

桥环取代的杂芳基并吡喃类衍生物及其应用

本申请主张如下优先权：

CN202210074707.1，申请日：2022 年 01 月 21 日；

CN202210082274.4，申请日：2022 年 01 月 24 日；

CN202210254285.6，申请日：2022 年 03 月 15 日；

CN202210346571.5，申请日：2022 年 03 月 31 日；

CN202210642158.3，申请日：2022 年 06 月 07 日；

CN202210813772.1，申请日：2022 年 07 月 11 日；

CN202210964127.X，申请日：2022 年 08 月 11 日；

CN 202310029317.7，申请日：2023 年 01 月 09 日。

技术领域

本发明一类桥环取代的杂芳基并吡喃类衍生物及其应用，具体涉及式 (VI) 所示化合物或其药学上可接受的盐。

背景技术

RAS 癌基因突变是人类癌症中最常见的激活突变，发生在 30% 的人类肿瘤中。RAS 基因家族包括三个亚型 (KRAS、HRAS 和 NRAS)，其中 85% 的 RAS 驱动的癌症是由 KRAS 亚型突变引起的。KRAS 突变常见于实体肿瘤中，如：肺腺癌、胰腺导管癌和结直肠癌等。在 KRAS 突变肿瘤中，80% 的致癌突变发生在密码子 12 上，最常见的突变包括：p.G12D (41%)、p.G12V (28%) 和 p.G12C (14%)。

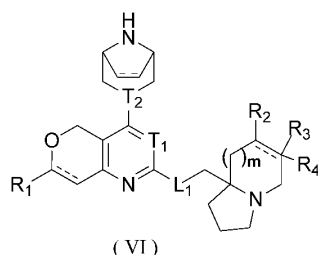
KRAS 是一种鼠类肉瘤病毒癌基因，是 RAS 蛋白中的重要一员。KRAS 好像分子开关，当正常时能调控细胞生长的路径；KRAS 基因突变后，可以不依赖于上游生长因子受体信号，独立向下游通路传输生长和增殖信号，造成不受控制的细胞生长和肿瘤进展。同时 KRAS 基因是否有突变，也是肿瘤预后的一个重要指标。

日前，直接靶向 KRAS 突变的小分子主要集中在 KRAS^{G12C} 领域。其中，Amgen 公司的 AMG510 和 Mirati Therapeutics 的 MRTX849 在临床研究中，对 KRAS^{G12C} 突变的肿瘤患者都展现出了良好的治疗效果。但至今还没有 KRAS^{G12D} 小分子进入临床研究阶段，KRAS^{G12D} 突变的肿瘤患者也还没有从精准医疗中获益。

本发明公开了一系列靶向 KRAS^{G12D} 的小分子抑制剂及其制备方法。

发明内容

本发明提供了式 (VI) 所示化合物或其药学上可接受的盐，



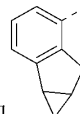
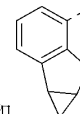
其中，

选自单键或双键；

T₁ 选自 CR_a 和 N；

T₂ 选自 CH 和 N；

L₁选自O和S;

R₁选自苯基、萘基、、和, 所述苯基、萘基、、和分别独立地任选被1、2、3、4或5个R_b取代;

R₂选自H;

R₃选自H、F、CN、CH₃和OCH₃, 所述CH₃和OCH₃任选被1、2或3个卤素取代;

或者, R₂和R₃与相连的原子形成苯基或5-6元杂芳基, 所述苯基或5-6元杂芳基任选被1、2或3个卤素取代;

R₄不存在, 或选自H、CH₃和-CH=CH₂, 所述CH₃和-CH=CH₂任选被1、2或3个卤素取代;

或者, R₃和R₄与相连的原子形成, 所述任选被1或2个R_c取代;

或者, R₃和R₄与相连的原子形成环丙基, 所述环丙基任选被1、2或3个卤素取代;

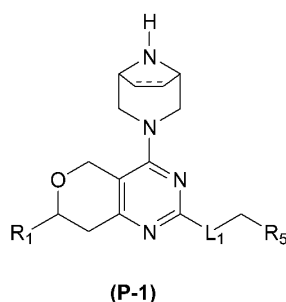
R_a选自H和CN;

各R_b分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₄炔基、C₂₋₄炔基-环丙基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基, 所述C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₄炔基、C₂₋₄炔基-环丙基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基任选被1、2、3、4或5个卤素取代;

各R_c分别独立地选自F、Cl、Br、I、CN、CH₃和OCH₃;

m选自0或1。

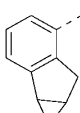
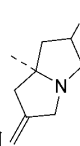
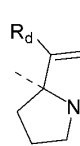
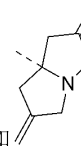
本发明还提供了式(P-1)所示化合物或其药学上可接受的盐,

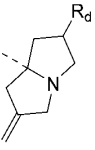
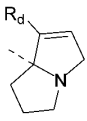
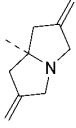


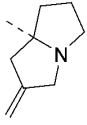
其中,

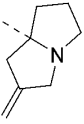
 选自单键或双键;

L₁选自O和S;

R₁选自苯基、萘基、5-10元杂芳基、、和, 所述苯基、萘基、5-10元杂芳基、、和分别独立地任选被1、2、3、4或5个R_b取代, R₅选自、和, 其中R_d选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₄炔基、C₂₋₄炔基-环丙基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基, 所述C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₄炔基、C₂₋₄炔基-环丙基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基任选被1、2、3、4或5个卤素取代;

所述 、和分别独立地任选被 1、2、3、4 或 5 个 R_d 取代；

或者， R_1 选自 5-10 元杂芳基，所述 5-10 元杂芳基任选被 1、2、3、4 或 5 个 R_b 取代， R_5 选自 ，

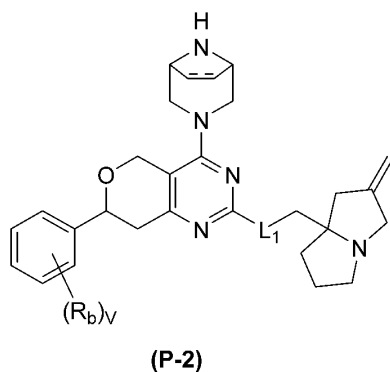
所述 任选被 1、2、3、4 或 5 个 R_d 取代；

各 R_b 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{2-4} 炔基、 C_{2-4} 炔基-环丙基、 C_{2-3} 烯基、 $-C(=O)C_{1-3}$ 烷基和 C_{3-5} 环烷基，所述 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{2-4} 炔基、 C_{2-4} 炔基-环丙基、 C_{2-3} 烯基、 $-C(=O)C_{1-3}$ 烷基和 C_{3-5} 环烷基任选被 1、2、3、4 或 5 个 R 取代；

各 R_d 分别独立地选自 F、Cl、Br、I、CN、 CH_3 和 OCH_3 ；

各 R 分别独立地选自卤素和 D。

本发明还提供了式 (P-2) 所示化合物或其药学上可接受的盐，



其中，

 选自单键或双键；

L_1 选自 O 和 S；

各 R_b 分别独立地选自 F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{2-4} 炔基、 C_{2-4} 炔基-环丙基、 C_{2-3} 烯基、 $-C(=O)C_{1-3}$ 烷基和 C_{3-5} 环烷基，所述 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{2-4} 炔基、 C_{2-4} 炔基-环丙基、 C_{2-3} 烯基、 $-C(=O)C_{1-3}$ 烷基和 C_{3-5} 环烷基任选被 1、2、3、4 或 5 个 R 取代；

各 R 分别独立地选自卤素和 D；

v 选自 1、2、3、4 或 5；

条件是，至少有一个 R_b 被 1、2、3、4 或 5 个 D 取代。

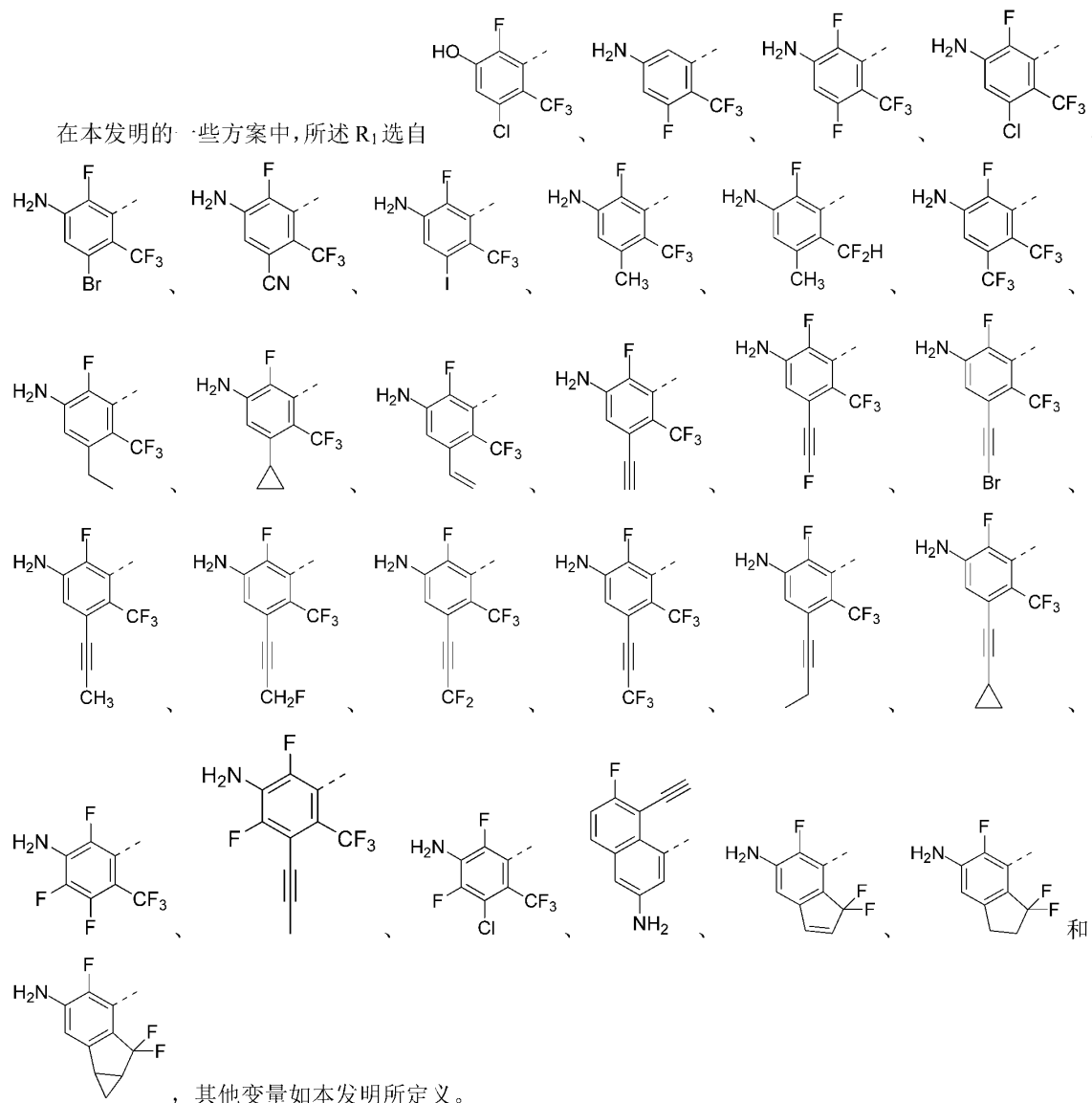
在本发明的一些方案中，所述各 R_b 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 、 $-C\equiv CCH_3$ 、 $-C\equiv CCH_2CH_3$ 、 $-C\equiv C$ 和环丙基，所述 CH_3 、 CH_2CH_3 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 、 $-C\equiv CCH_3$ 、 $-C\equiv CCH_2CH_3$ 、 $-C\equiv C$ 和环丙基任选被 1、2、3、4 或 5 个卤素取代，其他变量如本发明所定义。

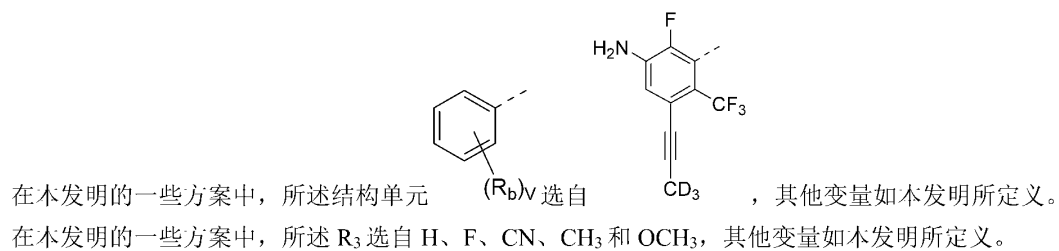
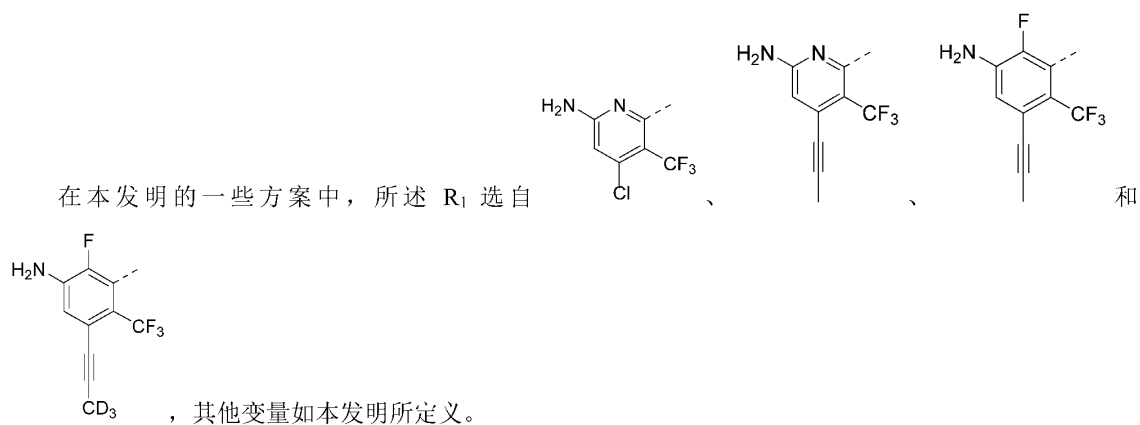
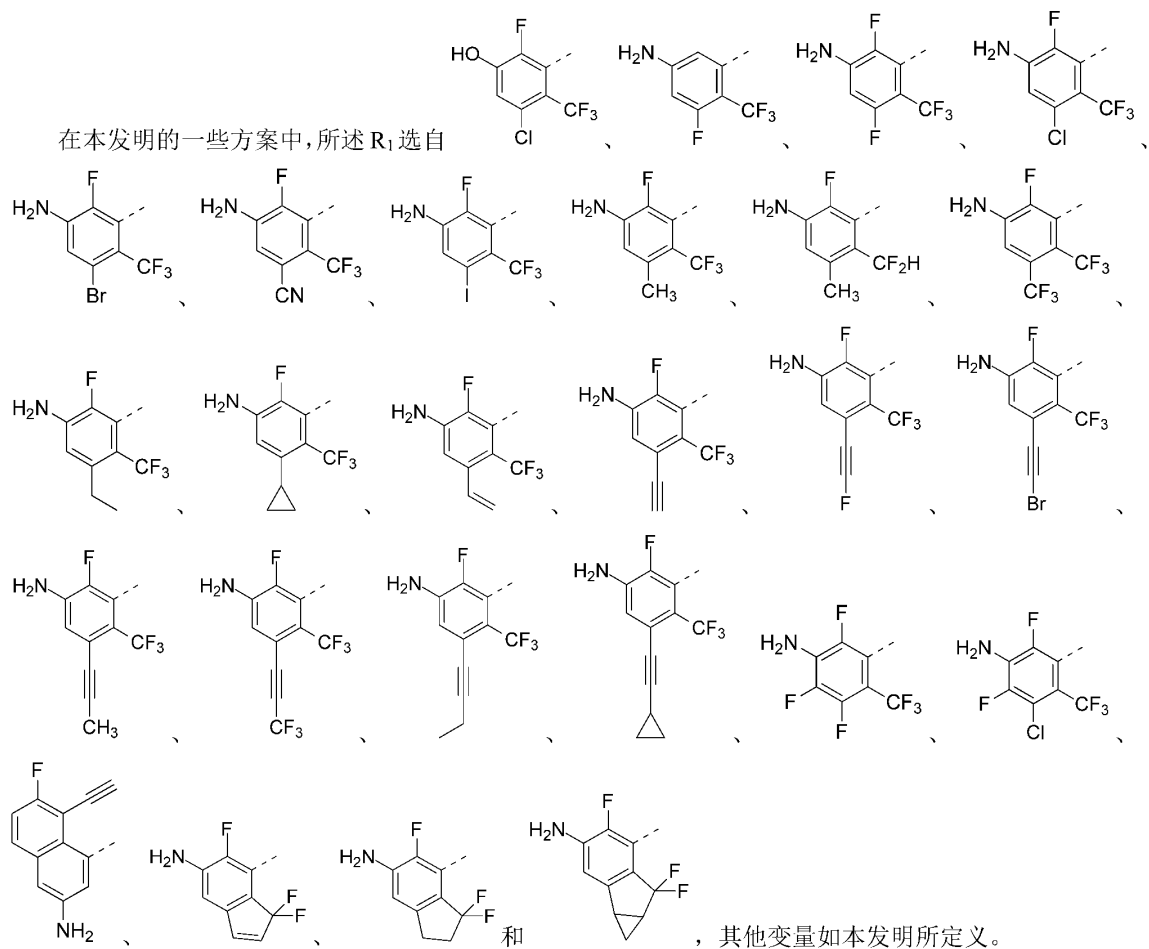
在本发明的一些方案中,所述各 R_b 分别独立地选自 H 、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 OH 、 NH_2 、 CN 、 CH_3 、 CH_2F 、 CF_2H 、 CF_3 、 CH_2CH_3 、 CF_2CF_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 、 $-C\equiv Cl$ 、 $-C\equiv CBr$ 、 $-C\equiv CCH_3$ 、 $-C\equiv CCl_3$ 、 $-C\equiv CCH_2Cl_3$ 、 $-C\equiv C$ 和环丙基,其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中,所述各 R_b 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 、 $-C\equiv CCH_3$ 、 $-C\equiv CCH_2CH_3$ 、 $--\equiv$  和环丙基,所述 CH_3 、 CH_2CH_3 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 、 $-C\equiv CCH_3$ 、 $-C\equiv CCH_2CH_3$ 、 $--\equiv$  和环丙基任选被 1、2、3、4 或 5 个 R 取代,其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述各 R_b 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CD₃、CH₂F、CF₂H、CF₃、CH₂CH₃、CF₂CF₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡Cl、-C≡CBr、-C≡CCH₃、-C≡C-CD₃、-C≡CCF₃、-C≡CCH₂CH₃、-C≡C-和环丙基, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中,所述 R_1 选自



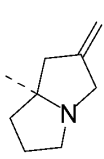
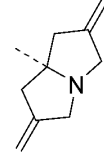
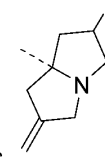
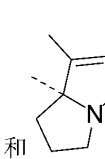


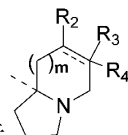
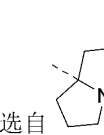
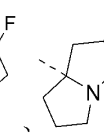
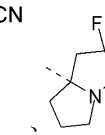
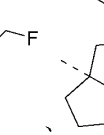
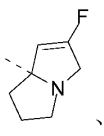
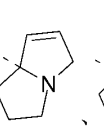
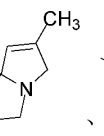
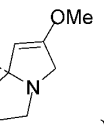
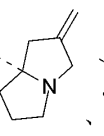
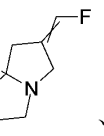
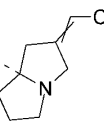
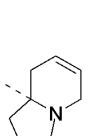
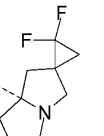
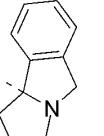
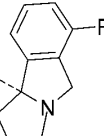
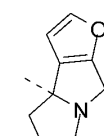
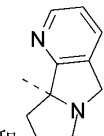
在本发明的一些方案中，所述 R_2 和 R_3 与相连的原子形成苯基、呋喃基和吡啶基，所述苯基、呋喃基和吡啶基任选被 1 个 F 取代，其他变量如本发明所定义。

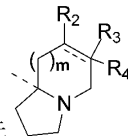
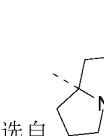
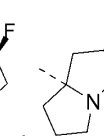
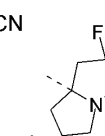
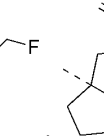
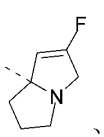
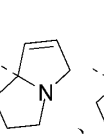
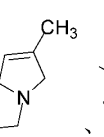
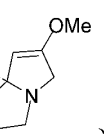
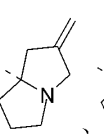
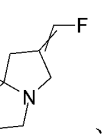
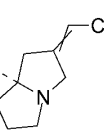
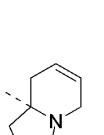
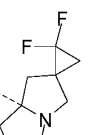
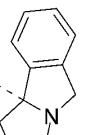
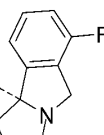
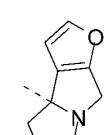
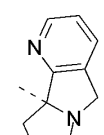
在本发明的一些方案中，所述 R_4 不存在，或选自 H、 CH_2F 和 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ，其他变量如本发明所定义。

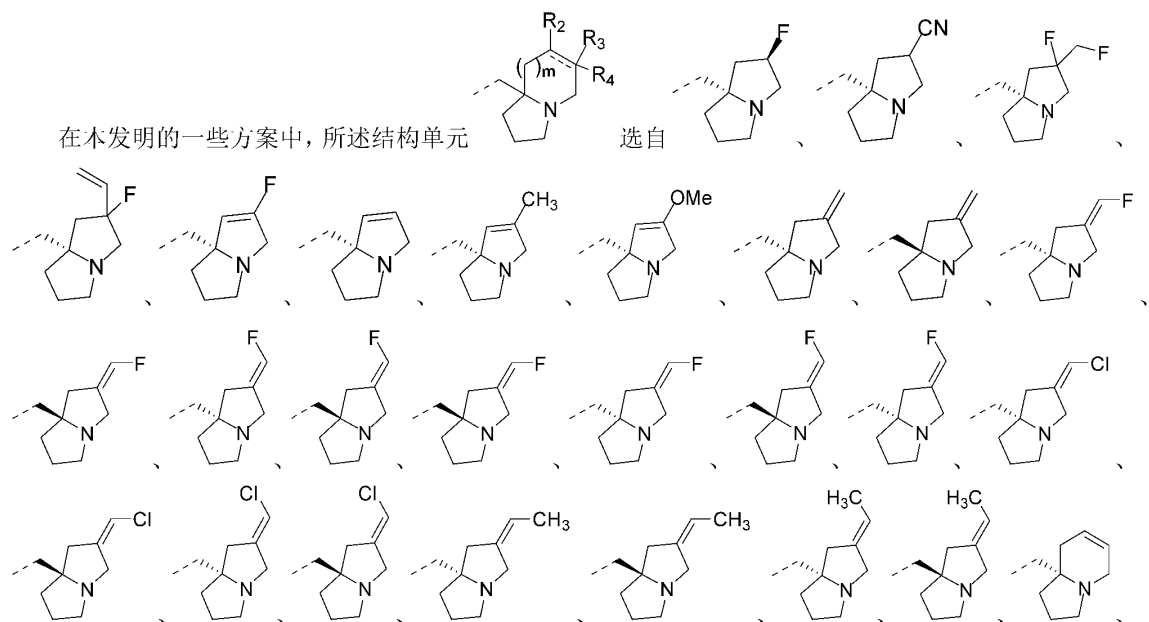
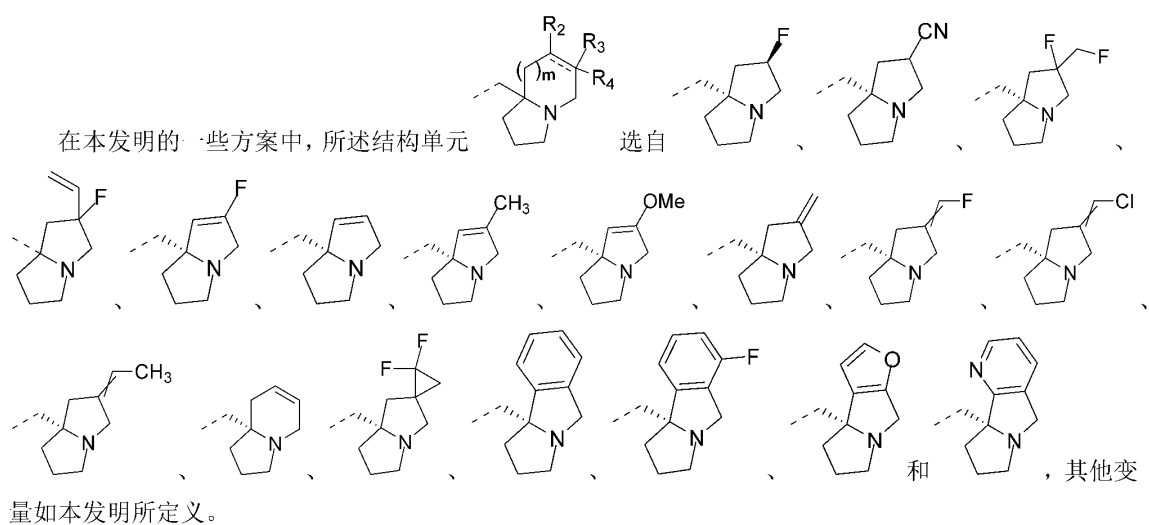
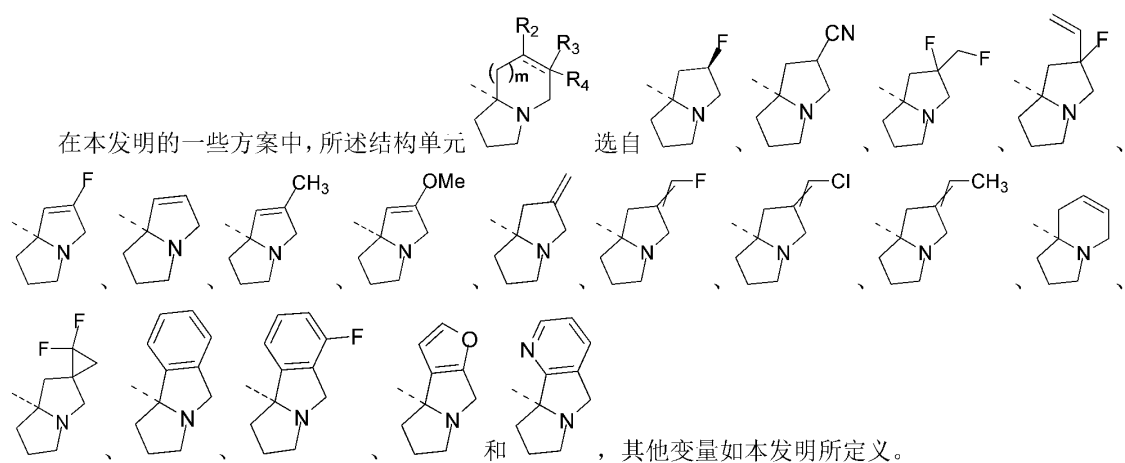
在本发明的一些方案中，所述 R_3 和 R_4 与相连的原子形成 、、 和 ，其他变量如本发明所定义。

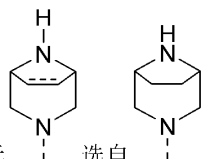
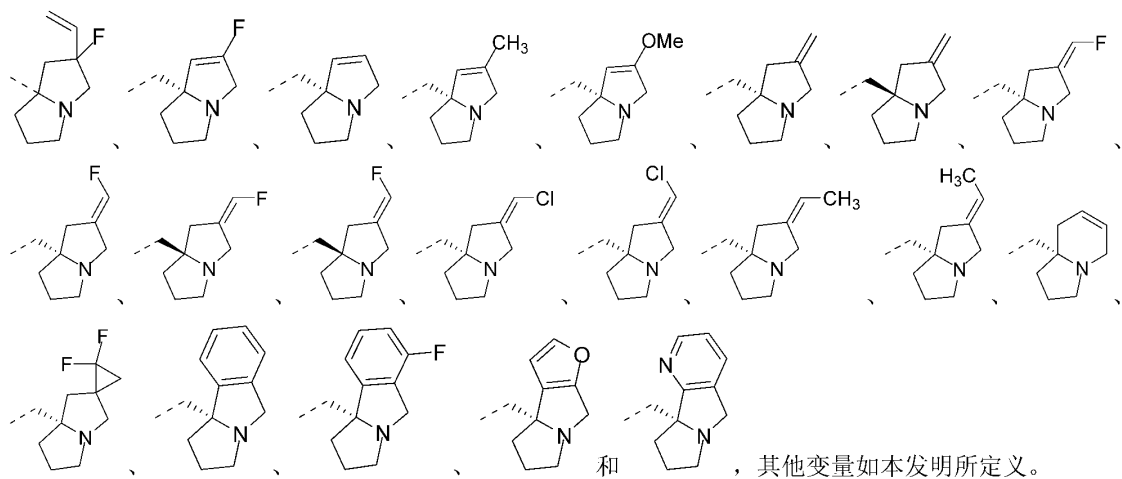
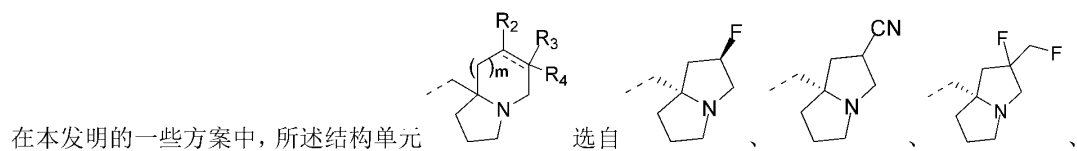
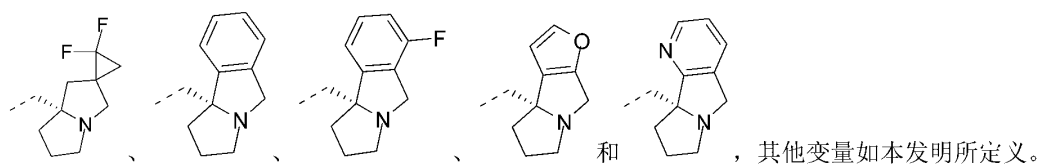
在本发明的一些方案中，所述 R_3 和 R_4 与相连的原子形成 ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述 R_5 选自 、、 和 ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述结构单元  选自 、、、、、、、、、、、、、、、 和 ，其他变量如本发明所定义。

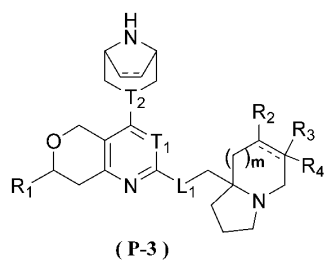
在本发明的一些方案中，所述结构单元  选自 、、、、、、、、、、、、、、、 和 ，其他变量如本发明所定义。





在本发明的一些方案中, 所述结构单元 选自 , 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物选自,

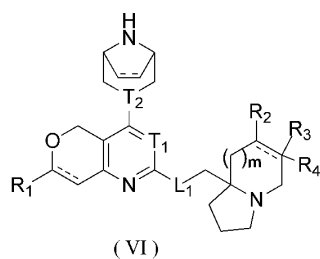


其中,

选自单键或双键;

T_1 、 T_2 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 L_1 和 m 如本发明所定义。

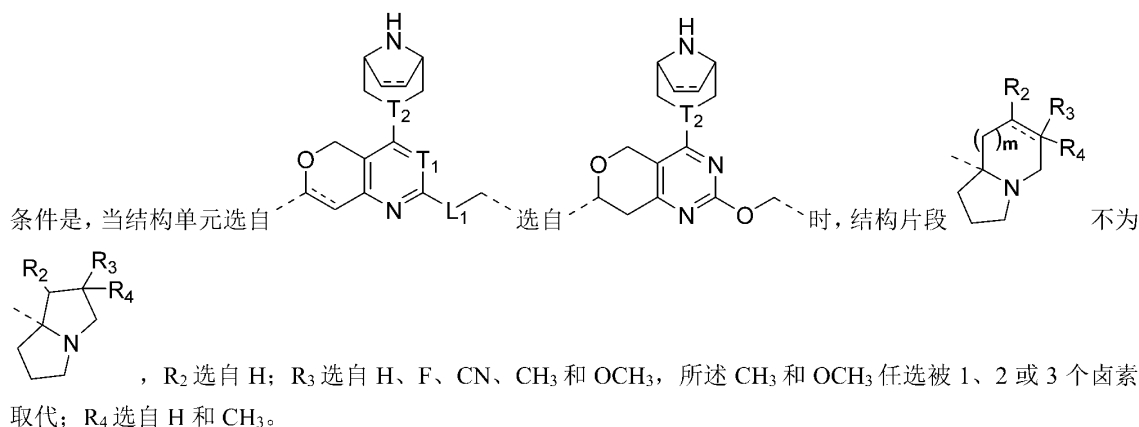
在本发明的一些方案中, 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物选自,



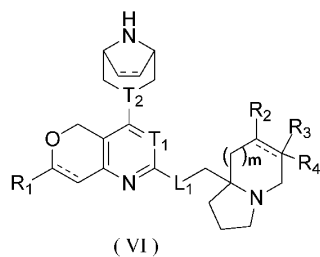
其中,

$\diagup$ 选自单键或双键;

T₁、T₂、R₁、R₂、R₃、R₄、L₁和m如本发明所定义;

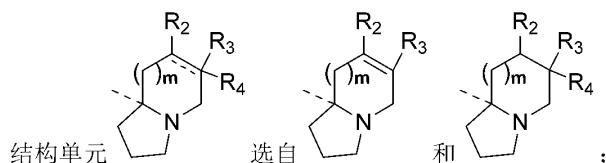


在本发明的一些方案中,所述化合物或其药学上可接受的盐,其化合物选自,



其中,

$\diagup$ 选自单键或双键;

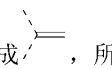
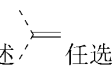


R₂ 选自 H;

R₃ 选自 H、F、CN、CH₃ 和 OCH₃, 所述 CH₃ 和 OCH₃ 任选被 1、2 或 3 个卤素取代;

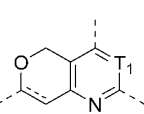
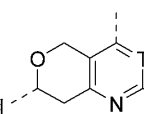
或者, R₂ 和 R₃ 与相连的原子形成苯基或 5-6 元杂芳基, 所述苯基或 5-6 元杂芳基任选被 1、2 或 3 个卤素取代;

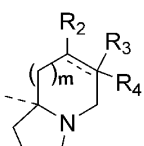
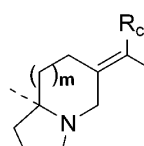
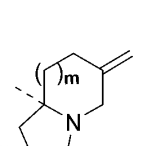
R₄ 选自 -CH=CH₂, 所述 -CH=CH₂ 任选被 1、2 或 3 个卤素取代;

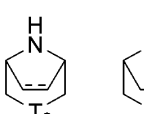
或者, R₃ 和 R₄ 与相连的原子形成  , 所述  任选被 1 或 2 个 R_c 取代;

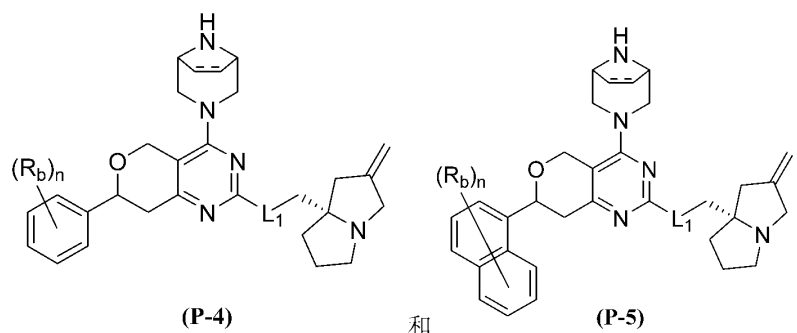
或者, R_3 和 R_4 与相连的原子形成环丙基, 所述环丙基任选被 1、2 或 3 个卤素取代;

T_1 、 T_2 、 R_1 、各 R_c 、 L_1 和 m 如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述结构单元  选自 , 其他变量如本发明所定义。
在本发明的一些方案中, 所述 T_1 为 N, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述结构单元  选自  和 , 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述结构单元  选自 , 其他变量如本发明所定义。
在本发明的一些方案中, 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物选自,

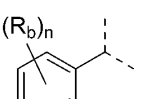
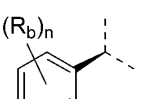
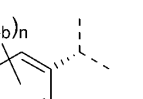


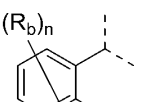
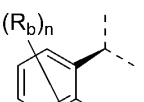
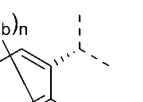
其中,

 选自单键或双键;

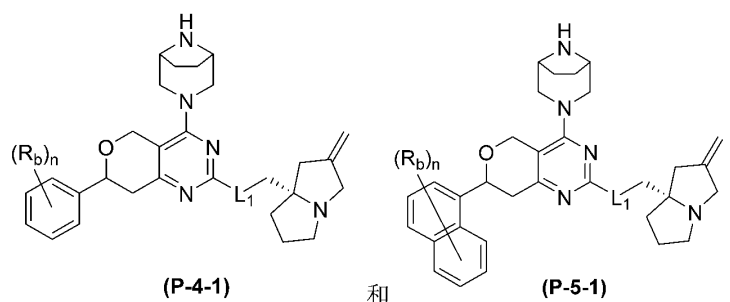
各 R_b 和 L_1 如本发明所定义;

n 选自 0、1、2、3、4 和 5。

在本发明的一些方案中, 所述结构片段  选自  和 , 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述结构片段  选自  和 , 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物选自,

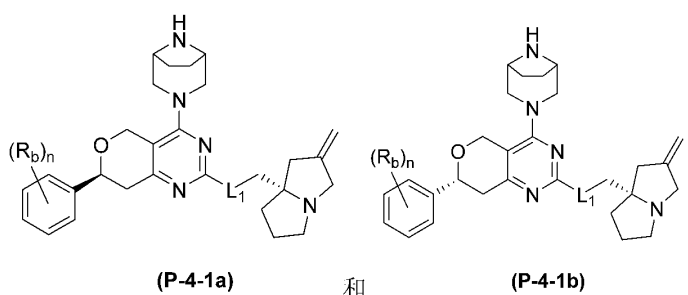


其中,

各 R_b 和 L_l 如本发明所定义;

n 选自 0、1、2、3、4 和 5。

在本发明的一些方案中，所述化合物或其药学上可接受的盐，其化合物选自，

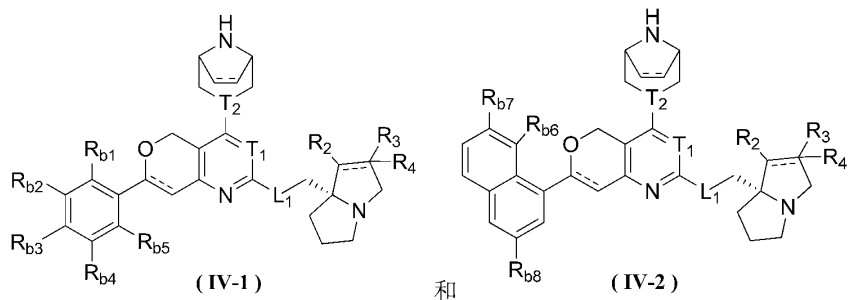


其中,

各 R_b 和 L_l 如本发明所定义;

n 选自 0、1、2、3、4 和 5。

在本发明的一些方案中，所述化合物或其药学上可接受的盐，其化合物选自，



其中,

/// 选自单键或双键:

T₁、T₂、R₂、R₃、R₄和L₁如本发明所定义;

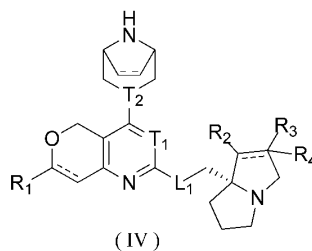
R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6} 和 R_{b7} 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 炔基-环丙基、C₂₋₃ 烯基、-C(=O)C₁₋₃ 烷基和 C₃₋₅ 环烷基，所述 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 炔基-环丙基、C₂₋₃ 烯基、-C(=O)C₁₋₃ 烷基和 C₃₋₅ 环烷基任选被 1、2、3、4 或 5 个卤素取代。

在本发明的一些方案中, 所述R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6}、R_{b7}和R_{b8}分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡CCH₃、-C≡CCH₂CH₃、和环丙基, 所述CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡CCH₃、-C≡CCH₂CH₃、

-- $\equiv$ —和环丙基任选被1、2、3、4或5个R取代，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{b4} 、 R_{b5} 、 R_{b6} 、 R_{b7} 和 R_{b8} 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CF₃、CH₂CH₃、CF₂CF₃、-CH=CH₂、-C $\equiv$ CH、-C $\equiv$ Cl、-C $\equiv$ CBr、-C $\equiv$ CCH₃、-C $\equiv$ CCl₃、-C $\equiv$ CCH₂CH₃、-- $\equiv$ —和环丙基，其他变量如本发明所定义。

本发明还提供了式(IV)所示化合物或其药学上可接受的盐，



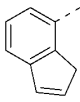
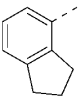
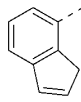
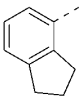
其中，

$\diagup$ 选自单键或双键；

T_1 选自 CR_a 和 N；

T_2 选自 CH 和 N；

L_1 选自 O 和 S；

R_1 选自苯基、萘基、和，所述苯基、萘基、和分别独立地任选被1、2、3、4或5个 R_b 取代；

R_2 选自 H；

R_3 选自 H、F、CN 和 OCH₃，所述 OCH₃ 任选被1、2或3个卤素取代；

或者， R_2 和 R_3 与相连的原子形成苯基和 5-6 元杂芳基，所述苯基和 5-6 元杂芳基任选被1、2或3个卤素取代；

R_4 不存在，或选自 H、CH₃ 和 -CH=CH₂，所述 CH₃ 和 -CH=CH₂ 任选被1、2或3个卤素取代；

或者， R_3 和 R_4 与相连的原子形成，所述任选被1或2个卤素取代；

或者， R_3 和 R_4 与相连的原子形成环丙基，所述环丙基任选被1、2或3个卤素取代；

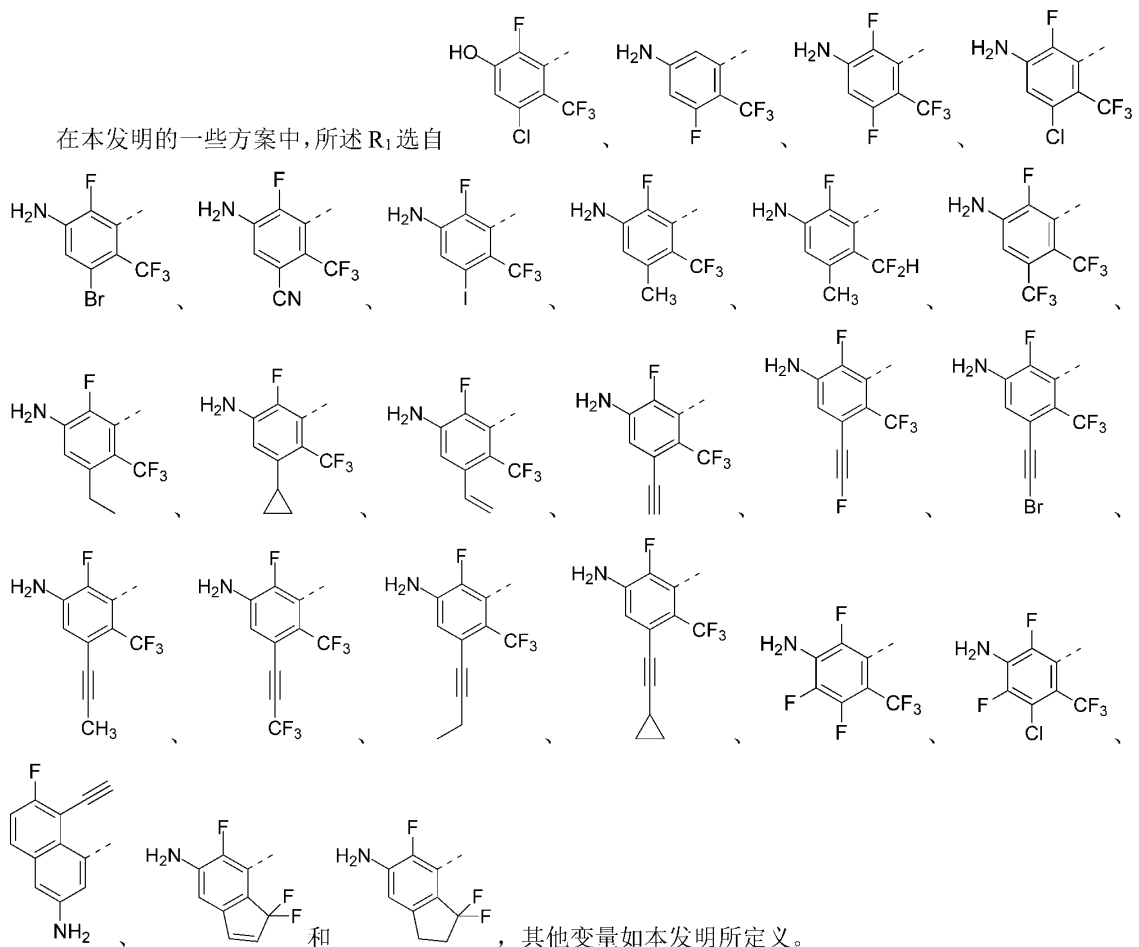
R_a 选自 H 和 CN；

各 R_b 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₄炔基、C₂₋₄炔基-环丙基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基，所述C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₄炔基、C₂₋₄炔基-环丙基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基任选被1、2、3、4或5个卤素取代。

在本发明的一些方案中，所述各 R_b 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C $\equiv$ CH、-C $\equiv$ CCH₃、-C $\equiv$ CCH₂CH₃、-- $\equiv$ —和环丙基，所述CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C $\equiv$ CH、-C $\equiv$ CCH₃、-C $\equiv$ CCH₂CH₃、-- $\equiv$ —和环丙基任选被1、2、3、4或5个卤素取代，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述各 R_b 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂F、CF₂H、CF₃、CH₂CH₃、CF₂CF₃、-CH=CH₂、-C $\equiv$ CH、-C $\equiv$ Cl、-C $\equiv$ CBr、-C $\equiv$ CCH₃、-C $\equiv$ CCl₃、-C $\equiv$ CCH₂Cl₃、

和环丙基，其他变量如本发明所定义。



在本发明的一些方案中，所述 R₃ 选自 H、F、CN 和 OCH₃，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述 R₂ 和 R₃ 与相连的原子形成苯基、呋喃基和吡啶基，所述苯基、呋喃基和吡啶基任选被 1 个 F 取代，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述 R₄ 不存在，或选自 H、CH₂F 和 -CH=CH₂，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述 R₃ 和 R₄ 与相连的原子形成

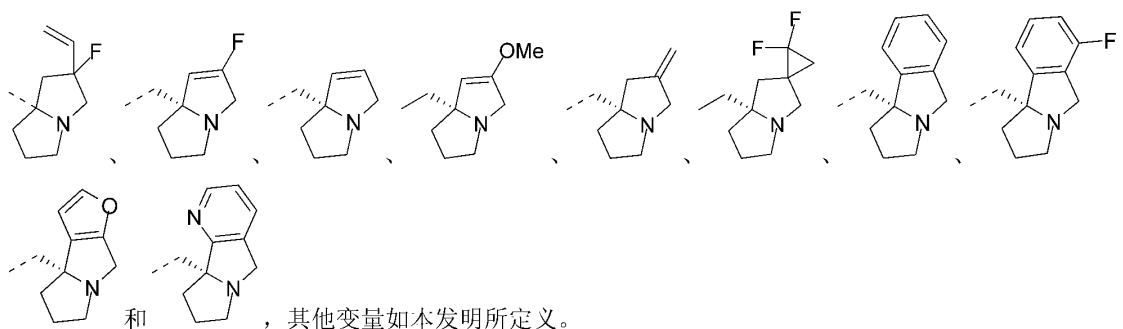
，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述 R₃ 和 R₄ 与相连的原子形成

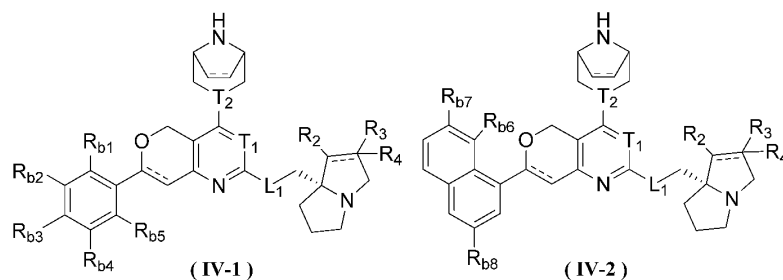
，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述结构单元

选自



在本发明的一些方案中, 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物选自,



其中,

选自单键或双键;

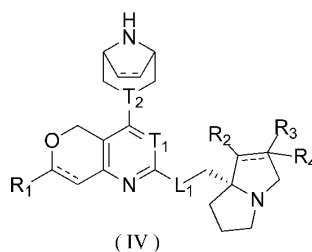
T₁、T₂、R₂、R₃、R₄和L₁如本发明所定义;

R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6}和R_{b7}分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₄炔基、C₂₋₄炔基-环丙基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基, 所述C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₄炔基、C₂₋₄炔基-环丙基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基任选被1、2、3、4或5个卤素取代。

在本发明的一些方案中, 所述R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6}、R_{b7}和R_{b8}分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡CCH₃、-C≡CCH₂CH₃、和环丙基, 所述CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡CCH₃、-C≡CCH₂CH₃、和环丙基任选被1、2、3、4或5个R取代, 其他变量如本发明所定义。

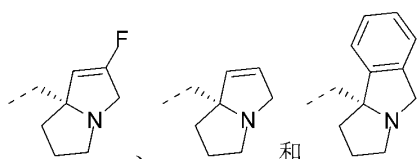
在本发明的一些方案中, 所述R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6}、R_{b7}和R_{b8}分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CF₃、CH₂CH₃、CF₂CF₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡CF、-C≡CBr、-C≡CCH₃、-C≡CCH₂CH₃、和环丙基, 其他变量如本发明所定义。

本发明还提供了式(IV)所示化合物或其药学上可接受的盐,



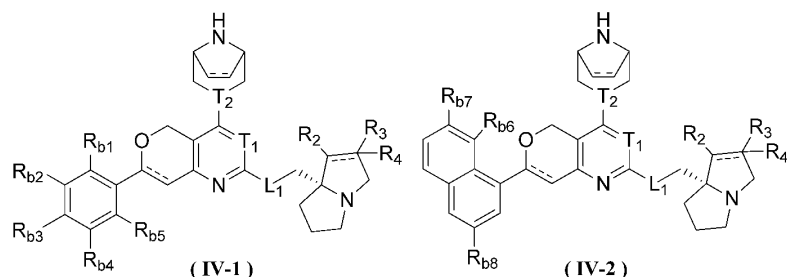
其中,

选自单键或双键;



和，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述化合物或其药学上可接受的盐，其化合物选自，



其中，

选自单键或双键；

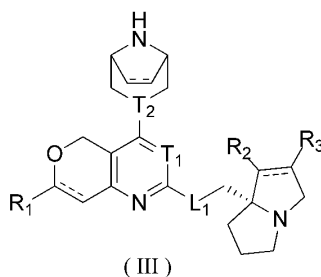
T₁、T₂、R₂、R₃、R₄和L₁如本发明所定义；

R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6}和R_{b7}分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₃炔基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基，所述C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₃炔基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基任选被1、2、3、4或5个卤素取代。

在本发明的一些方案中，所述R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6}、R_{b7}和R_{b8}分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH和环丙基，所述CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH和环丙基任选被1、2、3、4或5个R取代，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6}、R_{b7}和R_{b8}分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CF₃、CH₂CH₃、CF₂CF₃、-CH=CH₂、-C≡CH和环丙基，其他变量如本发明所定义。

本发明还提供了式(III)所示化合物或其药学上可接受的盐，



其中，

选自单键或双键；

T₁选自CR_a和N；

T₂选自CH和N；

L₁选自O和S；

R₁选自苯基和萘基，所述苯基和萘基分别独立地任选被1、2、3、4或5个R_b取代；

R₂选自H；

R₃选自H和F;

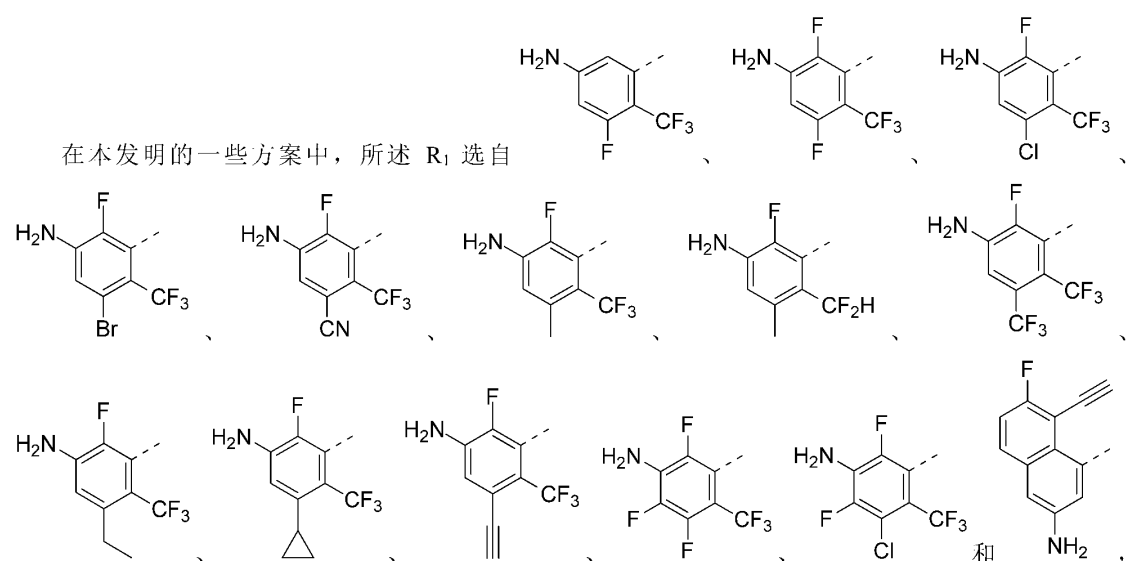
或者, R₂和R₃与相连的原子形成苯基;

R_a选自H和CN;

各R_b分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₃炔基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基, 所述C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₃炔基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基任选被1、2、3、4或5个卤素取代。

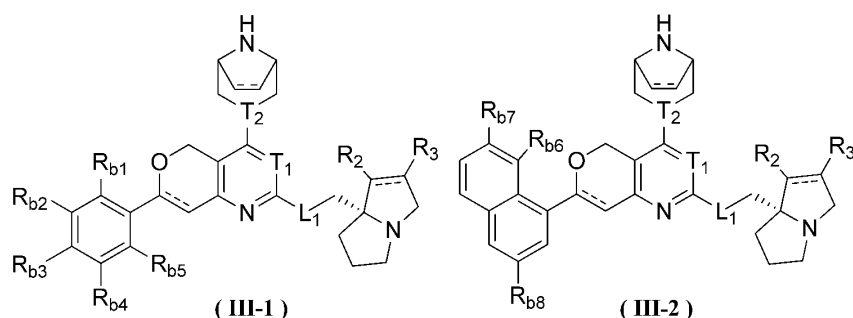
在本发明的一些方案中, 所述各R_b分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH和环丙基, 所述CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH和环丙基任选被1、2、3、4或5个卤素取代, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述各R_b分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂F、CF₂H、CF₃、CH₂CH₃、CF₂CF₃、-CH=CH₂、-C≡CH和环丙基, 其他变量如本发明所定义。



其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物选自,



其中,

选自单键或双键;

T₁、T₂、R₂、R₃和L₁如本发明所定义;

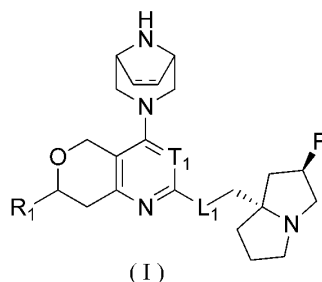
R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6}和R_{b7}分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₃炔基、C₂₋₃烯基、-C(=O)C₁₋₃烷基和C₃₋₅环烷基, 所述C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₂₋₃炔基、C₂₋₃烯基

基、 $-C(=O)C_{1-3}$ 烷基和 C_{3-5} 环烷基任选被1、2、3、4或5个卤素取代。

在本发明的一些方案中，所述 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{b4} 、 R_{b5} 、 R_{b6} 、 R_{b7} 和 R_{b8} 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 和环丙基，所述 CH_3 、 CH_2CH_3 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 和环丙基任选被1、2、3、4或5个R取代，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{b4} 、 R_{b5} 、 R_{b6} 、 R_{b7} 和 R_{b8} 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CH_3 、 CF_3 、 CH_2CH_3 、 CF_2CF_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 和环丙基，其他变量如本发明所定义。

本发明还提供了式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐，



其中，

$\diagup$ 选自单键或双键；

T_1 选自 CR_a 和N；

L_1 选自O和S；

R_1 选自苯基和萘基，所述苯基和萘基分别独立地任选被1、2、3、4或5个 R_b 取代；

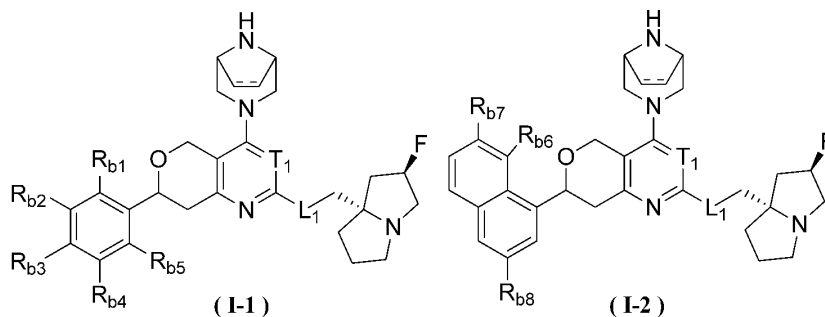
R_a 选自H和CN；

各 R_b 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{2-3} 炔基、 C_{2-3} 烯基、 $-C(=O)C_{1-3}$ 烷基和 C_{3-5} 环烷基，所述 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{2-3} 炔基、 C_{2-3} 烯基、 $-C(=O)C_{1-3}$ 烷基和 C_{3-5} 环烷基任选被1、2、3、4或5个卤素取代。

在本发明的一些方案中，所述各 R_b 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 和环丙基，所述 CH_3 、 CH_2CH_3 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 和环丙基任选被1、2、3、4或5个卤素取代，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述各 R_b 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CH_3 、 CF_3 、 CH_2CH_3 、 CF_2CF_3 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 和环丙基，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述化合物或其药学上可接受的盐，其化合物选自，



其中，

选自单键或双键；

T₁ 和 L₁ 如本发明所定义；

R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6} 和 R_{b7} 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₂₋₃ 炔基、C₂₋₃ 烯基、-C(=O)C₁₋₃ 烷基和 C₃₋₅ 环烷基，所述 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₂₋₃ 炔基、C₂₋₃ 烯基、-C(=O)C₁₋₃ 烷基和 C₃₋₅ 环烷基任选被 1、2、3、4 或 5 个卤素取代。

在本发明的一些方案中，所述 R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6}、R_{b7} 和 R_{b8} 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH 和环丙基，所述 CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH 和环丙基任选被 1、2、3、4 或 5 个 R 取代，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，所述 R_{b1}、R_{b2}、R_{b3}、R_{b4}、R_{b5}、R_{b6}、R_{b7} 和 R_{b8} 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CF₃、CH₂CH₃、CF₂CF₃、-CH=CH₂、-C≡CH 和环丙基，其他变量如本发明所定义。

在本发明的实施例 8 中，化合物 8 的盐酸盐由化合物 8-3 通过步骤 6 和步骤 7 制备得到，其中化合物 8-3 是由化合物 8-2 与化合物 1-12B 经过步骤 5 制备得到，化合物 8-2 与化合物 1-12B 分别由化合物 8-1A 和化合物 1-11B 制备得到。

在本发明的实施例 8 中，化合物 8 的盐酸盐是由化合物 8-1A 制备得到，其中，化合物 8-1A 通过 SFC 分析（色谱柱：Chiralpak IH-3, 100×4.6mm I.D., 3μm；流动相：A（超临界 CO₂）和 B（乙醇，含 0.1% 异丙胺）；梯度：B%=10~50%，4 min；流速：3.4 mL/min；波长：220nm；压力：2000psi）显示保留时间为 1.489 min。

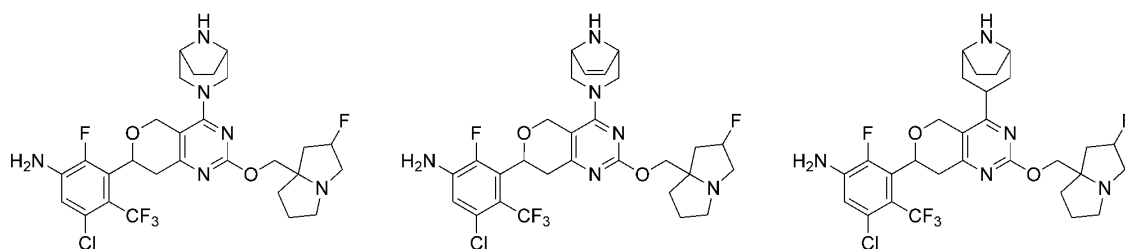
在本发明的实施例 8 中，化合物 8 的盐酸盐是由化合物 1-11B 制备得到，其中，化合物 1-11B 通过 SFC 分析（色谱柱：(S,S)Whelk-O1 100×4.6mm I.D., 5.0μm；流动相：A:超临界 CO₂，B: [75% 异丙醇/25% 乙腈/0.05% 二乙胺]；B%: 50%-50%，流速：2.5 mL/min）显示保留时间为 3.317 min，其对映异构体的保留时间为 2.536 min。

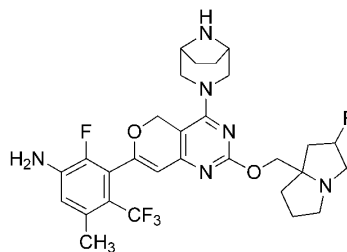
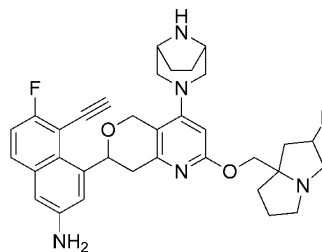
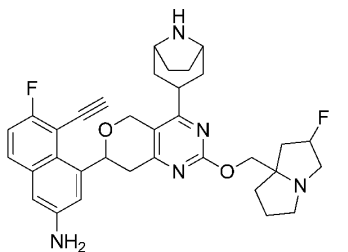
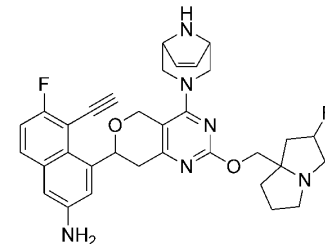
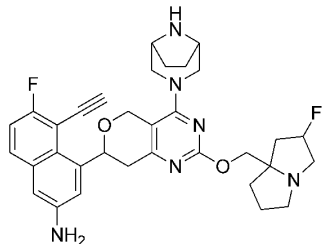
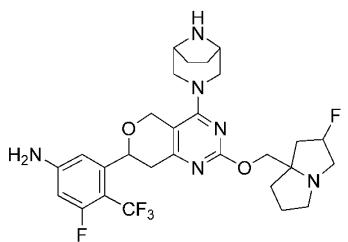
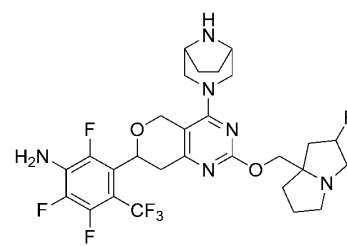
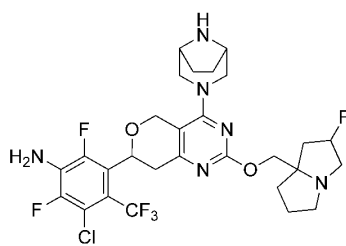
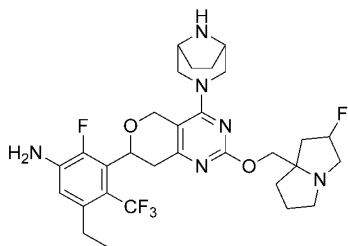
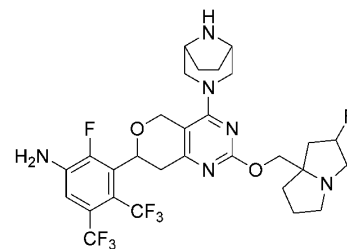
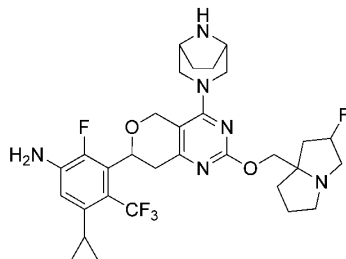
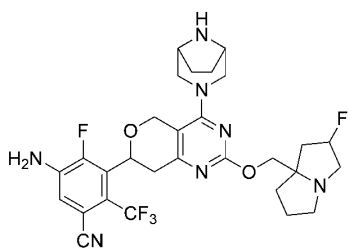
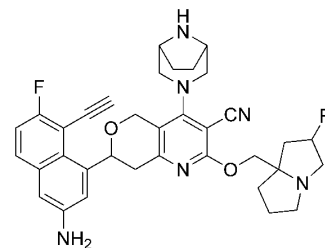
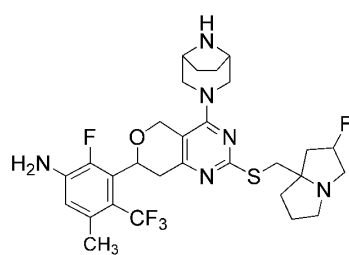
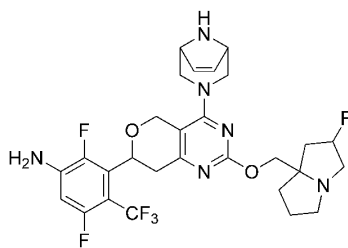
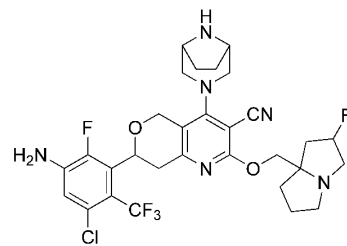
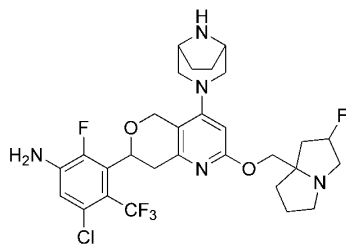
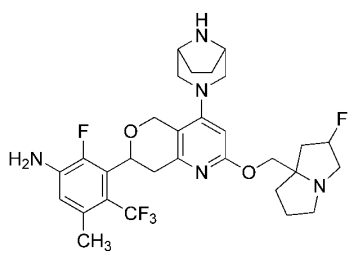
在本发明的实施例 8 中，化合物 8 是由化合物 1-11B 制备得到，其中，化合物 1-11B 通过 SFC 分析（色谱柱：(S,S)Whelk-O1 100×4.6mm I.D., 5.0μm；流动相：A:超临界 CO₂，B: [75% 异丙醇/25% 乙腈/0.05% 二乙胺]；B%: 50%-50%，流速：2.5 mL/min）显示保留时间为 3.317 min，其对映异构体的保留时间为 2.536 min。

在本发明的实施例 8 中，化合物 1-11B 通过 SFC 分析（色谱柱：(S,S)Whelk-O1 100×4.6mm I.D., 5.0μm；流动相：A:超临界 CO₂，B: [75% 异丙醇/25% 乙腈/0.05% 二乙胺]；B%: 50%-50%，流速：2.5 mL/min）显示保留时间为 3.317 min，其对映异构体的保留时间为 2.536 min，1-11B 经过实施例 8 中所述步骤合成得到化合物 8 的盐酸盐。

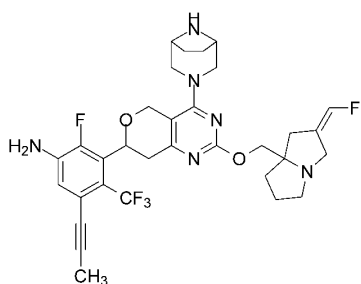
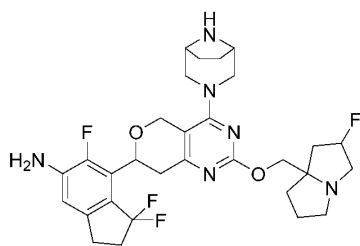
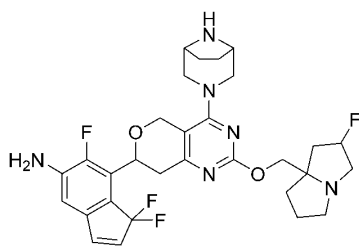
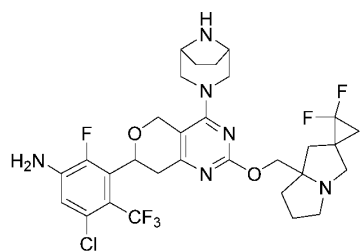
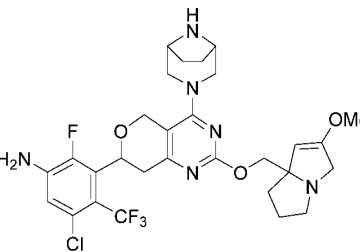
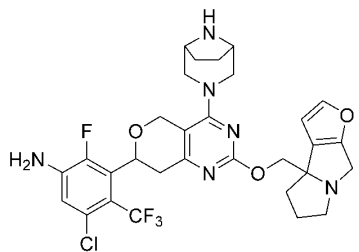
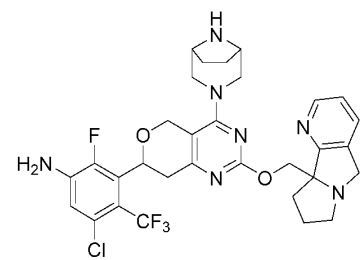
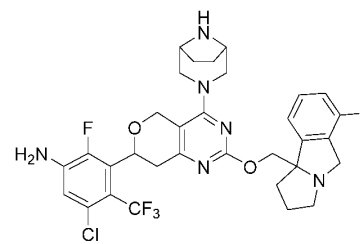
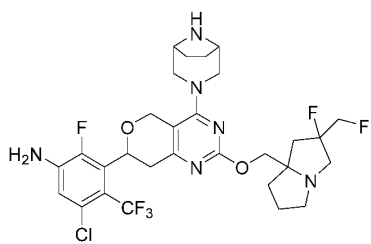
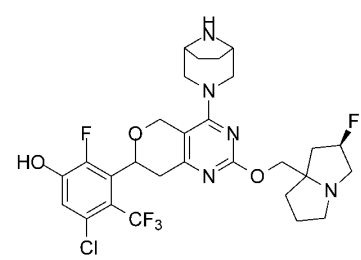
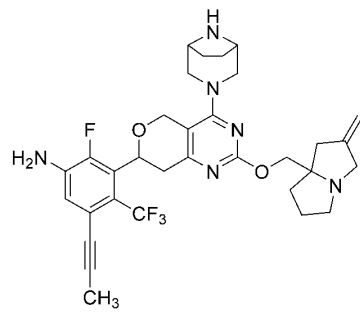
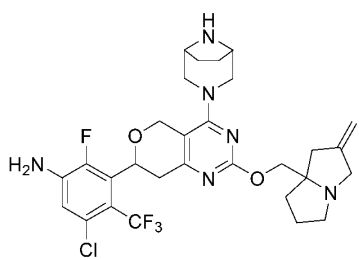
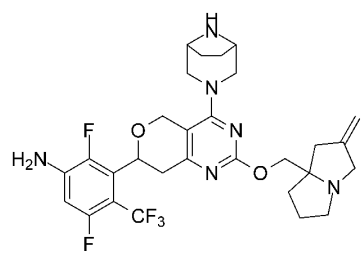
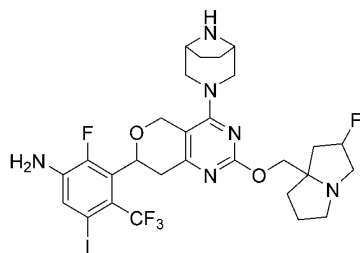
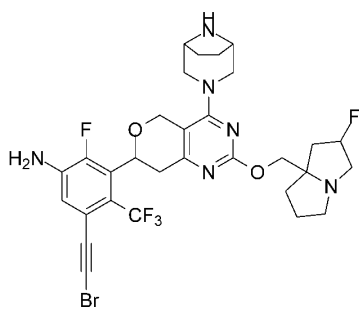
本发明还有一些方案是由所述变量任意组合而来。

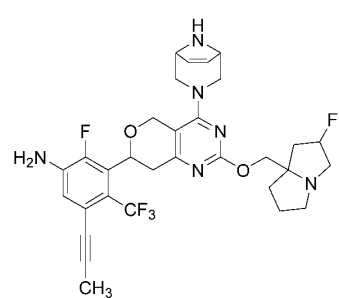
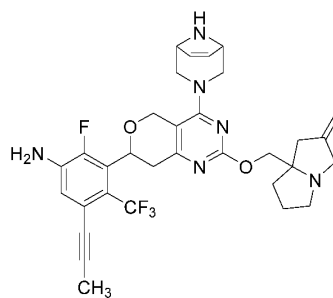
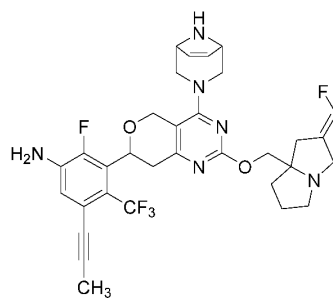
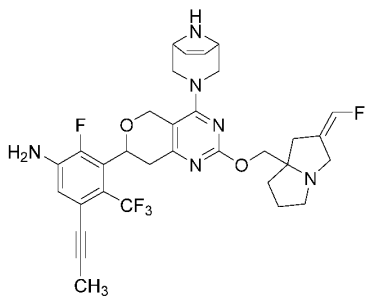
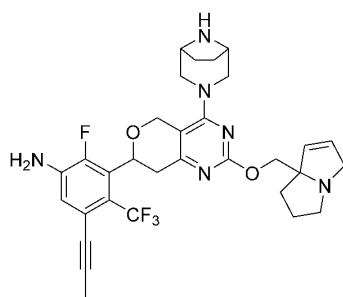
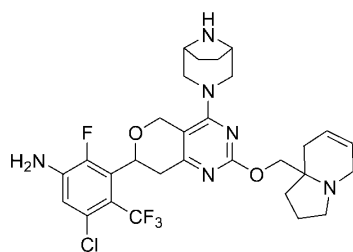
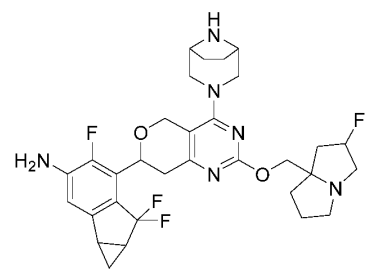
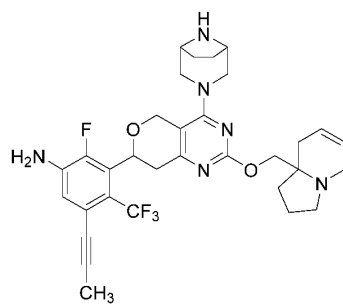
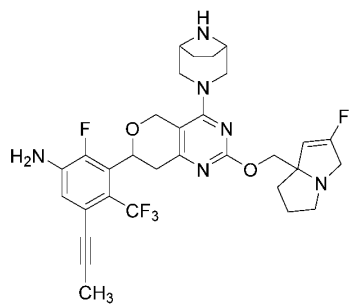
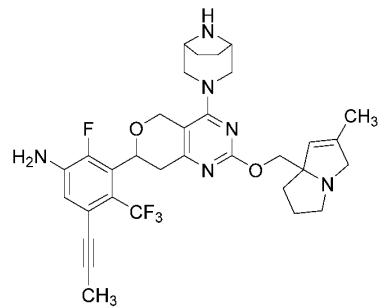
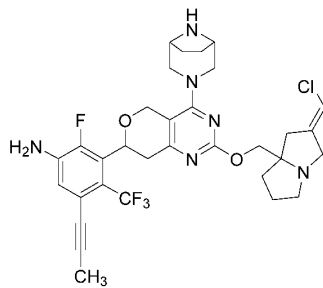
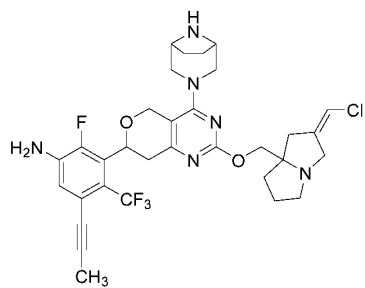
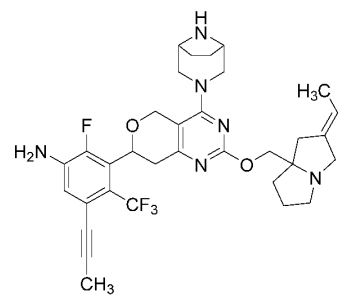
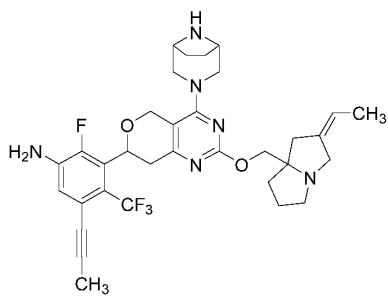
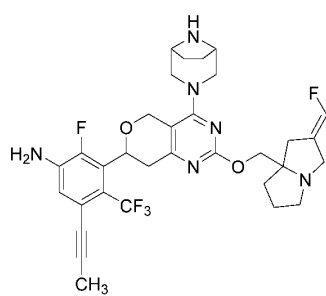
本发明提供了下式所示化合物或其药学上可接受的盐，



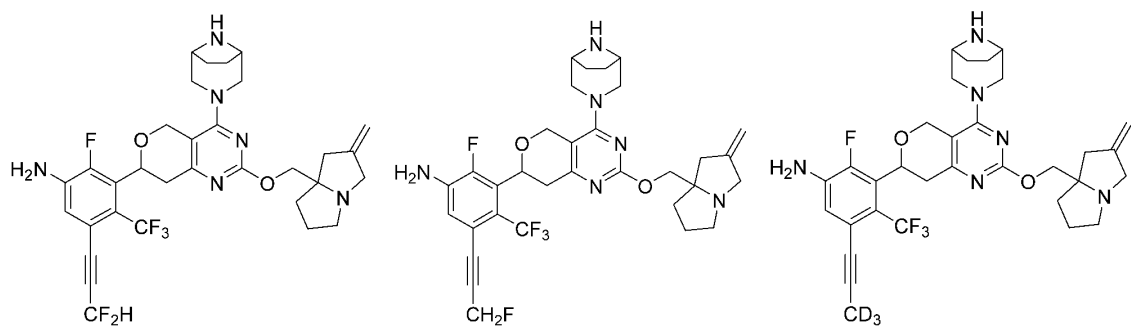




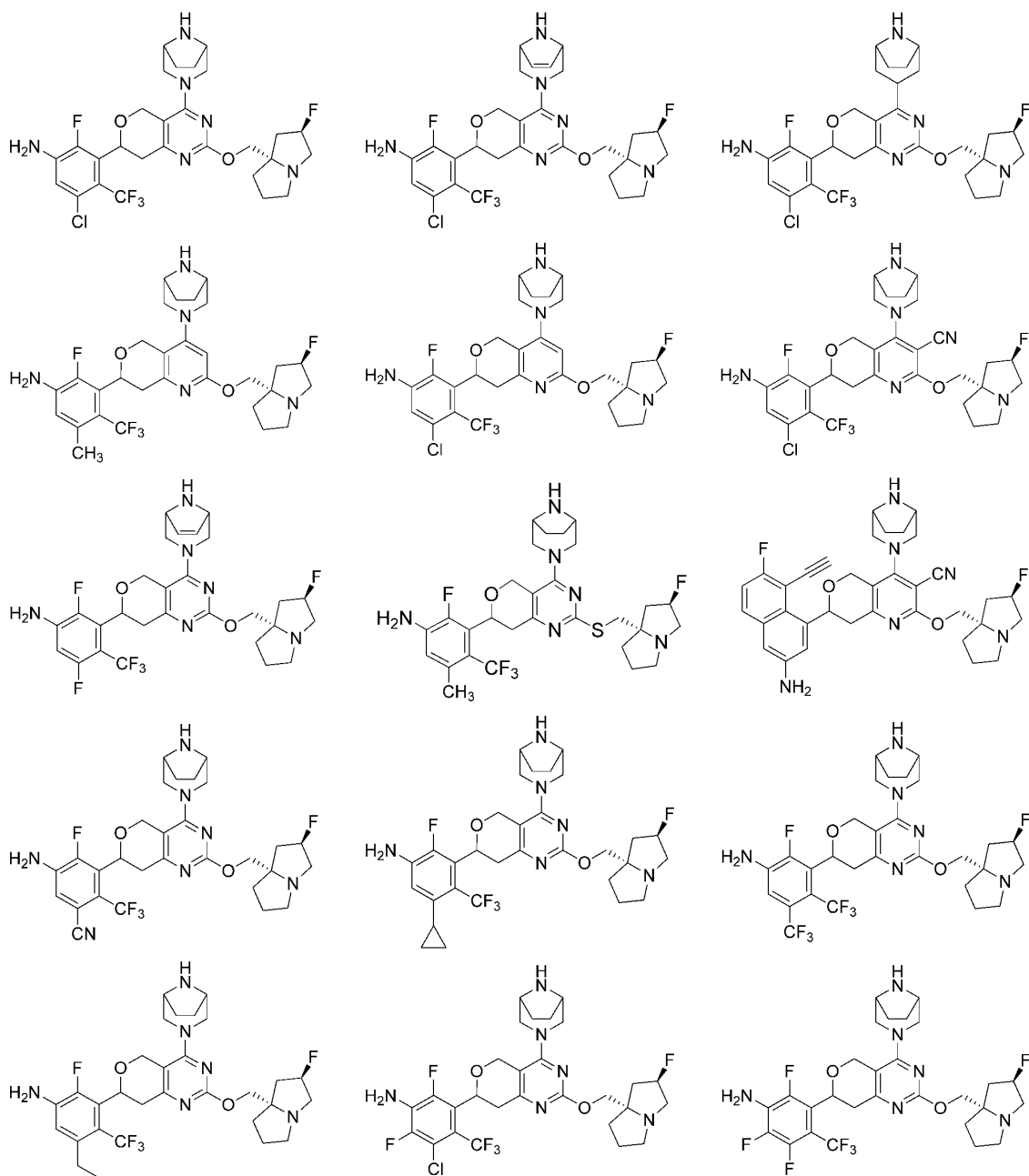


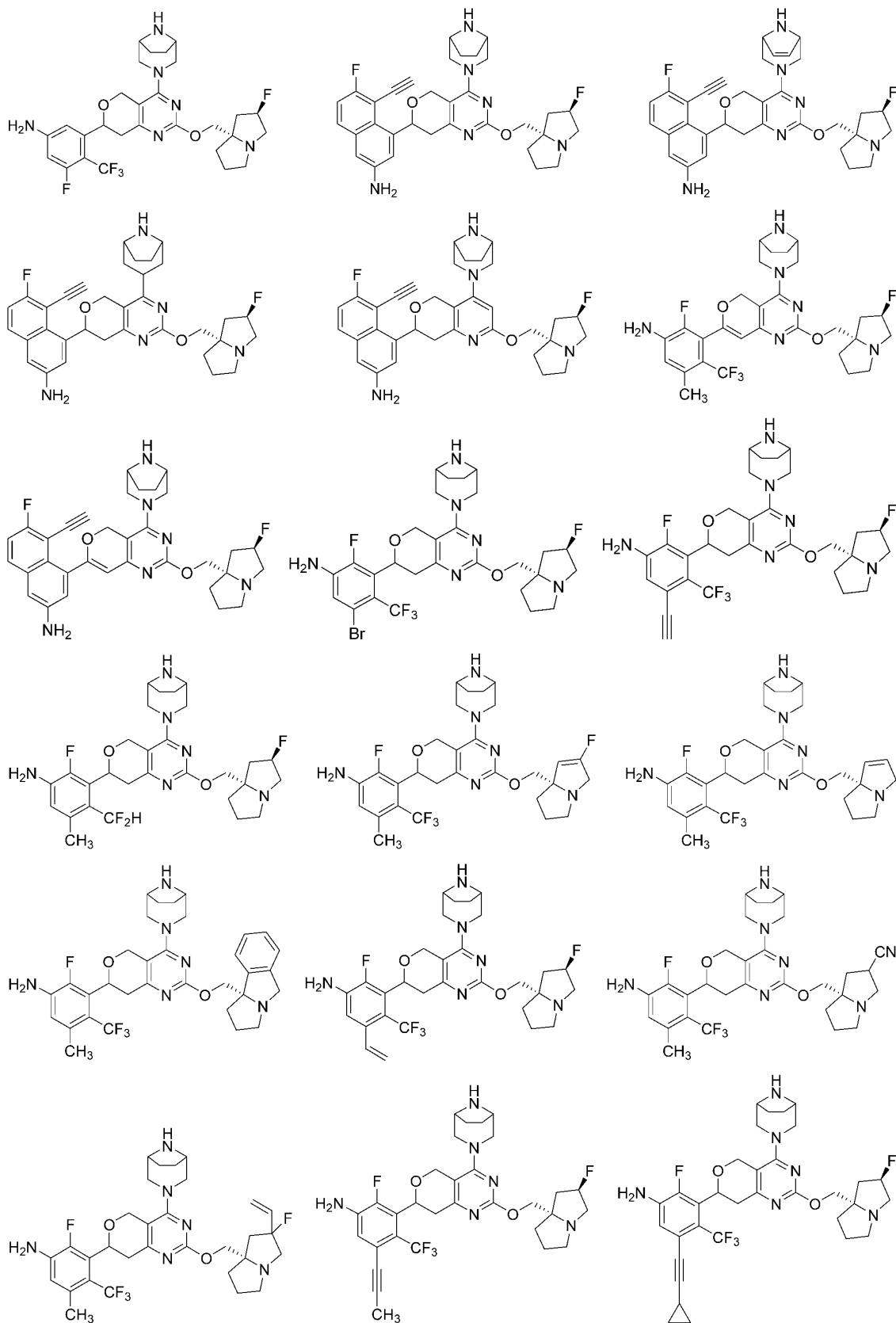


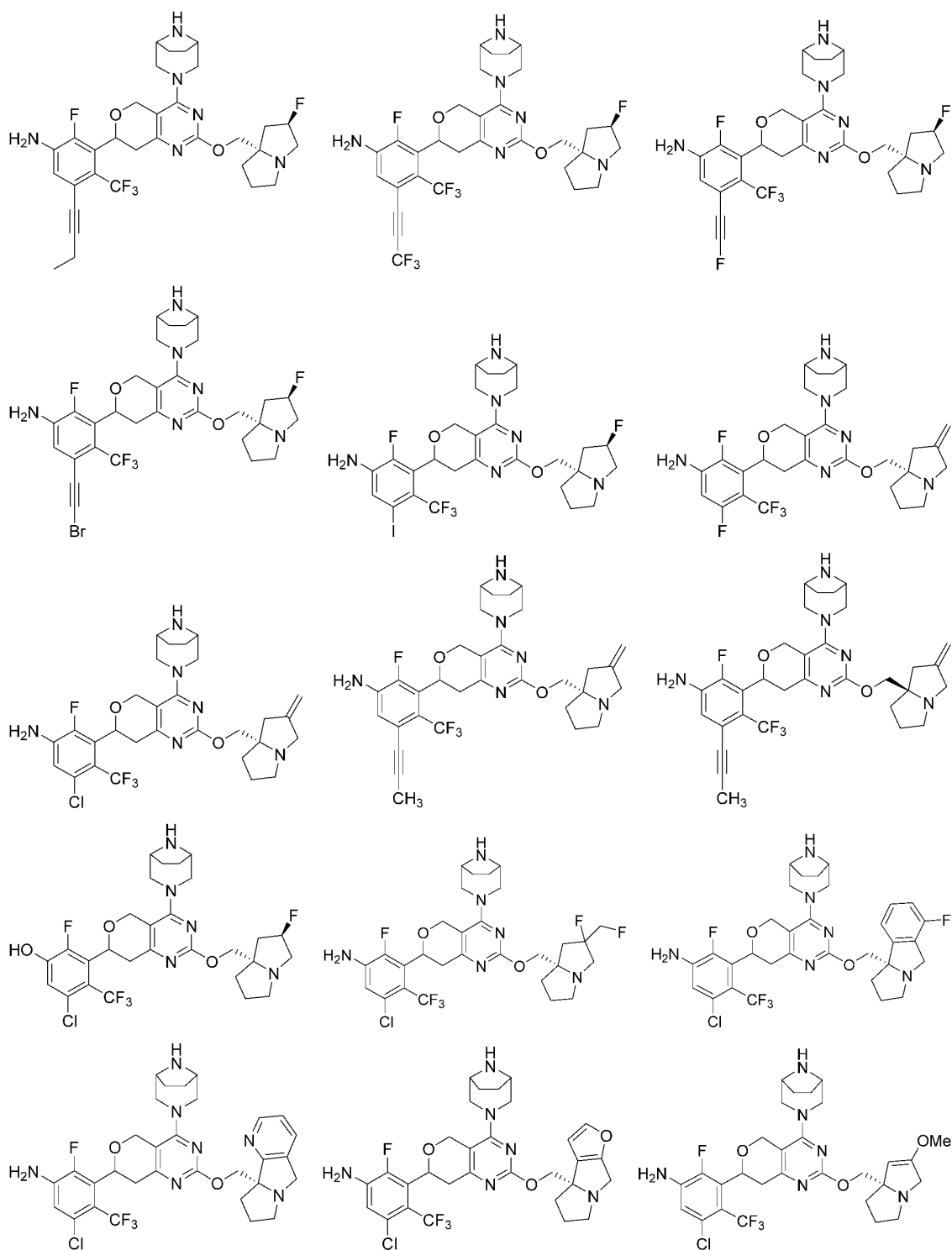




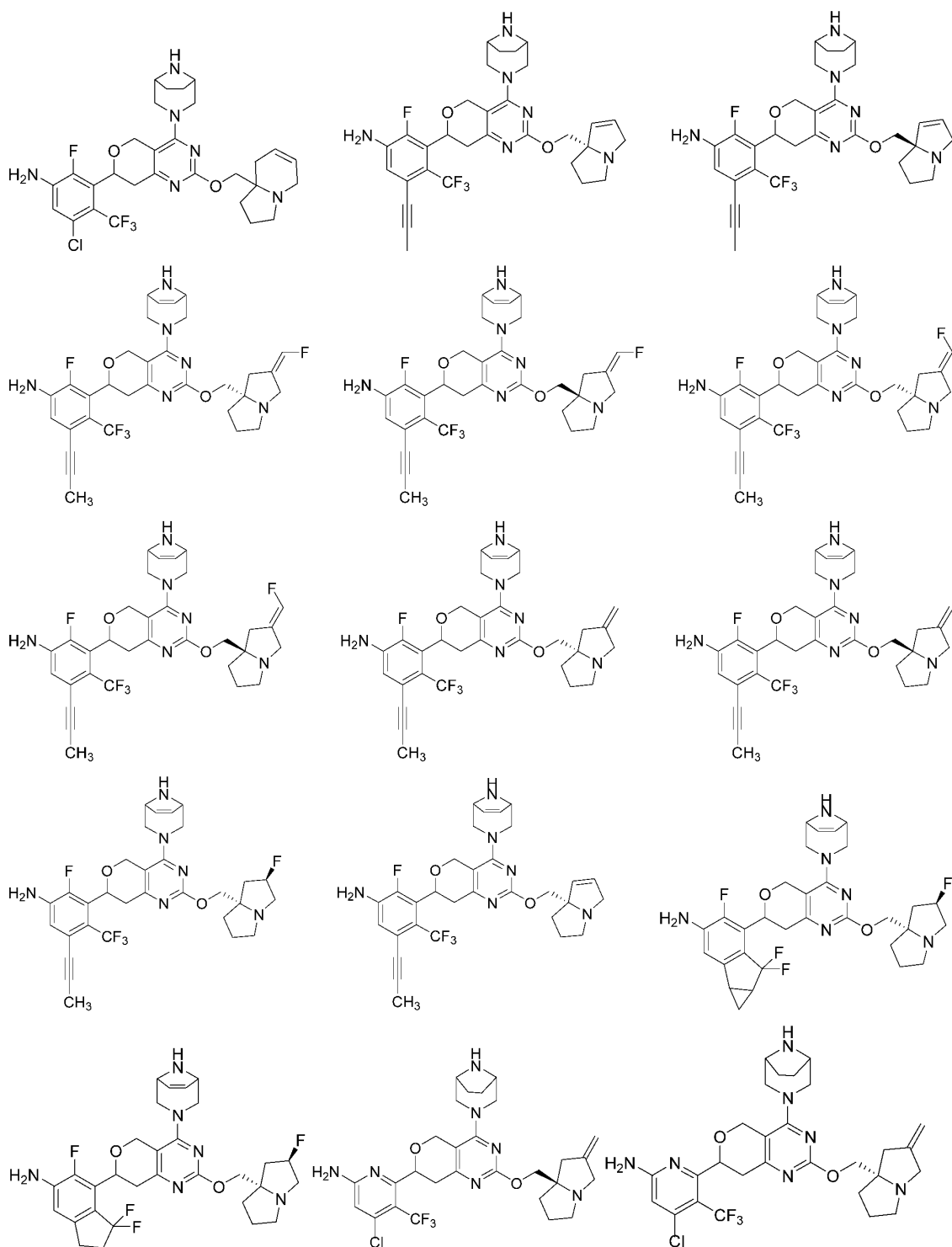
6

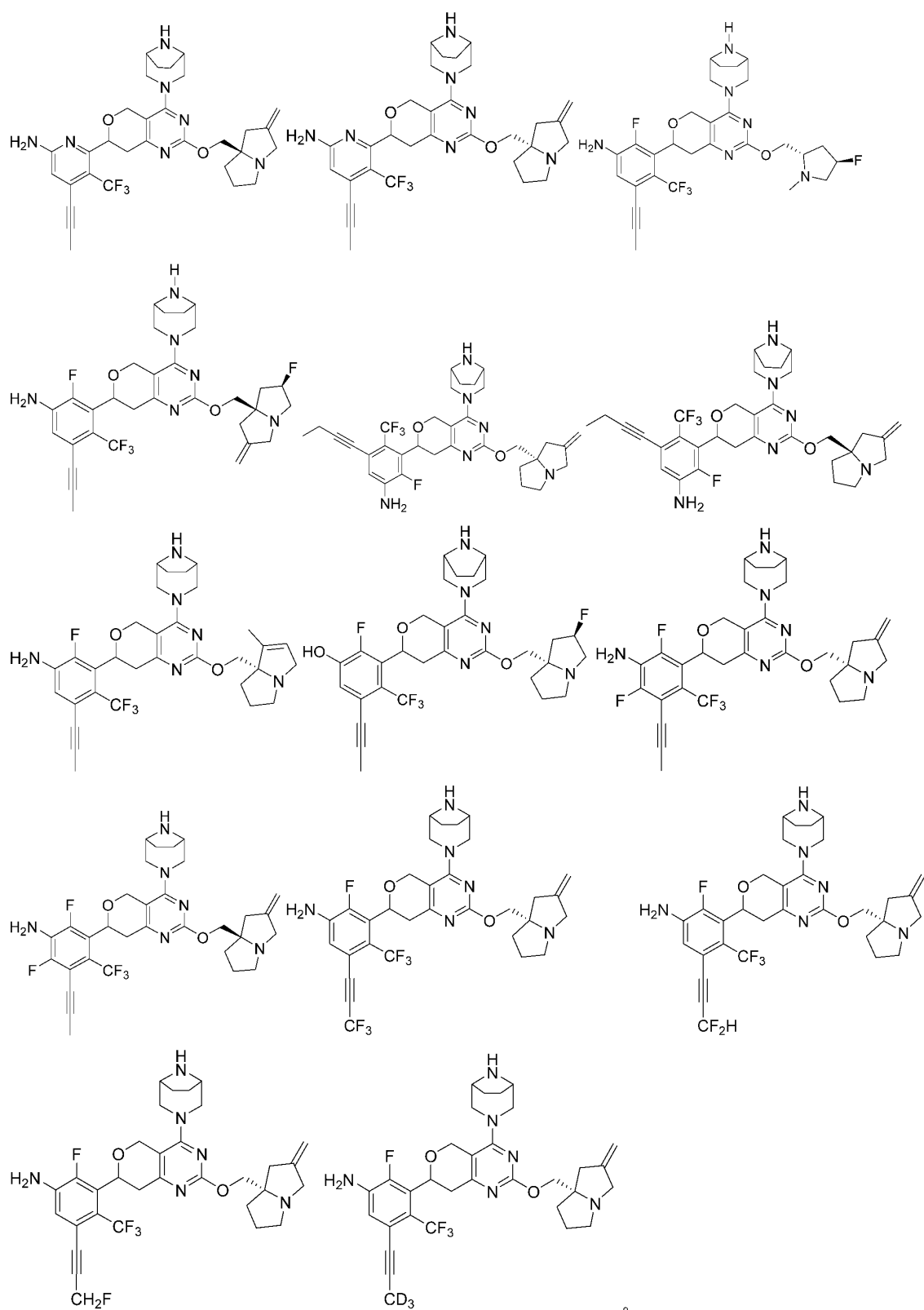




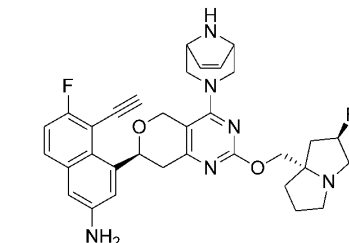
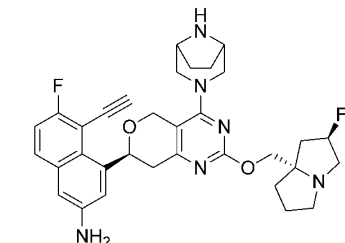
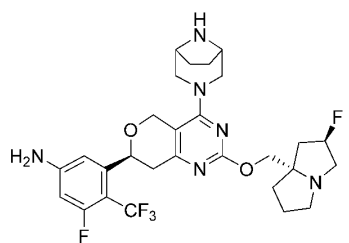
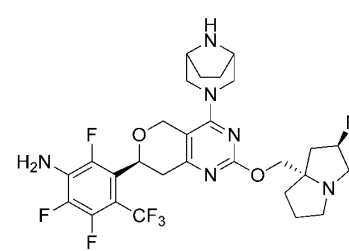
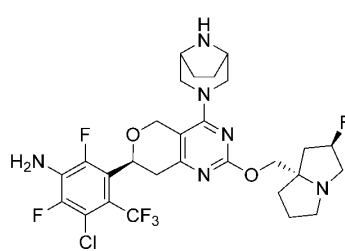
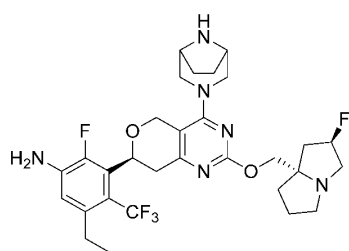
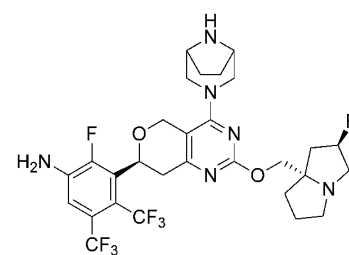
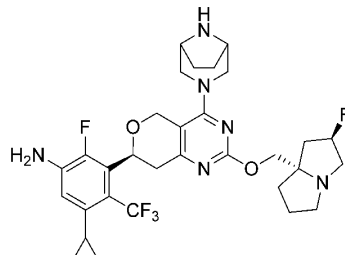
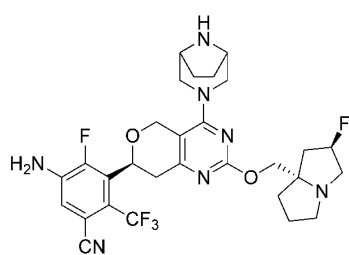
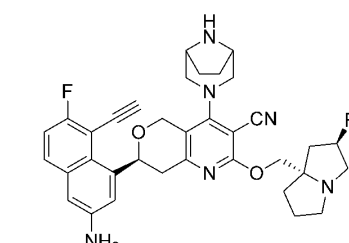
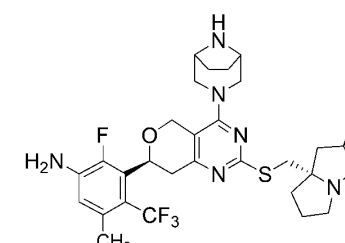
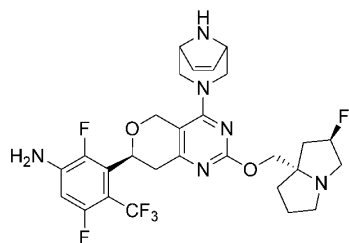
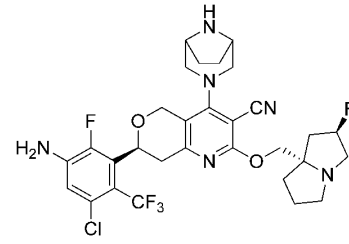
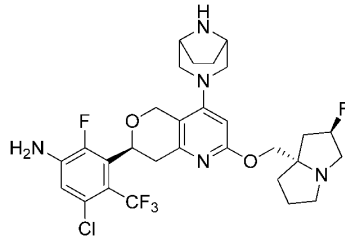
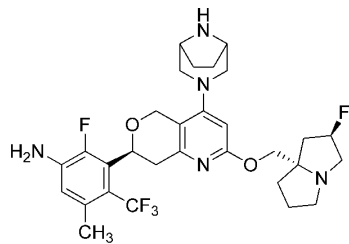
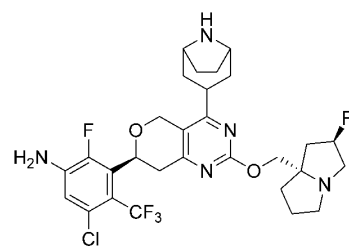
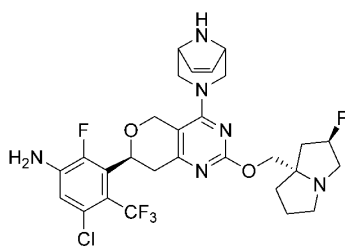
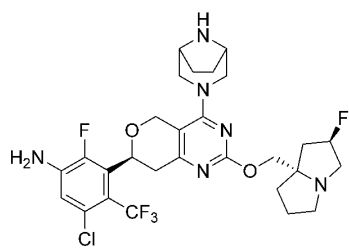


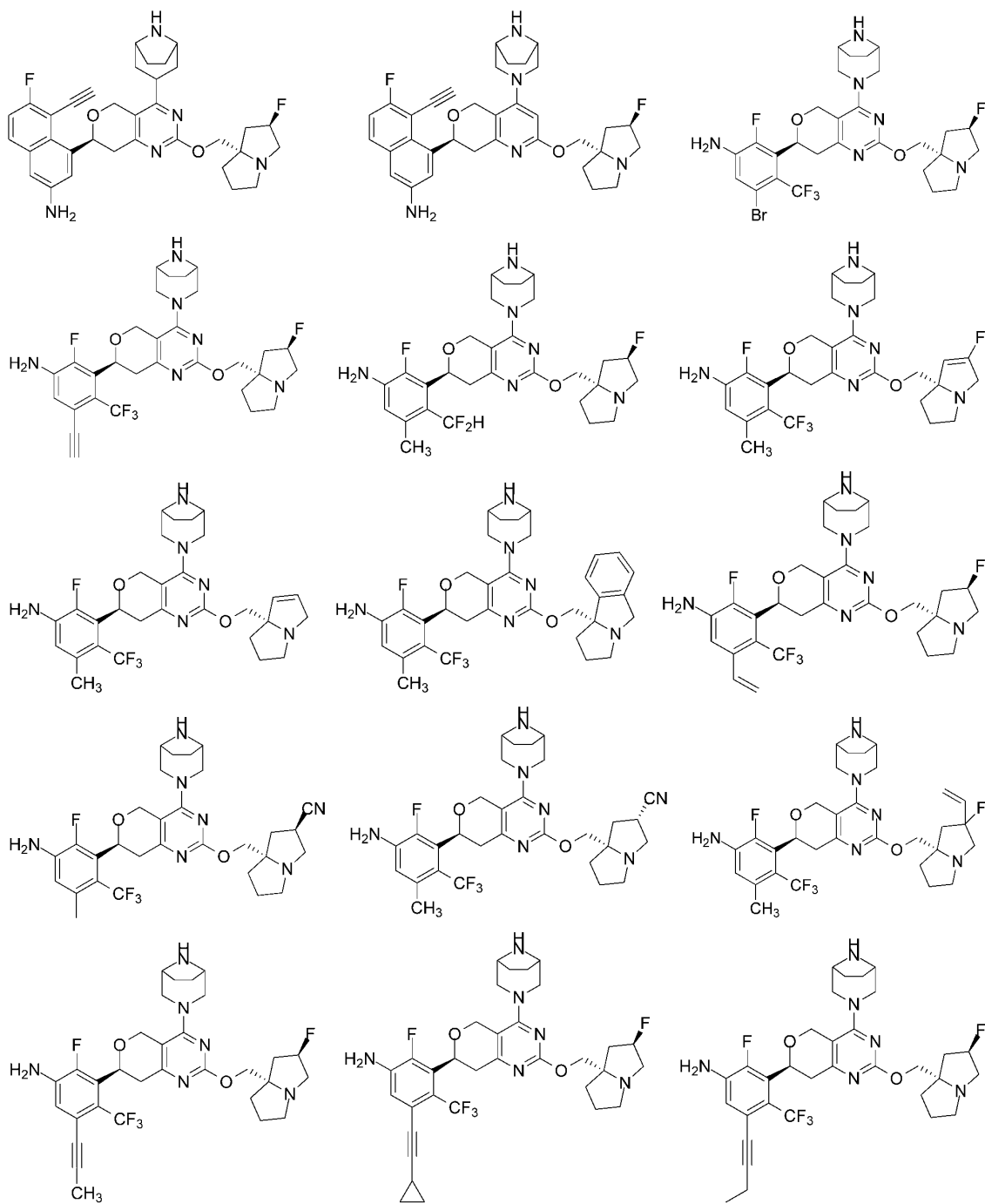


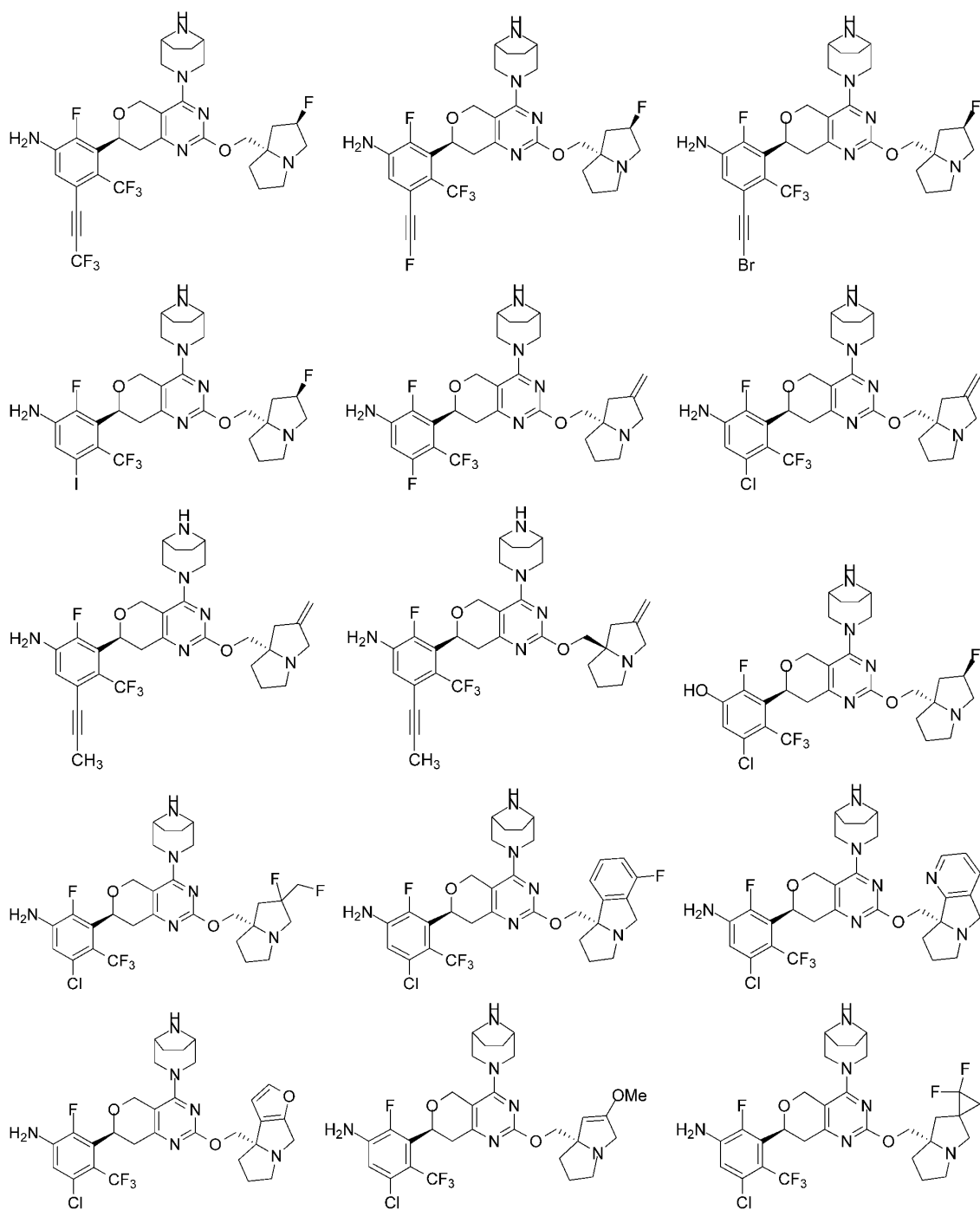


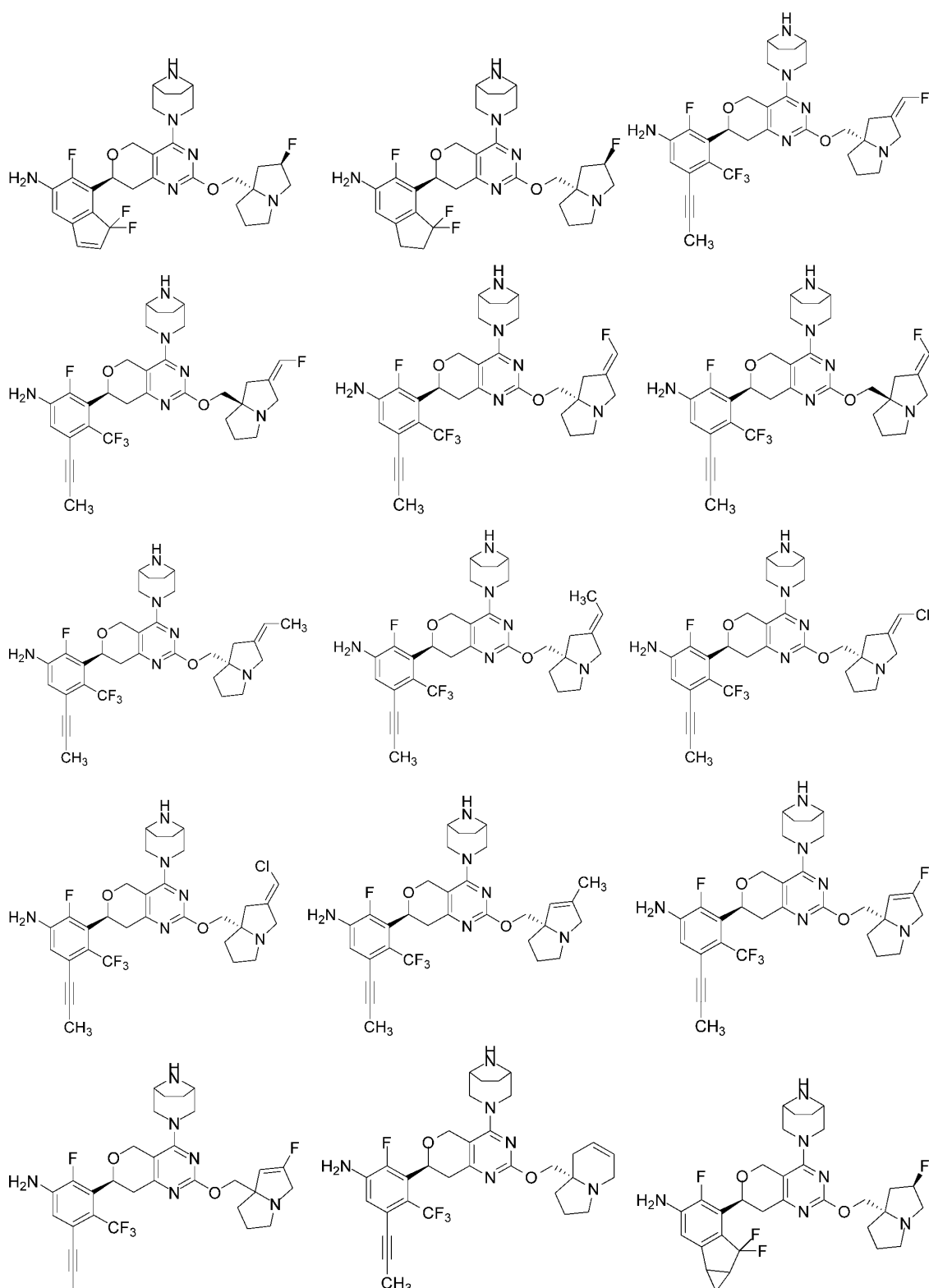


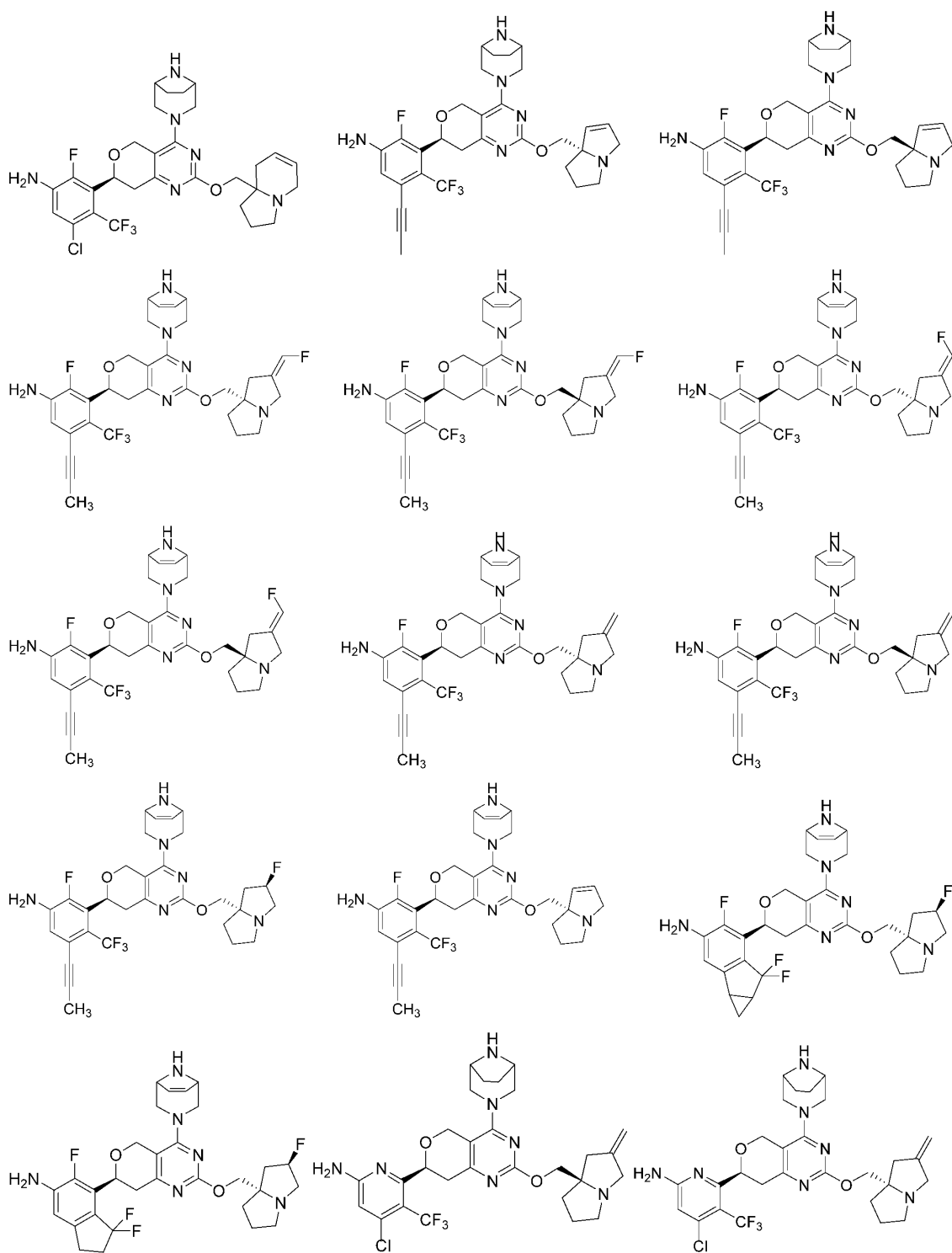
在本发明的一些方案中，所述化合物或其药学上可接受的盐，其选自，



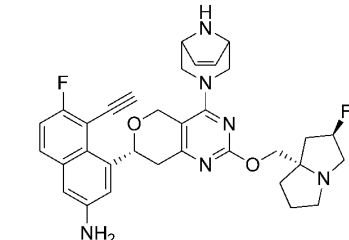
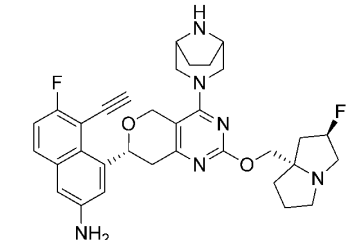
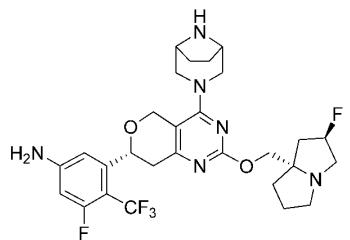
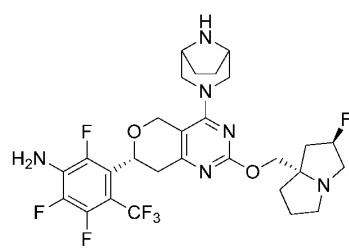
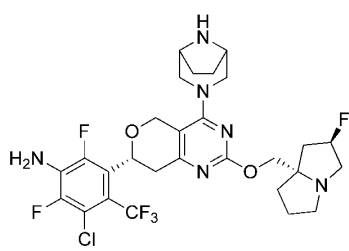
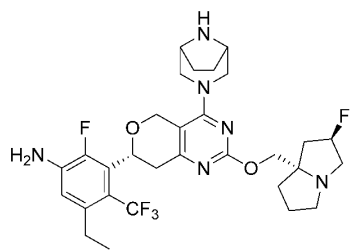
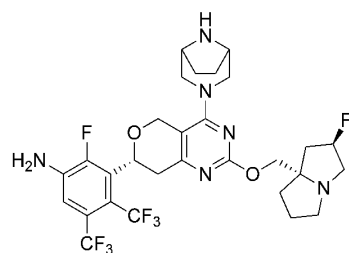
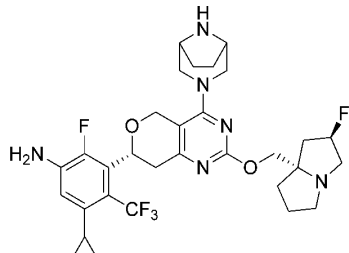
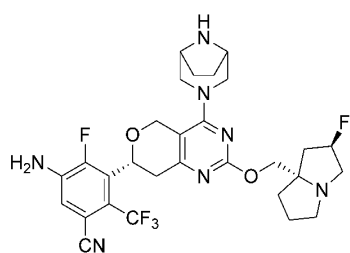
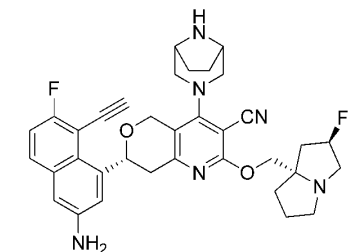
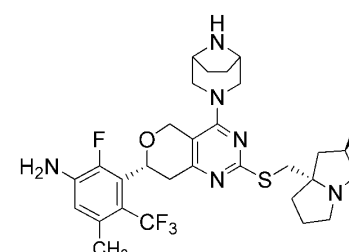
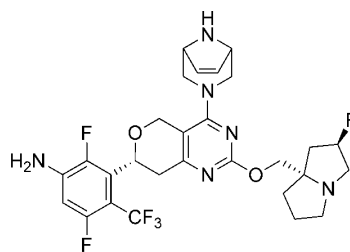
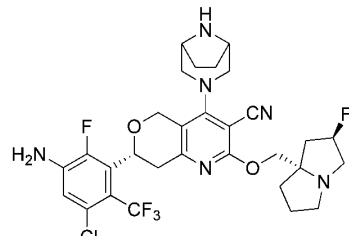
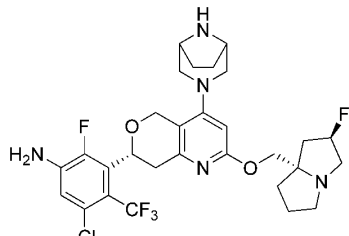
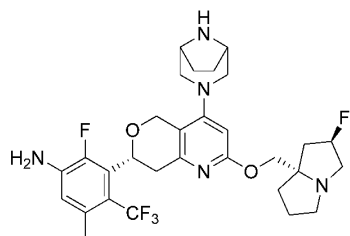
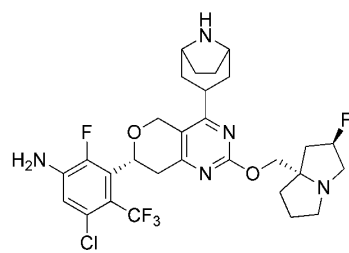
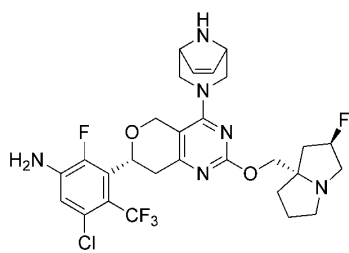
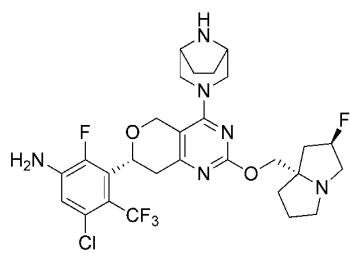


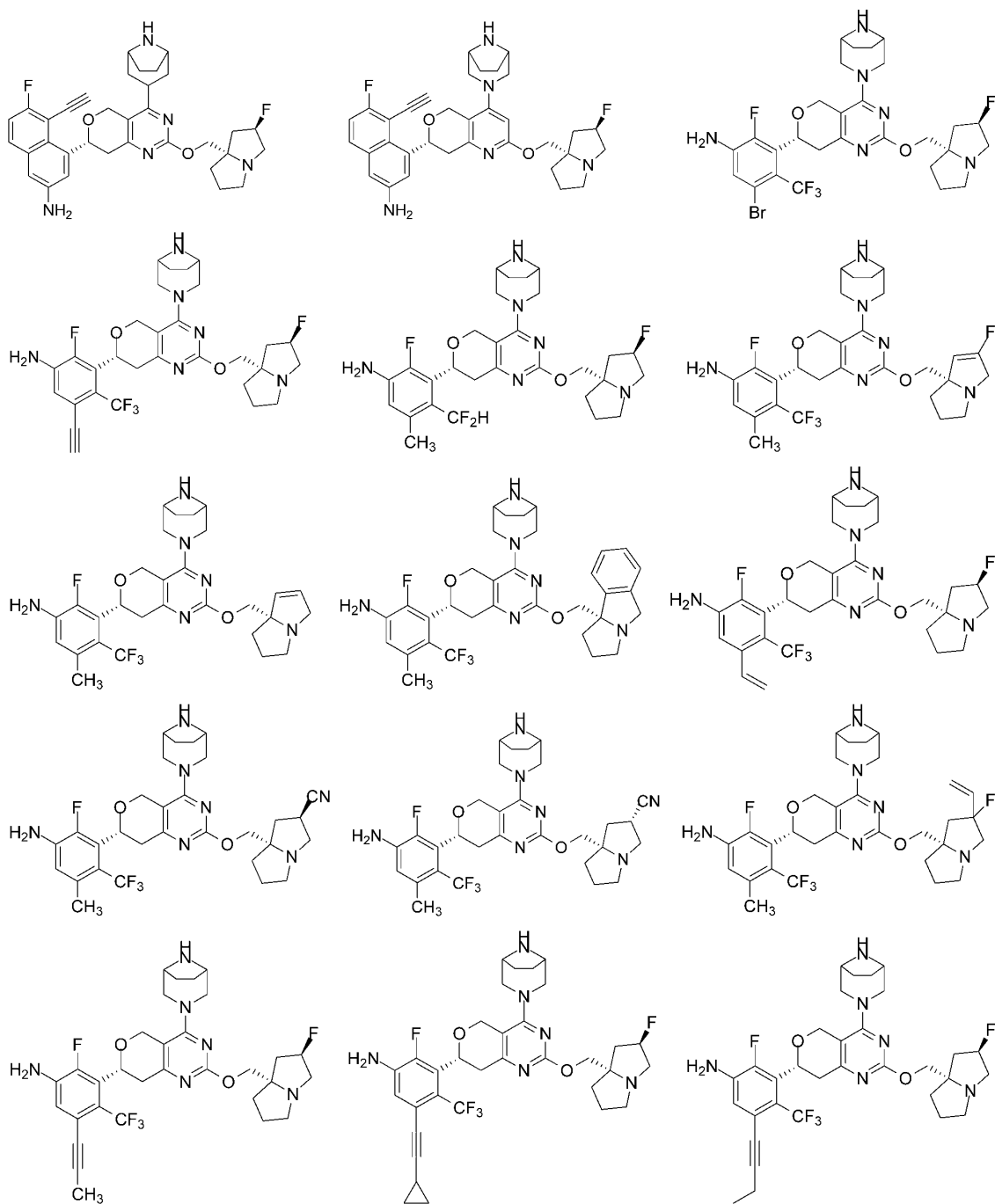


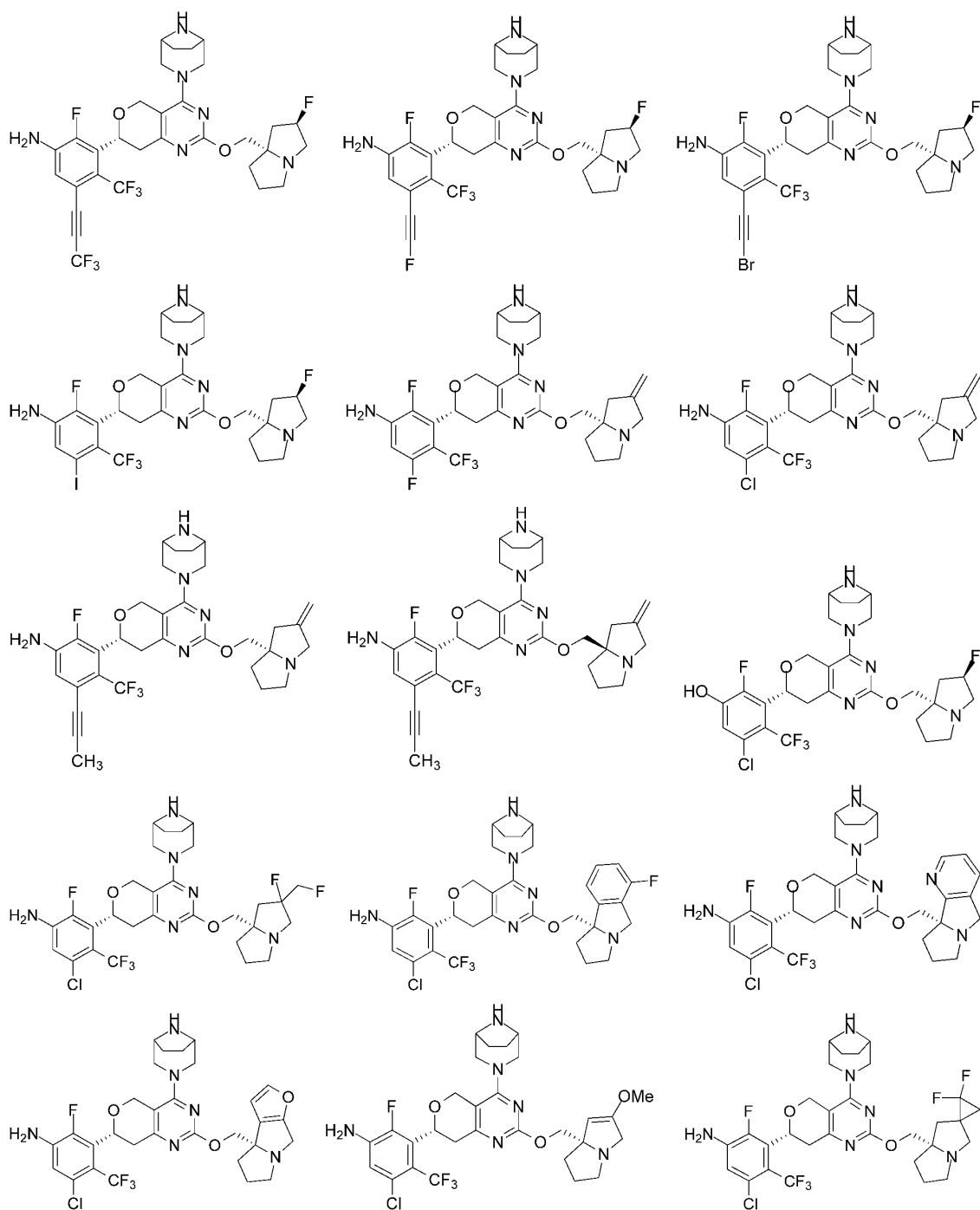




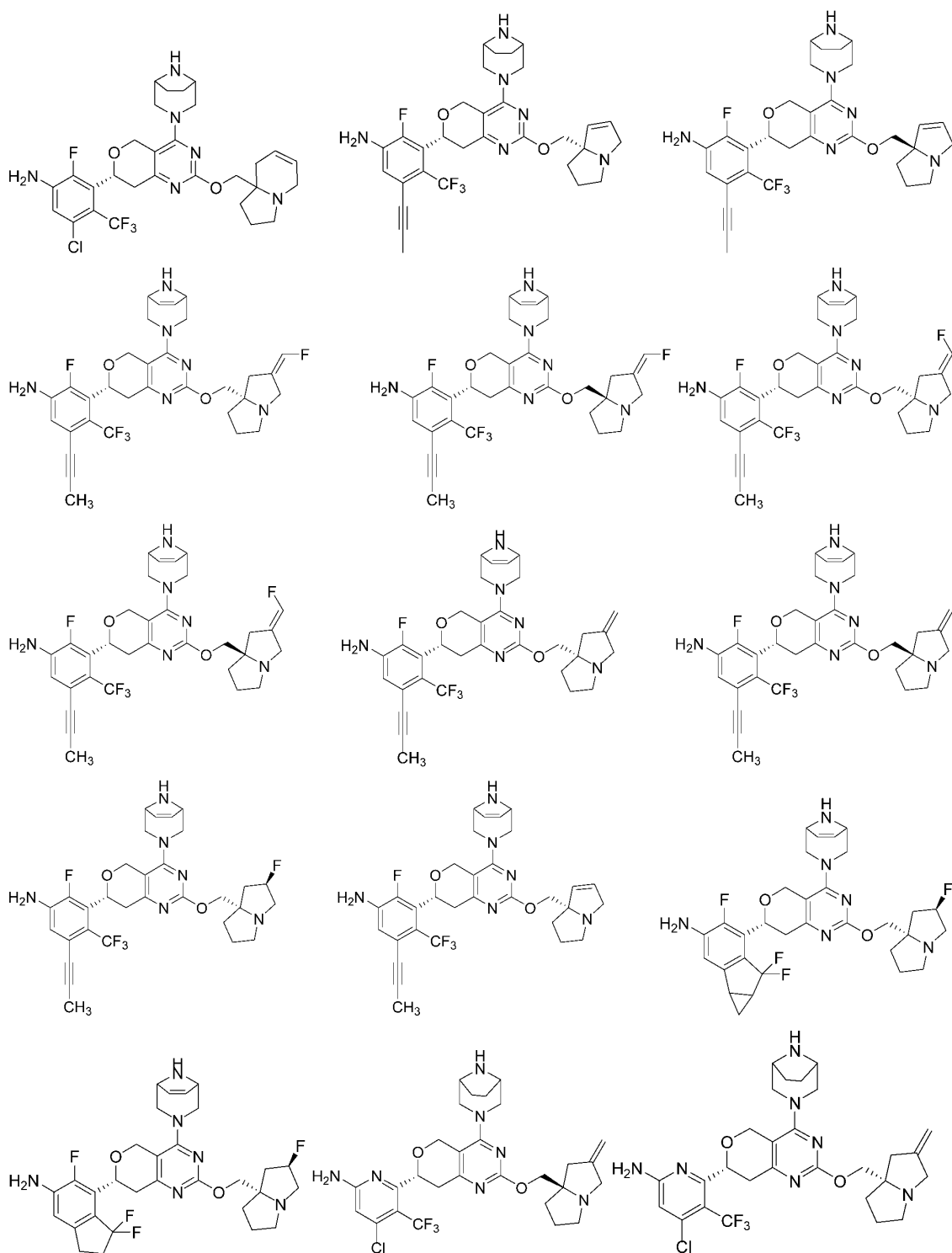


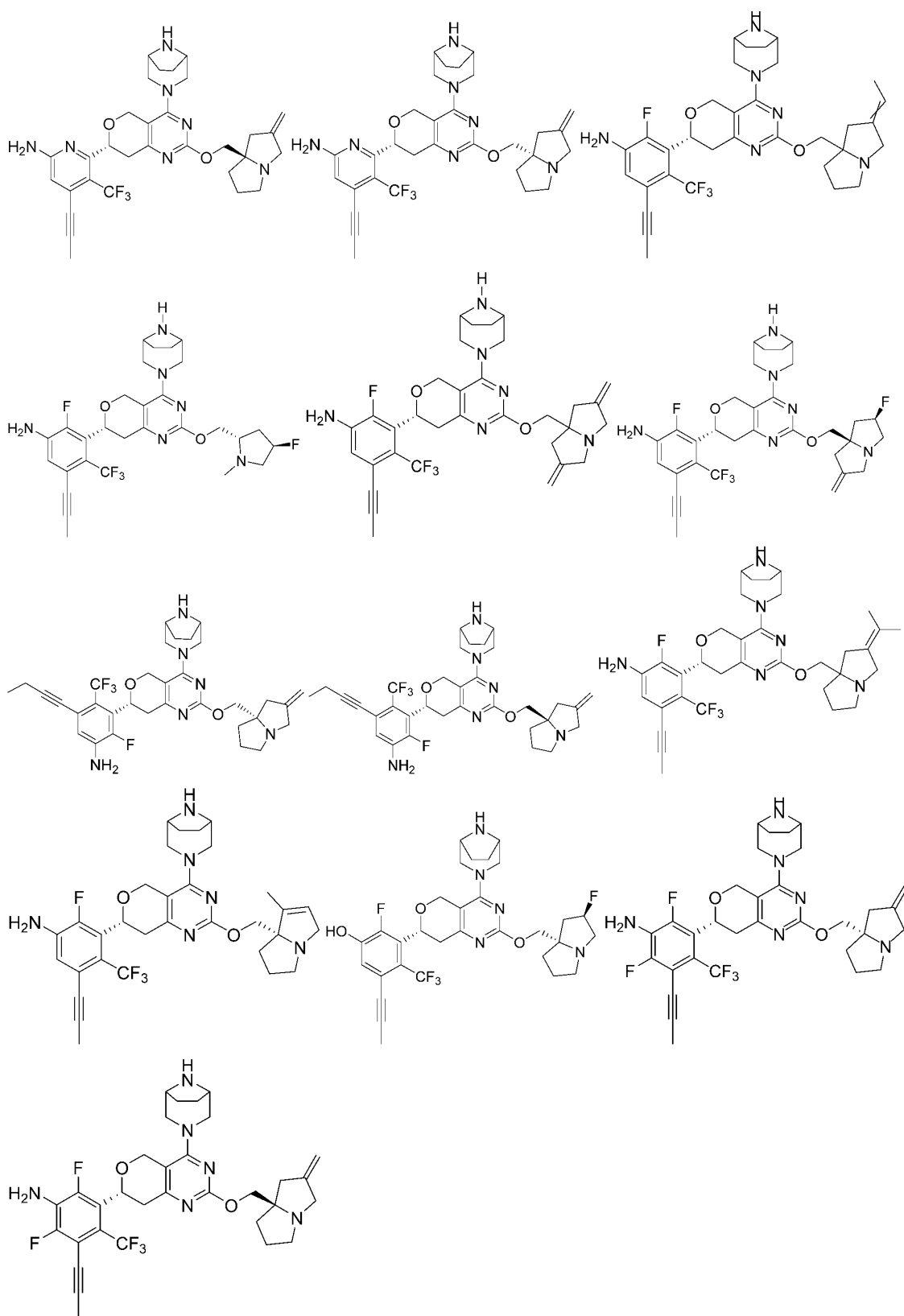










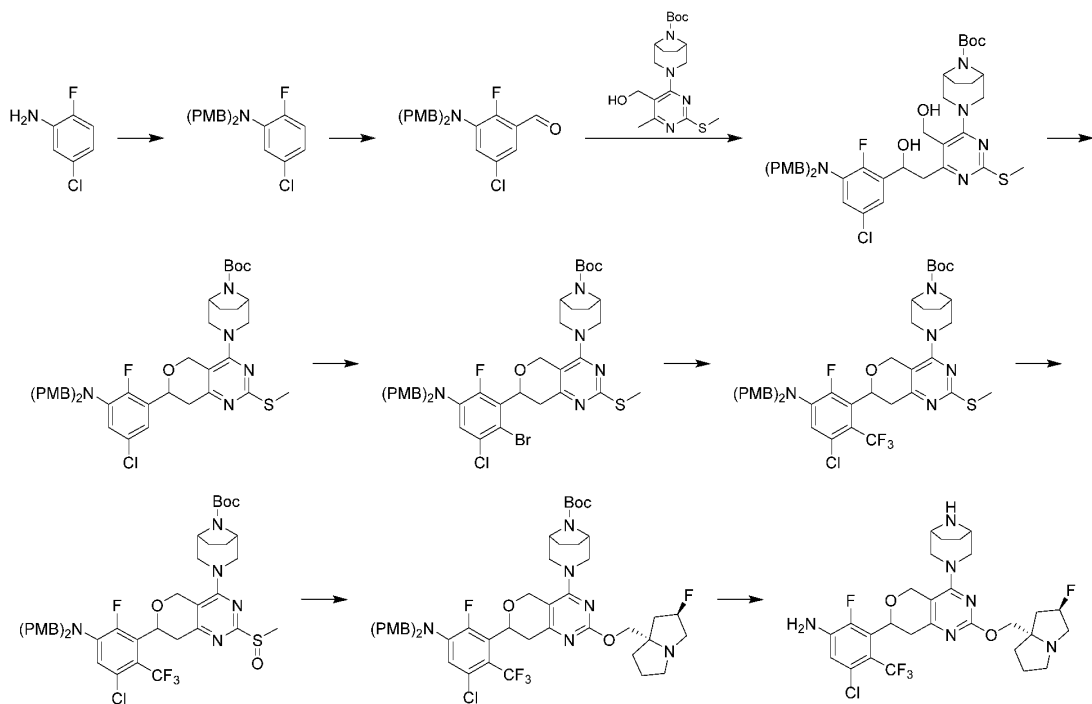


本发明还提供了上述化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗与 KRAS^{G12D} 突变相关疾病的药物中的应用。

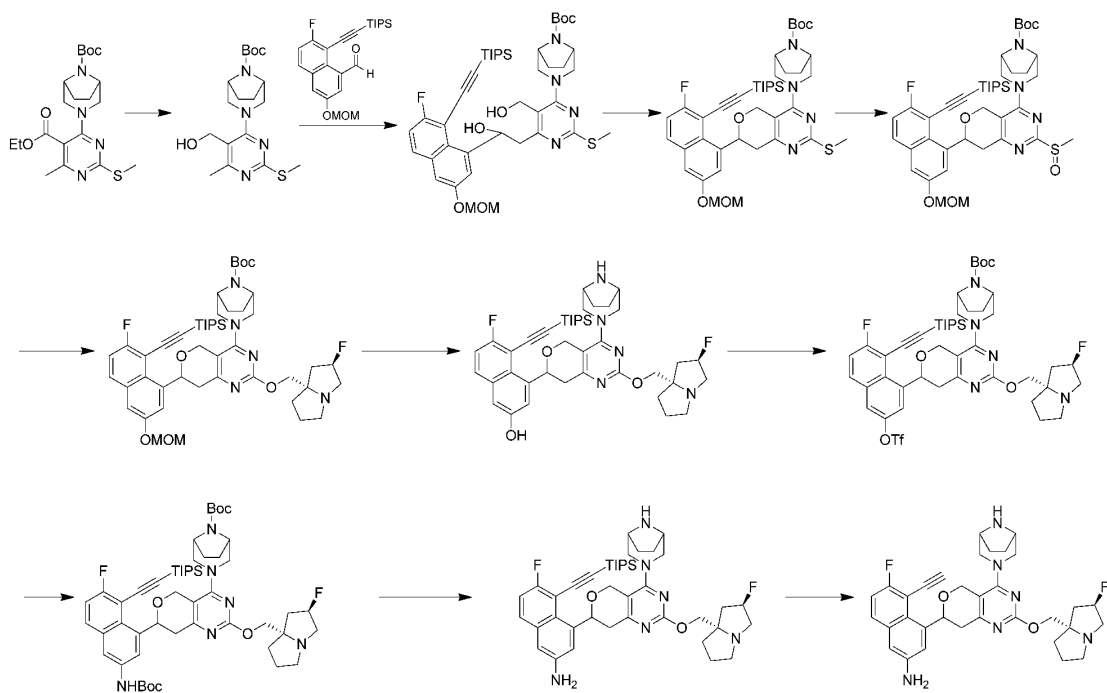
本发明还提供了上述化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗与肿瘤相关疾病的药物中的应用。

本发明还提供了下列合成方法：

合成方法 1：



合成方法 2：



本发明还提供了下列测试方法：

测试方法 1. KRAS^{G12D} 抑制活性测试

1. 目的

通过 TR-FRET 的方法，筛选出能有效抑制 KRAS 与 GTP 结合的化合物。

2. 耗材和仪器

表 1. 耗材和仪器

名称	供应商	货号
HEPES (4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸) pH 7.3	赛默飞	BP299-500
氯化钠	普洛麦格	V4221
EDTA(乙二胺四乙酸)	EMD Millipore	324506
吐温 20	伯乐	1706531
氯化镁	MP 生物医学	191421
Bodipy GDP (鸟苷 5'-二磷酸, BODIPY™ FL 2'-(或-3') - O-(N-(2-氨基乙基) 尿烷), 二(三乙基铵) 盐)	英杰	G22360
GTP(鸟嘌呤-5'-三磷酸)	西格玛	G8877
Tb-SA (铽标记链霉亲和素)	英杰	PV3576
SOS (son of sevenless)蛋白		
KRAS ^{G12D} (Kirsten rat sarcoma viral oncogene)蛋白		
化合物板	Labcyte	LP-0200
实验板	柏金埃尔默	6008269
15 毫升离心管	康宁	430791
1.5 毫升离心管	爱思进	MCT-150-C
Dragonfly 自动加样仪	TTP	
Bravo	安捷伦	
Echo 550	Labcyte	
Envision	柏金埃尔默	

3. 试剂准备

a. 储存试剂：

1) KRAS 核苷酸交换缓冲液

取 20mL 1000mM HEPES，20mL 500mM EDTA，10mL 5M 氯化钠，100% 0.1mL 吐温 20，949.9 mL 水，配制成 1L 溶液，用过滤法消毒，4℃条件下储存。

2) KRAS 实验缓冲液

取 20mL 1000mM HEPES，10mL 1000mM 氯化镁，30mL 5M 氯化钠，100% 0.05mL 吐温 20，939.95mL 水，配制成 1L 溶液，用过滤法消毒，4℃条件下储存。

3) KRAS/Bodipy GDP/Tb-SA 混合液

取 9.5μL 95μM KRAS^{G12D} 蛋白，440.5μL KRAS 核苷酸交换缓冲液混合，室温下孵育 1 小时后，与 8.4μL

17.9 μ M Tb-SA, 1.8 μ L 5mM Bodipy GDP, 9539.8 μ L KRAS 实验缓冲液, 配制成 1L 溶液, 混合后室温下静置 6 小时, 储存至-80°C条件下。

b.实验试剂:

1) KRAS 酶溶液

取 73.3 μ L KRAS/Bodipy GDP/Tb-SA 混合液, 2126.7 μ L KRAS 实验缓冲液, 配制成 2200 μ L 溶液。

2) SOS/GTP 混合液

取 1.59 μ L 166 μ M SOS 蛋白, 198 μ L 100mM GTP, 2000.41 μ L KRAS 实验缓冲液, 配制成 2200 μ L 溶液。

4. 实验流程

1) 对照化合物母液浓度为 1mM, 待测化合物母液浓度为 10mM。转移 9 μ L 对照化合物和待测化合物至 384-LDV 板内;

2) 使用 Bravo 将 LDV 板上的化合物进行 10 点 3 倍稀释;

3) 使用 ECHO 将 LDV 板上的化合物转移 9nL 至实验板;

4) 使用 Dragonfly 自动加样仪依次向实验板每孔中加入 3 μ L 3nM Kras /0.5nM TB-SA/30nM BodipyGDP 混合液和 3 μ L Ras buffer, 以 1000rpm/min, 将实验板离心 1 分钟;

5) 实验板在室温中孵育 1 小时;

6) 使用 Dragonfly 自动加样仪在实验板每孔加入 3 μ L 120nM SOS/9mM GTP 混合液, 以 1000rpm/min, 将实验板离心 1 分钟;

7) 实验板在室温中孵育 1 小时;

8) 使用 Envision 读板并记录数据;

9) 使用 Excel 和 Xlfit 进行数据分析, 计算待测化合物 IC₅₀。

测试方法 2. AGS 细胞 p-ERK 抑制测试

1. 目的

通过 HTRF 的方法, 筛选出能有效抑制 AGS 细胞 p-ERK 的化合物。

2. 实验流程

1). AGS 细胞种于透明 96 孔细胞培养板中, 80 μ L 细胞悬液每孔, 每孔包含 10000 个细胞, 细胞板放入二氧化碳培养箱, 37 度过夜孵育;

2). 结束孵育后, 弃掉细胞上清, 加入 80 μ L 每孔的培养基, 培养基含 0.02%血清, 细胞板放入二氧化碳培养箱, 37 度过夜孵育;

3). 取 2 μ L 化合物加入 78 μ L 细胞培养基, 混匀后, 取 20 μ L 化合物溶液加入到对应细胞板孔中, 细胞板放回二氧化碳培养箱继续孵育 3 小时;

4). 结束孵育后, 弃掉细胞上清加入 50 μ L 1X 细胞裂解液每孔, 室温摇晃孵育 30 分钟;

5). 使用 detection buffer 将 Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 和 Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释 20 倍;

6). 取 16 μ L 细胞裂解物上清每孔到新的 384 白色微孔板中, 再加入 2 μ L Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 稀释液和 2 μ L Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释液, 常温孵育至少 4 小时;

7). 孵育结束后使用多标记分析仪读取 HTRF excitation:320nm, emission:615nm, 665nm;

8). 计算待测化合物 IC₅₀。

测试方法 3. GP2D 细胞 p-ERK 抑制测试

1. 目的
- 通过 HTRF 的方法，筛选出能有效抑制 GP2D 细胞 p-ERK 的化合物。
2. 实验流程
- 1). GP2D 细胞种于透明 96 孔细胞培养板中，80 μL 细胞悬液每孔，每孔包含 8000 个细胞，细胞板放入二氧化碳培养箱，37 度过夜孵育；
 - 2). 取 2 μL 化合物加入 78 μL 细胞培养基，混匀后，取 20 μL 化合物溶液加入到对应细胞板孔中，细胞板放回二氧化碳培养箱继续孵育 1 小时；
 - 3). 结束孵育后，弃掉细胞上清加入 50 μL 1X 细胞裂解液每孔，室温摇晃孵育 30 分钟；
 - 4). 使用 detection buffer 将 Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 和 Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释 20 倍；
 - 5). 取 16 μL 细胞裂解物上清每孔到新的 384 白色微孔板中，再加入 2 μL Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 稀释液和 2 μL Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释液，常温孵育至少 4 小时；
 - 6). 孵育结束后使用多标记分析仪读取 HTRF excitation:320nm, emission:615nm, 665nm；
 - 7). 计算待测化合物 IC_{50} 。

测试方法 4. PANC0403 细胞 p-ERK 抑制测试

1. 实验材料:
- PANC0403 细胞购自南京科佰;RPMI-1640 培养基购自 Biological Industries;胎牛血清购自 Biosera; Advanced Phospho-ERK1/2(THR202/TYR204) KIT 购自 Cisbio。

表 2. Advanced Phospho-ERK1/2(THR202/TYR204) KIT 成分表

成分名称	储存温度
Advanced PhosphoERK1/2 Eu Cryptate antibody	$\leq -16^{\circ}\text{C}$
Advanced PhosphoERK1/2 d2 antibody	$\leq -16^{\circ}\text{C}$
Blocking reagent (stock solution 100X)	$\leq -16^{\circ}\text{C}$
Lysis buffer # 1 (stock solution 4X)	$\leq -16^{\circ}\text{C}$
Detection buffer (ready-to-use)	$\leq -16^{\circ}\text{C}$

2. 实验方法:
- 1) PANC0403 细胞种于透明 96 孔细胞培养板中，80 μL 细胞悬液每孔，每孔包含 10000 个 PANC0403 细胞，细胞板放入二氧化碳培养箱，37 度过夜孵育；
 - 2) 将待测化合物用 100%DMSO 稀释到 2 mM 作为第一个浓度，然后再用移液器进行 5 倍稀释至第 8 个浓度，即从 2 mM 稀释至 25.6 nM。取 2 μL 化合物加入 78 μL 细胞饥饿培养基，混匀后，取 20 μL 化合物溶液加入到对应细胞板孔中，细胞板放回二氧化碳培养箱继续孵育 3 小时，此时化合物浓度为 10 μM 至 0.128 nM，DMSO 浓度为 0.5%；
 - 3) 结束孵育后，弃掉细胞上清加入 50 μL 细胞裂解液每孔，室温摇晃孵育 30 分钟；
 - 4) 使用 Detection buffer 将 Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 和 Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释 20 倍；
 - 5) 取 16 μL 细胞裂解物上清每孔到新的 384 白色微孔板中，再加入 2 μL Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 稀释液和 2 μL Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释液，常温孵育过夜；

6) 孵育结束后使用多标记分析仪读取 HTRF excitation:320nm, emission:615nm, 665nm。

3. 数据分析:

利用方程式 $(\text{Sample}-\text{Min})/(\text{Max}-\text{Min})\times 100\%$ 将原始数据换算成抑制率, IC₅₀ 的值即可通过四参数进行曲线拟合得出 (GraphPad Prism 中 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope 模式得出)。

Max 孔: 阳性对照孔读值为 1X 裂解液

Min 孔: 阴性对照孔读值为 0.5%DMSO 细胞孔细胞裂解液

测试方法 5. 化合物在肿瘤细胞系 AsPC-1 和 GP2D 中的抗细胞增殖作用

研究目的

本实验通过检测化合物在肿瘤细胞系 AsPC-1 和 GP2D 中对体外细胞活性的影响而研究化合物抑制细胞增殖的作用。

实验材料

表 3. 细胞系详情

细胞系	肿瘤类型	生长特点	培养方法
AsPC-1	胰腺癌	贴壁生长	RPMI 1640 + 10% FBS
GP2D	结肠癌	贴壁生长	DMEM + 10% FBS+ 2 mM L-glutamine

Ultra Low Cluster-96 孔板 (Corning-7007)

Greiner CELLSTAR 96-孔板 (# 655090)

Promega CellTiter-Glo 3D 发光法细胞活性检测试剂盒 (Promega-G9683)

2104-10 EnVision 读板器, PerkinElmer

RPMI 1640, DMEM, PBS (磷酸盐缓冲溶液), FBS (胎牛血清), Antibiotic-antimycotic (抗生素-抗真菌药), L-glutamine (L-谷氨酰胺), DMSO (二甲基亚砜)

实验方法及步骤

细胞培养

将肿瘤细胞系按培养方法所示的培养条件在 37°C, 5% CO₂ 的培养箱中进行培养。定期传代, 取处于对数生长期的细胞用于铺板。

细胞铺板

用台盼兰进行细胞染色并计数活细胞。

将细胞浓度调整至合适浓度。AsPC-1, 7000 个细胞/孔; GP2D, 8000 个细胞/孔

在 ULA 培养板中每孔加入 135 μL 细胞悬液, 在空白对照空中加入同样体积且不含细胞的培养液。

铺板后, 立刻在室温条件下将 ULA 培养板离心 10 分钟, 离心条件 1000rpm。注意: 在离心后, 务必小心处理后续操作, 不要造成不必要的震荡。

将培养板在 37°C, 5% CO₂, 及 100% 相对湿度的培养箱中培养过夜。

10X 化合物工作液的配制及化合物处理细胞 (第一天)

配制好 10X 化合物工作液 (DMSO 10X 工作液) 后, 分别向 ULA 培养板内加入 15 μL 的 10X 化合物工作液, 在溶媒对照和空白对照中加入 15 μL DMSO-细胞培养液混合液。

将 96 孔细胞板放回培养箱中培养 120 小时。

每天观察细胞成球情况直至实验终点。

CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测 (第五天)

以下步骤按照 Promega CellTiter-Glo 3D 发光法细胞活性检测试剂盒 (Promega # G9683) 的说明书来

进行。

在每孔中加入 150 μ L（等于每孔中细胞培养液体积）的 CellTiter-Glo 3D 试剂。用铝箔纸包裹细胞板以避光。

将培养板在轨道摇床上振摇 5 分钟。

小心的用移液管上下吹打 10 次，混匀空内混合物。在继续下一步之前需确保细胞球体充分被分离。

然后将 ULA 培养板内的溶液转移至黑底培养板（#655090）中，在室温放置 25 分钟以稳定发光信号。

在 2104 EnVision 读板器上检测发光信号。

数据分析

用下列公式来计算检测化合物的抑制率（Inhibition rate, IR）： $IR(\%) = (1 - (RLU_{\text{化合物}} - RLU_{\text{空白对照}}) / (RLU_{\text{溶媒对照}} - RLU_{\text{空白对照}})) * 100\%$ 。在 Excel 中计算不同浓度化合物的抑制率，然后用 GraphPad Prism 软件作抑制曲线图和计算相关参数，包括最小抑制率，最大抑制率及 IC_{50} 。

测试方法 6. CD-1 小鼠口服及静脉注射受试化合物的药代动力学研究

实验目的

测试 CD-1 小鼠口服及静脉注射化合物的体内药代动力学。

实验步骤

受试化合物与 5%DMSO+95%(10%HP- β -CD)水溶液混合，涡旋并超声，制备得到 0.5 mg/mL 澄清溶液（静脉）或 3 mg/mL 澄清溶液（口服），微孔滤膜过滤后备用。选取 7 至 10 周龄的雄性 SD 小鼠，静脉注射给予候选化合物溶液，剂量约为 2mg/kg。口服给予候选化合物溶液，剂量约为 30 mg/kg。收集一定时间的全血，制备得到血浆，以 LC-MS/MS 方法分析药物浓度，并用 Phoenix WinNonlin 软件(美国 Pharsight 公司)计算药代参数。

测试方法 7. 血浆蛋白结合实验(PPB)实验

实验目的

采用平衡透析法测定化合物在 CD-1 小鼠、Sprague-Dawley 大鼠、比格犬、食蟹猴和人血浆中的蛋白结合率。

实验方法

采用上述五个物种的血浆分别配制化合物浓度为 2 μ M 的血浆样品，置于 96 孔快速平衡透析装置中，在 37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C 下用磷酸盐缓冲溶液透析 4 h。本实验采用华法林作为对照化合物。血浆和透析缓冲液中待测物的浓度用 LC-MS/MS 法进行测定。

测试方法 8. AsPC-1 细胞 p-ERK 抑制测试

1. 目的

通过 HTRF 的方法，评估化合物对 AsPC-1 细胞 p-ERK 水平的抑制活性。

2. 实验材料:

ASPC-1 细胞购 ATCC；RPMI-1640 培养基购自 Gibco；胎牛血清购自 Hyclone；Advanced Phospho-ERK1/2(THR202/TYR204) KIT 购自 Bioauxilium-

表 4.Advanced Phospho-ERK1/2(THR202/TYR204) KIT 成分表

成分名称	储存温度
Advanced PhosphoERK1/2 Eu Cryptate antibody	$\leq -16^{\circ}\text{C}$
Advanced PhosphoERK1/2 d2 antibody	$\leq -16^{\circ}\text{C}$

Blocking reagent (stock solution 100X)	≤-16℃
Lysis buffer # 1 (stock solution 4X)	≤-16℃
Detection buffer (ready-to-use)	≤-16℃

3. 实验方法:

- 1) ASPC-1 细胞种于白底 384 孔细胞培养板中, 8 μL 细胞悬液每孔, 每孔包含 7500 个细胞, 细胞板放入二氧化碳培养箱, 37 度过夜孵育;
- 2) 将待测化合物用 100%DMSO 稀释到 3 mM 作为第一个浓度, 然后再用移液器进行稀释成 3000、1000、300、100、30、10、3、1、0.3、0.1 μM 十个浓度。取 2 μL 化合物加入 198 μL 细胞饥饿培养基, 混匀后, 取 15 μL 化合物溶液加入 35 μL 细胞饥饿培养基并混匀, 随后将最后一步的化合物溶液以每孔 4 μL 加入到对应细胞板孔中, 细胞板放回二氧化碳培养箱继续孵育 3 小时, 此时化合物浓度为 3000、1000、300、100、30、10、3、1、0.3、0.1 nM,
- 3) 结束孵育后, 每孔加入 3 μL 5X 细胞裂解液每孔, 室温摇晃孵育 30 分钟;
- 4) 使用 Detection buffer 将 Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 和 Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释 20 倍, 并按 1:1 比例混匀, 按每孔 5 μL 加入到细胞培养板, 常温孵育 2 h。
- 5) 孵育结束后使用多标记分析仪读取 HTRF excitation:320nm, emission:615nm, 665nm。

4. 数据分析:

利用方程式 $(\text{Sample}-\text{Min})/(\text{Max}-\text{Min})\times 100\%$ 将原始数据换算成抑制率, IC₅₀ 的值即可通过四参数进行曲线拟合得出 (GraphPad Prism 中 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope 模式得出)。

Max 孔: 阳性对照孔读值为 1X 裂解液

Min 孔: 阴性对照孔读值为 0.5%DMSO 细胞孔细胞裂解液

相关定义

除非另有说明, 本文所用的下列术语和短语旨在具有下列含义。一个特定的术语或短语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的, 而应该按照普通的含义去理解。当本文中出现商品名时, 意在指代其对应的商品或其活性成分。

这里所采用的术语“药学上可接受的”, 是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言, 它们在可靠的医学判断的范围之内, 适用于与人类和动物的组织接触使用, 而没有过多的毒性、刺激性、过敏反应或其它问题或并发症, 与合理的利益/风险比相称。

术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的盐, 由本发明发现的具有特定取代基的化合物与相对无毒的酸或碱制备。当本发明的化合物中含有相对酸性的功能团时, 可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱与这类化合物接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括钠、钾、钙、铵、有机胺或镁盐或类似的盐。当本发明的化合物中含有相对碱性的官能团时, 可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物接触的方式获得酸加成盐。本发明的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团, 从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

本发明的药学上可接受的盐可由含有酸根或碱基的母体化合物通过常规化学方法合成。一般情况下, 这样的盐的制备方法是: 在水或有机溶剂或两者的混合物中, 经由游离酸或碱形式的这些化合物与化学计量的适当的碱或酸反应来制备。

本发明的化合物可以存在特定的几何或立体异构体形式。本发明设想所有的这类化合物, 包括顺式和反式异构体、(-)- 和 (+)-对映体、(R)- 和 (S)-对映体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体, 及其外消旋混合物和其他混合物, 例如对映异构体或非对映体富集的混合物, 所有这些混合物都属于本发明的范围

之内。烷基等取代基中可存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及它们的混合物，均包括在本发明的范围之内。

本发明的化合物可以在一个或多个构成该化合物的原子上包含非天然比例的原子同位素。例如，可用放射性同位素标记化合物，比如氚 (^3H)，碘-125 (^{125}I) 或 C-14 (^{14}C)。又例如，可用重氢取代氢形成氘代药物，氘与碳构成的键比普通氢与碳构成的键更坚固，相比于未氘化药物，氘代药物有降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本发明的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本发明的范围之内。

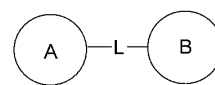
术语“任选”或“任选地”指的是随后描述的事件或状况可能但不是必需出现的，并且该描述包括其中所述事件或状况发生的情况以及所述事件或状况不发生的情况。

术语“被取代的”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代，取代基可以包括重氢和氢的变体，只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为氧 (即=O) 时，意味着两个氢原子被取代。氧取代不会发生在芳香基上。术语“任选被取代的”是指可以被取代，也可以不被取代，除非另有规定，取代基的种类和数目在化学上可以实现的基础上可以是任意的。

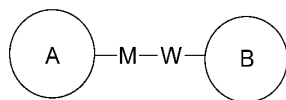
当任何变量 (例如 R) 在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立的。因此，例如，如果一个基团被 0-2 个 R 所取代，则所述基团可以任选地至多被两个 R 所取代，并且每种情况下的 R 都有独立的选项。此外，取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

当一个连接基团的数量为 0 时，比如 $-(\text{CRR})_0-$ ，表示该连接基团为单键。

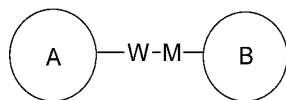
当其中一个变量选自单键时，表示其连接的两个基团直接相连，比如 A-L-Z 中 L 代表单键时表示该结构实际上是 A-Z。



当所列举的连接基团没有指明其连接方向，其连接方向是任意的，例如，



，也可以按照与从左往右的读取顺序相反的方向连接环 A 和环 B 构成

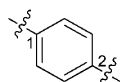


。所述连接基团、取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

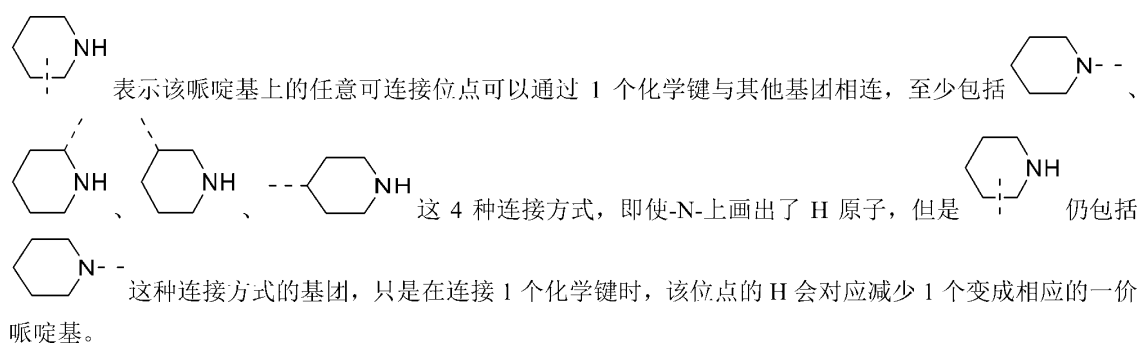
除非另有规定，当某一基团具有一个或多个可连接位点时，该基团的任意一个或多个位点可以通过化学键与其他基团相连。当该化学键的连接方式是不定位的，且可连接位点存在 H 原子时，则连接化学键时，该位点的 H 原子的个数会随所连接化学键的个数而对应减少变成相应价数的基团。所述位点与其他基团连接的化学键可以用直形实线键 (—)、直形虚线键 (---)、或波浪线 (~~~~) 表示。例如 $-\text{OCH}_3$ 中的直形实线键表示通过该基团中的氧原子与其他基团相连；



中的直形虚线键表示通过该基团中的氮原子的两端与其他基团相连；



中的波浪线表示通过该苯基基团中的 1 和 2 位碳原子与其他基团相连；



除非另有说明, 用楔形实线键 () 和楔形虚线键 () 表示一个立体中心的绝对构型, 用直形实线键 () 和直形虚线键 () 表示立体中心的相对构型, 用波浪线 () 表示楔形实线键 () 或楔形虚线键 (), 或用波浪线 () 表示直形实线键 () 或直形虚线键 ()。

除非另有说明, 当化合物中存在双键结构, 如碳碳双键、碳氮双键和氮氮双键, 且双键上的各个原子均连接有两个不同的取代基时 (包含氮原子的双键中, 氮原子上的一对孤对电子视为其连接的一个取代基),

如果该化合物中双键上的原子与其取代基之间用  表示, 则表示该化合物的 (Z) 型异构体、(E) 型异构体或两种异构体的混合物。除非另有说明, 术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指在室温下, 不同官能团异构体处于动态平衡, 并能很快的相互转化。若互变异构体是可能的 (如在溶液中), 则可以达到互变异构体的化学平衡。例如, 质子互变异构体 (proton tautomer) (也称质子转移互变异构体 (prototropic tautomer)) 包括通过质子迁移来进行的互相转化, 如酮-烯醇异构化和亚胺-烯胺异构化。价键异构体 (valence tautomer) 包括一些成键电子的重组来进行的相互转化。其中酮-烯醇互变异构化的具体实例是戊烷-2,4-二酮与 4-羟基戊-3-烯-2-酮两个互变异构体之间的互变。

除非另有规定, 术语“卤代素”或“卤素”本身或作为另一取代基的一部分表示氟、氯、溴或碘原子。

除非另有规定, 术语“C₁₋₃ 烷基”用于表示直链或支链的由 1 至 3 个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述 C₁₋₃ 烷基包括 C₁₋₂ 和 C₂₋₃ 烷基等; 其可以是一价 (如甲基)、二价 (如亚甲基) 或者多价 (如次甲基)。C₁₋₃ 烷基的实例包括但不限于甲基 (Me)、乙基 (Et)、丙基 (包括 *n*-丙基和异丙基) 等。

除非另有规定, 术语“C₁₋₃ 烷氧基”表示通过一个氧原子连接到分子的其余部分的那些包含 1 至 3 个碳原子的烷基基团。所述 C₁₋₃ 烷氧基包括 C₁₋₂、C₂₋₃、C₃ 和 C₂ 烷氧基等。C₁₋₃ 烷氧基的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基 (包括正丙氧基和异丙氧基) 等。

除非另有规定, “C₂₋₃ 烯基”用于表示直链或支链的包含至少一个碳-碳双键的由 2 至 3 个碳原子组成的碳氢基团, 碳-碳双键可以位于该基团的任何位置上。所述 C₂₋₃ 烯基包括 C₃ 和 C₂ 烯基; 所述 C₂₋₃ 烯基可以是一价、二价或者多价。C₂₋₃ 烯基的实例包括但不限于乙烯基、丙烯基等。

除非另有规定, “C₂₋₃ 炔基”用于表示直链或支链的包含至少一个碳-碳三键的由 2 至 3 个碳原子组成的碳氢基团, 碳-碳三键可以位于该基团的任何位置上。其可以是一价、二价或者多价。所述 C₂₋₃ 炔基包括 C₃ 和 C₂ 炔基。C₂₋₃ 炔基的实例包括但不限于乙炔基、丙炔基等。

除非另有规定, “C₂₋₄ 炔基”用于表示直链或支链的包含至少一个碳-碳三键的由 2 至 4 个碳原子组成的碳氢基团, 碳-碳三键可以位于该基团的任何位置上。所述 C₂₋₄ 炔基包括 C₂₋₃、C₄、C₃ 和 C₂ 炔基等。其可以是一价、二价或者多价。C₂₋₄ 炔基的实例包括但不限于乙炔基、丙炔基、丁炔基等。

除非另有规定, “C₃₋₅ 环烷基”表示由 3 至 5 个碳原子组成的饱和环状碳氢基团, 其为单环体系, 所述 C₃₋₅ 环烷基包括 C₃₋₄ 和 C₄₋₅ 环烷基等; 其可以是一价、二价或者多价。C₃₋₅ 环烷基的实例包括, 但不限于,

环丙基、环丁基、环戊基等。

除非另有规定，本发明术语“5-6 元杂芳环”和“5-6 元杂芳基”可以互换使用，术语“5-6 元杂芳基”表示由 5 至 6 个环原子组成的具有共轭 π 电子体系的单环基团，其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S 和 N 的杂原子，其余为碳原子。其中氮原子任选地被季铵化，氮和硫杂原子可任选被氧化（即 NO 和 S(O)_p，p 是 1 或 2）。5-6 元杂芳基可通过杂原子或碳原子连接到分子的其余部分。其可以是一价、二价或者多价。所述 5-6 元杂芳基包括 5 元和 6 元杂芳基。所述 5-6 元杂芳基的实例包括但不限于吡咯基（包括 N-吡咯基、2-吡咯基和 3-吡咯基等）、吡唑基（包括 2-吡唑基和 3-吡唑基等）、咪唑基（包括 N-咪唑基、2-咪唑基、4-咪唑基和 5-咪唑基等）、噁唑基（包括 2-噁唑基、4-噁唑基和 5-噁唑基等）、三唑基（1H-1,2,3-三唑基、2H-1,2,3-三唑基、1H-1,2,4-三唑基和 4H-1,2,4-三唑基等）、四唑基、异噁唑基（3-异噁唑基、4-异噁唑基和 5-异噁唑基等）、噻唑基（包括 2-噻唑基、4-噻唑基和 5-噻唑基等）、呋喃基（包括 2-呋喃基和 3-呋喃基等）、噻吩基（包括 2-噻吩基和 3-噻吩基等）、吡啶基（包括 2-吡啶基、3-吡啶基和 4-吡啶基等）、吡嗪基或嘧啶基（包括 2-嘧啶基和 4-嘧啶基等）。

除非另有规定，本发明术语“5-10 元杂芳环”和“5-10 元杂芳基”可以互换使用，术语“5-10 元杂芳基”表示由 5 至 10 个环原子组成的具有共轭 π 电子体系的环状基团，其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S 和 N 的杂原子，其余为碳原子。其可以是单环、稠合双环或稠合三环体系，其中各个环均为芳香性的。其中氮原子任选地被季铵化，氮和硫杂原子可任选被氧化（即 NO 和 S(O)_p，p 是 1 或 2）。5-10 元杂芳基可通过杂原子或碳原子连接到分子的其余部分。其可以是一价、二价或者多价。所述 5-10 元杂芳基包括 5-8 元、5-7 元、5-6 元、5 元和 6 元杂芳基等。所述 5-10 元杂芳基的实例包括但不限于吡咯基（包括 N-吡咯基、2-吡咯基和 3-吡咯基等）、吡唑基（包括 2-吡唑基和 3-吡唑基等）、咪唑基（包括 N-咪唑基、2-咪唑基、4-咪唑基和 5-咪唑基等）、噁唑基（包括 2-噁唑基、4-噁唑基和 5-噁唑基等）、三唑基（1H-1,2,3-三唑基、2H-1,2,3-三唑基、1H-1,2,4-三唑基和 4H-1,2,4-三唑基等）、四唑基、异噁唑基（3-异噁唑基、4-异噁唑基和 5-异噁唑基等）、噻唑基（包括 2-噻唑基、4-噻唑基和 5-噻唑基等）、呋喃基（包括 2-呋喃基和 3-呋喃基等）、噻吩基（包括 2-噻吩基和 3-噻吩基等）、吡啶基（包括 2-吡啶基、3-吡啶基和 4-吡啶基等）、吡嗪基、嘧啶基（包括 2-嘧啶基和 4-嘧啶基等）、苯并噻唑基（包括 5-苯并噻唑基等）、嘌呤基、苯并咪唑基（包括 2-苯并咪唑基等）、苯并噁唑基、吡啶基（包括 5-吡啶基等）、异喹啉基（包括 1-异喹啉基和 5-异喹啉基等）、喹啉基（包括 2-喹啉基和 5-喹啉基等）或喹啉基（包括 3-喹啉基和 6-喹啉基等）。

除非另有规定，C_{n-n+m} 或 C_n-C_{n+m} 包括 n 至 n+m 个碳的任何一种具体情况，例如 C₁₋₁₂ 包括 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁、和 C₁₂，也包括 n 至 n+m 中的任何一个范围，例如 C₁₋₁₂ 包括 C₁₋₃、C₁₋₆、C₁₋₉、C₃₋₆、C₃₋₉、C₃₋₁₂、C₆₋₉、C₆₋₁₂、和 C₉₋₁₂ 等；同理，n 元至 n+m 元表示环上原子数为 n 至 n+m 个，例如 3-12 元环包括 3 元环、4 元环、5 元环、6 元环、7 元环、8 元环、9 元环、10 元环、11 元环、和 12 元环，也包括 n 至 n+m 中的任何一个范围，例如 3-12 元环包括 3-6 元环、3-9 元环、5-6 元环、5-7 元环、6-7 元环、6-8 元环、和 6-10 元环等。

本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的多种合成方法来制备，包括下面列举的具体实施方式、其与其他化学合成方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术人员所熟知的等同替换方式，优选的实施方式包括但不限于本发明的实施例。

本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的常规方法来确认结构，如果本发明涉及化合物的绝对构型，则该绝对构型可以通过本领域常规技术手段予以确证。例如单晶 X 射线衍射法（SXRD），把培养出的单晶用 Bruker D8 venture 衍射仪收集衍射强度数据，光源为 CuK α 辐射，扫描方式： ϕ/ω 扫描，收集相关数据后，进一步采用直接法（Shelxs97）解析晶体结构，便可以确证绝对构型。

本发明所使用的溶剂可经市售获得。本发明采用如下缩略词：PhNTf₂ 代表 N-苯基双(三氟甲磺酰)亚

胺; $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ 代表三[二亚苄基丙酮]二钯; DavePhos代表2-二环己膦基-2'-(N,N-二甲胺)-联苯; LiHMDS代表双三甲基硅基胺基锂; NaOH代表氢氧化钠; NaHCO_3 代表碳酸氢钠; Boc_2O 代表二碳酸二叔丁酯; Et_3N 代表三乙胺; Ti_2O 代表三氟乙酸酐; Xantphos代表4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽; DMF代表N,N-二甲基甲酰胺; DMAP代表4-二甲氨基吡啶; TBDPSCI代表叔丁基二苯基氯硅烷; DCM代表二氯甲烷; EA代表乙酸乙酯; Grubbs二代催化剂代表1,3-双(2,4,6-三甲基苯基)-2-(咪唑烷亚基)(二氯苯亚甲基)(三环己基膦)钌; TFA代表三氟乙酸; THF代表四氢呋喃; NBS代表N-溴代琥珀酰亚胺; PMB代表对甲氧基苄基; Tf代表三氟甲磺酰基; Boc代表碳酸叔丁酰基; TIPS代表三异丙基硅基; MOM代表亚甲基甲醚基。

化合物依据本领域常规命名原则或者使用 ChemDraw®软件命名, 市售化合物采用供应商目录名称。

附图说明

图 1. 化合物 A 与和 $\text{KRAS}^{\text{G12D}}$ 蛋白的结合模式图;

图 2. 化合物 B 与和 $\text{KRAS}^{\text{G12D}}$ 蛋白的结合模式图;

图 3. 化合物 C 与和 $\text{KRAS}^{\text{G12D}}$ 蛋白的结合模式图;

图 4. 化合物 D 与和 $\text{KRAS}^{\text{G12D}}$ 蛋白的结合模式图;

图 5. 化合物 E 与和 $\text{KRAS}^{\text{G12D}}$ 蛋白的结合模式图;

图 6. 化合物 F 与和 $\text{KRAS}^{\text{G12D}}$ 蛋白的结合模式图。

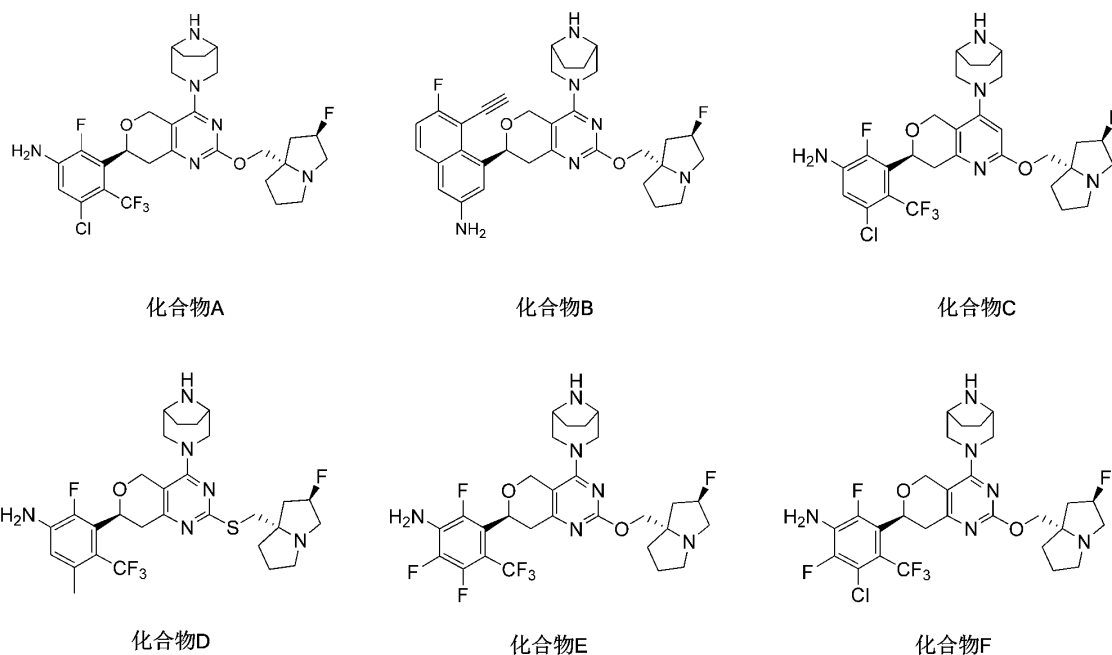
技术效果

本发明化合物对 $\text{KRAS}^{\text{G12D}}$ 突变的酶有良好的抑制作用, 可有效抑制 p-ERK, 对 $\text{KRAS}^{\text{G12D}}$ 突变的细胞具有良好的细胞增殖抑制活性, 可有效抑制体内肿瘤生长, 且耐药性佳。本发明化合物具有较好的药代动力学性质。

具体实施方式

下面通过实施例对本发明进行详细描述, 但并不意味着对本发明任何不利限制。本文已经详细地描述了本发明, 其中也公开了其具体实施方式, 对本领域的技术人员而言, 在不脱离本发明精神和范围的情况下针对本发明具体实施方式进行各种变化和改进行将是显而易见的。

计算例 1



本发明还提供了所述化合物或其药学上可接受分子对接过程是通过使用 Maestro (Schrödinger 版本 2017-2) 中的 Glide SP[1]和默认选项进行的。选取 PDB 数据库中 KRAS_G12C 的晶体结构 PDB: 6UT0, 将 Cys12 模拟突变为 Asp12, 经过能量优化后, 作为对接模板。为了准备蛋白质, 使用 Maestro[2]的蛋白质准备向导模块添加氢原子, 并使用 OPLS3 力场。对于配体的准备, 使用 LigPrep 生成了分子的三维结构, 并进行了能量最小化[3], 使用 confgen 模块对小分子构象进行采样。以 6UT0 的配体作为质心生成了边长为 25 Å *25 Å *25 Å 的正方体对接网格。在分子对接过程中放置参考化合物。分析蛋白质受体与配体的相互作用类型, 分析蛋白质受体与配体的相互作用类型, 然后根据计算得到的 docking score 以及结合模式选择并保存了合理对接构象, 如图 1 至图 6 所示。

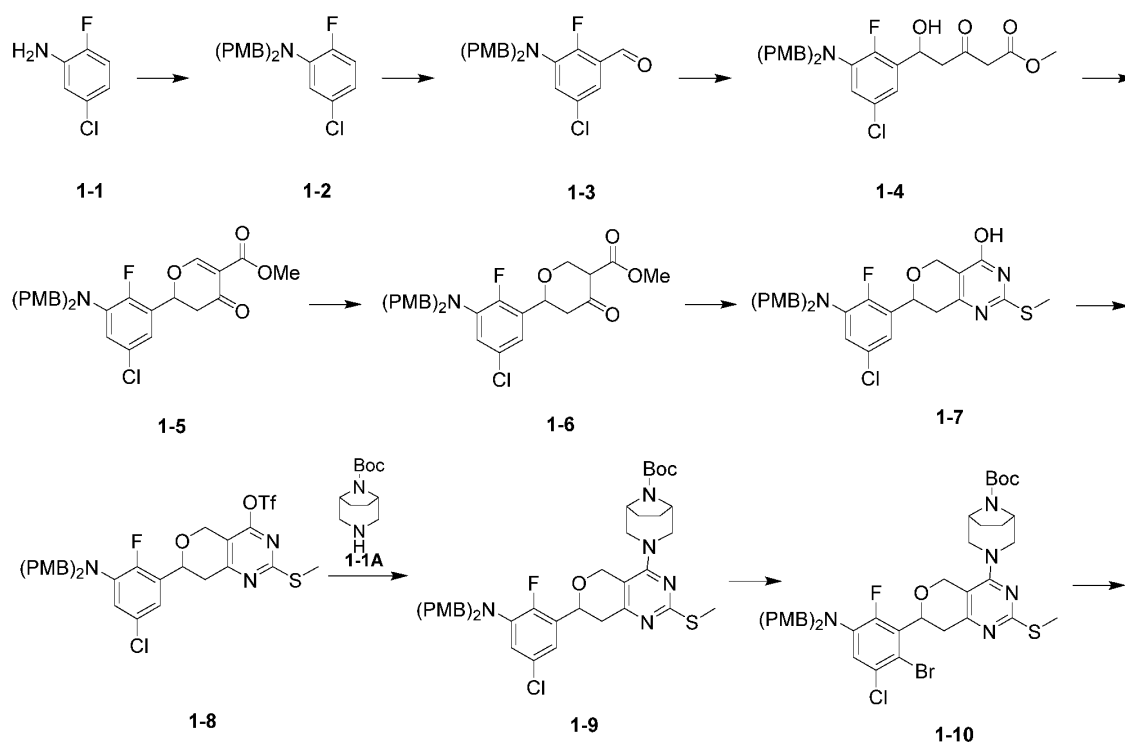
[1]Glide, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2017.

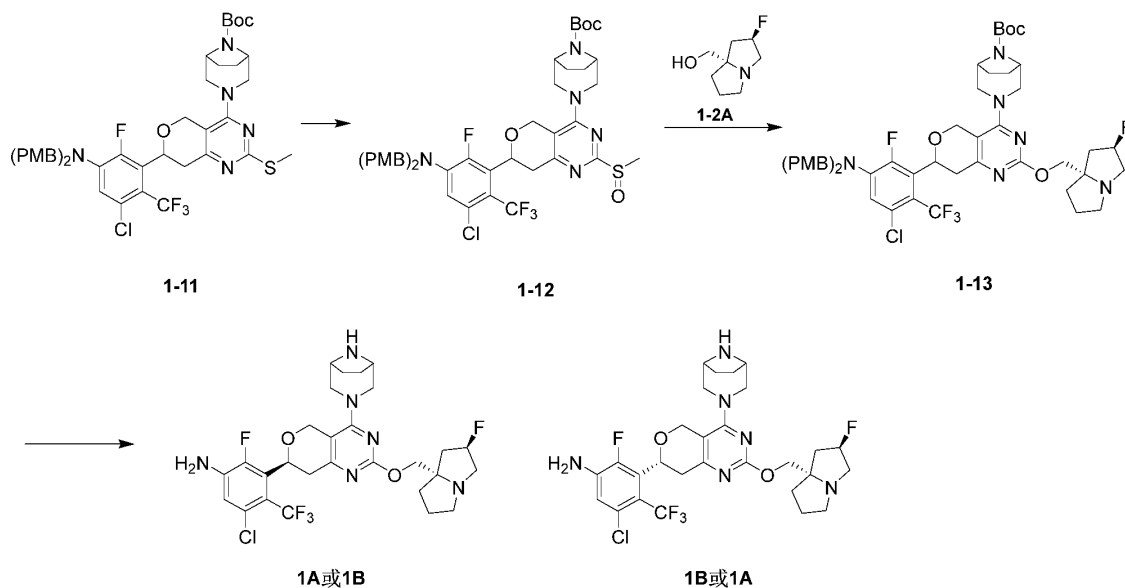
[2] Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2017.

[3] LigPrep, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2017.

结论: 本发明化合物与 KRAS G12D 有较好的结合。

实施例 1





步骤 1: 中间体 1-2 的合成

向预先干燥的反应瓶中加入化合物 **1-1** (20 g, 137.40 mmol), N,N-二甲基甲酰胺(200 mL), 碘化钾(22.81 g, 137.40 mmol), 无水碳酸钾 (47.47 g, 343.50 mmol), 搅拌下加入对甲氧基氯苄(44.11 g, 281.67 mmol, 38.36 mL), 然后升温至 65°C 搅拌 4 小时, 反应液降温至室温, 然后垫硅藻土过滤, 200 mL 甲基叔丁基醚淋洗滤饼, 然后滤液加入 200 mL 水, 萃取, 水相用乙酸乙酯 (100 mL*2) 萃取, 然后合并有机相, 饱和食盐水 (200 mL*3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得到粗品, 粗品用 50 mL 石油醚打浆 48 小时, 过滤, 收集滤饼, 干燥得到产品, 得到化合物 **1-2**, 直接用于下一步, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 7.18 - 7.17 (m, 5H), 6.85 - 6.82 (m, 6H), 4.24 (s, 4H), 3.74 - 3.71 (m, 6H)。MS m/z = 386.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 中间体 1-3 的合成

将 2,2,6,6-四甲基哌啶(43.93 g, 311.00 mmol, 52.80 mL)溶于四氢呋喃 (300 mL), 然后降温至 -5°C, 加入正丁基锂 (2.5 M, 124.40 mL), 搅拌 0.5 小时, 然后降温至 -60°C, 加入化合物 **1-2** (30 g, 77.75 mmol) 的四氢呋喃 (30 mL) 溶液, 搅拌 0.5 小时, 然后加入 N,N-二甲基甲酰胺 (113.66 g, 1.55 mol, 119.64 mL), 继续搅拌 0.5 小时。向反应液加入 200 mL 饱和氯化铵。乙酸乙酯萃取 (200 mL), 分液, 饱和食盐水洗 100 mL, 无水硫酸钠干燥过滤浓缩。过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=10: 1), 得化合物 **1-3**。

步骤 3: 中间体 1-4 的合成

将钠氢(6.38 g, 159.47 mmol, 60%含量)溶于四氢呋喃(300 mL), N_2 置换两次, 然后降温至 0°C, 加入乙酰乙酸甲酯(18.52 g, 159.47 mmol, 17.15 mL), 搅拌 10 min, 然后加入正丁基锂(2.5 M, 63.79 mL), 继续搅拌 10 min, 降温 -15°C, 加入化合物 **1-3** (30 g, 72.49 mmol) 的四氢呋喃 (50 mL) 溶液, 继续搅拌 30 min。向反应液中加入 100 mL 饱和氯化铵, 乙酸乙酯萃取 (100 mL*2), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=10: 1), 得化合物 **1-4**。MS m/z = 530.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 4: 中间体 1-5 的合成

将化合物 **1-4** (20 g, 37.74 mmol) 溶于无水二氯(50 mL)中, 氮气保护下加入 N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛 (5.40 g, 45.28 mmol, 6.02 mL), 25°C 反应 16 小时, 加入三氟化硼乙醚 (6.43 g, 45.28 mmol, 5.59 mL), 20°C 反应 1 小时, 将反应液加入 50 mL 饱和碳酸氢钠溶液中, 用二氯甲烷 (20 mL*2) 萃取分液, 合并有机相, 用 30 mL 饱和食盐水洗涤后, 无水硫酸钠干燥过滤后浓缩。粗品过柱纯化(石油醚: 乙酸乙酯 =10:1-1:1)

得到化合物**1-5**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8.45 (s, 1H), 7.14 (m, 4H), 7.00 - 6.69 (m, 6H), 5.80 (m, 1H), 4.27 - 4.10 (m, 5H), 3.79 (m, 1H), 3.94 - 3.66 (m, 8H), 2.98 - 2.73 (m, 1H)。MS m/z = 540.2[M+H]⁺。

步骤 5: 中间体 1-6 的合成

将化合物**1-5**(12 g, 22.22 mmol) 加入无水四氢呋喃 (30 mL) 中, 在氮气保护下加入三仲丁基硼氢化锂 (11.83 g, 62.22 mmol, 13.60 mL), -60°C反应 1 小时, 将反应液加入 40mL 水中, 用乙酸乙酯 (20 mL*2) 萃取, 合并有机相, 再用 20 mL 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=100:0=3:1), 得到化合物**1-6**。MS m/z = 542.2[M+H]⁺。

步骤 6: 中间体 1-7 的合成

将化合物**1-6** (5.5 g, 10.15 mmol) 加入到乙醇 (15 mL) 和水 (3 mL) 中, 加入碳酸氢钠 (2.15 g, 20.30 mmol) 和甲基异硫脲硫酸盐 (2.74 g, 30.44 mmol), 45-50°C反应 16 小时, 反应液用水 (20 mL) 和乙酸乙酯 (20 mL*2) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (20 mL*2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 得到化合物**1-7**, 粗品直接投下一步。MS m/z = 582.2[M+H]⁺。

步骤 7: 中间体 1-8 的合成

将化合物**1-7** (6 g, 8.04 mmol) 加入到无水二氯甲烷 (20 mL) 中, 0°C加入 N,N-二异丙基乙胺 (3.12 g, 24.12 mmol, 4.20 mL), 降温到 0-10°C, 将三氟甲磺酸酐 (4.08 g, 14.47 mmol, 2.39 mL) 缓慢滴加, 0°C反应 0.5 小时, 将反应液加入到 20 mL 饱和氯化铵中, 用无水二氯甲烷 (10 mL*2) 萃取, 合并有机相, 用 20 mL 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤后浓缩, 粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=1:0-0:1) 得到化合物**1-8**。MS m/z = 714.1[M+H]⁺。

步骤 8: 中间体 1-9 的盐酸盐合成

将化合物**1-8** (0.8 g, 1.12 mmol), 化合物**1-1A**(475.62 mg, 2.24 mmol), DIPEA (434.33 mg, 3.36 mmol, 585.35 μ L) 加入到N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 50°C反应1小时。将反应液加入饱和氯化铵 (20mL) 中, 用乙酸乙酯 (20mL*2) 萃取, 合并有机相, 再用20mL饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 粗品用过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=3: 1), 再进行制备HPLC(色谱柱: Phenomenex Luna C18 250*50mm*10 μ m; 流动相: [水(0.05% 盐酸)-乙腈];(乙腈)% : 65%-95%, 10min) 分离, 得到化合物**1-9**的盐酸盐。MS m/z = 776.3[M+H]⁺。

步骤 9: 中间体 1-10 的合成

将化合物**1-9**的盐酸盐 (1.2 g) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL), 降温至0°C, 然后加入N-溴代丁二酰亚胺 (330.13 mg, 1.85 mmol), 20°C搅拌1小时。向反应液中加入30mL水, 用乙酸乙酯萃取(30 mL*2), 合并有机相, 饱和食盐水洗 (20 mL*2), 无水硫酸钠干燥过滤浓缩。过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=3:1-1:1) 得化合物**1-10**。MS m/z = 856.1[M+H]⁺。

步骤 10: 中间体 1-11 的合成

将化合物**1-10**(0.3 g, 350.77 μ mol), 氧化亚铜 (133.61 mg, 701.55 μ mol), 氟磺酰二氟乙酸甲酯(336.94 mg, 1.75 mmol, 223.14 μ L) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL), 氮气保护, 在100°C搅拌1小时。反应液合并倒入30mL水中, 用甲基叔丁醚(20mL*2)萃取, 合并有机相, 再用饱和食盐水(20mL*2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1-1:1) 得化合物**1-11**。MS m/z = 844.2[M+H]⁺。

步骤 11: 中间体 1-12 的合成

将化合物**1-11**(0.35 g, 414.52 μ mol) 加入反应瓶中, 加入无水二氯甲烷 (5 mL) 开始搅拌, 然后加入间氯过氧苯甲酸 (126.24 mg, 621.78 μ mol, 85%含量), 25°C反应 1 小时。反应液加入 5mL 5%硫代硫酸钠溶液, 用二氯甲烷(10mL*2)萃取, 合并有机相, 再用饱和食盐水 (5mL*2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1-1:1), 得化合物**1-12**。MS m/z = 860.2[M+H]⁺。

步骤 12: 中间体 1-13 的合成

将化合物 **1-2A** (256.28 mg, 1.61 mmol) 加入无水四氢呋喃 (5 mL) 中, 加入叔丁醇钠 (123.76 mg, 1.29 mmol), -15°C 反应 15 min, 加入化合物 **1-12** (0.277 g, 321.96 μ mol), -15°C 反应 1 小时。反应液中加入 5 mL 饱和氯化铵, 用乙酸乙酯 (10 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水 (20 mL*2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。经过柱纯化 (二氯甲烷: 甲醇=20:1-10:1), 得化合物 **1-13**。MS m/z = 955.3[M+H]⁺。

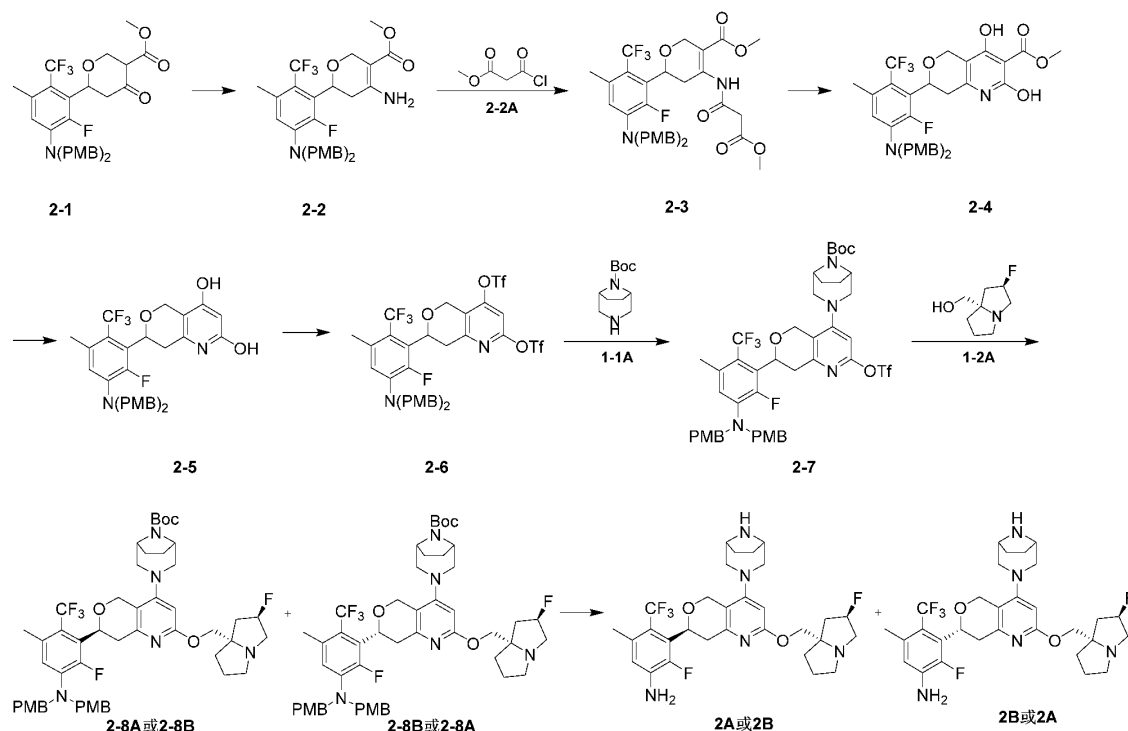
步骤 13: 化合物 1A 和 1B 的合成

将化合物 **1-13** (0.450 g, 470.98 μ mol) 放入三氟乙酸 (2.85 g, 24.96 mmol, 1.85 mL) 和二氯甲烷 (9 mL) 中, -10-0°C 反应 1 小时, 将反应液倒入 10 mL 水中, 将下层二氯甲烷相分出, 水相用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 值为 8~10, 再用乙酸乙酯 (5 mL*2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (5 mL*2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 经高效液相色谱分离 (色谱柱: Phenomenex C18 75*30 mm*3 μ m; 流动相: [水 (0.05% 盐酸)-乙腈]; (乙腈) %: 1%-35%, 8 min), 再进行 SFC 拆分 (色谱柱: DAICEL CHIRALCEL OD (250 mm*30 mm, 10 μ m); 流动相: [超临界 CO₂-甲醇 (0.1% 氨水)]; 甲醇 (0.1% 氨水) %: 36%-36%, 7 min) 得到化合物 **1A** 和化合物 **1B**。手性 SFC 分析 (色谱柱: DAICEL CHIRALCEL OD-3 (150 mm*4.6 mm, 3 μ m); 流动相: [超临界 CO₂-甲醇 (0.1% 二乙胺)]; (甲醇) %: 40%-40%), 化合物 **1A**, Rt=3.151 分钟, ee 值 99%; 化合物 **1B**, Rt=4.085 分钟, ee 值 93%。

化合物 **1A**: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ = 6.93 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.68 - 5.46 (m, 1H), 5.32 - 5.19 (m, 1H), 4.78 - 4.69 (m, 1H), 4.63 - 4.46 (m, 2H), 4.41 - 4.28 (m, 1H), 4.24 - 4.08 (m, 2H), 4.04 - 3.74 (m, 5H), 3.73 - 3.65 (m, 1H), 3.55 - 3.41 (m, 2H), 3.02 - 2.89 (m, 1H), 2.80 - 2.48 (m, 2H), 2.48 - 2.24 (m, 4H), 2.24 - 2.04 (m, 3H), 2.03 - 1.91 (m, 1H), 2.04 - 1.90 (m, 1H)。MS m/z = 615.4[M+H]⁺。

化合物 **1B**: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ = 6.98 - 6.85 (m, 1H), 5.54 - 5.39 (m, 1H), 5.35 - 5.19 (m, 2H), 4.76 - 4.66 (m, 1H), 4.63 - 4.53 (m, 1H), 4.39 - 4.14 (m, 4H), 4.06 - 3.89 (m, 3H), 3.78 - 3.62 (m, 2H), 3.62 - 3.50 (m, 2H), 3.27 - 3.09 (m, 3H), 2.99 - 2.86 (m, 1H), 2.48 - 2.25 (m, 2H), 2.13 - 1.83 (m, 6H)。MS m/z = 615.4[M+H]⁺。

实施例 2



步骤 1: 中间体 2-2 的合成

将化合物 **2-1** (11.0g, 18.66mmol) 加入到无水甲醇 (150 mL) 中, 然后加入乙酸铵(7.19g, 93.29mmol), 所得反应液升温至 60 °C 搅拌反应 48 小时。将反应液浓缩, 残留物溶解于 300 mL 乙酸乙酯中, 然后加入水 50mL 搅拌至澄清, 分去水层, 有机相用水(30 mL*2)和饱和食盐水(30 mL)洗涤, 有机相浓缩得到粗品, 过柱纯化(石油醚: 乙酸乙酯=30: 1), 得到化合物 **2-2**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.16 (d, *J*=8.4 Hz, 4H), 6.84 (d, *J*=8.4 Hz, 4H), 6.62 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 4.99 (br, *J*=10.5 Hz, 1H), 4.63 (d, *J*=13.6 Hz, 1H), 4.42 - 4.21 (m, 5H), 3.80 (s, 6H), 3.71 (s, 3H), 3.07 (br, *J*=11.2, 16.2 Hz, 1H), 2.34-2.32 (m, 3H), 2.26-2.19 m, 1H); MS *m/z*=589.1 [M+H]⁺。

步骤 2: 中间体 2-3 的合成

将化合物 **2-2** (7.56g, 12.84mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺(3.32g, 25.69mmol, 4.47mL)溶解于四氢呋喃(150 mL)中, 氮气保护下冷却到 0°C, 然后向其中滴加化合物 **2-2A** (2.10g, 15.41mmol, 1.64mL), 滴毕, 15°C 搅拌反应 15 小时。将反应液浓缩得粗品, 过柱纯化(石油醚: 乙酸乙酯=10: 1), 得到化合物 **2-3**, MS *m/z*=689.1 [M+H]⁺。

步骤 3: 中间体 2-4 的合成

将化合物 **2-3**(2.94g, 4.27mmol)溶解于四氢呋喃(30 mL) 中, 然后加入甲醇钠 (461.27mg, 8.54mmol)和无水甲醇(0.5mL), 所得反应液氮气保护下, 50°C 搅拌反应 4 小时。将反应液冷却到室温, 用 0.5M 盐酸调节反应液 pH 至 4-5, 然后旋去溶剂, 残留物溶解于 150 mL 乙酸乙酯中 然后用水 30 mL 和饱和食盐水 30 mL 洗涤, 有机相浓缩得粗品, 过柱纯化(石油醚: 乙酸乙酯=10: 1), 得到化合物 **2-4**。MS *m/z*=657.2 [M+H]⁺。

步骤 4: 中间体 2-5 的合成

将化合物 **2-4** (200mg, 304.59μmol)溶解于二甲基亚砜(10mL) 中, 然后加入氯化锂(51.65mg, 1.22mmol, 24.95μL), 所得反应液升温至 120°C 搅拌反应 4 小时, 加 150mL 乙酸乙酯稀释, 然后用水(20 mL*3)和饱和食盐水(20mL)洗涤, 有机相浓缩得到粗品, 过柱纯化(甲醇/二氯甲烷=1:10) 得到化合物 **2-5**, MS *m/z*=599.2 [M+H]⁺。

步骤 5: 中间体 2-6 的合成

将化合物 **2-5** (400mg, 668.24μmol) 和 PhNTf₂ (477.46mg, 1.34mmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (1.5mL) 中, 然后加入 N,N-二异丙基乙基胺 (345.46mg, 2.67mmol, 465.58μL), 反应液 15°C 搅拌反应 3 小时。将反应液浓缩得到粗品, 过柱纯化(石油醚: 乙酸乙酯=10: 1) 得到化合物 **2-6**, MS *m/z*=862.8 [M+H]⁺。

步骤 6: 中间体 2-7 的合成

将化合物 **2-6** (580mg, 672.30μmol) 和化合物 **1-1A** (142.72mg, 672.30μmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (4mL) 中, 然后加入 N,N-二异丙基乙基胺 (173.78mg, 1.34mmol, 234.21μL), 所得反应液升温至 60°C 搅拌反应 3 小时。将反应液浓缩得到粗品。过柱纯化(石油醚: 乙酸乙酯=10: 1) 得到化合物 **2-7**, MS *m/z*=925.4 [M+H]⁺。

步骤 7: 中间体 2-8A 和 2-8B 的合成

将化合物 **2-7** (106mg, 114.60μmol) 和化合物 **1-2A** (54.74mg, 343.81μmol) 加入到二氧六环(2mL)中, 然后加入 Pd₂(dba)₃ (20.99mg, 22.92μmol), DavePhos (18.04mg, 45.84μmol) 和 LiHMDS (1M, 343.81μL), 所得反应液氮气置换后, 升温至 95°C 反应 15 小时。将反应液浓缩, 残留物中加入水(1 mL)和乙酸乙酯(30 mL), 然后用 0.5M 盐酸调节 pH 至 7-8, 分出有机相, 水相用 10 mL 乙酸乙酯萃取两次, 合并有机相, 浓缩得粗品。粗品制备板分离(乙酸乙酯: 甲醇=20:1)。将上述制备板分离得到的样品继续用经高效液相色谱分离(色谱柱: Welch Xtimate C18 100*40mm*3μm; 流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈]; (乙腈)%: 43%-73%, 8min), 浓

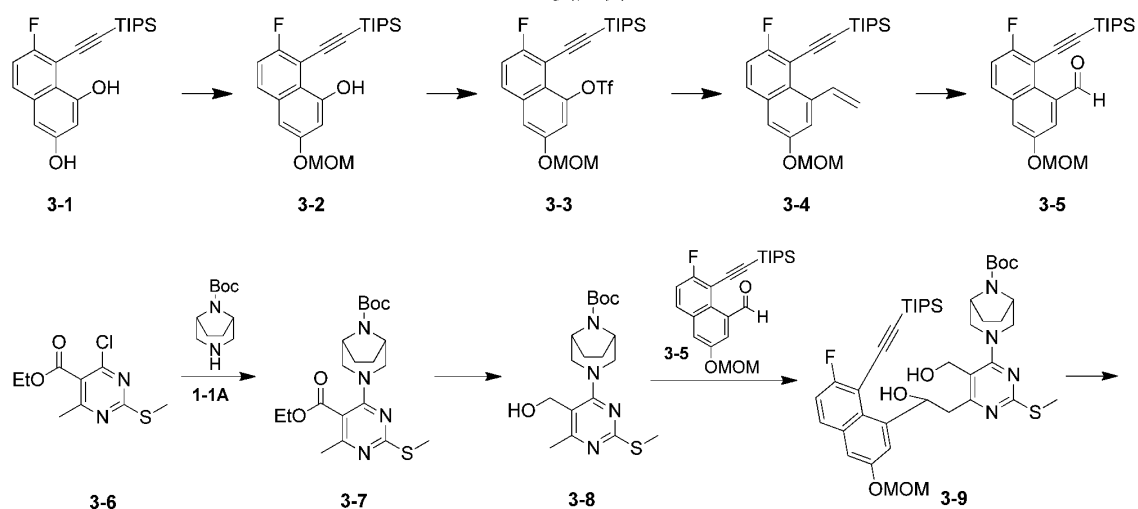
缩得化合物 **2-8A**。MS $m/z=934.9$ $[M+H]^+$ 和化合物 **2-8B**, MS $m/z=934.9$ $[M+H]^+$ 。

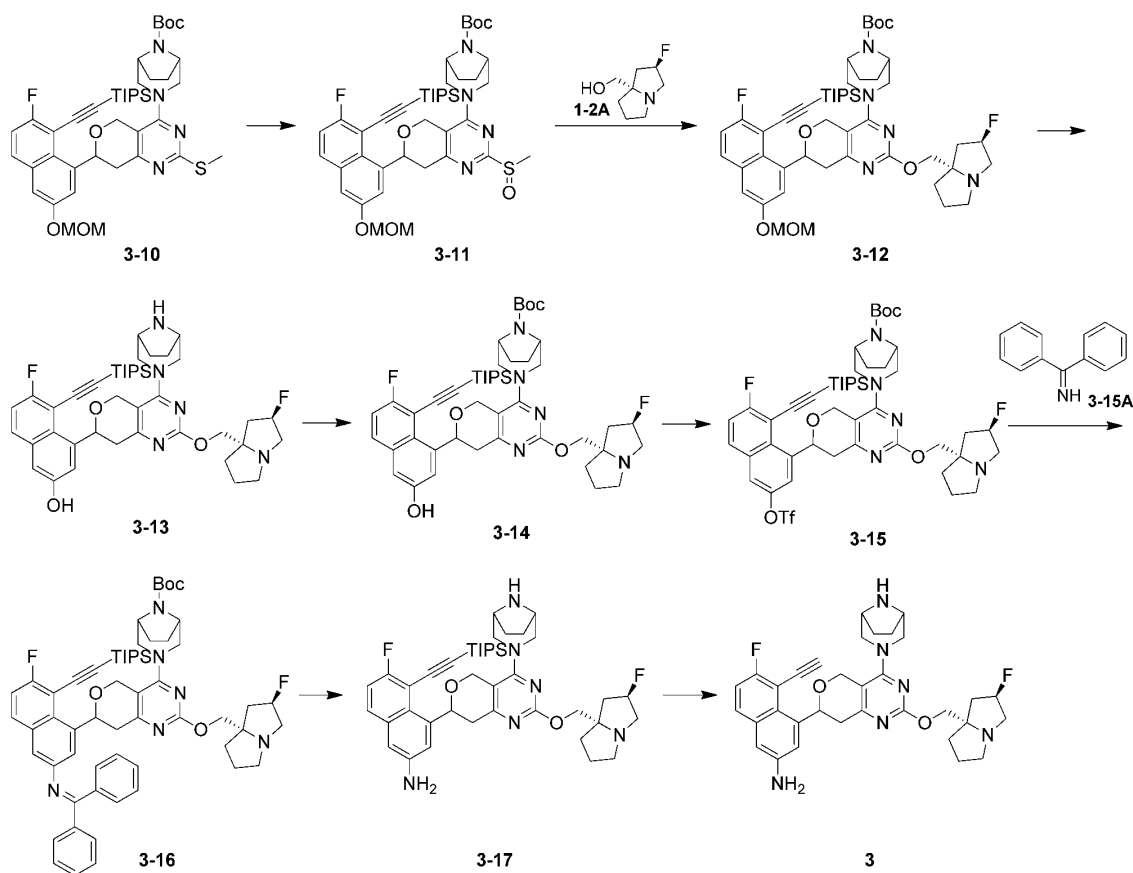
步骤 8: 化合物 **2A** 的盐酸盐和 **2B** 的盐酸盐合成

将三氟乙酸 (0.3 mL) 加入到化合物 **2-8A** (43mg, 46.04 μ mol) 中, 氮气保护下 20 °C 搅拌反应 2 小时。将反应液浓缩得粗品。溶解于乙腈中, 用经高效液相色谱分离(色谱柱: Xtimate C18 150*40mm*5 μ m; 流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈];(乙腈)%: 5%-35%, 10min), 得到化合物 **2A** 的盐酸盐, MS $m/z=594.3$ $[M+H]^+$ 。

将三氟乙酸 (0.3mL) 加入到化合物 **2-8B** (52mg, 55.67 μ mol) 中, 所得反应液氮气保护下, 20 °C 搅拌反应 2 小时。将反应液浓缩得粗品。粗品用经高效液相色谱分离(色谱柱: Xtimate C18 150*40mm*5 μ m; 流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈];(乙腈)%: 5%-35%, 10min), 得到化合物 **2B** 的盐酸盐, LCMS $m/z=594.4$ $[M+H]^+$ 。

实施例 3





步骤 1: 中间体 3-2 的合成

将化合物 3-1 (50 g, 139.46 mmol) 加入到无水二氯甲烷 (500 mL) 中, 加入 N,N-二异丙基乙二胺 (54.07 g, 418.39 mmol, 72.87 mL), 降温至 0°C, 缓慢滴加入氯甲基甲醚 (15.59 g, 193.64 mmol, 14.71 mL), 缓慢升温至 18°C 反应 1 小时。将反应液加入到 500 mL 的冰水中, 用 DCM (100 mL*2) 萃取, 合并有机相, 再用 500 mL 的饱和碳酸钠, 500 mL 的饱和氯化铵和 500 mL 的半饱和食盐水分别洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤后浓缩, 粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=3: 1) 纯化得到化合物 3-2。MS m/z =403.2[M+H]⁺。

步骤 2: 中间体 3-3 的合成

将化合物 3-2 (36 g, 89.42 mmol) 和 N,N-二异丙基乙二胺 (34.67 g, 268.27 mmol, 46.73 mL) 加入到无水二氯甲烷 (360 mL) 中, 降温至 -40°C, 滴加入三氟甲磺酸酐 (37.85 g, 134.14 mmol, 22.13 mL), 反应 1 小时。将反应液加入到 300 mL 的冰水中, 分液萃取, 有机相用 200 mL 的饱和碳酸氢钠溶液洗涤, 再用 200 mL 的饱和氯化铵洗涤, 200 mL 的食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤后浓缩。粗品用柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=10: 1) 纯化得到化合物 3-3。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.71 (dd, J = 5.2, 9.2 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.33 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 5.28 (s, 2H), 3.53 (s, 3H), 1.28 - 1.18 (m, 21H)。

步骤 3: 中间体 3-4 的合成

将化合物 3-3 (34 g, 63.59 mmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (340 mL) 中, 加入乙烯基三丁基锡 (42.03 g, 132.55 mmol, 38.56 mL) 和氯化锂 (10.78 g, 254.38 mmol, 5.21 mL), 氮气置换三次, 氮气保护下加入三苯基膦二氯化钯 (4.46 g, 6.36 mmol), 30°C 反应 20 小时。向反应液中加入 300 mL 的 20% 的 KF 水溶液和 300 mL 甲基叔丁基醚搅拌 20 分钟, 垫硅藻土过滤, 滤饼用甲基叔丁基醚 (50 mL*4) 淋洗, 除去水相, 有机相用 500 mL 的饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤后减压浓缩。粗品经过柱 (石油醚: 乙酸乙酯=5:

1) 纯化得到化合物 **3-4**。MS $m/z = 413.3[M+H]^+$ 。

步骤 4: 中间体 **3-5** 的合成

将化合物 **3-4** (20 g, 48.47 mmol) 加入到无水四氢呋喃 (200 mL) 和水 (50 mL) 中, 降温至 0°C, 加入高碘酸钠 (31.10 g, 145.42 mmol, 8.06 mL) 和四氧化锇 (1.5 g, 5.90 mmol, 306.12 μ L), 缓慢升温至 18°C, 反应 1 小时。将反应液加入到 300 mL 10% 硫代硫酸钠溶液中, 用乙酸乙酯 (100 mL*2) 萃取, 500 mL 的饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤后浓缩。粗品经过柱 (石油醚: 乙酸乙酯=5: 1) 纯化得到化合物 **3-5**。MS $m/z = 415.3[M+H]^+$ 。

步骤 5: 中间体 **3-7** 的合成

向化合物 **3-6** (1 g, 4.05 mmol) 和 **1-1A** (1.03 g, 4.86 mmol) 的二氯甲烷溶液中加入 N,N-二异丙基乙胺 (1.05 g, 8.11 mmol), 得到的混合物室温 25°C 搅拌 1 小时。向反应液中加入水 (20 mL) 和二氯甲烷 (50 mL), 搅拌 5 分钟, 除去水相, 有机相减压浓缩, 残余物经过柱机纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5: 1) 得到的化合物 **3-7**。MS $m/z = 423.1[M+H]^+$ 。

步骤 6: 中间体 **3-8** 的合成

冰水浴 0°C 氮气保护下, 向化合物 **3-7** (0.6 g, 1.42 mmol) 的四氢呋喃 (5 mL) 溶液中分批加入四氢铝锂 (0.1 g, 2.84 mmol), 得到的混合物自然升至 25°C 搅拌 2 小时, 向反应液中依次滴加水 (0.1 g)、15% 氢氧化钠水溶液 (0.1 g) 和水 (0.3 g) 搅拌 30 分钟, 过滤, 四氢呋喃 (10 mL), 滤液减压浓缩, 得到化合物 **3-8**。MS $m/z = 381.1[M+H]^+$ 。

步骤 7: 中间体 **3-9** 的合成

干冰-乙酸乙酯浴零下 65°C 氮气保护下, 向化合物 **3-8** (0.5 g, 1.33 mmol) 的四氢呋喃 (10 mL) 溶液中滴加二异丙基氨基锂 (1.51 mL, 3.02 mmol, 2M), 搅拌 30 分钟后滴加化合物 **3-5** (0.5 g, 1.51 mmol) 的四氢呋喃 (5 mL) 溶液, 得到的混合物自然升至 25°C, 向反应液中加入 0.1M 稀盐酸水溶液 (15 mL) 和乙酸乙酯 (20 mL), 搅拌 10 分钟, 除去水相, 有机相减压浓缩, 残余物经过柱机纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5: 1), 得到化合物 **3-9**。MS $m/z = 795.4[M+H]^+$ 。

步骤 8: 中间体 **3-10** 的合成

干冰-乙酸乙酯浴零下 65°C 氮气保护下, 向化合物 **3-9** (0.51 g, 641.44 μ mol) 的四氢呋喃 (10 mL) 溶液中滴加正丁基锂 (2.5 M, 564.47 μ L), 搅拌 30 分钟后, 滴加对甲苯磺酰氯 (183.43 mg, 962.16 μ mol) 的四氢呋喃 (3 mL), 得到的混合物自然升至 25°C 搅拌 2 小时, 向反应液中加入 50 毫升饱和氯化铵水溶液淬灭反应, 再加入 50 毫升乙酸乙酯萃取, 除去水相, 有机相减压浓缩。残余物经过柱机纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5: 1), 得到化合物 **3-10**。MS $m/z = 777.4[M+H]^+$ 。

步骤 9: 中间体 **3-11** 的合成

向化合物 **3-10** (45 mg, 57.91 μ mol) 的二氯甲烷 (2 mL) 溶液中加入间氯过氧苯甲酸 (14.11 mg, 69.49 μ mol, 85% 含量), 得到的混合物室温 25°C 搅拌 2 小时。向反应液中加入 2 毫升饱和碳酸氢钠水溶液和 2 毫升饱和亚硫酸钠水溶液和 5 毫升二氯甲烷搅拌 5 分钟, 除去水相, 有机相减压浓缩。残余物经过制备 TLC 纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5: 1), 得化合物 **3-11**。MS $m/z = 793.4[M+H]^+$ 。

步骤 10: 中间体 **3-12** 的合成

冰水浴 0°C 氮气保护下, 向化合物 **1-2A** (32.12 mg, 201.76 μ mol) 的四氢呋喃 (2 mL) 溶液中加入叔丁醇钠 (19.39 mg, 201.76 μ mol), 搅拌 30 分钟后加入化合物 **3-11** (40 mg, 50.44 μ mol), 得到的混合物自然升至 25°C 搅拌 2 小时。向反应液中加入 0.5M 稀盐酸调节 pH 值约为 6, 加入 5 毫升乙酸乙酯和 2 毫升饱和食盐水搅拌 5 分钟, 除去水相, 有机相减压浓缩, 得到化合物 **3-12**。MS $m/z = 888.5[M+H]^+$ 。

步骤 11: 中间体 **3-13** 的盐酸盐合成

向化合物 **3-12** (45 mg, 50.67 μmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入盐酸-乙酸乙酯 (4 M, 126.67 μL)，得到的混合物室温搅拌 2 小时，反应液直接减压浓缩得化合物 **3-13** 的盐酸盐。MS $m/z = 744.4[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 12: 中间体 **3-14** 的合成

向化合物 **3-13** 的盐酸盐 (0.5 g, 612.06 μmol) 的 MeOH (10 mL) 溶液中加入 NaHCO_3 (2 M, 1.53 mL) 和 Boc_2O (267.16 mg, 1.22 mmol, 281.22 μL)，体系室温搅拌 2 小时。反应液减压浓缩除去甲醇，向残余物中加入 10 mL 乙酸乙酯和 5 mL 饱和食盐水搅拌 5 分钟，除去水相，有机相减压浓缩，得化合物 **3-14**，MS $m/z = 844.4[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 13: 中间体 **3-15** 的合成

向化合物 **3-14** (1.2 g, 1.42 mmol) 的 DCM (5 mL) 溶液中加入 Et_3N (287.70 mg, 2.84 mmol, 395.74 μL) 和 TiF_4 (601.64 mg, 2.13 mmol, 351.83 μL)，体系室温搅拌 2 小时。向反应液中加入 10 mL 水和 10 mL 二氯甲烷搅拌 10 分钟，除去水相，有机相减压浓缩。残余物经过柱机纯化 (石油醚: 乙酸乙酯 = 1: 1) 得化合物 **3-15**，MS $m/z = 976.2[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 14: 中间体 **3-16** 的合成

将化合物 **3-15** (200 mg, 204.88 μmol)，化合物 **3-15A** (74.26 mg, 409.76 μmol , 68.76 μL)，碳酸铯 (200.26 mg, 614.64 μmol)，Xantphos (23.71 mg, 40.98 μmol) 加入无水甲苯 (5 mL) 中，氮气置换 3 次，加入三(二亚苄基丙酮)二钯 (18.76 mg, 20.49 μmol)，氮气保护下 100°C 反应 3 小时。反应液降至室温，硅藻土过滤，30 mL 乙酸乙酯淋洗，母液通过减压浓缩得到化合物 **3-16**。

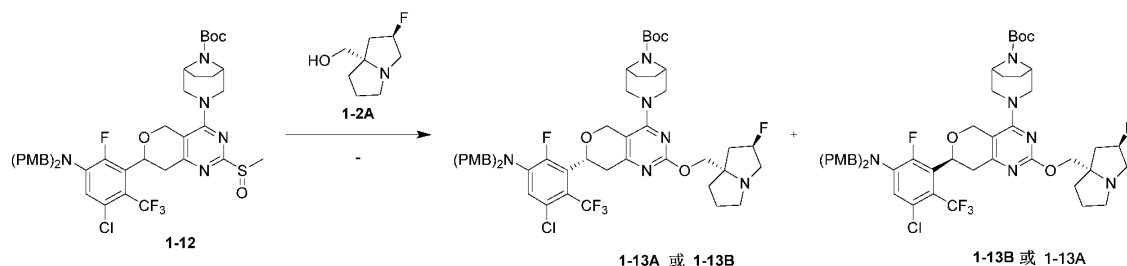
步骤 15: 中间体 **3-17** 的盐酸盐合成

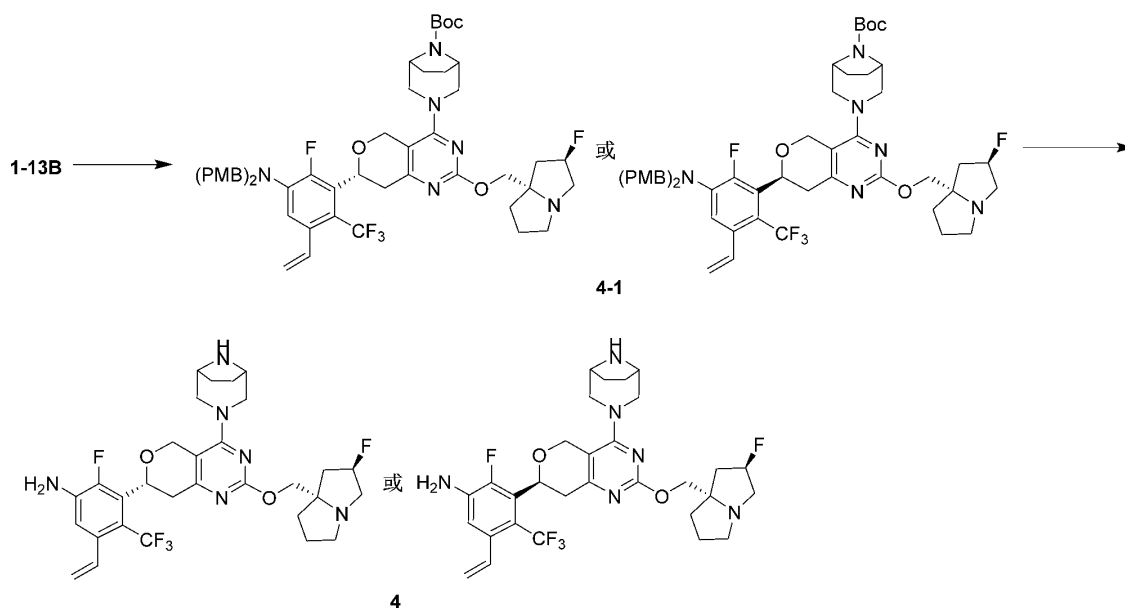
将化合物 **3-16** (180 mg, 178.69 μmol) 加入到 4M 盐酸甲醇溶液 (5 mL) 中，室温反应 1 小时。直接将反应液浓缩，得到粗品化合物 **3-17** 盐酸盐。MS $m/z = 743.3[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 16: 化合物 **3** 的盐酸盐合成

将化合物 **3-17** 的盐酸盐 (180.00 mg)，氟化铯 (73.60 mg, 484.51 μmol)，无水碳酸钾 (267.86 mg, 1.94 mmol) 加入 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中，60°C 反应 16 小时。向反应液中加入 10 mL 的水，利用 10 mL * 2 的乙酸乙酯萃取，合并有机相，用饱和食盐水 (10 mL * 3) 洗涤，无水硫酸钠干燥过滤后浓缩。用经高效液相色谱分离 (色谱柱: Phenomenex luna C18 80*40mm*3 μm ; 流动相: [水 (0.05% 盐酸)-乙腈]; (乙腈) %: 1%-20%, 7min)，得到化合物 **3** 的盐酸盐， ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 7.75 - 7.63$ (m, 1H), 7.42 - 7.24 (m, 2H), 6.91 - 6.81 (m, 1H), 6.57 - 6.41 (m, 1H), 5.58 - 5.45 (m, 2H), 5.36 - 5.14 (m, 1H), 5.06 - 4.90 (m, 1H), 4.84 - 4.58 (m, 2H), 3.97 - 3.78 (m, 3H), 3.66 - 3.38 (m, 2H), 3.10 - 2.89 (m, 4H), 2.85 - 2.64 (m, 1H), 2.15 - 1.89 (m, 6H), 1.87 - 1.56 (m, 9H)。MS $m/z = 587.3[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 4





步骤 1: 中间体 1-13B 的合成

将化合物 **1-12** (4.16 g, 26.15 mmol) 溶于无水四氢呋喃(150 mL)中, 氮气保护, 降温至 20°C, 加入叔丁醇钠(2.85 g, 29.64 mmol)搅拌 0.5 小时, 将化合物 **1-2A** (15 g, 17.43 mmol) 的 THF (15 mL) 溶液滴加到反应液中, 在此温度下搅拌 0.5 小时, 反应液倒入饱和氯化铵水溶液 (200 mL) 中, 加入乙酸乙酯 (100 mL x 3) 萃取, 合并有机相浓缩得到粗品。通过高效液相色谱分离, (色谱柱: Phenomenex luna C18 (250*70mm, 15 μ m); 流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈]; 乙腈%: 40%-70%, 20min), 得到粗品, 再次分离, (色谱柱: Phenomenex luna c18 250mm*100mm*10 μ m; 流动相: [水(0.025%三氟乙酸)-乙腈]; 乙腈%: 40%-70%, 20min), 得到产品, 经过超临界液相色谱(SFC)分离纯化 (色谱柱: DAICEL CHIRALPAK IE(250mm*30mm, 10 μ m); 流动相: A: 超临界 CO₂, B: [乙腈/异丙醇=1:1(0.1%氨水)]; B%: 65%-65%, 45min), 得到化合物 **1-13A** 和 **1-13B**。SFC 分析: (色谱柱: DAICEL CHIRALPAK IE(50mm*4.6mm, 3 μ m); 流动相: A: 超临界 CO₂, B: [乙腈/异丙醇=1:1(0.1%二异丙胺)]; B%: 50%-50%) 化合物 **1-13A**, 保留时间 time=2.143; 化合物 **1-13B** 保留时间 time=4.935。MS m/z = 955.5 [M+H]⁺。

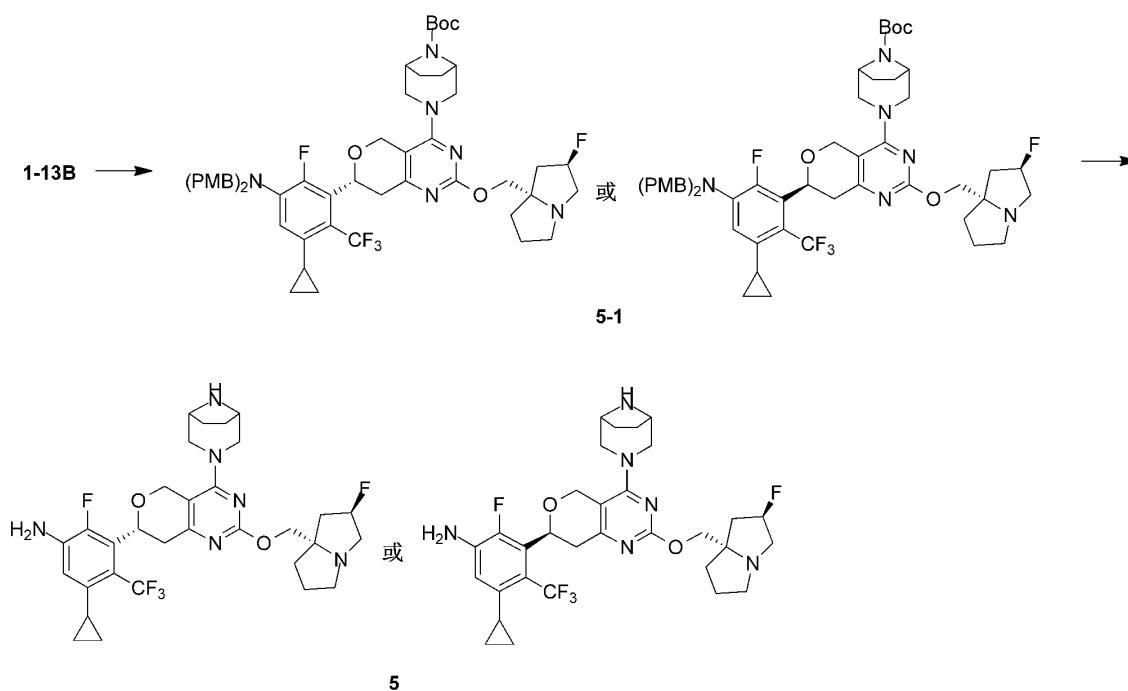
步骤 2: 中间体 4-1 的合成

将化合物 **1-13B** (120 mg, 125.60 μ mol), 无水磷酸钾 (53.32 mg, 251.19 μ mol), 乙烯三氟硼酸钾 (25.24 mg, 188.39 μ mol) 溶于 1,4-二氧六环 (1 mL), 水 (0.2 mL) 中, 氮气置换三次, 加入氯[(正丁基二(1-金刚烷基)膦)-2-(2-氨基联苯)]钯(II) (8.40 mg, 12.56 μ mol) 在 80°C 下反应 3 小时。倒入水溶液 (5 mL) 中, 乙酸乙酯 (10 mL x 2) 萃取, 分液, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得到化合物 **4-1**。MS m/z = 947.4 [M+H]⁺。

步骤 3: 化合物 4 的盐酸盐合成

将化合物 **4-1** (100 mg, 105.59 μ mol) 溶于无水二氯甲烷 (2 mL) 中, 加入三氟乙酸 (770.00 mg, 6.75 mmol), 在 20°C 下反应 3 小时。反应液浓缩得到粗品。通过高效液相色谱分离 (色谱柱: Phenomenex Luna 80*30mm*3 μ m; 流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈]; 乙腈%: 1%-30%, 8min)。得到化合物 **4** 的盐酸盐。MS m/z = 607.4 [M+H]⁺。

实施例 5



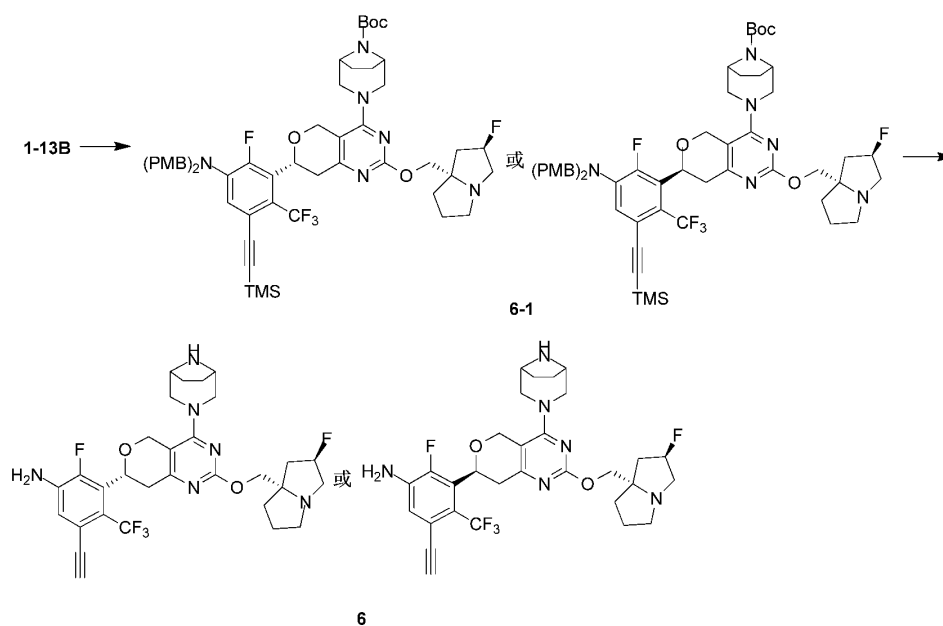
步骤 1: 中间体 5-1 的合成

将化合物 **1-13B** (100 mg, 104.66 μmol), 磷酸钾 (55.54 mg, 261.66 μmol), 环丙基硼酸 (89.90 mg, 1.05 mmol) 加入 1,4-二氧六环(2.5 mL)、水(0.5 mL)中, 氮气置换 3 次, 加入氯化(2-二环己基磷-2',6'-二甲氧基-1,1'-联苯基)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯基)]钯 II(7.54 mg, 10.47 μmol), 氮气保护下 100°C 反应 3 小时。反应液降至室温减压浓缩得到粗品化合物 **5-1**, MS $m/z = 961.5[M+H]^+$ 。

步骤 2: 化合物 5 的盐酸盐合成

向化合物 **5-1** (150 mg, 156.08 μmol) 中加入三氟乙酸 (1.60 g, 14.05 mmol), 无水二氯甲烷 (5 mL) 中, 0°C 反应 16 小时。将反应液倒入 10 mL 水中, 将有机相分出, 水相利用乙酸乙酯 (5 mL*2) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。通过高效液相色谱分离纯化(色谱柱: Phenomenex Luna 80*30mm*3 μm ; 流动相: [水(0.05% 盐酸)-乙腈]; 乙腈%: 1%-30%, 8min) 得到化合物 **5** 的盐酸盐。MS $m/z = 621.3[M+H]^+$ 。

实施例 6



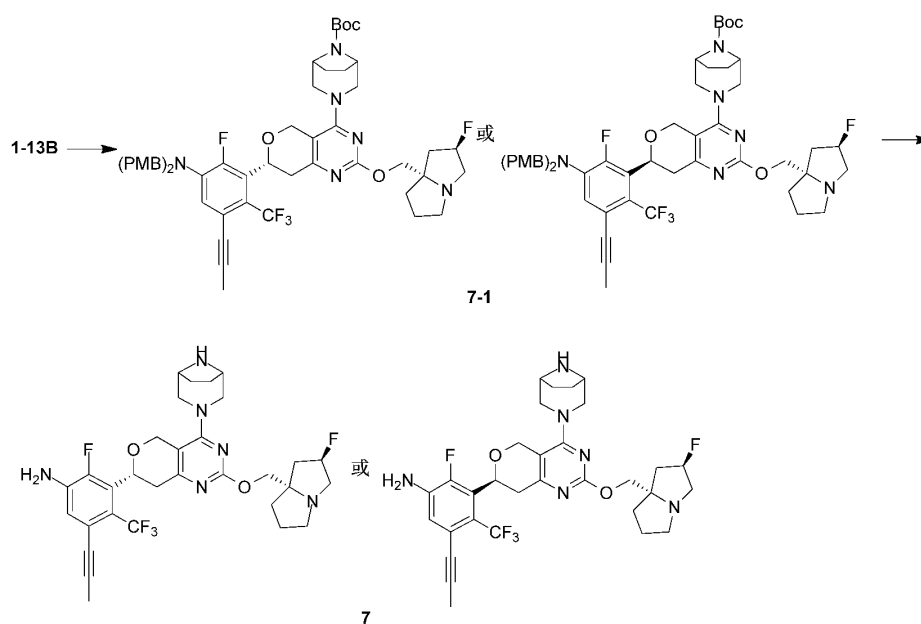
步骤 1: 中间体 6-1 的合成

将化合物 **1-13B** (120 mg, 125.60 μmol), 双(乙腈)氯化钾(II) (3.26 mg, 12.56 μmol), 碳酸铯(122.76 mg, 376.79 μmol), 2-二环己基膦-2',4',6'-三异丙基联苯(11.97 mg, 25.12 μmol)溶于乙腈(1.5 mL)中, 氮气置换三次, 室温搅拌 0.5 小时, 再将三甲基硅基乙炔(49.34 mg, 502.38 μmol)加入到反应液中, 80°C反应 10 小时。反应液直接浓缩得到化合物 **6-1**。MS m/z = 1017.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 化合物 6 的合成

将化合物 **6-1** (100 mg, 98.31 μmol) 溶于无水二氯甲烷(4 mL)中, 加入三氟乙酸(1.54 g, 13.51 mmol), 在 20°C下反应 3 小时。倒入饱和碳酸氢钠水溶液 (5 mL) 中, 分液, 水相用二氯甲烷(5 mL x 3)萃取, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得到粗品。经高效液相制备色谱分离、纯化 (色谱柱: Waters Xbridge BEH C18 100*30mm*10 μm ;流动相: [水(10 mM NH_4HCO_3)-乙腈];乙腈%: 30%-50%,8min), 得到化合物 **6**。MS m/z = 605.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 7



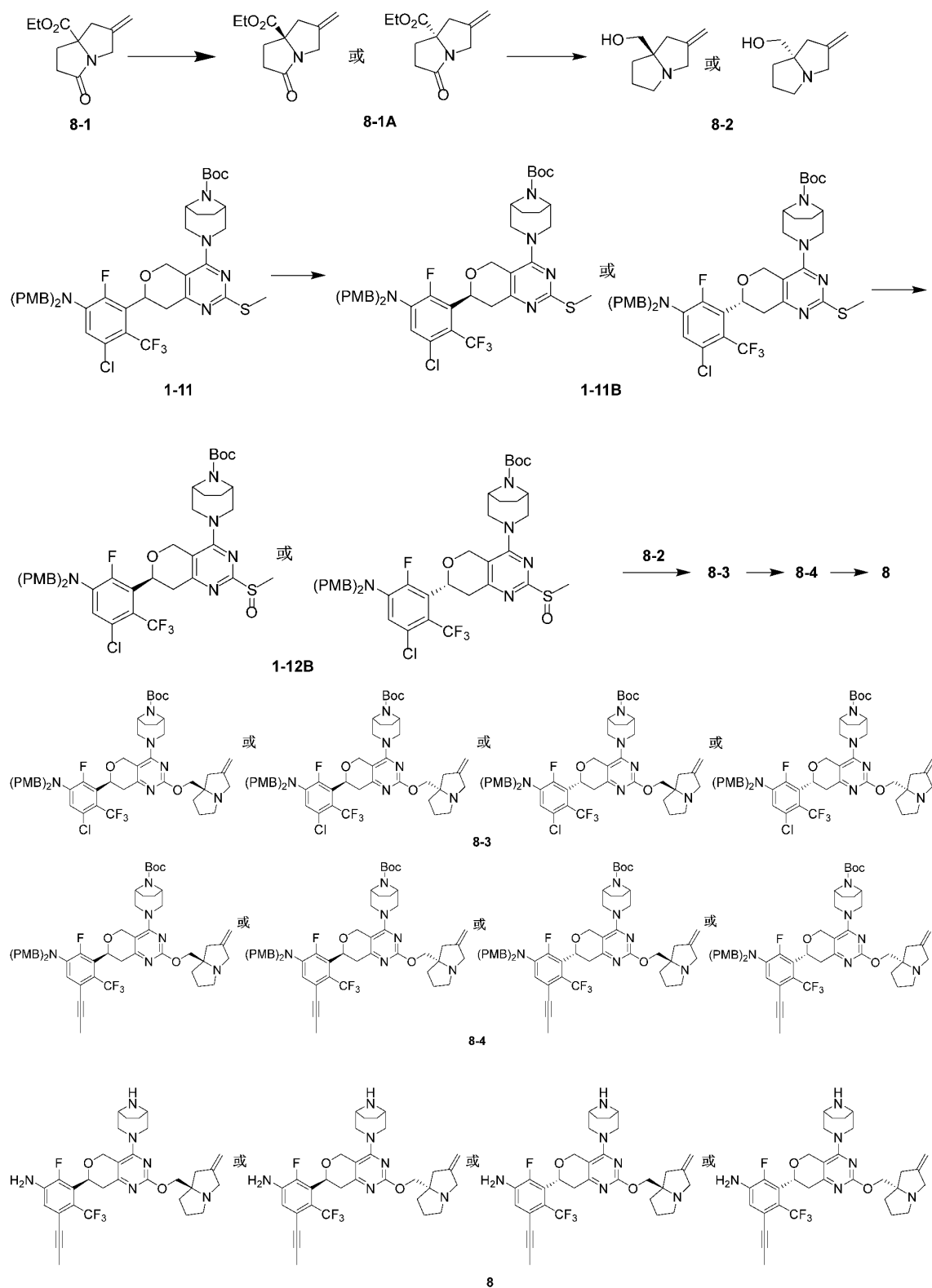
步骤 1: 中间体 7-1 的合成

将化合物 **1-13B** (200 mg, 209.33 μmol) 溶于无水甲苯 (2.5 mL) 中, 氮气鼓泡 10min, 氮气保护下加入二氯双[二叔丁基-(4-二甲氨基苯基)膦]铍(II)(44.47 mg, 62.80 μmol)和 1-丙炔基三-正-丁基锡(275.56 mg, 837.30 μmol), 110°C反应 3 小时。将反应液倒入 5mL 水中, 用乙酸乙酯 (3 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (3 mL x 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 得到化合物 **7-1**, MS $m/z = 959.3[M+H]^+$ 。

步骤 2: 化合物 7 的盐酸盐合成

将化合物 **7-1** (450 mg, 469.21 μmol)溶于二氯甲烷(2.5 mL), 加入三氟乙酸 (802.50 mg, 7.04 mmol), 25°C 反应 4 小时, 反应液直接浓缩。经高效液相色谱纯化(色谱柱: Phenomenex luna C18 250*50mm*10 μm ;流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈];乙腈%: 5%-35%,10min)得到化合物 **7** 的盐酸盐, MS $m/z = 619.2[M+H]^+$ 。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.00 - 6.92 (m, 1H), 5.74 - 5.50 (m, 1H), 5.31 - 5.17 (m, 1H), 5.03 - 4.92 (m, 2H), 4.79 - 4.72 (m, 2H), 4.31 - 4.16 (m, 2H), 4.09 - 3.92 (m, 4H), 3.90 - 3.83 (m, 1H), 3.64 - 3.54 (m, 1H), 3.54 - 3.36 (m, 3H), 3.11 - 3.01 (m, 1H), 2.84 - 2.61 (m, 2H), 2.57 - 2.47 (m, 1H), 2.44 - 2.33 (m, 1H), 2.36 (br d, $J = 8.5$ Hz, 6H), 2.06 - 2.02 (m, 3H)。

实施例 8



步骤 1: 中间体 8-1A 的合成

将化合物 **8-1** 进行制备超临界液相色谱(SFC) (色谱柱: ChiralPak IH, 250*50mm, 10 μ m; 流动相: A: 超临界 CO₂, B: [0.1%氨水-乙醇]; B%: 20%-20%, 运行时间 3.7min, 出峰时间: 1.266 min 和 1.521 min), 收集出峰时间为 1.521min 的样品得到化合物 **8-1A**, SFC 分析方法(色谱柱: Chiralpak IH-3, 100*4.6mm I.D., 3 μ m; 流动相: A(超临界 CO₂) 和 B(乙醇, 含 0.1%异丙胺); 梯度: B%=10~50%, 4 min; 流速: 3.4 mL/min; 波长: 220nm; 压力: 2000psi), 化合物 **8-1A**, Rt=1.489 min, ee 值 98.82%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 4.99 - 4.86 (m, 2H), 4.26 - 3.95 (m, 3H), 3.59 (m, 1H), 3.00 - 2.88 (m, 1H), 2.87 - 2.12 (m, 4H), 1.91 (s, 1H), 1.20 - 1.08 (m, 3H)。

步骤 2: 中间体 **8-2** 的合成

将四氢铝锂 (1.55 g, 40.15 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (30 mL) 中, 降温至 0°C, 氮气保护下加入化合物 **8-1A** (2.8 g, 13.38 mmol) 的无水四氢呋喃 (20 mL) 溶液, 70°C 反应 1 小时。0°C 条件下向反应液中加入 1.5 mL 水, 加入 1.5 mL 15% NaOH 溶液, 再加入 4.5 mL 水, 搅拌 20 分钟, 反应液过滤, 滤饼用 10 mL 四氢呋喃洗涤, 滤液浓缩, 得到化合物 **8-2**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 4.99 - 4.86 (m, 2H), 4.26 - 3.95 (m, 3H), 3.59 (m, 1H), 3.00 - 2.88 (m, 1H), 2.74 - 2.27 (m, 4H), 1.91 (s, 1H), 1.20 - 1.08 (m, 3H)。

步骤 3: 中间体 **1-11B** 的合成

将化合物 **1-11** 进行超临界液相色谱分析 (色谱柱: (S,S)Whelk-01 100*4.6mm I.D., 5.0 μ m; 流动相: A: 超临界 CO₂, B: [0.1%乙醇胺-异丙醇]; B%: 50%, 流速: 2.5 mL/min, 保留时间为 2.705 min 和 3.357 min), 收集保留时间为 3.357 min 的样品得到化合物 **1-11B**, 制备 SFC (手性柱: REGIS (s,s) WHELK-O1 (250mm*50mm, 10 μ m); 流动相: A: 超临界 CO₂, B: [75%异丙醇-25%乙腈]; B%: 50%-50%)。手性 SFC 分析 (色谱柱: (S,S)Whelk-O1 100*4.6mm I.D., 5.0 μ m; 流动相: A: 超临界 CO₂, B: [75%异丙醇/25%乙腈/0.05%二乙胺]; B%: 50%-50%, 流速: 2.5 mL/min), 化合物 **1-11A**, 保留时间为 2.536 min, ee 值 99%; 化合物 **1-11B**, 保留时间为 3.317 min, ee 值 99%, MS m/z = 844.5 [M+H]⁺。

步骤 4: 中间体 **1-12B** 的合成

将化合物 **1-11B** (1 g, 1.18 mmol) 加入到 20 mL 二氯甲烷中, 加入间氯过氧苯甲酸 (240.44 mg, 1.18 mmol, 85% 纯度), 室温反应 1 小时。向反应液加入 5 mL 5% 硫代硫酸钠溶液, 用二氯甲烷 (10 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 再用饱和食盐水 (5 mL x 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品经柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1-1:1), 得化合物 **1-12B**, MS m/z = 860.4 [M+H]⁺。

步骤 5: 中间体 **8-3** 的合成

将化合物 **8-2** (103.29 mg, 674.14 μ mol) 溶于无水四氢呋喃 (3 mL), 加入叔丁醇钠 (64.78 mg, 674.14 μ mol), 降温至 -15°C 反应 15 分钟, 加入化合物 **1-12B** (0.29 g, 337.07 μ mol), 在 -15°C -25°C 条件下反应 1 小时。向反应液加入 5 mL 饱和氯化铵, 使用乙酸乙酯 (5 mL x 2) 萃取, 饱和食盐水 (5 mL x 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 粗品经过柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=0:1), 得到化合物 **8-3**, MS m/z = 949.2 [M+H]⁺。

步骤 6: 中间体 **8-4** 的合成

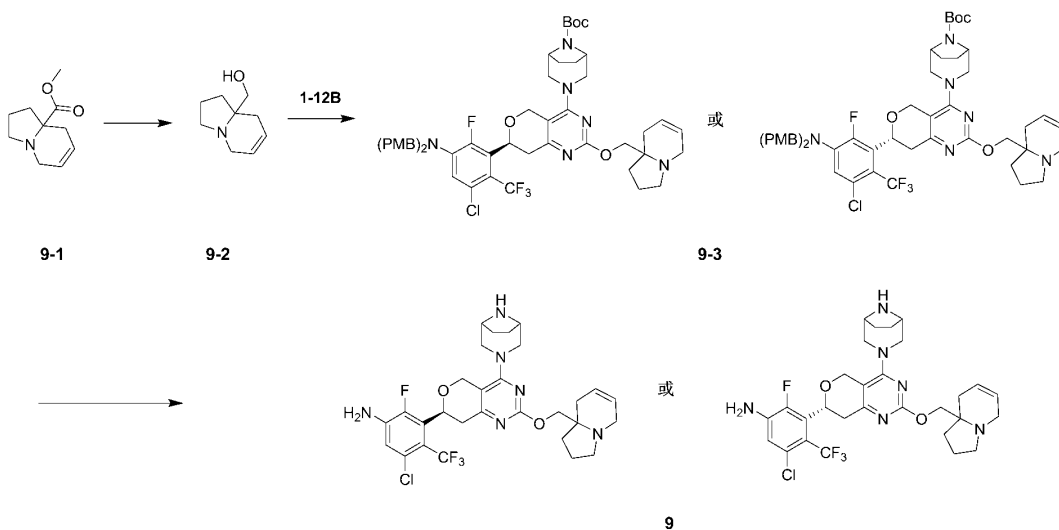
将化合物 **8-3** (0.24 g, 252.77 μ mol) 溶于无水甲苯 (2.5 mL) 中, 氮气鼓泡 10 分钟, 氮气保护下加入二氯双[二叔丁基-(4-二甲基氨基苯基)膦]钯 (53.69 mg, 75.83 μ mol, 53.69 μ L) 和三丁基(1-丙炔基)锡 (332.76 mg, 1.01 mmol), 110°C 反应 2 小时。反应液倒入 5 mL 水中, 使用乙酸乙酯 (3 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 利用饱和食盐水 (3 mL x 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 得粗品化合物 **8-4**。MS m/z = 953.4 [M+H]⁺。

步骤 7: 化合物 **8** 的盐酸盐合成

将化合物 **8-4** (100 mg, 104.92 μ mol) 溶解在三氟乙酸 (3 mL) 中, 25°C 反应 0.5 小时, 反应完成后, 直接浓缩, 经高效液相色谱分离 (色谱柱: Xtimate C18 150*40mm*5 μ m; 流动相: [water(0.05% HCl)-乙腈]; 乙腈%: 5%-35%, 10min), 得到化合物 **8** 的盐酸盐, MS m/z = 613.3 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 6.99

- 6.93 (m, 1 H), 5.36 (br d, $J=6.75$ Hz, 2 H), 5.24 (br dd, $J=10.94, 4.31$ Hz, 1 H), 5.01 - 4.92 (m, 2 H), 4.78 - 4.73 (m, 2 H), 4.36 (br d, $J=14.13$ Hz, 1 H), 4.29 - 4.18 (m, 2 H), 4.08 - 4.0 (m, 1 H), 3.95 (br d, $J=14.38$ Hz, 2 H), 3.85 - 3.77 (m, 1 H), 3.56 (br d, $J=14.63$ Hz, 1 H), 3.45 - 3.37 (m, 1 H), 3.30 - 3.23 (m, 1 H), 3.15 - 3.01 (m, 2 H), 2.85 (br d, $J=15.63$ Hz, 1 H), 2.45 (br dd, $J=12.01, 6.50$ Hz, 1 H), 2.31 - 2.03 (m, 11 H)。

实施例 9



步骤 1: 中间体 9-2 的合成

称取化合物 **9-1** (1.2 g, 6.62 mmol), 加入 THF (50 mL), 降温至 -20°C 加入 LiAlH_4 (1 M, 6.62 mL), 加毕 -20°C 反应 0.5 小时, 加水淬灭, 直接浓缩, 柱层析纯化 (二氯甲烷: 甲醇=10: 1), 得化合物 **9-2**, MS m/z =154.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

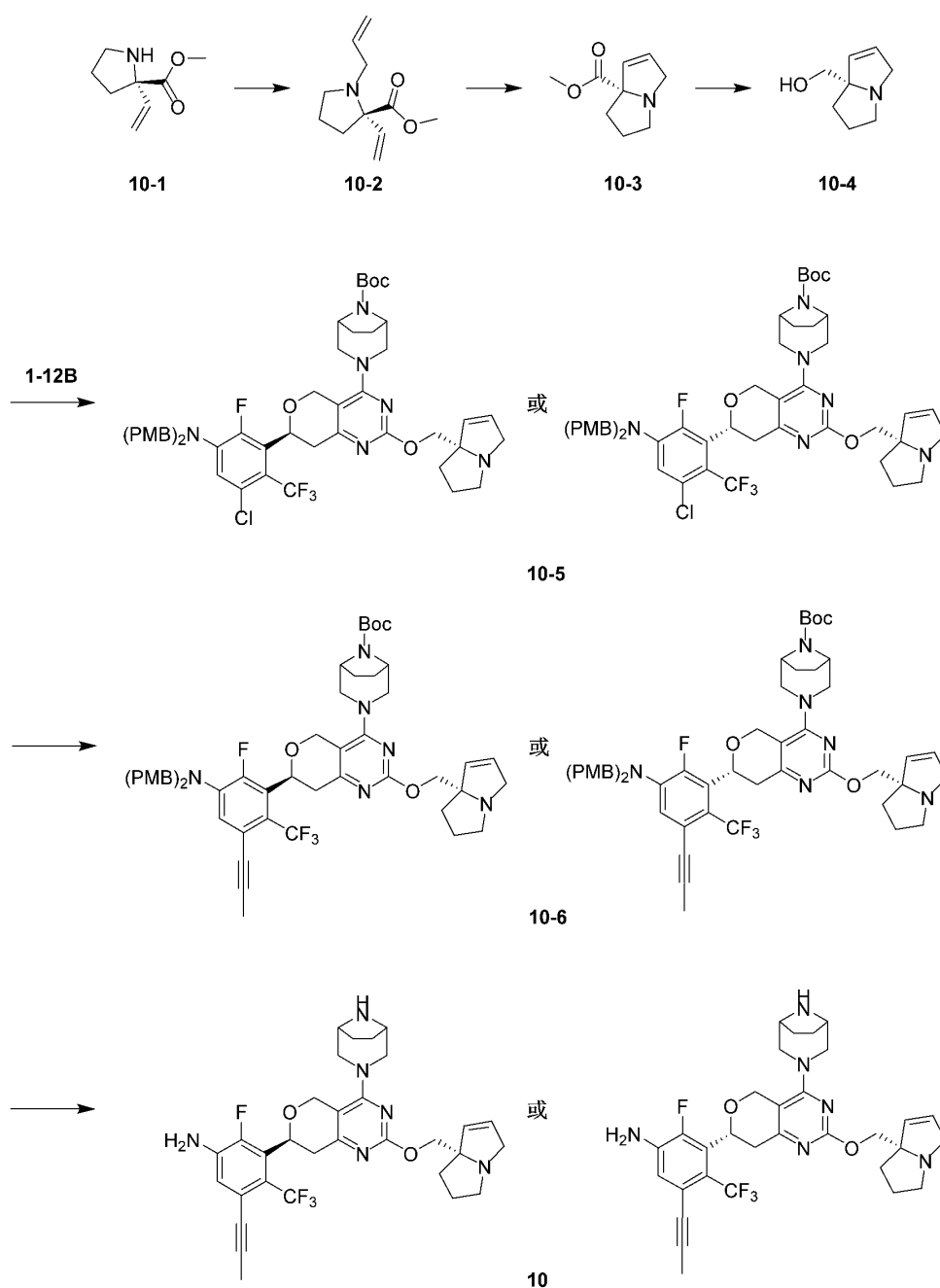
步骤 2: 中间体 9-3 的合成

化合物 **9-2** (73.43 mg, 479.26 μmol) 溶于无水四氢呋喃 (2 mL), 加入叔丁醇钠 (46.06 mg, 479.26 μmol), 降温至 -15°C 反应 15 分钟, 加入化合物 **1-12B** (200 mg, 228.22 μmol), 在 -15°C - -25°C 条件下反应 1 小时, 向反应液加入 5 mL 饱和氯化铵, 使用乙酸乙酯 (5 mL x 2) 萃取, 饱和食盐水 (5 mL x 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 经过柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=0:1) 得到化合物 **9-3**, MS m/z =949.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 3: 化合物 9 的盐酸盐合成

将化合物 **9-3** (0.12 g, 126.39 μmol) 溶于无水二氯甲烷 (1 mL), 降温至 0°C , 加入三氟乙酸 (302.62 mg, 2.65 mmol, 196.51 μL), 25°C 反应 2 小时。将反应液直接浓缩。进行高效液相色谱制备 (色谱柱: Phenomenex Luna 80*30mm*3 μm ; 流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈]; 乙腈%: 5%-40%, 运行时间 8min) 纯化后得到化合物 **9** 的盐酸盐。MS m/z =609.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ = 6.90 (s, 1H), 6.13 - 5.78 (m, 2H), 5.31 - 5.21 (m, 1H), 4.98 - 4.89 (m, 3H), 4.28 - 4.14 (m, 2H), 4.07 - 3.68 (m, 6H), 3.54 - 3.33 (m, 4H), 3.11 - 2.99 (m, 1H), 2.61 - 2.49 (m, 2H), 2.37 - 1.94 (m, 8H)。

实施例 10



步骤 1: 中间体 10-2 的合成

将化合物 10-1 (1.0 g, 5.22 mmol) 溶解于 DMF (15 mL) 中, 然后加入 K_2CO_3 (3.61 g, 26.09 mmol), 搅拌 30 分钟后, 再加入烯丙基溴 (757.46 mg, 6.26 mmol), 室温反应 5 小时。将反应液用 80 mL 乙酸乙酯稀释, 然后垫硅藻土过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂得到粗品。粗品经柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1), 得化合物 10-2。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 6.07 - 5.92 (m, 1H), 5.88 - 5.73 (m, 1H), 5.27 - 5.18 (m, 1H), 5.16 - 5.08 (m, 2H), 5.04 - 4.96 (m, 1H), 3.72 - 3.61 (m, 3H), 3.30 - 3.18 (m, 1H), 3.10 - 2.93 (m, 2H), 2.75 - 2.63 (m, 1H), 2.34 - 2.17 (m, 1H), 1.91 - 1.72 (m, 3H)。

步骤 2: 中间体 10-3 的合成

将化合物 **10-2** (325 mg, 1.66 mmol) 溶解于甲苯 (36 mL) 中, 然后加入 Grubbs 二代催化剂 (70.65 mg, 83.22 μmol), 在氮气保护下升温至 120°C 搅拌反应 20 小时。将反应液浓缩得到粗品, 经柱层析分离 (二氯甲烷: 甲醇=20: 1), 得化合物 **10-3**。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 5.94 - 5.77 (m, 2H), 4.12 - 4.00 (m, 1H), 3.83 - 3.72 (m, 3H), 3.49 - 3.41 (m, 1H), 3.39 - 3.30 (m, 1H), 2.74 - 2.59 (m, 1H), 2.43 - 2.27 (m, 1H), 1.93 - 1.82 (m, 3H)。

步骤 3: 中间体 **10-4** 的合成

将化合物 **10-3** (130 mg, 777.49 μmol) 溶解于 THF (3 mL) 中, 氮气保护下冷却到 0°C, 然后向其中滴加四氢铝锂 (1 M, 777.49 μL), 0°C 搅拌反应 0.5 小时。将反应液用 200 μL 水淬灭, 然后加入 20 mL 乙酸乙酯搅拌 2 分钟, 加入 2g 无水硫酸钠干燥, 垫硅藻土过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **10-4**。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 5.74 - 5.63 (m, 1H), 5.59 - 5.47 (m, 1H), 3.92 - 3.70 (m, 1H), 3.44 - 3.23 (m, 3H), 3.14 - 2.99 (m, 1H), 2.62 - 2.47 (m, 1H), 1.76 - 1.51 (m, 5H)。

步骤 4: 中间体 **10-5** 的合成

将化合物 **10-4** (43.68 mg, 313.82 μmol) 溶于无水四氢呋喃 (2 mL), 加入叔丁醇钠 (26.14mg, 271.98 μmol), 降温至 -15°C 反应 15 分钟, 加入化合物 **1-12B** (180 mg, 209.22 μmol), 在 -15°C -25°C 条件下反应 1 小时, 反应液加入 5 mL 饱和氯化铵, 利用乙酸乙酯 (5 mL x 2) 萃取, 饱和食盐水 (5 mL x 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 粗品经柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=1:0-0:1), 得化合物 **10-5**。MS m/z = 935.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

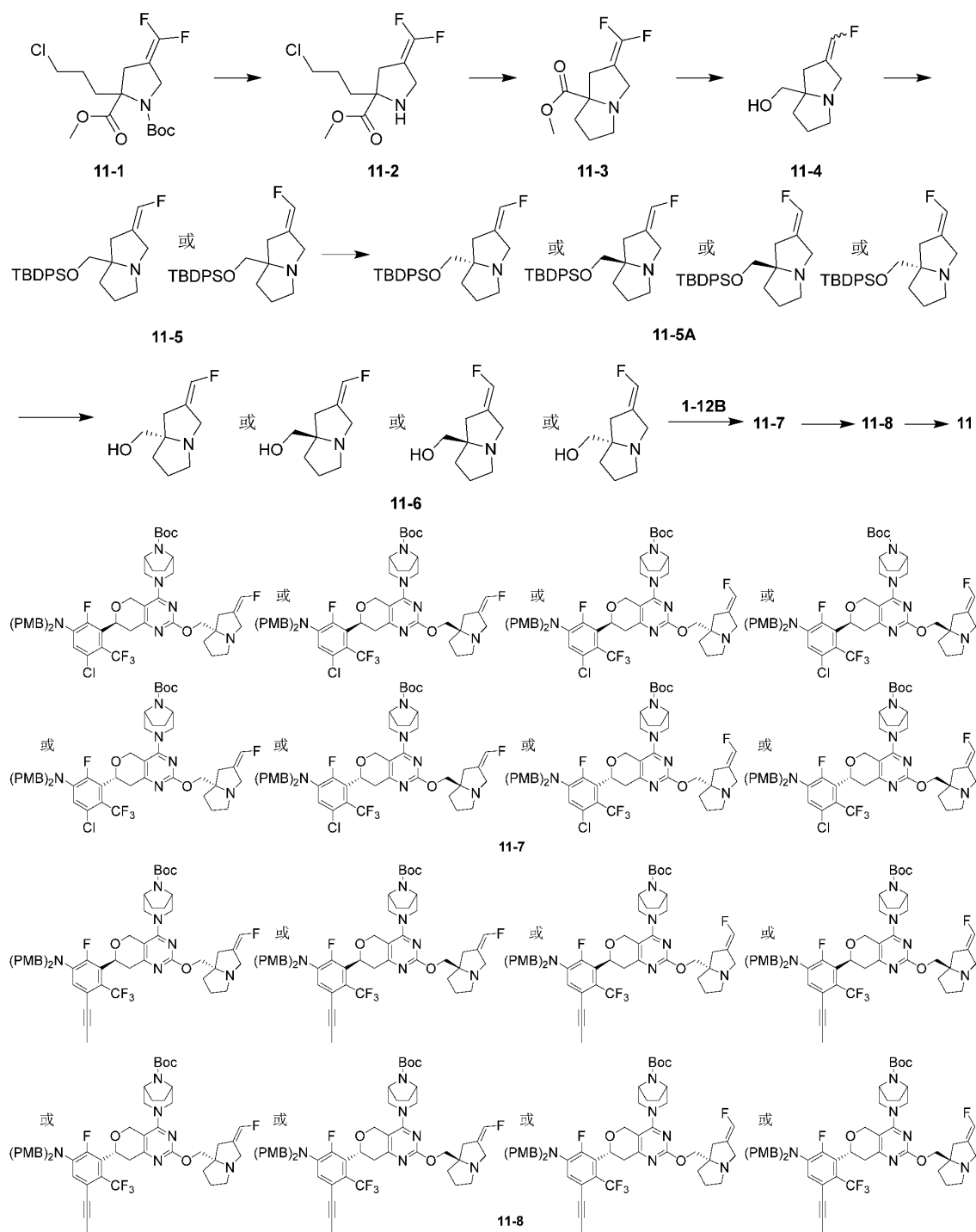
步骤 5: 中间体 **10-6** 的合成

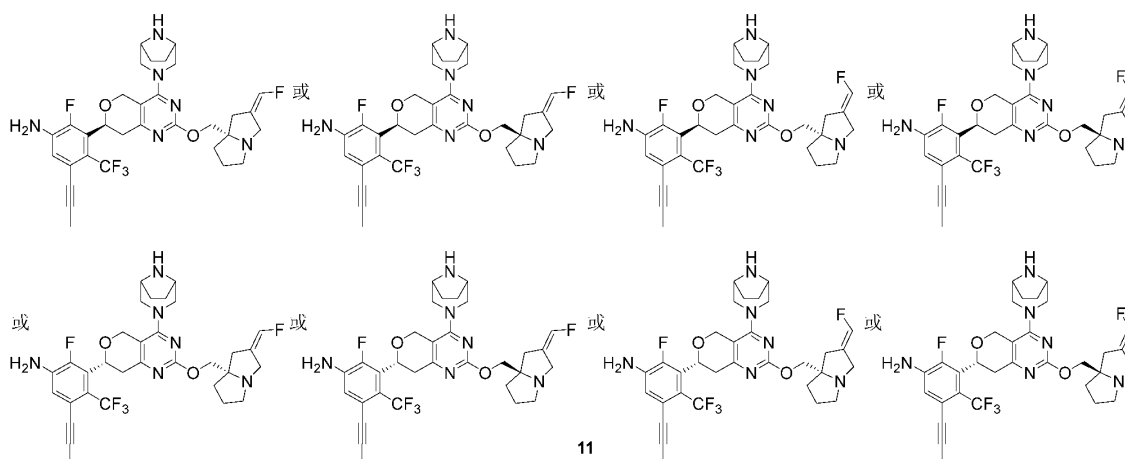
将化合物 **10-5** (130.00 mg, 138.97 μmol) 溶于无水甲苯 (1.5 mL) 中, 氮气鼓泡 10 分钟, 氮气保护下加入二氯双[二叔丁基-(4-二甲氨基苯基)膦]钯 (29.52 mg, 41.69 μmol , 29.52 μL) 和三丁基(1-丙炔基)锡 (182.95 mg, 555.89 μmol), 110°C 反应 2 小时, 反应液倒入 5 mL 水中, 用乙酸乙酯 (3 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 利用饱和食盐水 (3 mL x 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 粗品经过柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=0:1), 然后经高效液相色谱制备法 (色谱柱: Phenomenex Luna 80*30mm*3 μm ; 流动相 A: 水 (0.05% 盐酸); 流动相 B: 乙腈; 运行梯度: 乙腈%: 35%-70%; 运行时间: 8min) 进一步纯化, 得到化合物 **10-6**。MS m/z = 939.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 6: 化合物 **10** 的盐酸盐合成

将化合物 **10-6** (30 mg, 31.95 μmol) 溶于无水二氯甲烷 (0.5 mL), 0°C 加入三氟乙酸 (1.16 g, 10.16 mmol, 752.18 μL), 0-25°C 反应 3h。将反应液直接浓缩。进行高效液相色谱制备法纯化 (色谱柱: Phenomenex Luna 80*30mm*3 μm ; 流动相 A: 水 (0.05% 盐酸); 流动相 B: 乙腈; 运行梯度: 乙腈%: 5%-35%; 运行时间: 8min)。冻干后得到化合物 **10** 的盐酸盐。MS m/z = 599.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 11





步骤 1: 中间体 11-2 的合成

将化合物 11-1 (20 g, 56.53 mmol) 溶于盐酸/乙酸乙酯 (4 M, 120 mL)。25°C 下反应 2 小时。反应液直接浓缩得到 11-2 的盐酸盐粗品。粗品直接用于下一步。

步骤 2: 中间体 11-3 的合成

将 11-2 的盐酸盐粗品 (20 g) 溶于 DMF (65 mL), 加入碳酸钾 (14.2 g, 102 mmol)。25°C 下反应 12 小时。反应液用 500 mL 乙酸乙酯稀释, 水 (300 mL x 2) 洗, 300 mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得到粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 纯化得到化合物 11-3。

步骤 3: 中间体 11-4 的合成

将化合物 11-3 (7 g, 32.23 mmol) 溶于 2-甲基四氢呋喃 (75 mL), 氮气置换 3 次后, 氮气保护下在 10°C 缓慢加入红铝甲苯溶液 (37.2 g, 129 mmol, 35.8 mL, 70% 纯度)。25°C 下反应 12 小时。将反应液逐滴加入到 26.0% 的酒石酸钠水溶液中淬灭, 使用 2-甲基四氢呋喃 (200 mL) 萃取, 水相用 2-甲基四氢呋喃 (50 mL x 3) 萃取。合并的有机相使用 50 mL 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得到化合物 11-4。

步骤 4: 中间体 11-5 的甲酸盐的合成

将化合物 11-4 (2.3 g, 13.4 mmol) 溶于 DCM (30 mL), 加入咪唑 (3.66 g, 53.7 mmol), DMAP (164 mg, 1.34 mmol) 和 TBDPSCl (7.38 g, 26.9 mmol, 6.90 mL)。45°C 下反应 12 小时。向反应液加入水 (50 mL), 分离有机相, 水相用二氯甲烷 (50 mL) 萃取。合并有机相, 用 50 mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。向其中加入甲基叔丁基醚 (10 mL), 正庚烷 (21 mL) 和 HCl (2M, 21 mL), 分离出水相, 用甲基叔丁基醚: 正庚烷 = 1:2 的混合溶剂 (20 mL x 3) 洗, 再用碳酸钠水溶液调至 pH = 7, 先使用 270 mL 乙酸乙酯萃取, 后使用 40 mL 乙酸乙酯萃取。合并有机相, 用 20 mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得到粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1) 分离, 分出第一个点 ($R_f=0.6$) 得到粗品中间体 11-5, 再高效液相色谱分离: (色谱柱: Phenomenex luna C18 250*80mm*10 μ m; 流动相: [水 (0.225% 甲酸)- 乙腈]; 乙腈%: 32%-62%, 12min), 得到化合物 11-5 的甲酸盐。MS $m/z = 410.3[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 7.62 - 7.53 (m, 4 H), 7.37 - 7.27 (m, 6 H), 6.47 - 6.17 (m, 1 H), 3.66 (br d, $J = 14.92$ Hz, 1 H), 3.38 - 3.30 (m, 2 H), 3.25 (br d, $J = 14.79$ Hz, 1 H), 3.03 - 2.94 (m, 1 H), 2.56 - 2.43 (m, 2 H), 2.12 (br d, $J = 15.41$ Hz, 1 H), 1.92 (ddd, $J = 12.20, 7.92, 3.97$ Hz, 1 H), 0.99 (s, 9 H) 1.82 - 1.51 (m, 3 H)。 ^{19}F NMR (377 MHz, $CDCl_3$) δ ppm -131.66。

步骤 5: 中间体 11-5A 的合成

将化合物 11-5 (3.3 g, 7.57 mmol) 用制备手性 SFC 拆分分离 (色谱柱: DAICEL CHIRALPAK IC (250mm*30mm, 10 μ m); 流动相: A: 超临界 CO_2 , B: [0.1% NH_3H_2O 甲醇]; B%: 25%-25%, 4.5min, 出峰时间:

2.117 min 和 2.980 min), 收集出峰时间为 2.117min 的样品得到化合物 **11-5A**。化合物 **11-5A** SFC 分析方法 (色谱柱: Chiralpak IC-3 50×4.6mm I.D., 3μm; 流动相: A (超临界 CO₂) 和 B (MeOH, 含 0.05% 二乙胺); 梯度: B%=5~10%, 流速: 3 mL/min), Rt=2.014 min, ee 值 98.5%。MS m/z = 410.3[M+H]⁺。

步骤 6: 中间体 **11-6** 的盐酸盐合成

将化合物 **11-5A** (1.2 g, 2.93 mmol) 溶于 24 mL 1,4-二氧六环, 加入浓盐酸(12 M, 7.20 mL)。95°C 下反应 12 小时。反应液冷却后, 用 10 mL 水稀释, 10 mL 乙酸乙酯洗涤, 水相冻干即得化合物 **11-6** 的盐酸盐。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ ppm 6.90 - 6.53 (m, 1 H), 4.22 (br d, *J*=15.04 Hz, 1 H), 3.97 (br d, *J*=15.04 Hz, 1 H), 3.79 - 3.69 (m, 1 H), 3.67 - 3.55 (m, 2 H), 3.24 - 3.14 (m, 1 H), 2.76 - 2.67 (m, 1 H), 2.64 - 2.54 (m, 1 H), 2.19 - 1.94 (m, 4 H)。¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ ppm -126.73。

步骤 7: 中间体 **11-7** 的合成

将化合物 **1-12B** (300 mg, 349 μmol) 溶于无水甲苯 (10.0 mL), 加入叔丁醇钠 (134 mg, 1.39 mmol, 4 eq), 4A 分子筛 (500 mg) 和化合物 **11-6** 的盐酸盐 (109 mg, 523 μmol)。在 110°C 反应 12 小时。向反应液倒入 30 mL 的饱和氯化铵水溶液淬灭反应, 用乙酸乙酯 (30 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤浓缩, 即得粗品。粗品经柱层析(石油醚: 乙酸乙酯=1:1)纯化得到化合物 **11-7**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.14 (d, *J* = 8.56 Hz, 4 H), 6.87 (d, *J* = 8.68 Hz, 5 H), 6.64 - 6.36 (m, 1 H), 5.28 - 5.18 (m, 1 H), 4.79 - 4.68 (m, 2 H), 4.44 - 4.24 (m, 6 H), 4.10 - 3.97 (m, 2 H), 3.94 - 3.74 (m, 8 H), 3.51 - 2.94 (m, 7 H), 2.77 - 2.55 (m, 2 H), 2.32 (br d, *J* = 15.16 Hz, 1 H), 2.22 - 2.11 (m, 1 H), 1.95 - 1.58 (m, 7 H), 1.51 (s, 9 H)。¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ ppm -119.86, -50.65。

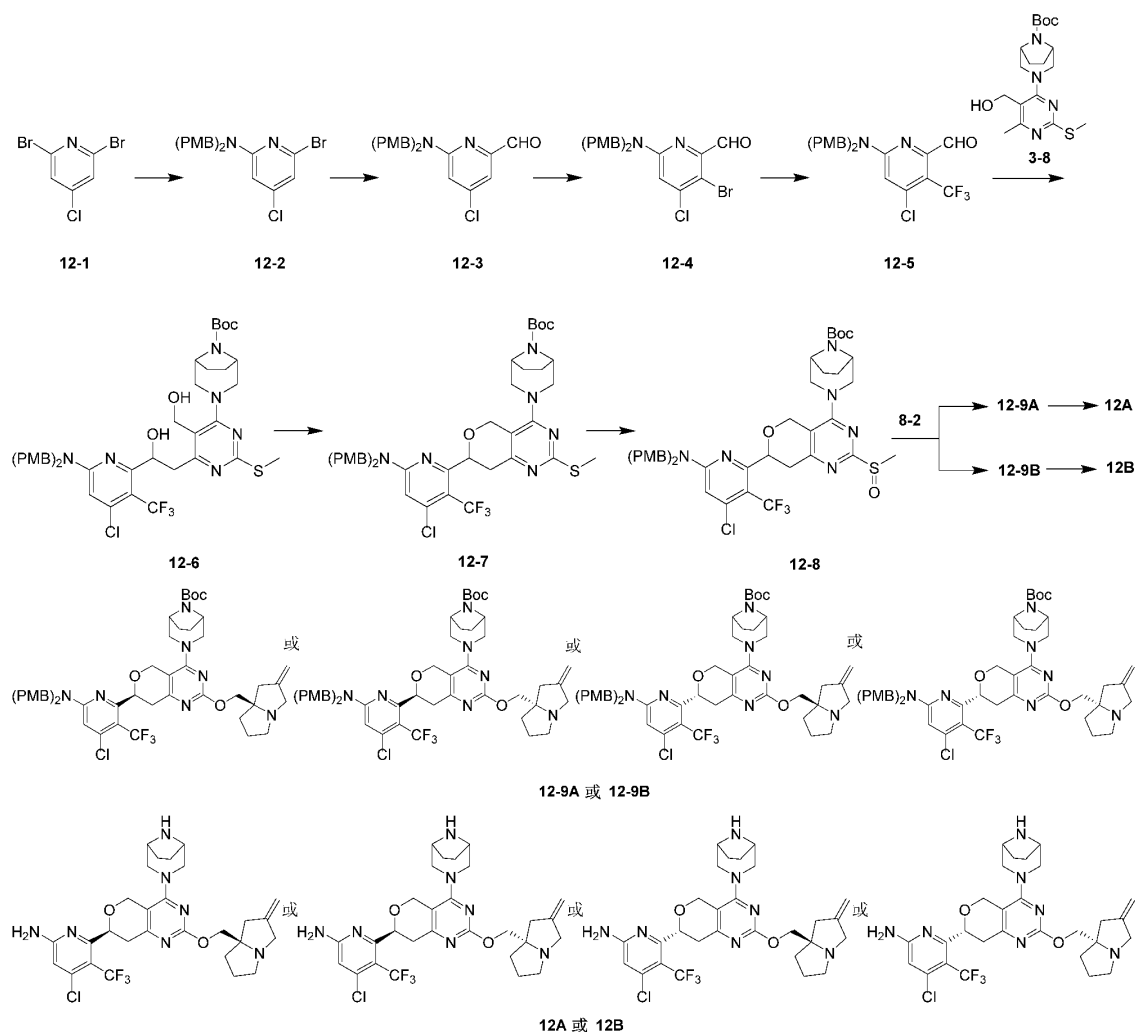
步骤 8: 中间体 **11-8** 的合成

将化合物 **11-7** (222 mg, 229 μmol) 溶于无水甲苯 (10.0 mL), 加入 1-丙炔基三正丁基锡 (755 mg, 2.29 mmol) 和二氯双[二叔丁基-(4-二甲氨基苯基)膦]铍(II) (162 mg, 229 μmol, 162 μL)。氮气置换 3 次后, 在氮气保护下 110°C 反应 12 小时。反应液冷却浓缩即得粗品, 粗品经柱层析(石油醚: 乙酸乙酯=1:1)纯化得到化合物 **11-8**。MS m/z = 971.3[M+H]⁺。

步骤 9: 化合物 **11** 的甲酸盐合成

将化合物 **11-8** (149 mg, 129 μmol, 84% 纯度) 溶于二氯甲烷(10mL), 加入三氟乙酸 (770 mg, 6.75 mmol, 0.5 mL), 25°C 下反应 12 小时。反应液用 10 mL 水和 20 mL 乙酸乙酯稀释, 分离, 将有机相用 1N 稀盐酸洗 (5 mL x 2)。所有水相合并后用饱和 NaHCO₃ 水溶液调至 pH=8, 然后浓缩。得到的固体加入 20 mL 乙腈搅拌, 过滤, 滤液浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离(色谱柱: Phenomenex luna C18 150*25mm*10μm; 流动相: [水(0.225%甲酸)-乙腈]; 乙腈%: 9%-39%, 10min)。冻干后得到化合物 **11** 的甲酸盐。MS m/z = 631.3[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 6.93 (d, *J* = 8.44 Hz, 1 H), 6.90 - 6.65 (m, 1 H), 5.19 (br dd, *J* = 11.13, 3.79 Hz, 1 H), 4.77 - 4.69 (m, 2 H), 4.41 - 4.31 (m, 2 H), 4.26 (br d, *J* = 13.57 Hz, 1 H), 4.19 - 4.04 (m, 3 H), 3.86 - 3.73 (m, 2 H), 3.68 - 3.61 (m, 1 H), 3.52 - 3.44 (m, 1 H), 3.37 (s, 3 H), 3.32 - 3.24 (m, 2 H), 3.06 - 2.81 (m, 3 H), 2.62 (br d, *J* = 16.14 Hz, 1 H), 2.31 - 2.05 (m, 6 H), 2.02 - 1.91 (m, 2 H)。

实施例 12



步骤 1: 中间体 12-2 的合成

将化合物 12-1 (20.0 g, 73.7 mmol) 和双-(4-甲氧苄基)-胺 (37.9 g, 147 mmol) 加入到 N-甲基吡咯烷酮 (600 mL) 中, 油浴加热 140 °C 反应 12 小时。将反应液用 250 mL 水稀释, 然后用乙酸乙酯 (200 mL×3) 和饱和食盐水 200 mL 洗涤, 有机相干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化 (石油醚:乙酸乙酯 = 20:1) 得到化合物 12-2。

步骤 2: 中间体 12-3 的合成

将化合物 12-2 (22.0 g, 49.1 mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (220 mL) 中, 氮气保护下冷却到 -78 °C, 然后向其中滴加正丁基锂 (2.5 M, 21.6 mL), 滴毕, 搅拌反应 1 小时, 然后向其中滴加 N,N-二甲基甲酰胺 (71.8 g, 982 mmol, 75.6 mL), 滴毕搅拌反应 1 小时。向其中加入 100 mL 水淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (100 mL×3) 萃取, 合并有机相, 减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化 (石油醚:乙酸乙酯 = 20:1) 得到化合物 12-3。MS $m/z = 397.1 [M+H]^+$ 。

步骤 3: 中间体 12-4 的合成

将化合物 12-3 (15.0 g, 37.8 mmol) 溶解于 N,N-二甲基甲酰胺 (170 mL) 中, 然后加入 N-溴代丁二酰亚胺 (7.06 g, 39.6 mmol), 所得反应液氮气保护下, 室温 25 °C 搅拌反应 1 小时。向其中加入 300 mL 水淬灭

反应,然后用乙酸乙酯(200 mL×3)萃取,合并有机相,减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化(石油醚:乙酸乙酯 = 10:1)得到化合物 **12-4**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 10.10 (s, 1 H), 7.16 (d, *J* = 8.63 Hz, 4 H), 6.89 - 6.85 (m, 4 H), 6.76 (s, 1 H), 4.73 (s, 4 H), 3.81 (s, 6 H)。

步骤 4: 中间体 **12-5** 的合成

将化合物 **12-4** (14.2 g, 29.8 mmol) 和氟磺酰基二氟乙酸甲酯 (28.6 g, 149 mmol, 18.9 mL) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (160 mL) 中, 然后加入碘化亚铜 (5.68 g, 29.8 mmol), 所得反应液氮气置换后于 100°C 搅拌反应 2.5 小时。向其中加入 100 mL 水淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (300 mL×3) 萃取, 合并有机相, 减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化(石油醚:乙酸乙酯 = 20:1) 得到化合物 **12-5**。MS *m/z* = 465.0[M+H]⁺。

步骤 5: 中间体 **12-6** 的合成

将化合物四甲基哌啶 (1.45 g, 10.2 mmol) 溶解于无水四氢呋喃(100 mL)中, 氮气保护下冷却到-40°C, 然后向其中滴加正丁基锂 (2.5 M, 32.8 mL), 滴毕, 搅拌反应 0.5 小时, 然后将化合物 **3-8**(7.80 g, 20.5 mmol) 溶解于无水四氢呋喃(50 mL)中, 在-60°C 下逐滴加入到反应瓶中, 滴毕搅拌反应 0.3 小时, 将化合物 **12-5**(10.4 g, 22.5 mmol)在-60°C 下加入到反应中, 滴毕搅拌反应 0.5 小时。向其中加入 300mL 水淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (400 mL×3) 萃取, 合并有机相, 减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化(石油醚:乙酸乙酯 = 5:1) 得到化合物 **12-6**。MS *m/z* = 845.2[M+H]⁺。

步骤 6: 中间体 **12-7** 的合成

将化合物 **12-6** (6.1 g, 7.22 mmol) 溶解于无水甲苯(60 mL)中, 氮气保护下向其中加入氰基亚甲基三正丁基膦 (5.22 g, 21.6 mmol), 加毕, 在 100°C 下搅拌反应 12 小时。减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化(石油醚:乙酸乙酯 = 5:1) 得到化合物 **12-7**。MS *m/z* = 827.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.09 (br d, *J* = 8.50 Hz, 4 H), 6.84 (br d, *J* = 8.50 Hz, 4 H), 6.53 (s, 1 H), 5.20 (br dd, *J* = 10.01, 3.00 Hz, 1 H), 4.81 - 4.54 (m, 7 H), 4.37 - 4.25 (m, 2 H), 3.80 (s, 7 H), 3.67 - 3.55 (m, 1 H), 3.50 - 3.37 (m, 2 H), 3.14 - 2.92 (m, 2 H), 2.49 (s, 3 H), 1.94 (br s, 3 H), 1.50 (s, 9 H)。

步骤 7: 中间体 **12-8** 的合成

将化合物 **12-7** (600 mg, 725 μmol) 溶解于无水二氯甲烷(6 mL)中, 氮气保护下向其中加入间氯过氧苯甲酸 (176 mg, 870 μmol, 85% 纯度), 加毕, 在 25°C 下搅拌反应 1 小时。向反应液中加水(10 mL)淬灭, 然后用乙酸乙酯 (10 mL×3) 萃取, 合并有机相, 减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化(石油醚:乙酸乙酯 = 2:1) 得到化合物 **12-8**。

步骤 8: 中间体 **12-9A** 和 **12-9B** 的合成

将化合物 **12-8** (600 mg, 698 μmol) 溶解于无水甲苯(5 mL)中, 氮气保护下向其中加入叔丁醇钠 (201 mg, 2.09 mmol)和化合物 **8-2** (128 mg, 837 μmol), 加毕, 在 80°C 下搅拌反应 12 小时。向反应液中加水(10 mL)淬灭, 然后用乙酸乙酯 (10 mL×3) 萃取, 合并有机相, 减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化(石油醚:乙酸乙酯 = 2:1) 得到化合物 **12-9**。将化合物 **12-9** 进行制备 SFC 手性拆分(手性柱: DAICEL CHIRALCEL OD(250mm*30mm,10μm); 流动相: [超临界 CO₂-甲醇(0.1%氨水)]; 甲醇(0.1%氨水):40%-40%), 得到化合物 **12-9A** 和 **12-9B**。SFC 分析: (手性柱: DAICEL CHIRALCEL OD-3(50mm*4.6mm,3μm); 流动相: [超临界 CO₂-甲醇(0.05%二乙胺)];甲醇%:5%-40%), 化合物 **12-9A**, Rt=2.091 分钟, ee 值 99%; MS *m/z* = 932.4[M+H]⁺; 化合物 **12-9B**, Rt=2.331 分钟, MS *m/z* = 932.3[M+H]⁺。

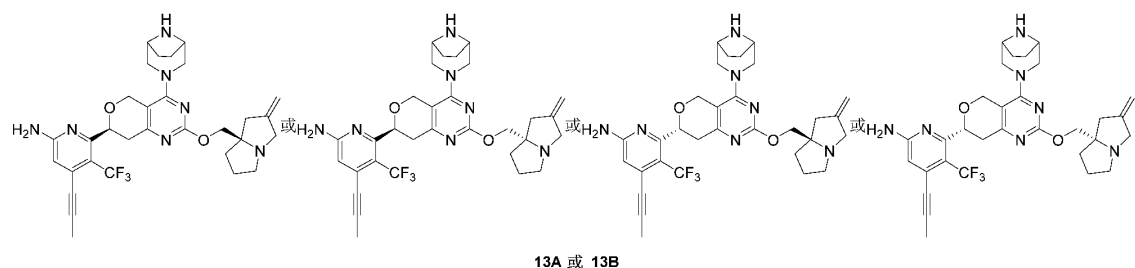
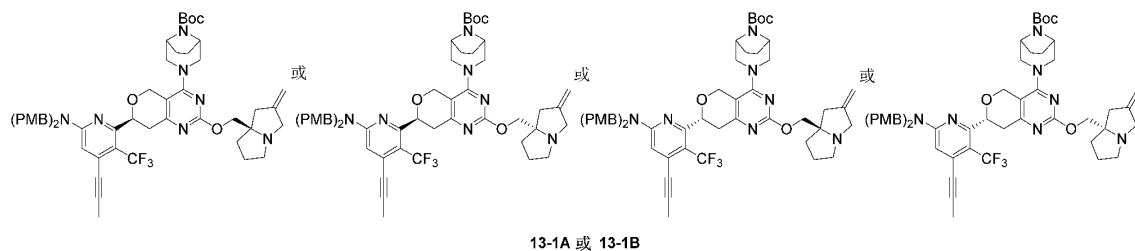
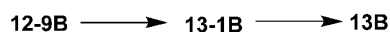
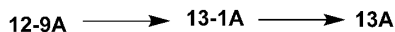
步骤 9: 化合物 **12A** 的三氟乙酸盐和 **12B** 的三氟乙酸盐的合成

将化合物 **12-9A** (40.0 mg, 42.9 μmol)溶入三氟乙酸 (1.54 g, 13.4 mmol, 1 mL), 50°C 下反应 9 小时。将反应液减压浓缩后, 粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm* 10μm; 流动相: [水 (0.075%三氟乙酸)-乙腈];乙腈%: 8%-38%,8min)。得化合物 **12A** 的三氟乙酸盐。MS *m/z* = 592.2[M+H]⁺。¹H

NMR (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 6.73 (s, 1 H), 5.34 (br d, J = 8.00 Hz, 2 H), 5.27 (dd, J = 10.13, 3.25 Hz, 1 H), 4.98 (br s, 1 H), 4.74 (d, J = 13.76 Hz, 1 H), 4.69 - 4.59 (m, 2 H), 4.46 (br d, J = 14.26 Hz, 1 H), 4.37 (br d, J = 14.26 Hz, 1 H), 4.19 (br d, J = 13.13 Hz, 2 H), 3.99 - 3.92 (m, 2 H), 3.84 - 3.76 (m, 1 H), 3.73 (br d, J = 13.38 Hz, 1 H), 3.57 (dd, J = 18.26, 10.01 Hz, 1 H), 3.42 (br d, J = 14.01 Hz, 1 H), 3.26 (dt, J = 11.48, 7.08 Hz, 1 H), 3.07 (br d, J = 16.01 Hz, 1 H), 2.93 (dd, J = 18.32, 3.19 Hz, 1 H), 2.82 (br d, J = 16.13 Hz, 1 H), 2.39 (dd, J = 11.88, 6.50 Hz, 1 H), 2.31 - 2.10 (m, 6 H), 2.04 - 1.95 (m, 1 H)。

将化合物 **12-9B** (40.0 mg, 42.9 μ mol) 溶于三氟乙酸 (1.54 g, 13.4 mmol, 1 mL), 50°C 下反应 9 小时。将反应液减压浓缩后, 粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm* 10 μ m; 流动相: [水 (0.075% 三氟乙酸)-乙腈]; 乙腈%: 8%-38%, 8min)。得化合物 **12B** 的三氟乙酸盐。MS m/z = 592.3[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 6.71 (s, 1 H), 5.32 (br d, J = 8.50 Hz, 2 H), 5.25 (dd, J = 10.19, 3.19 Hz, 1 H), 4.96 (s, 1 H), 4.73 (d, J = 13.76 Hz, 1 H), 4.63 (s, 2 H), 4.46 (br d, J = 14.13 Hz, 1 H), 4.36 (br d, J = 14.38 Hz, 1 H), 4.17 (br d, J = 13.01 Hz, 2 H), 4.00 - 3.89 (m, 2 H), 3.83 - 3.69 (m, 2 H), 3.55 (dd, J = 18.20, 10.07 Hz, 1 H), 3.41 (br d, J = 14.13 Hz, 1 H), 3.24 (dt, J = 11.54, 7.11 Hz, 1 H), 3.05 (br d, J = 16.01 Hz, 1 H), 2.91 (dd, J = 18.20, 3.31 Hz, 1 H), 2.80 (br d, J = 16.26 Hz, 1 H), 2.43 - 2.33 (m, 1 H), 2.28 - 2.08 (m, 6 H), 2.03 - 1.93 (m, 1 H)。

实施例 13



步骤 1: 中间体 13-1A 和 13-1B 的合成

将化合物 **12-9A** (250 mg, 268 μ mol) 溶于无水甲苯 (1 mL), 加入 1-丙炔基三正丁基锡 (264 mg, 804 μ mol) 和二氯双[二叔丁基-(4-二甲基氨基苯基)膦]钯(II) (37.9 mg, 53.6 μ mol)。氮气置换 3 次后, 氮气保护下 100°C 反应 12 小时后, 反应液冷却浓缩即得粗品。粗品经薄层制备板(二氯甲烷: 甲醇 = 15:1)分离得化合物 **13-1A**。

参考步骤 1, 使用 **12-9B** 为原料, 得到化合物 **13-1B**。

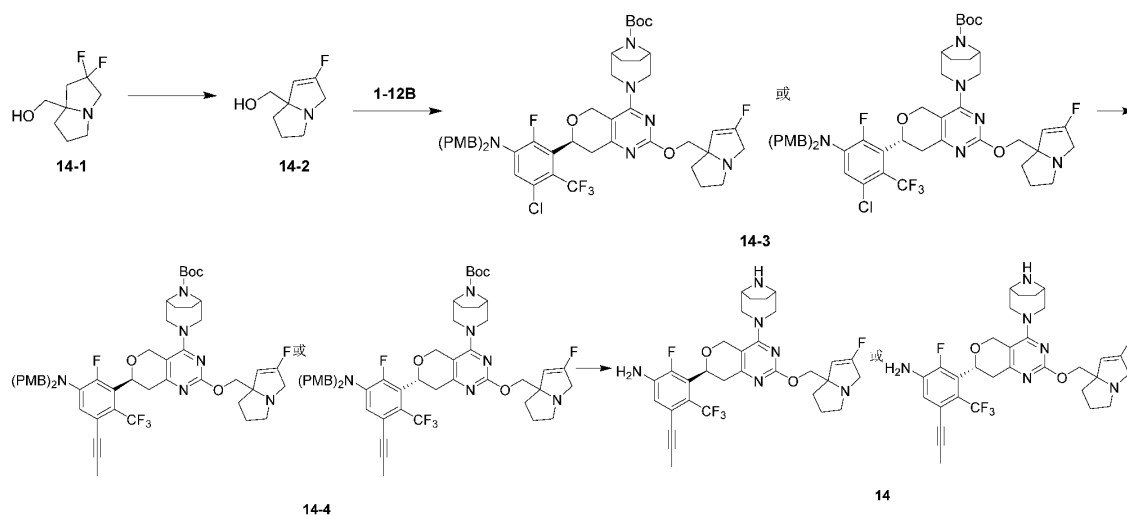
步骤 2: 化合物 13A 的三氟乙酸盐和 13B 的三氟乙酸盐的合成

将化合物 **13-1A** (120 mg, 128 μ mol) 溶于三氟乙酸 (1.54 g, 13.4 mmol, 1 mL), 50°C 下反应 9 小时。将反应液减压浓缩后, 粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm* 10 μ m; 流动相: [水

(0.075%三氟乙酸)-乙腈];乙腈%: 10%-40%,9min)。得化合物 **13A** 的三氟乙酸盐。MS $m/z = 596.3[M+H]^+$ 。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 6.80 (s, 1 H), 5.43 - 5.26 (m, 3 H), 5.00 (br d, $J = 13.88$ Hz, 2 H), 4.81 (d, $J = 13.63$ Hz, 1 H), 4.60 (d, $J = 2.50$ Hz, 2 H), 4.45 - 4.30 (m, 2 H), 4.24 - 4.13 (m, 2 H), 3.99 - 3.84 (m, 2 H), 3.83 - 3.64 (m, 2 H), 3.40 - 3.34 (m, 2 H), 3.28 - 3.21 (m, 1 H), 3.06 (br d, $J = 16.26$ Hz, 1 H), 2.95 (dd, $J = 18.07, 3.56$ Hz, 1 H), 2.81 (br d, $J = 16.01$ Hz, 1 H), 2.38 (br dd, $J = 11.63, 6.38$ Hz, 1 H), 2.29 - 2.12 (m, 8 H), 1.99 (br t, $J = 9.44$ Hz, 1 H)。

将化合物 **13-1B** (120 mg, 128 μ mol) 溶于三氟乙酸 (1.54 g, 13.4 mmol, 1 mL), 50°C 下反应 9 小时。将反应液减压浓缩后, 粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm*10 μ m; 流动相: [水 (0.075%三氟乙酸)-乙腈];乙腈%: 8%-38%,8min)。得化合物 **13B** 的三氟乙酸盐。MS $m/z = 596.2[M+H]^+$ 。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 6.80 (s, 1 H), 5.31 (br d, $J = 8.88$ Hz, 3 H), 4.99 (br d, $J = 13.76$ Hz, 2 H), 4.80 (d, $J = 13.88$ Hz, 1 H), 4.58 (d, $J = 2.38$ Hz, 2 H), 4.43 - 4.31 (m, 2 H), 4.16 (br d, $J = 16.01$ Hz, 2 H), 3.95 - 3.84 (m, 2 H), 3.79 - 3.67 (m, 2 H), 3.37 (br d, $J = 13.63$ Hz, 2 H), 3.28 - 3.22 (m, 1 H), 3.07 - 2.91 (m, 2 H), 2.80 (br d, $J = 15.88$ Hz, 1 H), 2.40 - 2.33 (m, 1 H), 2.23 - 2.10 (m, 8 H), 2.02 - 1.93 (m, 1 H)。

实施例 14



步骤 1: 中间体 14-2 的合成

将化合物 **14-1** 溶解于 DMF (2.00 mL) 中, 向反应液中加入叔丁醇钾 (299 mg, 2.67 mmol), 反应液升温至 80°C 反应 12 小时。水 (10 mL) 加入反应液中, 用二氯甲烷 : 甲醇 = 5:1 (10 mL*3) 萃取, 有机相合并, 用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩。粗品经过柱纯化 (二氯甲烷 : 甲醇 = 5:1) 得到化合物 **14-2**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 5.03 (s, 1 H) 3.89 (ddd, $J = 15.04, 5.07, 2.14$ Hz, 1 H) 3.38 - 3.44 (m, 1 H) 3.26 - 3.36 (m, 2 H) 3.13 - 3.22 (m, 1 H) 2.59 - 2.66 (m, 1 H) 1.61 - 1.90 (m, 5 H); ¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ ppm -128.29 (br s, 1 F)。

步骤 2: 中间体 14-3 的合成

将化合物 **1-12B** (120 mg, 139 μ mol), 化合物 **14-2** (43.9 mg, 279 μ mol) 和叔丁醇钠 (40.2 mg, 418 μ mol) 加入甲苯 (2.00 mL) 中, 反应液升温至 100°C 反应 5 小时。将反应液减压浓缩。粗品经过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯 = 1:1) 到化合物 **14-3**, MS $m/z = 953.1[M+H]^+$ 。

步骤 3: 中间体 14-4 的合成

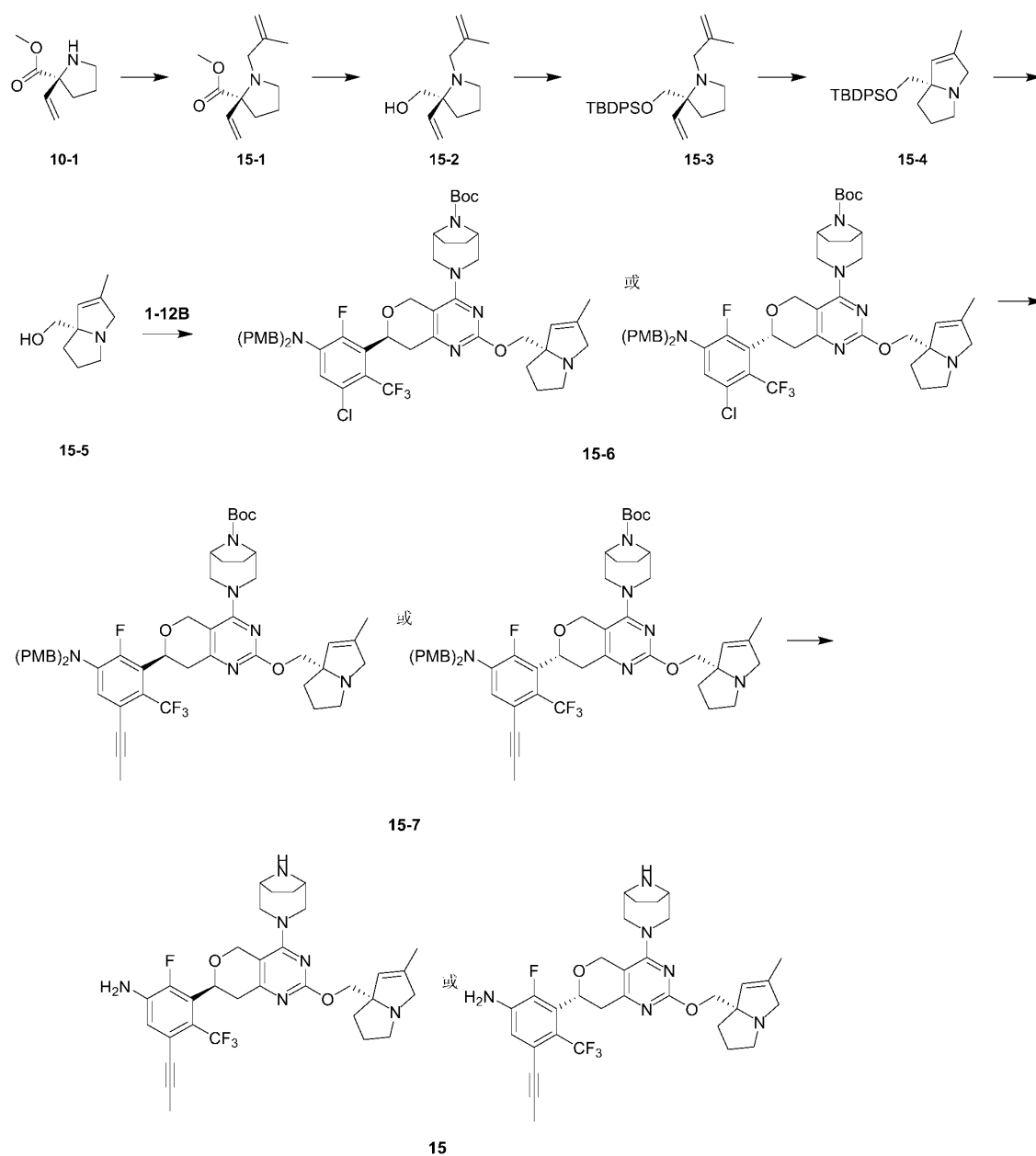
将化合物 **14-3** (75.0 mg, 78.7 μ mol), 1-丙炔基三正丁基锡 (104 mg, 315 μ mol) 加入甲苯 (2.00 mL), 氮气置换三次后, 向反应液中加入二氯双[二叔丁基-(4-二甲氨基苯基)膦]铍(II) (16.7 mg, 23.6 μ mol), 再次置

换氮气三次，升温至110 °C反应3 小时。反应液使用硅藻土进行过滤，滤液减压浓缩得到粗品。粗品经过柱纯化(石油醚:乙酸乙酯 = 1:1)得到化合物**14-4**，MS $m/z = 957.4[M+H]^+$ 。

步骤 4: 化合物 14 的合成

将化合物 **14-4**(73.0 mg, 76.3 μmol)溶解于二氯甲烷 (1.00 mL)，向反应液中加入 TFA (0.10 mL)，在 25 °C 反应 3 小时。用饱和碳酸氢钠溶液将反应液 pH 调节至 7，然后减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子:Waters Xbridge 150*25mm* 5 μm ; 流动相: [水(0.05%氨水)-乙腈];乙腈%: 53%-83%, 9min)纯化得到化合物 **14**, MS $m/z = 617.4[M+H]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 6.91 - 6.82 (m, 1 H), 5.49 - 5.38 (m, 1 H), 5.21 - 5.10 (m, 1 H), 4.75 - 4.69 (m, 2 H), 4.18 - 3.92 (m, 6 H), 3.65 (br d, $J = 1.96$ Hz, 2 H), 3.44 (br s, 1 H), 3.37 - 3.25 (m, 3 H), 3.10 - 3.04 (m, 1 H), 3.00 - 2.91 (m, 1 H), 2.67 - 2.58 (m, 1 H), 2.19 - 2.08 (m, 1 H), 2.04 (s, 2 H), 2.03 - 1.97 (m, 1 H), 1.90 - 1.83 (m, 3 H), 1.78 - 1.72 (m, 3 H), 1.26 (br s, 1 H), 0.88 - 0.80 (m, 2 H)。

实施例 15



步骤 1: 中间体 15-1 的合成

将化合物**10-1** (3.00 g, 15.6 mmol) 溶于DMF (21 mL), 加入碳酸钾 (8.65 g, 62.6 mmol)和化合物3-溴-2-甲基丙烯(2.54 g, 18.7 mmol), 室温下反应12小时。向反应液中倒入100 mL水, 用乙酸乙酯 (10 mL) 萃取3次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 20:1)纯化得到化合物**15-1**。

步骤 2: 中间体 15-2 的合成

将化合物 **15-1** (2.5 g, 11.9 mmol)溶于无水 THF (20.0 mL), 在 0°C 下加入氢化铝锂(680 mg, 17.9 mmol), 然后在室温下反应 1 小时。向反应液中加入 1 毫升水, 1 毫升 15%NaOH 水溶液, 最后加入 3 毫升水, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩, 得到化合物 **15-2**, MS $m/z = 182.1[M+H]^+$ 。

步骤 3: 中间体 15-3 的合成

将化合物 **15-2** (1.7 g, 9.38 mmol) 溶于无水 DCM (20.0 mL), 加入咪唑 (2.55 g, 37.5 mmol), 4-二甲氨基吡啶 (114 mg, 937 μ mol), 然后在 0°C 下加入叔丁基二苯基氯硅烷 (5.16 g, 18.7 mmol)。在室温下反应 12 小时。向反应液中加入 50 mL 水, 用 DCM (100 mL) 萃取 3 次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 15:1) 纯化得到化合物 **15-3**, MS m/z = 420.4[M+H]⁺。

步骤 4: 中间体 **15-4** 的合成

将化合物 **15-3** (2 g, 4.77 mmol) 溶于无水甲苯 (200 mL), 加入 Grubbs 催化剂 (597 mg, 953 μ mol)。在 110 °C 下反应 12 小时。将反应液减压浓缩得到粗产品。粗品经薄板层析 (二氯甲烷: 甲醇 = 20:1) 纯化得到化合物 **15-4**, MS m/z = 392.2[M+H]⁺。

步骤 5: 中间体 **15-5** 的盐酸盐合成

将化合物 **15-4** (200 mg, 510 μ mol) 溶于无水二氧六环 (1.0 mL), 加入 HCl (12 M, 212 μ L)。在 95 °C 下反应 12 小时。向反应液中加入 10 毫升水, 萃取后将水相冻干, 得到粗品可直接用于下一步反应。得到化合物 **15-5** 的盐酸盐, MS m/z = 154.1[M+H]⁺。

步骤 6: 中间体 **15-6** 的合成

将化合物 **1-12B** (300 mg, 348 μ mol) 溶于无水甲苯 (2 mL), 加入叔丁醇钠 (100 mg, 1.05 mmol) 和化合物 **15-5** 的盐酸盐 (64.1 mg)。在室温下反应 12 小时, 向反应液倒入 30 mL 的饱和氯化铵水溶液, 用乙酸乙酯 (30 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 = 10:1) 纯化得到化合物 **15-6**, MS m/z = 949.5[M+H]⁺。

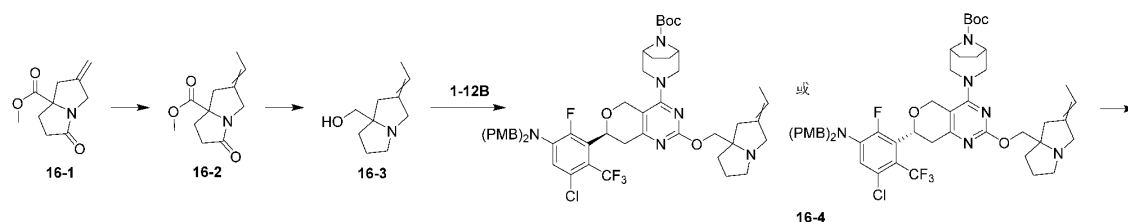
步骤 7: 中间体 **15-7** 的合成

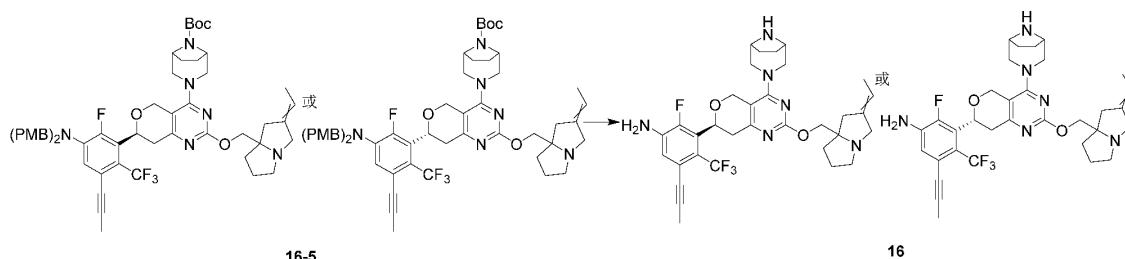
将化合物 **15-6** (80 mg, 84.2 μ mol) 溶于无水甲苯 (2 mL), 加入 1-丙炔基三正丁基锡 (83.1 mg, 252 μ mol) 和二氯双[二叔丁基-(4-二甲氨基苯基)膦]钼(II) (11. mg, 16.8 μ mol)。氮气置换 3 次后, 在氮气保护下 110°C 反应 2 小时。反应液冷却减压浓缩得粗品。粗品经薄板层析 (二氯甲烷: 甲醇 = 10:1) 纯化得到化合物 **15-7**, MS m/z = 953.6[M+H]⁺。

步骤 8: 化合物 **15** 的三氟乙酸盐合成

将化合物 **15-7** (40 mg, 41.9 μ mol) 溶于二氯甲烷 (1.0 mL), 加入三氟乙酸 (4.79 mg, 41.9 μ mol), 25°C 下反应 1 小时。反应液减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离 (柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm*10 μ m; 流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈]; 乙腈%: 15%-45%, 9min)。冻干后得到化合物 **15** 的三氟乙酸盐。MS m/z = 613.5[M+H]⁺。¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 6.92 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.48 (br s, 1H), 5.20-5.10 (m, 1H), 4.95-4.90 (m, 3H), 4.80-4.70 (m, 1H), 4.64 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 4.55-4.51 (m, 2H), 4.33 (br d, J = 14.5 Hz, 1H), 4.15 (br dd, J = 2.1, 16.1 Hz, 2H), 3.92 (br d, J = 15.4 Hz, 1H), 3.82 (br d, J = 13.1 Hz, 1H), 3.81-3.70 (m, 1H), 3.71-3.61 (m, 1H), 2.92 (br dd, J = 4.1, 18.4 Hz, 1H), 2.30-2.11 (m, 8H), 2.01-1.91 (m, 4H), 1.85 (s, 3H)。

实施例 16





步骤 1: 中间体 16-2 的合成

将化合物 **16-1** (500 mg, 2.56 mmol) 溶于无水甲苯 (1 mL), 加入 Grubbs 催化剂 (217 mg, 256 μ mol) 和化合物丙烯二氯甲烷溶液 (0.5 M, 5.12 mL)。在 50 °C 下反应 2 小时。将反应液减压浓缩得到粗产品。粗品经柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 10:1)纯化得到化合物 **16-2**, MS m/z = 210.0[M+H]⁺。

步骤 2: 中间体 16-3 的合成

将化合物 **16-2** (210 mg, 1.00 mmol) 溶于无水 THF (1.0 mL), 在 0 °C 下加入氢化铝锂 (76.1 mg, 2.01 mmol), 然后在 70 °C 下反应 12 小时。向反应液中加入 0.7 毫升水, 0.7 毫升 15% NaOH 水溶液, 最后加入 2 毫升水, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩, 得粗品直接用于下一步。得到化合物 **16-3**。

步骤 3: 中间体 16-4 的合成

将化合物 **1-12B** (300 mg, 348 μ mol) 溶于无水 THF (1 mL), 加入叔丁醇钠 (100 mg, 1.05 mmol) 和化合物 **16-3** (58.3 mg, 348 μ mol)。在室温下反应 12 小时。向反应液倒入 30 mL 的饱和氯化铵水溶液淬灭反应, 用乙酸乙酯 (30 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 浓缩, 得粗品。粗品经柱层析(二氯甲烷:甲醇 = 10:1)纯化得到化合物 **16-4**, MS m/z = 963.5[M+H]⁺。

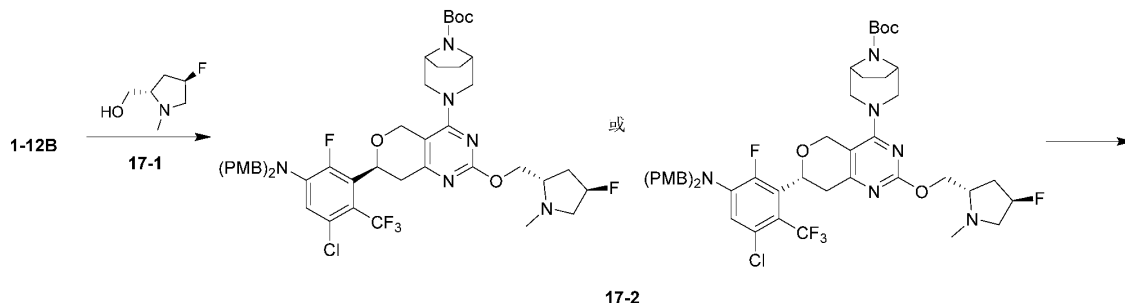
步骤 4: 中间体 16-5 的合成

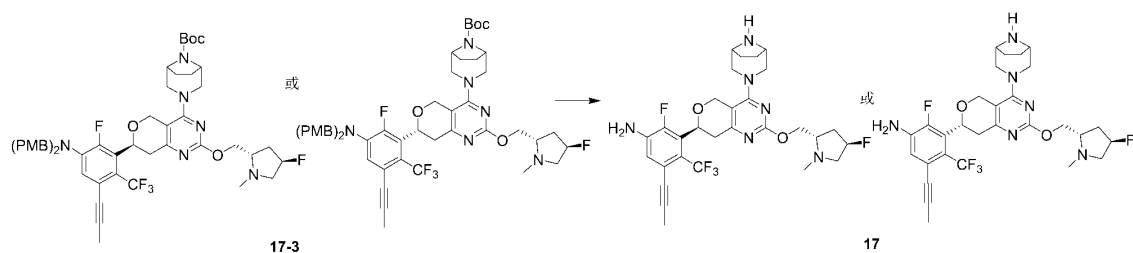
将化合物 **16-4** (90.0 mg, 93.4 μ mol) 溶于无水甲苯 (1 mL), 加入 1-丙炔基三正丁基锡 (122 mg, 373 μ mol) 和二氯双[二叔丁基-(4-二甲氨基苯基)膦]铍(II) (19.8 mg, 28.0 μ mol)。氮气置换 3 次后, 在氮气保护下 110 °C 反应 12 小时。反应液冷却, 减压浓缩得粗品。粗品经薄板层析(二氯甲烷:甲醇 = 12:1)纯化得到化合物 **16-5**, MS m/z = 967.5[M+H]⁺。

步骤 5: 化合物 16 的三氟乙酸盐合成

将化合物 **16-5** (70.00 mg, 72.3 μ mol) 溶于二氯甲烷 (1.0 mL), 加入三氟乙酸 (539 mg, 4.73 mmol), 25 °C 下反应 12 小时。反应液减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm* 10 μ m; 流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈]; 乙腈%: 18%-48%, 9min)。冻干后得到化合物 **16** 的三氟乙酸盐, MS m/z = 627.3[M+H]⁺。

实施例 17





步骤 1: 中间体 17-2 的合成

将化合物 **1-12B** (870 mg, 1.01 mmol) 溶于无水甲苯 (10.0 mL), 加入叔丁醇钠 (777 mg, 8.09 mmol), 和化合物 **17-1** (404 mg, 3.03 mmol)。在 100°C 反应 12 小时。向反应液倒入 30.0 mL 的饱和氯化铵水溶液, 用乙酸乙酯 (50.0 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (30.0 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤减压浓缩, 即得粗品。粗品经柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 2:1) 纯化得到化合物 **17-2**, MS $m/z = 929.4[M+H]^+$ 。

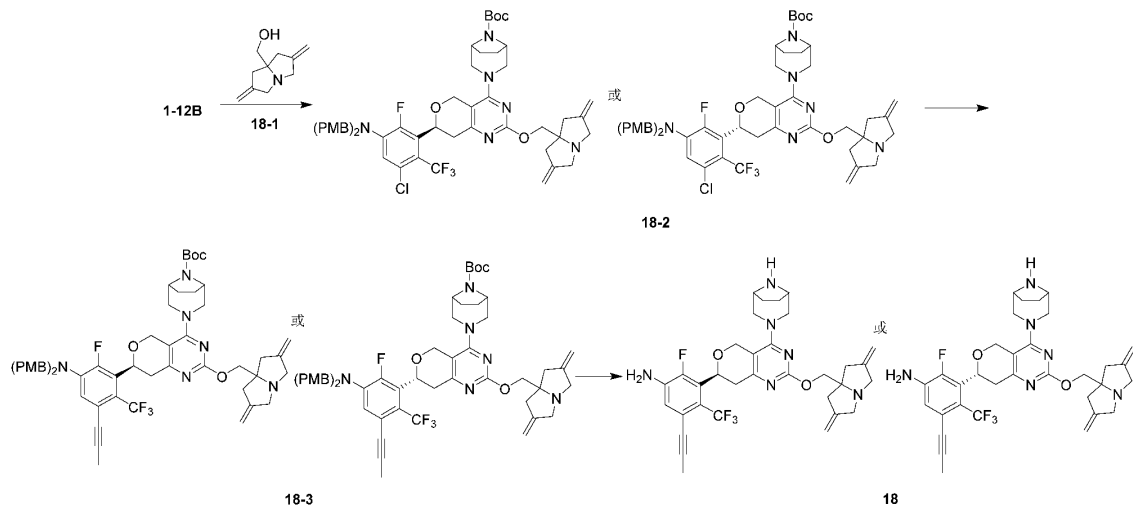
步骤 2: 中间体 17-3 的甲酸盐合成

将化合物 **17-2** (445 mg, 479 μ mol) 溶于无水甲苯 (4.00 mL), 加入 1-丙炔基三正丁基锡 (630 mg, 1.92 mmol) 和二氯双[二叔基-(4-二甲氨基苯基)膦]铍(II) (102 mg, 144 μ mol)。氮气置换 3 次后, 在氮气保护下 110°C 反应 3 小时, 反应液冷却减压浓缩即得粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm* 10 μ m; 流动相: [water(0.225%甲酸)-乙腈]; 乙腈%: 40%-70%, 10min), 冻干得到化合物 **17-3** 的甲酸盐, MS $m/z = 933.5[M+H]^+$ 。

步骤 3: 化合物 17 的合成

将化合物 **17-3** 的甲酸盐 (210 mg) 溶于二氯甲烷 (2.00 mL), 加入三氟乙酸 (3.00 mL), 25°C 下反应 4 小时。反应液用 6.00 mL 氨水淬灭, 然后浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Waters Xbridge 150*25mm*5 μ m; 流动相: [水(0.05%氨水)-乙腈]; 乙腈%: 28%-58%)。冻干后得到化合物 **17**, MS $m/z = 593.3[M+H]^+$ 。

实施例 18



步骤 1: 中间体 18-2 的合成

向化合物 **18-1** (192.05 mg, 1.16 mmol) 中加入 THF (10 mL) 溶解, 投入叔丁醇钠 (111.70 mg, 1.16 mmol), 保持反应体系温度 0°C 搅拌 1 小时, 加入化合物 **1-12B** (0.5 g, 581.16 μ mol), 反应体系保持 0°C 反应 1 小时。向反应液加水 (10 mL), 乙酸乙酯 (20 mL*3) 萃取, 合并有机相, 利用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水

硫酸钠干燥后，减压浓缩，过柱纯化（二氯甲烷：甲醇=20：1），得到化合物 **18-2**，MS m/z = 961.7 $[M+H]^+$ 。

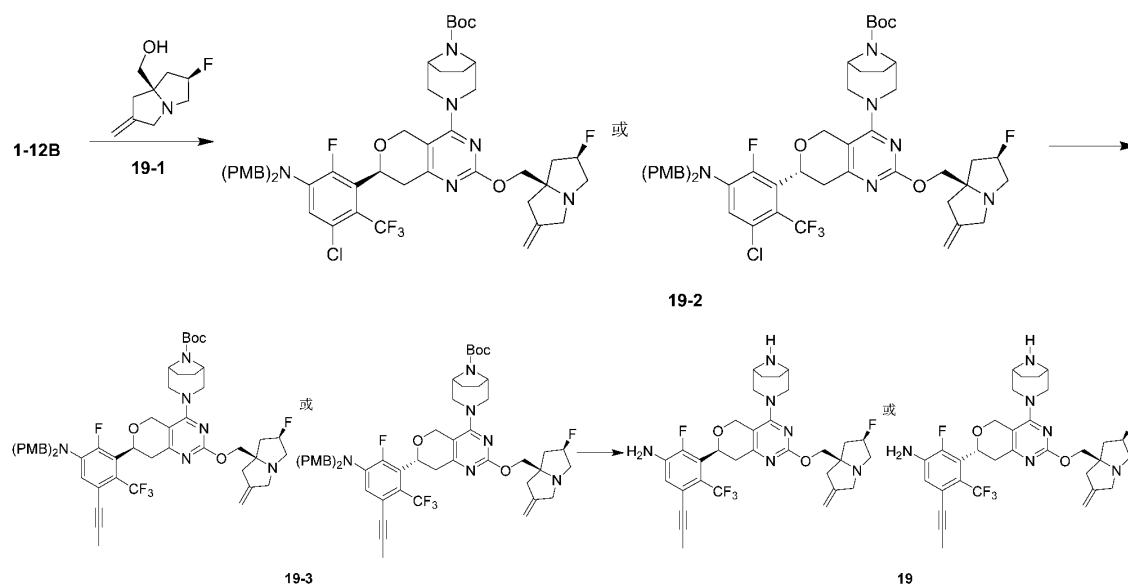
步骤 2：中间体 **18-3** 的合成

将化合物 **18-2** (0.526 g, 547.07 μmol) 加入甲苯 (20 mL) 溶解，投入化合物 1-丙炔基三正丁基锡 (900.24 mg, 2.74 mmol) 与二氯双[二叔丁基-(4-二甲氨基苯基)膦]钯(II) (116.21 mg, 164.12 μmol)，抽换氮气 5 次，保持体系温度 120°C 反应 5 小时。向反应体系加水 (10 mL)，垫硅藻土过滤，乙酸乙酯 (20 mL) 洗滤饼，向滤液中加入乙酸乙酯萃取 (20 mL*3)，合并有机相，利用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥后，减压浓缩，过柱纯化（二氯甲烷：甲醇=10:1），得到化合物 **18-3**，MS m/z = 965.7 $[M+H]^+$ 。

步骤 3：化合物 **18** 的盐酸盐合成

向化合物 **18-3** (0.5 g, 518.09 μmol) 加入 DCM (10 mL) 溶解，投入三氟乙酸 (4.13 g, 36.25 mmol)，保持反应体系温度 25°C 反应 1 小时，将反应液减压浓缩，粗品进行高效液相色谱分离（柱子：Xtimate C18 150*40mm*5 μm ；流动相：[水(0.05%盐酸)-乙腈]；(乙腈)%：5%-35%，10min），得到化合物 **18** 的盐酸盐，MS m/z = 625.3 $[M+H]^+$ 。

实施例 19



步骤 1：中间体 **19-2** 的合成

向化合物 **19-1** (199.00 mg, 1.16 mmol) 中加入 THF (10 mL) 溶解，投入叔丁醇钠 (111.70 mg, 1.16 mmol)，保持反应体系温度 0°C 搅拌 1 小时，加入化合物 **1-12B** (0.5 g, 581.16 μmol)，反应体系保持 0°C 反应 1 小时。向反应液加水 (10 mL)，乙酸乙酯 (20 mL*3) 萃取，合并有机相，利用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥后，减压浓缩，过柱纯化（二氯甲烷：甲醇=20：1），得到化合物 **19-2**，MS m/z = 967.6 $[M+H]^+$ 。

步骤 2：中间体 **19-3** 的合成

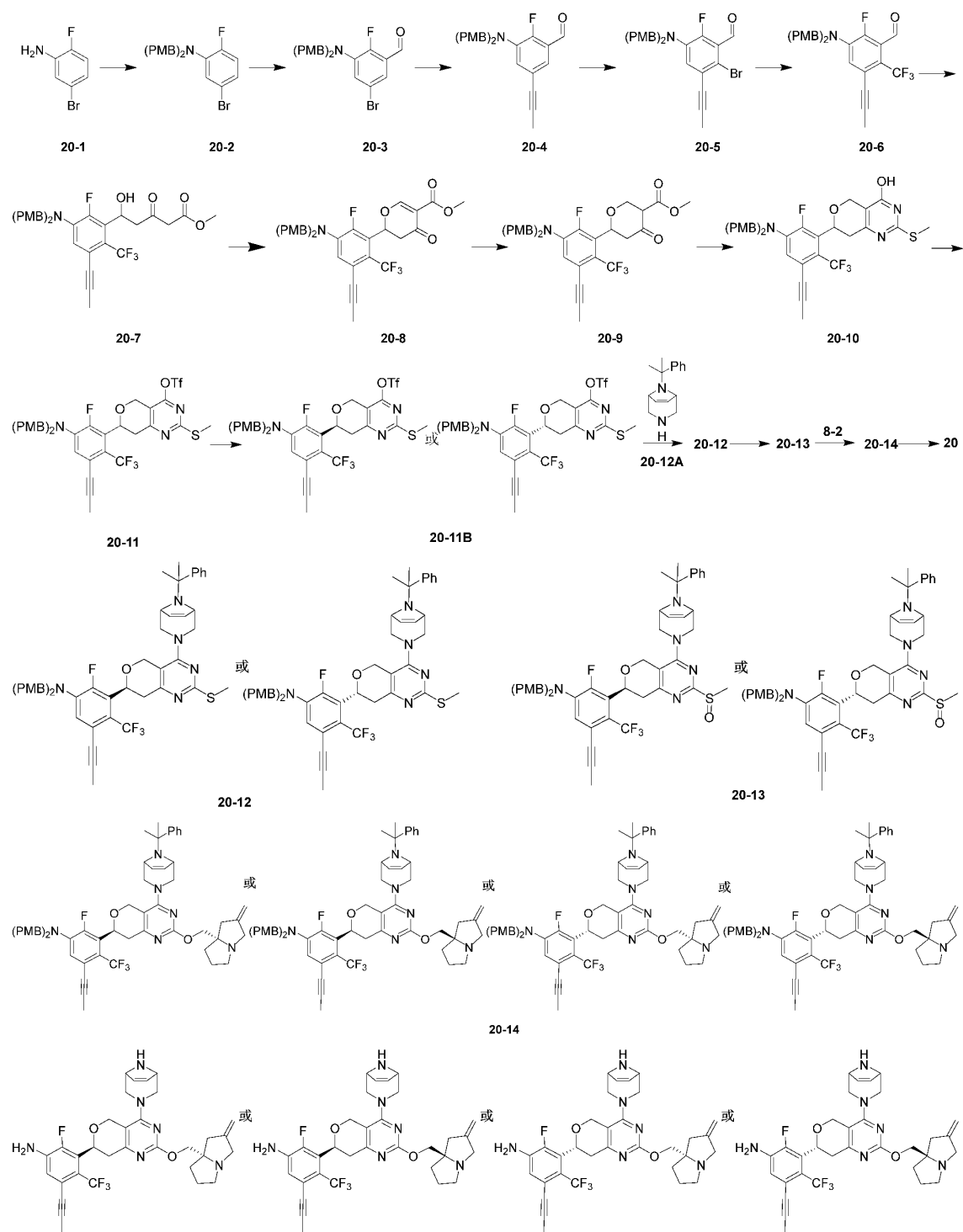
将化合物 **19-2** (0.442 g, 456.87 μmol) 加入甲苯 (10 mL) 溶解，投入化合物 1-丙炔基三正丁基锡 (601.44 mg, 1.83 mmol) 与二氯双[二叔丁基-(4-二甲氨基苯基)膦]钯(II) (97.05 mg, 137.06 μmol)，抽换氮气 5 次，保持体系温度 120°C 反应 5 小时。向反应体系加水 (10 mL)，垫硅藻土过滤，乙酸乙酯 (20 mL) 洗滤饼，乙酸乙酯 (20 mL*3) 萃取，合并有机相，利用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥后，减压浓缩，过柱纯化（二氯甲烷：甲醇=10:1），得到化合物 **19-3**，MS m/z = 971.8 $[M+H]^+$ 。

步骤 3：化合物 **19** 的盐酸盐合成

向化合物 **19-3** (0.442 g, 455.17 μmol) 加入 DCM (5 mL) 溶解，投入三氟乙酸 (15.58 g, 136.67 mmol)，保

持反应体系温度 25°C 反应 1 小时, 将反应液减压浓缩, 粗品进行高效液相色谱分离 (柱子: Xtimate C18 150*40mm*5 μ m; 流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈]; (乙腈)%: 5%-35%, 10min), 得到化合物 **19** 的盐酸盐, MS m/z = 631.3[M+H]⁺。

实施例 20



步骤 1: 化合物 20-2 的合成

称取化合物 **20-1** (480 g, 2.53 mol), 加入 DMF (2500 mL), 加入 4-甲氧基氯苄 (5.18 mol, 702.79 mL), 碳酸钾(872.82 g, 6.32 mol), 碘化钾 (419.35 g, 2.53 mol), 65°C 反应 2 小时。加水 (1000 mL), 乙酸乙酯 (1000 mL * 3) 萃取, 有机相减压浓缩, 得化合物 **20-2**, MS $m/z = 430.0$ $[M+H]^+$ 。

步骤 2: 化合物 20-3 的合成

称取化合物 2,2,6,6-四甲基哌啶 (220.59 g, 1.56 mol, 265.13 mL), 加入 THF (3000 mL), -5°C 加入正丁基锂(2.5 M, 499.73 mL), 搅拌 0.5 小时, 降温至 -60°C 加入 **20-2** (280 g, 624.67 mmol), 搅拌 0.5 小时, 最后加入 DMF (228.28 g, 3.12 mol, 240.30 mL)。继续反应 0.5 小时。将反应液倒入水中 (1000 mL), 加入 1N 盐酸调 pH 到 7, 用乙酸乙酯(1000 mL * 3)萃取, 减压浓缩, 柱层析分离 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1), 得化合物 **20-3**。

步骤 3: 化合物 20-4 的合成

称 **20-3** (370 g, 807.30 mmol), 加入甲苯 (1500 mL), 二氯双[二叔丁基-(4-二甲基氨基苯基)膦]钼(2.86 g, 4.04 mmol, 2.86 mL) 和三丁基(1-丙炔基)锡(265.69 g, 807.30 mmol), 氮气保护下 120°C 反应 2 小时。减压浓缩, 柱层析分离 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1), 得化合物 **20-4**。MS $m/z = 418.1$ $[M+H]^+$ 。

步骤 4: 化合物 20-5 的合成

称 **20-4** (450 g, 970.13 mmol), 加入 DMF (100 mL), 加入 N-溴代丁二酰亚胺 (189.93 g, 1.07 mol), 25°C 反应 2 小时。补加 N-溴代丁二酰亚胺 (17.27 g, 97.01 mmol), 继续反应 3 小时。减压浓缩, 柱层析分离 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1), 得化合物 **20-5**。MS $m/z = 496.0$ $[M+H]^+$ 。

步骤 5: 化合物 20-6 的合成

称 **20-5** (55 g, 110.81 mmol), 加入 DMF (300 mL), 加入氟磺酰二氟乙酸甲酯 (42.57 g, 221.61 mmol, 28.19 mL), 碘化亚铜(42.21 g, 221.61 mmol), 110°C 氮气保护下反应 2 小时。加入 500 mL 水淬灭, 用乙酸乙酯(600mL*3)萃取, 合并萃取后的有机相, 依次用水(800mL*2)和饱和食盐水 (800mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。柱层析分离 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1), 得化合物 **20-6**。MS $m/z = 485.9$ $[M+H]^+$ 。

步骤 6: 化合物 20-7 的合成

在 0°C 下, 向钠氢(6.34 g, 158.61 mmol, 60% 纯度)的四氢呋喃(350 mL)溶液中滴加乙酰乙酸甲酯(18.42 g, 158.61 mmol, 17.10 mL), 反应 15 分钟。再加入 **20-6** (35 g, 72.10 mmol)的四氢呋喃溶液 (350 mL)。反应 0.5 小时。加入 200 mL 饱和氯化铵溶液淬灭反应, 用乙酸乙酯 (300mL*2) 萃取, 合并萃取后的有机相, 用饱和食盐水 (400 mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。柱层析分离 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1-1:1), 得化合物 **20-7**。MS $m/z = 624.2$ $[M+Na]^+$ 。

步骤 7: 化合物 20-8 的合成

称 **20-7** (38 g, 63.17 mmol), 加入二氯甲烷(300 mL), 再加入 N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛 (9.03 g, 75.80 mmol)。25°C 反应 16 小时。冷到 0°C, 加入三氟化硼乙醚 (10.76 g, 75.80 mmol, 9.32 mL), 体系在 0°C 下继续搅拌 1 小时, 向体系中加入 200 mL 饱和碳酸氢钠溶液, 分离出有机相, 水相用 200 mL 二氯甲烷萃取, 合并萃取后的有机相, 用 250 mL 饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。柱层析分离 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1-1:1), 得化合物 **20-8**。MS $m/z = 612.1$ $[M+H]^+$ 。

步骤 8: 化合物 20-9 的合成

称 **20-8** (30 g, 49.05 mmol), 加入四氢呋喃(300 mL), -60°C 条件下加入三仲丁基硼氢化锂 (1 M, 53.96 mL)。-60°C 反应 1 小时, 向体系中加入 200 mL 水淬灭反应, 用乙酸乙酯 (300 mL*2) 萃取, 合并萃取后的有机相, 用 300 mL 饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。柱层析分离 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1-5:1), 得化合物 **20-9**。MS $m/z = 614.1$ $[M+H]^+$ 。

步骤 9: 化合物 20-10 的合成

称 **20-9** (20 g, 32.59 mmol), 加入乙醇(200 mL), 再加入 2-甲基-2-硫代异脲硫酸盐(27.22 g, 97.78 mmol), 碳酸钠(6.91 g, 65.19 mmol), 50°C 反应 13 小时。将反应液浓缩干, 加入 40 mL 水, 用乙酸乙酯 (50 mL*2) 萃取, 合并萃取后的有机相, 用 60mL 饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥。过滤, 减压浓缩得化合物 **20-10**。MS m/z =654.3 $[M+H]^+$ 。

步骤 10: 化合物 20-11B 的合成

称 **20-10** (21 g, 32.13 mmol), 加入 DMF(200 mL), 再加入 N,N-二异丙基乙基胺(12.46 g, 96.38 mmol, 16.79 mL), N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺 (13.77 g, 38.55 mmol), 25°C 反应 1 小时。向体系中加入 300 mL 水, 用乙酸乙酯 (300mL*3) 萃取, 依次用水 (400mL*2) 和饱和食盐水 (400mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。柱层析分离 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1), 得化合物 **20-11**。进行 SFC 拆分, (色谱柱: DAICEL CHIRALPAK IG(250mm*50mm,10 μ m);流动相: [超临界 CO₂-乙醇(0.1%氨水)];乙醇%:25%-25%) 得到化合物 **20-11A** 和化合物 **20-11B**。手性 SFC 分析 (色谱柱: ChiralPak IG-3(100mm*4.6mm,3 μ m);流动相: [超临界 CO₂-乙醇(0.05%二乙胺)];(乙醇(0.05%二乙胺))%: 5%-40%), 化合物 **20-11A**, R_t =2.574 分钟, ee 值 99%; 化合物 **20-11B**, R_t =3.055 分钟, ee 值 99%。

步骤 11: 化合物 20-12 的合成

称取化合物 **20-11B**(2 g, 2.55 mmol)和 **20-12A**(871.78 mg, 3.82 mmol)溶解在 DMF (10 mL), 加入 N,N-二异丙基乙基胺(986.88 mg, 7.64 mmol), 然后 100°C 反应 1 小时。反应液减压浓缩, 柱层析分离 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 得到化合物 **20-12**, MS m/z =864.0 $[M+H]^+$ 。

步骤 12: 化合物 20-13 的合成

称取化合物 **20-12** (1.8 g, 2.08 mmol), 溶解在 THF (20 mL)中, 加入间氯过氧苯甲酸 (422.96 mg, 2.08 mmol, 85% 纯度), 25°C 搅拌 0.5 小时。将反应液减压浓缩, 得到化合物 **20-13**。MS m/z =880.0 $[M+H]^+$ 。

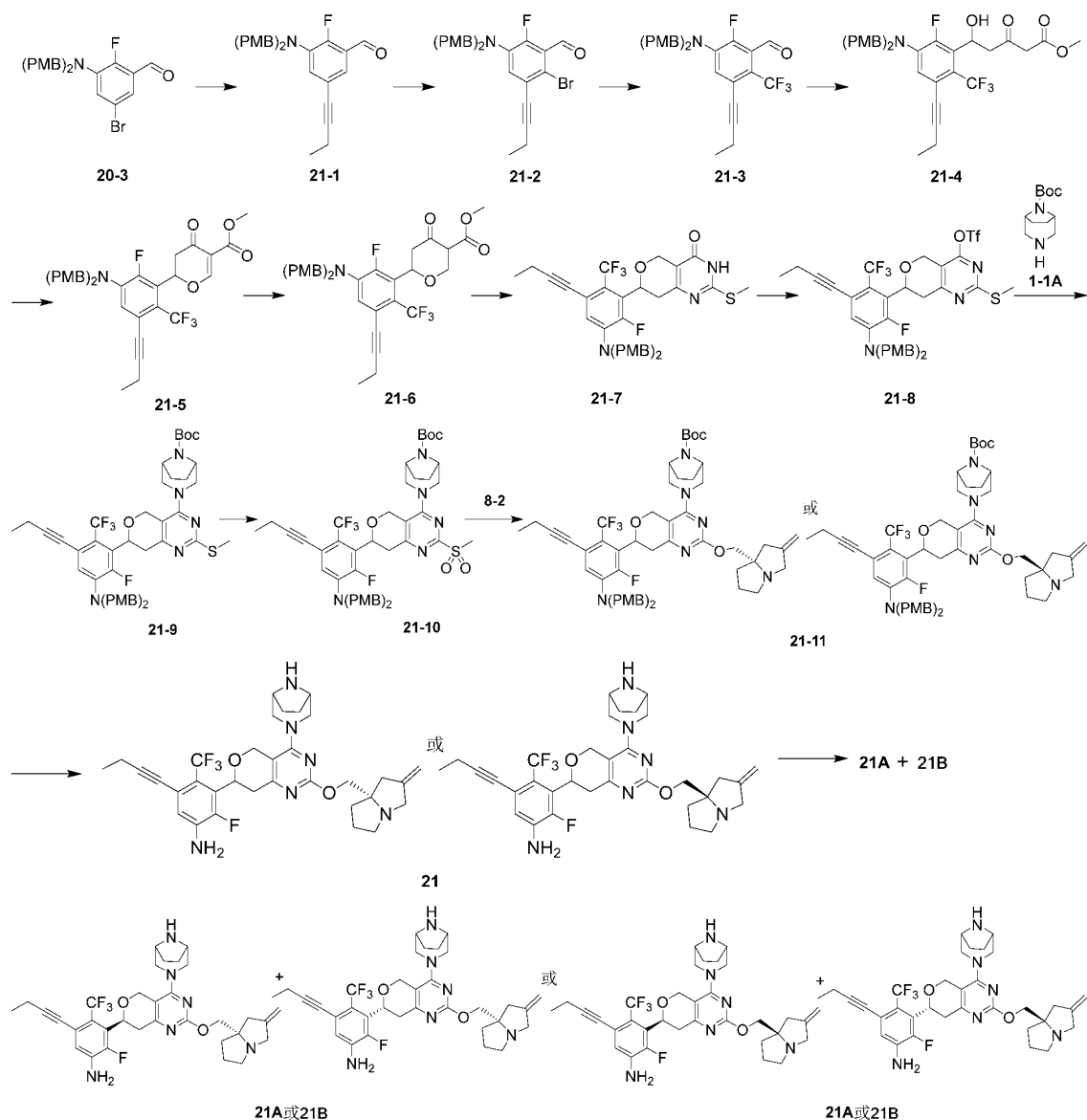
步骤 13: 化合物 20-14 的合成

称取化合物 **8-2**(626.81 mg, 4.09 mmol)溶解在 THF (5 mL)中, 然后 0°C 下加入叔丁醇钠 (393.15 mg, 4.09 mmol), 一个小时候加入 **20-13** (1.8 g, 2.05 mmol), 继续搅拌 1 小时。加入 10mL 水淬灭, 使用 1N 的稀盐酸调节 pH=6 左右, 使用乙酸乙酯 (100 mL*2) 萃取, 合并萃取后的有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 柱层析分离 (二氯甲烷:甲醇=10:1) 得到化合物 **20-14**, MS m/z =969.1 $[M+H]^+$ 。

步骤 14: 化合物 20 的盐酸盐合成

称取化合物 **20-14** (1.4 g, 1.44 mmol)溶解在三氟乙酸(10 mL)中, 25°C 反应 1 小时。将反应液减压浓缩, 粗品进行高效液相色谱分离 (柱子: Xtimate C18 150*40mm*5 μ m;流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈];(乙腈)%: 5%-35%,10min), 得到化合物 **20** 的盐酸盐, MS m/z = 610.6 $[M+H]^+$ 。

实施例 21



步骤 1: 中间体 21-1 的合成

将化合物 **20-3** (19 g, 41.46 mmol) 和戊炔酸 (4.88 g, 49.75 mmol) 加入到二甲基亚砜 (200 mL) 中, 然后加入二氯二三苯基膦钾 (290.98 mg, 414.56 μ mol), 1,4-双(二苯基膦)丁烷 (353.59 mg, 829.12 μ mol) 和 1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一-7-烯 (18.93 g, 124.37 mmol, 18.75 mL), 所得反应液氮气置换后, 升温至 110-115°C 搅拌反应 18 小时。将反应液用 500 mL 乙酸乙酯稀释, 然后用水 (50 mL $\times$ 3) 和饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 有机相减压浓缩得到粗品, 粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 得到化合物 **21-1**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 10.34 (s, 1H), 7.42 (dd, J =2.0, 5.6 Hz, 1H), 7.16 (d, J =8.4 Hz, 4H), 7.11-7.06 (m, 1H), 6.87 - 6.82 (m, 4H), 4.24 (s, 4H), 3.82 - 3.78 (m, 6H), 2.37 (q, J =7.6 Hz, 2H), 1.21 (t, J =7.6 Hz, 3H)。

步骤 2: 中间体 21-2 的合成

将化合物 **21-1** (4.0 g, 9.27 mmol) 溶解于 DMF (30 mL) 中, 然后加入 N-溴代丁二酰亚胺 (2.14 g, 12.05 mmol), 所得反应液氮气保护下 50°C 搅拌反应 3 小时。将反应液用 150 mL 乙酸乙酯稀释, 然后用水 (20 mL $\times$ 3) 和饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 有机相减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1)

得到化合物 **21-2**, MS m/z = 510.1 $[M+H]^+$ 。

步骤 3: 中间体 **21-3** 的合成

将化合物 **21-2** (4.6 g, 9.01 mmol) 和化合物氟磺酰二氟乙酸甲酯 (6.93 g, 36.05 mmol, 4.59 mL) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (30 mL) 中, 然后加入碘化亚铜 (3.43 g, 18.03 mmol), 所得反应液氮气保护下升温至 105°C 搅拌反应 3 小时。将反应液减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 得到化合物 **21-3**, MS m/z = 500.0 $[M+H]^+$ 。

步骤 4: 中间体 **21-4** 的合成

将钠氢 (856.78 mg, 21.42 mmol, 60% 纯度) 悬浮与无水四氢呋喃 (30 mL) 中, 所得混合物冷却到 0°C, 然后向其中滴加乙酰乙酸甲酯 (2.09 g, 17.99 mmol, 1.94 mL), 滴毕搅拌 30 分钟, 接着向其中滴加正丁基锂 (2.5 M, 7.88 mL), 滴毕, 继续搅拌 30 分钟, 撤去冰浴, 将反应混合液冷却到 -78°C, 最后向其中滴加化合物 **21-3** (4.28 g, 8.57 mmol) 的 15 mL 四氢呋喃溶液, 滴毕, 搅拌反应 0.5 小时。用 1M 盐酸淬灭反应, 并调节 pH=5 分出有机相, 水相用 30 mL 乙酸乙酯萃取三次, 合并有机相, 减压浓缩得到粗品, 粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 得化合物 **21-4**。MS m/z = 638.2 $[M+Na]^+$ 。

步骤 5: 中间体 **21-5** 的合成

将化合物 **21-4** (5.0 g, 6.01 mmol) 溶解于二氯甲烷 (40 mL) 中, 然后加入 N,N-二甲基甲酰胺缩二甲醇 (2.15 g, 18.03 mmol, 2.40 mL), 所得反应液氮气保护下搅拌反应 18 小时。将反应液冷却到 0°C, 然后向其中滴加三氟化硼乙醚络合物 (853.03 mg, 6.01 mmol), 滴毕, 搅拌反应 1 小时将反应液用 20 mL 饱和碳酸氢钠淬灭, 然后用二氯甲烷 30 mL×3 萃取, 合并有机相, 减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 得到化合物 **21-5**。MS m/z = 626.0 $[M+H]^+$ 。

步骤 6: 中间体 **21-6** 的合成

将化合物 **21-5** (2.6 g, 4.16 mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (20 mL) 中, 氮气保护下冷却到 -78°C, 然后向其中滴加三仲丁基硼氢化锂 (1 M, 4.57 mL), 滴毕, -78°C 下搅拌反应 0.5 小时。加入水 15 mL 淬灭反应, 然后用 1M 盐酸调节 pH~5-6, 分出有机相, 水层用 30 mL×3 萃取, 合并有机相, 减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 得到化合物 **21-6**, MS m/z = 650.0 $[M+Na]^+$ 。

步骤 7: 中间体 **21-7** 的合成

将化合物 **21-6** (0.6 g, 955.99 μ mol) 和 2-甲基硫脲硫酸盐 (539.83 mg, 2.87 mmol) 加入到乙醇 (15 mL) 中, 然后加入碳酸钠 (202.65 mg, 1.91 mmol), 所得反应液氮气保护下加热到 65°C 搅拌反应 18 小时。将反应液减压浓缩, 残留物中加入 10 mL 水和 80 mL 乙酸乙酯, 搅拌下用 2M 盐酸调节 PH=6, 分出有水层, 有机相用 10 mL 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到化合物 **21-7**, MS m/z = 668.3 $[M+H]^+$ 。

步骤 8: 中间体 **21-8** 的合成

将化合物 **21-7** (640 mg, 958.50 μ mol) 和化合物 N-苯基双(三氟甲烷磺酰)亚胺 (513.63 mg, 1.44 mmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 然后加入 N,N-二异丙基乙基胺 (247.76 mg, 1.92 mmol)。所得反应液氮气置换后, 升温至 35°C 搅拌反应 1.5 小时。将反应液用 50 mL 乙酸乙酯稀释, 然后用水 10 mL×3 洗涤, 有机相减压浓缩得到粗品, 粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 得到化合物 **21-8**。MS m/z = 800.4 $[M+H]^+$ 。

步骤 9: 中间体 **21-9** 的合成

将化合物 **21-8** (340 mg, 425.12 μ mol) 和化合物 **1-1A** (180.50 mg, 850.24 μ mol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (3 mL) 中, 然后加入 N,N-二异丙基乙基胺 (164.83 mg, 1.28 mmol), 所得反应液氮气保护下升温至 105°C 搅拌反应 1 小时。将反应液减压浓缩得到粗品。粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 得到化合物 **21-9**。MS m/z = 862.4 $[M+H]^+$ 。

步骤 10: 中间体 **21-10** 的合成

将化合物 **21-9** (223 mg, 258.71 μmol) 溶解于二氯甲烷 (3 mL) 中, 然后加入间氯过氧苯甲酸 (52.52 mg, 258.71 μmol , 85% 纯度), 所得最终反应液氮气保护下 25°C 搅拌反应 1 小时。将反应液减压浓缩得到粗品, 粗品过柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=1:1) 得到化合物 **21-10**。MS m/z = 894.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 11: 中间体 **21-11** 的合成

将化合物 **8-2** (76.44 mg, 498.89 μmol) 和叔丁醇钠 (47.95 mg, 498.89 μmol) 加入到四氢呋喃 (2 mL) 中, 25°C 搅拌反应 0.5 小时, 然后向其中滴加化合物 **21-10** (223 mg, 249.45 μmol) 的 2 mL 四氢呋喃溶液, 25°C 搅拌反应 0.5 小时。将反应液用 30 mL 乙酸乙酯稀释, 然后用 5 mL 饱和食盐水洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到化合物 **21-11**。MS m/z = 967.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

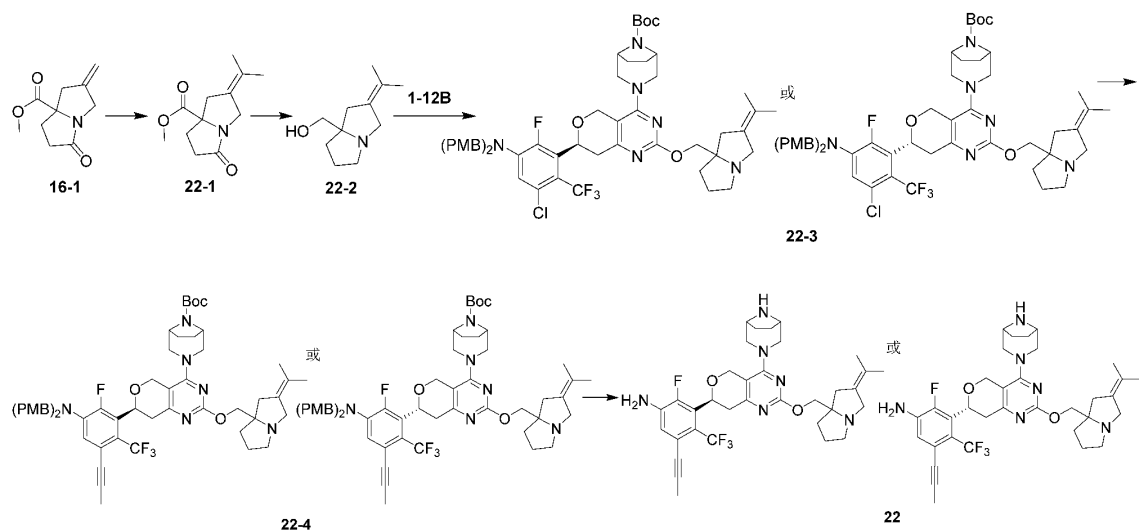
步骤 12: 化合物 **21** 的合成

将化合物 **21-11** (238 mg, 246.10 μmol) 加入到三氟乙酸 (2 mL) 中, 25°C 搅拌反应 1 小时将反应液减压浓缩得到粗品, 粗品进行高效液相色谱分离 (柱子: Xtimate C18 150*40mm*5 μm ; 流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈]; (乙腈)%: 5%-35%, 10min), 得到化合物 **21** 的盐酸盐, MS m/z = 627.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 13: 化合物 **21A** 和 **21B** 的合成

化合物 **21** 的盐酸盐经过 SFC 分离, (色谱柱: DAICEL CHIRALPAK IC(250mm*30mm, 10 μm); 流动相: [超临界 CO_2 -甲醇(0.1%氨水)]; 甲醇%: 60%-60%) 得到化合物 **21A** 和化合物 **21B**。手性 SFC 分析 (色谱柱: ChiralPak IC(100mm*4.6mm, 3 μm); 流动相: [超临界 CO_2 -乙醇(0.05%二乙胺)]; (甲醇(0.05%二乙胺))%: 60%-60%), 化合物 **21A**, R_t =1.696 分钟, ee 值 99%, MS m/z = 627.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 6.89 (d, J =8.4 Hz, 1H), 5.21 (d, J =12.0 Hz, 2H), 5.11 (d, J =7.6 Hz, 1H), 4.80 - 4.50 (m, 4H), 4.44 - 4.27 (m, 2H), 4.23 - 3.82 (m, 5H), 3.77 - 3.48 (m, 3H), 3.35-3.20 (m, 1H), 3.11 - 2.86 (m, 3H), 2.63 - 2.51 (m, 1H), 2.38 (q, J =7.2 Hz, 3H), 2.30 - 2.06 (m, 5H), 2.04 - 1.75 (m, 2H), 1.20 (t, J =7.6 Hz, 3H)。化合物 **21B**, R_t =5.728 分钟, ee 值 99%, MS m/z = 627.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 6.86 (d, J =8.4 Hz, 1H), 5.19 - 5.08 (m, 1H), 4.95 (br s, 2H), 4.80 - 4.64 (m, 3H), 4.15 - 4.03 (m, 4H), 4.01-3.93 (m, 1H), 3.82 - 3.67 (m, 3H), 3.59 - 3.43 (m, 2H), 3.36 - 3.14 (m, 4H), 3.00-2.90 (m, 1H), 2.80 (d, J =15.0 Hz, 1H), 2.72 - 2.62 (m, 1H), 2.45-2.32 (m, 3H), 2.22 - 2.11 (m, 1H), 2.09 - 1.84 (m, 5H), 1.82 - 1.67 (m, 2H), 1.21 (t, J =7.2 Hz, 3H)。

实施例 22



步骤 1: 中间体 **22-1** 的甲酸盐合成

将化合物 **16-1** (1.28 g, 6.56 mmol) 溶解于甲苯 (10.0 mL) 中, 分别加入化合物异丁烯四氢呋喃溶液 (2.40 M,

2.73 mL)和 Hoveyda-Grubbs 催化剂(411 mg, 656 μmol)。在 120 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 12 小时。反应液使用硅藻土过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex Luna C18 150*25mm*10 μm ; 流动相: [水(0.225%甲酸)-乙腈]; 乙腈:25%-55%)纯化得到化合物 **22-1**。MS m/z = 224.1 $[\text{M}+1]^+$ 。

步骤 2: 中间体 **22-2** 的合成

将化合物 **22-1** (200 mg)溶解 THF (2.00 mL)中, 降温至 0 $^{\circ}\text{C}$, 在 0 $^{\circ}\text{C}$ 下缓慢滴加红铝甲苯溶液(1.03 g, 3.58 mmol, 70.0 % 纯度), 滴加完毕后, 反应液在 25 $^{\circ}\text{C}$ 反应 12 小时。向反应液中加入甲醇(3.00 mL), 减压浓缩得到粗品。粗品经柱纯化(二氯甲烷: 甲醇 = 10: 1)得到化合物 **22-2**。MS m/z = 182.1 $[\text{M}+1]^+$ 。

步骤 3: 中间体 **22-3** 的甲酸盐合成

将化合物 **1-12B** (100 mg, 116 μmol)溶解于甲苯(1.00 mL)中, 向溶液中加入化合物 **22-2**(105 mg, 581 μmol), 4A 分子筛(100 mg)和叔丁醇钠(33.5 mg, 349 μmol)。反应液在 110 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 12 小时。反应液冷却后使用硅藻土进行过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm* 10 μm ; 流动相: [水(0.225%甲酸)-乙腈]; 乙腈:50%-80%)纯化得到化合物 **22-3** 的甲酸盐。MS m/z = 977.3 $[\text{M}+1]^+$ 。

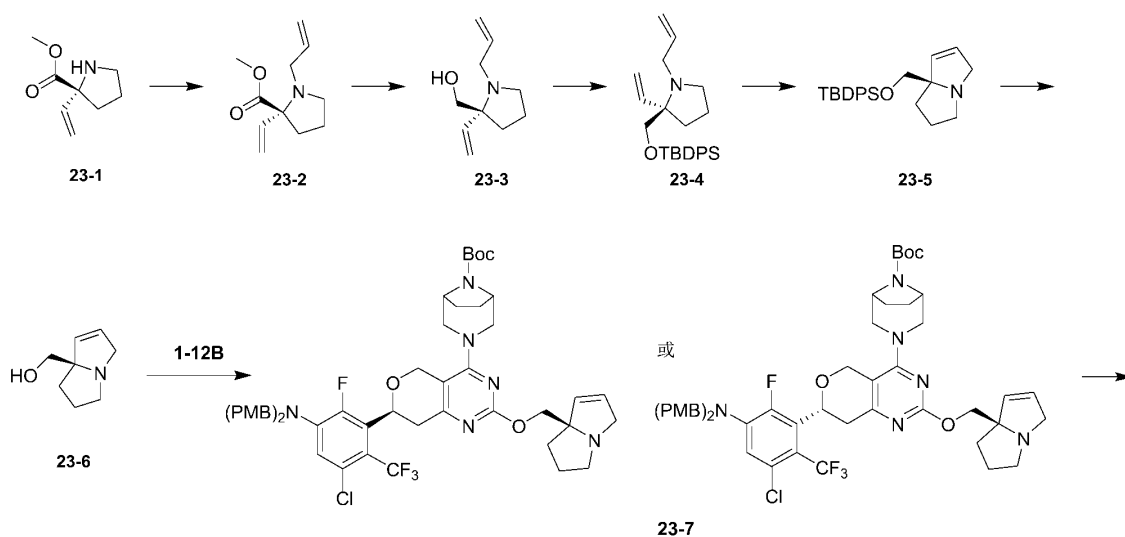
步骤 4: 中间体 **22-4** 的合成

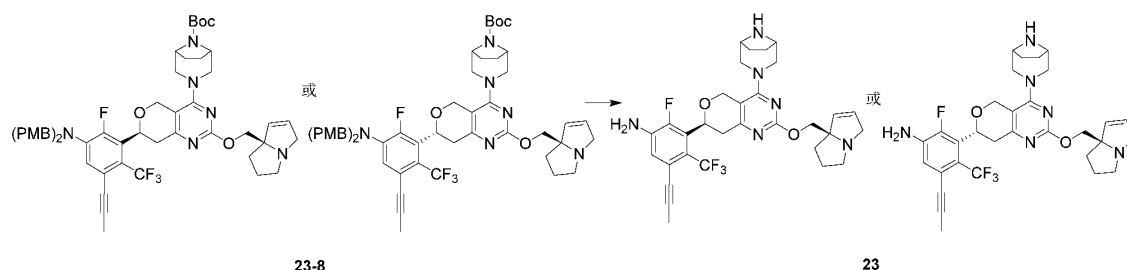
将化合物 **22-3**(45.0 mg, 46.0 μmol)的甲酸盐溶解于甲苯(1.00 mL)中, 向反应液中加入 1-丙炔基三正丁基锡(60.6 mg, 184 μmol)和二氯双[二叔丁基-(4-二甲基氨基苯基)膦]钯(II)(9.78 mg, 13.8 μmol)。反应液在 110 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 3 小时。反应液冷却后用硅藻土进行过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex Luna C18 150*25mm*10 μm ; 流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈]; 乙腈:52%-82%)纯化得到化合物 **22-4** 的三氟乙酸盐。MS m/z = 981.4 $[\text{M}+1]^+$ 。

步骤 5: 化合物 **22** 的甲酸盐合成

将化合物 **22-4**(35.0 mg, 35.7 μmol)的三氟乙酸盐溶解于二氯甲烷 (1.00 mL)中, 向反应液中加入三氟乙酸(0.20 mL), 反应液在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 1 小时, 反应液直接减压浓缩得到粗品。粗品依次进行如下高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm* 10 μm ; 流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈]; 乙腈:20%-50% over 9 min); (柱子: Waters Xbridge 150*25mm* 5 μm ; 流动相: [水(0.1%氨水)-乙腈]; 乙腈:55%-85% over 10 min); (柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm* 10 μm ; 流动相: [水(0.225%甲酸)-乙腈]; 乙腈:15%-45% over 9 min)纯化后得到化合物 **22** 的甲酸盐。MS m/z = 641.3 $[\text{M}+1]^+$ 。

实施例 23



**步骤 1: 中间体 23-2 的合成**

将化合物 **23-1** (5.5 g) 溶于 DMF (50 mL), 加入碳酸钾 (15.8 g, 114 mmol) 和化合物烯丙基溴 (4.17 g, 34.4 mmol)。室温下反应 12 小时后。向反应液中倒入 100 mL 水, 用乙酸乙酯 (200 mL) 萃取 3 次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析(石油醚: 乙酸乙酯=20:1)纯化得到化合物 **23-2**。

步骤 2: 中间体 23-3 的合成

将化合物 **23-2** (5.5 g, 28.1 mmol) 溶于无水 THF (37.0 mL), 在 0°C 下加入氢化铝锂 (2.5 M, 13.5 mL), 然后在室温下反应 1 小时。向反应液中加入 1.2 毫升水, 1.2 毫升 15% NaOH 水溶液, 最后加入 3.6 毫升水, 无水硫酸钠干燥后, 过滤减压浓缩, 即得粗品直接用于下一步。得到化合物 **23-3**。

步骤 3: 中间体 23-4 的合成

将化合物 **23-3** (2.5 g) 溶于无水 DCM (20.0 mL), 加入咪唑 (4.07 g, 59.7 mmol), 4-二甲氨基吡啶 (182 mg, 1.49 mmol), 然后在 0°C 下加入叔丁基二苯基氯硅烷 (8.22 g, 29.9 mmol)。在室温下反应 12 小时。向反应液加入 100 mL 水淬灭反应, 用 DCM (100 mL) 萃取 3 次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤减压浓缩, 即得粗品。粗品经柱层析(石油醚: 乙酸乙酯=10:1)纯化得到化合物 **23-4**。MS $m/z = 406.2[M+H]^+$ 。

步骤 4: 中间体 23-5 的合成

将化合物 **23-4** (1.5 g, 3.70 mmol) 溶于无水甲苯 (30 mL), 加入 Grubbs 催化剂 (313.93 mg, 369.78 μmol)。在 120°C 下反应 12 小时。将反应液减压浓缩得到粗产品。粗品经薄板层析(二氯甲烷: 甲醇 = 10: 1)纯化得到化合物 **23-5**。MS $m/z = 378.2[M+H]^+$ 。

步骤 5: 中间体 23-6 的盐酸盐合成

将化合物 **23-5** (200 mg, 529 μmol) 溶于无水二氧六环 (6.0 mL), 加入盐酸 (12 M, 44.1 μL)。在 95°C 下反应 12 小时。向反应液中加入 10 毫升水, 萃取后将水相冻干, 得到粗品可直接用于下一步反应。得到化合物 **23-6** 的盐酸盐。

步骤 6: 中间体 23-7 的合成

将化合物 **23-6** 的盐酸盐 (207 mg) 溶于无水甲苯 (3 mL), 加入叔丁醇钠 (250 mg, 2.60 mmol) 和化合物 **1-12B** (320 mg, 371 μmol)。在室温下反应 12 小时。向反应液中倒入 30 mL 的饱和氯化铵水溶液, 用乙酸乙酯 (30 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤减压浓缩, 即得粗品。粗品经柱层析(二氯甲烷: 甲醇 = 10:1)纯化得到化合物 **23-7**。MS $m/z = 935.3[M+H]^+$ 。

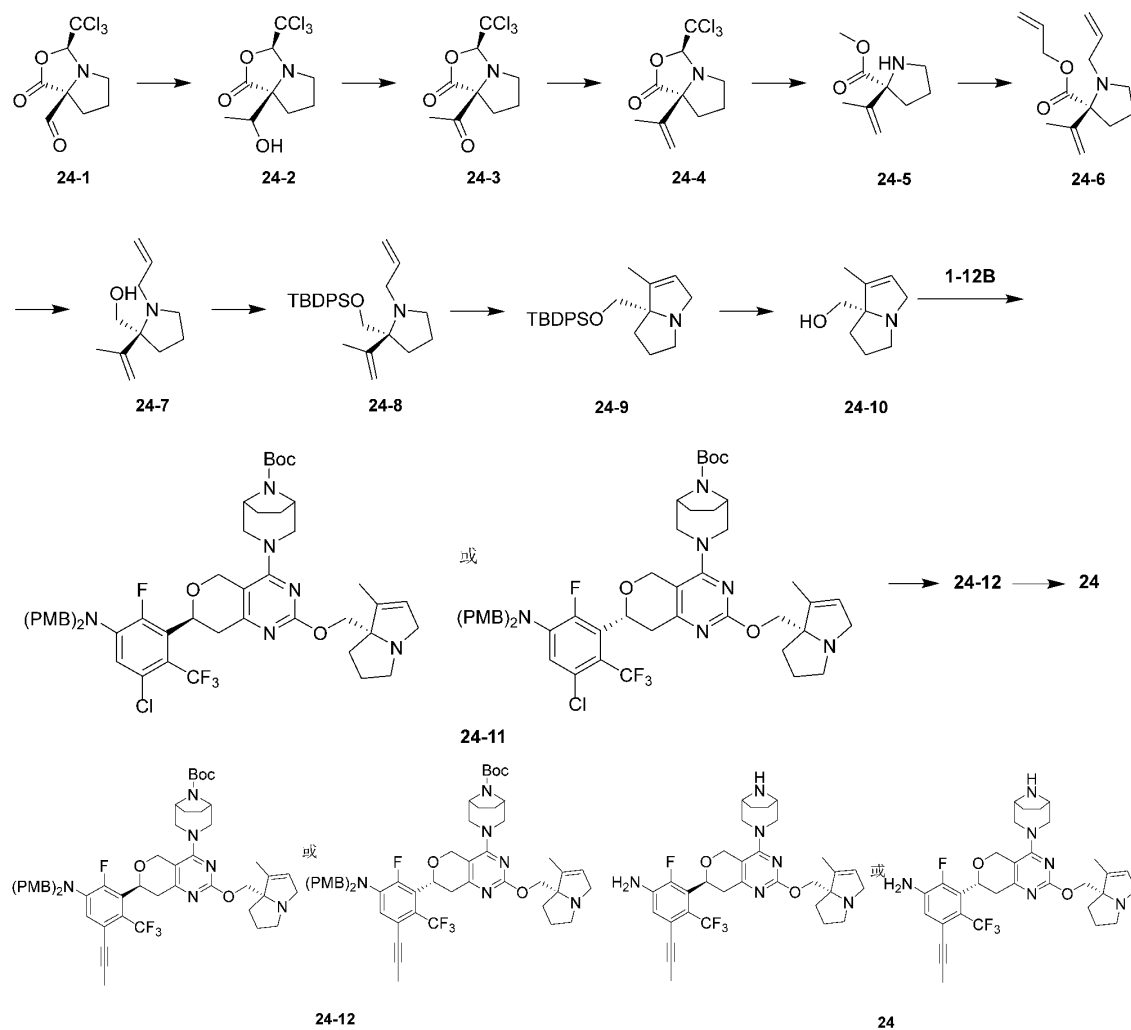
步骤 7: 中间体 23-8 的合成

将化合物 **23-7** (130 mg, 138 μmol) 溶于无水甲苯 (1 mL), 加入 1-丙炔基三正丁基锡 (182 mg, 555 μmol) 和二氯双[二叔基-(4-二甲氨基苯基)膦]钯(II) (9.84 mg, 13.9 μmol)。氮气置换 3 次后, 在氮气保护下 130°C 反应 4 小时。反应液冷却减压浓缩得粗品。粗品经薄板层析(二氯甲烷: 甲醇 = 10:1)纯化得到化合物 **23-8**。MS $m/z = 939.4[M+H]^+$ 。

步骤 8: 化合物 23 的三氟乙酸盐合成

将化合物 **23-8** (100 mg, 106 μ mol) 溶于二氯甲烷 (1.0 mL), 加入三氟乙酸 (182 mg, 1.60 mmol), 25°C 下反应 0.5 小时。反应液减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离 (柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm*10 μ m; 流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈]; 乙腈: 10%-40% over 9 min)。冻干后得到化合物 **23** 的三氟乙酸盐。MS m/z = 599.3[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 6.92 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.00 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 5.87 (td, J = 2.4, 6.4 Hz, 1H), 5.18 (dd, J = 4.4, 11.2 Hz, 1H), 4.88 - 4.85 (m, 1H), 4.76 - 4.70 (m, 2H), 4.61 - 4.52 (m, 2H), 4.36 - 4.28 (m, 1H), 4.20 - 4.11 (m, 2H), 4.04 (br d, J = 16.0 Hz, 1H), 3.85 - 3.74 (m, 2H), 3.66 (br d, J = 13.6 Hz, 1H), 3.35 (br d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.29 - 3.24 (m, 1H), 2.92 (br dd, J = 3.6, 18.0 Hz, 1H), 2.31 - 2.09 (m, 7H), 2.04 - 1.95 (m, 4H)。

实施例 24



步骤 1: 中间体 24-2 的合成

将化合物 **24-1** (54 g, 198 mmol) 溶于无水 THF (450 mL), 降温到 -78°C, 滴加甲基溴化镁 (3 M, 79.2 mL) 然后在 -78°C 下反应 0.5 小时, 然后在室温下反应 12 小时。向反应液倒入 200 mL 盐酸 (1M) 淬灭反应, 用乙酸乙酯 (200 mL) 萃取 3 次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 5:1) 纯化得到化合物 **24-2**。MS m/z = 288.0 [M+1]⁺。

步骤 2: 中间体 24-3 的合成

将化合物 **24-2** (38 g, 131 mmol) 溶于无水 DCM (380 mL) 加入戴斯-马丁氧化剂 (111 g, 263 mmol, 81.6 mL) 在室温下反应 4 小时。向反应液倒入 200 mL 水, 用乙酸乙酯 (200 mL) 萃取 3 次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析(石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 纯化得到化合物 **24-3**。MS $m/z = 285.9[M+1]^+$ 。

步骤 3: 中间体 **24-4** 的合成

将化合物溴化甲基三苯基磷 (8.42 g, 23.5 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (45 mL) 降温到 -78 °C, 滴加正丁基锂 (2.5 M, 9.42 mL) 然后在 0 °C 下反应 2 小时。然后降温 -78 °C 滴加入 **24-3** (4.5 g, 15.7 mmol) 溶于 THF (20 mL)。在室温下反应 10 小时后。向反应液倒入 100 mL HCl (1M) 水溶液, 用 EA (100 mL) 萃取 3 次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析(石油醚: 乙酸乙酯=10:1) 纯化得到化合物 **24-4**。

步骤 4: 中间体 **24-5** 的盐酸盐合成

将化合物 **24-4** (5.5 g, 19.3 mmol) 溶于盐酸甲醇溶液 (4 M, 61.1 mL), 在室温下反应 12 小时。将反应液减压浓缩得到化合物 **24-5** 的盐酸盐, MS $m/z = 170.1[M+1]^+$ 。

步骤 5: 中间体 **24-6** 的合成

将化合物 **24-5** 的盐酸盐 (4.5 g) 溶于 DMF (40 mL), 加入碳酸钾 (14.7 g, 106 mmol) 和烯丙基溴 (3.86 g, 31.9 mmol)。室温下反应 1.5 小时。向反应液中倒入 100 mL 水, 用乙酸乙酯 (200 mL) 萃取 3 次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析(石油醚: 乙酸乙酯=10:1) 纯化得到化合物 **24-6**。

步骤 6: 中间体 **24-7** 的合成

将化合物 **24-6** (2.5 g, 11.9 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (20.0 mL), 在 0 °C 下加入氢化铝锂 (2.5 M, 6.32 mL), 然后在室温下反应 1 小时。向反应液中加入 0.6 毫升水, 0.6 毫升 15% 氢氧化钠水溶液, 最后加入 1.8 毫升水, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品化合物 **24-7**。MS $m/z = 182.1[M+H]^+$ 。

步骤 7: 中间体 **24-8** 的合成

将化合物 **24-7** (2.3 g) 溶于无水二氯甲烷 (23.0 mL), 加入咪唑 (3.46 g, 50.7 mmol), 4-二甲氨基吡啶 (155 mg, 1.27 mmol), 然后在 0 °C 下加入叔丁基二苯基氯硅烷 (6.97 g, 25.3 mmol)。在室温下反应 12 小时。向反应液中倒入 50 mL 水, 用乙酸乙酯 (100 mL) 萃取 3 次。有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析(石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1) 纯化得到化合物 **24-8**。MS $m/z = 420.3[M+H]^+$ 。

步骤 8: 中间体 **24-9** 的合成

将化合物 **24-8** (2.5 g, 5.96 mmol) 溶于无水甲苯 (50 mL), 加入 Grubbs 催化剂 (1.01 g, 1.19 mmol)。在 120 °C 下反应 12 小时。将反应液减压浓缩得到粗品。粗品经柱层析(二氯甲烷: 甲醇 = 20:1) 纯化得到化合物 **24-9**。MS $m/z = 392.2[M+H]^+$ 。

步骤 9: 中间体 **24-10** 的合成

将化合物 **24-9** (1.00 g, 2.55 mmol) 溶于无水二氧六环 (6.0 mL), 加入盐酸 (12 M, 212 μ L)。在 95 °C 下反应 12 小时。向反应液中加入 10 毫升水, 乙酸乙酯 (20 mL *3) 萃取后, 将水相冻干, 得到粗品化合物 **24-10**。

步骤 10: 中间体 **24-11** 的合成

将化合物 **24-10** (92.6 mg) 溶于无水甲苯 (3 mL), 加入叔丁醇钠 (101 mg, 1.06 mmol) 和化合物 **1-12B** (130 mg, 151 μ mol)。在 95 °C 下反应 12 小时。将反应液减压浓缩得到粗品。粗品经柱层析(二氯甲烷: 甲醇 = 10:1) 纯化得到化合物 **24-11**。

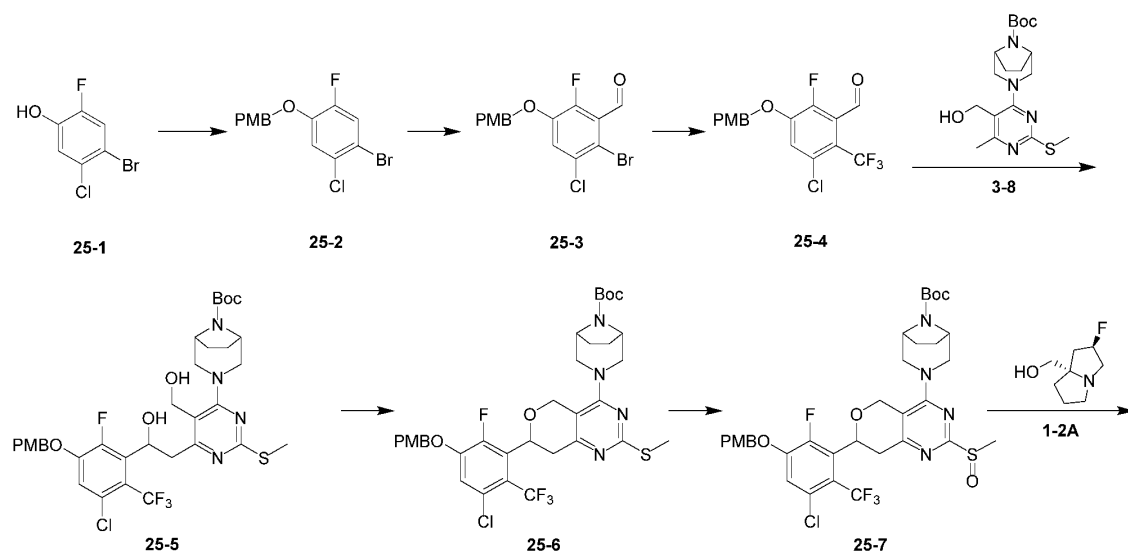
步骤 11: 中间体 24-12 的合成

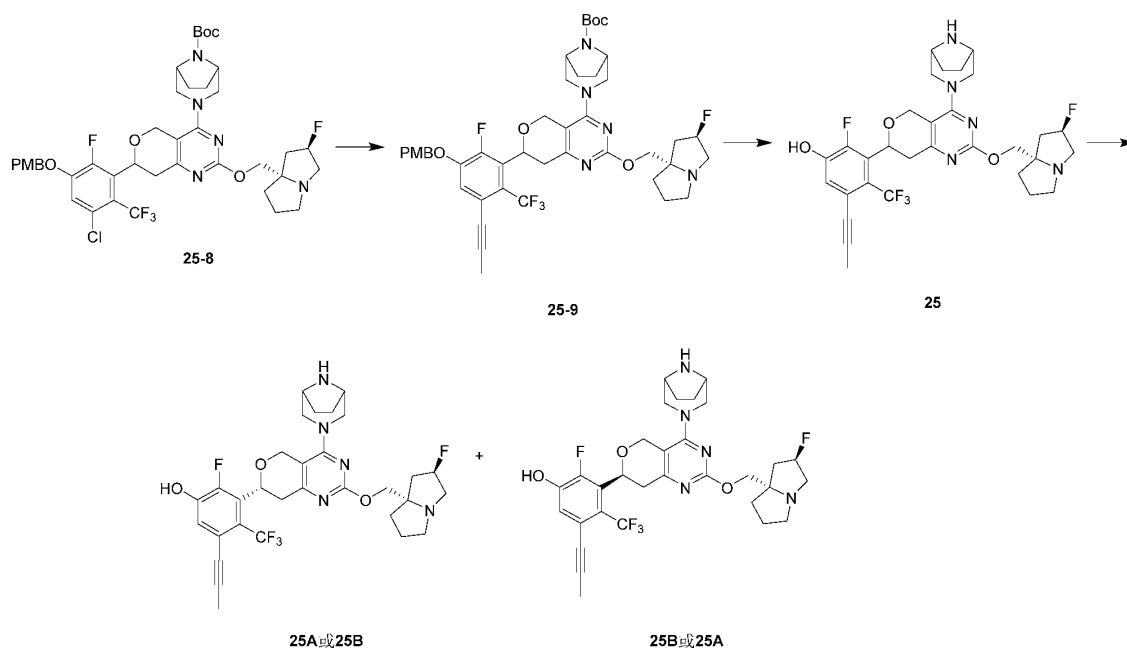
将化合物 **24-11** (89 mg, 93.7 μmol) 溶于无水甲苯 (1 mL), 加入 1-丙炔基三正丁基锡 (123 mg, 374 μmol) 和二氯双[二叔丁基-(4-二甲氨基苯基)膦]铍(II) (6.64 mg, 9.37 μmol)。氮气置换 3 次后, 在氮气保护下 130°C 反应 0.5 小时。反应液冷却, 减压浓缩得粗品。粗品经薄板层析(二氯甲烷: 甲醇 = 10:1)纯化得到化合物 **24-12**。

步骤 12: 化合物 24 的三氟乙酸盐合成

将化合物 **24-12** (90 mg, 94.4 μmol) 溶于二氯甲烷 (1.0 mL), 加入三氟乙酸 (161 mg, 1.42 mmol), 25°C 下反应 1.5 小时。反应液减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm* 10 μm ; 流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈]; 乙腈: 20%-50% over 7 min)。冻干后得到化合物 **24** 的三氟乙酸盐。MS m/z = 613.2[M+H]⁺。1H NMR (400 MHz, METHANOL- d_4) 6.92 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 5.61 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 5.18 (br dd, J = 4.4, 11.6 Hz, 1H), 4.91 - 4.89 (m, 2H), 4.86 - 4.82 (m, 1H), 4.80 - 4.70 (m, 2H), 4.51 - 4.41 (m, 2H), 4.29 (br d, J = 14.0 Hz, 1H), 4.19 - 4.10 (m, 2H), 3.91 (br d, J = 15.2 Hz, 1H), 3.85 - 3.74 (m, 2H), 3.63 (br d, J = 14.4 Hz, 1H), 3.27 (br d, J = 5.2 Hz, 2H), 2.95 (br d, J = 1.2 Hz, 1H), 2.28 - 2.08 (m, 7H), 2.02 (s, 3H), 1.83 (d, J = 1.6 Hz, 3H)。

实施例 25





步骤 1: 中间体 25-2 的合成

将化合物 **25-1** (9.80 g, 43.5 mmol) 溶于无水 DMF (98 mL), 然后加入对甲氧基氯苄 (8.17 g, 52.2 mmol), 碘化钾 (7.22 g, 43.5 mmol) 和碳酸钾 (15.0 g, 109 mmol)。在 50 °C 下反应 12 小时。向反应液倒入 50.0 mL 的水, 用乙酸乙酯 (150 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1) 纯化得到化合物 **25-2**。MS m/z = 345.6[M+H]⁺。

步骤 2: 中间体 25-3 的合成

将 2,2,6,6-四甲基哌啶 (21.3 g, 150 mmol) 溶于四氢呋喃 (130 mL) 氮气置换三次后, 降温至 -5 °C, 逐滴滴加正丁基锂 (2.50 M, 60.2 mL), 搅拌 0.5 小时。然后降温至 -60 °C, 加入化合物 **25-2** (13.0 g, 37.6 mmol), 搅拌 0.5 小时。然后在 -60 °C 加入 DMF (55.0 g, 752 mmol), 继续搅拌 0.5 小时。在 0 °C 下用 200 mL 的饱和氯化铵溶液淬灭反应, 乙酸乙酯萃取 (300 mL)。有机相用饱和食盐水 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 50:1) 纯化得到化合物 **25-3**。MS m/z = 373.28[M+H]⁺。

步骤 3: 中间体 25-4 的合成

将化合物 **25-3** (4.9 g, 13.12 mmol), 碘化亚铜 (5.00 g, 26.23 mmol), 2,2-二氟-2-氟磺酰乙酸甲酯 (9.57 g, 49.84 mmol) 溶于 DMF (50 mL) 中, 置换氮气 3 次, 在 110 °C 下反应 2.5 小时。将反应液冷却, 铺硅藻土过滤后, 向有机相中加入水 (100 mL), 用乙酸乙酯 (100 mL) 萃 1 次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤 6 次, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 20:1) 纯化得到化合物 **25-4**。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 10.29 (q, J = 4.25 Hz, 1 H), 7.35 (d, J = 8.63 Hz, 2 H), 7.21 (d, J = 7.25 Hz, 1 H), 7.00 - 6.90 (m, 2 H), 5.14 (s, 2 H), 3.84 (s, 3 H)。

步骤 4: 中间体 25-5 的合成

将 2,2,6,6-四甲基哌啶 (3.68 g, 26.02 mmol, 4.42 mL) 溶到 THF (30 mL) 中, 置换氮气 3 次, 将温度降至 -40 °C 后, 缓慢滴加正丁基锂 (2.5 M, 10.06 mL), 滴完之后, -40 °C 下反应 0.5 小时, 将反应体系降温至 -60 °C, 将 **3-8** (3.3 g, 8.67 mmol) 的 THF (10 mL) 溶液缓慢滴加至上述反应液中, 升温 -40 °C 下反应 15 分钟后, 将化

合物 **25-4** (3.77 g, 10.41 mmol) 分批加入到上述反应液中, 室温反应 2 小时。反应液用饱和氯化铵水溶液 (50 mL) 进行淬灭, 用乙酸乙酯 (50 mL) 萃取 2 次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤 2 次, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经加入石油醚和乙酸乙酯混合溶液 (20 mL) (石油醚: 乙酸乙酯 = 5:1) 搅拌 12 小时, 过滤收集固体得到化合物 **25-5**。

步骤 5: 中间体 **25-6** 的合成

将化合物 **25-5** (2.7 g, 3.63 mmol), 氰亚甲基磷酸三丁酯 (1.75 g, 7.27 mmol) 溶于甲苯 (27 mL), 置换氮气后, 110°C 反应 12 小时。向反应液中倒入 50 mL 氯化铵水溶液, 用乙酸乙酯 (50 mL) 萃取 2 次。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤 2 次, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1) 纯化得到化合物 **25-6**。MS $m/z = 725.3[M+H]^+$ 。

步骤 6: 中间体 **25-7** 的合成

将化合物 **25-6** (1.5 g, 2.07 mmol) 溶于无水 DCM (15.0 mL), 在 0°C 下分批加入间氯过氧苯甲酸 (461.92 mg, 2.28 mmol, 85% 纯度), 然后在室温下反应过夜。将反应液直接拌样, 经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 1:1) 纯化得到化合物 **25-7**。MS $m/z = 741.3[M+H]^+$ 。

步骤 7: 中间体 **25-8** 的合成

将化合物 **25-7** (1.9 g, 2.56 mmol) 溶于无水甲苯 (19 mL), 加入化合物 **1-2A** (816.20 mg, 5.13 mmol), 叔丁醇钠 (985.42 mg, 10.25 mmol) 和 4A 分子筛 (1 g), 置换氮气后在 100°C 下反应 12 小时。反应液减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 1:1) 纯化得到化合物 **25-8**。MS $m/z = 836.5[M+H]^+$ 。

步骤 8: 中间体 **25-9** 的合成

将化合物 **25-8** (1.50 g, 1.79 mmol) 溶于无水甲苯 (15 mL), 加入 1-丙炔基三正丁基锡 (2.36 g, 7.17 mmol) 和二氯双[二叔丁基-(4-二甲基氨基苯基)膦]铍(II) (381.01 mg, 538.09 μmol)。氮气置换 3 次后, 在氮气保护下 110°C 反应 12 小时。反应液冷却, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 1:1) 纯化得到化合物 **25-9**。MS $m/z = 840.3[M+H]^+$ 。

步骤 9: 化合物 **25** 的合成

将化合物 **25-9** (1.27 g, 1.51 mmol) 溶入二氯甲烷 (13 mL), 加入三氟乙酸 (3.99 g, 35.00 mmol), 20°C 下反应 3 小时。反应液用饱和碳酸氢钠水溶液调节 pH=7, 减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离 (柱子: Kromasil Eternity XT 250*80mm*10 μm ; 流动相: [水(0.1%氨水)-乙腈]; 乙腈: 10%-40% over 20 min)。冻干后得到化合物 **25**。MS $m/z = 620.4[M+H]^+$ 。

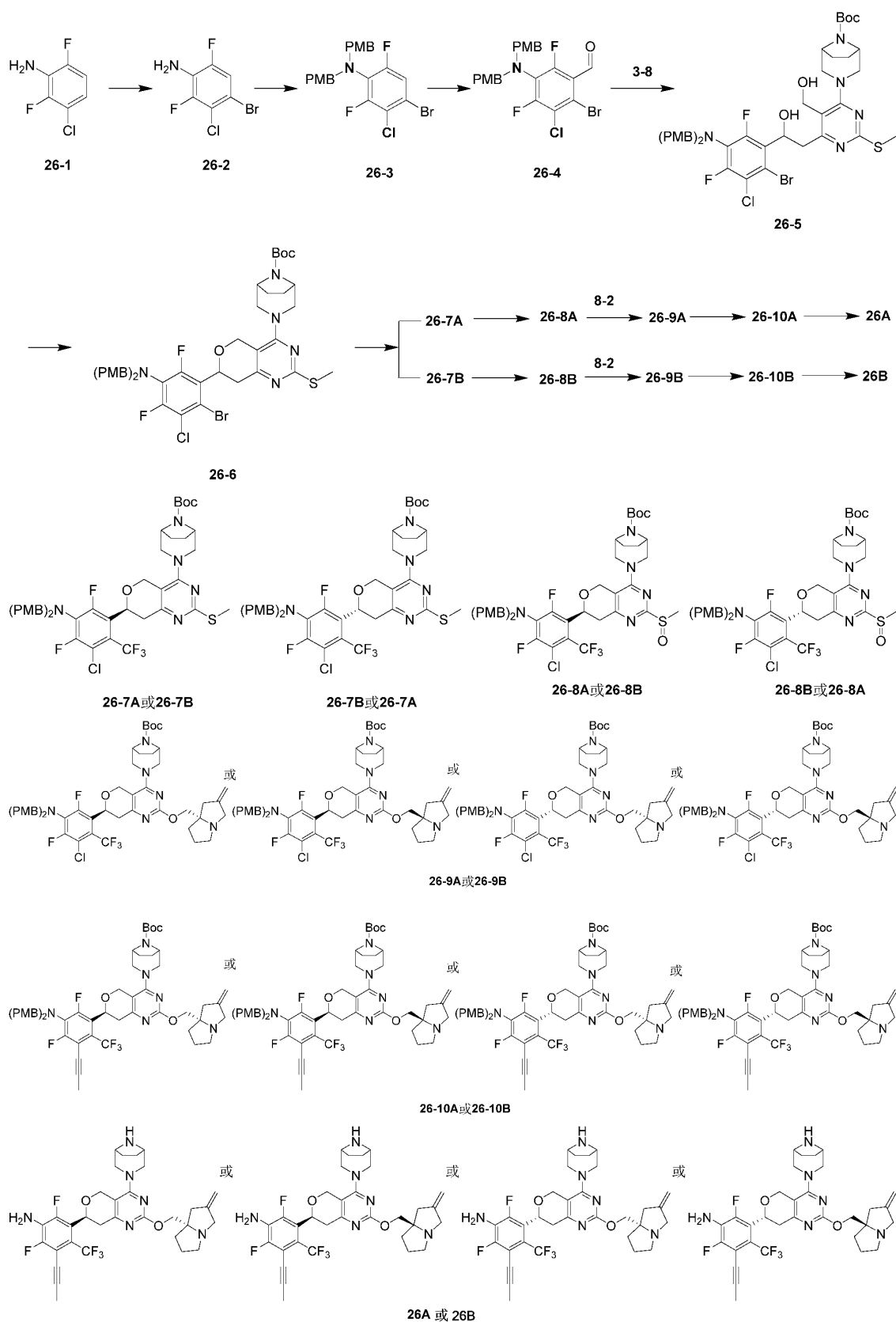
步骤 10: 化合物 **25A** 和 **25B** 的合成

化合物 **25** 经过 SFC 分离, (柱子: DAICEL CHIRALPAK IC(250mm*30mm, 10 μm); 流动相: [超临界 CO₂-乙醇(0.1%氨水)]; 乙醇(0.1%氨水): 50%-50%), 得到化合物 **25A** 和化合物 **25B**。

化合物 **25A**, 手性 SFC 分析 (色谱柱: ChiralPak IC-3(100mm*4.6mm, 3 μm); 流动相: [超临界 CO₂-乙醇(0.05%二乙胺)]; (乙醇(0.05%二乙胺)): 40%-40%), $R_t=0.695$ 分钟, ee 值 99%, MS $m/z = 620.2[M+H]^+$; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.07 (d, $J = 8.13$ Hz, 1 H), 5.30 - 5.04 (m, 2 H), 4.78 - 4.59 (m, 2 H), 4.13 - 3.89 (m, 3 H), 3.56 (br s, 2 H), 3.45 - 2.77 (m, 12 H), 2.29 - 2.05 (m, 3 H), 2.01 - 1.57 (m, 8 H)。

化合物 **25B**, 手性 SFC 分析 (色谱柱: ChiralPak IC-3(100mm*4.6mm, 3 μm); 流动相: [超临界 CO₂-乙醇(0.05%二乙胺)]; (乙醇(0.05%二乙胺)): 40%-40%), $R_t=1.229$ 分钟, ee 值 99%, MS $m/z = 620.2[M+H]^+$ 。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 9.44 - 8.91 (m, 2 H), 7.12 (br d, $J = 8.25$ Hz, 1 H), 5.68 - 5.45 (m, 1 H), 5.12 (br dd, $J = 10.88, 3.75$ Hz, 1 H), 4.95 - 4.63 (m, 2 H), 4.45 (s, 2 H), 4.31 - 4.01 (m, 3 H), 3.95 - 3.51 (m, 6 H), 3.39 - 3.09 (m, 3 H), 2.99 - 2.81 (m, 1 H), 2.54 (br d, $J = 4.38$ Hz, 1 H), 2.44 (br s, 1 H), 2.35 - 2.24 (m, 1 H), 2.23 - 2.06 (m, 4 H), 1.99 - 1.87 (m, 2 H), 1.87 - 1.72 (m, 1 H)。

实施例 26



步骤 1: 中间体 26-2 的合成

将化合物 **26-1** (5.00 g, 30.6 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (50.0 mL), 加入 NBS (6.53 g, 36.7 mmol)。室温下反应 1 小时。向反应液加入 50.0 mL 的水, 用二氯甲烷 (150 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (150 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 20:1) 纯化得到化合物 **26-2**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.14 (dd, *J* = 9.88, 2.25 Hz, 1 H) 3.60 - 4.02 (m, 2 H)。

步骤 2: 中间体 26-3 的合成

将化合物 **26-2** (5.60 g, 23.1 mmol) 和对甲氧基氯苄 (8.68 g, 55.4 mmol) 溶于无水 DMF (56.0 mL), 加入碘化钾 (3.83 g, 23.1 mmol) 和碳酸钾 (7.98 g, 57.7 mmol)。在 80 °C 反应 2 小时。向反应液倒入 100 mL 的水, 用乙酸乙酯 (150 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 20:1) 纯化得到化合物 **26-3**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.20 (d, *J* = 8.50 Hz, 4 H) 7.09 (dd, *J* = 10.38, 2.13 Hz, 1 H) 6.83 (d, *J* = 8.63 Hz, 4 H) 4.16 (s, 4 H) 3.80 (s, 6 H)。

步骤 3: 中间体 26-4 的合成

将 2,2,6,6-四甲基哌啶 (10.3 g, 73.2 mmol, 12.4 mL) 溶于四氢呋喃 (90.0 mL) 氮气置换三次后, 降温至 -5 °C, 逐滴滴加正丁基锂 (2.50 M, 29.3 mL), 搅拌 0.5 小时。然后降温至 -60 °C, 加入化合物 **26-3** (9.20 g, 18.3 mmol), 搅拌 1 小时。然后在 -60 °C 加入 DMF (26.8 g, 366 mmol), 继续搅拌 0.5 小时。在 0 °C 下加入 100 mL 的饱和氯化铵溶液, 使用乙酸乙酯萃取 (300 mL)。有机相用饱和食盐水 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 30:1) 纯化得到化合物 **26-4**。MS *m/z* = 510.8[M+H]⁺。

步骤 4: 中间体 26-5 的合成

将 2,2,6,6-四甲基哌啶 (3.56 g, 25.2 mmol, 4.28 mL) 溶于四氢呋喃 (50.0 mL) 氮气置换三次后, 降温至 -40 °C, 逐滴滴加正丁基锂 (2.5 M, 9.76 mL), 搅拌 0.5 小时。然后降温至 -60 °C, 加入化合物 **3-8** (3.20 g, 8.41 mmol), 搅拌 15 分钟。然后在 -60 °C 加入化合物 **26-4** (5.37 g, 10.1 mmol)。在室温下继续搅拌 0.5 小时。在 25 °C 下加入 100 mL 的饱和氯化铵溶液, 使用乙酸乙酯萃取 (300 mL)。有机相用饱和食盐水 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品进行高效液相色谱分离 (柱子: Phenomenex luna C18 (250*70mm, 10 μm); 流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈]; 乙腈: 80%-100% over 20 min)。冻干后得到化合物 **26-5**。

步骤 5: 中间体 26-6 的合成

将化合物 **26-5** (2.20 g, 2.47 mmol) 和氰亚甲基磷酸三丁酯 (1.19 g, 4.94 mmol) 溶于无水甲苯 (20.0 mL), 在氮气保护下, 110 °C 下反应 12 小时。反应液减压浓缩得到粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 5:1) 纯化得到化合物 **26-6**。

步骤 6: 中间体 26-7A 和 26-7B 的合成

将化合物 **26-6** (1.10 g, 1.26 mmol) 和氟磺酰二氟乙酸甲酯 (919.60 mg, 4.79 mmol) 溶于无水 DMF (10.0 mL), 然后加入碘化亚铜 (480 mg, 2.52 mmol)。在 110 °C 下反应 2.5 小时。在 25 °C 下加入 50.0 mL 的水, 使用乙酸乙酯萃取 (150 mL)。有机相用饱和食盐水 (150 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯 = 5:1) 纯化得到化合物 **26-7**。后经制备 SFC 分离 (手性柱: DAICEL CHIRALCEL OD (250mm*30mm, 10 μm); 流动相: 超临界 CO₂-乙醇 (0.1% 氨水); 乙醇%: 40%-40%) 纯化得到化合物 **26-7A** 和化合物 **26-7B**。手性 SFC 分析 (色谱柱: (S,S)Whelk-O1 50*4.6mm I.D., 3.5 μm; 流动相: [超临界 CO₂-乙醇 (0.05% 二乙胺)]; (乙醇 (0.05% 二乙胺))%: 50%-50%), 化合物 **26-7A**, *R*_t = 1.791 分钟, *ee* 值 99%, MS *m/z* = 862.3[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7.15 (d, *J* = 8.50 Hz, 4 H), 6.85 (d, *J* = 8.63 Hz, 4 H), 5.21 - 5.09 (m, 1 H), 4.70 (s, 2 H), 4.21 (s, 6 H), 3.81 (s, 6 H), 3.57 - 2.97 (m, 5 H), 2.54 (s, 3 H), 1.96 (br

s, 3 H), 1.66 (br d, $J = 5.88$ Hz, 1 H), 1.50 (s, 10 H)。化合物 **26-7B**, $R_t=2.166$ 分钟, ee 值 99%, MS $m/z = 862.3[M+H]^+$ 。

步骤 7: 中间体 **26-8A** 和 **26-8B** 的合成

将化合物 **26-7A** (170 mg, 197 μmol) 溶于无水二氯甲烷 (2.00 mL), 加入间氯过氧苯甲酸(44.0 mg, 217 μmol , 85% 纯度)。室温下反应 2 小时, 用二氯甲烷 (60.0 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (60.0 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品经柱层析(石油醚: 乙酸乙酯 = 2:1) 纯化得到化合物 **26-8A**。MS $m/z = 878.2[M+H]^+$ 。

参考步骤 7, 使用 **26-7B** 为原料, 得到化合物 **26-8B**。MS $m/z = 878.2[M+H]^+$

步骤 8: 中间体 **26-9A** 和 **26-9B** 的甲酸盐合成

将化合物 **26-8A**(150 mg, 171 μmol)溶于无水甲苯 (2.00 mL), 加入叔丁醇钠 (131 mg, 1.37 mmol), 化合物 **8-2** (52.3 mg, 342 μmol)和分子筛(70.0 mg)。在 100°C 反应 12 小时。向反应液倒入 60.0 mL 的饱和氯化铵水溶液, 用乙酸乙酯 (50.0 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (60.0 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 减压浓缩得粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex luna C18 150*25mm* 10 μm ;流动相: [水(0.225%甲酸)-乙腈];乙腈: 40%-70%)。冻干后得到化合物 **26-9A** 的甲酸盐。MS $m/z = 967.3[M+H]^+$ 。

参考步骤 8, 使用 **26-8B** 为原料, 得到化合物 **26-9B** 的甲酸盐。MS $m/z = 967.3[M+H]^+$ 。

步骤 9: 中间体 **26-10A** 和 **26-10B** 的合成

将化合物 **26-9A** 的甲酸盐 (20.0 mg)溶于无水甲苯 (1.00 mL), 加入 1-丙炔基三正丁基锡 (27.2 mg, 82.7 μmol)和二氯双[$(\text{叔丁基})-(4-(\text{二甲基氨基苯基})\text{膦})\text{钼(II)}$] (4.39 mg, 6.20 μmol)。氮气置换 3 次后, 在氮气保护下 110°C 反应 12 小时。减压浓缩甲苯, 加入 2.00 mL 乙酸乙酯, 经制备薄层色谱法纯化得到化合物 **26-10A**。MS $m/z = 971.3[M+H]^+$ 。

参考步骤 9, 使用 **26-9B** 的甲酸盐为原料, 得到化合物 **26-10B**。MS $m/z = 971.3[M+H]^+$ 。

步骤 10: 化合物 **26A** 和 **26B** 的三氟乙酸盐合成

将化合物 **26-10A**(40.0 mg, 41.2 μmol)溶入二氯甲烷(1.00 mL), 加入三氟乙酸 (307 mg, 2.69 mmol), 25°C 下反应 12 小时。向反应液中加入 3.00 mL 饱和碳酸钠溶液, 减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex Luna C18 150*25mm*10 μm ;流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈];乙腈:15%-45%)。冻干后得到 **26A** 的三氟乙酸盐。MS $m/z = 631.3[M+H]^+$ 。 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 5.31 (br d, $J = 7.88$ Hz, 3 H), 4.84 - 4.83 (m, 2 H), 4.77 - 4.71 (m, 1 H), 4.58 (br s, 2 H), 4.43 - 4.31 (m, 2 H), 4.23 - 4.13 (m, 2 H), 3.98 - 3.64 (m, 4 H), 3.36 (br s, 1 H), 3.25 (br d, $J = 2.88$ Hz, 1 H), 3.09 - 2.91 (m, 2 H), 2.79 (br d, $J = 16.01$ Hz, 1 H), 2.44 - 2.34 (m, 1 H), 2.32 - 2.20 (m, 4 H), 2.18 - 2.05 (m, 5 H), 2.02 - 1.90 (m, 1 H)。

将化合物 **26-10B**(46.0 mg, 47.4 μmol)溶入二氯甲烷(1.00 mL), 加入三氟乙酸 (307 mg, 2.69 mmol), 25°C 下反应 12 小时。反应液减压浓缩得到粗品。粗品进行高效液相色谱分离(柱子: Phenomenex Luna C18 150*25mm*10 μm ;流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈];乙腈:15%-45%)。冻干后得到 **26B** 的三氟乙酸盐。MS $m/z = 631.3[M+H]^+$ 。 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 5.34 - 5.16 (m, 3 H), 4.88 (br s, 2 H), 4.77 - 4.71 (m, 1 H), 4.56 (s, 2 H), 4.34 (br d, $J = 14.26$ Hz, 2 H), 4.20 - 4.10 (m, 2 H), 3.92 (br d, $J = 14.63$ Hz, 1 H), 3.86 - 3.63 (m, 3 H), 3.27 - 3.21 (m, 1 H), 3.08 - 2.89 (m, 3 H), 2.79 (br d, $J = 15.76$ Hz, 1 H), 2.36 (br dd, $J = 11.88, 6.38$ Hz, 1 H), 2.30 - 2.10 (m, 7 H), 2.09 (s, 3 H)。

生物测试数据

实验例 1. GP2D 细胞 p-ERK 抑制测试

1. 目的

通过 HTRF 的方法, 筛选出能有效抑制 KRAS^{G12D} 突变的 GP2D 细胞 p-ERK 的化合物。

2. 实验流程

- 1). GP2D 细胞种于透明 96 孔细胞培养板中，80 μ L 细胞悬液每孔，每孔包含 8000 个细胞，细胞板放入二氧化碳培养箱，37 度过夜孵育；
- 2). 取 2 μ L 化合物加入 78 μ L 细胞培养基，混匀后，取 20 μ L 化合物溶液加入到对应细胞板孔中，细胞板放回二氧化碳培养箱继续孵育 1 小时；
- 3). 结束孵育后，弃掉细胞上清加入 50 μ L 1X 细胞裂解液每孔，室温摇晃孵育 30 分钟；
- 4). 使用 detection buffer 将 Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 和 Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释 20 倍；
- 5). 取 16 μ L 细胞裂解物上清每孔到新的 384 白色微孔板中，再加入 2 μ L Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 稀释液和 2 μ L Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释液，常温孵育至少 4 小时；
- 6). 孵育结束后使用多标记分析仪读取 HTRF excitation:320nm, emission:615nm, 665nm；
- 7). 计算待测化合物 IC₅₀。

3 实验结果

结果见表 5。

表 5 化合物对 GP2D 细胞 p-ERK 抑制的 IC₅₀ 值

化合物编号	GP2D p-ERK IC ₅₀ (nM)
化合物 1B	0.76

实验结论：本发明化合物具有显著的 KRAS^{G12D} 突变 GP2D 细胞 p-ERK 抑制作用。

实验例 2. AGS 细胞 p-ERK 抑制测试

1. 目的

通过 HTRF 的方法，筛选出能有效抑制 KRAS^{G12D} 突变 AGS 细胞 p-ERK 的化合物。

2. 实验流程

- 1). AGS 细胞种于透明 96 孔细胞培养板中，80 μ L 细胞悬液每孔，每孔包含 10000 个细胞，细胞板放入二氧化碳培养箱，37 度过夜孵育；
- 2). 结束孵育后，弃掉细胞上清，加入 80 μ L 每孔的培养基，培养基含 0.02%血清，细胞板放入二氧化碳培养箱，37 度过夜孵育；
- 3). 取 2 μ L 化合物加入 78 μ L 细胞培养基，混匀后，取 20 μ L 化合物溶液加入到对应细胞板孔中，细胞板放回二氧化碳培养箱继续孵育 3 小时；
- 4). 结束孵育后，弃掉细胞上清加入 50 μ L 1X 细胞裂解液每孔，室温摇晃孵育 30 分钟；
- 5). 使用 detection buffer 将 Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 和 Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释 20 倍；
- 6). 取 16 μ L 细胞裂解物上清每孔到新的 384 白色微孔板中，再加入 2 μ L Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 稀释液和 2 μ L Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释液，常温孵育至少 4 小时；
- 7). 孵育结束后使用多标记分析仪读取 HTRF excitation:320nm, emission:615nm, 665nm；
- 8). 计算待测化合物 IC₅₀。

3 实验结果

结果见表 6。

表 6 化合物对 AGS 细胞 p-ERK 抑制的 IC₅₀ 值

化合物编号	AGS p-ERK IC ₅₀ (nM)
-------	---------------------------------

化合物 3 的盐酸盐	64.6
------------	------

实验结论：本发明化合物具有显著的 KRAS^{G12D} 突变 AGS 细胞 p-ERK 抑制作用。

实验例 3. AsPC-1 细胞 p-ERK 抑制测试

1. 目的

通过 HTRF 的方法，筛选出能有效抑制 KRAS^{G12D} 突变 AsPC-1 细胞 p-ERK 的化合物。

2. 实验材料：

ASPC-1 细胞购自普诺赛；RPMI-1640 培养基购自 VivaCell；胎牛血清购自 Biosera；Advanced Phospho-ERK1/2(THR202/TYR204) KIT 购自 Cisbio。

表 7. Advanced Phospho-ERK1/2(THR202/TYR204) KIT 成分表

成分名称	储存温度
Advanced PhosphoERK1/2 Eu Cryptate antibody	≤-16° C
Advanced PhosphoERK1/2 d2 antibody	≤-16° C
Blocking reagent (stock solution 100X)	≤-16° C
Lysis buffer # 1 (stock solution 4X)	≤-16° C
Detection buffer (ready-to-use)	≤-16° C

3. 实验方法：

- ASPC-1 细胞种于透明 96 孔细胞培养板中，80 μL 细胞悬液每孔，每孔包含 8000 个细胞，细胞板放入二氧化碳培养箱，37 度过夜孵育；
- 结束孵育后弃掉上清，加入 80 μL 每孔 1640 空白培养基饥饿过夜；
- 将待测化合物用 100%DMSO 稀释到 2 mM 作为第一个浓度，然后再用移液器进行 5 倍稀释至第 8 个浓度，即从 2 mM 稀释至 25.6 nM。取 2 μL 化合物加入 78 μL 细胞饥饿培养基，混匀后，取 20 μL 化合物溶液加入到对应细胞板孔中，细胞板放回二氧化碳培养箱继续孵育 1 小时，此时化合物浓度为 10 μM 至 0.128 nM，DMSO 浓度为 0.5%；
- 结束孵育后，弃掉细胞上清加入 50 μL 细胞裂解液每孔，室温摇晃孵育 30 分钟；
- 使用 Detection buffer 将 Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 和 Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释 20 倍；
- 取 16 μL 细胞裂解物上清每孔到新的 384 白色微孔板中，再加入 2 μL Phospho-ERK1/2 Eu Cryptate antibody 稀释液和 2 μL Phospho-ERK1/2 d2 antibody 稀释液，常温孵育 4 小时；
- 孵育结束后使用多标记分析仪读取 HTRF excitation:320nm, emission:615nm, 665nm。

4. 数据分析：

利用方程式 $(\text{Sample-Min})/(\text{Max-Min}) \times 100\%$ 将原始数据换算成抑制率，IC₅₀ 的值即可通过四参数进行曲线拟合得出（GraphPad Prism 中 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope 模式得出）。表 1 提供了本发明的化合物对 p-ERK 的抑制作用。

Max 孔：阳性对照孔读值为 1X 裂解液

Min 孔：阴性对照孔读值为 0.5%DMSO 细胞孔细胞裂解液

5 实验结果

结果见表 8。

表 8 化合物对 AsPC-1 细胞 p-ERK 抑制的 IC₅₀ 值

化合物编号	AsPC-1 p-ERK IC ₅₀ (nM)
化合物 1B	12.3
化合物 6	21.9
化合物 7 的盐酸盐	3.2
化合物 8 的盐酸盐	0.6
化合物 9 的盐酸盐	35.9
化合物 10 的盐酸盐	1.1
化合物 11 的甲酸盐	0.9

实验结论：本发明化合物在 KRAS^{G12D} 突变 AsPC-1 细胞对具有显著的抑制作用。

实验例 4. AsPC-1 细胞 p-ERK 抑制测试

1. 目的

通过 In cell western 的方法，筛选出能有效抑制 KRAS^{G12D} 突变 AsPC-1 细胞 p-ERK 的化合物。

2. 实验材料：

ASPC-1 细胞购 ATCC；RPMI-1640 培养基购自 ATCC；胎牛血清购自 Ausgenex；Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) (D13.14.4E) XP[®] Rabbit mAb 购自 CST，GAPDH(D4C6R) Mouse mAb 购自 CST，IRDye 680RD Goat anti Mouse IgG (H+L)购自 LI-COR，IRDye 800CW Goat anti-Rabbit IgG (H+L)购自 LI-COR。

3. 实验方法：

- 13) ASPC-1 细胞种于黑色底部透明 384 孔细胞培养板中，40 μ L 细胞悬液每孔，每孔包含 6000 个细胞，细胞板放入二氧化碳培养箱，37 摄氏度过夜孵育；
- 14) 将待测化合物用 100%DMSO 稀释到 10 mM 作为第一个浓度，然后再用移液器进行 3 倍稀释至第 9 个浓度，即从 10 mM 稀释至 1.52 μ M。使用 ECHO 仪器，转移 40 nL 化合物加入细胞板中，低速离心，细胞板放回二氧化碳培养箱继续孵育 1 小时，此时化合物浓度为 10 μ M 至 1.52 nM，DMSO 浓度为 0.1%；
- 15) 结束孵育后，每孔加入 40 μ L 8%的多聚甲醛固定液，室温静止 20 分钟；
- 16) 使用 PBS 缓冲液洗涤两遍；每孔加入 40 μ L 预冷的甲醇溶液；使用 PBS 缓冲液洗涤两遍；每孔加入 20 μ L 的封闭液，室温静置 60 分钟；
- 17) 移除封闭液，每孔加入 20 μ L 的一抗抗体混合液（Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) (D13.14.4E) XP[®] Rabbit mAb 稀释 1000 倍，GAPDH(D4C6R) Mouse mAb 稀释 2000 倍），4 摄氏度过夜孵育；
- 18) 移除一抗混合液，使用 PBS 缓冲液洗涤三遍；每孔加入 20 μ L 的二抗抗体混合液（IRDye 800CW Goat anti-Rabbit IgG (H+L) 稀释 2000 倍，IRDye 680RD Goat anti Mouse IgG (H+L)稀释 2000 倍），室温避光孵育 60 分钟；
- 19) 移除一抗混合液，使用 PBS 缓冲液洗涤三遍，1000 转每分钟，倒置离心 1 分钟，使用 Odyssey CLx 仪器扫描板子。

4. 数据分析：

利用方程式（800 通道荧光总值/700 通道荧光总值）计算出相对表达量，再利用方程式(Max-

Sample)/(Max-Min)*100%将原始数据换算成抑制率，IC₅₀ 的值即可通过四参数进行曲线拟合得出（Excel 中插件 XLfit 中 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope 模式得出）。

Max 孔：阳性对照孔为阳性药最高浓度

Min 孔：阴性对照孔读值为 0.1%DMSO 细胞孔

5 实验结果

结果见表 9。

表 9 化合物对 AsPC-1 细胞 p-ERK 抑制的 IC₅₀ 值

化合物编号	AsPC-1 p-ERK IC ₅₀ (nM)
化合物 12A 的三氟乙酸盐	15.0
化合物 13A 的三氟乙酸盐	4.2
化合物 15 的三氟乙酸盐	5.6
化合物 18 的盐酸盐	10.1
化合物 19 的盐酸盐	2.5
化合物 20 的盐酸盐	1.3

实验结论：本发明化合物具有显著的 KRAS^{G12D} 突变 AsPC-1 细胞 p-ERK 抑制作用。

实验例 5. 化合物在肿瘤细胞系 AsPC-1 中的抗细胞增殖作用

研究目的

本实验通过检测化合物在 KRAS^{G12D} 突变的肿瘤细胞系 AsPC-1 中对体外细胞活性的影响而研究化合物抑制细胞增殖的作用。

实验材料

细胞系：AsPC-1；肿瘤类型：胰腺癌；生长特点：贴壁生长；培养方法：RPMI 1640 + 10% FBS

Ultra Low Cluster-96 孔板（Corning-7007）

Greiner CELLSTAR 96-孔板（# 655090）

Promega CellTiter-Glo 3D 发光法细胞活性检测试剂盒（Promega-G9683）

2104-10 EnVision 读板器，PerkinElmer

RPMI 1640，DMEM，PBS（磷酸盐缓冲溶液），FBS（胎牛血清），Antibiotic-antimycotic（抗生素-抗真菌药），L-glutamine（L-谷氨酰胺），DMSO（二甲基亚砜）

实验方法及步骤

细胞培养

将肿瘤细胞系按培养方法所示的培养条件在 37°C，5% CO₂ 的培养箱中进行培养。定期传代，取处于对数生长期的细胞用于铺板。

细胞铺板

用台盼兰进行细胞染色并计数活细胞。

将细胞浓度调整至合适浓度。

细胞系：AsPC-1；**密度（每孔）：**7000 个细胞。

在 ULA 培养板中每孔加入 135 μL 细胞悬液，在空白对照空中加入同样体积且不含细胞的培养液。

铺板后，立刻在室温条件下将 ULA 培养板离心 10 分钟，离心条件 1000rpm。注意：在离心后，务必

小心处理后续操作，不要造成不必要的震荡。

将培养板在 37°C, 5% CO₂, 及 100% 相对湿度的培养箱中培养过夜。

10X 化合物工作液的配制及化合物处理细胞（第一天）

配制好 10X 化合物工作液（DMSO 10X 工作液）后，分别向 ULA 培养板内加入 15 μL 的 10X 化合物工作液，在溶媒对照和空白对照中加入 15 μL DMSO-细胞培养液混合液。

将 96 孔细胞板放回培养箱中培养 120 小时。

每天观察细胞成球情况直至实验终点。

CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测（第五天）

以下步骤按照 Promega CellTiter-Glo 3D 发光法细胞活性检测试剂盒（Promega # G9683）的说明书来进行。

在每孔中加入 150 μL（等于每孔中细胞培养液体积）的 CellTiter-Glo 3D 试剂。用铝箔纸包裹细胞板以避光。

将培养板在轨道摇床上振摇 5 分钟。

小心的用移液管上下吹打 10 次，混匀空内混合物。在继续下一步之前需确保细胞球体充分被分离。

然后将 ULA 培养板内的溶液转移至黑底培养板（#655090）中，在室温放置 25 分钟以稳定发光信号。

在 2104 EnVision 读板器上检测发光信号。

数据分析

用下列公式来计算检测化合物的抑制率（Inhibition rate, IR）： $IR(\%) = (1 - (RLU_{\text{化合物}} - RLU_{\text{空白对照}}) / (RLU_{\text{溶媒对照}} - RLU_{\text{空白对照}})) * 100\%$ 。在 Excel 中计算不同浓度化合物的抑制率，然后用 GraphPad Prism 软件作抑制曲线图和计算相关参数，包括最小抑制率，最大抑制率及 IC₅₀。

实验结果

结果见表 10。

表 10 化合物对 KRAS^{G12D} 突变细胞 AsPC-1 抑制的 IC₅₀ 值

化合物编号	KRAS ^{G12D} AsPC-1 IC ₅₀ (nM)
化合物 1B	74.6
化合物 6	94.6
化合物 7 的盐酸盐	37.7

实验结论：本发明化合物对 KRAS^{G12D} 突变细胞 AsPC-1 显示了优异的抗增殖作用。

实验例 6. 化合物在肿瘤细胞系 AsPC-1 中的抗细胞增殖作用

1. 目的

通过 3D-CTG 的方法，验证化合物在 KRAS^{G12D} 突变的肿瘤细胞系 AsPC-1 中的抗细胞增殖的作用。

2. 实验材料：

ASPC-1 细胞购自 ATCC；RPMI-1640 培养基购自 ATCC；胎牛血清购自 Ausgenex；CellTiter-Glo® 3D assay kit (3D-CTG) 购自 Promega；CellCarrier-96 Spheroid ULA /CS 购自 PE。

3. 实验方法：

- 20) ASPC-1 细胞种于透明 96 孔细胞培养板中，195 μL 细胞悬液每孔，每孔包含 2000 个细胞；
- 21) 将待测化合物用 100%DMSO 稀释到 10 mM 作为第一个浓度，然后再用移液器进行 5 倍稀释至第 8 个浓度，即从 10 mM 稀释至 0.13 μM。取 2 μL 梯度稀释后的化合物加入 48 μL 细胞培养基中进行二次稀释，混匀后，取 5 μL 二次稀释后化合物加入到对应 195 μL 的细胞板孔中，细胞板放回二氧化碳培养

- 箱孵育 7 天，此时化合物浓度为 10 μM 至 0.128 nM，DMSO 浓度为 0.1%；
- 22) 结束孵育后，弃掉 100 μL 细胞上清，并加入 60 μL 3D-CTG 每孔，室温 200 rpm 震荡孵育 20 分钟；并放入孵箱，室温孵育 1 h。
- 23) 吸取 100μL 孔板中的上清转移至 96 孔黑色底透板中，在 BMG 中读取 luminescence。

4. 数据分析：

利用方程式 $\text{Inhibition\%} = (\text{Ave_H-Sample}) / (\text{Ave_H-Ave_L})$ 将原始数据换算成抑制率，IC₅₀ 的值即可通过四参数进行曲线拟合得出（GraphPad Prism 中 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope 模式得出）。

H 孔: DMSO 孔的读值

L 孔: Medium 的读值

5 实验结果

结果见表 11。

表 11 化合物对 KRAS^{G12D} 突变细胞 AsPC-1 抑制的 IC₅₀ 值

化合物编号	KRAS ^{G12D} AsPC-1 IC ₅₀ (nM)
化合物 8 的盐酸盐	9.0
化合物 16 的三氟乙酸盐	18.6
化合物 20 的盐酸盐	9.6

实验结论：本发明化合物对 KRAS^{G12D} 突变细胞 AsPC-1 显示了优异的抗增殖作用。

实验例 7. CD-1 小鼠口服及静脉注射受试化合物的药代动力学研究

实验目的

测试 CD-1 小鼠口服及静脉注射化合物的体内药代动力学。

实验步骤

受试化合物与 5%DMSO+95%(10%HP-β-CD)水溶液混合，涡旋并超声，制备得到 0.5 mg/mL 澄清溶液（静脉）或 3 mg/mL 澄清溶液（口服），微孔滤膜过滤后备用。选取 7 至 10 周龄的雄性 CD-1 小鼠，静脉注射给予候选化合物溶液。口服给予候选化合物溶液。收集一定时间的全血，制备得到血浆，以 LC-MS/MS 方法分析药物浓度，并用 Phoenix WinNonlin 软件(美国 Pharsight 公司)计算药代参数。

实验结果

表12. 静脉(IV) PK数据

供试品	化合物8的盐酸盐
给药剂量(mg/kg)	2.22
C ₀ (nM)	1704
T _{1/2} (h)	12.6
V _d (L/kg)	52.9
Cl (mL/Kg/min)	76
AUC _{0-last} (nM.h)	598

表13. 口服(PO) PK数据

供试品	化合物8的盐酸盐
给药剂量(mg/kg)	101
C _{max} (nM)	4410
T _{max}	1
T _{1/2} (h)	7.26
AUC _{0-last} (nM.h)	9977
F	36.7%

实验结论

本发明化合物在小鼠体内的半衰期长，暴露量高，且具有良好的口服生物利用度，药代动力学性质良好。

实验例 8. 体内药效学研究

实验方法:

建立人结肠癌GP2D细胞皮下异种移植肿瘤Balb/c nude小鼠模型，将0.2 mL (2×10⁶个) GP2D细胞（加基质胶，体积比为1:1）皮下接种于每只小鼠的右后背，当肿瘤平均体积达到140 mm³时开始分组给药，每组6只。实验当天动物按组别给予相对应的药物。第一组G1设阴性对照组，单独灌胃给予5%DMSO+95%(10%HP-β-CD)，第二组G2-第四组G4给予给化合物8的盐酸盐，给药剂量和方案如表14所示。

表14 受试物对人弥漫大B淋巴瘤TMD8小鼠移植瘤的药效研究

组别	动物数量	受试物	剂量 (mg/kg)	给药体积 (mL/kg)	给药途径和给药频率
G1	6	阴性对照物	(N/A)	(N/A)	PO,BID*28
G2	6	化合物 8 的盐酸盐	50	10	PO,QD*28
G3	6	化合物 8 的盐酸盐	100	10	PO,QD*28
G4	6	化合物 8 的盐酸盐	200	10	PO,QD*28

注：PO表示口服，QD表示每日一次，BID表示每日一次。

实验期间每周测定2次动物的体重和肿瘤的大小，同时每天观察并记录动物的临床症状，每次给药均参考最近一次称量的动物体重。

肿瘤的计算用数显游标卡尺来测定长(a)和宽(b)，肿瘤体积(Tumor volume, TV)的计算公式为：
 $TV=a \times b^2/2$ 。

实验结果:

化合物 8 的盐酸盐对人结肠癌 GP2D 小鼠异种移植瘤有显著的抑制作用，给药 28 天后，第二组 G2 (50 mg/kg, PO, QD) 在第 28 天时，肿瘤体积抑制率 TGI (%)为 47.0%；第三组 G3 (100 mg/kg, PO, QD) 和第四组 G4 (200 mg/kg, PO, QD) 在第 28 天时，肿瘤体积抑制率 TGI (%)分别为 75.9%和 94.7%；详细结果如表 15 所示。

表 15 受试物在人结肠癌 GP2D 小鼠异种移植瘤模型中对动物肿瘤大小的影响

组别	动物数	受试物	给药频率	剂量 mg/kg	肿瘤体积抑制率 TGI (%)
G1	6	阴性对照物	PO,BID*28	NA	N/A

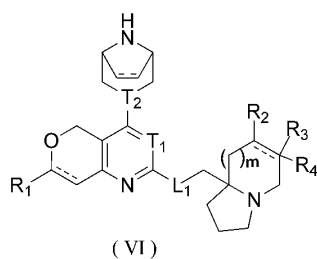
G2	6	化合物 8 的盐酸盐	PO,QD*28	50	47.0
G3	6	化合物 8 的盐酸盐	PO,QD*28	100	75.9
G4	6	化合物 8 的盐酸盐	PO,QD*28	200	94.7

注：N/A 表示未检测。

实验结论：在体内药效方面，本发明化合物在 GP2D 细胞系中表现出良好的抑制肿瘤作用，存在明显的剂量相关性。

权 利 要 求

1. 式 (VI) 所示化合物或其药学上可接受的盐,



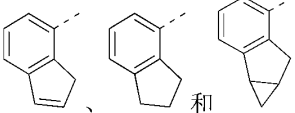
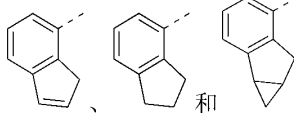
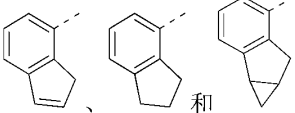
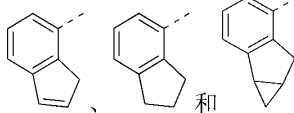
其中,

$\diagup$ 选自单键或双键;

T₁ 选自 CR_a 和 N;

T₂ 选自 CH 和 N;

L₁ 选自 O 和 S;

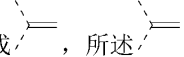
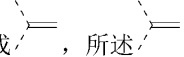
R₁ 选自苯基、萘基、 和 , 所述苯基、萘基、 和  分别独立地任选被 1、2、3、4 或 5 个 R_b 取代;

R₂ 选自 H;

R₃ 选自 H、F、CN、CH₃ 和 OCH₃, 所述 CH₃ 和 OCH₃ 任选被 1、2 或 3 个卤素取代;

或者, R₂ 和 R₃ 与相连的原子形成苯基或 5-6 元杂芳基, 所述苯基或 5-6 元杂芳基任选被 1、2 或 3 个卤素取代;

R₄ 不存在, 或选自 H、CH₃ 和 -CH=CH₂, 所述 CH₃ 和 -CH=CH₂ 任选被 1、2 或 3 个卤素取代;

或者, R₃ 和 R₄ 与相连的原子形成 , 所述  任选被 1 或 2 个 R_c 取代;

或者, R₃ 和 R₄ 与相连的原子形成环丙基, 所述环丙基任选被 1、2 或 3 个卤素取代;

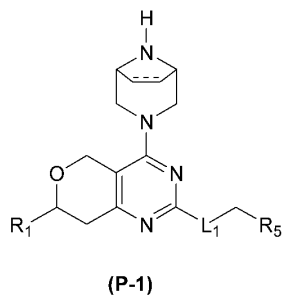
R_a 选自 H 和 CN;

各 R_b 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 炔基-环丙基、C₂₋₃ 烯基、-C(=O)C₁₋₃ 烷基和 C₃₋₅ 环烷基, 所述 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 炔基-环丙基、C₂₋₃ 烯基、-C(=O)C₁₋₃ 烷基和 C₃₋₅ 环烷基任选被 1、2、3、4 或 5 个卤素取代;

各 R_c 分别独立地选自 F、Cl、Br、I、CN、CH₃ 和 OCH₃;

m 选自 0 或 1。

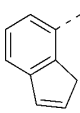
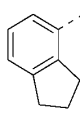
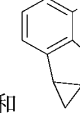
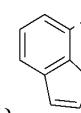
2. 式 (P-1) 所示化合物或其药学上可接受的盐,

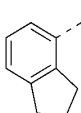
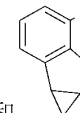
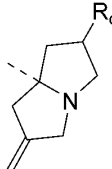
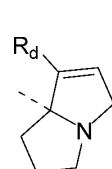
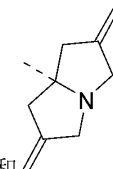


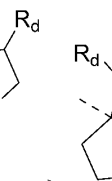
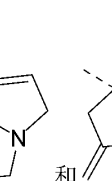
其中,

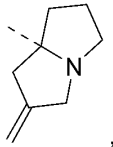
$\diagup$ 选自单键或双键;

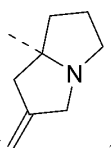
L_1 选自 O 和 S;

R_1 选自苯基、萘基、5-10 元杂芳基、、 和 , 所述苯基、萘基、5-10 元杂芳基、、

 和  分别独立地任选被 1、2、3、4 或 5 个 R_b 取代, R_5 选自 、 和 ,

所述 、 和  分别独立地任选被 1、2、3、4 或 5 个 R_d 取代;

或者, R_1 选自 5-10 元杂芳基, 所述 5-10 元杂芳基任选被 1、2、3、4 或 5 个 R_b 取代, R_5 选自 ,

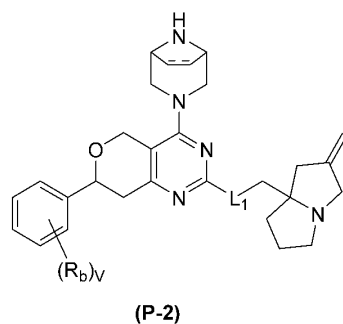
所述  任选被 1、2、3、4 或 5 个 R_d 取代;

各 R_b 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 炔基-环丙基、C₂₋₃ 烯基、-C(=O)C₁₋₃ 烷基和 C₃₋₅ 环烷基, 所述 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 炔基-环丙基、C₂₋₃ 烯基、-C(=O)C₁₋₃ 烷基和 C₃₋₅ 环烷基任选被 1、2、3、4 或 5 个 R 取代;

各 R_d 分别独立地选自 F、Cl、Br、I、CN、CH₃ 和 OCH₃;

各 R 分别独立地选自卤素和 D。

3. 式 (P-2) 所示化合物或其药学上可接受的盐:



其中,

$\diagup$ 选自单键或双键;

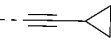
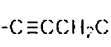
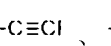
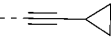
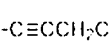
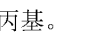
L₁ 选自 O 和 S;

各 R_b 分别独立地选自 F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 炔基-环丙基、C₂₋₃ 烯基、-C(=O)C₁₋₃ 烷基和 C₃₋₅ 环烷基, 所述 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 炔基-环丙基、C₂₋₃ 烯基、-C(=O)C₁₋₃ 烷基和 C₃₋₅ 环烷基任选被 1、2、3、4 或 5 个 R 取代;

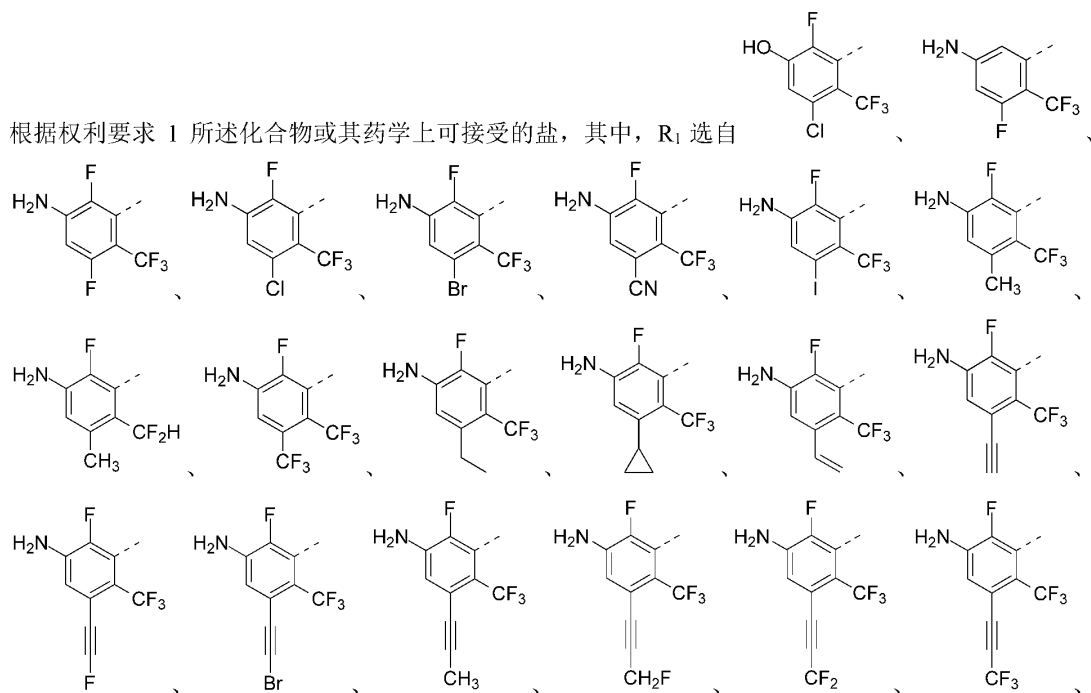
各 R 分别独立地选自卤素和 D;

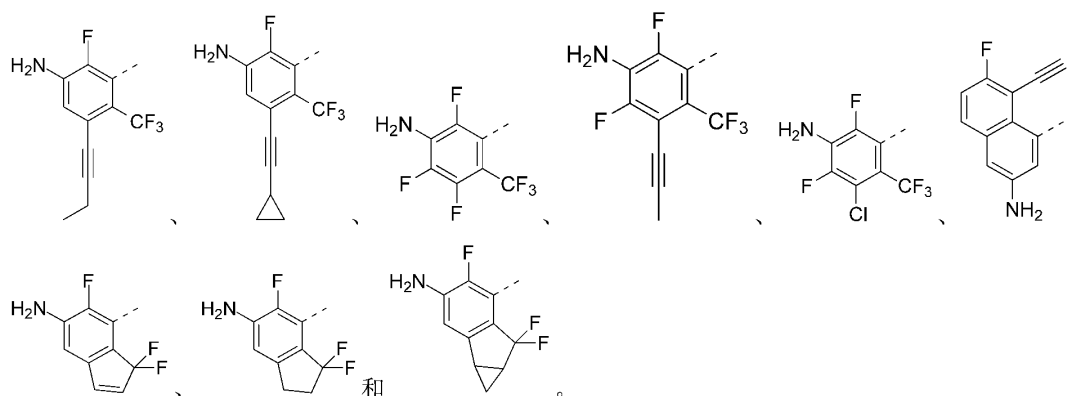
v 选自 1、2、3、4 或 5;

条件是, 至少有一个 R_b 被 1、2、3、4 或 5 个 D 取代。

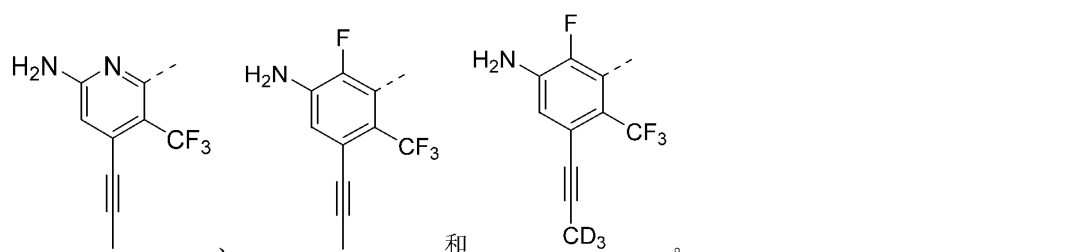
4. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 各 R_b 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡CCH₃、-C≡CCH₂CH₃、和环丙基, 所述 CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡CCH₃、-C≡CCH₂CH₃、和环丙基任选被 1、2、3、4 或 5 个卤素取代; 或者, 各 R_b 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂F、CF₂H、CF₃、CH₂CH₃、CF₂CF₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡Cl、-C≡CBr、-C≡CCH₃、-C≡CCl₃、-C≡CCH₂CH₃、和环丙基。
5. 根据权利要求 2 或 3 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 各 R_b 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡CCH₃、-C≡CCH₂CH₃、和环丙基, 所述 CH₃、CH₂CH₃、OCH₃、OCH₂CH₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡CCH₃、-C≡CCH₂CH₃、和环丙基任选被 1、2、3、4 或 5 个 R 取代; 或者, 各 R_b 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃、CD₃、CH₂F、CF₂H、CF₃、CH₂CH₃、CF₂CF₃、-CH=CH₂、-C≡CH、-C≡Cl、-C≡CBr、-C≡CCH₃、-CD₃、-C≡CCl₃、-C≡CCH₂CH₃、和环丙基。

6. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R₁ 选自





7. 根据权利要求 2 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_1 选自

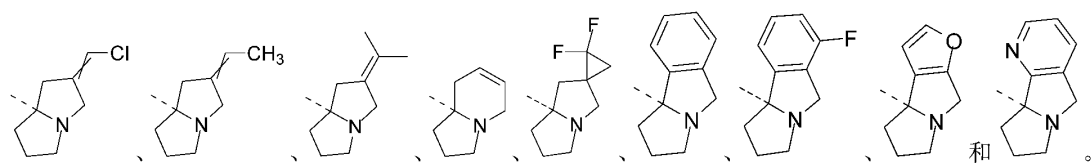


8. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_3 选自 H、F、CN、 CH_3 和 OCH_3 。
 9. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_2 和 R_3 与相连的原子形成苯基、呋喃基和吡啶基, 所述苯基、呋喃基和吡啶基任选被 1 个 F 取代。
 10. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_4 不存在, 或选自 H、 CH_2F 和 $-CH=CH_2$ 。

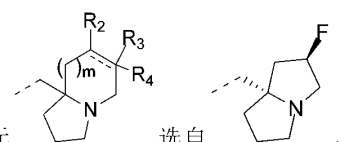
11. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_3 和 R_4 与相连的原子形成
-
- Chemical structures for claim 11, showing various substituted alkenes with fluoro and trifluoromethyl groups.

12. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_3 和 R_4 与相连的原子形成
-
- Chemical structure for claim 12, showing a substituted cyclopropane ring with a fluoro group.

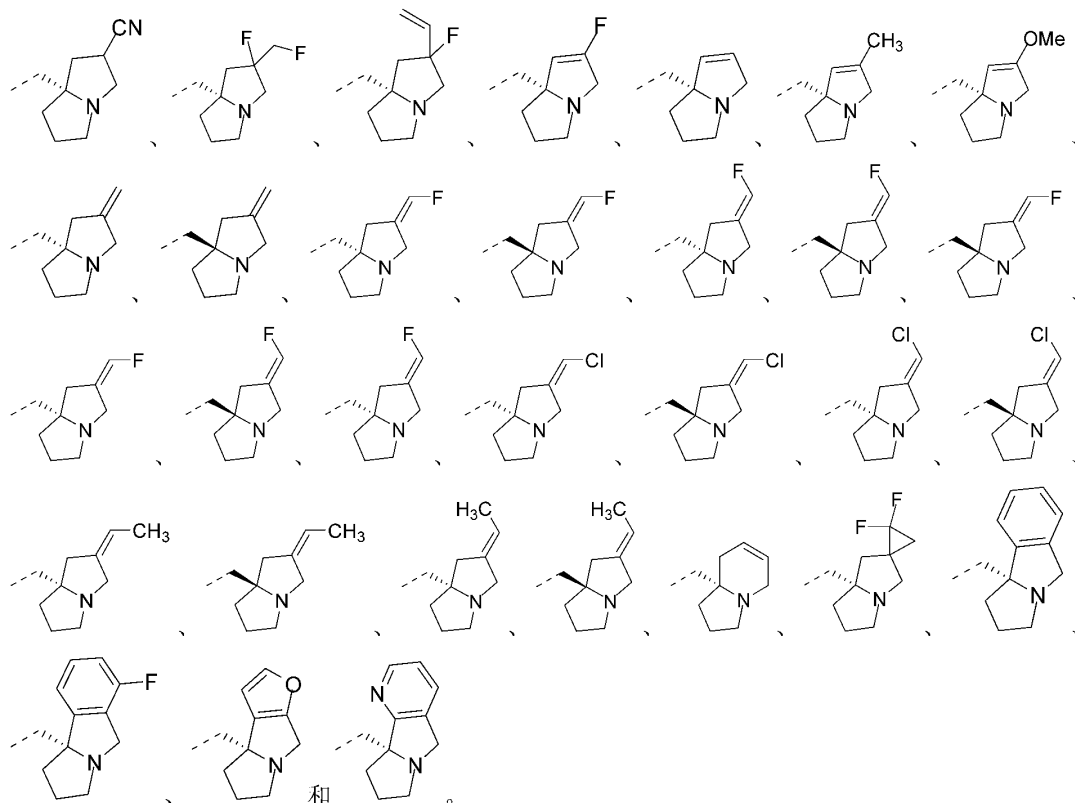
13. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 结构单元
-
- Chemical structures for claim 13, showing various substituted pyrrolidine and piperidine rings.



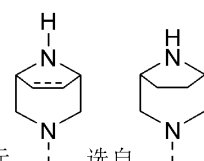
14. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 结构单元



选自

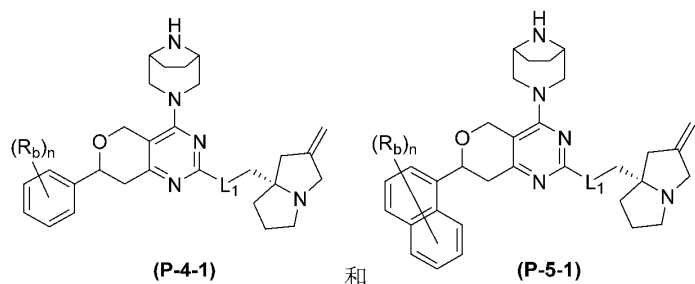


15. 根据权利要求 1、2 或 3 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 结构单元



选自

16. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐,



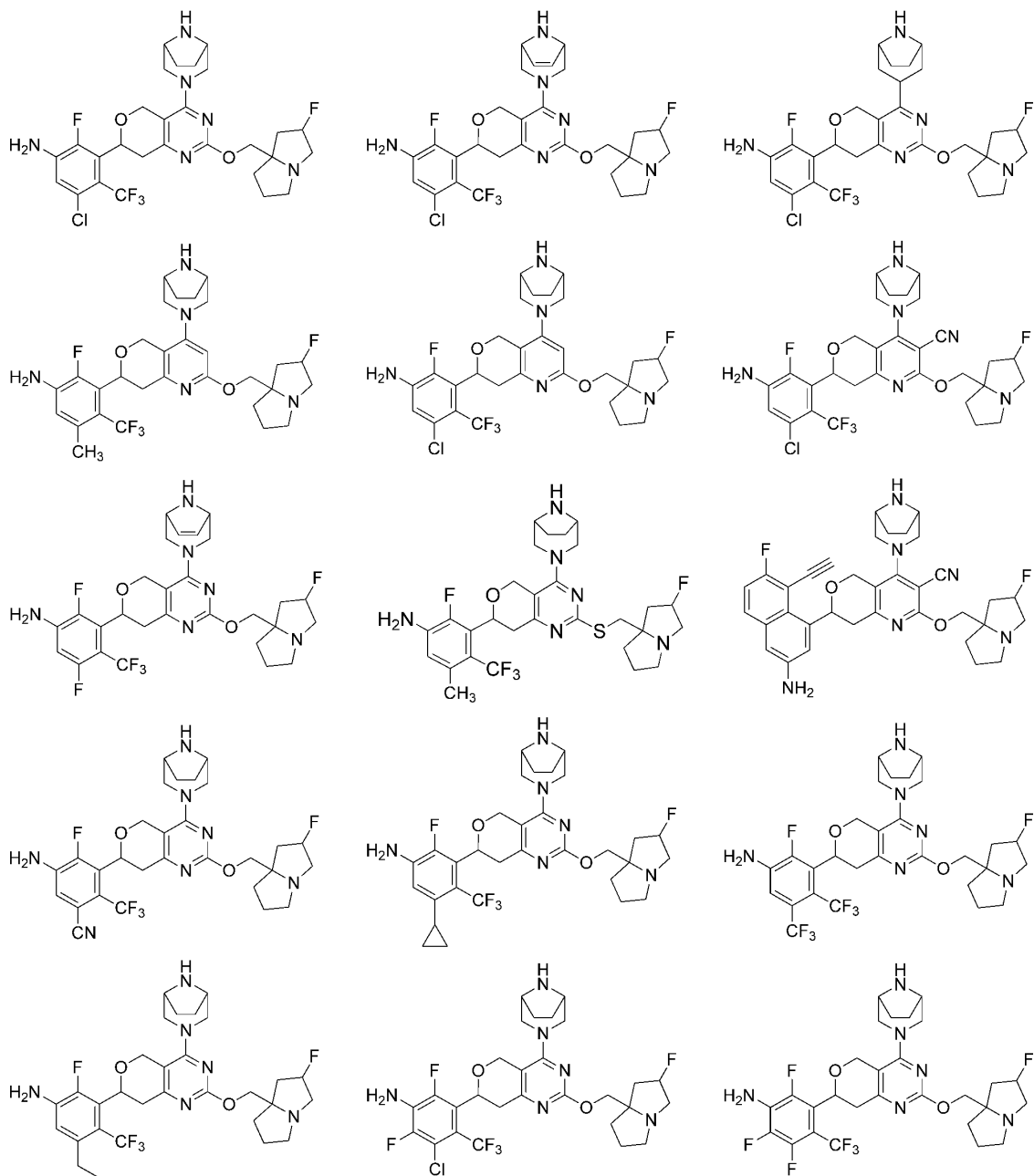
和

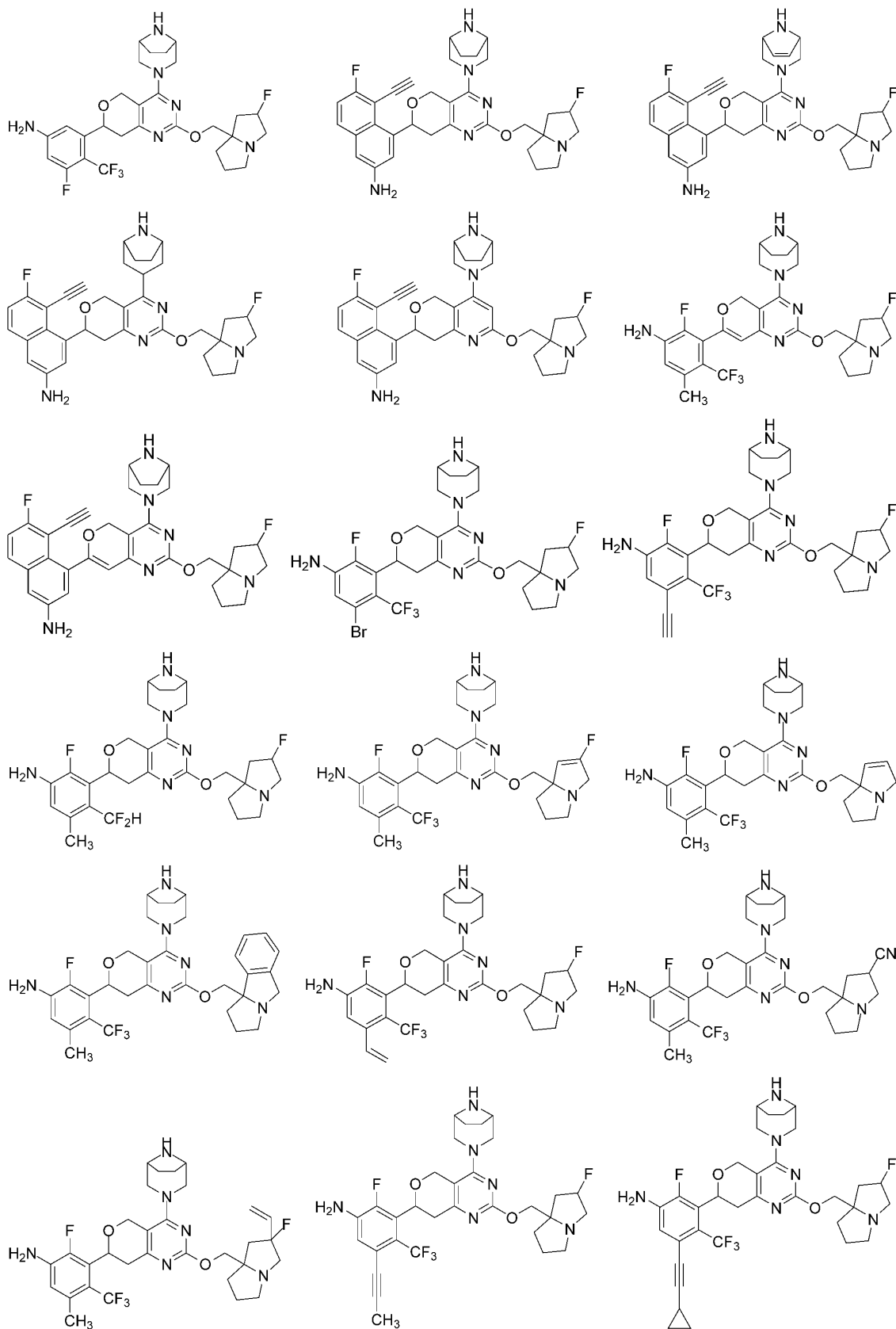
其中,

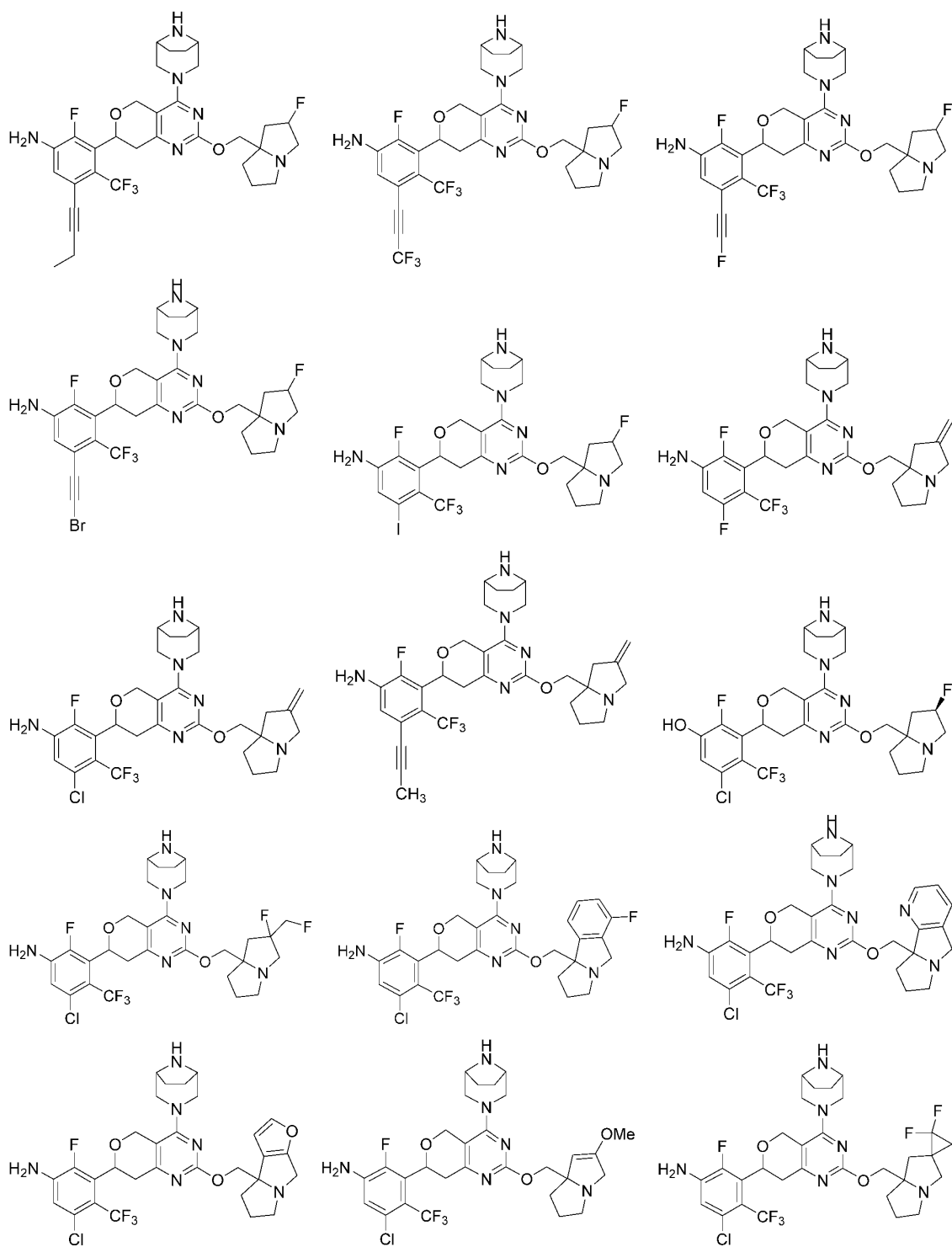
各 R_b 和 L_1 如权利要求 1 所定义;

n 选自 0、1、2、3、4 和 5。

17. 下列所示化合物或其药学上可接受的盐,

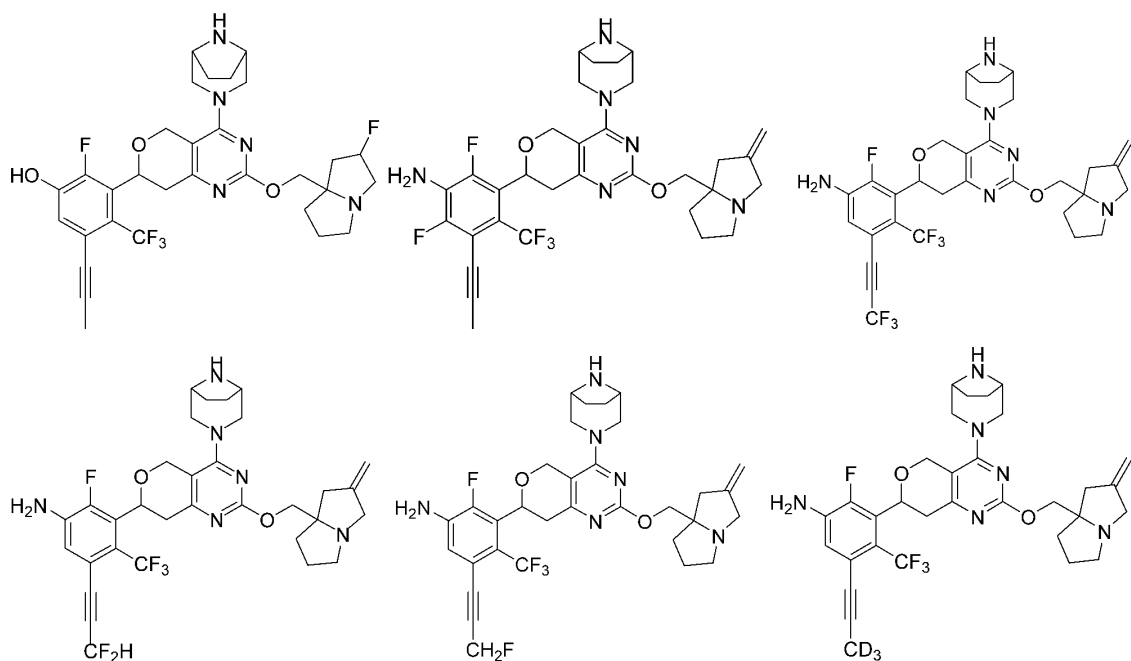




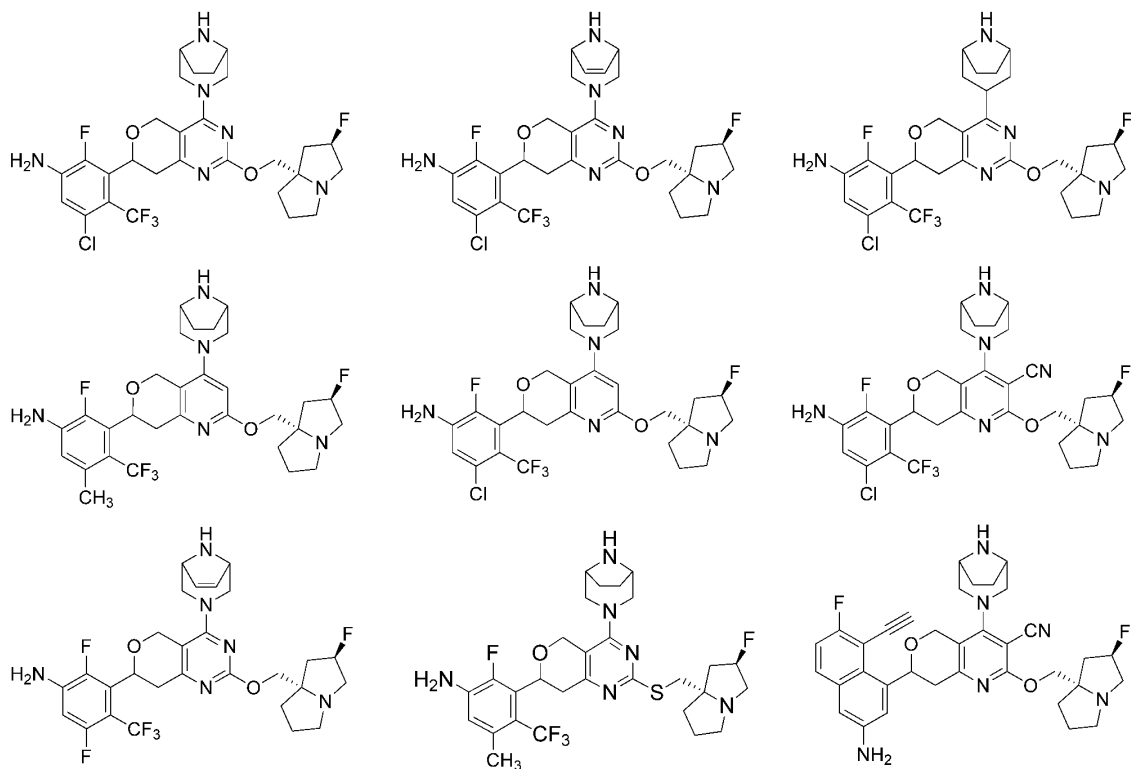


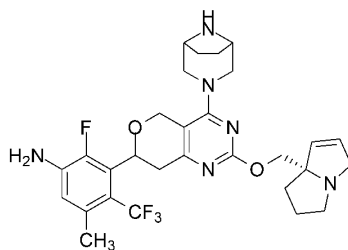
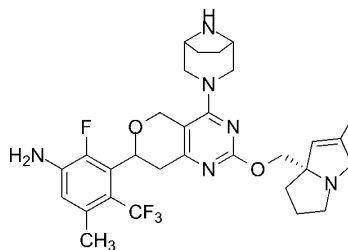
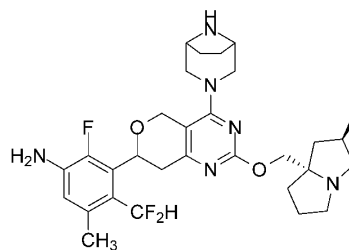
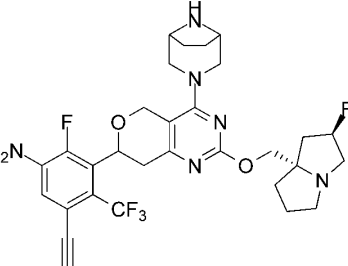
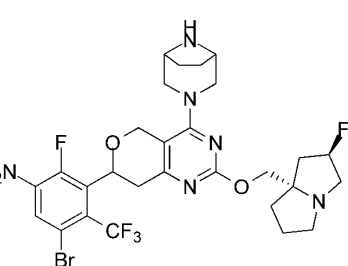
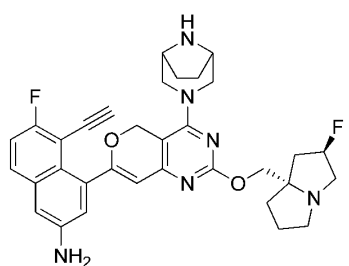
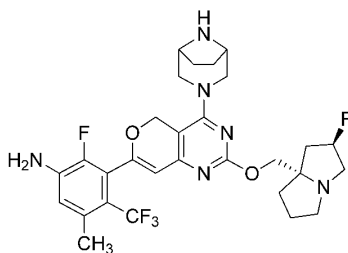
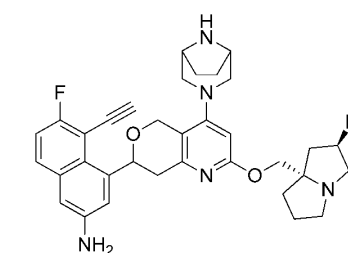
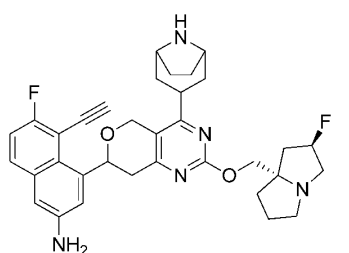
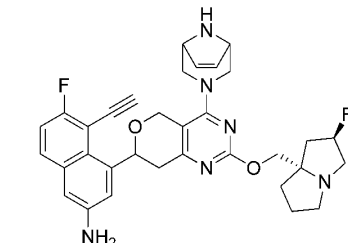
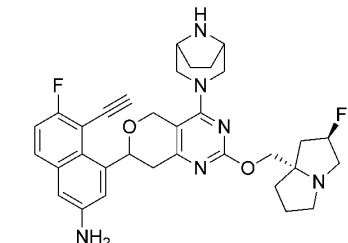
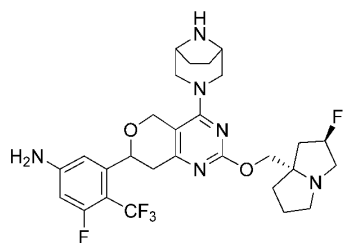
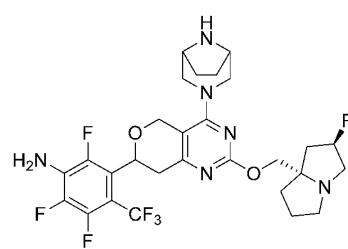
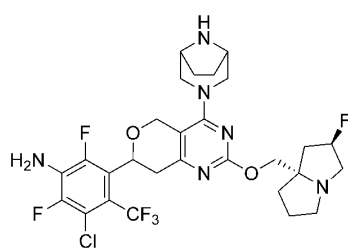
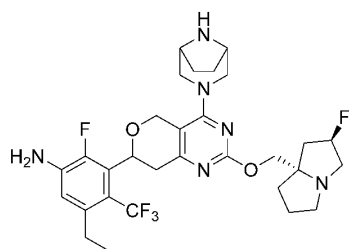
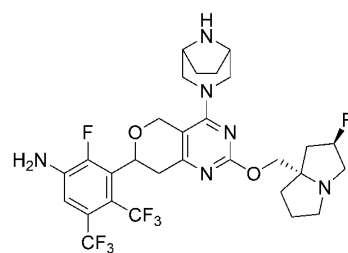
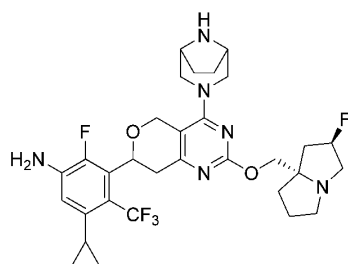
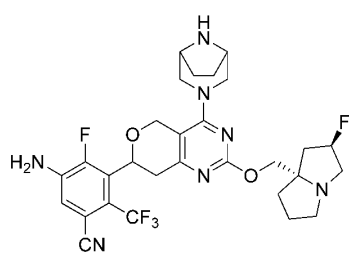


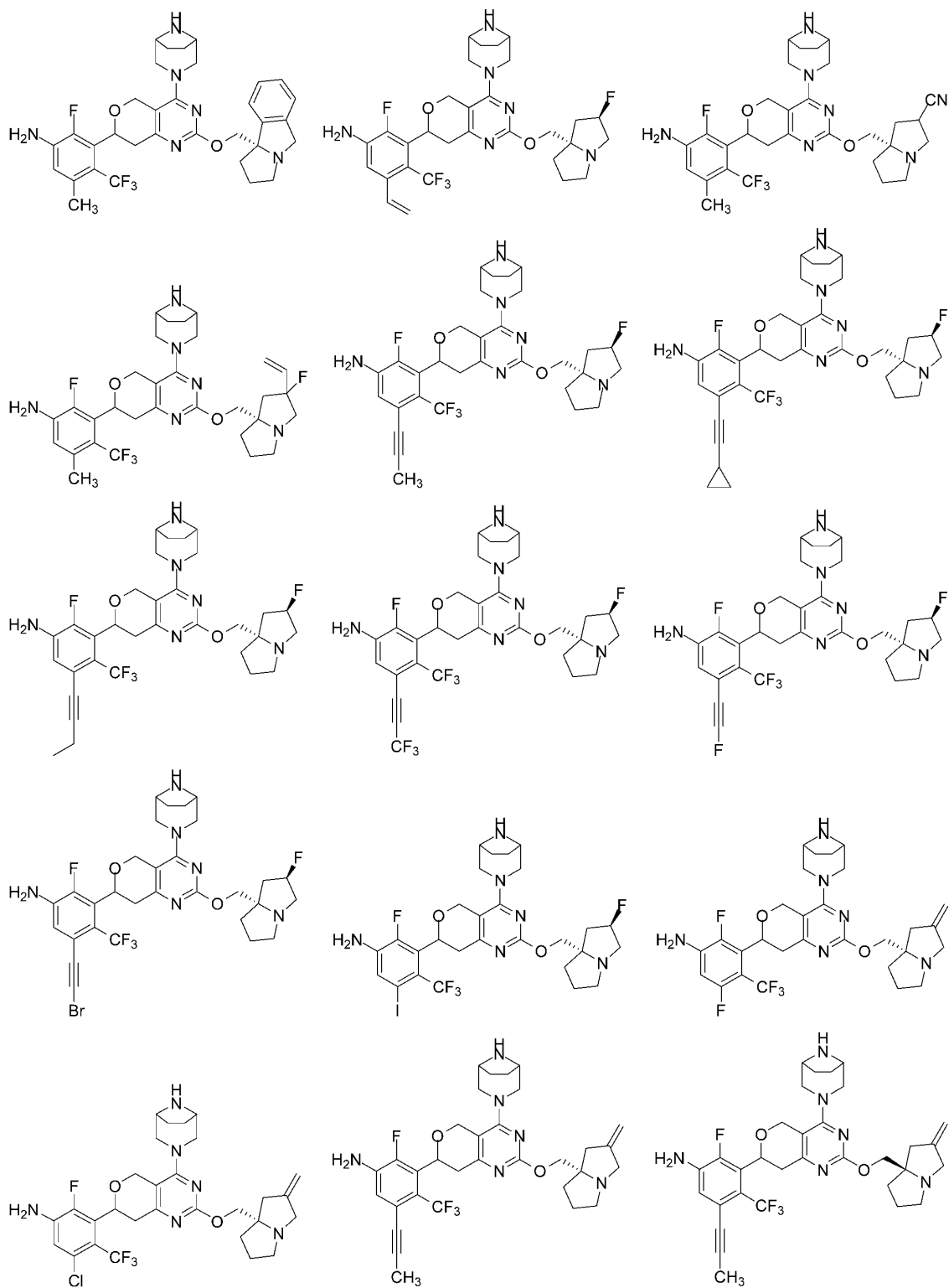


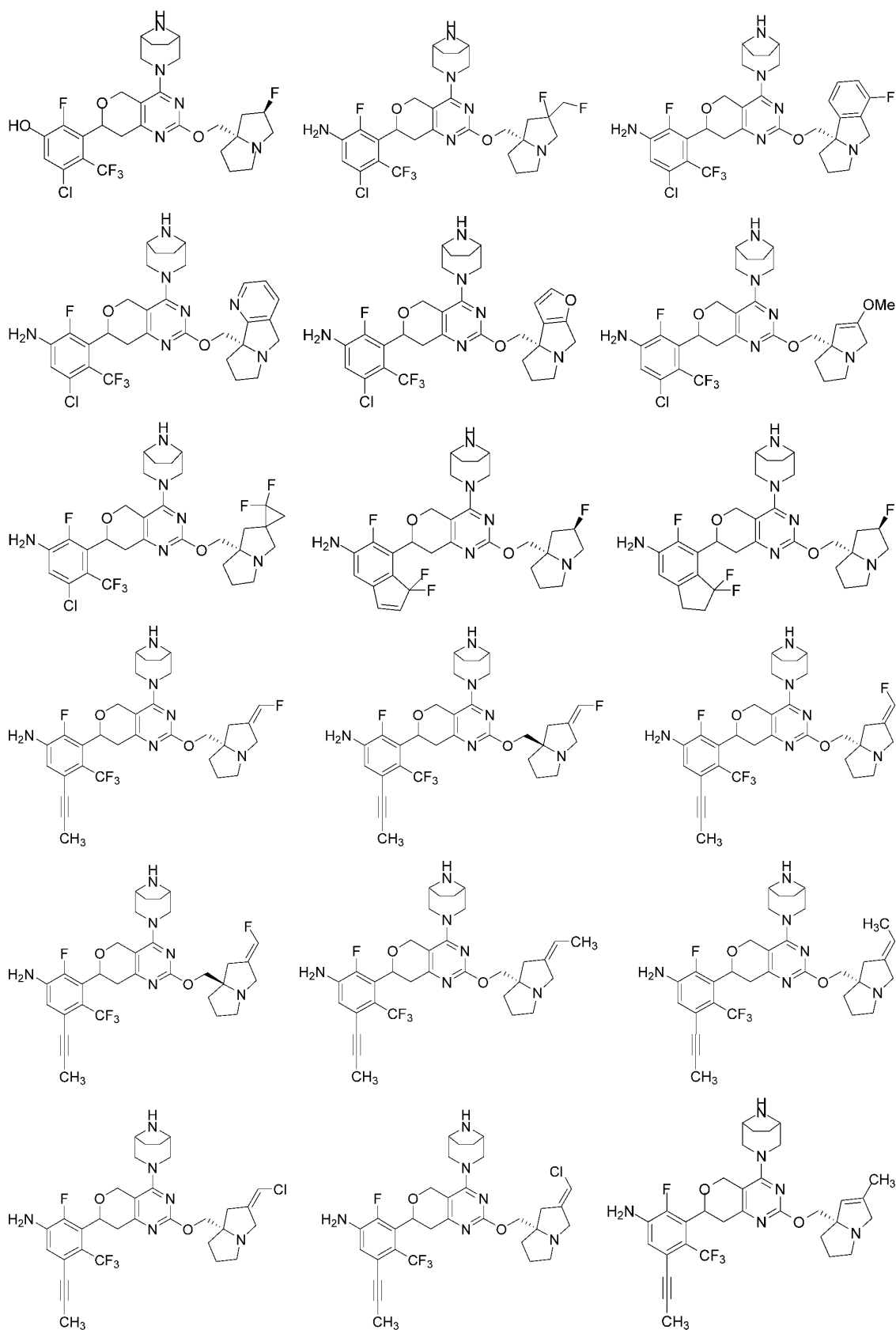


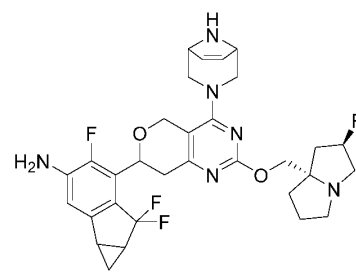
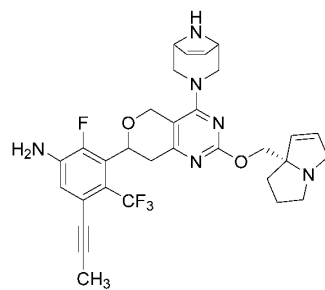
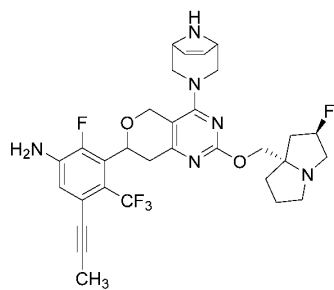
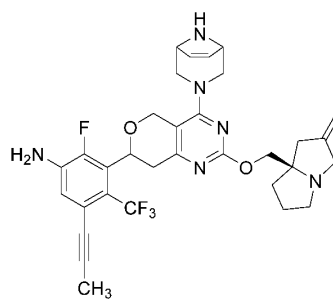
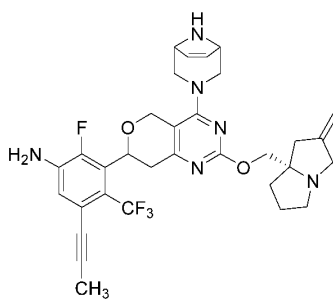
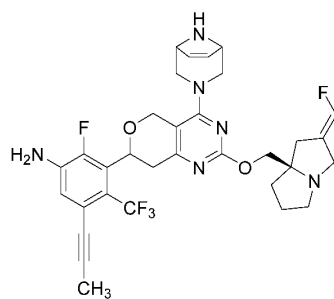
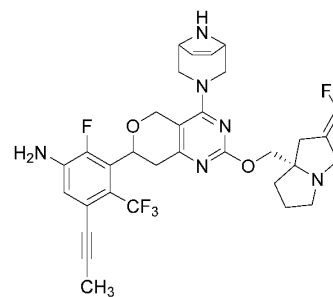
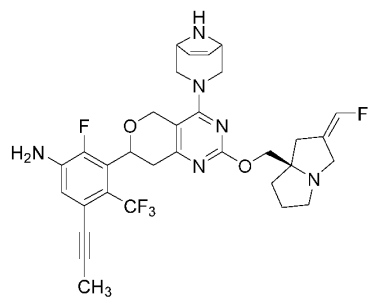
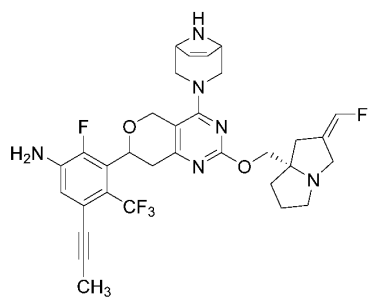
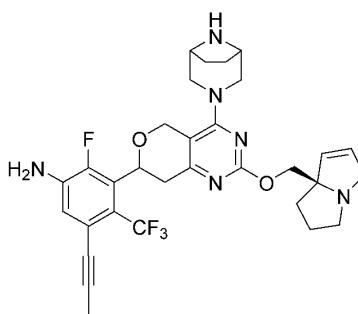
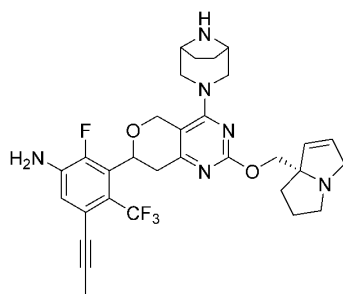
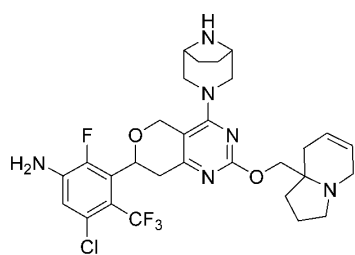
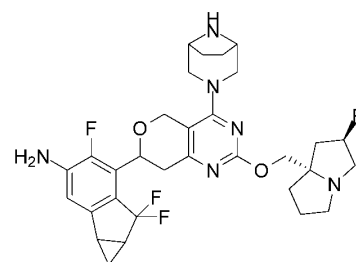
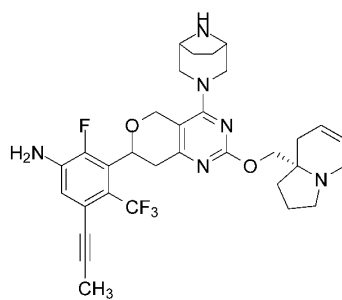
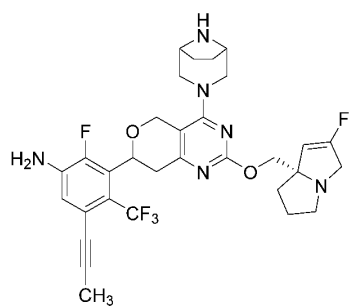
18. 根据权利要求 17 所述的化合物或其药学上可接受的盐，其选自：

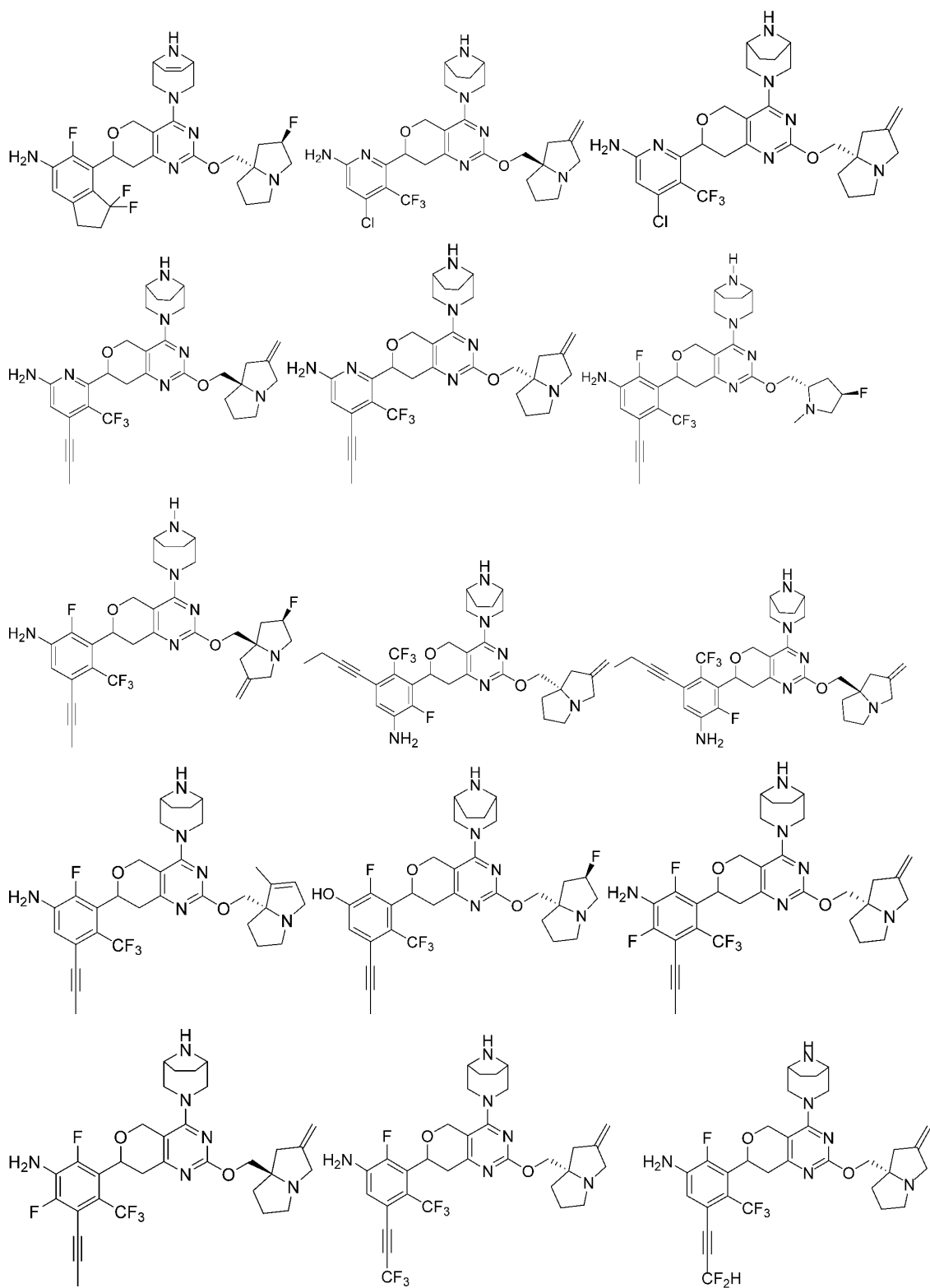


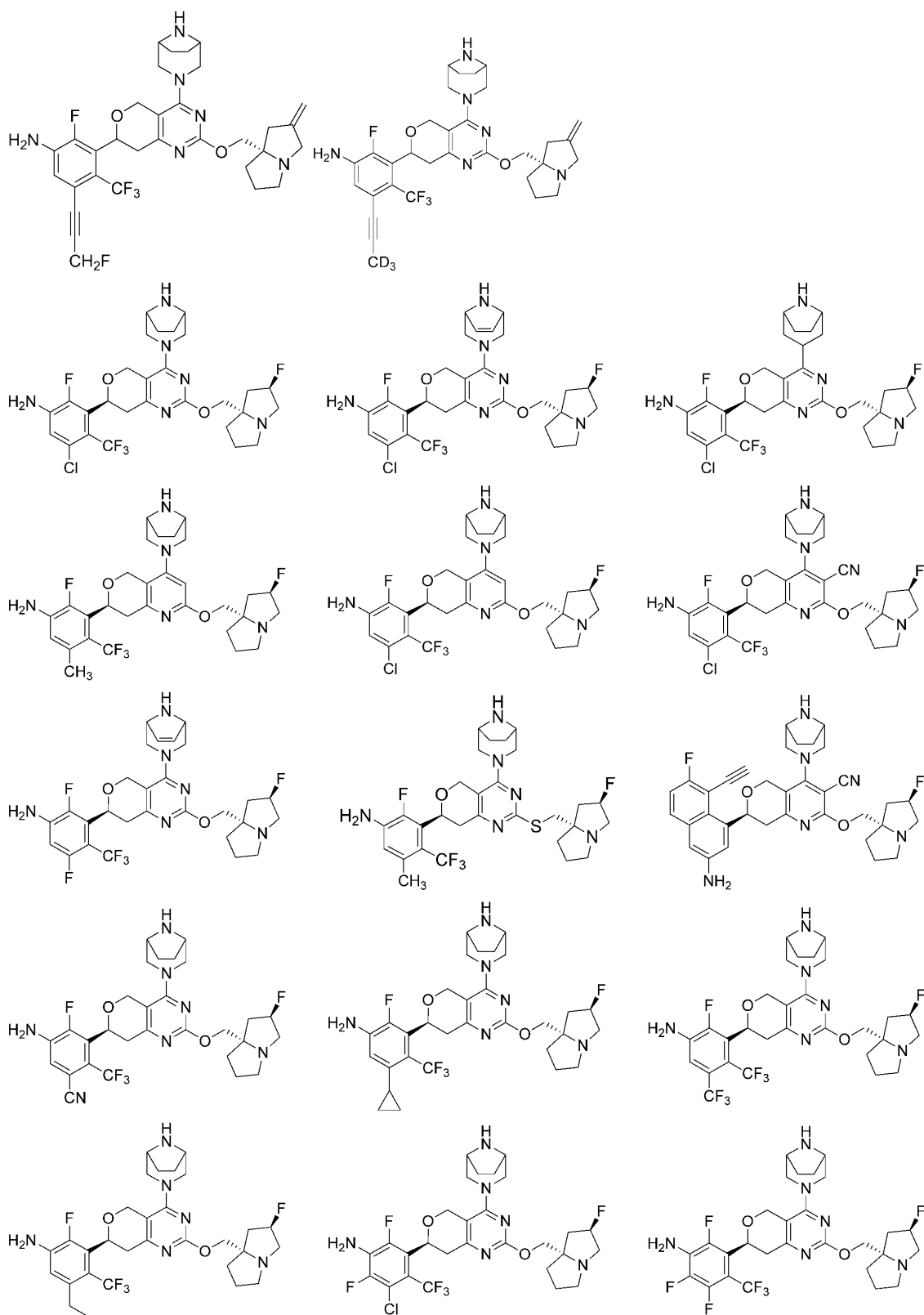


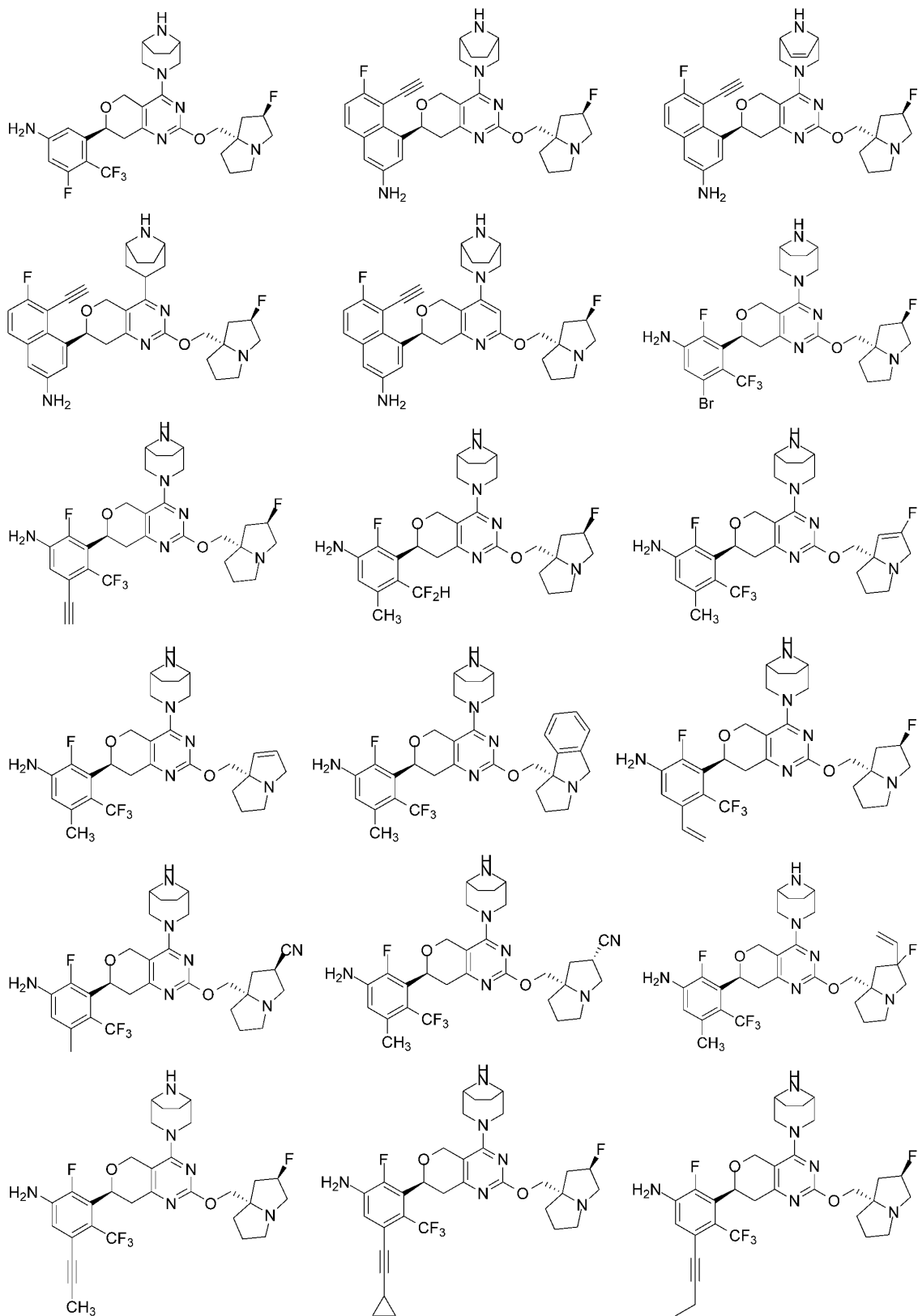


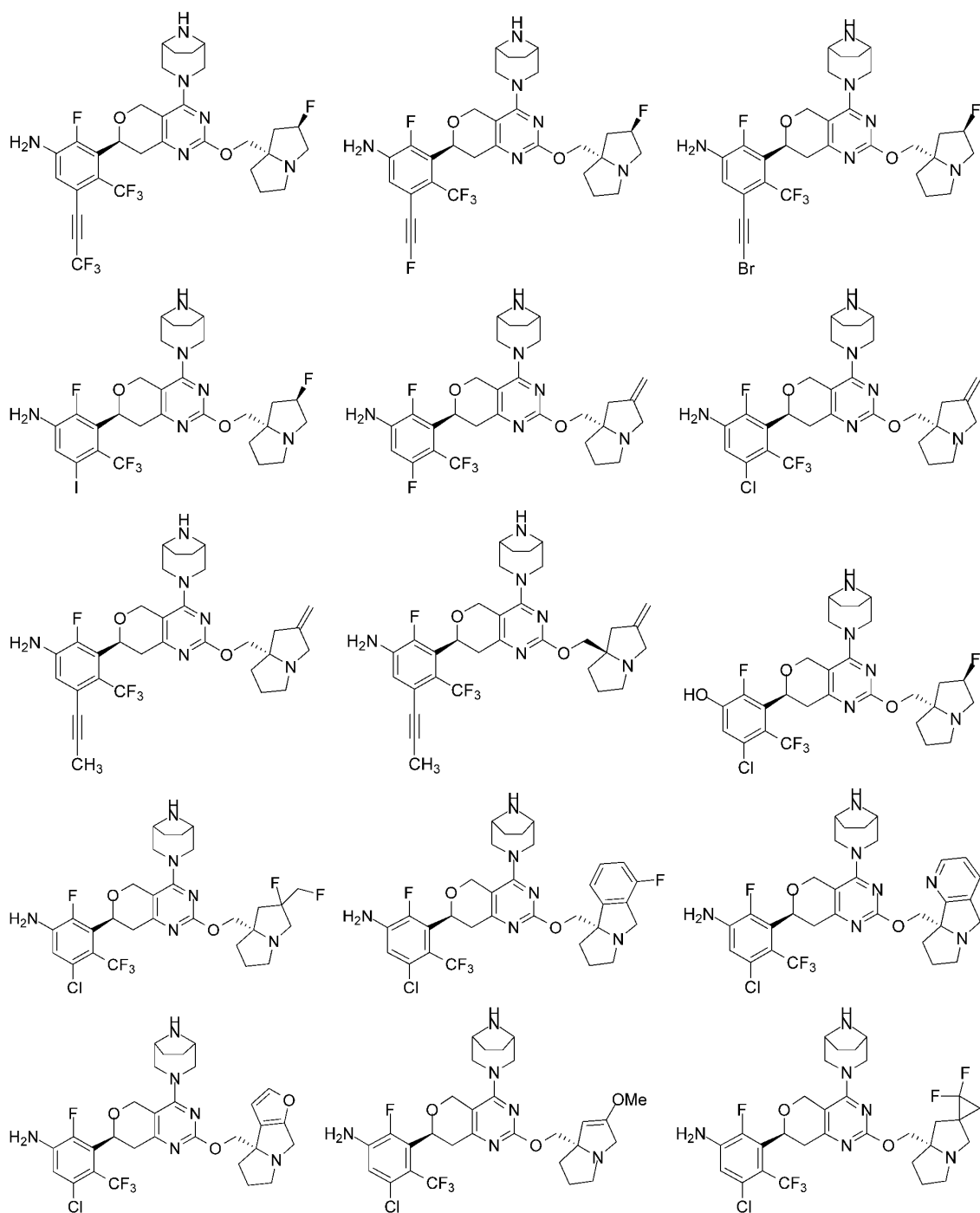


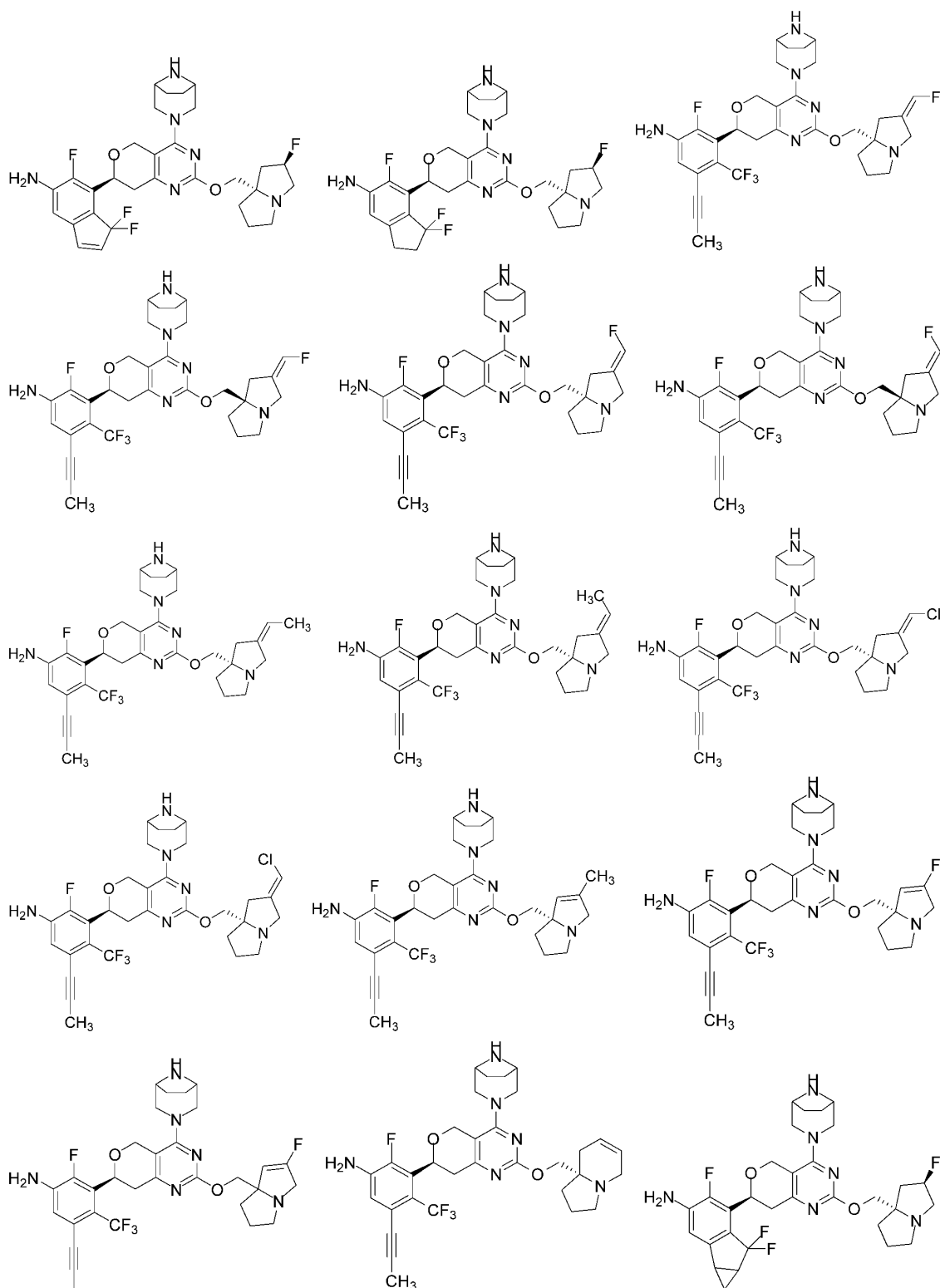


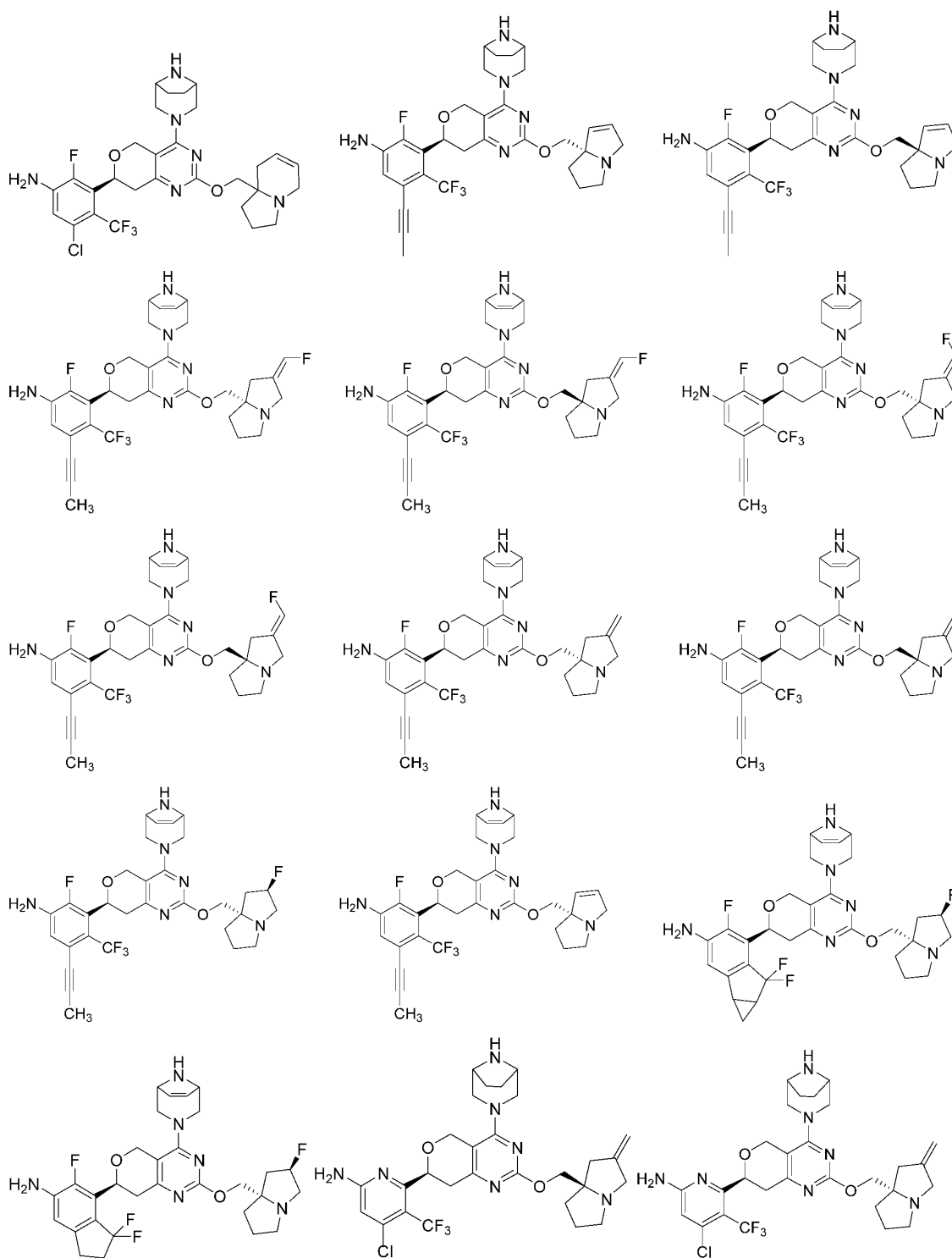




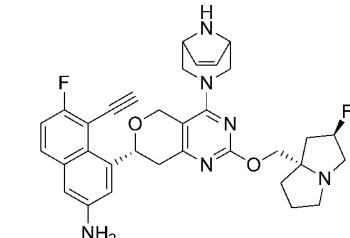
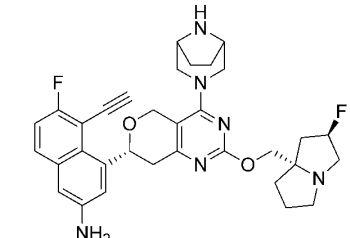
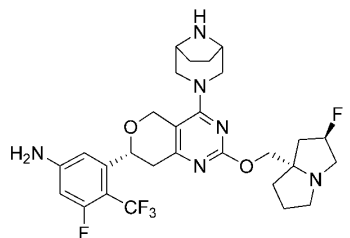
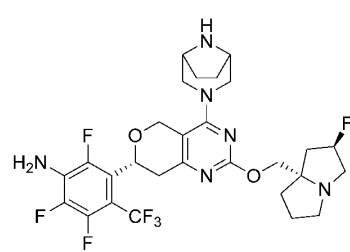
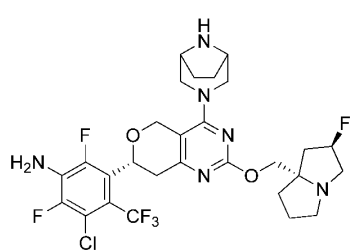
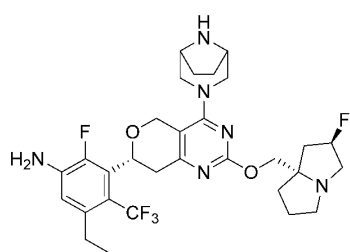
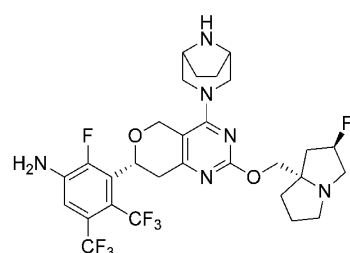
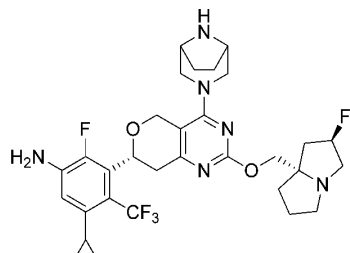
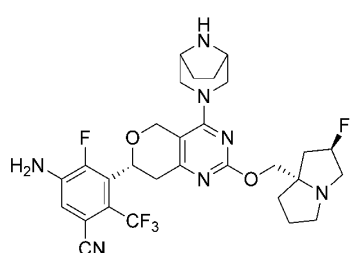
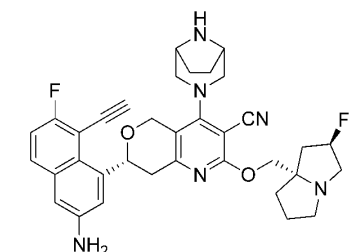
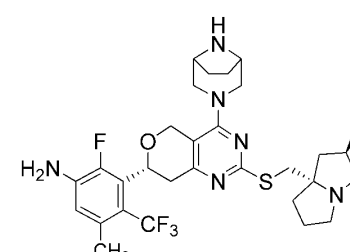
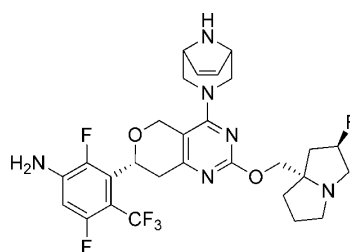
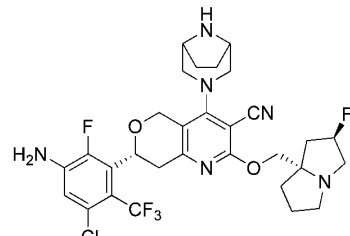
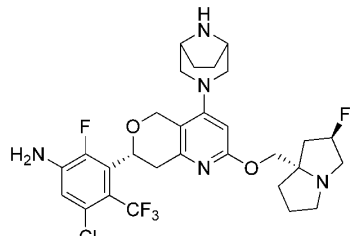
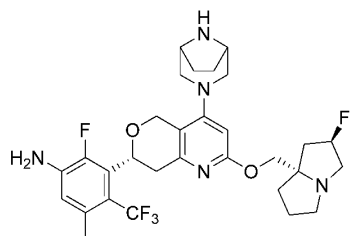
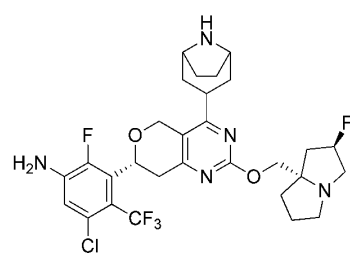
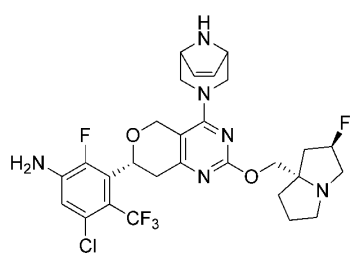
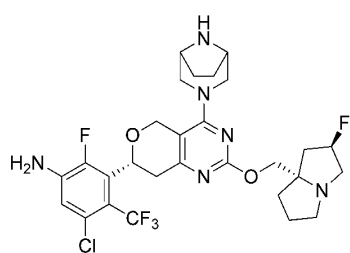


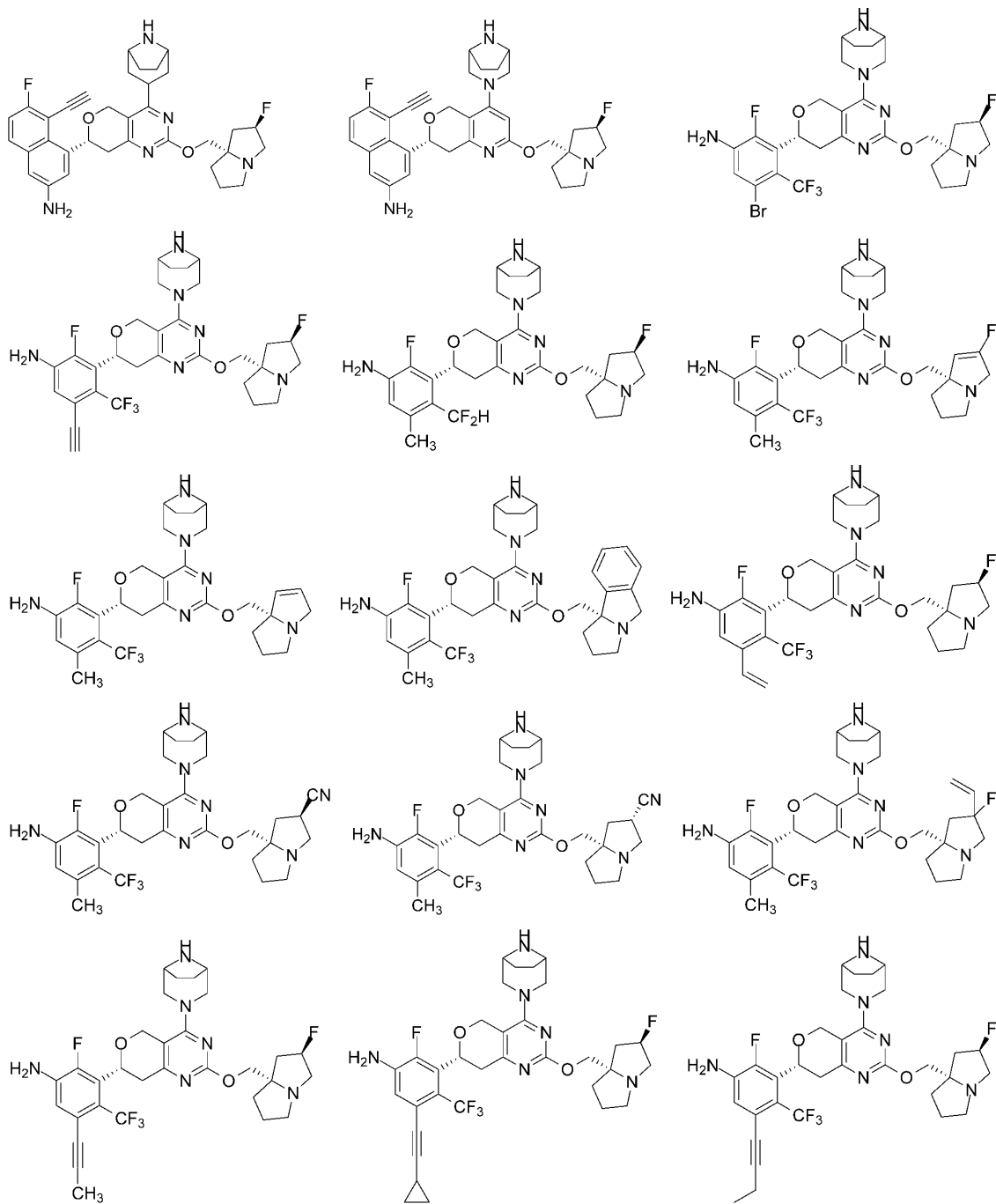


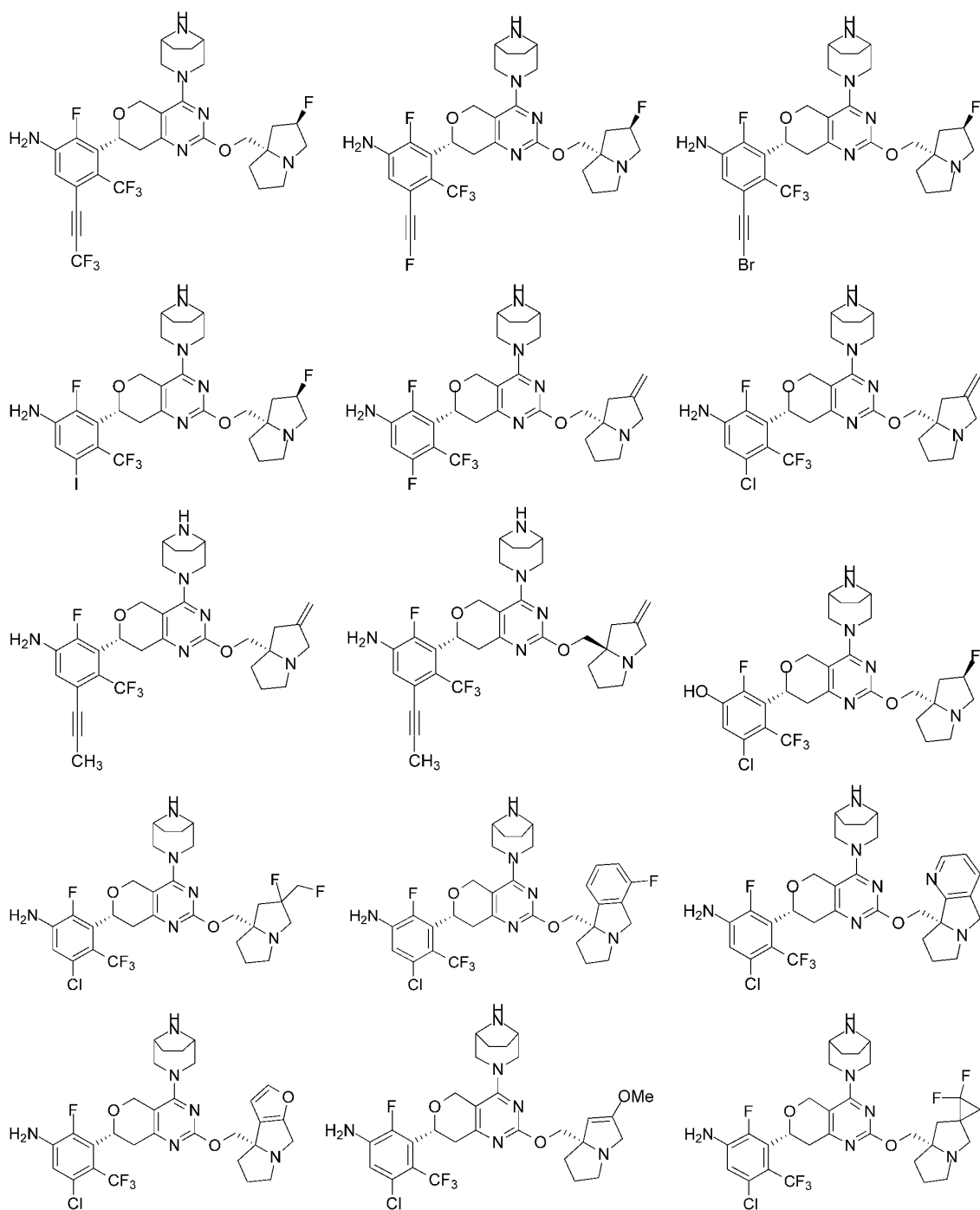




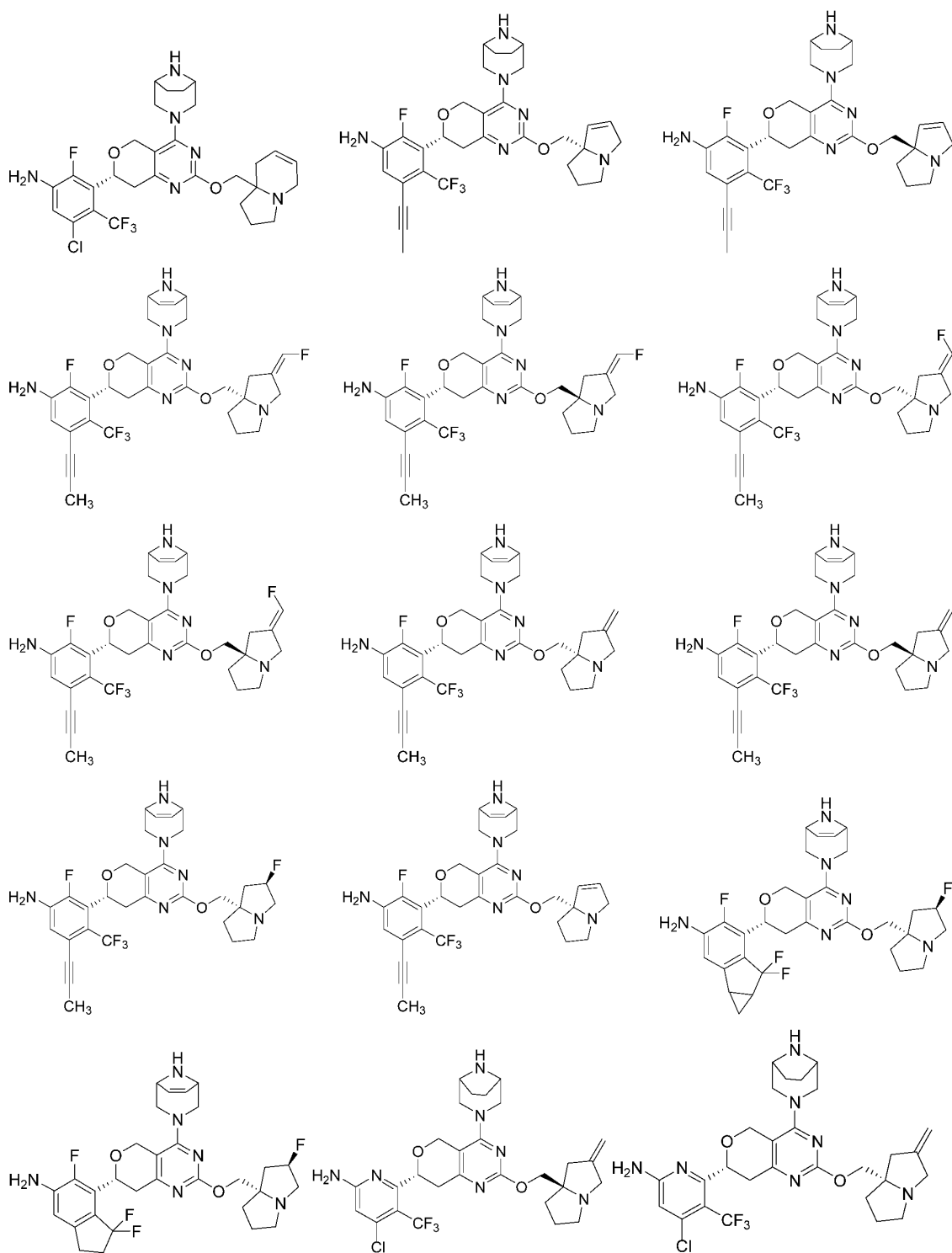


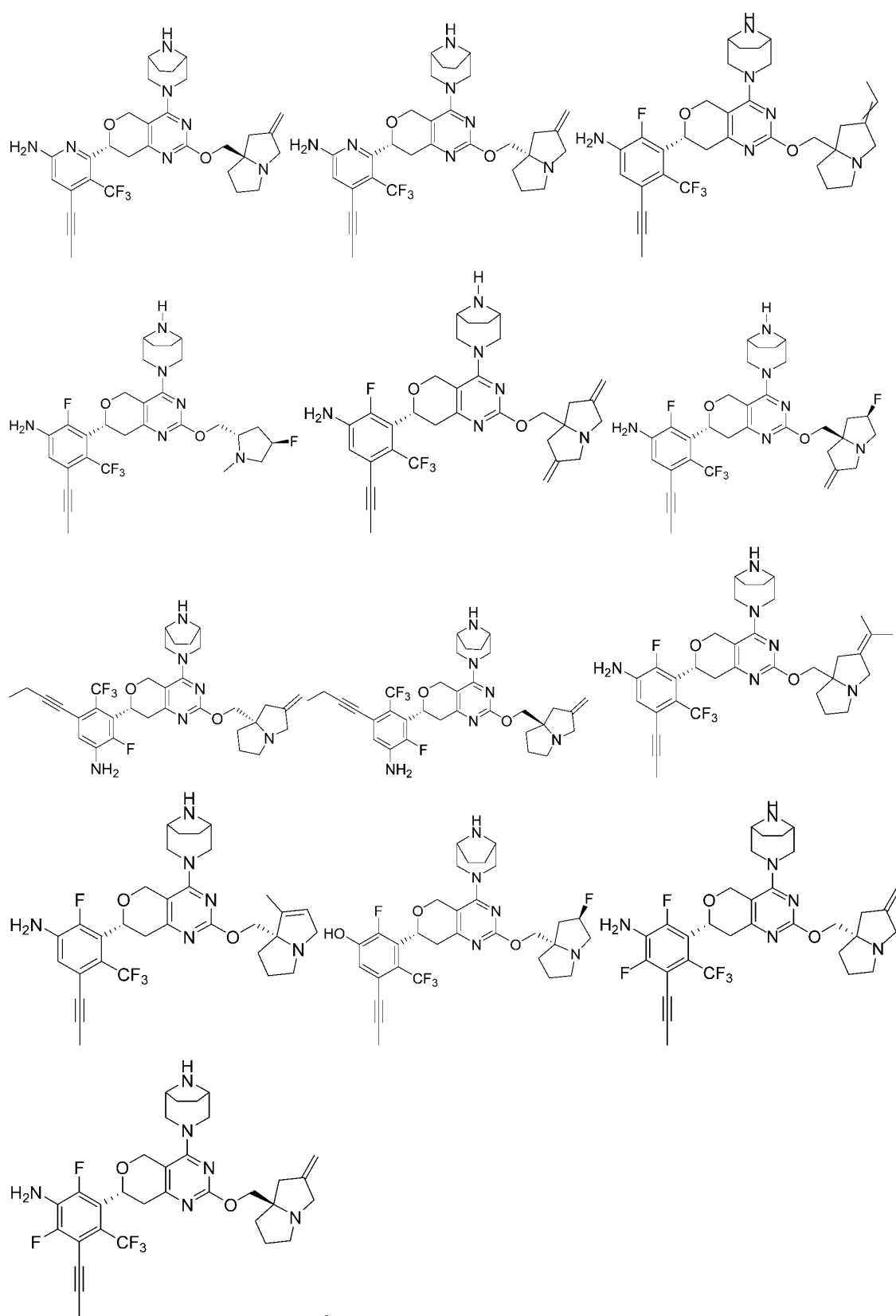












19. 根据权利要求 1~18 任意一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗与 KRAS^{G12D} 突变相关疾病的药物中的应用。
20. 根据权利要求 1~19 任意一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗与肿瘤相关疾病的药物中的应用。