



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103204822 B

(45) 授权公告日 2014. 12. 03

(21) 申请号 201210189086. 8

A61P 3/10 (2006. 01)

(22) 申请日 2012. 06. 08

A61P 27/02 (2006. 01)

(66) 本国优先权数据

A61P 9/00 (2006. 01)

201210014021. X 2012. 01. 17 CN

A61P 19/02 (2006. 01)

(73) 专利权人 上海科州药物研发有限公司

A61P 9/10 (2006. 01)

地址 201203 上海市浦东新区张江高科技园  
区蔡伦路 780 号 714 室

A61P 17/06 (2006. 01)

A61P 25/04 (2006. 01)

A61P 25/28 (2006. 01)

(72) 发明人 田红旗 季聪慧 黄功超 孔丽

(56) 对比文件

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285

W0 2007121154 A2, 2007. 10. 25, 说明书全文.

代理人 王媛 唐铁军

CN 101213196 A, 2008. 07. 02, 说明书全文.

审查员 费嘉

(51) Int. Cl.

C07D 263/56 (2006. 01)

A61K 31/423 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

A61P 29/00 (2006. 01)

A61P 1/00 (2006. 01)

A61P 17/00 (2006. 01)

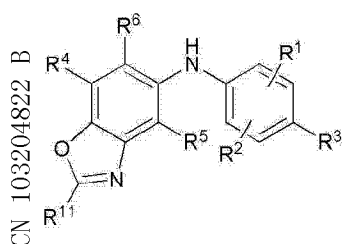
权利要求书5页 说明书32页

### (54) 发明名称

作为蛋白激酶抑制剂的苯并噁唑化合物及其制备方法和用途

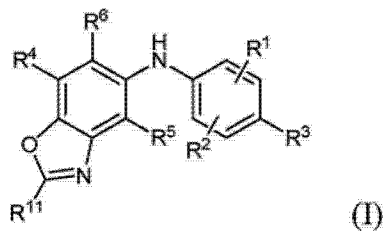
### (57) 摘要

本发明涉及式 (I) 的化合物及其药物学上可接受的盐、前药和溶剂化物, 其中  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$  和  $R^{11}$  如说明书中所定义。这类化合物是蛋白激酶抑制剂, 尤其是蛋白激酶抑制剂 Mek 抑制剂, 并且可用于治疗哺乳动物中癌症和炎症。本发明还公开了式 (I) 化合物的制备方法以及包含所述化合物的药物组合物。



(I)

## 1. 式 (I) 的化合物及其药学上可接受的盐



其中

$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^4$  和  $R^5$  各自独立地选自氢或卤素，

$R^3$  选自卤素、 $C_1$ - $C_6$  烷氧基、 $C_1$ - $C_6$  烷硫基、卤代  $-C_1$ - $C_6$  烷氧基、卤代  $-C_1$ - $C_6$  烷硫基、卤代  $C_1$ - $C_6$  烷基，

$R^6$  为  $-C(O)NR^8OR^7$ 、 $-C(O)NR^8R^7$  或  $-NHSO_2R^7$ ，

$R^7$  和  $R^8$  各自独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_3$ - $C_6$  环烷基、 $C_3$ - $C_6$  环烷基  $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷基  $C_3$ - $C_6$  环烷基，

其中所述  $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_3$ - $C_6$  环烷基、 $C_3$ - $C_6$  环烷基  $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷基  $C_3$ - $C_6$  环烷基可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：羟基、巯基，

$R^{11}$  为氢。

## 2. 权利要求 1 的式 (I) 化合物，及其药学上可接受的盐，其中

$R^1$  和  $R^2$  各自独立地选自氢或卤素，

$R^4$  选自氢，

$R^5$  选自氢或卤素，

$R^3$  为氟、氯、溴、碘、 $C_1$ - $C_4$  烷氧基、 $C_1$ - $C_4$  烷硫基、卤代  $-C_1$ - $C_4$  烷氧基、卤代  $-C_1$ - $C_4$  烷硫基、卤代  $C_1$ - $C_4$  烷基，

$R^6$  为  $-C(O)NR^8OR^7$ 、 $-C(O)NR^8R^7$  或  $-NHSO_2R^7$ ，

$R^7$  为未取代的或被 1 至 6 个羟基取代的  $C_1$ - $C_4$  烷基、 $C_3$ - $C_4$  环烷基、 $C_3$ - $C_4$  环烷基  $C_1$ - $C_4$  烷基或  $C_1$ - $C_4$  烷基  $C_3$ - $C_4$  环烷基，

$R^8$  为氢或  $C_1$ - $C_4$  烷基，

$R^{11}$  为氢。

## 3. 权利要求 1 的式 (I) 化合物，及其药学上可接受的盐，其中

$R^1$  和  $R^2$  各自独立地选自氢、氟、氯或溴，

$R^4$  选自氢，

$R^5$  选自氢、氟、氯或溴，

$R^3$  为溴、碘、 $C_1$ - $C_2$  烷硫基、卤代  $-C_1$ - $C_2$  烷硫基、 $C_1$ - $C_2$  烷氧基、卤代  $-C_1$ - $C_2$  烷氧基、卤代  $C_1$ - $C_2$  烷基，

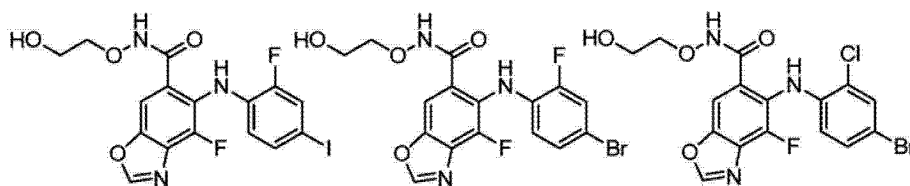
$R^6$  为  $-C(O)NR^8OR^7$  或  $-NHSO_2R^7$ ，

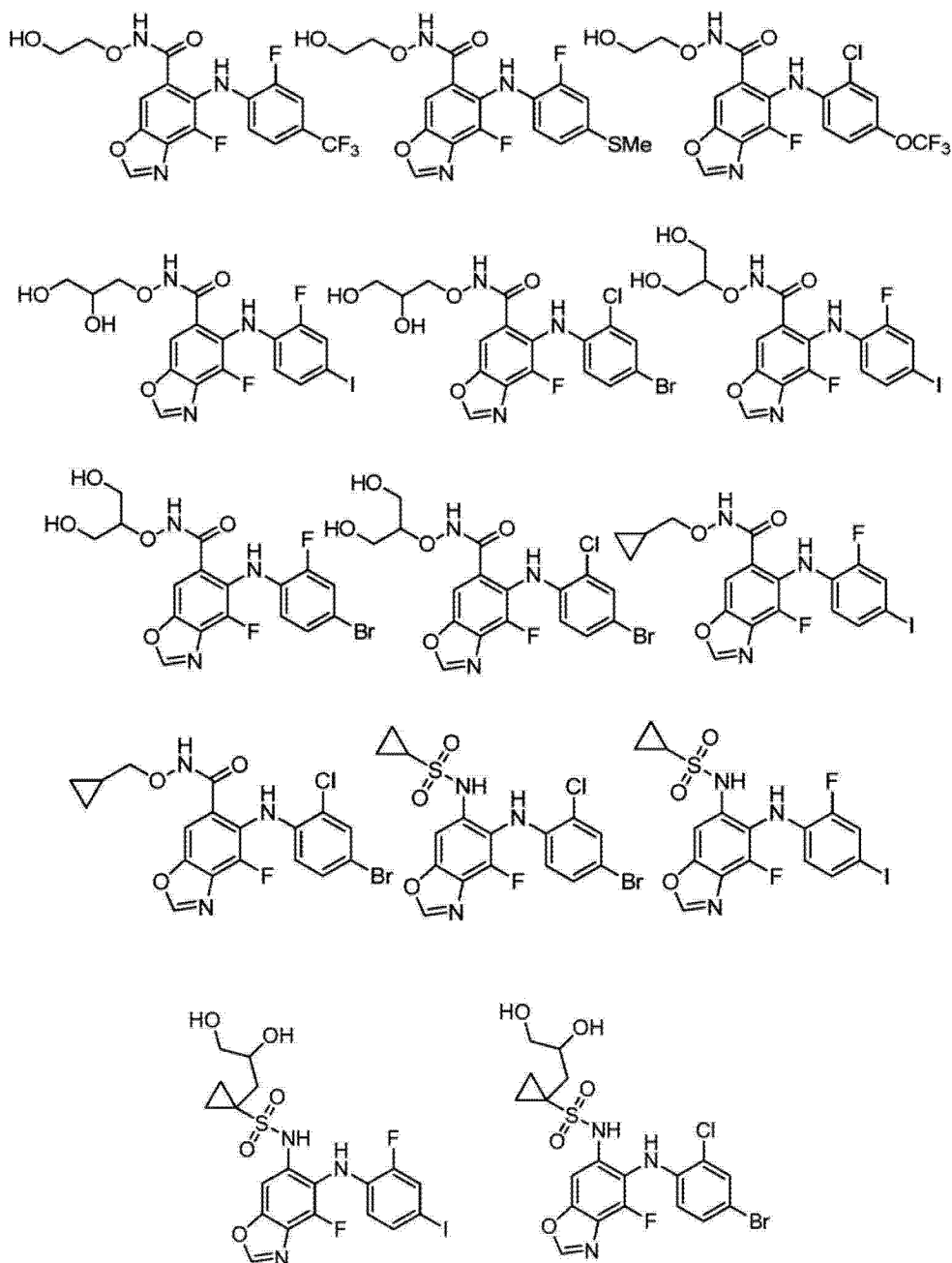
$R^7$  为未取代的或被 1 至 3 个羟基取代的  $C_1$ - $C_3$  烷基、 $C_3$ - $C_4$  环烷基、 $C_3$ - $C_4$  环烷基  $C_1$ - $C_3$  烷基或  $C_1$ - $C_3$  烷基  $C_3$ - $C_4$  环烷基，

$R^8$  为氢，

$R^{11}$  为氢。

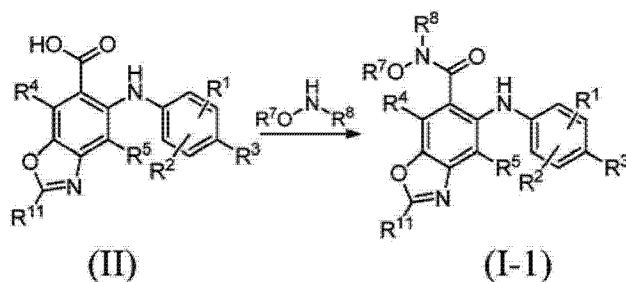
4. 权利要求 1 的式 (I) 化合物, 及其药学上可接受的盐, 其中  
 $R^1$  和  $R^2$  各自独立地代表氢、氟或氯,  
 $R^4$  代表氢,  
 $R^5$  代表氢、氟或氯,  
 $R^3$  为溴、碘、甲硫基、三氟甲硫基、甲氧基、三氟甲氧基、三氟甲基,  
 $R^6$  为  $-C(O)NHR^7$  或  $-NHSO_2R^7$ ,  
 $R^7$  为 2- 羟基乙基、2,3- 二羟基丙基、1- 羟基甲基-2- 羟基乙基、2- 甲基-3- 羟基丙基、  
 环丙基、环丙基甲基或 1-(2,3- 羟基丙基) 环丙基,  
 $R^{11}$  为氢。
5. 权利要求 1 的式 (I) 化合物, 及其药学上可接受的盐, 其中所述化合物选自:



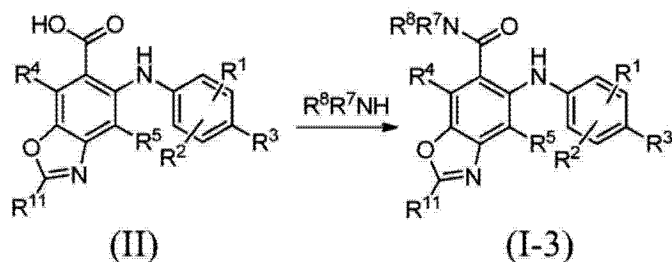


6. 权利要求 1 的式 (I) 化合物的制备方法, 包括:

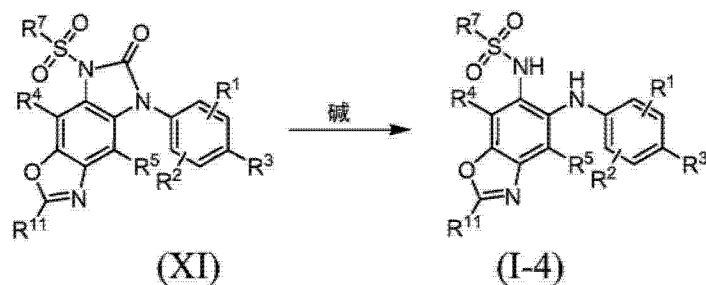
(A) 式 (I-1) 化合物通过在偶联剂的存在下, 使式 (II) 的中间体与结构式为  $R^7OR^8NH$  的羟胺反应而制备:



(C) 式 (I-3) 化合物通过使式 (II) 中间体与结构式为  $R^8R^7NH$  的胺在偶联剂存在下反应而制备:



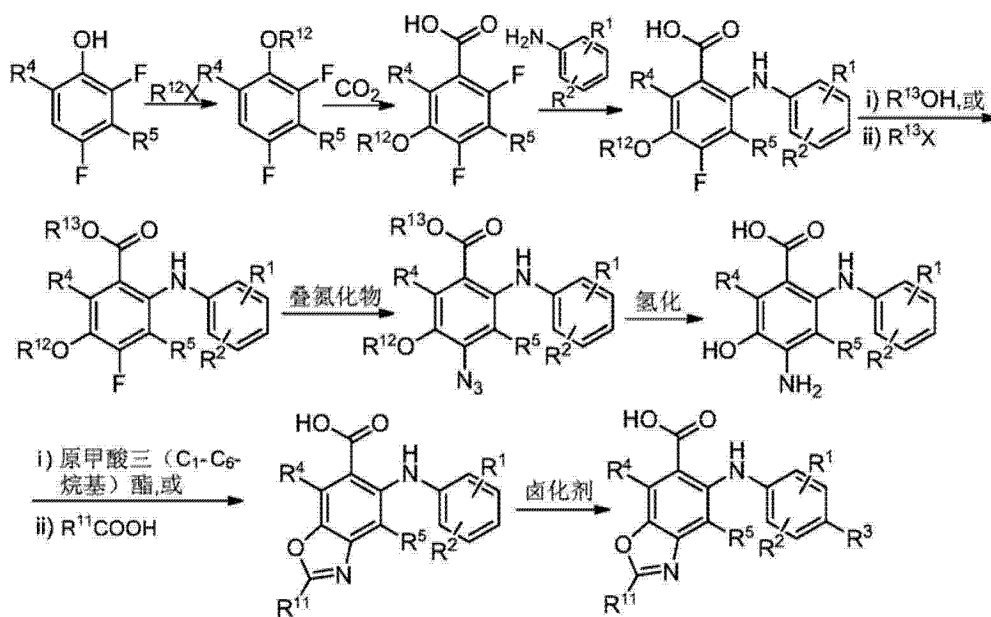
(D) 式 (I-4) 化合物通过使式 (XI) 中间体在碱的存在下反应而制备：



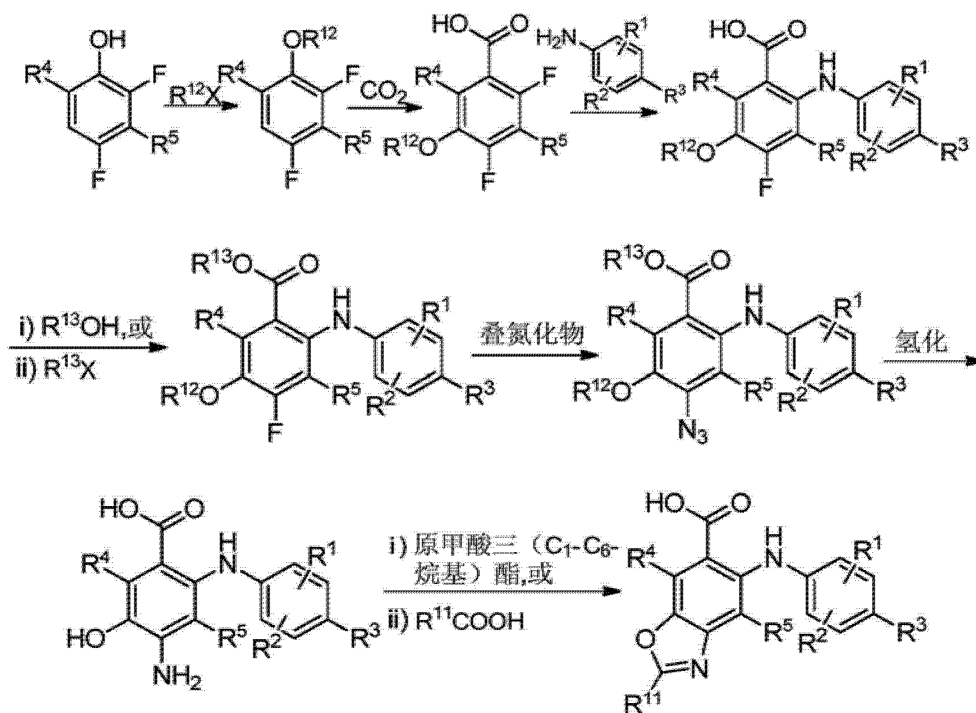
在上述制备过程中，

$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^{11}$  具有如权利要求 1 所述的定义。

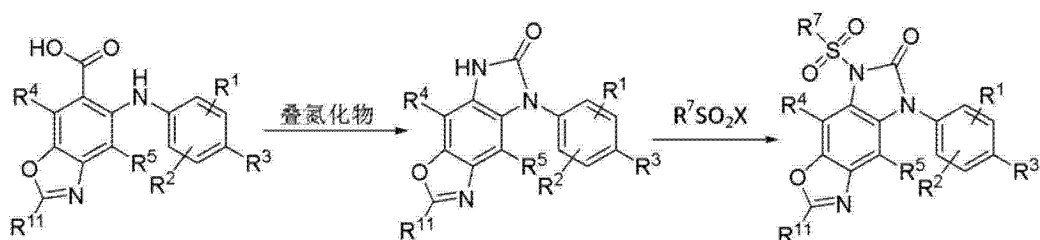
7. 权利要求 6 的制备方法，其中  $R^3$  为卤素的式 (II) 中间体通过以下步骤制备：



$R^3$  为非卤素的其他取代基的式 (II) 中间体通过以下步骤制备：



其中式 (XI) 中间体通过以下步骤制备：



其中

$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^{11}$  具有权利要求 1 所述的定义，

$R^{12}$  和  $R^{13}$  各自独立地选自苄基、被 1 至 3 个甲氧基取代的苄基、 $C_1$ - $C_5$  烷基和  $-\text{SiR}^{16}\text{R}^{17}\text{R}^{18}$ ，其中  $R^{16}$ 、 $R^{17}$  和  $R^{18}$  各自独立地选自  $C_1$ - $C_{10}$  烷基和  $C_6$ - $C_{14}$  芳基，且

X 代表氟、氯、溴或碘。

8. 一种包括式 (I) 化合物和 / 或其药学上可接受的盐的药用组合物。

9. 式 (I) 化合物及其药学上可接受的盐用于制造治疗哺乳动物的肿瘤、慢性炎症疾病、炎症性肠道疾病、皮肤病、糖尿病、眼部疾病、与哺乳动物的血管发生或血管再生相关的疾病、与慢性疼痛相关的疾病、和其它由 Mek 级联调制的疾病的药物的用途。

## 作为蛋白激酶抑制剂的苯并噁唑化合物及其制备方法和用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及蛋白激酶（尤其是蛋白激酶 Mek）抑制剂，更具体而言，涉及作为蛋白激酶（尤其是蛋白激酶 Mek）抑制剂的苯并噁唑化合物及其药学上可接受的盐、前药、溶剂化物、及包含这些物质的组合物，并且涉及所述苯并噁唑化合物的制备方法，还涉及所述苯并噁唑衍生物及其药学上可接受的盐、前药和溶剂化物作为蛋白激酶（尤其是蛋白激酶 Mek）抑制剂的用途。

### 背景技术

[0002] 通过生长因子和蛋白激酶控制的细胞信号转导在细胞的生长、增殖和分化起着重要的作用。在正常细胞的生长中，生长因子（如 PDGF 或 EGF 等）通过受体活化（如 ErbB2、EGFR、PDGFR 等）激活 MAP (Mitogen-activating protein) 激酶信号传导通道。Ras/Raf/Mek/Erk 信号传导机制是细胞生长最重要的途径之一。在增殖性疾病中，由于生长因子受体或其下游的蛋白激酶发生基因突变或过度表达，从而导致细胞的生长失去控制，最终导致癌症。例如在某些癌症中，由于基因突变，使得该信号传导机制被持续的活化，从而导致了一些生长因子的持续产生，最后导致了细胞的生长失去了控制，从而癌变。统计数据表明，50% 的结肠癌、90% 以上的胰腺癌是由于 Ras 基因突变导致的；60% 以上的恶性黑色素瘤是由于 bRaf 基因突变所导致的。研究表明，在多种癌症中均发现 Ras/Raf/Mek/Erk 信号传导机制被连续的活化或过度的活化，如胰腺癌、结肠癌、肺癌、膀胱癌、肾癌、皮肤癌、乳腺癌等等。

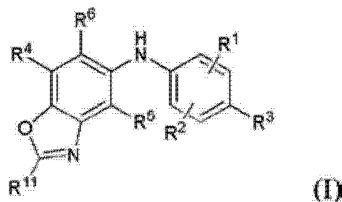
[0003] 由于该信号传导机制的过度活化在癌细胞的增殖和分化中起了重要作用，所以抑制该途径有助于对这类过度增殖性疾病的治疗。Mek 位于 Ras 和 Raf 的下游靶，在该途径中起着关键的作用，Mek 磷酸化的底物是 MAP 激酶 Erk。如果 Mek 被抑制，则 Ras/Raf/Mek/Erk 信号传导途径就会被关闭，从而癌细胞的增殖就会被抑制。因此，Mek 抑制剂可以抑制癌细胞的增长，尤其是对于 Ras 或 Raf 过度活化导致的癌症。与此同时 Mek 也涉及炎症类的疾病和症状，包括急性和慢性炎症。

[0004] Mek 抑制剂已经在裸鼠的药效学实验中显示了一定的药效。最近一些 Mek 抑制剂已经进入临床，并且也显示了一定的药效。因此 Mek 是潜在成药性的新靶标，正因如此，越来越多的 Mek 抑制剂正在被开发和报道出来。例如，WO 98/43960；WO 99/01421；WO 99/01426；WO 00/41505；WO00/42002；WO 00/41003；WO 00/41994；WO 00/42022；WO 00/42029；WO00/68201；WO 01/68619；WO 02/06213；WO 03/077914；WO 03/077855；WO 03/077914；WO 05/023251；WO 05/023759；WO 05/051300；WO05/051301；WO 05/051302；WO 05/051906；WO 05/000818；WO 05/007616；WO 05/009975；WO 05/046665；WO 06/134469；WO 07/044084；WO07/014011；WO 07/121269；WO 07/121481；WO 07/071951；WO 07/044515；WO 08/021389；WO 08/076415；WO 08/089459；WO 08/078086；WO08/120004；WO 08/124085；WO 08/125820；WO 09/018238；WO 09/074827；WO 09/013426；WO

09/093008 ;WO 09/093009 ;WO 09/093013 ;W009/153554 等等。

## 发明内容

[0005] 本发明的一个方面提供式 (I) 的化合物及其药学上可接受的盐、前药和溶剂化物  
[0006]



[0007] 其中

[0008] R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>4</sup> 和 R<sup>5</sup> 各自独立地选自氢、卤素、硝基、叠氮基、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷氧基、卤代 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷硫基、卤代 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷硫基、羧基、-OC(O)H、氨基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基；

[0009] R<sup>3</sup> 选自氢、卤素、氰基、硝基、叠氮基、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷氧基、卤代 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷氧基、巯基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷硫基、卤代 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷硫基、羧基、-OC(O)H、氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基；

[0010] R<sup>6</sup> 选自 -C(O)OR<sup>7</sup>、-C(O)NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-C(O)NR<sup>8</sup>OR<sup>7</sup>、-C(O)(C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基)、-C(O)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基)、-C(O)(C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub> 芳基)、NHSO<sub>2</sub>R<sup>7</sup>；

[0011] R<sup>7</sup> 和 R<sup>8</sup> 各自独立地选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基；

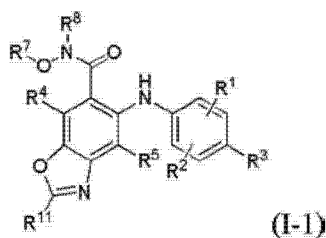
[0012] R<sup>11</sup> 选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基，

[0013] 其中所述 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> 炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 环烷基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：羟基、氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、氨基、羧基、巯基。

[0014] 依据取代基的不同，式 (I) 化合物可以旋光异构体或不同组成的异构体混合物形式存在，所述混合物如果合适可通过常规方式分离。本发明提供了纯异构体和异构体混合物，及其制备方法和用途，以及包括它们的组合物。为简便起见，下文将其称为式 (I) 化合物，其既指纯的旋光异构体，如果合适也指不同比例的异构体混合物。

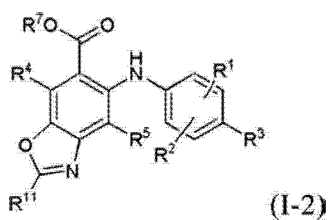
[0015] 当 R<sup>6</sup> 为 -C(O)NR<sup>8</sup>OR<sup>7</sup> 时，式 (I) 化合物具有以下 (I-1) 结构：

[0016]



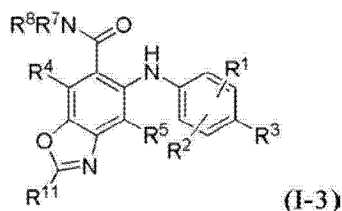
[0017] 当 R<sup>6</sup> 为 -C(O)OR<sup>7</sup> 时，式 (I) 化合物具有以下 (I-2) 结构

[0018]



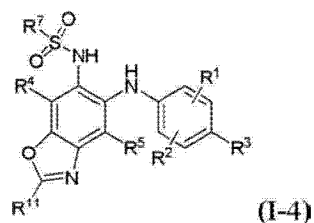
[0019] 当  $R^6$  为  $-C(=O)NR^7R^8$  时, 式 (I) 化合物具有以下 (I-3) 结构

[0020]



[0021] 当  $R^6$  为  $-NHSO_2R^7$  时, 式 (I) 化合物具有以下 (I-4) 结构 :

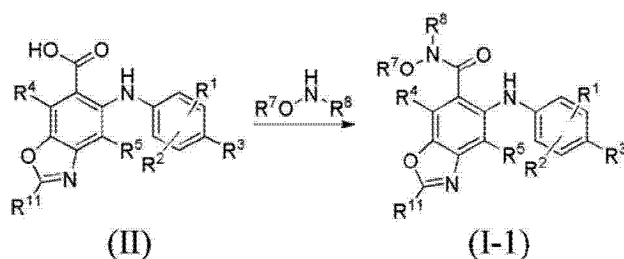
[0022]



[0023] 本发明的另一个方面提供式 (I) 化合物的制备方法 :

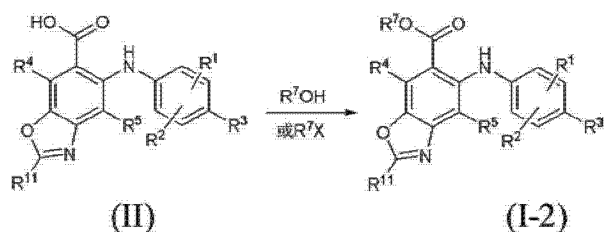
[0024] (A) 式 (I-1) 化合物通过在偶联剂的存在下, 使式 (II) 的中间体与结构式为  $R^7OR^8NH$  的羟胺反应而制备 :

[0025]



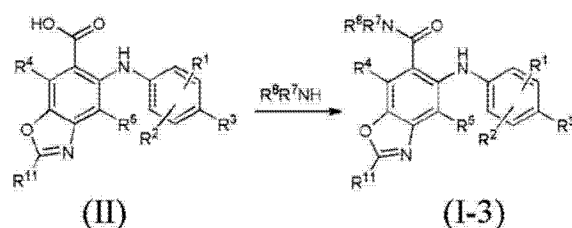
[0026] (B) 式 (I-2) 化合物通过使式 (II) 中间体与结构式为  $R^7OH$  的醇在偶联剂或  $R^7X$  的卤代物在碱的存在下反应而制备 :

[0027]



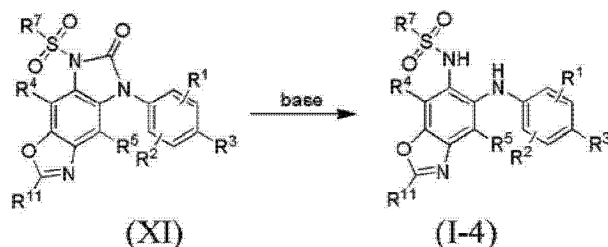
[0028] (C) 式 (I-3) 化合物通过使式 (II) 中间体与结构式为  $R^8R^7NH$  的胺在偶联剂存在下反应而制备 :

[0029]



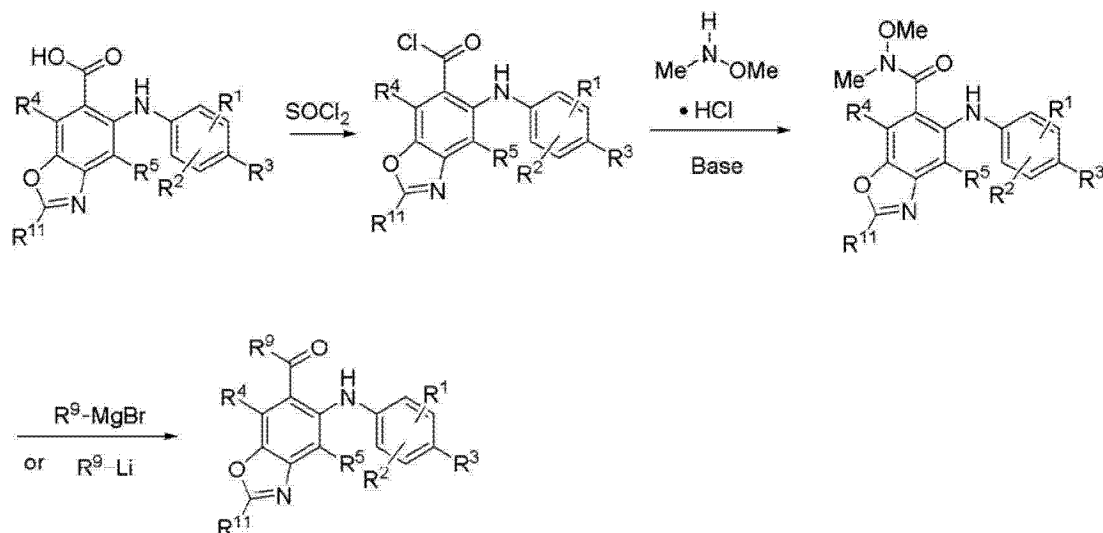
[0030] (D) 式 (I-4) 化合物通过使式 (XI) 中间体在碱的存在下反应而制备：

[0031]



[0032] (E)  $R^6$  为  $-C(=O)(C_3-C_{10} \text{ 环烷基})$ 、 $-C(=O)(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$  或  $-C(=O)(C_6-C_{14} \text{ 芳基})$  的式 (I) 化合物通过使式 (II) 中间体进行如下反应而制备：

[0033]



[0034] 其中

[0035]  $R^9$  为  $C_3-C_{10}$  环烷基、 $C_1-C_{10}$  烷基或  $C_6-C_{14}$  芳基；

[0036] 在上述制备过程中，

[0037]  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^{11}$  具有上述定义。

[0038] 本发明的又一个方面提供包含式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、前药和溶剂化物的药用组合物。

[0039] 本发明的再一个方面提供式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、前药和溶剂化物用于制造治疗哺乳动物的肿瘤、急性和慢性炎症疾病、炎症性肠道疾病、皮肤病、糖尿病、眼部疾病、与哺乳动物的血管发生或血管再生相关的疾病、与慢性疼痛相关的疾病、和其它由 Mek 级联调制的疾病的药物的用途。

## 具体实施方式

[0040] 如果没有另外指出，本文全文采用以下术语定义：

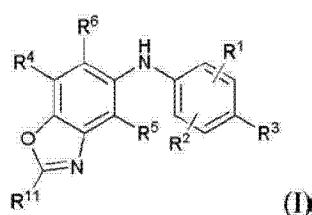
[0041] 术语“前药”是指可在生物体内转化为相应的活性药物化合物的任何衍生物。在一个实施方案中,当本发明的化合物含有羟基时,其前药可以是其与合适的酸形成的酯,所述酸包括例如乳酸、柠檬酸、抗坏血酸等。

[0042] 术语“药学上可接受的盐”,除非另有说明,包括可存在于本发明化合物中的酸性基团的盐(例如,但不限于,钾盐、钠盐、镁盐、钙盐等)或碱性基团的盐(例如,但不限于,硫酸盐、盐酸盐、磷酸盐、硝酸盐、碳酸盐等)。

[0043] 术语“溶剂化物”是指在溶液中,溶质分子或离子通过库伦力、范德瓦尔斯力、电荷传递力、氢键等分子间力吸引相邻的溶剂分子形成的复合分子化合物。在一个实施方案中,溶剂为水,即本发明化合物形成水合物。

[0044] 在本发明的一些实施方案中,提供式(I)的化合物及其药学上可接受的盐、前药和溶剂化物

[0045]



[0046] 其中

[0047] R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>各自独立地选自氢、卤素、硝基、叠氮基、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、卤代C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷硫基、卤代C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷硫基、羧基、-OC(O)H、氨基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基;

[0048] R<sup>3</sup>选自氢、卤素、氰基、硝基、叠氮基、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、卤代C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、巯基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷硫基、卤代C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷硫基、羧基、-OC(O)H、氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基;

[0049] R<sup>6</sup>选自-C(O)OR<sup>7</sup>、-C(O)NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-C(O)NR<sup>8</sup>OR<sup>7</sup>、-C(O)(C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基)、-C(O)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、-C(O)(C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基)、NHSO<sub>2</sub>R<sup>7</sup>;

[0050] R<sup>7</sup>和R<sup>8</sup>各自独立地选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基;

[0051] R<sup>11</sup>选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基,

[0052] 其中所述C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基部分可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代:羟基、氧代、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、叠氮基、氨基、羧基、巯基。

[0053] 上述通式化合物(I)及下述优选的式(I)化合物优选如下取代基或基团:

[0054] R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>优选各自独立地选自氢、卤素或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,

[0055] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>更优选各自独立地选自氢、卤素或C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基。

[0056] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>特别优选各自独立地选自氢、氟、氯、溴或C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>烷基。

[0057] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>尤其优选各自独立地代表氢、氟、氯或甲基。

[0058] R<sup>4</sup>更优选选自氢或C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基。

[0059] R<sup>4</sup>特别优选选自氢或C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>烷基。

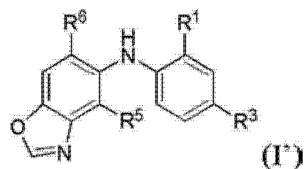
- [0060]  $R^4$  尤其优选代表氢。
- [0061]  $R^5$  更优选选自氢、卤素或  $C_1$ - $C_4$  烷基。
- [0062]  $R^5$  特别优选选自氢、氟、氯、溴或  $C_1$ - $C_2$  烷基。
- [0063]  $R^5$  尤其优选代表氢、氟、氯或甲基。
- [0064]  $R^3$  优选选自氢、卤素、 $C_1$ - $C_6$  烷氧基、 $C_1$ - $C_6$  烷基、卤代  $-C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷硫基、卤代  $-C_1$ - $C_6$  烷氧基、卤代  $-C_1$ - $C_6$  烷硫基。
- [0065]  $R^3$  更优选为氟、氯、溴、碘、 $C_1$ - $C_4$  烷基、卤代  $-C_1$ - $C_4$  烷基、 $C_1$ - $C_4$  烷氧基、 $C_1$ - $C_4$  烷硫基、卤代  $-C_1$ - $C_4$  烷氧基、卤代  $-C_1$ - $C_4$  烷硫基。
- [0066]  $R^3$  特别优选为溴、碘、 $C_1$ - $C_2$  烷硫基、卤代  $-C_1$ - $C_2$  烷硫基、 $C_1$ - $C_2$  烷氧基、卤代  $-C_1$ - $C_2$  烷氧基、 $C_1$ - $C_2$  烷基、卤代  $-C_1$ - $C_2$  烷基。
- [0067]  $R^3$  尤其优选为溴、碘、甲基、甲氧基、甲硫基、三氟甲基、三氟甲氧基、三氟甲硫基。
- [0068]  $R^6$  优选为  $-C(O)NR^8OR^7$ 、 $-C(O)NR^8R^7$  或  $-NHSO_2R^7$ ，
- [0069]  $R^7$  和  $R^8$  优选各自独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_3$ - $C_6$  环烷基、 $C_3$ - $C_6$  环烷基  $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷基  $C_3$ - $C_6$  环烷基；
- [0070] 其中所述  $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_3$ - $C_6$  环烷基、 $C_3$ - $C_6$  环烷基  $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷基  $C_3$ - $C_6$  环烷基可各自独立地被一个或多个选自以下的基团任选取代：羟基、巯基。
- [0071]  $R^6$  更优选为  $-C(O)NR^8OR^7$ 、 $-C(O)NR^8R^7$  或  $-NHSO_2R^7$ ；
- [0072]  $R^7$  更优选为未取代的或被 1 至 6 个羟基取代的  $C_1$ - $C_4$  烷基、 $C_3$ - $C_4$  环烷基、 $C_3$ - $C_4$  环烷基  $C_1$ - $C_4$  烷基或  $C_1$ - $C_4$  烷基  $C_3$ - $C_4$  环烷基。
- [0073]  $R^8$  更优选为氢或  $C_1$ - $C_4$  烷基。
- [0074]  $R^6$  特别优选为  $-C(O)NR^8OR^7$  或  $-NHSO_2R^7$ ；
- [0075]  $R^7$  特别优选为未取代的或被 1 至 3 个羟基取代的  $C_1$ - $C_3$  烷基、 $C_3$ - $C_4$  环烷基、 $C_3$ - $C_4$  环烷基  $C_1$ - $C_3$  烷基或  $C_1$ - $C_3$  烷基  $C_3$ - $C_4$  环烷基。
- [0076]  $R^8$  特别优选为氢。
- [0077]  $R^6$  尤其优选为  $-C(O)NHOR^7$  或  $-NHSO_2R^7$ ；
- [0078]  $R^7$  尤其优选为 2-羟基乙基、2,3-二羟基丙基、1-羟基甲基-2-羟基乙基、2-甲基-3-羟基丙基、环丙基、环丙基甲基或 1-(2,3-羟基丙基)环丙基。
- [0079]  $R^{11}$  优选为氢或  $C_1$ - $C_6$  烷基。
- [0080]  $R^{11}$  更优选为氢或  $C_1$ - $C_4$  烷基。
- [0081]  $R^{11}$  特别优选为氢或  $C_1$ - $C_2$  烷基。
- [0082]  $R^{11}$  尤其优选为氢。
- [0083] 上述通式 (I) 化合物和优选的式 (I) 化合物中的各基团可彼此组合，即，包括所述通式 (I) 化合物中非优选的，及不同优选级别的取代基和基团之间的组合。以上各种组合方式既适用于最终产物，并因此也适用于前体和中间体。
- [0084] 本发明优选包含上述优选取代基和基团及其组合的式 (I) 化合物。
- [0085] 本发明更优选包含上述更优选取代基和基团及其组合的式 (I) 化合物。
- [0086] 本发明特别优选包含上述特别优选取代基和基团及其组合的式 (I) 化合物。
- [0087] 本发明尤其优选包含上述尤其优选取代基和基团及其组合的式 (I) 化合物。
- [0088] 饱和或不饱和烃基，例如  $C_1$ - $C_{10}$  烷基、烷二基或烯基，包括与杂原子的结合，例如烷

氧基,均可以分别是直链或带有支链的。

[0089] 除非另有说明,任选取代的基团可以是单取代或多取代的,其中在多取代的情况下,取代基可以相同或不同。

[0090] 在一些优选实施方案中,可提出以下式(I')的化合物

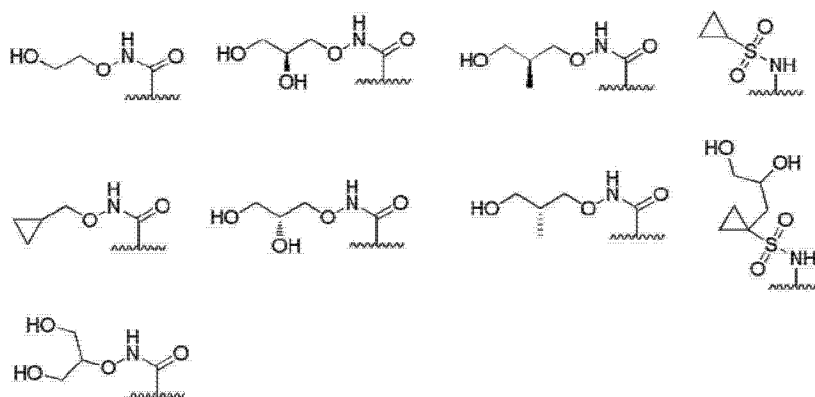
[0091]



[0092] 其中  $R^1$ 、 $R^3$ 、 $R^5$  和  $R^6$  分别具有上述针对式(I)所述的宽泛的、优选的、更优选的、特别优选的和尤其优选的定义。

[0093] 在一个更优选实施方案中,式(I')中的基团  $R^1$ 、 $R^3$  和  $R^5$  具有下表1中的定义,并且  $R^6$  可选自以下基团:

[0094]



[0095] 表1.  $R^1$ 、 $R^3$  和  $R^5$  的定义

[0096]

| $R^1$ | $R^3$            | $R^5$ | $R^1$ | $R^3$            | $R^5$ | $R^1$ | $R^3$            | $R^5$ |
|-------|------------------|-------|-------|------------------|-------|-------|------------------|-------|
| F     | Br               | F     | F     | Br               | Me    | F     | Br               | H     |
| F     | I                | F     | F     | I                | Me    | F     | I                | H     |
| F     | SMe              | F     | F     | SMe              | Me    | F     | SMe              | H     |
| F     | OCF <sub>3</sub> | F     | F     | OCF <sub>3</sub> | Me    | F     | OCF <sub>3</sub> | H     |
| F     | CF <sub>3</sub>  | F     | F     | CF <sub>3</sub>  | Me    | F     | CF <sub>3</sub>  | H     |
| Cl    | Br               | F     | Cl    | Br               | Me    | Cl    | Br               | H     |
| Cl    | I                | F     | Cl    | I                | Me    | Cl    | I                | H     |
| Cl    | SMe              | F     | Cl    | SMe              | Me    | Cl    | SMe              | H     |

|    |                  |   |    |                  |    |    |                  |   |
|----|------------------|---|----|------------------|----|----|------------------|---|
| Cl | OCF <sub>3</sub> | F | Cl | OCF <sub>3</sub> | Me | Cl | OCF <sub>3</sub> | H |
| Cl | CF <sub>3</sub>  | F | Cl | CF <sub>3</sub>  | Me | Cl | CF <sub>3</sub>  | H |
| Me | Br               | F | Me | Br               | Me | Me | Br               | H |
| Me | I                | F | Me | I                | Me | Me | I                | H |
| Me | SMe              | F | Me | SMe              | Me | Me | SMe              | H |
| Me | OCF <sub>3</sub> | F | Me | OCF <sub>3</sub> | Me | Me | OCF <sub>3</sub> | H |
| Me | CF <sub>3</sub>  | F | Me | CF <sub>3</sub>  | Me | Me | CF <sub>3</sub>  | H |

[0097] 合成

[0098] 有机反应中常用的合适溶剂均可在以下本发明制备方法的各步反应中使用,例如,但不限于脂肪族和芳香族的、任选烃或者卤化的烃(例如戊烷、己烷、庚烷、环己烷、石油醚、汽油、挥发油、苯、甲苯、二甲苯、二氯甲烷、二氯乙烷、氯仿、四氯化碳、氯苯和邻二氯苯)、脂肪族和芳香族的、任选的醇类(例如甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、叔丁醇、乙二醇等)、醚(例如乙醚和二丁醚,乙二醇二甲醚和二甘醇二甲醚、四氢呋喃和二噁烷等)、酯(例如乙酸甲酯或乙酸乙酯等)、腈(例如乙腈或丙腈等)、酮(例如丙酮、丁酮等)、酰胺(例如二甲基甲酰胺、二甲基乙酰胺和N-甲基吡咯烷酮等)、以及二甲基亚砜、四亚甲基砜和六甲基磷酰三胺和N,N-二甲基丙撑脘(DMPU)等。

[0099] 下述合成路线(一)至(四)中,

[0100] R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>11</sup> 具有上述定义,

[0101] R<sup>12</sup> 和 R<sup>13</sup> 各自独立地选自苄基、被1至3个甲氧基取代的苄基、C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基和-SiR<sup>16</sup>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>,其中R<sup>16</sup>、R<sup>17</sup>和R<sup>18</sup>各自独立地选自C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基和C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基,且

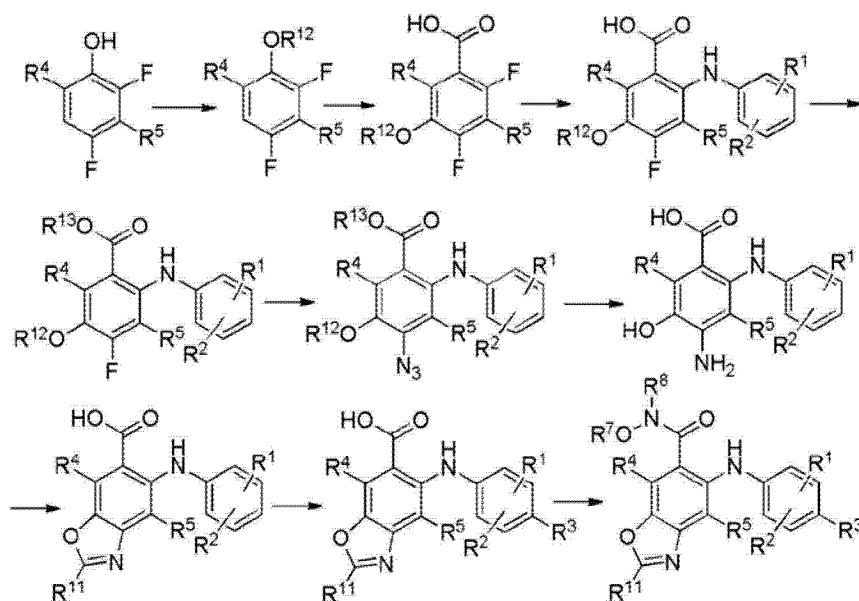
[0102] X代表氟、氯、溴或碘。

[0103] 合成路线(一):

[0104] (A)式(I-1)化合物通过以下合成路线(一)制得:

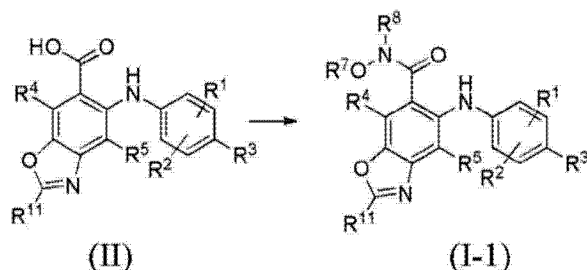
[0105] (A-1)当R<sup>3</sup>为卤素时,反应路线如下:

[0106]



[0107] 反应 1:

[0108]



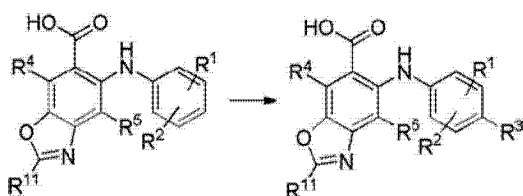
[0109] 式 (I-1) 化合物可通过在偶联剂的存在下,在常用的合适溶剂中,使式 (II) 的中间体与结构式为 R<sup>7</sup>OR<sup>8</sup>NH 的羟胺反应而制备。

[0110] 所述偶联剂为常用于此目的的偶联剂,例如,但不限于 1-羟基苯并三唑 (HOBt)、1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐 (EDCI)、2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (HATU)、O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸 (TBTU) 等。

[0111] 常用的合适溶剂如上述定义所示,优选二氯甲烷、二氯乙烷或 N,N-二甲基甲酰胺。

[0112] 反应 2:

[0113]



[0114] (III) (II)

[0115] 其中 R<sup>3</sup> 为卤素时的式 (II) 化合物可通过在卤化剂的存在下,在酸的存在下,在常用的合适溶剂中,使式 (III) 化合物反应而制备。

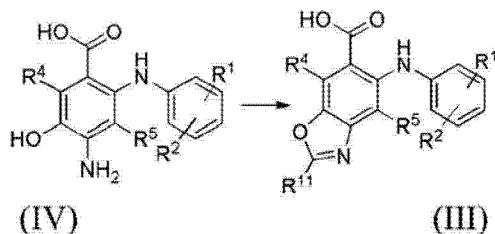
[0116] 所述卤化剂是常用于此目的的卤化剂,例如,但不限于 NBS (N-溴代丁二酰亚胺), NIS (N-碘代丁二酰亚胺), NCS (N-氯代丁二酰亚胺) 等。

[0117] 所述酸为常用于此目的酸,例如,但不限于三氟乙酸、三氟甲磺酸、甲基磺酸、甲酸、乙酸等。

[0118] 常用的合适溶剂如上述定义所示,优选二氯甲烷,三氯甲烷, N, N- 二甲基甲酰胺, N, N- 二甲基乙酰胺。

[0119] 反应 3:

[0120]



[0121] 其中  $R^{11}$  为氢的式 (III) 化合物可通过在合适的酸和原甲酸三 ( $C_1-C_6$ - 烷基) 酯的存在下,任选地在常用的合适溶剂中,使式 (IV) 化合物环化而制备。

[0122] 所述酸为常用于此目的酸,例如,但不限于对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶盐、甲磺酸,苯甲磺酸等。

[0123] 所述原甲酸三 ( $C_1-C_6$ - 烷基) 酯,例如,但不限于原甲酸三甲酯、原甲酸三乙酯等。

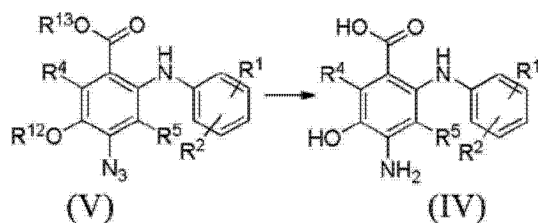
[0124] 常用的合适溶剂如上述定义所示,优选甲醇,二氯甲烷、氯仿、二甲基亚砷或 N, N- 二甲基甲酰胺。

[0125] 其中  $R^{11}$  不为氢的式 (III) 化合物可通过在催化剂的存在下,任选地在常用的合适溶剂中,使式 (IV) 化合物与  $R^{11}COOH$  的取代羧酸环化而制备。

[0126] 所述催化剂为常用于此目的的催化剂,例如,但不限于多聚磷酸。

[0127] 反应 4:

[0128]



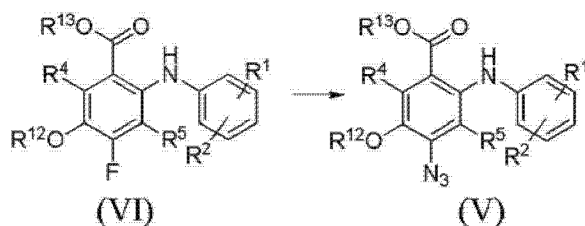
[0129] 式 (IV) 化合物可通过在催化剂的存在下,在常用的合适溶剂中,使式 (V) 化合物氢化而制备。

[0130] 所述氢化催化剂为常用于此目的的催化剂,例如,但不限于钨碳、铂、镍等。

[0131] 常用的合适溶剂如上述定义所示,优选甲醇,乙醇、四氢呋喃。

[0132] 反应 5:

[0133]



[0134] 式 (V) 化合物可通过,在常用的合适溶剂中,使式 (VI) 化合物与叠氮化物反应而

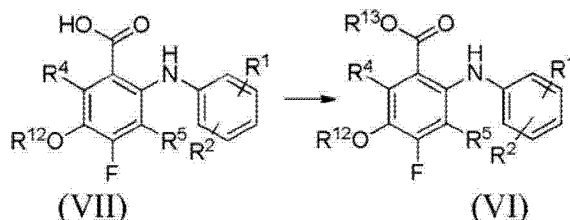
制备。

[0135] 所述叠氮化物为常用于此目的的叠氮化物,优选碱金属叠氮化物,例如,但不限于叠氮化钠、叠氮化钾等。

[0136] 常用的合适溶剂如上述定义所示,优选二甲基亚砜, N, N- 二甲基甲酰胺, N, N- 二甲基乙酰胺。

[0137] 反应 6:

[0138]



[0139] 式 (VI) 化合物可通过使式 (VII) 化合物,在常用的合适溶剂中,在酸或者碱的存在下,与结构式为  $R^{13}OH$  的醇或结构式为  $R^{13}X$  ( $X$  优选溴) 的卤化物反应而制备。

[0140] 当使用结构式为  $R^{13}OH$  的醇时,所述酸为常用于此目的酸,例如,但不限于硫酸,对甲基苯磺酸、对甲基苯磺酸吡啶盐、三氟乙酸等。

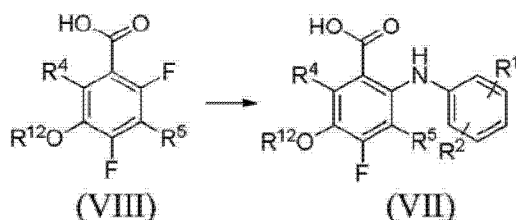
[0141] 常用的合适溶剂如上述定义所示,优选苄醇,甲醇、乙醇、丙醇、丁醇等。

[0142] 当使用结构式为  $R^{13}X$  的卤化物时,所述碱为常用于此目的的碱,例如,但不限于碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾、叔丁醇钠、叔丁醇钾等。

[0143] 常用的合适溶剂如上述定义所示,优选 N, N- 二甲基甲酰胺, N, N- 二甲基乙酰胺。

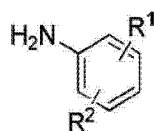
[0144] 反应 7:

[0145]



[0146] 式 (VII) 化合物可通过在常用的合适溶剂中,使式 (VIII) 化合物在强碱的存在下,与下式的化合物反应而制备。

[0147]

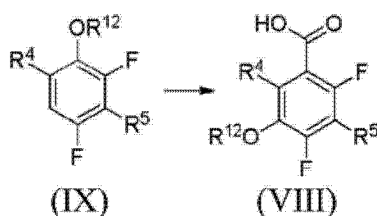


[0148] 所述的强碱为常用于此目的的强碱,例如,但不限于二异丙基胺锂、正丁基锂、六甲基二硅基胺基锂等。

[0149] 常用的合适溶剂如上述定义所示,优选四氢呋喃。

[0150] 反应 8:

[0151]



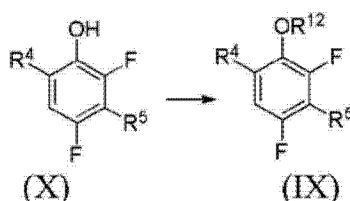
[0152] 式 (VIII) 化合物可通过使式 (IX) 化合物在强碱存在下, 在常用的合适溶剂中与  $\text{CO}_2$  反应而制备。

[0153] 所述的强碱为常用于此目的的强碱, 例如, 但不限于二异丙基胺锂、正丁基锂、六甲基二硅基胺基锂等。

[0154] 常用的合适溶剂如上述定义所示, 优选四氢呋喃。

[0155] 反应 9:

[0156]



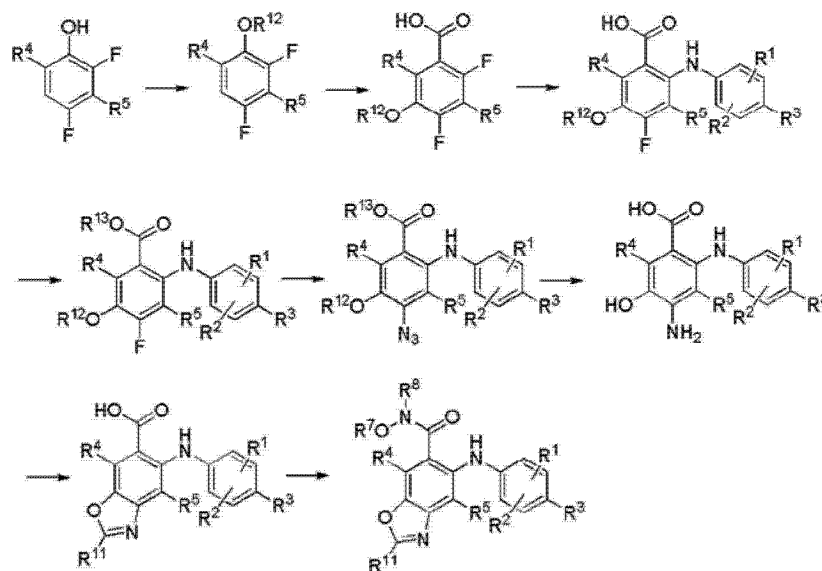
[0157] 式 (IX) 化合物可通过使式 (X) 化合物在碱存在下, 在常用的合适溶剂中, 与  $\text{R}^{12}\text{X}$  (X 优选代表溴) 反应而制备。

[0158] 所述碱为常用于此目的的碱, 例如, 但不限于碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾、叔丁醇钠、叔丁醇钾等。

[0159] 常用的合适溶剂如上述定义所示, 优选四氢呋喃、二甲基甲酰胺、丙酮等。

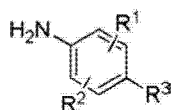
[0160] (A-2) 当  $\text{R}^3$  为非卤素的其他取代基团时, 反应路线如下:

[0161]



[0162] 如上所示, 当  $\text{R}^3$  为非卤素的其它基团时的式 (I-1) 化合物的制备路线 (A-2) 与当  $\text{R}^3$  为卤素时的式 (I-1) 化合物的制备路线 (A-1) 基本相同, 区别在于在上述反应 7 中使用下式的苯胺,

[0163]

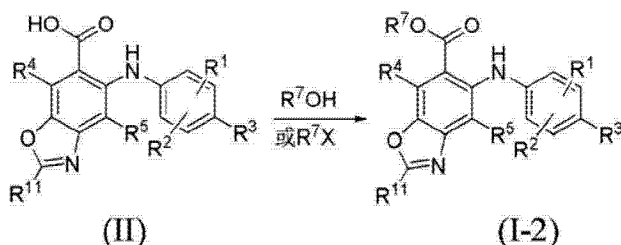


[0164] 并相应地省略上述反应 2。

[0165] 合成路线 (二)：

[0166] (B) 式 (I-2) 化合物通过以下合成路线 (二) 制得：

[0167]



[0168] 式 (I-2) 化合物可通过使式 (II) 中间体, 在常用的合适溶剂中, 与结构式为  $R^7OH$  的醇在偶联剂或  $R^7X$  的卤化物在碱的存在下反应而制备。

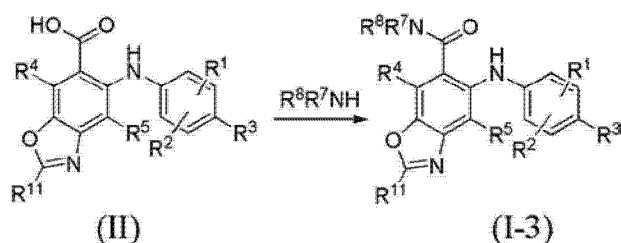
[0169] 所述偶联剂为常用于此目的的偶联剂, 例如, 但不限于 1-羟基苯并三唑 (HOBt)、1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (EDCI)、2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯 (HATU)、O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脒四氟硼酸 (TBTU) 等。

[0170] 常用的合适溶剂如上述定义所示, 优选二氯甲烷、四氢呋喃或者氯仿。

[0171] 合成路线 (三)：

[0172] (C) 式 (I-3) 化合物通过以下合成路线 (三) 制得：

[0173]



[0174] 式 (I-3) 化合物可通过使式 (II) 中间体, 在常用的合适溶剂中, 与结构式为  $R^8R^7NH$  的胺在偶联剂存在下反应而制备。

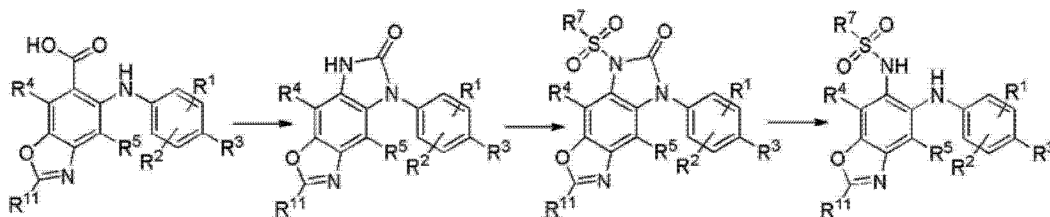
[0175] 所述偶联剂为常用于此目的的偶联剂, 例如, 但不限于 1-羟基苯并三唑 (HOBt)、1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (EDCI)、2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯 (HATU)、O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脒四氟硼酸 (TBTU) 等。

[0176] 常用的合适溶剂如上述定义所示, 优选二氯甲烷或者氯仿。

[0177] 合成路线 (四)：

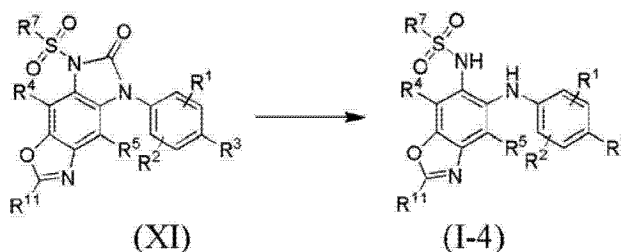
[0178] (D) 式 (I-4) 化合物通过以下合成路线 (四) 制得：

[0179]



[0180] 反应 1:

[0181]



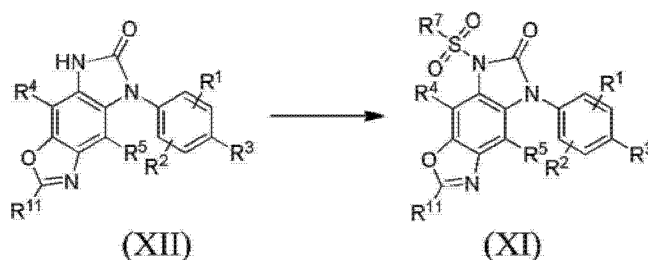
[0182] 式 (I-4) 化合物可通过使式 (XI) 化合物在碱的存在下, 在常用的合适溶剂中反应而制备。

[0183] 所述碱为常用于此目的的碱, 例如, 但不限于无机碱, 如碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾、叔丁醇钠、叔丁醇钾; 有机碱, 如二乙胺、三乙胺、吡啶、三甲基硅醇钾等。优选三甲基硅醇钾。

[0184] 常用的合适溶剂如上述定义所示, 优选四氢呋喃、二氯甲烷。

[0185] 反应 2:

[0186]



[0187] 式 (XI) 化合物可通过式 (XII) 化合物在常用的合适溶剂中, 在碱的存在下, 在催化剂的存在下, 与结构式为  $R^7SO_2X$  (其中 X 可为氟、氯、溴、碘) 的磺酰卤化物反应而制备。

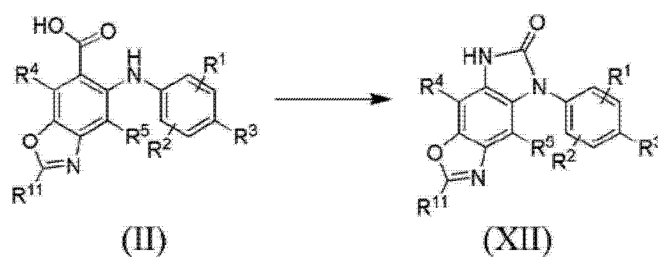
[0188] 所述碱为常用于此目的的碱, 例如, 但不限于, 无机碱, 如碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾、叔丁醇钠、叔丁醇钾; 和有机碱, 如二乙胺、三乙胺、吡啶等。优选有机碱, 更优选三乙胺。

[0189] 所述催化剂为常用于此目的的催化剂, 例如, 但不限于 4-二甲氨基吡啶 (DMAP)

[0190] 常用的合适溶剂如上述定义所示, 优选四氢呋喃、二氯甲烷或者氯仿。

[0191] 反应 3:

[0192]



[0193] 所述式 (XII) 化合物可通过使式 (II) 中间体在碱的存在下, 在常用的合适溶剂中, 与叠氮化物反应而制备。

[0194] 所述碱为常用于此目的的碱, 例如, 但不限于无机碱, 如碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾、叔丁醇钠、叔丁醇钾; 和有机碱, 如二乙胺、三乙胺、吡啶等。优选三乙胺。

[0195] 所述叠氮化物为叠氮磷酸二苯酯 (DPPA) 或氯甲酸乙酯和叠氮化钠, 优选为叠氮磷酸二苯酯 (DPPA)。

[0196] 常用的合适溶剂如上述定义所示, 优选叔丁醇。

[0197] 在上述合成路线 (一) 至 (四) 中,  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^{11}$  优选、更优选、特别优选、尤其优选具有以上针对化合物 (I) 所述的优选、更优选、特别优选、尤其优选的基团定义。

[0198]  $R^{12}$  和  $R^{13}$  优选各自独立地选自苄基、被 1 至 3 个甲氧基取代的苄基、 $C_1$ - $C_4$  烷基和  $-\text{SiR}^{16}\text{R}^{17}\text{R}^{18}$ , 其中  $R^{16}$ 、 $R^{17}$  和  $R^{18}$  各自独立地选自  $C_1$ - $C_6$  烷基和  $C_6$ - $C_{10}$  芳基。

[0199]  $R^{12}$  和  $R^{13}$  更优选各自独立地选自苄基、被 1 至 2 个甲氧基取代的苄基、 $C_1$ - $C_4$  烷基、二甲基叔丁基硅基、三苯基硅基、三甲基硅基、三乙基硅基、三丙基硅基和三异丙基硅基。

[0200]  $R^{12}$  和  $R^{13}$  特别优选各自独立地选自苄基、邻-、间-或对-甲氧基苄基和  $C_1$ - $C_2$  烷基。

[0201]  $R^{12}$  和  $R^{13}$  尤其优选各自独立地选自苄基、对-甲氧基苄基和甲基。

#### [0202] 用途

[0203] 本发明的化合物可用于治疗以下疾病, 例如: 肿瘤 (tumor), 例如: 血管瘤 (hemangioma)、胶质瘤 (glioma)、黑色素瘤 (melanoma)、Kaposi's 肉瘤 (sarcoma) 和卵巢癌 (ovarian cancer)、乳腺癌 (breast cancer)、肺癌 (lung cancer)、胰腺癌 (pancreatic cancer)、前列腺癌 (prostate cancer)、结肠癌 (colon cancer)、乳腺癌 (breast cancer) 和其它肠胃癌等等; 慢性炎症性疾病 (chronic inflammatory disease), 例如类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis)、与哺乳动物的血管发生 (vasculogenesis) 或血管再生术 (angiogenesis) 相关的疾病; 动脉粥样硬化 (atherosclerosis)、炎症性肠道疾病 (inflammatory bowel disease); 皮肤病, 例如银屑病 (psoriasis)、excema 和硬皮病 (sceroderma)、糖尿病、糖尿病性视网膜病变 (diabetic retinopathy)、早产儿视网膜病变 (retinopathy of prematurity)、年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration); 与慢性疼痛相关的疾病, 包括神经痛以及由 MEK 级联调制的疾病, 例如术后疼痛、假性肢痛 (phantom limb pain)、烧伤疼痛 (burn pain)、痛风 (gout)、三叉神经痛 (trigeminal neuralgia)、急性肝痛 (acute herpetic) 和肝后疼痛 (postherpetic pain)、灼痛 (causalgia)、糖尿病性神经病 (diabetic neuropathy)、plexus avulsion、神经瘤 (neuroma)、血管炎 (vasculitis)、挤压伤 (crush injury)、缢伤 (constriction injury)、组织损伤 (tissue injury)、术后疼痛 (post-surgical pain)、关节痛 (arthritis pain)

或截肢 (limb amputation) 痛等。

[0204] 1. 剂量

[0205] 本领域技术人员可根据已知的方法并考虑年龄、体重、健康状况、治疗的疾病类型和其他药物的存在等因素确定用于患者的剂量。一般而言,有效量为每天 0.1 至 1000mg/kg 体重,优选每天 1 至 300mg/kg 体重。对于正常体重的成年受试者而言,日剂量通常为 10 至 2500 毫克。市售可得的 100mg、200mg、300mg 或 400mg 的制剂可根据公开的方法给药。

[0206] 2. 制剂

[0207] 本发明的化合物可通过任何合适的给药途径给药,包括系统性给药和局部给药。系统性给药包括:口服、肠胃外给药、透皮给药或直肠给药;或吸入给药。肠胃外给药表示除肠内给药或透皮给药以外的给药途径,并且通常通过注射或输注而给药。肠胃外给药包括静脉内给药、肌内给药、和皮下注射或输注。局部给药包括施用于皮肤以及眼内给药、眼部给药、阴道内给药和鼻内给药。

[0208] 可将本发明的化合物和一种或多种药用可接受的赋形剂配制成适于通过所需的给药途径对患者给药的剂型,例如片剂、胶囊剂、丸剂、含片、粉剂、糖浆剂、酏剂、悬浮剂、溶液剂、乳剂和袋装剂 (sachet) 等。

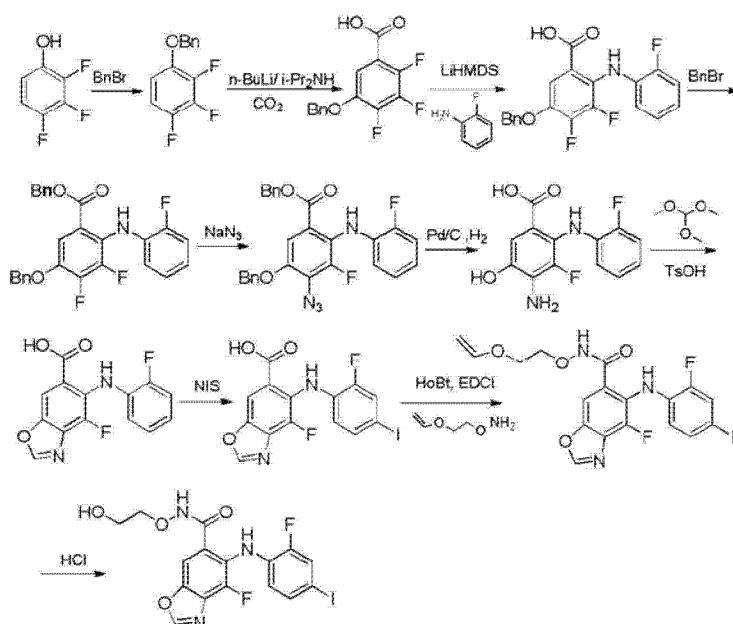
[0209] 合适的药用可接受的赋形剂将根据所选的具体剂型改变而改变。它们包括粘合剂、润滑剂、助流剂、崩解剂、成粒剂、包衣剂、润湿剂、溶剂、共溶剂、悬浮剂、调味剂、味道掩蔽剂、抗结块剂、稀释剂、螯合剂、增塑剂、粘度调节剂、抗氧化剂、防腐剂、稳定剂、表面活性剂、乳化剂和缓冲剂。

[0210] 本发明的药用组合物用本领域技术人员已知的技术和方法制备。

[0211] 合成实施例:

[0212] 实施例 1:4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-羟基-乙氧基)-酰胺的合成

[0213]



[0214] 步骤 1:1-苄氧基-2,3,4-三氟苯的合成

[0215] 将 2,3,4-三氟苯酚 (13.64g, 92.10mmol) 溶解于丙酮 (300ml) 中, 然后加入碳酸

钠 (19.50g, 183.96mmol), 搅拌下将苄基溴 (17.31g, 101.21mmol) 滴加至混合液中, 50℃加热回流反应 24 小时, 反应结束后, 冷却至室温, 将丙酮减压蒸除, 加水 (300ml) 溶解, 乙酸乙酯萃取 (100ml×2), 合并有机相, 依次用 5% 氢氧化钠溶液 (100ml) 和饱和食盐水 (100ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到浅黄色固体 (19.89g, 90.7%) :  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.40 (5H, m), 6.85 (1H, m), 6.64 (1H, m), 5.15 (2H, s).

[0216] 步骤 2 : 5- 苄氧基 -2, 3, 4- 三氟苯甲酸的合成

[0217] 将二异丙胺 (10.14g, 100.20mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (100ml) 中, 氮气保护, 降温至 -78℃, 然后滴加正丁基锂 (40.08ml, 2.5M 正己烷溶液, 100.20mmol), 78℃下搅拌反应 1 小时, 再滴加 1- 苄氧基 -2, 3, 4- 三氟苯 (19.89g, 83.50mmol) 的无水四氢呋喃 (120ml) 溶液, 滴加完毕, 反应液在 -78℃下搅拌反应 1 小时, 然后将反应液减压抽至装有干冰的反应瓶中, 反应混合物在室温下搅拌反应过夜。反应结束后, 反应液用 10% HCl 淬灭, 并调节 pH 至 1-2, 乙酸乙酯萃取 (100ml×3), 合并有机相, 依次用水 (100ml) 及饱和食盐水 (100ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到白色固体 (19.33g, 82.0%) :  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.42 (6H, m), 5.14 (2H, s).

[0218] 步骤 3 : 5- 苄氧基 -3, 4- 二氟 -2- (2- 氟苯基氨基) 苯甲酸的合成

[0219] 在 -78℃下将邻氟苯胺 (15.23g, 137.00mmol) 和 5- 苄氧基 -2, 3, 4- 三氟苯甲酸 (19.33g, 68.50mmol) 溶于四氢呋喃中 (120ml), 氮气保护下滴加六甲基二硅基胺基锂 (205.5ml, 1M 四氢呋喃溶液, 205.50mmol), 滴加完毕, 反应液逐渐升至室温, 搅拌反应过夜。反应液加水 (100ml) 淬灭, 并用 10% 盐酸调节 pH 至 2-3, 乙酸乙酯萃取 (3x 100ml), 合并有机相, 依次用水 (100ml) 和饱和食盐水 (100ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得淡黄色固体 (19.17g, 75.0%) :  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}$ )  $\delta$  13.76 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.61 (dd,  $J$  = 8.8, 1.7Hz, 1H), 7.44 (m, 5H), 7.20 (m, 1H), 7.05 (m, 1H), 6.90 (m, 2H), 5.26 (s, 2H).

[0220] 步骤 4 : 2- (2- 氟苯基氨基) -5- 苄氧基 -3, 4- 二氟苯甲酸苄酯的合成

[0221] 将 5- 苄氧基 -3, 4- 二氟 -2- (2- 氟苯基氨基) 苯甲酸 (19.17g, 51.35mmol) 溶解于 N, N- 二甲基甲酰胺 (150ml) 中, 然后搅拌下加入碳酸氢钾 (6.16g, 61.62mmol) 和苄基溴 (6.2ml, 51.41mmol)。室温下搅拌反应 5 小时, 反应结束后, 加水 (300ml), 乙酸乙酯萃取 (3x 100ml), 合并有机相, 有机相依次用水 (100ml), 饱和食盐水 (100ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚 : 乙酸乙酯 = 50 : 1, V/V), 得白色固体 (21.42g, 90.0%) :  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.51 (s, 1H), 7.51 (dd,  $J$  = 8.5, 2.1Hz, 1H), 7.41 (m, 10H), 7.09 (m, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 5.33 (s, 2H), 5.15 (s, 2H).

[0222] 步骤 5 : 2- (2- 氟苯基氨基) -4- 叠氮 -5- 苄氧基 -3- 氟苯甲酸苄酯的合成

[0223] 将 2- (2- 氟苯基氨基) -5- 苄氧基 -3, 4- 二氟苯甲酸苄酯 (21.42g, 46.22mmol) 溶解于 N, N- 二甲基乙酰胺 (150ml) 中, 然后加入叠氮化钠固体 (3.61g, 55.46mmol), 反应混合物在 90℃搅拌反应 3 小时。反应结束后, 反应液用水 (300ml), 乙酸乙酯萃取 (3x 100ml), 合并有机相, 有机相依次用水 (100ml) 和饱和食盐水 (100ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚 : 乙酸乙酯 = 50 : 1, V/V), 得淡黄色固体 (14.63g, 65.1%) :  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.45 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.39 (m, 10H), 7.07 (m, 1H), 7.04 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.83 (m, 1H), 5.31 (s, 2H), 5.13 (s, 2H).

[0224] 步骤6:2-(2-氟苯基氨基)-4-氨基-3-氟-5-羟基苯甲酸的合成

[0225] 将2-(2-氟苯基氨基)-4-叠氮-5-苄氧基-3-氟苯甲酸苄酯(14.63g,30.07mmol)溶解于甲醇(200ml)中,然后在氮气的氛围下,加入无水10%钨碳催化剂(2.55g),然后用氢气置换氮气三次,反应混合物在室温下反应3小时。反应结束后,将钨碳催化剂滤去,减压浓缩得类白色固体,产物不经纯化直接进行下步反应。

[0226] 步骤7:4-氟-5-(2-氟苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸的合成

[0227] 将2-(2-氟苯基氨基)-4-氨基-3-氟-5-羟基苯甲酸(7.58g,27.05mmol)溶解于原甲酸三甲酯(50ml)中,然后加入对甲苯磺酸(0.23g,1.35mmol)。反应液搅拌反应1小时,反应结束后,反应液加水(200ml),析出大量固体,过滤,滤饼用水洗涤,干燥得黄色产物(7.22g,两步82.7%):<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.28(s,1H),8.27(s,1H),8.24(s,1H),7.14(m,1H),7.05(m,2H),6.86(m,1H)。

[0228] 步骤8:4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸的合成

[0229] 将4-氟-5-(2-氟苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(7.22g,24.88mmol)溶解于N,N-二甲基甲酰胺(50ml),然后加入NIS(6.08g,26.37mmol)和三氟乙酸(1.0ml),反应液在室温下搅拌反应5小时,反应结束后,用饱和氯化铵水溶液淬灭反应,反应混合物用乙酸乙酯萃取(3x 150ml),合并有机相,有机相依次用水(100ml),饱和食盐水(100ml)洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂为二氯甲烷:甲醇=50:1,V/V),得到棕色固体(6.34g,61.2%):<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO) δ 8.97(s,1H),8.18(s,1H),7.58(dd, J = 11.0,1.7Hz,1H),7.34(d, J = 8.5Hz,1H),6.55(m,1H)。

[0230] 步骤9:4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-乙烯氧基-乙氧基)-酰胺的合成

[0231] 在室温下将4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(500mg,1.20mmol),溶于二氯甲烷(10ml)中,加入HOBt(254mg,1.63mmol)和EDCI(314mg,1.63mmol),搅拌1小时后,再加入O-(2-乙烯氧基-乙基)羟胺(172mg,1.62mmol),室温搅拌4小时。反应结束后,加入饱和氯化铵溶液,二氯甲烷萃取(30ml x 3),有机相依次用水(30ml),饱和食盐水(30ml)洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂为二氯甲烷:甲醇=100:1,V/V),得白色固体(450mg,74.8%):<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO) δ 11.82(s,1H),8.96(s,1H),8.01(s,1H),7.88(s,1H),7.53(d, J = 10.8Hz,1H),7.28(d, J = 8.1Hz,1H),6.50(dd, J = 13.9,6.6Hz,1H),6.40(d, J = 6.0Hz,1H),4.18(d, J = 14.5Hz,1H),3.99(m,3H),3.83(s,2H)。

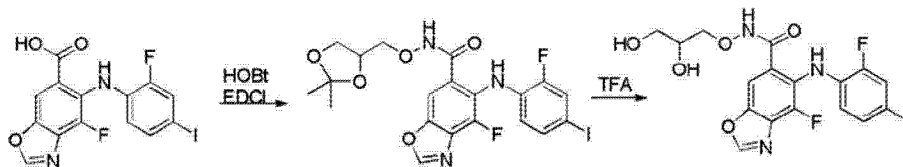
[0232] 步骤10:4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-羟基-乙氧基)-酰胺的合成

[0233] 室温下将4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-乙烯氧基-乙氧基)-酰胺(450mg,0.90mmol)溶解于二氯甲烷(10ml)中,然后滴加1N的盐酸溶液(6.7ml,6.72mmol),反应搅拌反应1小时,反应结束后,用饱和碳酸氢钠溶液洗涤有机相,二氯甲烷(10ml x 2)萃取,合并有机相,有机相依次用水(10ml),饱和食盐水(10ml)洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂为二氯甲烷:甲醇=50:1,V/V),得白色固体(380mg,88.9%):<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO) δ 11.75(s,1H),8.96(s,1H),8.01(s,1H),7.88(s,1H),7.53(d, J = 9.4Hz,1H),7.28(d, J = 8.7Hz,1H),6.39(m,

1H), 4.70 (s, 1H), 3.83 (s, 2H), 3.56 (s, 2H). MSAPCI (+) m/z :476.1, [M+H].

[0234] 实施例 2: 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2,3-二羟基-丙氧基)-酰胺的合成

[0235]



[0236] 步骤 1: 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸[(4-(2,2-二甲基)-1,3-二氧环戊基)-甲氧基]-酰胺的合成

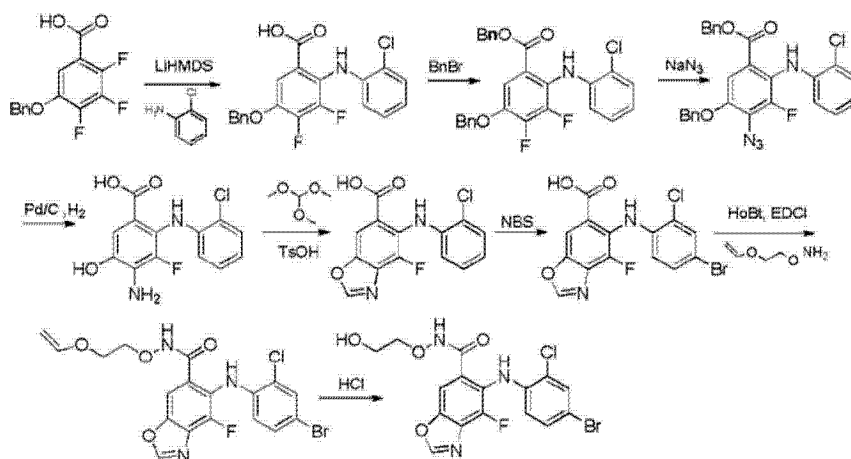
[0237] 在室温下将 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(500mg, 1.20mmol), 溶于二氯甲烷(10ml)中, 加入 HOBT(254mg, 1.63mmol) 和 EDCI(314mg, 1.63mmol), 搅拌 1 小时后, 再加入 O-[(4-(2,2-二甲基)-1,3-二氧环戊基)-甲基]羟胺(238mg, 1.62mmol), 室温搅拌 4 小时。反应结束后, 加入饱和氯化铵溶液, 二氯甲烷萃取(30ml x 3), 有机相依次用水(30ml), 饱和食盐水(30ml)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品(约 488mg)不经纯化直接进行下步反应。

[0238] 步骤 2: 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2,3-二羟基-丙氧基)-酰胺的合成

[0239] 室温下将 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸[(4-(2,2-二甲基)-1,3-二氧环戊基)-甲氧基]-酰胺(488mg, 0.89mmol) 溶解于二氯甲烷(10ml)中, 然后滴加三氟乙酸(0.2ml, 2.69mmol), 反应搅拌反应 1 小时, 反应结束后, 用饱和碳酸氢钠溶液洗涤有机相, 二氯甲烷(10ml x 2)萃取, 合并有机相, 有机相依次用水(10ml), 饱和食盐水(10ml)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂为二氯甲烷: 甲醇 = 50 : 1, V/V), 得白色固体(310mg, 两步 48.0%) : <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO) δ 11.80 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.28 (d, 1H), 6.40 (m, 1H), 4.84 (d, 1H), 4.60 (m, 1H), 3.87 (m, 1H), 3.72 (m, 2H), 3.36 (m, 2H). MS APCI (+) m/z :527.8. [M+Na].

[0240] 实施例 3: 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-羟基-乙氧基)-酰胺的合成

[0241]



[0242] 步骤 1 :5- 苄氧基 -3,4- 二氟 -2-(2- 氯苯基氨基) 苯甲酸的合成

[0243] 在 -78℃ 下将邻氯苯胺 (13.91g, 137.00mmol) 和 5- 苄氧基 -2,3,4- 三氟苯甲酸 (19.33g, 68.50mmol) 溶于四氢呋喃中 (120ml), 氮气保护下滴加六甲基二硅基胺基锂 (205.5ml, 1M 四氢呋喃溶液, 205.50mmol), 滴加完毕, 反应液逐渐升至室温, 搅拌反应过夜。反应液加水 (100ml) 淬灭, 并用 10% 盐酸调节 pH 至 2-3, 乙酸乙酯萃取 (3x 100ml), 合并有机相, 依次用水 (100ml) 和饱和食盐水 (100ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得淡黄色固体 (23.80g, 89.1%) :  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, DMSO)  $\delta$  13.80(s, 1H), 8.66(s, 1H), 7.64(m, 1H), 7.34(m, 7H), 6.92(m, 1H), 6.78(m, 1H), 5.26(s, 2H)。

[0244] 步骤 2 :2-(2- 氯苯基氨基) -5- 苄氧基 -3,4- 二氟苯甲酸苄酯的合成

[0245] 将 5- 苄氧基 -3,4- 二氟 -2-(2- 氯苯基氨基) 苯甲酸 (23.80g, 61.06mmol) 溶解于 N, N- 二甲基甲酰胺 (200ml), 然后加入碳酸氢钾 (9.16g, 91.59mmol), 苄基溴 (8.0ml, 67.37mmol), 搅拌, 反应液混合物搅拌反应 5 小时, 反应结束后, 加水 (300ml), 用乙酸乙酯萃取 (3x 100ml), 合并有机相, 有机相依次用水 (3x 200ml), 饱和食盐水 (200ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚 : 乙酸乙酯 = 50 : 1, V/V), 得白色固体 (27.82g, 95.0%) :  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.56(s, 1H), 7.52(dd,  $J$  = 8.5, 2.1Hz, 1H), 7.40(m, 1H), 7.15(m, 1H), 6.88(m, 1H), 6.74(m, 1H), 5.34(s, 2H), 5.16(s, 2H)。

[0246] 步骤 3 :2-(2- 氯苯基氨基) -4- 叠氮 -5- 苄氧基 -3- 氟苯甲酸苄酯的合成

[0247] 将 2-(2- 氯苯基氨基) -5- 苄氧基 -3,4- 二氟苯甲酸苄酯 (27.82g, 57.97mmol) 溶解于 N, N- 二甲基乙酰胺 (250ml) 中, 然后加入叠氮化钠 (4.52g, 69.56mmol), 反应混合物在 90℃ 搅拌反应 3 小时。反应结束后, 加水 (400ml), 乙酸乙酯萃取 (3x 150ml), 合并有机相, 有机相依次用水 (150ml), 饱和食盐水 (150ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚 : 乙酸乙酯 = 50 : 1, V/V), 得淡黄色固体 (22.97g, 78.8%) :  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.41(s, 1H), 7.40(m, 12H), 7.13(m, 1H), 6.87(m, 1H), 6.69(m, 1H), 5.34(s, 2H), 5.17(s, 2H)。步骤 4 :2-(2- 氯苯基氨基) -4- 氨基 -3- 氟 -5- 羟基苯甲酸的合成

[0248] 将 2-(2- 氯苯基氨基) -4- 叠氮 -5- 苄氧基 -3- 氟苯甲酸苄酯 (22.97g, 45.67mmol) 溶解于甲醇 (500ml) 中, 然后在氮气的氛围下, 加入无水 10% 钨碳催化剂 (3.80g), 然后用氢气置换氮气三次, 反应混合物在室温下反应 3 小时。反应结束后, 将钨碳催化剂滤去, 减压浓缩得类白色固体。产物不经纯化直接进行下步反应。

[0249] 步骤 5 :4- 氟 -5-(2- 氯苯基氨基) -1H- 苯并 [d] 噻唑 -6- 羧酸的合成

[0250] 将 2-(2- 氯苯基氨基) -4- 氨基 -3- 氟 -5- 羟基苯甲酸溶解于原甲酸三甲酯 (100ml) 中, 然后加入对甲苯磺酸 (0.42g, 1.35mmol), 搅拌反应 1 小时, 反应结束后, 加水 (300ml), 析出大量固体, 过滤, 水洗, 干燥得到黄色产物 (12.31g, 两步 87.9%) :  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, DMSO)  $\delta$  13.9(s, 1H), 9.05(s, 1H), 8.8(s, 1H), 8.23(s, 1H), 7.43(m, 1H), 7.15(m, 1H), 6.98(m, 1H), 6.74(m, 1H)。

[0251] 步骤 6 :4- 氟 -5-(2- 氯 -4- 溴苯基氨基) -1H- 苯并 [d] 噻唑 -6- 羧酸的合成

[0252] 将 4- 氟 -5-(2- 氯苯基氨基) -1H- 苯并 [d] 噻唑 -6- 羧酸 (12.31g, 40.14mmol) 溶解于 N, N- 二甲基甲酰胺 (100ml), 然后加入 NBS (7.86g, 44.15mmol)。反应液在室温下

搅拌反应 4 小时,反应结束后,加水淬灭反应,析出大量固体,过滤,粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂为二氯甲烷:甲醇=50:1,V/V),得淡棕色固体(10.82g,69.9%):<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO)  $\delta$  11.08(s, 1H), 9.42(s, 1H), 8.96(s, 1H), 8.27(s, 1H), 7.82(d, J = 12.0Hz, 1H), 7.37(m, 1H), 6.65(m, 1H).

[0253] 步骤 7:4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-乙烯氧基-乙氧基)-酰胺的合成

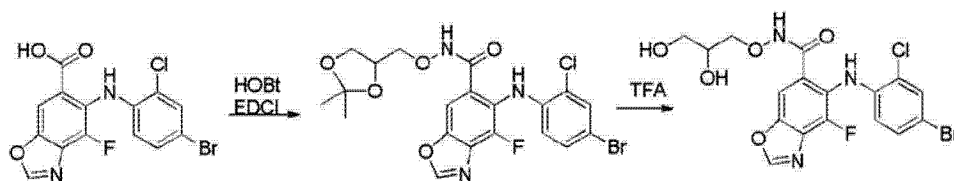
[0254] 在室温下将 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(463mg, 1.20mmol),溶于二氯甲烷(10ml)中,加入 HOBT(254mg, 1.63mmol) 和 EDCI(314mg, 1.63mmol),搅拌 1 小时后,再加入 O-(2-乙烯氧基-乙基)羟胺(172mg, 1.62mmol),室温搅拌 4 小时。反应结束后,加入饱和氯化铵溶液,二氯甲烷萃取(30ml x 3),有机相依次用水(30ml),饱和食盐水(30ml)洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,粗产品(约 445mg)不经纯化直接进行下步反应。

[0255] 步骤 8:4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-羟基-乙氧基)-酰胺的合成

[0256] 室温下将 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-乙烯氧基-乙氧基)-酰胺(445mg, 0.95mmol)溶解于二氯甲烷(10ml),然后滴加 1N 的盐酸溶液(6.7ml, 6.72mmol),反应搅拌反应 1 小时,反应结束后,用饱和碳酸氢钠溶液洗涤有机相,二氯甲烷(10ml x 2)萃取,合并有机相,有机相依次用水(10ml),饱和食盐水(10ml)洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂为二氯甲烷:甲醇=50:1,V/V),得白色固体(347mg, 两步 65.0%):<sup>1</sup>H NMR(400MHz, MeOD)  $\delta$  8.65(s, 1H), 7.8(s, 1H), 7.54(d, J = 2.0Hz, 1H), 7.24(m, 1H), 6.50(m, 1H), 3.95(s, 2H), 3.70(s, 2H). MS APCI(+) $m/z$ : 445.9[M+H], 467.8[M+Na].

[0257] 实施例 4:4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2,3-二羟基-丙氧基)-酰胺的合成

[0258]



[0259] 步骤 1:4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸[(4-(2,2-二甲基)-1,3-二氧环戊基)-甲氧基]-酰胺的合成

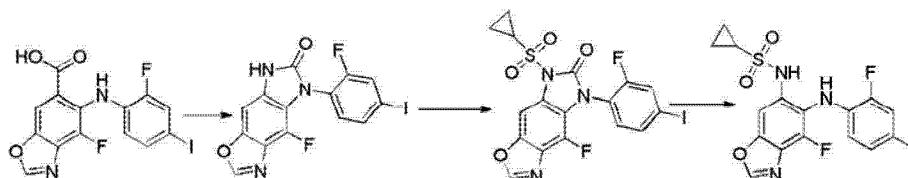
[0260] 室温下将 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(463mg, 1.20mmol),溶于二氯甲烷中,加入 HOBT(254mg, 1.63mmol) 和 EDCI(314mg, 1.63mmol),搅拌 1 小时后,再加入 O-[(4-(2,2-二甲基)-1,3-二氧环戊基)-甲基]羟胺(238mg, 1.62mmol),室温搅拌 4 小时。反应结束后,加入饱和氯化铵溶液,二氯甲烷萃取(30ml x 3),有机相依次用水(30ml),饱和食盐水(30ml)洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,粗产品(约 473mg)不经纯化直接进行下步反应。

[0261] 步骤 2:4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2,3-二羟基-丙氧基)-酰胺的合成

[0262] 室温下将 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸[(4-(2,2-二甲基)-1,3-二氧环戊基)-甲氧基]-酰胺(473mg, 0.92mmol) 溶解于二氯甲烷(10ml), 然后滴加三氟乙酸(0.2ml, 2.69mmol), 反应搅拌反应1小时, 反应结束后, 用饱和碳酸氢钠溶液洗涤有机相, 二氯甲烷(10ml x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相依次用水(10ml), 饱和食盐水(10ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂为二氯甲烷: 甲醇=50:1, V/V), 得白色固体(255mg, 两步44.7%);  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, DMSO)  $\delta$  11.78(s, 1H), 8.95(s, 1H), 8.05(s, 1H), 7.89(s, 1H), 7.54(d, 1H), 7.30(d, 1H), 6.42(m, 1H), 4.83(d, 1H), 4.62(m, 1H), 3.86(m, 1H), 3.70(m, 2H), 3.35(m, 2H). MS APCI(+) $m/z$ : 475.7[M+H].

[0263] 实施例5: N-6-(4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基) 苯并[d]噁唑基)-环丙基磺酰胺的合成

[0264]



[0265] 步骤1: 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噁唑-6(7H)-酮的合成

[0266] 在室温下将 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(70mg, 0.17mmol), 溶于叔丁醇(3ml) 中, 加入 DPPA(82mg, 0.29mmol) 和三乙胺(36mg, 0.36mmol), 在氮气保护下加热回流3个小时, 冷却至室温, 浓缩反应液, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯=2:1, V/V), 得白色固体(62mg, 89.2%);  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, DMSO)  $\delta$  11.75(s, 1H), 8.67(s, 1H), 7.96(d, 1H), 7.76(d, 1H), 7.50(m, 1H), 7.39(s, 1H).

[0267] 步骤2: 7-(环丙基磺酰基)-4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噁唑-6(7H)-酮的合成

[0268] 室温下将 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噁唑-6(7H)-酮(30mg, 0.07mmol) 溶解于二氯甲烷(3ml) 中, 在冰水浴冷却下加入三乙胺(22mg, 0.22mmol), 然后加入环丙基磺酰氯(16mg, 0.11mmol) 和 DMAP(5mg), 在室温搅拌反应1小时, 反应结束后, 用饱和碳酸氢钠溶液洗涤有机相, 二氯甲烷(10ml x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相依次用水(10ml), 饱和食盐水(10ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯=5:1, V/V), 得产物(40mg, 100%);  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.09(s, 1H), 7.99(s, 1H), 7.39-7.11(d, 2H), 7.05, (m, 1H), 3.40(m, 1H), 1.71(m, 2H), 0.91-0.85(m, 2H).

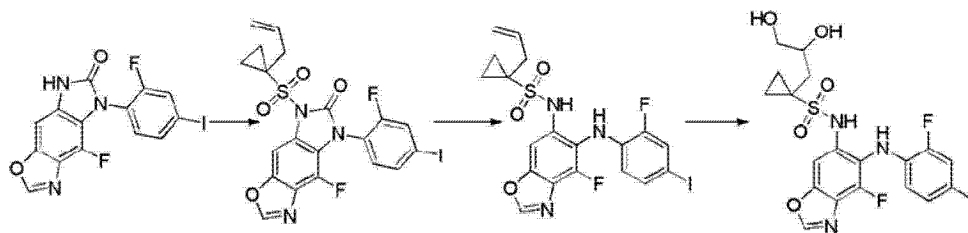
[0269] 步骤3: N-6-(4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基) 苯并[d]噁唑基)-环丙基磺酰胺的合成

[0270] 室温下将 7-(环丙基磺酰基)-4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噁唑-6(7H)-酮(30mg, 0.06mmol) 溶于四氢呋喃(3ml), 然后加入三甲基硅醇钾(12mg, 0.09mmol), 在室温下反应一个小时, 反应结束后, 加入饱和氯化铵(5ml),

用乙酸乙酯 (5ml x 2) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗 (10ml), 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 5 : 1 至 3 : 1, V/V), 得白色固体 (10mg, 35.1 %):  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.15 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.46 (dd, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.23 (dd, 1H), 6.15 (m, 1H), 5.49 (s, 1H), 2.55 (m, 1H), 1.01 (m, 2H), 0.92 (m, 2H). MS APCI (+)  $m/z$ : 492.5, [M+H].

[0271] 实施例 6: 1-(2,3-二羟基丙基)-N-(4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)苯并[d]噻唑-6-基)环丙烷-1-磺酰胺的合成

[0272]



[0273] 步骤 1: 7-((1-烯丙基环丙基)磺酰基)-4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噻唑-6(7H)-酮的合成

[0274] 室温下将 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噻唑-6(7H)-酮 (100mg, 0.24mmol) 溶解于二氯甲烷 (5ml) 中, 在冰水浴冷却下加入三乙胺 (74mg, 0.73mmol), 然后加入 1-烯丙基环丙基磺酰氯 (66mg, 0.36mmol) 和 DMAP (15mg), 在室温搅拌反应 1 小时, 反应结束后, 用饱和碳酸氢钠溶液洗涤有机相, 二氯甲烷 (20ml x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相依次用水 (20ml), 饱和食盐水 (20ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 5 : 1, V/V), 得到产物 (120mg, 89.0 %):  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.09 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.70-7.68 (d, 2H), 7.27 (m, 1H), 5.75-5.58 (m, 1H), 5.05 (m, 2H), 2.90-2.80 (m, 1H), 2.10-2.0 (m, 1H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.25-1.10 (m, 2H).

[0275] 步骤 2: 1-烯丙基-N-(4-氟-5-((2-氟-4-碘苯基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)环丙烷-1-磺酰胺的合成

[0276] 室温下将 7-((1-烯丙基环丙基)磺酰基)-4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噻唑-6(7H)-酮 (120mg, 0.23mmol) 溶于四氢呋喃 (10ml), 然后加入三甲基硅醇钾 (48mg, 0.35mmol), 在室温下反应一个小时, 反应结束后, 加入饱和氯化铵 (10ml), 用乙酸乙酯 (10ml x 2) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗 (10ml), 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 5 : 1 至 3 : 1, V/V), 得产物 (100mg, 87.0 %):  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.09 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.42 (m, 1H), 7.31-7.25 (m, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.43-6.35 (m, 1H), 6.21 (s, 1H), 5.85-5.70 (m, 1H), 5.22-5.14 (m, 2H), 2.83 (d, 2H), 1.28-1.20 (m, 2H), 0.87-0.80 (m, 2H).

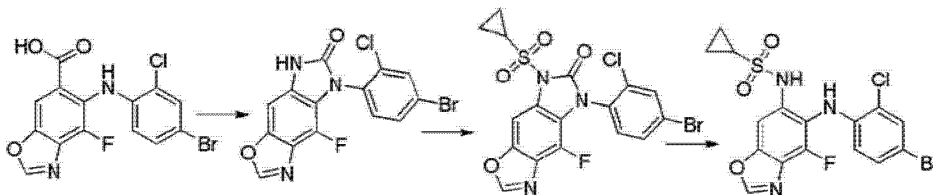
[0277] 步骤 3: 1-(2,3-二羟基丙基)-N-(4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)苯并[d]噻唑-6-基)环丙烷-1-磺酰胺的合成

[0278] 室温下把化合物 1-烯丙基-N-(4-氟-5-((2-氟-4-碘苯基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)环丙烷-1-磺酰胺 (100mg, 0.38mmol) 溶于四氢呋喃 (10ml), 然后加入氮甲基吗啉氮氧化物 (44mg, 0.38mmol), 接着再加入四氧化锇 (10mg, 0.04mmol) 和水 (0.5ml), 反

应液在室温下搅拌过夜,反应结束后浓缩反应液,用乙酸乙酯稀释,有机相依次用水,饱和碳酸氢钠和饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩,粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化得到白色固体 (30mg, 28.2%) :  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.08 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.46-7.36 (m, 2H), 7.30-7.20 (m, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.45-6.32 (m, 1H), 4.40-4.26 (m, 2H), 4.20-4.10 (m, 1H), 3.75-3.60 (m, 1H), 2.86-2.79 (m, 1H), 1.30-1.25 (m, 2H), 1.15-1.20 (m, 4H). MS APCI (+)  $m/z$  : 566.3 [M+H].

**[0279] 实施例 7 :N-(4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)苯并[d]噻唑-6-基)环丙基磺酰胺的合成**

**[0280]**



**[0281] 步骤 1 :4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噻唑-6(7H)-酮的合成**

**[0282]** 在室温下将 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噻唑-6-羧酸 (110mg, 0.28mmol), 溶于叔丁醇 (3ml) 中, 加入 DPPA (94mg, 0.34mmol) 和三乙胺 (58mg, 0.57mmol), 在氮气保护下加热回流 3 个小时, 冷却至室温, 浓缩反应液, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 2 : 1, V/V), 得白色固体 (105mg, 96.2%) :  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  11.78 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 7.99 (d, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.51 (m, 1H), 7.41 (s, 1H).

**[0283] 步骤 2 :7-(环丙基磺酰基)-4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噻唑-6(7H)-酮的合成**

**[0284]** 室温下将 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噻唑-6(7H)-酮 (100mg, 0.26mmol) 溶解于二氯甲烷 (10ml) 中, 在冰水浴冷却下加入三乙胺 (80mg, 0.78mmol), 然后加入环丙基磺酰氯 (55mg, 0.39mmol) 和 DMAP (10mg), 在室温搅拌反应 1 小时, 反应结束后, 用饱和碳酸氢钠溶液洗涤有机相, 二氯甲烷 (15ml x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相依次用水 (15ml), 饱和食盐水 (20ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 5 : 1, V/V), 得白色固体 (110mg, 86.5%) :  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.11 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.71-7.69 (m, 2H), 7.32 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 1.69 (m, 2H), 0.88 (m, 2H).

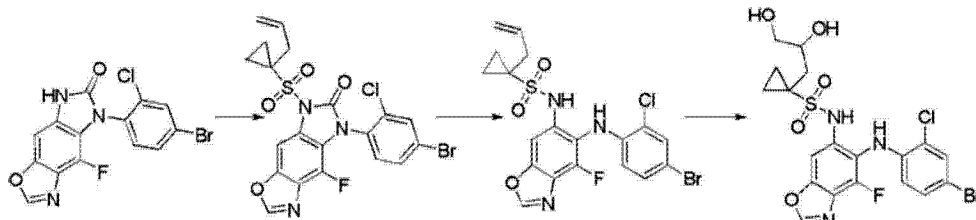
**[0285] 步骤 3 :N-(4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)苯并[d]噻唑-6-基)环丙基磺酰胺的合成**

**[0286]** 室温下将 7-(环丙基磺酰基)-4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噻唑-6(7H)-酮 (100mg, 0.21mmol) 溶于四氢呋喃 (10ml), 然后加入三甲基硅醇钾 (40mg, 0.31mmol), 在室温下反应一个小时, 反应结束后, 加入饱和氯化铵 (10ml), 用乙酸乙酯 (10ml x 2) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗 (20ml), 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 5 : 1 至 3 : 1, V/V), 得白色固体 (60mg, 63.4%) :  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.17 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.49 (dd,

1H), 7.35 (s, 1H), 7.26 (dd, 1H), 6.17 (m, 1H), 5.44 (s, 1H), 2.57 (m, 1H), 1.06-1.08 (m, 2H), 1.00-1.01 (m, 2H). MS APCI (+) m/z : 461.7 [M+H].

[0287] 实施例 8 : 1-(2,3-二羟基丙基)-N-(4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)苯并[d]噁唑-6-基)环丙烷-1-磺酰胺的合成

[0288]



[0289] 步骤 1 : 7-((1-烯丙基环丙基)磺酰基)-4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噁唑-6(7H)-酮的合成

[0290] 室温下将 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噁唑-6(7H)-酮 (100mg, 0.26mmol) 溶解于二氯甲烷 (10ml) 中, 在冰水浴冷却下加入三乙胺 (80mg, 0.78mmol), 然后加入 1-烯丙基环丙基磺酰氯 (71mg, 0.39mmol) 和 DMAP (15mg), 在室温搅拌反应 1 小时, 反应结束后, 用饱和碳酸氢钠溶液洗涤有机相, 二氯甲烷 (20ml x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相依次用水 (20ml), 饱和食盐水 (20ml) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 5 : 1, V/V), 得到产物 (120mg, 87.2%) <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.09 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.39-7.11 (d, 2H), 7.05 (m, 1H), 5.75-5.58 (m, 1H), 5.05 (m, 2H), 2.90-2.80 (m, 1H), 2.10-2.0 (m, 1H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.25-1.10 (m, 2H).

[0291] 步骤 2 : 1-烯丙基-N-(4-氟-5-((2-氯-4-溴苯基)氨基)苯并[d]噁唑-6-基)环丙烷-1-磺酰胺的合成

[0292] 室温下将 7-((1-烯丙基环丙基)磺酰基)-4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基)-5H-咪唑并[4',5':4,5]苯并[1,2-d]噁唑-6(7H)-酮 (120mg, 0.23mmol) 溶于四氢呋喃 (5ml), 然后加入三甲基硅醇钾 (32mg, 0.23mmol), 在室温下反应一个小时, 反应结束后, 加入饱和氯化铵 (5ml), 用乙酸乙酯 (10ml x 2) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗 (20ml), 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化 (洗脱剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 5 : 1 至 3 : 1, V/V), 得白色固体 (100mg, 87.6%) <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.09 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.31-7.25 (m, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.43-6.35 (m, 1H), 6.21 (s, 1H), 5.85-5.70 (m, 1H), 5.22-5.14 (m, 2H), 2.83 (d, 2H), 1.28-1.20 (m, 2H), 0.87-0.80 (m, 2H).

[0293] 步骤 3 : 1-(2,3-二羟基丙基)-N-(4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)苯并[d]噁唑-6-基)环丙烷-1-磺酰胺的合成

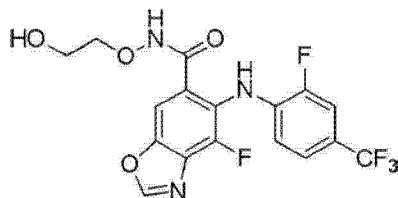
[0294] 室温下把化合物 1-烯丙基-N-(4-氟-5-((2-氯-4-溴苯基)氨基)苯并[d]噁唑-6-基)环丙烷-1-磺酰胺 (100mg, 0.38mmol) 溶于四氢呋喃 (10ml), 然后加入氮甲基吗啉氮氧化物 (44mg, 0.38mmol), 接着再加入四氧化锇 (10mg, 0.04mmol) 和水 (0.5ml), 反应液在室温下搅拌过夜, 反应结束后浓缩反应液, 用乙酸乙酯稀释, 有机相依次用水, 饱和碳酸氢钠和饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产品通过硅胶柱色谱分离纯化得到白色固体 (30mg, 28.2%) <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.10 (s, 1H), 7.98 (s, 1H),

7.45–7.34 (m, 2H), 7.32–7.21 (m, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.44–6.30 (m, 1H), 4.41–4.25 (m, 2H), 4.21–4.12 (m, 1H), 3.72–3.62 (m, 1H), 2.85–2.78 (m, 1H), 1.32–1.26 (m, 2H), 1.16–1.21 (m, 4H). MS APCI (+) m/z : 535.8 [M+H].

[0295] 实施例 9 至 17:

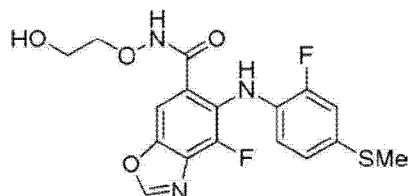
[0296] 以与实施例 1 至 8 类似的方式, 制得以下化合物:

[0297]



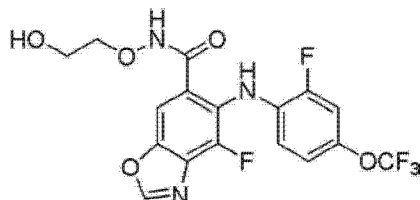
[0298]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  11.76 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.55 (d,  $J = 9.6\text{Hz}$ , 1H), 7.29 (d,  $J = 8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.41 (m, 1H), 4.71 (s, 1H), 3.82 (m, 2H), 3.55 (m, 2H). MS APCI (+) m/z : 418.4 [M+H].

[0299]



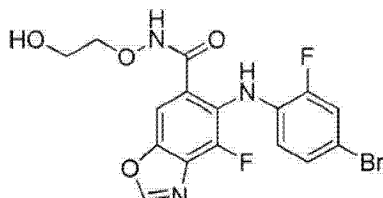
[0300]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  11.74 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.54 (d,  $J = 9.8\text{Hz}$ , 1H), 7.27 (d,  $J = 8.5\text{Hz}$ , 1H), 6.38 (m, 1H), 4.69 (s, 1H), 3.82 (m, 2H), 3.57 (m, 2H), 2.55 (s, 3H). MS APCI (+) m/z : 396.5 [M+H].

[0301]



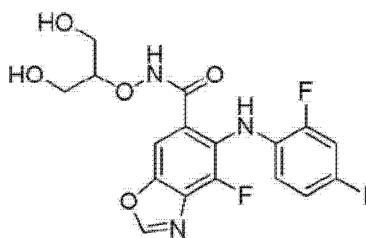
[0302]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  11.76 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.55 (d,  $J = 9.8\text{Hz}$ , 1H), 7.30 (d,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 1H), 6.40 (m, 1H), 4.72 (s, 1H), 3.85 (m, 2H), 3.57 (m, 2H). MS APCI (+) m/z : 434.4 [M+H].

[0303]



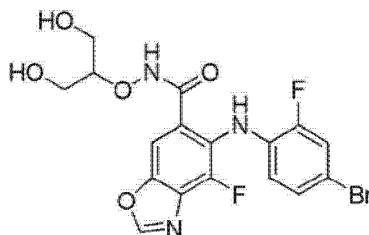
[0304]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  11.74 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.56 (d,  $J = 9.6\text{Hz}$ , 1H), 7.32 (d,  $J = 8.2\text{Hz}$ , 1H), 6.41 (m, 1H), 4.73 (s, 1H), 3.86 (m, 2H), 3.56 (m, 2H). MS APCI (+) m/z : 429.4 [M+H].

[0305]



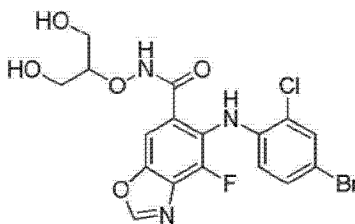
[0306]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  11.75 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.56 (d,  $J = 9.6\text{Hz}$ , 1H), 7.31 (d,  $J = 8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.42 (m, 1H), 4.75 (s, 2H), 3.68 (m, 4H), 3.38 (m, 1H). MS APCI (+)  $m/z$ : 506.3 [M+H].

[0307]



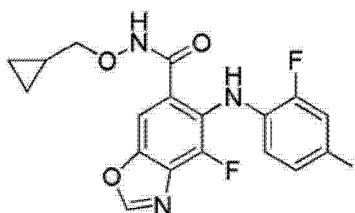
[0308]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  11.74 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.58 (d,  $J = 9.4\text{Hz}$ , 1H), 7.33 (d,  $J = 8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.45 (m, 1H), 4.76 (s, 2H), 3.70 (m, 4H), 3.40 (m, 1H). MS APCI (+)  $m/z$ : 459.4 [M+H].

[0309]



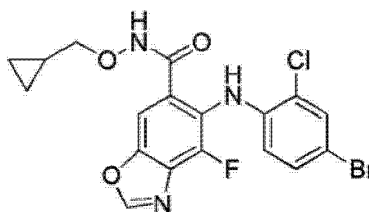
[0310]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  11.75 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.58 (d,  $J = 9.6\text{Hz}$ , 1H), 7.35 (d,  $J = 8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.43 (m, 1H), 4.73 (s, 2H), 3.71 (m, 4H), 3.39 (m, 1H). MS APCI (+)  $m/z$ : 475.8 [M+H].

[0311]



[0312]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  11.70 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.55 (d,  $J = 9.4\text{Hz}$ , 1H), 7.32 (d,  $J = 8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.41 (m, 1H), 3.73 (m, 2H), 0.51 (m, 1H), 0.25 (m, 4H). MS APCI (+)  $m/z$ : 486.2 [M+H].

[0313]



[0314]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  11.71 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.57 (d,  $J = 9.8\text{Hz}$ , 1H), 7.33 (d,  $J = 8.6\text{Hz}$ , 1H), 6.43 (m, 1H), 3.75 (m, 2H), 0.52 (m, 1H), 0.26 (m, 4H). MS APC I (+)  $m/z$ : 455.8 [M+H].

[0315] 生物学实施例

[0316] 细胞活性实验

[0317] 1. 细胞: 人结肠癌 HT29、人结肠癌 COLO205、人黑色素瘤 A375 细胞, 均来自中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心。

[0318] 2. 试剂: Gibco DMEM/F12 培养基, Gibco 0.25% 胰酶/EDTA 细胞消化液, MTT (5mg/ml), DMSO, PBS。

[0319] 3. 仪器: 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  培养箱, TECAN Infinite™200 系列多功能酶标仪, 超净工作台, 细胞计数板。

[0320] 4. 实验耗材: 96 孔板。

[0321] 人结肠癌 HT29 细胞的活性测试实验步骤:

[0322] 1. 铺板。将处于对数生长期的细胞用消化液消化, 新鲜培养基终止, 对细胞进行计数, 用新鲜培养基将细胞浓度调整到  $2 \times 10^5$  个/ml, 每孔加 200  $\mu\text{L}$ , 设调零孔 (只加培养基) 3 个, 其他边缘用无菌 PBS 填充。

[0323] 2. 于 37°C 下在 5%  $\text{CO}_2$  中孵育 48 小时, 让细胞铺满孔底 60% 左右。

[0324] 3. 给药。将药物用 DMSO 溶解, 配成 10mmol/L 母液, 再用 DMSO 将其进行稀释, 制成 1mmol/L、100  $\mu\text{mol/L}$ 、10  $\mu\text{mol/L}$ 、1mol/L、0.1mol/L 溶液, 给药时, 取上述浓度溶液 1  $\mu\text{L}$  用培养基稀释成 1mL, 即给药浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$ 、1  $\mu\text{mol/L}$ 、100nmol/L、10nmol/L、1nmol/L、0.1nmol/L、0nmol/L (对照组, 加 1  $\mu\text{L}$  DMSO 用培养基稀释成 1mL)。给药时, 将原有孔内液体吸尽, 加入含不同浓度药物的新鲜培养基, 每孔 200  $\mu\text{L}$ 。每天给药, 连续三天。

[0325] ●调零孔, 只加培养基;

[0326] ●对照组, 含与实验组相同体积的溶剂, 用完全培养基稀释。每孔 200  $\mu\text{L}$ ;

[0327] ●实验组, 将已溶解的药物用培养基稀释成 0.1、1、10、100、1000、10000nM 浓度, 每孔 200  $\mu\text{L}$ 。

[0328] 4. 于 37°C 下在 5%  $\text{CO}_2$  中孵育。

[0329] 5. 72h 后, 每孔加入 20  $\mu\text{L}$  MTT 溶液 (5mg/ml), 继续培养 4h。

[0330] 6. 终止培养, 小心吸去孔内的培养液。

[0331] 7. 每孔加入 150  $\mu\text{L}$  二甲基亚砜 (DMSO), 低速震荡 10min, 待结晶物充分溶解后, 在酶标仪, 490nm 波长处测其吸光值。

[0332] 按下表 2 所示对本发明化合物编号。全部化合物 1-17 的  $\text{IC}_{50}$  值都小于 1000nM, 优选小于 100nM, 甚至可等于或小于 10nM。

[0333] 人结肠癌 COLO205 细胞的活性测试实验步骤:

[0334] 1. 铺板。将处于对数生长期的细胞用消化液消化, 新鲜培养基终止, 对细胞进行计数, 用新鲜培养基将细胞浓度调整到  $5 \times 10^4$  个/ml, 每孔加 200  $\mu\text{L}$ , 设调零孔 (只加培养基) 3 个, 其他边缘用无菌 PBS 填充。

[0335] 2. 于 37°C 下在 5%  $\text{CO}_2$  中孵育 24 小时, 让细胞铺满孔底 60% 左右。

[0336] 3. 给药。将药物用 DMSO 溶解, 配成 10mmol/L 母液, 再用 DMSO 将其进行稀释, 制

成 1mmol/L、100  $\mu$ mol/L、10  $\mu$ mol/L、1mol/L、0.1mol/L 溶液,给药时,取上述浓度溶液 1  $\mu$ L 用培养基稀释成 1mL,即给药浓度为 10  $\mu$ mol/L、1  $\mu$ mol/L、100nmol/L、10nmol/L、1nmol/L、0.1nmol/L、0nmol/L(对照组,加 1  $\mu$ L DMSO 用培养基稀释成 1ml)。给药时,将原有孔内液体吸尽,加入含不同浓度药物的新鲜培养基,每孔 200  $\mu$ L。

[0337] ●调零孔,只加培养基;

[0338] ●对照组,含与实验组相同体积的溶剂,用完全培养基稀释。每孔 200  $\mu$ L;

[0339] ●实验组,将已溶解的药物用培养基稀释成 0.1、1、10、100、1000、10000nM 浓度,每孔 200  $\mu$ L。

[0340] 4. 于 37℃下在 5% CO<sub>2</sub> 中孵育。

[0341] 5. 72h 后,每孔加入 20  $\mu$ L MTT 溶液 (5mg/ml),继续培养 4h。

[0342] 6. 将 96 孔板用平板离心机离心,1000 转 /5 分钟。

[0343] 7. 终止培养,小心吸去孔内的培养液。

[0344] 8. 每孔加入 150  $\mu$ L 二甲基亚砷 (DMSO),低速震荡 10min,待结晶物充分溶解后,在酶标仪,490nm 波长处测其吸光值。

[0345] 按下表 2 所示对本发明化合物编号。全部化合物 1-17 的 IC<sub>50</sub> 值都小于 1000nM,优选小于 100nM,甚至可等于或小于 10nM。

[0346] 人黑色素瘤 A375 细胞的活性测试实验步骤:

[0347] 1. 铺板。将处于对数生长期的细胞用消化液消化,新鲜培养基终止,对细胞进行计数,用新鲜培养基将细胞浓度调整到  $2.5 \times 10^4$  个 /ml,每孔加 200  $\mu$ L,设调零孔(只加培养基)3 个,其他边缘用无菌 PBS 填充。

[0348] 2. 于 37℃下在 5% CO<sub>2</sub> 中孵育 36 小时,让细胞铺满孔底 60%左右。

[0349] 3. 给药。将药物用 DMSO 溶解,配成 10mmol/L 母液,再用 DMSO 将其进行稀释,制成 1mmol/L、100  $\mu$ mol/L、10  $\mu$ mol/L、1mol/L、0.1mol/L 溶液,给药时,取上述浓度溶液 1  $\mu$ L 用培养基稀释成 1mL,即给药浓度为 10  $\mu$ mol/L、1  $\mu$ mol/L、100nmol/L、10nmol/L、1nmol/L、0.1nmol/L、0nmol/L(对照组,加 1  $\mu$ L DMSO 用培养基稀释成 1ml)。给药时,将原有孔内液体吸尽,加入含不同浓度药物的新鲜培养基,每孔 200  $\mu$ L。

[0350] ●调零孔,只加培养基;

[0351] ●对照组,含与实验组相同体积的溶剂,用完全培养基稀释。每孔 200  $\mu$ L;

[0352] ●实验组,将已溶解的药物用培养基稀释成 0.1、1、10、100、1000、10000nM 浓度,每孔 200  $\mu$ L。

[0353] 4. 于 37℃下在 5% CO<sub>2</sub> 中孵育。

[0354] 5. 72h 后,每孔加入 20  $\mu$ L MTT 溶液 (5mg/ml),继续培养 4h。

[0355] 6. 终止培养,小心吸去孔内的培养液。

[0356] 7. 每孔加入 150  $\mu$ L 二甲基亚砷 (DMSO),低速震荡 10min,待结晶物充分溶解后,在酶标仪,490nm 波长处测其吸光值。

[0357] 按下表 2 所示对本发明化合物编号。全部化合物 1-17 的 IC<sub>50</sub> 值都小于 1000nM,优选小于 100nM,甚至可等于或小于 10nM。

[0358] 表 2. 测试化合物

[0359]

| 编号 | 化合物                                                  | 结构式 |
|----|------------------------------------------------------|-----|
| 1  | 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-羟基-乙氧基)-酰胺     |     |
| 2  | 4-氟-5-(2-氟-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-羟基-乙氧基)-酰胺     |     |
| 3  | 4-氟-5-(2-氟-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-羟基-乙氧基)-酰胺     |     |
| 4  | 4-氟-5-(2-氟-4-三氟甲基苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-羟基-乙氧基)-酰胺  |     |
| 5  | 4-氟-5-(2-氟-4-甲基硫基苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-羟基-乙氧基)-酰胺  |     |
| 6  | 4-氟-5-(2-氟-4-三氟甲氧基苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2-羟基-乙氧基)-酰胺 |     |
| 7  | 4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2,3-二羟基-丙氧基)-酰胺  |     |
| 8  | 4-氟-5-(2-氟-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(2,3-二羟基-丙氧基)-酰胺  |     |
| 9  | N-(4-氟-5-(2-氟-4-碘苯基氨基)苯并[d]噁唑-6-基)-环丙基磺酰胺            |     |

[0361]

|    |                                                           |  |
|----|-----------------------------------------------------------|--|
| 10 | N-(4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)苯并[d]噁唑-6-基)环丙基磺酰胺                  |  |
| 11 | 1-(2,3-二羟基丙基)-N-(4-氟-5-(2-氯-4-碘苯基氨基)苯并[d]噁唑-6-基)环丙烷-1-磺酰胺 |  |
| 12 | 1-(2,3-二羟基丙基)-N-(4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)苯并[d]噁唑-6-基)环丙烷-1-磺酰胺 |  |
| 13 | 4-氟-5-(2-氯-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(1,3-二羟基-2-丙氧基)-酰胺     |  |
| 14 | 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(1,3-二羟基-2-丙氧基)-酰胺     |  |
| 15 | 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(1,3-二羟基-2-丙氧基)-酰胺     |  |
| 16 | 4-氟-5-(2-氯-4-碘苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(环丙甲氧基)-酰胺             |  |
| 17 | 4-氟-5-(2-氯-4-溴苯基氨基)-1H-苯并[d]噁唑-6-羧酸(环丙甲氧基)-酰胺             |  |

[0362] 化合物对 IL-4 (白细胞介素-4) 的抑制实验

[0363] 实验步骤：

[0364] 1. 取 BALB/c 基因报告小鼠脾脏，保存于 1640 培养液 (HyClone) 中

[0365] 2. 将脾脏研磨成单细胞悬液，加入红细胞裂解液 (sigma)，裂解红细胞

[0366] 3. 将裂解后的细胞悬液过滤，并悬浮在含有 10% 血清的 1640 培养液中。

[0367] 4. 溶解 (DMSO) 化合物并稀释 (含有 10% 血清的 1640 培养液), 稀释至浓度为 200nM。

[0368] 5. 按照所需要的细胞数按照  $4 \times 10^6$ /mL 的浓度, 每孔 100  $\mu$  L, 计算所需总细胞数, 悬浮在相应的含有 10% 血清的 1640 培养液中。在细胞悬液中加入 ConA (刀豆球蛋白 A, sigma) (终浓度为 2.5ng/mL), IL-2 (白细胞介素 -2, R&D) (终浓度为 2ng/mL), IL-4 (白细胞介素 -4, PeproTech) (终浓度为 20ng/mL)。混匀后, 将细胞加入 96 孔板中, 每孔加入 100  $\mu$  L。同时加入化合物溶液, 每孔 100  $\mu$  L, 使细胞终浓度为  $2 \times 10^6$ /mL, 化合物终浓度为 100nM。每种化合物以及 control 孔皆为 3 个复孔。培养箱 37°C 培养 48h。

[0369] 6. 培养 48h 后, 将平板从培养箱中取出, 并将每孔细胞收集在流式管 (BD) 中。

[0370] 7. 将收集好的细胞用冰预冷的 PBS (磷酸盐缓冲溶液) 溶液洗, 并在 100  $\mu$  L 的 PBS 下, 1 : 200 加入 0.5ul 的 CD4 荧光抗体, 冰上避光 15min。

[0371] 8. 染色结束后, 用冰预冷的 PBS 溶液洗去抗体。并准备进行流式细胞仪检测。

[0372] 9. 使用流式细胞仪 (BD FACS calibur) 进行检测, 选取 CD4<sup>+</sup> 的细胞群, 检测 GFP<sup>+</sup> 的细胞占 CD4<sup>+</sup> 细胞的百分比, 来确定化合物对 IL-4 的影响。

[0373] 10. 数据处理:

[0374] (control 的百分比 - 化合物的百分比) / control 的百分比  $\times 100\%$  Control 代表 DMSO, 其浓度与本试验中化合物的终浓度相同。

[0375] 即得化合物对 IL-4 的抑制率。

[0376] 本发明化合物 1-17 的 IL-4 抑制率可高达 50%。

[0377] 化合物对 TNF- $\alpha$  (肿瘤坏死因子 - $\alpha$ ) 的表达的抑制作用实验

[0378] 实验步骤:

[0379] 1. 制细胞悬液。BALB/c 基因报告小鼠脾脏制成单细胞悬液。加入红细胞裂解液 (sigma), 裂解红细胞

[0380] 2. 将裂解后的细胞悬液过滤, 并以  $4 \times 10^6$ /mL 的浓度悬浮在含有 10% 血清的 1640 培养液 (HyClone) 中, 加入 LPS 终浓度为 (200ng/ml)。

[0381] 3. 溶解 (DMSO) 化合物并稀释 (含有 10% 血清的 1640 培养液), 稀释至浓度为 200nM。

[0382] 4. 将细胞以  $4 \times 10^6$ /mL 的浓度加入 96 孔板中, 每孔加入 100  $\mu$  L。同时加入化合物溶液, 每孔 100  $\mu$  L, 使细胞终浓度为  $2 \times 10^6$ /mL, 化合物终浓度为 100nM。每种化合物以及 control 孔皆为 3 个复孔。

[0383] 5. 培养箱 37°C 培养 24 小时孵育。

[0384] 6. 细胞板离心 (eppendorf5810R), 1400rpm, 7min, 吸取上清, 置于新的 96 孔板中, 放置于 4 度冰箱保存。

[0385] 7. 采用 ELISA (酶联免疫吸附测定) 技术测定上述 24 小时上清中的 TNF- $\alpha$  的量。

[0386] Control 代表 DMSO, 其浓度与本试验中化合物的终浓度相同。

[0387] 本发明化合物 1-17 的 TNF- $\alpha$  表达抑制率可高达 40%。