驱动蛋白 KIF18A 抑制剂及其使用方法

相关申请的交叉引用

本申请要求以下 5 件中国发明专利申请的权益和优先权，在此将它们的全部内容以援引的方式整体并入本文中：

2024 年 3 月 27 日向中国国家知识产权局提交的第 202410362057.X 号专利申请，

2024 年 6 月 19 日向中国国家知识产权局提交的第 202410799138.6 号专利申请，

2025 年 01 月 08 日向中国国家知识产权局提交的第 202510032448.X 号专利申请，以及

2025 年 03 月 20 日向中国国家知识产权局提交的第 202510338448.2 号专利申请。

技术领域

本公开属于药物化学领域，具体涉及一种作为 KIF18A 抑制剂的化合物，含有所述化合物的药物组合物以及利用所述化合物和所述药物组合物治疗和预防细胞增殖性疾病，例如癌症的方法。

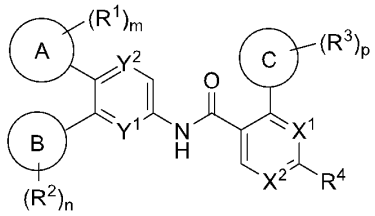
背景技术

KIF18A 是一种有丝分裂驱动蛋白，在细胞有丝分裂过程中调节染色体排列，避免有丝分裂过程发生错误，保证有丝分裂正常进行。

绝大多数人类细胞是二倍体的，并且存在多个细胞周期检查点确保在连续的细胞分裂中基因组保持稳定。一些细胞周期检查点相关的关键蛋白失活会导致有丝分裂异常，整个基因组加倍，从而使一个天然二倍体细胞转变为染色体不稳定的四倍体细胞，全基因组倍增(Whole-genome doubling，WGD)事件(至少发生过 1 次 WGD)在临床肿瘤样本中广泛存在，是染色体不稳定肿瘤的一个重要特征。研究结果显示相对 2 倍体细胞，KIF18A 表达水平在 WGD^+细胞中升高，在所有 10 个细胞系中敲除 KIF18A 后，发现相对于 WGD^-细胞系，WGD^+细胞的生存能力显著降低，活细胞成像显示，在 KIF18A 缺失后，WGD^+乳腺癌细胞相对于 WGD^-细胞表现出纺锤体长度增加和染色体超振荡，引发染色体脱落、有丝分裂延长等异常事件。以上数据揭示，KIF18A 的缺失会造成 WGD^+肿瘤细胞的有丝分裂异常，抑制 WGD^+肿瘤细胞增殖。因此，KIF18A 是一个有吸引力的治疗靶点，其抑制作用可能有助于特异性靶向具有 WGD^+特征的肿瘤，同时不影响人体组织的正常二倍体细胞。

发明内容

本公开提供一种式(I)所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐：



(I)

其中，环 A 为 5-6 元杂芳基，且所述的 5-6 元杂芳基含有至少 3 个选自 N、O 或 S 的杂原子；

环 B 为 4-6 元杂环基，且所述的 4-6 元杂环基含有至少一个选自 N、O 或 S 的杂原子；

环 C 为 6-8 元杂环基，且所述的 6-8 元杂环基含有至少一个选自 N、O 或 S 的杂原子；

X^1、X^2、Y^1 和 Y^2 各自独立选自 N 或 CR^x；所述 R^x 选自 H、卤素、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 卤代烷基或 C_{1-6} 烷氧基；

R^1 和 R^2 各自独立地选自卤素、C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基，且所述的 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基任选地被一个或多个选自 OH、卤素、$-NH_2$ 或 C_{1-4} 烷氧基的取代基所取代；

R^3 为卤素、OH、C_{1-6} 烷基、C_{3-6} 环烷基或 

；

R^{3a} 和 R^{3b} 各自独立地选自 H、卤素或 C_{1-6} 烷基，所述 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、C_{1-4} 烷基、C_{1-4} 卤代烷基、C_{1-4} 烷氧基、C_{3-6} 环烷基、3-8 元杂环基、苯基或 5-6 元杂芳基的取代基所取代；

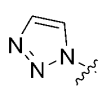
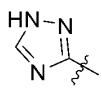
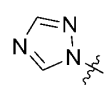
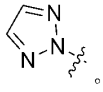
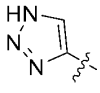
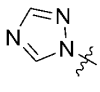
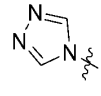
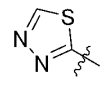
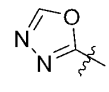
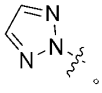
R^4 选自-$NHSO_2$-C_{1-4} 烷基，且所述的 C_{1-4} 烷基任选地被 OH 或卤素取代；

m、n 和 p 各自独立地选自 0、1、2 或 3。

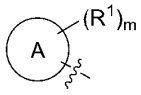
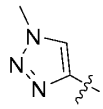
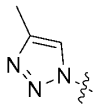
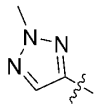
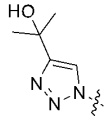
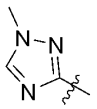
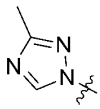
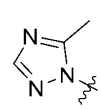
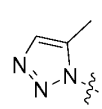
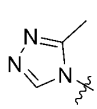
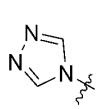
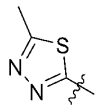
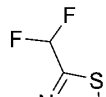
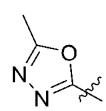
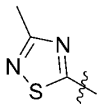
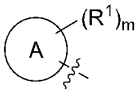
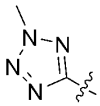
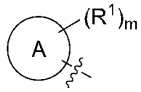
在本公开的式(I)所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐中，R^3 为 

意指在同一个


环原子上的两个 R^3 基团共同形成 。

在一些实施方案中，所述环 A 为 5 元杂芳基，且至少含有 3 个选自 N、O 或 S 的杂原子。在一些实施方案中，所述环 A 为 5 元杂芳基，且含有 3 个选自 N 的杂原子，或含有 2 个选自 N 和 1 个选自 O 或 S 的杂原子，或含有 4 个选自 N 的杂原子。在一些实施方案中，所述环 A 为 5 元杂芳基，且含有 3 个选自 N 的杂原子。在一些实施方案中，所述环 A 选自 、、、、、、、、、。在一些实施方案中，所述环 A 为 。在一些实施方案中，所述环 A 为 。在一些实施方案中，所述环 A 选自 、、、、、、或。

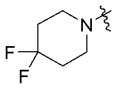
在一些实施方案中，所述 R^1 选自 C_{1-6} 烷基，且所述的 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个选自 OH 或卤素的取代基所取代；和/或 m 选自 0 或 1。在一些实施方案中，所述 R^1 选自甲基、CHF_2 或 ；m 选自 0 或 1。在一些实施方案中，所述 R^1 为甲基。

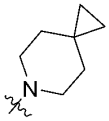
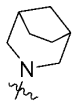
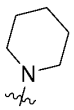
在一些实施方案中，所述结构单元  选自 、、、、、、、、、、、、或。在一些实施方案中，所述结构单元  为 。在一些实施方案中，所述结构单元  为 。在一些实施方案中，所述结构单元 选自 、、、、、、、、或。在一些实施方案中，所述结构单元 选自 、或。

在一些实施方案中，所述环 B 为 6 元的含有一个选自 N 的杂原子的杂环基。在一些实施方案中，所述环 B 为 。

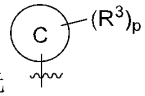
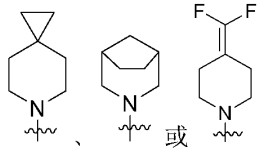
在一些实施方案中，所述 R^2 为卤素；和/或 n 选自 0、1 或 2，或者 n 为 2。在一些实施方案中，所述

R^2选自F、Cl或Br；n选自0、1或2。

在一些实施方案中，所述结构单元  选自  。

在一些实施方案中，所述环C为含有一个选自N的杂原子的6、7或8元杂环基。在一些实施方案中，所述环C选自  、  或  。

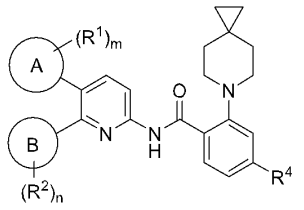
在一些实施方案中，所述R^3为  ；和/或R^{3a}和R^{3b}各自独立地选自H或卤素；和/或p选自0、1或2；或者p选自0或1。在一些实施方案中，所述R^3为  ；p选自0、1或2。

在一些实施方案中，所述结构单元  选自  。

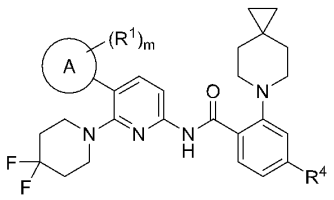
在一些实施方案中，所述X^1、X^2各自独立选自CR^x；和/或所述R^x选自H或卤素。在一些实施方案中，所述X^1、X^2各自独立选自CH或N；或者，X^1、X^2均为CH。在一些实施方案中，所述X^1、X^2各自独立选自CH、-CF或N；或者，X^1为CH，X^2为CH或-CF。在一些实施方案中，所述Y^1、Y^2各自独立选自CH或N；或者，Y^1为N，Y^2为CH；或者，Y^1为N，Y^2为N。

在一些实施方案中，R^4选自-$NHSO_2$-C_{1-4}烷基，且所述的C_{1-4}烷基任选地被一个或多个OH取代。在一些实施方案中，所述R^4选自-$NHSO_2$-CH_2CH_2OH、-$NHSO_2$-CH_3。

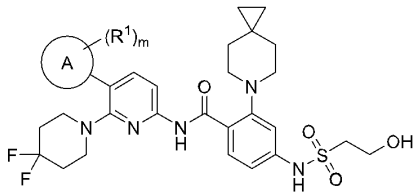
在一些实施方案中，本公开的式(I)所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐选自式(IIa)、式(IIb)、式(IIc)、式(IId)、式(IIe)、式(IIf)或式(IIg)所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐：



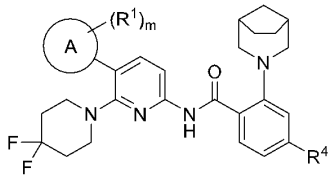
(IIa)、



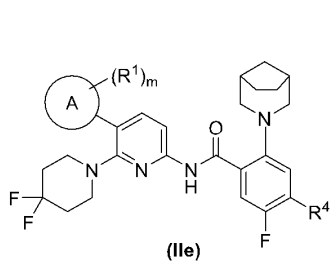
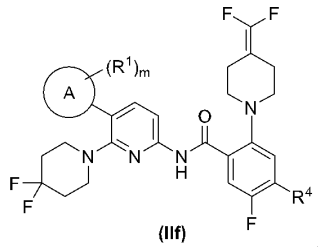
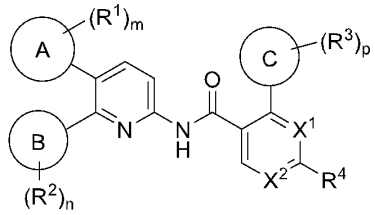
(IIb)、



(IIc)、

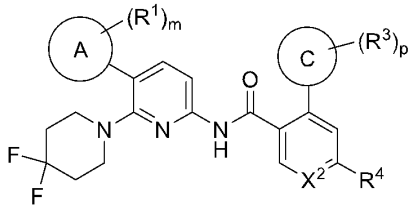


(IId)

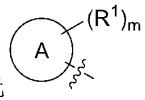
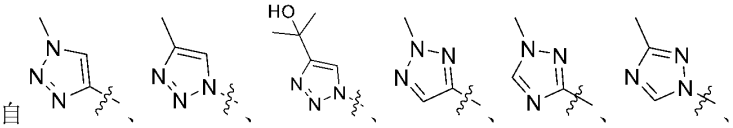
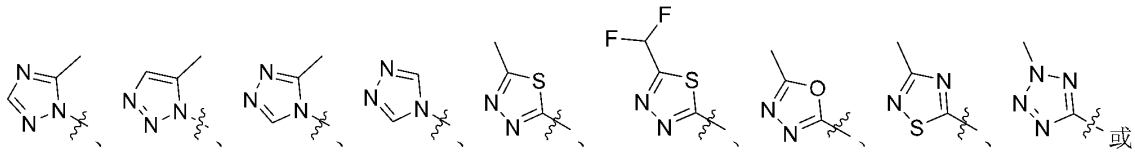
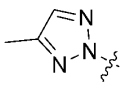

(IIe)、
(IIf)或
(IIg)，

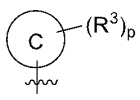
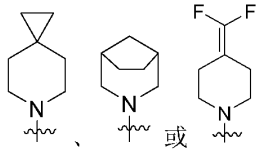
其中，环 A、环 B、环 C、R^1、R^2、R^3、R^4、X^1、X^2、m、p 和 n 如上文的式(I)所定义。

在一些实施方案中，本公开的式(I)所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐选自式(III)所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐：



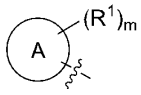
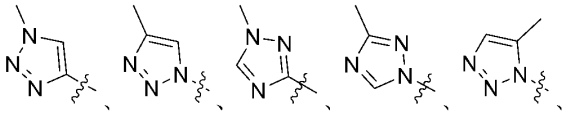
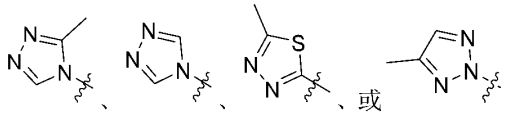
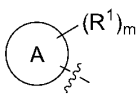
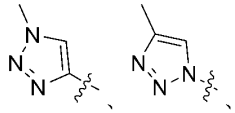
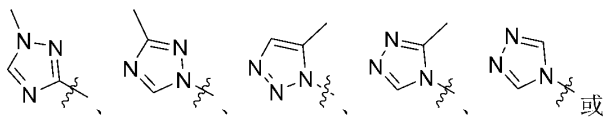
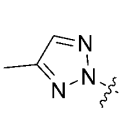
(III)

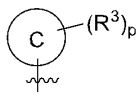
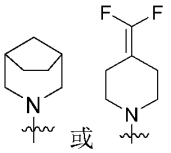
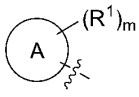
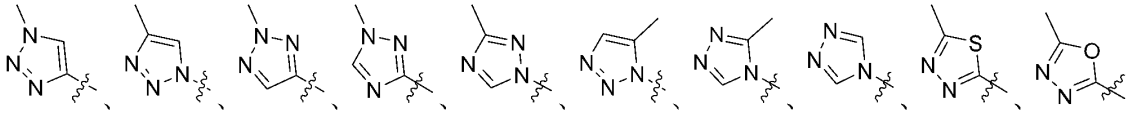
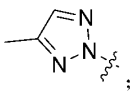
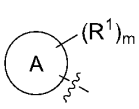
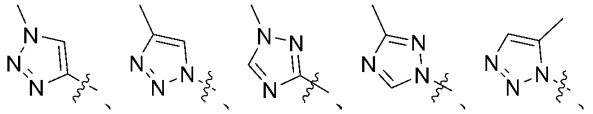
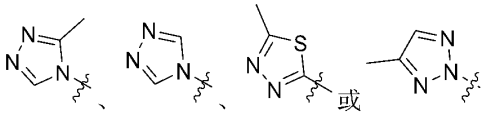
其中，结构单元选自、或；

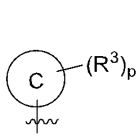
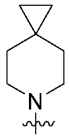
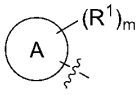
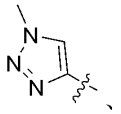
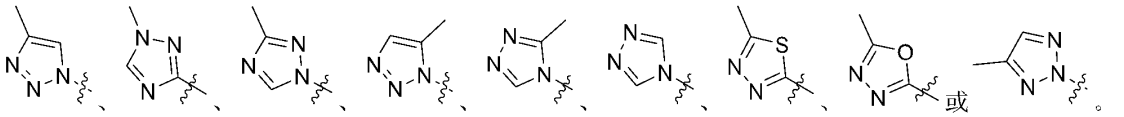
结构单元选自或；

X^2选自 CH 或-CF；

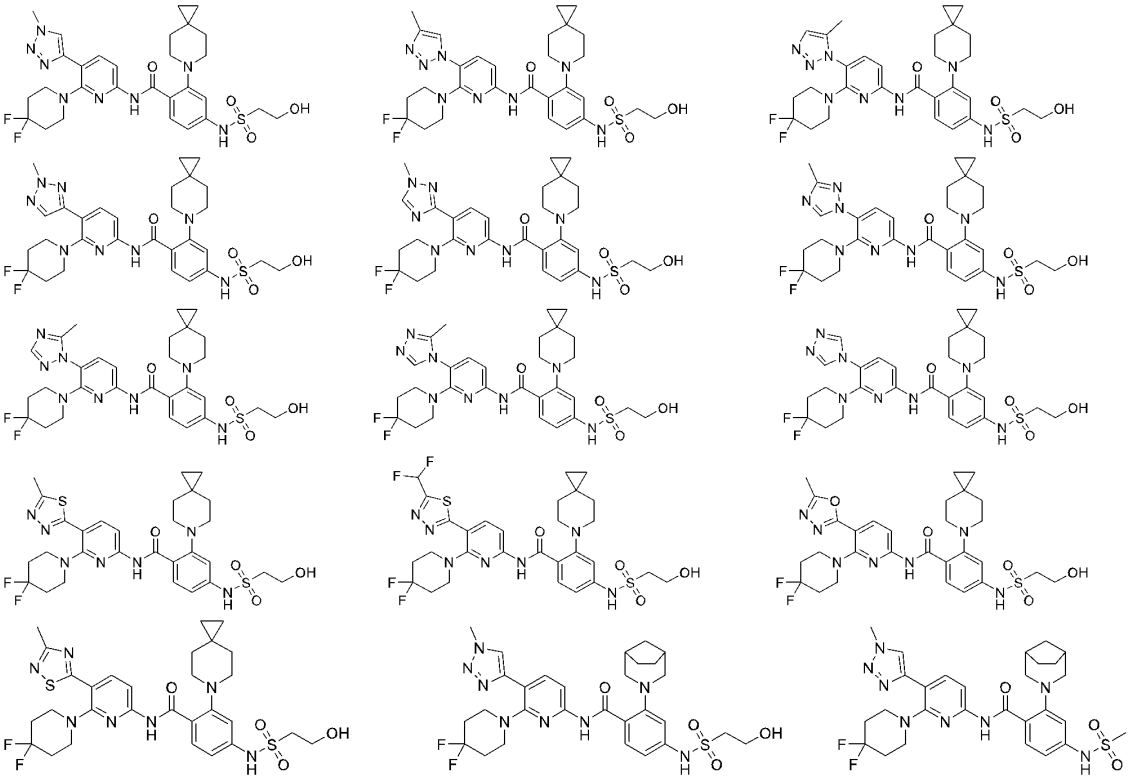
R^4选自-$NHSO_2$-CH_2CH_2OH 或-$NHSO_2$-CH_3。

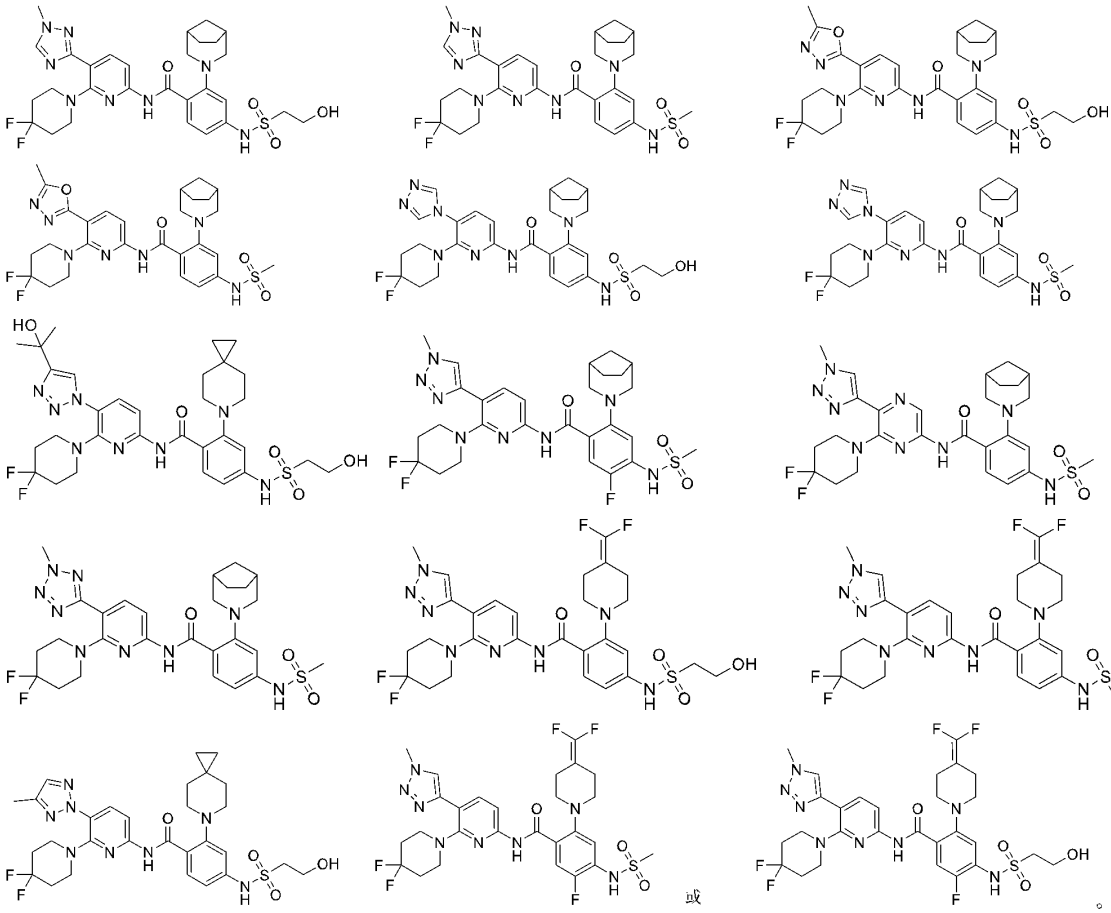
在一些实施方案中，结构单元选自、或；或者，结构单元选自、或。

在一些实施方案中，结构单元  选自  或 ，并且结构单元  选自  或 ；或者，结构单元  选自  或 。

在一些实施方案中，结构单元  为 ，并且结构单元  选自   或 。

在一些实施方案中，本公开的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐选自如下化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐：





另一方面，本公开还涉及药物组合物，其包含式(I)、式(IIa)至式(IIg)和式(III)中任一者所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体。在一些实施方案中，所述药物组合物包含治疗有效量的本公开的所述化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体。

在一些实施方案中，所述的药物组合物中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐的含量选自 0.1mg-1000mg。在一些实施方案中，所述的药物组合物中，所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐的含量为 1%-95%。

在一些实施方案中，所述的药物组合物中，所述的药学上可接受的载体包括填充剂、崩解剂、粘合剂、助流剂、润滑剂中的一种或多种。

另一方面，本公开还涉及式(I)、式(IIa)至式(IIg)和式(III)中任一者所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，或其药物组合物在制备用于治疗或预防由 KIF18A 介导的疾病的药物中的用途。

另一方面，本公开还涉及用于治疗或预防由 KIF18A 介导的疾病的式(I)、式(IIa)至式(IIg)和式(III)中任一者所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，或其药物组合物。

再一方面，本公开还涉及用于治疗或预防有需要的个体的由 KIF18A 介导的疾病的方法，所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的式(I)、式(IIa)至式(IIg)和式(III)中任一者所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，或其药物组合物。

还一方面，本公开还涉及式(I)、式(IIa)至式(IIg)和式(III)中任一者所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，或其药物组合物在治疗或预防由 KIF18A 介导的疾病中的用途。

在一些实施方案中，所述由 KIF18A 介导的疾病为肿瘤。在一些实施方案中，所述肿瘤为染色体不稳定的肿瘤。在一些实施方案中，所述肿瘤选自乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、前列腺癌、肺癌、结直肠癌、胰腺癌、膀胱癌、头颈癌、胃癌、食管癌或皮肤癌。在一些实施方案中，所述肿瘤选自乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、前列腺癌、肺癌、结直肠癌、胰腺癌、膀胱癌或头颈癌。在一些实施方案中，所述肺癌选自肺鳞癌、肺腺癌、大细胞肺癌或小细胞肺癌。

定义

除非另有说明，本文所用的下列术语和短语旨在具有下列含义。一个特定的术语或短语在没有特别定

义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的，而应该按照本领域的普通的含义去理解。

术语“药学上可接受的”指在合理的医学判断范围内适合与人类和动物的组织接触使用而无过度的毒性、刺激、过敏反应或其它的问题或并发症，与合理的收益/风险比相当的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

术语“药学上可接受的盐”是指本公开的化合物与相对无毒的酸或碱反应得到的衍生物。这些盐可以在化合物的合成、分离、纯化期间就被制备，或者单独使用经过纯化的化合物的游离形式与适合的酸或碱反应来制备。当化合物中含有相对酸性的官能团(例如-COOH、-OH、$-SO_3H$ 等)时，与适当的无机或者有机阳离子(碱)反应得到碱加成盐，包括与碱金属或碱土金属形成的盐、与胺或其衍生物形成的铵盐、与氨基酸形成的盐等。当化合物中含有相对碱性的官能团(例如-NH_2 等)时，与适当的无机或者有机阴离子(酸)反应得到酸加成盐，包括与无机酸或有机酸(例如羧酸等)形成的盐。

术语“药学上可接受的载体”是指本领域通常可接受的用于将生物活性药剂递送给动物、特别是哺乳动物的物质，根据给药方式和剂型的性质包括例如佐剂、赋形剂或赋形物，例如稀释剂、防腐剂、填充剂、流动调节剂、崩解剂、润湿剂、乳化剂、助悬剂、甜味剂、调味剂、芳香剂、抗菌剂、抗真菌剂、润滑剂和分散剂。药学上可接受的载体在本领域普通技术人员的眼界范围内根据大量因素配制，其包括但不限于：配制的活性药剂的类型和性质，要将含有该药剂的组合物给药的对象，组合物的预期给药途径，和目标治疗适应症。药学上可接受的载体可以包括含水介质和非水介质这两者以及配制多种固体和半固体剂型所需的物质。除了活性药剂以外，这样的载体包括许多不同的成分和添加剂，因多种原因(例如稳定活性药剂、粘合剂等)在处方中包括的这样的另外的成分对于本领域普通技术人员是众所周知的。

术语“预防或治疗有效量”是指本公开的化合物、其药学上可接受的盐或其立体异构体以适用于任何医学治疗和/或预防的合理效果/风险比治疗障碍的足够量的化合物。但应认识到，本公开的式(I)、式(IIa)至式(IIg)和式(III)中任一者所示的化合物或其药学上可接受的盐和组合物的总日剂量须由主诊医师在可靠的医学判断范围内作出决定。对于任何具体的患者，具体的治疗有效剂量水平须根据多种因素而定，所述因素包括所治疗的障碍和该障碍的严重程度；所采用的具体化合物的活性；所采用的具体组合物；患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食；所采用的具体化合物的给药时间、给药途径和排泄率；治疗持续时间；与所采用的具体化合物组合使用或同时使用的药物；及医疗领域公知的类似因素。

本公开所述的“异构体”包括几何异构体以及立体异构体，例如阻转异构体、顺反异构体、对映异构体、非对映异构体、互变异构体、及其外消旋混合物和其他混合物，所有这些混合物都属于本公开的范围之内。术语“对映异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。术语“互变异构体”是指官能团异构体的一种，其通过一个或多个双键位移而具有不同的氢的连接点，例如，酮和它的烯醇形式是酮-烯醇互变异构体。术语“非对映异构体”是指分子具有两个或更多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。术语“顺反异构体”是指分子中双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而存在的不同空间构型。术语“阻转异构体”由于单键旋转受到阻碍或旋转非常缓慢从而能够分离出来的立体异构体。本公开化合物的立体异构体可以通过手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备。例如本公开某化合物的一种对映体，可以通过不对称催化技术或者手性助剂衍生技术制备得到；或者通过手性拆分技术，从混合物中得到单一立体构型的化合物；或者用手性起始原料，直接制备得到。本公开的光学纯化合物的分离通常是使用制备色谱完成的，采用手性色谱柱，达到分离手性化合物的目的。

化合物的绝对立体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，也可以通过原料的手性结构以及不对称合成的反应机理来确证化合物的绝对构型；或者拆分后，通过与绝对构型确定的产品对照来确定其立体构型。本文中标记为“绝对构型未知/未确定”的化合物，通常是由消旋体化合物通过手性制备型 SFC 拆分为单一异构体，然后进行表征和测试。

术语“同位素衍生物”是指至少一个原子被具有相同原子序数但原子质量不同的原子替代的化合物。可引入到本公开化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、氯、溴和碘等稳定和放射性的同位素，例如分别为 ^{2}H(氘，D)、^{3}H(氚，T)、^{11}C、^{13}C、^{14}C、^{15}N、^{17}O、^{18}O、^{32}p、^{33}p、^{33}S、^{34}S、^{35}S、^{36}S、^{18}F、^{36}Cl、^{82}Br、^{123}I、^{124}I、^{125}I、^{129}I 和 ^{131}I 等，优选氘。相比于未氘代药物，氘代药物有诸如降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势中的一种或多种。本公开的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本公开的范围之内。与碳原子连接的各个可用的氢原子可独立地被氘原子替换，其中氘的替换可以是部分或完全的，部分氘的替换是指至少一个氢被至少一个氘替换。

术语“氮氧化物”或“N-氧化物”是指含氮基团中氮原子进一步被氧化形成的衍生物，常见的 N-氧化物包括叔胺的 N-氧化物或含氮杂环中氮原子的 N-氧化物。N-氧化物的合成方法是本领域技术人员熟知的，包括用过氧酸如过氧乙酸和间氯过氧苯甲酸、过氧化氢、烷基过氧化氢如叔丁基过氧化氢、过硼酸钠和双环氧乙烷如二甲基双环氧乙烷来氧化杂环和叔胺等。

术语“前药”是指其自身具有较小药理活性或无药理学活性的本公开的化合物的某些衍生物，其具有可裂解基团并通过溶剂分解或在生理条件下分解成为本公开化合物。所述的前药类型包括但不限于酰胺、酯、

酸酐、盐等。所述的“酯”是指当本公开化合物含有酸性基团(如羧酸)时，其与合适的醇形成的衍生物；当本公开化合物含有羟基基团时，其与合适的酸(包括有机酸或无机酸)形成的衍生物。前药的制备方法是本领域技术人员所熟知的。

本公开的化合物能够以非溶剂化以及溶剂化形式存在，溶剂化包括水合物形式。一般而言，溶剂化形式等价于未溶剂化形式，也涵盖在本公开的范围内。

本公开化合物包括其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐形式。

本公开化合物和它们的盐可以以同位素衍生物形式存在，并且本公开化合物包括各种同位素衍生物和其混合物。

本公开化合物和它们的盐可以以溶剂合物的形式存在，例如水合物，并且本公开化合物包括各种溶剂合物和其混合物。

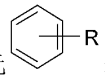
本公开化合物和它们的盐可以以“N-氧化物”形式存在，并且本公开化合物包括各种 N-氧化物和其混合物。

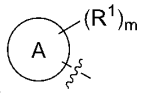
本公开所述的化合物、其药学上可接受的盐、同位素衍生物、溶剂合物、N-氧化物具有相同或相似的生物活性，其均包括在本公开范围内。

本公开所述“任选被取代”是指被取代基基团的一个或多个氢原子可以被一个或多个取代基“取代”或“不取代”的两种情形。

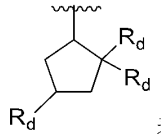


当取代基结构中出现 表示该原子为键合原子，例如 表示嘧啶环上的 C 原子为键合原子。取代基结构中出现破折号“-”指示用于取代基的连接点，例如-CH_3 通过 C 原子连接。“ ”和“ ”表示一个立体中心的绝对构型，即 R 或 S 构型。“ ”或“ ”表示顺式(cis)或反式(trans)构型，双实键或双虚键均表示顺式构型，一实一虚表示反式构型。

当取代基的键可以交叉连接到环上时，表示这种取代基可以与这个环上的任意原子相键合。例如，结构单元  表示取代基 R 可以在苯环上的任意一个位置发生取代。

当结构单元  中的 m 为 0 时，默认环 A 上均为 H 取代；当 m 为 1、2 或 3 时，R^1 为非 H 的取代基。当列出的取代基未指明该取代基通过哪个原子连接至给定基团或给定结构式时，则该取代基可通过其任一可键合原子来连接。

当任何变量(例如 R_d)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。

例如，  表示环戊基被 3 个 R_d 所取代，且每个 R_d 都有独立的选项。

除非另有规定，术语“卤素”表示氟、氯、溴或碘原子。

除非另有规定，术语“烷基”是指具有指定碳原子数的支链或直链饱和脂肪族烷烃去掉一个氢衍生的基团。例如“C_{1-10} 烷基”是指包括 C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10} 烷基，“C_{1-6} 烷基”、“C_{1-4} 烷基”、“C_{1-3} 烷基”；具体实例包括但不限于：甲基、乙基、正丙基、异丙基、仲丁基、2-甲基丁基、1,1-二甲基丁基等。

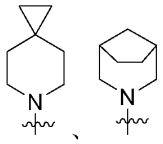
除非另有规定，术语“卤代烷基”是指一个或多个氢原子被卤原子取代的烷基。优选卤代 C_{1-6} 烷基，更优选卤代 C_{1-4} 烷基。卤代烷基的实例包括但不仅限于一氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、三氯甲基、三溴甲基、2,2,2-三氟乙基，2,2,2 三氯乙基等。烷基如前文所定义。

除非另有规定，术语“烷氧基”是指本文所定义的烷基通过氧原子与其他基团相连，即“烷基-O-”。包括“C_{1-6} 烷氧基”(结构为 C_{1-6} 烷基-O-)、“C_{1-4} 烷氧基”，具体实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、1-甲基乙氧基、丁氧基、2-甲基丁氧基、3-甲基丁氧基、1,1-二甲基丙氧基、1,2-二甲基丙氧基等；优选地，本公开所述的“烷氧基”优选为 C_{1-4} 烷氧基，更优选为 C_{1-3} 烷氧基。

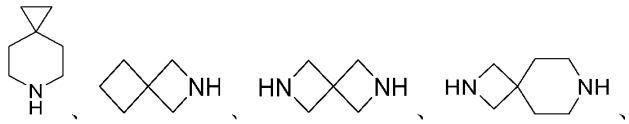
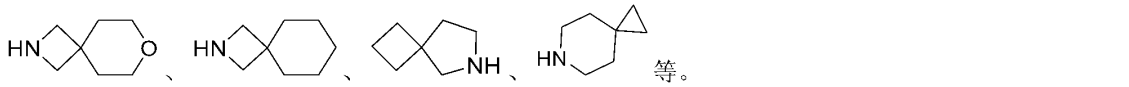
除非另有规定，术语“卤代烷氧基”是指烷氧基中的一个或多个氢被卤素取代所得到的基团，优选地，

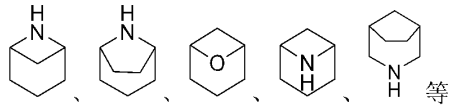
本公开所述的“卤代烷氧基”优选为“卤代C_{1-6}烷氧基”、“卤代C_{1-4}烷氧基”。本公开所述的具体实例如：氟代甲氧基(包括一氟甲氧基、二氟甲氧基、三氟甲氧基)、$-OCH_2CF_3$、$-OCHFCH_3$等。烷氧基如前文所定义。

除非另有规定，术语“环烷基”是指环烷烃去除氢原子衍生的饱和环状烷基，包括单环或多环饱和烃基；所述的多环饱和烃基是指由两个或两个以上环状烷基结构通过螺、桥、稠等方式连接形成的多环基团。所述环烷基中的碳原子可以进一步被氧化，即形成C(O)。除非特别说明书，本文所述的“某元环烷基”可以理解为单环环烷基，当为多环时会具体指明其为螺、稠或桥环基团。所述环烷基包括“C_{3-8}环烷基”、“C_{3-6}环烷基”、“C_{3-5}环烷基”。优选地，所述环烷基为单环的、饱和结构；具体实例包括但不限于：环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基。

除非另有规定，术语“杂环基”是指环烷基中的一个或多个环碳原子被杂原子和/或杂原子团替换所衍生的饱和环状基团。所述杂原子和/或杂原子团一般选自N、O、S、NO、SO、$S(O)_2$、P(O)、以及NR(R为H或者文中定义的其他取代基)，其中杂环中的碳原子任选被氧化，即形成-C(O)；优选地，所述的杂原子独立地选自1-3个N和/或O。所述的杂环基包含单杂环基、稠杂环基、螺杂环基和桥杂环基；所述杂环基包括“3-8元杂环基”、“3-6元杂环基”、“3-5元杂环基”、“4-6元杂环基”、“5-6元杂环基”。具体实例包括但不限于氮杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、哌啶基、哌嗪基、四氢吡喃基、吗啉基、等。

除非另有规定，术语“稠杂环基”是指由两个或两个以上环状结构彼此共用两个相邻的原子所形成的、含有至少一个环原子为杂原子的、饱和的非芳香性环状基团；所述杂原子一般选自 N、O、S；所述稠杂环中的环碳原子以及杂原子可以被进一步氧化，形成含有 C(O)、NO、SO、$S(O)_2$ 基团的环状基团，也包含在本公开所述杂环基的定义范围内。本公开的稠合方式可以为 5-6 元杂环基并 5-6 元杂环基、5-6 元杂环基并 5-6 元环烷基、苯并 5-6 元杂环基、苯并 5-6 元饱和杂环基、5-6 元杂芳基并 5-6 元杂环基、5-6 元杂芳基并 5-6 元饱和杂环基、苯并 5-6 元杂环基并 5-6 元杂环基、5-6 元杂芳基并 5-6 元杂环基并 5-6 元杂环基、苯并 5-6 元环烷基并 5-6 元杂环基、5-6 元杂芳基并 5-6 元环烷基并 5-6 元杂环基。

除非另有规定，术语“螺杂环基”是指“螺环基”中至少一个碳原子被杂原子/杂原子团替换所衍生的环状结构，所述的杂原子/杂原子团选自 N、O、S、P、NO、SO、$S(O)_2$、P(O)以及 NR，R 为 H 或任一可存在的取代基团，其包括但不限于杂环螺杂环、杂环螺环烷烃形成的环状结构。所述螺杂环优选含有 1-2 个选自 NR 和/或 O 的杂原子，更优选含 1 个 NR 和 0-1 个 NR 或 O 杂原子。所述的螺杂环优选“含氮螺杂环”，其是指环原子至少一个为 NR 的螺杂环。所述螺杂环包括 7-11 元螺杂环、7-9 元螺杂环、7-11 元含氮螺杂环、7-9 元含氮螺杂环。具体实例包括但不限于：、等。

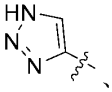
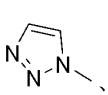
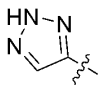
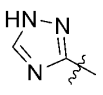
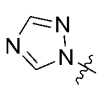
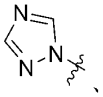
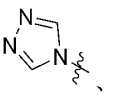
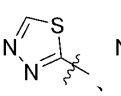
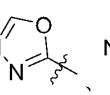
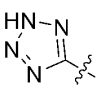
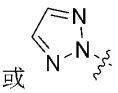
除非另有规定，术语“桥杂环基”是指“桥环基”中至少一个碳原子被杂原子/杂原子团替换所衍生的环状结构，所述的杂原子/杂原子团选自 N、O、S、P、NO、SO、$S(O)_2$、P(O)以及 NR，R 为 H 或任一可存在的取代基团。所述桥杂环优选“含氮桥杂环”，其是指环原子至少一个为 NR 的杂环。所述桥杂环包括“6-10元桥杂环”、“6-8 元桥杂环”等，具体实例包括但不限于：等。

除非另有规定，术语“芳基”是指不饱和的、通常为芳族的烃基，其可为单环或稠合在一起的多个环。优选地，术语“芳基”是指环原子为碳原子的碳环环系。芳基优选 C_{5-10} 芳基或 C_{6-10} 芳基，更优选 C_{5-8} 芳基或 C_{6-8} 芳基，最优选单环的 C_{5-6} 芳基或 C_6 芳基，；芳基的实例包括但不限于苯基、萘基。

除非另有规定，术语“稠环芳基”是指由两个或两个以上芳环彼此共用两个相邻的碳原子所形成的稠环基团，包括萘基、蒽基和菲基等，

本公开所述的“杂芳基”指至少一个环原子为杂原子和/或杂原子团的具有芳香性的单环基团，所述杂原子和/或杂原子团一般选自 N、O、S、P、NO、SO、$S(O)_2$、P(O)以及 NR，R 为 H 或任一可存在的取代基

团，其中杂环中的碳原子任选被氧化，即形成-C(O)；优选地，所述的杂原子独立地选自 1-3 个 N 和/或 O。所述的杂芳基包括“5-6 元杂芳基”；具体实例包括但不限于吡咯基、呋喃基、噻吩基、吡唑基、咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、三嗪基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、吡啶基、嘧啶基。

本公开所述的“5-6 元杂芳基”，优选至少含 3 个选自 N、O、S 的杂原子，具体实例包括但不限于 、、、、、、、、、、或 。

本公开所述的取代基和/或变量的组合应在这些组合产生稳定化合物或可用的合成中间体时才允许。稳定化合物或稳定结构是指足够稳定以经受化学反应、以有用的纯度分离出、可以配制成有效治疗药物的化合物。

具体实施方式

在本公开实施例中，标题化合物的命名是借助 Chemdraw 通过化合物结构转化过来的。若化合物名称与化合物结构存在不一致的情况，可通过综合相关信息和反应路线辅助确定；无法通过其他来确认的，以给出的化合物结构式为准。本公开中部分化合物的制备方法引用了前述类似化合物的制备方法。本领域人员应当知晓，在使用或参照使用其引用的制备方法时，反应物的投料比、反应溶剂、反应温度等可根据反应物的不同，进行适当的调整。

本公开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公开的实施例。

实验仪器：

本公开的化合物结构是通过核磁共振(NMR)或/和液质联用色谱(LC-MS)，或超高效液质联用色谱(UPLC-MS)来确定的。NMR 化学位移(δ)以百万分之一(ppm)的单位给出。NMR 的测定是用 Bruker Neo 400M 或者 Bruker Ascend 400 核磁仪器进行的，测定溶剂为氘代二甲基亚砜(DMSO-d_6)，氘代甲醇(CD_3OD)和氘代氯仿($CDCl_3$)，重水(D_2O)，内标为四甲基硅烷(TMS)。

液质联用色谱 LC-MS 的测定用 Agilent 1260-6125B single quadrupole mass spectrometer，柱子为 Welch Biomate column (C18, 2.7 μm, 4.6×50 mm) 或者 waters H-Class SQD2，柱子为 Welch Ultimate column (XB-C18, 1.8 μm, 2.1×50 mm) 质谱仪(离子源为电喷雾离子化)。

超高效液质联用色谱 UPLC-MS 的测定用 Waters UPLC H-class SQD 质谱仪(离子源为电喷雾离子化)。

HPLC 的测定使用 Waters e2695-2998 或 Waters ARC 和 Agilent 1260 或 Agilent Poroshell HPH 高效液相色谱。

制备 HPLC 使用 Waters 2555-2489 (10 μm，ODS 250cm ×5cm)或 GILSON Trilution LC，柱子为 Welch XB-C18 柱 (5 μm, 21.2×150 mm)。

薄层层析硅胶板使用烟台江友硅胶开发有限公司 GF254 硅胶板或乳山市上邦新材料有限公司 GF254 硅胶板，TLC 采用的规格是 0.15 mm~0.20 mm，制备型 20×20 cm，柱层析一般使用于成化工 200~300 目硅胶为载体。

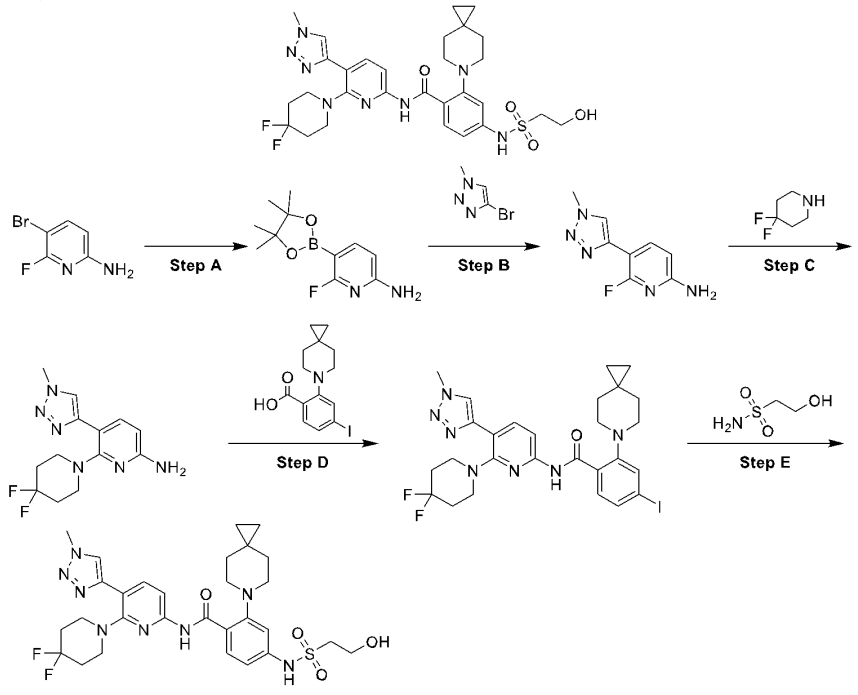
本公开实施例中的起始原料是已知的并且可以在市场上买到，或者可以采用或按照本领域已知的方法来合成。在无特殊说明的情况下，本公开的所有反应均在连续的磁力搅拌下，在干燥氮气或氩气气氛下进行，溶剂为干燥溶剂，反应温度单位为摄氏度或℃。

实施例中使用的缩写及对应名称如下：

缩写	名称
t-Bu	叔丁基
Boc	叔丁氧羰基
THF	四氢呋喃
LiHMDS	二(三甲基硅基)氨基锂
NaH	氢化钠
Dioxane	二氧六环

DCM	二氯甲烷
TFA	三氟乙酸
Bn	苄基

实施例 1 N-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-4-((2-羟乙基)磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺



化合物1

步骤 A：室温下，向 5-溴-6-氟吡啶-2-胺(20 g，0.1 mol)的 1,4-二氧六环(500 mL)溶液中依次加入[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(7.7 g，0.01 mol)，联硼酸频那醇酯(38 g，0.15 mol)及乙酸钾(29 g，0.3 mol)，氮气置换后在 110℃下搅拌反应 16 h。反应结束后，将反应混合物冷却至室温，乙酸乙酯(500 mL × 3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(300 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=1/1)纯化，得到 6-氟-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)吡啶-2-胺(16 g)。MS (ESI) M/Z: 239.2 $[M+H]^+$.

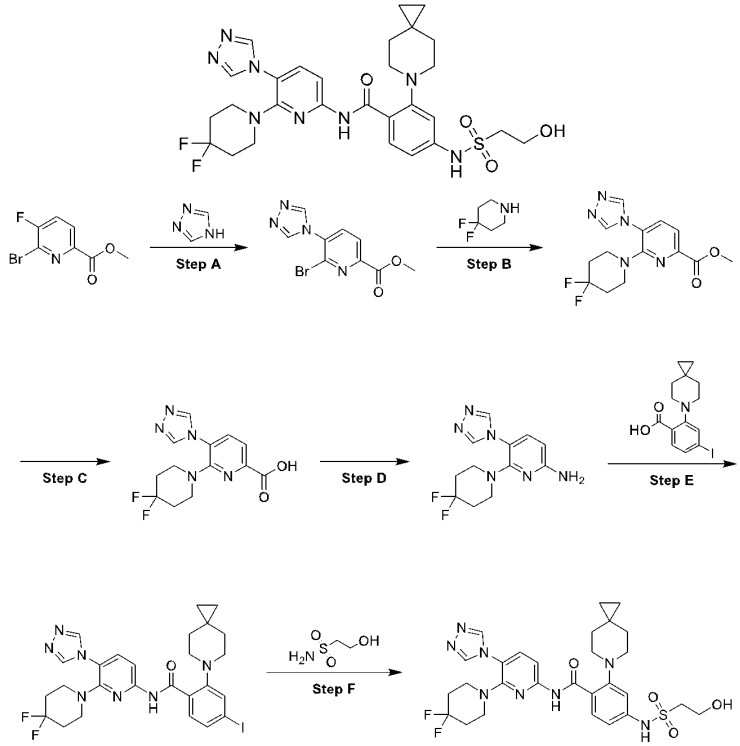
步骤 B：室温下，向 6-氟-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)吡啶-2-胺(3 g, 12.6 mmol)的 1,4-二氧六环/水(体积比 5/1，50 mL)溶液中依次加入 4-溴-1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑(3 g，18.8 mmol)，[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(1.84 g，2.52 mmol)及碳酸钾(5.2 g，37.8 mmol)，氮气置换后在 100℃下反应 3 h。反应结束后，将反应混合物冷却至室温，冰水淬灭，乙酸乙酯(100 mL × 3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(100 mL × 3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(5% 甲醇二氯甲烷)纯化，得到 6-氟-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-胺(1.3 g)。MS (ESI) M/Z: 194.1 $[M+H]^+$.

步骤 C：向 6-氟-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-胺(1.3 g，6.7 mmol)的二甲基亚砜(15 mL)溶液中依次加入 4,4-二氟哌啶(2.43 g，20.1 mmol)和碳酸钾(2.8 g，20.1 mmol)，氮气置换后在 160℃下微波反应 16 h。冷却到室温，将反应液直接通过 C18 反相柱(乙腈/水=40/60)纯化，得到 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-胺(0.6 g)。MS (ESI) M/Z: 295.2 $[M+H]^+$.

步骤 D：室温下，向 4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酸(0.12 g，0.34 mmol) 的四氢呋喃(2 mL)溶液中滴加氯化亚砜(0.12 g，1.02 mmol)，接着将催化量的 *N,N*-二甲基甲酰胺(3 mg，0.034 mmol)加入到反应体系中，将反应置于 70℃下反应 2 h。然后将反应体系直接浓缩干得到残渣，随后将 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-胺(0.1 g，0.34 mmol)的四氢呋喃(2 mL)溶液加入到上一步得到的残渣中，再将叔丁醇钾(1.7 mL，1.7 mmol，1M 四氢呋喃溶液)加到反应体系中，最后室温搅拌 16 h。将反应混合物用冰水淬灭，乙酸乙酯(30 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(50 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(5% 甲醇二氯甲烷)纯化，得到目标化合物 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺(68 mg)。MS (ESI) M/Z: 634.2 $[M+H]^+$.

步骤 E：室温下，向 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺(68 mg，0.1 mmol)的 *N,N*-二甲基甲酰胺(2 mL)溶液中依次加入 2-羟基乙烷-1-磺酰胺(25 mg，0.2 mmol)，碘化亚铜(19 mg，0.1 mmol)，肌氨酸(9 mg，0.1 mmol)及磷酸钾(85 mg，0.4 mmol)，氮气置换后将反应体系置于 120℃下反应 16 小时。将反应体系冷却至室温，将反应液直接通过高效液相色谱纯化，得到目标产物 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-4-((2-羟乙基)磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺(18.2 mg)。MS (ESI) M/Z: 631.3 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.29 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.26 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.06 (dd, *J* = 14.8, 8.5 Hz, 2H), 7.26 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.12 (dd, *J* = 8.6, 2.0 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.76 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.36 (s, 2H), 3.18 – 3.14 (m, 4H), 3.00 (s, 4H), 2.21 – 2.12 (m, 4H), 1.97 – 1.49 (m, 4H), 0.40 (s, 4H).

实施例 2 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶-2-基)-4-((2-羟乙基)磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺



化合物2

步骤 A：室温下，向 6-溴-5-氟吡啶甲酸甲酯(2 g，8.6 mmol)和 4*H*-1,2,4-三唑(0.59 g，8.6 mmol)的 *N,N*-二甲基甲酰胺(30 mL)溶液中添加碳酸钾(3.56 g, 25.8 mmol)，随后在 80℃下搅拌反应 2 h。反应结束后，将反应混合物冷却至室温，冰水淬灭，乙酸乙酯(50 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(50 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=5/1)纯化，得到目标化合物 6-溴-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶甲酸甲酯(2 g)。MS (ESI) M/Z: 283.0 $[M+H]^+$.

步骤 B：室温下，向 6-溴-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶甲酸甲酯(2 g, 7.1 mmol)的 *N,N*-二甲基甲酰胺(30 mL)溶液加入 4,4-二氟哌啶(1 g，8.5 mmol)及碳酸钾(2.9 g，21.3 mmol)后，移入油浴在 100℃下搅拌反应 4 h。反应结束后，将反应混合物冷却至室温，冰水(50 mL)淬灭，乙酸乙酯(50 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(50 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=3/1)纯化，得到目标化合物 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶甲酸甲酯(2 g)。MS (ESI) M/Z: 324.0 $[M+H]^+$.

步骤 C：室温下，向 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶甲酸甲酯(2 g，6.2 mmol)的四氢呋喃/甲醇/水=4/2/1(20 mL)溶液中加入氢氧化锂(0.74 g，31 mmol)，室温搅拌反应 1 h。反应结束后，将反应混合物旋转蒸发以除去溶剂，得残渣，稀盐酸(1M)调节 pH 至 5-6，有固体析出，过滤后滤饼用甲基叔丁基醚洗涤，随后滤饼冻干，得到目标化合物 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶甲酸(1.5 g)。MS (ESI) M/Z: 310.0 $[M+H]^+$.

步骤 D：室温下，向 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶甲酸(1.5 g，4.8 mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺(30 mL)溶液加入二异丙基乙胺(0.89 g，6.9 mmol)及叠氮磷酸二苯酯(1.9 g，6.9 mmol)后，移入

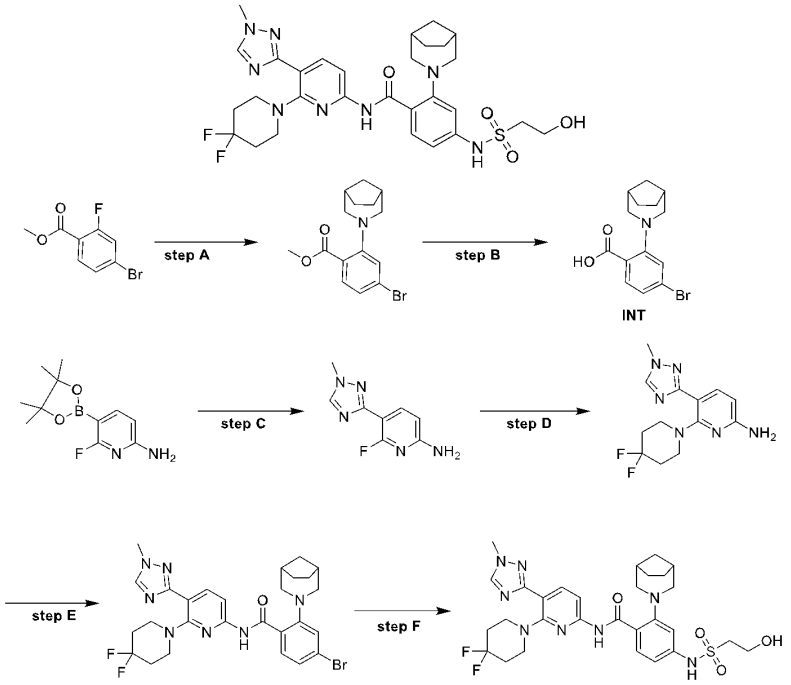
油浴在 90℃下搅拌反应 5 mins，随后加入水(0.43 g，24 mmol)并保持该温度下继续搅拌反应 2 h。将反应混合物冷却至室温后，冰水(50 mL)淬灭，乙酸乙酯(50 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(50 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化，得到目标化合物 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶-2-胺(1.2 g)。MS (ESI) M/Z: 281.0 $[M+H]^+$.

步骤 E：

室温下，向 4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酸(0.64 g, 1.8 mmol 的四氢呋喃(10 mL)溶液中滴加氯化亚砜(0.64 g, 5.4 mmol)，接着将催化量 *N,N*-二甲基甲酰胺(13 mg，0.18 mmol)加入到反应体系中，将反应体系置于 70℃下反应 2 小时。然后将反应体系直接浓缩得到残渣，随后将 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶-2-胺(0.5 g，1.8 mmol)的四氢呋喃(5 mL)溶液加入到上一步得到的残渣中，再将叔丁醇钾(9 mL，9 mmol，1 M 四氢呋喃溶液)加到反应体系中，室温搅拌 16 小时。将反应混合物冰水淬灭，乙酸乙酯(50 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(50 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化，得到目标化合物 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶-2-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺(0.5 g)。MS (ESI) M/Z: 620.2 $[M+H]^+$.

步骤 F：室温下，向 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶-2-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺(0.5 g, 0.81 mmol)的 *N,N*-二甲基甲酰胺(5 mL)溶液中依次加入 2-羟基乙烷-1-磺酰胺(202 mg, 1.62 mmol)，碘化亚铜(153 mg, 0.81 mmol)，肌氨酸(72 mg, 0.81 mmol)及磷酸钾(686 mg, 3.24 mmol)，氮气置换后将反应体系置于 120℃下反应 16 小时。将反应体系冷却至室温，将反应液直接通过高效液相色谱纯化，得到目标产物 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4*H*-1,2,4-三唑-4-基)吡啶-2-基)-4-((2-羟乙基)磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺(107.52 mg)。MS (ESI) M/Z: 617.3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.39 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, 1H), 3.77 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.36 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.10 – 3.04 (m, 4H), 3.03-2.99 (m, 4H), 2.02 – 1.93 (m, 4H), 1.91 – 1.32 (m, 4H), 0.40 (s, 4H).

实施例 3 2-3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,4-三唑-3-基)吡啶-2-基)-4-((2-羟乙基)磺酰胺基)苯甲酰胺



步骤 A：将 4-溴-2-氟苯甲酸甲酯(5 g, 21.46 mmol)，3-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐(4.75 g, 32.19 mmol)和 *N,N*-二异丙基乙胺(13.87 g, 107.30 mmol)溶解在二甲亚砜(100 mL)中，反应液加热至 120°C 并搅拌 12 小时。随后将反应混合物冷却至室温，加入乙酸乙酯/水(200ml/100ml)稀释，混合溶液用乙酸乙酯萃取三次，合并有机相，用无水硫酸钠干燥，并浓缩。残渣通过快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯/石油醚=5%)，得到黄色固体 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-4-溴苯甲酸甲酯(6.4 g)。MS (ESI) M/Z: 324.0 $[M+H]^+$.

步骤 B：向溶有 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-4-溴苯甲酸甲酯(6.4 g, 19.74 mmol)的四氢呋喃(80 mL)和水(20 mL)的混合溶液中加入氢氧化钠(4.74 g, 118.44 mmol)，然后反应液加热至 80℃搅拌 36 小时。随后将

反应液冷却至室温，反应液减压浓缩后，用盐酸(2M)调 pH 至 5-6，白色固体析出，过滤，滤饼干燥，得到白色固体 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-4-溴苯甲酸(5.2 g)。MS (ESI) M/Z: 310.0 $[M+H]^+$.

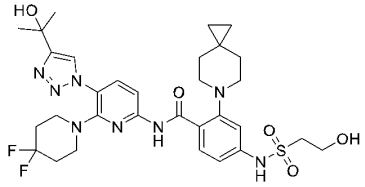
步骤 C：在氮气保护下，向溶有 6-氟-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼烷-2-基)吡啶-2-胺(4 g, 16.80 mmol)，3-溴-1-甲基-1*H*-1,2,4-三唑(3.27 g, 20.16 mmol)和碳酸钾(6.97 g, 50.40 mmol)的二氧六环(60 mL)和水(15 mL)的混合溶液中，加入[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯二氯甲烷络合物(1.37 g, 1.68 mmol)，反应液氮气置换三次，随后在 100℃下，反应 4 小时。随后将反应混合物冷却至室温，加入乙酸乙酯/水(200 mL/100 mL)稀释，混合溶液用乙酸乙酯萃取三次，合并有机相，用无水硫酸钠干燥，并浓缩。残渣通过快速硅胶柱纯化(甲醇/二氯甲烷=5%)，得到 6-氟-5-(1-甲基-1*H*-1,2,4-三唑-3-基)吡啶-2-胺(800 mg)。MS (ESI) M/Z: 194.1 $[M+H]^+$.

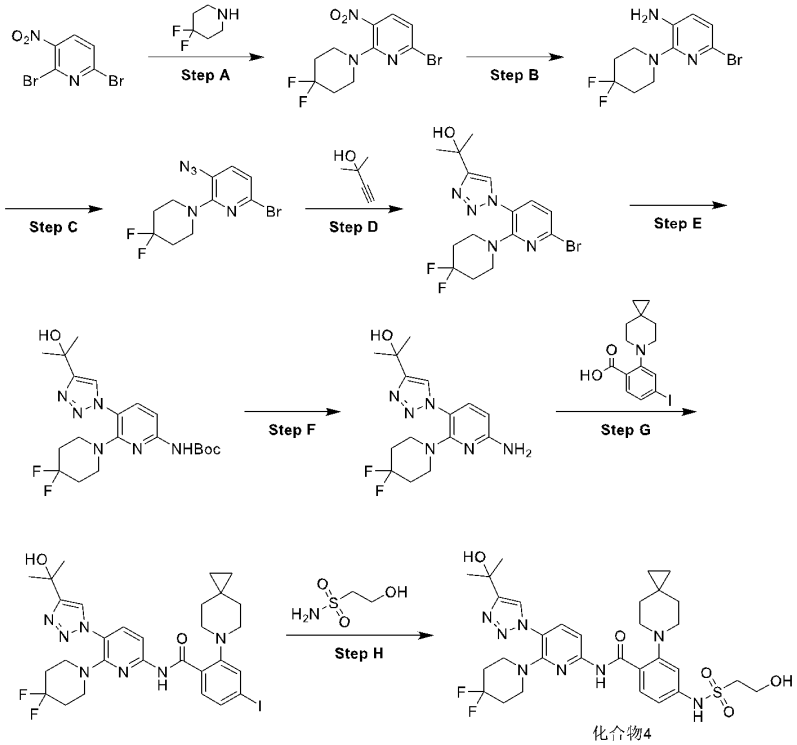
步骤 D：将溶有 6-氟-5-(1-甲基-1*H*-1,2,4-三唑-3-基)吡啶-2-胺(400 mg, 2.07 mmol)，4,4-二氟哌啶(0.75 g, 6.21 mmol)和 *N,N*-二异丙基乙胺(1.34 g, 10.35 mmol)的二甲亚砜(10 mL)溶液，微波 160℃加热反应 5 小时。随后将反应混合物冷却至室温，加入乙酸乙酯/水(100 mL/50 mL)稀释，混合溶液用乙酸乙酯萃取三次，合并有机相，用无水硫酸钠干燥，并浓缩。残渣通过快速硅胶柱纯化(甲醇/二氯甲烷=5%)，得到黄色固体 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,4-三唑-3-基)吡啶-2-胺(290 mg)。MS (ESI) M/Z: 295.1 $[M+H]^+$.

步骤 E：将 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-4-溴苯甲酸(0.30 g, 0.97 mmol)溶解在 *N,N*-二甲基甲酰胺(10 mL)中，加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯(0.50 g, 1.32 mmol)，反应液搅拌 10 分钟，然后加入 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,4-三唑-3-基)吡啶-2-胺(260 mg, 0.88 mmol)和 *N,N*-二异丙基乙胺(0.23 g, 1.76 mmol)，反应液微波 50℃加热搅拌 4 小时。随后将反应混合物冷却至室温，加入乙酸乙酯/水(100ml/50ml)稀释，混合溶液用乙酸乙酯萃取三次，合并有机相，用无水硫酸钠干燥，并浓缩。残渣通过快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯/石油醚=50%)，得到 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-4-溴-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,4-三唑-3-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺(370 mg, 收率=71.41 %)。MS (ESI) M/Z: 586.2 $[M+H]^+$.

步骤 F：向溶有 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-4-溴-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,4-三唑-3-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺(60 mg, 0.10 mmol)和 2-羟基乙烷-1-磺酰胺(37.55 mg, 0.30 mmol)的二甲亚砜(3 mL)溶液中，依次加入碘化亚铜 (38.09 mg, 0.20 mmol)，磷酸钾(42.45 mg, 0.20 mmol)和(1*R*,2*R*)-(-)-*N,N'*-二甲基-1,2-环己二胺(28.45 mg, 0.20 mmol)，然后反应液在氮气保护下，微波加热至 150℃反应 1 小时。将反应液降至室温，加水(50 mL)稀释，乙酸乙酯(50 mL)萃取，有机相减压浓缩得到粗品。粗品经由高效液相色谱(甲酸)纯化分离，得到 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,4-三唑-3-基)吡啶-2-基)-4-((2-羟乙基)磺酰胺基)苯甲酰胺(19.95 mg)。MS (ESI) M/Z: 631.2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.85 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 6.98 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.75 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.29 (t, *J* = 6.6 Hz, 6H), 3.05-2.95 (m, 2H), 2.83-2.79 (m, 2H), 2.25 (s, 2H), 2.08-1.99 (m, 6H), 1.65-1.46 (m, 4H).

实施例 4 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4-(2-羟基丙-2-基)-1*H*-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-2-基)-4-((2-羟乙基)磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺





化合物4

步骤 A：室温下，向 2,6-二溴-3-硝基吡啶(10 g，35.7 mmol) 和 4,4-二氟哌啶(4.3 g，35.7 mmol)的四氢呋喃(100 mL)溶液中添加碳酸钾(14.5 g，107.1 mmol)，随后保持室温下搅拌反应 16 小时。反应结束后，将反应混合物冰水淬灭，乙酸乙酯(100 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(100 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化，得到目标化合物 6-溴-2-(4,4-二氟哌啶-1-基)-3-硝基吡啶(6 g)。MS (ESI) M/Z: 322.0 $[M+H]^+$.

步骤 B：冰浴下，向 6-溴-2-(4,4-二氟哌啶-1-基)-3-硝基吡啶(6 g, 18.6 mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺(60 mL)溶液加入联吡啶(0.3 g，1.9 mmol)，待溶解完全后，少量多次分批将 $B_2(OH)_4$(8.3 g，93 mmol)加到体系内，期间反应液在 10 分钟内由淡黄色变黑褐色再变回淡黄色，反应即结束。将反应混合物冷却至室温后，冰水(100 mL)淬灭，乙酸乙酯(100 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(100 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=5/1)纯化，得到目标化合物 6-溴-2-(4,4-二氟哌啶-1-基)吡啶-3-胺(2.9 g)。MS (ESI) M/Z: 292.0 $[M+H]^+$.

步骤 C：冰浴下，向 6-溴-2-(4,4-二氟哌啶-1-基)吡啶-3-胺(2.9 g，1 mmol)的乙腈(40 mL)溶液加入亚硝酸叔丁酯(1.5 g，1.5 mmol)，搅拌反应 10 mins 后，将叠氮基三甲基硅烷(1.7 g，1.5 mmol)加到体系内，继续搅拌反应 1 小时。将反应混合物冷却至室温后，冰水(100 mL)淬灭，乙酸乙酯(100 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(100 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=5/1)纯化，得到目标化合物 3-叠氮基-6-溴-2-(4,4-二氟哌啶-1-基)吡啶(1.8 g)。MS (ESI) M/Z: 318.0 $[M+H]^+$.

步骤 D：室温下，向 3-叠氮基-6-溴-2-(4,4-二氟哌啶-1-基)吡啶(1.8 g，5.7 mmol)的四氢呋喃(20 mL)溶液中依次加入 2-甲基丁-3-炔-2-醇(0.5 g，6 mmol)，乙酸铜(0.1 g，0.6 mmol)，维生素 C 钠(0.1 g，0.6 mmol)和水(0.5 g，28.5 mmol)，氮气置换后保持室温搅拌反应 16 小时。将反应混合物冰水(50 mL)淬灭，二氯甲烷 /甲醇=10/1(100 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(100 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化，得到目标化合物 2-(1-(6-溴-2-(4,4-二氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)丙-2-醇(1.2 g)。MS (ESI) M/Z: 402.0 $[M+H]^+$.

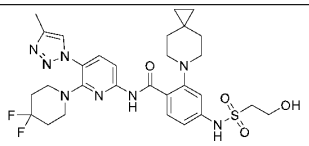
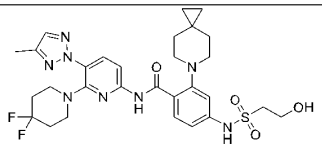
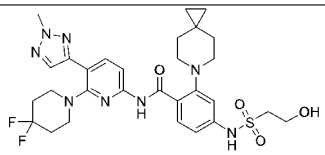
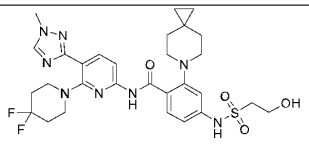
步骤 E：室温下，向 2-(1-(6-溴-2-(4,4-二氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)丙-2-醇(1.2 g，3 mmol)的 1,4-二氧六环(20 mL)溶液加入三(二亚苄基丙酮)二钯(0.24 g，0.3 mmol)、4,5-双(二苯基膦)-9,9-二甲基氧杂蒽(0.22 g，0.45 mmol)、碳酸铯(2.9 g，9 mmol)及氨基甲酸叔丁酯(0.7 g，6 mmol)，氮气置换后，在 100°C下继续搅拌反应 2 小时。反应结束后，将反应混合物冷却至室温，冰水(50 mL)淬灭，乙酸乙酯(50 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(30 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化，得到目标化合物(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4-(2-羟基丙-2-基)-1*H*-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(1 g)。MS (ESI) M/Z: 439.2 $[M+H]^+$.

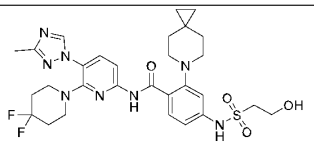
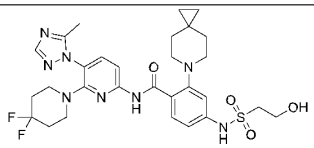
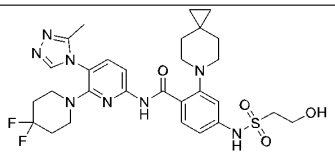
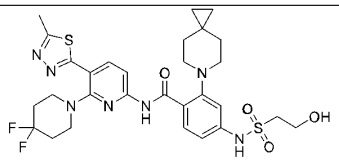
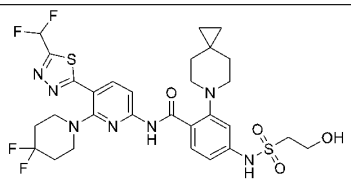
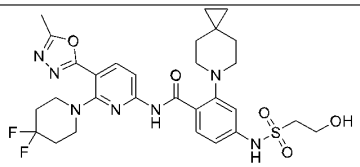
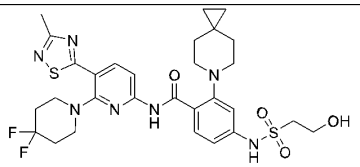
步骤 F：室温下，向(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4-(2-羟基丙-2-基)-1*H*-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(1 g，2.3 mmol)的二氯甲烷(10 mL)溶液加入三氟乙酸(5 mL)，室温下搅拌反应 1 小时。反应结束后，将反应液直接旋除溶剂，得到目标化合物 2-(1-(6-氨基-2-(4,4-二氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)丙-2-醇的三氟乙酸盐(0.8 g)。MS (ESI) M/Z: 339.0 $[M+H]^+$.

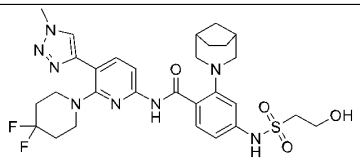
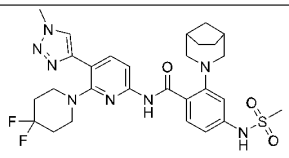
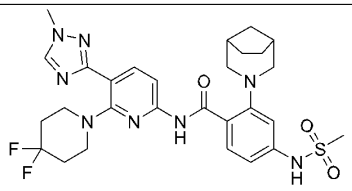
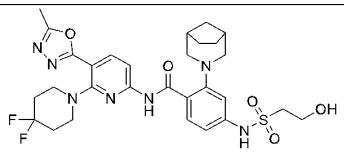
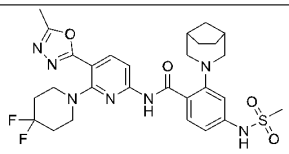
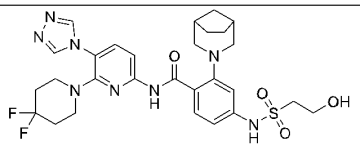
步骤 G：室温下，向 4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酸(0.86 g, 2.4 mmol)的四氢呋喃(10 mL)溶液中滴加氯化亚砜(0.86 g, 7.2 mmol)，接着将催化量 *N,N*-二甲基甲酰胺(15 mg, 0.2 mmol)加入到反应体系中，将反应体系置于 70°C下反应 2 小时。然后将反应体系直接浓缩得到残渣，随后将 2-(1-(6-氨基-2-(4,4-二氟哌啶-1-基)吡啶-3-基)-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)丙-2-醇的三氟乙酸盐(0.8 g, 2.4 mmol)的四氢呋喃(10 mL)溶液加入到上一步得到的残渣中，再将叔丁醇钾(12 mL，12 mmol , 1M 四氢呋喃溶液)加到反应体系中，室温搅拌 16 小时。将反应混合物用冰水淬灭，乙酸乙酯(100 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(100 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化，得到目标化合物 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4-(2-羟基丙-2-基)-1*H*-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-2-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺(0.8 g)。MS (ESI) M/Z: 678.2 $[M+H]^+$.

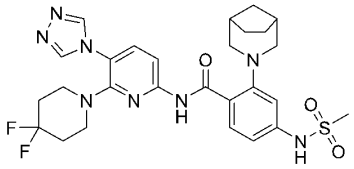
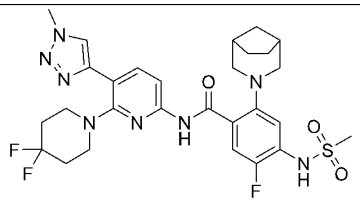
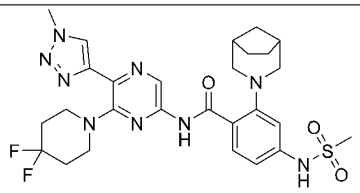
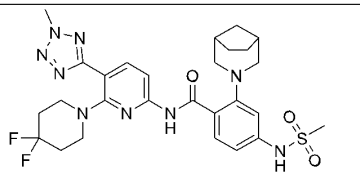
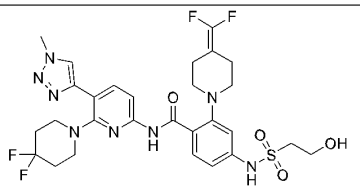
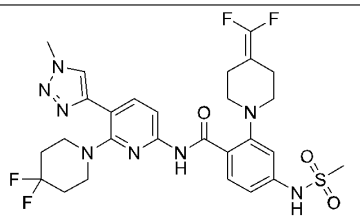
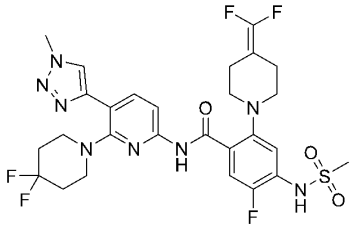
步骤 H：室温下，向 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4-(2-羟基丙-2-基)-1*H*-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-2-基)-4-碘-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺(0.2 g, 0.3 mmol)的 *N,N*-二甲基甲酰胺(5 mL)溶液中依次加入 2-羟基乙烷-1-磺酰胺(75 mg, 0.6 mmol)，碘化亚铜(57 mg, 0.3 mmol)，肌氨酸(27 mg, 0.3 mmol)及磷酸钾(254 mg, 1.2 mmol)，氮气置换后将反应体系置于 120°C下反应 16 小时。将反应体系冷却至室温，将反应液直接通过高效液相色谱纯化，得到目标产物 *N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(4-(2-羟基丙-2-基)-1*H*-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-2-基)-4-((2-羟乙基)磺酰胺基)-2-(6-氮杂螺[2.5]辛-6-基)苯甲酰胺(83.95 mg)。MS (ESI) M/Z: 675.2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.44 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J* = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 5.27 (s, 1H), 3.77 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.36 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.03-2.97 (m, 8H), 2.01 – 1.94 (m, 4H), 1.90 – 1.61 (m, 4H), 1.54 (s, 6H), 0.40 (s, 4H).

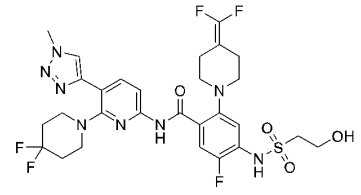
参考上述实施例的合成方法制备如下目标化合物：

实施例编号	结构式	^{1}HNMR	MS(ESI)M/Z $[M+H]^+$
5		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.39 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J* = 8.7, 1.9 Hz, 1H), 3.77 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.36 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.05-3.01 (m, 8H), 2.35 (s, 3H), 2.02 – 1.93 (m, 4H), 1.92 – 1.45 (m, 4H), 0.40 (s, 4H).	631.3
6		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.47 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.29 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J* = 8.6, 2.0 Hz, 1H), 3.77 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.36 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.05-3.01 (m, 8H), 2.21 (s, 3H), 1.94 – 1.86 (m, 4H), 1.84 – 1.32 (m, 4H), 0.40 (s, 4H).	631.3
7		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.30 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.05 – 7.99 (m, 2H), 7.26 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.12 (dd, *J* = 8.7, 1.9 Hz, 1H), 4.21 (s, 3H), 3.76 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.35 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.21 – 3.16 (m, 4H), 3.03-2.99 (m, 4H), 2.17 – 2.08 (m, 4H), 1.89 – 1.40 (m, 4H), 0.40 (s, 4H).	631.2
8		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.21 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.13 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.13 (dd, *J* = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.76 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.36 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.31-3.28 (m, 4H), 3.03-2.99 (s, 4H), 2.13 – 2.04 (m, 4H), 1.96 – 1.53 (m, 4H),	631.2

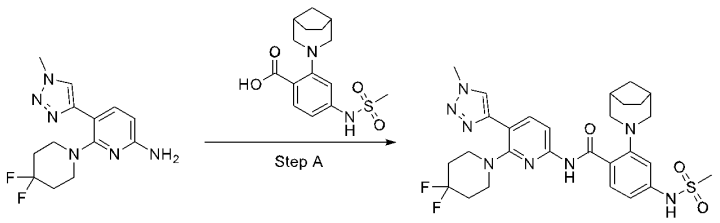
		0.40 (s, 4H).	
9		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.36 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.09 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.14 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 3.77 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.36 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.08 (s, 4H), 3.03-2.99 (s, 4H), 2.37 (s, 3H), 2.04 – 1.95 (m, 4H), 1.88 – 1.30 (m, 4H), 0.40 (s, 4H).	631.3
10		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.27 (s, 1H), 8.08 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.78 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 3.76 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.35 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.08 – 3.03 (m, 4H), 3.03-2.99 (m, 4H), 2.35 (s, 3H), 1.98 – 1.89 (m, 4H), 1.89 – 1.25 (m, 4H), 0.40 (s, 4H).	631.3
11		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.43 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.10 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.14 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 3.77 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.36 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.11-3.08 (m, 4H), 3.03-2.99 (m, 4H), 2.30 (s, 3H), 1.96 – 1.88 (m, 4H), 1.86 – 1.48 (m, 4H), 0.40 (s, 4H).	631.3
12		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.62 (s, 1H), 8.44 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.14 (dd, J = 8.7, 1.9 Hz, 1H), 3.77 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.36 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.33-3.31- (m, 4H), 3.21 – 3.15 (m, 4H), 3.01-2.97 (m, 4H), 2.76 (s, 3H), 2.26 – 2.16 (m, 4H), 2.03 – 1.40 (m, 4H), 0.40 (s, 4H).	648.2
13		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.75 (s, 1H), 8.63 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.25 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.62 (t, J = 53.4 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.14 (dd, J = 8.6, 2.0 Hz, 1H), 3.77 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.38-3.35 (m, 2H), 3.23 – 3.19 (m, 4H), 3.03-2.99 (m, 4H), 2.28 – 2.19 (m, 4H), 1.96 – 1.38 (m, 4H), 0.41 (s, 4H).	684.2
14		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.46 (s, 1H), 8.18 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.11 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 3.76 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 3.47-3.45 (m, 2H), 3.29 – 3.16 (m, 4H), 3.01-2.98 (m, 4H), 2.57 (s, 3H), 2.19 – 2.08 (m, 4H), 1.96 – 1.47 (m, 4H), 0.40 (s, 4H).	632.2
15		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.85 (s, 1H), 8.61 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.29 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.16 (dd, J = 8.7, 2.1 Hz, 1H), 3.77 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.37 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.21 – 3.16 (m, 4H), 3.03-2.99 (m, 4H), 2.62 (s, 3H), 2.35 –	648.2

		2.25 (m, 4H), 2.03 – 1.42 (m, 4H), 0.41 (s, 4H).	
16		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.90 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.29 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.09 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 7.01 (dd, J = 8.5, 1.7 Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.76 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.34-3.31 (m, 2H), 3.15-3.11 (m, 4H), 3.03-2.99 (m, 2H), 2.83-2.81 (m, 2H), 2.28-2.25 (m, 2H), 2.18 – 2.08 (m, 4H), 1.99-1.96 (m, 2H), 1.60 – 1.49 (m, 4H).	631.2
17		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.95 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.35 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.15 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.08 (dd, J = 8.5, 1.7 Hz, 1H), 4.18 (s, 3H), 3.18-3.15 (m, 4H), 3.14 (s, 3H), 3.08-3.06 (m, 2H), 2.89-2.86 (m, 2H), 2.33-2.29 (m, 2H), 2.24 – 2.14 (m, 4H), 2.05-2.01 (m, 2H), 1.66 – 1.53 (m, 4H).	601.3
18		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.85 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.11 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.99 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.27-3.23 (m, 4H), 3.10 - 2.94 (m, 5H), 2.83-2.81 (m, 2H), 2.26 (s, 2H), 2.14 - 1.89 (m, 6H), 1.69 - 1.43 (m, 4H).	601.2
19		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.99 (s, 1H), 8.17 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.01 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.98 (dd, J = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 3.75 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.30 (d, J = 5.9 Hz, 6H), 3.05- 2.94 (m, 2H), 2.83-2.81 (m, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.26-2.23 (m, 2H), 2.03-2.01 (m, 2H), 1.94-1.91 (m, 2H), 1.61 - 1.48 (m, 4H).	632.2
20		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.99 (s, 1H), 10.21 (s, 1H), 8.17 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.01 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.99 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 3.34 – 3.28 (m, 4H), 3.11 (s, 3H), 3.10 – 2.94 (m, 2H), 2.83-2.81 (m, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.06-2.03 (m, 2H), 2.14 – 2.00 (m, 4H), 1.93-1.91 (m, 2H), 1.64 – 1.45 (m, 4H).	602.2
21		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.05 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.02 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.99 (dd, J = 8.5, 1.9 Hz, 1H), 3.75 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.30 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.03 – 2.97 (m, 6H), 2.83-2.81 (m, 2H), 2.26 (s, 2H), 1.97-1.91 (m, 6H), 1.61 – 1.49 (m, 4H).	617.3

22		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.04 (s, 1H), 10.22 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.02 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.00 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 3.06 (s, 3H), 3.03-2.97 (m, 6H), 2.84-2.81 (m, 2H), 2.28-2.25 (m, 2H), 2.01 – 1.88 (m, 6H), 1.62 – 1.48 (m, 4H).	587.3
23		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.34 (s, 1H), 10.31 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.29 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.09 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.13-3.10 (m, 4H), 3.05 (s, 3H), 2.96-2.93 (m, 2H), 2.87-2.84 (m, 2H), 2.26-2.23 (m, 2H), 2.19 – 2.08 (m, 4H), 2.01-1.97 (m, 2H), 1.66 – 1.53 (m, 4H).	619.2
24		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.44 (s, 1H), 10.35 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.81 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.03 (dd, J = 8.5, 1.7 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.28-3.26 (m, 4H), 3.05 (s, 3H), 2.99-2.96 (m, 2H), 2.88-2.84 (m, 2H), 2.28-2.26 (m, 2H), 2.15 – 2.08 (m, 4H), 2.02 – 1.93 (m, 2H), 1.64 – 1.52 (m, 4H).	602.2
25		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.99 (s, 1H), 10.45 (s, 1H), 8.22 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.98 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 4.43 (s, 3H), 3.23-3.21 (m, 4H), 3.03-2.99 (m, 5H), 2.85-2.81 (m, 2H), 2.26-2.23 (m, 2H), 2.08-2.05 (m, 4H), 1.99-1.95 (m, 2H), 1.57-1.53 (m, 4H).	602.2
26		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.96 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.29 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.06-8.03 (m, 2H), 7.17 – 7.09 (m, 2H), 4.12 (s, 3H), 3.76 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.35-3.33 (m, 2H), 3.08-3.06 (m, 2H), 3.03-3.00 (m, 2H), 2.59-2.56 (m, 4H), 2.19-2.02 (m, 4H).	653.2
27		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.95 (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.29 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.06-8.04 (m, 2H), 7.20 – 7.07 (m, 2H), 4.13 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 3.06-3.03 (m, 8H), 2.59-2.56 (m, 4H), 2.19-2.02 (m, 4H).	623.2
28		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.37 (s, 1H), 10.44 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.30 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.08-3.01 (m,11H), 2.59-2.56 (m, 4H), 2.13-2.10 (m, 4H).	641.2

29		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.36 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.30 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.79 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.36 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.05-3.03 (m, 8H), 2.59-2.56 (m, 4H), 2.11-2.08 (m, 4H).	671.2

实施例 17 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-4-(甲基磺酰胺基)苯甲酰胺

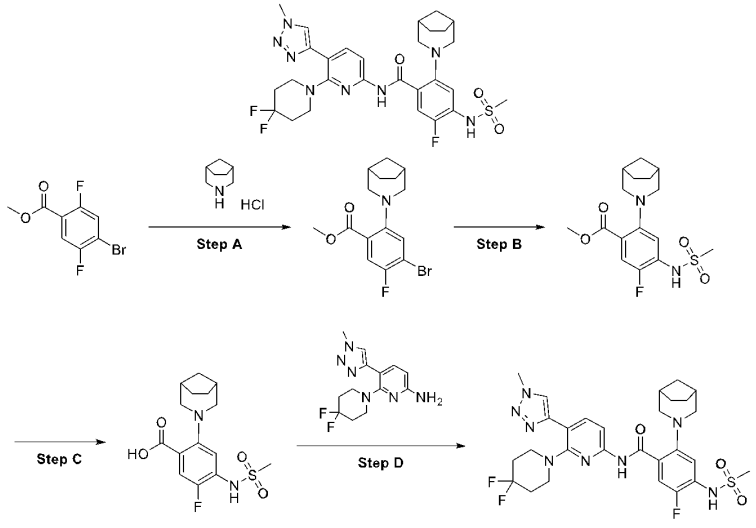


化合物17

步骤 A：室温下，向 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-胺(1 g, 3.1 mmol)的乙腈(20 mL)溶液中依次加入 *N*-甲基咪唑(0.75 g, 9.3 mmol)，四甲基氯代脲六氟磷酸酯(1.74 g, 6.2 mmol)及 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-4-(甲基磺酰胺)苯甲酸(0.9 g, 3.1 mmol)后，将反应体系置于 70℃下反应 6 h。将反应体系冷却至室温，将反应液直接浓缩后，残渣通过硅胶柱层析纯化，得到目标化合物 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-4-(甲基磺酰胺基)苯甲酰胺(645 mg)。MS (ESI) M/Z: 601.3 $[M+H]^+$.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.95 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.35 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.15 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.08 (dd, *J* = 8.5, 1.7 Hz, 1H), 4.18 (s, 3H), 3.18-3.15 (m, 4H), 3.14 (s, 3H), 3.08-3.06 (m, 2H), 2.89-2.86 (m, 2H), 2.33-2.29 (m, 2H), 2.24 – 2.14 (m, 4H), 2.05-2.01 (m, 2H), 1.66 – 1.53 (m, 4H).

实施例 23 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-5-氟-4-(甲基磺酰胺基)苯甲酰胺



化合物23

步骤 A：室温下，向 4-溴-2,5-二氟苯甲酸甲酯(2 g，8 mmol)和 3-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐(1.3 g，8.8 mmol)的 *N*-甲基吡咯烷酮(30 mL)溶液中添加碳酸钾(3.3 g, 24 mmol)，随后在 120℃下继续密闭搅拌反应 4 h。将反应混合物冷却至室温，冰水淬灭，乙酸乙酯(100 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(100 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析以 10%乙酸乙酯石油醚为洗脱液纯化，得到目标化合物 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-4-溴-5-氟苯甲酸甲酯(1.6 g)。MS (ESI) M/Z: 342.0 $[M+H]^+$.

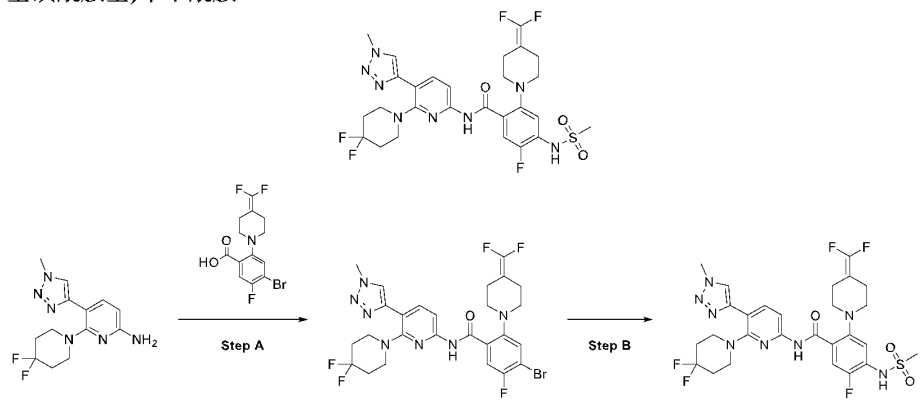
步骤 B：冰浴下，向 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-4-溴-5-氟苯甲酸甲酯(0.6 g，1.75 mmol)的 *N,N*-二甲

基甲酰胺(10 mL)溶液中依次加入甲基磺酰胺(0.5 g, 5.25 mmol)，CuI(0.33 g, 1.75 mmol)，(1*R*,2*R*)-(-)-*N*,*N*'-二甲基-1,2-环己二胺(124 mg, 0.87 mmol)及磷酸钾(1.5 g, 7 mmol)，氮气置换后将反应体系置于 120℃下搅拌反应 6 h。将反应体系冷却至室温，冰水淬灭，乙酸乙酯(100 mL×3)萃取，合并有机相，饱和食盐水(100 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤后将滤液减压浓缩，所得残余物通过硅胶柱层析以 5%甲醇二氯甲烷为洗脱液纯化，得到目标化合物 2-(-3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-5-氟-4-(甲基磺酰胺基)苯甲酸甲酯(0.4 g)。MS (ESI) M/Z: 357.2 $[M+H]^+$.

步骤 C：室温下，向 2-((1R,5S)-3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-5-氟-4-(甲基磺酰胺基)苯甲酸甲酯(0.4 g，1.1 mmol)的四氢呋喃/甲醇/水(10 mL)溶液中加入氢氧化钠(0.22 g, 5.5 mmol)，随后在 70℃下继续搅拌反应 2 h。将反应混合物冷却至室温，用盐酸(1M)调节 pH 至弱酸性，有白色固体析出，抽滤，滤饼冻干，得到目标化合物 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-5-氟-4-(甲基磺酰胺基)苯甲酸(0.25 g)。MS (ESI) M/Z: 343.2 $[M+H]^+$.

步骤 D：室温下，向 2-(3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-5-氟-4-(甲基磺酰胺基)苯甲酸(0.15 g，0.44 mmol)的乙腈(10 mL)溶液中依次加入 *N*-甲基咪唑(108 mg, 1.32 mmol)，四甲基氯代脲六氟磷酸酯(246 mg, 0.88 mmol)及 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-胺(130 mg, 0.44 mmol)后，将反应体系置于 70℃下反应 6 h。将反应体系冷却至室温，将反应液直接浓缩后，残渣通过硅胶柱层析纯化，得到目标化合物 2-(-3-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-5-氟-4-(甲基磺酰胺基)苯甲酰胺(65 mg)。MS (ESI) M/Z: 619.2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.34 (s, 1H), 10.31 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.29 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.13-3.10 (m, 4H), 3.05 (s, 3H), 2.96-2.93 (m, 2H), 2.87-2.84 (m, 2H), 2.26-2.23 (m, 2H), 2.19 – 2.08 (m, 4H), 2.01-1.97 (m, 2H), 1.66 – 1.53 (m, 4H).

实施例 28 2-(4-(二氟亚甲基)哌啶-1-基)-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-5-氟-4-(甲基磺酰胺基)苯甲酰胺



化合物28

步骤 A：室温下，向 4-溴-2-(4-(二氟亚甲基)哌啶-1-基)-5-氟苯甲酸(0.2 g，0.56 mmol)的乙腈(10 mL)溶液中依次加入 *N*-甲基咪唑(138 mg，1.68 mmol)，四甲基氯代脲六氟磷酸酯(314 mg，1.12 mmol)及 6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-胺(165 mg，0.56 mmol)后，将反应体系置于 70℃下反应 4 h。将反应体系冷却至室温，将反应液直接浓缩后，通过硅胶柱层析(10%甲醇二氯甲烷)纯化，得到目标化合物 4-溴-2-(4-(二氟亚甲基)哌啶-1-基)-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-5-氟苯甲酰胺(0.28 g)。MS (ESI) M/Z: 626.2 $[M+H]^+$.

步骤 B：室温下，向 4-溴-2-(4-(二氟亚甲基)哌啶-1-基)-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-5-氟苯甲酰胺(80 mg, 0.13 mmol)的二甲基亚砜(2 mL)中依次加入甲基磺酰胺(37 mg，0.39 mmol)，碘化亚铜(25 mg，0.13 mmol)，(1*R*,2*R*)-(-)-*N*,*N*'-二甲基-1,2-环己二胺(10 mg，0.07 mmol)及磷酸钾(110 mg, 0.52 mmol)，氮气置换后将反应体系置于 100℃微波下反应 4 h。将反应体系冷却至室温，将反应液直接通过制备高效液相色谱纯化，得到目标产物 2-(4-(二氟亚甲基)哌啶-1-基)-*N*-(6-(4,4-二氟哌啶-1-基)-5-(1-甲基-1*H*-1,2,3-三唑-4-基)吡啶-2-基)-5-氟-4-(甲基磺酰胺基)苯甲酰胺 (17.13 mg)。MS (ESI) M/Z: 641.2 [M+H] +.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.37 (s, 1H), 10.44 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.30 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.08-3.01 (m,11H), 2.59-2.56 (m, 4H), 2.13-2.10 (m, 4H).

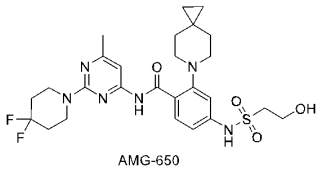
生物学测试评价：

测试例 1：评价本公开的化合物对人 KIF18A 肌动蛋白活性的抑制作用

本实验使用 ADP-Glo 的方法测试本公开的化合物对人 KIF18A 肌动蛋白活性的抑制作用，并得出化合

物抑制 KIF18A 肌动蛋白活性的半数浓度 IC_{50}。

阳性参照分子：AMG-650，其结构如下：



AMG-650

。

测试例中使用的缩写及其对应的名称如下：

缩写	名称
$MgCl_2$	氯化镁
KCl	氯化钾
EGTA	乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸
DTT	二硫苏糖醇
BSA	牛血清白蛋白
Tween-20	聚山梨醇酯-20
CP	睿智化学
ADP-GloR1	ADP-Glo™ Reagent
ADP-GloR2	Kinase Detection Substrate

1. 实验材料

1) $MgCl_2$，KCl，EGTA，DTT，BSA，Tween-20 和 PIPES(pH6.9)缓冲液购自 Sigma，配制 Assay buffer

2) KIF18A 购自 CP

3) MT(微管蛋白)购自 Cytoskeleton

4) Paclitaxel 购自 MCE

5) Assay buffer 配制：

50 mM PIPES, pH 6.9
50 mM KCl
0.5 mM EGTA
5 mM $MgCl_2$
1 mM DTT
0.01% BSA
0.005% Tween-20
5 μM Paclitaxel

6) ADP-Glo 试剂，购自 Promega 公司。

2. 实验方法

a) 使用 Echo650 转移待测化合物或 DMSO 到 384 测试微孔板中，待测化合物用 DMSO 从最高测试浓度 3 倍梯度稀释，补加 DMSO 确保每个孔 DMSO 反应终浓度一致(1%)；

b) 加入 2.5 μL Assay buffer 稀释的 KIF18A(10nM KIF18A)，室温孵育 30 分钟；

c) 加入 2.5 μL Assay buffer 稀释的底物混合物，底物混合物为 180 μM ATP(来源于 ADP-Glo 试剂)和 0.1mg/mL MT，室温孵育 60 分钟；

d) 加入 5 μL ADP-Glo R1，短暂离心，室温孵育 2 小时；

e) 加入 10 μL ADP-Glo R2，短暂离心，室温孵育 1 小时；

f) Envision 酶标仪 (PerkinElmer) 检测化学发光信号。

g) 使用 GraphPad Prism 6 软件进行数据分析，得出化合物的 IC_{50}。

3. 实验结果

本公开的化合物对人 KIF18A 蛋白活性的抑制结果见表 1。

表1 KIF18A蛋白活性的抑制

实施例编号	KIF18A IC_{50} (nM)
AMG-650	54
实施例 1	16
实施例 2	9
实施例 3	13
实施例 4	39

实施例 5	15
实施例 6	22
实施例 7	34
实施例 8	17
实施例 9	11
实施例 10	42
实施例 11	23
实施例 12	16
实施例 13	48
实施例 14	14
实施例 15	36
实施例 16	12
实施例 17	25
实施例 18	13
实施例 19	9
实施例 20	30
实施例 21	12
实施例 22	21
实施例 23	13
实施例 24	23
实施例 25	51
实施例 26	14
实施例 27	13
实施例 28	14
实施例 29	8

结论：本公开的化合物对人KIF18A蛋白活性有较强的抑制作用。

测试例 2：评价本公开的化合物对卵巢癌细胞 NCIOVCAR3 的增殖抑制作用

本实验使用 CellTiter-Glo(CTG)的方法测试化合物对 NCIOVCAR3 细胞的增殖抑制作用，并得出化合物抑制细胞生长的半数浓度 IC_{50}。

1. 实验材料

a) 1640 培养基，胎牛血清(FBS)，Penicillin-Streptomycin 购自 GIBCO

b) CellTiter-Glo 试剂，购自 Promega 公司。

2. 实验方法

a) Day 0：按照每孔 500 个细胞的密度将 NCIOVCAR3 细胞接种于 384 孔板，每孔 50 μL。

b) Day 1：使用 TECAN 向培养板中加入待测化合物，DMSO 终浓度为 0.5%，空白对照孔加入 DMSO，终浓度为 0.5%。将培养板置于细胞培养箱中孵育 120 小时(37 °C，5% CO_2)。

c) Day 6：每孔加入 50 μL Cell Titer-Glo 试剂，500 rpm 震荡 2 分钟，室温避光静置孵育 10 分钟稳定发光信号。

d) Envision 酶标仪 (PerkinElmer) 检测化学发光信号。

e) 使用 GraphPad Prism 6 软件进行数据分析，得出化合物的 IC_{50}。

3. 实验结果

本公开的化合物对卵巢癌细胞 NCIOVCAR3 增殖抑制的结果见表 2。

表2 对NCIOVCAR3细胞增殖抑制的结果

实施例编号	NCIOVCAR3 IC_{50} (nM)
AMG-650	52
实施例1	4

实施例2	3
实施例3	4
实施例4	30
实施例5	4
实施例6	10
实施例7	10
实施例8	3
实施例9	6
实施例10	10
实施例11	25
实施例12	7
实施例13	42
实施例14	4
实施例15	161
实施例16	4
实施例17	5
实施例18	6
实施例19	7
实施例20	11
实施例21	14
实施例22	20
实施例23	11
实施例24	9
实施例25	10
实施例26	5
实施例27	5
实施例28	17
实施例29	13

结论：本公开的化合物对卵巢癌细胞 NCIOVCAR3 的增殖有较强的抑制。

测试例 3：评价本公开的化合物对染色体不稳定肿瘤细胞增殖的抑制作用

利用本领域内技术人员所熟知的方法如 CTG 方法对本公开的化合物对 OVCAR8、HT29、MDAMB157、BT549、NCIH23、Calu6 等染色体不稳定肿瘤增殖的抑制活性进行测试。

3.1 实验材料

试剂仪器名称	货号	厂家
OVCAR8	CBP60289	南京科佰
HT29	CBP60011	南京科佰
MDAMB157	HTB-24	ATCC
BT549	CBP60357	南京科佰
NCIH23	CRL-5800	ATCC
Calu6	HTB-56	ATCC
RPMI 1640 培养基	11875093	Gibco™
FBS	10091148	Gibco™
Insulin	T8221	陶素
96-well white-bottom clear	3903	Corning
CellTiter Glo	G7573	Promega
Dispenser	Echo 600	Beckman
酶标仪	Envision	PerkinElmer

3.2 实验步骤

1)细胞培养：各细胞培养皆按厂商说明书操作。具体地，以 HT29 为例，用含 10% FBS 的 RPMI1640 培养基培养 HT29 细胞，每 3~4 天传代一次。传代：充分吹散细胞，收集细胞悬液，800 rpm 离心 3 min，

弃上清后添加新鲜培养基重悬细胞，以约 1：4 比例进行传代培养；

2)收集 HT29 细胞，用培养基重悬并计数，接种至 96 孔白色透底板中，每孔 800 个细胞，100 μL 培养基；

3)用 Echo 650 转移本公开的化合物到该 96 孔板中，Top 浓度为 2 μM，3 倍稀释，共 9 个浓度点。总的 DMSO 含量为 0.5%，将孔板置于 37℃ 5% CO_2 培养箱中孵育 7 天；

4)孵育完成后，每孔加入 50 μL CTG，震荡 10 min 后用 Envision 读取化学发光值。

GI_{50} 计算：以加入受试化合物当天加入受试化合物前细胞仅含 DMSO 孔的读值为 Low control，以药物处理结束当天含细胞仅加 DMSO 孔的读值为 High control。化合物的抑制率 =100% ×(($RLU_{high\ control}$ - $RLU_{low\ control}$)–($RLU_{compound}$ –$RLU_{low\ control}$))/($RLU_{high\ control}$ – $RLU_{low\ control}$)；实验结果参见表 3。

表 3 本公开的化合物对染色体不稳定肿瘤增殖的抑制活性

实施例 化合物	细胞活性 GI_{50} (nM)					
	OVCAR8	HT29	MDAMB157	BT549	NCIH23	Calu6
实施例 23	4	5	5	14	8	7
AMG-650	64	38	47	70	157	64

结果显示，与 AMG-650 相比，实施例 23 化合物对染色体不稳定肿瘤的增殖具有更强的抑制作用。

测试例 4：评价本公开的化合物在 OVCAR3 移植瘤模型上的体内药效学研究

4.1 实验动物及饲养环境

种属：小鼠

品系：BALB/c Nude 小鼠

到货周龄：6-8 周龄

性别：雌性

体重：19-24 克

供应商：浙江维通利华实验动物技术有限公司

动物合格证：SCXK(浙)2024-0001　20240603Ab220619000250

4.2 实验方法与步骤

1) 细胞培养

人卵巢癌 OVCAR3 细胞(卵巢癌, ATCC, Cat No. HTB-161, Lot No. 4470175)体外单层培养，培养条件为 RPMI 高糖 1640 培养基中加 20%热灭活胎牛血清，10μg/mL 胰岛素，100U/mL 青霉素及 100U/mL 链霉素在 37 ℃ 、5%CO_2 条件下培养。一周两到三次传代处理。当细胞呈指数生长期时，收取细胞，计数，接种。

2) 肿瘤细胞接种及分组

将含有 10×10^6 个 OVCAR3 细胞的 100 μL PBS 与 100 μL 基质胶(1:1)等体积混匀后皮下接种于每只小鼠的右前肢背部皮下，在接种第 31 天，肿瘤平均体积达到 132 mm^3 时，采用随机分组，开始给药。每组小鼠 6 只，口服给药，每天给药一次，共给药 28 天，具体分组见表 4。

表 4. 实验动物分组

序号	组别	剂量 (mg/kg)	给药体积参数 (μL/g)[2]	给药 途径	给药频次
1	溶媒组	/	10	口服	QD x 28D
2	AMG-650	3	10	口服	QD x 28D
3	AMG-650	10	10	口服	QD x 28D
4	实施例 23	1	10	口服	QD x 28D
5	实施例 23	3	10	口服	QD x 28D

备注：溶媒组为5%DMSO+10%Solutol+85%Saline。

3) 肿瘤测量和实验指标

每周两次用游标卡尺测量肿瘤直径。肿瘤体积的计算公式为：$V=0.5a\times b^2$，a和b分别表示肿瘤的长径和短径。

化合物的抑瘤疗效用抑瘤率TGI(%)评价。TGI(%)的计算：TGI(%)=[1-(某处理组给药结束时平均瘤体积－该处理组开始给药时平均瘤体积)/(溶剂对照组治疗结束时平均瘤体积－溶剂对照组开始治疗时平均瘤体积)]×100%。

各实验组对肿瘤的抑制效果参见表 5。

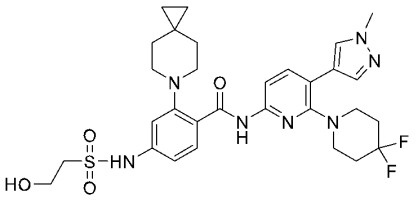
表 5 对 OVCAR3 皮下异种移植瘤增殖的抑制结果

组别	剂量 (mg/kg)	给药频次	抑瘤率 (%)
溶媒组	/	QD x 28D	/
AMG-650	3	QD x 28D	58
AMG-650	10	QD x 28D	102
实施例 23	1	QD x 28D	94
实施例 23	3	QD x 28D	117

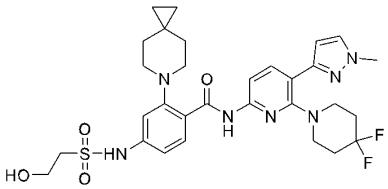
实验结果表明：实施例 23 化合物对 OVCAR3 移植瘤模型体内药效优于阳性参照 AMG-650。

测试例 5：

以 CN116554151A 中公开的具有如下结构的化合物 1 和化合物 5 为对照化合物，进行活性测试。



CN116554151A化合物1



CN116554151A化合物5

本实验使用 ADP-Glo 的方法测试化合物对人 KIF18A 肌动蛋白活性的抑制作用，并得出化合物抑制 KIF18A 肌动蛋白活性的半数浓度 IC_{50}。

1.实验材料

1) $MgCl_2$，KCl，EGTA，DTT，BSA，Tween-20 和 PIPES(pH6.9)缓冲液购自 Sigma，配制 Assay buffer
2) KIF18A 购自 CP
3) MT(微管蛋白)购自 Cytoskeleton，Lot#031
4) Paclitaxel 购自 MCE
5) ADP-Glo 试剂，购自 Promega 公司。
6) Assay buffer 配制：
   50 mM PIPES, pH 6.9
   50 mM KCl
   0.5 mM EGTA
   5 mM $MgCl_2$
   1 mM DTT
   0.01% BSA
   0.005% Tween-20
   5 μM Paclitaxel

2.实验方法

a) 使用 Echo650 转移待测化合物或 DMSO 加入 384 微孔板中，待测化合物用 DMSO 从最高
b) 测试浓度 3 倍梯度稀释，补加 DMSO 确保每个孔 DMSO 反应终浓度一致(1%)；
c) 加入 2.5 μL Assay buffer 稀释的 KIF18A(10nM KIF18A)，室温孵育 15 分钟；
d) 加入 2.5 μL Assay buffer 稀释的底物混合物，底物混合物为 180 μ M ATP(来源于 ADP-Glo 试剂)和 0.1mg/mL MT，室温孵育 60 分钟；
e) 加入 5 μL ADP-Glo R1，短暂离心，室温孵育 2 小时；
f) 加入 10 μL ADP-Glo R2，短暂离心，室温孵育 1 小时；
g) Envision 酶标仪 (PerkinElmer) 检测化学发光信号。
h) 使用 GraphPad Prism 6 软件进行数据分析，得出化合物的 IC_{50}。

3.实验结果

化合物对人 KIF18A 蛋白活性的抑制结果见表 6。

表6 KIF18A蛋白活性的抑制

实施例编号	KIF18A IC_{50} (nM)
实施例23	9.74
CN116554151A的化合物1	35.00

CN116554151A的化合物5	35.37

结论：从表 6 可以看出，我们分子对 KIF18A 蛋白具有更强的抑制活性。

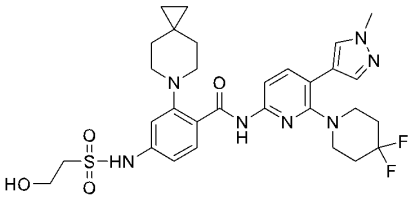
测试例 6：化合物在小鼠体内的药代动力学测定

以小鼠为受试动物，研究化合物在静脉推注1mg/kg和口服10mg/kg剂量时体内血浆的药代动力学行为。

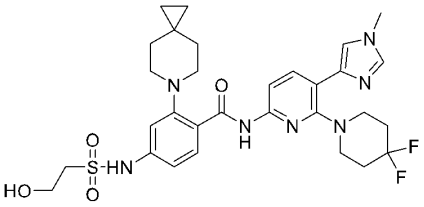
1. 试验方案

1.1 试验药品：

本公开实施例23的化合物和CN116554151A的化合物1、化合物7。



CN116554151A化合物1



CN116554151A化合物7

1.2 试验动物

小鼠12只(3只/组)，雄性CD-1，来自上海吉辉实验动物饲养有限公司。

1.3 给药：

小鼠12只，雄性CD-1；IV给药组的小鼠自由喂食，以及PO给药组的小鼠空腹，IV给药剂量为1 mg/kg，给药体积为5 mL/kg；PO给药剂量为10 mg/kg，给药体积为10 mL/kg。

1.4 实验器材

离心机 (5810 R) 购自Eppendorf 公司，移液器购自Eppendorf公司，涡旋仪购自Scientific Industries 公司。

1.5 样品采集

向小鼠在给药后，在0.0833(IV)、0.25、0.5、1、2、4、8和24小时，采用隐静脉采血0.1 mL，置于EDTA-K2 试管中，4 ℃以4600 rpm离心5 min，分离血浆，于-80 ℃保存。

1.6 样品处理

1)取血浆样品50 μL，加入200 μL的甲醇：乙腈(v:v = 1:1)，沉淀，混合后以2773 X g 离心15 分钟。

2)取处理后的上清溶液50 μL，溶于稀释液 (甲醇：水，v:v =1：1，含0.1%甲酸)，通过LC/MS/MS分析待测化合物的浓度。

1.7 液相分析

液相：Shimadzu LC-30AD或LC-40D XS

质谱：AB Sciex 5500

色谱柱：Phenomenex Kinetex C18 (2.6 μm，5 mm *3.0 mm) 或 ACE C4 (50 mm * 2.1 mm) 或 Waters Xselect® HSS T3 (2.5 μm，50 mm * 2.1 mm)

流动相：A：0.1%甲酸的5 mM醋酸铵溶液，B：0.05%或0.1%甲酸乙腈溶液

流速：0.6 mL/min

梯度：梯度洗脱 0-3 分钟。

2. 实验结果与分析

药代动力学主要参数用 WinNonlin 软件计算得到，小鼠静脉注射以及口服药物的药代动力学参数参见如表 7 和表 8。

表 7 向小鼠静脉注射化合物的药代动力学参数

化合物编号	剂量 (mg/kg)	CL (mL/min/kg)	V_{ss} (L/kg)	$T_{1/2}$ (hr)	AUC (hr*ng/mL)
实施例 23	1	0.69	0.83	14.1	16710
CN116554151A 的化合物 1	1	1.27	0.35	2.6	13526

CN116554151A 的化合物 7	1	15	1.91	1.91	1097

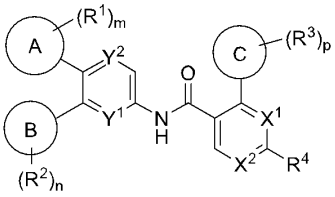
表 8 向小鼠口服的化合物的药代动力学参数

化合物编号	剂量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	AUC (hr*ng/mL)	$T_{1/2}$ (hr)
实施例 23	10	8753	126021	7.3
CN116554151A 的化合物 1	10	5587	54813	3.0
CN116554151A 的化合物 7	10	1065	3600	1.8

实验结果表明，本公开的实施例 23 化合物 $T_{1/2}$ 和 AUC 明显优于 CN116554151A 的化合物 1 和化合物 7，在小鼠体内展现了良好的药代动力学性质。

权利要求书

1. 式(I)所示的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐：



(I)

其中，环 A 为 5-6 元杂芳基，且所述的 5-6 元杂芳基含有至少 3 个选自 N、O 或 S 的杂原子；

环 B 为 4-6 元杂环基，且所述的 4-6 元杂环基含有至少一个选自 N、O 或 S 的杂原子；

环 C 为 6-8 元杂环基，且所述的 6-8 元杂环基含有至少一个选自 N、O 或 S 的杂原子；

X^1、X^2、Y^1 和 Y^2 各自独立选自 N 或 CR^x；所述 R^x 选自 H、卤素、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 卤代烷基或 C_{1-6} 烷氧基；

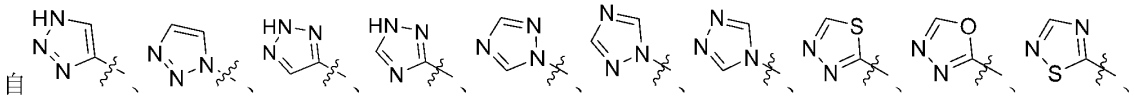
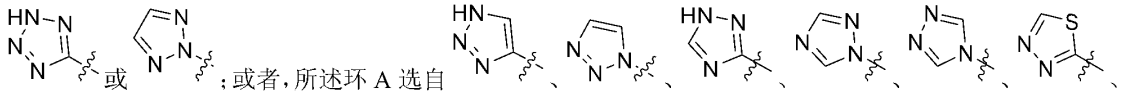
R^1 和 R^2 各自独立地选自卤素、C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基，且所述的 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基任选地被一个或多个选自 OH、卤素、$-NH_2$ 或 C_{1-4} 烷氧基的取代基所取代；

R^3 为卤素、OH、C_{1-6} 烷基、C_{3-6} 环烷基或 ；

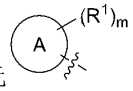
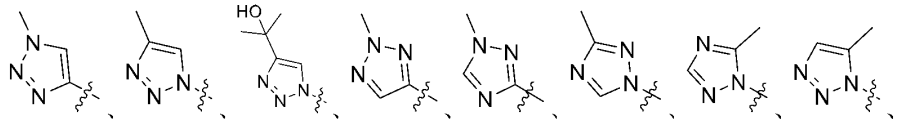
R^{3a} 和 R^{3b} 各自独立地选自 H、卤素或 C_{1-6} 烷基，所述 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个选自卤素、羟基、氨基、C_{1-4} 烷基、C_{1-4} 卤代烷基、C_{1-4} 烷氧基、C_{3-6} 环烷基、3-8 元杂环基、苯基或 5-6 元杂芳基的取代基所取代；

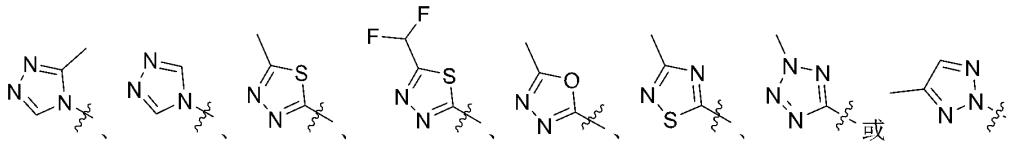
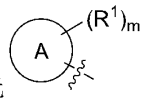
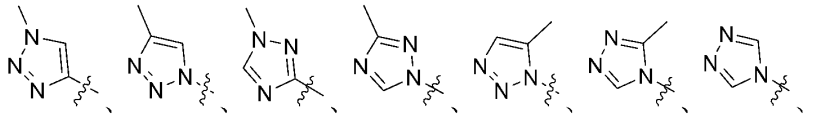
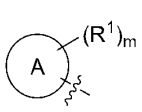
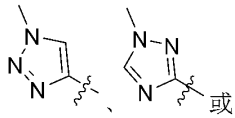
R^4 选自-$NHSO_2$-C_{1-4} 烷基，且所述的 C_{1-4} 烷基任选地被 OH 或卤素取代；

m、n 和 p 各自独立地选自 0、1、2 或 3。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述环 A 为 5 元杂芳基，且至少含有 3 个选自 N、O 或 S 的杂原子；或者，所述环 A 为 5 元杂芳基，且含有 3 个选自 N 的杂原子，或含有 2 个选自 N 和 1 个选自 O 或 S 的杂原子，或含有 4 个选自 N 的杂原子；或者，所述环 A 选自 ；或者，所述环 A 选自 。

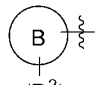
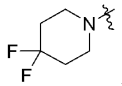
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述 R^1 选自 C_{1-6} 烷基，且所述的 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个选自 OH 或卤素的取代基所取代，和/或 m 选自 0 或 1；或者，所述 R^1 选自甲基、CHF_2 或 ，并且 m 选自 0 或 1；或者，所述 R^1 为甲基，并且 m 选自 0 或 1。

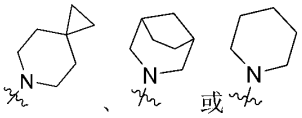
4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述结构单元  选自 、

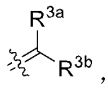
；或者，所述结构单元  选自 ；或者，所述结构单元  选自 。

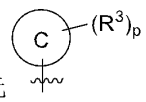
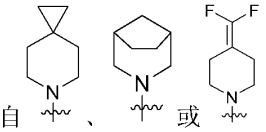
5. 根据权利要求 1-4 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述环 B 为 6 元的含有一个选自 N 的杂原子的杂环基；或者，所述环 B 为 。

6. 根据权利要求 1-5 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述 R^2 为卤素，和/或 n 选自 0、1 或 2；或者，所述 R^2 选自 F、Cl 或 Br，并且 n 选自 0、1 或 2。

7. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述结构单元  选自 。

8. 根据权利要求 1-7 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述环 C 为含有一个选自 N 的杂原子的 6、7 或 8 元杂环基；或者，所述环 C 选自 。

9. 根据权利要求 1-8 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述 R^3 为 ，R^{3a} 和 R^{3b} 各自独立地选自 H 或卤素，并且 p 选自 0、1 或 2；或者，所述 R^3 为 ；p 选自 0、1 或 2。

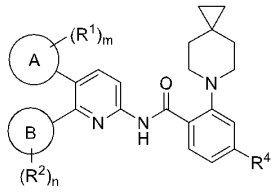
10. 根据权利要求 1-9 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述结构单元  选自 。

11. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述 X^1、X^2 各自独立选自 CR^x，并且所述 R^x 选自 H 或卤素；或者，所述 X^1、X^2 各自独立选自 CH、-CF 或 N；或者，X^1 为 CH，X^2 为 CH 或-CF。

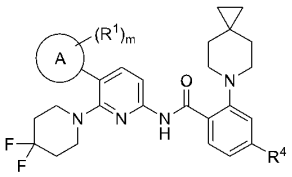
12. 根据权利要求 1-11 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述 Y^1、Y^2 各自独立选自 CH 或 N；或者，Y^1 为 N，Y^2 为 CH；或者，Y^1 为 N，Y^2 为 N。

13. 根据权利要求 1-12 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，所述 R^4 选自-$NHSO_2$-C_{1-4} 烷基，且所述的 C_{1-4} 烷基任选地被一个或多个 OH 取代；或者，所述 R^4 选自-$NHSO_2$-CH_2CH_2OH 或-$NHSO_2$-CH_3。

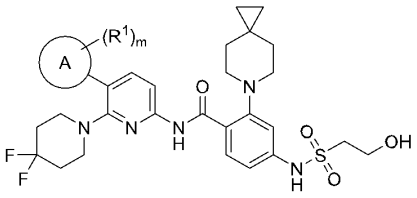
14. 根据权利要求 1-13 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其选自：



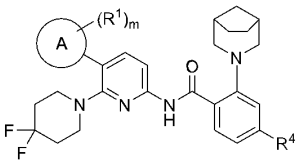
(IIa)、



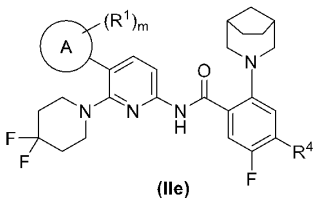
(IIb)、



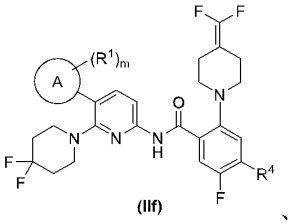
(IIc)、



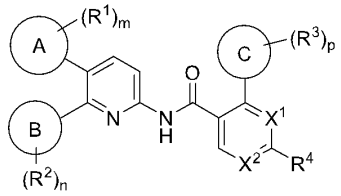
(IId)、



(IIe)、



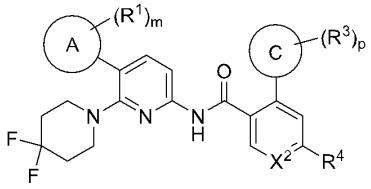
(IIf)、



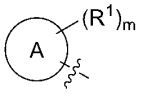
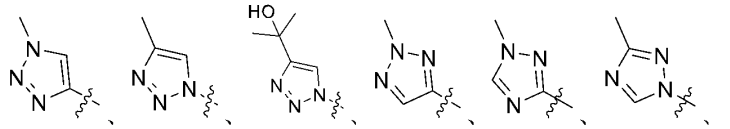
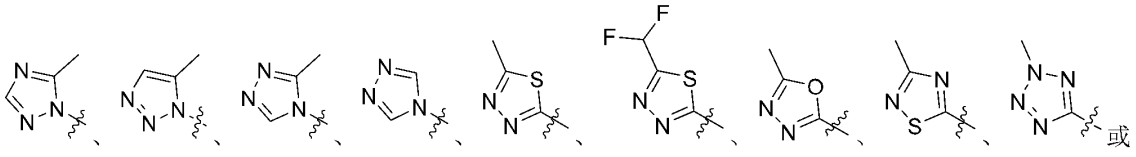
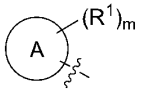
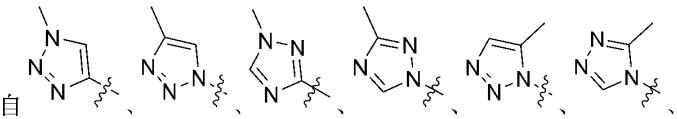
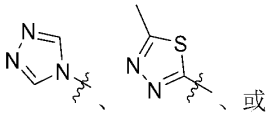
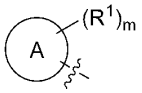
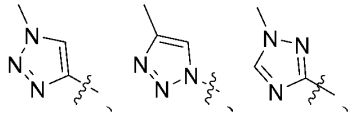
(IIg)，

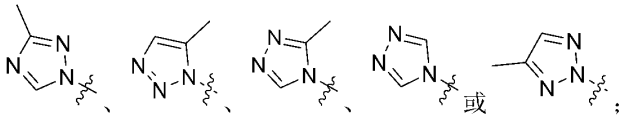
其中，环 A、环 B、环 C、R^1、R^2、R^3、R^4、X^1、X^2、m、p 和 n 如权利要求 1-13 中任一项所定义。

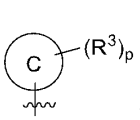
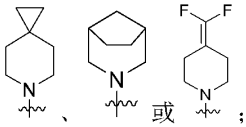
15. 根据权利要求 1 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其选自：



(III)

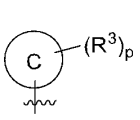
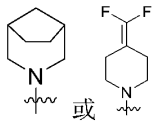
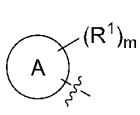
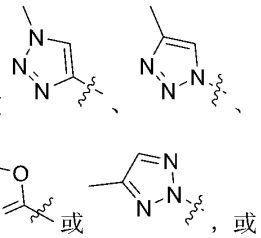
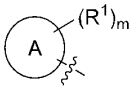
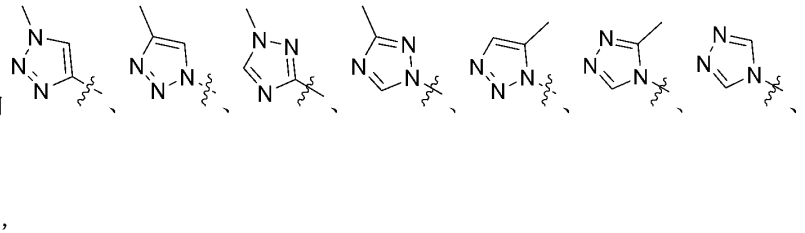
其中，结构单元  选自  或  ；或者，结构单元  选自  或  ；或者，结构单元  选自 

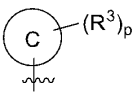
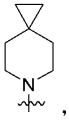
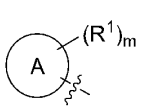
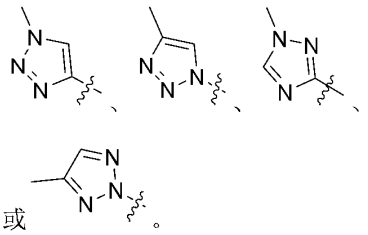

；

结构单元  选自 ；

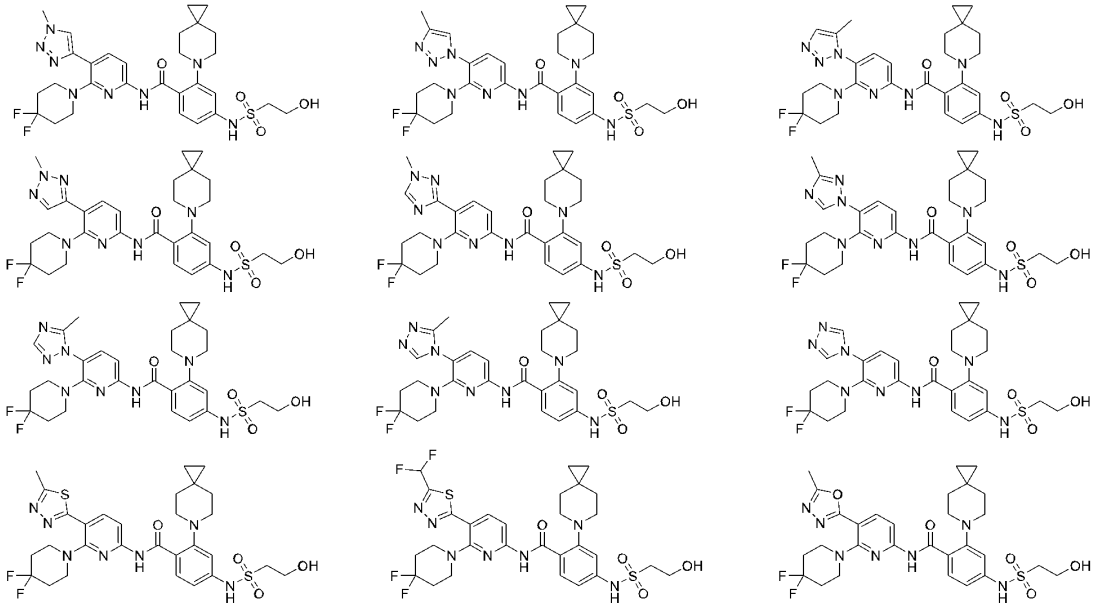
X^2选自 CH 或-CF；

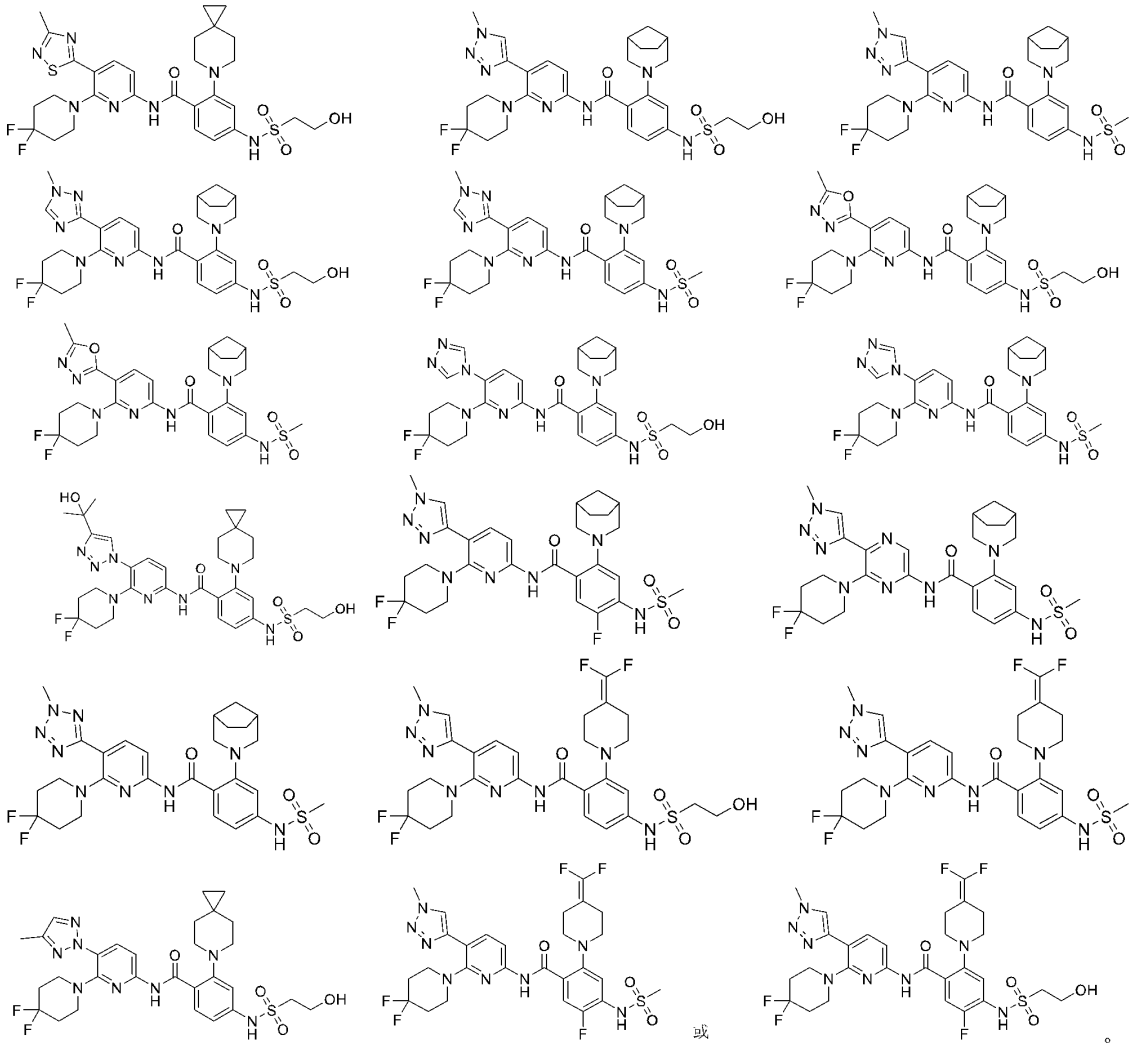
R^4选自-$NHSO_2$-CH_2CH_2OH 或-$NHSO_2$-CH_3。

16. 根据权利要求 1、5-7 和 11-15 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其中，结构单元  选自 ，并且结构单元  选自 ，或者，结构单元  选自 ；或者，

结构单元  为 ，并且结构单元  选自 。

17. 化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其选自：





或

。

18. 一种药物组合物，其包含权利要求 1-17 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体。

19. 权利要求 1-17 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，或权利要求 18 所述的药物组合物在制备用于治疗由 KIF18A 介导的疾病的药物中的用途。

20. 治疗或预防由 KIF18A 介导的疾病的方法，其包括向有需要的对象施用治疗有效量的权利要求 1-17 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐或权利要求 18 所述的药物组合物。

21. 用于治疗或预防由 KIF18A 介导的疾病的权利要求 1-17 中任一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐或权利要求 18 所述的药物组合物。

22. 根据权利要求 19 所述的用途或根据权利要求 20 所述的方法或根据权利要求 21 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐或药物组合物，其中所述由 KIF18A 介导的疾病为肿瘤；或者，所述由 KIF18A 介导的疾病为染色体不稳定的肿瘤。

23. 根据权利要求 22 所述的用途或所述的方法或所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐或药物组合物，其中所述肿瘤选自乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、前列腺癌、肺癌、结直肠癌、胰腺癌、膀胱癌、头颈癌、胃癌、食管癌或皮肤癌；优选地，所述肺癌选自肺鳞癌、肺腺癌、大细胞肺癌或小细胞肺癌。