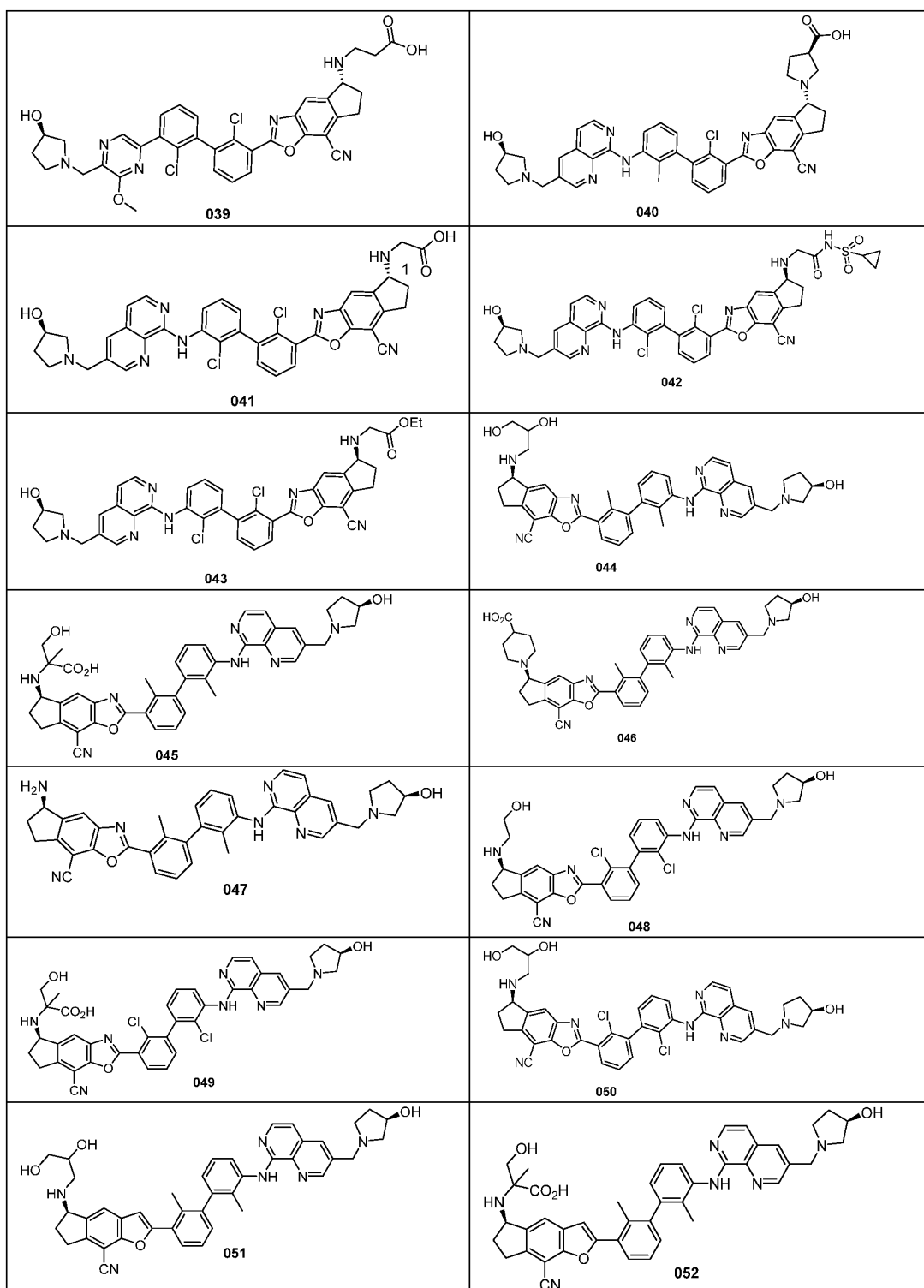
o

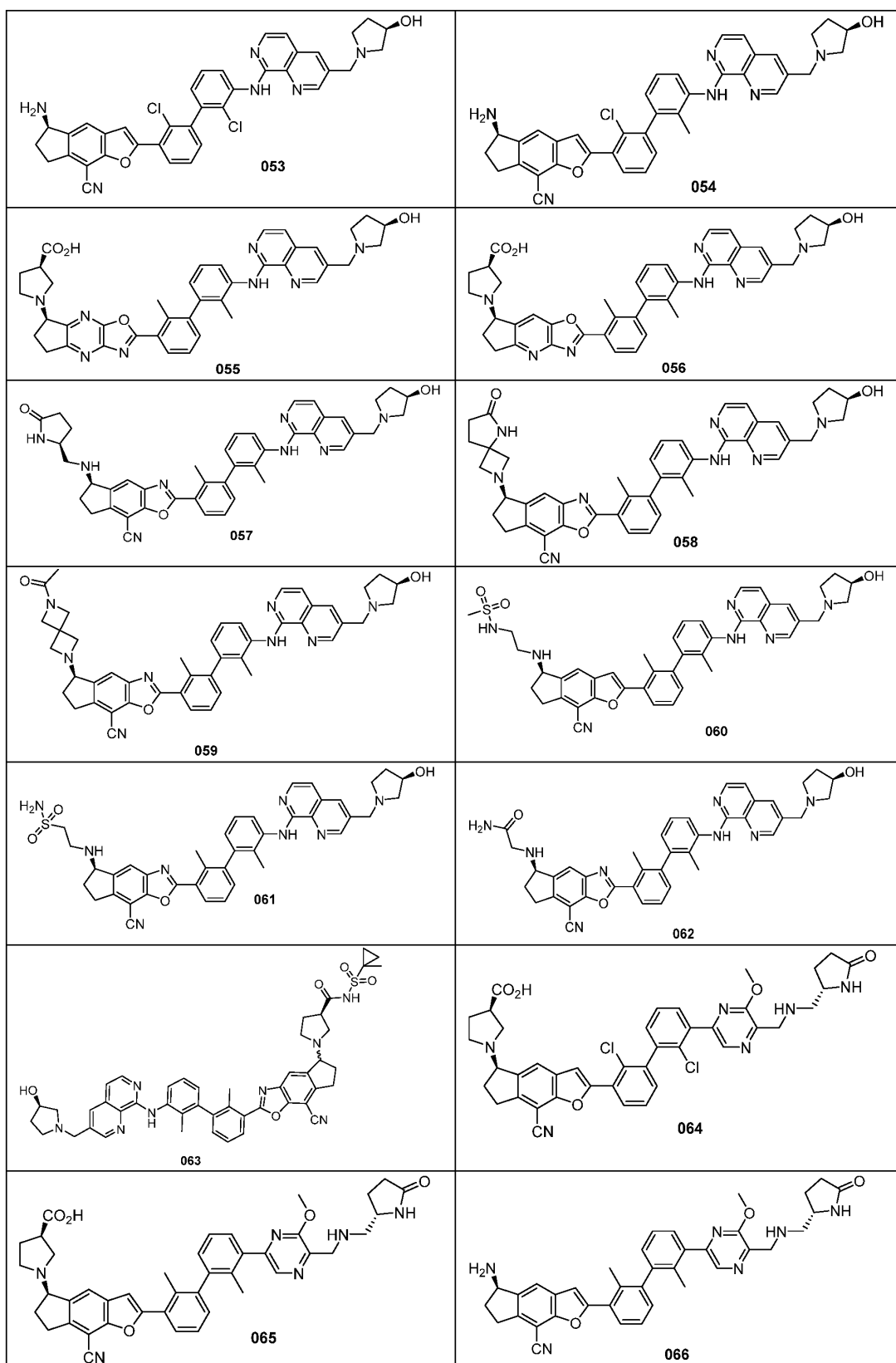
在另一优选例中，所述的化合物选自下列化合物；

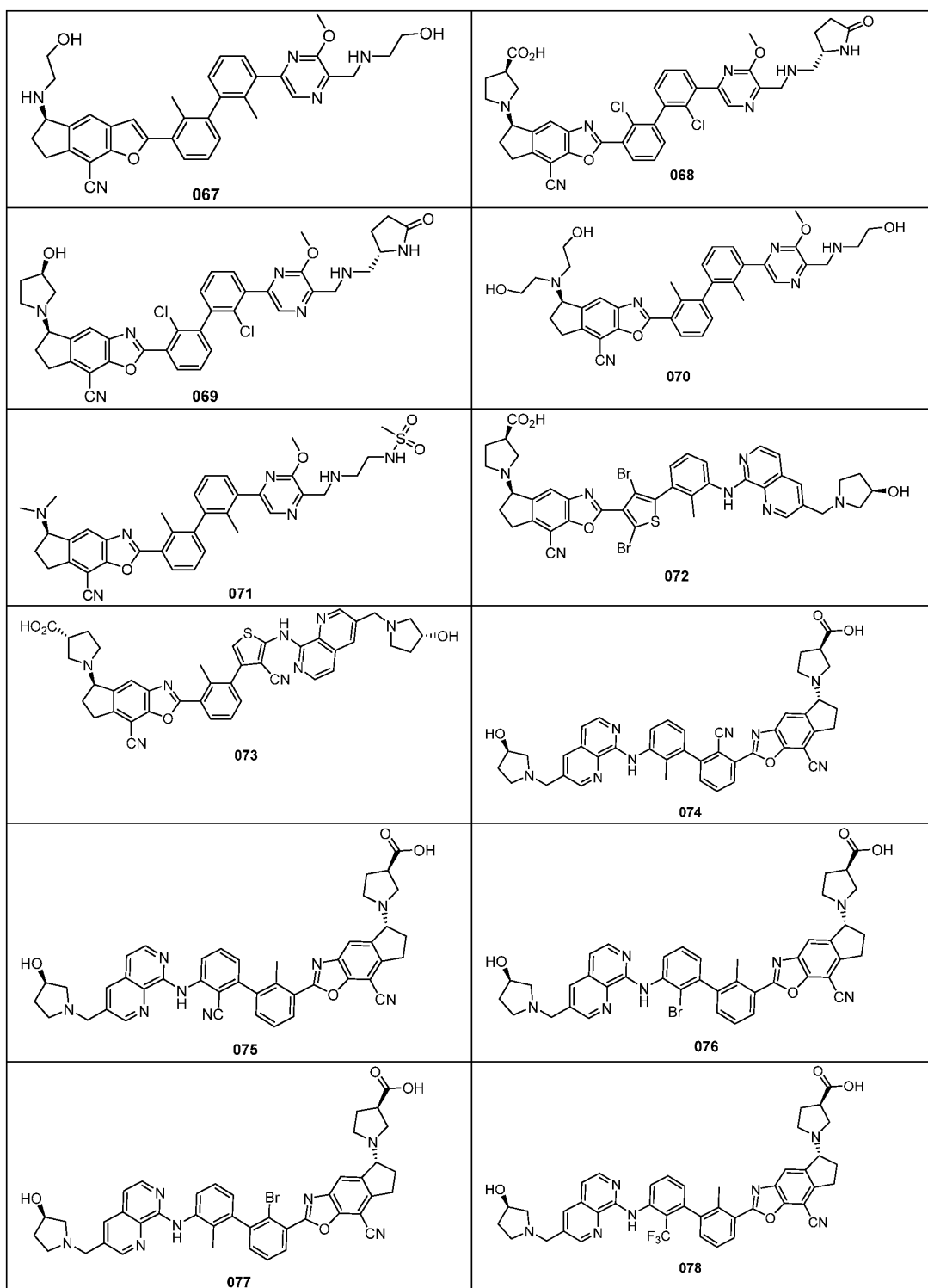


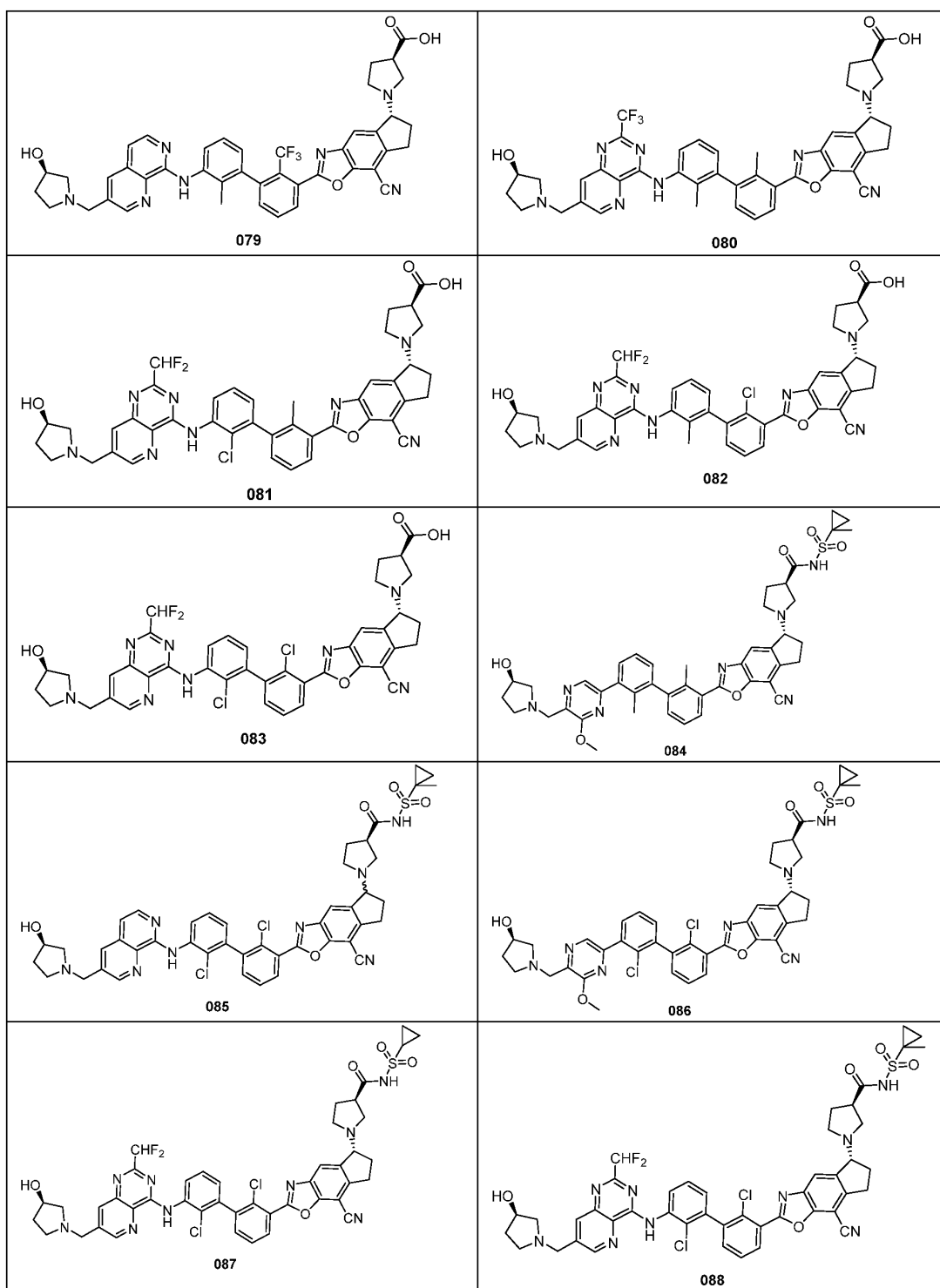


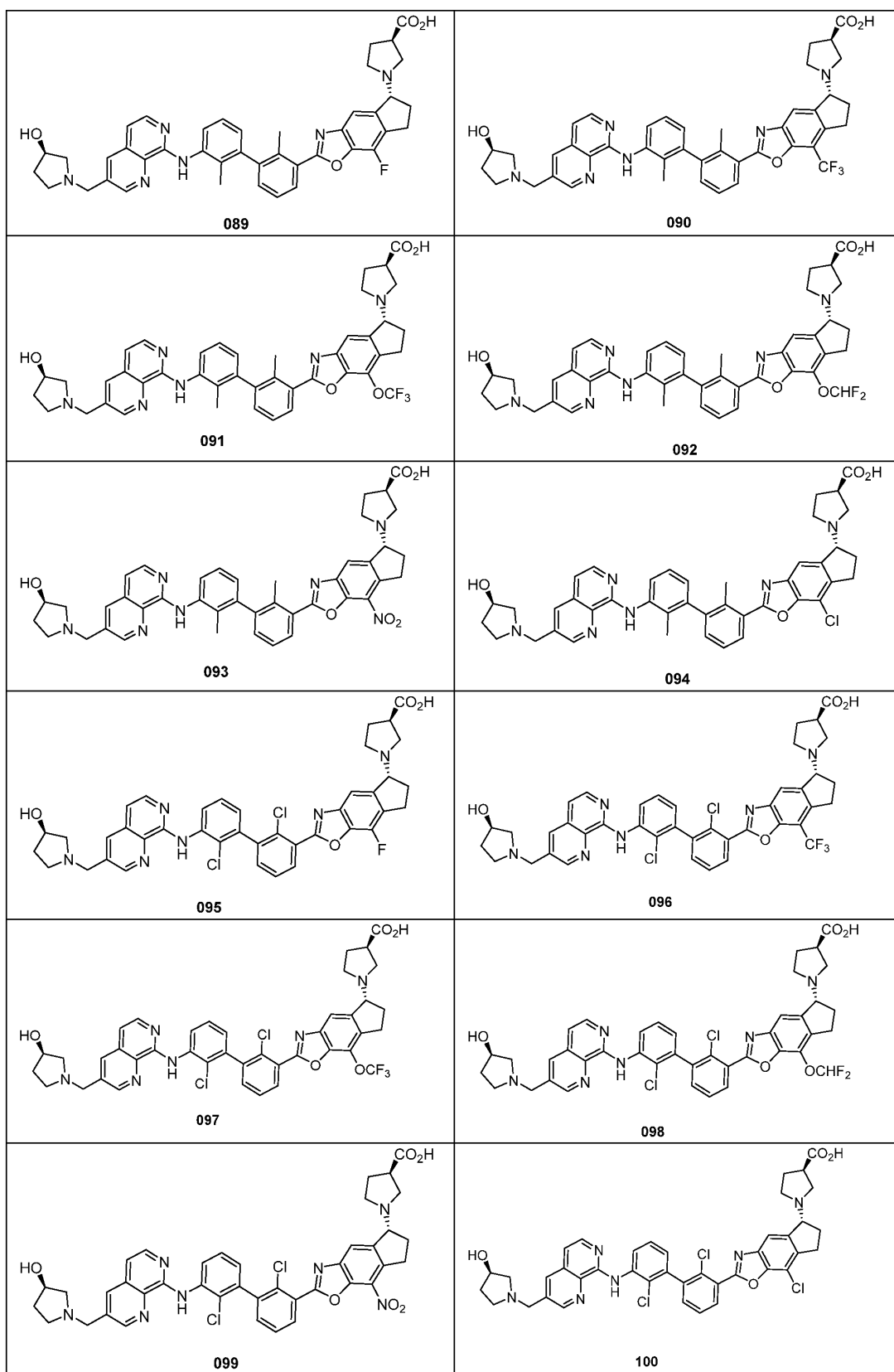


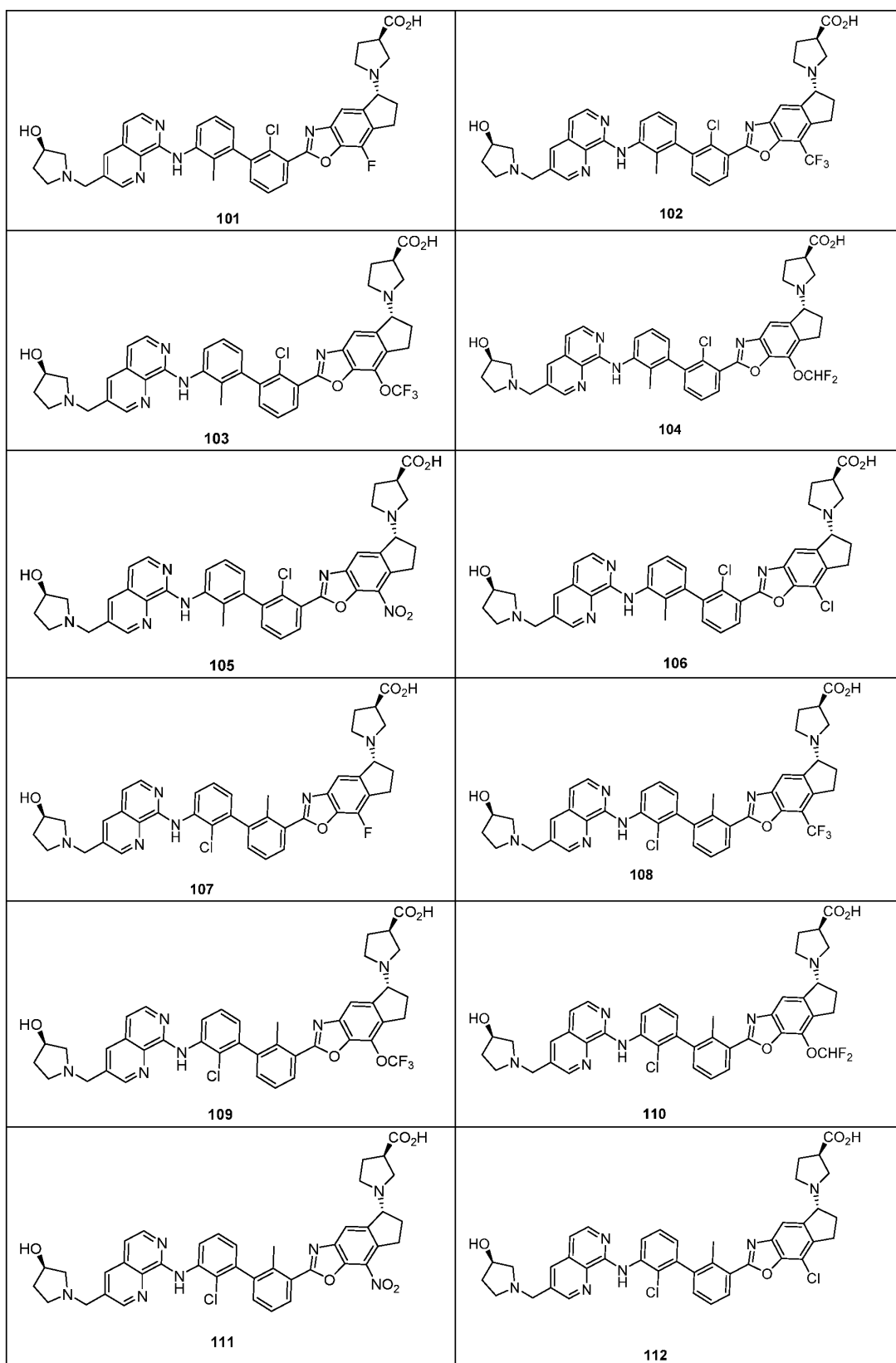


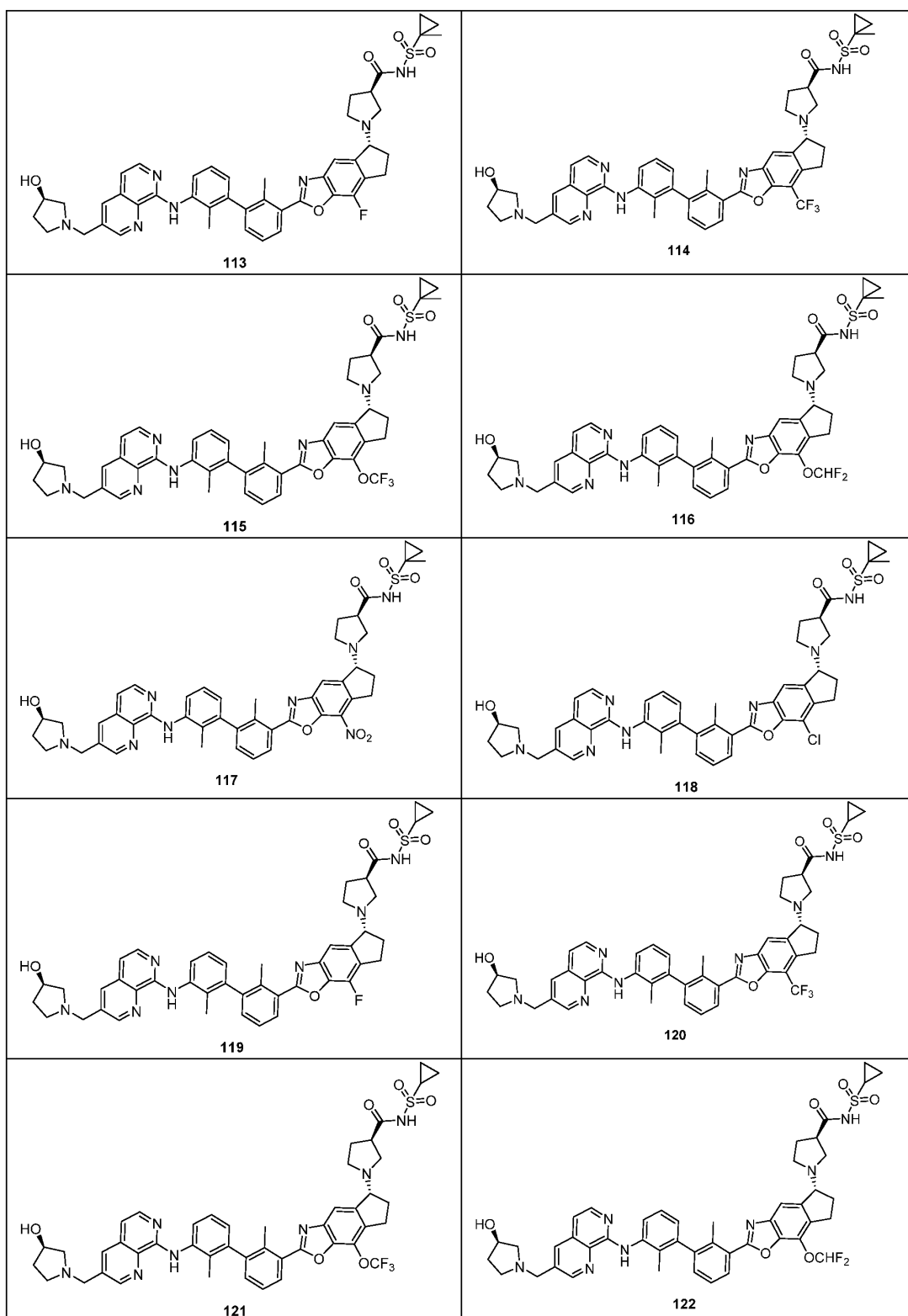


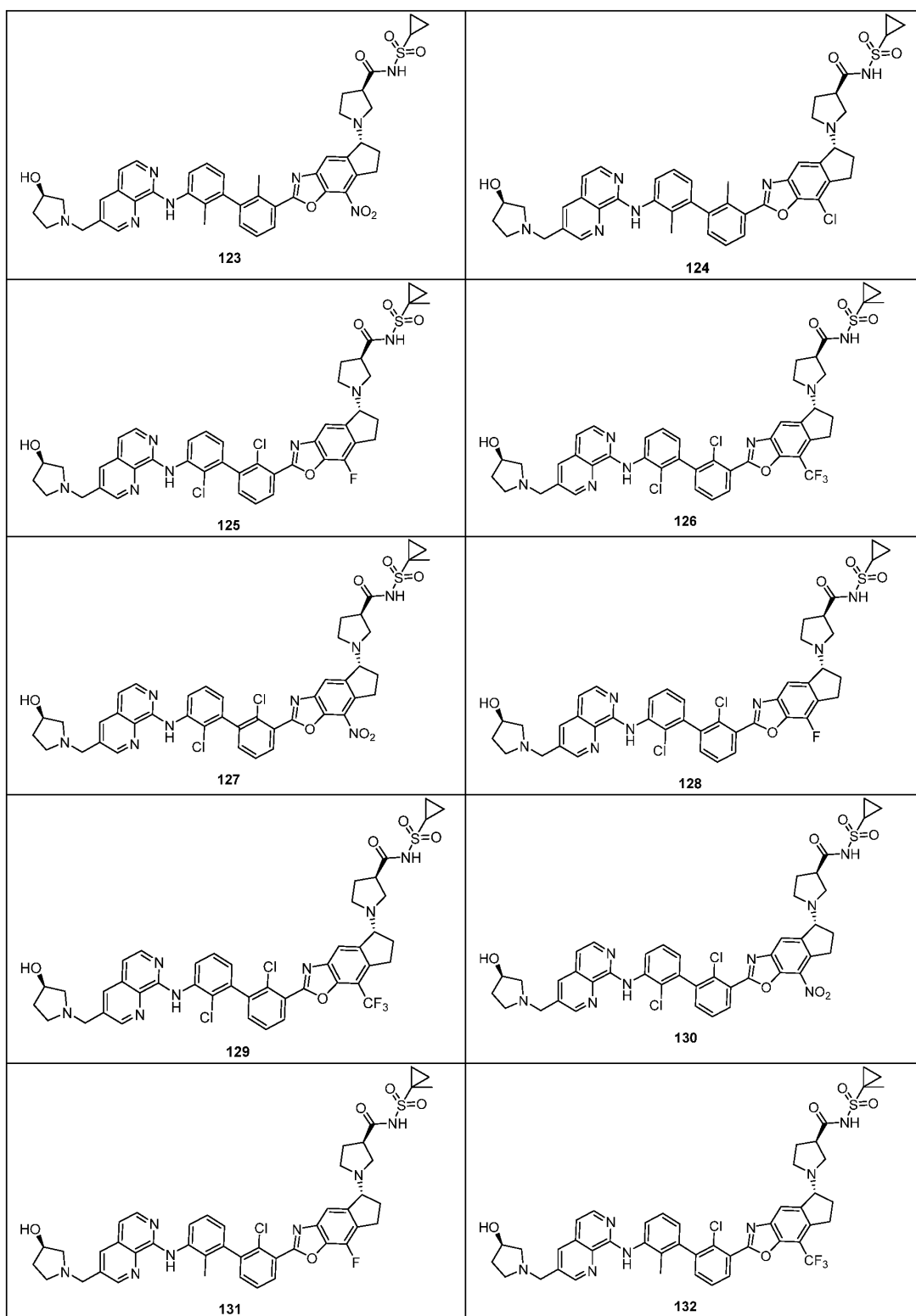


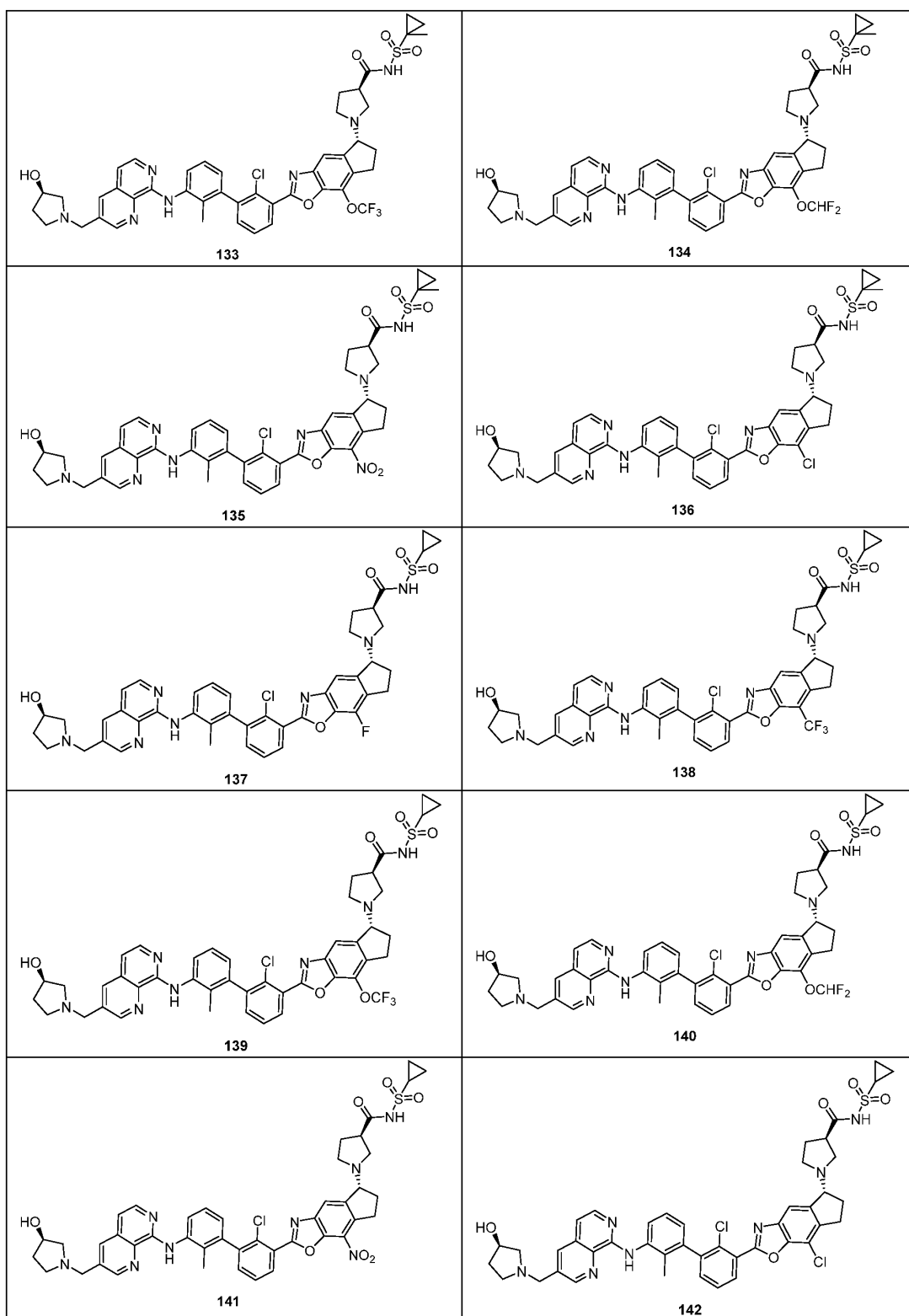


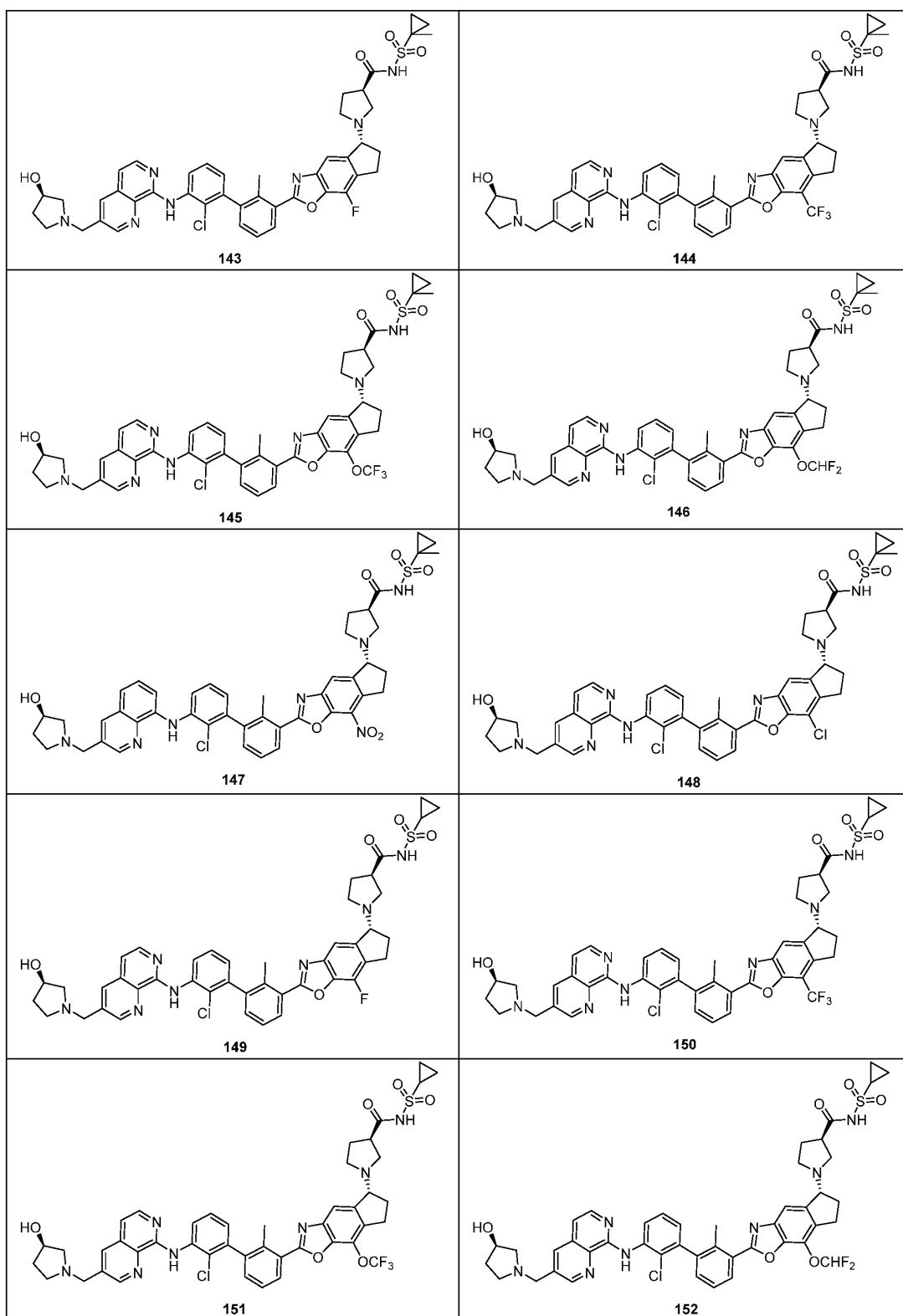


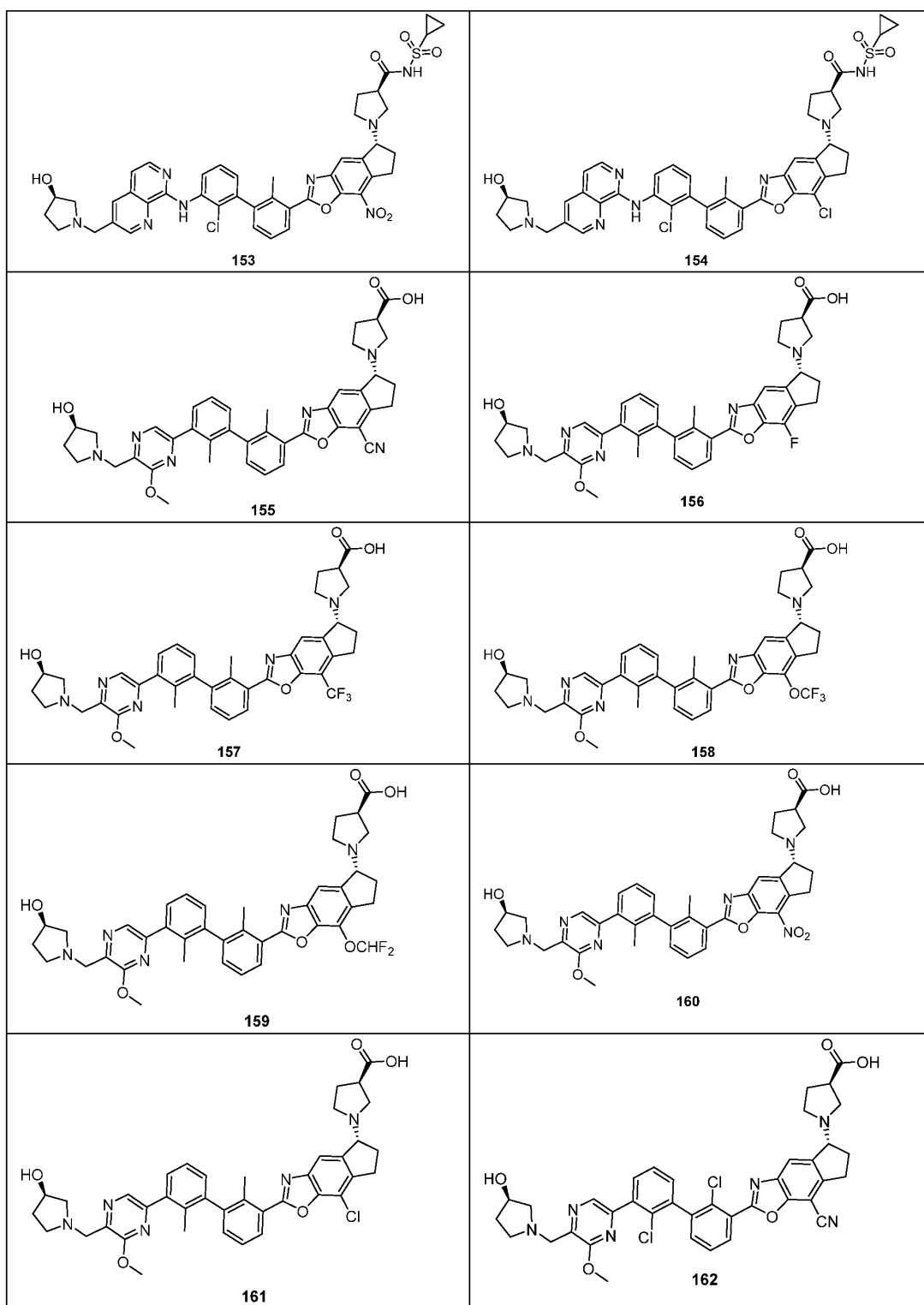


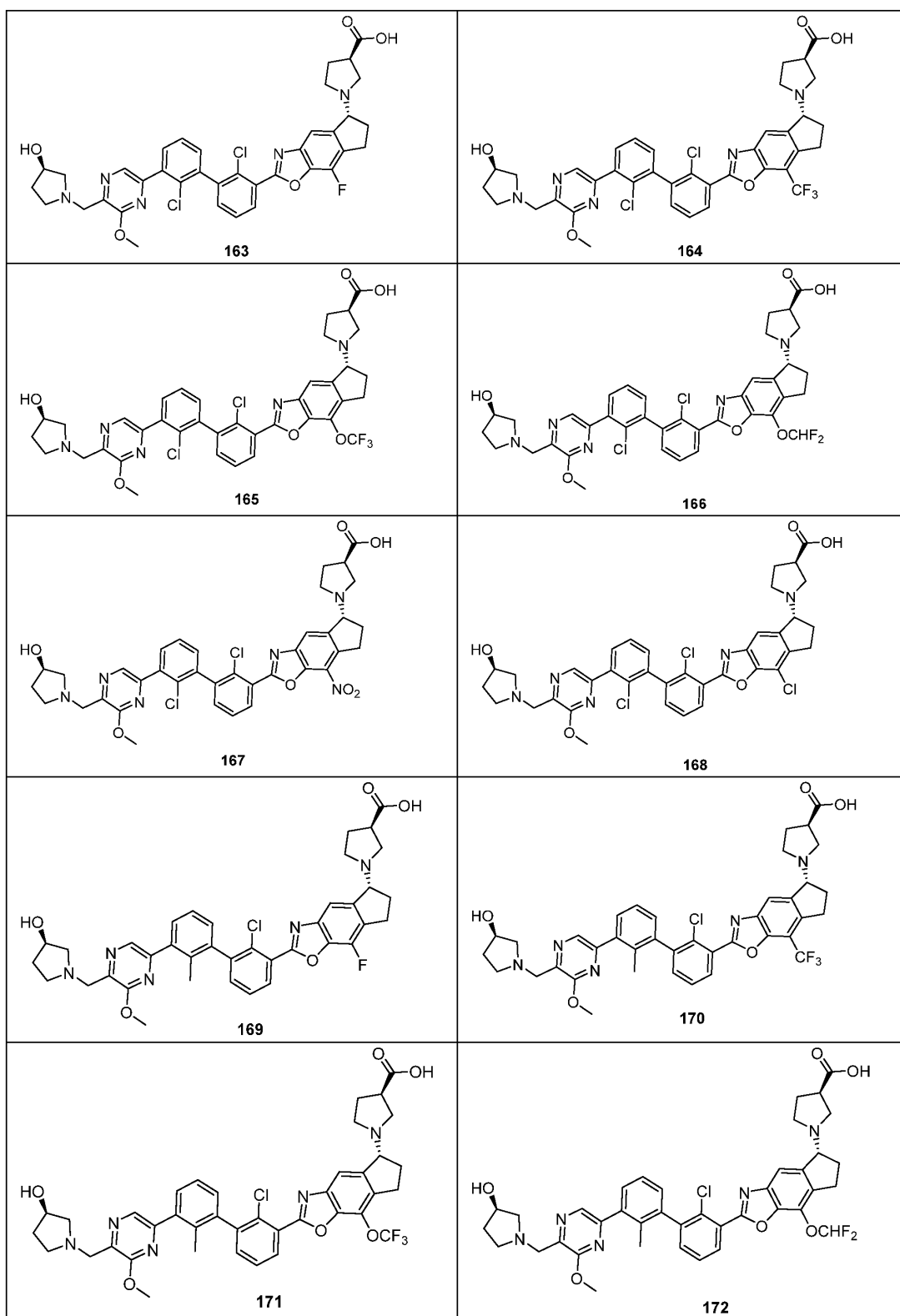


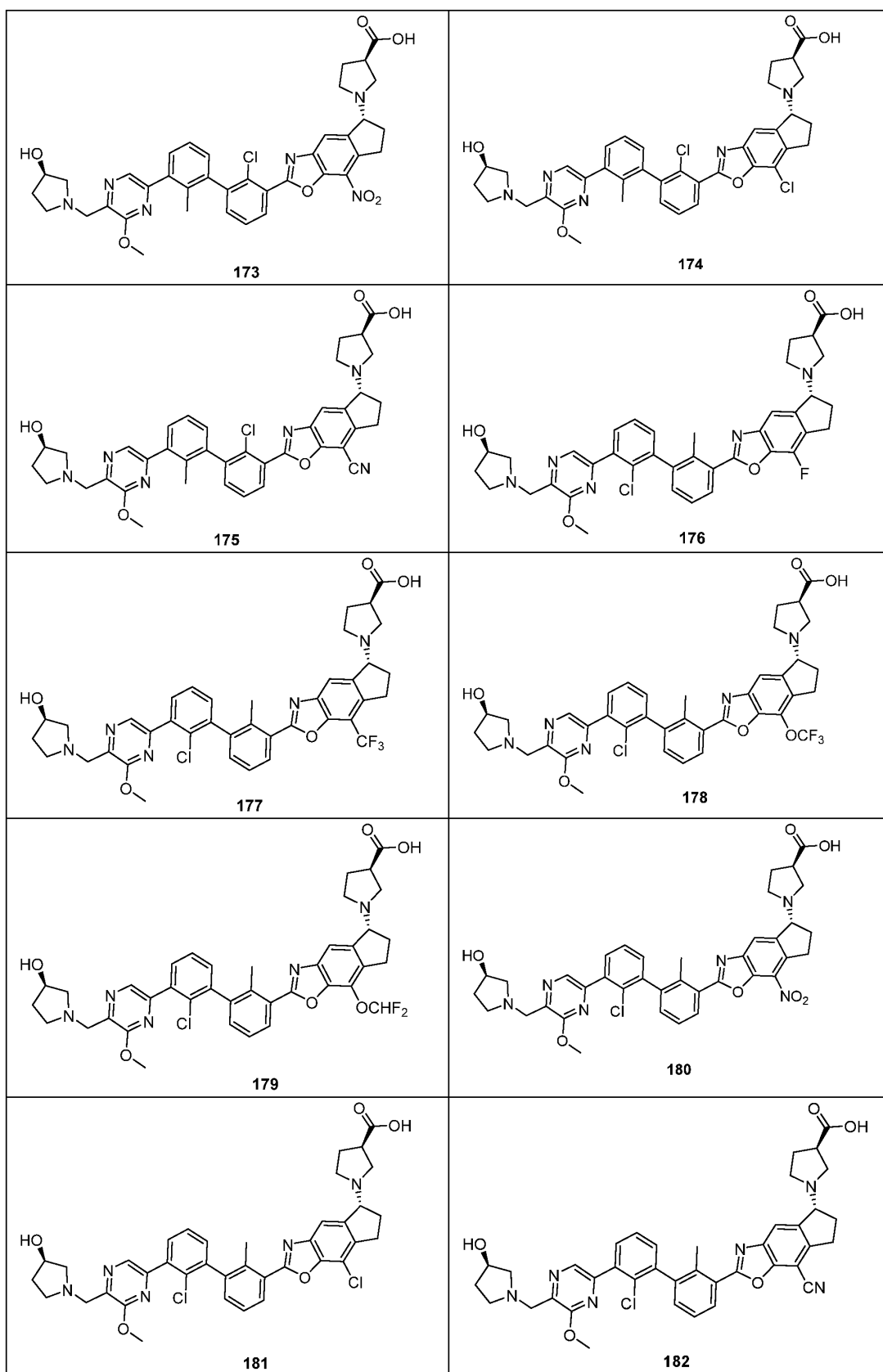


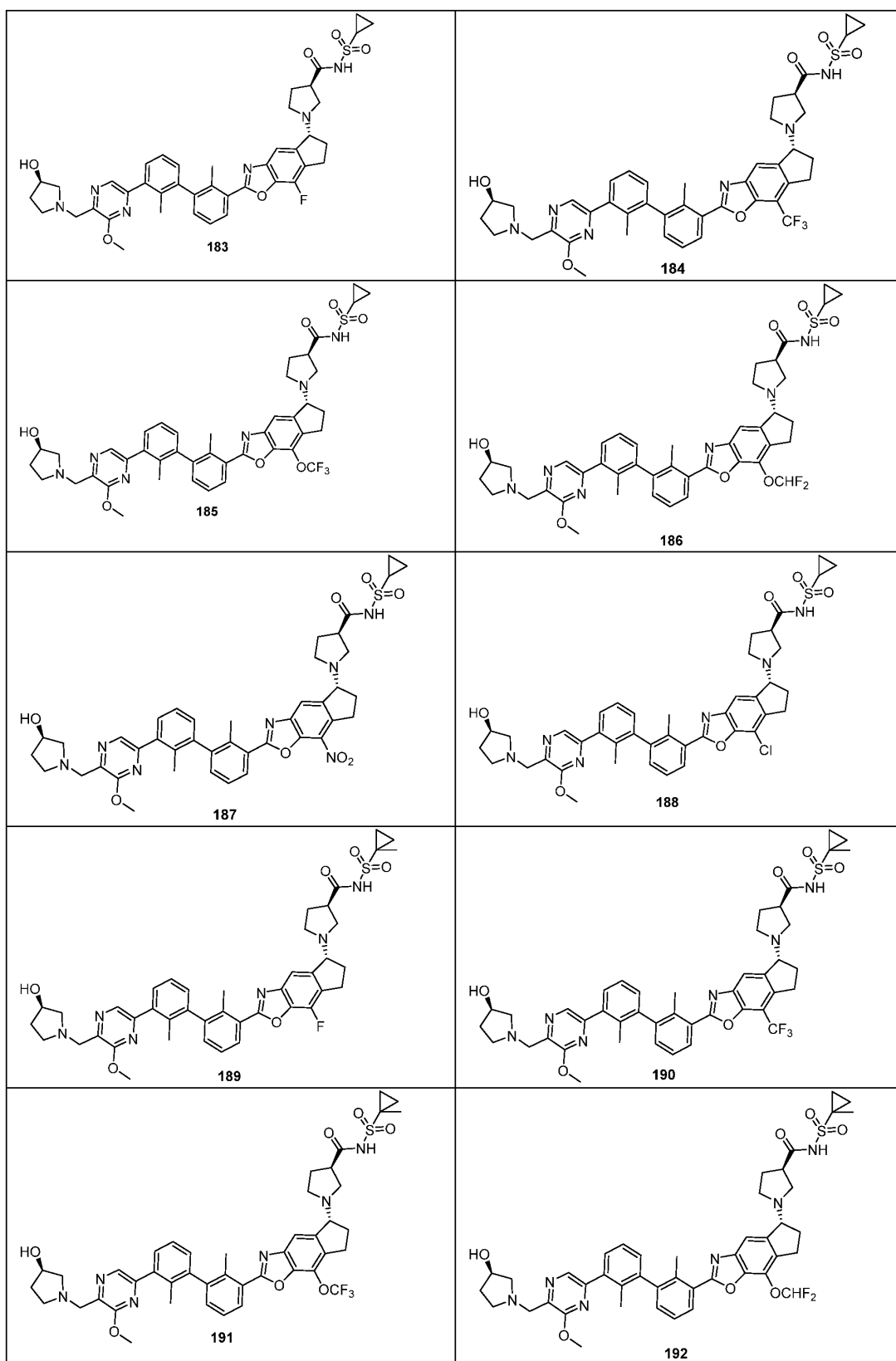


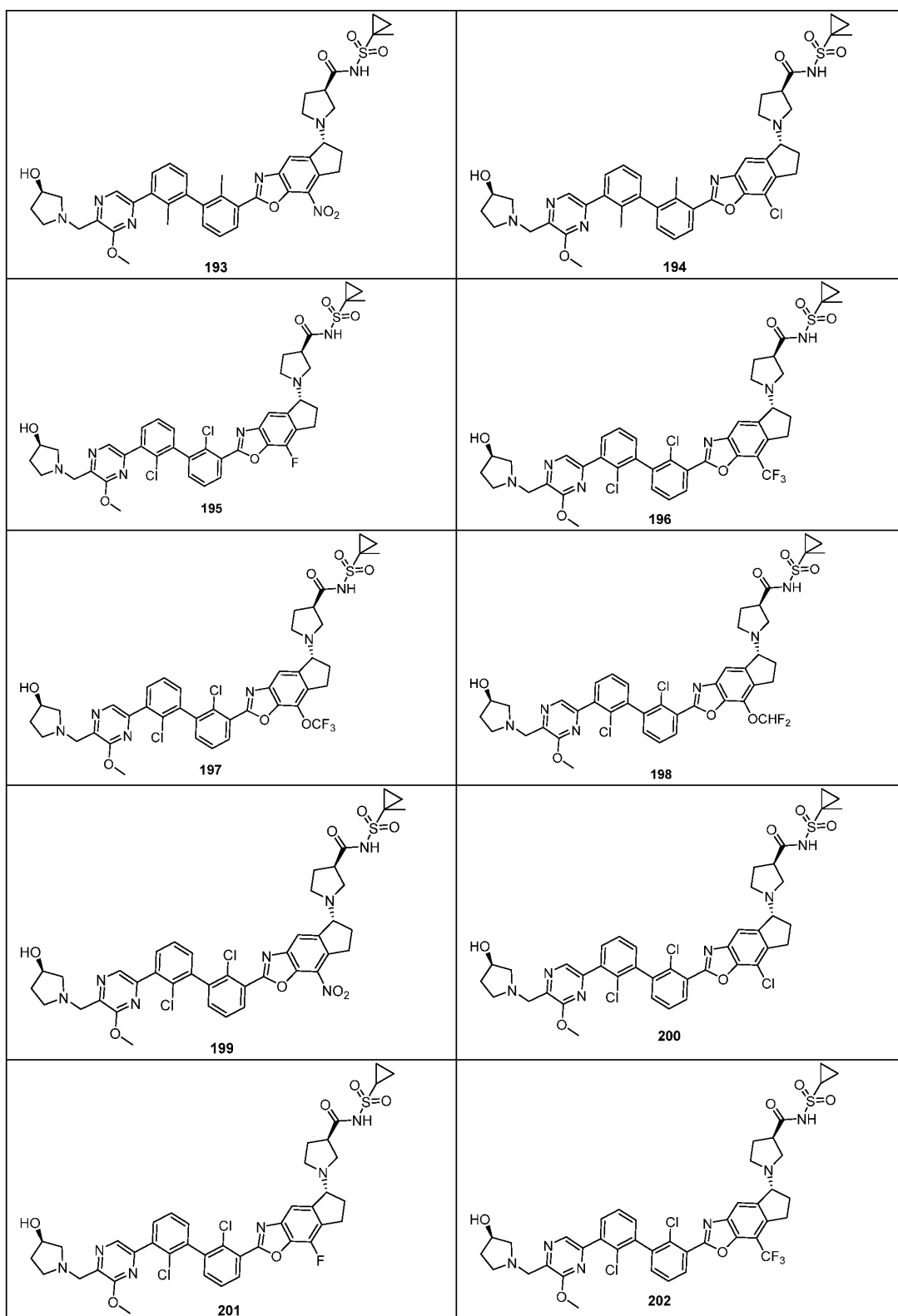


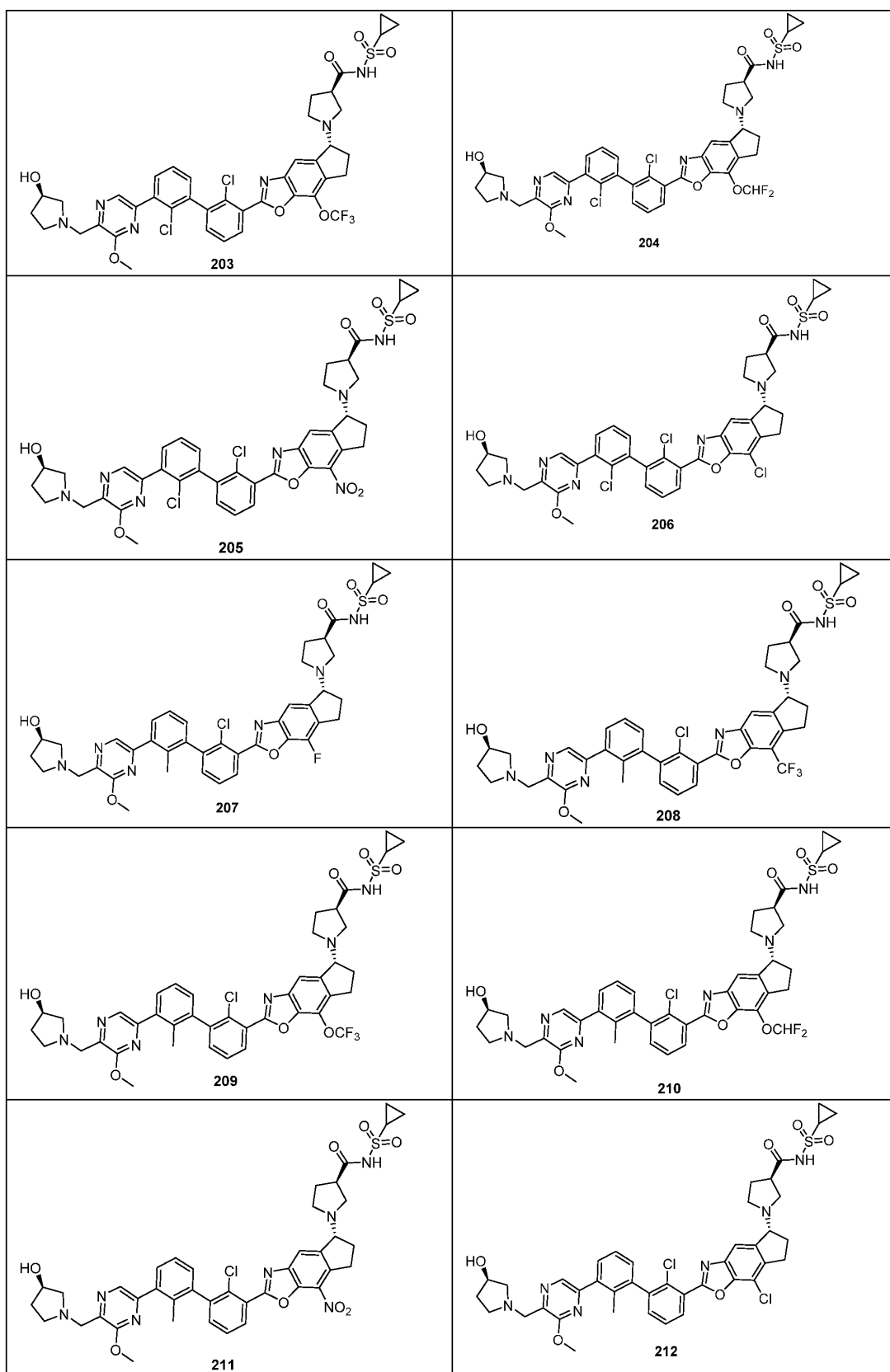


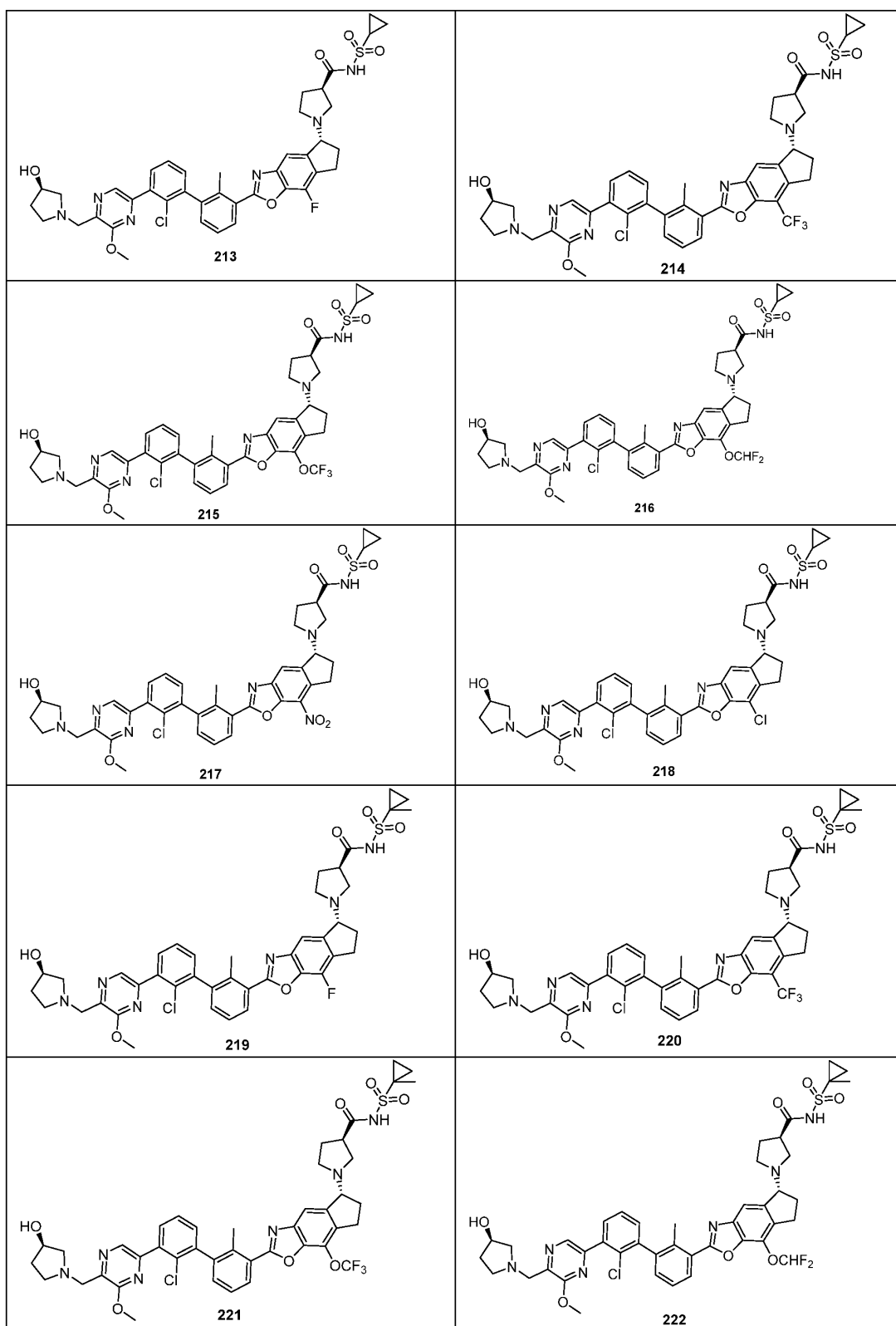


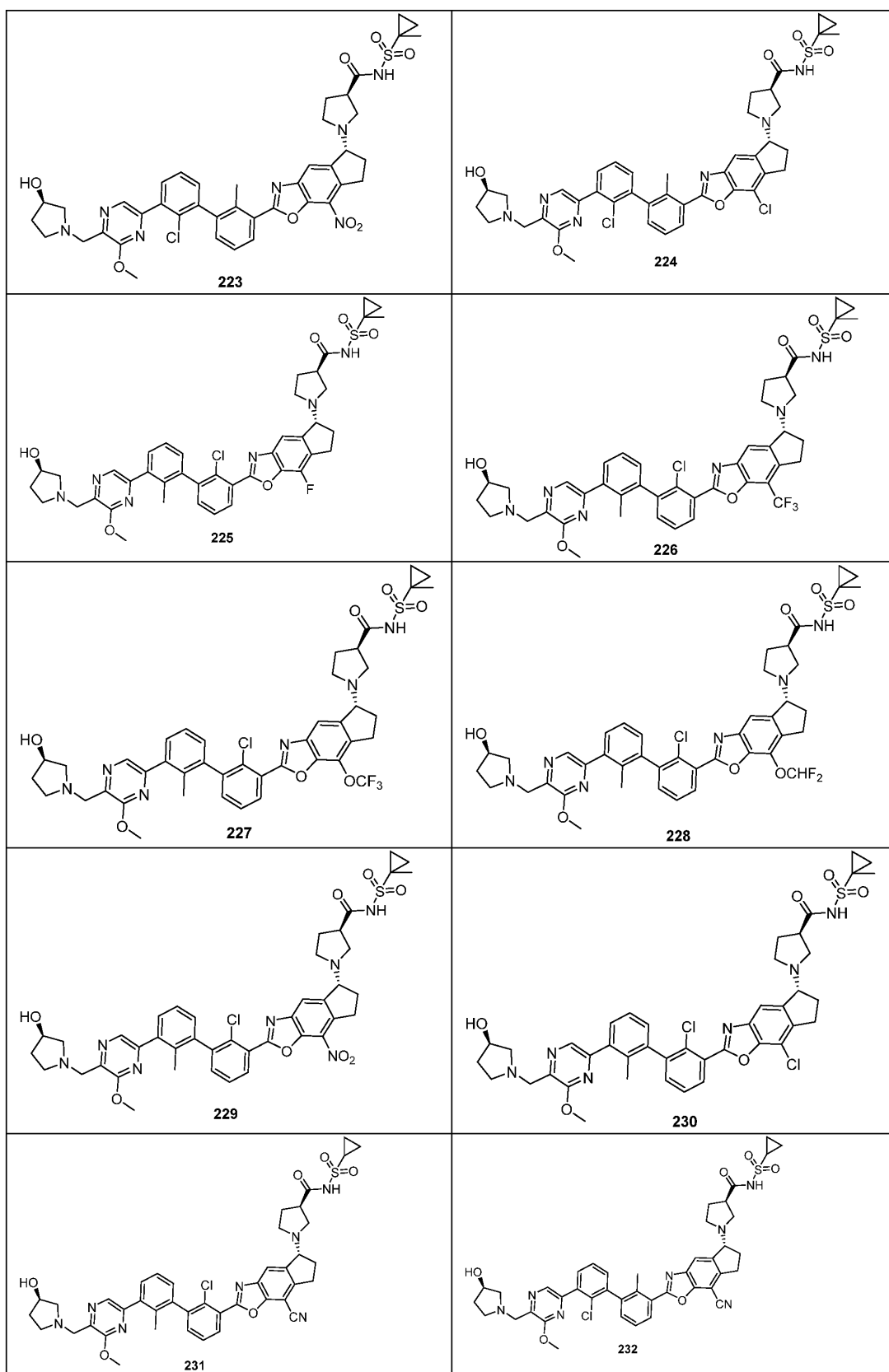


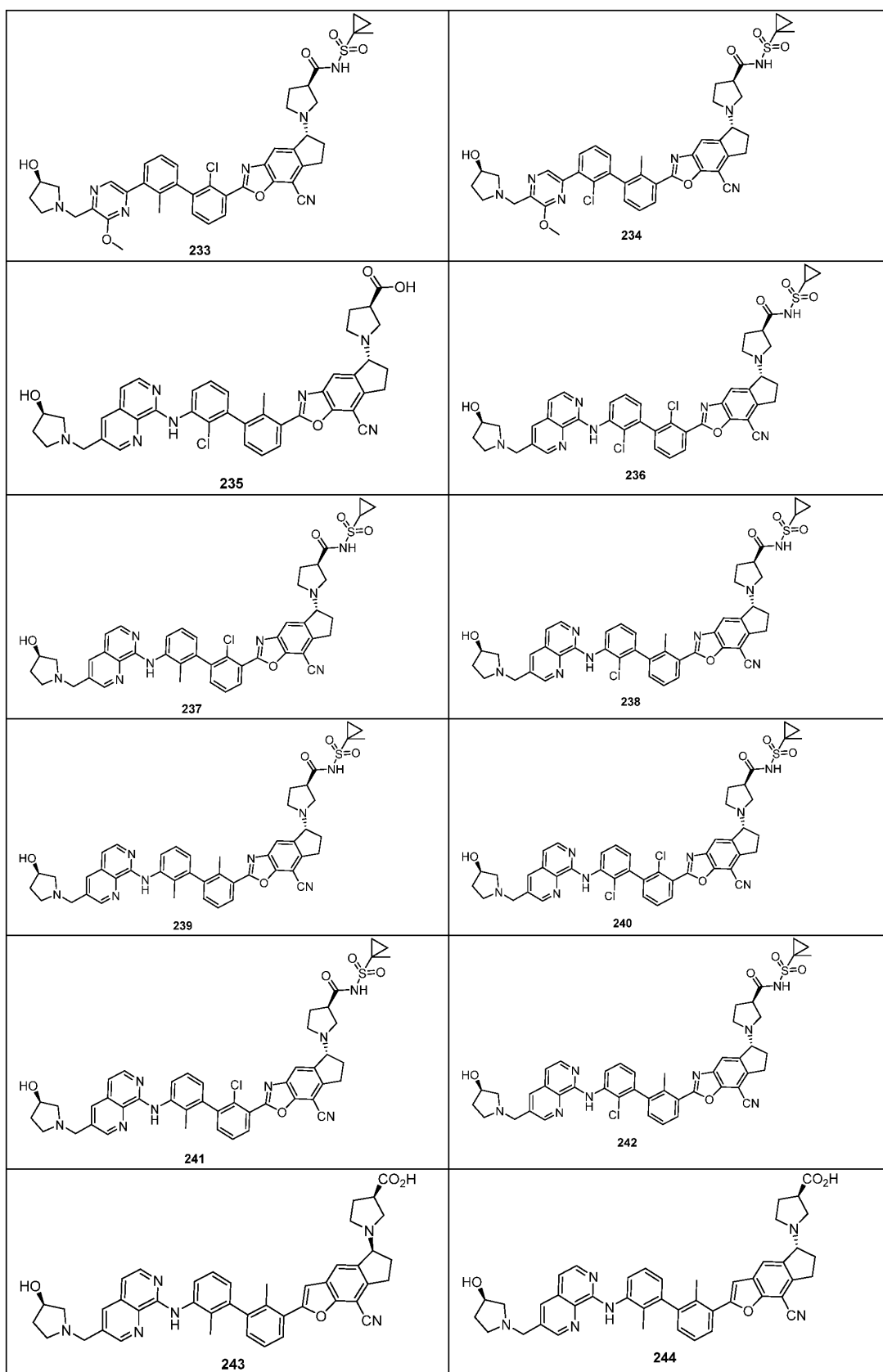


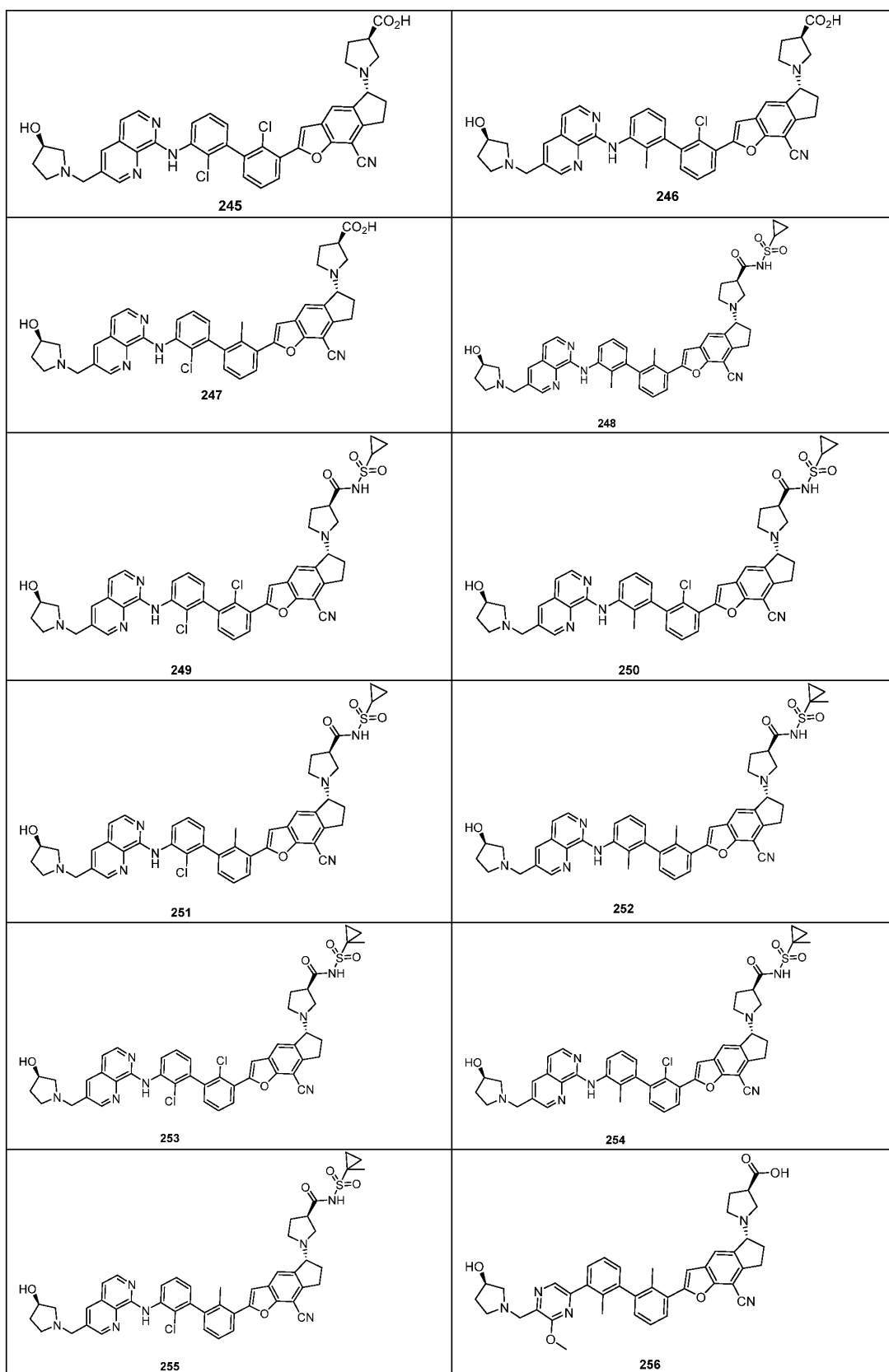


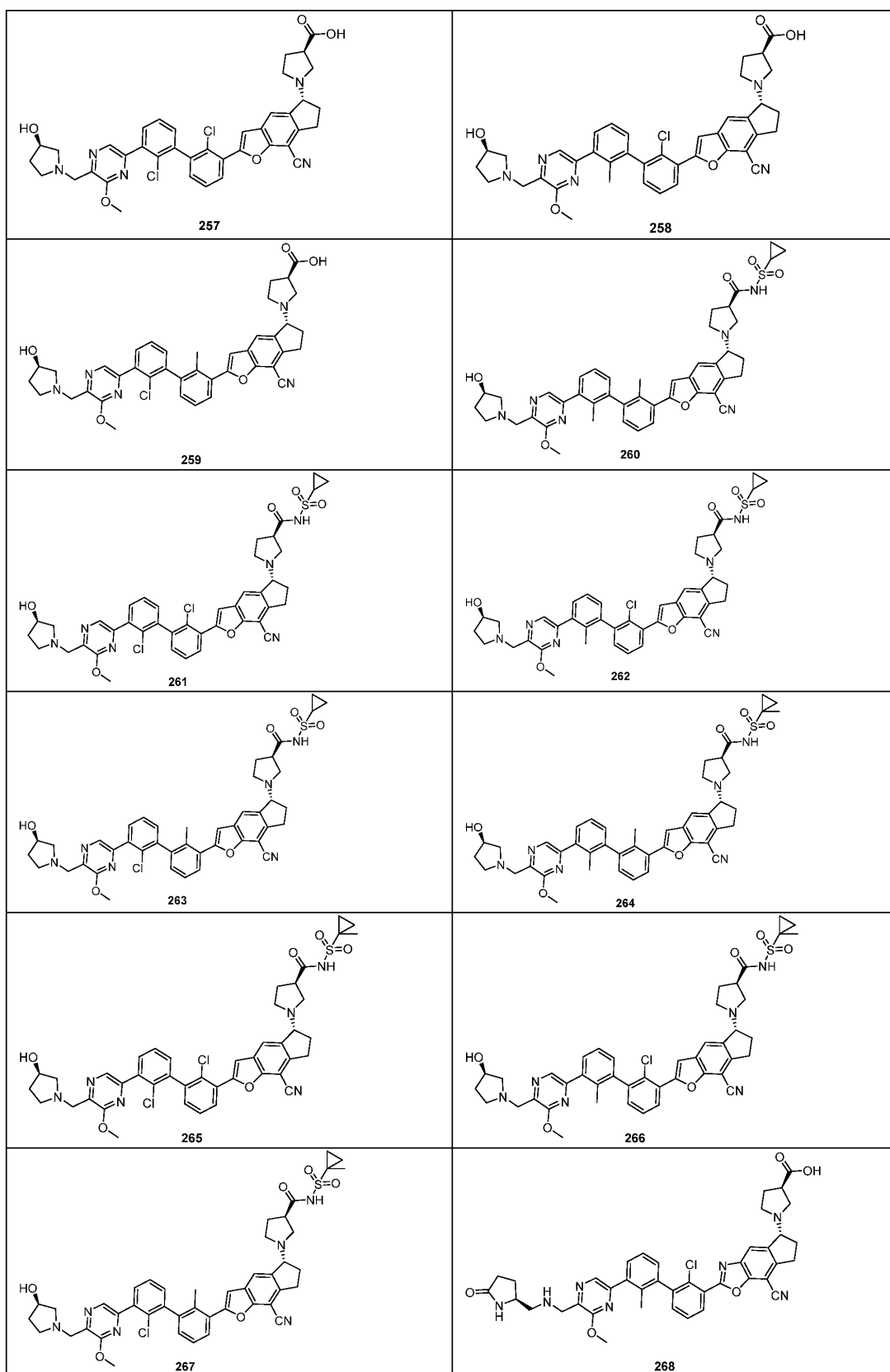


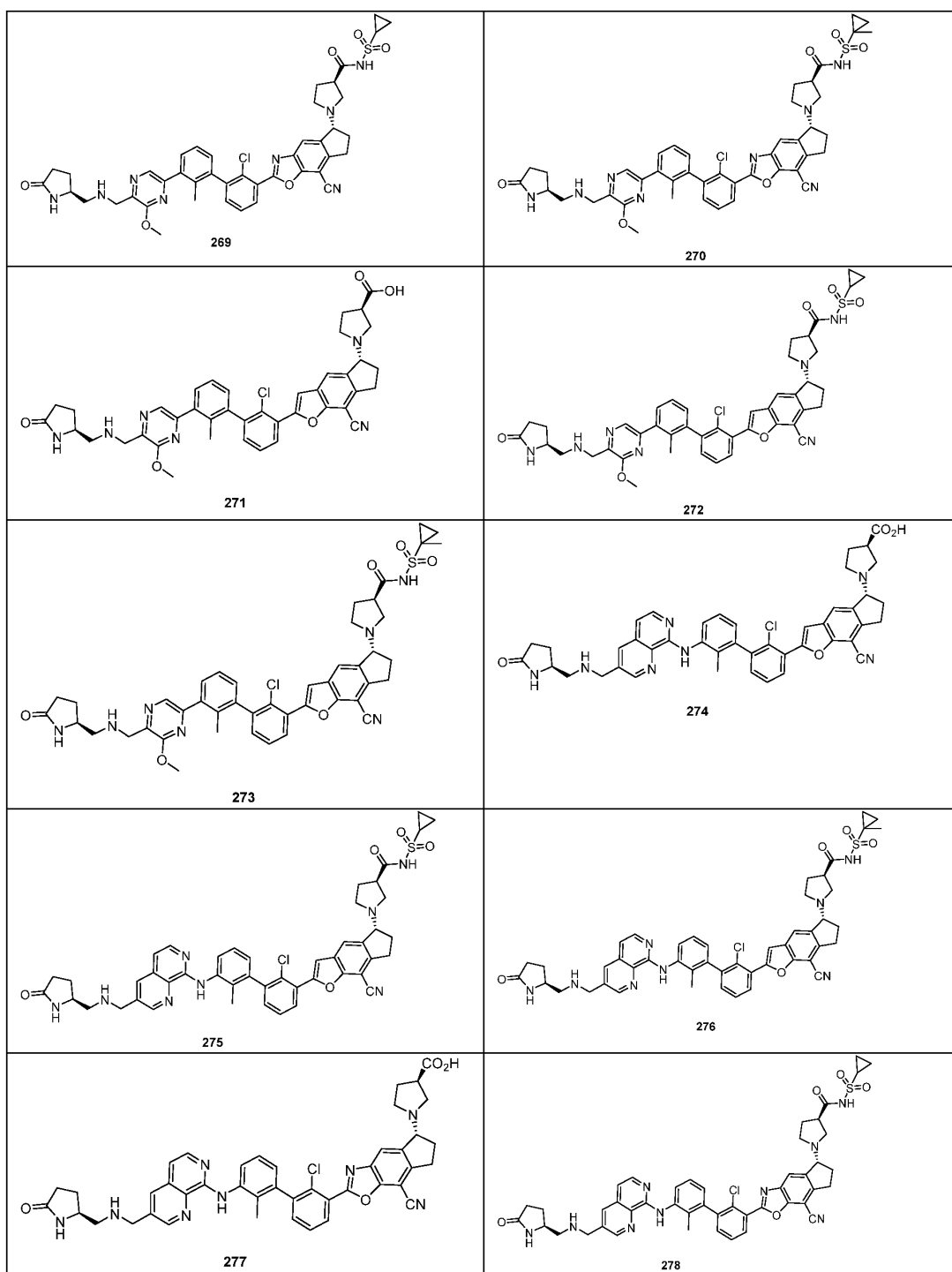


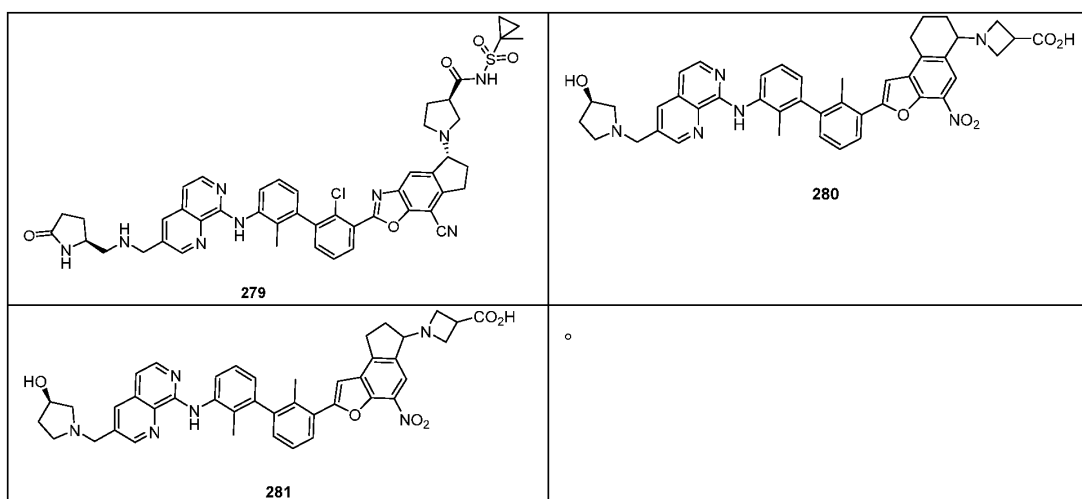






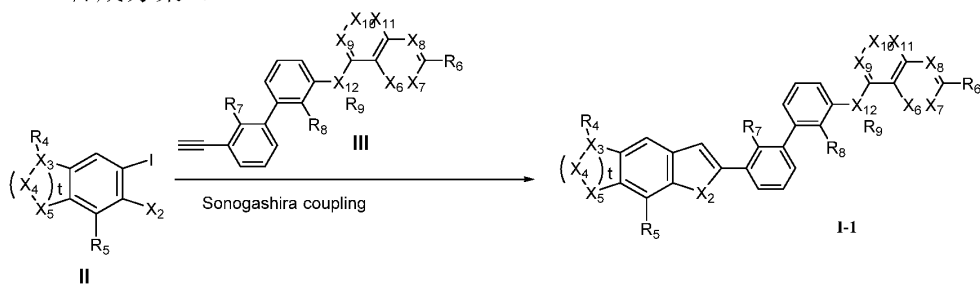






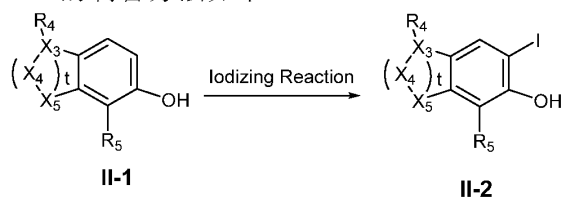
本发明的第二方面，提供了一种如本发明第一方面所述的式I化合物的制备方法，其特征在于，所述的方法包括选自合成方案1、2或3所示的步骤：

合成方案1:



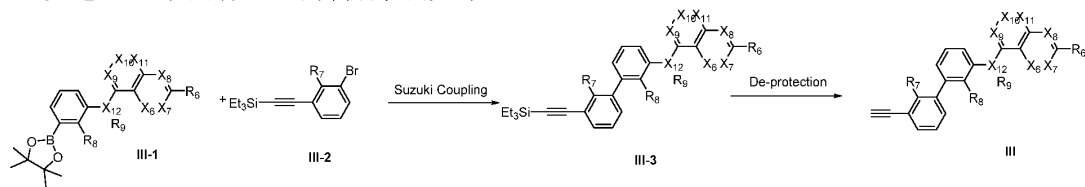
(a)以中间体**II**和**III**为原料，通过钯催化剂催化的Sonogashira偶联反应得到目标产物**I-1**；

优选地，中间体II-2的制备方法如下：



10 (a)以II-1为原料，在路易斯酸催化下，发生卤代反应，得到中间体II-2；

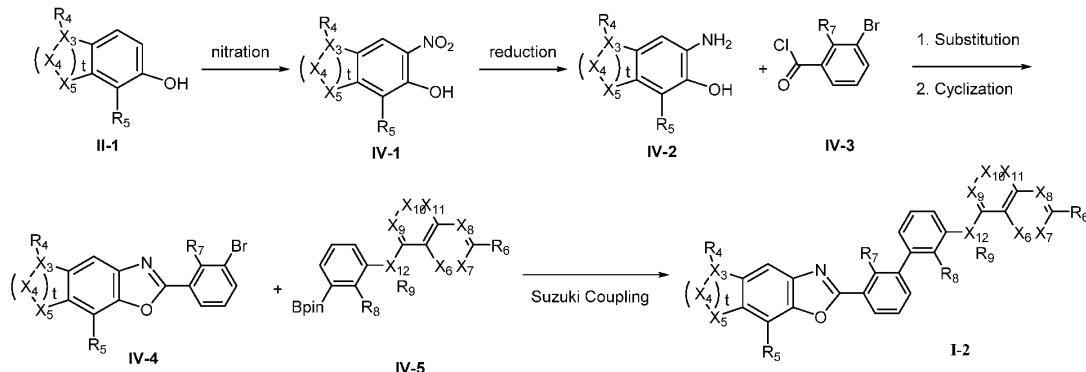
优选地，中间体III的制备方法如下：



(a) 以化合物**III-1**和**III-2**为原料, 在钯催化剂和配体的条件下, 发生偶联反应(如 Suzuki, Buchwald等), 得到中间体**III-3**;

(b)以III-3为原料,使用合适的试剂,移除硅基保护基,得到中间体III;

合成方案2:



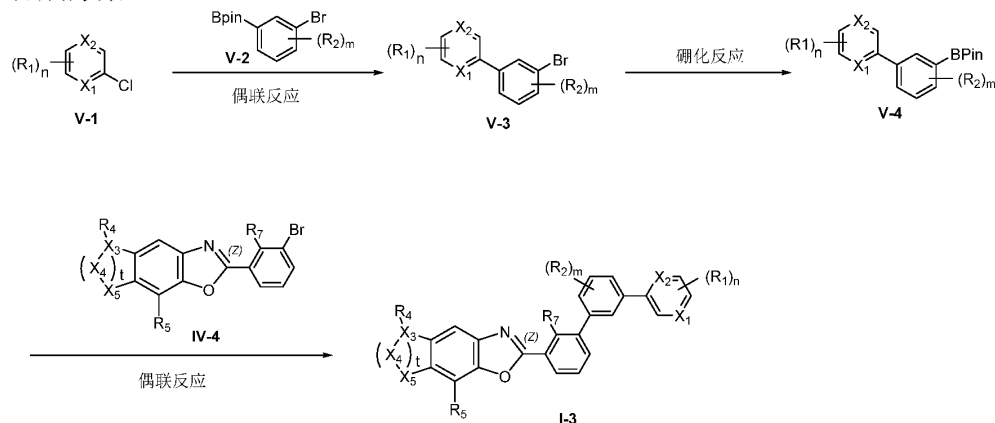
5 (a)以化合物II-1为原料,与硝化剂反应(如浓硫酸/ NaNO_3 ,浓硫酸/发烟硝酸等),形成中间体IV-1;

(b)以IV-1为原料,在还原条件下($\text{Pd-C}/\text{H}_2$; 锌粉/氯化铵; 铁粉/醋酸等),发生还原反应,形成中间体IV-2;

10 (c)以IV-2和IV-3为原料,在碱性条件下,发生亲和取代反应得到酰胺中间体;而后在合适的脱水试剂(如 PPh_3/DDQ),发生环化反应,得到中间体IV-4;

(d)以IV-4和IV-5为原料,在催化剂和配体的条件下,发生偶联反应,形成中间体I-2;

合成方案3:



15 (a)以V-1和V-2为原料,在催化剂和配体的条件下,发生偶联反应,形成中间体V-3;

(d)以IV-4和合适的硼源(如 B_2Pin_2)为原料,在催化剂和配体的条件下,发生偶联反应,形成中间体V-4;

20 (d)以V-4和IV-4为原料,在催化剂和配体的条件下,发生偶联反应,形成目标产物I-3;

上述 $\text{X}_1 - \text{X}_{12}$ 、 $\text{R}_1 - \text{R}_9$ 、 t 、 m 、 n 的定义如前所述。

本发明的第三方面,提供了一种药物组合物,包含(1)如本发明第一方面所述的化合物或其立体异构体或互变异构体,或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物;(2)药学上

可接受的载体。

本发明的第四方面，提供了一种如本发明第一方面所述的化合物或其立体异构体或互变异构体，或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物或如本发明第三方面所述的药物组合物的用途，其特征在于，用于制备预防和/或治疗与PD-1/PD-L1的活性或表达量相关的疾病(HBV、HCV、实体瘤、血液瘤等)的药物组合物。

本发明的第五方面，提供了一种PD-1/PD-L1调节剂，所述调节剂包含本发明第一方面所述的化合物、或其立体异构体或互变异构体、或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。

在另一优选例中，所述的药物组合物被用于治疗选自下组的疾病：癌症、感染性疾病、自身免疫性疾病。

在另一优选例中，所述的癌症选自下组：胰腺癌，膀胱癌，结肠直肠癌，乳腺癌，前列腺癌，肾癌，肝细胞癌，肺癌，卵巢癌，宫颈癌，胃癌，食道癌，黑色素瘤，神经内分泌瘤，中枢神经系统瘤，脑瘤，骨瘤，软组织肉瘤，非小细胞肺癌癌症，小细胞肺癌或结肠癌、皮肤癌、肺癌、泌尿系肿瘤、血液肿瘤、胶质瘤、消化系统肿瘤、生殖系统肿瘤、淋巴瘤、神经系统肿瘤、脑瘤、头颈癌。

在另一优选例中，所述癌症选自下组：急性淋巴细胞白血病(ALL)，急性髓性白血病(AML)，慢性淋巴细胞白血病(CLL)，小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)，骨髓增生异常综合征(MDS)，骨髓增生性肿瘤(MPD)，慢性粒细胞白血病(CML)，多发性骨髓瘤(MM)，非霍奇金淋巴瘤(NHL)，套细胞淋巴瘤(MCL)，滤泡性淋巴瘤，Waldenström巨球蛋白血症(WM)，T细胞淋巴瘤，B细胞淋巴瘤或弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)。

在另一优选例中，所述的感染性疾病选自细菌感染、病毒感染。

在另一优选例中，所述的自身免疫性疾病选自器官特异性自身免疫病、系统性自身免疫病。

在另一优选例中，所述的器官特异性自身免疫病包括慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症、急性特发性多神经炎。

在另一优选例中，所述的系统性自身免疫病包括类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、系统性血管炎、硬皮病、天疱疮、皮炎、混合性结缔组织病、自身免疫性溶血性贫血。

在另一优选例中，所述的药物组合物还用于改善慢性乙型肝炎(CHB)患者T细胞功能。

在另一优选例中，所述的抑制剂还包括至少一种选自下组的治疗剂：纳武单抗，派姆单抗，atezolizumab，或伊匹单抗。

本发明的第六方面，提供了一种体内调节PD-1/PD-L1相互作用的方法，其特征在于，包括步骤：将本发明第一方面所述的化合物、或其立体异构体或互变异构体、或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物与PD-L1蛋白接触。

具体实施方式

本发明人经过广泛而深入的研究，发现了一类具有优异的调节效果的PD-1/PD-L1相互作用调节剂。在此基础上，发明人完成了本发明。

定义

如本文所用，术语“烷基”包括直链或支链的烷基。例如C₁-C₈烷基表示具有1-8个碳原子的直链或支链的烷基，例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基等。

- 5 如本文所用，术语“烯基”包括直链或支链的烯基。例如C₂-C₆烯基指具有2-6个碳原子的直链或支链的烯基，例如乙烯基、烯丙基、1-丙烯基、异丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、或类似基团。

如本文所用，术语“炔基”包括直链或支链的炔基。例如C₂-C₆炔基是指具有2-6个碳原子的直链或支链的炔基，例如乙炔基、丙炔基、丁炔基、或类似基团。

- 10 如本文所用，术语“C₃-C₁₀环烷基”指具有3-10个碳原子的环烷基。其可以是单环，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、或类似基团。也可以是双环形式，例如桥环或螺环形式。

- 如本文所用，术语“C₁-C₈烷胺基”是指被C₁-C₈烷基所取代的胺基，可以是单取代或双取代的；例如，甲胺基、乙胺基、丙胺基、异丙胺基、丁胺基、异丁胺基、叔丁胺基、二甲胺基、二乙胺基、二丙胺基、二异丙胺基、二丁胺基、二异丁胺基、二叔丁胺基等。

- 15 如本文所用，术语“C₁-C₈烷氧基”是指具有1-8个碳原子的直链或支链的烷氧基；例如，甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基等。

- 如本文所用，术语“具有1-3个选自下组N、S和O的杂原子的3-10元杂环烷基”是指具有3-10个原子的且其中1-3个原子为选自下组N、S和O的杂原子的饱和或部分饱和的环状基团。其可以是单环，也可以是双环形式，例如桥环或螺环形式。具体的实例可以为氧杂环丁烷、氮杂环丁烷、四氢-2H-吡喃基、哌啶基、四氢呋喃基、吗啉基和吡咯烷基等。

如本文所用，术语“C₆-C₁₀芳基”是指具有6-10个碳原子的芳基，例如，苯基或萘基等类似基团。

- 如本文所用，术语“具有1-3个选自下组N、S和O的杂原子的5-10元杂芳基”指具有5-10个原子的且其中1-3个原子为选自下组N、S和O的杂原子的环状芳香基团。其可以是单环，也可以是稠环形式。具体的实例可以为吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、(1,2,3)-三唑基以及(1,2,4)-三唑基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异恶唑基、噻唑基、恶唑基等。

- 30 本发明所述的基团除非特别说明是“取代的或未取代的”，否则本发明的基团均可被选自下组的取代基所取代：卤素、腈基、硝基、羟基、氨基、C₁-C₆烷基-胺基、C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆烷氧基、卤代C₁-C₆烷基、卤代C₂-C₆烯基、卤代C₂-C₆炔基、卤代C₁-C₆烷氧基、烯丙基、苄基、C₆-C₁₂芳基、C₁-C₆烷氧基-C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基-羰基、苯氧羰基、C₂-C₆炔基-羰基、C₂-C₆烯基-羰基、C₃-C₆环烷基-羰基、C₁-C₆烷基-磺酰基等。

- 35 如本文所用，“卤素”或“卤原子”指F、Cl、Br、和I。更佳地，卤素或卤原子选自F、Cl和Br。“卤代的”是指被选自F、Cl、Br、和I的原子所取代。

除非特别说明，本发明所描述的结构式意在包括所有的同分异构形式(如对映异构，非对映异构和几何异构体(或构象异构体))：例如含有不对称中心的R、S构型，双键的(Z)、(E)异构体等。因此，本发明化合物的单个立体化学异构体或其对映异构体、非对映异构

体或几何异构体(或构象异构体)的混合物都属于本发明的范围。

除非特别说明,本发明所描述的结构式意在包括所有可能的氘代衍生物(即,分子中的一个或多个氢原子被D取代)。

如本文所用,术语“互变异构体”表示具有不同能量的结构同分异构体可以超过低能垒,从而互相转化。比如,质子互变异构体(即质子移变)包括通过质子迁移进行互变,如1H-吡啶与2H-吡啶。化合价互变异构体包括通过一些成键电子重组而进行互变。

如本文所用,术语“溶剂合物”是指本发明化合物与溶剂分子配位形成特定比例的配合物。

如本文所用,术语“水合物”是指本发明化合物与水进行配位形成的配合物。

10

活性成分

如本文所用,“本发明化合物”指式I所示的化合物,并且还包括及式I化合物的各种晶型形式、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

优选的本发明化合物包括化合物1-360(包括各化合物的各类R构型和/或S构型的立体异构体,和/或E-/Z-的顺反异构体)。

在另一优选例中,所述的药用盐包括与无机酸、有机酸、碱金属离子、碱土金属离子或能提供生理上可接受的阳离子的有机碱结合形成的盐以及铵盐。

在另一优选例中,所述的无机酸选自盐酸、氢溴酸、磷酸或硫酸;所述的有机酸选自甲磺酸、对甲苯磺酸、三氟乙酸、枸橼酸、马来酸酒石酸、富马酸、柠檬酸或乳酸;所述的碱金属离子选自锂离子、钠离子、钾离子;所述的碱土金属离子选自钙离子、镁离子;所述的能提供生理上可接受的阳离子的有机碱选自甲胺、二甲胺、三甲胺、吡啶、吗啉或三(2-羟乙基)胺。

在本发明范围内的所有这些盐都可采用常规方法制备。在所述的通式I化合物及其溶剂化物和其盐的制备过程中,不同的结晶条件可能出现多晶或共晶。

本发明制备方法中的起始原料及中间体容易得到,各步反应可依据已报道的文献或对本领域熟练技术人员来说可以用有机合成中的常规方法很容易合成。通式I所述化合物可以溶剂化物或非溶剂化物的形式存在,利用不同的溶剂进行结晶可能得到不同的溶剂化物。

药物组合物和施用方法

由于本发明化合物具有优异的PD-1/PD-L1相互作用的调节活性,因此本发明化合物及其各种晶型,药学上可接受的无机或有机盐,水合物或溶剂合物,以及含有本发明化合物为主要活性成分的药物组合物可用于预防和/或治疗(稳定、减轻或治愈)PD-1/PD-L1相互作用相关疾病(例如,癌症、感染性疾病、自身免疫性疾病)。

本发明的药物组合物包含安全有效量范围内的本发明化合物及药学上可以接受的赋形剂或载体。其中“安全有效量”指的是:化合物的量足以明显改善病情,而不至于产生严重的副作用。通常,药物组合物含有1-2000mg本发明化合物/剂,更佳地,含有10-200mg本发明化合物/剂。较佳地,所述的“一剂”为一个胶囊或药片。

“药学上可接受的载体”指的是:一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质,它们

适合于人使用,而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此指的是组合物中各组份能和本发明化合物以及它们之间相互掺和,而不明显降低化合物的药效。药学上可以接受的载体部分例子有纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等)、明胶、滑石、固体润滑剂(如硬脂酸、硬脂酸镁)、硫酸钙、植物油(如豆油、芝麻油、花生油、橄榄油等)、多元醇(如丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇等)、乳化剂(如吐温®)、润湿剂(如十二烷基硫酸钠)、着色剂、调味剂、稳定剂、抗氧化剂、防腐剂、无热原水等。

本发明化合物或药物组合物的施用方式没有特别限制,代表性的施用方式包括(但不限于):口服、肠胃外(静脉内、肌肉内或皮下)。

- 10 用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中,活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂(或载体)混合,如柠檬酸钠或磷酸二钙,或与下述成分混合:(a) 填料或增容剂,例如,淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸;(b) 粘合剂,例如,羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶;(c) 保湿剂,例如,甘油;(d) 崩解剂,例如,琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠;(e) 缓溶剂,例如石蜡;(f) 吸收加速剂,例如,季胺化合物;(g) 润湿剂,例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;(h) 吸附剂,例如,高岭土;和(i) 润滑剂,例如,滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠,或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中,剂型也可包含缓冲剂。
- 15

- 20 固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备,如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂,并且,这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时,活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

- 25 用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酏剂。除了活性化合物外,液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂,如水或其它溶剂,增溶剂和乳化剂,例如,乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油,特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物等。

除了这些惰性稀释剂外,组合物也可包含助剂,如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料。

- 30 除了活性化合物外,悬浮液可包含悬浮剂,例如,乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物等。

用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液,和用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水和非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

- 35 本发明化合物可以单独给药,或者与其他药学上可接受的化合物(例如其他抗癌制剂)联合给药。

联合给药时,所述药物组合物还包括与一种或多种(2种,3种,4种,或更多种)其他药学上可接受的化合物。该其他药学上可接受的化合物中的一种或多种(2种,3种,4种,或更多种)可与本发明的化合物同时、分开或顺序地用于预防和/或治疗PD-1/PD-L1相互作用

用相关疾病。

使用药物组合物时，是将安全有效量的本发明化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人)，其中施用时剂量为药学上认为的有效给药剂量，对于60kg体重的人而言，日给药剂量通常为1~2000mg，优选20~500mg。当然，具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素，这些都是熟练医师技能范围之内的。

本发明的主要优点包括：

(1) 本发明化合物对PD-1/PD-L1相互作用具有很高的调节活性，与PD-L1蛋白具有很强的结合能力，并具有解除PD-L1抑制IFN γ 的能力。

10 (2) 本发明的化合物具有更好的溶解性较好；对正常细胞的毒性非常低，因而可以在较大的剂量范围内应用于治疗对象。

(3) 相较于现有技术的化合物，本发明的化合物具有更好的溶解性，因此具有良好的成药性，相较于现有化合物而言，本发明化合物在体内实验之中表现出良好的生物利用度，除此之外，相较于现有化合物，本发明的化合物极易制成药学上可接受的盐，因而有助于进一步形成制剂。

15 (4) 体内药效研究表明，本发明化合物无论从肿瘤体积还是重量上，都可显著的抑制皮下肿瘤的生长，并可明显增加小鼠血液中、脾脏中各淋巴细胞数量。

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数是重量百分比和重量份数。

以下实施例中所用的实验材料和试剂如无特别说明均可从市售渠道获得。

通用材料及测试方法：

25 实施例中涉及到的仪器及原料说明如下：

核磁共振氢谱是Bruker AV-400(400MHz)核磁仪分析得到。

化学位移以四甲基硅烷为内标来记录，以ppm为单位来表示(CDC1₃: δ 7.26ppm)。记录的数据信息如下:化学位移及其裂分和偶合常数(s:单重峰; d: 双重峰; t: 三重峰; q: 四重峰; br: 宽峰; m: 多重峰)。

30 质谱数据除其他需要，都采用菲尼根高级LCQ公司(Finnigan LCQ Advantage) 的液质联用仪进行分析，所有反应都在干燥氩气保护的无水无氧条件下进行操作。固体金属有机化合物在氩气保护干燥箱中进行储藏。

四氢呋喃和乙醚是经过蒸馏得到，蒸馏时在其中加入金属钠和二苯甲酮。二氯甲烷，戊烷和己烷是用氢化钙来处理。

35 本发明中涉及的特殊原料和中间体由天津长森药业有限公司等订制加工提供，其他所有化学试剂从上海化学试剂公司、阿尔得里奇公司(Aldrich)、阿克罗公司(Acros)等试剂供应商购买。如合成过程中反应所需的中间体或产物不够下一步试验，则重复多次合成至足够数量为止。

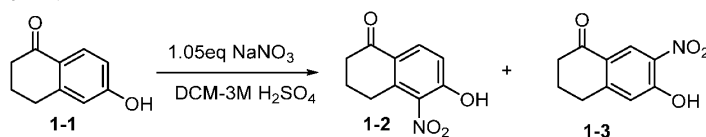
本发明所涉及的原料和试剂除特殊说明外均可市售或订制加工购买得到。

本发明中化合物可含有一个或多个不对称中心，因此该系列化合物可为消旋或者单一对映体形式。本发明所制备的化合物是纯度高于95%的杂环化合物，每个最终产物的结构表征分别由MS或/和氢谱核磁共振(^1H NMR)分析确定。以下通过实施例说明本发明各类化合物和中间体的合成。

5

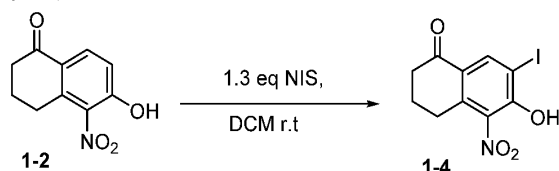
实施例1 化合物001的合成

步骤1-1:



1.3 克1-1 溶于DCM-3M H_2SO_4 (1:1)200 ML中，冰浴，5 度下0.71 g 硝酸钠加入到反应体系中，氮气保护，室温反应过夜。TLC 点板 显示1-1消失，LCMS分析得知产物生成。柱层析纯化得产物1-2 600 mg，MS-APCI: 208 $[\text{M}+\text{H}]^+$ and 1-3 300 mg，MS-APCI: 208 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤1-2:

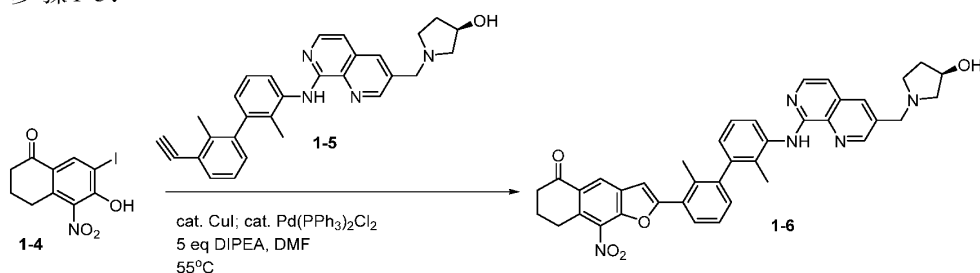


15

将4.5克化合物1-2 溶于200 毫升DCM (于500毫升单口烧瓶中)，加入6.3克 NIS，氩气保护。室温反应过夜。TLC点板 1-2 反应完全。反应液加2M HCl 100 mL，分液，干燥。旋干过柱(Hep-DCM 1: 1, then DCM)纯化得到6 g 产物，淡黄色固体。MS-APCI: 334 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

20

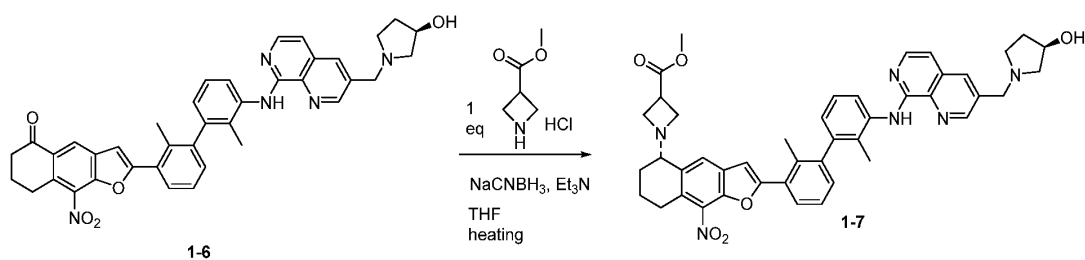
步骤1-3:



在50毫升三口瓶中加入945 毫克化合物1-4, 636毫克化合物1-5, 25毫克CuI和25毫克 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ ，氩气保护，加入20毫升DMF和1.2毫升DIPEA，55°C反应3小时。TLC 点板原料消失。反应液加入到300毫升冰水中，乙酸乙酯300毫升萃取两次，2M NaOH 洗涤一次，干燥旋干。过柱(DCM-MeOH 10:1)纯化，得到220 mg 浅黄色固体。MS-APCI: 654 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

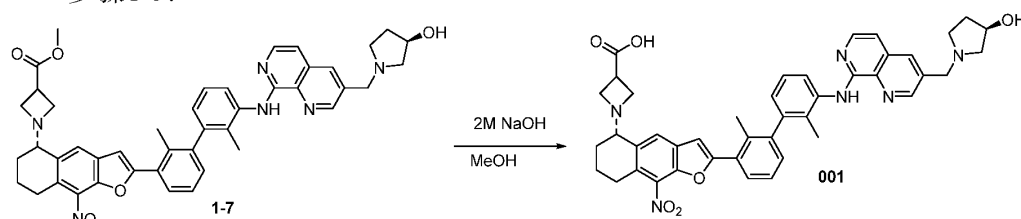
25

步骤1-4:



将215毫克化合物1-6, 248毫克methyl azetidine-3-carboxylate hydrochloride, 125毫克Na(CN)BH₃ 溶于10毫升THF中, 氩气保护, 加入167毫克三乙胺, 70°C反应24小时。反应液加入到100毫升冰水中, EA 100毫升萃取两次, 干燥。过柱(DCM-MeOH 100,50:1,10:1,5:1)纯化, 得到53 mg 浅黄色固体1-7, MS-APCI: 753 [M+H]⁺。

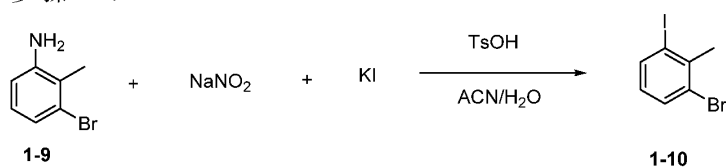
步骤1-5:



将53毫克原料1-7溶于5毫升MeOH, 加入2毫升2M NaOH, 26度反应 5 小时。反应液40度旋干, 残留固体加入50毫升水, 2M HCl调节PH 值为7, 滤出固体, 水洗, THF洗, 干燥, 进一步制备纯化得黄色固体5毫克。MS-APCI: 739 [M+H]⁺

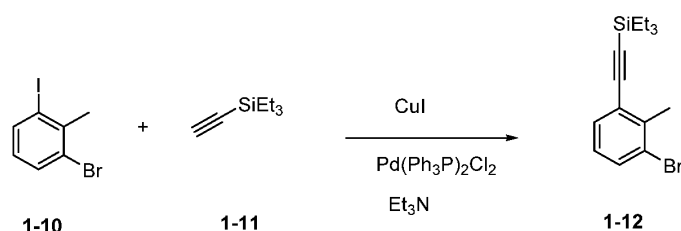
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.34 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.34 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.44 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.35 – 7.25 (m, 3H), 7.19 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.52 (m, 1H), 4.75 (brs, 1H), 4.20 (brs, 1H), 3.84-3.74 (m, 2H), 3.37-2.83 (m, 3H), 2.66-2.28 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.18-2.06 (m, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.96-1.58 (m, 5H), 1.43 (m, 1H)。

步骤1-6:



取氨基原料1-9(30克) 溶于乙腈-Water(1:1)400 毫升中, 氮气保护, 体系清澈, 冰浴, 在内温0~5度下加入对甲苯磺酸水合物(901克), 搅拌10分钟, 体系呈粉色浑浊, 内温0~5度下滴加 NaNO₂水溶液 (22克, 45毫升)。反应30分钟, 体系清澈; 避光, 0~5度下滴加碘化钾水溶液(67克, 60毫升), 自然升至室温下反应; TLC 跟踪; 后处理: 冰浴下加入饱和亚硫酸钠淬灭, HEP萃取, 饱和食盐水洗1次, 拌样, 过柱: HEP冲下产品, 浓缩得黄棕色液体46.9克, 收率: 98.1%。MS-APCI: 296 [M+H]⁺。

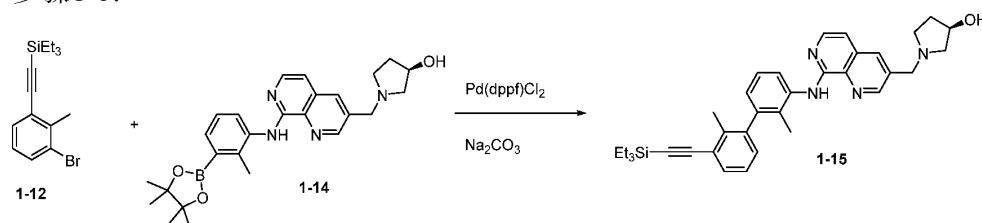
步骤1-7:

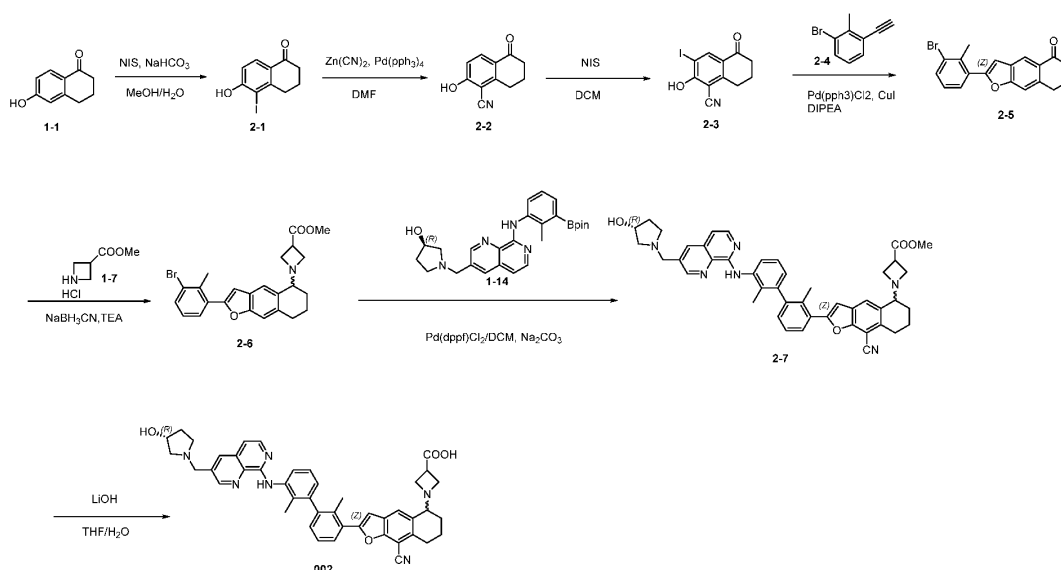


取碘原料1-10(1克), CuI (0.03克), Pd(Ph₃P)₂Cl₂ (0.12 克)加入50毫升反应瓶中, 氮气置换3次, 加入无水DMF(20毫升), 体系呈红褐色清澈; 加入三乙胺 (1.7克), 体系呈棕黄色清澈; 氮气置换3次, 避光, 加入炔原料1-11 (0.52克), 室温下反应;

- 5 TLC 跟踪; 后处理: 冰浴下加入饱和氯化铵淬灭, MTBE萃取2次, 饱和食盐水洗5次, 拌样, 过柱: HEP冲下产品, 浓缩得黄棕色液体1.03克, 收率: 95%。MS-APCI: 309 [M+H]⁺。

步骤1-8:





步骤2-1:

- 取**1-1**(1.1g), 碳酸氢钠(0.57g)加入100mL三口瓶, 加入甲醇(25mL)和水(5mL)溶解, 冰浴降温至5℃。缓慢加入NIS(1.52g), 全部加入后自然升温, 过夜反应。TLC检测原料反应完全。旋干甲醇, 加入1M盐酸调节至pH<3, 大量白色固体析出。过滤, 滤饼固体加入到0.5M盐酸(100 mL)中搅拌30分钟, 再次过滤, 所得滤饼固体用EA溶解, 柱层析, 得淡黄/白色固体产物, 0.7 g. MS-APCI: 289 [M+H]⁺

步骤2-2:

- 100 mL两口瓶中, 将**2-1**(1.5 g)溶于DMF (20 mL), 加入Zn(CN)₂ (1.3 g), Pd(PPh₃)₄ (1.2 g), N₂保护, 105度反应1h, TLC点板原料反应完全。冷却后反应液加EA/HEP稀释, 过滤。滤液饱和NaCl洗, EA萃取。过柱纯化, 得到纯品0.9 g, 黄色固体。MS-APCI: 188 [M+H]⁺

步骤2-3:

- 25 mL两口瓶中, 将**2-2** (1.5 g) 悬浮于DCM (20 mL) 中, 室温下加入NIS (2.0 g), 反应10分钟, TLC点板原料消失。反应液加饱和NaHCO₃, 水相调pH=2, DCM萃取3次, DCM层用10% Na₂S₂O₃洗, 干燥, 旋干得到1.9 g产物, 棕色固体。MS-APCI: 314 [M+H]⁺

步骤2-4:

- 15mL反应管中, 将**2-3** (1.6 g), **2-4** (1.3g, WO2018195321), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (350 mg), CuI (50 mg), DIPEA (3 g, 6.5 mmol)溶于DMF (8 mL), N₂保护, 85度反应2h。TLC检测原料消失。反应完全后, 往反应液加水/ DCM萃取。干燥, 旋干。剩余物用EA/HEP (20 mL, 1:1)打浆。所得固体过柱纯化, 纯DCM洗脱, 得到800 mg 产物, 黄色固体。MS-APCI: 355 [M+H]⁺

步骤2-5:

- 15mL反应管中, 将**2-5** (150 mg), **1-7** (135 mg), NaBH₃CN (39 mg), TEA (83 mg)加入到THF (5 mL) 中, 70度反应5h。TLC检测**1-6**消失。反应液旋干, 加水EA萃取。干燥EA, 旋干, 过柱纯化, 得到纯品**1-8**(120 mg), 黄色固体。MS-APCI: 454 [M+H]⁺

步骤2-6:

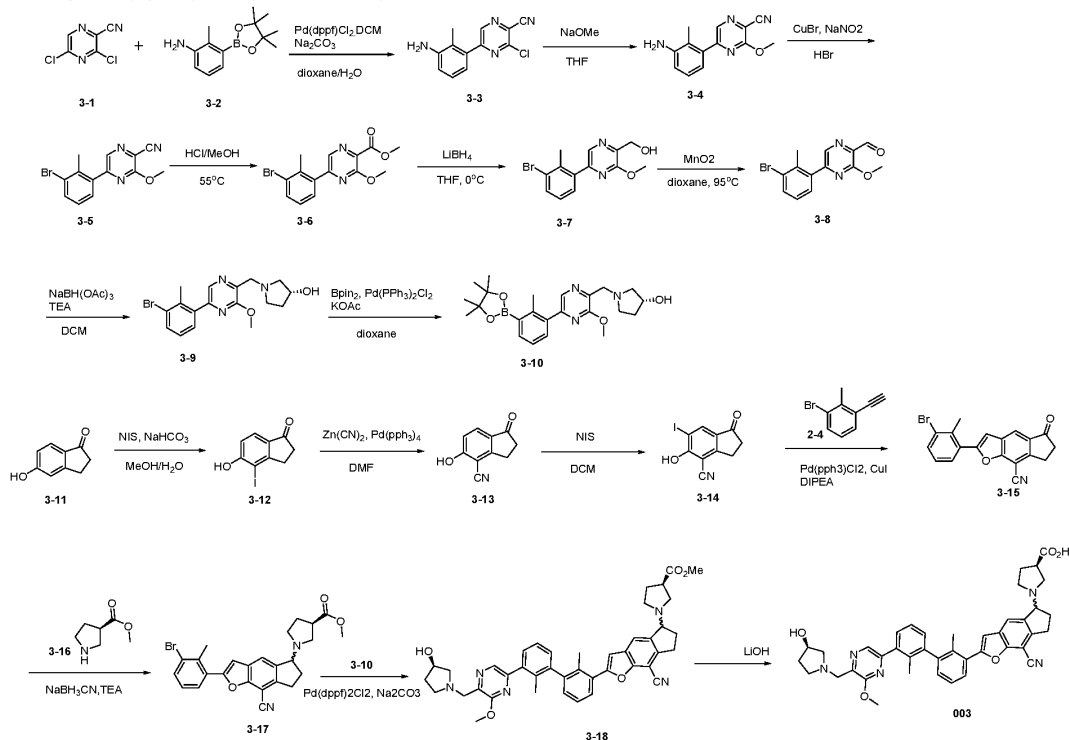
将化合物**2-6** (100 mg), **1-14** (100 mg, *WO2018119286*), Pd(dppf)Cl₂/DCM (16.7 mg), Na₂CO₃ (57.2 mg) 置于反应瓶, N₂脱气保护, 3 mL dioxane/0.6 mL水注入反应瓶中, 90度反应1小时。TLC点板反应完成。反应液加2mL水, EA萃取。干燥EA, 旋干, 过柱纯化, 得到产物80 mg, 黄色固体。MS-APCI: 733 [M+H]⁺

5 步骤2-7:

将 **2-7** (80 mg)溶于2mL THF, 加入2mL 水, 加热LiOH (7.8 mg),室温反应1 h。TLC检测反应完成。反应液40度旋干, 加2M HCl调节PH 值为7, 虑出固体, 水洗, 干燥, 进一步制备纯化得黄色固体50 mg。MS-APCI: 719 [M+H]⁺

1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.30 (s, 1H), 8.84 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.43 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.16 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.04 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.81 (dd, J = 7.9, 1.3 Hz, 1H), 7.46 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.32 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 7.26 (dd, J = 7.6, 1.3 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 4.69 (s, 1H), 4.20 (s, 1H), 3.88 – 3.71 (m, 2H), 3.50 – 3.39 (m, 11H), 3.19 – 2.79 (m, 3H), 2.76 – 2.58 (m, 2H), 2.40 – 2.28 (m, 1H), 2.22 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.00 (dq, J = 14.1, 7.4 Hz, 1H), 1.87 (d, J = 12.8 Hz, 1H), 1.71 (s, 1H), 1.57 (t, J = 13.0 Hz, 2H).

实施例3 化合物003的合成



步骤3-1:

20 将化合物**3-1** (40 g, 230.7 mmol), **3-2** (58.5 g, 230.7 mmol, *WO2012031004*), Pd(dppf)Cl₂/DCM (10.2 g, 0.05eq), Na₂CO₃ (53 g, 2 eq)依次加入到dioxane/H₂O (300 mL, 5:1)中, 脱气3次, N₂保护, 80度反应1小时, TLC显示反应完成。反应液过滤, 滤液旋干。加EA溶解, 往EA中加入500 mL饱和食盐水。分液。干燥EA层, 旋干。所得固体用EA/HEP(200 mL, 1:3)打浆, 过滤, 得到40g黄色固体。

步骤3-2:

3-3 (66 g, 249 mmol)溶于500 mL THF, 冷至0度, 滴加甲醇钠溶液(50 mL, 5N in MeOH)。滴完后0度反应30分钟。0度下, 往反应液中滴加4N HCl/MeOH至pH=7。旋走THF。剩余物用1L DCM溶解, 加入2L水洗, 分液。干燥DCM层。旋干。所得固体用

5 EA/HEP(200 mL, 1:3)打浆, 过滤, 得到60g黄色固体。

步骤3-3:

3L反应瓶, 机械搅拌, CuBr(45.4 g, 316.5 mmol)加入到HBr(500 mL)中, 冷至0度备用。而后将化合物**3-4**(55 g, 211 mmol)悬浮在HBr(500 mL)中, 冷至0度, 滴加NaNO₂(17.5 g, 253 mmol)(溶于50 mL水中)水溶液。产生棕色烟雾。滴加完后, 10 搅拌30分钟。将化合物**3-4**的HBr溶液一次性倒入到CuBr的HBr溶液中, 反应液黑色, 产生大量气泡。继续搅拌1h后, TLC监控SM1消失, 产物点生成。反应液中加入2L水, 再加入2L EtOAc, 搅拌, 固体溶解, 分液。EA层干燥, 旋干, 过柱纯化(EA:DCM:HEP=1:1:4), 得到产物45g, 黄色固体。

步骤3-4:

15 化合物**3-5**(15 g)悬浮于HCl/MeOH(250 mL, 4N)中(闷罐反应瓶), 60度加热反应过夜。反应液变澄清。TLC检测**5**反应完全。反应液冷至室温后, 黄色固体析出。将反应液旋干, 剩余固体中加入饱和碳酸氢钠(300 mL), 加EA(200 mL x 3)萃取。干燥EA层, 旋干。所得固体用EA/HEP(240 mL, 1:5)打浆。过滤, 滤饼固体旋干, 得到产物12 g, 黄色固体。

20 步骤3-5:

化合物**3-6**(31 g, 86.7 mmol)溶于无水THF(300 mL), 冷至0度, 分批加入LiBH₄(2.1 g, 95.4 mmol), 0度下反应1 h。TLC检测反应完成。反应液过滤。滤饼用DCM冲洗。滤液旋干。所得固体中加300mL水, EA(200 mL X 3)萃取。干燥EA层, 旋干, 所得固体用EA/HEP(240 mL, 1:5)打浆。过滤, 滤饼固体旋干, 得到产物24g,

25 黄色固体。

步骤3-6:

将化合物**3-7**(32 g, 97.5 mmol)溶于dioxane(500 mL), 加入MnO₂(51 g, 585.4 mmol), N₂脱气保护, 95度下反应5 h。TLC检测反应完成。反应液过滤, 滤液旋干。所得固体用EA/HEP(180 mL, 1:5)打浆。过滤, 滤饼固体旋干, 得到产物24g,

30 黄色固体。

步骤3-7:

将化合物**3-8**(22 g, 67.5 mmol), R-3-羟基吡咯烷盐酸盐(16.6 g, 135 mmol), TEA(20.5 g, 202.5 mmol)加入到DCM(300 mL)中, 室温反应1小时后加入NaBH(OAc)₃(21.5 g, 101.25 mmol), 继续反应1小时。TLC检测反应完成。后处理: 35 反应液加水(300 mL), 分液, DCM层用饱和食盐水洗。分液, 干燥DCM, 旋干, 过柱纯化(DCM:MeOH=40:1), 得到15.3g产品, 棕色油状物。

步骤3-8:

40 化合物**3-9**(2.0 g, 5 mmol), Bpin2(6.37 g, 25.1 mmol), Pd(PPh₃)₂Cl₂(352 mg, 0.5 mmol), KOAc(984.6 mg, 10 mmol)加入到dioxane(40 mL)中, 脱气3次, N₂保护, 90度反应过夜。反应完全后, 过滤。滤液旋干。加30mL DCM溶解后加入50g硅胶拌样。过硅胶柱纯化, 洗脱梯度: EA=100%(500 mL), EA:MeOH=40:1(2050 mL)。得到产物900 mg棕色油状物。

步骤3-9:

将原料**3-11** (51 g, 0.34 mol)溶于500ml甲醇中, 加入300ml水, 加入碳酸氢钠 (28.9 g, 0.34 mmol), 0℃左右加入NIS的甲醇溶液, 加完反应过夜。后处理: 浓缩干加入500ml水, 3M盐酸调节PH至3, 滤出固体, 乙酸乙酯/乙醇打浆, 滤出干燥得灰色固体146g。

步骤3-10:

将原料**3-12** (61 g, 230 mmol)、ZnCN₂ (27 g, 230 mmol), Pd(PPh₃)₄ (12.8 g, 11 mmol), 混合于1000mL三口瓶中, 加入1000 mL DMF, N₂置换3次, 90℃下搅拌3 h。TLC点板显示原料少量剩余, LCMS显示原料反应完全。

步骤3-11:

25 mL两口瓶中, 将**3-13** (15 g) 悬浮于DCM (20 mL) 中, 室温下加入NIS (20 g), 反应10分钟, TLC点板原料消失。反应液加饱和NaHCO₃, 水相调pH=2, DCM萃取3次, DCM层用10% Na₂S₂O₃洗, 干燥, 旋干得到19 g产物, 棕色固体。

步骤3-12:

15 mL反应管中, 将**3-14** (16 g), **2-4** (1.3g, WO2018195321), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (3.5 g), CuI (500 mg), DIPEA (30 g, 65 mmol)溶于DMF (100 mL), N₂保护, 85度反应2h。TLC检测原料消失。反应完全后, 往反应液加水/ DCM萃取。干燥, 旋干。剩余物用EA/HEP (20 mL, 1:1)打浆。所得固体过柱纯化, 纯DCM洗脱, 得到8 g黄色固体。

步骤3-13:

20 mL反应管中, 将**3-15** (150 mg), **3-16** (135 mg), NaBH₃CN (39 mg), TEA (83 mg) 加入到THF (5 mL) 中, 70度反应5h。TLC检测**1-6**消失。反应液旋干, 加水EA萃取。干燥EA, 旋干, 过柱纯化, 得到100 mg黄色固体。

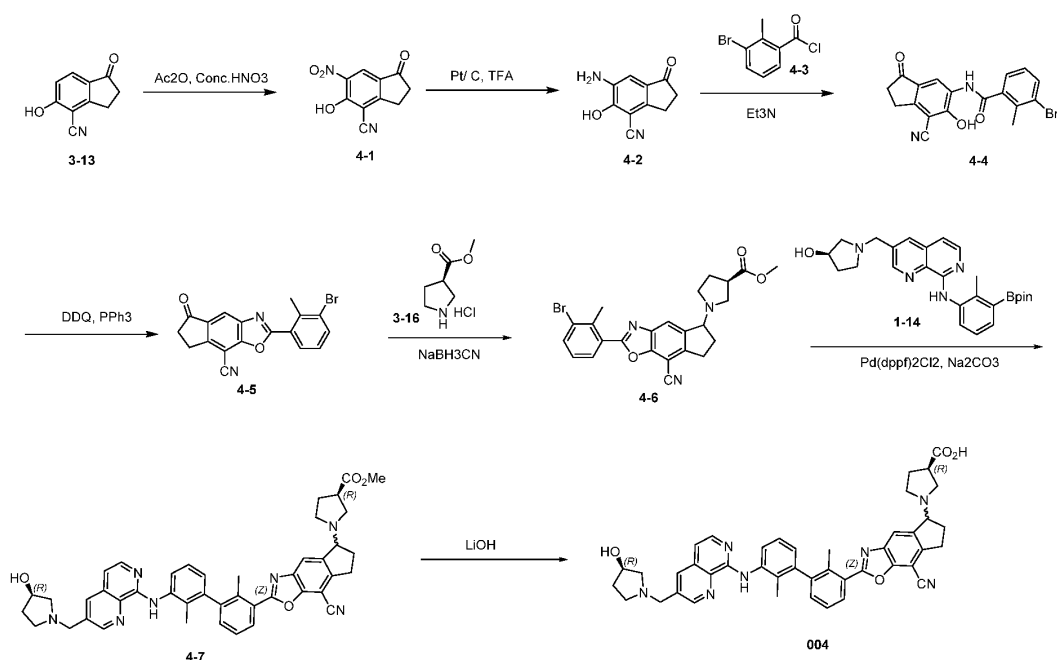
步骤3-14:

25 以化合物**3-17** (200 mg)和**3-10** (180 mg)为原料, 按照步骤2-6的合成方法, 得到产物120 mg黄色固体

步骤3-15:

30 以化合物**3-18** (120 mg)为原料, 按照步骤2-7的合成方法, 得到产物40 mg黄色固体。MS (APCI): 684. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.32 (s, 1H), 7.87 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.45 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.40 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.27 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 5.29 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 4.65 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 4.29 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 4.15 (s, 1H), 3.99 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.71 (d, J = 4.3 Hz, 2H), 2.79 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 2.68 – 2.60 (m, 4H), 2.40 (dd, J = 9.7, 4.0 Hz, 1H), 2.30 (q, J = 1.9 Hz, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.04 (s, 35 3H), 1.96 (d, J = 7.0 Hz, 2H).

实施例4 化合物004的合成



步骤4-1:

于250 ml 单口瓶中加入醋酸酐(75 ml), 浓硝酸(5 ml), 分批加入原料**3-13** (5.0 g, 28.9 mmol), 水浴下搅拌, 20min后, 有沉淀形成, TLC点板监测, 反应完毕, 滤出沉淀, 抽干, 打浆, 拉干得白色固体**4-5**。

步骤4-2:

于500 ml 单口瓶中加入THF(200 ml), 原料**4-1** (5.0 g, 23 mmol)和TFA (0.2 mL), Pt/C, H₂置换3次, 在室温下搅拌, 反应1小时后, TLC点板监测, 原料反应完毕, 滤出Pt/C, 滤液直接用于下一步。

步骤4-3:

上述滤液**4-2** (10.0 g, 45.8 mmol)的THF溶液中加入180mmol Et₃N, 将**3-6** (10.74 g, 46 mmol, *Organic Letters*, 2019, 21, 5971-5976)用15ml DCM溶解, 缓慢加入其中, 室温下反应1 hour, 出现大量浑浊, 滤出固体, 乙酸乙酯打浆纯化得18 g 灰白色固体。

步骤4-4:

室温下将PPh₃(9.7 g, 37 mmol)溶于甲苯, 缓慢加入DDQ(8.4 g, 37 mmol)搅拌均匀, 此时体系悬浊, 加入原料**4-4**(7.1 g, 18.5 mmol), 于110℃下反应1hour, TLC点板, 产物主要, 倒出清液, 浓缩干, EA打浆, 得白色固体3.7g。

步骤4-5:

以化合物**4-5** (1 g, 2.72 mmol)和**3-16** (902 mg, 5.45 mmol)为原料, 按照步骤3-13的合成方法, 制得白色固体0.8 g。

步骤4-6:

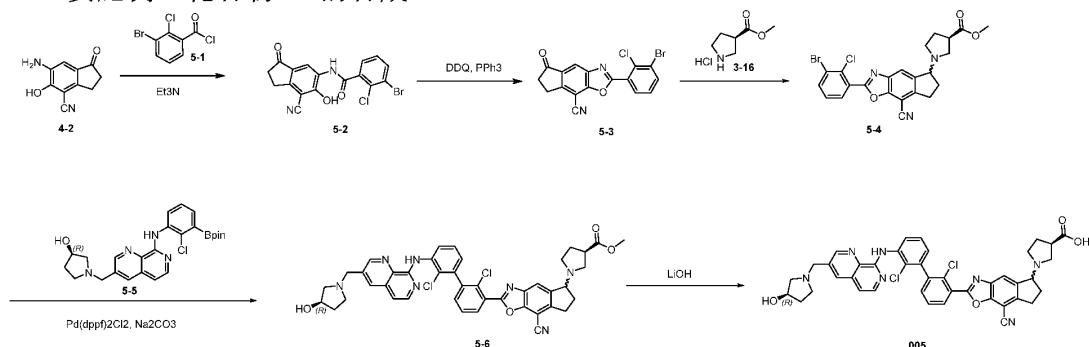
以化合物**4-6** (200 mg, 0.416 mmol)和**1-14** (230 mg, 0.5 mmol, WO2018119286)为原料, 按照步骤2-6的合成方法, 制得白色固体180 mg。

步骤4-7:

以化合物**4-7** (120 mg)为原料, 按照步骤2-7的合成方法, 得到产物38 mg黄色固体。MS (APCI): 720. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.30 (s, 1H), 8.83 (d, J = 2.0 Hz,

1H), 8.45 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.15 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 7.52 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.33 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.38 – 4.26 (m, 1H), 4.24 – 4.14 (m, 1H), 3.78 (q, $J = 13.7$ Hz, 2H), 3.24 – 3.15 (m, 2H), 3.08 – 2.99 (m, 2H), 2.93 – 2.76 (m, 2H), 2.76 – 2.64 (m, 2H), 2.63 – 2.54 (m, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.35 (dd, $J = 9.7, 3.6$ Hz, 1H), 2.25 – 2.16 (m, 2H), 2.10 – 2.05 (m, 3H), 2.00 (dt, $J = 13.5, 7.3$ Hz, 1H), 1.95 – 1.87 (m, 2H), 1.59 – 1.50 (m, 1H).

实施例5 化合物005的合成



步骤5-1:

以化合物4-2(10 g, 45.8 mmol)和5-1(11.6 g, 45.8 mmol, WO2017059135)为原料, 按照步骤4-3的合成方法, 得到灰白色固体15 g。

步骤5-2:

15 以化合物5-2(2 g)为原料, 按照步骤4-4的合成方法, 制备得到灰白色固体1.1 g。
MS (APCI): 387 [M+H]⁺

步骤5-3:

以化合物5-3(1 g, 2.58 mmol)和化合物3-16(0.85 g, 5.16 mmol)为原料, 按照步骤3-13的合成方法, 制备得到灰白色固体0.9 g。MS (APCI): 500 [M+H]⁺

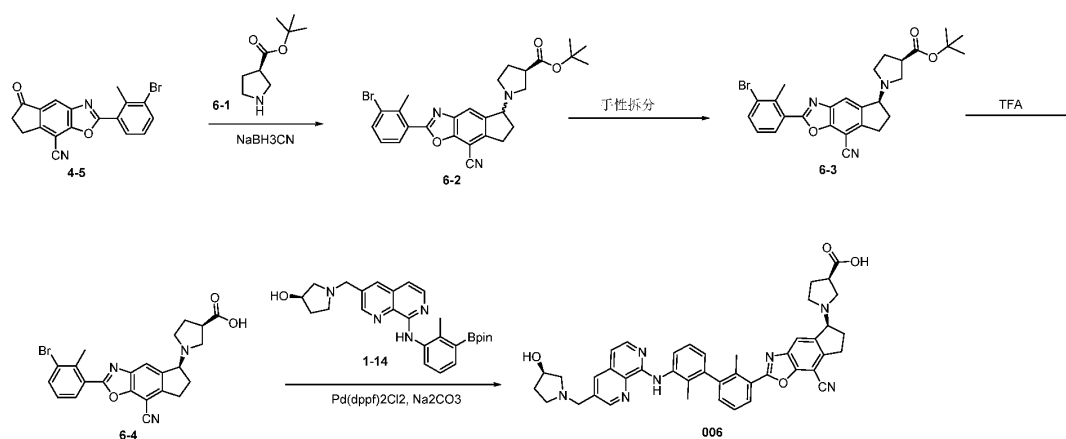
步骤5-4:

20 以化合物5-4(200 mg)和5-5(200 mg, WO2018119286)为原料, 按照步骤2-6的合成方法, 制得白色固体210 mg。

步骤5-5:

25 以化合物5-6 (120 mg)为原料, 按照步骤2-7的合成方法, 得到产物51 mg黄色固体。MS (APCI): 760. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.89 (s, 1H), 9.15 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.28 – 8.15 (m, 2H), 8.07 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.60 – 7.49 (m, 2H), 7.34 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.31 (s, 1H), 4.73 (s, 2H), 4.35 (dt, $J = 20.7, 5.9$ Hz, 2H), 4.20 (s, 1H), 3.93 (s, 1H), 3.89 – 3.72 (m, 2H), 2.87 (dd, $J = 17.0, 9.6$ Hz, 2H), 2.75 – 2.55 (m, 2H), 2.40 – 2.29 (m, 2H), 2.16 – 1.85 (m, 30 4H), 1.56 (s, 2H), 1.22 (s, 4H), 0.84 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H).

实施例6 化合物006的合成



步骤6-1:

以化合物**4-5**(10 g, 0.0272 mol)和**6-1**(9.3 g, 0.0544 mol, *WO2018136935*)为原料,
5 按照步骤3-13的合成方法, 制得白色固体8 g。

步骤6-2:

将化合物**6-2**(8 g)进行手性柱拆分, 得到化合物**6-3**(3.5 g)。

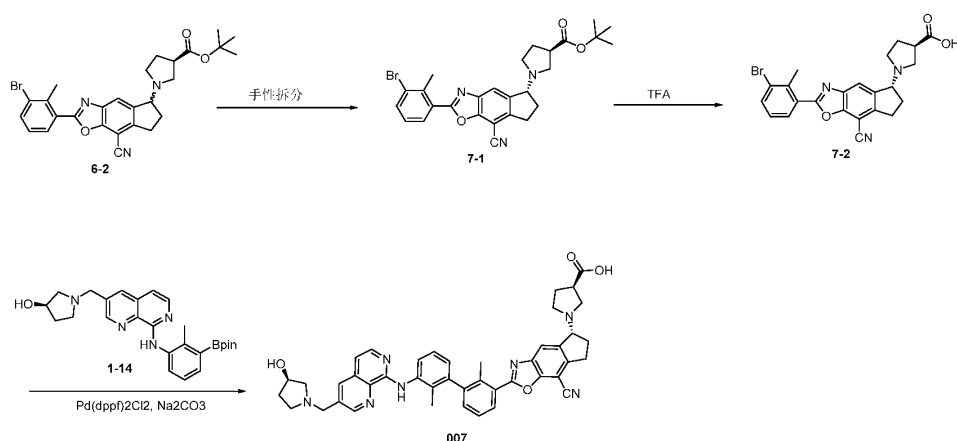
步骤6-3:

将化合物**6-3**(3.5 g)溶于TFA(10 mL)中, 而后室温搅拌1小时。悬于TFA, 甲苯共
10 沸一次。往残留液中加入饱和碳酸氢钠溶液和浓盐酸, 调节PH至2-3, 出现大量固体, 过滤, 烘干, 得淡棕色固体2 g。

步骤6-3:

以化合物**6-4** (200 mg, 0.416 mmol) 和**1-14** (230 mg, 0.5 mmol, *WO2018119286*)为
原料, 按照步骤2-6的合成方法, 制得白色固体32 mg。MS (APCI): 720. ¹H NMR
15 (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.32 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.47 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.18 (s, 1H),
8.15 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.43 (d, J =
7.6 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.18 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 4.32 (d, J =
5.8 Hz, 1H), 4.22 (tt, J = 6.9, 3.4 Hz, 1H), 3.81 (q, J = 13.7 Hz, 3H), 3.07 (q, J = 9.3, 8.0
Hz, 3H), 2.89 (s, 2H), 2.83 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 2.74 (dd, J = 10.0, 6.3 Hz, 2H), 2.63 (dq, J
20 = 15.1, 7.5 Hz, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.37 (dd, J = 9.7, 3.6 Hz, 2H), 2.24 (q, J = 6.8 Hz, 2H),
2.09 (s, 3H), 2.01 (dt, J = 13.7, 6.8 Hz, 2H), 1.92 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 1.57 (d, J = 3.7 Hz,
2H)

实施例7 化合物007的合成



步骤6-2:

将化合物**6-2**(8 g)进行手性柱拆分, 得到化合物**7-1**(4 g)。

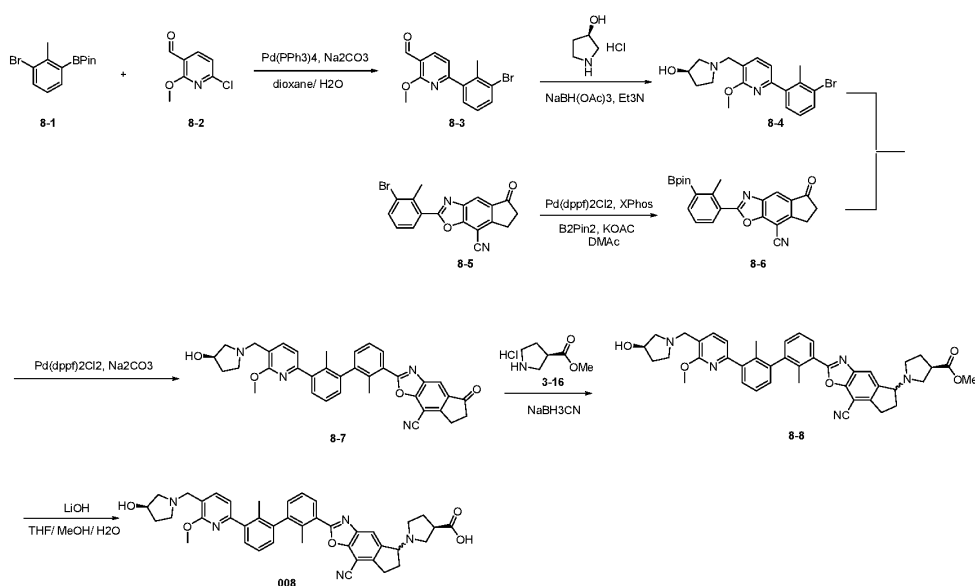
步骤6-3:

- 5 将化合物**7-1**(4 g)溶于TFA(10 mL)中, 而后室温搅拌1小时。悬干TFA, 甲苯共沸一次。往残留液中加入饱和碳酸氢钠溶液和浓盐酸, 调节PH至2-3, 出现大量固体, 过滤, 烘干, 得淡棕色固体3.2 g。

步骤6-3:

- 以化合物**7-2** (200 mg, 0.416 mmol)和**1-14** (230 mg, 0.5 mmol, WO2018119286)为原料, 按照步骤2-6的合成方法, 制得白色固体30 mg。MS (APCI): 720. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.32 (s, 1H), 8.86 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.46 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.15 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.55 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 4.36 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.21 (dt, J = 6.9, 3.4 Hz, 1H), 3.81 (q, J = 13.8 Hz, 2H), 3.12-3.01 (m, 3H), 2.89 (p, J = 7.5 Hz, 2H), 2.79 (s, 1H), 2.75 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 2.72 (dd, J = 6.3, 3.4 Hz, 1H), 2.62 (dt, J = 12.3, 7.5 Hz, 4H), 2.46 (s, 3H), 2.37 (dd, J = 9.7, 3.6 Hz, 1H), 2.22 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.08 (s, 2H), 2.00 (dd, J = 11.0, 4.9 Hz, 2H), 1.94 (dd, J = 8.9, 6.0 Hz, 2H), 1.57 (qd, J = 8.2, 3.8 Hz, 2H)。

20 实施例8 化合物008的合成



步骤8-1:

- 将化合物**8-1**(1.9 g, 6.41 mmol, WO2016207226), **8-2**(1.1 g, 6.41 mmol, WO2018006795), 碳酸钠(1.36 g, 12.82 mmol)和四三苯基膦钯(222 mg, 0.19 mmol)依次加入装有dioxane/H₂O(4:1, 25 mL)的单口瓶中, 氮气保护, 于油浴80度下搅拌3小时, LC-MS检测反应。原料剩余约10%后, 将反应冷却, 过滤, 悬干, DCM/H₂O萃取, 无水硫酸钠干燥, 柱层析(纯PE过柱), 得淡黄色固体650 mg。ESI (APCI): 306 [M+H]⁺。

步骤8-2:

- 将化合物**8-3**(200 mg, 0.653 mmol), R-3-羟基吡咯烷盐酸盐(121 mg, 0.98 mmol)和三乙胺(0.09 mL, 0.653 mmol)依次加入装有DCM(10 mL)的单口瓶中, 室温搅拌2小时后, 往反应液中加入NaBH(OAc)₃(415 mg, 1.96 mmol), 室温搅拌过夜, TLC检测反应。反应完全后, 加水淬灭, 卤水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 柱层析, 得200 mg油状物。ESI (APCI): 377 [M+H]⁺。

步骤8-3:

- 将化合物**8-5**(1 g, 2.72 mmol), B₂Pin₂(1.04 g, 4.08 mmol), KOAc(668 mg, 6.81 mmol), X-phos(258 mg, 0.544 mmol)和Pd(dppf)₂Cl₂(221 mg, 0.272 mmol)依次加入装有DMAc(20 mL)的单口瓶中, 氮气保护, 于油浴90度下搅拌3.5小时, LC-MS检测反应。反应完全后, 悬干溶剂, DCM/H₂O萃取, 无水硫酸钠干燥, 柱层析, 得黄色固体1 g。ESI (APCI): 415 [M+H]⁺。

步骤8-4:

- 将化合物**8-4**(200 mg, 0.53 mmol), **8-6**(240 mg, 0.58 mmol), 碳酸钠(168 mg, 1.59 mmol)和Pd(dppf)₂Cl₂(44 mg)依次加入装有dioxane/H₂O(4:1, 5 mL)的单口瓶中, 于油浴100度下搅拌3小时, LC-MS监测反应。反应完全后, 过滤, 悬干溶剂, DCM/H₂O萃取, 无水硫酸钠干燥, 柱层析, 得油状物120 mg。ESI (APCI): 585 [M+H]⁺。

步骤8-5:

将化合物**8-7**(120 mg, 0.205 mmol), **3-16**(51 mg, 0.308 mmol), 三乙胺(0.03

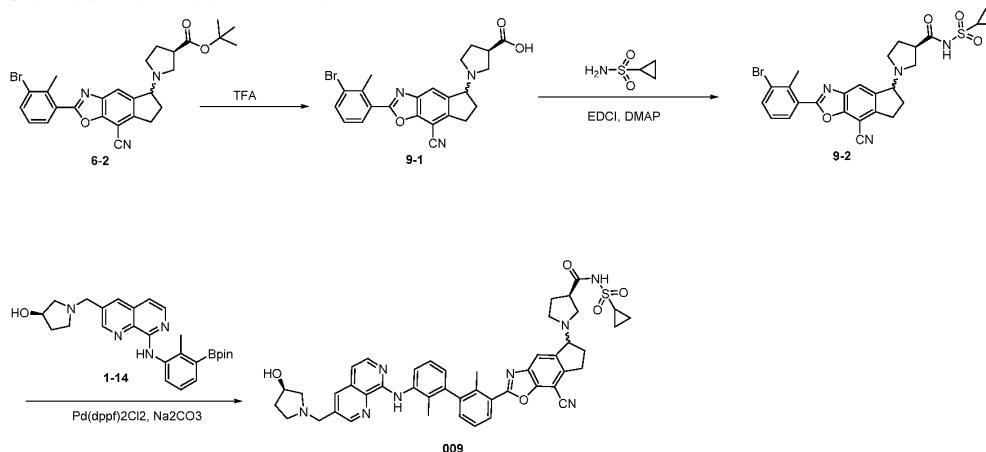
mL, 0.205 mmol)和NaBH₃CN(126 mg, 0.616 mmol)依次加入装有THF(5 mL)的单口瓶中, 于油浴70度搅拌过夜, LC-MS监测反应, 反应完全后, 加水淬灭, 悬干溶剂, DCM/H₂O萃取, 无水硫酸钠干燥, 柱层析, 得油状物70 mg。ESI (APCI): 698 [M+H]⁺.

5 步骤8-6:

将化合物**8-8**(70 mg, 0.1 mmol)和LiOH(5 mg, 0.2 mmol)依次加入装有THF/MeOH/H₂O(2:1:1, 4 mL)的单口瓶中, 室温搅拌1小时, TLC监测反应。反应完全后, 加TFA调节PH至中性, 用反相柱制备得10 mg白色固体。ESI (APCI): 684 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.13 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.52 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.48 – 7.40 (m, 2H), 7.36 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 4.68 (br, 1H), 4.40 – 4.26 (m, 1H), 4.22 – 4.15 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.67 – 3.48 (m, 2H), 3.28 – 3.14 (m, 2H), 3.09 – 2.98 (m, 1H), 2.93 – 2.74 (m, 4H), 2.74 – 2.51 (m, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.44 – 2.34 (m, 3H), 2.25 – 2.17 (m, 2H), 2.02 (s, 3H), 2.00 – 1.85 (m, 3H), 1.58 – 1.51 (m, 1H).

15

实施例9 化合物009的合成



步骤9-1:

将化合物**6-2**(1 g)溶于TFA(5 mL)中, 而后室温搅拌1小时。悬干TFA, 甲苯共沸一次。往残留液中加入饱和碳酸氢钠溶液和浓盐酸, 调节PH至2 – 3, 出现大量固体, 过滤, 烘干, 得淡棕色固体0.5 g。

步骤9-2:

将化合物**9-1**(0.5 g, 1.07 mmol), 环丙基磺酰胺(260 mg, 2.14 mmol), DMAP(261 mg, 2.14 mmol)和EDCI(410 mg, 2.14 mmol)一次加入装有DCM(15 mL)的单口瓶中, 室温搅拌过夜, TLC检测反应。反应安全后, 用饱和食盐水和0.5 M稀盐酸水溶液洗涤, 而后无水硫酸钠干燥有机层, 柱层析, 得淡黄色固体0.3 g。

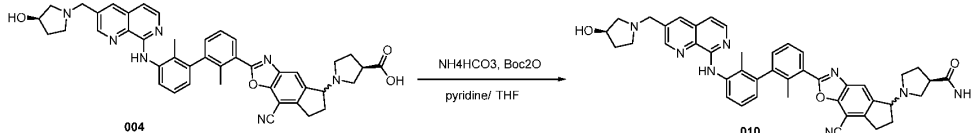
步骤9-3:

以化合物**9-2**(200 mg)和**1-14**(240 mg)为原料, 按照步骤8-4的合成方法, 制得淡黄色固体60 mg。ESI (APCI): 823 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.30 (s, 1H), 8.86 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.42 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.20 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.15 – 8.09 (m, 1H), 8.04 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 7.53 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H),

7.33 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.42 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 4.23 (tt, $J = 6.5, 3.1$ Hz, 1H), 4.01 – 3.84 (m, 2H), 3.30 – 3.17 (m, 3H), 3.06 (dt, $J = 16.6, 6.8$ Hz, 2H), 2.98 – 2.75 (m, 5H), 2.74 – 2.54 (m, 4H), 2.44 (s, 3H), 2.31 – 2.19 (m, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.05 – 1.85 (m, 4H), 1.64 – 1.55 (m, 1H).

5

实施例10 化合物010的合成 (222)

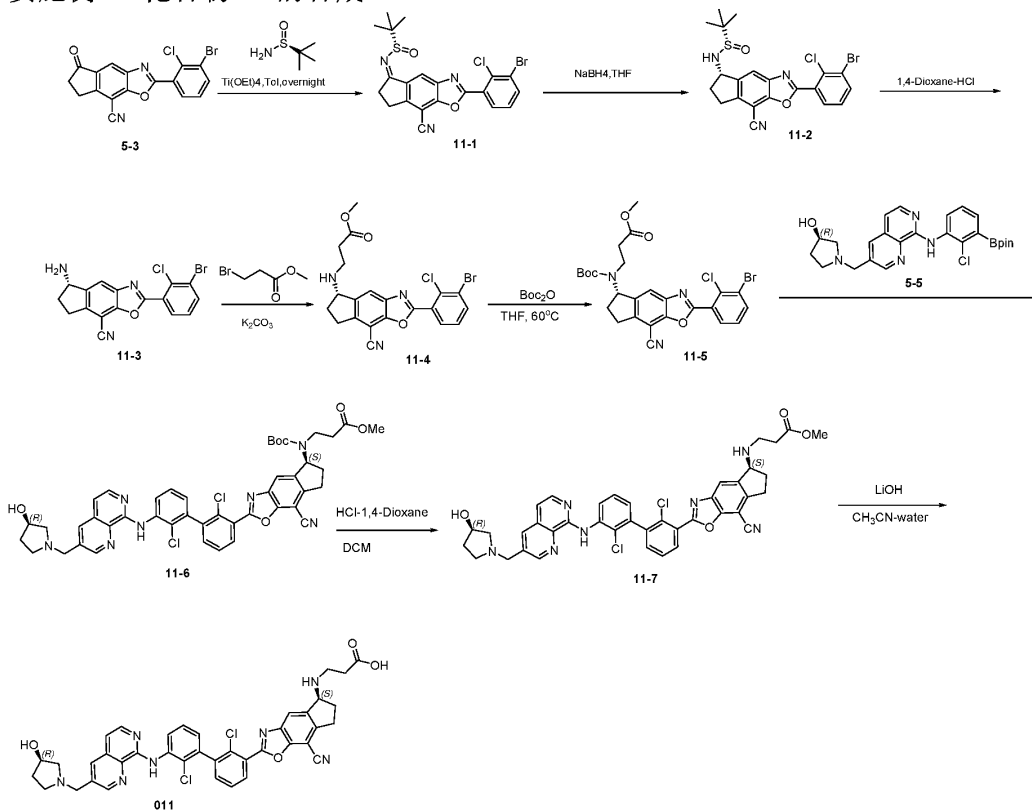


步骤10-1:

将**004**(30 mg, 0.0471 mmol), NH_4HCO_3 (7 mg, 0.0834 mmol)和Boc2O(18 mg, 0.0834 mmol)依次加入装有THF/Pyridine(6:1, 3.5 mL)的单口瓶中, 于室温搅拌1小时, LC-MS检测反应。反应完全后, 加入TFA调节PH至7-8, 而后反相柱制备得淡黄色固体10 mg。ESI (APCI): 719 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.35 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.32 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.58 – 7.47 (m, 2H), 7.43 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.35 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.40 – 5.26 (m, 1H), 4.57 – 4.32 (m, 2H), 3.20 – 2.89 (m, 7H), 2.46 (s, 3H), 2.31 – 2.21 (m, 1H), 2.19 – 2.08 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.01 – 1.89 (m, 2H), 1.85 – 1.75 (m, 1H).

15

实施例11 化合物011的合成



20

步骤11-1:

将化合物 **5-3**(5 g, 12.9 mmol), S-叔丁基亚磺酰胺(4.69 g, 38.7 mmol)和四钛酸乙酯(11.77 g, 51.60 mmol)依次加入甲苯(50 mL)中, 氮气保护, 升至 70 度加热搅拌过夜, TLC 检测反应。反应完全后, 冷却至室温, 直接用于下一步。

步骤11-2:

将上述反应液冷却至-70 度, 而后往其中加入 THF (20 mL)和 NaBH₄(3.9 g, 103.2 mmol), 并保温搅拌 1 小时。而后慢慢升至室温搅拌 1 小时, TLC 检测反应。反应完全后, 往其中加入饱和氯化铵水溶液。而后乙酸乙酯萃取, 无水硫酸钠干燥, 柱层析, 得黑灰色固体 5 g。

步骤11-3:

将化合物 **11-2**(1 g, 2.03 mmol)溶于 DCM(5 mL)中,冰浴下搅拌。而后往溶液中加入氯化氢的 dioxane 溶液(3M, 1 mL), 加毕升至室温搅拌 1 小时, TLC 检测反应。反应完全后, 过滤, 用乙酸乙酯淋洗固体, 烘干, 得黑灰色固体 788 mg。

步骤11-4:

将化合物 **11-3**(300 mg, 0.77 mmol), 碳酸钾(213 mg)加入 DMF(5 mL)中, 而后往反应液中加入 3-溴丙酸甲酯(129 mg), 而后每隔 1 小时加入 3-溴丙酸甲酯(129 mg), 共加 3 次, LC-MS 检测反应, 直至产物不再增加。用 DCM 和水萃取, 无水硫酸钠干燥, 柱层析, 得产物和原料的混合物 100 mg。

步骤11-5:

将上述混合物溶于 THF(30 mL)中, 而后加入 Boc₂O(413 mg)。氮气保护, 升至 60 度加热搅拌。TLC 检测反应, 上一步的原料和产物上 Boc 可以在 TLC 上分开。而后用 DCM/ H₂O 萃取, 无水硫酸钠干燥, 得目标产物 20 mg 灰色固体。

步骤11-6:

以化合物 **11-5**(20 mg, 0.035 mmol)和 **5-5**(15 mg)为原料, 按照步骤 8-4 的合成方法, 制得淡黄色固体 20 mg。

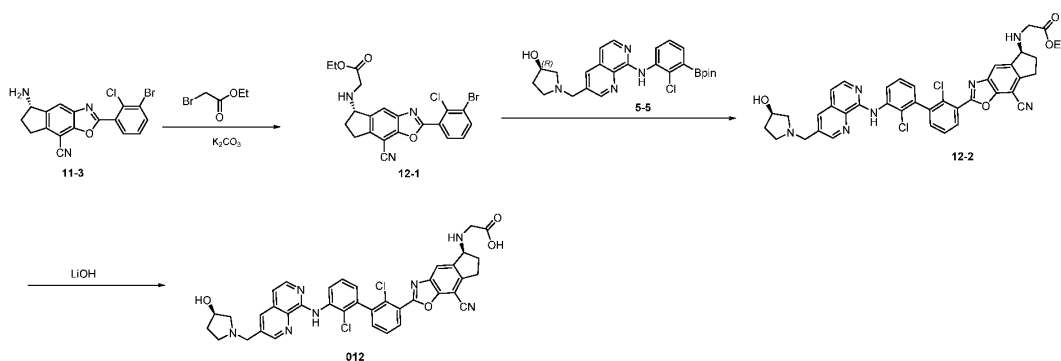
步骤11-7:

向15mL Schlenk管中加入**11-6**(93mg), DCM(2mL), 滴加HCl-Dioxane (0.4mL)N₂保护下室温, 搅拌反应(黄色浑浊)。1h LC-MS检测反应完全。直接油泵拉干得83 mg, 黄色固体。

步骤11-8:

以化合物**11-7**(83 mg)为原料, 按照步骤8-6的合成方法, 制得34 mg淡黄色固体。ESI (APCI): 734 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.88 (s, 1H), 9.12 – 9.00 (m, 2H), 8.53 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.31 – 8.19 (m, 2H), 7.73 (q, J = 7.0, 6.4 Hz, 2H), 7.56 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.61 (s, 1H), 4.43 (d, J = 27.4 Hz, 1H), 3.30 – 3.14 (m, 2H), 2.71 – 2.58 (m, 3H), 2.39 (dd, J = 9.4, 4.3 Hz, 0H), 2.07 – 1.75 (m, 2H).

实施例12 化合物**012**的合成



步骤12-1:

将化合物 **11-3** (1 g, 2.35 mmol) 溶于 THF (30 mL) 中, 而后加入碳酸钾 (975 mg, 7.06 mmol) 和溴乙酸乙酯 (393 mg, 2.35 mmol), 于 60 度加热搅拌过夜, LC-MS 检测反应。反应完全后, 用 DCM/H₂O 萃取, 无水硫酸钠干燥, 柱层析, 得 600 mg 灰棕色固体。

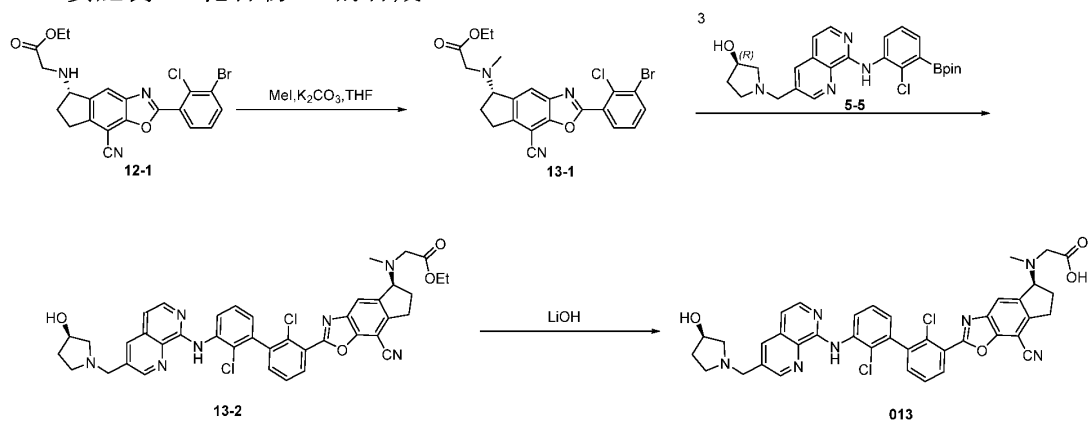
步骤12-2:

以化合物 **12-1** (200 mg) 和 **5-5** (280 mg) 为原料, 按照步骤 8-4 的合成方法, 制得淡黄色固体 52 mg。

步骤12-3:

以化合物 **11-7** (52 mg) 为原料, 按照步骤 8-6 的合成方法, 制得 21 mg 淡黄色固体。ESI (APCI): 720 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.89 (s, 1H), 9.12 – 8.98 (m, 2H), 8.54 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.29 – 8.17 (m, 2H), 7.79 – 7.68 (m, 2H), 7.56 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.12 (dd, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 5.01 (dd, J = 8.1, 3.5 Hz, 1H), 4.62 (s, 1H), 3.96 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 3.29 (s, 2H), 2.69 – 2.52 (m, 1H), 2.47 (s, 2H), 1.90 (d, J = 55.7 Hz, 2H)。

实施例13 化合物013的合成



步骤 13-1:

向 100 mL 圆底烧瓶中加入 **12-1** (150 mg, 0.3159 mmol), MeI (54 mg, 0.3791 mmol), K_2CO_3 (87 mg, 0.6318 mmol), THF (30 mL), N₂ 保护下室温搅拌反应过夜 (深黄色澄清), LC-MS 检测反应。反应完全后, 旋干 THF, DCM (20 mL * 2) 萃取, 柱层析, 得灰色固体 76 mg。

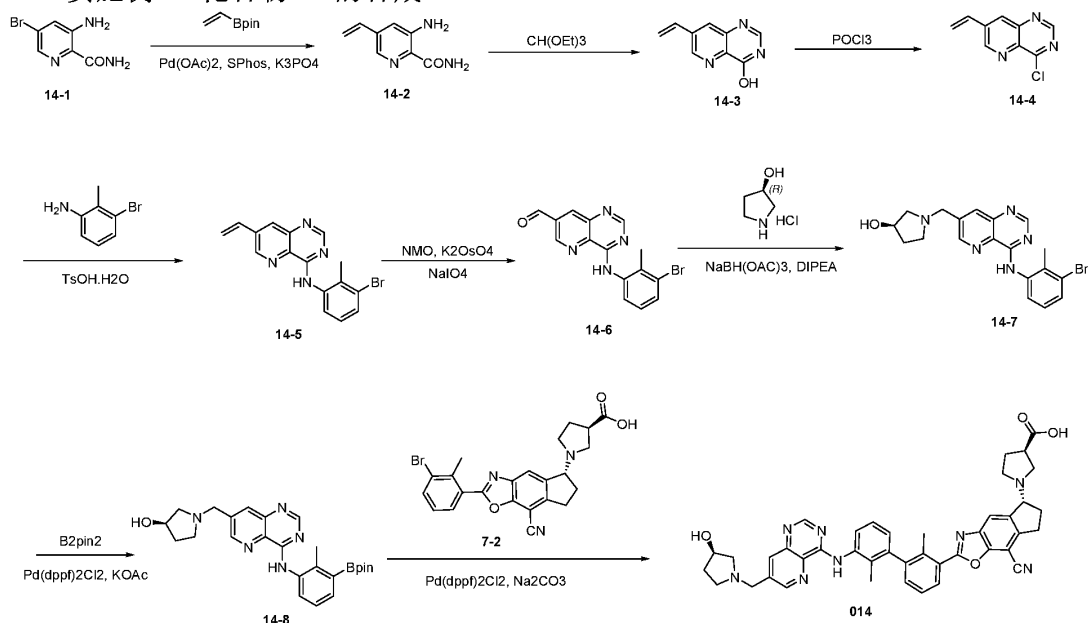
步骤13-2:

以化合物 **13-1**(50 mg)和 **5-5**(52 mg)为原料, 按照步骤 8-4 的合成方法, 制得淡黄色固体 70 mg。

步骤13-3:

- 5 以化合物 **13-2**(62 mg)为原料, 按照步骤8-6的合成方法, 制得20.5 mg淡黄色固体。ESI (APCI): 734 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.89 (s, 1H), 9.19 – 8.92 (m, 2H), 8.54 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.33 – 8.12 (m, 2H), 7.88 – 7.63 (m, 2H), 7.56 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.13 (dd, *J* = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 5.12 (s, 1H), 4.64 (d, *J* = 17.9 Hz, 2H), 4.43 (d, *J* = 26.4 Hz, 1H), 3.28 (s, 2H), 3.25 – 3.15 (m, 2H), 2.68 (s, 2H), 2.08 – 1.90 (m, 2H), 1.83 (s, 2H).
- 10

实施例14 化合物014的合成



步骤14-1:

- 15 将化合物 **14-1**(5 g, 0.0231 mol, WO2019148036), 乙烯基硼酸频哪酯(7.7 mL, 0.0463 mmol), 磷酸钾(14.7 g, 0.0693 mol), Pd(OAc)₂ (0.52 g, 0.0023 mol)和SPhos (1.89 g, 0.0046 mol)依次加入装有1,4-dioxane/H₂O(4:1, 50 mL)的单口瓶中, 氮气保护, 于油浴85 °C下搅拌过夜, TLC检测反应。当原料消失后, 将反应液悬干, 柱层析, 得淡黄色固体2.4 g。

步骤14-2:

20 将化合物 **14-2**(1.4 g, 9 mmol)悬浮于原甲酸三乙酯(20 mL)中, 于油浴145 °C下回流6小时, TLC检测反应。当原料消失后, 将反应液冷却, 加入正庚烷搅洗10分钟, 过滤, 重复以上操作2次, 过滤, 烘干得淡黄色固体1.35 g。

步骤14-3:

- 25 将化合物 **14-3**(1.25 g, 7.22 mmol)和DIPEA (1.4 g, 10.83 mmol)加入甲苯(75 mL)中, 升至100度搅拌, 而后加入三氯氧磷(1.1 g, 7.22 mmol), 将反应液于油浴100 °C下搅拌1.5 小时, TLC检测反应。当原料消失后, 将反应液慢慢倒入冰块中(50 g)

搅拌20分钟，过滤，分液，用卤水洗涤2次，有机层无硫酸酸钠干燥，悬干，得灰绿色固体820 mg。

步骤14-4:

- 5 将化合物**14-4**(820 mg, 4.44 mmol)，3-溴-2-甲基苯胺 (908 mg, 4.88 mmol)和TsOH.H₂O (844 mg, 4.44 mmol)加入异丙醇(20 mL)中，升至85度回流搅拌过夜，TLC检测反应。当原料消失后，悬干溶剂，DCM/H₂O萃取，合并有机层，有机层用饱和碳酸氢钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥有机层，柱层析，得黄色固体600 mg。

步骤14-5:

- 10 将化合物**14-5**(600 mg, 1.76 mmol)，NMO(412 mg, 3.52 mmol)，K₂OsO₄·2H₂O(65 mg, 0.176 mmol)和NaIO₄ (2.63 g, 12.31 mmol)溶于THF/H₂O (10 mL/ 5 mL)中，于室温下搅拌3小时，TLC检测反应。当原料消失后，过滤，乙酸乙酯淋洗固体。取滤液，用10%的硫代硫酸钠和卤水洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩，得淡黄色油状物600 mg，直接用于下一步反应。

步骤14-6:

- 15 将化合物**14-6**(600 mg, 1.75 mmol)，(R)-3-羟基吡咯盐酸盐(949 mg)和DIPEA(678 mg, 5.24 mmol)溶于DCM (20 mL)中，于室温下搅拌1小时。然后将NaBH(OAc)₃ (741 mg, 3.5 mmol)加入上述反应液中，室温搅拌过夜。当原料消失后，滴加饱和碳酸氢钠溶液淬灭反应，乙酸乙酯/水萃取，合并有机层，无水硫酸钠干燥，柱层析，得淡黄色固体350 mg。

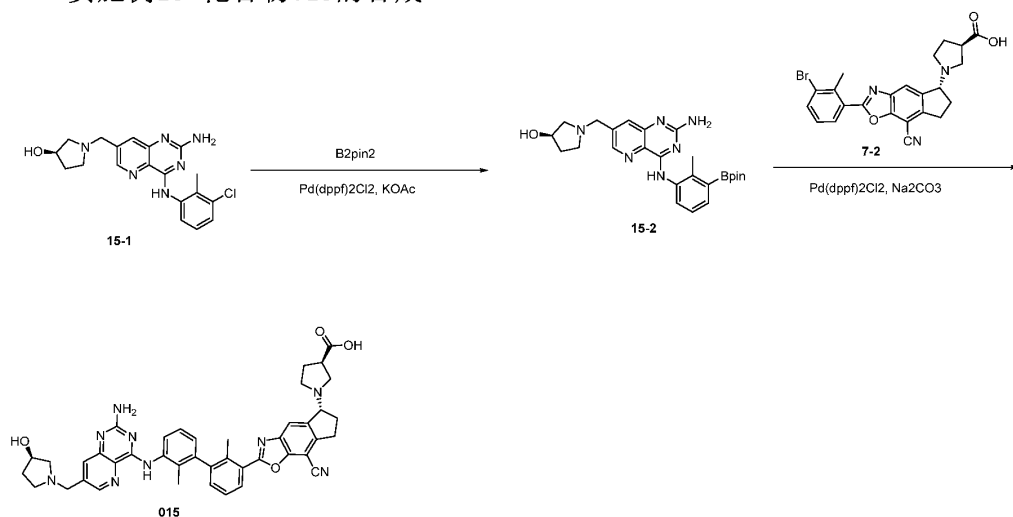
20 步骤14-7:

以化合物**14-7**(350 mg)为原料，按照步骤8-3的合成方法，得淡黄色固体300 mg。

步骤14-8:

- 25 以化合物**14-8**(200 mg)和**7-2**(180 mg)为原料，按照步骤8-4的合成方法，得淡黄色固体300 mg。MS (APCI): 721 [M+H]⁺

实施例15 化合物**015**的合成



步骤15-1:

- 30 以化合物**15-1**(200 mg)为原料，按照步骤8-3的合成方法，得淡黄色固体150

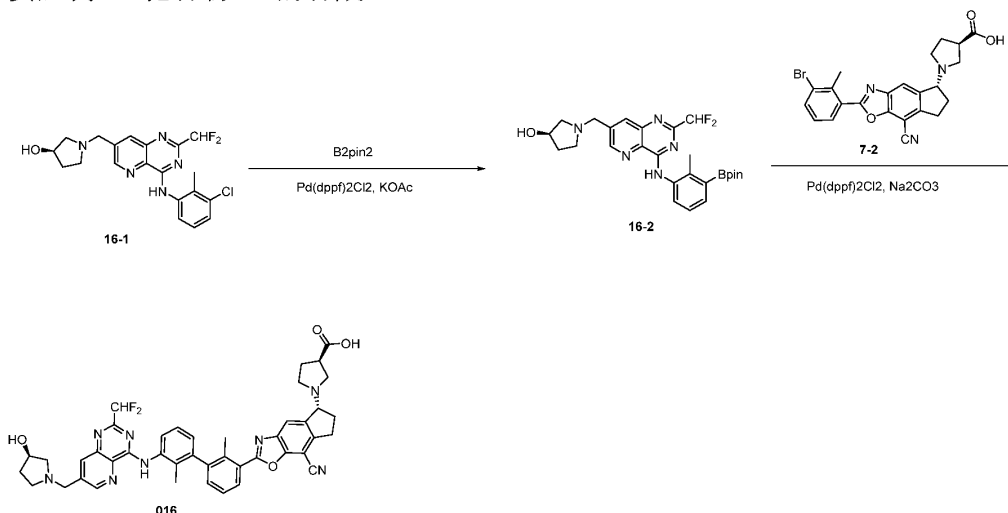
mg。

步骤15-2:

以化合物**15-1**(100 mg, *WO2019191707*)和**7-2**(120 mg)为原料, 按照步骤8-4的合成方法, 制得淡黄色固体21 mg。MS (APCI): 736 [M+H]⁺。

5

实施例16 化合物016的合成



步骤16-1:

以化合物**16-1**(200 mg)为原料, 按照步骤8-3的合成方法, 得淡黄色固体100

10 mg。

步骤16-2:

以化合物**16-1**(50 mg, *WO2019191707*)和**7-2**(56 mg)为原料, 按照步骤8-4的合成方法, 制得淡黄色固体25 mg。MS (APCI): 771 [M+H]⁺。

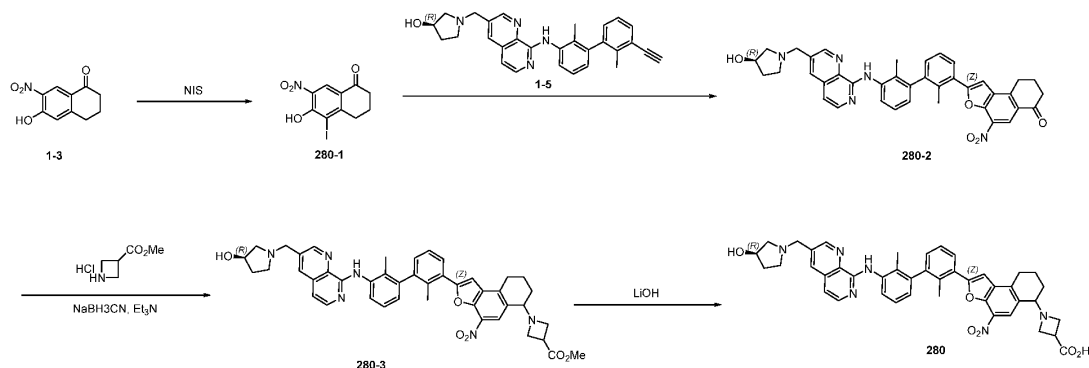
15 按照化合物001 - 016的合成方法, 以相应的原料和试剂合成了下列表中的化合物:

化合物	LCMS [M+H] ⁺	化合物	LCMS [M+H] ⁺	化合物	LCMS [M+H] ⁺
017	733	114	880	196	885
018	719	115	896	197	901
019	705	116	878	198	883
020	691	117	857	199	862
021	759	118	846	200	851
022	621	119	816	201	821
023	679	120	866	202	871
024	741	121	882	203	887
025	706	122	864	204	869
026	740	123	843	205	848
027	740	124	832	206	837

028	694	125	870	207	801
029	760	126	920	208	851
030	760	127	897	209	867
031	734	128	856	210	849
032	823	129	906	211	828
033	863	130	883	212	817
034	787	131	850	213	801
035	827	132	900	214	851
036	788	133	916	215	867
037	828	134	898	216	849
038	699	135	877	217	828
039	699	136	866	218	817
040	740	137	836	219	815
041	720	138	886	220	865
042	823	139	902	221	881
043	748	140	884	222	863
044	696	141	863	223	842
045	733	142	852	224	831
046	734	143	850	225	815
047	622	144	900	226	865
048	706	145	916	227	881
049	764	146	898	228	863
050	736	147	876	229	842
051	695	148	866	230	831
052	723	149	836	231	808
053	693	150	886	232	808
054	641	151	902	233	822
057	719	152	884	234	822
058	731	153	863	235	740
059	745	154	852	236	863
060	742	155	685	237	843
061	729	156	678	238	843
062	679	157	728	239	837
063	837	158	744	240	877
064	751	159	726	241	857
065	711	160	705	242	857
066	613	161	694	243	719
067	604	162	725	244	719

068	752	163	718	245	759
069	724	164	768	246	739
070	649	165	784	247	739
071	666	166	766	248	822
083	811	167	745	249	862
085	877	168	734	250	842
087	914	169	698	251	842
088	928	170	748	252	836
089	713	171	764	253	876
090	763	172	746	254	856
091	779	173	725	255	856
092	761	174	714	256	684
093	740	175	705	257	724
094	729	176	698	258	704
095	753	177	748	259	704
096	803	178	764	260	787
097	819	179	746	261	827
098	801	180	725	262	807
099	780	181	714	263	807
100	769	182	705	264	801
101	733	183	781	265	841
102	783	184	830	266	821
103	799	185	847	267	821
104	781	186	829	268	732
105	760	187	808	269	835
106	749	188	797	270	849
107	733	189	795	271	731
108	783	190	845	272	834
109	799	191	861	273	848
110	781	192	843	274	766
111	760	193	822	275	869
112	749	194	811	276	883
113	830	195	835	277	767
278	870	279	884		

实施例280 化合物280的合成



步骤280-1:

以化合物**1-3**(2.4 g)为原料, 按照步骤1-2的合成方法, 得到淡黄色固体3.1 g。

MS-APCI: 334 $[M+H]^+$.

5 步骤280-2:

以化合物**280-1**(500 mg)为原料, 按照步骤1-3的合成方法, 得到淡黄色固体200 mg。MS-APCI: 654 $[M+H]^+$.

步骤280-3:

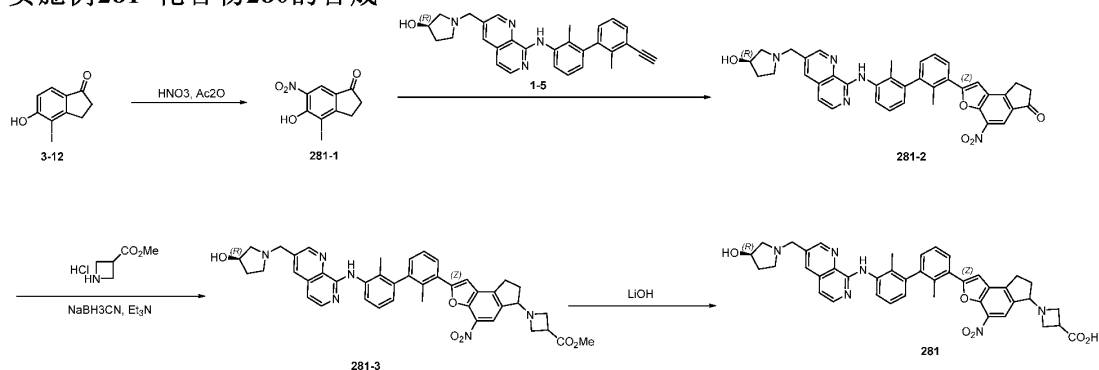
10 以化合物**280-2**(200 mg)为原料, 按照步骤1-4的合成方法, 得到淡黄色固体60 mg。MS-APCI: 753 $[M+H]^+$.

步骤280-4:

以化合物**280-3**(60 mg)为原料, 按照步骤1-5的合成方法, 得到淡黄色固体16 mg。MS-APCI: 654 $[M+H]^+$.

15 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.34 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.34 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.44 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.35 – 7.25 (m, 3H), 7.19 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.52 (m, 1H), 4.49-4.39 (m, 3H), 3.37-2.83 (m, 3H), 2.66-2.28 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.18-2.06 (m, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.96-1.58 (m, 5H), 1.43 (m, 1H).

20 实施例281 化合物280的合成



步骤281-1:

以化合物**3-12**(5 g)为原料, 按照步骤4-1的合成方法, 得到淡黄色固体3 g。MS-APCI: 320 $[M+H]^+$.

25 步骤281-2:

以化合物**280-1**(1 g)为原料,按照步骤1-3的合成方法,得到淡黄色固体400 mg。
MS-APCI: 640 [M+H]⁺。

步骤281-3:

- 5 以化合物**280-2**(400 mg)为原料,按照步骤1-4的合成方法,得到淡黄色固体10 mg。MS-APCI: 739 [M+H]⁺。

步骤281-4:

以化合物**280-3**(100 mg)为原料,按照步骤1-5的合成方法,得到淡黄色固体36 mg。MS-APCI: 725 [M+H]

10 生物测试

实施例A: PD-1 / PD-L1均相时间分辨荧光(HTRF)结合测定

- 测定在标准黑色384孔聚苯乙烯板中进行,终体积为20μL。首先将抑制剂用DMSO连续稀释后加入板孔中,再加入其他反应组分。测定中DMSO的最终浓度为1%。测定是在25℃下含有0.05%Tween-20和0.1%BSA的PBS缓冲液(pH7.4)中进行的。在C端带有His标记的重组人PD-L1蛋白(19-238)购自AcroBiosystems公司(PD1-H5229)。在C端带有Fc标记的重组人PD-1蛋白(25-167)也购自AcroBiosystems公司(PD1-H5257)。将PD-L1和PD-1蛋白在测定缓冲液中稀释然后提取0.1μl溶液加入到板孔中。离心平板并将蛋白质与抑制剂预孵育40分钟。孵育后加入0.1μl HTRF检测缓冲液含有销封闭标记的抗人IgG(PerkinElmer-AD0212)Fc专属的和抗His的SureLight®-别藻蓝蛋白(APC, 15 PerkinElmer-AD0059H)缀合的抗体。离心后,将孔板在25℃下孵育60分钟。置于PHERAstar FS读板器中读取数据(665nm / 620nm比率)。测定中的最终浓度为~3nM PD1、10nM PD-L1、1nM销抗人IgG和20nM抗-His-别藻蓝蛋白。使用GraphPad Prism 5.0软件拟合活性数据得出抑制剂的IC₅₀值。

- 25 实施例中举例说明的化合物IC₅₀值以下列方式表示: IC₅₀: +: ≤10nM; ++: 10 nM ~ 100nM; +++: >100nM。

使用实施例A中描述的PD-1 / PD-L1均相时间分辨荧光(HTRF)结合测定获得的实施例化合物的数据表明,所测试的本发明化合物的IC₅₀绝大部分小于10nm,部分化合物(约25%)甚至小于1nM,部分优选化合物的活性测试数据提供于表1中。

化合物	IC ₅₀	化合物	IC ₅₀	化合物	IC ₅₀
001	+	035	+	015	+
002	+	036	+	016	+
003	+	037	+	243	+
004	+	038	+	244	+
005	+	039	+	245	+
006	+	040	+	246	+
007	+	041	+	247	+
008	+	042	+	248	+
009	+	043	++	249	+
010	+	081	+	250	+
011	+	082	+	251	+
012	+	083	+	252	+
013	+	084	+	253	+
017	+	086	+	254	+

018	+	087	+	255	+
019	+	088	+	256	+
020	+	162	+	257	+
021	+	175	+	258	+
022	+	182	+	259	+
023	+	231	+	260	+
024	+	232	+	261	+
025	+	233	+	262	+
026	+	234	+	263	+
027	+	235	+	264	+
028	+	236	+	265	+
029	+	237	+	266	+
030	+	238	+	267	+
031	+	239	+	268	+
032	+	240	+	271	+
033	+	241	+	274	+
034	+	242	+	280	+++

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。