

(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
2024 年 12 月 12 日 (12.12.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/251301 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 401/04 (2006.01) *A61K 31/405* (2006.01)
A61K 31/33 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2024/103853

(22) 国际申请日: 2024 年 7 月 5 日 (05.07.2024)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202310660635.3 2023年6月6日 (06.06.2023) CN

(71) 申请人: 中国药科大学 (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。

(72) 发明人: 李志裕 (LI, Zhiyu); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。徐熙 (XU, Xi); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。瞿凡贵 (QU, Fangui); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道629号, Jiangsu 211198 (CN)。常秀锦 (CHANG, Xiujin); 中国江苏

省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。范忠蓬 (FAN, Zhongpeng); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。张艳青 (ZHANG, Yanqing); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。卞金磊 (BIAN, Jinlei); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。王举波 (WANG, Jubo); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。邱志霞 (QIU, Zhixia); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。吴红茜 (WU, Hongxi); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。童超 (TONG, Chao); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。马萌阳 (MA, Mengyang); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。李春晓 (LI, Chunxiao); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。陈冉冉 (CHEN, Ranran); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。陈鑫 (CHEN, Xin); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。

(54) Title: GSPT1 PROTEIN DEGRADER CONTAINING OXIME STRUCTURE, AND PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种含肟结构的GSPT1蛋白降解剂及其制备方法和应用

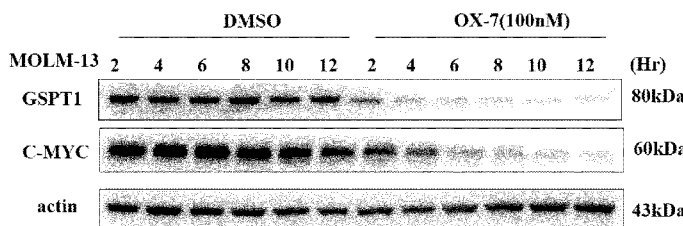


图 2

(57) Abstract: A GSPT1 protein degrader containing an oxime structure, and a preparation method therefor and the use thereof. Disclosed in the present invention is a compound containing an oxime structure or a pharmaceutically acceptable salt, tautomer, mesomer, racemate, enantiomer or diastereomer thereof. The compound of the present invention has excellent GSPT1 degradation activity, and can be used as a GSPT1 protein degrader, which broadens the skeleton structure of the GSPT1 molecular glue degrader, improves an anti-proliferation effect on tumors, improves the therapeutic window, and provides more choices for the research and development of GSPT1 molecular glue. Compared with the clinical drug CC-90009, the oxime compounds, such as OX, NX and CX series, of the present invention have significantly improved degradation effects on GSPT1 protein and significantly improved anti-proliferation and inhibitory activity on AML cells.

(57) 摘要: 一种含肟结构的GSPT1蛋白降解剂及其制备方法和应用, 本发明公开了一种含肟结构的化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体。本发明的化合物具有优良的GSPT1降解活性, 可以作为GSPT1蛋白降解剂, 拓宽了GSPT1分子胶降解剂的骨架结构, 提高了对肿瘤的抗增殖作用, 改善治疗窗, 为GSPT1分子胶的研发提供更多的选择。与临床药物CC-90009相比, 本发明的肟类化合物如OX、NX、CX系列对GSPT1蛋白的降解效果、AML细胞的抗增殖抑制活性显著提高。

211198 (CN)。邹昕羽(ZOU, Xinyu); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。孙锋泽(SUN, Fengze); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。张忠霖(ZHANG, Zhonglin); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。张若萱(ZHANG, Ruoxuan); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。

(74) 代理人: 南京天翼专利代理有限责任公司(NANJING TIANYI PATENT AGENT CO., LTD.); 中国江苏省南京市玄武区珠江路680号, Jiangsu 210018 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, 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)。

根据细则4.17的声明:

— 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 在修改权利要求的期限届满之前进行, 在收到该修改后将重新公布(细则48.2(h))。
- 包括关于请求恢复一项或多项优先权要求的信息(细则26之二.3和48.2(b)(vii))。

一种含脘结构的 GSPT1 蛋白降解剂及其制备方法和应用

技术领域

本发明属于化学医药技术领域，具体涉及一种含脘结构的 GSPT1 蛋白降解剂及其制备方法和应用。

背景技术

靶向蛋白质降解技术 (Target Protein Degradation technology, TPD) 是通过利用真核细胞中固有的调控蛋白质稳态的蛋白质降解机制，干扰蛋白质功能的新技术。该技术的兴起一定程度上解决了小分子抑制剂和基因干扰技术所面临的困境。TPD 目前主要通过泛素蛋白酶体和溶酶体降解目标蛋白，目前该领域发展最为成熟、研究最多的是基于泛素化-蛋白酶体系统的蛋白水解靶向嵌合体 (proteolysis-targeting chimera, PROTAC) 和分子胶 (Molecular glue, MGs)。靶向蛋白质降解技术在多种疾病领域具有广阔的应用前景和发展空间，如恶性肿瘤、神经退行性疾病、代谢性疾病等领域。

分子胶是一种诱导接近的小分子，可以对各种生物过程进行精确的时间控制，例如信号转导、转录、染色质调节以及蛋白质折叠、定位和降解。作为接近的化学诱导剂，能诱导 E3 泛素连接酶与靶蛋白发生蛋白-蛋白相互作用，导致靶蛋白降解。分子胶可以通过形成三元复合物促进两种蛋白质的二聚化或共定位，从而产生多种生物学和药理学功能。

G1 到 S 期转换 1 蛋白 (G1 to S phase transition 1, GSPT1, 也被称为 eRF3a) 是机体内的一种翻译终止因子，GSPT1 的下调可导致关键蛋白的异常表达，并在各种肿瘤细胞中抑制增殖或诱导凋亡。自从发现 GSPT1 是 E3 泛素连接酶 CRBN 的新底物后，它可以被分子胶降解剂定向降解。目前已有多种分子胶降解剂正处于临床及临床前研究，这些分子在治疗血液肿瘤以及某些实体肿瘤方面非常有效。GSPT1 具有多功能性，除了作为第二类肽链释放因子，参与到蛋白质翻译终止外，它还与细胞凋亡、细胞周期调控、肿瘤的发生发展等过程都相关。例如在细胞凋亡过程中 GSPT1 会以蛋白质水解的方式加工形成另外一种异构型，该异构型中含有一个保守的 N 末端凋亡抑制蛋白结合体。GSPT1 通过这种加工形式与凋亡抑制因子 (inhibitor of apoptosis proteins, IAPs) 相互作用，解除对 IAP 的抑制释放 caspases，从而促进细胞凋亡。而 eRF3 的 M 结构域则与 Poly-a-binding protein (PABP) 蛋白相互作用，偶联了翻译终止和 mRNA 降解。

CC-885 作为 5-取代异喹啉化合物，在各类肿瘤细胞系中广泛具有强 CRBN 依赖性抗增殖活性，与来那度胺和泊马度胺相比具有增强的抗增殖活性 (Nature 2016, 535, 252-257)。免疫沉淀测定和免疫印迹测定表明，CC-885 促进 CRBN 与新型底物 GSPT1 的结合，靶向其降解。使用 CC-885 作为结构模板，通过 SAR 发现了一种具有二氟乙酰胺的骨架，在体外显示良好的选择性 (J. Med. Chem. 2021, 64, 1835-1843)。从这个基础上，进一步筛选出 BMS/Celgene 的第三代先导化合物 CC-90009。CC-90009 是一种高效的 GSPT1 选择性降解剂，在治疗急性髓系白血病方面表现出良好的 PK/PD 和安全性，目前已进入 I / II 期临床试验 (NCT04297124; NCT02848001; NCT04336982)。

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是一种遗传和生物学上的异质性髓系恶性肿瘤，以未成熟的髓系祖细胞异常扩增为特征，损害机体正常造血功能，从而引起严重的感染、贫血、出血，其特点是生存率低和复发率高。因此作为一种相对罕见的恶性肿瘤，已被美国食品和药物管理局视为孤儿病。GSPT1 作为 CRL4-CRBN-E3 泛素连接酶的新底物，在治疗 AML 方面发挥着重要作用。在靶向 GSPT1 用于治疗 AML 的临床药物如 CC-90009、BTX-1188 等正在研发。CC-90009 主要通过静脉注射的方式用于治疗 AML，而 BTX-1188 是一种可以口服的药物，用于治疗 AML 和 NHL。通过进一步研究发现 GSPT1 的降解与 ATF3 和 ATF4 基因表达上调有关，而 ATF3 和 ATF4 基因对综合应激反应通路是非常重要的。综合应激反应通路的激活与 eRF2 的磷酸化有很大的关系。当综合应激反应通路被激活后会导致细胞的急性凋亡。

综上所述，GSPT1 在相关实体肿瘤的发生发展过程中具有重要作用。但由于其功能的多样性，调节机制复杂性，在不同的肿瘤中发挥着不同的作用。但是目前普遍认可的是 GSPT1 是大多数肿瘤的原癌基因，在某些特定种类的肿瘤中，扮演着抑癌基因的角色。就目前而言 GSPT1 在肿瘤中的相关作用机制尚缺乏较为深入的研究，但毋庸置疑的是，GSPT1 已成为肿瘤治疗中的一个强有力的潜在靶点。

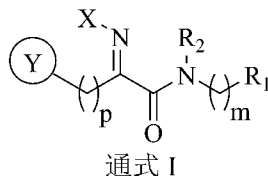
发明内容

发明目的：本发明目的在于提供一种含脘结构的 GSPT1 蛋白降解剂及其制备方法和应用。本发明含脘结

构的化合物具有优良的GSPT1降解活性, 可以作为GSPT1蛋白降解剂, 拓宽了GSPT1分子胶降解剂的骨架结构, 提高了对肿瘤的抗增殖作用, 改善治疗窗, 为GSPT1分子胶的研发提供更多的选择。

技术方案: 本发明的目的通过下述技术方案实现:

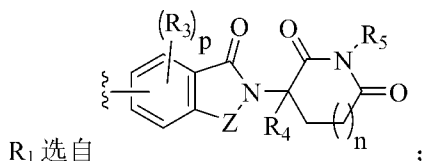
本发明提供了一种通式I所示的化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体:



其中:

X 选自 -OH、-NH₂、-OCH₃ 或 -NHCOCH₃;

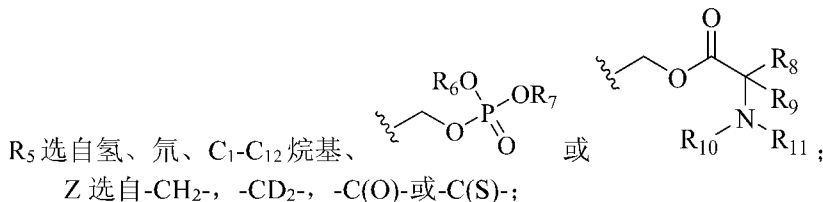
环 Y 选自 C₆-C₁₂ 芳基、5-10 元杂芳基、C₃-C₈ 环烷基或 3-10 元杂环基, 所述芳基、杂芳基、环烷基和杂环基未被取代或任选地被 1-3 个 R_a 取代;



R₂ 选自氢、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、卤素、氰基、硝基、-C(O)NR_aR_b、-C(O)R_a、-C(O)OR_a、-OR_a、-OC(O)R_a、-OC(O)OR_a、-OC(O)NR_aR_b、-NR_aR_b、-SR_a、-S(O)R_a、-S(O)₂R_a 或含有 0-3 个杂原子的 3-10 元环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基未被取代或任选地被 1-3 个 R_a 取代;

每个 R₃ 分别独立地选自氢、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、卤素、氰基、硝基、-C(O)NR_aR_b、-C(O)R_a、-C(O)OR_a、-OR_a、-OC(O)R_a、-OC(O)OR_a、-OC(O)NR_aR_b、-NR_aR_b、-SR_a、-S(O)R_a、-S(O)₂R_a 或含有 0-3 个杂原子的 3-10 元环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基未被取代或任选地被 1-3 个 R_a 取代;

R₄ 选自氢、氘、卤素或 C₁-C₆ 烷基;



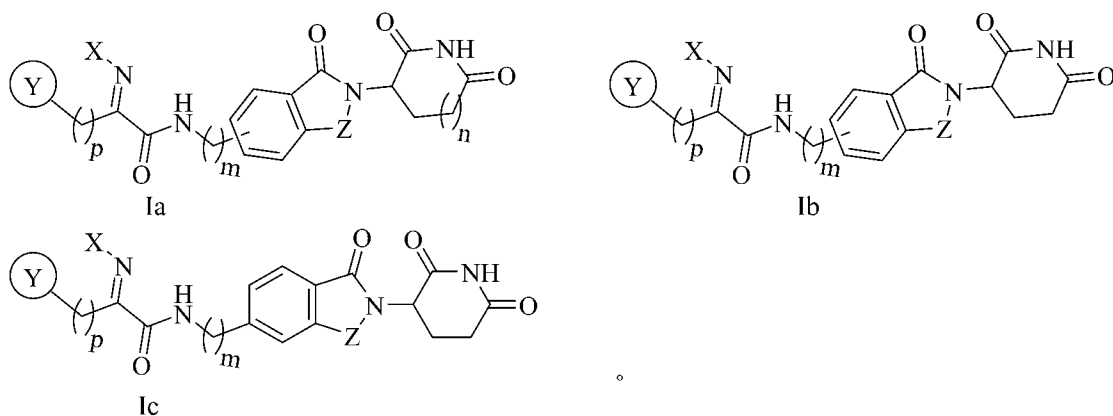
R₆、R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁ 分别独立地选自氢、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、卤素、氰基、硝基、-C(O)NR_aR_b、-C(O)R_a、-C(O)OR_a、-OR_a、-OC(O)R_a、-OC(O)OR_a、-OC(O)NR_aR_b、-NR_aR_b、-SR_a、-S(O)R_a、-S(O)₂R_a 或含有 0-3 个杂原子的 3-10 元环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基未被取代或任选地被 1-3 个 R_a 取代;

每个 R_a、R_b 分别独立地选自氢、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、卤素、羟基、氰基、硝基、苄基、-C(O)NR_cR_d、-C(O)R_c、-C(O)OR_c、-OR_c、-OC(O)R_c、-OC(O)OR_c、-OC(O)NR_cR_d、-NR_cR_d、-SR_c、-S(O)R_c、-S(O)₂R_c 或含有 0-3 个杂原子的 3-10 元环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 所述烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基或苄基未被取代或任选地被 1-3 个 R_c 取代;

每个 R_c、R_d 分别独立地选自氢、卤素、羰基、羟基、氰基、硝基、苄基、苄基、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、卤代 C₁-C₆ 烷氧基、C₃-C₆ 环烷基或卤代 C₃-C₆ 环烷基;

m、n、p 分别独立地选自 0、1、2 或 3。

本发明的通式 I 化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体, 优选具有式 Ia、式 Ib 或式 Ic 结构的化合物:



其中, X、Y、Z、m、n、p 如通式 I 中所定义。

在某些优选的实施方式中,

X 选自 -OH、-NH₂ 或 -OCH₃。

在某些优选的实施方式中,

R₂ 选自氢、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、卤素、氰基、硝基、-C(O)NR_aR_b、-C(O)R_a、-C(O)OR_a、-OR_a、-OC(O)R_a、-OC(O)OR_a、-OC(O)NR_aR_b、-NR_aR_b、-SR_a、-S(O)R_a、-S(O)₂R_a;

R_a、R_b 分别独立地选自氢、C₁-C₆ 烷基或 -C(O)R_c;

R_c 选自氢、卤素、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、卤代 C₁-C₆ 烷氧基或 C₃-C₆ 环烷基;

环 Y 选自 C₆-C₁₂ 芳基或 5-10 元杂芳基。

在某些更优选的实施方式中,

R₃ 选自氢、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、卤素、氰基或硝基;

R₄ 选自氢、氘、卤素或 C₁-C₆ 烷基;

R₅ 选自氢、氘或 C₁-C₁₂ 烷基;

m、n 分别独立地选自 1;

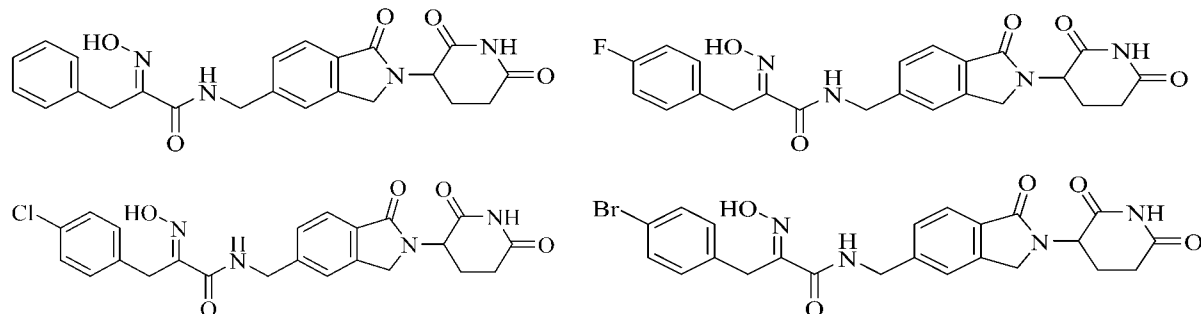
p 选自 0 或 1。

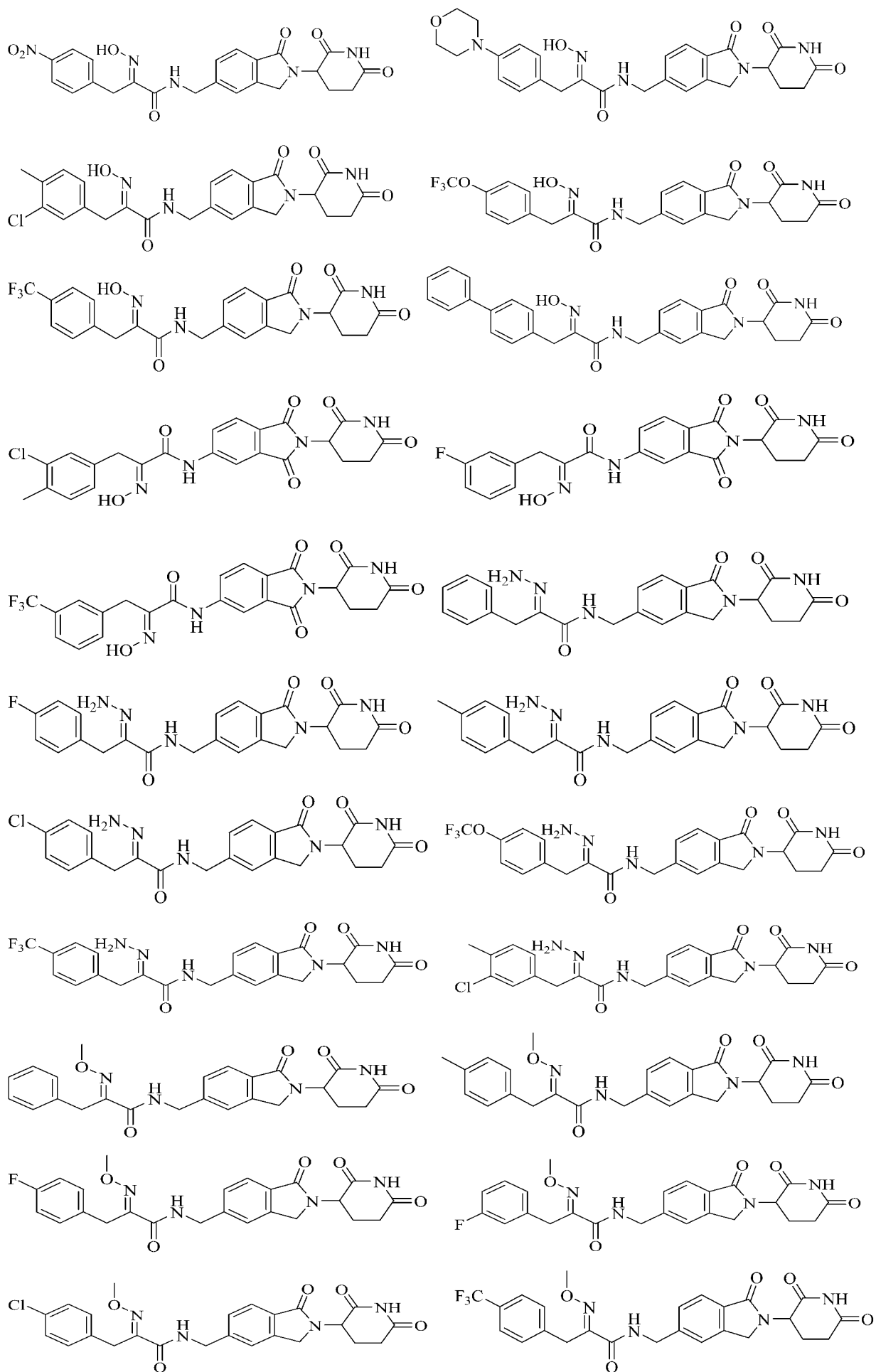
本发明涉及的上述通式 I 化合物还可以以其盐形式存在, 它们在体内转化为通式 I 化合物。例如, 在本发明的范围内, 按照本领域已知的工艺, 将本发明化合物转化为药学上可接受的盐的形式, 并且以盐形式使用它们。

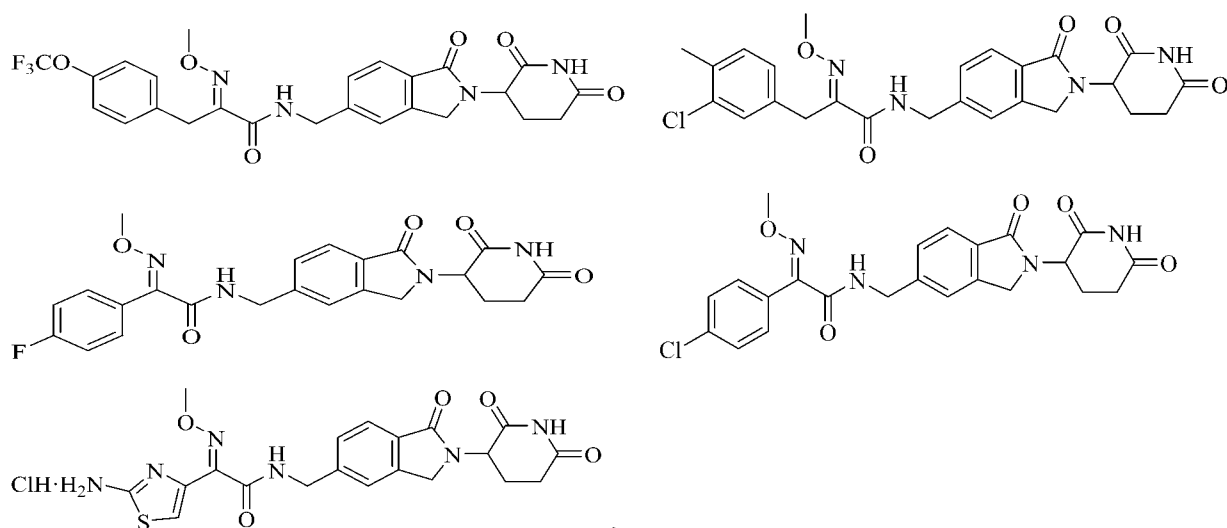
在一些优选的实施方式中, 所述药学上可接受的盐包括但不限于通式 I 化合物与下列酸形成的酸加成盐: 盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、萘磺酸、柠檬酸、酒石酸、乳酸、丙酮酸、乙酸、马来酸或琥珀酸、富马酸、水杨酸、苯基乙酸、杏仁酸; 还包括通式 I 化合物与无机碱形成的酸式盐。

在一些更优选的实施方式中, 所述药学上可接受的盐包括但不限于碱性金属阳离子盐、碱土金属阳离子盐和铵阳离子盐。

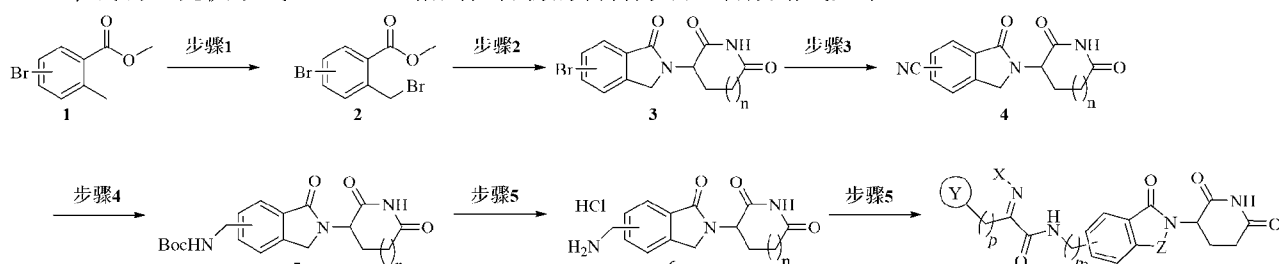
本发明通式 I 的化合物优选以下化合物:







本发明还提供了式Ia、Ib、Ic相关化合物的制备方法，合成路线如下：



起始原料1在自由基引发剂存在下，用N-溴代丁酰亚胺溴化，得到中间体2；中间体2与亲核试剂3-氨基哌啶-2,6-二酮盐酸盐进行取代后，在酯上进一步成内酰胺，得到中间体3；通过钯介导将氰基插入到芳基溴上，得到中间体4；随后还原、脱叔丁氧羰基得到中间体6，最后在缩合剂EDCI的存在下，得到式Ia、Ib、Ic相关化合物。

本发明另一目的在于提供一种药物组合物，所述药物组合物包括治疗有效量的通式I的化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体以及药学上可接受的载体或赋形剂。

本发明的药物组合物可以采用各种已知的方式施用，例如口服、胃肠外施用、通过吸入喷雾施用或经由植入的贮库施用。本发明的药物组合物可单独给药也可与其他药物联合用药。口服组合物可以是任何口服可接受的剂型，包括但不限于片剂、胶囊剂、乳剂以及混悬剂、分散物和溶液。常用的药学上可接受的载体或赋形剂包括稳定剂、稀释剂、表面活性剂、润滑剂、抗氧化剂、粘合剂、着色剂、填充剂、乳化剂等。

无菌可注射组合物可按照本领域已知的技术使用适合的分散剂或润湿剂和助悬剂来配制。可以使用的药学上可接受的载体和溶剂包括水、甘露醇、氯化钠溶液等。

可以改变本发明的药物组合物中活性成分的实际剂量水平以获得对特定患者、组合物和施用方式而言可以有效实现所需治疗响应、对患者无毒的活性成分的量。所选择的剂量水平取决于多种因素，包括所用的具体的本发明的化合物或其盐的活性、施用途径、施用时间、所用的具体组合物的排泄速率、治疗的持续时间、与所用的具体组合物组合使用的其它药物、化合物和/或材料、所治疗的患者的年龄、性别、体重、一般健康状况和既往病史以及医学领域中公知的类似因素。

本发明另一目的在于提供通式I的化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体在制备用于治疗或预防由GSPT1、IKZF1、IKZF2、IKZF3、CK1α、N-MYC或C-MYC蛋白突变、表达失衡、变构与功能异常相关疾病的药物中的用途。

所述相关疾病为癌症、病毒感染、衰老、免疫性疾病、神经性疾病；其中，所述癌症选自急性髓白血病、肝癌、急性淋巴细胞白血病、膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、宫颈癌、绒毛膜癌、慢性淋巴细胞性白血病CLL、慢性粒细胞白血病CML、结肠癌、食道癌、胆囊癌、胃癌、胃肠道间质瘤、头颈癌、霍奇金淋巴瘤、喉癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、间皮瘤、多发性骨髓瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、直肠癌、肾癌、肉瘤、皮肤癌、小细胞肺癌、睾丸癌、咽喉癌、甲状腺癌或子宫癌。

本发明还提供了通式I的化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体在制备GSPT1降解剂中的用途。

术语“异构体”包括给定结构的对映异构形式、非对映异构形式和几何（或构象）异构形式。例如，本申请包括每个不对称中心的R和S构型、Z和E双键异构体、Z和E构象异构体、单一立体化学异构体及对

映异构体、非对映异构体和几何（或构象）异构体混合物。

术语“药学上可接受的盐”指，诸如其酸加成盐和/或碱盐。合适的酸加成盐由酸形成，其形成无毒盐，例如盐酸盐/氯化物。合适的碱盐由碱形成，其形成无毒盐，例如钙盐和钠盐。还可形成酸和碱的半盐，例如半硫酸盐和半钙盐。

术语“治疗有效量”是指本发明化合物的以下量，其（i）治疗具体的疾病、病症或障碍；（ii）减轻、缓解或消除具体的疾病、病症或障碍的一种或多种症状；或（iii）预防或延迟本申请所述具体的疾病、病症或障碍的一种或多种症状的发作。

术语“药学上可接受的载体或赋形剂”是指不破坏用其配制的化合物的药理活性的无毒载体、辅料或媒介物。

有益效果：

与临床药物CC-90009相比，本发明的脲类化合物如OX、NX、CX系列对GSPT1蛋白的降解效果、AML细胞的抗增殖抑制活性显著提高。其中，200nM化合物OX-7在KG-1细胞给药4小时，对GSPT1蛋白的降解百分数高于80%。化合物NX-7在相同条件下，对GSPT1蛋白的降解百分数高于90%。与临床药物CC-90009相比，化合物OX-7和NX-7还能显著降解C-MYC蛋白；化合物OX-7还能够显著诱导c-PARP蛋白的产生，具有明显的诱导细胞凋亡的作用，拓宽了肿瘤适应症的范围。在给药浓度100nM时化合物OX-7在2h对GSPT1和C-MYC开始有明显的降解效果，且随着时间的延长，降解效果越好，呈现出明显的时间依赖性。因此，本发明化合物可以用于制备治疗或预防由GSPT1、IKZF1、IKZF2、IKZF3、CK1 α 、N-MYC或C-MYC蛋白突变、表达失衡、变构与功能异常相关疾病的药物；可以用于制备GSPT1降解剂。

附图说明

图1为本发明化合物OX-7对AML细胞中的GSPT1降解作用呈现浓度依赖。其中，图1A为化合物OX-7与临床药物CC-90009在KG-1细胞中对GSPT1的降解作用；图1B为化合物OX-7与临床药物CC-90009在MOLM-13细胞中对GSPT1的降解作用。

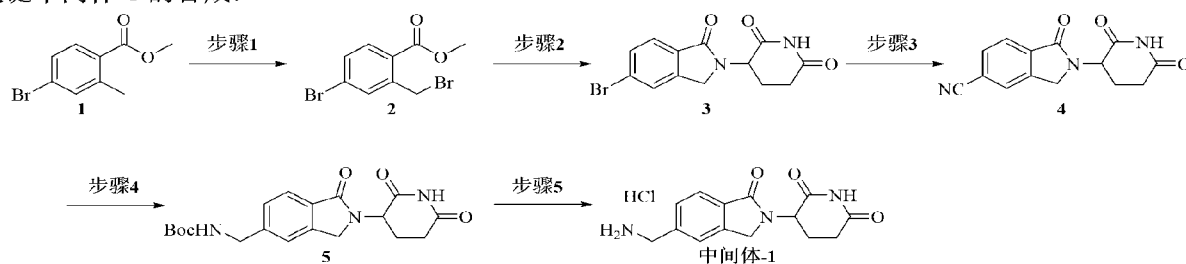
图2为本发明化合物OX-7对AML细胞中的GSPT1降解作用呈现时间依赖。

图3为本发明化合物OX-7以及临床药物CC-90009对不同肿瘤细胞的抗增殖抑制活性。其中图3A、3B分别为OX-7、CC-90009对KG-1细胞的抗增殖抑制活性；图3C、3D分别为OX-7、CC-90009对MOLM-13细胞的抗增殖抑制活性。

具体实施方式

下面通过具体实施例对本发明技术方案进行详细说明，但是本发明的保护范围不局限于所述实施例。

关键中间体-1的合成：



步骤1：将4-溴-2-甲基苯甲酸甲酯（10.00g，43.86mmol）溶解于200mL的四氯化碳中，依次加入N-溴代丁二酰亚胺（15.61g，87.73mmol）和偶氮二异丁腈（0.72g，4.38mmol），加毕，升温至回流搅拌12小时。经TLC监测反应完全，冷却至室温后抽滤，滤液真空浓缩，残余物使用硅胶色谱柱（DCM：MeOH=40：1，v/v）纯化，得到白色固体2：4-溴-2-（溴甲基）苯甲酸甲酯（8.32g，收率62.0%）。

HRMS (ESI⁺): 计算值 C₉H₉Br₂O₂ (M + H)⁺, 306.8964; 实测值 306.8958。

步骤2：将4-溴-2-（溴甲基）苯甲酸甲酯（8.00g，26.15mmol）溶解于60mL的N,N-二甲基甲酰胺中，依次加入3-氨基哌啶-2,6-二酮盐酸盐（5.15g，31.38mmol）和DIPEA（8.45g，65.38mmol）加毕，于氮气保护下升温至90℃搅拌4小时。经TLC监测反应完全，将反应液倒入200mL水中，析出浅蓝色固体，静置使其完全析出，抽滤，滤饼真空干燥得到浅蓝色固体3：3-（5-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基）哌啶-2,6-二酮（5.89g，收率70.2%）。

HRMS (ESI⁺): 计算值 C₁₃H₁₂BrN₂O₃ (M + H)⁺, 323.0026; 实测值 323.0030。

步骤3：将3-（5-溴-1-氧代异吲哚啉-2-基）哌啶-2,6-二酮（5.00g，15.53mmol）溶于50mL的干燥N,N-二甲基甲酰胺中，依次加入1,1'-双（二苯基磷）二茂铁（0.40g，0.71mmol）、三（二亚苄基丙酮）二钯（0.39g，0.43mmol）和氰化锌（1.88g，16.00mmol），加毕，于氮气保护下升温至90℃搅拌4小时。经TLC监测反应完全，抽滤，将滤液倒入150mL水中，析出绿色固体，静置使其完全析出，抽滤，滤饼真空干燥得到浅绿

色固体 4: 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-甲腈 (3.84g, 收率 91.9%)。

HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{14}H_{12}N_3O_3 (M+H)^+$, 270.0873; 实测值 270.0882。

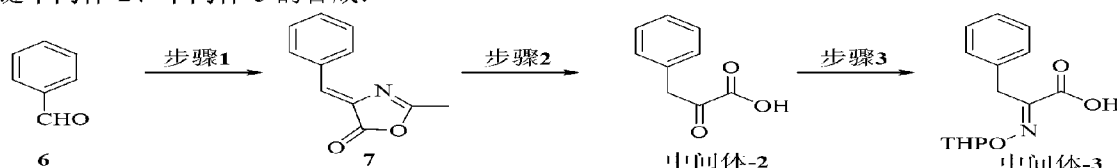
步骤 4: 将 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-甲腈 (3.50g, 13.00mmol) 溶于 40mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 依次加入二碳酸二叔丁酯 (5.67g, 26.00mmol) 和 15mL 的雷尼镍, 加毕, 于氢气充分置换下升温至 50°C 搅拌 5 小时。经 TLC 监测反应完全, 抽滤, 滤饼使用乙酸乙酯洗涤, 滤液倒入 120mL 水中, 使用乙酸乙酯萃取, 合并有机相并依次使用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后真空浓缩得到棕黄色固体 5: ((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基) 甲基) 氨基甲酸叔丁酯 (3.20g, 收率 65.9%), 该产物无需进一步纯化可直接用于下一步。

HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{19}H_{24}N_3O_5 (M+H)^+$, 374.1710; 实测值 374.1721。

步骤 5: 将 ((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基) 甲基) 氨基甲酸叔丁酯 (3.00g, 8.04mmol) 溶于 30mL 的盐酸-二氧六环溶液 (4M) 中, 室温搅拌 3 小时。经 TLC 监测反应完全, 抽滤, 滤饼真空干燥得到淡黄色固体, 即为中间体-1: 3-(5-氨基)-1-氧代异吲哚啉-2-基) 哌啶-2,6-二酮盐酸盐 (1.80g, 收率 72.4%), 该产物无需进一步纯化可直接用于下一步。

HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{14}H_{16}N_3O_3 (M+H)^+$, 274.1186; 实测值 274.1184。

关键中间体-2、中间体-3 的合成:



步骤 1: 将苯甲醛 (2.00g, 18.86mmol) 溶于 20mL 的乙酸酐中, 依次加入 N-乙酰甘氨酸 (3.31g, 28.29mmol)、乙酸钠 (2.32g, 28.29mmol) 加毕, 升温至 120°C 条件下搅拌 5 小时。经 TLC 监测反应完全, 将反应液冷却至室温, 析出橙黄色固体, 冰浴下静置使其析出完全, 抽滤, 滤饼真空干燥得黄色固体 7: (Z)-4-亚苄基-2-甲基恶唑-5(4H)-酮 (2.2g, 收率 62.5%), 该产物无需进一步纯化可直接用于下一步。

HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{11}H_{10}NO_2 (M+H)^+$, 188.0706; 实测值 188.0718。

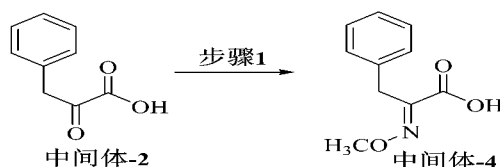
步骤 2: 将 (Z)-4-亚苄基-2-甲基恶唑-5(4H)-酮 (2.20g, 11.76mmol) 溶于 50mL 的 10% 盐酸水溶液中, 升温至 100°C 条件下搅拌 10 小时。经 TLC 监测反应完全, 将反应液冷却至室温, 冰浴下析出棕色固体, 静置使其析出完全, 抽滤, 滤饼真空干燥得棕黄色固体, 即为中间体-2: 2-氧代-3-苯基丙酸 (1.52g, 收率 78.7%)。该产物无需进一步纯化可直接用于下一步。

HRMS (ESI⁻): 计算值 $C_9H_7O_3 (M-H)^-$, 163.0401; 实测值 163.0412。

步骤 3: 将 2-氧代-3-苯基丙酸 (1.52g, 9.27mmol) 溶于 20mL 的吡啶中, 加入 O-(四氢-2H-吡喃-2-基) 羟胺 (1.30g, 11.12mmol) 加毕, 于氮气保护下室温搅拌 12 小时。经 TLC 监测反应完全, 将反应液倒入 1N 的盐酸溶液中, 使用乙酸乙酯萃取, 合并有机相使用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 真空浓缩得到棕褐色固体, 即为中间体-3: (E)-3-苯基-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基) 氧基) 亚氨基) 丙酸 (1.95g, 收率 80.0%)。

HRMS (ESI⁻): 计算值 $C_{14}H_{16}NO_4 (M-H)^-$, 262.1085; 实测值 262.1079。

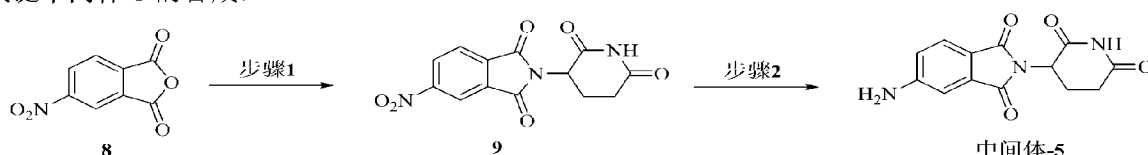
关键中间体-4 的合成:



步骤 1: 将 2-氧代-3-苯基丙酸 (1.52g, 9.26mmol) 溶于 20mL 的吡啶中, 加入甲氧胺盐酸盐 (1.16g, 13.89mmol) 加毕, 于氮气保护下室温搅拌 12 小时。经 TLC 监测反应完全, 将反应液倒入 1N 的盐酸溶液中, 使用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 并使用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 真空浓缩得到棕褐色固体, 即为中间体-4: (E)-2-(甲氧基亚氨基)-3-苯基丙酸 (1.21g, 收率 67.9%)。

HRMS (ESI⁻): 计算值 $C_{10}H_{10}NO_3 (M-H)^-$, 192.0666; 实测值 192.0678。

关键中间体-5 的合成:

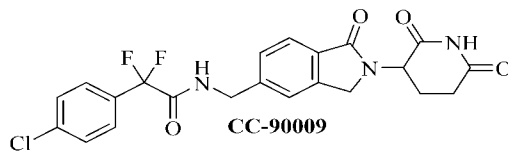


步骤 1: 将 5-硝基异苯并呋喃-1,3-二酮 (14.50g, 75.00mmol) 溶于 20mL 的乙酸溶液中, 依次加入 3-氨基哌啶-2,6-二酮盐酸盐 (8.20g, 50.00mmol)、乙酸钠 (5.00g, 60.00mmol) 升温至回流条件下搅拌 5h。经 TLC 监测反应完全, 将反应液冷却至室温后, 倒入 100mL 的冰水中, 析出白色固体, 静置使其析出完全,

抽滤，滤饼真空干燥得到灰白色固体 9：2-(2,6-二氧哌啶-3-基)-5-硝基异吲哚啉-1,3-二酮 (9.03g, 收率 62.4%)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₁₃H₁₀N₃O₆ (M + H)⁺, 304.0564; 实测值 304.0575。

步骤 2: 将 2-(2,6-二氧哌啶-3-基)-5-硝基异吲哚啉-1,3-二酮 (3.63g, 11.98mmol) 溶于 10mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 加入 10% 的钯碳 (0.54g, 5.07mmol), 加毕, 于氢气充分置换下, 室温条件下搅拌 12 小时。经 TLC 监测反应完全, 抽滤, 将滤液倒入 100mL 冰水中, 析出黄色固体, 静置使其析出完全, 抽滤, 滤饼真空干燥得到黄色固体, 即为中间体 5: 5-氨基-2-(2,6-二氧哌啶-3-基) 异吲哚啉-1,3-二酮 (3.00g, 收率 92.0%)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₁₃H₁₂N₃O₄ (M + H)⁺, 274.0822; 计算值 274.0834。

临床药物 CC-90009 的合成:

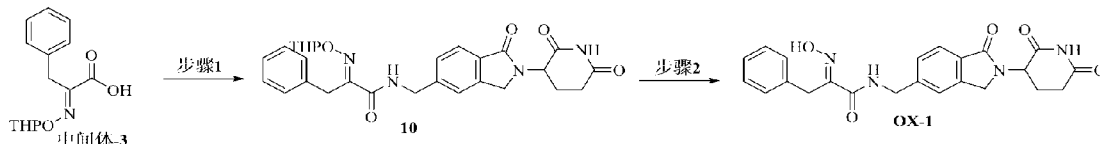


将 3-(5-氨基)-1-氧代异吲哚啉-2-基) 哌啶-2,6-二酮盐酸盐 (0.10g, 0.32mmol) 溶解于 5mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 依次加入 2-(4-氯苯基)-2,2-二氟乙酸 (0.08g, 0.39mmol)、HATU (0.19g, 0.49mmol), 加毕, 室温搅拌 1 小时。加入 DIPEA (0.13g, 0.97mmol), 室温过夜搅拌。经 TLC 监测反应完全, 将反应液倒入 30mL 冰水中, 析出棕色固体, 静置使其完全析出, 抽滤, 将滤饼使用硅胶色谱柱 (二氯甲烷: 甲醇 = 50: 1, v/v) 纯化, 得到白色固体 CC-90009 (0.10g, 收率 68.0%, 纯度 99.37%)。

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.00 (s, 1H), 9.70 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.62 (s, 4H), 7.41 (s, 1H), 7.37 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.53-4.22 (m, 4H), 3.02-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 2.47-2.30 (m, 1H), 2.06-1.94 (m, 1H)。

HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₂H₁₉ClF₂N₃O₄ (M + H)⁺, 462.1027; 实测值 462.1025。

实施例 1 化合物 OX-1: (E)-N-(2-(2,6-二氧哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基) 甲基)-2-(羟亚胺基)-3-苯基丙酰胺的合成:

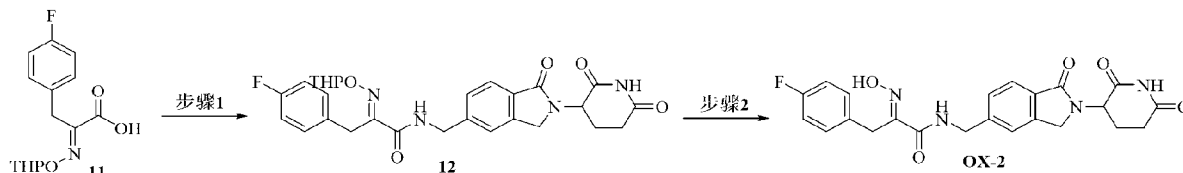


步骤 1: 将 (E)-3-苯基-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酸 (中间体-3, 2.00g, 7.60mmol) 溶解于 10mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 依次加入 EDCI (2.18g, 11.40mmol)、HOBT (1.54g, 11.40mmol), 加毕, 室温搅拌 1 小时。加入 3-(5-氨基)-1-氧代异吲哚啉-2-基) 哌啶-2,6-二酮盐酸盐 (1.17g, 3.80mmol), 室温过夜搅拌。经 TLC 监测反应完全, 将反应液倒入 30mL 水中, 使用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 并依次使用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 真空浓缩, 将残余物使用硅胶色谱柱 (二氯甲烷: 甲醇 = 50: 1, v/v) 纯化, 得到淡黄色固体 10: (E)-N-(2-(2,6-二氧哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基) 甲基)-3-苯基-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酰胺 (1.01g, 收率 51.0%)。

步骤 2: 将化合物 10 (0.50g, 0.96mmol) 溶于 10mL 的盐酸-二氧六环溶液 (4M) 中, 室温搅拌 3 小时。经 TLC 监测反应完全, 抽滤, 滤饼用甲醇打浆纯化后真空干燥得到白色固体 OX-1 (0.20g, 收率 47.6%, 纯度 98.61%)。 ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.96 (s, 1H), 11.02 (s, 1H), 8.70 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.35-7.20 (m, 5H), 7.13 (s, 1H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.50-4.21 (m, 4H), 3.85 (s, 2H), 3.00-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H), 2.47-2.32 (m, 1H), 2.07-1.96 (m, 1H)。

HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₃H₂₃N₄O₅ (M + H)⁺, 435.1663; 实测值 435.1658。

实施例 2 化合物 OX-2: (E)-N-((2-(2,6-二氧哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基) 甲基)-3-(4-氟苯基)-2-(羟基亚氨基)丙酰胺的合成:



按照中间体-3 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为对氟苯甲醛, 制得化合物 11: (E)-3-(4-氟苯基)-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酸。三步收率共计 73.7%。

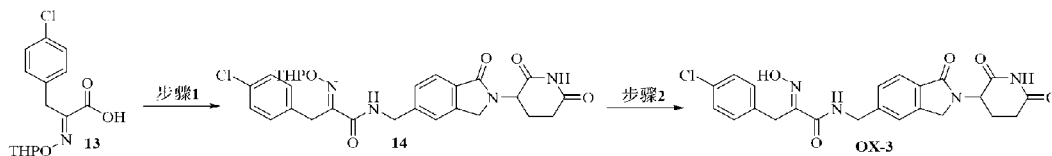
HRMS (ESI⁺): 计算值 C₁₄H₁₅FO₄ (M - H)⁻, 280.0991; 实测值 280.0987。

按照实施例 1 中化合物 OX-1 的合成方法, 将起始原料中间体-3 替换为化合物 11, 制得化合物 12; 将化合物 10 替换为化合物 12, 制得白色固体 OX-2: (0.18g, 收率 42.8%, 纯度 99.40%)。 ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.95 (s, 1H), 11.02 (s, 1H), 8.70 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.35

(d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.31-7.18 (m, 2H), 7.16-7.04 (m, 2H), 5.11 (dd, $J = 13.3, 5.0$ Hz, 1H), 4.50-4.21 (m, 4H), 3.82 (s, 2H), 3.02-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, $J = 18.0$ Hz, 1H), 2.47-2.31 (m, 1H), 2.07-1.94 (m, 1H)。

HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{23}H_{22}FN_4O_5$ ($M + H$)⁺, 453.1569; 实测值 453.1566。

实施例 3 化合物 **OX-3**: (E)-3-(4-氯苯基)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(羟基亚氨基)丙酰胺的合成:

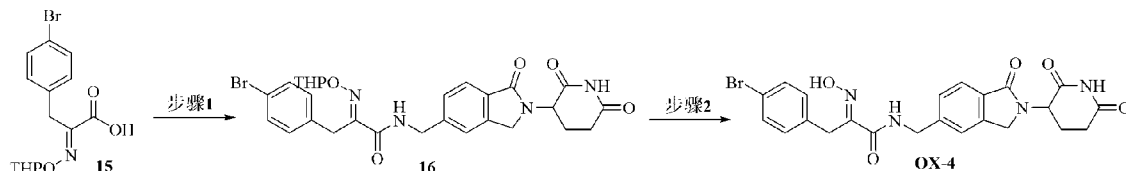


按照中间体-3 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为对氯苯甲醛, 制得化合物 13: (E)-3-(4-氯苯基)-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酸。三步收率共计 49.6%。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{14}H_{15}ClNO_4$ ($M - H$)⁻, 296.0695; 实测值 296.0688。

按照实施例 1 中化合物 OX-1 的合成方法, 将起始原料中间体-3 替换为化合物 13, 制得化合物 14: 将化合物 10 替换为化合物 14, 制得白色固体 OX-3 (0.15g, 收率 35.7%, 纯度 99.02%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 11.99 (s, 1H), 11.02 (s, 1H), 8.71 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.39-7.31 (m, 4H), 7.23 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 5.11 (dd, $J = 13.3, 5.0$ Hz, 1H), 4.50-4.20 (m, 4H), 3.83 (s, 2H), 3.01-2.84 (m, 1H), 2.60 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 2.48-2.29 (m, 1H), 2.06-1.94 (m, 1H)。

HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{23}H_{22}ClN_4O_5$ ($M + H$)⁺, 469.1273; 实测值 469.1268。

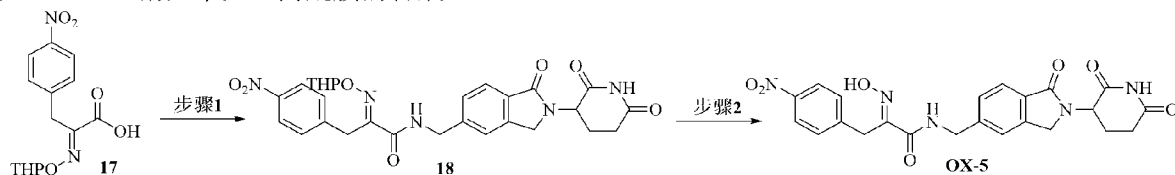
实施例 4 化合物 **OX-4**: (E)-3-(4-溴苯基)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(羟基亚氨基)丙酰胺的合成:



按照中间体-3 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为对溴苯甲醛, 制得化合物 15: (E)-3-(4-溴苯基)-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酸。三步收率共计 40.3%。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{14}H_{15}BrNO_4$ ($M - H$)⁻, 340.0190; 实测值 340.0186。

按照实施例 1 中化合物 OX-1 的合成方法, 将起始原料中间体-3 替换为化合物 15, 制得化合物 16: 将化合物 10 替换为化合物 16, 制得白色固体 OX-4 (0.17g, 收率 39.5%, 纯度 98.97%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 11.97 (s, 1H), 11.00 (s, 1H), 8.68 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.35 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.17 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 5.11 (dd, $J = 13.2, 5.0$ Hz, 1H), 4.50-4.18 (m, 4H), 3.81 (s, 2H), 3.02-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, $J = 17.6$ Hz, 1H), 2.44-2.29 (m, 1H), 2.08-1.93 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{23}H_{22}BrN_4O_5$ ($M + H$)⁺, 513.0768; 实测值 513.0767。

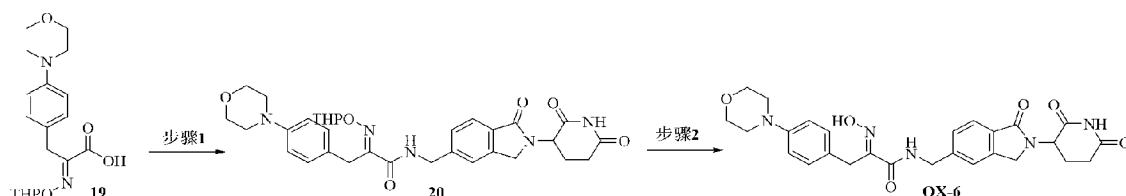
实施例 5 化合物 **OX-5**: (E)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(羟基亚氨基)-3-(4-硝基苯基)丙酰胺的合成:



按照中间体-3 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为对硝基苯甲醛, 制得化合物 17: (E)-3-(4-硝基苯基)-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酸。三步收率共计 51.3%。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{14}H_{15}N_2O_6$ ($M - H$)⁻, 307.0936; 实测值 307.0929。

按照实施例 1 中化合物 OX-1 的合成方法, 将起始原料中间体-3 替换为化合物 17, 制得化合物 18: 将化合物 10 替换为化合物 18, 制得白色固体 OX-5 (0.14g, 收率 32.5%, 纯度 96.83%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 12.12 (s, 1H), 10.99 (s, 1H), 8.74 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.37 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.10 (dd, $J = 13.2, 5.0$ Hz, 1H), 4.51-4.21 (m, 4H), 3.97 (s, 2H), 3.00-2.89 (m, 1H), 2.60 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H), 2.46-2.28 (m, 1H), 2.05-1.95 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{23}H_{22}N_5O_7$ ($M + H$)⁺, 480.1514; 实测值 480.1510。

实施例 6 化合物 **OX-6**: (E)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(羟基亚氨基)-3-(4-吗啉基)丙酰胺的合成:

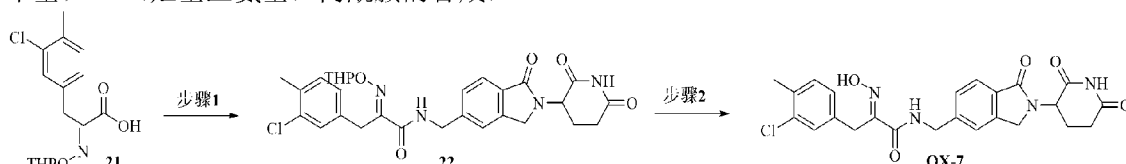


按照中间体-3 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为 4-(4-吗啉)苯甲醛, 制得化合物 19: (E)-3-(4-吗啉苯基)-2-(((4-氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酸。三步收率共计 47.6%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₈H₂₃N₂O₅ (M - H)⁻, 347.1612; 实测值 347.1621。

按照实施例 1 中化合物 OX-1 的合成方法, 将起始原料中间体-3 替换为化合物 19, 制得化合物 20; 化合物 10 替换为化合物 20, 制得白色固体 OX-6 (0.15g, 收率 34.8%, 纯度 95.80%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.79 (s, 1H), 11.00 (s, 1H), 8.62 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.33 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.49-4.20 (m, 4H), 3.77-3.68 (m, 6H), 3.03 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 2.98-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H), 2.45-2.28 (m, 1H), 2.04-1.93 (m, 1H)。

HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₇H₃₀N₅O₆ (M + H)⁺, 520.2191; 实测值 520.2185。

实施例 7 化合物 OX-7: (E)-3-(3-氯-4-甲基苯基)-N-((2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吡啶-5-基)甲基)-2-(羟基亚氨基)丙酰胺的合成:



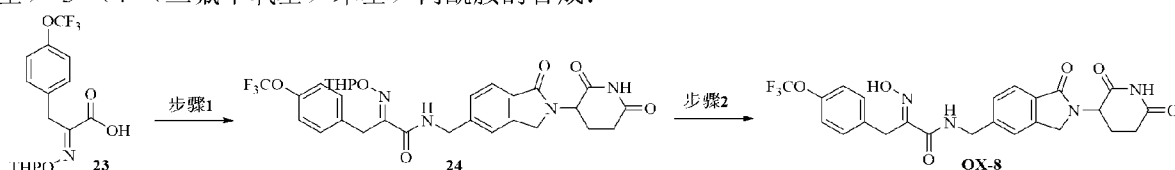
按照中间体-3 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为 3-氯-4-甲基苯甲醛, 制得化合物 21: (E)-3-(3-氯-4-甲基苯基)-2-(((4-氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酸。三步收率共计 49.6%。

HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₅H₁₇ClNO₄ (M - H)⁻, 310.0852; 实测值 310.0847。

按照实施例 1 中化合物 OX-1 的合成方法, 将起始原料中间体-3 替换为化合物 21, 制得化合物 22; 化合物 10 替换为化合物 22, 制得白色固体 OX-7 (0.17g, 收率 37.2%, 纯度 99.05%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.96 (s, 1H), 10.99 (s, 1H), 8.69 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.35 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.24 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.07 (d, *J* = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.49-4.21 (m, 4H), 3.80 (s, 2H), 3.01-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.4 Hz, 1H), 2.47-2.31 (m, 1H), 2.27 (s, 3H), 2.05-1.98 (m, 1H)。

HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₄H₂₄ClN₄O₅ (M + H)⁺, 483.1430; 实测值 483.1426。

实施例 8 化合物 OX-8: (E)-N-((2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吡啶-5-基)甲基)-2-(羟基亚氨基)-3-(4-(三氟甲氧基)苯基)丙酰胺的合成:



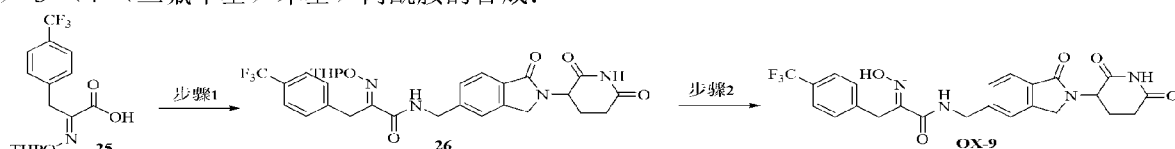
按照中间体-3 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为对三氟甲氧基苯甲醛, 制得化合物 23: (E)-2-(((4-氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)-3-(4-(三氟甲氧基)苯基)丙酸。三步收率共计 51.3%。

HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₅H₁₅F₃NO₅ (M - H)⁻, 346.0908; 实测值 346.0911。

按照实施例 1 中化合物 OX-1 的合成方法, 将起始原料中间体-3 替换为化合物 23, 制得化合物 24; 化合物 10 替换为化合物 24, 制得白色固体 OX-8 (0.11g, 收率 25.6%, 纯度 98.88%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.88 (s, 1H), 11.00 (s, 1H), 8.65 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.34 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.27-7.15 (m, 2H), 7.08-6.90 (m, 2H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.50-4.21 (m, 4H), 3.81 (s, 2H), 3.02-2.84 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 2.48-2.31 (m, 1H), 2.07-1.93 (m, 1H)。

HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₄H₂₂F₃N₄O₆ (M + H)⁺, 519.1486; 实测值 519.1482。

实施例 9 化合物 OX-9: (E)-N-((2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吡啶-5-基)甲基)-2-(羟基亚氨基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酰胺的合成:

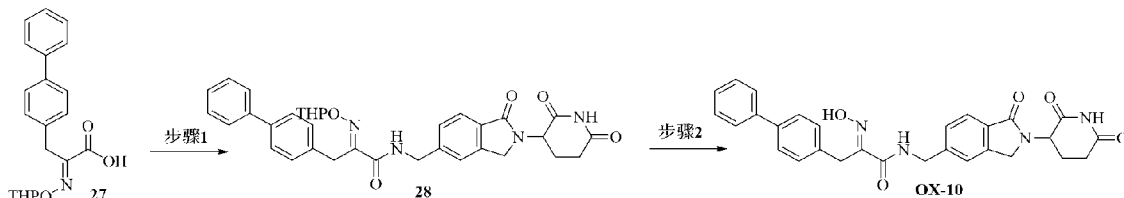


按照中间体-3 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为对三氟甲基苯甲醛, 制得化合物 25: (E)-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸。三步收率共计 45.3%。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₁₅H₁₅F₃NO₄ (M - H)⁻, 330.0959; 实测值 330.0961。

按照实施例 1 中化合物 OX-1 的合成方法, 将起始原料中间体-3 替换为化合物 25, 制得化合物 26; 化合物 10 替换为化合物 26, 制得黄色固体 OX-9 (0.12g, 收率 27.9%, 纯度 98.43%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.95 (s, 1H), 11.05 (s, 1H), 8.67 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.50-7.32 (m, 4H), 7.25-7.13 (m, 2H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.51-4.22 (m, 4H), 3.78 (s, 2H), 2.99-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 2.47-2.32 (m, 1H), 2.08-1.94 (m, 1H)。

HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₄H₂₂F₃N₄O₅ (M + H)⁺, 503.1537; 实测值 503.1532。

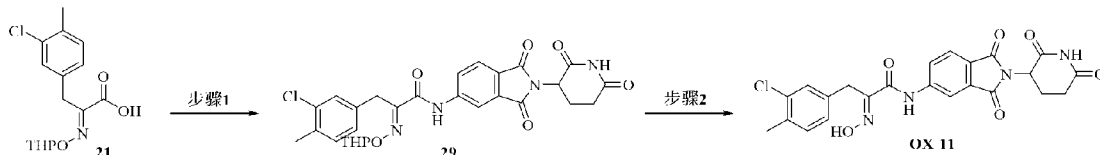
实施例 10 化合物 **OX-10**: (E)-3-([1, 1'-联苯]-4-基)-N-((2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吡啶-5-基)甲基)-2-(羟基亚氨基)丙酰胺 7 的合成:



按照中间体-3 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为对苯基苯甲醛, 制得化合物 27: (E)-3-([1, 1'-联苯]-4-基)-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酸。三步收率共计 43.6%。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₀H₂₀NO₄ (M - H)⁻, 338.1398; 实测值 338.1390。

按照实施例 1 中化合物 OX-1 的合成方法, 将起始原料中间体-3 替换为化合物 27, 制得化合物 28; 化合物 10 替换为化合物 28, 制得淡黄色固体 OX-10 (0.10g, 收率 23.3%, 纯度 97.28%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.90 (s, 1H), 11.05 (s, 1H), 8.70 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.80-7.65 (m, 4H), 7.55-7.38 (m, 4H), 7.33 (s, 1H), 7.25-7.06 (m, 3H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.56-4.23 (m, 4H), 3.83 (s, 2H), 3.00-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.7 Hz, 1H), 2.48-2.32 (m, 1H), 2.07-1.95 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₉H₂₇N₄O₅ (M + H)⁺, 511.1976; 实测值 511.1972。

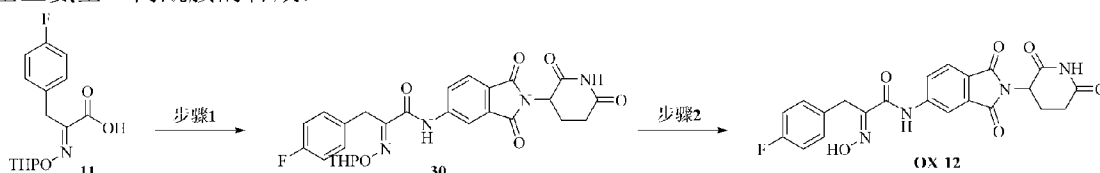
实施例 11 化合物 **OX-11**: (E)-3-(3-氯-4-甲基苯基)-N-((2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)-1, 3-二氧异吡啶-5-基)-2-(羟基亚氨基)丙酰胺的合成:



步骤 1: 将 (E)-3-(3-氯-4-甲基苯基)-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酸 (化合物 21, 1.25g, 4.03mmol) 溶解于 10mL 的 N, N-二甲基甲酰胺中, 依次加入 EDCI (1.05g, 5.49mmol)、HOBT (0.74g, 5.49mmol), 加毕, 室温搅拌 1 小时。加入 5-氨基-2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)异吡啶-1, 3-二酮 (1.0g, 3.66mmol), 室温过夜搅拌。经 TLC 监测反应完全, 将反应液倒入 50mL 水中, 降温析出黄色固体, 抽滤, 滤饼干燥, 将残余物使用硅胶色谱柱 (二氯甲烷: 甲醇=60: 1, v/v) 纯化, 得到黄色固体 29: (E)-3-(3-氯-4-甲基苯基)-N-((2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)-1, 3-二氧代异吡啶-5-基)-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酰胺 (1.07g, 收率 50.2%)。

步骤 2: 化合物 29 (0.20g, 0.35mmol) 溶于 10mL 的盐酸-二氧六环溶液 (4M) 中, 室温搅拌 20 小时。经 TLC 监测反应完全, 反应液真空浓缩并干燥, 将残余物使用硅胶色谱柱 (二氯甲烷: 甲醇=60: 1, v/v) 纯化, 得到黄白色固体 OX-11 (0.13g, 收率 75.0%, 纯度 97.77%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 12.40 (s, 1H), 11.13 (s, 1H), 10.64 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.20-8.11 (m, 1H), 7.89 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.32-7.22 (m, 2H), 7.14 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 5.13 (dd, *J* = 12.9, 5.3 Hz, 1H), 3.90 (s, 2H), 2.98-2.80 (m, 1H), 2.66-2.53 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.11-2.00 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₃H₂₀ClN₄O₆ (M + H)⁺, 483.1066; 实测值 483.1060。

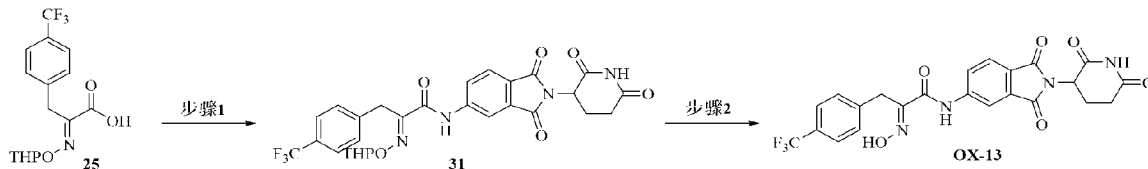
实施例 12 化合物 **OX-12**: (E)-N-((2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)-1, 3-二氧异吡啶-5-基)-3-(4-氟苯基)-2-(羟基亚氨基)丙酰胺的合成:



按照实施例 11 中化合物 OX-11 的合成方法, 将起始原料化合物 21 替换为化合物 11: (E)-3-(4-氟苯基)-2-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)亚氨基)丙酸, 制得化合物 30; 将化合物 29 替换为化合物 30, 制

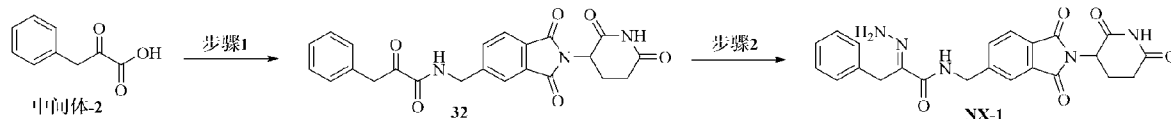
得浅黄色固体 OX-12 (0.10g, 收率 58.8%, 纯度 96.95%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 12.05 (s, 1H), 11.03 (s, 1H), 10.58 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.20-8.09 (m, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.40-7.28 (m, 1H), 7.24-7.08 (m, 3H), 5.13 (dd, *J* = 12.9, 5.3 Hz, 1H), 3.88 (s, 2H), 2.98-2.82 (m, 1H), 2.59 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 2.48-2.32 (m, 1H), 2.09-1.94 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₂H₁₈FN₄O₆ (M + H)⁺, 453.1205; 实测值 453.1200。

实施例 13 化合物 OX-13: (E)-N-((2-(2, 6-二氧哌啶-3-基)-1, 3-二氧异吲哚啉-5-基)-2-(羟基亚氨基))-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酰胺的合成:



按照实施例 11 中化合物 OX-11 的合成方法, 将起始原料化合物 21 替换为化合物 25: (E)-2-(((4-(三氟甲基)苯基)氧基)亚氨基)亚氨基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸, 制得化合物 31; 将化合物 29 替换为化合物 31, 制得浅黄色固体 OX-13 (0.09g, 收率 52.9%, 纯度 97.29%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 12.01 (s, 1H), 10.98 (s, 1H), 10.44 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.15-8.04 (m, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.48-7.32 (m, 1H), 7.23-7.08 (m, 3H), 5.11 (dd, *J* = 12.9, 5.3 Hz, 1H), 3.90 (s, 2H), 3.00-2.82 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.7 Hz, 1H), 2.48-2.32 (m, 1H), 2.10-1.96 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₃H₁₈F₃N₄O₆ (M + H)⁺, 503.1173; 实测值 503.1168。

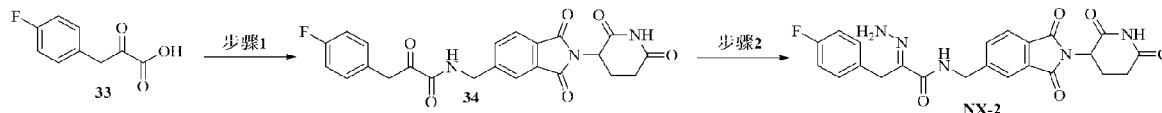
实施例 14 化合物 NX-1: (E)-N-((2-(2, 6-二氧哌啶-3-基)-1, 3-二氧异吲哚啉-5-基)甲基)-2-肼亚基-3-苯基丙酰胺的合成:



步骤 1: 将 2-氧代-3-苯基丙酸 (中间体-2, 1.06g, 6.47mmol) 溶解于 10mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 依次加入 EDCI (1.24g, 6.47mmol)、HOBT (0.87g, 6.47mmol), 加毕, 室温搅拌 1 小时。加入 3-(5-氨基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2, 6-二酮盐酸盐 (1.00g, 3.23mmol), 室温过夜搅拌。经 TLC 监测反应完全, 将反应液倒入 50mL 水中, 使用乙酸乙酯萃取, 合并有机相并依次使用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后真空浓缩, 将残余物使用硅胶色谱柱 (二氯甲烷: 甲醇=65: 1, v/v) 纯化, 得到棕黄色固体 32: N-((2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)-1, 3-二氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-氧代-3-苯基丙酰胺 (0.83g, 收率 59.0%)。

步骤 2: 化合物 32 (0.50g, 1.15mmol) 溶于 10mL 的乙酸溶液中 (50%), 加入 80% 的水合肼 (0.07g, 1.15mmol), 室温搅拌 5h, 经 TLC 监测反应完全, 将反应液倒入 50mL 饱和碳酸氢钠溶液中, 使用乙酸乙酯萃取, 合并有机相并依次使用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后真空浓缩, 将残余物使用硅胶色谱柱 (二氯甲烷: 甲醇=70: 1, v/v) 纯化, 得淡黄色固体 NX-1 (0.15g, 收率 30.0%, 纯度 98.37%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.00 (s, 1H), 8.49 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.38 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.30 (s, 3H), 7.21 (s, 2H), 6.62 (s, 2H), 5.13 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.50-4.25 (m, 4H), 3.81 (s, 2H), 2.99-2.85 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 2.47-2.33 (m, 1H), 2.08-1.94 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₃H₂₄N₅O₄ (M + H)⁺, 434.1823; 实测值 434.1816。

实施例 15 化合物 NX-2: N-((2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)-1, 3-二氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-3-(4-氟苯基)-2-氧代丙酰胺的合成:

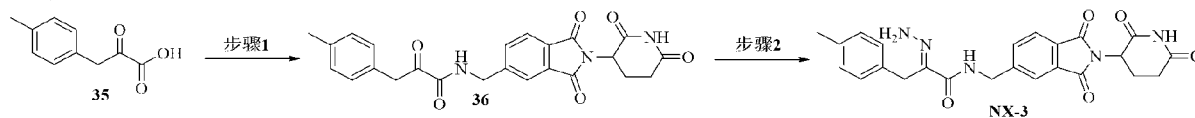


按照中间体-2 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为对氟苯甲醛, 制得化合物 33: 3-(4-氟苯基)-2-氧代丙酸。两步收率共计 68.5%。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₉H₆FO₃ (M - H)⁻, 181.0306; 实测值 181.0306。

按照实施例 14 中化合物 NX-1 的合成方法, 将起始原料中间体-2 替换为化合物 33, 制得化合物 34; 将化合物 32 替换为化合物 34, 制得黄色固体 NX-2 (0.13g, 收率 26.0%, 纯度 99.60%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 10.99 (s, 1H), 8.39 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.38-7.22 (m, 3H), 7.15-7.04 (m, 2H), 6.49 (s, 2H), 5.13 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.50-4.23 (m, 4H), 3.75 (s, 2H), 3.00-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 2.47-2.32 (m, 1H), 2.08-1.94 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₃H₂₃FN₅O₄ (M + H)⁺, 452.1729; 实测值 452.1726。

实施例 16 化合物 NX-3: N-((2-(2, 6-二氧代哌啶-3-基)-1, 3-二氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-氧代-3-

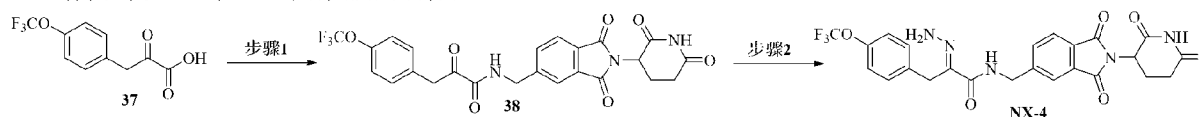
(对甲基苯基)丙酰胺的合成:



按照中间体-2的合成方法,将起始原料苯甲醛替换为对甲基苯甲醛,制得化合物 35: 2-氧代-3-(对甲基苯基)丙酸。两步收率共计 65.3%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₀H₉O₃ (M - H)⁻, 177.0557; 实测值 177.0568。

按照实施例 14 中化合物 NX-1 的合成方法,将起始原料中间体-2 替换为化合物 35,制得化合物 36;将化合物 32 替换为化合物 36,制得棕黄色固体 NX-3 (0.17g, 收率 34.0%, 纯度 97.49%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.05 (s, 1H), 8.45 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.34-7.20 (m, 3H), 7.12-7.02 (m, 2H), 6.45 (s, 2H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.50-4.23 (m, 4H), 3.75 (s, 2H), 3.00-2.85 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 2.47-2.32 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.07-1.92 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₄H₂₆N₅O₄ (M + H)⁺, 448.1980; 实测值 448.1976。

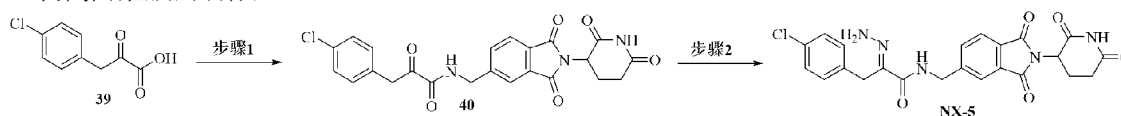
实施例 17 化合物 NX-4: N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-氧代-3-(4-(三氟甲氧基)苯基)丙酰胺的合成:



按照中间体-2的合成方法,将起始原料苯甲醛替换为对三氟甲氧基苯甲醛,制得化合物 37: 2-氧代-3-(4-(三氟甲氧基)苯基)丙酸。两步收率共计 62.3%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₀H₉O₃ (M - H)⁻, 177.0557; 实测值 177.0568。

按照实施例 14 中化合物 NX-1 的合成方法,将起始原料中间体-2 替换为化合物 37,制得化合物 38;将化合物 32 替换为化合物 38,制得黄白色固体 NX-4 (0.11g, 收率 22.0%, 纯度 99.33%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.10 (s, 1H), 8.56 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.35-7.19 (m, 3H), 6.99-6.87 (m, 2H), 6.28 (s, 2H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.46-4.20 (m, 4H), 3.84 (s, 2H), 3.00-2.83 (m, 1H), 2.59 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 2.47-2.30 (m, 1H), 2.09-1.94 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₄H₂₃F₃N₅O₅ (M + H)⁺, 518.1646; 实测值 518.1642。

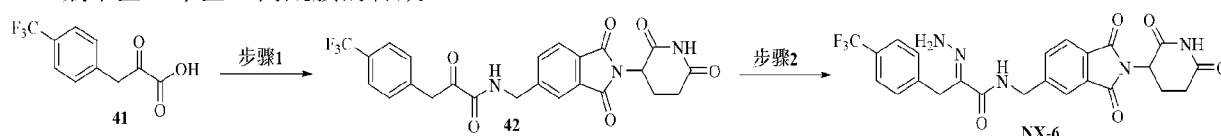
实施例 18 化合物 NX-5: 3-(4-氯苯基)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-氧代丙酰胺的合成:



按照中间体-2的合成方法,将起始原料苯甲醛替换为对氯苯甲醛,制得化合物 39: 3-(4-氯苯基)-2-氧代丙酸。两步收率共计 52.4%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₉H₆ClO₃ (M - H)⁻, 197.0011; 实测值 197.0021。

按照实施例 14 中化合物 NX-1 的合成方法,将起始原料中间体-2 替换为化合物 39,制得化合物 40;将化合物 32 替换为化合物 40,制得黄白色固体 NX-5 (0.14g, 收率 28.0%, 纯度 97.90%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 10.95 (s, 1H), 8.40 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.40-7.29 (m, 3H), 7.22 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 6.33 (s, 2H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.49-4.23 (m, 4H), 3.80 (s, 2H), 3.02-2.84 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.7 Hz, 1H), 2.47-2.33 (m, 1H), 2.07-1.93 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₃H₂₃ClN₅O₄ (M + H)⁺, 468.1433; 实测值 468.1427。

实施例 19 化合物 NX-6: N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-氧代-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酰胺的合成:

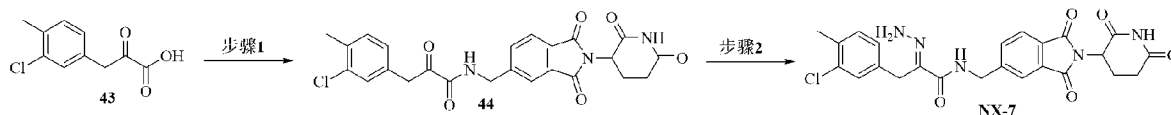


按照中间体-2的合成方法,将起始原料苯甲醛替换为对三氟甲基苯甲醛,制得化合物 41: 2-氧代-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸。两步收率共计 53.6%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₀H₆F₃O₃ (M - H)⁻, 231.0275; 实测值 231.0268。

按照实施例 14 中化合物 NX-1 的合成方法,将起始原料中间体-2 替换为化合物 41,制得化合物 42;将化合物 32 替换为化合物 42,制得浅黄色固体 NX-6 (0.10g, 收率 20.0%, 纯度 97.51%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.01 (s, 1H), 8.49 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.55-7.43 (m, 3H), 7.37-7.29 (m, 2H), 7.19 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.1 Hz, 1H), 4.51-4.25 (m, 4H), 3.85 (s, 2H), 2.98-2.85 (m, 1H), 2.58 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 2.47-2.32 (m, 1H), 2.10-1.94 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值

$C_{24}H_{23}F_3N_5O_4$ ($M + H$)⁺, 502.1697; 实测值 502.1694。

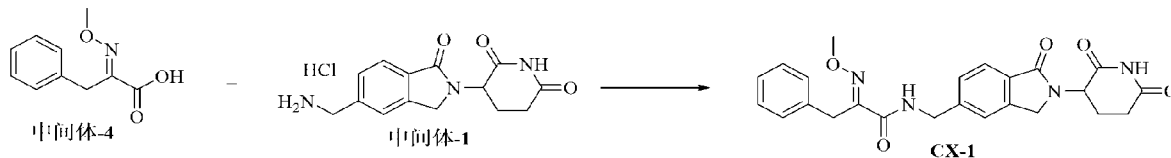
实施例 20 化合物 **NX-7**: 3-(3-氯-4-甲基苯基)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-氧代丙酰胺的合成:



按照中间体-2 的合成方法,将起始原料苯甲醛替换为 3-氯-4-甲基苯甲醛,制得化合物 43: 3-(3-氯-4-甲基苯基)-2-氧代丙酸。两步收率共计 58.2%。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{10}H_8ClO_3$ ($M - H$)⁻, 211.0167; 实测值 211.0159。

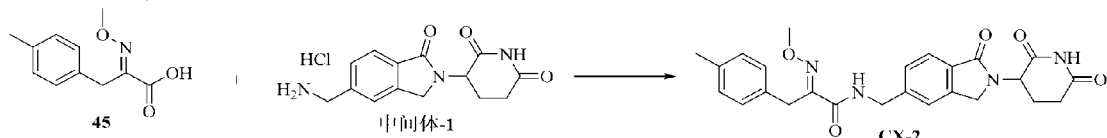
按照实施例 14 中化合物 **NX-1** 的合成方法,将起始原料中间体-2 替换为化合物 43,制得化合物 44;将化合物 32 替换为化合物 44,制得浅黄白色固体 **NX-7** (0.15g, 收率 30.0%, 纯度 97.31%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.02 (s, 1H), 8.37 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.40-7.32 (m, 3H), 7.25 (s, 1H), 7.23 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 5.11 (dd, $J = 13.3, 5.1$ Hz, 1H), 4.51-4.21 (m, 4H), 3.75 (s, 2H), 2.96-2.85 (m, 1H), 2.60 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 2.45-2.31 (m, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.03-1.94 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{24}H_{25}ClN_5O_4$ ($M + H$)⁺, 482.1590; 实测值 482.1578。

实施例 21 化合物 **CX-1**: (E)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(甲氧基氨基)-3-苯基丙酰胺的合成:



将 (E)-2-(甲氧基氨基)-3-苯基丙酸 (中间体-4, 0.31g, 1.62mmol) 溶解于 6mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中,依次加入 EDCI (0.38g, 2.02mmol)、HOBT (0.27g, 2.02mmol), 加毕,室温搅拌 1 小时,加入 3-(5-氨基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮盐酸盐 (中间体-1, 0.25g, 0.81mmol), 室温过夜搅拌。经 TLC 监测反应完全,将反应液倒入 30mL 水中,使用乙酸乙酯萃取,合并有机相并依次使用水和饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥后真空浓缩,将残余物使用硅胶色谱柱 (二氯甲烷: 甲醇=60: 1, v/v) 纯化,得到灰白色固体 **CX-1** (0.08g, 22.2%, 纯度 97.85%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.05 (s, 1H), 9.08 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.35-7.10 (m, 6H), 5.11 (dd, $J = 13.3, 5.0$ Hz, 1H), 4.50-4.23 (m, 4H), 3.98 (s, 3H), 3.85 (s, 2H), 3.00-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 2.46-2.34 (m, 1H), 2.08-1.95 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{24}H_{25}N_4O_5$ ($M + H$)⁺, 449.1820; 实测值 449.1816。

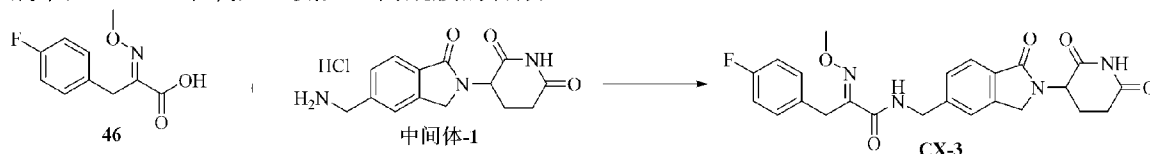
实施例 22 化合物 **CX-2**: (E)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(甲氧基氨基)-3-(对甲苯基)丙酰胺的合成:



按照中间体-2、中间体-4 的合成方法,将起始原料苯甲醛替换为对甲基苯甲醛,制得化合物 45: (E)-2-(甲氧基氨基)-3-(对甲苯基)丙酸。三步收率共计 62.5%。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{11}H_{12}NO_3$ ($M - H$)⁻, 206.0823; 实测值 206.0835。

按照实施例 21 中化合物 **CX-1** 的合成方法,将起始原料中间体-4 替换为化合物 45,制得灰白色固体 **CX-2** (0.11g, 收率 29.7%, 纯度 98.34%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.00 (s, 1H), 8.99 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.35 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.20 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 5.11 (dd, $J = 13.3, 5.0$ Hz, 1H), 4.52-4.25 (m, 4H), 3.95 (s, 3H), 3.82 (s, 2H), 2.99-2.81 (m, 1H), 2.60 (d, $J = 17.7$ Hz, 1H), 2.47-2.31 (m, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.08-1.92 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{25}H_{27}N_4O_5$ ($M + H$)⁺, 463.1976; 实测值 463.1972。

实施例 23 化合物 **CX-3**: (E)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-3-(4-氟苯基)-2-(甲氧基氨基)丙酰胺的合成:

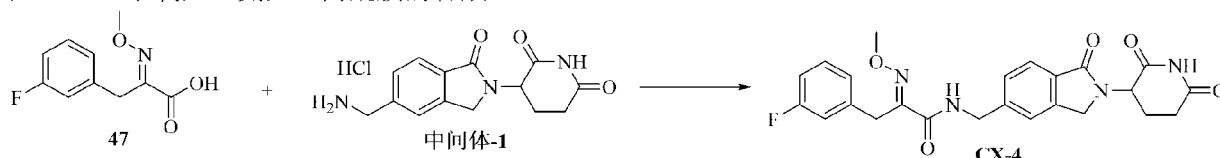


按照中间体-2、中间体-4 的合成方法,将起始原料苯甲醛替换为对氟苯甲醛,制得化合物 46: (E)-3-(4-氟苯基)-2-(甲氧基氨基)丙酸。三步收率共计 65.3%。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{10}H_9FNO_3$ ($M - H$)⁻,

210.0572; 实测值 210.0568。

按照实施例 21 中化合物 **CX-1** 的合成方法, 将起始原料中间体-4 替换为化合物 46, 制得白色固体 **CX-3** (0.13g, 收率 34.4%, 纯度 99.19%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 10.99 (s, 1H), 8.89 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.35-7.25 (m, 3H), 7.05 (t, *J* = 8.9 Hz, 2H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.50-4.25 (m, 4H), 3.97 (s, 3H), 3.78 (s, 2H), 3.00-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 2.47-2.32 (m, 1H), 2.08-1.95 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₄H₂₄FN₄O₅ (M + H)⁺, 467.1725; 实测值 467.1720。

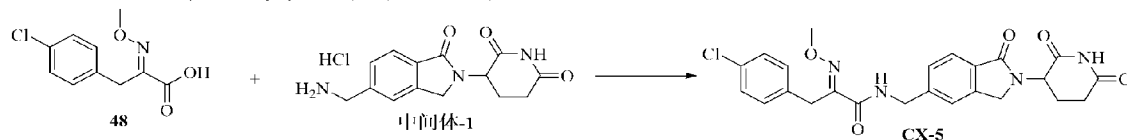
实施例 24 化合物 **CX-4**: (E)-N-((2-(2, 6-二氧化代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-3-(3-氟苯基)-2-(甲氧基亚氨基)丙酰胺的合成:



按照中间体-2、中间体-4 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为 3-氟苯甲醛, 制得化合物 47: (E)-3-(3-氟苯基)-2-(甲氧基亚氨基)丙酸。三步收率共计 55.7%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₀H₉FO₃ (M - H)⁻, 210.0572; 实测值 210.0563。

按照实施例 21 中化合物 **CX-1** 的合成方法, 将起始原料中间体-4 替换为化合物 47, 制得灰白色固体 **CX-4** (0.10g, 收率 26.5%, 纯度 98.62%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.05 (s, 1H), 8.86 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.35-7.26 (m, 2H), 7.15 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.05-6.94 (m, 1H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.45-4.21 (m, 4H), 3.95 (s, 3H), 3.82 (s, 2H), 3.02-2.85 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 2.47-2.32 (m, 1H), 2.10-1.95 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₄H₂₄FN₄O₅ (M + H)⁺, 467.1725; 实测值 467.1718。

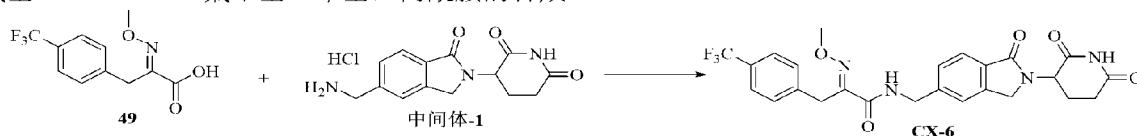
实施例 25 化合物 **CX-5**: (E)-3-(4-氯苯基)-N-((2-(2, 6-二氧化代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(甲氧基亚氨基)丙酰胺的合成:



按照中间体-2、中间体-4 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为对氯苯甲醛, 制得化合物 48: (E)-3-(4-氯苯基)-2-(甲氧基亚氨基)丙酸。三步收率共计 59.6%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₀H₉ClNO₃ (M - H)⁻, 226.0276; 实测值 226.0268。

按照实施例 21 中化合物 **CX-1** 的合成方法, 将起始原料中间体-4 替换为化合物 48, 制得白色固体 **CX-5** (0.10g, 收率 25.6%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 10.90 (s, 1H), 9.05 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.36-7.28 (m, 3H), 7.16 (t, *J* = 8.9 Hz, 2H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.52-4.28 (m, 4H), 3.95 (s, 3H), 3.79 (s, 2H), 2.97-2.82 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 2.47-2.32 (m, 1H), 2.08-1.96 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₄H₂₄ClN₄O₅ (M + H)⁺, 483.1430; 实测值 483.1428。

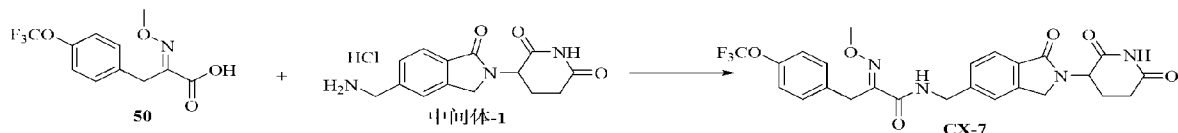
实施例 26 化合物 **CX-6**: (E)-N-((2-(2, 6-二氧化代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(甲氧基亚氨基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酰胺的合成:



按照中间体-2、中间体-4 的合成方法, 将起始原料苯甲醛替换为对三氟甲基苯甲醛, 制得化合物 49: (E)-2-(甲氧基亚氨基)-3-(4-(三氟甲基)苯基)丙酸。三步收率共计 61.3%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₁H₉F₃NO₃ (M - H)⁻, 260.0540; 实测值 260.0537。

按照实施例 21 中化合物 **CX-1** 的合成方法, 将起始原料中间体-4 替换为化合物 49, 制得灰色固体 **CX-6** (0.09g, 收率 21.4%, 纯度 98.42%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.00 (s, 1H), 8.94 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.52-7.44 (m, 3H), 7.33-7.21 (m, 3H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.50-4.25 (m, 4H), 3.99 (s, 3H), 3.75 (s, 2H), 2.98-2.83 (m, 1H), 2.61 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 2.48-2.33 (m, 1H), 2.10-1.96 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₅H₂₄F₃N₄O₅ (M + H)⁺, 517.1694; 实测值 517.1691。

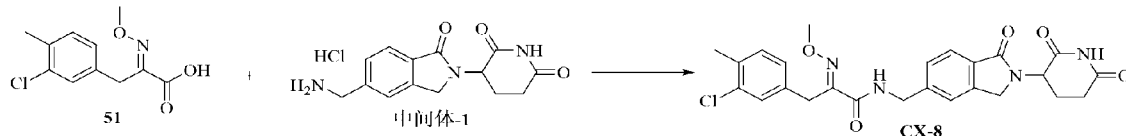
实施例 27 化合物 **CX-7**: (E)-N-((2-(2, 6-二氧化代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(甲氧基亚氨基)-3-(4-(三氟甲氧基)苯基)丙酰胺的合成:



按照中间体-2、中间体-4 的合成方法，将起始原料苯甲醛替换为对三氟甲氧基苯甲醛，制得化合物 50：(E)-2-(甲氧基亚氨基)-3-(4-(三氟甲氧基)苯基)丙酸。三步收率共计 62.5%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₁H₉F₃NO₄ (M - H)⁻, 276.0489; 实测值 276.0475。

按照实施例 21 中化合物 CX-1 的合成方法，将起始原料中间体-4 替换为化合物 50，制得灰白色固体 CX-7 (0.08g, 收率 18.6%, 纯度 98.66%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.00 (s, 1H), 8.94 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.34 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.21 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.46-4.24 (m, 4H), 3.98 (s, 3H), 3.78 (s, 2H), 3.01-2.83 (m, 1H), 2.60 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 2.47-2.32 (m, 1H), 2.07-1.96 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₅H₂₄F₃N₄O₆ (M + H)⁺, 533.1643; 实测值 533.1636。

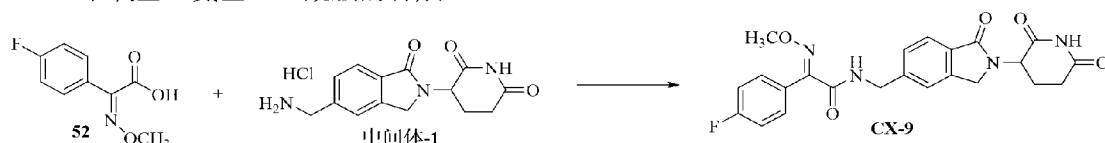
实施例 28 化合物 CX-8: (E)-3-(3-氯-4-甲基苯基)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(甲氧基亚氨基)丙酰胺的合成:



按照中间体-2、中间体-4 的合成方法，将起始原料苯甲醛替换为 3-氯-4-甲基苯甲醛，制得化合物 51: (E)-3-(3-氯-4-甲基苯基)-2-(甲氧基亚氨基)丙酸。三步收率共计 65.6%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₁₁H₁₁ClNO₃ (M - H)⁻, 240.0433; 实测值 240.0438。

按照实施例 21 中化合物 CX-1 的合成方法，将起始原料中间体-4 替换为化合物 51，制得白色固体 CX-8 (0.13g, 收率 32.5%, 纯度 99.92%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.00 (s, 1H), 8.86 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.35 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.05 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 5.11 (dd, *J* = 13.3, 5.0 Hz, 1H), 4.52-4.21 (m, 4H), 3.98 (s, 3H), 3.80 (s, 2H), 3.00-2.81 (m, 1H), 2.61 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 2.45-2.34 (m, 1H), 2.27 (s, 3H), 2.08-1.92 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₅H₂₆ClN₄O₅ (M + H)⁺, 497.1586; 实测值 497.1582。

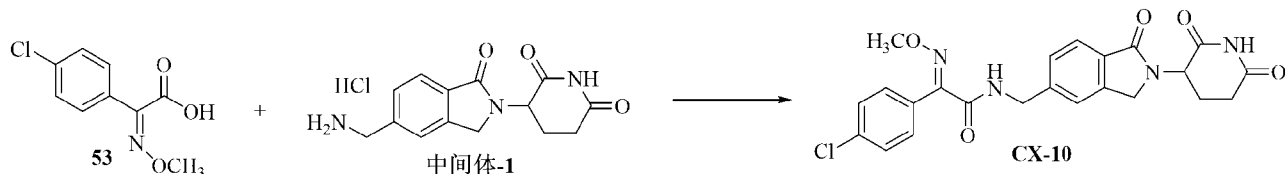
实施例 29 化合物 CX-9: (E)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(4-氟苯基)-2-(甲氧基亚氨基)乙酰胺的合成:



按照中间体-4 的合成方法，将起始原料中间体-2 替换为 2-(4-氟苯基)-2-氧代乙酸，制得化合物 52: (Z)-2-(4-氟苯基)-2-(甲氧基亚氨基)乙酸，收率 78.3%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₉H₇FNO₃ (M - H)⁻, 196.0415; 实测值 196.0425。

按照实施例 21 中化合物 CX-1 的合成方法，将起始原料中间体-4 替换为化合物 52，制得黄白色固体 CX-9 (0.09g, 收率 25.0%, 纯度 96.88%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.01 (s, 1H), 9.34 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.65-7.54 (m, 3H), 7.50 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.30 (t, *J* = 8.9 Hz, 2H), 5.13 (dd, *J* = 13.2, 5.1 Hz, 1H), 4.63-4.26 (m, 4H), 3.96 (s, 3H), 3.00-2.85 (m, 1H), 2.61 (d, *J* = 17.4 Hz, 1H), 2.45-2.33 (m, 1H), 2.07-1.97 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 C₂₃H₂₂FN₄O₅ (M + H)⁺, 453.1569; 实测值 453.1568。

实施例 30 化合物 CX-10: (E)-2-(4-氯苯基)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(甲氧基亚氨基)乙酰胺的合成:

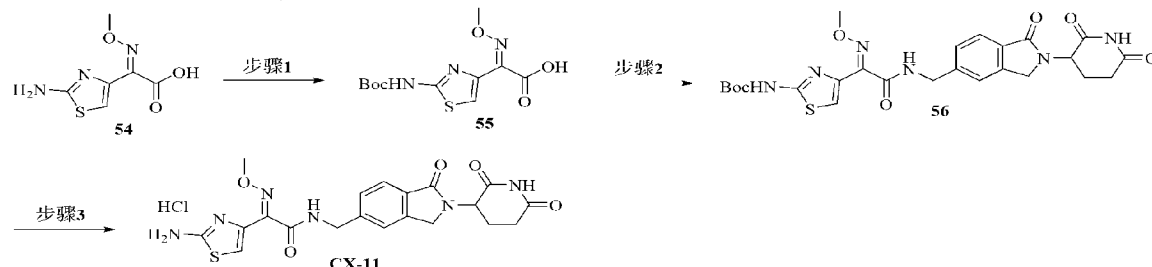


按照中间体-4 的合成方法，将起始原料中间体-2 替换为 2-(4-氟苯基)-2-氧代乙酸，制得化合物 53: (Z)-2-(4-氯苯基)-2-(甲氧基亚氨基)乙酸，收率 75.6%。HRMS (ESI⁻): 计算值 C₉H₇ClNO₃ (M - H)⁻, 212.0120; 实测值 212.0131。

按照实施例 21 中化合物 CX-1 的合成方法，将起始原料中间体-4 替换为化合物 53，制得浅黄色固体 CX-10 (0.10g, 收率 26.3%, 纯度 98.12%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.05 (s, 1H), 9.25 (t, *J* =

6.1 Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.66-7.54 (m, 3H), 7.48 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.25 (t, $J = 8.9$ Hz, 2H), 5.11 (dd, $J = 13.2, 5.1$ Hz, 1H), 4.55-4.26 (m, 4H), 3.90 (s, 3H), 2.98-2.82 (m, 1H), 2.60 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 2.47-2.33 (m, 1H), 2.08-1.99 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{23}H_{22}ClN_4O_5$ (M + H)⁺, 469.1273; 实测值 469.1269。

实施例 31 化合物 **CX-11**: (E)-2-(2-氨基噻唑-4-基)-N-((2-(2,6-二氧嘧啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)-2-(甲氧基氨基)乙酰胺盐酸盐的合成:



步骤 1: 将 (E)-2-(2-氨基噻唑-4-基)-2-(甲氧基氨基)乙酸 (化合物 54, 0.5g, 2.48mmol) 溶于 4mL 的 N,N-二甲基甲酰胺和 10mL 的四氢呋喃的混合溶剂中, 冰浴下滴加 4mL 的二(三甲基硅基)氨基钠的四氢呋喃溶液 (2M), 滴毕, 冰浴条件下搅拌 1h, 0℃条件下滴加二碳酸二叔丁酯 (0.58g, 2.68mmol), 滴毕, 室温条件下搅拌 2h。经 TLC 监测反应完全, 将反应液真空浓缩, 残余物倒入 20mL 水中, 用稀盐酸 (3M) 调节 PH 值至 3-4, 析出黄白色固体, 静置使其完全析出, 抽滤, 滤饼干燥得浅黄色固体 55: (E)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)噻唑-4-基)-2-(甲氧基氨基)乙酸 (0.26g, 收率 34.6%)。

步骤 2: 将 3-(5-氨基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)嘧啶-2,6-二酮盐酸盐 (中间体-1, 0.15g, 0.49mmol) 溶解于 6mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 依次加入化合物 55 (0.15g, 0.49mmol)、HATU (0.28g, 0.74mmol), 加毕, 室温搅拌 1 小时。加入 DIPEA (0.19g, 1.47mmol), 室温过夜搅拌。经 TLC 监测反应完全, 将反应液倒入 30mL 冰水中, 析出棕色固体, 静置使其完全析出, 抽滤, 将滤饼使用硅胶色谱柱 (二氯甲烷: 甲醇 = 50: 1, v/v) 纯化得棕黄色固体 56: (E)-((4-(2-((2-(2,6-二氧代嘧啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)氨基)-1-(甲氧基氨基)-2-氧代乙基)噻唑-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (0.11g, 收率 40.7%)。

步骤 3: 将化合物 56 (0.11g, 0.19mmol) 溶于 30mL 的盐酸-二氧六环溶液 (4M) 中, 室温搅拌 3 小时。经 TLC 监测反应完全, 抽滤, 滤饼真空干燥得到淡黄色固体 CX-11 (0.04g, 收率 45.9%, 纯度 98.87%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.01 (s, 1H), 9.08 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.74 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.49 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.26 (s, 2H), 5.13 (dd, $J = 13.3, 5.0$ Hz, 1H), 4.53-4.28 (m, 4H), 3.99 (s, 3H), 3.01-2.85 (m, 1H), 2.60 (d, $J = 19.1$ Hz, 1H), 2.45-2.30 (m, 1H), 2.07-1.96 (m, 1H)。HRMS (ESI⁺): 计算值 $C_{20}H_{21}N_6O_5S$ (M + H)⁺, 457.1289; 实测值 457.1278。

生物测试例 1: 对 KG-1 细胞中的 GSPT1 降解作用的研究。

KG-1 细胞 (ATCC) 在 IMDM (含 20% 的 FBS) 的培养基中生长, 离心计数后调整细胞浓度以 10^6 个细胞/孔铺板于 6 孔板, 每孔 1350 微升。加入 150 微升 DMSO 和本发明待测化合物, 化合物浓度为 200nM, 置于 5%CO₂, 37℃培养箱培养 4 小时。将细胞离心弃去培养液, 加入 PBS 清洗后弃去。用含有蛋白酶抑制剂混合液 (100×, 弗德生物)、蛋白磷酸酶抑制剂混合液 (100×, 弗德生物)、超级核酸酶 (碧云天) 和高强度 RIPA 裂解液 (赛默飞) 制备全细胞裂解物, 置于冰上 30 分钟。离心弃去细胞碎片沉淀, 收集上清全细胞溶解产物并将其转移至新的离心管中。进行 BCA 蛋白测定后使用 5X loading buffer (赛默飞) 配制样品。将样品在 4-20% 的预制胶 (SDS-PAGE 凝胶) 中进行电泳分离蛋白, 再转至 PVDF 膜后用 5% 的 NFD/MBST 进行室温封闭 1 小时, 一抗 4℃孵育过夜, 次日二抗室温 2 小时孵育。使用 MINICHEMITM 成像系统检测信号。

对照组为空白溶剂组。

以下是本测试例所用抗体:

一抗:

Anti-GSPT1: Abcam ab234433

Anti-IKZF1: Cell signaling technology (CST) 5443S

Anti-IKZF3: Cell signaling technology (CST) 15103S

Anti-beta Actin: 弗德生物 FD0060

二抗:

anti-rabbit peroxidase-linked secondary antibody: 弗德生物 FDG007

化合物对 GSPT1 蛋白降解效果如表 1 所示, 其中 A 表示 GSPT1 蛋白降解百分数不小于 80%, B 表示降解百分数小于 80%但不小于 50%, C 表示降解百分数小于 50%但不小于 25%, D 表示降解百分数小于 25%。

表 1 化合物对 GSPT1 蛋白的降解

化合物	GSPT1 降解	化合物	GSPT1 降解
OX-1	B	NX-4	B
OX-2	B	NX-5	C
OX-3	B	NX-6	B
OX-4	B	NX-7	A
OX-5	D	CX-1	C
OX-6	C	CX-2	B
OX-7	A	CX-3	B
OX-8	A	CX-4	B
OX-9	B	CX-5	B
OX-10	B	CX-6	A
OX-11	D	CX-7	A
OX-12	C	CX-8	A
OX-13	C	CX-9	C
NX-1	B	CX-10	C
NX-2	B	CX-11	C
NX-3	C	CC-90009	B

从表中可以看出，与临床药物 CC-90009 相比，本发明各系列化合物中的优势化合物的降解效果优于临床药物，其他大部分化合物都与临床药物降解效果相持。可见，𧀵类化合物 OX、NX、CX 系列对 GSPT1 蛋白的降解效果都能够有明显提高。

本发明以化合物 OX-7 为例，提供了其对 AML 细胞中的 GSPT1 降解作用呈现浓度依赖和时间依赖的图谱，见图 1、图 2。其中，图 1A 为化合物 OX-7 与临床药物 CC-90009 在 KG-1 细胞中对 GSPT1 的降解作用。图 1B 为化合物 OX-7 与临床药物 CC-90009 在 MOLM-13 细胞中对 GSPT1 的降解作用。

从图中可以看出，本发明化合物 OX-7 对 KG-1、MOLM-13 细胞中的 GSPT1 降解作用呈现浓度依赖与时间依赖，效果较 CC-90009 更加显著。

生物测试例 2：本发明化合物抗 KG-1 细胞增殖活性。

将对数生长期的 KG-1 细胞用培养基(RPMI+10%的 FBS)稀释，以 5000 个细胞/孔铺板于 96 孔板铺板，置于 5%CO₂，37℃培养箱培养 24 小时。将本发明待测化合物用 DMSO 配置成 10mM 母液，用培养基稀释设置 9 个浓度梯度，每个浓度 3 个复孔，加药后置于 5%CO₂，37℃培养箱培养 72 小时。使用 CCK8 法检测细胞增殖情况。用酶标法测定化合物对细胞的生长抑制 IC₅₀ 值。用 GraphPad Prism 7 软件计算 IC₅₀ 值。

化合物抗 KG-1 细胞增殖活性如表 2 所示，其中 A 表示 IC₅₀<1nM，B 表示 1≤IC₅₀<10nM，C 表示 10nM≤IC₅₀<100nM，D 表示 100nM≤IC₅₀<1000nM，E 表示 IC₅₀≥1000nM。

表 2 化合物抗 KG-1 细胞增殖活性

化合物	IC ₅₀	化合物	IC ₅₀
OX-1	C	NX-4	D
OX-2	C	NX-5	E
OX-3	C	NX-6	C
OX-4	C	NX-7	B
OX-5	E	CX-1	E
OX-6	D	CX-2	D
OX-7	B	CX-3	D
OX-8	C	CX-4	C
OX-9	C	CX-5	C
OX-10	C	CX-6	C
OX-11	D	CX-7	B
OX-12	D	CX-8	B
OX-13	D	CX-9	D
NX-1	E	CX-10	D
NX-2	C	CX-11	D
NX-3	E	CC-90009	C

从表中各系列化合物的抗增殖活性可以看出，本发明化合物 OX、NX、CX 系列对 KG-1 细胞的抗增殖抑制活性明显提高，优于临床药物 CC-90009。其中，各系列优势化合物如 OX-7、NX-7、CX-7、CX-8 抗增

殖抑制活性优异，IC₅₀ 处于 1-10nM。

生物测试例 3：本发明化合物对多种肿瘤细胞具有抗增殖活性。

将对数生长期的 U937、MOLM-13、MV4-11 细胞（ATCC）分别用培养基稀释，以 5000 个细胞/孔铺板于 96 孔板铺板，置于 5%CO₂，37℃培养箱培养 24 小时。将化合物用 DMSO 配置成 10mM 母液，用培养基稀释设置 9 个浓度梯度，每个浓度 3 个复孔，加药后置于 5%CO₂，37℃培养箱培养 72 小时。使用 CCK8 法检测细胞增殖情况。用酶标法测定化合物对细胞的生长抑制 IC₅₀ 值。用 GraphPad Prism 7 软件计算 IC₅₀ 值。

化合物抗肿瘤细胞增殖活性如表 3 所示，其中 A 表示 IC₅₀<1nM，B 表示 1≤IC₅₀<10nM，C 表示 10nM≤IC₅₀<100nM，D 表示 100nM≤IC₅₀<1000nM，E 表示 IC₅₀≥1000nM。

表 3 化合物抗肿瘤细胞增殖活性

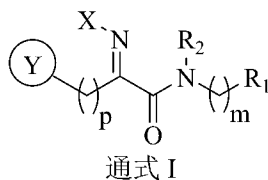
化合物	U937	MOLM-13	MV4-11
OX-2	C	B	C
OX-7	B	B	B
NX-2	D	C	C
NX-7	C	C	C
CX-7	B	D	C
CX-8	B	C	B
CC-90009	C	D	C

从表中可以看出，与临床药物 CC-90009 相比，本发明各系列化合物中优势化合物的抗增殖抑制活性优于 CC-90009，其他化合物也与 CC-90009 相持。因此，可见本发明的胍类化合物 OX、NX、CX 系列对多种 AML 细胞的抗增殖抑制活性显著提高。

如上所述，尽管参照特定的优选实施例已经表示和表述了本发明，但其不得解释为对本发明自身的限制。在不脱离所附权利要求定义的本发明的精神和范围前提下，可对其在形式上和细节上作出各种变化。

权利要求书

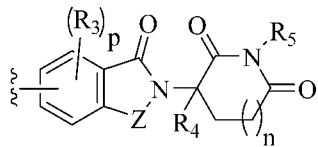
1. 一种通式 I 所示的化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体：



其中：

X 选自 -OH、-NH₂、-OCH₃ 或 -NHCOCH₃；

环 Y 选自 C₆-C₁₂ 芳基、5-10 元杂芳基、C₃-C₈ 环烷基或 3-10 元杂环基，所述芳基、杂芳基、环烷基和杂环基未被取代或任选地被 1-3 个 R_a 取代；

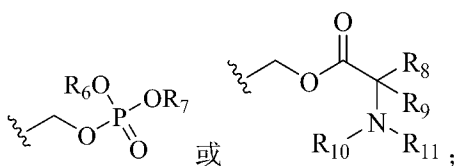


R₁ 选自

R₂ 选自氢、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、卤素、氰基、硝基、-C(O)NR_aR_b、-C(O)R_a、-C(O)OR_a、-OR_a、-OC(O)R_a、-OC(O)OR_a、-OC(O)NR_aR_b、-NR_aR_b、-SR_a、-S(O)R_a、-S(O)₂R_a 或含有 0-3 个杂原子的 3-10 元环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基未被取代或任选地被 1-3 个 R_a 取代；

每个 R₃ 分别独立地选自氢、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、卤素、氰基、硝基、-C(O)NR_aR_b、-C(O)R_a、-C(O)OR_a、-OR_a、-OC(O)R_a、-OC(O)OR_a、-OC(O)NR_aR_b、-NR_aR_b、-SR_a、-S(O)R_a、-S(O)₂R_a 或含有 0-3 个杂原子的 3-10 元环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基未被取代或任选地被 1-3 个 R_a 取代；

R₄ 选自氢、氘、卤素或 C₁-C₆ 烷基；



R₅ 选自氢、氘、C₁-C₁₂ 烷基、

Z 选自 -CH₂-、-CD₂-、-C(O)-或 -C(S)-；

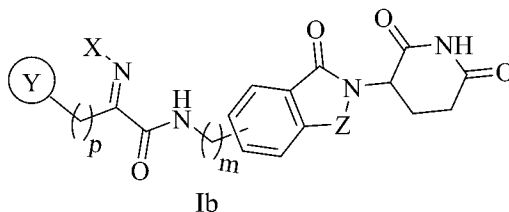
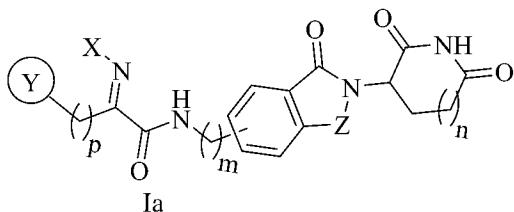
R₆、R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁ 分别独立地选自氢、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、卤素、氰基、硝基、-C(O)NR_aR_b、-C(O)R_a、-C(O)OR_a、-OR_a、-OC(O)R_a、-OC(O)OR_a、-OC(O)NR_aR_b、-NR_aR_b、-SR_a、-S(O)R_a、-S(O)₂R_a 或含有 0-3 个杂原子的 3-10 元环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基未被取代或任选地被 1-3 个 R_a 取代；

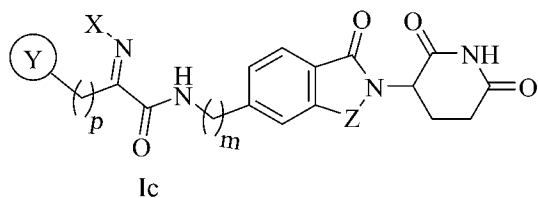
每个 R_a、R_b 分别独立地选自氢、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、卤素、羟基、氰基、硝基、苄基、-C(O)NR_cR_d、-C(O)R_c、-C(O)OR_c、-OR_c、-OC(O)R_c、-OC(O)OR_c、-OC(O)NR_cR_d、-NR_cR_d、-SR_c、-S(O)R_c、-S(O)₂R_c 或含有 0-3 个杂原子的 3-10 元环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，所述烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基或苄基未被取代或任选地被 1-3 个 R_c 取代；

每个 R_c、R_d 分别独立地选自氢、卤素、羰基、羟基、氰基、硝基、苯基、苄基、C₁-C₆ 烷基、卤代 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、卤代 C₁-C₆ 烷氧基、C₃-C₆ 环烷基或卤代 C₃-C₆ 环烷基；

m、n、p 分别独立地选自 0、1、2 或 3。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物，其具有式 Ia、式 Ib 或式 Ic 的结构：





其中, X、Y、Z、m、n、p 如通式 I 中所定义。

- 3. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物，其特征在于：**

X 选自 -OH、-NH₂ 或 -OCH₃。

- 4. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于：**

R₂选自氢、C₁-C₆烷基、卤代C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、卤素、氰基、硝基、-C(O)NR_aR_b、-C(O)R_a、-C(O)OR_a、-OR_a、-OC(O)R_a、-OC(O)OR_a、-OC(O)NR_aR_b、-NR_aR_b、-SR_a、-S(O)R_a、-S(O)₂R_a;

R_a 、 R_b 分别独立地选自氢、 C_1 - C_6 烷基或 $-C(O)R_c$;

R₆选自氢、卤素、C₁-C₆烷基、卤代C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、卤代C₁-C₆烷氧基或C₃-C₆环烷基;

环 Y 选自 C₆-C₁₂ 芳基或 5-10 元杂芳基。

5. 根据权利要求4所述的化合物, 其特征在于:

R₃选自氢、C₁-C₆烷基、卤代C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、卤素、氰基或硝基；

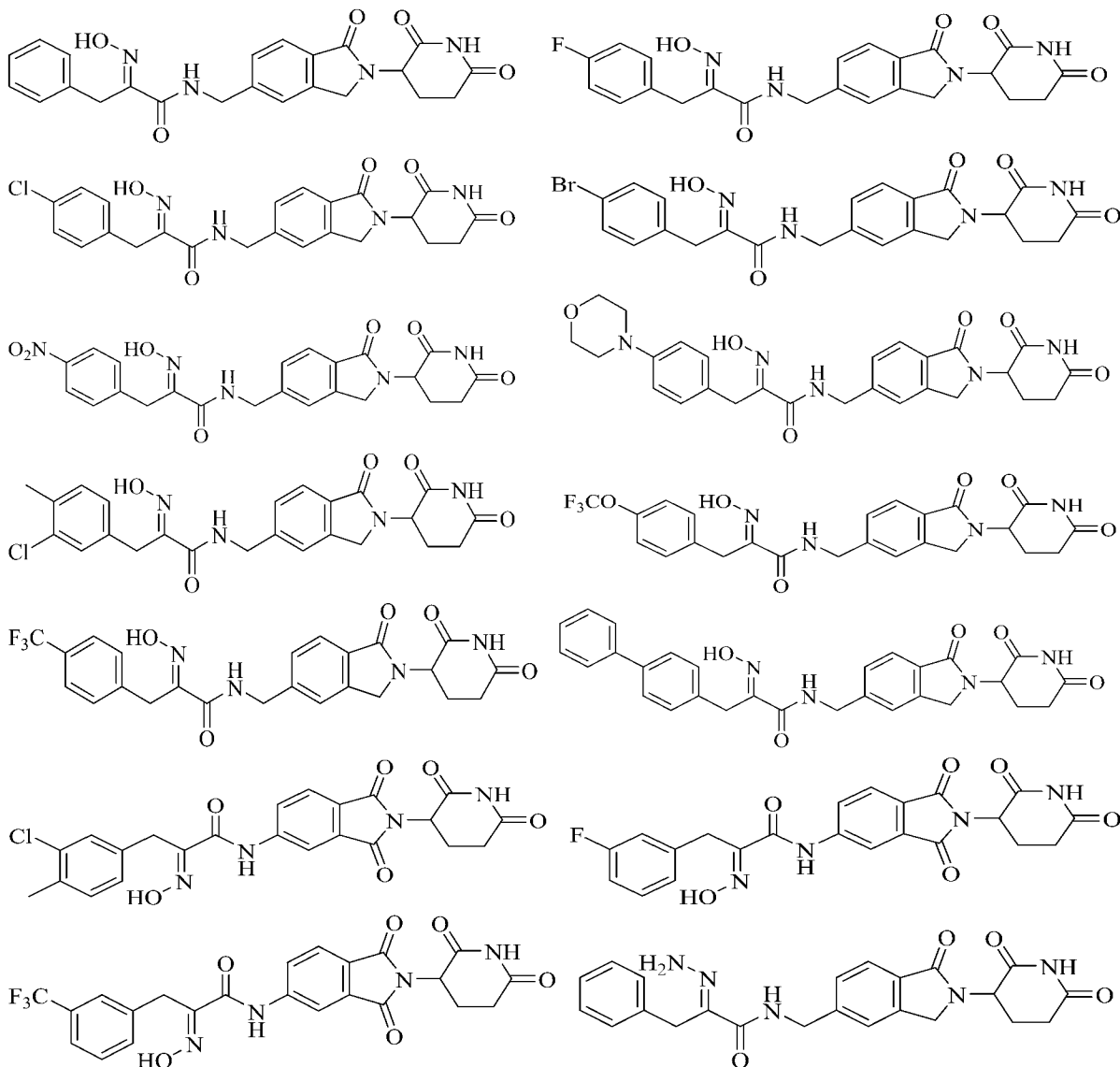
R₄选自氢、氘、卤素或C₁-C₆烷基;

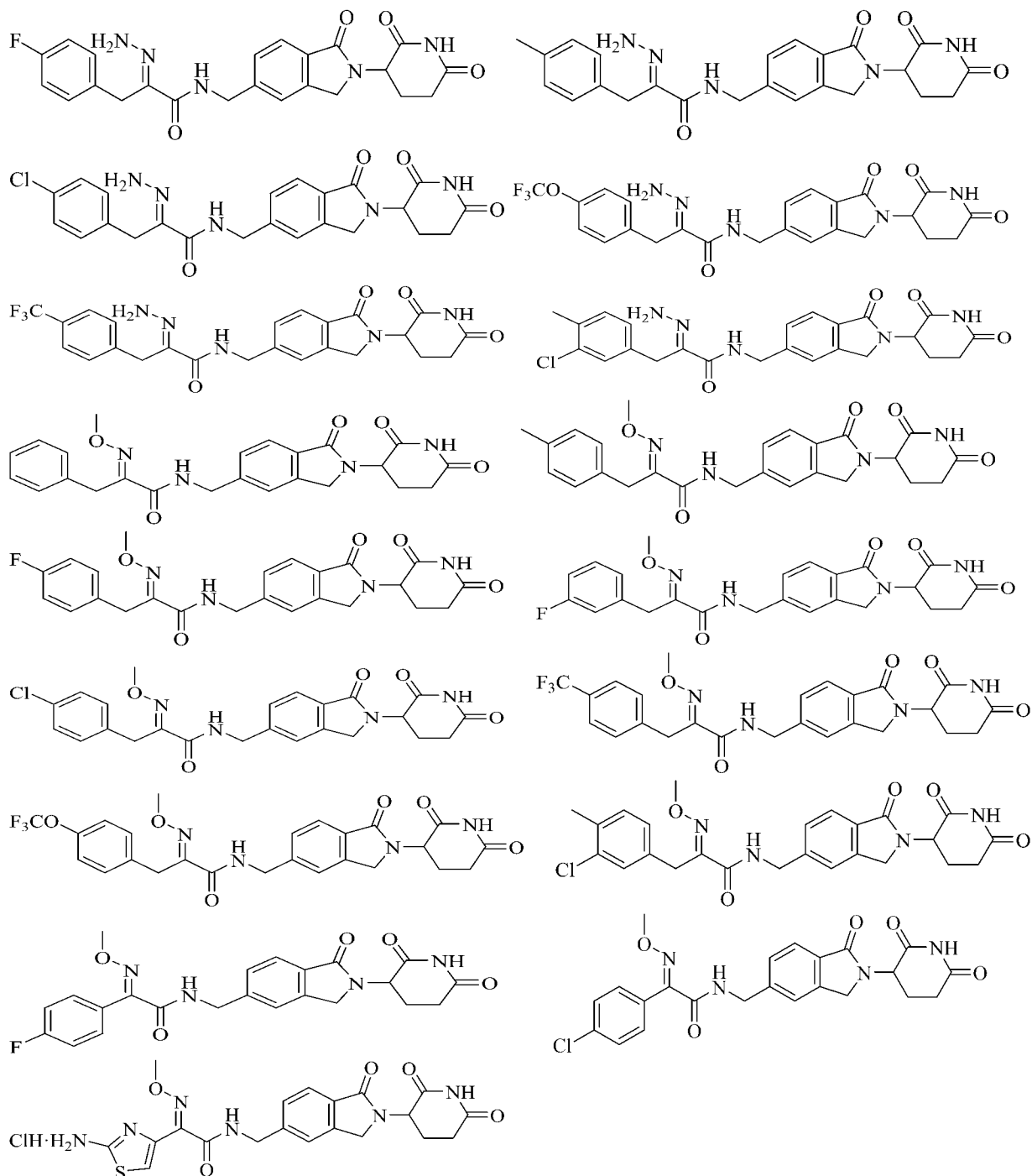
R₅选自氢、氘或C₁-C₁₂烷基;

m, n 分别独立地选自 $1;$

p 选自 0 或 1。

6. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于选自:





7. 一种药物组合物，其特征在于，包含治疗有效量的权利要求 1-5 任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体，以及药学上可接受的载体或赋形剂。

8. 权利要求 1-6 任一项所述的化合物在制备用于治疗或预防由 GSPT1、IKZF1、IKZF2、IKZF3、CK1 α 、N-MYC 或 C-MYC 蛋白突变、表达失衡、变构与功能异常相关疾病的药物中的用途。

9. 根据权利要求 8 所述的用途，其特征在于，所述相关疾病为癌症、病毒感染、衰老、免疫性疾病、神经性疾病；其中，所述癌症选自急性髓白血病、肝癌、急性淋巴细胞白血病、膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、宫颈癌、绒毛膜癌、慢性淋巴细胞性白血病 CLL、慢性粒细胞白血病 CML、结肠癌、食道癌、胆囊癌、胃癌、胃肠道间质瘤、头颈癌、霍奇金淋巴瘤、喉癌、白血病、肺癌、黑色素瘤、间皮瘤、多发性骨髓瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、直肠癌、肾癌、肉瘤、皮肤癌、小细胞肺癌、睾丸癌、咽喉癌、甲状腺癌或子宫癌。

10. 权利要求 1-6 任一项所述的化合物在制备 GSPT1 降解剂中的用途。

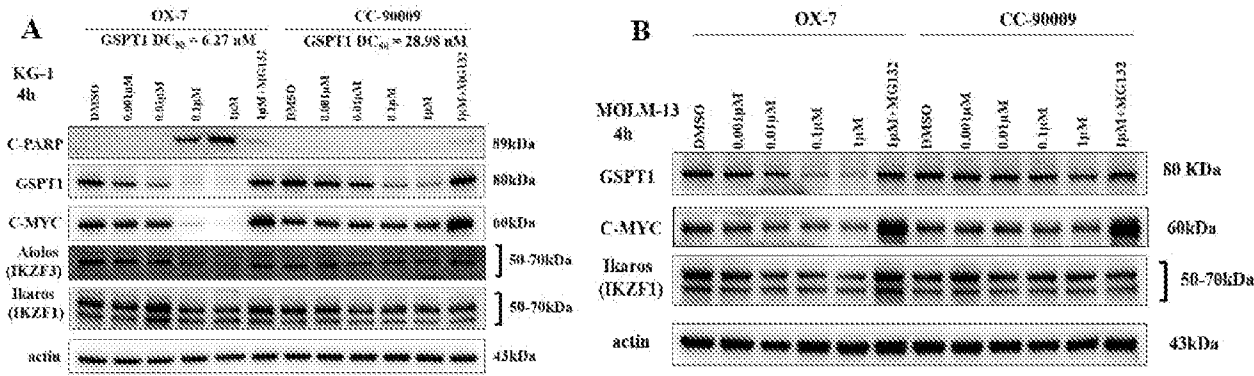


图 1

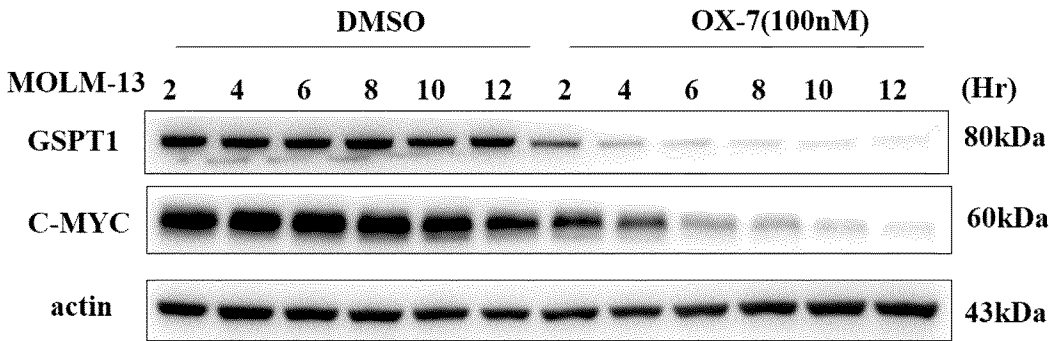


图 2

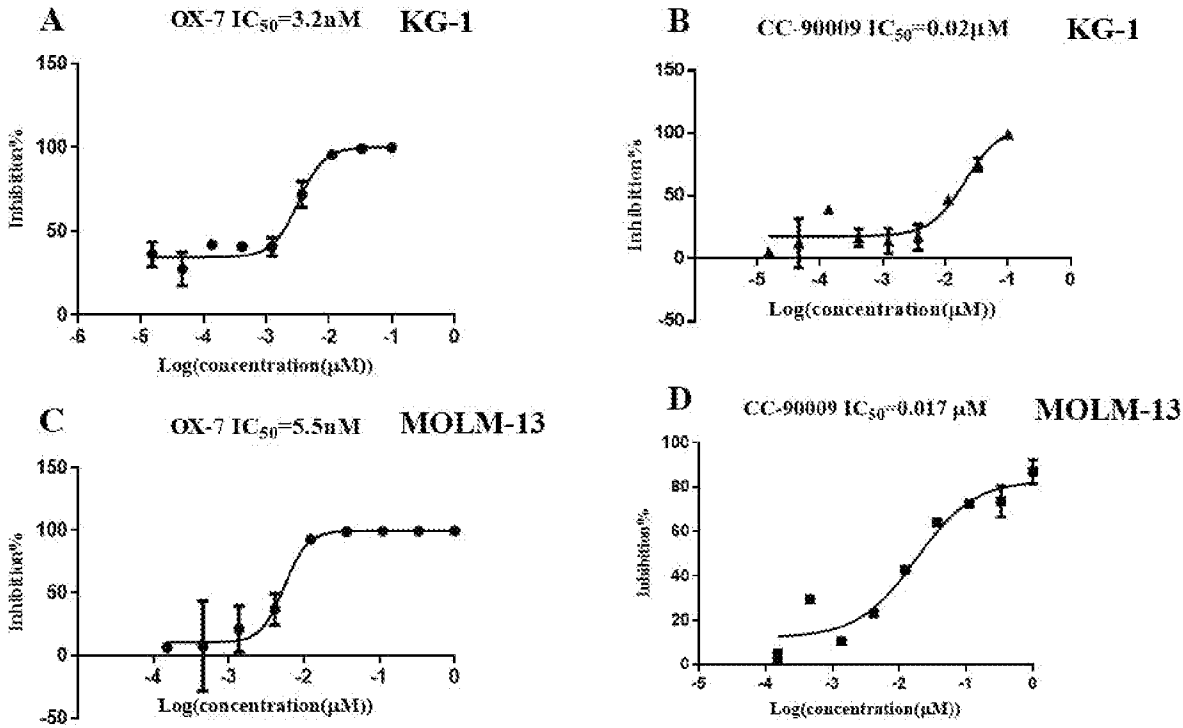


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/103853

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D401/04(2006.01)i; A61K31/33(2006.01)i; A61K31/405(2006.01)i; A61P35/00(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)

IPC: 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)

CNTXT, CNKI, ENTXTC, VEN, REGISTRY: GSPT1, 靶向, 白血病, AML, 肝, 吲哚, target, leukemia, oxime, indole

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2023070120 A1 (BIOTHERYX INC. et al.) 27 April 2023 (2023-04-27) description, paragraphs 5-7, 68, 86, 93, 121, and 129	1-10
X	WO 2022200857 A1 (MONTE ROSA THERAPEUTICS AG) 29 September 2022 (2022-09-29) claims 1-30	1-10
A	CN 115304606 A (TSINGHUA UNIVERSITY et al.) 08 November 2022 (2022-11-08) entire document	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“D” document cited by the applicant in the international application

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“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)

“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

“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

“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

“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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 October 2024

Date of mailing of the international search report

28 October 2024

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2024/103853

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2023070120	A1	27 April 2023	None			
WO	2022200857	A1	29 September 2022	US	2024216355	A1	04 July 2024
				EP	4313047	A1	07 February 2024
CN	115304606	A	08 November 2022	None			

A. 主题的分类

C07D401/04(2006.01)i; A61K31/33(2006.01)i; A61K31/405(2006.01)i; A61P35/00(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)

IPC: 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))

CNTEXT,CNKI,ENTXTC,VEN,REGISTRY: GSPT1, 靶向, 白血病, AML, 脐, 吲哚, target, leukemia, oxime, indole

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	WO 2023070120 A1 (BIOTHERYX INC等) 2023年4月27日 (2023 - 04 - 27) 说明书第5-7段, 第68段, 第86段, 第93段, 第121段, 第129段	1-10
X	WO 2022200857 A1 (MONTE ROSA THERAPEUTICS AG) 2022年9月29日 (2022 - 09 - 29) 权利要求1-30	1-10
A	CN 115304606 A (清华大学等) 2022年11月8日 (2022 - 11 - 08) 全文	1-10

☐ 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

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“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

2024年10月28日

国际检索报告邮寄日期

2024年10月28日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

尹晓娟

电话号码 (+86) 010-62084570

PCT/ISA/210 表(第2页) (2022年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2024/103853

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)
WO	2023070120	A1	2023年4月27日	无	
WO	2022200857	A1	2022年9月29日	US	2024年7月4日
				EP	2024年2月7日
CN	115304606	A	2022年11月8日	无	