



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 115697990 B

(45) 授权公告日 2025. 06. 13

(21) 申请号 202180035521.9	(72) 发明人 埃里卡·阿劳乔 史蒂文·M·斯帕克斯 迈克尔·柏林 张伟 王静
(22) 申请日 2021.03.19	
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 115697990 A	(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理 有限责任公司 11204 专利代理师 王达佐 安佳宁
(43) 申请公布日 2023.02.03	
(30) 优先权数据 62/992,952 2020.03.21 US	(51) Int.Cl. C07D 401/14 (2006.01) C07D 413/14 (2006.01) A61K 31/506 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2022.11.15	
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2021/023183 2021.03.19	(56) 对比文件 CN 112888460 A, 2021.06.01
(87) PCT国际申请的公布数据 W02021/194879 EN 2021.09.30	审查员 李占成
(73) 专利权人 阿维纳斯企业公司 地址 美国康涅狄格州	权利要求书38页 说明书247页 附图2页

(54) 发明名称

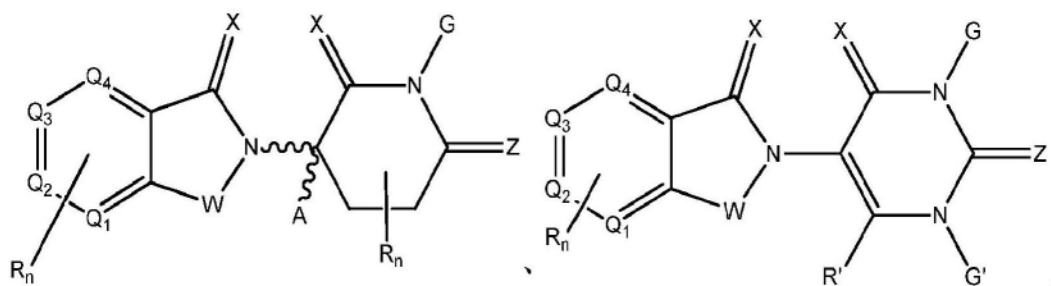
基于吡唑的化合物和相关使用方法

(57) 摘要

本文描述了可用作富亮氨酸重复激酶2 (LRRK2) 的调节剂的双功能化合物。特别地,本公开的异双功能化合物含有在一端的结合至 cereblon E3泛素连接酶的部分和在另一端的结合LRRK2的部分,使得靶蛋白被置于泛素连接酶附近以实现靶蛋白的降解(和抑制)。本公开的异双功能化合物表现出广泛的与靶蛋白的降解/抑制相关的药理活性。用本公开的化合物和组合物治疗或预防由所述靶蛋白的异常调节引起的疾病或病症。

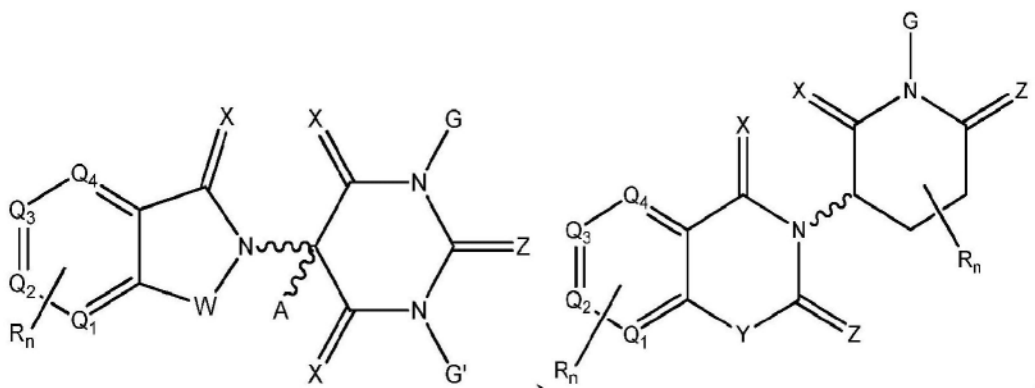
1. 一种具有以下化学结构的化合物:PTM-L-CLM,
或其药学上可接受的盐,
其中:

(a) 所述CLM为 (1) 由以下化学结构表示的CLM:



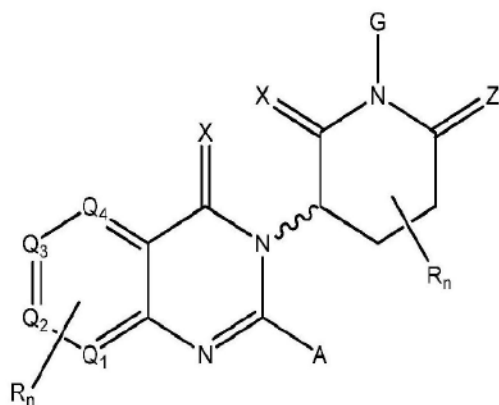
(a1)

(b)

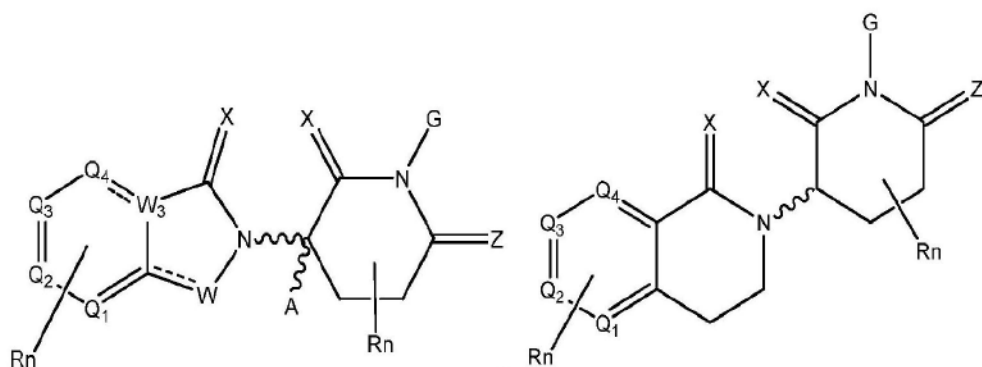


(c)

(d1)

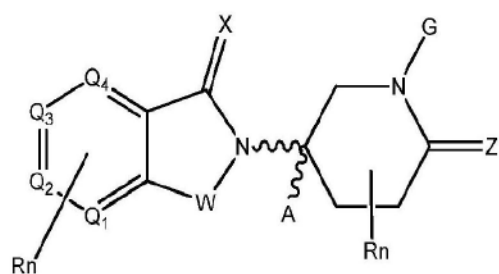


(e)

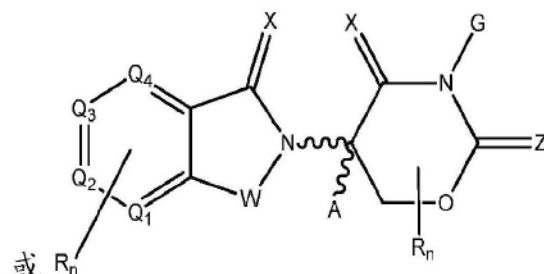


(a2)

(d2)



(a3)



(a4)

其中：

W选自： CH_2 、O、CHR、 $\text{C}=\text{O}$ 、 SO_2 、NH、N、任选取代的环丙基、任选取代的环丁基和N- C_1 - C_6 烷基；

W_3 为C或N；

每个X独立地选自：不存在、O、S和 CH_2 ；

Y选自： CH_2 、 $-\text{C}=\text{CR}'$ 、NH、N- C_1 - C_6 烷基、N-5至16元芳基、N-5至16元杂芳基、N- C_3 - C_{20} 环烷基、N-杂环基、O和S，其中所述杂环基选自氮杂环丁烷基、二氢咪唑基、二氢吡喃基、二氢呋喃基、二噁烷基、二氧戊环基、亚甲基脲、高哌啶基、吗啉基、哌嗪基、N-甲基哌嗪基、哌啶基、邻苯二甲酰亚胺基、琥珀酰亚胺基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢喹啉基、四氢噻吩基、噁烷基、氧杂环丁烷基、氧硫杂环戊烷基和硫化环戊烷基；

Z选自：不存在、O、S和 CH_2 ；

G和G' 独立地选自:H、任选取代的C₁-C₆烷基、OH、R' OCOR、R' OCONRR''、任选地被R' 取代的CH₂-杂环基,和任选地被R' 取代的苄基,其中所述杂环基选自氮杂环丁烷基、二氢咪唑基、二氢吡喃基、二氢呋喃基、二噁烷基、二氧戊环基、亚乙基脲、高哌啶基、吗啉基、哌嗪基、N-甲基哌嗪基、哌啶基、邻苯二甲酰亚胺基、琥珀酰亚胺基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢喹啉基、四氢噻吩基、噁烷基、氧杂环丁烷基、氧硫杂环戊烷基和硫化环戊烷基;

Q₁、Q₂、Q₃和Q₄独立地为被独立地选自H、R、N或N-氧化物的基团取代的C或N;

A选自H、任选取代的C₁-C₆烷基、C₃-C₂₀环烷基、Cl和F;

n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10;

R选自H、-CONR' R''、-C(=O)R'、-OR'、-NR' R''、-SR'、-SO₂R'、

-SO₂NR' R''、-CR' R''、-CR' NR' R''、(-CR' O)_n R''、任选取代的杂环基、5至16元芳基、任选取代的C₁-C₆烷基-5至16元芳基、5至16元杂芳基、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₁-C₆烷氧基、-P(O)(OR')R''、

-P(O)R' R''、-OP(O)(OR')R''、-OP(O)R' R''、-Cl、-F、-Br、-I、-CF₃、

-CN、-NR' SO₂NR' R''、-NR' CONR' R''、-CONR' COR''、-NR' C(=N-CN)NR' R''、-C(=N-CN)NR' R''、-NR' C(=N-CN)R''、-NR' C(=C-NO₂)NR' R''、-SO₂NR' COR''、-NO₂、-CO₂R'、-C(C=N-OR')R''、-CR'=CR' R''、-CCR'、-S(C=O)(C=N-R')R''、-SF₅和-OCF₃,其中至少一个R或W被修饰以共价连接至所述PTM或所述L,其中所述杂环基选自氮杂环丁烷基、二氢咪唑基、二氢吡喃基、二氢呋喃基、二噁烷基、二氧戊环基、亚乙基脲、高哌啶基、吗啉基、哌嗪基、N-甲基哌嗪基、哌啶基、邻苯二甲酰亚胺基、琥珀酰亚胺基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢喹啉基、四氢噻吩基、噁烷基、氧杂环丁烷基、氧硫杂环戊烷基和硫化环戊烷基;

x、y和z中的每一者独立地是0、1、2、3、4、5或6;

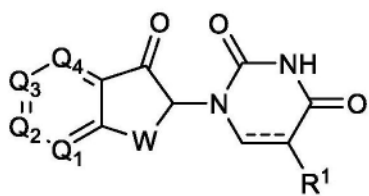
R' 和R'' 独立地选自由以下组成的组:H、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的C₃-C₂₀环烷基、任选取代的5至16元芳基、任选取代的5至16元杂芳基和任选取代的杂环基,其中所述杂环基选自氮杂环丁烷基、二氢咪唑基、二氢吡喃基、二氢呋喃基、二噁烷基、二氧戊环基、亚乙基脲、高哌啶基、吗啉基、哌嗪基、N-甲基哌嗪基、哌啶基、邻苯二甲酰亚胺基、琥珀酰亚胺基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢喹啉基、四氢噻吩基、噁烷基、氧杂环丁烷基、氧硫杂环戊烷基和硫化环戊烷基;

n' 是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10;

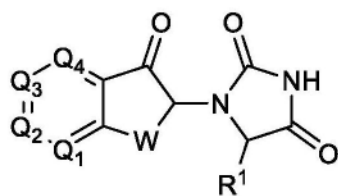
 表示单键或双键;并且

 表示为立体定向的或非立体定向的键;或者

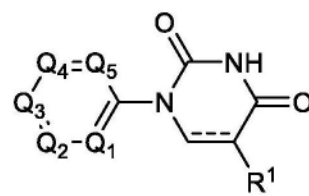
(2) 由以下化学结构表示的CLM:



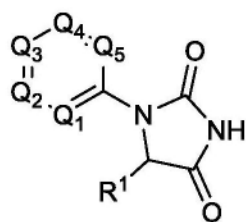
(h)



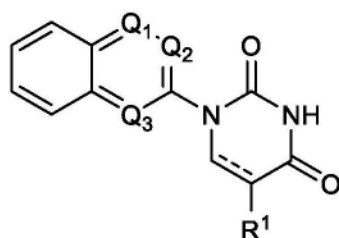
(i)



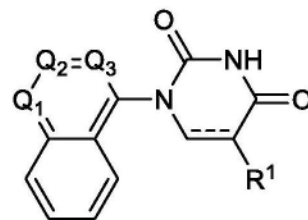
(j)



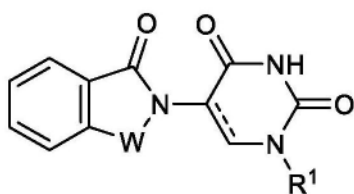
(k)



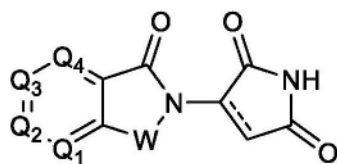
(l)



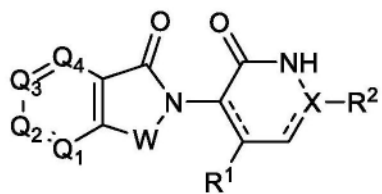
(m)



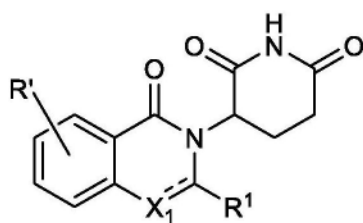
(n)



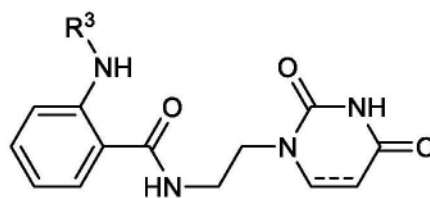
(o)



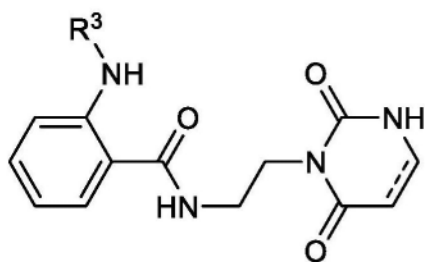
(p)



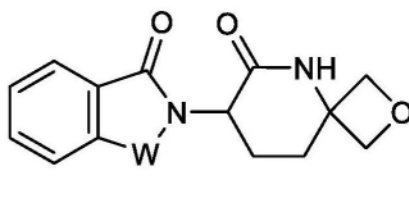
(q)



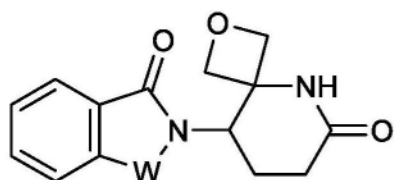
(r)



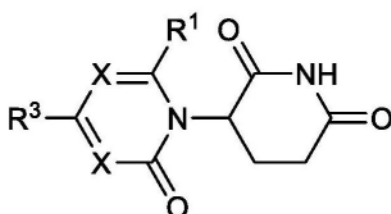
(s)



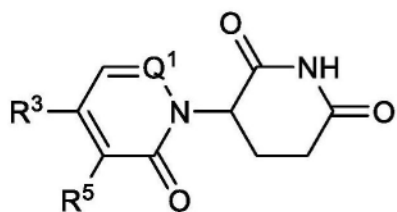
(t)



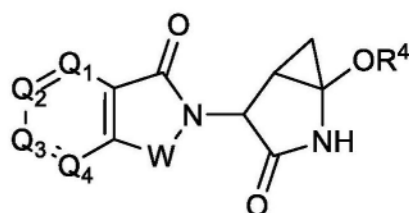
(u)



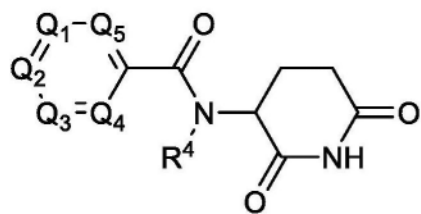
(v)



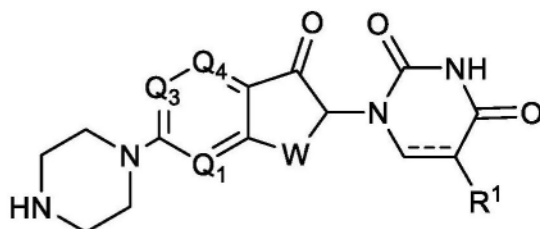
(w)



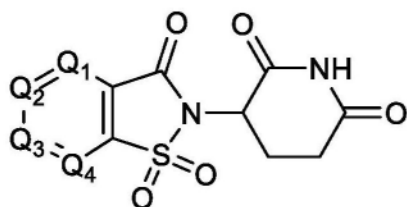
(x)



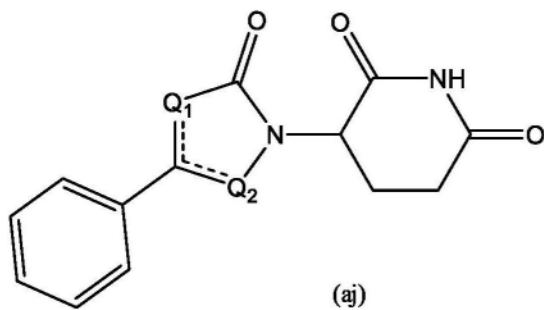
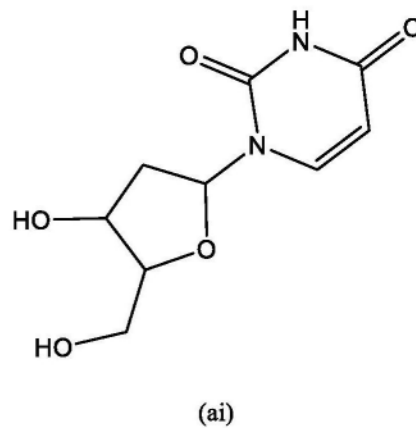
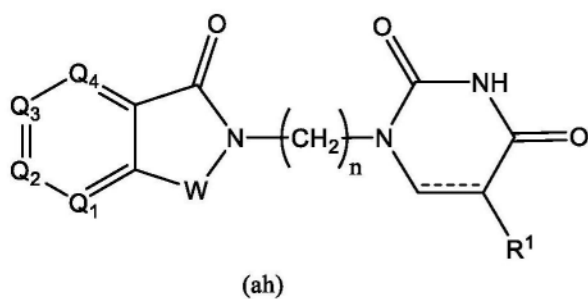
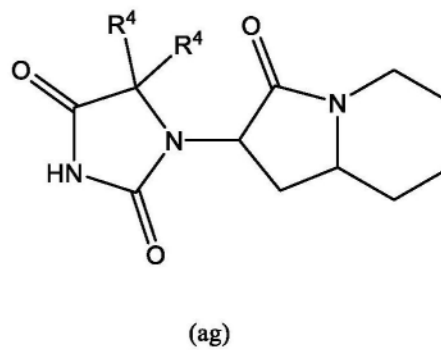
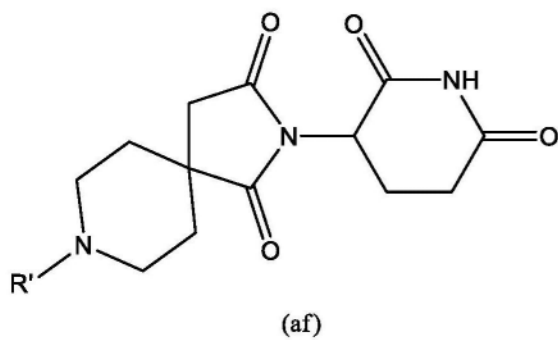
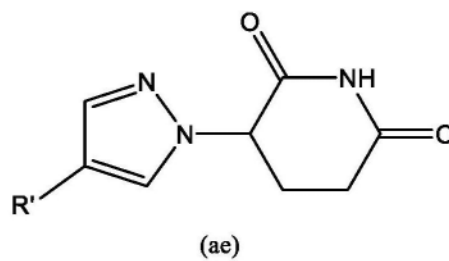
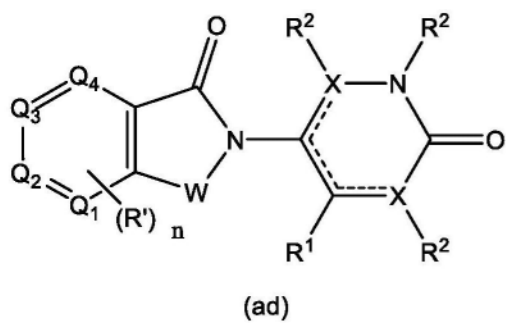
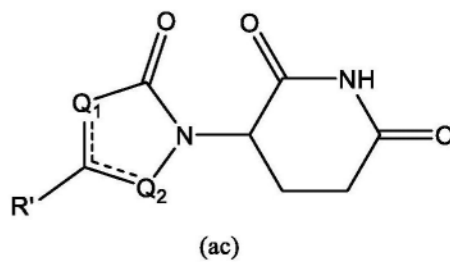
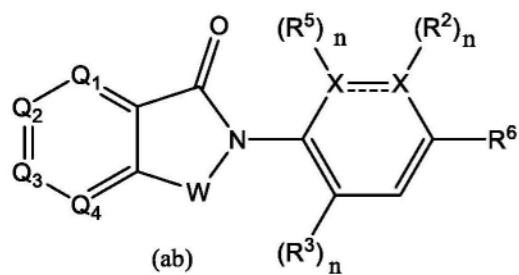
(y)

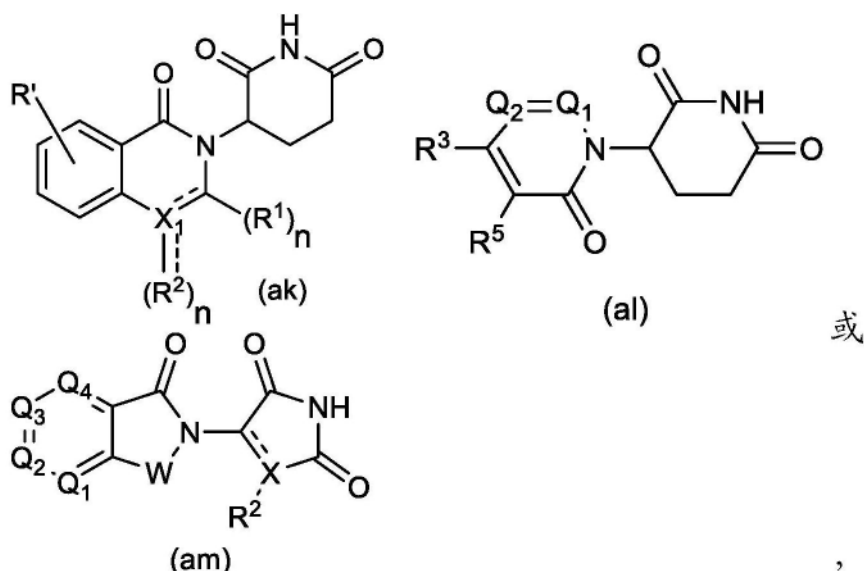


(z)



(aa)





其中:

W选自:CH₂、O、CHR、C=O、SO₂、NH、N、任选取代的环丙基、任选取代的环丁基和N-C₁-C₆烷基;

Q₁、Q₂、Q₃、Q₄、Q₅各自独立地表示被独立地选自R'、N或N-氧化物的基团取代的C或N;

R¹选自不存在、H、OH、CN、C₁-C₃烷基和C=O;

R²选自不存在、H、OH、CN、C₁-C₃烷基、CHF₂、CF₃、CHO、C(=O)NH₂;

R³选自H、C₁-C₆烷基、取代的C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基和取代的C₁-C₆烷氧基;

R⁴选自H、C₁-C₆烷基和取代的C₁-C₆烷基;

R⁵和R⁶各自独立地是H、卤素、C(=O)R'、CN、OH或CF₃;

X是C、CH、C=O或N;

X₁是C=O、N、CH或CH₂;

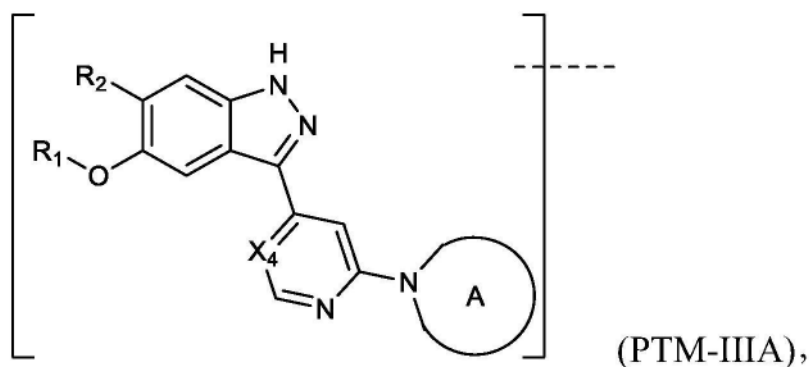
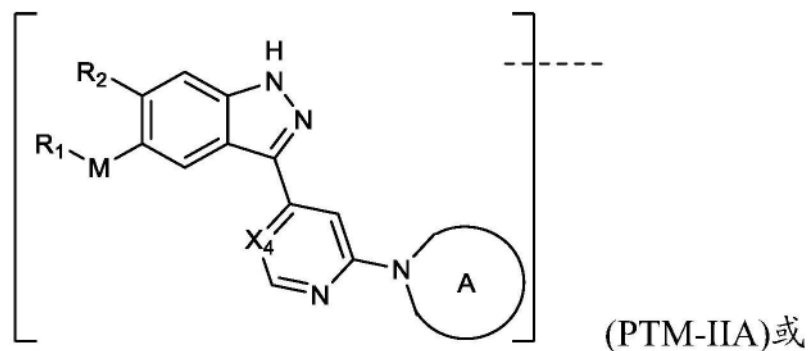
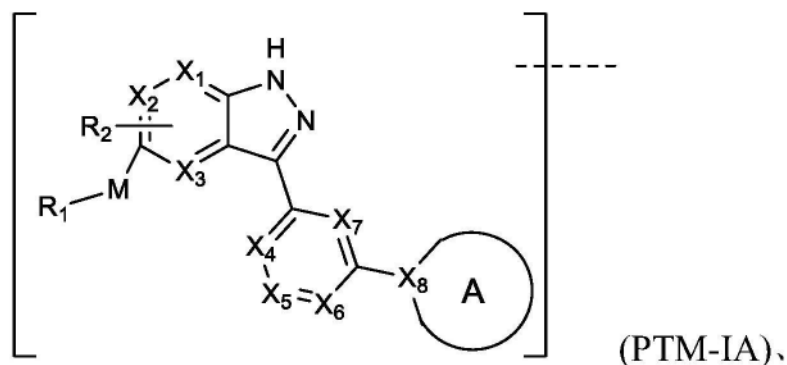
R'选自H、卤素、C₁-C₆烷基、取代的C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、取代的C₁-C₆烷氧基、NR²R³、C(=O)OR²和任选取代的苯基;

n是0、1、2、3或4;

/是单键或双键;并且

所述CLM共价连接至所述L;

(b) 所述PTM由以下化学结构表示:



其中:

R_1 是 C_1 - C_6 烷基、任选取代的 C_3 - C_6 环烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基、任选取代的 C_3 - C_6 卤代环烷基、任选取代的 C_1 - C_6 烷基腈、任选取代的 C_3 - C_6 环腈;

R_2 是氢、卤素、 C_1 - C_3 烷基或 C_1 - C_3 氟烷基;

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 和 X_7 各自独立地是CH或N,其中当为CH时 X_1 、 X_2 和 X_3 各自任选地被 R_2 取代;

X_8 是CH、S或N;

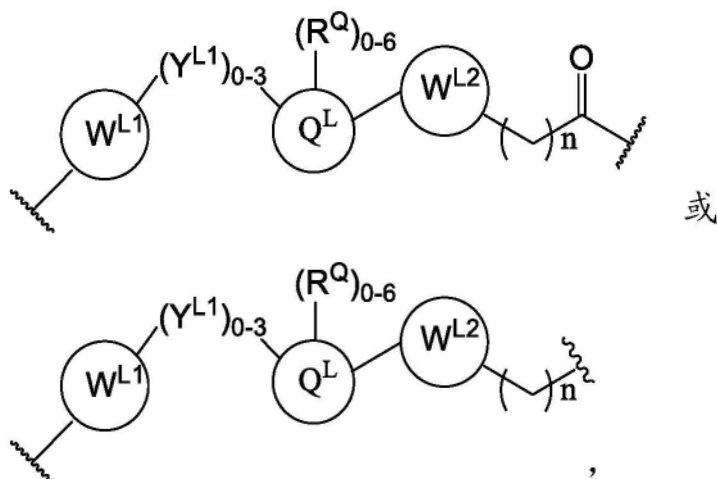
M是 CH_2 、NH或O;

X_8 A 或 N A 是各自被1、2、3或4个取代基任选取代的3-10元环烷基或杂环基,其

中所述杂环基选自氮杂环丁烷基、二氢咪唑基、二氢吡喃基、二氢呋喃基、二噁烷基、二氧戊环基、亚乙基脲、高哌啶基、吗啉基、哌嗪基、N-甲基哌嗪基、哌啶基、邻苯二甲酰亚胺基、琥珀酰亚胺基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢喹啉基、四氢噻吩基、噻烷基、氧杂环丁烷基、氧硫杂环戊烷基和硫化环戊烷基;并且

所述PTM的 $\diagup$ 表示与所述L的连接点;并且

(c) 所述L是:



其中:

W^{L1} 和 W^{L2} 各自独立地是不存在;5至16元芳基;5至16元杂芳基;5至20元环烷基;杂环基; C_{1-6} 烷基,且任选地一个或多个C原子被O替代; C_{1-6} 烯基,且任选地一个或多个C原子被O替代; C_{1-6} 炔基,且任选地一个或多个C原子被O替代;10至16元联芳基;或10至16元二杂芳基,各自任选地被 R^Q 取代,每个 R^Q 独立地是H、卤代基、OH、CN、 CF_3 、羟基、硝基、 $C\equiv CH$ 、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的 C_1-C_6 烷氧基、任选地被1个或多个-F取代的 OC_{1-3} 烷基、OH、 NH_2 、 $NR^{Y1}R^{Y2}$ 、CN,或者2个 R^Q 基团与它们所连接的原子一起形成含有0-4个杂原子的4-8元环体系,其中所述杂环基选自氮杂环丁烷基、二氢咪唑基、二氢吡喃基、二氢呋喃基、二噁烷基、二氧戊环基、亚甲基脲、高哌啶基、吗啉基、哌嗪基、N-甲基哌嗪基、哌啶基、邻苯二甲酰亚胺基、琥珀酰亚胺基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢喹啉基、四氢噻吩基、噁烷基、氧杂环丁烷基、氧硫杂环戊烷基和硫化环戊烷基;

每个 Y^{L1} 独立地是键; NR^{Y1} ;O;S; NR^{Y2} ; $CR^{Y1}R^{Y2}$;C=O;C=S;SO; SO_2 ;任选取代的 C_1-C_6 烷氧基;或任选取代的 C_1-C_6 烷基,其中一个或多个C原子任选地被O替代;

Q^L 是具有0-4个杂原子的3-6元脂环或3-6元芳环,其任选地桥接,任选地被1-6个 R^Q 取代,每个 R^Q 独立地是H、任选地被1个或多个卤代基或 C_{1-6} 烷氧基取代的直链或支链 C_{1-6} 烷基,或者2个 R^Q 基团与它们所连接的原子一起形成含有0-2个杂原子的3-8元环体系;

R^{Y1} 和 R^{Y2} 各自独立地是H;OH;任选地被1个或多个卤代基或 C_{1-6} 烷氧基取代的 C_{1-6} 烷基;或者 R^{Y1} 、 R^{Y2} 与它们所连接的原子一起形成含有0-2个杂原子的3-8元环体系;

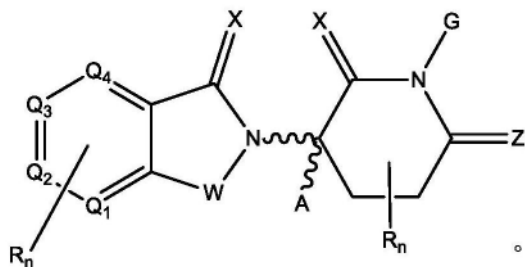
n是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10;并且

$\diagup$ 和 $\diagdown$ 表示与所述PTM或所述CLM的连接点;以及

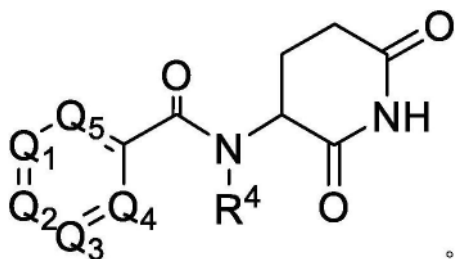
其中术语“任选取代的”意指基团被一个或多个选自羟基、硫醇、羧基、氰基、硝基、卤素、 C_1-C_{10} 烷基、5至16元芳基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 硫醚、 C_1-C_6 酰基、 C_1-C_6 酯、 C_1-C_6 硫酯、 NH_2 、 C_1-C_6 烷基胺、 C_1-C_6 二烷基胺、 $-N(C_0-C_6\text{烷基})C(O)(OC_1-C_6\text{烷基})$ 、肼、酰胺基、 C_1-C_6 烷醇或 C_1-C_6 链烷酸的取代基取代,以及

其中所述杂芳基包含一个氮、氧或硫原子或包含2个或更多个选自氮、硫和氧的杂原子。

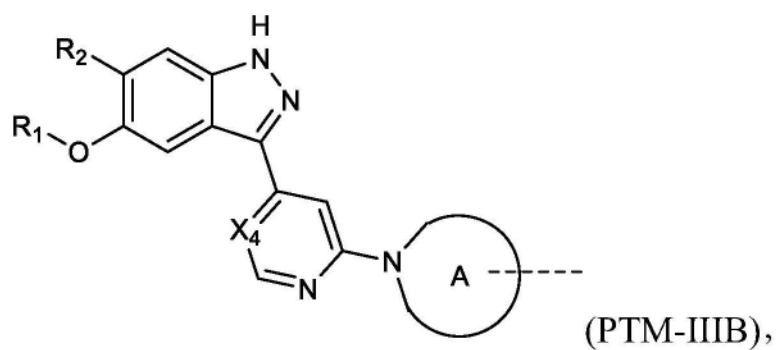
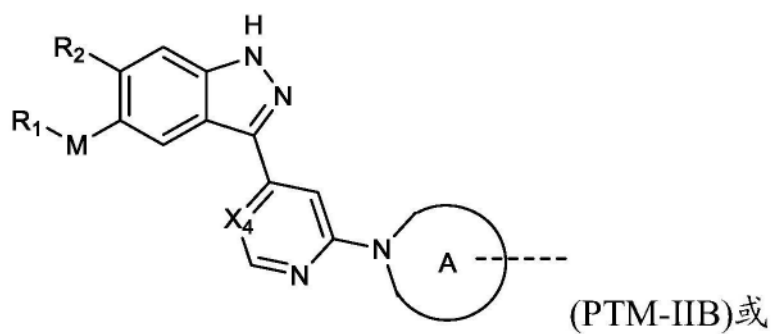
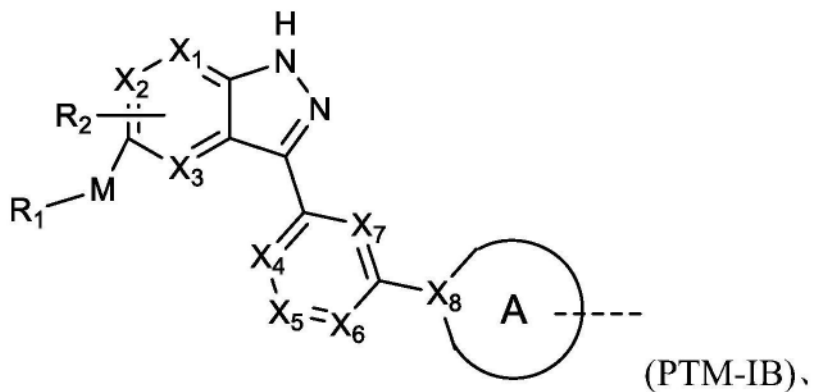
2. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述CLM为:



3. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述CLM为:



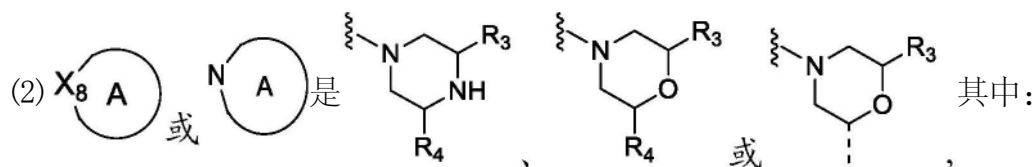
4. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述PTM为:



其中所述PTM的 $\sim$ 表示与所述L的连接点。

5. 根据权利要求1所述的化合物, 其中:

(1) $\text{X}_8 \text{A}$ 或 $\text{N} \text{A}$ 包括1-4个取代基, 各自独立地选自卤素、OH、 NH_2 、 $\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_3\text{烷基})_2$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 羟烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷氧基和 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 卤代烷基;



R_3 和 R_4 各自独立地选自H、卤素、OH、 NH_2 、 $\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_3\text{烷基})_2$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 羟烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷氧基和 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 卤代烷基;

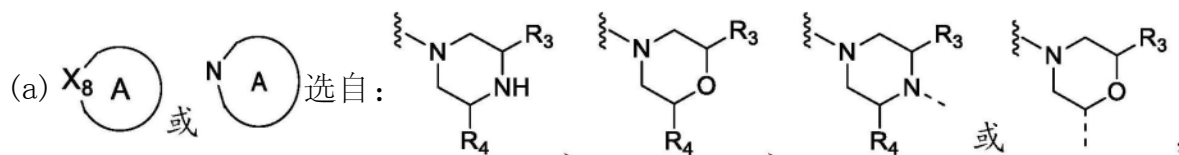
$\sim$ 表示 $\text{X}_8 \text{A}$ 或 $\text{N} \text{A}$ 的连接点; 并且

$\sim$ 表示与所述L的连接点, 并且当不存在时, 所述 $\text{N} \text{A}$ 或 $\text{X}_8 \text{A}$ 通过环A的环原子

或通过 R_3 或 R_4 连接至所述L; 或

(3) 它们的组合。

6. 根据权利要求1所述的化合物, 其中:



其中:

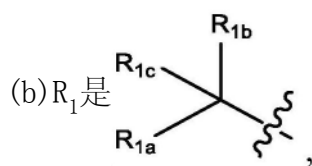
R_3 是H或 $\text{C}_1\text{-C}_3$ 烷基;

R_4 是H或 $\text{C}_1\text{-C}_3$ 烷基;

$\sim$ 表示 $\text{X}_8 \text{A}$ 或 $\text{N} \text{A}$ 的连接点; 并且

$\sim$ 表示与所述L的连接点, 并且当不存在时, 所述 $\text{X}_8 \text{A}$ 或 $\text{N} \text{A}$ 通过环A的环原子

或通过 R_3 或 R_4 连接至所述L;



其中: R_{1a} 、 R_{1b} 和 R_{1c} 各自独立地是H或任选地被一个或多个卤素或

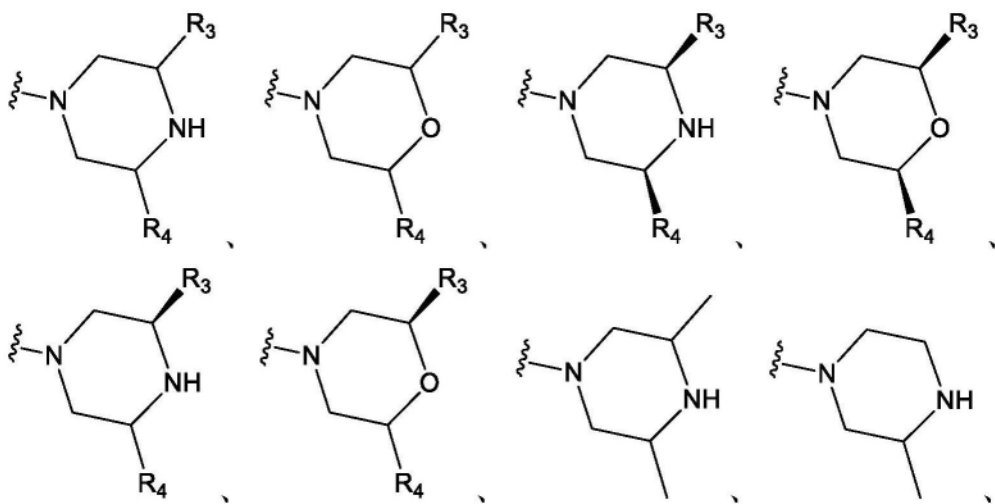
腈取代的 $\text{C}_1\text{-C}_2$ 烷基; 或者 R_{1a} 或 R_{1b} 与它们所连接的碳一起形成任选地被一个或多个 $\text{C}_1\text{-C}_3$ 烷基、腈或卤素取代的 $\text{C}_3\text{-C}_6$ 环烷基;

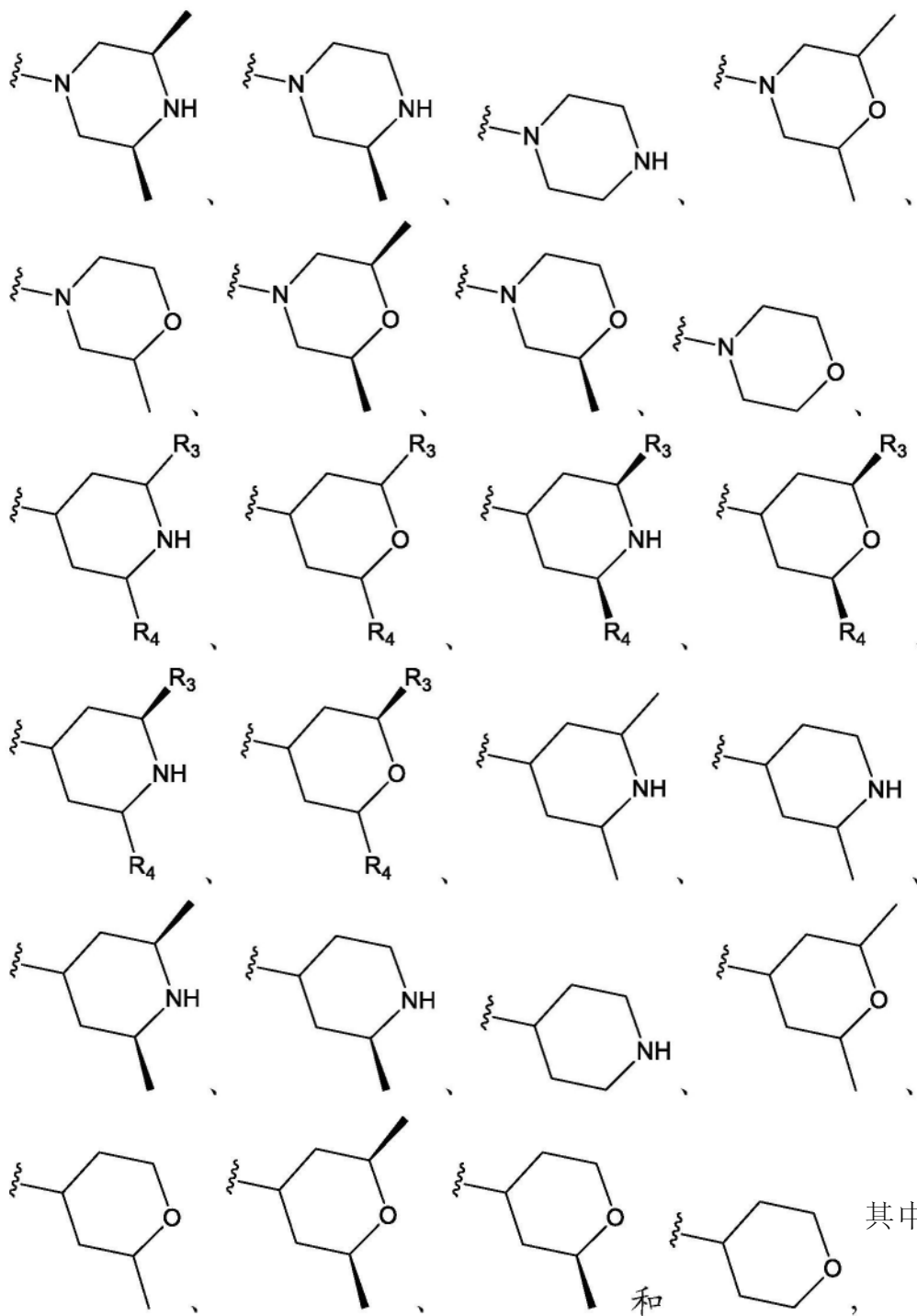
(c) R_2 是 H 或 F; 或

(d) 它们的组合。

7. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中

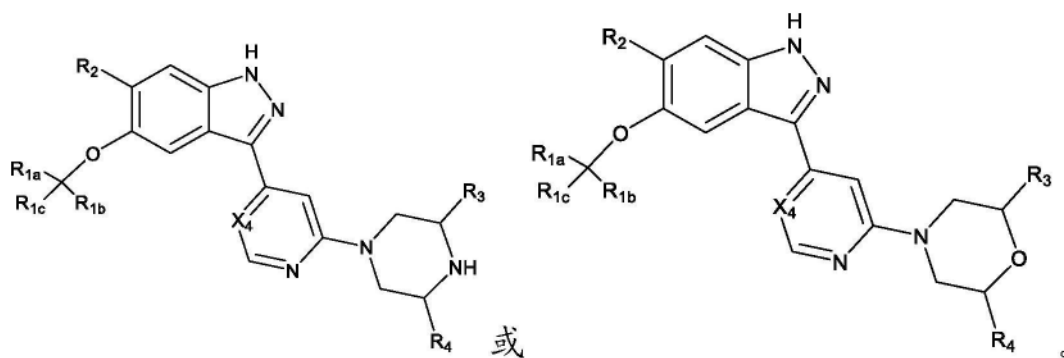
X_8 A 或 N A 为:



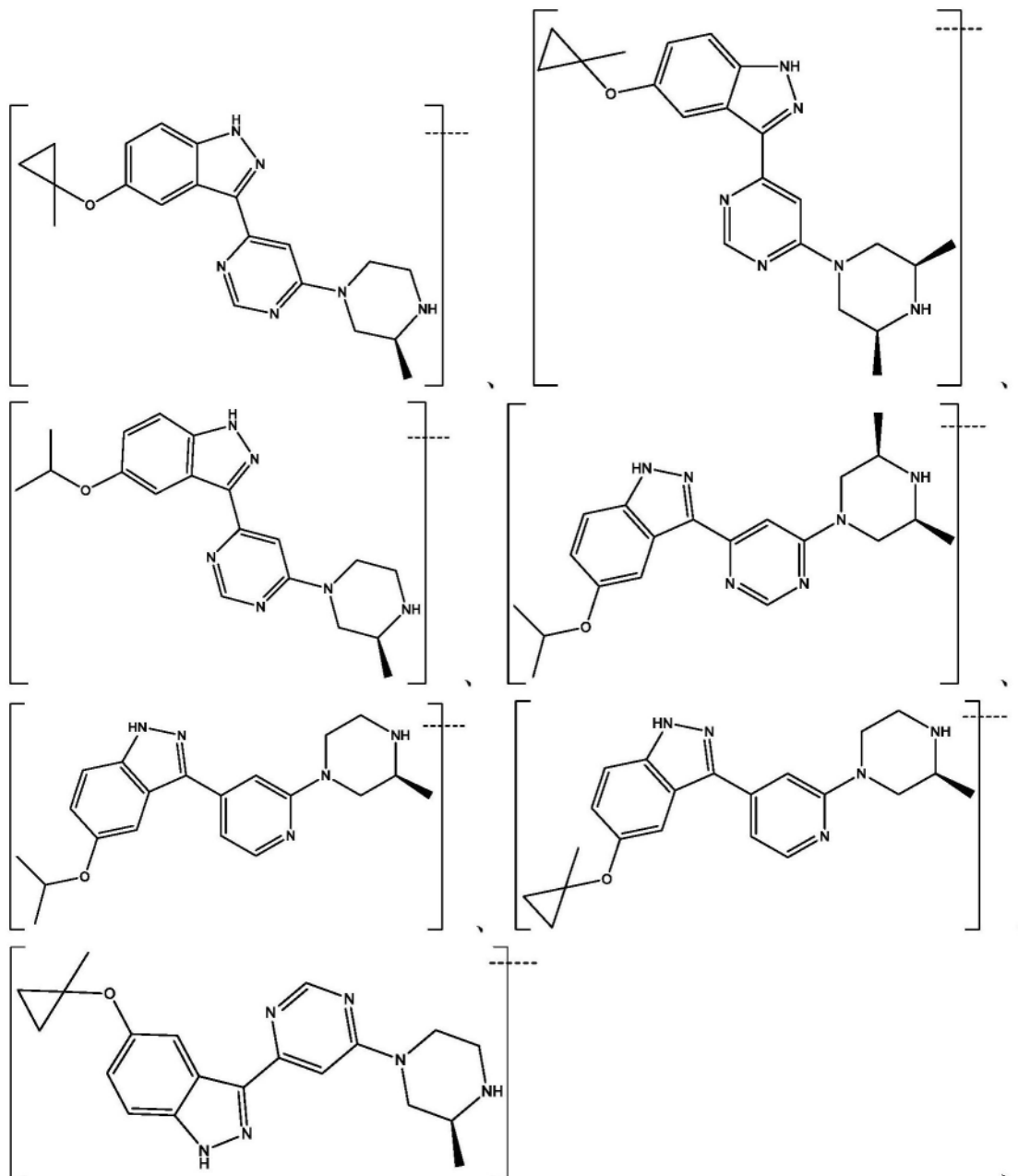


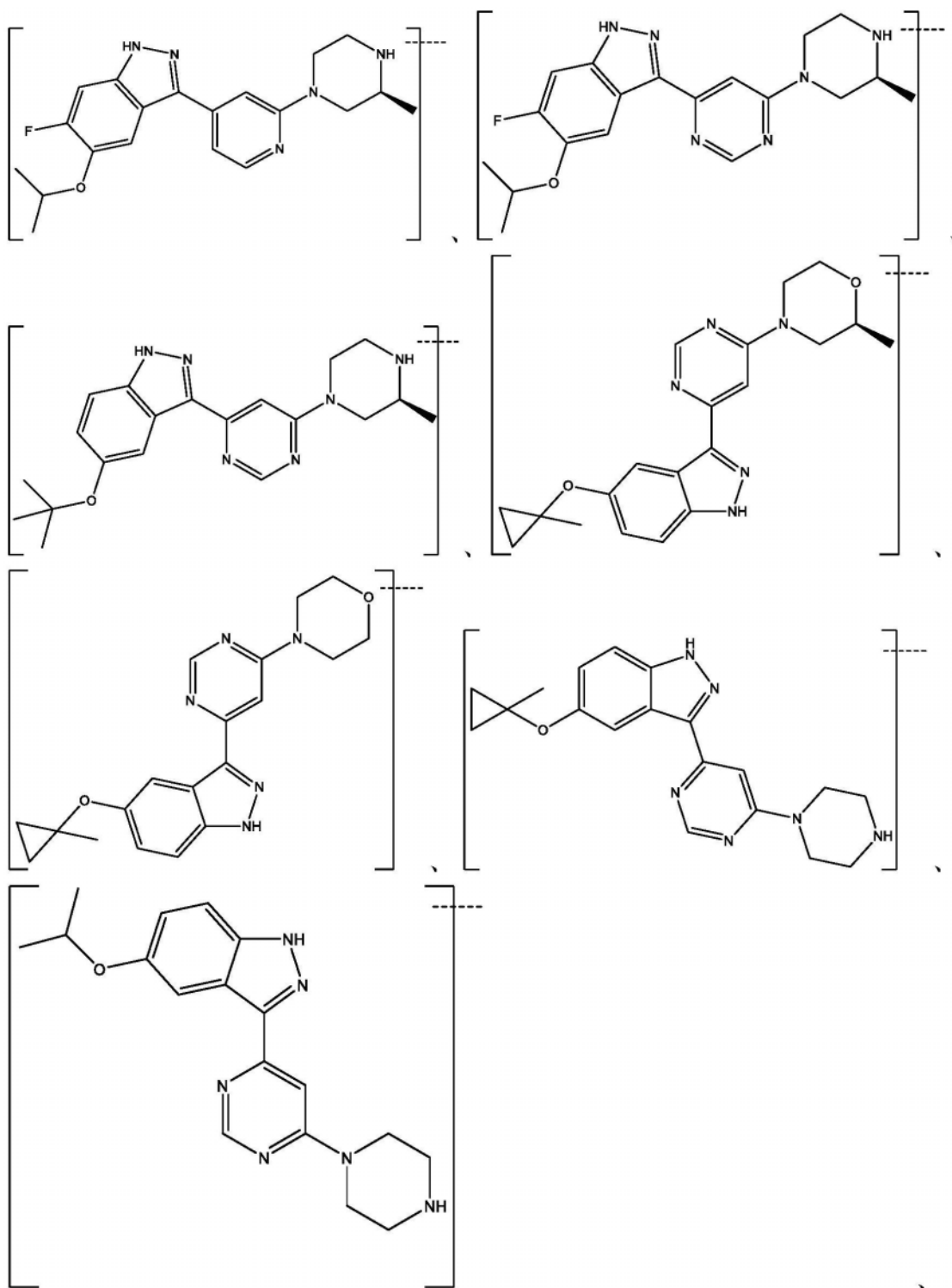
的环原子或其取代基的原子连接至所述L或所述PTM。

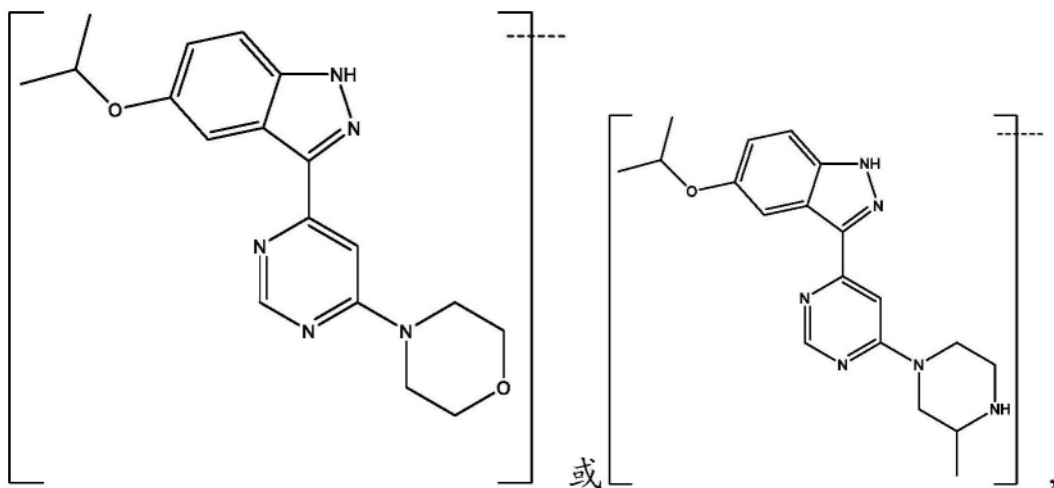
8. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述PTM为:



9. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述PTM为:





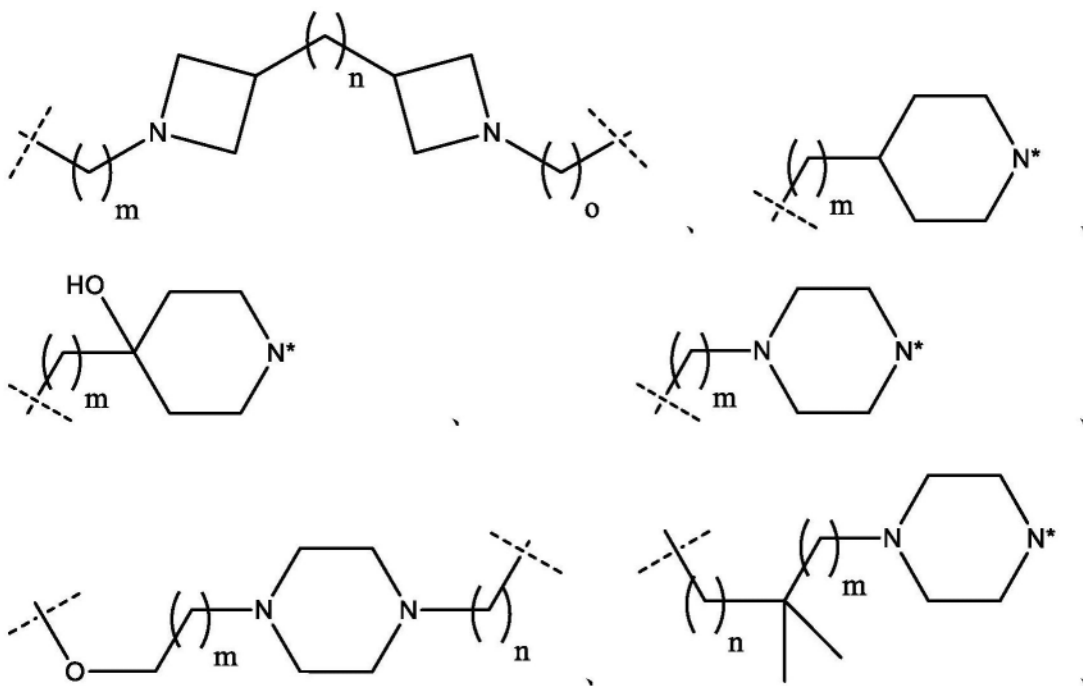


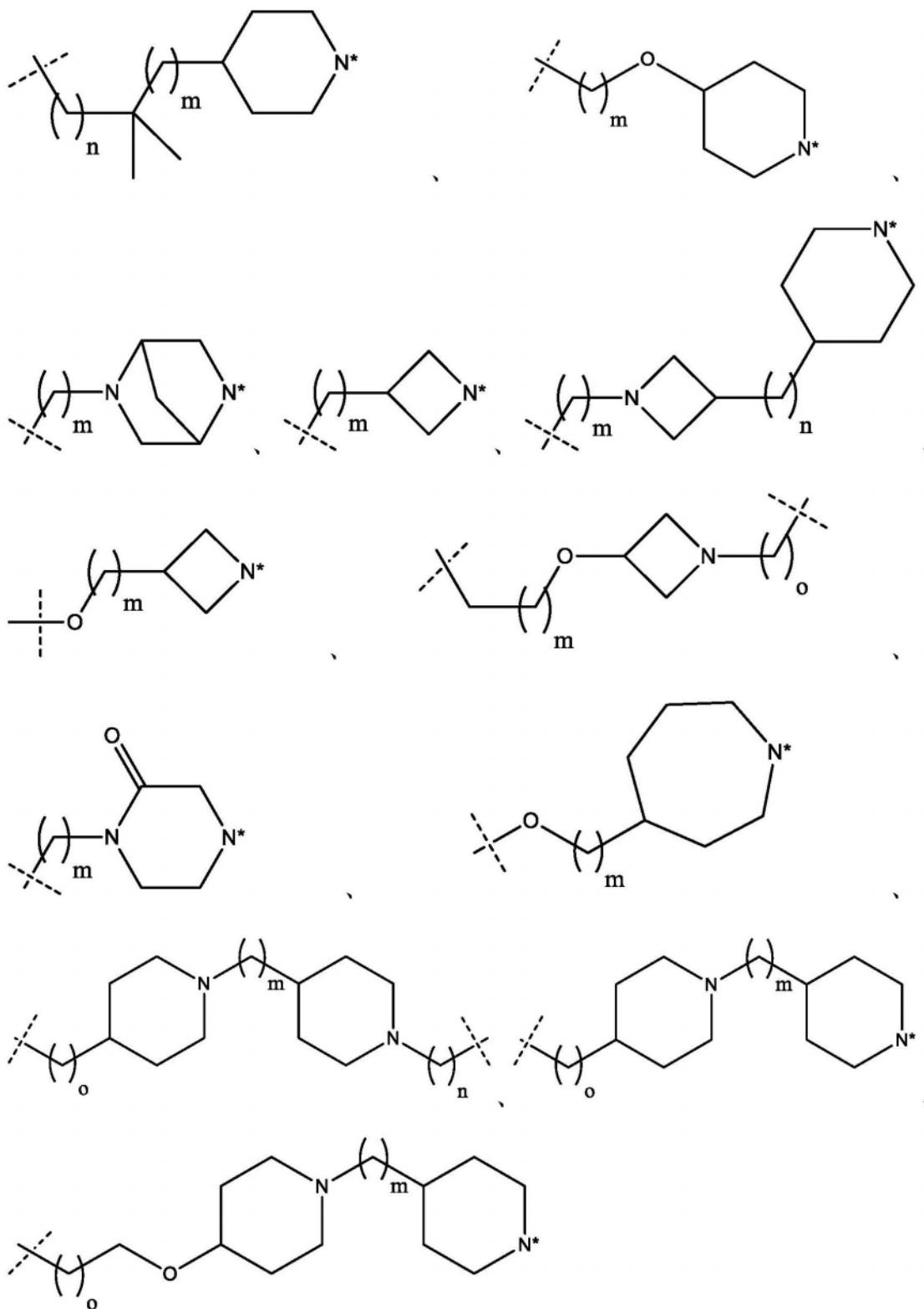
其中：

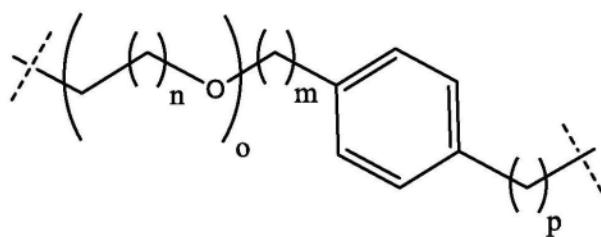
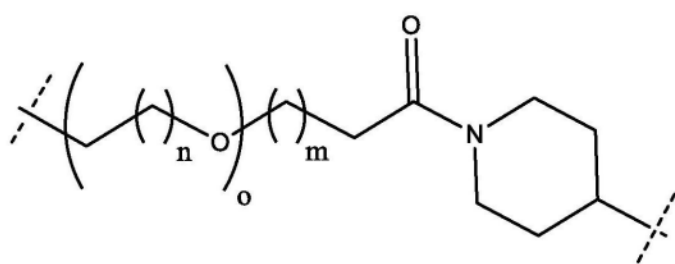
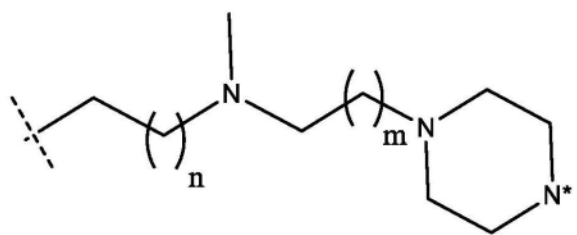
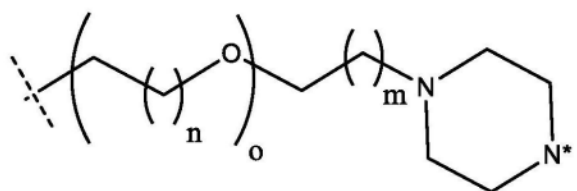
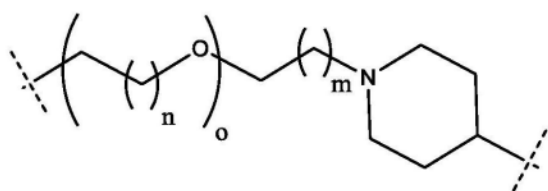
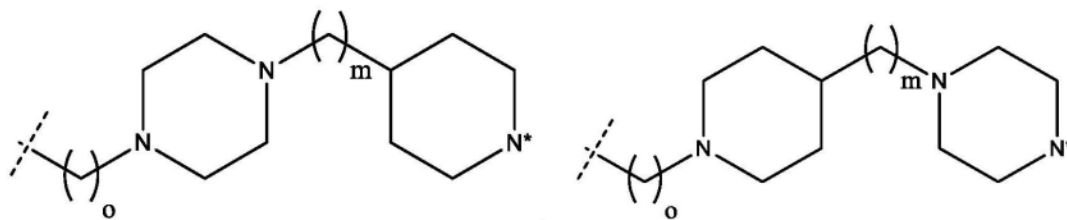
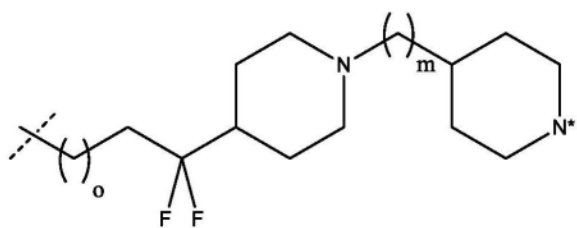
---表示与所述L的连接位点；并且

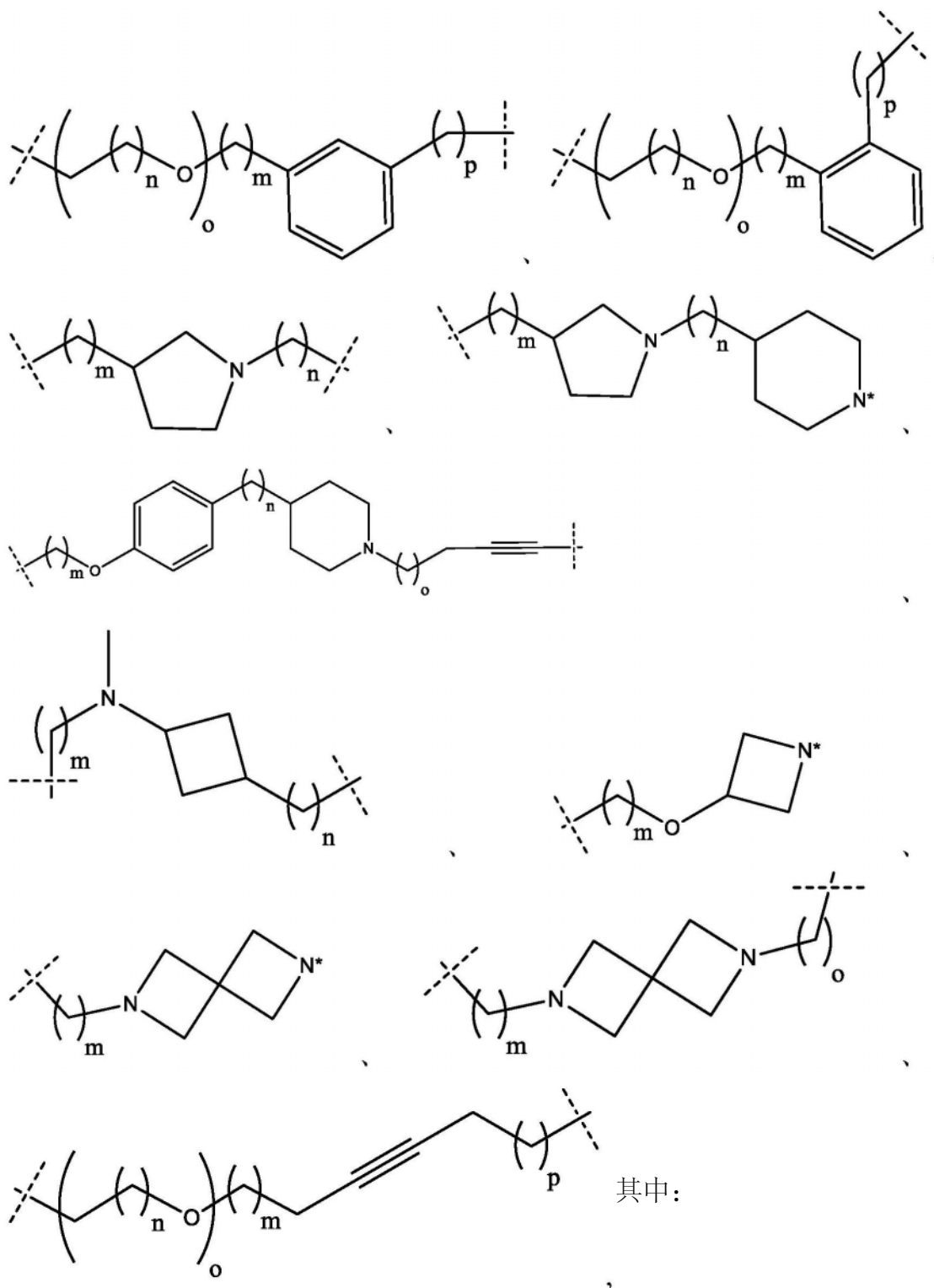
每个PTM偶联至至少一个L。

10. 根据权利要求1所述的化合物，其中所述L为：





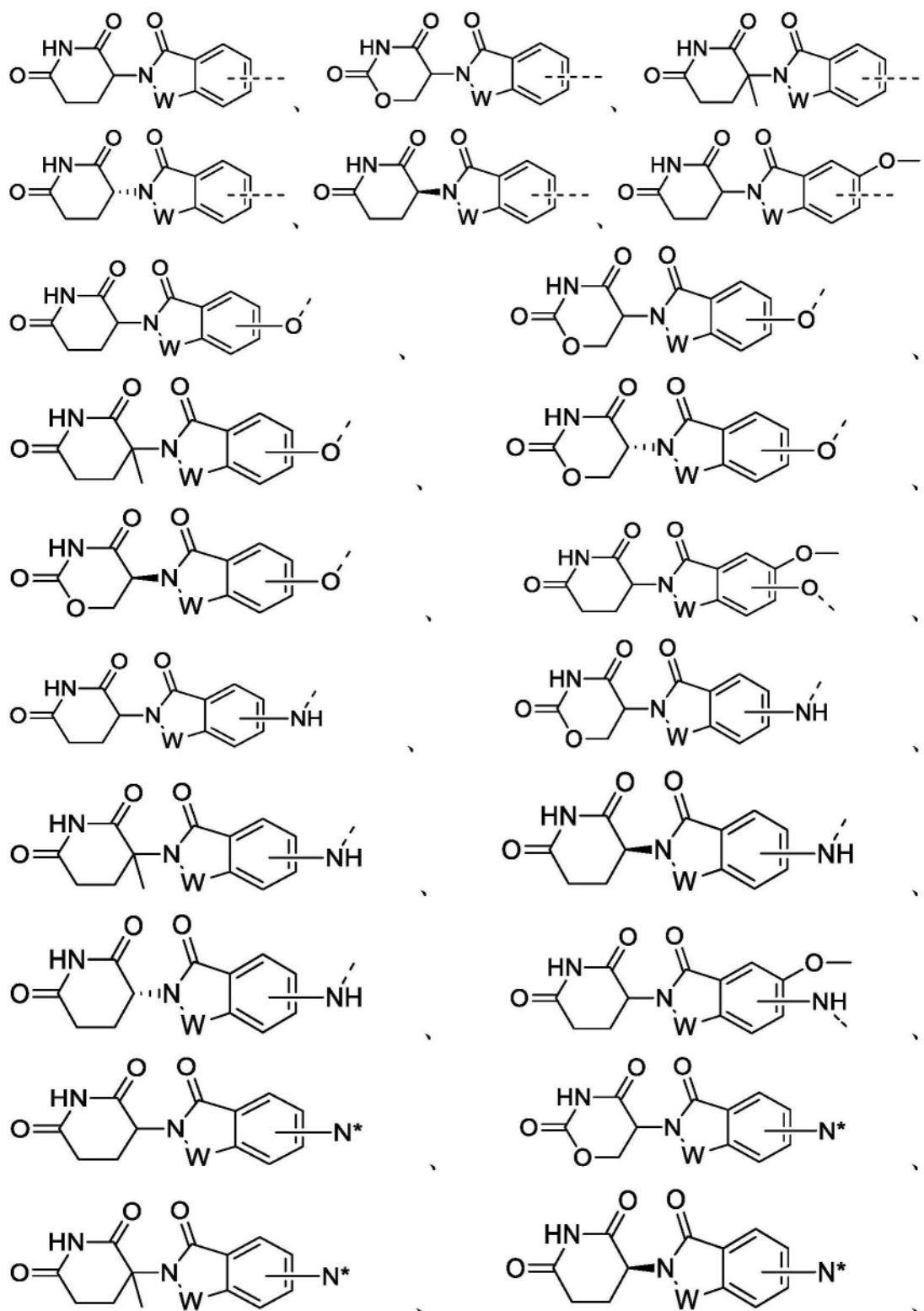


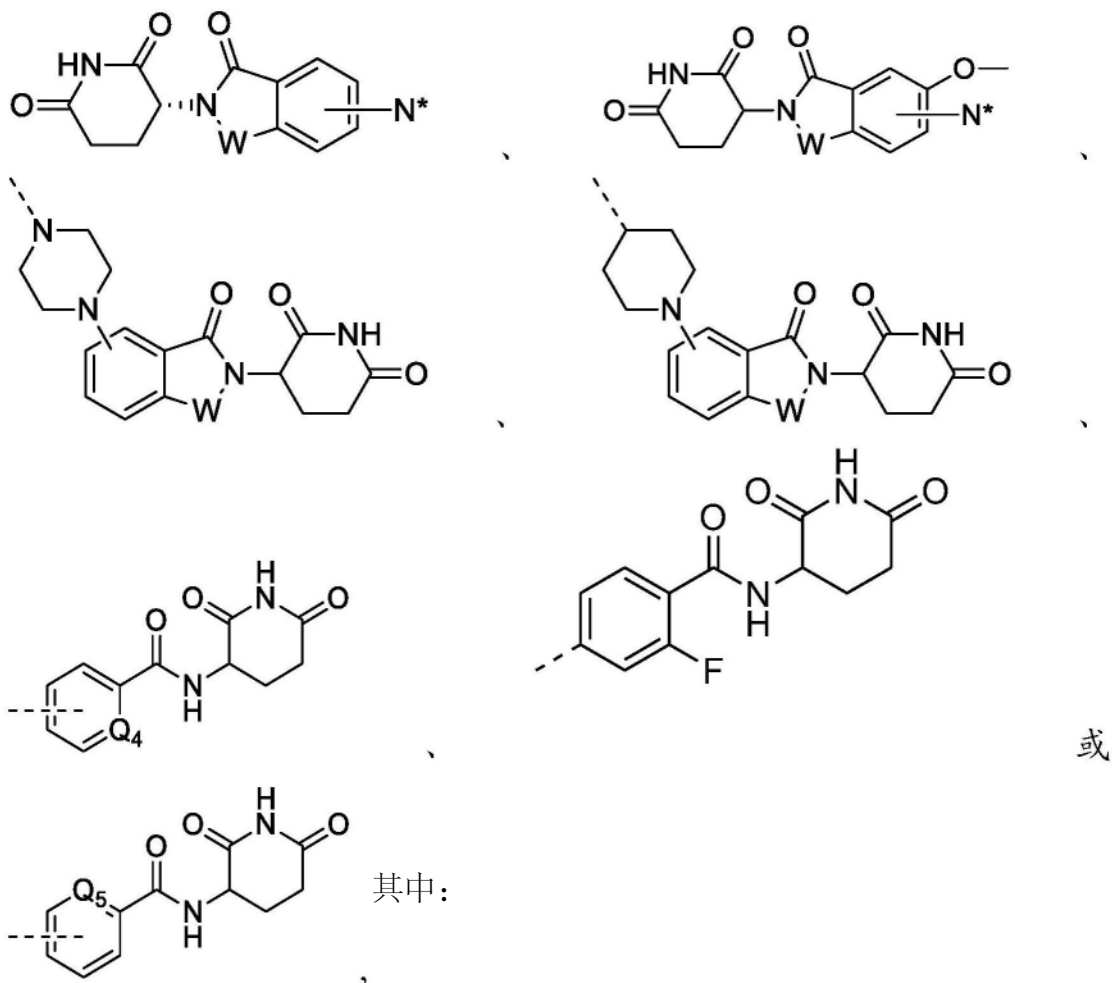


N*是与所述CLM或所述PTM共价连接的氮原子;并且

每个m、n、o、p、q和r独立地是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

11. 根据权利要求1所述的化合物,其中(a)所述CLM为:

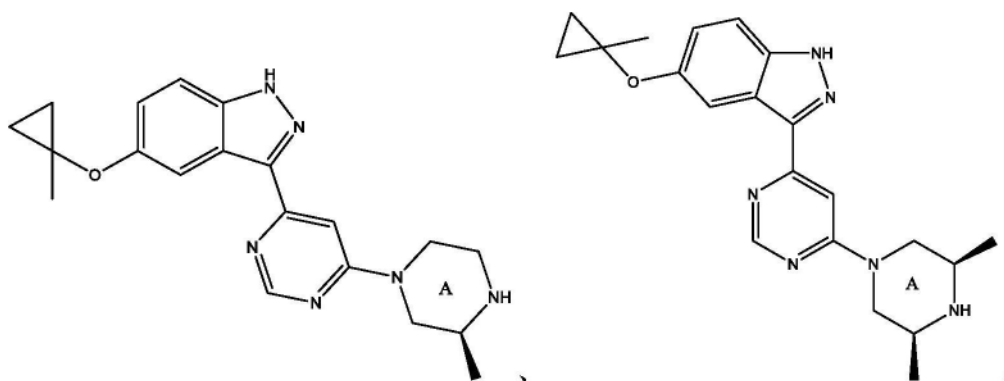


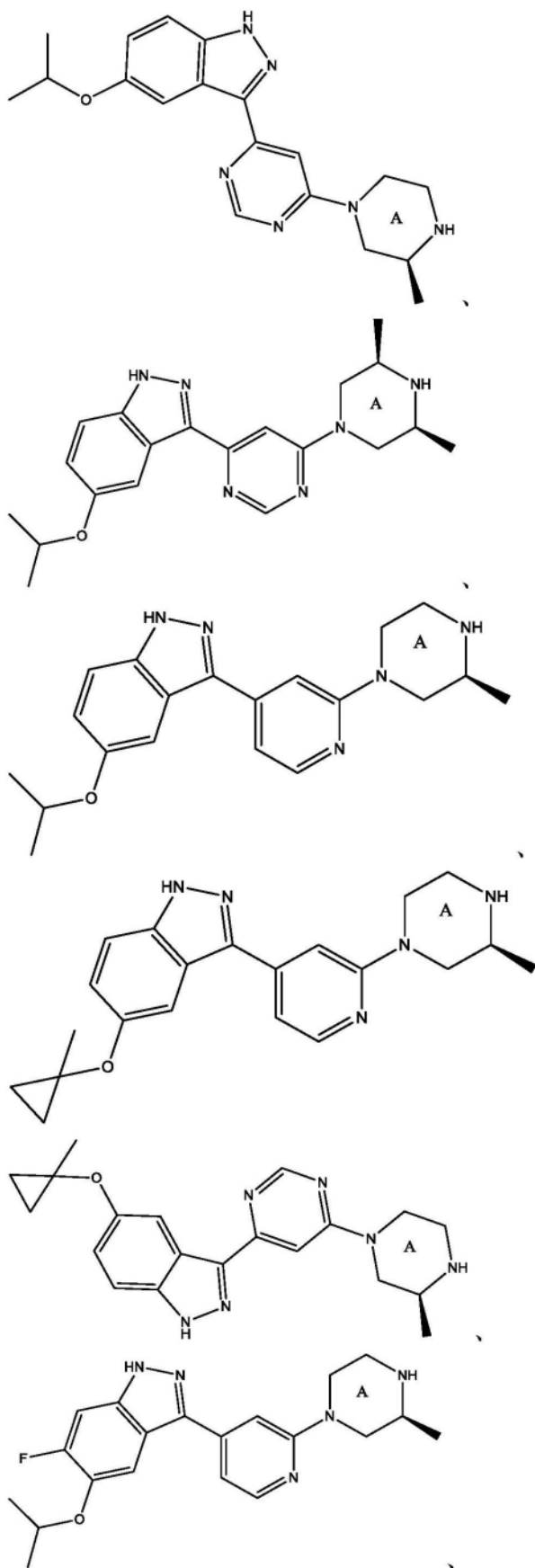


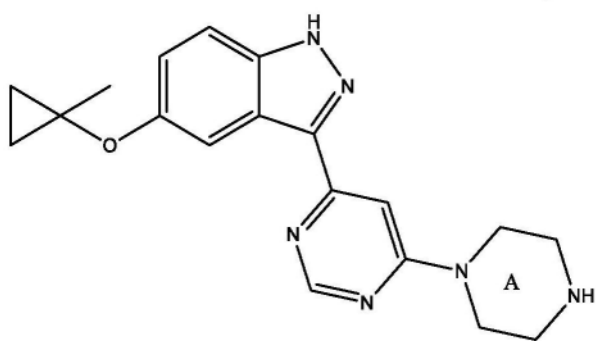
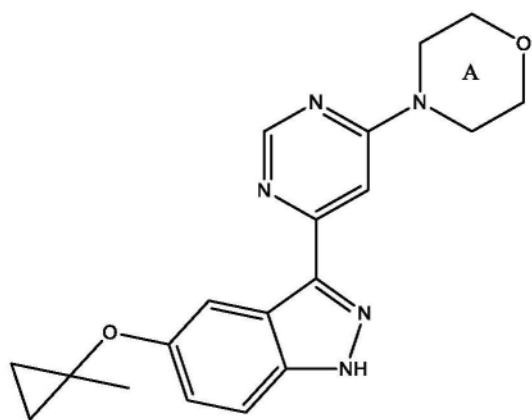
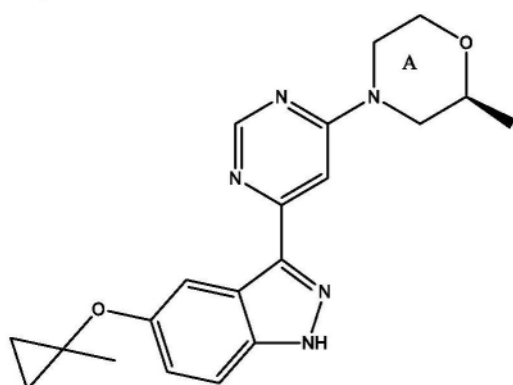
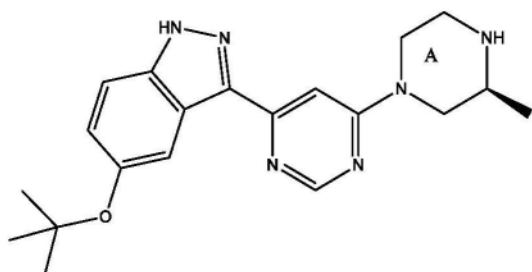
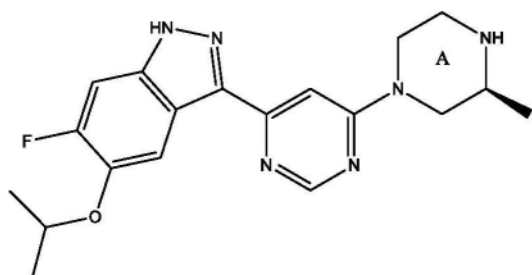
所述CLM的---表示与所述L的连接点；并且

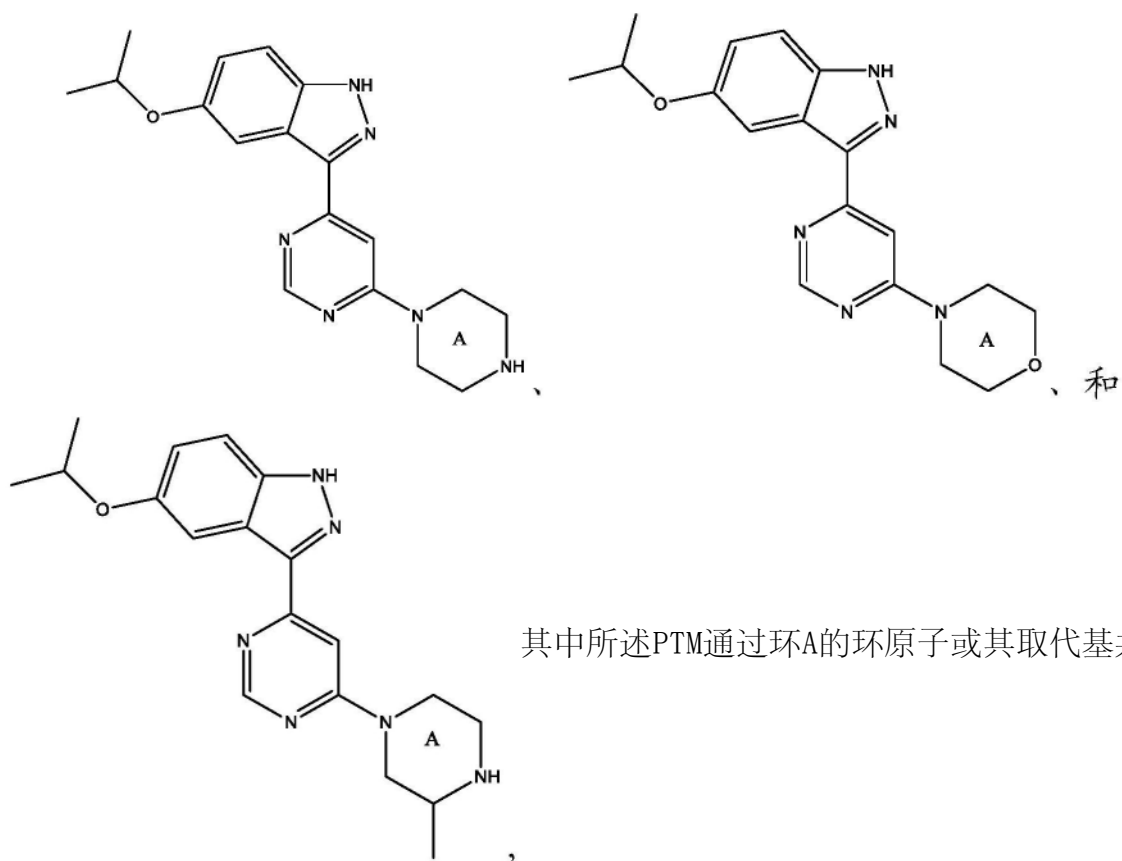
N*是与所述L或所述PTM共享的氮原子；

(b) 所述PTM为：



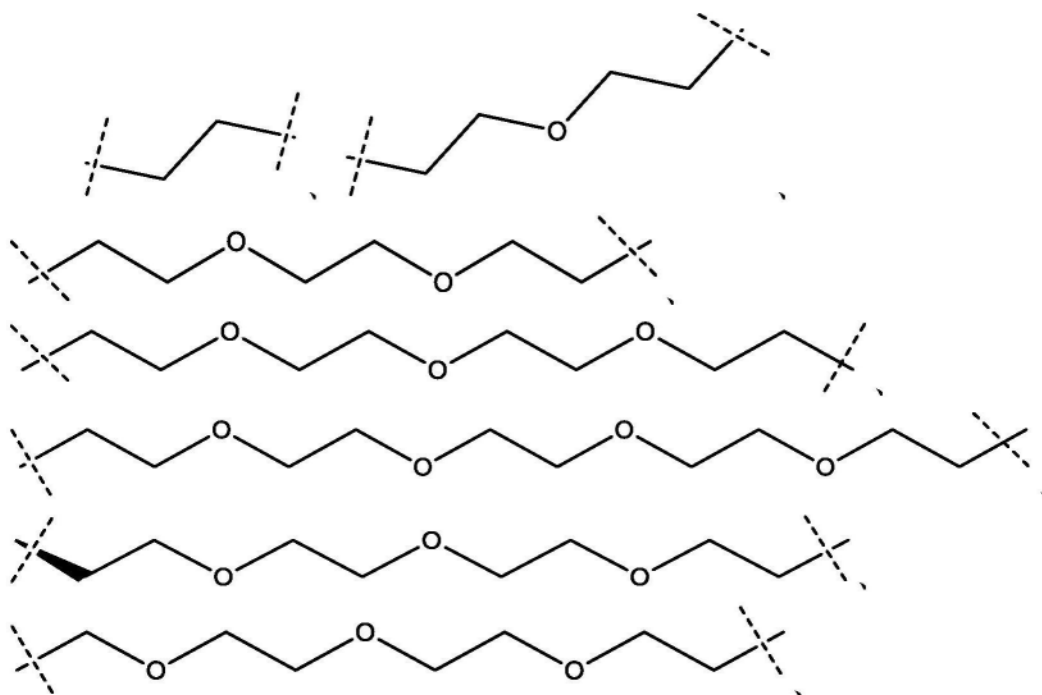


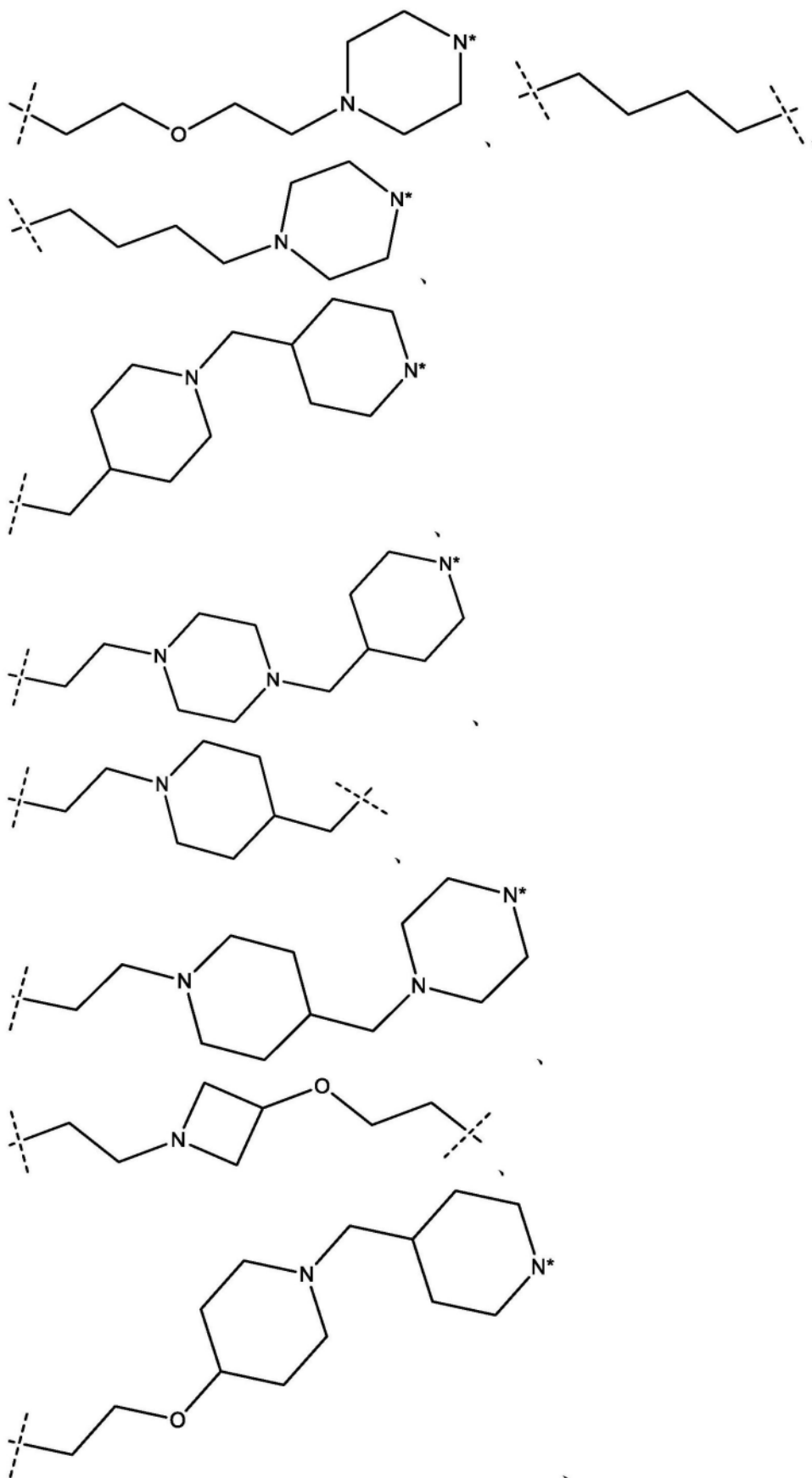


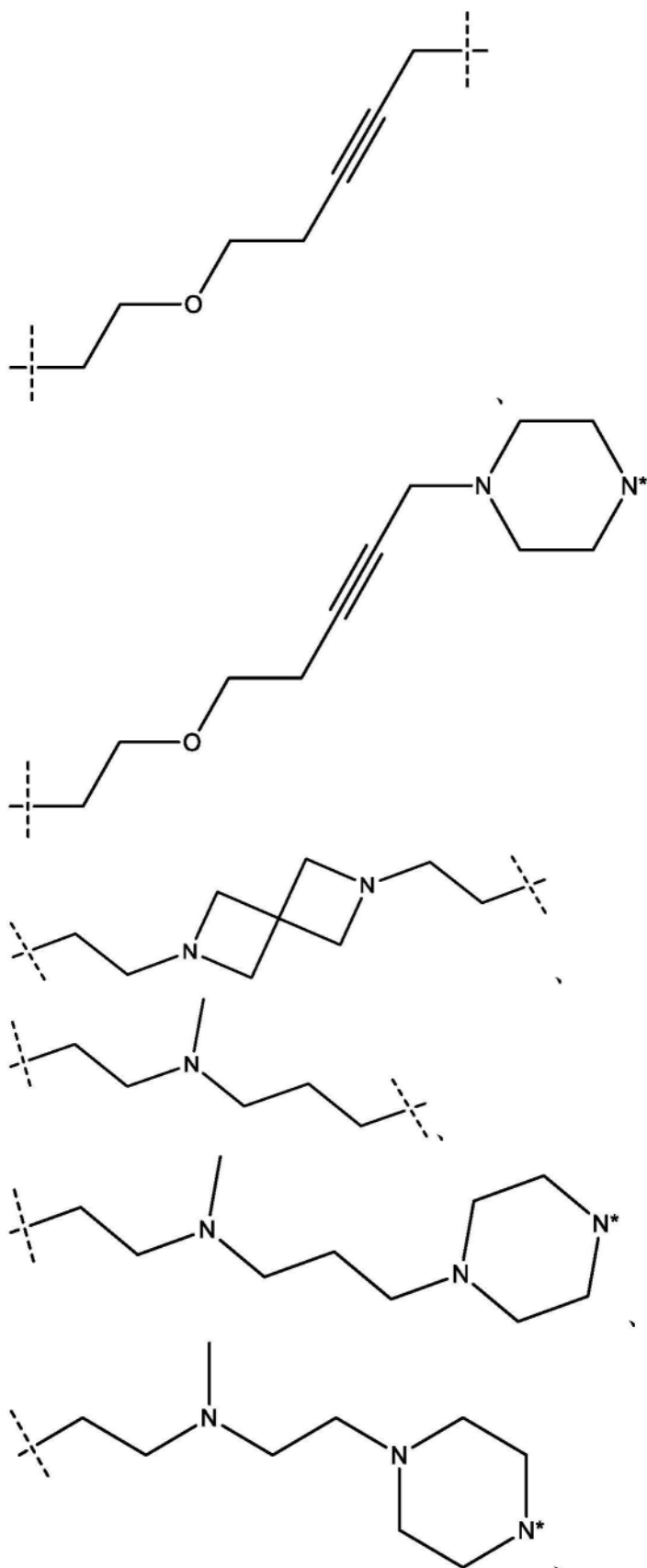


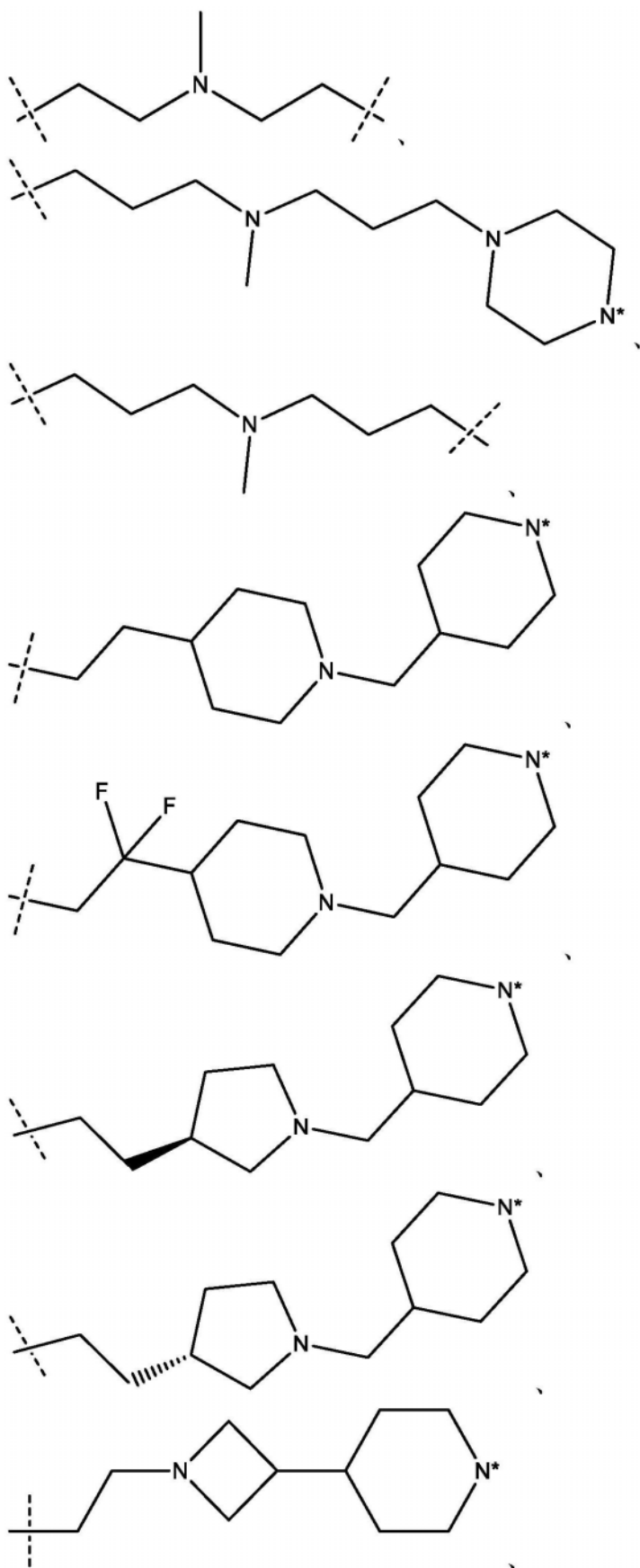
至所述L；

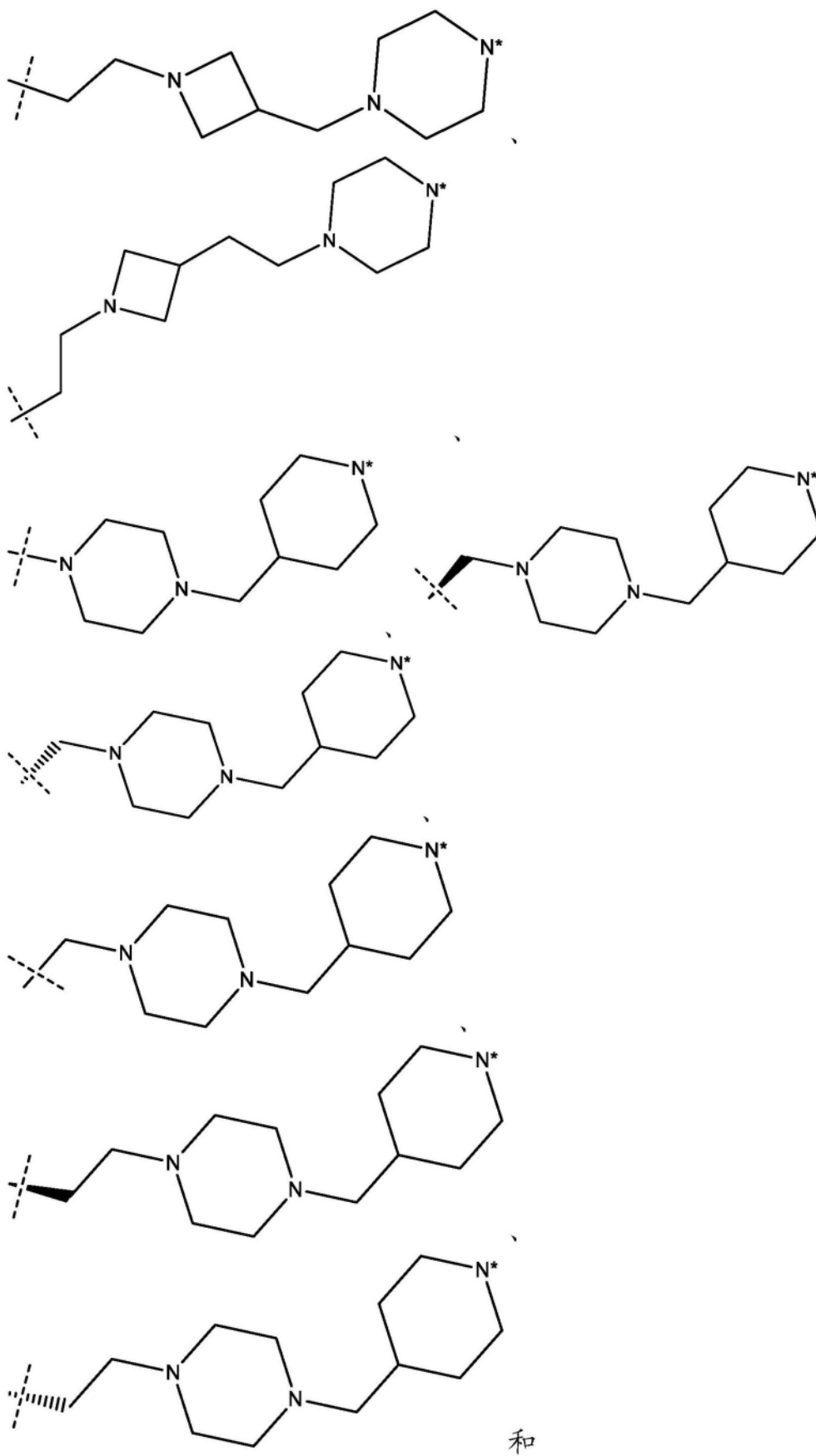
(c) 所述L为：

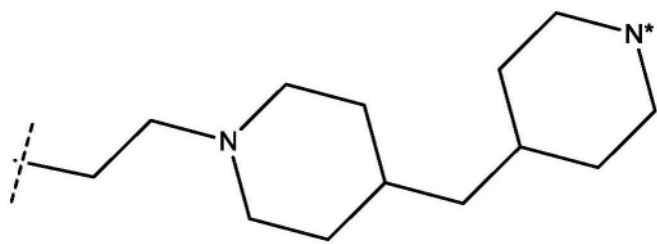










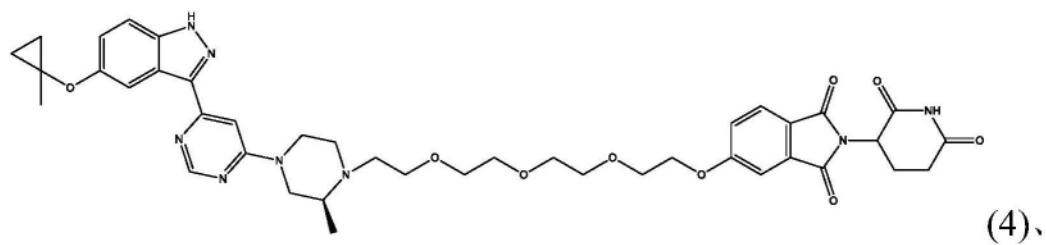
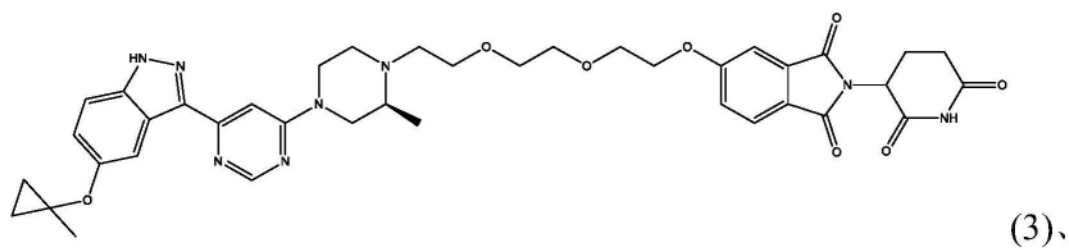
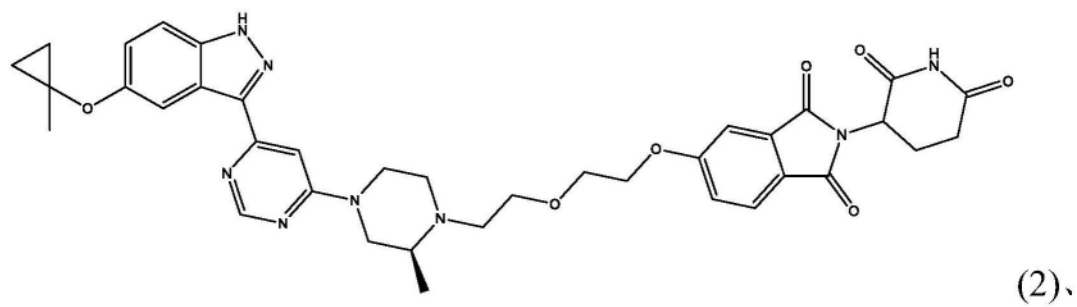
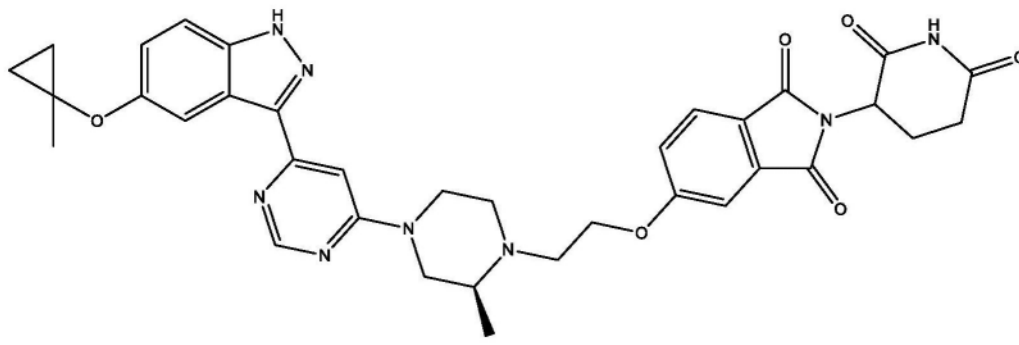


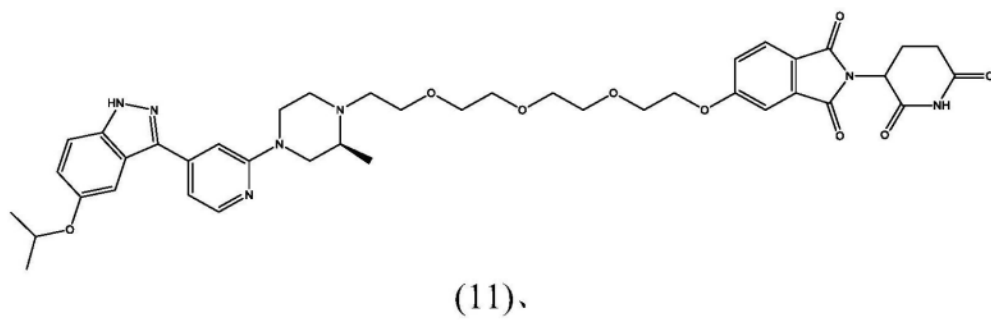
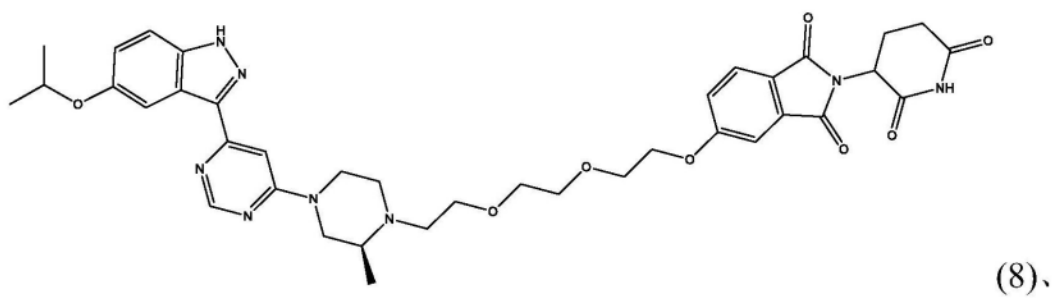
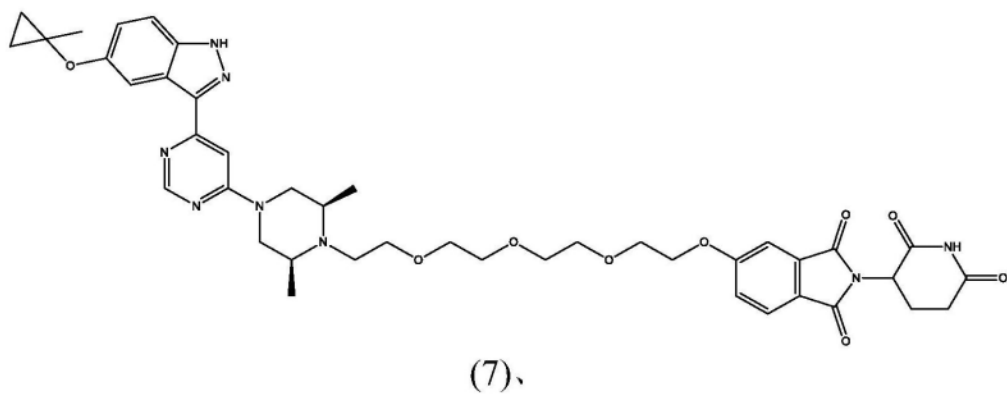
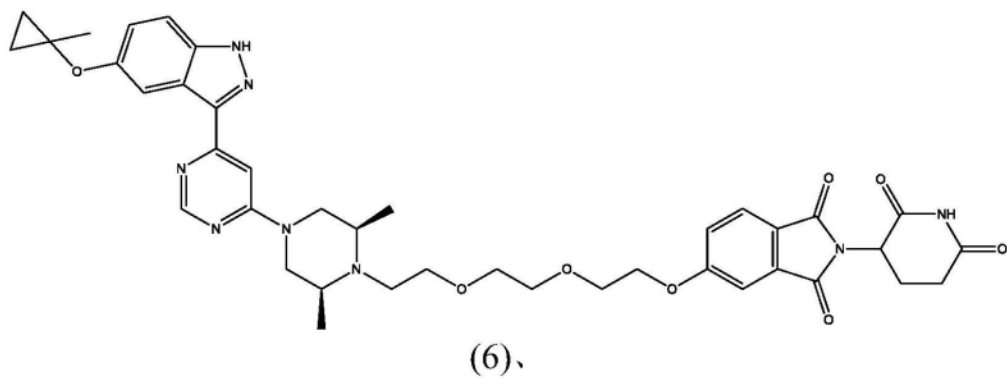
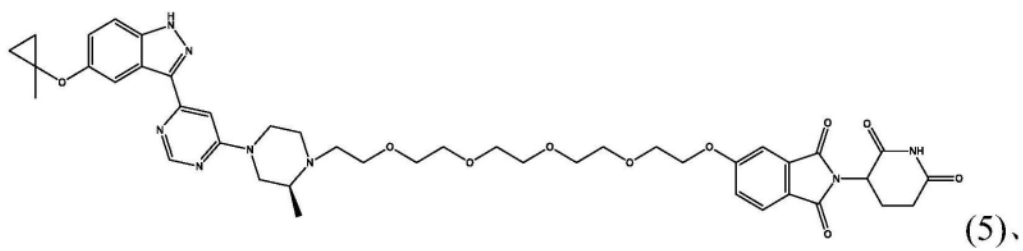
其中N*是与所述CLM或所述PTM共价连

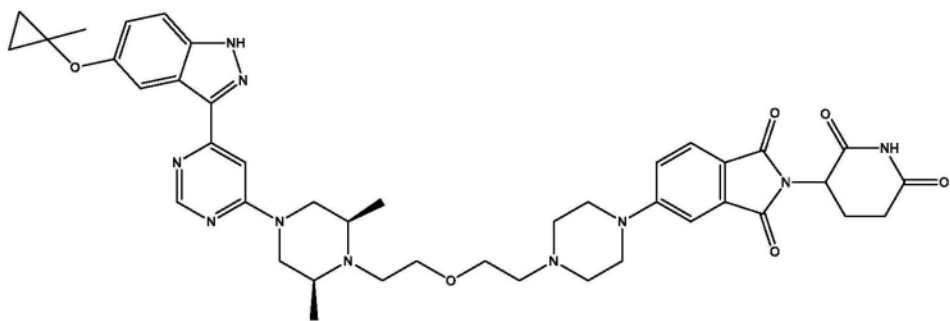
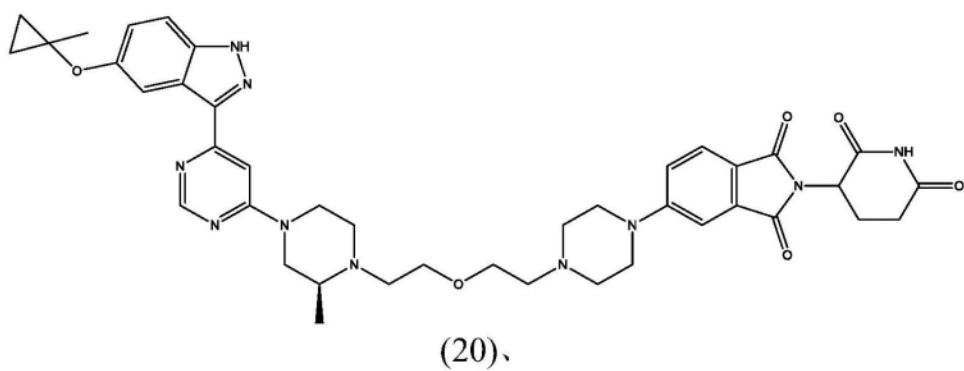
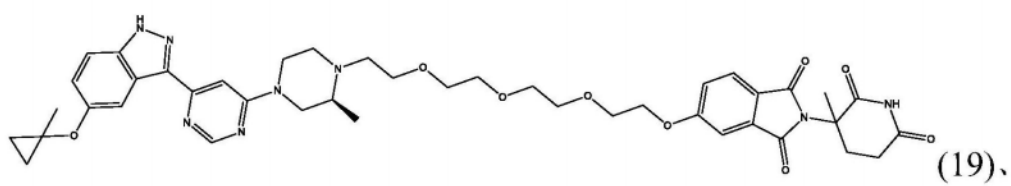
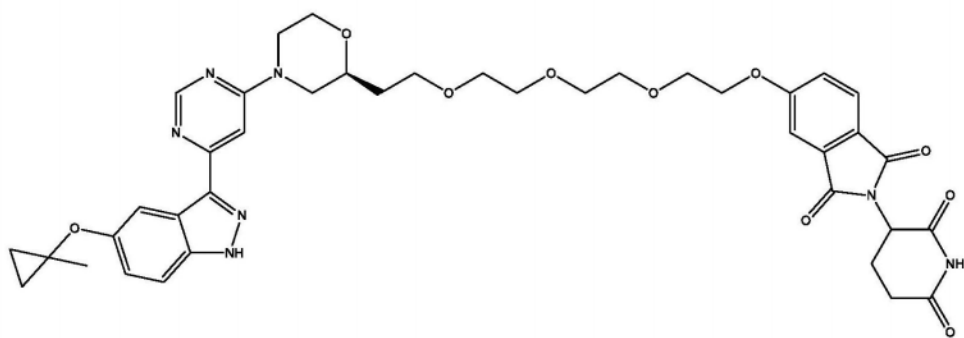
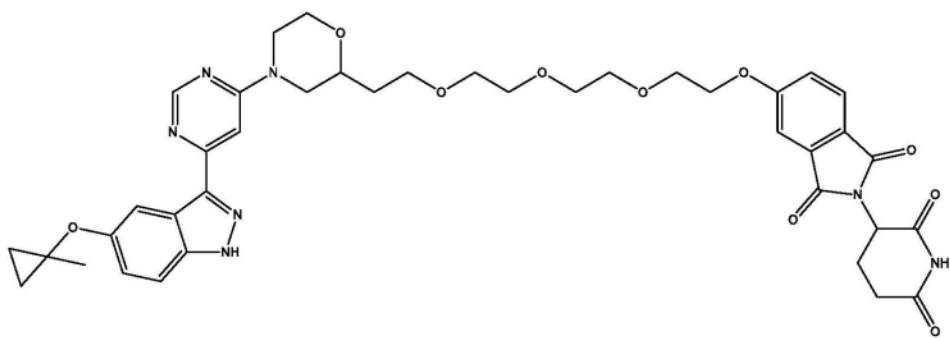
接的氮原子;或

(d) 它们的组合。

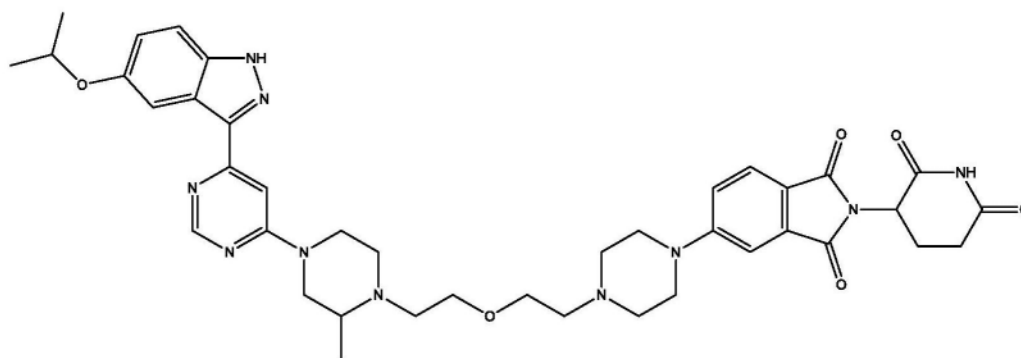
12. 化合物,其中所述化合物为:



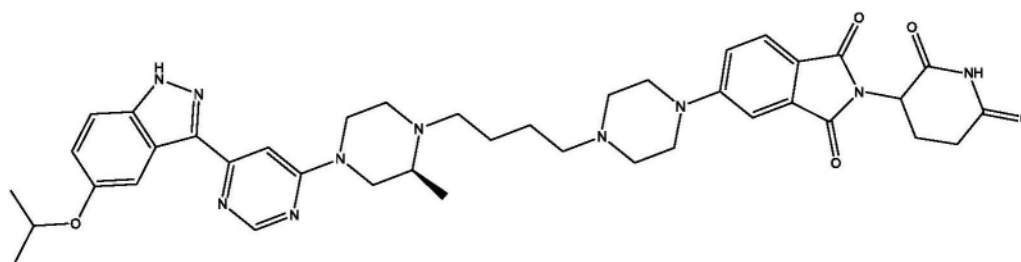




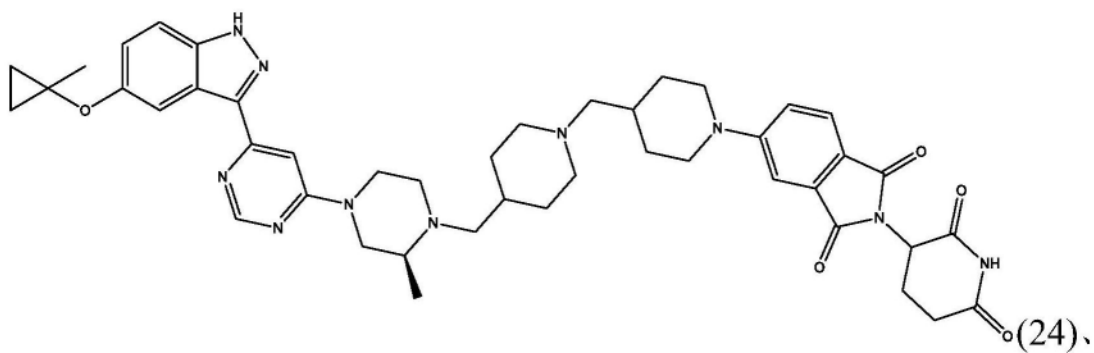
(21)、



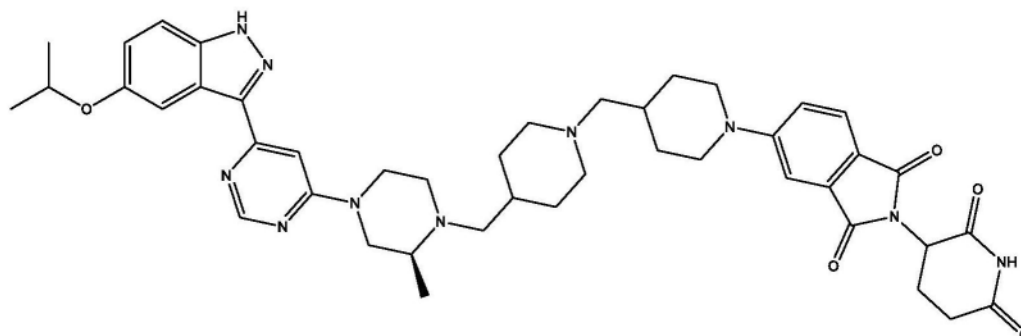
(22)、



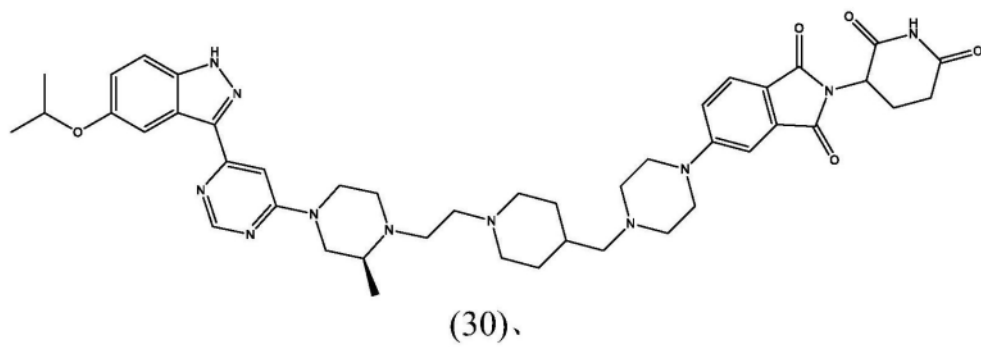
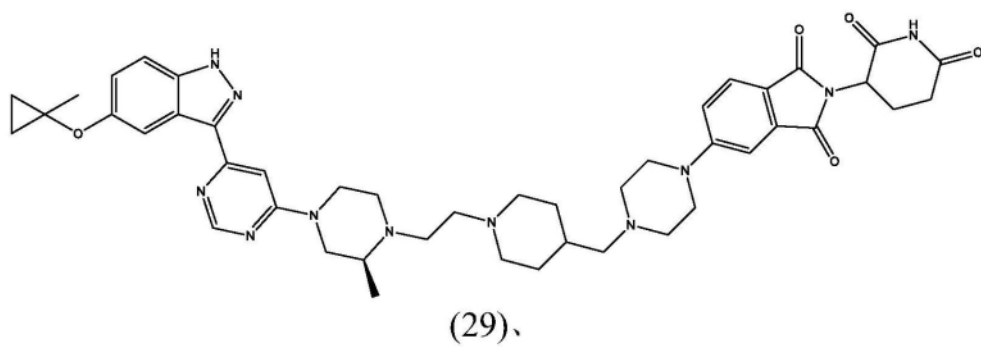
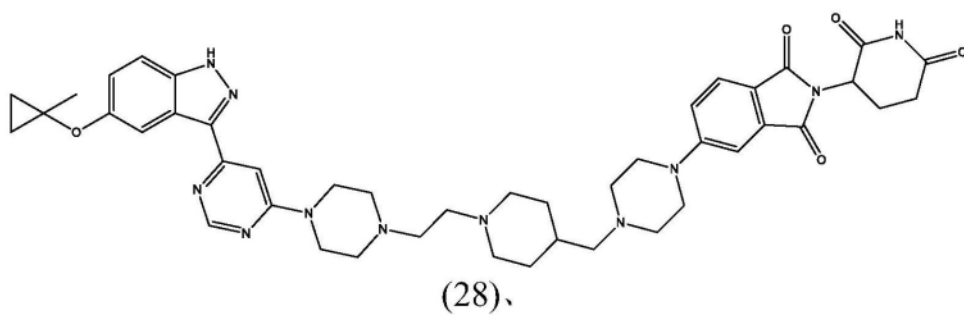
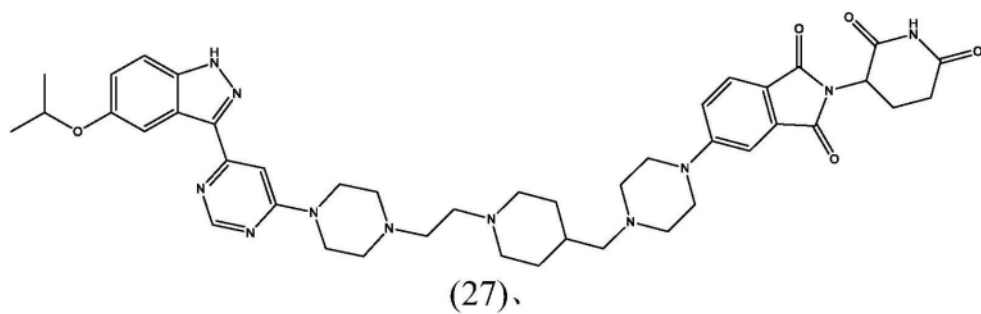
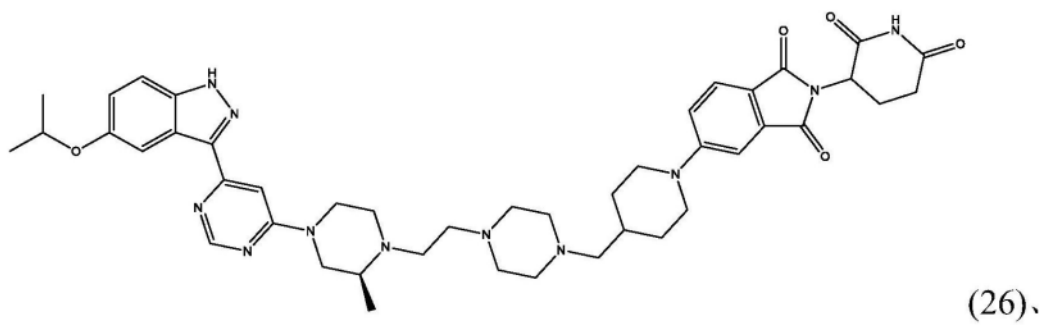
(23)、

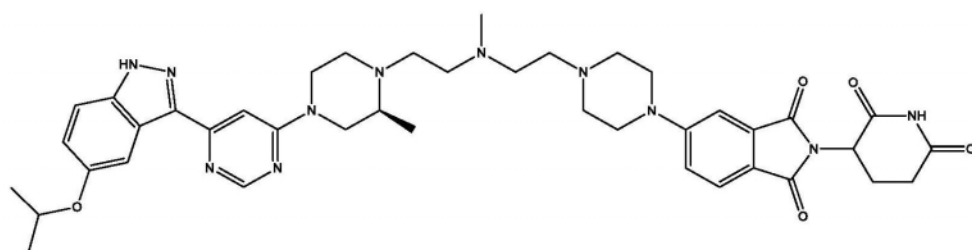
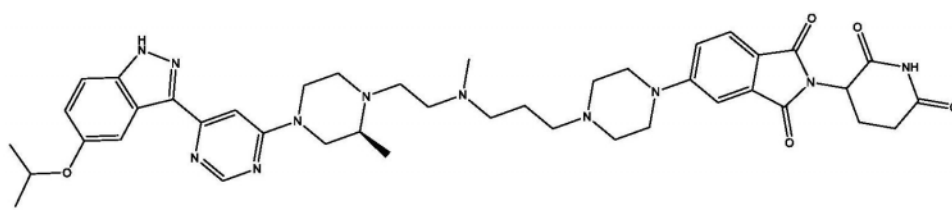
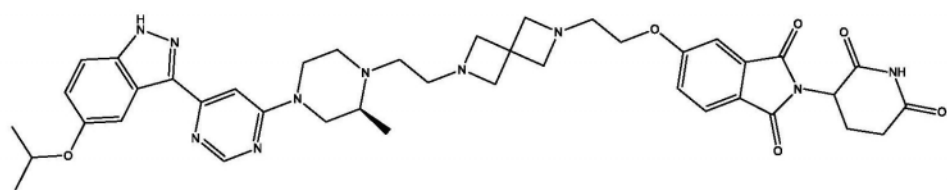
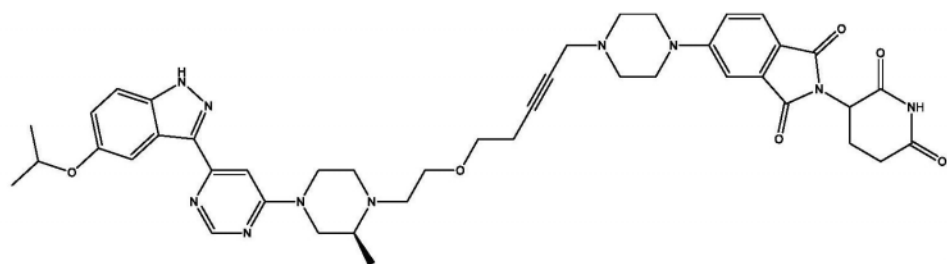
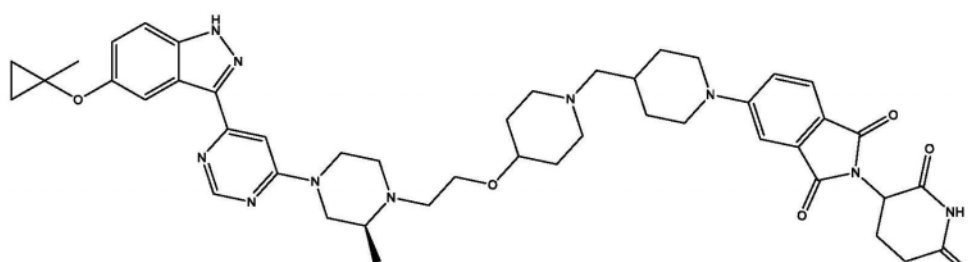
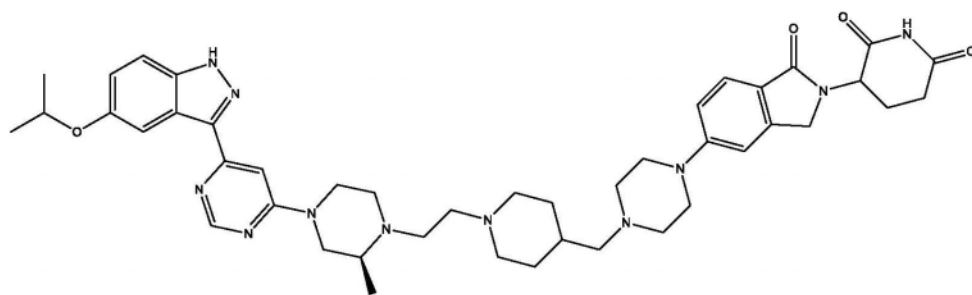


(24)、

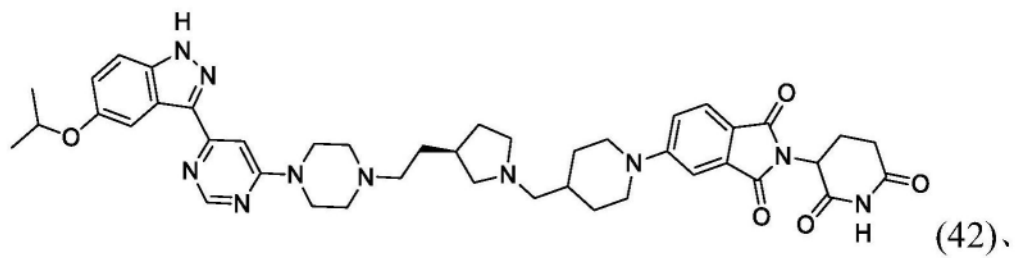
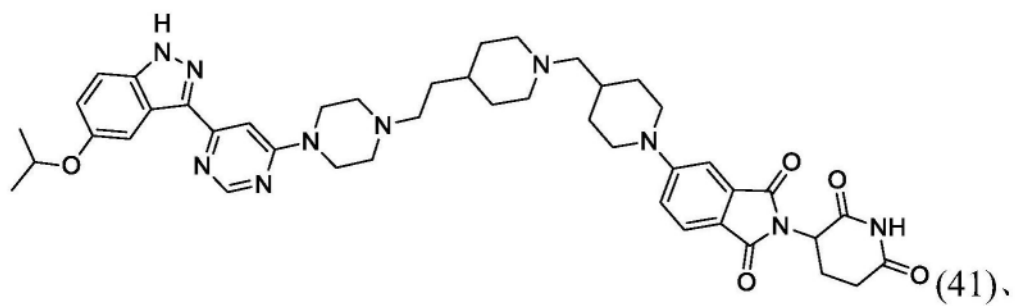
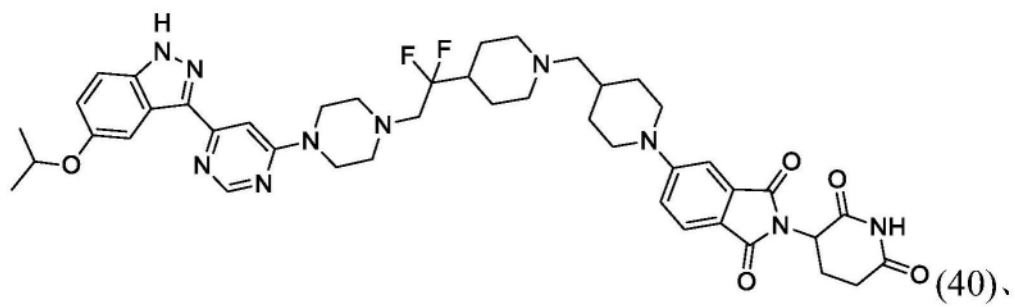
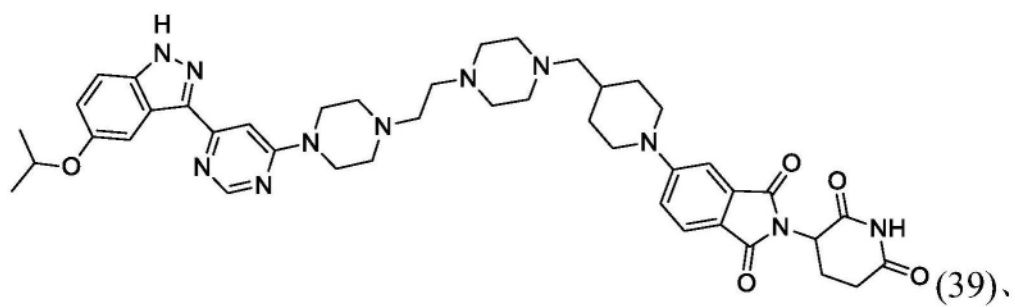
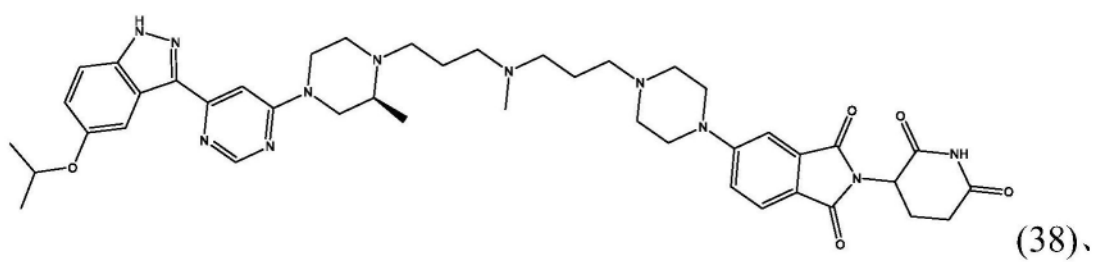


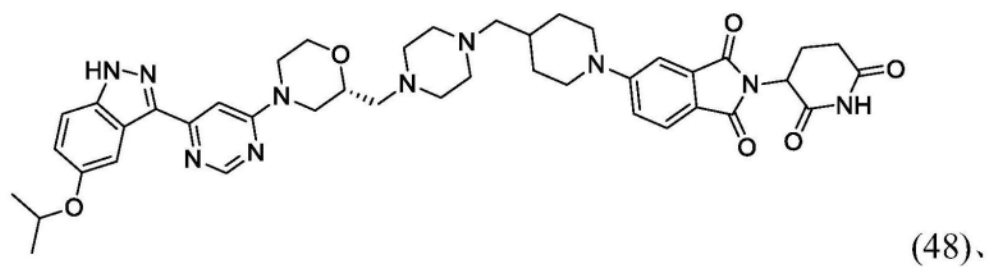
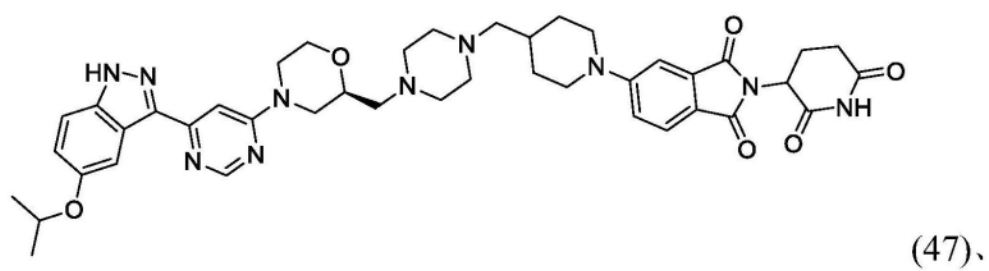
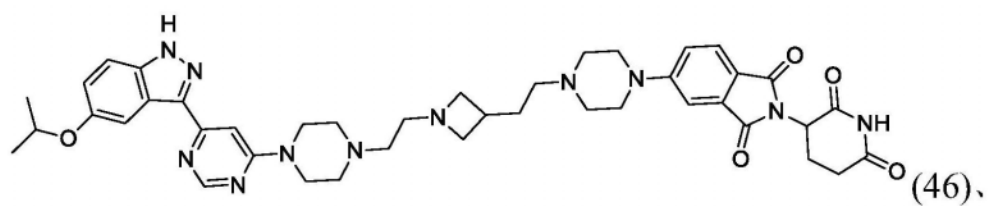
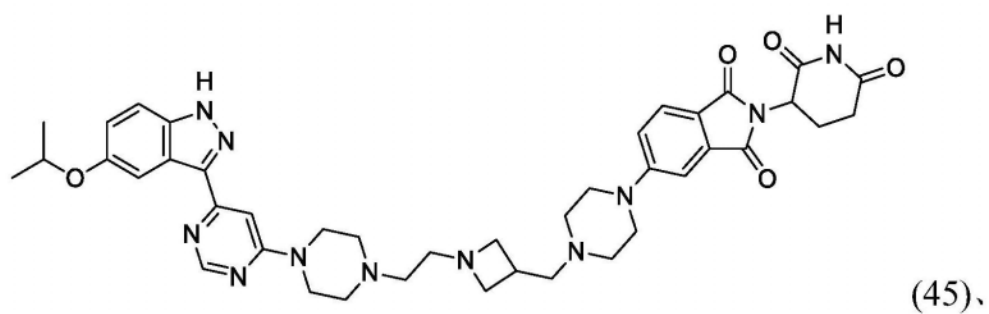
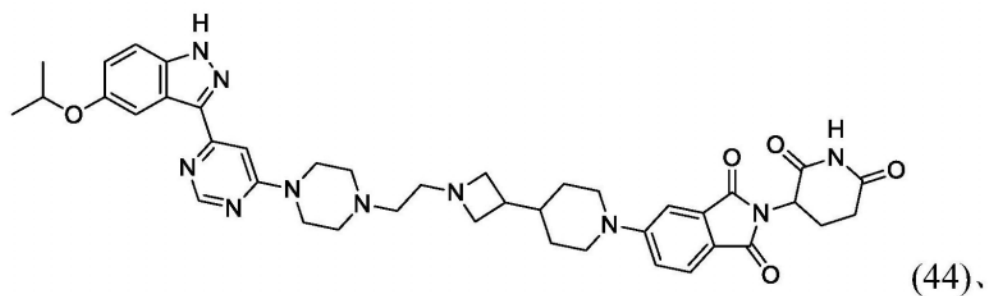
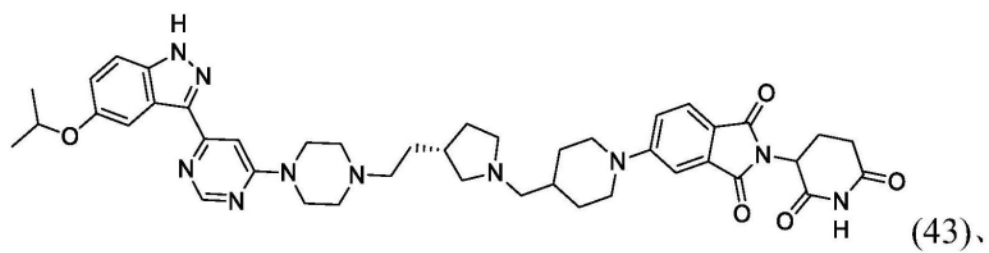
(25)、

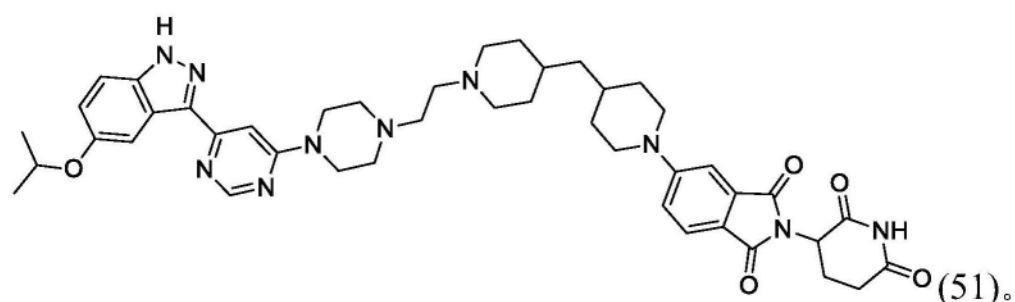
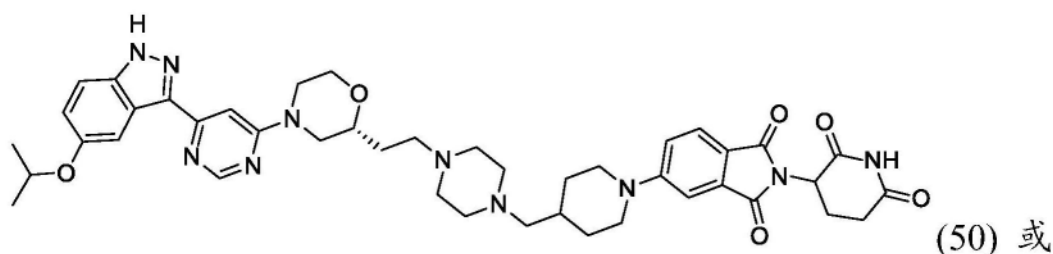
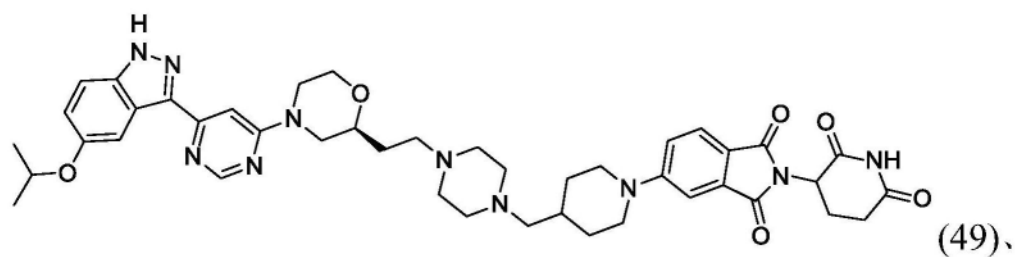




(37)、







13. 一种药物组合物,其包含权利要求1-12中任一项所述的化合物和药学上可接受的载体。

14. 如权利要求13所述的药物组合物,其中所述组合物还包含另外的生物活性剂。

15. 如权利要求14所述的药物组合物,其中所述另外的生物活性剂是抗炎剂、化疗剂或免疫调节剂。

16. 包含药学上可接受的载体和至少一种权利要求1-12中任一项所述的化合物的药物组合物在制备用于治疗与LRRK2有因果关系的疾病或病症或症状的药物中的用途。

17. 如权利要求16所述的用途,其中所述与LRRK2有因果关系的疾病或病症选自特发性帕金森氏病(PD)、LRRK2突变相关的PD、原发性tau蛋白病、路易体痴呆、克罗恩病、麻风病、神经炎症和它们的组合。

18. 权利要求1-12中任一项所述的化合物在制备用于治疗与LRRK2相关的疾病或病症的药物中的用途。

19. 如权利要求18所述的用途,其中所述与LRRK2相关的疾病或病症选自特发性帕金森氏病(PD)、LRRK2突变相关的PD、原发性tau蛋白病、路易体痴呆、克罗恩病、麻风病、神经炎症和它们的组合。

20. 包含药学上可接受的载体和至少一种权利要求1-12中任一项所述的化合物的药物组合物在制备用于治疗帕金森氏病(PD)的药物中的用途。

21. 包含药学上可接受的载体和至少一种权利要求1-12中任一项所述的化合物的药物组合物在制备用于治疗核上性麻痹的药物中的用途。

基于吡唑的化合物和相关使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本公开要求于2020年3月21日提交的标题为INDAZOLE BASED COMPOUNDS AND ASSOCIATED METHODS OF USE的美国临时申请号62/992,952的利益和优先权,所述申请出于所有目的以引用的方式整体并入本文。

[0003] 以引用的方式并入

[0004] 所有引用的参考文献特此均以引用的方式整体并入本文,包括于2015年4月14日提交的公开为美国专利申请公开号2015/0291562的美国专利申请序列号14/686,640;和于2015年7月6日提交的公开为美国专利申请公开号2016/0058872的美国专利申请序列号14/792,414;和于2018年4月13日提交的公开为美国专利申请公开号2018/0228907的美国专利申请序列号15/953,108;和于2015年9月2日提交的美国专利申请公开号2016/0009689A1;以及于2016年2月18日提交的美国专利申请公开号2016/0200722A1。

发明领域

[0005] 本发明提供了包含靶蛋白结合部分和E3泛素连接酶结合部分的异双功能化合物和相关使用方法。所述双功能化合物可用作富亮氨酸重复激酶2 (LRRK2) 的靶向泛素化的调节剂,所述富亮氨酸重复激酶2 (LRRK2) 然后被降解和/或抑制。

背景技术

[0006] 大多数小分子药物将酶或受体结合在紧密且界限清楚的口袋中。另一方面,众所周知,由于小分子接触面大、沟浅或界面平坦,蛋白质-蛋白质相互作用难以使用小分子靶向。E3泛素连接酶(其中数百种在人类中已知)赋予底物以泛素化的特异性,并且因此,由于它们对某些蛋白质底物的特异性,它们比一般蛋白酶体抑制剂是更具吸引力的治疗靶标。E3连接酶配体的开发已被证明具有挑战性,部分原因是它们必须破坏蛋白质-蛋白质相互作用。然而,最近的开发提供了与这些连接酶结合的特定配体。例如,自从发现第一种小分子E3连接酶抑制剂nutlin以来,已经报道了靶向E3连接酶的另外的化合物。

[0007] Cereblon是在人中由CRBN基因编码的蛋白质。CRBN直向同源物从植物到人都是高度保守的,这强调了它的生理重要性。Cereblon与损伤的DNA结合蛋白1 (DDB1)、Cullin-4A (CUL4A) 和Cullin 1 (ROC1) 的调节剂形成E3泛素连接酶复合物。这种复合物使许多其他蛋白质泛素化。通过尚未完全阐明的机制,靶蛋白的cereblon泛素化导致成纤维细胞生长因子8 (FGF8) 和成纤维细胞生长因子10 (FGF10) 的水平升高。FGF8继而调节许多发育过程,诸如肢体和听觉囊泡形成。最终结果是,这种泛素连接酶复合物对胚胎内的肢体生长很重要。在不存在cereblon的情况下,DDB1与DDB2形成复合物,其用作DNA损伤结合蛋白。

[0008] 双功能化合物,诸如美国专利申请公开2015/0291562和2014/0356322 (以引用的方式并入本文) 中描述的那些双功能化合物,起到将内源蛋白质募集到E3泛素连接酶以进行泛素化和后续在蛋白酶体降解途径中的降解的作用。特别地,上面引用的出版物描述了双功能或蛋白水解靶向嵌合(**PROTAC[®]**)蛋白质降解剂化合物,这些化合物可以用作多种

多肽和蛋白质的靶向泛素化的调节剂,这些多肽和蛋白质然后被所述双功能化合物降解和/或抑制。

[0009] 富亮氨酸重复激酶2 (LRRK2) 是富亮氨酸重复激酶家族的成员,且是一种大型多结构域蛋白,其具有N末端犹狨结构域、锚蛋白重复区、富亮氨酸重复 (LRR) 结构域、串联的Roco型GTP酶结构域、含DFG样基序的激酶结构域和C端WD40结构域。LRRK2蛋白有2527个氨基酸,且分子量为280kDa。LRRK2的催化活性与激酶和GTP酶结构域有关,并且LRRK2的活性形式是异二聚体 (Greggio E等人:The Parkinson disease-associated leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) is a dimer that undergoes intramolecular autophosphorylation. *J Biol Chem* 2008, 283:16906-16914)。GTP结合对于激酶活性是必需的,并且阻止GTP结合的突变已被证明可以消除LRRK2激酶活性 (Ito G等人:GTP binding is essential to the protein kinase activity of LRRK2, a causative gene product for familial Parkinson's disease. *Biochemistry* 2007, 46:1380-1388)。唯一经过验证的生理底物 (LRRK2自身除外) 是低分子量G蛋白的一个子集,包括Rab8a和Rab10,它们参与调节囊泡运输和内体功能以及细胞骨架网络上的运输 (Steger M等人:Phosphoproteomics reveals that Parkinson's disease kinase LRRK2 regulates a subset of Rab GTPases. *Elife* 2016, 5:e12813)。LRRK2在免疫细胞 (嗜中性粒细胞、单核细胞和B细胞)、肺和肾中的表达水平最高,在脑中 (其在黑质的多巴胺能神经元中表达) 的表达水平较低 (West AB等人:Differential LRRK2 expression in the cortex, striatum, and substantia nigra in transgenic and nontransgenic rodents. *J Comp Neurol* 2014, 522:2465-2480)。

[0010] LRRK2有几种主要的功能获得性致病性和特征性突变,所述突变位于Roco结构域中 (N1437H、R1441G/C/H、Y1699C) 从而实现GTP水解,或位于激酶结构域中 (G2019S和I2020T)。G2019S是与帕金森病 (PD) 有关的最常见的LRRK2突变,帕金森病是一种进行性神经退行性疾病,其特征是静止性震颤、僵直、运动减少 (运动迟缓) 和姿势不稳定。PD的组织学特征包括黑质致密部中多巴胺能神经元的神经变性以及称为路易体的细胞内包涵体和由 α -突触核蛋白聚集形式组成的神经突。G2019S与所有PD患者中1%-2%的患者相关,并导致体外激酶活性增加2倍 (West AB等人:Parkinson's disease associated mutations in leucine-rich repeat kinase 2 augment kinase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005, 102:16842-16847), 并且Ser1292处的自磷酸化增加4倍 (Sheng Z等人:Ser1292 autophosphorylation is an indicator of LRRK2 kinase activity and contributes to the cellular effects of PD mutations. *Sci Transl Med* 2012, 4:164ra161)。G2019S和I2020T突变位于DFG基序 (在LRRK2的情况下为DYGI) 内,为所有激酶共有,其控制催化活性。这些突变被认为会破坏非活性构象,并从而增加催化活性 (Schmidt SH等人:The dynamic switch mechanism that leads to activation of LRRK2 is embedded in the DFGpsi motif in the kinase domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019, 116:14979-14988)。上述帕金森病相关突变中的几种 (R1441C/G、Y1699C和I2020T) 抑制LRRK2在Ser910和Ser935处的磷酸化,继而减少LRRK2与14-3-3蛋白的缔合,这被认为代表了LRRK2的非活性形式 (Nichols J等人:14-3-3 binding to LRRK2 is disrupted by multiple Parkinson's disease associated mutations and regulates cytoplasmic

localisation. *Biochem J* 2010,430:393-404)。

[0011] 此外,LRRK2通过染色体12区域内的称为PARK8的突变与常染色体显性遗传PD相关联,所述突变与LRRK2基因相关(Funayama M等人:A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol* 2002,51:296-301; Zimprich A等人: Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron* 2004,44:601-607; Paisan-Ruiz C等人: Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease. *Neuron* 2004,44:595-600)。LRRK2在1978年首次被描述为与常染色体显性遗传帕金森病有关,其中其追溯到日本的一个家族(Nukada H等人:[A big family of paralysis agitans (author's transl)]. *Rinsho Shinkeigaku* 1978,18:627-634)。最常见的致病性LRRK2突变(G2019S)发生在4%-8%的家族性PD病例和1%-3%的散发性PD病例中。此外,G2019S突变在选定血统的PD患者中很常见,其中30-40%的北非柏柏尔人患者和14%的犹太患者带有此突变。

[0012] LRRK2激酶抑制剂已被提出有潜力治疗突变驱动的PD(其中LRRK2活性增加)(诸如G2019S)和特发性PD(其中LRRK2活性增加)(Chen J等人: Leucine-rich repeat kinase 2 in Parkinson's disease: updated from pathogenesis to potential therapeutic target. *Eur Neurol* 2018,79:256-265; Alessi DR等人: LRRK2 kinase in Parkinson's disease. *Science* 2018,360:36-37; Di Maio R等人: LRRK2 activation in idiopathic Parkinson's disease. *Sci Transl Med* 2018,10)。几种治疗剂正在进入临床,包括将直接影响下游靶标磷酸化的LRRK2激酶抑制剂,以及直接输注至CNS中以阻断LRRK2蛋白的翻译从而降低LRRK2蛋白水平的寡核苷酸(ASO)。

[0013] 路易体是PD的主要组织学标志。路易体主要由 α -突触核蛋白聚集体组成,并且增加这种聚集的 α -突触核蛋白中的突变也会增加患PD的风险(Meade RM等人: Alpha-synuclein structure and Parkinson's disease lessons and emerging principles. *Mol Neurodegener* 2019,14:29-29)。用ASO耗尽LRRK2(Zhao HT等人: LRRK2 antisense oligonucleotides ameliorate α -synuclein inclusion formation in a Parkinson's disease mouse model. *Molecular therapy. Nucleic acids* 2017,8:508-519)和基因组水平的LRRK2缺失已被证明可以减少PD小鼠模型中 α -突触核蛋白介导的病变(Lin X等人: Leucine-rich repeat kinase 2 regulates the progression of neuropathology induced by Parkinson's disease-related mutant alpha-synuclein. *Neuron* 2009,64:807-827)。增加LRRK2活性的突变,诸如G2019S,会增加神经元和PD小鼠模型中 α -突触核蛋白的聚集。这种增加被LRRK2激酶抑制剂逆转(Volpicelli-Daley LA等人: G2019S-LRRK2 Expression Augments α -Synuclein Sequestration into Inclusions in Neurons. *J Neurosci*. 2016年7月13日;36(28):7415-27. doi:10.1523/JNEUROSCI.3642-15.2016)。有一些证据表明,LRRK2的G2019S突变形式对CNS中激酶抑制剂的抑制具有抗性,从而可能会降低其疾病调节效应(Kelly K等人: The G2019S mutation in LRRK2 imparts resiliency to kinase inhibition. *Exp Neurol*. 2018 Nov;309:1-13)。尽管大多数PD病例在尸检时也有路易体,但在大量LRRK2 G2019S突变相关的PD病例中不存在路易体(Kalia LV等人: Clinical correlations with Lewy body pathology in LRRK2-

related Parkinson disease. *JAMA neurol* 2015,72:100-105)。除了路易体是PD的常见特征外,Tau病变也是LRRK2突变携带者尸检时的主要特征(Henderson MX等人:Alzheimer's disease tau is a prominent pathology in LRRK2 Parkinson's disease. *Acta Neuropathol Commun* 2019,7.183-183)。在一项研究中,在100%的LRRK2突变携带者中观察到Tau病变,从而强调了LRRK2是在PD情形下将PD与Tau病变联系起来的重要靶标,尽管遗传因果关系并没有LRRK2和原发性tau蛋白病(诸如核上性麻痹(PSP)和皮质基底节变性(CBD))之间那么强(Ross OA等人(2006) *Lrrk2 R1441 substitution and progressive supranuclear palsy. Neuropathol Appl Neurobiol* 32(1):23-25; Sanchez-Contreras M等人(2017) *Study of LRRK2 variation in tauopathy: progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. Mov Disord* 32(1):115-123)。最近报道了LRRK2基因座处作为PSP存活的遗传决定因素的常见变化(Jabbari E等人, *Common variation at the LRRK2 locus is associated with survival in the primary tauopathy progressive supranuclear palsy. bioRxiv* 2020.02.04.932335; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.04.932335>)。据报道,通过表达数量性状基因座(eQTL)分析获得的PSP中增加的LRRK2的表达可能导致反应性小胶质细胞诱导的促炎状态,其驱动错误折叠的Tau蛋白的持续积累和临床疾病进展。LRRK2的功能变体也与克罗恩病(Crohn's Disease)和麻风1型炎症反应有关(Hui KY等人 *Functional variants in the LRRK2 gene confer shared effects on risk for Crohn's disease and Parkinson's disease. Sci Transl Med*. 2018年1月10日;10(423). pii: eaai7795. doi:10.1126/scitranslmed.aai7795; Fava等人 *Pleiotropic effects for Parkin and LRRK2 in leprosy type-1 reactions and Parkinson's disease. Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019年7月30日;116(31):15616-15624. doi:10.1073/pnas.1901805116. Epub 2019年7月15日)。

[0014] LRRK2在嗜中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞以及脑小胶质细胞中的免疫系统中高度表达,并且是小胶质细胞活化和溶酶体降解过程的内在调节的调节剂(Ma等人 *Genetic comorbidities in Parkinson's disease. Hum Mol Genet*. 2014年2月1日;23(3):831-41. doi:10.1093/hmg/ddt465. Epub 2013年9月20日,其在Schapansky等人 *The complex relationships between microglia, alpha-synuclein, and LRRK2 in Parkinson's disease. Neuroscience*. 2015年8月27日;302:74-88. doi:10.1016/j.neuroscience.2014.09.049. Epub 2014年10月2日中综述)。通过PD疾病过程或LRRK2中的突变延长这些免疫细胞的活化可能会增加神经炎症并导致发生PD和/或Tau病变的更大风险。使用抗TNF剂治疗将炎症性肠病患者发生PD的风险降低78%(Peter I等人: *Anti-tumor necrosis factor therapy and incidence of Parkinson disease among patients with inflammatory bowel disease. JAMA Neurol* 2018),从而证明了炎症和PD之间的密切联系。除了PD,LRRK2与其他疾病诸如癌症、麻风病和克罗恩病有关(Lewis PA, Manzoni C. *LRRK2 and human disease: a complicated question or a question of complexes?* (2012). *Sci Signal*. 5(207), pe2)。

[0015] 本领域中存在对用于LRRK2相关疾病和病症的有效治疗的持续需要,所述疾病和病症例如特发性PD、LRRK2突变相关PD(例如,与一种或多种LRRK2活化突变相关的PD)、原发性tau蛋白病(例如,核上性麻痹(PSP)或皮质基底节变性(CBD))、路易体痴呆、克罗恩病、麻

风病(例如,具有1型炎症反应的麻风病),和/或神经炎症。

发明内容

[0016] 本公开描述了用于将富亮氨酸重复激酶2 (LRRK2) 募集到E3泛素连接酶以进行靶向泛素化和后续的蛋白酶体降解的异双功能化合物,以及制备和使用所述异双功能化合物的方法。此外,本说明书提供了使用有效量的本公开化合物来治疗或改善疾病状况的方法,所述疾病状况诸如LRRK2相关疾病或病症,例如LRRK2蛋白或突变的LRRK2蛋白或错误折叠的LRRK2蛋白的积累或过度活性,或 α -突触核蛋白聚集或积累,或Tau聚集或积累,或特发性PD,或LRRK2突变相关PD(例如,与一种或多种LRRK2活化突变相关的PD),或原发性tau蛋白病(例如,核上性麻痹(PSP)或皮质基底节变性(CBD)),或路易体痴呆,或克罗恩病,或麻风病(例如,具有1型炎症反应的麻风病),或神经炎症。

[0017] 因此,在一方面,本公开提供了异双功能化合物,所述异双功能化合物包含E3泛素连接酶结合部分(即,E3泛素连接酶的配体(“ULM”基团))和结合LRRK2或其突变形式的部分(即,蛋白质靶向部分或“PTM”基团,即,靶向LRRK2的配体或“LTM”基团),使得LRRK2蛋白由此被置于泛素连接酶附近以实现LRRK2蛋白的泛素化和后续的降解(和/或抑制)。在优选的实施方案中,ULM(泛素化连接酶结合部分)是cereblon E3泛素连接酶结合部分(CLM)。例如,双功能化合物的结构可以描述为:



[0019] PTM和ULM部分(例如,CLM)的各自位置,以及如本文所示的它们的数量,仅作为示例提供,并不旨在以任何方式限制化合物。如技术人员将理解的,可以合成如本文所述的双功能化合物,使得各个功能部分的数量和位置可以根据需要改变。

[0020] 在某些实施方案中,双功能化合物还包含化学接头(“L”)。在该实例中,双功能化合物的结构可以描述为:



[0022] 其中PTM是LRRK2靶向部分(LTM),L是接头,例如将PTM偶联至ULM的键或化学连接基团,并且ULM是cereblon E3泛素连接酶结合部分(CLM)。

[0023] 例如,双功能化合物的结构可以描述为:



[0025] 其中:PTM是LRRK2靶向部分(LTM);“L”是将PTM偶联至CLM的接头(例如键或化学连接基团);并且CLM是结合至cereblon的cereblon E3泛素连接酶结合部分。

[0026] 在某些实施方案中,本文所述的化合物包含多个独立选择的ULM、多个PTM、多个化学接头或它们的组合。

[0027] 在本文所述的任何方面或实施方案中,PTM是结合LRRK2或其突变体的小分子。在本文所述的任何方面或实施方案中,PTM是结合LRRK2的小分子。在本文所述的任何方面或

实施方案中,PTM是结合LRRK2野生型蛋白和LRRK2突变体(诸如包括选自G2019S、I2020T、N1437H、R1441G/C/H和Y1699C的一种或多种突变的LRRK2突变体)的小分子。在本文所述的任何方面或实施方案中,PTM是结合LRRK2野生型蛋白和LRRK2突变体(诸如但不限于G2019S、I2020T、N1437H、R1441G/C/H、Y1699C或它们的组合)的小分子。在本文所述的任何方面或实施方案中,小分子结合如本文所述的LRRK2。

[0028] 在一个实施方案中,CLM包含衍生自酰亚胺、硫代酰亚胺、酰胺或硫代酰胺的化学基团。在特定实施方案中,化学基团是邻苯二甲酰亚氨基,或其类似物或衍生物。在某个实施方案中,CLM选自沙利度胺(thalidomide)、来那度胺(lenalidomide)、泊马度胺(pomalidomide)、它们的类似物、它们的等排物和它们的衍生物。其他设想的CLM描述于美国专利申请公开号2015/0291562,其以引用的方式整体并入本文。

[0029] 在某些实施方案中,“L”是键。在另外的实施方案中,接头“L”是具有在1至20范围内的直链非氢原子数的连接体。连接体“L”可以包含但不限于一种或多种官能团,诸如醚、酰胺、烷烃、烯烃、炔烃、酮、羟基、甲酸、硫醚、亚砷和砷。接头可以包含芳族、杂芳族、环状、双环或三环部分。卤素(诸如Cl、F、Br和I)取代可以包含在接头中。在氟取代的情况下,可以包括单个或多个氟。

[0030] 在某些实施方案中,CLM是哌啶-2,6-二酮的衍生物,其中哌啶-2,6-二酮可以在3-位被取代,并且3-取代可以是双环杂芳烃,其键联为C-N键或C-C键。CLM的实例可以是但不限于泊马度胺、来那度胺和沙利度胺以及它们的类似物。

[0031] 在另一方面,本说明书提供了治疗性组合物,所述治疗性组合物包含有效量的如本文所述的化合物或其盐形式,以及药学上可接受的载体。治疗性组合物可用于在患者或受试者(例如,动物诸如人)中触发LRRK2或其突变型式的靶向降解和/或LRRK2或其突变型式的抑制,并且可用于治疗或改善患者或受试者的与LRRK2或其突变型式有因果关系的一种或多种疾病状态、病症或症状,该治疗通过降解或抑制LRRK2蛋白或其突变型式,或控制或降低LRRK2蛋白水平或其突变型式的蛋白水平来完成。在某些实施方案中,本文所述的治疗性组合物可用于实现LRRK2或其突变形式的降解,以治疗或改善疾病,诸如例如LRRK2积累或过度反应性、 α -突触核蛋白聚集或积累、Tau聚集或积累、特发性PD、LRRK2突变相关PD(例如,与一种或多种LRRK2活化突变相关的PD)、原发性tau蛋白病(例如,核上性麻痹(PSP)或皮质基底节变性(CBD))、路易体痴呆、克罗恩病、麻风病(例如,具有1型炎症反应的麻风病),和/或神经炎症。

[0032] 在又一方面,本公开提供了一种在细胞中泛素化LRRK2或其突变形式的方法。在某些实施方案中,所述方法包括施用如本文所述的异双功能化合物,所述化合物包含结合LRRK2或其突变形式的PTM,和CLM,它们优选地通过如本文所述的化学接头部分连接,以实现LRRK2蛋白或其突变形式的降解。尽管不想受理论限制,但发明人认为,根据本发明,当通过使用异双功能化合物将LRRK2野生型或突变蛋白置于E3泛素连接酶附近时,将发生LRRK2野生型或突变蛋白的多泛素化,从而触发LRRK2或突变蛋白经由蛋白酶体途径的后续降解,并控制或降低细胞(诸如需要此类治疗的受试者的细胞)中的LRRK2蛋白水平。本公开提供的LRRK2蛋白或其突变形式的水平的控制或降低提供了对LRRK2因果相关疾病状态、疾患或相关症状的治疗,如通过降低受试者的细胞中LRRK2蛋白或其突变形式的量来调节。

[0033] 在又另一方面,本说明书提供了用于治疗或改善受试者或患者(例如,动物诸如

人)的与LRRK2或其突变形式有因果关系的疾病、疾患或其症状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用包含有效量(例如,治疗有效量)的如本文所述的异双功能化合物或其盐形式和药学上可接受的载体的组合物,其中所述组合物有效地治疗或改善受试者的疾病或病症或其症状。

[0034] 在另一方面,本说明书提供了用于鉴定使用根据本公开的化合物在生物系统中降解LRRK2蛋白的效果的方法。

[0035] 在另一方面,本说明书提供了用于制备本公开的异双功能化合物的方法和中间体,所述化合物能够在细胞中(例如,在体内或体外)靶向泛素化和降解LRRK2蛋白。

附图说明

[0036] 并入并形成本说明书一部分的附图说明本公开的若干实施方案,并且连同说明书用来解释本公开的原则。附图仅用于说明本公开的实施方案,不应理解为对本公开的限制。本公开另外的目标、特征和优点通过以下结合示出本公开说明性实施方案的附图的详细说明将变得显而易见。

[0037] 图1A和图1B.异双功能蛋白质降解化合物的一般原理的说明。图1A.示例性异生物功能蛋白质降解化合物包含蛋白质靶向部分(PTM;深色阴影矩形)、泛素连接酶结合部分(ULM;浅色阴影三角形)和任选的将PTM偶联至ULM的接头部分(L;黑线)。图1B说明了如本文所述的异双功能蛋白质降解化合物(商业上称为**PROTAC**[®]蛋白质降解剂化合物)的功能用途。简而言之,ULM(三角形)识别并结合至特定的E3泛素连接酶,而PTM(大矩形)结合并募集靶蛋白,使其紧靠E3泛素连接酶。通常,E3泛素连接酶与E2泛素缀合蛋白(E2)复合,并单独地或通过E2蛋白催化多个泛素分子(黑色圆圈)经由异肽键与靶蛋白上的赖氨酸连接。多泛素化蛋白(最右边)由此被细胞的蛋白酶体机制靶向降解。

具体实施方式

[0038] 目前描述的是关于令人惊讶的发现的化合物、组合物和方法,所述发现即一旦E3泛素连接酶和LRRK2蛋白通过结合E3泛素连接酶和LRRK2蛋白的双功能化合物而接近放置,则E3泛素连接酶(例如,cereblon E3泛素连接酶)使LRRK2蛋白或其突变形式泛素化。因此,本公开提供了包含通过键或化学连接基团(L)偶联至靶向LRRK2蛋白的蛋白质靶向部分(“PTM”)的E3泛素连接酶结合部分(“ULM”)的化合物和组合物,其导致LRRK2蛋白的泛素化,并导致LRRK2蛋白被蛋白酶体降解(参见图1)。

[0039] 在一方面,本说明书提供了其中PTM结合至LRRK2蛋白和/或其突变形式的化合物。本公开还提供了组合物文库及其在细胞中产生LRRK2蛋白的靶向降解的用途。

[0040] 在某些方面,本公开提供了包含配体例如小分子配体(即,具有低于2,000、1,000、500或200道尔顿的分子量)的异双功能化合物,所述配体能够结合至E3泛素连接酶,诸如cereblon。所述化合物还包含能够结合至LRRK2蛋白或其突变形式的小分子部分,所述结合方式为使得LRRK2蛋白或其突变形式置于泛素连接酶附近以实现LRRK2蛋白或其突变形式的泛素化和降解(和/或抑制)。“小分子”是指,除上述之外,分子是非肽基的,即,它不被认为是肽,例如,包含少于4、3或2个氨基酸残基。根据本说明书,PTM、ULM和异双功能分子中的每一者都是小分子。

[0041] 如整个说明书中使用的术语“LRRK2”,除非特别地指出有相反情况,否则意图包括野生型LRRK2和其突变形式两者,诸如包括一种或多种选自G2019S、I2020T、N1437H、R1441G/C/H和Y1699C的突变的LRRK2突变蛋白。

[0042] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的含义。本说明书中使用的术语仅仅是为了描述特定实施方案,并且并不意图限制本公开。

[0043] 在提供数值范围时,应当理解在所述范围的上下限之间的范围内的每个中间值(除非上下文另外清楚地指出,否则所述中间值达到下限单位的十分之一(诸如在基团含有多个碳原子的情况下,提供了落在该范围内的每碳原子数量))和在所述说明范围中的任何其他说明的或中间值涵盖在本公开内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括在这些较小范围内并且也涵盖于本公开内,从属于所述范围内的任何特定排除的极限值。在所述范围包括所述限值中的一个或两个的情况下,不包括这些所包括的限值中的一个或两个的范围也包括在本公开中。

[0044] 以下术语用于描述本公开。在本文未具体定义术语的情况下,在术语用于描述本发明的背景中应用该术语的常规技术人员为该术语提供了本领域承认的含义。

[0045] 除非上下文另有明确指示,否则如本文和所附权利要求中所用的冠词“一个/种(a/an)”在本文中用于指代一个或多于一个(即,至少一个)的冠词的语法对象。举例来说,除非另有指示,否则“一种元素”是指一种元素或多于一种的元素。

[0046] 在权利要求以及上述说明书中,所有过渡性短语,诸如“包括/包含(comprising)”、“包括/包含(including)”、“携带(carrying)”、“具有(having)”、“含有(containing)”、“涉及(involving)”、“持有(holding)”、“由……构成(composed of)”等应被理解为是开放式的,即意味着包括但不限于。如美国专利局专利审查程序手册第2111.03节所述,只有过渡性短语“由……组成(consisting of)”和“基本上由……组成(consisting essentially of)”应分别是封闭的或半封闭的过渡性短语。

[0047] 还应当理解,除非上下文另有指示,否则本文所述的包括多于一个的步骤或动作的某些方法或工艺中,该方法的步骤或动作的顺序不一定限于叙述该方法的步骤或动作的顺序。

[0048] 术语“共同施用(co-administration)”和“共同施用(co-administering)”或“联合疗法(combination therapy)”是指同时施用(同时施用两种或更多种治疗剂)和时变施用(在不同于一种或多种另外的治疗剂施用的时间施用一种或多种治疗剂),只要患者体内在一定程度上(优选以有效量)同时存在两种或更多种治疗剂。在某些优选的方面,本文所述的一种或多种异双功能化合物与至少一种另外的生物活性剂例如抗癌剂共同施用。在特别优选的方面,此类化合物的共同施用导致协同活性和/或疗法,诸如,例如抗癌活性。

[0049] 除非另有指示,否则如本文所用的术语“化合物”是指本文公开的任何特定的异双功能化合物、其药学上可接受的盐和溶剂合物,以及适用时任何上述分子的氘代形式。所设想的氘代化合物是药物分子中所含的一个或多个氢原子已被氘取代的化合物。此类氘代化合物与等同的“非氘代”化合物相比优选地具有一种或多种改进的药代动力学或药效学性质(例如,更长的半衰期)。

[0050] 术语“泛素连接酶”是指促进一种或多种泛素转移至特定底物蛋白的蛋白质家族。

加入几个泛素的链(多泛素化)的目标为使底物蛋白降解。例如,cereblon是一种E3泛素连接酶,其单独地或与E2泛素结合酶组合,最终可以导致四个泛素的链连接至靶蛋白上的赖氨酸残基,从而靶向蛋白质以被蛋白酶体降解。泛素连接酶参与多泛素化,使得第一个泛素连接至靶蛋白上的赖氨酸;第二个泛素连接至第一个泛素;第三个泛素连接至第二个泛素,并且第四个泛素连接至第三个泛素。此类多泛素化标记蛋白质用于被蛋白酶体降解。

[0051] 术语“患者”或“受试者”在整个说明书中用于描述向其提供用根据本公开的组合物进行治疗(包括防治性治疗)的动物,优选人或家养动物。对于治疗特定动物(诸如人患者)所特有的疾病、疾患或症状,术语“患者”是指该特定动物,包括家养动物(诸如狗或猫)或农场动物(诸如马、母牛、绵羊等)。通常,在本公开中,术语“患者”和“受试者”是指人患者,除非在使用该术语的上下文中另有说明或暗示。

[0052] 术语“有效(的)”和“治疗有效(的)”用于描述化合物或组合物的量,当在其预期用途的情形内使用时,单剂量使用或更优选在治疗方案情形内多剂量使用后产生预期结果,诸如疾病或疾患的改善,或与疾病或疾患相关的一种或多种症状的改善或减少。术语“有效(的)”和“治疗有效(的)”包含在本申请中以其他方式描述或使用的所有其他“有效量”或“有效浓度”术语。

[0053] 化合物和组合物

[0054] 在一方面,本说明书提供了异双功能化合物,其包含E3泛素连接酶结合部分(“ULM”),即cereblon E3泛素连接酶结合部分(“CLM”)。CLM共价偶联至结合蛋白质的蛋白质靶向部分(PTM),根据以下结构直接通过键或通过化学连接基团(L)进行所述偶联:

[0055] (A)PTM-L-CLM

[0056] 其中L是键或化学连接基团,并且PTM是结合至蛋白质LRRK2或其突变形式(例如G2019S)的蛋白质靶向部分,其中PTM是LRRK2靶向部分(LTM)。术语CLM包括所有cereblon结合部分。

[0057] 在任何方面或实施方案中,CLM显示出对E3泛素连接酶(例如,cereblon E3泛素连接酶)小于约200 μ M的半数最大抑制浓度(IC₅₀)。IC₅₀可以根据本领域已知的任何合适的方法(例如,荧光偏振测定)来确定。

[0058] 在某些实施方案中,本文所述的异双功能化合物表现出小于约100、50、10、1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、0.001mM,或小于约100、50、10、1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、0.001 μ M,或小于约100、50、10、1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、0.001nM,或小于约100、50、10、1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、0.001pM的IC₅₀或半数最大降解浓度(DC₅₀)。

[0059] 术语“烷基”在其上下文中应指直链、支链或环状完全饱和烃基,优选C₁-C₁₀烷基,优选C₁-C₆烷基,或更优选C₁-C₃烷基,其可以任选地被任何合适的一个或多个官能团取代。烷基的实例是甲基、乙基、正丁基、仲丁基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基、异丙基、2-甲基丙基、环丙基、环丙基甲基、环丁基、环戊基、环戊基乙基、环己基乙基和环己基等。在某些实施方案中,烷基用卤素基团(At、Br、Cl、F或I)封端。

[0060] 术语“烯基”是指含有至少一个C=C键的直链、支链或环状C₂-C₁₀(优选C₂-C₆)烃基。

[0061] 术语“炔基”是指含有至少一个C $\equiv$ C的直链、支链或环状C₂-C₁₀(优选C₂-C₆)烃基。

[0062] 术语“亚烷基”在使用时是指-(CH₂)_n-基团(n通常为0-6的整数),其可任选地被取代。亚烷基在被取代时优选地被C₁-C₆烷基(包括环丙基或叔丁基)在一个或多个亚甲基上取

代,但也可以被一个或多个卤代基取代,优选1至3个卤代基或一个或两个羟基、0- (C_1-C_6 烷基)基团或如本文另外公开的氨基酸侧链。在某些实施方案中,亚烷基可以被氨基甲酸酯或烷氧基(或其他合适的官能团)取代,所述氨基甲酸酯或烷氧基(或其他合适的官能团)可以进一步被聚乙二醇链(1至10个,优选1至6个,或更优选1至4个乙二醇单元)取代,所述聚乙二醇链(优选但不限于聚乙二醇链的远端)被烷基链取代,所述烷基链被单个卤素基团(优选氯基团)取代。在其他实施方案中,亚烷基(例如亚甲基)基团可以被氨基酸侧链基团取代,所述氨基酸侧链基团诸如天然或非天然氨基酸侧链基团,诸如丙氨酸、 β -丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸。

[0063] 术语“未取代(的)”应意指仅被氢原子取代。包含 C_0 的碳原子范围意指碳不存在并被H取代。因此, C_0-C_6 的碳原子范围包括1、2、3、4、5和6的碳原子,并且对于 C_0 ,H代替碳。

[0064] 术语“取代的”或“任选取代的”应指在上下文中的分子上任何位置的碳(或氮)位置上独立(即,当发生多于一个取代时,每个取代基独立于另一个取代基选择)存在一个或多个取代基(独立地至多五个取代基,优选至多三个取代基,更优选在根据本公开的化合物中的一个部分上的1或2个取代基,并且可以包括本身可以被进一步取代的取代基),并且包括可能的取代基:羟基、硫醇、羧基、氰基($C\equiv N$)、硝基(NO_2)、卤素(优选1、2或3个卤素,特别是在烷基上,特别是甲基诸如三氟甲基)、烷基(优选 C_1-C_{10} ,更优选 C_1-C_6)、芳基(特别是苯基和取代的苯基,例如苄基或苯甲酰基)、烷氧基(优选 C_1-C_6 烷基或芳基,包括苯基和取代的苯基)、硫醚(优选 C_1-C_6 烷基或芳基)、酰基(优选 C_1-C_6 酰基)、酯或硫酯(优选 C_1-C_6 烷基或芳基,包括亚烷基酯(使得连接在亚烷基上,而不是优选被 C_1-C_6 烷基或芳基取代的酯官能团上))、卤素(优选F或Cl)、胺(包括五元或六元环状亚烷基胺,还包括 C_1-C_6 烷基胺或 C_1-C_6 二烷基胺,其中烷基可以被一个或两个羟基取代)或任选取代的-N(C_0-C_6 烷基)C(O)(OC_1-C_6 烷基)基团(其可以任选地被聚乙二醇链取代,所述聚乙二醇链进一步结合含有单个卤素,优选氯取代基的烷基)、肼、酰胺基,它们优选地被一个或两个 C_1-C_6 烷基(包括任选地被一个或两个 C_1-C_6 烷基取代的甲酰胺)、烷醇(优选 C_1-C_6 烷基或芳基),或链烷酸(优选 C_1-C_6 烷基或芳基)。根据本公开的取代基可以包括例如-SiR₁R₂R₃基团,其中R₁和R₂中的每一者如本文另外描述,并且R₃是H或 C_1-C_6 烷基,优选地是R₁、R₂、R₃一起是 C_1-C_3 烷基(包括异丙基或叔丁基)。上述基团中的每一者可以直接连接至取代的部分,或者,取代基可以通过任选取代的-(CH₂)_m-或可替代地任选取代的-(OCH₂)_m-、-(OCH₂CH₂)_m-或-(CH₂CH₂O)_m-基团(其可以被上述任何一种或多种取取代基)连接到取代的部分(优选在芳基或杂芳基部分的情况下)。亚烷基-(CH₂)_m-或-(CH₂)_n-基团或其他链诸如乙二醇链,如上所述,可以在链上的任何位置被取代。亚烷基上优选的取代基包括卤素或 C_1-C_6 (优选 C_1-C_3)烷基,其可以任选地被一个或两个羟基、一个或两个醚基(OC_1-C_6 基团)、至多三个卤素基团(优选F),或如本文另外描述的氨基酸的侧链和任选取代的酰胺(优选如上所述取代的甲酰胺)或氨基甲酸酯基团(通常具有一个或两个 C_0-C_6 烷基取代基,其基团可以被进一步取代)取代。在某些实施方案中,亚烷基(通常是单个亚甲基)被一个或两个任选取代的 C_1-C_6 烷基,优选 C_1-C_4 烷基,最常见为甲基或0-甲基,或如本文另外描述的氨基酸的侧链取代。在本公开中,分子中的部分可以任选地被至多五个取代基,优选至多三个取代基取代。最常见的是,在本公开中,被取代的部分被一个或两个取代基取代。

[0065] 术语“取代的”(每个取代基独立于任何其他取代基)在其使用的上下文中还应指 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、卤素、酰胺基、甲酰胺基、砜,包括磺酰胺、酮基、羧基、 C_1 - C_6 酯(氧化酯或羰基酯)、 C_1 - C_6 酮基、氨基甲酸酯- $OC(O)-NR_1R_2$ 或- $N(R_1)-C(O)-OR_1$ 、硝基、氰基和胺(特别地包括 C_1 - C_6 亚烷基- NR_1R_2 、单-或二- C_1 - C_6 烷基取代的胺,其可以任选地被一个或两个羟基取代)。除非在上下文中另有指示,否则这些基团中的每一者包含1至6个碳原子。在某些实施方案中,优选的取代基将包括例如- $NH-$ 、- $NHC(O)-$ 、- $O-$ 、= $O-$ 、- $(CH_2)_m-$ (此处,m和n在上下文中是1、2、3、4、5或6)、- $S-$ 、- $S(O)-$ 、 SO_2- 或- $NH-C(O)-NH-$ 、- $(CH_2)_nOH$ 、- $(CH_2)_nSH$ 、- $(CH_2)_nCOOH$ 、 C_1 - C_6 烷基、- $(CH_2)_nO-(C_1-C_6$ 烷基)、- $(CH_2)_nC(O)-(C_1-C_6$ 烷基)、- $(CH_2)_nOC(O)-(C_1-C_6$ 烷基)、- $(CH_2)_nC(O)O-(C_1-C_6$ 烷基)、- $(CH_2)_nNHC(O)-R_1$ 、- $(CH_2)_nC(O)-NR_1R_2$ 、- $(OCH_2)_nOH$ 、- $(CH_2O)_nCOOH$ 、 C_1 - C_6 烷基、- $(OCH_2)_nO-(C_1-C_6$ 烷基)、- $(CH_2O)_nC(O)-(C_1-C_6$ 烷基)、- $(OCH_2)_nNHC(O)-R_1$ 、- $(CH_2O)_nC(O)-NR_1R_2$ 、- $S(O)_2-R_S$ 、- $S(O)-R_S$ (R_S 是 C_1 - C_6 烷基或- $(CH_2)_m-NR_1R_2$ 基团)、 NO_2 、 CN 或卤素(F 、 Cl 、 Br 、 I ,优选 F 或 Cl),取决于使用取代基的上下文。 R_1 和 R_2 在上下文中各自为 H 或 C_1 - C_6 烷基(其可任选地被一个或两个羟基或至多三个卤素基团(优选氟)取代)。术语“取代(的)”在定义的化合物和使用的取代基的化学背景中还应意指任选取代的芳基或杂芳基或任选取代的杂环基,如本文另外所描述的。亚烷基也可以如本文另外公开的那样被取代,优选被任选取代的 C_1 - C_6 烷基(甲基、乙基或羟甲基或羟乙基是优选的,因此提供手性中心)、如本文另外描述的氨基酸基团的侧链、如上文所述的酰胺基,或氨基甲酸酯基团 $OC(O)-NR_1R_2$ 基团(其中 R_1 和 R_2 如本文中另外描述),但许多其他基团也可以用作取代基。各种任选取代的部分可以被3个或更多个取代基取代,优选不超过3个取代基并且优选被1或2个取代基取代。应注意,在化合物中在分子的特定位置需要取代(主要是因为化合价)但未指明取代的情况下,则该取代基被解释或理解为 H ,除非该取代的上下文表明并非如此。

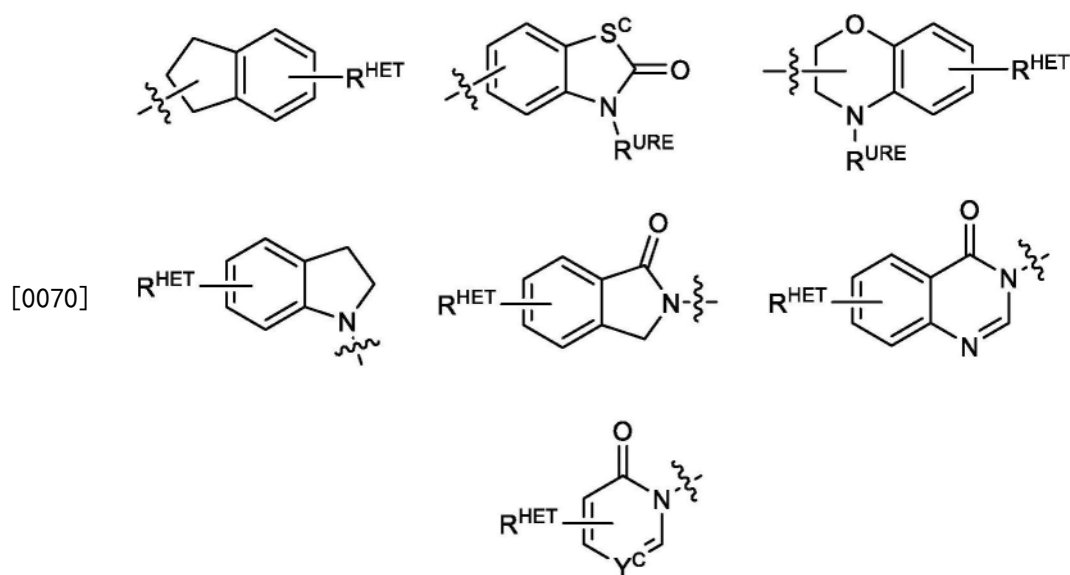
[0066] 术语“芳基”或“芳族”在上下文中是指具有单环(例如,苯、苯基、苄基,或5、6、7或8元环)或稠环(例如,萘基、蒽基、菲基、10-16元环等)的取代(如本文另外描述的)或未取代的单价芳族基团(例如,5-16元环),并且可以在一个或多个环上任何可用的稳定位置或在所呈现的化学结构中如另外所指示键合至根据本公开的化合物。在上下文中,芳基的其他实例可以包括杂环芳环体系、在环(单环)中具有一个或多个氮、氧或硫原子的“杂芳基”基团(诸如咪唑、呋喃基、吡咯、呋喃基、噻吩、噻唑、吡啶、嘧啶、吡嗪、三唑、噁唑)或稠环体系(诸如吲哚、喹啉、吲哚啉、氮杂吲哚啉、苯并呋喃等),所述芳基可以如上所述任选地被取代。可以提及的杂芳基包括含氮杂芳基,诸如吡咯、吡啶、吡啶酮、哒嗪、嘧啶、吡嗪、吡唑、咪唑、三唑、三嗪、四唑、吲哚、异吲哚、吲哚啉、氮杂吲哚啉、嘌呤、吲唑、喹啉、二氢喹啉、四氢喹啉、异喹啉、二氢异喹啉、四氢异喹啉、喹啉、酞嗪、萘啶、喹喔啉、喹唑啉、噌啉、蝶啶、咪唑并吡啶、咪唑并三嗪、吡嗪并哒嗪、吡啶、菲啶、卟啉、卟啉、嘧啶、菲咯啉、菲烯、噁二唑、苯并咪唑、吡咯并吡啶、吡咯并嘧啶和吡啶并嘧啶;含硫芳香杂环,诸如噻吩和苯并噻吩;含氧芳香杂环,诸如呋喃、吡喃、环戊吡喃、苯并呋喃和异苯并呋喃;以及包含2个或更多个选自氮、硫和氧的杂原子的芳香杂环,诸如噻唑、噻二唑、异噻唑、苯并噻唑、苯并噻二唑、吩噻嗪、异噻唑、呋喃、吩噻嗪、吡唑并噻唑、咪唑并噻唑、噻吩并呋喃、呋喃并吡咯、吡哆嗪、呋喃并吡啶、呋喃并嘧啶、噻吩并嘧啶和噻唑等,所有这些都可以任选地被取代。

[0067] 术语“取代的芳基”是指由至少一个芳环或多个稠环组成的芳族碳环基团,其中至少一个环是芳族的,其中一个或多个环被一个或多个取代基取代。例如,芳基可以包含选自

以下的一个或多个取代基： $-(CH_2)_nOH$ 、 $-(CH_2)_n-O-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_n-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-(CH_2)_n-C(O)(C_0-C_6)$ 烷基、 $-(CH_2)_n-C(O)O(C_0-C_6)$ 烷基、 $-(CH_2)_n-OC(O)(C_0-C_6)$ 烷基、胺、单-或二- (C_1-C_6) 烷基) 胺, 其中胺上的烷基任选地被以下取代: 1 或 2 个羟基或至多三个卤代基 (优选 F、Cl) 基团、OH、COOH、 C_1-C_6 烷基 (优选 CH_3)、 CF_3 、OMe、 OCF_3 、 NO_2 , 或 CN 基团 (每个都可以在苯环的邻位、间位和/或对位取代, 优选对位)、任选取代的苯基 (苯基本身优选通过接头基团连接至 PTM 基团, 包括 ULM 基团), 和/或 F、Cl、OH、COOH、 CH_3 、 CF_3 、OMe、 OCF_3 、 NO_2 或 CN 基团 (在苯环的邻位、间位和/或对位, 优选对位)、可任选取代的萘基、任选取代的杂芳基 (优选任选取代的异噁唑, 包括甲基取代的异噁唑)、任选取代的噁唑 (包括甲基取代的噁唑)、任选取代的噻唑 (包括甲基取代的噻唑)、任选取代的异噻唑 (包括甲基取代的异噻唑)、任选取代的吡咯 (包括甲基取代的吡咯)、任选取代的咪唑 (包括甲基咪唑)、任选取代的苯并咪唑或甲氧基苄基咪唑、任选取代的脞唑或甲基脞唑、任选取代的二唑基团 (包括甲基二唑基团)、任选取代的三唑基团 (包括甲基取代的三唑基团)、任选取代的吡啶基团 (包括卤代基 (优选 F) 或甲基取代的吡啶基团或氧杂吡啶基团) (其中吡啶基团通过氧与苯基连接)、任选取代的呋喃、任选取代的苯并呋喃、任选取代的二氢苯并呋喃、任选取代的吡啶、吡啶啉或氮杂吡啶啉 (2、3 或 4-氮杂吡啶啉)、任选取代的喹啉中的至少一者以及它们的组合。

[0068] “羧基”表示基团 $-C(O)OR$, 其中 R 是氢、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、杂芳基或取代的杂芳基, 而这些通用取代基的含义与本文所定义的相应基团的定义相同。

[0069] 术语“杂芳基 (heteroaryl/hetaryl)”可以意指但绝不限于 5-16 元杂芳基 (例如, 5、6、7 或 8 元单环或具有多个稠环的 10-16 元杂芳基)、任选取代的喹啉 (可以连接至药效团或在喹啉环内的任何碳原子上被取代)、任选取代的吡啶 (包括二氢吡啶)、任选取代的吡啶啉、任选取代的氮杂吡啶啉 (2、3 或 4-氮杂吡啶啉)、任选取代的苯并咪唑、苯并二唑、苯并呋喃、任选取代的咪唑、任选取代的异噁唑、任选取代的噁唑 (优选甲基取代的)、任选取代的二唑、任选取代的三唑、四唑、任选取代的苯并呋喃、任选取代的噻吩、任选取代的噻唑 (优选甲基和/或硫醇取代的)、任选取代的异噻唑、任选取代的三唑 (优选被甲基、三异丙基甲硅烷基、任选取代的 $-(CH_2)_m-O-C_1-C_6$ 烷基或任选取代的 $-(CH_2)_m-C(O)-O-C_1-C_6$ 烷基取代的 1, 2, 3-三唑)、任选取代的吡啶 (2、3 或 4-吡啶) 或根据以下化学结构的基团:



[0071] 其中:

啉、喹啉、酞嗪、萘基吡啶、喹喔啉、喹唑啉、噌啉、蝶啶、呋唑、呋啉、菲啶、吡啶、菲咯啉、异噻唑、吩嗪、异噻唑、吩噻嗪、吩噻嗪、咪唑烷、咪唑啉、哌啶、哌嗪、二氢吡啶、吗啉代、哌啶基、四氢呋喃基等以及含N-烷氧基-氮的杂环。术语“杂环”还包括其中任何杂环稠合至苯环或环己烷环或另一杂环(例如,吡啶基、喹啉基、异喹啉基、四氢喹啉基等)的双环基团。

[0082] 术语“环烷基”可以意指但绝不限于衍生自如本文所定义的单环或多环烷基或环烷烃的单价基团,例如在环中具有三至二十个碳原子的饱和单环烷基,包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等。术语“取代的环烷基”可以意指但绝不限于单环或多环烷基并且被一个或多个取代基例如氨基、卤素、烷基、取代的烷基、羰氧基、羰基巯基、芳基、硝基、巯基或磺基取代,而这些通用取代基的含义与如该图例中定义的相应基团的定义相同。

[0083] “杂环烷基”是指单环或多环烷基基团,其中其环状结构的至少一个环碳原子被选自由N、O、S或P组成的组的杂原子替代。“取代的杂环烷基”是指单环或多环烷基,其中其环状结构的至少一个环碳原子被选自由N、O、S或P组成的组的杂原子替代,并且该基团含有一个或多个选自由以下组成的组的取代基:卤素、烷基、取代的烷基、羰氧基、羰基巯基、芳基、硝基、巯基或磺基,而这些通用取代基基团的含义与该图例中定义的相应基团的定义相同。

[0084] 术语“烃基”应意指含有碳和氢的化合物,并且其可以是完全饱和的、部分不饱和的或芳族的,并且包括芳基、烷基、烯基和炔基。

[0085] 术语“独立地”在本文中用于表示独立应用的变量在各应用之间独立地变化。

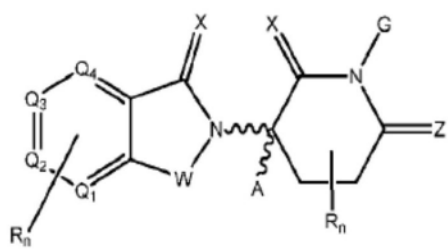
[0086] 术语“低级烷基”是指甲基、乙基或丙基。

[0087] 术语“低级烷氧基”是指甲氧基、乙氧基或丙氧基。

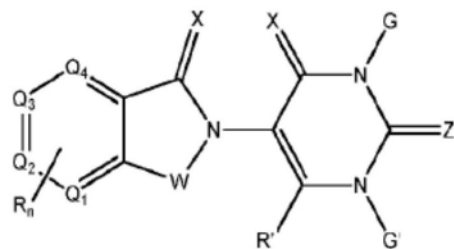
[0088] 示例性CLM

[0089] 新酰亚胺化合物

[0090] 在一方面,本说明书提供了可用于结合和募集cereblon的CLM。在某些实施方案中,CLM选自由以下化学结构组成的组:

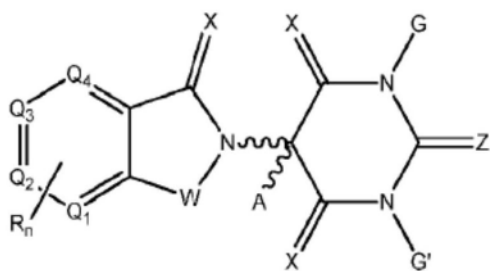


(a1)

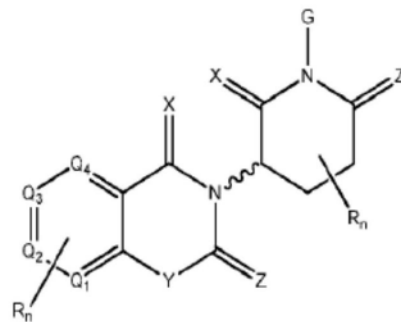


(b)

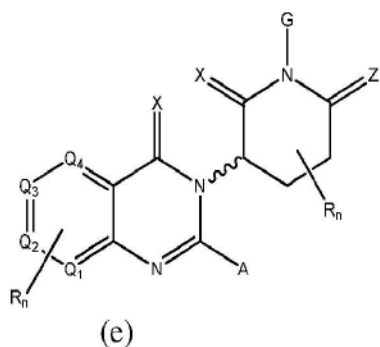
[0091]



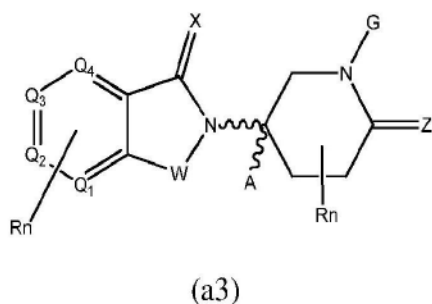
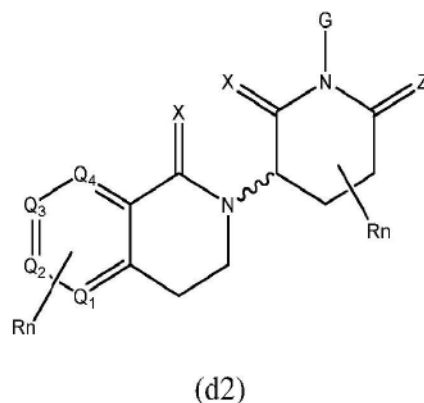
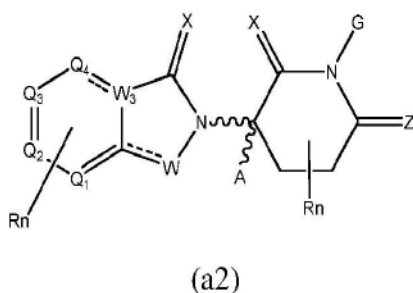
(c)



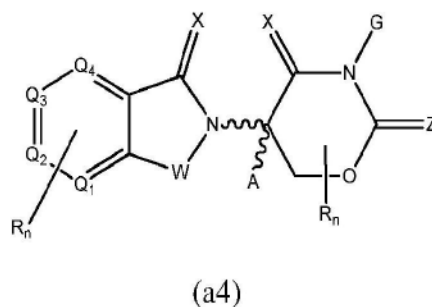
(d1)



[0092]



和



[0093] 其中：

[0094] 式(a1)至(e) [例如, (a1)、(a2)、(a3)、(a4)、(b)、(c)、(d1)、(d2)和(e)]的W独立地选自基团 CH_2 、0、 CHR 、 $\text{C}=\text{O}$ 、 SO_2 、 NH 、 N 、任选取代的环丙基、任选取代的环丁基和 N -烷基；

[0095] 式(a1)至(e)的 W_3 选自C或N；

[0096] 式(a1)至(e)的X独立地选自基团不存在、0、S和 CH_2 ；

[0097] 式(a1)至(e)的Y独立地选自基团 CH_2 、 $-\text{C}=\text{CR}'$ 、 NH 、 N -烷基、 N -芳基、 N -杂芳基、 N -环烷基、 N -杂环基、0和S；

[0098] 式(a1)至(e)的Z独立地选自基团不存在、0和S或 CH_2 ，除了X和Z两者不能都是 CH_2 或不存在；

[0099] 式(a1)至(e)的G和G'独立地选自基团H、任选取代的直链或支链烷基、OH、 $\text{R}'\text{OCOOR}$ 、 $\text{R}'\text{OCONR}''$ 、任选地被 R' 取代的 CH_2 -杂环基和任选地被 R' 取代的苄基；

[0100] 式(a1)至(e)的 Q_1 - Q_4 表示被独立地选自H、R、N或N-氧化物的基团取代的碳C或N；

[0101] 式(a1)至(e)的A独立地选自基团H、任选取代的直链或支链烷基、环烷基、Cl和F；

[0102] 式(a1)至(e)中的n表示1至10的整数(例如, 1-4、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)；

[0103] 式(a1)至(e)的R包括但不限于： H 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ (例如, 羧基)、 $-\text{CONR}'\text{R}''$ (例如, 酰胺基团)、 $-\text{OR}'$ (例如, OH)、 $-\text{NR}'\text{R}''$ (例如, 胺基团)、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{CR}'\text{R}''$ 、 $-\text{CR}'\text{NR}'$

R'' -、 $(-CR'O)_n$ 、 R'' 、任选取代的杂环基、任选取代的芳基 (例如任选取代的C5-C7芳基)、任选取代的烷基-芳基 (例如, 包含任选取代的C1-C6烷基、任选取代的C5-C7芳基或它们的组合中的至少一者的烷基-芳基)、任选取代的杂芳基、任选取代的烷基 (例如, 任选地被一个或多个卤素、环烷基 (例如, C3-C6环烷基) 或芳基 (例如, C5-C7芳基) 取代的C1-C6直链或支链烷基)、任选取代的烷氧基 (例如, 甲氧基、乙氧基、丁氧基、丙氧基、戊氧基或己氧基; 其中所述烷氧基可以被一个或多个卤素、烷基、卤代烷基、氟烷基、环烷基 (例如, C3-C6环烷基) 或芳基 (例如, C5-C7芳基) 取代)、任选取代的环烷基、任选取代的杂环基、 $-P(O)(OR')R''$ 、 $-P(O)R'R''$ 、 $-OP(O)(OR')R''$ 、 $-OP(O)R'R''$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NR'SO_2NR'R''$ 、 $-NR'CONR'R''$ 、 $-CONR'COR''$ 、 $-NR'C(=N-CN)NR'R''$ 、 $-C(=N-CN)NR'R''$ 、 $-NR'C(=N-CN)R''$ 、 $-NR'C(=C-NO_2)NR'R''$ 、 $-SO_2NR'COR''$ 、 $-NO_2$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-C(C=N-OR')R''$ 、 $-CR'=CR'R''$ 、 $-CCR'$ 、 $-S(C=O)(C=N-R')R''$ 、 $-SF_5$ 和 $-OCF_3$, 其中至少一个W、X、Y、Z、G、G'、R、R'、R''、Q1-Q4或A被修饰以共价连接至PTM、化学连接基团(L)、ULM、CLM或它们的组合;

[0104] 式(a1)至(e)的x、y和z中的每一者独立地为0、1、2、3、4、5或6;

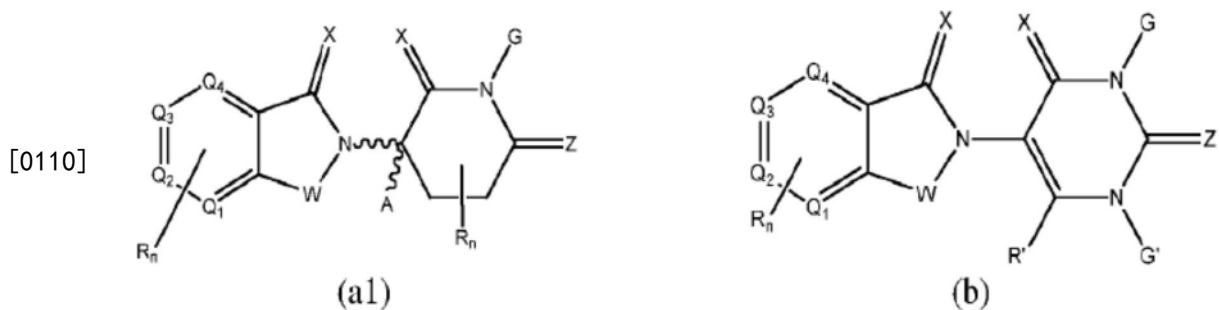
[0105] 式(a1)至(e)的R'和R''独立地选自H、任选取代的直链或支链烷基、任选取代的环烷基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂环、 $-C(=O)R$ 、任选取代的杂环基;

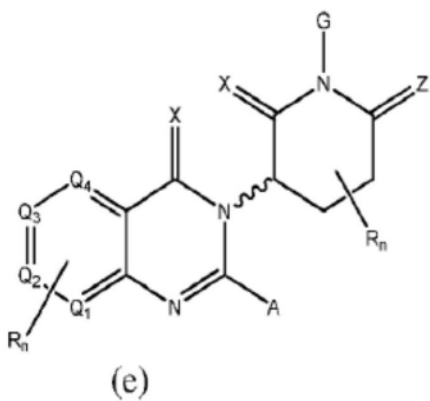
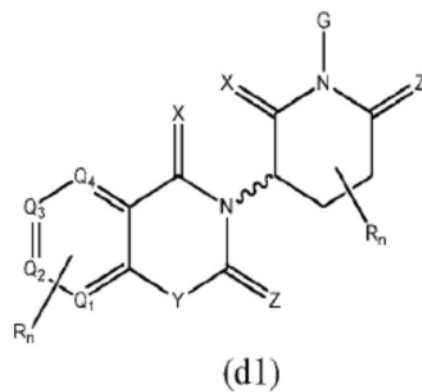
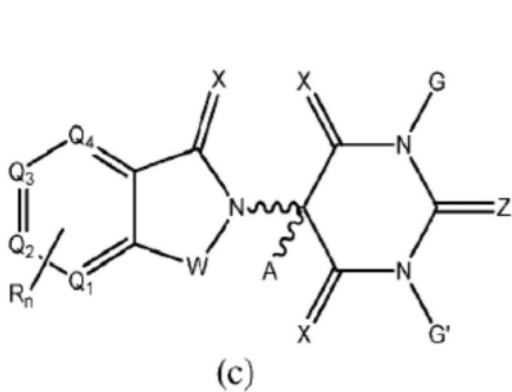
[0106] 式(a1)至(e)的n'是1-10的整数 (例如1-4、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10);

[0107]  表示单键或双键; 并且

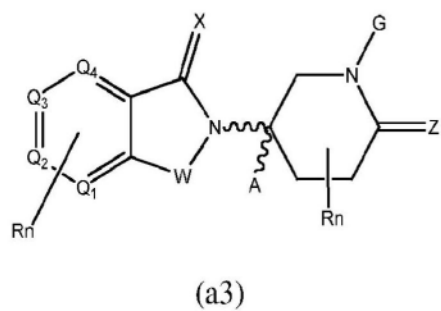
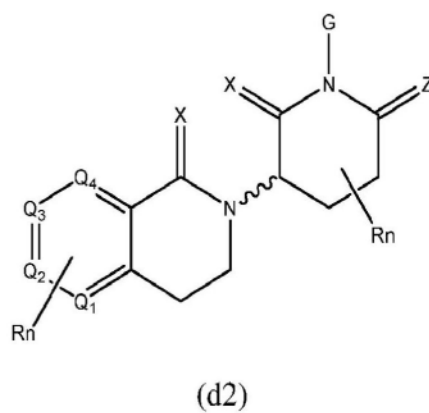
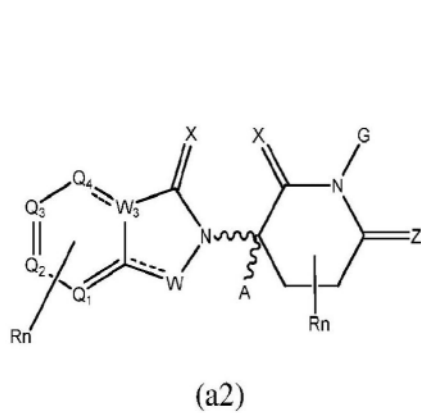
[0108] 式(a1)至(e)的  表示可以是立体定向的((R)或(S))或非立体定向的键。

[0109] 在本文所述的任何方面或实施方案中, CLM包含选自以下组成的组的化学结构:

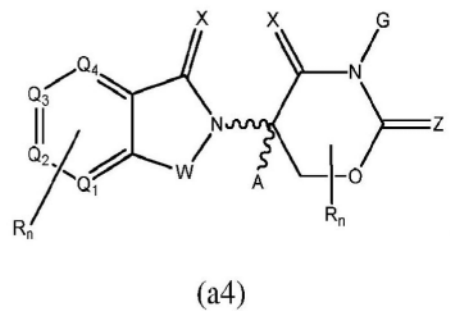




[0111]



和



[0112] 其中:

[0113] 式(a1)至(e)[例如,(a1)、(a2)、(a3)、(a4)、(b)、(c)、(d1)、(d2)和(e)]的W独立地

选自基团 CH_2 、O、CHR、 $\text{C}=\text{O}$ 、 SO_2 、NH、N、任选取代的环丙基、任选取代的环丁基和N-烷基；

[0114] 式(a1)至(e)的 W_3 选自C或N；

[0115] 式(a1)至(e)的X独立地选自基团O、S和 CH_2 ；

[0116] 式(a1)至(e)的Y独立地选自基团 CH_2 、 $-\text{C}=\text{CR}'$ 、NH、N-烷基、N-芳基、N-杂芳基、N-环烷基、N-杂环基、O和S；

[0117] 式(a1)至(e)的Z独立地选自基团O和S或 CH_2 ，除了X和Z两者不能都是 CH_2 或都不存在；

[0118] 式(a1)至(e)的G和G'独立地选自基团H、任选取代的直链或支链烷基、OH、R'OCOOR、R'OCONRR''、任选地被R'取代的 CH_2 -杂环基和任选地被R'取代的苄基；

[0119] 式(a1)至(e)的Q1-Q4表示被独立地选自H、R、N或N-氧化物的基团取代的碳C或N；

[0120] 式(a1)至(e)的A独立地选自基团H、任选取代的直链或支链烷基、环烷基、Cl和F；

[0121] 式(a1)至(e)中的n表示1至10的整数(例如,1-4、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)；

[0122] 式(a1)至(e)的R包括但不限于： H 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ (例如,羧基)、 $-\text{CONR}'\text{R}''$ (例如,酰胺基团)、 $-\text{OR}'$ (例如,OH)、 $-\text{NR}'\text{R}''$ (例如,胺基团)、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{CR}'\text{R}''$ 、 $-\text{CR}'\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-(\text{CR}'\text{O})_n\text{R}''$ 、任选取代的芳基(例如任选取代的C5-C7芳基)、任选取代的烷基-芳基(例如,包含任选取代的C1-C6烷基、任选取代的C5-C7芳基或它们的组合中的至少一者的烷基-芳基)、任选取代的杂芳基、任选取代的直链或支链烷基(例如,任选地被一个或多个卤素、环烷基(例如,C3-C6环烷基)或芳基(例如,C5-C7芳基)取代的C1-C6直链或支链烷基)、任选取代的烷氧基(例如,甲氧基、乙氧基、丁氧基、丙氧基、戊氧基或己氧基；其中所述烷氧基可以被一个或多个卤素、烷基、卤代烷基、氟烷基、环烷基(例如,C3-C6环烷基)或芳基(例如,C5-C7芳基)取代)、任选取代的环烷基、任选取代的杂环基、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}')\text{R}''$ 、 $-\text{P}(\text{O})\text{R}'\text{R}''$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}')\text{R}''$ 、 $-\text{OP}(\text{O})\text{R}'\text{R}''$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{F}$ 、 $-\text{Br}$ 、 $-\text{I}$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NR}'\text{SO}_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{CONR}'\text{R}''$ 、 $-\text{CONR}'\text{COR}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(=\text{N}-\text{CN})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{C}(=\text{N}-\text{CN})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(=\text{N}-\text{CN})\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(=\text{C}-\text{NO}_2)\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}'\text{COR}''$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{C}=\text{N}-\text{OR}')\text{R}''$ 、 $-\text{CR}'=\text{CR}'\text{R}''$ 、 $-\text{CCR}'$ 、 $-\text{S}(\text{C}=\text{O})(\text{C}=\text{N}-\text{R}')\text{R}''$ 、 $-\text{SF}_5$ 和 $-\text{OCF}_3$ ，其中W、X、Y、Z、G、G'、R、R'、R''、Q1-Q4或A中的至少一者共价连接(直接或间接地,例如,通过官能团或原子诸如O、S、N)至PTM、化学连接基团(L)、ULM、CLM或它们的组合；

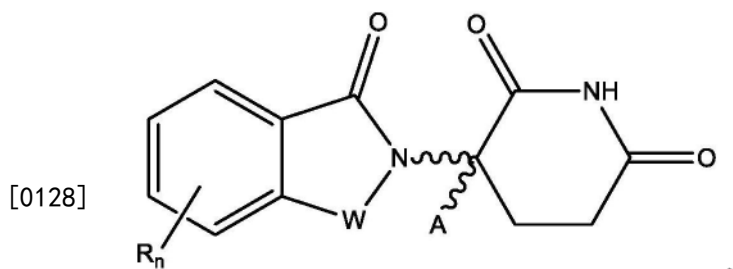
[0123] 式(a1)至(e)的x、y和z中的每一者独立地为0、1、2、3、4、5或6；

[0124] 式(a1)至(e)的R'和R''独立地选自键、H、任选取代的直链或支链烷基、任选取代的环烷基、任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂环、 $-\text{C}(=\text{O})\text{R}$ 、任选取代的杂环基；

[0125] 式(a1)至(e)的n'是1-10的整数(例如,1-4、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)；并且

[0126] 式(a)至(f)的 $\sim$ 表示可以是立体定向的(R或S)或非立体定向的键。

[0127] 在本文所述的任何方面或实施方案中,CLM或ULM选自式(g)的结构：



式(g)

[0129] 其中:

[0130] 式(g)的W独立地选自基团CH₂、O、C=O、NH和N-烷基;

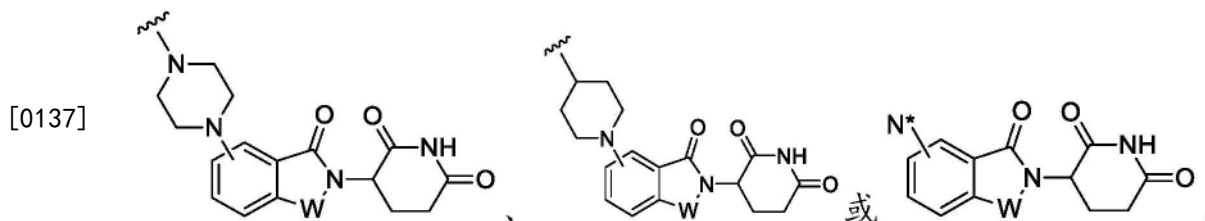
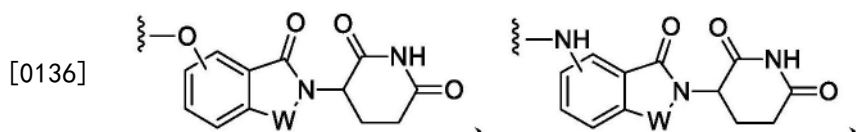
[0131] 式(g)的A选自H、甲基或任选取代的直链或支链烷基;

[0132] n是1至4的整数;

[0133] 式(g)的R独立地选自H、O、OH、N、NH、NH₂、-Cl、-F、-Br、-I、甲基、任选取代的直链或支链烷基(例如,任选取代的直链或支链C1-C6烷基)、任选取代的直链或支链烷氧基(例如,任选取代的直链或支链C1-C6烷氧基)、-烷基-芳基(例如,包含C1-C6烷基、C4-C7芳基或它们的组合中的至少一者的-烷基-芳基)、芳基(例如,C5-C7芳基)、胺、酰胺或羧基),其中至少一个R或W被修饰以共价连接至PTM、化学连接基团(L)、ULM、CLM或它们的组合;并且

[0134] 式(g)的 ~~~~ 表示可以是立体定向的((R)或(S))或非立体定向的键。

[0135] 在本文所述的任何方面或实施方案中,CLM或ULM选自由以下组成的组:



[0138] 其中:

[0139] W是C=O或CH₂;

[0140] N*是与PTM或接头共价连接的氮原子,或是与PTM或接头(L)共享的氮原子(例如,与接头(L)或PTM的任选取代的杂环基共享的杂原子);并且

[0141] ~~~~ 表示CLM或ULM与接头(L)或PTM的连接点。

[0142] 在本文所述的任何方面或实施方案中,R选自:H、O、OH、N、NH、NH₂、C1-C6烷基、C1-C6烷氧基、-烷基-芳基(例如,包含C1-C6烷基、C4-C7芳基或它们的组合中的至少一者的-烷基-芳基)、芳基(例如,C5-C7芳基)、胺、酰胺或羧基。

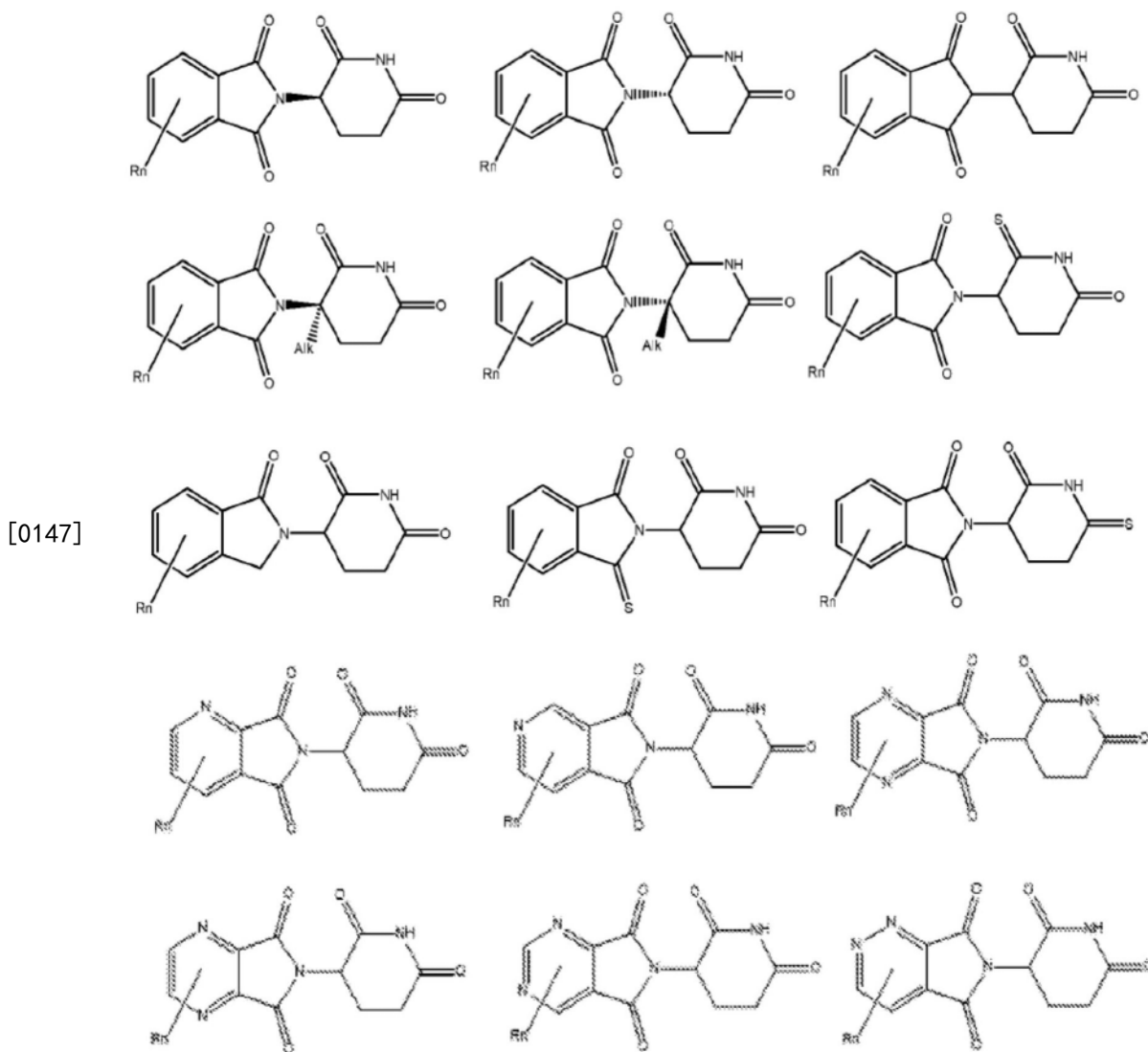
[0143] 在本文所述的任何方面或实施方案中,至少一个R(例如,选自以下H、O、OH、N、NH、NH₂、C1-C6烷基、C1-C6烷氧基、-烷基-芳基(例如,包含C1-C6烷基、C4-C7芳基或它们的组合中的至少一者的-烷基-芳基)、芳基(例如,C5-C7芳基)、胺、酰胺或羧基的R基团)或W被修饰

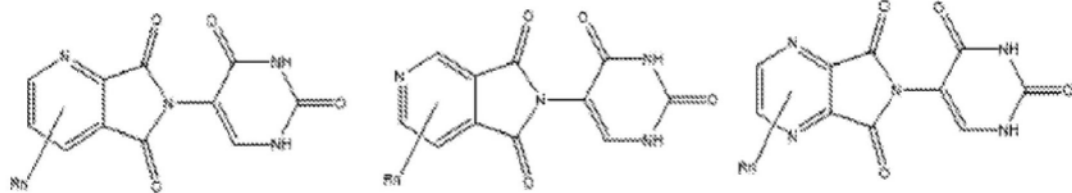
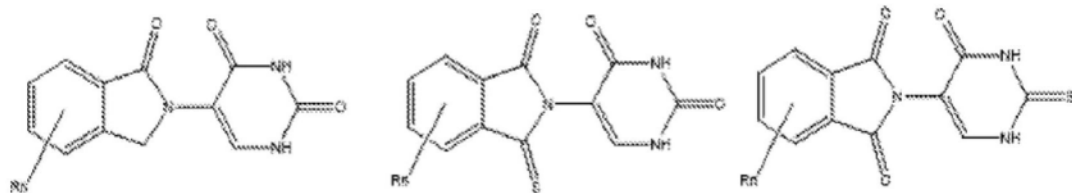
以共价连接至PTM、化学接头基团(L)、ULM、CLM或它们的组合。

[0144] 在本文所述的任何方面或实施方案中,式(a)至(g)的W、X、Y、Z、G、G'、R、R'、R"、Q1-Q4和A可以独立地共价偶联至接头和/或连接一个或多个PTM、ULM或CLM基团的接头。

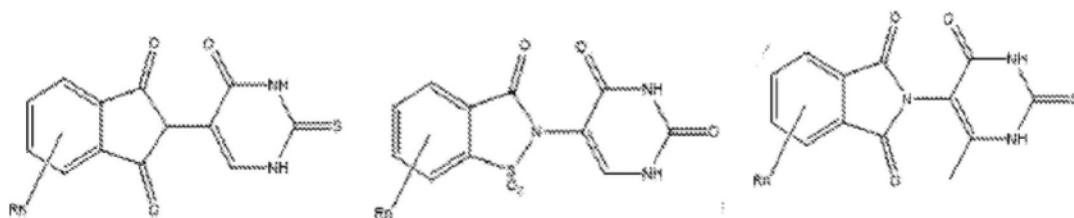
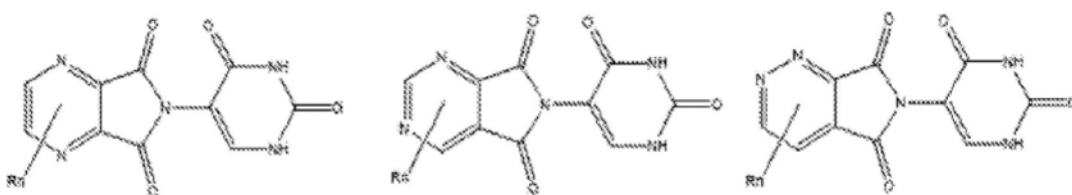
[0145] 在本文所述的任何方面或实施方案中,n是1至4的整数,并且每个R是独立选择的官能团或原子,例如CLM的芳基或杂芳基上的O、OH、N、-Cl、-F、C1-C6烷基、C1-C6烷氧基、-烷基-芳基(例如,包含C1-C6烷基、C4-C7芳基或它们的组合中的至少一者的-烷基-芳基)、芳基(例如,C5-C7芳基)、胺、酰胺或羧基,并且任选地,其中之一被修饰以共价连接至PTM、化学接头基团(L)、ULM、CLM或它们的组合。

[0146] 更具体地,CLM的非限制性实例包括以下所示的那些以及由以下分子中所示的一个或多个不同特征的组合产生的那些“杂交”分子,其中至少一个R或W被修饰以共价连接至PTM、化学连接基团(L)、ULM、CLM或其组合。

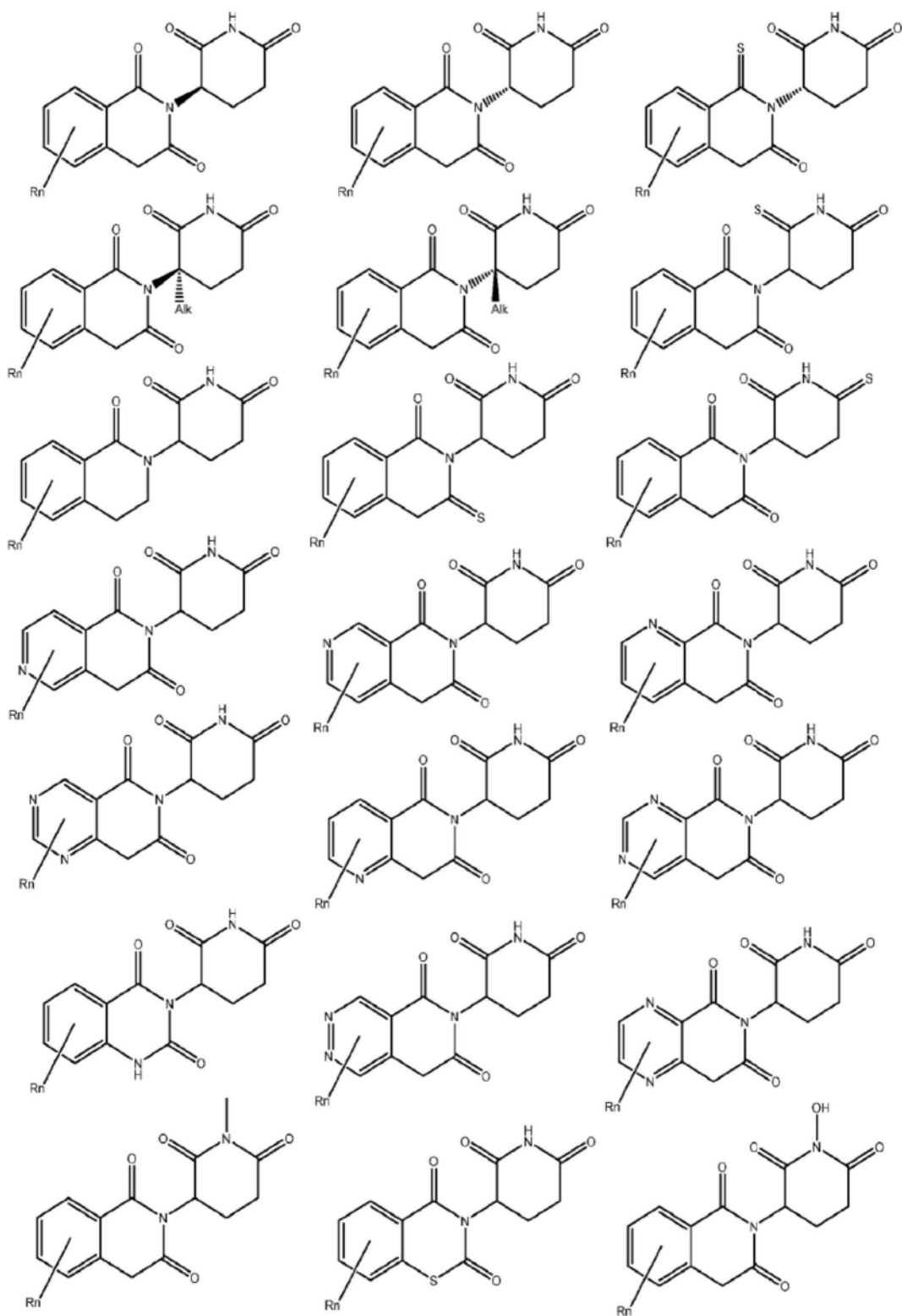


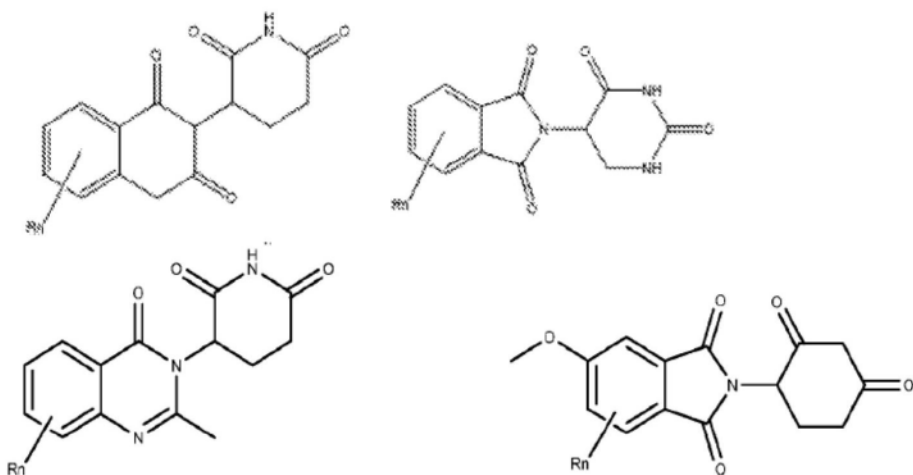


[0148]

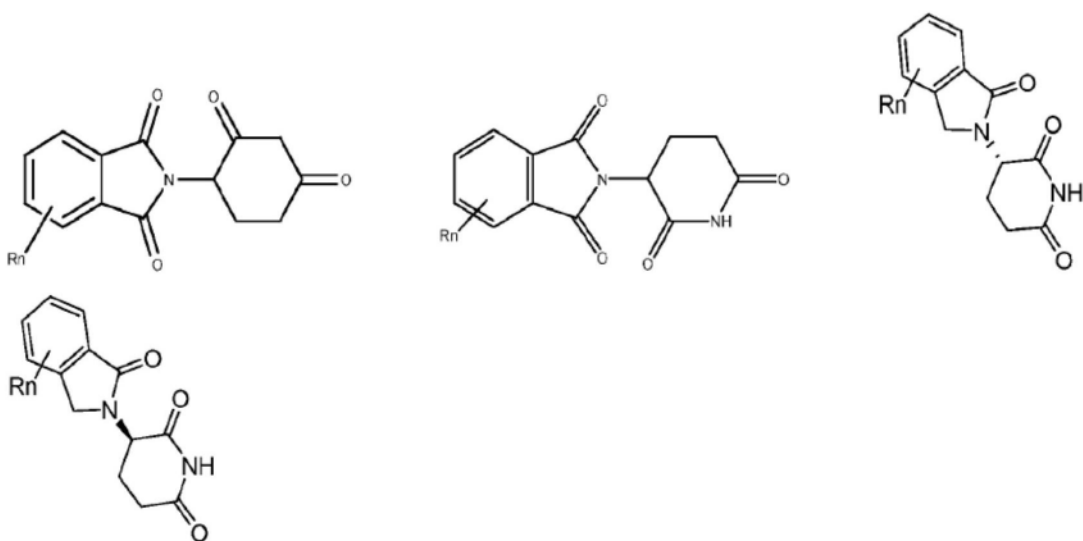


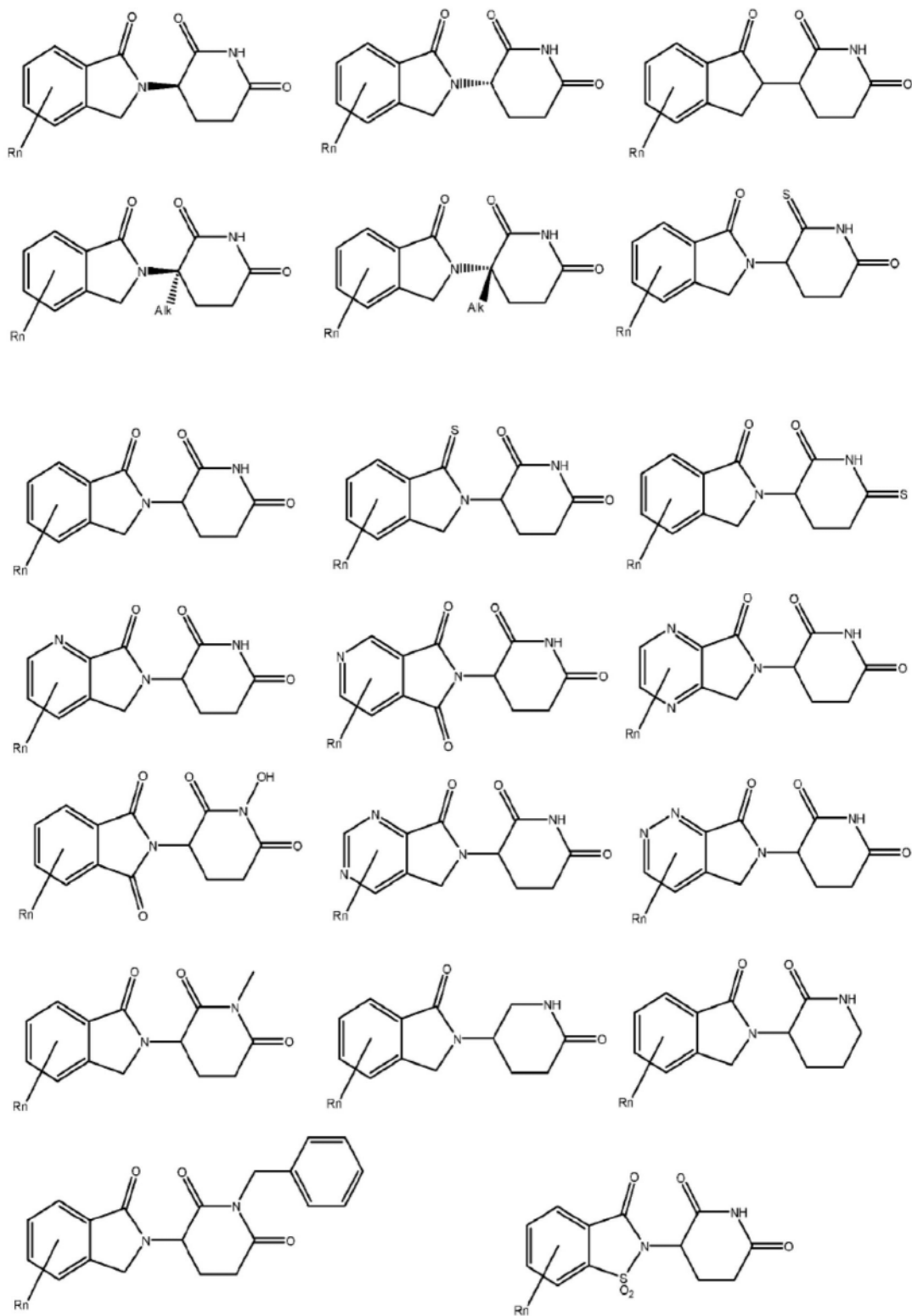
[0149]

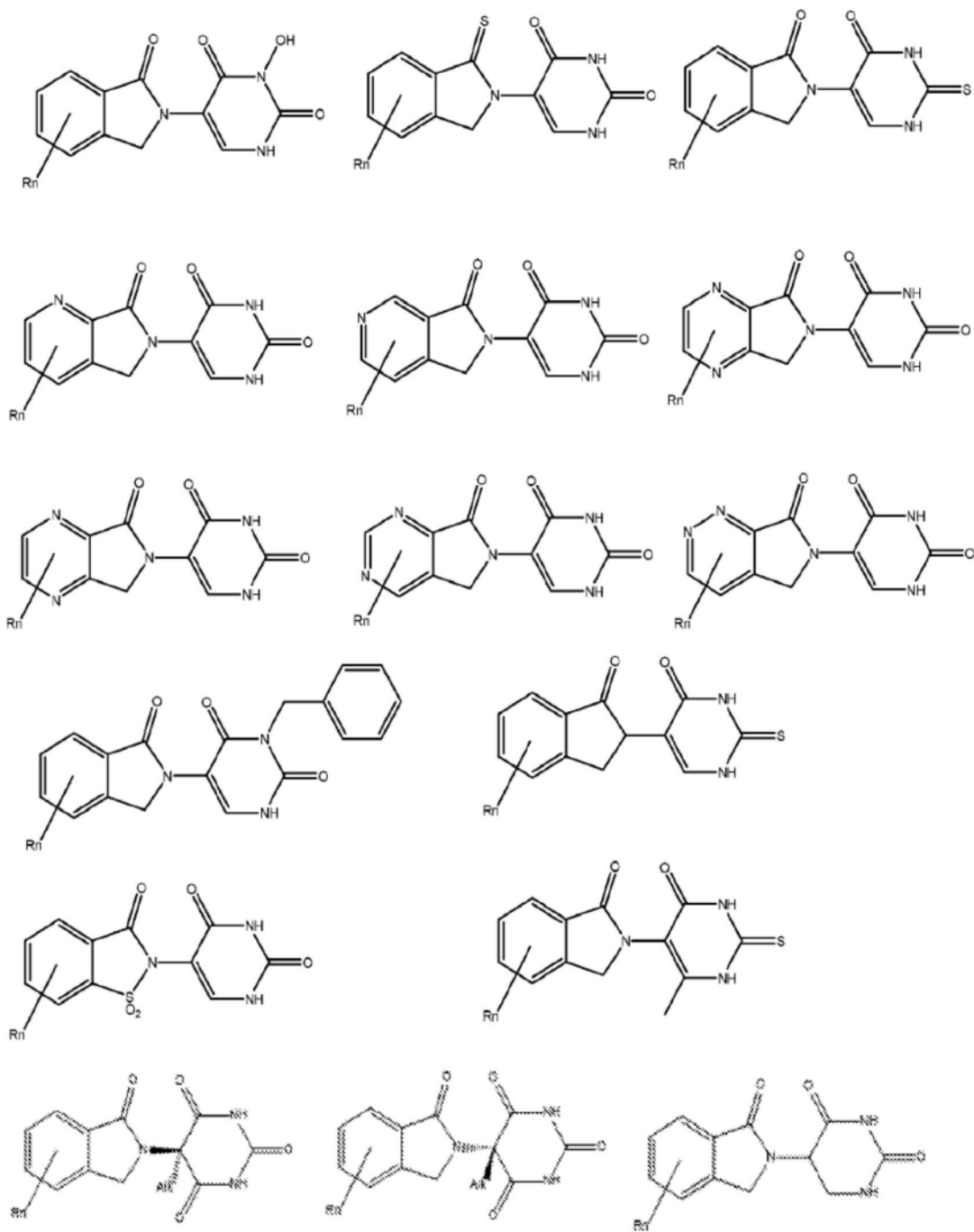




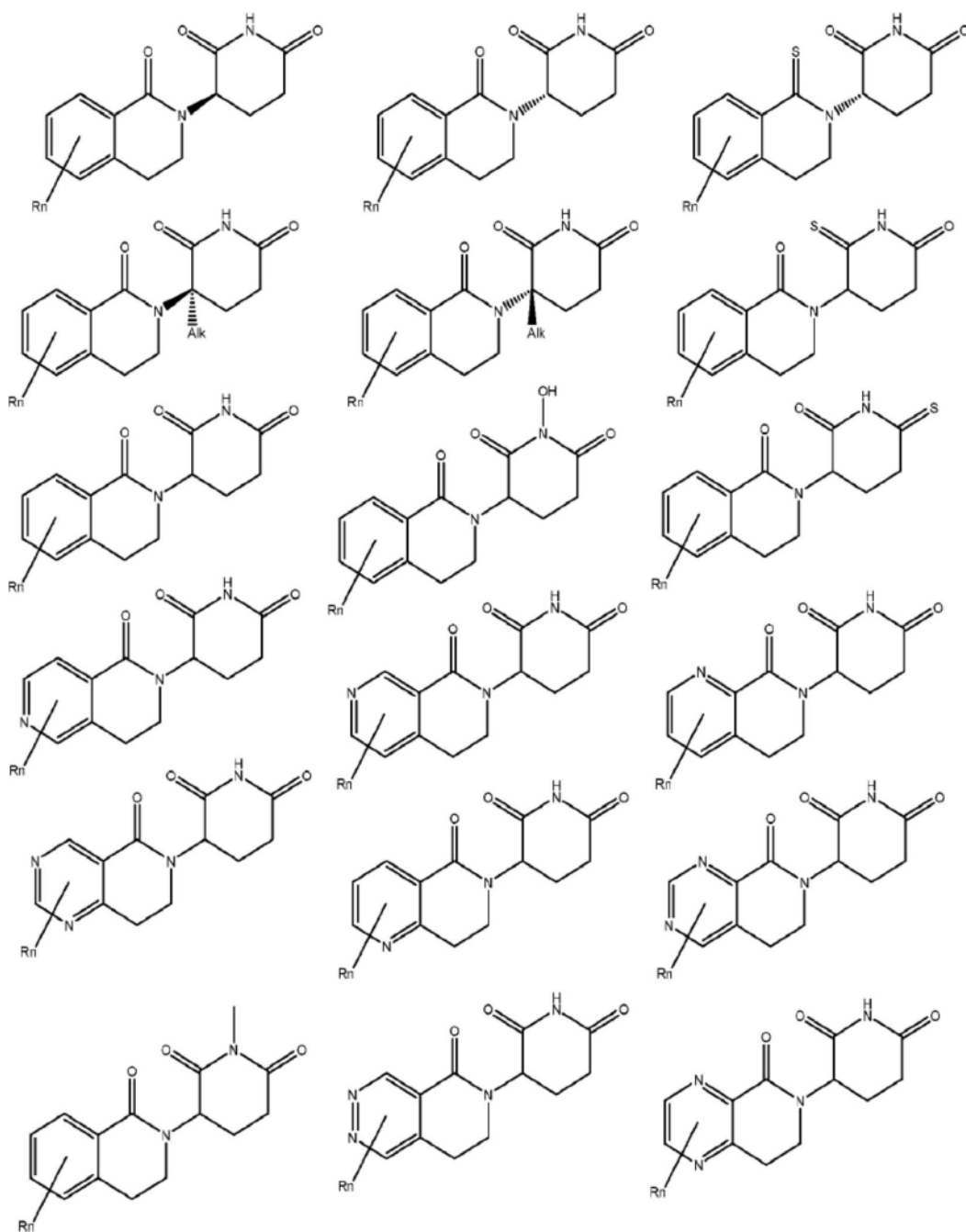
[0150]

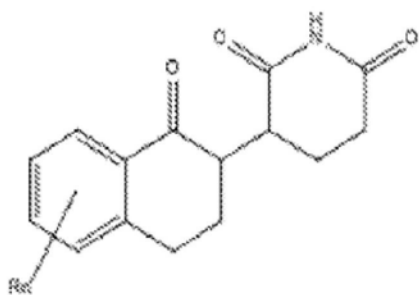




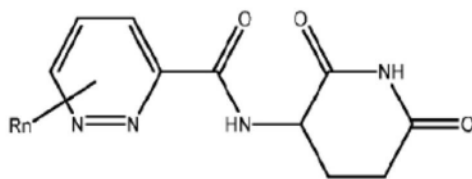
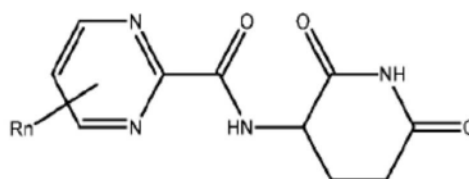
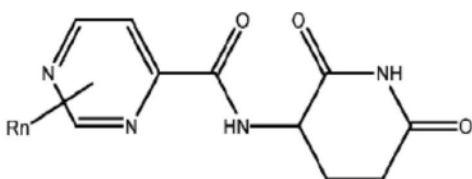
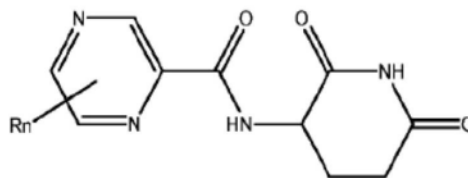
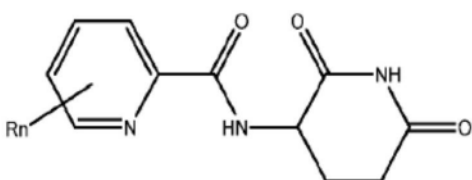


[0153]

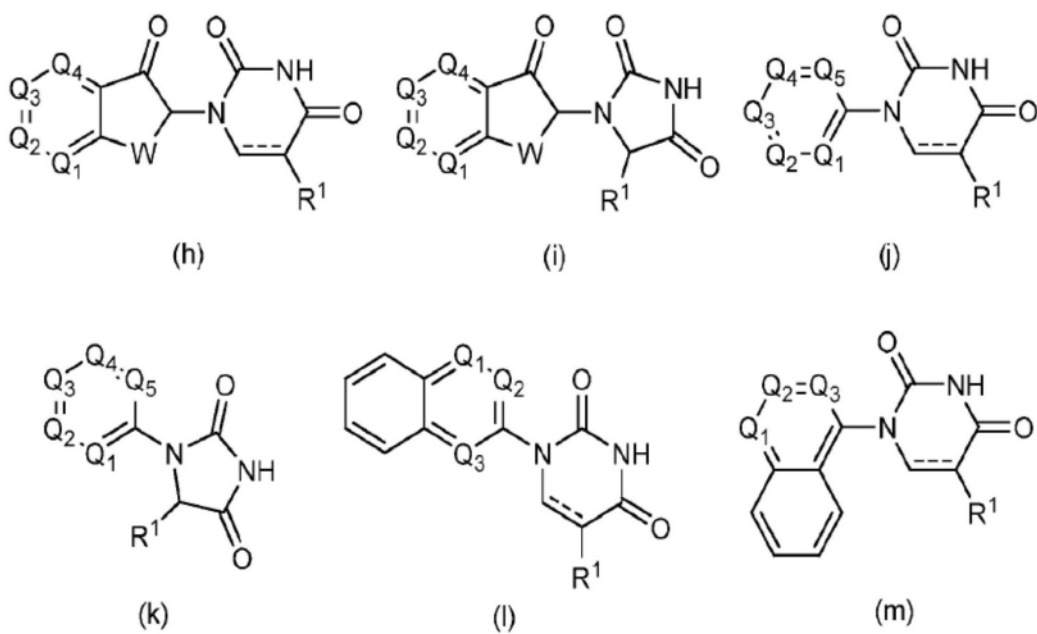




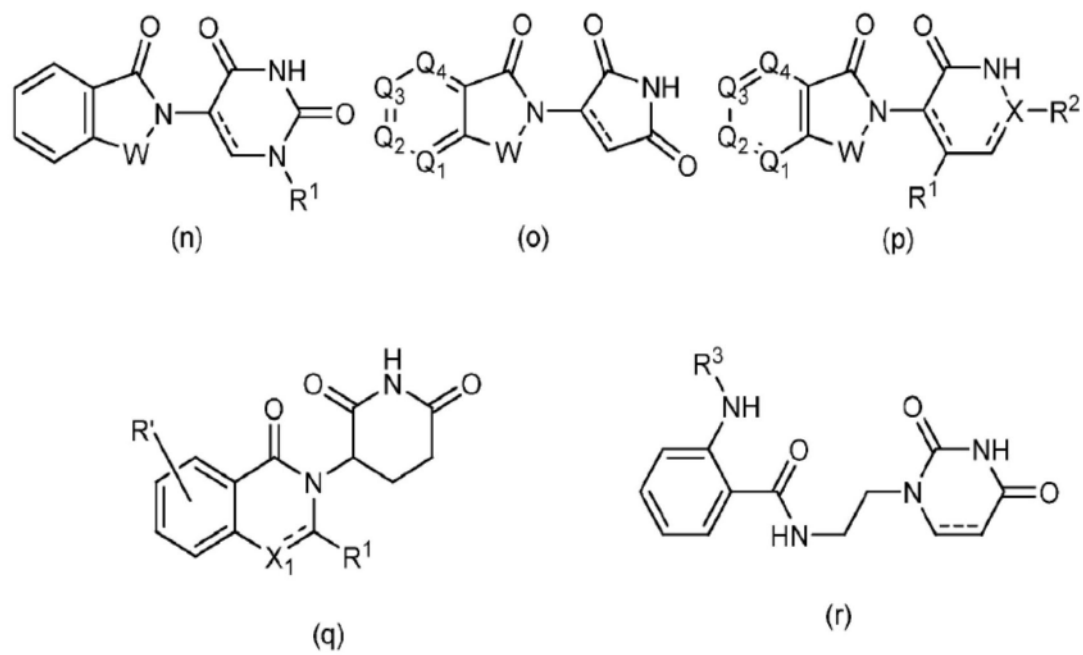
[0154]

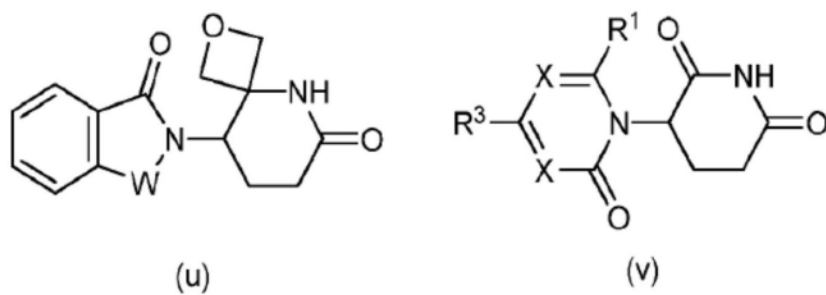
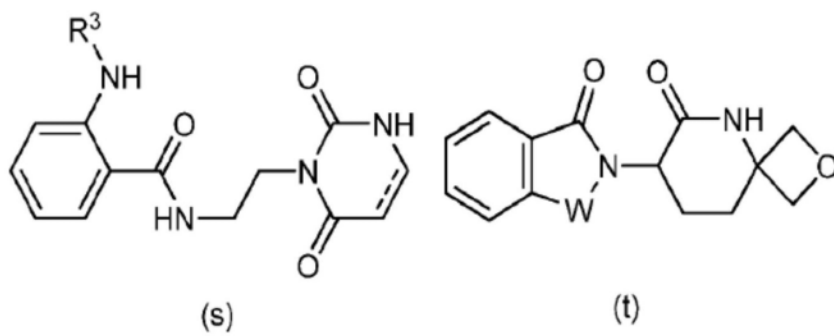


[0155] 在本文所述的任何方面或实施方案中,CLM包含选自以下基团的化学结构:

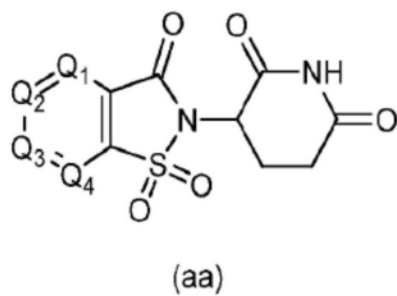
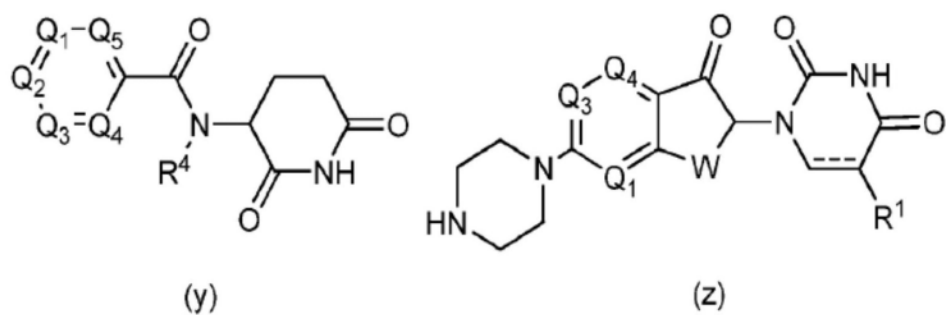
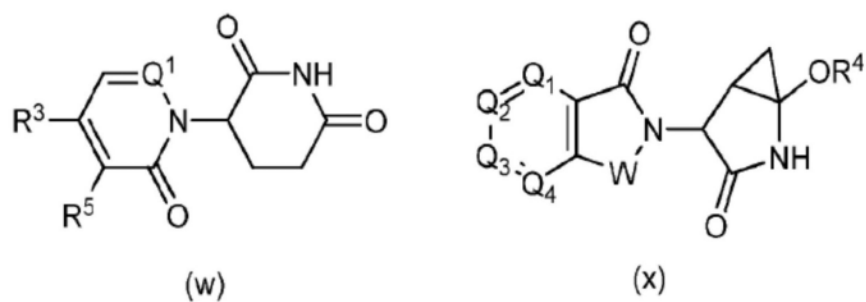


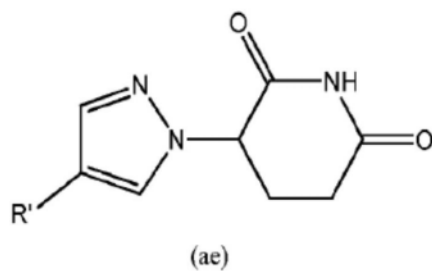
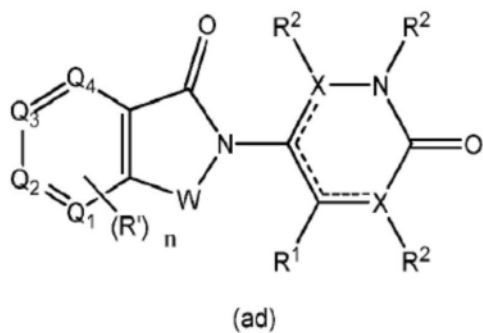
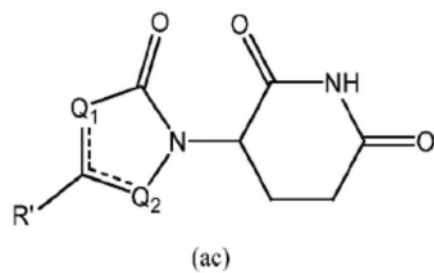
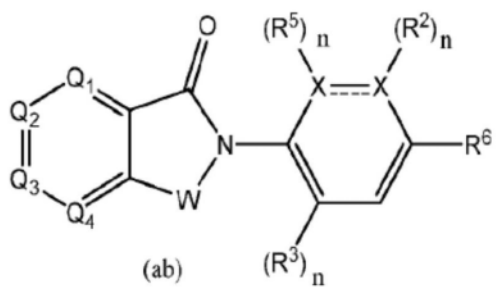
[0156]



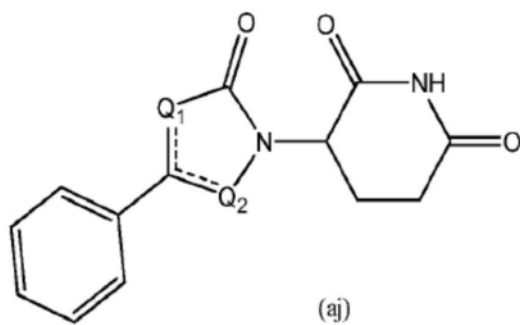
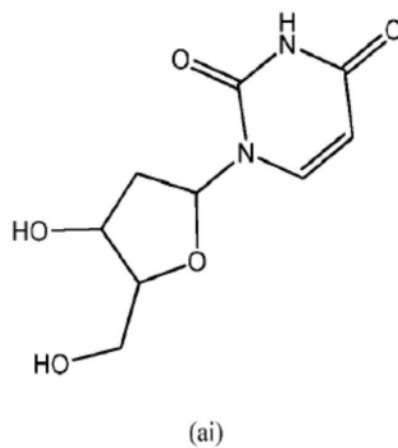
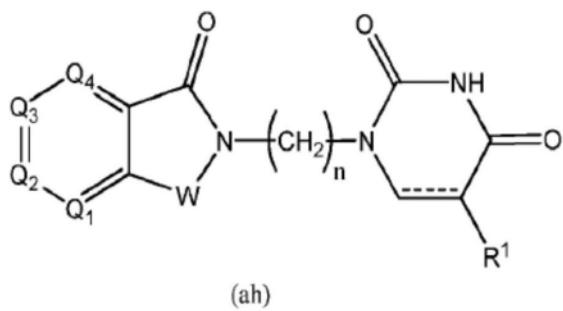
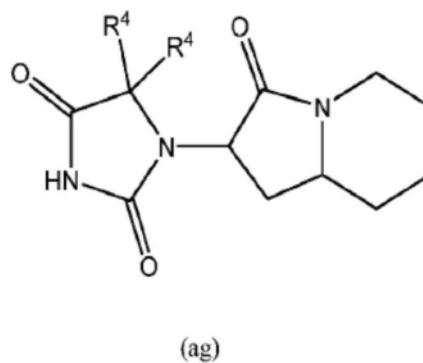
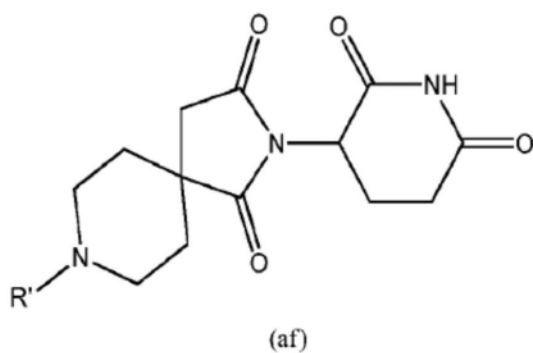


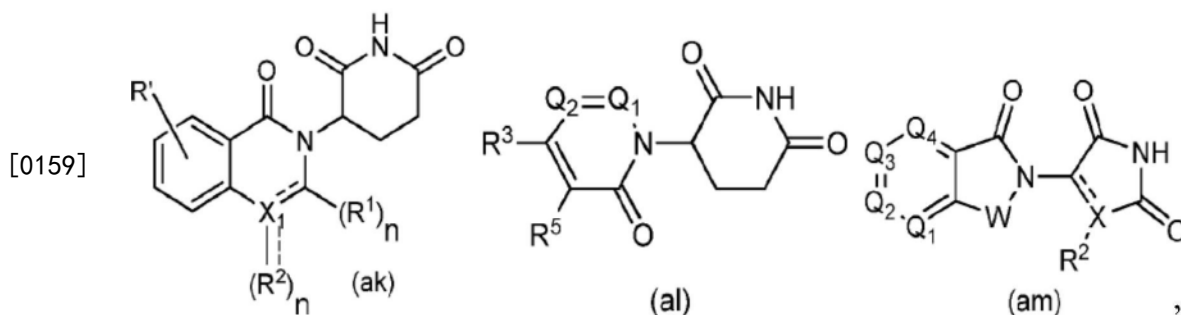
[0157]





[0158]





[0160] 其中：

[0161] W独立地选自 CH_2 、O、CHR、C=O、 SO_2 、NH、N、任选取代的环丙基、任选取代的环丁基和N-烷基（例如， CH_2 、CHR、C=O、 SO_2 、NH和N-烷基）；

[0162] Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 、 Q_5 各自独立地表示被独立地选自 R' 、N或N-氧化物的基团取代的碳C或N；

[0163] R^1 选自不存在、H、OH、CN、C1-C3烷基、C=O；

[0164] R^2 选自基团不存在、H、OH、CN、C1-C3烷基、 CHF_2 、 CF_3 、CHO、C(=O)NH₂；

[0165] R^3 选自H、烷基（例如，C1-C6或C1-C3烷基）、取代的烷基（例如，取代的C1-C6或C1-C3烷基）、烷氧基（例如，C1-C6或C1-C3烷氧基）、取代的烷氧基（例如，取代的C1-C6或C1-C3烷氧基）；

[0166] R^4 选自H、烷基、取代的烷基；

[0167] R^5 和 R^6 各自独立地是H、卤素、C(=O) R' 、CN、OH、 CF_3 ；

[0168] X是C、CH、C=O或N；

[0169] X_1 是C=O、N、CH或 CH_2 ；

[0170] R' 选自H、卤素、胺、烷基（例如，C1-C3烷基）、取代的烷基（例如，取代的C1-C3烷基）、烷氧基（例如，C1-C3烷氧基）、取代的烷氧基（例如，取代的C1-C3烷氧基）、 NR^2R^3 、C(=O)OR²、任选取代的苯基；

[0171] n是0-4；

[0172] $\diagup$ 是单键或双键；并且

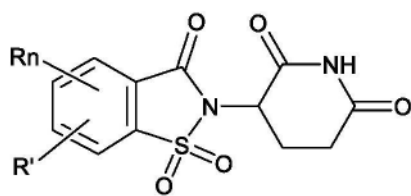
[0173] CLM共价连接至PTM、化学接头基团(L)、ULM、CLM或它们的组合。

[0174] 在本文所述的任何方面或实施方案中，CLM通过R基团（诸如R、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 或 R' ）、W、X、或Q基团（诸如 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 或 Q_5 ）共价连接至PTM或化学接头基团(L)。

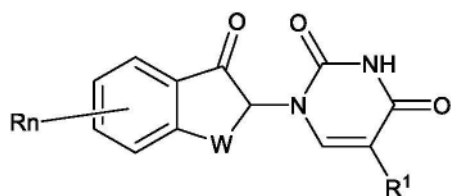
[0175] 在本文所述的任何方面或实施方案中，CLM通过W、X、R、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R' 、 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 共价连接至PTM或化学接头基团(L)。

[0176] 在本文所述的任何方面或实施方案中，W、X、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R' 、 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 和 Q_5 可以独立地共价偶联至接头和/或连接至一个或多个PTM、ULM或CLM基团的接头。

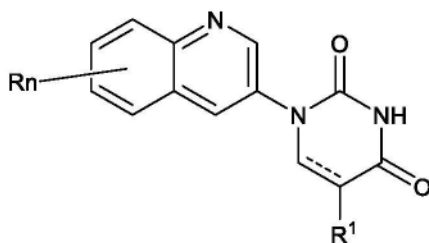
[0177] 更具体地，CLM的非限制性实例包括以下所示的那些以及由组合以下化合物的一个或多个特征而产生的“杂交”分子或化合物：



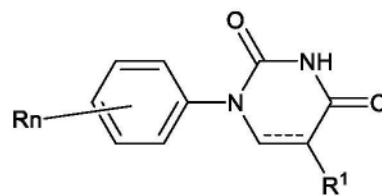
(an)



(ao)

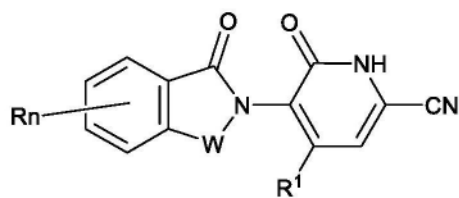


(ap)

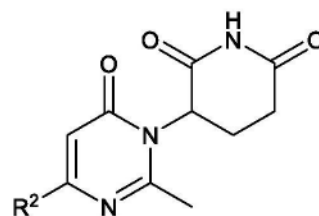


(aq)

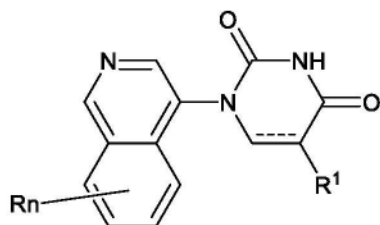
[0178]



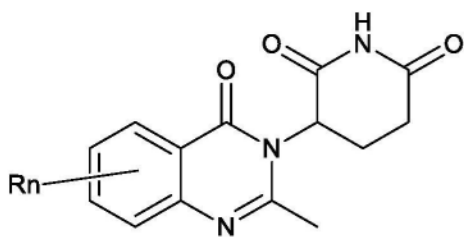
(ar)



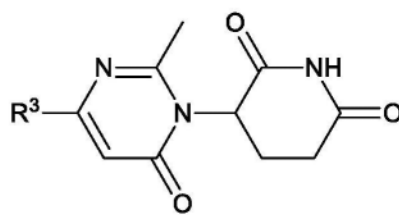
(as)



(at)

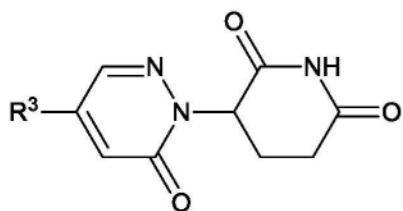


(au)

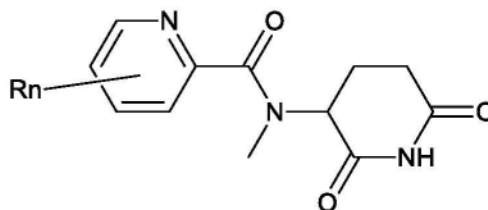


(av)

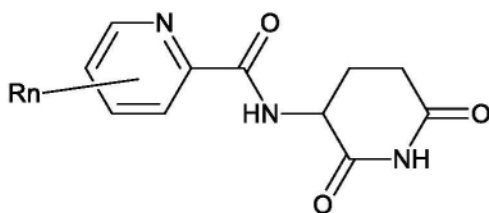
[0179]



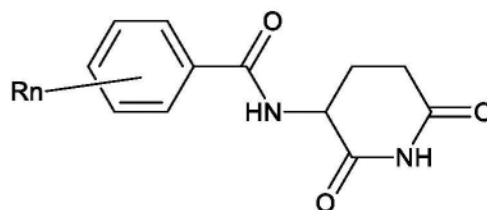
(aw)



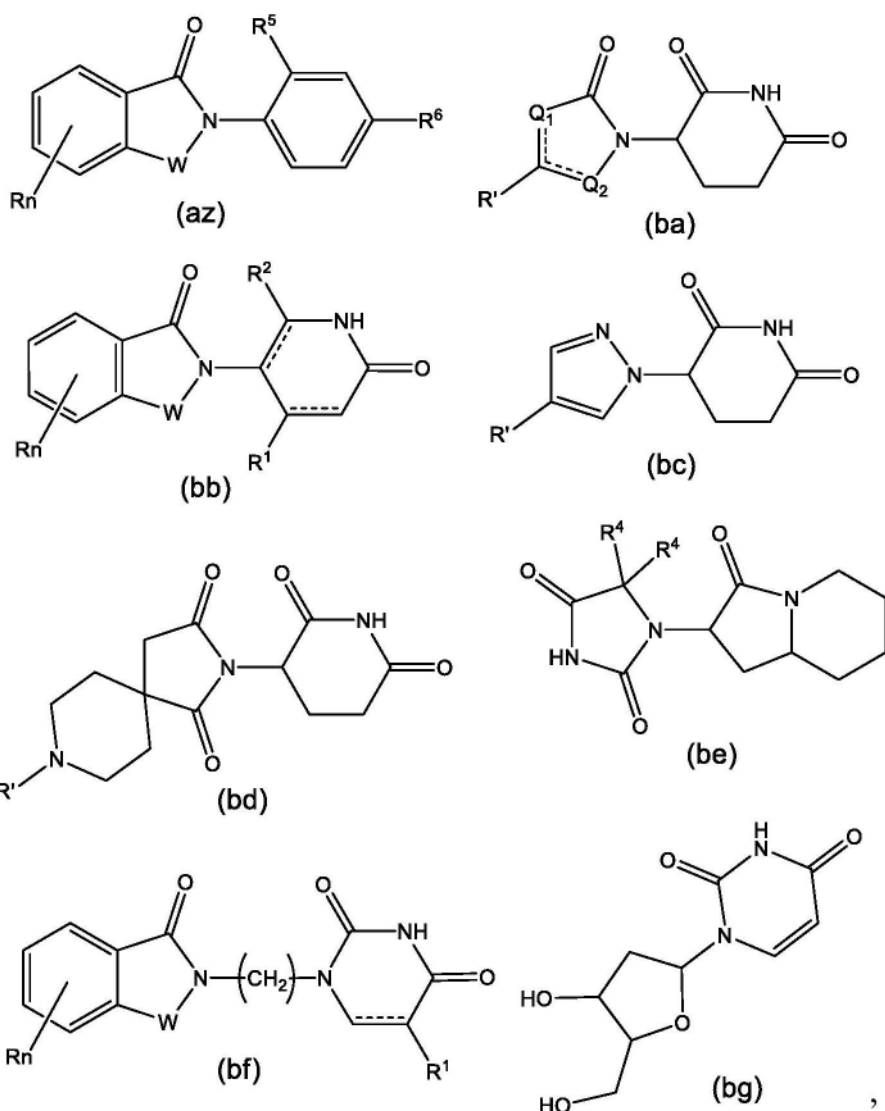
(ax)



(ay)



(ay')



[0181] 其中：

[0182] W独立地选自基团 CH_2 、 CHR 、 $C=O$ 、 SO_2 、 NH 和 N -烷基；

[0183] R^1 选自基团不存在、 H 、 CH 、 CN 、 $C1-C3$ 烷基；

[0184] R^2 是 H 或 $C1-C3$ 烷基；

[0185] R^3 选自 H 、烷基、取代的烷基、烷氧基、取代的烷氧基；

[0186] R^4 是甲基或乙基；

[0187] R^5 是 H 或卤代基；

[0188] R^6 是 H 或卤代基；

[0189] n 是0-4的整数；

[0190] R 和 R' 独立地是 H 、官能团或原子(例如, H 、卤素(例如, $-Cl$ 或 $-F$)、胺、 $C1-C3$ 烷基、 $C1-C3$ 烷基、 $C1-C3$ 烷氧基、 NR^2R^3 或 $C(=O)OR^2$)；或PTM或化学接头基团(L)的连接点，

[0191] Q_1 和 Q_2 各自独立地是被独立地选自 H 或 $C1-C3$ 烷基的基团取代的 C 或 N ；并且

[0192] $\equiv$ 是单键或双键。

[0193] 在本文所述的任何方面或实施方案中, W 、 R^1 、 R^2 、 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 、 R 和 R' 可以独立地共价偶联至接头和/或连接至一个或多个PTM基团的接头。

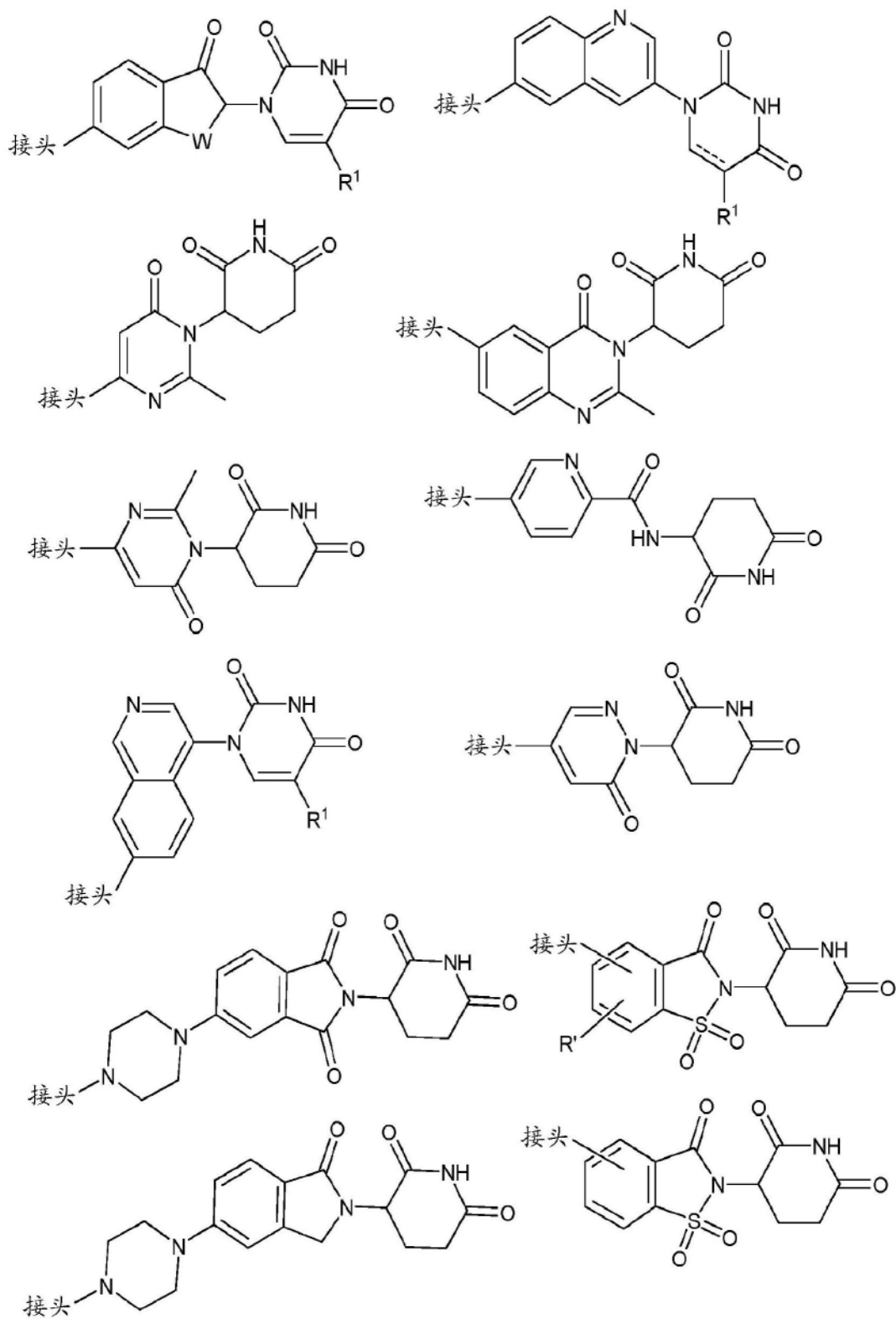
[0194] 在本文所述的任何方面或实施方案中, R^1 、 R^2 、 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 、R和R' 可以独立地共价偶联至接头和/或连接至一个或多个PTM基团的接头。

[0195] 在本文所述的任何方面或实施方案中, Q_1 、 Q_2 、 Q_3 、 Q_4 、R和R' 可以独立地共价偶联至接头和/或连接至一个或多个PTM基团的接头。

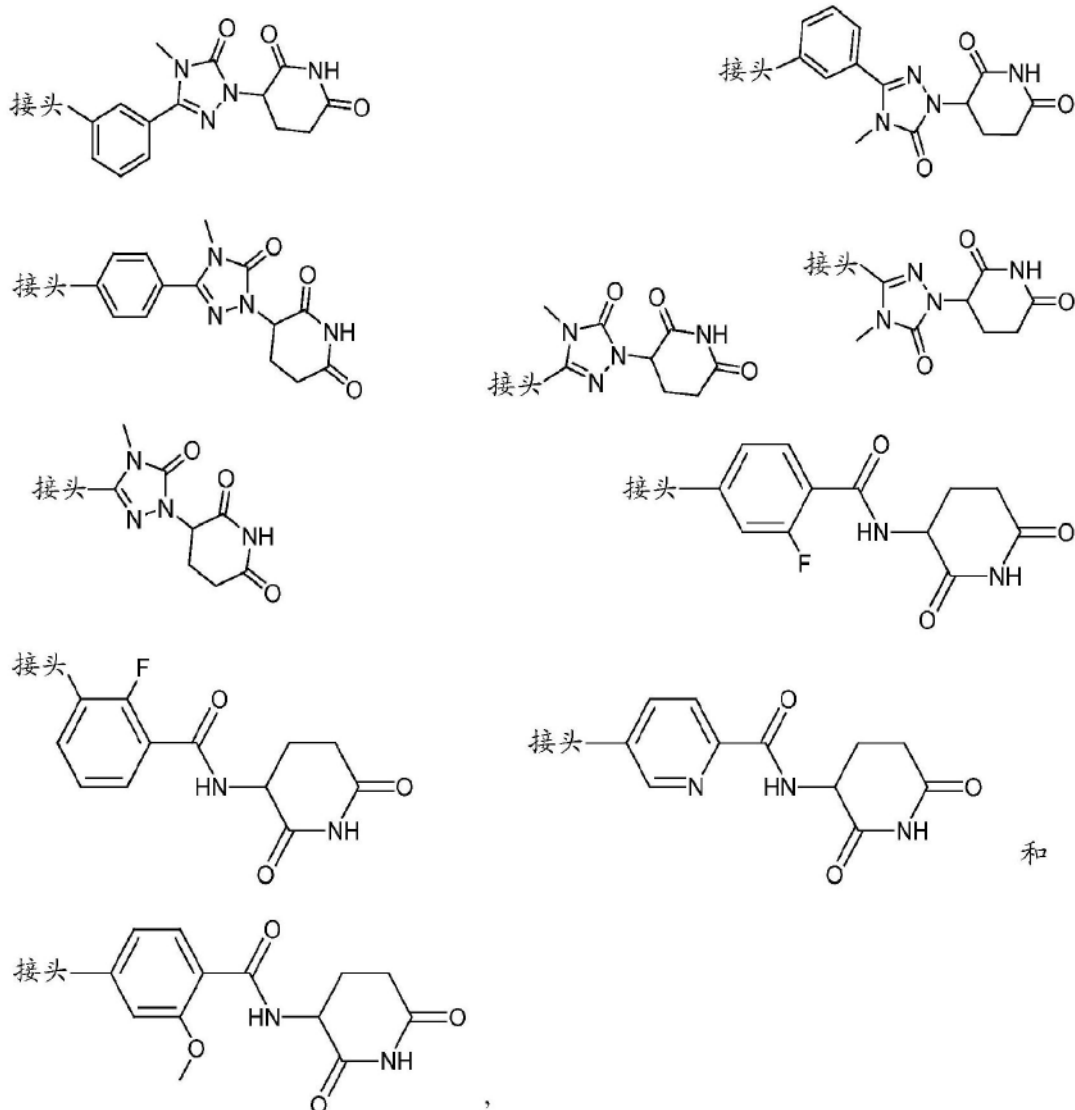
[0196] 如将显而易见的,在本文所述的任何方面或实施方案中,CLM的R、R'、R''、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 可以是键。

[0197] 在本文所述的任何方面或实施方案中,R是键或被修饰以共价连接至接头基团(L)或PTM或它们的组合。

[0198] 在本文所述的任何方面或实施方案中,CLM选自:



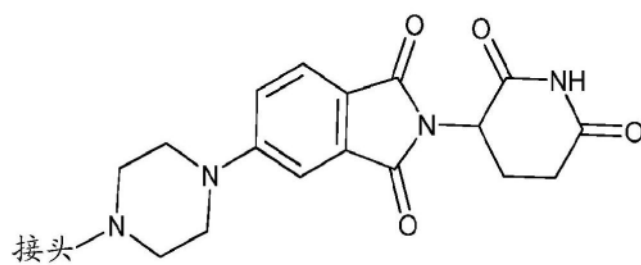
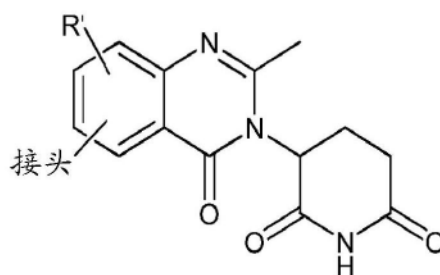
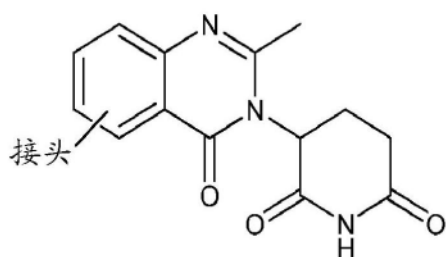
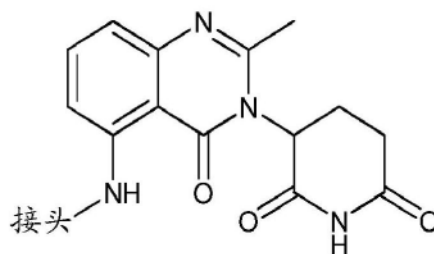
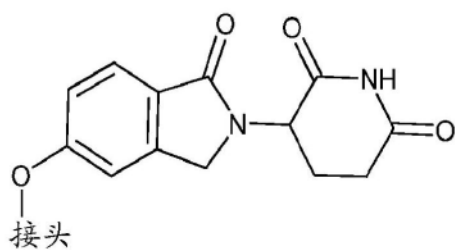
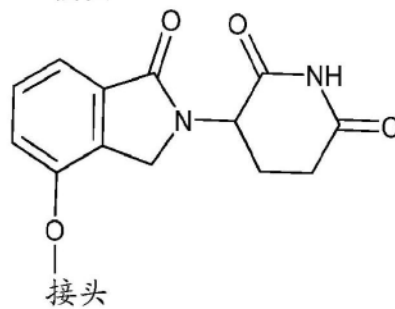
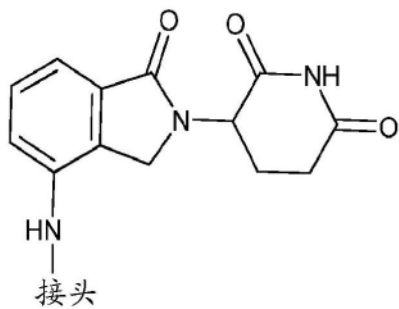
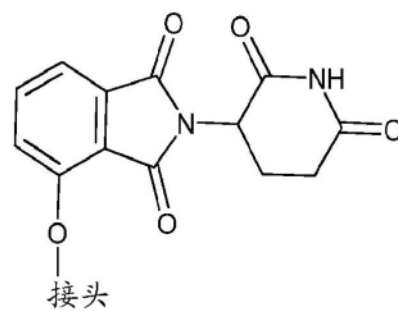
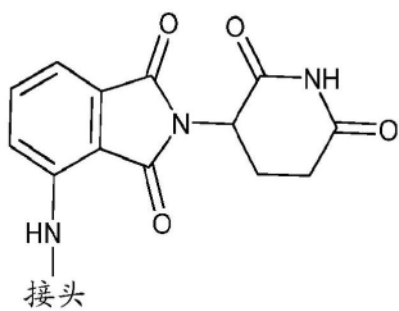
[0200]

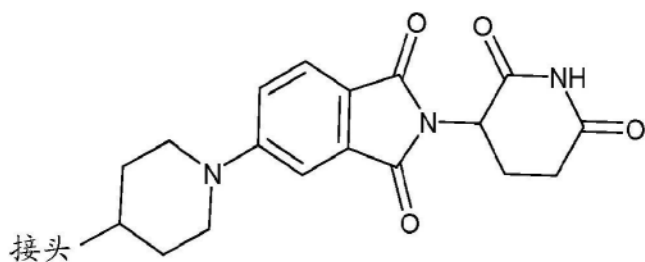


[0201] 其中R' 是卤素并且R¹如本文所述。

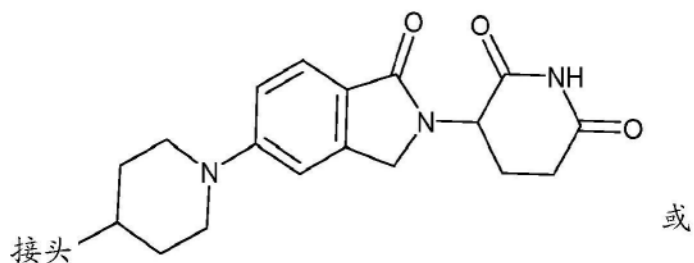
[0202] 在某些情况下,“CLM”可以是结合至cereblon E3连接酶的酰亚胺。这些酰亚胺和接头连接点可以是但不限于以下结构之一:

[0203]

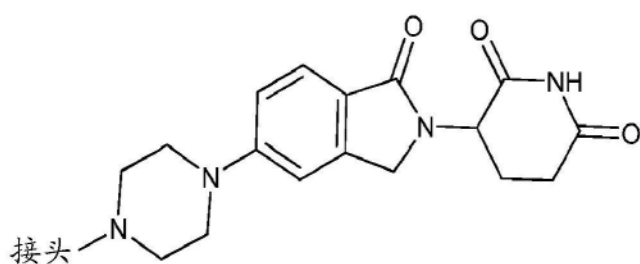




[0204]

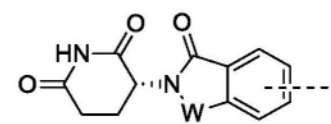
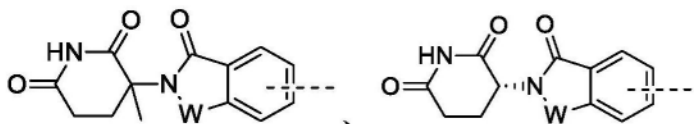
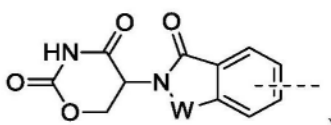
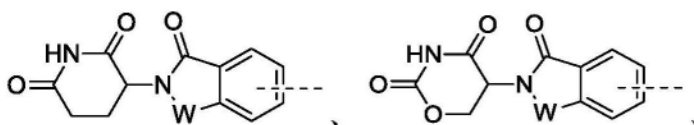


或

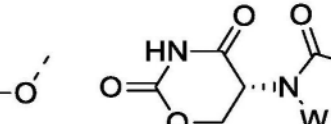
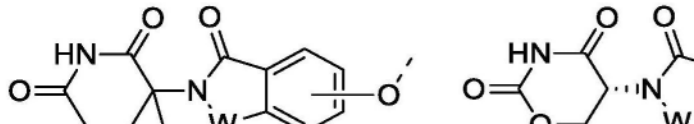
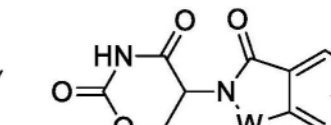
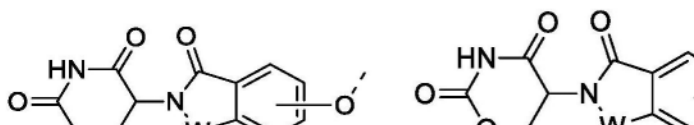
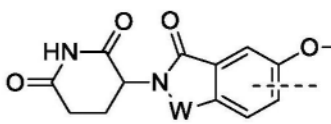
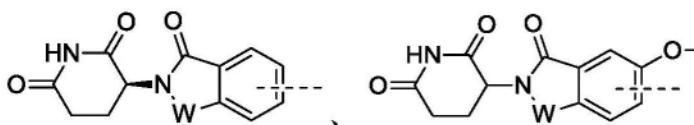


[0205]

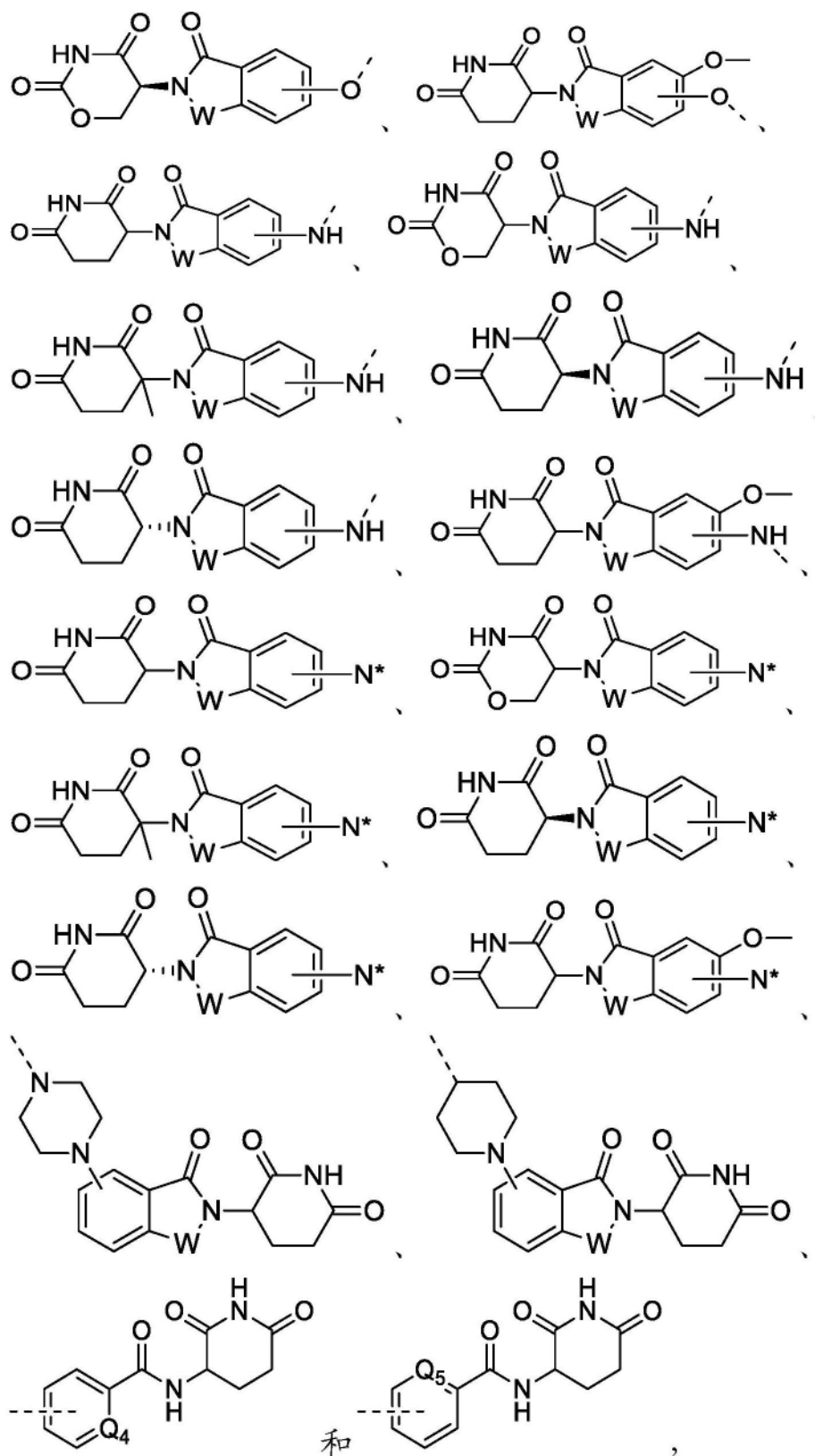
在本文所述的任何方面或实施方案中,ULM选自由以下组成的组:



[0206]



[0207]



[0208] 其中:

[0209] ULM的 $\sim$ 表示与接头基团或PTM的连接点;

[0210] N*是与化学接头基团或PTM共享的氮原子;并且

[0211] W、Q₄和Q₅各自如本文所述的任何方面或实施方案中所述定义。

[0212] 示例性接头

[0213] 在某些实施方案中,本文所述的化合物包含通过化学接头(L)与ULM(例如,CLM)化学连接的PTM。在某些实施方案中,接头基团L包含一个或多个共价连接的结构单元(例如, $-A^L_1 \dots (A^L)_q-$ 或 $-(A^L)_q-$),其中 A^L_1 是偶联至PTM的基团,并且 $(A^L)_q$ 是偶联至ULM的基团。

[0214] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)与ULM(例如,CLM)的连接是稳定的L-ULM连接。例如,在本文所述的任何方面或实施方案中,当接头(L)和ULM通过杂原子(例如,N、O、S)连接时,任何另外的杂原子(如果存在的话)被至少一个碳原子(例如, $-\text{CH}_2-$),诸如缩醛或缩醛胺基团分开。作为进一步的实例,在本文所述的任何方面或实施方案中,当接头(L)和ULM通过杂原子连接时,杂原子不是酯的一部分。

[0215] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头基团L是键或由式 $-(A^L)_q-$ 表示的化学接头基团,其中A是化学部分并且q是1-100的整数(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79或80),并且其中L与PTM和ULM两者共价键合,并提供PTM与蛋白质靶标的结合以及ULM与E3泛素连接酶的结合以实现靶蛋白泛素化。

[0216] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头基团L是键或由式 $-(A^L)_q-$ 表示的化学接头基团,其中A是化学部分并且q是6-30的整数(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25),并且其中L与PTM和ULM两者共价键合,并足够接近来提供PTM与蛋白质靶标的结合以及ULM与E3泛素连接酶的结合,以导致靶蛋白泛素化。

[0217] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头基团L是 $-(A^L)_q-$,其中:

[0218] $(A^L)_q$ 是将ULM(例如,CLM)连接至PTM(TTM)的基团;

[0219] 接头的q是大于或等于1的整数;

[0220] 每个 A^L 独立地选自由以下组成的组:键、 $\text{CR}^{L1}\text{R}^{L2}$ 、O、S、SO、 SO_2 、 NR^{L3} 、 $\text{SO}_2\text{NR}^{L3}$ 、 SONR^{L3} 、 CONR^{L3} 、 $\text{NR}^{L3}\text{CONR}^{L4}$ 、 $\text{NR}^{L3}\text{SO}_2\text{NR}^{L4}$ 、CO、 $\text{CR}^{L1}=\text{CR}^{L2}$ 、 $\text{C}\equiv\text{C}$ 、 $\text{SiR}^{L1}\text{R}^{L2}$ 、 $\text{P}(\text{O})\text{R}^{L1}$ 、 $\text{P}(\text{O})\text{OR}^{L1}$ 、 $\text{NR}^{L3}\text{C}(=\text{NCN})\text{NR}^{L4}$ 、 $\text{NR}^{L3}\text{C}(=\text{NCN})$ 、 $\text{NR}^{L3}\text{C}(=\text{CNO}_2)\text{NR}^{L4}$ 、任选地被1-6个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的 C_{3-11} 环烷基、任选地被1-9个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的 C_{5-13} 螺环烷基、任选地被1-6个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的 C_{3-11} 杂环基、任选地被1-8个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的 C_{5-13} 螺杂环基、任选地被1-6个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的芳基以及任选地被1-6个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的杂芳基,其中 R^{L1} 或 R^{L2} 各自独立地任选地连接至其他基团以形成任选地被1-4个 R^{L5} 基团取代的环烷基和/或杂环基部分;并且

[0221] R^{L1} 、 R^{L2} 、 R^{L3} 、 R^{L4} 和 R^{L5} 各自独立地是H、卤代基、 C_{1-8} 烷基、 OC_{1-8} 烷基、 SC_{1-8} 烷基、 NHC_{1-8} 烷基、 $\text{N}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})_2$ 、 C_{3-11} 环烷基、芳基、杂芳基、 C_{3-11} 杂环基、 OC_{3-8} 环烷基、 SC_{3-8} 环烷基、 NHC_{3-8} 环烷基、 $\text{N}(\text{C}_{3-8}\text{环烷基})_2$ 、 $\text{N}(\text{C}_{3-8}\text{环烷基})(\text{C}_{1-8}\text{烷基})$ 、OH、 NH_2 、SH、 $\text{SO}_2\text{C}_{1-8}\text{烷基}$ 、 $\text{P}(\text{O})(\text{OC}_{1-8}\text{烷基})(\text{C}_{1-8}\text{烷基})$ 、 $\text{P}(\text{O})(\text{OC}_{1-8}\text{烷基})_2$ 、 $\text{CC}-\text{C}_{1-8}\text{烷基}$ 、 CCH 、 $\text{CH}=\text{CH}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})$ 、 $\text{C}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})=\text{CH}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})$ 、 $\text{C}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})=\text{C}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})_2$ 、 $\text{Si}(\text{OH})_3$ 、 $\text{Si}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})_3$ 、 $\text{Si}(\text{OH})(\text{C}_{1-8}\text{烷基})_2$ 、 $\text{COC}_{1-8}\text{烷基}$ 、 CO_2H 、卤素、CN、 CF_3 、 CHF_2 、 CH_2F 、 NO_2 、 SF_5 、 $\text{SO}_2\text{NHC}_{1-8}\text{烷基}$ 、 $\text{SO}_2\text{N}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})_2$ 、 $\text{SONHC}_{1-8}\text{烷基}$ 、 $\text{SON}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})_2$ 、 $\text{CONHC}_{1-8}\text{烷基}$ 、 $\text{CON}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})_2$ 、 $\text{N}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})\text{CONH}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})$ 、 $\text{N}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})\text{CON}(\text{C}_{1-8}\text{烷基})$ 、

烷基)₂、NHCONH(C₁₋₈烷基)、NHCON(C₁₋₈烷基)₂、NHCONH₂、N(C₁₋₈烷基)SO₂NH(C₁₋₈烷基)、N(C₁₋₈烷基)SO₂N(C₁₋₈烷基)₂、NH SO₂NH(C₁₋₈烷基)、NH SO₂N(C₁₋₈烷基)₂或NH SO₂NH₂。

[0222] 在某些实施方案中,q是大于或等于1的整数。

[0223] 在本文所述的任何方面或实施方案中,例如,当接头的q大于2时,(A^L)_q是为A^L₁和(A^L)_q的基团,其中接头将PTM偶联至ULM。

[0224] 在本文所述的任何方面或实施方案中,例如,当接头的q是2时,A^L₂是连接至A^L₁和ULM的基团。

[0225] 在本文所述的任何方面或实施方案中,例如,当接头的q是1时,接头基团L的结构是-A^L₁-,并且A^L₁是将ULM部分连接至PTM部分的基团。

[0226] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)的单元A^L包含由选自以下组成的组的通用结构表示的基团:

[0227] -NR(CH₂)_n-(低级烷基)-、-NR(CH₂)_n-(低级烷氧基)-、-NR(CH₂)_n-(低级烷氧基)-OCH₂-、-NR(CH₂)_n-(低级烷氧基)-(低级烷基)-OCH₂-、-NR(CH₂)_n-(环烷基)-(低级烷基)-OCH₂-、-NR(CH₂)_n-(杂环烷基)-、-NR(CH₂CH₂O)_n-(低级烷基)-O-CH₂-、-NR(CH₂CH₂O)_n-(杂环烷基)-O-CH₂-、-NR(CH₂CH₂O)_n-芳基-O-CH₂-、-NR(CH₂CH₂O)_n-(杂芳基)-O-CH₂-、-NR(CH₂CH₂O)_n-(环烷基)-O-(杂芳基)-O-CH₂-、-NR(CH₂CH₂O)_n-(环烷基)-O-芳基-O-CH₂-、-NR(CH₂CH₂O)_n-(低级烷基)-NH-芳基-O-CH₂-、-NR(CH₂CH₂O)_n-(低级烷基)-O-芳基-CH₂-、-NR(CH₂CH₂O)_n-环烷基-O-芳基-、-NR(CH₂CH₂O)_n-环烷基-O-(杂芳基)-1-、-NR(CH₂CH₂)_n-(环烷基)-O-(杂环基)-CH₂-、-NR(CH₂CH₂)_n-(杂环基)-(杂环基)-CH₂和-N(R₁R₂)-(杂环基)-CH₂;其中

[0228] 接头的n可以是0至10;

[0229] 接头的R可以是H或低级烷基;并且

[0230] 接头的R₁和R₂可以与连接的N形成环。

[0231] 在本文所述的任何方面或实施方案中,所述接头(L)包括任选取代的C₁-C₅₀烷基(例如,C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁、C₁₂、C₁₃、C₁₄、C₁₅、C₁₆、C₁₇、C₁₈、C₁₉、C₂₀、C₂₁、C₂₂、C₂₃、C₂₄、C₂₅、C₂₆、C₂₇、C₂₈、C₂₉、C₃₀、C₃₁、C₃₂、C₃₃、C₃₄、C₃₅、C₃₆、C₃₇、C₃₈、C₃₉、C₄₀、C₄₁、C₄₂、C₄₃、C₄₄、C₄₅、C₄₆、C₄₇、C₄₈、C₄₉或C₅₀烷基,并且包括所有隐含的子范围,例如C₁-C₁₀、C₁-C₂₀、C₂-C₁₀、C₂-C₂₀、C₁₀-C₂₀、C₁₀-C₅₀等),其中每个碳任选地独立地被以下取代或替代:(1)选自N、O、S、P或Si原子的杂原子,其具有适当数量的氢、取代或两者以满足化合价,(2)任选取代的环烷基或双环环烷基,(3)任选取代的杂环烷基或双环杂环烷基,(4)任选取代的芳基或双环芳基,或(5)任选取代的杂芳基或双环杂芳基。在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)不具有杂原子-杂原子键合(例如,没有杂原子共价连接或相邻定位)。

[0232] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)包括任选取代的C₁-C₅₀烷基(例如,C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁、C₁₂、C₁₃、C₁₄、C₁₅、C₁₆、C₁₇、C₁₈、C₁₉、C₂₀、C₂₁、C₂₂、C₂₃、C₂₄、C₂₅、C₂₆、C₂₇、C₂₈、C₂₉、C₃₀、C₃₁、C₃₂、C₃₃、C₃₄、C₃₅、C₃₆、C₃₇、C₃₈、C₃₉、C₄₀、C₄₁、C₄₂、C₄₃、C₄₄、C₄₅、C₄₆、C₄₇、C₄₈、C₄₉或C₅₀烷基),其中:

[0233] 每个碳任选地被以下取代或替代:CR^{L1}R^{L2}、O、S、SO、SO₂、NR^{L3}、SO₂NR^{L3}、SONR^{L3}、CONR^{L3}、NR^{L3}CONR^{L4}、NR^{L3}SO₂NR^{L4}、CO、CR^{L1}=CR^{L2}、C≡C、SiR^{L1}R^{L2}、P(O)R^{L1}、P(O)OR^{L1}、NR^{L3}C(=NCN)NR^{L4}、NR^{L3}C(=NCN)、NR^{L3}C(=CNO₂)NR^{L4}、任选地被1-6个R^{L1}和/或R^{L2}基团取代的C₃₋₁₁环烷

基、任选地被1-9个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的 C_{5-13} 螺环烷基、任选地被1-6个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的 C_{3-11} 杂环基、任选地被1-8个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的 C_{5-13} 螺杂环基、任选地被1-6个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的芳基或任选地被0-6个 R^{L1} 和/或 R^{L2} 基团取代的杂芳基,其中 R^{L1} 或 R^{L2} 各自独立地任选地连接至其他基团以形成任选地被1-4个 R^{L5} 基团取代的环烷基和/或杂环基部分;并且

[0234] R^{L1} 、 R^{L2} 、 R^{L3} 、 R^{L4} 和 R^{L5} 各自独立地是H、卤代基、 C_{1-8} 烷基、 OC_{1-8} 烷基、 SC_{1-8} 烷基、 NHC_{1-8} 烷基、 $N(C_{1-8}烷基)_2$ 、 C_{3-11} 环烷基、芳基、杂芳基、 C_{3-11} 杂环基、 OC_{3-8} 环烷基、 SC_{3-8} 环烷基、 NHC_{3-8} 环烷基、 $N(C_{3-8}环烷基)_2$ 、 $N(C_{3-8}环烷基)(C_{1-8}烷基)$ 、OH、 NH_2 、SH、 $SO_2C_{1-8}烷基$ 、P(O)($OC_{1-8}烷基$)($C_{1-8}烷基$)、P(O)($OC_{1-8}烷基$) $_2$ 、CC- $C_{1-8}烷基$ 、CCH、 $CH=CH(C_{1-8}烷基)$ 、 $C(C_{1-8}烷基)=CH(C_{1-8}烷基)$ 、 $C(C_{1-8}烷基)=C(C_{1-8}烷基)_2$ 、Si(OH) $_3$ 、Si($C_{1-8}烷基$) $_3$ 、Si(OH)($C_{1-8}烷基$) $_2$ 、 $COC_{1-8}烷基$ 、 CO_2H 、卤素、CN、 CF_3 、 CHF_2 、 CH_2F 、 NO_2 、 SF_5 、 $SO_2NHC_{1-8}烷基$ 、 $SO_2N(C_{1-8}烷基)_2$ 、 $SONHC_{1-8}烷基$ 、 $SON(C_{1-8}烷基)_2$ 、 $CONHC_{1-8}烷基$ 、 $CON(C_{1-8}烷基)_2$ 、 $N(C_{1-8}烷基)CONH(C_{1-8}烷基)$ 、 $N(C_{1-8}烷基)CON(C_{1-8}烷基)_2$ 、 $NHCONH(C_{1-8}烷基)$ 、 $NHCON(C_{1-8}烷基)_2$ 、 $NHCONH_2$ 、 $N(C_{1-8}烷基)SO_2NH(C_{1-8}烷基)$ 、 $N(C_{1-8}烷基)SO_2N(C_{1-8}烷基)_2$ 、 $NH SO_2NH(C_{1-8}烷基)$ 、 $NH SO_2N(C_{1-8}烷基)_2$ 或 $NH SO_2NH_2$ 。

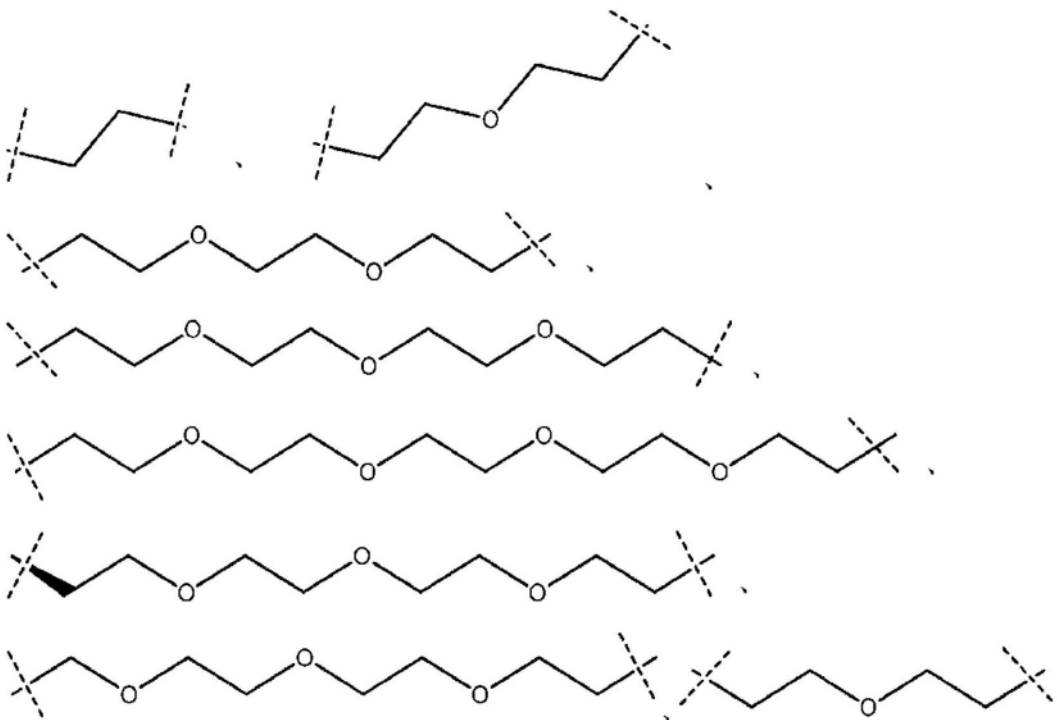
[0235] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头基团是任选取代的任选取代的 C_1-C_{50} 烷基(例如, C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 、 C_6 、 C_7 、 C_8 、 C_9 、 C_{10} 、 C_{11} 、 C_{12} 、 C_{13} 、 C_{14} 、 C_{15} 、 C_{16} 、 C_{17} 、 C_{18} 、 C_{19} 、 C_{20} 、 C_{21} 、 C_{22} 、 C_{23} 、 C_{24} 、 C_{25} 、 C_{26} 、 C_{27} 、 C_{28} 、 C_{29} 、 C_{30} 、 C_{31} 、 C_{32} 、 C_{33} 、 C_{34} 、 C_{35} 、 C_{36} 、 C_{37} 、 C_{38} 、 C_{39} 、 C_{40} 、 C_{41} 、 C_{42} 、 C_{43} 、 C_{44} 、 C_{45} 、 C_{46} 、 C_{47} 、 C_{48} 、 C_{49} 或 C_{50} 烷基,并且包括所有隐含的子范围,例如C1-C10、C1-C20;C2-C10、C2-20;C10-C20、C10-C50等),其中每个碳原子任选地被以下取代或替代:O、N、S、P或Si原子,其具有适当数量的氢、取代(例如,OH、卤代基、烷基、甲基、乙基、卤代烷基、羟烷基、烷氧基、甲氧基等)或两者以满足化合价;任选取代的芳基(例如,任选取代的C5或C6芳基)或双环芳基(例如,任选取代的C5-C20双环杂芳基);任选取代的杂芳基(例如,任选取代的C5或C6杂芳基)或双环杂芳基(例如,任选取代的杂芳基或双环杂芳基,其具有一个或多个选自N、O、S、P和Si的杂原子,所述杂原子具有适当数量的氢、取代(例如,OH、卤代基、烷基、甲基、乙基、卤代烷基、羟烷基、烷氧基、甲氧基等)或两者以满足化合价);任选取代的C1-C6烷基;任选取代的C1-C6烯基;任选取代的C1-C6炔基;任选取代的环烷基(例如,任选取代的C3-C7环烷基)或双环环烷基(例如,任选取代的C5-C20双环环烷基);或任选取代的杂环烷基(例如,任选取代的3-、4-、5-、6-或7-元杂环基团)或双环杂烷基(例如,任选取代的杂环烷基双环杂烷基,其具有一个或多个选自N、O、S、P或Si原子的杂原子,所述杂原子具有适当数量的氢、取代(例如,OH、卤代基、烷基、甲基、乙基、卤代烷基、羟烷基、烷氧基、甲氧基等)或两者以满足化合价)。在本文所述的任何方面或实施方案中,任选取代的烷基接头任选地被一个或多个OH、卤代基、直链或支链C1-C6烷基(诸如甲基或乙基)、直链或支链C1-C6卤代烷基、直链或支链C1-C6羟烷基,或直链或支链C1-C6烷氧基(例如,甲氧基)取代。

[0236] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)不具有杂原子-杂原子键合(例如,没有杂原子共价连接或相邻定位)。

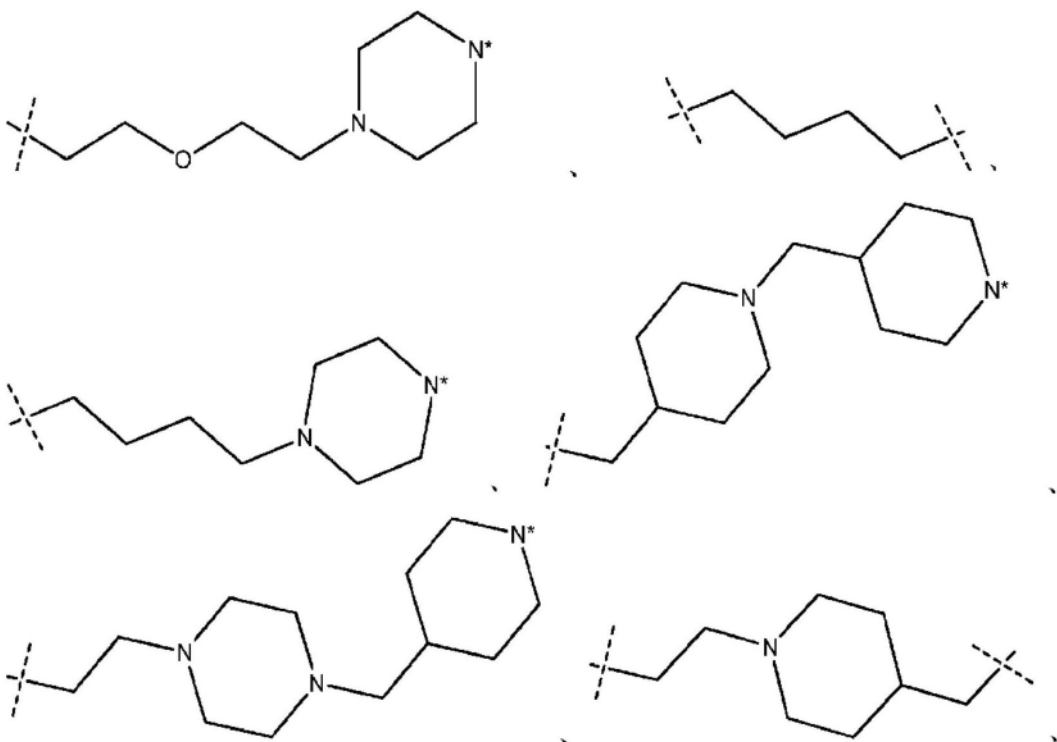
[0237] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)包括约1至约50(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50)个任选取代的亚烷基二醇单元,其中碳或氧可以被具有适当数量的氢以满足化合价的选自N、S、P或Si原子的杂原子

取代。

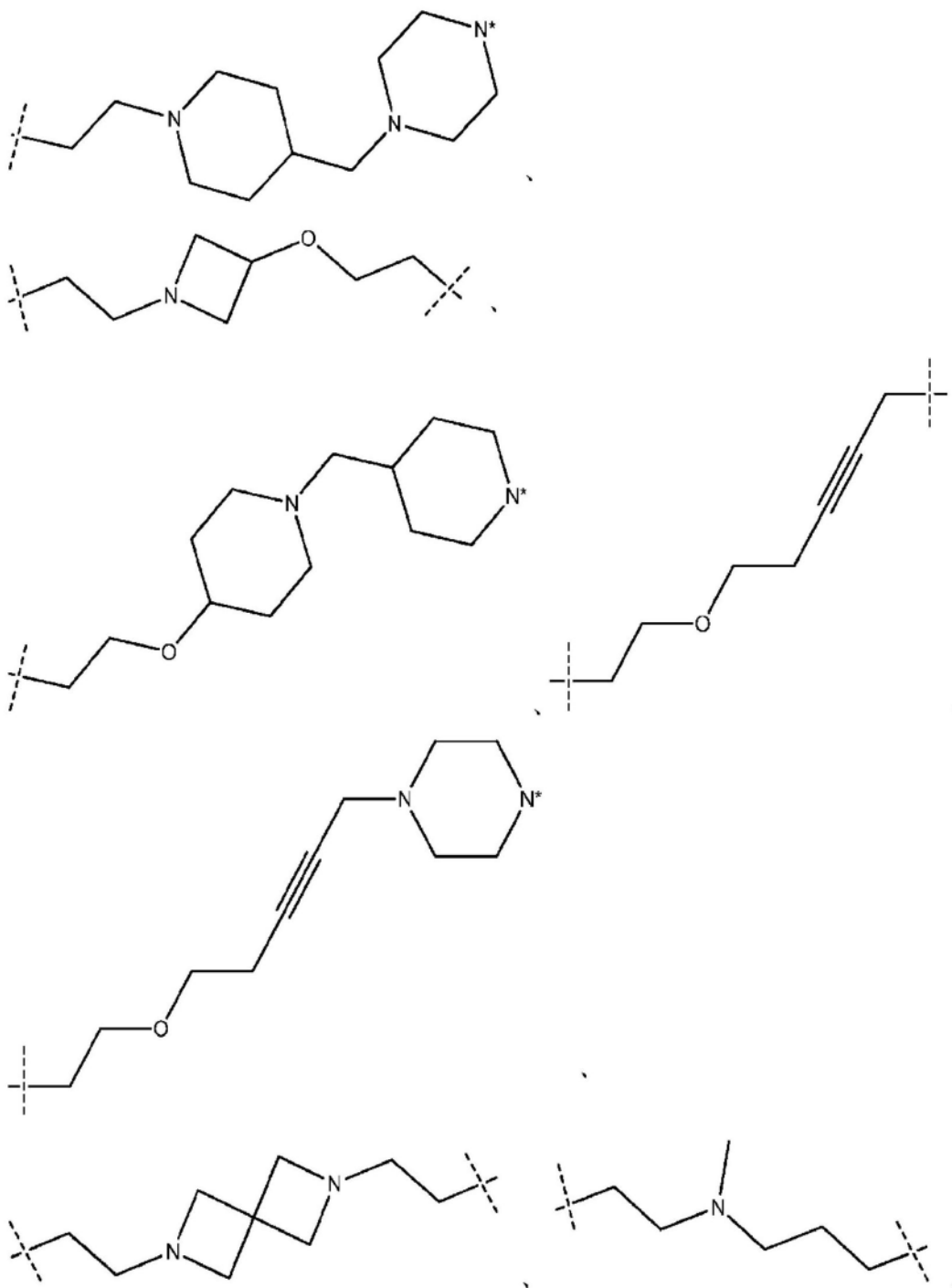
[0238] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)的单元A^L包含选自由以下组成的组的结构:

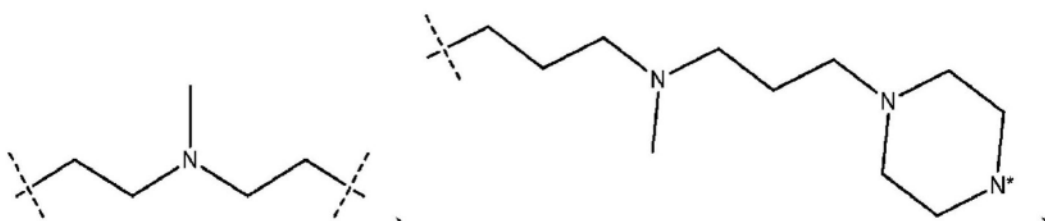
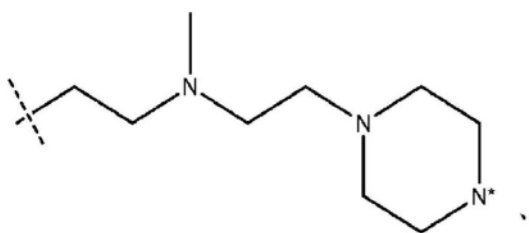
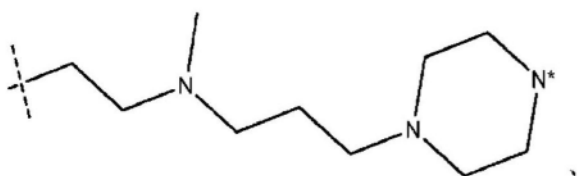


[0239]

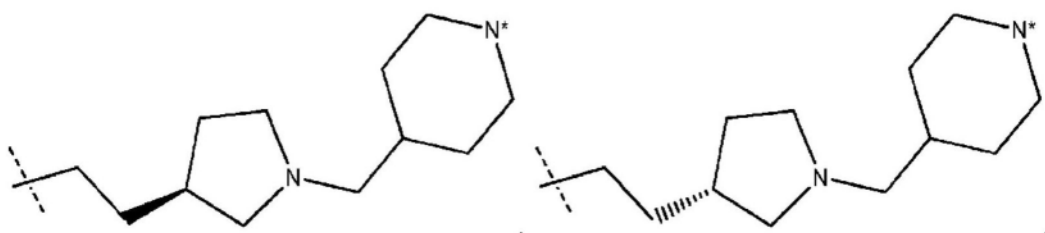
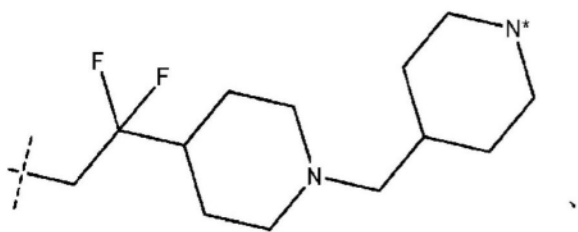
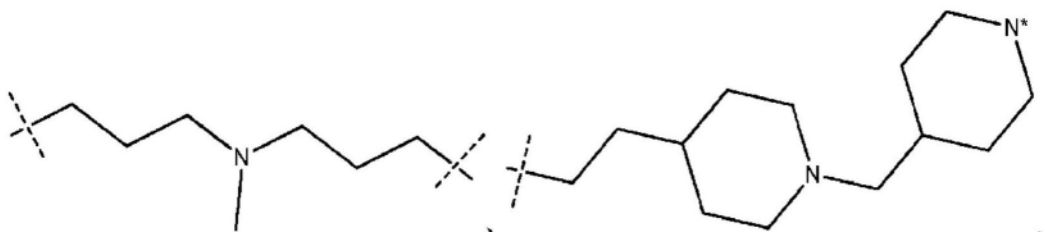


[0240]

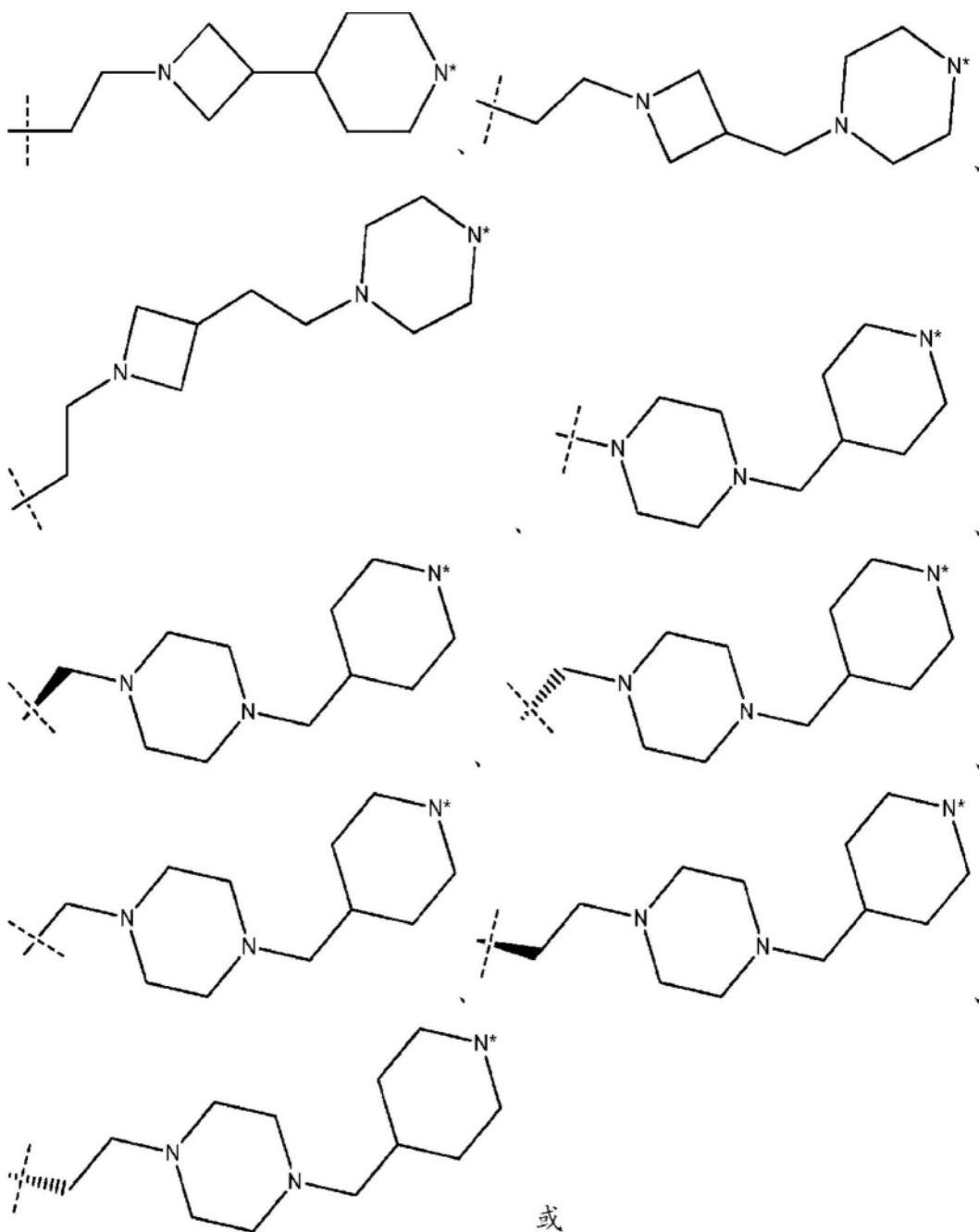




[0241]



[0242]



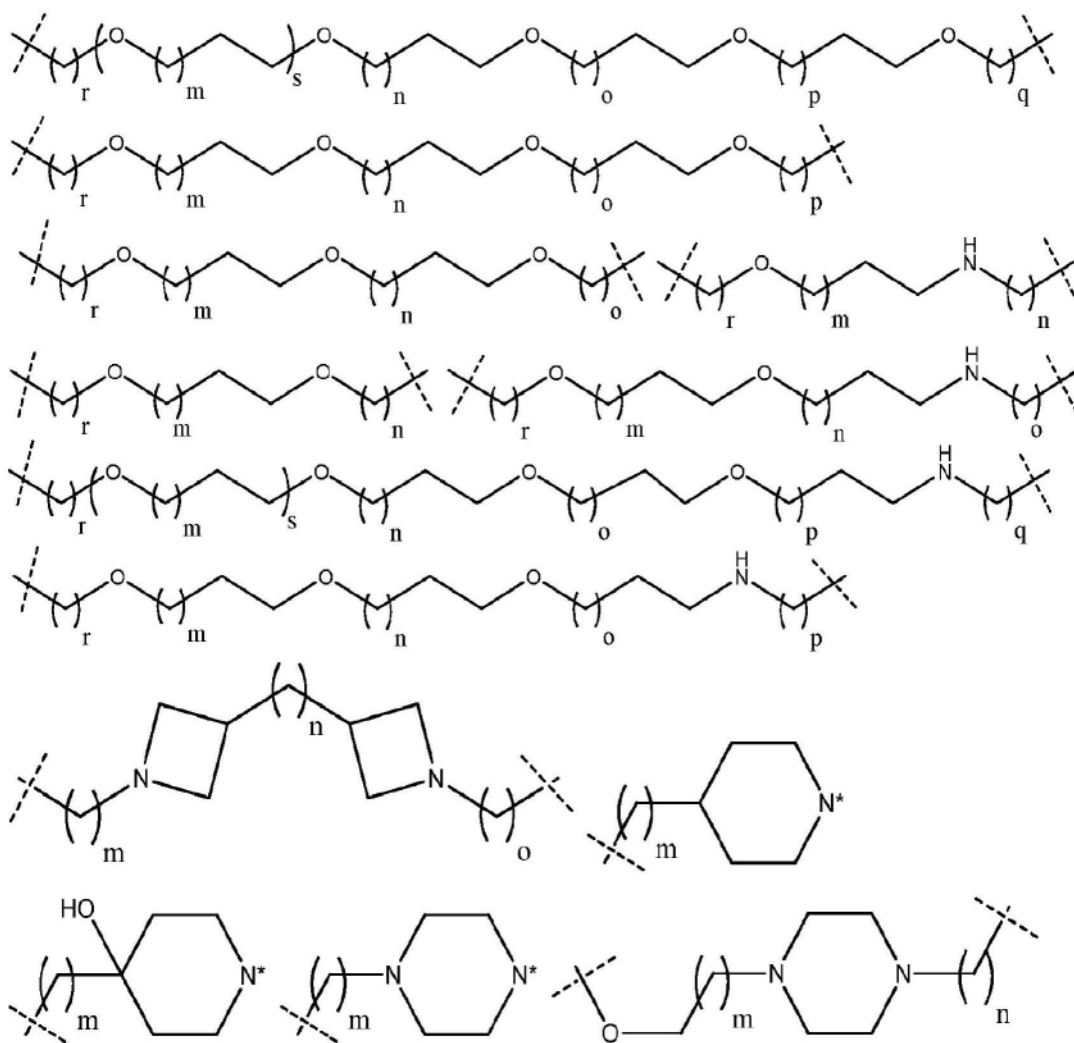
[0243]

其中N*是与ULM或PTM共价连接

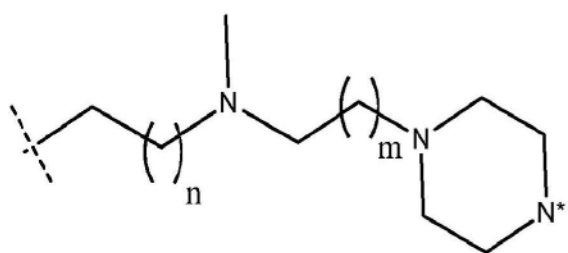
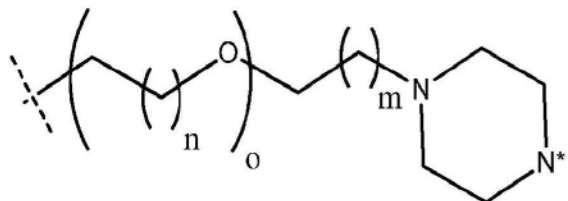
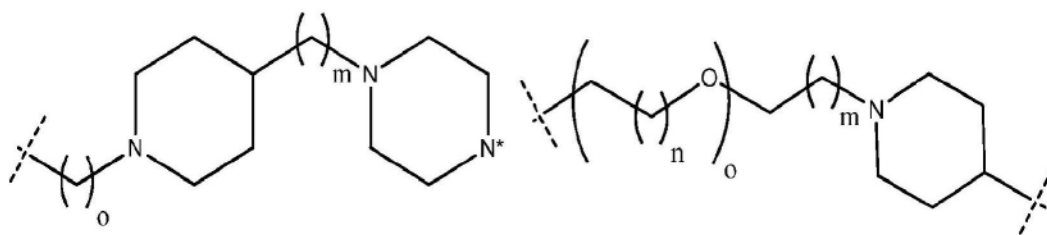
或与ULM或PTM共享的氮原子。

[0244] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)的单元A^L包含选自由以下组成的组的结构:

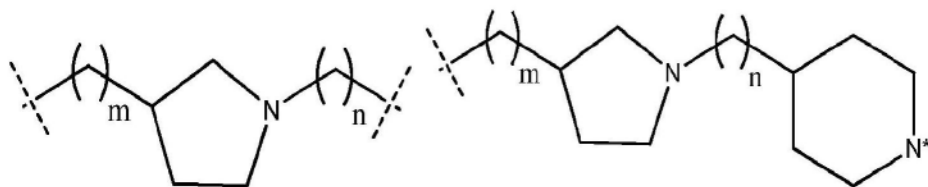
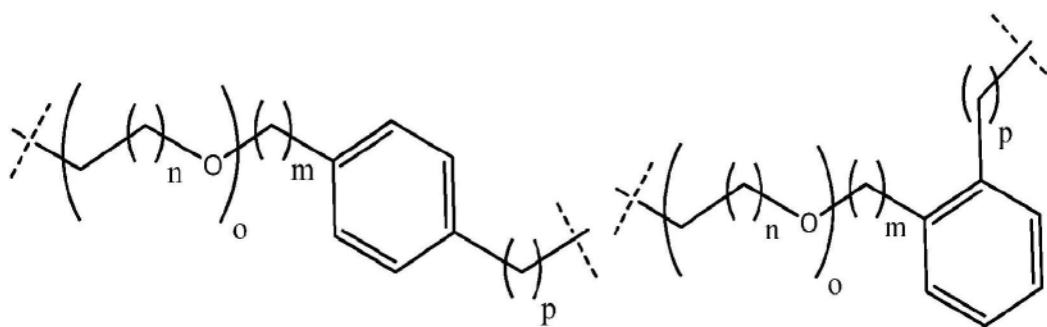
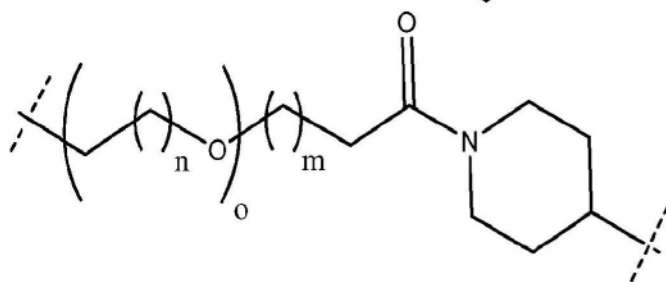
[0245]

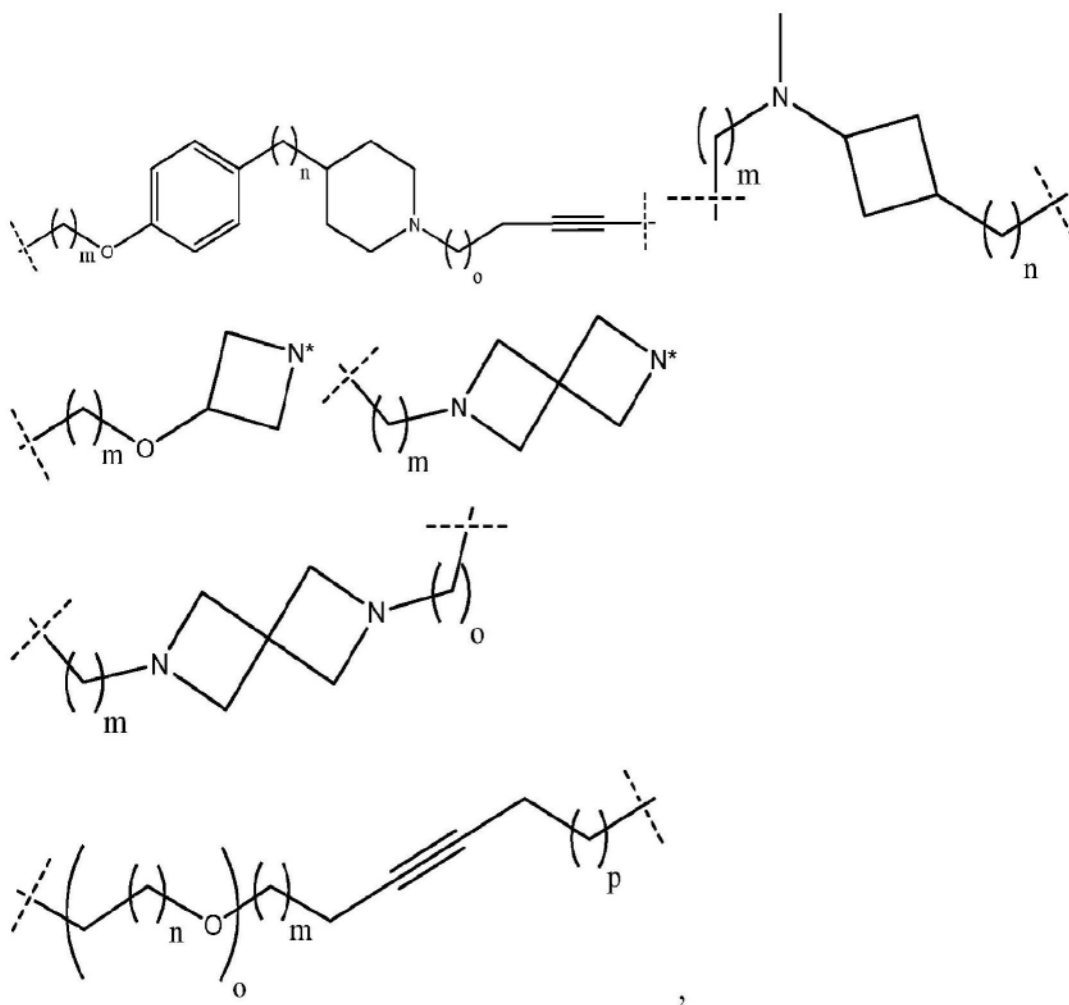






[0247]



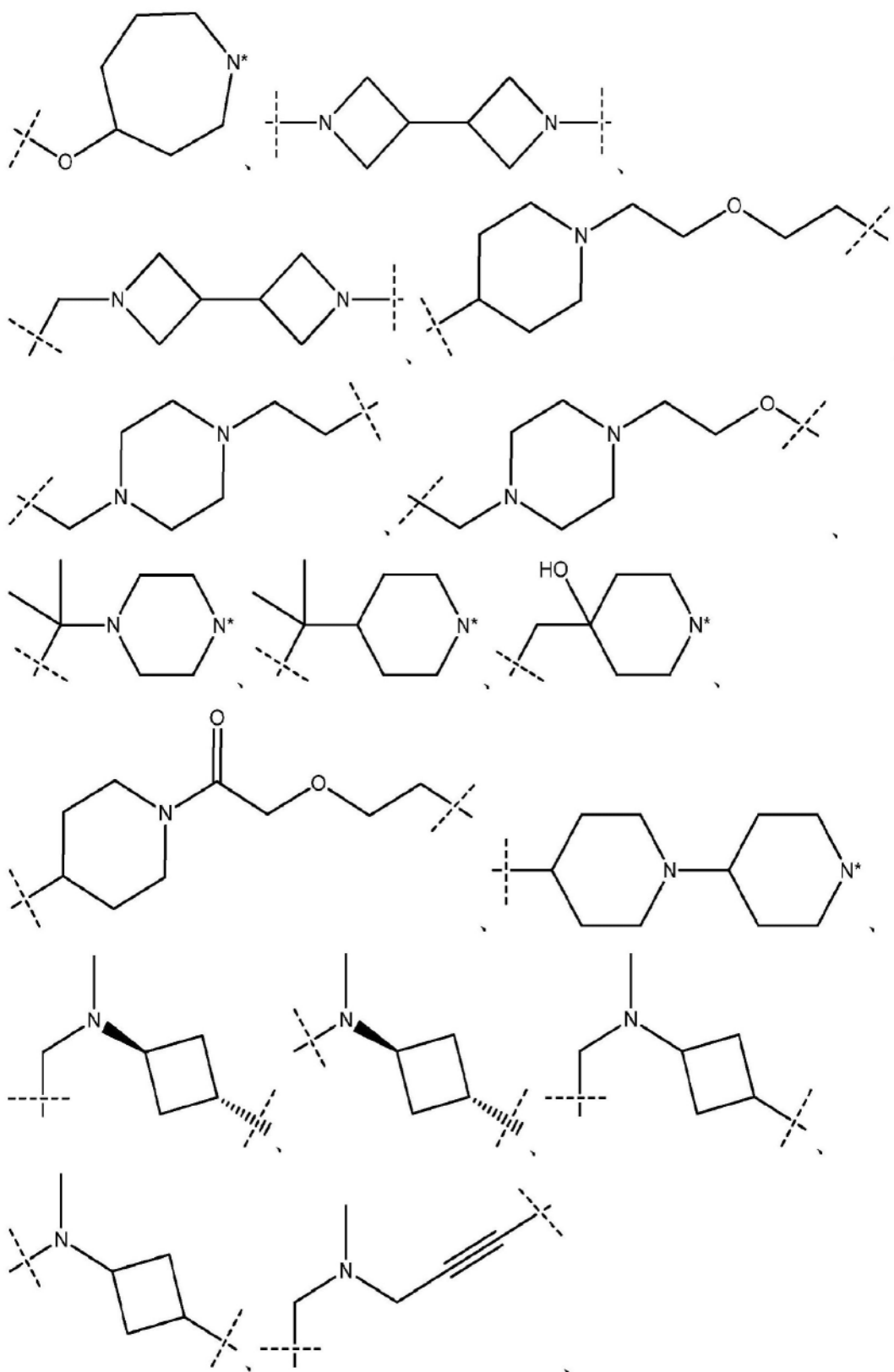


[0249] 其中：

[0250] N*是与ULM或PTM共价连接或与ULM或PTM共享的氮原子；并且

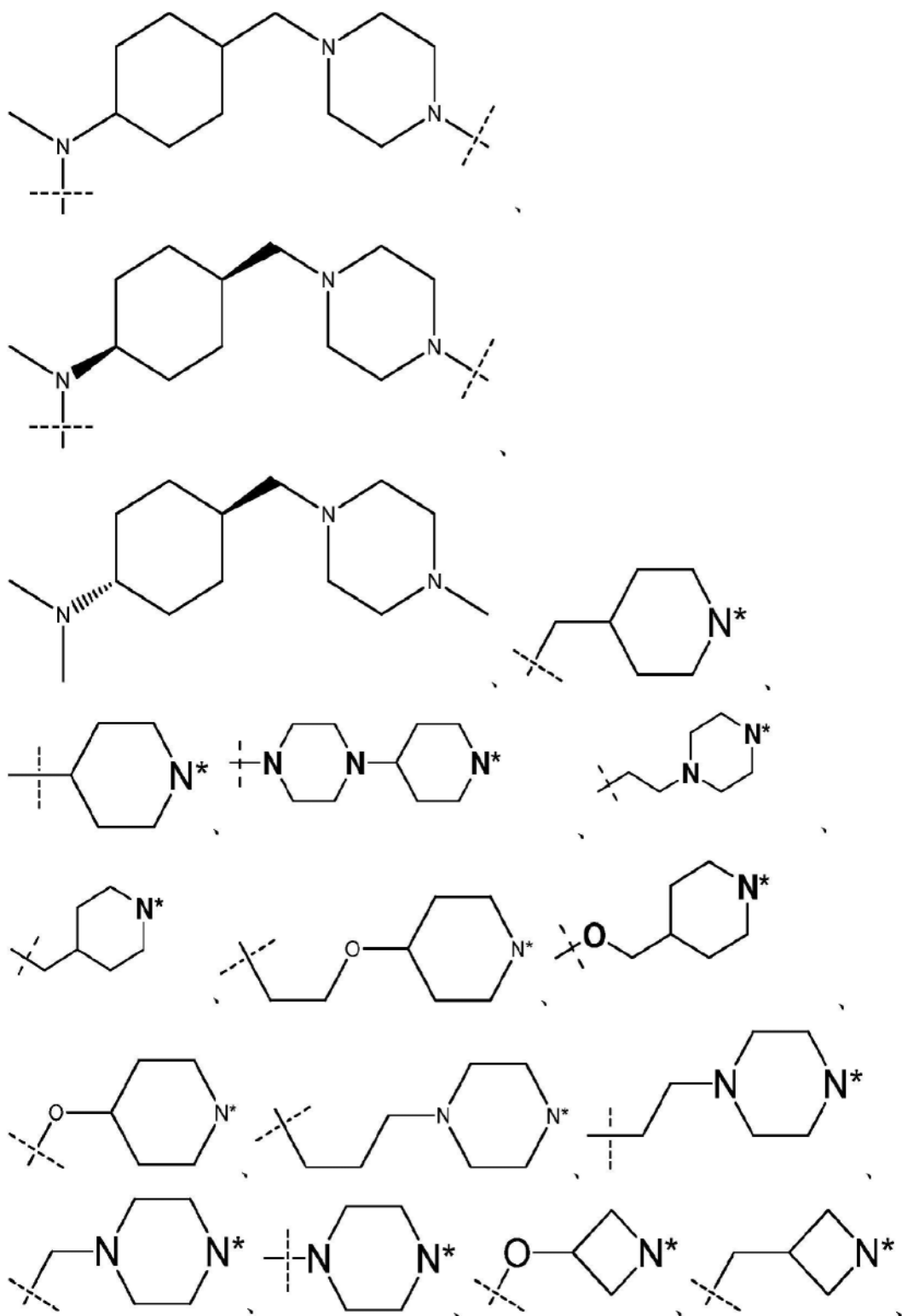
[0251] 每个m、n、o、p、q和r独立地是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

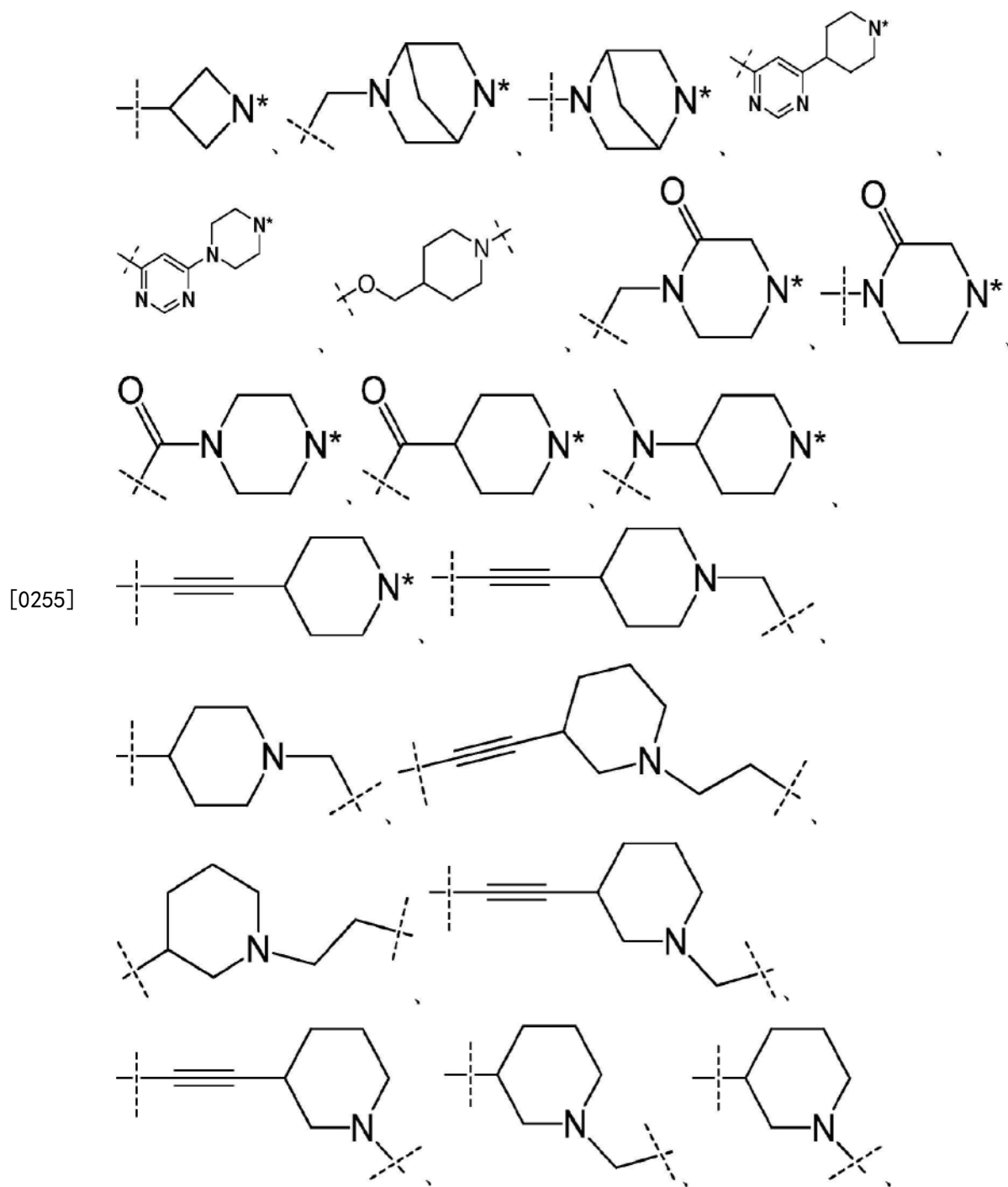
[0252] 在本文所述的任何方面或实施方案中，接头(L)的单元A^L选自：



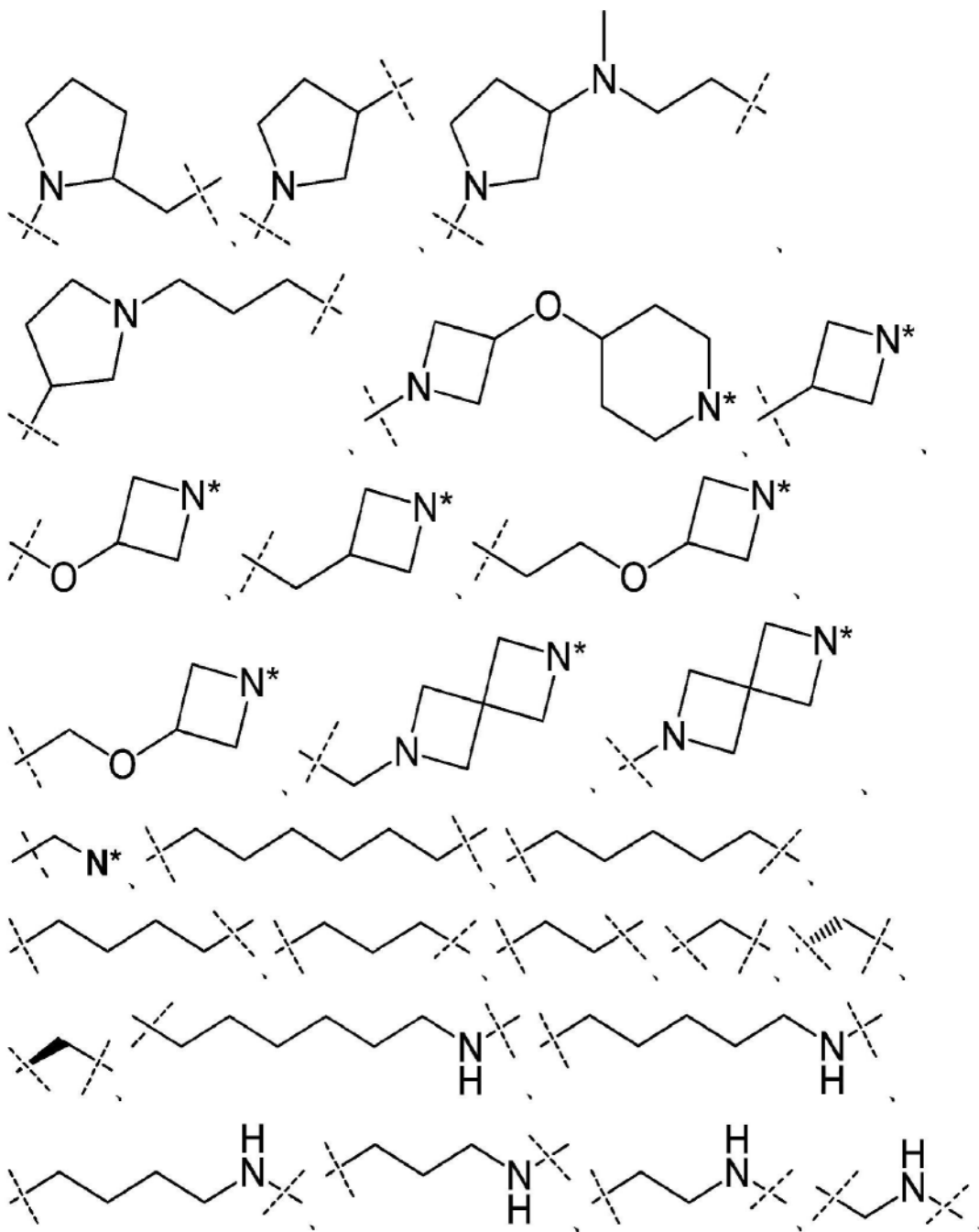
[0253]

[0254]

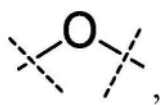




[0256]



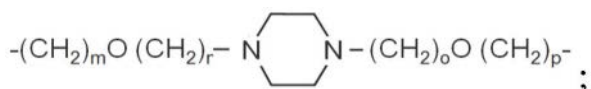
[0257]

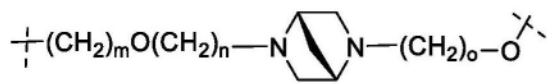
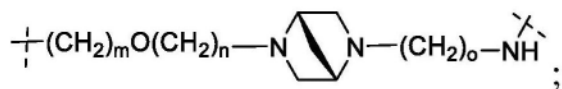
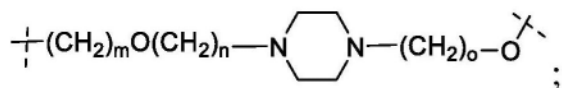
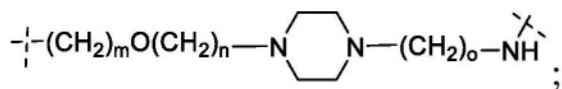
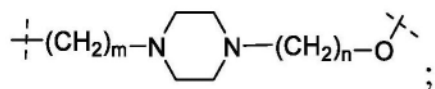
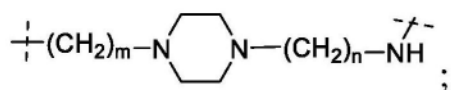


其中N*是与ULM或PTM共价连接或与ULM或PTM共享的氮原子。

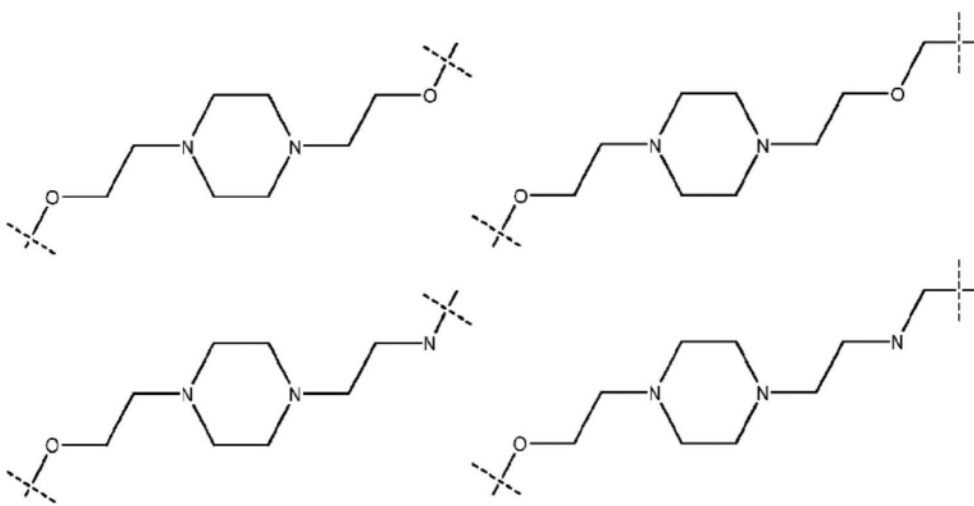
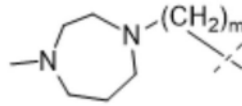
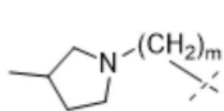
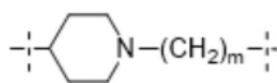
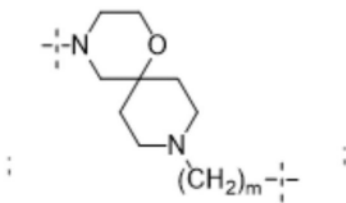
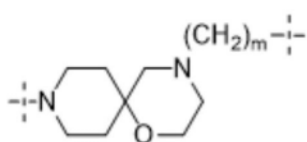
[0258] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)的单元A^L包含由选自由以下组成的组的通用结构表示的基团:

[0259]

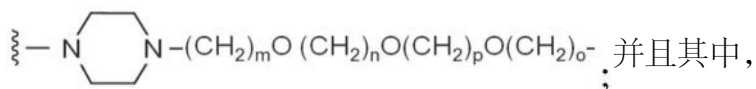




[0260]



[0261]



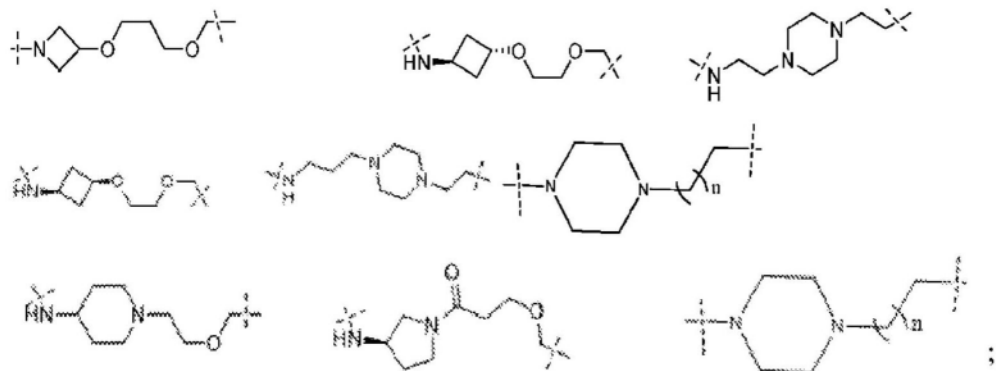
[0262]

接头的m、n、o、p、q和r独立地是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、

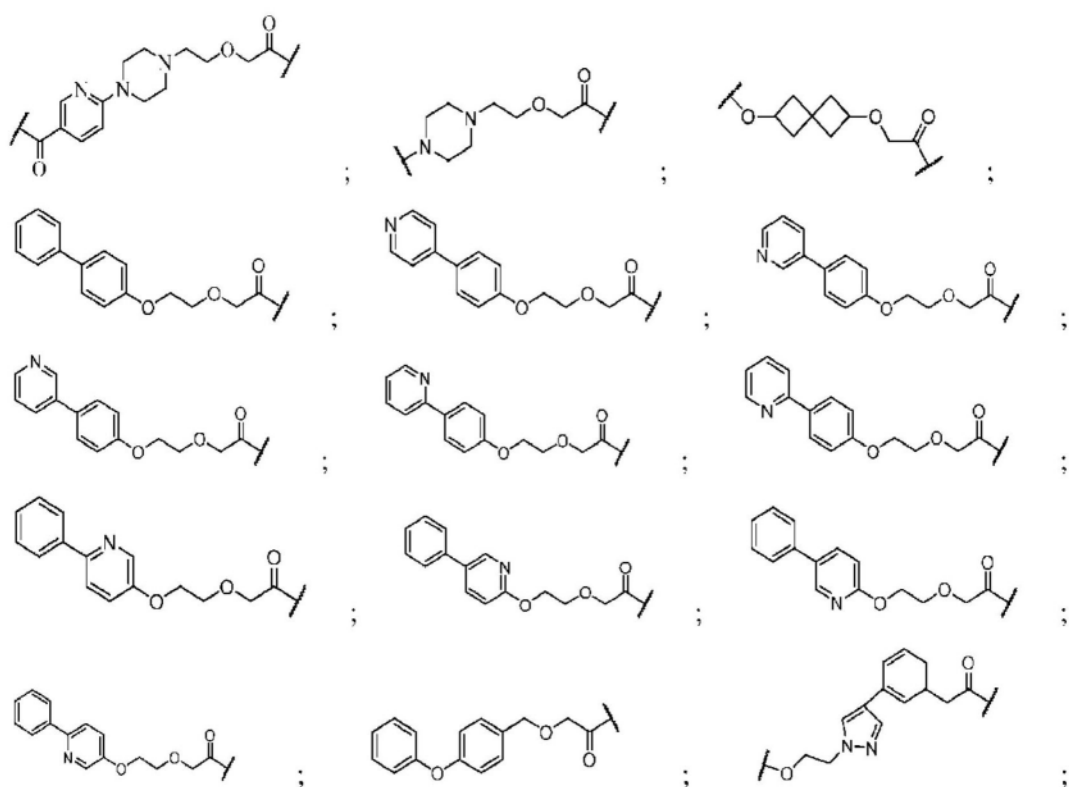
17、18、19或20；

[0263] 当m、n、o、p、q和r是零时，不存在N-O或O-O键，

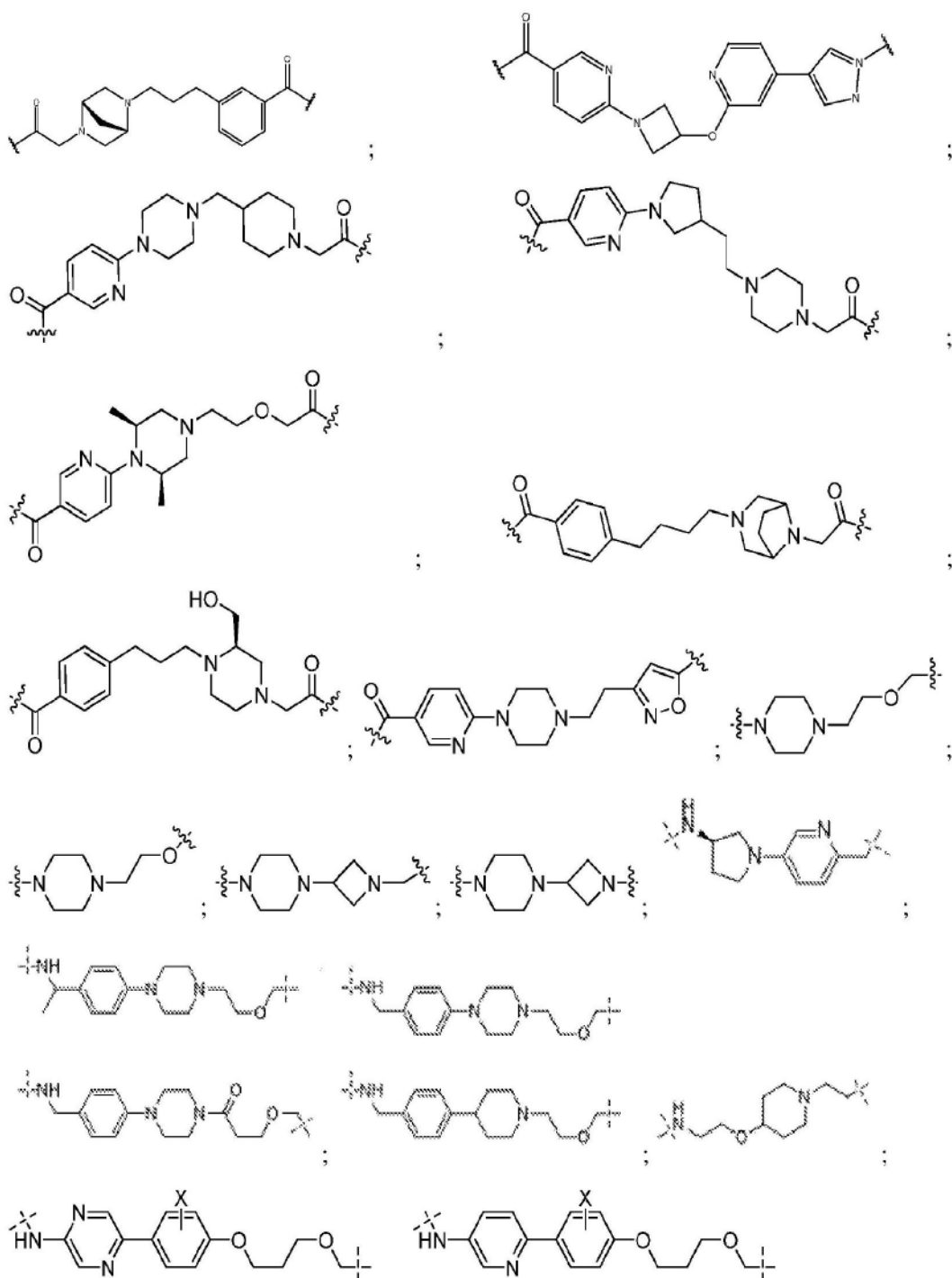
[0264] 接头的X是H或F；



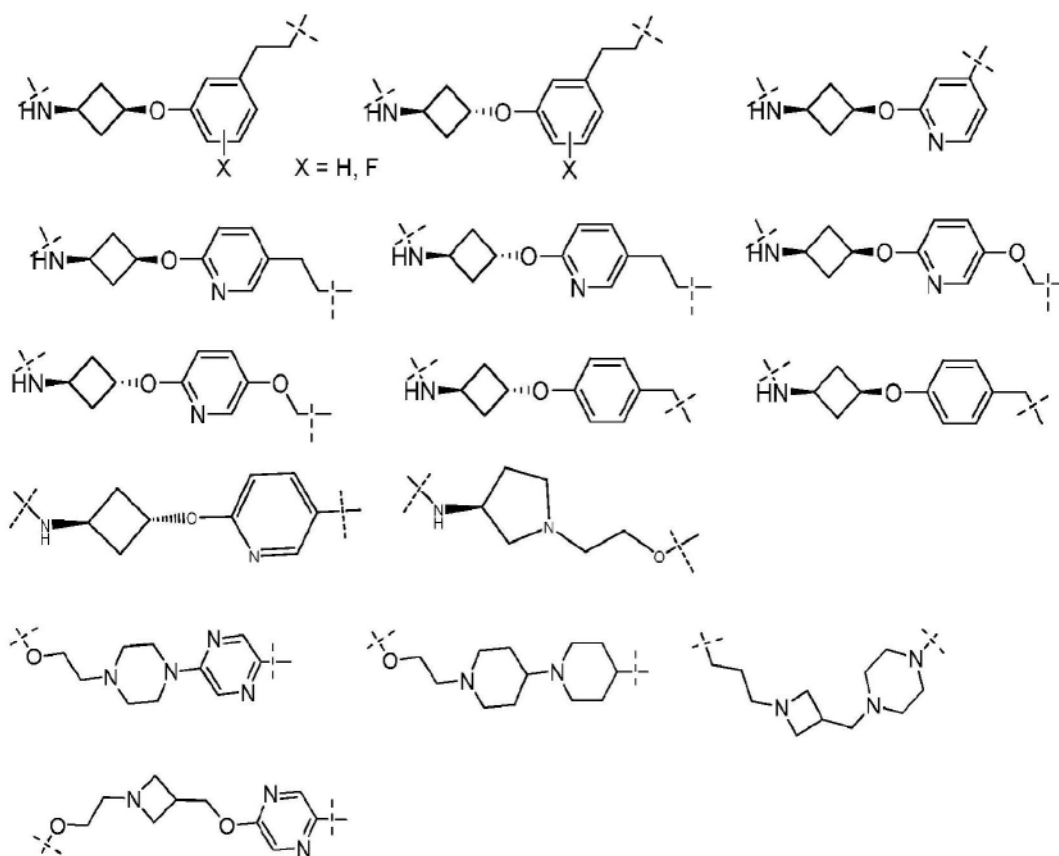
[0265]



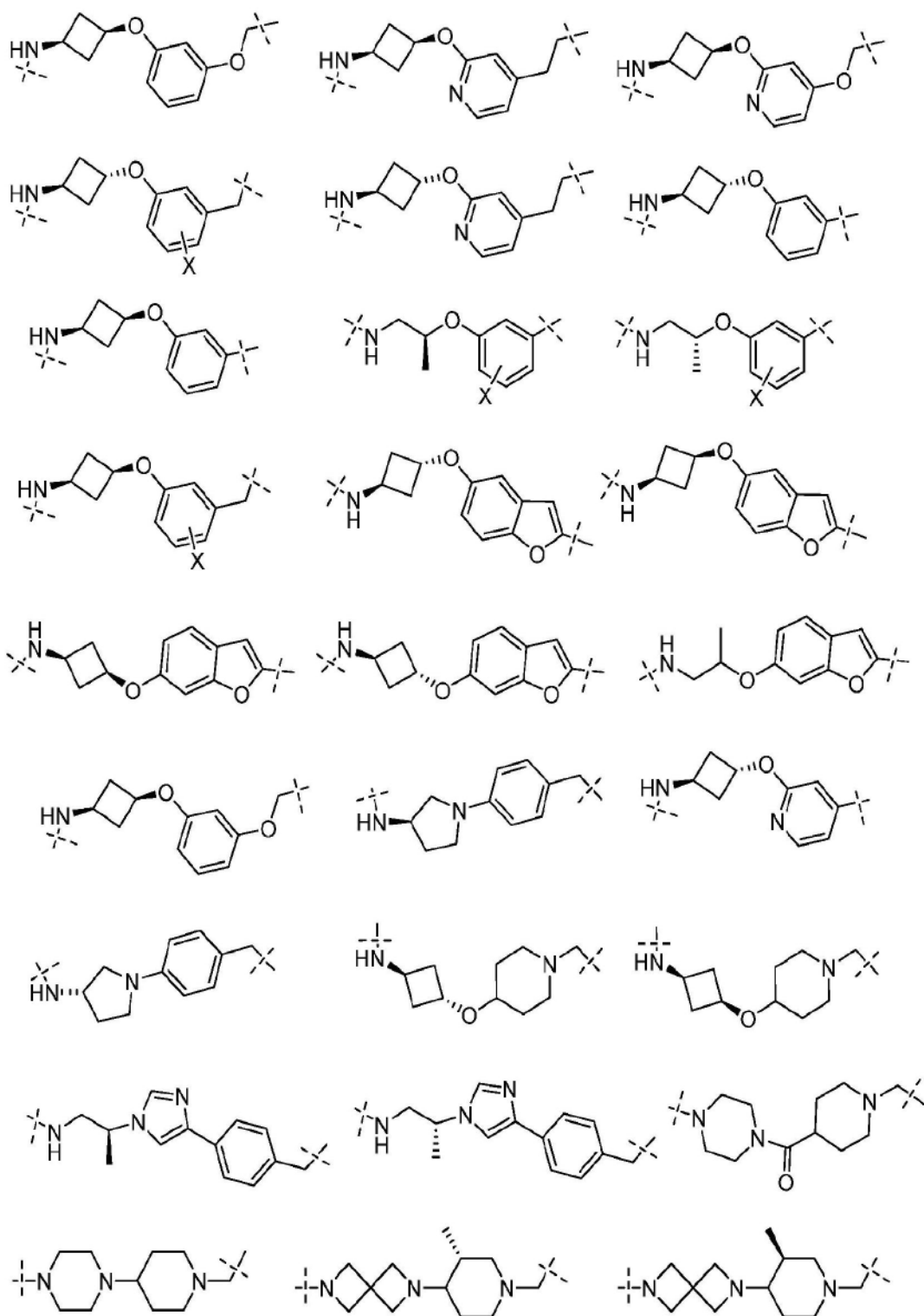
[0266]



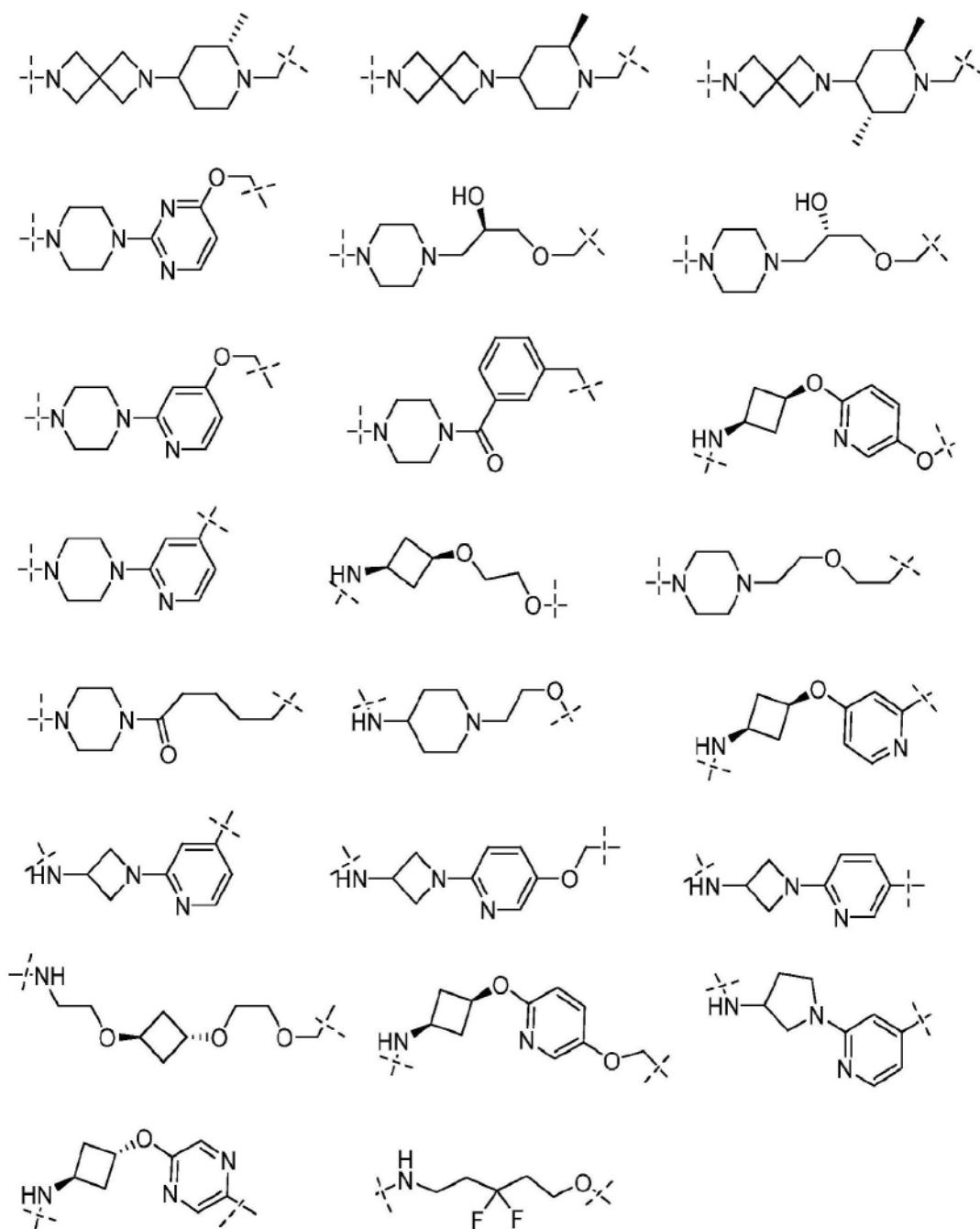
[0267]



[0268]



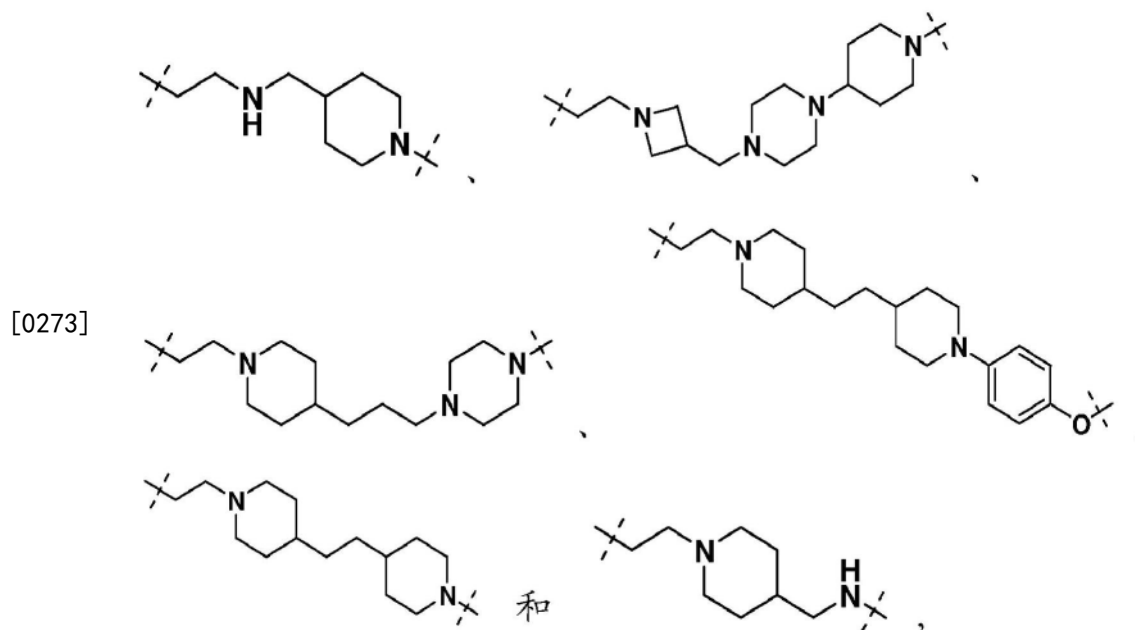
[0269]



[0270] 其中接头的每个n和m可以独立地是0、1、2、3、4、5或6。

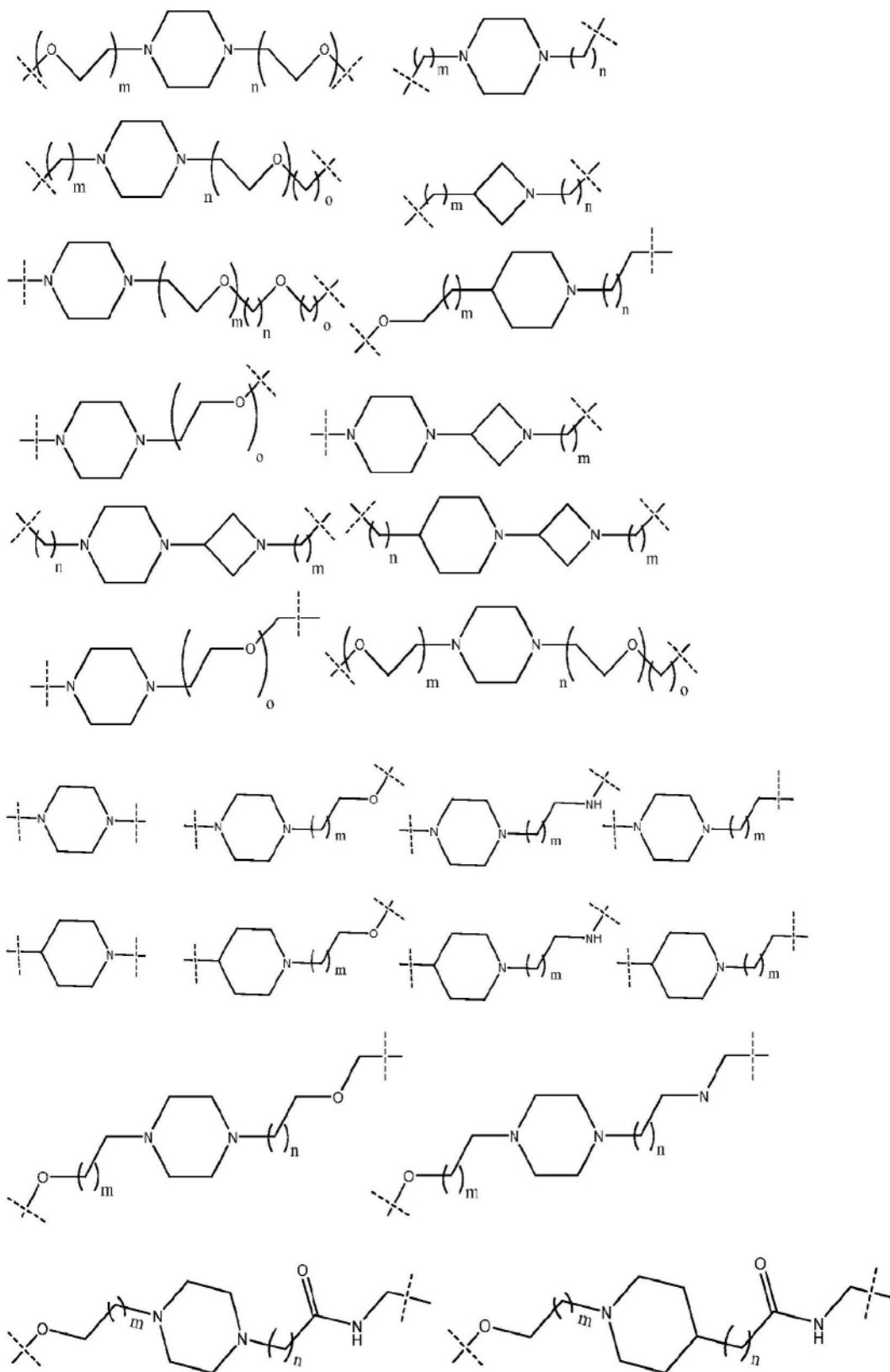
[0271] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)的单元 A^L 选自由以下组成的组:



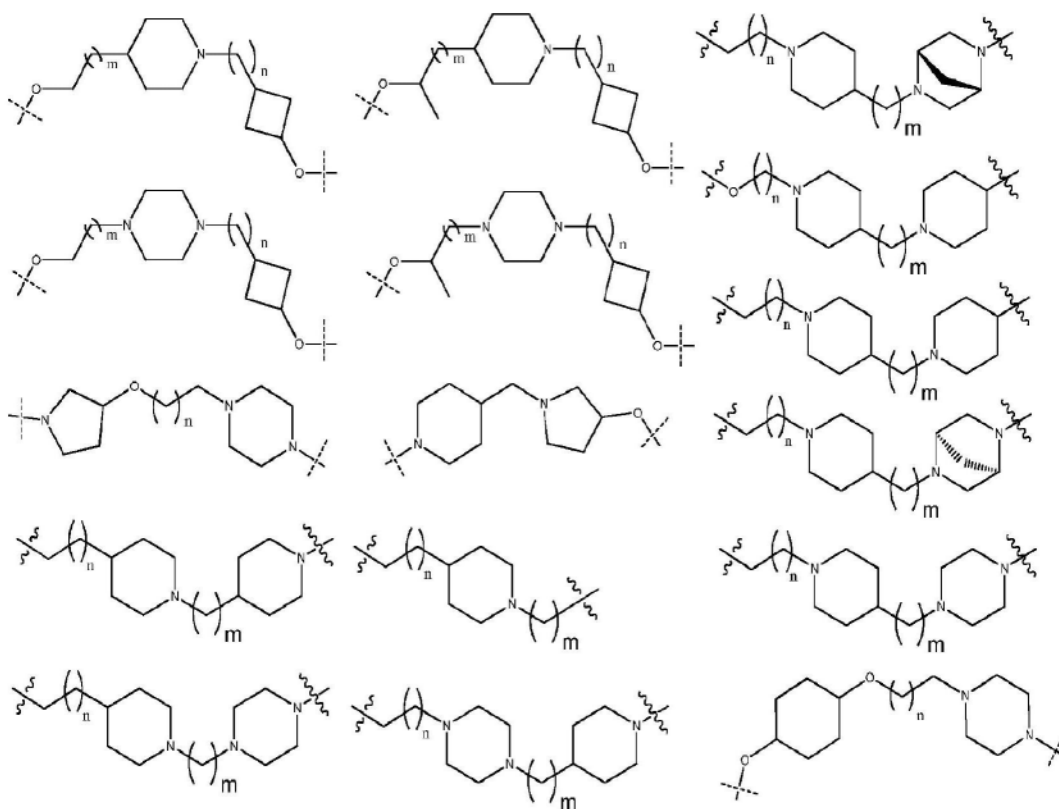


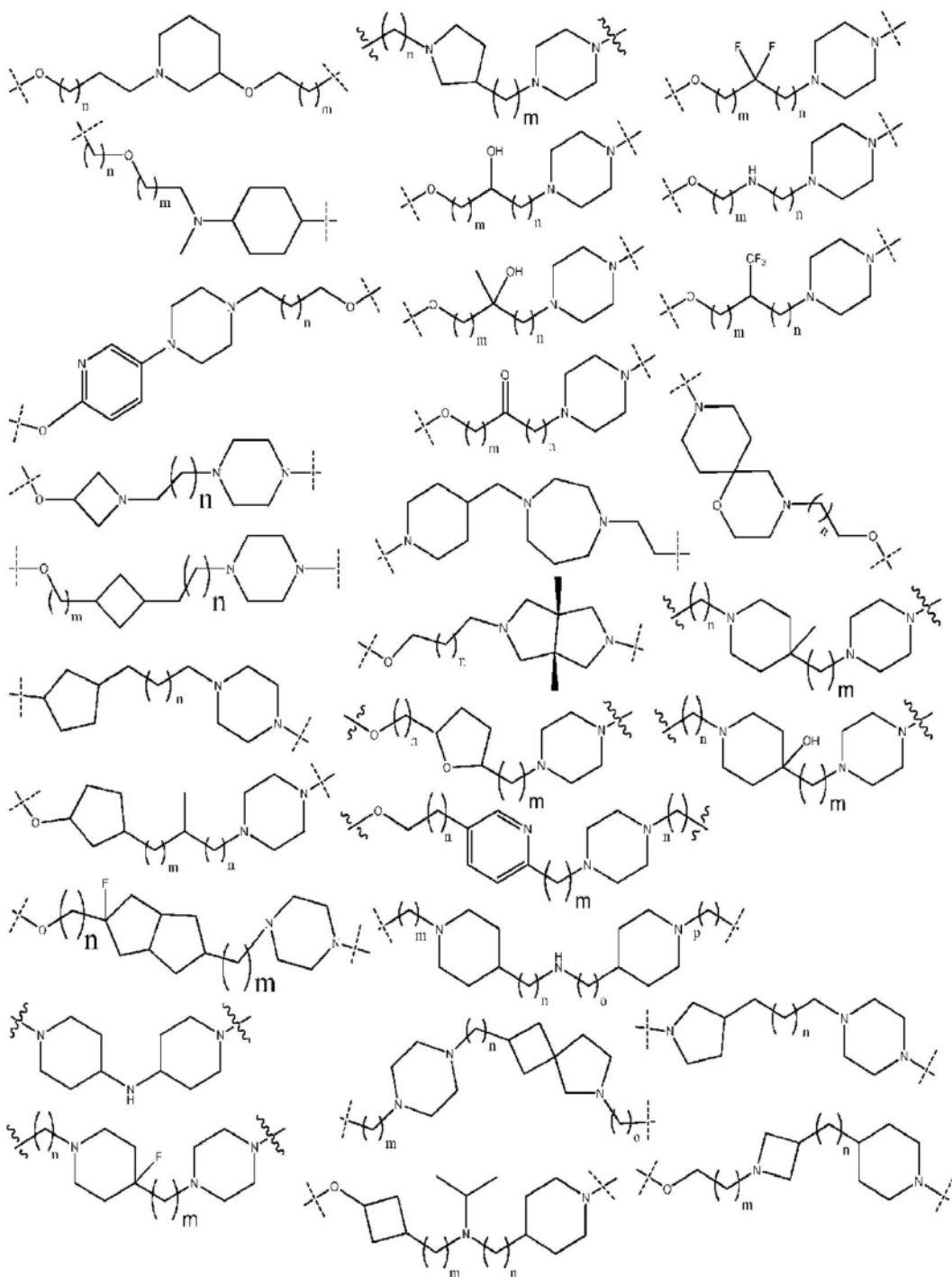
[0274] 其中每个m和n独立地选自0、1、2、3、4、5或6。

[0275] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)的单元A^L选自由以下组成的组:

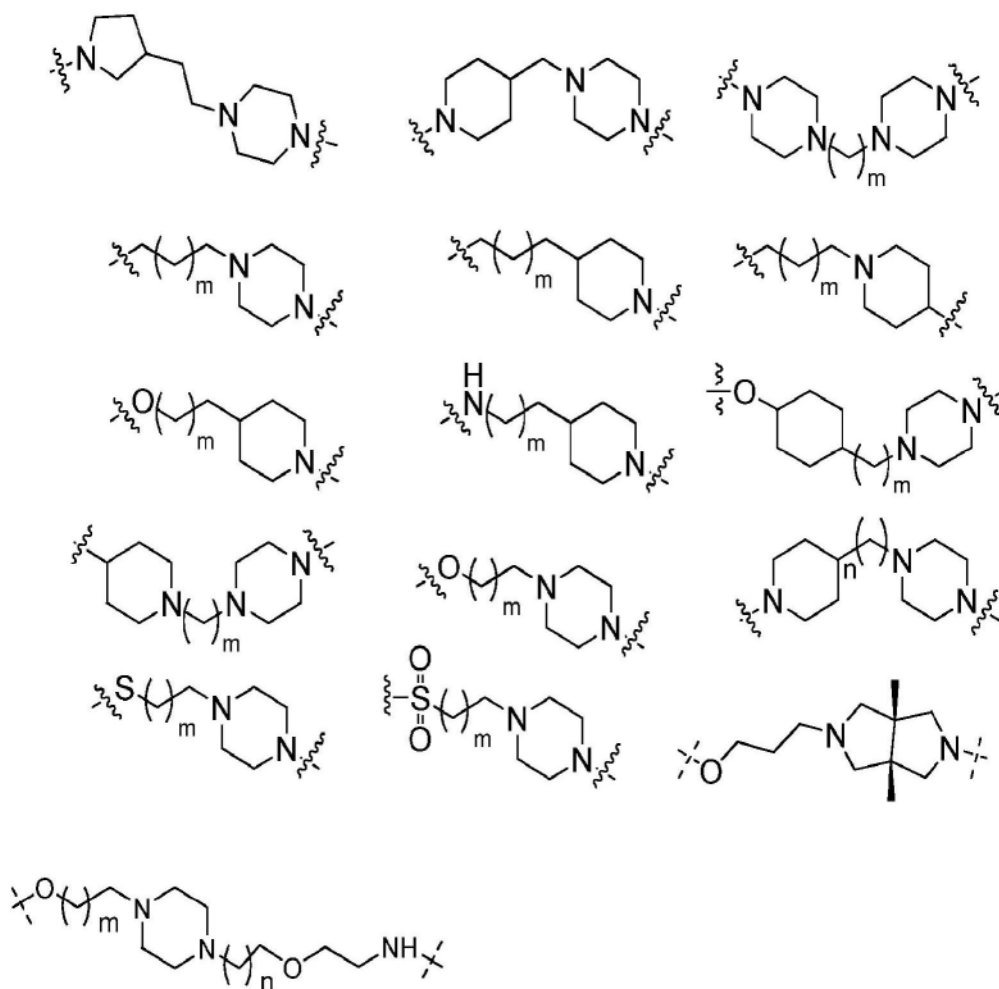


[0277]

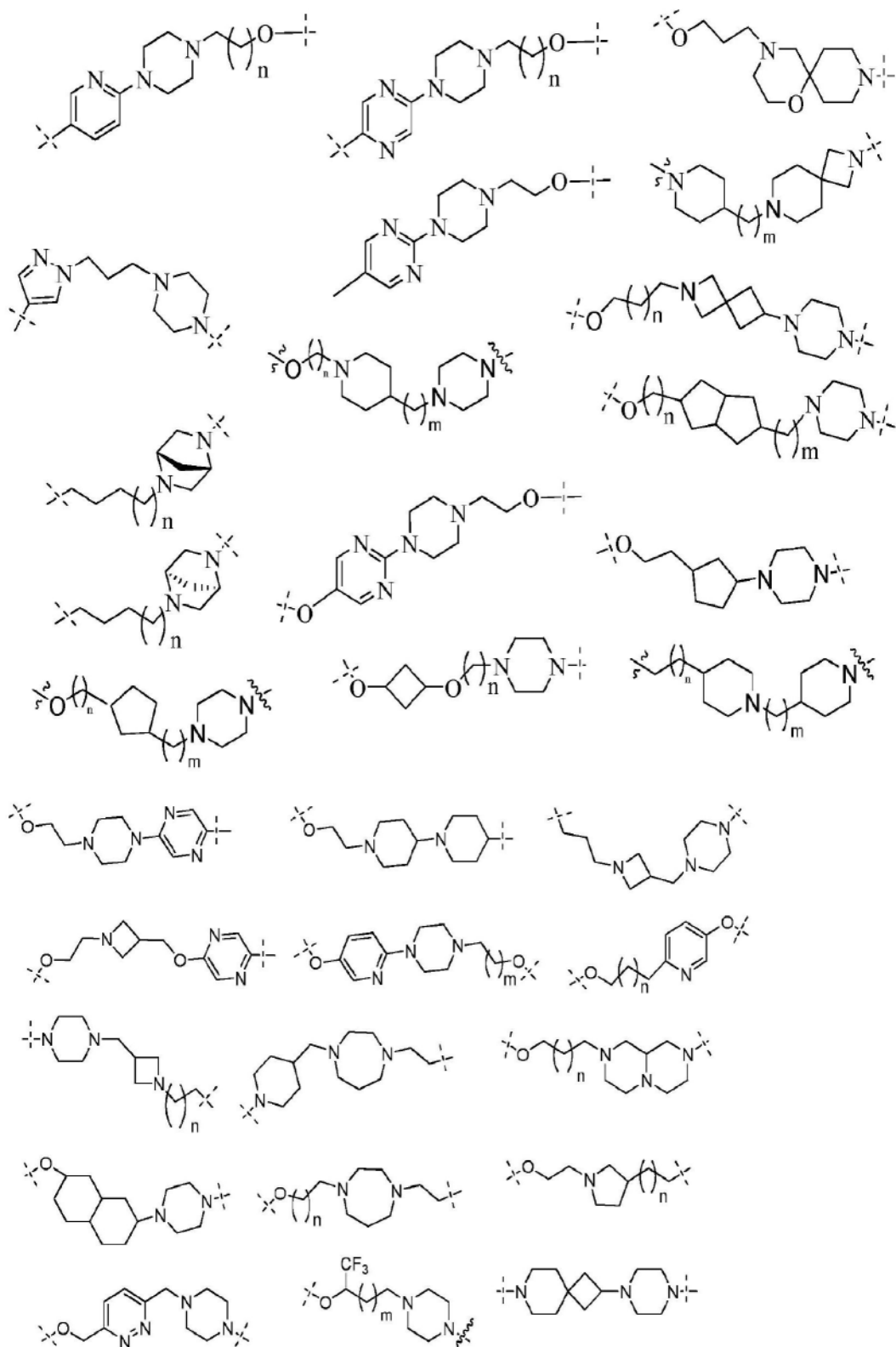




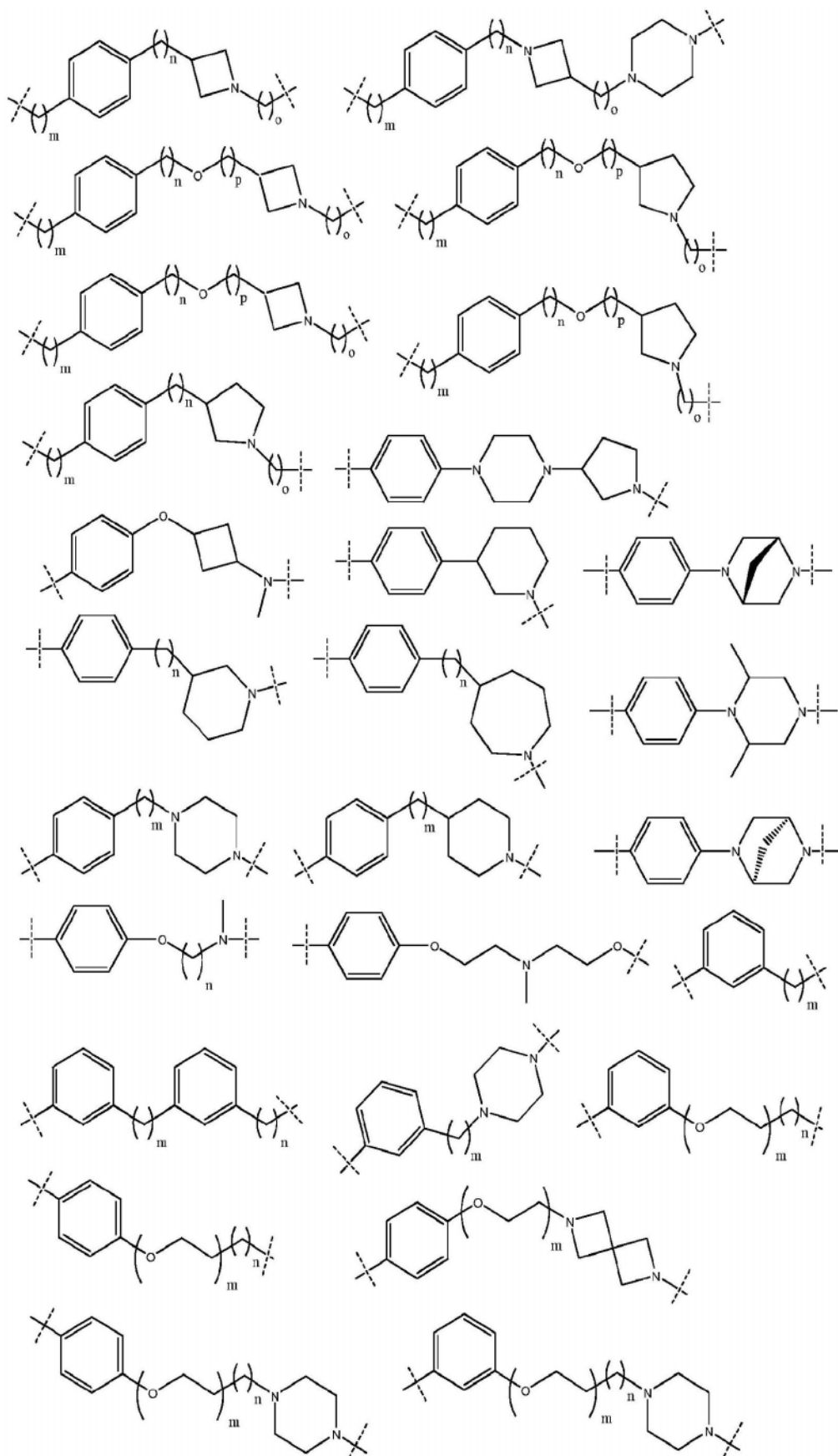
[0280]



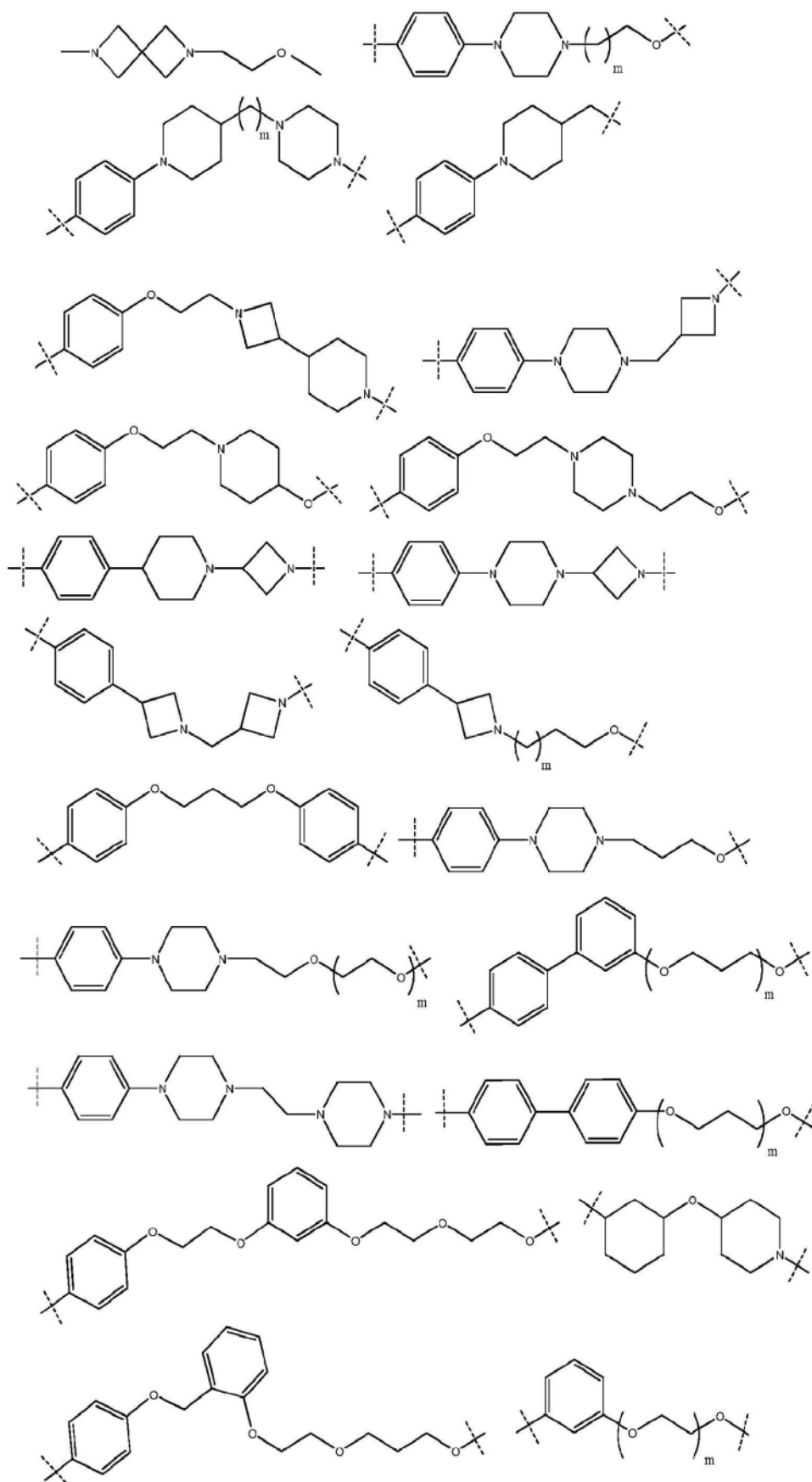
[0281]



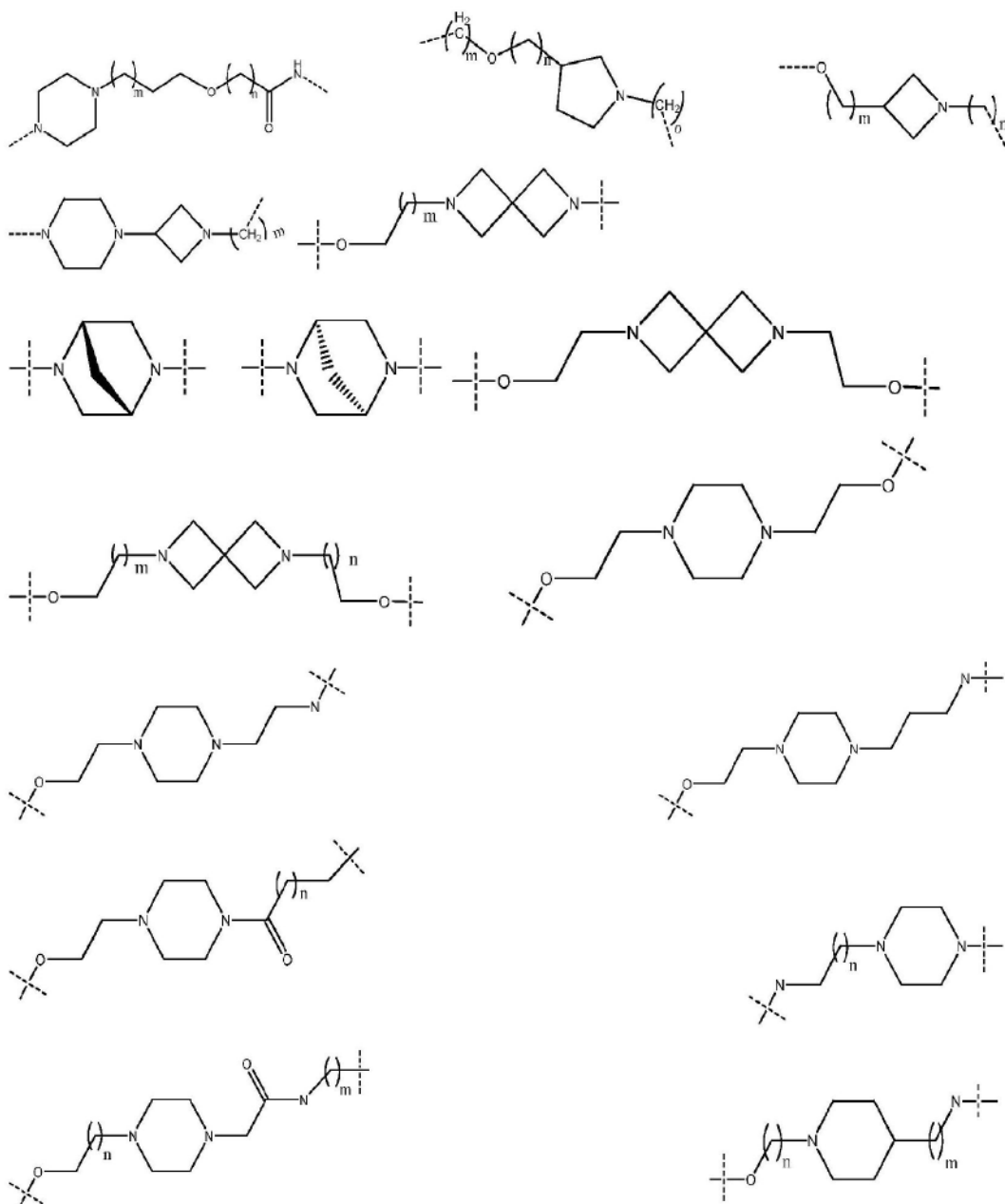
[0282]

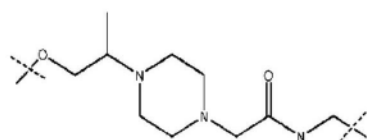


[0283]

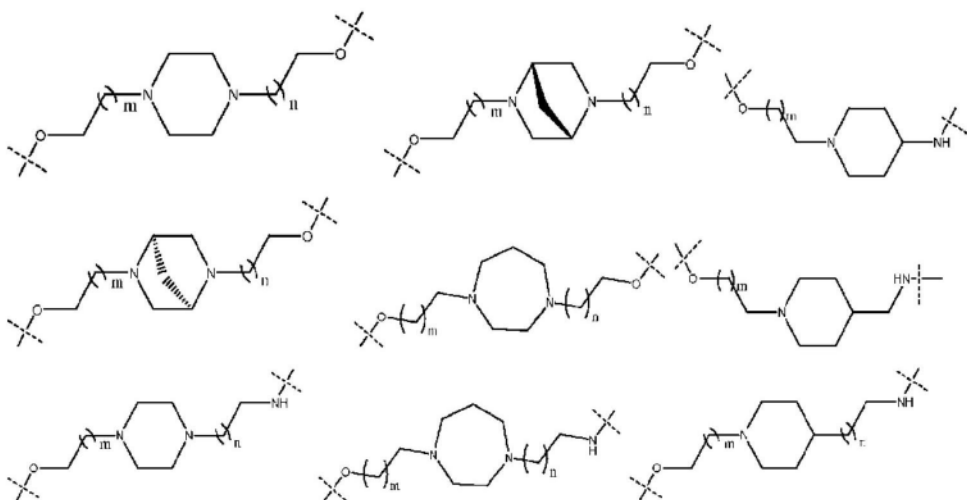


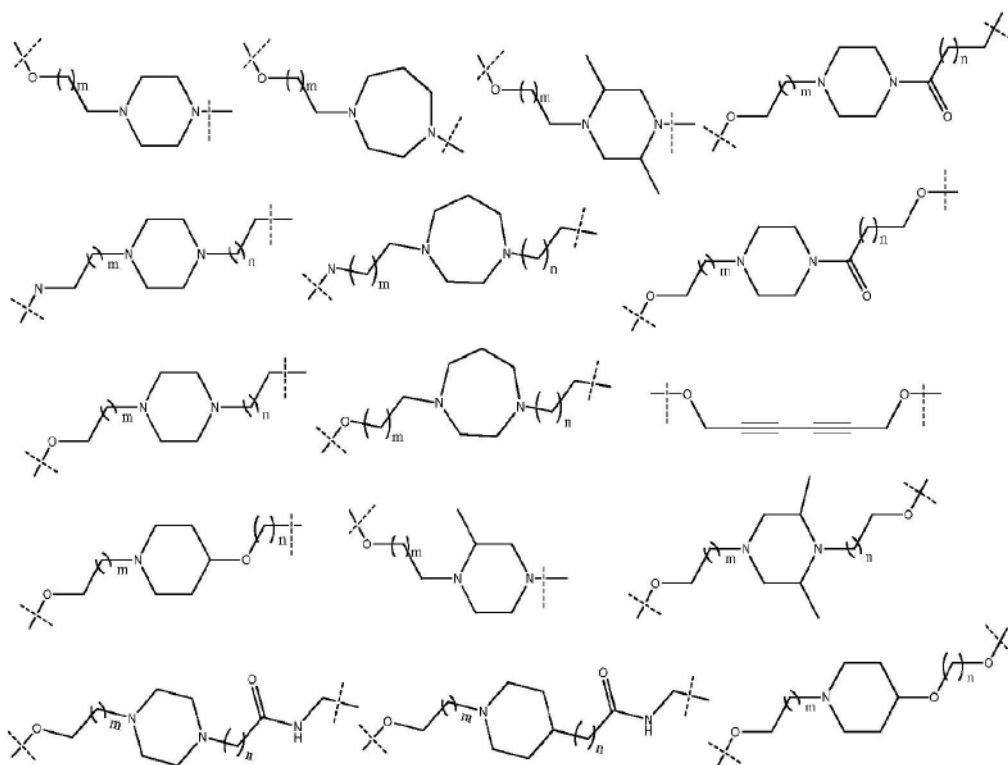
[0284]



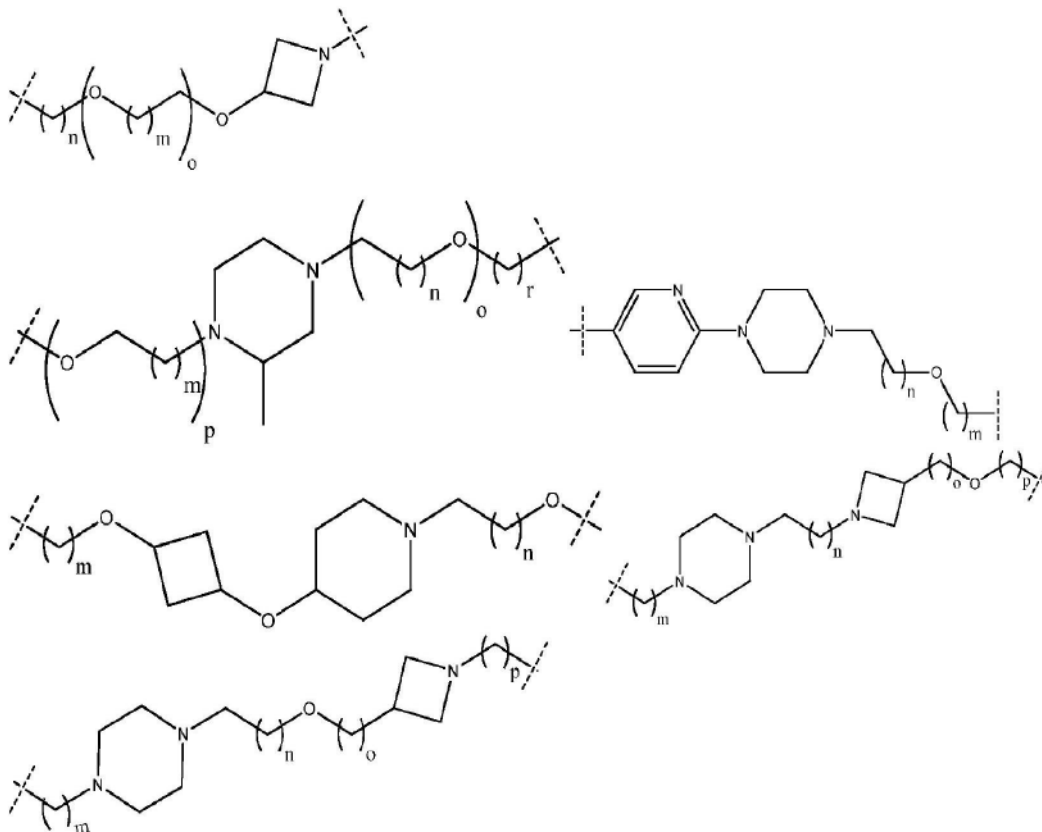


[0285]

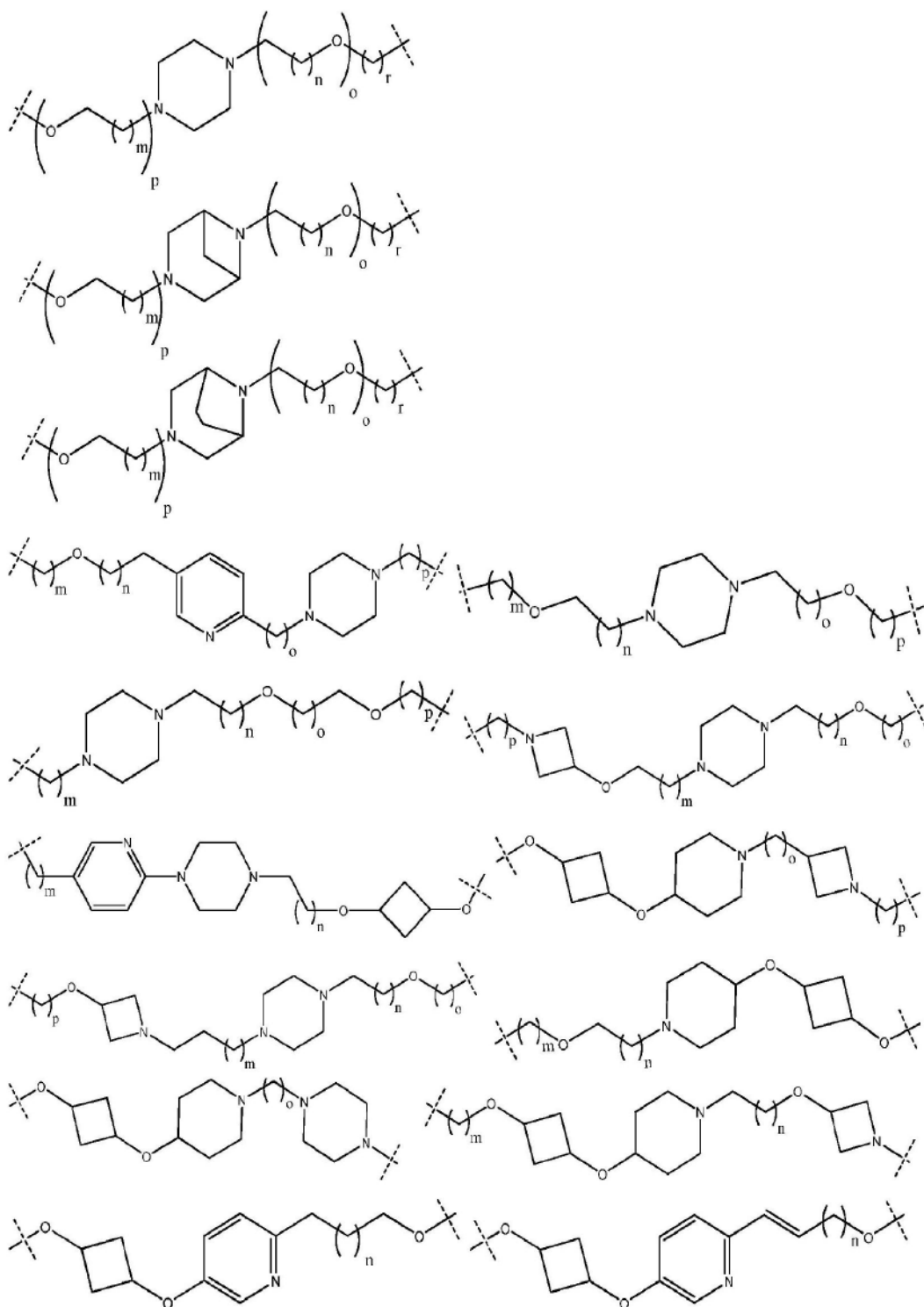




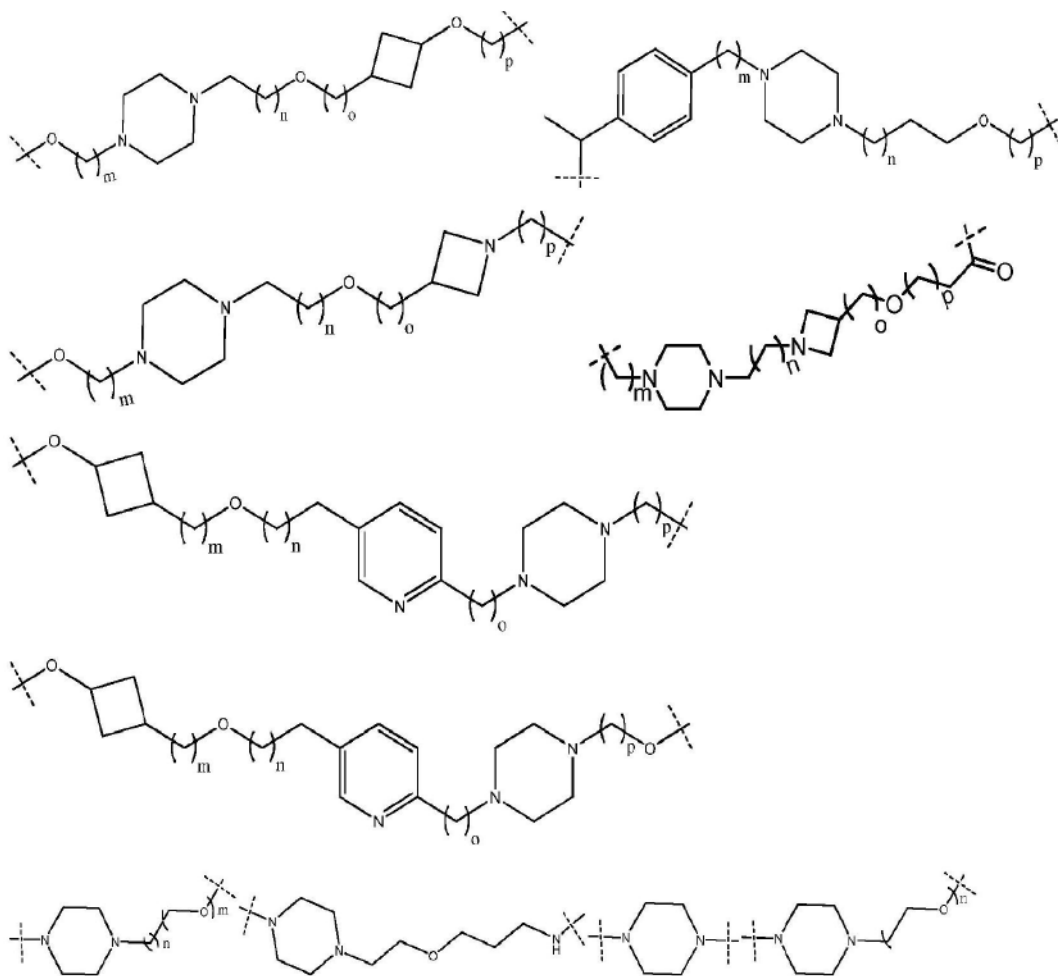
[0286]

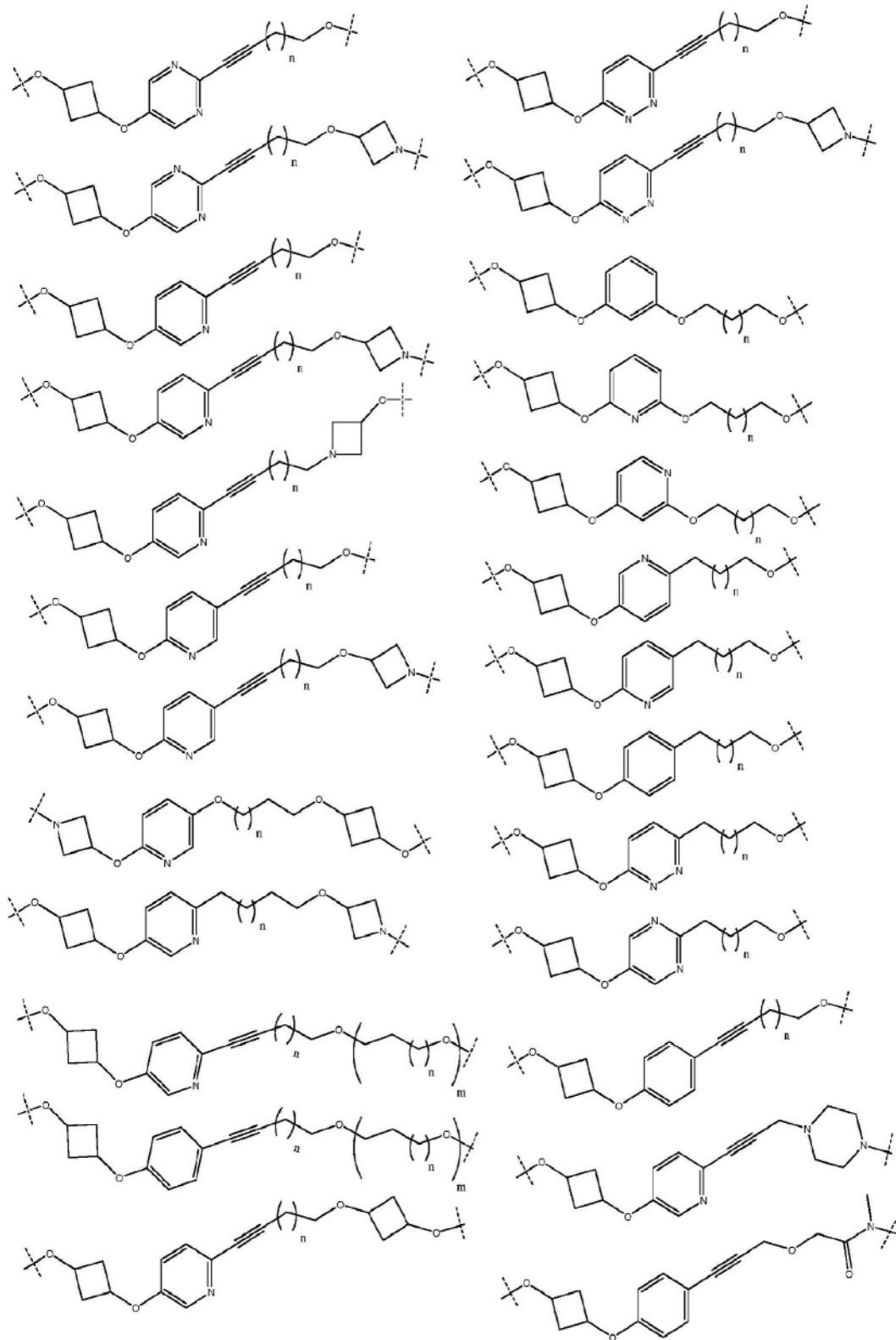


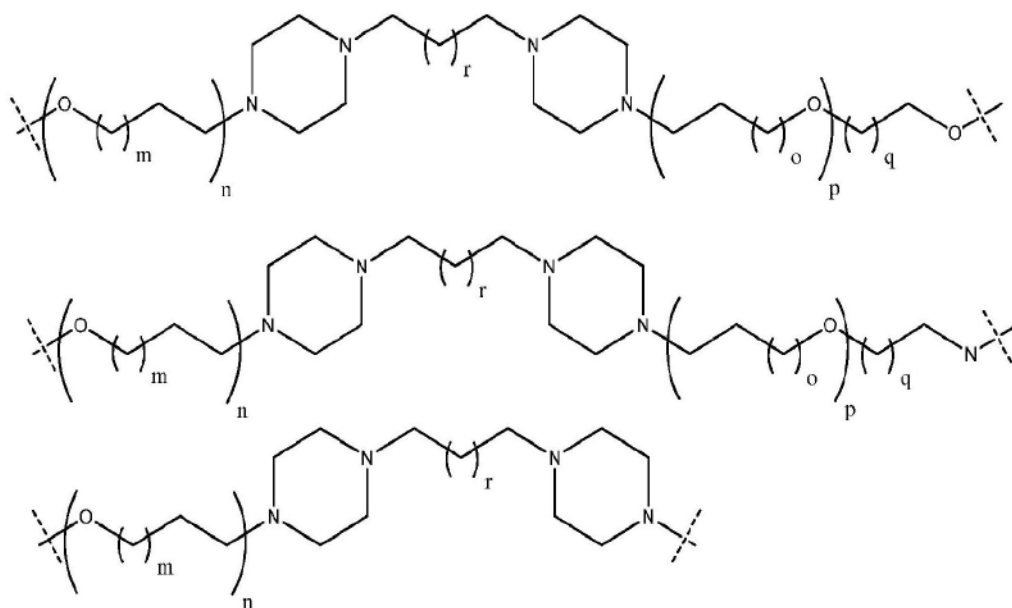
[0287]



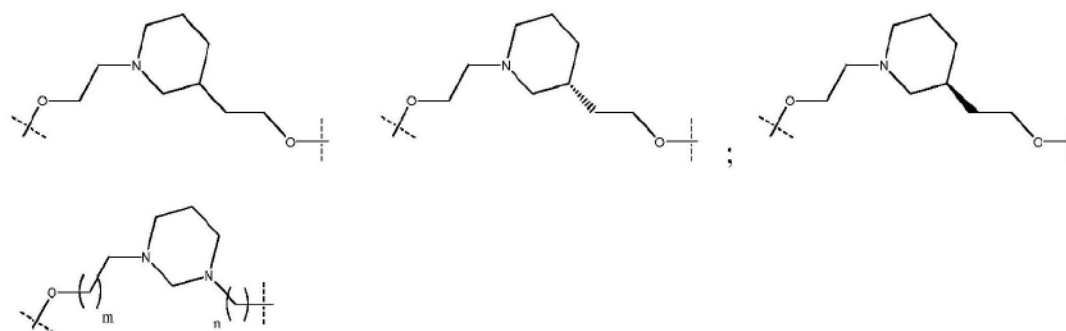
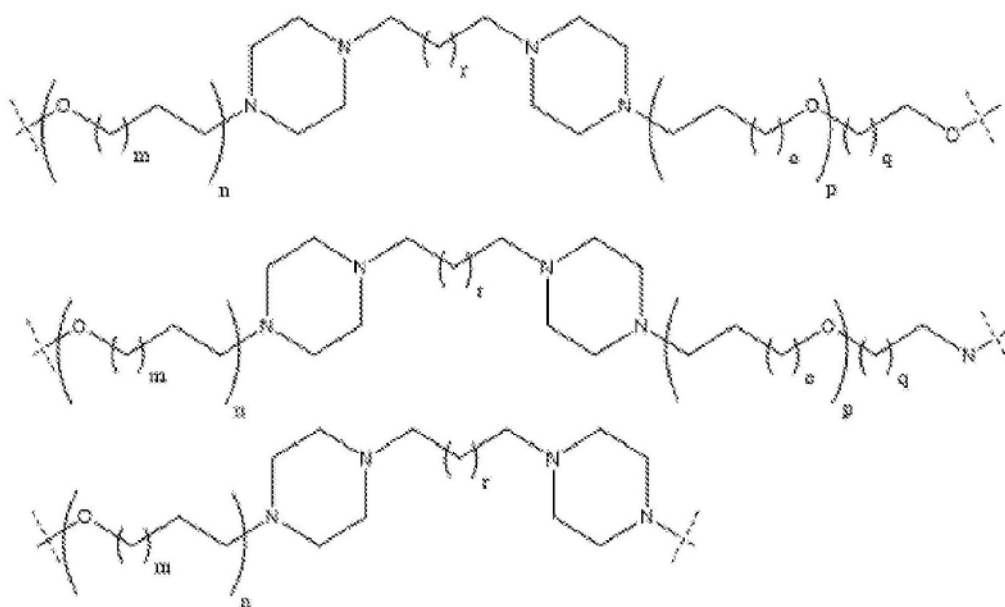
[0288]



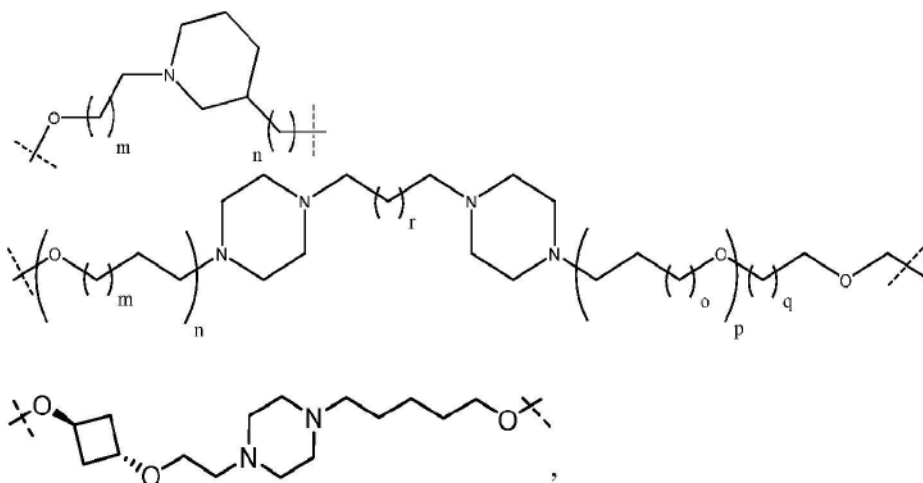




[0290]



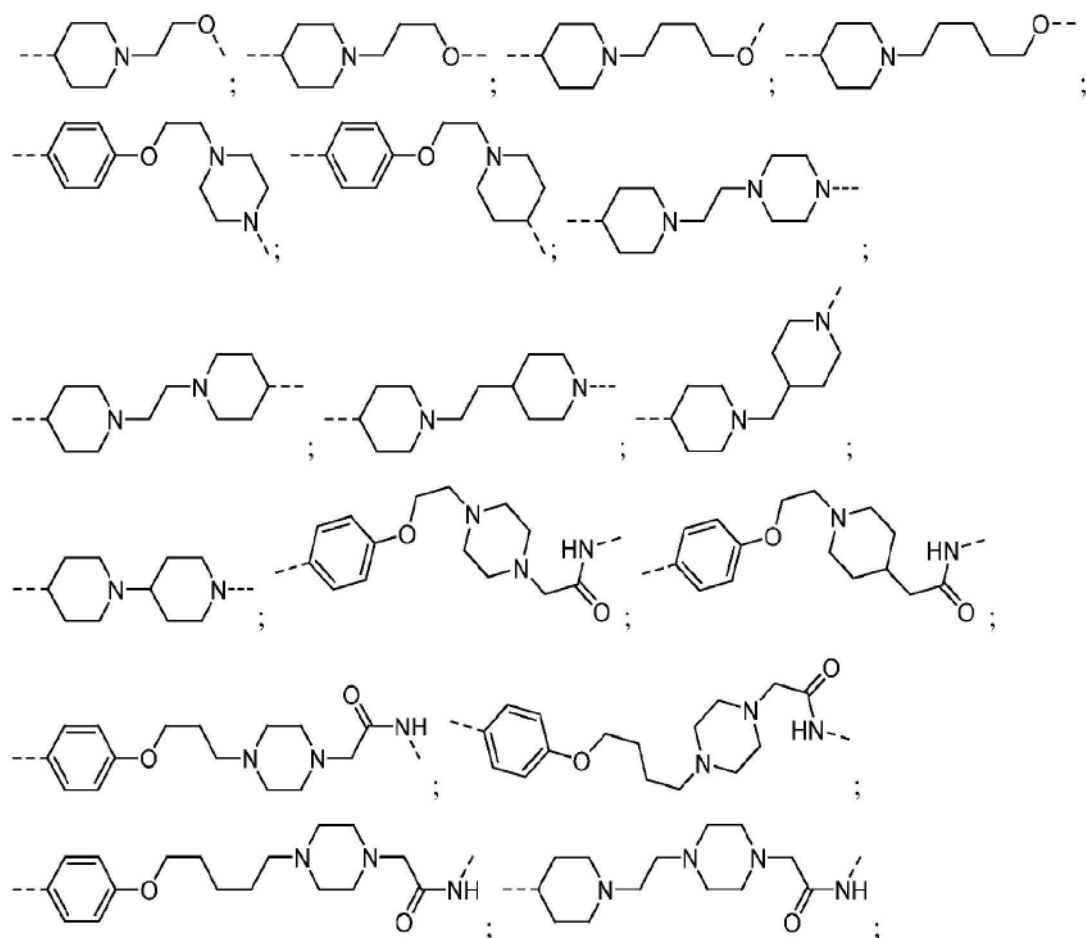
[0291]



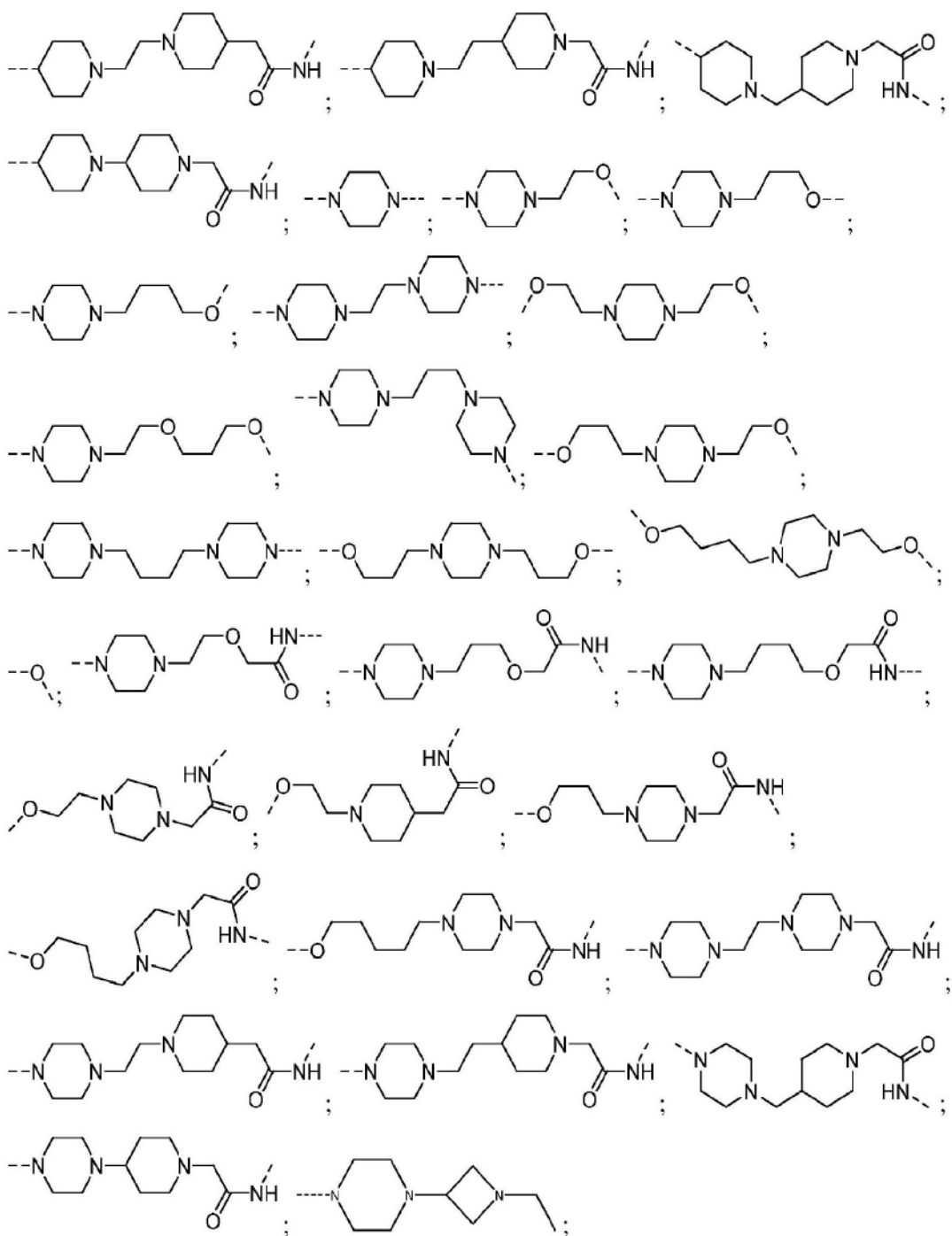
[0292] 其中每个 m 、 n 、 o 、 p 、 q 、 r 和 s 独立地是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

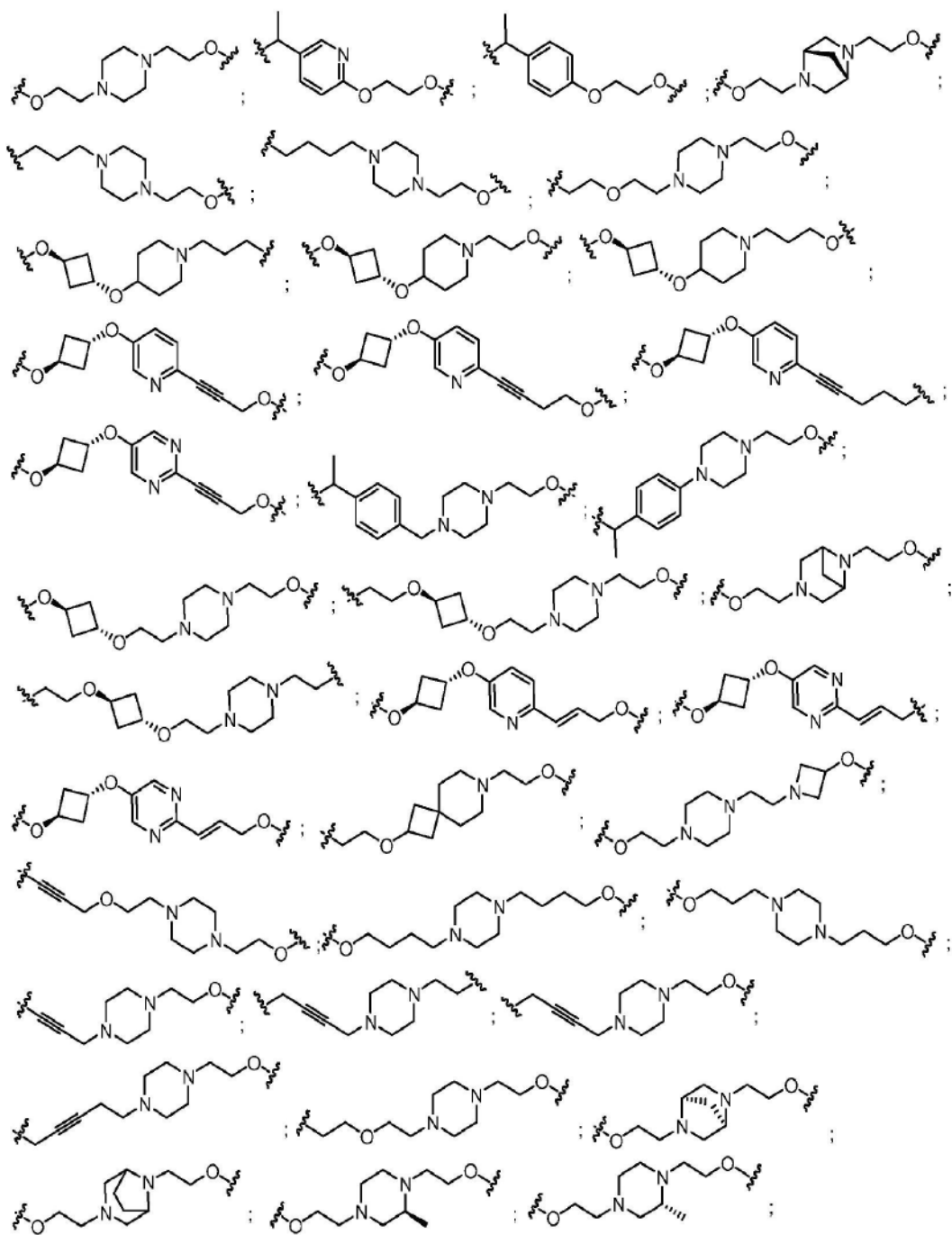
[0293] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)的单元 A^L 选自由以下组成的组:

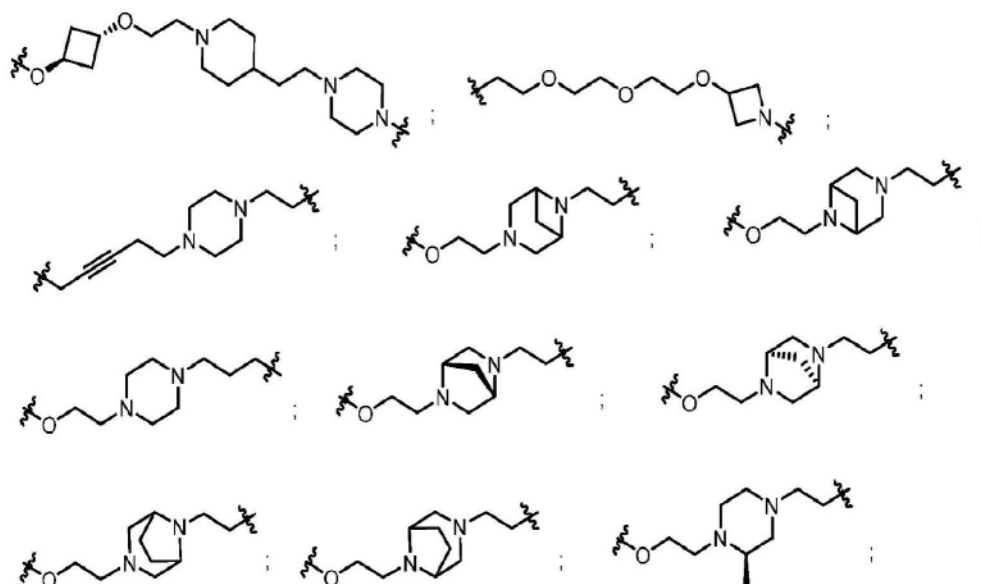
[0294]



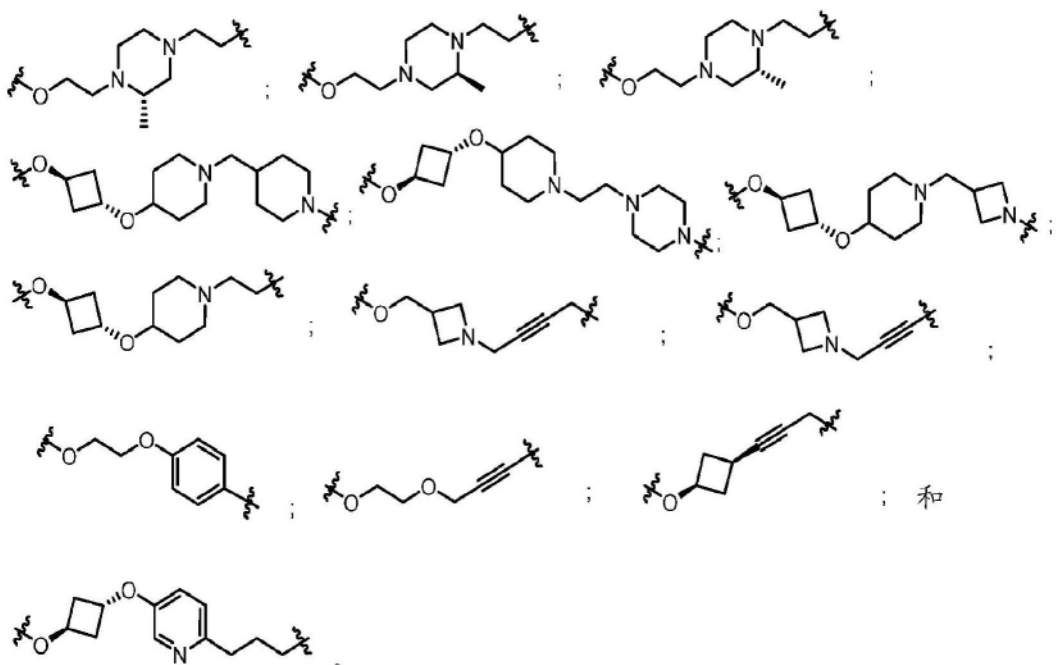
[0295]

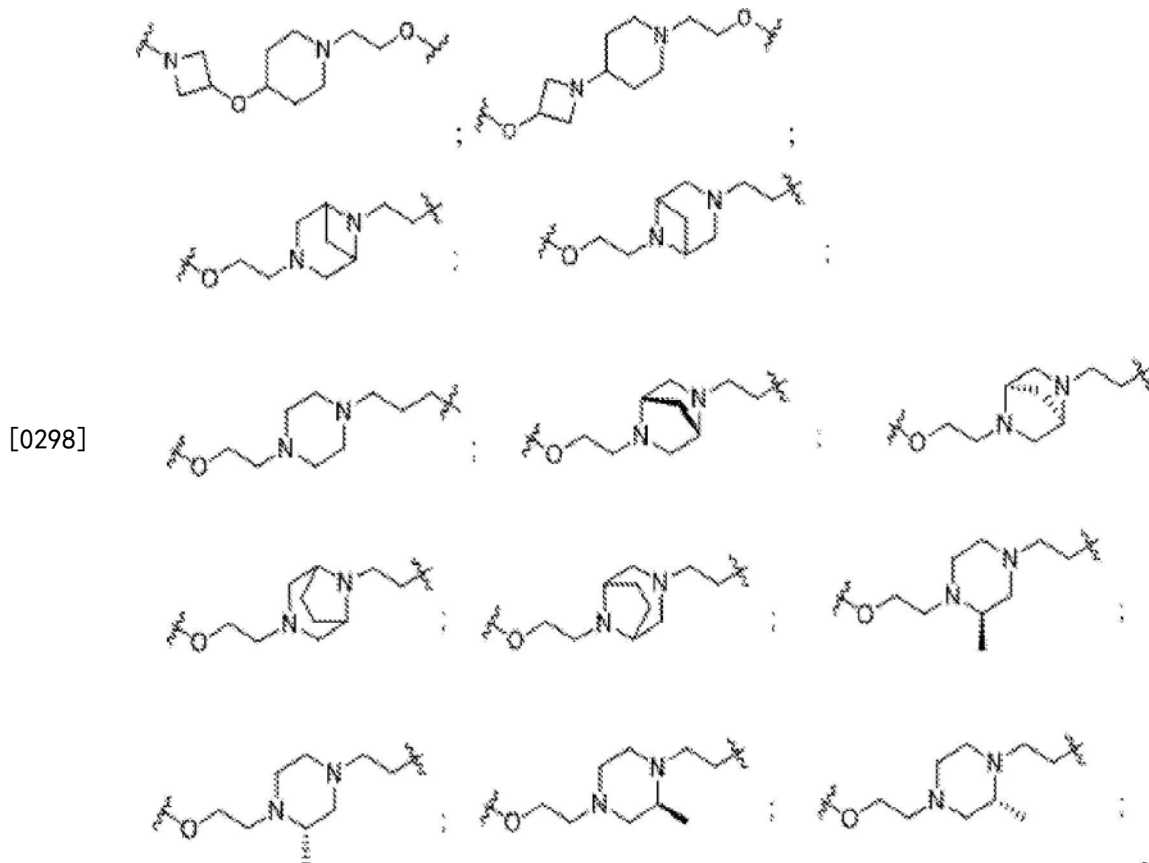




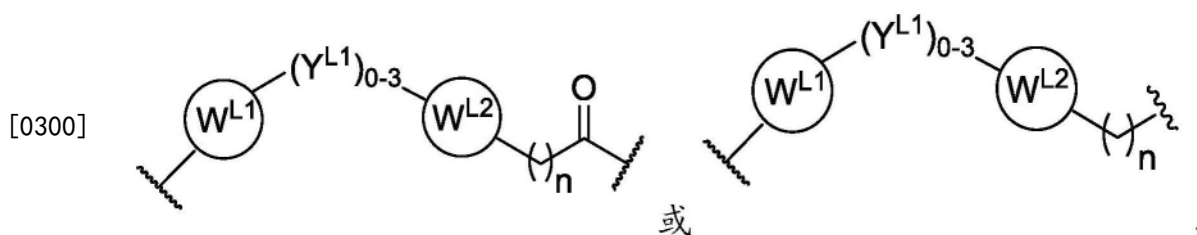


[0297]





[0299] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)包含选自以下所示结构的结构:



[0301] 其中:

[0302] W^{L1} 和 W^{L2} 各自独立地是不存在、具有0-4个杂原子的4-8元环,任选地被 R^Q 取代,每个 R^Q 独立地是H、卤代基、OH、CN、 CF_3 、任选取代的直链或支链 C_1-C_6 烷基、任选取代的直链或支链 C_1-C_6 烷氧基,或2个 R^Q 基团与它们所连接的原子一起形成含有0-4个杂原子的4-8元环体系;

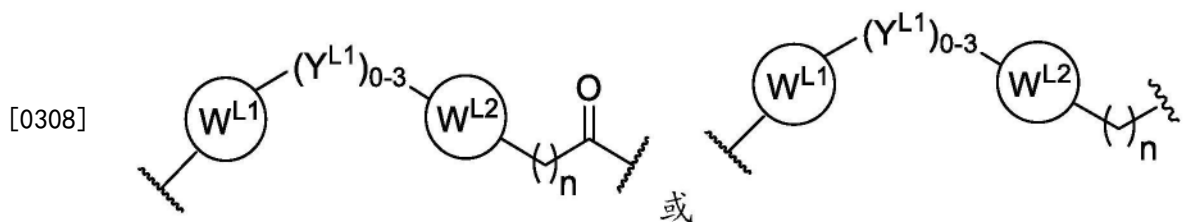
[0303] Y^{L1} 各自独立地是键;任选取代的直链或支链 C_1-C_6 烷基,且任选地一个或多个C原子被O或 NR^{YL1} 替代;任选取代的 C_1-C_6 烯烃,且任选地一个或多个C原子被O替代;任选取代的 C_1-C_6 炔烃,且任选地一个或多个C原子被O替代;或任选取代的直链或支链 C_1-C_6 烷氧基;

[0304] R^{YL1} 是H,或任选取代的直链或支链 C_1-C_6 烷基;

[0305] n是0-10;并且

[0306] 表示与PTM或ULM的连接点。

[0307] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)包含选自以下所示结构的结构:



[0309] 其中:

[0310] W^{L1} 和 W^{L2} 各自独立地是不存在、哌嗪、哌啶、吗啉,任选地被 R^Q 取代,每个 R^Q 独立地是H、-Cl-、-F-、OH、CN、CF₃、任选取代的直链或支链C₁-C₆烷基(例如甲基、乙基)、任选取代的直链或支链C₁-C₆烷氧基(例如甲氧基、乙氧基);

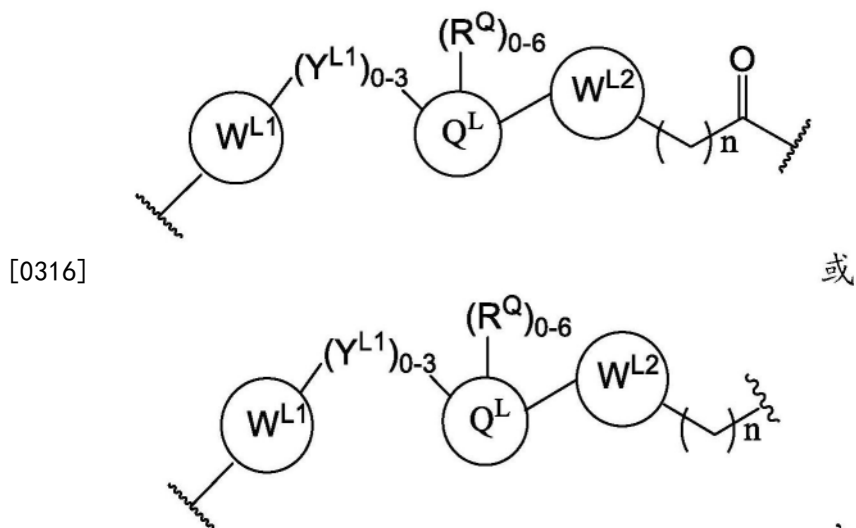
[0311] Y^{L1} 各自独立地是键;任选取代的直链或支链C₁-C₆烷基,且任选地一个或多个C原子被O或NR^{YL1}替代;任选取代的C₁-C₆烯烃,且任选地一个或多个C原子被O替代;任选取代的C₁-C₆炔烃,且任选地一个或多个C原子被O替代;或任选取代的直链或支链C₁-C₆烷氧基;

[0312] R^{YL1} 是H或任选取代的直链或支链C₁₋₆烷基(例如甲基、乙基);

[0313] n是0-10;并且

[0314]  和  表示与PTM或ULM的连接点。

[0315] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)包含选自以下所示结构的结构:



[0317] 其中:

[0318] W^{L1} 和 W^{L2} 各自独立地是不存在;芳基;杂芳基;环;杂环;C₁₋₆烷基,且任选地一个或多个C原子被O或NR^{YL1}替代;C₁₋₆烯烃,且任选地一个或多个C原子被O替代;C₁₋₆炔烃,且任选地一个或多个C原子被O替代;双环;联芳基;二杂芳基;或双杂环,各自任选地被 R^Q 取代,每个 R^Q 独立地是H、卤代基、OH、CN、CF₃、羟基、硝基、C≡CH、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、任选取代的直链或支链C₁-C₆烷基、任选取代的直链或支链C₁-C₆烷氧基、任选取代的OC₁₋₃烷基(例如,任选地被1个或多个-F取代)、OH、NH₂、NR^{YL1}RY²、CN,或者2个 R^Q 基团与它们所连接的原子一起形成含有0-4个杂原子的4-8元环体系;

[0319] Y^{L1} 各自独立地是:键;NR^{YL1};O;S;NR^{YL2};CR^{YL1}RY^{YL2};C=O;C=S;S₂;S₂O;S₂O₂;任选取代的直链或支链C₁-C₆烷基,且任选地一个或多个C原子被O替代;任选取代的直链或支链C₁-C₆烷氧基;

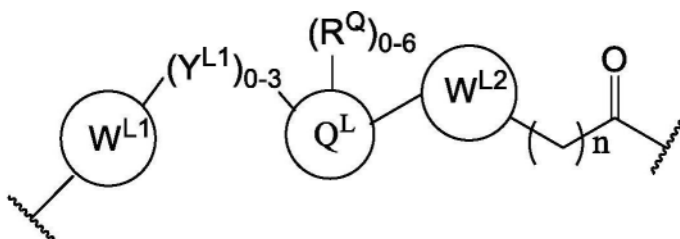
[0320] Q^L 是具有0-4个杂原子的3-6元脂环、双环或芳环,其任选地桥接,任选地被0-6个 R^Q 取代,每个 R^Q 独立地是H、任选取代的直链或支链 C_{1-6} 烷基(例如,任选地被1个或多个卤代基、 C_{1-6} 烷氧基取代),或者2个 R^Q 基团与它们所连接的原子一起形成含有0-2个杂原子的3-8元环体系;

[0321] R^{YL1} 、 R^{YL2} 各自独立地是:H;OH;任选取代的直链或支链 C_{1-6} 烷基(例如,任选地被1个或多个卤代基、 C_{1-6} 烷氧基取代);或者 R^1 、 R^2 与它们所连接的原子一起形成含有0-2个杂原子的3-8元环体系;

[0322] n 是0-10;并且

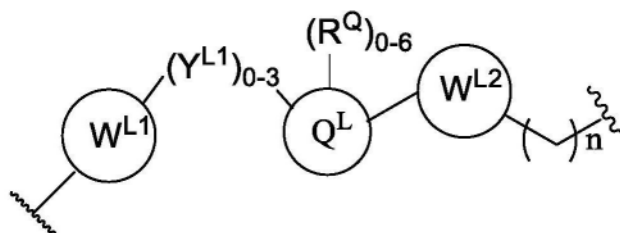
[0323]  和  表示与PTM或ULM的连接点。

[0324] 在本文所述的任何方面或实施方案中,接头(L)包含选自以下所示结构的结构:



[0325]

或



[0326] 其中:

[0327] W^{L1} 和 W^{L2} 各自独立地是不存在;环己烷;环戊烷;哌嗪;哌啶;吗啉; C_{1-6} 烷基,且任选地一个或多个C原子被O或 NR^{YL1} 替代; C_{1-6} 烯烃,且任选地一个或多个C原子被O替代; C_{1-6} 炔烃,且任选地一个或多个C原子被O替代;或 C_{1-6} 炔烃,且任选地一个或多个C原子被O替代,各自任选地被 R^Q 取代,每个 R^Q 独立地是H、-Cl、-F、OH、CN、 CF_3 、羟基、任选取代的直链或支链 C_1-C_6 烷基(例如,甲基、乙基)或任选取代的直链或支链 C_1-C_6 烷氧基;

[0328] Y^{L1} 各自独立地是键; NR^{YL1} ;O; $CR^{YL1}R^{YL2}$;C=O;任选取代的直链或支链 C_1-C_6 烷基,且任选地一个或多个C原子被O或 NR^{YL1} 替代; C_{1-6} 烯烃,且任选地一个或多个C原子被O替代; C_{1-6} 炔烃,且任选地一个或多个C原子被O替代;或任选取代的直链或支链 C_1-C_6 烷氧基;

[0329] Q^L 是3-6元杂环、杂双环或杂芳基环,其任选地被0-6个 R^Q 取代,每个 R^Q 独立地是H或任选取代的直链或支链 C_{1-6} 烷基(例如,任选地被1个或多个卤代基、 C_{1-6} 烷氧基取代);

[0330] R^{YL1} 、 R^{YL2} 各自独立地是H、任选取代的直链或支链 C_{1-6} 烷基(例如,甲基、乙基,任选地被1个或更多个卤代基、 C_{1-6} 烷氧基取代);

[0331] n 是0-10;并且

[0332]  和  表示与PTM或ULM的连接点。

[0333] 示例性PTM

[0334] 在本公开的一方面,PTM基团(也称为LTM基团)结合至靶蛋白LRRK2或其突变形式。

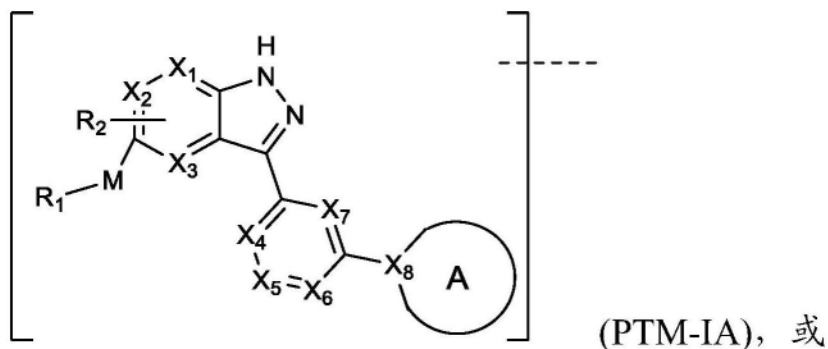
[0335] 下面描述的组合物举例说明了可以根据本发明使用的LRRK2结合部分的成员。这些结合部分优选通过化学连接基团与泛素连接酶结合部分(CLM)连接,以便将LRRK2蛋白(与LTM结合)呈现在泛素连接酶附近以进行泛素化和后续降解。

[0336] 在某些情形下,术语“靶蛋白”用于指LRRK2蛋白,它是富亮氨酸重复激酶家族的成员,是要被泛素化和降解的靶蛋白。在其他情形下,术语“靶蛋白”用于指LRRK2蛋白的突变形式,诸如具有选自G2019S、I2020T、N1437H、R1441G/C/H和Y1699C组成的组的一种或多种突变的LRRK蛋白。

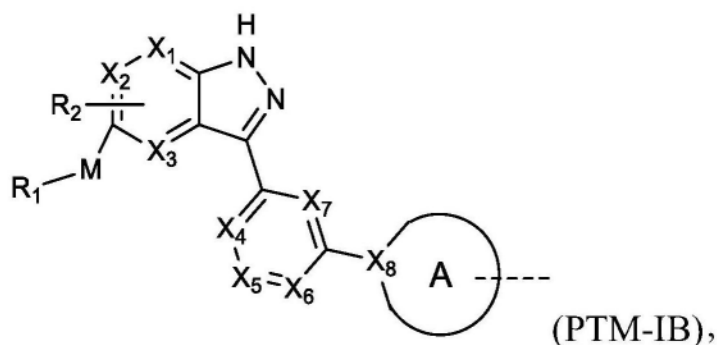
[0337] 术语“蛋白质靶向部分”或PTM用于描述与LRRK2或其突变形式结合的小分子,并且可用于靶向蛋白质以进行泛素化和降解。

[0338] 本文所述的组合物举例说明了这些PTM中的一些PTM的用途。

[0339] 在本文所述的任何方面或实施方案中,PTM是结合LRRK2的小分子。例如,在本文所述的任何方面或实施方案中,PTM由化学结构PTM-IA或PTM-IB表示:



[0340]



[0341] 其中:

[0342] R_1 选自直链或支链C1-C6烷基(例如,异丙基或叔丁基)、任选取代的C3-C6环烷基

(例如,任选取代的C3-C5环烷基、甲基化C3-C5环烷基,或,其中虚线是与所述PTM

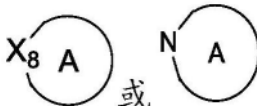
的M的连接点)、直链或支链C1-C6卤代烷基(例如,直链或支链C1-C4卤代烷基)、任选取代的C3-C6卤代环烷基(例如,C3-C5卤代环烷基)、任选取代的烷基腈(例如,C1-C4烷基腈)、任选取代的C3-C6环腈(例如,C3-C5环腈);

[0343] R_2 选自氢、卤素(例如,F、Cl或Br)、C1-C3烷基或C1-C3氟烷基;

[0344] X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 和 X_7 各自独立地是C、CH或N,其中当为CH时 X_1 、 X_2 和 X_3 各自任选地被 R_2 取代;

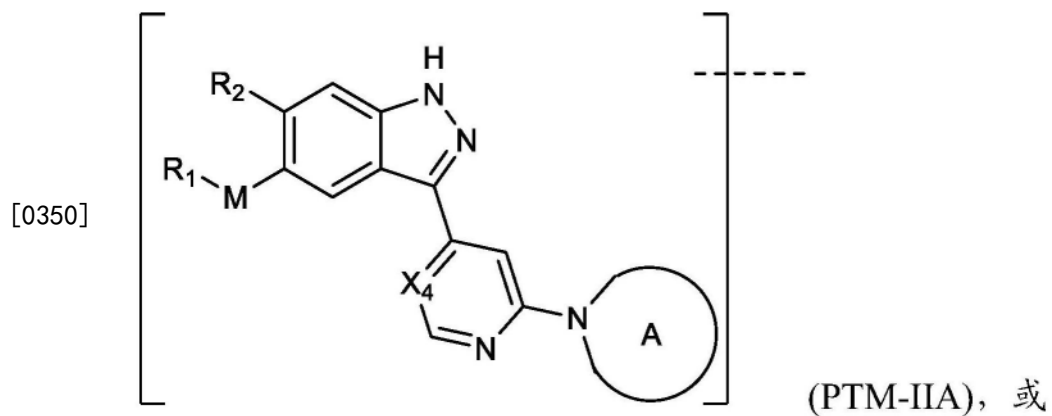
[0345] X_8 是 CH、S 或 N;

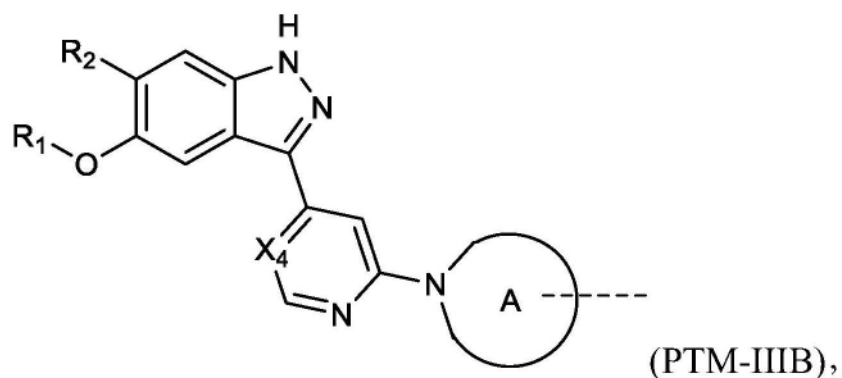
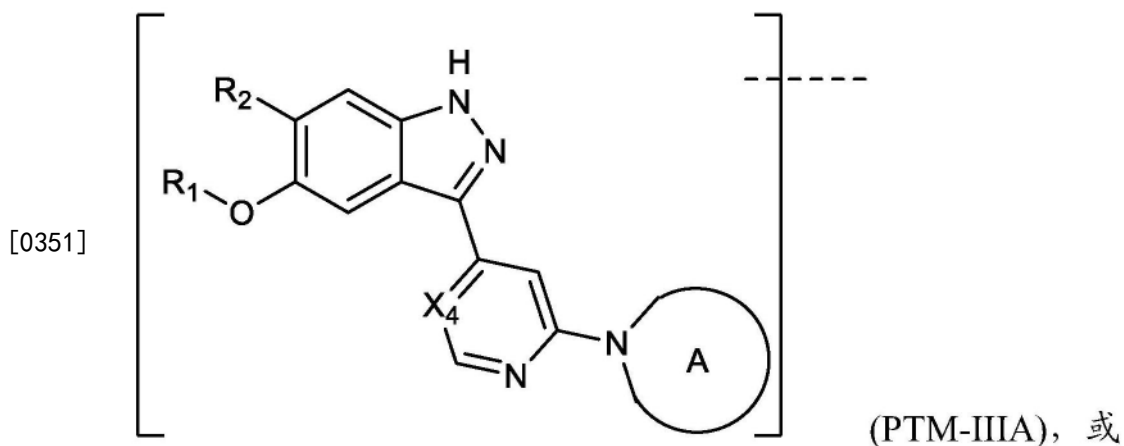
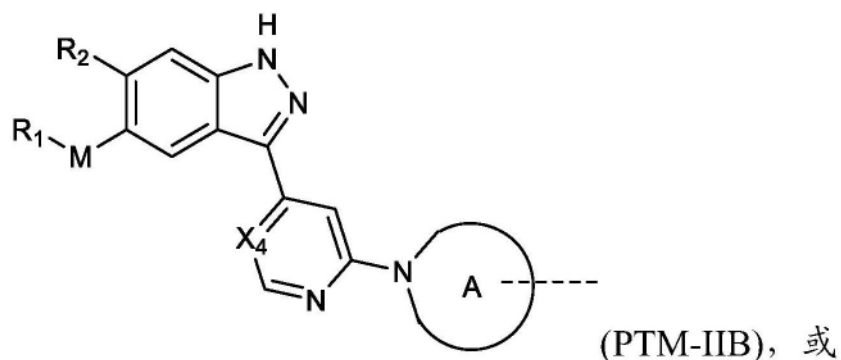
[0346] M 是 CH_2 、NH 或 O;

[0347]  是任选取代的 3-10 元的环烷基或含有 1-4 (例如, 1、2、3 或 4) 个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂环烷基 (例如, 任选地被一个或多个 (例如, 1、2、3 或 4 个) 取代基取代); 并且

[0348] PTM 的  表示与接头 (L) 或 ULM 的连接点。

[0349] 在本文所述的任何方面或实施方案中, PTM 由化学结构 PTM-IIA、PTM-IIB、PTM-IIIA 和 PTM-IIIB 表示。





[0352] 其中:

[0353] R_1 是直链或支链C1-C6烷基(例如,异丙基或叔丁基)、任选取代的C3-C6环烷基(例如,任选取代的C3-C5环烷基、甲基化C3-C5环烷基或其中虚线是与所述PTM的M

或氧原子的连接点)、直链或支链C1-C6卤代烷基(例如,直链或支链C1-C4卤代烷基)、任选取代的C3-C6卤代环烷基(例如,C3-C5卤代环烷基)、任选取代的烷基腈(例如,C1-C4烷基腈)、任选取代的C3-C6环腈(例如,C3-C5环腈);

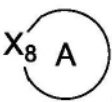
[0354] R_2 是氢、卤素(例如,F、Cl或Br)、C1-C3烷基或C1-C3氟烷基;

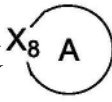
[0355] X_4 是CH或N;

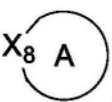
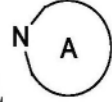
[0356] M是 CH_2 、NH或O;

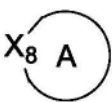
[0357]  是任选取代的3-10元的含有1-4 (例如,1、2、3或4) 个选自N、O和S的杂原子的杂环烷基 (例如,任选地被一个或多个 (例如,1、2、3或4个) 取代基取代); 并且

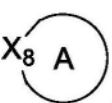
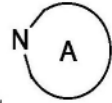
[0358] PTM的  表示与化学接头基团或ULM的连接点。

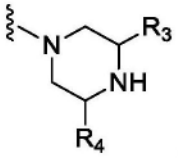
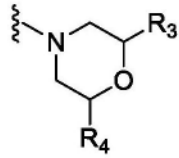
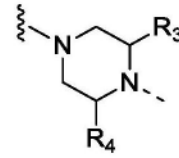
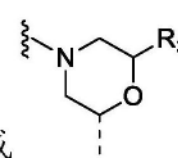
[0359] 在本文所述的任何方面或实施方案中,  或  包括1-4个取代,各自独立地选自卤素、OH、NH₂、N(C1-C3烷基)₂、直链或支链C1-C4烷基 (例如,甲基或乙基)、直链或支链C1-C4羟烷基、直链或支链C1-C4烷氧基和直链或支链C1-C4卤代烷基)。

[0360] 在本文所述的任何方面或实施方案中,PTM通过  或  的杂环烷基的原子或其取代基共价连接至L或ULM。

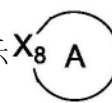
[0361] 在本文所述的任何方面或实施方案中,  或  是4-7 (例如,4、5、6或7) 元的环烷基或含有1-4 (例如,1、2、3或4) 个选自N、O和S的杂原子的杂环烷基,任选地被一个或多个 (例如,1、2、3或4个) 取代基来取代,每个取代基独立地选自卤素、OH、NH₂、N(C1-C3烷基)₂、直链或支链C1-C4烷基、直链或支链C1-C4羟烷基、直链或支链C1-C4烷氧基和直链或支链C1-C4卤代烷基。

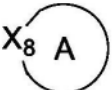
[0362] 在本文所述的任何方面或实施方案中,  或  是4-7 (例如,5或6) 元的环烷基或含有1-4 (例如,1、2、3或4) 个选自N、O和S的杂原子的杂环烷基,所述环任选地被一个或多个 (例如,1、2、3或4个) 取代基来取代,每个取代基独立地选自直链或支链C1-C3烷基 (例如,甲基)、直链或支链C1-C3烷氧基 (例如,甲氧基) 和直链或支链C1-C3卤代烷基。

[0363] 在本文所述的任何方面或实施方案中,  或  是:

[0364]  ,  ,  或  , 其中:

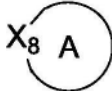
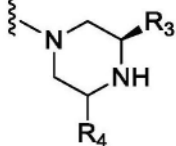
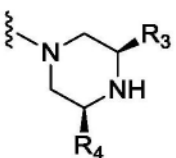
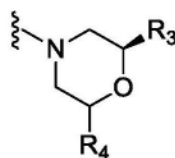
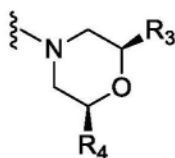
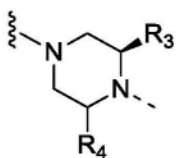
[0365] R₃和R₄各自独立地选自H、卤素、OH、NH₂、N(C1-C3烷基)₂、直链或支链C1-C4烷基、直链或支链C1-C4羟烷基、直链或支链C1-C4烷氧基和直链或支链C1-C4卤代烷基;

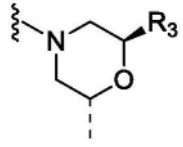
[0366]  —表示  或  的连接点 (即,与所述PTM的6元杂芳基的连接点); 并且

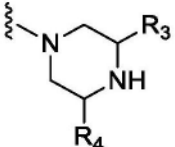
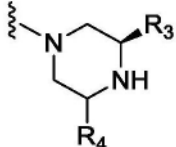
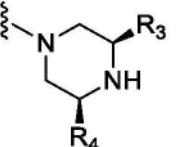
[0367]  表示PTM与L或ULM的连接点,并且当不存在时,  或  可以通过6元

杂环烷基的原子(例如,碳或氮)、 R_3 或 R_4 连接至L或ULM。

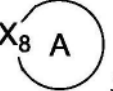
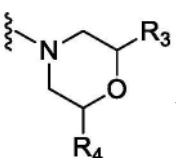
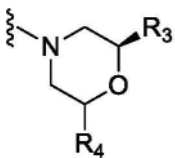
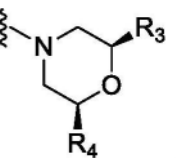
[0368] 在本文所述的任何方面或实施方案(诸如但不限于前述段落或以下段落中的方面

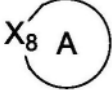
或实施方案)中,  或  是: ,
, , ,  或

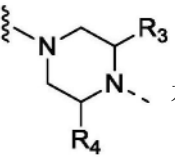
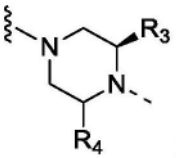
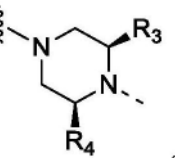
[0369]  在本文所述的任何方面或实施方案(诸如但不限于前述段落中的方

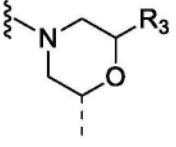
面或实施方案)中,  或  或  是:  或  在

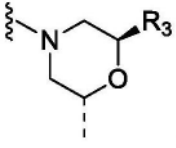
本文所述的任何方面或实施方案(诸如但不限于前述段落中的方面或实施方案)中,

 或  或  是:  或  在本文所述的任何方

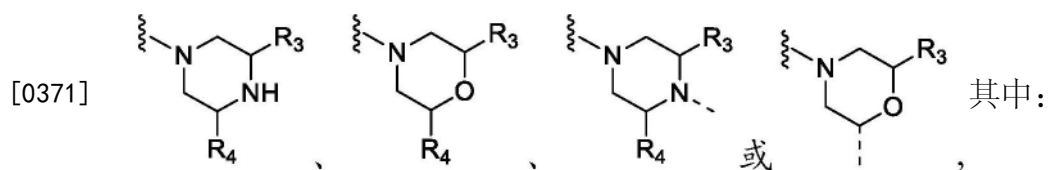
面或实施方案(诸如但不限于前述段落中的方面或实施方案)中,  或

 或  是:  或  在本文所述的任何方面或实施方

案(诸如但不限于前述段落中的方面或实施方案)中,  或  或  是:

是:  。

[0370] 在本文所述的任何方面或实施方案中, $X_8 A$ 或 $N A$ 是:



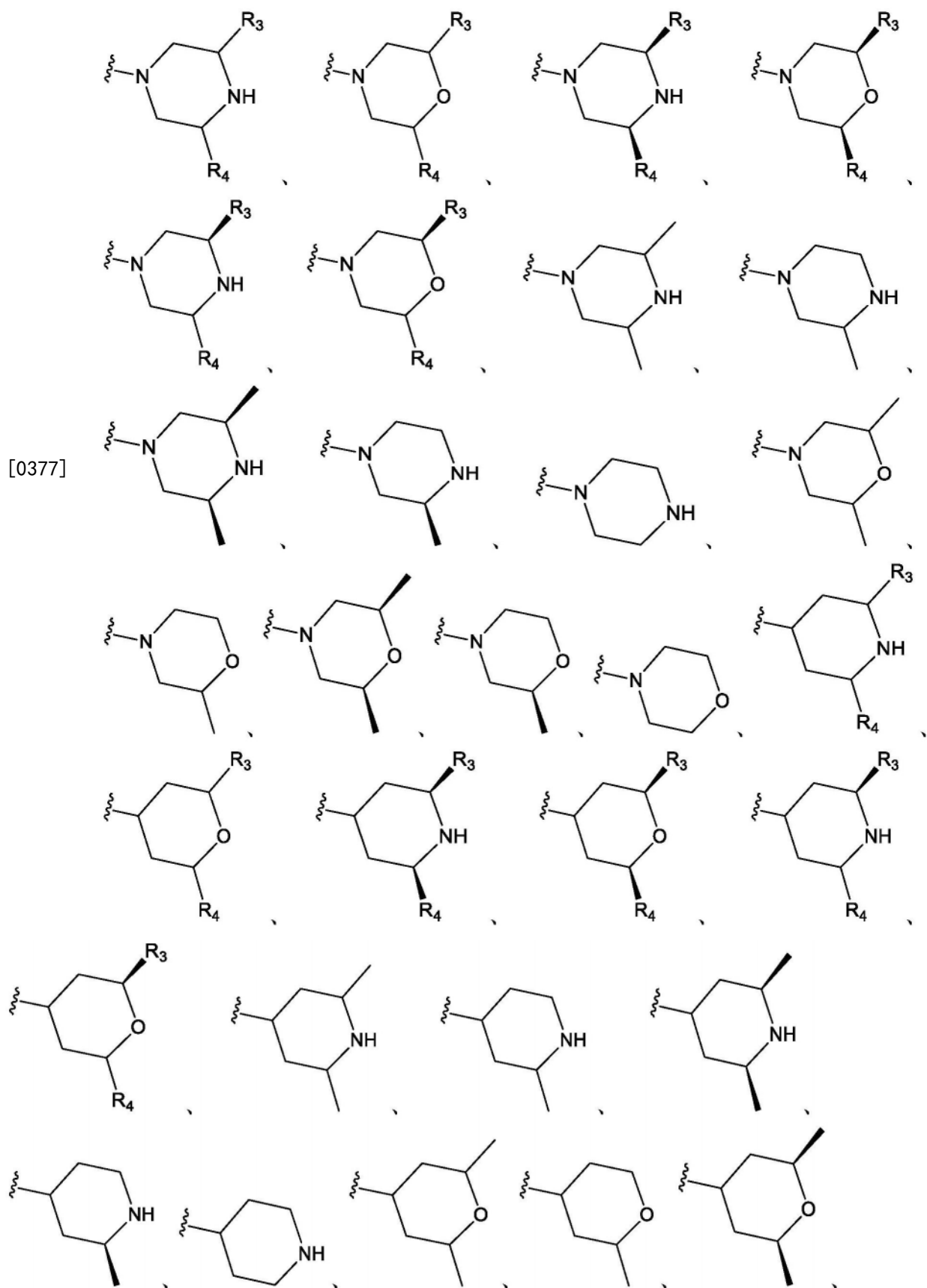
[0372] R_3 是 H 或直链或支链 C1-C3 烷基 (例如, 甲基或乙基);

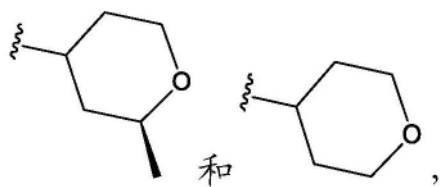
[0373] R_4 是 H 或直链或支链 C1-C3 烷基 (例如, 甲基或乙基);

[0374] --- 表示 $X_8 A$ 或 $N A$ 的连接点 (即, 与所述 PTM 的 6 元杂芳基的连接点); 并且

[0375] --- 表示 PTM 与 L 或 ULM 的连接点, 并且当不存在时, $X_8 A$ 或 $N A$ 可以通过 6 元杂环烷基的原子 (例如, 6 元杂环烷基的碳或氮)、 R_3 或 R_4 连接至 L 或 ULM。

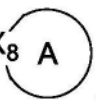
[0376] 在本文所述的任何方面或实施方案中, $X_8 A$ 或 $N A$ 选自:

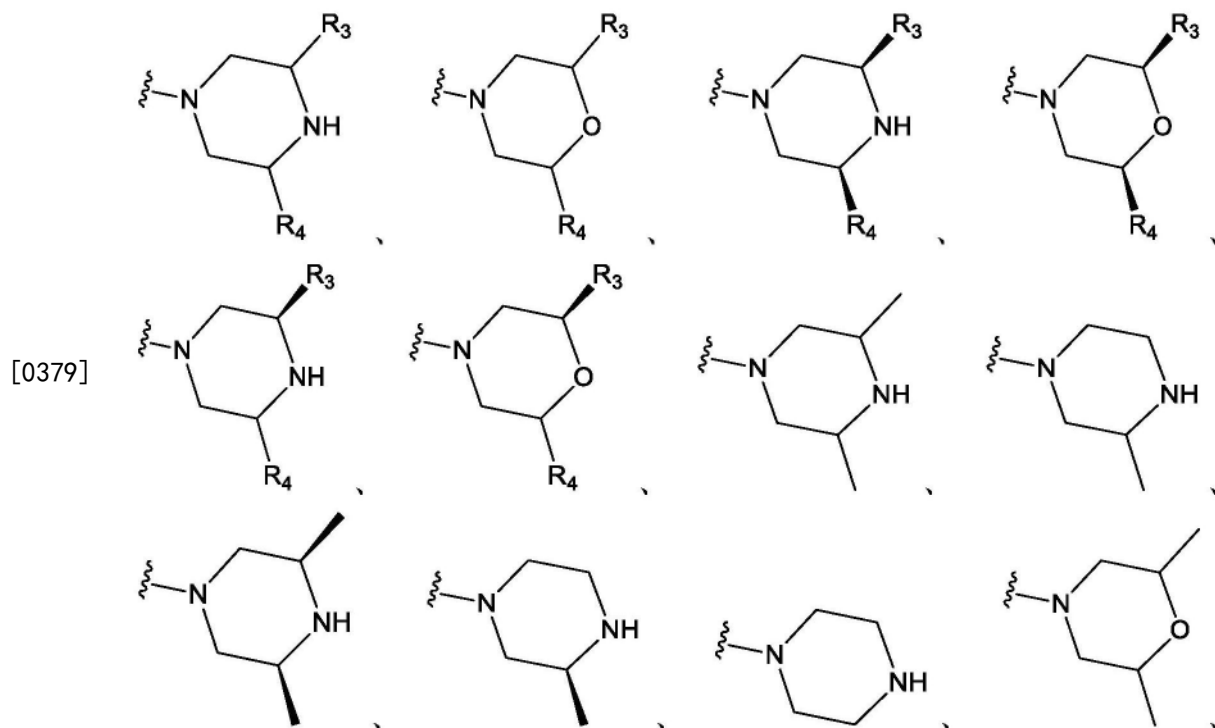


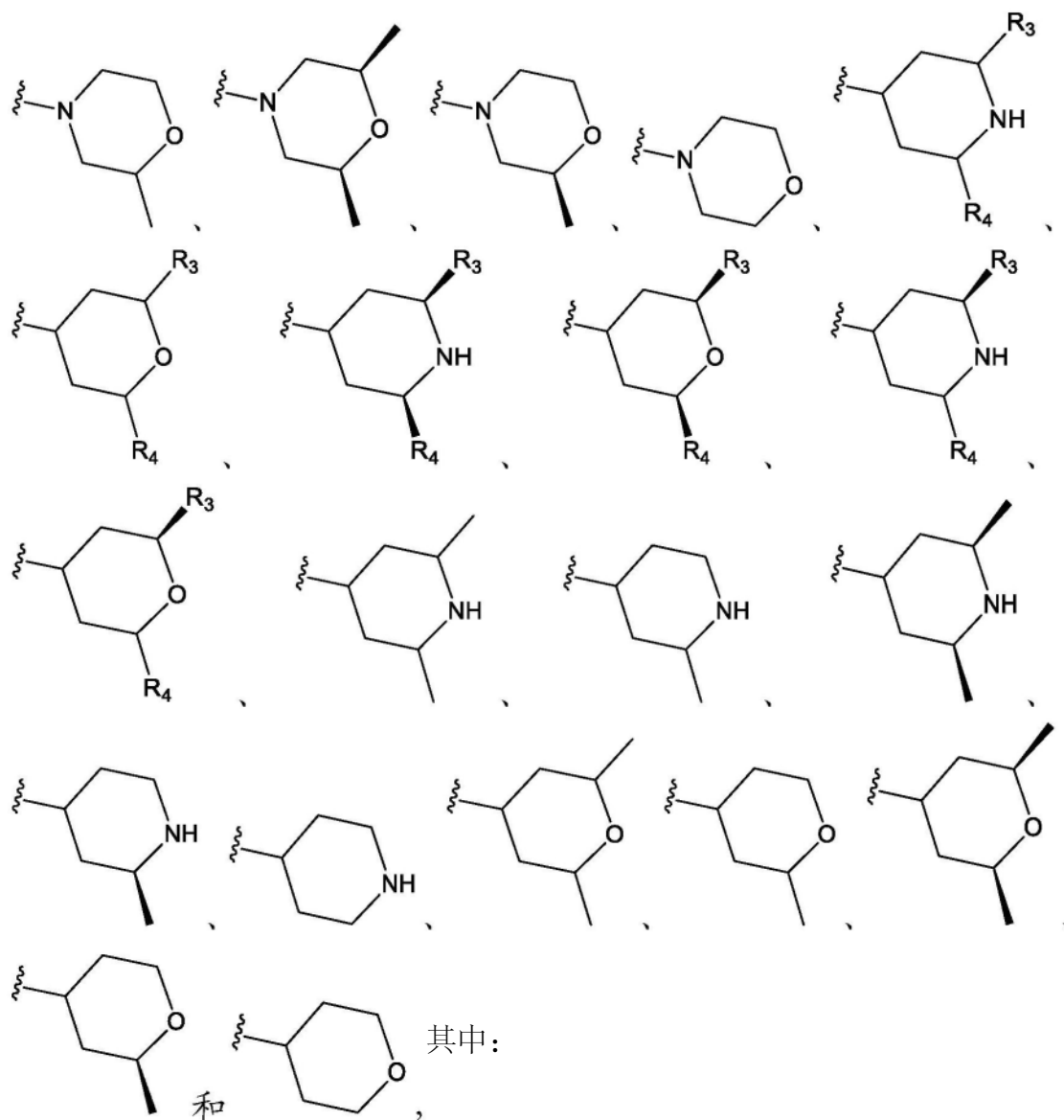


其中 R_3 和 R_4 如本文所述的任何方面或实施方案中所述定

义。

[0378] 在本文所述的任何方面或实施方案中, X_8  或  选自:

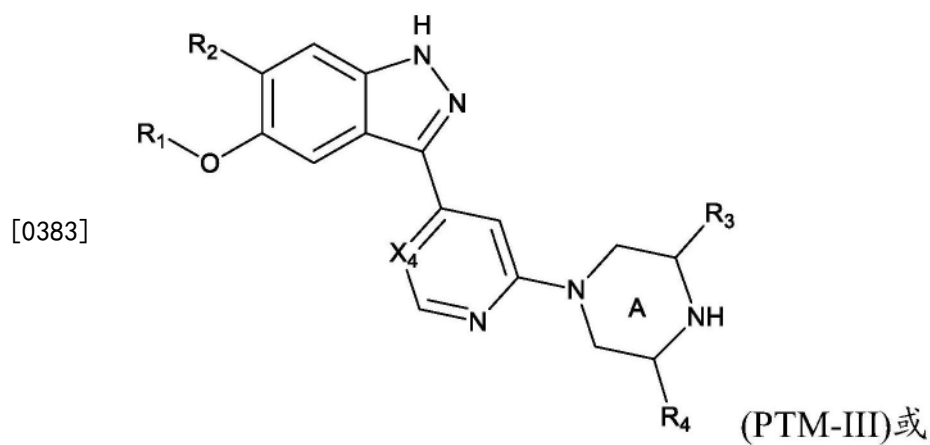




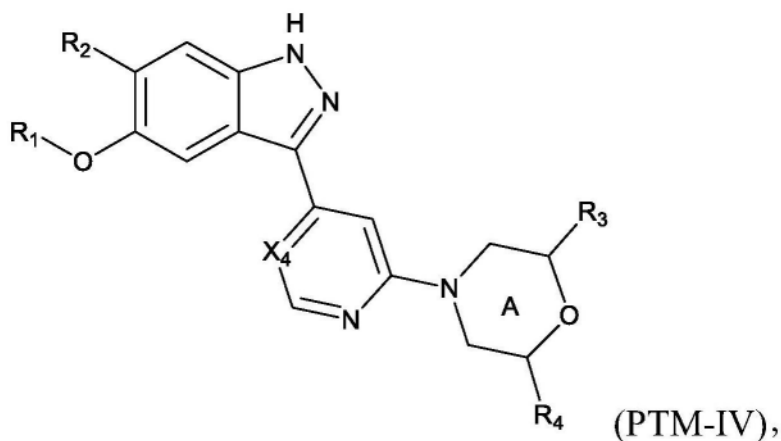
[0380] R_3 和 R_4 如本文所述的任何方面或实施方案中所述定义;并且

[0381] 杂环烷基通过杂环烷基或其取代基(例如, R_3 、 R_4 或甲基)的原子连接至L或PTM。

[0382] 在本文所述的任何方面或实施方案中,PTM具有以下化学结构:



[0384]

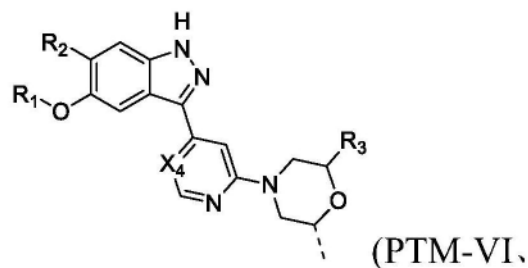
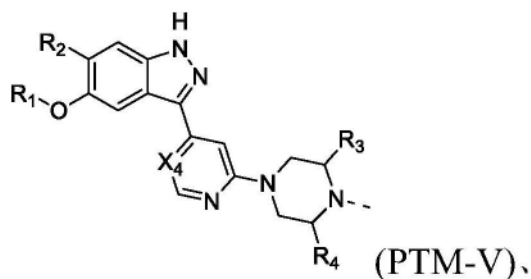


其中:

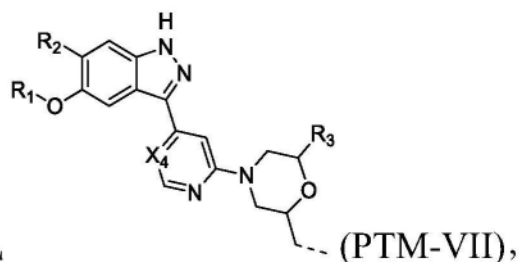
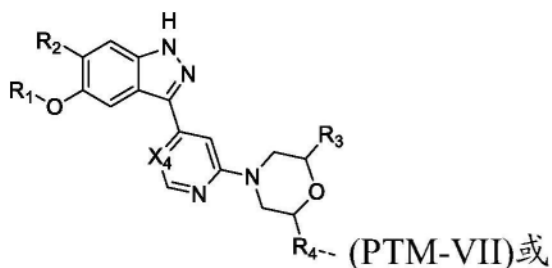
[0385] X_4 、 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如本文所述的任何方面或实施方案中所述定义;并且[0386] PTM通过杂环烷基A的原子(例如,杂环烷基的碳或氮)、 R_3 或 R_4 连接至L或ULM。

[0387] 在本文所述的任何方面或实施方案中,PTM具有以下化学结构:

[0388]



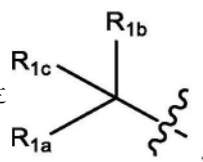
[0389]



[0390] 其中:

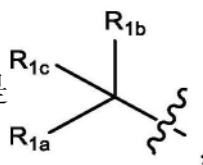
[0391] X_4 、 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 如本文所述的任何方面或实施方案中所述定义;并且

[0392] PTM的-表示与L或ULM的连接点。

[0393] 在本文所述的任何方面或实施方案中, R_1 选自任选取代的C3-C5环烷基和直链或支链C1-C4烷基。[0394] 在本文所述的任何方面或实施方案中, R_1 是其中: R_{1a} 、 R_{1b} 和 R_{1c} 各自

独立地是H或直链或支链C1-C2烷基,各自任选地被一个或多个卤素或腈基取代;或者 R_{1a} 或 R_{1b} 与它们所连接的碳一起形成任选地被一个或多个C1-C3烷基、腈基或卤素取代的C3-C6环烷基。

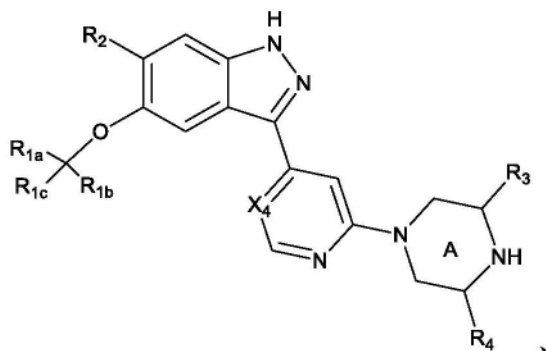
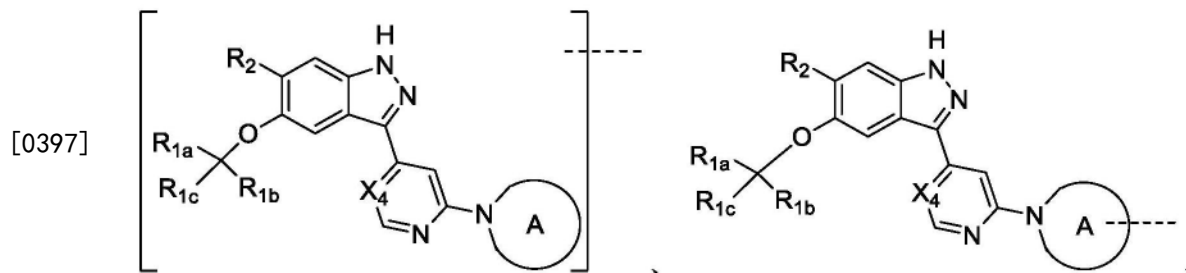
[0395] 在本文所述的任何方面或实施方案中, R_1 是



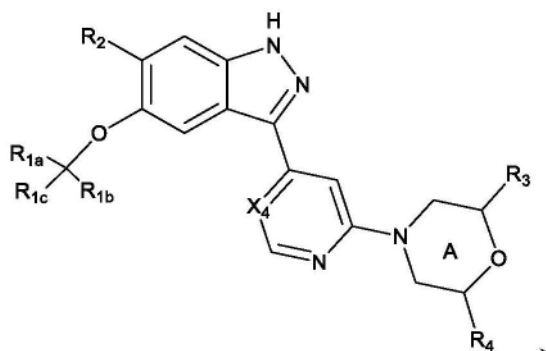
其中: R_{1a} 、 R_{1b} 和 R_{1c} 各自

独立地是H或直链或支链C1-C2烷基;或者 R_{1a} 或 R_{1b} 与它们所连接的碳一起形成C3-C6环烷基。

[0396] 在本文所述的任何方面或实施方案中, PTM选自:



[0398]

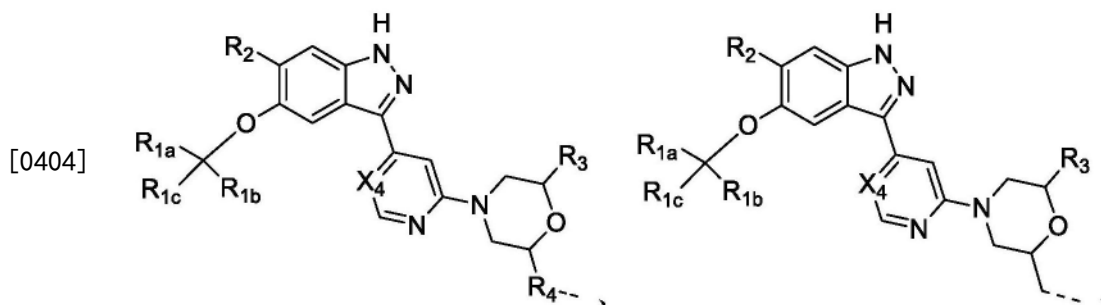
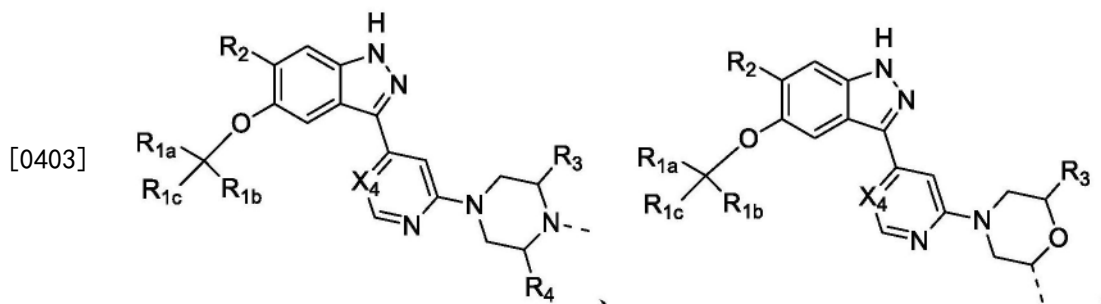


[0399] 其中:

[0400] X 、 R_{1a} 、 R_{1b} 、 R_{1c} 、 R_3 、 R_4 和 $N(A)$ 中的每一者如本文所述的任何方面或实施方案中所定义;并且

[0401] L或ULM通过杂环烷基A的原子(例如,杂环烷基的碳或氮)、 R_3 或 R_4 连接。

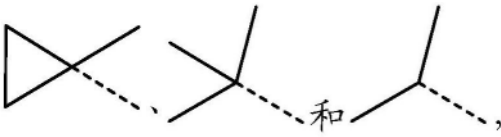
[0402] 在本文所述的任何方面或实施方案中, PTM选自:



[0405] 其中：

[0406] X_4 、 R_{1a} 、 R_{1b} 、 R_{1c} 、 R_3 和 R_4 中的每一者如本文所述的任何方面或实施方案中所述定义；并且

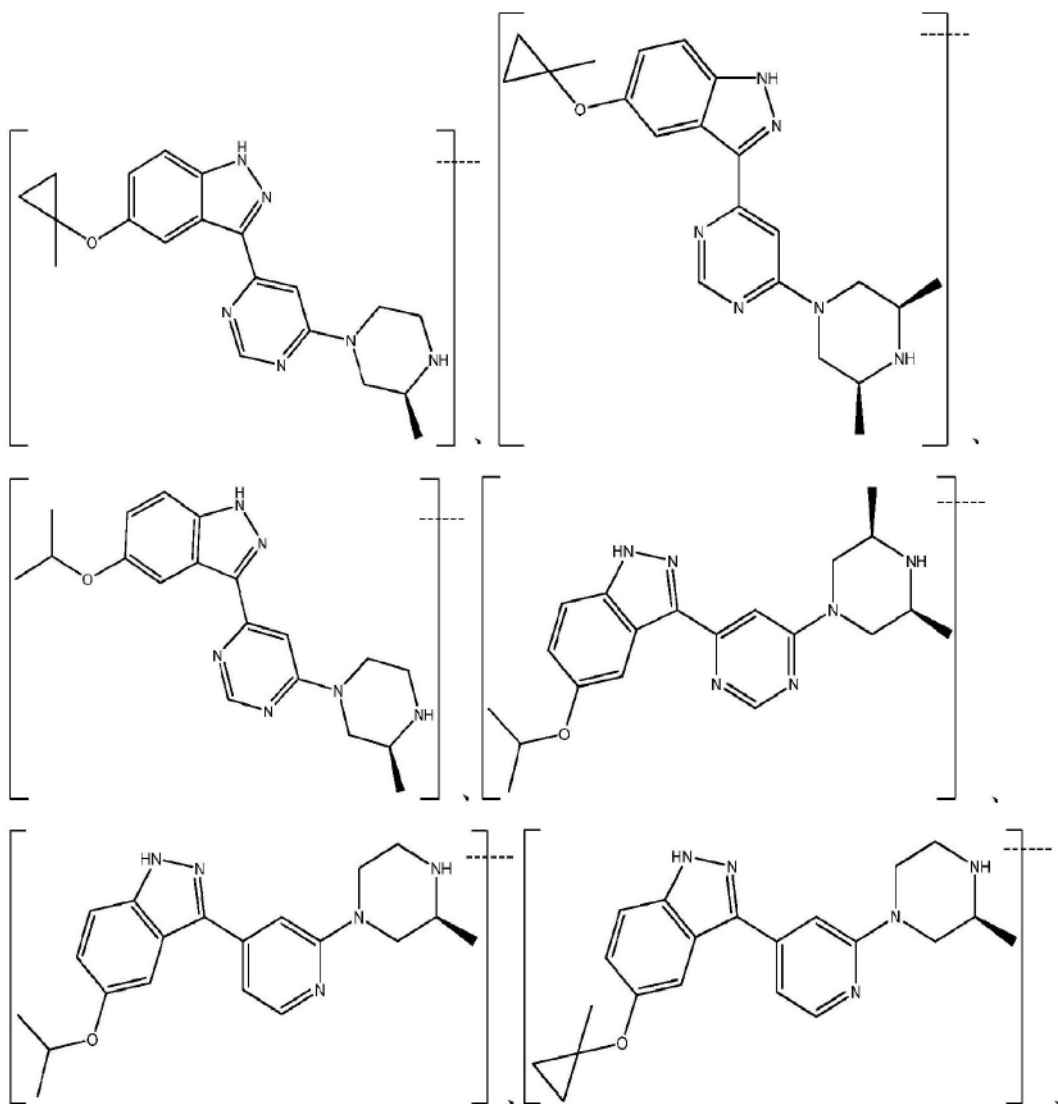
[0407] PTM的 --- 表示与L或ULM的连接点，且是在不存在的情况下。在本文所述的任何方

面或实施方案中， R_1 选自  其中虚线是与PTM的M或氧原子的连接点。

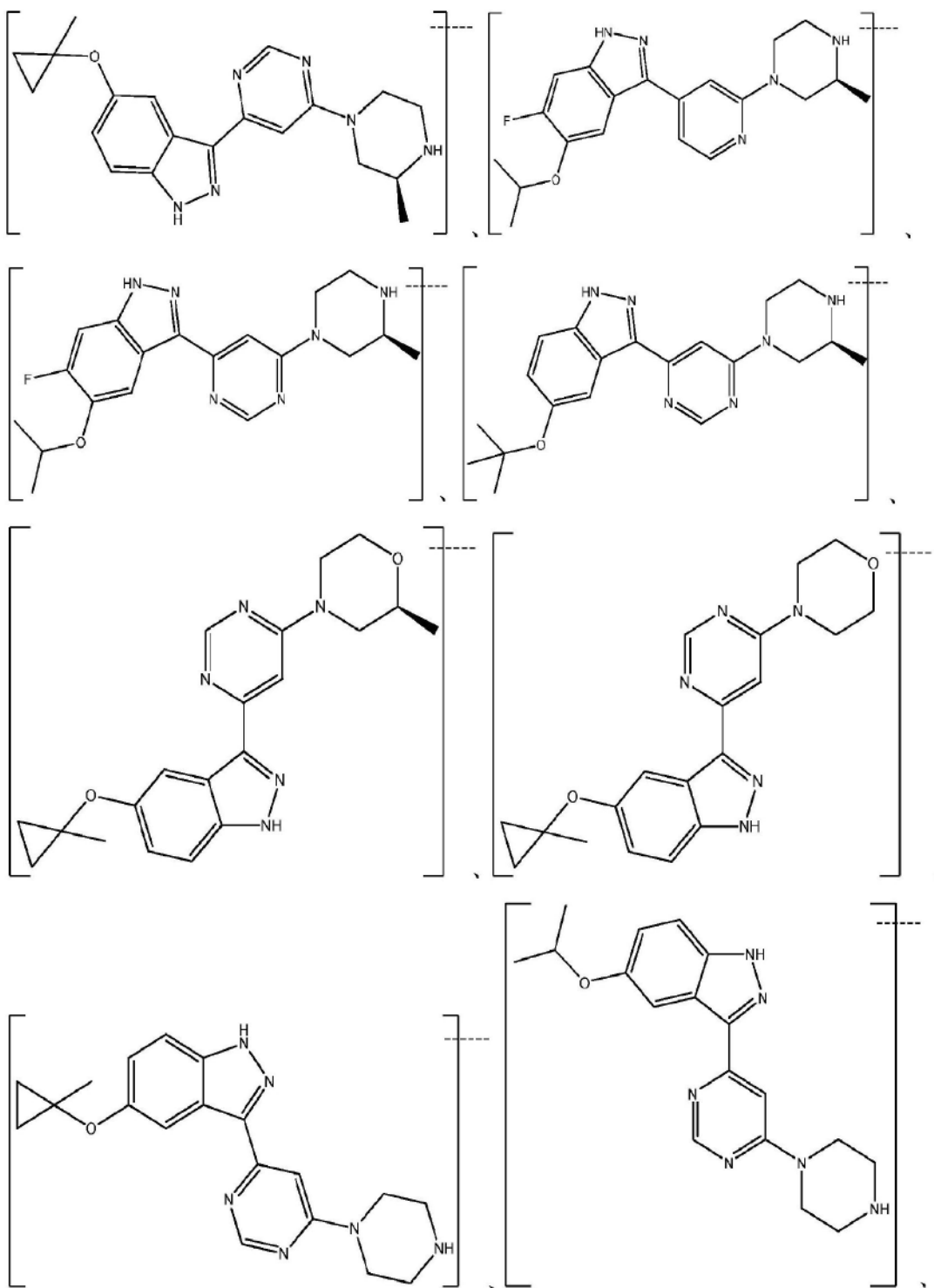
[0408] 在本文所述的任何方面或实施方案中， R_2 是H或F。

[0409] 在本文所述的任何方面或实施方案中，PTM具有以下化学结构：

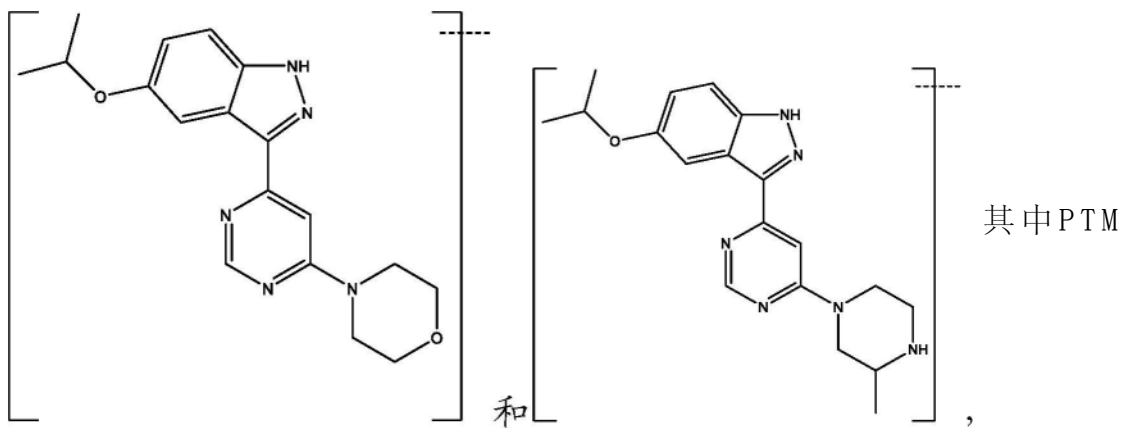
[0410]



[0411]

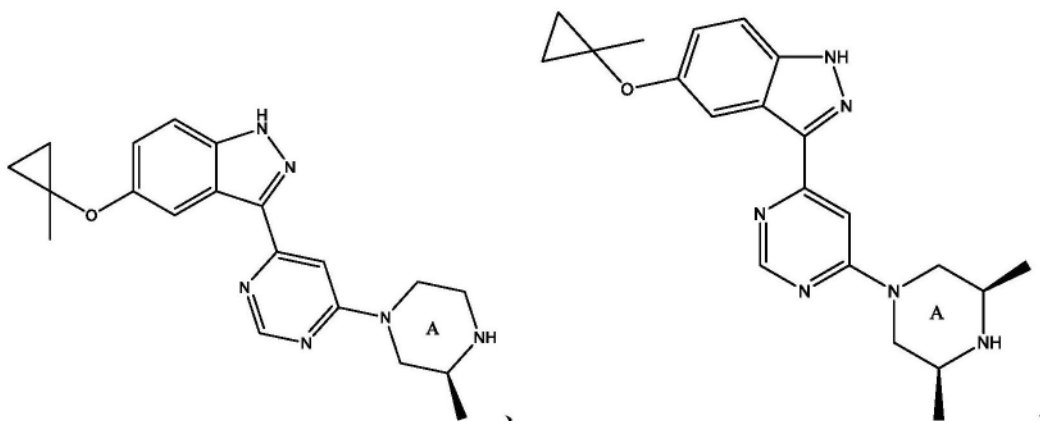


[0412]

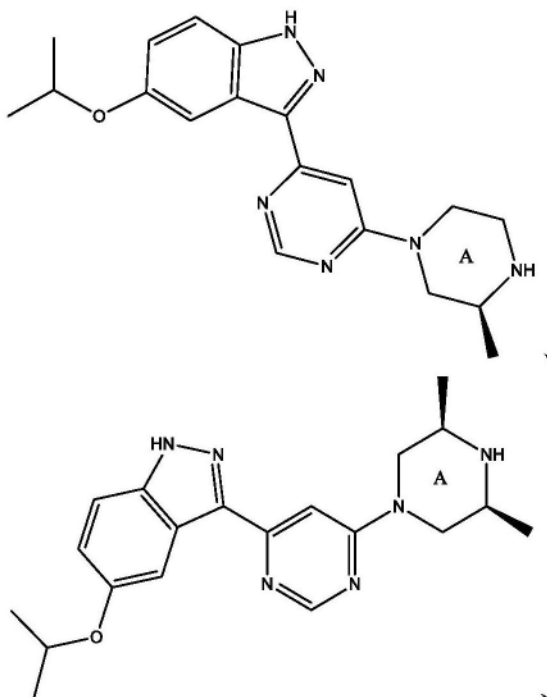


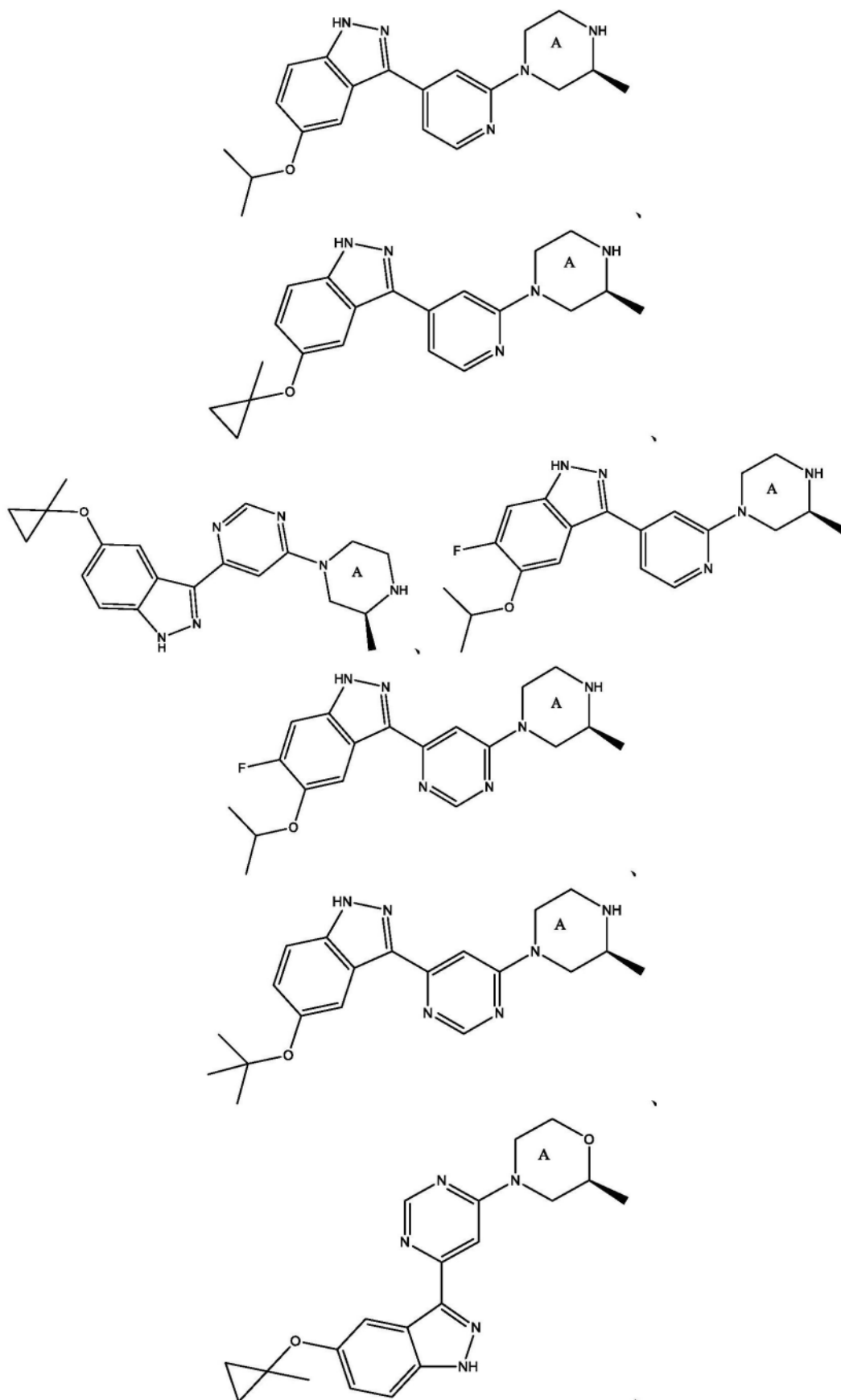
的表示与化学接头基团或ULM的连接点。

[0413] 在本文所述的任何方面实施方案中,PTM具有以下化学结构:



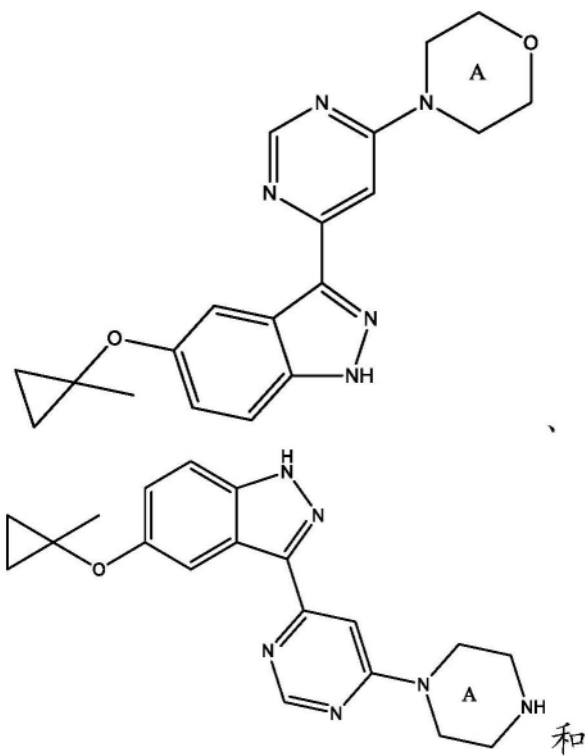
[0414]



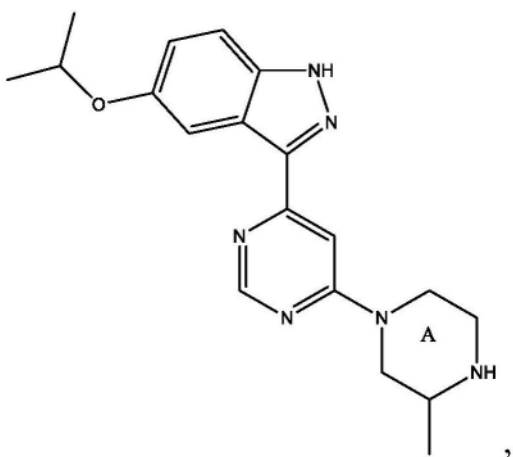


[0415]

[0416]



[0417]

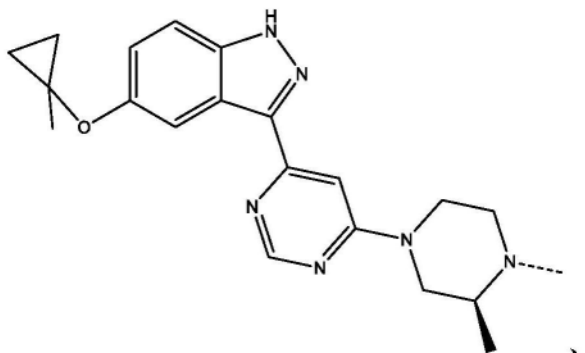


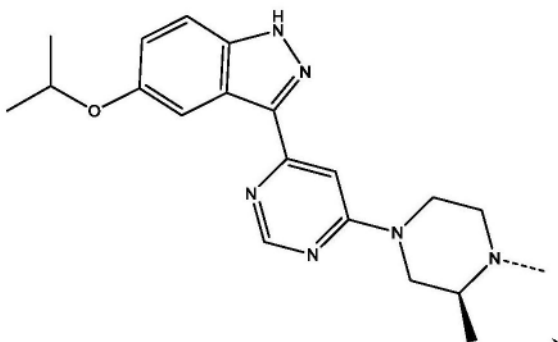
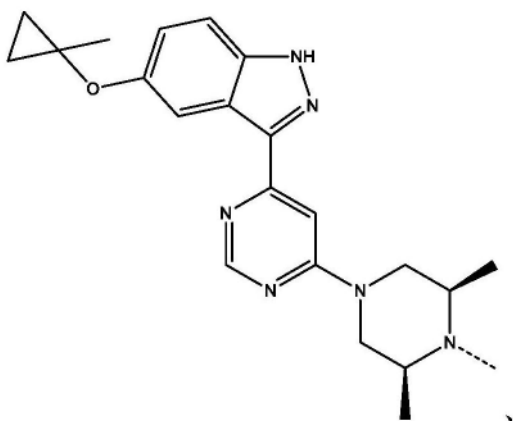
其中PTM通过杂环烷基A的原子或其取代基

共价连接至L或ULM。

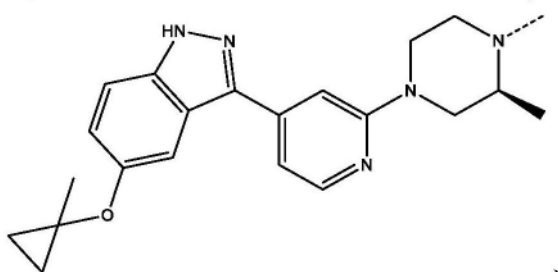
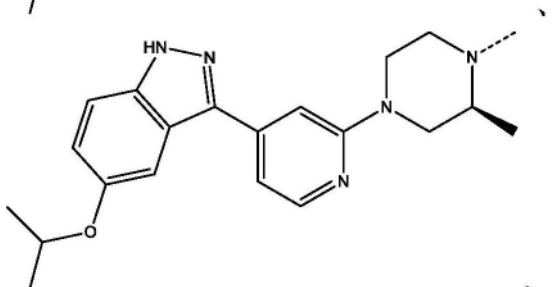
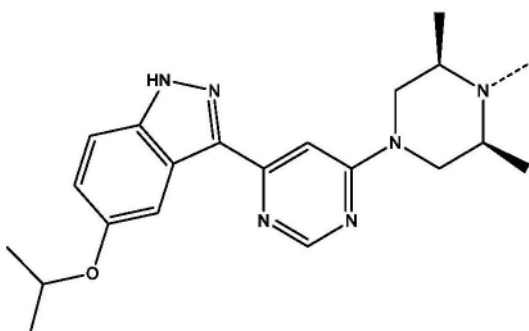
[0418] 在本文所述的任何方面或实施方案中,PTM具有以下化学结构:

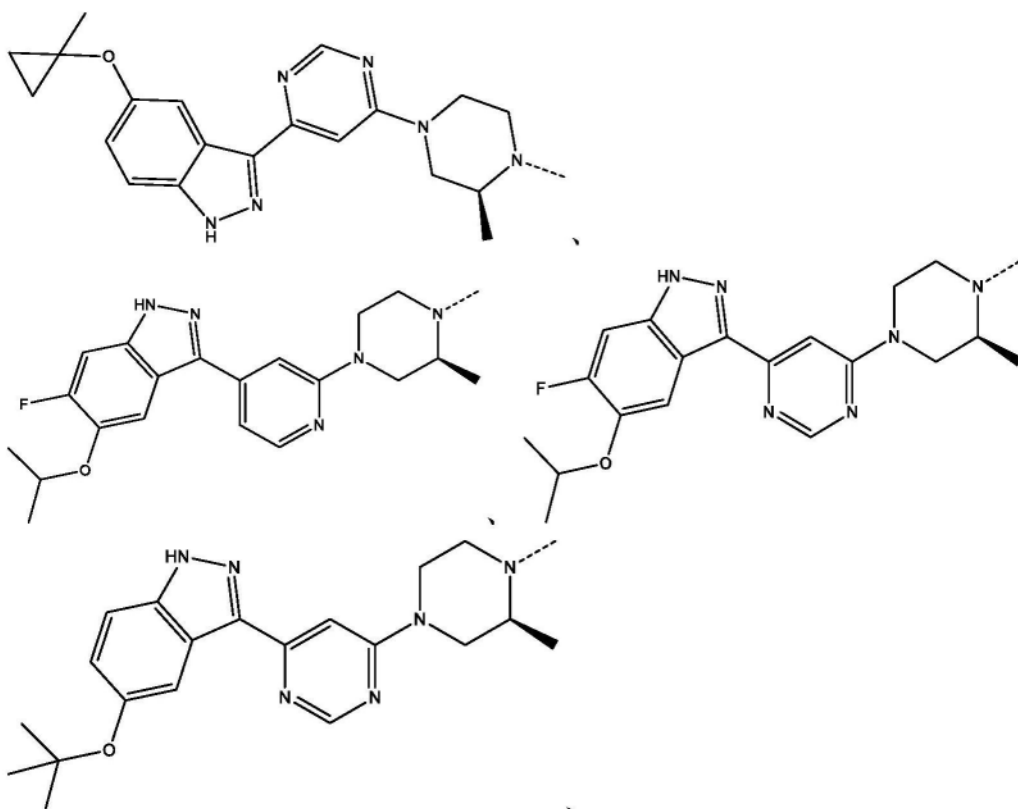
[0419]



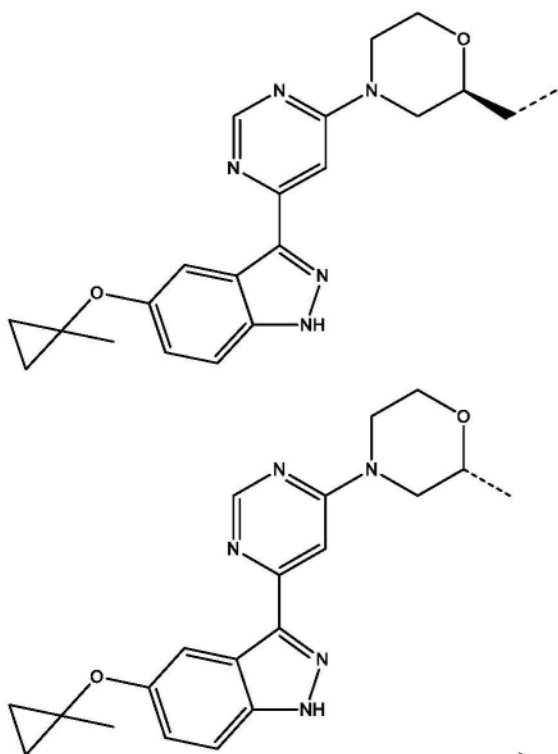


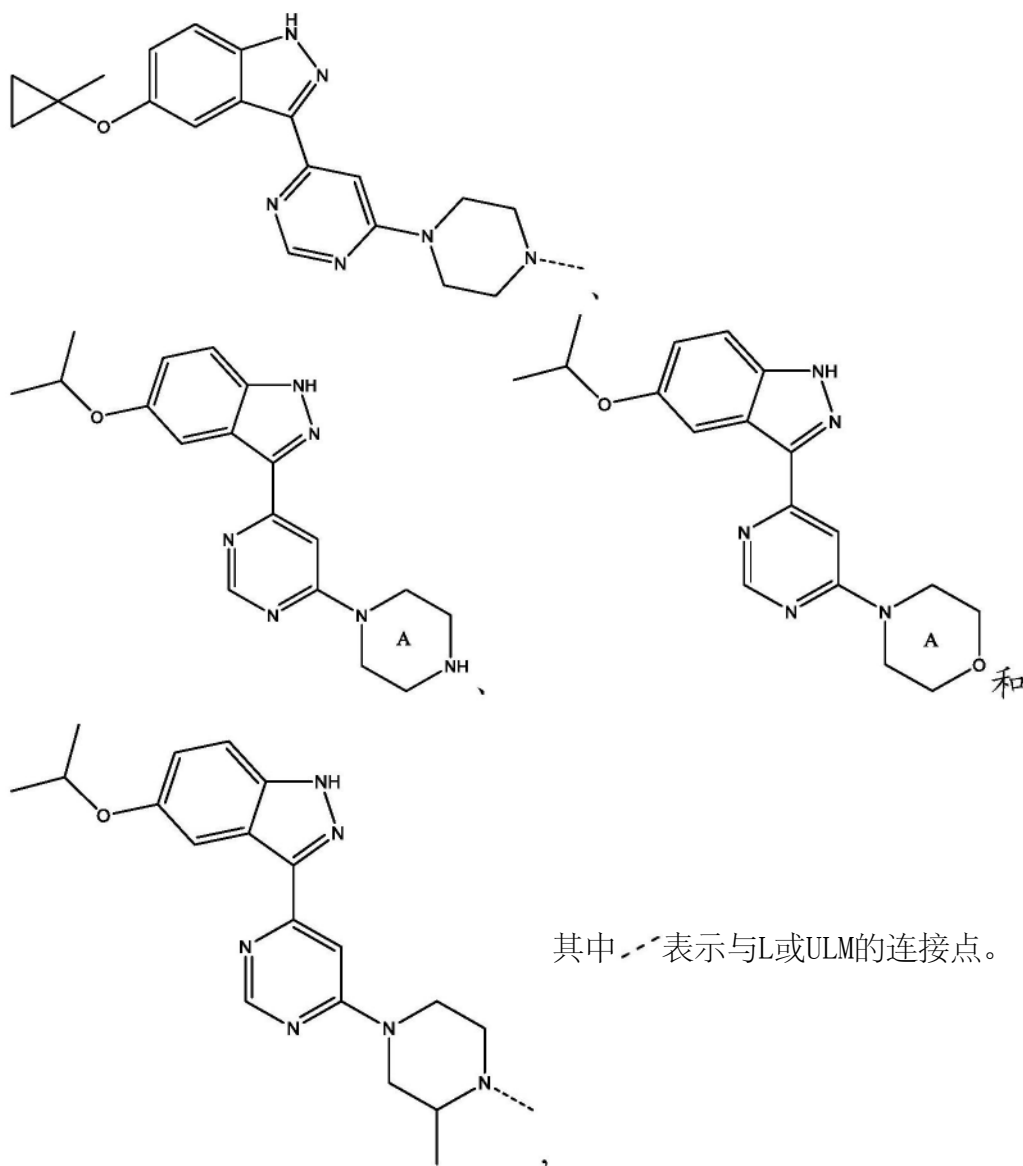
[0420]





[0421]





[0422] 治疗性组合物

[0423] 本发明还提供了药物组合物,所述药物组合物包含治疗有效量的至少一种如本文所述的双功能化合物与药学上可接受的载体、添加剂或赋形剂的组合。

[0424] 在另一方面,本说明书提供了治疗性组合物,所述治疗性组合物包含有效量的如本文所述的化合物或其盐形式,以及药学上可接受的载体、添加剂或赋形剂,以及任选的另外的生物活性剂。治疗性组合物在患者或受试者(例如,动物诸如人)中实现靶向蛋白质降解,并且可用于治疗或改善通过降解靶蛋白来调节的疾病状态或疾患。在某些实施方案中,如本文所述的治疗性组合物可用于实现蛋白质降解,以治疗或改善LRRK2介导的炎症性疾病、自身免疫性疾病或癌症。在某些另外的实施方案中,疾病是特发性PD、LRRK2突变相关PD(例如,与一种或多种LRRK2活化突变相关的PD)、原发性tau蛋白病(例如,核上性麻痹(PSP)或皮质基底节变性(CBD))、路易体痴呆、克罗恩病、麻风病(例如,具有1型炎症反应的麻风病),和/或神经炎症。

[0425] 在替代方面,本公开涉及一种用于通过降解LRRK2蛋白(例如,野生型LRRK2蛋白或LRRK2突变蛋白(例如,包括一种或多种选自G2019S、I2020T、N1437H、R1441G/C/H和Y1699C

的突变的LRRK2突变蛋白)) 来治疗有需要的受试者的疾病状态或改善疾病或疾患的一种或多种症状的方法,所述方法包括向所述患者或受试者施用有效量(例如,治疗有效量)的至少一种如本文所述的化合物,任选地与药学上可接受的载体、添加剂或赋形剂组合,并且任选地与另外的生物活性剂共同施用,其中所述组合物有效地治疗或改善受试者的疾病或病症或其一种或多种症状。根据本公开的方法可用于通过施用有效量的至少一种本文所述化合物来治疗某些疾病状态、疾患或症状,包括炎症性疾病、自身免疫性疾病或癌症。例如,根据本公开的方法可用于治疗以下一项或多项:帕金森氏病(PD)、特发性PD、LRRK2突变相关PD(例如,与一种或多种LRRK2活化突变相关的PD)、原发性tau蛋白病(例如,核上性麻痹(PSP)或皮质基底节变性(CBD))、路易体痴呆、克罗恩病、麻风病(例如,具有1型炎症反应的麻风病),和神经炎症(诸如在阿尔茨海默氏病、PD、多发性硬化症、创伤性脑损伤、脊髓损伤等中观察到的神经炎症)。

[0426] 本公开还包括药物组合物,所述药物组合物包含如本文所述的化合物的药学上可接受的盐,特别是酸或碱加成盐。用于制备根据这一方面可使用的上述化合物的药学上可接受的酸加成盐的酸是形成无毒酸加成盐的酸,所述无毒酸加成盐即含有药理学上可接受的阴离子的盐,诸如盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、乙酸盐、乳酸盐、柠檬酸盐、酸式柠檬酸盐、酒石酸盐、酒石酸氢盐、琥珀酸盐、马来酸盐、延胡索酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐、苯甲酸盐、甲烷磺酸盐、乙烷磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐[即,1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐)]等。

[0427] 药学上可接受的碱加成盐也可用于产生根据本公开的化合物的药学上可接受的盐形式。可用作制备本发明化合物的药学上可接受的碱盐的试剂的化学碱是与这些化合物形成无毒碱盐的化学碱。此类无毒碱盐包括但不限于衍生自此类药理学上可接受的阳离子的碱盐,诸如碱金属阳离子(例如,钾和钠)和碱土金属阳离子(例如,钙、锌和镁)、铵或水可溶性胺加成盐(诸如N-甲基葡萄糖胺-(葡甲胺))以及低级链烷醇铵和药学上可接受的有机胺的其他碱盐等。

[0428] 根据本公开,如本文所述的化合物可以通过口服、肠胃外或局部途径以单剂量或分剂量施用。活性化合物的施用范围可以从连续(静脉滴注)到每天几次口服施用(例如,Q.I.D.),并且可以包括经口、局部、肠胃外、肌内、静脉内、皮下、透皮(其可以包含渗透增强剂)、经颊、舌下、鼻内、眼内、鞘内、阴道和栓剂施用以及其他施用途径。如本文中所用的术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内及颅内注射或输注技术。肠溶包衣口服片剂也可用于提高化合物从口服施用途径的生物利用度。最有效的剂型将取决于所选特定剂的药代动力学以及疾病、疾患或症状的类型、部位和严重程度,以及患者的健康状况。也可以使用根据本公开的化合物作为喷雾剂、薄雾剂或气雾剂施用,用于鼻内、气管内或肺部施用。因此,本公开还涉及药物组合物,所述药物组合物包含有效量的如本文所述的化合物,任选地与药学上可接受的载体、添加剂或赋形剂组合。根据本公开的化合物可以以立即释放、中间释放或持续或控制释放形式施用。持续或控制释放形式优选口服施用,但也以栓剂和透皮或其他局部形式施用。脂质体形式或贮库制剂的肌内注射也可用于控制或维持化合物在注射部位处的释放。

[0429] 如本文所述的组合物可以使用一种或多种药学上可接受的载体以常规方式配制,也可以以控制释放制剂的形式施用。这些药物组合物中可使用的药学上可接受的载体包括

但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白(诸如人血清白蛋白)、缓冲物质(诸如磷酸盐、甘氨酸)、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质(诸如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁)、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂,以及它们的组合。

[0430] 如本文所述的组合物的无菌可注射形式可为水性或油性悬浮液。这些悬浮液可根据本领域中已知的技术,使用合适的分散剂或湿润剂和助悬剂来配制。无菌可注射制剂也可在无毒肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液,例如为在1,3-丁二醇中的溶液。在可使用的可接受媒介物和溶剂中有水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。此外,无菌、不挥发性油通常用作溶剂或悬浮介质。为达成此目的,任何温和的不挥发性油均可被使用,包括合成的单甘油酯或二甘油酯。脂肪酸诸如油酸及其甘油酯衍生物适用于注射剂的制备,如同天然的药学上可接受的油如橄榄油或蓖麻油,尤其是处于其聚氧乙烯化的形式一样。这些油溶液或悬浮液也可以含有长链醇稀释剂或分散剂,诸如Ph.Helv或类似的醇。

[0431] 如本文所述的药物组合物可以以任何口服可接受的剂型口服施用,所述剂型包括但不限于胶囊剂、片剂、水性悬浮液或溶液。在口服片剂的情况下,常用的载体包括乳糖和玉米淀粉,以及本领域已知的其他载体。对于胶囊形式的口服施用,有用的稀释剂包括乳糖和玉米淀粉。当水性悬浮液需口服时,将活性成分与乳化剂和助悬剂组合。如果需要,还可添加某些甜味剂、调味剂或着色剂。通常还添加润滑剂诸如硬脂酸镁。

[0432] 可选地,如本文所述的药物组合物可以以栓剂的形式施用以用于直肠施用。这些栓剂可以通过将剂与合适的无刺激性的赋形剂混合来制备,该赋形剂在室温下为固体但在直肠温度下为液体,并因此将在直肠中融化以释放药物。此类材料包括可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

[0433] 如本文所述的药物组合物也可以局部施用。对于局部应用,可将药物组合物配制成透皮贴剂,其可以是储库贴剂或基质贴剂,包含活性化合物与一种或多种载体、缓冲剂、吸收促进剂的组合,并提供1天至两周的连续施用。

[0434] 或者,可将本公开的药物组合物配制成含有悬浮或溶解于一种或多种载体中的活性组分的合适软膏剂。用于本公开化合物的局部施用的载体包括但不限于矿物油、液体凡士林、白凡士林、丙二醇、聚氧乙烯、聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。

[0435] 或者,可将本公开的药物组合物配制成含有悬浮或溶解于一种或多种药学上可接受的载体中的活性组分的合适洗剂或霜剂。合适的载体包括但不限于矿物油、单硬脂酸脱水山梨糖醇酯、聚山梨酯60、鲸蜡基酯蜡、鲸蜡硬脂醇、2-辛基十二烷醇、苧醇和水。

[0436] 或者,可将本公开的药物组合物配制用于眼科应用。例如,可将药物组合物在等渗的、pH调节的无菌盐水中配制成微粉化悬浮液,或者优选地,在使用或不使用诸如氯苧烷铵的防腐剂的情况下,在等渗的、pH调节的无菌盐水中配制成溶液。可选地,对于眼科应用而言,可将药物组合物配制成诸如凡士林的软膏。

[0437] 如本文所述的药物组合物也可以通过鼻气雾剂或吸入来施用。根据药物配制领域中熟知的技术制备此类组合物,并且可采用苧醇或其他合适的防腐剂、增强生物利用率的吸收促进剂、碳氟化合物和/或其他常规增溶或分散剂将此类组合物制备成在生理盐水中

的溶液。

[0438] 在如本文所述的药物组合物中可与载体材料组合以产生单一剂型的活性药物成分的量将根据受试者的状况和所治疗的疾病、疾患或症状、特定的施用方式以及受试者的情况而变化。优选地,组合物应配制成含有单独或与根据本公开的另一种化合物组合的介于约0.05毫克和约750毫克或更多之间,更优选约1毫克至约600毫克,并且甚至更优选约10毫克至约500毫克的活性成分。

[0439] 还应当理解,对任何特定患者的具体剂量和治疗方案将取决于多个因素,包括所用具体化合物的活性和生物利用率、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用时间、排泄率、药物组合、治疗医生的判断和进行治疗的特定疾病或疾患的严重程度。

[0440] 需要使用根据本文所述方法的化合物的治疗的患者或受试者可以取决于根据本公开的化合物的药学上可接受的盐或溶剂合物,通过向患者(受试者)施用有效量的根据本公开的化合物,任选地在药学上可接受的载体或稀释剂中单独或与另一种已知的治疗剂组合来治疗。

[0441] 在某些方面,活性化合物与药学上可接受的载体或稀释剂以足以向患者递送用于所需适应症的治疗有效量而不会对所治疗的患者造成过度程度的严重毒性作用的量组合。对于本文提及的所有疾患,活性化合物的优选剂量在约10纳克/千克(ng/kg)至300毫克/千克(mg/kg)的范围内,优选为每天0.1至100 mg/kg ,更一般地为每天每千克接受者/患者体重0.5至约25 mg 。典型的局部剂量范围将为在合适的载体中0.01-5%wt/wt。

[0442] 在某些方面,化合物以任何合适的单位剂量形式方便地施用,包括但不限于每单位剂量形式含有小于1毫克(mg)、1 mg 至3000 mg 或5 mg 至500 mg 活性成分的剂量形式。约25 mg -250 mg 的口服剂量通常是方便的。

[0443] 在某些方面,优选施用活性成分以实现约0.00001-30毫摩尔(mM),优选约0.1-30微摩尔(μM)的活性化合物的峰值血浆浓度。这可以例如通过静脉内注射活性成分(任选地在盐水或水性介质中)的溶液或制剂,或以活性成分的推注施用来实现。口服施用也可能适合于产生活性剂的有效血浆浓度。

[0444] 药物组合物中活性化合物的浓度将取决于药物的吸收、分布、失活和排泄速率以及本领域技术人员已知的其他因素。需要注意的是,剂量值也将随着要缓解的疾患的严重程度而变化。应进一步理解,对于任何特定受试者,具体的剂量方案应根据个体需要和施用或监督组合物施用的人的专业判断随时间来调整,并且本文阐述的浓度范围仅为示例性的,并不旨在限制要求保护的组合物的范围或实践。活性成分可以一次施用,或者可以分成多个较小的剂量以不同的时间间隔施用。

[0445] 口服组合物通常将包括惰性稀释剂或可食用载体。它们可以封装在明胶胶囊中或压制成片剂。出于口服治疗施用的目的,活性化合物或其前药衍生物可以与赋形剂合并并且以片剂、锭剂或胶囊的形式使用。可以包含药学上相容的粘合剂和/或佐剂材料作为组合物的一部分。

[0446] 片剂、丸剂、胶囊、锭剂等可以含有以下成分中的任一者或具有类似性质的化合物:粘合剂,诸如微晶纤维素、黄蓍胶或明胶;赋形剂,诸如淀粉或乳糖;分散剂,诸如海藻酸、Primogel或玉米淀粉;润滑剂,诸如硬脂酸镁或Sterotes;助流剂,诸如胶体二氧化硅;甜味剂,诸如蔗糖或糖精;或调味剂,诸如薄荷、水杨酸甲酯或橙子调味剂。当剂量单位形式

是胶囊时,除以上类型的材料之外,它还可以含有液体载体,诸如脂肪油。此外,剂量单位形式可以含有改变剂量单位的物理形式的各种其他材料,例如糖、虫胶或肠溶剂的包衣。

[0447] 活性化合物或其药学上可接受的盐可以作为酞剂、悬浮液、糖浆剂、圆片(wafer)、口香糖等的组分施用。除活性化合物之外,糖浆剂还可以含有蔗糖(作为甜味剂)和某些防腐剂、染料和着色剂以及调味剂。

[0448] 活性化合物或其药学上可接受的盐也可以与不损害所需作用的其他活性材料混合,或与补充所需作用的材料混合,诸如本文中所述的抗癌剂等。在本公开的某些优选方面,一种或多种根据本公开的化合物与另一种生物活性剂共同施用,诸如抗癌剂或伤口愈合剂,包括抗生素,如本文另外描述的。

[0449] 用于肠胃外、皮内、皮下或局部施用的溶液或悬浮液可以包括以下组分:无菌稀释剂,诸如注射用水、盐水溶液、不挥发油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶剂;抗菌剂,诸如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,诸如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,诸如乙二胺四乙酸;缓冲剂,诸如醋酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐,以及用于调节张力的剂,诸如氯化钠或右旋糖。肠胃外制剂可以封装在由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0450] 如果静脉内施用,优选的载体是生理盐水或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。

[0451] 在任何方面或实施方案中,将活性化合物与将防止化合物从体内快速消除的载体一起制备,诸如包含植入物和微囊化递送系统的控制释放制剂。可以使用可生物降解的生物相容性聚合物,诸如乙烯醋酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯和聚乳酸。用于制备此类制剂的方法对本领域技术人员将是显而易见的。

[0452] 脂质体悬浮液也可以是药学上可接受的载体。这些可以根据本领域技术人员已知的方法来制备,例如,如美国专利号4,522,811(其以引用的方式整体并入本文)中所述。例如,脂质体制剂可以通过以下方式来制备:将适当的一种或多种脂质(诸如硬脂酰磷脂酰乙醇胺、硬脂酰磷脂酰胆碱、花生酰磷脂酰胆碱和胆固醇)溶解在无机溶剂中,接着蒸发,在容器的表面留下干燥的脂质薄膜。接着将活性化合物的水溶液引入容器中。接着用手涡旋容器以从容器的侧面释放脂质材料并分散脂质聚集体,从而形成脂质体悬浮液。

[0453] 治疗方法

[0454] 在另一方面,本说明书提供了治疗方法,所述治疗方法包括施用有效量的如本文所述的化合物或其盐形式,以及药学上可接受的载体。治疗方法可用于在有需要的患者或受试者(例如,动物诸如人)中实现蛋白质降解,用于治疗或改善可通过靶向蛋白质降解来治疗的疾病状态、疾患或相关症状。

[0455] 如本文所用,术语“治疗(treat)”、“治疗(treating)”和“治疗(treatment)”等是指向可以施用本发明化合物的患者提供益处的任何动作,包括治疗与本发明化合物结合的蛋白质有关的任何疾病状态、疾患或症状。上文阐述了可以使用根据本公开的化合物治疗的疾病状态或疾患,包括癌症。

[0456] 本说明书提供了用于实现目标蛋白质降解的治疗方法,用于治疗或改善疾病,例如帕金森氏病(PD)、原发性tau蛋白病、路易体痴呆、克罗恩病、麻风病和/或神经炎症(诸如描述于在任何方面或实施方案中,所述疾病是特发性PD、LRRK2突变相关PD(例如,与一种或多种LRRK2活化突变相关的PD)、PSP、CBD、具有1型炎症反应的麻风病、阿尔茨海默氏病、PD、

多发性硬化症、创伤性脑损伤和/或脊髓损伤。因此,在另一方面,本说明书提供了泛素化/降解细胞中的靶蛋白的方法。在某些实施方案中,所述方法包括施用本发明的双功能化合物。如本公开所提供的受试者细胞中特定蛋白质水平的控制或降低提供疾病状态、疾患或症状的治疗。在任何方面或实施方案中,所述方法包括施用有效量的如本文所述的化合物,任选地包括药学上可接受的赋形剂、载体、佐剂、另一种生物活性剂或它们的组合。

[0457] 在另外的实施方案中,本说明书提供了用于治疗或改善受试者或患者(例如,动物诸如人)的疾病、病症或其症状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用包含有效量(例如,治疗有效量)的如本文所述的化合物或其盐形式和药学上可接受的赋形剂、载体、佐剂、另一种生物活性剂或它们的组合的组合物,其中所述组合物有效地治疗或改善受试者的疾病或病症或其症状。

[0458] 在另一方面,本说明书提供了用于鉴定使用根据本公开的化合物在生物系统中降解目标蛋白质的效果的方法。

[0459] 在另一方面,本说明书提供了用于制备可导致细胞内LRRK2降解的分子的方法,所述方法包括以下步骤:(i)提供结合至LRRK2或其突变形式的小分子;(ii)提供E3泛素连接酶结合部分(ULM),优选CLM,诸如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或其类似物;以及(iii)通过化学连接基团(L)将步骤(i)的小分子与步骤(ii)的ULM共价偶联,以形成与细胞中的cereblon E3泛素连接酶和LRRK2蛋白和/或突变形式结合的化合物,使得cereblon E3泛素连接酶接近并泛素化与其结合的LRRK2蛋白,从而使泛素化的LRRK2随后被降解。

[0460] 在另一方面,本说明书提供了用于检测分子是否可以触发细胞中LRRK2蛋白降解的方法,所述方法包括以下步骤:(i)提供触发细胞中LRRK2蛋白降的能力有待检测的分子,所述分子包含以下结构:CLM-L-PTM,其中CLM是能够结合细胞中的cereblon E3泛素连接酶的cereblon E3泛素连接酶结合部分,所述CLM是沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或其类似物;PTM是蛋白质靶向部分,其是结合至LRRK2和/或其突变LRRK形式的小分子,所述LRRK2具有至少一个可以被结合此分子的CLM的cereblon E3泛素连接酶泛素化的赖氨酸残基;并且L是化学连接基团,其将CLM与PTM共价连接以形成分子;(ii)在步骤(i)的分子存在下孵育表达LRRK2蛋白的细胞;以及(iii)检测细胞中的LRRK2蛋白是否被降解。

[0461] 在本文所述的任何方面或实施方案中,能够结合LRRK2的小分子是结合LRRK2的小分子。在某些实施方案中,结合LRRK2的小分子如本文所述。

[0462] 在所述治疗的另一方面,本公开提供了一种治疗需要对与LRRK2和/或LRRK2突变形式、表达、过表达、突变、聚集、积累、错误折叠或失调有因果关系的疾病状态、疾患或症状进行所述治疗的人患者的方法,其中LRRK2蛋白的降解将在患者中产生治疗效果,所述方法包括向患者施用有效量的根据本公开的化合物,任选地与另一种生物活性剂组合。

[0463] 在所述治疗的另一方面,本公开提供了一种治疗需要对与 α -突触核蛋白表达、过表达、突变、聚集、积累、错误折叠或失调有因果关系的疾病状态、疾患或症状进行所述治疗的人患者的方法,其中LRRK2蛋白和/或其突变形式的降解将在患者中产生治疗效果,所述方法包括向患者施用有效量的根据本公开的化合物,任选地与另一种生物活性剂组合。

[0464] 在所述治疗的另一方面,本公开提供了一种治疗需要对与 α -突触核蛋白表达、过表达、突变、聚集、错误折叠或失调有因果关系的疾病状态、疾患或症状进行所述治疗的人患者的方法,其中LRRK2蛋白和/或其突变形式的降解将在患者中产生治疗效果,所述方法

包括向患者施用有效量的根据本公开的化合物,任选地与另一种生物活性剂组合。

[0465] 在所述治疗的另一方面,本公开提供了一种治疗需要对与Tau表达、过表达、突变、聚集、错误折叠或失调有因果关系的疾病状态、疾患或症状进行所述治疗的人患者的方法,其中LRRK2蛋白和/或其突变形式的降解将在患者中产生治疗效果,所述方法包括向患者施用有效量的根据本公开的化合物,任选地与另一种生物活性剂组合。

[0466] 疾病状态、疾患或症状可能是由微生物因子或其他外源性因子诸如病毒、细菌、真菌、原生动物或其他微生物引起的,或者可能是由导致疾病状态、疾患或症状的蛋白质的表达、过表达、突变、错误折叠或失调引起的疾病状态。

[0467] 在另一方面,本公开提供了一种治疗或改善受试者的疾病或疾患的至少一种症状的方法,所述方法包括以下步骤:

[0468] 提供被鉴定为具有与受试者中LRRK2蛋白和/或其突变形式的表达、过表达、突变、错误折叠或失调有因果关系的疾病或疾患的症状的受试者,并且通过降解受试者细胞中的LRRK2蛋白和/或其突变形式来治疗或改善疾病或疾患的症状;以及向受试者施用治疗有效量的包含本发明小分子的化合物,使得LRRK2蛋白和/或其突变形式被降解,从而治疗或改善受试者的疾病或疾患的至少一种症状。

[0469] 术语“疾病状态或疾患”用于描述其中发生蛋白质表达过表达、突变、错误折叠或失调(例如,患者中表达的蛋白质的量升高)以及其中LRRK2蛋白质和/或其突变形式降解以降低或稳定患者中LRRK2蛋白(无论是否突变)的水平为有需要的患者提供有益的治疗或症状缓解的任何疾病状态或疾患。在某些情况下,可以治愈疾病状态、疾患或症状。

[0470] 可以使用根据本公开的化合物治疗的疾病状态、疾患或症状包括,例如,帕金森氏病(PD)、特发性PD、LRRK2突变相关PD(例如,与一种或多种LRRK2活化突变相关的PD)、原发性tau蛋白病(例如,核上性麻痹(PSP)或皮质基底节变性(CBD))、路易体痴呆、克罗恩病、麻风病(例如,具有1型炎症反应的麻风病),和/或神经炎症(诸如在阿尔茨海默氏病、PD、多发性硬化症、创伤性脑损伤、脊髓损伤等中观察到的神经炎症)。

[0471] 术语“生物活性剂”用于描述除根据本公开的化合物之外的剂,其与本发明化合物组合用作具有生物活性的剂以帮助实现使用本发明化合物进行的预期治疗、抑制和/或预防/防治。用于本文的优选生物活性剂包括具有与使用或施用本发明化合物相似的药理活性的那些剂,并且包括例如抗癌剂、抗病毒剂,尤其包括抗HIV剂和抗HCV剂、抗菌剂、抗真菌剂等。

[0472] 术语“另外的抗自身免疫性疾病剂”用于描述抗自身免疫性疾病的的治疗剂,其可以与根据本公开的化合物组合以治疗自身免疫性疾病。这些剂包括例如英夫利昔单抗、托法替尼、巴瑞替尼、苏金单抗、阿达木单抗、依那西普、戈利木单抗、赛妥珠单抗、抗增殖药物(例如,吗替麦考酚酯)和皮质类固醇。

[0473] 术语“药学上可接受的衍生物”在整个说明书中用于描述任何药学上可接受的前药形式(诸如酯、酰胺其他前药基团),其在施用于患者时直接或间接地提供本发明化合物或本发明化合物的活性代谢物。

[0474] 实施例

[0475] 缩写

[0476] ACN 乙腈

[0477]	AcOH	乙酸
[0478]	Boc	叔丁氧羰基
[0479]	dba	二亚苄基丙酮
[0480]	DBU	1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯
[0481]	DCM	二氯甲烷
[0482]	DMA	二甲基乙酰胺
[0483]	DME	二甲氧基乙烷
[0484]	DMF	二甲基甲酰胺
[0485]	DMSO	二甲亚砜
[0486]	DMAC/DMA	二甲基乙酰胺
[0487]	DIEA	N,N-二异丙基乙胺
[0488]	EDTA	乙二胺四乙酸
[0489]	EtOAc/EA	乙酸乙酯
[0490]	EtOH	乙醇
[0491]	FA	甲酸
[0492]	HPLC	高压液相色谱法
[0493]	Hz	赫兹
[0494]	IBX	2-碘酰基苯甲酸
[0495]	LAH	氢化铝锂
[0496]	LCMS	液相色谱法/质谱法
[0497]	LiHMDS	双(三甲基甲硅烷基)酰胺锂
[0498]	MHz	兆赫
[0499]	NBS	N-溴代琥珀酰亚胺
[0500]	NCS	N-氯代琥珀酰亚胺
[0501]	NMR	核磁共振
[0502]	NMP	N-甲基-2-吡咯烷酮
[0503]	MeOH	甲醇
[0504]	MPLC	中压液相色谱法
[0505]	MTBE	甲基叔丁基醚
[0506]	PE	石油醚
[0507]	Psi	磅力每平方英寸
[0508]	RT或r.t.	室温
[0509]	SFC	超临界流体色谱法
[0510]	TEA	三乙胺
[0511]	THF	四氢呋喃
[0512]	TFA	三氟乙酸
[0513]	TLC	薄层色谱法
[0514]	TMS	三甲基硅烷基
[0515]	<u>一般合成方法</u>	

[0516] 如本文所述的双功能分子的合成实现和优化可以按逐步或模块化方式进行。例如,如果没有合适的配体立即可用,则鉴定与靶蛋白(即LRRK2)结合的化合物可能涉及高通量或中等通量的筛选活动。初始配体需要迭代设计和优化循环,以改善如通过来自合适的体外和药理学和/或ADMET测定的数据鉴定的次优方面,这并不罕见。优化/SAR活动的一部分将是探测配体的耐受取代且可能是连接本文前面提到的化学连接基团的合适位置的位置。在可获得晶体学或NMR结构数据的情况下,这些数据可用于集中这种合成工作。

[0517] 以一种非常类似的方式,可以鉴定和优化E3连接酶的配体。

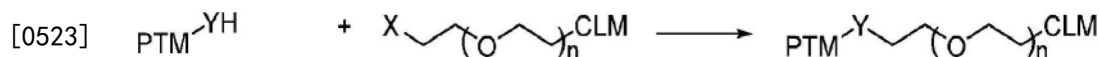
[0518] 有了PTM和ULM(例如,CLM),本领域技术人员可以使用已知的合成方法将它们与或不与一个或多个化学连接基团组合。可以合成具有一定范围的组成、长度和柔性的一个或多个化学连接基团,并对其进行功能化,使得PTM和ULM基团可以依序连接至接头的远端。因此,可以在体外和体内药理学和ADMET/PK研究中实现和分析双功能分子文库。与PTM和ULM基团一样,最终的双功能分子可以进行迭代设计和优化循环,以便鉴定具有所需特性的分子。

[0519] 在某些情况下,可能需要保护基策略和/或官能团互变(FGI)以促成所需物质的制备。这样的化学过程对于合成有机化学家来说是众所周知的,并且其中许多可以在诸如“Greene’s Protective Groups in Organic Synthesis”Peter G.M.Wuts和Theodora W.Greene(Wiley)以及“Organic Synthesis:The Disconnection Approach”Stuart Warren和Paul Wyatt(Wiley)等文本中找到。

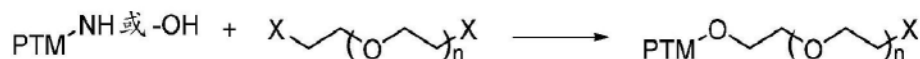
[0520] 合成程序

[0521] 一般合成方案

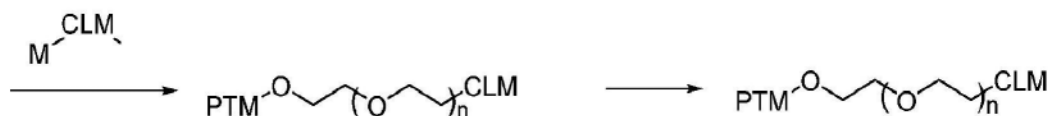
[0522] 方案1:



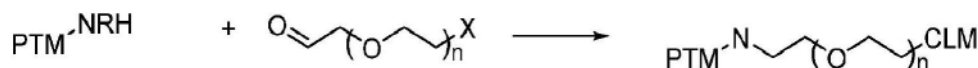
[0524] 方案2:



[0525]



[0526] 方案3:



[0527] X表示合适的离去基团(例如, OTs、OMs、Cl、Br等)

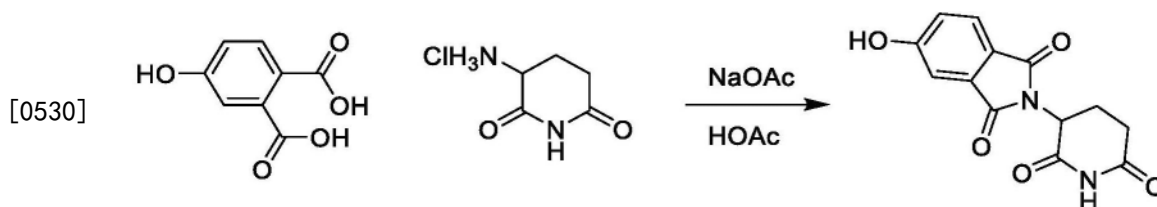
Y表示伯胺或仲胺或伯醇或仲醇

M表示TLM的金属化型式(Na^+ 、 Cs^+ 、 Li^+ 等)

PG表示合适的保护基

[0528] 中间体1,2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-羟基-异吲哚啉-1,3-二酮的示例性合成

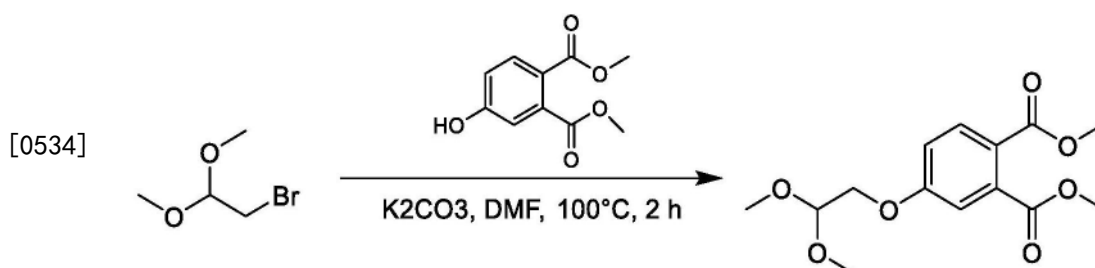
[0529] 步骤1



[0531] 向3-氨基吡啶-2,6-二酮(4.1g, 24.7mmol, 1.50当量, HCl盐)在乙酸(45mL)中的溶液中添加乙酸钠(4.1g, 49.4mmol, 3.00当量),接着将混合物在25℃下搅拌1h。接着将4-羟基邻苯二甲酸(3.0g, 16.5mmol, 1.00当量)添加到混合物中并加热至120℃,再搅拌11h。LCMS显示检测到所需MS并且反应完全。将混合物浓缩,接着倒入水(20mL)中,并接着过滤。将粗产物通过柱色谱法纯化(二氯甲烷:甲醇=50:1至10:1),得到呈无色固体的2-(2,6-二氧代-3-吡啶基)-5-羟基-异吲哚啉-1,3-二酮(3.9g, 14.3mmol, 86%收率)。

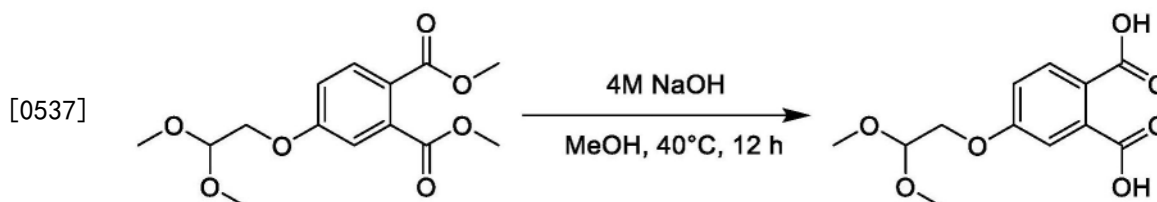
[0532] 中间体2,2-[2-(2,6-二氧代-3-吡啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙醛的示例性合成

[0533] 步骤1



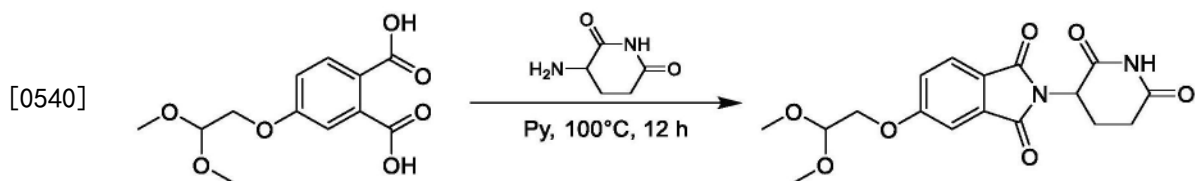
[0535] 向2-溴-1,1-二甲氧基-乙烷(3.22g, 19.04mmol, 2当量)在二甲基甲酰胺(20mL)中的溶液中添加碳酸钾(3.95g, 28.56mmol, 3当量)和4-羟基苯-1,2-二甲酸二甲酯(2g, 9.52mmol, 1当量)。将混合物在100℃下搅拌3小时。LCMS指示4-羟基苯-1,2-二甲酸酯被完全消耗并且形成了一个新的斑点。将反应混合物在25℃下通过水(200mL)淬灭,并接着用乙酸乙酯(50mL X 3)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL X 3)洗涤,经无水硫酸镁干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法纯化(石油醚:乙酸乙酯=15:1至8:1)。得到呈黄色油状物的化合物4-(2,2-二甲氧基乙氧基)苯-1,2-二甲酸二甲酯(2.64g, 8.85mmol, 92%收率)。

[0536] 步骤2



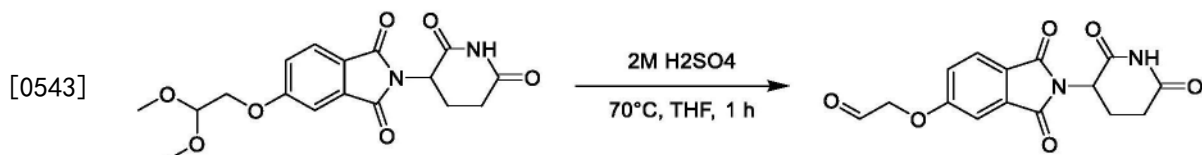
[0538] 向4-(2,2-二甲氧基乙氧基)苯-1,2-二甲酸二甲酯(2.64g, 8.86mmol, 1当量)在甲醇(20mL)中的溶液中添加氢氧化钠(4M, 4.43mL, 2当量)。将混合物在40℃下搅拌12小时。将反应混合物在20℃下通过盐酸(20mL)淬灭,接着用水(100mL)稀释并用乙酸乙酯(50mL X 3)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL X 3)洗涤,经无水硫酸镁干燥,过滤并在减压下浓缩。将粗产物不经进一步纯化即用于下一步骤。得到呈黄色油状物的化合物4-(2,2-二甲氧基乙氧基)邻苯二甲酸(2.2g, 8.14mmol, 91%收率)。

[0539] 步骤3



[0541] 向4-(2,2-二甲氧基乙氧基)邻苯二甲酸(2.2g, 8.14mmol, 1当量)在吡啶(10mL)中的溶液中添加3-氨基哌啶-2,6-二酮(2.01g, 12.21mmol, 1.5当量, 盐酸盐)。将混合物在100℃下搅拌12小时。将反应混合物在减压下浓缩以去除吡啶(10mL)。将残余物用水(200mL)稀释并用乙酸乙酯(50mL X 3)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL X 3)洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到残余物。将残余物通过柱色谱法纯化(石油醚/乙酸乙酯=10:1至3:1)。获得呈黄色油状物的化合物5-(2,2-二甲氧基乙氧基)-2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(1.6g, 4.20mmol, 51%收率, 95%纯度)。

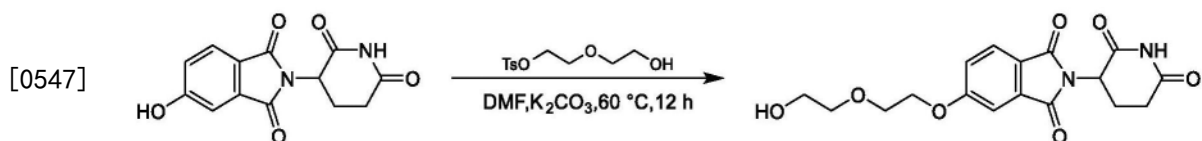
[0542] 步骤4



[0544] 向5-(2,2-二甲氧基乙氧基)-2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(192mg, 0.53mmol, 1当量)在四氢呋喃(10mL)中的溶液中添加硫酸(2M, 10.6mL, 40当量), 并将混合物在70℃下搅拌1小时。将反应混合物通过在20℃下添加碳酸氢钠(5mL)来淬灭, 接着用水(50mL)稀释并用乙酸乙酯(20mL X 3)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL X 3)洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并在减压下浓缩。将粗产物不经进一步纯化即用于下一步骤。获得呈白色固体的化合物2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙醛(160mg, 0.50mmol, 95%收率)。

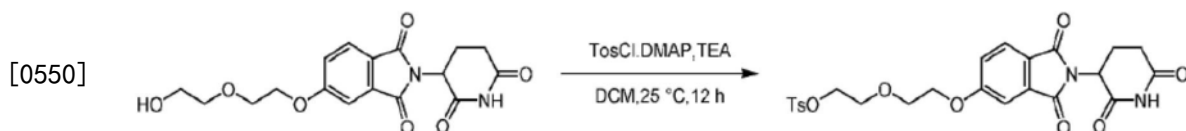
[0545] 中间体3,4-甲基苯磺酸2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙酯的示例性合成

[0546] 步骤1



[0548] 向2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-羟基-异吲哚啉-1,3-二酮(300mg, 1.09mmol, 1当量)和4-甲基苯磺酸2-(2-羟基乙氧基)乙酯(341mg, 1.31mmol, 1.2当量)在N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中的溶液中添加碳酸钾(302mg, 2.19mmol, 2当量)。将混合物在60℃下搅拌12小时。LCMS显示反应完全。将混合物用水(10mL)稀释并用二氯甲烷(10mL x 3)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL x 2)洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过柱色谱法纯化(二氯甲烷:甲醇=1:0至50:1), 得到呈黄色油状物的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-(2-羟基乙氧基)乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(400mg)。

[0549] 步骤2

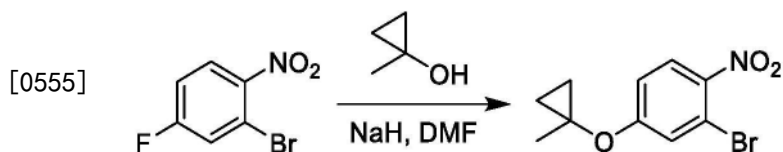


[0551] 向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-(2-羟基乙氧基)乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(400mg, 1.10mmol, 1当量)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中添加对甲苯磺酰氯(315mg, 1.66mmol, 1.5当量)、4-二甲氨基吡啶(13mg, 0.11mmol, 0.1当量)和三乙胺(335mg, 3.31mmol, 3当量)。将混合物在25℃下搅拌12小时。LCMS显示反应完全。将混合物用水(10mL)稀释并用二氯甲烷(10mL x 3)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL x 2)洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过制备型反相薄层色谱法纯化(二氯甲烷:甲醇=20:1),得到呈无色油状物的4-甲基苯磺酸2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙酯(150mg, 0.29mmol, 26%收率)。

[0552] 以与4-甲基苯磺酸2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙酯类似的方式制备相关中间体4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙酯、4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙酯和4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙酯。

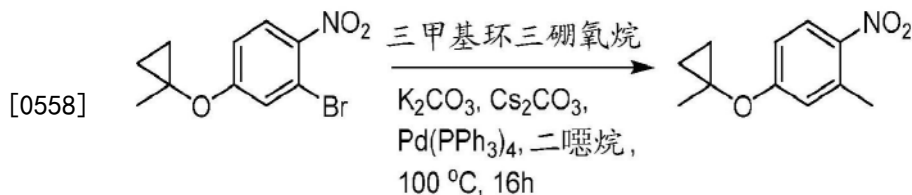
[0553] 示例性化合物1的示例性合成

[0554] 步骤1



[0556] 在0℃在N₂下向2-溴-4-氟-1-硝基-苯(16.78g, 76.28mmol, 1.1当量)和1-甲基环丙醇(5g, 69.34mmol, 1当量)在DMF(160mL)中的溶液中一次性添加NaH(4.16g, 104.01mmol, 矿物油中60%, 1.5当量)。接着将混合物加热至20℃并搅拌4小时。TLC显示有新的斑点。将残余物倒入水(200mL)中并搅拌10min。将水相用乙酸乙酯(3x 300mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 200mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(100-200目硅胶,石油醚中的0-2%乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的2-溴-4-(1-甲基环丙氧基)-1-硝基-苯(14.3g, 52.56mmol, 75.79%收率)。

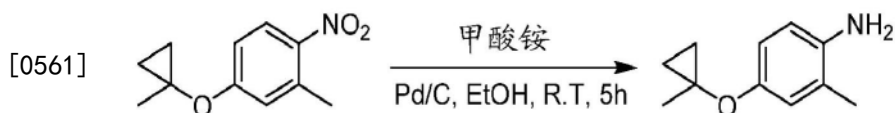
[0557] 步骤2



[0559] 在20℃下向2-溴-4-(1-甲基环丙氧基)-1-硝基-苯(14.3g, 52.56mmol, 1当量)、K₂CO₃(14.53g, 105.11mmol, 2当量)和Cs₂CO₃(17.12g, 52.56mmol, 1当量)在1,4-二噁烷(100mL)中的混合物中添加2,4,6-三甲基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三硼烷(32.99g, 131.39mmol, 36.73mL, EtOAc中50%纯度, 2.5当量)和Pd(PPh₃)₄(6.07g, 5.26mmol, 0.1当量)。

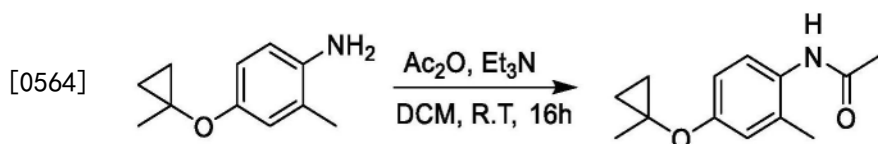
量)),接着加热至100℃并搅拌16小时,得到黄色溶液。TLC显示反应完全。将反应物冷却至20℃并在真空中浓缩。向该残余物中添加PE:EtOAc (10:1,100mL),并将混合物通过二氧化硅垫过滤。将滤垫用石油醚:EtOAc (10:1,1000mL)溶剂洗涤。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶,石油醚中的0-1%乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的2-甲基-4-(1-甲基环丙氧基)-1-硝基-苯(11g,粗品)。

[0560] 步骤3



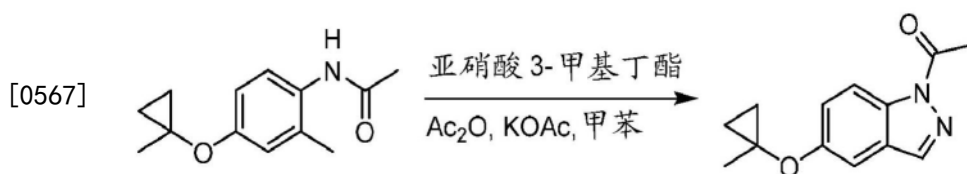
[0562] 在20℃在N₂下向2-甲基-4-(1-甲基环丙氧基)-1-硝基-苯(11g,53.08mmol,1当量)在EtOH(100mL)中的混合物中一次性添加10%Pd/C(4g,5.31mmol,0.1当量)和甲酸铵(40.17g,636.99mmol,12当量)。将混合物在20℃下搅拌2h,得到黑色混合物。TLC显示反应完全。将混合物通过硅胶垫过滤,用EtOAc(3x 200mL)洗涤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚中的0-10%乙酸乙酯),得到呈红色油状物的2-甲基-4-(1-甲基环丙氧基)苯胺(9.8g,粗品)。

[0563] 步骤4



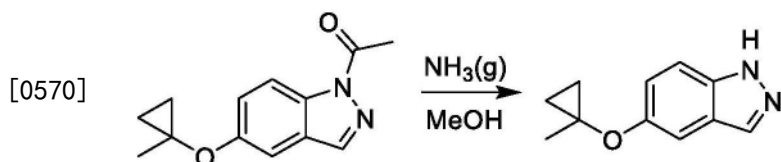
[0565] 在0℃在N₂下向2-甲基-4-(1-甲基环丙氧基)苯胺(9.8g,55.29mmol,1当量)和Et₃N(13.99g,138.23mmol,19.24mL,2.5当量)在DCM(100mL)中的混合物中一次性添加Ac₂O(11.29g,110.58mmol,10.36mL,2当量)。将混合物在0℃下搅拌30min,接着加热至20℃并搅拌16小时。TLC显示反应完全。将反应用饱和NaHCO₃水溶液(30mL)淬灭,以调节pH=7-8并用DCM(3x 50mL)萃取。将合并的有机相用盐水(3×50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚中的20%-40%乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的N-[2-甲基-4-(1-甲基环丙氧基)苯基]乙酰胺(9.3g,42.41mmol,76.71%收率)。

[0566] 步骤5



[0568] 在20℃下向N-[2-甲基-4-(1-甲基环丙氧基)苯基]乙酰胺(9.3g,42.41mmol,1当量)在甲苯(100mL)中的溶液中添加KOAc(6.24g,63.62mmol,1.5当量)和Ac₂O(19.92g,195.09mmol,18.27mL,4.6当量),将溶液加热至80℃,接着逐滴添加亚硝酸3-甲基丁酯(19.87g,169.65mmol,22.84mL,4当量)。添加后,将混合物在80℃下搅拌2h。TLC显示反应完全。接着过滤反应物,将湿滤饼用EtOAc(70mL)洗涤,并将滤液在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶,石油醚中的0-10%乙酸乙酯),得到呈黄色固体的1-[5-(1-甲基环丙氧基)吲唑-1-基]乙酮(8g,粗品)。

[0569] 步骤6



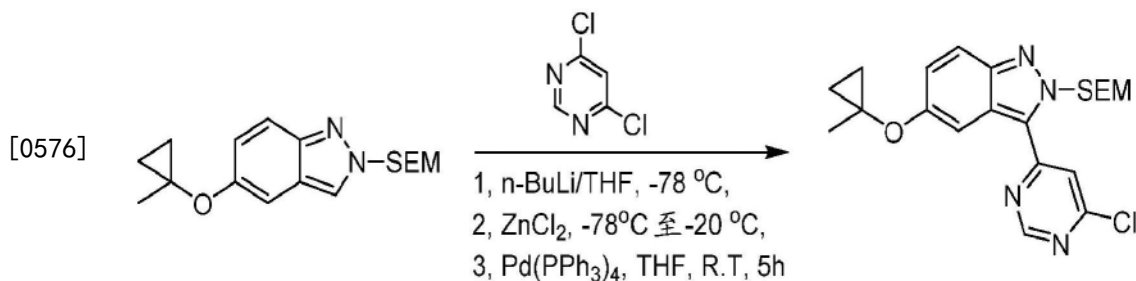
[0571] 在20℃下向1-[5-(1-甲基环丙氧基)吡唑-1-基]乙酮(8g, 34.74mmol, 1当量)在MeOH(80mL)中的混合物中一次性添加NH₃(g)/MeOH(7M, 24.82mL, 5当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时, 得到黄色溶液。TLC显示反应完全。将溶液在真空中浓缩, 得到呈黄色固体的5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(7.8g, 粗品)。

[0572] 步骤7



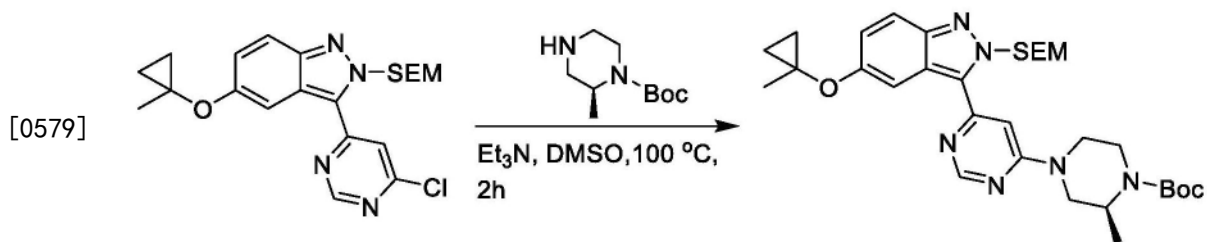
[0574] 在20℃下向5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(7.8g, 41.44mmol, 1当量)在THF(80mL)中的混合物中一次性添加N-二环己基甲胺(10.52g, 53.87mmol, 1.3当量)和SEM-Cl(8.29g, 49.73mmol, 8.80mL, 1.2当量)。将混合物在20℃下搅拌16小时, 得到橙色溶液。TLC显示反应完全。将残余物倒入水(60mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x50 mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x50 mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, 石油醚中的0-10%乙酸乙酯), 得到呈黄色油状物的三甲基-[2-[[5-(1-甲基环丙氧基)吡唑-2-基]甲氧基]乙基]硅烷(5.4g, 16.96mmol, 40.92%收率)。

[0575] 步骤8



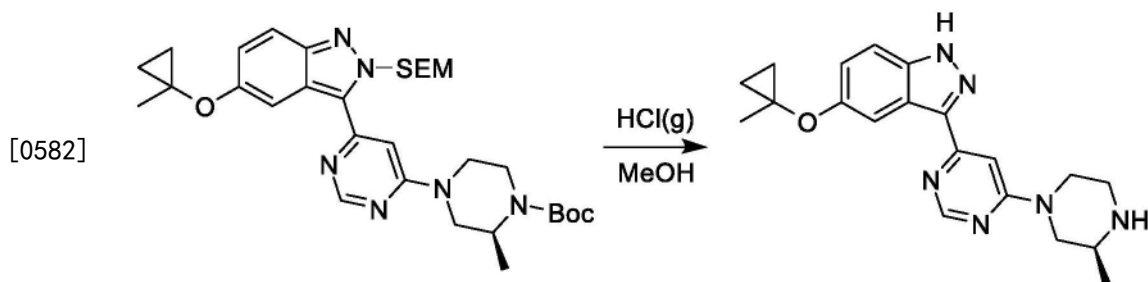
[0577] 在-70℃在N₂下向三甲基-[2-[[5-(1-甲基环丙氧基)吡唑-2-基]甲氧基]乙基]硅烷(4.36g, 13.70mmol, 5.32e-1当量)在THF(6mL)中的混合物中逐滴添加n-BuLi(2.5M, 13.40mL, 1.3当量)。接着将混合物在-20℃下搅拌1h, 并在-70℃下逐滴添加ZnCl₂溶液(0.7M, 55.20mL, 1.5当量)。将混合物在-40℃下搅拌1h。将4,6-二氯嘧啶(4.22g, 28.34mmol, 1.1当量)和Pd(PPh₃)₄(1.49g, 1.29mmol, 0.05当量)在THF(4mL)中的混合物在20℃下搅拌1h并添加到该溶液中。去除冷浴, 将混合物在20℃下搅拌16h, 得到黄色溶液。TLC显示有起始物质残留, 同时形成了一些新的斑点。将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 20mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, 石油醚中的0-10%乙酸乙酯), 得到呈黄色油状物的2-[[3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-(1-甲基环丙氧基)吡唑-2-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(2.9g, 粗品)。

[0578] 步骤9



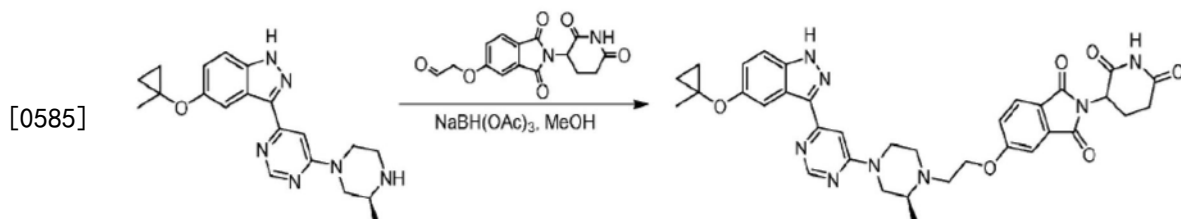
[0580] 向2-[[3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-(1-甲基环丙氧基)呋唑-2-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(500mg, 1.16mmol, 1当量)和(2S)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(697.02mg, 3.48mmol, 3当量)在DMSO(5mL)中的混合物中一次性添加 Et_3N (704.34mg, 6.96mmol, 968.82uL, 6当量),接着将混合物在100℃下搅拌1h。TLC显示反应完全。将混合物冷却至20℃。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 5mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 5mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩,得到呈黄色油状物的(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-2-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)呋唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(802mg,粗品)。

[0581] 步骤10



[0583] 在25℃下向(2S)-2-甲基-4-[6-[5-[(1-甲基环丙基)甲基]-2-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)呋唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(802mg, 1.35mmol, 1当量)在DCM(5mL)中的混合物中一次性添加TFA(771.25mg, 6.76mmol, 500.81uL, 5当量)。将混合物在25℃下搅拌16小时。在25℃下添加在MeOH(5mL)中的HCl(4M, 338.20uL, 1当量),接着加热至60℃并搅拌0.5小时。LCMS显示反应完全。将混合物冷却至20℃。将残余物倒入 NaHCO_3 (5mL)中以调节 $\text{pH}=7-8$ 。将水相用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 10mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(MeOH中的0-40%乙酸乙酯),得到呈黄色固体的5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-呋唑(450mg, 1.18mmol, 87.41%收率, 95.77%纯度)。

[0584] 步骤11

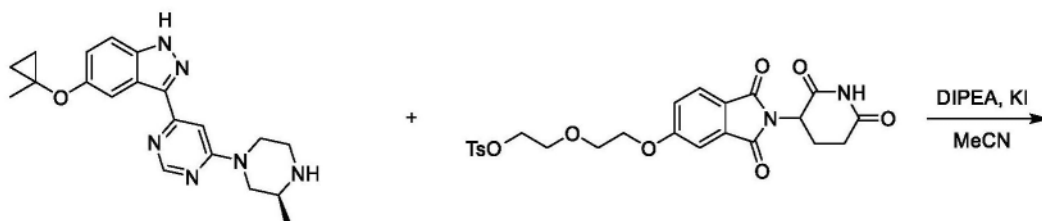


[0586] 将5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-呋唑(104.76mg, 287.45umol, 1当量)、2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶啉-5-基]氧基乙醛(100mg, 316.19umol, 1.1当量)、 NaOAc (70.74mg, 862.34umol, 3当量)、 CH_3COOH

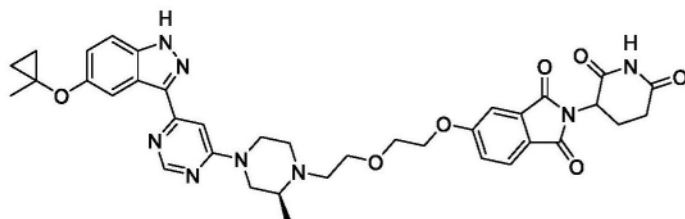
(17.26mg, 287.45 μ mol, 16.44 μ L, 1当量)和NaBH₃CN (36.13mg, 574.89 μ mol, 2当量)在DMF (2mL)中的混合物在25℃下搅拌1h。LCMS显示反应完全。将混合物冷却至20℃。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 5mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 5mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, MeOH中的0-10%乙酸乙酯)。将混合物通过制备型HPLC进一步纯化(柱:YMC-Actus Triart C18 150*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.05%氢氧化氨v/v)-ACN];B%:48%-68%,10min),得到呈白色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-2H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(12.08mg, 18.17 μ mol, 6.32%收率, 100%纯度)。

[0587] 示例性化合物2的示例性合成

[0588] 步骤1



[0589]

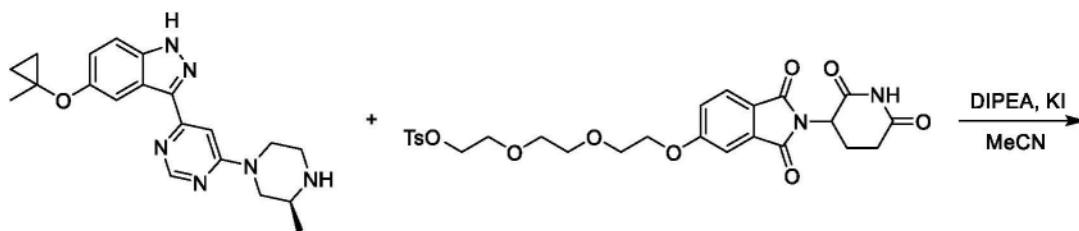


[0590] 向5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑 (70mg, 192.07 μ mol, 1当量)、KI (63.77mg, 384.15 μ mol, 2当量)和4-甲基苯磺酸2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙酯 (99.21mg, 192.07 μ mol, 1当量)在ACN (2mL)中的混合物中一次性添加DIPEA (124.12mg, 960.37 μ mol, 167.28 μ L, 5当量)。将混合物在100℃下搅拌16h。将残余物倒入水(2mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 2mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 2mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, MeOH中的0-10%乙酸乙酯)。将粗产物通过制备型HPLC纯化(柱:YMC-Actus Triart C18150*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.05%氢氧化氨v/v)-ACN];B%:45%-65%,10min),得到呈白色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(11.63mg, 16.41 μ mol, 8.54%收率, 100%纯度)。

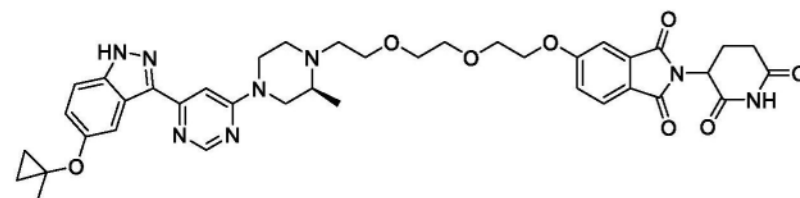
[0591] 以类似于示例性化合物2的方式制备示例性化合物3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、15、16和19。

[0592] 示例性化合物3的示例性合成

[0593] 步骤1



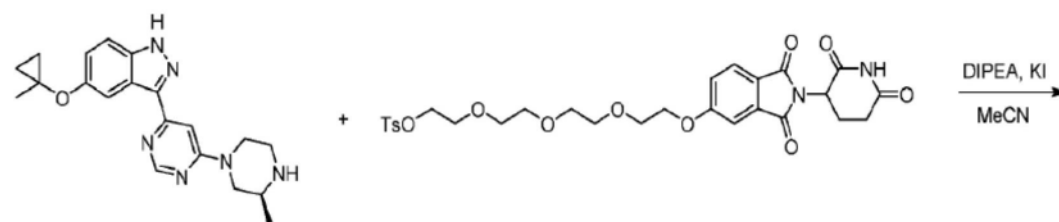
[0594]



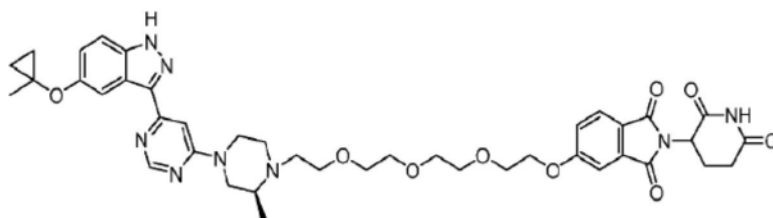
[0595] 向5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(72.24mg, 198.21 μ mol, 1当量)、KI(65.81mg, 396.42 μ mol, 2当量)和4-甲基苯磺酸2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙酯(100mg, 178.39 μ mol, 0.9当量)在ACN(2mL)中的混合物中一次性添加DIPEA(128.08mg, 991.05 μ mol, 172.62 μ L, 5当量)。将混合物在100℃下搅拌16h。将残余物倒入水(2mL)中,并将水相用乙酸乙酯(3x 2mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x2mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, MeOH中的0-10%乙酸乙酯)。将粗产物通过制备型HPLC纯化(柱:YMC-Actus Triart C18150*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.05%氢氧化氨v/v)-ACN];B%:45%-65%, 10min),得到呈白色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(14.84mg, 19.71 μ mol, 9.95%收率, 100%纯度)。

[0596] 示例性化合物4的示例性合成

[0597] 步骤1



[0598]

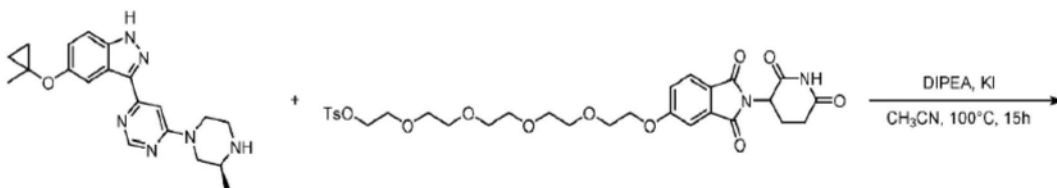


[0599] 向5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(66.97mg, 183.77 μ mol, 1当量)、KI(61.01mg, 367.54 μ mol, 2当量)和4-甲基苯磺酸2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙酯(100mg, 165.39 μ mol, 0.9当量)在MeCN(2mL)中的混合物中一次性添加DIPEA

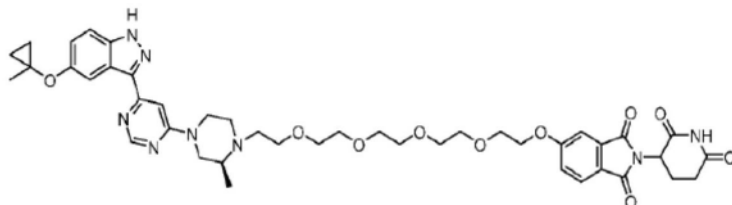
(118.75mg, 918.84 μ mol, 160.04 μ L, 5当量)。将混合物在100℃下搅拌16h。将残余物倒入水(2mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 2mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 2mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, MeOH中0-10%乙酸乙酯)。将粗产物通过制备型HPLC纯化(柱:YMC-Actus Triart C18 150*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.05%氢氧化氨v/v)-ACN];B%:45%-65%, 10min),得到呈白色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吡啶啉-1,3-二酮(5.1mg, 6.23 μ mol, 3.39%收率, 97.275%纯度)。

[0600] 示例性化合物5的示例性合成

[0601] 步骤1



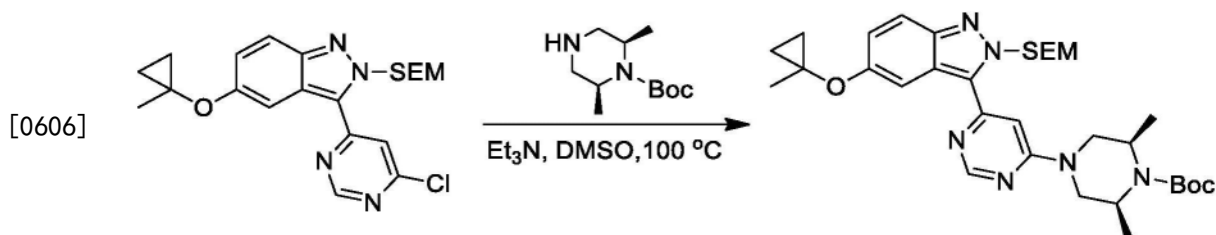
[0602]



[0603] 将5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(55.00mg, 150.92 μ mol, 0.979当量)、4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙酯(100mg, 154.16 μ mol, 1当量)、KI(51.18mg, 308.32 μ mol, 2当量)和DIPEA(99.62mg, 770.80 μ mol, 134.26 μ L, 5.00当量)在CH₃CN(2mL)中的混合物在100℃下搅拌15小时。将混合物用水(10mL)稀释并用二氯甲烷(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC进一步纯化(柱:YMC-Actus Triart C18 150*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:23%-63%, 11min)。接着将收集的级分浓缩以去除大部分乙腈并进行冻干,得到呈红色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吡啶啉-1,3-二酮(10.1mg, 11.41 μ mol, 7.40%收率, 95%纯度)。

[0604] 示例性化合物6的示例性合成

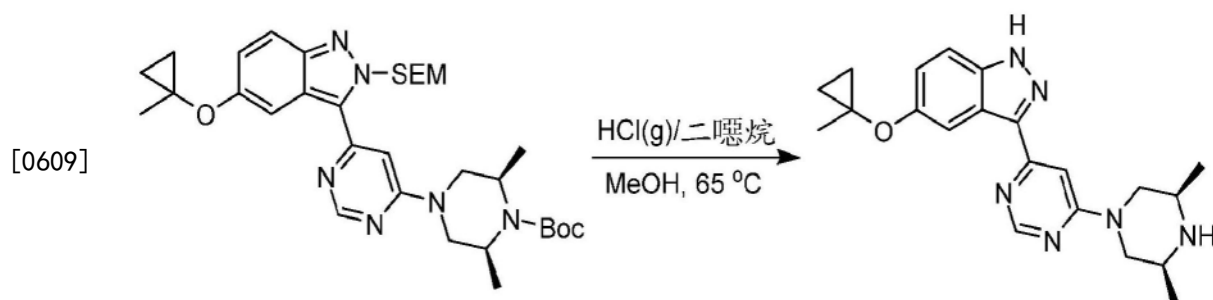
[0605] 步骤1



[0606]

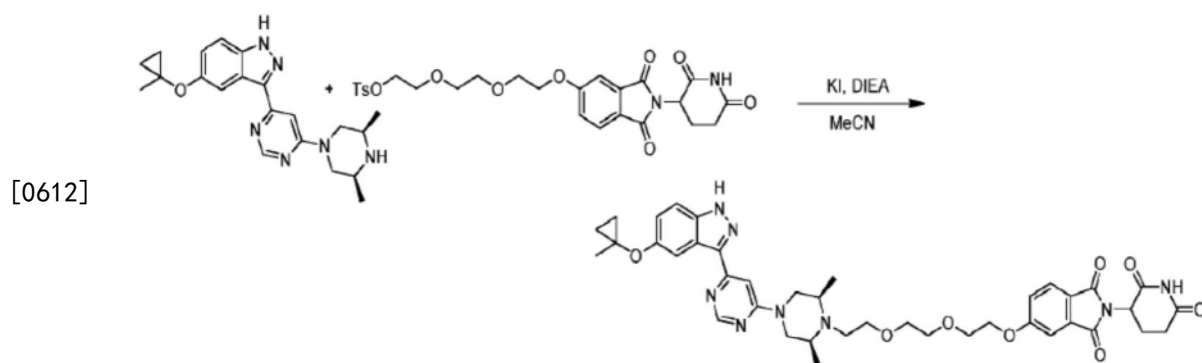
[0607] 向2-[[3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-(1-甲基环丙氧基)呋唑-2-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(500mg, 1.16mmol, 1当量)、(2S,6R)-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(248.61mg, 1.16mmol, 1当量)在DMSO(5mL)中的混合物中一次性添加Et₃N(352.17mg, 3.48mmol, 484.41uL, 3当量),接着将溶液在100℃下搅拌1h。LCMS(EB16-35-P1A1)显示起始物质被完全消耗。将混合物冷却至20℃。将残余物倒入水(5mL)中。将混合物用乙酸乙酯(3x 5mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 5mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚/乙酸乙酯=10/1至5/1),得到呈黄色油状物的(2S,6R)-2,6-二甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-2-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)呋唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(811mg,粗品)。

[0608] 步骤2



[0610] 在20℃下向(2S,6R)-2,6-二甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-2-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)呋唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(811mg, 1.33mmol, 1当量)在MeOH(5mL)中的混合物中一次性添加HCl(g)/二噁烷(4M, 1.67mL, 5当量)。将混合物在65℃下搅拌0.5h。LCMS显示反应完全。将混合物冷却至20℃。将残余物倒入NaHCO₃(10mL)中以调节pH=7-8。将混合物用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 10mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, MeOH中的0-25%乙酸乙酯),得到呈黄色固体的3-[6-[(3S,5R)-3,5-二甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-呋唑(400mg, 978.01umol, 73.42%收率, 92.537%纯度)。

[0611] 步骤3

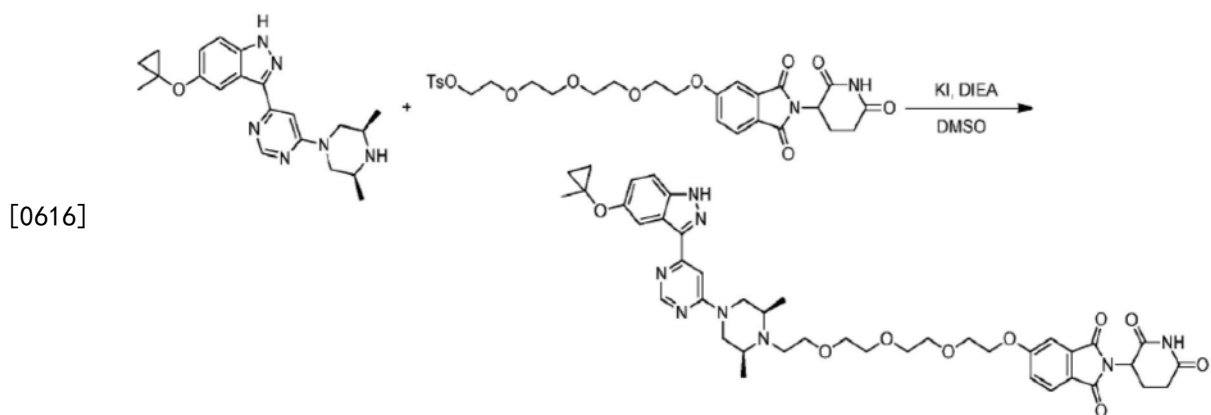


[0613] 向3-[6-[(3S,5R)-3,5-二甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-呋唑(70mg, 184.96umol, 1.1当量)和4-甲基苯磺酸2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙酯(94.26mg, 168.15umol, 1当量)在MeCN(5mL)中的溶液中添加DIPEA(108.66mg, 840.73umol, 146.44uL, 5当量)和KI(55.82mg,

336.29 μ mol, 2当量)。将反应混合物在100℃下搅拌24h。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 5mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 5mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶,石油醚中的10-25%乙酸乙酯)。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱:Agela DuraShell C18 250*25mm*10 μ m;流动相:水(0.04% NH₃H₂O+10mM NH₄HCO₃)-ACN;B%:45%-75%,梯度时间(min):8min;流速(ml/min):25)),得到呈黄色固体的5-[2-[2-[2-[(2S,6R)-2,6-二甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(10.09mg,12.98 μ mol,7.72%收率,98.681%纯度)。

[0614] 示例性化合物7的示例性合成

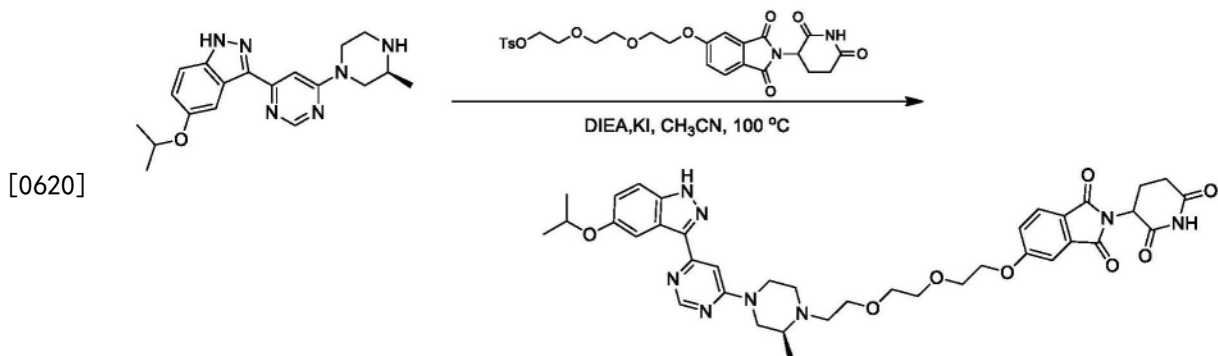
[0615] 步骤1



[0617] 向3-[6-[(3S,5R)-3,5-二甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(80mg,211.38 μ mol,1.1当量)和4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙酯(116.19mg,192.16 μ mol,1当量)在MeCN(5mL)中的溶液中添加DIPEA(124.18mg,960.82 μ mol,167.36 μ L,5当量)和KI(63.80mg,384.33 μ mol,2当量)。将反应混合物在100℃下搅拌24h。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 5mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 5mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶,石油醚中的10-25%乙酸乙酯)。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱:Agela DuraShell C18 250*25mm*10 μ m;流动相:水(0.04% NH₃/H₂O+10mM NH₄HCO₃)-ACN;B%:45%-75%,梯度时间(min):8min;流速(ml/min):25)),得到呈黄色固体的5-[2-[2-[2-[2-[(2S,6R)-2,6-二甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(5.9mg,6.98 μ mol,3.63%收率,95.895%纯度)。

[0618] 示例性化合物8的示例性合成

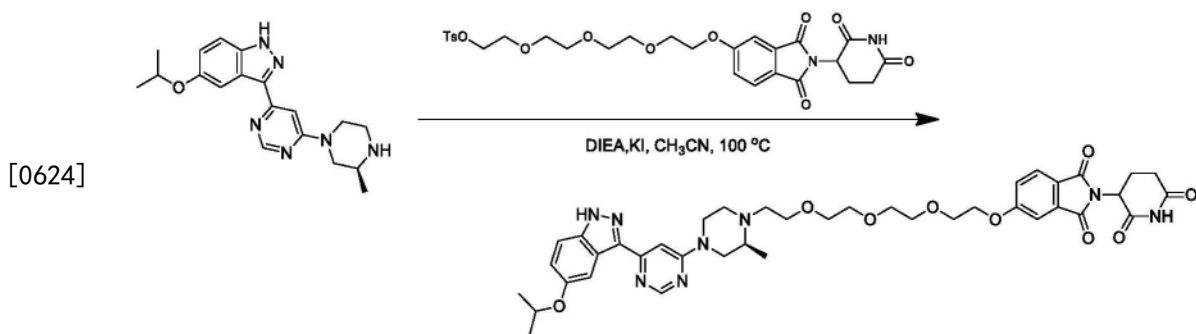
[0619] 步骤1



[0621] 向5-异丙氧基-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吲唑 (160mg, 453.99 μ mol, 1当量) 在MeCN (5mL) 中的混合物中添加4-甲基苯磺酸2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基甲酯 (347.37mg, 635.58 μ mol, 1.4当量)、DIEA (293.37mg, 2.27mmol, 395.38 μ L, 5当量) 和KI (602.90mg, 3.63mmol, 8当量)。将混合物在95℃下搅拌12小时, 得到棕色混合物。将混合物冷却至室温并将20mL水添加到反应混合物中。将所得混合物用EtOAc (10mL x 3) 萃取。将合并的萃取物用盐水 (10mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩滤液, 得到残余物 (300mg)。将残余物通过制备型HPLC (FA) 纯化, 得到呈粉红色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吲唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮 (104.3mg, 137.94 μ mol, 30.38%收率, 97.97%纯度)。

[0622] 示例性化合物9的示例性合成

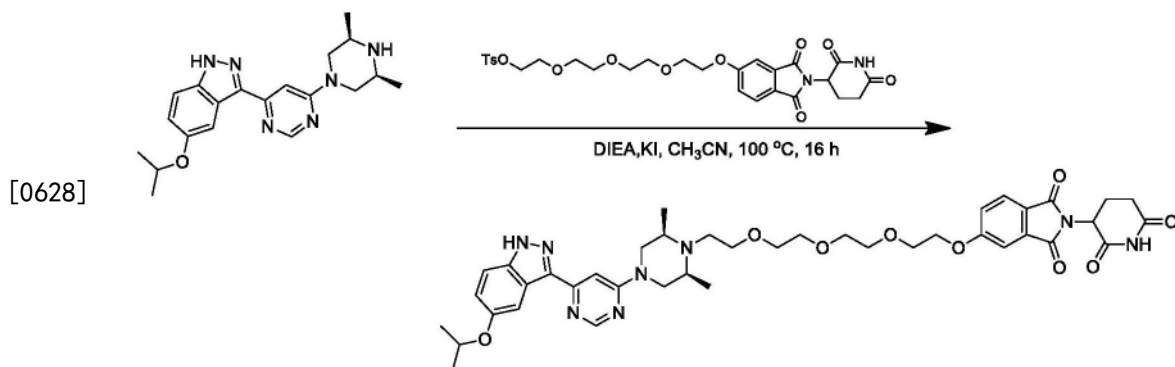
[0623] 步骤1



[0625] 向5-异丙氧基-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吲唑 (160mg, 453.99 μ mol, 1当量) 在MeCN (8mL) 中的混合物中添加4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙酯 (384.29mg, 635.58 μ mol, 1.4当量)、DIEA (293.37mg, 2.27mmol, 395.38 μ L, 5当量) 和KI (602.90mg, 3.63mmol, 8当量)。将混合物在95℃下搅拌12小时, 得到棕色混合物。将混合物冷却至室温并将水 (20mL) 添加到反应混合物中。将所得混合物用EtOAc (10mL x 3) 萃取。将合并的萃取物用盐水 (10mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩滤液, 得到残余物 (320mg)。将残余物通过制备型HPLC (FA) 纯化, 得到呈粉红色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吲唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮 (44.9mg, 56.05 μ mol, 12.35%收率, 97.98%纯度)。

[0626] 示例性化合物10的示例性合成

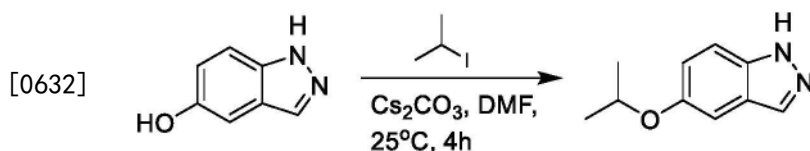
[0627] 步骤1



[0629] 在25℃在N₂下向3-[6-[(3R,5S) -3,5-二甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-异丙氧基-1H-吡唑 (0.15g, 409.32μmol, 1当量) 和4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(2,6-二氧化代-3-哌啶基)-1,3-二氧化代-异吲哚啉-5-基]氧基]乙氧基]乙氧基]乙酯 (296.98mg, 491.19μmol, 1.2当量)、DIEA (793.53mg, 6.14mmol, 1.07mL, 15当量) 在MeCN (8mL) 和DMSO (2mL) 中的混合物中一次性添加KI (1.02g, 6.14mmol, 15当量)。将混合物在100℃下搅拌并搅拌16小时。将反应混合物浓缩, 用冰浴冷却, 并添加饱和NH₄Cl以将pH调节至6。向其添加饱和食盐水, 随后用乙酸乙酯 (50mL x 2) 萃取。将有机层经无水硫酸镁干燥并浓缩。将残余物通过制备型TLC纯化 (硅胶, EA:MeOH=10:1), 得到呈浅黄色固体的2-(2,6-二氧化代-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2R,6S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2,6-二甲基-哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮 (8.5mg, 10.19μmol, 2.49%收率, 95.81%纯度)。

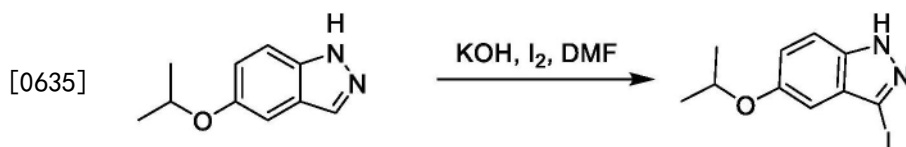
[0630] 示例性化合物11的示例性合成

[0631] 步骤1



[0633] 在25℃下向1H-吡唑-5-醇 (5g, 37.28mmol, 1当量) 和Cs₂CO₃ (18.22g, 55.91mmol, 1.5当量) 在DMF (50mL) 中的混合物中一次性添加2-碘丙烷 (8.24g, 48.46mmol, 4.85mL, 1.3当量)。将混合物在25℃下搅拌4小时。TLC (石油醚:乙酸乙酯=3:1, R_f=0.58) 显示反应完全。将混合物倒入水 (50mL) 中, 并将水相用乙酸乙酯 (60mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水 (20mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩, 得到残余物。将残余物通过硅胶色谱法纯化 (石油醚/乙酸乙酯=3/1), 得到呈浅黄色固体的5-异丙氧基-1H-吡唑 (4.1g, 23.27mmol, 62.42%收率)。

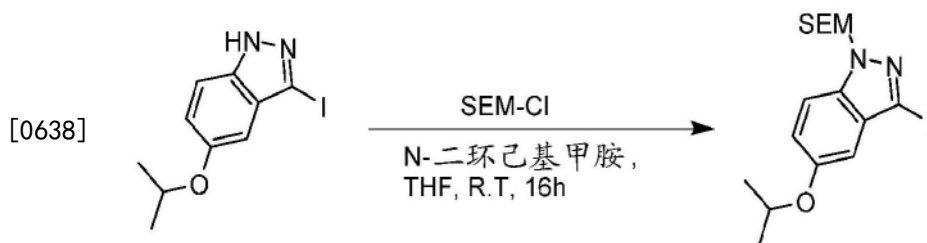
[0634] 步骤2



[0636] 在25℃在N₂下向5-异丙氧基-1H-吡唑 (4g, 22.70mmol, 1当量) 在MeCN (80mL) 中的混合物中一次性添加K₂CO₃ (3.14g, 22.70mmol, 1当量) 和I₂ (5.76g, 22.70mmol, 4.57mL, 1当量)。

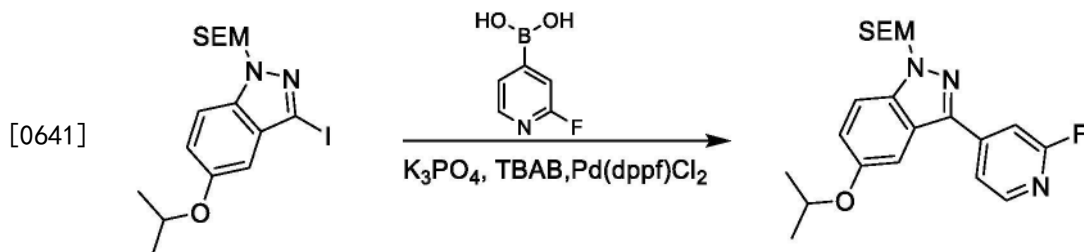
量)。将混合物在25℃下搅拌16小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=3:1)显示反应完全。将混合物用盐水(100mL)稀释,并将水相用二氯甲烷(100mL*3)萃取。将合并的有机相经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚/乙酸乙酯=10/3),得到呈浅黄色油状物的3-碘-5-异丙氧基-1H-吡唑(5.5g,18.21mmol,80.20%收率)。

[0637] 步骤3



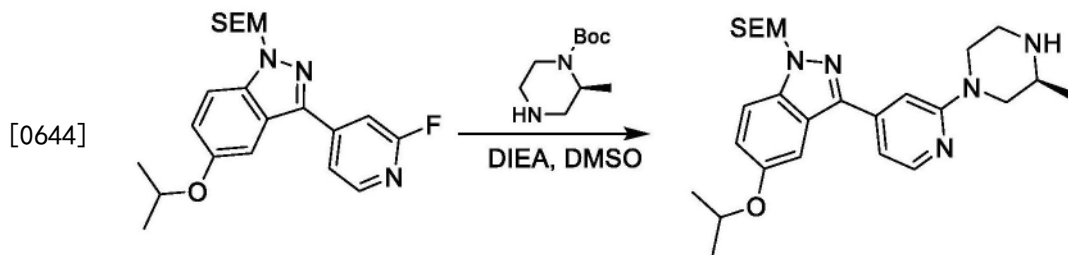
[0639] 在25℃下向3-碘-5-异丙氧基-1H-吡唑(5.5g,18.21mmol,1当量)在THF(100mL)中的混合物中一次性添加N-环己基-N-甲基-环己胺(4.62g,23.67mmol,5.02mL,1.3当量)和SEM-Cl(3.04g,18.21mmol,3.22mL,1当量)。将混合物在25℃下搅拌16小时,得到橙色溶液。TLC(石油醚:乙酸乙酯=20/1)显示反应完全。将残余物倒入水(100mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 80mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 20mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚/乙酸乙酯=100/3),得到呈浅黄色油状物的2-[(3-碘-5-异丙氧基-吡唑-1-基)甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(7.4g,15.75mmol,86.47%收率,92%纯度)。

[0640] 步骤4



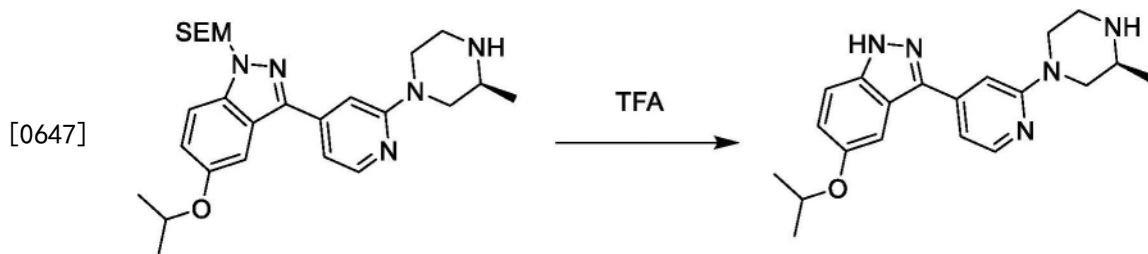
[0642] 在25℃在 N_2 下向2-[(3-碘-5-异丙氧基-吡唑-1-基)甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(7.4g,17.11mmol,1当量)和(2-氟-4-吡啶基)硼酸(3.62g,25.67mmol,1.5当量)在二噁烷(100mL)中的混合物中一次性添加 K_3PO_4 (14.53g,68.46mmol,4当量)和 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (2.50g,3.42mmol,0.2当量)。在 N_2 下将混合物加热至90℃,同时伴以搅拌持续5小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=20/1)显示反应完全。将混合物冷却至25℃并将残余物倒入水(80mL)中。将水相用乙酸乙酯(90mL*2)萃取。将合并的有机相用盐水(30mL*2)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚/乙酸乙酯=10/1),得到呈浅黄色固体的2-[[3-(2-氟-4-吡啶基)-5-异丙氧基-吡唑-1-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(5.96g,12.32mmol,71.98%收率,83%纯度)。

[0643] 步骤5



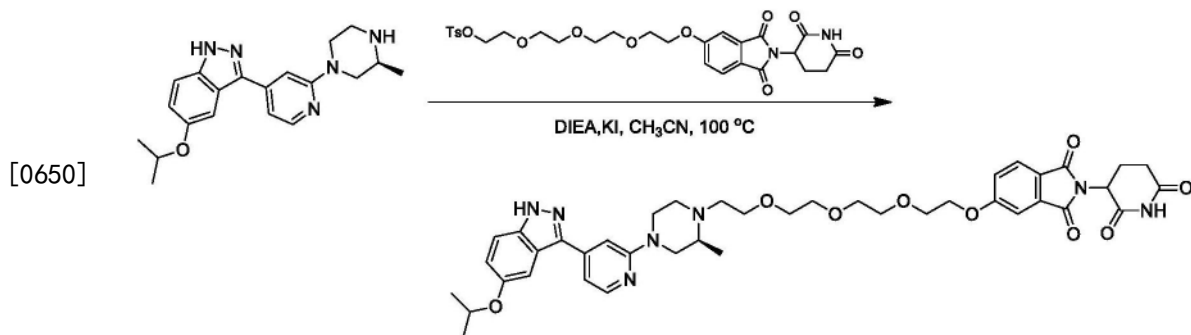
[0645] 将2-[[3-(2-氟-4-吡啶基)-5-异丙氧基-吡唑-1-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(300mg, 747.11 μ mol, 1当量)、(2S)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(224.44mg, 1.12mmol, 1.5当量)和DIEA(965.56mg, 7.47mmol, 1.30mL, 10当量)吸收到微波管的DMSO(10mL)中。将密封管在微波下在180℃加热5小时。将混合物冷却至25℃。将混合物用乙酸乙酯(30mL)稀释并用盐水(10mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶色谱法纯化(二氯甲烷:甲醇=3/1),得到呈暗色液体的2-[[5-异丙氧基-3-[2-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]-4-吡啶基]吡唑-1-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(200mg, 357.07 μ mol, 47.79%收率, 86%纯度)。

[0646] 步骤6



[0648] 将2-[[5-异丙氧基-3-[2-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]-4-吡啶基]吡唑-1-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(200mg, 415.19 μ mol, 1当量)和TFA(5mL)的混合物在25℃下搅拌1小时。将混合物在60℃下在减压下浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶色谱法纯化(二氯甲烷/甲醇=100/5),得到呈暗色油状物的5-异丙氧基-3-[2-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]-4-吡啶基]-1H-吡唑(200mg, 352.83 μ mol, 84.98%收率, 62%纯度)。

[0649] 步骤7

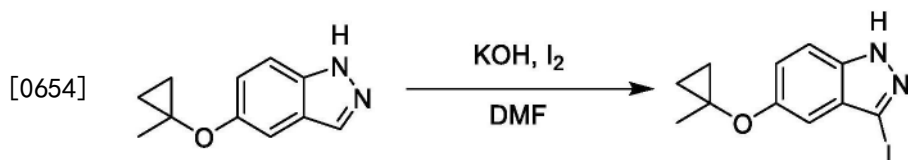


[0651] 在25℃下向5-异丙氧基-3-[2-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]-4-吡啶基]-1H-吡唑(100mg, 284.54 μ mol, 1当量)和4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙酯(206.45mg, 341.45 μ mol, 1.2当量)在CH₃CN(3mL)中的混合物中一次性添加DIEA(367.74mg, 2.85mmol, 495.61 μ L, 10当量)和KI(236.17mg, 1.42mmol, 5当量)。将混合物在100℃下搅拌16小时。将混合物倒入水

(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(15mL*3)萃取,并将合并的有机相用盐水(5mL*2)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 100*30mm*5um;流动相:[水(0.05% HCl)-ACN];B%:15%-45%,9min),得到呈浅黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[(2S)-4-[4-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)-2-吡啶基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(11.6mg,13.85umol,4.87%收率,93.6%纯度)。

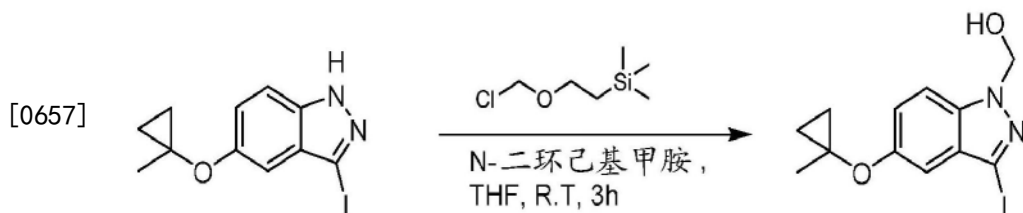
[0652] 示例性化合物12的示例性合成

[0653] 步骤1



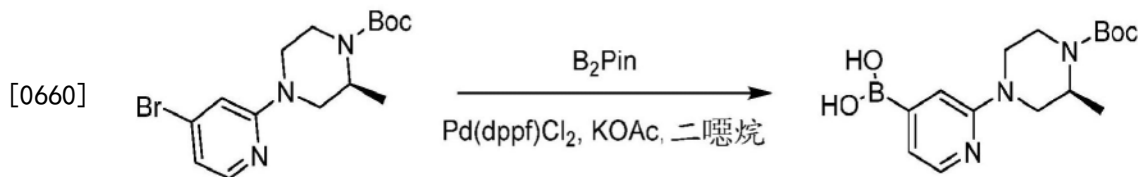
[0655] 向5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(500mg,2.66mmol,1当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加KOH(558.89mg,9.96mmol,3.75当量)和 I_2 (1.35g,5.31mmol,1.07mL,2当量)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用饱和 Na_2SO_3 (10mL)稀释并用EtOAc(20mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL*2)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将粗产物通过硅胶柱色谱法纯化(PE/EA=0至10%),得到呈黄色固体的3-碘-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(458mg,1.26mmol,47.53%收率,86.592%纯度)。

[0656] 步骤2



[0658] 在20℃下向3-碘-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(458mg,1.30mmol,1当量)在THF(20mL)中的混合物中一次性添加N-环己基-N-甲基-环己胺(760.45mg,3.89mmol,825.68uL,3当量)和SEM-Cl(432.69mg,2.60mmol,459.33uL,2当量)。将混合物在20℃下搅拌3小时,得到橙色悬浮液。TLC显示反应完全。将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(10mL*2)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL*2)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶,石油醚中的0-10%乙酸乙酯),得到呈黄色固体的[3-碘-5-(1-甲基环丙氧基)吡唑-1-基]甲醇(300mg,706.09umol,54.41%收率,81%纯度)。

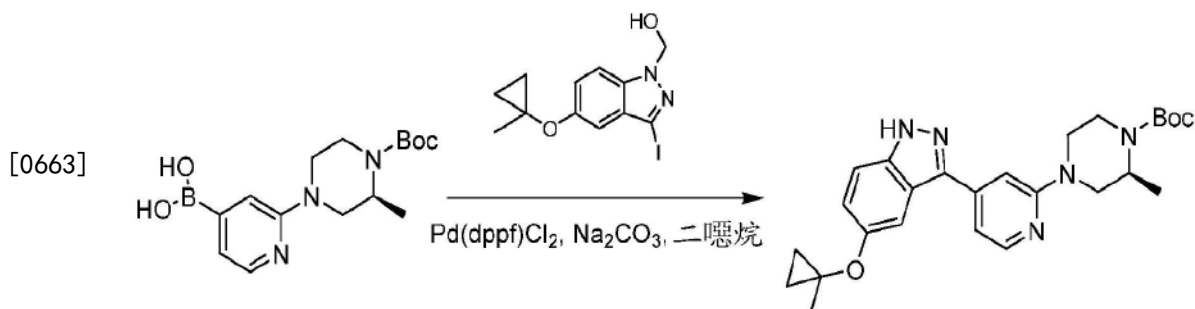
[0659] 步骤3



[0661] 向(2S)-4-(4-溴-2-吡啶基)-2-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯(600mg,1.68mmol,1当量)和4,4,5,5-四甲基-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-1,3,2-二氧杂

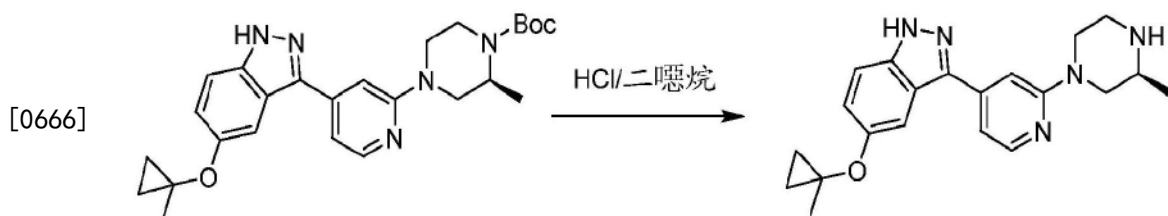
环戊硼烷 (641.51mg, 2.53mmol, 1.5当量) 在1,4-二噁烷 (8mL) 中的溶液中添加Pd(dppf)Cl₂ (184.85mg, 252.63umol, 0.15当量) 和KOAc (495.87mg, 5.05mmol, 3当量)。将混合物在90℃在N₂下搅拌1小时, 得到棕色溶液。将反应混合物用水 (20mL) 稀释并用EtOAc (3x 10mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (20mL*2) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到呈棕色胶状物的[2-[(3S)-4-叔丁氧基羰基-3-甲基-哌嗪-1-基]-4-吡啶基]硼酸 (1.2g, 粗品)。

[0662] 步骤4



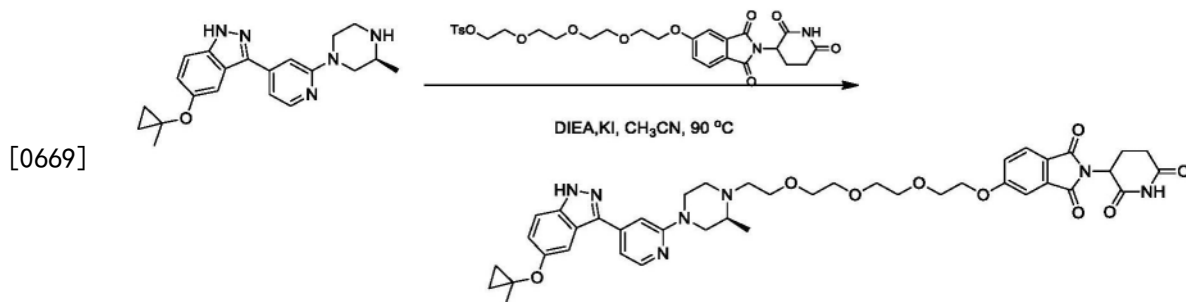
[0664] 向[2-[(3S)-4-叔丁氧基羰基-3-甲基-哌嗪-1-基]-4-吡啶基]硼酸 (857.08mg, 1.31mmol, 1.5当量) 和[3-碘-5-(1-甲基环丙氧基)吡唑-1-基]甲醇 (300.00mg, 871.72umol, 1当量) 在1,4-二噁烷 (10mL) 和H₂O (2mL) 中的溶液中添加Pd(dppf)Cl₂ (95.68mg, 130.76umol, 0.15当量) 和Na₂CO₃ (277.18mg, 2.62mmol, 3当量)。将混合物在90℃在N₂下搅拌1.5小时。将混合物冷却至20℃并在减压下浓缩。将残余物倒入水 (10mL) 中, 并将水相用乙酸乙酯 (10mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水 (10mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化 (柱高: 20g, 100-200目硅胶, 石油醚中的0-20% 乙酸乙酯), 得到呈黄色油状物的(2S)-2-甲基-4-[4-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]-2-吡啶基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (400mg, 粗品)。

[0665] 步骤5



[0667] 在20℃下向(2S)-2-甲基-4-[4-[5-(1-甲基环丙氧基)-2H-吡唑-3-基]-2-吡啶基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (400mg, 422.80umol, 1当量) 在MeOH (10mL) 中的混合物中一次性添加HCl/二噁烷 (4M, 528.51uL, 5当量)。将混合物在65℃下搅拌0.5h。TLC (EtOAc, R_f = 0.07) 和LCMS显示反应完全。将混合物冷却至20℃并将残余物倒入饱和NaHCO₃水溶液 (pH = 7-8) 中。将水相用乙酸乙酯 (20mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水 (20mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化 (100-200目硅胶, DCM中的0-25% MeOH), 得到呈黄色固体的5-(1-甲基环丙氧基)-3-[2-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]-4-吡啶基]-1H-吡唑 (170mg, 241.82umol, 57.19%收率, 51.7%纯度)。

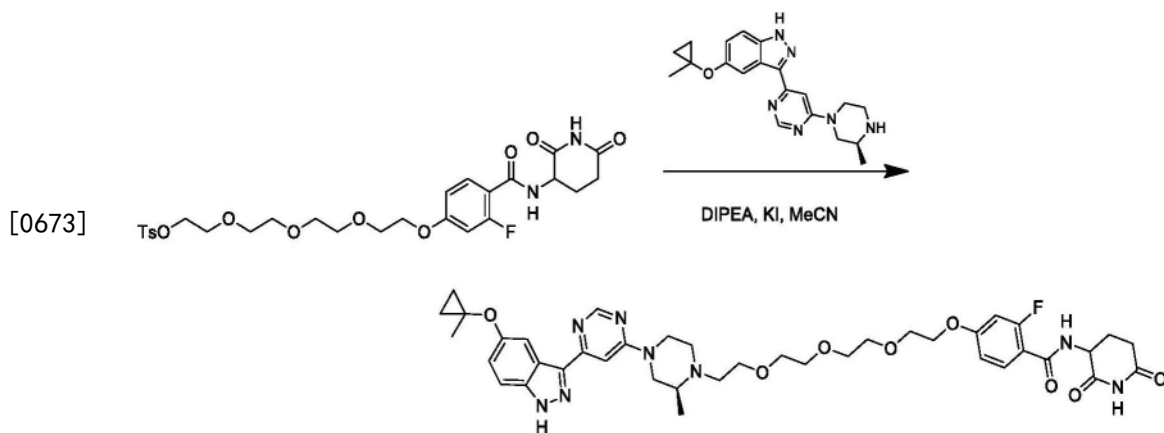
[0668] 步骤6



[0670] 向5-(1-甲基环丙氧基)-3-[2-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]-4-吡啶基]-1H-吡唑(100mg, 275.14 μ mol, 1当量)和4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙酯(166.35mg, 275.14 μ mol, 1当量)在MeCN(4mL)中的溶液中添加KI(548.08mg, 3.30mmol, 12当量)和DIPEA(426.71mg, 3.30mmol, 575.09 μ L, 12当量)。将混合物在90℃下搅拌12小时。将残余物倒入水(3mL)中。将水相用乙酸乙酯(3mL*2)萃取。将合并的有机相用盐水(3mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 100*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:23%-53%, 9min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2S)-2-甲基-4-[4-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]-2-吡啶基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吡啶-1,3-二酮(12.5mg, 15.14 μ mol, 5.50%收率, 96.4%纯度)。

[0671] 示例性化合物13的示例性合成

[0672] 步骤1

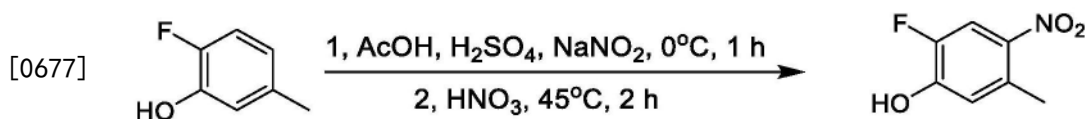


[0674] 在20℃在N₂下向4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-[4-[(2,6-二氧化-3-哌啶基)氨基甲酰基]-3-氟-苯氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙酯(162.07mg, 271.65 μ mol, 1.1当量)和5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(90mg, 246.95 μ mol, 1.00当量)在MeCN(5mL)中的混合物中一次性添加KI(122.98mg, 740.86 μ mol, 3当量)和DIPEA(159.58mg, 1.23mmol, 215.07 μ L, 5当量)。将混合物在80℃下搅拌16小时。将混合物冷却至20℃并在20℃下在减压下浓缩。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 5mL)萃取。将合并的有机相用盐水(3x 5mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱:Welch Xtimate C18 150*30mm*5 μ m;流动相:水(0.225% FA)-ACN;B%:12%-42%,梯度时间(min):8min;流速(ml/min):25),得到呈红色固体的N-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-2-氟-4-[2-[2-[2-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基

环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]苯甲酰胺 (23.23mg, 28.98μmol, 11.73%收率, 98.399%纯度)。

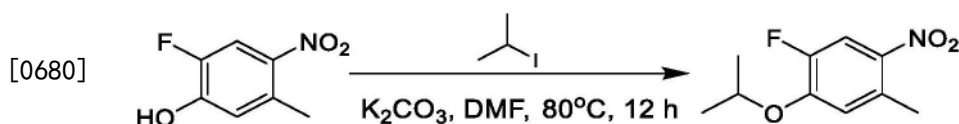
[0675] 示例性化合物14的示例性合成

[0676] 步骤1



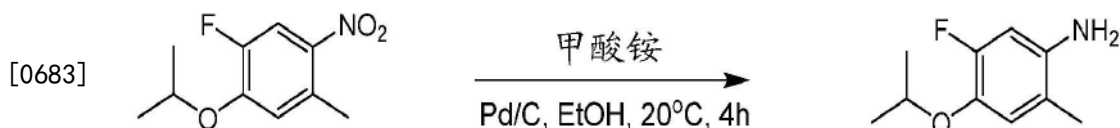
[0678] 在0℃下向2-氟-5-甲基-苯酚(7g, 55.50mmol, 1当量)在AcOH(15.2mL)和H₂SO₄(2mL)中的混合物中添加NaNO₂(3.83g, 55.50mmol, 1当量)在H₂O(35mL)中的溶液。接着将混合物在0℃下搅拌1小时。将反应混合物倒入冰水(100mL)中。将沉淀物通过过滤收集,随后用水(3x 100mL)洗涤。将所得固体分批添加到HNO₃(12mL)和H₂O(35mL)的混合物中,同时伴以搅拌。将所得悬浮液在45℃下搅拌2小时。冷却至室温后,将混合物用冷水(100mL)稀释并过滤。将固体用水(2x 100mL)洗涤,接着溶解于乙酸乙酯(100mL)中。将有机层用盐水(2x 100mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩,得到呈黄色固体的2-氟-5-甲基-4-硝基-苯酚(5.3g, 30.35mmol, 54.69%收率, 98%纯度)。

[0679] 步骤2



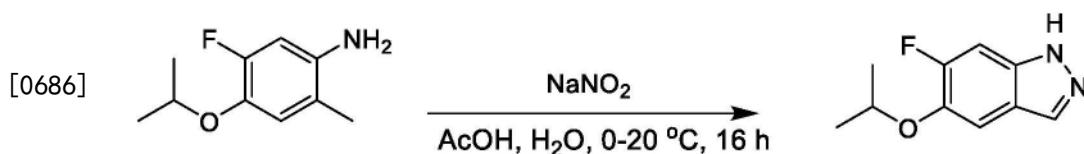
[0681] 在20℃在N₂下向2-氟-5-甲基-4-硝基-苯酚(5.3g, 30.97mmol, 1当量)和2-碘丙烷(10.53g, 61.94mmol, 6.19mL, 2当量)在CH₃CN(60mL)中的混合物中添加K₂CO₃(8.56g, 61.94mmol, 2当量)。将反应混合物在80℃下搅拌12小时。TLC(PE:EA=10:1)指示有一个极性较低的主要新斑点。将反应混合物过滤并浓缩,得到呈黄色固体的1-氟-2-异丙氧基-4-甲基-5-硝基-苯(5g, 23.45mmol, 75.72%收率)。

[0682] 步骤3



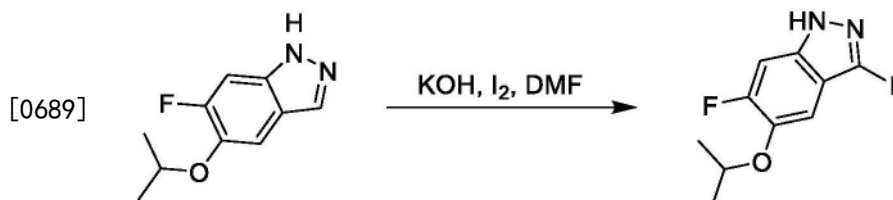
[0684] 向1-氟-2-异丙氧基-4-甲基-5-硝基-苯(5g, 23.45mmol, 1当量)在EtOH(120mL)中的搅拌溶液中添加甲酸铵(16.27g, 257.97mmol, 11当量),随后添加Pd/C(2.5g, 23.45mmol, 10%纯度, 1.00当量)。将反应混合物在20℃下搅拌4小时。将反应混合物过滤并在真空中浓缩,得到残余物。向残余物中添加二氯甲烷(50mL)并进行过滤。将滤液在真空中浓缩,得到呈棕色油状物的5-氟-4-异丙氧基-2-甲基-苯胺(4.2g, 20.63mmol, 87.97%收率, 90%纯度)。

[0685] 步骤4



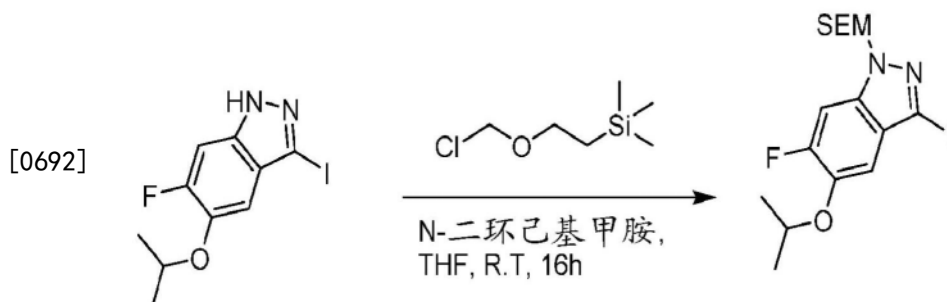
[0687] 在0℃下向5-氟-4-异丙氧基-2-甲基-苯胺(4.2g, 20.63mmol, 1当量)在AcOH(40mL)中的搅拌溶液中添加NaNO₂(1.57g, 22.69mmol, 1.1当量)在H₂O(5mL)中的溶液。将反应混合物在20℃下搅拌16小时。反应混合物颜色从黄色变为棕色。将反应混合物在真空下浓缩,得到残余物。添加饱和NaHCO₃溶液(40mL),并用EA(40mL)萃取混合物。将合并的有机层用盐水(40mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(PE/EA=100:20, 100:30),得到呈棕色油状物的6-氟-5-异丙氧基-1H-吡唑(3.5g, 18.02mmol, 87.36%收率)。

[0688] 步骤5



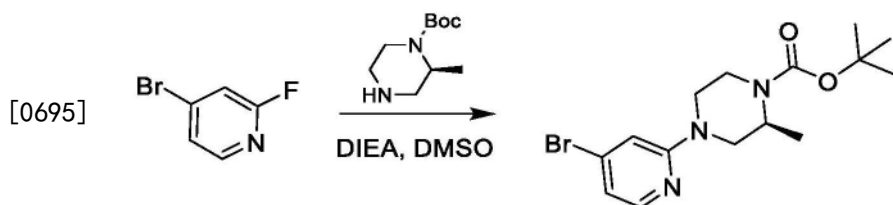
[0690] 向6-氟-5-异丙氧基-1H-吡唑(1.4g, 7.21mmol, 1当量)在DMF(30mL)中的溶液中添加KOH(1.52g, 27.03mmol, 3.75当量)和I₂(3.66g, 14.42mmol, 2.90mL, 2当量)将混合物在25℃下搅拌3小时。将反应混合物用饱和Na₂S₂O₃(30mL)稀释并用EtOAc(50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将粗产物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚的0至10%乙酸乙酯),得到呈黄色固体的6-氟-3-碘-5-异丙氧基-1H-吡唑(1.62g, 3.95mmol, 54.76%收率, 78%纯度)。

[0691] 步骤6



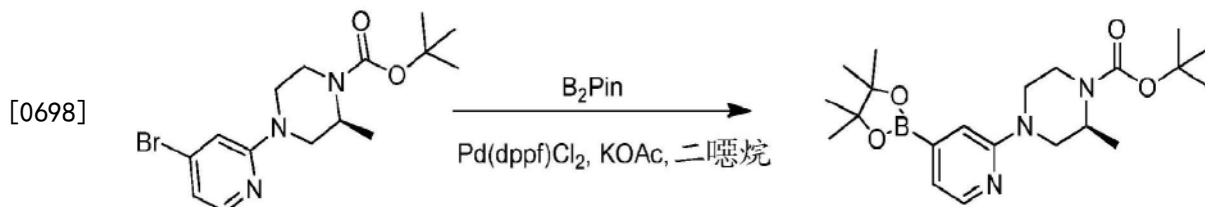
[0693] 向6-氟-3-碘-5-异丙氧基-1H-吡唑(1.61g, 5.03mmol, 1当量)和2-(氯甲氧基)乙基-三甲基-硅烷(838.61mg, 5.03mmol, 890.24μL, 1当量)在THF(20mL)中的溶液中添加N-环己基-N-甲基环己胺(1.28g, 6.54mmol, 1.39mL, 1.3当量)。将混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物用水(30mL)稀释并用EtOAc(50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(30mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将粗产物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至5%乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的2-[(6-氟-3-碘-5-异丙氧基-吡唑-1-基)甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(2.05g, 4.23mmol, 84.16%收率, 93%纯度)。

[0694] 步骤7



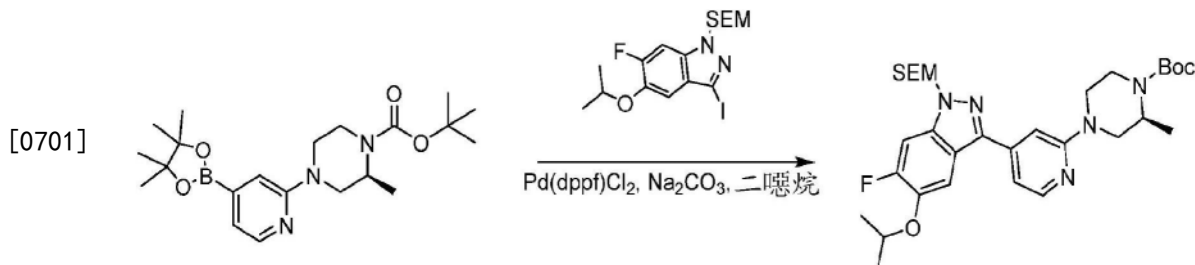
[0696] 向4-溴-2-氟-吡啶(1g, 5.68mmol, 1当量)和(2S)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.71g, 8.52mmol, 1.5当量)在DMSO(8mL)中的溶液中添加 K_2CO_3 (2.36g, 17.05mmol, 3当量)。将混合物在100℃下搅拌4小时。将反应混合物用水(50mL)稀释并用EtOAc(50mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将粗产物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至10%乙酸乙酯),得到呈无色油状物的(2S)-4-(4-溴-2-吡啶基)-2-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.7g, 4.68mmol, 82.30%收率, 98%纯度)。

[0697] 步骤8



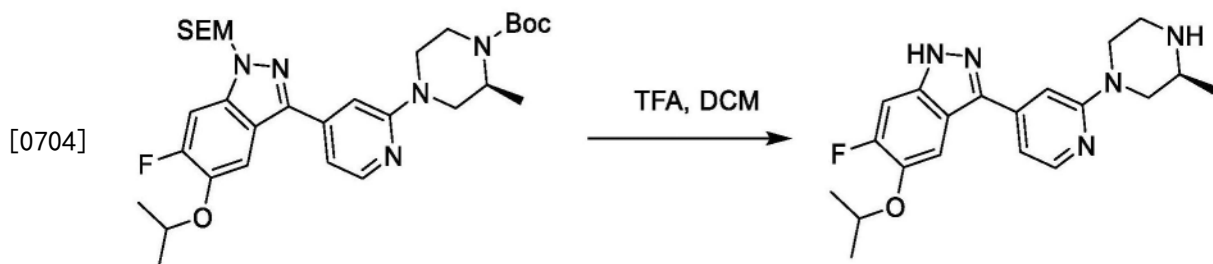
[0699] 向(2S)-4-(4-溴-2-吡啶基)-2-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯(600mg, 1.68mmol, 1当量)和4,4,5,5-四甲基-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-1,3,2-二氧杂环戊硼烷(641.51mg, 2.53mmol, 1.5当量)在1,4-二噁烷(8mL)中的溶液中添加 $Pd(dppf)Cl_2$ (184.85mg, 252.63 μ mol, 0.15当量)和 $KOAc$ (495.87mg, 5.05mmol, 3当量)。将混合物在90℃在 N_2 下搅拌1小时。将反应混合物用水(20mL)稀释并用EtOAc(30mL)萃取。将合并的有机层用盐水20mL洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并在减压下浓缩,得到呈棕色油状物的(S)-2-甲基-4-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(540mg, 571.64 μ mol, 33.94%收率)。

[0700] 步骤9



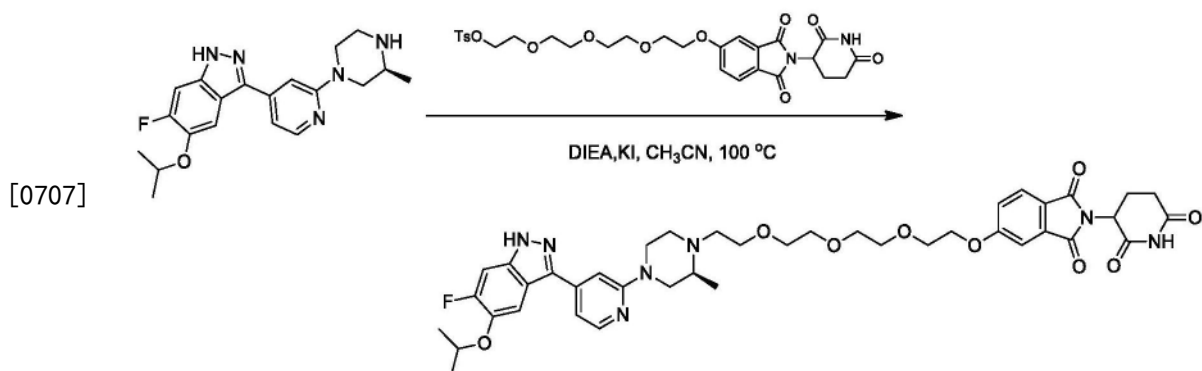
[0702] 向(S)-2-甲基-4-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)吡啶-2-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(540mg, 1.68mmol, 1当量)和2-[(6-氟-3-碘-5-异丙氧基-吡啶-1-基)甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(1.14g, 2.52mmol, 1.5当量)在1,4-二噁烷(10mL)和 H_2O (2mL)中的溶液中添加 $Pd(dppf)Cl_2$ (184.53mg, 252.20 μ mol, 0.15当量)和 Na_2CO_3 (534.61mg, 5.04mmol, 3当量)。将混合物在90℃在 N_2 下搅拌2小时。将反应混合物用水(20mL)稀释并用EA(30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将粗产物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至20%乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的(2S)-4-[4-[6-氟-5-异丙氧基-1-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡啶-3-基]-2-吡啶基]-2-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1g, 1.60mmol, 95.19%收率, 96%纯度)。

[0703] 步骤10



[0705] 向(2S)-4-[4-[6-氟-5-异丙氧基-1-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡唑-3-基]-2-吡啶基]-2-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1g, 1.67mmol, 1当量)在DCM(5mL)中的溶液中添加TFA(1.54g, 13.51mmol, 1mL, 8.10当量)。将混合物在25℃下搅拌6h。接着将 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (701.14mg, 5.00mmol, 770.48uL, 25%纯度, 3当量)添加到该溶液中并将混合物搅拌2h。将反应混合物用水(20mL)稀释并用EtOAc(30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到呈黄色胶状物的6-氟-5-异丙氧基-3-[2-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]-4-吡啶基]-1H-吡唑(590mg, 1.39mmol, 83.34%收率, 87%纯度)。

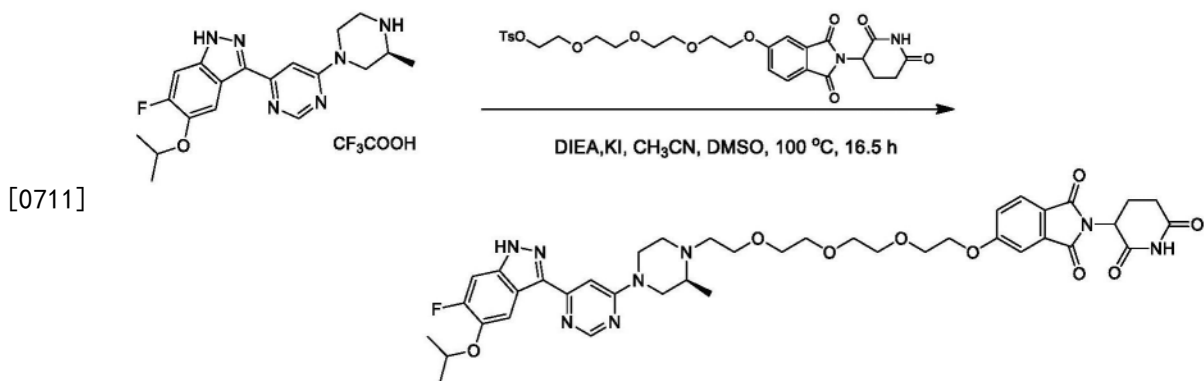
[0706] 步骤11



[0708] 向6-氟-5-异丙氧基-3-[2-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]-4-吡啶基]-1H-吡唑(100mg, 270.68umol, 1当量)和4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基]乙氧基]乙氧基]乙酯(163.66mg, 270.68umol, 1当量)在 CH_3CN (2mL)中的溶液中添加KI(539.21mg, 3.25mmol, 12当量)和DIEA(419.81mg, 3.25mmol, 565.78uL, 12当量)。将混合物在90℃下搅拌12小时。将反应混合物用水(20mL)稀释并用EtOAc(30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱: Phenomenex Luna C18100*30mm*5um; 流动相: [水(0.225% FA)-ACN]; B%: 0-26%; 12min), 得到呈白色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2S)-4-[4-(6-氟-5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)-2-吡啶基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(24.3mg, 29.74umol, 10.99%收率, 98.14%纯度)。

[0709] 示例性化合物15的示例性合成

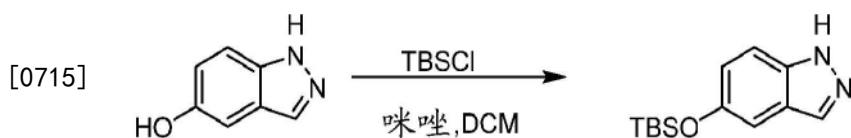
[0710] 步骤1



[0712] 将4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙酯(280.82mg, 464.45umol, 1.5当量)和KI(770.99mg, 4.64mmol, 15当量)在DMSO(3mL)中的混合物在50℃在N₂下搅拌0.5小时。接着将6-氟-5-异丙氧基-3-[6-[(3S)-3-甲基哌啶-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吲唑(150mg, 309.63umol, 1当量, TFA)和DIEA(600.27mg, 4.64mmol, 808.98uL, 15当量)在CH₃CN(3mL)中的溶液添加到该混合物中。接着将混合物在90℃在N₂下搅拌16小时。将反应混合物用水(20mL)稀释并用EA(30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到残余物。将残余物通过制备型TLC纯化(PE:EA=0:1), 得到粗产物。将粗产物通过制备型TLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 100*30mm*5um; 条件:水(0.225% FA)-ACN; 开始:B 16%, 结束:B 46%; 梯度时间:9min; 100% B保持时间:1min; 流速:25ml/min), 得到呈白色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2S)-4-[6-(6-氟-5-异丙氧基-1H-吲唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基哌啶-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(15mg, 18.68umol, 6.03%收率, FA)。

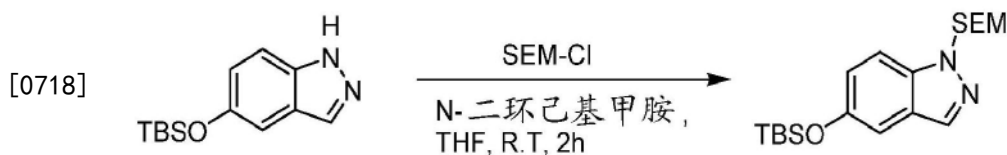
[0713] 示例性化合物16的示例性合成

[0714] 步骤1



[0716] 在20℃在N₂下向1H-吡唑-5-醇(1g, 7.46mmol, 1当量)在DCM(10mL)中的混合物中一次性添加咪唑(1.52g, 22.37mmol, 3当量)和TBSCl(1.69g, 11.18mmol, 1.37mL, 1.5当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时, 得到棕色溶液。TLC(DCM:MeOH=10:1, R_f=0.23)显示反应完全。将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(10mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL*3)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(12g, 30mL/min, 100-200目硅胶, DCM中的0-5%(10min) MeOH), 得到呈黄色油状物的叔丁基-(1H-吡唑-5-基氧基)-二甲基-硅烷(1.5g, 5.87mmol, 78.73%收率, 97.2%纯度)。

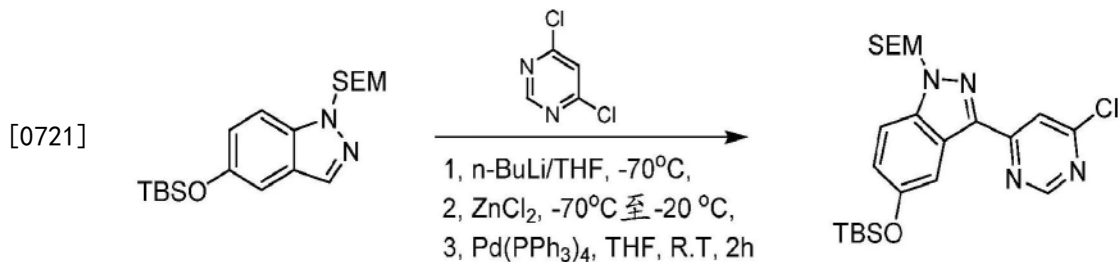
[0717] 步骤2



[0719] 在20℃在N₂下向叔丁基-(1H-吡唑-5-基氧基)-二甲基-硅烷(1.5g, 6.04mmol, 1当

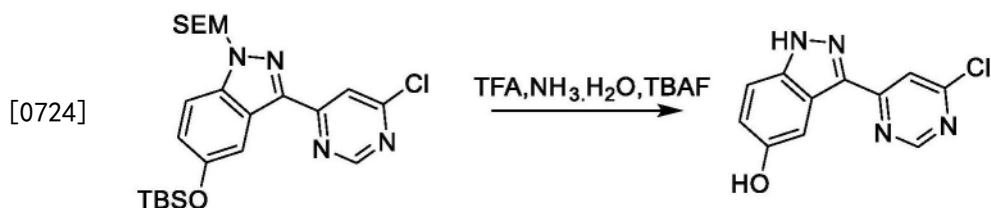
量)在THF(20mL)中的混合物中一次性添加N,N-二环己基甲胺(2.36g,12.08mmol,2.56mL,2当量)和SEM-Cl(2.01g,12.08mmol,2.14mL,2当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时,得到黄色悬浮液。TLC(PE:EtOAc=3:1,Rf=0.37)显示反应完全。将残余物倒入水(20mL)中。将水相用乙酸乙酯(20mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(20mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:40g,30mL/min,100-200目硅胶,石油醚中的0%(5min)乙酸乙酯,石油醚中的1%(20min)乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的叔丁基-二甲基-[1-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡唑-5-基]氧基-硅烷(1.82g,4.81mmol,79.59%收率)。

[0720] 步骤3



[0722] 在-70℃在N₂下向叔丁基-二甲基-[1-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡唑-5-基]氧基-硅烷(1.82g,4.81mmol,1当量)在THF(5mL)中的混合物中逐滴添加n-BuLi(2.5M,2.50mL,1.3当量)。接着将混合物在-20℃下搅拌5min,并在-70℃下逐滴添加ZnCl₂溶液(1M,7.21mL,1.5当量)。将混合物在-40℃下搅拌10min。将4,6-二氯嘧啶(787.67mg,5.29mmol,1.1当量)和Pd(PPh₃)₄(277.71mg,240.32μmol,0.05当量)在THF(1mL)中的混合物在20℃下搅拌30min并添加到反应中。去除冷浴,将混合物在20℃下搅拌2h,得到黄色溶液。TLC(PE:EtOAc=10:1,Rf=0.83)显示有新斑点。将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(20mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(20mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(40g,35mL/min,100-200目硅胶,石油醚中的0-5%(30min)乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的叔丁基-[3-(6-氯嘧啶-4-基)-1-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡唑-5-基]氧基-二甲基-硅烷(1.18g,2.40mmol,49.98%收率)。

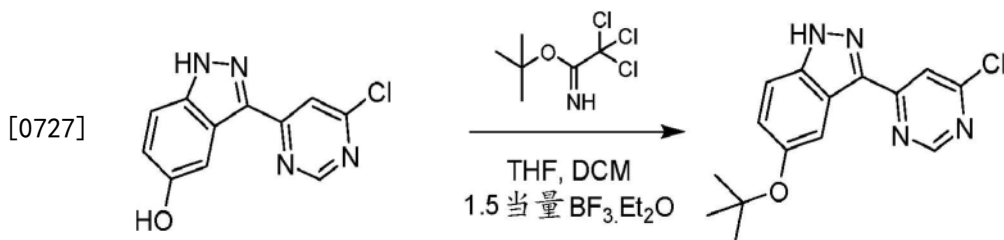
[0723] 步骤4



[0725] 在20℃在N₂下向叔丁基-[3-(6-氯嘧啶-4-基)-1-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡唑-5-基]氧基-二甲基-硅烷(1.18g,2.40mmol,1当量)在DCM(10mL)中的混合物中一次性添加TFA(3g,26.31mmol,1.95mL,10.95当量)。将混合物在20℃下搅拌1h。接着添加NH₃.H₂O(2.55g,24.02mmol,2.80mL,33%纯度,10当量)并将溶液在20℃下搅拌1h。将溶液在真空下浓缩。将粗品溶解于THF(5mL)中,添加TBAF(1M,2.40mL,1当量),并将溶液搅拌1h,得到黄色溶液。将水相用乙酸乙酯(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:12g,30mL/min,石

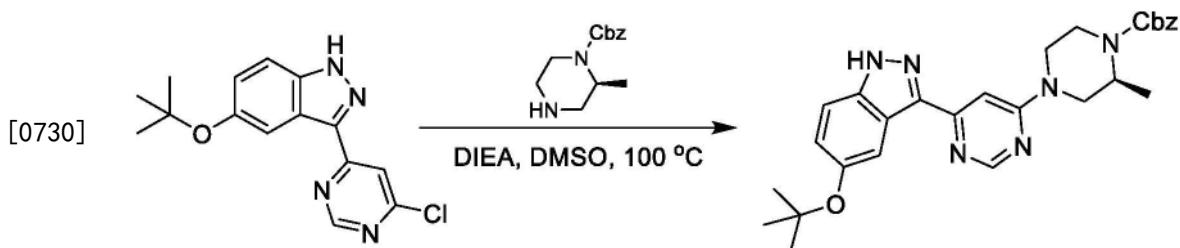
油醚中的0-32% (18min) 乙酸乙酯,石油醚中的32% (12min) 乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的3-(6-氯嘧啶-4-基)-1H-吡唑-5-醇(140mg,567.60 μ mol,23.63%收率)。

[0726] 步骤5



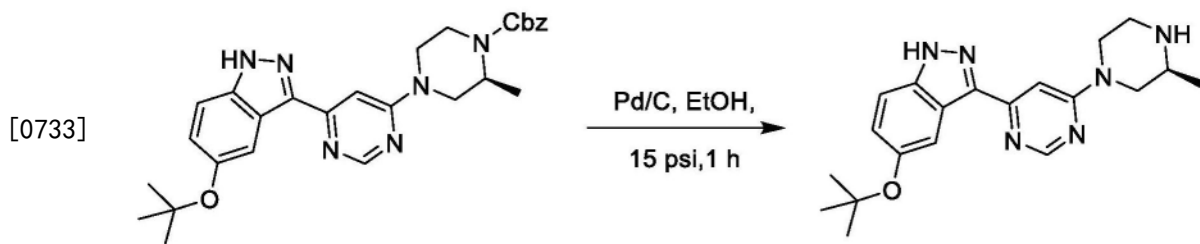
[0728] 在25℃在 N_2 下向3-(6-氯嘧啶-4-基)-1H-吡唑-5-醇(140mg,567.60 μ mol,1当量)在THF(5mL)和DCM(5mL)中的混合物中一次性添加2,2,2-三氯乙酰亚胺酸叔丁酯(744.15mg,3.41mmol,609.96 μ L,6当量)和 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (241.68mg,851.40 μ mol,210.15 μ L,50%纯度,1.5当量)。将混合物在25℃下搅拌10min,得到黄色溶液。将残余物倒入水(5mL)中并搅拌5min。将水相用DCM(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(3mL*2)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(DCM:MeOH=10:1, R_f =0.38,12g,30mL/min,100-200目硅胶,石油醚中的0-20%(10min)乙酸乙酯,石油醚中的20%(10min)乙酸乙酯),得到呈黄色固体的5-叔丁氧基-3-(6-氯嘧啶-4-基)-1H-吡唑(80mg,264.24 μ mol,46.55%收率)。

[0729] 步骤6



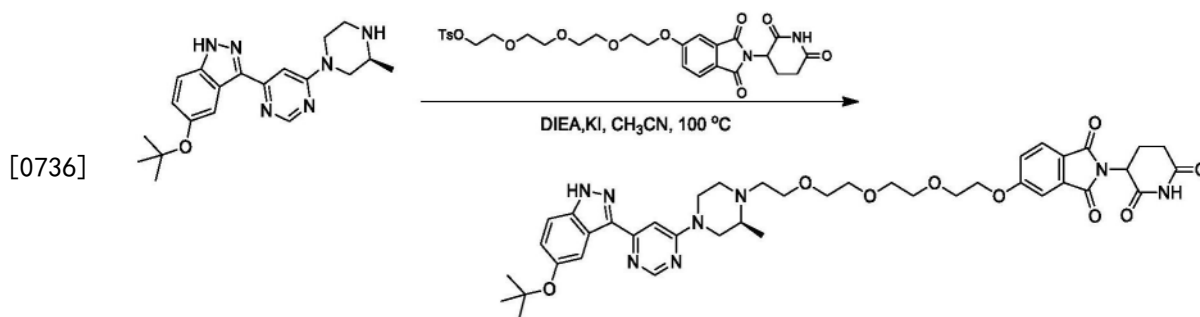
[0731] 向5-叔丁氧基-3-(6-氯嘧啶-4-基)-1H-吡唑(200mg,660.59 μ mol,1当量)、(2S)-2-甲基哌嗪-1-甲酸苄酯(154.77mg,660.59 μ mol,1当量)在DMSO(10mL)中的混合物中一次性添加 Et_3N (200.54mg,1.98mmol,275.84 μ L,3当量),接着在100℃下搅拌1h。TLC(PE:EtOAc=5:1, R_f =0.50)显示起始物质被完全消耗。将混合物冷却至20℃,接着将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 10mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(20g,40mL/min,100-200目硅胶,石油醚中的0-17%(3min)乙酸乙酯,石油醚中的17%(5min)乙酸乙酯),得到呈黄色胶状物的(2S)-4-[6-(5-叔丁氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(230mg,450.27 μ mol,68.16%收率,98%纯度)。

[0732] 步骤7



[0734] 在20℃在N₂下向(2S)-4-[6-(5-叔丁氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(230mg, 459.46μmol, 1当量)在EtOH(5mL)中的混合物中一次性添加Pd/C(100mg, 459.46μmol, 10%纯度, 1当量)。将悬浮液在真空下脱气并用H₂吹扫数次。将混合物在H₂(15psi)下在20℃下搅拌1h。将悬浮液通过硅藻土垫过滤, 将垫用EtOAc(3x 50mL)洗涤, 得到呈黄色胶状物的5-叔丁氧基-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(140mg, 382.03μmol, 83.15%收率)。将粗产物用于下一步骤。

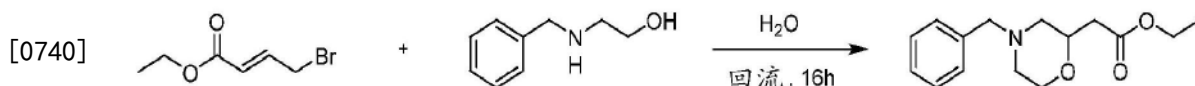
[0735] 步骤8



[0737] 向5-叔丁氧基-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(140mg, 382.03μmol, 1当量)、KI(317.09mg, 1.91mmol, 5当量)和4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙酯(254.09mg, 420.24μmol, 1.1当量)在MeCN(5mL)中的混合物中一次性添加DIPEA(246.87mg, 1.91mmol, 332.71μL, 5当量)。将混合物在100℃下搅拌16h。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(3x 5mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 5mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱: Phenomenex luna C18 100*40mm*3μm; 条件: 水(0.225% FA)-ACN; 开始B: 20-50; 流速: 25mL/min; 梯度时间: 8.5min; 100% B保持时间: 2min)。并且将粗品通过制备型TLC纯化(DCM: MeOH=10:1, R_f=0.27), 得到呈白色固体的5-[2-[2-[2-[2-[(2S)-4-[6-(5-叔丁氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]-2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(34.9mg, 41.94μmol, 10.98%收率, 96%纯度)。

[0738] 示例性化合物17的示例性合成

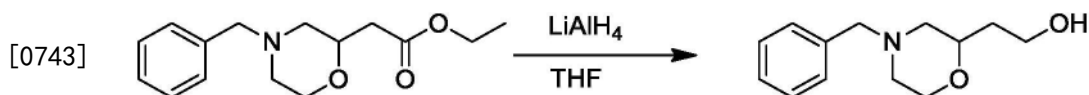
[0739] 步骤1



[0741] 将2-(苄基氨基)乙醇(17g, 112.43mmol, 15.89mL, 1当量)和Et₃N(11.38g, 112.43mmol, 15.65mL, 1当量)在H₂O(200mL)中的溶液加热至105℃。逐滴添加(E)-4-溴丁-3-烯酸乙酯(23.87g, 123.67mmol, 1.1当量)并将反应在105℃下加热16h, 得到红色溶液。将

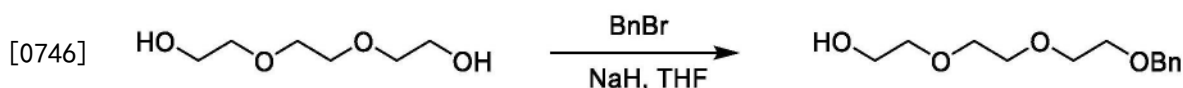
混合物冷却至20℃并在20℃下在减压下浓缩。将残余物倒入NaOH (50mL, 10%) 中并搅拌5min。将水相用乙酸乙酯(100mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水(100mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:80g, 100-200目硅胶, 石油醚中的0-20% (30min) 乙酸乙酯), 得到呈黄色油状物的2-(4-苄基吗啉-2-基) 乙酸乙酯(16g, 60.76mmol, 54.04%收率)。

[0742] 步骤2



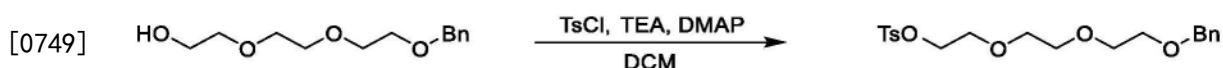
[0744] 向2-(4-苄基吗啉-2-基) 乙酸乙酯(5g, 18.99mmol, 1当量) 在THF (50mL) 中的溶液中添加LiAlH₄ (1.08g, 28.48mmol, 1.5当量)。添加后, 将反应混合物在20℃下搅拌1h。TLC (PE:EtOAc=5:1, R_f=0.18) 显示反应完全。将反应混合物用水(5mL) 淬灭, 接着添加15%氢氧化钠水溶液(5mL) 和水(15mL)。通过过滤去除固体。将滤液在减压下浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:40g, 100-200目硅胶, 石油醚中的0-50% (20min) 乙酸乙酯), 得到呈黄色油状物的2-(4-苄基吗啉-2-基) 乙醇(2.73g, 12.34mmol, 64.97%收率)。

[0745] 步骤3



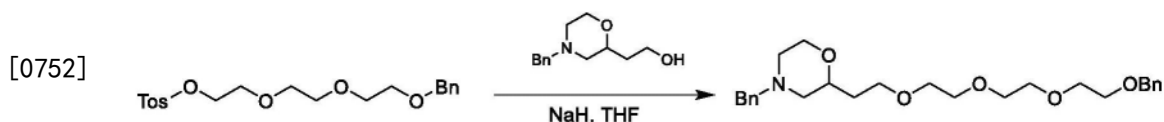
[0747] 在0℃在N₂下向2-[2-(2-羟基乙氧基) 乙氧基]乙醇(5g, 33.29mmol, 4.46mL, 1当量) 在THF (50mL) 中的混合物中一次性添加NaH(1.33g, 33.29mmol, 60%纯度, 1当量)。将混合物在0℃下搅拌30min, 接着将(氯甲基) 苯(3.79g, 29.97mmol, 3.45mL, 0.9当量) 添加到溶液中。接着将溶液加热至25℃并搅拌16小时。将残余物倒入水(30mL) 中。将水相用乙酸乙酯(30mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水(30mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:40g, 100-200目硅胶, DCM中的0-2% (10min) MeOH, DCM中的2% (5min) MeOH, DCM中的5% (15min) MeOH), 得到呈黄色油状物的2-[2-(2-苄氧基乙氧基) 乙氧基]乙醇(3g, 12.48mmol, 37.50%收率)。

[0748] 步骤4



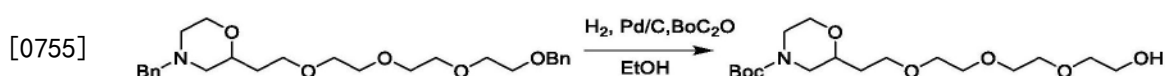
[0750] 在0℃在N₂下向2-[2-(2-苄氧基乙氧基) 乙氧基]乙醇(3g, 12.48mmol, 9.01mL, 1当量)、Et₃N(1.26g, 12.48mmol, 1.74mL, 1当量) 和DMAP(1.53g, 12.48mmol, 1当量) 在DCM (20mL) 中的混合物中一次性添加4-甲基苯-1-磺酰氯(3.57g, 18.73mmol, 1.5当量)。接着将反应溶液升温至20℃并搅拌2小时, 得到白色悬浮液。TLC (MeOH:DCM=10:1, R_f=0.83) 和LCMS显示反应完全。将混合物倒入HCl (2M) 中以将pH调节至7-8。将水相用乙酸乙酯(50mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水(50mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, 石油醚中的10-20% 乙酸乙酯), 得到呈黄色油状物的4-甲基苯磺酸2-[2-(2-苄氧基乙氧基) 乙氧基]乙酯(3.14g, 7.96mmol, 63.76%收率)。

[0751] 步骤5



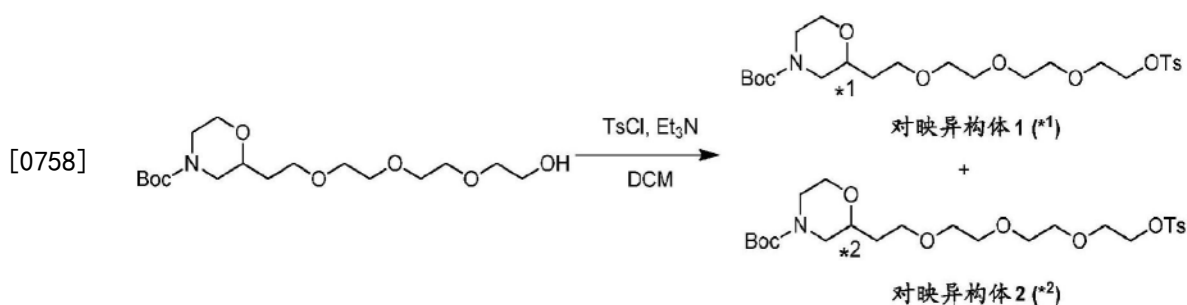
[0753] 在0℃在N₂下向2-(4-苄基吗啉-2-基)乙醇(1g, 4.52mmol, 1当量)在DMF(10mL)中的混合物中一次性添加NaH(542.26mg, 13.56mmol, 60%纯度, 3当量)。将混合物在20℃下搅拌30min, 接着将4-甲基苯磺酸2-[2-(2-苄氧基乙氧基)乙氧基]乙酯(1.78g, 4.52mmol, 1当量)添加到溶液中。将混合物在20℃下搅拌16小时。将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(10mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL*2)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高: 20g, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 石油醚中的0-100% (60min) 乙酸乙酯), 得到呈黄色油状物的4-苄基-2-[2-[2-[2-(2-苄氧基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉(920mg, 2.07mmol, 45.90%收率)。

[0754] 步骤6



[0756] 在N₂下向4-苄基-2-[2-[2-[2-(2-苄氧基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉(920mg, 2.07mmol, 1当量)和Boc₂O(905.31mg, 4.15mmol, 952.96uL, 2当量)在MeOH(10mL)中的溶液中添加Pd/C(100mg, 2.07mmol, 10%纯度, 1当量)。将悬浮液在真空下脱气并用H₂吹扫数次。将混合物在H₂(45psi)下在50℃下搅拌4小时。TLC显示没有起始物质。将悬浮液通过硅藻土垫或硅胶过滤, 并将垫或滤饼用EtOAc(50mL*3)洗涤。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高: 20g, 100-200目硅胶, DCM中的0-10% MeOH), 得到呈无色油状物的2-[2-[2-[2-(2-羟基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(684mg, 1.88mmol, 90.74%收率)。

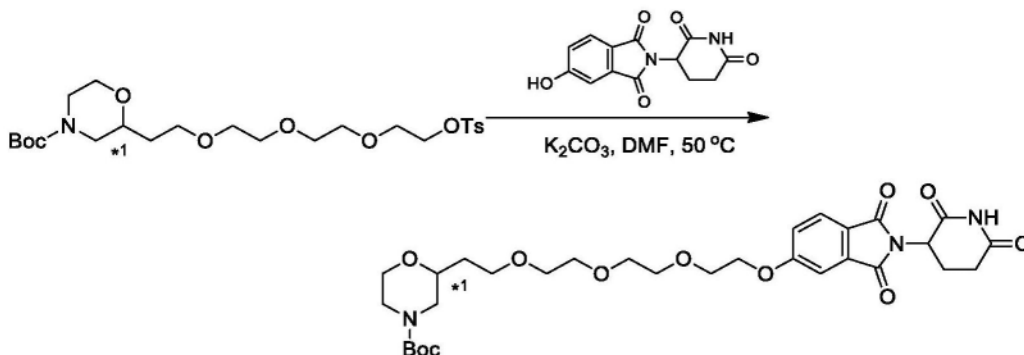
[0757] 步骤7



[0759] 在0℃在N₂下向2-[2-[2-[2-(2-羟基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(400mg, 1.10mmol, 1当量)、Et₃N(334.10mg, 3.30mmol, 459.56uL, 3当量)和DMAP(134.46mg, 1.10mmol, 1当量)在DCM(10mL)中的混合物中一次性添加4-甲基苯磺酰氯(419.64mg, 2.20mmol, 2当量)。将混合物在0℃下搅拌2小时, 得到白色悬浮液。TLC(DCM: MeOH=10:1, R_f=0.54)和LCMS显示反应完全。将残余物倒入水(5mL)中并搅拌5min。将水相用DCM(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*2)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法(柱高: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, DCM中的0-10% MeOH)和SFC{柱: REGIS(s, s) WHELK-01(250mm*50mm, 10um); 条件: 0.1% NH₃H₂O IPA; 开始B: 20%; 结束B: 20%; 流速(ml/min): 70}纯化, 得到呈无色油状物的对映异构体1(2

*¹)-2-[2-[2-[2-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(148mg,234.51umol,21.31%收率,82.019%纯度)(Rt=2.832min,148mg)和呈无色油状物的对映异构体2(*²)-2-[2-[2-[2-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(146mg,259.63umol,23.59%收率,92.051%纯度)(Rt=3.004min,146mg)。

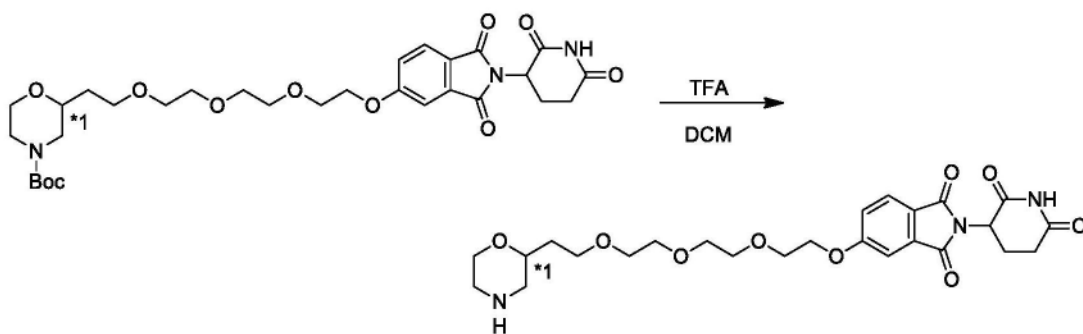
[0760] 步骤8



[0761]

[0762] 在20℃在N₂下向对映异构体1(2*¹)-2-[2-[2-[2-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(70mg,135.23umol,1当量)和2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-羟基-异吲哚啉-1,3-二酮(40.79mg,148.75umol,1.1当量)在DMF(5mL)中的混合物中一次性添加K₂CO₃(37.38mg,270.46umol,2当量)。将混合物在65℃下搅拌1h,得到绿色悬浮液。将混合物冷却至25℃并在25℃下在减压下浓缩。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:12g,100-200目硅胶,石油醚中的0-100%(30min)乙酸乙酯,石油醚中的100%(10min)乙酸乙酯),得到呈无色胶状物的(2*¹)-2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(50mg,72.22umol,53.40%收率,89.5%纯度)。

[0763] 步骤9

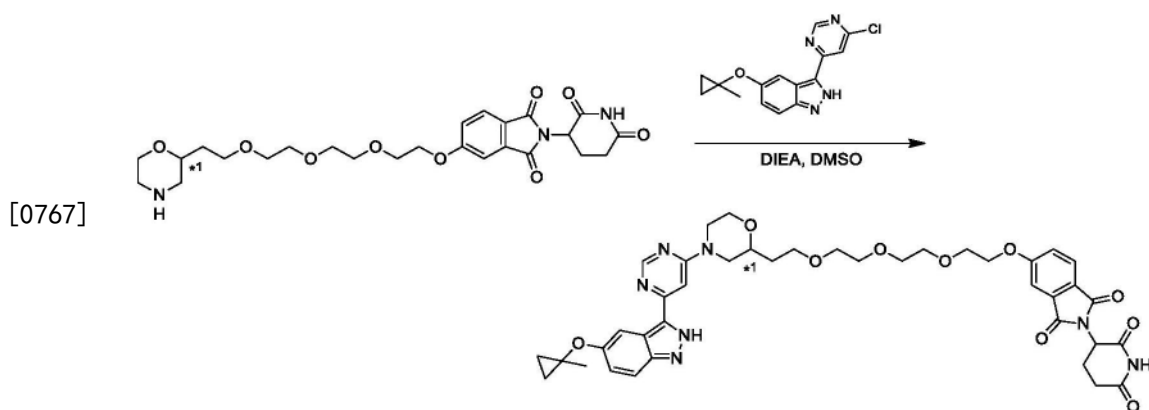


[0764]

[0765] 在25℃在N₂下向(2*¹)-2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(50mg,80.69umol,1当量)在DCM(5mL)中的混合物中一次性添加TFA(27.60mg,242.07umol,17.92uL,3当量)。将混合物在25℃下搅拌30min。TLC显示反应完全。将反应混合物在减压下浓缩以去除溶剂,得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2*¹)-吗啉-2-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙基]异吲哚啉-1,3-二酮(50mg,71.72umol,88.88%收率,90.873%

纯度, TFA)。

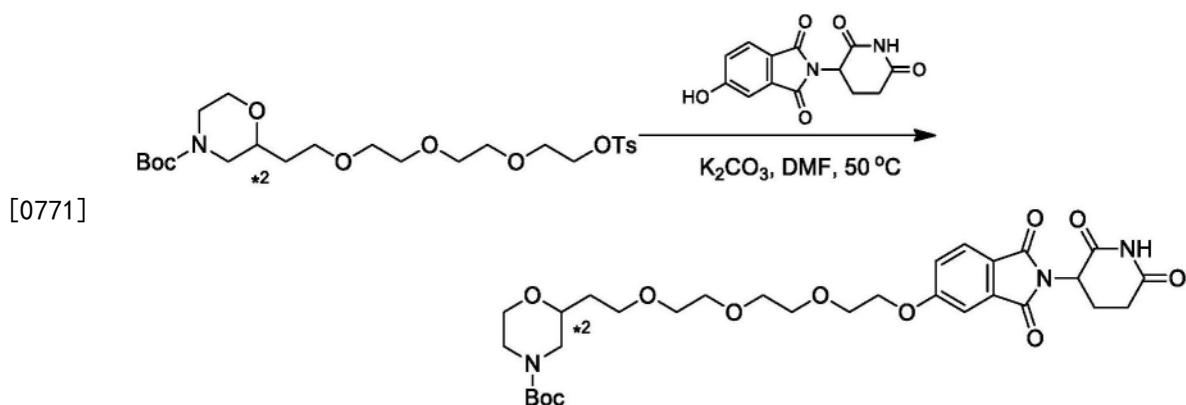
[0766] 步骤10



[0768] 在20℃在N₂下向3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-(1-甲基环丙氧基)-2H-吡唑(26.11mg, 86.81μmol, 1.1当量)和2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2R)-吗啉-2-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(50mg, 78.92μmol, 1当量, TFA)在DMSO(2mL)中的混合物中一次性添加DIPEA(20.40mg, 157.84μmol, 27.49μL, 2当量)。将混合物在100℃下搅拌1h。将水相用乙酸乙酯(3mL*2)萃取。将合并的有机相用盐水(3mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱: Phenomenex Luna C18100*30mm*5μm; 条件: 水(0.225% FA)-ACN; B: 23%-53%; 9min), 得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2R)-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-2H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]吗啉-2-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(7.6mg, 9.21μmol, 11.67%收率, 95%纯度)。

[0769] 示例性化合物18的示例性合成

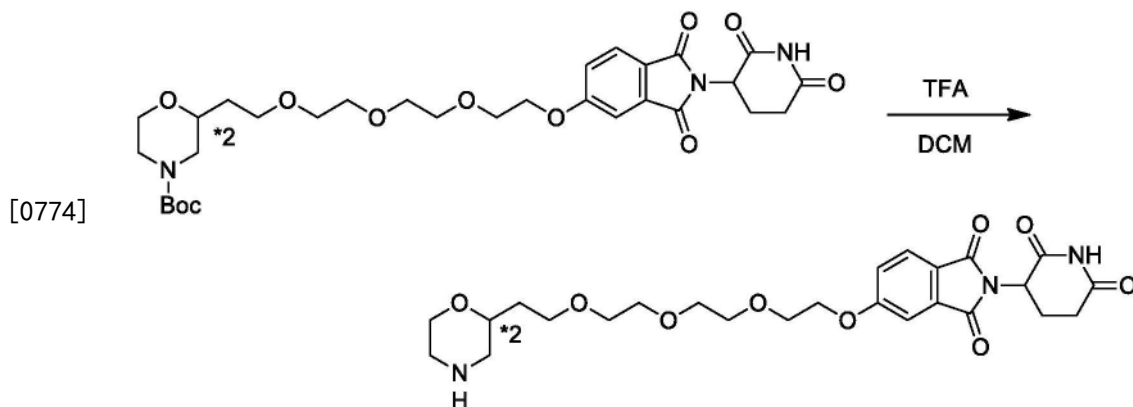
[0770] 步骤1



[0772] 在20℃在N₂下向(2*)-2-[2-[2-[2-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(146mg, 282.05μmol, 1当量)和2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-羟基-异吲哚啉-1,3-二酮(85.08mg, 310.26μmol, 1.1当量)在DMF(2mL)中的混合物中一次性添加K₂CO₃(77.97mg, 564.11μmol, 2当量)。将混合物在70℃下搅拌2小时。将混合物冷却至25℃并在25℃下在减压下浓缩。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*3)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高: 12g, 100-200目硅胶, 石油醚中的0-80%(20min)乙酸乙酯,

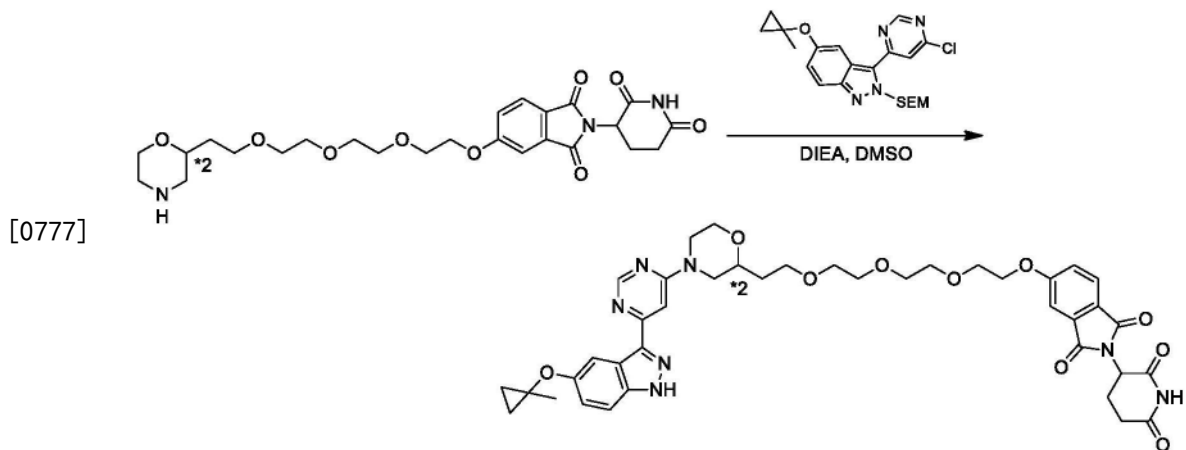
石油醚中的80% (10min) 乙酸乙酯), 得到呈无色胶状物的(2*)²-2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(118mg, 190.43umol, 67.51%收率)。

[0773] 步骤2



[0775] 在25℃在N₂下向(2*)²-2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(118mg, 190.43umol, 1当量)在DCM(5mL)中的混合物中一次性添加TFA(21.71mg, 190.43umol, 14.10uL, 1当量)。将混合物在25℃下搅拌30min。TLC显示起始物质被消耗。将反应混合物在减压下浓缩以去除溶剂, 得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[2-(2*)²-吗啉-2-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(118mg, 143.60umol, 75.41%收率, 77.102%纯度, TFA)。

[0776] 步骤3



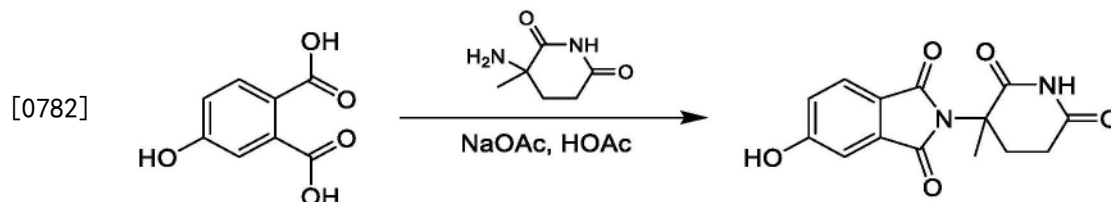
[0778] 在20℃在N₂下向2-[[3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-(1-甲基环丙氧基)呋唑-2-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(107.68mg, 249.83umol, 1.1当量)和2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[2-(2*)²-吗啉-2-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(118mg, 227.12umol, 1当量, TFA)在DMSO(2mL)中的混合物中一次性添加DIPEA(58.71mg, 454.25umol, 79.12uL, 2当量)。将混合物在100℃下搅拌1h, 接着添加HCl(4M, 283.90uL, 5当量), 将溶液在65℃下搅拌30min。将水相用乙酸乙酯(3mL*2)萃取。将合并的有机相用盐水(3mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱: Phenomenex Luna C18 100*30mm*5um; 条件: 水(0.225% FA)-ACN; B%: 23%-53%; 9min),

得到呈粉红色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2*)-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-2H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]吗啉-2-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(43.1mg, 53.17 μ mol, 23.41%收率, 96.7%纯度)。

[0779] 来自HNMR数据的总H计数:43

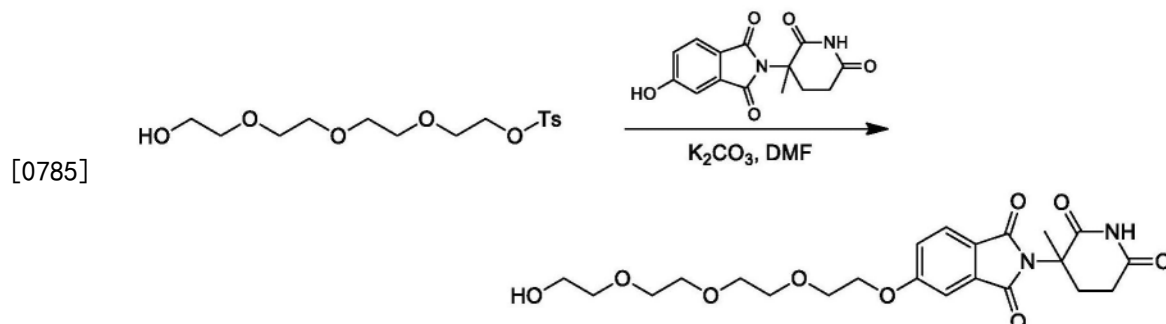
[0780] 示例性化合物19的示例性合成

[0781] 步骤1



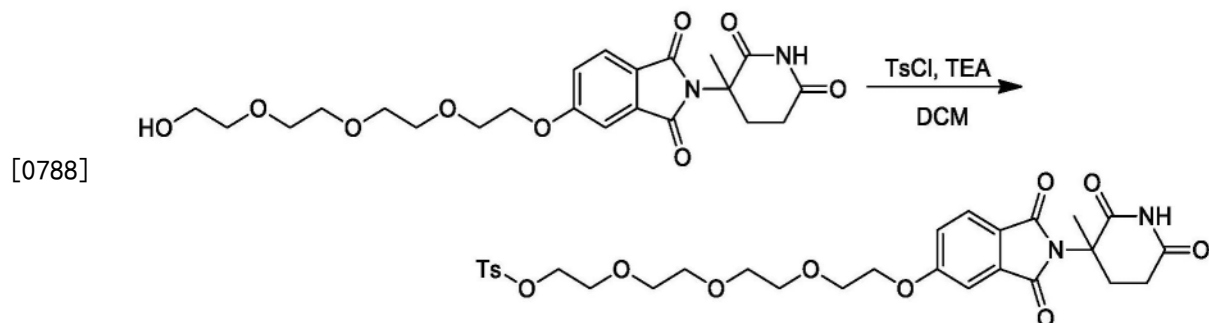
[0783] 向4-羟基邻苯二甲酸(256.24mg, 1.41mmol, 1当量)和3-氨基-3-甲基-哌啶-2,6-二酮(200mg, 1.41mmol, 1当量)在HOAc(4mL)中的溶液中添加NaOAc(346.24mg, 4.22mmol, 3当量)。将反应混合物在120℃在N₂下搅拌16小时。将反应混合物倒入H₂O(10mL*2)中并通过离心去除残留的水,得到呈白色固体的5-羟基-2-(3-甲基-2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(114mg, 355.93 μ mol, 25.30%收率, 90%纯度)。将粗产物直接用于下一步骤。

[0784] 步骤2



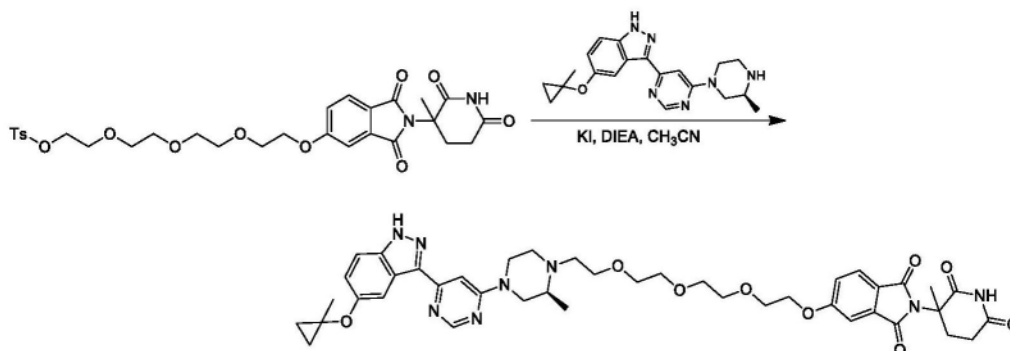
[0786] 向4-甲基苯磺酸2-[2-[2-(2-羟基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙酯(165.35mg, 474.58 μ mol, 1.2当量)和5-羟基-2-(3-甲基-2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(114mg, 395.48 μ mol, 1当量)在DMF(5mL)中的溶液中添加K₂CO₃(163.97mg, 1.19mmol, 3当量)。添加后,将反应混合物在70℃下搅拌2小时。将反应混合物过滤,接着浓缩滤液。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至100%乙酸乙酯),得到呈无色油状物的5-[2-[2-[2-(2-羟基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]-2-(3-甲基-2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(180mg, 313.91 μ mol, 79.37%收率, 81%纯度)。

[0787] 步骤3



[0789] 向5-[2-[2-[2-(2-羟基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]-2-(3-甲基-2,6-二氧代-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(180mg, 387.54 μ mol, 1当量)和4-甲基苯磺酰氯(147.77mg, 775.09 μ mol, 2当量)在DCM(3mL)中的溶液中添加DMAP(4.73mg, 38.75 μ mol, 0.1当量)和TEA(117.65mg, 1.16mmol, 161.82 μ L, 3当量)。添加后,将混合物在20℃下搅拌16小时。将滤液通过水(10mL)淬灭并用乙酸乙酯(3*10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过制备型TLC纯化(硅胶,石油醚:乙酸乙酯=0:1, R_f=0.43),得到呈无色固体的4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(3-甲基-2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙酯(140mg, 193.94 μ mol, 50.04%收率, 85.70%纯度)。

[0790] 步骤4

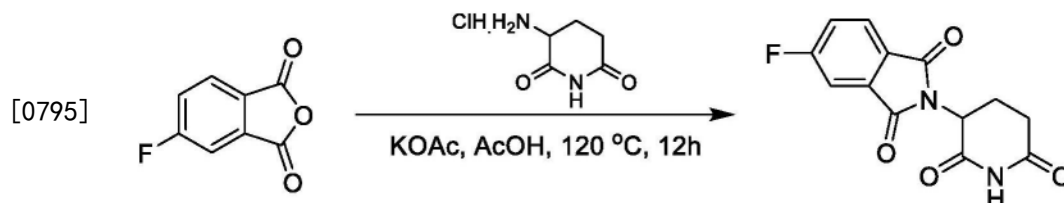


[0791]

[0792] 向4-甲基苯磺酸2-[2-[2-[2-(3-甲基-2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙酯(140mg, 226.30 μ mol, 1当量)和5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(82.47mg, 226.30 μ mol, 1当量)在ACN(4mL)中的溶液中添加KI(187.83mg, 1.13mmol, 5当量)和DIEA(146.24mg, 1.13mmol, 197.09 μ L, 5当量)。将混合物在100℃下搅拌6小时。将反应物冷却,添加水(10mL),并将混合物用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 100*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:15%-45%, 9min),得到呈红色固体的2-(3-甲基-2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[2-[2-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(11.1mg, 13.58 μ mol, 6.00%收率, 99.21%纯度)。

[0793] 示例性化合物20的示例性合成

[0794] 步骤1

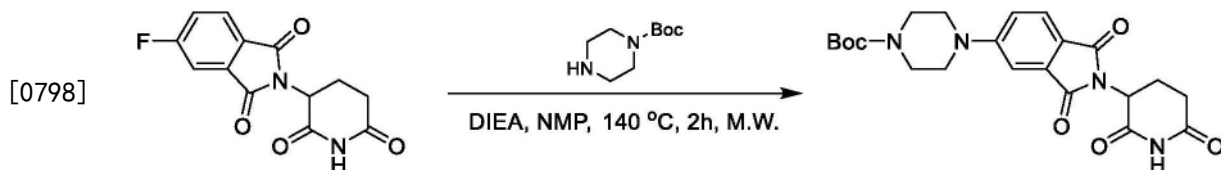


[0795]

[0796] 向5-氟异苯并呋喃-1,3-二酮(1g, 6.02mmol, 1当量)和3-氨基哌啶-2,6-二酮HCl盐(1.49g, 9.03mmol, 1.5当量)在CH₃COOH(10mL)中的溶液中添加KOAc(1.18g, 12.04mmol, 2当量)。添加后,将反应混合物在120℃下搅拌12小时。将混合物用水(40mL)稀释。过滤混合

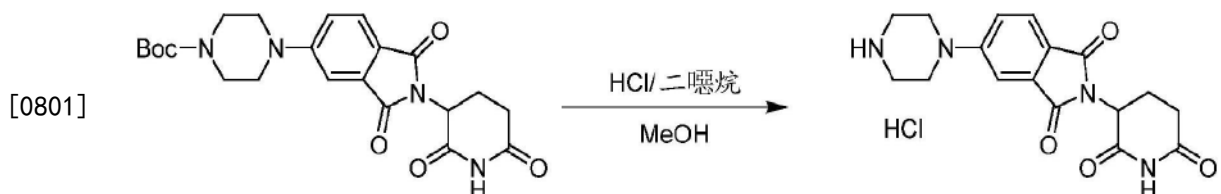
物,用水(100mL)洗涤滤饼,得到呈黑色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-氟-异吲哚啉-1,3-二酮(1.4g,5.07mmol,84.19%收率)。

[0797] 步骤2



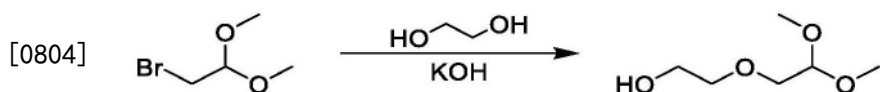
[0799] 向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-氟-异吲哚啉-1,3-二酮(1.15g,4.16mmol,1当量)和哌嗪-1-甲酸叔丁酯(852.97mg,4.58mmol,1.1当量)在NMP(10mL)中的溶液中添加DIEA(1.61g,12.49mmol,2.18mL,3当量)。将密封管在微波下在140℃下加热2小时。将混合物与批次EB12-30-P1合并,用水(50mL)稀释并用乙酸乙酯(2x 50mL)萃取。将合并的有机相用饱和盐水(2x 30mL)洗涤,经无水硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至50%乙酸乙酯),得到呈黄色固体的4-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.4g,3.16mmol,76.00%收率)。基于EB12-30(905.08μmol起始物质)和EB12-32(4.16mmol起始物质),平均收率为62.49%。

[0800] 步骤3



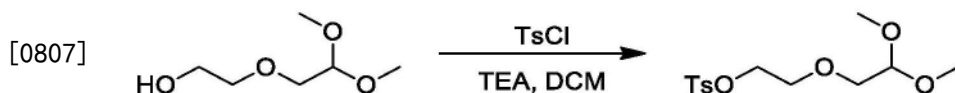
[0802] 向4-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.2g,2.71mmol,1当量)在MeOH(10mL)中的溶液中添加HCl/二噁烷(4M,2.00mL,2.95当量)。添加后,将反应溶液在65℃下搅拌1h。将反应溶液与批次EB12-34-P1合并。将混合物在减压下浓缩,得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-5-(哌嗪-1-基)异吲哚啉-1,3-二酮盐酸盐(1.1g,粗品)。基于EB12-34(452.01μmol起始物质)和EB12-35(2.71mmol起始物质),平均收率为91.04%。

[0803] 步骤4



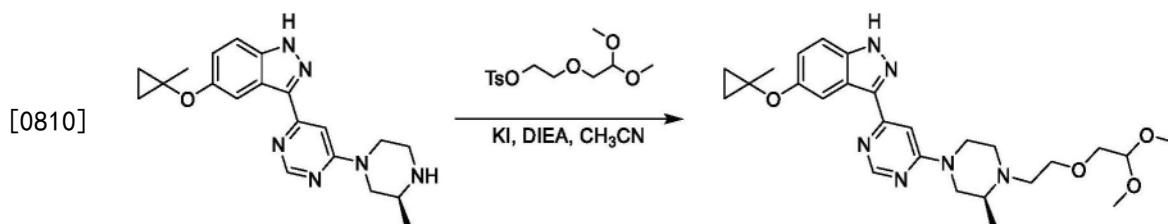
[0805] 将KOH(2.21g,39.46mmol,2当量)在乙二醇(3.67g,59.17mmol,3.31mL,5当量)中的溶液在115℃下搅拌。在氢氧化钾溶解后,经5分钟逐滴添加2-溴-1,1-二甲氧基-乙烷(2g,11.83mmol,1.39mL,1当量),将反应混合物搅拌20小时。TLC(乙酸乙酯:石油醚=1:1)显示新的斑点。接着使混合物冷却至室温(20℃),并用水(40mL)稀释整体,接着用二氯甲烷(3x 20mL)萃取。将有机层用盐水(3x 20mL)洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至50%乙酸乙酯),得到呈浅黄色油状物的2-(2,2-二甲氧基乙氧基)乙醇(200mg,1.33mmol,11.25%收率)。

[0806] 步骤5



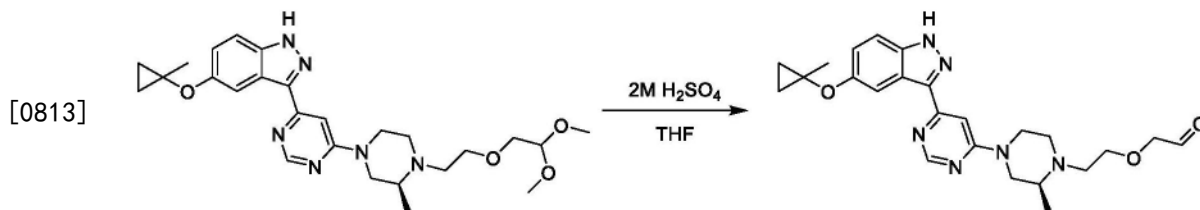
[0808] 向2-(2,2-二甲氧基乙氧基)乙醇(200mg,1.33mmol,1当量)和4-甲基苯磺酰氯(507.81mg,2.66mmol,2当量)在DCM(3mL)中的溶液中添加TEA(269.53mg,2.66mmol,370.74uL,2当量)。添加后,将反应溶液在20℃下搅拌16h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1)显示起始物质被消耗并且TLC(石油醚:乙酸乙酯=5:1)显示新的斑点。将反应混合物用水(10mL)稀释并用二氯甲烷(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至30%乙酸乙酯),得到呈浅黄色油状物的4-甲基苯磺酸2-(2,2-二甲氧基乙氧基)乙酯(350mg,1.15mmol,86.35%收率)。

[0809] 步骤6



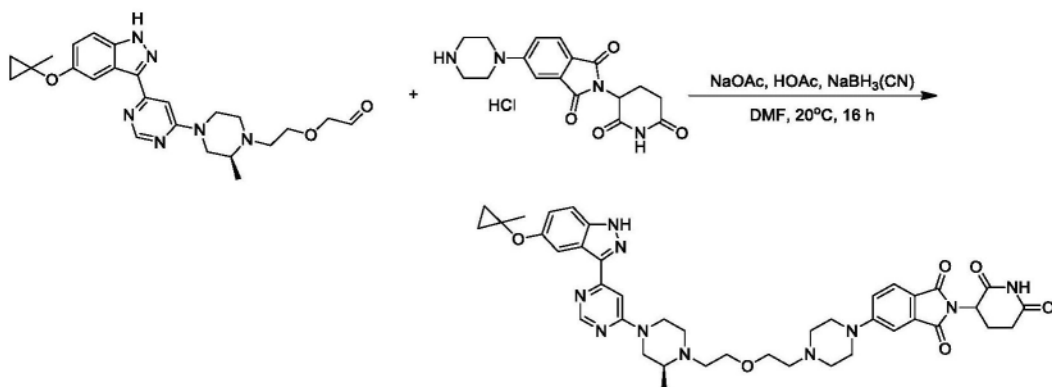
[0811] 向5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(100mg,274.39umol,1当量)和4-甲基苯磺酸2-(2,2-二甲氧基乙氧基)乙酯(83.51mg,274.39umol,1当量)在CH₃CN(3mL)中的溶液中添加KI(227.75mg,1.37mmol,5当量)和DIEA(70.93mg,548.78umol,95.59uL,2当量)。添加后,将反应混合物在90℃下搅拌12h。将反应混合物用水(10mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(二氯甲烷中的0至10%甲醇),得到呈黄色油状物的3-[6-[(3S)-4-[2-(2,2-二甲氧基乙氧基)乙基]-3-甲基-哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(80mg,146.60umol,53.43%收率,91%纯度)。

[0812] 步骤7



[0814] 向3-[6-[(3S)-4-[2-(2,2-二甲氧基乙氧基)乙基]-3-甲基-哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(80mg,161.10umol,1当量)在THF(3mL)中的溶液中添加H₂SO₄(2M,3.22mL,40当量)。添加后,将反应溶液在70℃下搅拌1h。将反应溶液用饱和NaHCO₃(pH=7)淬灭。将所得混合物用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩,得到呈黄色固体的2-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙醛(60mg,118.53umol,73.58%收率,89%纯度)。直接使用粗产物。

[0815] 步骤8

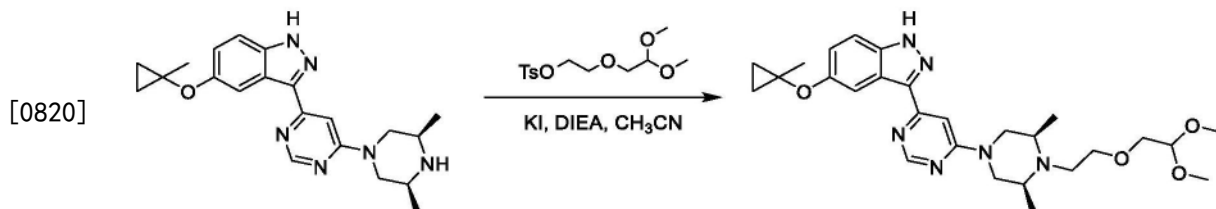


[0816]

[0817] 向2-[2-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙醛(60mg,133.18 μ mol,1当量)和2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(哌嗪-1-基)异吡啶啉-1,3-二酮盐酸盐(50.45mg,133.18 μ mol,1当量)在DMF(3mL)中的溶液中添加NaOAc(32.77mg,399.53 μ mol,3当量)、HOAc(8.00mg,133.18 μ mol,7.62 μ L,1当量)和NaBH₃CN(16.74mg,266.35 μ mol,2当量)。添加后,将反应混合物在20℃下搅拌16h。将滤液通过制备型HPLC纯化(柱:Agela DuraShell C18 150*25mm*5 μ m;流动相:[水(0.04%NH₃H₂O+10mM NH₄HCO₃)-ACN];B%:40%-70%,8min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[2-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙基]哌嗪-1-基]异吡啶啉-1,3-二酮(15.8mg,20.13 μ mol,15.12%收率,99%纯度)。

[0818] 示例性化合物21的示例性合成

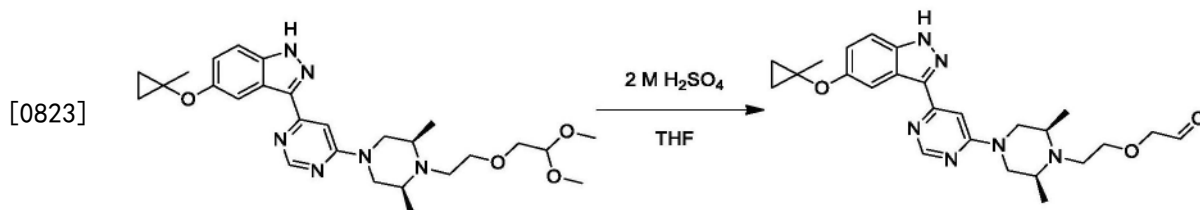
[0819] 步骤1



[0820]

[0821] 在20℃在N₂下向3-[6-[3,5-二甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(100mg,264.22 μ mol,1当量)和4-甲基苯磺酸2-(2,2-二甲氧基乙氧基)乙酯(80.42mg,264.22 μ mol,1当量)在CH₃CN(3mL)中的混合物中一次性添加KI(43.86mg,264.22 μ mol,1当量)和DIPEA(34.15mg,264.22 μ mol,46.02 μ L,1当量),接着将反应混合物加热至100℃并搅拌24h,得到棕色悬浮液。将悬浮液过滤并且在真空中浓缩滤液。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶,DCM中的0-10% MeOH),得到呈黄色固体的3-[6-[3,5-二甲基-4-[2-(2,2-二甲氧基乙氧基)乙基]-3,5-二甲基-哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(110mg,粗品)。

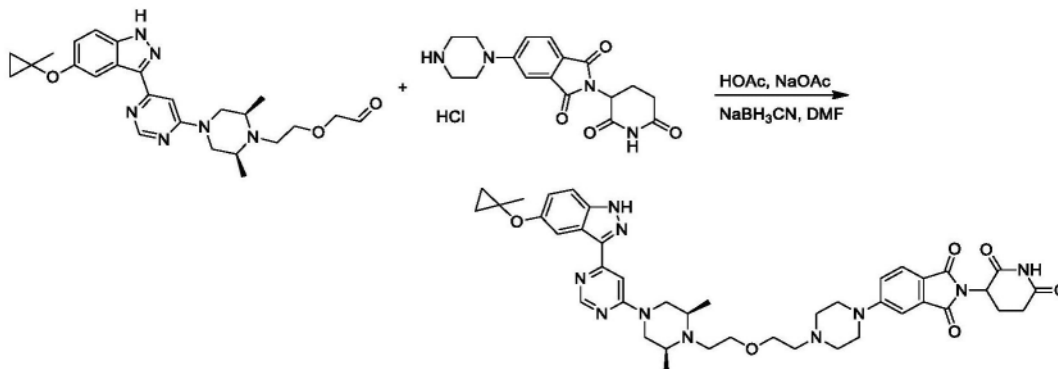
[0822] 步骤2



[0823]

[0824] 在20℃在N₂下向3-[6-[(3R,5S)-4-[2-(2,2-二甲氧基乙氧基)乙基]-3,5-二甲基-哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(110mg, 215.42μmol, 1当量)在THF(5mL)中的溶液中一次性添加H₂SO₄(2M, 4.31mL, 40当量)。接着将溶液加热至70℃并搅拌1h, 得到黄色溶液。TLC(DCM:MeOH=10:1, R_f=0.06)显示反应完全。将溶液冷却至20℃。将溶液倒入水(5mL)和NaHCO₃中以将pH调节至7-8。将水相用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 10mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩, 得到呈黄色固体的2-[2-[(2R,6S)-2,6-二甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙醛(50mg, 75.72μmol, 35.15%收率, 70.353%纯度)。

[0825] 步骤3

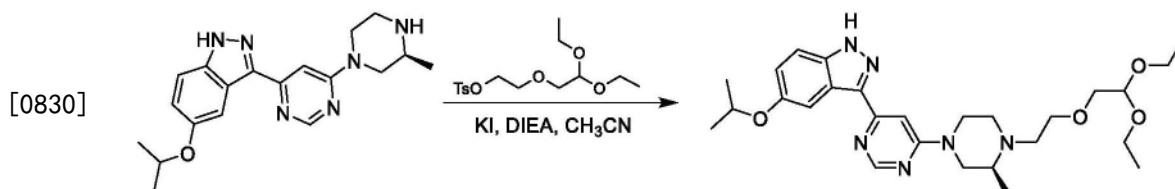


[0826]

[0827] 向2-[2-[(2R,6S)-2,6-二甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙醛(50mg, 107.63μmol, 1当量)和2-(2,6-二氧化代哌啶-3-基)-5-(哌嗪-1-基)异吡啶-1,3-二酮盐酸盐(81.54mg, 215.26μmol, 2当量)在DMF(2mL)中的混合物中添加NaOAc(26.49mg, 322.89μmol, 3当量)和乙酸(3.23mg, 53.81μmol, 3.08μL, 0.5当量)。将混合物在25℃下搅拌0.5h。接着将NaBH₃CN(13.53mg, 215.26μmol, 2当量)添加到混合物中。将混合物在20℃下搅拌16h。起始物质完全消耗, 并且通过LCMS检测到所需化合物。将残余物过滤并将滤液直接通过制备型HPLC纯化(柱:Agela DuraShell C18 150*25mm*5μm; 流动相:水(0.04% NH₃H₂O+10mM NH₄HCO₃)-ACN; B%:50%-80%, 梯度时间(min):8min; 流速(ml/min):25), 得到呈黄色固体的5-[4-[2-[2-[(2R,6S)-2,6-二甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]乙基]哌嗪-1-基]-2-(2,6-二氧化代-3-哌啶基)异吡啶-1,3-二酮(16.4mg, 20.74μmol, 19.27%收率, 100%纯度)。

[0828] 示例性化合物22的示例性合成

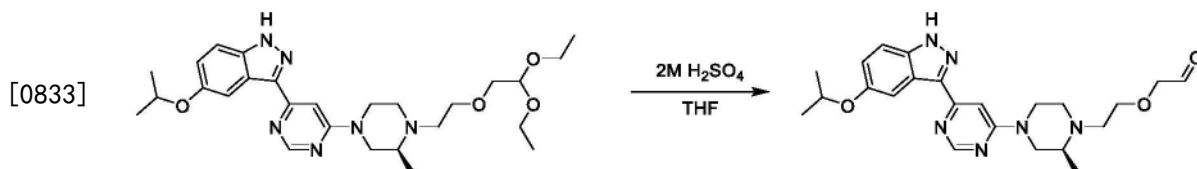
[0829] 步骤1



[0831] 向5-异丙氧基-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(320mg, 822.85μmol, 1当量, HCl盐)和4-甲基苯磺酸2-(2,2-二乙氧基乙氧基)乙酯(328.23mg, 987.42μmol, 1.2当量)在CH₃CN(6mL)中的溶液中添加KI(1.37g, 8.23mmol, 10当量)和DIEA

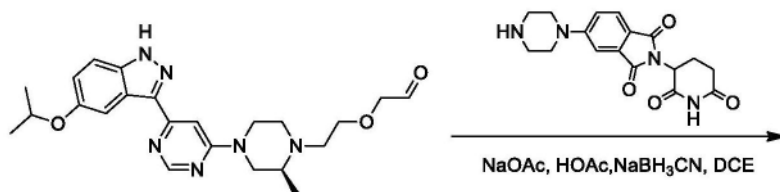
(1.06g, 8.23mmol, 1.43mL, 10当量)。将混合物在90℃下搅拌18小时。LC-MS上显示出几个新峰,并且检测到约41%的所需化合物。将反应混合物用水(20mL)稀释并用EA(30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将粗产物通过硅胶柱色谱法纯化(MeOH中好DCM=0至10%),得到呈黄色油状物的3-[6-[(3S)-4-[2-(2,2-二乙氧基乙氧基)乙基]-3-甲基-哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-异丙氧基-1H-吡唑(250mg, 419.40umol, 50.97%收率, 86%纯度)。

[0832] 步骤2

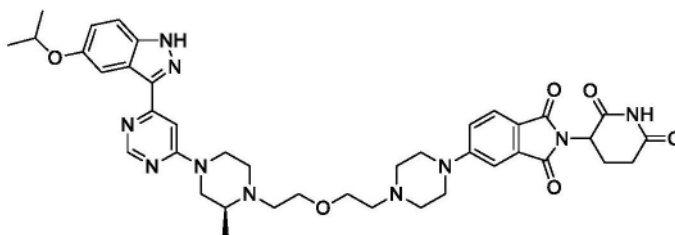


[0834] 向3-[6-[(3S)-4-[2-(2,2-二乙氧基乙氧基)乙基]-3-甲基-哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-异丙氧基-1H-吡唑(125mg, 243.83umol, 1当量)在THF(1mL)中的溶液中添加H₂SO₄(2M, 1.25mL, 10.25当量)。将混合物在70℃下搅拌1小时。TLC指示反应物被消耗,并且检测到一个极性较大的主要新斑点。将反应混合物用饱和NaHCO₃(20mL)稀释并用EA(30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩,得到呈浅黄色固体的2-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙氧基]乙醛(100mg, 207.52umol, 85.11%收率, 91%纯度)。

[0835] 步骤3



[0836]

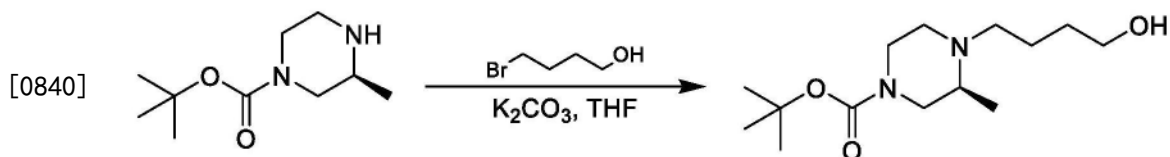


[0837] 向2-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙氧基]乙醛(100mg, 228.04umol, 1当量)和2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(哌嗪-1-基)异吡啶啉-1,3-二酮2,2,2-三氟乙酸酯(104.07mg, 228.04umol, 1当量)在DCE(3mL)中的溶液中添加NaOAc(56.12mg, 684.12umol, 3当量), HOAc(13.69mg, 228.04umol, 13.04uL, 1当量)和NaBH₃CN(42.99mg, 684.12umol, 3当量)。将混合物在25℃下搅拌18小时。LC-MS(EB134-92-P1C)显示反应物1被消耗。LC-MS上显示出几个新峰,并且检测到约86%的所需化合物。过滤反应溶液以去除不溶性物质。将反应溶液通过制备型HPLC纯化(FA条件:柱: Phenomenex Luna C18 100*30mm*5um;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:5%-35%, 18min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[2-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙氧基]乙基]哌嗪-1-基]异吡啶啉-

1,3-二酮(27.70mg,34.88 μ mol,15.29%收率,96.3%纯度)。

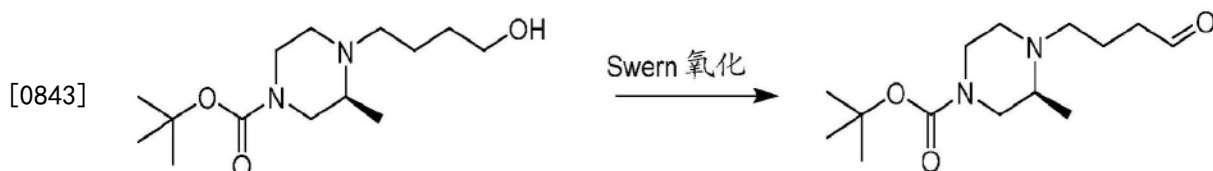
[0838] 示例性化合物23的示例性合成

[0839] 步骤1



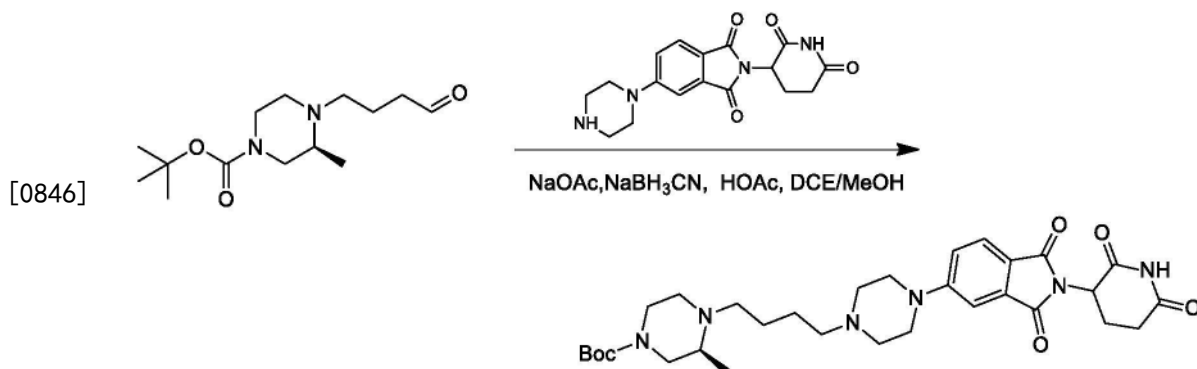
[0841] 向(3S)-3-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(3.5g,17.48mmol,1当量)和4-溴丁-1-醇(3.34g,17.48mmol,1当量)在THF(10mL)的溶液中添加 K_2CO_3 (7.25g,52.43mmol,3当量)。接着将混合物在60℃在 N_2 下搅拌16小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, R_f =0.2)显示反应新斑点。将反应混合物过滤,接着浓缩滤液。将粗品通过快速硅胶色谱法纯化(二氯甲烷中的0-10%甲醇),得到呈无色液体的(3S)-4-(4-羟基丁基)-3-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯(4g,14.69mmol,84.03%收率)。

[0842] 步骤2



[0844] 在干燥氮气气氛下将草酰氯(512.58mg,4.04mmol,353.51 μ L,1.1当量)在DCM(10mL)中的溶液冷却至-60℃。逐滴添加DMSO(717.13mg,9.18mmol,717.13 μ L,2.5当量)在DCM(10mL)中的溶液,随后将混合物在-60℃下搅拌15min。接下来,逐滴添加(3R)-4-(4-羟基丁基)-3-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1g,3.67mmol,1当量)在DCM(10mL)中的溶液,并将混合物在-60℃下搅拌45min。随后,添加TEA(1.11g,11.01mmol,1.53mL,3当量),并将混合物升温至-60℃保持1小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, R_f =0.4)显示新斑点。过滤反应混合物,将滤液直接用于下一步骤。(3S)-3-甲基-4-(4-氧代丁基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(990mg,粗品)在DCM的溶液中为无色液体,将其直接用于下一步骤。

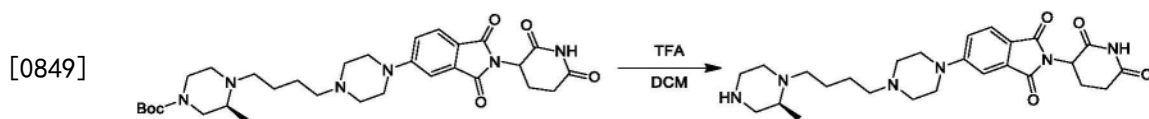
[0845] 步骤3



[0847] 向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-哌嗪-1-基-异吲哚啉-1,3-二酮(500mg,1.10mmol,1当量,TFA)和(3S)-3-甲基-4-(4-氧代丁基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(446.11mg,1.65mmol,1.5当量)在DCM(15mL)和MeOH(15mL)中的溶液中添加NaOAc(270.70mg,3.30mmol,3当量),并将混合物在20℃下搅拌20min。接着将HOAc(6.61mg,110.00 μ mol,

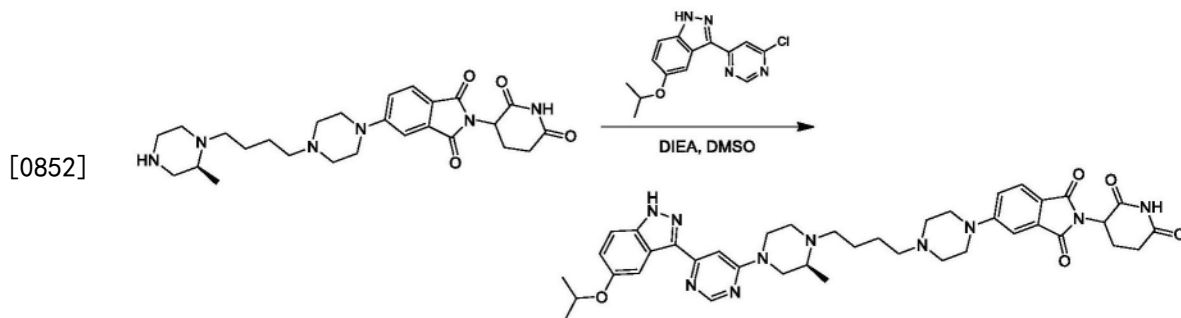
6.29uL, 0.1当量) 和 NaBH_3CN (691.24mg, 11.00mmol, 10当量) 添加到该溶液中并在20℃下搅拌2小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇=10:1, $R_f=0.01$) 显示反应完全。将反应混合物倒入 H_2O (20mL) 中。将混合物用乙酸乙酯 (30mL*3) 萃取。将有机相用盐水 (20mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 在真空中浓缩, 得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (二氯甲烷中的0-20% 甲醇), 得到呈黄色胶状物的 (3S) -4-[4-[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]丁基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (600mg, 703.85umol, 63.99% 收率, 70% 纯度)。

[0848] 步骤4



[0850] 向 (3S) -4-[4-[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]丁基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (200mg, 335.17umol, 1当量) 在DCM (4mL) 中的溶液中添加TFA (3.08g, 27.01mmol, 2mL, 80.59当量), 并将混合物在15℃下搅拌1小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇=5:1, $R_f=0.01$) 显示反应完全。将反应混合物在真空中浓缩, 得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[4-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]丁基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮 (200mg, 粗品, TFA)。

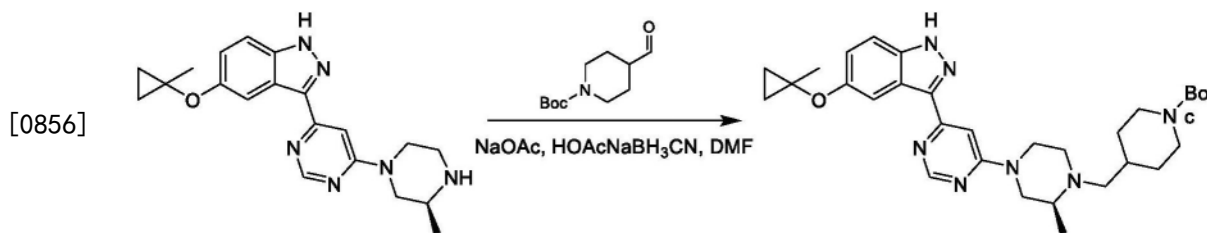
[0851] 步骤5



[0853] 向2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[4-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]丁基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮 (200mg, 327.53umol, 1当量, TFA) 和3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-1H-吲唑 (66.20mg, 229.27umol, 0.7当量) 在DMSO (5mL) 中的溶液中添加DIEA (211.66mg, 1.64mmol, 285.25uL, 5当量)。接着将混合物在100℃在 N_2 下搅拌2小时。将反应混合物倒入 H_2O (10mL) 中。将混合物用乙酸乙酯 (10mL*3) 萃取。将水相在真空中浓缩, 得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化 (柱: Phenomenex luna C18 100*40mm*3um; 流动相: [水 (0.225% FA) -ACN]; B%: 12%-42%, 10min), 得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[4-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吲唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]丁基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮 (7.9mg, 10.35umol, 3.16% 收率, 98.07% 纯度)。

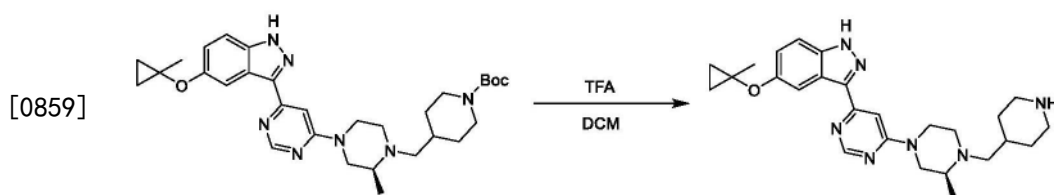
[0854] 示例性化合物24的示例性合成

[0855] 步骤1



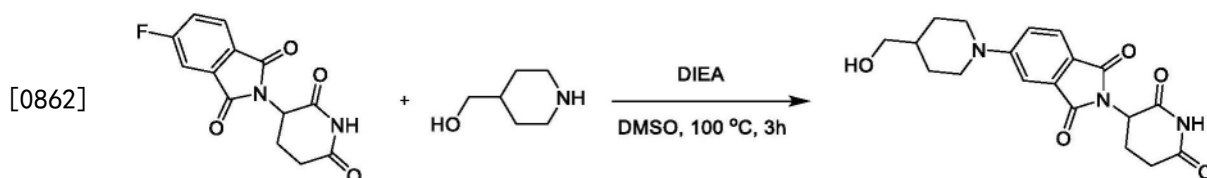
[0857] 在20℃在N₂下向5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(100mg, 274.39μmol, 1当量)和4-甲酰基哌啶-1-甲酸叔丁酯(117.04mg, 548.78μmol, 2当量)在DMF(2mL)中的溶液中一次性添加CH₃COOH(823.89μg, 13.72μmol, 7.85e⁻¹uL, 0.05当量)和NaOAc(45.02mg, 548.78μmol, 2当量)。将溶液在20℃下搅拌5h。接着添加NaBH₃CN(34.49mg, 548.78μmol, 2当量)并将溶液搅拌1h, 得到淡黄色溶液。将残余物倒入水(5mL)中并搅拌5min。将水相用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将合并的有机相用盐水(2x 5mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, 石油醚中的50-80%乙酸乙酯), 得到呈黄色油状物的4-[[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]甲基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(110mg, 172.72μmol, 62.95%收率, 88.199%纯度)。

[0858] 步骤2



[0860] 在20℃在N₂下向4-[[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]甲基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(110mg, 195.83μmol, 1当量)在DCM(5mL)中的混合物中一次性添加TFA(66.99mg, 587.48μmol, 43.50uL, 3当量)。将混合物在20℃下搅拌1h。将残余物倒入NaHCO₃(5mL)中以调节pH=7-8。将水相用乙酸乙酯(3x 5mL)萃取。将合并的有机相用盐水(3x 5mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩, 得到粗产物(150mg)。将粗产物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, EtOAc中的0-100% MeOH), 得到呈黄色胶状物的5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基-4-(4-哌啶基甲基)哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(100mg, 粗品)。

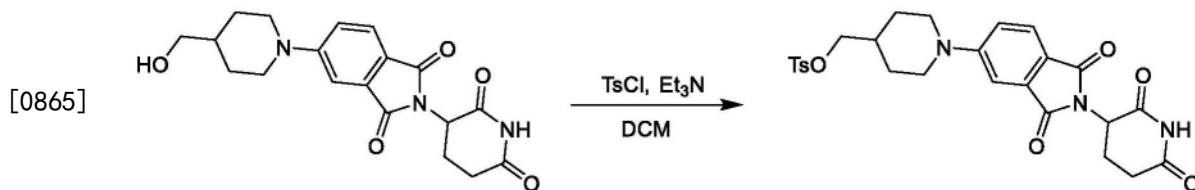
[0861] 步骤3



[0863] 在20℃下向2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-氟-异吲哚啉-1,3-二酮(100mg, 362.03μmol, 1当量)和4-哌啶基甲醇(83.39mg, 724.06μmol, 2当量)在DMSO(2mL)中的混合物中一次性添加DIEA(140.37mg, 1.09mmol, 189.18uL, 3当量)。将混合物在100℃下搅拌3h。TLC(DCM:MeOH=10:1, R_f=0.36)显示反应完全。将混合物冷却至20℃。将残余物倒入NaHCO₃(10mL)中以调节pH=7-8。将水相用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将合并的有机相用盐

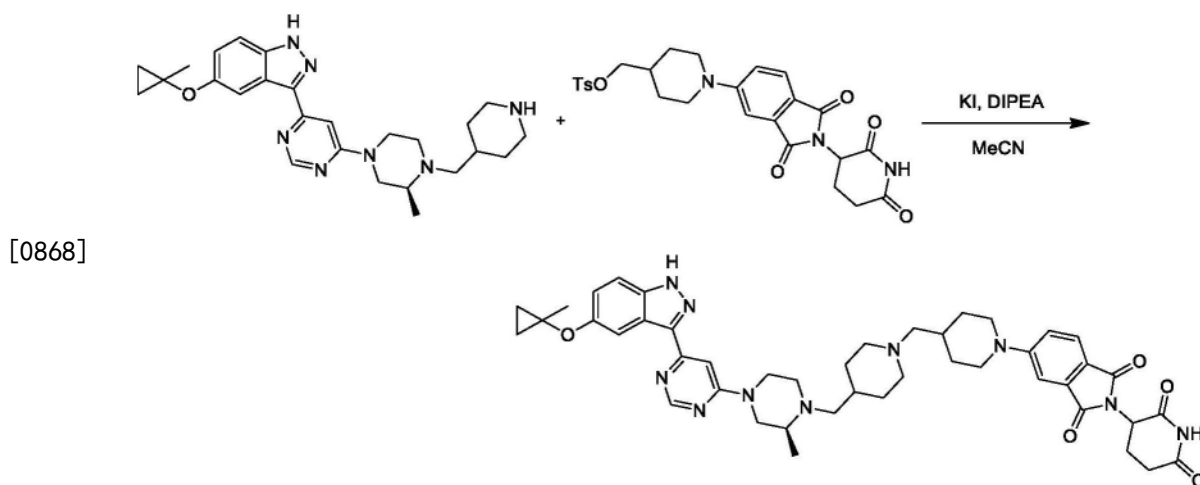
水 (2x 10mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化 (100-200目硅胶, 0-10% MeOH于DCM中), 得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-(羟基甲基)-1-哌啶基]异吲哚啉-1,3-二酮 (120mg, 283.18 μmol , 78.22%收率, 87.640%纯度)。

[0864] 步骤4



[0866] 在0℃在 N_2 下向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-(羟基甲基)-1-哌啶基]异吲哚啉-1,3-二酮 (120mg, 323.11 μmol , 1当量) 和TEA (98.09mg, 969.34 μmol , 3当量) 在DCM (5mL) 中的溶液中一次性添加TsCl (27.35mg, 387.74 μmol , 1.2当量)。将混合物在20℃下搅拌20小时, 得到黄色溶液。TLC (DCM:MeOH=10:1, R_f =0.45) 显示反应完全。将残余物倒入水 (5mL) 中。将水相用乙酸乙酯 (3x 5mL) 萃取。将合并的有机相用盐水 (2x 5mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化 (100-200目硅胶, 石油醚中好0-50%乙酸乙酯 (5min), 石油醚中的50-100乙酸乙酯 (10min)), 得到呈黄色固体的4-甲基苯磺酸[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基]甲酯 (160mg, 228.91 μmol , 70.85%收率, 75.194%纯度)。

[0867] 步骤5

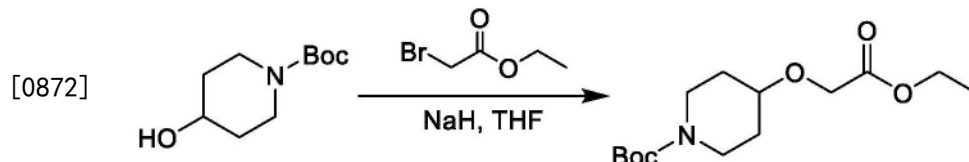


[0869] 在20℃在 N_2 下向5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基-4-(4-哌啶基甲基)吡嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑 (100mg, 216.64 μmol , 1当量) 和4-甲基苯磺酸[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基]甲酯 (159.40mg, 303.29 μmol , 1.4当量) 在MeCN (5mL) 中的溶液中一次性添加KI (179.81mg, 1.08mmol, 5当量) 和DIPEA (84.00mg, 649.91 μmol , 113.20 μL , 3当量)。将溶液在80℃下搅拌16h。将残余物倒入水 (5mL) 中并搅拌5min。将水相用乙酸乙酯 (3x 10mL) 萃取。将合并的有机相用盐水 (2x 5mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并在真空中浓缩, 得到200mg粗产物。将粗产物通过制备型HPLC纯化 (柱: Welch Xtimate C18 150*30mm*5 μm ; 流动相: 水 (0.225% FA)-ACN; B%: 10%-40%, 梯度时间 (min): 8min; 流速 (ml/min): 25), 得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-

[4-[[4-[[[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]甲基]-1-哌啶基]异吲哚啉-1,3-二酮 (53.77mg, 65.33 μ mol, 30.15% 收率, 99.013% 纯度)。

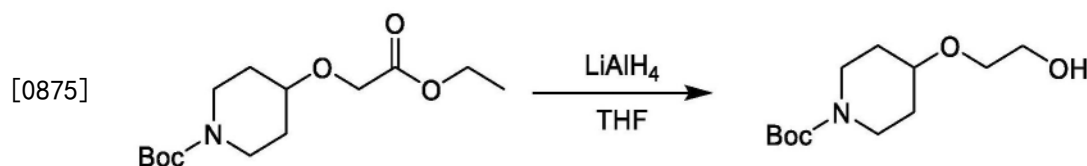
[0870] 示例性化合物25的示例性合成

[0871] 步骤1



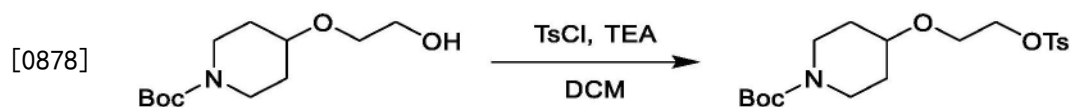
[0873] 在0℃在氮气下向4-羟基哌啶-1-甲酸叔丁酯 (2g, 9.94mmol, 1当量) 在THF (20mL) 中的溶液中分批添加NaH (516.69mg, 12.92mmol, 油中60%纯度, 1.3当量)。氢气放出停止后, 逐滴添加2-溴乙酸乙酯 (3.32g, 19.87mmol, 2.20mL, 2当量)。将所得混合物在0℃下搅拌2h。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示两个新斑点。将反应混合物通过NH₄Cl水溶液 (20mL) 淬灭并用乙酸乙酯 (3x 20mL) 萃取。将有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (石油醚中的0至20%乙酸乙酯), 得到呈无色油状物的4-(2-乙氧基-2-氧代-乙氧基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (800mg, 2.78mmol, 28.02% 收率)。

[0874] 步骤2



[0876] 在0℃下向4-(2-乙氧基-2-氧代-乙氧基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (800mg, 2.78mmol, 1当量) 在THF (10mL) 中的溶液中添加LiAlH₄ (158.50mg, 4.18mmol, 1.5当量)。添加后, 将反应混合物在20℃下搅拌2h。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=1:1) 显示起始物质被消耗并且形成了新斑点。通过添加水 (0.5mL)、随后添加15% NaOH水溶液 (0.5mL) 和水 (1.5mL) 来淬灭反应混合物。通过过滤去除固体。将滤液在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (石油醚中的0至50%乙酸乙酯), 得到呈无色油状物的4-(2-羟基乙氧基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (400mg, 1.63mmol, 58.57% 收率)。

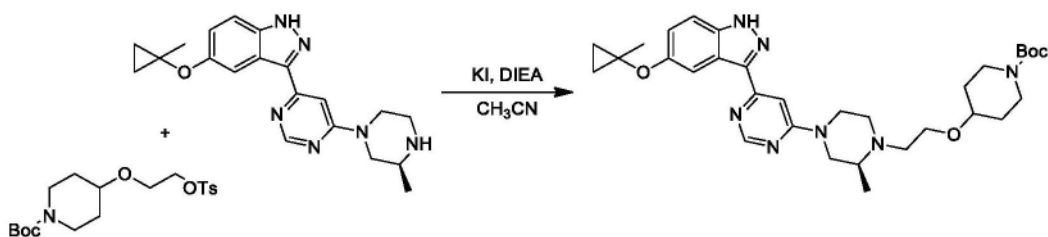
[0877] 步骤3



[0879] 在20℃下向4-(2-羟基乙氧基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 (400mg, 1.63mmol, 1当量) 在DCM (2mL) 中的溶液中添加4-甲基苯磺酰氯 (621.72mg, 3.26mmol, 2当量) 和TEA (329.99mg, 3.26mmol, 453.91 μ L, 2当量)。添加后, 将反应溶液在20℃下搅拌16h。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示主要的两个斑点。将反应溶液用水 (10mL) 稀释并用二氯甲烷 (3x 10mL) 萃取。将有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (石油醚中的0至30%乙酸乙酯), 得到呈无色油状物的4-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]哌啶-1-甲酸叔丁酯 (490mg, 1.23mmol, 75.22% 收率, 100% 纯度)。

[0880] 步骤4

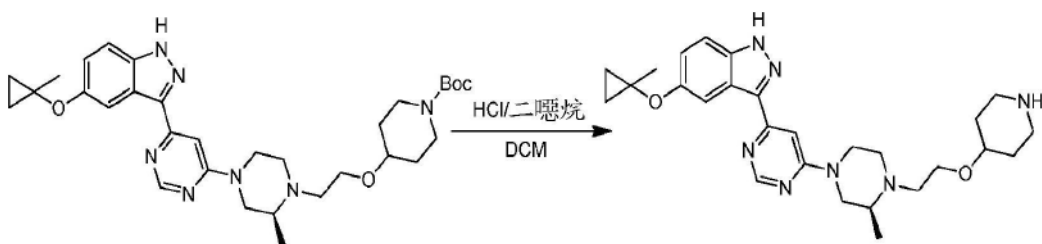
[0881]



[0882] 向4-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(131.54mg, 329.27 μ mol, 1当量)和5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(120mg, 329.27 μ mol, 1当量)在CH₃CN(3mL)中的溶液中添加KI(273.30mg, 1.65mmol, 5当量)和DIEA(127.67mg, 987.81 μ mol, 172.06 μ L, 3当量)。添加后,将反应混合物在90℃下搅拌16h。将反应混合物用水(10mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(二氯甲烷中的0至5%甲醇),得到呈黄色胶状物的4-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(130mg, 204.31 μ mol, 62.05%收率, 93%纯度)。

[0883] 步骤5

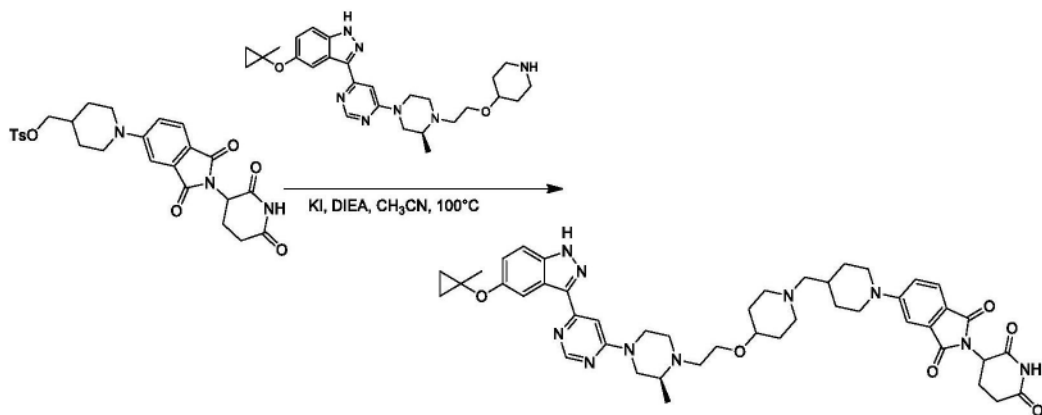
[0884]



[0885] 在20℃下向4-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(130mg, 219.69 μ mol, 1当量)在DCM(2mL)中的溶液中添加HCl/二噁烷(4M, 549.23 μ L, 10当量)。添加后,将反应混合物在20℃下搅拌30min。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1)显示起始物质被消耗。将反应混合物在减压下浓缩,得到5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基-4-[2-(4-哌啶基氧基)乙基]哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(108mg, 206.50 μ mol, 94.00%)。

[0886] 步骤6

[0887]

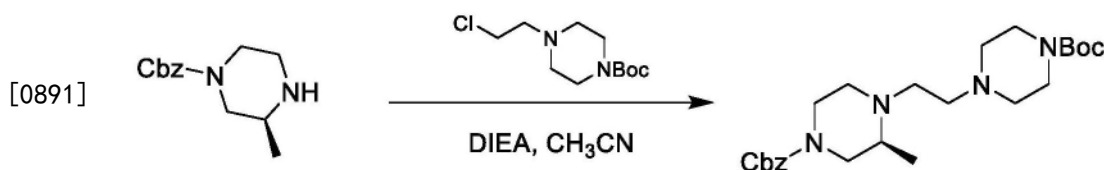


[0888] 向5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基-4-[2-(4-哌啶基氧基)乙基]哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(105.23mg, 214.05 μ mol, 1.25当量)和4-甲基苯磺酸[1-[2-(2,

6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基]甲酯(90mg,171.24 μ mol,1当量)在CH₃CN(5mL)中的溶液中添加KI(142.13mg,856.21 μ mol,5当量)和DIEA(177.05mg,1.37mmol,238.62 μ L,8当量)。添加后,将反应混合物在100℃下搅拌16h。将反应混合物用水(10mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:Welch Xtimate C18 150*25mm*5 μ m;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:5%-35%,8min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[4-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌啶-1-基]乙氧基]-1-哌啶基]甲基]-1-哌啶基]异吲哚啉-1,3-二酮(12.5mg,14.50 μ mol,8.47%收率,98%纯度)。

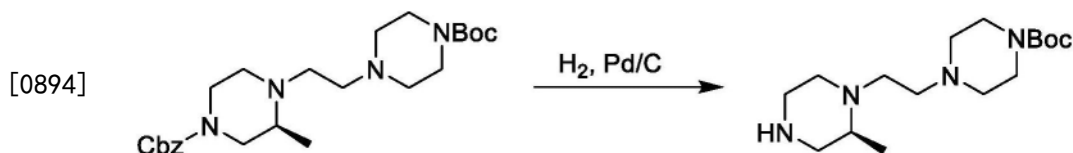
[0889] 示例性化合物26的示例性合成

[0890] 步骤1



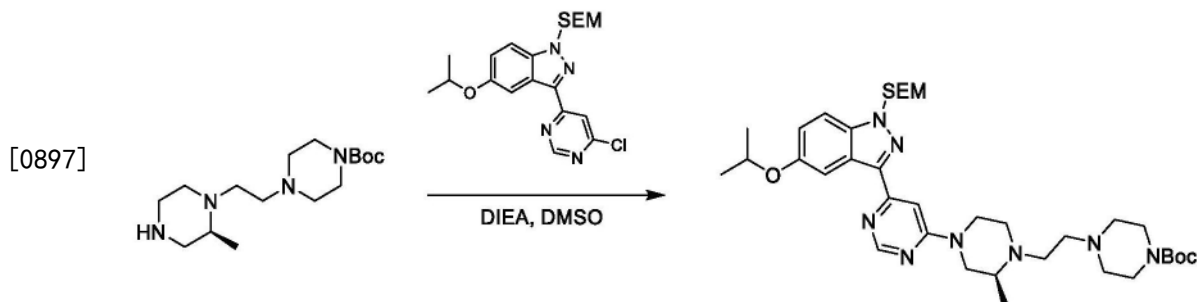
[0892] 向(3S)-3-甲基哌啶-1-甲酸苄酯(500mg,2.13mmol,1当量)和4-(2-氯乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(637.02mg,2.56mmol,1.2当量)在CH₃CN(1mL)中的溶液中添加DIEA(827.44mg,6.40mmol,1.12mL,3当量)。将混合物在80℃下搅拌32小时。将反应混合物在减压下浓缩以去除溶剂。将粗产物通过硅胶柱色谱法纯化(MeOH中的DCM=0至3%),得到呈棕色胶状物的(3S)-4-[2-(4-叔丁氧基羰基哌啶-1-基)乙基]-3-甲基-哌啶-1-甲酸苄酯(460mg,1.03mmol,48.27%收率)。

[0893] 步骤2



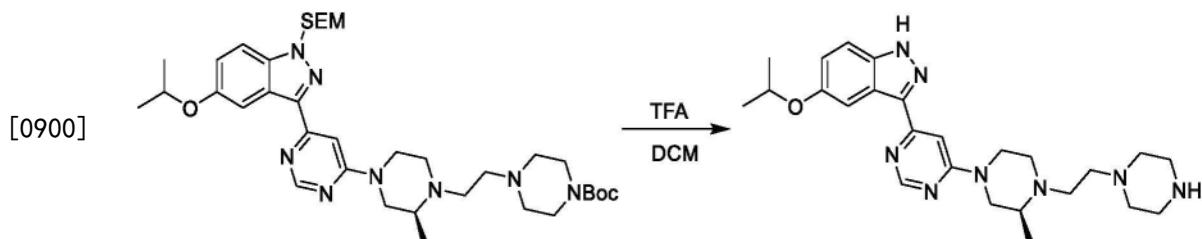
[0895] 在N₂下向(3S)-4-[2-(4-叔丁氧基羰基哌啶-1-基)乙基]-3-甲基-哌啶-1-甲酸苄酯(460mg,1.03mmol,1当量)在MeOH(5mL)中的溶液中添加Pd/C(200mg,2.06mmol,10%纯度,2当量)。将悬浮液在真空下脱气并用H₂吹扫数次。将混合物在H₂(15psi)下在25℃下搅拌2小时。TLC指示无反应物残留,并且检测到一个极性较大的主要新斑点。过滤反应混合物,将滤液浓缩,得到呈浅黄色油状物的4-[2-[(2S)-2-甲基哌啶-1-基]乙基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(290mg,928.15 μ mol,90.11%收率)。

[0896] 步骤3



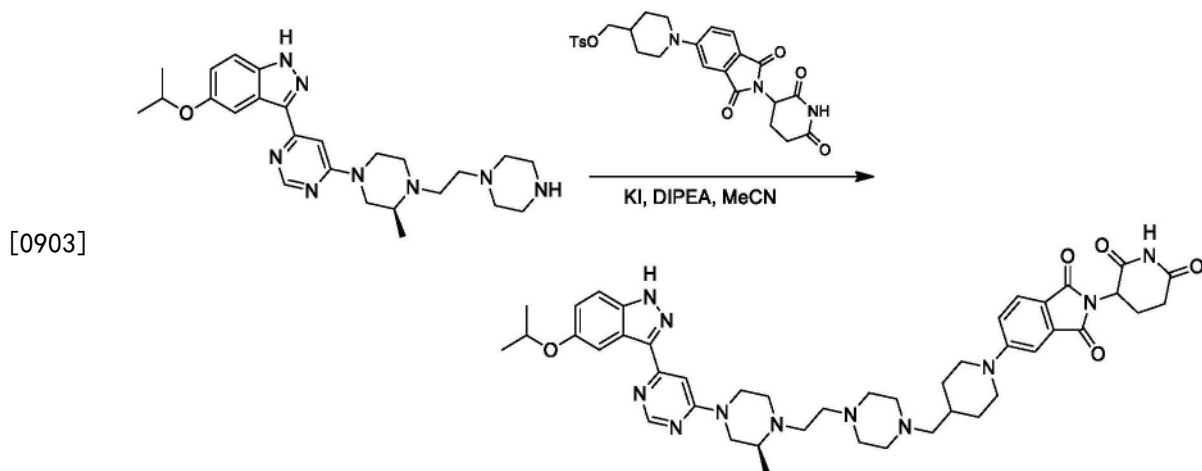
[0898] 向4-[2-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(290mg, 928.15 μ mol, 1当量)和2-[[3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-吡唑-1-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(388.89mg, 928.15 μ mol, 1当量)在DMSO(3mL)中的溶液中添加DIEA(359.87mg, 2.78mmol, 485.00 μ L, 3当量)。将混合物在100℃下搅拌2小时。LC-MS(EB134-185-P1A)显示无反应物1残留。LC-MS上显示出几个新峰,并且检测到约64%的所需化合物。将反应混合物用水(20mL)稀释并用EA(30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将粗产物通过硅胶柱色谱法纯化(MeOH中的DCM=0至3%),得到呈棕色胶状物的4-[2-[(2S)-4-[6-[5-异丙氧基-1-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡唑-3-基]嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(590mg, 812.44 μ mol, 87.53%收率, 95.7%纯度)。

[0899] 步骤4



[0901] 向4-[2-[(2S)-4-[6-[5-异丙氧基-1-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡唑-3-基]嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(350mg, 503.61 μ mol, 1当量)在DCM(3mL)中的溶液中添加TFA(7.19g, 63.03mmol, 4.67mL, 125.15当量)。将混合物在25℃下搅拌16h。接着将NH₃·H₂O(211.79mg, 1.51mmol, 232.74 μ L, 25%纯度, 3当量)添加到该溶液中并将混合物搅拌2h。LC-MS(EB134-187-P1B)显示无反应物残留。LC-MS上显示出几个新峰,并且检测到约97%的所需化合物。将反应混合物用水(20mL)稀释并用EA(30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩,得到呈黄色胶状物的5-异丙氧基-3-[6-[(3S)-3-甲基-4-(2-哌嗪-1-基乙基)哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(150mg, 313.17 μ mol, 62.18%收率, 97%纯度)。

[0902] 步骤5

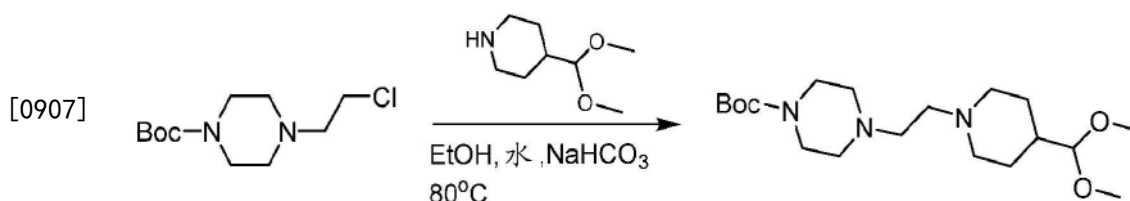


[0904] 向5-异丙氧基-3-[6-[(3S)-3-甲基-4-(2-哌嗪-1-基乙基)哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(150mg, 322.85 μ mol, 1当量)和4-甲基苯磺酸[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-

1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基]甲酯(169.68mg, 322.85 μ mol, 1当量)在CH₃CN(5mL)中的溶液中添加KI(428.76mg, 2.58mmol, 8当量)和DIEA(333.81mg, 2.58mmol, 449.88 μ L, 8当量)。将混合物在80℃下搅拌16小时。LC-MS(EB134-190-P1D2)显示无反应物1残留。LC-MS上显示出几个新峰,并且检测到约56%的所需化合物。将反应混合物用水(20mL)稀释并用EA(30mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 100*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:10%-40%;11min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[[4-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙基]哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]异吲哚啉-1,3-二酮(47mg, 55.39 μ mol, 17.16%收率, 96.4%纯度)。

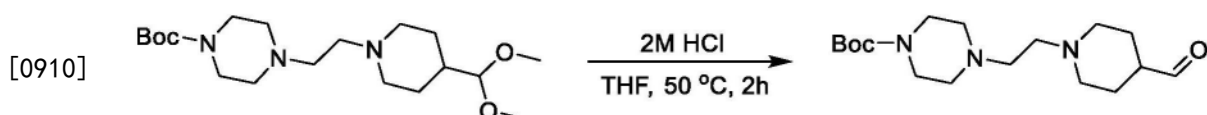
[0905] 示例性化合物27的示例性合成

[0906] 步骤1



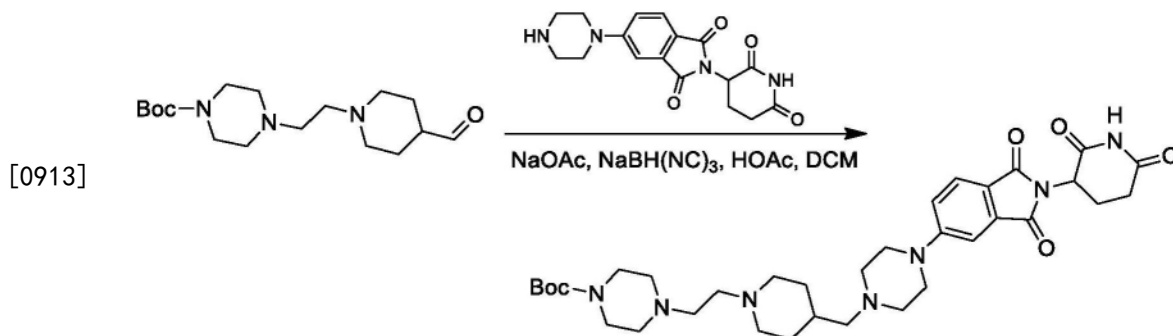
[0908] 在25℃在N₂下向4-(2-氯乙基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1g, 4.02mmol, 1当量)和4-(二甲氧基甲基)哌啶(960.16mg, 6.03mmol, 1.5当量)在EtOH(30mL)和水(4mL)中的溶液中添加NaHCO₃(1.01g, 12.06mmol, 469.07 μ L, 3当量)。接着将反应混合物加热至80℃并搅拌5小时,得到白色悬浮液。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1)显示反应完全。将混合物在真空下浓缩,将残余物放入水(30mL)中。将水相用乙酸乙酯(30mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(30mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:250mm,直径:100mm, 100-200目硅胶,二氯甲烷:甲醇=100/1, 5/1),得到呈黄色油状物的4-[2-[4-(二甲氧基甲基)-1-哌啶基]乙基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(900mg, 2.42mmol, 60.26%收率)。

[0909] 步骤2



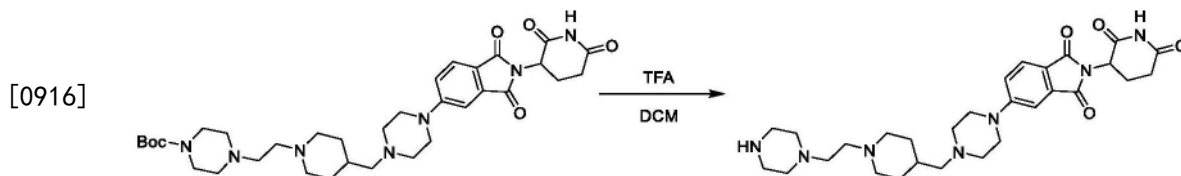
[0911] 在25℃下向4-[2-[4-(二甲氧基甲基)-1-哌啶基]乙基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(800mg, 2.15mmol, 1当量)在THF(5mL)中的溶液中添加HCl(2M, 5mL, 4.64当量),接着将反应混合物在50℃下搅拌2h,得到灰黄色溶液。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1)显示反应完全。将残余物用NaHCO₃调节至pH=8,接着将混合物倒入水(25mL)中。将水相用乙酸乙酯(25mL*2)萃取。将合并的有机相用盐水(30mL*2),经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩,得到呈灰黄色油状物的4-[2-(4-甲酰基-1-哌啶基)乙基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(420mg, 粗品)。

[0912] 步骤3



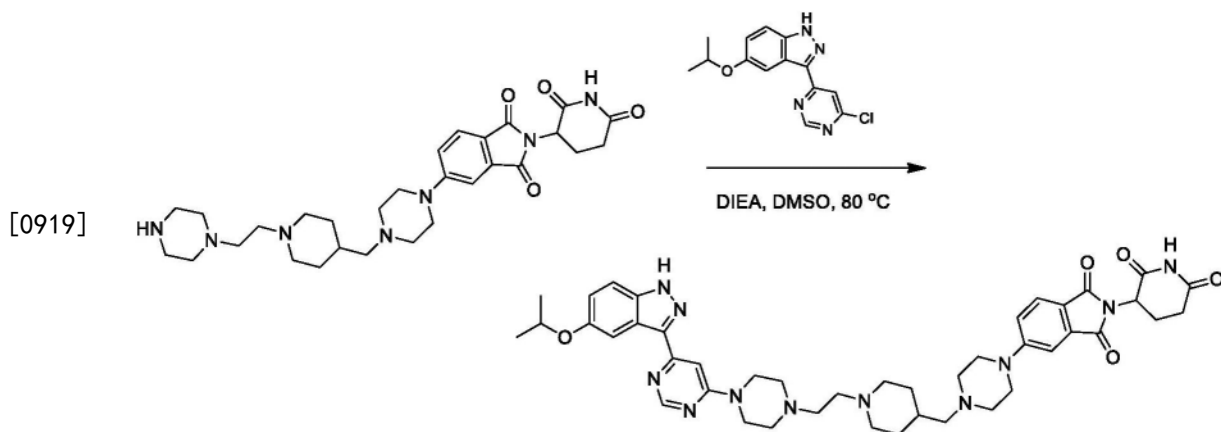
[0914] 在25℃下向2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-哌嗪-1-基-异吲哚啉-1,3-二酮 (601.45mg, 1.55mmol, 1.2当量, FA) 和NaOAc (423.47mg, 5.16mmol, 4当量) 在DCM (5mL) 和MeOH (5mL) 中的溶液, 接着将反应在25℃下搅拌1h, 接着添加4-[2-(4-甲酰基-1-哌啶基)乙基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (420mg, 1.29mmol, 1当量) 并搅拌1h, 接着将乙酸 (193.75mg, 3.23mmol, 184.52uL, 2.5当量) 和氰基硼氢化钠 (162.20mg, 2.58mmol, 2当量) 在25℃下搅拌1h, 接着将反应混合物在25℃下搅拌14h, 得到黄色溶液。TLC (二氯甲烷: 甲醇=10:1) 显示检测到新斑点。将残余物倒入冰水 (w/w=1/1) (35mL)。将水相用乙酸乙酯 (35mL*2) 萃取。接着将水相冻干, 得到黄色固体。将固体用MeOH/DCM (1/1, 40mL) 洗涤, 得到黄色悬浮液。将悬浮液过滤并在真空中浓缩, 得到黄色油状物。将残余物通过硅胶色谱法纯化 (柱高: 250mm, 直径: 100mm, 100-200目硅胶, 二氯甲烷: 甲醇=100/1, 5/1), 得到呈黄色油状物的4-[2-[4-[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]乙基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (320mg, 490.95umol, 38.04%收率)。

[0915] 步骤4



[0917] 在25℃下向4-[2-[4-[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]乙基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯 (320mg, 490.95umol, 1当量) 在DCM (10mL) 中的溶液中添加TFA (3.08g, 27.01mmol, 2mL, 55.02当量), 接着将反应混合物在25℃下搅拌0.5h, 得到黄色溶液。TLC (二氯甲烷: 甲醇=10:1) 显示起始物质被消耗并且形成了新斑点。将反应混合物在真空中浓缩, 得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[1-(2-哌嗪-1-基乙基)-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮 (480mg, 395.33umol, 80.52%收率, 83%纯度, 4TFA)。

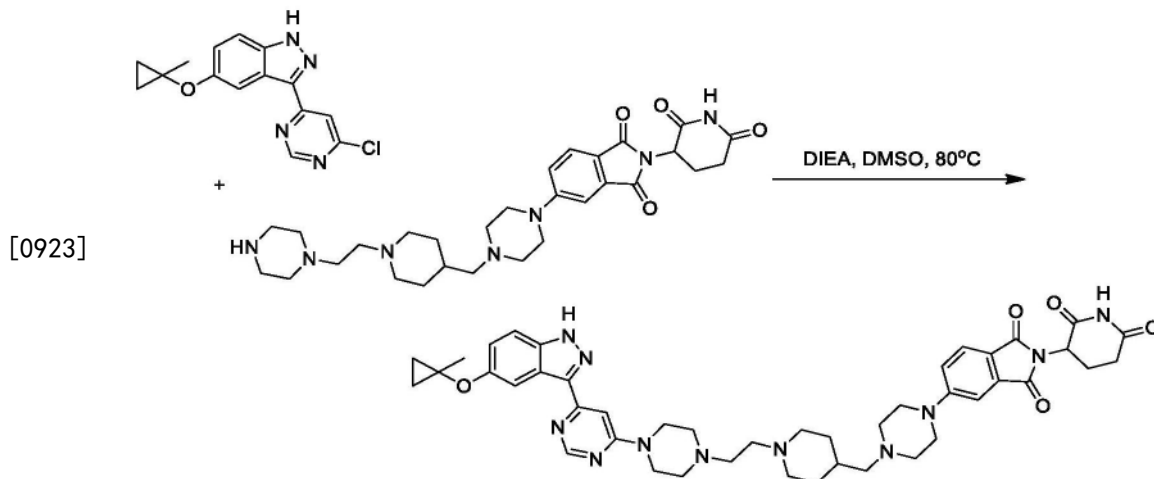
[0918] 步骤5



[0920] 在25℃下向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[1-(2-哌嗪-1-基乙基)-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(160mg,158.77 μ mol,1当量,4TFA)和3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-1H-吡唑(45.84mg,158.77 μ mol,1当量)在DMSO(10mL)中的溶液中添加DIEA(102.60mg,793.83 μ mol,138.27 μ L,5当量),接着将反应混合物在25℃下搅拌30min,并接着将反应混合物在80℃下搅拌1.5h,得到黄色溶液。将残余物倒入冰水(30mL)中。将水相用乙酸乙酯(25mL*2)萃取。将合并的有机相用盐水(30mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 100*30mm*5 μ m,流动相:水(0.225% FA)-ACN;B%:5%-35%;9min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[1-[2-[4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙基]-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(6.8mg,8.42 μ mol,5.31%收率,99.6%纯度)。

[0921] 示例性化合物28的示例性合成

[0922] 步骤1

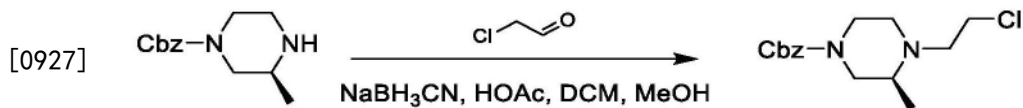


[0924] 在25℃下向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[1-(2-哌嗪-1-基乙基)-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(160mg,158.77 μ mol,1当量,4TFA)和3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(47.75mg,158.77 μ mol,1当量)在DMSO(5mL)中的溶液中添加DIEA(102.60mg,793.83 μ mol,138.27 μ L,5当量)并搅拌30min,并接着将反应混合物在80℃下搅拌1.5h,得到黄色溶液。将残余物倒入水(35mL)中。将水相用乙酸乙酯(30mL*2)萃取。将合并的有机相用盐水(35mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中

浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 100*30mm*5um,流动相:水(0.225% FA)-ACN);B%:5%-35%;9min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[1-[2-[4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙基]-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]异吡啶啉-1,3-二酮(7.0mg,8.56umol,5.39%收率,99.8%纯度)。

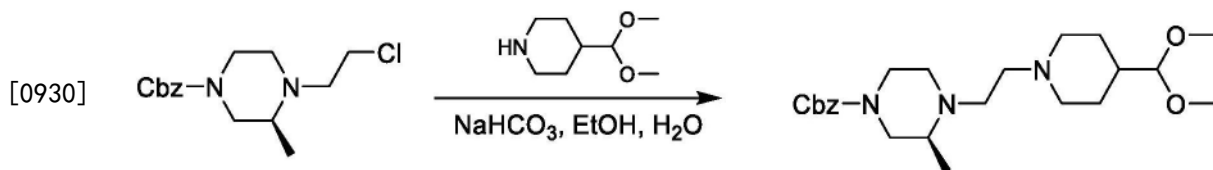
[0925] 示例性化合物29的示例性合成

[0926] 步骤1



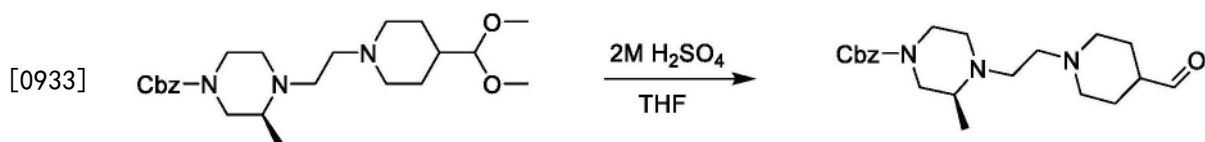
[0928] 向(3S)-3-甲基哌嗪-1-甲酸苄酯(300mg,1.28mmol,1当量)和2-氯乙醛(753.84mg,3.84mmol,617.90uL,3当量)在DCM(5mL)和MeOH(5mL)中的溶液中添加HOAc(7.69mg,128.04umol,7.32uL,0.1当量)。接着将混合物在25℃下搅拌20min。接着将 NaBH_3CN (241.39mg,3.84mmol,3当量)添加到溶液中并将反应在25℃下搅拌1h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1, $R_f=0.5$)显示反应完全。将反应混合物倒入 H_2O (10mL)中。将混合物用乙酸乙酯(20mL*3)萃取。将有机相用盐水(20mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0-100%乙酸乙酯),得到呈无色油状物的(3S)-4-(2-氯乙基)-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(180mg,606.49umol,47.37%收率)。

[0929] 步骤2



[0931] 将(3S)-4-(2-氯乙基)-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(180mg,606.49umol,1当量)和4-(二甲氧基甲基)哌啶(144.85mg,909.73umol,1.5当量)溶解于EtOH(5mL)和水(0.5mL)中,接着将 NaHCO_3 (101.90mg,1.21mmol,47.17uL,2当量)添加到反应中并在80℃下搅拌5小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, $R_f=0.4$)指示反应完全。将反应混合物倒入 H_2O (20mL)中。将混合物用乙酸乙酯(20mL*2)萃取。将有机相用盐水(15mL*3)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过制备型TLC纯化(二氯甲烷中的10%甲醇, $R_f=0.4$),得到呈无色油状物的(3S)-4-[2-[4-(二甲氧基甲基)-1-哌啶基]乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(165mg,393.27umol,64.84%收率)。

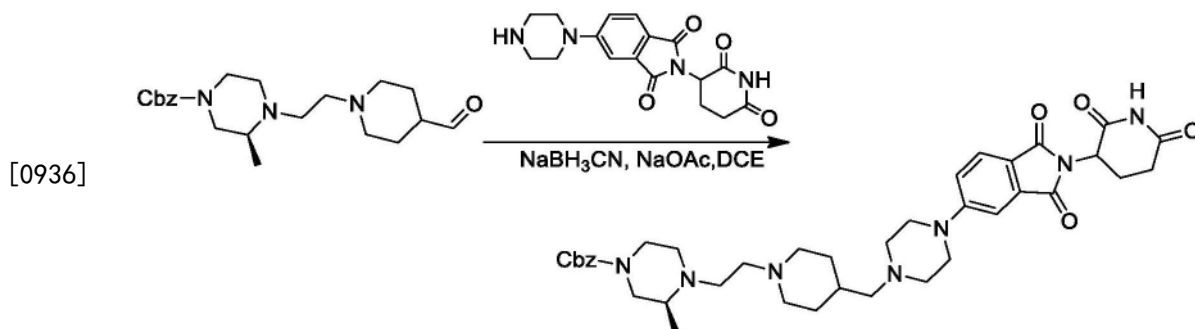
[0932] 步骤3



[0934] 将(3S)-4-[2-[4-(二甲氧基甲基)-1-哌啶基]乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(65mg,154.93umol,1当量)在THF(2mL)和 H_2SO_4 (2M,2mL,25.82当量)中的溶液在70℃下搅拌1小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, $R_f=0.2$)显示起始物质被消耗。将反应混合物倒入 H_2O (20mL)中并用 NaHCO_3 水溶液碱化至PH=8。将混合物用乙酸乙酯(20mL*5)萃取并经无水

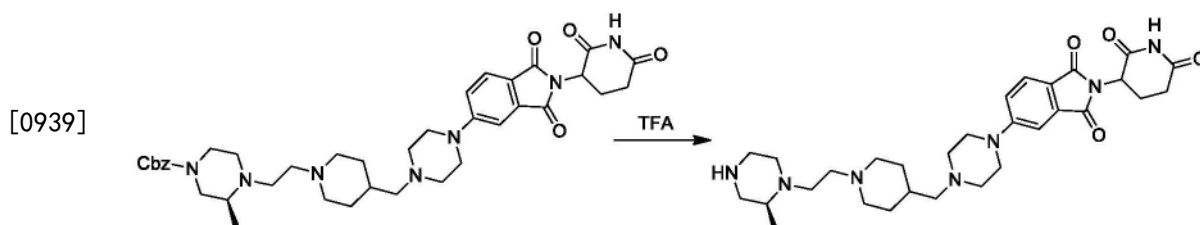
Na₂SO₄干燥,在真空中浓缩,得到呈无色油状物的(3S)-4-[2-(4-甲酰基-1-哌啶基)乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(57mg,粗品)。

[0935] 步骤4



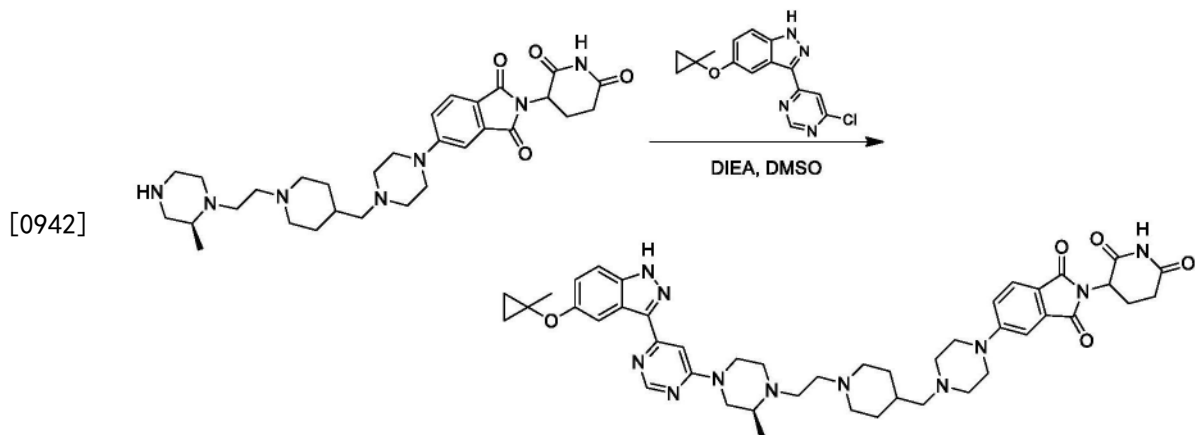
[0937] 向(3S)-4-[2-(4-甲酰基-1-哌啶基)乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(57mg, 152.62 μ mol, 1当量)和2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-哌嗪-1-基-异吲哚啉-1,3-二酮(69.65mg, 152.62 μ mol, 1当量, TFA)在DCE(3mL)和MeOH(0.5mL)中的溶液中添加NaOAc(54.81mg, 668.11 μ mol, 4.38当量),并将混合物在25℃下搅拌20min。接着向混合物中添加HOAc(916.49 μ g, 15.26 μ mol, 8.73e-1 μ L, 0.1当量)并在25℃下搅拌20min。接着将NaBH₃CN(54.81mg, 872.15 μ mol, 5.71当量)添加到溶液中并在25℃下搅拌16h。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, R_f=0.2)指示反应完全。将反应混合物倒入H₂O(20mL)中。将混合物用乙酸乙酯(20mL*2)萃取。将有机相用盐水(15mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过制备型TLC纯化(二氯甲烷中的10%甲醇, R_f=0.2),得到呈白色固体的(3S)-4-[2-[4-[[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(60mg, 68.59 μ mol, 44.94%收率, 80%纯度)。

[0938] 步骤5



[0940] 将(3S)-4-[2-[4-[[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(60mg, 85.73 μ mol, 1当量)在TFA(4.62g, 40.52mmol, 3mL, 472.60当量)中的混合物在70℃下搅拌8小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, R_f=0.01)指示反应完全。将反应混合物在真空中浓缩,得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[[1-[2-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙基]-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(48mg,粗品, TFA)。

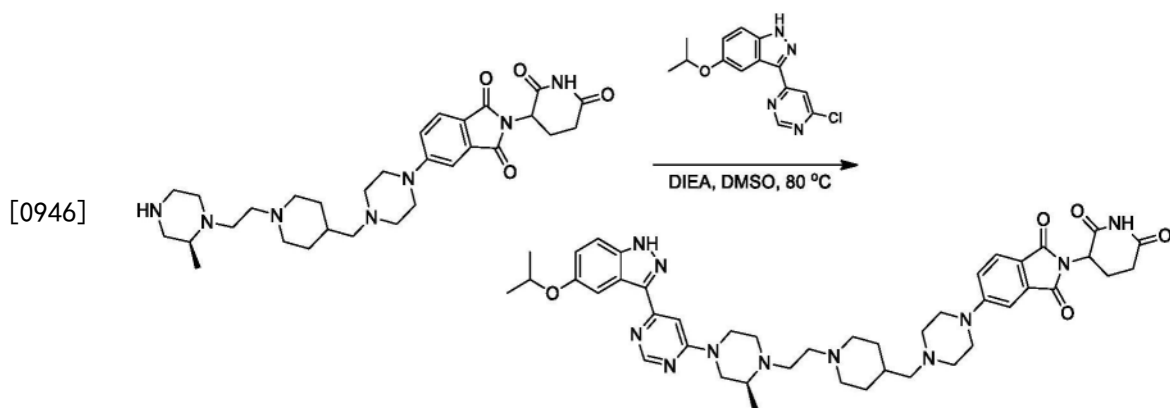
[0941] 步骤6



[0943] 将2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[1-[2-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙基]-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(48mg,70.62 μ mol,1当量,TFA)和3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑(21.24mg,70.62 μ mol,1当量)溶解于DMSO(5mL)中,接着将DIEA(91.27mg,706.16 μ mol,123.00 μ L,10当量)添加到反应中。将反应在80℃下搅拌8小时。将反应混合物倒入H₂O(20mL)中。将混合物用乙酸乙酯(20mL*2)萃取。将有机相用盐水(15mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化(Phenomenex Luna C18 100*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:23%-53%,9min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[1-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙基]-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(8.4mg,9.78 μ mol,13.85%收率,96.64%纯度)。

[0944] 示例性化合物30的示例性合成

[0945] 步骤1



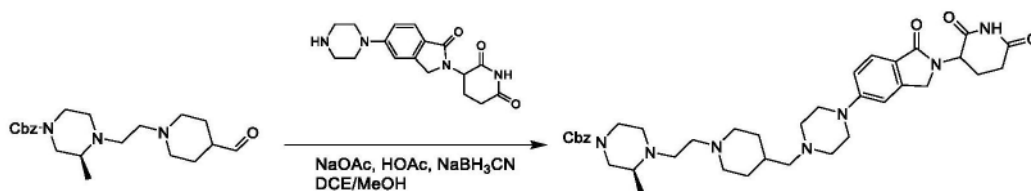
[0947] 向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[1-[2-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙基]-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(100mg,176.77 μ mol,1当量)和3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-1H-吡唑(51.04mg,176.77 μ mol,1当量)在DMSO(3mL)中的溶液中添加DIEA(228.46mg,1.77mmol,307.90 μ L,10当量)。将反应混合物在80℃在N₂下搅拌6小时。将反应混合物通过水(10mL)淬灭并用乙酸乙酯(3*10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 100*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.225%FA)-ACN];B%:12%-42%,9min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[1-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-

1-基]乙基]-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(32.1mg,39.00umol,22.06%收率,99.38%纯度)。

[0948] 示例性化合物31的示例性合成

[0949] 步骤1

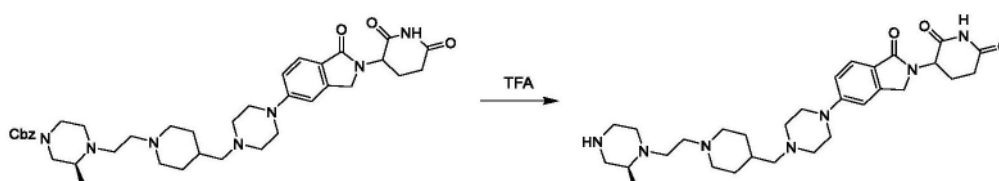
[0950]



[0951] 向3-(1-氧代-5-哌嗪-1-基-异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(118.69mg,361.46umol,1.5当量)和NaOAc(59.30mg,722.91umol,3当量)在DCE(8mL)和MeOH(2mL)中的溶液中添加HOAc(14.47mg,240.97umol,13.78uL,1当量)和(3S)-4-[2-(4-甲酰基-1-哌啶基)乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(90mg,240.97umol,1当量)。将反应混合物在25℃下搅拌1h。接着添加NaBH₃CN(30.29mg,481.94umol,2当量)。添加后,将反应混合物在25℃下搅拌16h。将反应溶液用水(15mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将有机层用盐水(20mL)洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过制备型TLC纯化(氯甲烷:甲醇=7:1,Rf=0.1),得到呈无色胶状物的(3S)-4-[2-[4-[[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1-氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(70mg,85.32umol,35.41%收率,83.6%纯度)。

[0952] 步骤2

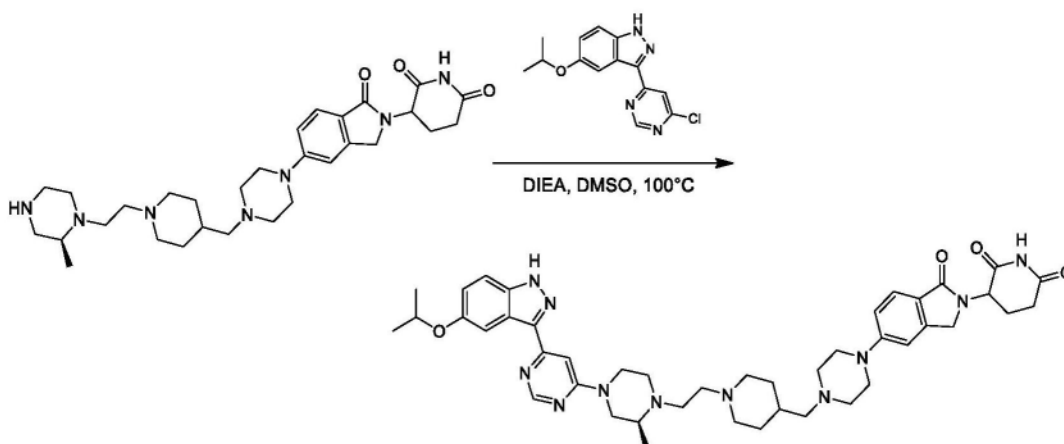
[0953]



[0954] 将(3S)-4-[2-[4-[[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1-氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(70mg,102.06umol,1当量)和TFA(3mL)的混合物在80℃下搅拌2h。将反应溶液在减压下浓缩,得到呈棕色胶状物的3-[5-[4-[[1-[2-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙基]-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]-1-氧代-异吲哚啉-2-基]哌啶-2,6-二酮(110mg,粗品,TFA)。直接使用粗产物。

[0955] 步骤3

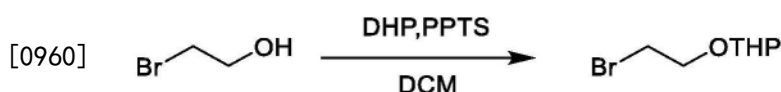
[0956]



[0957] 向3-[5-[4-[[1-[2-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙基]-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]-1-氧代-异吡啶啉-2-基]哌啶-2,6-二酮(103.76mg,155.85 μ mol,1.5当量,TFA)和3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-1H-吡唑(30mg,103.90 μ mol,1当量)在DMSO(3mL)中的溶液中添加DIEA(94.00mg,727.32 μ mol,126.69 μ L,7当量)。添加后,将反应在100℃下搅拌4h,得到棕色溶液。将反应混合物用水(15mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 100*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:5%-35%;9min),得到呈黄色固体的3-[5-[4-[[1-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙基]-4-哌啶基]甲基]哌嗪-1-基]-1-氧代-异吡啶啉-2-基]哌啶-2,6-二酮(9.1mg,11.32 μ mol,10.89%收率,100%纯度)。

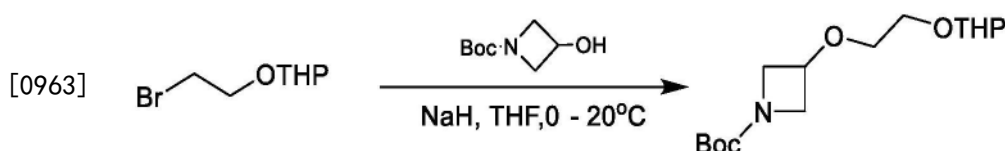
[0958] 示例性化合物32的示例性合成

[0959] 步骤1



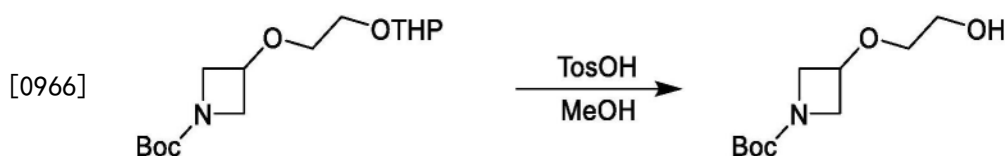
[0961] 在0℃在N₂下向2-溴乙醇(9g,72.02mmol,5.11mL,1当量)和DHP(9.09g,108.03mmol,9.88mL,1.5当量)在DCM(100mL)中的混合物中一次性添加PPTS(1.81g,7.20mmol,0.1当量)。将混合物在20℃下搅拌16小时。TLC(DCM:MeOH=10:1,R_f=0.77)显示反应完全。将残余物倒入水(50mL)中并搅拌10min。将水相用乙酸乙酯(50mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(50mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(40g,石油醚中的0-10%(10mL)乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的3-(2-四氢吡喃-2-基氧基乙氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(12g,57.39mmol,79.69%收率)。

[0962] 步骤2



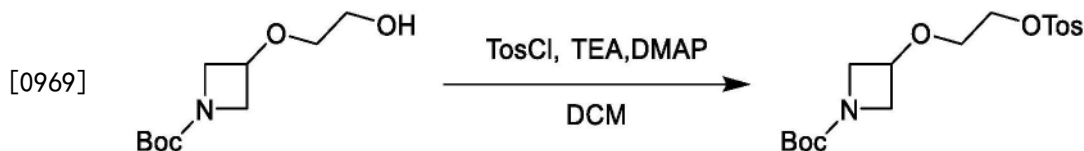
[0964] 在0℃下向NaH(2.31g,57.73mmol,60%纯度,2当量)在DMF(20mL)中的混合物添加DMF(20mL)中的3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(5g,28.87mmol,1当量)中。将混合物在25℃下搅拌0.5小时,接着在0℃下将DMF(20mL)中的2-(2-溴乙氧基)四氢吡喃(6.64g,31.75mmol,4.81mL,1.1当量)添加到反应混合物中。将混合物在20℃下搅拌16小时,得到棕色混合物。TLC(DCM:MeOH=10:1,R_f=0.56)显示有新斑点。将残余物倒入水(50mL)中。将水相用乙酸乙酯(50mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(50mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(45g,30mL/min,石油醚中的0-50%(15min)乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的3-(2-(4-(tert-butoxycarbonyl)-4-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydropyran-2-yloxy)ethyl)azetidine-1-carboxylate(6.6g,21.90mmol,75.86%收率)。

[0965] 步骤3



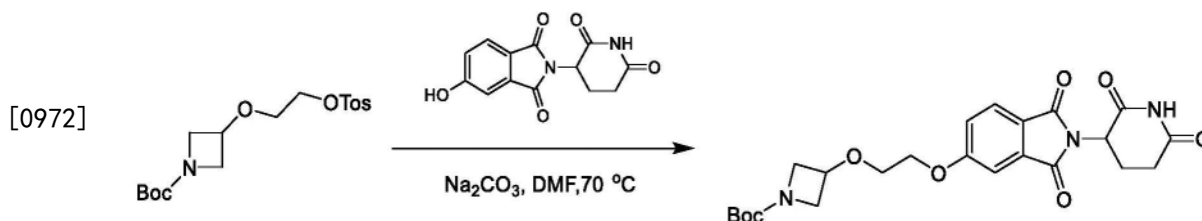
[0967] 在20℃在N₂下向3-(2-(四氢吡喃-2-基氧基乙氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(6g,19.91mmol,1当量)在MeOH(60mL)中的混合物中一次性添加TsOH(3.43g,19.91mmol,1当量)。将混合物在20℃下搅拌1h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=2:3,R_f=0.30)显示反应完全。将H₂O(30mL)添加到反应混合物中并将混合物用EtOAc(30mL*3)萃取。将合并的萃取物用饱和NaHCO₃(30mL*2,水溶液)、盐水(30mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩滤液。将残余物通过硅胶色谱法纯化(40g,30mL/min,石油醚中的0-100%(30min)乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的3-(2-(羟基乙氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.5g,6.90mmol,34.68%收率)。

[0968] 步骤4



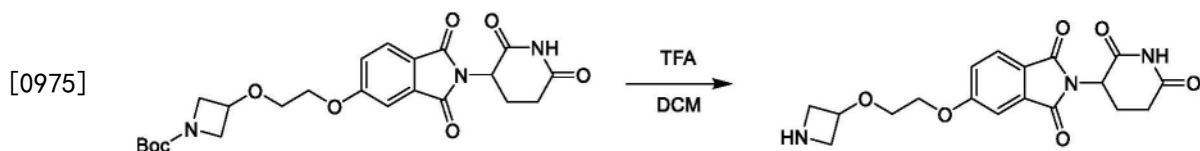
[0970] 在0℃下向3-(2-(羟基乙氧基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.5g,6.90mmol,1当量)、TEA(1.75g,17.26mmol,2.40mL,2.5当量)和DMAP(253.04mg,2.07mmol,0.3当量)在DCM(15mL)中的混合物中添加TsCl(1.97g,10.36mmol,1.5当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时,得到棕色混合物。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1,R_f=0.56)显示反应完全。在减压下去除大部分DCM,得到残余物。将残余物溶解于EtOAc(30mL)中,将所得混合物用水(10mL*2)、饱和NaHCO₃(10mL*2,水溶液)、盐水(10mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并将滤液在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(20g,石油醚中的0-15%(10min)乙酸乙酯,石油醚中的15%(5min)乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的3-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(2.3g,6.19mmol,89.69%收率)。

[0971] 步骤5



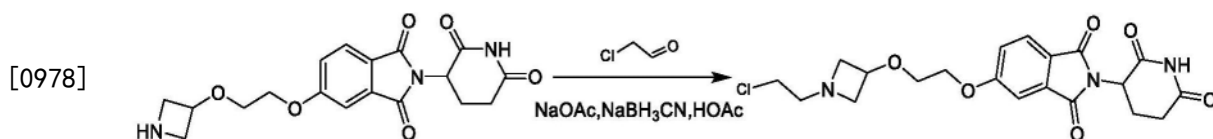
[0973] 向2-(2,6-二氧化-3-吡啶基)-5-羟基-异吲哚啉-1,3-二酮(1.55g,5.65mmol,1当量)在DMF(20mL)中的混合物中添加Na₂CO₃(1.20g,11.31mmol,2当量)和3-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(2.1g,5.65mmol,1当量)。将混合物在70℃下搅拌16小时,得到黄色混合物。将反应混合物冷却至室温并在0℃下添加到HCl水溶液(100mL,2%,v/v)中,将所得混合物用EtOAc(30mL*3)萃取。将合并的萃取物用水(30mL)、盐水(30mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩滤液,得到残余物。将残余物通过快速硅胶色谱法纯化(DCM:MeOH=10:1,R_f=0.31,80g,石油醚中的0-50%(30min)乙酸乙酯,石油醚中的50%(60min)乙酸乙酯),得到呈白色胶状物的3-[2-[2-(2,6-二氧化-3-吡啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.8g,3.80mmol,67.24%收率)。

[0974] 步骤6



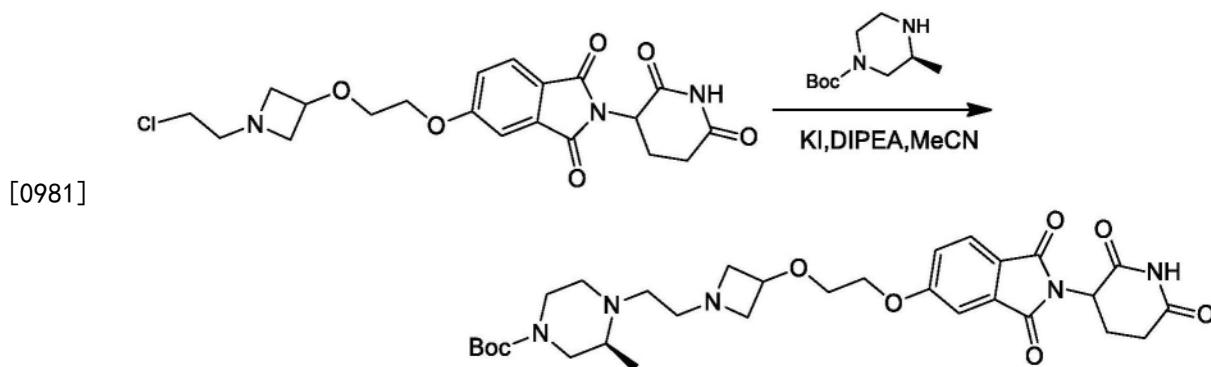
[0976] 在20℃在N₂下向3-[2-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.2g,2.53mmol,1当量)在DCM(10mL)中的混合物中一次性添加TFA(866.94mg,7.60mmol,562.95uL,3当量)。将混合物在20℃下搅拌30min。TLC显示反应完全。将混合物在减压下浓缩,得到呈无色胶状物的5-[2-(氮杂环丁烷-3-基氧基)乙氧基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(2g,粗品)。

[0977] 步骤7



[0979] 向5-[2-(氮杂环丁烷-3-基氧基)乙氧基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(2g,5.36mmol,1当量)和2-氯乙醛(3.15g,16.07mmol,2.58mL,3当量)在DCE(10mL)和MeOH(2mL)中的溶液中添加NaOAc(2.20g,26.78mmol,5当量)和NaBH₃CN(1.01g,16.07mmol,3当量)。接着将混合物在20℃下搅拌30min。接着将HOAc(321.67mg,5.36mmol,306.36uL,1当量)添加到溶液中并在20℃下搅拌1h。TLC(DCM:MeOH=10:1,R_f=0.29)显示有新斑点。将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(10mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(20g,30mL/min,DCM中的0-5%(10min)MeOH,DCM中的5%(10min)MeOH),得到呈黄色胶状物的5-[2-[1-(2-氯乙基)氮杂环丁烷-3-基]氧基乙氧基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(700mg,1.61mmol,29.98%收率)。

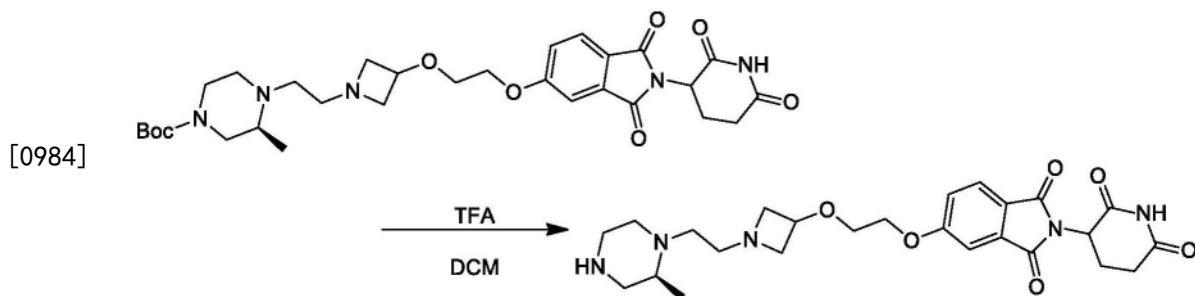
[0980] 步骤8



[0982] 在20℃在N₂下向(3S)-3-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(229.75mg,1.15mmol,2当量)和5-[2-[1-(2-氯乙基)氮杂环丁烷-3-基]氧基乙氧基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(250mg,573.58umol,1当量)在MeCN(5mL)中的混合物中一次性添加KI(476.07mg,2.87mmol,5当量)和DIPEA(370.65mg,2.87mmol,499.53uL,5当量)。将混合物在80℃下搅拌16小时。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚中的0-100%(30min)乙酸乙酯),得到呈黄色固体的(3S)-4-[2-[3-[2-[2-

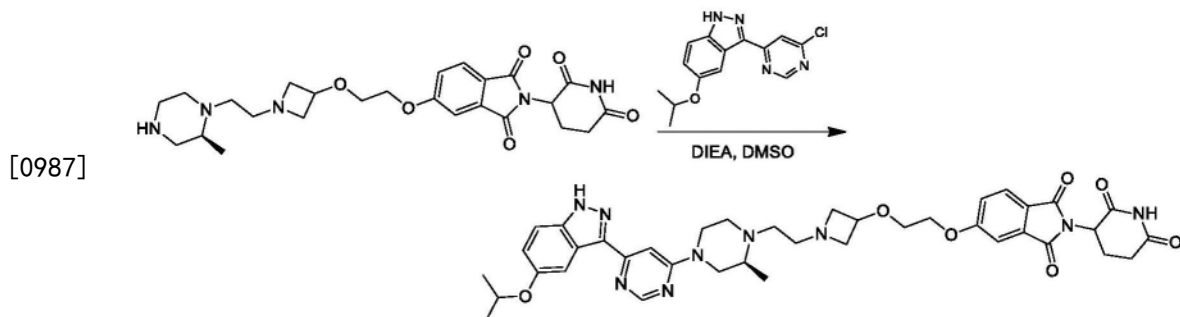
(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]氮杂环丁烷-1-基]乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯(200mg,333.51 μ mol,58.15%收率)。

[0983] 步骤9



[0985] 在20℃在N₂下向(3S)-4-[2-[3-[2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]氧基乙氧基]氮杂环丁烷-1-基]乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸叔丁酯(200mg,333.51 μ mol,1当量)在DCM(5mL)中的混合物中一次性添加TFA(114.09mg,1.00mmol,74.08 μ L,3当量)。将混合物在20℃下搅拌30min。将溶液在真空中浓缩,得到呈无色胶状物的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[1-[2-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙基]氮杂环丁烷-3-基]氧基乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(130mg,166.55 μ mol,49.94%收率,64%纯度)。

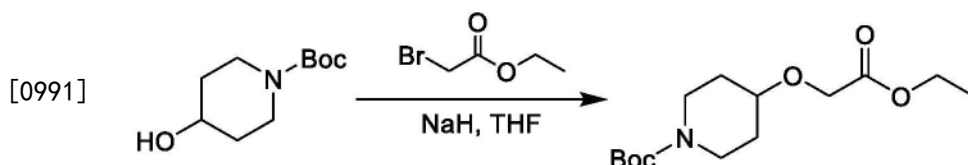
[0986] 步骤10



[0988] 将3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-2H-咪唑(60.11mg,208.18 μ mol,0.8当量)和2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[1-[2-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙基]氮杂环丁烷-3-基]氧基乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(130mg,260.23 μ mol,1当量)溶解于DMSO(5mL)中,接着在20℃在N₂下添加DIPEA(100.90mg,780.69 μ mol,135.98 μ L,3当量)。将溶液在100℃下搅拌2h,得到黄色溶液。将混合物冷却至20℃并在20℃下在减压下浓缩。将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(10mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱:Phenomenex luna C18 150*25mm*10 μ m;条件:水(0.2% FA)-ACN;开始B:20;结束B:40;流速:25mL/min;梯度时间:20min;100% B保持时间:4min),得到呈白色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[1-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙基]氮杂环丁烷-3-基]氧基乙氧基]异吲哚啉-1,3-二酮(26.3mg,34.98 μ mol,13.44%收率,100%纯度)。

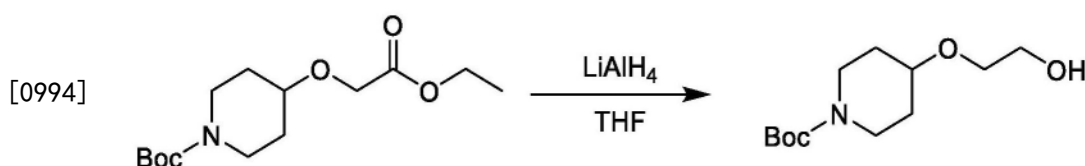
[0989] 示例性化合物33的示例性合成

[0990] 步骤1



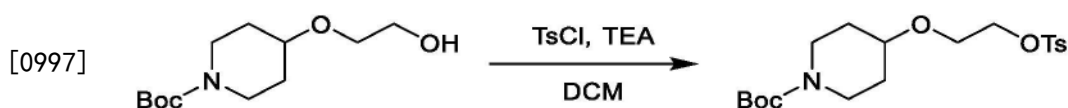
[0992] 在0℃在氮气下向4-羟基哌啶-1-甲酸叔丁酯(2g, 9.94mmol, 1当量)在THF(20mL)中的溶液中分批添加NaH(516.69mg, 12.92mmol, 油中60%纯度, 1.3当量)。氢气放出停止后, 逐滴添加2-溴乙酸乙酯(3.32g, 19.87mmol, 2.20mL, 2当量)。将所得混合物在0℃下搅拌2h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=5:1)显示两个新斑点。将反应混合物通过NH₄Cl水溶液(20mL)淬灭并用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至20%乙酸乙酯), 得到呈无色油状物的4-(2-乙氧基-2-氧代-乙氧基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(800mg, 2.78mmol, 28.02%收率)。

[0993] 步骤2



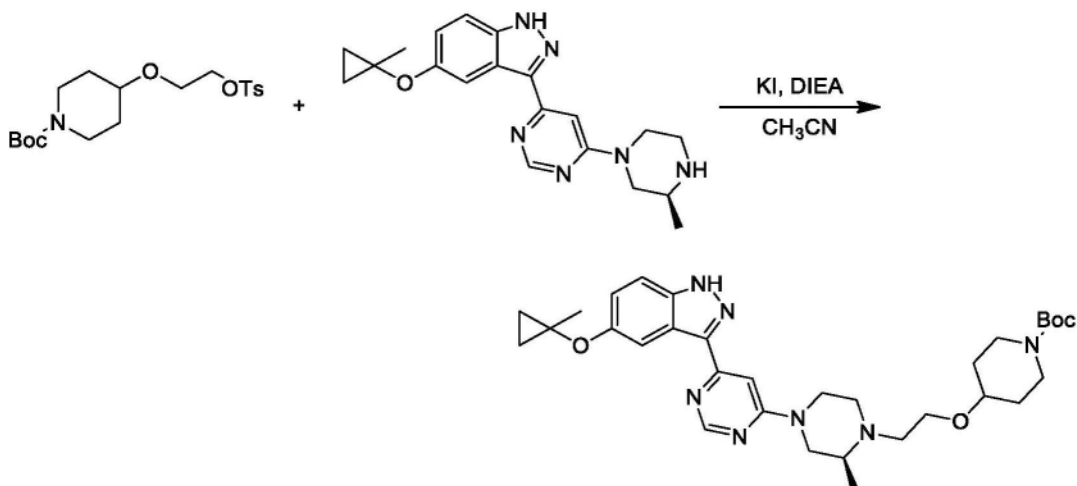
[0995] 在0℃下向4-(2-乙氧基-2-氧代-乙氧基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(800mg, 2.78mmol, 1当量)在THF(10mL)中的溶液中添加LiAlH₄(158.50mg, 4.18mmol, 1.5当量)。添加后, 将反应混合物在20℃下搅拌2h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1)显示起始物质被消耗并且形成了新斑点。通过添加水(0.5mL)、随后添加15% NaOH水溶液(0.5mL)和水(1.5mL)来淬灭反应混合物。通过过滤去除固体。将滤液在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至50%乙酸乙酯), 得到呈无色油状物的4-(2-羟基乙氧基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(400mg, 1.63mmol, 58.57%收率)。

[0996] 步骤3



[0998] 在20℃下向4-(2-羟基乙氧基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(400mg, 1.63mmol, 1当量)在DCM(2mL)中的溶液中添加4-甲基苯磺酰氯(621.72mg, 3.26mmol, 2当量)和TEA(329.99mg, 3.26mmol, 453.91μL, 2当量)。添加后, 将反应溶液在20℃下搅拌16h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=3:1)显示主要的两个斑点。将反应溶液用水(10mL)稀释并用二氯甲烷(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至30%乙酸乙酯), 得到呈无色油状物的4-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(490mg, 1.23mmol, 75.22%收率, 100%纯度)。

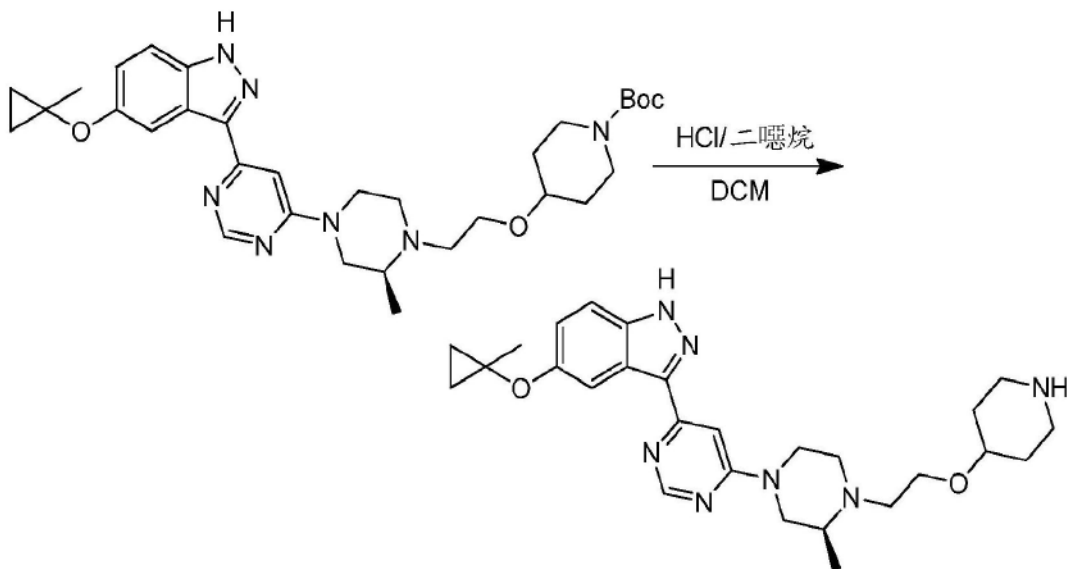
[0999] 步骤4



[1000]

[1001] 向4-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙氧基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(131.54mg, 329.27 μ mol, 1当量)和5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(120mg, 329.27 μ mol, 1当量)在CH₃CN(3mL)中的溶液中添加KI(273.30mg, 1.65mmol, 5当量)和DIEA(127.67mg, 987.81 μ mol, 172.06 μ L, 3当量)。添加后,将反应混合物在90℃下搅拌16h。将反应混合物用水(10mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(二氯甲烷中的0至5%甲醇),得到呈黄色胶状物的4-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(130mg, 204.31 μ mol, 62.05%收率, 93%纯度)。

[1002] 步骤5

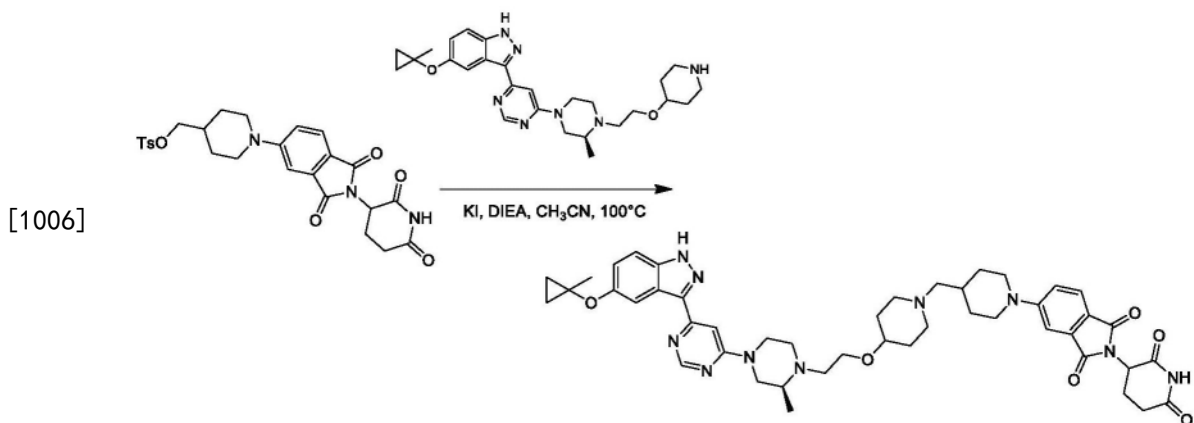


[1003]

[1004] 在20℃下向4-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(130mg, 219.69 μ mol, 1当量)在DCM(2mL)中的溶液中添加HCl/二噁烷(4M, 549.23 μ L, 10当量)。添加后,将反应混合物在20℃下搅拌30min。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1)显示起始物质被消耗。将反应混合物在减压下浓缩,得到呈黄色固体的5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[(3S)-3-甲基-4-[2-(4-哌啶基氧基)乙基]哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(108mg, 206.50 μ mol, 94.00%收率, 94%纯度)。直接使用粗

产物。

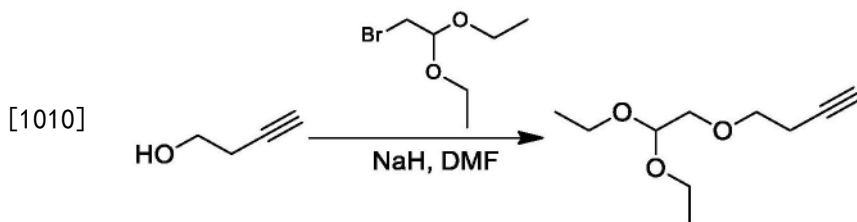
[1005] 步骤6



[1007] 向5-(1-甲基环丙氧基)-3-[6-[[(3S)-3-甲基-4-[2-(4-哌啶基氧基)乙基]哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑](105.23mg, 214.05μmol, 1.25当量)和4-甲基苯磺酸[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶-5-基]-4-哌啶基]甲酯(90mg, 171.24μmol, 1当量)在CH₃CN(5mL)中的溶液中添加KI(142.13mg, 856.21μmol, 5当量)和DIEA(177.05mg, 1.37mmol, 238.62μL, 8当量)。添加后,将反应混合物在100°C下搅拌16h。将反应混合物用水(10mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:Welch Xtimate C18 150*25mm*5μm;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:5%-35%,8min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[4-[2-[[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙氧基]-1-哌啶基]甲基]-1-哌啶基]异吡啶-1,3-二酮(12.5mg, 14.50μmol, 8.47%收率, 98%纯度)。

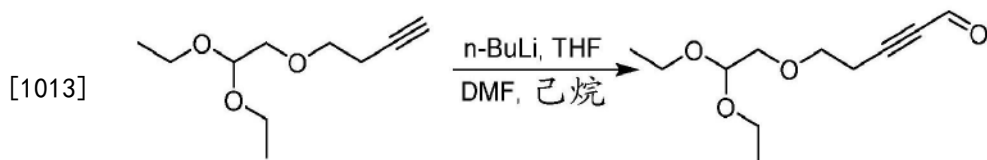
[1008] 示例性化合物34的示例性合成

[1009] 步骤1



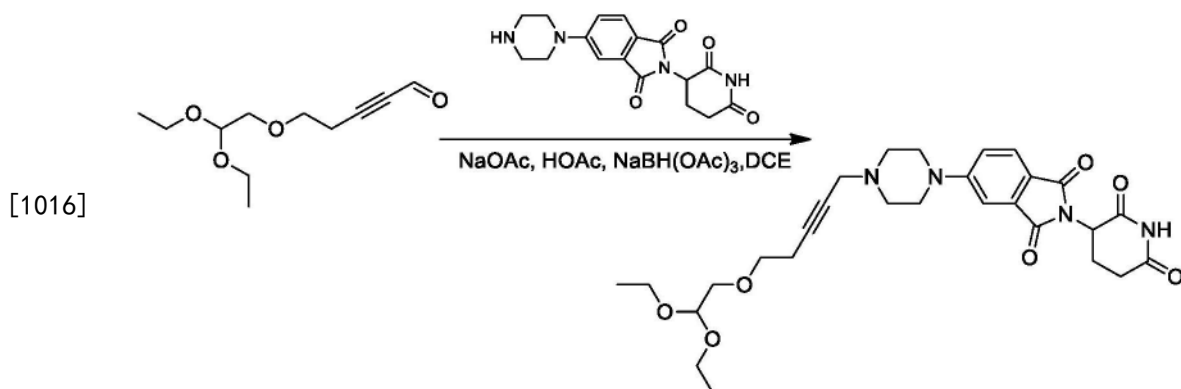
[1011] 将丁-3-炔-1-醇(1g, 14.27mmol, 1.08mL, 1当量)和2-溴-1,1-二乙氧基-乙烷(2.81g, 14.27mmol, 2.15mL, 1当量)溶解于无水DMF(10mL)中,接着在0°C下以几小份添加NaH(684.77mg, 17.12mmol, 60%纯度, 1.2当量)。接着将混合物在0°C下搅拌3h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=5:1, R_f=0.2)显示反应新斑点。将反应通过NH₄Cl(10mL)水溶液淬灭并用乙酸乙酯(3*20mL)萃取。将合并的有机相用水洗涤,经Na₂SO₄干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0-20%乙酸乙酯),得到呈无色油状物的4-(2,2-二乙氧基乙氧基)丁-1-炔(600mg, 3.22mmol, 22.58%收率)。

[1012] 步骤2



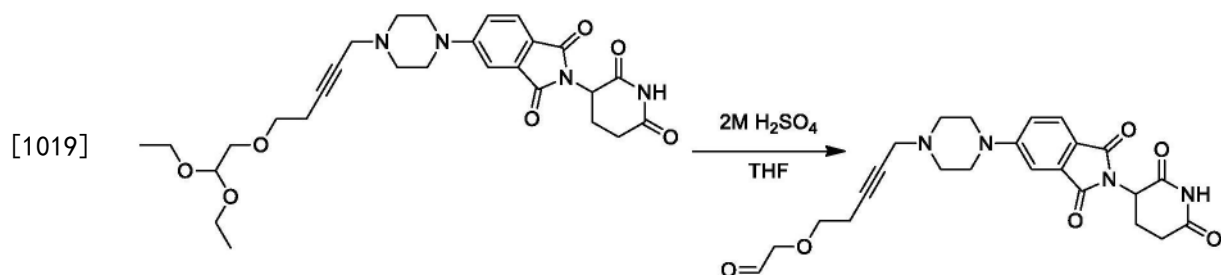
[1014] 通过注射器向配有氩气入口转接器、隔板和搅拌棒的火焰干燥的三颈100mL圆底烧瓶中添加4-(2,2-二乙氧基乙氧基)丁-1-炔(600mg, 3.22mmol, 1当量)和THF(10mL)。将溶液在干燥冰/丙酮浴中在 -78°C (浴温)下冷却,并通过注射器逐滴添加 $n\text{-BuLi}$ (2.5M, 1.55mL, 1.2当量),使反应呈棕色。将反应在 -78°C 下搅拌30min,并通过注射器逐滴添加DMF(470.95mg, 6.44mmol, 495.73uL, 2当量),使反应呈无色。将反应在 -78°C 下搅拌30min,接着升温至 25°C 并搅拌2h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=2:1, $R_f=0.1$)显示新斑点。将反应添加到乙酸乙酯(10mL)和10% KH_2PO_4 (10mL)的冷溶液中并搅拌30min。分离水层,并将有机层用盐水(20mL)洗涤,经硫酸镁干燥,重力过滤,并在减压下浓缩,得到呈黄色油状物的5-(2,2-二乙氧基乙氧基)戊-2-炔醛(350mg, 粗品)。

[1015] 步骤3



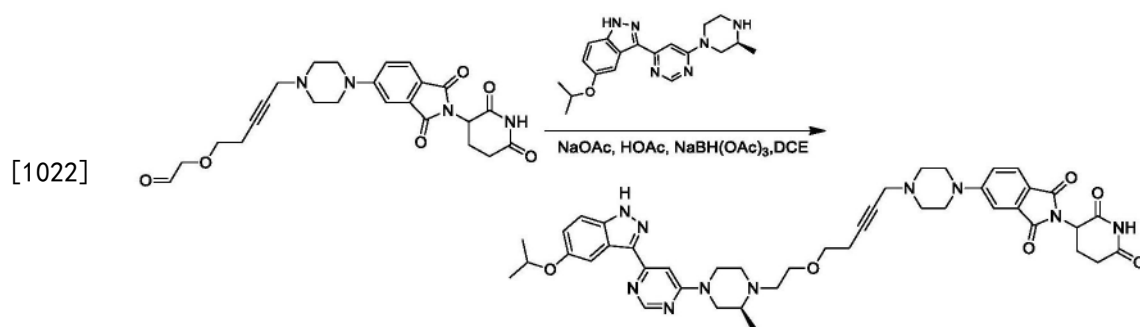
[1017] 向2-(2,6-二氧化代-3-哌啶基)-5-哌嗪-1-基-异吲哚啉-1,3-二酮(100mg, 219.12umol, 1当量, TFA)和5-(2,2-二乙氧基乙氧基)戊-2-炔醛(93.90mg, 438.24umol, 2当量)在DCE(5mL)和MeOH(1mL)中的溶液中添加 NaOAc (53.92mg, 657.36umol, 3当量)和 HOAc (2.63mg, 43.82umol, 2.51uL, 0.2当量)。接着将混合物在 20°C 下搅拌30min。接着添加 NaBH_3CN (41.31mg, 657.36umol, 3当量)并将溶液在 20°C 下搅拌2h。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, $R_f=0.37$)显示起始物质被消耗。将反应混合物倒入 H_2O (10mL)中。将混合物用乙酸乙酯(20mL*5)萃取。将有机相用盐水(20mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过制备型TLC纯化(二氯甲烷中的10%甲醇),得到呈黄色固体的5-[4-[5-(2,2-二乙氧基乙氧基)戊-2-炔基]哌嗪-1-基]-2-(2,6-二氧化代-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(120mg, 188.68umol, 86.11%收率, 85%纯度)。

[1018] 步骤4



[1020] 向5-[4-[5-(2,2-二乙氧基乙氧基)戊-2-炔基]哌嗪-1-基]-2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(95mg, 175.73 μ mol, 1当量)在THF(2mL)中的溶液中添加H₂SO₄(2M, 2mL, 86.50当量)。接着将混合物在65℃下搅拌1小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, R_f=0.37)显示起始物质被消耗。将反应混合物倒入H₂O(2mL)中并用NaHCO₃水溶液碱化至PH=8。将混合物用乙酸乙酯(15mL*5)萃取,经无水Na₂SO₄干燥,在真空中浓缩,得到呈黄色固体的2-[5-[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]戊-3-炔氧基]乙醛(80mg,粗品)。

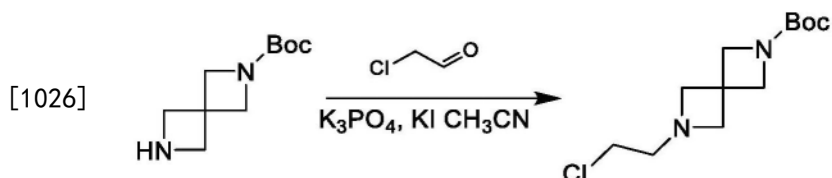
[1021] 步骤5



[1023] 向5-异丙氧基-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吲唑(100mg, 283.74 μ mol, 1当量)和2-[5-[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]戊-3-炔氧基]乙醛(80.00mg, 171.50 μ mol, 6.04e-1当量)在DCE(5mL)和MeOH(2mL)中的溶液中添加NaOAc(69.83mg, 851.23 μ mol, 3当量)和HOAc(3.41mg, 56.75 μ mol, 3.25 μ L, 0.2当量)。接着将混合物在25℃下搅拌60min。接着添加NaBH₃CN(53.49mg, 851.23 μ mol, 3当量)并将溶液在25℃下搅拌16小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, R_f=0.37)显示反应物起始物质。将反应混合物倒入H₂O(10mL)中。将混合物用乙酸乙酯(20mL*5)萃取。将有机相用盐水(20mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化(Phenomenex Luna C18 100*30mm*5 μ m;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:8%-38%, 9min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[5-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吲唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙氧基]戊-2-炔基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(19.4mg, 23.60 μ mol, 8.32%收率, 97.68%纯度)。

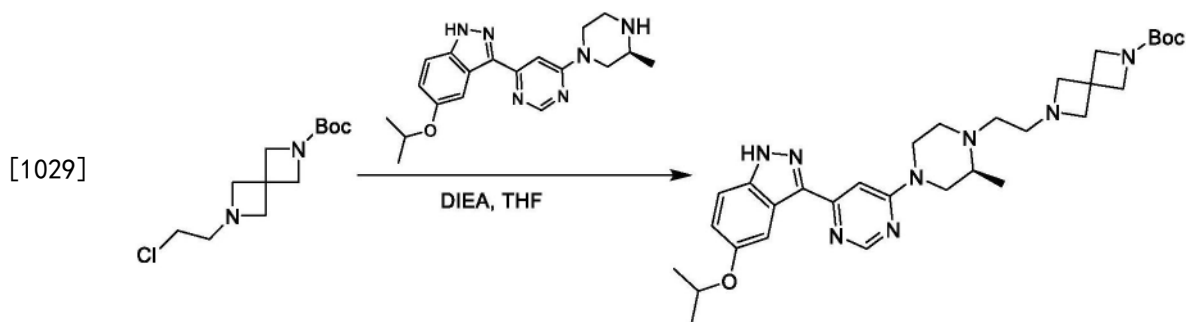
[1024] 示例性化合物35的示例性合成

[1025] 步骤1



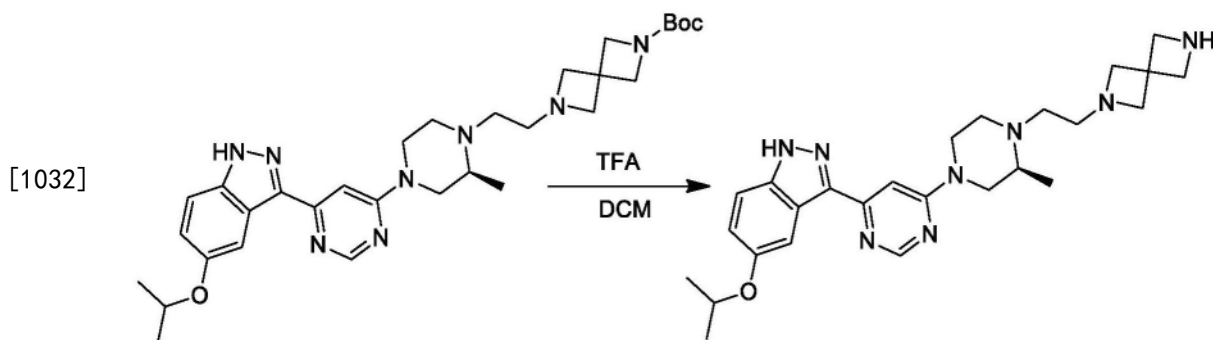
[1027] 向2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-甲酸叔丁酯(200mg,1.01mmol,1当量)和2-氯乙醛(593.89mg,3.03mmol,486.80uL,3当量)在DCM(5mL)和MeOH(5mL)中的溶液中添加NaOAc(165.51mg,2.02mmol,2当量)和HOAc(6.06mg,100.88umol,5.77uL,0.1当量)。接着将混合物在20℃下搅拌20min。接着将NaBH₃CN(190.18mg,3.03mmol,3当量)添加到溶液中并将混合物在20℃下搅拌16小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1,R_f=0.5)显示反应完全。将反应混合物倒入H₂O(20mL)中。将混合物用乙酸乙酯(30mL*3)萃取。将有机相用盐水(20mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0-100%乙酸乙酯),得到呈无色油状物的6-(2-氯乙基)-2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-甲酸叔丁酯(165mg,632.77umol,62.73%收率)。

[1028] 步骤2



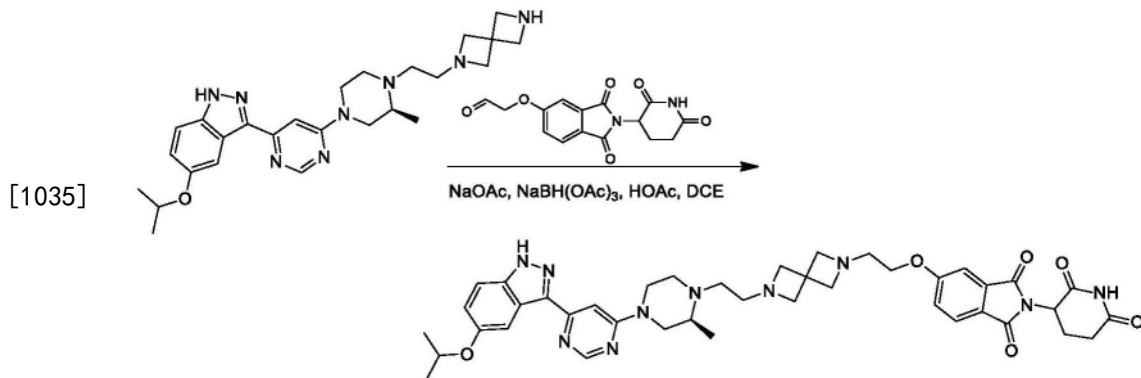
[1030] 将6-(2-氯乙基)-2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-甲酸叔丁酯(81.39mg,312.12umol,1当量)和5-异丙氧基-3-[6-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(110mg,312.12umol,1当量)溶解于无水CH₃CN(10mL)中,接着将KI(777.17mg,4.68mmol,15当量)和DIEA(605.07mg,4.68mmol,815.46uL,15当量)添加到反应中。将反应在100℃下搅拌16小时。将反应混合物倒入H₂O(20mL)中。将混合物用乙酸乙酯(20mL*2)萃取。将有机相用盐水(15mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过制备型TLC纯化(二氯甲烷中的10%甲醇,R_f=0.2),得到呈白色固体的6-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙基]-2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-甲酸叔丁酯(124mg,154.80umol,49.60%收率)。

[1031] 步骤3



[1033] 将6-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙基]-2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-甲酸叔丁酯(124mg, 215.00 μ mol, 1当量)溶解于DCM (3mL)和TFA(3.08g, 27.01mmol, 2mL, 125.63当量)中。将反应在25℃下搅拌1小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, R_f =0.01)指示反应完全。将反应混合物在真空中浓缩,得到呈黄色胶状物的3-[6-[(3S)-4-[2-(2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-基)乙基]-3-甲基-哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-异丙氧基-1H-吡唑(126mg, 粗品, TFA)。将粗产物直接用于下一步骤。

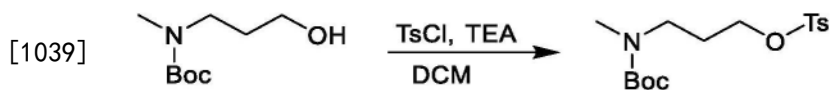
[1034] 步骤4



[1036] 向2-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吡啶啉-5-基]氧基乙醛(67.47mg, 213.33 μ mol, 1当量)和3-[6-[(3S)-4-[2-(2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-基)乙基]-3-甲基-哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-异丙氧基-1H-吡唑(126mg, 213.33 μ mol, 1当量, TFA)在DCE(5mL)和MeOH(1mL)中的溶液中添加NaOAc(52.50mg, 639.99 μ mol, 3.当量),并将混合物在25℃下搅拌20min。接着向混合物添加HOAc(1.28mg, 21.33 μ mol, 1.22 μ L, 0.1当量)并在25℃下搅拌20min。接着将NaBH₃CN(53.62mg, 853.31 μ mol, 4当量)添加到溶液中并将混合物在25℃下搅拌16h。将反应混合物倒入H₂O(20mL)中。将混合物用乙酸乙酯(20mL*2)萃取。将有机相用盐水(15mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化(Phenomenex Luna C18 100*30mm*5 μ m:[水(0.225% FA)-ACN]; B%:5%-35%, 9min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[2-[6-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙基]-2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-基]乙氧基]异吡啶啉-1,3-二酮(14.7mg, 17.35 μ mol, 8.13%收率, 97.1%纯度, FA)。

[1037] 示例性化合物36的示例性合成

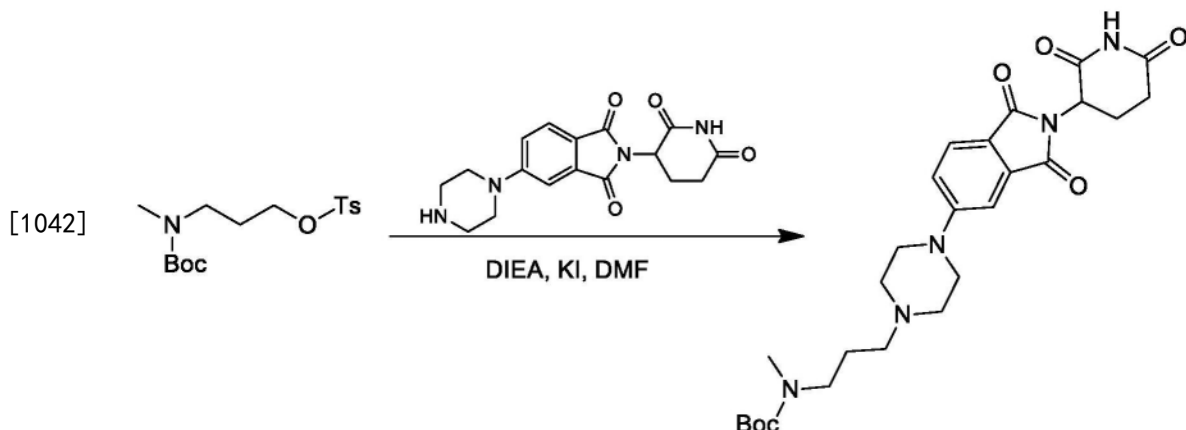
[1038] 步骤1



[1040] 在0℃在N₂下向N-(3-羟基丙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(500mg, 2.64mmol, 1当量)、DMAP(322.77mg, 2.64mmol, 1当量)和Et₃N(267.34mg, 2.64mmol, 367.73 μ L, 1当量)在DCM(5mL)中的混合物中一次性添加4-甲基苯-1-磺酰氯(503.69mg, 2.64mmol, 1当量)。将混合物在20℃下搅拌1h,得到白色悬浮液。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:12g, 100-200目硅胶,石油醚中的0-20%(10min)乙酸乙

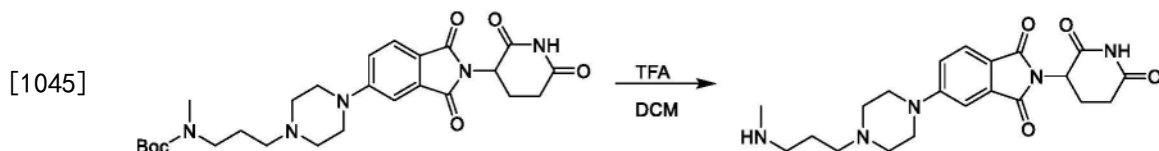
酯,石油醚中的20% (5min) 乙酸乙酯),得到呈无色油状物的4-甲基苯磺酸3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙酯(670mg,1.95mmol,73.84%收率)。

[1041] 步骤2



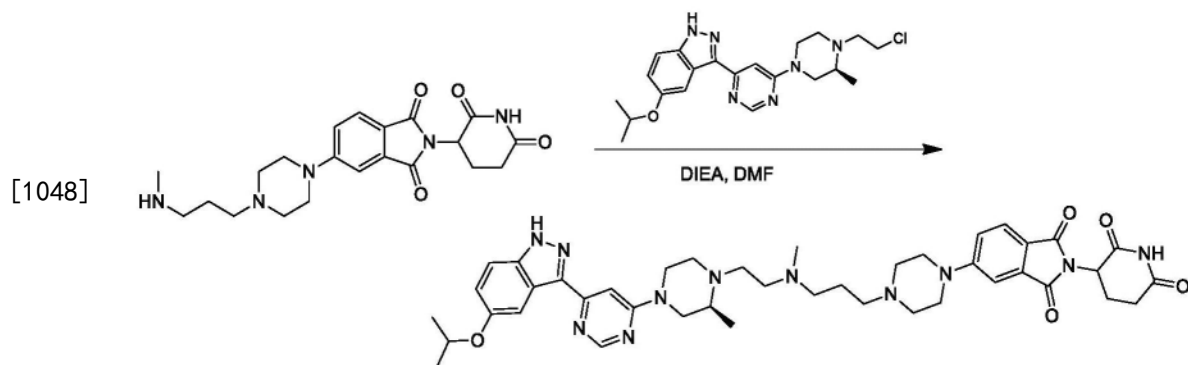
[1043] 在20℃在N₂下向4-甲基苯磺酸3-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]丙酯(670mg,1.95mmol,1当量)和2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-哌嗪-1-基-异吲哚啉-1,3-二酮(890.32mg,2.60mmol,1.33当量)在MeCN(5mL)中的混合物中一次性添加KI(1.62g,9.75mmol,5当量)和DIPEA(1.26g,9.75mmol,1.70mL,5当量)。将混合物在80℃下搅拌16小时。将混合物冷却至20℃并在20℃下在减压下浓缩。将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(10mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:40g,100-200目硅胶,石油醚中的0-100%乙酸乙酯),得到呈黄色固体的N-[3-[4-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]丙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(1g,粗品)。

[1044] 步骤3



[1046] 在20℃在N₂下向N-[3-[4-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]丙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(1g,1.95mmol,1当量)在DCM(5mL)中的混合物中一次性添加TFA(222.01mg,1.95mmol,144.16μL,1当量)。将混合物在20℃下搅拌30min。将残余物倒入NaHCO₃(pH=7-8)中。将水相用DCM(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 75*30mm*3μm;条件:水(0.225% FA)-ACN;B%:5%-35%;9min),得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[3-(甲氨基)丙基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(250mg,604.64μmol,31.05%收率)。

[1047] 步骤4



[1049] 向2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[1-[3-(甲氧基)丙基]-4-哌啶基]异吲哚啉-1,3-二酮(100mg, 242.44 μ mol, 1.13当量)和3-[6-[(3S)-4-(2-氯乙基)-3-甲基-哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-异丙氧基-1H-吡唑(89mg, 214.49 μ mol, 1当量)在MeCN(5mL)中的溶液中添加DIPEA(83.17mg, 643.48 μ mol, 112.08 μ L, 3当量)。将混合物在80℃下搅拌16小时,得到黄色悬浮液。将混合物冷却至20℃并在20℃下在减压下浓缩。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过制备型HPLC纯化(柱:Phenomenex Luna C18 75*30mm*3 μ m;条件:水(0.225% FA)-ACN;B%:17%-47%;9min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[3-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙基-甲基-氨基]丙基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(13.6mg, 17.17 μ mol, 8.01%收率, 100%纯度)。

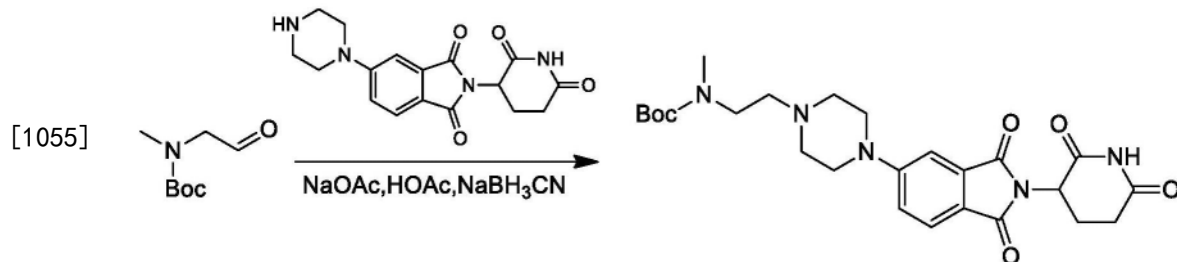
[1050] 示例性化合物37的示例性合成

[1051] 步骤1



[1053] 在20℃在N₂下向N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(200mg, 1.14mmol, 1当量)在DCM(5mL)中的混合物中一次性添加DMP(968.22mg, 2.28mmol, 706.73 μ L, 2当量)。将混合物在20℃下搅拌16h,得到白色悬浮液。TLC(乙酸乙酯:石油醚=10:1)显示起始物质被完全消耗。将残余物倒入NaHCO₃中以调节pH=7-8,并添加Na₂SO₃(10mL)。将水相用DCM(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(柱高:12g, 100-200目硅胶,石油醚中的0-20%(10min)乙酸乙酯,石油醚中的20%(5min)乙酸乙酯),得到呈无色油状物的N-甲基-N-(2-氧乙基)氨基甲酸叔丁酯(150mg, 866.01 μ mol, 75.87%收率)。

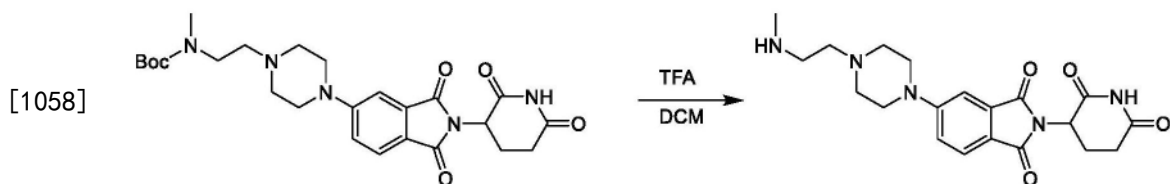
[1054] 步骤2



[1056] 在N₂下向2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-哌嗪-1-基-异吲哚啉-1,3-二酮(180mg,

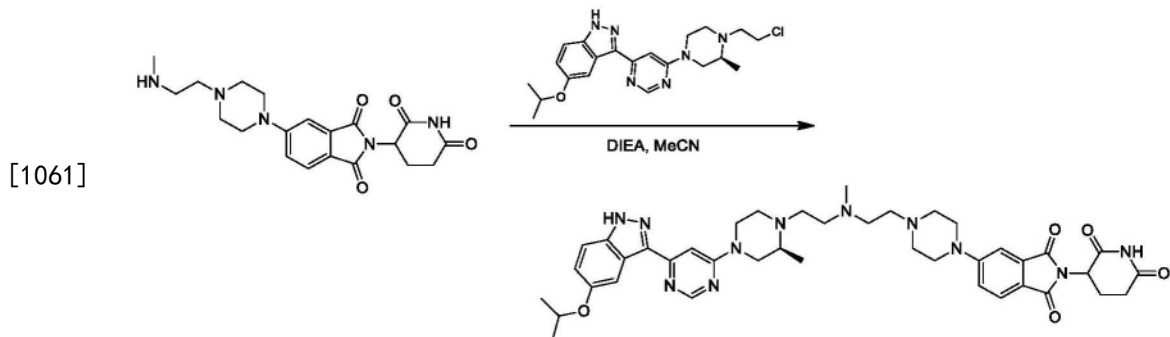
394.42 μ mol, 1当量, TFA) 在MeOH (5mL) 中的混合物中添加NaOAc (97.07mg, 1.18mmol, 3当量), 并将混合物在25℃下搅拌30min。接着添加N-甲基-N-(2-氧乙基)氨基甲酸叔丁酯 (68.32mg, 394.42 μ mol, 1当量) 和HOAc (18.95mg, 394.42 μ mol, 1.19mL, 1当量), 将溶液在25℃下搅拌30min, 接着在25℃在N₂下一次性添加NaBH₃CN (74.36mg, 1.18mmol, 3当量)。将混合物在25℃下搅拌1h, 得到黄色溶液。将残余物倒入水 (5mL) 中。将水相用乙酸乙酯 (5mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水 (5mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化 (柱高: 12g, 40mL/min, MeOH中的0-6% (5min) 乙酸乙酯), 得到呈黄色胶状物的N-[2-[4-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯 (180mg, 360.32 μ mol, 91.36% 收率)。

[1057] 步骤3



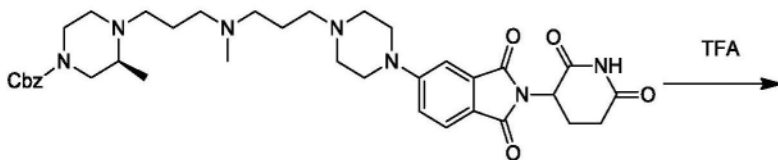
[1059] 在25℃在N₂下向N-[2-[4-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯 (180mg, 360.32 μ mol, 1当量) 在DCM (5mL) 中的混合物中一次性添加TFA (123.25mg, 1.08mmol, 80.03 μ L, 3当量)。将混合物在25℃下搅拌30min, 得到黄色溶液。将溶液在真空中浓缩, 得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[2-(甲氨基)乙基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮 (200mg, 粗品, TFA)。

[1060] 步骤4

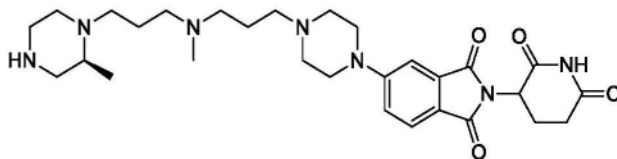


[1062] 向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[1-[2-(甲氨基)乙基]-4-哌啶基]异吲哚啉-1,3-二酮 (144.04mg, 361.51 μ mol, 1当量) 和3-[6-[(3S)-4-(2-氯乙基)-3-甲基-哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-5-异丙氧基-1H-吡唑 (165.00mg, 397.66 μ mol, 1.1当量) 在CH₃CN (5mL) 中的溶液中添加DIPEA (140.16mg, 1.08mmol, 188.90 μ L, 3当量)。将混合物在80℃下搅拌16小时, 得到黄色悬浮液。将混合物冷却至20℃并在20℃下在减压下浓缩。将残余物倒入水 (5mL) 中。将水相用乙酸乙酯 (5mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水 (5mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化 (柱: Phenomenex Luna C18 100*30mm*5 μ m; 流动相: [水 (0.225% FA)-ACN]; B%: 10%-40%, 9min), 得到粗产物 (16mg)。将粗品通过制备型TLC纯化 (DCM:MeOH=10:1, R_f=0.51), 得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[2-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]乙基]-甲基-氨基]乙基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮 (10.4mg, 13.18 μ mol, 3.65% 收率)。

率, 98.6% 纯度)。

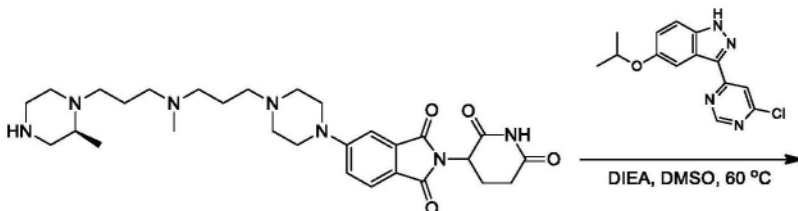


[1071]

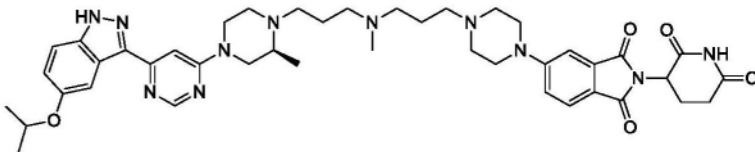


[1072] 向(3S)-4-[3-[3-[4-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吲哚啉-5-基]哌嗪-1-基]丙基-甲基-氨基]丙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯(200mg, 290.77 μ mol, 1当量)在TFA(33.15mg, 290.77 μ mol, 21.53 μ L, 1当量)中的溶液。接着将反应混合物在70℃下搅拌1h, 得到黄色溶液。将反应混合物倒入DCM(20mL)中, 在旋转蒸发仪中浓缩, 得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[3-[甲基-[3-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]丙基]氨基]丙基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(200mg, 粗品, TFA)。

[1073] 步骤4



[1074]



[1075] 将3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-2H-吡唑(80.00mg, 277.07 μ mol, 1当量)和2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[3-[甲基-[3-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]丙基]氨基]丙基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(185.01mg, 277.07 μ mol, 1当量, TFA)溶解于DMSO(5mL)中, 接着添加DIPEA(107.43mg, 831.22 μ mol, 144.78 μ L, 3当量), 将反应在50℃下搅拌16h。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*3)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱: Phenomenex Luna C18100*30mm*5 μ m; 条件: 水(0.225% FA)-ACN; B%: 0-30%; 7min), 得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-5-[4-[3-[3-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-哌嗪-1-基]丙基-甲基-氨基]丙基]哌嗪-1-基]异吲哚啉-1,3-二酮(41.8mg, 51.03 μ mol, 18.42%收率, 98.4%纯度)。

[1076] 示例性化合物39的示例性合成

[1077] 步骤1

[1078] 向4-(2-氯乙基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(200mg, 804.02 μ mol, 1当量)在DCM(2mL)中的溶液中添加TFA(3.08g, 27.01mmol, 2mL, 33.60当量), 并将混合物在20℃下搅拌1小时。TLC(二氯甲烷: 甲醇=10:1, R_f=0.02)显示无起始物质且有新斑点。将残余物在减压下浓缩,

得到呈无色油状物的1-(2-氯乙基)哌嗪(119mg,粗品,TFA)。

[1079] 步骤2

[1080] 将1-(2-氯乙基)哌嗪(119mg,800.63 μ mol,1当量)和1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]哌啶-4-甲醛(295.73mg,800.63 μ mol,1当量)在HOAc(1mL)和MeOH(10mL)中的溶液在20℃下搅拌20min,接着添加硼烷:2-甲基吡啶(171.27mg,1.60mmol,2当量)。接着将混合物在30℃在N₂下搅拌16h。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1,R_f=0.3)显示无起始物质且有新斑点。将残余物在减压下浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶色谱法纯化(甲醇中的0至25%二氯甲烷),得到呈黄色固体的5-[4-[[4-(2-氯乙基)哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(390mg,769.12 μ mol,96.06%收率,99%纯度)。

[1081] 步骤3

[1082] 向1H-吡唑-5-醇(10g,74.55mmol,1当量)在DMF(100mL)中的混合物中添加Cs₂CO₃(36.44g,111.83mmol,1.5当量)和2-碘丙烷(19.01g,111.83mmol,11.18mL,1.5当量)。将混合物在20℃下搅拌16小时,得到棕色混合物。LCMS显示反应完全,并且所需的MS值在主峰中。TLC(石油醚:乙酸乙酯=2:1,UV=254nm,板1)显示新斑点。过滤混合物,用EtOAc(50mL)洗涤滤饼,接着将150mL饱和NH₄Cl(水溶液)添加到滤液中。将所得混合物用EtOAc(50mL*3)萃取,并将合并的萃取物用饱和NH₄Cl(50mL*3)、盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在减压下浓缩滤液。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚中的0-20%(10min)乙酸乙酯,石油醚中的20%(10min)乙酸乙酯),得到呈黄色固体的5-异丙氧基-1H-吡唑(7.6g,43.13mmol,57.85%收率)。

[1083] 步骤4

[1084] 在20℃下向5-异丙氧基-1H-吡唑(7.6g,43.13mmol,1当量)在THF(100mL)中的混合物中一次性添加N-环己基-N-甲基-环己胺(25.27g,129.39mmol,27.44mL,3当量)和SEM-Cl(14.38g,86.26mmol,15.27mL,2当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时,得到橙色悬浮液。TLC显示反应完全。将残余物倒入水(50mL)中。将水相用乙酸乙酯(50mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(50mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶,石油醚中的0-3%(20min)乙酸乙酯,石油醚中的3-10%(10min)乙酸乙酯),得到呈黄色油状物的2-[(5-异丙氧基吡唑-2-基)甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(11.5g,36.77mmol,85.26%收率,98%纯度)。

[1085] 步骤5

[1086] 在-70℃在N₂下向2-[(5-异丙氧基吡唑-2-基)甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(11g,35.89mmol,1当量)在THF(60mL)中的混合物中逐滴添加n-BuLi(2.5M,15.79mL,1.1当量)。接着将混合物在-20℃下搅拌5分钟,并在-70℃下逐滴添加ZnCl₂溶液(2M,26.92mL,1.5当量)。将混合物在-40℃下搅拌10min。将4,6-二氯嘧啶(5.35g,35.89mmol,1当量)和Pd(PPh₃)₄(2.07g,1.79mmol,0.05当量)在THF(10mL)中的混合物在20℃下搅拌30分钟并添加到该溶液中。去除冷浴,将混合物在20℃下搅拌10h,得到黄色溶液。TLC(石油醚:乙酸乙酯=3:1,R_f=0.83)和LCMS显示反应完全。将残余物倒入水(60mL)中。将水相用乙酸乙酯(60mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(20mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶,石油醚中的0-5%(30min)乙酸乙酯,

石油醚中的5% (60min) 乙酸乙酯), 得到呈黄色油状物的2-[[3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-吡啶-2-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(8.5g, 20.29mmol, 56.52%收率)。

[1087] 步骤6

[1088] 向2-[[3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-吡啶-2-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(2g, 4.77mmol, 1当量)、哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.07g, 5.73mmol, 1.2当量)在DMSO(10mL)中的混合物中一次性添加Et₃N(1.45g, 14.32mmol, 1.99mL, 3当量), 接着在100℃下搅拌1h。TLC显示起始物质被完全消耗。将混合物冷却至20℃, 将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(10mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL*2)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩, 得到呈黄色油状物的4-[6-[5-异丙氧基-2-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡啶-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(2.4g, 4.01mmol, 83.98%收率, 95%纯度)。

[1089] 步骤7

[1090] 在20℃下向4-[6-[5-异丙氧基-2-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡啶-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(2.4g, 4.22mmol, 1当量)在MeOH(10mL)中的混合物中一次性添加HCl(g)/二噁烷(4M, 5.27mL, 5当量)。将混合物在65℃下搅拌0.5h, 得到黄色混合物。TLC(EtOAc, R_f=0.07)显示反应完全。将混合物冷却至20℃。将残余物倒入NaHCO₃(20mL)中以调节pH=7-8。将水相用乙酸乙酯(20mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(20mL*2)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(100-200目硅胶, DCM中的0-25% MeOH), 得到呈黄色胶状物的5-异丙氧基-3-(6-哌嗪-1-基嘧啶-4-基)-1H-吡啶(1.6g, 粗品)。

[1091] 步骤8

[1092] 向5-异丙氧基-3-(6-哌嗪-1-基嘧啶-4-基)-1H-吡啶(100mg, 295.50μmol, 1当量)和5-[4-[[4-(2-氯乙基)哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吡啶啉-1,3-二酮(100mg, 199.20μmol, 6.74e-1当量)和DIEA(190.95mg, 1.48mmol, 257.35μL, 5当量)和KI(245.27mg, 1.48mmol, 5当量)在MeCN(10mL)中的溶液。接着将混合物在100℃在N₂下搅拌16小时。LCMS显示所需产物。将残余物用H₂O(20mL)稀释并用乙酸乙酯(20mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(15mL)洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱: 3-Phenomenex Luna C18 75*30mm*3μm; 流动相: [水(0.225% FA)-ACN]; B%: 0%-30%, 35min), 得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[4-[2-[4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙基]哌嗪-1-基]甲基]-1-哌啶基]异吡啶啉-1,3-二酮(27.6mg, 34.21μmol, 11.58%收率, 99.66%纯度)。

[1093] 示例性化合物40的示例性合成

[1094] 步骤1

[1095] 将4-(2-溴乙酰基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(695.05mg, 2.27mmol, 1当量)在MeCN(10mL)中的溶液在20℃下搅拌20min。接着向混合物添加哌嗪-1-甲酸苄酯(500mg, 2.27mmol, 438.60μL, 1当量)并在20℃在N₂下搅拌16小时。TLC(二氯甲烷: 甲醇=10:1, R_f=0.6)显示无起始物质且有新斑点。将残余物用H₂O(30mL)稀释并用乙酸乙酯(50mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(45mL)洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(甲醇中的0至10%二氯甲烷), 得到呈黄色胶状物的

4-[2-(1-叔丁氧基羰基-4-哌啶基)-2-氧代-乙基]哌嗪-1-甲酸苄酯(950mg,1.58mmol,69.51%收率,74%纯度)。

[1096] 步骤2

[1097] 将4-[2-(1-叔丁氧基羰基-4-哌啶基)-2-氧代-乙基]哌嗪-1-甲酸苄酯(920mg,2.06mmol,1当量)在DCM(30mL)中的溶液在0℃下搅拌20min。接着向混合物添加DAST(11.65g,72.27mmol,9.55mL,35当量)并在20℃在N₂下搅拌2小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1,R_f=0.5)显示无起始物质且有新斑点。将反应冷却至0℃并用NaHCO₃水溶液(90mL)淬灭,用乙酸乙酯(50mL×2)萃取。将合并的有机层用盐水(45mL)洗涤,经无水硫酸镁干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(甲醇中的0至10%二氯甲烷),得到呈黄色胶状物的4-[2-(1-叔丁氧基羰基-4-哌啶基)-2,2-二氟-乙基]哌嗪-1-甲酸苄酯(330mg,515.24μmol,24.95%收率,73%纯度)。

[1098] 步骤3

[1099] 向4-[2-(1-叔丁氧基羰基-4-哌啶基)-2,2-二氟-乙基]哌嗪-1-甲酸苄酯(100mg,213.88μmol,1当量)在DCM(2mL)中的溶液中添加TFA(2.31g,20.26mmol,1.5mL,94.72当量)并在20℃下搅拌1小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1,R_f=0.01)显示无起始物质且有新斑点。将残余物在减压下浓缩,得到呈黄色胶状物的4-[2,2-二氟-2-(4-哌啶基)乙基]哌嗪-1-甲酸苄酯(78mg,粗品)。

[1100] 步骤4

[1101] 将4-[2,2-二氟-2-(4-哌啶基)乙基]哌嗪-1-甲酸苄酯(78mg,212.28μmol,1当量)和1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]哌啶-4-甲醛(78.41mg,212.28μmol,1当量)在HOAc(1mL)和MeOH(10mL)中的溶液在20℃下搅拌20min,接着添加硼烷;2-甲基吡啶(45.41mg,424.57μmol,2当量)。接着将混合物在25℃在N₂下搅拌16h。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1,R_f=0.5)显示无起始物质且有新斑点。将残余物在减压下浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(甲醇中的0至10%二氯甲烷),得到呈黄色固体的4-[2-[1-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基]甲基]-4-哌啶基]-2,2-二氟-乙基]哌嗪-1-甲酸苄酯(150mg,167.52μmol,78.91%收率,80.5%纯度)。

[1102] 步骤5

[1103] 向4-[2-[1-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基]甲基]-4-哌啶基]-2,2-二氟-乙基]哌嗪-1-甲酸苄酯(150mg,208.10μmol,1当量)的溶液中添加TFA(3.08g,27.01mmol,2mL,129.81当量),在70℃下搅拌4小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1,R_f=0.01)显示无起始物质且有新斑点。将残余物在减压下浓缩,得到呈黄色胶状物的5-[4-[[4-(1,1-二氟-2-哌嗪-1-基-乙基)-1-哌啶基]甲基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(140mg,粗品,TFA)。

[1104] 步骤6

[1105] 向5-[4-[[4-(1,1-二氟-2-哌嗪-1-基-乙基)-1-哌啶基]甲基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(140mg,199.80μmol,1当量,TFA)和3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-1H-吡唑(57.69mg,199.80μmol,1当量)在DMSO(5mL)中的溶液中添加DIEA(258.22mg,2.00mmol,348.01μL,10当量)。接着将混合物在80℃在N₂下搅拌16小时。

LCMS显示所需产物。将残余物用H₂O (20mL) 稀释并用乙酸乙酯 (20mL×3) 萃取。将合并的有机层用盐水 (15mL) 洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化 (柱: 3_Phenomenex Luna C18 75*30mm*3um; 流动相: [水 (0.225% FA) -ACN]; B%: 10%-40%, 35min), 得到呈黄色固体的5-[4-[[4-[1,1-二氟-2-[4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基) 嘧啶-4-基] 哌嗪-1-基] 乙基]-1-哌啶基] 甲基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基) 异吲哚啉-1,3-二酮 (33.7mg, 39.95umol, 20.00% 收率, 99.46% 纯度)。

[1106] 示例性化合物41的示例性合成

[1107] 步骤1

[1108] 在20℃在N₂下向1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基] 哌啶-4-甲醛 (200mg, 541.46umol, 1当量) 和4-(2,2-二甲氧基乙基) 哌啶 (93.81mg, 541.46umol, 1当量) 在MeOH (10mL) 中的混合物中一次性添加硼烷; 2-甲基吡啶 (115.83mg, 1.08mmol, 2当量) 和CH₃COOH (1mL)。将混合物在20℃下搅拌2小时, 得到黄色溶液。LCMS显示有所需MS。将残余物倒入饱和NaHCO₃中以调节pH=7-8。将水相用乙酸乙酯 (10mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水 (10mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化 (12g, 石油醚中的0-100% (10min) 乙酸乙酯, 二氯甲烷中的1-10% (5min) 甲醇), 得到呈黄色胶状物的5-[4-[[4-(2,2-二甲氧基乙基)-1-哌啶基] 甲基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基) 异吲哚啉-1,3-二酮 (210mg, 338.95umol, 62.60% 收率, 85% 纯度)。

[1109] 步骤2

[1110] 在20℃在N₂下向5-[4-[[4-(2,2-二甲氧基乙基)-1-哌啶基] 甲基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基) 异吲哚啉-1,3-二酮 (100mg, 189.89umol, 1当量) 在THF (5mL) 中的溶液中一次性添加HCl (2M, 10.22mL, 107.60当量)。接着将溶液加热至70℃并搅拌1h, 得到黄色溶液。TLC (DCM:MeOH=10:1, R_f=0.06) 显示反应完全。将溶液冷却至20℃。将溶液倒入水 (5mL) 和NaHCO₃中以调节pH=7-8。将水相用乙酸乙酯 (10mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水 (10mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩, 得到呈黄色固体的2-[1-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基] 甲基]-4-哌啶基] 乙醛 (83mg, 162.35umol, 85.50% 收率, 94% 纯度)。

[1111] 步骤3

[1112] 在20℃在N₂下向2-[1-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基] 甲基]-4-哌啶基] 乙醛 (83mg, 172.72umol, 1当量) 和5-异丙氧基-3-(6-哌嗪-1-基嘧啶-4-基)-1H-吡唑 (58.45mg, 172.72umol, 1当量) 在MeOH (10mL) 中的混合物中一次性添加CH₃COOH (10.37mg, 172.72umol, 9.88uL, 1当量) 和硼烷; 2-甲基吡啶 (36.95mg, 345.43umol, 2当量)。将混合物在30℃下搅拌16h。LCMS显示有所需MS。将残余物倒入水 (10mL) 中。将水相用乙酸乙酯 (10mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水 (10mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化 (柱: 3_Phenomenex Luna C18 75*30mm*3um; 条件: 水 (0.225% FA) -ACN; 开始B: 0; 结束B: 30; 流速: 25mL/min; 梯度时间: 35min; 100% B保持时间: 3min), 得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[4-[2-[4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基) 嘧啶-4-基] 哌嗪-1-基] 乙基]-1-哌啶基]

甲基]-1-哌啶基]异吲哚啉-1,3-二酮(25.5mg,30.77 μ mol,17.82%收率,96.9%纯度)。

[1113] 示例性化合物42的示例性合成

[1114] 步骤1

[1115] 将2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]乙酸(500mg,2.18mmol,1当量)在THF(10mL)中的溶液冷却至-10℃。将硼烷;四氢呋喃(1M,2.62mL,1.2当量)缓慢添加到烧瓶中,同时保持温度低于0℃。将溶液升温至20℃并搅拌1h。TLC(PE:EtOAc=1:1)显示新斑点。将溶液冷却至0℃,并在5分钟时间内逐滴添加15%氢氧化钠溶液(10mL)以控制气体放出。将混合物用水(10mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 20mL)萃取。将有机层用盐水(30mL)洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩,得到呈无色油状物的(3R)-3-(2-羟乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(395mg,1.83mmol,84.13%收率)。

[1116] 步骤2

[1117] 向(3R)-3-(2-羟乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(395mg,1.83mmol,1当量)在DCM(5mL)中的溶液中添加TosCl(699.58mg,3.67mmol,2当量)和TEA(371.31mg,3.67mmol,510.75 μ L,2当量)。添加后,将反应溶液在20℃下搅拌12h。TLC(PE:EtOAc=1:1)显示几个新斑点。将反应用水(10mL)稀释并用二氯甲烷(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至30%乙酸乙酯),得到呈浅黄色油状物的(3R)-3-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(600mg,1.58mmol,86.39%收率,97.6%纯度)。

[1118] 步骤3

[1119] 向(3R)-3-[2-(对甲苯基磺酰基氧基)乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(300mg,811.96 μ mol,1当量)和5-异丙氧基-3-(6-哌嗪-1-基)嘧啶-4-基]-1H-吡唑(274.77mg,811.96 μ mol,1当量)在CH₃CN(5mL)中的溶液中添加KI(269.57mg,1.62mmol,2当量)和DIEA(209.88mg,1.62mmol,282.86 μ L,2当量)。添加后,将反应混合物在95℃下搅拌4h。LCMS显示所需MS。冷却后,将反应混合物用乙酸乙酯(30mL)稀释并用水(20mL)洗涤。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(二氯甲烷中的0至10%甲醇),得到呈黄色固体的(3S)-3-[2-[4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(210mg,376.62 μ mol,46.38%收率,96.07%纯度)。

[1120] 步骤4

[1121] 向(3S)-3-[2-[4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(210mg,392.03 μ mol,1当量)在DCM(5mL)中的溶液中添加TFA(1.54g,13.51mmol,1mL,34.45当量)。添加后,将反应混合物在20℃下搅拌30min。LCMS显示所需MS。将反应在减压下浓缩。接着将所得物用二氯甲烷(5mL)稀释并用DIEA(1.5mL)处理。将混合物在真空中浓缩,得到呈黄色固体的5-异丙氧基-3-[6-[4-[2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(170mg,粗品)。将粗产物直接用于下一步骤。

[1122] 步骤5

[1123] 向1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]哌啶-4-甲醛(74.63mg,202.04 μ mol,1.1当量)在MeOH(3mL)和HOAc(0.3mL)中的溶液中添加5-异丙氧基-3-[6-[4-[2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]哌嗪-1-基]嘧啶-4-基]-1H-吡唑(80mg,183.67 μ mol,1当量)和硼烷;2-甲基吡啶(39.29mg,367.34 μ mol,2当量)。添加后,将反应溶

液在25℃下搅拌12h。LCMS显示所需MS。将反应用水(5mL)稀释并用二氯甲烷(3x 10mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:3-Phenomenex Luna C18 75*30mm*3um;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:0-30%;35min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[[(3R)-3-[2-[4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙基]吡咯烷-1-基]甲基]-1-哌啶基]异吡啶啉-1,3-二酮(67.7mg,85.13umol,46.35%收率,99.20%纯度)。

[1124] 示例性化合物43的示例性合成

[1125] 以2-[(3S)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]乙酸为起始,以类似于化合物42的方式制备化合物43。

[1126] 示例性化合物44的示例性合成

[1127] 步骤1

[1128] 将无水DMF(3mL)和Zn(1.28g,19.51mmol,2.5当量)装入三颈圆底烧瓶。在20℃下搅拌混合物。同时在30min内以保持温度低于65℃的速率添加1,2-二溴乙烷(293.25mg,1.56mmol,117.77uL,0.2当量)和TMSCl(169.59mg,1.56mmol,198.12uL,0.2当量)的混合物。将所得浆料老化15min。在10min内以保持温度低于65℃的速率逐滴添加3-碘代氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(3g,10.60mmol,1.36当量)在DMF(4mL)中的溶液,并将乳状悬浮液搅拌30min,同时缓慢冷却至20℃。在N₂下向另一个圆底烧瓶装入DMF(4mL)中的Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂(63.74mg,78.05umol,0.01当量)、CuI(44.59mg,234.15umol,0.03当量)和4-碘吡啶(1.6g,7.81mmol,1当量)。将所得混合物用交替真空/N₂吹扫脱气。将上述制备的化合物在DMF中的碘化锌试剂以悬浮液形式添加。将混合物用真空/N₂脱气两次,接着加热至80℃保持2小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1,R_f=0.5)显示反应新斑点。将反应混合物过滤并在减压下浓缩。将粗产物倒入H₂O(50mL)中。将混合物用乙酸乙酯(45mL*3)萃取。将有机相用盐水(30mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(二氯甲烷中的0至10%甲醇),得到呈黄色油状物的3-(4-吡啶基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.2g,4.97mmol,63.65%收率,97%纯度)。

[1129] 步骤2

[1130] 向3-(4-吡啶基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.2g,5.12mmol,1当量)在MeCN(10mL)中的溶液中添加BnBr(892.80mg,5.22mmol,0.62mL,1.02当量)。将混合物在80℃下搅拌1小时,得到黄色悬浮液。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1,R_f=0.2)显示反应新斑点。将反应混合物在真空中浓缩,得到呈黄色胶状物的3-(1-苄基吡啶-1-鎓-4-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.6g,粗品)。

[1131] 步骤3

[1132] 向3-(1-苄基吡啶-1-鎓-4-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.6g,4.92mmol,1当量)在EtOH(10mL)中的溶液中添加NaBH₄(558.03mg,14.75mmol,3当量)。将混合物在0℃下搅拌2h。LCMS显示产物的形成。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1,R_f=0.5)显示反应新斑点。将粗产物倒入H₂O(50mL)中。将混合物用乙酸乙酯(45mL*3)萃取。将有机相用盐水(30mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,在真空中浓缩,得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(二氯甲烷中的0至5%甲醇),得到呈无色胶状物的3-(1-苄基-3,6-二氢-2H-吡啶-4-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.2g,2.19mmol,44.59%收率,60%纯度)。

[1133] 步骤4

[1134] 在N2下向3-(1-苄基-3,6-二氢-2H-吡啶-4-基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(1.2g, 3.65mmol, 1当量)在EtOH(15mL)和EtOAc(15mL)中的溶液中添加Pd/C(120mg, 10%纯度)和Pd(OH)2(120mg, 85.45umol, 10%纯度, 2.34e-2当量)。将悬浮液在真空下脱气并用H2吹扫数次。将混合物在H2(50psi)下在60℃下搅拌18小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, Rf=0.1)显示反应新斑点。将反应混合物过滤并在减压下浓缩, 得到呈浅黄色油状物的3-(4-哌啶基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(900mg, 粗品)。

[1135] 步骤5

[1136] 向3-(4-哌啶基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(0.4g, 1.66mmol, 1当量)和2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-氟-异吲哚啉-1,3-二酮(413.74mg, 1.50mmol, 0.9当量)和DIEA(1.08g, 8.32mmol, 1.45mL, 5当量)在DMSO(20mL)中的溶液。接着将混合物在100℃在N2下搅拌16小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, Rf=0.6)显示无起始物质且有新斑点。将残余物用H2O(50mL)稀释并用乙酸乙酯(70mL×3)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(二氯甲烷中的0至10%甲醇), 得到呈黄色固体的3-[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(800mg, 1.47mmol, 88.09%收率, 91%纯度)。

[1137] 步骤6

[1138] 向3-[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(800mg, 1.61mmol, 1当量)在DCM(2mL)中的溶液中添加TFA(3.08g, 27.01mmol, 2mL, 16.77当量)。接着将混合物在20℃下搅拌1小时。将残余物在减压下浓缩, 得到呈黄色固体的5-[4-(氮杂环丁烷-3-基)-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(1.2g, 粗品, 3TFA)。

[1139] 步骤7

[1140] 向5-[4-(氮杂环丁烷-3-基)-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(400mg, 541.63umol, 1当量, 3TFA)和2-氯乙醛(122.00mg, 621.68umol, 0.1mL, 40%纯度, 1.15当量)在DCM(15mL)和MeOH(15mL)中的溶液中添加NaOAc(266.59mg, 3.25mmol, 6当量)和HOAc(3.25mg, 54.16umol, 3.10uL, 0.1当量)。将混合物在25℃下搅拌20min。接着向溶液中添加NaBH3CN(102.11mg, 1.62mmol, 3当量)并在25℃下搅拌2小时。TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1, Rf=0.4)显示无起始物质且有新斑点。将反应混合物倒入H2O(20mL)中。将混合物用乙酸乙酯(30mL×3)萃取。将有机相用盐水(20mL)洗涤, 经无水Na2SO4干燥, 在真空中浓缩, 得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(二氯甲烷中的0-15%甲醇), 得到呈黄色固体的5-[4-[1-(2-氯乙基)氮杂环丁烷-3-基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(248mg, 502.55umol, 92.78%收率, 93%纯度)。

[1141] 步骤8

[1142] 向5-异丙氧基-3-(6-哌嗪-1-基嘧啶-4-基)-1H-吡唑(79.64mg, 235.33umol, 0.9当量)和5-[4-[1-(2-氯乙基)氮杂环丁烷-3-基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)异吲哚啉-1,3-二酮(120mg, 261.47umol, 1当量)和DIEA(168.96mg, 1.31mmol, 227.71uL, 5当量)和KI(217.02mg, 1.31mmol, 5当量)在MeCN(10mL)中的溶液。接着将混合物在100℃在N2

下搅拌16小时。将残余物用H₂O (20mL) 稀释并用乙酸乙酯 (20mL×3) 萃取。将合并的有机层用盐水 (15mL) 洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化 (柱: 3_Phenomenex Luna C18 75*30mm*3um; 流动相: [水 (0.225% FA) - ACN]; B%: 0% - 30%, 35min), 得到呈黄色固体的2- (2,6-二氧化-3-哌啶基) -5- [4- [1- [2- [4- [6- (5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基) 嘧啶-4-基] 哌嗪-1-基] 乙基] 氮杂环丁烷-3-基] -1-哌啶基] 异吲哚啉-1,3-二酮 (13.3mg, 17.43umol, 6.67%收率, 99.73%纯度)。

[1143] 示例性化合物45的示例性合成

[1144] 步骤1

[1145] 向3- (对甲苯基磺酰基氧基甲基) 氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (359.10mg, 1.05mmol, 1.2当量) 和2- (2,6-二氧化-3-哌啶基) -5-哌嗪-1-基-异吲哚啉-1,3-二酮 (400mg, 876.48umol, 1当量, TFA) 和DIEA (566.38mg, 4.38mmol, 763.32uL, 5当量) 和KI (727.48mg, 4.38mmol, 5当量) 在MeCN (10mL) 中的溶液。接着将混合物在100℃在N₂下搅拌16小时。TLC (100%乙酸乙酯, R_f=0.4) 显示无起始物质且有新斑点。将残余物用H₂O (20mL) 稀释并用乙酸乙酯 (20mL×3) 萃取。将合并的有机层用盐水 (15mL) 洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到残余物。将残余物通过制备型TLC纯化 (100%乙酸乙酯, R_f=0.4), 得到呈黄色固体的3- [[4- [2- (2,6-二氧化-3-哌啶基) -1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基] 哌嗪-1-基] 甲基] 氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (88mg, 158.26umol, 18.06%收率, 92%纯度)。

[1146] 步骤2

[1147] 向3- [[4- [2- (2,6-二氧化-3-哌啶基) -1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基] 哌嗪-1-基] 甲基] 氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (88mg, 172.02umol, 1当量) 在DCM (1mL) 中在TFA (3.39g, 29.71mmol, 2.20mL, 172.73当量) 中的溶液。接着将混合物在20℃在N₂下搅拌1小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇=10:1, R_f=0.01) 显示无起始物质且有新斑点。将残余物在减压下浓缩, 得到呈黄色胶状物的5- [4- (氮杂环丁烷-3-基甲基) 哌嗪-1-基] -2- (2,6-二氧化-3-哌啶基) 异吲哚啉-1,3-二酮 (90mg, 粗品, TFA)。

[1148] 步骤3

[1149] 向5-异丙氧基-3- (6-哌嗪-1-基嘧啶-4-基) -1H-吡唑 (260mg, 768.31umol, 1当量) 和2-氯乙醛 (301.55mg, 1.54mmol, 247.17uL, 40%纯度, 2当量) 在DCM (15mL) 和MeOH (15mL) 中的溶液添加NaOAc (315.14mg, 3.84mmol, 5当量) 和HOAc (4.61mg, 76.83umol, 4.39uL, 0.1当量), 并将混合物在25℃下搅拌20min。接着将NaBH₃CN (144.84mg, 2.30mmol, 3当量) 添加到溶液中并在25℃下搅拌2小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇=10:1, R_f=0.5) 显示反应完全。将反应混合物倒入H₂O (20mL) 中。将混合物用乙酸乙酯 (30mL*3) 萃取。将有机相用盐水 (20mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 在真空中浓缩, 得到残余物。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (二氯甲烷中的0-10%甲醇), 得到呈白色固体的3- [6- [4- (2-氯乙基) 哌嗪-1-基] 嘧啶-4-基] -5-异丙氧基-1H-吡唑 (176mg, 403.89umol, 52.57%收率, 92%纯度)。

[1150] 步骤4

[1151] 向5- [4- (氮杂环丁烷-3-基甲基) 哌嗪-1-基] -2- (2,6-二氧化-3-哌啶基) 异吲哚啉-1,3-二酮 (90mg, 171.27umol, 1当量, TFA) 和3- [6- [4- (2-氯乙基) 哌嗪-1-基] 嘧啶-4-基] -5-异丙氧基-1H-吡唑 (68.66mg, 171.27umol, 1当量) 和DIEA (110.68mg, 856.37umol, 149.16uL, 5当量) 和KI (142.16mg, 856.37umol, 5当量) 在MeCN (10mL) 中的溶液。接着将混合

物在80℃在N₂下搅拌16小时。LCMS显示所需产物。将残余物用H₂O(20mL)稀释并用乙酸乙酯(20mL×3)萃取。将合并的有机层用盐水(15mL)洗涤,经无水硫酸镁干燥,过滤并在减压下浓缩,得到残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:3_Phenomenex Luna C18 75*30mm*3um;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:0%-25%,35min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[1-[2-[4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]哌啶-1-基]乙基]氮杂环丁烷-3-基]甲基]哌啶-1-基]异吡啶啉-1,3-二酮(34mg,41.98umol,24.51%收率,95.8%纯度)。

[1152] 示例性化合物46的示例性合成

[1153] 以3-(2-羟乙基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯为起始,以类似于化合物45的方式制备化合物46。

[1154] 示例性化合物47的示例性合成

[1155] 步骤1

[1156] 向1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶啉-5-基]哌啶-4-甲醛(1g,2.71mmol,1当量)和哌啶-1-甲酸叔丁酯(504.24mg,2.71mmol,1当量)在MeOH(30mL)和HOAc(3mL)中的溶液中添加硼烷;2-甲基吡啶(579.15mg,5.41mmol,2当量)。添加后,将反应在30℃下搅拌16h。LCMS显示所需质量。将反应混合物用水(50mL)稀释,并通过过滤收集固体,得到呈黄色固体的4-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶啉-5-基]-4-哌啶基]甲基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.14g,1.99mmol,73.34%收率,93.99%纯度)。

[1157] 步骤2

[1158] 向4-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶啉-5-基]-4-哌啶基]甲基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.14g,2.11mmol,1当量)在DCM(10mL)中的溶液中添加TFA(7.70g,67.53mmol,5mL,31.97当量)。添加后,将反应混合物在20℃下搅拌2h。LCMS显示所需质量。将反应溶液在减压下浓缩,得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-(哌啶-1-基甲基)-1-哌啶基]异吡啶啉-1,3-二酮(2.5g,粗品,TFA)。

[1159] 步骤3

[1160] 向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-(哌啶-1-基甲基)-1-哌啶基]异吡啶啉-1,3-二酮(800mg,646.38umol,1当量,TFA)在CH₃CN(10mL)中的溶液中添加DIEA(835.40mg,6.46mmol,1.13mL,10当量)、KI(321.90mg,1.94mmol,3当量)和(2R)-2-(对甲苯基磺酰基氧基甲基)吗啉-4-甲酸叔丁酯(480.19mg,1.29mmol,2当量)。添加后,将反应混合物在80℃下搅拌12h。LCMS显示所需MS。冷却后,将反应过滤并在减压下浓缩滤液。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(二氯甲烷中的0至10%甲醇),得到呈黄色胶状物的(2S)-2-[[4-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶啉-5-基]-4-哌啶基]甲基]哌啶-1-基]甲基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(350mg,507.83umol,78.57%收率,92.68%纯度)。

[1161] 步骤4

[1162] 向(2S)-2-[[4-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶啉-5-基]-4-哌啶基]甲基]哌啶-1-基]甲基]吗啉-4-甲酸叔丁酯(350.00mg,547.94umol,1当量)在DCM(5mL)中的溶液中添加TFA(1.54g,13.51mmol,1mL,24.65当量)。添加后,将反应在20℃下搅拌1h。LCMS显示所需MS。将反应混合物在减压下浓缩,得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[4-[[2R)-吗啉-2-基]甲基]哌啶-1-基]甲基]-1-哌啶基]异吡啶

啉-1,3-二酮(600mg,粗品,TFA)。将粗产物直接用于下一步骤。

[1163] 步骤5

[1164] 向3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-1H-吡唑(80mg,277.07 μ mol,1当量)和2-(2,6-二氧化-3-嘧啶基)-5-[4-[[4-[(2R)-吗啉-2-基]甲基]哌嗪-1-基]甲基]-1-嘧啶基]异吡啶啉-1,3-二酮(361.67mg,554.14 μ mol,2当量,TFA)在DMSO(2mL)中的溶液中添加DIEA(179.05mg,1.39mmol,241.31 μ L,5当量)。添加后,将反应溶液在100℃下搅拌16h。LCMS显示所需MS。冷却后,将反应用水(10mL)稀释并用二氯甲烷(3x 20mL)萃取。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:3_Phenomenex Luna C18 75*30mm*3 μ m;流动相:[水(0.225% FA)-ACN];B%:0-30%;35min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-嘧啶基)-5-[4-[[4-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]吗啉-2-基]甲基]哌嗪-1-基]甲基]-1-嘧啶基]异吡啶啉-1,3-二酮(21.4mg,26.39 μ mol,9.52%收率,97.52%纯度)。

[1165] 示例性化合物48的示例性合成

[1166] 以(2S)-2-(对甲苯基磺酰基氧基甲基)吗啉-4-甲酸叔丁酯为起始,以类似于化合物47的方式制备化合物48。

[1167] 示例性化合物49的示例性合成

[1168] 步骤1

[1169] 在N₂下向2-(4-苄基吗啉-2-基)乙醇(1g,4.52mmol,1当量)在EtOH(10mL)中的溶液中添加Pd/C(100mg,4.52mmol,10%纯度,1当量)。将悬浮液在真空下脱气并用H₂吹扫数次。将混合物在H₂(45psi)下在50℃下搅拌4小时。TLC显示反应完全。将悬浮液通过硅藻土垫或硅胶过滤,并用EtOAc(50mL*3)洗涤垫或滤饼,将溶液在真空中浓缩,得到呈黄色油状物的2-吗啉-2-基乙醇(800mg,粗品)。

[1170] 步骤2

[1171] 向2-[[3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-异丙氧基-吡唑-2-基]甲氧基]乙基-三甲基-硅烷(500mg,1.19mmol,1当量)、2-吗啉-2-基乙醇(156.53mg,1.19mmol,1当量)在DMSO(10mL)中的混合物中一次性添加Et₃N(362.26mg,3.58mmol,498.30 μ L,3当量)并接着在100℃下搅拌1h。TLC显示起始物质被完全消耗。将混合物冷却至20℃。接着将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(10mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(DCM中的0-10%(10min)MeOH,DCM中的10%(5min)MeOH),得到呈黄色油状物的2-[4-[6-[5-异丙氧基-2-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡唑-3-基]嘧啶-4-基]吗啉-2-基]乙醇(600mg,957.75 μ mol,80.26%收率,82%纯度)。

[1172] 步骤3

[1173] 在20℃在N₂下向2-[4-[6-[5-异丙氧基-2-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡唑-3-基]嘧啶-4-基]吗啉-2-基]乙醇(600mg,1.17mmol,1当量)和TsCl(402.26mg,2.34mmol,2当量)在DCM(5mL)中的混合物中一次性添加TEA(118.19mg,1.17mmol,162.57 μ L,1当量)。将混合物在20℃下搅拌16小时。LCMS显示有所需MS。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用DCM(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*3)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚中的0-100%(30min)乙酸乙酯),得到呈黄色固

体的4-甲基苯磺酸2-[4-[6-[5-异丙氧基-2-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡啶-3-基]嘧啶-4-基]吗啉-2-基]乙酯(880mg,粗品)。

[1174] 步骤4

[1175] 在20℃在N₂下向4-甲基苯磺酸2-[4-[6-[5-异丙氧基-2-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡啶-3-基]嘧啶-4-基]吗啉-2-基]乙酯(880.00mg,1.32mmol,1当量)和哌嗪-1-甲酸叔丁酯(490.80mg,2.64mmol,2当量)在MeCN(10mL)中的混合物中一次性添加KI(437.44mg,2.64mmol,2当量)和DIPEA(340.57mg,2.64mmol,458.99μL,2当量)。将混合物在80℃下搅拌2小时。LCMS显示有所需MS。将混合物冷却至20℃并在20℃下在减压下浓缩。将残余物倒入水(10mL)中。将水相用乙酸乙酯(10mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚中的0-40%(15min)乙酸乙酯,石油醚中的40%(5min)乙酸乙酯),得到呈黄色胶状物的4-[2-[4-[6-[5-异丙氧基-1-(2-三甲基甲硅烷基乙氧基甲基)吡啶-3-基]嘧啶-4-基]吗啉-2-基]乙基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(550mg,709.74μmol,53.87%收率,88%纯度)。

[1176] 步骤5

[1177] 在20℃下向4-(2-(4-(6-(5-异丙氧基-1-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-1H-吡啶-3-基)嘧啶-4-基)吗啉-2-基)乙基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(550mg,806.52μmol,1当量)在MeOH(5mL)中的混合物中一次性添加HCl/二噁烷(4M,4mL,19.84当量)。将混合物在65℃下搅拌1h。LCMS显示反应完全。将残余物调节至pH=9-10,用DCM(10mL*3)萃取水相。将合并的有机相用盐水(10mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化(4g,DCM中的0-10%(5min)MeOH,DCM中的10%(5min)MeOH),得到呈黄色胶状物的4-(6-(5-异丙氧基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-4-基)-2-(2-(哌嗪-1-基)乙基)吗啉(211mg,401.85μmol,49.82%收率,86%纯度)。

[1178] 步骤6

[1179] 将4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-4-基]-2-(2-(哌嗪-1-基)乙基)吗啉(211mg,467.27μmol,1当量)通过SFC分离(柱:DAICEL CHIRALPAK IC(250mm*30mm,10μm);条件:0.1% NH₃H₂O EtOH;开始B:60;结束B:60;流速:70mL/min),得到呈黄色油状物的(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-4-基]-2-(2-(哌嗪-1-基)乙基)吗啉(113mg,207.70μmol,44.45%收率,83%纯度)。(R_t=1.770min,113mg)和呈黄色固体的(2R)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-4-基]-2-(2-(哌嗪-1-基)乙基)吗啉(82mg,148.90μmol,31.87%收率,82%纯度)。(R_t=2.224min,82mg)。

[1180] 步骤7

[1181] 在20℃在N₂下向(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-4-基]-2-(2-(哌嗪-1-基)乙基)吗啉(113mg,250.24μmol,1当量)和1-[2-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1,3-二氧代-异吡啶-5-基]哌啶-4-甲醛(92.43mg,250.24μmol,1当量)在MeOH(5mL)和HOAc(0.5mL)中的混合物中一次性添加硼烷;2-甲基吡啶(53.53mg,500.48μmol,2当量)。将混合物在30℃下搅拌16h。LCMS显示有所需MS。将残余物倒入水(2mL)中。将水相用乙酸乙酯(2mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(2mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱:3-Phenomenex Luna C18 75*30mm*3μm;条件:水(0.225% FA)-ACN;开始B:0;结束B:35;流速:25mL/min;梯度时间:35min;100% B保持时

间:3min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[4-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-4-基]吗啉-2-基]乙基]哌啶-1-基]甲基]-1-哌啶基]异吡啶啉-1,3-二酮(64.2mg,79.76 μ mol,31.87%收率,100%纯度)。

[1182] 示例性化合物50的示例性合成

[1183] 以(2R)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-4-基]-2-(2-哌啶-1-基乙基)吗啉为起始,以类似于化合物49的方式制备化合物50。

[1184] 示例性化合物51的示例性合成

[1185] 步骤1

[1186] 在25℃下向4-亚甲基哌啶-1-甲酸叔丁酯(6.24g,31.65mmol,1当量)的溶液中添加9-BBN(0.5M,63.29mL,1当量)。将反应混合物在80℃在N₂下搅拌1h。冷却后,将4-溴吡啶(5g,31.65mmol,1当量)、Pd(dppf)Cl₂(1.39g,1.90mmol,0.06当量)、K₂CO₃(6.56g,47.47mmol,1.5当量)、DMF(50mL)和H₂O(5mL)添加到反应中。将所得混合物在60℃下加热12h。LCMS显示所需MS。冷却后,将反应混合物用水(100mL)稀释并用乙酸乙酯(3x 100mL)萃取。将有机层用盐水(2x 100mL)洗涤,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至40%乙酸乙酯),得到呈淡黄色油状物的4-(4-吡啶基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(3.49g,11.66mmol,36.83%收率,92.3%纯度)。

[1187] 步骤2

[1188] 在25℃下向4-(4-吡啶基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(3.49g,12.63mmol,1当量)在EtOH(50mL)和HOAc(758.33mg,12.63mmol,722.21 μ L,1当量)中的溶液中添加PtO₂(430.12mg,1.89mmol,0.15当量)。接着将混合物在H₂(50psi)下在70℃下搅拌24h。TLC(PE:EA=1:1)显示起始物质被消耗并且形成了新斑点。冷却后,将反应过滤并在减压下浓缩滤液,得到呈棕色油状物的4-(4-哌啶基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(3.9g,粗品)。

[1189] 步骤3

[1190] 向4-(4-哌啶基甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(3.7g,13.10mmol,1.21当量)和2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-氟-异吡啶啉-1,3-二酮(3g,10.86mmol,1当量)在DMSO(40mL)中的溶液中添加DIEA(5.61g,43.44mmol,7.57mL,4当量)。添加后,将反应混合物在100℃下搅拌2h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1)显示新斑点。冷却后,将反应用乙酸乙酯(200mL)稀释并用盐水(3x 100mL)洗涤。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化(石油醚中的0至50%乙酸乙酯),得到呈黄色固体的4-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶啉-5-基]-4-哌啶基]甲基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(2.86g,4.41mmol,40.58%收率,83%纯度)。

[1191] 步骤4

[1192] 向4-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吡啶啉-5-基]-4-哌啶基]甲基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(2.86g,5.31mmol,1当量)在DCM(20mL)中的溶液中添加TFA(9.24g,81.04mmol,6mL,15.26当量)。添加后,将反应溶液在20℃下搅拌3h。LCMS显示所需MS。将反应在减压下浓缩,得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-(4-哌啶基甲基)-1-哌啶基]异吡啶啉-1,3-二酮(4g,粗品,TFA)。

[1193] 步骤5

[1194] 向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-(4-哌啶基甲基)-1-哌啶基]异吡啶啉-1,3-

二酮 (2g, 3.62mmol, 1当量, TFA) 在DCM (10mL) 和MeOH (10mL) 中的溶液中添加NaOAc (2.08g, 25.34mmol, 7当量) 和HOAc (217.37mg, 3.62mmol, 207.02uL, 1当量)。接着添加2-氯乙醛 (1.67g, 8.51mmol, 1.37mL, 40%纯度, 2.35当量)。将混合物在20℃下搅拌10min。接着添加NaBH₃CN (454.93mg, 7.24mmol, 2当量)。添加后, 将反应在20℃下搅拌1.5h。LCMS显示反应物1有残留并且检测到所需MS。TLC (二氯甲烷: 甲醇=10:1) 显示两个主要的新斑点。将反应混合物用水 (30mL) 稀释并用乙酸乙酯 (3x 40mL) 萃取。将有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (二氯甲烷中的0至10% 甲醇), 得到呈黄色胶状物的5-[4-[[1-(2-氯乙基)-4-哌啶基]甲基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基) 异吲哚啉-1,3-二酮 (1.6g, 3.11mmol, 85.99%收率, 97.46%纯度)。

[1195] 步骤6

[1196] 向5-异丙氧基-3-(6-哌嗪-1-基嘧啶-4-基)-1H-吲唑 (88mg, 260.04umol, 1当量) 和5-[4-[[1-(2-氯乙基)-4-哌啶基]甲基]-1-哌啶基]-2-(2,6-二氧化-3-哌啶基) 异吲哚啉-1,3-二酮 (250mg, 498.99umol, 1.92当量) 在CH₃CN (3mL) 中的溶液中添加KI (86.34mg, 520.09umol, 2当量) 和DIEA (168.04mg, 1.30mmol, 226.47uL, 5当量)。添加后, 将反应混合物在80℃下搅拌12h。LCMS显示所需MS。冷却后, 将反应混合物过滤并在减压下浓缩滤液。将残余物通过制备型HPLC纯化 (柱: 3_Phenomenex Luna C18 75*30mm*3um; 流动相: [水 (0.225%FA) -ACN]; B%: 0-40%; 35min), 得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[1-[2-[4-[6-(5-异丙氧基-1H-吲唑-3-基) 嘧啶-4-基] 哌嗪-1-基] 乙基]-4-哌啶基] 甲基]-1-哌啶基] 异吲哚啉-1,3-二酮 (39.5mg, 49.06umol, 18.87%收率, 99.74%纯度)。

[1197] 步骤7

[1198] 在25℃在N₂下向 (3S)-4-[2-(4-氟-4-哌啶基) 乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯 (150mg, 229.32umol, 73%纯度, 1当量, TFA) 和1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基] 哌啶-4-甲醛 (84.71mg, 229.32umol, 1当量) 在MeOH (10mL) 中的混合物中一次性添加硼烷; 2-甲基吡啶 (49.06mg, 458.65umol, 2当量) 和HOAc (1mL)。将混合物在25℃下搅拌1h。TLC (二氯甲烷: 甲醇=10:1, R_f=0.43) 显示反应完全, LCMS显示有所需MS。将残余物倒入水 (5mL) 中。将水相用乙酸乙酯 (5mL*3) 萃取。将合并的有机相用盐水 (5mL*2) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并在真空中浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化 (二氯甲烷: 甲醇=10:1, R_f=0.43, 石油醚中的0-100% (20min) 乙酸乙酯, 石油醚中的100% (10min) 乙酸乙酯), 得到呈黄色油状物的 (3S)-4-[2-[1-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基] 甲基]-4-氟-4-哌啶基] 乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯 (193mg, 粗品)。

[1199] 步骤8

[1200] 在20℃在N₂下向 (3S)-4-[2-[1-[[1-[2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-1,3-二氧化-异吲哚啉-5-基]-4-哌啶基] 甲基]-4-氟-4-哌啶基] 乙基]-3-甲基-哌嗪-1-甲酸苄酯 (193mg, 269.24umol, 1当量) 在TFA (2.78g, 24.39mmol, 1.81mL, 90.60当量) 中的混合物中一次性。将混合物在70℃下搅拌1h, 得到黄色溶液。TLC显示反应完全。将残余物在真空中浓缩, 得到呈黄色胶状物的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[4-氟-4-[2-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基] 乙基]-1-哌啶基] 甲基]-1-哌啶基] 异吲哚啉-1,3-二酮 (150mg, 131.36umol, 48.79%收率, 71%纯度, 2TFA)。

[1201] 步骤9

[1202] 在20℃在N₂下向2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[4-氟-4-[2-[(2S)-2-甲基哌嗪-1-基]乙基]-1-哌啶基]甲基]-1-哌啶基]异吲哚啉-1,3-二酮(150mg,185.01umol,1.11当量,2TFA)和3-(6-氯嘧啶-4-基)-5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吲唑(50mg,166.26umol,1当量)在DMSO(5mL)中的混合物中一次性添加DIEA(171.89mg,1.33mmol,231.66uL,8当量)。将混合物在80℃下搅拌16h。LCMS显示有所需MS。将混合物冷却至20℃并在20℃下在减压下浓缩。将残余物倒入水(5mL)中。将水相用乙酸乙酯(5mL*3)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL*2)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱:3_Phenomenex Luna C18 75*30mm*3um;条件:水(0.225% FA)-ACN;开始B:0结束B:40;流速:25mL/min;梯度时间:40min;100% B保持时间:3min),得到呈黄色固体的2-(2,6-二氧化-3-哌啶基)-5-[4-[[4-氟-4-[2-[(2S)-2-甲基-4-[6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吲唑-3-基]嘧啶-4-基]哌嗪-1-基]乙基]-1-哌啶基]甲基]-1-哌啶基]异吲哚啉-1,3-二酮(16.9mg,19.45umol,11.70%收率,97.5%纯度)。

[1203] 蛋白质水平控制

[1204] 本说明书还提供了用于控制细胞内蛋白质水平的方法。所述方法基于使用如本文所述的化合物,使得靶蛋白LRRK2在体内的降解将导致生物系统中靶蛋白的量减少,优选地以提供特定的治疗益处。

[1205] 以下实施例用于帮助描述本公开,但不应被视为以任何方式限制本公开。

[1206] 在某些实施方案中,本说明书提供了以下示例性LRRK2降解双功能分子(表1的化合物或示例性化合物1-51),包括其盐、多晶型物、类似物、衍生物和氘代形式。

[1207] 用于测试由设计为靶向LRRK2的示例性异双功能化合物驱动 LRRK2降解的示例性测定

[1208] 该测定测量了HEK293细胞中野生型和G2019S LRRK2(该蛋白的C端上用HiBit标签标记)的降解,该蛋白在泛素启动子驱动下由哺乳动物表达载体表达。每种化合物的剂量反应在单独两天重复,每一天在三个单独板上重复。

[1209] 质粒制备。如下组装转染混合物并在室温下孵育30分钟。在15mL管中,将5.25mL Opti-MEM(无附加物)与1μg/μL的17μL萤火虫荧光素酶质粒和1μg/μL的158μL WT质粒DNA(175μg总DNA)通过轻弹混合。在一个新的15mL管中,将5.25mL OptiMEM与1μg/μL的17μL萤火虫荧光素酶质粒和1μg/μL的158μL G2019S质粒DNA(175μg总DNA)通过轻弹混合。使用涡流器彻底混合X-tremeGene HP。接下来,将175μL添加到每个管中并轻弹以混合。使两个管在室温下孵育30分钟。

[1210] 当转染混合物孵育时,用胰蛋白酶收获HEK293细胞(获自ATCC;ATCC CRL-1573)。一旦剥离细胞后,将细胞重悬在12mL OptiMEM+5% FBS中并转移到50mL管中。将细胞充分混合并计数。使用OptiMEM+5% FBS,将细胞在两个250mL锥形管中以0.71x10⁶个细胞/mL稀释(70mL)。一个管标记为“WT”,另一个管标记为“G2019S”。将WT和G2019S转染混合物逐滴添加到对应250mL管中。将管首先通过移液混合,接着通过涡旋混合。将管在室温下孵育至少5分钟。

[1211] 将各管在分配之前且在每三个板之后涡旋。将70微升细胞与WT或G2019SDNA各分配到七个板中。各自三个板用化合物板一测试(制备如下所述),并且各自三个板用化合物

板二测试(制备如下所述)。每组中的第一个板用作“主”板,并且不用于测试化合物。将每个板在通风橱中孵育10分钟,之后放入37℃孵育器中持续24小时。

[1212] 化合物和测定板的制备。使用96孔聚丙烯板制备两个化合物板。将化合物制成10mM,并在30μL中稀释至1mM。每个剂量反应曲线包括DMSO的孔(作为阴性对照以及用于归一化)和0.5μM示例性化合物4的孔(作为阳性对照)。除七种测试化合物之外,每个板还包括示例性化合物4的剂量反应。将化合物板以1200rpm旋转沉降2分钟。

[1213] 接着将两个化合物板混合,将2μL稀释于在每个孔中含有248μL Opti-Mem的中间板中。接下来,将来自中间板的10μL稀释化合物添加到每个测试板中(每个化合物板三个WT板和三个G2019S板,总共12个测定板)。将板在37℃下孵育24小时。

[1214] 将所有测定板和所有Nano-Glo双荧光报告测定系统组分(DLR底物除外)平衡至室温。接下来,将荧光素酶缓冲液用冻干的琥珀瓶混合直至完全溶解,并将75μL荧光素酶混合物添加到每个测定板的每个孔中。将测定板在室温下孵育10分钟,同时伴以振荡持续至少5分钟,接着在读板器上读取。

[1215] 显色板和分析数据。将1毫升DLR底物和1mL LgBiT蛋白添加到Stop和Glo缓冲液中,并将75μL混合物添加到每个板的每个孔中。将光学透明的密封件加至每个板,并将每个板孵育20分钟,同时伴以振荡持续至少10分钟,接着在读板器上读取。

[1216] 如上文所提及,板以一式三份运行,并且测定重复两次(每种示例性化合物总共6次重复试验)。检查每个细胞的萤火虫荧光素酶以得到细胞数量和存活力,并检查Nanoluc以得到LRRK2-HiBit量化。

[1217] 确定(HiBit/荧光素酶)比率*1000并将数据以DMSO中值%作归一化。对每个单独的板进行曲线拟合。下表1的示例性化合物的数据显示在下表2中的*G2019SDC50(nM)、**G2019SDmax(%)、*WT DC50(nM)和**WT Dmax(%)列中。

[1218] 用于测试由设计为靶向LRRK2的示例性异双功能化合物驱动 LRRK2降解的示例性测定

[1219] 该测定测量了细胞中LRRK2的降解,其中在HEK293细胞中内源基因的C端(3')已用HiBit序列标记。这些细胞还表达萤火虫荧光素酶,该萤火虫荧光素酶由巨细胞病毒启动子表达并导入HiBit标记的细胞中且稳定表达。利用了Nano-Glo[®]双荧光素酶报告测定系统(Promega[™], Madison, WI)。

[1220] 第1天-化合物和测定板的制备。制备了两组板:一组一式三份用于在白色384孔板中进行HiBit测定,一组一式三份用于在黑色384孔板中进行Alamar Blue细胞存活力测定。简而言之,将两个T128烧瓶中的生长培养基(DMEM+Glutamax-10%胎牛血清-1%青霉素-链霉素)从烧瓶中吸出。将细胞用杜尔贝科氏磷酸盐缓冲盐水(Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, dPBS)洗涤并吸出。添加胰蛋白酶(每烧瓶3mL),并将烧瓶孵育2-3分钟。

[1221] 将10mL OptiMEM-10%胎牛-1%青霉素-链霉素(以下称为“OptiMEM培养基”)添加到烧瓶和细胞中并转移到50mL锥形管中。进行细胞计数(25ul细胞装入Effendor小瓶+25ul台盼蓝染色剂)并在OptiMEM培养基中将细胞密度调整为15,000个细胞/45μl/孔(3.33×10^5 /mL)。

[1222] 将45微升细胞悬浮液(15,000个细胞)等分到白色384孔板的每个孔中。将板在室温下孵育10分钟,之后放入37℃+5% CO₂孵育器中过夜。

[1223] 第2天-化合物处理。以1mM的起始浓度和1:3系列稀释制备示例性化合物,用于11个点CRC,制备并储存在冷藏箱中。将主化合物板在室温下解冻过夜。将DMSO (20 μ L) 添加到主化合物板的第24列中作为阴性对照,并将20 μ L的300 μ M示例性化合物4添加到第23列中作为阳性对照。

[1224] 中间化合物板含在OptiMEM培养基中的4% DMSO。将DMSO添加到温的OptiMEM培养基中以获得4% DMSO溶液(大约50mL/板)。将100微升的OptiMEM-4% DMSO等分到384孔深孔微孔板的每个孔中。

[1225] 旋转沉降主化合物板和中间化合物板。

[1226] 将主化合物板中的1微升化合物转移到中间板中(1:100稀释)。将稀释的混合物混合,并将5 μ L转移到测定板中(1:10稀释)得到1 μ M的最终起始浓度。将经处理的测定板在37 $^{\circ}$ C+5% CO₂下孵育24小时。将主化合物板密封并在室温下储存,以便进行一周内的第二轮。

[1227] 第3天-HiBit测定。将5微升Alamar Blue添加到黑色384孔板的每个孔中。将板在孵育器(37 $^{\circ}$ C+5% CO₂)中孵育2小时并在室温下孵育一小时。在读板器上读取每个板的荧光,用于Alamar Blue存活力测定。

[1228] 将一组白色测定板温热至室温(45分钟)。

[1229] 制备One Glo荧光素酶混合物。吸来自白色384孔测定板的培养基。将25 μ L One Glo荧光素酶混合物添加到测定板的每个孔中。将板在工作台上(室温)孵育45分钟,包括以700rpm振荡10分钟。在读板器上读取每个板的荧光。

[1230] 将1:100DLR底物和1:100LgBiT蛋白稀释液添加到Promega Stop和Glo缓冲液中,并在添加到测定板之前立即混合。向每个孔中添加25微升Stop和Glo混合物。将测定板孵育至少45分钟,包括以700rpm振荡10分钟。在读板器上读取每个板的荧光。

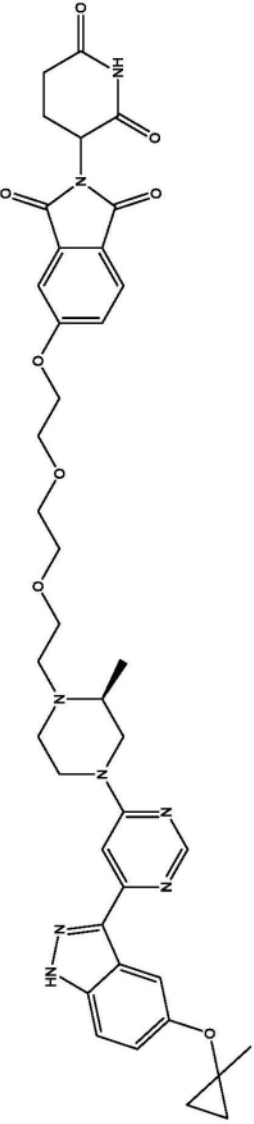
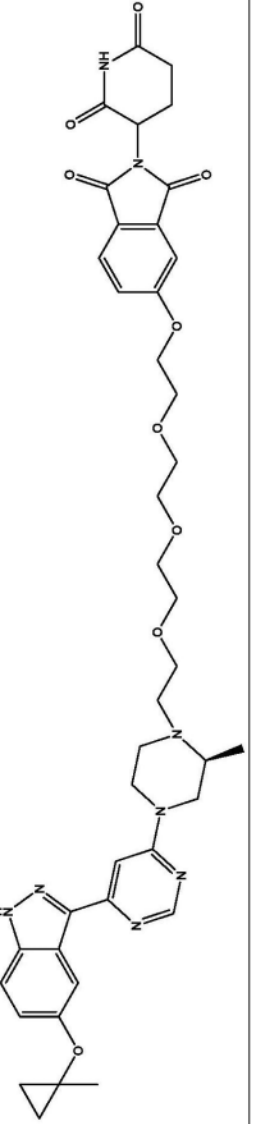
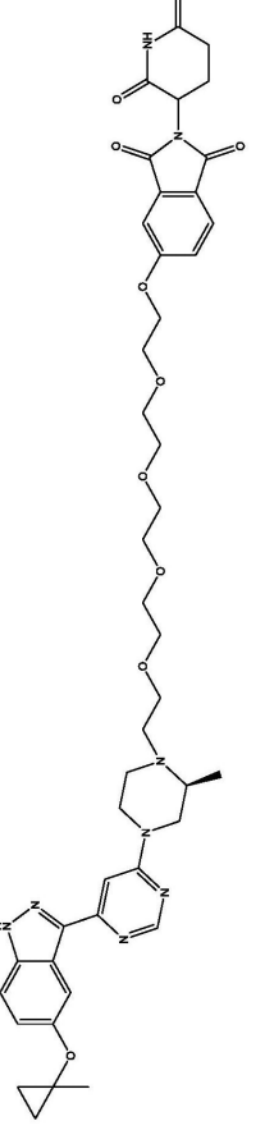
[1231] LRRK2 HiBit筛选测定的分析。如上文所提及,板以一式三份运行,并且测定重复两次(示例性化合物总共6次重复试验)。对于每种处理,测量萤火虫荧光素酶以得到细胞数量、细胞存活力(Alamar Blue),测量Nanoluc以得到LRRK2-HiBit量化。

[1232] 对于每个板,将LRRK2 HiBit和Alamar blue信号以DMSO中值%作归一化。对每种化合物进行曲线拟合,以在三个板上进行重复试验。下表1的示例性化合物的数据显示在下表2中的内源*WT DC50(nM)和**内源WT Dmax(%)列中。

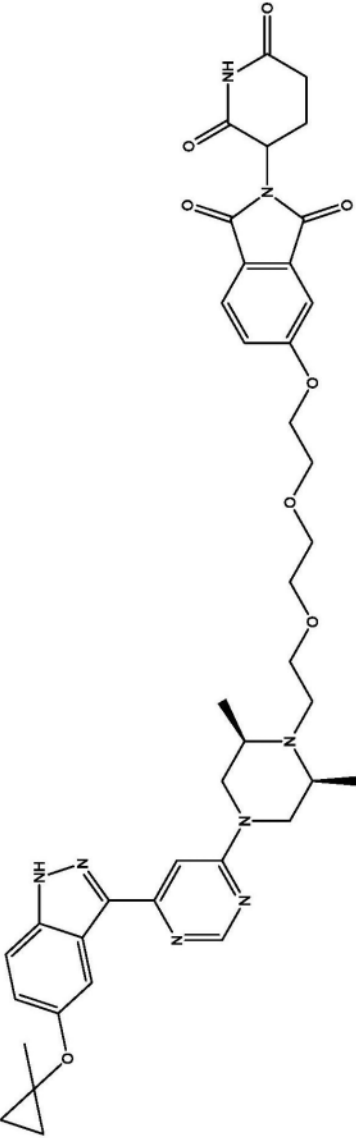
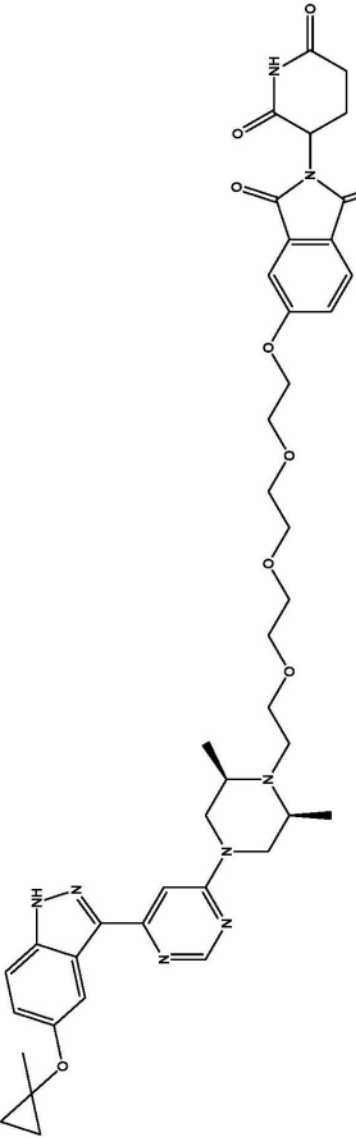
表 1. 本公开的示例性双功能化合物

实施例号	化学结构	IUPCA 名称
1		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮
2		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}乙氧基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮

[1234]

3		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[2-(2-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}异呋啶-1,3-二酮
4		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[2-(2-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}异呋啶-1,3-二酮
5		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-({14-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]-3,6,9,12-四氧杂十四烷-1-基}氧基)-2,3-二氢-1H-异呋啶-1,3-二酮

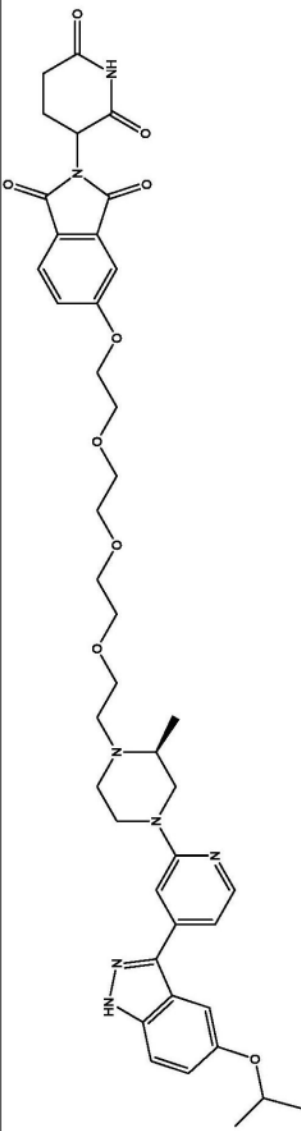
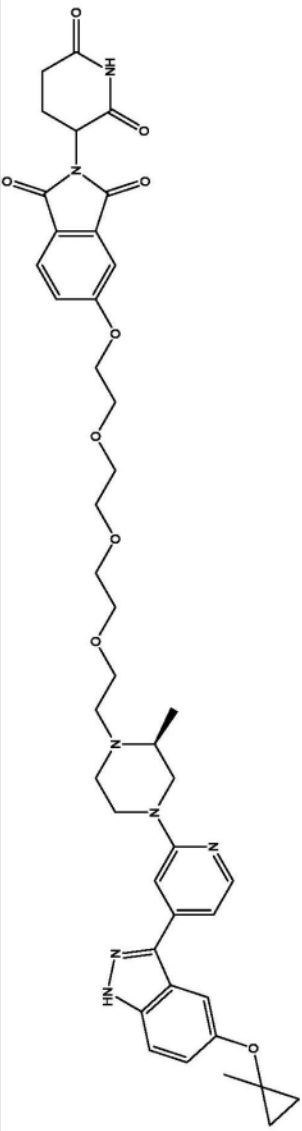
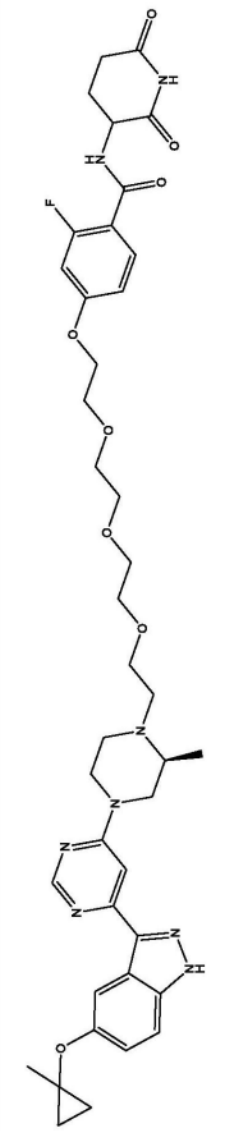
[1235]

6		5-[2-(2-{2-[(2R,6S)-2,6-二甲 基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)- 1H-吡啶-3-基]嘧啶-4-基}呋喃 -1-基]乙氧基}乙氧基)乙氧 基]-2-(2,6-二氧代呋喃-3-基)- 2,3-二氢-1H-异呋喃-1,3-二酮
7		5-{2-[2-(2-{2-[(2R,6S)-2,6-二 甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧 基)-1H-吡啶-3-基]嘧啶-4-基} 呋喃-1-基]乙氧基}乙氧基)乙 氧基]乙氧基}-2-(2,6-二氧代 呋喃-3-基)-2,3-二氢-1H-异呋 喃-1,3-二酮

[1236]

	2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[2-(2-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}乙氧基)乙氧基]-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮
	2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[2-[2-(2-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}乙氧基)乙氧基]-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮
	5-[2-[2-(2-{2-[(2R,6S)-2,6-二甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}乙氧基)乙氧基]-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮

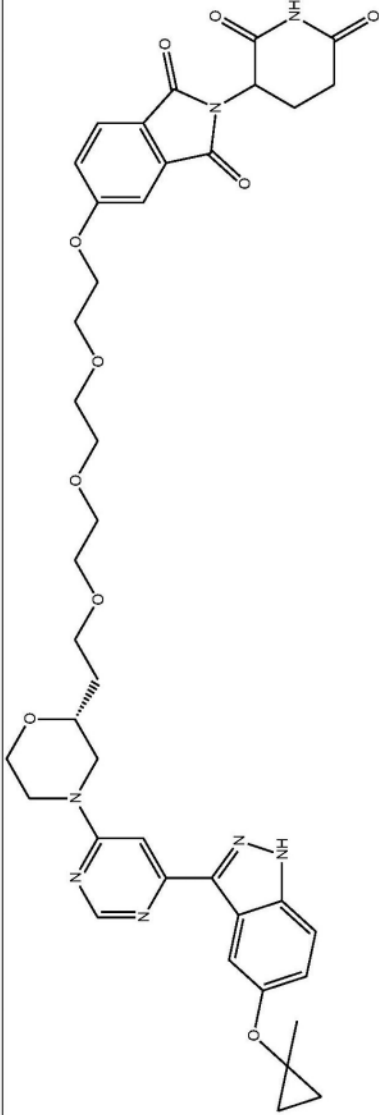
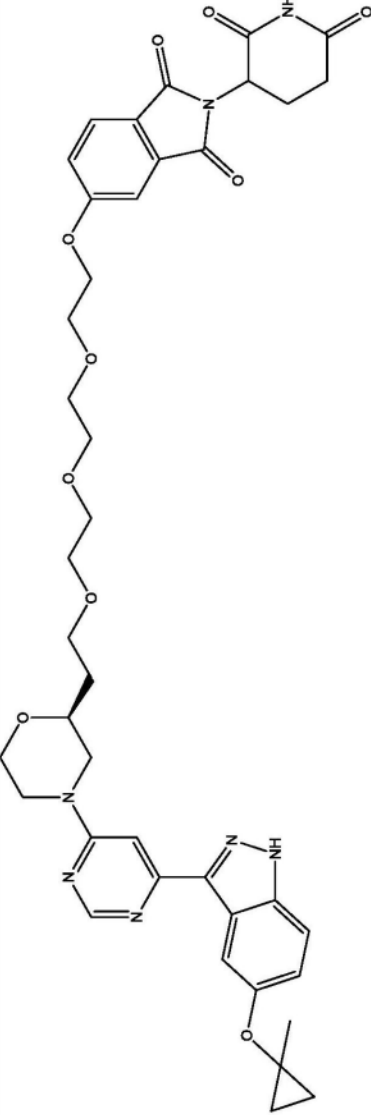
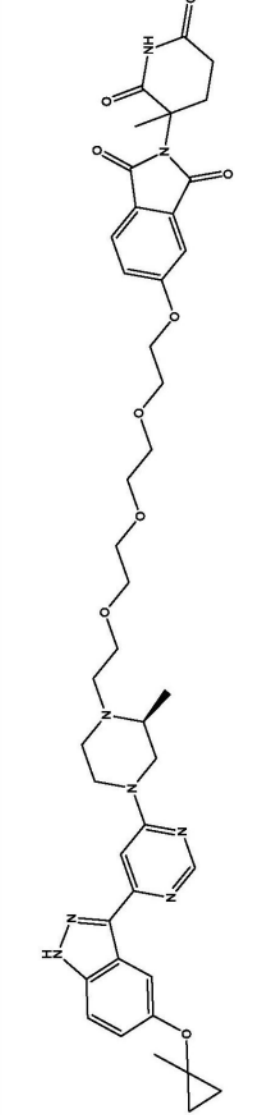
[1237]

11		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[2-[2-(2-{2-[(2S)-2-甲基-4-{4-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]吡啶-2-基}哌嗪-1-基]乙氧基}-2,3-二氢-1H-异吡唑-1,3-二酮
12		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[2-[2-(2-{2-[(2S)-2-甲基-4-{4-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]吡啶-2-基}哌嗪-1-基]乙氧基}-2,3-二氢-1H-异吡唑-1,3-二酮
13		N-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-2-氟-4-[2-[2-(2-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}-2,3-二氢-1H-异吡唑-1,3-二酮

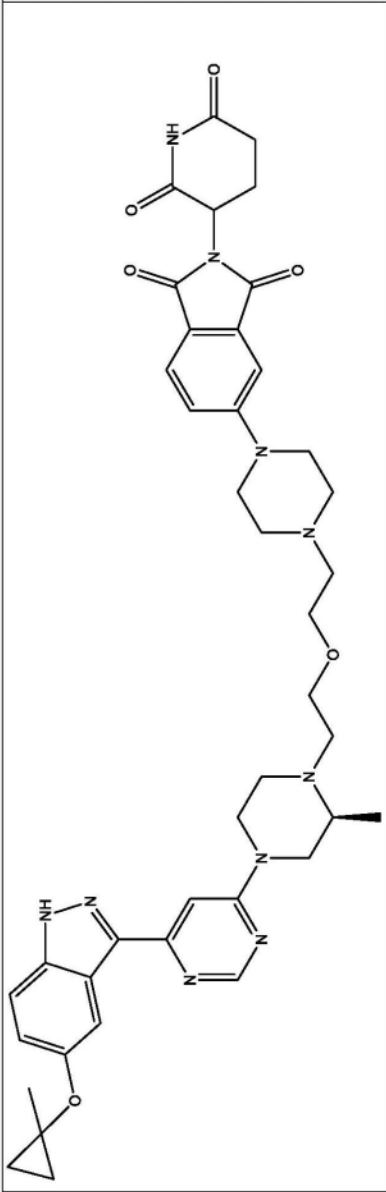
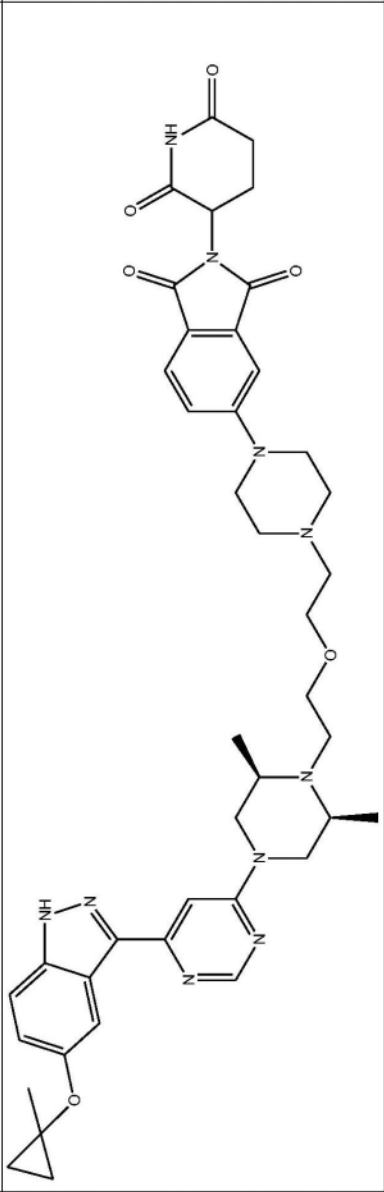
[1238]

14		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-{2-[2-(2-{2-[(2S)-4-{4-[6-氟-5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]吡啶-2-基}-2-甲基哌嗪-1-基]乙氧基}乙氧基)乙氧基]乙氧基}-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮
15		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-{2-[2-(2-{2-[(2S)-4-{6-[6-氟-5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]哌啶-4-基}-2-甲基哌嗪-1-基]乙氧基}乙氧基)乙氧基]乙氧基}-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮
16		5-{2-[2-(2-{2-[(2S)-4-{6-[5-(叔丁氧基)-1H-吡唑-3-基]哌啶-4-基}-2-甲基哌嗪-1-基]乙氧基}乙氧基)乙氧基]乙氧基}-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮

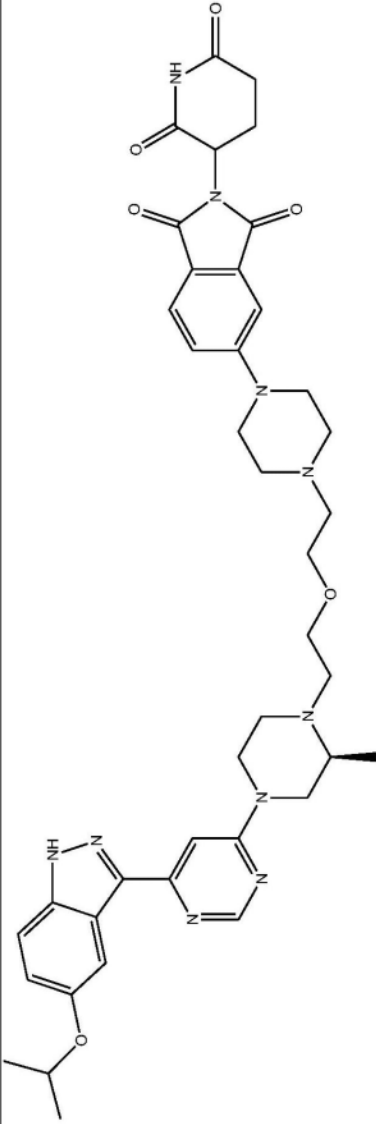
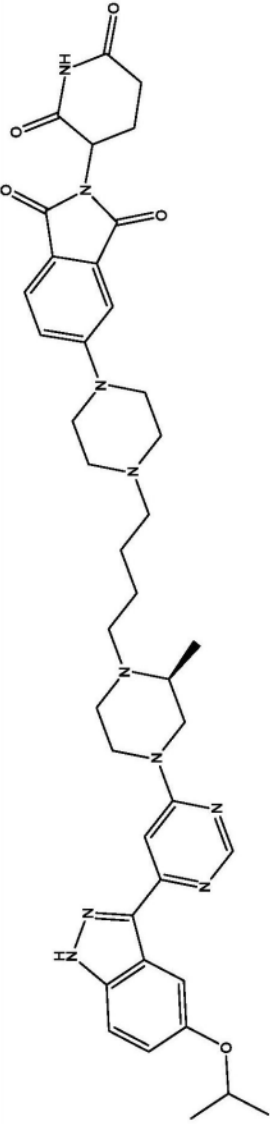
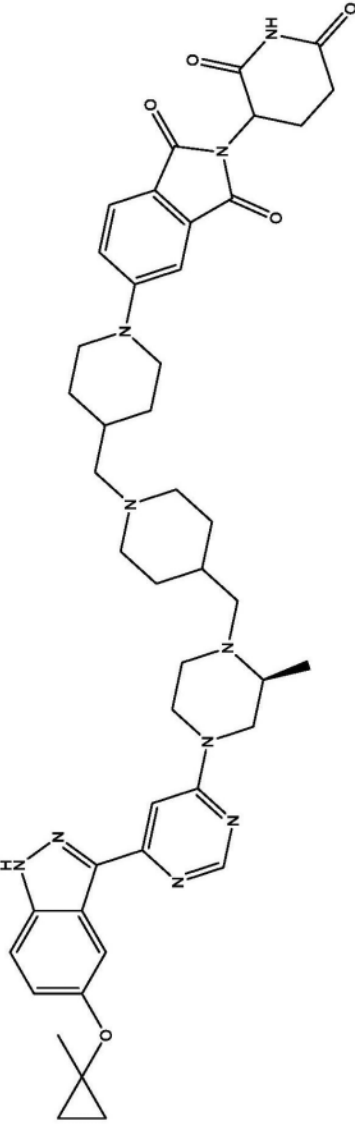
[1239]

2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(2-(2-(2-(4-(6-(5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基)吗啉-2-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)异吲哚啉-1,3-二酮		17
2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-{2-[2-(2S)-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}吗啉-2-基]乙氧基}乙氧基}-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮		18
2-(3-甲基-2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-{2-[2-(2-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}嘧啶-1-基]乙氧基}乙氧基)乙氧基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮		19

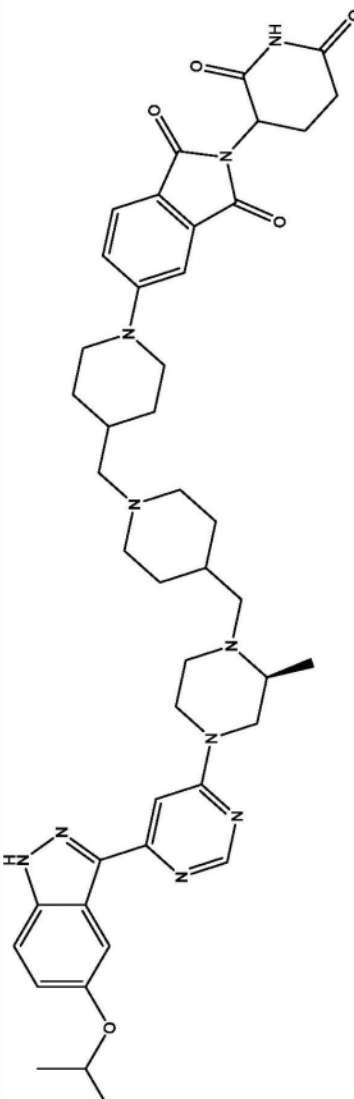
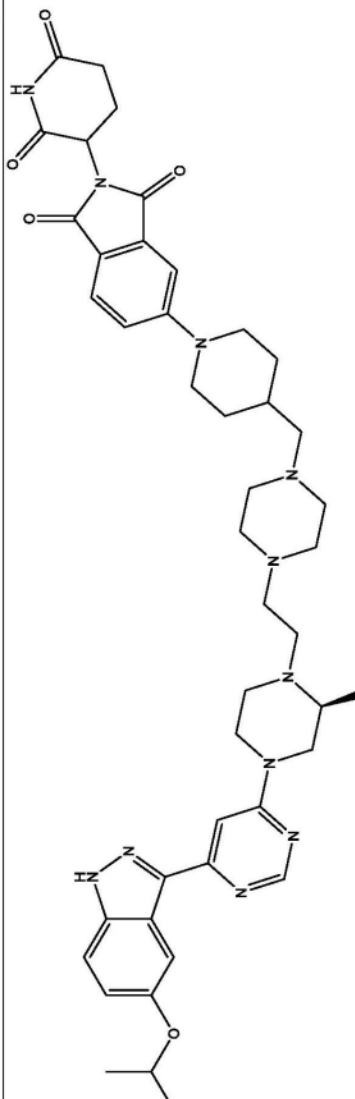
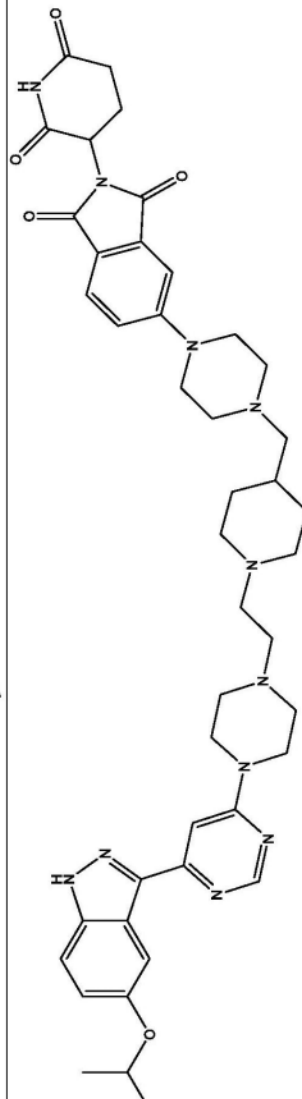
[1240]

2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[4-(2-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}哌嗪-1-基]-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮		20
5-[4-(2-{2-[(2R,6S)-2,6-二甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}哌嗪-1-基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮		21

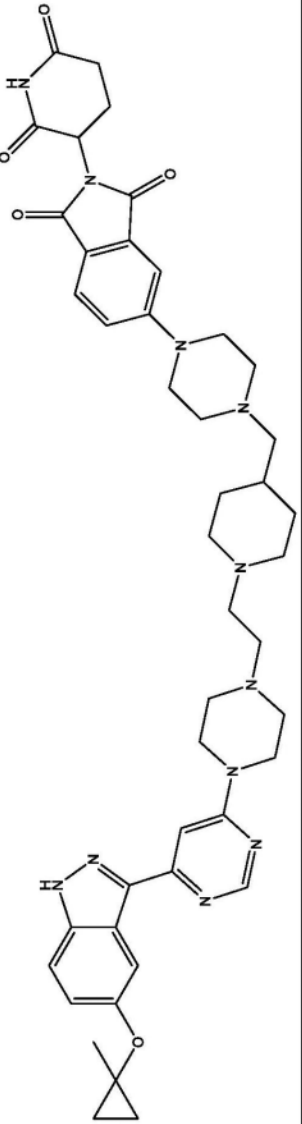
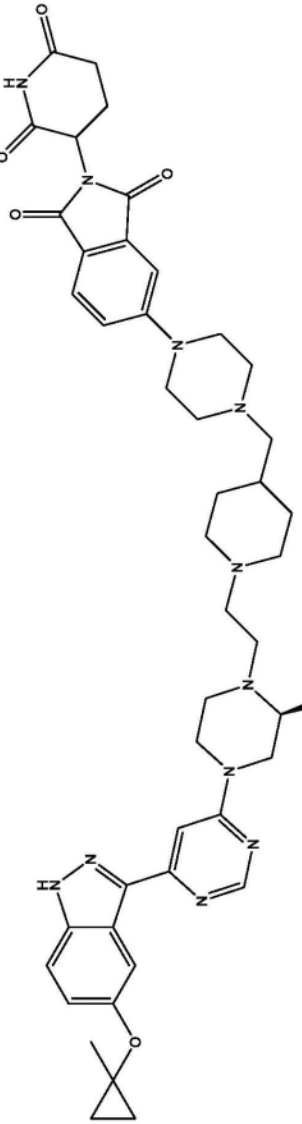
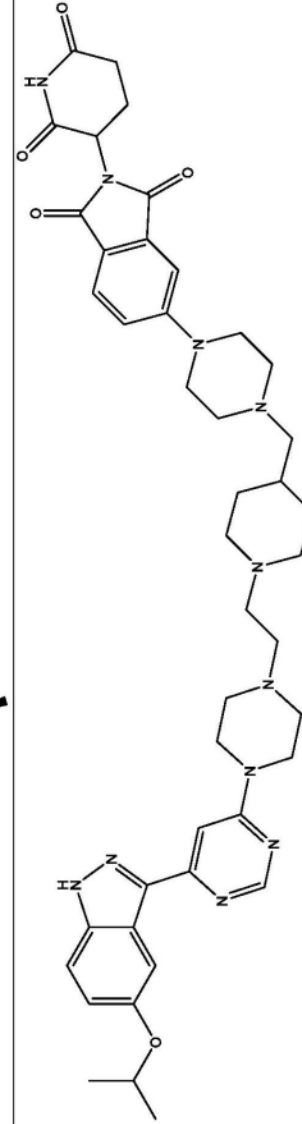
[1241]

22		2-(2,6-二氧代-3-吡啶基)-5-[4-[2-[2-[(2S)-4-[6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基]-2-甲基-咪唑-1-基]乙氧基]咪唑-1,3-二酮
23		2-(2,6-二氧代吡啶-3-基)-5-[4-{4-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}咪唑-1-基]丁基}咪唑-1-基)-2,3-二氢-1H-异吡唑-1,3-二酮
24		2-(2,6-二氧代吡啶-3-基)-5-[4-[[4-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}咪唑-1-基]甲基]咪唑-1-基)-2,3-二氢-1H-异吡唑-1,3-二酮

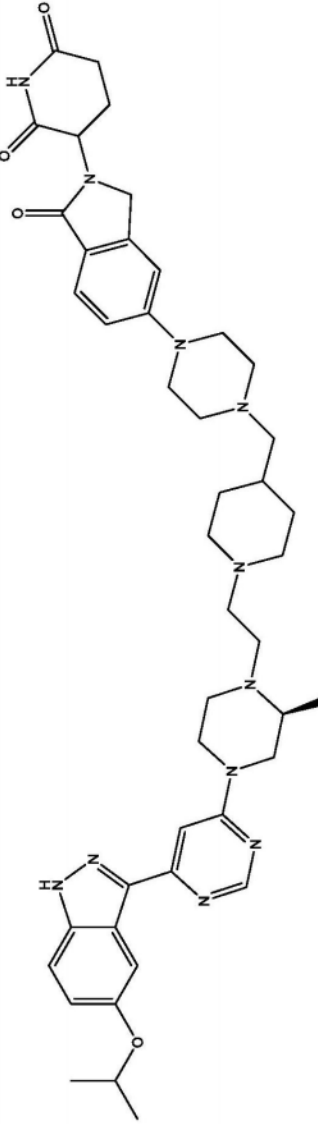
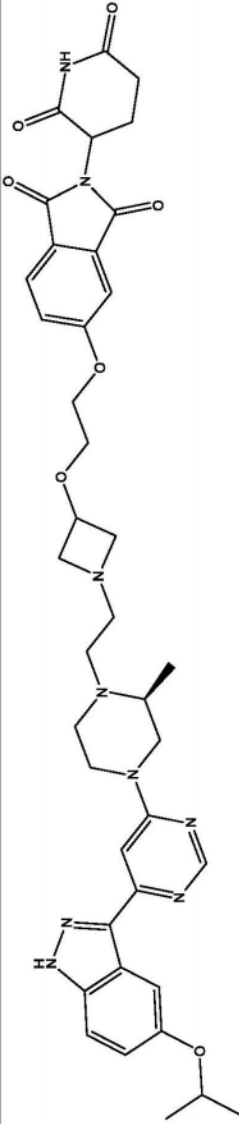
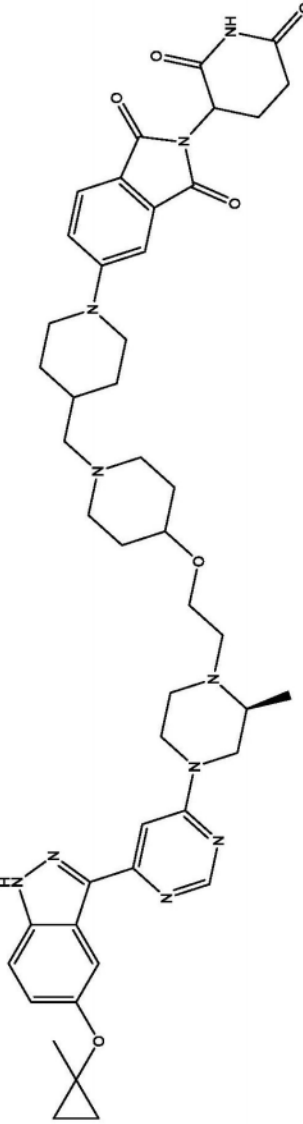
[1242]

25		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[4-[4-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]甲基]哌啶-1-基]哌啶-1,3-二酮
26		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[4-[4-[2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙基]哌啶-1-基]哌啶-1,3-二酮
27		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[4-({1-[2-(4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基)乙基]哌啶-4-基}甲基)哌嗪-1-基]-2,3-二氢-1H-异吡唑-1,3-二酮

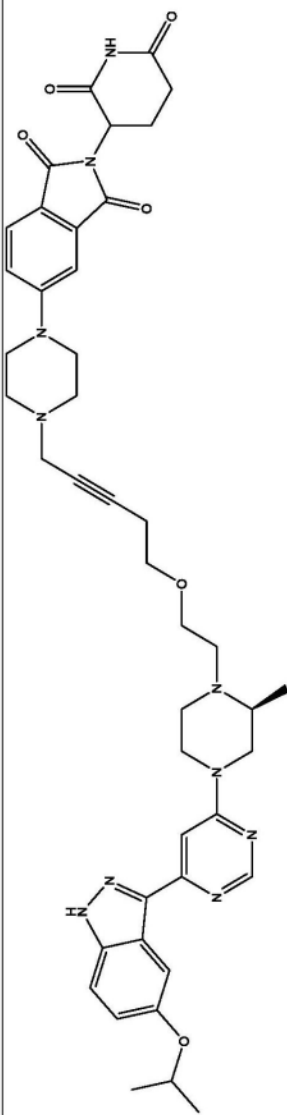
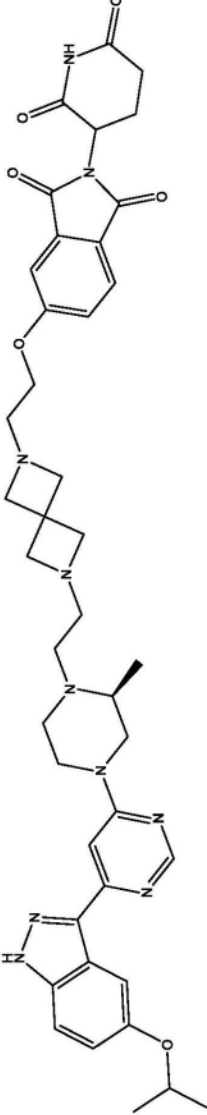
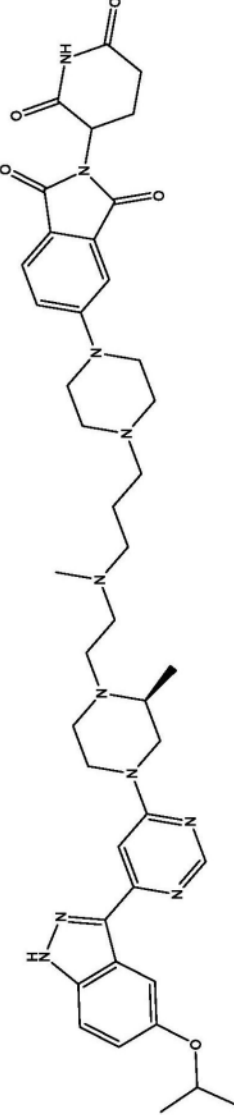
[1243]

28		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[4- ({1-[2-(4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}甲 哌啶-1-基)乙基]哌啶-4-基}甲 基)哌啶-1-基]-2,3-二氢-1H-异 吲哚-1,3-二酮
29		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[4- [(1-{2-[2S]-2-甲基-4-{6-[5- (1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3- 基]嘧啶-4-基}哌啶-1-基]乙 基}哌啶-4-基)甲基]哌啶-1- 基]-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3- 二酮
30		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-[4- [(1-{2-[2S]-2-甲基-4-{6-[5- (丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基] 嘧啶-4-基}哌啶-1-基]乙基}哌 啶-4-基)甲基]哌啶-1-基]-2,3- 二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮

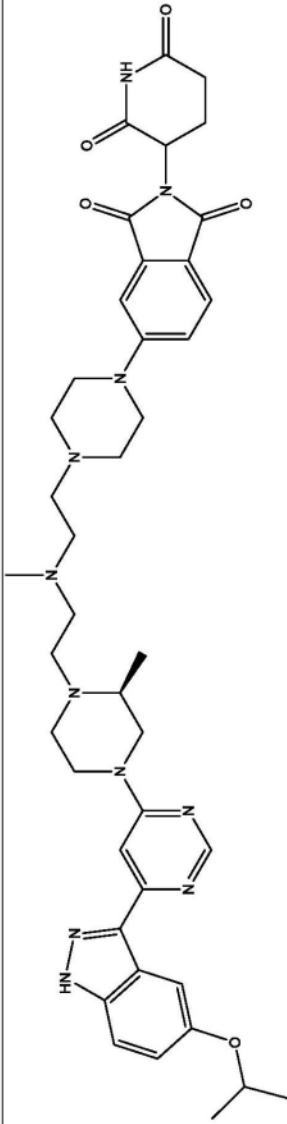
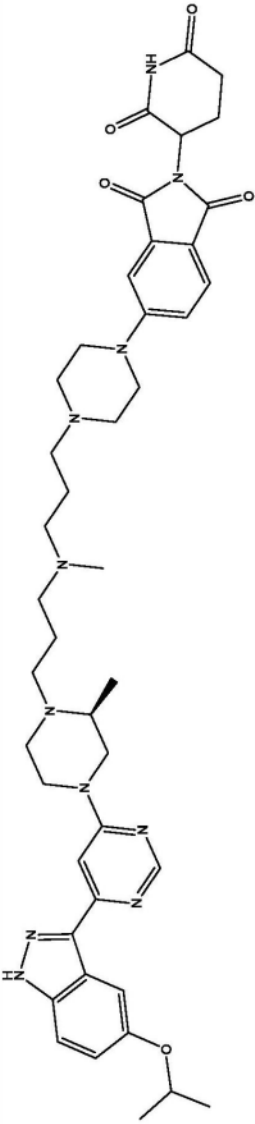
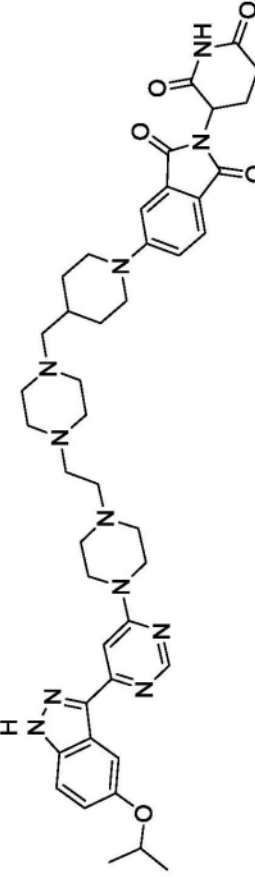
[1244]

31		3-(5-{4-[1-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙基}哌啶-4-基)甲基]哌嗪-1-基}-1-氧代-2,3-二氢-1H-异吲哚-2-基)哌啶-2,6-二酮
32		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-{2-[(1-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙基}氮杂环丁烷-3-基)氧基]乙氧基}-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮
33		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-{4-[4-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(1-甲基环丙氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}哌啶-1-基)甲基]哌啶-1,3-二酮

[1245]

34		2-(2,6-二氧代吡啶-3-基)-5-[4-(5-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙氧基}戊-2-炔-1-基)哌嗪-1-基]-2,3-二氢-1H-异吡唑-1,3-二酮
35		2-(2,6-二氧代吡啶-3-基)-5-[2-(6-{2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙基}-2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-基)乙氧基]-2,3-二氢-1H-异吡唑-1,3-二酮
36		2-(2,6-二氧代吡啶-3-基)-5-(4-{3-[甲基(2-[(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙基)}氮基]丙基}哌嗪-1-基)-2,3-二氢-1H-异吡唑-1,3-二酮

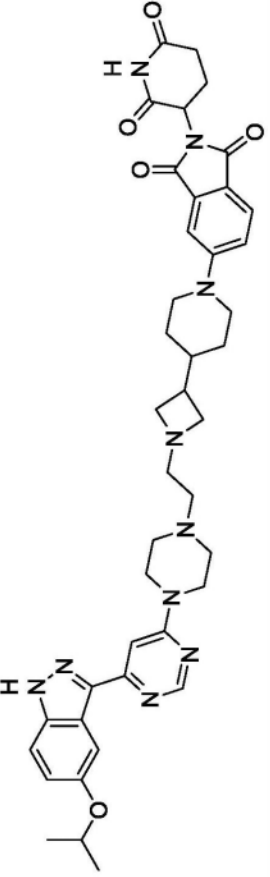
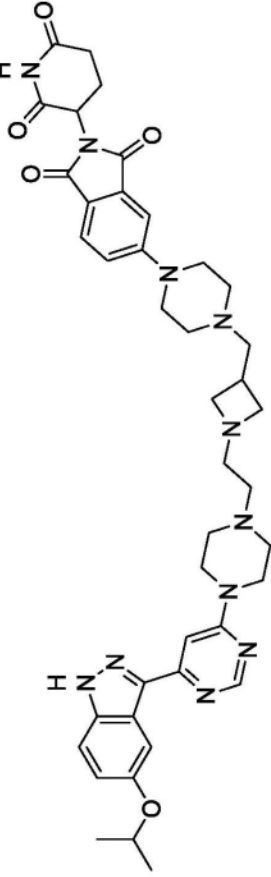
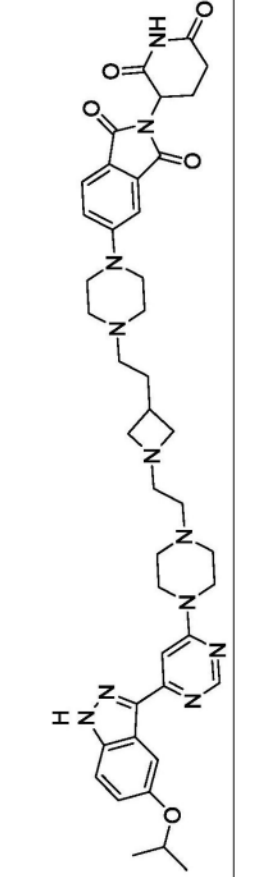
[1246]

37		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-{2-[甲基(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]乙基}氨基)乙基}哌嗪-1,3-二酮
38		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-{3-[甲基(2S)-2-甲基-4-{6-[5-(丙-2-基氧基)-1H-吡唑-3-基]嘧啶-4-基}哌嗪-1-基]丙基}氨基)丙基}哌嗪-1,3-二酮
39		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-((4-(2-(4-(6-(5-异丙氧基)-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)哌啶-1,3-二酮

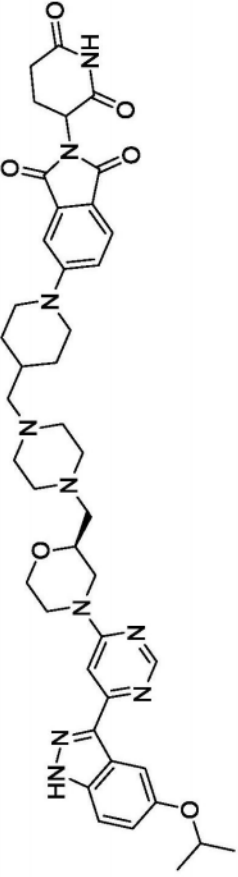
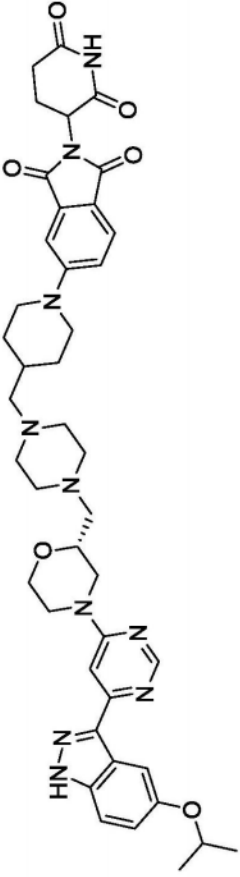
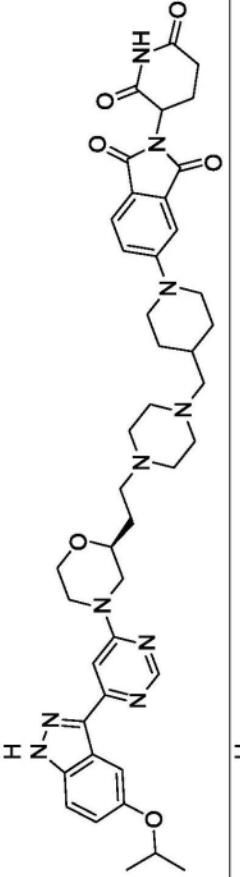
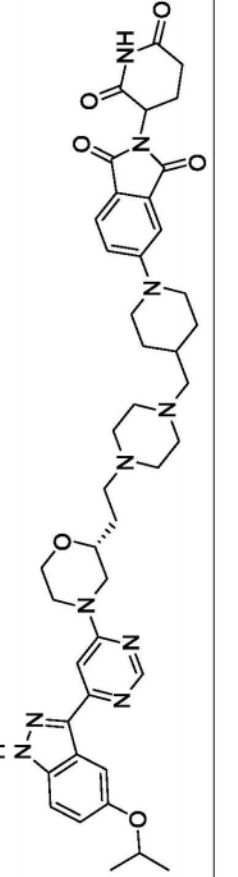
[1247]

40		5-(4-((4-(1,1-二氟-2-(4-(6-(5-异丙氧基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-4-基)哌啶-1-基)乙基)哌啶-1-基)甲基)哌啶-1-基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮
41		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-((4-(2-(4-(6-(5-异丙氧基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-4-基)哌啶-1-基)乙基)哌啶-1-基)甲基)哌啶-1-基)-1,3-二酮
42		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-(((R)-3-(2-(4-(6-(5-异丙氧基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-4-基)哌啶-1-基)乙基)吡咯烷-1-基)甲基)哌啶-1-基)异吲哚啉-1,3-二酮
43		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-(((S)-3-(2-(4-(6-(5-异丙氧基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-4-基)哌啶-1-基)乙基)吡咯烷-1-基)甲基)哌啶-1-基)异吲哚啉-1,3-二酮

[1248]

44		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-(1-(2-(4-(6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)氮杂环丁烷-3-基)哌啶-1-基)异唑啉-1,3-二酮
45		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-(1-(2-(4-(6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)氮杂环丁烷-3-基)甲基)哌嗪-1-基)异唑啉-1,3-二酮
46		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-(2-(1-(2-(4-(6-(5-异丙氧基-1H-吡唑-3-基)嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙基)氮杂环丁烷-3-基)乙基)哌嗪-1-基)异唑啉-1,3-二酮

[1249]

47		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-((S)-4-(6-(5-异丙氧基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-4-基)吗啉-2-基)甲基)哌嗪-1-基)甲基)吡啶-1-基)异吡啶-1,3-二酮
48		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-((R)-4-(6-(5-异丙氧基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-4-基)吗啉-2-基)甲基)哌嗪-1-基)甲基)吡啶-1-基)异吡啶-1,3-二酮
49		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-((2-(S)-4-(6-(5-异丙氧基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-4-基)吗啉-2-基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)吡啶-1-基)异吡啶-1,3-二酮
50		2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-(4-((2-(R)-4-(6-(5-异丙氧基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-4-基)吗啉-2-基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)吡啶-1-基)异吡啶-1,3-二酮

[1250]

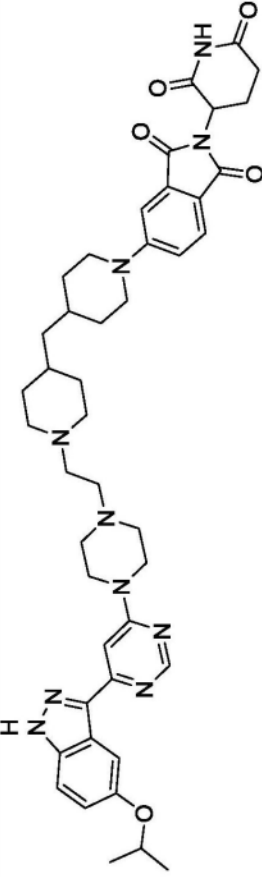
51		2-(2,6-二氧代吡啶-3-基)-5-(4-((1-(2-(4-(6-(5-异丙氧基-1H-咪唑-3-基)嘧啶-4-基)吡啶-1-基)乙基)吡啶-4-基)甲基)吡啶-1-基)异吡啶-1,3-二酮
----	--	--

表 2. 本公开的示例性双功能化合物的降解和表征

实施 例号	¹ H NMR	分子量 (精确质量)	均值 观察到的 质量	*G2019S DC50 (nM)	**G2019S Dmax (%)	*WT DC50 (nM)	**WT Dmax (%)	*内源 WT DC50 (nM)	**内源 WT Dmax (%)
1	¹ H NMR (400MHz, MeOD) δ: 8.63 (s, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 7.82 (d, J=8.28 Hz, 1 H), 7.35 - 7.53 (m, 4 H), 7.08 (dd, J=9.03, 2.26 Hz, 1 H), 5.11 (dd, J=12.55, 5.52 Hz, 1 H), 4.34 (s, 2 H), 4.20 (d, J=10.79 Hz, 2 H), 3.35 - 3.46 (m, 1 H), 3.13 (s, 3 H), 2.73 (s, 6 H), 2.05 - 2.16 (m, 1 H), 1.61 (s, 3 H), 1.24 (d, J=6.27 Hz, 3 H), 1.01 (s, 2 H), 0.78 (d, J=1.51 Hz, 2 H).	664.72 (664.28)	665.38	A	C	A	C		
2	¹ H NMR (400MHz, MeOD) δ: 8.62 (s, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 7.77	708.78 (708.30)	709.41	A	C	A	B		

[1251]

	(d, $J=8.28$ Hz, 1 H), 7.42 - 7.48 (m, 2 H), 7.37 (s, 1 H), 7.31 (dd, $J=8.53$, 2.26 Hz, 1 H), 7.09 (dd, $J=9.29$, 2.26 Hz, 1 H), 5.07 (dd, $J=12.67$, 5.40 Hz, 1 H), 4.30 - 4.38 (m, 2 H), 4.16 (s, 2 H), 3.83 - 3.89 (m, 2 H), 3.74 (s, 2 H), 3.00 (s, 4 H), 2.52 - 2.84 (m, 6 H), 2.01 - 2.12 (m, 1 H), 1.61 (s, 3 H), 1.17 (d, $J=6.27$ Hz, 3 H), 1.02 (s, 2 H), 0.78 (s, 2 H).									
3	¹ H NMR (400MHz, MeOD) δ : 8.60 (s, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.73 (d, $J=8.03$ Hz, 1 H), 7.25 - 7.51 (m, 4 H), 7.08 (dd, $J=9.03$, 2.26 Hz, 1 H), 5.05 (d, $J=12.30$ Hz, 1 H), 4.24 - 4.32 (m, 2 H), 4.18 (s, 2 H), 3.84 - 3.93 (m, 2 H), 3.58 - 3.76 (m, 6 H), 3.26 (s, 1 H), 3.02 (s, 3 H), 2.67 (d, $J=10.04$ Hz, 6 H), 2.07 (d, $J=5.02$ Hz, 1 H), 1.60 (s, 3 H), 1.16 (d, $J=6.27$ Hz, 3 H), 1.01 (s, 2 H), 0.78 (d, $J=1.51$ Hz, 2 H).	752.83 (752.33)	753.44	B	B	A	A	B	A	B
4	¹ H NMR (400MHz, MeOD) δ : 8.60 (s, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.71 (d, $J=8.28$ Hz, 1 H), 7.44 (d, $J=8.78$ Hz, 1 H), 7.36 (s, 2 H), 7.22 - 7.30 (m, 1 H), 7.08 (dd,	796.88 (796.35)	797.41	B	B	B	A	B	A	B

	$J=9.03, 2.26$ Hz, 1 H), 5.05 (dd, $J=12.17, 5.14$ Hz, 1 H), 4.13 - 4.28 (m, 4 H), 3.81 - 3.91 (m, 2 H), 3.56 - 3.73 (m, 10 H), 2.93 - 3.12 (m, 4 H), 2.52 - 2.86 (m, 6 H), 2.00 - 2.10 (m, 1 H), 1.60 (s, 3 H), 1.17 (d, $J=6.27$ Hz, 3 H), 1.02 (s, 2 H), 0.78 (s, 2 H).									
5	^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ : 8.71 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.80 - 7.70 (m, 1H), 7.49 - 7.36 (m, 3H), 7.25 - 7.18 (m, 1H), 7.12 (dd, $J=2.4, 8.0$ Hz, 1H), 5.03 - 4.98 (m, 1H), 4.28 - 4.19 (m, 3H), 3.89 (br d, $J=4.0$ Hz, 2H), 3.76 - 3.54 (m, 16H), 3.51 - 3.32 (m, 1H), 3.13 (s, 2H), 3.04 - 2.73 (m, 6H), 2.24 - 2.14 (m, 1H), 1.62 (s, 3H), 1.13 (d, $J=8.0$ Hz, 3H), 1.09 - 1.05 (m, 2H), 0.80 - 0.73 (m, 2H).	840.94 (840.38)	841.50	B	A	B	A			
6	^1H NMR (400MHz, MeOD) δ : 8.60 (s, 1 H), 8.07 (s, 1 H), 7.66 (d, $J=8.38$ Hz, 1 H), 7.43 (d, $J=9.13$ Hz, 1 H), 7.30 - 7.38 (m, 2 H), 7.19 (dd, $J=8.32, 2.06$ Hz, 1 H), 7.06 (dd, $J=9.07, 2.06$ Hz, 1 H), 5.06 (dd, $J=12.69, 5.44$ Hz, 1 H), 4.59 (s, 1 H), 4.33 (d,	766.86 (766.34)	767.35	A	B	A	B			

	$J=10.63$ Hz, 1 H), 4.15 - 4.21 (m, 2 H), 3.79 - 3.86 (m, 2 H), 3.66 - 3.62 (m, 2 H), 3.59 (d, $J=5.38$ Hz, 4 H), 3.02 - 3.01 (m, 2 H), 2.66 - 2.93 (m, 7 H), 2.04 - 2.14 (m, 1 H), 1.60 (s, 3 H), 1.20 (d, $J=6.00$ Hz, 6 H), 1.01 (s, 2 H), 0.77 (s, 2 H).									
7	^1H NMR (400MHz, MeOD) δ : 8.61 (s, 1 H), 8.09 (s, 1 H), 7.70 (d, $J=8.38$ Hz, 1 H), 7.30 - 7.47 (m, 3 H), 7.21 (dd, $J=8.32$, 2.19 Hz, 1 H), 7.03 - 7.11 (m, 1 H), 5.07 (dd, $J=12.44$, 5.57 Hz, 1 H), 4.60 (s, 4 H), 4.35 (d, $J=9.76$ Hz, 2 H), 4.14 - 4.21 (m, 2 H), 3.75 - 3.82 (m, 2 H), 3.54 - 3.64 (m, 7 H), 3.05 (s, 2 H), 2.64 - 2.92 (m, 6 H), 2.06 - 2.13 (m, 1 H), 1.60 (s, 3 H), 1.22 (d, $J=6.13$ Hz, 6 H), 1.01 (s, 2 H), 0.78 (s, 2 H).	810.91 (810.37)	811.37	A	B	A	A			
8	^1H NMR (400MHz, MeOD) δ : ppm 8.63 (s, 1 H), 8.36 (br s, 1 H), 7.91 (s, 1 H), 7.72 (d, $J=8.25$ Hz, 1 H), 7.46 (d, $J=9.01$ Hz, 1 H), 7.40 (s, 2 H), 7.28 (dd, $J=8.32$, 2.06 Hz, 1 H), 7.07 (dd, $J=9.01$, 2.13 Hz, 1 H), 5.01 -	740.82 (740.33)	741.20	D	C	D	C			

[1254]

	5.07 (m, 1 H), 4.62 - 4.69 (m, 1 H), 4.20 - 4.31 (m, 4 H), 3.84 - 3.91 (m, 2 H), 3.64 - 3.81 (m, 7 H), 3.40 - 3.54 (m, 1 H), 3.26 - 3.27 (m, 1 H), 3.20 - 3.27 (m, 2 H), 3.05 - 3.15 (m, 1 H), 2.87 - 2.98 (m, 2 H), 2.60 - 2.82 (m, 3 H), 2.00 - 2.10 (m, 1 H), 1.36 (d, $J=6.00$ Hz, 6 H), 1.28 (d, $J=6.25$ Hz, 3 H)								
9	^1H NMR (400MHz, MeOD) δ : ppm 8.65 (s, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 7.93 (d, $J=2.13$ Hz, 1 H), 7.69 (d, $J=8.38$ Hz, 1 H), 7.48 (d, $J=9.01$ Hz, 1 H), 7.42 (s, 1 H), 7.36 (d, $J=2.13$ Hz, 1 H), 7.25 (dd, $J=8.25, 2.25$ Hz, 1 H), 7.09 (dd, $J=9.07, 2.31$ Hz, 1 H), 4.98 - 5.07 (m, 1 H), 4.68 (dt, $J=12.04, 6.05$ Hz, 1 H), 4.24 - 4.33 (m, 4 H), 3.86 - 3.91 (m, 2 H), 3.74 - 3.84 (m, 2 H), 3.65 - 3.74 (m, 9 H), 3.48 - 3.55 (m, 1 H), 3.41 (br d, $J=12.38$ Hz, 1 H), 3.24 (br s, 1 H), 3.15 (br d, $J=1.63$ Hz, 1 H), 2.92 - 3.03 (m, 2 H), 2.76 - 2.88 (m, 1 H), 2.60 - 2.75 (m, 2 H), 2.01 - 2.11 (m, 2.63 Hz, 1 H), 1.39 (d, $J=6.00$ Hz, 6 H),	784.87 (784.35)	785.20	D	C	D	C		

	1.32 (d, J=6.38 Hz, 3 H)								
10	¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃) δ: 11.00 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.76 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.33-7.51 (m, 3H), 7.26 – 7.22 (m, 1H), 7.09 (dd, J = 8.8, 2.0 Hz, 1H), 5.03 (dd, J = 12.0, 5.2 Hz, 1H), 4.71 (dt, J = 12.0, 6.0 Hz, 1H), 4.20-4.48 (m, 4H), 3.86-3.94 (m, 2H), 3.54-3.76 (m, 9H), 3.43 (s, 2H), 2.60-3.02 (m, 8H), 2.16-2.24 (m, 1H), 1.40 (d, J=6.0 Hz, 6H), 0.92-1.19 ppm (m, 6H).	798.90 (798.37)	799.20	B	B	B	B		
11	¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ: 8.12 (d, J= 6.8 Hz, 1H), 7.80 - 7.74 (m, 2H), 7.62 (dd, J= 8.4,12.4 Hz, 2H), 7.47 (d, J= 1.6 Hz, 1H), 7.26(s, 1H), 7.21 - 7.18(m, 2H), 5.04 (dd, J=5.6,12.8 Hz, 1H), 4.77 - 4.71 (m, 1H), 4.46 (d, J= 14.8 Hz, 2H), 4.28 (s, 2H), 3.90 (s, 5H),3.75 (s, 4H), 3.72 (d, J= 3.6 Hz, 7H),3.58 - 3.48 (m, 2H), 2.86 - 2.58 (m, 4H),2.06 - 2.03 (m, 1H), 1.55 (s, 3H),1.38 (d, J= 6.0 Hz, 6H).	783.88 (783.36)	784.30	B	B	D	B		
12	¹ H NMR (400MHz, MeOD) δ:	795.89	796.20	A	A	A	A	A	

[1256]

	8.24 (d, $J=4.0$ Hz, 1 H), 7.64 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H), 7.54 (d, $J=2.0$ Hz, 1 H), 7.49 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.30 (d, $J=2.0$ Hz, 2 H), 7.26 (d, $J=5.2$ Hz, 1 H), 7.20 (dd, $J=8.0, 2.2$ Hz, 1 H), 7.14 (dd, $J=12.0, 2.0$ Hz, 1 H), 4.98 - 5.08 (m, 1 H), 4.76 - 4.79 (m, 1 H), 4.13 - 4.29 (m, 4 H), 3.75 - 3.92 (m, 4 H), 3.64 - 3.73 (m, 8 H), 3.37 - 3.61 (m, 3 H), 3.03 - 3.25 (m, 3 H), 2.56 - 2.86 (m, 3 H), 1.96 - 2.05 (m, 1 H), 1.59 (s, 3 H), 1.34 - 1.40 (m, 3 H), 1.00 - 1.06 (m, 2 H), 0.77 - 0.82 (m, 2 H).	(795.36)							
13	¹ H NMR (400MHz, MeOD) δ : 8.66 (s, 1 H), 8.11 (d, $J=2.00$ Hz, 1 H), 7.76 (t, $J=8.80$ Hz, 1 H), 7.51 - 7.40 (m, 2 H), 7.10 (dd, $J=9.20, 2.40$ Hz, 1 H), 6.87 - 6.75 (m, 2 H), 4.74 (dd, $J=12.80, 5.60$ Hz, 1 H), 4.27 (t, $J=11.60$ Hz, 2 H), 4.20 - 4.15 (m, 2 H), 3.89 - 3.82 (m, 2 H), 3.80 - 3.71 (m, 2 H), 3.70 - 3.62 (m, 8 H), 3.55 - 3.46 (m, 1 H), 3.42-3.36 (m, 1 H), 3.29 - 3.23 (m, 2 H), 3.18 - 3.05 (m, 1 H),	788.88 (788.37)	789.30	B	C	B	C		

[1257]

	2.01 - 3.86 (m, 2 H), 2.83 - 2.61 (m, 2 H), 2.30 - 2.19 (m, 1 H), 2.16 - 2.02 (m, 1 H), 1.60 (s, 3 H), 1.30 (d, $J=6.40$ Hz, 3 H), 1.06 - 0.99 (m, 2 H), 0.81 - 0.75 (m, 2 H).								
14	^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ : 8.50 (s, 1H), 8.22 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.37 - 7.29 (m, 2H), 7.26 (s, 1H), 7.22 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 5.04 (ddd, $J = 1.6, 5.6, 12.8$ Hz, 1H), 4.66 - 4.59 (m, 2H), 4.24 (d, $J = 4.4$ Hz, 2H), 4.12 (d, $J = 10.4$ Hz, 2H), 3.89 - 3.84 (m, 2H), 3.80 - 3.66 (m, 7H), 3.65 (s, 4H), 3.06 (s, 2H), 2.91 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.84 - 2.51 (m, 4H), 2.05 (dtd, $J = 2.8, 5.6, 12.8$ Hz, 1H), 1.38 (d, $J = 6.0$ Hz, 6H), 1.29 (d, $J = 2.4$ Hz, 3H)	801.87 (801.35)	802.20	D	B	D	A		
15	^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ : 13.50 (br s, 1H), 11.12 (br s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.45 - 7.43 (m, 2H), 7.37 - 7.34 (m, 2H), 5.13 - 5.10 (m, 1H), 4.59 - 4.56 (m,	802.86 (802.35)	803.20	D	C	D	C		

[1258]

	1H, 4.29 (br s, 2H), 4.07 (br s, 2H), 3.78 (br s, 2H), 3.58 - 3.51 (m, 14H), 2.92 - 2.81 (m, 5H), 2.05 (br s, 1H), 1.34 (d, J = 4.0 Hz, 6H), 1.05 (d, J = 8.0 Hz, 3H).									
16	¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃) δ: 11.54 (s, 1 H), 10.71 - 11.03 (m, 1 H), 8.70 (s, 1 H), 8.33 (d, J=2.0 Hz, 1 H), 7.79 (d, J=8.4 Hz, 1 H), 7.39 - 7.50 (m, 3 H), 7.26 (d, J=2.0 Hz, 1 H), 7.15 (dd, J=8.0, 2.2 Hz, 1 H), 4.93 - 5.11 (m, 1 H), 4.19 - 4.34 (m, 4 H), 3.90-3.95 (m, 2 H), 3.72 - 3.77 (m, 2 H), 3.65 - 3.71 (m, 4 H), 3.57 - 3.62 (m, 2 H), 3.47 - 3.52 (m, 2 H), 3.13 - 3.29 (m, 1 H), 2.79 - 3.04 (m, 6 H), 2.28 - 2.43 (m, 3 H), 2.17 - 2.25 (m, 1 H), 1.41 (s, 9 H), 0.98-0.95 (m, 3 H).	798.90 (798.37)	799.20	D	C	D	C			
17	¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ: 8.63 (s, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.68 (d, J=8.0 Hz, 1 H), 7.28 - 7.48 (m, 3 H), 7.03 - 7.25 (m, 2 H), 5.06 (dd, J=12.0, 8.0 Hz, 1 H), 4.26 - 4.41 (m, 2 H), 4.15 - 4.22 (m, 2 H), 4.00 (d, J=4.0 Hz, 1	783.84 (783.32)	784.2	C	A	B	A			

	H), 3.77 - 3.92 (m, 2 H), 3.55 - 3.74 (m, 12 H), 3.03 - 3.14 (m, 1 H), 2.61 - 2.87 (m, 4 H), 2.05 - 2.14 (m, 1 H), 1.74 - 1.87 (m, 2 H), 1.60 (s, 3 H), 0.96 - 1.05 (m, 2 H), 0.73 - 0.81 (m, 2 H).								
18	¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ: 8.63 (s, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.68 (d, J=8.0 Hz, 1 H), 7.28 - 7.48 (m, 3 H), 7.03 - 7.25 (m, 2 H), 5.06 (dd, J=12.0, 8.0 Hz, 1 H), 4.26 - 4.41 (m, 2 H), 4.15 - 4.22 (m, 2 H), 4.00 (d, J=4.0 Hz, 1 H), 3.77 - 3.92 (m, 2 H), 3.55 - 3.74 (m, 12 H), 3.03 - 3.14 (m, 1 H), 2.61 - 2.87 (m, 4 H), 2.05 - 2.14 (m, 1 H), 1.74 - 1.87 (m, 2 H), 1.60 (s, 3 H), 0.96 - 1.05 (m, 2 H), 0.73 - 0.81 (m, 2 H).	783.84 (783.32)	784.20	A	A	A	A	A	
19	¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ: 8.61 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.62 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.45 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.28 (d, J=2.1 Hz, 1H), 7.21 (dd, J=2.1, 8.3 Hz, 1H), 7.08 (dd, J=2.2, 9.1 Hz, 1H), 4.31 - 4.15 (m, 4H), 3.89 - 3.80 (m, 2H), 3.73 - 3.61 (m, 10H), 3.43 - 3.34 (m, 1H), 3.24 - 3.02 (m, 3H), 2.86 - 2.53	810.91 (810.37)	811.20	B	C	D	C		

[1260]

	(m, 6H), 2.07 - 1.99 (m, 1H), 1.95 (d, J=1.4 Hz, 3H), 1.60 (s, 3H), 1.22 (d, J=6.3 Hz, 3H), 1.04 - 0.99 (m, 2H), 0.82 - 0.74 (m, 2H)								
20	¹ H NMR (400MHz, 氯仿-d): 8.72 (s, 1H), 8.28 (br s, 1H), 7.67 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.42 - 7.32 (m, 2H), 7.28 (br s, 1H), 7.13 (dd, J=2.4, 9.2 Hz, 1H), 7.06 - 6.99 (m, 1H), 5.00 - 4.91 (m, 1H), 4.29 - 4.11 (m, 2H), 3.64 - 3.55 (m, 4H), 3.49 (br s, 4H), 3.30 (br s, 1H), 3.03 - 2.86 (m, 5H), 2.69 (br s, 6H), 2.61 - 2.43 (m, 3H), 2.15 (br d, J=5.2 Hz, 1H), 1.63 (s, 4H), 1.26 (s, 2H), 1.11 - 1.04 (m, 5H), 0.82 - 0.73 (m, 2H)	776.90 (776.38)	777.37	A	B	A	B		
21	¹ H NMR (400MHz, MeOD) δ: 8.60 (s, 1 H), 8.07 (d, J=2.40 Hz, 1 H), 7.37 - 7.54 (m, 3 H), 7.21 (d, J=2.00 Hz, 1 H), 7.04 (m, 2 H), 5.01 (m, 1 H), 4.38 (d, J=9.60 Hz, 2 H), 3.62 (dd, J=9.60 Hz, 5.60 Hz, 4 H), 3.32 - 3.37 (m, 4 H), 3.06 - 3.17 (m, 2 H), 3.01 (s, 2 H), 2.68 - 2.87 (m, 5 H), 2.62 (m, 6 H), 2.06 - 2.16	790.93 (790.39)	791.38	A	B	A	B	A	

[1261]

	(m, 1 H), 1.59 (s, 3 H), 1.25 (d, $J=6.00$ Hz, 6 H), 1.01 (s, 2 H), 0.72 - 0.82 (m, 2 H).								
22	¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ : 13.38 (s, 1H), 11.07 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.96 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.22 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J=2.4, 8.8$ Hz, 1H), 5.06 (dd, $J=5.2, 13.2$ Hz, 1H), 4.64 - 4.55 (m, 1H), 4.07 (s, 2H), 3.60 - 3.50 (m, 4H), 2.99 - 2.81 (m, 9H), 2.73 (s, 2H), 2.56 (d, $J=4.4$ Hz, 8H), 2.01 (d, $J=10.4$ Hz, 1H), 2.05 - 1.95 (m, 1H), 1.30 (d, $J=6.0$ Hz, 6H), 1.07 (d, $J=6.0$ Hz, 3H)	764.89 (764.38)	765.40	B	C	B	C		
23	¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ : 13.40 (br s, 1H), 11.09 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.16 (s, 2H), 7.97 (s, 1H), 7.68 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J=8.9$ Hz, 1H), 7.36 (br d, $J=18.0$ Hz, 2H), 7.26 (br d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J=2.1, 9.1$ Hz, 1H), 5.07 (br dd, $J=5.4, 12.9$ Hz, 1H), 4.60 (td, $J=5.9, 12.0$ Hz, 1H), 4.07 (br s,	748.89 (748.38)	749.50	A	B	A	B		

[1262]

	2H), 3.55 - 3.44 (m, 8H), 3.05 - 2.81 (m, 5H), 2.75 - 2.64 (m, 2H), 2.35 - 2.18 (m, 3H), 2.06 - 1.98 (m, 1H), 1.46 (br s, 4H), 1.30 (d, $J=6.0$ Hz, 8H), 1.06 (br d, $J=6.0$ Hz, 3H)									
24	¹ H NMR (400MHz, MeOD) δ : 8.62 (s, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 8.10 (d, $J=2.00$ Hz, 1 H), 7.66 (d, $J=8.40$ Hz, 1 H), 7.47 (d, $J=8.80$ Hz, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.10 (dd, $J=8.80$, 2.00 Hz, 1 H), 7.00 (d, $J=2.40$ Hz, 1 H), 6.84 (dd, $J=8.40$, 2.00 Hz, 1 H), 5.06 (dd, $J=12.40$, 5.20 Hz, 1 H), 4.09 (s, 2 H), 3.59 (s, 3 H), 3.46 (s, 2 H), 3.21 (s, 5 H), 3.01-2.98 (m, 3 H), 2.54 - 2.90 (m, 5 H), 2.36 (s, 3 H), 2.25-1.75 (m, 8 H), 1.61 (s, 3 H), 1.45 (s, 2 H), 1.15 (d, $J=6.00$ Hz, 3 H), 1.04-0.97 (m, 2 H), 0.73 - 0.82 (m, 2 H).	814.99 (814.43)	815.42	A	A	A	A	B	A	B
25	¹ H NMR (400MHz, 甲醇- <i>d</i> 4) δ : 8.65 (s, 1H), 8.10 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.47 - 7.41 (m, 2H), 7.11 - 7.06 (m, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.76 (br d, $J=7.2$ Hz, 1H), 5.10 - 5.00 (m, 1H), 4.27 (br t, $J=12.0$ Hz, 2H),	802.98 (802.43)	803.30	A	A	A	A	A		

[1263]

	3.73 (br d, J=4.4 Hz, 3H), 3.61 - 3.36 (m, 5H), 3.24 - 3.02 (m, 8H), 2.94 - 2.64 (m, 7H), 2.35 - 2.18 (m, 2H), 2.14 - 1.96 (m, 5H), 1.93 - 1.85 (m, 2H), 1.80 - 1.68 (m, 1H), 1.60 (s, 3H), 1.27 (d, J=6.4 Hz, 3H), 1.04 - 0.97 (m, 2H), 0.80 - 0.75 (m, 2H)									
26	¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ: 8.64 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.92 (d, J=1.6 Hz, 1H), 7.61 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.50 - 7.37 (m, 2H), 7.08 (d, J=9.2 Hz, 1H), 6.94 (d, J=1.2 Hz, 1H), 6.78 (br d, J=8.8 Hz, 1H), 5.05 (dd, J=5.6, 12.4 Hz, 1H), 4.65 (td, J=6.4, 12.0 Hz, 1H), 4.14 (d, J=12.4 Hz, 2H), 3.63 - 3.48 (m, 3H), 3.43 - 3.36 (m, 1H), 3.25 - 3.10 (m, 3H), 3.10 - 2.94 (m, 8H), 2.93 - 2.78 (m, 7H), 2.76 - 2.65 (m, 4H), 2.42 - 2.31 (m, 1H), 2.25 (d, J=6.4 Hz, 1H), 2.15 - 2.04 (m, 1H), 1.88 - 1.68 (m, 3H), 1.36 (d, J=6.4 Hz, 6H), 1.26 - 1.20 (m, 3H)	818.00 (817.44)	818.30	B	A	B	A			
27	¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃) δ: 8.74 (br s, 1 H), 8.41 (br s, 1 H), 8.08 (br s, 1 H), 7.70 (d, J=8.4	803.97 (803.42)	804.30	A	A	A	A			

[1264]

	Hz, 1 H), 7.35 - 7.50 (m, 2 H), 7.34 (s, 1 H), 7.28 (d, $J=2.4$ Hz, 2 H), 7.10 (dd, $J=9.2$, 2.4 Hz, 1 H), 7.04 - 7.08 (m, 1 H), 4.95 (dd, $J=12.4$, 5.6 Hz, 1 H), 4.71 (dt, $J=12.0$, 6.4 Hz, 1 H), 3.76 (br s, 4 H), 3.48 (br d, $J=12.0$ Hz, 2 H), 3.40 (br d, $J=5.2$ Hz, 4 H), 2.70 - 3.00 (m, 8 H), 2.62 (br s, 4 H), 2.57 (br d, $J=5.2$ Hz, 4 H), 2.50 (br t, $J=11.6$ Hz, 2 H), 2.29 (d, $J=6.8$ Hz, 2 H), 2.13 (br d, $J=5.2$ Hz, 1 H), 1.90 (br s, 2 H), 1.48 - 1.53 (m, 2 H), 1.40 (d, $J=6.2$ Hz, 6 H)							
28	¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃) δ : 8.73 (br s, 1 H), 8.48 (br s, 1 H), 8.24 (br s, 1 H), 7.70 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.36 - 7.50 (m, 2 H), 7.30 - 7.35 (m, 2 H), 7.28 (br d, $J=2.4$ Hz, 1 H), 7.14 (dd, $J=9.2$, 2.0 Hz, 1 H), 7.05 (dd, $J=8.8$, 2.4 Hz, 1 H), 4.95 (dd, $J=12.4$, 5.6 Hz, 1 H), 3.75 (br s, 4 H), 3.47 (br d, $J=12.0$ Hz, 2 H), 3.39 - 3.44 (m, 4 H), 2.83 - 3.00 (m, 4 H), 2.71 - 2.82 (m, 4 H), 2.60 - 2.65 (m, 4 H), 2.55 - 2.59 (m, 4 H), 2.49 (br t, $J=11.2$ Hz, 3 H),	815.98 (815.42)	816.30	A	A	A	A	

[1265]

	2.29 (br d, $J=6.8$ Hz, 2 H), 2.14 (br dd, $J=7.8, 5.2$ Hz, 1 H), 1.63 (s, 3 H), 1.58 (br d, $J=11.2$ Hz, 3 H), 1.05 - 1.11 (m, 2 H), 0.76 - 0.81 (m, 2 H)														
29	¹ H NMR (400MHz, 甲醇-d ₄) δ : 8.63 (d, $J=0.9$ Hz, 1H), 8.45 (br s, 1H), 8.11 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.37 (d, $J=2.3$ Hz, 1H), 7.24 (dd, $J=2.3, 8.6$ Hz, 1H), 7.10 (dd, $J=2.3, 9.1$ Hz, 1H), 5.07 (dd, $J=5.5, 12.5$ Hz, 1H), 4.03 (br d, $J=11.3$ Hz, 2H), 3.61 (br t, $J=12.0$ Hz, 3H), 3.50 - 3.44 (m, 4H), 3.36 (br d, $J=7.4$ Hz, 1H), 3.27 - 3.11 (m, 3H), 3.07 - 2.98 (m, 3H), 2.91 - 2.81 (m, 1H), 2.79 - 2.67 (m, 4H), 2.65 - 2.60 (m, 4H), 2.50 (br t, $J=8.5$ Hz, 1H), 2.35 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 2.15 - 2.04 (m, 3H), 1.94 (br d, $J=4.3$ Hz, 1H), 1.61 (s, 3H), 1.52 (br d, $J=13.9$ Hz, 2H), 1.20 (d, $J=6.3$ Hz, 3H), 1.05 - 0.99 (m, 2H), 0.80 - 0.76 (m, 2H)	830.01 (829.44)	830.30	A	A	A	A	A	818.00 (817.44)	818.40	A	A	A		
30	¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) : 13.42 (br s, 1H), 11.10 (s,														

[1266]

	1H), 8.64 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.68 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.51 (d, J=8.9 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.25 (br d, J=8.6 Hz, 1H), 7.06 (dd, J=2.3, 8.9 Hz, 1H), 5.07 (dd, J=5.3, 12.9 Hz, 1H), 4.60 (td, J=6.0, 11.9 Hz, 1H), 4.04 (br s, 2H), 2.97 (br d, J=4.1 Hz, 3H), 2.94 - 2.79 (m, 6H), 2.44 - 2.36 (m, 1H), 2.23 - 1.93 (m, 5H), 1.71 (br d, J=10.9 Hz, 2H), 1.55 (br s, 1H), 1.31 (d, J=6.0 Hz, 6H), 1.29 - 1.09 (m, 4H), 1.07 (br d, J=6.1 Hz, 3H)								
31	¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ: 8.63 (d, J=0.9 Hz, 1H), 8.37 (br s, 1H), 7.93 (d, J=2.1 Hz, 1H), 7.64 (d, J=8.6 Hz, 1H), 7.50 - 7.41 (m, 2H), 7.12 - 7.05 (m, 3H), 5.10 (dd, J=5.1, 13.4 Hz, 1H), 4.66 (td, J=6.1, 12.1 Hz, 2H), 4.46 - 4.33 (m, 2H), 4.03 (br d, J=12.5 Hz, 2H), 3.67 - 3.56 (m, 3H), 3.37 (br d, J=6.0 Hz, 4H), 3.30 - 3.15 (m, 3H), 3.10 - 2.98 (m, 3H), 2.96 - 2.84 (m, 1H), 2.82 - 2.68 (m, 3H), 2.67 - 2.61 (m, 4H), 2.56 - 2.33 (m, 4H), 2.20 - 1.90 (m, 4H),	804.01 (803.46)	804.40	B	A	A	A	A	

	1.61 - 1.45 (m, 2H), 1.37 (d, J=6.0 Hz, 6H), 1.20 (d, J=6.3 Hz, 3H)								
32	¹ H NMR (400MHz, MeOD) δ: 8.72 (s, 1H), 7.84 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.69 - 7.55 (m, 2H), 7.49 (s, 2H), 7.39 (dd, J=2.1, 8.4 Hz, 1H), 7.25 (dd, J=1.9, 9.1 Hz, 1H), 5.09 (dd, J=5.4, 12.6 Hz, 1H), 4.81 - 4.76 (m, 1H), 4.62 (s, 4H), 4.39 - 4.33 (m, 2H), 4.24 (s, 3H), 4.03 - 3.92 (m, 2H), 3.90-3.71 (m, 2H), 3.69 - 3.46 (m, 4H), 3.29 - 3.16 (m, 3H), 2.90 - 2.63 (m, 3H), 2.17 - 2.06 (m, 1H), 1.55 - 1.41 (m, 3H), 1.38 (d, J=6.0 Hz, 6H)	751.85 (751.34)	752.40	D	C	D	C		
33	¹ H NMR (400MHz, 甲醇- <i>d</i> 4) δ: 8.65 (s, 1H), 8.10 (d, J=2.0 Hz, 1H), 7.61 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.47 - 7.41 (m, 2H), 7.11 - 7.06 (m, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.76 (br d, J=7.2 Hz, 1H), 5.10 - 5.00 (m, 1H), 4.27 (br t, J=12.0 Hz, 2H), 3.73 (br d, J=4.4 Hz, 3H), 3.61 - 3.36 (m, 5H), 3.24 - 3.02 (m, 8H), 2.94 - 2.64 (m, 7H), 2.35 - 2.18 (m, 2H), 2.14 - 1.96 (m, 5H), 1.93 - 1.85 (m, 2H), 1.80 -	845.02 (844.44)	845.43	A	A	B	A		

	1.68 (m, 1H), 1.60 (s, 3H), 1.27 (d, $J=6.4$ Hz, 3H), 1.04 - 0.97 (m, 2H), 0.80 - 0.75 (m, 2H)									
34	¹ H NMR (400MHz, 甲醇-d ₄) δ : 8.64 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.90 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.47 - 7.41 (m, 2H), 7.27 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 7.09 (ddd, $J=2.3, 8.8, 17.7$ Hz, 2H), 5.03 (ddd, $J=3.3, 5.3, 12.4$ Hz, 1H), 4.68 (br s, 1H), 4.34 - 4.24 (m, 2H), 3.73 (br t, $J=5.3$ Hz, 2H), 3.59 (t, $J=6.2$ Hz, 2H), 3.48 - 3.37 (m, 6H), 3.22 - 3.11 (m, 3H), 2.99 (br d, $J=4.0$ Hz, 2H), 2.95 - 2.72 (m, 4H), 2.72 - 2.62 (m, 6H), 2.51 (br t, $J=6.2$ Hz, 2H), 2.12 - 2.02 (m, 1H), 1.36 (d, $J=6.1$ Hz, 6H), 1.27 (d, $J=6.3$ Hz, 3H)	802.94 (802.39)	803.30	D	B	C	A			
35	¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ : 13.36 (br s, 1H), 11.08 (br s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.17 (s, 2H), 7.92 (d, $J=2.3$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.29 (dd, $J=2.1, 8.3$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J=2.3, 8.9$ Hz, 1H), 5.07 (dd, $J=5.3, 12.8$ Hz,	776.90 (776.38)	777.40	C	C	C	C			

[1269]

	1H), 4.55 (td, $J=6.0$, 12.0 Hz, 1H), 4.08 (br t, $J=4.9$ Hz, 2H), 3.97 (br s, 2H), 3.25 (s, 8H), 2.98 - 2.88 (m, 2H), 2.83 (br d, $J=11.9$ Hz, 2H), 2.70 (br s, 2H), 2.63 (br d, $J=1.8$ Hz, 1H), 2.60 - 2.51 (m, 4H), 2.41 - 2.37 (m, 1H), 2.31 - 2.15 (m, 2H), 2.01 (br dd, $J=5.4$, 10.9 Hz, 1H), 1.26 (d, $J=6.0$ Hz, 6H), 0.99 (d, $J=6.1$ Hz, 3H)									
36	¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ : 8.62 (d, $J=2.0$ Hz, 1 H), 7.91 (d, $J=2.0$ Hz, 1 H), 7.64 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.41 - 7.47 (m, 2 H), 7.33 (d, $J=4.0$ Hz, 1 H), 7.17 (dd, $J=8.0$, 2.0 Hz, 1 H), 7.07 (dd, $J=8.0$, 2.0 Hz, 1 H), 5.06 (dd, $J=12.0$, 4.0 Hz, 1 H), 4.53 - 4.71 (m, 1 H), 4.12 - 4.25 (m, 2 H), 3.39 - 3.48 (m, 5 H), 2.92 - 3.18 (m, 3 H), 2.69 - 2.90 (m, 3 H), 2.41 - 2.68 (m, 13 H), 2.32 (s, 3 H), 2.07 - 2.15 (m, 1 H), 1.72 - 1.82 (m, 2 H), 1.36 (d, $J=8.0$ Hz, 6 H), 1.19 (d, $J=8.0$ Hz, 3 H).	791.96 (791.42)	792.30	B	A	B	A			
37	¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ : 8.62 (d, $J=1.0$ Hz, 1 H), 7.91 (d,	777.93 (777.41)	778.40	C	B	D	B			

[1270]

	$J=2.0$ Hz, 1 H), 7.66 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.47 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.41 (s, 1 H), 7.37 (d, $J=2.0$ Hz, 1 H), 7.24 (dd, $J=8.0$, 2.0 Hz, 1 H), 7.09 (dd, $J=8.0$, 2.0 Hz, 1 H), 5.04 (dd, $J=12.0$, 4.0 Hz, 1 H), 4.67 (t, $J=12.0$, 4.0 Hz, 1 H), 4.00 (d, $J=12.0$ Hz, 2 H), 3.64 - 3.73 (m, 1 H), 3.41 - 3.57 (m, 9 H), 3.08 - 3.25 (m, 2 H), 2.98 (s, 3 H), 2.61 - 2.91 (m, 12 H), 2.01 - 2.10 (m, 1 H), 1.37 (d, $J=4.0$ Hz, 6 H), 1.23 (d, $J=6.0$ Hz, 3 H).								
38	^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ : 8.63 (s, 1 H), 7.92 (s, 1 H), 7.67 (d, $J=8.00$ Hz, 1 H), 7.47 (d, $J=9.01$ Hz, 1 H), 7.42 (s, 1 H), 7.36 (s, 1 H), 7.23 (d, $J=8.00$ Hz, 1 H), 7.05 - 7.13 (m, 1 H), 5.06 (dd, $J=12.00$, 4.00 Hz, 1 H), 4.66 (t, $J=12.00$, 4.00 Hz, 1 H), 4.11 (d, $J=11.51$ Hz, 2 H), 3.41 - 3.53 (m, 5 H), 3.15 - 3.26 (m, 6 H), 3.04 (d, $J=12.00$ Hz, 1 H), 2.81 - 2.94 (m, 5 H), 2.64 - 2.78 (m, 7 H), 2.58 (t, $J=6.38$ Hz, 2 H), 2.42 - 2.52 (m, 2 H), 2.03 - 2.14 (m, 1 H), 1.95 (s, 3	805.99 (805.44)	806.40	D	A	C	A		

[1272]

	7.06 (dd, $J=2.4$, 8.9 Hz, 1H), 5.07 (dd, $J=5.3$, 12.9 Hz, 1H), 4.66 - 4.56 (m, 1H), 4.04 (br d, $J=12.4$ Hz, 2H), 3.69 (br s, 3H), 3.02 - 2.87 (m, 6H), 2.85 - 2.76 (m, 2H), 2.71 - 2.59 (m, 5H), 2.58 - 2.54 (m, 1H), 2.15 (br d, $J=6.5$ Hz, 2H), 2.01 (br dd, $J=5.2$, 10.3 Hz, 2H), 1.91 - 1.70 (m, 7H), 1.50 - 1.39 (m, 2H), 1.31 (d, $J=6.1$ Hz, 6H), 1.14 (br d, $J=9.8$ Hz, 2H)								
41	¹ H NMR: (400MHz, CDCl3) δ : 8.76 (s, 1H), 8.10 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.44 - 7.35 (m, 2H), 7.26 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 7.09 (dd, $J=2.4$, 9.0 Hz, 1H), 7.03 (dd, $J=2.1$, 8.6 Hz, 1H), 4.95 (dd, $J=5.4$, 12.3 Hz, 1H), 4.70 (td, $J=6.1$, 12.1 Hz, 1H), 3.93 (d, $J=13.1$ Hz, 2H), 3.79 (s, 4H), 3.30 - 3.21 (m, 2H), 3.03 - 2.74 (m, 5H), 2.59 (t, $J=4.6$ Hz, 4H), 2.54 (d, $J=6.3$ Hz, 2H), 2.46 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 2.29 (t, $J=11.0$ Hz, 2H), 2.19 - 2.09 (m, 1H), 2.03 - 1.90 (m, 3H), 1.77 (d, $J=12.3$ Hz, 2H), 1.62 - 1.49 (m, 5H).	802.98 (802.43)	803.4	B	B	B	B	B	

[1274]

	3.84 (br s, 4H), 3.75 - 3.63 (m, 1H), 3.51 - 3.38 (m, 2H), 3.19 - 3.13 (m, 2H), 3.04 (br t, $J=11.8$ Hz, 3H), 2.92 - 2.81 (m, 1H), 2.79 - 2.68 (m, 6H), 2.60 (br t, $J=7.0$ Hz, 2H), 2.55 - 2.44 (m, 1H), 2.38 - 2.28 (m, 1H), 2.16 - 2.04 (m, 2H), 1.93 (br d, $J=12.1$ Hz, 2H), 1.86 - 1.73 (m, 3H), 1.49 - 1.39 (m, 2H), 1.37 (d, $J=6.0$ Hz, 6H)								
44	¹ H NMR: (400MHz, MeOD-d ₄) δ : 8.64 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.67 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.35 (d, $J=2.3$ Hz, 1H), 7.22 (br d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.08 (dd, $J=2.1, 9.0$ Hz, 1H), 5.06 (dd, $J=5.4, 12.4$ Hz, 1H), 4.66 (td, $J=6.1, 12.1$ Hz, 2H), 4.58 (br s, 3H), 4.20 - 4.04 (m, 4H), 3.89 - 3.83 (m, 1H), 3.80 (br s, 4H), 3.00 (br t, $J=13.3$ Hz, 2H), 2.89 - 2.80 (m, 1H), 2.76 (br d, $J=2.6$ Hz, 1H), 2.73 - 2.67 (m, 2H), 2.63 (br s, 4H), 2.10 (br d, $J=10.5$ Hz, 1H), 1.89 (br s, 1H), 1.80 (br d, $J=13.0$ Hz, 2H), 1.36 (d, $J=6.0$ Hz, 6H), 1.29 -	760.90 (760.38)	761.4	B	B	B	B	B	

[1276]

	1H), 3.91 - 3.85 (m, 2H), 3.82 (br s, 7H), 3.77 (br d, J = 3.9 Hz, 2H), 3.72 (br s, 2H), 3.54 - 3.38 (m, 2H), 3.08 - 3.01 (m, 4H), 2.93 - 2.81 (m, 2H), 2.77 (br d, J = 2.4 Hz, 1H), 2.73 (br d, J = 6.1 Hz, 2H), 2.68 (br d, J = 5.5 Hz, 4H), 2.56 - 2.46 (m, 2H), 2.15 - 2.04 (m, 2H), 1.38 (s, 3H), 1.37 (s, 3H)									
47	¹ H NMR: (400MHz, 氯仿-d) δ: 8.77 (s, 1H), 8.11 (d, J=2.3 Hz, 1H), 7.68 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.41 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.38 (d, J=1.5 Hz, 1H), 7.28 (br s, 1H), 7.11 (dd, J=2.4, 9.0 Hz, 1H), 7.05 (dd, J=2.3, 8.6 Hz, 1H), 4.96 (dd, J=5.3, 12.1 Hz, 1H), 4.72 (spt, J=6.1 Hz, 1H), 4.42 - 4.20 (m, 2H), 4.03 (br d, J=11.6 Hz, 1H), 3.96 (br d, J=13.0 Hz, 2H), 3.78 (dt, J=3.5, 6.9 Hz, 1H), 3.71 - 3.60 (m, 1H), 3.11 (br t, J=11.3 Hz, 1H), 3.03 - 2.91 (m, 3H), 2.91 - 2.76 (m, 4H), 2.70 - 2.51 (m, 9H), 2.33 (br d, J=6.5 Hz, 2H), 2.19 - 2.10 (m, 1H), 1.94 - 1.77 (m, 3H), 1.40 (d, J=6.1 Hz, 8H)	790.93 (790.39)	791.3	B	B	B	A	B		

[1277]

48	¹ H NMR: (400MHz, 甲醇-d ₄) δ: 8.67 (d, J=0.9 Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.94 (d, J=2.1 Hz, 1H), 7.67 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.50 - 7.43 (m, 2H), 7.35 (d, J=2.1 Hz, 1H), 7.22 (dd, J=2.3, 8.7 Hz, 1H), 7.09 (dd, J=2.4, 9.0 Hz, 1H), 5.07 (dd, J=5.4, 12.4 Hz, 1H), 4.67 (td, J=6.0, 12.1 Hz, 1H), 4.46 (br d, J=13.4 Hz, 1H), 4.31 (br d, J=11.8 Hz, 1H), 4.07 (br d, J=11.0 Hz, 3H), 3.87 (br s, 1H), 3.71 (dt, J=2.5, 11.6 Hz, 1H), 3.23 - 3.07 (m, 2H), 3.07 - 2.65 (m, 15H), 2.56 (br s, 2H), 2.16 - 2.05 (m, 1H), 2.04 - 1.86 (m, 3H), 1.37 (d, J=6.1 Hz, 8H)	790.93 (790.39)	791.3	A	B	A	B
49	¹ H NMR: (400MHz, CDCl ₃) δ: 8.77 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.11 (d, J=2.0 Hz, 1H), 7.68 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.41 (d, J=8.9 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.10 (dd, J=2.1, 9.0 Hz, 1H), 7.04 (dd, J=2.1, 8.6 Hz, 1H), 4.95 (dd, J=5.3, 12.3 Hz, 1H), 4.72 (t, J=6.0 Hz, 1H), 4.35 (d, J=11.8 Hz, 1H), 4.26 (d, J=12.9 Hz, 1H), 4.04 - 3.90 (m, 3H), 3.70 - 3.54 (m, 2H), 3.12 (t, J=10.9 Hz, 1H), 3.02 - 2.66 (m,	804.95 (804.41)	805.4	A	B	A	A

								J=13.1 Hz, 2H), 3.76 (br s, 4H), 3.38 (br d, J=11.3 Hz, 2H), 3.00 - 2.68 (m, 12H), 2.61 (br t, J=4.8 Hz, 4H), 2.40 (br t, J=10.5 Hz, 2H), 2.17 - 2.10 (m, 1H), 1.77 (br d, J=12.8 Hz, 4H), 1.63 (br d, J=3.6 Hz, 1H), 1.40 (d, J=6.0 Hz, 6H), 1.31 - 1.18 (m, 4H)
--	--	--	--	--	--	--	--	--

*DC₅₀ 范围: A<10; 10≤B<50; 50≤C<100; D≥100。

****D_{Max}范围:** $A \geq 70$; $50 \leq B < 70$; $C < 50$

[1280] 描述了一种新的双功能分子,其含有LRRK2募集部分和E3泛素连接酶募集部分。本公开的双功能分子主动降解LRRK2,导致强大的细胞增殖抑制和细胞凋亡诱导。由本公开的

双功能化合物介导的蛋白质降解提供了一种通过传统方法靶向“不可成药的”病理蛋白质的有前景的策略。

[1281] 前述一般实用性领域仅作为示例给出,并不旨在限制本公开和所附权利要求的范围。依据本发明的权利要求、描述和实施例,本领域普通技术人员将理解与本公开的组合物、方法和工艺相关的另外的目标和优点。例如,本公开的各个方面和实施例可以以多种组合使用,所有这些都由本说明书明确地设想。这些另外的方面和实施方案明确地包括在本公开的范围内。本文使用的阐明本公开的背景以及在特定情况下提供关于实践的另外的细节的出版物和其他材料以引用的方式并入。

[1282] 因此,本领域技术人员仅仅使用常规试验将认识到或者能够确定本文所描述的公开的具体实施方案的很多等效方案。此类等效方案意图由所附权利要求书涵盖。应当理解,本文描述的详细实施例和实施方案仅出于说明性目的以示例的方式给出,决不被认为是对本公开的限制。本领域技术人员将想到依据本发明的各种修改或变化,这些修改或变化均包括在本申请的精神和权限内并且视为在所附权利要求书的范围之内。例如,可以改变成分的相对量以优化所需的效果,可以添加另外的成分,并且/或者类似的成分可以取代一种或多种所述的成分。与本公开的系统、方法和过程相关的另外的有利特征和功能将从所附权利要求书中显而易见。此外,本领域技术人员仅仅使用常规试验将认识到或者能够确定本文所描述的公开的具体实施方案的很多等效方案。此类等效方案意图由所附权利要求书涵盖。

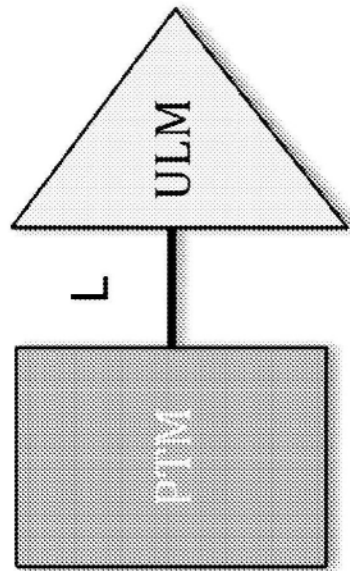


图1A

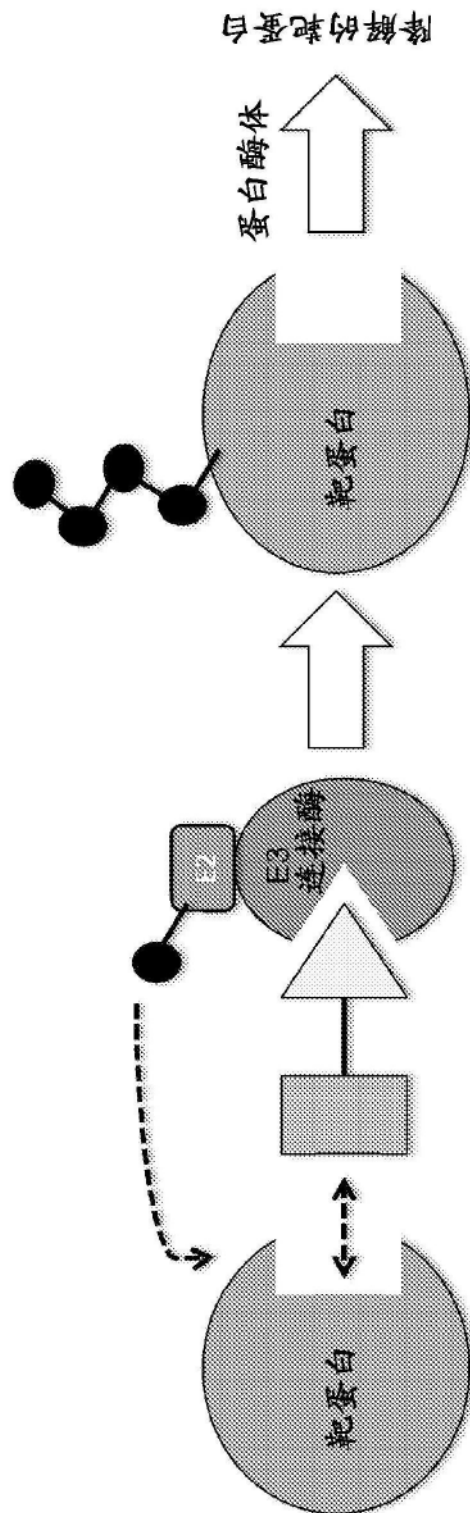


图1B