

芳香酰胺类衍生物及其制备方法和用途

技术领域

- 5 本发明涉及一种芳香酰胺类衍生物、其制备方法及含有该衍生物的药物组合物以及其作为治疗剂特别是作为 KIF18A 抑制剂的用途。

背景技术

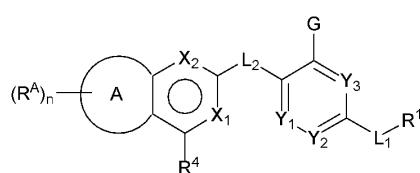
- 驱动蛋白分子是以微管为轨道的马达蛋白，在细胞器迁移、组织器官发育、信号传导、有丝分裂、减数分裂等过程中发挥了重要作用。驱动蛋白 kinesin-8 家族的多种微管结合蛋白（microtubule-associated protein, MAP）通过影响微管的聚合和解聚行使着调控微管动态不稳定性功能。KIF18A 是 kinesin-8 家族的一员，能够以微管为轨道向正极运动，倾向结合较长的微管，其活性具有长度依赖性并影响着纺锤体的长度，可保障姐妹染色体整列的及时顺利完成，且在不同物种中的功能非常相似，具有保守性。
- 15 KIF18A 是一个以微管为轨道向微管正极末端运动的分子马达蛋白，通过影响微管末端动态不稳定性调控染色体的中板集合，在有丝分裂期发挥功能。在有丝分裂后期，该蛋白被泛素化降解，保证有丝分裂过程中染色体的精确分离，促使有丝分裂及胞质分裂的顺利完成。有丝分裂早期，KIF18A 在靠近动粒的微管正极末端定位是其功能发挥的必要条件，定位不仅依赖其 N 端的马达活性，具有微管结合能力的尾部结构域也起到关键作用。
- 20 KIF18A 还受到可逆的蛋白磷酸化/去磷酸化修饰，但该蛋白翻译后修饰如何调控 KIF18A 的功能尚缺乏系统研究。雌激素受体 ER α 可与 KIF18A 结合并促进其转录，但 KIF18A 是否还受其他转录因子的调控仍不清楚，因此 KIF18A 的基因转录调控机制研究尚待深入。在减数分裂过程中，缺少 KIF18A 的细胞将不能完成减数分裂，进而会导致雄性动物精子形成障碍和睾丸发育不良。
- 25 研究发现，KIF18A 蛋白在多种癌症中均有高表达，包括但不限于肝细胞癌、胶质母细胞瘤、结肠癌、乳腺癌、肺癌、胆管癌、胰腺癌、前列腺癌、膀胱癌、头癌、颈癌、子宫颈癌、卵巢癌、滑膜肉瘤、横纹肌肉瘤等，这预示着 KIF18A 与肿瘤的发生、发展密切相关，可成为多种肿瘤分子诊断和治疗的靶标。KIF18A 的表达与临床大肠癌发展有关。研究发现，KIF18A 能够诱导 Akt 磷酸化，小鼠中敲除 KIF18A 可明显促进细胞凋亡，推测
- 30 KIF18A 能通过激活 PI3K-Akt 信号通路促进结直肠癌的发生发展。KIF18A 在人乳腺癌细胞中也高表达，且其过表达与乳腺肿瘤的分级、迁移和预后有关。对乳腺癌细胞进行研究，发现过表达 KIF18A 会导致多核细胞的产生，低表达在体内外则均能大幅度减弱细胞增生能力，这是通过 KIF18A 在微管末端稳定微管以及 PI3K-Akt 信号转导途径的失活而诱导了细胞凋亡。另外，肺腺癌中 KIF18A 在转录和翻译水平均上调，KIF18A 的异常表达与临床
- 35 病理恶性程度相关。在肺腺癌中能够观察到 KIF18 基因突变，其表达也受 DNA 拷贝数的

调控, KIF18A 基因敲除能够抑制肺腺癌细胞的体内和体外增殖, 诱导细胞凋亡和 G2/M 期阻滞。与 KIF18A 同时高表达的基因都集中在细胞周期信号通路中, 因此深入研究 KIF18A 在肿瘤中的作用机制具有重要临床意义。

针对 KIF18A 靶点的抑制剂还没有新款药物上市, 目前只有美国安进公司的 AMG-650 这一款化合物进入临床I期。作为比较前沿的研究方向, KIF18A 靶点的相关研究还有巨大的探索空间, 很有必要继续研究其作用机制和开发新的抑制剂。

发明内容

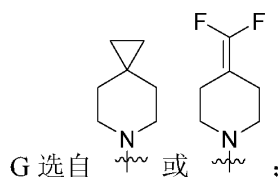
针对上述技术问题, 本发明提供一种通式(I)所示的芳香酰胺类衍生物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐:



(I)

其中:

环 A 选自 5~7 元杂环基或 5~7 元杂芳基;



G 选自 或 ;

X₁、X₂ 各自独立地选自 CR^a 或 N 原子;

Y₁、Y₂、Y₃ 各自独立地选自 CR^b 或 N 原子, 且 Y₁、Y₂、Y₃ 中至多有两个同时为 N 原子;

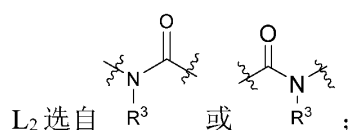
R^a、R^b 各自独立地选自氢原子、卤素、羟基、氰基、烷基或烷氧基; 其中所述的烷基或烷氧基任选进一步被一个或多个选自卤素、羟基、氰基、烷基或烷氧基的取代基所取代;

R^A 相同或不同, 各自独立地选自氢原子、卤素、羟基、氰基、烷基或烷氧基; 其中所述的烷基或烷氧基任选进一步被一个或多个选自卤素、羟基、氰基、烷基或烷氧基的取代基所取代;

或者, 两个 R^A 与其所连接的同一个碳原子形成一个 C(O);

L₁ 选自键或 C₁-C₆ 亚烷基, 其中所述的亚烷基任选进一步被一个或多个选自卤素、羟基、氰基或烷氧基的取代基所取代, 且其中所述的亚烷基的一个或多个亚甲基任选被一个或多个 O、S(O)_r、C(O)或 NR^c 所替代;

R^c 选自氢原子或烷基;



R^3 各自独立地选自氢原子或烷基, 其中所述的烷基任选进一步被一个或多个选自卤素、羟基、氰基或烷氧基的取代基所取代; R^3 优选为氢原子;

R^1 选自氢原子、氰基、卤素、烷基、羟基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基; 其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $=O$ 、 $-C(O)R^8$ 、 $-C(O)OR^8$ 、 $-OC(O)R^8$ 、 $-NR^9R^{10}$ 、 $-C(O)NR^9R^{10}$ 、 $-SO_2NR^9R^{10}$ 或 $-NR^9C(O)R^{10}$ 的取代基所取代;

R^4 选自氰基、卤素、烷基、烯基、炔基、羟基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-C(O)OR^5$ 、 $-NHC(O)R^5$ 、 $-NHC(O)OR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 、 $-C(O)NR^6R^7$ 、 $-CH_2NHC(O)OR^5$ 、 $-CH_2NR^6R^7$ 或 $-S(O)_2R^5$; 其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $=O$ 、 $-C(O)R^8$ 、 $-C(O)OR^8$ 、 $-OC(O)R^8$ 、 $-NR^9R^{10}$ 、 $-C(O)NR^9R^{10}$ 、 $-SO_2NR^9R^{10}$ 或 $-NR^9C(O)R^{10}$ 的取代基所取代;

R^5 各自独立地选自氢原子、烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基, 其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $=O$ 、 $-C(O)R^8$ 、 $-C(O)OR^8$ 、 $-OC(O)R^8$ 、 $-NR^9R^{10}$ 、 $-C(O)NR^9R^{10}$ 、 $-SO_2NR^9R^{10}$ 或 $-NR^9C(O)R^{10}$ 的取代基所取代;

R^6 和 R^7 各自独立地选自氢原子、羟基、卤素、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基, 其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $=O$ 、 $-C(O)R^8$ 、 $-C(O)OR^8$ 、 $-OC(O)R^8$ 、 $-NR^9R^{10}$ 、 $-C(O)NR^9R^{10}$ 、 $-SO_2NR^9R^{10}$ 或 $-NR^9C(O)R^{10}$ 的取代基所取代;

或者, R^6 和 R^7 与它们相连接的原子一起形成一个 4~8 元杂环基, 其中所述的 4~8 元杂环基内含有一个或多个 N、O 或 S(O)_r, 并且所述的 4~8 元杂环基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $=O$ 、 $-C(O)R^8$ 、 $-C(O)OR^8$ 、 $-OC(O)R^8$ 、 $-NR^9R^{10}$ 、 $-C(O)NR^9R^{10}$ 、 $-SO_2NR^9R^{10}$ 或 $-NR^9C(O)R^{10}$ 的取代基所取代;

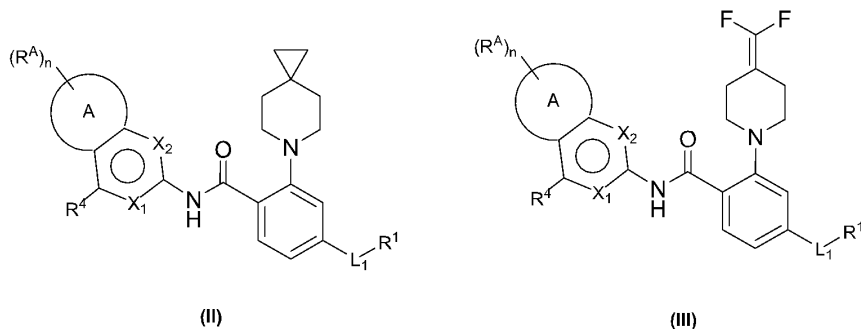
R^8 、 R^9 和 R^{10} 各自独立地选自氢原子、烷基、氨基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基, 其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、羧基或羧酸酯

基的取代基所取代；

n 为 0、1、2、3 或 4；且

r 各自独立地为 0、1 或 2。

本发明的优选方案提供一种通式(I)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其为通式(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐：



环 A、X₁、X₂、R^A、R¹、R⁴、L₁ 和 n 的定义如通式(I)中所述。

本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中：

L₁ 选自键或 C₁-C₆ 亚烷基，其中所述的亚烷基任选进一步被一个或多个羟基所取代，且其中所述的亚烷基的一个或多个亚甲基任选被一个或多个 O、S(O)_r、C(O) 或 NR^c 所替代；

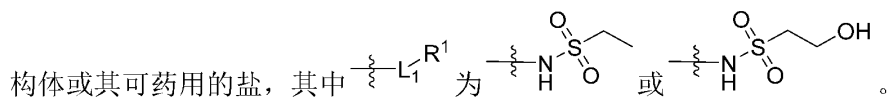
r 为 2；

R^c 选自氢原子或甲基。

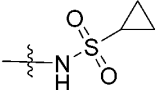
本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 L₁ 选自键、-NH₂SO₂CH₂CH₂-、-SO₂NHCH₂CH₂-、-SO₂-、-CH₂SO₂-、-NHSO₂-、-SO₂NH-、-NHC(CH₃)₂CH₂-、-C(O)NHCH₂CH₂-、-C(O)NHC(CH₃)₂CH₂-、-C(O)N(CH₃)CH₂CH₂-、-CH(CH₃)(OH)CH₂-、-NHSO₂CH(CH₃)CH₂-、-SO₂NHC(CH₃)₂CH₂-、-C(O)NH-、-NHCH₂CH₂-或-CH₂SO₂CH₂CH₂-。

本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 R¹ 选自氢原子、羟基、烷基、杂环基、环烷基或杂芳基，其中所述的烷基、杂环基、环烷基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基或烷基的取代基所取代。

本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中

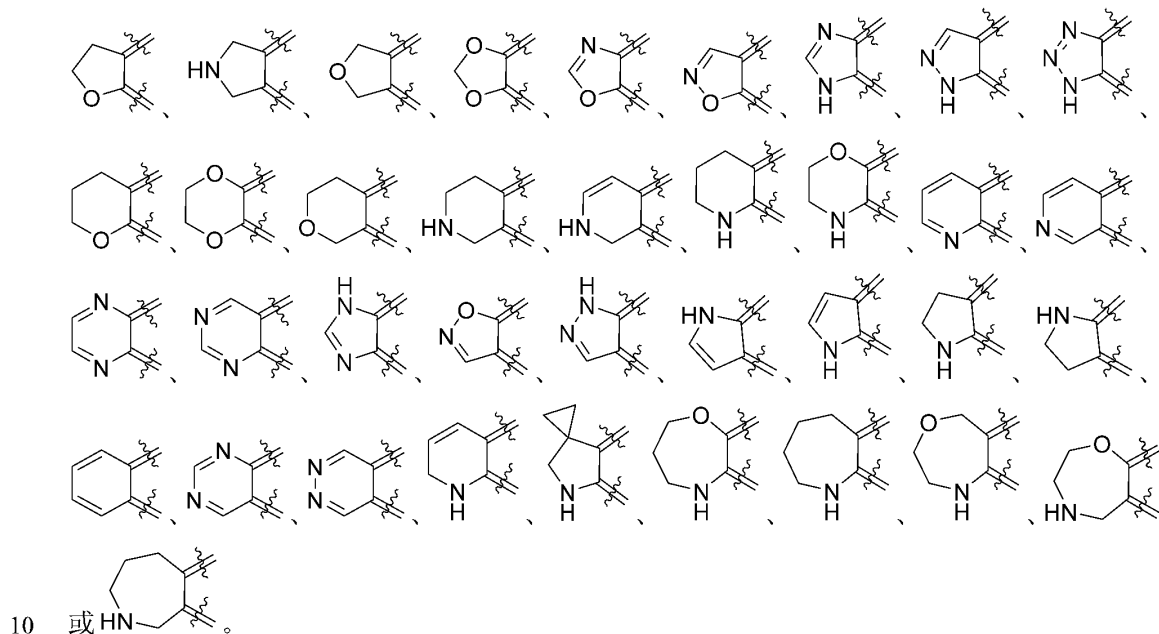


本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中

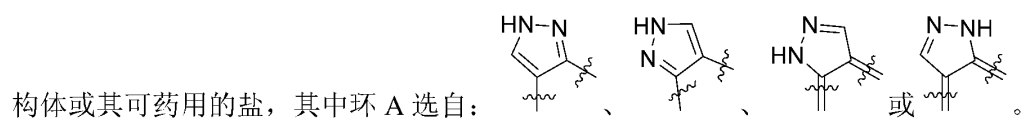
构体或其可药用的盐，其中 $\text{---}\text{L}_1\text{---}\text{R}^1$ 为 .

本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 X_1 、 X_2 各自独立地选自 CH。

本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中环 A 选自：



本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中环 A 选自：



本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中：

15 R^A 各自独立地选自氢原子或甲基；

或者，两个 R^A 与其所连接的同一个碳原子形成一个 $\text{C}(\text{O})$ 。

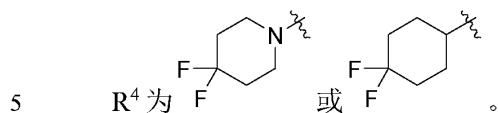
本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中：

20 R^4 各自独立地选自 3-10 元杂环基或 $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ 环烷基，其中所述的杂环基或环烷基任选进一步被一个或多个羟基或卤素所取代。

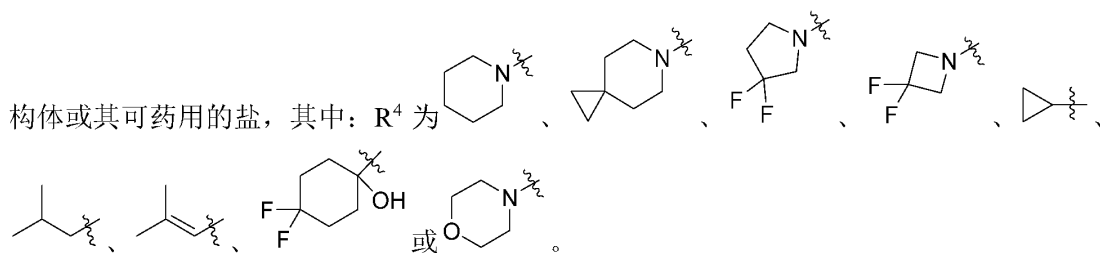
本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中：

R⁴各自独立地选自 C₂-C₆ 烯基或 C₁-C₆ 烷基, 其中所述的烯基或烷基任选进一步被一个或多个羟基或卤素所取代。

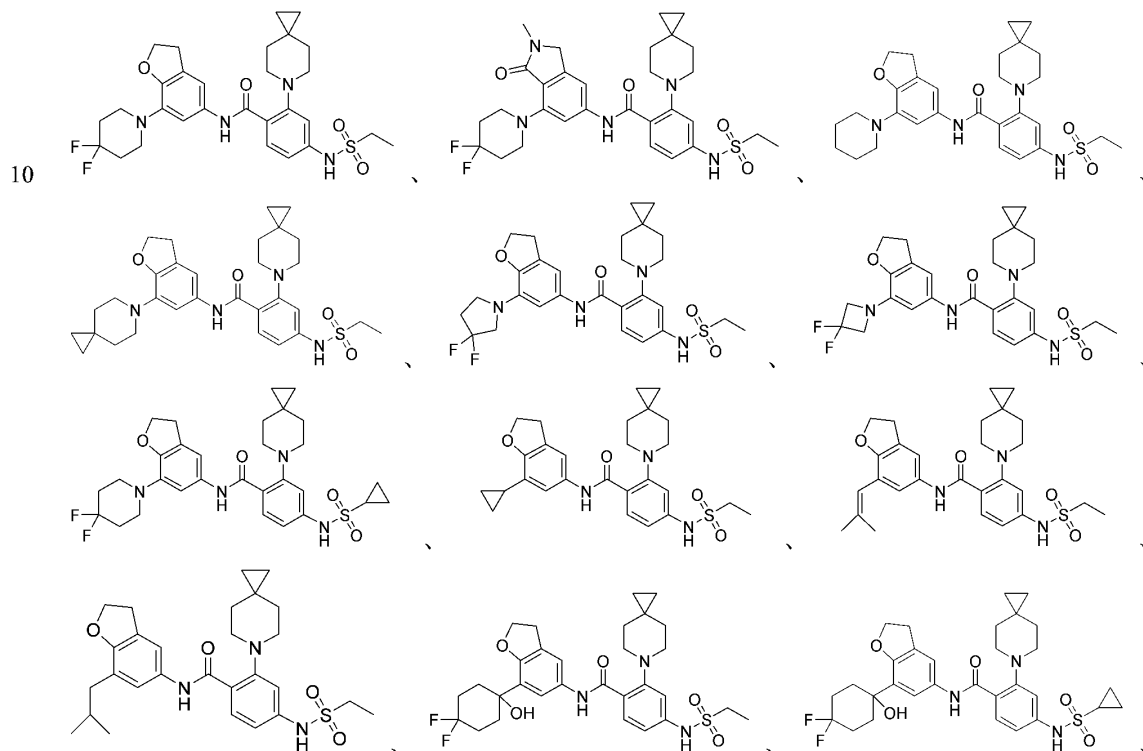
本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐, 其中:

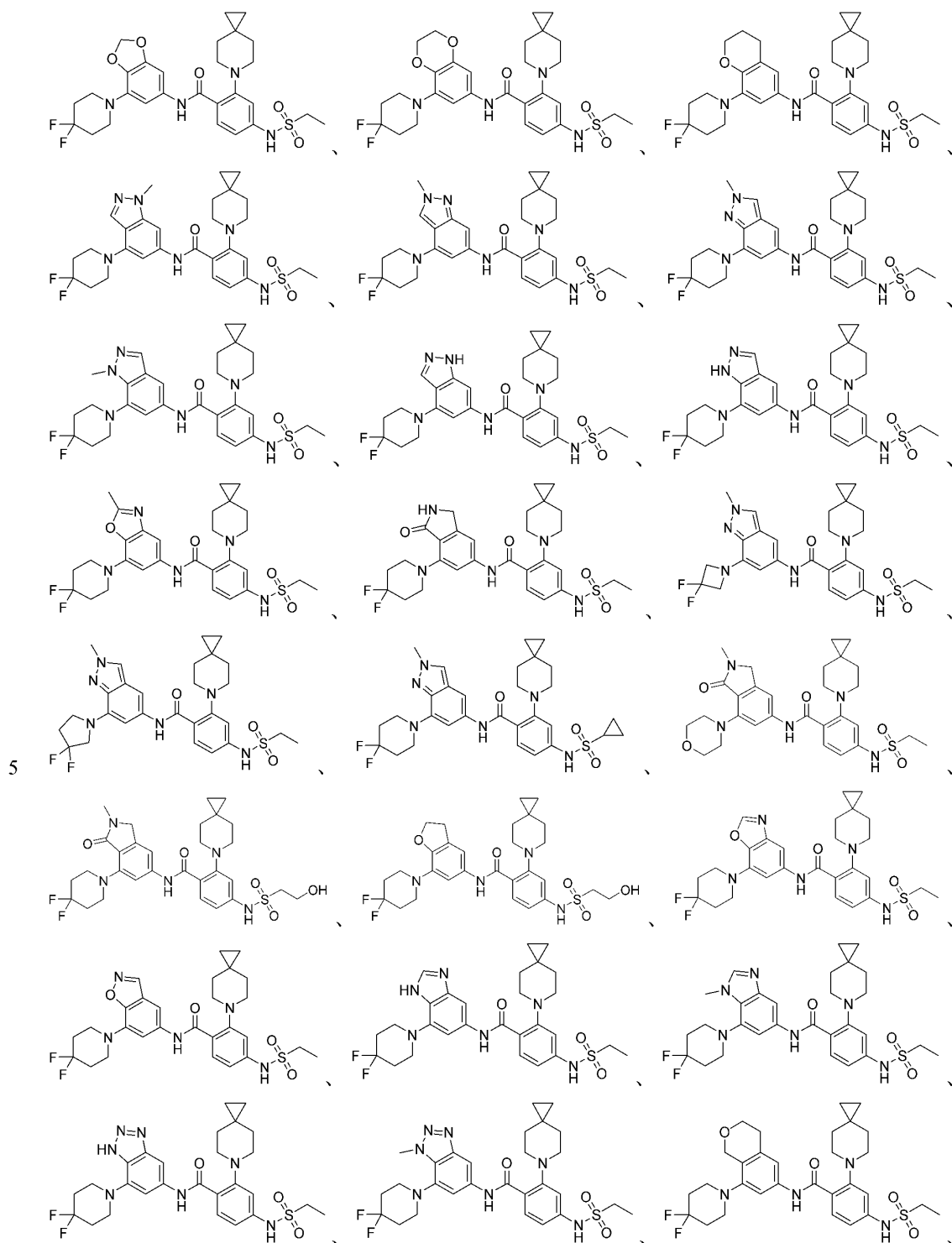


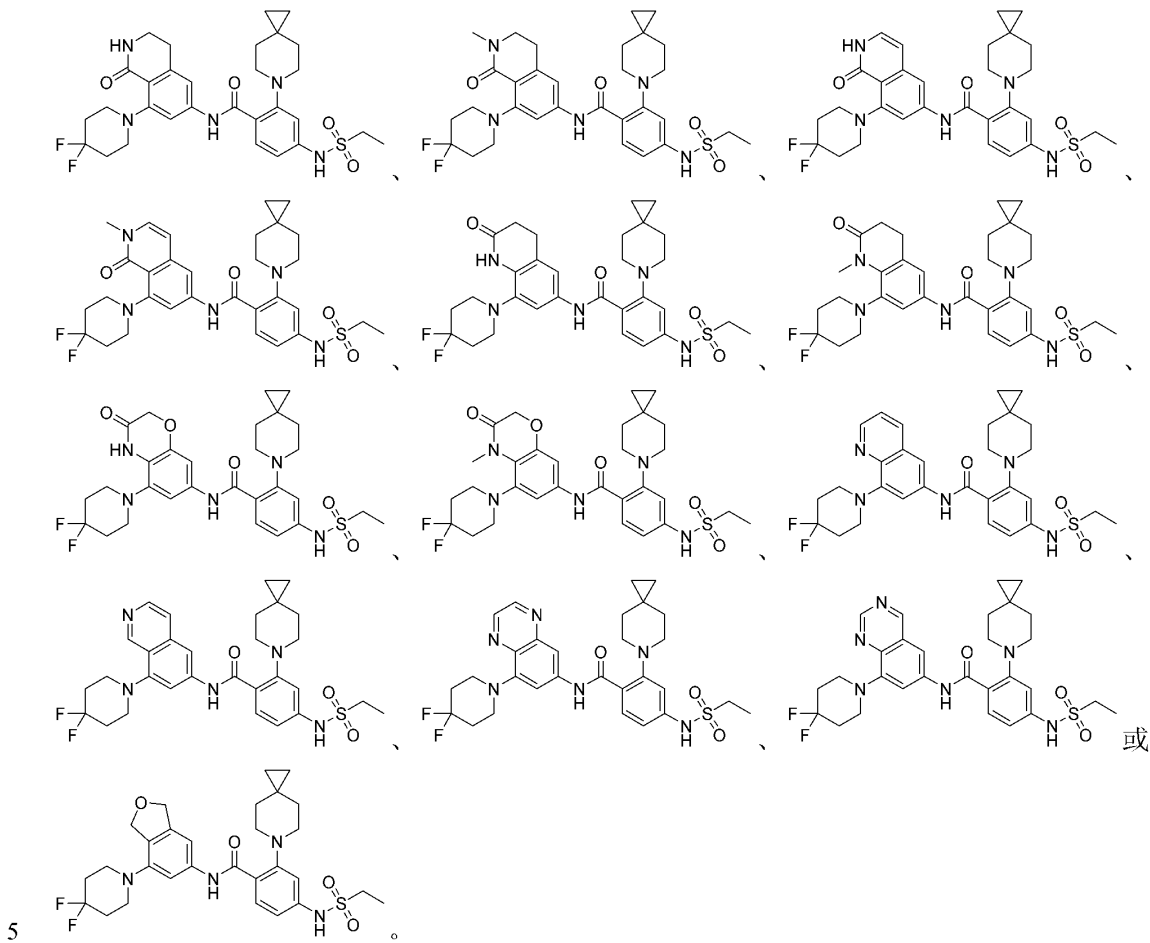
本发明的优选方案提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐, 其中: R⁴ 为



在本发明的优选方案中, 通式(I)、(II)或(III)所述的化合物选自:



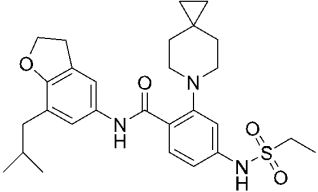
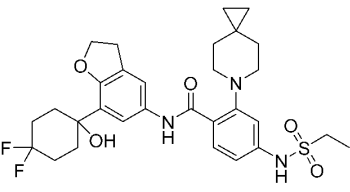
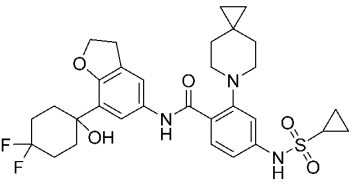
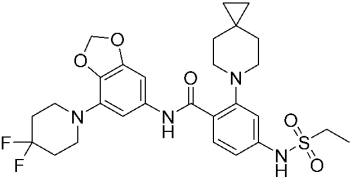
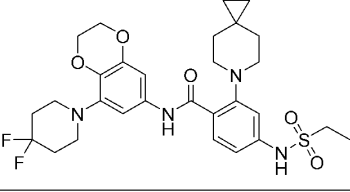
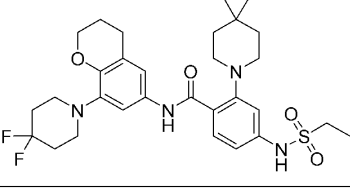
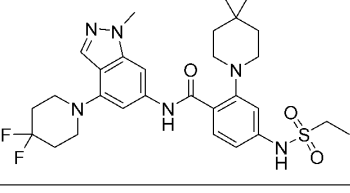


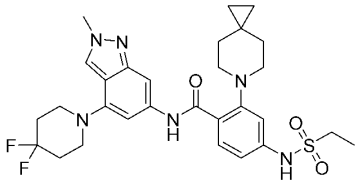
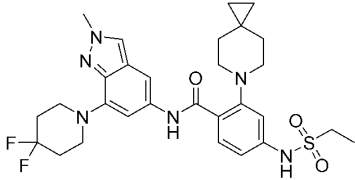
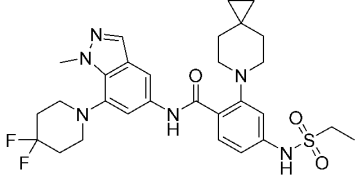
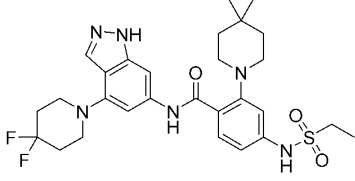
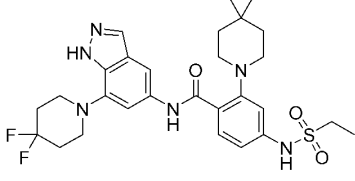
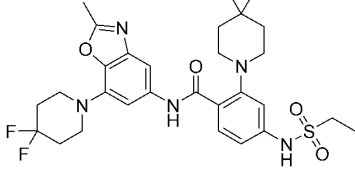
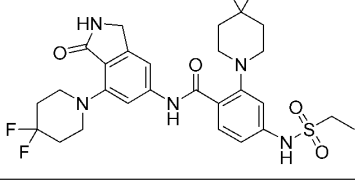


在本发明的进一步优选方案中，通式(I)、(II)或(III)所述的化合物选自：

化合物编号	结构	名称
实施例 1		N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 2		N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

实施例 3		4-(乙基磺酰胺基)-N-(7-(哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 4		N-(7-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 5		N-(7-(3,3-二氟吡咯烷-1-基)-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 6		N-(7-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 7		4-(环丙烷磺酰胺基)-N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 8		N-(7-环丙基-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 9		4-(乙基磺酰胺基)-N-(7-(2-甲基丙-1-烯-1-基)-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

实施例 10		4-(乙基磺酰胺基)-N-(7-异丁基-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 11		N-(7-(4,4-二氟-1-羟基环己基)-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 12		4-(环丙烷磺酰胺基)-N-(7-(4,4-二氟-1-羟基环己基)-2,3-二氢苯并咪唑-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 13		N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 14		N-(8-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并[b][1,4]二恶英-6-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 15		N-(8-(4,4-二氟哌啶-1-基)苯并二氢吡喃-6-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 16		N-(4-(4,4-二氟哌啶-1-基)-1-甲基-1H-吡唑-6-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

实施例 17		N-(4-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-2H-吲唑-6-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 18		N-(7-(4-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-2H-吲唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 19		N-(7-(4-(4,4-二氟哌啶-1-基)-1-甲基-1H-吲唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 20		N-(4-(4,4-二氟哌啶-1-基)-1H-吲唑-6-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 21		N-(7-(4, 4-二氟哌啶-1-基)-1H-吲唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 22		N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 23		N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

实施例 24		N-(7-(3,3-二氟氮杂环丁烷-1-基)-2-甲基-2H-吡唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 25		N-(7-(3,3-二氟吡咯烷-1-基)-2-甲基-2H-吡唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 26		4-(环丙烷磺酰胺基)-N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-2H-吡唑-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 27		4-(乙基磺酰胺基)-N-(2-甲基-7-吗啉代-1-氧代异吲哚啉-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 28		N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-((2-羟乙基)磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
实施例 29		N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-((2-羟乙基)磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐。

注：如果在画出的结构和给出的该结构的名称之间有差异，则画出的结构将给予更大的权重。

更进一步，本发明提供一种药物组合物，所述的药物组合物含有有效剂量的通式(I)、
5 (II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，及可药用的载体、赋形剂或它们的组合。

本发明提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，或其药物组合物（例如前述技术方案所述的药物组合物）用作药物的用途（即

用于治疗用途)。

本发明提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐,或其药物组合物(例如前述技术方案所述的药物组合物)在制备 KIF18A 抑制剂中的用途。

5 本发明还提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐,或其药物组合物(例如前述技术方案所述的药物组合物)在制备治疗由 KIF18A 介导的疾病的药物中的用途,其中所述的由 KIF18A 介导的疾病优选癌症;其中所述的由 KIF18A 介导的疾病更优选选自肝细胞癌、胶质母细胞瘤、结肠癌、乳腺癌、肺癌、胆管癌、胰腺癌、前列腺癌、膀胱癌、头癌、颈癌、子宫颈癌、卵巢癌、滑膜肉瘤、横纹肌肉瘤、
10 大肠癌和肺腺癌。

本发明进一步提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐,或其药物组合物(例如前述技术方案所述的药物组合物)在制备治疗癌症的药物中的用途。

本发明提供一种通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐,或其药物组合物(例如前述技术方案所述的药物组合物)在制备治疗肝细胞癌、
15 胶质母细胞瘤、结肠癌、乳腺癌、肺癌、胆管癌、胰腺癌、前列腺癌、膀胱癌、头癌、颈癌、子宫颈癌、卵巢癌、滑膜肉瘤、横纹肌肉瘤、大肠癌和肺腺癌的药物中的用途。

本发明进一步提供一种预防和/或治疗由 KIF18A 介导的疾病的方法,包括向患者施用治疗有效剂量的通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐,或其药物组合物(例如前述技术方案所述的药物组合物);其中所述的由 KIF18A 介导的疾病优选癌症;其中所述的由 KIF18A 介导的疾病更优选选自肝细胞癌、胶质母细胞瘤、结肠癌、乳腺癌、肺癌、胆管癌、胰腺癌、前列腺癌、膀胱癌、头癌、颈癌、子宫颈癌、卵巢癌、滑膜肉瘤、横纹肌肉瘤、大肠癌和肺腺癌。
20

本发明还提供一种预防和/或治疗癌症的方法,包括向患者施用治疗有效剂量的通式(I)、
25 (II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐,或其药物组合物(例如前述技术方案所述的药物组合物)。

本发明还提供一种预防和/或治疗肝细胞癌、胶质母细胞瘤、结肠癌、乳腺癌、肺癌、胆管癌、胰腺癌、前列腺癌、膀胱癌、头癌、颈癌、子宫颈癌、卵巢癌、滑膜肉瘤、横纹肌肉瘤、大肠癌和肺腺癌的方法,包括向患者施用治疗有效剂量的通式(I)、(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐,或其药物组合物(例如前述技术方案所述的药物组合物)。
30

发明的详细说明

除非有相反陈述,否则本发明在说明书和权利要求书中所使用的部分术语定义如下:

“键”是指标示的取代基不存在，该取代基的两端部分直接连接成键。

“烷基”当作一基团或一基团的一部分时是指包括 C₁-C₂₀ 直链或者带有支链的脂肪烃基团。优选为 C₁-C₁₀ 烷基，更优选为 C₁-C₆ 烷基。烷基基团的实施例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。烷基可以是取代或未取代的。

“烯基”指由至少两个碳原子和至少一个碳-碳双键组成的如上定义的烷基，代表性实例

包括但不限于乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-, 2-或 3-丁烯基、等。优选 C₂-C₄ 烯基。烯基可以是任选取代的或未取代的。

“炔基”是指含有一个碳碳三键的脂肪烃基团，可为直链也可以带有支链。优先选择的是 C₂-C₁₀ 的炔基，更优选 C₂-C₆ 炔基，最优选 C₂-C₄ 炔基。炔基基团的实施例包括但不限于乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-, 2-或 3-丁炔基等。炔基可以是取代或未取代的。

“亚烷基”指饱和 C₁-C₂₀ 直链或者带有支链的脂肪烃基团，其具有 2 个从母体烷的相同碳原子或两个不同的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基，优选为 C₁-C₁₀ 亚烷基，更优选为 C₁-C₆ 亚烷基。亚烷基基团的实施例包括但不限于亚甲基、1,1-亚乙基、1,2-亚乙基、1,1-亚丙基、1,2-亚丙基、1,3-亚丙基、1,4-亚丁基等。亚烷基可以是取代或未取代的。

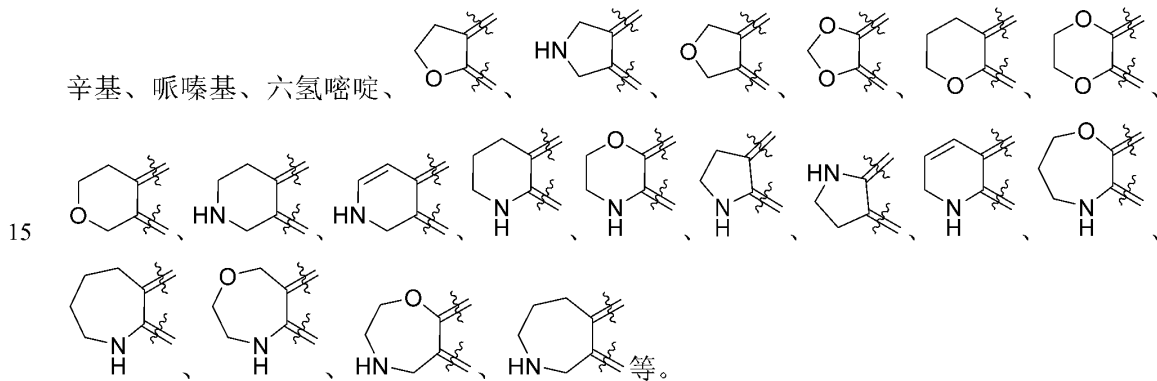
“环烷基”是指非芳香性环状烷基，其中一个或多个成环的原子是碳原子，包括单环、多环、稠环、桥环和螺环，优选具有 5 至 7 元单环或 7 至 10 元双环或三环。“环烷基”的实施例包括但不限于环丙基、环戊基、环丁基等。环烷基可以是取代或未取代的。

“螺环烷基”指 5 至 18 元，两个或两个以上环状结构，且单环之间彼此共用一个碳原子(称螺原子)的多环基团，环内含有 1 个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据环与环之间共用螺原子的数目将螺环烷基分为单螺、双螺或多螺环烷基，优选为单螺和双螺环烷基，优选为 4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/5 元或 5 元/6 元。“螺环烷基”的非限制性实施例包括但不限于：螺[4.5]癸基、螺[4.4]壬基、螺[3.5]壬基、螺[2.4]庚基等。

“稠环烷基”指 5 至 18 元，含有两个或两个以上环状结构彼此公用一对碳原子的全碳多环基团，一个或多个环可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统，优选为 6 至 12 元，更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环稠环烷基，优选为双环或三环，更优选为 5 元/5 元或 5 元/6 元双环烷基。“稠环烷基”的非限制性实施例包括但不限于：二环[3.1.0]己基、二环[3.2.0]庚-1-烯基、二环[3.2.0]庚基、十氢化萘基、十四氢菲基等。

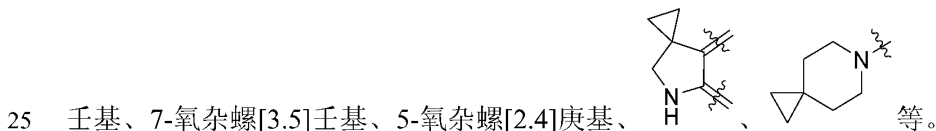
“桥环烷基”指 5 至 18 元，含有两个或两个以上环状结构，彼此共用两个不直接相连接碳原子的全碳多环基团，一个或多个环可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统，优选为 6 至 12 元，更优选为 7 至 10 元。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环桥环烷基，优选为双环、三环或四环，更有选为双环或三环。“桥环烷基”的非限制性实施例包括但不限于：(1s,4s)-二环[2.2.1]庚基、二环[3.2.1]辛基、(1s,5s)-二环 o[3.3.1]壬基、二环[2.2.2]辛基、(1r,5r)-二环[3.3.2]癸基等。

“杂环基”、“杂环烷基”、“杂环”或“杂环的”在本申请中可交换使用，都是指非芳香性杂环基，其中一个或多个成环的原子自氮、氧或S(O)_t (其中t选自0、1或2)的杂原子，包
10 括单环、多环、稠环、桥环和螺环。优选具有5至7元单环或7至10元双环或三环，其
可以包含1, 2或3个选自氮、氧和/或硫中的原子。“杂环基”的实施例包括但不限于吗啉
基、氧杂环丁烷基、硫代吗啉基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、1, 1-二氧化-硫代吗啉基、
哌啶基、2-氧代-哌啶基、吡咯烷基、2-氧代-吡咯烷基、哌嗪-2-酮、8-氧杂-3-氮杂-双环[3.2.1]



杂环基可以是取代或未取代的。

“螺杂环基”指 5 至 18 元，两个或两个以上环状结构，且单环之间彼此共用一个原子的多环基团，环内含有 1 个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统，其中一个或多个环原子选自氮、氧或 $S(O)_t$ (其中 t 选自 0、1 或 2) 的杂原子，其余环原子为碳。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据环与环之间共用螺原子的数目将螺环烷基分为单螺杂环基、双螺杂环基或多螺杂环基，优选为单螺杂环基和双螺杂环基。更优选为 4 元/4 元、4 元/5 元、3 元/5 元、3 元/6 元、4 元/6 元、5 元/5 元或 5 元/6 元单螺杂环基。“螺杂环基”的非限制性实施例包括但不限于：1,7-二氧杂螺[4.5]癸基、2-氧杂-7-氮杂螺[4.4]



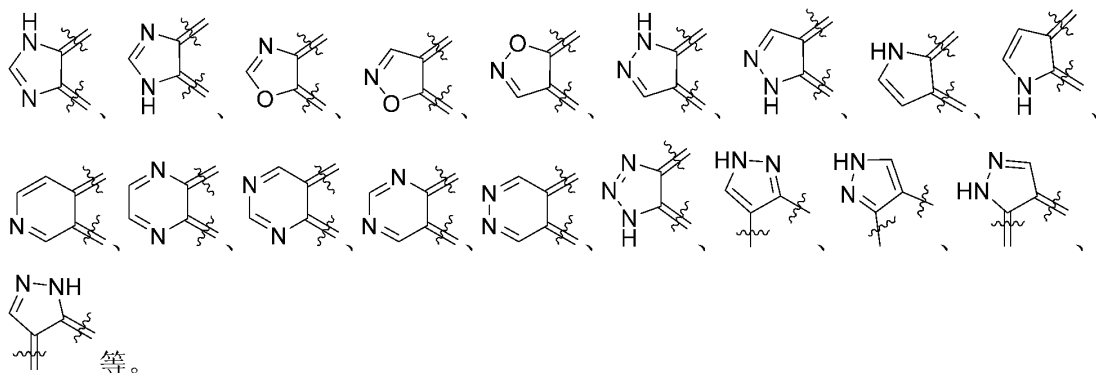
“稠杂环基”指含有两个或两个以上环状结构彼此共用一对原子的全碳多环基团，一个或多个环可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统，其

中一个或多个环原子选自氮、氧或 $S(O)_t$ (其中 t 选自 0、1 或 2) 的杂原子, 其余环原子为碳。优选为 6 至 14 元, 更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环稠杂环基, 优选为双环或三环, 更优选为 5 元/5 元或 5 元/6 元双环稠杂环基。“稠杂环基”的非限制性实施例包括但不限于: 八氢吡咯并[3,4-c]吡咯基、八氢-1H-异吡啶基、3-氮杂二环[3.1.0]己基、八氢苯并[b][1,4]二噁英(dioxine)等。

“桥杂环基”指 5 至 18 元, 含有两个或两个以上环状结构, 彼此共用两个不直接相连接的原子或多环基团, 一个或多个环可以含有一个或多个双键, 但没有一个环具有完全共轭的 π 电子的芳香系统, 其中一个或多个环原子选自氮、氧或 $S(O)_t$ (其中 t 选自 0、1 或 2) 的杂原子, 其余环原子为碳。优选为 6 至 14 元, 更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环桥杂环基, 优选为双环、三环或四环, 更有选为双环或三环。“桥杂环基”的非限制性实施例包括但不限于: 2-氮杂二环[2.2.1]庚基, 2-氮杂二环[2.2.2]辛基、2-氮杂二环[3.3.2]癸基等。

“芳基”是指含有一个或者两个环的碳环芳香系统, 其中所述环可以以稠合的方式连接在一起。术语“芳基”包括单环或双环的芳基, 比如苯基、萘基、四氢萘基的芳香基团。优选芳基为 C_6 - C_{10} 芳基, 更优选芳基为苯基和萘基, 最优选为萘基。芳基可以是取代或未取代的。

“杂芳基”是指芳香族 5 至 6 元单环或 8 至 10 元双环, 其可以包含 1 至 4 个选自氮、氧和/或硫中的原子。“杂芳基”的实施例包括但不限于呋喃基、吡啶基、2-氧代-1, 2-二氢吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、噻吩基、异噻唑基、噻唑基、噻二唑基、咪唑基、吡咯基、吡唑基、三唑基、四氮唑基、噻唑基、异噻唑基、1, 2, 3-噻二唑基、苯并间二氧杂环戊烯基、苯并噻吩基、苯并咪唑基、吡啶基、异吡啶基、1, 3-二氧代-异吡啶基、喹啉基、吲唑基、苯并异噻唑基、苯并噻唑基、苯并异噻唑基、异噻唑基、1H-1,2,4-三唑基、4H-1,2,4-三唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪-2(1H)-酮基、嘧啶-4(3H)-酮基、哒嗪-3(2H)-酮基、1H-吡啶基、1H-苯并[d]咪唑基、1H-吡咯并[2,3-c]吡啶基、3H-咪唑并[4,5-c]吡啶基、异噻啉基、噻啉基、2H-异吡啶基、呋喃[3,2-b]吡啶基、呋喃[2,3-c]吡啶基、噻吩并[2,3-c]吡啶基、苯并呋喃基、苯并[b]噻吩基、1H-吡咯并[3,2-b]吡啶基、2H-吡咯并[3,4-c]吡啶基、



杂芳基可以是取代或未取代的。

“烷氧基”是指“烷基-O-”的基团。其中，烷基见本文有关定义。C₁-C₆的烷氧基为优先选择。其实例包括但不限于：甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基等。

5 “硝基”指-NO₂基团。

“羟基”指-OH基团。

“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

“氨基”指-NH₂。

“氰基”指-CN。

10 “苺基”指-CH₂-苺基。

“羧基”指-C(O)OH。

“羧酸酯基”指-C(O)O-烷基或-C(O)O-环烷基，其中烷基、环烷基的定义如上所述。

“羟烷基”指羟基取代的烷基，其中烷基的定义如上所述。

“氨烷基”指氨基取代的烷基，其中烷基的定义如上所述。

15 “卤代烷基”指卤素取代的烷基，其中烷基的定义如上所述。

“卤代烷氧基”指卤素取代的烷氧基，其中烷氧基的定义如上所述。

“DMSO”指二甲基亚砷。

“BOC”指叔丁氧基羰基。

“Bn”指苺基。

20 “THP”指2-四氢吡喃基。

“TFA”指三氟醋酸。

“Ts”指对甲苺磺酰基。

“离去基团(leaving group)”，或称离去基，在化学反应中从一较大分子中脱离的原子或官能基，是亲核取代反应与消除反应中应用的术语。在亲核取代反应中，被亲核试剂进攻
25 的反应物称为底物(substrate)，而从底物分子中带着一对电子断裂出去的原子或原子团称为离去基团。易接受电子、承受负电荷能力强的基团是好的离去基团。当离去基团共轭酸的pKa越小，离去基团越容易从其他分子中脱离。原因是因为当其共轭酸的pKa越小，相应离去基团不需和其他原子结合，以阴离子（或电中性离去基团）的形式存在的趋势也就增强。常见的离去基团包括但不限于卤素、甲磺酰基、-OTs或-OH。

30 “取代的”指基团中的一个或多个氢原子，优选为最多5个，更优选为1~3个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定(通过实验或理论)可能或不可能的取代。例如，具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和(如烯属)键的碳原子结合时可能是不稳定的。

本说明书所述的“取代”或“取代的”，如无特别指出，均是指基团可被一个或多个选自

以下的基团取代：烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氨基、卤代烷基、羟烷基、羧基、羧酸酯基、=O、-OR⁶、-C(O)R⁶、-C(O)OR⁶、-NHC(O)R⁶、-NHC(O)OR⁶、-NR⁷R⁸、-C(O)NR⁷R⁸、-CH₂NHC(O)OR⁶、-CH₂NR⁷R⁸ 或-S(O)rR⁶；

5 R⁶ 选自氢原子、烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、=O、-C(O)R⁹、-C(O)OR⁹、-OC(O)R⁹、-NR¹⁰R¹¹、-C(O)NR¹⁰R¹¹、-SO₂NR¹⁰R¹¹ 或-NR¹⁰C(O)R¹¹ 的取代基所取代；

10 R⁷ 和 R⁸ 各自独立地选自氢原子、羟基、卤素、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、=O、-C(O)R⁹、-C(O)OR⁹、-OC(O)R⁹、-NR¹⁰R¹¹、-C(O)NR¹⁰R¹¹、-SO₂NR¹⁰R¹¹ 或-NR¹⁰C(O)R¹¹ 的取代基所取代；

15 或者，R⁷ 和 R⁸ 与它们相连接的原子一起形成一个 4~8 元杂环基，其中所述的 4~8 元杂环基内含有一个或多个 N、O 或 S(O)r，并且所述的 4~8 元杂环基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、=O、-C(O)R⁹、-C(O)OR⁹、-OC(O)R⁹、-NR¹⁰R¹¹、-C(O)NR¹⁰R¹¹、-SO₂NR¹⁰R¹¹ 或-NR¹⁰C(O)R¹¹ 的取代基所取代；

20 R⁹、R¹⁰ 和 R¹¹ 各自独立地选自氢原子、烷基、氨基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、羧基或羧酸酯基的取代基所取代；

r 选自 0、1 或 2。

25 本发明化合物可以含有不对称中心或手性中心，因此以不同的立体异构体形式存在。所预期的是，本发明化合物的所有立体异构体形式，包括但不限于非对映异构体、对映异构体和阻转异构体(atropisomer)和几何(构象)异构体及它们的混合物，如外消旋体混合物，均在本发明的范围内。

30 除非另外指出，本发明描述的结构还包括此结构的所有异构体(如，非对映异构体、对映异构体和阻转异构体和几何(构象)异构体形式；例如，各不对称中心的 R 和 S 构型，(Z)和(E)双键异构体，以及(Z)和(E)构象异构体。因此本发明化合物的单个立体异构体以及对映体混合物、非对映异构体混合物和几何(构象)异构体混合物均在本发明范围内。

“可药用的盐”是指上述化合物能保持原有生物活性并且适合于医药用途的某些盐类。通式(I)所表示的化合物的可药用的盐可以为金属盐、与合适的酸形成的胺盐。

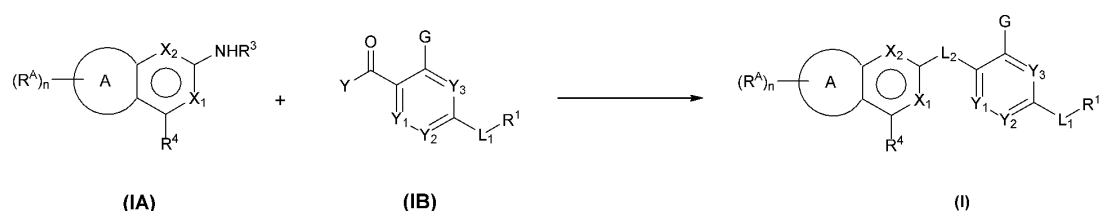
“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上可药用的盐或前体药

物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

本发明化合物的合成方法

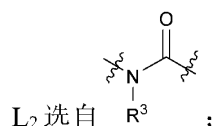
为了完成本发明的目的，本发明采用如下技术方案：

- 5 本发明提供了一种通式(I)化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐的制备方法，所述方法包括：



通式(IA)化合物与(IB)化合物发生缩合反应，任选进一步进行取代反应，得到通式(I)化合物，

- 10 其中：



Y 选自羟基或氯；

环 A、 X_1 、 X_2 、 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 L_1 、G、 R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^A 和 n 的定义如通式(I)中所述。

15 具体实施方式

以下结合实施例用于进一步描述本发明，但这些实施例并非限制着本发明的范围。

实施例

- 实施例给出了式(I)所表示的代表性化合物的制备及相关结构鉴定数据。必须说明，下述实施例是用于说明本发明而不是对本发明的限制。 ^1H NMR 图谱是采用 Bruker 仪器
20 (400MHz)测定而得，化学位移用 ppm 表示。使用四甲基硅烷内标准(0.00 ppm)。 ^1H NMR 的表示方法：s=单峰，d=双重峰，t=三重峰，m=多重峰，br=变宽的，dd=双重峰的双重峰，dt=三重峰的双重峰。若提供偶合常数时，其单位为 Hz。

质谱是采用 LC/MS 仪测定得到，离子化方式可为 ESI 或 APCI。

- 薄层层析硅胶板使用烟台黄海 HSGF254 或青岛 GF254 硅胶板，薄层色谱法(TLC)使用的
25 硅胶板采用的规格是 0.15 mm~0.2 mm，薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4 mm~0.5 mm。

柱层析一般使用烟台黄海硅胶 200~300 目硅胶为载体。

在下列实施例中，除非另有指明，所有温度为摄氏温度；除非另有指明，各种起始原料和试剂来自市售或者是根据已知的方法合成，市售原料和试剂均不经进一步纯化直接使

用；除非另有指明，市售厂家包括但不限于Aldrich Chemical Company, ABCR GmbH & Co.KG, Acros Organics, 广赞化工科技有限公司和景颜化工科技有限公司等处购买。

CD₃OD: 氘代甲醇。

CDCl₃: 氘代氯仿。

5 DMSO-*d*₆: 氘代二甲基亚砜。

氩气氛是指反应瓶连接一个约 1 L 容积的氩气气球。

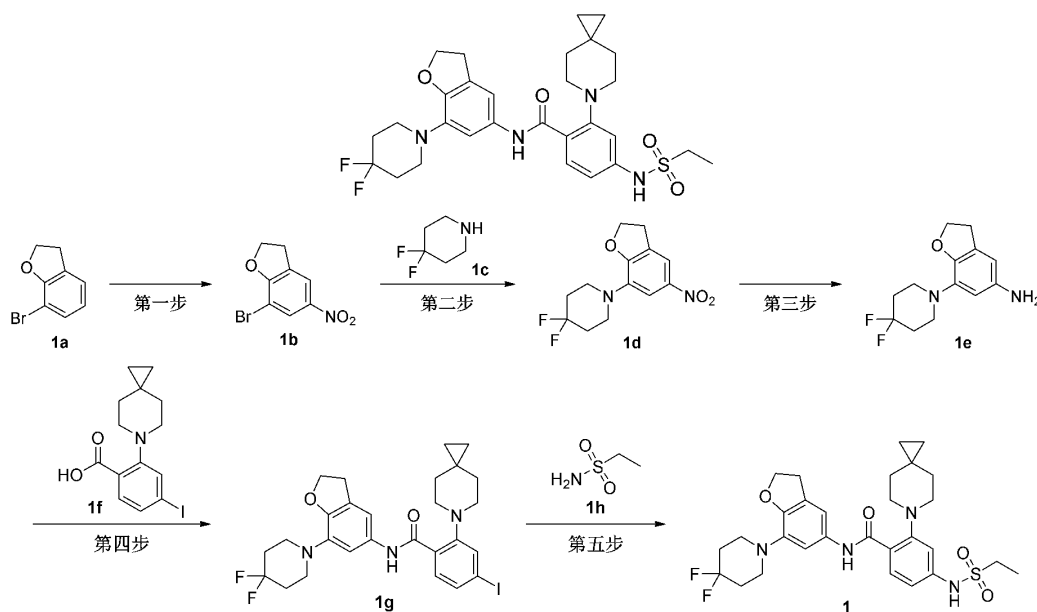
实施例中没有特殊说明，反应中的溶液是指水溶液。

对化合物进行纯化，采用硅胶柱层析法和反相柱层析法，其中洗脱剂体系选自：A 体系：石油醚和乙酸乙酯体系；B 体系：二氯甲烷和甲醇体系；C 体系：二氯甲烷和乙酸乙酯体系；D：三氟乙酸水溶液和乙腈体系。其中溶剂的体积比根据化合物的极性不同而不同，也可以加入少量的酸性或碱性试剂进行调节，如醋酸或三乙胺等。

实施例 1

15 N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺



20

第一步

7-bromo-5-nitro-2,3-dihydrobenzofuran

7-溴-5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃

硝酸(1.5 mL)滴加到 7-溴-2,3-二氢苯并呋喃 1a (700 mg, 3.52 mmol, 市售)的三氟乙酸(3

mL)溶液中, 室温搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全, 反应液慢慢滴加到水中(50 mL), 析出淡黄色固体, 过滤, 滤饼真空干燥, 得到 7-溴-5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃 **1b** (750 mg), 产率: 87.39%。

MS m/z (ESI): 244.0 [M+1].

5

第二步

4,4-difluoro-1-(5-nitro-2,3-dihydrobenzofuran-7-yl)piperidine

4,4-二氟-1-(5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)哌啶

7-溴-5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃 **1b** (650 mg, 2.66 mmol)和 4,4-二氟哌啶 **1c** (645.24 mg, 5.33 mmol)溶解于甲苯(20 mL)中, 加入醋酸钨(59.80 mg, 266.35 μ mol), R-(+)-1,1'-联萘-2,2'-
10 双二苯膦(497.54 mg, 799.04 μ mol)和碳酸铯(2.60 g, 7.99 mmol), 氩气置换 3 次, 升温到 100°C, 搅拌 16 小时。反应完全后, 向反应液加入水(30 mL), 二氯甲烷(20 mL $\times$ 2)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物经过硅胶柱层析(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 4,4-二氟-1-(5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)哌啶 **1d** (610 mg), 产率: 80.57%。

15 MS m/z (ESI): 285.1 [M+1].

第三步

7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-amine

7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-胺

氯化铵(559.35 mg, 10.55 mmol)和铁粉(589.38 mg, 10.55 mmol)加入到 4,4-二氟-1-(5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)哌啶 **1d** (300 mg, 1.06 mmol)的水(20 mL)和乙醇(20 mL)混合溶液中, 加热至 80°C 搅拌 2 小时。反应完全后, 过滤, 滤液加入乙酸乙酯(30 mL), 萃取分
20 层, 水相用乙酸乙酯(30 mL $\times$ 2)萃取, 合并有机相, 饱和氯化钠溶液(30 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到 7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-胺 **1e** (220 mg), 产率: 81.98%。

25 MS m/z (ESI): 255.1 [M+1].

第四步

N-(7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)-4-iodo-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
30 7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-胺 **1e** (68.34 mg, 268.77 μ mol)、2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)-4-碘代-苯甲酸 **1f** (80 mg, 223.97 μ mol, 根据公开专利 WO2020132648 方法自制)、1-甲基咪唑(55.84 mg, 671.92 μ mol)加入到 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)中, 室温搅拌 30 分钟, (氯(二甲基氨基)亚甲基)-二甲基铵六氟磷酸盐(188.53 mg, 671.92 μ mol)加入其中, 室温搅拌 2 小时。反应完全后, 减压浓缩, 残留物经过硅胶柱层析纯化(洗脱剂: A 体系),
35 得到 N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯

甲酰胺 **1g** (92 mg), 产率: 69.22%。

MS m/z (ESI): 594.4 [M+1].

第五步

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(ethylsulfonamido)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **1g** (80 mg, 134.81 μ mol)、乙磺酰胺 **1h** (22.07 mg, 202.21 μ mol, 市售)、2-(甲氨基)乙酸 (18.01 mg, 202.21 μ mol)、碘化亚铜(7.70 mg, 40.44 μ mol)和磷酸钾三水(179.50 mg, 674.03 μ mol)加入到 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)中, 氩气置换后加热至 100°C 搅拌 6 小时。反应完全后, 反应液过滤, 滤液用制备液相分离(分离柱 AKZONOBEL Kromasil; 250×21.2 mm I.D.; 5 μ m, 20 mL/min; 流动相 A: 0.05%TFA+H₂O, 流动相 B: CH₃CN), 得到 N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **1** (31 mg), 产率: 40.02%。

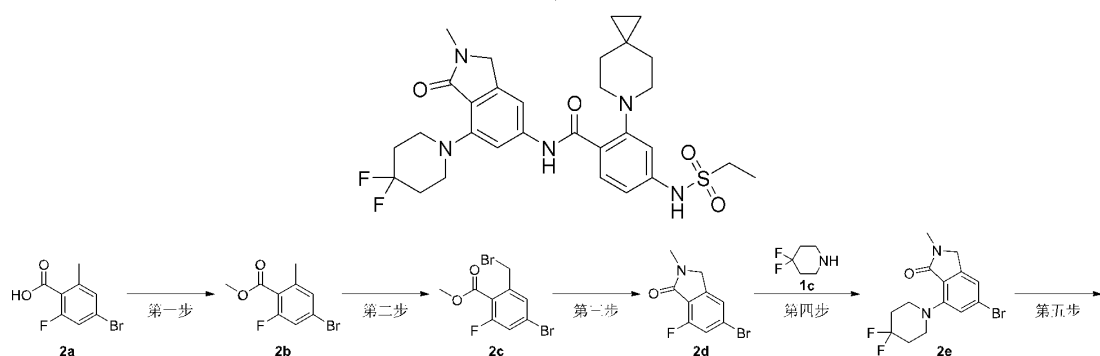
MS m/z (ESI): 575.3 [M+1].

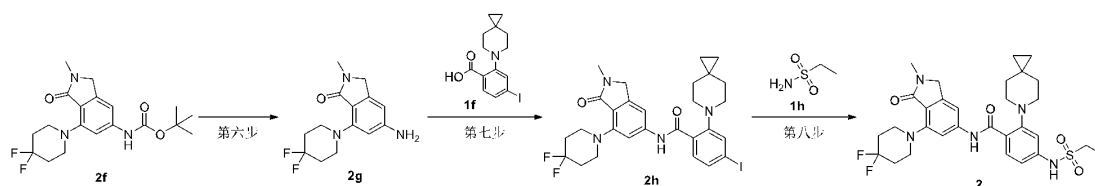
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.50 (s, 1H), 10.14 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.07 – 7.01 (m, 2H), 4.54 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 3.19 (qd, J = 8.7, 7.2, 4.1 Hz, 8H), 2.97 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 2.09 (tt, J = 13.8, 5.3 Hz, 4H), 1.55 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 1.20 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.35 (s, 4H).

实施例 2

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-methyl-1-oxoisindolin-5-yl)-4-(ethylsulfonamido)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺





第一步

methyl 4-bromo-2-fluoro-6-methylbenzoate

4-溴-2-氟-6-甲基苯甲酸甲酯

5 将 4-溴-2-氟-6-甲基苯甲酸 **2a** (1.0 g, 4.29 mmol, 市售)和碳酸钾(1.19 g, 8.58 mmol)溶解于 N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)中, 室温滴加碘甲烷(913.63 mg, 6.44 mmol), 搅拌 2 小时。反应完全后滴加水(20 mL), 乙酸乙酯(50 mL×2)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 残留物经过硅胶柱层析(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到

10 4-溴-2-氟-6-甲基苯甲酸甲酯 **2b** (1.03 g), 产率: 97.15%。

MS m/z (ESI): 247.0 [M+1].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.54 (dd, J = 9.5, 1.8 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 2.33 (s, 3H).

第二步

methyl 4-bromo-2-(bromomethyl)-6-fluorobenzoate

4-溴-2-(溴甲基)-6-氟苯甲酸甲酯

15 将 4-溴-2-氟-6-甲基苯甲酸甲酯 **2b** (500 mg, 2.02 mmol)和偶氮二异丁腈(33.23 mg, 202.38 μmol)溶解于乙腈(10 mL)中, 室温加入 N-溴代丁二酰亚胺(468.26 mg, 2.63 mmol), 升温至 90°C 搅拌 2 小时。反应完全后滴加水(20 mL), 乙酸乙酯(50 mL×2)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 残留物经过硅胶柱层析(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 4-溴-2-(溴甲基)-6-氟苯甲酸甲酯 **2c** (0.53 g), 产率: 80.34%。

20 MS m/z (ESI): 326.9 [M+1].

第三步

5-bromo-7-fluoro-2-methylisindolin-1-one

5-溴-7-氟-2-甲基异吲哚啉-1-酮

25 将 4-溴-2-(溴甲基)-6-氟苯甲酸甲酯 **2c** (500 mg, 1.53 mmol)溶解于甲胺二氧六环溶液(4 M, 3.83 mL)中, 升温至 40°C 搅拌 2 小时。反应完全后滴加水(20 mL), 乙酸乙酯(50 mL×2)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 残留物经过硅胶柱层析(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 5-溴-7-氟-2-甲基异吲哚啉-1-酮 **2d** (130 mg),

30 产率: 34.72%。

MS m/z (ESI): 244.0 [M+1].

第四步

5-bromo-7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-methylisoindolin-1-one

5-溴-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基异吲哚啉-1-酮

将 5-溴-7-氟-2-甲基异吲哚啉-1-酮 **2d** (120 mg, 491.68 μmol) 和 4,4-二氟哌啶 **1c** (9.93 mg, 81.95 μmol) 溶解于二甲亚砜(5 mL)中, 加入 N,N-二异丙基乙胺(158.87 mg, 1.23 mmol), 升温到 150°C 搅拌 8 小时。反应完全后滴加水(20 mL), 乙酸乙酯(50 mL $\times$ 2)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 残留物经过硅胶柱层析(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 5-溴-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基异吲哚啉-1-酮 **2e** (150 mg), 产率: 88.38%。

MS m/z (ESI): 344.8 [M+1].

10

第五步

tert-butyl (7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-methyl-1-oxoisindolin-5-yl)carbamate

(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)氨基甲酸叔丁酯

将 5-溴-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基异吲哚啉-1-酮 **2e** (140 mg, 405.58 μmol) 和氨基甲酸叔丁酯(95.02 mg, 811.17 μmol) 溶解于 1,4-二氧六环(10 mL)中, 加入醋酸钨(9.11 mg, 40.56 μmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(46.94 mg, 81.12 μmol) 和碳酸铯(396.44 mg, 1.22 mmol), 氩气鼓泡 5 分钟, 升温到 100°C, 搅拌反应 18 小时。反应完全后滴加水(20 mL), 乙酸乙酯(20 mL $\times$ 2)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 残留物经过硅胶柱层析(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)氨基甲酸叔丁酯 **2f** (150mg), 产率: 96.96%。

20 MS m/z (ESI): 382.0 [M+1].

第六步

5-amino-7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-methylisoindolin-1-one

5-氨基-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基异吲哚啉-1-酮

将(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)氨基甲酸叔丁酯 **2f** (150 mg, 393.27 μmol) 溶解于盐酸(4 M, 983.18 μL)中, 升温到 60°C 搅拌反应 16 小时。反应完全后依次滴加水(20 mL)和乙酸乙酯(20 mL), 饱和碳酸氢钠溶液调 pH 至 8-9, 分液, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 得到 5-氨基-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基异吲哚啉-1-酮 **2g** (110 mg), 产率: 99.43%。

MS m/z (ESI): 281.9 [M+1].

30

第七步

N-(7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-methyl-1-oxoisindolin-5-yl)-4-iodo-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

35 将 2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)-4-碘代-苯甲酸 **1f** (130 mg, 363.96 μmol) 溶解于乙腈(10

mL)中, 加入 1-甲基咪唑(60.50 mg, 727.91 μmol)和四甲基氯代脲六氟磷酸酯(204.24 mg, 727.91 μmol), 室温搅拌 1 小时, 加入 5-氨基-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基异吲哚啉-1-酮 **2g** (112.62 mg, 400.35 μmol), 升温至 60°C 搅拌 4 小时。反应完全后, 减压浓缩, 残留物经过硅胶柱层析(洗脱剂: A 体系)纯化, 得到 N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **2h** (180 mg), 产率: 79.71%。
MS m/z (ESI): 620.8 [M+1].

第八步

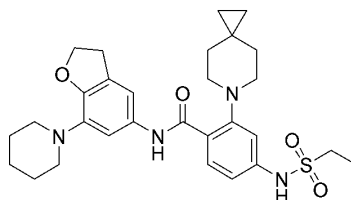
N-(7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-methyl-1-oxoisindolin-5-yl)-4-(ethylsulfonamido)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide
10 N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

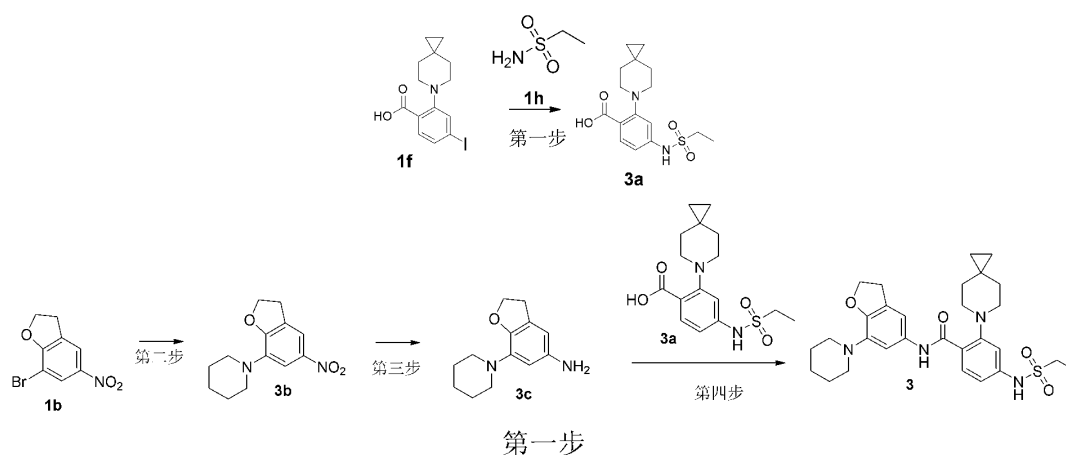
将 N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **2h** (100 mg, 161.17 μmol)、乙磺酰胺 **1h** (35.18 mg, 322.34 μmol)溶解于 N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)中, 加入碘化亚铜(17.89 mg, 80.58 μmol)、2-(甲氨基)乙酸(14.36 mg, 161.17 μmol)和三水合磷酸钾(214.60 mg, 805.84 μmol), 氩气鼓泡 5 min, 升温到 100°C 搅拌 18 小时。反应完全后滴加水(20 mL), 乙酸乙酯(20 mL $\times$ 2)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 残留物经制备液相分离(分离柱 AKZONOBEL Kromasil; 250 $\times$ 21.2 mm I.D.; 5 μm , 20 mL/min; 流动相 A: 0.05%TFA+H₂O, 流动相 B: CH₃CN), 得到 N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **2** (45.3 mg), 产率: 45.92%。
20 MS m/z (ESI): 602.3 [M+1].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.87 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.17 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.05 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 4.37 (s, 2H), 3.20 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 3.30 (m, 4H), 3.00 (s, 3H), 2.97 (t, J = 5.3 Hz, 4H), 2.15 (ddt, J = 25.7, 18.1, 8.9 Hz, 4H), 1.55 (t, J = 5.3 Hz, 4H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.34 (s, 4H).

实施例 3

4-(ethylsulfonamido)-N-(7-(piperidin-1-yl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide
4-(乙基磺酰胺基)-N-(7-(哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺
30





4-(ethylsulfonamido)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzoic acid

4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酸

5

2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)-4-碘代-苯甲酸 **1f** (1.0 g, 2.80 mmol)和乙磺酰胺 **1h** (458.36 mg, 4.20 mmol)溶解于 N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)中, 加入碘化亚铜(266.60 mg, 1.40 mmol)、肌氨酸(249.43 mg, 2.80 mmol)和磷酸钾(3.73 g, 14.00 mmol), 氩气置换, 升温到 110°C, 搅拌 6 小时。降至室温, 反应液倒入冰水(200 mL)中, 稀盐酸(2 M)调至 pH=6。加入二氯甲烷(200 mL×3)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤, 硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 粗产物用硅胶柱层析法纯化(洗脱剂: A 体系), 得到 4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酸 **3a** (0.75 g), 产率: 79.16%。

10

MS m/z (ESI): 339.4 [M+1].

第二步

15

1-(5-nitro-2,3-dihydrobenzofuran-7-yl)piperidine

1-(5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)哌啶

室温下, 将 7-溴-5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃 **1b** (488 mg, 2.00 mmol)和哌啶(340.53 mg, 4.00 mmol)溶解于甲苯(20 mL)中, 加入醋酸钯(44.89 mg, 199.97 μmol)、R-(+)-1,1'-联萘-2,2'-双二苯膦(373.54 mg, 599.90 μmol)和碳酸铯(1.95 g, 6.00 mmol), 氩气置换 3 次, 升温到 100°C, 搅拌 16 小时。将反应液投入水(20 mL)中, 乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 粗产物用硅胶层析纯化(洗脱剂: A 体系), 得到 1-(5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)哌啶 **3b** (310 mg), 产率: 62%。

20

MS m/z (ESI): 249.1 [M+1].

第三步

25

7-(piperidin-1-yl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-amine

7-(哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-胺

室温下, 钯碳(100 mg, 805.55 μmol, 10%)加入到 1-(5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)哌啶 **3b** (0.2 g, 805.55 μmol)的甲醇(20 mL)溶液中, 氢气置换后加热 50°C 搅拌 4 小时。反应液过

滤，滤液减压浓缩，得到 7-(哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-胺 **3c** (152 mg)，产率：86%，粗产物直接用于下一步反应。

MS m/z (ESI): 219.0 [M+1].

第四步

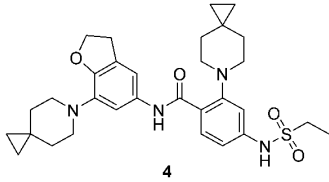
5 4-(ethylsulfonamido)-N-(7-(piperidin-1-yl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide
4-(乙基磺酰胺基)-N-(7-(哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

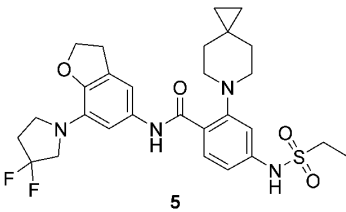
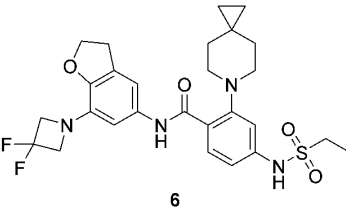
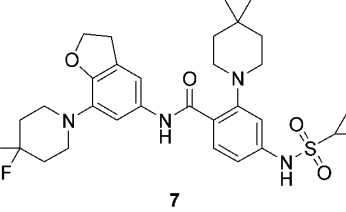
室温下，四甲基氯代脲六氟磷酸酯(345.98 mg, 664.85 μ mol)、4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酸 **3a** (150 mg, 443.23 μ mol)、N,N-二异丙基乙胺(171.85 mg, 1.33 mmol)加入到 N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)中，室温搅拌 10 分钟，7-(哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-胺 **3c** (116.11 mg, 531.88 μ mol)加入其中，加热 65°C 搅拌 2 小时。将反应液投入水(20 mL)中，乙酸乙酯(10 mL $\times$ 3)萃取，合并的有机相用饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，粗产物用制备液相分离(分离柱 AKZONOBEL Kromasil; 250 $\times$ 21.2 mm I.D.; 5 μ m, 20 mL/min; 流动相 A: 0.05%TFA+H₂O, 流动相 B: CH₃CN)，得到 4-(乙基磺酰胺基)-N-(7-(哌啶-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **3** (38 mg)，产率：16%。

MS m/z (ESI): 539.3 [M+1].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.62 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 7.84 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.17 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.04 (dd, J = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.50 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 3.23 – 3.11 (m, 4H), 3.10-3.0 (m, 4H), 3.0-2.90 (m, 4H), 1.67-1.59 (m, 4H), 1.59-1.46 (m, 6H), 1.20 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.40-0.28 (m, 4H).

按照本发明实施例 1-3 的合成方法合成实施例 4-7。实施例 4-7 的结构和表征数据如下表所示：

实施例编号及结构	MS m/z (ESI)	¹ H NMR
 4	565.3 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.55 (s, 1H), 10.13 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.18 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.05 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 4.60 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 3.30-3.25 (m, 4H), 3.25-3.10 (m, 4H), 3.05-2.89 (m, 4H), 1.66-1.4 (m, 8H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.40-0.37 (m, 4H), 0.37-0.30 (m, 4H).

 5	561.3 [M+1]	¹H NMR (400 MHz, DMSO-<i>d</i>₆) δ 11.52 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.03 (dd, J = 8.5, 2.0 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.50 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 3.70 (t, J = 13.5 Hz, 2H), 3.47 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.24 – 3.11 (m, 4H), 3.05-2.90 (m, 4H), 2.44 (dt, J = 14.6, 7.1 Hz, 2H), 1.60-1.50 (m, 4H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.40-0.28 (m, 4H).
 6	547.6 [M+1]	¹H NMR (400 MHz, DMSO-<i>d</i>₆) δ 11.39 (s, 1H), 10.12 (s, 1H), 7.80 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.17 (dd, J = 5.4, 2.0 Hz, 2H), 7.02 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 6.79 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.50 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 4.25 (t, J = 12.3 Hz, 4H), 3.22 (m, 5H), 2.96 (t, J = 5.3 Hz, 4H), 1.53 (s, 3H), 1.20 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.36 (s, 4H).
 7	587.3 [M+1]	¹H NMR (400 MHz, DMSO-<i>d</i>₆) δ 11.59 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 7.83 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.09 (m, 2H), 4.53 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 3.25 (m, 6H), 2.97 (t, J = 5.3 Hz, 4H), 2.80 (m, 1H), 2.15 (m, 4H), 1.56 (s, 4H), 0.99 (d, J = 4.6 Hz, 4H), 0.36 (s, 4H).

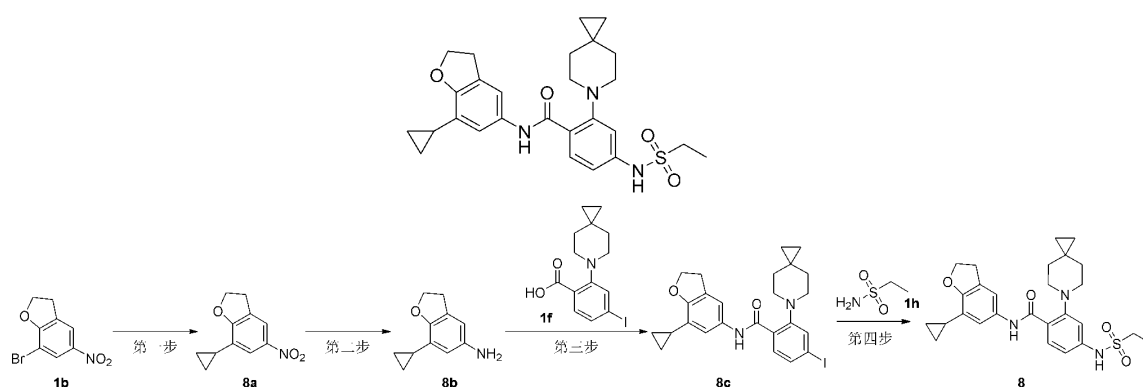
实施例 8

N-(7-cyclopropyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)-4-(ethylsulfonamido)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide

N-(7-环丙基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

5

胺



第一步

7-cyclopropyl-5-nitro-2,3-dihydrobenzofuran

7-环丙基-5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃

室温下,将 7-溴-5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃 **1b** (0.5 g, 2.05 mmol)、环丙基硼酸(351.98 mg, 4.10 mmol)、磷酸钾三水合物(1.64 g, 6.15 mmol)和四(三苯基膦)钯(236.75 mg, 204.88 μ mol) 5 加入到乙醇(2 mL)、水(2 mL)和甲苯(10 mL)的混合溶剂中,氩气置换 3 次,升温到 100°C, 搅拌 16 小时。将反应液投入水(20 mL)中,乙酸乙酯(20 mL $\times$ 3)萃取,合并的有机相用饱和氯化钠溶液(20 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,减压浓缩,粗产物用硅胶层析纯化(洗脱剂: A 体系),得到 7-环丙基-5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃 **8a** (255 mg), 产率: 61%。
MS m/z (ESI): 205.9 [M+1].

10

第二步

7-cyclopropyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-amine

7-环丙基-2, 3-二氢苯并呋喃-5-胺

室温下, 钯碳(20 mg, 1.24 mmol, 10%)加入到 7-环丙基-5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃 **8a** (255 mg, 1.24 mmol)的甲醇(5 mL)溶液中, 氢气置换后室温搅拌 2 小时。反应液过滤, 滤液 15 减压浓缩, 得到 7-环丙基-2, 3-二氢苯并呋喃-5-胺 **8b** (195 mg), 产率: 90%。粗产物直接用于下一步反应。
MS m/z (ESI): 176.1 [M+1].

第三步

N-(7-cyclopropyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)-4-iodo-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide
20 N-(7-环丙基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

冰浴下, 2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)-4-碘代-苯甲酸 **1f** (0.1 g, 279.97 μ mol)和 N,N-二甲 基甲酰胺(0.1 mL)加入到二氯甲烷(3 mL)中, 随后慢慢滴加草酰氯(71.07 mg, 559.93 μ mol), 室温搅拌 2 小时。减压浓缩, 剩余物加入到 7-环丙基-2, 3-二氢苯并呋喃-5-胺 **8b** (53.96 mg, 307.96 μ mol)和三乙胺(84.99 mg, 839.90 μ mol)的二氯甲烷(3 mL)溶液中, 室温搅拌 1 小时。 25 将反应液投入水(10 mL)中, 乙酸乙酯(10 mL $\times$ 3)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 粗产物用硅胶层析纯化(洗脱剂: A 体系), 得到 N-(7-环丙基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **8c** (121mg), 产率: 84%。
MS m/z (ESI): 514.8 [M+1].

30

第四步

N-(7-cyclopropyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)-4-(ethylsulfonamido)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide

N-(7-环丙基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

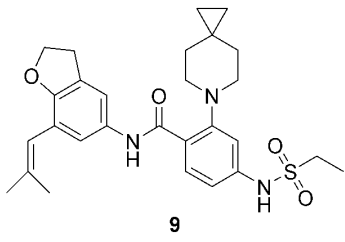
35 室温下, 将 N-(7-环丙基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲

酰胺 **8c** (150 mg, 291.60 μmol)、乙磺酰胺 **1h** (47.74 mg, 437.41 μmol)、2-(甲氨基)乙酸(38.97 mg, 437.41 μmol)、碘化亚铜(16.66 mg, 87.48 μmol)和磷酸钾三水(232.97 mg, 874.81 μmol)加入到 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)中，氩气置换后加热 100°C 搅拌 6 小时。将反应液投入水(20 mL)中，乙酸乙酯(10 mL $\times$ 3)萃取，合并的有机相用饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得粗产物，用制备液相分离(分离柱 AKZONOBEL Kromasil; 250 $\times$ 21.2 mm I.D.; 5 μm , 20 mL/min; 流动相 A: 0.05% NH_4CO_3 + H_2O , 流动相 B: CH_3CN)，得到 N-(7-环丙基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **8** (18mg)，产率：12%。

MS m/z (ESI): 495.9 [M+1].

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.39 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 7.80 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.02 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 4.52 (t, J = 8.6 Hz, 2H), 3.23 – 3.09 (m, 4H), 3.0-2.90 (m, 4H), 1.91 (tt, J = 8.4, 5.2 Hz, 1H), 1.55-1.48 (m, 4H), 1.20 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.97 – 0.87 (m, 2H), 0.69 – 0.61 (m, 2H), 0.37-0.31 (m, 4H).

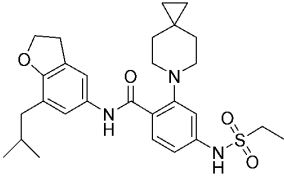
按照本发明实施例 8 的合成方法合成实施例 9。实施例 9 的结构和表征数据如下表所示：

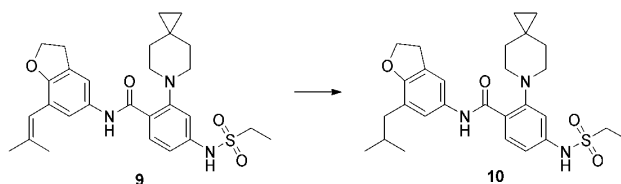
实施例编号及结构	MS m/z (ESI)	^1H NMR
 9	510.2 [M+1]	^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.41 (s, 1H), 10.13 (s, 1H), 7.87 – 7.75 (m, 2H), 7.18 (dd, J = 6.2, 2.1 Hz, 2H), 7.04 (dd, J = 8.5, 2.2 Hz, 1H), 6.14 (s, 1H), 4.51 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 3.24-3.13 (m, 4H), 3.0-2.94 (m, 4H), 1.88 (s, 3H), 1.85 (s, 3H), 1.57-1.5 (m, 4H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.37-0.3 (m, 4H).

实施例 10

4-(ethylsulfonamido)-N-(7-isobutyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide

4-(乙基磺酰胺基)-N-(7-异丁基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺





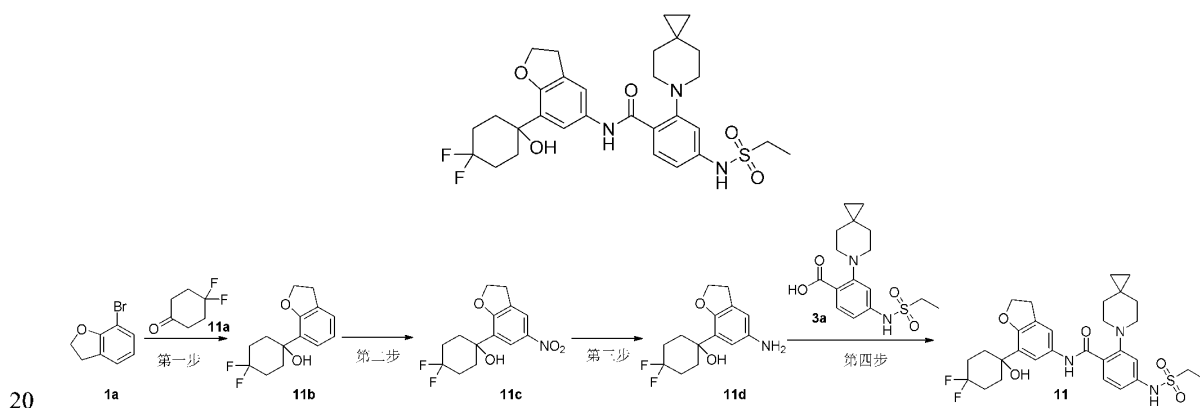
室温下，将 4-(乙基磺酰胺基)-N-(7-(2-甲基丙-1-烯-1-基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **9** (50 mg, 98.10 μmol) 和钯碳加氢催化剂 10% (10 mg, 98.10 μmol) 加入到甲醇 (3 mL) 中，氢气置换三次，然后室温下反应 4 个小时。将反应液过滤，滤饼用甲醇 (10 mL) 冲洗，滤液减压浓缩得粗产物，用制备液相分离 (分离柱 AKZONOBEL Kromasil; 250 $\times$ 21.2 mm I.D.; 5 μm , 20 mL/min; 流动相 A: 0.05% TFA+H₂O, 流动相 B: CH₃CN), 得到 4-(乙基磺酰胺基)-N-(7-异丁基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **10** (2.5 mg), 产率: 5%。

MS m/z (ESI): 512.3 [M+1].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.36 (s, 1H), 10.12 (s, 1H), 7.83 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.12 – 7.00 (m, 2H), 4.49 (t, J = 8.6 Hz, 2H), 3.24-3.1 (m, 4H), 3.03-2.94 (m, 4H), 2.37 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 1.95-1.80 (m, 1H), 1.57-1.49 (m, 4H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.89 (d, J = 6.6 Hz, 6H), 0.37-0.31 (m, 4H).

实施例 11

N-(7-(4,4-二氟-1-羟基环己基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺



第一步

1-(2,3-二氢苯并呋喃-7-基)-4,4-二氟环己烷-1-醇

1-(2,3-二氢苯并呋喃-7-基)-4,4-二氟环己烷-1-醇

-78 $^{\circ}\text{C}$ 下，将正丁基锂 (965.44 mg, 15.07 mmol, 2.5 M) 滴加到 7-溴-2,3-二氢苯并呋喃 **1a**

(2 g, 10.05 mmol)的四氢呋喃(50 mL)溶液中, -78°C 下搅拌 0.5 小时, 4,4-二氟环己酮 **11a** (1.48 g, 11.05 mmol)滴加到反应液中, -78°C 下搅拌 0.5 小时, 缓慢升至室温搅拌 2 小时。使用饱和氯化铵水溶液(20 mL)淬灭反应, 加入乙酸乙酯(30 mL×2)萃取分层, 合并有机相后饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得粗产物。粗产物用硅胶层析纯化(洗脱剂: A 体系), 得到 1-(2,3-二氢苯并呋喃-7-基)-4,4-二氟环己烷-1-醇 **11b** (1.6g), 产率: 63%。

MS m/z (ESI): 237.1 [M-17].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.34 (dd, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.11 (dd, J = 7.3, 1.3 Hz, 1H), 6.82 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.50 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 3.13 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 2.45-2.30 (m, 2H), 2.30 – 2.04 (m, 2H), 1.96 – 1.80 (m, 2H), 1.60-1.50 (m, 2H).

第二步

4,4-difluoro-1-(5-nitro-2,3-dihydrobenzofuran-7-yl)cyclohexan-1-ol

4,4-二氟-1-(5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)环己烷-1-醇

室温下, 硝酸(2 mL)加入到 1-(2,3-二氢苯并呋喃-7-基)-4,4-二氟环己烷-1-醇 **11b** (500 mg, 1.97 mmol)的乙酸(5 mL)溶液中, 室温搅拌 4 小时。反应液慢慢滴加到水(20 mL)中, 乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相后饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得粗产物, 粗产物用硅胶层析纯化(洗脱剂: A 体系), 得到 4,4-二氟-1-(5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)环己烷-1-醇 **11c** (274mg), 产率: 46%。

MS m/z (ESI): 300.1 [M+1].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.34 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 8.16 – 7.88 (m, 1H), 4.75 (t, J = 8.9 Hz, 2H), 3.28 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 2.40 (td, J = 13.7, 4.2 Hz, 2H), 2.29 – 2.07 (m, 2H), 2.00 – 1.85 (m, 2H), 1.63 – 1.49 (m, 2H).

第三步

1-(5-amino-2,3-dihydrobenzofuran-7-yl)-4,4-difluorocyclohexan-1-ol

1-(5-氨基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)-4,4-二氟环己烷-1-醇

室温下, 钨碳加氢催化剂(20 mg, 183.78 μmol, 10%)加入到 4,4-二氟-1-(5-硝基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)环己烷-1-醇 **11c** (55 mg, 183.78 μmol)的甲醇(5 mL)溶液中, 氢气置换后室温搅拌 16 小时。反应液过滤, 滤液减压浓缩得到 1-(5-氨基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)-4,4-二氟环己烷-1-醇 **11d** (41mg), 产率: 83%。

MS m/z (ESI): 270.1 [M+1].

第四步

N-(7-(4,4-difluoro-1-hydroxycyclohexyl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)-4-(ethylsulfonamido)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide

N-(7-(4,4-二氟-1-羟基环己基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

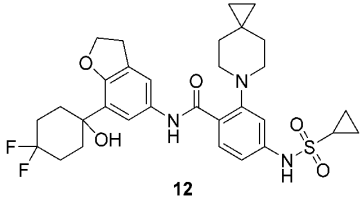
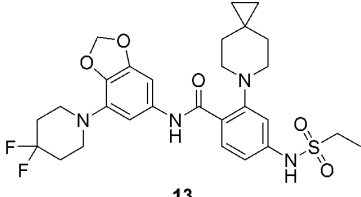
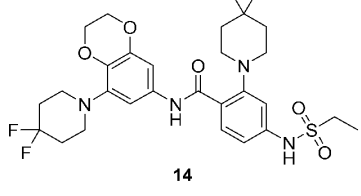
室温下, 将四甲基氯代脲六氟磷酸酯(92.26 mg, 177.29 μmol)、4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-

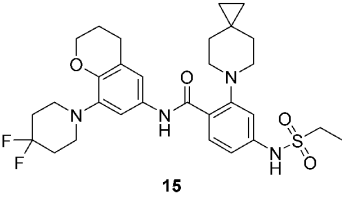
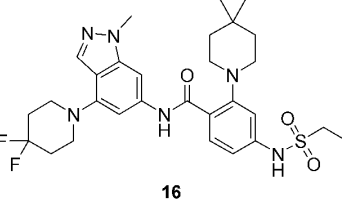
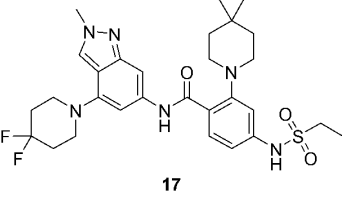
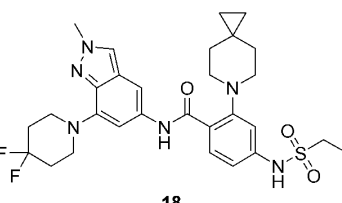
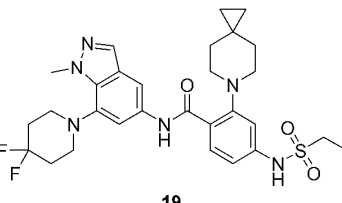
氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酸 **3a** (40 mg, 118.20 μmol)、N,N-二异丙基乙胺(45.83 mg, 354.59 μmol)加入到 N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)中, 室温搅拌 10 分钟, 1-(5-氨基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基)-4,4-二氟环己烷-1-醇 **11d** (35.01 mg, 130.02 μmol)加入其中, 加热 65°C 搅拌 2 小时。将反应液投入水(10 mL)中, 乙酸乙酯(10 mL $\times$ 3)萃取, 合并的有机相用饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 粗产物用制备液相分离(分离柱 AKZONOBEL Kromasil; 250 $\times$ 21.2 mm I.D.; 5 μm , 20 mL/min; 流动相 A: 0.05%TFA+H₂O, 流动相 B: CH₃CN), 得到 N-(7-(4,4-二氟-1-羟基环己基)-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **11** (31mg), 产率: 41%。

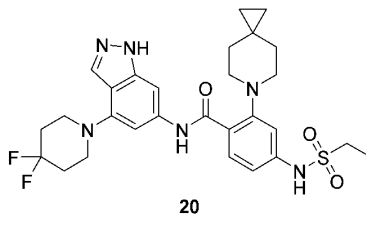
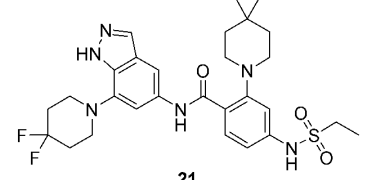
MS m/z (ESI): 590.3 [M+1].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.37 (s, 1H), 10.19 (s, 1H), 7.89 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.09 (d, J = 8.5, 2.0 Hz, 1H), 4.53 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 3.30-3.13 (m, 4H), 3.13-3.0 (m, 4H), 2.39 (td, J = 13.7, 4.2 Hz, 2H), 2.31 – 2.07 (m, 2H), 1.98-1.83 (m, 2H), 1.67 – 1.52 (m, 6H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.37-0.31 (m, 4H).

按照本发明实施例 1, 11 的合成方法合成实施例 12-21。实施例 12-21 的结构和表征数据如下表所示:

实施例编号及结构	MS m/z (ESI)	¹ H NMR
 12	602.3 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.44 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 7.92 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.13 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.53 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 3.17 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 3.15-3.0 (m, 4H), 2.85-2.70 (m, 1H), 2.45-2.32 (m, 2H), 2.30-2.10 (m, 2H), 2.0-1.8 (m, 2H), 1.70-1.50 (m, 6H), 1.1-0.9 (m, 4H), 0.37-0.31 (m, 4H).
 13	577.3 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.58 (s, 1H), 7.80 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.16 (dd, J = 6.9, 1.9 Hz, 2H), 7.03 (dd, J = 8.6, 2.0 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 5.97 (s, 2H), 3.20-3.15 (m, 4H), 3.0-2.88 (m, 5H), 2.18-2.0 (m, 5H), 1.60-1.47 (m, 4H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.37-0.31 (m, 4H).
 14	591.3 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.55 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 7.83 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.05 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 4.3-4.2 (m, 4H), 3.19 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 3.15-3.08 (m, 4H), 3.0-2.92 (m, 4H), 2.2-2.0 (m, 4H), 1.68-1.47 (m, 4H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H),

		0.37-0.31 (m, 4H).
 15	589.3 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.49 (s, 1H), 10.14 (s, 1H), 7.83 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.13 – 7.01 (m, 2H), 4.20 – 4.12 (m, 2H), 3.19 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 3.15-3.05 (m, 4H), 3.0-2.93 (m, 4H), 2.74 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.18-2.0 (m, 4H), 1.98-1.87 (m, 2H), 1.59 – 1.52 (m, 4H), 1.20 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.37-0.31 (m, 4H).
 16	587.3 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.97 (s, 1H), 10.13 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.88 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.07 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 6.57 – 6.53 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.43 (t, J = 5.8 Hz, 4H), 3.21 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 2.98 (t, J = 5.3 Hz, 4H), 2.27-2.12 (m, 4H), 1.59 (s, 4H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.35 (s, 4H).
 17	586.9 [M+1]	NA
 18	587.3 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.74 (s, 1H), 10.13 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.95 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.06 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.73 – 3.65 (m, 4H), 3.20 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 2.98 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 2.21-2.10 (m, 4H), 1.59 (t, J = 5.1 Hz, 4H), 1.21 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 0.36 (s, 4H).
 19	586.9 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.72 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.10 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.85 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.06 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 5.09 (s, 4H), 4.28 (s, 3H), 3.19 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.99 (t, J = 5.3 Hz, 4H), 2.34-2.12 (m, 4H), 1.65-1.47 (m, 4H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.35 (s, 4H).

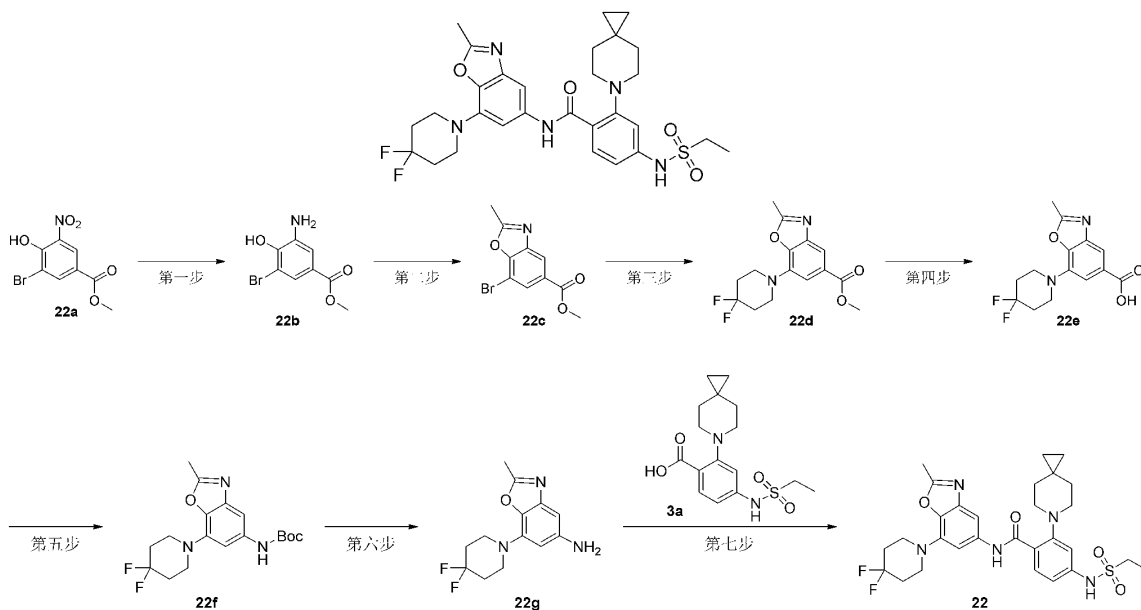
 20	572.9 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 12.92 (s, 1H), 11.93 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.87 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.06 (dd, J = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 6.59 (s, 1H), 3.42 (t, J = 5.5 Hz, 4H), 3.20 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 2.98 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 2.27 – 2.13 (m, 4H), 1.59 (s, 4H), 1.21 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.35 (s, 4H).
 21	572.9 [M+1]	NA

实施例 22

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

5



10

第一步

methyl 3-amino-5-bromo-4-hydroxybenzoate

3-氨基-5-溴-4-羟基苯甲酸甲酯

室温条件下, 3-溴-4-羟基-5-硝基苯甲酸甲酯 **22a** (1.0 g, 3.62 mmol, 市售)溶解于 N,N-二甲基甲酰胺(5 mL)中, 加入氯化亚锡(2.40 g, 12.68 mmol), 氩气置换 3 次, 室温搅拌 3 小

时, 质谱显示反应完全。滴加反应液到水(30 mL)中, 用乙酸乙酯(50 mL×3)提取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 残留物经过硅胶柱层析纯化(洗脱剂: A 体系), 得到 3-氨基-5-溴-4-羟基苯甲酸甲酯 **22b** (0.85 g), 产率: 95.36%。
MS m/z (ESI): 246.0 [M+1].

5

第二步

methyl 7-bromo-2-methylbenzo[d]oxazole-5-carboxylate

7-溴-2-甲基苯并[d]噁唑-5-羧酸甲酯

室温下, 将 3-氨基-5-溴-4-羟基苯甲酸甲酯 **22b** (850 mg, 3.45 mmol) 溶解于 1,1,1-三乙氧基乙烷(8.85 g, 54.55 mmol, 10 mL)中, 加入 4-甲基苯磺酸(59.49 mg, 345.45 μmol), 氩气置换 3 次, 升温到 80°C, 搅拌 1 小时, 质谱显示反应完全。浓缩到干, 残留物经过硅胶柱层析纯化(洗脱剂: A 体系), 得到 7-溴-2-甲基苯并[d]噁唑-5-羧酸甲酯 **22c** (0.75 g), 产率: 80.39%。

MS m/z (ESI): 270.0 [M+1].

15

第三步

methyl 7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-methylbenzo[d]oxazole-5-carboxylate

7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-羧酸甲酯

室温下, 7-溴-2-甲基苯并[d]噁唑-5-羧酸甲酯 **22c** (750 mg, 2.78 mmol) 和 4,4-二氟哌啶(504.55 mg, 4.17 mmol) 溶解于甲苯(20 mL)中, 加入三(二亚苄丙酮)二钯(127.15 mg, 138.85 μmol)、R-(+)-1,1'-联萘-2,2'-双二苯膦(172.91 mg, 277.70 μmol)和碳酸铯(2.71 g, 8.33 mmol), 氩气置换, 升温到 100°C, 搅拌 18 小时, 质谱显示反应完全。向反应液中加水(20 mL), 搅拌分层, 用乙酸乙酯(30 mL×2)提取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后, 残留物经过硅胶柱层析纯化(洗脱剂: A 体系), 得到 7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-羧酸甲酯 **22d** (0.65 g), 产率: 75.43%。

MS m/z (ESI): 311.1 [M+1].

25

第四步

7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-methylbenzo[d]oxazole-5-carboxylic acid

7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-羧酸

室温下, 将 7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-羧酸甲酯 **22d** (600 mg, 1.93 mmol) 溶解于甲醇(5 mL)和四氢呋喃(5 mL)中, 加入氢氧化锂溶液(2 M, 4.83 mL), 室温搅拌 4 小时, 质谱显示反应完全, 浓缩后加水(20 mL), 用盐酸溶液(1 M)调 pH=3-4, 用乙酸乙酯(30 mL×3)提取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到 7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-羧酸 **22e** (0.53 g), 产率: 92.52%。

MS m/z (ESI): 297.1 [M+1].

35

第五步

tert-butyl (7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-methylbenzo[d]oxazol-5-yl)carbamate

(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-基)氨基甲酸叔丁酯

室温下, 将 7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-羧酸 **22e** (200 mg, 675.06 μmol) 溶解于四氢呋喃(10 mL)中, 加入三乙胺(102.46 mg, 1.01 mmol)和叠氮磷酸二苯酯(278.67 mg, 1.01 mmol), 室温搅拌 3 小时, 质谱显示反应完全。加入叔丁醇(50 mL), 升温到 80°C, 5 搅拌 20 小时。减压浓缩到干, 残留物经过硅胶柱层析纯化(洗脱剂: A 体系), 得到(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-基)氨基甲酸叔丁酯 **22f** (100 mg), 产率: 40.32%。
MS m/z (ESI): 368.1 [M+1].

第六步

7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-methylbenzo[d]oxazol-5-amine

10 7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-胺

室温下, 将(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-基)氨基甲酸叔丁酯 **22f** (90 mg, 244.97 μmol) 溶解于二氯甲烷(5 mL)中, 滴加三氟乙酸(55.86 mg, 489.94 μmol , 5 mL), 室温搅拌 1 小时, 质谱显示反应完全。减压浓缩到干, 加水(10 mL), 用饱和碳酸氢钠溶液调 pH=7-8, 用乙酸乙酯(30 mL $\times$ 3)提取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得到 7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-胺 **22g** (50 mg), 产率: 76.37%。
MS m/z (ESI): 268.1 [M+1].

第七步

20 N-(7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-methylbenzo[d]oxazol-5-yl)-4-(ethylsulfonamido)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

室温下, 4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酸 **3a** (50 mg, 147.74 μmol) 溶解于乙腈(5 mL)中, 加入 1-甲基咪唑(36.39 mg, 443.23 μmol) 和 N,N,N',N'-四甲基氯甲基六氟磷酸盐(124.36 mg, 443.23 μmol), 室温搅拌 1 小时, 加入 7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-胺 **22g** (51.33 mg, 192.07 μmol), 升温到 60°C, 搅拌 1 小时, 质谱显示反应完全, 减压浓缩到干, 加入乙酸乙酯(30 mL), 用饱和碳酸氢钠溶液(10 mL $\times$ 2)洗涤, 用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用制备液相分离(分离柱 AKZONOBEL Kromasil; 250 $\times$ 21.2 mm I.D.; 5 μm , 20 mL/min; 流动相 A: 0.05% 25 $\text{NH}_4\text{CO}_3\text{+H}_2\text{O}$, 流动相 B: CH_3CN), 冻干, 得到 N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-甲基苯并[d]噁唑-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **22** (5.7mg), 产率: 5.2%。
MS m/z (ESI): 588.3 [M+1].

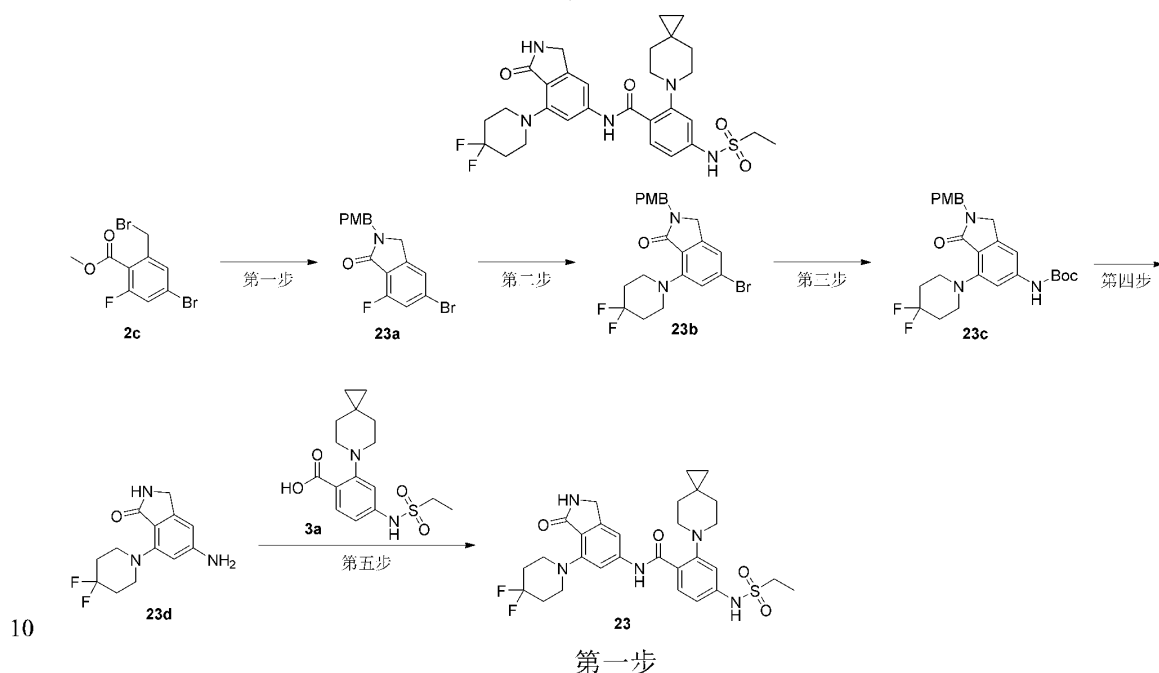
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.70 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 7.84 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.18 (s, 2H), 7.04 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 3.49 (t, J = 5.7 Hz, 4H), 3.20 (q, J = 35 7.3 Hz, 2H), 3.04-2.92 (m, 4H), 2.60 (s, 3H), 2.22 – 2.10 (m, 4H), 1.66-1.43 (m, 4H), 1.21 (t, J =

7.3 Hz, 3H), 0.35 (s, 4H).

实施例 23

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

5 N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺



5-bromo-7-fluoro-2-(4-methoxybenzyl)isoindolin-1-one

5-溴-7-氟-2-(4-甲氧基苄基)异吲哚啉-1-酮

室温下, 4-溴-2-(溴甲基)-6-氟苯甲酸甲酯 **2c** (1.0 g, 3.07 mmol)和(4-甲氧基苄基)甲胺 (631.27 mg, 4.60 mmol)溶解于N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)中,加入N,N-二异丙基乙胺(793.00 mg, 6.14 mmol),升温到 40°C,搅拌反应 10 小时,质谱显示反应完全。向反应液中加水(30 mL),用二氯甲烷(50 mL×2)提取,合并有机相,用饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩后,残留物经过硅胶柱层析纯化(洗脱剂: A 体系),得到 5-溴-7-氟-2-(4-甲氧基苄基)异吲哚啉-1-酮 **23a** (0.79 g),产率: 73.53%。

20 MS m/z (ESI): 349.8 [M+1].

第二步

5-bromo-7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-(4-methoxybenzyl)isoindolin-1-one

5-溴-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-(4-甲氧基苄基)异吲哚啉-1-酮

室温下, 将 5-溴-7-氟-2-(4-甲氧基苄基)异吲哚啉-1-酮 **23a** (450 mg, 1.29 mmol)和 4,4-二氟哌啶(233.48 mg, 1.93 mmol)溶解于二甲亚砜(10 mL)中,加入 N,N-二异丙基乙胺(332.17

mg, 2.57 mmol), 升温到 150°C, 搅拌 6 小时, 质谱显示反应完全。向反应液中加水(20 mL), 用乙酸乙酯(30 mL×2)提取, 合并有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 残留物经过硅胶柱层析纯化(洗脱剂: A 体系), 得到 5-溴-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-(4-甲氧基苄基)异吲哚啉-1-酮 **23b** (0.44 g), 产率: 75.8%。

5 MS m/z (ESI): 450.8 [M+1].

第三步

tert-butyl (7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-2-(4-methoxybenzyl)-1-oxoisindolin-5-yl)carbamate
(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-(4-甲氧基苄基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)氨基甲酸叔丁酯

室温下, 将 5-溴-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-(4-甲氧基苄基)异吲哚啉-1-酮 **23b** (400 mg, 886.32 μmol)和氨基甲酸叔丁酯(207.66 mg, 1.77 mmol)溶解于 1,4-二氧六环(10 mL)中, 加入醋酸钨(19.90 mg, 88.63 μmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(102.57 mg, 177.26 μmol)和碳酸铯(866.34 mg, 2.66 mmol), 氩气置换, 升温到 100°C, 搅拌 18 小时, 质谱显示反应完全。向反应液中加水(20 mL), 乙酸乙酯(30 mL×2)提取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物经过硅胶柱层析纯化(洗脱剂: A 体系), 得到(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-(4-甲氧基苄基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)氨基甲酸叔丁酯 **23c** (0.4 g), 产率: 92.57%。

MS m/z (ESI): 488.0 [M+1].

第四步

5-amino-7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)isoindolin-1-one

20 5-氨基-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)异吲哚啉-1-酮

室温下, 将(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-2-(4-甲氧基苄基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)氨基甲酸叔丁酯 **23c** (400 mg, 820.45 μmol)溶解于三氟乙酸(4 mL)中, 室温搅拌 18 小时, 加入甲磺酸(2 mL), 升温到 60°C, 搅拌 3 小时, 质谱显示反应完全。降温到室温, 浓缩到干, 向残留物中加水(20 mL), 用饱和碳酸钠溶液调 pH=8-9, 用乙酸乙酯(30 mL×3)提取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到 5-氨基-7-(4,4-二氟哌啶-1-基)异吲哚啉-1-酮 **23d** (0.2 g), 产率: 91.21%。

MS m/z (ESI): 268.1 [M+1].

第五步

30 N-(7-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-1-oxoisindolin-5-yl)-4-(ethylsulfonamido)-2-(6-azaspiro[2.5]octan-6-yl)benzamide

N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺

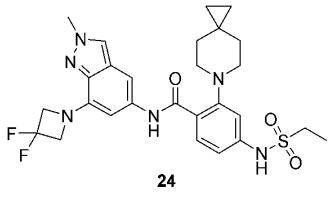
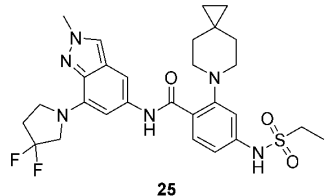
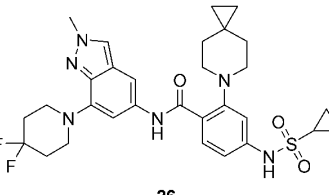
室温下, 将 4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酸 **3a** (150 mg, 443.23 μmol)溶解于乙腈(10 mL)中, 加入 1-甲基咪唑(110.51 mg, 1.33 mmol)和 N,N,N',N'-四甲基氯甲脒六氟磷酸盐(373.09 mg, 1.33 mmol), 室温搅拌 1 小时, 加入 5-氨基-7-(4,4-二氟哌啶-1-

基)异吲哚啉-1-酮 **23d** (130.31 mg, 487.56 μmol), 升温到 60°C, 搅拌 2 小时, 质谱显示反应完全。反应液用制备液相分离(分离柱 AKZONOBEL Kromasil; 250×21.2 mm I.D.; 5 μm , 20 mL/min; 流动相 A: 0.05% $\text{NH}_4\text{CO}_3+\text{H}_2\text{O}$, 流动相 B: CH_3CN), 得到 N-(7-(4,4-二氟哌啶-1-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)-4-(乙基磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-基)苯甲酰胺 **23** (43.0 mg), 产率: 15.75%。

MS m/z (ESI): 588.3 [M+1].

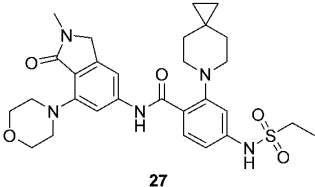
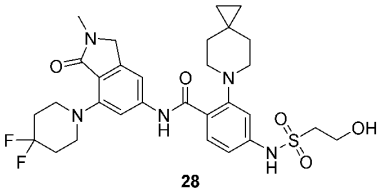
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.88 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.82 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.17 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.05 (dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, 1H), 4.28 (s, 2H), 3.44-3.22 (m, 4H), 3.20 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.97 (t, $J = 5.2$ Hz, 4H), 2.23-2.09 (m, 4H), 1.61 – 1.50 (m, 4H), 1.21 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 0.35 (s, 4H).

按照本发明实施例 1、11 的合成方法合成实施例 24-26。实施例 24-26 的结构和表征数据如下表所示:

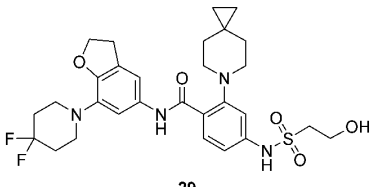
实施例编号及结构	MS m/z (ESI)	^1H NMR
 24	558.8 [M+1]	^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.61 (s, 1H), 10.13 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.85 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.35 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 4.50 (t, $J = 12.2$ Hz, 4H), 4.11 (s, 3H), 3.20 (s, 2H), 2.98 (t, $J = 5.2$ Hz, 4H), 1.65-1.49 (m, 4H), 1.21 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 0.36 (s, 4H).
 25	572.9 [M+1]	^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.74 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.89 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.21 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.07 (dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, 1H), 6.26 (s, 1H), 4.19-4.13 (m, 2H), 4.12 (s, 3H), 3.80 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.20 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.99 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H), 2.61 – 2.55 (m, 2H), 1.62 (d, $J = 6.0$ Hz, 4H), 1.21 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 0.37 (s, 4H).
 26	598.9 [M+1]	^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.83 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.96 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.09 (dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.69 (t, $J = 5.7$ Hz, 4H), 2.98 (t, $J = 5.2$ Hz, 4H), 2.78-2.71 (m, 1H), 2.22-2.11 (m, 4H), 1.66-1.53 (m, 4H), 1.03 – 0.97 (m, 4H), 0.36 (s, 4H).

按照本发明实施例 2 的合成方法合成实施例 27-28。实施例 27-28 的结构和表征数据如

下表所示:

实施例编号及结构	MS m/z (ESI)	¹ H NMR
 27	567.9 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 12.08 (s, 1H), 10.03 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 7.01 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 4.37 (s, 2H), 3.82 – 3.74 (m, 4H), 3.25-3.19 (m, 4H), 3.17-3.12 (m, 2H), 2.99 (s, 3H), 2.98-2.92 (m, 4H), 1.57 (s, 4H), 1.20 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.36 (s, 4H).
 28	617.9 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.91 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.21 – 7.09 (m, 2H), 7.03 (dd, J = 8.6, 2.0 Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.37 (s, 2H), 3.76 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.38-3.32 (m, 4H), 3.32-3.31 (m, 2H), 3.00 (s, 3H), 2.97 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 2.23 – 2.10 (m, 4H), 1.55 (t, J = 5.4 Hz, 4H), 0.35 (s, 4H).

按照本发明实施例 1 的合成方法合成实施例 29。实施例 29 的结构和表征数据如下表所示:

实施例编号及结构	MS m/z (ESI)	¹ H NMR
 29	591.3 [M+1]	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.53 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.15 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.12 – 6.96 (m, 2H), 4.95 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.53 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 3.75 (q, J = 6.3 Hz, 2H), 3.3 – 3.2 (m, 2H), 3.27-3.12 (m, 6H), 3.0-2.9 (m, 4H), 2.15-2.0 (m, 4H), 1.65-1.46 (m, 4H), 0.37-0.31 (m, 4H).

5

生物学评价

测试例 1、本发明化合物对 OVCAR-3 细胞增殖抑制测定

以下方法用于测定本发明化合物对OVCAR-3细胞增殖的影响。OVCAR-3细胞（含有TP53 R248Q突变）购于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心，培养于含10%胎牛血清、100 U青霉素和100 μg/mL链霉素的RPMI 1640培养基中。细胞活力通过CellTiter-Glo®

10 Luminescent Cell Viability Assay试剂盒（Promega，货号G7573）进行测定。

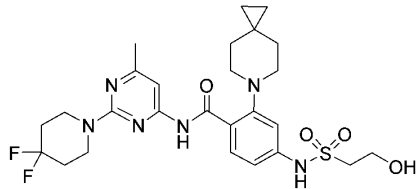
实验方法按照试剂盒说明书的步骤操作，简述如下：受试化合物首先溶解于DMSO中

制备为10 mM贮存液，随后以前述的RPMI 1640培养基进行稀释，配制成测试样品，化合物的终浓度范围在1000 nM-0.015 nM。将处于对数生长期的细胞以1000个细胞每孔的密度接种至96孔细胞培养板中，在37℃，5%CO₂培养箱中培养过夜，随后加入受试化合物后继续培养72小时。培养结束后，向每孔加入50 μL体积的CellTiter-Glo检测液，震荡5分钟后静置10分钟，随后在酶标仪上使用Luminescence模式读取样品各孔发光值。通过与对照组（0.3% DMSO）的数值进行比较计算化合物在各浓度点的百分比抑制率，之后在GraphPad Prism 5软件中以化合物浓度对数-抑制率进行非线性回归分析，获得化合物抑制细胞增殖的IC₅₀值，见表1。

表1 本发明化合物对OVCAR-3细胞增殖抑制的IC₅₀数据

实施例编号	IC ₅₀ (nM)	实施例编号	IC ₅₀ (nM)	实施例编号	IC ₅₀ (nM)
对照化合物AMG 650	64.5	14	8.4	22	33.2
1	0.75	15	18.4	23	3.6
2	4.3	16	36.7	24	13.4
3	11.2	17	6.6	25	33.6
6	9.1	18	3.3	27	1.96
7	11	20	20.3	28	6.8
13	5.5	21	16.6		

结论：本发明化合物对于OVCAR-3细胞增殖IC₅₀<50 nM，具有较好的抑制作用。
备注：AMG 650的结构（根据公开专利WO2020132648A1的实施例4制备而得）如下：



15 测试例 2、本发明化合物对 HT-29 细胞增殖抑制测定

以下方法用于测定本发明化合物对HT-29细胞增殖的影响。HT-29细胞（含有TP53 R273H突变）购于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心，培养于含10%胎牛血清、100 U青霉素和100 μg/mL链霉素的McCoy's 5A培养基中。细胞活力通过CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay试剂盒（Promega，货号G7573）进行测定。

20 实验方法按照试剂盒说明书的步骤操作，简述如下：受试化合物首先溶解于DMSO中制备为10 mM贮存液，随后以前述的McCoy's 5A培养基进行稀释，配制成测试样品，化合物的终浓度范围在1000 nM-0.015 nM。将处于对数生长期的细胞以1000个细胞每孔的密度接种至96孔细胞培养板中，在37℃，5%CO₂培养箱中培养过夜，随后加入受试化合物后继续培养120小时。培养结束后，向每孔加入50 μL体积的CellTiter-Glo检测液，震荡5分钟后

静置10分钟，随后在酶标仪上使用Luminescence模式读取样品各孔发光值。通过与对照组（0.3% DMSO）的数值进行比较计算化合物在各浓度点的百分比抑制率，之后在GraphPad Prism 5软件中以化合物浓度对数-抑制率进行非线性回归分析，获得化合物抑制细胞增殖的IC₅₀值，见表2。

5 表2 本发明化合物对HT-29细胞增殖抑制的IC₅₀数据

实施例编号	IC ₅₀ (nM)	实施例编号	IC ₅₀ (nM)	实施例编号	IC ₅₀ (nM)
对照化合物AMG 650	61.7	14	9.2	28	18.9
1	2.4	15	23.6		
2	3.9	16	35.7		
3	6.6	18	7.7		
6	10.7	21	13.8		
7	7.8	23	5.8		
13	7.3	24	4.1		

结论：本发明化合物对于HT-29细胞增殖 $IC_{50} < 50 \text{ nM}$ ，具有较好的抑制作用。

测试例 3、本发明化合物对 KIF18A 酶活抑制的测试

10 以下方法用于测定本发明化合物在体外条件下对重组人源KIF18A酶活性的抑制程度。本方法使用Promega公司的ADP-Glo™ Kinase Assay试剂盒（货号V9102）。详细实验操作可参考试剂盒说明书。

将实验流程简述如下：受试化合物首先溶解于 DMSO 中制备为贮存液，随后使用反应缓冲液 A（15 mM Tris, pH 7.5, 10 mM MgCl₂, 0.01% Pluronic F-68）进行梯度稀释，受试化合物在反应体系中的终浓度范围为 10000 nM~0.15 nM；使用反应缓冲液 B（15 mM Tris, pH 7.5, 10 mM MgCl₂, 0.01% Pluronic F-68, 37.5 μg/ml tubulin, 1.25 μM paclitaxel）配制 KIF18A 蛋白和 ATP 工作液。反应在 384 孔微孔板中进行，首先向孔中加入受试化合物和重组人源 KIF18A 蛋白（终浓度 100 nM，委托金斯瑞表达），并在室温下孵育 20 分钟，随后向反应液中加入 ATP 溶液（来自 ADP-Glo™ Kinase Assay 试剂盒组分 V915A，终浓度 60 μM），并在室温下孵育 20 分钟。随后向反应体系中加入 5 μL ADP-Glo Reagent，并在室温下孵育 50 分钟。之后向反应体系中加入 10 μL Kinase Detection Reagent，并在室温下孵育 30 分钟。孵育结束后，在酶标仪以 Luminescence 模式测定各孔的化学发光强度值。通过与对照组（0.1% DMSO）的发光强度值进行比较计算化合物在各浓度下的百分比抑制率，并通过 GraphPad Prism 5 软件以化合物浓度对数值-抑制率进行非线性回归分析，获得化合物的 IC₅₀ 值，见表 3。

表 3 本发明化合物抑制 KIF18A 酶活性的 IC₅₀ 数据

实施例编号	IC ₅₀ (nM)	实施例编号	IC ₅₀ (nM)	实施例编号	IC ₅₀ (nM)
-------	-----------------------	-------	-----------------------	-------	-----------------------

对照化合物AMG 650	173	11	263	24	85.7
1	52	12	173	25	198
2	142	13	291	26	256
3	72.5	14	184	27	109
4	212	16	209	28	142
5	134.3	17	280	29	316
6	60.9	20	197		
7	157	21	229		
8	90.6	22	98.5		
10	267	23	123		

结论：本发明化合物对于KIF18A酶活性抑制IC₅₀<500 nM，具有显著的抑制作用。

测试例4、本发明化合物的小鼠药代动力学测试

5 1、实验目的

以 ICR 小鼠为受试动物，采用 LC/MS/MS 法测定灌胃给予对照化合物 AMG650 与本发明化合物 1、18 和 29 后，测定其不同时刻血浆中的药物浓度，研究本发明化合物在小鼠体内的药代动力学特征。

2、实验方案

10 2.1 实验药品与动物；

对照化合物 AMG650、化合物 1、18 和 29。

ICR 小鼠，雄性，27.3-30.3 g，购买于维通利华实验动物技术有限公司。

2.2 药物配制

称取适量待测化合物，依次加入适量 DMA（N,N-二甲基乙酰胺）、CrEL（聚氧乙烯
15 35 蓖麻油）和 5% GS（5%葡萄糖注射液），超声涡旋混匀，配制成 1 mg/mL 的给药制剂。
其中 DMA、CrEL 和 5% GS=10： 10： 80(v:v:v)。

2.3 给药

每个待测化合物注射组（每组 9 只）的 ICR 小鼠禁食过夜后灌胃给药（PO，化合物给
药剂量为剂量 10 mg/kg，给药体积 10 mL/kg），给药 4 小时后进食。

20 3、操作

于给药前和给药后 0.25 小时、0.5 小时、1 小时、2 小时、4 小时、8 小时、10 小时和
24 小时经眼眶采约 0.1 mL 血液，全血样品置于含 EDTA-K2 的抗凝管中。血液样本采集后
置于冰上，离心分离血浆（离心条件：1500 g，10 分钟）。收集的血浆分析前存放于-40 ~
-20℃。

25 用 LC-MS/MS 测定灌胃给药后小鼠血浆中待测化合物含量。

4、药代动力学参数结果

待测化合物的药代动力学参数如下表 4 所示。

表 4 待测化合物的小鼠药代动力学参数

化合物编号	药代实验			
	给药方式 (给药剂量)	血药浓度 Cmax (ng/ mL)	曲线面积 AUC _{0-∞} (ng·h/mL)	半衰期 T1/2 (h)
对照化合物 AMG650	口服 (10 mg/mL)	3050	52500	9.64
实施例 1	口服 (10 mg/mL)	12417	95245	7.36
实施例 18	口服 (10 mg/mL)	3030	45900	5.2
实施例 29	口服 (10 mg/mL)	6960	25881	1.24

结论：本发明化合物 1、18 和 29 的血药浓度和曲线下面积均较高，具有较好的药代动力学性质。

测试例 5、本发明化合物 1 的小鼠药效测试

1. 实验目的

评价本发明化合物 1 在 OVCAR-3 人卵巢腺癌瘤块皮下异种移植 BALB/c nude 小鼠动物模型中的抗肿瘤作用。

2. 实验动物

BALB/c 裸小鼠，雌性，6-7 周，购自江苏集萃药康生物科技有限公司。

3. 受试物配制

溶媒对照组给予 DMA:CrEL:5% GS=10:10:80(v:v:v)。

AMG650：称取适量的 AMG-650，依次加入适量 DMA、CrEL 和 5% GS，超声涡旋混匀，分别配制成 0.8 mg/mL 和 0.4 mg/mL 的给药制剂。其中 DMA、CrEL 和 5% GS=10:10: 80(v:v:v)。

化合物 1：称取适量的化合物 1，依次加入适量 DMA、CrEL 和 5% GS，超声涡旋混匀，分别配制成 0.8 mg/mL 和 0.4 mg/mL 的给药制剂。其中 DMA、CrEL 和 5% GS=10:10: 80(v:v:v)。

4. 接种瘤块获取

选择合适的 OVCAR-3 荷瘤动物，无菌取材，获取 1 mm×1 mm×1 mm OVCAR-3 瘤块，置于生理盐水中备用，用于 BALB/c nude 小鼠背部右侧皮下肿瘤接种。

5. 动物接种及分组

在雌性 BALB/c nude 小鼠背部右侧皮下接种约 1 mm×1 mm×1 mm OVCAR-3 瘤块。

待肿瘤平均体积达到约 100-250 mm³ 时，根据肿瘤大小随机分组，每组 6 只。

6. 动物给药和观察

各组动物每天固定时间根据动物体重给予受试物 1 天 1 次，口服给药(po)，于分组当天开始第一次给药，连续 22 天，并记录每天动物体重。

- 5

第 1 组(G1)，溶剂对照组；
第 2 组(G2)和第 3 组(G3)，口服给药 AMG-650，给药剂量分别为 8 mg/kg 和 4 mg/kg，每天 1 次(QD)；
第 4 组(G4)和第 5 组(G5)，口服给药化合物 1，给药剂量分别为 8 mg/kg 和 4 mg/kg，每天 1 次(QD)；

- 10

观察各组动物接种部位肿瘤的形成状况，每周 2 次测量肿瘤体积，并按如下公式计算：
肿瘤体积（TV）、相对肿瘤体积（RTV）、相对肿瘤增殖率（T/C）及相对肿瘤抑制率（TGI）计算公式如下：

- (1) TV（tumor volume）= 1/2×a×b²，其中 a、b 分别表示肿瘤的长和宽；
(2) RTV（relative tumor volume）= V_t/V₀，V₀ 为分组时测量所得肿瘤体积，V_t 为每
15 一次测量时肿瘤体积；
(3) T/C（%）= T_{RTV}/ C_{RTV}×100%，其中 T_{RTV} 为治疗组的 RTV，C_{RTV} 为溶媒对照组的 RTV；
(4) TGI% = (1-T/C) × 100%；其中，T 和 C 分别为治疗组和溶媒对照组某一特定时间点的相对肿瘤体积。

20 7. 结果

表 5 待测化合物在 OVCAR-3 人卵巢腺癌瘤块模型中各组药效分析表

组别	给药后 16 天		
	肿瘤体积 (x±S)	相对肿瘤体积 (x±S)	TGI%
第 1 组 溶媒对照组	620±80	3.27±0.28	—
第 2 组 AMG650 （8mg/kg）	243±35	1.29±0.16	60.5%
第 3 组 AMG650 （4mg/kg）	511±49	2.77±0.26	15.3%
第 4 组 化合物 1 (8mg/kg)	31±8	0.16±0.03	95.2%

第 5 组 化合物 1 (4mg/kg)	120±27	0.61±0.11	81.3%
-------------------------	--------	-----------	-------

注：数据以“平均值 ± 标准误差”表示。

结论：在本实验所设定条件下，在 OVCAR-3 人卵巢腺癌瘤块皮下异种移植 BALB/c nude 小鼠动物模型中，相较于溶媒和 AMG650，本发明化合物 1 在 8 mg/kg、4 mg/kg 下均表现出更明显的抑制肿瘤生长作用。

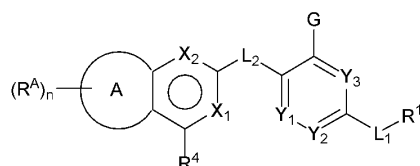
5

除非特别限定，本发明所用术语均为本领域技术人员通常理解的含义。

本发明所描述的实施方式仅出于示例性目的，并非用以限制本发明的保护范围，本领域技术人员可在本发明的范围内作出各种其他替换、改变和改进，因而，本发明不限于上述实施方式，而仅由权利要求限定。

权利要求书

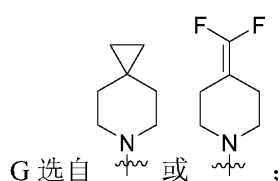
1. 一种通式(I)所示的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐：



5

其中：

环 A 选自 5~7 元杂环基或 5~7 元杂芳基；



X₁、X₂ 各自独立地选自 CR^a 或 N 原子；

10 Y₁、Y₂、Y₃ 各自独立地选自 CR^b 或 N 原子，且 Y₁、Y₂、Y₃ 中至多有两个同时为 N 原子；

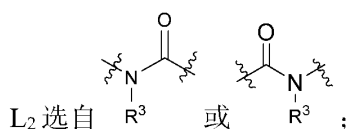
R^a、R^b 各自独立地选自氢原子、卤素、羟基、氰基、烷基或烷氧基；其中所述的烷基或烷氧基任选进一步被一个或多个选自卤素、羟基、氰基、烷基或烷氧基的取代基所取代；

15 R^a 相同或不同，各自独立地选自氢原子、卤素、羟基、氰基、烷基或烷氧基；其中所述的烷基或烷氧基任选进一步被一个或多个选自卤素、羟基、氰基、烷基或烷氧基的取代基所取代；

或者，两个 R^a 与其所连接的同一个碳原子形成一个 C(O)；

20 L₁ 选自键或 C₁-C₆ 亚烷基，其中所述的亚烷基任选进一步被一个或多个选自卤素、羟基、氰基或烷氧基的取代基所取代，且其中所述的亚烷基的一个或多个亚甲基任选被一个或多个 O、S(O)_r、C(O) 或 NR^c 所替代；

R^c 选自氢原子或烷基；



R³ 各自独立地选自氢原子或烷基，其中所述的烷基任选进一步被一个或多个选自卤素、羟基、氰基或烷氧基的取代基所取代；R³ 优选为氢原子；

25 R¹ 选自氢原子、氰基、卤素、烷基、羟基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基；其中所

述的烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、=O、-C(O)R⁸、-C(O)OR⁸、-OC(O)R⁸、-NR⁹R¹⁰、-C(O)NR⁹R¹⁰、-SO₂NR⁹R¹⁰或-NR⁹C(O)R¹⁰的取代基所取代；

- 5 R⁴选自氰基、卤素、烷基、烯基、炔基、羟基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-OR⁵、-C(O)R⁵、-C(O)OR⁵、-NHC(O)R⁵、-NHC(O)OR⁵、-NR⁶R⁷、-C(O)NR⁶R⁷、-CH₂NHC(O)OR⁵、-CH₂NR⁶R⁷或-S(O)_rR⁵；其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、=O、-C(O)R⁸、-C(O)OR⁸、-OC(O)R⁸、-NR⁹R¹⁰、-C(O)NR⁹R¹⁰、-SO₂NR⁹R¹⁰或-NR⁹C(O)R¹⁰的取代基所取代；
- 10 R⁵各自独立地选自氢原子、烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、=O、-C(O)R⁸、-C(O)OR⁸、-OC(O)R⁸、-NR⁹R¹⁰、-C(O)NR⁹R¹⁰、-SO₂NR⁹R¹⁰或-NR⁹C(O)R¹⁰的取代基所取代；

- 15 R⁶和R⁷各自独立地选自氢原子、羟基、卤素、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、=O、-C(O)R⁸、-C(O)OR⁸、-OC(O)R⁸、-NR⁹R¹⁰、-C(O)NR⁹R¹⁰、-SO₂NR⁹R¹⁰或-NR⁹C(O)R¹⁰的取代基所取代；

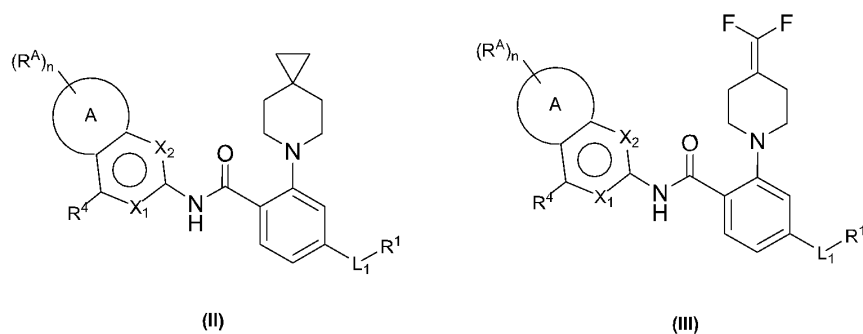
- 20 R⁶和R⁷各自独立地选自氢原子、羟基、卤素、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其中所述的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、=O、-C(O)R⁸、-C(O)OR⁸、-OC(O)R⁸、-NR⁹R¹⁰、-C(O)NR⁹R¹⁰、-SO₂NR⁹R¹⁰或-NR⁹C(O)R¹⁰的取代基所取代；

- 25 或者，R⁶和R⁷与它们相连接的原子一起形成一个4~8元杂环基，其中所述的4~8元杂环基内含有一个或多个N、O或S(O)_r，并且所述的4~8元杂环基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、=O、-C(O)R⁸、-C(O)OR⁸、-OC(O)R⁸、-NR⁹R¹⁰、-C(O)NR⁹R¹⁰、-SO₂NR⁹R¹⁰或-NR⁹C(O)R¹⁰的取代基所取代；

- 30 R⁸、R⁹和R¹⁰各自独立地选自氢原子、烷基、氨基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基、卤素、硝基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、羧基或羧酸酯基的取代基所取代；

- 30 n为0、1、2、3或4；且
 r各自独立地为0、1或2。

2. 根据权利要求1所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其为通式(II)或(III)所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐：



其中，环 A、X₁、X₂、R^A、R¹、R⁴、L₁ 和 n 的定义如权利要求 1 中所述。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，
5 其中：

L₁ 选自键或 C₁-C₆ 亚烷基，其中所述的亚烷基任选进一步被一个或多个羟基所取代，
且其中所述的亚烷基的一个或多个亚甲基任选被一个或多个 O、S(O)_r、C(O) 或 NR^c 所替代；

r 为 2；

R^c 选自氢原子或甲基。

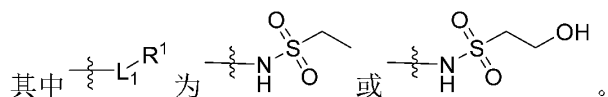
10

4. 根据权利要求 3 所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中
L₁ 选自键、-NH₂SO₂CH₂CH₂-、-SO₂NHCH₂CH₂-、-SO₂-、-CH₂SO₂-、-NH₂SO₂-、-SO₂NH-、
-NHC(CH₃)₂CH₂-、-C(O)NHCH₂CH₂-、-C(O)NHC(CH₃)₂CH₂-、-C(O)N(CH₃)CH₂CH₂-、
-CH(CH₃)(OH)CH₂-、-NH₂SO₂CH(CH₃)CH₂-、-SO₂NHC(CH₃)₂CH₂-、-C(O)NH-、-NHCH₂CH₂-
15 或-CH₂SO₂CH₂CH₂-。

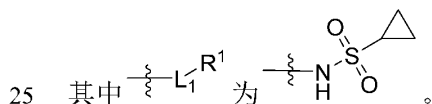
20

5. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，
其中 R¹ 选自氢原子、羟基、烷基、杂环基、环烷基或杂芳基，其中所述的烷基、杂环基、
环烷基或杂芳基任选进一步被一个或多个选自羟基或烷基的取代基所取代。

6. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，

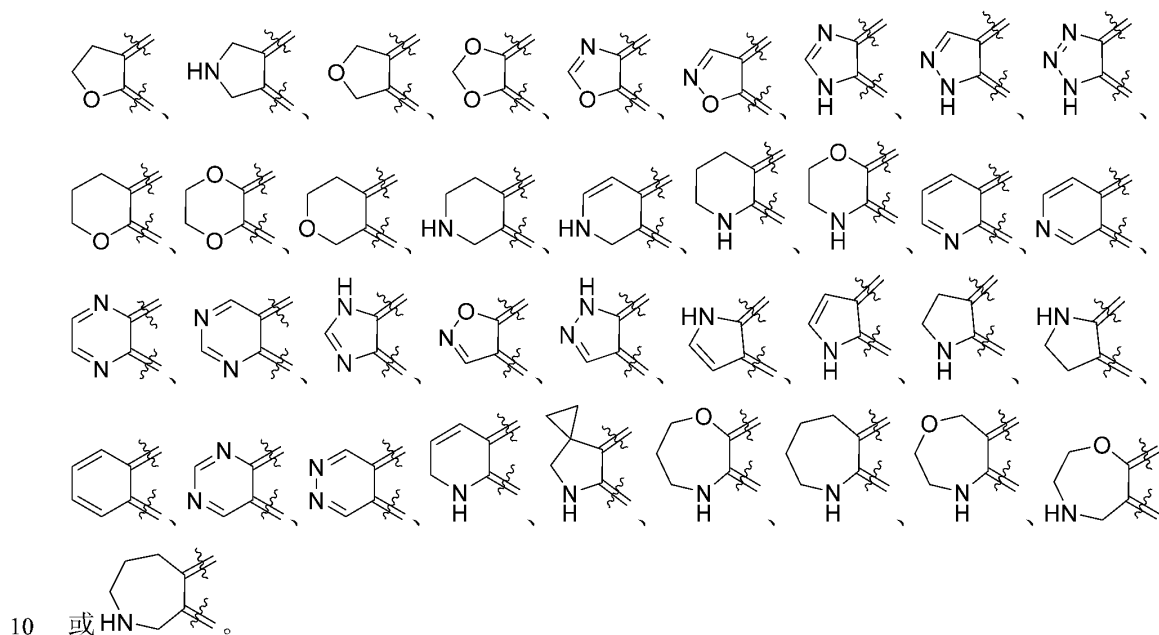


7. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，

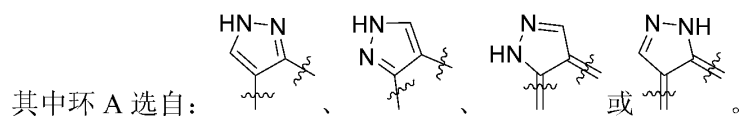


8. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中 X_1 、 X_2 各自独立地选自 CH。

9. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中环 A 选自：



10. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，



11. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中：

R^A 各自独立地选自氢原子或甲基；

或者，两个 R^A 与其所连接的同一个碳原子形成一个 $C(O)$ 。

12. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中：

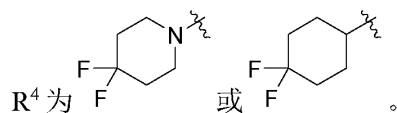
R^4 各自独立地选自 3-10 元杂环基或 C_3 - C_{10} 环烷基，其中所述的杂环基或环烷基任选进一步被一个或多个羟基或卤素所取代。

13. 根据权利要求1或2所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中：

R^4 各自独立地选自 C_2-C_6 烯基或 C_1-C_6 烷基，其中所述的烯基或烷基任选进一步被一个或多个羟基或卤素所取代。

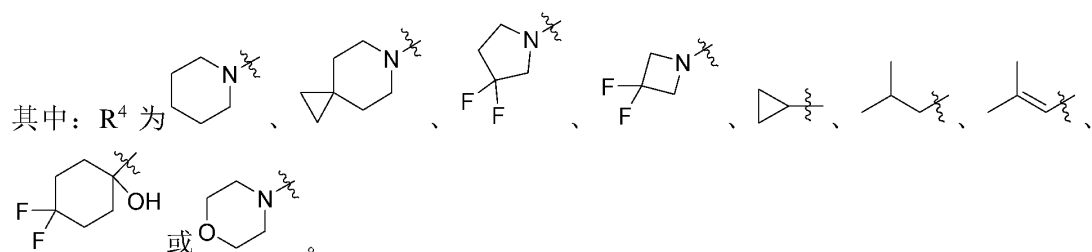
5

14. 根据权利要求12所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中：

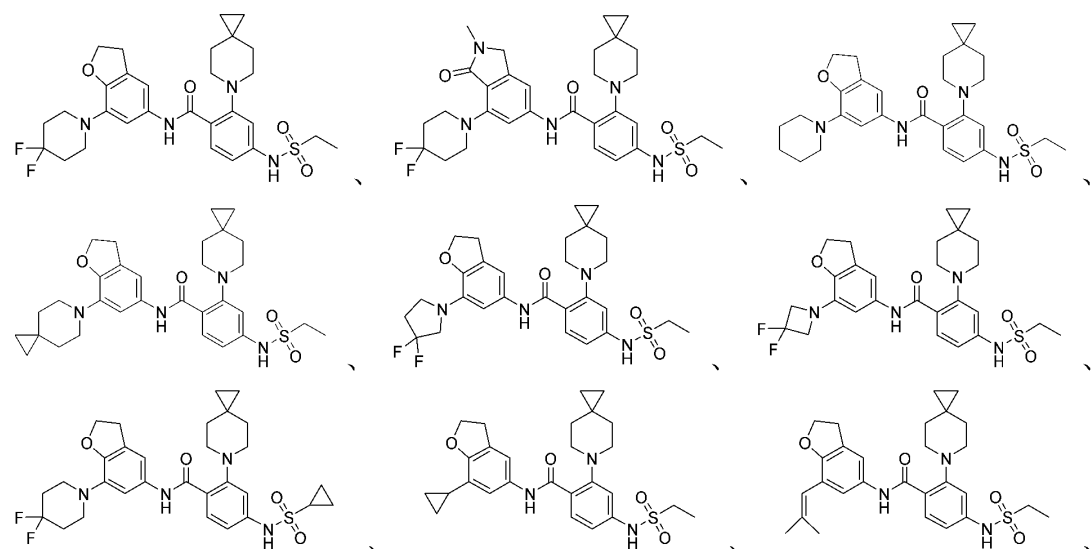


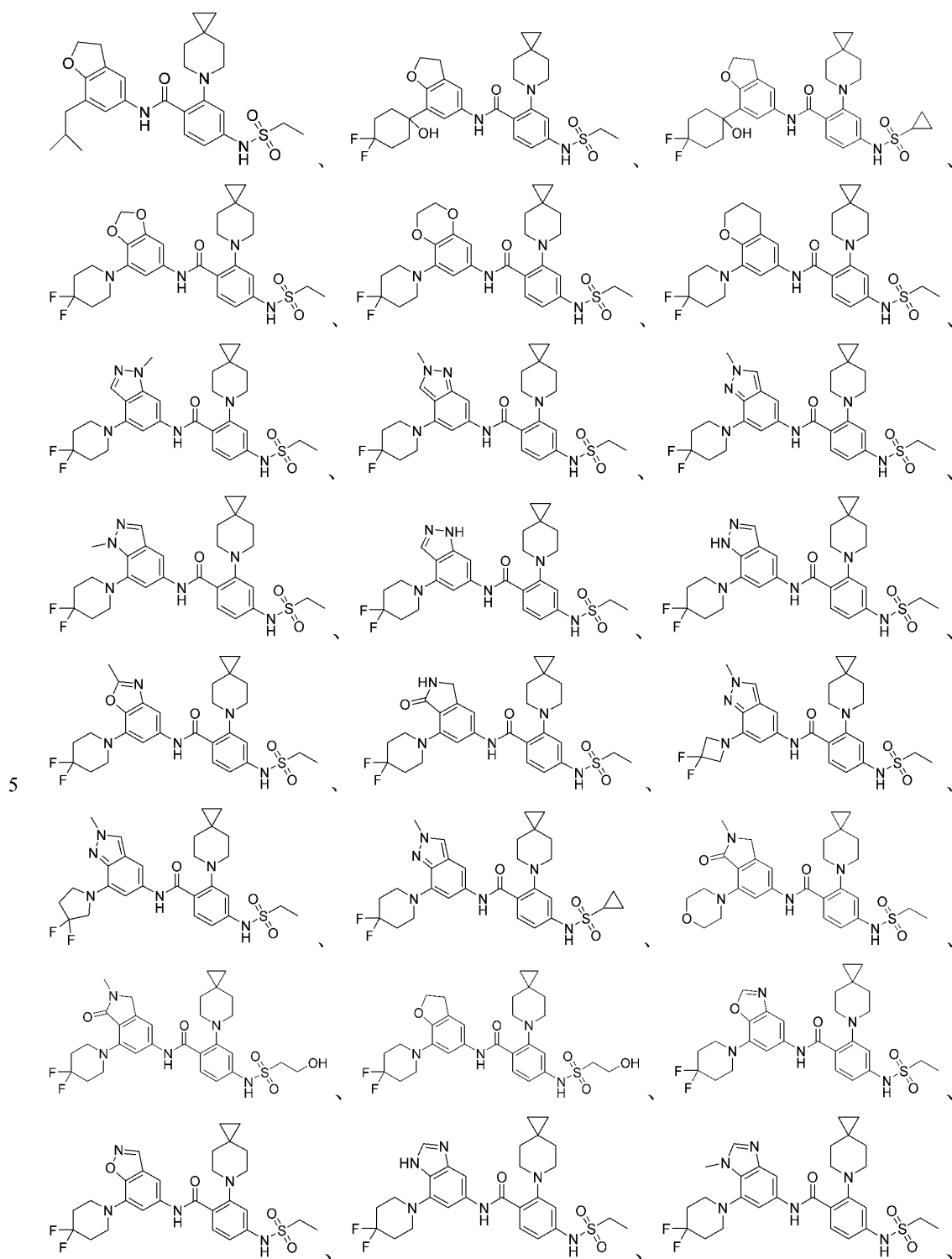
10

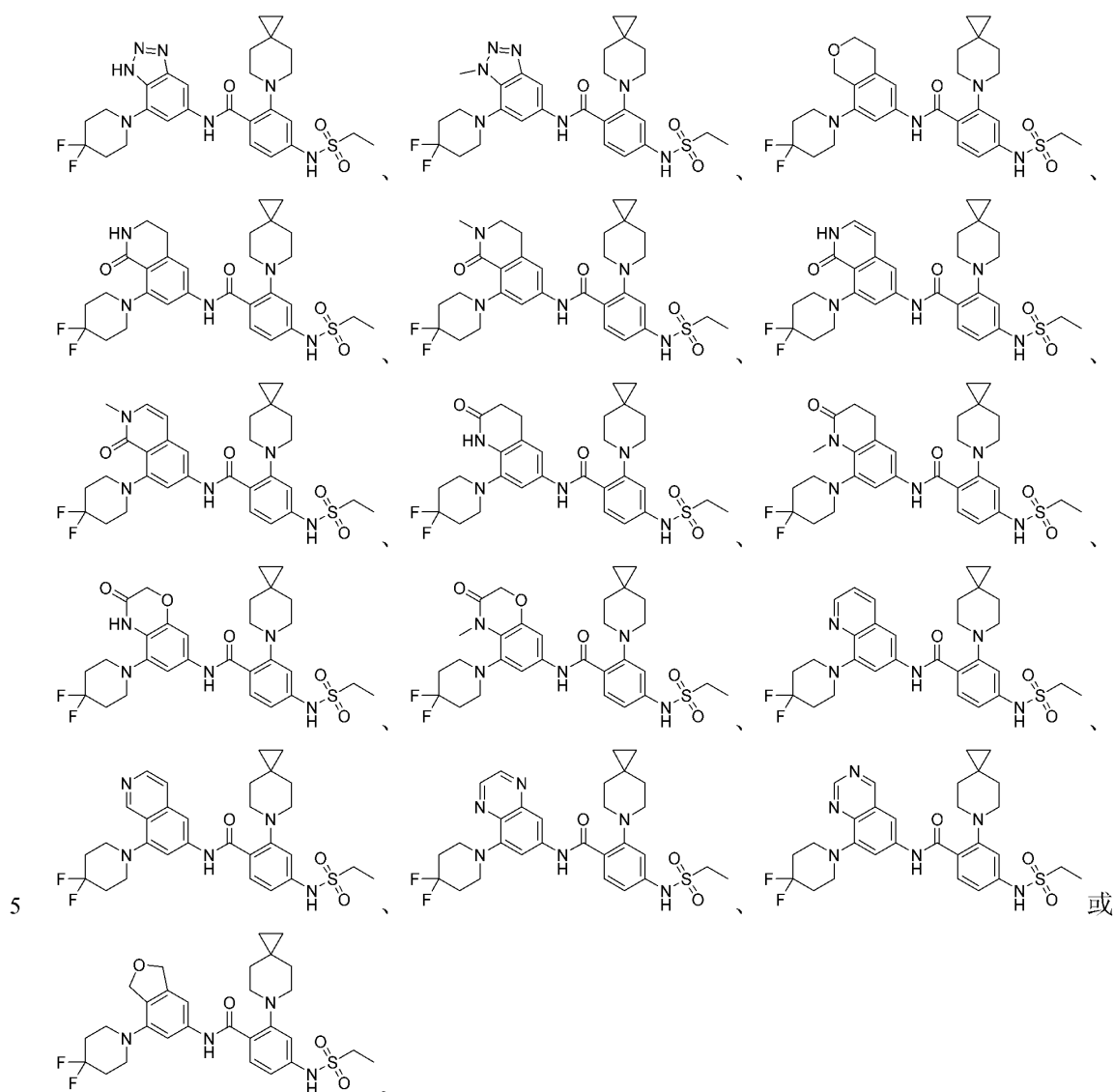
15. 根据权利要求1或2所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，



16. 根据权利要求1~15中任一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐，其中所述的化合物为：







17. 一种药物组合物, 所述的药物组合物含有有效剂量的根据权利要求 1~16 中任何一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐, 及可药用的载体、赋形剂或它们的组合。
- 10 18. 根据权利要求 1~16 中任何一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐, 或根据权利要求 17 所述的药物组合物在制备 KIF18A 抑制剂中的用途。
19. 根据权利要求 1~16 中任何一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可药用的盐, 或根据权利要求 17 所述的药物组合物在制备治疗由 KIF18A 介导的疾病的药物中的用途, 其中所述的由 KIF18A 介导的疾病优选为癌症。

20. 根据权利要求 19 所述的用途，其中所述的癌症选自肝细胞癌、胶质母细胞瘤、结肠癌、乳腺癌、肺癌、胆管癌、胰腺癌、前列腺癌、膀胱癌、头癌、颈癌、子宫颈癌、卵巢癌、滑膜肉瘤、横纹肌肉瘤、大肠癌或肺腺癌。

21. 根据权利要求 1~16 中任何一项所述的化合物或其立体异构体、互变异构体或其可
5 药用的盐，或根据权利要求 17 所述的药物组合物在制备治疗癌症的药物中的用途。

22. 根据权利要求 21 所述的用途，其中所述的癌症选自肝细胞癌、胶质母细胞瘤、结肠癌、乳腺癌、肺癌、胆管癌、胰腺癌、前列腺癌、膀胱癌、头癌、颈癌、子宫颈癌、卵巢癌、滑膜肉瘤、横纹肌肉瘤、大肠癌或肺腺癌。