

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2018 年 8 月 2 日 (02.08.2018)



(10) 国际公布号
WO 2018/137555 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 401/12 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/073325

(22) 国际申请日: 2018 年 1 月 19 日 (19.01.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201710053576.8 2017 年 1 月 24 日 (24.01.2017) CN

(71) 申请人: 浙江大学(ZHEJIANG UNIVERSITY) [CN/
CN]; 中国浙江省杭州市西湖区浙大路
38 号, Zhejiang 310027 (CN)。

(72) 发明人: 董晓武(DONG, Xiaowu); 中国浙江省杭州
市西湖区余杭塘路 866 号浙江大学紫金港校区药
学院, Zhejiang 310058 (CN)。 杨波(YANG, Bo); 中
国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号浙江大学
紫金港校区药学院, Zhejiang 310058 (CN)。 胡永
洲(HU, Yongzhou); 中国浙江省杭州市西湖区余
杭塘路 866 号浙江大学紫金港校区药学院, Zhejiang
310058 (CN)。 何俏军(HE, Qiaojun); 中国浙江
省杭州市西湖区余杭塘路 866 号浙江大学紫金
港校区药学院, Zhejiang 310058 (CN)。 翁勤洁
(WEN, Qinjie); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘
路 866 号浙江大学紫金港校区药学院, Zhejiang

310058 (CN)。 占文虎(ZHAN, Wenhui); 美国纽
约州皇后区埃尔姆赫斯特登曼街 4109 号 5 楼, NY
New York 11373 (US)。 刘滔(LIU, Tao); 中国浙
江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号浙江大学紫
金港校区药学院, Zhejiang 310058 (CN)。

(74) 代理人: 杭州之江专利事务所(普通合
伙)(HANGZHOU ZHIJIANG PATENT AGENCY);
中国浙江省杭州市下城区潮王路 10 号领骏世界
大厦北座 1803 室, Zhejiang 310014 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家
保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS,
JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,

(54) Title: POLYFLUORO-SUBSTITUTED AROMATIC HETEROCYCLIC COMPOUND DERIVATIVE, PHARMACEUTICAL
COMPOSITION CONTAINING SAME, AND APPLICATIONS THEREOF

(54) 发明名称: 多氟取代芳联杂环类衍生物、含其的药物组合物及其应用

(57) Abstract: A polyfluoro-substituted aromatic heterocyclic compound derivative having the structure as represented by formula I or
formula I', where at least one of R₁ and R₂ is a fluorine atom, and at least two substituents of R_c, R_d, R_e, and R_f are fluorine atoms; and
an optical isomer of the derivative, or a pharmaceutically acceptable salt or solvate of same, or a pharmaceutically acceptable salt or
solvate of the optical isomer of same. A composition containing the polyfluoro-substituted aromatic heterocyclic compound derivative
and applications of the composition in preparing an anti-tumor medicament. The compound provides significant inhibitory effects with
respect to Akt1 and demonstrates strong proliferation inhibitory activity with respect to tumor cell lines such as an ovarian cancer cell
line, a colon cancer cell line, and a prostate cancer cell line. Therefore, the compound is applicable as an Akt inhibitor in the medicament
for treating a cell proliferation-related solid tumor or blood cancer in the human or animal body.

(57) 摘要: 一种多氟取代芳联杂环类衍生物, 具有通式 I 或通式 I' 所示的结构, 其中 R₁、R₂ 中至少有一
个氟原子; R_c、R_d、R_e、R_f 中至少两个取代基为氟原子; 以及其光学异构体; 或其药学上可接受的盐
或溶剂合物; 或其光学异构体药学上可接受的盐或溶剂合物。含有上述多氟取代芳联杂环类衍生物
的组合物以及其在制备抗肿瘤药物中的应用。所述化合物对 Akt1 有显著的抑制作用, 对人卵巢癌细胞
株、结肠癌细胞株、前列腺癌细胞株等肿瘤细胞株显示出强效的增殖抑制活性。因此, 所述化合物可
作为 Akt 抑制剂应用于治疗人或动物细胞增殖性相关的实体瘤或血癌的药物中。

RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布：

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

多氟取代芳联杂环类衍生物、含其的药物组合物及其应用

技术领域

本发明涉及药物领域，具体涉及作为 Akt 抑制剂的多氟取代芳联杂环类衍生物、含其的药物组合物及其在抗肿瘤中的应用。

背景技术

恶性肿瘤是威胁人类生命健康的重大疾病之一。随着环境污染，生活压力及人口老龄化等问题日益严峻，恶性肿瘤已成为我国居民首要死因。癌症的防治研究已成为全球瞩目的焦点。癌症的治疗手段主要有手术治疗、放射治疗和药物化疗等，其中以药物化疗最为重要。传统抗肿瘤药物多为作用于细胞有丝分裂、DNA 合成和修复等过程的细胞毒药物，普遍存在对实体瘤疗效不佳、毒副作用大和易产生多药耐药等缺点，使其临床治疗受到较大的限制。近年来，靶向抗肿瘤药物的研发进展迅速，新型抗癌药物不断涌现，如以 Bcr-Abl 抑制剂伊马替尼，EGFR 抑制剂吉非替尼及中国自主创新药埃克替尼等为代表的替尼类酪氨酸激酶抑制剂已广泛用于癌症的临床治疗，并具有效果显著、毒副作用较小等特点。鉴于这些新型抗肿瘤药物的出色表现，小分子靶向抗肿瘤药物研究已成为全球医药界的重要议题，寻找不同作用机制的新颖抗肿瘤药物仍是国内外新药研究开发的热点。

近年来，PI3K/Akt/mTOR 信号通路为肿瘤治疗提供了很大机遇，围绕该通路的抗肿瘤药物开发已成为全球研究的热门领域，Akt 作为该信号通路中的关键节点蛋白而一直备受关注。Akt 又称蛋白激酶 B，是一种丝氨酸 / 苏氨酸激酶，为 AGC 蛋白激酶家族成员。人类 Akt 主要包括三个亚型：Akt1，Akt2，Akt3，虽然这三种亚型定位的染色体不同，但亚型之间有着很高（80%以上）的序列同源性。Akt 三个亚型从结构上都包含氨基末端的 PH 结构域、中部的激酶结构域和羧基末端的调节结构域。PH 域即肌醇磷酸结合区，调节 Akt 与磷脂酰-3,4,5-三磷酸脂（PIP3）的结合；激酶催化区含有一活化 Akt 的苏氨酸磷酸化关键位点，即 T308 位点；羧基末端含有丝氨酸磷酸化位点，即 S473 位点。在细胞质中，Akt 主要以‘PH-in’非活化的形式存在，当 PI3K 激酶被生长因子激活后，PI3K 可磷酸化磷脂酰-4,5-二磷酸脂（PIP2）3 位上的羟基生成磷脂酰-3,4,5-三磷酸脂（PIP3），后者可与 Akt 的 PH 结构域结合募集其转移至细胞膜上并使之发生为构象转变（‘PH-out’），暴露出两个磷酸化位点。当 T308 和 S473 位点分别被磷脂酰肌醇依赖性蛋白激酶 PDK1 和雷帕霉素靶蛋白 mTOR2 磷酸化后，被完全激活的 Akt 从细胞膜上脱离，激活其下游一系列信号分子，进而调节细胞的生理过程。

Akt 在细胞的生长、存活、增殖、凋亡、血管生成、自吞噬等过程中发挥着极其重要的生物学功能。研究发现，Akt 在胃癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌等多种人类肿瘤中均存在过度表达的现象，Akt 的功能失调或异常激活与这些肿瘤的发生、发展、转移以及对化疗产生耐药密切相关 8-13。因此，Akt 已成为一个具有广泛开发前景的

抗肿瘤药物靶点，寻找新颖、高效的 Akt 抑制剂是当前抗肿瘤药物开发的重要策略。

随着对 Akt 结构和功能的深入了解，已有多种不同结构类型的 Akt 抑制剂被陆续报道。按照其作用方式主要可分为磷脂酰肌醇（PIP）类似物、变构抑制剂以及 ATP 竞争性抑制剂 3 大类，磷脂酰肌醇类似物抑制剂作用于 Akt 的 PH 域，阻碍 PIP3 与 Akt 的结合，使之不能从细胞质转移至细胞膜，从而抑制 Akt 的活化。代表性抑制剂有 DPIEL，PIA5 和哌立福新，其中，Aeterna Zentaris 公司的哌立福新曾在用作治疗多发性骨髓瘤和顽固性结直肠癌口服新药进入了三期临床试验，但最终因疗效欠佳而宣告失败。

Akt 变构抑制剂因其高特异性，近年来受到业界越来越多的关注。如前文所述，Akt 在活化之前主要以‘PH-in’的构象存在，PH 域与激酶催化区处于一种折叠的状态，两区域之间产生一特殊的变构位点，Akt 变构抑制剂与此位点结合，锁定其‘PH-in’状态，限制 Akt 发生构象改变，进而抑制 Akt 激活。由于 Akt 的三种亚型在此变构位点存在差距，因此该类抑制剂能较好实现 Akt 亚型间的选择性。代表性 Akt 变构抑制剂 MK-2206 目前已进入 II 期临床试验，用于胃癌、乳腺癌和淋巴瘤等多种癌症的治疗。

ATP 竞争性抑制剂是研究最广泛的一类 Akt 抑制剂，它与 ATP 竞争性地作用于 ATP 结合口袋，阻碍其对底物蛋白的磷酸化。由于 Akt 与 PKA，PKC，ROCK 等同属 AGC 蛋白家族，它们的 ATP 结合口袋存在高度相似性，为设计特异性 Akt 抑制剂带来了巨大的挑战。目前已有大量不同结构类型的小分子 ATP 竞争性抑制剂被报道，多个曾进入或正处于临床研究阶段，如 GSK690693，AZD5363，GDC-0068，GSK2110183，GSK2141795。

发明内容

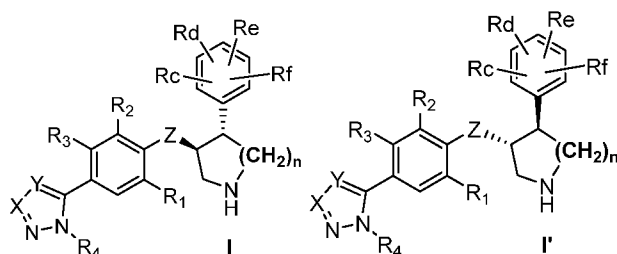
本发明的目的是提供一种抗癌作用强，具有 Akt 抑制作用的新型多氟取代芳联杂环类衍生物及其药学上可接受的盐或溶剂合物。

本发明同时提供了一种含有上述多氟取代芳联杂环类衍生物及其药学上可接受的盐或溶剂合物的药物组合物。

本发明还提供了一种利用上述多氟取代芳联杂环类衍生物及其药学上可接受的盐或溶剂合物制备抗肿瘤药物的应用。

本发明采用如下的技术方案：

本发明所提供了一种多氟取代芳联杂环类衍生物，具有通式 I 或通式 I' 所示的结构：

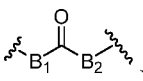
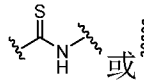
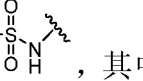


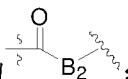
或其光学异构体；或其药学上可接受的盐或溶剂合物；或其光学异构体药学上可

接受的盐或溶剂合物；

其中，X、Y 分别独立的选自 -C(Ra)- 和 -N-，且至少有一个为 -C(Ra)-；Ra 选自 H、卤素、羟基、羧基、羟甲基、饱和或不饱和的 C₁-C₄ 烷基(包括烷基、烯基、炔基)、卤代的 C₁-C₄ 烷基、C₁-C₄ 烷氧基、卤代的 C₁-C₄ 烷氧基、C₄-C₁₂ 的无取代或取代的芳基、C₄-C₁₂ 无取代或取代的杂环芳基、C₃-C₈ 无取代或取代的环烷基；

R₁、R₂ 分别独立的选自 H、F、Cl、Br、CH₃、CF₃，且至少一个为氟原子；R₃ 为 H、CH₃、CF₃、F 或 Cl；R₄ 为 C₁-C₃ 的烷基或者环烷基；

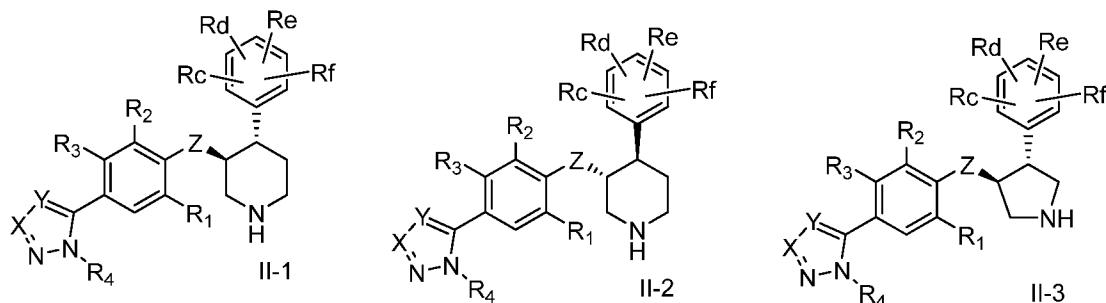
Z 选自 、 或 ，其中 B₁ 和 B₂ 相同或不同；B₁ 和 B₂ 分别独立的选自 N(Rb) 或缺失，其中 Rb 分别独立的选自 H、C₁-C₃ 烷基或者环烷基；本发明中 Z 相当于桥连基，用于两个化合物片段的连接；这里提到的“缺失”是指当 B₁ 或 B₂ 缺失时，缺失的一侧，由中间的羰基碳直接与对应的化合物片段相连，比如当 B₁

缺失时，Z 的结构为 ；

n 为 1, 2, 3；

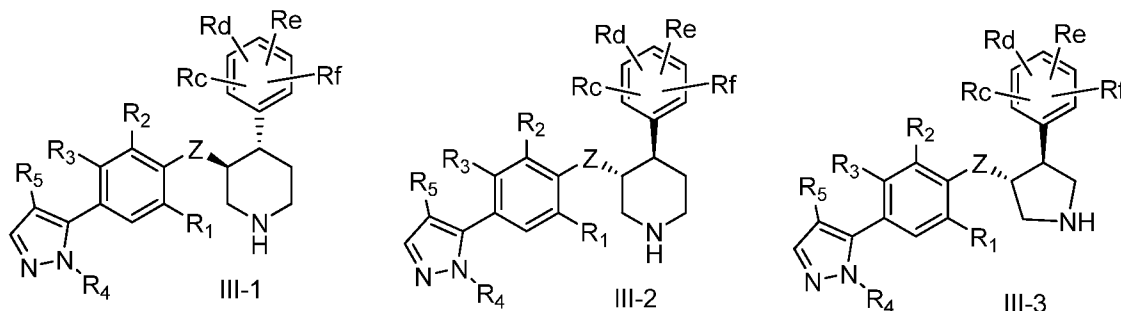
Rc、Rd、Re、Rf 分别独立的选自 H、F、Cl、Br、CF₃、CF₂H，且至少两个取代基为氟原子。

进一步地，作为优选，本发明多氟取代芳联杂环类衍生物具有通式 II-1、通式 II-2、通式 II-3 所示的结构：



或其光学异构体；或其药学上可接受的盐或溶剂合物；或其光学异构体药学上可接受的盐或溶剂合物；

其中，X、Y、R₁、R₂、Z、Rc、Rd、Re、Rf 定义同上。进一步地，作为优选，所述的多氟取代芳联杂环类衍生物具有通式 III-1、通式 III-2 或通式 III-3 结构：

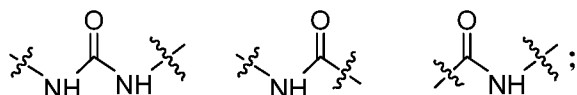


或其光学异构体；或其药学上可接受的盐或溶剂合物；或其光学异构体药学上可

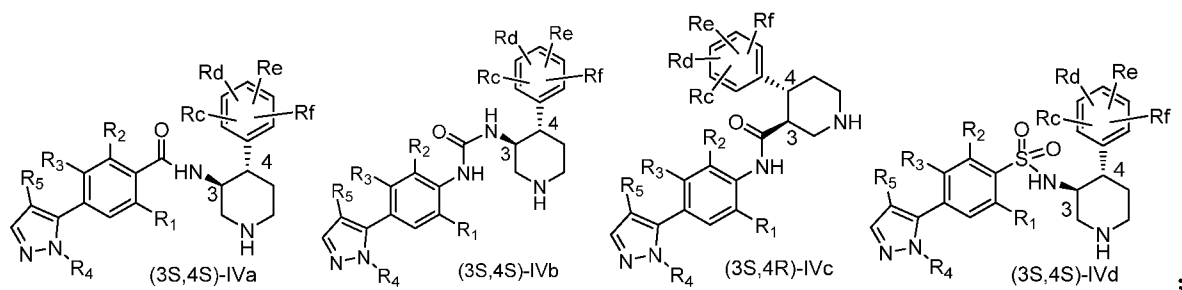
接受的盐或溶剂合物；

其中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 Z 定义同上； R_5 为 H，卤素（F、Cl、Br）、 C_1 - C_3 的烷基或者环烷基。

进一步地， Z 中所述的 $\text{---B}_1\text{---C(=O)---B}_2\text{---}$ 优选为如下结构：



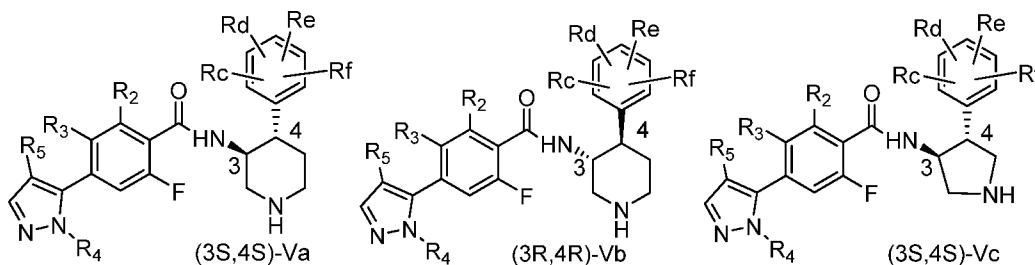
作为更进一步优选，所述多氟取代芳联杂环类衍生物具有通式 IVa、通式 IVb、通式 IVc、通式 IVd 的结构：



或其光学异构体；或其药学上可接受的盐或溶剂合物；或其光学异构体药学上可接受的盐或溶剂合物。

其中， R_1 、 R_2 、 R_5 、 R_c 、 R_d 、 R_e 、 R_f 定义同上。

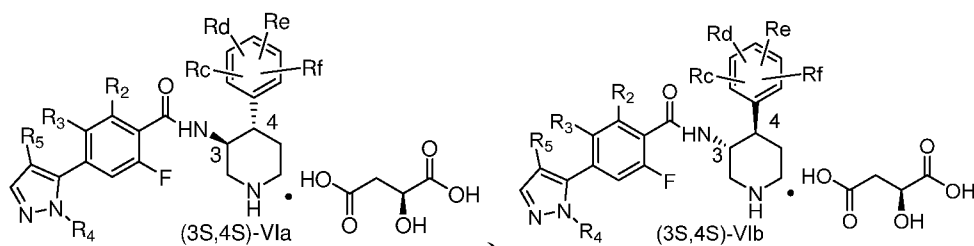
进一步地，本发明优选的化合物具有通式 Va、Vb、Vc 结构：



或其光学异构体；或其药学上可接受的盐或溶剂合物；或其光学异构体药学上可接受的盐或溶剂合物；

其中， R_2 选自 H、F、Cl、Br、 CH_3 、 CF_3 ； R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_c 、 R_d 、 R_e 、 R_f 的定义同上；

进一步地，作为优选，所述的其药学上可接受的盐优选为与 2-羟基琥珀酸（（±）-苹果酸）、（S）-2-羟基琥珀酸（L-苹果酸）、（R）-2-羟基琥珀酸（D-苹果酸）、（2R，3R）-2,3-二羟基琥珀酸、（2S，3S）-2,3-二羟基琥珀酸、L-酒石酸、D-酒石酸、酒石酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、2-羟基丙三羧酸中一种或多种构成的盐；作为优选，作为进一步优选，所述的其药学上可接受的盐优选为与 2-羟基琥珀酸（（±）-苹果酸）、（S）-2-羟基琥珀酸（L-苹果酸）、（R）-2-羟基琥珀酸（D-苹果酸）、（2R，3R）-2,3-二羟基琥珀酸、（2S，3S）-2,3-二羟基琥珀酸、L-酒石酸、D-酒石酸、酒石酸、2-羟基丙三羧酸中一种或多种构成的盐；更进一步优选为 L-苹果酸盐的通式 VIa、VIb 结构：



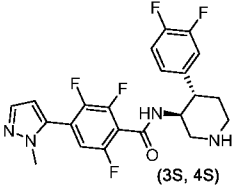
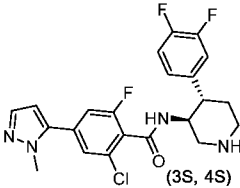
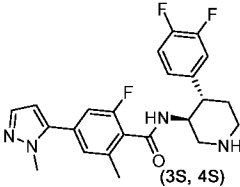
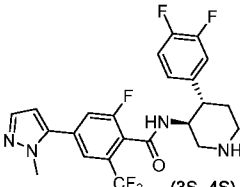
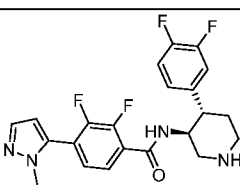
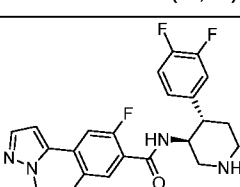
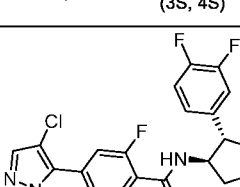
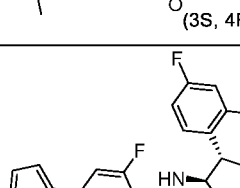
或其光学异构体，其中， R_2 选自 H、F、Cl、Br、 CH_3 、 CF_3 ； R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_c 、 R_d 、 R_e 、 R_f 定义同上。

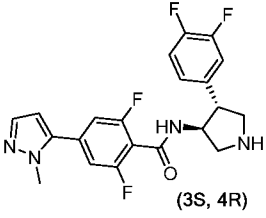
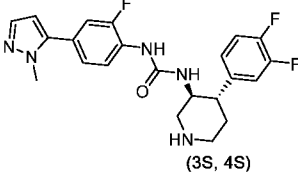
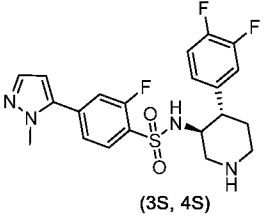
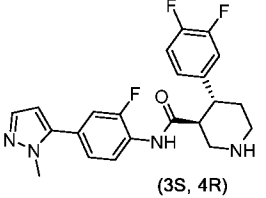
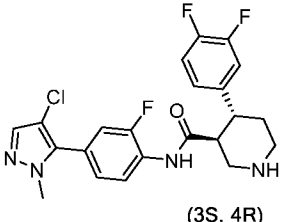
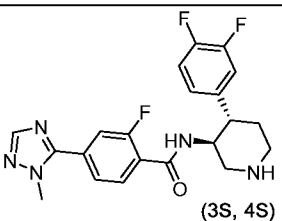
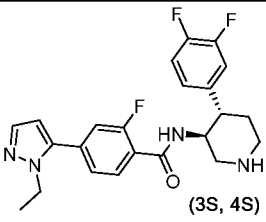
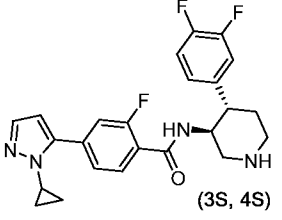
作为进一步优选：所述 R_1 、 R_2 分别独立的选自 H、F、Cl、 CH_3 、 CF_3 ，且至少一个为氟原子； R_3 为 H、F； R_4 为甲基、乙基、环丙基 C_1-C_3 的烷基或者环烷基；X 为甲基；Y 为 N 或 $-C(R_a)-$ ，其中， R_a 选自 H、Cl、甲基、环丙基、羟乙基、Br、F； $n=1$ 或 2； R_c 、 R_d 、 R_e 、 R_f 中至少两个为氟，其余为 H； R_c 、 R_d 、 R_e 、 R_f 进一步优选为 3,4 位二取代氟、3,4,5 位三取代氟、1,2,4,5 位四取代氟、2,4 位二取代氟，其余为 H；

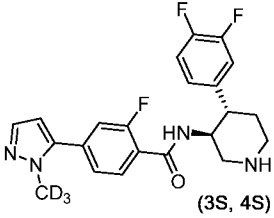
Z 选自 。具体地，根据通式 I 和通式 I'，本发明优选的化合物为：

编号	结构	命名
VII-1		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((±)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-1a		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-1b		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-2		4-(1-甲基-4-氯-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-3		4-(1,4-二甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺

VII-4		4-(1-甲基-4-环丙基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-5		4-(1-甲基-4-羟甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-6		4-(1-甲基-4-溴-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-7		4-(1-甲基-4-氟-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-8		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-(3,4,5-三氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-9		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-(2,3,5,6-四氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-10		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-(2,3,4-三氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-11		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-(2,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-12		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺

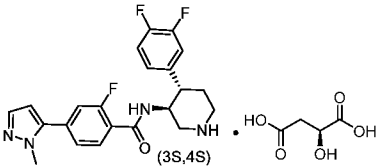
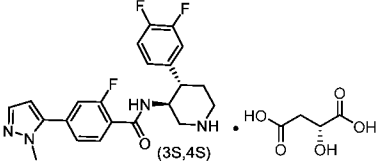
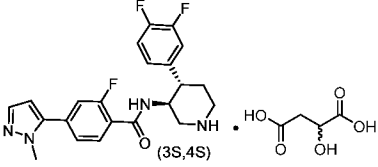
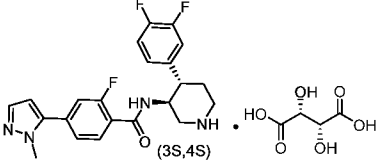
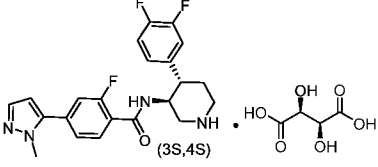
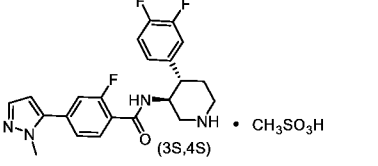
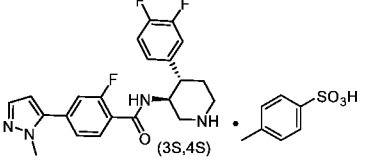
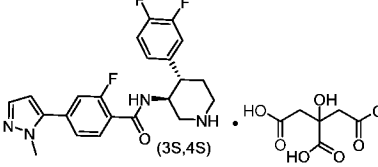
VII-13		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺
VII-14		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟-6-氯苯甲酰胺
VII-15		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-甲基-6-氟苯甲酰胺
VII-16		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-三氟甲基-6-氟苯甲酰胺
VII-17		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2,3-二氟苯甲酰胺
VII-18		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2,5-二氟苯甲酰胺
VII-19		4-(1-甲基-4-氯-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-(3,4-二氟苯基)吡咯烷-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-20		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-(3,4-二氟苯基)吡咯烷-3-基)-2-氟苯甲酰胺

VII-21	 (3S, 4R)	4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-(3,4-二氟苯基)吡咯烷-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺
VII-22	 (3S, 4S)	1-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-3-(2-氟-4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-5-基)苯基)脲
VII-23	 (3S, 4S)	N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)- 2-氟-4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-5-基)苯磺酰胺
VII-24	 (3S, 4R)	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-(3,4-二氟苯基)-N-(2-氟-4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑基)苯基)哌啶-3-碳酰胺
VII-25	 (3S, 4R)	(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-(3,4-二氟苯基)-N-(2-氟-4-(1-甲基-4-氯-1 <i>H</i> -吡唑基)苯基)哌啶-3-碳酰胺
VII-26	 (3S, 4S)	4-(1-甲基-1 <i>H</i> -1,2,4-三氮唑-5-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-27	 (3S, 4S)	4-(1-乙基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
VII-28	 (3S, 4S)	4-(1-环丙基-1 <i>H</i> -吡唑-基)-N-((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺

VII-29	 (3S, 4S)	4-(1-(1-甲基- <i>d</i> ₃)-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
--------	---	---

及其上述化合物的光学异构体；或其药学上可接受的盐或溶剂合物。

作为进一步优选，所述所述的多氟取代芳联杂环类衍生物包括：

VII-30		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 L-苹果酸盐
VII-31		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 D-苹果酸盐
VII-32		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 (±)-苹果酸盐
VII-33		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 L-酒石酸盐
VII-34		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 D-酒石酸盐
VII-35		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺甲磺酸盐
VII-36		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺对甲苯磺酸盐
VII-37		4-(1-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-基)- <i>N</i> -((3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺枸橼酸盐

或上述化合物的其他光学异构体；或上述化合物的药学上可接受的的溶剂合物。

术语说明：本文所用术语“芳基”是指 4 到 12 个碳原子的全碳单环或稠合多环基团，具有完全共轭的 π 电子系统。芳基的非限制性实例有：苯基、萘基和蒽基。芳基可以是无取代或取代的。芳基的取代基选自卤素、硝基、氨基、氰基、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、卤代 C_1 - C_6 烷基、卤代 C_1 - C_6 烷氧基、 C_3 - C_6 环烷基、卤代 C_3 - C_6 环烷基。

本文所用术语“杂环芳基”指 4 到 12 个环原子的不饱和的碳环，其中一个或多个碳被杂原子例如氧、氮、硫等置换同样具有完全共轭的 π 电子系统。杂环芳基可以是单环，也可以是双环，即通过两个环稠合而成。具体的杂环芳基可以是：吡啶基，嘧啶基，吡嗪基，异恶唑基，异噻唑基、吡唑基、噻唑基、恶唑基和咪唑基等。杂环芳基可以是无取代或取代的。杂环芳基的取代基选自卤素、硝基、氨基、氰基、羟基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、卤代 C_1 - C_6 烷基、卤代 C_1 - C_6 烷氧基、 C_3 - C_6 环烷基、卤代 C_3 - C_6 环烷基。

本文所用术语“环烷基”是指具有 3-8 个碳原子的饱和单环碳环，除非指明不同数目的原子。“环烷基”包括例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。“环烷基”还包括取代环烷基。环烷基还可任选在任何可利用碳上被一个或多个选自烷氧基、卤素和卤代烷基，如全氟烷基的取代基取代。

本文所用术语“烷氧基”是指 -O-烷基基团。本文所用“烷氧基”的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基和叔丁氧基。“烷氧基”还包括取代烷氧基。烷氧基可任选被卤素取代一次或多次。

本文所用术语“卤素”表示氟、氯、溴或碘，优选为氟或氯。

术语“药学可接受衍生物”是指所选化合物的盐和溶剂合物。

本文所用术语“溶剂合物”是指由溶质(例如：本发明的通式 I、通式 I'、通式 II-1、通式 II-2、通式 II-3 等所示的化合物) 和溶剂形成的可变化学计量的复合物。为了本发明的目的，所述溶剂不能干扰溶质的生物学活性。合适的溶剂的实例包括但不限于水、甲醇、乙醇和乙酸。优选使用的溶剂为药学可接受溶剂。合适的药学可接受溶剂包括但不限于水、乙醇和乙酸。更优选地，所用溶剂为水。

本发明采用本领域技术人员所熟知的方法可以制备本发明所述的取代氮杂环类化合物的盐。所述的盐可以是有机酸盐、无机酸盐等，所述的有机酸盐包括枸橼酸盐、富马酸盐、草酸盐、苹果酸盐、乳酸盐、樟脑磺酸盐、对甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、三氟甲磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐等；所述的无机酸盐包括氢卤酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐等。例如，与低级烷基磺酸，如甲磺酸、三氟甲磺酸等可形成甲磺酸盐、三氟甲磺酸盐；与芳基磺酸，如苯磺酸或对甲苯磺酸等可形成苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐；与有机羧酸，如乙酸、富马酸、酒石酸、草酸、马来酸、苹果酸、琥珀酸或柠檬酸等可形成相应的盐；与氨基酸，如谷氨酸或天冬氨酸可形成谷氨酸盐或天冬氨酸盐。与无机酸，如氢卤酸(如氢氟酸、氢溴酸、氢碘酸、氢氯酸)，硝酸、碳酸、硫酸或磷酸等也可形成相应的盐。

本发明的第二个目的是提供一种药物组合物，所述药物组合物包含至少一种活性

组分以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂，所述的活性组分可以是本发明通式 I 和通式 I' 所示结构的取代氮杂环类化合物及其优选化合物、所述化合物的光学异构体、所述化合物或其光学异构体在药学上可接受的盐、所述化合物或其光学异构体的溶剂合物中的任意一种或任意多种。

所述载体包括药学领域的常规稀释剂、赋形剂、填充剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂、吸收促进剂、表面活性剂、吸附载体、润滑剂等中的一种或多种，必要时还可以加入香味剂、甜味剂等。本发明药物可以制成片剂、粉剂、粒剂、胶囊、口服液及注射用药等多种形式，上述各剂型的药物均可以按照药学领域的常规方法制备。

本发明还提供 I 和通式 I' 所述的化合物、及其光学异构体或其药学上可接受的盐或溶剂合物在制备抗肿瘤药物中的用途。所述的肿瘤为乳腺癌、肉瘤、肺癌、前列腺癌、结肠癌、直肠癌、肾癌、胰腺癌、血癌、成神经细胞瘤、神经胶质瘤、头癌、颈癌、甲状腺癌、肝癌、卵巢癌、外阴癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、睾丸癌、膀胱癌、食管癌、胃癌、鼻咽癌、颊癌、口腔癌、胃肠道间质瘤、皮肤癌、多发性骨髓瘤、急性髓细胞白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病。

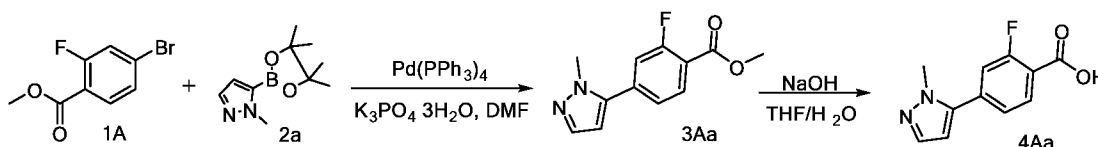
本发明还提供本发明所述的化合物或其可药用盐在制备 Akt 抑制剂中的应用，特别是在制备治疗细胞增生疾病中的应用。所述的细胞增生疾病包括癌症。换言之，本发明提供取代氮杂环类化合物或其可药用盐单独或和其他药物联合使用在治疗增生类疾病(如癌症)中的应用。能和本发明所提供的化合物或其可药用盐联合使用的抗肿瘤药包括但并非限定至少一种以下种类：有丝分裂抑制剂(如长春碱、长春地辛和长春瑞宾)；微管蛋白分解抑制剂(如泰素)；烷基化试剂(如顺铂、卡铂和环磷酰胺)；抗代谢物(如 5- 氟尿嘧啶、替加氟、甲氨蝶呤、阿糖胞苷和羟基脲)；可插入抗生素(如阿霉素、丝裂霉素和争光霉素)；酶(如天门冬氨酶)；拓扑异构酶抑制剂(如依托泊苷和喜树碱)；生物反应调节剂(如干扰素)；蛋白酶体抑制剂(如硼替佐米)；肿瘤免疫相关药物(PD-1 抗体药物、CTLA-4 抗体药物)。

本发明发明人通过多次实验证实，本发明化合物对 Akt1 有显著的抑制作用，对人卵巢癌细胞株(OVCAR-8)、人乳腺癌细胞株(MCF7)、人肾癌细胞株(786-O)、结肠癌细胞株(HCT116)、人骨髓瘤细胞株(CEM-C1)等肿瘤细胞株显示出强效的增殖抑制活性。因此，本发明化合物可作为 Akt 抑制剂应用于治疗人或动物细胞增殖性相关的实体瘤或血癌的药物中。

具体实施方式

下面通过实施例来说明本发明的可实施性，本领域的技术人员应当理解，根据现有技术的教导，对相应的技术特征进行修改或替换，仍然属于本发明要求保护的范围。

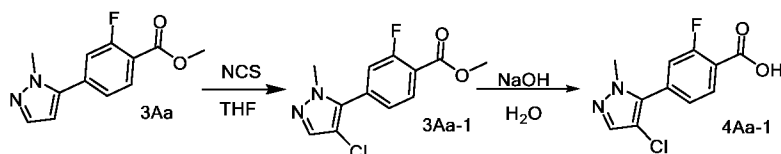
实施例 1. 中间体 4Aa 的合成



步骤一：在氮气保护下，将 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A** (2.3g, 10 mmol)、四(三苯基磷)钯(1.15g, 1 mmol)、1-甲基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 **2a** (2.5g, 12 mmol) 和磷酸钾三水合物(4.0 g, 15 mmol)依次加入装有 50 mL DMF 的 100 ml 三颈瓶中，反应体系置于 90℃ 充分搅拌反应过夜。反应完毕冷却至室温，将反应液倒入 100 mL 水中，用乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机层，用饱和氯化钠洗两次后，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，所得粗产品用硅胶柱层析纯化得浅黄色固体 2.38g 中间体 **3Aa**，收率 85%，¹H NMR 500 MHz, CDCl₃) δ 8.09–7.99(m, 1H), 7.55 (d, J= 1.9 Hz, 1H), 7.29 (dd, J= 8.1, 1.6 Hz, 1H), 7.23 (dd, J= 11.3, 1.6Hz, 1H), 6.40 (d, J= 1.9 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.95 (s, 3H)。ESI(M+H)⁺=235。

步骤二：将中间体 **3Aa** (2.38g, 10 mmol) 溶于 20ml 四氢呋喃中，加入 6N 氢氧化钠水溶液 10mL，室温继续反应 6 小时，减压除掉有机溶剂。向剩余反应混合物中加入 10mL 水，用二氯甲烷洗两次，水层用 1N 盐酸溶液调至 pH 值约为 3，有大量固体析出，过滤，滤饼再用水洗一次，干燥得 1.9 g 白色固体 **4Aa**，收率 86%，¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 13.46 (s, 1H), 8.03–7.87(m, 1H), 7.55 (d, J= 11.8 Hz, 1H), 7.51 (d, J= 1.5 Hz, 1H), 7.49 (d, J= 8.1 Hz, 1H), 6.58 (d, J= 1.5 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H)。ESI(M+H)⁺=221。

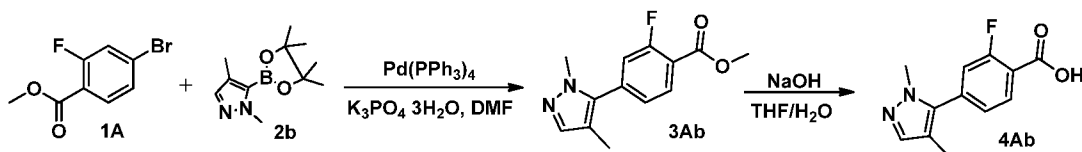
实施例 2：中间体 **4Aa-1** 的合成



步骤一：将中间体 **3Aa** (1.2g, 5 mmol) 溶于 20ml 四氢呋喃中，缓慢加入 NCS (氯代二乙酰亚胺) (348 mg, 6 mmol) 室温下反应 5 小时后，减压除掉有机溶剂，向剩余反应混合物中加入 10mL 水，用二氯甲烷洗萃取 2 次，合并有机层，用饱和氯化钠洗两次后，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，所得粗产品用硅胶柱层析纯化得浅黄色固体，干燥得 1.07g 白色固体 **3Aa-1**，收率 80%，ESI(M+H)⁺=269。

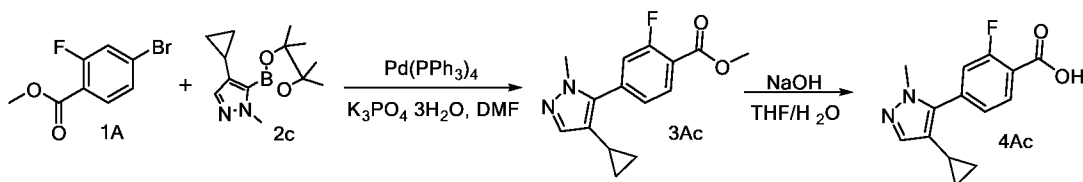
步骤二：将中间体 **3Aa-1** (1.2g, 5 mmol) 溶于 20ml 四氢呋喃中，加入 6N 氢氧化钠水溶液 10mL，室温继续反应 6 小时，减压除掉有机溶剂。向剩余反应混合物中加入 10mL 水，用二氯甲烷洗两次，水层用 1N 盐酸溶液调至 pH 值约为 3，有大量固体析出，过滤，滤饼再用水洗一次，干燥得 1.14 g 白色固体 **4Aa-1**，收率 90%，ESI(M+H)⁺=255。

实施例 3：中间体 **4Ab** 的合成



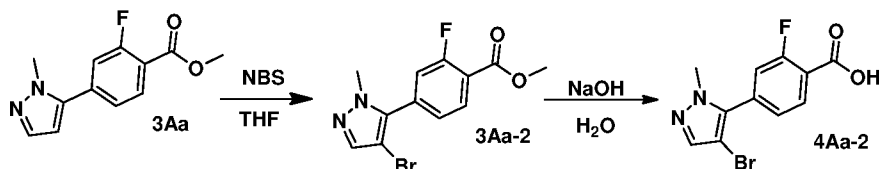
参考实施例 1 的步骤一、二，用 1,4-二甲基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 (2.66g, 12 mmol) **2b** 代替 1-甲基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 **2a**，以 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A** (2.3g, 10 mmol) 为原料，制得 1.58g 白色固体 **4Ab**，收率 56% (两步)，ESI(M+H)⁺=235。

实施例 4：中间体 **4Ac** 的合成



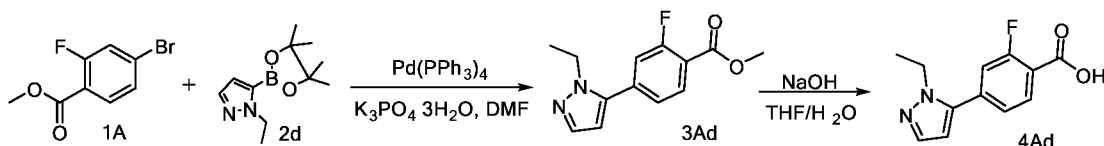
参考实施例1的步骤一、二,用1-甲基-4-环丙基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 **2c** (2.98g, 12 mmol) 代替 1-甲基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 **2a**, 以 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A** (2.3g, 10 mmol) 为原料, 得 1.34g 白色固体 **4Ac**, 收率 43% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=261$ 。

实施例 5: 中间体 **4Aa-2** 的合成



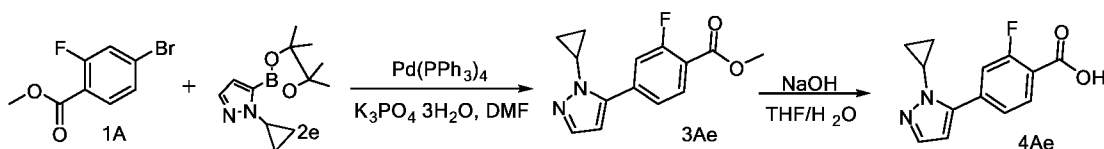
参考实施例2的步骤一、二,以 NBS (1.07 g, 6 mmol) 代替 NCS, 以中间体 **3Aa** (1.2g, 5 mmol) 为原料, 制得 1.16 g 白色固体 **4Aa-2**, 收率 78% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=299$ 。

实施例 6: 中间体 **4Ad** 的合成



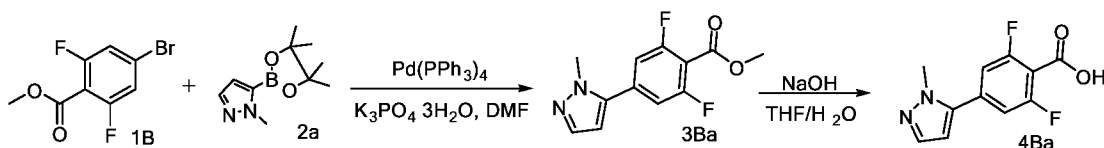
参考实施例1的步骤一、二,用1-乙基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 **2d** (2.48, 12 mmol) 代替 1-甲基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 **2a**, 以 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A** (2.3g, 10 mmol) 为原料, 得 1.52g 白色固体 **4Ad**, 收率 64.95% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=235$ 。

实施例 7: 中间体 **4Ae** 的合成



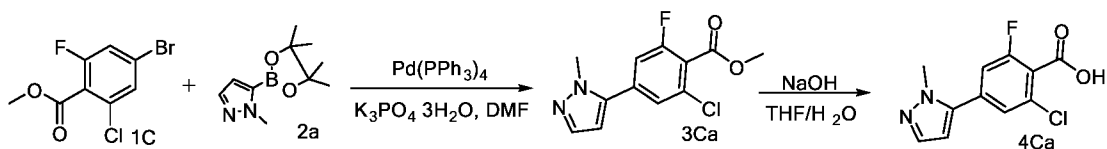
参考实施例1的步骤一、二,用1-环丙基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 **2e** (2.81g, 12 mmol) 代替 1-甲基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 **2a**, 以 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A** (2.3g, 10 mmol) 为原料, 得 1.30g 白色固体 **4Ae**, 收率 52% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=247$ 。

实施例 8: 中间体 **4Ba** 的合成



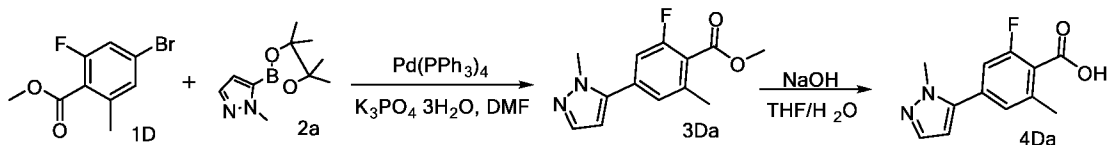
参考实施例1的步骤一、二,用4-溴-2,6-二氟-苯甲酸甲酯 **1B** (2.49g, 10 mmol) 代替 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A**, 得 1.63g 白色固体 **4Ba**, 收率 57% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=239$ 。

实施例 9: 中间体 **4Ca** 的合成



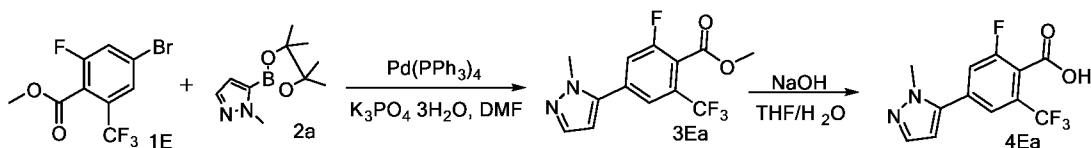
参考实施例 1 的步骤一、二，用 4-溴-2-氯-6-氟-苯甲酸甲酯 **1C** (2.52g, 10 mmol) 代替 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A**，得白色固体 **4Ca**，收率 64% (两步)，ESI(M+H)⁺=255。

实施例 10：中间体 4Da 的合成



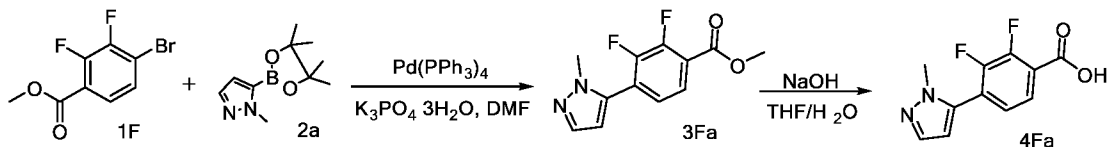
参考实施例 1 的步骤一、二，用 4-溴-2-氟-6-甲基苯甲酸甲酯 **1D** (2.32g, 10 mmol) 代替 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A**，得白色固体 **4Da**，收率 57% (两步)，ESI(M+H)⁺=235。

实施例 11：中间体 4Ea 的合成



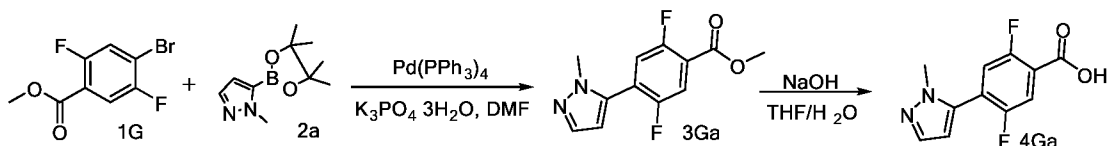
参考实施例 1 的步骤一、二，用 4-溴-2-氟-6-三氟甲基苯甲酸甲酯 **1E** (2.99g, 10 mmol) 代替 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A**，得白色固体 **4Ea**，收率 61% (两步)，ESI(M+H)⁺=289。

实施例 12：中间体 4Fa 的合成



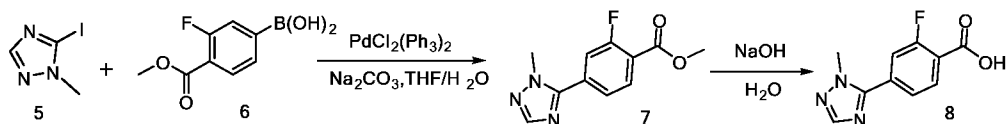
参考实施例 1 的步骤一、二，用 4-溴-2,3-二氟苯甲酸甲酯 **1F** (2.49g, 10 mmol) 代替 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A**，得白色固体 **4Fa**，收率 60% (两步)，ESI(M+H)⁺=239。

实施例 13：中间体 4Ga 的合成



参考实施例 1 的步骤一、二，用 4-溴-2,5-二氟-苯甲酸甲酯 **1G** (2.49g, 10 mmol) 代替 2-氟-4-溴苯甲酸甲酯 **1A**，得白色固体 **4Ga**，收率 58% (两步)，ESI(M+H)⁺=239。

实施例 14：中间体 8 的合成

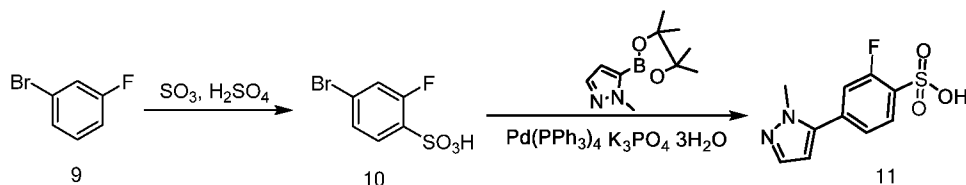


步骤一：将 5-碘-1-甲基-1H-1,2,4-三氮唑 **5** (416mg, 2.0mmol)，3-氟-4-甲氧羰基苯硼酸 **6** (475 mg, 2.40 mmol)，双三苯基膦氯化钯 (63.8 mg, 0.10 mmol) 溶于四氢呋喃，加入碳酸钠饱和水溶液 (2.00 mmol)，并在氮气保护下，微波反应 (138℃，28 分钟)。

反应完毕冷却至室温，将反应液倒入 100 mL 水中，用乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机层，用饱和氯化钠洗两次后，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，所得粗产品用硅胶柱层析得中间 **7**，收率 80%， $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=236$ ；

步骤二：将中间体 **7**(2.36g, 10 mmol) 溶于 20ml 四氢呋喃中，加入 6N 氢氧化钠水溶液 10mL，室温继续反应 6 小时，减压除掉有机溶剂。向剩余反应混合物中加入 10mL 水，用二氯甲烷洗两次，水层用 1N 盐酸溶液调至 pH 值约为 3，有大量固体析出，过滤，滤饼再用水洗一次，干燥得 1.9 g 白色固体 **8**，收率 85%， $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=222$ 。

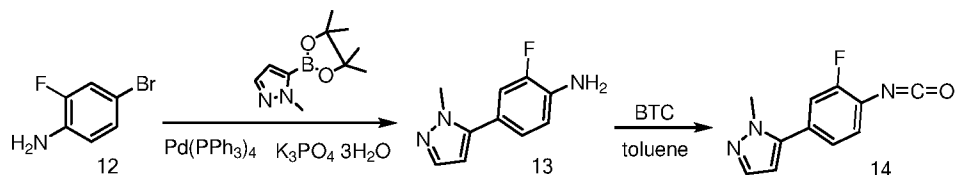
实施例 15：中间体 **11** 的合成



步骤一：在氮气保护下，1-溴-3-氟苯 **9** 作为溶剂，冰浴条件下往体系中滴加发烟硫酸（20% SO_3 ），随后转移到常温并加热至 110 摄氏度，TLC 点板检测，待反应完全后，加入冰水淬灭，乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机层，饱和氯化钠洗，硅胶柱层析得白色固体 **10**，收率 37%；

步骤二：在氮气保护下，将化合物 **10** (2.53g, 10 mmol)、四(三苯基磷)钯(1.15g, 1 mmol)、1-甲基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 **2a** (2.31g, 12 mmol) 和磷酸钾三水合物(7.5 g, 15 mmol)依次加入装有 50 mL DMF 的 100 ml 三颈瓶中，反应体系置于 90℃ 充分搅拌反应过夜。反应完毕冷却至室温，将反应液倒入 100 mL 水中，用乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机层，用饱和氯化钠洗两次后，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，所得粗产品用硅胶柱层析纯化得浅黄色固体 2.38g 中间体 **11**，收率 92%， $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=257$ 。

实施例 16：中间体 **14** 的合成

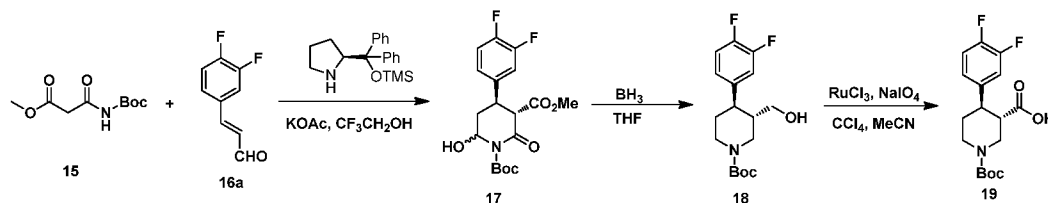


步骤一：在氮气保护下，将 4-溴-2-氟苯胺 **12** (1.88g, 10 mmol)、四(三苯基磷)钯(1.15g, 1 mmol)、1-甲基-1H-吡唑-5-硼酸频哪醇酯 **2a** (2.31g, 12 mmol) 和磷酸钾三水合物(7.5g, 15 mmol)依次加入装有 50mL DMF 的 100ml 三颈瓶中，反应体系置于 90℃ 充分搅拌反应过夜。反应完毕冷却至室温，将反应液倒入 100ml 水中，用乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机层，用饱和氯化钠洗两次后，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，所得粗产品用硅胶柱层析纯化得 1.0g 浅黄色固体 **13**，收率 52%； $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=192$ ；

步骤二：氮气保护下，将中间体 **13** (191mg, 1mmol)，三乙胺 (202mg, 2mmol) 溶于 50ml 甲苯中，冰浴条件下向甲苯溶液中缓慢滴加三光气 (BTC)，滴加完毕后，加热回流，TLC 监测反应，待反应完全后，向反应体系中加入 1N NaHCO_3 溶液 30ml，乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机层，饱和氯化钠洗 1 次后，无水硫酸钠干燥，减压回收

溶剂得 92mg 黄色油状液体 **14**，收率 45%；ESI(M+H)⁺=218。

实施例 17：中间体 **19** 的合成

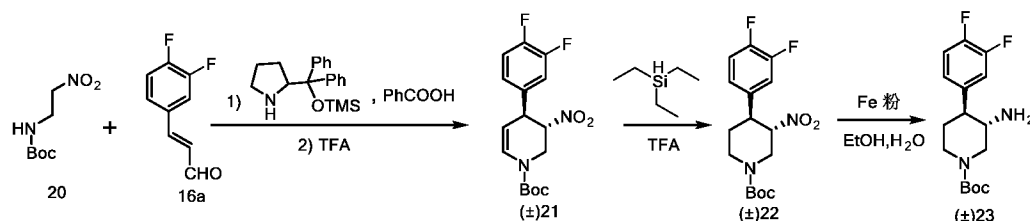


步骤一：3-((叔丁基氧羰基)氨基)-3-氧代丙酸甲酯 **15** (0.25 mmol, 1 equiv)，3,4-二氟肉桂醛 **16a** (0.3 mmol, 1.2 equiv)，((S)-(-)- α,α -二苯基-2-吡咯甲基)三甲基硅基醚 (0.05 mmol, 0.2 equiv)，醋酸钾 (0.25 mmol, 1 equiv) 溶于 1ml 2,2,2-三氟乙醇溶液中，室温下搅拌反应过夜，待反应完全，加水淬灭反应，乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机层，饱和氯化钠溶液洗，无水硫酸钠干燥，经过硅胶柱层析纯化得淡黄色油状液体 **17**，收率 63%；

步骤二：氮气保护下，将中间体 **17** 溶于无水 THF 中，-74 摄氏度下，向反应体系中缓慢滴加硼烷的 THF 溶液，滴加完毕后将体系升温至 -20 摄氏度，继续反应 5h，加入饱和碳酸钠溶液淬灭，随后体系用乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机层，饱和氯化钠溶液洗，无水硫酸钠干燥，经过硅胶柱层析纯化得淡黄色固体 **18**，收率 73%；ESI(M+H)⁺=328；

步骤三：氮气保护下，将三氯化钌，高碘酸钠溶于四氯化碳：乙腈=1：1 溶剂体系中，搅拌反应 1h 后，冰浴条件下，将中间体 **18** 的乙腈溶液缓慢滴加至反应体系中，滴加完毕后移至常温，反应 7h 后，加水淬灭反应，乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机层，饱和氯化钠溶液洗，无水硫酸钠干燥，经过硅胶柱层析纯化得白色固体 **19**，收率 83%。ESI(M+H)⁺=342。

实施例 18：中间体(±)**23** 的合成

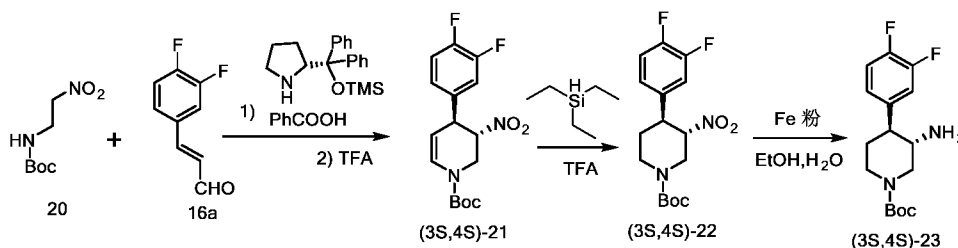


步骤一：将 2-硝基乙基氨基甲酸叔丁酯 **20** (285 mg, 1.5 mmol)、(α,α -二苯基-2-吡咯甲基)三甲基硅基醚 (33mg, 0.1mmol) 和苯甲酸 (25mg, 0.2mmol) 溶于 2mL 重蒸 DCM 中，冷却至 0℃，缓慢加入 3,4-二氟肉桂醛 **16a** (168 mg, 1mmol)，室温搅拌过夜。原料反应完全后，冷却至 0℃，向反应体系滴加重蒸 DCM，稀释至 10mL，缓慢滴加 TFA (148 μ L, 2 mmol)，室温搅拌 5 h。向体系中缓慢滴加 1N 的 NaHCO₃ 溶液 (10 mL) 淬灭反应，继续搅拌 10min，用 EtOAc (10 mL $\times$ 3) 萃取，合并有机层，饱和 NaCl 溶液 (20 mL $\times$ 2) 洗涤，无水 Na₂SO₄ 干燥，减压回收溶剂，残余物经柱层析纯化 (石油醚: EtOAc = 30 : 1 ~ 10 : 1) 得淡黄色固体(±)**21** (180 mg, 0.53mmol)。收率 53%；ESI[M+Na]⁺=363；

步骤二：将化合物(±)**21** (1.84g, 5.4mmol) 和三乙基硅烷 (1.8 mL, 11mmol) 溶于 25mL DCM 中，冰浴条件下缓慢滴加 TFA (3.7mL, 50mmol)，滴毕，常温反应过夜。原料反应完全后，缓慢滴加饱和 NaHCO₃ 溶液 (50mL) 淬灭反应，继续搅拌 10min，用 DCM (20 mL×3) 萃取，合并有机层，饱和 NaCl 溶液 (20 mL×2) 洗涤，减压回收溶剂，得油状物。将所得残余油状物和 TEA (三乙胺, 1.4 mL, 10mmol) 溶于 45mL THF 中，冰浴条件下分批加 Boc₂O 酸酐 (1.78g, 8.2 mmol)，滴加完毕，常温搅拌 5 h。减压旋掉 THF，残余物用 50mL EtOAc 溶解，依次用 0.5 N 的 HCl 水溶液 (20 mL×2)、饱和 NaCl 溶液 (20 mL×2) 洗涤，无水 Na₂SO₄ 干燥，减压回收溶剂，残余物经柱层析纯化 (石油醚: EtOAc = 20 : 1 ~ 10 : 1) 得白色固体(±)**22** (1.44g, 4.2 mmol)，收率: 78%; ESI[M+H]⁺=343;

步骤三：将化合物(±)**22** (1.44g, 4.2mmol)、还原铁粉 (2.82g, 50.4mmol) 和 NH₄Cl (1.0 g, 16.8mmol) 混悬于 40 mL EtOH 和 H₂O 的混合溶液 (v/v, 3:1) 中混合溶液中，机械搅拌下，加热回流反应 5 h。原料反应完全后，抽滤，滤液浓缩，残余物用 50mL EtOAc 溶解，依次用饱和 NaHCO₃ 溶液 (20 mL×2)、饱和 NaCl 溶液 (20 mL×2) 洗涤，无水 Na₂SO₄ 干燥，减压回收溶剂，真空干燥得灰白色固体(±)**23** (1.15g, 3.7 mmol)，收率: 88%; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.15 – 7.09 (m, 1H), 7.05 – 7.01 (m, 1H), 6.97 – 6.93 (m, 1H), 4.45 – 4.09 (m, 2H), 2.92 – 2.67 (m, 2H), 2.56 – 2.43 (m, 1H), 2.38 – 2.29 (m, 1H), 1.76 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 1.71 – 1.57 (m, 1H), 1.48 (s, 9H). ESI(M+H)⁺=313。

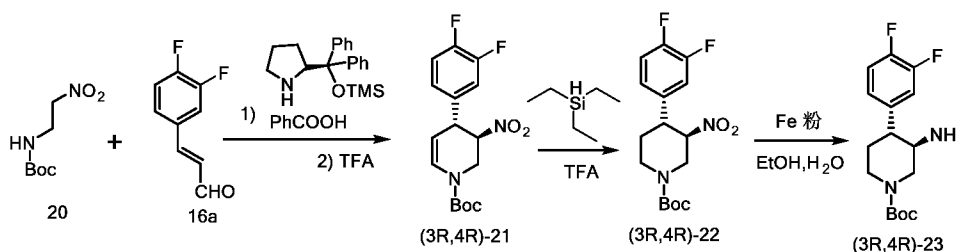
实施例 19：中间体(3S,4S)-**23** 的合成



参考实施例 18 的步骤一、二、三，用((S)-(-)-α,α-二苯基-2-吡咯甲基)三甲基硅基醚代替(α,α-二苯基-2-吡咯甲基)三甲基硅基醚，以 3,4-二氟肉桂醛 **16a** (2.52g, 15mmol) 为原料，得 1.64g 灰白色固体(3S,4S)-**23**，收率 35% (三步)，ESI(M+H)⁺=313。

手性分析条件：流速：0.8ml/min；流动相：0.1%甲酸水溶液/甲醇=1:4；紫外：254nm；柱温：30℃；进样量：5μl；进样浓度：1mg/ml；手性柱型号：Daicel OJ-RH CD-UG026。该分析条件测得中间体 (3S,4S)-**22** 的 ee=98%。

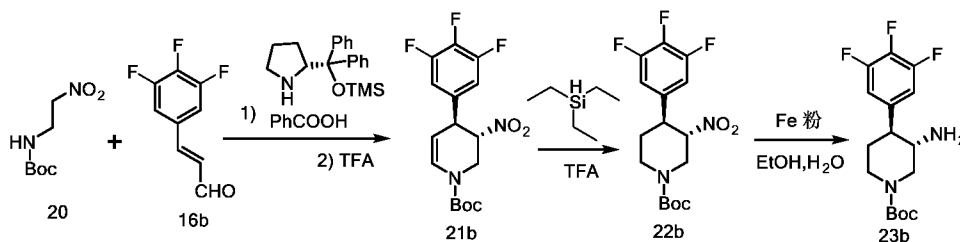
实施例 20：中间体(3R,4R)-**23** 的合成



参考实施例 18 的步骤一、二、三，用((R)-(-)-α,α-二苯基-2-吡咯甲基)三甲基硅基醚代替(α,α-二苯基-2-吡咯甲基)三甲基硅基醚，以 3,4-二氟肉桂醛 **16a** (2.52g, 15mmol) 为原料，得 1.64g 灰白色固体(3R,4R)-**23**，收率 35% (三步)，ESI(M+H)⁺=313。

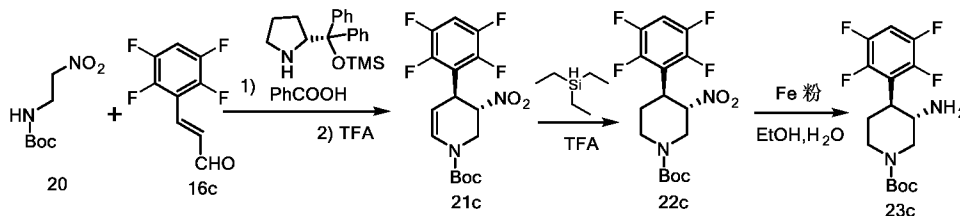
醚代替(α,α -二苯基-2-吡咯甲基)三甲基硅基醚,以 3,4-二氟肉桂醛 **16a** (2.52g, 15mmol) 为原料,得 1.69g 灰白色固体(3R,4R)-**23**, 收率 36% (三步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=313$, 中间体(3R,4R)-**22** 的 $\text{ee}=97\%$ (分析条件通实施例 19)。

实施例 21: 中间体 **23b** 的合成



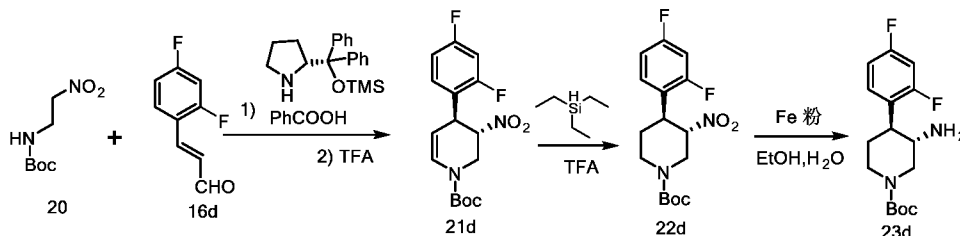
参考实施例 19 的步骤一、二、三,将步骤一中用 3,4,5-三氟肉桂醛代替 3,4-二氟肉桂醛,以 3,4,5-三氟肉桂醛 **16b** (2.79g, 15mmol) 为原料,得 1.98g 灰白色固体 **23b**, 收率 40% (三步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=331$, 中间体 **22b** 的 $\text{ee}=97\%$ 。

实施例 22: 中间体 **23c** 的合成



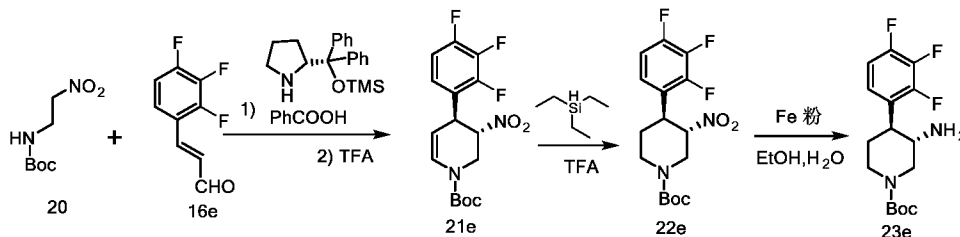
参考实施例 19 的步骤一、二、三,将步骤一中用 2,3,5,6-四氟肉桂醛代替 3,4-二氟肉桂醛,以 2,3,5,6-四氟肉桂醛 **16c** (3.06g, 15mmol) 为原料,得 2.09g 白色固体 **23c**, 收率 40% (三步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=349$, 中间体 **22c** 的 $\text{ee}=97\%$ 。

实施例 23: 中间体 **23d** 的合成



参考实施例 19 的步骤一、二、三,将步骤一中用 2,4-二氟肉桂醛代替 3,4-二氟肉桂醛,以 2,4-二氟肉桂醛 **16d** (2.52g, 15mmol) 为原料,得 2.09g 白色固体 **23d**, 收率 40% (三步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=313$, 中间体 **22d** 的 $\text{ee}=98\%$ 。

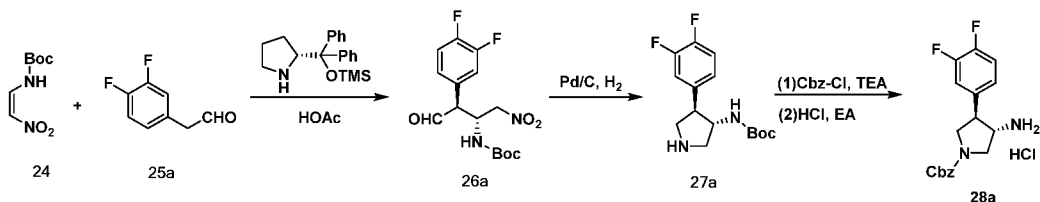
实施例 24: 中间体 **23e** 的合成



参考实施例 19 的步骤一、二、三,将步骤一中用 2,3,4-三氟肉桂醛代替 3,4-二氟

肉桂醛，以 2,3,4-三氟肉桂醛 **16e** (2.79g, 15mmol) 为原料，得 2.09g 白色固体 **23e**，收率 40% (三步)，ESI(M+H)⁺=331，中间体 **22e** 的 ee=97%。

实施例 25：中间体 **28a** 的合成



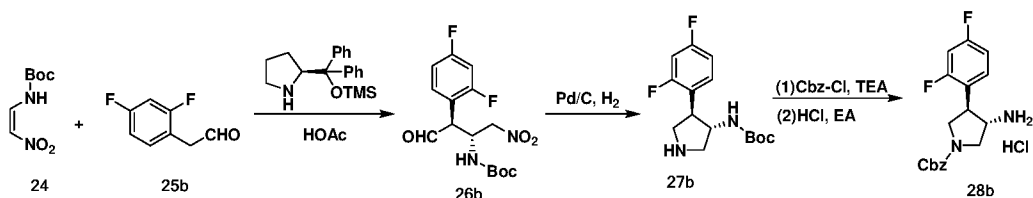
步骤一：将(Z)-(2-硝基乙烯基)叔丁基氨基甲酸酯 **24** (0.94g, 5mmol)，((S)-(-)- α,α -二苯基-2-吡咯甲基)三甲基硅基醚 (0.081g, 0.25mmol) 依次加入装有 10ml 氯仿的 50ml 反应瓶中，常温搅拌下先后缓慢滴加 2-(3,4-二氟苯基)乙醛 **25a** (1.56g, 10mmol) 和醋酸 (30mg, 0.5mmol)，滴加完毕至于常温反应过夜。向反应液中加入 1N 碳酸氢钠溶液 30ml，室温搅拌 10min，然后用二氯甲烷萃取反应液三次，合并有机相饱和氯化钠洗 1 次后，无水硫酸钠干燥。过硅胶柱得透明油状物 **26a**，收率 75%；

步骤二：将中间体 **26a** 1g 溶于 10ml 甲醇溶液中，加入 100mg 10%的 Pd/C，室温下氢化反应过夜，反应完成后抽滤，滤液旋干，得油状液体 **27a** 784mg，收率 88%；

步骤三：将中间体 **27a** (596mg, 2mmol)，三乙胺 (253mg, 2.5mmol) 溶于 20ml 二氯甲烷中，冰浴下缓慢滴加氯甲酸苄酯 (340mg, 2mmol)，滴加完毕后，将反应体系移至室温反应 2h，随后加入 30ml 二氯甲烷稀释反应体系，1N HCl 溶液洗 1 次，饱和氯化钠溶液洗 1 次后，无水硫酸钠干燥，过硅胶柱得黄色油状液体 648mg，收率 75%；

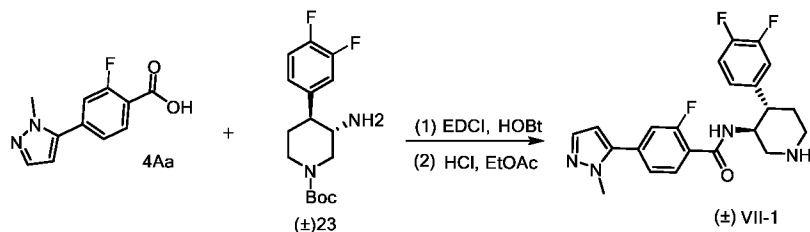
将上述黄色油状液体溶于 1ml 乙酸乙酯中，再加入 3ml 盐酸饱和的乙酸乙酯，反应 5 小时后，将体系中白色固体抽滤，得中间体 **28a**，收率 96%；ESI (M+H)⁺=333，中间体 **28a** 的 ee=95%。

实施例 26：中间体 **28b** 的合成



参考实施例 24 的步骤一、二、三，用 2-(2,4-二氟苯基)乙醛 **25b** 代替 2-(3,4-二氟苯基)乙醛 **25a**，得中间体 **28b**，收率 57% (三步)，ESI(M+H)⁺=333，中间体 **28b** 的 ee=97%。

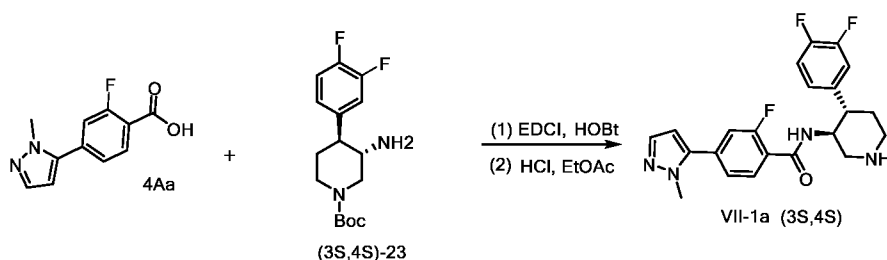
实施例 27：目标化合物 VII-1 的合成



将中间体 **4Aa** (87mg, 0.345mmol)、1-羟基苯并三唑(HOBT) (78.62mg, 0.517mmol) 及

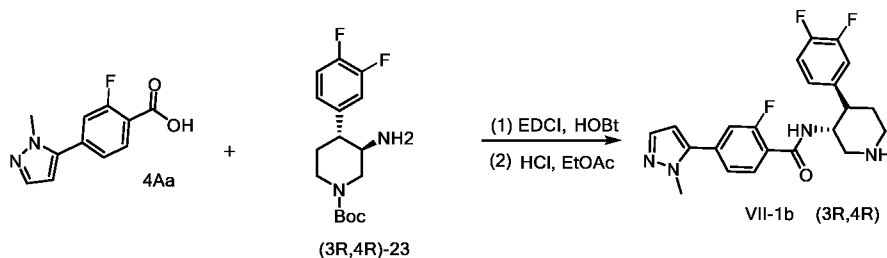
1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl) (98.8mg, 0.517mmol)溶于无水二氯甲烷(4ml), 冰浴条件下搅拌 10min 后, 加入二异丙基乙胺(0.115ml, 1.21mmol), 继续在冰浴下搅拌 15min 后, 缓慢加入溶有中间体(±)**23** (109mg, 0.35mmol)的二氯甲烷溶液(4ml), 室温搅拌过夜, 反应完成后, 倒入 15ml 水中, 用二氯甲烷萃取反应液 3 次, 合并有机相, 用饱和氯化钠洗 2 次, 无水硫酸钠干燥, 旋干; 将所得残留物溶于少量乙酸乙酯中, 冰浴条件下, 缓慢加入氯化氢饱和的乙酯乙酯, 常温反应 2 小时后, 旋干, 加入饱和碳酸氢钠, 乙酸乙酯萃取 2 次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 硅胶柱层析纯化得到白色粉末(化合物 **VII-1**)75mg, 收率 49%; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, MeOD- d_4 - d_6) δ 7.68 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.55 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.42 – 7.34 (m, 2H), 7.32 – 7.26 (m, 1H), 7.24 – 7.21 (m, 1H), 7.20 – 7.16 (m, 1H), 6.55 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 4.61 – 4.55 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.68 (dd, $J = 12.4, 4.0$ Hz, 1H), 3.57 – 3.50 (m, 1H), 3.21 – 3.07 (m, 3H), 2.22 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 2.09 – 2.01 (m, 1H).; $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=415$ 。

实施例 28: 目标化合物 **VII-1a** 的合成



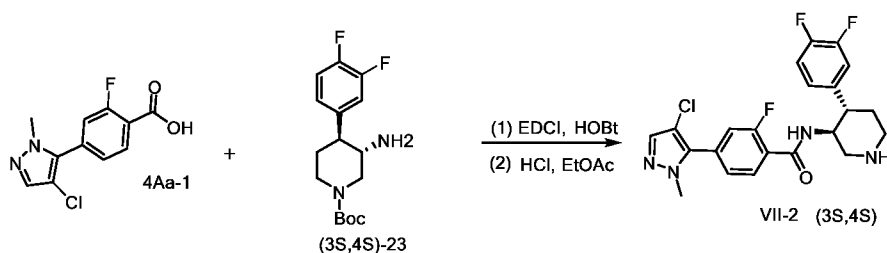
参考实施例 27 的步骤, 用中间体(3S,4S)-**23** 代替中间体(±)**23**, 得目标化合物 **VII-1a**, 收率 57% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=415$; 测得 **VII-1a** 的 ee=99%。

实施例 29: 目标化合物 **VII-1b** 的合成



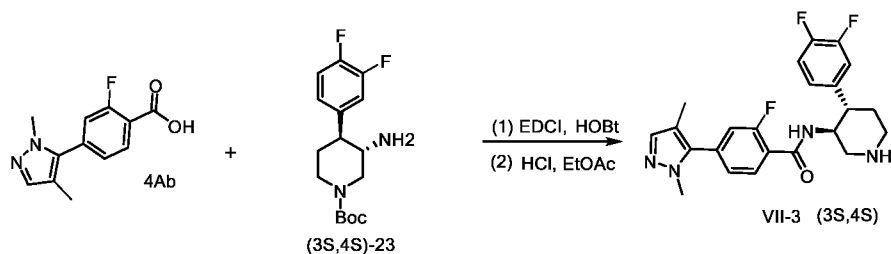
参考实施例 27 的步骤, 用中间体(3R,4R)-**23** 代替中间体(±)**23**, 得目标化合物 **VII-1b**, 收率 43% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=415$, 测得 **VII-1b** 的 ee=97%。

实施例 30: 目标化合物 **VII-2** 的合成



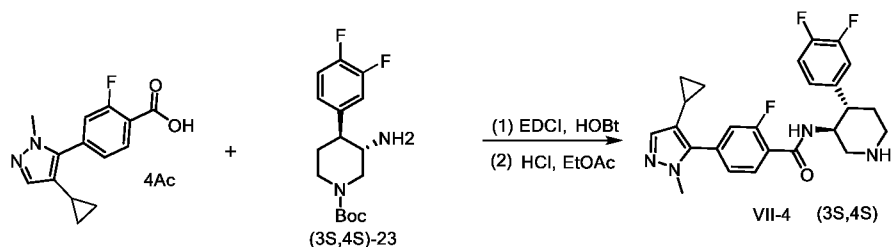
参考实施例 27 的步骤, 用中间体 **4Aa-1** 代替中间体 **4Aa**, 用中间体(3S,4S)-**23** 代替中间体(±)**23**, 得目标化合物 **VII-2**, 收率 58% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=449$ 。

实施例 31：目标化合物 VII-3 的合成



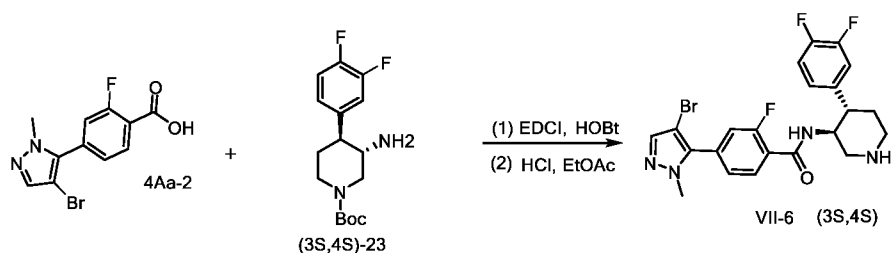
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **4Ab** 代替中间体 **4Aa**，用中间体 **(3S,4S)-23** 代替中间体 **(±)23**，得目标化合物 **VII-3**，收率 45%（两步），ESI(M+H)⁺=429。

实施例 32：目标化合物 VII-4 的合成



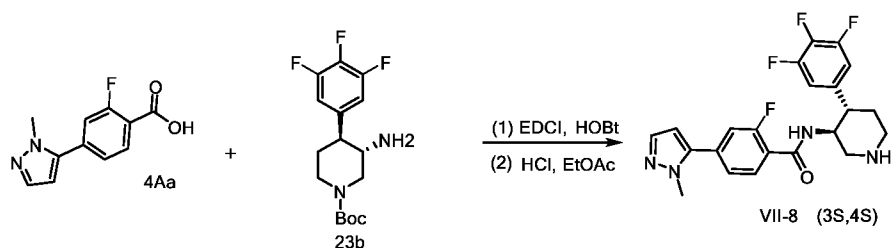
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **4Ac** 代替中间体 **4Aa**，用中间体 **(3S,4S)-23** 代替中间体 **(±)23**，得目标化合物 **VII-4**，收率 43%（两步），ESI(M+H)⁺=455。

实施例 33：目标化合物 VII-6 的合成



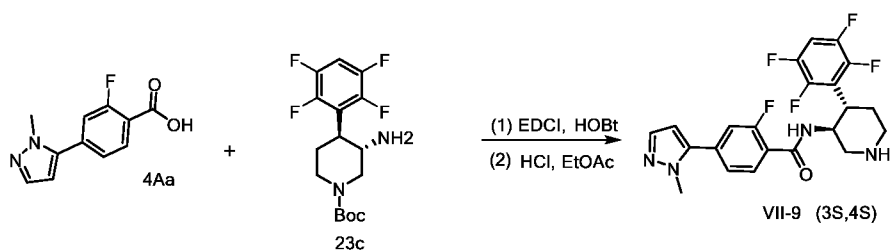
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **4Aa-2** 代替中间体 **4Aa**，用中间体 **(3S,4S)-23** 代替中间体 **(±)23**，得目标化合物 **VII-6**，收率 47%（两步），ESI(M+H)⁺=493。

实施例 34：目标化合物 VII-8 的合成



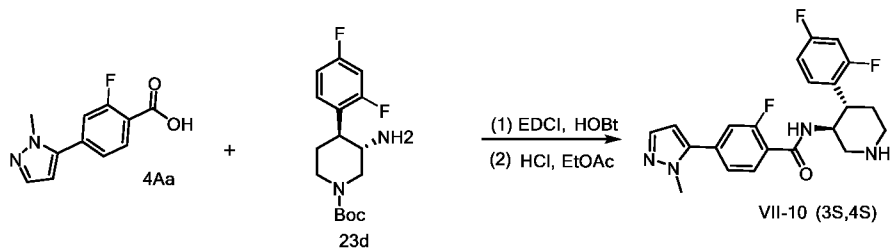
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **23b** 代替中间体 **(±)23**，得目标化合物 **VII-8**，收率 41%（两步），ESI(M+H)⁺=433。

实施例 35：目标化合物 VII-9 的合成



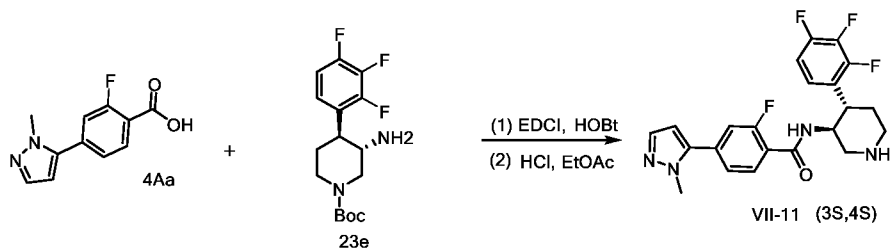
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **23c** 代替中间体($\pm$)**23**，得目标化合物 **VII-9**，收率 56%（两步），ESI(M+H)⁺=451。

实施例 36：目标化合物 **VII-10** 的合成



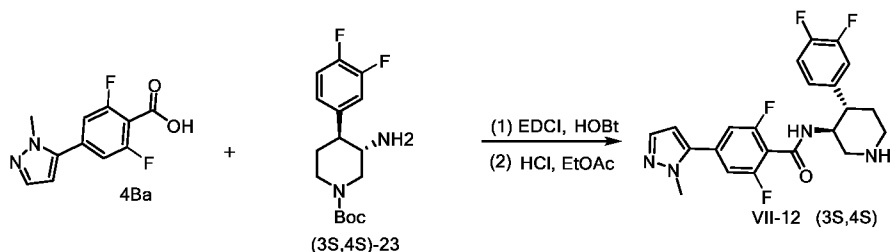
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **23d** 代替中间体($\pm$)**23**，得目标化合物 **VII-10**，收率 43%（两步），ESI(M+H)⁺=415。

实施例 37. 目标化合物 **VII-11** 的合成



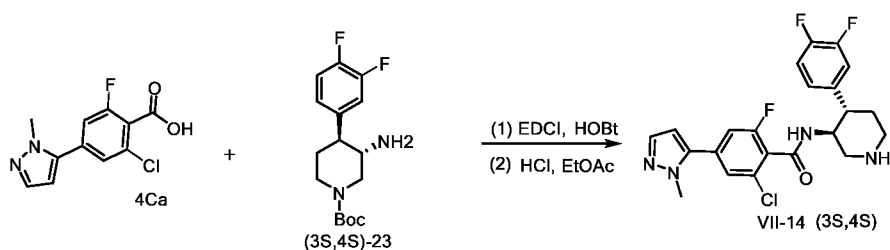
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **23e** 代替中间体($\pm$)**23**，得目标化合物 **VII-11**，收率 43%（两步），ESI(M+H)⁺=433。

实施例 38：目标化合物 **VII-12** 的合成



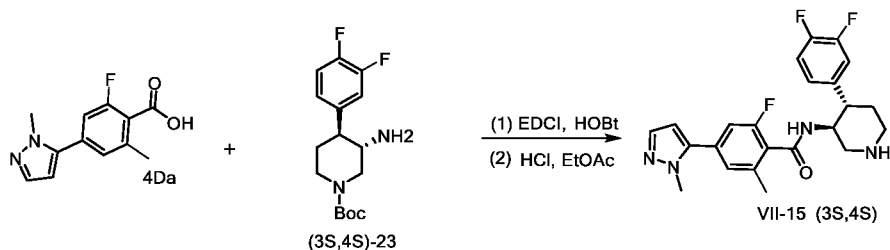
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **4Ba** 代替中间体 **4Aa**，用中间体(**3S,4S**)-**23** 代替中间体($\pm$)**23**，得目标化合物 **VII-12**，收率 52%（两步），ESI(M+H)⁺=433。

实施例 39：目标化合物 **VII-14** 的合成



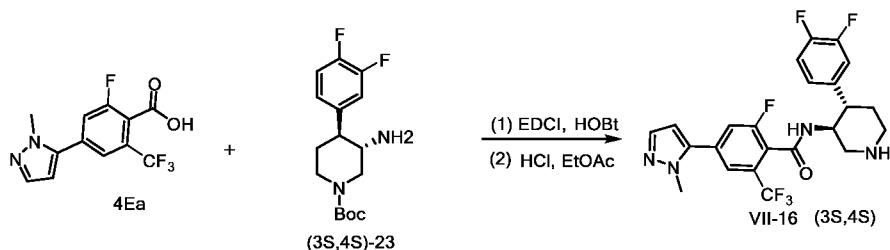
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **4Ca** 代替中间体 **4Aa**，用中间体(3S,4S)-**23** 代替中间体(±)**23**，得目标化合物 **VII-14**，收率 52%（两步），ESI(M+H)⁺=449。

实施例 40：目标化合物 VII-15 的合成



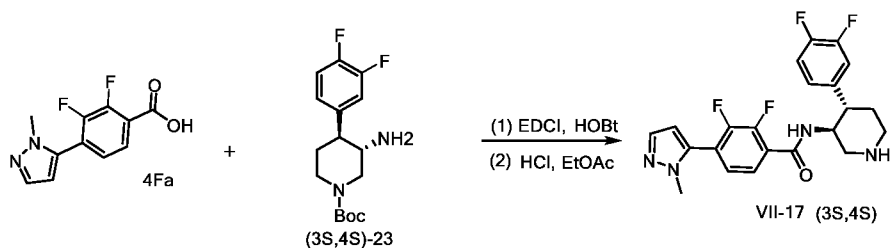
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **4Da** 代替中间体 **4Aa**，用中间体(3S,4S)-**23** 代替中间体(±)**23**，得目标化合物 **VII-15**，收率 33%（两步），ESI(M+H)⁺=429。

实施例 41：目标化合物 VII-16 的合成



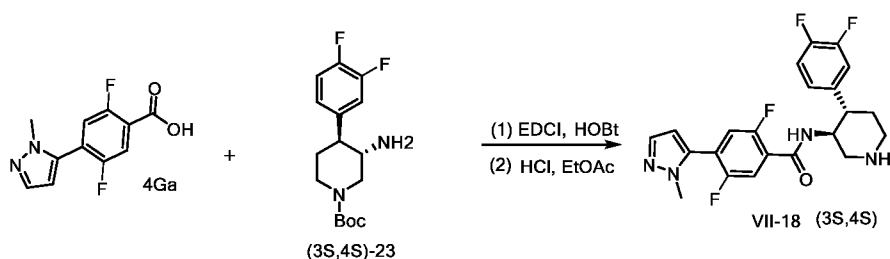
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **4Ea** 代替中间体 **4Aa**，用中间体(3S,4S)-**23** 代替中间体(±)**23**，得目标化合物 **VII-16**，收率 32%（两步），ESI(M+H)⁺=483。

实施例 42：目标化合物 VII-17 的合成



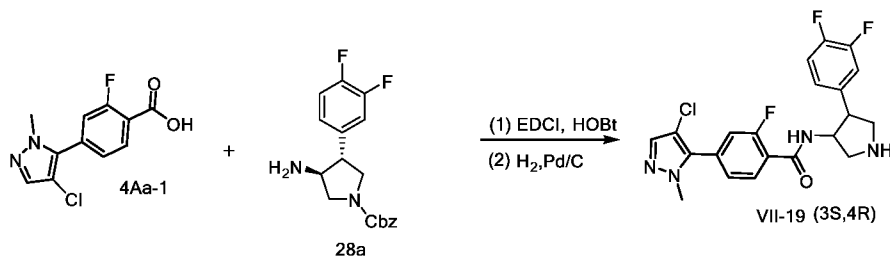
参考实施例 27 的步骤，用中间体 **4Fa** 代替中间体 **4Aa**，用中间体(3S,4S)-**23** 代替中间体(±)**23**，得目标化合物 **VII-17**，收率 49%（两步），ESI(M+H)⁺=433。

实施例 43：目标化合物 VII-18 的合成



参考实施例 27 的步骤, 用中间体 **4Ga** 代替中间体 **4Aa**, 用中间体 **(3S,4S)-23** 代替中间体 **(±)23**, 得目标化合物 **VII-18**, 收率 43% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=433$ 。

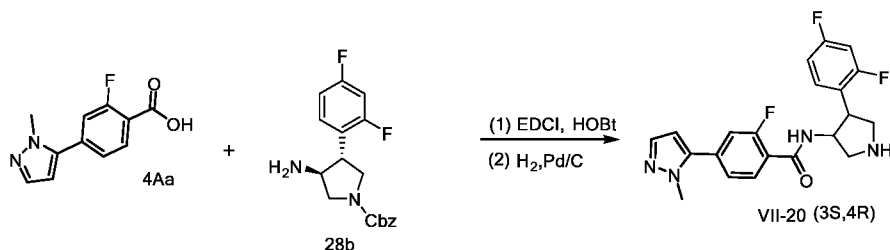
实施例 44: 目标化合物 **VII-19** 的合成



将中间体 **4Aa-1** (97mg, 0.345mmol)、1-羟基苯并三唑(HOBT) (78.62mg, 0.517mmol) 及 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl) (98.8mg, 0.517mmol) 溶于无水二氯甲烷(4ml), 冰浴条件下搅拌 10min 后, 加入二异丙基乙胺(0.115ml, 1.21mmol), 继续在冰浴下搅拌 15min 后, 缓慢加入中间体 **28a** (130mg, 0.35mmol), 室温搅拌过夜, 反应完成后, 倒入 15ml 水中, 用二氯甲烷萃取反应液 3 次, 合并有机相, 用饱和氯化钠洗 2 次, 无水硫酸钠干燥, 旋干得黄色油状物 122mg, 收率 62%;

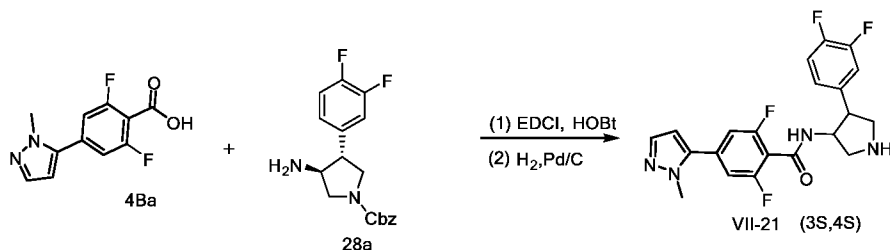
将上述黄色油状物溶于甲醇溶液中, 加入 10%Pd/C, 室温氢化反应过夜, 反应完成后, 抽滤, 滤液旋干, 过硅胶柱得白色固体 **VII-19** 46mg, 收率 49%; $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=435$ 。

实施例 45: 目标化合物 **VII-20** 的合成



参考实施例 44 的步骤, 用中间体 **4Aa** 代替中间体 **4Aa-1**, 用中间体 **28b** 代替中间体 **28a**, 得目标化合物 **VII-20**, 收率 53% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=401$ 。

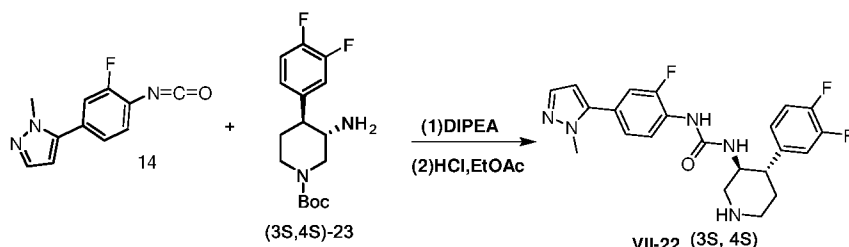
实施例 46: 目标化合物 **VII-21** 的合成



参考实施例 44 的步骤, 用中间体 **4Ba** 代替中间体 **4Aa-1**, 得目标化合物 **VII-21**,

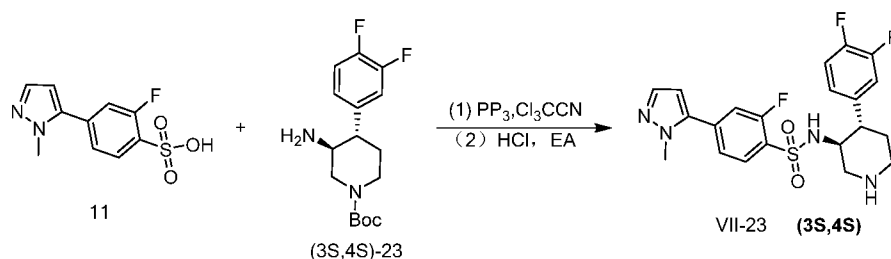
收率 56% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=419$ 。

实施例 47: 目标化合物 VII-22 的合成



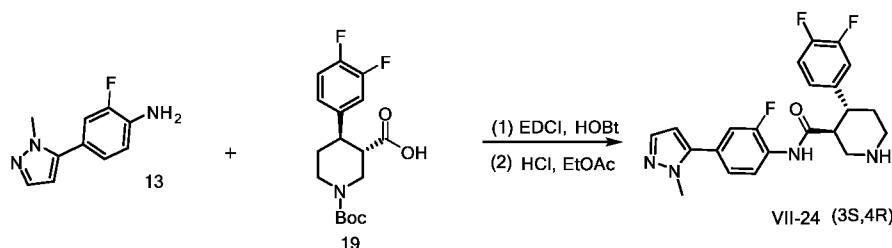
将中间体 **14** 及 DIPEA 溶于无水二氯甲烷(4ml), 冰浴条件下搅拌 10min 后, 缓慢加入溶有中间体(3S,4S)-**23** 的二氯甲烷溶液(4ml), 室温搅拌 2h, 反应完成后, 用 1N 盐酸水溶液洗有机层 1 次, 再用饱和氯化钠洗 2 次, 无水硫酸钠干燥, 旋干; 将所得残留物溶于少量乙酸乙酯中, 冰浴条件下, 缓慢加入氯化氢饱和的乙酯乙酯, 常温反应 2 小时后, 旋干, 加入饱和碳酸氢钠, 乙酸乙酯萃取 2 次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 硅胶柱层析纯化得到白色粉末 **VII-22**, 收率 49%; $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=430$ 。

实施例 48: 目标化合物 VII-23 的合成



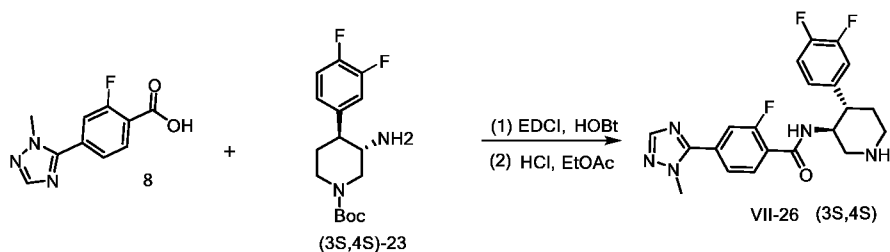
将三苯基膦 (3 mmol, 0.79 g), 中间体 **11** (1 mmol, 0.25 g), 三氯乙腈 (3 mmol, 0.43 g) 溶于 6ml 二氯甲烷中, 搅拌回流约 1h。再向其中加入(3S,4S)-**23** (1 mmol, 0.34 g), 4-甲基吡啶 (3 mmol, 0.28g) 室温反应 1h, 待反应完全后, 旋干溶剂, 用乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机层, 并用饱和的氯化钠水溶液洗, 无水硫酸钠干燥, 旋干; 将所得残留物溶于少量乙酸乙酯中, 冰浴条件下, 缓慢加入氯化氢饱和的乙酯乙酯, 常温反应 2 小时后, 旋干, 加入饱和碳酸氢钠, 乙酸乙酯萃取 2 次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 经硅胶柱层析纯化得到淡黄色油状物 **VII-23** 0.39g, 收率 87%; $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=451$ 。

实施例 49: 目标化合物 VII-24 的合成



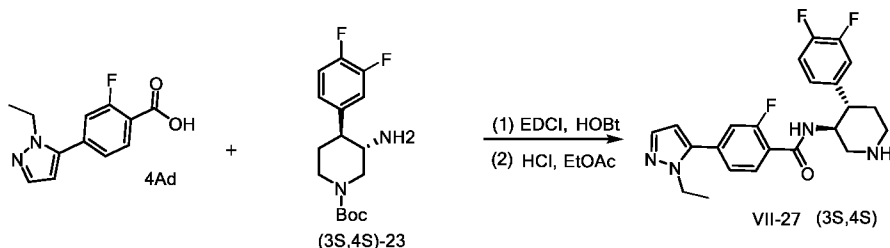
参考实施例 27 的步骤, 用中间体 **19** 代替中间体 **4Aa**, 用中间体 **13** 代替中间体(±)**23**, 得目标化合物 **VII-24**, 收率 38% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=415$ 。

实施例 50: 目标化合物 VII-26 的合成



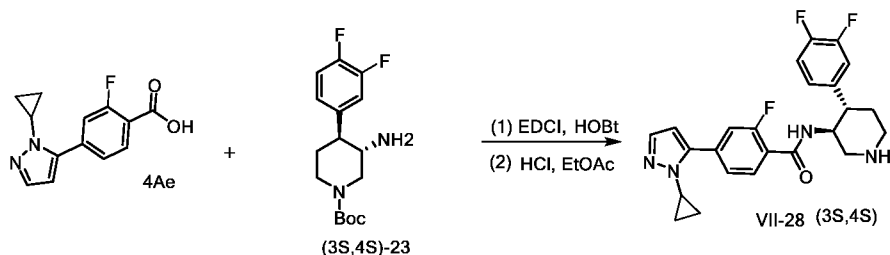
参考实施例 27 的步骤, 用中间体 **8** 代替中间体 **4Aa**, 用中间体 **(3S,4S)-23** 代替中间体 **(±)23**, 得目标化合物 **VII-26**, 收率 47% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=416$ 。

实施例 51: 目标化合物 VII-27 的合成



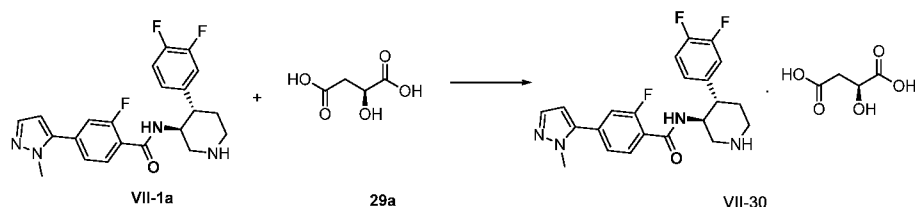
参考实施例 27 的步骤, 用中间体 **4Ad** 代替中间体 **4Aa**, 用中间体 **(3S,4S)-23** 代替中间体 **(±)23**, 得目标化合物 **VII-27**, 收率 49% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=429$ 。

实施例 52: 目标化合物 VII-28 的合成



参考实施例 27 的步骤, 用中间体 **4Ae** 代替中间体 **4Aa**, 用中间体 **(3S,4S)-23** 代替中间体 **(±)23**, 得目标化合物 **VII-28**, 收率 57% (两步), $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+=441$ 。

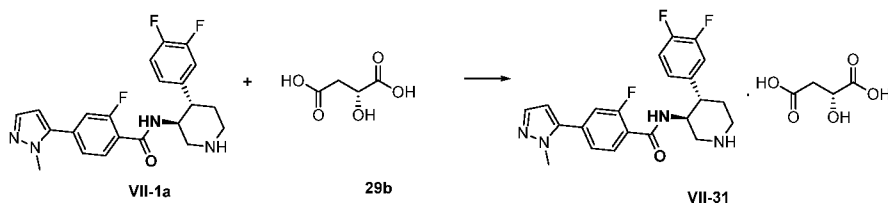
实施例 53. 目标化合物 VII-30 的合成



将化合物 4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 **VII-1a** (0.25g, 0.60mmol) 和 L-苹果酸 **29a** (0.08g, 0.60mmol) 溶于 5mL 无水乙醇中, 溶于 1ml 无水乙醇中, 常温反应过夜, 有白色固体析出, 抽滤得 0.31g 白色固体 **VII-30**, 收率 93%。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.40 (brs, 2H), 8.42 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.52 – 7.34 (m, 4H), 7.33 – 7.23 (m, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.50 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 4.36 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 3.93 (dd, $J = 9.5, 4.3$ Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.38 (dd, $J = 11.5, 4.2$ Hz, 1H), 3.30 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 3.00 – 2.84 (m, 2H), 2.78 (t, $J = 11.7$ Hz, 1H), 2.57 –

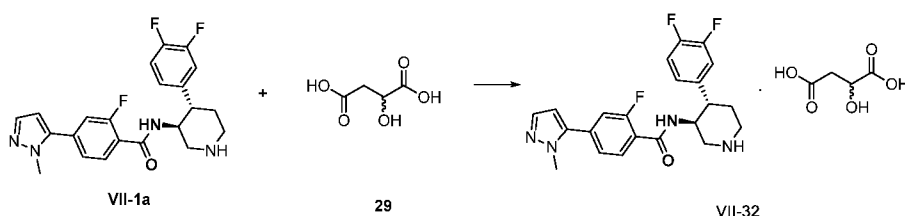
2.51 (m, 1H), 2.34 (dd, $J = 15.6, 4.3$ Hz, 1H), 2.04 – 1.81 (m, 2H)。

实施例 54: 目标化合物 VII-31 的合成



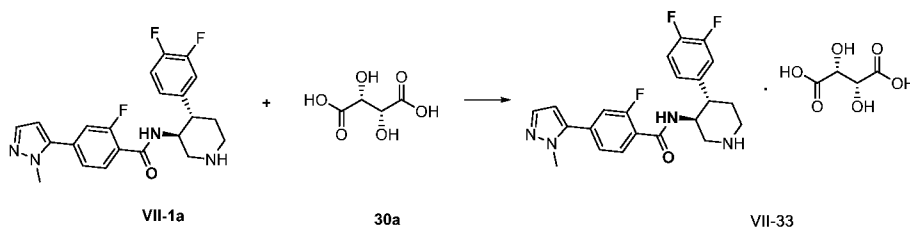
参考实施例 53 的步骤, 用 D-苹果酸 (0.08g, 0.60mmol) **29b** 代替(S)-2-羟基琥珀酸 **29a**, 以 4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 **VII-1a** (0.25g, 0.60mmol)为原料, 得 0.30g 白色固体 **VII-31**, 收率 90%。

实施例 55: 目标化合物 VII-32 的合成



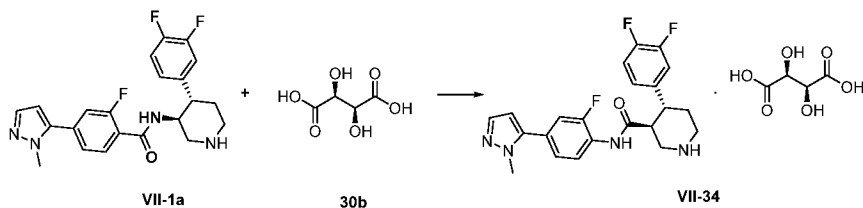
参考实施例 53 的步骤, 用 2-羟基琥珀酸 **29** 代替(S)-2-羟基琥珀酸(0.08g, 0.60mmol) **29a**, 以 4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 **VII-1a** (0.25g, 0.60mmol)为原料, 得 0.31g 白色固体 **VII-32**, 收率 85%。

实施例 56: 目标化合物 VII-33 的合成



参考实施例 53 的步骤, 用 (2R, 3R) -2,3-二羟基琥珀酸 (90mg, 0.60mmol) **30a** 代替(S)-2-羟基琥珀酸 **29a**, 以 4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 **VII-1a** (250mg, 0.60mmol)为原料, 得 0.28g 白色固体 **VII-33**, 收率 82%, $\text{ESI}(\text{M}+\text{H})^+ = 415$ 。

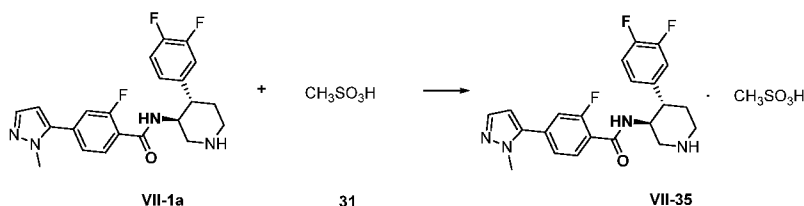
实施例 57: 目标化合物 VII-34 的合成



参考实施例 53 的步骤, 用 D-酒石酸 (90mg, 0.60mmol) **30b** 代替(S)-2-羟基琥珀酸 **29a**, 以 4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 **VII-1a** (0.2g, 0.60mmol)为原料, 得 0.29g 白色固体 **VII-34**, 收率 85%, $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.35 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 11.6$ Hz,

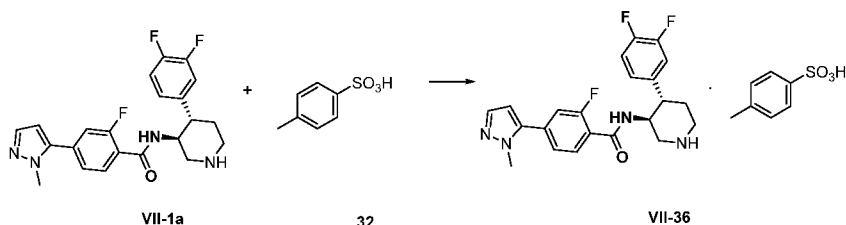
1H), 7.42 – 7.33 (m, 3H), 7.29 (ddd, $J = 11.8, 7.9, 1.8$ Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.49 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 4.27 (td, $J = 10.9, 5.6$ Hz, 1H), 3.91 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.30 (dd, $J = 12.0, 4.1$ Hz, 1H), 3.20 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 2.90 (td, $J = 11.7, 3.8$ Hz, 1H), 2.78 (t, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.69 (t, $J = 11.6$ Hz, 1H), 1.95 – 1.76 (m, 2H); ESI(M+H)⁺=415。

实施例 58: 目标化合物 VII-35 的合成



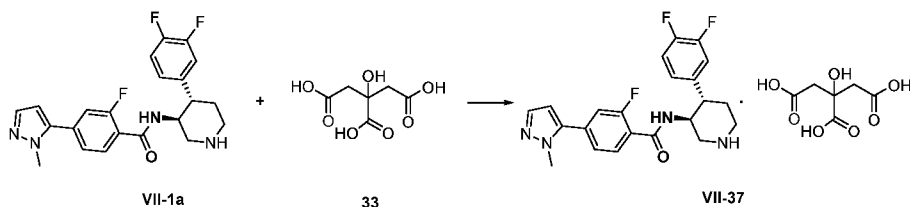
参考实施例 53 的步骤, 用甲磺酸(57mg, 0.60mmol)**31** 代替(S)-2-羟基琥珀酸 **29a**, 以 4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 **VII-1a** (250mg, 0.60mmol)为原料, 得 0.24g 白色固体 **VII-35**, 收率 79 %。

实施例 59: 目标化合物 VII-36 的合成



参考实施例 53 的步骤, 用对甲苯磺酸(140mg, 0.72mmol)**32** 代替(S)-2-羟基琥珀酸 **29a**, 以 4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 **VII-1a** (300mg, 0.60mmol)为原料, 得 0.27g 白色固体 **VII-36**, 收率 61 %。

实施例 60: 目标化合物 VII-37 的合成



参考实施例 53 的步骤, 用枸橼酸(180mg, 0.85mmol)**33** 代替(S)-2-羟基琥珀酸 **29a**, 以 4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 **VII-1a** (350mg, 0.85mmol)为原料, 得 0.27g 白色固体 **VII-37**, 收率 51%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.68 (brs, 2H), 8.36 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.50 – 7.32 (m, 4H), 7.27 (ddd, $J = 11.8, 7.8, 1.8$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 6.48 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 4.28 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 3.31 (dd, $J = 11.8, 3.8$ Hz, 1H), 3.22 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 2.90 (t, $J = 10.1$ Hz, 1H), 2.80 (t, $J = 11.8$ Hz, 1H), 2.70 (t, $J = 11.4$ Hz, 1H), 2.55 – 2.45(m, 4H), 2.53 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 2.46 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 1.91 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 1.87 – 1.72 (m, 1H).36 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.49 – 7.41 (m, 2H), 7.40 – 7.33 (m, 3H), 7.27 (ddd, $J = 12.2, 7.8, 2.1$ Hz, 1H), 7.13 – 7.06 (m, 1H), 4.28 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.35 – 3.18 (m, 4H), 2.94 – 2.66 (m, 4H), 1.95 – 1.77 (m, 2H)。

实施例 61.本发明公开的化合物的 Akt1 酶抑制活性和肿瘤细胞增殖制活性

以进入临床 II 期研究的化合物 AZD5363(NCT02208375, NCT02208375, NCT01625286)为阳性对照, 采用 MTT 法测定化合物对常见的肿瘤细胞株 (人卵巢癌细胞 OVCAR-8 和人结肠癌细胞 HCT-116) 的体外抑制作用(IC₅₀), 同时利用商品化的 Akt1 试剂盒, 评价 Akt1 酶抑制活性(IC₅₀)。

1) 本发明化合物的肿瘤细胞增殖抑制活性的药理实验方法如下:

首先是体外肿瘤增殖抑制活性的测定及初步的构效关系研究, 选用不同的实体瘤细胞株对所合成的化合物进行了体外抗肿瘤活性的测定。

实验材料:

细胞株: 人卵巢癌细胞(OVCAR8)、结肠腺癌细胞(HCT-116)

培养基: OVCAR8: RPMI 1640 +胎牛血清

HCT-116: RPMI 1640+胎牛血清

药物配制方法: 将药物溶于 DMSO 中制成 50 mM 的储备液, 并按一定比例稀释得到 5 个不同浓度。

肿瘤细胞体外培养:

将所选取的肿瘤细胞于 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育, 待细胞密度长到 70~90%时传代(贴壁细胞用 Duck's EDTA 消化后传代), 用于以后实验所需。

将化合物用二甲基亚砜(DMSO)溶解, 稀释, 肿瘤细胞在 96 孔板上种入 4000 个/200μL/孔, 每孔加入化合物 1μL, 终浓度为 50μM, 10μM, 2 μM, 0.4 μM, 0.08 μM 共同于 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 72 小时, 以 DMSO(1%)为空白对照。72 小时后, 加入终浓度为 0.25 mg/mL 的 MTT, 置于 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中 4 小时, 之后吸干培养液, 每孔加入 100 μL DMSO, 用酶联免疫仪于 570 nm 处测定吸光度(OD 值), 所得数据用于计算 IC₅₀。

细胞抑制率的计算公式为: 细胞抑制率% = (对照组 OD 值-用药组 OD 值)/对照细胞 OD 值×100%, 用 Bliss 法求出半数抑制浓度(IC₅₀)。

2) 本发明化合物对 Akt1 酶抑制活性的测试方法:

选用 AKT1/PKBα KinEASE™ FP Fluorescein Green Assay(激酶绿色荧光检测系统)来检测化合物对 AKT1/PKBα 的抑制活性。

荧光偏振检测蛋白激酶 B 采用的是竞争反应的原理: 荧光标记的磷酸化示踪物和由蛋白激酶 B 反应产生的未标记磷酸化产物会与抗丝氨酸抗体相互竞争结合。在一个无磷酸化产物的反应液混合物中, 当一部分荧光示踪物与抗体结合时会导致较高的偏振值。但是, 在包含有磷酸化产物的反应液混合中, 较少的示踪物会结合到抗体上 (荧光示踪物被从抗体上替代下去), 发出的信号发生去偏振。因此, 偏振的改变直接的与反应中的蛋白激酶 B 活性相关。

将本发明专利化合物和阳性对照 AZD5363 用二甲基亚砜(DMSO)溶解, 稀释至浓度为 50μM。室温下, 取浓度为 50μM 的化合物样品和阳性对照各 0.25μl, 加入 384 孔板, 并且每个样品设置三个平行孔, 然后向每个样品孔板中分别加入的 10μl STK Substrate 3 Working Solution、5μl AKT1/PKBα Working Solution、10μl ATP Working

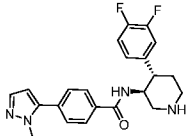
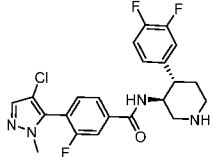
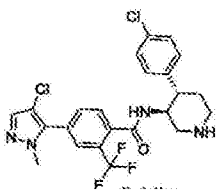
Solution, 轻微振荡并摇匀数分钟。由于孔中加入 10 μ l ATP Working Solution 后即开始反应,由此计时,室温反应 1 小时。一个小时后,向每个样品孔中分别加入 5 μ l STK Stop Mix、5 μ l STK Antibody Mix 来终止反应。加入完毕后,室温放置四个小时,用酶标仪荧光偏振检测样品的偏振值(在二十四小时内检测其信号都是有效的),通过偏振值来计算化合物对酶的抑制率,进而计算出 IC₅₀。

实验同时设置四组对照,分别是 Buffer Control Wells、Tracer Control Wells、No Enzyme Wells 以及空白的二甲基亚砜对照。所得数据用于计算抑制率。

根据 Akt 抑制活性的 IC₅₀ 的大小不同,将化合物的活性分为三个等级:“+++”, 1 nM < IC₅₀ < 10 nM; “++”, 10 nM < IC₅₀ < 50 nM; “+”, 50 nM < IC₅₀。

表 1 化合物对 Akt1 的抑制活性以及对肿瘤细胞抗增殖活性

Compd.	Akt1	IC ₅₀ (μ M)				
		HGC27	MCF-7	786-O	HCT-116	CEM-C1
VII-1	+++	0.06	/	/	/	/
VII-1a	+++	0.04	2.25	0.56	1.34	0.10
VII-1b	++	/	/	/	/	/
VII-2	++	0.07	/	/	/	/
VII-3	++	0.09	/	/	/	0.16
VII-4	+	/	/	/	/	/
VII-6	++	0.04	/	/	/	0.15
VII-7	++	0.06	2.84	0.99	2.39	0.09
VII-8	+++	0.02	1.85	1.65	1.52	0.12
VII-9	++	0.08	/	/	/	0.21
VII-10	+++	0.03	1.89	0.65	1.98	0.03
VII-11	+++	0.07	2.09	1.41	2.66	0.01
VII-12	++	0.05	/	/	/	0.21
VII-13	+	/	/	/	/	/
VII-14	++	0.10	/	/	/	0.18
VII-15	+	/	/	/	/	/
VII-16	++	0.08	/	/	/	0.11
VII-17	++	0.04	/	/	/	0.09
VII-18	+++	0.03	1.18	0.55	0.99	0.02
VII-19	++	0.02	/	/	/	0.06
VII-20	++	0.05	/	/	/	0.03
VII-21	++	0.08	/	/	/	0.15
VII-23	+	/	/	/	/	/
VII-26	++	0.07	/	/	/	0.07
VII-27	++	0.09	/	/	/	0.13
VII-28	++	0.05	/	/	/	0.10
VII-29	++	0.04	/	/	/	0.06

VII-30	+++	0.03	1.58	0.55	1.99	0.08
VII-31	+++	0.01	2.96	0.65	1.52	0.10
VII-32	+++	0.06	1.98	0.91	0.98	0.07
VII-33	+++	0.04	2.25	0.82	3.10	0.09
VII-34	+++	0.03	3.09	1.06	2.15	0.13
VII-37	+++	0.05	1.36	0.67	1.06	0.11
对比化合物 6 	++	0.19	10.56	2.06	10.51	0.62
对比化合物 11 	++	0.12	6.32	1.28	5.86	0.57
化合物 9 	+++	0.18	5.13	2.99	6.15	0.44

经研究本发明公开了一类含特定取代类型的多氟取代的吡唑联苯基甲酰胺类 Akt 抑制剂, 具有强效的 Akt1 抑制活性和肿瘤细胞增殖抑制活性, 如表 1 所示, 当吡唑联苯基甲酰胺骨架的苯环上 2 位引入 F 原子, 同时哌啶对位苯环至少 2 个氟原子取代时, 抗肿瘤活性最强。以化合物 VII-1a 及其盐型 (VII-30~VII-37) 为例, 与对比文件 CN201510101220 中的化合物 6 和 11 相比, 化合物 VII-1a 及其盐型 (VII-30~VII-37) 的 Akt1 抑制活性更强, 同样地, 与对比文件 CN201510101220 中的化合物 6, 9, 11 和相比, 肿瘤细胞增殖抑制活性(人胃癌 HGC27、人肾癌 786-O、人卵巢癌 OVCAR-8、人结肠癌 HCT116 以及人骨髓瘤细胞 CEM-1C)的肿瘤增殖抑制活性上, 化合物 VII-1a 及其盐型 (VII-30~VII-37) 活性更优。

实施例 62. 激酶选择性实验

待测化合物配置:

- 1) DMSO 配置 50×化合物储备液待用;
- 2) 在 96 孔板中按 5 倍浓度梯度稀释的方法每个化合物, 至 6 到 7 个浓度保证每孔中药物体积为 10μl, 同时加入 100μl DMSO 作为空白对照组, 以及不加酶底物的阴性对照组;
- 3) 再另外准备一块 96 孔板, 取 10μl 上述化合物加入 90μl 1×激酶基础缓冲液, 混匀 10min。

待测板准备:

1) 取上述配置的 96 孔板中混合液 5 μ l 至 384 孔板, 每个化合物两个复孔。

激酶反应:

- 1) 配置 2.5 $\times$ 激酶溶液, 加入相应 1 $\times$ 激酶基础缓冲液;
- 2) 配置 2.5 $\times$ 多肽溶液, 在 1 $\times$ 激酶基础缓冲液中加入 FAM 标记的多肽和 ATP ;
- 3) 在待测 384 孔板中加入 10 μ l 的 2.5 $\times$ 激酶溶液, 室温放置 10min, 继而加入 10 μ l 的 2.5 $\times$ 多肽溶液, 28 $^{\circ}$ C 下反应 1h 后加入 25 μ l 反应停止缓冲液。

Caliper 程序读板, 并利用数据获得相应化合物抑制激酶的 IC₅₀ 值, 测试结果见表 2。

激酶选择性: (其他激酶的抑制活性 IC₅₀) / (Akt1 抑制活性 IC₅₀), 数值越大, 代表选择性越高。

表 2 化合物的激酶选择性

激酶	VII-12	VII-30	GSK2141795
Akt2	5.5-倍	5.9-倍	2-倍
Akt3	4.1-倍	4.5-倍	2.6-倍
PKA	1.3-倍	1.77-倍	1.2-倍
PKC	123-倍	101-倍	28-倍

表 2 的测试结果表明, 本发明化合物具有对 Akt2、Akt3 的亚型选择性, 以 VII-30 为例, 其对 Akt2、Akt3 的选择性达到了 5.9 和 4.5 倍, 相较之下, GSK 公司处于 II 期临床的 GSK2141795 对 Akt2、Akt3 的选择性分别为 2 和 2.6 倍, 目前能实现 Akt 亚型选择性的研究还非常有限, 而亚型选择性的改善有利于降低其毒副作用。针对 PKA 和 PKC (副作用较大的两个靶点), 本发明化合物也同样具有一定的选择性, 以 VII-30 为例, 其对 PKA 和 PKC 分别实现了 1.77 和 101 倍的选择性, 因而, 该类化合物在因选择性不佳引起的副作用方面将具有明显的优势。

实施例 63. hERG 钾离子通道抑制活性实验

1. 细胞培养

本试验所用的细胞为转染有 hERG cDNA 与稳定表达 hERG 通道的 CHO 细胞系 (由丹麦 Sophion Bioscience 公司提供)。细胞培养在含有下列成分的培养基中 (皆来源于 Invitrogen): Ham's F12 培养基, 10% (v/v) 灭活的胎牛血清, 100 μ g/ml 潮霉素 B, 100 μ g/ml Geneticin。2.1.2 CHO hERG 细胞生长于含上述培养液的培养皿中, 并在 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO₂ 的培养箱中进行培养。电生理实验之前 24 到 48 小时, CHO hERG 细胞被转移到放置于培养皿中的圆形玻璃片上, 并在以上相同的培养液及培养条件下生长。每个圆形玻片上 CHO hERG 细胞的密度需要达到绝大多数细胞是独立、单个的要求。

2. 化合物处理和稀释

为了取得化合物的 IC₅₀, 我们选择了下列浓度(30, 10, 3, 1, 0.3 和 0.1 μ M)来作测试。在试验之前, 首先用 DMSO 以梯度稀释的方式稀释成 10, 3, 1, 0.3 和 0.1 mM 的贮备液, 再用细胞外液稀释成最终的 μ M 测试浓度。除了 30 μ M 的化合物测试溶液中的 DMSO 浓度为 0.3% 以外, 其它各浓度化合物溶液中 DMSO 的最终浓度都为 0.1%。阳

性对照 Cisapride (西沙比利) 的测试浓度为 0.1 μM 。所有的化合物溶液都经过常规的 5 到 10 分钟超声和振荡以保证化合物完全溶解。

3. 电生理记录系统和数据分析

本实验采用手动膜片钳系统 (HEKA EPC-10 信号放大器及数字转换系统, 购自德国 HEKA Electronics) 作全细胞电流的记录。表面生长有 CHO hERG 细胞的圆形玻片被放置于倒置显微镜下的电生理记录槽中。记录槽内以细胞外液作持续灌流 (大约每分钟 1 毫升)。实验过程采用常规全细胞膜片钳电流记录技术。如无特殊说明, 实验都是在常规室温下进行 ($\sim 25^\circ\text{C}$)。细胞钳制在 -80 mV 的电压下。细胞钳制电压去极化到 +20 mV 以激活 hERG 钾通道, 5 秒后再钳制到 -50 mV 以消除失活并产生尾电流。尾电流峰值用作 hERG 电流大小的数值。上述步骤所记录的 hERG 钾电流在记录槽内持续的细胞外液灌流下达到稳定后则可以叠加灌流待测试的药物, 直到药物对 hERG 电流的抑制作用达到稳定状态。一般以最近的连续 3 个电流记录线重合作为判断是否稳定状态的标准。达到稳定态势以后以细胞外液灌流冲洗直到 hERG 电流回复到加药物之前的大小。一个细胞上可以测试一个或多个药物, 或者同一种药物的多个浓度, 但是在不同药物之间需要以细胞外液冲洗。Cisapride (西沙比利, 购自 Sigma) 被用于实验中作为阳性对照以保证所使用的细胞质量正常。试验数据由 HEKA Patchmaster, Microsoft Excel 以及 Graphpad Prism 提供的数据分析软件进行分析, 测试结果见表 3。

表 3 部分化合物对 hERG 钾离子通道阻滞活性

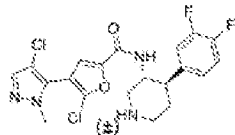
化合物名称	hERG (3 μM 浓度下的抑制率)
VII-1a	15.9%
VII-8	11.8%
VII-10	21.5%
VII-11	9.6%
VII-18	17.6%
VII-30	20%
对比化合物 31 	62%
GSK2141795	50%

表 3 的测试结果表明, 本发明涉及的化合物的 hERG 通道阻滞作用较弱, 明显弱于 GSK 公司处于 II 期临床的 GSK2141795, 同样弱于苯环被呋喃环等杂环替代的衍生物 31 (WO2015/144021A1), 例如, 在同等浓度下, 化合物 VII-30 的阻滞作用分别为化合物 31 和 GSK2141795 的 0.32 和 0.4, 由于 hERG 通道阻滞作用与药物的心脏毒性风险相关。因此, 该类化合物的低 hERG 钾离子通道阻滞活性有利于降低毒副作用风险, 提高其成药性。

实施例 64. 药物口服药代动力学实验

实验方法: 以 SD 大鼠为实验动物, 灌胃给药 10 mg/kg, 尾静脉静注给药 2mg/kg。灌胃给药的尾静脉取血时间点为 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24 小时; 静脉给药取血时间点为 0.05, 0.1, 0.17, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24 小时。取全血 0.3ml, 离心后取血浆 0.1ml 采用 LC-MS 进行分析。

表 4 SD 大鼠口服给药后主要药动学参数汇总

参数(Mean, n=3)	VII-1a	VII-30	VII-33
给药剂量 (mg/kg)	20mg/kg	20mg/kg	20mg/kg
C_{max} (ng/mL)	132	253	200
T_{max} (h)	4.17	1.75	4.00
$T_{1/2}$ (h)	3.34	3.63	3.69
AUC_{0-t} (ng/h/mL)	1484	2354	1948
AUC_{0-inf} (ng/h/mL)	1500	2391	2157

本发明分别考察了化合物 VII-1a、VII-30 和 VII-33 在大鼠体内的药代动力学性质, 表 4 测试结果表明, 化合物 VII-1a 可口服吸收, 体内具有较高的暴露量, C_{max} 达到了 132ng/mL, AUC_{0-t} 达到了 1484 ng/h/mL, 相较之下, 制成有机盐之后, 其 L-苹果酸盐 VII-30 和 D-酒石酸盐 VII-33 的口服生物利用度得到了显著改善, 其 AUC_{0-t} 分别达到了 2354、1948ng/h/mL, 分别提高了 58%和 30%, 研究表明, 制成 L-苹果酸盐和 D-酒石酸盐有助于其口服吸收, 更利于后续的研究与开发。

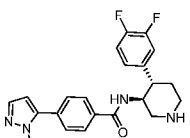
实施例. 65 化合物的体内抗肿瘤活性

1) 裸小鼠移植瘤模型建立: 将 1×10^7 个测试肿瘤细胞注射入裸小鼠腋下, 传三代后, 剖取 HGC27 种鼠瘤块, 放入盛有生理盐水的玻璃皿内, 剥弃表面血管, 切开去除坏死区域后, 将瘤块切成 $1-2 \text{ mm}^3$, 用套管针接入于裸小鼠左腋下。

2) 动物分组及给药安排: 待肿瘤生长至平均体积 $100-300 \text{ mm}^3$ 后, 将 20 小鼠按瘤体积随机分组, 以上各组受试动物按给药容量 10 mL/kg 灌胃给予相应受试物, 每天一次。

3) 数据测定和统计: 每周称重和测量肿瘤体积 2 次, 给药周期 21 天, 于第 22 天称量体重和测量肿瘤体积后处死裸小鼠取瘤块称重, 计算相对肿瘤体积 (RTV)、相对肿瘤增值率 (T/C) 和肿瘤抑制百分率 (IR), 做统计学检测。计算公式如下: (a) TV (tumor volume) = $1/2 \times a \times b^2$, 其中 a、b 分别表示肿瘤的长和宽; (b) RTV (relative tumor volume) = V_t/V_0 , 其中 V_0 为分组给药时 (即 d0) 所测得的肿瘤体积, V_t 为每一次测量时的肿瘤体积; (c) $T/C (\%) = T_{RTV} / C_{RTV} \times 100\%$, 其中 T_{RTV} 为治疗组的 RTV, C_{RTV} 为溶剂对照组的 RTV; (d) $IR (\%) = (1 - TW_t / TW_c) \times 100\%$, 其中 TW_t 为治疗组的瘤重, TW_c 为溶剂对照组的瘤重。

表 5 化合物对人胃癌 HGC27 裸小鼠移植瘤的实验治疗作用

组别	剂量 (mg/kg)	肿瘤体积 (mm ³)		RTV	T/C (%)
		D1	D22		
Vehicle	—	215 ± 66	6733 ± 1708	42.19 ± 14.08	—
VII-1a	50	213 ± 102	1498 ± 206*	11.37 ± 3.07	26.95
VII-30	50	215 ± 88	1157 ± 452*	7.29 ± 3.03*	17.27
化合物 6					
	50	216 ± 98	1650 ± 720*	22.60 ± 12.41	53.75

t-test, 与对照相比, ***: $P<0.001$, *: $P<0.05$ 。表 6 化合物对人卵巢癌 SKOV3 裸小鼠移植瘤的肿瘤重量的影响 ($\bar{x} \pm SE$)

组别	给药剂量 (mg/kg)	肿瘤体积 (mm ³)		RTV	T/C (%)
		D1	D22		
Vehicle	--	125 ± 55	2475 ± 528	25.12 ± 6.20	--
VII-30	50	117 ± 65	248 ± 19*	3.60 ± 2.67	32.96

t-test, 与对照相比, ***: $P<0.001$, *: $P<0.05$ 。表 7 化合物对人肾癌 786-O 裸小鼠移植瘤的实验治疗作用 ($\bar{x} \pm SE$)

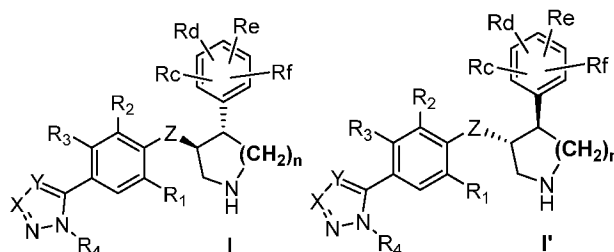
组别	剂量 (mg/kg)	肿瘤体积 (mm ³)		RTV	T/C (%)
		D1	D21		
Vehicle	—	125 ± 30	1330 ± 264	11.46 ± 1.69	—
VII-30	100	126 ± 13	127 ± 51**	1.06 ± 0.43**	9.26
VII-30	50	125 ± 14	328 ± 105**	2.62 ± 0.83***	22.86

t-test, 与对照相比, ***: $P<0.001$, **: $P<0.01$, *: $P<0.05$ 。

如表 5、表 6 和表 7 所示，化合物 VII-1a 和 VII-30 具有强效的体内抗肿瘤活性，以化合物 VII-30 为例（50mg/kg，灌胃），在人胃癌 HGC27 裸小鼠移植瘤、人卵巢癌 SKOV3 裸小鼠移植瘤、人肾癌 786-O 裸小鼠移植瘤上，均能有效抑制肿瘤的生长，其 T/C 分别达到了 17.27%，32.96%和 22.86%，其体内抗肿瘤活性优于游离形式的 VII-1a（表 4），该结果与药代动力学性质的结果一致，表明与 L-苹果酸成盐有助于提高其体内抗肿瘤活性。与对比文件 CN201510101220 中的化合物 6 相比，以化合物 VII-1a 及其苹果酸盐具有更强的体内抗肿瘤活性。

综上所述,本发明所涉及的多氟取代氮杂环类衍生物具有广阔的抗肿瘤应用前景。

1、一种多氟取代芳联杂环类衍生物，其特征在于，具有通式 I 或通式 I' 所示的结构：



或其光学异构体；

或其药学上可接受的盐或溶剂合物；

或其光学异构体药学上可接受的盐或溶剂合物；

其中，X、Y 分别独立的选自 -C(Ra)- 和 -N-，且至少有一个为 -C(Ra)-；Ra 选自 H、卤素、羟基、羧基、羟甲基、饱和或不饱和的 C₁-C₄ 烷基、卤代的 C₁-C₄ 烷基、C₁-C₄ 烷氧基、卤代的 C₁-C₄ 烷氧基、C₄-C₁₂ 的无取代或取代的芳基、C₄-C₁₂ 无取代或取代的杂环芳基、C₃-C₈ 无取代或取代的环烷基；

R₁、R₂ 分别独立的选自 H、F、Cl、Br、CH₃、CF₃，且至少一个为氟原子；

R₃ 为 H、CH₃、CF₃、F 或 Cl；

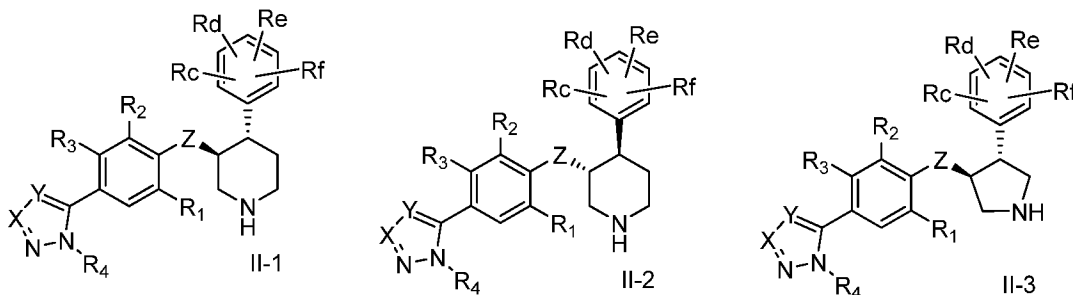
R₄ 为 C₁-C₃ 的烷基或者环烷基；

Z 选自 $\text{---B}_1\text{---C(=O)---B}_2\text{---}$ 、 ---S---NH--- 或 $\text{---SO}_2\text{---NH---}$ ，B₁ 和 B₂ 分别独立的选自 N(Rb) 或缺失，其中 Rb 分别独立的选自 H、C₁-C₃ 烷基或者环烷基；

n 为 1，2，3；

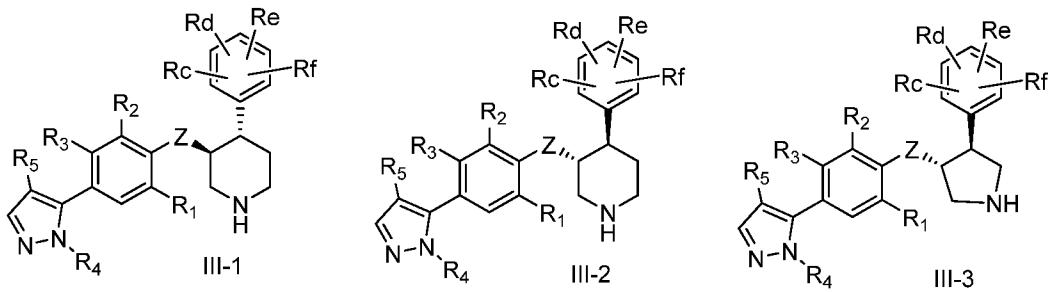
Rc、Rd、Re、Rf 分别独立的选自 H、F、Cl、Br、CF₃、CF₂H，且至少两个取代基为氟原子。

2、根据权利要求 1 所述的多氟取代芳联杂环类衍生物，其特征在于，所述多氟取代芳联杂环类衍生物具有通式 II-1、通式 II-2、通式 II-3 所示的结构：



或其光学异构体；或其药学上可接受的盐或溶剂合物；或其光学异构体药学上可接受的盐或溶剂合物。

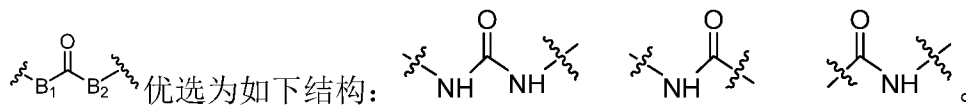
3、根据权利要求 1 所述的多氟取代芳联杂环类衍生物，其特征在于，所述多氟取代芳联杂环类衍生物具有通式 III-1、通式 III-2 或通式 III-3 结构：



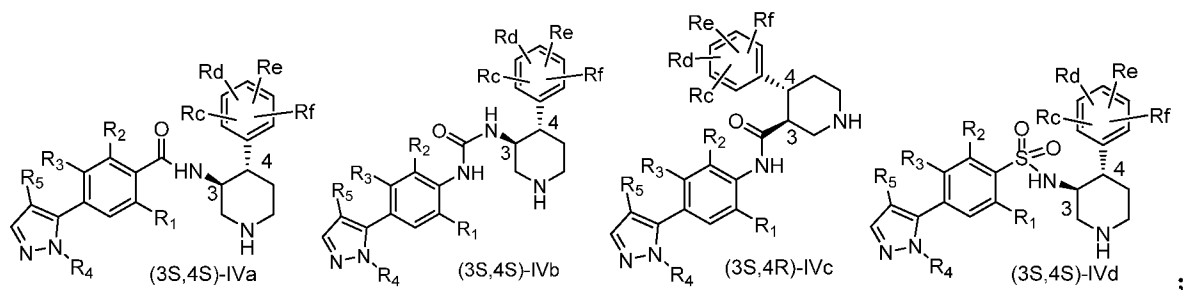
或其光学异构体；或其药学上可接受的盐或溶剂合物；或其光学异构体药学上可接受的盐或溶剂合物；

其中， R_5 为 H、卤素、 C_1 - C_3 的烷基或者环烷基。

4、根据权利要求 1 所述的多氟取代芳联杂环类衍生物，其特征在于，Z 中所述的

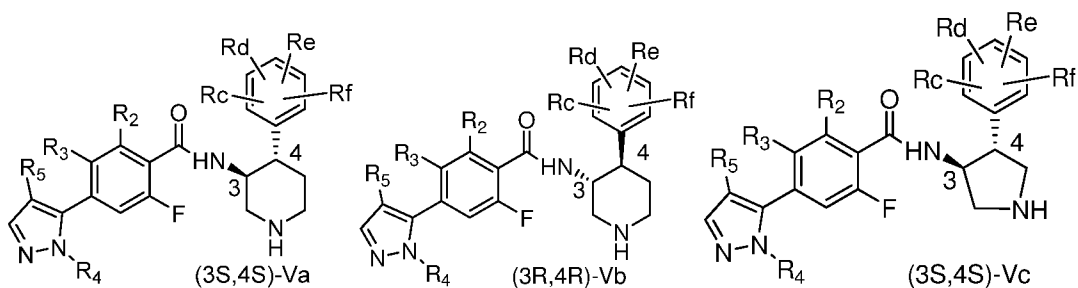


5、根据权利要求 1 所述的多氟取代芳联杂环类衍生物，其特征在于，所述的多氟取代芳联杂环类衍生物具有通式 IVa、通式 IVb、通式 IVc、通式 IVd 的结构：



或其光学异构体；或其药学上可接受的盐或溶剂合物；或其光学异构体药学上可接受的盐或溶剂合物。

6、根据权利要求 1 所述的多氟取代芳联杂环类衍生物，其特征在于，所述的多氟取代芳联杂环类衍生物具有通式 Va、Vb、Vc 结构：



或其光学异构体；或其药学上可接受的盐或溶剂合物；或其光学异构体药学上可接受的盐或溶剂合物；

其中， R_2 选自 H、F、Cl、Br、 CH_3 、 CF_3 。

7、根据权利要求 1 所述的多氟取代芳联杂环类衍生物，其特征在于，所述的多氟取代芳联杂环类衍生物包括：

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((±)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3R,4R)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-4-氯-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1,4-二甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-4-环丙基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-4-羟甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-4-溴-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-4-氟-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-(3,4,5-三氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-(2,3,5,6-四氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-(2,3,4-三氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-(2,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟-6-氯苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-甲基-6-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-三氟甲基-6-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2,3-二氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2,5-二氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-4-氯-1H-吡唑-基)-N-((3S,4R)-(3,4-二氟苯基)吡咯烷-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4R)-(3,4-二氟苯基)吡咯烷-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4R)-(3,4-二氟苯基)吡咯烷-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺
1-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-3-(2-氟-4-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)苯基)脲
N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟-4-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)苯磺酰胺
(3S,4R)-4-(3,4-二氟苯基)-N-(2-氟-4-(1-甲基-1H-吡唑基)苯基)哌啶-3-碳酰胺
(3S,4R)-4-(3,4-二氟苯基)-N-(2-氟-4-(1-甲基-4-氯-1H-吡唑基)苯基)哌啶-3-碳酰胺
4-(1-甲基-1H-1,2,4-三氮唑-5-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-乙基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-环丙基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
4-(1-(甲基-d3)-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺
或上述化合物的其他光学异构体；或上述化合物药学上可接受的盐或溶剂合物；
或其光学异构体药学上可接受的盐或溶剂合物。

8、根据权利要求 1-7 任一项所述的多氟取代芳联杂环类衍生物，其特征在于，所

述药学上可接受的盐，是与下列酸所形成的盐：

枸橼酸、富马酸、乙酸、草酸、酒石酸、苹果酸、马来酸、乳酸、樟脑磺酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、三氟甲磺酸、苯磺酸、琥珀酸、柠檬酸、氢卤酸、硫酸、磷酸、硝酸、碳酸、谷氨酸、天冬氨酸。

9、根据权利要求 1 所述的多氟取代芳联杂环类衍生物，其特征在于，所述的多氟取代芳联杂环类衍生物包括：

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 L-苹果酸盐

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 D-苹果酸盐

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 (±)-苹果酸盐

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 L-酒石酸盐

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺 D-酒石酸盐

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺甲磺酸盐

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺对甲苯磺酸盐

4-(1-甲基-1H-吡唑-基)-N-((3S,4S)-4-(3,4-二氟苯基)哌啶-3-基)-2-氟苯甲酰胺枸橼酸盐

或上述化合物的其他光学异构体；或上述化合物的药学上可接受的溶剂合物。

10、一种药物组合物，其特征在于，所述药物组合物包含至少一种活性组分以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂，所述的活性组分为权利要求 1-9 任一项所述的多氟取代芳联杂环类衍生物。

11、一种权利要求 1-9 任一项所述多氟取代芳联杂环类衍生物在制备抗肿瘤药物中的应用。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2018/073325

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 401/12 (2006.01) i; A61K 31/454 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D, A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, REGISTRY, CAPLUS: 哌啶, 吡唑, 苯甲酰胺, 氟, piperidine, benpyrazole, benzamide

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 104926788 A (UNIV. ZHEJIANG et al.), 23 September 2015 (23.09.2015), see embodiment 11, and claims 9-10	1-8, 10-11
A	US 2015166509 A1 (UNIV. DUKE), 18 June 2015 (18.06.2015), see embodiments	1-11
A	CN 101921268 B (SUN YAT-SEN UNIVERSITY CANCER CENTER et al.), 03 August 2016 (03.08.2016) see embodiments	1-11

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 26 March 2018	Date of mailing of the international search report 19 April 2018
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer CHEN, Ning Telephone No. (86-10) 53962316

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2018/073325

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 104926788 A	23 September 2015	EP 3124486 A1	01 February 2017
		US 2017107213 A1	20 April 2017
		WO 2015144021 A1	01 October 2015
		CA 2944959 A1	01 October 2015
		JP 2017512796 A	25 May 2017
		EP 3124486 A4	23 August 2017
		CN 104926801 A	23 September 2015
US 2015166509 A1	18 June 2015	CA 2878082 A1	20 March 2014
		EP 2895474 A2	22 July 2015
		WO 2014043608 A2	20 March 2014
		WO 2014043608 A3	16 July 2015
		EP 2895474 A4	24 August 2016
		US 9512106 B2	06 December 2016
CN 101921268 B	03 August 2016	CN 101921268 A	22 December 2010

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/073325

A. 主题的分类

C07D 401/12(2006.01)i; A61K 31/454(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07D A61K A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPDOC, CNPAT, CNKI, REGISTRY, CAPLUS: 哌啶, 吡啶, 苯甲酰胺, 氟, piperidine, benpyrazole, benzamide

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 104926788 A (UNIV. ZHEJIANG等) 2015年 9月 23日 (2015 - 09 - 23) 参见实施例11, 权利要求9-10	1-8, 10-11
A	US 2015166509 A1 (UNIV. DUKE) 2015年 6月 18日 (2015 - 06 - 18) 参见实施例	1-11
A	CN 101921268 B (中山大学肿瘤防治中心等) 2016年 8月 3日 (2016 - 08 - 03) 参见实施例	1-11

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2018年 3月 26日

国际检索报告邮寄日期

2018年 4月 19日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

受权官员

陈宁

传真号 (86-10)62019451

电话号码 (86-10)53962316

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/073325

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	104926788	A	2015年 9月 23日	EP	3124486	A1	2017年 2月 1日
				US	2017107213	A1	2017年 4月 20日
				WO	2015144021	A1	2015年 10月 1日
				CA	2944959	A1	2015年 10月 1日
				JP	2017512796	A	2017年 5月 25日
				EP	3124486	A4	2017年 8月 23日
				CN	104926801	A	2015年 9月 23日
US	2015166509	A1	2015年 6月 18日	CA	2878082	A1	2014年 3月 20日
				EP	2895474	A2	2015年 7月 22日
				WO	2014043608	A2	2014年 3月 20日
				WO	2014043608	A3	2015年 7月 16日
				EP	2895474	A4	2016年 8月 24日
				US	9512106	B2	2016年 12月 6日
CN	101921268	B	2016年 8月 3日	CN	101921268	A	2010年 12月 22日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)