

作为 Wee1 抑制剂的大环类化合物及其应用

相关申请的交叉引用

CN201711058653.5, 申请日: 2017 年 11 月 01 日。

技术领域

本发明涉及中一种作为 Wee1 抑制剂的大环类化合物, 以及在制备治疗 Wee1 相关疾病的药物中的应用。具体涉及式 (II) 所示化合物、其异构体或其药学上可接受的盐。

背景技术

细胞周期的进程是由一系列细胞周期调控系统控制的复杂过程, 细胞周期调控系统的核心成分是周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)与周期蛋白(Cyclins)结合形成的 CDKs/Cyclins 复合物, 这些复合物能促进细胞进入增殖周期, 其中 CDK1 (人类的同源体也称为 CDC2) /Cyclin B 的复合物对控制细胞进入 M 期起关键性的作用。

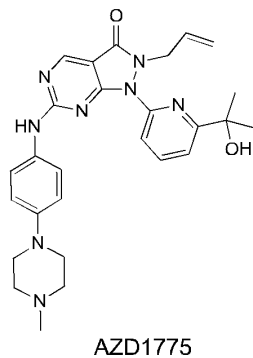
在细胞进入 M 期之前需要完成 DNA 的复制, 由于受到各种内源性和外源性因素的干扰 DNA 经常会发生突变或损伤, 这些发生异常的 DNA 必须完成修复, 否则会引起有丝分裂灾难, 造成细胞死亡。细胞周期检查点的主要功能就是暂停细胞周期, 让细胞完成 DNA 的修复后再进入 M 期。位于 G1 末期的 G1/S 检查点和 G2 期的 G2/M 检查点是两个主要的细胞周期检查点, 它们共同担负 DNA 损伤的识别和修复功能。正常细胞利用 G1/S 检查点在 G1 期就可以完成 DNA 的修复, 而近 50% 的癌变细胞存在抑癌基因 p53 缺陷, 这也同时使它们缺失了 G1/S 检查点功能, 它们需要更多地依赖 G2/M 检查点完成 DNA 的修复。G2/M 检查点很少发生突变, 正是因为有了它, 癌细胞可以逃过 DNA 损伤剂和放射的治疗。

Wee1 蛋白激酶是一种细胞周期调节因子, 属于核内的丝氨酸和苏氨酸蛋白激酶家族的一员, 是 G2/M 检查点的关键激酶。人类的“Wee”蛋白激酶家族主要包括 Wee1 和 Myt1 两种, 均可使 CDC2 上的 Tyr15 位点磷酸化, 抑制 CDC2/CyclinB 复合物的激活, 阻滞细胞进入 M 期, 直到完成 DNA 的修复, 而 Myt1 还可磷酸化 CDC2 上的 Thr14 位点, 这也是针对 CDC2 活性进行的负调控。在很多种癌变细胞中 Wee1 激酶高表达, 通过对 Wee1 激酶的抑制, 可以使肿瘤细胞直接跳过 G2 期的 DNA 修复, 提前进入有丝分裂, 致肿瘤细胞死亡, 达到治疗癌症的目的。

目前 AstraZeneca 的 Wee1 抑制剂 AZD1775 已进入临床 II 期, 有超过 30 项的临床实验正在开发, 并已显示出良好的治疗效果。AZD1775 最早由 Merck 开发, 因此又称为 MK-1775, 2013 年 9 月 Merck 向 AstraZeneca 在全球范围内转让了该化合物, 与之相关的专利主要有 US20070254892、WO2007126122、EP2213673、WO2008133866、WO2011034743 等。Abbott 和 Abbvie 对 Wee1 抑制剂也展开过研究, 相关专利主要有 US2012220572、WO2013126656、WO2013012681、WO2013059485、WO2013013031、

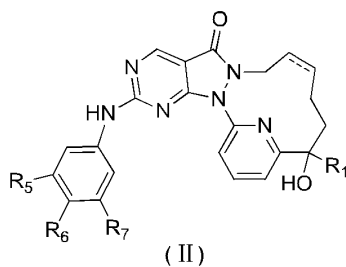
WO2013126656 等。Almac 公司关于 Wee1 抑制剂的专利包括 WO2014167347、WO2015019037、WO2015092431。

WO2008133866 公开了化合物 AZD1775，结构如下：



发明内容

式 (II) 所示化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，



其中，

为单键或双键；

R₁ 选自 H 和 C₁₋₃ 烷基，其中所述 C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

R₅ 选自 H 和 C₁₋₃ 烷基，其中所述 C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

R₆ 选自 R₆₁、、 和 ；

r 为 1 或 2；

m 为 1 或 2；

D 选自 -N(R₂)-、-N⁺(O⁻)(R₂)-和 -C(R₃)(R₄)-；

R₂ 选自 H 和 C₁₋₃ 烷基，其中所述 C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

R₃ 和 R₄ 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂ 和 C₁₋₃ 烷基，其中所述 NH₂ 和 C₁₋₃ 烷基任选被

1、2 或 3 个 R 取代；

或者 R₃ 和 R₄ 与其所连接的碳原子一起形成一个 5~7 元环烷基或 5~7 元杂环烷基，其中所述 5~7 元环烷基和 5~7 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

R₆₁ 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、C₁₋₃ 烷氧基和 -O-C₃₋₆ 环烷基，其中所述 C₁₋₃ 烷氧基和 -O-C₃₋₆ 环烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

R₇ 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基和 5~6 元杂环烷基，其中所述 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基和 5~6 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

或者，R₆ 和 R₇ 与其所连接的环原子一起形成环 A，所述环 A 选自任选被 1、2 或 3 个 R 取代的 5~7 元杂环烷基；

R 分别独立地选自 F、Cl、Br、I、OH、NH₂、C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基和 C₁₋₃ 烷氨基；

所述 5~7 元杂环烷基包含 1、2、3 或 4 个独立选自 -NH-、-S- 和 N 的杂原子或杂原子团。

本发明的一些方案中，上述 R 分别独立地选自 F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CH₃、Et、-OCH₃ 和 ，其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述 R₁ 选自 H、CH₃ 和 Et，其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述 R₂ 选自 H、CH₃ 和 Et，其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述 R₃ 和 R₄ 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、-NH(CH₃)、-N(CH₃)₂、CH₃ 和 Et，其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述 R₃ 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、-NH(CH₃)、-N(CH₃)₂、CH₃ 和 Et，其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述 R₄ 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、CH₃ 和 Et，其他变量如本发明所定义。

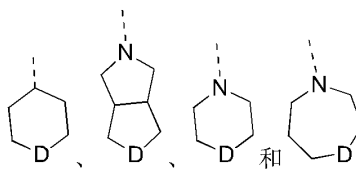
本发明的一些方案中，上述 R₅ 选自 H、CH₃ 和 Et，其中所述 CH₃ 和 Et 任选被 1、2 或 3 个 R 取代，其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述 R₅ 选自 H、CH₃ 和 -CH₂OH，其他变量如本发明所定义。

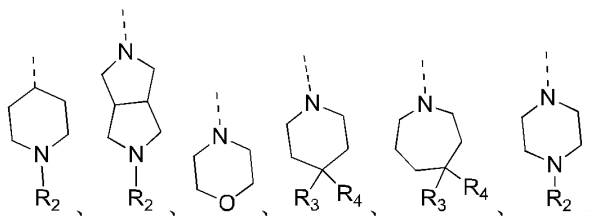
本发明的一些方案中，上述 R₆₁ 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、-OCH₃、 和 ，其中所述 -OCH₃、 和  任选被 1、2 或 3 个 R 取代，其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述 R₆₁ 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、-OCH₃、 和 ，

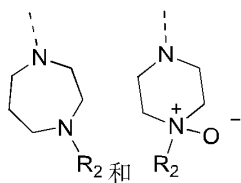
其他变量如本发明所定义。

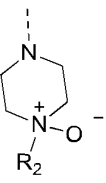


本发明的一些方案中, 上述 R_6 选自 R_{61} 、, ,  和 , 其他变量如本发明所定义。

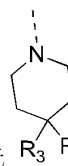


本发明的一些方案中, 上述 R_6 选自 R_{61} 、

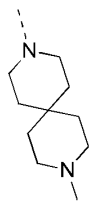


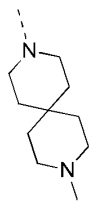
和 , 其他变量如本发明所定义。

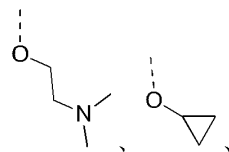
本发明的一些方案中, 上述 R_3 和 R_4 与其所连接的碳原子一起形成一个 5~7 元环烷基或 5~7 元杂环



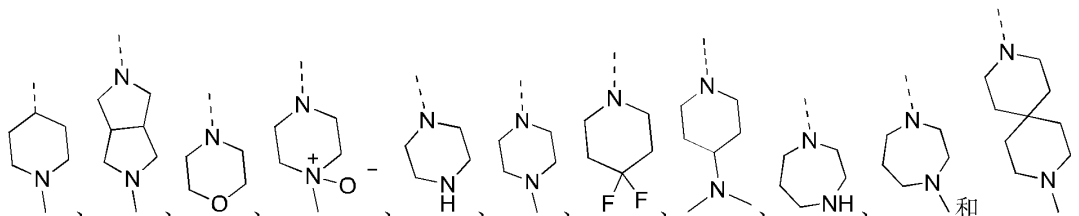
烷基, 所述 5~7 元环烷基或 5~7 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代, 此时结构单元 R_3 R_4 选自



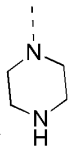
和 , 其他变量如本发明所定义。

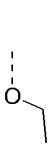
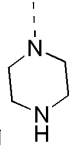


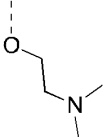
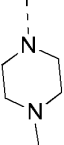
本发明的一些方案中, 上述 R_6 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、-OCH₃、



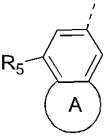
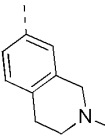
其他变量如本发明所定义。

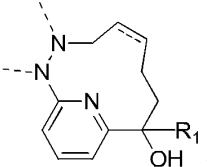
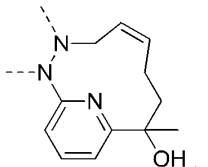
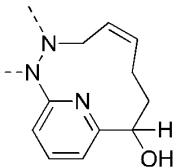
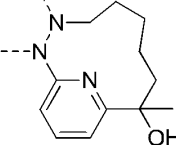
本发明的一些方案中，上述 R₇ 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CH₃、-OCH₃、 和 ,

其中所述 CH₃、-OCH₃、 和  任选被 1、2 或 3 个 R 取代，其他变量如本发明所定义。

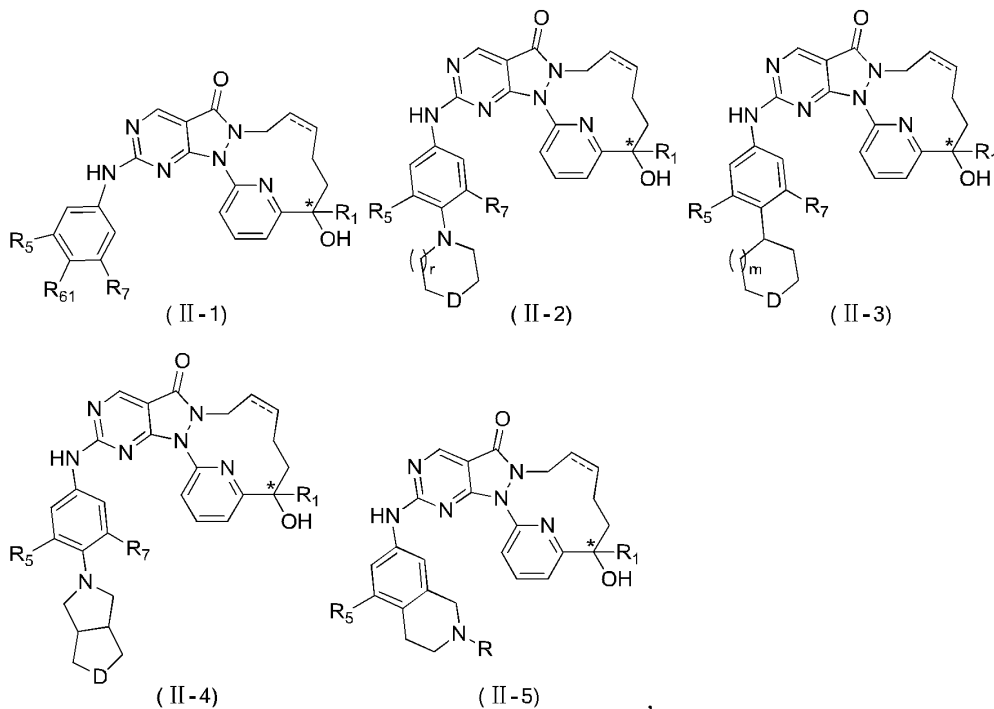
本发明的一些方案中，上述 R₇ 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、-OCH₃、、、，其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述环 A 选自任选被 1、2 或 3 个 R 取代的哌啶基，其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述结构单元  选自 ，其他变量如本发明所定义。

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

本发明的一些方案中，上述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，选自



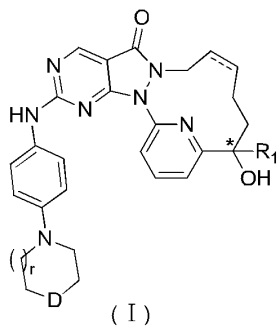
其中,

D 选自 $-N(R_2)-$ 、 $-N^+(O^-)(R_2)-$ 和 $-C(R_3)(R_4)-$;

r 、 m 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_{61} 和 R_7 如本发明所定义;

带“*”碳原子为手性碳原子,以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在。

本发明的一些方案中,上述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐,选自

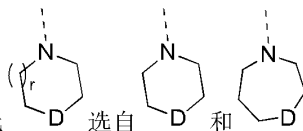


其中,

D 选自 $-N(R_2)-$ 、 $-N^+(O^-)(R_2)-$ 和 $-C(R_3)(R_4)-$;

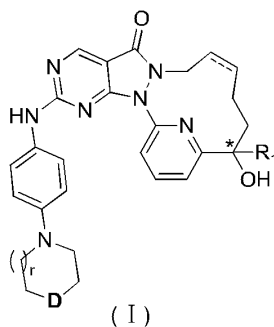
r 、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 如本发明所定义;

带“*”碳原子为手性碳原子,以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在。



本发明的一些方案中,上述结构单元 D 选自 和 ,其他变量如本发明所定义。

本发明提供了式 (I) 所示化合物、其异构体或其药学上可接受的盐,



其中,

 为单键或双键;

r 为 1 或 2;

D 选自 -N(R₂)-和 -C(R₃)(R₄)-;

R₁ 选自 H 和 C₁₋₃ 烷基, 其中所述 C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代;

R₂ 选自 H 和 C₁₋₃ 烷基, 其中所述 C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代;

R₃、R₄ 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂ 和 C₁₋₃ 烷基, 其中所述 NH₂ 或 C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代;

或者 R₃ 和 R₄ 连接形成一个 5~7 元环烷基或杂环烷基, 所述 5~7 元环烷基和杂环烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代;

R 分别独立地选自 F、Cl、Br、I、OH、NH₂ 和 C₁₋₃ 烷基;

所述 5~7 元杂环烷基包含 1、2、3 或 4 个独立选自 -NH-、-S-和 N 的杂原子或杂原子团;

带“*”碳原子为手性碳原子, 以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在。

本发明的一些方案中, 上述 R 分别独立地选自 F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CH₃ 和 Et, 其他变量如本发明所定义。

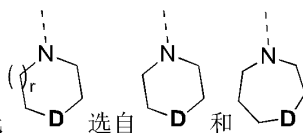
本发明的一些方案中, 上述 R₁ 选自 H、CH₃ 和 Et, 其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中, 上述 R₂ 选自 H、CH₃ 和 Et, 其他变量如本发明所定义。

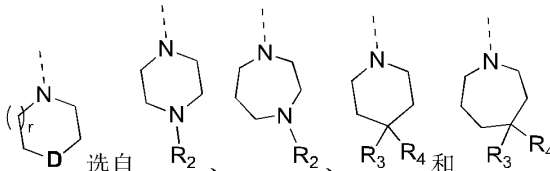
本发明的一些方案中, 上述 R₃、R₄ 分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、-NH(CH₃)、-N(CH₃)₂、CH₃ 和 Et, 其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中, 上述 R₃ 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、-NH(CH₃)、-N(CH₃)₂、CH₃ 和 Et, 其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中, 上述 R₄ 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、CH₃ 和 Et, 其他变量如本发明所定义。

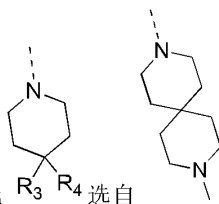


本发明的一些方案中，上述结构单元 D 选自 和 ，其他变量如本发明所定义。

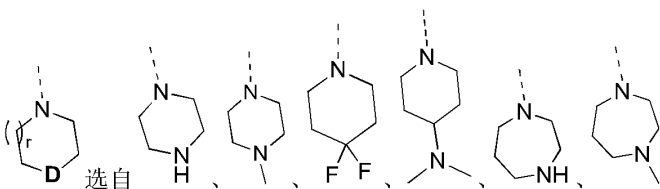


本发明的一些方案中，上述结构单元 D 选自 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_3 ，其他变量如本发明所定义。

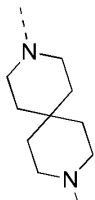
本发明的一些方案中，上述 R_3 和 R_4 连接形成一个 5~7 元环烷基或杂环烷基，所述 5~7 元环烷基或



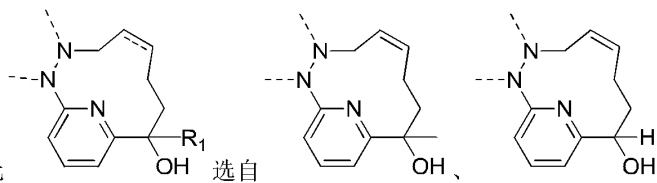
杂环烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代，此时结构单元 R_3 、 R_4 选自 ，其他变量如本发明所定义。



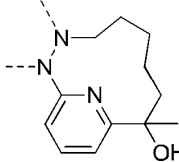
本发明的一些方案中，上述结构单元 D 选自



和 ，其他变量如本发明所定义。



本发明的一些方案中，上述结构单元



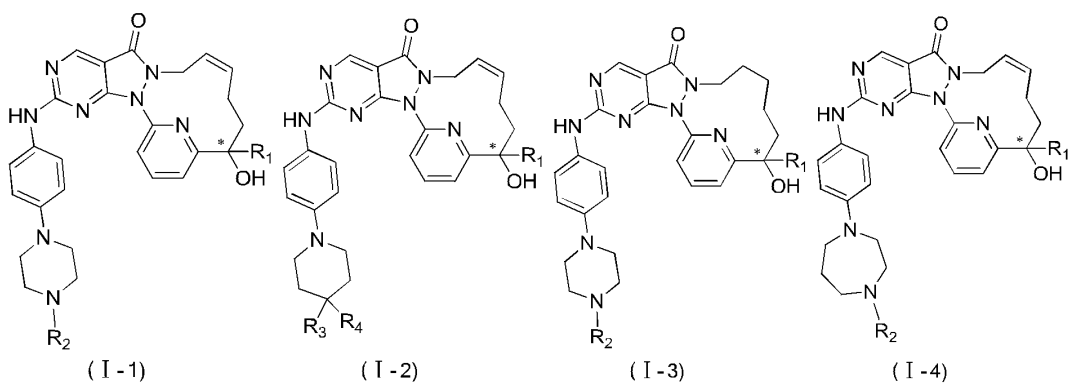
和 ，其他变量如本发明所定义。

本发明还有一些方案是由上述变量任意组合而来。

本发明的一些方案中，上述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，选自

WO 2019/085933

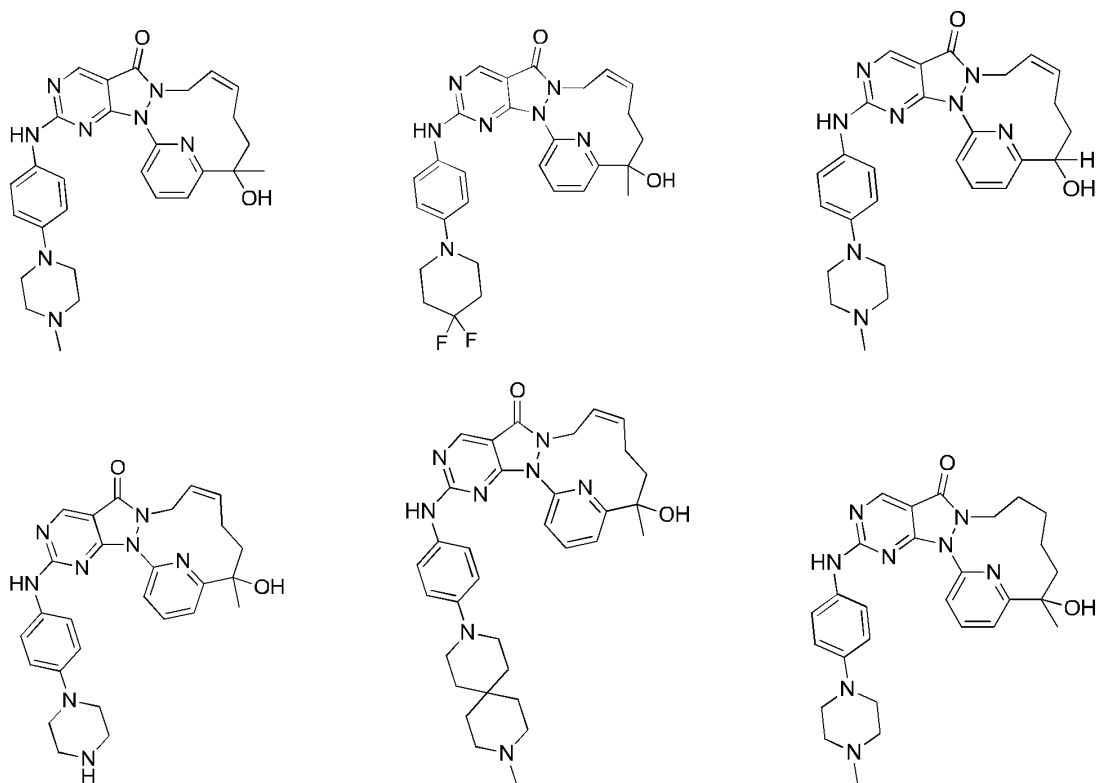
PCT/CN2018/112909



其中，

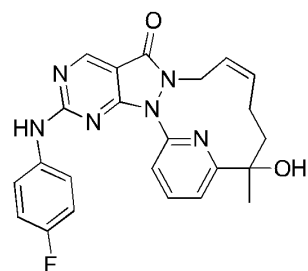
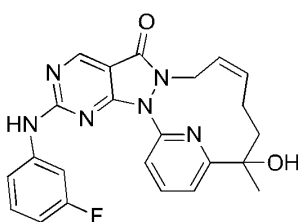
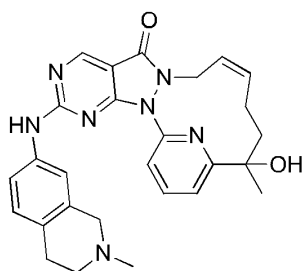
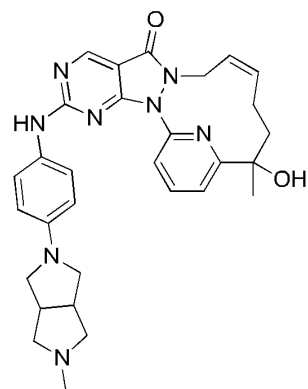
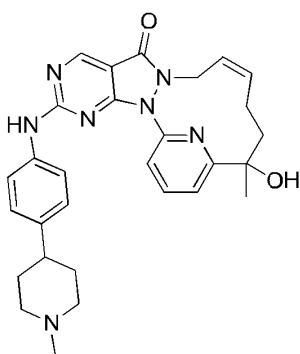
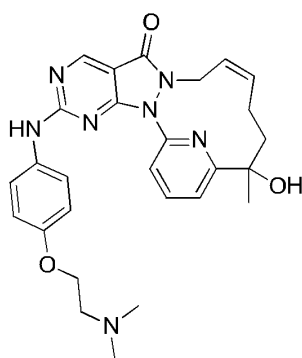
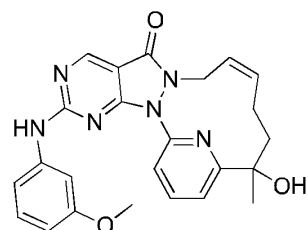
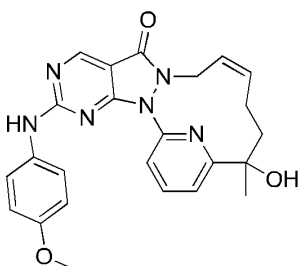
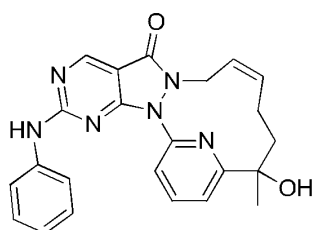
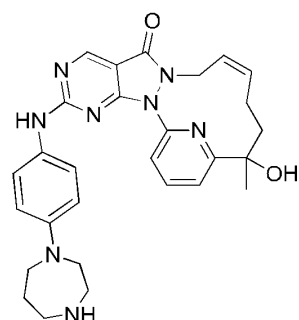
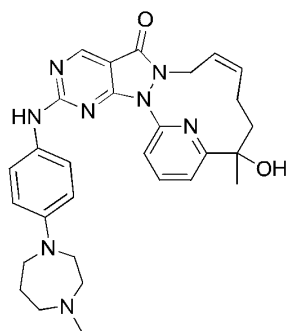
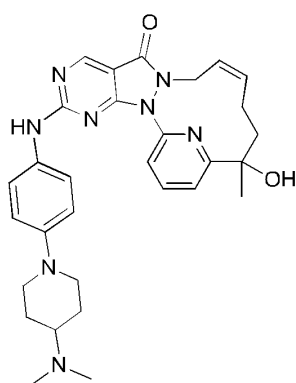
R₁、R₂、R₃和R₄如本发明所定义。

本发明还提供了下式化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，



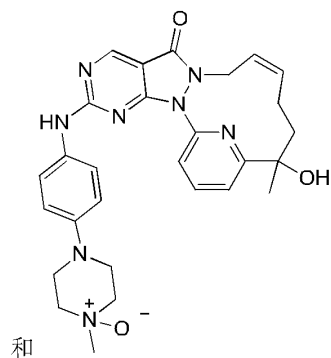
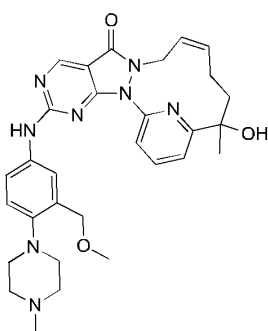
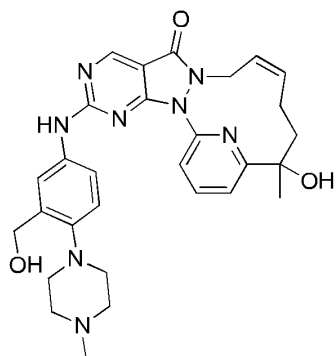
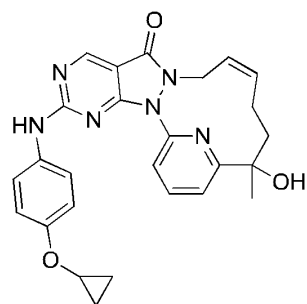
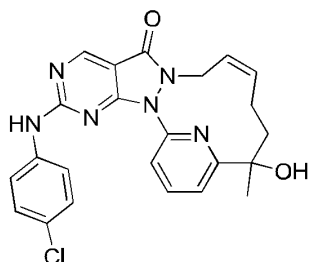
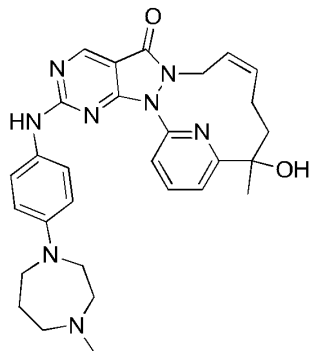
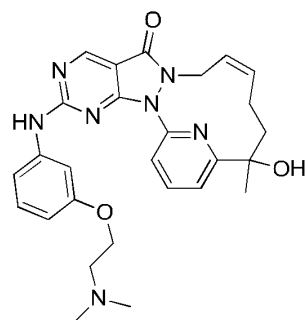
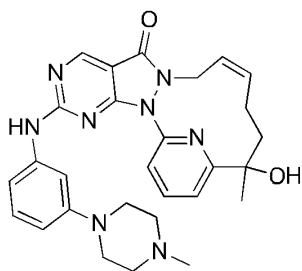
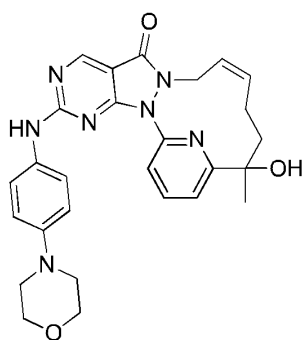
WO 2019/085933

PCT/CN2018/112909



WO 2019/085933

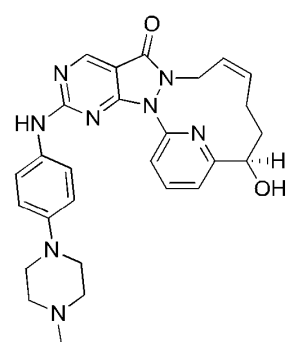
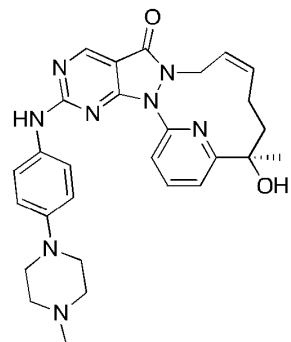
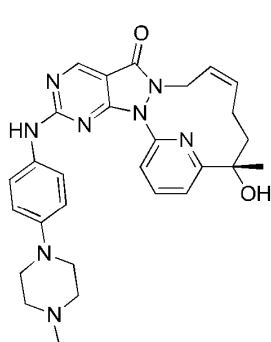
PCT/CN2018/112909



和

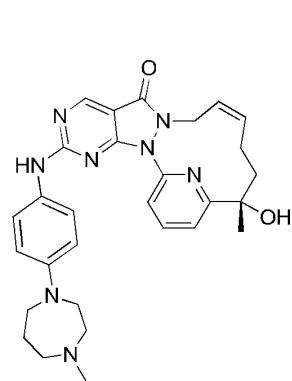
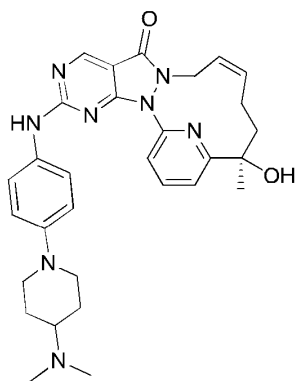
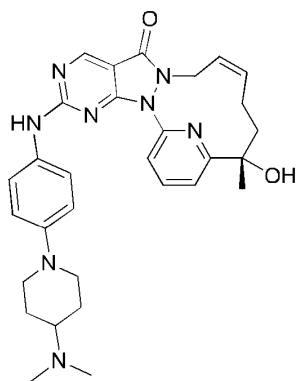
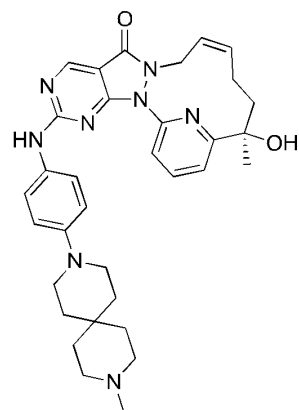
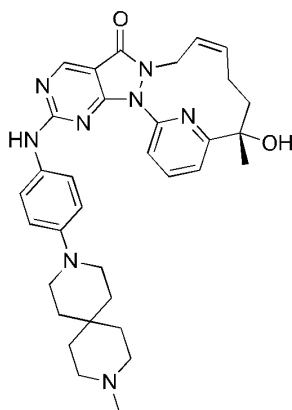
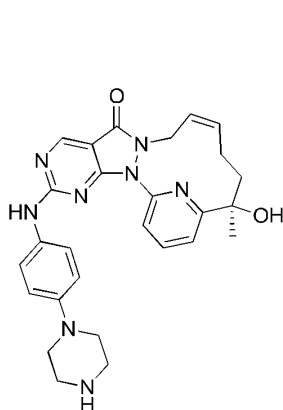
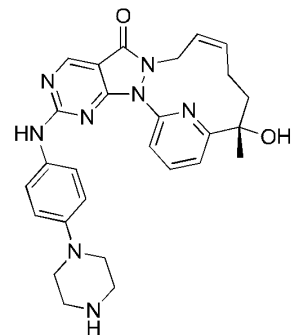
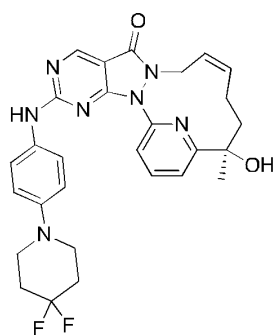
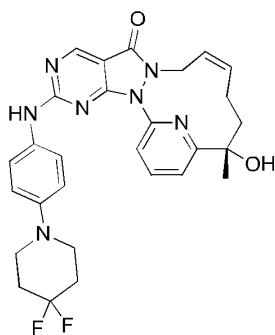
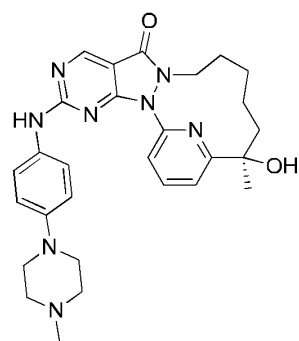
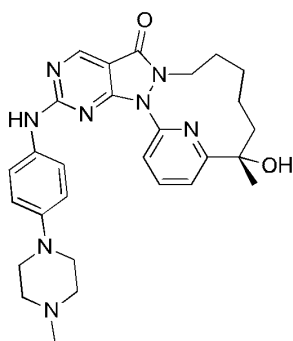
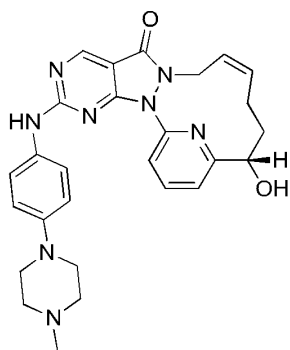
。

本发明的一些方案中，上述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，选自



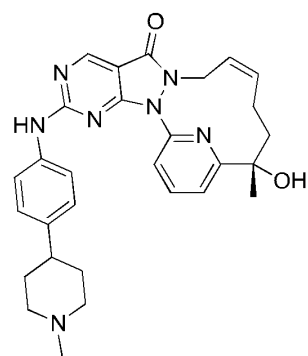
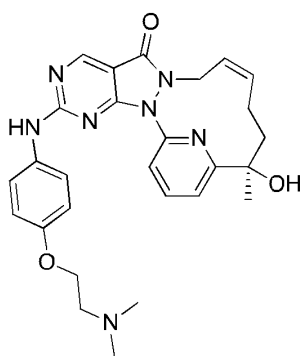
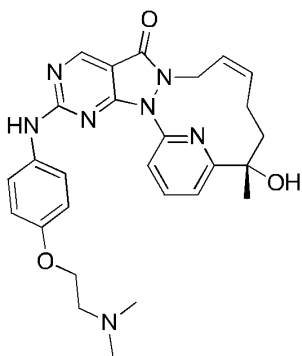
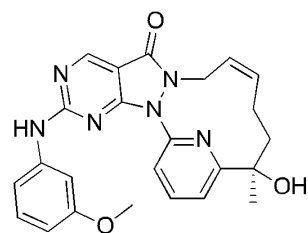
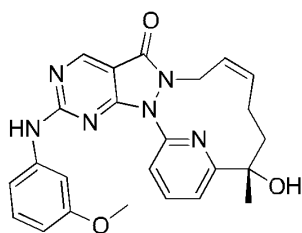
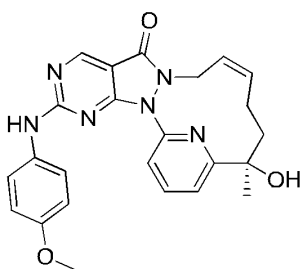
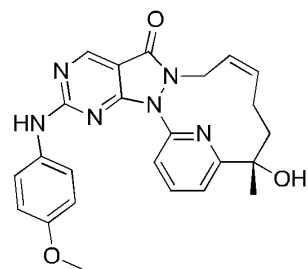
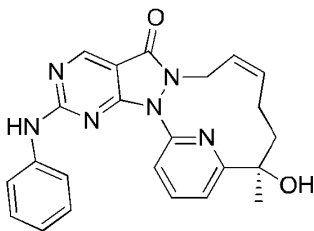
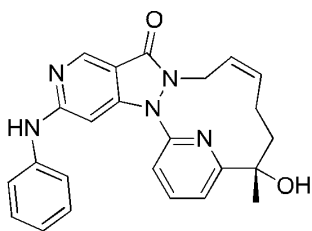
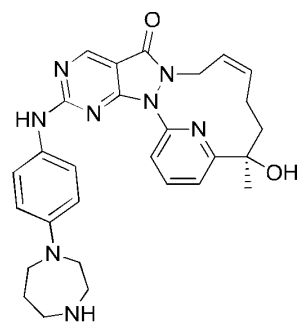
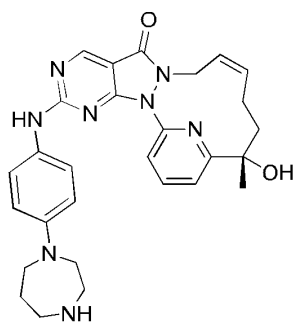
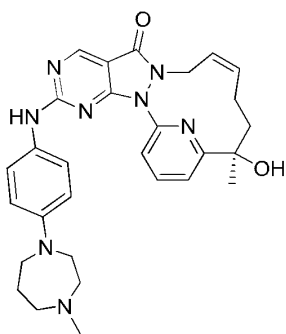
WO 2019/085933

PCT/CN2018/112909



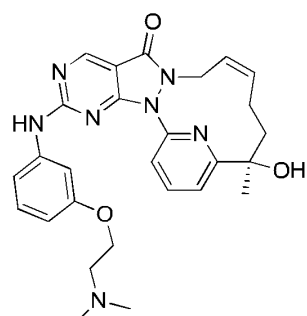
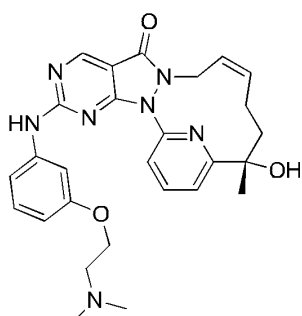
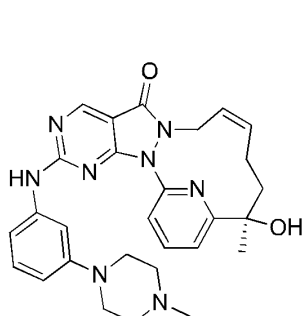
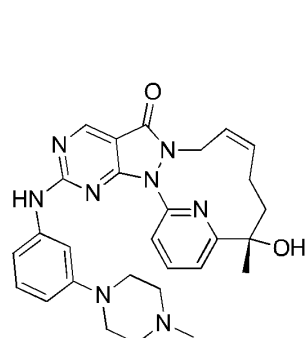
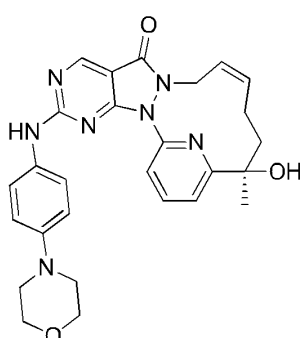
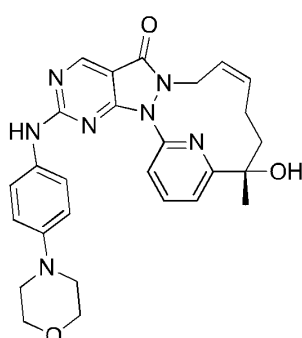
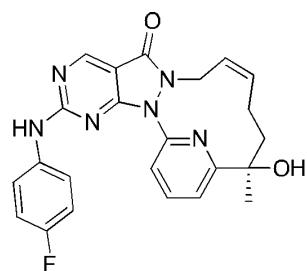
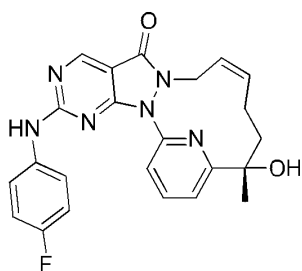
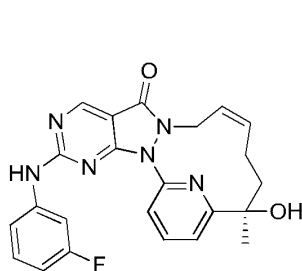
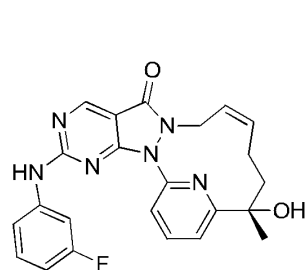
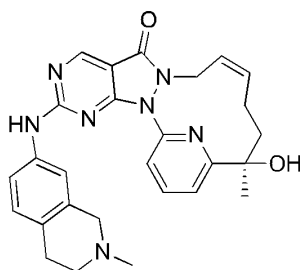
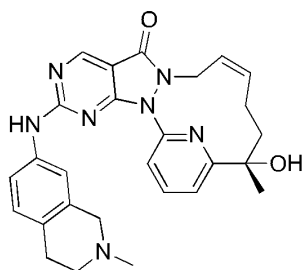
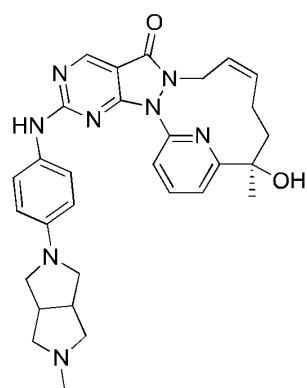
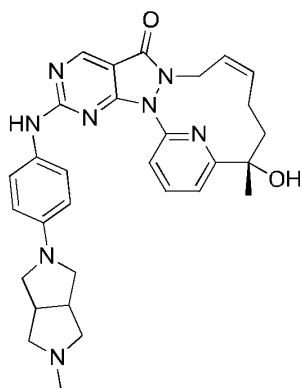
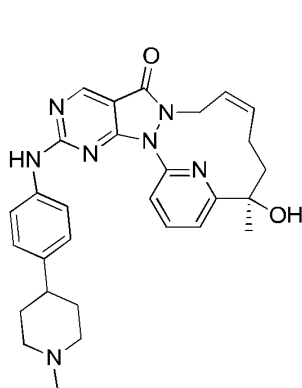
WO 2019/085933

PCT/CN2018/112909



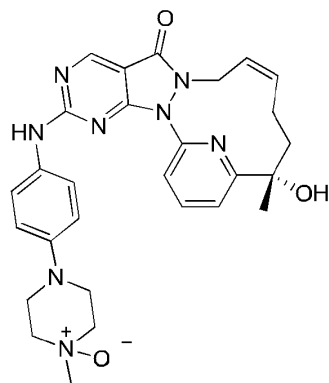
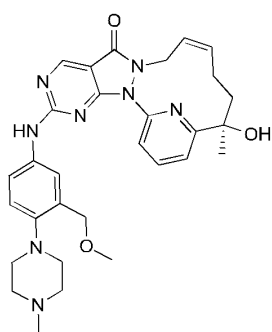
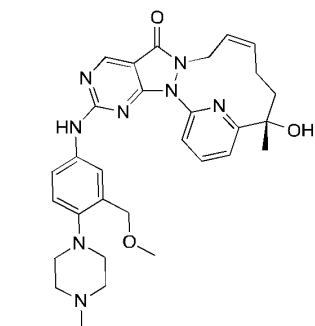
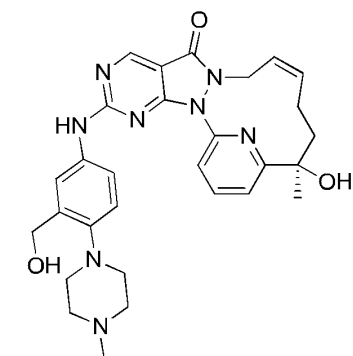
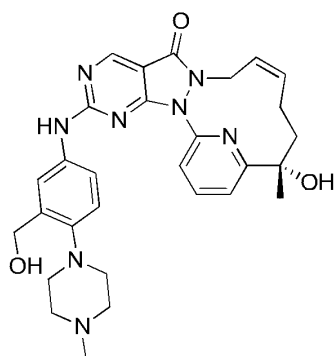
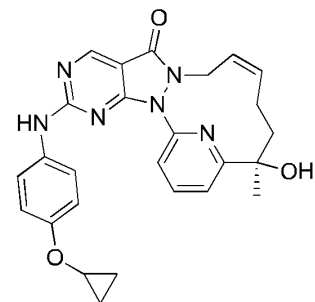
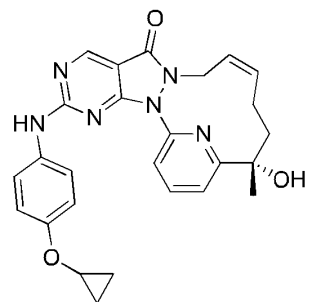
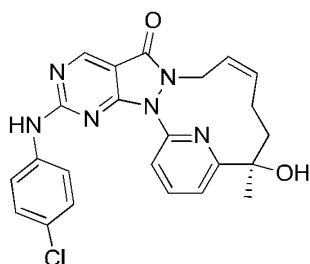
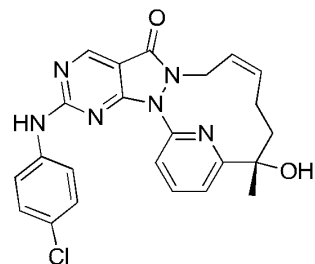
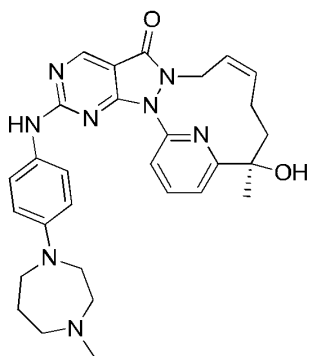
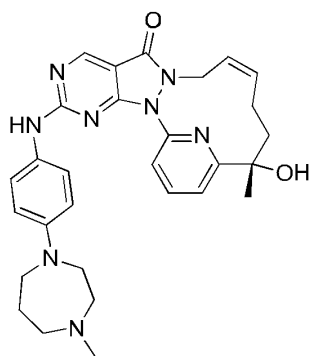
WO 2019/085933

PCT/CN2018/112909



WO 2019/085933

PCT/CN2018/112909



和

。

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 Wee1 相关疾病药物中的应用。

本发明的一些方案中，上述的应用，其特征在于，所述药物是用于治疗实体瘤的药物。

技术效果

作为新型的 Wee1 抑制剂，本发明化合物对 Wee1 激酶具有很好的抑制作用，渗透性良好；药代动

力学方面，显著提高药代动力学多项指标，其中体内清除率，半衰期，体内浓度积分以及生物利用度都有明显优势；体内药效方面，本发明化合物显著提高肿瘤的抑制作用，并且化合物的手性对于体内药效有着意想不到的影响。

定义和说明

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。当本文中出現商品名时，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、过敏性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的中性形式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、有机氢或镁盐或类似的盐。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的中性形式接触的方式获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括无机酸盐，所述无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸，碳酸氢根，磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硫酸、硫酸氢根、氢碘酸、亚磷酸等；以及有机酸盐，所述有机酸包括如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸和甲磺酸等类似的酸；还包括氨基酸（如精氨酸等）的盐，以及如葡萄糖醛酸等有机酸的盐。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。

除非另有说明，术语“对映异构体”或者“旋光异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。

除非另有说明，术语“顺反异构体”或者“几何异构体”系由因双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而引起。

除非另有说明，术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。

除非另有说明，“(D)”或者“(+)”表示右旋，“(L)”或者“(−)”表示左旋，“(DL)”或者“(±)”表示外消旋。

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 () 和直形虚线键 ()。

本发明的化合物可以存在特定的。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。

除非另有说明，术语“富含一种异构体”、“异构体富集”、“富含一种对映体”或者“对映体富集”指其中一种异构体或对映体的含量小于 100%，并且，该异构体或对映体的含量大于等于 60%，或者大于等于 70%，或者大于等于 80%，或者大于等于 90%，或者大于等于 95%，或者大于等于 96%，或者大于等于 97%，或者大于等于 98%，或者大于等于 99%，或者大于等于 99.5%，或者大于等于 99.6%，或者大于等于 99.7%，或者大于等于 99.8%，或者大于等于 99.9%。

除非另有说明，术语“异构体过量”或“对映体过量”指两种异构体或两种对映体相对百分数之间的差值。例如，其中一种异构体或对映体的含量为 90%，另一种异构体或对映体的含量为 10%，则异构体或对映体过量 (ee 值) 为 80%。

可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的(R)-和(S)-异构体以及 D 和 L 异构体。如果想得到本发明某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱性官能团 (如氨基) 或酸性官能团 (如羧基) 时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的常规方法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合 (例如由胺生成氨基甲酸盐)。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，相比于未氘代药物，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“药学上可接受的载体”是指能够递送本发明有效量活性物质、不干扰活性物质的生物活性并且对宿主或者患者无毒副作用的任何制剂或载体介质代表性的载体包括水、油、蔬菜和矿物质、膏基、洗剂基质、软膏基质等。这些基质包括悬浮剂、增粘剂、透皮促进剂等。它们的制剂为化妆品领域或局部药物领域的技术人员所周知。

针对药物或药理学活性剂而言，术语“有效量”或“治疗有效量”是指无毒的但能达到预期效果的药物或药剂的足够用量。对于本发明中的口服剂型，组合物中一种活性物质的“有效量”是指与该组合物中另一种活性物质联用时为了达到预期效果所需要的用量。有效量的确定因人而异，取决于受体的年龄和一般情况，也取决于具体的活性物质，个案中合适的有效量可以由本领域技术人员根据常规试验确定。

术语“活性成分”、“治疗剂”，“活性物质”或“活性剂”是指一种化学实体，它可以有效地治疗目标紊乱、疾病或病症。

“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。

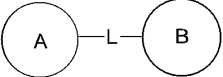
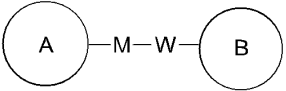
术语“被取代的”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代，可以包括重氢和氢的变体，只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为氧（即=O）时，意味着两个氢原子被取代。氧取代不会发生在芳香基上。术语“任选被取代的”是指可以被取代，也可以不被取代，除非另有规定，取代基的种类和数目在化学上可以实现的基础上可以是任意的。

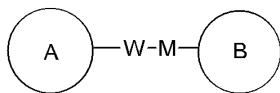
当任何变量（例如 R）在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立的。因此，例如，如果一个基团被 0-2 个 R 所取代，则所述基团可以任选地至多被两个 R 所取代，并且每种情况下的 R 都有独立的选项。此外，取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

当一个连接基团的数量为 0 时，比如 $-(CRR)_0-$ ，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。

当所列举的取代基中没有指明其通过哪一个原子连接到被取代的基团上时，这种取代基可以通过其任何原子相键合，例如，吡啶基作为取代基可以通过吡啶环上任意一个碳原子连接到被取代的基团上。

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， 中连接基团 L 为 -M-W-，此时 -M-W- 既可以按与从左往右的读取顺序相同的方向连接环 A 和环 B 构成 ，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，术语“杂”表示杂原子或杂原子团(即含有杂原子的原子团)，包括碳(C)和氢(H)以外的原子以及含有这些杂原子的原子团，例如包括氧(O)、氮(N)、硫(S)、硅(Si)、锗(Ge)、铝(Al)、硼(B)、-O-、-S-、=O、=S、-C(=O)O-、-C(=O)-、-C(=S)-、-S(=O)、-S(=O)₂-，以及任选被取代的-C(=O)N(H)-、-N(H)-、-C(=NH)-、-S(=O)₂N(H)-或-S(=O)N(H)-。

除非另有规定，“环”表示被取代或未被取代的环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、环炔基、杂环炔基、芳基或杂芳基。所谓的环包括单环、联环、螺环、并环或桥环。环上原子的数目通常被定义为环的元数，例如，“5~7元环”是指环绕排列5~7个原子。除非另有规定，该环任选地包含1~3个杂原子。因此，“5~7元环”包括例如苯基、吡啶和哌啶基；另一方面，术语“5~7元杂环烷基环”包括吡啶基和哌啶基，但不包括苯基。术语“环”还包括含有至少一个环的环系，其中的每一个“环”均独立地符合上述定义。

除非另有规定，术语“杂环”或“杂环基”意指稳定的含杂原子或杂原子团的单环、双环或三环，它们可以是饱和的、部分不饱和的或不饱和的(芳族的)，它们包含碳原子和1、2、3或4个独立地选自N、O和S的环杂原子，其中上述任意杂环可以稠合到一个苯环上形成双环。氮和硫杂原子可任选被氧化(即NO和S(O)_p，p是1或2)。氮原子可以是被取代的或未取代的(即N或NR，其中R是H或本文已经定义过的其他取代基)。该杂环可以附着到任何杂原子或碳原子的侧基上从而形成稳定的结构。如果产生的化合物是稳定的，本文所述的杂环可以发生碳位或氮位上的取代。杂环中的氮原子任选地被季铵化。一个优选方案是，当杂环中S及O原子的总数超过1时，这些杂原子彼此不相邻。另一个优选方案是，杂环中S及O原子的总数不超过1。如本文所用，术语“芳族杂环基团”或“杂芳基”意指稳定的5、6、7元单环或双环或7、8、9或10元双环杂环基的芳香环，它包含碳原子和1、2、3或4个独立地选自N、O和S的环杂原子。氮原子可以是被取代的或未取代的(即N或NR，其中R是H或本文已经定义过的其他取代基)。氮和硫杂原子可任选被氧化(即NO和S(O)_p，p是1或2)。值得注意的是，芳香杂环上S和O原子的总数不超过1。桥环也包含在杂环的定义中。当一个或多个原子(即C、O、N或S)连接两个不相邻的碳原子或氮原子时形成桥环。优选的桥环包括但不限于：一个碳原子、两个碳原子、一个氮原子、两个氮原子和一个碳-氮基。值得注意的是，一个桥总是将单环转换成三环。桥环中，环上的取代基也可以出现在桥上。

杂环化合物的实例包括但不限于：吡啶基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻吩基、苯并噻吩基、苯并恶唑基、苯并恶唑基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并异恶唑基、苯并异噻唑基、苯并咪唑基、咪唑基、4aH-咪唑基、咪唑基、苯并二氢吡喃基、色烯、噻吩基十氢噻

啉基、2*H*, 6*H*-1, 5, 2-二噻嗪基、二氢呋喃并[2,3-*b*]四氢呋喃基、呋喃基、呋喃基、咪唑烷基、咪唑啉基、咪唑基、1*H*-咪唑基、咪唑烯基、二氢咪唑基、中氮茛基、咪唑基、3*H*-咪唑基、异苯并呋喃基、异咪唑基、异二氢咪唑基、异噻啉基、异噻唑基、异恶唑基、亚甲二氧基苯基、吗啉基、蔡啉基，八氢异噻啉基、恶二唑基、1,2,3-恶二唑基、1,2,4-恶二唑基、1,2,5-恶二唑基、1,3,4-恶二唑基、恶唑烷基、恶唑基、羟咪唑基、嘧啶基、菲啉基、菲咯啉基、吩嗪、吩噻嗪、苯并黄嘌呤基、酚恶嗪基、酞嗪基、哌嗪基、哌啶基、哌啶酮基、4-哌啶酮基、胡椒基、蝶啶基、嘌呤基、吡喃基、吡嗪基、吡啶烷基、吡啶啉基、吡啶基、哒嗪基、吡啶并恶唑、吡啶并咪唑、吡啶并噻唑、吡啶基、吡咯烷基、吡咯啉基、2*H*-吡咯基、吡咯基、喹啉基、喹啉基、4*H*-喹啉基、喹啉啉基、奎宁环基、四氢呋喃基、四氢异噻啉基、四氢噻啉基、四唑基、6*H*-1,2,5-噻二嗪基、1,2,3-噻二唑基、1,2,4-噻二唑基、1,2,5-噻二唑基、1,3,4-噻二唑基、噻蒎基、噻唑基、异噻唑基噻吩基、噻吩并恶唑基、噻吩并噻唑基、噻吩并咪唑基、噻吩基、三嗪基、1*H*-1,2,3-三唑基、2*H*-1,2,3-三唑基、1*H*-1,2,4-三唑基、4*H*-1,2,4-三唑基和咕吨基。还包括稠环和螺环化合物。

除非另有规定，术语“烃基”或者其下位概念（比如烷基、烯基、炔基、芳基等等）本身或者作为另一取代基的一部分表示直链的、支链的或环状的烃原子团或其组合，可以是完全饱和的（如烷基）、单元或多元不饱和的（如烯基、炔基、芳基），可以是单取代或多取代的，可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基），可以包括二价或多价原子团，具有指定数量的碳原子（如 C₁-C₁₂ 表示 1 至 12 个碳，C₁₋₁₂ 选自 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁ 和 C₁₂；C₃₋₁₂ 选自 C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁ 和 C₁₂）。 “烃基”包括但不限于脂肪烃基和芳香烃基，所述脂肪烃基包括链状和环状，具体包括但不限于烷基、烯基、炔基，所述芳香烃基包括但不限于 6-12 元的芳香烃基，例如苯、萘等。在一些实施例中，术语“烃基”表示直链的或支链的原子团或它们的组合，可以是完全饱和的、单元或多元不饱和的，可以包括二价和多价原子团。饱和烃原子团的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、异丁基、环己基、（环己基）甲基、环丙基甲基，以及正戊基、正己基、正庚基、正辛基等原子团的同系物或异构体。不饱和烃基具有一个或多个双键或三键，其实例包括但不限于乙烯基、2-丙烯基、丁烯基、巴豆基、2-异戊烯基、2-（丁二烯基）、2, 4-戊二烯基、3-（1, 4-戊二烯基）、乙炔基、1-和 3-丙炔基、3-丁炔基，以及更高级的同系物和异构体。

除非另有规定，术语“杂烃基”或者其下位概念（比如杂烷基、杂烯基、杂炔基、杂芳基等等）本身或者与另一术语联合表示由一定数目的碳原子和至少一个杂原子组成的，稳定的直链、支链或环状的烃原子团或其组合。在一些实施例中，术语“杂烷基”本身或者与另一术语联合表示由一定数目的碳原子和至少一个杂原子组成的，稳定的直链或支链的烷基原子团或其组合物。在一个典型实施例中，杂原子选自 B、O、N 和 S，其中氮和硫原子任选地被氧化，氮杂原子任选地被季铵化。杂原子或杂原子团可以

位于杂烃基的任何内部位置，包括该烃基与分子其余部分的连接位置，但术语“烷氧基”、“烷氨基”和“烷硫基”（或硫代烷氧基）属于惯用表达，是指分别通过一个氧原子、氨基或硫原子连接到分子的其余部分的那些烷基基团。实例包括但不限于 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ 和 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 。至多两个杂原子可以是连续的，例如 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ 。

除非另有规定，术语“环烃基”、“杂环烃基”或者其下位概念（比如芳基、杂芳基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、环炔基、杂环炔基等等）本身或与其他术语联合分别表示环化的“烃基”、“杂烃基”。此外，就杂烃基或杂环烃基（比如杂烷基、杂环烷基）而言，杂原子可以占据该杂环附着于分子其余部分的位置。环烃基的实例包括但不限于环戊基、环己基、1-环己烯基、3-环己烯基、环庚基等。杂环基的非限制性实例包括 1-（1,2,5,6-四氢吡啶基）、1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-吗啉基、3-吗啉基、四氢呋喃-2-基、四氢呋喃吡啶-3-基、四氢噻吩-2-基、四氢噻吩-3-基，1-哌嗪基和 2-哌嗪基。

除非另有规定，术语“杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示环化的“杂烷基”，此外，就该“杂环烷基”而言，杂原子可以占据杂环烷基与分子其余部分的连接位置。在一些实施方案中，所述杂环烷基为 4~6 元杂环烷基；在另一些实施方案中，所述杂环烷基为 5~6 元杂环烷基。杂环烷基的实例包括但不限于氮杂环丁基、氧杂环丁基、硫杂环丁基、吡咯烷基、吡啶烷基、咪唑烷基、四氢噻吩基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、二恶烷基、二噻烷基、异恶唑烷基、异噻唑烷基、1,2-恶唑基、1,2-噻唑基、六氢哒嗪基、高哌嗪基、高哌啶基或氧杂环庚烷基。

除非另有规定，术语“烷基”用于表示直链或支链的饱和烃基，可以是单取代（如 $-\text{CH}_2\text{F}$ ）或多取代的（如 $-\text{CF}_3$ ），可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基）。烷基的例子包括甲基（Me），乙基（Et），丙基（如，n-丙基和 异丙基），丁基（如，n-丁基，异丁基，s-丁基，t-丁基），戊基（如，n-戊基，异戊基，新戊基）等。

除非另有规定，“烯基”指在链的任何位点上具有一个或多个碳碳双键的烷基，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价。烯基的例子包括乙烯基，丙烯基，丁烯基，戊烯基，己烯基，丁间二烯基，戊间二烯基，己间二烯基等。

除非另有规定，“炔基”指在链的任何位点上具有一个或多个碳碳三键的烷基，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价。炔基的例子包括乙炔基，丙炔基，丁炔基，戊炔基等。

除非另有规定，环烷基包括任何稳定的环状或多环烃基，任何碳原子都是饱和的，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价。这些环烷基的实例包括，但不限于，环丙基、降冰片烷基、[2.2.2]二环辛烷、[4.4.0]二环癸烷等。

除非另有规定，环烯基包括任何稳定的环状或多环烃基，该烃基在环的任何位点含有一个或多个不饱和的碳-碳双键，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价。这些环烯基的实例包括，

但不限于，环戊烯基、环己烯基等。

除非另有规定，环炔基包括任何稳定的环状或多环烃基，该烃基在环的任何位点含有一个或多个碳-碳三键，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价。

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。此外，术语“卤代烷基”意在包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如，术语“卤代（C₁-C₄）烷基”意在包括但不仅限于三氟甲基、2, 2, 2-三氟乙基、4-氯丁基和 3-溴丙基等等。除非另有规定，卤代烷基的实例包括但不仅限于：三氟甲基、三氯甲基、五氟乙基，和五氯乙基。

“烷氧基”代表通过氧桥连接的具有特定数目碳原子的上述烷基，除非另有规定，C₁₋₆ 烷氧基包括 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅ 和 C₆ 的烷氧基。烷氧基的例子包括但不限于：甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基和 *S*-戊氧基。

除非另有规定，术语“芳基”表示多不饱和的芳族烃取代基，可以是单取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价，它可以是单环或多环（比如 1 至 3 个环；其中至少一个环是芳族的），它们稠合在一起或共价连接。术语“杂芳基”是指含有一至四个杂原子的芳基（或环）。在一个示范性实例中，杂原子选自 B、N、O 和 S，其中氮和硫原子任选地被氧化，氮原子任选地被季铵化。杂芳基可通过杂原子连接到分子的其余部分。芳基或杂芳基的非限制性实施例包括苯基、萘基、联苯基、吡咯基、吡啶基、咪唑基、吡嗪基、恶唑基、苯基-恶唑基、异恶唑基、噻唑基、呋喃基、噻吩基、吡啶基、嘧啶基、苯并噻唑基、嘌呤基、苯并咪唑基、吲哚基、异喹啉基、喹啉基、喹啉基、1-萘基、2-萘基、4-联苯基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、3-吡啶基、2-咪唑基、4-咪唑基、吡嗪基、2-恶唑基、4-恶唑基、2-苯基-4-恶唑基、5-恶唑基、3-异恶唑基、4-异恶唑基、5-异恶唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-苯并噻唑基、嘌呤基、2-苯并咪唑基、5-吲哚基、1-异喹啉基、5-异喹啉基、2-喹啉基、5-喹啉基、3-喹啉基和 6-喹啉基。上述任意一个芳基和杂芳基环系的取代基选自下文所述的可接受的取代基。

除非另有规定，芳基在与其他术语联合使用时（例如芳氧基、芳硫基、芳烷基）包括如上定义的芳基和杂芳基环。因此，术语“芳烷基”意在包括芳基附着于烷基的那些原子团（例如苄基、苯乙基、吡啶基甲基等），包括其中碳原子（如亚甲基）已经被例如氧原子代替的那些烷基，例如苯氧基甲基、2-吡啶氧甲基 3-（1-萘氧基）丙基等。

术语“离去基团”是指可以被另一种官能团或原子通过取代反应（例如亲和取代反应）所取代的官能团或原子。例如，代表性的离去基团包括三氟甲磺酸酯；氯、溴、碘；磺酸酯基，如甲磺酸酯、甲苯磺酸酯、对溴苯磺酸酯、对甲苯磺酸酯等；酰氧基，如乙酰氧基、三氟乙酰氧基等等。

术语“保护基”包括但不限于“氨基保护基”、“羟基保护基”或“巯基保护基”。术语“氨基保护基”是指适合用于阻止氨基氮位上副反应的保护基团。代表性的氨基保护基包括但不限于：甲酰基；酰基，例如

链烷酰基(如乙酰基、三氯乙酰基或三氟乙酰基); 烷氧基羰基, 如叔丁氧基羰基(Boc); 芳基甲氧羰基, 如苄氧羰基(Cbz)和 9-苄甲氧羰基(Fmoc); 芳基甲基, 如苄基(Bn)、三苯甲基(Tr)、1,1-二-(4'-甲氧基苯基)甲基; 甲硅烷基, 如三甲基甲硅烷基(TMS)和叔丁基二甲基甲硅烷基(TBS)等等。术语“羟基保护基”是指适合用于阻止羟基副反应的保护基。代表性羟基保护基包括但不限于: 烷基, 如甲基、乙基和叔丁基; 酰基, 例如链烷酰基(如乙酰基); 芳基甲基, 如苄基(Bn), 对甲氧基苄基(PMB)、9-苄基甲基(Fm)和二苯基甲基(二苯甲基, DPM); 甲硅烷基, 如三甲基甲硅烷基(TMS)和叔丁基二甲基甲硅烷基(TBS)等等。

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上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。

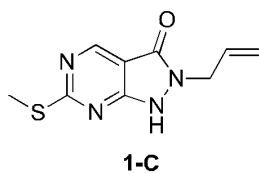
本发明所使用的溶剂可经市售获得。本发明采用下述缩略词: aq 代表水; HATU 代表 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐; EDC 代表 N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐; m-CPBA 代表 3-氯过氧苯甲酸; eq 代表当量、等量; CDI 代表羰基二咪唑; DCM 代表二氯甲烷; PE 代表石油醚; DIAD 代表偶氮二羧酸二异丙酯; DMF 代表 N,N-二甲基甲酰胺; DMSO 代表二甲亚砜; EtOAc 代表乙酸乙酯; EtOH 代表乙醇; MeOH 代表甲醇; CBz 代表苄氧羰基, 是一种胺保护基团; BOC 代表叔丁氧羰基是一种胺保护基团; HOAc 代表乙酸; NaCNBH₃ 代表氰基硼氢化钠; r.t.代表室温; O/N 代表过夜; THF 代表四氢呋喃; Boc₂O 代表二-叔丁基二碳酸酯; TFA 代表三氟乙酸; DIPEA 代表二异丙基乙基胺; SOCl₂ 代表氯化亚砷; CS₂ 代表二硫化碳; TsOH 代表对甲苯磺酸; NFSI 代表 N-氟-N-(苯磺酰基)苯磺酰胺; NCS 代表 N-氯代丁二酰亚胺; n-Bu₄NF 代表氟化四丁基铵; iPrOH 代表 2-丙醇; mp 代表熔点; LDA 代表二异丙基胺基锂; EA 代表乙酸乙酯; NH₃H₂O 代表氨水; DEA 代表二乙醇胺; m-CPBA 代表间氯过氧苯甲酸; ACN 代表乙腈; Tris-HCl 代表三羟甲基氨基甲烷盐酸盐; EDTA 代表乙二胺四乙酸; IPA 代表异丙醇; NEAA 代表非必需氨基酸。

化合物经手工或者 ChemDraw®软件命名, 市售化合物采用供应商目录名称。

具体实施方式

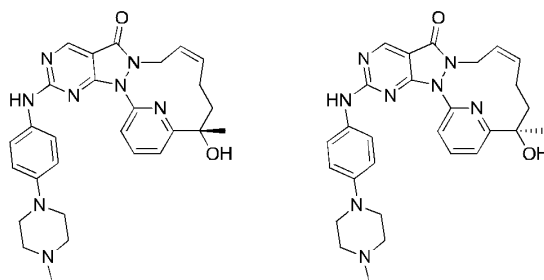
下面通过实施例对本发明进行详细描述, 但并不意味着对本发明任何不利限制。本文已经详细地描述了本发明, 其中也公开了其具体实施方式, 对本领域的技术人员而言, 在不脱离本发明精神和范围的情况下针对本发明具体实施方式进行各种变化和改进行将是显而易见的。

中间体 1

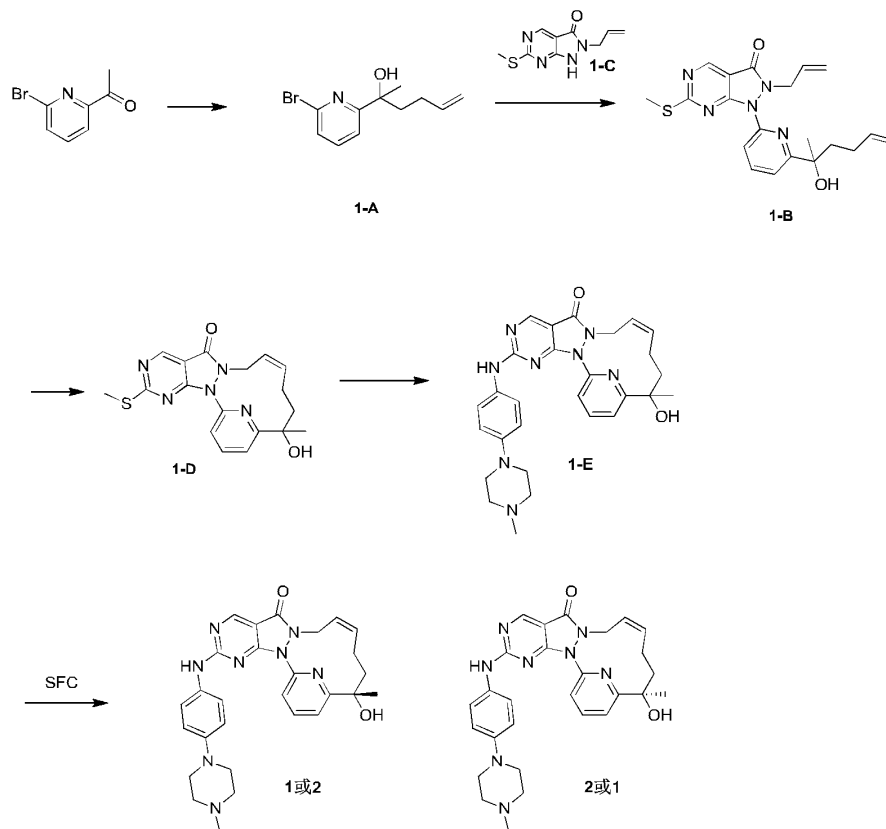


参考专利 WO2007126122 中的合成方法制备。

实施例 1: 化合物 1 和化合物 2



合成路线:



步骤 1: 化合物 **1-A** 的合成。

在 0~15 °C 下, 氮气保护下往 2-乙酰基-6-溴吡啶 (7.35 g, 36.74 mmol) 的 THF (150 mL) 溶液中滴加入 3-丁烯基溴化镁 (1 M, 55.12 mL), 然后此反应液 10~20 °C 搅拌 3 小时。加入饱和氯化铵溶液 100 mL 淬灭反应, 分液拿到有机层, 再用饱和氯化钠 50 mL 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩旋干得到棕色油状物。

此棕色油状物，再用硅胶柱层析纯化（PE/EA=7/1）得到 **1-A**。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.73 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 5.78~5.7 (m, 1H), 4.94~4.85 (m, 2H), 2.07~2.01 (m, 1H), 1.90~1.71 (m, 3H), 1.41 (s, 3H)。

步骤 2: 化合物 **1-B** 的合成。

往 **1-A** (3.47 g, 13.55 mmol) 和 **1-C** (3.01 g, 13.55 mmol) 的二氧六环 (150 mL) 混合物中加入 *N,N'*-二甲基乙二胺 (1.31 g, 14.90 mmol, 1.60 mL), 碘化亚铜 (2.58 g, 13.55 mmol) 和碳酸钾 (2.62 g, 18.97 mmol), 氮气置换三次, 然后此混合物在氮气保护下 95℃ 搅拌 1.5 小时, 加入氨水 (28%) 200 mL, 然后用乙酸乙酯萃取 (300 mL×2), 合并有机层, 饱和食盐水洗涤 200 mL, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩至干。混合物用硅胶柱层析 (PE/EA=3/1) 纯化得到 **1-B**。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.02 (s, 1H), 8.04 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.77~5.67 (m, 2H), 5.01~4.79 (m, 6H), 2.56 (s, 3H), 2.15~2.11 (m, 1H), 1.85~1.75 (m, 2H), 1.70~1.60 (m, 1H), 1.46 (s, 3H)。

步骤 3: 化合物 **1-D** 的合成。

往 **1-B** (2.06 g, 5.18 mmol) 的甲苯 (700 mL) 溶液中加入 Grubbs 第二代催化剂 (1.32 g, 1.55 mmol), 然后此混合物在 80℃ 和氮气氛围下搅拌 6 小时。补加 Grubbs 第二代催化剂 (0.65 g, 0.775 mmol), 然后此混合物在 80℃ 和氮气氛围下搅拌 3 小时。冷却到室温, 过滤, 滤液浓缩至干得到褐色残留物。经硅胶柱层析纯化 (PE/EA=1/1) 得到 **1-D**。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.07 (s, 1H), 8.06 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.39~5.25 (m, 3H), 4.66 (d, $J=5.2$ Hz, 2H), 2.62 (s, 3H), 2.40~1.95 (m, 3H), 1.85~1.65 (m, 1H), 1.64 (s, 3H)。

步骤 4: 化合物 **1-E** 的合成。

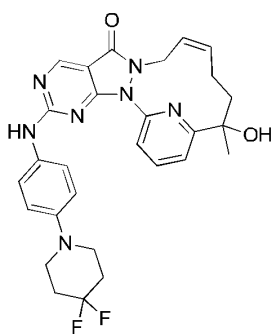
在化合物 **1-D** (360 mg, 974.45 μ mol) 的甲苯 (35 mL) 溶液中加入间氯过氧苯甲酸 (265.09 mg, 1.31 mmol, 85% 纯度), 反应在 25℃ 下搅拌 2 小时。向反应液中加入 4-(4-甲基哌嗪) 苯胺 (242.30 mg, 1.27 mmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (503.76 mg, 3.90 mmol)。反应液在 25℃ 搅拌 12 小时。向反应液中加入 25 mL 水, 并搅拌, 用乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取水相。合并有机相, 用饱和碳酸氢钠溶液 (30 mL) 和饱和食盐水 (30 mL) 各洗涤一次, 无水硫酸钠干燥。过滤, 真空下浓缩得粗品, 粗品经制备液相 (中性) 分离得到 **1-E**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.70 (s, 3 H) 1.78 (br d, $J=13.54$ Hz, 2 H) 2.04 (br d, $J=6.54$ Hz, 1 H) 2.08 - 2.23 (m, 2 H) 2.39 (s, 3 H) 2.62 - 2.64 (m, 4 H) 3.21 - 3.24 (m, 4 H) 4.24 (br s, 1 H) 4.51 (br d, $J=13.54$ Hz, 1 H) 5.61 - 5.88 (m, 2 H) 6.95 (d, $J=9.04$ Hz, 2 H) 7.49 (d, $J=9.04$ Hz, 3 H) 7.81 - 7.90 (m, 2 H) 8.87 (s, 1 H); MS m/z : 513.1 [M+H]⁺。

步骤 5: 化合物 **1** 和 **2** 的合成。

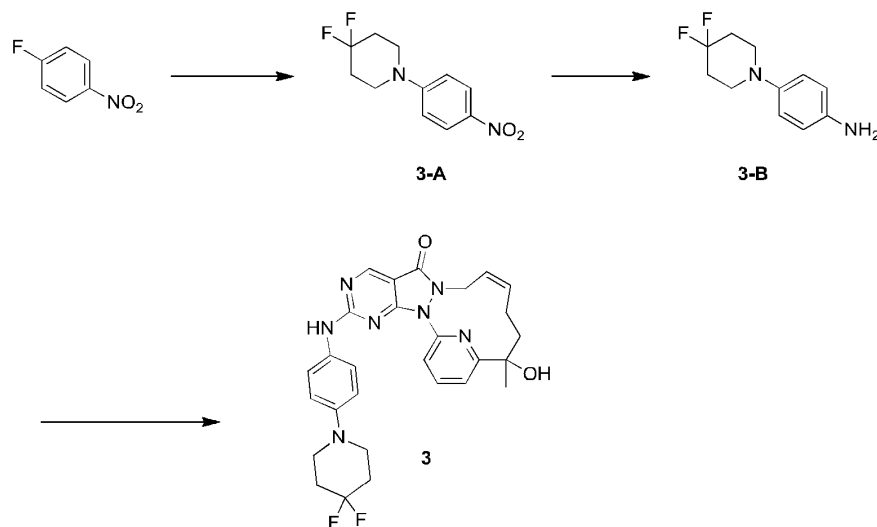
化合物 **1-E** (100 mg, 195.08 μ mol) 经过 SFC 手性拆分 (色谱柱: AD 250×50 mm I.D., 10 μ m 流动相: A: 超

临界 CO_2 , B: $\text{EtOH}(0.1\%\text{NH}_3\text{H}_2\text{O})$, A:B =55:45 at 200mL/min) 得**1**, 保留时间: 21 min。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.60 (s, 3 H) 1.68 (br s, 2 H) 1.94 (br d, $J=7.04$ Hz, 1 H) 2.00 - 2.20 (m, 2 H) 2.30 (s, 3 H) 2.52 - 2.55 (m, 4 H) 3.12 - 3.15 (m, 4 H) 4.24 (br s, 1 H) 4.42 (br d, $J=9.54$ Hz, 1 H) 5.65 (br s, 2 H) 6.85 (d, $J=9.04$ Hz, 2 H) 7.17 (s, 1 H) 7.40 (d, $J=9.04$ Hz, 2 H) 7.69 - 7.81 (m, 2 H) 8.77 (s, 1 H)。MS m/z : 513.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。和**2**, 保留时间: 42 min。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.61 (s, 3 H) 1.70 (br d, $J=5.02$ Hz, 2 H) 1.94 (br s, 1 H) 2.03 - 2.18 (m, 2 H) 2.30 (s, 3 H) 2.52 - 2.55 (m, 4 H) 3.12 - 3.15 (m, 4 H) 4.16 (br s, 1 H) 4.42 (br d, $J=11.04$ Hz, 1 H) 5.66 (br s, 2 H) 6.85 (d, $J=9.04$ Hz, 2 H) 7.18 (s, 1 H) 7.40 (d, $J=9.04$ Hz, 2 H) 7.71 - 7.81 (m, 2 H) 8.77 (s, 1 H)。MS m/z : 513.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 2: 化合物 3



合成路线:



步骤 1: 化合物 **3-A** 的合成。

将化合物 4-氟硝基苯(2.46 g, 17.45 mmol, 1.85 mL) 加入到 DMF (30 mL) 中, 再加入 K_2CO_3 (5.48 g, 39.66 mmol) 和 4,4-二氟哌啶盐酸盐 (2.5 g, 15.86 mmol), 反应混合液在 60 $^\circ\text{C}$ 下反应 6 小时。向反应液中加入 H_2O (20mL) 稀释, 再加入 EtOAc (20 mL) 萃取, 有机相干燥, 过滤浓缩得到粗品。过柱纯化(SiO_2 ,

PE/EA=100/1 至 20/1) 得到化合物 **3-A**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.05 - 8.21 (m, 2 H) 6.78 - 6.93 (m, 2 H) 3.53 - 3.65 (m, 4 H) 2.09 (ddd, J=19.46, 13.51, 5.84 Hz, 4 H); MS m/z: 242.09 [M+H]⁺。

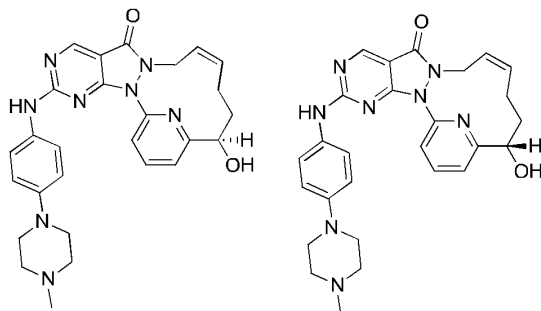
步骤 2: 化合物 **3-B** 的合成。

将化合物 **3-A** (1.5 g, 6.19 mmol) 加入到 THF (15 mL) 中, 然后加入 Pd/C (0.2 g, 10% 纯度), 反应液在 H₂ 氛围 (15psi) 下, 25 °C 搅拌 2 小时, 将反应液过滤除去 Pd/C, 有机相旋干得到 **3-B**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 6.69 - 6.84 (m, 2 H) 6.53 - 6.64 (m, 2 H) 3.02 - 3.17 (m, 4 H) 1.97 - 2.13 (m, 4 H) MS m/z: 212.11 [M+H]⁺。

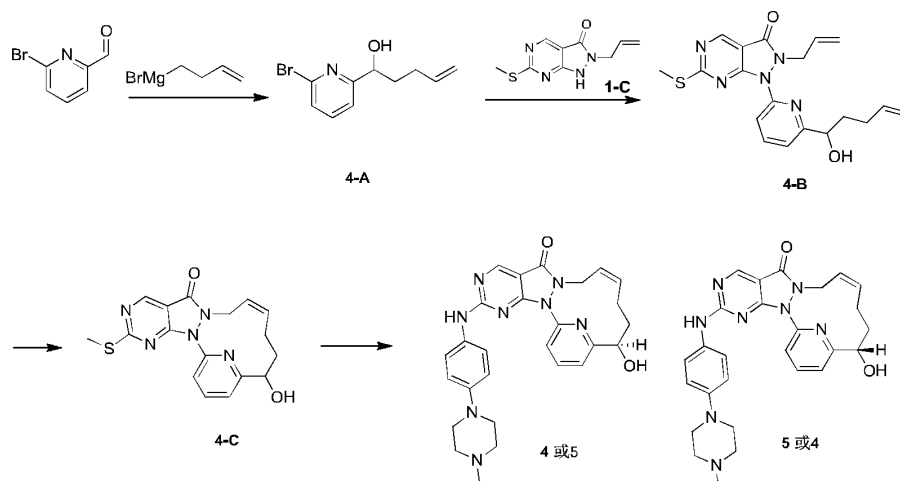
步骤 3: 化合物 **3** 的合成。

将 **1-D** (0.2, 541.36 μmol) 加入到甲苯 (2 mL) 中, 然后加入 *m*-CPBA (153.87 mg, 757.90 μmol, 85% 纯度), 反应混合液在 25 °C 搅拌 1 小时, 然后加入 **3-B** (126.39 mg, 595.50 μmol), 反应混合液在 25 °C 下搅拌 2 小时, 向反应液中加入饱和 Na₂SO₃ 溶液 (10 mL), 再加入 EtOAc (10 mL×3) 萃取, 有机相干燥, 过滤浓缩得到棕色油状物。通过制备 TLC (SiO₂, PE/EA=1: 1) 再又经高效液相制备纯化得到 **3**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.86 (s, 1 H) 7.84 - 7.90 (m, 1 H) 7.77 - 7.83 (m, 1 H) 7.45 - 7.57 (m, 3 H) 6.95 (d, J=9.04 Hz, 2 H) 5.72 (br s, 2 H) 4.22 (s, 1 H) 3.28 - 3.38 (m, 4 H) 2.04 - 2.24 (m, 6 H) 1.61 - 1.72 (m, 7 H) MS m/z: 533.24 [M+H]⁺。

实施例 3: 化合物 4 和化合物 5



合成路线:



步骤1：化合物**4-A**的合成。

在 0~15 °C 下，氮气保护下往化合物 6-溴吡啶-2-甲醛 (15 g, 80.64 mmol) 的 THF (150 mL) 溶液中滴加入 3-丁烯溴化镁 (0.5 M, 725.78 mL)，然后此反应液在 10~20 °C 搅拌 12 小时。加入饱和氯化铵 50mL，并用乙酸乙酯 200mL 萃取，有机相用饱和食盐水 100mL 洗涤，用无水硫酸钠干燥，过滤，旋干得到深棕色油状物。再用硅胶柱层析纯化 (PE/EA=5/1) 得到 **4-A**。MS m/z : 242.0 [M+H]⁺;

步骤 2：化合物 **4-B** 的合成。

在反应瓶中加入化合物 **4-A** (1.29 g, 5.34 mmol)，中间体 **1-C** (1.13 g, 5.08 mmol)，CuI (1.02 g, 5.34 mmol)，K₂CO₃ (1.03 g, 7.43 mmol)，*N,N'*-二甲基乙二胺 (518.25 mg, 5.88 mmol, 632.78 μL)，1,4-二氧六环 (20 mL)，氮气置换三次，氮气氛围中，此反应液在 95°C 搅拌 13 小时。加入氨水 50 mL，用乙酸乙酯 100 mL 萃取，有机相用饱和食盐水 50 mL 洗涤，用无水硫酸钠干燥，过滤，旋干。得到 **4-B**。MS m/z : 384.2 [M+H]⁺。

步骤 3：化合物 **4-C** 的合成。

在反应瓶中加入化合物 **4-B** (1.3 g, 3.39 mmol)，Grubbs 第二代催化剂 (863.44 mg, 1.02 mmol)，甲苯 (455 mL)，然后氮气置换三次，在氮气氛围中，此反应液在 80°C 搅拌 6 小时。过滤，滤液旋干。过柱纯化 (二氧化硅，石油醚：乙酸乙酯=10:1~1:1)。得粗品 **4-C**。MS m/z : 355.9 [M+H]⁺。

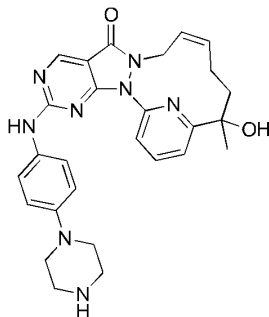
步骤 4：化合物 **4** 和化合物 **5** 的合成。

在反应瓶中加入化合物 **4-C** (0.159 g, 447.37 μmol)，*m*-CPBA (124.43 mg, 612.89 μmol)，甲苯 (2 mL)，此反应液在 25°C 搅拌 1 小时。往反应液中加入 4-(4-甲基哌嗪)苯胺 (119.80 mg, 626.32 μmol)，二异丙基乙二胺 (289.09 mg, 2.24 mmol, 389.61 μL)，此反应液在 25°C 搅拌 12 小时。反应液中加入饱和亚硫酸钠水溶液 5mL，加入 DCM 10 mL 萃取，有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，旋干得到粗品。将粗品溶于 2mL 甲醇中，用制备液相 (色谱柱: Luna C18 100*30mm 5μm; 流动相: [水(0.1%TFA)-ACN]; B (乙腈) %: 15%-35%, 10min) 分离并用阿尔伯特-21 碱性树脂游离 (调节 pH=7)，过滤浓缩得残留物。重复上述操作又得到一批残留物，两批残留物经过 SFC (色谱柱: Chiralpak AD-H 250*30mm i.d. 5μm，流动相: A: CO₂,

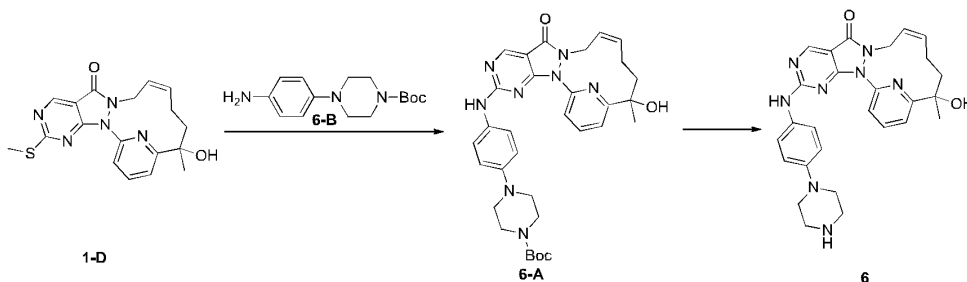
B: IPA(0.1%NH₃H₂O), 梯度: B%=45%流速:75 g/min) 分离, 得到 **4**, 保留时间: 10.5 min。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.85 (s, 1 H), 7.82 - 7.89 (m, 2 H) 7.45 - 7.54 (m, 2 H) 7.18 - 7.24 (m, 1 H) 6.91 - 6.96 (m, 2 H) 5.71 - 5.73 (m, 2 H) 4.92 - 4.97 (m, 1 H) 4.41 - 4.47 (m, 1 H) 3.19 - 3.27 (m, 4 H) 2.60 - 2.72 (m, 4 H) 2.41 (s, 3 H) 1.5 - 2.2 (m, 6 H); MS m/z : 499.2 [M+H]⁺。

和**5**, 保留时间: 16 min。

实施例 4: 化合物 6



合成路线:



步骤 1: 化合物 **6-A** 的合成。

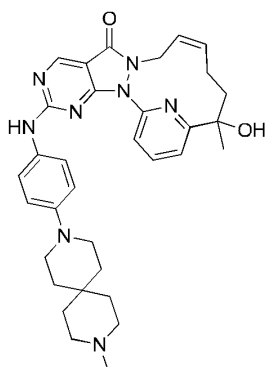
在化合物 **1-D** (128 mg, 346.47 μ mol) 的甲苯(30 mL)溶液中加入间氯过氧苯甲酸(92.85 mg, 457.34 μ mol, 85% 纯度), 反应在 25℃ 下搅拌 2 小时。向反应液中加入 **6-B** (134.54 mg, 485.06 μ mol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (223.89 mg, 1.73 mmol)。反应液在 25℃ 搅拌 12 小时。向反应液中加入 10mL 水, 并搅拌, 用乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 3) 萃取水相。合并有机相, 用饱和碳酸氢钠溶液(20 mL)、饱和食盐水(20 mL)各洗涤一次, 无水硫酸钠干燥。过滤, 真空下浓缩得粗品 **6-A**。MS m/z : 599.1[M+H]⁺。

步骤 2: 化合物 **6** 的合成。

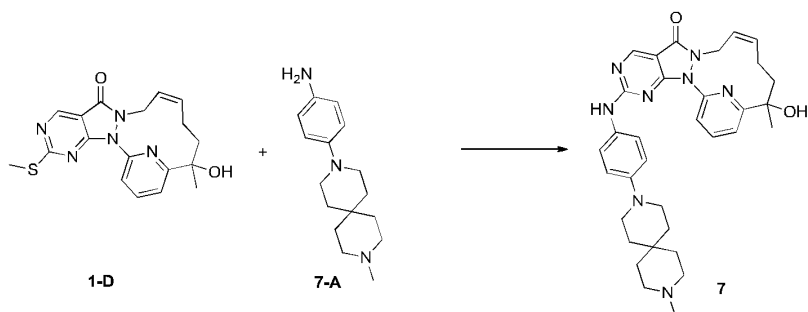
在化合物 **6-A** (265 mg, 442.63 μ mol) 的二氯甲烷(15 mL)溶液中加入三氟醋酸(7.70 g, 67.53 mmol), 反应在 20℃ 下搅拌 30 分钟。反应液旋蒸得粗品, 向其中加入饱和碳酸氢钠溶液调节 pH=7~8, 水相用乙酸乙酯 (20 mL $\times$ 3) 萃取水相。合并有机相, 饱和食盐水(20 mL)洗涤一次, 无水硫酸钠干燥。过滤, 真空下浓缩得粗品, 粗品经制备液相分离 (中性) 分离得到 **6**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.61 (s, 3 H) 1.70 (br d, J =5.02 Hz, 2 H) 1.86 - 1.97 (m, 1 H) 2.00 - 2.14 (m, 2 H) 2.97 - 3.01 (m, 4 H) 3.05 - 3.09 (m, 4 H) 4.23 (br s, 1 H) 4.42 (br d, J =13.04 Hz, 1 H) 5.65 (br s, 2 H) 6.86 (d, J =9.04 Hz, 2 H) 7.40 (br d, J =9.04 Hz, 3 H)

7.71 - 7.82 (m, 2 H) 8.78 (s, 1 H)。MS m/z : 499.0 $[M+H]^+$ 。

实施例 5: 化合物 7



合成路线:

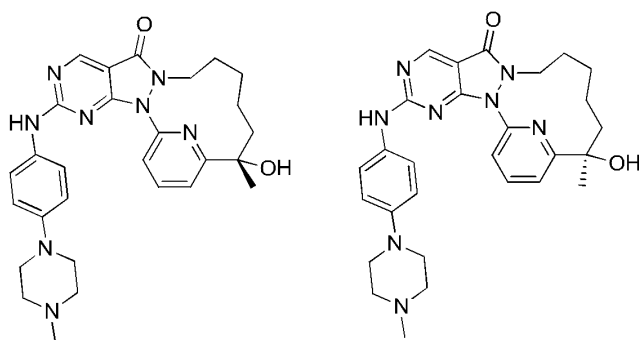


步骤 1: 化合物 7 的合成。

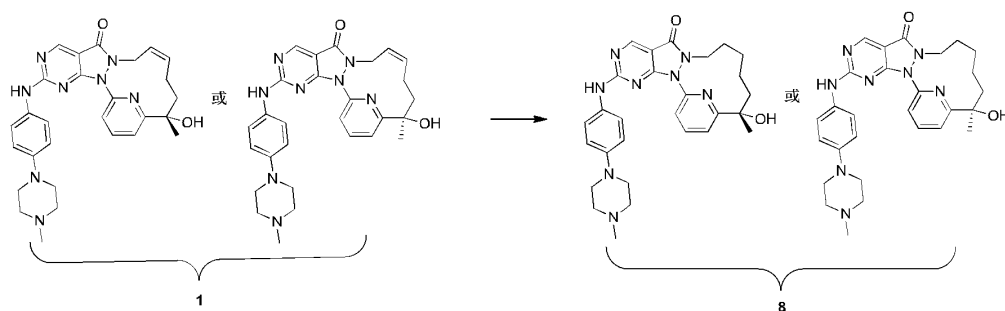
在化合物 **1-D** (0.35 g, 947.38 μmol) 的甲苯 (30 mL) 溶液中加入间氯过氧苯甲酸 (257.73 mg, 1.27 mmol, 85% 纯度), 反应在 25°C 下搅拌 2.5 小时。向反应液中加入 **7-A** (319.46 mg, 1.23 mmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (612.21 mg, 4.74 mmol)。反应液在 25°C 搅拌 12 小时。向反应液中加入 10 mL 水, 并搅拌, 用乙酸乙酯 (15 mL $\times$ 3) 萃取水相。合并有机相, 用饱和碳酸氢钠溶液 (20 mL) 和饱和食盐水 (20 mL) 各洗涤一次, 无水硫酸钠干燥。过滤, 真空下浓缩得粗品, 粗品经制备液相分离 (中性) 分离和制备层析板 (二氯甲烷/甲醇=15/1) 分离得到 **7**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.60 (br s, 11 H) 1.69 (br d, $J=14.82$ Hz, 2 H) 1.94 (br s, 1 H) 2.06 (br s, 2 H) 2.33 (s, 3 H) 2.48 (br s, 4 H) 3.05 - 3.10 (m, 4 H) 4.24 (br s, 1 H) 4.41 (br d, $J=11.80$ Hz, 1 H) 5.65 (br s, 2 H) 6.86 (br d, $J=8.54$ Hz, 2 H) 7.18 (br s, 1 H) 7.39 (br d, $J=8.78$ Hz, 2 H) 7.71 - 7.82 (m, 2 H) 8.77 (s, 1 H)。MS m/z : 581.1 $[M+H]^+$ 。

实施例 6: 化合物 8



合成路线:

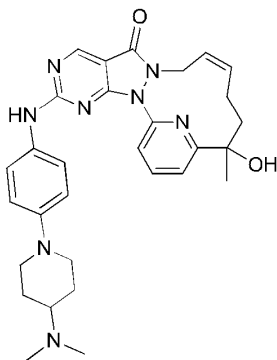


步骤 1: 化合物 8 的合成

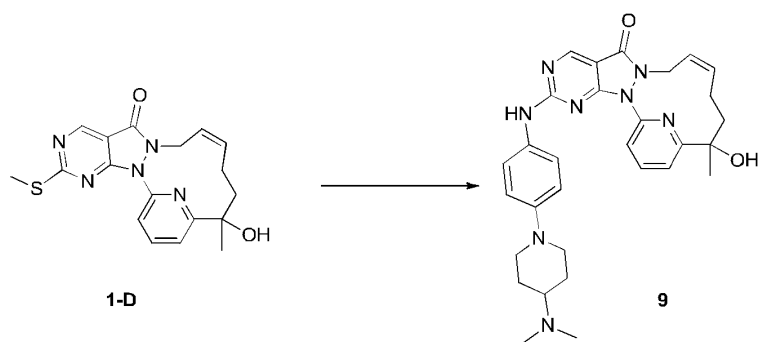
钯碳 (0.04g, 纯度为 10%) 加入无水甲醇 (20 mL) 中, 然后加入化合物 1 (80 mg, 156.07 μmol), 用氢气抽换气三次加压到 15psi, 反应液在 25 $^{\circ}\text{C}$ 反应 10 小时。反应液通过铺有硅藻土的五孔漏斗过滤, 滤饼用甲醇 (2 $\times$ 20 mL) 洗涤, 滤液加压旋干得到残余物, 残余物溶于 2mL 甲醇, 经过 HPLC (色谱柱: Waters Xbridge 150 $\times$ 25mm 5 μm ; 流动相: [水(0.05% HCl)-ACN]; B%: 15%-35%, 12min) 分离得到 8。

^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ = 8.71 (s, 1H), 7.99 - 7.93 (m, 1H), 7.99 - 7.93 (m, 1H), 7.85 (br d, J =8.2 Hz, 1H), 7.62 (d, J =7.5 Hz, 1H), 7.52 (br d, J =8.8 Hz, 2H), 6.92 (d, J =9.0 Hz, 2H), 3.83 - 3.74 (m, 2H), 3.65 - 3.61 (m, 1H), 3.48 - 3.39 (m, 1H), 3.31 - 3.29 (m, 2H), 3.25 - 3.20 (m, 3H), 2.85 - 2.79 (m, 3H), 2.68 (s, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.38 - 2.21 (m, 3H), 1.90 (br dd, J =7.3, 13.7 Hz, 1H), 1.48 (s, 3H); MS m/z : 514.62 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 7: 化合物 9



合成路线:

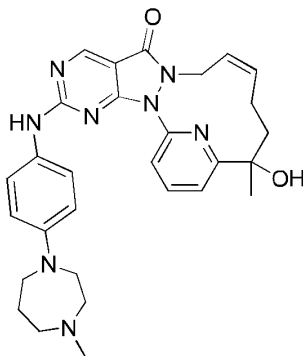


步骤 1: 化合物 **9** 的合成

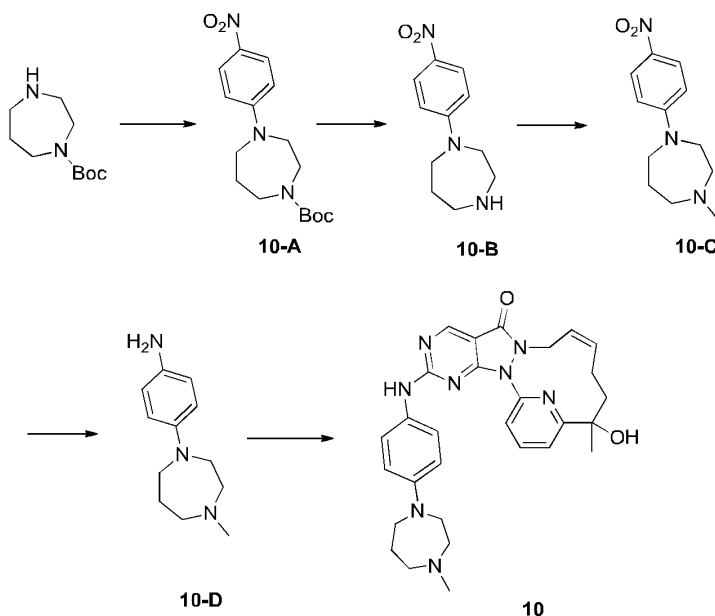
除使用相应的原料外, 与合成实施例 1 中化合物 **1-E** 的方法相同, 得 **9**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.69 (s, 3 H) 1.80 (br s, 4 H) 1.95 - 2.05 (m, 3 H) 2.11 - 2.25 (m, 2 H) 2.35 (s, 6 H) 2.74 (br t, $J=12.18$ Hz, 2 H) 3.72 (br d, $J=11.54$ Hz, 2 H) 4.26 (br s, 1 H) 4.50 (br d, $J=13.30$ Hz, 1 H) 5.74 (br s, 2 H) 6.95 (d, $J=9.04$ Hz, 2 H) 7.26 (s, 1 H) 7.47 (d, $J=9.04$ Hz, 2 H) 7.80 - 7.91 (m, 2 H) 8.86 (s, 1 H); MS m/z : 541.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 8: 化合物 **10**



合成路线:



步骤 1: 化合物 **10-A** 的合成

在化合物 1-Boc-高哌嗪(3g, 14.98 mmol)的二甲亚砜(40 mL)溶液中, 加入对硝基氟苯(2.52 g, 14.98 mmol)和碳酸钾(3.00 g, 21.72 mmol), 反应在 100 °C 下搅拌 12 小时。向反应液中加入 120mL 水并搅拌, 过滤, 滤饼用 20mL 水洗涤, 然后旋干得粗品 **10-A**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.36 - 1.46 (m, 9 H) 2.00 (br d, J=5.78 Hz, 2 H) 3.24 - 3.42 (m, 2 H) 3.61 - 3.73 (m, 6 H) 6.68 (br d, J=9.28 Hz, 2 H) 8.14 (d, J=9.28 Hz, 2 H)。

步骤 2: 化合物 10-B 的合成

在化合物 **10-A** (3 g, 9.34 mmol)的二氯甲烷(18 mL)溶液中加入三氟乙酸(9.24 g, 81.04 mmol), 反应液在 30 °C 搅拌 1 小时。反应液浓缩干, 用水 20 mL 稀释, 水相用 30mL 二氯甲烷萃取, 有机相丢弃, 水相用 10% 的氢氧化钠溶液调 pH 值到 11~12, 水相用二氯甲烷萃取 40 mL×3, 有机相用 40 mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩干液体得到粗化合物 **10-B**。MS m/z : 220.0 [M+H]⁺。

步骤3: 化合物 10-C 的合成

向化合物 **10-B** (1.87 g, 8.45 mmol) 的甲醇(18.00 mL)溶液中加入甲醛(6.72 g, 82.83 mmol)、醋酸硼氢化钠(3.58 g, 16.90 mmol)和醋酸(507.54 mg, 8.45 mmol), 在 30 °C 搅拌 1 小时。反应液用 2N 盐酸调节 pH=5, 反应液浓缩, 用 10% 氢氧化钠调节 pH=11, 用二氯甲烷萃取 50 mL×3, 有机相用饱和食盐水 30 mL 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得到粗化合物 **10-C**。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.96 (quin, J=5.90 Hz, 2 H) 2.29 – 2.36 (m, 3 H) 2.46 – 2.53 (m, 2 H) 2.63 – 2.68 (m, 2 H) 3.52 (t, J=6.26 Hz, 2 H) 3.57 – 3.61 (m, 2 H) 6.56 (d, J=9.54 Hz, 2 H) 8.03 (d, J=9.54 Hz, 2 H); MS m/z : 235.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 4: 化合物 10-D 的合成

向化合物 **10-C** (1.5 g, 6.38 mmol) 的四氢呋喃 (20 mL) 溶液中, 加入钯碳 (760 mg, 644.07 μmol , 10% 纯度),

在 30 °C 和氢气气压(15 psi)搅拌 12 小时。反应结束后反应液通过硅藻土过滤浓缩得到粗品 **10-D**。

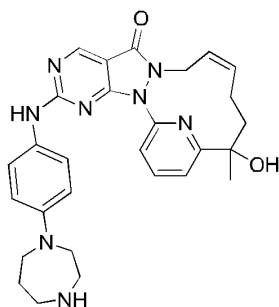
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.91 (dt, $J=11.42, 6.08$ Hz, 2 H) 2.27 – 2.37 (m, 3 H) 2.45 – 2.54 (m, 2 H) 2.58 – 2.64 (m, 2 H) 3.34 (t, $J=6.54$ Hz, 2 H) 3.38 – 3.46 (m, 2 H) 6.48 – 6.53 (m, 2 H) 6.55 – 6.61 (m, 2 H); .MS m/z : 206.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 5: 化合物 **10** 的合成

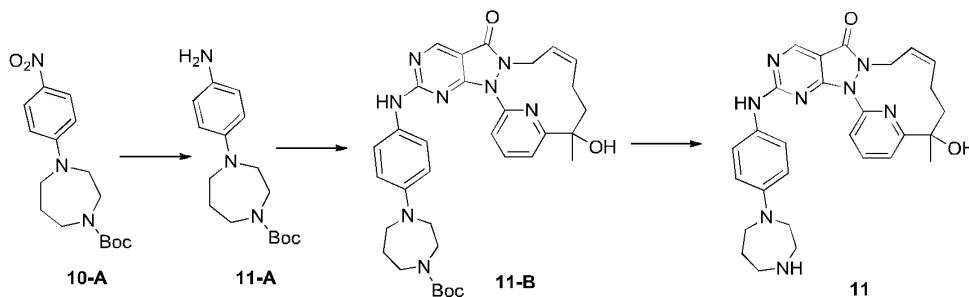
除使用相应的原料外, 与合成实施例 1 中化合物 **1-E** 的方法相同, 得 **10**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.60 (s, 3 H) 1.68 (br d, $J=3.76$ Hz, 2 H) 1.94 - 1.99 (m, 2 H) 2.00 - 2.17 (m, 2 H) 2.33 (s, 3 H) 2.47 - 2.59 (m, 2 H) 2.63 - 2.70 (m, 2 H) 3.43 (t, $J=6.26$ Hz, 2 H) 3.50 - 3.54 (m, 2 H) 4.17 (br s, 1 H) 4.41 (br d, $J=11.04$ Hz, 1 H) 5.65 (br s, 2 H) 6.60 (d, $J=8.78$ Hz, 2 H) 7.17 (br d, $J=7.54$ Hz, 1 H) 7.31 (br d, $J=8.54$ Hz, 2 H) 7.70 - 7.80 (m, 2 H) 8.75 (s, 1 H); MS m/z : 527.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 9: 化合物 11



合成路线:



步骤 1: 化合物 **11-A** 的合成

除使用相应的原料外, 与合成实施例 8 中化合物 **10-D** 的方法相同, 得粗品 **11-A**。MS m/z : 292.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 2: 化合物 **11-B** 的合成

除使用相应的原料外, 与合成实施例 1 中化合物 **1-E** 的方法相同, 得粗品 **11-B**。MS m/z : 613.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$

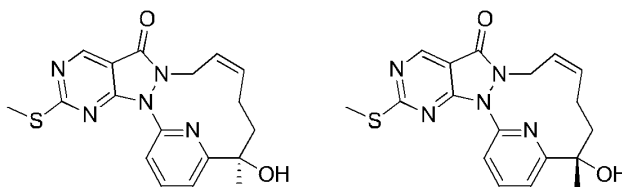
步骤 3: 化合物 **11** 的合成

除使用相应的原料外, 与合成实施例 4 中化合物 **6** 的方法相同, 得 **11**。

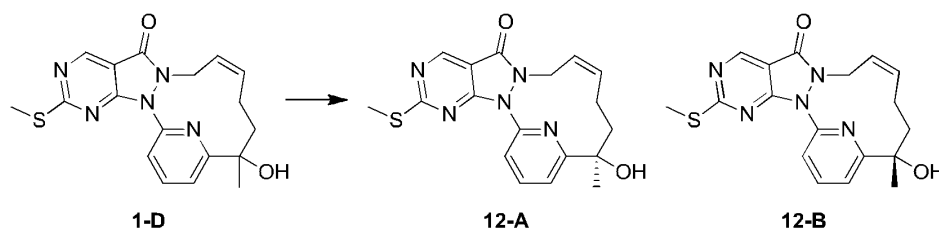
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.60 (s, 3 H) 1.91 - 1.95 (m, 2 H) 2.05 - 2.20 (m, 4 H) 2.83 - 2.89 (m, 2 H)

3.02 - 3.07 (m, 2 H) 3.51 - 3.56 (m, 4 H) 4.23 (br s, 1 H) 4.41 (br d, $J=13.56$ Hz, 1 H) 5.66 (br s, 2 H) 6.61 (d, $J=9.04$ Hz, 2 H) 7.18 (br d, $J=7.54$ Hz, 1 H) 7.32 (br d, $J=8.54$ Hz, 2 H) 7.71 - 7.79 (m, 2 H) 8.75 (s, 1 H); MS m/z : 613.3 $[M+H]^+$ 。

实施例 10: 化合物 12-A 和化合物 12-B



合成路线:



步骤 1: 化合物 **12-A** 和化合物 **12-B** 的合成。

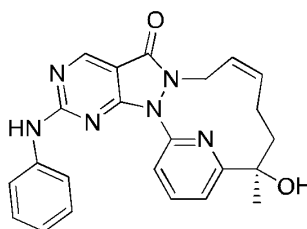
化合物**1-D** (3.9g, 10.56 μmol)经过SFC手性拆分 (色谱柱: DAICEL CHIRALPAK AS 250mm*50mm, I.D., 10 μm ; 流动相: A: 超临界 CO_2 , B: $\text{MeOH}(0.1\%\text{NH}_3\text{H}_2\text{O})$, A:B =75:25 at 200ml/min, 得**12-A**, 保留时间: 13.1min 。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.97 (s, 1H), 7.94 - 7.89 (t, 1H), 7.81 (d, 1H), 7.32 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 5.93 - 5.46 (br s, 2H), 4.55 (m, 1H), 4.50 - 4.34 (br s, 1H), 4.17 (s, 1H), 2.60 (s, 3H), 2.15 (m, $J=14.1$ Hz, 2H), 2.00 (m, 1H), 1.81 - 1.72 (m, 1H), 1.69 (s, 3H)。MS m/z : 370.2 $[M+H]^+$ 。

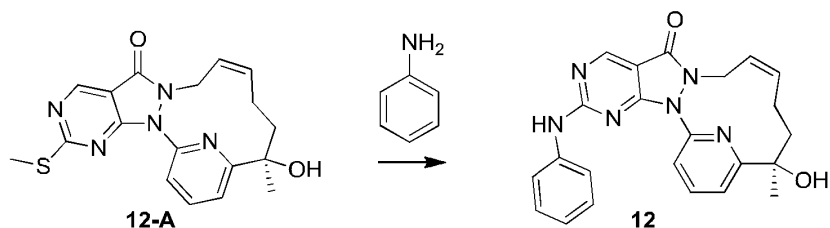
和**12-B**, 保留时间: 16.7min 。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.97 (s, 1H), 7.95 - 7.88 (t, 1H), 7.81 (d, 1H), 7.32 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.04 - 5.43 (br s, 2H), 4.61 - 4.52 (m, 1H), 4.49 - 4.31 (br s, 1H), 4.17 (s, 1H), 2.60 (s, 3H), 2.15 (m, $J=14.1$ Hz, 2H), 2.05 - 1.95 (m, 1H), 1.81 - 1.72 (m, 1H), 1.69 (s, 3H)。MS m/z : 370.1 $[M+H]^+$ 。

实施例 11: 化合物 12



合成路线:

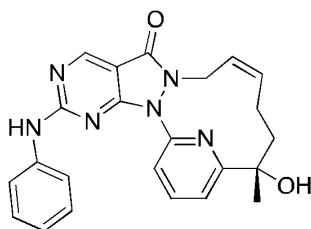


步骤 1: 化合物 **12** 的合成。

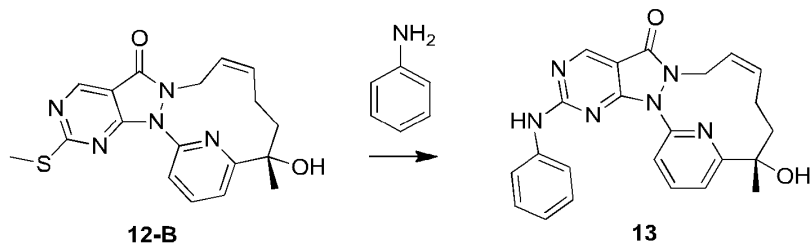
将化合物 **12-A** (0.1g, 270.68 μmol)溶于甲苯 (7 mL) 中, 加入间氯过氧苯甲酸(70.07 mg, 324.82 μmol , 80% 纯度), 反应在 30℃下搅拌 1 小时。往反应液中加入苯胺(27.73 mg, 297.75 μmol , 27.18 μL), *N,N*-二异丙基乙二胺 (87.46 mg, 676.70 μmol , 117.87 μL), 此反应液在 30℃搅拌 12 小时。反应液中加入饱和亚硫酸钠水溶液 5mL, 加入 DCM 10mL 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干得到粗品。粗品经制备液相 (色谱柱: Waters Xbridge 150*25mm 5 μm ; 流动相: [H₂O(10mM NH₄HCO₃)-ACN];B%: 33%-63%,7min) 分离, 得到 **12**。

¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 8.90 (s, 1H), 7.92 - 7.86 (t, 1H), 7.85 - 7.80 (d, 1H), 7.62 (d, *J*=7.9 Hz, 2H), 7.57 - 7.50 (br s, 1H), 7.37 (t, *J*=7.9 Hz, 2H), 7.30 (d, 1H), 7.13 (t, *J*=7.2 Hz, 1H), 5.73 (br s, 2H), 4.52 (m, *J*=12.6 Hz, 1H), 4.43 - 4.27 (br s, 1H), 4.25 - 4.21 (s, 1H), 2.24 - 2.07 (m, 2H), 2.05 - 1.93 (m, 1H), 1.82 - 1.72 (m, 1H), 1.69 (s, 3H)。MS *m/z*: 415.2 [M+H]⁺。

实施例 12: 化合物 13



合成路线:



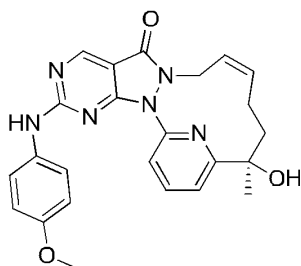
步骤 1: 化合物 **13** 的合成。

除使用相应的原料外, 与合成实施例 11 中化合物 **12** 的方法相同, 得到 **13**。

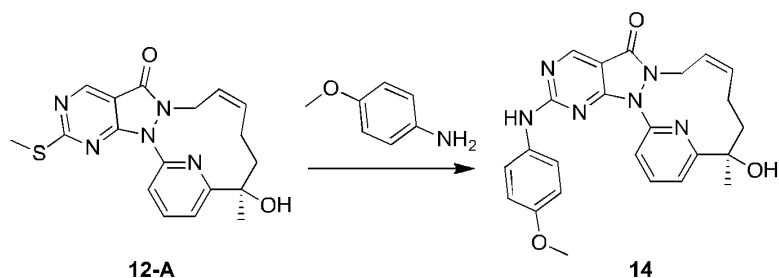
¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 8.88 (s, 1H), 7.98 (br s, 1H), 7.92 - 7.84 (t, 1H), 7.84 - 7.77 (d, 1H), 7.66 - 7.56

(d, 2H), 7.35 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.29 (d, 1H), 7.17 - 7.08 (t, 1H), 5.72 (br s, 2H), 4.61 - 4.45 (m, 1H), 4.43 - 4.31 (br s, 1H), 4.31 - 4.21 (s, 1H), 2.14 (m, $J=12.3$ Hz, 2H), 2.05 - 1.95 (m, 1H), 1.81 - 1.73 (m, 1H), 1.68 (s, 3H)。
MS m/z : 415.2 $[M+H]^+$ 。

实施例 13: 化合物 14



合成路线:

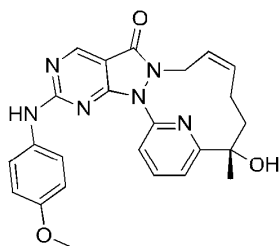


步骤 1: 化合物 14 的合成。

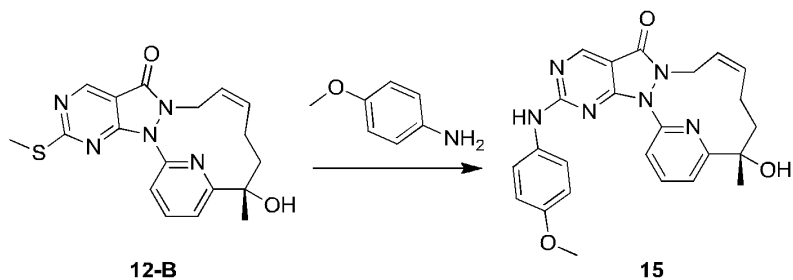
除使用相应的原料外, 与合成实施例 11 中化合物 12 的方法相同, 得到 14。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.86 (s, 1H), 7.89 - 7.83 (t, 1H), 7.82 - 7.76 (d, 1H), 7.49 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.26 - 7.24 (d, 1H), 6.91 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 5.74 (br s, 2H), 4.49 (m, $J=12.8$ Hz, 1H), 4.41 - 4.28 (br s, 1H), 4.23 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 2.23 - 2.07 (m, 2H), 2.05 - 1.93 (m, 1H), 1.81 - 1.72 (m, 1H), 1.68 (s, 3H)。MS m/z : 445.2 $[M+H]^+$ 。

实施例 14: 化合物 15



合成路线:

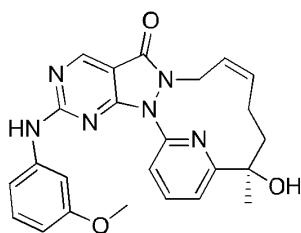


步骤 1: 化合物 **15** 的合成。

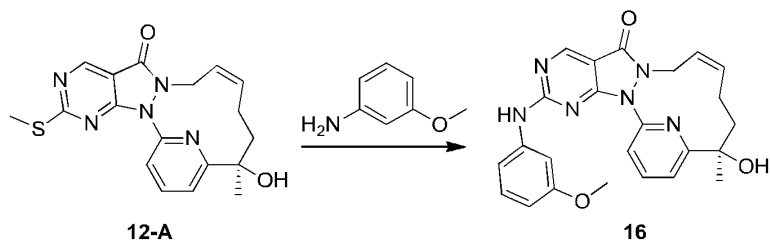
除使用相应的原料外, 与合成实施例 11 中化合物 **12** 的方法相同, 得到 **15**。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.86 (s, 1H), 7.89 - 7.83 (t, 1H), 7.82 - 7.77 (d, 1H), 7.49 (d, J =8.8 Hz, 2H), 7.36 (br s, 1H), 7.26 (d, 1H), 6.91 (d, J =9.0 Hz, 2H), 5.75 (br s, 2H), 4.48 (m, 1H), 4.30 (br s, 1H), 4.23 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 2.15 (m, J =14.1 Hz, 2H), 2.05 - 1.94 (m, 1H), 1.77 (m, J =13.8 Hz, 1H), 1.68 (s, 3H)。MS m/z : 445.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 15: 化合物 16



合成路线:

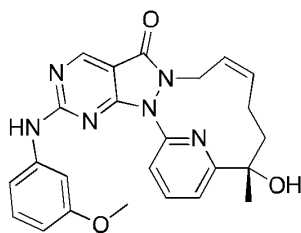


步骤 1: 化合物 **15** 的合成。

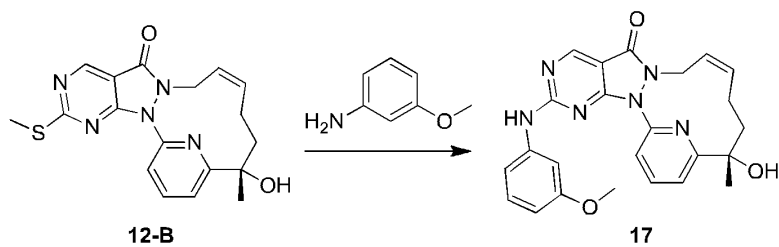
除使用相应的原料外, 与合成实施例 11 中化合物 **12** 的方法相同, 得到 **16**。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.90 (s, 1H), 7.92 - 7.87 (t, 1H), 7.87 - 7.83 (d, 1H), 7.50 (br s, 1H), 7.41 (t, J =2.1 Hz, 1H), 7.31 - 7.28 (d, 1H), 7.26 - 7.23 (d, 1H), 7.08 (dd, J =7.6 Hz, 1H), 6.68 (dd, J =2.0, 8.3 Hz, 1H), 5.74 (br s, 2H), 4.52 (m, J =9.0 Hz, 1H), 4.35 (br s, 1H), 4.23 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 2.21 - 2.09 (m, 2H), 2.06 - 1.95 (m, 1H), 1.77 (m, J =13.3 Hz, 1H), 1.69 (s, 3H)。MS m/z : 445.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 16: 化合物 17



合成路线:

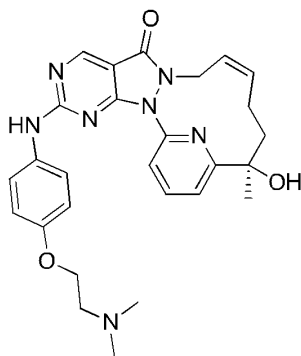


步骤 1: 化合物 **17** 的合成。

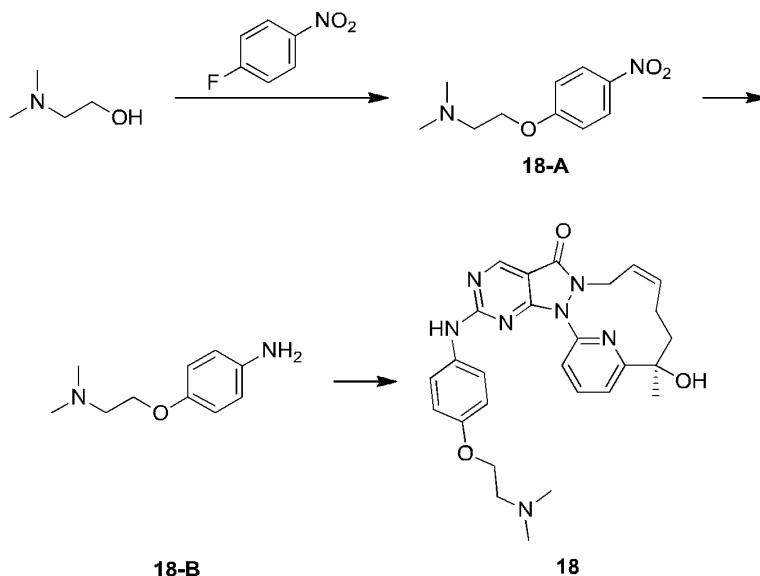
除使用相应的原料外, 与合成实施例 11 中化合物 **12** 的方法相同, 得到 **17**。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.90 (s, 1H), 7.92 - 7.87 (t, 1H), 7.87 - 7.82 (d, 1H), 7.49 (br s, 1H), 7.41 (t, J =2.1 Hz, 1H), 7.30 - 7.28 (d, 1H), 7.26 - 7.23 (d, 1H), 7.07 (dd, J =7.5 Hz, 1H), 6.68 (dd, J =1.8, 8.3 Hz, 1H), 5.74 (br s, 2H), 4.52 (m, J =14.6 Hz, 1H), 4.35 (br s, 1H), 4.22 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 2.22 - 2.08 (m, 2H), 2.06 - 1.93 (m, 1H), 1.82 - 1.73 (m, 1H), 1.69 (s, 3H)。MS m/z : 445.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 17: 化合物 18



合成路线:



步骤 1: 化合物 **18-A** 的合成。

化合物钠氢 (1.68 g, 42.07 mmol, 纯度 60%) 溶于 DMF (20 mL), 在 0℃, 氮气氛围下慢慢加入 *N,N*-二甲基乙醇胺 (1.5 g, 16.83 mmol, 1.69 mL), 搅拌 1 小时, 将对氟硝基苯 (2.37 g, 16.83 mmol) 溶于 DMF (2 mL) 加入到反应液中, 在 15℃ 下、氮气氛围下搅拌 16 小时。加入饱和氯化铵溶液 (20 mL) 淬灭, 用乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取, 合并有机相, 再用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 得粗品。粗品经柱层析 (二氯甲烷/甲醇=10/1, TLC (二氯甲烷/甲醇=10/1, R_f =0.6)) 分离。得到 **18-A**。

^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 8.22 - 8.17 (d, 2H), 7.15 (d, J =8.1 Hz, 2H), 4.19 (t, J =5.8 Hz, 2H), 2.64 (t, J =5.6 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H)。MS m/z : 211.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 化合物 **18-B** 的合成。

化合物 **18-A** (1 g, 4.76 mmol) 溶于 THF (20 mL), 加入 Pd/C (650 mg, 548.85 μmol , 纯度 10%), 用氢气抽换气三次加压到 15 psi, 反应液在 20℃ 反应 16 小时。反应液通过铺有硅藻土的五孔漏斗过滤, 滤饼用甲醇 (2×20 mL) 洗涤, 滤液旋干得到 **18-B**。

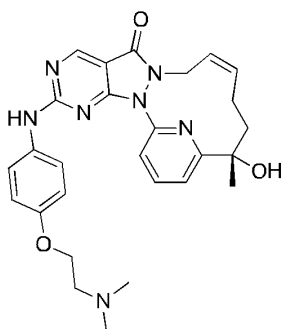
^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 6.79 - 6.74 (d, 2H), 6.65 - 6.60 (d, 2H), 3.99 (t, J =5.8 Hz, 2H), 2.69 (t, J =5.8 Hz, 2H), 2.32 (s, 6H)。MS m/z : 181.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 3: 化合物 **18** 的合成。

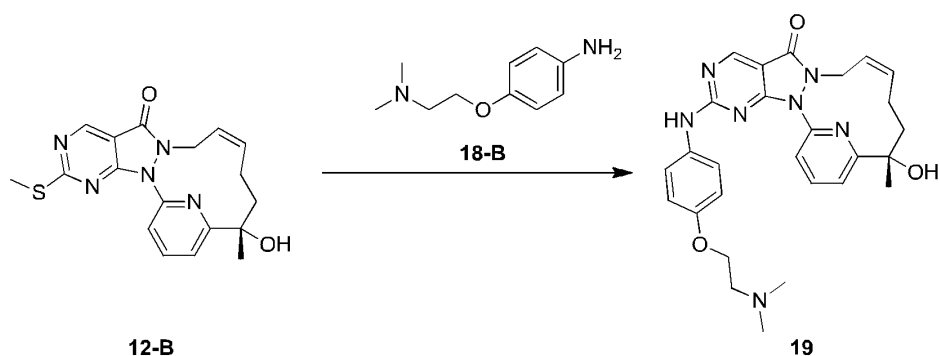
除使用相应的原料外, 与合成实施例 11 中化合物 **12** 的方法相同, 得到 **18**。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.86 (s, 1H), 7.90 - 7.83 (t, 1H), 7.82 - 7.76 (d, 1H), 7.48 (d, J =9.0 Hz, 2H), 7.37 (br s, 1H), 7.25 (d, 1H), 6.93 (d, J =8.9 Hz, 2H), 5.75 (br s, 2H), 4.49 m, J =13.3 Hz, 1H), 4.32 (br s, 1H), 4.26 - 4.19 (s, 1H), 4.09 (t, J =5.7 Hz, 2H), 2.76 (t, J =5.7 Hz, 2H), 2.37 (s, 6H), 2.25 - 2.08 (m, 2H), 2.06 - 1.93 (m, 1H), 1.81 - 1.73 (m, 1H), 1.68 (s, 3H)。MS m/z : 502.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 18: 化合物 19



合成路线:

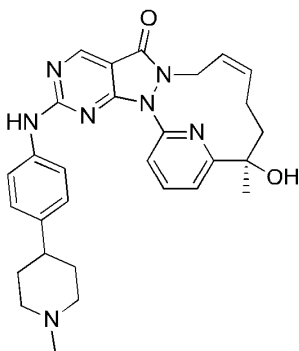


步骤 1: 化合物 19 的合成。

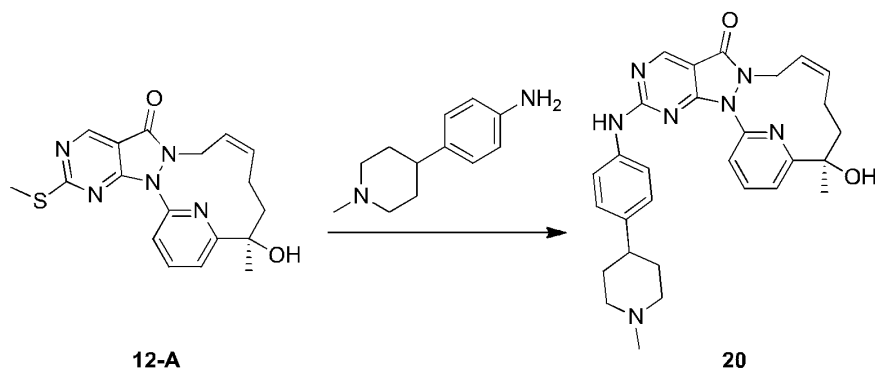
除使用相应的原料外, 与合成实施例 11 中化合物 12 的方法相同, 得到 19。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.85 (s, 1H), 7.89 - 7.83 (t, 1H), 7.82 - 7.75 (d, 1H), 7.65 - 7.52 (br s, 1H), 7.51 - 7.45 (d, 2H), 7.25 (d, 1H), 6.92 (d, J =9.0 Hz, 2H), 5.74 (br s, 2H), 4.49 (m, J =12.8 Hz, 1H), 4.39 - 4.29 (br s, 1H), 4.28 - 4.16 (s, 1H), 4.08 (t, J =5.7 Hz, 2H), 2.75 (t, J =5.7 Hz, 2H), 2.36 (s, 6H), 2.22 - 2.08 (m, 2H), 2.05 - 1.93 (m, 1H), 1.77 (m, J =4.6 Hz, 1H), 1.68 (s, 3H)。MS m/z : 502.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 19: 化合物 20



合成路线:

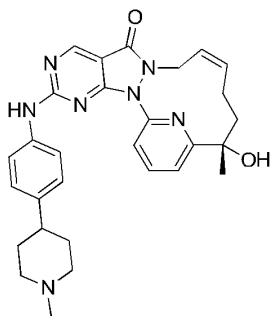


步骤 1: 化合物 **20** 的合成。

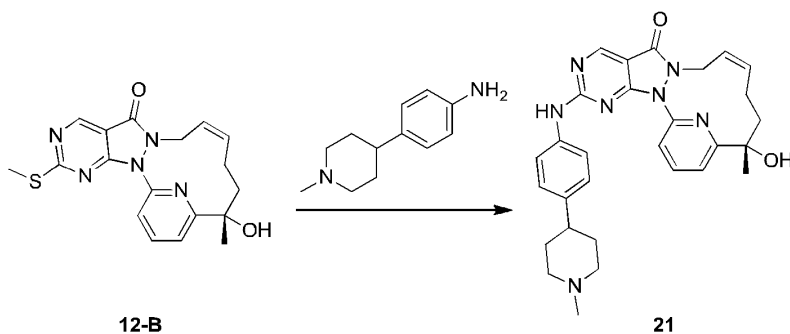
除使用相应的原料外，与合成实施例11中化合物**12**的方法相同，得到**20**。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.88 (s, 1H), 7.90 - 7.85 (t, 1H), 7.84 - 7.79 (d, 1H), 7.54 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.52 - 7.45 (br s, 1H), 7.31 - 7.27 (d, 1H), 7.22 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 5.75 (br s, 2H), 4.51 (m, $J=13.8$ Hz, 1H), 4.41 - 4.28 (br s, 1H), 4.27 - 4.20 (s, 1H), 3.00 (d, $J=11.5$ Hz, 2H), 2.48 (m, $J=5.6, 10.6$ Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.23 - 2.12 (m, 2H), 2.11 - 2.03 (m, 3H), 1.99 (m, $J=10.5$ Hz, 1H), 1.84 (m, $J=3.5, 9.8$ Hz, 3H), 1.78 - 1.72 (m, 1H), 1.69 (s, 3H)。MS m/z : 512.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 20: 化合物 21



合成路线:

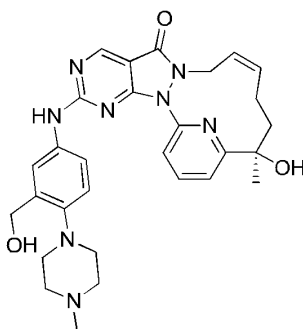


步骤 1: 化合物 **21** 的合成。

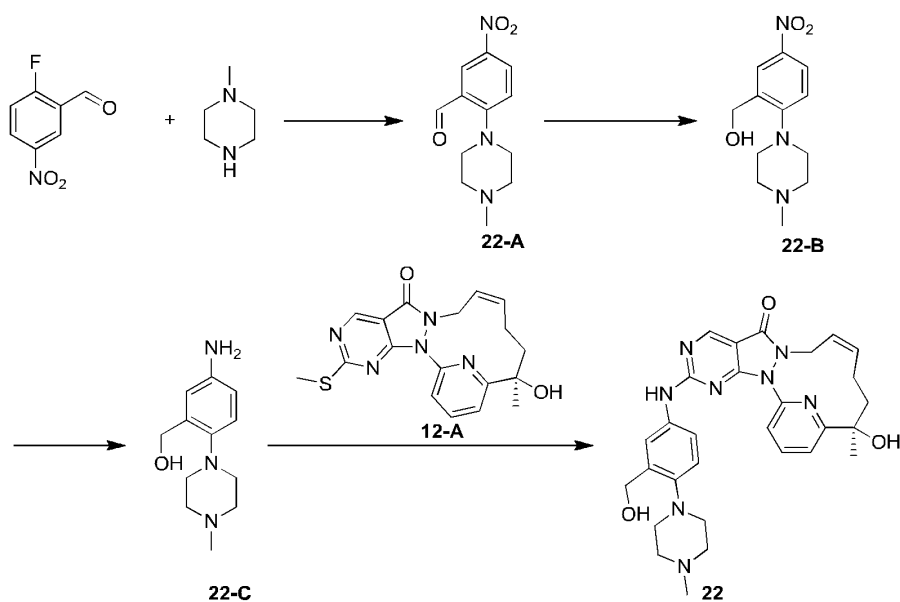
除使用相应的原料外，以合成实施例11中化合物**12**的方法相同，得到**21**。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.88 (s, 1H), 7.90 - 7.85 (t, 1H), 7.84 - 7.77 (d, 1H), 7.61 (br s, 1H), 7.57 - 7.51 (d, 2H), 7.29 (d, 1H), 7.24 - 7.19 (d, 2H), 5.73 (br s, 2H), 4.51 (m, J =12.9 Hz, 1H), 4.43 - 4.29 (br s, 1H), 4.28 - 4.18 (m, 1H), 3.00 (d, J =11.4 Hz, 2H), 2.49 (m, J =5.2, 10.7 Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.23 - 2.12 (m, 2H), 2.12 - 2.03 (m, 3H), 2.02 - 1.93 (m, 1H), 1.84 (m, J =3.5, 9.6 Hz, 3H), 1.76 - 1.73 (m, 1H), 1.69 (s, 3H)。MS m/z : 512.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 21：化合物 22



合成路线：



步骤 1：化合物 22-A 的合成

在反应瓶中加入 2-氟-5-硝基-苯甲醛(8 g, 47.31 mmol)、1-甲基哌嗪(9.48 g, 94.61 mmol, 10.49 mL)、碳酸钾 (13.08 g, 94.61 mmol) 和 N,N -二甲基甲酰胺 (20 mL)，然后在 90℃ 反应 2 小时。将反应体系冷却至室温，加入水 (40mL)，用乙酸乙酯萃取(40mL)，水洗(3×30mL)，饱和食盐水洗涤(30mL)，无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩得到粗品，粗产品通过快速柱层析分离（硅胶目数：200 目；石油醚：乙

酸乙酯= 1:1 至 0:1)，纯化得到化合物 **22-A**。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 10.11 (s, 1H), 8.64 (d, J =2.9 Hz, 1H), 8.31 (dd, J =2.9, 9.0 Hz, 1H), 7.10 (d, J =9.0 Hz, 1H), 3.40 - 3.31 (m, 4H), 2.70 - 2.62 (m, 4H), 2.40 (s, 3H)。

步骤 2: 化合物 **22-B** 的合成

在反应瓶中加入化合物 **22-A** (2.4 g, 9.63 mmol) 和 THF (20 mL)，然后冰浴将体系降温至 0℃，再依次加入硼氢化钠 (910.59 mg, 24.07 mmol) 和甲醇 (6 mL)，反应体系在 25℃ 搅拌反应 2 小时。将反应体系至于冰水浴中降温至 0℃，缓慢加入水(50mL) 水搅拌 10min 淬灭该反应，用二氯甲烷萃取(3×50mL)。合并有机相，饱和食盐水洗涤(2×50mL)，无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩得到粗品，粗产品通过快速柱层析分离（硅胶目数：200 目；石油醚: 乙酸乙酯= 1:1 至 0:1），纯化得到化合物 **22-B**。LCMS (ESI) (5-95AB): m/z : 251.28 [M+1]; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.28 (d, J =2.8 Hz, 1H), 8.15 (dd, J =2.8, 8.8 Hz, 1H), 7.16 (d, J =8.8 Hz, 1H), 4.81 (s, 2H), 3.09 (t, J =4.8 Hz, 4H), 2.63 (br s, 4H), 2.39 (s, 3H)。

步骤 3: 化合物 **22-C** 的合成

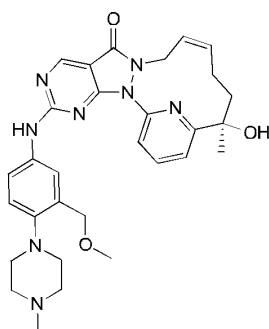
在预先干燥过的单口瓶内加入化合物 **22-B** (0.5 g, 1.99 mmol) 和甲醇 (20 mL)，用氮气饱和之后加入钯碳 (0.08 g, 纯度为 10%)，氮气抽换气三次之后，用氢气抽换气三次并加压到 15psi，反应液在 25℃ 搅拌反应 2 小时。在反应体系中加入 10mL 四氢呋喃稀释，将反应溶液通过铺有硅藻土的五孔漏斗，滤饼由四氢呋喃(5×10mL) 洗涤。合并滤液，减压浓缩得到化合物 **22-C**。LCMS (ESI) m/z : 221.30 [M+1]; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 7.07 (d, J =8.4 Hz, 1H), 6.58 (dd, J =2.6, 8.4 Hz, 1H), 6.46 (d, J =2.6 Hz, 1H), 4.71 (s, 2H), 3.58 - 3.57 (m, 1H), 3.59 (br s, 1H), 2.96 (t, J =4.8 Hz, 4H), 2.72 - 2.48 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 1.30 - 1.22 (m, 1H)。

步骤 4: 化合物 **22** 的合成

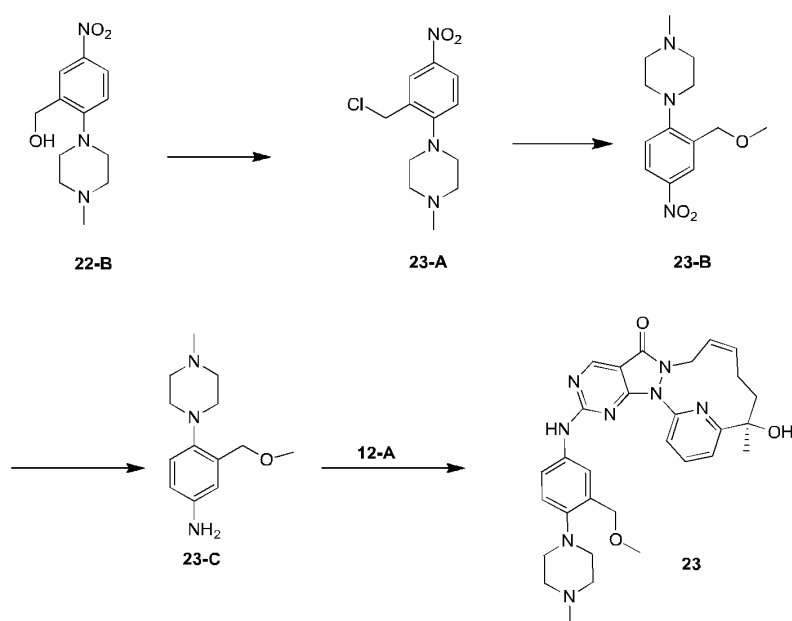
在反应瓶中加入中间体 **12-A** (150 mg, 406.02 μmol)、甲苯(8 mL)、间氯过氧苯甲酸 (203.61 mg, 1.00 mmol, 纯度 85%)，在 25℃ 搅拌反应 1.5 小时后，加入化合物 **22-C** (89.9 mg, 406.02 μmol)、*N,N*-二异丙基乙胺(131.19 mg, 1.02 mmol, 176.80 μL)，搅拌反应 10 小时，反应体系加入 10ml 饱和亚硫酸钠溶液，加入 10ml 乙酸乙酯萃取，有机相加入 10ml 饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，加压浓缩旋干得到粗产品，粗产品通过 HPLC 分离(色谱柱: Waters Xbridge 150mm*25mm 5 μm ; 流动相: [水(0.05% HCl)-乙腈]; B%: 10%-30%, 12min)，然后加入饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 为 7，然后减压浓缩除去乙腈，溶液用二氯甲烷 (3×10ml) 萃取，有机相用无水硫酸钠干燥后，减压浓缩旋干后的产物，再通过薄层层析硅胶板 (二氯甲烷 : 甲醇 = 10:1)，纯化得到化合物 **22**。LCMS (ESI): m/z : 542.63 [M+1]; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.87 (s, 1H), 7.98 - 7.89 (m, 1H), 7.83 (br d, J =7.9 Hz, 1H), 7.71 - 7.57 (m, 2H), 7.39 (br d, J =8.6 Hz, 1H), 7.30 (br d, J =7.7 Hz, 1H), 7.22 (d, J =8.6 Hz, 1H), 5.74 (br s, 2H), 4.78 (d, J =5.1 Hz, 2H), 4.51 (br d, J =12.8 Hz, 1H), 4.35 (br s, 1H), 3.07 (br s, 4H), 2.73 (br s, 4H), 2.45 (s, 3H), 2.22 - 2.10 (m, 2H), 2.06 - 1.93 (m, 1H), 1.77

(br d, $J=13.5$ Hz, 1H), 1.69 (s, 3H), 1.26 (s, 1H)。

实施例 22: 化合物 23



合成路线:



步骤 1: 化合物 23-A 的合成

将化合物 **22-B** (450 mg, 1.79 mmol), 氯化亚砷(426.11 mg, 3.58 mmol, 259.82 μ L) 溶解到三氯甲烷 (10 mL) 中, 在 25 $^{\circ}$ C 搅拌反应 0.5 小时, 将反应体系置于冰水浴中, 取饱和碳酸钠水溶液缓慢滴加到反应体系中, 至 pH=7-8。用乙酸乙酯 (20 mL) 萃取, 水洗(3 $\times$ 10 mL), 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到化合物 **23-A** LCMS (ESI) : m/z: 269.73[M+1]。

步骤 2: 化合物 23-B 的合成

将化合物 **23-A** (0.465 g, 1.72 mmol) 溶解到无水 MeOH (5 mL) 中, 溶解后加入甲醇钠(372.51 mg, 6.90 mmol), 然后反应体系置于油浴中加热至 60 $^{\circ}$ C, 搅拌反应 2 小时, 将反应体系冷却至室温, 加入水(10 mL), 减压旋蒸除去甲醇, 然后用乙酸乙酯萃取(3 $\times$ 10 mL), 合并有机相, 饱和食盐水洗涤(2 $\times$ 10 mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到残余物。残余物通过薄层层析硅胶板纯化得到化合物 **23-B**。LCMS

(ESI) : m/z: 265.31[M+1]。

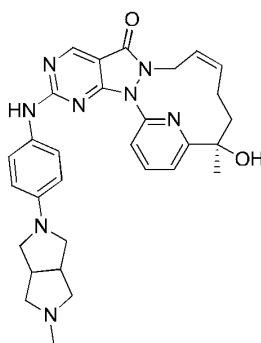
步骤3 化合物 **23-C** 的合成

将化合物 **23-B** (0.107 g, 403.31 μmol) 溶解于无水四氢呋喃 (4 mL) 中，用氮气饱和之后加入钯碳 (0.05 g, 纯度 10%)，氮气抽换气三次之后，用氢气抽换气三次并加压到 15psi，反应液在 25 °C 搅拌反应 0.5 小时。在反应体系中加入 10mL 无水四氢呋喃稀释，将反应溶液通过铺有硅藻土的五孔漏斗，滤饼由无水四氢呋喃(3×10mL)洗涤。合并滤液，减压浓缩得到化合物 **23-C**。LCMS (ESI) : m/z: 235.32[M+1]。

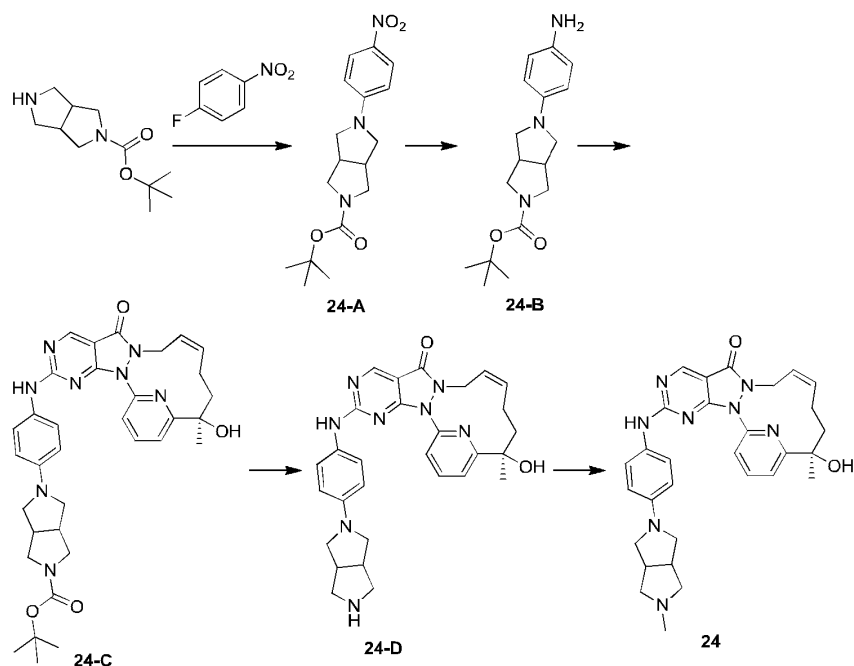
步骤4 化合物 **23** 的合成

将中间体 **12-A** (113.03 mg, 305.96 μmol) 中加入 甲苯 (5 mL)，间氯过氧苯甲酸 (124.23 mg, 611.92 μmol , 纯度 85%)，在 25°C 搅拌反应 2 小时后，加入化合物 **23-C** (72 mg, 305.96 μmol)，*N,N*-二异丙基乙胺 (98.86 mg, 764.90 μmol , 133.23 μL)，搅拌反应 10 小时，反应体系加入 10ml 饱和亚硫酸钠溶液，加入 10ml 乙酸乙酯萃取，有机相加入 10 mL 饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，加压浓缩旋干得到粗产品。粗产品溶于 1 mL 甲醇中，通过 HPLC 分离 (色谱柱: Waters Xbridge 150*25 5 μm ; 流动相: [水 (0.05% HCl)-乙腈]; B%: 15%-30%, 12min) 后，加入饱和碳酸氢钠溶液将 pH 调至 7，减压旋蒸除去乙腈，溶液用二氯甲烷 (3×10ml) 萃取，有机相加入无水硫酸钠干燥，减压浓缩旋干得到化合物 **23**。LCMS (ESI) : m/z: 556.66[M+1]. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.79 (s, 1H), 7.87 - 7.65 (m, 3H), 7.38 (br d, J=6.8 Hz, 1H), 7.19 (br d, J=2.6 Hz, 1H), 7.01 (d, J=8.5 Hz, 1H), 5.65 (br s, 2H), 4.46 (s, 2H), 3.41 - 3.41 (m, 1H), 3.38 (d, J=17.8 Hz, 3H), 3.40 - 3.32 (m, 1H), 2.89 (br t, J=4.6 Hz, 4H), 2.56 (br s, 4H), 2.33 (s, 3H), 2.11 - 2.02 (m, 2H), 1.99 - 1.85 (m, 2H), 1.60 (s, 3H)。

实施例 23: 化合物 **24**



合成路线:



步骤 1: 化合物 **24-A** 的合成。

化合物2-BOC-六氢-吡咯并[3,4-C]吡咯(650 mg, 3.06 mmol)和对氟硝基苯(475.23 mg, 3.37 mmol) 溶于DMSO (15 mL), 加入 K_2CO_3 (846.34 mg, 6.12 mmol), 在60℃下搅拌12小时。慢慢加入50 mL水, 搅拌10分钟, 过滤, 滤饼旋干, 得到**24-A**。

^1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ = 8.06 (d, J =9.0 Hz, 2H), 6.62 (d, J =9.3 Hz, 2H), 3.62 (m, 2H), 3.58 - 3.48 (m, 2H), 3.32 - 3.26 (m, 2H), 3.17 (m, 2H), 3.09 - 2.96 (m, 2H), 1.39 (s, 9H)。MS m/z : 278.1 $[M+H-56]^+$ 。

步骤 2: 化合物 **24-B** 的合成。

除使用相应的原料外, 与合成实施例17中化合物**18-B**的方法相同, 得到**24-B**。

^1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ = 6.48 (d, J =8.8 Hz, 2H), 6.37 (d, J =8.8 Hz, 2H), 4.32 (s, 2H), 3.51 (m, 2H), 3.20 (m, J =7.5 Hz, 2H), 3.18 - 3.10 (m, 2H), 3.01 (m, J =10.5 Hz, 2H), 2.96 - 2.86 (m, 2H), 1.38 (s, 9H)。MS m/z : 304.2 $[M+H]^+$ 。

步骤 3: 化合物 **24-C** 的合成。

除使用相应的原料外, 以合成实施例11中化合物**12**的方法相同, 得到**24-C**。

^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ = 8.83 (s, 1H), 7.89 - 7.84 (t, 1H), 7.83 - 7.79 (d, 1H), 7.41 (d, J =8.0 Hz, 2H), 7.24 (d, 1H), 6.55 (d, J =8.8 Hz, 2H), 5.74 (br s, 2H), 4.47 (m, 1H), 4.40 - 4.27 (br s, 1H), 4.26 - 4.21 (s, 1H), 3.67 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.42 (m, 1H), 3.24 (m, J =9.8 Hz, 3H), 3.03 (m, 2H), 2.15 (m, J =14.0 Hz, 2H), 2.06 - 1.97 (m, 1H), 1.77 (m, J =14.1 Hz, 1H), 1.68 (s, 3H), 1.47 (s, 9H)。MS m/z : 625.4 $[M+H]^+$ 。

步骤 4: 化合物 **24-D** 的合成。

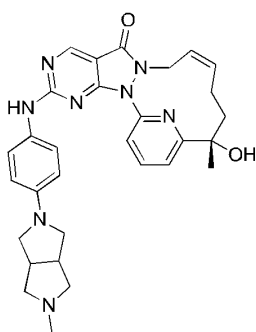
除使用相应的原料外,与合成实施例 21 中化合物 **22-D** 的方法相同,得到 **24-D**。MS m/z : 525.2 $[M+H]^+$ 。

步骤 5: 化合物 **24** 的合成。

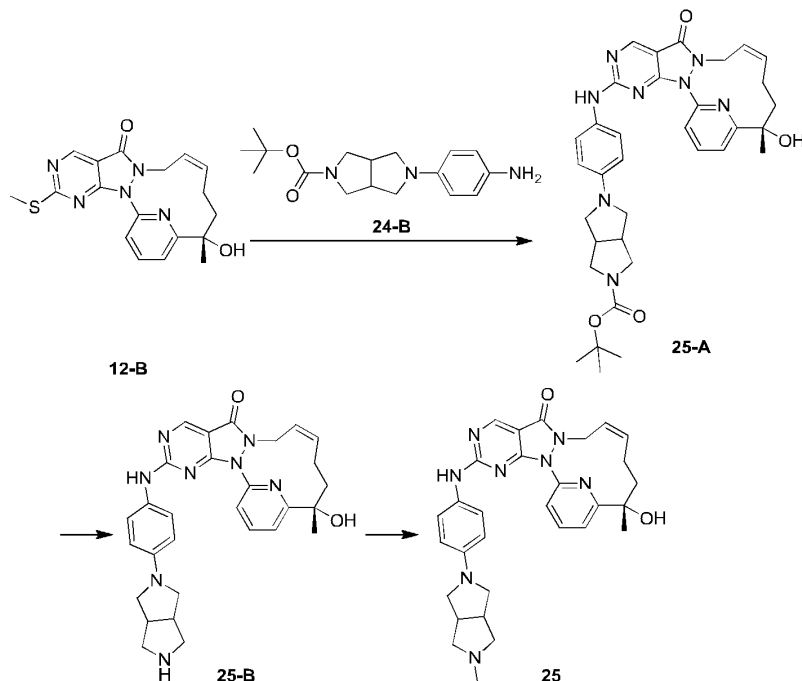
除使用相应的原料外,以合成实施例21中化合物**22**的方法相同,得到**24**。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ = 8.82 (s, 1H), 7.88 - 7.83 (t, 1H), 7.83 - 7.76 (d, 1H), 7.65 (br s, 1H), 7.40 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.24 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 5.73 (br s, 2H), 4.48 (m, $J=10.9$ Hz, 1H), 4.40 - 4.09 (m, 2H), 3.35 (m, $J=5.5$ Hz, 2H), 3.27 - 3.20 (m, 2H), 3.05 - 2.96 (m, 2H), 2.88 - 2.75 (m, 2H), 2.46 (m, $J=7.8$ Hz, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.14 (m, $J=14.0$ Hz, 2H), 2.00 (m, $J=9.1$ Hz, 1H), 1.80 - 1.72 (m, 1H), 1.67 (s, 3H)。
MS m/z : 539.5 $[M+H]^+$ 。

实施例 24: 化合物 25



合成路线:



步骤 1: 化合物 **25-A** 的合成。

除使用相应的原料外,以合成实施例11中化合物**12**的方法相同,得到**25-A**。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.83 (s, 1H), 7.89 - 7.84 (t, 1H), 7.84 - 7.79 (d, 1H), 7.41 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.24 (d, 1H), 6.55 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 5.91 - 5.50 (br s, 2H), 4.46 (m, 1H), 4.39 - 4.27 (m, 1H), 4.26 - 4.22 (s, 1H), 3.67 (m, 2H), 3.54 (m, 2H), 3.42 (m, 1H), 3.24 (m, $J=9.4$ Hz, 3H), 3.02 (m, 2H), 2.22 - 2.09 (m, 2H), 2.07 - 1.96 (m, 1H), 1.77 (m, $J=13.4$ Hz, 1H), 1.68 (s, 3H), 1.47 (s, 9H) 。 MS m/z : 625.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 化合物 **25-B** 的合成。

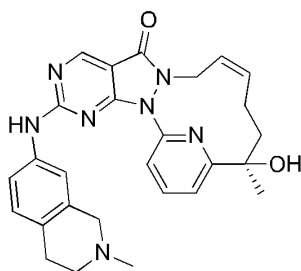
除使用相应的原料外,与合成实施例 21 中化合物 **22-D** 的方法相同,得到 **25-B**。MS m/z : 525.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 3: 化合物 **25** 的合成。

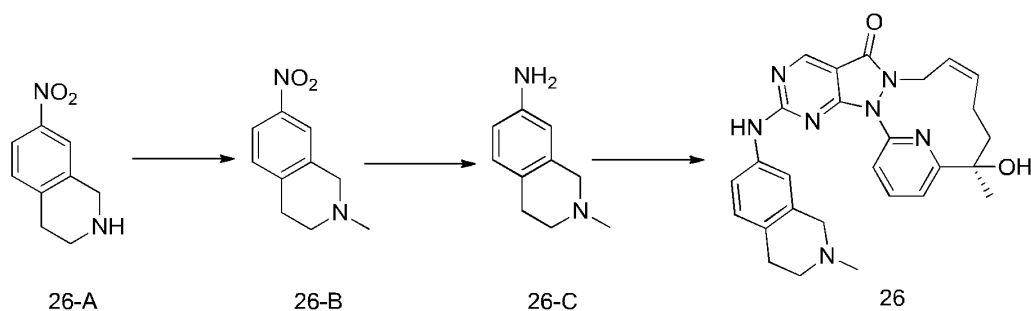
除使用相应的原料外,与合成实施例 21 中化合物 **22** 的方法相同,得到 **25** 。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.82 (s, 1H), 7.88 - 7.83 (t, 1H), 7.82 - 7.76 (d, 1H), 7.40 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.24 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 5.73 (br s, 2H), 4.47 (m, $J=12.9$ Hz, 1H), 4.38 - 4.08 (m, 2H), 3.41 - 3.30 (m, 2H), 3.26 - 3.18 (m, 2H), 2.99 (m, 2H), 2.85 - 2.76 (m, 2H), 2.45 (m, $J=7.9$ Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.20 - 2.11 (m, 2H), 2.05 - 2.00 (m, 1H), 1.79 - 1.73 (m, 1H), 1.67 (s, 3H)。 MS m/z : 539.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 25: 化合物 26



合成路线:



步骤 1: 化合物 **26-B** 的合成

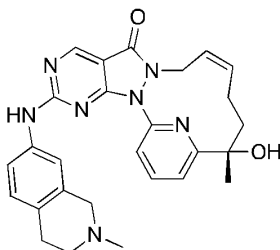
除使用相应的原料外,以合成实施例 8 中化合物 **10-C** 的方法相同,得粗品 **26-B**。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.92 (dd, $J=8.4, 2.4$ Hz, 1 H) 7.85 (d, $J=2.6$ Hz, 1 H) 7.19 (s, 1 H) 3.58 (s, 2 H) 2.94 (t, $J=5.6$ Hz, 2 H) 2.66 (t, $J=6.0$ Hz, 2 H) 2.40 - 2.45 (m, 3 H)。 MS m/z : 193.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 化合物 **26-C** 的合成

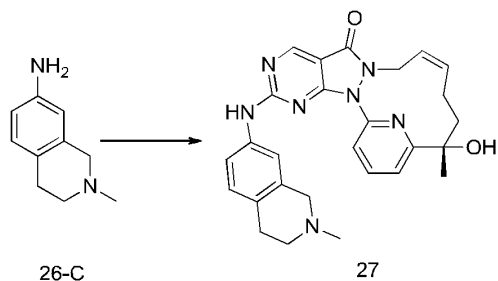
除使用相应的原料外,与合成实施例 8 中化合物 **10-D** 的方法相同,得 **26-C**。MS m/z : 163.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 3: 化合物 **26** 的合成

向化合物**12-A**(100 mg, 270.68 μmol)的甲苯(7 mL)和二氯甲烷(1 mL)溶液中加入间氯过氧苯甲酸(70.07 mg, 324.82 μmol , 80%纯度), 反应在20度下搅拌1小时, *N,N*-二异丙基乙胺(104.95 mg, 812.04 μmol)和**26-B**(52.70 mg, 324.82 μmol)加入到反应液中, 反应在20度搅拌12小时。水(10 mL)加入到反应液中, 水相用乙酸乙酯(15 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 有机相用饱和碳酸氢钠溶液(20 mL)洗涤, 分液, 有机相用饱和食盐水(20 mL)洗涤, 分液, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋蒸除溶剂得粗品, 粗品经制备液相分离得**26**。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.79 (s, 1 H) 7.73 - 7.83 (m, 2 H) 7.45 (s, 1 H) 7.34 (s, 1 H) 7.21 (s, 1 H) 7.02 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H) 5.67 (br s, 2 H) 4.41 - 4.44 (d, $J=12.8$ Hz, 1 H) 4.16 (s, 1 H) 3.50 - 3.51 (m, 2 H) 2.82 - 2.87 (m, 2 H) 2.53 - 2.72 (m, 2 H) 2.42 (s, 3 H) 2.00 - 2.16 (m, 2 H) 1.88 - 1.98 (m, 1 H) 1.69 - 1.72 (m, 1 H) 1.61 (s, 3 H); MS m/z : 484.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

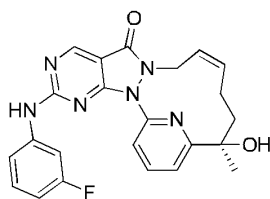
实施例 26: 化合物 **27**

合成路线:

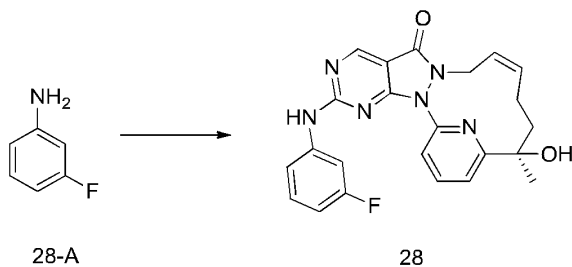
步骤 1: 化合物 **27** 的合成

除使用相应的原料外, 与合成实施**25**中化合物**26**的方法相同, 得**27**。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.88 (s, 1 H) 7.82 - 7.92 (m, 2 H) 7.54 (s, 1 H) 7.43 (s, 1 H) 7.30 (s, 1 H) 7.10 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 5.77 (br s, 2 H) 4.49 - 4.53 (d, $J=13.6$ Hz, 1 H) 4.26 (s, 1 H) 3.53 - 3.66 (m, 2 H) 2.91 - 2.94 (m, 2 H) 2.72 - 2.74 (m, 2 H) 2.50 (s, 3 H) 2.15 - 2.21 (m, 2 H) 1.99 - 2.04 (m, 1 H) 1.79 - 1.81 (m, 1 H) 1.70 (s, 3 H)。 MS m/z : 484.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 27: 化合物 **28**



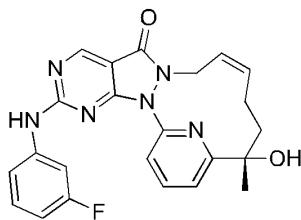
合成路线:



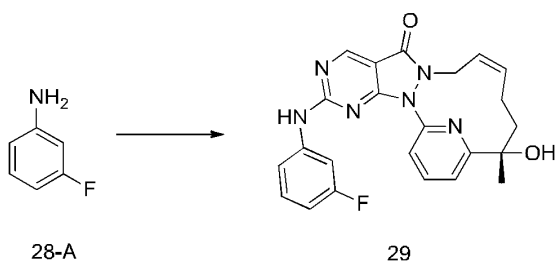
步骤 1: 化合物 **28** 的合成

除使用相应的原料外,以合成实施例25中化合物26的方法相同,得**28**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.84 (m, 1 H) 7.83 - 7.90 (m, 1 H) 7.72 - 7.79 (m, 2 H) 7.20 - 7.25 (m, 2 H) 7.03 (d, *J*=7.6 Hz, 1 H) 6.74 (t, *J*=8.2 Hz, 1 H) 5.67 (br s, 2 H) 4.46 (d, *J*=13.2 Hz, 1 H) 4.15 (s, 1 H) 1.98 - 2.17 (m, 2 H) 1.85 - 1.97 (m, 1 H) 1.70 (d, *J*=14.4 Hz, 1 H) 1.62 (s, 3 H); MS *m/z*: 433.0 [M+H]⁺。

实施例 28: 化合物 29



合成路线:

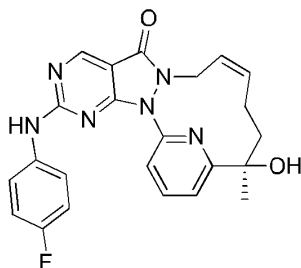


步骤 1: 化合物 **29** 的合成

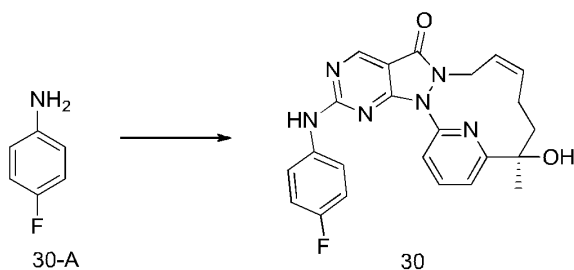
除使用相应的原料外,以合成实施例25中化合物26的方法相同,得**29**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.83 (s, 1 H) 7.82 - 7.90 (m, 1 H) 7.67 - 7.79 (m, 2 H) 7.22 - 7.24 (m, 2 H) 7.03 (d, *J*=7.6 Hz, 1 H) 6.73 (t, *J*=7.2 Hz, 1 H) 5.67 (br s, 2 H) 4.46 (d, *J*=10.8 Hz, 1 H) 4.15 (s, 1 H) 2.00 - 2.17 (m, 2 H) 1.85 - 1.97 (m, 1 H) 1.70 (d,

$J=14.4$ Hz, 1 H) 1.62 (s, 3 H); MS m/z : 433.0 $[M+H]^+$ 。

实施例 29: 化合物 30



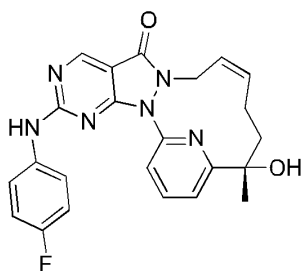
合成路线:



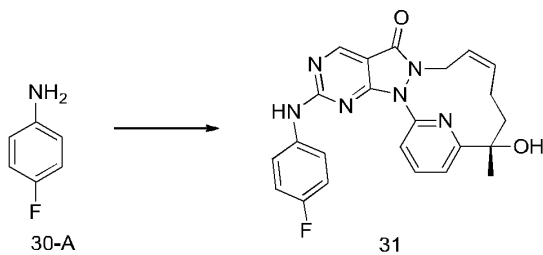
步骤 1: 化合物 30 的合成

除使用相应的原料外, 与合成实施例25中化合物26的方法相同, 得30。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.80 (s, 1 H) 7.76 - 7.82 (m, 1 H) 7.65 - 7.70 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H) 7.45 - 7.51 (m, 2 H) 7.18 - 7.22 (d, 1 H) 6.93 - 7.01 (t, $J=8.4$ Hz, 2 H) 5.64 (br s, 2 H) 4.38 - 4.46 (m, 1 H) 2.01 - 2.17 (m, 2 H) 4.18 (s, 1 H) 1.86 - 1.98 (m, 1 H) 1.65 - 1.74 (m, 1 H) 1.61 (m, 3 H). MS m/z : 433.0 $[M+H]^+$ 。

实施例 30: 化合物 31



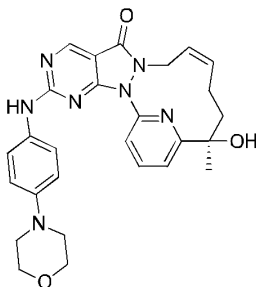
合成路线:



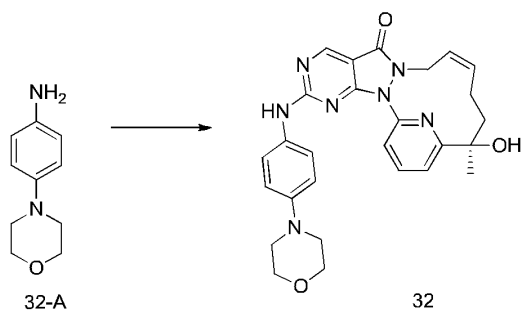
步骤 1: 化合物 **31** 的合成

除使用相应的原料外, 与合成实施例25中化合物26的方法相同, 得**31**. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.80 (s, 1 H) 7.75 - 7.84 (m, 1 H) 7.65 - 7.71 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H) 7.44 - 7.53 (m, 2 H) 7.20 - 7.22 (d, 1 H) 6.94 - 7.01 (t, $J=8.8$ Hz, 2 H) 5.64 (br s, 2 H) 4.38 - 4.48 (m, 1 H) 4.17 (s, 1 H) 2.00 - 2.18 (m, 2 H) 1.88 - 1.95 (m, 1 H) 1.65 - 1.74 (m, 1 H) 1.61 (s, 3 H). MS m/z : 433.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

实施例 31: 化合物 32

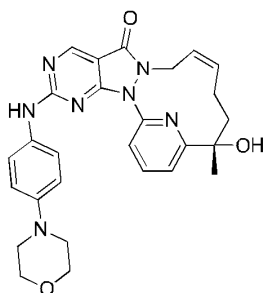


合成路线:

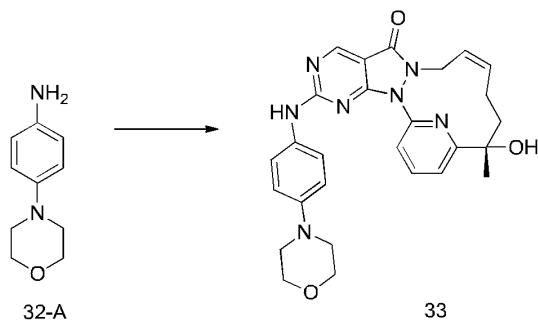
步骤 1: 化合物 **32** 的合成

除使用相应的原料外, 以合成实施例25中化合物26的方法相同, 得**32**. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.77 (s, 1 H) 7.69 - 7.82 (m, 2 H) 7.36 - 7.45 (d, $J=8.8$ Hz, 2 H) 7.16 - 7.20 (d, 1 H) 6.80 - 6.86 (d, $J=8.78$ Hz, 2 H) 5.64 (br s, 2 H) 4.39 - 4.44 (d, $J=10.28$ Hz, 1 H) 4.20 (s, 1 H) 3.75 - 3.87 (m, 4 H) 3.01 - 3.15 (m, 4 H) 1.99 - 2.18 (m, 2 H) 1.88 - 1.99 (m, 1 H) 1.65 - 1.71 (m, 1 H) 1.61 (m, 3 H); MS m/z : 500.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

实施例 32: 化合物 33



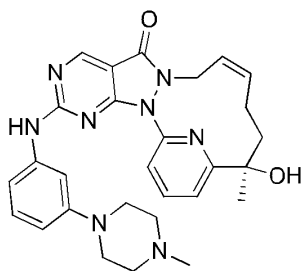
合成路线:



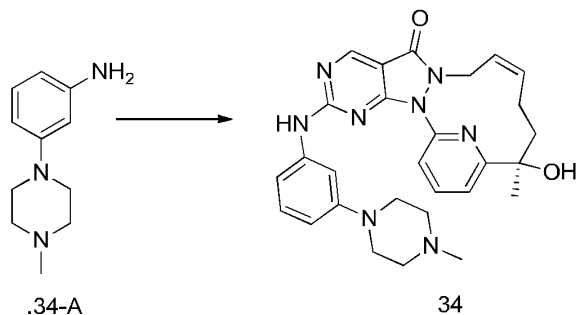
步骤 1: 化合物 **33** 的合成 222

除使用相应的原料外,以合成实施例**25**中化合物**26**的方法相同,得**33**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.84 (s, 1 H) 7.77 - 7.89 (m, 2 H) 7.46 - 7.51 (d, *J*=9.2 Hz, 2 H) 7.26 (s, 1 H) 6.86 - 6.92 (d, *J*=8.8 Hz, 2 H) 5.71 (br s, 2 H) 4.44 - 4.49 (d, *J*=13.0 Hz, 1 H) 4.25 (s, 1 H) 3.81 - 3.94 (m, 4 H) 3.08 - 3.21 (m, 4 H) 2.09 - 2.24 (m, 2 H) 1.94 - 2.04 (m, 1 H) 1.74 - 1.79 (m, 1 H) 1.67 (s, 3 H); MS *m/z*: 500.0 [M+H]⁺。

实施例 33: 化合物 34



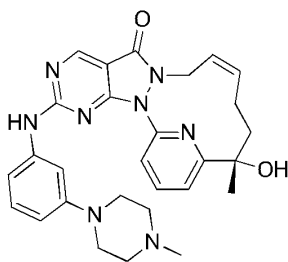
合成路线:



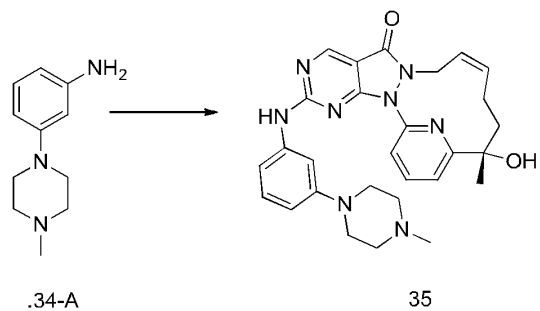
步骤 1: 化合物 **34** 的合成

除使用相应的原料外,以合成实施例**25**中化合物**26**的方法相同,得**34**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.79 (s, 1 H) 7.73 - 7.87 (m, 2 H) 7.69 (br s, 1 H) 7.10 - 7.19 (m, 2 H) 6.90 - 6.97 (d, *J*=7.2 Hz, 1 H) 6.56 - 6.63 (d, *J*=7.6 Hz, 1 H) 5.55 (br s, 2 H) 4.45 (br s, 1 H) 4.32 (br s, 1 H) 3.07 (br s, 4 H) 2.44 (br s, 4 H) 2.27 (s, 3 H) 2.02 - 2.13 (m, 2 H) 1.85 - 1.95 (d, *J*=8.2 Hz, 1 H) 1.65 - 1.72 (d, *J*=6.2 Hz, 1 H) 1.62 (s, 3 H); MS *m/z*: 513.3 [M+H]⁺。

实施例 34: 化合物 35



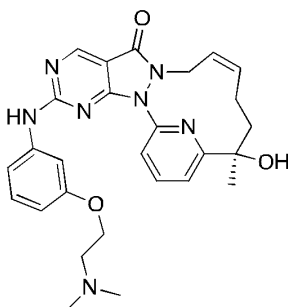
合成路线:



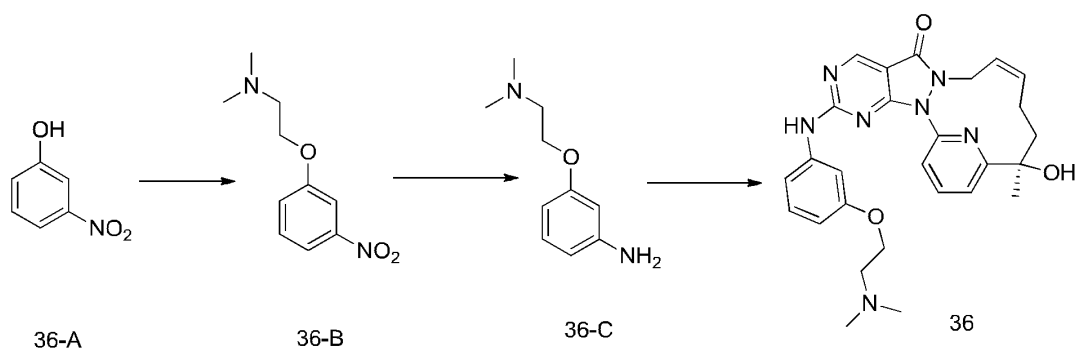
步骤 1: 化合物 **35** 的合成

除使用相应的原料外,与合成实施例**25**中化合物**26**的方法相同,得**35**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.79 (s, 1 H) 7.73 - 7.95 (m, 2 H) 7.69 (br s, 1 H) 7.09 - 7.19 (m, 2 H) 6.89 - 6.95 (d, *J*=7.0 Hz, 1 H) 6.52 - 6.63 (d, *J*=7.6 Hz, 1 H) 5.54 (br s, 2 H) 4.45 (br s, 1 H) 4.33 (br s, 1 H) 3.07 (br s, 4 H) 2.44 (br s, 4 H) 2.27 (s, 3 H) 2.04 - 2.12 (m, 2 H) 1.85 - 1.95 (d, *J*=8.4 Hz, 1 H) 1.64 - 1.72 (d, *J*=7.2 Hz, 1 H) 1.62 (s, 3 H); MS *m/z*: 513.3 [M+H]⁺。

实施例 35: 化合物 36



合成路线:



步骤 1: 化合物 **36-B** 的合成

向化合物**36-A** (1.5 g, 10.78 mmol)的*N,N*-二甲基甲酰胺(25 mL)溶液中加入碳酸钾(4.47 g, 32.35 mmol)和2-氯乙基二甲胺盐酸盐(2.33 g, 16.17 mmol)。反应在85℃搅拌2小时。向反应液中加入水(10 mL)，水相用乙酸乙酯(15 mL*3)萃取，合并有机相，有机相用饱和食盐水(15 mL)，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液旋干得粗品。粗品经柱层析分离(二氯甲烷/甲醇=10/1)得**36-B**。MS *m/z*: 211.3 [M+H]⁺

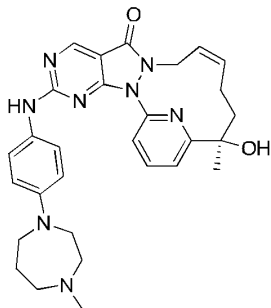
步骤 2: 化合物 **36-C** 的合成

向化合物**36-B**(717 mg, 3.41 mmol)的乙醇(20 mL)溶液中加入湿钯碳(300 mg, 253.31 μmol)，反应在氢气(15Psi)氛围下25℃搅拌12小时。反应液过滤，滤液旋干得**36-C**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.07 (t, *J*=7.9 Hz, 1 H) 6.26 - 6.38 (m, 3 H) 4.05 (t, *J*=5.8 Hz, 2 H) 2.72 (t, *J*=5.8 Hz, 2 H) 2.29 - 2.41 (m, 6 H); MS *m/z*: 181.2 [M+H]⁺。

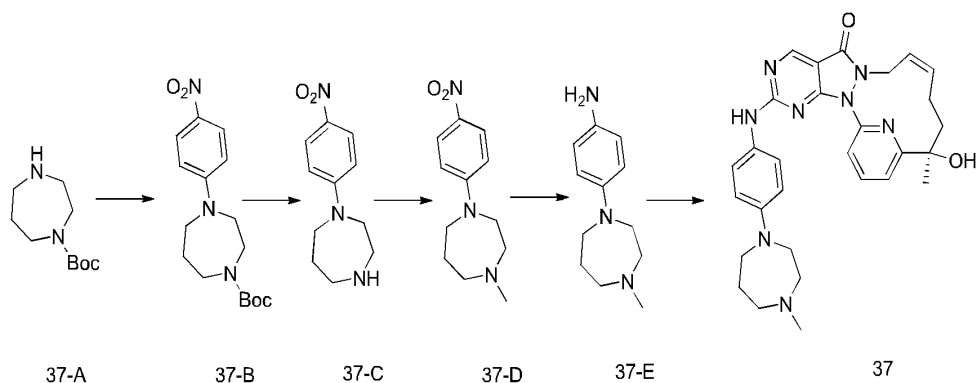
步骤 3: 化合物 **36** 的合成

除使用相应的原料外，与合成实施例25中化合物**26**的方法相同，得**36**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.81 (s, 1 H) 7.82 - 7.88 (m, 1 H) 7.70 - 7.81 (m, 1 H) 7.60 (s, 1 H) 7.34 (s, 1 H) 7.12 - 7.19 (m, 1 H) 6.98 - 7.02 (d, *J*=7.4 Hz, 1 H) 6.58 - 6.62 (d, *J*=8.2, 1 H) 5.64 (br s, 2 H) 4.40 - 4.52 (d, *J*=10.2 Hz, 1 H) 4.21 (br s, 1 H) 3.93 - 4.01 (t, *J*=5.4 Hz, 2 H) 2.61 - 2.68 (t, *J*=5.4 Hz, 2 H) 2.27 (s, 6 H) 2.04 - 2.14 (m, 2 H) 1.88 - 1.94 (d, *J*=11.0 Hz, 1 H) 1.65 - 1.70 (m, 1 H) 1.61 (s, 3 H); MS *m/z*: 502.2 [M+H]⁺。

实施例 36: 化合物 37



合成路线:



步骤 1: 化合物 **37-B** 的合成

向4-氟硝基苯(2.52 g, 14.98 mmol)的二甲基亚砜(40 mL)溶液中加入碳酸钾(3.00 g, 21.72 mmol)和**37-A**(3 g, 14.98 mmol), 反应在100度下搅拌12小时。向反应液中加入120 mL水并搅拌, 悬浮液过滤, 滤饼用20 mL水洗涤一次, 得**37-B**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.14 (d, $J=9.2$ Hz, 2 H) 6.68 (d, $J=9.2$ Hz, 2 H) 3.61 - 3.73 (m, 6 H) 3.24 - 3.42 (m, 2 H) 2.00 (d, $J=5.8$ Hz, 2 H) 1.36 - 1.46 (m, 9 H)。

步骤 2: 化合物 **37-C** 的合成

向**37-B** (3 g, 9.34 mmol)的二氯甲烷(18 mL)溶液中加入三氟乙酸(9.24 g, 81.04 mmol), 反应在30度下搅拌1小时。反应液浓缩至干, 向粗品中加入20 mL水, 水相用二氯甲烷(30 mL)萃取, 有机相丢弃。水相用10%的氢氧化钠水溶液调节pH=11~12, 水相用二氯甲烷(40 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 有机相用饱和食盐水(40 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液旋干, 得**37-C**; MS m/z: 222.0 [M+H]⁺。

步骤 3: 化合物 **37-D** 的合成

向**37-C** (1.87 g, 8.45 mmol)的甲醇(18 mL)溶液中加入甲醛(6.72 g, 82.83 mmol), 醋酸硼氢化钠(3.58 g, 16.90 mmol)和醋酸(507.54 mg, 8.45 mmol), 反应在30度下搅拌1小时。向反应液中加入2 mol/L的稀盐酸调节pH=5, 然后蒸出有机相, 水相用10%的氢氧化钠水溶液调节pH=11, 水相用二氯甲烷(50 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 有机相用饱和食盐水(30 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液旋干, 得**37-D**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.03 (d, $J=9.6$ Hz, 2 H) 6.56 (d, $J=9.6$ Hz, 2 H) 3.57 - 3.61 (m, 2 H) 3.52 (t, $J=6.2$ Hz, 2 H) 2.63 - 2.68 (m, 2 H) 2.46 - 2.53 (m, 2 H) 2.29 - 2.36 (m, 3 H) 1.96 (d, $J=5.8$ Hz, 2 H); MS m/z: 235.9 [M+H]⁺。

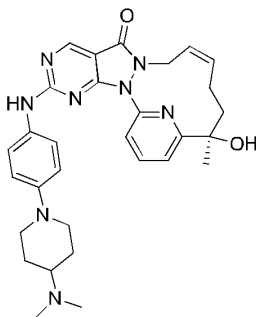
步骤 4: 化合物 **37-E** 的合成

向**37-D**(1.5 g, 6.38 mmol)的四氢呋喃(20 mL)溶液中加入钯碳(760 mg, 644.07 μ mol), 反应在30度氢气(15PSI)氛围下搅拌12小时。反应液过滤, 滤液旋干得**37-E**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 6.55 - 6.61 (m, 2 H) 6.48 - 6.53 (m, 2 H) 3.38 - 3.46 (m, 2 H) 3.34 (t, $J=6.6$ Hz, 2 H) 2.58 - 2.64 (m, 2 H) 2.45 - 2.54 (m, 2 H) 2.27 - 2.37 (m, 3 H) 1.91 (d, $J=11.4$, 2 H); MS m/z: 206.1 [M+H]⁺。

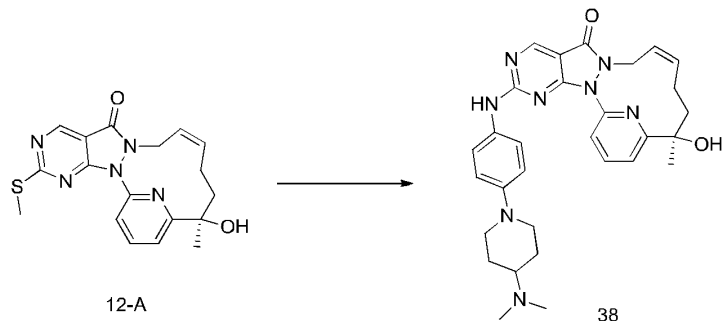
步骤 5: 化合物 **37** 的合成

向 **12-A** (200 mg, 541.36 μmol) 的甲苯(10 mL)溶液中加入间氯过氧苯甲酸(140.13 mg, 649.63 μmol)，反应在15度搅拌4小时，**37-E** (133.37 mg, 649.63 μmol) 和*N,N*-二异丙基乙胺(209.90 mg, 1.62 mmol)加入到反应液中，反应液在15度搅拌12小时。向反应液中加入15 mL水，水相用乙酸乙酯(15 mL*3)萃取，合并有机相，有机相用亚硫酸钠(20 mL)洗涤，有机相再用碳酸氢钠(20 mL)和饱和食盐水(20 mL)洗涤，并用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液旋干，得粗品。粗品经柱层析(二氯甲烷/甲醇= 10/1, 0.5% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$)和制备液相(中性)分离得**37**； ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.75 (s, 1 H) 7.72 - 7.79 (m, 2 H) 7.31 (d, $J=8.0$ Hz, 2 H) 7.17 (d, $J=7.6$ Hz, 1 H) 6.60 (d, $J=8.8$ Hz, 2 H) 5.65 (s, 2 H) 4.41 (d, $J=9.4$ Hz, 1 H) 4.18 (s, 1 H) 3.48 - 3.54 (m, 2 H) 3.43 (t, $J=6.2$ Hz, 2 H) 2.62 - 2.69 (m, 2 H) 2.49 - 2.55 (m, 2 H) 2.32 (s, 3 H) 2.01 - 2.15 (m, 2 H) 1.94 - 1.98 (m, 2 H) 1.69 (d, $J=13.8$ Hz, 2 H) 1.60 (s, 3 H); MS m/z : 527.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 37：化合物 38



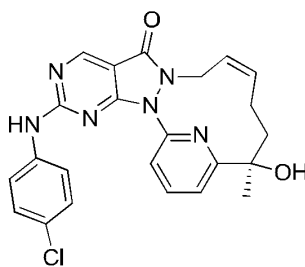
合成路线：



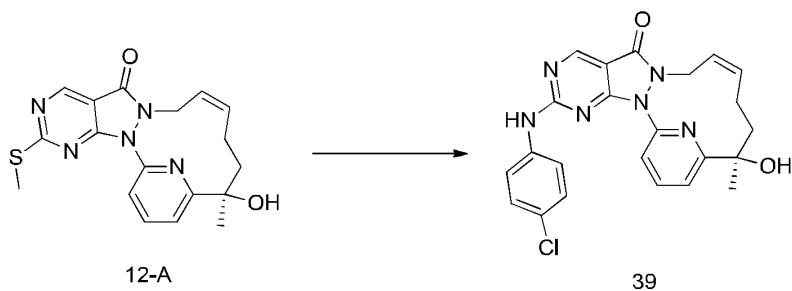
步骤 1：化合物 **38** 的合成

除使用相应的原料外，与合成实施例**36**中化合物**37**的方法相同，得**38**。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.78 (s, 1 H) 7.71 - 7.82 (m, 2 H) 7.39 (d, $J=8.8$ Hz, 2 H) 7.18 (s, 1 H) 6.86 (d, $J=8.8$ Hz, 2 H) 5.65 (s, 2 H) 4.42 (d, $J=12.4$ Hz, 1 H) 4.18 (s, 1 H) 3.63 (d, $J=11.6$ Hz, 2 H) 2.65 (t, $J=12.4$ Hz, 2 H) 2.28 (s, 6 H) 2.04 - 2.17 (m, 2 H) 1.89 (d, $J=12.4$ Hz, 3 H) 1.68 - 1.83 (m, 4 H) 1.61 (s, 3 H); MS m/z : 541.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 38：化合物 39



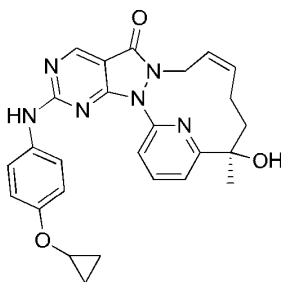
合成路线:



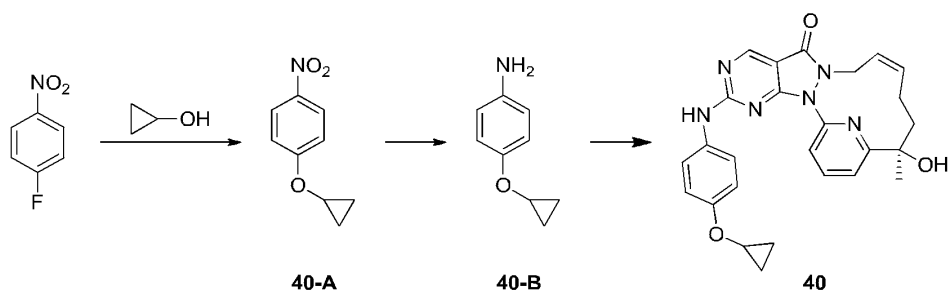
步骤 1: 化合物 **39** 的合成

向**12-A** (100 mg, 270.68 μmol)的甲苯(7 mL)溶液中加入间氯过氧苯甲酸(70.07 mg, 324.82 μmol)，反应在25℃搅拌1小时，4-氯苯胺(37.98 mg, 297.75 μmol)和*N,N*-二异丙基乙胺(139.93 mg, 1.08 mmol)加入反应液中，反应液在25℃搅拌12小时。向反应液中加入10 mL水，水相用乙酸乙酯(15 mL $\times$ 3)萃取，合并有机相，有机相用碳酸氢钠(20 mL)和饱和食盐水(20 mL)洗涤，并用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液旋干，得粗品。粗品经制备液相(中性)分离得**39**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.82 (s, 1 H) 7.80 - 7.85 (m, 1 H) 7.69 (d, $J=7.8$ Hz, 1 H) 7.60 (s, 1 H) 7.47 - 7.52 (m, 2 H) 7.22 - 7.25 (m, 2 H) 5.64 (s, 2 H) 4.45 (d, $J=13.2$ Hz, 1 H) 4.18 (br s, 1 H) 2.05 - 2.14 (m, 1 H) 1.85 - 1.96 (m, 1 H) 1.69 (d, $J=17.6$ Hz, 2 H) 1.62 (s, 3 H); MS m/z : 449.0 [M+H]⁺。

实施例 39: 化合物 40



合成路线:



步骤 1: 化合物 **40-A** 的合成。

向氢化钠的 DMF(20 mL)溶液中加入碘化钾(142.91 mg, 860.89 μmol)，反应液在 5-10℃、氮气保护下搅拌，环丙醇(500 mg, 8.61 mmol)的 DMF(0.5 mL)溶液慢慢加入到反应液中，在 5-10℃搅拌 1 小时，对氟硝基苯(1.34 g, 9.47 mmol)的 DMF(0.5 mL)溶液加入到反应液中，反应液在 25℃搅拌 12 小时。向反应液中加入饱和氯化铵 (15 mL)溶液，水相用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取，合并有机相，有机相用饱和食盐水(20 mL)洗涤 1 次，并用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液旋干得粗品，粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯=1~10/1)分离得 **40-A**。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 8.10 - 8.16 (m, 2 H), 7.05 (d, J =8.06 Hz, 2 H), 3.74 - 3.79 (m, 1 H), 0.72 - 0.84 (m, 4 H)。

步骤 2: 化合物 **40-B** 的合成。

除使用相应的原料外，与合成实施例 17 中化合物 **18-B** 的方法相同，得到 **40-B**。

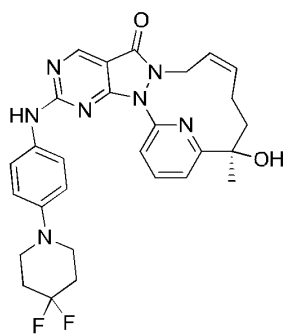
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 6.87 - 6.93 (m, 2 H), 6.64 - 6.70 (m, 2 H), 3.65 - 3.71 (m, 1 H), 0.71 - 0.80 (m, 4 H)。 MS m/z : 150.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 3: 化合物 **40** 的合成。

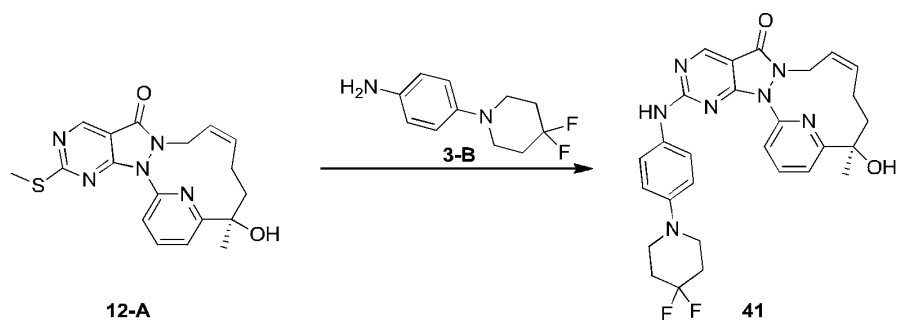
除使用相应的原料外，与合成实施例 21 中化合物 **22** 的方法相同，得到 **40**。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.86 (s, 1H), 7.89 - 7.83 (t, 1H), 7.82 - 7.77 (d, 1H), 7.49 (d, J =9.0 Hz, 2H), 7.42 (br s, 1H), 7.25 (d, 1H), 7.05 (d, J =8.8 Hz, 2H), 5.75 (br s, 2H), 4.50 (m, J =12.3 Hz, 1H), 4.33 (br s, 1H), 4.25 - 4.20 (s, 1H), 3.78 - 3.73 (m, 1H), 2.22 - 2.08 (m, 2H), 2.01 (m, J =10.5 Hz, 1H), 1.77 (m, J =13.8 Hz, 1H), 1.68 (s, 3H), 0.82 - 0.78 (m, 4H)。 MS m/z : 471.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 40: 化合物 41



合成路线:



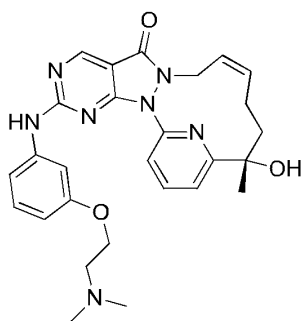
步骤 1: 化合物 **41** 的合成。

除使用相应的原料外, 与合成实施例 21 中化合物 **22** 的方法相同, 得到 **40**。

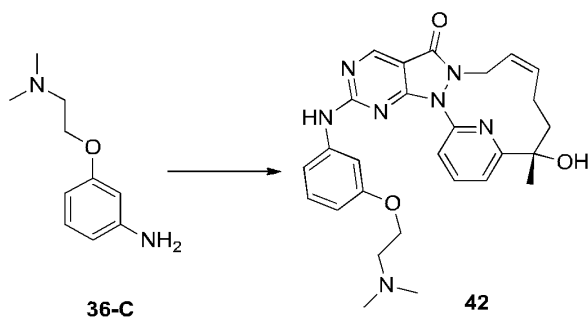
^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 8.85 (s, 1H), 7.90 - 7.83 (t, 1H), 7.82 - 7.76 (d, 1H), 7.49 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.29 - 7.24 (d, 1H), 6.94 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 5.72 (br s, 2H), 4.50 (m, $J=12.5$ Hz, 1H), 4.42 - 4.29 (br s, 1H), 4.29 - 4.21 (s, 1H), 3.40 - 3.26 (m, 4H), 2.20 - 2.05 (m, 6H), 2.05 - 1.95 (m, 1H), 1.79 - 1.74 (m, 1H), 1.68 (s, 3H)。

MS m/z : 534.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 41: 化合物 42



合成路线:



步骤 1: 化合物 37 的合成

除使用相应的原料外, 与合成实施例25中化合物26的方法相同, 得37. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.82 (s, 1 H) 7.82 - 7.88 (m, 1 H) 7.70 - 7.81 (m, 1 H) 7.58 (br s, 1 H) 7.35 (s, 1 H) 7.12 - 7.20 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H) 6.58 - 6.62 (d, $J=8.2$, 1 H) 5.64 (br s, 2 H) 4.42 - 4.51 (d, $J=12.0$ Hz, 1 H) 4.19 (br s, 1 H) 3.94 - 4.01 (t, $J=5.6$ Hz, 2 H) 2.62 - 2.68 (t, $J=5.4$ Hz, 2 H) 2.27 (s, 6 H) 2.03 - 2.14 (m, 2 H) 1.86 - 1.96 (d, $J=11.2$ Hz, 1 H) 1.69 - 1.73 (m, 1 H) 1.61 (s, 3 H); MS m/z : 502.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

实验例 1: 本发明化合物的体外酶学抑制活性

实验测试在 Eurofins 公司进行, 实验结果由该公司提供。

在测试体系中, 加入 20 mM Tris-HCl, pH 8.5, 0.2 mM EDTA, 500 μM 多肽底物 (LSNLYHQGKFLQTFCSPLYRRR), 10 mM 醋酸镁和 10 μM $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{-ATP}$ (强度大约 500 cpm/pmol)。加入 Mg^{2+} 和 ATP 混合液后, 反应起始, 室温孵育 40 min。加入 3%磷酸缓冲液, 终止反应。取 10 μL 反应液在连续过滤机 P30 上过滤, 用 75 mM 磷酸缓冲液清洗三次, 甲醇清洗一次, 每次清洗 5 min。干燥后闪烁计数法读值。

表 1: 本发明化合物体外酶学活性测定结果 (IC_{50})

化合物编号	Wee1 (IC_{50} nM)	化合物编号	Wee1 (IC_{50} nM)
AZD1775	47	化合物 22	16
化合物 1	29	化合物 23	29
化合物 2	58	化合物 24	57
化合物 3	42	化合物 25	78
化合物 4	92	化合物 26	30
化合物 6	46	化合物 27	37
化合物 7	54	化合物 28	79
化合物 8	93	化合物 29	444

WO 2019/085933

PCT/CN2018/112909

化合物 9	41	化合物 30	67
化合物 10	49	化合物 31	323
化合物 11	102	化合物 32	37
化合物 12	59	化合物 33	151
化合物 13	265	化合物 34	116
化合物 14	43	化合物 35	276
化合物 15	114	化合物 36	35
化合物 16	60	化合物 37	31
化合物 17	366	化合物 38	48
化合物 18	29	化合物 39	54
化合物 19	72	化合物 40	35
化合物 20	173	化合物 41	16
化合物 21	280	化合物 42	221

实验结论：

本发明化合物对 Wee1 激酶具有很好的抑制作用。

实验例 2：本发明化合物的体外渗透性测试

研究采用经荷兰癌症研究所 Piet Borst 实验室授权的 MDR1-MDCK II 细胞，它是一种转染了人的多耐药基因（MDR1）的 Madin-Darby 犬肾细胞，该细胞能稳定表达外排转运体 P 糖蛋白（P-gp），因此适用于筛选 P-gp 底物或者抑制剂，并预测化合物在如十二指肠、血脑屏障、肝细胞核和肾单元等具有高外排作用屏障的渗透性。我们将第 5-35 代 MDR1-MDCK II 细胞用于渗透性研究。

MDR1-MDCK II 细胞用 α -MEM 培养基（ α -Minimum Essential Media）培养，培养条件为 $37\pm 1^\circ\text{C}$ ，5% CO_2 和饱和相对湿度。之后将细胞接种于 BD Transwell-96 孔板里，接种密度为 2.3×10^5 个细胞/ cm^2 ，然后将细胞置于二氧化碳培养箱中培养 4-7 天后用于转运实验。其 α -MEM 培养基的制备方法如下：液体培养基采用粉末（ α -MEM powder 来至 Gibco, Cat#:11900）溶于纯水配制，添加了 L-（左旋谷酰胺）和 NaHCO_3 。之后使用时添加 10% FBS(胎牛血清)，1% PS（双抗） and 1% NEAA 使之成为完全培养基。 α -MEM 培养基配料如表 2 所示。

表 2. α MEM (1L $\times$)配料表

α MEM (1L $\times$)配料表			
化合物(1L $\times$)	分子量	浓度(mM)	用量 (mg/L)

WO 2019/085933

PCT/CN2018/112909

培养基粉	/	/	1 包
左旋谷酰胺	146	2	292
NaHCO ₃	84	17.85	1500

AZD1775（或本发明化合物）和地高辛（digoxin）给药浓度为 2 μM ，双向（A B 和 B A 方向）给药，均做二个复孔。非诺特罗（Fenoterol）和普萘洛尔（propranolol）测试浓度均为 2 μM ，单向（A B 方向）给药，均做二个复孔。

将待使用的溶液置 37 $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅预孵育 30 分钟。将给药液和接收液分别加入到对应的细胞板孔位（每个顶端和基底端孔分别加样 75 和 250 μL ），启动双向转运实验。加样后，将细胞板置于 37 $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$ ，5% CO₂ 和饱和相对湿度的培养箱中孵育 150 分钟。样品收集信息见表 3。

表 3. 样品收集信息

样品类型	每孔收样体积 (μL)	终止液的体积 (μL)	转运缓冲液的体积 (μL)
A-B 给药端	50	250	100
A-B 接收端	150	250	0
B-A 给药端	50	250	100
B-A 接收端	50	250	100
T ₀	50	250	100

注：T₀ 表示起始给药液样品。

所有的样品漩涡震荡后于 3220 g 离心 10 分钟，转移适量体积的上清液到样品分析板，封板后样品若不立即分析则储存于 2-8 $^{\circ}\text{C}$ ，采用 LC/MS/MS 的方法进行分析。

转运实验结束后，采用荧光黄检测实验（Lucifer Yellow Rejection Assay）测试 MDR1-MDCK II 细胞的完整性。荧光黄溶液孵育 30 分钟后，收取荧光黄样品，2e 读板仪在 425/528 nm（激发/发射）波谱处检测样品中荧光黄的相对荧光强度（the relative fluorescence unit, RFU）。

采用半定量分析供试品 AZD1775（或本发明化合物）、对照品非诺特罗（fenoterol）、普萘洛尔（propranolol）以及地高辛（digoxin），用被分析物与内标的峰面积比值作为对照品的浓度。

实验结果如表 4：

表 4 渗透速率（10⁻⁶ cm/s）

WO 2019/085933

PCT/CN2018/112909

	AZD1775	化合物 1	化合物 2
A to B	2.83	4.55	4.76
B to A	29.3	17.38	19.94
外排比率	10.37	3.82	4.19

实验结论：

本发明化合物的渗透性性质相对于 AZD1775 有了很大的提高，对于生物体对于药物的利用

实验例 3：化合物药代动力学评价

本实验旨在研究 AZD1775（或本发明化合物）单次静脉，单次口服给药后，在雌性 Balb/c Nude 小鼠血浆中的药代动力学情况。

12 只小鼠（灵畅提供）随机分为两组，每组 6 只雌性，采用交叉采血方式进行样品采集。静脉组所有动物静脉注射给予 1 mg/kg 的 AZD1775（或本发明化合物），制剂为含 0.2 mg/mL AZD1775（或本发明化合物）的 5% HP-betaCD（昆山瑞斯克化工原料有限公司）的澄清溶液。口服组动物灌胃给予 10mg/kg 的 AZD1775（或本发明化合物），制剂为含 1 mg/mL AZD1775（或本发明化合物）的 0.5% 甲基纤维素的均一混悬液。

静脉组动物在给药后 5 分钟、15 分钟、30 分钟、1 小时、2 小时、4 小时、6 小时、8 小时及 24 小时的 9 个时间点采集血浆样品；口服组在给药后 15 分钟、30 分钟、1 小时、2 小时、4 小时、6 小时、8 小时及 24 小时的 8 个时间点采集血浆样品；样品经过 LC-MS/MS 分析获得 AZD1775（或本发明化合物）血浆浓度数据，并计算药代参数，如达峰浓度，达峰时间，清除率，半衰期，药时曲线下面积，生物利用度等。

实验结果如表 5：

表 5 药代动力学测试结果

供试品(各实施例所制得的化合物)	清除率 (mL/min/kg)	半衰期 $T_{1/2}$ (h)	浓度积分 AUC (nM.hr)	生物利用度 F (%)
AZD1775	85.7	0.252	1200	31
化合物 1	33.5	1.69	6037	62.4
化合物 2	46.7	1.3	5166	74.6

结论：本发明化合物对比 AZD1775 可以显著提高小鼠药代动力学多项指标，其中体内清除率，半衰期，体内浓度积分以及生物利用度都有明显优势。

实验例 4：体内研究**(1) 化合物对人结肠癌 LoVo 细胞皮下异种移植肿瘤 BALB/c 裸小鼠模型的体内药效学研究**

实验方法：选用的实验动物（上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供）是 BALB/c 裸小鼠，6-8 周龄，体重 18-22 克。

人结肠癌 LoVo 细胞，体外单层培养，培养条件为 Ham's F-12 培养基中加 10% 胎牛血清，100 U/mL 青霉素，100 µg/mL 链霉素和 2 mM 谷氨酰胺，37°C，5% CO₂ 培养。一周两次用胰酶-EDTA 进行常规消化处理传代。当细胞饱和度为 80%-90% 时，收取细胞，计数，接种。将 0.1 mL（10 × 10⁶ 个）LoVo 细胞皮下接种于每只裸小鼠的右后背，肿瘤平均体积达到 213 mm³ 时开始分组给药。给药剂量：40 毫克/公斤，每日两次。实验指标是考察肿瘤生长是否被抑制、延缓或治愈。每周两次用游标卡尺测量肿瘤直径。肿瘤体积的计算公式为： $V = 0.5a \times b^2$ ， a 和 b 分别表示肿瘤的长径和短径。

化合物的抑瘤疗效用 TGI(%) 或相对肿瘤增殖率 T/C(%) 评价。TGI(%), 反映肿瘤生长抑制率。TGI(%) 的计算： $TGI(\%) = \frac{(1 - (\text{某处理组给药结束时平均瘤体积} - \text{该处理组开始给药时平均瘤体积}))}{(\text{溶剂对照组治疗结束时平均瘤体积} - \text{溶剂对照组开始治疗时平均瘤体积})} \times 100\%$ 。

最终给药 16 天实验结果如表 6：

表 6 小鼠肿瘤体内药效结果

化合物	TGI (%)
AZD1775	26.73
化合物 1	84.74
化合物 2	48.67

结论：本发明化合物对比 AZD1775 可以显著提高对小鼠身体肿瘤的抑制作用，而且化合物的手性对于体内药效有着意想不到的影响。

(2) 化合物对人胰腺癌 BxPC-3 BALB/c 裸小鼠皮下移植瘤模型的体内药效学研究

实验方法：选用的实验动物是 BALB/c nude 裸小鼠，6-8 周龄，体重 18-22 克。

BxPC-3 细胞第 10 代，体外单层培养，培养条件为 RPMI 1640 培养基（生产厂家：gibco，货号：22400-089）中加 10% 胎牛血清，100 U/mL 青霉素和 100 µg/mL 链霉素，37 °C 5% CO₂ 培养，传代 4 次。传代方法为一周两次用胰酶-EDTA 进行常规消化处理传代。当细胞饱和度达到 80%-90% 时，细胞用胰酶-EDTA 消化，计数，重悬于 PBS，密度为 5 × 10⁷ 个细胞/mL。每只动物于右后背位置接种 0.1 mL（5 × 10⁶ 个）BxPC-

WO 2019/085933

PCT/CN2018/112909

3细胞，当肿瘤平均体积达到153 mm³时，根据瘤体积随机分组，并开始给药。给药剂量：25 毫克/公斤，每日一次。

实验指标是考察肿瘤生长是否被抑制、延缓或治愈。每周两次用游标卡尺测量肿瘤直径。化合物的抑瘤疗效用TGI(%)或相对肿瘤增殖率T/C(%)评价。TGI(%)，反映肿瘤生长抑制率。TGI(%)的计算： $TGI(\%) = \frac{(1 - (\text{某处理组给药结束时平均瘤体积} - \text{该处理组开始给药时平均瘤体积}))}{(\text{溶剂对照组治疗结束时平均瘤体积} - \text{溶剂对照组开始治疗时平均瘤体积})} \times 100\%$ 。

最终给药 27 天实验结果如下：

表 7 小鼠肿瘤体内药效结果

化合物	TGI (%)
AZD1775	24.3
化合物 1	73.3

结论：通过表 7 可以看出，本发明化合物对比 AZD1775 可以显著提高对小鼠身体肿瘤的抑制作用。

(3) 化合物对 CT26 小鼠结肠癌细胞动物移植瘤模型的体内抗肿瘤药效研究

实验方法：选用的实验动物是 BALB/c 裸小鼠，7 周龄，体重 16-20 克，雌性。

细胞：小鼠结肠癌 CT26 细胞（中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库）体外单层培养，培养条件为采用含 10% 胎牛血清 RPMI-1640 培养基，37℃ 5% CO₂ 培养箱中培养。用胰酶-EDTA 进行常规消化处理传代。当细胞处于指数生长期，饱和度为 80%-90% 时，收取细胞，计数，接种。将 0.1 mL DPBS（含 3×10⁵ 个 CT26 细胞）皮下接种于每只小鼠的右后背，待肿瘤平均体积达到 50~70 mm³ 时，根据肿瘤体积进行随机分组给药。给药剂量：30 毫克/公斤，每日两次。

实验指标是考察肿瘤生长是否被抑制、延缓或治愈。每周两次用游标卡尺测量肿瘤直径。化合物的抑瘤疗效用TGI(%)或相对肿瘤增殖率T/C(%)评价。TGI(%)，反映肿瘤生长抑制率。TGI(%)的计算： $TGI(\%) = \frac{(1 - (\text{某处理组给药结束时平均瘤体积} - \text{该处理组开始给药时平均瘤体积}))}{(\text{溶剂对照组治疗结束时平均瘤体积} - \text{溶剂对照组开始治疗时平均瘤体积})} \times 100\%$ 。

最终给药 18 天实验结果如下：

表 8 小鼠肿瘤体内药效结果

化合物	TGI (%)
AZD1775	66.43

化合物 1	93.38
-------	-------

结论：通过表 8 可以看出，本发明化合物对比 AZD1775 可以显著提高对小鼠身体肿瘤的抑制作用。