

作为 MNK 抑制剂的吡咯并三嗪类化合物

本申请主张如下优先权：

CN201911129114.5，申请日 2019 年 11 月 18 日。

CN202010329964.6，申请日 2020 年 04 月 24 日。

技术领域

本发明涉及一类作为有丝分裂原激活的蛋白激酶作用激酶（MNK）抑制剂的吡咯并三嗪类化合物，其药物组合物以及它们在制备有丝分裂原激活的蛋白激酶作用激酶抑制剂药物中的应用。具体涉及式 (I) 所示化合物或其药学上可接受的盐。

背景技术

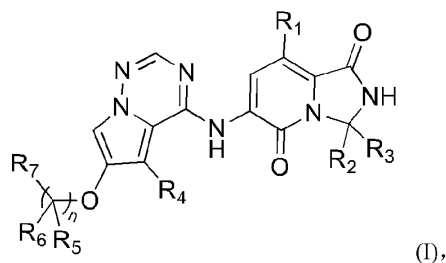
有丝分裂原激活的蛋白激酶作用激酶（MAP kinase interacting kinase, 简称 MNK），属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。人类的 MNK 有四种亚型，MNK1a, MNK1b 和 MNK2a, MNK2b，分别由 MNK1 和 MNK2 基因表达。4 中亚型在 N 端都含有细胞核定位信号序列（nuclear localization signal, NLS）和与 eIF4G 结合的序列，是其可以进入细胞核发挥作用，识别并结合下游 eIF4E。MNK1a 和 MNK2a 亚型 C 端具有与 MAPK 结合位点，可以被上游 ERK 和 p38 磷酸化激活。MNK1a 的 C 端的细胞核转出信号序列（nuclear export signal, NES）使其可以广泛存在于细胞质中，而其他 3 个亚型多数存在于细胞核中。

真核细胞翻译起始因子 4E（eukaryotic initiation factor 4E，简称 eIF4E）是一种帽结合蛋白，可以特异性地识别 mRNA 的 5' 端的帽子结构，是蛋白质翻译过程重要的起始因子。S209 磷酸化的 eIF4E 可以促进下游蛋白质的翻译过程，主要包括 c-MYC, cyclin D1, VEGF, FGF 以及 mcl-1 和 Bcl-2 等抗凋亡蛋白。eIF4E 在肺癌、结直肠癌、胃癌、胰腺导管癌等多种恶性肿瘤中表达上调。MNK 是已知的唯一的可磷酸化 eIF4E 的激酶。此外，MNK 处于多个涉及肿瘤和免疫信号通路的交汇处，如 RAS 和 T 细胞受体（TCR），可以选择性的控制抗肿瘤免疫反应的调节器的转录。MNK 活性以及 eIF4E 的活化对肿瘤的发生和发展至关重要，但对正常的细胞并不是必须的。因此选择性的 MNK 抑制剂有望成为低毒性的抗肿瘤药物。

EFT508（WO2015/200481；WO2016/172010；WO2017/075394；WO2017/075412；WO2017/087808；WO2017/117052；WO2018/152117；WO2018/218038）是 EFFECTOR THERAPEUTICS, INC. 公司开发的选择性的口服 MNK 抑制剂。研究表明，eFT508 可以选择性的抑制 PD-1, LAG3, IL-10 的表达，提高细胞毒性 T 细胞的功能，同时正常 T 细胞的增殖不受影响。临床前的研究发现，eFT508 与 PD-1 单抗联用可以增强药效并提高响应率。目前已完成 I 期临床试验，安全性良好，目前单药用于血液瘤和趋势性前列腺癌均处于临床 II 期研究中，与 Avelumab 单抗联用于微卫星稳定型结直肠癌（MSS CRC）的治疗处于临床 II 期研究中，与 PD-1/PD-L1 疗法联用（对单一 PD-1/PD-L1 疗法已产生疾病进展或无完全缓解或部分缓解的病人）用于实体瘤的治疗处于临床 II 期研究中。

发明内容

一方面, 本发明提供了式 (I) 所示化合物或其药学上可接受的盐,



其中, R₁为H、F、Cl、Br或C₁₋₃烷基;

R₂ 和 R₃ 各自独立地为 H 或 C₁₋₃ 烷基，其中所述 C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个独立选自 F、Cl、Br 或 I 的取代基所取代；

或 R₂ 和 R₃ 与它们相连的碳原子连接在一起形成环戊基、环己基或哌啶基，其中所述环戊基、环己基和哌啶基任选被 1、2 或 3 个 R_a 所取代；

各 R_a 独立地为 H、F、Cl、Br 或 C₁₋₃ 烷基；

R₄为H、F、Cl、Br或C₁₋₃烷基;

R₅ 和 R₆ 各自独立地为 H、F、Cl、Br、I 或 C₁₋₃ 烷基;

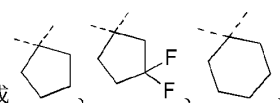
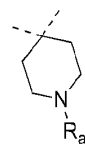
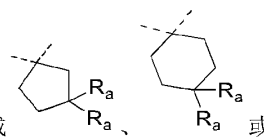
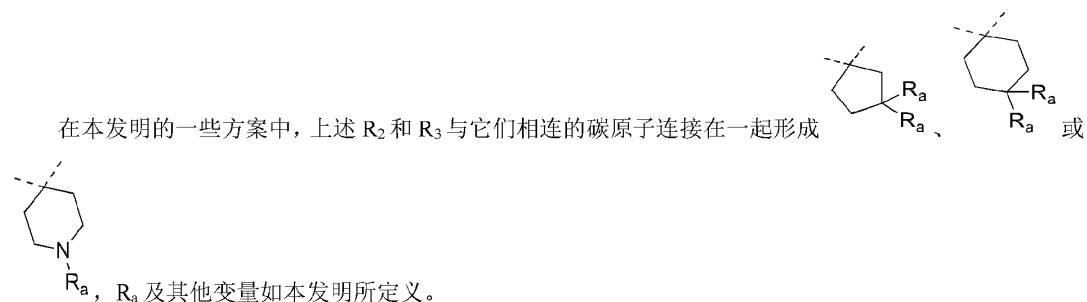
R₇为吡咯烷基，其中所述吡咯烷基任选被1、2或3个R_b所取代；

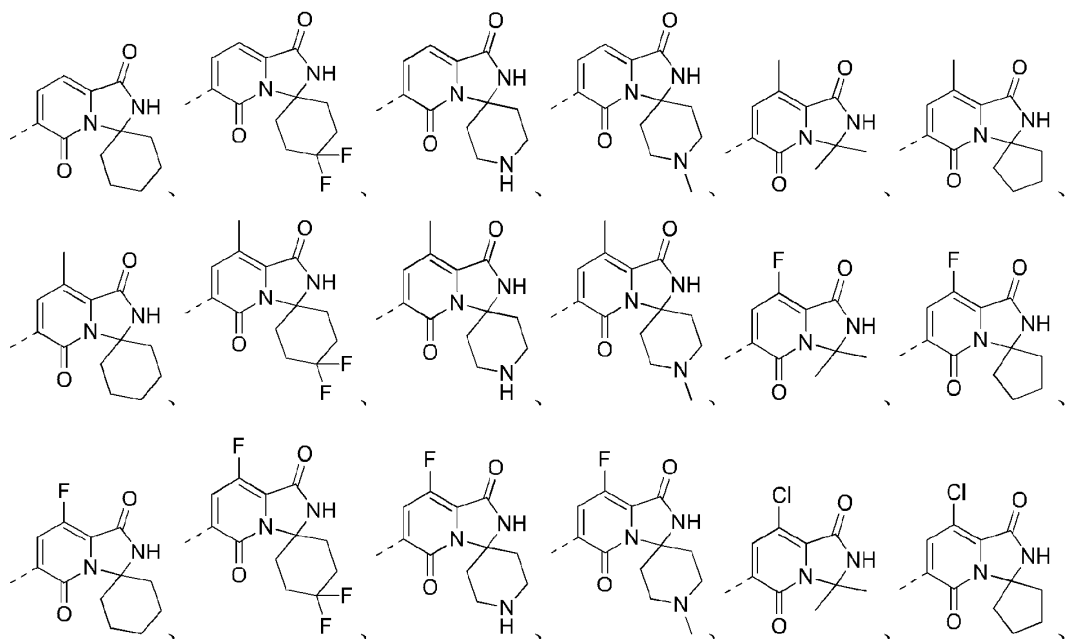
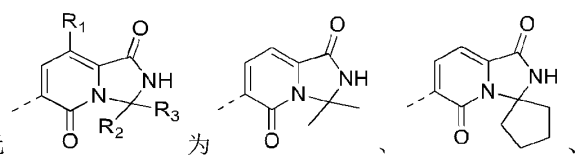
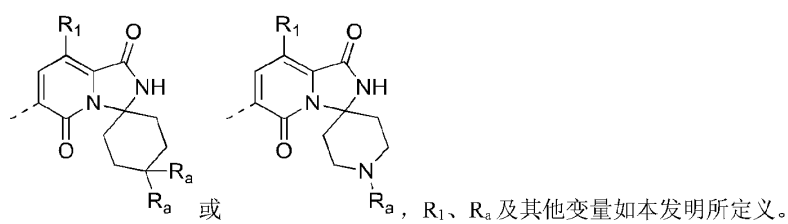
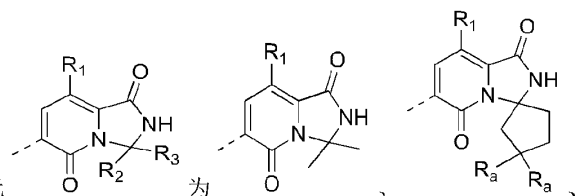
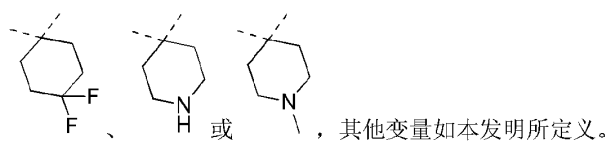
各 R₆ 独立地为 H、F、Cl、Br、I 或 C₁₋₃ 烷基，其中所述 C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个独立选自 F、Cl、Br 或 I 的取代基所取代；

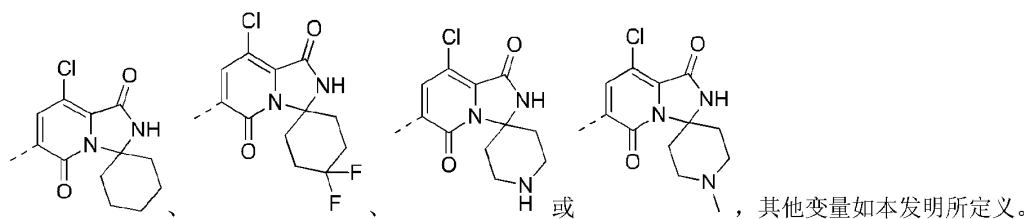
n 为 1 或 2。

在本发明的一些方案中，上述各 R_a 独立地为 H、F、Cl、Br、 $-CH_3$ 或 $-CH_2CH_3$ ，其他变量如本发明所定义。

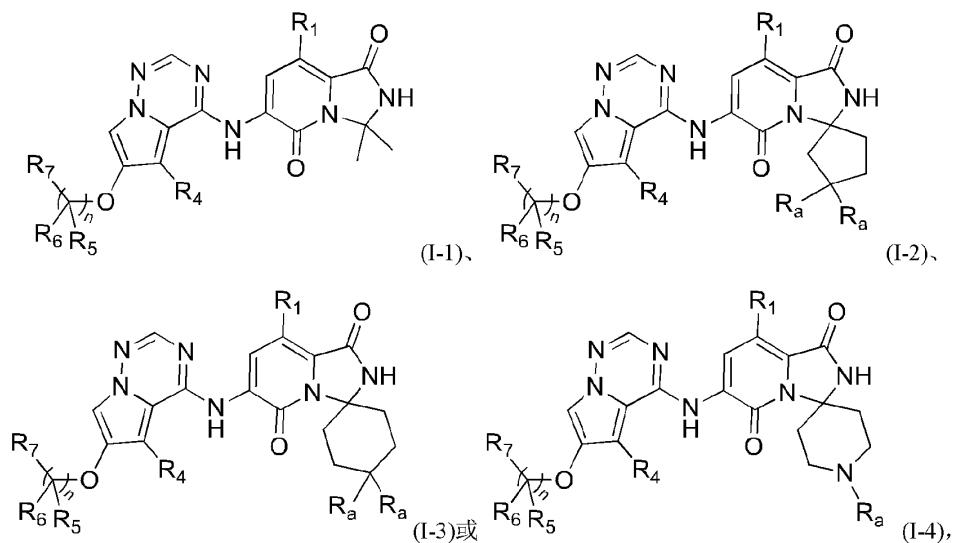
在本发明的一些方案中, 上述 R_2 和 R_3 各自独立地为 H、 $-CH_3$ 或 $-CH_2CH_3$, 其他变量如本发明所定义。







在本发明的一些方案中，上述化合物具有式 (I-1)~(I-4) 任一结构式所示结构：



其中， R_1 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_a 和 n 如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述各 R_b 独立地 H、F、Cl、Br、I、、 或 ，其他变量如本发明所定义。

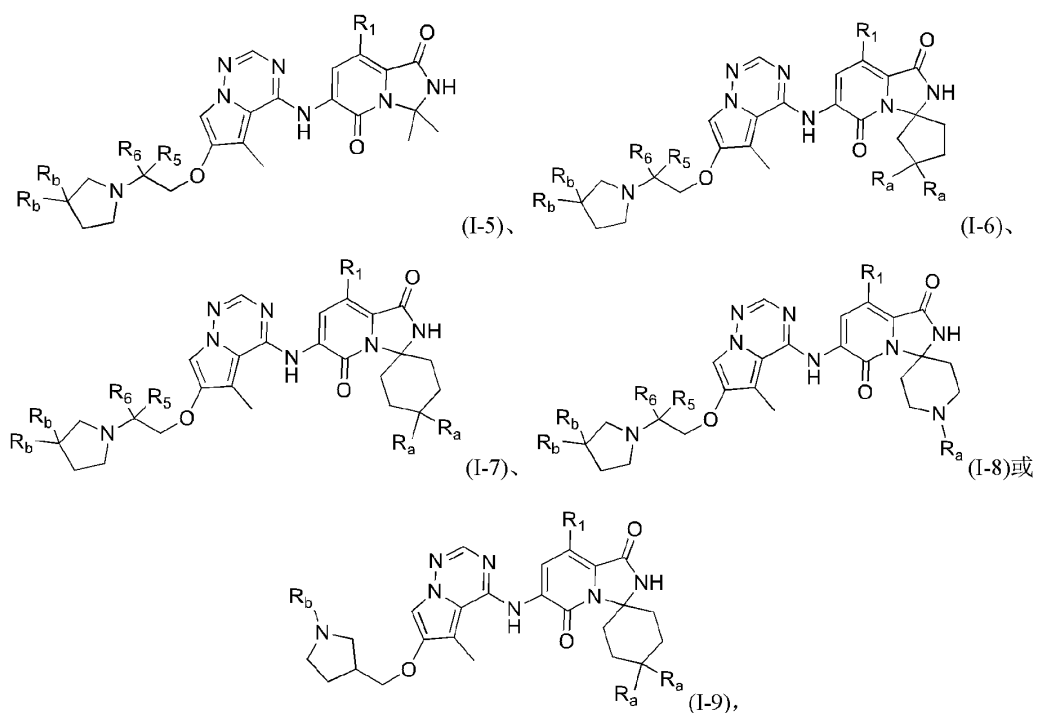
在本发明的一些方案中，上述 R_7 为  或 ，其中所述  和  任选被 1 或 2 个 R_b 所取代， R_b 及其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 R_7 为  或 ， R_b 及其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 R_7 为 、、 或 ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 R_4 为 H 或 -CH₃，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述化合物具有式 (I-5)~ 式 (I-9) 任一结构式所示结构：



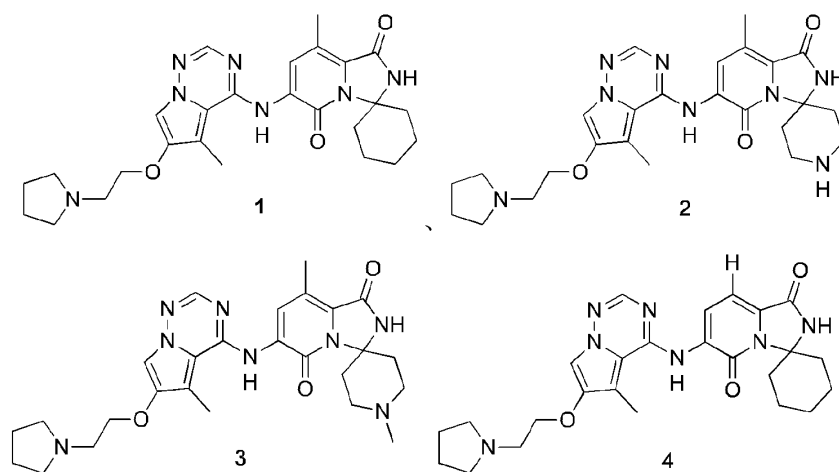
其中， R_1 、 R_5 、 R_6 、 R_a 和 R_b 如本发明所定义。

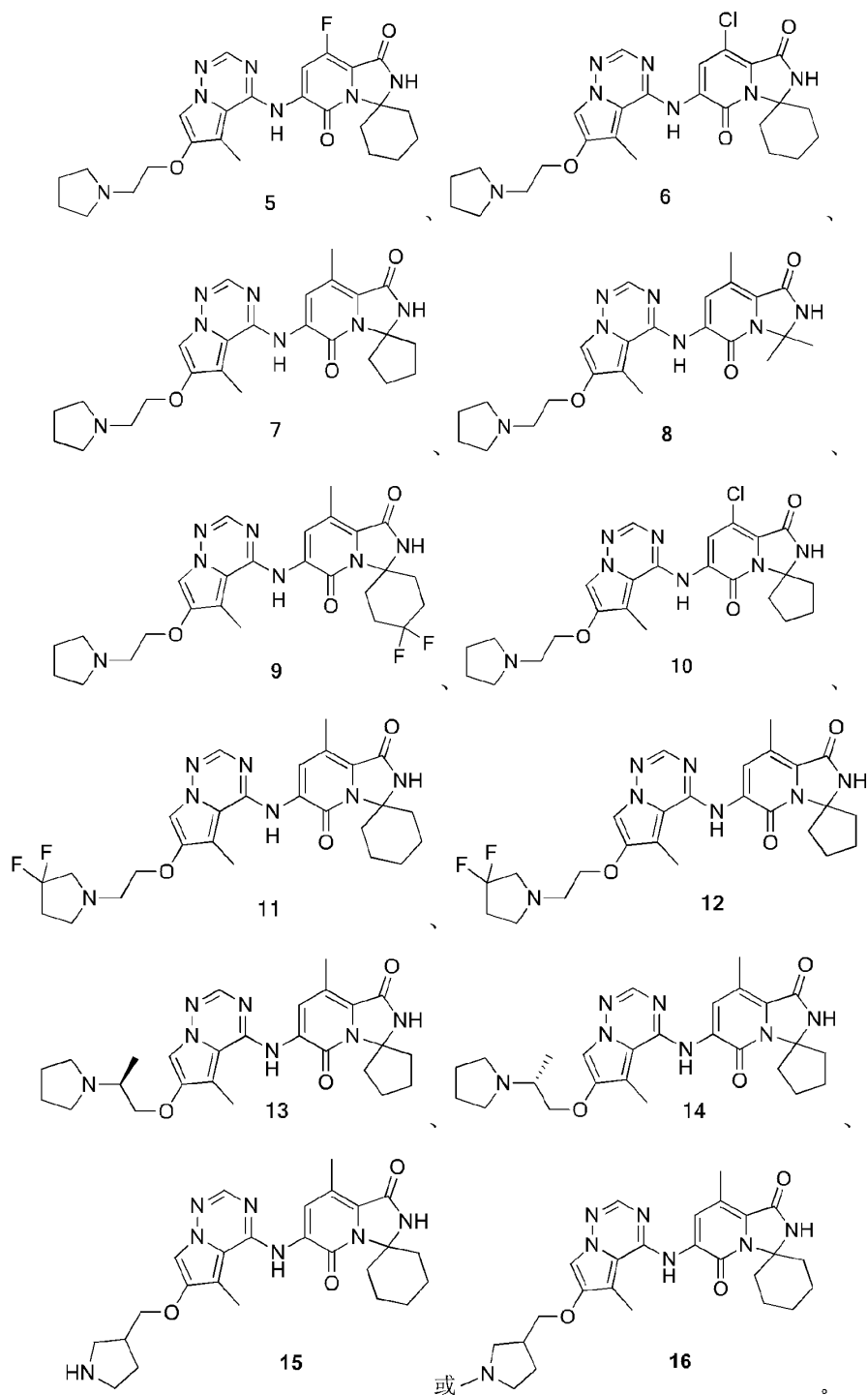
在本发明的一些方案中，上述 R_1 为 H、F、Cl 或 ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 R_5 和 R_6 各自独立地为 H 或 ，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。

在本发明的一些方案中，上述化合物为下式化合物：





在本发明的一些方案中，上述药学上可接受的盐为盐酸盐或三氟乙酸盐。

本发明还提供了上述化合物及其药学上可接受的盐在制备 MNK1/2 抑制剂药物中的应用。

本发明还提供了上述化合物及其药学上可接受的盐在制备治疗结直肠癌药物中的应用。

技术效果

本发明化合物对 MNK1/2 具有很高的选择性，且对该激酶具有显著的抑制活性，同时具有较好的透膜性和溶解性，且具有优良的药代动力学和药效学性质。

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、过敏反应或其它问题或并发症，与合理的利益/风险比相称。

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

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，相比于未氘化药物，氘代药物有降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本发明的化合

物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本发明的范围之内。“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。

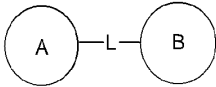
术语“被取代的”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代，可以包括重氢和氢的变体，只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为氧（即=O）时，意味着两个氢原子被取代。氧取代不会发生在芳香基上。术语“任选被取代的”是指可以被取代，也可以不被取代，除非另有规定，取代基的种类和数目在化学上可以实现的基础上可以是任意的。

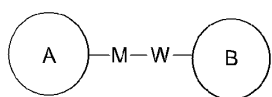
当任何变量（例如 R）在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立的。因此，例如，如果一个基团被 0-2 个 R 所取代，则所述基团可以任选地至多被两个 R 所取代，并且每种情况下的 R 都有独立的选项。此外，取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

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。

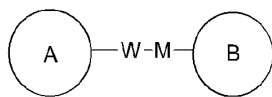
当其中一个变量选自单键时，表示其连接的两个基团直接相连，比如 A-L-Z 中 L 代表单键时表示该结构实际上是 A-Z。

当一个取代基为空缺时，表示该取代基是不存在的，比如 A-X 中 X 为空缺时表示该结构实际上是 A。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



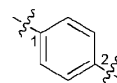
，也可以按照与从左往右的读取顺序相反的方向连接环 A 和环 B 构成



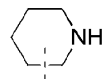
。所述连接基团、取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

除非另有规定，当某一基团具有一个或多个可连接位点时，该基团的任意一个或多个位点可以通过化学键与其他基团相连。所述位点与其他基团连接的化学键可以用直形实线键（）、直形虚线键（）、或波浪线（）表示。例如-OCH₃ 中的直形实线键表示通过该基团中的氧原子与其他基团相连；

中的直形虚线键表示通过该基团中的氮原子的两端与其他基团相连；

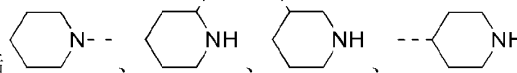


基基团中的 1 和 2 位碳原子与其他基团相连；



表示该哌啶基上的任意可连接位点可以通过 1 个

化学键与其他基团相连，包括



这 4 种连接方式，即使-

N-上画出了 H 原子，但仍表示该位点的-N-可以通过化合键与其他基团相连。

除非另有规定，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 个原子的“环”。

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

除非另有规定，本发明术语“C₆₋₁₀ 芳环”和“C₆₋₁₀ 芳基”可以互换使用，术语“C₆₋₁₀ 芳环”或“C₆₋₁₀ 芳基”表示由 6 至 10 个碳原子组成的具有共轭 π 电子体系的环状碳氢基团，它可以是单环、稠合双环或稠合三环体系，其中各个环均为芳香性的。其可以是一价、二价或者多价，C₆₋₁₀ 芳基包括 C₆₋₉、C₉、C₁₀ 和 C₆ 芳基等。C₆₋₁₀ 芳基的实例包括但不限于苯基、萘基（包括 1-萘基和 2-萘基等）。

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

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

本发明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。无需进一步纯化即可使用。反应一般是在惰性氮气下、无水溶剂中进行的。

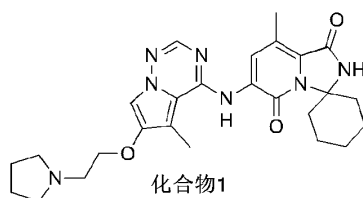
本发明采用下述缩略词:MeOH- d_4 代表氘代甲醇;CDCl₃代表氘代氯仿;DMSO- d_6 代表氘代二甲基亚砜;D₂O代表氘代水;Piv代表特戊酰基;DBU代表1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯。

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

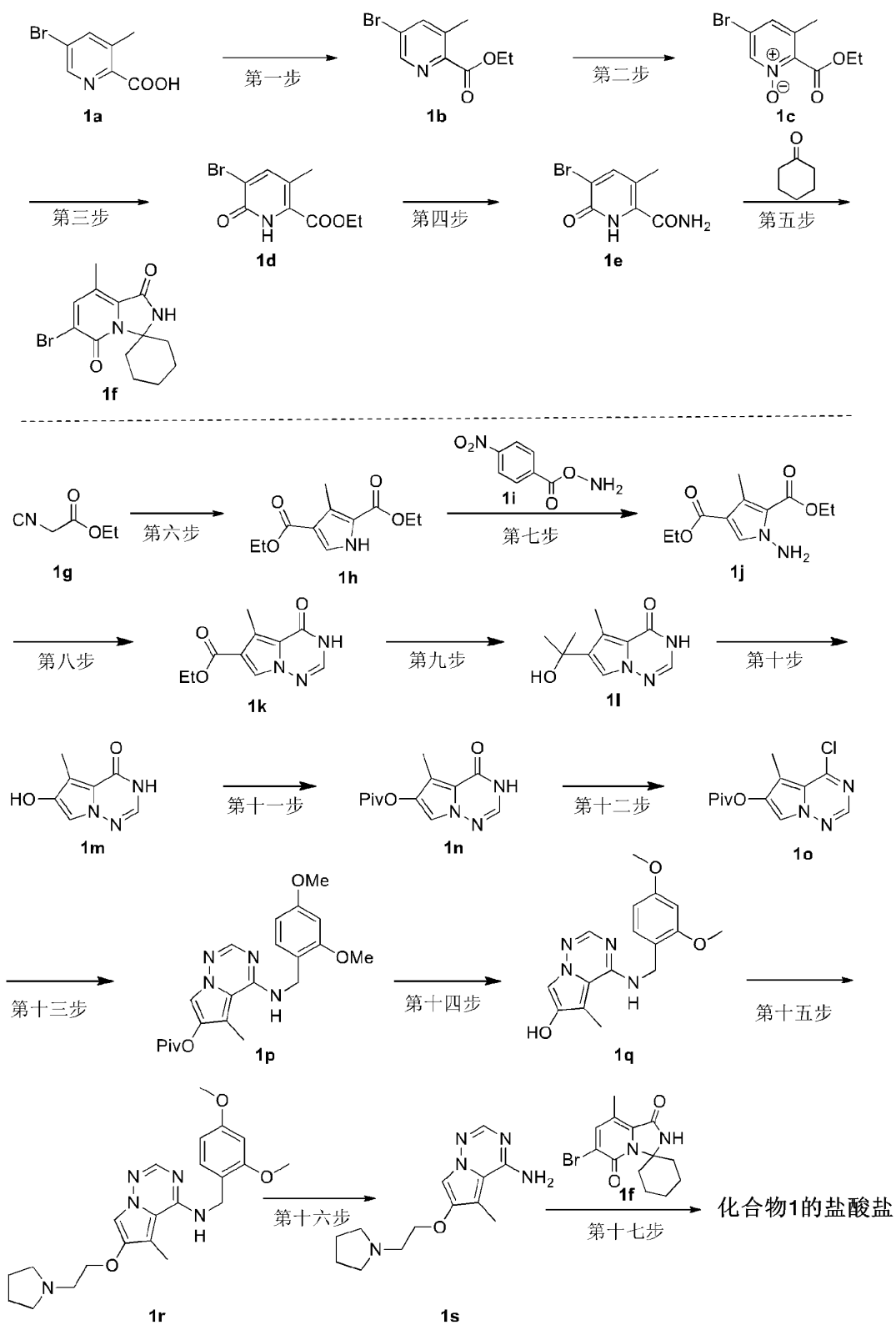
具体实施方式

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将是显而易见的。本发明化合物的盐酸盐或三氟乙酸盐,加入饱和碳酸氢钠溶液调节pH到中性,经过高效液相色谱法分离(中性,碳酸氢铵体系)得到化合物的游离碱。

实施例 1



合成路线:



第一步

将化合物 **1a** (100 g, 462 mmol) 溶于乙醇 (500 mL) 中, 在 0 °C 下滴加浓硫酸 (49.94 g, 509 mmol, 纯度: 98%), 反应液在 95 °C 下搅拌 16 小时。反应完成后, 反应液减压浓缩除掉大部分乙醇, 浓缩液加入水 (300 mL), 用乙酸乙酯 (250 mL × 3) 萃取, 合并的有机相用饱和碳酸氢钠 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到化合物 **1b**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.60 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 4.48-4.42 (m, 2H), 2.58 (s, 3H), 1.43 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

第二步

将化合物 **1b** (10.0 g, 41.0 mmol) 溶于二氯甲烷 (200 mL) 中, 在 0 °C 下搅拌加入三氟乙酸酐 (17.2 g, 81.9 mmol) 和过氧化氢尿素 (8.09 g, 86.0 mmol), 反应液升至 25 °C 下搅拌 16 小时。向反应液中加入水 (200 mL), 用二氯甲烷 (100 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 依次用饱和碳酸氢钠 (200 mL × 2) 和饱和食盐水 (500 mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到化合物 **1c**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.23 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 4.52-4.45 (m, 2H), 2.29 (s, 3H), 1.41 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

第三步

将化合物 **1c** (22.0 g, 84.6 mmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (130 mL) 中, 在 0 °C 下搅拌加入三氟乙酸酐 (35.5 g, 169 mmol), 反应液在 50 °C 下搅拌 1 小时。向反应液中加入水 (200 mL), 用乙酸乙酯 (100 mL × 4) 萃取, 合并有机相, 依次用饱和碳酸氢钠 (200 mL × 3) 和饱和食盐水 (150 mL × 3) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗品在石油醚/乙酸乙酯混合液 (8/1, 90 mL) 中室温下搅拌 2 h, 过滤得到化合物 **1d**。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.89 (br s, 1H), 7.75 (s, 1H), 4.46-4.41 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 1.43 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

第四步

将化合物 **1d** (2.00 g, 7.69 mmol) 溶于乙醇 (20 mL) 中, 加入氨水 (16.2 g, 115 mmol, 纯度: 25%), 反应液在 40 °C 下搅拌 16 小时。反应液减压浓缩, 粗品在甲醇/二氯甲烷混合液 (1/5, 48 mL) 中室温下搅拌过夜。然后过滤, 用二氯甲烷 (5 mL × 2) 洗涤, 滤饼减压浓缩得到化合物 **1e**。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 231 和 233, 实测值 231 和 233。

第五步

将化合物 **1e** (37.0 g, 67.3 mmol) 和环己酮 (26.4 g, 269 mmol) 溶于二氧六环 (400 mL) 中, 搅拌下滴加浓硫酸 (3.30 g, 33.6 mmol, 纯度: 98%), 反应液在 95 °C 下搅拌 3 小时。反应液减压浓缩, 粗品在乙酸乙酯 (100 mL) 中室温下搅拌 3 小时, 过滤, 将滤饼在饱和碳酸氢钠溶液 (350 mL) 中室温下搅拌 1 小时, 过滤, 滤饼减压干燥得到化合物 **1f**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 311 和 313, 实测值 311 和 313。

第六步

将化合物 **1g** (50 g, 0.442 mol), 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯 (DBU, 67.3 g, 0.442 mol) 溶于四氢呋

喃 (500 mL) 中。将反应液加热至55 °C, 在此温度下, 向反应液中加入乙醛 (9.74 g, 0.221 mol)。反应液在55 °C下搅拌18小时。将反应液降至22 °C, 用乙酸 (25 mL) 淬灭。反应液减压浓缩, 剩余物溶于乙酸乙酯 (1000 mL) 和稀盐酸 (1000 mL, 1 M), 分液后保留有机相, 水相用乙酸乙酯萃取 (300 mL × 3), 合并有机相, 有机相依次用饱和碳酸氢钠溶液 (100 mL) 和食盐水 (200 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 粗产物经过柱层析法分离 (4/1, 石油醚/乙酸乙酯, Rf = 0.56) 得到化合物**1h**。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 226, 实测值226。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.29 (br s, 1H), 7.48 (d, J=3.2 Hz, 1H), 4.35 (q, J=7.2 Hz, 2H), 4.29 (q, J=7.2 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.38 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.35 (m, J=7.2 Hz, 3H)。

第七步

将化合物**1h** (11.0 g, 48.8 mmol) 溶于*N*-甲基吡咯烷酮 (60 mL) 中, 向反应液中加入叔丁醇钾 (6.03 g, 53.7 mmol)。反应液在25 °C下搅拌0.5小时后, 加入化合物**1i** (9.78 g, 53.7 mmol) 的*N*-甲基吡咯烷酮 (30 mL) 溶液。反应液继续搅拌20小时。将反应液用水 (200 mL) 洗涤, 乙酸乙酯萃取 (200 mL × 3), 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (20 mL × 3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 粗产物经过柱层析法分离 (4/1, 石油醚/乙酸乙酯, Rf = 0.55) 得到化合物**1j**。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 241, 实测值241。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.49 (s, 1H), 4.35 (q, J=7.2 Hz, 2H), 4.27 (q, J=7.2 Hz, 2H), 2.57 (s, 3H), 1.40 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.34 (t, J=7.2 Hz, 3H)。

第八步

将化合物**1j** (10.2 g, 42.5 mmol) 溶于甲酰胺 (120 mL), 向反应液中加入磷酸 (832 mg, 8.49 mmol)。反应液在125 °C下搅拌16小时。将反应液降至22 °C, 此时有大量白色固体析出。将混合物过滤, 收集的滤饼加入到石油醚/乙酸乙酯混合溶液 (1/1, 100 mL) 中, 混合物在30 °C下搅拌0.5小时, 过滤得化合物**1k**。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 222, 实测值222。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.90 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 4.23 (q, J=7.2 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.28 (t, J=7.2 Hz, 3H)。

第九步

将化合物**1k** (4.00 g, 18.0 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (50 mL) 中。在25 °C下, 向反应液滴加甲基溴化镁 (30.1 mL, 90.3 mmol), 滴加完毕, 反应升温至25 °C, 搅拌15小时。反应液用饱和氯化铵溶液 (100 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (50 mL × 5) 萃取, 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (10 mL × 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 粗产物经过薄层色谱层析法分离 (2/1, 石油醚/乙酸乙酯, Rf = 0.39) 得到化合物**1l**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 208, 实测值208。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.30 (br s, 1H), 7.24 (br s, 1H), 2.59 (s, 3H), 1.54 (s, 6H)。

第十步

将化合物**1l** (1.00 g, 4.83 mmol), 双氧水 (4.64 mL, 48.26 mmol, 含量: 30%) 溶于无水四氢呋喃 (30 mL) 中。在0 °C下, 向反应液滴加冷的甲磺酸 (3.44 mL, 48.26 mmol) 的水 (10 mL) 溶液。反应液在0 °C, 搅

拌1小时。反应液用10%亚硫酸钠水溶液 (15 mL) 淬灭, 直至淀粉碘化钾试纸显示阴性。溶液用乙酸乙酯 (50 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (10 mL × 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 粗产物经过柱层析色谱法分离 (2/1, 石油醚/乙酸乙酯, $R_f = 0.38$) 得到化合物**1m**。

MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 166, 实测值166。

第十一步

将化合物**1m** (400 mg, 2.42 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (10 mL), 向反应液中加入三乙胺 (0.674 mL, 4.84 mmol), 特戊酰氯 (350 mg, 4.84 mmol)。反应液在0 °C下搅拌1小时, 反应液用水 (10 mL) 洗涤, 乙酸乙酯萃取 (10 mL × 5), 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (10 mL × 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 粗产物经过薄层色谱层析法分离 (2/1, 石油醚/乙酸乙酯, $R_f = 0.63$) 得到化合物**1n**。

MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 250, 实测值250。¹H NMR (400 MHz, MeOH-*d*₄) 7.61 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.38 (s, 9H)。

第十二步

将化合物**1n** (450 mg, 1.81 mmol) 溶于三氯氧磷 (8.85 mL) 中。反应液在100 °C下搅拌1小时。将反应液降至室温, 倒入饱和碳酸氢铵溶液 (300 mL) 中。混合物用二氯甲烷萃取 (50 mL × 3), 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (20 mL × 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到化合物**1o**。

MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 268, 实测值 268。

第十三步

将化合物**1o** (2.00 g, 7.47 mmol), 2,4-二甲氧基苄胺 (1.87 g, 11.21 mmol), 三乙胺 (2.27 g, 22.4 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (30 mL) 中。反应液在70 °C下搅拌1小时。反应液减压浓缩得到粗品化合物**1p**。

MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 399, 实测值399。

第十四步

将化合物**1p** (3.50 g, 8.78 mmol) 溶于甲醇 (3 mL) 和四氢呋喃 (20 mL) 中, 向反应液中加入氢氧化钠 (703 mg, 17.6 mmol) 的水 (20 mL) 溶液。反应液在25 °C下搅拌0.5小时。反应液浓缩除去有机溶剂, 水相用稀盐酸水溶液 (1 M) 调节至pH=7, 混合物用二氯甲烷萃取 (50 mL × 3), 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (10 mL × 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 粗产物经过柱层析法分离 (2/1, 石油醚/乙酸乙酯, $R_f = 0.32$) 得到化合物**1q**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 315, 实测值315。¹H NMR (400MHz, MeOH-*d*₄) δ 7.67 (s, 1H), 7.21 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.56 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.47 (dd, $J=2.4, 8.4$ Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 2.36 (s, 3H)。

第十五步

将化合物**1q** (350 mg, 1.11 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 加入氢氧化钠 (89.1 mg, 2.23 mmol) 和1-(2-溴乙基)吡咯烷(238 mg, 1.34 mmol)。反应液在50 °C下搅拌2.5小时。反应液加入水 (10 mL),

乙酸乙酯 (20 mL × 4) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL × 3) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 剩余物经柱层析法 (10/1, 二氯甲烷/甲醇, Rf = 0.28) 分离得到化合物**1r**。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 412, 实测值412。

第十六步

将化合物**1r** (190 mg, 462 μmol) 加入三氟乙酸 (5 mL) 中, 反应液在100 °C下搅拌24小时。反应液直接减压浓缩。剩余物经高效液相色谱法 (三氟乙酸条件) 纯化得到化合物**1s**的三氟乙酸盐。

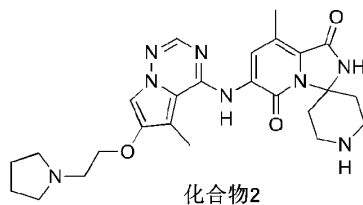
MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 262, 实测值262。

第十七步

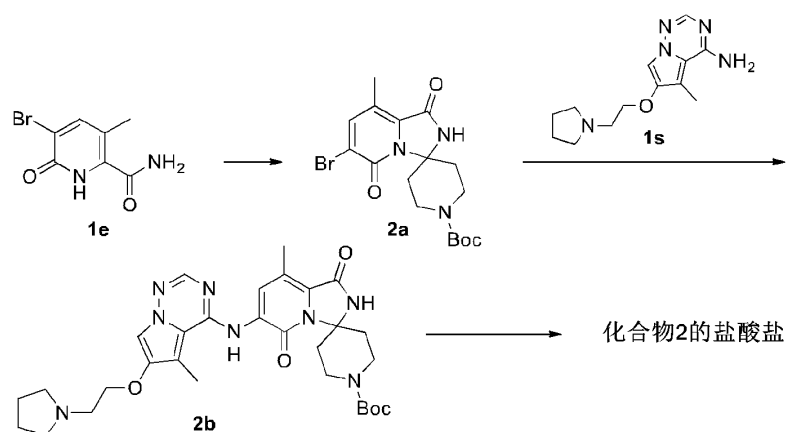
向化合物**1s**的三氟乙酸盐 (100 mg, 0.266 mmol) 的无水二氧六环 (5 mL) 溶液中加入**1f** (91.2 mg, 0.293 mmol), 甲烷磺酸(2-二环己基磷)-3,6-二甲氧基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钯(II) (24.2 mg, 26.6 μmol) 和碳酸铯 (217 mg, 0.666 mmol)。反应液用氮气置换三次, 在95 °C下搅拌16小时。反应液降至室温, 减压浓缩, 剩余物经过高效液相色谱法 (盐酸条件) 纯化得化合物**1**的盐酸盐。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 492, 实测值492。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.23 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 4.35-4.34 (m, 2H), 3.62-3.61 (m, 4H), 3.22-3.13 (m, 6H), 2.97-2.93 (m, 2H), 2.04-1.91 (m, 4H), 1.75-1.67 (m, 6H), 1.51-1.48 (m, 2H), 1.29-1.23 (m, 2H)。

实施例 2



合成路线:



将化合物**1e** (500 mg, 2.16 mmol) 和*N*-叔丁氧羰基-4-哌啶酮 (1.72 g, 8.66 mmol) 溶于二氧六环 (10 mL) 中, 搅拌下滴加浓硫酸 (106 mg, 1.08 mmol, 纯度: 98%), 反应液在95 °C下搅拌16小时。反应液减压浓缩, 粗品在乙酸乙酯 (20 mL) 中室温下搅拌1小时, 过滤, 减压浓缩得到化合物**2a**。

MS-ESI 计算值[M+Na]⁺ 434和436, 实测值434和436。

第二步

将化合物**1s**三氟乙酸盐 (100 mg, 266 μmol) 溶于无水二氧六环 (5 mL) 中, 加入化合物**2a** (157 mg, 293 μmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯 (24.4 mg, 26.6 μmol), 4,5-双(二苯基磷)-9,9-二甲基氧杂蒽 (30.8 mg, 53.3 μmol) 和碳酸铯 (304 mg, 0.932 mmol), 置换氮气三次, 反应液在110 °C搅拌16小时。反应液直接减压浓缩, 剩余物经柱层析分离 (10/1, 二氯甲烷/甲醇, R_f=0.35) 纯化, 洗脱剂浓缩后得到化合物**2b**。

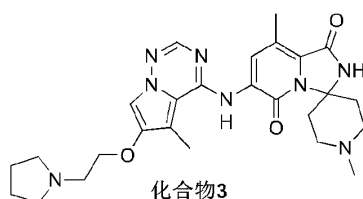
MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 593, 实测值593。

第三步

将化合物**2b** (150 mg, 132 μmol) 溶于三氟乙酸 (2 mL), 在25 °C搅拌1小时, 反应液直接减压浓缩, 剩余物经过高效液相色谱法 (盐酸条件) 纯化得化合物**2**的盐酸盐。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 493, 实测值493。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.09 (s, 1H), 10.55 (s, 1H), 9.60 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 4.40-4.38 (m, 2H), 3.60-3.59 (m, 4H), 3.47-3.37 (m, 4H), 3.28-3.25 (m, 2H), 3.12-3.08 (m, 2H), 2.53-2.52 (m, 6H), 2.02-1.89 (m, 4H), 1.84-1.81 (m, 2H)。

实施例 3



合成路线:

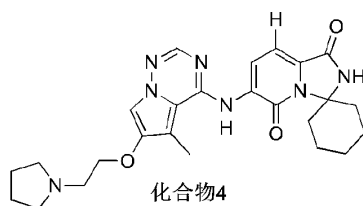


第一步

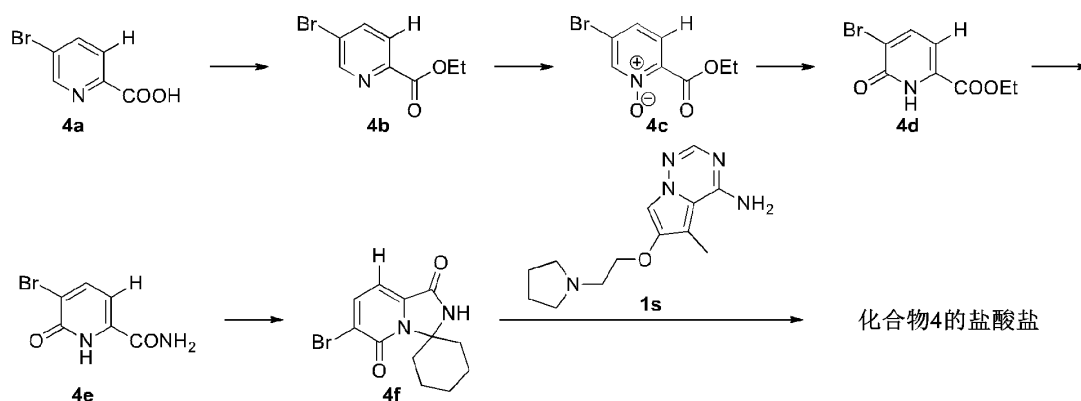
将化合物**2**的盐酸盐 (40.0 mg, 75.6 μmol) 溶于甲醇 (2 mL) 和二氯甲烷 (2 mL) 中, 随后加入甲醛水溶液 (18.4 mg, 0.226 mmol, 纯度: 37%), 乙酸 (7.72 mg, 0.128 mmol) 和醋酸硼氢化钠 (64.1 mg, 0.302 mol), 反应液在25 °C下搅拌16小时。反应液直接减压浓缩。剩余物经高效液相色谱法 (盐酸条件) 纯化得到化合物**3**的盐酸盐。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 507, 实测值507。¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7.67 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 3.87-3.86 (m, 2H), 3.78-3.76 (m, 2H), 3.68-3.66 (m, 2H), 3.52-3.51 (m, 2H), 3.31-3.30 (m, 4H), 3.19-3.13 (m, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.17-2.13 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.99-1.90 (m, 4H), 1.83 (s, 3H)。

实施例 4



合成路线:



第一步

参照实施例1第一步得到化合物**4b**。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.81 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 8.03 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.98 (dd, *J*=1.6, 8.4 Hz, 1H), 4.48 (q, *J*=7.2 Hz, 2H), 1.44 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

第二步

参照实施例1第二步得到化合物**4c**。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.40 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.51 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J*=1.6, 8.4 Hz, 1H), 4.46 (q, *J*=7.2 Hz, 2H), 1.41 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

第三步

参照实施例1第三步得到化合物**4d**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 246和248, 实测值246和248。

第四步

参照实施例1第四步得到化合物**4e**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 217和219, 实测值217和219。

第五步

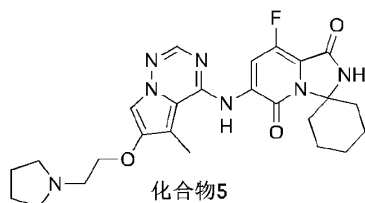
参照实施例1第五步得到化合物**4f**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 297和299, 实测值297和299。

第六步

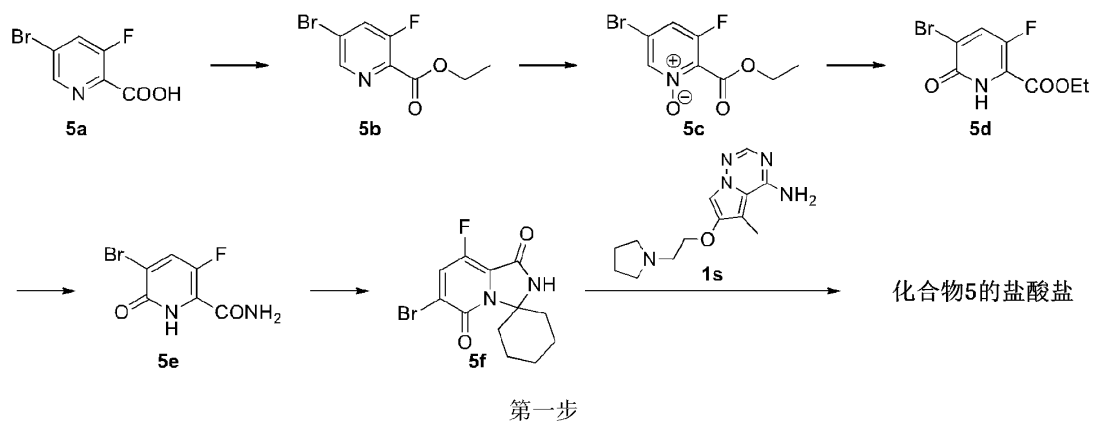
将化合物**1s**的三氟乙酸盐 (40.0 mg, 0.107 mmol) 溶于无水二氧六环 (2 mL) 中, 加入化合物**4f** (35.2 mg, 0.117 mmol), 三(二苄基丙酮)二钯 (9.76 mg, 10.7 μmol), 4,5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基氧杂蒽 (12.3 mg, 21.3 μmol) 和碳酸铯 (121 mg, 0.373 mmol), 置换氮气三次, 反应液在110 °C搅拌16小时。反应液直接减压浓缩, 粗产物经过柱层析法 (10/1, 二氯甲烷/甲醇, R_f = 0.32) 分离纯化, 粗品经高效液相色谱法 (盐

酸盐) 纯化得到化合物4的盐酸盐。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 478, 实测值478。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.12 (s, 1H), 10.38 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 4.74-4.70 (m, 2H), 3.60 (s, 4H), 3.11-2.96 (m, 4H), 2.66 (s, 3H), 2.02-1.91 (m, 4H), 1.76-1.67 (m, 4H), 1.53-1.51 (m, 2H), 1.30-1.24 (m, 2H)。

实施例 5



合成路线:



参照实施例1第一步得到化合物5b。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.62 (d, $J=0.8$ Hz, 1H), 7.77 (dd, $J=1.6$, 9.2 Hz, 1H), 4.49 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.44 (t, $J=7.2$ Hz, 4H)。

第二步

参照实施例1第二步得到化合物5c。计算值 $[M+H]^+$ 264和266, 实测值264和266。

第三步

参照实施例1第三步得到化合物5d。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.84 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.47 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.43 (t, $J=7.2$ Hz, 3H)。

第四步

参照实施例1第四步得到化合物5e。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 235和237, 实测值235和237。

第五步

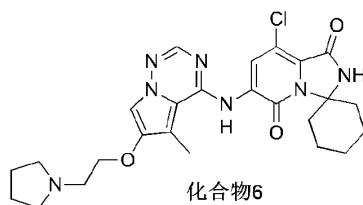
参照实施例1第五步得到化合物5f。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 315和317, 实测值315和317。

第六步

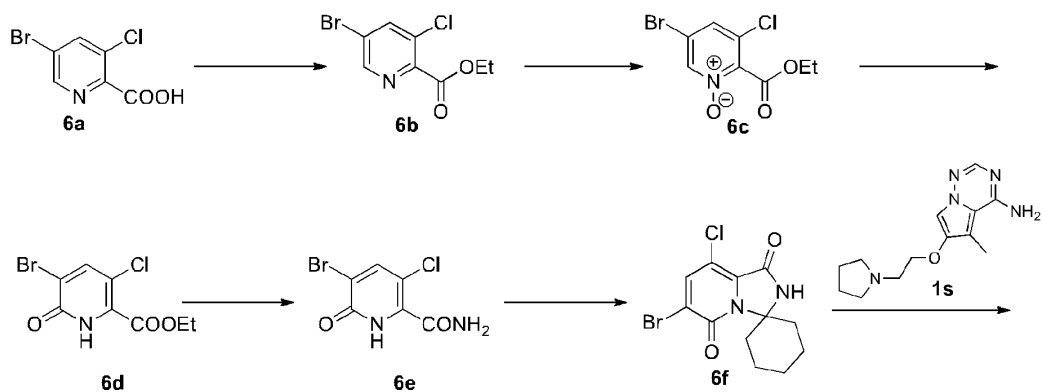
将化合物1s的三氟乙酸盐 (40.0 mg, 0.107 mmol) 溶于无水二氧六环 (2 mL) 中, 加入化合物15f (38.9 mg, 0.117 mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯 (9.76 mg, 10.6 μmol), 4,5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基氧杂蒽 (12.3 mg,

21.3 μmol) 和碳酸铯 (121 mg, 0.373 mmol), 置换氮气三次, 反应液在110 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌16小时。反应液直接减压浓缩, 粗产物经过柱层析法 (10/1, 二氯甲烷/甲醇, $R_f = 0.32$) 分离纯化, 粗品经高效液相色谱法 (盐酸条件) 纯化得到化合物5的盐酸盐。MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 496, 实测值496。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.27 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.82 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 4.36-4.34 (m, 2H), 3.62 (s, 4H), 3.17-3.14 (m, 2H), 2.92-2.89 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.07-2.02 (m, 2H), 1.92-1.90 (m, 2H), 1.79-1.75 (m, 2H), 1.68-1.65 (m, 2H), 1.61-1.58 (m, 3H), 1.29-1.23 (s, 1H)。

实施例 6



合成路线:



化合物6的盐酸盐

第一步

参照实施例1第一步得到化合物6b。MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 264和266, 实测值264和266。

第二步

参照实施例1第二步得到化合物6c。MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 280和282, 实测值280和282。

第三步

参照实施例1第三步得到化合物6d。MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 280和282, 实测值280和282。

第四步

参照实施例1第四步得到化合物6e。MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 251和253, 实测值251和253。

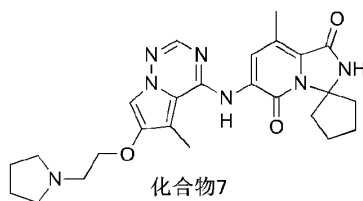
第五步

参照实施例1第五步得到化合物6f。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 331和333，实测值331和333。

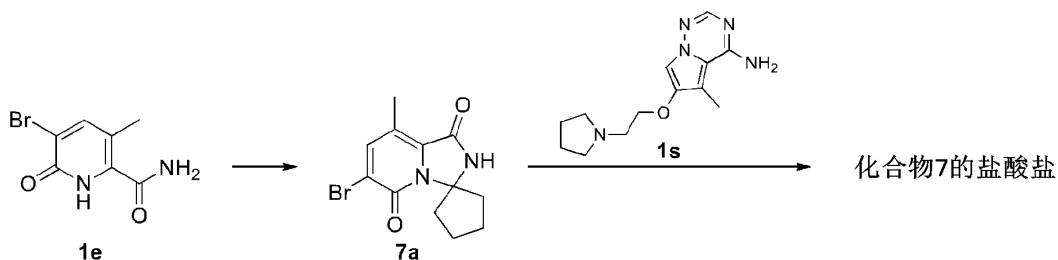
第六步

参照实施例4第六步得到化合物6的盐酸盐。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 512，实测值512。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.71 (s, 1H), 10.45 (s, 1H), 8.80 (br s, 1H), 8.18 (br s, 1H), 7.87 (br s, 1H), 4.37 (br s, 2H), 3.66-3.65 (m, 4H), 3.12 (br s, 2H), 2.91 (br s, 2H), 2.55 (s, 3H), 2.04-2.00 (m, 2H), 1.93-1.87 (m, 2H), 1.78-1.74 (m, 2H), 1.65-1.58 (m, 5H), 1.26-1.21 (m, 1H)。

实施例 7



合成路线:



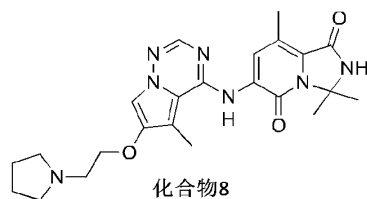
第一步

将化合物1e (500 mg, 1.97 mmol) 和环戊酮 (664 mg, 7.89 mmol) 溶于无水二氧六环 (6 mL) 中, 向反应液中逐滴加入浓硫酸 (98.7 mg, 0.986 mmol, 纯度: 98%), 反应液在95 °C下搅拌3小时。反应液减压浓缩除去部分二氧六环 (约3 mL), 过滤。向收集的滤饼中加入正己烷 (10 mL), 室温下搅拌2小时, 过滤, 滤饼真空干燥2小时, 得到化合物7a。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 297和299, 实测值297和299。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.16 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 2.71-2.78 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 1.91-1.93 (m, 2H), 1.79-1.84 (m, 2H), 1.63-1.67 (m, 2H)。

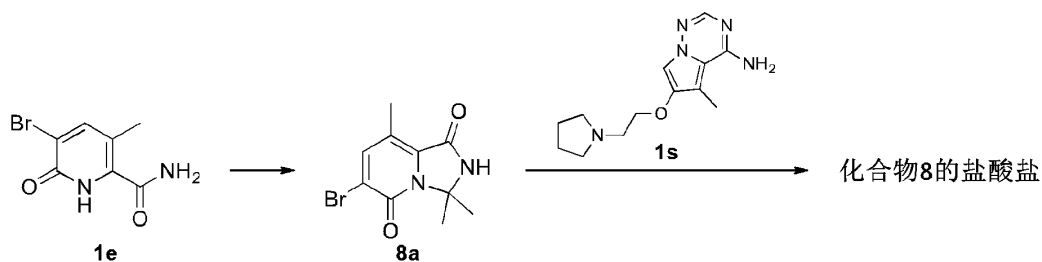
第二步

参照实施例4第六步得到化合物7的盐酸盐。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 478, 实测值478。¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7.68 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 4.02-4.01 (m, 2H), 3.70-3.69 (m, 2H), 3.57-3.56 (m, 2H), 3.28 (s, 3H), 3.18-3.17 (m, 2H), 2.58-2.57 (m, 2H), 2.14-2.13 (m, 3H), 2.00-1.93 (m, 5H), 1.84-1.79 (m, 4H), 1.69-1.66 (m, 1H)。

实施例 8



合成路线:



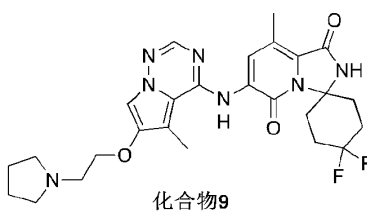
第一步

将化合物1e (500 mg, 1.97 mmol) 和丙酮 (458 mg, 7.89 mmol) 溶于无水二氧六环 (6 mL) 中, 向反应液中逐滴加入浓硫酸 (96.7 mg, 0.966 mmol, 纯度: 98%), 反应液在95 °C下搅拌6小时。反应液减压浓缩除去二氧六环 (约3 mL), 过滤。收集的滤饼用石油醚/乙酸乙酯混合溶液 (10/1, 8 mL × 2) 洗涤, 滤饼真空干燥2小时, 得到化合物8a。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 271和273, 实测值271和273。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.82 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 2.37 (s, 3H), 1.74 (s, 6H)。

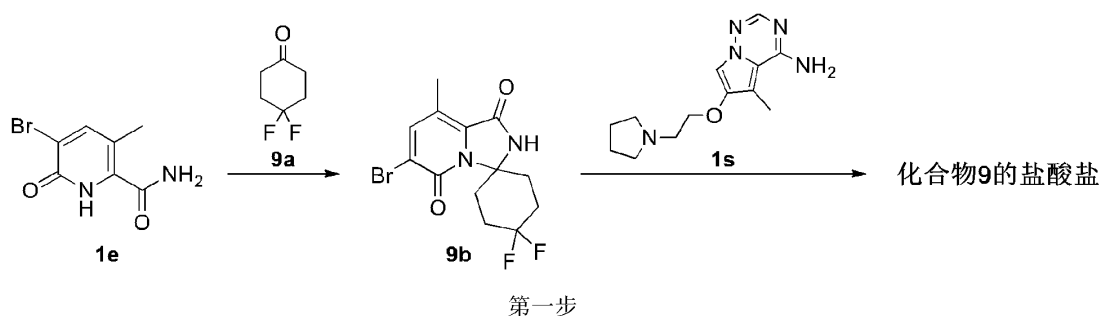
第二步

参照实施例4第六步得到化合物8的盐酸盐。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 452, 实测值452。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.96 (s, 1H), 9.71 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 4.38-4.37 (m, 2H), 3.67-3.65 (m, 2H), 3.60-3.59 (m, 2H), 3.16-3.10 (m, 2H), 2.47-2.46 (m, 6H), 2.02-1.90 (m, 4H), 1.80-1.76 (m, 6H)。

实施例 9



合成路线:

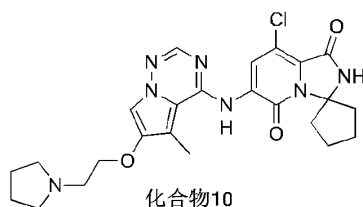


将化合物**1e** (500 mg, 1.97 mmol) 和化合物**9a** (1.06 g, 7.88 mmol) 溶于无水二氧六环 (6 mL) 中, 向反应液中逐滴加入浓硫酸 (98.7 mg, 0.985 mmol, 纯度: 98%), 反应液在95 °C下搅拌1.5小时。反应液减压浓缩除去部分二氧六环 (约3 mL), 过滤。向收集的滤饼中加入正己烷 (12 mL), 室温下搅拌2小时, 过滤, 滤饼真空干燥2小时, 得到化合物**9b**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 347和349, 实测值347和349。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.57 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 3.17-3.25 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.14-2.27 (m, 4H), 1.61-1.64 (m, 2H)。

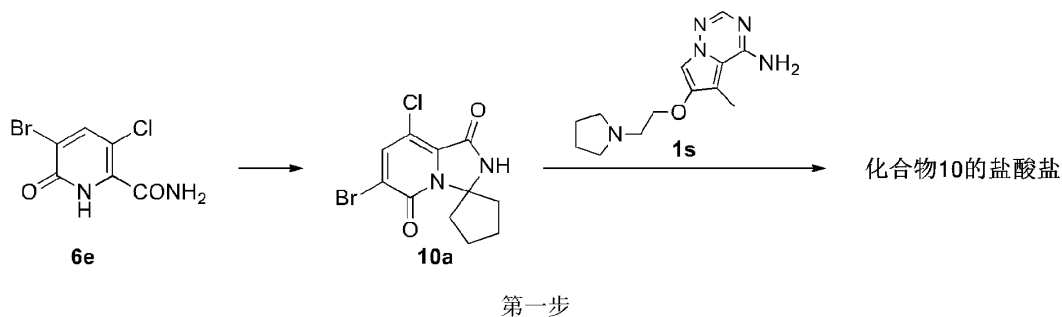
第二步

参照实施例4第六步得到化合物**9**的盐酸盐。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 528, 实测值528。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.91 (s, 1H), 10.46 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 4.38-4.37 (m, 2H), 3.60-3.59 (m, 4H), 3.27-3.10 (m, 4H), 2.43-2.41 (m, 6H), 2.18-2.16 (m, 4H), 2.07-2.02 (m, 2H), 1.90-1.88 (m, 2H), 1.69-1.66 (m, 2H)。

实施例 10



合成路线:



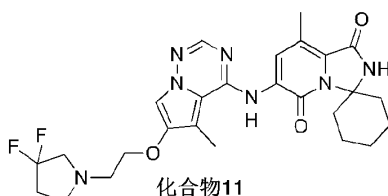
将化合物**6e** (1.50 g, 4.71 mmol) 和环戊酮 (1.59 g, 18.9 mmol) 溶于二氧六环(10 mL)中, 搅拌下滴加浓硫酸 (462 mg, 4.71 mmol), 反应液在95 °C下搅拌16小时。反应液加入水 (10 mL), 乙酸乙酯 (15 mL × 4) 萃取,

合并有机相,用无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩。剩余物经柱层析分离 (1/1, 石油醚/乙酸乙酯, $R_f=0.31$) 纯化得到化合物**10a**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 317和319, 实测值317和319。

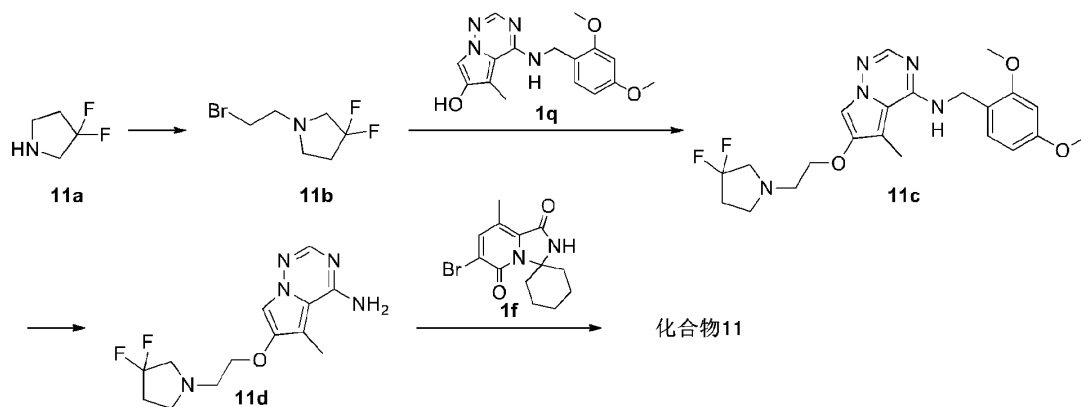
第二步

将化合物**1s**的三氟乙酸盐 (230 mg, 613 μmol) 溶于无水二氧六环 (5 mL) 中, 加入化合物**10a** (249 mg, 674 μmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯 (56.1 mg, 61.3 μmol), 4,5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基氧杂蒽 (70.9 mg, 123 μmol) 和碳酸铯 (699 mg, 2.14 mmol), 置换氮气三次, 反应液在110 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌16小时。反应液直接减压浓缩, 剩余物经柱层析法分离 (10/1, 二氯甲烷/甲醇, $R_f=0.35$) 纯化, 洗脱剂浓缩后再经高效液相色谱法 (盐酸体系) 纯化得到化合物**10**的盐酸盐。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 498, 实测值498。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.68 (s, 1H), 10.26 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 4.38-4.36 (m, 2H), 3.61-3.60 (m, 4H), 3.13-3.11 (m, 2H), 2.83-2.78 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.03-1.83 (m, 8H), 1.75-1.74 (m, 2H)。

实施例 11



合成路线:



第一步

将化合物**11a**盐酸盐 (500 mg, 3.48 mmol) 溶于1,2-二溴乙烷 (5 mL), 然后加入*N,N*-二异丙基乙胺 (900 mg, 6.97mmol), 反应液在25 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌14小时。反应完成后, 反应液用水 (30 mL) 稀释, 乙酸乙酯 (20 mL $\times$ 4) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 经柱层析分离 (3:1, 石油醚/乙酸乙酯, $R_f=0.6$) 得到化合物**11b**。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 3.41 (t, $J=7.0$ Hz, 2H), 2.99 (t, $J=13.3$ Hz, 2H), 2.92 (t, $J=7.0$ Hz, 2H), 2.83 (t, $J=7.0$ Hz, 2H), 2.29 (tt, $J=7.1, 14.5$ Hz, 2H)。

第二步

将化合物**11b** (250 mg, 795 μmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 然后加入化合物**1q** (187 mg, 875 μmol) 和氢氧化钠 (63.6 mg, 1.59 mmol), 并于50 °C下搅拌0.5小时。反应完成后, 向反应液中加入水 (50 mL) 稀释, 用乙酸乙酯萃取 (30 mL $\times$ 3), 合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 经柱层析分离 (1:1, 石油醚/乙酸乙酯, R_f = 0.1) 得到化合物**11c**。MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 448, 实测值448。

第三步

将化合物**11c** (300 mg, 670 μmol) 溶于三氟乙酸 (3.0 mL) 中, 反应液在100 °C下搅拌1小时。反应完成后, 将反应液浓缩, 剩余物经过高效液相色谱法 (盐酸体系) 纯化得化合物**11d**的盐酸盐。

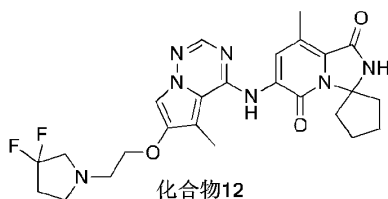
MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 298, 实测值298。

第四步

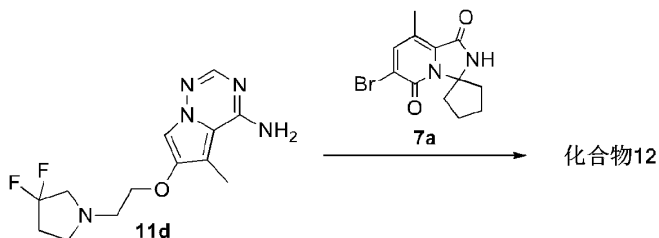
将化合物**11d**的盐酸盐 (108 mg, 323 μmol), 化合物**1f** (111 mg, 356 μmol) 溶于无水二氧六环 (2 mL) 中, 然后加入碳酸铯 (264 mg, 809 μmol) 和甲烷磺酸(2-二环己基磷)-3,6-二甲氧基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钯(II) (29.3 mg, 32.4 μmol), 反应液在氮气保护下105 °C搅拌12小时。反应完成后, 将反应液减压浓缩, 经柱层析分离 (10:1, 二氯甲烷/甲醇, R_f = 0.3) 得到粗品化合物。向粗品中加入甲醇 (5 mL), 15 °C搅拌16小时, 过滤, 滤饼用甲醇洗涤 (2 mL $\times$ 2), 干燥得到化合物**11**。

MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 528, 实测值528。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 10.21 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 4.09 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.06-2.92 (m, 4H), 2.89-2.77 (m, 4H), 2.49-2.46 (m, 6H), 2.31-2.18 (m, 2H), 1.82-1.72 (m, 2H), 1.71-1.59 (m, 3H), 1.54-1.42 (m, 2H), 1.35-1.20 (m, 1H)。

实施例 12



合成路线:

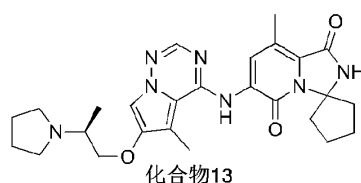


第一步

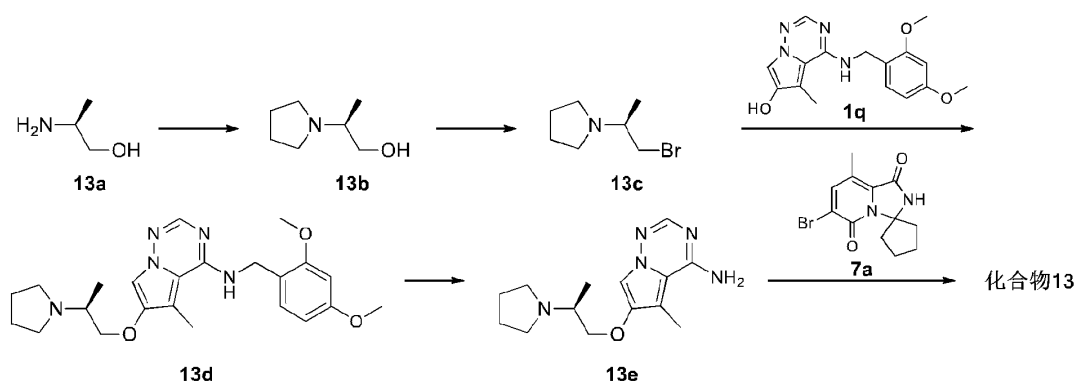
将化合物**11d**的三氟乙酸盐(90 mg, 219 μmol), 化合物**7a** (72 mg, 241 μmol) 溶于无水二氧六环 (2 mL) 中, 然后加入碳酸铯 (250 mg, 766 μmol) 和甲烷磺酸 (2-二环己基磷)-3,6-二甲氧基-2,4,6-三异丙基-1,1-联

苯)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钯(II) (20 mg, 21.9 μ mol), 反应液在氮气保护下105 °C搅拌12小时。减压浓缩反应液, 经柱层析分离 (10:1, 二氯甲烷/甲醇, Rf=0.3) 纯化得到粗品化合物。向粗品中加入甲醇和乙醇混合溶液 (4/1, 10 mL), 20 °C搅拌16小时, 过滤, 滤饼用甲醇洗涤 (2 mL $\times$ 2), 水洗涤 (2 mL $\times$ 2), 干燥得到化合物12。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 514, 实测值514。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 10.00 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 4.08 (t, *J*=5.6 Hz, 2H), 3.00 (t, *J*=13.5 Hz, 2H), 2.91-2.78 (m, 6H), 2.47 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.31-2.18 (m, 2H), 2.04-1.92 (m, 2H), 1.91-1.78 (m, 2H), 1.76-1.62 (m, 2H)。

实施例 13



合成路线:



将化合物13a (2.00 g, 26.6 mmol) 和1,4-二溴丁烷 (5.75 g, 26.6 mmol) 溶于乙腈 (100 mL), 然后加入碳酸钾 (7.36 g, 53.26 mmol), 反应液在80 °C下搅拌12小时。反应完成后, 过滤反应液, 滤液减压浓缩, 用二氯甲烷 (250 mL) 稀释, 用饱和碳酸钾水溶液洗涤 (75 mL $\times$ 1), 收集有机相, 水相用二氯甲烷萃取 (75 mL $\times$ 9), 合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到无色油状产品13b。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 130, 实测值130。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 3.61-3.55 (m, 1H), 3.40-3.34 (m, 1H), 2.99 (br s, 1H), 2.69-2.62 (m, 1H), 2.61-2.54 (m, 4H), 1.84-1.70 (m, 4H), 1.04 (d, *J*=6.5 Hz, 3H)。

第二步

将化合物 13b (2.95 g, 23.1 mmol) 溶于二氯甲烷 (25 mL), 冷却至 0 °C, 然后在 0 °C下加入三苯基膦 (9.07 g, 34.6 mmol) 和四溴化碳 (9.94 g, 30.0 mmol), 反应液在 15 °C下搅拌 12 小时。反应完成后, 加水 (150 mL) 稀释, 用二氯甲烷萃取 (100 mL $\times$ 3), 收集有机相。用饱和碳酸氢钠水溶液将水相值调至 pH = 9, 用乙酸乙酯萃取 (100 mL $\times$ 3)。合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到黄色油状

产品 **13c**。粗品直接用于下一步反应。

^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ = 2.84-2.77 (m, 1H), 2.65-2.59 (m, 1H), 2.58-2.52 (m, 1H), 2.51-2.48 (m, 2H), 2.51-2.46 (m, 1H), 1.76-1.71 (m, 3H), 1.74-1.71 (m, 2H), 1.66 (d, J =6.6 Hz, 3H)。

第三步

将化合物**1q** (200 mg, 636 μmol) 溶于 N,N -二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 然后加入化合物**13c** (134 mg, 700 μmol) 和氢氧化钠 (50.9 mg, 1.27 mmol), 并于50 °C下搅拌2小时。反应完成后, 减压浓缩反应液, 向反应液中加入水 (50 mL) 稀释, 用乙酸乙酯萃取 (30 mL $\times$ 3), 合并的有机相用饱和食盐水洗涤(40 mL $\times$ 1), 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩滤液得到黄色固体化合物**13d**。粗品直接用于下一步反应。

MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 426, 实测值426。

第四步

将化合物**13d** (300 mg, 670 μmol) 溶于三氟乙酸 (10 mL) 中, 反应液在100 °C下搅拌12小时。反应完成后, 将反应液浓缩, 剩余物经过高效液相色谱法 (盐酸体系) 纯化得化合物**13e**的盐酸盐。

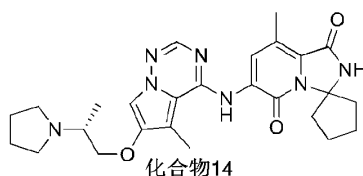
MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 276, 实测值276。

第五步

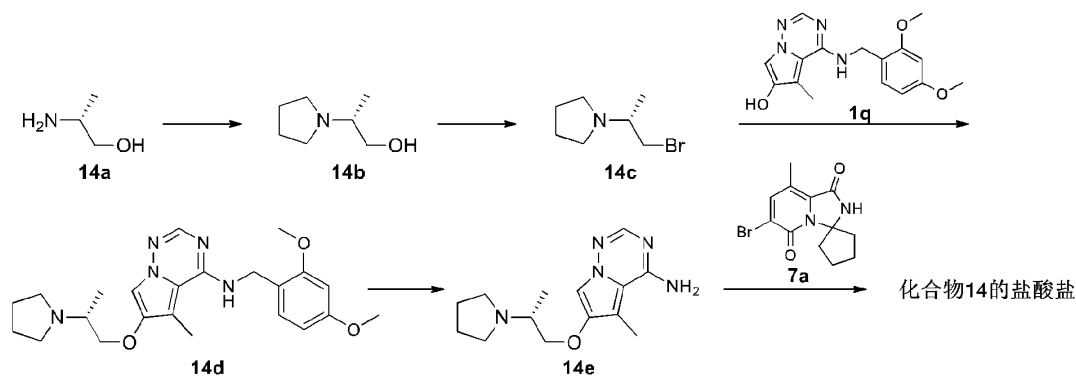
将化合物**13e**的盐酸盐 (76.0 mg, 244 μmol), 化合物**7a** (72.4 mg, 244 μmol) 溶于无水二氧六环 (3 mL) 中, 然后加入碳酸铯 (159 mg, 487 μmol) 和甲烷磺酸(2-二环己基磷)-3,6-二甲氧基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)铯 (II) (22.1 mg, 24.4 μmol), 反应液在氮气保护下105 °C搅拌12小时。反应完成后, 将反应液减压浓缩, 加入水 (50 mL) 稀释, 用乙酸乙酯萃取 (30 mL $\times$ 3), 合并的有机相用饱和食盐水洗涤 (40 mL $\times$ 1), 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩滤液, 剩余物经过高效液相色谱 (盐酸体系) 纯化得到化合物**13**的盐酸盐。**13**的盐酸盐用二氯甲烷 (30 mL) 溶解后依次用饱和碳酸氢钠水溶液 (20 mL) 和饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩滤液, 剩余物经薄层层析分离纯化 (10:1, 二氯甲烷/甲醇, R_f = 0.3) 得到化合物**13**。

MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 492, 实测值492。 ^1H NMR (400MHz, $\text{MeOH}-d_4$) δ = 8.87-8.77 (m, 1H), 8.08-8.00 (m, 1H), 7.63-7.52 (m, 1H), 4.71-4.53 (m, 1H), 4.37-4.12 (m, 1H), 3.67-3.37 (m, 3H), 3.05-2.91 (m, 3H), 2.65-2.52 (m, 6H), 2.22-2.04 (m, 6H), 1.97-1.76 (m, 5H), 1.55-1.33 (m, 3H)。

实施例 14



合成路线:



第一步

将化合物**14a** (2.00 g, 26.6 mmol) 和1,4-二溴丁烷 (5.75 g, 26.6 mmol) 溶于乙腈 (100 mL), 然后加入碳酸钾 (7.36 g, 53.26 mmol), 反应液在80 °C下搅拌12小时。过滤反应液, 滤液减压浓缩, 用二氯甲烷 (250 mL) 稀释, 用饱和碳酸钾水溶液洗涤 (75 mL × 1), 收集有机相, 水相用二氯甲烷萃取 (75 mL × 9), 合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到化合物**14b**。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 130, 实测值130。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 3.63-3.58 (m, 1H), 3.41-3.35 (m, 1H), 2.90 (br s, 1H), 2.73-2.66 (m, 1H), 2.63-2.57 (m, 4H), 1.82-1.74 (m, 4H), 1.06 (d, J=6.5 Hz, 3H)。

第二步

将化合物 **14b** (2.48 g, 19.2 mmol) 溶于二氯甲烷 (25 mL), 冷却至 0 °C, 然后在 0 °C 下加入三苯基膦 (7.55 g, 28.8 mmol) 和四溴化碳 (8.28 g, 25.0 mmol), 反应液在 15 °C 下搅拌 12 小时。向反应液中加水 (150 mL) 稀释, 用二氯甲烷萃取 (100 mL × 3), 收集有机相。用饱和碳酸氢钠水溶液将水相调至 pH = 9, 用乙酸乙酯萃取 (100 mL × 3)。合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到化合物 **14c**。粗品直接用于下一步反应。

第三步

将化合物**1q** (250 mg, 795 μmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (3 mL) 中, 然后加入化合物**14c** (229 mg, 1.19 mmol) 和氢氧化钠 (63.6 mg, 1.59 mmol), 并于50 °C下搅拌2小时。反应完成后, 减压浓缩反应液, 向反应液中加入水 (30 mL) 稀释, 用1M 盐酸水溶液将反应液调至pH = 3, 用二氯甲烷洗涤 (50 mL × 3)。用1M 氢氧化钠水溶液将反应液调至pH = 11, 用二氯甲烷萃取 (60 mL × 3), 合并的有机相用饱和食盐水洗涤 (150mL × 1), 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩滤液得到化合物**14d**。粗品直接用于下一步反应。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 426, 实测值426。

第四步

将化合物**14d** (430 mg, 1.01 mmol) 溶于三氟乙酸 (15 mL) 中, 反应液在100 °C下搅拌3小时。反应完成后, 将反应液浓缩, 剩余物经过高效液相色谱纯化 (盐酸体系) 得到化合物**14e**的盐酸盐。

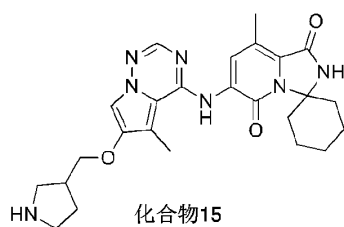
MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 276, 实测值276。

第五步

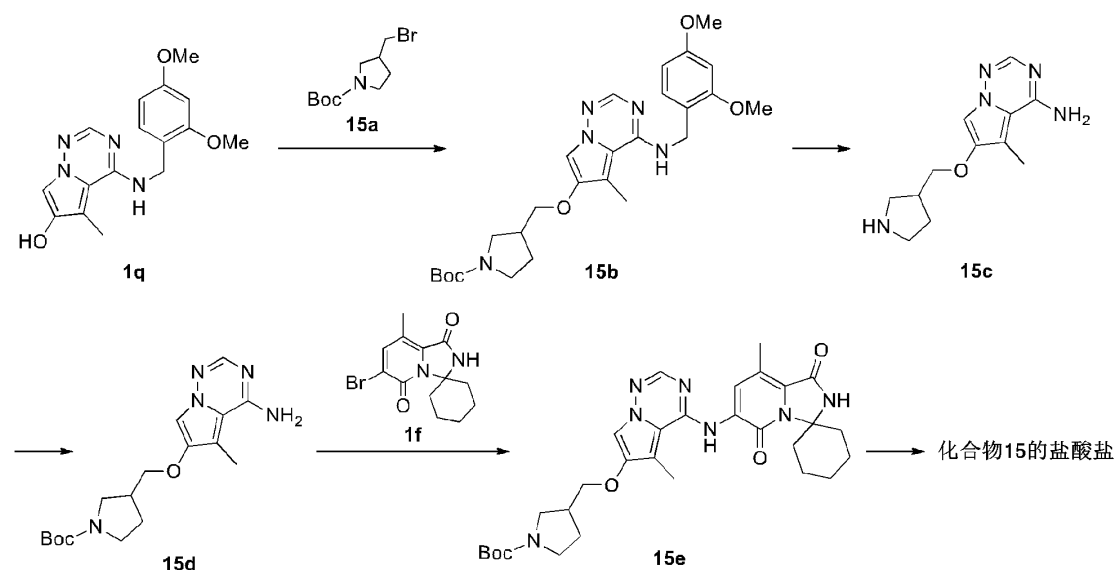
将化合物**14c**的盐酸盐 (80.0 mg, 206 μ mol), 化合物**7a** (61.2 mg, 206 μ mol) 溶于无水二氧六环 (6 mL) 中, 然后加入碳酸铯 (168 mg, 515 μ mol) 和甲烷磺酸(2-二环己基磷)-3,6-二甲氧基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钾 (II) (18.7 mg, 20.6 μ mol), 反应液在氮气保护下95 °C搅拌12小时。反应完成后, 将反应液减压浓缩, 柱层析分离纯化 (10:1, 二氯甲烷/甲醇, R_f=0.25), 得到粗品。粗品经过高效液相色谱纯化 (盐酸体系) 得到化合物**14**的盐酸盐。

MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 492, 实测值492。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7.76-7.68 (m, 1H), 7.53-7.45 (m, 1H), 7.05-6.98 (m, 1H), 4.12-4.02 (m, 1H), 3.98-3.88 (m, 1H), 3.77-3.59 (m, 3H), 3.31-3.21 (m, 2H), 2.68-2.53 (m, 2H), 2.20-2.08 (m, 5H), 2.06-1.93 (m, 4H), 1.89-1.77 (m, 5H), 1.73-1.62 (m, 2H), 1.53-1.47 (m, 3H)。

实施例 15



合成路线:



将化合物**1q** (357 mg, 1.14 mmol) 和化合物**15a** (300 mg, 1.14 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (3 mL) 中, 向反应液中加入氢氧化钠 (136 mg, 3.41 mmol), 反应液在50 °C下搅拌0.5小时。反应液用水 (60 mL) 稀释, 乙酸乙酯 (60 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相, 有机相用水 (200 mL $\times$ 1) 和饱和食盐水 (200 mL $\times$ 1) 洗涤,

无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩，粗品经柱层析法分离 (2/1, 石油醚/乙酸乙酯, $R_f=0.45$) 得到化合物**15b**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 498, 实测值498。

第二步

将化合物**15b** (255 mg, 0.509 mmol) 溶于三氟乙酸 (20 mL) 中。反应液在氮气保护下100 °C下搅拌2小时。反应液减压浓缩，得到化合物**15c**的三氟乙酸盐。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 248, 实测值248。

第三步

将化合物**15c**的三氟乙酸盐 (200 mg, 0.554 mmol) 溶于四氢呋喃 (3 mL) 和甲醇 (3 mL), 向反应液中加入二叔丁基二碳酸酯 (121 mg, 0.554 mmol) 和三乙胺 (224 mg, 2.21 mmol)。反应液在25 °C下搅拌1小时。反应液用水 (60 mL) 稀释, 二氯甲烷 (60 mL $\times$ 4) 萃取, 合并有机相, 有机相依次用水 (200 mL $\times$ 1) 和饱和食盐水 (200 mL $\times$ 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 粗品经高效液相色谱法 (中性条件) 纯化得到化合物**15d**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 348, 实测值348。

第四步

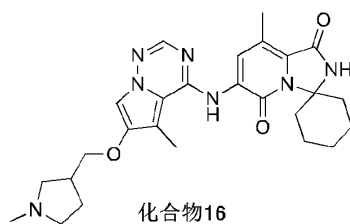
将化合物**15d** (40 mg, 0.115 mmol) 和**1f** (40.5 mg, 0.125 mmol) 溶于无水二氧六环 (3 mL) 中, 氮气下, 向混合液中加入碳酸铯 (102 mg, 0.313 mmol) 和甲烷磺酸(2-二环己基磷)-3,6-二甲氧基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钼(II) (9.45 mg, 10.4 μ mol), 反应液在100 °C下搅拌12小时。反应液浓缩, 粗产物经过柱层析法分离 (20:1, 二氯甲烷/甲醇, $R_f=0.35$) 得到化合物**15e**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 578, 实测值578。

第五步

将化合物**15e** (68.0 mg, 0.113 mmol) 溶于无水甲醇 (3 mL) 中, 加入盐酸/甲醇溶液 (4.23 mL, 4 M, 16.9 mmol), 反应液在25 °C下搅拌1小时。反应液浓缩, 剩余物在甲醇 (30 mL) 中搅拌1小时, 过滤, 甲醇 (10 mL $\times$ 2) 洗涤。滤饼在甲醇 (30 mL) 中搅拌1小时, 过滤, 甲醇 (10 mL $\times$ 2) 洗涤, 收集滤饼, 减压干燥得到化合物**15**的盐酸盐。

MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 478, 实测值478。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.22 (s, 1H), 8.99 (br s, 2H), 8.90 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 4.09-3.96 (m, 2H), 3.23-3.12 (m, 2H), 3.07-2.92 (m, 3H), 2.81-2.71 (m, 1H), 2.53-2.51 (m, 6H), 2.17-2.05 (m, 1H), 1.82-1.58 (m, 7H), 1.54-1.45 (m, 2H), 1.34-1.21 (m, 1H)。

实施例16



合成路线:



将化合物15的盐酸盐 (30 mg, 0.049 mmol) 溶于无水甲醇 (3 mL) 中, 向反应液中加入甲醛水溶液 (6.39 mg, 78.7 μmol, 纯度: 37%) 和氰基硼氢化钠 (6.60 mg, 0.105 mmol)。反应液在10 °C下搅拌1小时。反应液加入水 (20 mL) 淬灭, 减压浓缩除去甲醇, 过滤, 甲醇 (3 mL × 2) 洗涤。粗品经高效液相色谱法 (盐酸条件) 纯化得到化合物16的盐酸盐。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 492, 实测值492。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.65-10.43 (m, 1H), 10.22 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.76-7.70 (m, 1H), 4.14-3.99 (m, 2H), 3.79-3.42 (m, 2H), 3.16-2.92 (m, 4H), 2.86-2.81 (m, 3H), 2.53-2.51 (m, 6H), 2.30-1.84 (m, 2H), 1.81-1.58 (m, 6H), 1.53-1.42 (m, 2H), 1.34-1.22 (m, 1H)。

体外活性测试

1. 体外评价本发明化合物对MNK2蛋白激酶的抑制活性

实验目的: 检测化合物的MNK2蛋白激酶抑制活性

实验材料: 测定缓冲溶液: 8 mM 3-(N-吗啉)丙磺酸, 0.2 mM的乙二胺四乙酸二钠, 0.01%月桂醇聚氧乙烯醚, 5%甘油, 0.1% β-巯基乙醇, 1 mg牛血清蛋白

实验操作: 使用Eurofins Pharma Discovery Services UK Limited的KinaseProfiler™服务进行Mnk2蛋白激酶抑制活性测定。将含有待测化合物的系列DMSO稀释液 (始于10 μM, 按3倍系列稀释), MNK2 (h) 蛋白激酶和0.33 mg/mL的髓鞘碱性蛋白加入到将新鲜制备的缓冲溶液 (pH 7.0) 中, 均匀搅拌。加入³³P-ATP (放射强度 10 μCi/μL) 和10 mM乙酸镁混合物引发反应, 室温反应40分钟, 加入磷酸稀释到0.5%的浓度停止反应。10 μL的反应液使用P30过滤机 (P30 filtermat) 过滤, 用0.425%磷酸洗涤四次, 每次4分钟, 甲醇洗涤一次, 干燥后使用Filter-Binding方法检测放射强度。

化合物的蛋白激酶抑制活性表达为相对空白底物 (单纯DMSO) 残存的蛋白激酶活性的百分比。利用Prism4软件包 (GraphPad) 计算IC₅₀值和曲线。

表1 本发明实施例化合物对MNK2蛋白激酶抑制活性的IC₅₀

化合物编号	对 MNK2 的 IC ₅₀ (nM)
化合物 1 (盐酸盐)	22
化合物 2 (盐酸盐)	63
化合物 3 (盐酸盐)	39
化合物 4 (盐酸盐)	25
化合物 5 (盐酸盐)	26
化合物 6 (盐酸盐)	21
化合物 7 (盐酸盐)	17
化合物 8 (盐酸盐)	33
化合物 9 (盐酸盐)	30
化合物 10 (盐酸盐)	8

化合物 11	28
化合物 12	17
化合物 13	14
化合物 15 (盐酸盐)	28
化合物 16 (盐酸盐)	27

实验结论：本发明化合物均表现出优异的对MNK2蛋白激酶的抑制活性。

2. 体外评价本发明化合物对MNK1蛋白激酶的抑制活性

实验目的：检测化合物的MNK1蛋白激酶抑制活性

实验材料：测定缓冲溶液：20 mM 4-羟乙基哌嗪乙磺酸 (pH 7.5)，10 mM 氯化镁，1 mM 乙二醇二乙醚二胺四乙酸，0.02% 月桂醇聚氧乙烯醚，0.02 mg/mL 牛血清白蛋白，0.1 mM 钒酸钠，2 mM 二硫苏糖醇，1% DMSO。

实验操作：使用Reaction Biology Corp.的Kinase HotSpot Profiling服务进行Mnk1蛋白激酶抑制活性测定。将底物加入新鲜制备的缓冲液中，然后加入的MNK1 (h)，搅拌均匀。使用Echo550加入含有待测化合物的系列DMSO稀释液 (始于3 μ M, 按3倍系列稀释)，加入³³P-ATP (最终放射强度 0.01 μ Ci/ μ L) 引发反应，室温下预温育120分钟。然后使用P81离子交换纸 (Whatman # 3698-915) 过滤，用0.75%磷酸洗涤。测量残余在滤纸上的放射性磷酸化底物浓度。

化合物的蛋白激酶抑制活性数据表示为相对空白底物 (单纯DMSO) 残存的蛋白激酶活性的百分比。利用Prism4软件包 (GraphPad) 计算IC₅₀值和曲线拟合。

表2 本发明实施例化合物对MNK1蛋白激酶抑制活性的IC₅₀

化合物编号	对 MNK1 的 IC ₅₀ (nM)
化合物 1 (盐酸盐)	54.65

实验结论：本发明化合物表现出优异的对MNK1蛋白激酶的抑制活性。

3. 体外评价本发明化合物对eIF4E磷酸化的抑制活性

实验目的：检测化合物对 HCT116 细胞株的 eIF4E 磷酸化抑制 IC₅₀ 值。

实验材料：HCT116细胞 (ATCC)，RPMI1640培养基 (Life technology)，胎牛血清 (Hyclone)，双抗 (青霉素、链霉素) (Millipore)，磷酸盐缓冲液 (Corning)，384 孔细胞板 (PerkinElmer)，AlphaLISA®SureFire®Ultra™ p-eIF4E (Ser209) Assay Kit (PerkinElmer)。

实验操作：将HCT116细胞消化后制成细胞悬液，铺板于96孔板中。然后将细胞板放到培养箱中培养过夜。将化合物稀释到相应浓度加入到细胞培养板中，继续培养3小时。随后用lysis buffer将细胞裂解，并将裂解液转移到384孔板中。按照试剂盒说明书新鲜配置混合受体，并加入384孔板中，室温孵育1小时，按照试剂盒说明书新鲜配置混合供体，并加入到384孔板中，室温孵育1小时，在EnVision上用标准AlphaLISA程序读取信号，用Graphpad prism进行曲线拟合并计算IC₅₀。

表3 本发明实施例化合物对eIF4E磷酸化抑制活性的IC₅₀

化合物编号	对 HCT116 细胞株 p-eIF4E 的 IC ₅₀ (nM)
化合物 1 (盐酸盐)	3.46
化合物 4 (盐酸盐)	14
化合物 5 (盐酸盐)	9.5
化合物 6 (盐酸盐)	0.66
化合物 7 (盐酸盐)	6.5
化合物 8 (盐酸盐)	24
化合物 9 (盐酸盐)	12
化合物 10 (盐酸盐)	3.1
化合物 11	18.9
化合物 12	8.6
化合物 13	10.5
化合物 16 (盐酸盐)	2.8

实验结论：本发明化合物表现出优异的对eIF4E磷酸化抑制活性。

4. 本发明化合物的药代动力学评价

实验目的：测试化合物在CD-1小鼠体内药代动力学

实验材料：CD-1小鼠（雄性，7~9周龄，上海西普尔-必凯实验动物有限公司）

实验操作：以标准方案测试化合物静脉注射及口服给药后的啮齿类动物药代特征，实验中候选化合物配成澄清溶液或均匀悬浮液，给予小鼠单次静脉注射及口服灌胃给药。静注及口服溶媒为10%的羟丙基β环糊精水溶液或生理盐水溶液。该项目使用四只雄性C57BL/6小鼠，两只小鼠进行静脉注射给药，给药剂量为0.5 mg/kg，收集0 h (给药前) 和给药后0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h的血浆样品，另外两只小鼠口服灌胃给药，给药剂量为2 mg/kg，收集0 h (给药前) 和给药后0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h的血浆样品，收集24小时内的全血样品，3000 g离心10分钟，分离上清得血浆样品，加入420倍体积含内标的乙腈溶液沉淀蛋白，在800 rpm涡旋10分钟，取上清液1 μL进样，以 LC-MS/MS 分析方法定量分析血药浓度，并计算药代参数，如达峰浓度 (C_{max})，清除率 (CL)，半衰期 (T_{1/2})，组织分布 (V_{dss})，药时曲线下面积 (AUC_{0-last})，生物利用度 (F) 等。

表4 本发明实施例化合物在小鼠体内的药代动力学结果

化合物编号	达峰浓度 C _{max} (nM)	清除率 CL (mL/min/kg)	组织分 布 V _{dss} (L/kg)	半衰期 T _{1/2} (PO, h)	药时曲线下面积 AUC _{0-last} PO (nM.hr)	生物利用度 F (%)
化合物 1 (盐酸盐)	35.9	33.3	14.1	ND	956	32.5
化合物 7 (盐酸盐)	131	--	--	3.2	1386	--
化合物 11	104	21.8	2.53	12.1	405	14.2

ND：未确定（由于消除相无法确定所以相关参数无法计算）；--：未检测。

实验结论：本发明化合物在 CD-1 小鼠中表现出较好的吸收。

5. 本发明化合物在CT-26小鼠移植瘤中的体内药效实验

实验目的：测试化合物在CT-26小鼠移植瘤中的体内药效实验

实验材料：CT-26细胞，RMPI-1640培养基，含10%胎牛血清，小鼠（雌性，上海必凯实验动物有限公司）

实验操作：CT-26 细胞培养于 RMPI-1640 培养基，含 10%胎牛血清，在 5%CO₂ 的 37℃培养箱中进行培养。经传代生长至合适浓度且肿瘤细胞在对数生长期进行收集肿瘤细胞，计数重悬于 DPBS（磷酸盐缓冲溶液），调整细胞悬液浓度至 3×10⁶/mL 用于接种。

小鼠结肠癌移植瘤的建立：收集细胞，调整浓度为3×10⁶细胞/毫升（用DPBS重悬成细胞悬液），在无菌条件下，于小鼠的右侧背部皮下注射0.1mL的肿瘤细胞，每只小鼠接种的细胞数为3×10⁵。待肿瘤生长至一定大小后用数显游标卡尺来测定肿瘤的长（a）和宽（b），计算肿瘤体积，肿瘤体积（Tumor volume，TV）的计算公式为：TV=a×b²/2。

CT-26肿瘤细胞接种：接种当天按照动物体重进行分组给药，每组8只动物，接种当天视为D0。待肿瘤大小长至60mm³左右按照肿瘤大小及体重对抗体组进行分组。实验期间每周三次测定动物的体重和肿瘤大小，同时每天观察和记录动物的临床症状，每次给药均参考最近一次称量的动物体重。测定化合物在30 mg/Kg QD（一天一次），90 mg/Kg QD（一天一次），200 mg/Kg QD（一天一次）的剂量下，给药21天，对小鼠结肠癌移植瘤抑制效果，具体信息如下表5所示。

抗肿瘤活性的评价指标为相对肿瘤增殖率T/C（%），T/C（%）>40 %为无效，T/C（%）≤40%，并经统计学处理P<0.05为有效，T/C（%）的计算公式为：T/C（%）=(T_{RTV}/C_{RTV})×100%。T_{RTV}为治疗组的相对肿瘤体积，C_{RTV}为阴性对照组的相对肿瘤体积；TGI (%)^a=(1-处理组给药结束时平均瘤体积/溶剂对照组治疗结束时平均瘤体积) ×100%。

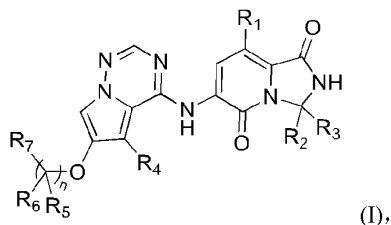
表5 本发明实施例化合物在CT-26移植瘤模型中的抗肿瘤体内药效

化合物	给药剂量	TGI%	T/C%
化合物 12	30mg/Kg, QD	63.57	36.43
化合物 12	90mg/Kg, QD	68.89	31.11
化合物 12	200mg/Kg, QD	68.51	33.31

实验结论：本发明化合物对小鼠结肠癌移植瘤抑制效果显著。

权 利 要 求

1. 式 (I) 所示化合物或其药学上可接受的盐,



其中, R_1 为 H、F、Cl、Br 或 C_{1-3} 烷基;

R_2 和 R_3 各自独立地为 H 或 C_{1-3} 烷基, 其中所述 C_{1-3} 烷基任选被 1、2 或 3 个独立选自 F、Cl、Br 或 I 的取代基所取代;

或 R_2 和 R_3 与它们相连的碳原子连接在一起形成环戊基、环己基或哌啶基, 其中所述环戊基、环己基和哌啶基任选被 1、2 或 3 个 R_a 所取代;

各 R_a 独立地为 H、F、Cl、Br 或 C_{1-3} 烷基;

R_4 为 H、F、Cl、Br 或 C_{1-3} 烷基;

R_5 和 R_6 各自独立地为 H、F、Cl、Br、I 或 C_{1-3} 烷基;

R_7 为吡咯烷基, 其中所述吡咯烷基任选被 1、2 或 3 个 R_b 所取代;

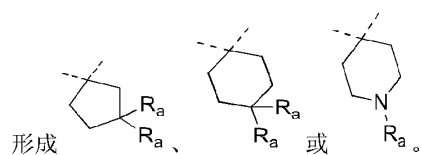
各 R_b 独立地为 H、F、Cl、Br、I 或 C_{1-3} 烷基, 其中所述 C_{1-3} 烷基任选被 1、2 或 3 个独立选自 F、Cl、Br 或 I 的取代基所取代;

n 为 1 或 2。

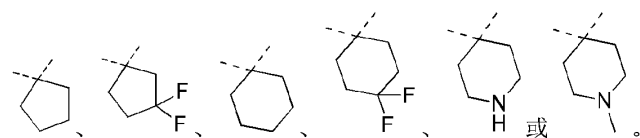
2. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中各 R_a 独立地为 H、F、Cl、Br、 $-CH_3$ 或 $-CH_2CH_3$ 。

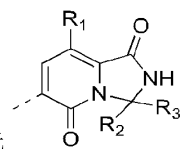
3. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中 R_2 和 R_3 各自独立地为 H、 $-CH_3$ 或 $-CH_2CH_3$ 。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中 R_2 和 R_3 与它们相连的碳原子连接在一起

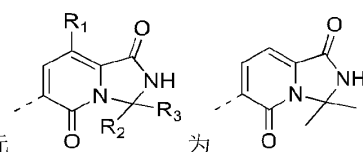
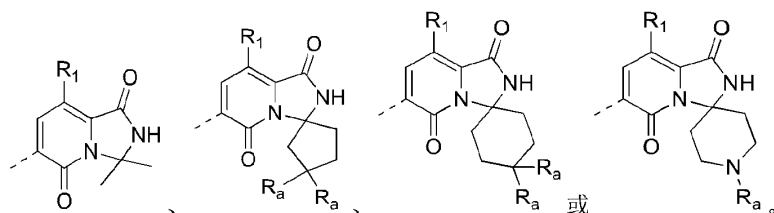


5. 根据权利要求 4 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中 R_2 和 R_3 与它们相连的碳原子连接在一起形成

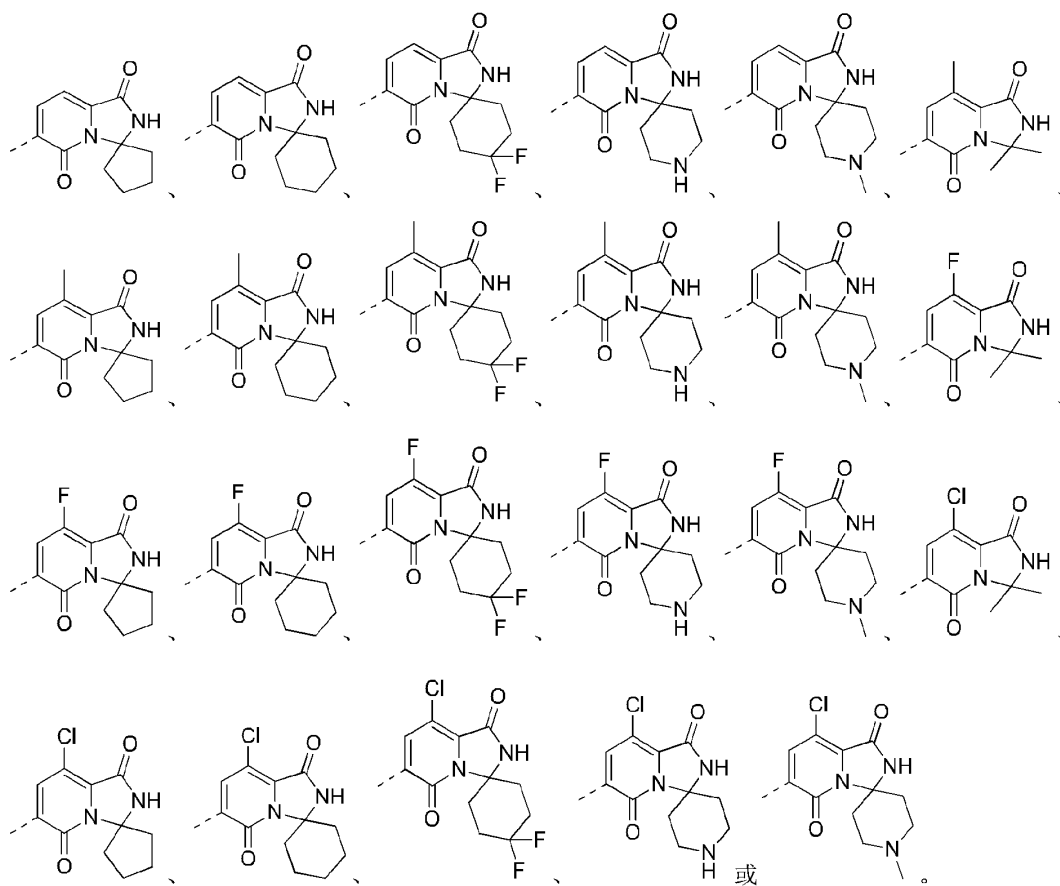




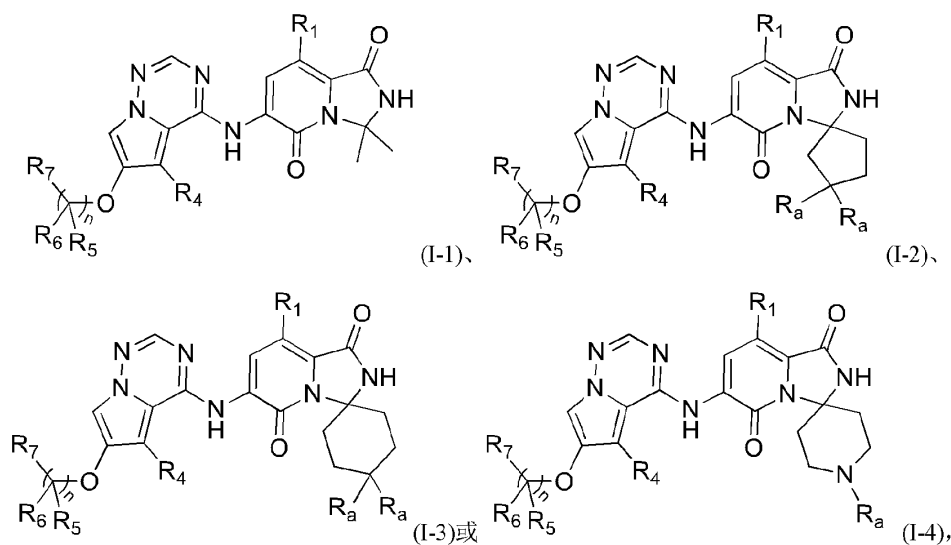
6. 根据权利要求 1 或 3 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中结构单元 为



7. 根据权利要求 6 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中结构单元 为



8. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物具有式 (I-1)~(I-4) 任一结构式所示结构:

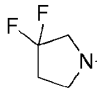
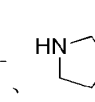


其中, R_1 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_a 和 n 如权利要求 1 所定义。

9. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中各 R_b 独立地 H、F、Cl、Br、I、、、或。

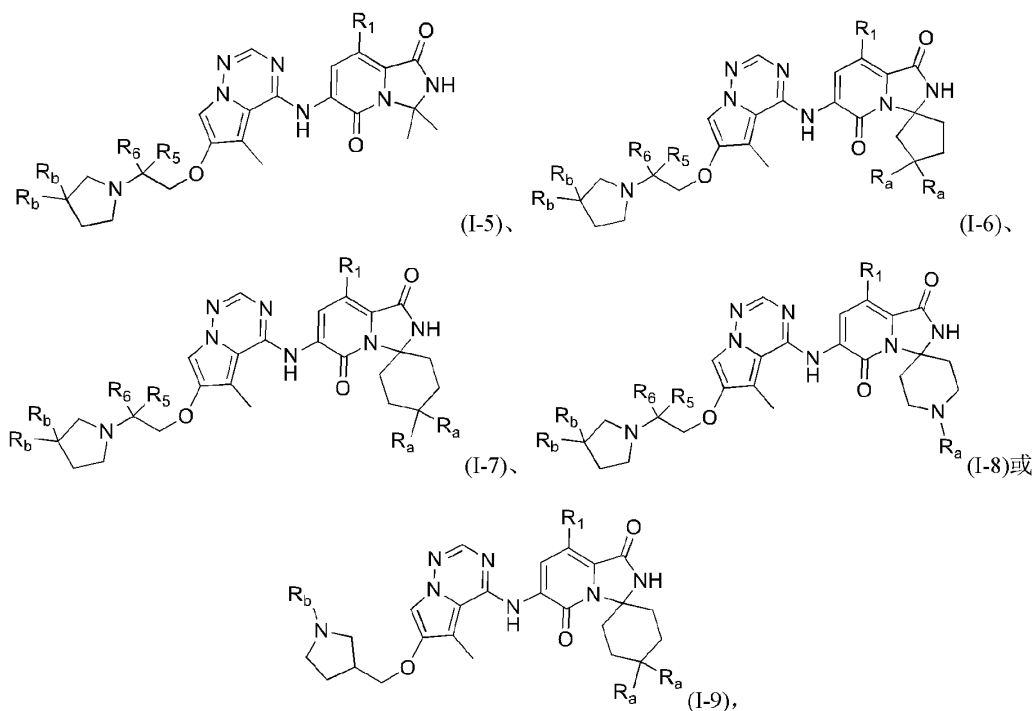
10. 根据权利要求 1、8 或 9 任一项所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中 R_7 为或,
其中所述和任选被 1 或 2 个 R_b 所取代。

11. 根据权利要求 10 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中 R_7 为或。

12. 根据权利要求 11 所述化合物或药学上可接受的盐, 其中 R_7 为、、或或。

13. 根据权利要求 1 或 8 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中 R_4 为 H 或 $-CH_3$ 。

14. 根据权利要求 8 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物具有式 (I-5) ~ 式 (I-9) 任一结构式所示结构:

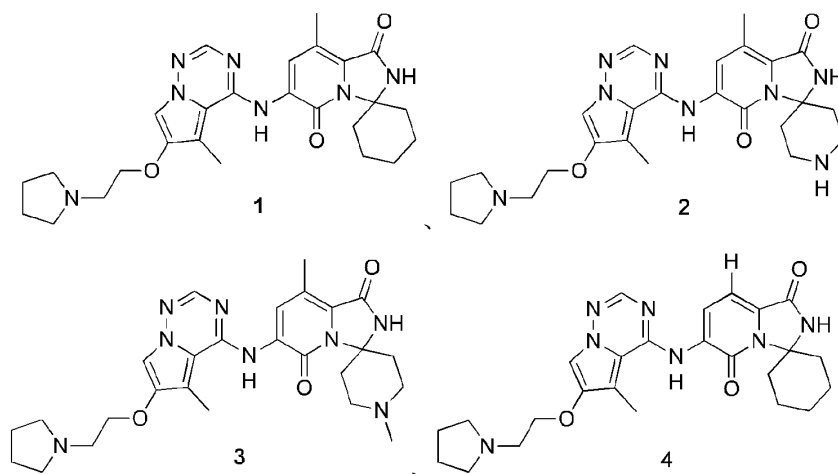


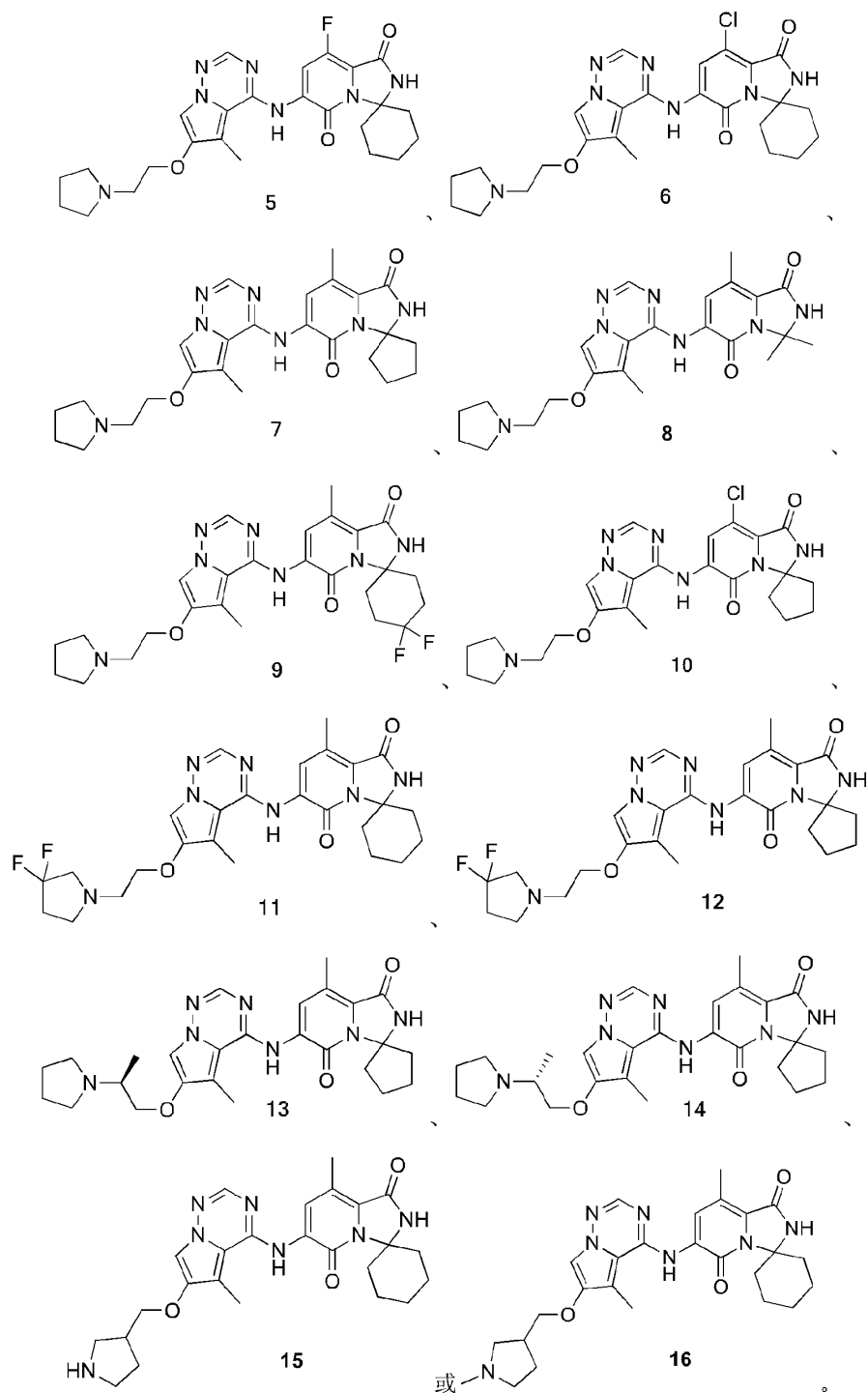
其中， R_1 、 R_5 、 R_6 、 R_a 和 R_b 如权利要求 8 所定义。

15. 根据权利要求 1、8 或 14 所述化合物或其药学上可接受的盐，其中 R_1 为 H、F、Cl 或 。

16. 根据权利要求 1、8 或 14 所述化合物或其药学上可接受的盐，其中 R_5 和 R_6 各自独立地为 H 或 。

17. 下式化合物或其药学上可接受的盐：





18. 根据权利要求 1~17 任一项所述化合物或其药学上可接受的盐，其中所述药学上可接受的盐为盐酸盐或三氟乙酸盐。

19. 根据权利要求 1~17 任一项所述化合物或其药学上可接受的盐在制备 MNK1/2 抑制剂药物中的应用。

20. 根据权利要求 1~17 任一项所述化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗结直肠癌药物中的应用。