



(21) 申请号 201780070023.1

(22) 申请日 2017.09.14

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109952299 A

(43) 申请公布日 2019.06.28

(30) 优先权数据
1615617.6 2016.09.14 GB

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.05.13

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/GB2017/052726 2017.09.14

(87) PCT国际申请的公布数据
W02018/051107 EN 2018.03.22

(73) 专利权人 邓迪大学
地址 英国邓迪市

(72) 发明人 阿莱西奥·丘利
安德里亚·特斯塔

(74) 专利代理机构 广州新诺专利商标事务所有
限公司 44100
专利代理师 李德魁

(51) Int.Cl.
C07D 417/12 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)

C07D 495/14 (2006.01)

A61K 31/427 (2006.01)

A61K 31/551 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 104736569 A, 2015.06.24

CN 103402996 A, 2013.11.20

CN 104583193 A, 2015.04.29

Michael Zengerle et al.. "Selective
Small Molecule Induced Degradation of the
BET Bromodomain Protein BRD4".《ACS Chem.
Biol》.2015,第10卷第1770-1777页.

Kanak Raina et al..PROTAC-induced BET
protein degradation as a therapy for
castration-resistant prostate cancer.
《PNAS》.2016,第113卷第7124-7129页.

Zilei Liu et al..3-
Fluoroazetidinecarboxylic Acids and
trans,trans-3,4-Difluoroproline as
Peptide Scaffolds: Inhibition of
Pancreatic.《J. Org. Chem.》.2015,第80卷第
4244-4258页.

审查员 陈敬浪

权利要求书4页 说明书75页 附图8页

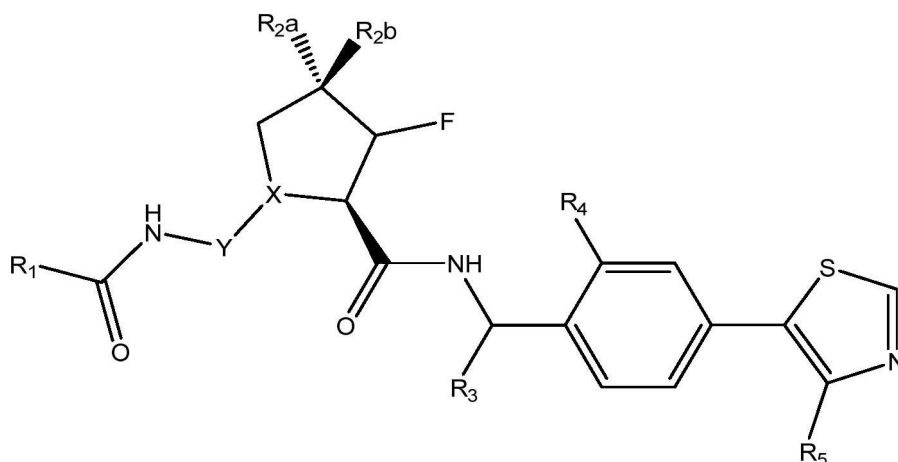
(54) 发明名称

用于制备蛋白降解靶向嵌合体的氟代羟脯
氨酸衍生物

(57) 摘要

提供一种新型的小分子E3泛素连接酶蛋白
质结合配体化合物、和其在蛋白降解靶向嵌合体
(PROTACs)中的应用、以及其制备过程、和在医学
上的应用。特别是提供一种基于氟代羟脯氨酸支
架的新型小分子E3泛素连接酶蛋白质结合抑制
剂化合物,还提供其作为配体在合成新型
PROTACs中的应用,以及其合成方法。

1. 具有A-L-B结构的化合物,或其药学上可接受的盐,其中A是式IA的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物:



IA

其中X是N,

其中L是 $-(CH_2CH_2O)_b-$ 基团,其中b是1至10,且L在R₁位直接地结合至式IA的化合物,

其中R₁是具有与L氧连接的共价键的取代或未取代的环丙基基团,或R₁是与L氧连接的共价键,所述取代的环丙基基团由一个或多个独立地选自F、CN、或 $-C(=O)CH_3$ 的基团所取代,

其中R_{2a}是OH,

其中R_{2b}是H,

其中R₃和R₄都是H,

其中R₅是甲基基团,

其中Y是 $-CH(CR_6R_7R_8)-C(O)-$ 基团,

其中R₆和R₇各自独立地是 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团,或其中R₆和R₇与它们所连接的碳原子一起形成 $-(C_3-C_4)$ 环烷基基团,

其中R₈是 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团,

存在于Y基团中的 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团或 $-(C_3-C_4)$ 环烷基基团由一个或多个选自甲基、OH或F的取代基所取代,或存在于Y基团中的 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团或 $-(C_3-C_4)$ 环烷基基团不被取代,

其中B是额外的配体,其与靶蛋白或多肽结合,所述靶蛋白或多肽通过泛素连接酶降解,并通过碳连接至L基团而与A连接。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中B至少为下列之一:

(i) B是与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的蛋白质结合的化学部分;

(ii) B是与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的蛋白质结合的化学部分,所述溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的蛋白质独立地选自:BRD2、BRD3和BRD4;

(iii) B是选择性地诱导溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD4蛋白质降解的化学部分。

3. 一种化合物,所述化合物独立地选自:

(2R,3R,4S)-1-((S)-2-(叔丁基)-17-((S)-4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6氢-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基)-4,16-二氧-6,9,12-三氧杂-3,15-二氮杂十七烷酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

(2R,3S,4S)-1-((S)-2-(叔丁基)-17-((S)-4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6氢-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基)-4,16-二氧-6,9,12-三氧杂-3,15-二氮杂十七烷酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

(2R,3S,4S)-1-((S)-1-(4-((2S,4R)-1-乙酰基-4-(4-氯苄基)-2-甲基-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基)苯基)-12-(叔丁基)-1,10-二氧-5,8-二氧杂-2,11-二氮杂十三烷-13-酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

(2R,3R,4S)-1-((R)-3-((6-(2-((S)-4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6氢-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基)乙酰胺基)己基)硫代)-2-(1-氟环丙烷-1-甲酰胺基)-3-甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

(2R,3R,4S)-1-((S)-2-乙酰胺基-3,3-二甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

(2R,3S,4S)-1-((S)-2-乙酰胺基-3,3-二甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

(2R,3R,4S)-3-氟-1-((S)-2-(1-氟环丙烷-1-甲酰胺基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

(2R,3S,4S)-3-氟-1-((S)-2-(1-氟环丙烷-1-甲酰胺基)-3,3-二甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

(2R,3R,4S)-1-((S)-2-(1-氰基环丙烷-1-甲酰胺基)-3,3-二甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

(2R,3S,4S)-1-((S)-2-(1-氰基环丙烷-1-甲酰胺基)-3,3-二甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

(2R,3R,4S)-1-((S)-2-氨基-3,3-二甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

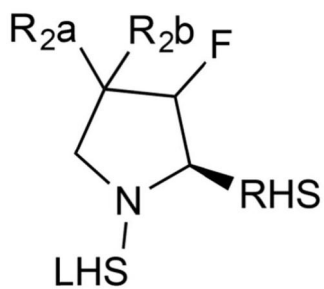
(2R,3S,4S)-1-((S)-2-氨基-3,3-二甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

或其药学上可接受的盐。

4. 药物组合物,包括有效量的根据权利要求1-3中任一项所述的化合物,以及相结合的药学上可接受的辅料;或包括有效量的根据权利要求1-3中任一项所述的化合物,以及相结合的药学上可接受的辅料和额外的生物活性剂。

5. 权利要求1所限定的化合物、或根据权利要求4所限定的药物组合物在制备用于预防或治疗疾病或状况的药物中的应用,所述疾病或状况与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD2、BRD3和BRD4中的一种或多种蛋白质的活性失调相关。

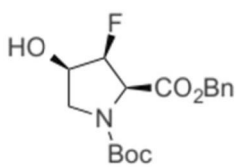
6. 通式II的化合物:



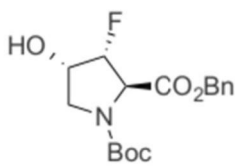
II

其中为下列任一情况：

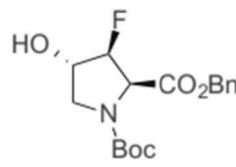
(i) R_{2a} 是 OH, R_{2b} 是 H, LHS 是 BOC 基团, 且 RHS 是具有结构式 II-A、II-B 和/或 II-C 的 $-CO_2Bn$ 基团：



;



;



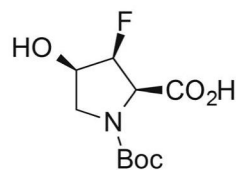
或

II-A

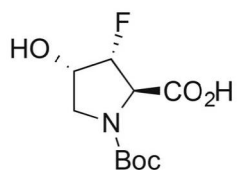
II-B

II-C

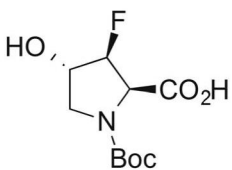
(ii) R_{2a} 是 OH, R_{2b} 是 H, LHS 是 BOC 基团, 且 RHS 是具有结构式 II-E、II-F、II-G 和/或 II-H 的 $-CO_2H$ 基团：



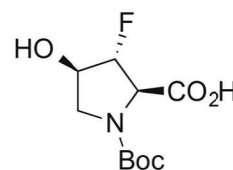
;



;



;



;

或

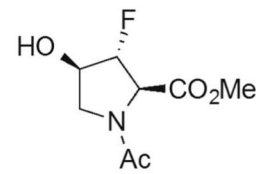
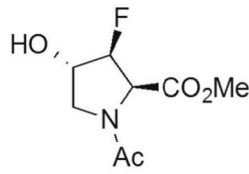
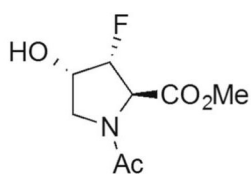
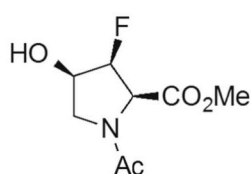
II-E

II-F

II-G

II-H

(iii) R_{2a} 是 OH, R_{2b} 是 H, LHS 是乙酰基 (Ac) 基团以及 RHS 是具有结构式 II-I、II-J、II-K 和/或 II-L 的 $-CO_2Me$ 基团：



或

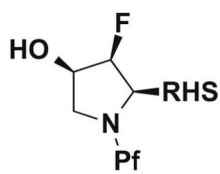
II-I

II-J

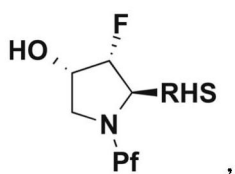
II-K

II-L

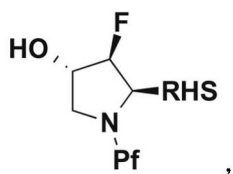
(iv) R_{2a} 是 OH, R_{2b} 是 H, LHS 是 9-苯基-9-芴基基团, 以及 RHS 是具有结构式 II-M、II-N、II-O 和/或 II-P 的 $-CO_2H$ 、 $-CO_2CH_3$ 、或 $-CO_2D$ 基团, 其中 D 是羧酸保护基团, :



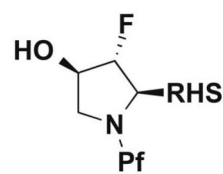
II-M



II-N



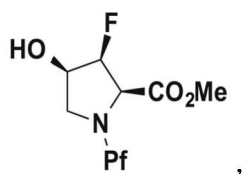
II-O



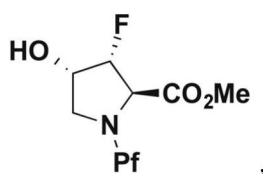
II-P

或 (v) R_{2a} 是

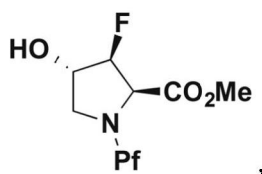
OH, R_{2b} 是 H, LHS 是 9-苯基-9-苄基基团, 以及 RHS 是具有结构式 II-Q、II-R、II-S 和 II-T 的 $-CO_2CH_3$:



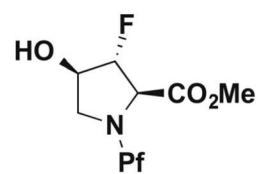
II-Q



II-R



II-S



II-T。

用于制备蛋白降解靶向嵌合体的氟代羟脯氨酸衍生物

技术领域

[0001] 本发明涉及一种新型小分子E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物和抑制剂,并涉及其在蛋白降解靶向嵌合体 (PROTACs) 中的应用、以及其制备过程、和在医学上的应用。本发明特别涉及一种基于氟化羟基脯氨酸支架的新型小分子E3泛素连接酶蛋白结合的配体化合物,并涉及其在合成新型PROTACs中的应用、以及其合成方法。

背景技术

[0002] 羟脯氨酸 (Hyp) 是自然存在的脯氨酸衍生物,在胶原中主要存在两种同分异构形式:4-羟脯氨酸和3-羟脯氨酸(比率为70:1)。羟脯氨酸在体内的合成是由脯氨酰羟化酶催化的肽结合脯氨酸的翻译后修饰。Hyp由于具有特殊的构象刚度,是一种有趣的用于药物研发的片段,其被发现存在于许多天然化合物和临床使用的药物中,例如帕瑞肽、帕利瑞韦和卡泊芬净。

[0003] 最近,如Galdano等人,医学化学期刊(J. Med. Chem), 2014, 57, 8657-8663中所报道,已研发出合并Hyp的小分子,其靶向希佩尔林道病(von Hippel-Lindau)蛋白(VHL) Cullin环连接酶。pVHL的主要底物是低氧诱导因子1 α (HIF-1 α),一种调节超过2%的人类基因的转录因子,特别是那些与氧气感知和低氧反应相关的。在正常氧气浓度下,HIF-1 α 为组成性表达,并且基于通过脯氨酰羟化酶(PHD)进行的羟基化来靶向蛋白酶体的降解,该脯氨酰羟化酶(PHD)在分别处于HIF-1 α 的N端氧降解结构域(NODD)和C端氧降解结构域(CODD)内的Pro402和Pro564上,导致pVHL的特异性招募和随后pVHL介导的多聚泛素化。预期该通道的小分子抑制通过增加与低氧反应有关的基因的表达,模拟对低氧水平的生理反应。为此,小分子PHD抑制剂已经在用于治疗与慢性肾病和癌症化疗相关的慢性贫血的临床试验中进行实验。

[0004] VHL介导的蛋白酶体降解也已经被用于构建所谓的蛋白降解靶向嵌合体 (PROTACs)。PROTAC化合物是异源双功能化合物,包括两种通过连接单元连接的配体。第一配体结合至E3泛素连接酶蛋白质(例如VHL),另一配体结合至感兴趣的靶蛋白,从而使连接酶和靶非常接近。尽管不希望受到特定理论的束缚,但是本文提出这种非常接近引发感兴趣的靶蛋白的聚泛素化和随后的蛋白酶体依赖性降解。

[0005] 至少对于上述原因,本文还提出,本领域持续需要扩展羟脯氨酸的化学空间并研发适用于药物开发的新型羟脯氨酸衍生物。

[0006] 溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质包括广泛表达的BRD2、BRD3和BRD4和睾丸特异性BRDT,已知该蛋白质招募转录调节复合物到乙酰化的染色质中,并因此控制细胞增殖和细胞周期进程中涉及的特异性基因网络。BET蛋白质,特别是BRD4的活性失调与癌症和炎症疾病紧密相关,使得BET蛋白质成为有吸引力的药物靶。除了在转录调节、表观遗传学和癌症中的潜在作用外,溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质:BRD2、BRD3和BRD4被认为在表观遗传学中起重要作用,且其是pan-BET选择性的含布罗莫结构域抑制剂JQ1的靶。

[0007] RNAi筛查已经将BRD4识别为急性髓性白血病和卵巢癌中的治疗靶。此外,已显示出siRNA敲减BRD4而非BRD2或BRD3诱导载脂蛋白A1 (ApoA1) 上调,这被认为可以防止动脉粥样硬化发展以及其他炎性过程。该BRD4的敲减或沉默将BRD4识别为治疗慢性阻塞性肺病(COPD)的研究中的潜在靶。

[0008] 在靶确认中,以翻译后水平作用的小分子化学探针或抑制剂的应用,具有几种超过遗传技术的优势,例如显性失活突变体或敲除和RNAi敲减。这些优势包括以可逆方式提供空间控制及时间的控制。BET蛋白质的功能的关键是两个高度同源的布罗莫结构域,其存在于BET蛋白质的氨基末端区,且通过与组蛋白尾部中的特异性乙酰化赖氨酸(K_{Ac})结合来将招募指向核小体。已知小分子BET抑制剂,包括基于三唑二氮杂卓的JQ1、I-BET762和基于四氢喹啉的I-BET726等等,结合至这些布罗莫结构域的 K_{Ac} 结合袋,并破坏与组蛋白的相互作用,由此替换染色质中的BET蛋白质及其相关的转录调节复合物。这些BET抑制剂对一系列固体肿瘤、血液肿瘤及其他肿瘤是体内和体外高度有效($K_d \sim 100nM$)、高细胞渗透、以及高活性的,这促使BET抑制剂化合物进入癌症步骤I临床试验。

[0009] 在治疗上,已知的BET抑制剂对多种转录通道的作用引起对BET抑制剂在人体内安全性和耐受性的关注。关键的是,至今为止描述的BET抑制剂在BRD4布罗莫结构域上具有的选择性作用不超过其旁系同源物BRD2和BRD3。因此,需要研发新型BET抑制剂化合物,其对BRD4布罗莫结构域的选择性作用超过其旁系同源物BRD2和BRD3。因此,期望研发提供BET内选择性影响的化合物,特别是对BRD4布罗莫结构域的选择性超过其旁系同源物BRD2和BRD3的新型BET抑制剂化合物。

[0010] 至今,没有BET抑制剂显示出对单个BET家族成员的BET内选择性。这样不仅阻止基于BET抑制剂治疗方法本身的发展,还大大地限制其作为化学探针用于验证个体BET靶在生理机能和疾病中的作用的范围。为了解决这个问题,最近对化学基因策略进行研发以设计正交的选择性BET布罗莫结构域-配体对,例如在Baud, M.G.J. 等人在“设计BET布罗莫结构域化学探针的受控选择性的Bump-and-hole方法”,科学,346,638-41 (2014) 中所述。尽管Baud方法具有能够随意破坏单个或多个布罗莫结构域的优势,但是它需要将突变引入靶蛋白,并因此不可能将其研发成自身的药物。

[0011] 该BET内选择性的缺乏限制当前抑制剂作为靶验证探针的潜在使用的范围,特别地由于担心潜在的有害副作用或治疗环境中的毒性。因此,需要提供BET抑制剂化合物,其对BET家族蛋白质中的一个或多个布罗莫结构域均具有选择性,并适合用作药物,即药理学上、生物药理学上、兽医学上活性的化合物。

[0012] 与常规占据驱动的靶抑制方法相关的一般限制是它们经常要求系统性的靶接合,这需要在长时间内持续高浓度的有效小分子抑制剂。这会增强脱靶效应,并可能导致有害的副作用或治疗环境中的毒性。

[0013] 申请人研发了一种替代的小分子方法,其满足长期以来对选择性的BET抑制剂的需求,并且还克服了与系统性靶接合有关的现有问题。特别地,申请人现在研发了新型化合物,其可以将BET蛋白质从细胞完全移除,与仅抑制它们完全不同。这样不仅提供用于开发新型药物的新型BET抑制剂化合物,其还提供用于研究BET布罗莫结构域蛋白质并将它们作为药物靶进行验证的新型工具。

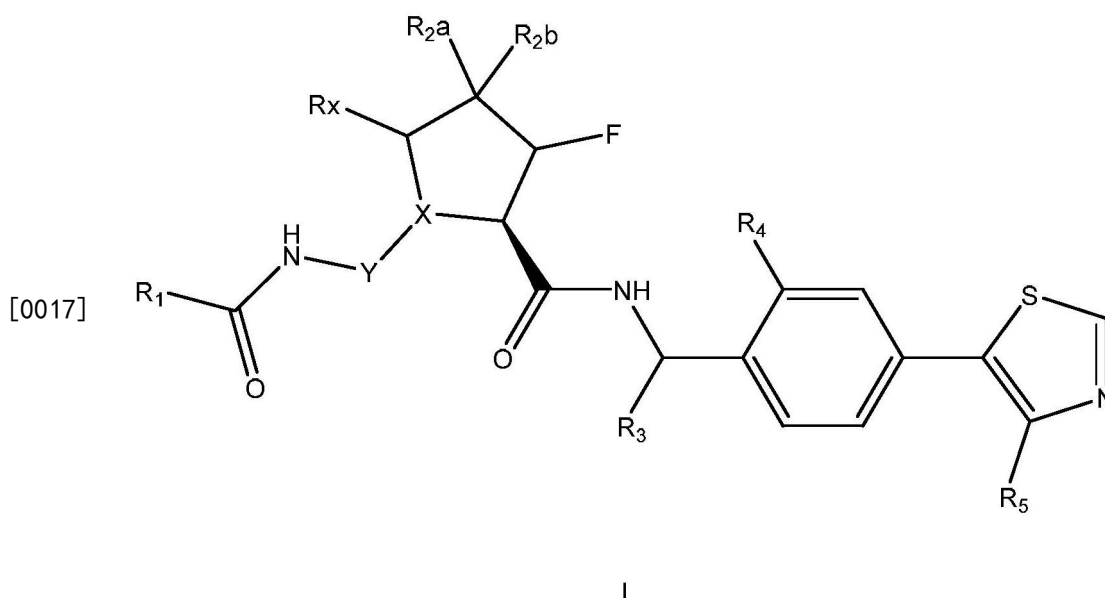
[0014] 申请人还研发了一种用于制备式A的化合物的3-氟代羟脯氨酸中间化合物的制备

方法。

发明内容

[0015] 现在, 申请人研发了一种具有A-L-B结构的新型氟代蛋白降解靶向嵌合体化合物 (PROTACs), 其能够通过溴结构域和额外终端结构域 (BET) 家族蛋白质 (B) 中的蛋白质结合的部分, 将蛋白质结合配体, 例如布罗莫结构域抑制剂, 比如例如JQ1, 拴至式I的小分子E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物 (A), 例如通过合适的连接基团 (L), 连接VHL-E3泛素连接酶结合的配体的式I的化合物。本发明的一些PROTACs具有结合与溴结构域和额外终端结构域 (BET) 家族蛋白质中的蛋白质结合的能力, 该溴结构域和额外终端结构域 (BET) 家族蛋白质中的蛋白质独立地选自: BRD2、BRD3和BRD4, 且可择选地诱导溴结构域和额外终端结构域 (BET) 家族蛋白质中的BRD4蛋白质降解。

[0016] 根据第一方面, 本发明提供了具有A-L-B结构的化合物, 或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物或多晶体, 其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物:



[0018] 其中, L是直接地与式I的化合物结合的基团, 且L是 $-(CH_2)_n L^1 (CH_2O)_p-$, 其中 L^1 是共价键、包含1、2或3个氮原子的5元或6元杂环或芳杂环、苯基、 $-(C_2-C_4)$ 炔基、 $-SO_2-$ 、或 $-NH-$,

[0019] 其中n和p独立地是0至10,

[0020] 其中X是C或N,

[0021] 其中 R_1 是与L碳连接的共价键、具有与L碳连接的共价键的 $-(CH_2)_m Q_v$ 基团、 (C_1-C_4) 烷基基团、或碳连接的 (C_3-C_4) 杂环基团,

[0022] 其中m是0、1或2, v是0或1, 其中Q是 (C_3-C_4) 环基或 $(C_3-C_4)-C-$ 连接的含氮杂环基团, 其中在Q基团上的其中一个环原子可择选地由 $-NHC(O)$ 基团或 $-C(O)$ 基团所取代,

[0023] 其中所述 R_1 基团可选地由一个或多个独立地选自: F、CN、C(O) 或C(O) (C_1-C_3) 烷基的基团所取代,

[0024] 其中 R_{2a} 是OH、 $-CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、 NH_2 或F,

[0025] 其中 R_{2b} 是H、 2H 、 3H 、 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团、芳基基团、杂芳基基团、 $-CF_3$ 、 $-CF_2H$ 、 $-CF_2-$

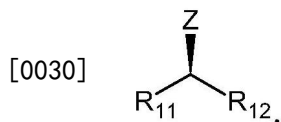
(C₁-C₂) 烷基基团、或F,

[0026] 其中R_x是H、OH、-CHF₂、-CF₃、NH₂或F,

[0027] 其中R₃和R₄独立地选自H、与L碳连接、氧连接、或C(O)连接的共价键,

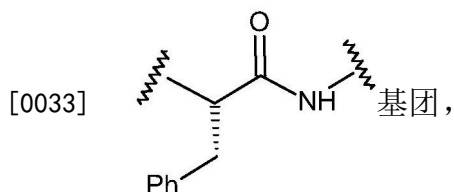
[0028] R₅是-(C₁-C₃) 烷基基团或与L碳连接的共价键,

[0029] 其中Y是



[0031] 其中Z是CR₆R₇R₈或SR₆R₇R₈R₉R₁₀,

[0032] 其中R₁₁是碳连接的共价键或



[0034] 其中R₁₂是-C(O)-、-C(S)-、或-C(=)-R¹³基团,

[0035] 其中当Z是CR₆R₇R₈时,R₆和R₇各自独立地是-(C₁-C₃) 烷基基团,或其中R₆和R₇与它们所连接的C原子一起形成-(C₃-C₄) 环烷基基团,

[0036] 其中当Z是CR₆R₇R₈时,R₈是-(C₁-C₃) 烷基基团、-(CH₂)_qR_{8*}基团、-C(O)-R_{8*}基团、或-N(H)-R_{8*}基团,其中q是0、1或2,

[0037] 以及其中R_{8*}是与L碳连接、硫连接或氮连接的共价键、或H,

[0038] 或其中当Z是SR₆R₇R₈R₉R₁₀时,R₆、R₇、R₈、R₉和R₁₀各自独立地选自:F;或-(C₁-C₃) 烷基基团,

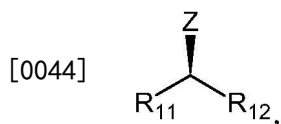
[0039] 其中R₁₃是H、F或-(C₁-C₃) 烷基基团,

[0040] 其中存在于Y基团的-(C₁-C₃) 烷基基团或-(C₃-C₄) 环烷基基团可选择地由一个或多个独立地选自:甲基;OH;或F的取代基所取代,

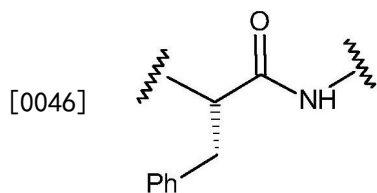
[0041] 以及其中B是额外可选择的配体,其与靶蛋白或多肽结合,该靶蛋白或多肽将由泛素连接酶降解并通过碳连接至L基团而连接至A。

[0042] 本发明提供具有A-L-B结构的化合物,或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物或多晶体,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,其中L是-(CH₂)_nL¹(CH₂O)_p-,其中L¹是共价键、包含1、2或3个氮原子的5元或6元杂环或芳杂环、苯基、-(C₂-C₄) 炔基、-SO₂-、或-NH-,其中X是C或N,其中n和p独立地是0至10,其中R₁是与L碳连接的共价键、具有与L碳连接的共价键的-(CH₂)_mQ_v基团、(C₁-C₄) 烷基基团、或碳连接的(C₃-C₄) 杂环基团,其中m是0、1或2,v是0或1,且当m是0时,v是1,其中Q是(C₃-C₄) 环基团或(C₃-C₄) -C连接的含氮杂环基团,其中在Q基团上的其中一个环原子可择选地由-NHC(O)基团或-C(O)基团取代,其中所述R¹基团可选择地由一个或多个独立地选自F、CN、C(O),或C(O)(C₁-C₃) 烷基的基团所取代,其中R_{2a}是OH、-CHF₂、-CF₃、NH₂或F,其中R_{2b}是H、²H、³H、-(C₁-C₃) 烷基基团、芳基基团、杂芳基基团、-CF₃、-CF₂H、-CF₂-(C₁-C₂) 烷基基团,其中R₃和R₄独立地选自H、与L碳连接的共价键、与L氧连接的共价键、或与L C(O)连接的共价键,

[0043] 其中R₅是-(C₁-C₃) 烷基基团或与L碳连接的共价键,其中Y是



[0045] 其中Z是 $\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8$ 或 $\text{SR}_6\text{R}_7\text{R}_8\text{R}_9\text{R}_{10}$,其中 R_{11} 是碳连接的共价键或

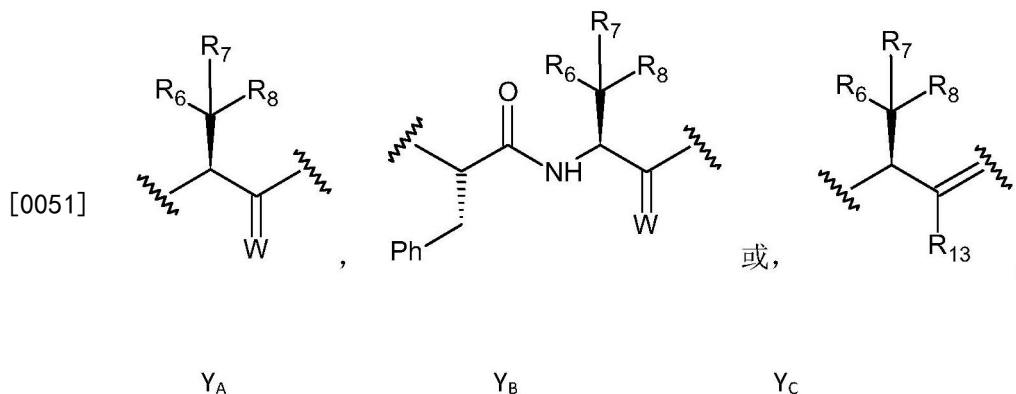


[0047] 基团,其中 R_{12} 是 $-\text{C}(\text{O})-$ 基团,其中当Z是 $\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8$ 时, R_6 和 R_7 各自独立地是 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团,或其中 R_6 和 R_7 与它们所连接的C原子一起形成 $-(\text{C}_3-\text{C}_4)$ 环烷基基团,其中当Z是 $\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8$ 时, R_8 是 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团、 $-(\text{CH}_2)_q\text{R}_{8*}$ 基团、 $-\text{C}(\text{O})-\text{R}_{8*}$ 基团、或 $-\text{N}(\text{H})-\text{R}_{8*}$ 基团,其中q是0、1或2,其中 R_{8*} 是与L碳连接、硫连接的共价键、或H,或其中当Z是 $\text{SR}_6\text{R}_7\text{R}_8\text{R}_9\text{R}_{10}$ 时, R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 和 R_{10} 各自独立地选自:F、或 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团,其中 R_{13} 是H、F或 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团,且其中 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团或 $-(\text{C}_3-\text{C}_4)$ 环烷基基团可选地由一个或多个独立地选自:甲基、OH或F的取代基所取代,

[0048] 以及其中B是配体,其与靶蛋白或多肽结合,该靶蛋白或多肽将由泛素连接酶降解并通过碳连接至L基团而与A连接。

[0049] 本发明提供具有A-L-B结构的化合物,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是如上详述的任一方面中详述的连接基团,且其中B是存在的,其中B是与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的蛋白质结合的化学部分。

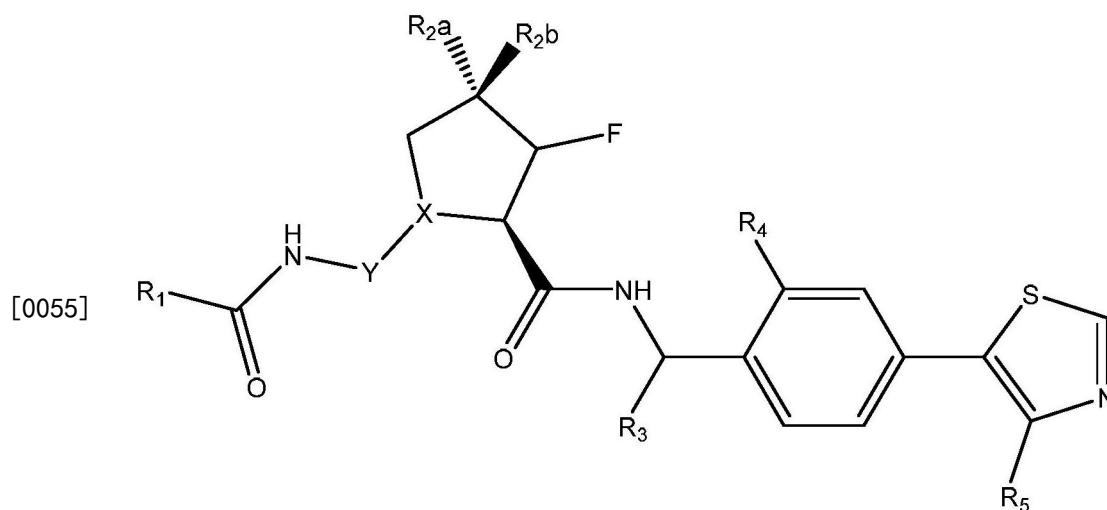
[0050] 本发明提供具有A-L-B结构的化合物,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上详述的任一方面的连接基团,其中Y是



[0052] 其中 R_6 、 R_7 、 R_8 和 R_{13} 如上文中所限定,且其中W可以是O或S。

[0053] 在优选的方面中,本发明提供具有A-L-B结构的化合物,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上详述的任一方面的连接基团,其中Y是 Y_A 或 Y_B ,W是O,更优选地Y是 Y_A ,W是O。

[0054] 本发明提供具有A-L-B结构的化合物,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA



IA

[0056] 其中 R_1 至 R_5 、X、Y、L和B是根据本文限定的任一方面。

[0057] 本发明提供具有A-L-B结构的化合物,其中A是式I或IA的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,或本文任意其他通式,且L是根据如上详述的任一方面的连接基团,其中B是可选择地诱导溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD4蛋白质降解的化学部分,且可选地,其中B独立地选自:JQ1;I-BET726;I-BET 762。

[0058] 本发明提供式I的PROTAC化合物,其结合至溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的蛋白质;优选地,本发明提供式I的PROTAC化合物,其结合至独立地选自:溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD2、BRD3和BRD4蛋白质;特别地,本发明提供式I的PROTAC化合物,其可选择地诱导溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD4蛋白质降解。

[0059] 本发明还提供用于医药的式I的PROTAC化合物,特别地,用于涉及与独立地选自:溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD2、BRD3和BRD4蛋白质相结合的状况或疾病中,尤其地,用于治疗一种或多种独立地选自:癌症、良性增生性失常、传染或非传染性炎症事件、自身免疫疾病、炎性疾病、全身炎症反应综合征、病毒感染和疾病、眼疾的状况或疾病中。

[0060] 在另一方面中,本发明提供药物组合物,其包括一种或多种式I的PROTAC化合物及其药学上可接受的载体、赋形剂、或稀释剂。

[0061] 在又一方面中,提供一种制备适用于制备式A的化合物的3-氟-羟脯氨酸中间化合物的方法。

[0062] 本发明的上述方面以及其他方面将如下详细说明。

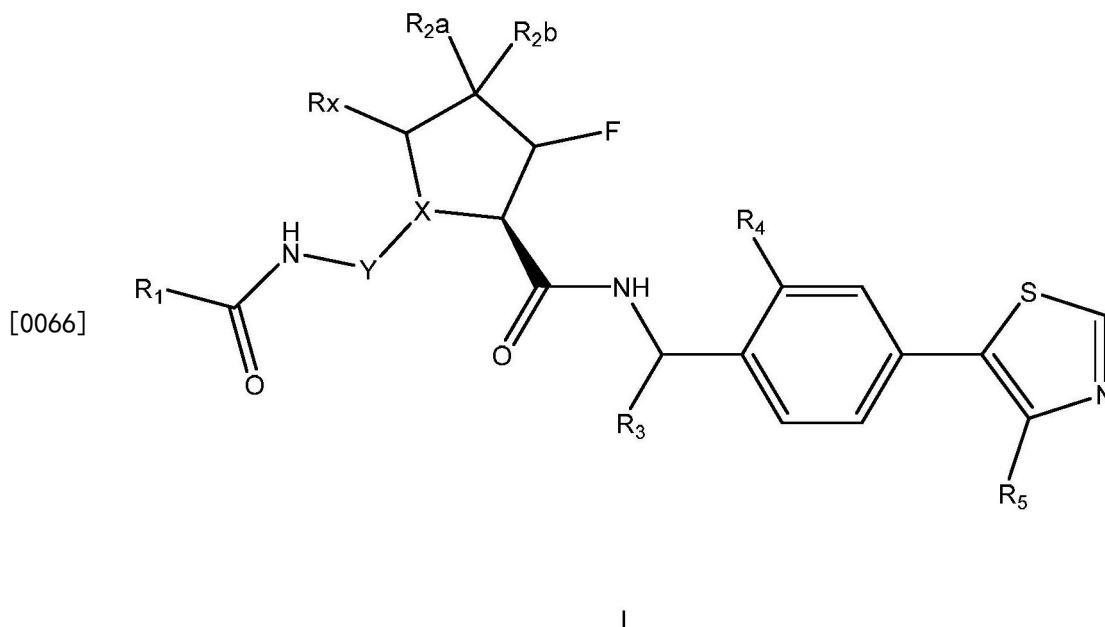
具体实施方式

[0063] 本文描述了申请人研发的一种新型的小分子方法,其利用A-L-B结构的PROTAC化合物,该A-L-B结构的PROTAC化合物已经被证明可实现快速、有效且长时的BET布罗莫结构域蛋白质的细胞内降解。已经证实本化合物的PROTAC诱导的蛋白质可能降解以便与VHL结合,已证明该降解可能性在阻断蛋白酶体活性时是可逆转的,且证明其不会干扰VHL及其天

然底物HIF-1 α 的内源性、生理水平。利用A-L-B结构的PROTAC化合物的实验证实,所有研究的化合物在低浓度下显示出BRD4的降解优先于BRD2和BRD3。

[0064] 如下文所讨论的,PROTACs的实验结果表明,与用JQ1抑制整个BET蛋白质亚家族相比较,用A-L-B化合物(MZ1)可选择地耗尽BRD4引起的药理反应不同。不希望受到任何特定理论束缚,额外的实验已经证实,在纯化蛋白质的背景下,ITC没有观察到结合BRD4的布罗莫结构域的优先性高于高度同源的BRD2和BRD3的布罗莫结构域,本文提出,可能由于与BRD2和BRD3相比较,来自BRD4表面上的赖氨酸残基的聚泛化优先且更有效,由此观察到选择性。或者,或此外,我们还认为与BRD2或BRD3相比,VHL和BRD4之间优先且直接的反应的发生可能是由于结合至本发明的PROTAC化合物,这引起VHL:PROTAC:BRD4三元复合物的更多有效构造。

[0065] 如上文所示,申请人已经研发具有A-L-B结构的PROTAC化合物,或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物或多晶体,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物:



[0067] 其中,L是直接地与式I的化合物结合的基团,且L是 $-(CH_2)_nL^1(CH_2O)_p-$,其中L¹是共价键、包含1、2或3个氮原子的5或6元杂环或芳杂环、苯基、 $-(C_2-C_4)$ 炔基、 $-SO_2-$ 、或 $-NH-$,

[0068] 其中n和p独立地是0至10,

[0069] 其中X是C或N,

[0070] 其中R₁是与L碳连接的共价键、具有与L碳连接的共价键的 $-(CH_2)_mQ_v$ 基团、 (C_1-C_4) 烷基基团、或碳连接的 (C_3-C_4) 杂环基团,

[0071] 其中m是0、1或2,v是0或1,其中Q是 (C_3-C_4) 环基团或 $(C_3-C_4)-C$ 连接的含氮杂环基团,其中在Q基团上的其中一个环原子可选地由 $-NHC(O)$ 基团或 $-C(O)$ 基团所取代,

[0072] 其中所述R¹基团可选择地由一个或多个独立地选自:F、CN、C(O)或C(O) (C_1-C_3) 烷基的基团所取代,

[0073] 其中R_{2a}是OH、 $-CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、 NH_2 或F,

[0074] 其中R_{2b}是H、²H、³H、 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团、芳基基团、杂芳基基团、 $-CF_3$ 、 $-CF_2H$ 、 $-CF_2-$

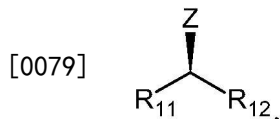
(C₁-C₂) 烷基基团、或F,

[0075] 其中R_x是H、OH、-CHF₂、-CF₃、NH₂或F,

[0076] 其中R₃和R₄独立地选自H、与L碳连接、氧连接或C(0)连接的共价键,

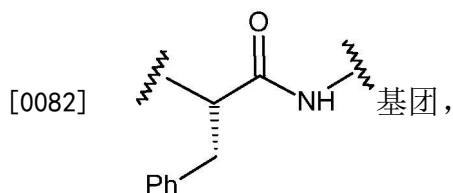
[0077] R₅是-(C₁-C₃) 烷基基团或与L碳连接的共价键,

[0078] 其中Y是



[0080] 其中Z是CR₆R₇R₈或SR₆R₇R₈R₉R₁₀,

[0081] 其中R₁₁是碳连接的共价键或



[0083] 其中R₁₂是-C(0)-、-C(S)-、或-C(=)-R₁₃基团,

[0084] 其中当Z是CR₆R₇R₈时,R₆和R₇各自独立地是-(C₁-C₃) 烷基基团,或其中R₆和R₇与它们所连接的C原子一起形成-(C₃-C₄) 环烷基基团,

[0085] 其中当Z是CR₆R₇R₈时,R₈是-(C₁-C₃) 烷基基团、-(CH₂)_qR_{8*}基团、-C(0)-R_{8*}基团、或-N(H)-R_{8*}基团,其中q是0、1或2,

[0086] 以及其中R_{8*}是与L碳连接、硫连接或氮连接的共价键、或H,

[0087] 或其中当Z是SR₆R₇R₈R₉R₁₀时,R₆、R₇、R₈、R₉和R₁₀各自独立地选自:F;或-(C₁-C₃) 烷基基团,

[0088] 其中R₁₃是H、F或-(C₁-C₃) 烷基基团,

[0089] 其中存在于Y基团中的-(C₁-C₃) 烷基基团可选择地由一个或多个独立地选自OH或F的取代基所取代,或存在于Y基团中的-(C₃-C₄) 环烷基基团可选择地由一个或多个独立地选自甲基、OH或F的取代基所取代,

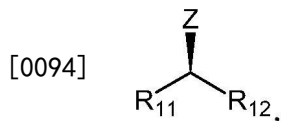
[0090] 以及其中B是额外可选择的配体,其与靶蛋白或多肽结合,该靶蛋白或多肽将由泛素连接酶降解并通过碳连接至L基团而与A连接。

[0091] 有利地,本文详述的式I或式IA的新型小分子E3结合配体能够通过I或IA上多个不同的位置处的连接基团L,通过在R₁、R₃、R₄、R₅或R₈位置处与L碳连接的共价键,与靶蛋白结合的配体B连接。因此,根据另一方面,本发明提供A-L-B结构,其中A是式I或式IA的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,其中A通过A与L之间的共价键与B连接,该共价键在式I或式IA的化合物的位置独立地选自如本文所限定的:R₁、R₃、R₄、R₅或R₈。

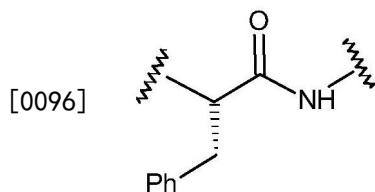
[0092] 本发明提供A-L-B结构的化合物,或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物或多晶体,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,其中L是-(CH₂)_nL¹(CH₂)_p-,其中L¹是共价键、包含1、2或3个氮原子的5元或6元杂环或芳杂环、苯基、-(C₂-C₄) 炔基、-SO₂-、或-NH-,其中X是C或N,其中n和p独立地是0至10,其中R₁是与L碳连接的共价键、具有与L碳连接的共价键的-(CH₂)_mQ_v基团、(C₁-C₄) 烷基基团、或碳连接的(C₃-C₄) 杂环基团,其中m是0、1或2,v是0或1,其中当m是0,v是1时,Q是(C₃-C₄) 环基团或(C₃-C₄)-C

连接的含氮杂环基团,其中在Q基团上的其中一个环原子可选择地由-NHC(O)基团、或-C(O)基团所取代,其中所述 R_1 基团可选地由一个或多个独立地选自F、CN、C(O)或C(O)(C_1-C_3)烷基的基团所取代,其中 R_{2a} 是OH、-CHF₂、-CF₃、NH₂或F,其中 R_{2b} 是H、²H、³H、-(C_1-C_3)烷基基团、芳基基团、杂芳基基团、-CF₃、-CF₂H、-CF₂-(C_1-C_2)烷基基团,其中 R_3 和 R_4 独立地选自H、或与L碳连接、氧连接或C(O)连接的共价键,

[0093] 其中 R_5 是-(C_1-C_3)烷基基团或与L碳连接的共价键,其中Y是



[0095] 其中Z是 $CR_6R_7R_8$ 或 $SR_6R_7R_8R_9R_{10}$,其中 R_{11} 是碳连接的共价键或



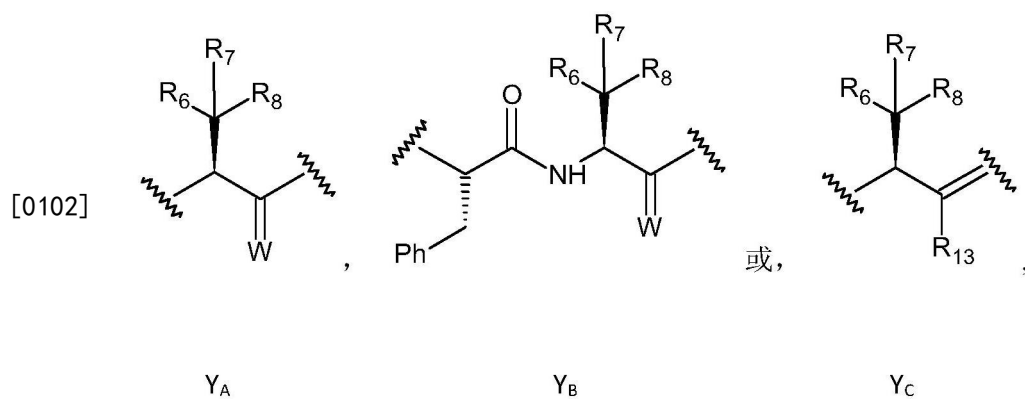
[0097] 基团,其中 R_{12} 是-C(O)-基团,其中当Z是 $CR_6R_7R_8$ 时, R_6 和 R_7 各自独立地是-(C_1-C_3)烷基基团,或其中 R_6 和 R_7 与它们所连接的C原子一起形成-(C_3-C_4)环烷基基团,其中当Z是 $CR_6R_7R_8$ 时, R_8 是-(C_1-C_3)烷基基团、-(CH₂)_q R_{8*} 基团、-C(O)- R_{8*} 基团、或-N(H)- R_{8*} 基团,其中q是0、1或2,其中 R_{8*} 是与L碳连接或硫连接的共价键、或是H,或其中当Z是 $SR_6R_7R_8R_9R_{10}$ 时, R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 和 R_{10} 各自独立地选自:F或-(C_1-C_3)烷基基团,其中 R_{13} 是H、F或-(C_1-C_3)烷基基团,且其中-(C_1-C_3)烷基基团或-(C_3-C_4)环烷基基团可选择地由一个或多个独立地选自:甲基、OH、或F的取代基所取代,

[0098] 以及其中B是配体,其与靶蛋白或多肽结合,该靶蛋白或多肽将由泛素连接酶降解并通过碳连接至L基团而与A连接。

[0099] 本发明提供具有A-L-B结构的化合物,其中如本文任一方面中所限定,A是式I或式IA或IB的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,其中L是-(CH₂)_n(CH₂O)_p-基团,其直接与式I的化合物结合,其中n和p的值相同,在1至6之间,优选地,其中L为-(CH₂CH₂O)_b-基团,其中b是1至10。

[0100] 本发明提供具有A-L-B结构的化合物,其中A是式I、IA或IB的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是如上文详述的连接基团,且其中B是存在的。

[0101] 本发明提供具有A-L-B结构的化合物,其中A是式I、IA或IB的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上详述的任一方面的连接基团,其中Y是



[0103] 其中R₆、R₇、R₈和R₁₃如上文所限定，且其中W可以是O或S。

[0104] 在优选的方面中，本发明提供具有A-L-B结构的化合物，其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物，L是根据如上详述的任一方面的连接基团，其中Y是Y_A或Y_B，W是O，更优选地Y是Y_A，W是O。

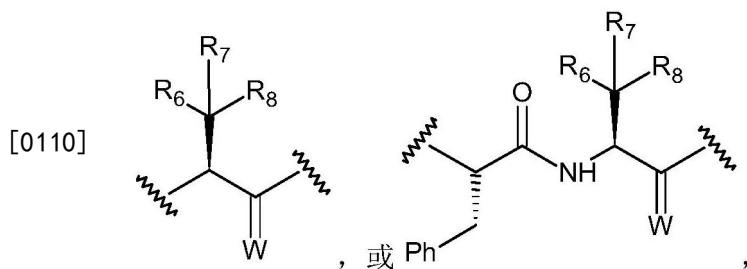
[0105] 在式I、IA或IB的化合物的优选组中，用于如上文限定的结构为A-L-B的PROTACs，Y是Y_A、Y_B或Y_C，优选地，Y是Y_A或Y_B，更优选地，其中Y是Y_A或Y_B，且其中当Y是Y_A时，W是O，且R₆、R₇和R₈是甲基基团；且当Y是Y_B时，W是O且R₆、R₇和R₈是甲基基团。在式I、IA或IB的化合物的优选组中，用于如上文限定的结构为A-L-B的PROTACs，Y是Y_A，W是O，且R₆、R₇和R₈是甲基基团。

[0106] 因此，本发明提供具有A-L-B结构的化合物，其中A是式I、IA或IB的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物，其中R₁至R₅、X、L和B是根据本文限定的任一方面的，且其中Y是Y_A、Y_B或Y_C，W是O或S，优选地，其中Y是Y_A或Y_B，W是O或S，更优选地，其中当Y是Y_A时，W是O且R₆、R₇和R₈是甲基基团；以及当Y是Y_B时，W是O且R₆、R₇和R₈是甲基基团，特别地，其中Y是Y_A，W是O，以及R₆、R₇和R₈是甲基基团。

[0107] 在式I、IA或IB化合物的优选组中，用于如上述限定的结构为A-L-B的PROTACs，其中L是-(CH₂CH₂O)_b-基团，其直接与式I的化合物结合，其中b是1至10，优选地，是1至6，更优选地，是1至4，特别地是2、3或4。

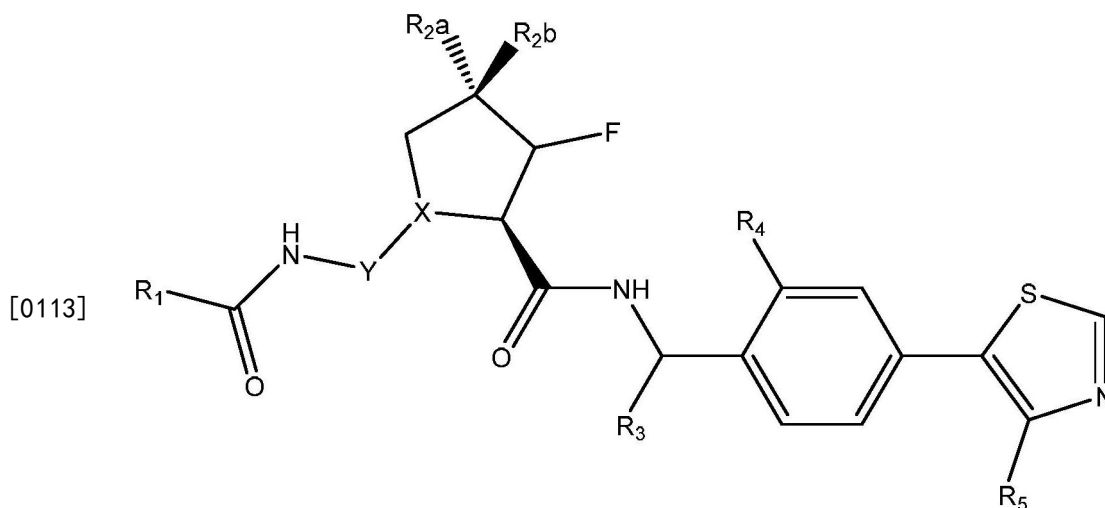
[0108] 因此，本发明提供具有A-L-B结构的化合物，其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物，其中R₁至R₅、X、Y和B是根据本文限定的任一方面的，其中L是-(CH₂CH₂O)_b-基团，其直接与式I的化合物结合，其中b是1至10，优选地，是1至6，更优选地，是1至4，特别地是2、3或4。

[0109] 本发明提供具有A-L-B结构的化合物，或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物或多晶体，其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物，优选地，其中A是如下文限定的式IA的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物，其中X是N，其中R₁是与L碳连接的共价键、具有与L碳连接的共价键的-(CH₂)_mQ_v基团、(C₁-C₄)烷基基团、或碳连接的(C₃-C₄)杂环基团，其中m是0、1或2，v是0或1，且其中当m是0时，v是1，其中Q是(C₃-C₄)环基团或(C₃-C₄)-C连接的含氮杂环基团，其中Q基团上的其中一个环原子可选择地由-NHC(O)基团或-C(O)基团所取代，其中所述R₁基团可选择地由一个或多个独立地选自F、CN、C(O)或C(O)CH₃的基团所取代，其中R_{2a}是OH，其中R_{2b}是H、²H、³H，其中R^x是H，其中R₃和R₄独立地选自H、或与L碳连接、氧连接或C(O)连接的共价键，R₅是(C₁-C₃)烷基基团或与L碳连接的共价键，其中Y是



[0111] 其中W是O,其中R₆和R₇各自独立地是-(C₁-C₃)烷基基团,或其中R₆和R₇与它们所连接的碳原子一起形成-(C₃-C₄)环烷基基团,其中R₈是-(C₁-C₃)烷基基团、-(CH₂)_qR_{8*}基团、-C(O)-R_{8*}基团、或-N(H)-R_{8*}基团,其中q是0、1或2,且其中R_{8*}是与L碳连接、硫连接或氮连接的共价键、或是H,存在于Y基团中的-(C₁-C₃)烷基基团或-(C₃-C₄)环烷基基团可选择地由一个或多个独立地选自甲基、OH或F的取代基所取代,以及其中B是额外的可选择的配体,其与靶蛋白或多肽结合,该靶蛋白或多肽可通过泛素连接酶降解,并通过碳连接至L基团而与A连接。

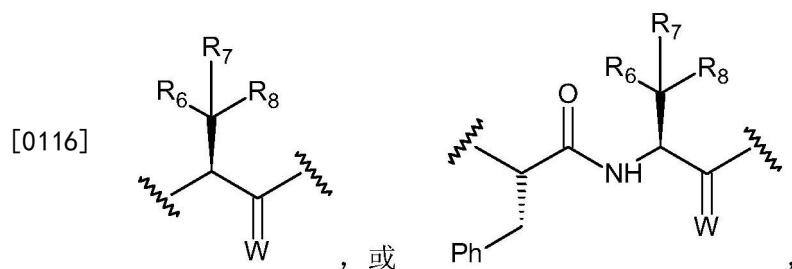
[0112] 此外,本文提供具有A-L-B结构的化合物,或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物或多晶体,其中A是式IA的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物:



IA

[0114] 其中X是N,

[0115] 其中R₁是与L碳连接的共价键、具有与L碳连接的共价键的-(CH₂)_mQ_v基团、(C₁-C₄)烷基基团、或碳连接的(C₃-C₄)杂环基团,其中m是0、1或2,v是0或1,且其中当m是0时,v是1,其中Q是(C₃-C₄)环基团或(C₃-C₄)-C连接的含氮杂环基团,其中Q基团上的其中一个环原子可选择地由-NHC(O)基团或-C(O)基团所取代,其中所述R₁基团可选择地由一个或多个独立地选自F、CN、C(O)或C(O)CH₃的基团所取代,其中R_{2a}是OH,其中R_{2b}是H,其中R₃和R₄独立地选自H、或与L碳连接、氧连接或C(O)连接的共价键,其中R₅是-(C₁-C₃)烷基基团或与L碳连接的共价键,其中Y是



[0117] 其中W是O,且优选地,其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团,其中 R_6 和 R_7 各自独立地是 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团,或其中 R_6 和 R_7 与它们所连接的碳原子一起形成 $-(\text{C}_3-\text{C}_4)$ 环烷基基团,其中 R_8 是 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团、 $-(\text{CH}_2)_q\text{R}_{8*}$ 基团、 $-\text{C}(\text{O})-\text{R}_{8*}$ 基团、或 $-\text{N}(\text{H})-\text{R}_{8*}$ 基团,其中q是0、1或2,且其中 R_{8*} 是与L碳连接、硫连接或氮连接的共价键、或是H,存在于Y基团中的 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团或 $-(\text{C}_3-\text{C}_4)$ 环烷基基团可选择地由一个或多个独立地选自甲基、OH或F的取代基所取代,其中B是配体,其与靶蛋白或多肽结合,该靶蛋白或多肽通过泛素连接酶降解,并通过碳连接至L基团而与A连接,优选地,B是可选择地诱导溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD4蛋白质降解的化学部分,特别地其中B独立地选自:JQ1、I-BET726、I-BET762。本发明提供具有A-L-B结构的化合物,或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物或多晶体,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中X、Y、L、 R_1 、 R_{2a} 、 R_{2b} 、 R_x 、 R_3 、 R_4 和 R_5 如式IA中所示,其中 R_1 是与L碳连接的共价键、具有与L碳连接的共价键的 $-(\text{CH}_2)_m\text{Q}_v$ 基团、或 (C_1-C_4) 烷基基团,其中m是0或1,v是0或1,且其中当m是0时,v是1,其中Q是 (C_3-C_4) 环基团,其中Q基团上的其中一个环原子可选择地由 $-\text{NHC}(\text{O})$ 基团或 $-\text{C}(\text{O})$ 基团所取代,其中所述 R_1 基团可选择地由一个或多个独立地选自F、CN、C(O)或C(O)CH₃的基团所取代,其中 R_3 和 R_4 独立地选自H、或与L碳连接、氧连接或C(O)连接的共价键, R_5 是 $-(\text{C}_1-\text{C}_2)$ 烷基基团或与L碳连接的共价键,其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团,其中 R_6 和 R_7 各自独立地是 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团,或其中 R_6 和 R_7 与它们所连接的碳原子一起形成 $-(\text{C}_3-\text{C}_4)$ 环烷基基团,其中 R_8 是 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团、 $-(\text{CH}_2)_q\text{R}_{8*}$ 基团、 $-\text{C}(\text{O})-\text{R}_{8*}$ 基团、或 $-\text{N}(\text{H})-\text{R}_{8*}$ 基团,其中q是0、1或2,且其中 R_{8*} 是与L碳连接、硫连接或氮连接的共价键、或是H,存在于Y基团中的 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团或 $-(\text{C}_3-\text{C}_4)$ 环烷基基团可选择地由一个或多个独立地选自甲基、OH或F的取代基所取代,以及其中B是额外的可选择配体,其与靶蛋白或多肽结合,该靶蛋白或多肽通过泛素连接酶降解,并通过碳连接至L基团而与A连接。

[0118] 本发明提供具有A-L-B结构的PROTAC化合物,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,且L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中 R_1 是与L氧连接的共价键、具有与L氧连接的共价键的环丙基基团、或 C_1 烷基基团,且所述 C_1 烷基基团或环丙基基团可选择地由F、CN、或C(O)CH₃取代,其中 R_8 是 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团或 $-(\text{CH}_2)_q\text{R}_{8*}$ 基团,其中q是0、1或2,其中 R_{8*} 是与L碳连接、硫连接或氮连接的共价键、或是H。

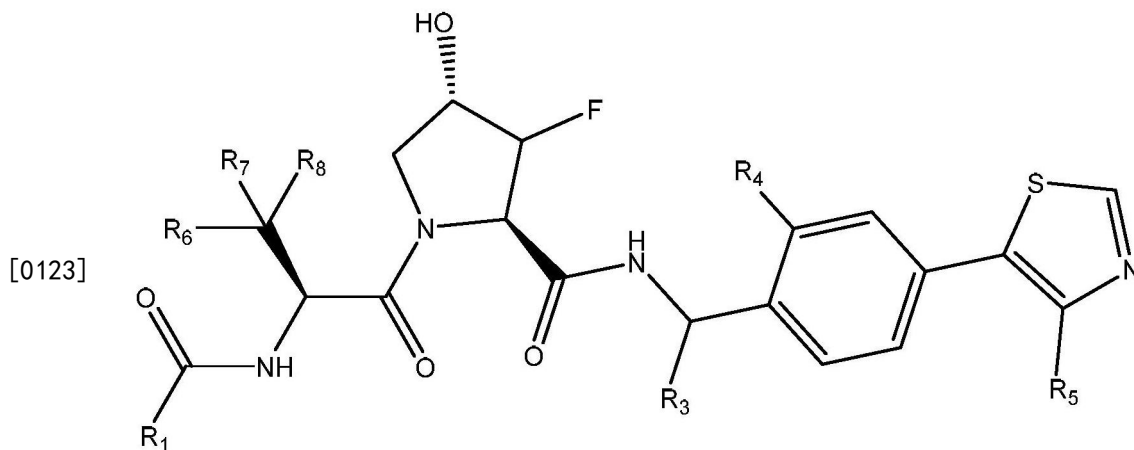
[0119] 本发明提供具有A-L-B结构的PROTAC化合物,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,且L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中 R_1 是与L氧连接的共价键、环丙基基团、或在环烷基环的C1位上用F、CN或C(O)CH₃取代的环丙基基团、或未被取代的甲基基团,其中所述环丙基基团是与L共价碳连接的,其中 R_5 是未被取代的甲基基团或与L碳连接的共价键,其中 R_6 和 R_7 各自独立地是未被取代的 (C_1-C_2) 烷基

基团,且其中 R_8 是未被取代的甲基或乙基基团、或 $-(CH_2)_q R_{8*}$ 基团,其中 q 是0或1,其中 R_{8*} 是与L碳连接、硫连接或氮连接的共价键、或是H。

[0120] 此外,本发明提供具有A-L-B结构的PROTAC化合物,其中A是如本文所限定的式I的,更优选地是式IA或IB的,E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,其中 R^1 、 R^{2a} 、 R_{2b} 、 R_x 、 R_3 、 R_4 、 R_6 、 R_7 、 R_9 、X、Y、L和B是根据上文任意PROTAC化合物所限定的,其中 R_5 是 $-CH_3$ 基团或与L碳连接的共价键。

[0121] 本发明此外提供具有A-L-B结构的PROTAC化合物,其中A是如本文所限定的式I的,更优选地是式IA或IB的,E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,其中 R_1 、 R_{2a} 、 R_{2b} 、 R_x 、 R_3 、 R_4 、 R_6 、 R_7 、 R_9 、X、Y和B是根据上文任意PROTAC化合物所限定的,L是 $-(CH_2CH_2O)_b-$ 基团,其中 b 是1至10,且L是直接结合至式I、IA或IB的化合物。

[0122] 本发明此外提供具有A-L-B结构的PROTAC化合物,其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物或多晶体,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IB:

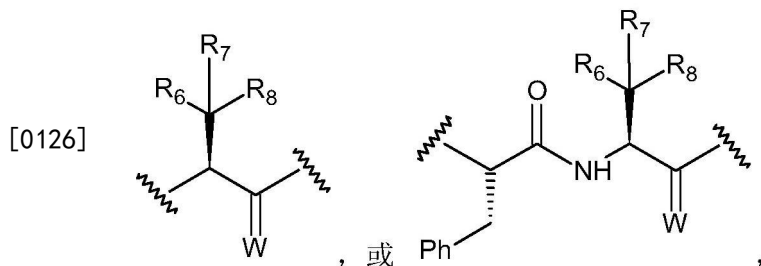


IB

[0124] 其中L是直接结合至式IB的化合物的基团,且其中L是 $-(CH_2)_n L^1 (CH_2O)_p-$,其中 L^1 是共价键、包含1、2或3个氮原子的5元或6元杂环或芳杂环、苯基、 $-(C_2-C_4)$ 炔基、 $-SO_2-$ 、或 $-NH-$,其中 n 和 p 独立地是0至10,其中 R^1 是与L碳连接的共价键、具有与L碳连接的共价键的 $-(CH_2)_m Q_v$ 基团、 (C_1-C_4) 烷基基团、或碳连接的 (C_3-C_4) 杂环基团,其中 m 是0、1或2, v 是0或1,其中Q是 (C_3-C_4) 环基团或 $(C_3-C_4)-C$ 连接的含氮杂环基团,其中Q基团上的其中一个环原子可选地由 $-NHC(O)$ 基团或 $-C(O)$ 基团所取代,其中所述 R_1 基团可选择地可由一个或多个独立地选自F、CN、C(O)或C(O) (C_1-C_3) 烷基的基团所取代,其中 R_3 和 R_4 独立地选自H、与L碳连接的共价键、与L氧连接的共价键或与L C(O)连接的共价键,其中 R_5 是 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团或与L碳连接的共价键;其中 R_6 和 R_7 各自独立地是 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团,或其中 R_6 和 R_7 与它们所连接的碳原子一起形成 $-(C_3-C_4)$ 环烷基基团,其中 R_8 是 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团、 $-(CH_2)_q R_{8*}$ 基团、 $-C(O)-R_{8*}$ 基团、或 $-N(H)-R_{8*}$ 基团,其中 q 是0、1或2,且其中 R_{8*} 是与L碳连接、硫连接或氮连接的共价键、或是H,存在的 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团或 $-(C_3-C_4)$ 环烷基基团可选择地由一个或多个独立地选自甲基、OH或F的取代基所取代,且其中B是额外的可选择的配体,其与靶蛋白或多肽结合,该靶蛋白或多肽通过泛素连接酶降解并且通过碳连接至L基团与A连接。

[0125] 在具有A-L-B结构的PROTAC化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构

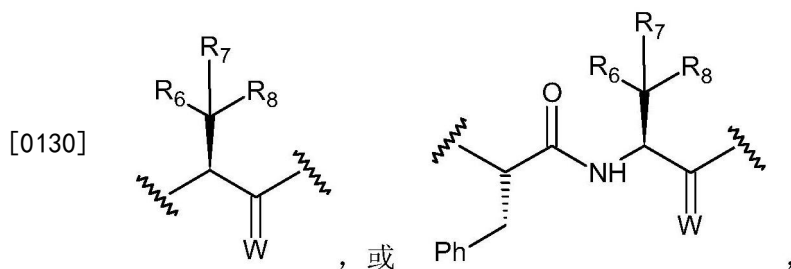
体、水合物、溶剂合物或多晶体的优选组中,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IB,其中X是N,其中 R_{2a} 是OH, R_{2b} 是H, R_x 是H,Y是 Y_A 且W是O,其中 R_1 是与L碳连接的共价键、具有与L碳连接的共价键的 $-(CH_2)_m Q_v$ 基团、 (C_1-C_4) 烷基基团、或碳连接的 (C_3-C_4) 杂环基团,其中m是0、1或2,v是0或1,且其中当m是0时,v是1,其中Q是 (C_3-C_4) 环基团或 (C_3-C_4) -C连接的含氮杂环基团,其中Q是 (C_3-C_4) 环基团或 (C_3-C_4) -C连接的含氮杂环基团,其中Q基团上的其中一个环原子可选择地由-NHC(O)基团或-C(O)基团所取代,其中所述 R_1 基团可选择地由一个或多个独立地选自F、CN、C(O)或C(O)CH₃的基团所取代,其中 R_3 和 R_4 独立地选自H、或与L碳连接、氧连接或C(O)连接的共价键,其中 R_5 是 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团或与L碳连接的共价键,其中Y是



[0127] 其中W是O,且优选地,其中Y是 $-CH(CR_6R_7R_8)-C(O)-$ 基团,其中 R_6 和 R_7 各自独立地是 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团,或其中 R_6 和 R_7 与它们所连接的C原子一起形成 $-(C_3-C_4)$ 环烷基基团,其中 R_8 是 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团、 $-(CH_2)_q R_{8*}$ 基团、 $-C(O)-R_{8*}$ 基团、或 $-N(H)-R_{8*}$ 基团,其中q是0、1或2,且其中 R_{8*} 是与L碳连接、硫连接或氮连接的共价键、或是H,存在于Y基团中的 $-(C_1-C_3)$ 烷基基团或 $-(C_3-C_4)$ 环烷基基团可选择地由一个或多个独立地选自甲基、OH、或F的取代基所取代,以及其中B是额外的可选择的配体,其与靶蛋白或多肽结合,该靶蛋白或多肽可通过泛素连接酶降解,并通过碳链接至L基团而与A连接。

[0128] 此外,本文提供优选的PROTAC化合物的组,组I、II、III、IV和V,其中式I化合物具有通式IA,其中X是N, R_{2a} 是OH, R_{2b} 和 R_x 在每组中都是H,L在不同位置,即分别在 R_1 (组I)、 R_3 (组II)、 R_4 (组III)、 R_5 (组IV)或 R_8 (组V)处直接地与通式IA的化合物结合。这些化合物的组全部是通式IB的化合物。下文提供组I、II、III和IV中的式IB的化合物的实例。

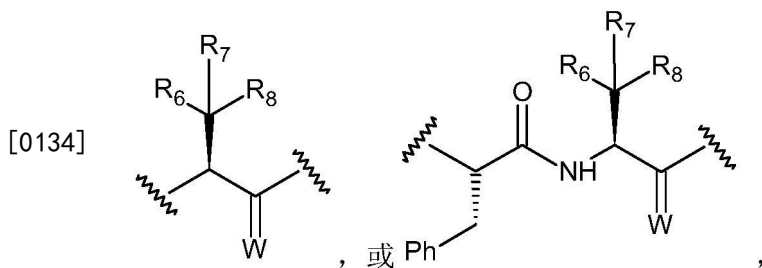
[0129] 在PROTAC化合物的优选组组I中,具有结构为A-L-B的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物或多晶体,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IB,其中L是 $-(CH_2)_n L^1 (CH_2O)_p-$,其中 L^1 是共价键、包含1、2或3个氮原子的5元或6元杂环或芳杂环、苯基、 $-(C_2-C_4)$ 炔基、 $-SO_2-$ 、或 $-NH-$,且其中L在 R_1 位置处直接与式IA的化合物结合,其中 R_1 是具有与L氧连接的共价键的可选择地取代的环丙基基团,或 R_1 是与L氧连接的共价键,其中 R_3 和 R_4 都是H,其中 R_5 是 $-CH_3$ 基团,其中Y是



[0131] 其中W是O,且优选地,其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团,且其中B是额外的可选择的配体,其与靶蛋白或多肽结合,该靶蛋白或多肽可通过泛素连接酶降解,并通过碳连接至L基团而与A连接。

[0132] 在组I的优选组中,PROTAC化合物具有A-L-B结构,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中L是 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_b-$ 基团,其中b是1至10,且L是在 R_1 位置处直接与式IA的化合物结合,其中 R_1 是具有与L氧连接的共价键的可选择地取代的环丙基基团,或 R_1 是与L氧连接的共价键,其中 R_3 和 R_4 都是H,其中 R_5 是 $-\text{CH}_3$ 基团,其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团,且其中B是如上文所限定的。

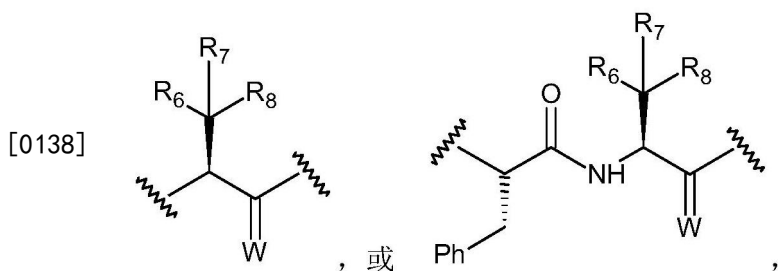
[0133] 在PROTAC化合物的优选组组II中,具有A-L-B结构的,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合的配体的化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IB,L在 R_3 位置处直接结合至式IA的化合物,其中L是 $-(\text{CH}_2)_n\text{L}^1(\text{CH}_2\text{O})_p-$,其中 L^1 是共价键、包含1、2或3个氮原子的5元或6元杂环或芳杂环、苯基、 $-(\text{C}_2-\text{C}_4)$ 炔基、 $-\text{SO}_2-$ 、或 $-\text{NH}-$,其中 R_{2a} 是OH,其中 R_{2b} 、 R_x 和 R_4 全都是H,其中 R_3 是与L碳连接、氧连接或 $-\text{C}(\text{O})-$ 连接的共价键,其中 R_5 是 $-\text{CH}_3$ 基团,其中Y是



[0135] 其中W是O,且优选地,其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团。

[0136] 在优选组组II中,PROTAC化合物具有A-L-B结构,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中L在 R_3 位置处直接与式IA的化合物结合,其中b是1至10,其中 R_{2a} 是OH,其中 R_{2b} 、 R_x 、 R_3 和 R_4 全都是H,其中 R_3 是与L碳连接、氧连接或 $-\text{C}(\text{O})-$ 连接的共价键, R_5 是 $-\text{CH}_3$ 基团,且其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团。

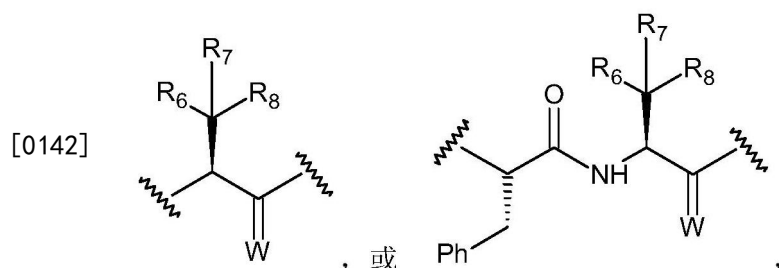
[0137] 在PROTAC化合物的优选组组III中,具有A-L-B结构,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中L在 R_4 位置处直接与式IA的化合物结合,其中L是 $-(\text{CH}_2)_n\text{L}^1(\text{CH}_2\text{O})_p-$,其中 L^1 是共价键、包含1、2或3个氮原子的5元或6元杂环或芳杂环、苯基、 $-(\text{C}_2-\text{C}_4)$ 炔基、 $-\text{SO}_2-$ 、或 $-\text{NH}-$,其中 R_{2a} 是OH,其中 R_{2b} 、 R_x 和 R_3 全都是H,其中 R_4 是与L碳连接、氧连接或 $-\text{C}(\text{O})-$ 连接的共价键,其中 R_5 是 $-\text{CH}_3$ 基团,其中Y是



[0139] 其中W是O,且优选地,其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团。

[0140] 在优选组组III中,PROTAC化合物具A-L-B结构,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IV,其中L在 R_4 位置处直接与式IA的化合物结合,其中b为1至10,其中 R_{2a} 是OH,其中 R_{2b} 、 R_x 和 R_3 全都是H,其中 R_4 是与L碳连接、氧连接或 $-\text{C}(\text{O})-$ 连接的共价键,其中 R_5 是 $-\text{CH}_3$ 基团,其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团。

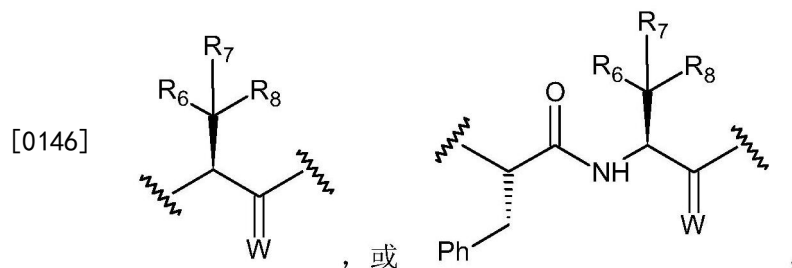
[0141] 在PROTAC化合物的优选组组IV中,具有A-L-B结构,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中L在 R_5 位置处直接结合至式IA的化合物,其中L是 $-(\text{CH}_2)_n\text{L}^1(\text{CH}_2\text{O})_p-$,其中 L^1 是共价键、包含1、2或3个氮原子的5元或6元杂环或芳杂环、苯基、 $-(\text{C}_2-\text{C}_4)$ 炔基、 $-\text{SO}_2-$ 、或 $-\text{NH}-$,其中 R_{2a} 是OH,其中 R_{2b} 、 R_x 、 R_3 和 R_4 全都是H,其中 R_5 是与L碳连接、氧连接或 $-\text{C}(\text{O})-$ 连接的共价键,其中Y是



[0143] 其中W是O,优选地,其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团。

[0144] 在优选组组IV中,PROTAC化合物具有A-L-B结构,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中L在 R_5 位置处直接结合至式IA的化合物,其中b是1至10,其中 R_{2a} 是OH,其中 R_{2b} 、 R_x 、 R_3 和 R_4 都是H,其中 R_5 是与L碳连接、氧连接或 $-\text{C}(\text{O})$ 连接的共价键,其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团。

[0145] 在PROTAC化合物的优选组组V中,具有A-L-B结构,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中L在 R_{8*} 位置处直接与式I或IA的化合物结合,其中L是 $-(\text{CH}_2)_n\text{L}^1(\text{CH}_2\text{O})_p-$,其中 L^1 是共价键、包含1、2或3个氮原子的5元或6元杂环或芳杂环、苯基、 $-(\text{C}_2-\text{C}_4)$ 炔基、 $-\text{SO}_2-$ 、或 $-\text{NH}-$,其中 R_{2a} 是OH,其中 R_{2b} 、 R_x 和 R_4 全都是H,其中 R_3 是与L碳连接、氧连接或 $-\text{C}(\text{O})$ 连接的共价键,其中 R_5 是 $-\text{CH}_3$ 基团,其中Y是



[0147] 其中W是O,且优选地,其中Y是 $-\text{CH}(\text{CR}_6\text{R}_7\text{R}_8)-\text{C}(\text{O})-$ 基团,其中 R_8 是 $-(\text{CH}_2)_q\text{R}_{8*}$ 基团,其中q是0、1、或2,且其中 R_{8*} 是与L碳连接、硫连接、或氮连接的共价键。

[0148] 在优选组组V中,PROTAC化合物具有A-L-B结构,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中L

在 R_{8*} 位置处直接与式IA的化合物结合,其中L是 $-(CH_2CH_2O)_b-$ 基团,其中b是1至10,其中 R_{2a} 是OH,其中 R_{2b} 、 R_x 、 R_3 和 R_4 全是H,其中 R_5 是 $-CH_3$ 基团,其中Y是 $-CH(CR_6R_7R_8)-C(O)-$ 基团,其中 R_8 是 $-(CH_2)_qR_{8*}$ 基团,q是0、1、或2,且其中 R_{8*} 是与L碳连接、硫连接、或氮连接的共价键。

[0149] 具有A-L-B结构的PROTAC化合物如上文所限定并在下文进行详述,其中A是式I的,优选地为式IA的,更优选地为式IB的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,L和B是根据如上文详述的任一方面的,特别是,其中L是PEG1至PEG4基团,其中B独立地选自:JQ1、I-BET726、I-BET 762,且其中L基团在 R^1 位置处直接结合至式I或IA、或IB的化合物。

[0150] 此外,如下文详述地,组I至V提供具有A-L-B结构的示范性PROTAC化合物,其中A是式I的,优选地为式IA的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,其中L和B是根据如上文详述的任一方面的,且其中L基团在 R_1 、 R_3 、 R_4 、 R_5 或 R_{8*} 位置处直接结合至式I或IA的化合物。

[0151] 本文还提供具有A-L-B结构的PROTAC化合物的组,其中A是式I的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,且L是根据如上文详述的任一方面,或如上文详述的优选方面或特定方面的连接基团,其中A具有通式IA,其中 R_1 至 R_5 、X、L和B如上文所限定,且其中Y是 Y_A 、 Y_B 或 Y_C ,优选地,其中Y是 Y_A 或 Y_B ,且更优选地,其中Y是 Y_A 或 Y_B ,特别是其中Y是 Y_A ,且其中:当Y是 Y_A 时,W是O且 R_6 、 R_7 和 R_8 是甲基基团;以及当Y是 Y_B 时,W是O且 R_6 、 R_7 和 R_8 是甲基基团。

[0152] 除非另有说明,如本文中所使用的下列术语具有以下所限定的含义:

[0153] “ C_a-C_b 烷基”其自身,或在复合表达例如 C_a-C_b 卤代烷基等中表示具有指定数量碳原子的直链或支链的烷基,如 C_1-C_4 烷基意为具有1至4个碳原子的烷基。用于本发明的优选烷基是 C_1-C_4 烷基,包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基。

[0154] “ C_2-C_4 炔基”表示具有2至4个碳原子和一个碳碳三键的直链或支链的烷基,如乙炔(C_2H_2)、丙炔(C_3H_4)和1-丁炔(C_4H_6)。

[0155] 术语“Me”指甲基,“MeO”意为甲氧基。

[0156] 术语“ C_e-C_f 环”指“ C_3-C_4 ”环烷基”基团,且表示具有指定数量碳原子的一价环烷基,如 C_3-C_4 环烷基指具有3或4个碳原子的一价环烷基。

[0157] 术语“氨基”表示 $-NH_2$ 基。

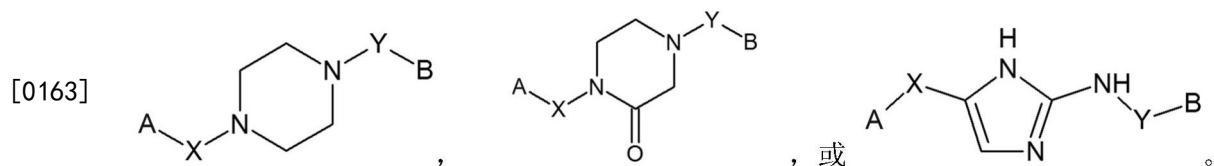
[0158] 术语“卤”表示卤素基,例如氟代、氯代、溴代或碘代。优选的卤素基团是氟代。

[0159] 术语“苯”意为苯基,例如在本文的 R^{11} 或 Y_B 基团,“苯”表示 $-C_6H_5$ 基。

[0160] 术语“5元或6元杂环”表示包括1、2或3个氮杂原子的稳定饱和5元或6元单环。

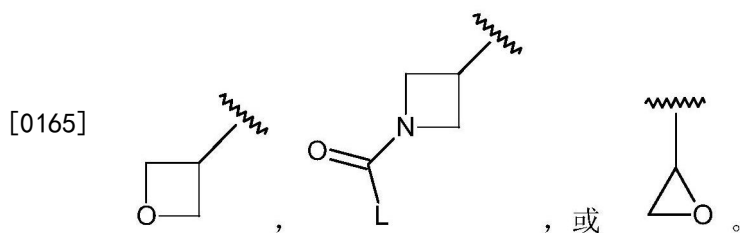
[0161] 术语“5或6元芳杂环”或“杂芳基”表示包括1-3个氮杂原子的稳定的单环芳香环,其具有有5或6个环原子。

[0162] 本文中用作L基团的5元或6元杂环或芳杂环的典型构型包括:三唑;二唑;吡唑;吡咯烷;吡咯啉;吡咯;吡唑烷;吡唑啉;吡唑;哌啶;吡啶;哌嗪;吡嗪;噻啶;噻啶连氮;三嗪4,5-二氢咪唑。本文中,用作L基团的5元或6元杂环或芳杂环的优选构型是1,2,3-三唑、1,3-二唑和哌嗪。本文中用作L基团的示范性5元或6元杂环或芳杂环独立地选自:



[0164] 术语“碳连接的(C_3-C_4)含氧杂环基团”表示包含1个氧杂原子或1个氮杂原子的稳

定饱和3元或4元单环。本文中用作 R^1 基团的3元或4元杂环的典型构型包括：氮丙啶、环氧乙烷氮杂环丁烷、以及氧杂环丁烷。本文中用作 R^1 基团的3元或4元杂环的优选构型是环氧乙烷和氮杂环丁烷。本文中用作 R^1 基团的示范性3元或4元杂环独立地选自：



[0166] 如本文所使用的,术语“=O”,即在 $-C(O)-$ 中,当连接至碳原子时,形成羰基部分。应当注意,当那个原子的化合价允许的时候,其仅能携带一个桥氧基。

[0167] 如本文所使用的,术语“=C”,即在 $-C(=)-R^{13}$ 中,表示不饱和的碳碳双键。

[0168] 如本文所使用的,术语“药学上可接受的盐”是指通过本发明的方法形成化合物的那些盐,本发明的方法是在合理的医学判断范围中,适用于与人体组织和低等动物接触,而没有过度毒性、刺激、过敏反应等等,并且是与合理的益处/风险的比率相称的。药学上可接受的盐在本领域中是公知的。例如,S.M.Berge等人在药物科学杂志,66:1-19(1997)中详述了药物上可接受的盐。盐可以在本发明的化合物的最终分离和纯化过程中原位制备,或通过使游离碱官能团与合适的有机酸反应而单独制备。适用于本文所用的药学上可接受的盐的实施例包括但并不限于无毒酸加成盐,其是无机酸/有机酸与氨基基团形成的盐,该无机酸例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸,该有机酸例如乙酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸,或通过本领域中使用的其他方法,例如离子交换来形成。

[0169] 其他药学上可接受的盐包括但并不限于己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐,苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐,环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐,甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳糖醛酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、十二烷基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、三甲基乙酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等等。代表性的碱金属盐或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等等。另外,在适当的情况下,药学上可接受的盐包括使用抗衡离子,例如卤化物、氢氧化物、羧酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、具有1至6个碳原子的烷基、磺酸盐和芳基磺酸盐形成的无毒的铵,季铵和胺阳离子。

[0170] 本发明的PROTAC化合物可以施用为药学上可接受的前药,其在体内释放本发明的化合物。本文所使用的“前药”指通过代谢方式(例如通过水解)在体内可转换的化合物,从而获得本发明的公式描绘出的任意化合物。前药的多种形式是本领域中已知的,例如,如下列中所讨论,“前药的设计和应用,药物设计和开发的教科书,第5章,113-191(1991); Bundgaard等人,药物释放综述杂志,8:1-38(1992);和Bernard Testa和Joachim Mayer,“药物和前药的代谢中的水解-化学、生物化学和酶学”,约翰威利父子公司(2003)。

[0171] 本发明设想的取代基的组合和变量仅仅是形成稳定化合物的那些。如本文所使用的术语“稳定”是指化合物具有足以允许生产的稳定性,且在足以用于本文详述目的(例如

对主体的治疗或预防性施用)时间内保持化合物的完整性。

[0172] 相关的术语根据上述提供的限定以及本技术领域常见的用法来进行相应的解释。

[0173] 本发明还包括结构为A-L-B的同位素标记的PROTAC化合物,以及式I或式I的任意子群的化合物,其中一个或多个原子由该原子的同位素取代,即原子具有相同原子序数,但其原子质量不同于自然中常见的原子。可掺入到结构为A-L-B的PROTAC化合物、式I的化合物、或式I的任意子群的化合物中的同位素的实施例,包括但不限于氢的同位素,如 ^2H 和 ^3H (也分别用D表示氘,用T表示氚);碳的同位素,如 ^{11}C 、 ^{13}C 和 ^{14}C ;氮的同位素,如 ^{13}N 和 ^{15}N ;氧的同位素,如 ^{15}O 、 ^{17}O 和 ^{18}O ;磷的同位素,如 ^{31}P 和 ^{32}P ;硫的同位素,如 ^{35}S ;氟的同位素,如 ^{18}F ;氯的同位素,如 ^{36}Cl ;溴的同位素,如 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 和 ^{82}Br ;以及碘的同位素,如 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 和 ^{131}I 。包括在同位素标记的化合物中的同位素的选择将取决于该化合物的特定应用。例如,对于药物或底物组织分布测定中,其中通常最有用的是掺入了放射性同位素例如 ^3H 和 ^{14}C 的化合物。对于放射成像应用,例如正电子放射断层造影术(PET),正电子放射同位素如 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{13}N 或 ^{15}O 将是有益的。较重同位素例如氘,即 ^2H 的掺入可以向结构为A-L-B的PROTAC化合物、式I的化合物或式I的任意子群的化合物提供更好的代谢稳定性,这可能导致例如化合物体内半衰期的延长或剂量需求的减少。

[0174] 可以通过类似于下文方案和/或实施例中所述的那些方法,使用适当的同位素标记的试剂或起始物料代替相应的非同位素标记的试剂或起始原料,或通过本领域技术人员已知的常用技术,来制备同位素标记的结构为A-L-B的PROTAC化合物、式I的化合物或式I的任意子群的化合物。

[0175] 在本文优选的方面中,用于本文所限定的结构为A-L-B-的PROTAC化合物的式I化合物表示为限定的立体异构体。可以使用本领域已知的方法,例如X射线衍射或NMR和/或涉及已知立体化学的起始原料,来确定此化合物的绝对构型。

[0176] 优选地,根据本发明的药物组合物将包括所指示立体异构体的大体上立体异构纯粹的制剂。

[0177] 本文所提及的化合物和中间物的纯立体异构形式限定为同分异构体,其大体上不含所述化合物或中间物的相同基础分子结构的其他对映体形式或非对映异构形式。特别是,术语“立体异构纯粹”涉及化合物或中间物具有至少80%的立体异构过量(即最少90%的一种异构体和最多10%的其他可能的异构体)至100%的立体异构过量(即100%的一种异构体,没有其他)的化合物或中间物,更特别是化合物或中间物具有90%至100%的立体异构过量立体,甚至更特别是具有94%至100%的立体异构过量,最特别是具有97%至100%的立体异构过量。术语“对映体纯粹”和“非对映体纯粹”应该以相似的方式进行理解,但分别考虑讨论中的混合物的对映体过量和非对映体过量。

[0178] 如本文所详述的化合物和中间物的纯立体异构形式可以通过本领域已知的工艺应用获得。例如,可以通过对映异构体的非对映异构盐与有光学活性的酸或碱进行可选择的结晶,使对映异构体彼此分离。其实例是酒石酸、二苯甲酰基酒石酸、二甲苯酰基酒石酸和樟脑磺酸。或者,对映体可以使用手性固定相通过色谱技术来分离。假如发生立体定向的反应,所述纯立体化学同分异构形式还可以从相应的适合的起始原料的纯立体化学的同分异构形式来得到。优选地,如果需要特定的立体异构体,所述化合物通过制备的立体定向方

法来合成。这些方法将有利地利用对映体纯粹的起始原料。

[0179] 用于如本文限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物的式I的化合物的非对映异构外消旋体可以通过传统方法来单独获得。适合的物理分离方法例如,选择性的结晶和色谱法,例如柱层析法,可以有利地进行使用。

[0180] 本发明提供具有A-L-B结构的PROTAC化合物,其中A是式I或IA的E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,且L是根据如上文详述的任一方面的连接基团,以及其中B是可选择地诱导溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD4蛋白质进行降解的化学部分,且可选择地,其中B独立地选自:JQ1、I-BET726、I-BET762。

[0181] 本发明提供具有A-L-B结构的PROTAC化合物,其中B是溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中蛋白质的化学部分,优选地,本发明提供结构为A-L-B的PROTAC化合物,其中B是这种化学部分,其结合至溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中独立地选自:BRD2、BRD3和BRD4的蛋白质,特别地本发明提供结构为A-L-B的PROTAC化合物,其中B是可选择地诱导溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD4蛋白质进行降解的化学部分。

[0182] 在另一方面中,本发明提供如本文所限定的具有A-L-B结构的PROTAC化合物用作药剂。

[0183] 如本文所使用的术语“主体”是指哺乳动物。因此,主体是指,例如狗、猫、马、牛、猪、豚鼠等等。优选地,主体是人。当主体是人时,主体在本文中可以是指病人。

[0184] “对待”、“处理”和“治疗”是指减轻或缓和疾病以及/或其伴随病症的方法。

[0185] 术语“治疗上有效的量”意为对治疗、治愈或减轻疾病、病状或病症有效的量。

[0186] 本发明的另一方面提供一种用于预防或治疗疾病或状况的方法,该疾病或状况与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD2、BRD3和BRD4蛋白质中的一种或多种的蛋白质活性失调相关,该方法包括向遭受或可能接触所述疾病或状况的主体施用结构为A-L-B的PROTAC化合物。本发明的相关方面提供结构为A-L-B的PROTAC化合物在治疗或预防与BET蛋白质活性失调相关的疾病或状况中的应用。

[0187] 本发明的另一方面提供一种用于预防或治疗疾病或状况的方法,该疾病或状况与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD2、BRD3和BRD4蛋白质中的一种或多种的蛋白质活性失调相关,该方法包括向遭受或可能接触所述疾病或状况的主体施用治疗上有效量的结构为A-L-B的PROTAC化合物。本发明的相关方面提供治疗上有效量的结构为A-L-B的PROTAC化合物在治疗或预防与BET蛋白质活性失调相关的疾病或状况中的应用。另一相关的方面提供治疗上有效量的如本文所限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物用于治疗或预防与BET蛋白质活性失调相关的疾病或状况中的应用。

[0188] 本发明的另一方面提供一种用于预防或治疗疾病或状况的方法,该疾病或状况与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD4蛋白质的选择性降解相关,该方法包括向遭受或可能接触所述疾病或状况的主体施用如本文所限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物。本发明的相关方面提供结构为A-L-B的PROTAC化合物在治疗或预防与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD4蛋白质的选择性降解相关的疾病或状况中的应用。另一相关的方面提供结构为A-L-B的PROTAC化合物的应用,用于治疗或预防与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD4蛋白质的选择性降解相关的疾病或状况。

[0189] 可通过施用如本文限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物,来治疗与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的BRD2、BRD3和BRD4中的一种或多种蛋白质的蛋白质活性失调相关的疾病或状况,该疾病或状况包括:癌症、良性增生性失常、感染性或非感染性炎症事件、自身免疫疾病、炎性疾病、全身性炎症反应综合征、病毒感染和病毒性疾病、以及眼疾。

[0190] 本发明还提供结构为A-L-B的PROTAC化合物,其中B是与溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的蛋白质结合的化学部分,其中A是根据本文详述的任一方面或优选方面的式I或式IA的化合物,该PROTAC化合物用于医药,特别地用于状况或疾病,在该状况或疾病中涉及结合至独立地选自溴结构域和额外终端结构域(BET)家族蛋白质中的蛋白质:BRD2、BRD3和BR34,尤其是用于治疗一种或多种独立地选自:癌症、良性增生性失常、感染性或非感染性炎症事件、自身免疫疾病、炎性疾病、全身性炎症反应综合征、病毒感染和病毒性疾病、以及眼疾的疾病或状况。

[0191] 本文还提供根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物,用于治疗癌症,以及提供一种通过向哺乳动物特别是需要此治疗的人,施用有效量的根据本文任一方面的式A-L-B-的PROTAC化合物来治疗癌症的方法。

[0192] 通过施用如本文限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物来治疗的癌症类型包括:与上皮细胞疾病相关的癌型癌症,例如乳腺癌、前列腺癌、肺癌、胰腺癌和结肠癌;与间充质细胞疾病相关的肉瘤型癌症;淋巴瘤;白血病,例如急性骨髓性白血病;与多能细胞相关的癌症和/或癌性肿瘤,例如睾丸癌和卵巢癌。

[0193] 本发明化合物可以用于治疗的癌症的实例包括:肾上腺癌、腺泡细胞癌、听神经瘤、肢端雀斑样痣性黑色素瘤、肢端汗腺瘤、急性嗜酸粒细胞白血病,急性红细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、急性巨核细胞白血病、急性单核细胞白血病、急性早幼粒细胞白血病、腺癌、腺样囊性癌,腺瘤、腺瘤样牙源性肿瘤、腺鳞癌、脂肪组织赘生物、肾上腺皮质癌、成人型T细胞白血病/淋巴瘤、侵袭性NK细胞白血病、艾滋病相关淋巴瘤、肺泡横纹肌肉瘤、肺泡软组织肉瘤、成釉细胞纤维瘤、间变性大细胞淋巴瘤、未分化甲状腺癌、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、血管平滑肌脂肪瘤、血管肉瘤、星形细胞瘤、非典型畸胎样横纹肌样瘤、B细胞慢性淋巴细胞白血病、B细胞幼淋巴细胞白血病、B细胞淋巴瘤、基底细胞癌、胆道癌、膀胱癌、胚胎细胞瘤、骨癌、勃勒纳(Brenner)瘤、棕色瘤、伯基特(Burkitt)淋巴瘤、乳腺癌、脑癌、恶性上皮肿瘤、原位癌、癌肉瘤、软骨肿瘤、牙骨质瘤、骨髓肉瘤、软骨瘤、脊索瘤、绒毛膜癌、脉络丛乳头状瘤、肾透明细胞肉瘤、颅咽管瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、宫颈癌、结直肠癌、德戈斯病(Degos病),促结缔组织增生性小圆细胞瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、胚胎发育不良性神经上皮肿瘤、无性细胞瘤、胚胎癌、内分泌腺肿瘤、内胚窦瘤、肠病相关T细胞淋巴瘤、食管癌、胎中胎、纤维瘤、纤维肉瘤、滤泡性淋巴瘤、滤泡性甲状腺癌、神经节细胞瘤、胃肠癌、生殖细胞瘤、妊娠绒毛膜癌、巨细胞成纤维细胞瘤、骨巨细胞瘤、神经胶质瘤、多形性胶质母细胞瘤、胶质瘤、脑胶质瘤、胰高血糖素瘤、性腺胚细胞瘤、颗粒细胞瘤、两性胚胎细胞瘤、胆囊癌、胃癌、毛细胞白血病、血管母细胞瘤、头颈癌、血管外皮细胞瘤、血液系统恶性肿瘤、肝母细胞瘤、肝脾T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤(Hodgkin淋巴瘤)、非霍奇金淋巴瘤、侵入性小叶癌、肠癌、肾癌、喉癌、恶性雀斑样痣、致死性中线癌、白血病、睾丸间质细胞瘤、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴管瘤、淋巴管肉瘤、淋巴上皮瘤、淋巴瘤、急性淋巴细胞白血病、急性髓系白血病、慢

性淋巴细胞白血病、肝癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、MALT淋巴瘤、恶性纤维组织细胞瘤、恶性外周神经鞘瘤、恶性氩核瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区B细胞淋巴瘤、肥大细胞白血病、纵隔生殖细胞瘤、乳腺髓样癌、甲状腺髓样癌、成神经管细胞瘤、黑色素瘤、脑膜瘤、梅克尔细胞瘤、间皮瘤、转移性尿路上皮癌、混合性缪氏瘤、粘液性肿瘤、多发性骨髓瘤、肌肉组织赘生物、蕈样真菌病、粘液样脂肪肉瘤、粘液瘤、粘液肉瘤、鼻咽癌、神经鞘瘤、神经母细胞瘤、神经纤维瘤、神经瘤、结节性黑色素瘤、眼癌、少突细胞瘤、少突神经胶质瘤、大嗜酸粒细胞瘤、视神经鞘脑膜瘤、视神经肿瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、Pancoast瘤、乳头状甲状腺癌、副神经节瘤、松果体母细胞瘤、松果体细胞瘤、垂体细胞瘤、垂体腺瘤、垂体瘤、浆细胞瘤、多胚瘤、前驱T淋巴细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性积液淋巴瘤、原发性腹膜癌、前列腺癌、胰腺癌、咽癌、腹膜假性粘液瘤、肾细胞癌、肾髓样癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌瘤、横纹肌肉瘤、里氏转化、直肠癌、肉瘤、神经鞘瘤病、精原细胞瘤、赛托利细胞瘤、性腺间质肿瘤、印戒细胞癌、皮肤癌、小蓝圆细胞瘤、小细胞癌、软组织肉瘤、生长激素抑制素瘤、煤灰癌、脊柱肿瘤、脾边缘区淋巴瘤、鳞状细胞癌、滑膜肉瘤、赛泽利 (Sezary) 病、小肠癌、鳞状细胞癌、胃癌、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、卵泡膜细胞瘤、甲状腺癌、移行细胞癌、咽喉癌、脐尿管癌、泌尿生殖系统肿瘤、尿路上皮癌、葡萄膜黑色素瘤、子宫癌、疣状癌、视觉通路胶质瘤、外阴癌、阴道癌、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、Warthin瘤、肾母细胞瘤、血液癌症(如白血病)、包括肺癌、乳腺癌和结肠癌的上皮癌、中线癌、间充质肿瘤、肝肿瘤、肾肿瘤和神经肿瘤。

[0194] 本发明的化合物可以用于治疗的良性增生性失常的实例包括但不限于良性软组织肿瘤、骨肿瘤、脑和脊柱肿瘤、眼睑和眼眶肿瘤、肉芽肿瘤、脂肪瘤、脑膜瘤、多发性内分泌肿瘤、鼻息肉、垂体瘤、催乳素瘤、假性脑瘤、脂溢性角化病、胃息肉、甲状腺结节、胰腺囊性肿瘤、血管瘤、声带结节、息肉和囊肿、卡斯特雷曼氏病、慢性藏毛病、皮肤纤维瘤、毛发囊肿、化脓性肉芽肿和青少年息肉综合征。

[0195] 本文还提供根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物,其用于治疗感染性和非感染性炎症事件、自身免疫疾病、其他炎症性的疾病、失常和综合征,以及提供一种方法,该方法通过向哺乳动物,特别是需要此治疗的人施用有效量的根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物,来治疗感染性和非感染性炎症事件、自身免疫疾病、和其他炎症性的疾病、失常和综合征。可以使用本发明的化合物治疗的感染性和非感染性炎症事件、自身免疫疾病、其他炎症性的疾病、失常和综合征的实例包括但不限于:炎症性盆腔疾病(PID)、痛风、胸膜炎、湿疹、脾炎、喉炎、甲状腺炎、前列腺炎、咽炎、结节病、脂溢性皮炎、肠道易激综合征(IRS)、憩室炎、尿道炎、皮肤晒伤、窦炎、肺炎、脑炎、脑膜炎、心肌炎、肾炎、骨髓炎、肌炎、肝炎、胃炎、肠炎、皮炎、牙龈炎、阑尾炎、胰腺炎、胆囊炎,无丙种球蛋白血症、牛皮癣、过敏反应、克罗恩氏病、肠易激综合征、溃疡性结肠炎、舍格伦病、组织移植物排斥、移植器官超急性排斥、哮喘、过敏性鼻炎、慢性阻塞性肺病(COPD)、自身免疫性多腺体疾病(也称为自身免疫性多腺体综合征)、自身免疫性脱发、恶性贫血、肾小球肾炎、皮肌炎、多发性硬化症、一些肌肉疾病、硬皮病、血管炎、自身免疫性溶血和血小板减少症状、古德帕斯丘综合征、动脉粥样硬化、艾迪生病、帕金森病、阿尔茨海默病、I型糖尿病、感染性休克、系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎、银屑病关节炎、幼年型关节炎、骨关节炎、慢性特发性血小板减少性紫癜、瓦尔登斯特巨球蛋白血症、重症肌无力、桥本氏甲状腺炎、特应性皮炎、退行性关

节病、白癜风、自身免疫性垂体机能减退症、格林巴利综合征、贝赫切特病、硬皮病、蕈样真菌病、急性炎症反应(例如急性呼吸窘迫综合征和局部缺血/再灌注损伤)、和格雷夫斯氏病。

[0196] 在其他实施例中,本发明根据本文任一方面提供式A-L-B的PROTAC化合物,用于治疗全身性炎症反应综合征,以及提供一种方法,该方法通过向哺乳动物,特别是需要此治疗的人施用有效量的根据本文的任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物,来治疗全身性炎症反应综合征。可以使用本发明的化合物治疗全身性炎症反应综合征的实例包括:LPS诱导的内毒素休克和/或细菌诱导的败血症。

[0197] 通过施用如本文限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物治疗的自身免疫疾病和自身免疫相关的疾病包括:急性播散性脑脊髓炎(ADEM);急性坏死性出血性脑白质炎;艾迪生氏病;无丙种球蛋白血症;斑秃;淀粉样变性;强直性脊柱炎;抗GBM/抗TBM肾炎;抗磷脂综合征(APS);自身免疫性血管性水肿;自身免疫性再生障碍性贫血;自身免疫性自主神经异常;自身免疫性肝炎;自身免疫性高脂血症;自身免疫缺陷;自身免疫性内耳疾病(AIED);自身免疫性心肌炎;自身免疫性卵巢炎;自身免疫性胰腺炎;自身免疫性视网膜病变;自身免疫性血小板减少性紫癜(ATP);自身免疫性甲状腺疾病;自身免疫性荨麻疹;轴突和神经元神经病变;贝罗病;白塞病;大疱性类天疱疮;心肌病;卡斯特雷曼氏病;乳糜泻;查加斯病;慢性疲劳综合征;慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病(CIDP);慢性复发性多灶性骨髓炎(CRMO);变应性肉芽肿血管炎;瘢痕性类天疱疮/良性粘膜类天疱疮;克罗恩病;科根综合症;冷凝集素病;先天性心脏传导阻滞;柯萨奇心肌炎;硬皮病;基本混合冷球蛋白血症;脱髓鞘神经病;疱疹样皮炎;皮炎;德维克病(视神经脊髓炎);盘状狼疮;德雷斯勒综合症;子宫内膜异位症;嗜酸性粒细胞性食管炎;嗜酸性筋膜炎;结节性红斑;实验性过敏性脑脊髓炎;埃文斯综合症;纤维肌痛;纤维化肺泡炎;巨细胞动脉炎(颞动脉炎);巨细胞心肌炎;肾小球性肾炎;古德帕斯丘综合症;肉芽肿性多血管炎(GPA)(以前称为韦格纳肉芽肿病);格雷夫斯病;格林-巴利综合征;桥本氏脑炎;桥本氏甲状腺炎;溶血性贫血;过敏性紫癜;妊娠疱疹;低丙种球蛋白血症;特发性血小板减少性紫癜(ITP);IgA肾病;IgG4相关的硬化病;免疫调节脂蛋白;包涵体肌炎;间质性膀胱炎;幼年型关节炎;青少年糖尿病(1型糖尿病);幼年型肌炎;川崎综合症;兰伯特-伊顿综合症;白细胞碎裂性血管炎;扁平苔藓;硬化性苔藓;木样结膜炎;线性IgA病(LAD);狼疮(SLE);莱姆病;梅尼埃病;显微镜下多血管炎;混合性结缔组织病(MCTD);蚕食性角膜溃疡;穆-哈二氏病;多发性硬化;重症肌无力;肌炎;发作性睡病;视神经脊髓炎(德维克病);中性粒细胞减少;眼瘢痕性类天疱疮;视神经炎;回文性风湿病;PANDAS(与链球菌相关的儿科自身免疫性神经精神疾病);副肿瘤性小脑变性;阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH);帕里隆伯格综合症;帕-特(Parsonnage-Turner)综合症;睫状体扁平部炎(外周葡萄膜炎);天疱疮;周围神经病;静脉周脑脊髓炎;恶性贫血;POEMS综合症;结节性多动脉炎;I型、II型和III型自身免疫性多腺体综合症;风湿性多肌痛;多发性肌炎;心肌梗死后综合症;心包切开后综合症;黄体酮皮炎;原发性胆汁性肝硬化;原发性硬化性胆管炎;银屑病;银屑病性关节炎;特发性肺纤维化;坏疽性脓皮病;纯红细胞再生障碍;雷诺现象;反应性关节炎;反射性交感神经营养不良;瑞特综合症;复发性多软骨炎;多动腿综合症;腹膜后纤维化;风湿热;类风湿关节炎;结节病;施密特综合症;巩膜炎;硬皮病;干燥综合症;精子和睾丸自身免疫;僵人综合症;亚急性细菌性心内膜炎(SBE);苏萨克综合症;

交感性眼炎；高安氏动脉炎；颞动脉炎/巨细胞动脉炎；血小板减少性紫癜(TTP)；Tolosa-Hunt氏综合征；横贯性脊髓炎；1型糖尿病；溃疡性结肠炎；未分化结缔组织病(UCTD)；葡萄膜炎；血管炎；水疱性皮肤病；白癜风；韦格纳肉芽肿病(现称为肉芽肿性多血管炎(GPA))。

[0198] 本领域技术人员将容易理解，在本文限定的那些状况和疾病，如炎症性和自身免疫性失常或状况之间具有一定程度的重叠，这鉴于这些状况的复杂性质和每个独立的主体的表现是可以预料的。

[0199] 此外，本文提供根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物，用于治疗病毒性的感染和疾病，以及提供一种方法，该方法向哺乳动物，特别是需要此治疗的人施用有效量的根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物，来治疗病毒性的感染和疾病。可以使用本发明的化合物治疗的病毒性感染和疾病的实例包括基于附加体的DNA病毒，其包括但不限于人乳头瘤病毒、疱疹病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒、人免疫缺陷病毒、乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒。

[0200] 本文还提供根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物，用于治疗病毒性的感染，以及提供一种方法，该方法向哺乳动物，特别是需要此治疗的人施用有效量的根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物，来治疗病毒性感染。可以使用本发明的化合物治疗的病毒性感染的实例包括疱疹病毒、人乳头瘤病毒、腺病毒、痘病毒和其他DNA病毒。

[0201] 本文还提供根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物，用于治疗眼科适应症，以及提供一种方法，该方法向哺乳动物，特别是需要此治疗的人施用有效量的根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物，来治疗眼科适应症。可以使用本发明的化合物治疗的眼科适应症的实例包括干眼症。

[0202] 本发明的另一方面提供一种预防或治疗与BET蛋白质活性失调相关的疾病或状况的方法，包括向患有或可能暴露于所述疾病或状况的主体施用本文限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物，其中所述疾病或状况独立地选自：癌症；良性增生性疾病；传染性或非传染性炎症事件；自身免疫性疾病；炎症性疾病；全身炎症反应综合征；病毒感染和疾病；和眼部疾病。本发明的相关方面提供如本文所限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物在治疗或预防与BET蛋白质活性失调相关的疾病或状况中的应用，其中所述疾病或状况独立地选自：癌症；良性增生性疾病；传染性或非传染性炎症事件；自身免疫性疾病；炎症性疾病；全身炎症反应综合征；病毒感染和疾病；和眼部疾病。另一相关方面提供如本文所限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物用于治疗或预防与BET蛋白质活性失调相关的疾病或状况的应用，其中所述疾病或状况独立地选自：癌症；良性增生性疾病；传染性或非传染性炎症事件；自身免疫性疾病；炎症性疾病；全身炎症反应综合征；病毒感染和疾病；和眼部疾病。

[0203] 本文还提供根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物，用于治疗布罗莫结构域抑制剂指示的疾病或状况，以及提供一种方法，该方法通过向哺乳动物，特别是需要此治疗的人施用有效量的根据本文任一方面的式A-L-B的PROTAC化合物，来治疗布罗莫结构域抑制剂指示的疾病或状况。可以使用本发明的化合物来治疗的布罗莫结构域抑制剂指示的疾病或状况的实例包括与全身炎症反应综合征相关的疾病，比如败血症、烧伤、胰腺炎、严重创伤、出血和局部缺血。

[0204] 在此应用或方法中，结构为A-L-B的PROTAC化合物将优选地在诊断的时候向需要此治疗的主体施用，以减少SIRS、出现休克、多器官功能障碍综合征的发生率，多器官功能

障碍综合征包括出现急性肺损伤、ARDS、急性肾、肝、心脏和胃肠的损伤和病死率。

[0205] 或者,在认为有高风险的败血症、出血、大面积组织损伤、SIRS或MODS的其他环境中,优选向需要此保护的主体施用向结构为A-L-B的PROTAC化合物,以避免这样的风险,例如在手术或与高风险的败血症、出血、大面积组织损伤、SIRS或MODS相关的其他过程之前。

[0206] 根据特定的实施例,本文提供结构为A-L-B的PROTAC化合物用于治疗败血症、脓毒症综合征、脓毒性休克和/或内毒素血症的应用。

[0207] 根据另一实施例,本文提供结构为A-L-B的PROTAC化合物用于治疗急性或慢性胰腺炎、或烧伤的治疗的用途。

[0208] 布罗莫结构域抑制剂所指示的,并可以使用结构为A-L-B的PROTAC化合物治疗的,疾病或状况的另外的实例包括单纯性疱疹感染和再激活、感冒疮、带状疱疹感染和再激活、水痘、带状疱疹、人乳头瘤病毒、宫颈肿瘤、包括急性呼吸道疾病的腺病毒感染、以及诸如牛痘和天花和非洲猪瘟病毒等痘病毒感染。

[0209] 根据另一实施例,本文提供结构为A-L-B的PROTAC化合物用于治疗皮肤或宫颈上皮的人乳头瘤病毒感染的治疗的应用。

[0210] 在另一方面,本文提供式A-L-B的PROTAC化合物,用于治疗上文所示的任意疾病或状况,其中所述治疗调控被治疗的疾病或状况中的体内蛋白质甲基化、基因表达、细胞增殖、细胞分化和/或细胞凋亡中的一种或多种。

[0211] 根据另一方面,提供式A-L-B的PROTAC化合物,用于调控疾病或状况中体内蛋白质甲基化、基因表达、细胞增殖和/或细胞凋亡中的一种或多种,该疾病或状况独立地选自:癌症、炎症性疾病、和/或病毒疾病。

[0212] 根据另一发面,提供一种治疗方法,该治疗方法在治疗癌症、炎症性疾病、和/或病毒性疾病中调控体内蛋白质甲基化、基因表达、细胞增殖、细胞分化和/或细胞凋亡中的一种或多种,其中所述方法通过向需要此治疗的主体施用治疗上有效量的一种或更多的结构为A-L-B的PROTAC化合物。

[0213] 如下文所证明的,本发明的PROTAC化合物引发BET蛋白质的细胞内破损。

[0214] 还如下文所讨论的,某些结构为A-L-B的非氟代PROTAC化合物,特别是化合物MZ1 (Zengerle, M., Chan, K.-H., Ciulli, A., 选择性小分子诱导降解BET布罗莫结构域的蛋白质BRD4, 美国化学会化学生物学2015, 10 (8), 1770-1777), 其相比BRD2和BRD3有效且快速地诱导BRD4的可逆、长时且出乎意料地选择性的移除。此外,申请人还发现对JQ1响应的所选癌症相关基因的基因表达图谱示出由MZ1诱导的不同且更有限的转录反应。这与选择性的BRD4抑制相符。对于下文所讨论的原因,本文提出本结构为A-L-B的氟化PROTAC化合物,特别是其中A是结构为IA的化合物,或更特别地结构是IB的化合物,也将相比BRD2和BRD3有效且快速地诱导BRD4的可逆、长时且出乎意料地选择性的移除。特别是,如图3所示,申请人发现如上所述的式IB的化合物结合至VHL泛素连接酶蛋白质,与之前报道的非氟代配体有相当的亲和力。此外,如图6中所述,如上所述的式I的PROTACs可以表现出靶蛋白的剂量依赖性降解。

[0215] 因此,本发明提供式I的化合物,其结合至溴结构域和额外终端结构域(BET) 家族蛋白质中的蛋白质。此外,本发明提供结构为A-L-B的PROTAC化合物,其中L是如上文所限定的,其中A是如上文限定的式I或式IA或式IB的化合物,以及其中B是结合至溴结构域和额外

终端结构域 (BET) 家族蛋白质中的蛋白质的化学部分, 其中所述蛋白质独立地选自: BRD2、BRD3 和 BRD4。本发明特别提供结构为 A-L-B 的 PROTAC 化合物, 其中 L 是如上文所限定的, 其中 A 是如上文限定的式 I 或式 IA 或式 IB 的化合物, 以及其中 B 是可选择地诱导溴结构域和额外终端结构域 (BET) 家族蛋白质中的 BRD4 蛋白质降解的化学部分。

[0216] 如上所示, 申请人利用小分子 PROTAC (蛋白降解靶向嵌合体) 的方法, 实现了细胞内 BET 蛋白质降解。PROTAC 化合物是异源双功能的化合物, 其包括两个通过连接基团单元相连的配体。在 PROTAC 化合物或多种 PROTAC 化合物中, 根据本发明的一个配体 (A), 即如本文限定的式 I、或 IA 或 IB, 结合至 E3 泛素连接酶蛋白质, 并且其他配体 (B) 结合至感兴趣的靶蛋白, 从而使连接酶和靶非常接近。

[0217] 虽然不希望受任意特定的理论束缚, 但本文提出这种非常靠近反过来引发聚泛素化和随后感兴趣的靶蛋白依赖蛋白酶体的降解。由已知的概念验证的实例提供在一般水平上 PROTAC 方法的支持证据, 其中施用另外的 PROTACs 来降解: 雌性激素受体, Cyrus, K., Wehenkel, M., Choi, E. Y., Swanson, H. & Kim, K. B., “双头的 PROTAC: 对靶向蛋白质降解有效的新工具”, 化学生物化学 (ChemBioChem), 11, 1531-1534 (2010); 雄性激素受体, Sakamoto, K. M. 等人, “PROTACs 对靶向癌症促进蛋白质泛素化和降解的进展”, 分子细胞. 蛋白质组学 2 (Mol. Cell. Proteomics 2), 1350-8 (2003); 蛋氨酸氨肽酶-2, Sakamoto, K. M. 等人, “Protacs: 嵌合的分子, 将蛋白靶向至 Skp1-Cullin-F 盒复合物, 用于泛素化和降解”, 美国国家科学院院报, 98, 8554-9 (2001); 以及芳烃受体, Lee, H., Puppala, D., Choi, E. Y., Swanson, H. & Kim, K. B., “由 PROTAC 的方法: 有效的化学基因工具, 对芳烃受体的靶向降解”, 化学生物化学, 8, 2058-2062, (2007)。

[0218] 至今, 全部第一代 PROTACs 包括为 E3 连接酶配体的多肽部分。例如, 如 Schneekloth, J. S. 等人在“蛋白质水平的化学基因控制: 体内选择性的靶向降解”, 美国化学社会杂志, 126, 3784-3754 (2004) 中所述, 来自转录因子缺氧诱导因子 1 阿尔法亚单位 (HIF-1 α) 的包括羟脯氨酸的庚肽序列 ALA-Hyp-YIP 进行了广泛地应用, 因为如 Hon, W. -C 等人在“通过 pVHL 识别 HIF-1 α 中的羟脯氨酸的结构基础”, 自然, 417, 975-8 (2002) 中所证实, 这代表结合至 E3 连接酶希佩尔林道蛋白质 (VHL) 的 HIF-1 α 的最小表位。

[0219] 申请人认识到这些第一代 PROTACs 的高肽性质导致差的物理化学性质, 例如低的细胞内稳定性和差的细胞渗透性, 这限制它们作为化学探针的适用性以及它们在治疗发展中的潜在用途。

[0220] 为了克服这些限制, 申请人研发了新型的 PROTACs, 其包括式 I、式 IA 或式 IB 的小分子, 用于本非多肽的 PROTAC 的方法。在特别的方面中, 此方法开发了结构为 A-L-B 的 PROTAC 化合物中新型且优化的式 I、IA 或 IB 的小分子类药性配体 (A), 并证明这些能够用于靶向 BET 布罗莫结构域, 且有效地诱导 BRD4 进行有效且选择性的降解。

[0221] 根据一个方面, 本发明提供具有如上文限定的结构为 A-L-B 的 PROTAC 化合物, 其中 B 是存在的, 其中 B 是结合至靶蛋白或多肽的配体, 该靶蛋白或多肽由泛素连接酶降解, 且其中所述靶蛋白选自包含以下蛋白质组成的组: 结构蛋白质、受体、酶、细胞表面蛋白质、与细胞整合功能相关的蛋白质, 该与细胞整合功能相关的蛋白质包括涉及催化活性、芳香酶活性、运动活动、解旋酶活性、代谢过程 (合成代谢和分解代谢)、抗氧化活性、蛋白水解、生物合成的蛋白质, 以及具有激酶活性、氧化还原酶活性、转移酶活性、水解酶活性、裂解酶活

性、异构酶活性、连接酶活性、酶调节活性、信号传感活性、结构分子活性、结合活性(蛋白质、脂类、碳水化合物)、受体活性、细胞运动性、膜融合、细胞通信、生物过程调控、发育、细胞分化、对刺激的反应的蛋白质,和行为蛋白质、细胞粘附蛋白质、涉及细胞坏死的蛋白质、涉及转运的蛋白质(包括蛋白质转运活性、细胞核转运、离子转运活性、通道转运活性、载体活性、透性酶活性、分泌活性、电子转运活性、发病机理、伴侣蛋白调控子活性、核酸结合活性、转录调控因子活性、细胞外组织和生物起源的活性以及翻译调控子活性。

[0222] 根据一个方面,本发明提供具有如上文限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物,其中B是存在的,且B是结合至靶蛋白或多肽的配体,该靶蛋白或多肽由泛素连接酶降解,且其中所述靶蛋白的选自下列组成的组:B7.1和B7、TI FR1m、TNFR2、NADPH氧化酶、Bcl1 Bax和其他细胞凋亡途径中的配偶体、C5a受体、HMG-CoA还原酶、PDE V 磷酸二酯酶型、PDEIV磷酸二酯酶4型、PDEI、PDE II、PDE III、鲨烯环化酶抑制剂、CXCR1、CXCR2、一氧化氮(NO)合成酶、环氧化酶1、环氧化酶2、5HT受体、多巴胺受体、G蛋白质,即Gq、组胺受体、5-脂肪氧合酶、类胰蛋白酶丝氨酸蛋白酶、胸苷酸合成酶、嘌呤核苷磷酸化酶、GAPDH锥虫、糖原磷酸化酶、碳酸酐酶、趋化因子受体、JAW STAT、RXR和类似物、HIV1蛋白酶、HIV1整合酶、流感神经氨酸酶、乙型肝炎逆转录酶、钠离子通道、多重耐药(MDR)、蛋白质P-糖蛋白(以及MRP)、酪氨酸激酶、CD23、CD124、酪氨酸激酶p56 lck、CD4、CD5、IL-2受体、IL-1受体、TNF- α R、ICAM1、钙离子通道、VCAM、VLA-4整合素、选择素、CD40/CD40L、newokinins和受体、肌苷一磷酸脱氢酶、p38 MAP激酶、Ras1Raf1MEWERK通路、白介素-1转化酶、半胱天冬酶、HCV、NS3蛋白酶、HCV NS3 RNA解旋酶、甘氨酸胺核糖核苷酸甲酰转移酶、鼻病毒、3C蛋白酶、单纯性疱疹病毒-1(HSV-I)、蛋白酶、巨细胞病毒(CMV)蛋白酶、聚(ADP-核糖)聚合酶、细胞周期蛋白依赖性激酶、血管内皮生长因子、催产素受体、微粒体转移蛋白抑制子、胆汁酸转运抑制剂、5 α 还原酶抑制剂、血管紧张素11、甘氨酸受体、去甲肾上腺素再摄取受体、内皮素受体、神经肽Y和受体、腺苷受体、腺苷激酶和AMP脱氨酶、嘌呤能受体(P2Y1、P2Y2、P2Y4、P2Y6、P2X1-7)、法尼基转移酶、香叶基香叶基转移酶、NGF的TrkA受体、 β -淀粉样蛋白、酪氨酸激酶Flk- II KDR、玻连蛋白受体、整合素受体、Her-21神经鞘、端粒酶抑制、细胞溶质磷脂酶A2和EGF受体酪氨酸激酶、蜕皮激素20-单氧酶、GABA门控氯离子通道的离子通道、乙酰胆碱酯酶、电压敏感的钠通道蛋白、钙释放通道、和氯离子通道;乙酰辅酶A羧化酶、腺苷酸琥珀酸合成酶、原卟啉原氧化酶和烯醇丙酮酰莽草酸磷酸合成酶。

[0223] 根据一个方面,本发明提供具有如上文限定的A-L-B结构的PROTAC化合物,其中B是存在的,且B是与靶蛋白或多肽结合的配体,该靶蛋白或多肽由泛素连接酶降解,且其中B是Hsp90抑制剂;激酶抑制剂、磷酸酶抑制剂、MDM2抑制剂、靶向包含人BET布罗莫结构域的蛋白质的化合物、HDAC抑制剂、人赖氨酸甲基转移酶抑制剂、靶向RAF受体的化合物、靶向FKBP的化合物、血管生长抑制剂、抑制免疫力的化合物、靶向芳烃受体的化合物、靶向雄性激素受体的化合物、靶向雌性激素受体的化合物、靶向甲状腺激素受体的化合物、靶向HIV蛋白酶的化合物、靶向HIV整合酶的化合物、靶向HCV蛋白酶的化合物或靶向酰基蛋白质硫酯酶1和/或2的化合物。

[0224] 根据一个方面,本发明提供一种降解有需要的患者中的靶蛋白的方法,包括向所述患者施用有效量的如本文限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物,或提供所述PROTAC用于通过施用有效量的PROTAC来降解患者靶蛋白的应用。

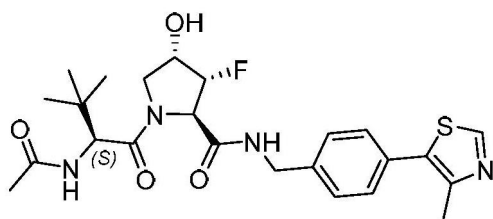
[0225] 根据一个方面,本发明提供一种在细胞中靶向蛋白的方法,包括使所述细胞暴露于有效量的如本文限定的结构为A-L-B的PROTAC化合物,或提供所述PROTAC用于在细胞中靶向蛋白质的应用,包括使所述细胞暴露于有效量的PROTAC。

[0226] VHL结合配体和VHL抑制剂

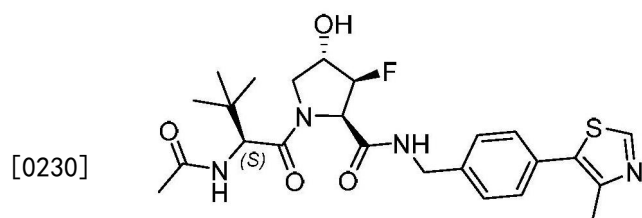
[0227] 除了它们作为E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物的应用之外,本文提出新型的基于氟代羟脯氨酸的式IA或IB的小分子为VHL E3泛素连接酶的抑制剂。此外,本文提出本发明的VHL抑制剂可以用作HIF α 转录因子的药物稳定性的分子治疗,其可以为许多状况提供疗效,该状况包括由于慢性肾病引起的贫血和与癌症化疗相关的贫血,肾脏、脑、心脏或肝脏中的局部缺血和缺血再灌注损伤,急性肺损伤和肠道炎症,以及患者或主体中红细胞生成的刺激。根据本发明的化合物还用作上述化合物合成的构建模块、生物测定中的标准和控制,作为化学合成和过程的中间物以及相关应用等。

[0228] 因此,本文还提供新型的式IB的化合物,其中R₁、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈和Y是如上文所限定的,其中所述新型的式IB的化合物适用于用作VHL结合配体和/或VHL抑制剂。因此,本发明还提供如上文所限定的式IB的VHL配体和/或VHL抑制剂。式IB的示范性化合物、VHL结合配体和/或VHL抑制剂在下文实验部分中提供。

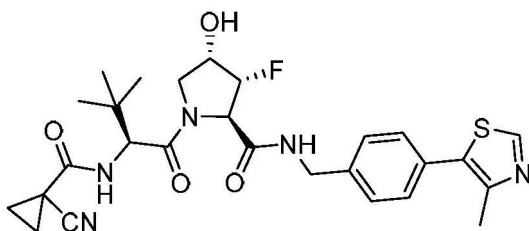
[0229] 高度优选的式IB的VHL结合配体和/或VHL抑制剂是化合物14b、14d和14e。



14b



14d

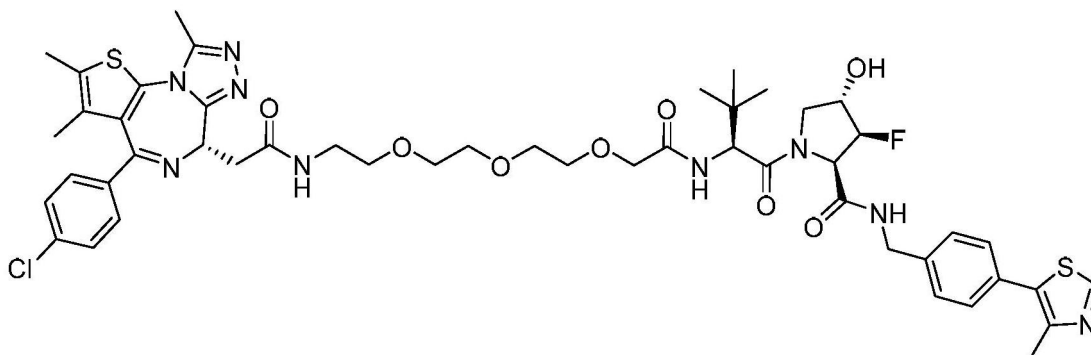


[0231]

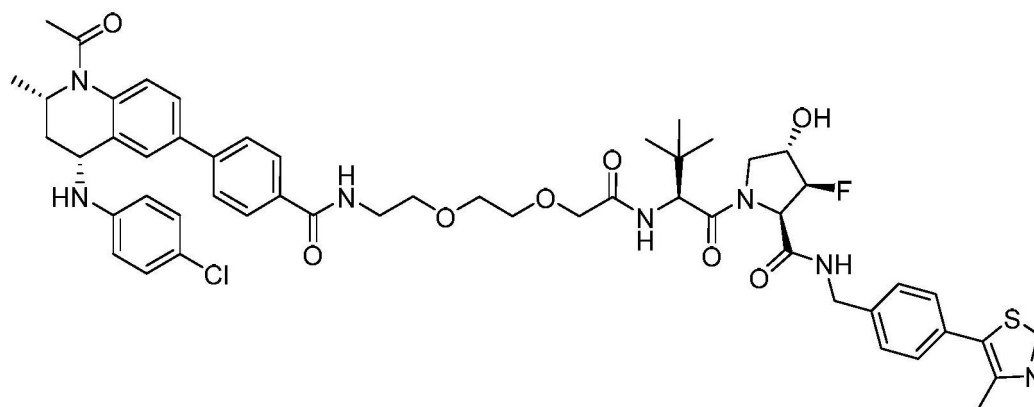
14e

[0232] 因此,本发明另外提供了VHL配体和/或VHL抑制剂,其独立地选自14b、14d和14e或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物、或多晶体。

[0233] 如上文所详述的,式IB的化合物在制备结构为A-L-B的PROTACs化合物中是有用的。包括式IB的化合物的示范性PROTACs在下文实验部分中提供。本文优选的PROTACs是包括14b、14d或14e作为A-基团的PROTACs。高度优选的包括式IB的化合物的PROTACs,特别是14d作为A基团,是如下所示且下文举例说明的实施例化合物18d和18e。

**18d**

[0234]

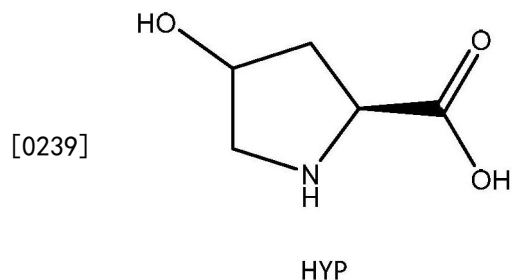
**18e**

[0235] 因此,本发明另外提供PROTACs,其独立地选自实例化合物18d和18e或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物、或多晶体。

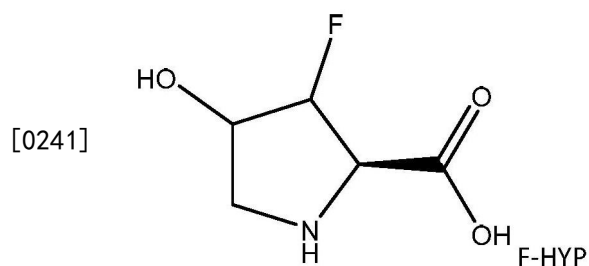
[0236] 3-氟代羟脯氨酸(F-HYP)的制备过程

[0237] 如上文所示的,申请人已经开发了一种新型的用于制备3-氟-羟脯氨酸中间化合物的方法,用于制备式A的化合物。包括比如3-氟-羟脯氨酸中心支架的式A的化合物对提供新型的结构为A-L的VHL结合配体化合物是有用的,该配体化合物包括3-氟-羟脯氨酸中心支架。下文详述了用于提供两个此3-氟-羟脯氨酸、具有3-氟-羟脯氨酸的中心支架的新型的VHL结合体以及结构为A-L-B的PROTACs的一般过程,其中式A的化合物基于3-氟-羟脯氨酸中心支架。

[0238] 氟代脯氨酸是氟化的氨基酸,其很容易从羟脯氨酸的官能团相互转换中获得。(2S,4R)-4-羟脯氨酸,或L-羟脯氨酸($C_5H_9O_3N$),化学名称为4-羟基吡咯烷-2-甲酸,是常见的非蛋白原氨基酸,且在本文中称为HYP。



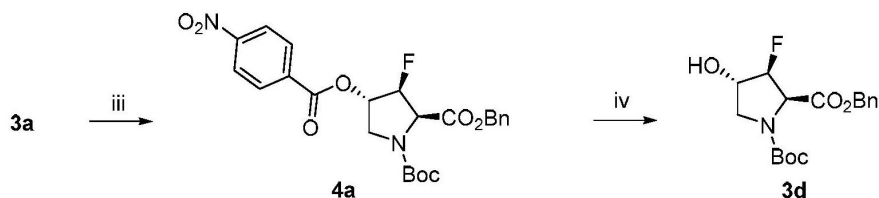
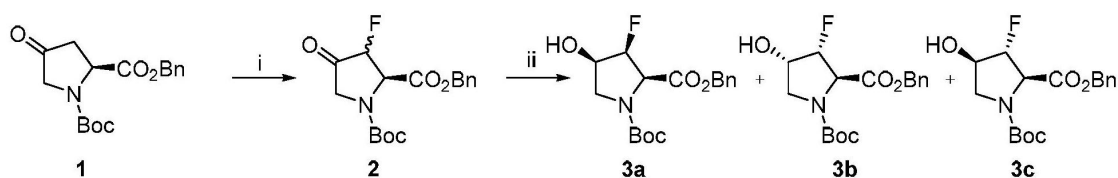
[0240] 使用已知的亲核氟化试剂,例如二乙氨基三氟化硫(DAST),可以使羟脯氨酸上的羟基相互转换/转化为氟。如本领域化学工作者所理解的,使用这种方法不可能从羟脯氨酸中提供氟-羟脯氨酸,因为实际上F和OH是相互排斥的。申请人已经认识到提供氟-羟脯氨酸独特的合成挑战。特别是,申请人已经认识到,由于具有3个连续立体中心的中心支架上的密集官能化,氟-羟脯氨酸的任何合成必须保证一定程度的立体和区域化学控制。申请人开发的用于提供氟-羟脯氨酸,特别是3-氟代羟脯氨酸(F-HYP)的新方法在下文中关于方案1和2进行讨论。



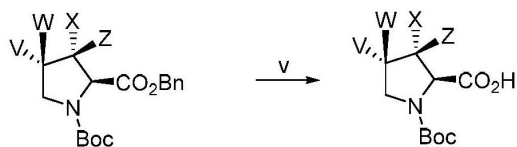
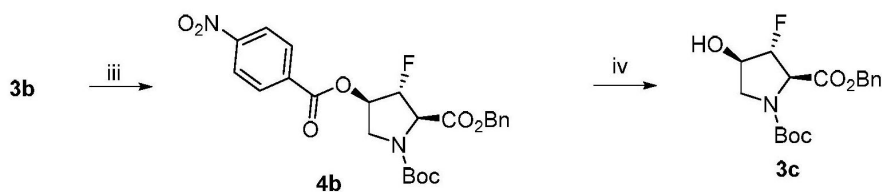
[0242] 如方案1中所示的,提供氟-羟脯氨酸的本发明的方法首先利用来自酮中间物的亲电氟化策略,该酮中间物可很容易通过羟脯氨酸的氧化获得,随后在第二步中进行所得 α -氟酮中间物的立体选择性还原。通过选择羟脯氨酸的脯氨酸氮上的适当保护基团,申请人提供羟脯氨酸的完全立体定向氟化。

[0243] 特别是,方案1说明了一种从起始化合物(1)制备特定的3-氟-4-羟脯氨酸(5a)、(5b)、(5c)和(5d)的新型方法,还说明了这些化合物中的每个如何在方案1的步骤v的单个步骤中,从相应的N-Boc中间化合物(3a)、(3b)、(3c)和(3d)进行制备。

[0244] 方案1



[0245]



3a: V = H, W = OH, X = H, Z = F

3b: V = OH, W = H, X = F, Z = H

3c: V = H, W = OH, X = F, Z = H

3d: V = OH, W = H, X = H, Z = F

5a: V = H, W = OH, X = H, Z = F

5b: V = OH, W = H, X = F, Z = H

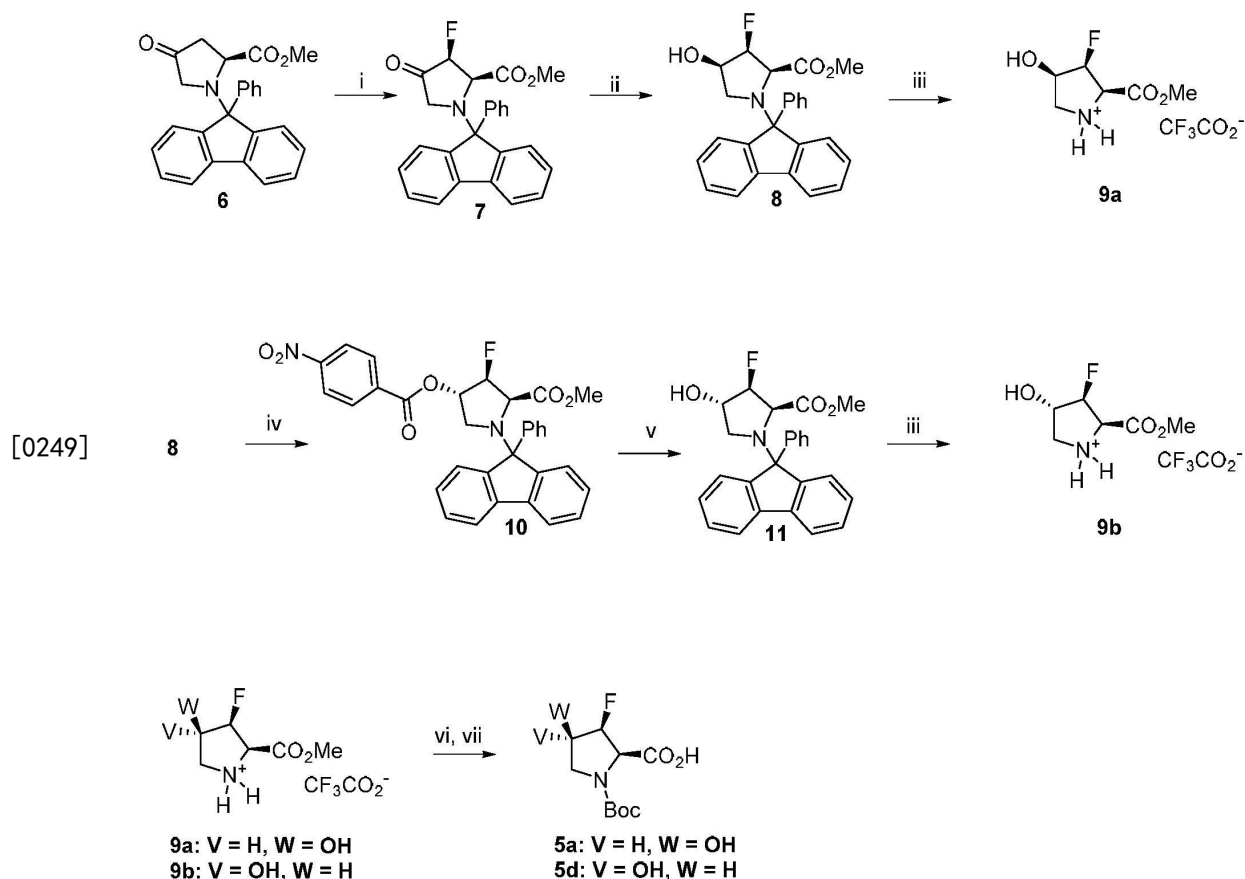
5c: V = H, W = OH, X = F, Z = H

5d: V = OH, W = H, X = H, Z = F

[0246] 方案1,试剂和条件:(i)含六甲基二硅基氨基锂(LiHMDS)和TMSCl的THF从-78℃升至室温,然后含Selectfluor™(1-氯甲基-4-氟-1,4-重氮化二环[2.2.2]辛烷二(四氟硼酸盐))的ACN;(ii)含NaBH₄的THF/EtOH,0℃,柱层析分离;(iii)含DIDA、PPh₃、4-对硝基苯甲酸的THF,0℃至室温;(iv)含NaN₃的甲醇,50℃;(v)H₂,含Pd/C的THF/MeOH,室温。

[0247] 如方案1中所示,这种新型的合成方法使得申请人能够制备全部4种非对映异构的4-羟脯氨酸的3-氟-衍生物,(5a)、(5b)、(5c)和(5d)。方案2中示出了一种方法,其中在脯氨酸氮(9-苯基苄基)上选择适当的保护基,氟化反应变为立体选择性的,仅得到F“向上”。这种立体选择性的方法允许化合物5a和5d的合成。

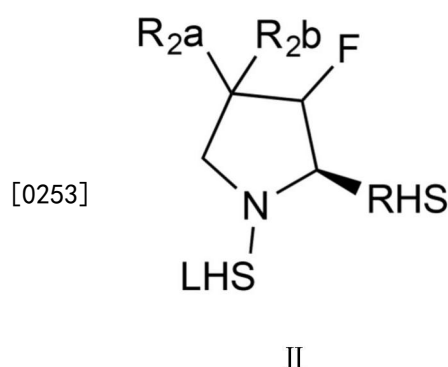
[0248] 方案2



[0250] 方案2, 试剂和条件: i) TMSOTf、TEA、DCM, -20°C , 3小时; 然后含SelectfluorTM (1-氯甲基-4-氟-1,4-重氮化二环[2.2.2]辛烷二(四氟硼酸盐)) 的ACN, -30°C ; ii) NaBH_4 、EtOH/THF, 0°C ; iii) 含5% TFA的DCM、TIPS; iv) DIAD、 PPh_3 、4-硝基苯甲酸、THF, 0°C 至 40°C ; v) NaOH 、THF/水, 室温; vi) LiOH 、水, 0°C ; vii) Boc_2O 、 NaHCO_3 、水, 室温。

[0251] 本发明如本文方案1和方案2中所示, 提供用于提供F-HYP、F-HYP的保护形式和用于制备F-HYP的中间物的新方法。

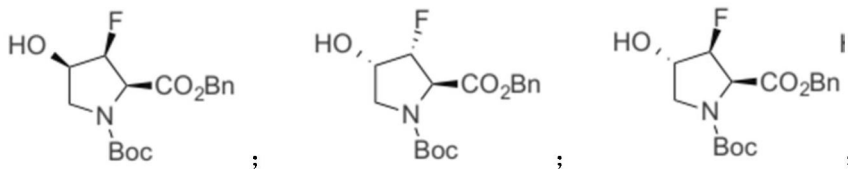
[0252] 根据另一方面, 本文提供通式II的化合物:



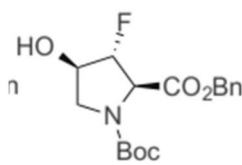
[0254] 其中 R_{2a} 是OH、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 NH_2 或F, 其中 R_{2b} 是H、 ^2H 、 ^3H 、 $-(\text{C}_1-\text{C}_3)$ 烷基基团、芳基基团、杂芳基基团、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CF}_2\text{H}$ 、 CF_2 、 $-(\text{C}_1-\text{C}_2)$ 烷基基团、或F, 其中LHS是: H、胺保护基或合适的环-N的其他胺保护基, 该胺保护基选自: 9-苯基-9-苄基、苄基甲基氧基羰基保护基团(Fmoc基团)、叔丁氧羰基保护基团(BOC基团)、或乙酰基基团, 其中RHS是 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{CO}_2\text{D}$, 其中D是合适的羧酸保护基团, 诸如另外的烷基酯或苄基酯。

[0255] 本文还提供如上文限定的通式II的化合物,其中LHS是H、9-苯基-9-苄基基团、苄基甲基氧基羰基保护基团、乙酰基基团、或叔丁氧羰基保护基团(BOC基团,和/或其中RHS是 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{CO}_2\text{Bn}$ 。

[0256] 本文还提供如上文限定的通式II的化合物,其中 R^{2a} 是OH, R^{2b} 是H,LHS是BOC基团且RHS是具有结构式II-A、II-B、II-C和/或II-D的 $-\text{CO}_2\text{Bn}$ 基团:



[0257]



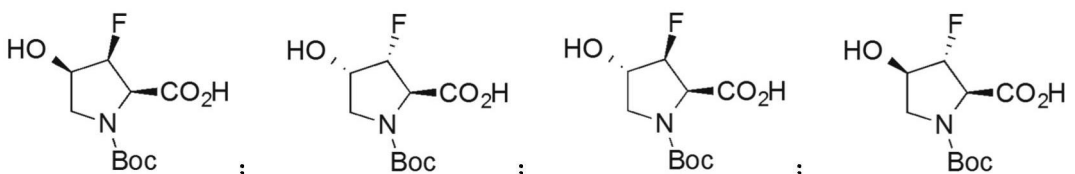
II-A

II-B

II-C

II-D

[0258] 本文还提供如上文限定的通式II的化合物,其中 R^{2a} 是OH, R^{2b} 是H,LHS是BOC基团且RHS是具有结构式II-E、II-F、II-G和/或II-H的 $-\text{CO}_2\text{H}$ 基团:



[0259]

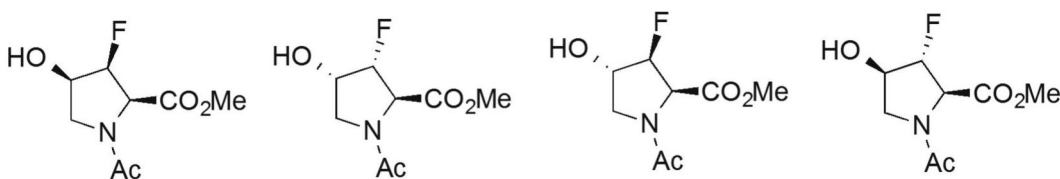
II-E

II-F

II-G

II-H

[0260] 本文还提供如上文限定的通式II的化合物,其中 R^{2a} 是OH, R^{2b} 是H,LHS是乙酰基基团以及RHS是具有结构式II-I、II-J、II-K和/或II-L的 $-\text{CO}_2\text{H}$ 基团:



[0261]

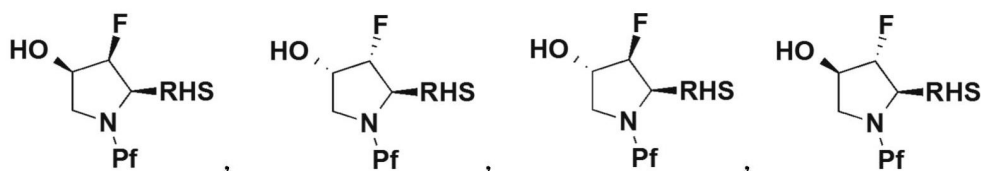
II-I

II-J

II-K

II-L

[0262] 本文还提供如上文限定的通式II的化合物,其中 R^{2a} 是OH, R^{2b} 是H,LHS是9-苯基-9-苄基基团,以及RHS是具有结构式II-M、II-N、II-O和/或II-P的 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{CO}_2\text{D}$ 基团,优选地,其中LHS是9-苯基-9-苄基基团以及RHS是具有II-Q、II-R、II-S和/或II-T结构式的 $-\text{CO}_2\text{CH}_3$:



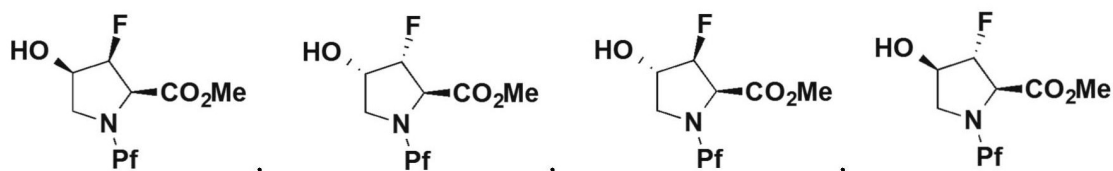
[0263]

II-M

II-N

II-O

II-P



[0264]

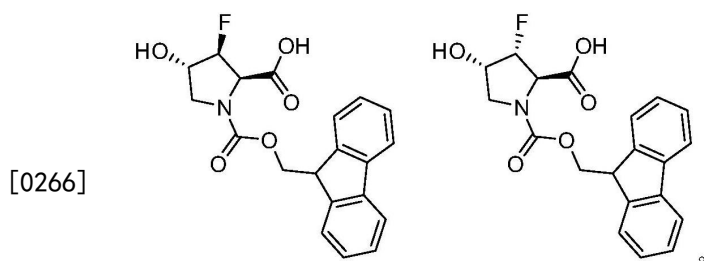
II-Q

II-R

II-S

II-T

[0265] 本文还提供如上文限定的通式II的化合物,其中 R_{2a} 是OH, R_{2b} 是H,LHS是Fmoc基团以及RHS是具有结构式5e和5f的 $-CO_2H$ 基团:

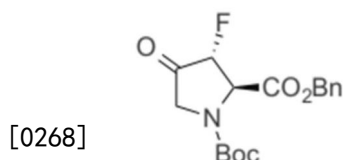


[0266]

5e

5f

[0267] 根据另一方面,本文提供一种从通式III的中间化合物制备如上文所限定的通式II的化合物的方法,其中LHS是H、氨基保护基团、或合适的环-N的其他的氨基保护基团,该氨基保护基团选自:9-苯基-9-苄基、Fmoc基团、BOC基团(如下所示)、或乙酰基基团:

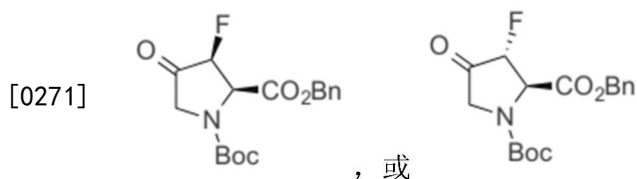


[0268]

III

[0269] 以及其中所述通式III的化合物通过用合适的还原剂处理,优选地通过用 $NaBH_4$ 处理,转化为通式II的化合物。

[0270] 特别是,本文提供一种从结构式为III-A或III-B的中间化合物制备结构式为II-A、II-B、II-C和II-D的中间化合物的方法:



[0271]

, 或

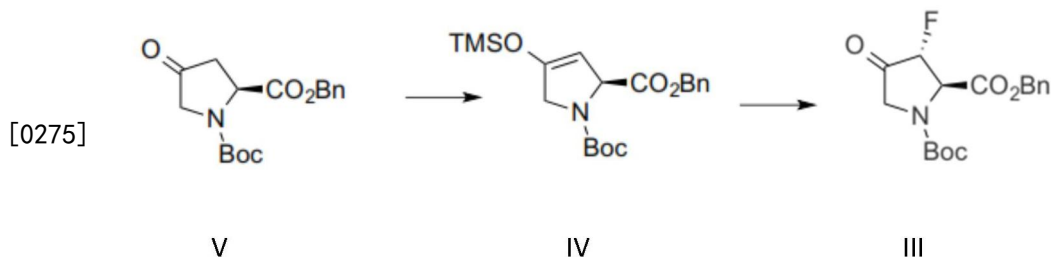
[0272]

III-A

III-B

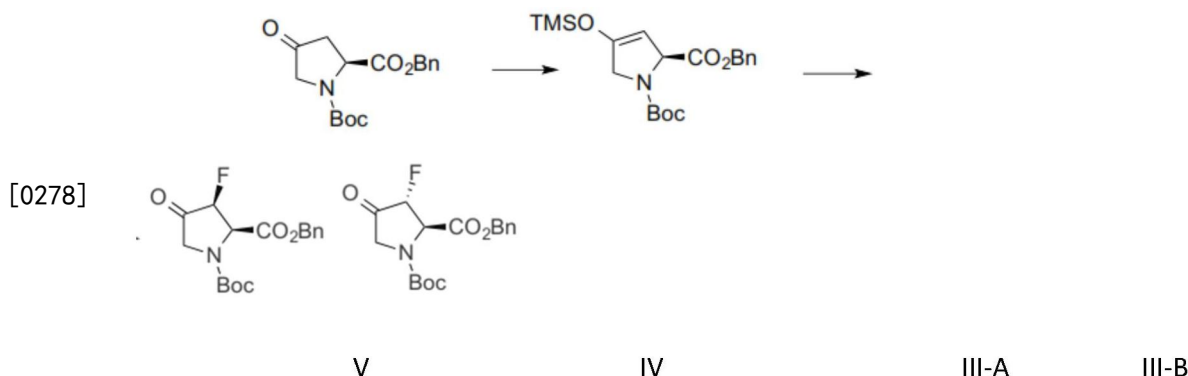
[0273] 其中通过用合适的还原剂处理,优选地通过用 NaBH_4 处理,将所述结构式为III-A或III-B的中间化合物转化为结构式II-A、II-B、II-C和II-D。本文还提供了应用相应的中间化合物来制备一系列结构式II的化合物的方法,其中,该中间化合物的III-A或III-B中的LHS (BOC) 基团被9-苯基-9-芴基基团、Fmoc基团或乙酰基基团取代,其中RHS是 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{CO}_2\text{Bn}$ 或 $-\text{CO}_2\text{D}$,该结构式II的化合物包括具有II-E、II-F、II-G、II-H、II-I、II-J、II-M、II-N、II-O、II-P、II-Q、II-R、II-S和/或II-T结构式的化合物。

[0274] 根据另一方面,本文提供一种方法,该方法通过将具有合适的LHS和RHS的式V的起始化合物转化为通式IV的中间化合物,来制备通式III的中间化合物,随后转化成具有与起始化合物相同的LHS和RHS官能性的通式III的化合物:



[0276] 其中通过两步法将所述通式V的起始化合物转化为通式IV的化合物,其中使用合适的保护策略对羰基基团进行保护,例如TMSO基团,随后对被保护的中间化合物IV进行氟化,得到所需的3-氟代化合物。在所示通式V、IV和III的特定化合物中的每个中,其中LHS是BOC,RHS是 $-CO_2Bn$ 。从合适的通式V的化合物开始,其中LHS是9-苯基-9-芴基基团、Fmoc基团或乙酰基基团或BOC基团,其中RHS是 $-CO_2H$ 、 $-CO_2CH_3$ 或 $-CO_2Bn$ 或 $-CO_2D$,可以制备结构式IV和III的一系列化合物。特别是一系列式III-E、III-F、III-G、III-H、III-I、III-J、III-L、III-M、III-N、III-O、III-P、III-Q、III-R和/或III-S的另外的中间化合物,在其中的LHS和RSH基团与具有II-E、II-F、II-G、II-H、II-I、II-J、II-M、II-N、II-O、II-P、II-Q、II-R、II-S和/或II-T结构式的中间化合物中的那些LHS和RSH基团一致。

[0277] 另外提供一种方法,该方法通过将结构式V的化合物转化为结构式IV的中间化合物,来制备结构式III-A和III-B的中间化合物,随后转化成式III-A和III-B的化合物:



[0279] 其中,化合物式V通过两步法转化为化合物III-A和III-B,其中羰基基团使用合适的保护策略进行保护,例如TMSO基团,随后对被保护的中间化合物IV进行氟化,得到所需的式III-A和III-B的3-氟代合物。

[0280] 特别地,本文提供一种立体选择性的F-HYP合成方法以及一种立体选择性的F-HYP的氮被保护衍生物的合成方法,该F-HYP的氮被保护衍生物适用于制备新型VHL结合体和/

或VHL抑制剂、或结构为A-L-B的PROTACs,其中所述方法是根据方案2的方法。特别地,本文提供一种立体选择性的F-HYP合成方法,其从预备型化合物6——通式V的中间物开始,转化为相应的通式III的氟化中间物——预备型化合物7,接着通过还原得到通式II的3-氟-4-羟基中间物——预备型化合物8。从此通式II的3-氟-4-羟基中间物单独且分别地合成中间物季胺9a和9b,由此根据方案2的步骤iii,通过直接转化(从8)来生成9a,通过步骤iv(得到10)、步骤v(得到11)、步骤iii,得到方案2的9b,由这三步法(从8)提供9b。接着,通过根据方案2的两步法,步骤vi、vii,分别将化合物9a和9b转换成式II的被保护的中间化合物,即化合物5a(II-A)和5d(II-C)。这些氮被保护的衍生物可以很容易通过任意合适的去保护的方法去保护,例如那些本文详述的方法,以得到相应的成对立体定向的F-HYPs。

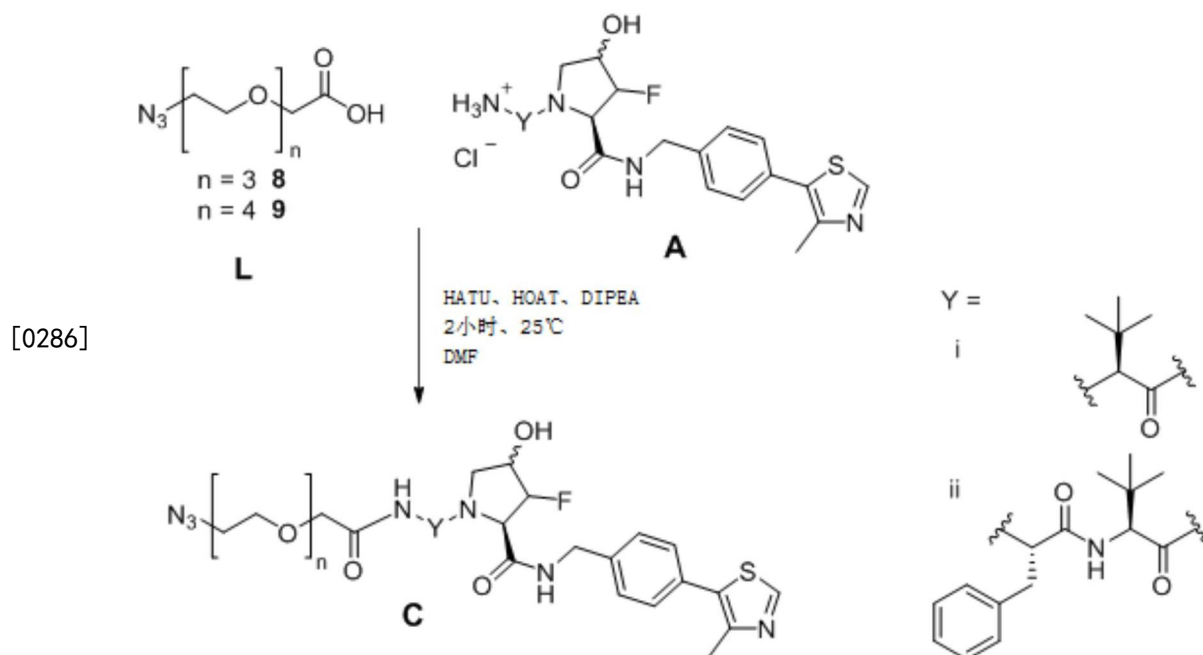
[0281] 为了避免疑义,尽管在方案2中具体描述的方法定向提供成对的立体定向的F-HYP的氮被保护衍生物,但是根据本文详述的方法可很容易制备其他的氮被保护的衍生物。将理解,通过在方案2的vi和vii步骤中应用其它保护基团的策略(对BOC),可制备相同的成对立体定向的F-HYPs。

[0282] 用于制备PROTACs的一般过程

[0283] 在下文化学-材料和方法部分中详细提供了用于制备结构为A-L-B的示范性PROTACs的过程。如一般方案B中所示,用于制备如本文限定的结构为A-L-B的任意PROTAC的一般方法,首先制备式I、IA或IB的E3结合配体——一般方案A中的化合物A,接着将其耦合至选择的连接基团(L)。这样得到通式Az-L-A的中间叠氮化合物,其具有如一般方案A和B中所示的结构A-L-N₃,如化合物C,特别是如下文方案4中所示的用于制备Az-L-A预备型化合物16a-16e。接着,随后通过任意合适的耦合反应,比如通过如一般方案A中所示的特别是如下文方案5中所示的还原胺化,将这些通式Az-L-A的叠氮中间化合物C耦合至所需的蛋白质靶向结合配体(B),得到PROTACs,比如化合物18a-e。

[0284] 如本领域化学技术人员所理解的,通过使用方案A中概述的连接基团耦合的方法、以及如本文实施例部分中的方案4和6中所提供的制备式I的化合物和叠氮连接基团的一般方法,如本文详述的式I、IA或IB的任意化合物可以与任意合适的连接基团L连接在一起,生成结构为Az-L-A的中间叠氮化物。另外,本发明提供结构为Az-L-A的中间叠氮化合物,其中L和A是如上文详述的,特别是其中L和A是关于如本文限定的式IB的化合物所详述的。

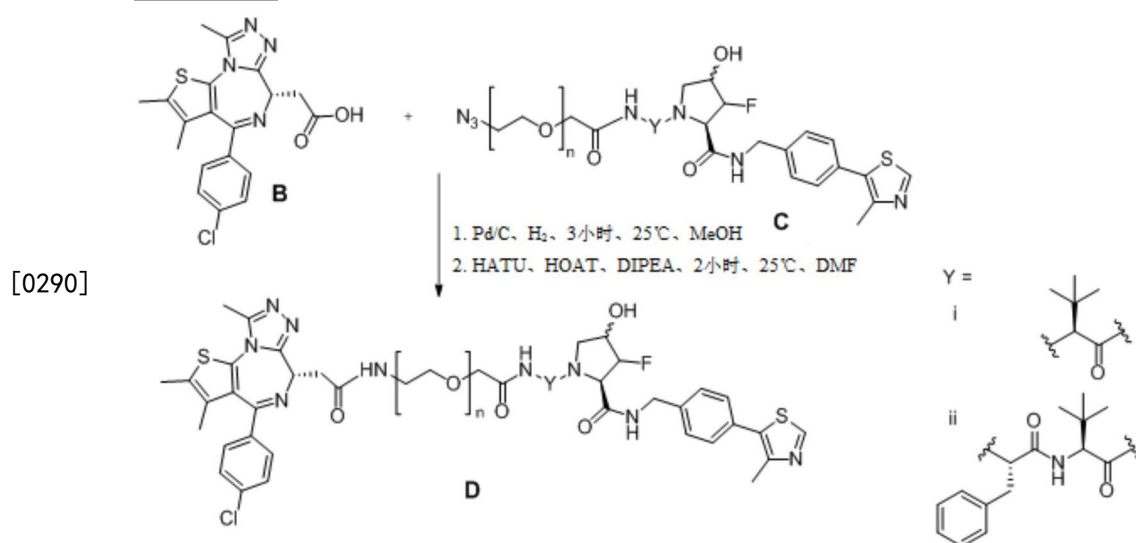
[0285] 一般方案A



[0287] 尽管下文方案5提供某些示范性PROTAC化合物的形成路线,但是如下文的实施例部分中详述,如本领域化学技术人员所理解的,从相应的结构为Az-L-A的叠氮化物,通过使用一般方案A中概述的方法和方案5中所示的试剂和条件,可通过将连接基团L与B耦合,将本文详述的结构为Az-L-A的任意中间叠氮化物与任意蛋白质靶向结合配体B连接在一起,得到如本文限定的结构为A-L-B的PROTAC。

[0288] 如上文所述,一般方案A从相应的去保护的氨A和连接基团化合物L,提供形成中间叠氮化合物的一般过程,该中间叠氮化合物具有结构Az-L-A。在本文实施例的方案3中详述了用于制备式I或式IA或式IB的化合物A的一般过程,该化合物适用于在 R_1 、 R_3 、 R_4 、 R_5 或 R_8 位置处与L连接以得到结构为A-L-B的PROTACs,在实施例的方案4中还描述了用于制备结构为Az-L-A的中间物的过程,实施例方案5中说明了随后将中间叠氮化物C与理想的蛋白质靶向结合配体B耦合,以得到在一般方案A中所示的结构为A-L-B的PROTACs的一般过程。

[0289] 一般方案B



[0291] 如本领域化学技术人员很理解地,诸如在一个或多个连接步骤中,可以采用适当

的保护/去保护策略,以保护在式I、IA、或IB化合物中,或一般方案A、B、和/或本文实施例的方案1至5中所示的任意其他化合物或结构中易受破坏的官能团。

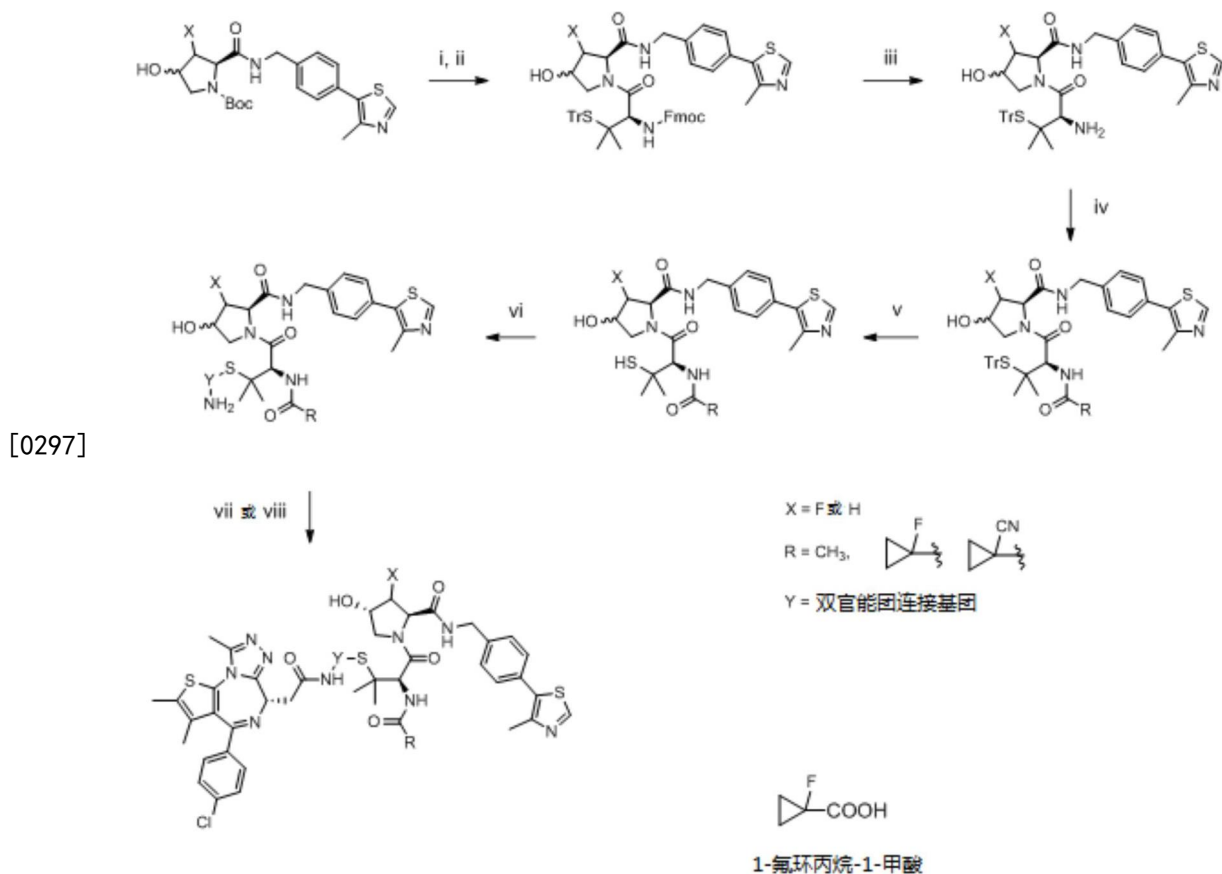
[0292] 用于制备本发明PROTACs的一般过程

[0293] 申请人开发了一组PROTACs,其已经被证明将特定的VHL配体和BET布罗莫结构域配体连接在一起。申请人的初步工作已经确定了已知的化合物VHL-1和VHL-2是强力的粘接剂,其比在Galdeano,C.等人,“靶向蛋白质的小分子的结构导向设计和优化——在希佩尔林道(VHL)E3泛素连接酶和具有体外纳摩尔亲和力的缺氧诱导因子(HIF) α 亚基之间的蛋白质相互作用”,医药化学杂志,57,8657-63(2014)中的VHL(图1a)具有的 K_d 值低300nM。蛋白质配体晶体结构的检查示出在化合物VHL-1和VHL-2中的末端乙酰基基团的甲基基团是溶剂暴露的,并且这被选择作为连接基团(L)的合适连接点。这在图4中表明。为了确认在本发明中提供的PROTAC方法确实结合至靶蛋白,如图4中表明的共晶结构所示及本文中所论述地,BET抑制剂JQ1被选择作为布罗莫结构域招募的支架(B),并且其叔丁基酯基团被选择作为用于连接基团(L)的潜在连接点,因为它是溶剂暴露的,并且不涉及其与BET布罗莫结构域的关键相互作用。

[0294] 具有不同长度的连接基团(L)包括含3或4个乙二醇单元的聚乙二醇链,其被选择为在最初的概念验证实验中将JQ1与VHL配体连接。

[0295] 为了取得理想的配体,设计一种通常可适用的两步合成的策略。首先,通过形成HATU介导的酰胺键,将一端具有羧酸而另一端具有叠氮化物基团的连接基团与VHL配体的末端游离胺连接。在第二步中,将叠氮化物基团还原成胺,并随后与酯水解的JQ1类似物的羧酸生成胺键,得到下文实施例18d和18e的PROTAC化合物。

[0296] 一般方案C



[0298] 一般方案C提供结构为A-L-B的PROTACS的一般过程,其中化合物A按照式IB,其在R₈位置处与L连接,R₈为-S-R_{8*}。

[0299] 试剂和条件:i)含2M HCl的1:1的二氧六环/DCM,室温,99%;含Fmoc-S-三苯甲基-青霉胺、HATU、HOAT、DIPEA的DMF,室温;iii)含20%哌啶的DCM,室温,两步后75%;iv)乙酸酐、含三乙胺的DCM,0℃至室温、98%;v)含5% TFA-TIPS的DCM,室温,79%;vi)含连接基团-OMs或连接基团-OTs或连接基团-Br、和DBU的DCF,0℃至室温、70%-82%;vii)如果X=N₃:H₂(气球)、含10% Pd/C的MeOH,99%;viii)如果X=NPhal:水合肼的乙醇,70℃、60-68%;(+)含-JQ1-COOH、HATU、HOAT、DIPEA的DMF,室温,33-70%。

[0300] 将PROTAC分子结合至靶蛋白的实验数据

[0301] 如申请人报道,Galdeano等人,药物化学杂志,2014,57,8657-8663和Zengerle, M., Chan, K.-H., Ciulli, A.,选择性小分子诱导的BET布罗莫结构域蛋白质BRD4的降解,美国化学学会化学生物学,2015,10(8),1770-1777,中心羟脯氨酸部分的羟基基团的立体化学对配体与VHL的结合是至关重要的。然而,发现化合物MZ1与VHL结合,一种除了在C-4位置的反向立体中心载有羟基基团(顺式MZ1)以外,在结构上与MZ1相同的化合物,没有展示出与VHL任意可测量的结合亲和力,也没有靶蛋白降解的活性。申请人提出,通过羟基基团立体化学同样地影响下文所述的化合物18d的结合。MZ1和顺式MZ1两者的结构都在图7示出,且两种化合物可以都使用未公开的国际专利申请PCT/GB2016/050691的方法来制备,以及在Zengerle等人中描述了MZ1对BET布罗莫结构域蛋白质BRD4的降解。

[0302] 因此,本发明提供一组结构为A-L-B的PROTAC化合物,其中A是如上文限定的式IA的化合物,其中X是N,以及R_{2a}(在C-4位置处的中心R基团)是具有反式立体化学的羟基基团。

[0303] 本发明提供一种结构为A-L-B的PROTAC化合物,其中A是式IA的化合物,其中X是N,以及 R_{2a} (在C-4位置处的中心R基团)是具有反式立体化学的羟基基团,且其中所述PROTAC化合物独立地选自:

[0304] 实施例化合物18d: 2R,3S,4S)-1-((S)-2-(叔丁基)-17-((S)-4-(4-氯苄基)-2,3,9-三甲基-6氢-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基)-4,16-二氧-6,9,12-三氧杂-3,15-二氮杂十七烷酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

[0305] 实施例化合物18e: (2R,3S,4S)-1-((S)-1-(4-((2S,4R)-1-乙酰基-4-(4-氯苄基)-2-甲基-1,2,3,4-四氢喹啉-6-基)苯基)-12-(叔丁基)-1,10-二氧-5,8-二氧杂-2,11-二氮杂十三烷-13-酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺;

[0306] 或其药学上可接受的盐、对映异构体、立体异构体、水合物、溶剂合物、或多晶体。

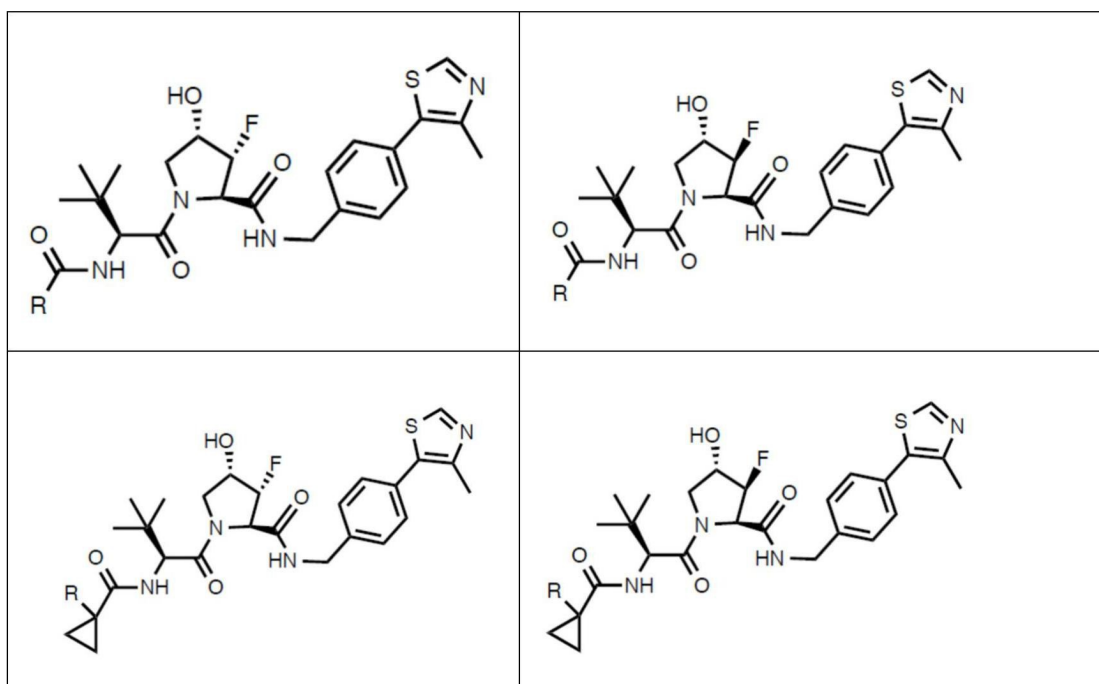
[0307] 如上文讨论的,提供具有结构为A-L-B的PROTAC化合物,其中A是式I的,优选为式IA的,E3泛素连接酶蛋白质结合配体化合物,其中L和B是根据上文详述的任一方面的,其中L基团在 R_1 、 R_3 、 R_4 、 R_5 或 R_8 位置处直接与式I或IA的化合物结合。L基团在 R_1 、 R_3 、 R_4 、 R_5 或 R_8 位置处直接与式I或IA的化合物结合的示范性化合物在下文的组I至V中提供。

[0308] 另外,本发明提供结构为A-L-B的PROTAC化合物,如表I至V中所示,其中A是式IA的化合物,其独立地选自组I至V中任一指出的化合物,其中L和B是根据上文任一方面所限定的。

[0309] 组I. 在 R_1 位置处与L连接的式I的化合物。

[0310] 表I

[0311]



[0312] 因此,本文还提供式IA的组I的化合物,其中X=N,Y=C(O)C(CH₃)₃,其中 R_x 和 R_{2b} 、以及 R_3 、 R_4 全部是H,其中 R_{2a} 是OH,其中 R_5 是CH₃,其中L是如先前本文所限定的,并且优选地是A6或A7,其中 R_1 是与L的共价键或具有与L的共价键的环丙基基团。

[0313] 组II. 在 R_3 位置处与L连接的式I的化合物。

[0314] 表 II

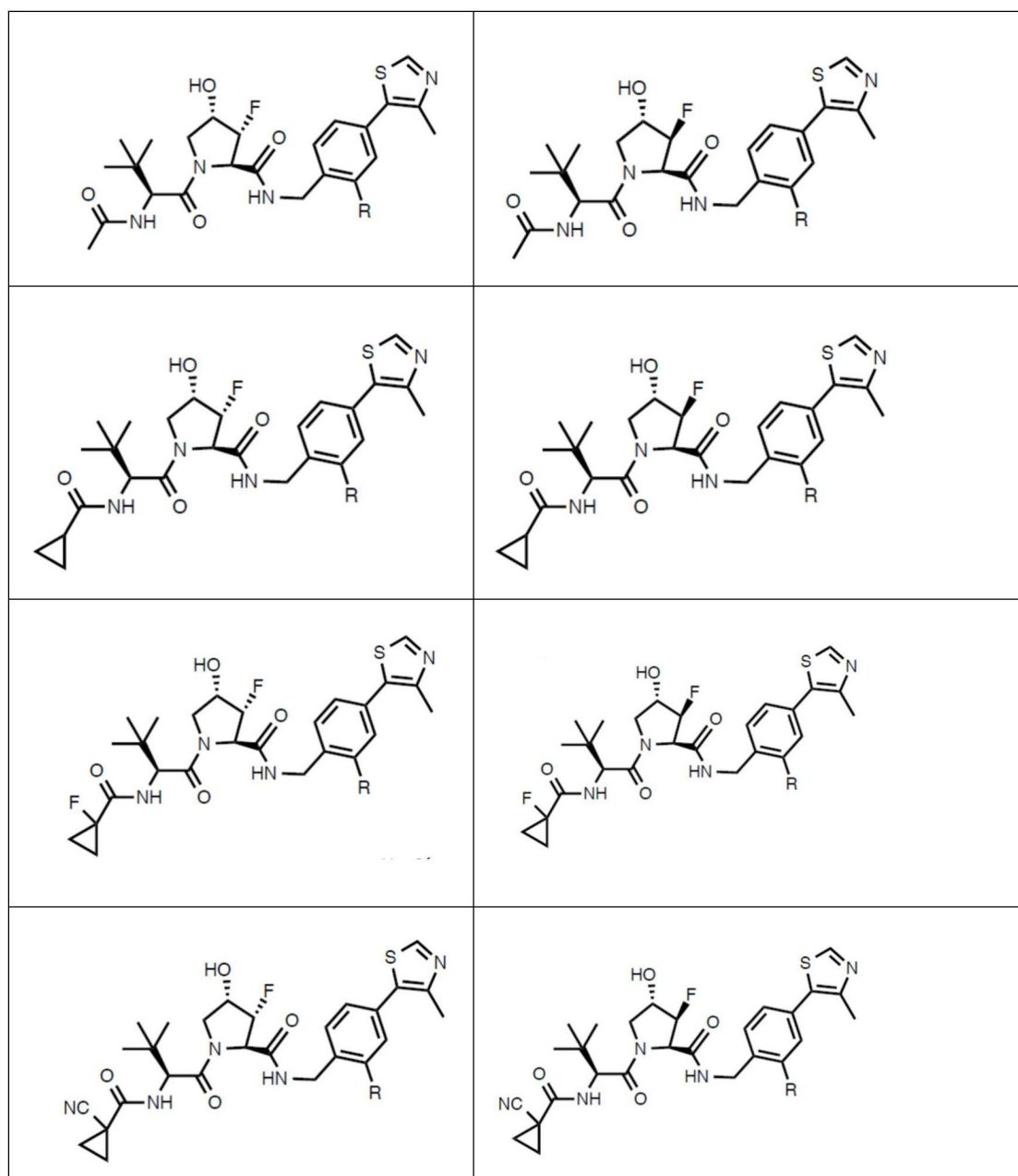
[0315]

[0316] 因此, 本文还提供式IA的组II的化合物, 其中 $X=N$, $Y=C(O)C(CH_3)_3$, 其中 R_x 和 R_{2b} 、以及 R_4 全都是H, 其中 R^{2a} 是OH, 其中 R_5 是 CH_3 , 其中L是如先前本文所限定的, 并且优选地是A6或A7, 其中 R_1 是 CH_3 、环丙基基团、1-氟环丙基基团、或1-氰基环丙基基团, 且其中 R_3 是与L的共价键。

[0317] 组III. 在 R_4 位置处与L连接的式I的化合物。

[0318] 表 III

[0319]

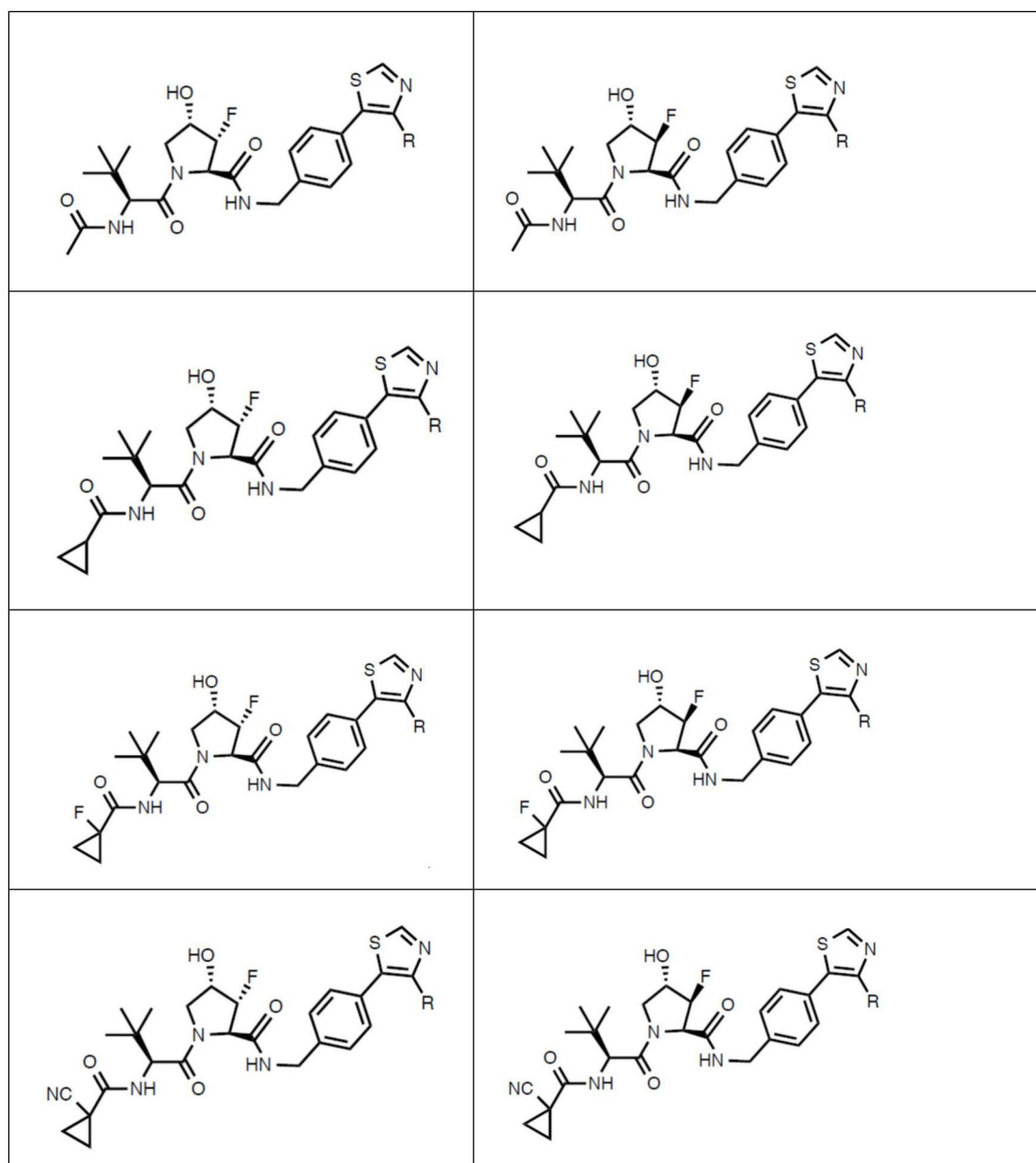


[0320] 因此,本文还提供式IA的组Ⅲ的化合物,其中 $X=N$, $Y=C(O)C(CH_3)_3$,其中 R_x 和 R_{2b} 、以及 R_3 全都是H,其中 R_{2a} 是OH,其中 R_5 是 CH_3 ,其中L是如先前本文所限定的,并且优选地是A6或A7,其中 R_1 是 CH_3 、环丙基基团、1-氟环丙基基团、或1-氰基环丙基基团,且其中 R_4 是与L的共价键。

[0321] 组Ⅳ.在 R_5 位置处与L连接的式I的化合物。

[0322] 表IV

[0323]

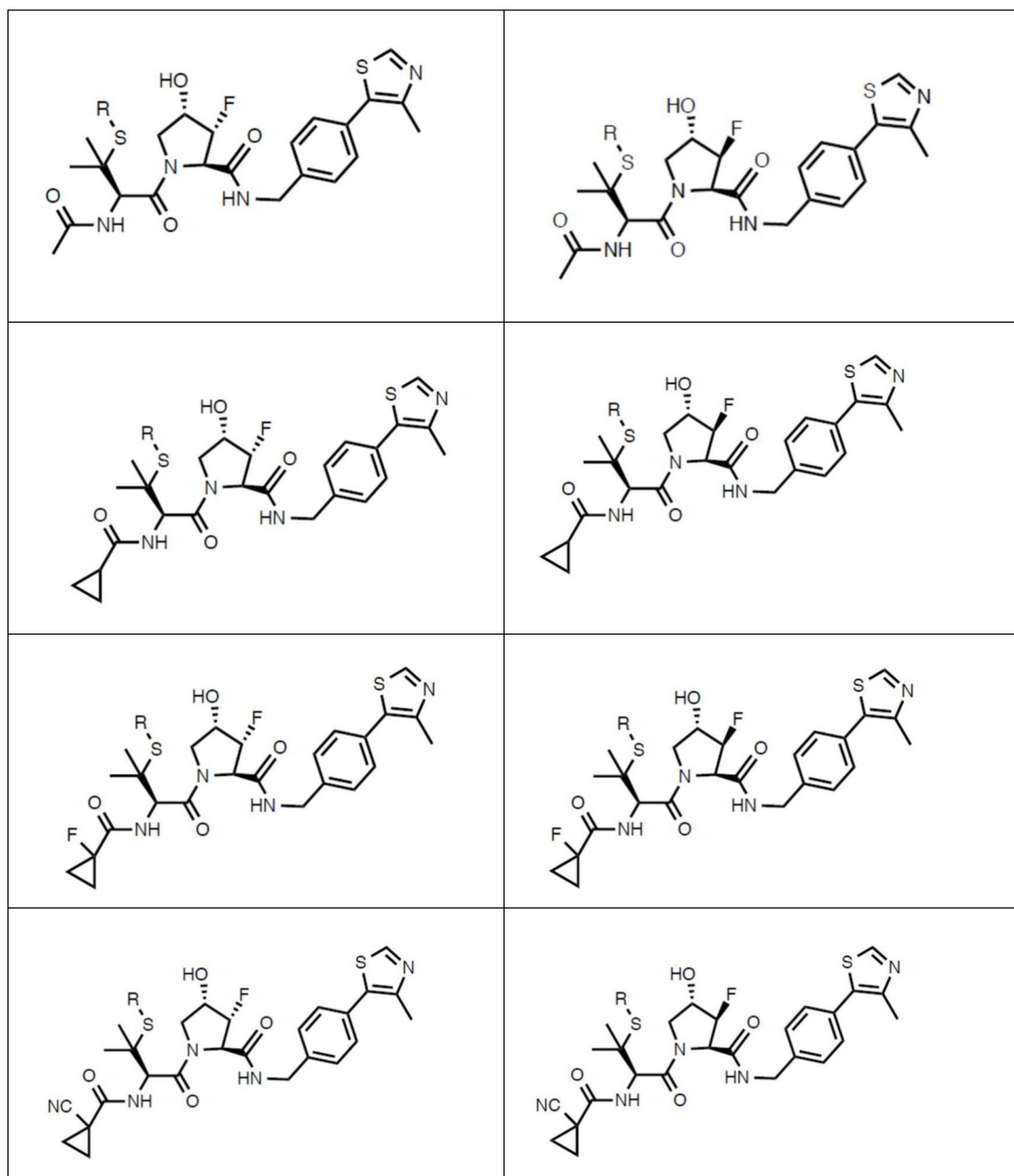


[0324] 因此, 本文还提供式IA的组IV的化合物, 其中 $X=N$, $Y=C(O)C(CH_3)_3$, 其中 R_x 和 R_{2b} 、以及 R_3 和 R_4 全都是H, 其中 R_{2a} 是OH, 其中L是如先前本文所限定的, 并且优选地是A6或A7, 其中 R_1 是 CH_3 、环丙基基团、1-氟环丙基基团、或1-氰基环丙基基团, 且其中 R_5 是与L的共价键。

[0325] 组V. 在 R_8 位置处与L连接的式IB的化合物, $R_8=-S-R_{8*}$ 。

[0326] 表V

[0327]



[0328] 因此,本文还提供式IA的组V的化合物,其中 $X=N$, $Y=C(O)C(CH_3)_3$,其中 R^x 和 R_{2b} 、以及 R_3 和 R_4 全都是H,其中 R^{2a} 是OH,其中 R_5 是 CH_3 ,其中L是如先前本文所限定的,并且优选地是A6或A7,其中 R_1 是 CH_3 、环丙基基团、1-氟环丙基基团、或1-氰基环丙基基团,且其中 R_8 是与L硫连接的共价键。

附图说明

[0329] 图1示出化合物JQ1、VHL-1、I-BET 762和VHL-2的结构。

[0330] 图2示出了先前所报道的非氟化PROTACs:MZ1、MZ2和MZ3、布罗莫结构域抑制剂JQ1和先前所报道的VHL配体VHL-1的等温滴定量热法(ITC)实验中获得的对第一和第二布罗莫结构域以及VBC的结合亲和力和 ΔH 。

[0331] 图3示出了VHL配体14b($K_d=0.235\mu M$, $\Delta H=-6566\text{cal/mol}$, $\Delta S=8.30\text{cal/mol/deg}$)和14d($K_d=0.235\mu M$, $\Delta H=-6566\text{cal/mol}$, $\Delta S=8.30\text{cal/mol/deg}$)的等温滴定量热法

(ITC) 实验中获得的对VBC的结合亲和力和 ΔH 。

[0332] 图4A是VHL-1的蛋白质-配体的晶体结构的图像,其中VHL-1的支架以3D格式示出。

[0333] 图4B是VHL-2的蛋白质-配体的晶体结构的图像,其中VHL-2的支架以3D格式示出。

[0334] 图4C是JQ1的蛋白质-配体的晶体结构的图像,其中JQ1的支架以3D格式示出。

[0335] 图5示出了具有(a) 0.01% DMSO, (b) 1 μ M JQ1的海拉细胞在36小时内受时间影响的治疗。

[0336] 图6示出了用肌动蛋白作对照,用各种浓度的PROTAC 18d处理海拉细胞的BRD2和BRD4(长亚型和短亚型)时获得的化合物剂量依赖性的细胞内活性结果。蛋白质水平通过免疫印迹(中间的图)观察,并相对DMSO对照(下图)定量。

[0337] 图7示出了顺式MZ1, (2S, 4S) -1- ((S) -2- (叔丁基) -17- ((S) -4- (4-氯苯基) -2, 3, 9-三甲基-6氢-噻吩并[3, 2-f][1, 2, 4]三唑并[4, 3-a][1, 4]二氮杂卓-6-基) -4, 16-二氧-6, 9, 12-三氧杂-3, 15-二氮杂十七烷酰基) -4-羟基-N- (4- (4-甲基噻唑-5-基) 苄基) 吡咯烷-2-甲酰胺和MZ1, (2S, 4R) -1- ((S) -2- (叔丁基) -17- ((S) -4- (4-氯苯基) -2, 3, 9-三甲基-6氢-噻吩并[3, 2-f][1, 2, 4]三唑并[4, 3-a][1, 4]二氮杂卓-6-基) -4, 16-二氧-6, 9, 12-三氧杂-3, 15-二氮杂十七烷酰基) -4-羟基-N- (4- (4-甲基噻唑-5-基) 苄基) 吡咯烷-2-甲酰胺的结构。

[0338] 图8示出了(2R, 3R, 4S) -1- ((S) -2- (叔丁基) -17- ((S) -4- (4-氯苯基) -2, 3, 9-三甲基-6氢-噻吩并[3, 2-f][1, 2, 4]三唑并[4, 3-a][1, 4]二氮杂卓-6-基) -4, 16-二氧-6, 9, 12-三氧杂-3, 15-二氮杂十七烷酰基) -3-氟-4-羟基-N- (4- (4-甲基噻唑-5-基) 苄基) 吡咯烷-2-甲酰胺18b的结构,并另外示出了当用各种浓度的PROTAC18b处理海拉细胞的BRD2、BRD3和BRD4(长亚型和短亚型)时获得的化合物剂量依赖性的细胞内活性结果。

[0339] 图9示出了(2S, 4R) -1- ((R) -2-乙酰胺基-3- ((6- (2- ((S) -4- (4-氯苯基) -2, 3, 9-三甲基-6氢-噻吩[3, 2-f][1, 2, 4]三唑并[4, 3-a][1, 4]二氮杂卓-6-基) 乙酰胺基) 己基) 硫代) -3-甲基丁酰基) -4-羟基-N- (4- (4-甲基噻唑-5-基) 苄基) 吡咯烷-2-甲酰胺35的结构,并另外示出了当用各种浓度的PROTAC35处理海拉细胞的BRD2、BRD3和BRD4(长亚型和短亚型)时获得的化合物剂量依赖性的细胞内活性结果。蛋白质水平通过免疫印迹(左图)观察,并定量(右图)。

[0340] 生物方法

[0341] 关于结合VHL配体14b和14d的ITC数据

[0342] 用ITC200微量热计(GE Healthcare)进行滴定。化合物14b和14d在20mM HEPES、150mM NaCl、1mM TCEP (pH 7) 缓冲液中从DMSO原液稀释至0.6mM。将化合物用60 μ M的VBC复合物进行滴定,在相同缓冲液中平衡。在缓冲液中DMSO的总量为3%。使用制造商提供的Microcal LLC ITC200 Origin软件将数据拟合成单个结合位点模型,以获得化学计量比n、电离常数 K_d 以及结合的焓 ΔH 。

[0343] 组织培养

[0344] 将海拉细胞培养在补充有10%FBS、1%左旋谷氨酰胺和100U/m的青霉素/链霉素的DMEM中。在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂下保持细胞不超过30代。

[0345] 免疫印迹法

[0346] 为了蛋白质提取物,将培养皿置于冰上。吸取培养基并用冰冷的PBS将组织层洗涤

2次。添加120 μ l包含蛋白酶抑制剂的RIPA缓冲液,用细胞刮棒使细胞从表面分离。通过离心移除不能溶解的部分后,用PierceTM BCA的蛋白质检测试剂盒确定上层清液的蛋白质浓度。在3-8%的Tris-Acetate NuPage[®] Novex[®] (生命科技公司) 聚丙烯酰胺凝胶上,通过十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)分离蛋白质提取物,并使用来自生命科技公司的i-Blot[®]2,将其转移至硝酸纤维膜。接着,在含0.1%的吐温-20的三乙醇胺缓冲盐水(TBS)中,用3.5%的牛血清白蛋白(BSA)封闭膜。为了检测蛋白质,使用给定浓度的下列一抗:抗BRD2 (Abcam公司, ab139690, EPR7642) 1:2000、抗BRD4 (Abcam公司, ab128874, EPR5150 (2)) 1:1000、抗 β 肌动蛋白(细胞信号技术公司, 4970S, 13E5) 1:2000。为了观察,使用Li-Cor生物科学公司的奥德赛系统,该系统具有下列来自Li-Cor生物科学公司的荧光二抗:IRDye800CW羊抗鼠(926-32210)、IRDye800CW驴抗兔(926-32213),两者浓度均为1:10000。用相应的抗体将细胞膜在4 $^{\circ}$ C下孵化12小时,或25 $^{\circ}$ C下孵化4小时。在用不同的抗体进行孵化期间,在pH 2下,用0.25M的甘氨酸·盐酸溶液剥离细胞膜。

[0347] 药物组合物

[0348] 可通过任意常规的路线,特别是肠内地,例如口服,例如以药片或胶囊形式,或肠胃外地,例如以局部地注射溶液或悬浮液的形式,例如以乳液、凝胶、软膏或乳膏的形式,或以鼻剂或栓剂的形式,将本发明的PROTAC化合物以药物组合物进行施用。可以以常规方式,通过混合、成粒或涂布的方法来制备包含本发明的PROTAC化合物的药物组合物,该化合物为自由形式或与至少一种药学上可接受的载体、稀释剂有关的药学上可接受的盐的形式。例如,口服组合物可以是片剂或胶囊,其包括活性成分和a) 稀释剂,例如乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素和/或甘氨酸;b) 润滑剂,例如二氧化硅、滑石、硬脂酸,其镁或钙盐和/或聚乙二醇;对于片剂还包括c) 粘合剂,例如硅酸铝镁、淀粉糊、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和或聚乙烯吡咯烷酮;如果需要,还包括d) 崩解剂,例如淀粉、琼脂、海藻酸或其钠盐、或泡腾混合物;和/或e) 吸收剂、着色剂、调味剂和甜味剂。可注射组合物可以是水性等渗溶液或悬浮液,栓剂可以由脂肪乳剂或悬浮液制备。组合物可以是无菌的和/或包括例如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化剂的助剂、溶液促进剂、盐,用于调节渗透压和/或缓冲液。此外,它们还包括其他治疗上有价值的物质。用于经皮给药的合适的制剂包括有效量的本发明PROTAC化合物以及载体。载体可以包括药理学上可接受的可吸收溶剂,以帮助通过宿主的皮肤。例如,经皮设备为绷带的形式,其包括背板件、可选择地具有载体的含化合物储库、可选择地以及速率控制拦截器、以及将设备固定至皮肤上的装置,该速率拦截器在长时间内,在受控和预定的速率下将化合物递送至宿主的皮肤。也可使用基质经皮制剂。用于局部应用至例如皮肤和眼睛的合适制剂优选是本领域熟知的水溶液、软膏、乳膏或凝胶。这些可能含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂和防腐剂。

[0349] 本发明的药物组合物包括与一种或更多的药学上可接受的载体一起配制的治疗上有效量的本发明的PROTAC化合物。如本文所使用的,术语“药学上可接受的载体”意为任意类型的无毒的惰性固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、封装材料或配方助剂。

[0350] 此发明的药物组合物可以口服地、直肠地、肠道外地、脑池内地、阴道内地、腹膜内地、局部地(如通过粉末、软膏或滴剂)、口腔地向人和其它动物给药,或作为口腔或鼻腔喷雾剂给药。

[0351] 用于口服给药的液体剂量形式包括药学上可接受的乳剂、微乳剂、溶液、悬浮液,

糖浆和万能药。除了活性化合物以外,液体剂量形式可以包括常常用于本领域的惰性稀释剂,例如,如水或其他溶剂、增溶剂和乳化剂,例如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油(特别是棉花籽油、落花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和脱水山梨糖醇的脂肪酸酯,及其混合物。除了惰性稀释剂,口服组合物还可以包括助剂,例如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂和芳香剂。

[0352] 可注射的制剂,例如无菌的注射水或油质悬浮液,可以根据已知现有技术,使用合适的分散剂或润湿剂以及悬浮剂来配制。无菌可注射制剂还可以是在无毒的肠道外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液、悬浮液或乳液,例如如含1,3-丁二醇的溶液。可接受载体和溶剂可应用水、林格溶液、U.S.P. 和等渗透压的氯化钠溶液。此外,无菌固定油常常用作溶剂或悬浮介质。对于这个原因,可以使用任意的包括合成的单甘油酯或二甘油酯的固定油。此外,脂肪酸例如十八烯酸用于注射剂的制备。为了延长药物的效果,常常需要减缓来自皮下注射或肌肉注射的药物吸收。这样可以通过使用具有较差水溶性的晶体或非晶形材料的液体悬浮液来实现。药物的吸收速率取决于其溶解速率,反过来,溶解速率取决于晶粒尺寸和晶体形式。或者,肠道外给药形式的延迟吸收通过在油载体中溶解或悬浮药物来实现。

[0353] 直肠或阴道施用的组合物是优选栓剂,其可以通过将本发明的PROTAC化合物与合适的非刺激性辅料或载体混合来制备,该辅料或载体例如可可油、聚乙二醇或栓剂蜡,环境温度下是固体,但在体温下是液体,因此在直肠腔或阴道腔中熔化并释放活性化合物。使用这种诸如乳糖或奶糖以及高分子量的聚乙二醇等辅料,相似类型的固体组合物也可以用作软填充明胶胶囊和硬填充明胶胶囊中的填充物。

[0354] 如上所述,PROTAC化合物也可以以具有一种或多种辅料的微胶囊化的形式提供。片剂、糖丸、胶囊、丸剂和颗粒的固体剂型可以制备成具有包衣和外壳,例如肠溶包衣、缓释包衣和制药领域中熟知的的其他包衣。在这种固体剂型中,活性化合物可以与至少一种惰性稀释剂例如蔗糖、乳糖或淀粉混合。按照惯例,这些剂型还可以包括除惰性稀释剂以外的其它物质,例如压片润滑剂和其他压片酸,例如硬脂酸镁和微晶纤维素。如果为胶囊、片剂和丸剂,剂型还可以包含缓冲剂。

[0355] 本发明的化合物的局部或经皮给药的剂型包括药膏、糊剂、霜类、洗剂、凝胶、粉末、溶液、喷雾、吸入剂或药物贴片。活性化合物在无菌条件下与药学上可接受的载体和任意所需要的防腐剂或可能需要的缓冲剂混合。眼部制剂、滴耳滴、眼用药膏、粉末和溶液也设想在本发明的范围中。药膏、糊剂、霜类和凝胶除了本发明的活性化合物之外,可包含辅料,例如动植物油脂、油类、蜡、石蜡、淀粉、黄芪胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅树脂、皂土、硅酸、滑石和氧化锌,或其混合物。

[0356] 粉末和喷雾可包括除了本发明的PROTAC化合物之外的辅料,例如乳糖、滑石、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末,或这些物质的化合物。喷雾还可以包括常用的推进剂,例如氯氟烃。皮肤贴片具有将化合物控制释放至身体的额外优点。这种剂型可以通过将化合物溶解或分散在适当的介质中来制备。也可以使用吸收强化剂,以增加化合物穿过皮肤的量。可以通过提供速率控制膜或者通过将化合物分散在聚合物基体或凝胶上来控制速率。

[0357] 根据本发明的治疗方法,通过以对于实现理想结果所必须的用量和时长,向主体施用治疗上有效量的本发明的PROTAC化合物,在主体例如人或其他动物中治疗或预防疾病、状况或失常。如本文使用地,术语“治疗上有效量”的本发明的化合物意为使主体中失常的症状减少的足够量的化合物。如在医疗领域中充分理解地,治疗上有效量的本发明的PROTAC化合物将为适用于任意医学治疗的合理的效益/风险比率。

[0358] 即时化合物的剂量可以根据许多因素变化,该因素包括疾病类型、年龄和患者一般疾病状况、施用的特定化合物、和药物具有的毒性或毒性水平或副作用。合适的剂量范围的代表性实例是低如约0.025mg至约1000mg。然而,施用的剂量通常留给医生来判定。

[0359] 可以使用多种用于哺乳动物患者的药物剂型。如果固体用药用于口服给药,制剂可以为片剂、硬胶囊、片剂或锭剂的形式。固体载体的量大范围变化,但通常PROTAC化合物的量将为约0.025mg至约1g,固体载体的量构成与所需片剂、硬胶囊、片剂或锭剂的尺寸差别。因此,片剂、硬胶囊、片剂或锭剂可以方便地具有例如0.025mg、0.05mg、0.1mg、0.5mg、1mg、5mg、10mg、25mg、100mg、250mg、500mg或1000mg的本发明的化合物。方便地每天一次、两次或三次施用片剂、硬胶囊、片剂或锭剂。

[0360] 一般而言,本发明的PROTAC化合物将通过本领域已知的任一常规且可接受的模式,以治疗上有效量单一给药,或与一种或多种治疗剂组合给药。治疗上有效的量可以依据疾病的严重性、主体年龄和相对健康、使用的化合物的效价及其他因素而改变。

[0361] 在某些实施例中,本发明的化合物的治疗量或剂量的范围可以从约0.1mg/Kg至约500mg/Kg,或者从约1至约50mg/Kg。一般而言,根据本发明的治疗方案包括向需要此治疗的患者以单一或多剂量每日施用约10mg到约1000mg的本发明的化合物。治疗量或剂量还将依据给药路径以及与其他药剂共同使用的可能性而变化。在改善主体的状况后,如果需要,可以施用维持剂量的本发明的化合物、组合物或组合。随后,

[0362] 可根据症状,将给药的剂量或频率,或两者降低至保持改善的状况水平,当症状减轻至所需水平时,治疗应该终止。然而,当任意疾病症状复发时,主体可能需要长期间歇性治疗。然而,应当理解本发明的化合物和组合物的每日总使用量将由主治医生在合理的医学判断范围中决定。用于任意特定的患者的特异性抑制剂将根据许多因素决定,这些因素包括治疗的失常和失常的严重性;使用的特异性化合物的活性;使用的特异性组合物;患者的年龄、体重、一般健康、性别和饮食;给药时间、给药路径和使用的特异性化合物的排泄率;治疗的持续时间;与使用的特异性化合物组合或相符使用的药物;以及医学领域中熟知的类似因素。

[0363] 本发明还提供药物组合,例如试剂盒,包括a) 第一试剂,其是以游离形式或以药学上可接受的盐形式的本文所公开的本发明的PROTAC化合物,和b) 至少一种共同试剂。试剂盒可以包括其给药说明。如本文所使用的术语“共同给药”或“联合给药”等意图包括将选择的治疗剂施用于单个患者,并旨在包括治疗方案,其中药剂不是必须通过相同的给药路径或同时给药。如本文使用的术语“药物组合”指由混合或组合一种以上的活性成分产生的产物,并包括活性成分的固定和非固定组合。术语“固定组合”意为活性成分例如本发明的PROTAC化合物,以及联合药剂,两者以单一实体或剂量的形式同时向患者给药。术语“非固定组合”意为活性成分例如本发明的PROTAC化合物,以及联合药剂,两者作为单独的实体,没有特定时间限制地同时、共同或依次向患者给药,其中这种给药在患者体内提供治疗上

有效水平的两种化合物。后者还应用于鸡尾酒疗法,例如施用三种或多种活性成分。根据配方设计者的判断,可存在于组合物中作为药学上可接受的载体的一些材料的实例包括,但并不限于离子交换剂;氧化铝;硬脂酸铝;卵磷脂;如人血清白蛋白的血清蛋白;缓冲物质,如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸或山梨酸钾;饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物;水;盐或电解质,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;聚丙烯酸酯;蜡;聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段共聚物;羊毛脂;糖,例如乳糖、葡萄糖、蔗糖;淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;粉末状黄芪胶;麦芽;明胶;滑石;辅料,如可可脂和栓剂蜡;油,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和豆油;二醇类,如丙二醇或聚乙二醇;酯类,例如油酸乙酯和月桂酸乙酯、琼脂;缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;海藻酸;无热原的水;等渗盐水;林格氏液;乙醇;磷酸盐缓冲溶液;以及其他无毒相容的润滑剂,如十二烷基硫酸钠和硬脂酸镁,以及着色剂、释放剂、涂层剂、甜味剂、调味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂。

[0364] 化学-材料和方法

[0365] 除非另有说明,全部化学制品是可商业上获取的且无需进一步纯化就可使用。溶剂是无水的,反应在氮气或氩气的正压下执行。对应异构体 (+) -JQ1-1 和 1-BET726 从美国的普林斯顿 Medchemexpress 有限责任公司购买。快速柱层析 (FCC) 使用 Teledyne Isco Combiflash Rf 或 Rf200i 执行。使用 RediSep Rf 正相一次性柱为预填充柱。在 Bruker 500Ultrasield 或 Bruker Ascend 400 上记录 NMR 光谱。化学位移以 ppm 表示并参考残留溶剂信号: $^1\text{H}\delta = 7.26$ (CDCl_3), $^{13}\text{C}\delta = 77.16$ (CDCl_3), $^1\text{H}\delta = 3.31$

[0366] (MeOD), $^{13}\text{C}\delta = 49.15$ (MeOD), $^1\text{H}\delta = 4.79$ (D_2O)。信号分离模式被描述为单峰、双峰 (d)、三峰 (t)、四峰 (q)、多峰 (m)、宽峰 (br) 或其组合。耦合常数 (J) 以 Hz 为单位测量。当次要旋转异构体与主要旋转异构体明显区分时,符号 “*” 标记次要旋转异构体的信号。

[0367] 在安捷伦科技 1200 系列的 HPLC 上记录低分辨率 MS 和分析 HPLC 轨迹,该安捷伦科技 1200 系列的 HPLC 与连接到 Agilent 二极管阵列检测器上的安捷伦科技 6130 四极 LC/MS 连接。使用的柱是 Waters XBridge 柱 ($50\text{mm} \times 2.1\text{mm}$, 粒径 $3.5\mu\text{m}$), 并且用梯度为 5-95% 的乙腈/水 + 0.1% 甲酸将化合物洗脱 3 分钟 (方法 1) 以上或 7 分钟 (方法 2) 以上。

[0368] 在 Gilson 制备型 HPLC 系统上进行十分钟的制备型高效液相色谱 (HPLC), 使用 Waters X-Bridge C18 柱 ($100\text{mm} \times 19\text{mm}$; 粒径 $5\mu\text{m}$)、梯度为含 5% 至 95% 乙腈的水、流速为 $25\text{mL}/\text{min}$ 、以及含 0.1% 氨的水相。

[0369] 使用的缩写: ACN 为乙腈、DCM 为二氯甲烷、EtOAc 为乙酸乙酯、 Et_2O 为乙醚、DMSO 为二甲基亚砜、DIPEA 为 N,N-二异丙基乙胺、MeOH 为甲醇、TEA 为三乙胺、DMF 为 N,N-二甲基甲酰胺、HATU 为 1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧化六氟磷酸盐、HOAT 为 1-羟基-7-氮杂苯并三唑、TMSOTf 为三甲基硅烷基三氟甲烷磺酸酯、TFA 为三氟乙酸。

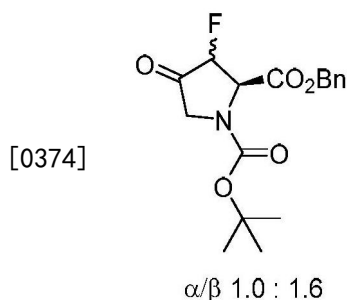
[0370] 根据方案 1 的过程合成 F-HYP 的预备型化合物

[0371] 预备型化合物 1: (S) -1-(叔丁基)-4-氧代吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯

[0372] 根据由 Qui, 有机化学杂志, 67 (20), 7162-7164 报道的方法, 从市场上购得的 (2S, 4R) -1-(叔丁基)-4-羟基吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯制备预备型化合物 1。在 0°C 搅拌下, 以 30 分钟的时间将 CrO_3 (17.0g, 0.17mol) 缓慢地添加至含吡啶 (30mL) 的 DCM (80mL) 溶液。将混

合物加热至室温,接着在搅拌下加入含(2S,4R)-1-(叔丁基)-4-羟基吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯(6.0g,18.69mmol)的DCM(60mL)。反应在室温下剧烈搅拌4小时。倒出形成的深色固体,并用DCM(3×100mL)洗涤。用饱和水状NaHCO₃、10%水状柠檬酸以及卤水洗涤有机相,并用无水MgSO₄将其干燥。溶剂在真空中移除,以产出油性残留物,其通过快速层析法(庚烷/乙酸乙酯,3:1)纯化,得到清澈的油状物4(5.0g,84%)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ:7.35(m,5H),5.28-5.09(m,2H),4.88-4.72(dd,J=10.2,9.3Hz,1H),3.92-3.87(d,J=13.5Hz,2H),2.97-2.91(m,1H),2.64-2.54(m,1H),1.47-1.37(m,9H)。

[0373] 预备型化合物2:(2R)-1-(叔丁基)-3-氟-4-氧代吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯



[0375] 在-78℃下,将含(S)-1-(叔丁基)-4-氧代吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯(1)(1.255g,3.929mmol)的THF(5mL)逐滴添加到含LHMDS(THF中为1M,4.35mL)的THF(4.35mL)的搅拌溶液中。混合物在-78℃下搅拌2小时,接着将TMSCl(1.25mL,10mmol)逐滴添加。在-78℃下持续搅拌30分钟后,移除冷却浴,使反应混合物升温至室温,再搅拌3小时。然后,反应混合物在真空下浓缩成小体积,添加戊烷(50mL),接着将混合物倒入NaHCO₃饱和溶液(100mL)中。使混合物剧烈摇动,有机相分离,用卤水洗涤,接着用无水MgSO₄干燥。在减压下移除挥发物,得到对应于三甲基硅烷基烯醇的淡黄色油状物,将其溶于乙腈(60mL)中,并冷却至0℃。将氟试剂(2.040g,5.750mmol)一次性添加,小心地使混合物在3小时内达到10℃。TLC分析(EtOAc/庚烷3:7)显示出起始物料A完全转化,加入NH₄Cl饱和溶液(30mL),将生成的混合物剧烈摇动,有机相分离。用乙酸乙酯(EtOAc)(2×30mL)提取水层,卤水洗涤有机相,然后用MgSO₄干燥。在减压下移除挥发物,得到黄色油状物,将其快速通过短的硅胶柱,用4:6的EtOAc/庚烷混合物洗脱,得到为非对映异构体混合物的所需粗制氟代酮(2)(662mg,产率50%)。证实此粗制混合物在溶液中稳定,因此直接用于下一步骤中。¹H-NMR(非对映异构体及其顺式/反式旋转异构体的混合物,CDCl₃) δ:7.40-7.34(m,5H),5.38-4.81(m,4H),4.12-3.95(m,2H),1.49-1.39(m,9H)。¹⁹F NMR δ:-186.91,-187.57(α同分异构体)-205.18,-205.92(β同分异构体)。

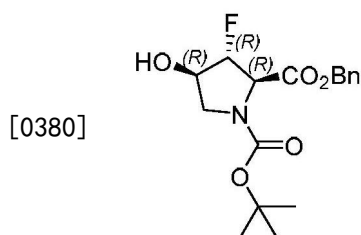
[0376] 或者,将(S)-1-(叔丁基)-4-((三甲基硅烷基)氧基)-2,5-二氢-1H-吡咯-1,2-二羧酸-2-苄酯和氟试剂(SelectfluorTM)溶于无水乙腈(分别为0.067M和0.1M)中,并在惰性气氛下储存。硅烯醇醚和氟试剂的溶液以0.77mL/分钟的速率泵入10mL的流动反应器(停留时间6.5分钟)中,加热到50℃。粗制产物用NH₄Cl饱和溶液处理,用乙酸乙酯提取,MgSO₄干燥有机相。蒸发溶剂,得到粗制产物,根据上述分批合成所述的条件,该粗制产物在二氧化硅上通过柱层析进一步纯化。此流动方法提供可靠且产量恒定的氟化产物,同时提供用于分批工艺的所公开比例的非对映异构体。

[0377] 用NaBH₄还原(2R)-1-(叔丁基)-3-氟-4-氧代吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯以制备

预备型化合物3a、3b和3c

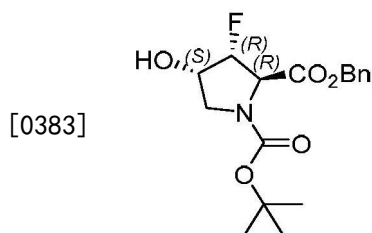
[0378] 将氟代酮2 (500mg, 1.482mmol) 溶于1:1的四氢呋喃/乙醇 (THF/EtOH) 混合物 (10mL) 中, 冷却至0℃。分部分添加NaBH₄ (56mg, 1.482mmol), 反应混合物在0℃下搅拌1小时。TLC分析 (EtOAc/庚烷1:1) 显示起始物料完全转化。反应混合物在真空下浓缩, 添加EtOAc (15mL), 接着将NaHSO₄ (5%) 溶液逐滴添加, 直到获得3~4的pH。然后, 用卤水 (10mL) 洗涤酸化的混合物, 用无水MgSO₄干燥有机相。在减压下移除挥发物, 得到黄色油状物, 经过FCC (EtOAc/庚烷3:7至1:1), 分离出3种非对映异构体 (洗脱顺序按本文所述)。或者将混合物溶于甲醇 (8mL) 中, 通过制备型HPLC (用含5-9% ACN的水进行15分钟) 纯化。

[0379] 预备型化合物3c: (2R, 3R, 4R) -1-(叔丁基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯



[0381] (通过¹⁹F-NMR为11%, 白色固体, 8%分离产率。) ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7.37-7.36 (m, 5H), 5.33-5.15 (m, 2H), 4.99 (d, J_{H-F}=49.1Hz, 1H), 4.95* (d, J_{H-F}=49.0Hz, 1H), 4.60* (d, J_{H-F}=24.8Hz, 1H), 4.48 (d, J_{H-F}=24.8Hz, 1H), 4.33-4.29 (m, 1H), 3.74-3.64 (m, 1H), 2.81* (d, J_{H-H}=9.3Hz, 1H), 2.72 (d, J_{H-H}=9.5Hz, 1H), 1.48* (s, 9H), 1.34 (s, 9H). ¹⁹F-NMR: 179.71*, -180.11. ¹³C NMR: 170.5 (d, J_{C-F}=15.9Hz), 154.3*, 153.6, 134.89*, 134.72, 128.83, 128.75, 128.71, 128.64, 128.56, 128.27, 96.96 (d, J_{C-F}=191.1Hz), 95.91* (d, J_{C-F}=191.2Hz), 80.98, 80.94*, 73.64* (d, J_{C-F}=27.8Hz), 72.71 (d, J_{C-F}=29.0Hz), 67.97, 64.67 (d, J_{C-F}=24.7Hz), 64.41* (d, J_{C-F}=24.4Hz), 53.31*, 52.87, 28.34*, 28.112. C₁₇H₂₂FN₂O₅, 预期为339.2, 发现为m/z=240.1, [M-Boc+H]⁺。

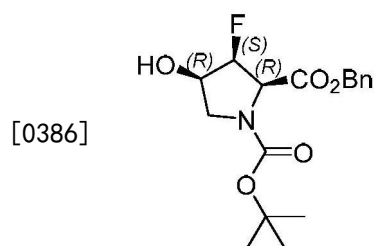
[0382] 预备型化合物3b: (2R, 3R, 4S) -1-(叔丁基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯



[0384] (通过¹⁹F-NMR为30%, 白色固体, 25%分离产率) ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7.38-7.35 (m, 5H), 5.29-5.11 (m, 2H), 4.99-4.88 (m, 1H), 4.64-4.47 (m, 1H), 4.41-4.36 (m, 1H), 3.94-3.87 (m, 1H), 3.37-3.27 (m, 1H), 2.09 (d, J_{H-H}=7.45Hz), 1.47* (9H), 1.33 (9H). ¹⁹F-NMR δ: -199.74, -200.29*. ¹³C-NMR δ: 169.1 (d, J_{C-F}=13.1Hz), 168.7* (d, J_{C-F}=12.9Hz), 154.07*, 153.21, 135.10*, 134.9, 128.8, 128.6, 128.5, 128.2, 94.0 (d, J_{C-F}=190.0Hz), 93.2* (d, J_{C-F}=189.6Hz), 80.9, 70.3* (d, J_{C-F}=18.2Hz), 69.6 (d, J_{C-F}=17.0Hz), 67.6, 63.7 (d, J_{C-F}=23.9Hz), 63.5* (d, J_{C-F}=23.8Hz), 49.8*, 49.3, 23.8*, 28.1. C₁₇H₂₂FN₂O₅, 预期为339.2, 发现

为 $m/z=240.1$, $[M-Boc+H]^+$ 。

[0385] 预备型化合物3a: (2R,3R,4S) -2-1-(叔丁基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯

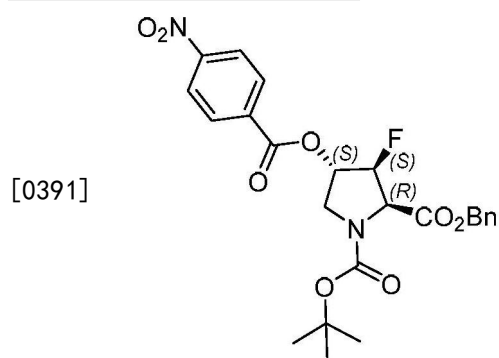


[0387] (通过 ^{19}F -NMR为58%,白色固体,50%分离产率)。 ^1H -NMR (CDCl_3) δ : 7.37-7.32 (m, 5H), 5.35-5.10 (m, 3H), 4.64* (dd, $J_{\text{H-F}}=21.0\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=5.9\text{Hz}$, 1H), 4.54 (dd, $J_{\text{H-F}}=21.7\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=5.9\text{Hz}$, 1H), 4.28 (br s, 1H), 3.87 (dd, $J_{\text{H-H}}=11.2\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=6.6\text{Hz}$, 1H), 3.82* (dd, $J_{\text{H-H}}=11.1\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=6.6\text{Hz}$, 1H), 3.48-3.41 (m, 1H), 2.75 (br s, 1H), 1.46* (s, 9H), 1.32 (s, 9H)。 ^{19}F -NMR δ : -207.06, -207.67*。 ^{13}C -NMR δ : 168.3 (d, $J_{\text{C-F}}=7.0\text{Hz}$), 167.9* (d, $J_{\text{C-F}}=7.2\text{Hz}$), 153.9*, 153.2, 135.2*, 135.0, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 91.5 (d, $J_{\text{C-F}}=189.6\text{Hz}$), 90.8* (d, $J_{\text{C-F}}=188.6\text{Hz}$), 81.1, 70.6* (d, $J_{\text{C-F}}=17.7\text{Hz}$), 70.1 (d, $J_{\text{C-F}}=17.6\text{Hz}$), 67.6, 61.6 (d, $J_{\text{C-F}}=21.9\text{Hz}$), 61.2* (d, $J_{\text{C-F}}=22.0\text{Hz}$), 50.6*, 50.0, 28.3*, 28.1。 $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{FNO}_5$, 预期为339.2, 发现为 $m/z=240.1$, $[M-Boc+H]^+$ 。

[0388] 光延翻转,根据方案1过程中的步骤(iii)的一般方法。

[0389] 在 0°C 下,将偶氮二甲酸二异丙酯(DIAD)逐滴添加到含氟-羟脯氨酸(0.435mmol)、三苯基磷(324.0mg, 1.306mmol)和4-对硝基苯甲酸(218.2mg, 1.306mmol)的THF(2mL)溶液中。烧瓶在 0°C 下放置4小时,然后移除冰浴,接着混合物在室温下搅拌24小时。添加 Et_2O (10mL),用 NaHCO_3 饱和溶液(5mL)洗涤。用卤水(10mL)洗涤混合物,用无水 MgSO_4 干燥有机相。在减压下移除挥发物,得到黄色油状物,经过FCC(EtOAc /庚烷1:9至3:7)分离所需产物。

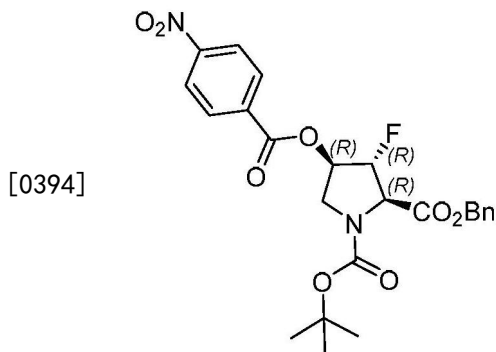
[0390] 预备型化合物4a: (2R,3R,4S) -1-(叔丁基)-3-氟-4-((4-硝基苯甲酰基)氧基)吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯



[0392] 根据上文详述的光延反应的一般方法,从预备型化合物3a获得浅黄色蜡状的预备型化合物4a(187mg, 88%分离产率)。 ^1H -NMR (CDCl_3) δ : 8.31-8.29 (m, 2H), 8.17-8.15 (m, 2H), 7.38-7.35 (m, 5H), 5.57-5.54 (m, 1H), 5.45-5.33 (m, 1H), 5.31-5.16 (m, 2H), 4.84* (dd, $J_{\text{H-F}}=23.3\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=5.7\text{Hz}$, 1H), 4.72 (dd, $J_{\text{H-F}}=24.32\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=5.5\text{Hz}$, 1H), 4.05-4.00 (m, 1H), 3.90 (d, $J_{\text{H-H}}=12.8\text{Hz}$, 1H), 3.76* (d, $J_{\text{H-H}}=12.7\text{Hz}$), 1.46* (s, 9H), 1.36 (s, 9H)。 ^{19}F -NMR δ : -192.43, -193.28*。 $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{FN}_2\text{O}_8$, 保留时间=1.962分钟, 预期为488.1, 发现为 $m/z=389.1$,

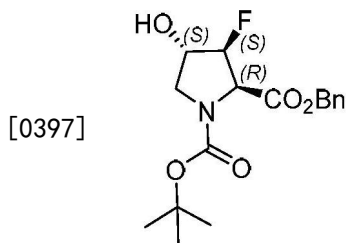
[M-Boc+H]⁺。

[0393] 预备型化合物4b: (2R,3R,4R)-1-(叔丁基)-3-氟-4-((4-硝基苯甲酰基)氧基)吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯



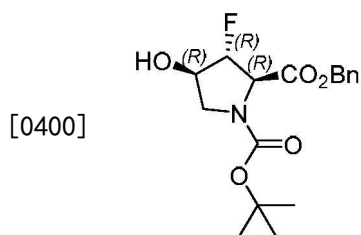
[0395] 根据上文详述的光延反应的一般方法,从预备型化合物3b获得预备型化合物4b (30mg,95%产率,淡黄色蜡状物)。¹H NMR (500MHz,CDCl₃) 8.22-8.18 (m,2H),8.02-7.95 (m,2H),7.26-7.22 (m,5H),5.57-5.54 (m,1H),5.34-5.06 (m,3H),4.89-4.67 (m,1H),4.03-3.96 (m,1H),3.88-3.74 (m,1H),1.50* (s,9H),1.40 (s,9H)。¹⁹F-NMRδ: -182.16,-183.06*。C24H25FN2O8,保留时间=1.975分钟,预期为488.1,发现为m/z=389.1,[M-Boc+H]⁺。

[0396] 预备型化合物3d: (2R,3S,4S)-1-(叔丁基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯



[0398] 在搅拌下,将叠氮化钠(10mg,0.15mmol)添加到4-硝基苯甲酸酯和含预备型化合物4a (24.4mg,0.05mmol)的甲醇(1.0mL)的溶液中。搅拌并加热混合物至50℃,直到TLC分析(EtOAc/庚烷4:6)显示起始物料完全转化(15-30分钟)。将混合物冷却至0℃。添加卤水(1mL),用EtOA (3×5mL)提取。用无水MgSO₄干燥有机相,在减压下移除挥发成分(溶剂),得到黄色油状物,经过FCC(EtOAc/庚烷1:1)分离出淡黄色蜡状物的所需产物(13.5mg,80%分离产率)。¹H-NMR(CDCl₃) δ:7.36-7.35 (m,5H),5.31-5.05 (m,3H),4.74* (dd,J_{H-F}=24.3Hz,J_{H-H}5.1Hz,1H),4.65 (dd,J_{H-F}=25.5Hz,J_{H-H}5.2Hz,1H),4.45-4.42 (m,1H),3.77-3.74 (m,1H),3.68-3.56 (m,1H),2.33 (br s,1H),1.46* (s,9H),1.33 (s,9H)。¹⁹F-NMRδ: -192.30,-192.41*。¹³C-NMRδ:167.5 (d,J_{C-F}=8.3Hz),167.3* (d,J_{C-F}=10.8Hz),154.4*,153.9,135.4*,135.3,130.7,128.6,128.5,123.2,123.6,95.5 (d,J_{C-F}=187.7Hz),94.8* (d,J_{C-F}=187.3Hz),80.9,80.8*,72.8* (d,J_{C-F}=28.0Hz),72.1 (d,J_{C-F}=27.0Hz),67.2,62.4 (d,J_{C-F}=21.2Hz),61.9* (d,J_{C-F}=21.0Hz),52.1*,51.8,28.4*,28.1。C17H22FNO5,预期为339.2,发现为m/z=240.1,[M-Boc+H]⁺。

[0399] 预备型化合物3c: (2R,3R,4R)-1-(叔丁基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-1,2-二羧酸-2-苄酯

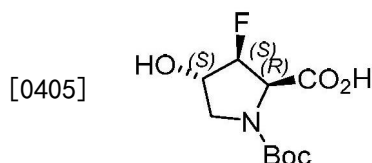


[0401] 如上文报道的用于制备型化合物3d的方法得制备型化合物3c。获得的所需产物为83%分离产率的透明油状物。分析数据与直接还原氟代酮3c获得的产物匹配。

[0402] 根据方案1过程中的步骤(v)将苄酯的中间预备型化合物脱苄基的一般方法

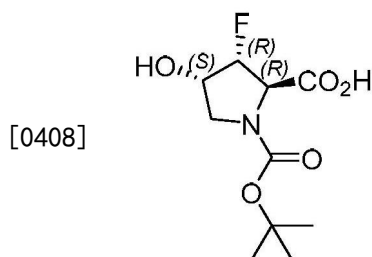
[0403] 将选择的苄酯3a、3b、3c或3d (85mg, 0.250mmol) 溶于1:2的MeOH/THF混合物 (15mL) 中, 添加催化量的钯炭 (10%, 干燥), 在氢气下将混合物搅拌直至TLC分析 (EtOAc/庚烷1:1) 显示起始物料完全转化。然后在硅藻土 (celite) 垫上过滤混合物, 在真空下移除溶剂, 得到脱苄基的产物, 其直接用于下一步骤而不用进一步纯化。

[0404] 预备型化合物5d: (2R, 3S, 4S) -1-(叔丁氧羰基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-2-甲酸



[0406] 使用上文详述的脱苄基方法, 从相应的预备型苄酯4d开始, 得到为白色固体的预备型化合物5d (62mg), 分离产率99%。¹H-NMR (CD₃OD) δ: 5.13-4.99 (m, 1H), 4.61-4.50 (m, 1H), 4.30-7.27 (m, 1H), 3.61-3.54 (m, 2H), 1.476* (s, 9H), 1.44 (s, 9H)。¹⁹F-NMR δ: -191.59, -191.73*。¹³C-NMR δ: 169.6 (d, J_{C-F}=8.5Hz), 169.2* (d, J_{C-F}=8.4Hz), 155.0*, 154.6, 95.5 (d, J_{C-F}=186.0Hz), 95.2* (d, J_{C-F}=128.5Hz), 80.6, 80.4*, 71.9* (d, J_{C-F}=26.6Hz), 71.3 (d, J_{C-F}=26.7Hz), 62.4 (d, J_{C-F}=21.3Hz), 62.0* (d, J_{C-F}=21.6Hz), 52.2*, 51.3, 27.3*, 27.0。C₁₀H₁₆FN₂O₅, 预期为249.1, 发现为m/z=150.1, [M-Boc+H]⁺。

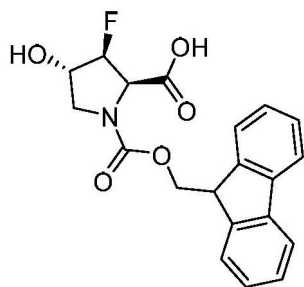
[0407] 预备型化合物5b: (2R, 3R, 4S) -1-(叔丁氧羰基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-2-甲酸



[0409] 使用上文详述的脱苄基方法, 从相应的预备型苄酯4b开始, 得到为白色固体的预备型化合物5b (62mg), 分离产率99%。¹H-NMR (CD₃OD) δ: 5.01-4.93 (m, 1H), 4.43-4.27 (m, 2H), 3.78-3.74 (m, 1H), 3.30-3.28 (m, 1H), 1.49* (s, 9H), 1.44 (s, 9H)。¹⁹F-NMR δ: -199.02, -199.10*。C₁₀H₁₆FN₂O₅, 预期为249.1, 发现为m/z=150.1, [M-Boc+H]⁺。

[0410] 预备型化合物5e: (2R, 3S, 4S) -1-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-2-甲酸

[0411]

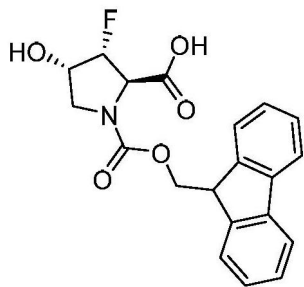


[0412] 使用溶于DCM (2mL) 的二氧六环 (2mL) 的4N HCl的溶液,将化合物5d ((2R,3S,4S)-1-(叔丁氧羰基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-2-甲酸) (67mg,0.36mmol) BOC去保护。蒸发溶剂,接着将粗制产物溶于水/二氧六环的混合物 (1:1,4mL) 中。添加碳酸氢钠 (94mg,1.1.6mmol),接着混合物在室温下搅拌10分钟。将9-苄基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯 (121mg,0.36mmol) 分成小份添加,混合物在室温下搅拌过夜。反应冷却至0℃,用KHSO₄处理至pH=3~4。用乙酸乙酯 (3×15mL) 提取所需产物,用无水MgSO₄干燥有机相。蒸发溶剂,得到粗制产物,使用梯度为5%至20%的含MeOH的DCM,通过二氧化硅上的柱层析进一步纯化该粗制产物。(得到106mg,产率79%)。MS分析:C₂₀H₁₈FN₂O,预期为371.4,发现为372.4[M+H⁺]

[0413] 旋转异构体的混合物¹H NMR (500MHz,CDC13/MeOD 8:2),δ:7.73-7.69 (m,2H),7.59-7.52 (m,2H),7.37-7.31 (m,2H),7.29-7.24 (m,2H),5.18-5.02 (m,1H),4.75-4.61 (m,1H),4.38-4.14 (m,4H),3.79-3.57 (m,4H)。¹⁹F-NMRδ:-188.40,-188.58。¹³C NMRδ:172.6,155.3,155.2,143.7,143.6,143.5,143.4,141.0,141.0,140.9,127.5,127.5,126.9,124.9,124.9,119.7,119.7,96.2,95.3,94.7,93.8,71.9,71.7,71.2,71.0,68.0,67.7,66.8,62.3,62.1,62.1,57.5,52.4,52.1,

[0414] 预备型化合物5f: (2R,3R,4S)-1-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-1,2-甲酸

[0415]



[0416] 使用含4N HCl的二氧六环 (2mL) 和DCM (2mL) 溶液,将化合物5b ((2R,3R,4S)-1-(叔丁氧羰基)-3-氟-4-羟基吡咯烷-2-甲酸) (67mg,0.36mmol) BOC去保护。蒸发溶剂,接着将粗制产物溶于水/二氧六环的混合物 (1:1,4mL) 中。添加碳酸氢钠 (94mg,1.1.6mmol),接着混合物在室温下搅拌10分钟。将9-苄基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯 (121mg,0.36mmol) 分小份添加,混合物在室温下搅拌过夜。反应冷却至0℃,用KHSO₄处理至pH=3~4。用乙酸乙酯 (3×15mL) 提取所需产物,用无水MgSO₄干燥有机相。蒸发溶剂,得到粗制产物,使用梯度为5%至20%的含MeOH的DCM,通过二氧化硅上的柱层析进一步纯化该粗制产物。(得到100mg,产率82%)。MS分析:C₂₀H₁₈FN₂O,预期为371.4,发现为372.4[M+H⁺]

[0417] ¹H NMR (500MHz,CDC13) (旋转异构体的混合物) δ:7.76-7.69 (m,2H),7.56-7.49 (m,2H),7.41-7.27 (m,4H),5.21-4.93 (m,2H),4.61 (d,J=18.6Hz,1H),4.46-4.37 (m,3H),

4.25-4.10 (m, 1H), 3.91-3.84 (m, 1H), 3.40 (t, J=9.3Hz, 1H)。¹⁹F NMR δ : -199.35, -201.73。¹³C NMR δ : 172.0, 171.9, 170.9, 170.8, 156.4, 154.6, 143.7, 143.6, 141.6, 141.6, 128.2, 127.4, 125.2, 125.2, 120.3, 93.8, 92.3, 70.2, 70.1, 69.7, 69.5, 68.8, 68.2, 64.0, 63.8, 63.6, 63.4, 49.6, 47.2,

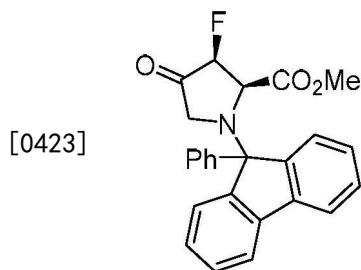
[0418] 用于制备根据方案2的立体选择性F-HYP的预备型化合物

[0419] 起始物料, 酮6:

[0420] 根据Zanato等人, 有机生物分子化学, 2014, 12, 9638中所述的方法制备起始物料酮6。

[0421] 在0℃、搅拌下, 将含 (2S, 4R) -4-羟基吡咯烷-2-甲酸甲酯盐酸盐 (3.0g, 16.5mmol) 和氯三甲基硅烷 (5.2mL, 41.3mmol) 的DCM (40mL) 溶液用TEA (8.0mL, 57.8mmol) 处理, 并使得其达到室温。混合物搅拌回流1小时, 冷却至0℃, 用含MeOH (1.0mL) 的DCM (4.5mL) 处理, 使得加热至室温并保持1小时, 然后用9-溴-9-苯基苄 (6.9g, 21.45mmol) 和Pb(NO₃)₂ (4.9g, 14.9mmol) 处理。混合物在室温下搅拌96小时, 过滤、蒸发。残留固体溶于MeOH (54mL), 接着添加柠檬酸 (5.5g)。溶液再剧烈搅拌1小时, 在减压下蒸发溶剂。添加EtOAc (50mL), 小心地用NaHCO₃饱和溶液洗涤。用无水MgSO₄干燥有机相, 然后在减压下移除溶剂。粗制产物通过快速层析 (庚烷/EtOAc 1:1) 纯化, 得到为白色泡沫的Pf保护的化合物 (5.7g, 90%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 1.79 (ddd, 1H, J=5.6, 8.9, 13.0Hz), 1.98 (dt, 1H, J=5.6, 12.6Hz), 2.92 (dd, 1H, J=4.8, 9.9Hz), 3.24 (s, 3H), 3.29 (dd, 1H, J=5.3, 8.8Hz), 3.57 (dd, 1H, J=5.3, 10.0Hz), 4.43-4.58 (m, 1H), 7.16 (td, 1H, J=1.1, 7.5Hz), 7.21-7.35 (m, 6H), 7.43 (td, 1H, J=1.1, 7.5Hz), 7.50-7.59 (m, 3H), 7.65 (dd, 1H, J=0.7, 6.8Hz), 7.74 (dd, 1H, J=0.8, 6.8Hz); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) δ : 40.0, 51.3, 56.8, 59.3, 70.4, 76.1, 119.8, 120.1, 126.4, 127.1, 127.2, 127.3 (x 2), 127.4, 127.6, 128.3 (x 2), 128.4, 128.8, 139.9, 141.5, 142.7, 146.1, 147.2, 175.8。

[0422] 预备型化合物7: (2R, 3S) -3-氟-4-氧代-1-(9-苯基-9H-苄-9基) 吡咯烷-2-甲酸甲酯

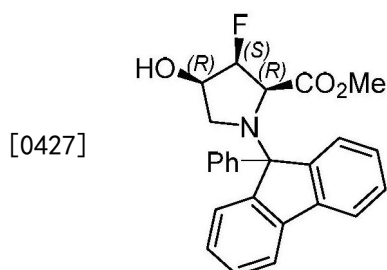


[0424] 将含起始酮6 (600mg, 1.57mmol) 的DCM (15mL) 溶液冷却至-30℃, 逐滴添加TEA (700 μ L, 4.70mmol)。然后, 在-30℃下逐滴添加三甲基硅烷基三氟甲磺酸酯 (TMSOTf) (570 μ L, 3.13mmol)。将混合物搅拌2小时并维持在-10℃以下。然后, 在真空下移除溶剂, 添加戊烷 (25mL)。将混合物倒入NaHCO₃饱和溶液 (50mL), 并剧烈摇动。分离有机层, 用卤水洗涤, 然后无水MgSO₄干燥。在减压下移除溶剂 (挥发物), 得到对应于非分离的中间物三甲基硅烷基三氟甲磺酸酯的淡黄色油状物, 将其溶于乙腈 (30mL) 中, 并冷却至-40℃。将氟试剂 (834mg, 2.35mmol) 一次性添加, 使得混合物达到10℃, 过夜。TLC分析 (EtOAc/庚烷2:8) 显示起始物料完全转化。添加NH₄Cl饱和溶液 (30mL), 剧烈摇动生成的混合物, 然后分离有机层。用

EtOAc (2×30mL) 提取水层, 卤水洗涤有机相, 然后MgSO₄干燥。在减压下移除挥发物, 得到为黄色油状粗制产物, 通过FCC (EtOAc/庚烷1:9) 纯化得到所需氟代酮 (346mg, 产率55%)。MS 分析没有显示任何信息结果, 因为唯一检测到的离子对应于9-苯基芴的碳正离子, $m/z = 241.1$ 。

[0425] ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7.76 (d, $J_{H-H} = 7.6\text{Hz}$, 1H), 7.71 (d, $J_{H-H} = 7.6\text{Hz}$, 1H), 7.46-7.325 (m, 11H), 5.07 (dd, $J = H-F = 51.0\text{Hz}$, $J_{H-H} = 7.9\text{Hz}$, 1H), 4.03 (d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H), 3.98 (d, $J_{H-H} = 17.9\text{Hz}$, 1H), 3.63 (d, $J_{H-H} = 17.9\text{Hz}$, 1H), 3.19 (s, 3H)。¹⁹F-NMR-206.52。¹³C-NMR δ: 205.4 (d, $J_{C-F} = 12.7\text{Hz}$), 169.3, 124.2, 144.7, 141.2, 140.6, 139.9, 129.3, 129.2, 128.8, 123.3, 128.0, 127.7, 126.8, 126.6, 125.1, 120.5, 120.4, 89.1 (d, $J_{C-F} = 205.4\text{Hz}$), 75.1, 60.0 (d, $J_{C-F} = 20.3\text{Hz}$), 51.8 (d, $J_{C-F} = 22.8\text{Hz}$)。

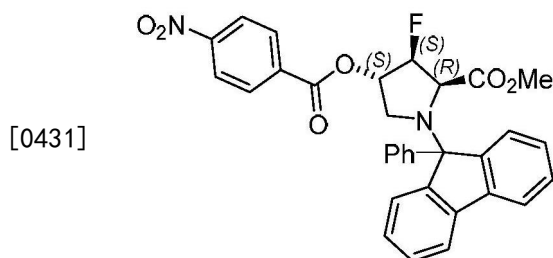
[0426] 预备型化合物8: (2R, 3S, 4R) -3-氟-4-羟基-1-(9-苯基-9H-芴-9基)吡咯烷-2-甲酸甲酯



[0428] 在0℃下, 将预备型氟代酮化合物7 (638mg, 1.59mmol) 溶于1:1的THF/EtOH (20mL) 中。将NaBH₄ (63mg, 1.67mmol) 分部分加入, 在0℃下将反应混合物搅拌1小时。TLC分析 (EtOAc/庚烷3:7) 显示起始物料完全转化。在真空下浓缩反应混合物, 添加EtOAc (30mL), 逐滴添加NaHSO₄ (5%) 溶液直到得到的pH为3~4。用卤水 (10mL) 洗涤酸化的混合物, 无水MgSO₄干燥有机相。在减压下移除挥发物, 得到产率定量的为白色固体的标题化合物。

[0429] ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7.79 (d, $J_{H-H} = 7.6\text{Hz}$, 1H), 7.65 (d, $J_{H-H} = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.55-7.53 (m, 2H), 7.49-7.48 (m, 1H), 7.44-7.42 (m, 1H), 7.36-7.33 (m, 1H), 7.30-7.26 (m, 5H), 7.15-7.12 (m, 1H), 4.76-4.64 (m, 1H), 4.15 (br s, 2H), 3.45 (dd, $J_{H-H} = 10.6\text{Hz}$, $J_{H-H} = 5.0\text{Hz}$, 1H), 3.39 (s, 3H), 3.27 (dd, $J_{H-F} = 8.8\text{Hz}$, $J_{H-H} = 6.3\text{Hz}$, 1H), 3.05 (d, $J_{H-H} = 10.6\text{Hz}$, 1H)。¹⁹F-NMR δ: -205.26。¹³C-NMR δ: 173.8 (d, $J_{C-F} = 4.6\text{Hz}$), 147.4, 144.6, 141.9, 140.8, 139.2, 129.1, 128.7, 128.6, 127.9, 127.7, 127.4, 126.0, 126.3, 120.4, 120.1, 90.7 (d, $J_{C-F} = 197.6\text{Hz}$), 75.6, 70.8 (d, $J_{C-F} = 16.1\text{Hz}$), 60.8 (d, $J_{C-F} = 21.8\text{Hz}$), 52.9 (d, $J_{C-F} = 3.5\text{Hz}$), 52.2, 29.7。

[0430] 预备型化合物10: (2R, 3S, 4S) -3-氟-4-((4-硝基苯甲酰基)氧基)-1-(9-苯基-9H-芴-9-基)吡咯烷-2-甲酸甲酯

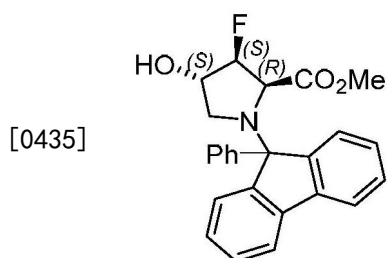


[0432] 根据上文详述的用于光延翻转的一般方法, 从预备型化合物8制备预备型化合物

10。得到的化合物10产率为87%。

[0433] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.30-8.28 (m, 2H), 8.14-8.12 (m, 2H), 7.74-7.73 (m, 1H), 7.69-7.68 (m, 1H), 7.52-7.50 (m, 2H), 7.40-7.38 (m, 4H), 7.28-7.18 (m, 5H), 5.75-5.68 (m, 1H), 5.06 (ddd, $J_{\text{H-F}}=53.5\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=8.0\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=5.5\text{Hz}$, 1H), 4.04 (dd, $J_{\text{H-F}}=10.2\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=6.8\text{Hz}$, 1H), 3.67 (dd, $J_{\text{H-H}}=7.9\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=6.7\text{Hz}$, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.08 (dd, $J_{\text{H-H}}=10.5\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=5.6\text{Hz}$, 1H)。 $^{19}\text{F-NMR}$ δ : -196.44。 $^{13}\text{C-NMR}$ δ : 170.3 (d, $J_{\text{C-F}}=4.5\text{Hz}$), 163.9, 150.8, 146.1, 145.6, 141.1, 140.1, 134.7, 130.9, 129.0, 128.6, 127.9, 127.8, 127.4, 127.1, 126.0, 123.6, 120.3, 120.1, 93.3 (d, $J_{\text{C-F}}=195.3\text{Hz}$), 75.4, 61.9 (d, $J_{\text{C-F}}=21.7\text{Hz}$), 51.7, 49.7 (d, $J_{\text{C-F}}=5.6\text{Hz}$)。

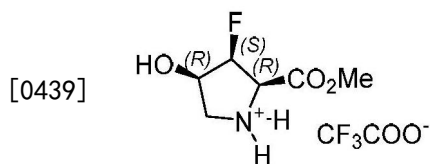
[0434] 预备型化合物11: (2R,3S,4S)-3-氟-4-羟基-1-(9-苯基-9H-芴-9-基)吡咯烷-2-甲酸甲酯



[0436] 在0℃下,将溶于水(2mL)中的LiOH(19mg,0.469mmol)逐滴添加到含预备型化合物10(217mg,0.391mmol)的4-硝基苯甲酸酯的THF(8mL)的搅拌溶液中。在0℃下,将混合物搅拌2小时。TLC分析(EtOAc/庚烷3:7)显示起始物料的完全转化。在真空下浓缩反应混合物,添加水(5mL),用EtOAc(3×15mL)提取混合物。卤水(5mL)洗涤有机相,无水 MgSO_4 干燥,在减压下移除挥发物。粗制产物通过FCC(EtOAc/庚烷1:9)纯化,以得到产率定量的为白色泡沫的标题化合物。

[0437] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.75 (d, $J_{\text{H-H}}=7.5\text{Hz}$, 1H), 7.65 (d, $J_{\text{H-H}}=7.5\text{Hz}$, 1H), 7.54-7.52 (m, 2H), 7.49 (d, $J_{\text{H-H}}=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.46-7.43 (m, 1H), 7.35-7.23 (m, 6H), 7.18-7.15 (m, 1H), 4.71-4.53 (m, 2H), 3.61-3.58 (m, 1H), 3.47-3.44 (m, 1H), 3.38 (s, 3H), 2.29-2.84 (m, 1H)。 $^{19}\text{F-NMR}$ δ : -197.63。

[0438] 预备型化合物9a: (2R,3S,4R)-3-氟-4-羟基-2-(甲氧基羰基)吡咯烷-1-鎓2,2,2-三氟乙酸盐

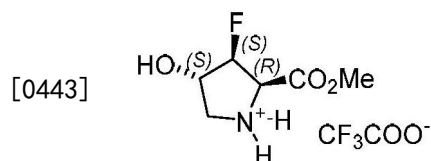


[0440] 将预备型化合物8(100mg,0.248mmol)溶于DCM(10mL)中。添加三异丙基硅烷(TIPS)(760μL)和三氟乙酸(TFA)(500μL),生成的黄色混合物保持在室温下反应2小时。添加5mL水,剧烈摇动混合物,分离水相,用2mL的 Et_2O 洗涤,冻干,得到标题的化合物,产率80%。

[0441] $^1\text{H-NMR}$ (D_2O) δ : 5.46-5.34 (m, 1H), 4.83 (dd, $J_{\text{H-F}}=32.1\text{Hz}$, $J_{\text{H-H}}=2.9\text{Hz}$, 1H), 4.70-4.61 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.76-3.72 (m, 1H), 3.32-3.28 (m, 1H)。 $^{19}\text{F-NMR}$ δ : -75.56

(3F), -208.8 (1F)。

[0442] 预备型化合物9b: (2R,3S,4S)-3-氟-4-羟基-2-(甲氧基羰基)吡咯烷-1-鎓2,2,2-三氟乙酸盐

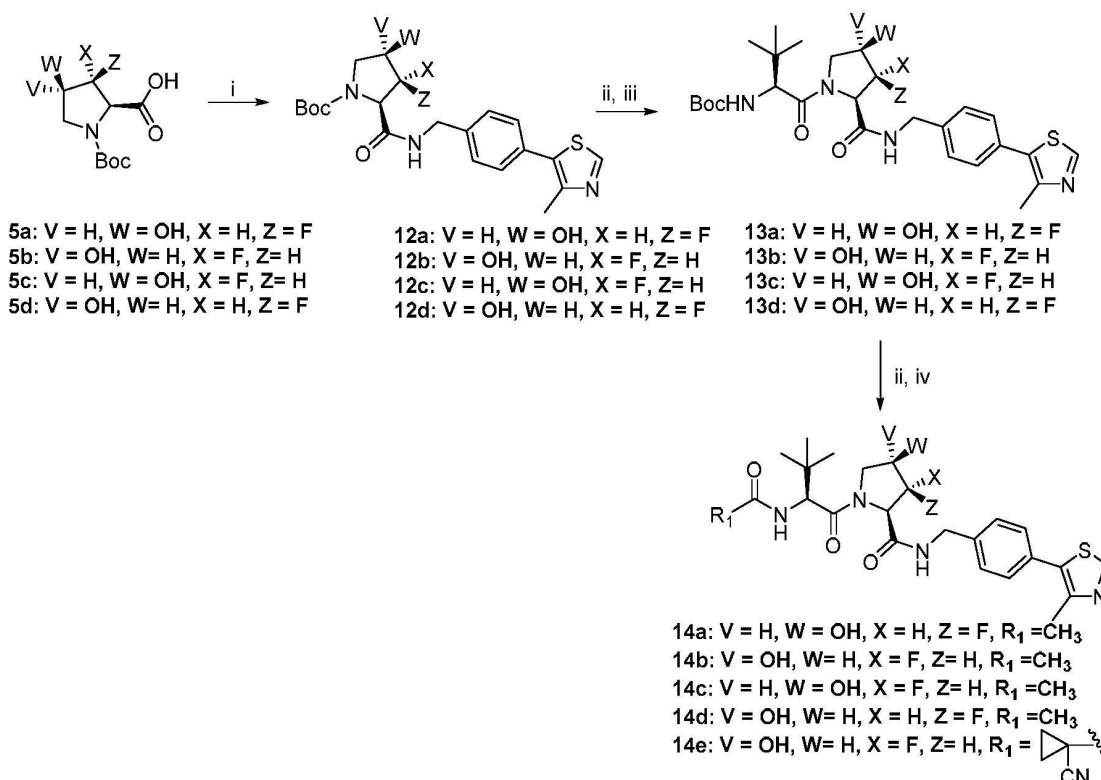


[0444] 根据化合物9a所描述,从制备型化合物11制备,产率82%。¹H-NMR (D₂O) δ: 5.38 (d, J_{H-F}=48.9Hz, 1H), 4.95 (dd, J_{H-F}=33.3Hz, J_{H-H}=2.3Hz, 1H), 4.67 (br s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.75-3.72 (m, 1H), 3.47 (d, J_{H-H}=1301Hz, 1H)。¹⁹F-NMR δ: -75.56 (3F), -192.27 (1F)。¹³C-NMR δ: 165.9 (d, J_{C-F}=5.6Hz), 162.3 (d, J_{C-F}=35.5Hz), 116.3 (d, J_{C-F}=291.7Hz), 94.4 (d, J_{C-F}=185.6Hz), 71.6 (d, J_{C-F}=27.2Hz), 62.7 (d, J_{C-F}=21.3Hz), 54.1, 51.4。

[0445] 方案3-用于合成式I、IA或IB(A组)的化合物的一般方法

[0446] 在下列步骤中通过选择合适的试剂,根据方案3中的一般方法可以制备如上文限定的式I的任意化合物,步骤为:选择C-或N-5元环;选择理想的R_{2a}、R_{2b}、R_x,其上的取代基作为起始点;选择理想的R₃、R₄和R₅基团,以确定用于步骤(i)中合适的试剂;选择理想的Y基团(Y_A、Y_B、Y_C),以确定在步骤(ii)和(iii)中合适的试剂;以及最后在最终步骤中选择理想的R₁基团,以提供式I、IA或IB的化合物。

[0447] 方案3



[0449] 在方案3中用作示范性制备的条件如下: (i) 含(4-(4-甲基噻唑-5-基)苯基)甲胺、DIPEA、HATU、HOAT的DMF, 室温; (ii) 含2M HCl的1:1的二氧六环/DCM, 室温; (iii) 含Boc-L-叔-亮氨酸、DIPEA、HATU、HOAT的DMF, 室温; (iv) 14a-d, 含乙酸酐、三乙胺(TEA)的二氯甲烷

(DCM), 0℃; 或14e, 含1-氰基环丙烷-1-甲酸、DIPEA、HATU、HOAT的DMF, 室温。

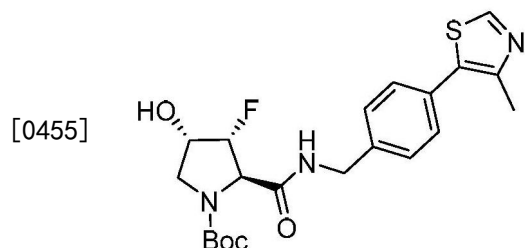
[0450] 如化学技术人员将理解的, 使用方案3中所示的一般方法, 并通过选择合适的起始物料(5a-d), 以及使用为制备Boc-保护的化合物(13a-d)和式IA(14a-e)提供的方法, 可制备适用于制备如本文限定的式I的化合物或任意式IA或IB的化合物的任意Boc-保护的胺。

[0451] 特别是在步骤(i)中, 使用替代的起始物料提供其它最终化合物, 该其它最终产物具有不同于上述实施例提供的 R^{2a} 和/或 R^{2b} 基团, 或与上述实施例所述的N相反的, 其中 $X=C$ 的化合物。可市场上购得的适用于此应用得示范性材料包括: 2-三氟甲基; 2-氟脯氨酸; 2,2-二氟脯氨酸; 以及2-氨基脯氨酸。还应理解, 适用于在步骤(i)使用的其他起始试剂可很容易从羟脯氨酸, 或从一种或其他可市场上购得的替代物来制备, 例如在最终化合物(其中 $X=N$)中的2-氨基脯氨酸(其中 R^{2a} 是 $-NH_2$, R^{2b} 是H)可以通过适当修改本文提供的用于合成F-HYP起始物料的合成路径, 从羟脯氨酸来制备。

[0452] 用于Boc去保护的一般方法在本文方案7中提供。

[0453] 根据方案3制备通式I、IA或IB的化合物

[0454] 预备型化合物12b: (2R,3R,4S)-3-氟-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

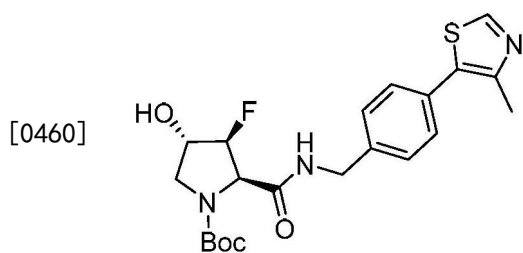


[0456] 在室温搅拌下, 将含N-Boc-氟-羟脯氨酸5b(40.0mg, 0.160mmol)、HATU(61.0mg, 0.160mmol)、1-羟基-7-偶氮苯并三唑(HOAT)(22.0mg, 0.160mmol)和也称为Hünig's碱的N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)(85μL, 0.480mmol)的DMF(0.5mL)混合物逐滴添加到含(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)甲胺(32.7mg, 0.160mmol)的DMF(1mL)溶液中。一小时后, HPLC分析显示起始物料完全转化且所需产物(方法1, 保留时间=1.451分钟, $m/z=436.2$, $[M+H]^+$)形成。用DCM(10mL)稀释反应物, 用水(2mL)洗涤, 提取有机相, 然后无水 $MgSO_4$ 干燥, 然后在减压下移除溶剂。通过制备型HPLC(酸法)纯化, 得到为白色固体(60mg)的标题化合物, 产率86%。

[0457] 1H -NMR(MeOD) δ : 9.10-9.07(m, 1H), 7.47-7.46(m, 4H), 4.97-4.85(与溶剂中残留水的信号重叠, m, 1H), 4.52-4.33(m, 4H), 3.81-3.76(m, 1H), 2.51(s, 3H), 1.49*(s, 9H), 1.33(s, 9H)。 ^{19}F -NMR δ : -198.50, -199.21*。

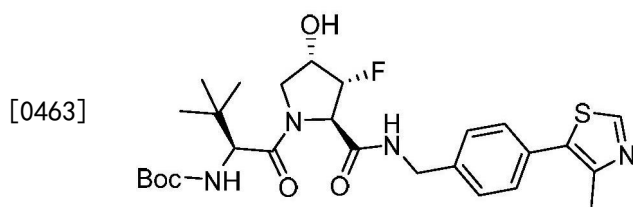
[0458] 起始物料4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)甲胺根据未公开的国际专利申请PCT/GB2016/050691中的方法、预备型化合物(2)来制备。

[0459] 预备型化合物12d: (2R,3S,4S)-3-氟-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0461] 预备型化合物12d根据用于预备型化合物12b所述的方法,从化合物5d开始来获得,HPLC分析(方法2)保留时间=3.007分钟, $m/z=436.2$, $[M+H]^+$ 。(产率82%,白色固体)。 1H -NMR(CD₃OD) δ :8.79(s,1H),7.48-7.44(m,4H),5.12-5.01(m,1H),4.63-4.39(m,3H),4.34-4.32(m,1H),3.76-3.62(m,2H),2.49(s,3H),1.50*(s,9H),1.34(s,9H)。 ^{19}F -NMR δ :-193.81,-194.03*。

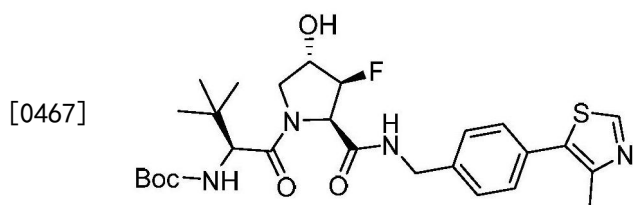
[0462] 预备型化合物13b:((S)-1-((2R,3R,4S)-3-氟-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸叔丁酯



[0464] 将含HCl(4M,1.0mL)的二氧六环添加到含预备型化合物12b(22.0mg,0.05056mmol)的9:1的DCM/MeOH(1.0mL)的溶液中,并在室温下将混合物搅拌4小时。在真空下移除挥发物,将残余物溶于水中,并冻干,得到为对应的盐酸盐形式的去保护的胺,其为产率定量的淡黄色粉末。此盐无需进一步纯化就使用,并悬浮于DMF(1mL),接着添加DIPEA(22 μ L,0.126mmol)。在室温搅拌下,向该生成的溶液添加含(S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-3,3-二甲基丁酸(11.7mg,0.0506mmol)、HATU(19.0mg,0.0506mmol)、HOAT(6.9mg,0.05056mmol)和DIPEA(22 μ L,0.126mmol)的DMF(0.5mL)混合物。在3个小时后,HPLC分析(方法1,保留时间=1.646分钟, $m/z=493.2$, $[M-tBu+H]^+$)显示起始物料完全转化并形成所需产物。添加DCM(10mL),用水(1mL)和NaHSO₄溶液(5%,1mL)洗涤混合物。用无水MgSO₄干燥有机层,在减压下移除溶剂。得到黄色蜡状粗制产物(25mg,产率90%),并直接用于下一步骤而无需进一步纯化。

[0465] 1H NMR(500MHz,MeOD) δ :8.94(s,1H),7.48-7.42(m,4H),5.05-4.92(m,1H),4.71-4.63(m,1H),4.59-4.47(m,2H),4.41-4.35(m,1H),4.30(s,1H),4.08-4.03(m,1H),3.79-3.72(m,1H),2.49(s,3H),1.46*(s,9H),1.02(s,9H)。 ^{19}F -NMR δ :-200.36。

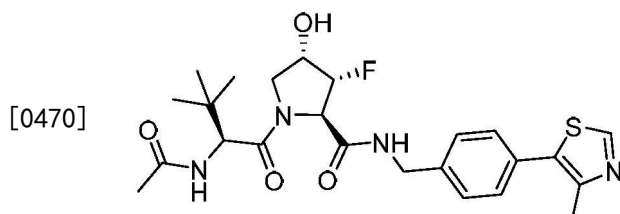
[0466] 预备型化合物13d:((S)-1-((2R,3S,4S)-3-氟-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸叔丁酯



[0468] 根据用于所述预备型化合物13b的方法,从预备型化合物12d开始,得到预备型化

合物13d。得到的粗制产物为黄色蜡状物,产率88%。HPLC分析(方法1):保留时间=1.639分钟, $m/z=493.2$, $[M-M-tBu+H]^+$ 。 ^1H-NMR (MeOD) δ :8.93(s,1H),8.63-8.61(m,1H),7.47-7.42(m,4H),5.14-5.02(m,1H),4.79(dd, $J_{H-F}=26.0Hz$, $J_{H-H}=5.3Hz$,1H),4.54-4.43(m,3H),4.30(s,1H),3.97-3.91(m,2H),2.49(s,3H),1.44(cis BOC rotmer,s,9H),1.06(s,9H)。 $^{19}F-NMR\delta$:-193.39。

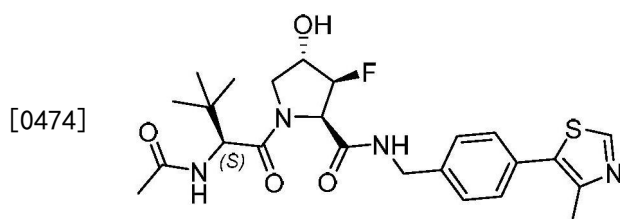
[0469] 预备型化合物14b:((S)-1-((2R,3R,4S)-3-氟-4-羟基-2((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸叔丁酯



[0471] 将含HCl的二氧六环(4M,1.0mL)添加到含预备型化合物13b(25.0mg,0.0455mmol)的9:1的DCM/MeOH(1.0mL)溶液中,在室温下将生成的混合物搅拌4小时。在真空下移除挥发物,将残余物溶于水,并冻干,得到为相应盐酸盐形式的去保护的胺,其为产率定量的淡黄色粉末。该盐直接使用而无需进一步纯化,并悬浮于DCM(1mL),添加TEA(12.7 μ L,0.091mmol),随后在0℃下添加乙酸酐(4.3 μ L,0.0455mmol),生成的混合物在0℃下搅拌2小时。HPLC分析显示起始物料完全转化并成形所需的产物(方法2,保留时间=2.819分钟, $m/z=491.2$, $[M+H]^+$)。移除挥发溶剂,通过制备型HPLC纯化粗制物,得到为白色固体的标题化合物(17.0mg,产率75%)。

[0472] 1H NMR(500MHz,MeOD) δ :8.89(s,1H),7.47-7.41(m,4H),5.03-4.91(m,1H),4.65(dd, $J_{H-F}=21.4Hz$, $J_{H-H}=2.8Hz$,1H),4.60(s,1H),4.58-4.35(m,3H),4.06-4.03(m,1H),3.79-3.75(m,1H),2.48(s,3H),2.01(s,3H),1.04(s,9H)。 $^{19}F-NMR\delta$:-199.02(顺式旋转异构体)-200.31。

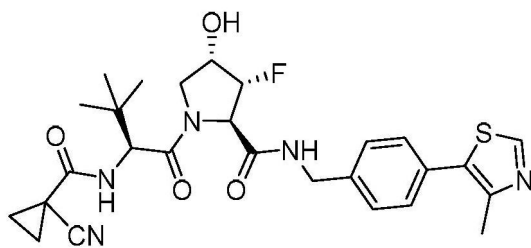
[0473] 预备型化合物14d:((S)-1-((2R,3S,4S)-3-氟-4-羟基-2((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸叔丁酯



[0475] 根据用于预备型化合物14b所述的方法,从预备型化合物13d开始,得到预备型化合物14d。得到的产物为白色固体,产率76%。HPLC分析(方法2)保留时间=2.901分钟, $m/z=491.2$, $[M+H]^+$ 。 1H NMR(500MHz,MeOD) δ :8.88(s,1H),7.47-7.41(m,4H),5.14-5.00(m,1H),4.77(dd, $J_{H-F}=26.15Hz$, $J_{H-H}=5.2Hz$,1H),4.63(s,1H),4.55-4.32(m,3H),4.00-3.91(m,2H),2.48(s,3H),2.01(s,3H),1.08(s,9H)。 $^{19}F-NMR\delta$:-193.12。

[0476] 预备型化合物14e:(2R,3S,4S)-1-((S)-2-(1-氰基环丙基-1-甲酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

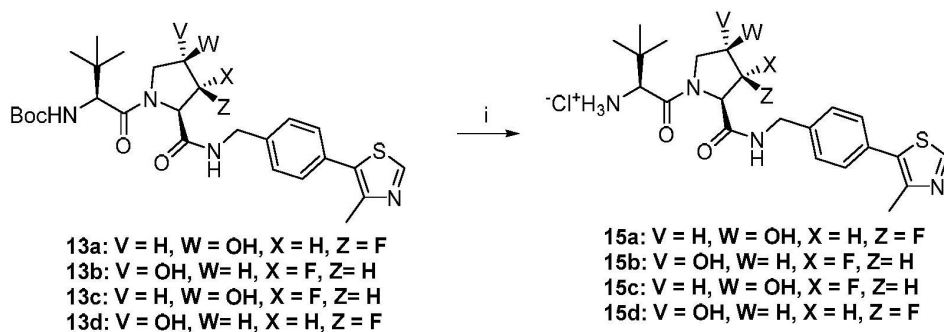
[0477]



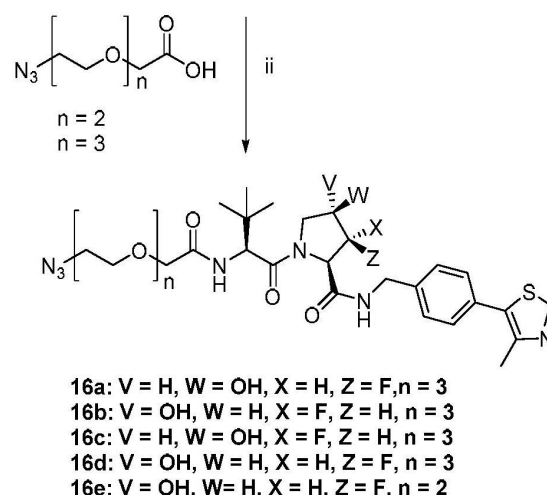
[0478] 在室温搅拌下,将DIPEA (8.8 μ L, 0.0515mmol) 添加到含预备型化合物13d (10.0mg, 0.0206mmol) 的DMF (0.3mL) 溶液中。在室温搅拌下,将含1-氰基环丙烷-1-甲酸 (2.3mg, 0.0206mmol)、HATU (8.0mg, 0.0206mmol)、HOAT (2.8mg, 0.0206mmol) 和DIPEA (8.8 μ L, 0.0515mmol) 的DMF (0.3mL) 的混合物逐滴添加至生成的溶液中。2小时后,HPLC分析显示起始物料完全转化并形成预期的产物(方法1,保留时间=1.532分钟, $m/z=542.2$, $[M+H]^+$)。添加DCM (10mL),将混合物用水洗涤 (1mL)。用无水MgSO₄干燥有机层,在减压下移除溶剂。粗制产物通过制备型HPLC纯化,生成为白色固体的标题化合物 (8mg, 产率72%)。¹H NMR (400MHz, MeOD) δ : 8.90 (s, 1H), 7.49-7.44 (m, 4H), 5.08-4.93 (m, 1H), 4.67 (dd, $J_{H-F}=20.9$, dd, $J_{H-F}=3.2$ Hz, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.61-4.35 (m, 3H), 4.04 (dd, $J=6.0, 10.2$ Hz, 1H), 3.75-3.69 (m, 1H), 2.50 (s, 3H), 1.70-1.55 (m, 4H), 1.07 (s, 9H)。¹⁹F-NMR δ : -198.8*, -200.71。

[0479] 方案4-用于将A耦合至Az-L以提供结构为Az-L-A的叠氮化物的一般方法

[0480] 方案4描述了用于提供结构为Az-L-A的叠氮中间化合物的合成方法,该叠氮中间化合物适用于制备包括结构为A-L-B的PROTACs的F-HYP。如在方案4中概述,首先将起始保护的胺,例如预备型化合物 (13a-d),在步骤(i)中通过使用含HCl的二氧六环,进行去保护以生成胺中间物,例如预备型化合物 (15a-d),随后在HATU和HOAT存在且pH被调节为>9的情况下,通过添加DIPEA,用所需的连接基团,例如Az-PEG-连接基团 (A6) 或 (A7) 进行处理。在25℃下搅拌4小时后,用水提取反应混合物。用MgSO₄干燥有机相,并蒸干。使用梯度为0%-6%的含甲醇的二氯甲烷,通过快速柱层析,纯化粗制产物,得到所需结构为Az-L-A的中间叠氮化物。



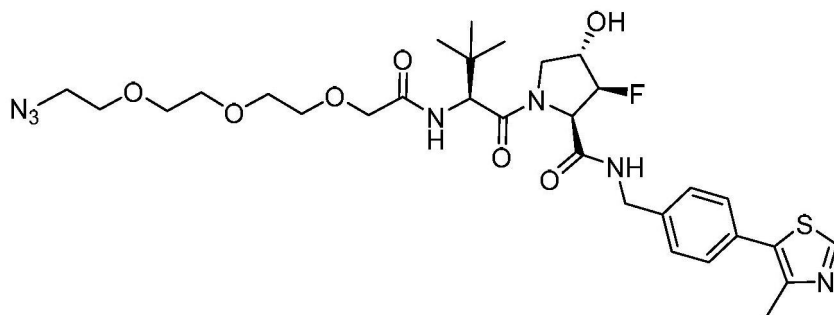
[0481]



[0482] 用于方案4中示范性制备的条件如下: (i) 含2M HCl的1:1二氧六环/DCM, 室温; (ii) 含连接基团-COOH、DIPEA、HATU、HOAT的DMF, 室温。

[0483] 根据方案4用于制备中间物叠氮化物Az-L-A的预备型化合物

[0484] 预备型化合物16d: (2R,3S,4S)-1-((S)-14-叠氮基-2-(叔丁基)-4-氧代-6,9,12-三噁-3-二氮杂十四烷酰)-3-氟-4-羟基-N-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

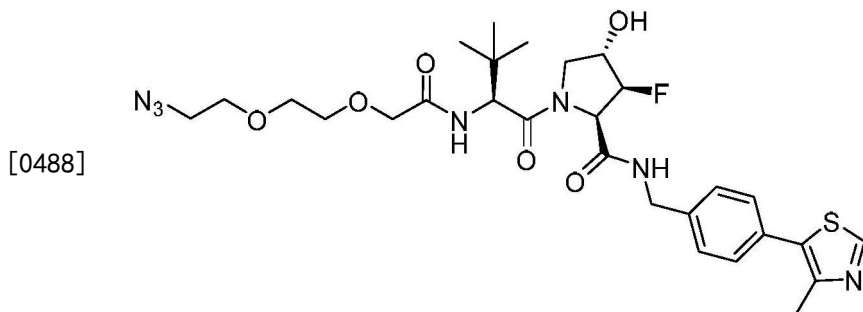


[0485]

[0486] 将含HCl的二氧六环(4M, 0.5mL)添加到含预备型化合物13d(15mg, 0.034mmol)的DCM(0.5mL)溶液中。添加甲醇(0.2mL), 使形成的沉淀物几分钟后溶解。2小时后, HPLC分析显示起始物料完全转化, 并形成所需的游离胺15d(方法2, 保留时间=2.403分钟, $m/z=449.2$, $[M+H]^+$)。在减压下移除挥发物组分, 将粗制产物悬浮于DMF(1mL)中。添加DIPEA(10μL, 0.05mmol), 随后添加2-(2-(2-(2-叠氮乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙酸(A6)(8.0mg, 0.034mmol)、HATU(13.0mg, 0.034mmol)、HOAT(4.6mg, 0.034mmol)和DIPEA(10μL, 0.051mmol)的混合物。生成的混合物在室温下搅拌1小时。HPLC分析显示起始物料完全转化并形成所需的产物(方法2, 保留时间=3.241分钟, $m/z=664.3$, $[M+H]^+$)。粗制混合物用

EtOAc (10mL) 稀释, 卤水 (2mL) 洗涤, 并在减压下移除溶剂。通过制备型HPLC纯化粗制产物, 得到透明油状的所需化合物 (11.2mg, 产率50%)。

[0487] 预备型化合物16e: (2R,3S,4S) -1-((S)-2-(2-(2-(2-叠氮乙氧基)乙氧基)乙酰胺)-3,3-二甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺



[0489] 根据用于预备型化合物16d的所述方法, 从预备型化合物15e开始, 得到预备型化合物16e。得到的产物为55%产率的透明油。HPLC分析 (方法2) 保留时间=3.226分钟, $m/z=620.3$, $[M+H]^+$ 。

[0490] 方案5-从去保护的中间物制备A~L-B的PROTACs的一般方法

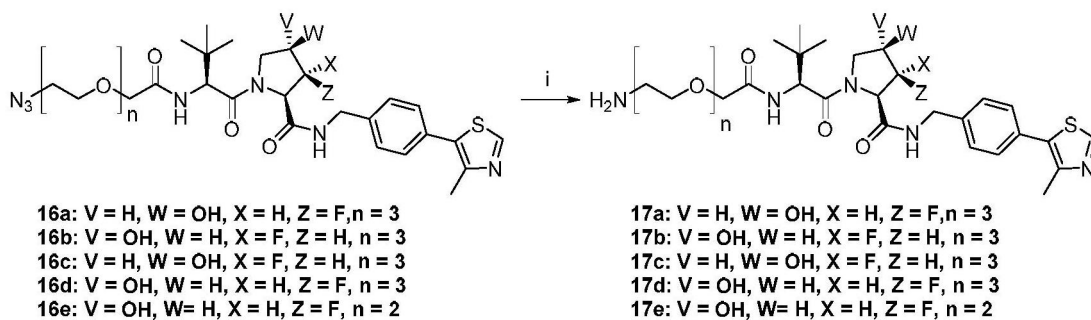
[0491] 方案5描述了用于从结构为Az-L-A的预备型中间叠氮化合物制备结构为A-L-B的PROTACs的过程。将结构为Az-L-A的起始叠氮化物, 比如预备型中间化合物 (16a) (40 μ mol), 溶解于甲醇 (5ml) 中。添加催化量的钯炭 (10wt%, 干), 然后在氢气气氛下, 将反应混合物在25℃下搅拌约1小时。然后通过注射器过滤器将反应混合物过滤, 将生成的溶液蒸干, 得到对应于起始叠氮化物的所需的中间胺, 然后将其连接至理想的B基团而无需进一步纯化。然后, 将在此一般实施例中结构为NH₂-L-A的中间胺、中间化合物 (17a) 的胺等价物和所需的B基团溶解于DMF (0.5ml) 中, 在此一般实施例中合适的B基团包括: JQ1的游离酸 (11.4mg, 25 μ mol, 1eq.), 或I-BET726 (10.9mg, 25 μ mol, 1eq.), 或I-BET762的游离酸 (9.92mg, 25 μ mol, 1eq.)。然后添加HATU (14.3mg, 37.5 μ mol, 1.5eq.), 通过添加DIPEA (17.5 μ l, 100 μ mol, 4eq.), 将生成的混合物的pH调节为>9。反应混合物在25℃下搅拌3小时后, 真空下移除溶剂。粗制产物的纯化通过基本信息所述的制备型HPLC实现, 以便得到所需的PROTAC。

[0492] 为了避免疑义, 通过任何合适的方法, 且特别是通过钯还原的方法从相应的去保护叠氮化物来制备此中间胺, 得到的胺直接使用, 无需进一步纯化。

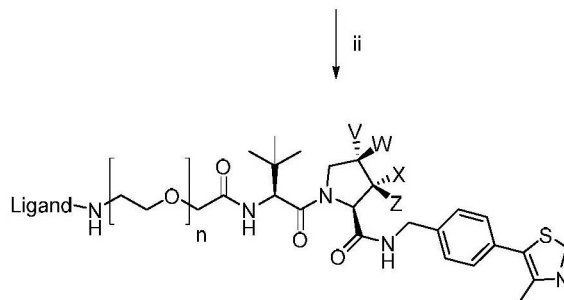
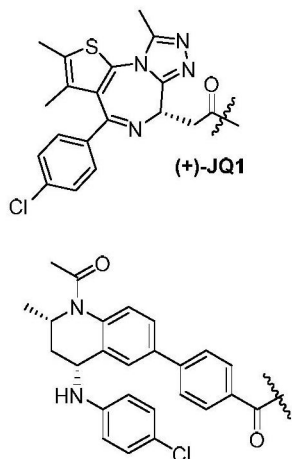
[0493] 根据概述的一般方法, 从中间化合物 (13) 开始, 通过利用合适的起始Az-L-A化合物和方案2中概述的理想B基团, 来制备结构为A-L-B的任意PROTAC化合物。

[0494] 根据上述一般方法, 从合适的起始预备型叠氮化合物和B基团开始, 来制备本文下面详述的实施例18d和18e的PROTAC化合物。

[0495] 方案5



[0496]

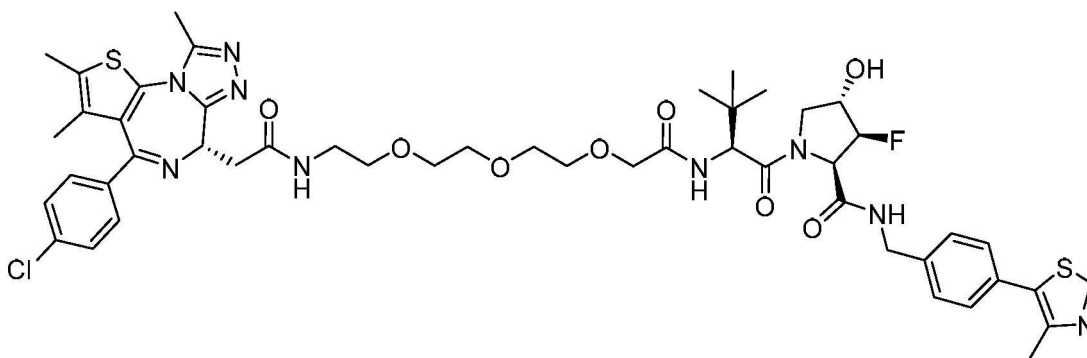
[0497] 用于方案5中的该示范性制备的条件如下: (i) H_2 、Pd/C、MeOH, 室温;

[0498] (ii) 含配体-COOH、DIPEA、HATU、HOAT的DMF, 室温。

[0499] 根据方案5的过程制备的示范性PROTACs

[0500] 实施例化合物18d: (2R,3S,4S)-1-((S)-2-(叔丁基)-17-((S)-4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6氢-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基)-4,16-二氧-6,9,12-三氧杂-3,15-二氮杂十七烷酰基)-3-氟-4-羟基-N-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺

[0501]

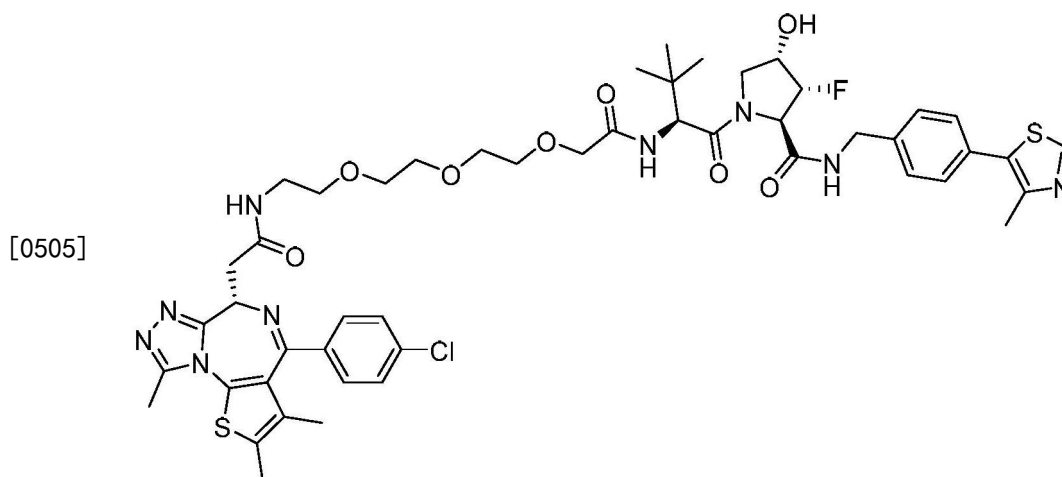


[0502] 将催化量的Pd/C (10%干燥) 添加到含预备型化合物16d (7.0mg, 0.0105mmol) 的甲醇 (2.0mL) 溶液中。混合物在氢气气氛下搅拌1小时。HPLC分析显示起始物料完全转化, 并形成所需的中间胺17d (方法2, 保留时间=2.674分钟, $m/z=638.3$, $[M+H]^+$)。混合物通过注射器过滤器过滤, 移除溶剂。然后, 粗制的胺中间物溶于DMF (0.5mL) 中, 并将其添加到含JQ1-COOH (4.2mg, 0.0105mmol)、HATU (4.0mg, 0.0105mmol)、HOAT (1.5mg, 0.0105mmol) 和DIPEA (5.4μL, 0.0315mmol) 的DMF (0.05mL) 溶液中。生成的混合物在室温下搅拌3小时。HPLC分析 (方法2, 保留时间=3.532分钟, $m/z=1020.3$, $[M+H]^+$) 显示起始物料完全转化, 并形成所需

的PROTAC产物。通过制备型HPLC的纯化得到7.5mg的粗制产物,产率70%,为白色固体。

[0503] ^1H NMR (400MHz, MeOD) δ : 8.93 (s, 1H), 7.48-7.39 (m, 8H), 5.15-4.99 (m, 1H), 4.83-4.72 (m, 2H), 4.67-4.63 (m, 1H), 4.51-4.41 (m, 3H), 4.12-4.03 (m, 2H), 3.96-3.93 (m, 2H), 3.74-3.59 (m, 11H), 3.49-3.43 (m, 3H), 2.71 (s, 3H), 2.48 (s, 6H), 2.46 (s, 6H), 1.71 (s, 3H), 1.08 (s, 9H)。 ^{19}F -NMR δ : -195.32

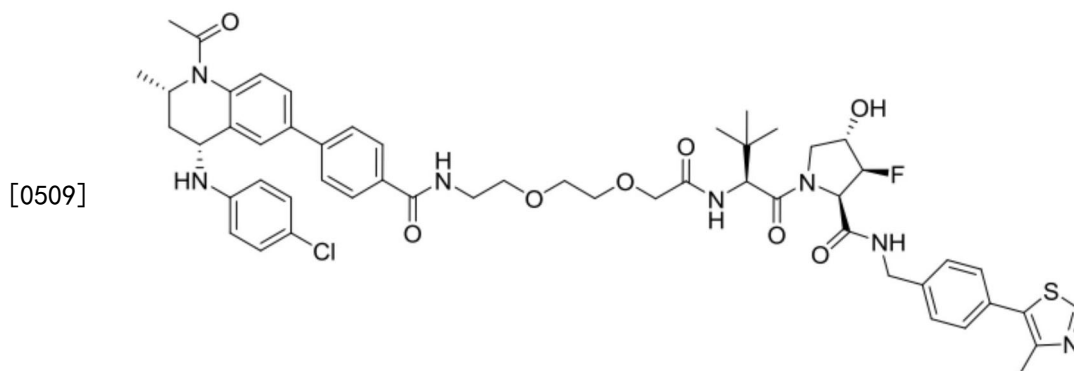
[0504] 实施例化合物18b: (2R, 3R, 4S) -1-((S) -2-(叔丁基) -17-((S) -4-(4-氯苯基) -2, 3, 9-三甲基-6氢-噻吩并[3, 2-f][1, 2, 4]三唑并[4, 3-a][1, 4]二氮杂卓-6-基) -4, 16-二氧-6, 9, 12-三氧杂-3, 15-二氮杂十七烷酰基) -3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基) 苄基) 吡咯烷-2-甲酰胺



[0506] 如对于预备型化合物18d所述制备出产率为72%的白色固体。HPLC分析(方法2, 保留时间=3.554分钟, $m/z=1020.3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$)

[0507] ^1H NMR (400MHz, MeOD) δ : 8.88 (s, 31367398H), 7.48-7.39 (m, 9H), 5.06-4.90 (m, 1H), 4.71-4.68 (m, 1H), 4.66-4.48 (m, 4H), 4.36 (d, $J=16.1\text{Hz}$, 1H), 4.10-4.05 (m, 3H), 3.77-3.66 (m, 10H), 3.61 (t, $J=5.8\text{Hz}$, 2H), 3.49-3.43 (m, 3H), 2.70 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 1.71 (s, 3H), 1.06 (s, 9H)。 ^{19}F -NMR δ : -200.23。

[0508] 实施例化合物18e: (2R, 3S, 4S) -1-((S) -1-(4-((2S, 4R) -1-乙酰基-4-(4-氯苯基) -2-甲基-1, 2, 3, 4-四氢喹啉-6-基) 苯基) -12-(叔丁基) -1, 10-二氧-5, 8-二氧杂-2, 11-二氮杂十三烷-13-酰) -3-氟-4-羟基-N-((4-(4-甲基噻唑-5-基) 苄基) 吡咯烷-2-甲酰胺



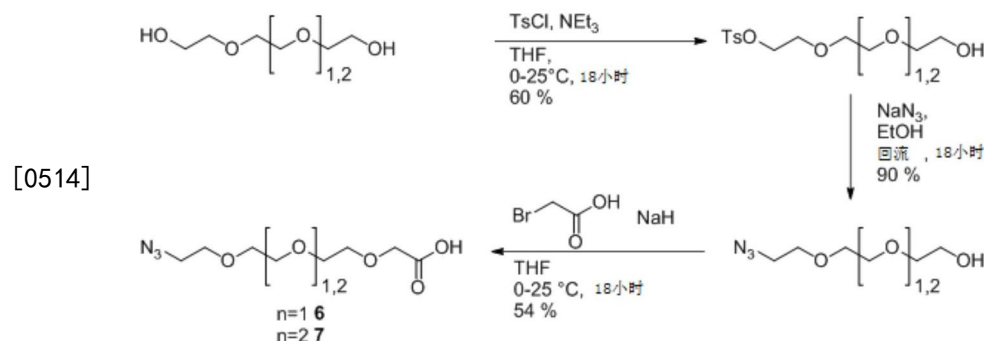
[0510] 根据用于预备型化合物18d所述的方法,从预备型化合物16e开始,来获得实施例化合物18e。得到的产物为产率为75%的白色固体。HPLC分析(方法2) 保留时间=3.662分

钟, $m/z=883.4$, $[M-\text{对氯苯胺}]^+$ 。

[0511] ^1H NMR (400MHz, MeOD) δ : 8.87 (s, 1H), 8.60 (t, $J=5.7\text{Hz}$, 1H), 7.90-7.75 (m, 3H), 7.64-7.56 (m, 4H), 7.44-7.36 (m, 5H), 7.12-7.09 (m, 2H), 6.73-6.68 (m, 2H), 5.15-5.00 (m, 1H), 4.84-4.75 (m, 2H), 4.46-4.41 (m, 3H), 4.26 (dd, $J=4.8, 12.6\text{Hz}$, 1H), 4.10-3.94 (m, 4H), 3.76-3.60 (m, 8H), 2.74-2.66 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.37-1.29 (m, 1H), 1.19 (d, $J=6.5\text{Hz}$, 3H), 1.05 (s, 9H)。 ^{19}F -NMR δ : -192.18

[0512] 方案6-叠氮化物连接基团(Az-L)的合成

[0513] 方案6



[0515] 可根据用于制备叠氮化物连接基团化合物(A6)和(A7)的方案6中概述的一般方法,通过选择合适的起始物料,来制备如本文限定的适用于制备结构为Az-L-A的中间化合物的任意叠氮连接基团。

[0516] 从三乙二醇开始合成化合物(A6)

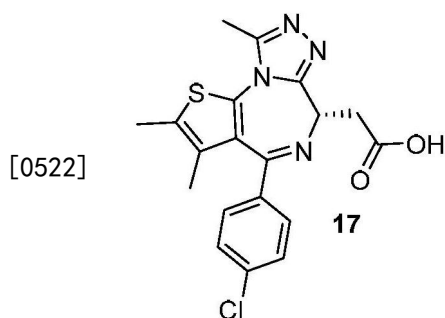
[0517] 将三乙二醇(120mmol, 3eq.)溶于无水THF(80mL)中,并添加三乙胺(80mmol, 2eq.)。在0°C下,以45分钟的时间逐滴添加含对甲苯磺酰氯(40mmol, 1eq.)的无水THF(10mL)的。使得反应混合物加热至室温,并搅拌过夜。然后,在真空下移除溶剂,使用梯度为30%-90%的含乙酸乙酯的庚烷,通过快速柱层析纯化粗制混合物。

[0518] 将甲苯磺酸盐(20mmol, 1eq.)溶于乙醇中,添加叠氮化钠(40mmol, 2eq.)。将反应混合物加热回流18小时。在冷却至室温后,在真空下移除溶剂,将残留物溶于水中。水相用二氯甲烷提取3次。然后,用硫酸镁干燥有机相,接着在真空下移除溶剂。

[0519] 在0°C下,将氢化钠(20mmol, 2eq.)添加到溶于无水THF(25mL)的叠氮化物溶液中,将反应混合物搅拌45分钟。然后,添加含溴乙酸(10mmol, 1eq.)的无水THF(25mL),使得反应混合物加热至室温,并搅拌18小时。在真空下移除溶剂,用1M盐酸将残留物酸化至pH为2,用二氯甲烷提取水相3次。结合的有机相用硫酸镁干燥,然后使用含10%甲醇的二氯甲烷,通过快速柱层析纯化结合的有机层,得到标题化合物(A6)。

[0520] 根据对化合物(A6)提供的方法并从四乙二醇开始合成化合物(A7)。

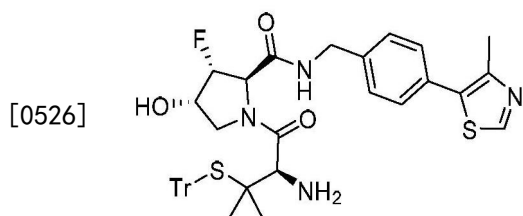
[0521] (S)-2-(4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6氢-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3,-a][1,4]二氮杂卓-6-基)乙酸(19)



[0523] 将 (+)-JQ-1 (50mg, 109 μ mol) 溶于甲酸 (3mL) 中, 并在 25 $^{\circ}$ C 下搅拌 18 小时。在添加水后, 反应混合物用二氯甲烷提取 3 次。用硫酸镁干燥结合的有机相, 并将其蒸干, 得到标题化合物, 其直接用于下一个反应步骤。HPLC 分析 (方法 2): 保留时间 = 3.314 分钟, $m/z = 401.0$, $[M+H]^+$ 。产量 42.1mg (96%)。

[0524] 根据一般方案 C 的通式 I、IA 或 IB 的化合物的制备

[0525] (2R, 3R, 4S) -1-((R)-2-氨基-3-甲基-3-(三苯甲基硫代)丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (20)

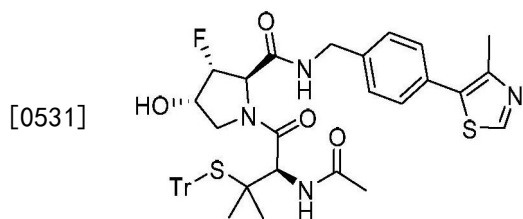


[0527] 将含 4N HCl 的二氧六环 (1mL) 添加到含 12b (100mg, 0.230mmol) 的 9:1 的 DCM/MeOH (1mL) 溶液中, 将混合物在室温下搅拌 4 小时。在真空下移除挥发物, 将残留物溶于水中, 并冻干, 得到为淡黄色粉末的 (2R, 3R, 4S) -3-氟-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰)吡咯烷-1-鎧氯 (85mg, 99%), 其使用无需进一步纯化。

[0528] 将 HATU (87.5mg, 0.230mmol) 和 HOAT (31mg, 0.230mmol) 添加到含 Fmoc-S-三苯甲基-L-青霉胺 (141.8mg, 0.230mmol) 的 DMF (1mL) 溶液中, 随后添加 DIPEA (99 μ L, 0.575mmol)。然后, 将明黄色溶液添加到含 (2R, 3R, 4S) -3-氟-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰)吡咯烷-1-鎧氯 (85mg, 0.230mmol) 和 DIPEA (99 μ L, 0.575mmol) 的 DMF (1.5mL) 混合物中。在 2 小时后, 通过 HPLC-MS (碱法) 观察到起始物料完全转化, 添加水 (10mL), 用 AcOEt (3 $\times$ 25mL) 提取混合物。有机相用卤水 (10mL) 洗涤, 并用无水 $MgSO_4$ 干燥。在真空下移除溶剂, 得到化合物 11, 将其溶于 DCM (2mL) 中。添加哌啶 (400 μ L $\sim$ 4mmol), 并将反应混合物搅拌 1 小时。在真空下移除挥发物, 通过 FCC (在 DCM 中具有 5 至 15% 的含 0.7M NH_3 的 MeOH) 纯化粗制物, 得到为白色固体 (122mg, 75% 产率) 的标题化合物 12。MS 分析: $C_{40}H_{41}FN_4O_3S_2$ 预期为 708.3, 发现为 709.3 $[M+H]^+$ 。

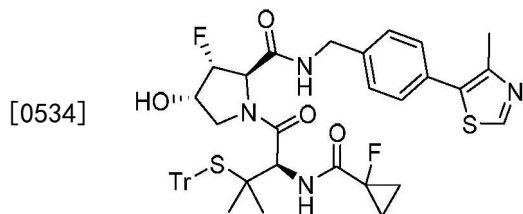
[0529] 1H NMR (500MHz, $CDCl_3$) δ : 8.63 (s, 1H), 7.85 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.27-7.11 (m, 19H), 5.50 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 5.04-4.90 (m, 1H), 4.57 (dd, $J = 7.0, 15.1$ Hz, 1H), 4.53-4.44 (m, 2H), 4.35-4.27 (m, 1H), 3.30 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 2.99-2.93 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 1.11 (s, 3H), 1.08 (s, 3H)。 ^{19}F NMR δ : -204.48。

[0530] (2R, 3R, 4S) -1-((R)-2-乙酰胺基-3-甲基-3-(三苯甲基硫代)丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (21)



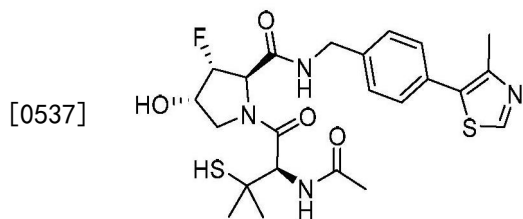
[0532] 在0℃下,将TEA (7μL, 0.050mmol) 和乙酸酐 (5μL, 0.050mmol) 添加到含 (2R, 3R, 4S) -1-((R)-2-氨基-3-甲基-3-(三苯甲基硫代)丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (30mg, 0.042mmol) 的DCM (0.5mL) 溶液中。让混合物在室温下反应2小时。混合物用DCM (1mL) 稀释,并用水 (1mL) 和卤水 (1mL) 洗涤,用MgSO₄干燥,在减压下移除溶剂,得到标题化合物 (31mg, 98% 产率),其使用无需进一步纯化。MS分析: C₄₂H₄₃FN₄O₄S₂, 预期为750.3, 发现为751.3 [M+H⁺]

[0533] (2R, 3R, 4S) -3-氟-1-((R)-2-(1-氟环丙烷-1-甲酰胺基)-3-甲基-3-(三苯甲基硫代)丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (22)



[0535] 将DIPEA (25μL, 0.14mmol) 添加到含 (2R, 3R, 4S) -1-((R)-2-氨基-3-甲基-3-(三苯甲基硫代)丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (30mg, 0.042mmol)、HATU (16mg, 0.042mmol) HOAT (5.71mg, 0.042mmol)、1-氟环丙烷-1-甲酸 (4.3mg, 0.042mmol) 的DMF (1mL) 溶液中。反应混合物在室温下搅拌2小时,然后添加水 (1mL),生成的混合物用DCM (3×5mL) 提取。用MgSO₄干燥有机相后,在减压下移除溶剂,得到标题化合物 (28.3mg, 产率85%),其使用无需进一步纯化。

[0536] (2R, 3R, 4S) -1-((R)-2-乙酰胺基-3-巯基-3-甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (23)

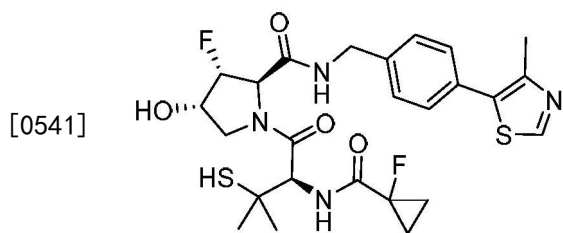


[0538] 将化合物22 (30mg, 0.04mmol) 溶于1.8mL的DCM中。添加TIPS (0.1mL) 和TFA (0.1mL),让黄色混合物在室温下反应2小时。HPLC分析(酸法)显示起始物料完全转化。移除挥发物,将粗制物溶于MeOH中,过滤,通过制备型HPLC纯化,冻干,生成白色固体 (16mg, 产率79%) 的纯的去保护的化合物。MS分析: C₂₃H₂₉FN₄O₄S₂ 预期为508.2, 发现为509.2 [M+H⁺]

[0539] ¹H NMR (500MHz, MeOD) δ: 8.88 (s, 1H), 8.84 (t, J=6.0Hz, 0H), 8.14 (d, J=8.9Hz, 1H), 7.47-7.42 (m, 4H), 5.05-4.92 (m, 1H), 4.91 (d, J=8.8Hz, 1H), 4.65 (dd, J=2.5, 21.5Hz, 1H), 4.57-4.37 (m, 3H), 4.29 (dd, J=6.4, 10.3Hz, 1H), 3.75-3.70 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.40 (s, 3H)。¹⁹F NMR δ: -199.94 ¹³C NMR: 173.3, 171.5,

170.5, 153.0, 149.2, 140.0, 133.4, 131.8, 130.5, 129.1, 95.3, 93.8, 71.1, 70.9, 66.2, 66.0, 59.4, 52.2, 46.8, 43.9, 29.8, 28.8。

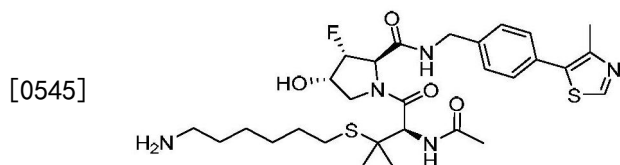
[0540] (2R, 3R, 4S) - 3-氟-1-((R)-2-(1-氟环丙烷-1-甲酰胺基)-3-巯基-3-甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (24)



[0542] 如用于化合物23所述的来制备,得到14mg,产率74%。

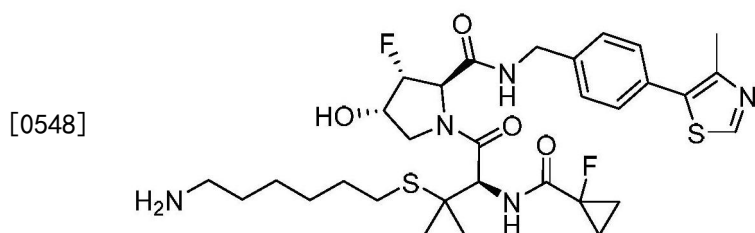
[0543] ^1H NMR (500MHz, MeOD) δ : 8.88 (s, 1H), 7.48-7.43 (m, 4H), 5.06-4.92 (m, 2H), 4.68 (dd, $J=2.9, 21.2\text{Hz}$, 1H), 4.59-4.37 (m, 3H), 4.27 (dd, $J=6.4, 10.0\text{Hz}$, 1H), 3.77-3.72 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.42-1.32 (m, 7H)。 ^{19}F NMR δ : -200.07, -198.33。 ^{13}C NMR: 171.8, 171.7, 171.0, 170.4, 170.4, 152.9, 149.2, 140.0, 133.4, 131.8, 130.5, 129.6, 129.0, 95.3, 93.8, 80.1, 78.3, 71.1, 70.9, 66.1, 66.0, 58.4, 52.3, 47.4, 44.0, 30.1, 29.0, 15.9, 14.3, 14.2。

[0544] (2R, 3R, 4S) - 1-((R)-2-乙酰胺基-3-((6-氨基己基)硫代)-3-甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (25)



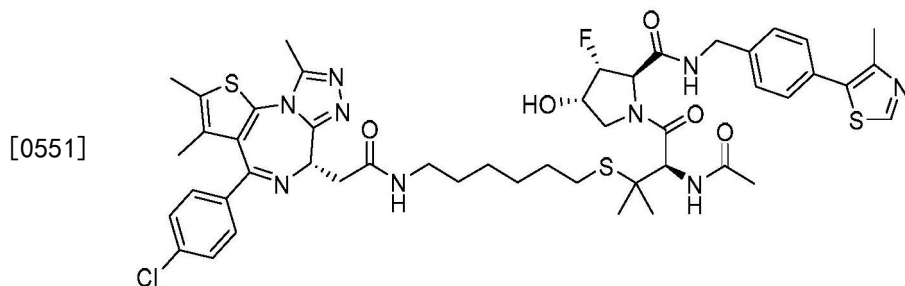
[0546] 在氮气及0℃下,用DBU (3.3 μL , 0.022mmol) 处理含化合物23 (10mg, 0.020mmol) 的DMF (0.5mL) 溶液,随后通过N-(4-溴己基)苯邻二甲酰亚胺 (6.6mg, 0.022mmol) 处理。让反应混合物在室温下反应直到通过HPLC (酸法, 1-3小时) 观察到起始物料完全转化。反应冷却至0℃,并用很少滴 KHSO_4 (5%) 处理至 $\text{pH}=3\sim 4$ 。在真空下移除溶剂,将粗制物溶于MeOH,过滤,并通过制备型HPLC纯化,得到11.5mg (产率80%) 的烷基化产物。MS分析: $\text{C}_{37}\text{H}_{44}\text{FN}_5\text{O}_6\text{S}_2$, 预期为737.3, 发现为738.3 $[\text{M}+\text{H}^+]$ 。然后,将烷基化的产物溶解在乙醇 (0.5mL) 中,在60℃下一水合肼 (24 μL , 0.32mmol) 处理两小时。反应混合物冷却至室温,过滤并通过制备型HPLC纯化,得到预期的胺,MS分析: $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{FN}_5\text{O}_4\text{S}_2$, 预期为607.3, 发现为608.3 $[\text{M}+\text{H}^+]$, 其用作粗制物。

[0547] (2R, 3R, 4S) - 1-((R)-3-((6-氨基己基)硫代)-2-(1-氟环丙烷-1-甲酰胺基)-3-甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (26)



[0549] 根据用于化合物25所述的过程来制备,用作粗制物。

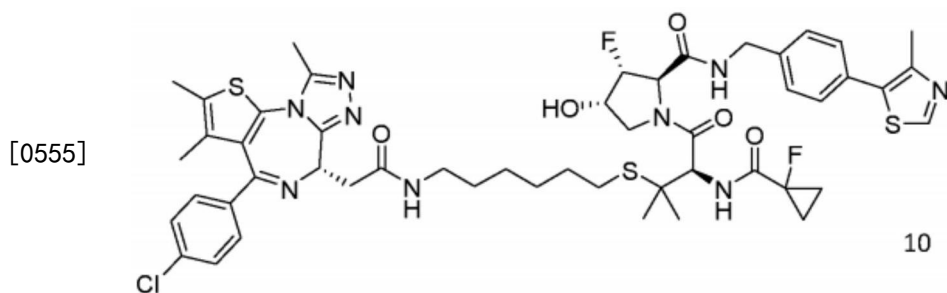
[0550] (2R,3R,4S)-1-((R)-2-乙酰胺基-3-((6-(2-((S)-4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6氢-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基)乙酰胺基)己基)硫代)-3-甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(27)



[0552] 将粗制物(2R,3R,4S)-1-((R)-2-乙酰胺基-3-((6-氨基己基)硫代)-3-甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(假设0.0108mmol)溶于DMF(0.25mL)中,并将其添加到含(S)-2-(4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6氢-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基)乙酸(+)-JQ1-COOH(4.32mg,0.0108mmol)、HATU(4.1mg,0.0108mmol)、HOAT(1.5mg,0.0108mmol)和DIPEA(5.5μL,0.0324mmol)的DMF(0.5mL)溶液中。在室温下搅拌1小时后,反应用水(0.1mL)淬灭,在室温、高真空下移除水/DMF的混合物(过夜)。粗制混合物溶于MeOH,过滤,通过制备型HPLC纯化,得到标题化合物。得到5mg,产率45%。MS分析: $C_{48}H_{57}ClFN_9O_5S_3$,预期为989.3,发现为990.3[M+H⁺]。

[0553] ¹H NMR(500MHz,MeOD) δ8.91(s,1H),8.62(t,J=5.9Hz,1H),8.19(d,J=8.8Hz,1H),7.47-7.41(m,9H),5.07-4.94(m,1H),4.92-4.90(m,1H),4.70-4.63(m,2H),4.55-4.39(m,3H),4.13(dd,J=6.8,9.9Hz,1H),3.79-3.75(m,1H),3.45-3.39(m,1H),3.31-3.18(m,4H),2.71(s,3H),2.56(t,J=7.4Hz,2H),2.48(s,3H),2.45(s,3H),2.02(s,3H),1.70(s,3H),1.56-1.35(m,14H)。¹⁹F NMR=-200.10.¹³C NMR:171.7,171.1,164.9,155.6,151.6,150.8,147.5,138.5,136.7,136.6,132.1,132.0,132.0,130.7,130.2,129.9,129.0,128.4,127.6,93.8,69.6,69.5,55.5,53.8,50.6,38.9,37.3,29.1,28.9,28.4,27.8,26.2,24.5,24.2,20.8,14.3,13.0,11.5,10.1。

[0554] (2R,3R,4S)-1-((R)-3-((6-(2-((S)-4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6氢-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基)乙酰胺基)己基)硫代)-2-(1-氟环丙烷-1-甲酰胺基)-3-甲基丁酰基)-3-氟-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(28)

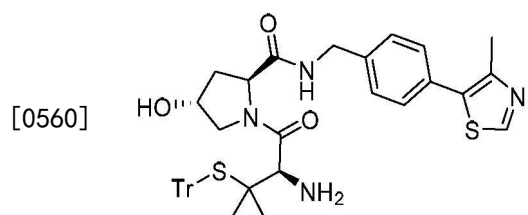


[0556] 根据用于化合物28所述的过程来制备,28.4mg,产率38%。MS分析: $C_{50}H_{58}ClFN_9O_5S_3$,预期为1033.3,发现为1034.3[M+H⁺]。

[0557] ^1H NMR (500MHz, MeOD) δ : 8.88 (s, 1H), 8.31 (t, $J=5.7\text{Hz}$, 1H), 7.76-7.73 (m, 1H), 7.47-7.40 (m, 9H), 5.07-4.95 (m, 1H), 4.92-4.90 (m, 1H), 4.69 (dd, $J=2.8, 21.5\text{Hz}$, 1H), 4.65-4.61 (m, 1H), 4.59-4.37 (m, 3H), 4.14 (dd, $J=6.4, 10.1\text{Hz}$, 1H), 3.78-3.73 (m, 1H), 3.44-3.39 (m, 1H), 3.30-3.18 (m, 3H), 2.70 (s, 3H), 2.61-2.53 (m, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 1.55-1.31 (m, 18H). ^{19}F NMR: -200.22, -198.08.

[0558] 具有不包括氟取代基的吡咯烷环的对比化合物

[0559] (2S, 4R) -1-((R)-2-氨基-3-甲基-3-(三苯甲基硫代)丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (29)

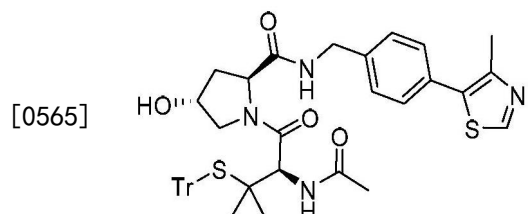


[0561] 根据用于化合物20所述的过程制备。

[0562] ^1H -NMR (400MHz, CD_3OD , 25°C) δ : 8.90 (s, 1H), 7.63-7.60 (m, 6H), 7.40-7.33 (m, 4H), 7.31-7.29 (m, 6H), 7.24-7.19 (m, 3H), 4.46 (t, $J=8.2\text{Hz}$, 1H), 4.37 (br s, 1H), 4.31 (m, 2H), 3.35 (s, 1H), 3.24 (dd, $J=11.1\text{Hz}$, $J=4.1\text{Hz}$, 1H), 3.07-3.04 (m, 1H), 2.70 (s, 1H), 2.47 (s, 3H), 2.16-2.11 (m, 1H), 1.99-1.92 (m, 1H), 1.26 (s, 3H), 1.19 (s, 3H)。

[0563] ^{13}C -NMR (101MHz, CD_3OD , 25°C) δ : 172.9, 171.4, 151.5, 147.7, 144.9, 138.7, 132.0, 129.7, 129.0, 127.5, 127.4, 126.5, 69.3, 67.7, 59.4, 57.6, 57.3, 56.7, 42.1, 37.4, 24.6, 24.1, 14.4。

[0564] (2S, 4R) -1-((R)-2-乙酰胺基-3-甲基-3-(三苯甲基硫代)丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (30)



[0566] 根据用于化合物21所述的过程制备。

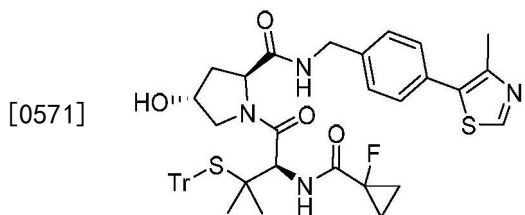
[0567] MS分析: $\text{C}_{42}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2$ 预期为 732.3, 发现为 733.3 $[\text{M}+\text{H}^+]$ 。

[0568] ^1H -NMR (400MHz, CDCl_3 , 25°C) δ : 8.71 (s, 1H), 7.52-7.49 (m, 6H), 7.39-7.31 (m, 3H), 7.25-7.20 (m, 11H), 6.25 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 4.64 (t, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 4.37 (br s, 1H), 4.31-4.18 (m, 2H), 3.61 (d, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), 3.52-3.49 (m, 1H), 3.30-3.29 (m, 1H), 3.22 (dd, $J=11.5\text{Hz}$, $J=3.6\text{Hz}$, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.36-2.30 (m, 1H), 2.16-2.11 (m, 1H), 1.95 (s, 3H), 1.76 (br s, 1H), 1.18 (s, 3H), 0.97 (s, 3H)。

[0569] ^{13}C -NMR (101MHz, CDCl_3 , 25°C) δ : 170.7, 170.5, 170.3, 150.3, 148.5, 144.2, 138.2, 131.7, 130.8, 129.7, 129.6, 129.4, 127.9, 127.0, 77.2, 70.1, 68.5, 58.5, 57.1, 56.6, 53.6, 42.8, 36.4, 26.1, 25.4, 22.9, 16.2。

[0570] (2S, 4R) -1-((R)-2-(1-氟环丙烷-1-甲酰胺基)-3-甲基-3-(三苯甲基硫代)丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (31)

基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(31)

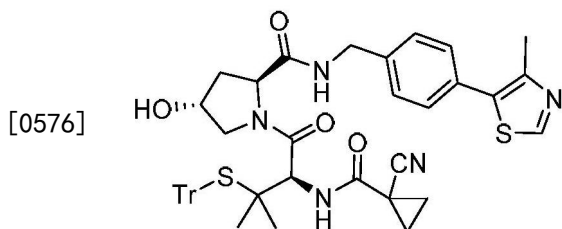


[0572] 根据用于化合物22所述的过程制备。

[0573] MS分析: $C_{44}H_{45}FN_4O_4S_2$ 预期为776.3,发现为777.3 $[M+H]^+$ 。

[0574] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 8.71 (s, 1H), 7.54-7.51 (m, 6H), 7.34-7.31 (m, 3H), 7.25-7.19 (m, 12H), 4.69-4.64 (m, 1H), 4.38-4.36 (m, 1H), 4.32-4.19 (m, 2H), 3.66 (d, $J=4.2$ Hz, 1H), 3.50 (d, $J=11.6$ Hz, 1H), 3.26 (dd, $J=3.9, 11.6$ Hz, 1H), 3.09 (d, $J=5.9$ Hz, 1H), 2.41-2.33 (m, 1H), 2.14-2.07 (m, 1H), 1.38-1.21 (m, 7H), 0.97 (s, 3H). ^{19}F NMR: -197.41。

[0575] (2S, 4R)-1-((R)-2-(1-氰基环丙烷-1-甲酰胺基)-3-甲基-3-(三苯甲基硫代)丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(32)

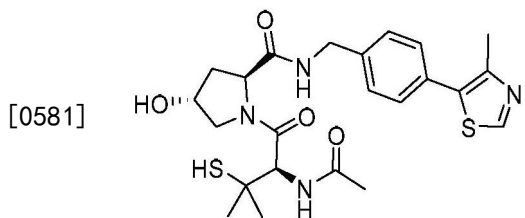


[0577] 根据用于化合物22所述的来制备,产率72%。

[0578] MS分析: $C_{45}H_{45}N_5O_4S_2$, 784.0, 发现为785.0。

[0579] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 8.71 (s, 1H), 7.57-7.53 (m, 6H), 7.34-7.32 (m, 2H), 7.25-7.16 (m, 13H), 4.64 (t, $J=8.1$ Hz, 1H), 4.38 (t, $J=3.5$ Hz, 1H), 4.29 (d, $J=5.6$ Hz, 2H), 3.66 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 3.47 (d, $J=11.8$ Hz, 1H), 3.24 (dd, $J=3.6, 11.7$ Hz, 1H), 2.79 (d, $J=6.1$ Hz, 1H), 2.53 (s, 3H), 2.50-2.36 (m, 1H), 2.12-2.06 (m, 1H), 1.69-1.62 (m, 2H), 1.58-1.46 (m, 3H), 1.20 (s, 3H)。

[0580] (2S, 4R)-1-((R)-2-乙酰胺基-3-巯基-3-甲基丁酰基)-4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(33)



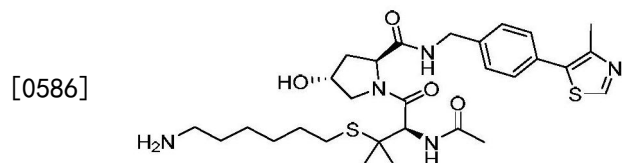
[0582] 根据用于化合物23所述的过程来制备。(62mg, 产率79%)。MS分析: $C_{23}H_{30}N_4O_4S_2$, 预期为490.2, 发现为491.1 $[M+H]^+$ 。

[0583] 1H -NMR (400MHz, $CDCl_3$, 25 $^{\circ}C$) δ : 8.68 (s, 1H), 7.39-7.33 (m, 4H), 7.20-7.17 (m, 1H), 6.55 (d, 1H), 4.68 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.59-4.52 (m, 3H), 4.35 (dd, $J=14.9$ Hz, $J=5.2$ Hz, 1H), 4.19-4.16 (m, 1H), 3.70 (dd, $J=11.2$ Hz, $J=3.6$ Hz, 1H), 3.15 (br s, 1H), 2.29 (br s, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.48-2.42 (m, 1H), 2.20-2.15 (m, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.31 (s,

3H)。

[0584] ^{13}C -NMR (101MHz, CDCl_3 , 25°C) δ : 170.9, 170.7, 170.6, 150.4, 148.6, 137.9, 131.5, 131.1, 129.6, 128.1, 70.1, 58.9, 57.5, 56.6, 46.1, 43.3, 36.5, 30.7, 28.7, 23.0, 16.1。

[0585] (2S, 4R) -1- ((R) -2-乙酰胺基-3-((6-氨基己基) 硫代) -3-甲基丁酰基) -4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基) 苄基) 吡咯烷-2-甲酰胺 (34)



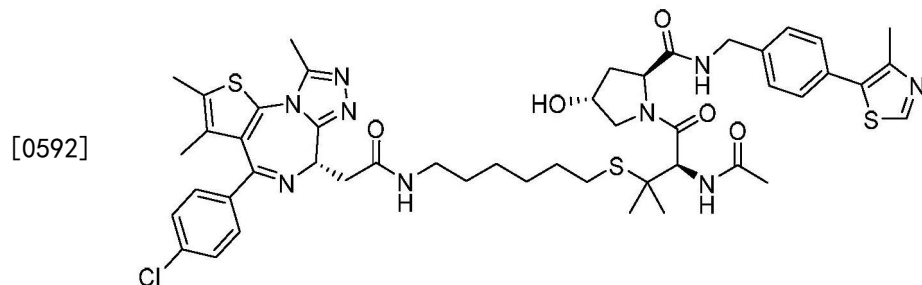
[0587] 根据用于化合物25所述的过程来制备。

[0588] (6.4mg, 产率68%)。MS分析: $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}_2$ 预期为589.3, 发现为590.2 $[\text{M}+\text{H}^+]$ 。

[0589] ^1H NMR (400MHz, CD_3OD , 25°C) δ : 8.88 (s, 1H), 7.46-7.41 (m, 4H), 4.92 (s, 1H), 4.58 (t, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 4.52-4.38 (m, 3H), 3.93-3.84 (m, 1H), 3.85 (dd, $J=10.8\text{Hz}$, $J=4.0\text{Hz}$, 1H), 2.64 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 2.56 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 2.48 (s, 3H), 2.26-2.23 (m, 1H), 2.14-2.10 (m, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.49-1.28 (m, 16H)。

[0590] ^{13}C -NMR (101MHz, CD_3OD , 25°C) δ : 174.4, 173.2, 171.6, 153.0, 149.2, 140.3, 133.5, 131.8, 130.6, 129.2, 71.1, 61.1, 58.0, 57.3, 43.7, 42.3, 39.2, 32.8, 30.7, 30.1, 29.3, 27.6, 26.3, 25.7, 22.5, 16.0。

[0591] (2R, 4R) -1- ((R) -2-乙酰胺基-3-((6-2-((S) -4-(4-氯苄基) -2,3,9-三甲基-6氢-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基) 乙酰胺基) 己基) 硫代) -3-甲基丁酰基) -4-羟基-N-(4-(4-甲基噻唑-5-基) 苄基) 吡咯烷-2-甲酰胺 (35)



[0593] 根据过程27来制备。得到7.3mg, 产率70%。MS分析: $\text{C}_{48}\text{H}_{58}\text{N}_9\text{ClO}_5\text{S}_3$ 预期为971.3, 发现为972.3 $[\text{M}+\text{H}^+]$ 。

[0594] ^1H -NMR (400MHz, CD_3OD , 25°C) δ : 8.99 (s, 1H), 8.43 (t, $J=5.9\text{Hz}$, 1H exch.), 8.12 (d, $J=9.4\text{Hz}$, 1H exch.), 8.07 (s, 1H exch.), 7.47-7.40 (m, 8H), 4.93-4.91 (m, 1H), 4.69-4.65 (m, 1H), 4.58 (t, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 4.52-4.38 (m, 3H), 3.93-3.91 (m, 1H), 3.85 (dd, $J=10.8\text{Hz}$, $J=3.96\text{Hz}$, 1H), 3.45-3.39 (m, 1H), 3.27-3.16 (m, 3H), 2.72 (s, 3H), 2.26 (t, $J=7.0\text{Hz}$, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 2.25-2.22 (m, 1H), 2.14-2.07 (m, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.70 (s, 3H), 1.54-1.36 (m, 14H)。

[0595] ^{13}C -NMR (101MHz, CD_3OD , 25°C) δ : 174.4, 173.2, 172.6, 171.6, 166.7, 157.1, 153.4, 152.6, 148.5, 140.5, 138.4, 137.9, 133.9, 133.6, 132.3, 132.2, 131.6, 131.4, 130.6, 130.0, 129.7, 129.3, 71.0, 61.2, 58.1, 57.4, 55.2, 43.7, 40.5, 39.2, 38.7, 30.7, 30.5, 30.0, 29.3, 27.7, 26.2, 25.9, 22.5, 15.7, 14.6, 13.1, 11.7。

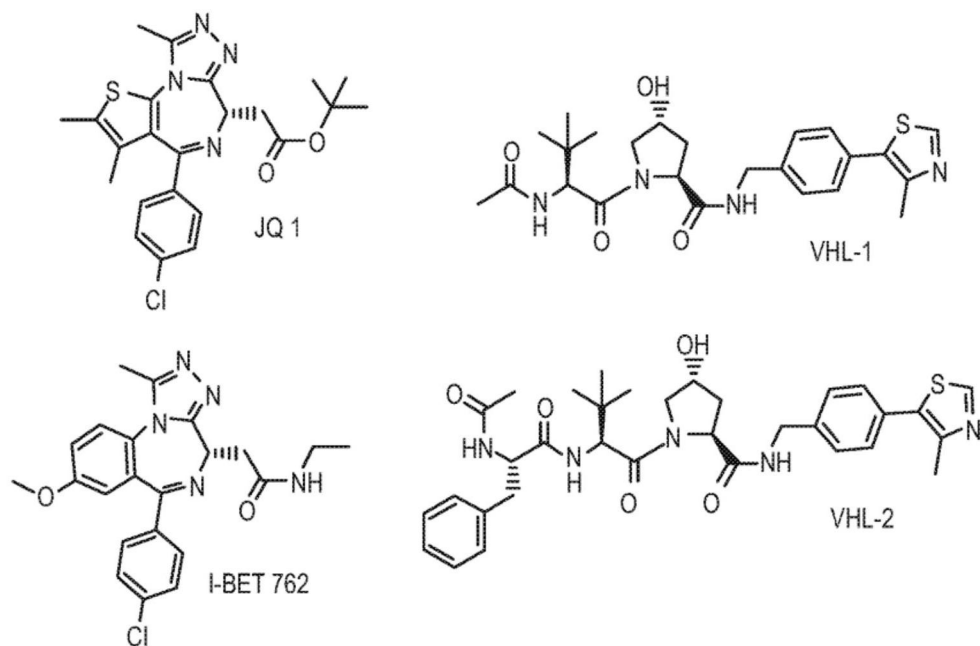


图1

输入	化合物	蛋白质	K_d [nM]	ΔH [kcal/mol]
1	MZ1	BRD2 BD1	307±27.9	-10.0±0.1
2		BRD2 BD2	228±17.7	-6.08±0.04
3		BRD3 BD1	119±4.81	-10.0±0.06
4		BRD3 BD2	115±10.9	-8.32±0.05
5		BRD4 BD1	382±13.5	-8.59±0.03
6		BRD4 BD2	120±7.16	-6.86±0.03
7	JQ1	BRD4 BD1	49.0±2.40	-8.42±0.02'
8		BRD4 BD2	90.1±4.60	-3.22±0.01'
9	MZ1	VBC	149±13.1	-6.87±0.05
10	MZ3		311±51.2	-4.90±0.11
11	VHL-1		118±6.42	-5.53±0.01"
12	顺式MZ1		没有结合	

图2

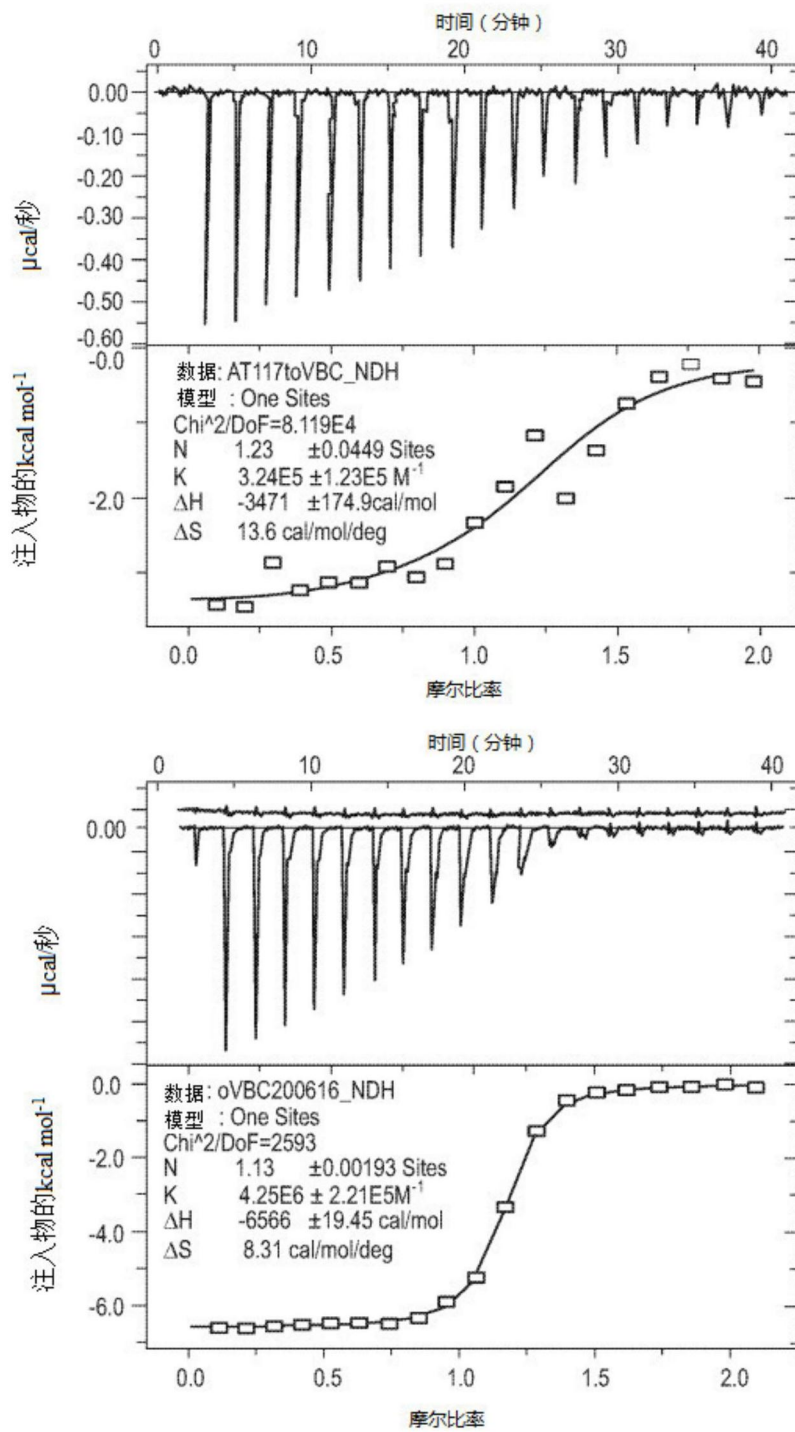


图3

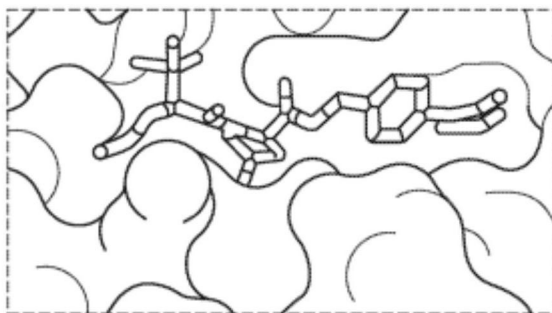


图4A

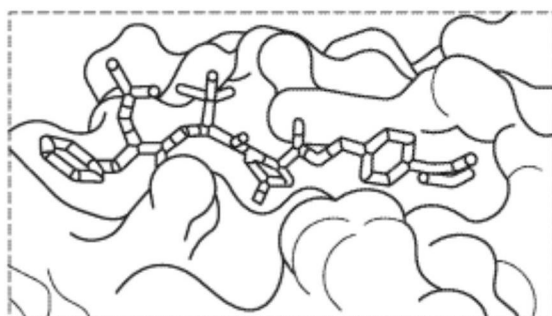


图4B

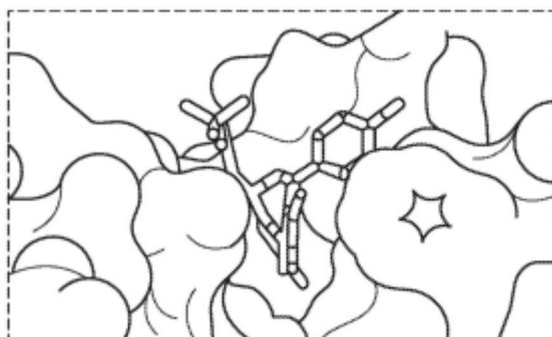


图4C

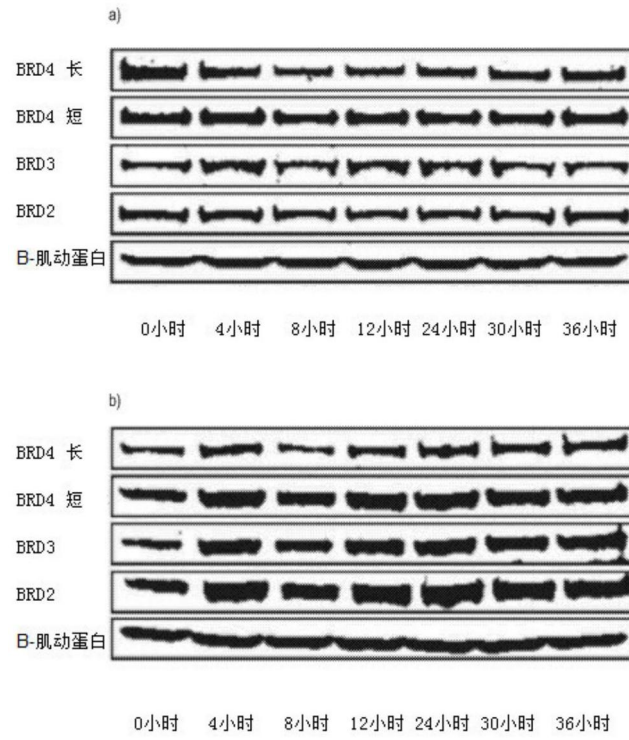


图5

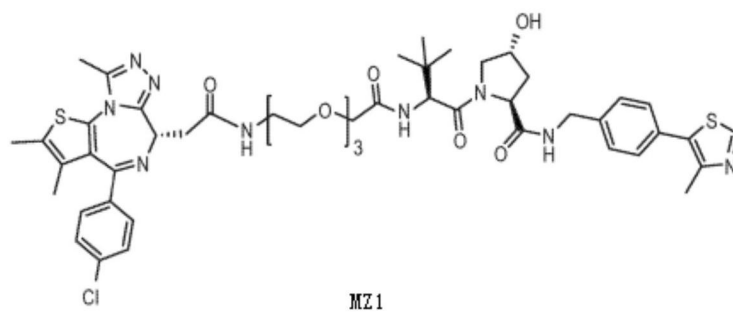
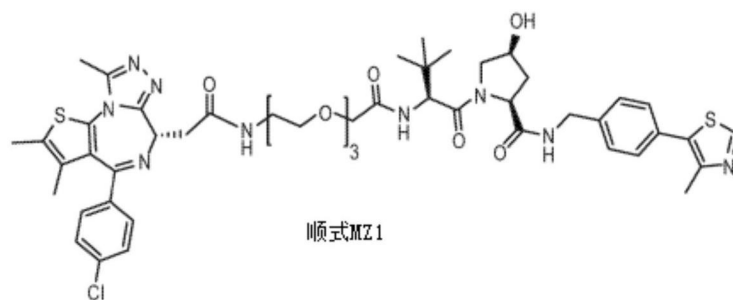


图7

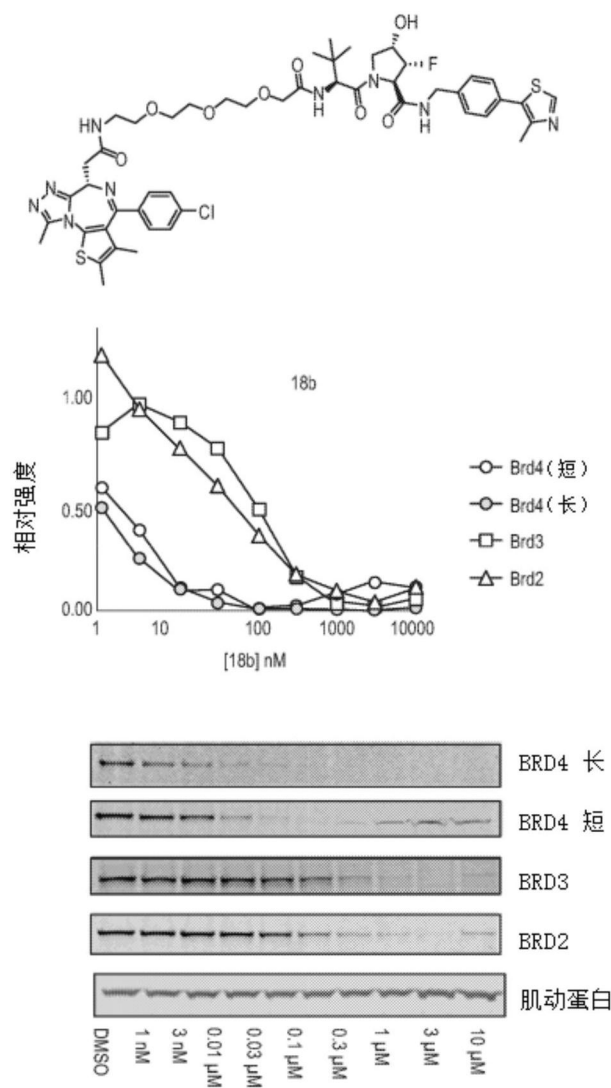


图8

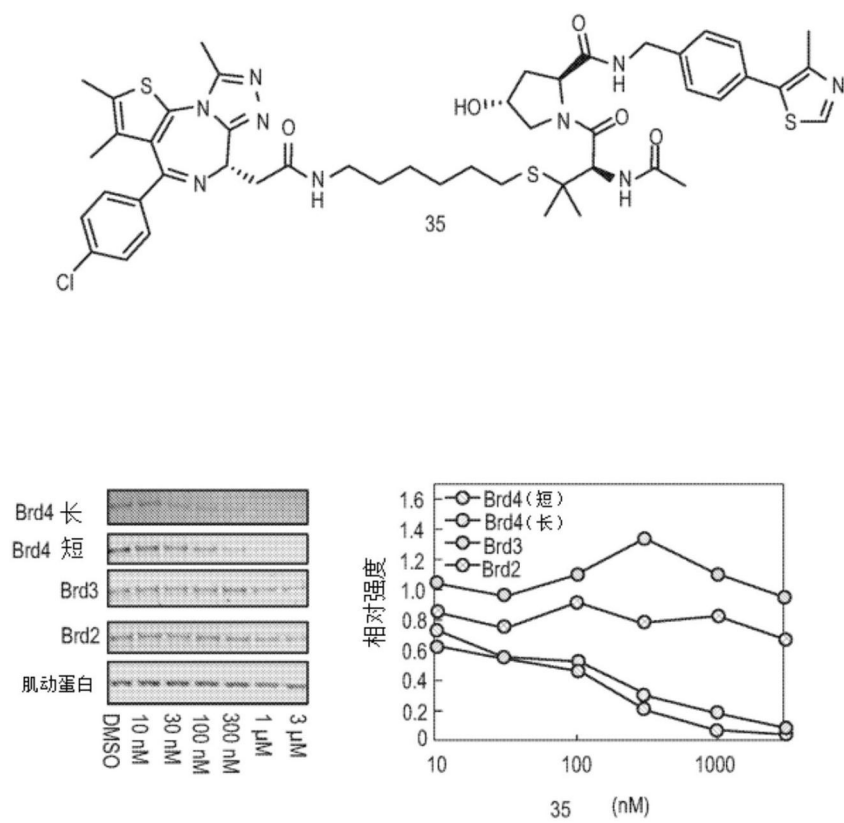


图9