202340165

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202340165 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：112108024 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 03 月 06 日

(51)Int. Cl.： *C07D401/12 (2006.01)* *A61K31/444 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01) *A61P37/02 (2006.01)*
A61P31/00 (2006.01) *A61P3/00 (2006.01)*

(30)優先權：2022/03/07 中國大陸 2022102165728

(71)申請人：大陸商上海和譽生物醫藥科技有限公司 (中國大陸) (CN)
中國大陸

(72)發明人：楊飛 (CN) ；張永賢 (CN) ；喻 紅平 (CA) ；陳 椎 (US) ；徐 耀昌 (US)

(74)代理人：劉法正；尹重君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：11 項 圖式數：0 共 50 頁

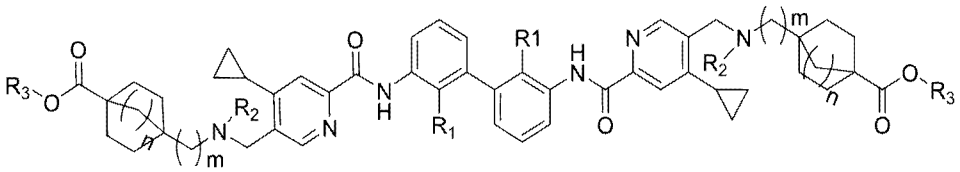
(54)名稱

一種全對稱聯苯基衍生物及其製備方法和應用

(57)摘要

本發明涉及一種全對稱聯苯基衍生物及其製備方法和應用。特別地，本發明涉及一種具有式(I)結構的全對稱聯苯基衍生物及其製備方法、含有其的藥物組合物，本發明系列化合物可廣泛應用於製備預防和/或治療由 PD-1/PD-L1 訊號通路介導的癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病的藥物，有望開發成新一代 PD-1/PD-L1 抑制劑。

特徵化學式：



(I)

【發明摘要】

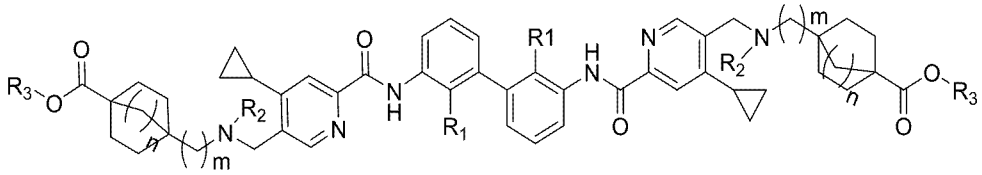
【中文發明名稱】一種全對稱聯苯基衍生物及其製備方法和應用

【中文】

本發明涉及一種全對稱聯苯基衍生物及其製備方法和應用。特別地，本發明涉及一種具有式(I)結構的全對稱聯苯基衍生物及其製備方法、含有其的藥物組合物，本發明系列化合物可廣泛應用於製備預防和/或治療由 PD-1/PD-L1 訊號通路介導的癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病的藥物，有望開發成新一代 PD-1/PD-L1 抑制劑。

【指定代表圖】無

【特徵化學式】



(I)

【發明說明書】

【中文發明名稱】一種全對稱聯苯基衍生物及其製備方法和應用

【技術領域】

【0001】 本發明屬於藥物合成領域，具體涉及一種全對稱聯苯基衍生物及其製備方法和應用。

【先前技術】

【0002】 免疫系統在控制和清除如癌症之類的疾病中扮演著非常重要的角色。然而腫瘤細胞常常能夠發展出逃逸或抑制免疫系統的監控的策略來促進自己的惡性生長。其中一個很重要的機制就是改變免疫細胞上共刺激和共抑制的免疫檢查點分子的表達。阻斷免疫檢查點分子比如PD-1的訊號通路，已經被證明是非常有希望而有效的治療手段。

【0003】 程序性細胞死亡分子1(PD-1)，又被稱為CD279，是表達在活化T細胞，自然殺傷T細胞，B細胞以及巨噬細胞表面的一種受體分子，它的結構包含了一個胞外的免疫球蛋白可變區類似的結構域，一個跨膜區域和一個胞內區域，其中胞內區域包含著兩個磷酸化位點，位於基於免疫受體酪氨酸激酶的抑制域和基於免疫受體酪氨酸激酶的轉換域，提示PD-1能負向調節T細胞受體介導的訊號通路。

【0004】 PD-1有兩個配體，PD-L1和PD-L2，它們在表達譜上有所不同。PD-L1蛋白在巨噬細胞和樹突狀細胞中在脂多糖(LPS)和粒細胞－巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)處理之後會上調，在T細胞和B細胞經過T細胞受體和B細胞受體訊號通路的刺激之後也

會有上調。它還在幾乎所有的腫瘤細胞中有高表達，並且在干擾素(IFN)gamma刺激之後會有表達的上調，實際上，腫瘤PD-L1的表達狀態被認為在多種腫瘤種類中具有預後的相關性PD-L2的表達，相反地，是較為集中的，主要表達在樹突狀細胞上。

【0005】 當PD-1表達的T細胞和其配體表達的細胞接觸之後，那些抗原刺激之後的功能性活動，比如細胞增殖，細胞因子釋放以及細胞裂解活性都被抑制了。因此，PD-1和其配體的相互作用在功能上作為內在的負反饋調節機制能使人們在感染，免疫耐受或者腫瘤發生時來防止T細胞的過度活化，從而降低自身免疫疾病，促進自身免疫耐受。長期的抗原刺激，比如在腫瘤或者長期感染中發生的，會造成T細胞表達高水平的PD-1，並且在對這些長期抗原的反應中缺乏活性，沒有功能，也就是人們說的T細胞功能耗竭。B細胞也有PD-1及其配體帶來的抑制作用以及相應的功能衰竭。

【0006】 一些來自臨床前動物研究的證據表明PD-1和其配體能負向調節免疫反應。PD-1缺陷的小鼠會產生紅斑狼瘡樣的急性增生性腎小球腎炎以及擴張性心肌病。利用PD-L1的抗體來阻斷PD-1/PD-L1的相互作用已經在很多系統中顯示出恢復和增強T細胞活化的功能。PD-L1的單株抗體也能為晚期癌症病人帶來福利。一些臨床前的動物腫瘤模型也顯示通過單株抗體阻斷PD-1/PD-L1的訊號通路能增強免疫反應，並導致對一系列組織學上有顯著不同的腫瘤的免疫反應，利用長期感染的LCMV模型，PD-1/PD-L1的相互作用已被發現能抑制病毒特異性的CD8 T細胞的活化，擴增和效應細胞功能的獲取。除了能增強對於長期抗原

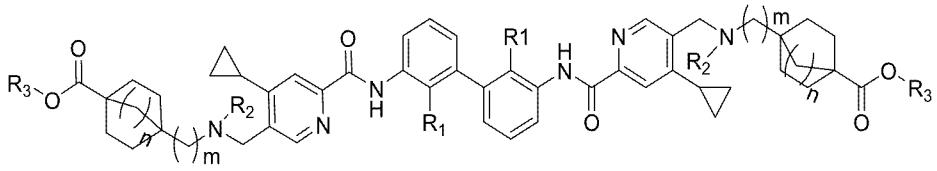
的免疫反應之外，阻斷PD-1/PD-L1通路還被發現能增強對於疫苗的反應，包括在長期感染環境下，對於治療性疫苗的反應。

【0007】 綜上所述，除了已有的單株抗體之外，如果能開發阻斷PD-1/PD-L1蛋白與蛋白相互作用的化合物，將可以作為一種可以阻斷PD-1/PD-L1介導的抑制訊號通路的有效治療手段來增強或者復原T細胞的功能。因此，靶向阻斷PD-1/PD-L1相互作用的化合物將會在多種癌症的免疫治療以及其他和免疫相關的疾病中具有很好的療效。

【發明內容】

【0008】 本發明的目的在於提供一種整體上全對稱聯苯基衍生物及其製備方法和應用，從而有望開發出新一代PD-1/PD-L1抑制劑。

【0009】 本發明第一方面提供一種式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽：



(I)

【0010】 其中，兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基，所述C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基、羥基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

【0011】 兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和羥基，所述C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基、羥基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

【0012】 兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-10}烷基、C_{3-10}環烷基和3-10元雜環基，所述C_{1-10}烷基、C_{3-10}環烷基和3-10元雜環基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基、3-6元雜環基、C_{6-10}芳基、5-8元雜芳基、C_{3-6}環烷氧基、3-6元雜環氧基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

【0013】 兩個m相同或不相同，且各自獨立地為0、1、2、3或4；

【0014】 兩個n相同或不相同，且各自獨立地為0、1、2、3或4。

【0015】 作為優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基取代C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基。

【0016】 作為進一步優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、氟、氯、氰基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基和環丙基。

【0017】 作為優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和羥基。

【0018】 作為進一步優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基和羥基。

【0019】 作為優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和3-6元雜環基，所述C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和3-6元雜環基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基、3-6元雜環基、C_{3-6}環烷氧基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代。

【0020】 作為進一步優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、環丙基、環丁基、環戊基、氧雜環丁基和氮雜環丁基，所述甲基、乙基、異丙基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基、氮雜環丁基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基、氮雜環丁基、環丙基氧基、環丁氧基、甲氧基、乙氧基和異丙氧基的取代基所取代。

【0021】 作為更進一步優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基和氮雜環丁基。

【0022】 作為更進一步優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_1相同，且選自氫、氘、氟、氯、氰基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基和環丙基；

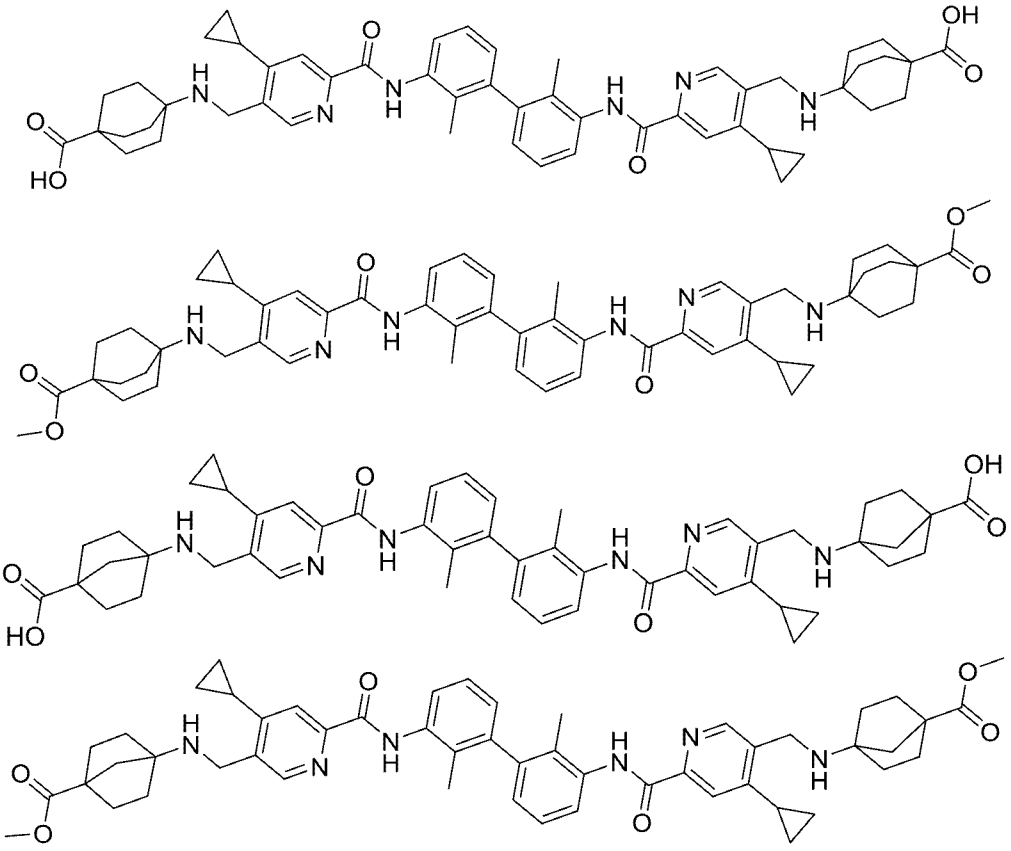
【0023】 兩個R_2相同，且選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基和羥基；

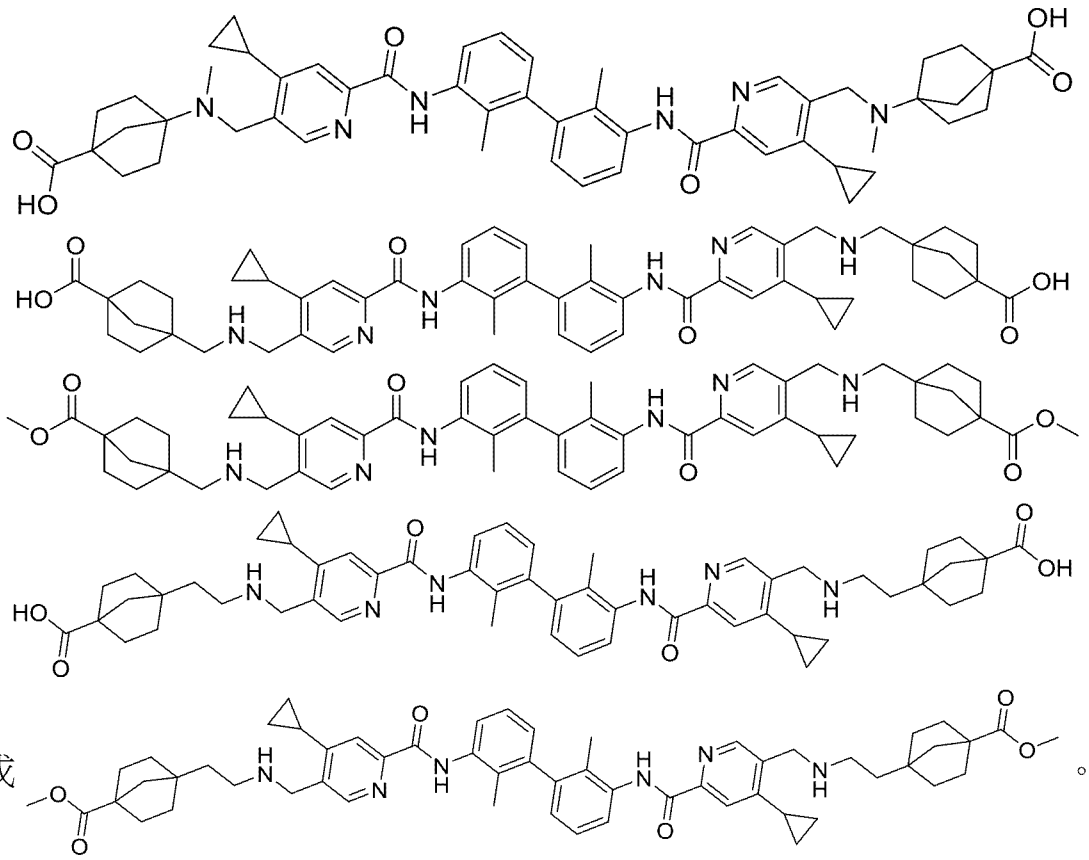
【0024】 兩個R_3相同，且選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基和氮雜環丁基；

【0025】 兩個m相同，且為0、1或2；

【0026】 兩個n相同，且為1或2。

【0027】 作為最優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽包括但不限於如下化合物：





或

。

【0028】 本發明第二方面提供一種藥物組合物，其包括前述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽及可藥用的載體。

【0029】 本發明第三方面提供一種前述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽在製備治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的有關疾病藥物中的應用。

【0030】 作為優選的方案，所述的由PD-1/PD-L1訊號通路介導的有關疾病選自癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病。

【0031】 作為進一步優選的方案，所述癌症或腫瘤選自淋巴瘤(包括但不限於淋巴細胞性淋巴瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、T細胞淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡中心淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或原發性縱隔大B細胞淋巴瘤)、肉瘤(包括但不限於卡波西肉瘤、纖維肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、骨肉瘤、

平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、軟組織肉瘤、血管肉瘤或淋巴管肉瘤)、黑色素瘤、膠質母細胞瘤、滑膜瘤、腦膜瘤、膽道腫瘤、胸腺腫瘤、神經腫瘤、精原細胞瘤、腎母細胞瘤、多形性腺瘤、肝細胞乳頭狀瘤、腎小管腺瘤、囊腺瘤、乳頭瘤、腺瘤、平滑肌瘤、橫紋肌瘤、血管瘤、淋巴管瘤、骨瘤、軟骨瘤、脂肪瘤、纖維瘤、中樞神經系統腫瘤、脊柱軸瘤、腦幹膠質瘤、垂體腺瘤、多發性骨髓瘤、卵巢腫瘤、骨髓增生異常綜合症或間皮瘤，前列腺癌、復發或已對現有藥物產生抗性的前列腺癌、甲狀腺癌、甲狀旁腺癌、肛門癌、睾丸癌、尿道癌、陰莖癌、膀胱癌、輸尿管癌、子宮癌、卵巢癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、外陰癌、腎上腺癌、默克爾細胞癌、胚胎癌、慢性或急性白血病(包括但不限於急性髓系白血病、慢性髓系白血病、急性淋巴細胞白血病、慢性粒細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病)、支氣管癌、食管癌、鼻咽癌、肝細胞癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、基底細胞癌、肺癌、乳腺癌、腺癌、乳頭狀癌、囊腺癌、鱗狀非小細胞肺癌、非鱗狀非小細胞肺癌、直腸癌、結腸癌、結直腸癌、胃癌、胰腺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、頭頸部癌、胃腸道、骨癌、皮膚癌、小腸癌、內分泌系統癌、腎盂癌、表皮樣癌、腹壁癌、腎細胞癌、移行細胞癌或絨毛膜癌，以及轉移性的腫瘤；

【0032】 所述的免疫相關疾病及紊亂選自風濕性關節炎、腎衰竭、紅斑狼瘡、哮喘、牛皮癬、潰瘍性結腸炎、胰腺炎、過敏、纖維化、貧血纖維肌痛症、阿爾茨海默病、充血性心力衰竭、中風、主動脈瓣狹窄、動脈硬化、骨質疏鬆症、帕金森病、感染、克隆氏

病、潰瘍性結腸炎、過敏性接觸性皮炎和濕疹、系統性硬化症和多發性硬化症；

【0033】 所述感染性疾病選自細菌性傳染病、病毒性傳染病或真菌性傳染病；

【0034】 所述傳染性疾病或感染性疾病選自膿毒症、肝臟感染、HIV、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、D型肝炎、皰疹病毒、乳頭瘤病毒或流感；

【0035】 所述代謝性疾病選自糖尿病、糖尿病酮症酸中毒、高血糖高滲綜合症、低血糖症、痛風、營養不良症、維生素A缺乏病、壞血病、維生素D缺乏病或骨質疏鬆症。

【0036】 本發明第四方面提供一種式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其用作治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病的藥物。

【0037】 本發明還涉及提供一種治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病的方法，包括給予有需要的患者臨床有效量的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽。

【實施方式】

【0038】 本申請的發明人經過廣泛而深入地研究，首次研發出一種如通式(I)結構聯苯基系列化合物。本發明系列化合物對PD-1/PD-L1的相互作用具有很強的抑制作用，可廣泛應用於製備預防和/或治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的癌症或腫瘤、免疫相

關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病的藥物，有望開發成新一代PD-1/PD-L1抑制劑。在此基礎上，完成了本發明。

【0039】 詳細說明：除非有相反陳述或特別說明，下列用在說明書和申請專利範圍中的術語具有下述含義。

【0040】 “烷基”指直鏈或含支鏈的飽和脂族烴基團，優選包括1至10個或1至4個碳原子的直鏈烷基和含支鏈烷基，包括但不限於甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第三丁基、第二丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基或其各種支鏈異構體等。“C_{1-10}烷基”指包括1至10個碳原子的直鏈烷基和含支鏈烷基，“C_{1-4}烷基”指包括1至4個碳原子的直鏈烷基和含支鏈烷基。

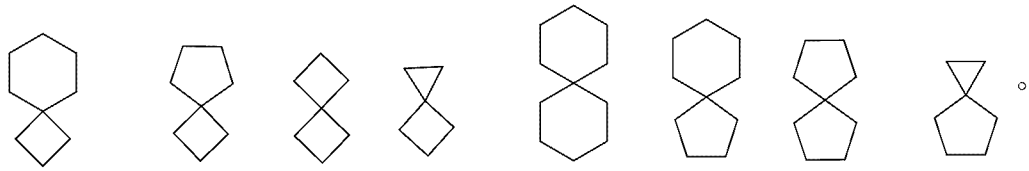
【0041】 烷基可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、

氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

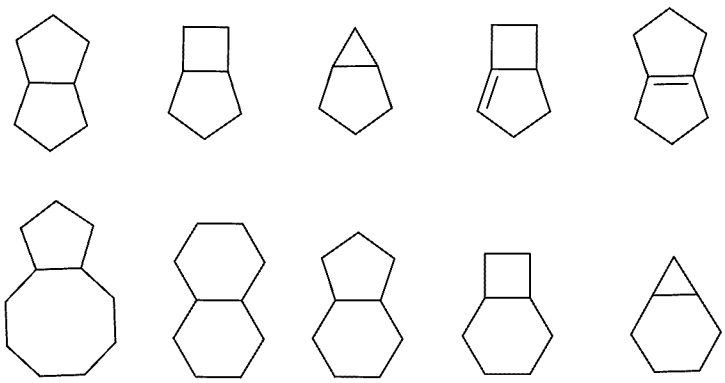
【0042】 “環烷基”或“碳環”指飽和或部分不飽和單環或多環環狀烴取代基，所述部分不飽和環狀烴是指環狀烴可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統，環烷基分為單環環烷基、多環環烷基，優選包括3至10個或3至6個碳原子的環烷基，例如，“C_{3-10}環烷基”指包括3至10個碳原子的環烷基，“C_{3-6}環烷基”指包括3至6個碳原子的環烷基，其中：

【0043】 單環環烷基包括但不限於環丙基、環丁基、環戊基、環戊烯基、環己基、環己烯基、環己二烯基、環庚基、環庚三烯基、環辛基等。

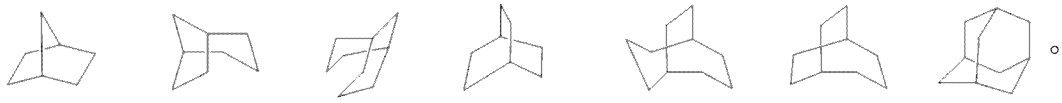
【0044】 多環環烷基包括螺環、稠環和橋環的環烷基。“螺環烷基”指單環之間共用一個碳原子(稱螺原子)的多環基團，這些可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統。根據環與環之間共用螺原子的數目將螺環烷基分為單螺環烷基、雙螺環烷基或多螺環烷基，螺環烷基包括但不限於：



【0045】 “稠環烷基”指系統中的每個環與體系中的其他環共享毗鄰的一對碳原子的全碳多環基團，其中一個或多個環可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統。根據組成環的數目可以分為雙環、三環、四環或多環稠環烷基，稠環烷基包括但不限於：



【0046】 “橋環烷基”指任意兩個環共用兩個不直接連接的碳原子的全碳多環基團，這些可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統。根據組成環的數目可以分為雙環、三環、四環或多環橋環烷基，橋環烷基包括但不限於：



【0047】 所述環烷基環可以稠合於芳基、雜芳基或雜環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為環烷基，包括但不限於茚滿基、四氫萘基、苯并環庚烷基等。

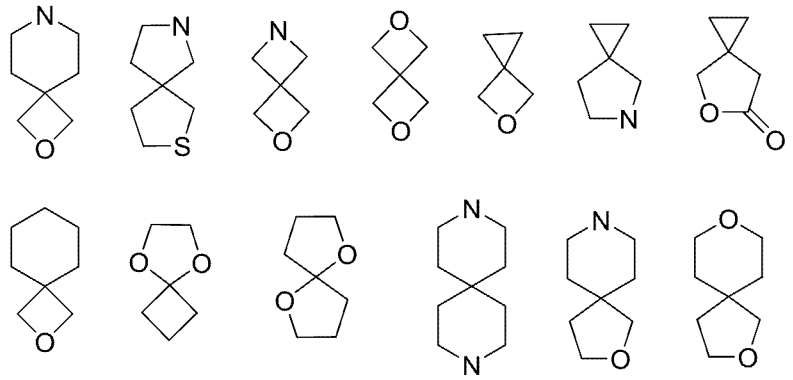
【0048】 “環烷基”或“碳環”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和$-SF_5$。

【0049】 “雜環基”或“雜環”指飽和或部分不飽和單環或多環環狀烴取代基，所述部分不飽和環狀烴是指環狀烴可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統，雜環基中一個或多個(優選1、2、3或4個)環原子選自N、O、

N•O或S(O)$_r$(其中r是整數0、1、2)的雜原子，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-的環部分，其餘環原子為碳。優選包括3至10個或3至6個環原子的雜環基，例如，“3-6元雜環基”指包含3至6個環原子的雜環基，“3-10元雜環基”指包含3至10個環原子的雜環基。

【0050】 單環雜環基包括但不限於吡咯烷基、哌啶基、哌啡基、嗎啉基、硫代嗎啉基、高哌啡基、氧雜環丁烷基、四氫呋喃基等。

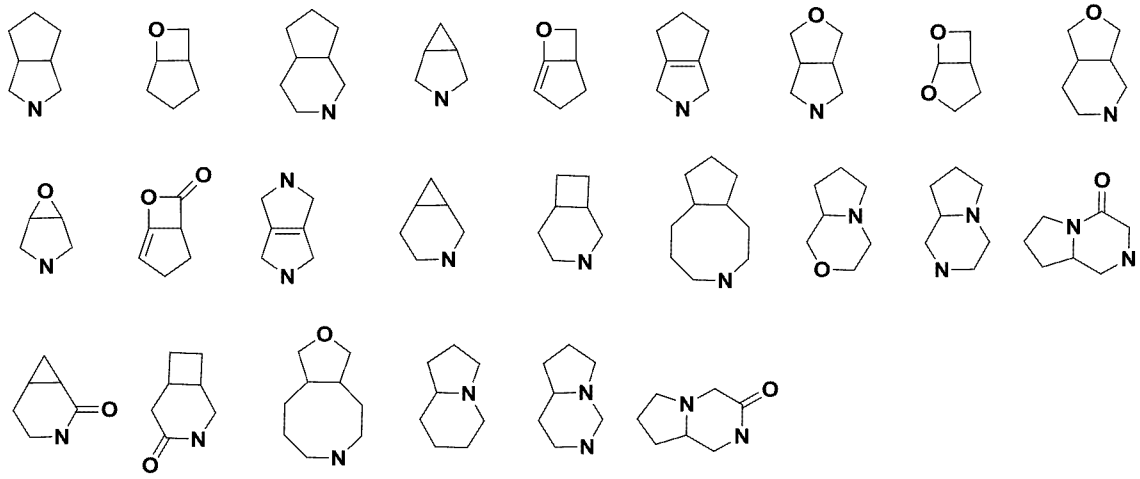
【0051】 多環雜環基包括螺環、稠環和橋環的雜環基。“螺雜環基”指單環之間共用一個原子(稱螺原子)的多環雜環基團，其中一個或多個(優選1、2、3或4個)環原子選自N、O、N•O或S(O)$_r$(其中r是整數0、1、2)的雜原子，其餘環原子為碳。這些可以含有一個或多個雙鍵(優選1、2或3個)，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統。根據環與環之間共用螺原子的數目將螺雜環基分為單螺雜環基、雙螺雜環基或多螺雜環基。螺雜環基包括但不限於：



。

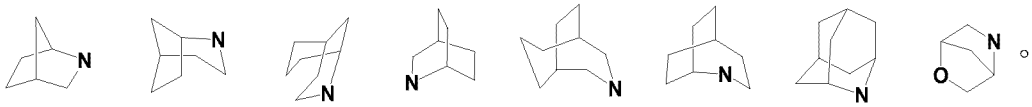
【0052】 “稠雜環基”指系統中的每個環與體系中的其他環共享毗鄰的一對原子的多環雜環基團，一個或多個(優選1、2、3或4個)環可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統，其中一個或多個(優選1、2、3或4個)環原子選自N、O、N•O或S(O)$_r$(其中r是整數0、1、2) 的雜原子，其

餘環原子為碳。根據組成環的數目可以分為雙環、三環、四環或多環稠雜環烷基，稠雜環基包括但不限於：



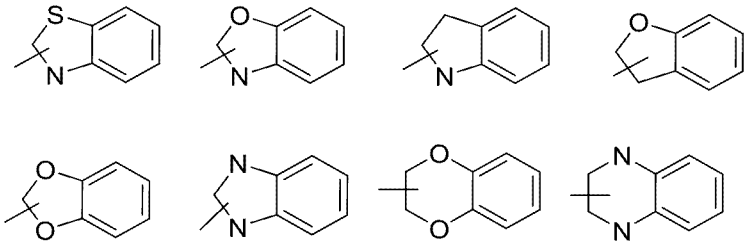
。

【0053】 “橋雜環基”指任意兩個環共用兩個不直接連接的原子的多環雜環基團，這些可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統，其中一個或多個(優選1、2、3或4個)環原子選自N、O、N•O或S(O)$_r$(其中r是整數0、1、2)的雜原子，其餘環原子為碳。根據組成環的數目可以分為雙環、三環、四環或多環橋雜環基，橋雜環基包括但不限於：



。

【0054】 所述雜環基環可以稠合於芳基、雜芳基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為雜環基，包括但不限於：

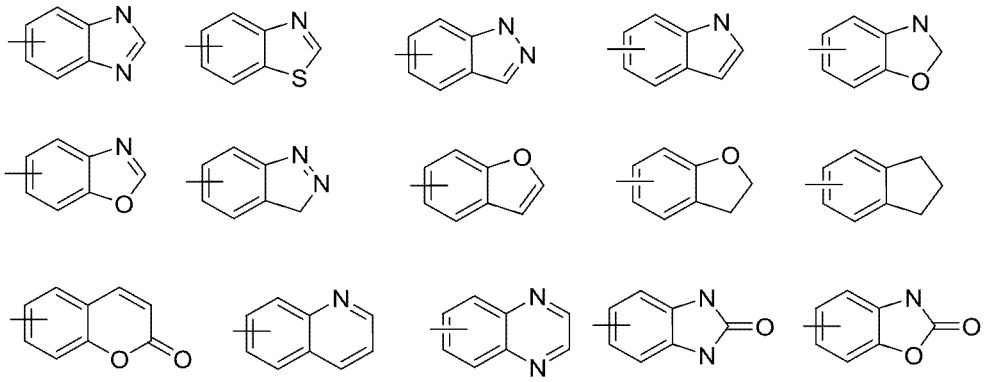


。

【0055】 “雜環基”或“雜環”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代

C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和$-SF_5$。

【0056】 “芳基”或“芳環”指全碳單環或稠合多環(也就是共享毗鄰碳原子對的環)基團，具有共軛的π電子體系的多環(即其帶有相鄰對碳原子的環)基團，優選含有6-10個碳的全碳芳基，例如，“C_{6-10}芳基”指含有6-10個碳的全碳芳基，包括但不限於苯基和萘基。所述芳基環可以稠合於雜芳基、雜環基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為芳基環，包括但不限於：

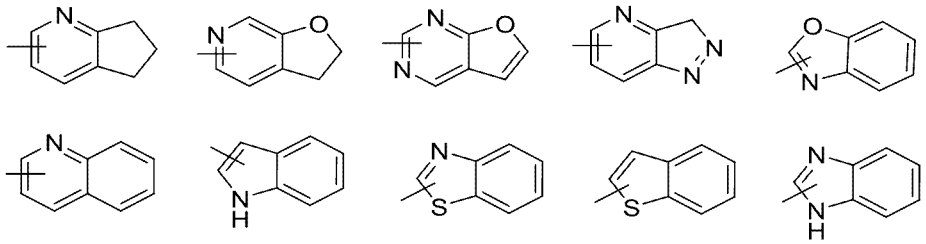


。

【0057】 “芳基”或“芳環”可以是取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和$-SF_5$。

【0058】 “雜芳基”或“雜芳環”指包含一個或多個(優選1、2、3或4個)雜原子的雜芳族體系，所述雜原子包括N、O、N•O和S(O)r(其中r是整數0、1、2)的雜原子，優選含有5-10個或5-8個環原子的雜芳族體系，例如，“5-8元雜芳基”指含有5-8個環原子的雜芳族體系，“5-10元雜芳基”指含有5-10個環原子的雜芳族體系，包括

但不限於呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、*N*-烷基吡咯基、嘧啶基、吡咔基、咪唑基、四唑基等。所述雜芳基環可以稠合於芳基、雜環基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為雜芳基環，包括但不限於：



。

【0059】 “雜芳基”或“雜芳環”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0060】 “鏈烯基”指由至少兩個碳原子和至少一個碳-碳雙鍵組成的如上述定義的烷基，優選含有2-10個碳的直鏈或含支鏈烯基，例如，“C_{2-10}鏈烯基”指含有2-10個碳的直鏈或含支鏈烯基。包括但不限於乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-，2-或3-丁烯基等。

【0061】 “鏈烯基”可以是取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0062】 “鏈炔基”指至少兩個碳原子和至少一個碳-碳三鍵組成的如上所定義的烷基，優選含有2-10個碳的直鏈或含支鏈炔基，

例如，“C_{2-10}鏈炔基”指含有2-10個碳的直鏈或含支鏈炔基。包括但不限於乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-，2-或3-丁炔基等。

【0063】 “鏈炔基”可以是取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0064】 “烷氧基”指-O-烷基，其中烷基的定義如上所述，例如，“C_{1-4}烷氧基”指含1-4個碳的烷基氧基，包括但不限於甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基等。

【0065】 “烷氧基”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基，優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0066】 “環烷氧基”或“環烷基氧基”指-O-環烷基，其中環烷基的定義如上所述，例如，“C_{3-6}環烷氧基”指含3-6個碳的環烷基氧基，包括但不限於環丙氧基、環丁氧基、環戊氧基、環己氧基等。

【0067】 “環烷氧基”或“環烷基氧基”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0068】 “雜環氧基”或“雜環基氧基”指-O-雜環基，其中雜環基的定義如上所述，包括但不限於氮雜環丁基氧基、氧雜環丁基氧基、氮雜環戊基氧基、氮、氧雜環己基氧基等。

【0069】 “雜環氧基”或“雜環基氧基”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0070】 “鹵取代C_{1-4}烷基”指烷基上的氫任選的被氟、氯、溴、碘原子取代的1-4個碳烷基團，包括但不限於二氟甲基、二氯甲基、二溴甲基、三氟甲基、三氯甲基、三溴甲基等。

【0071】 “氘取代C_{1-4}烷基”指烷基上的氫任選的被氘原子取代的1-4個碳烷基團。包括但不限於一氘甲基、二氘甲基、三氘甲基等。

【0072】 “鹵素”指氟、氯、溴或碘，“NaOH”是指氫氧化鈉，“BH_3•Me_2S”是指二甲硫醚硼烷，“MeOH”是指甲醇，“$NaBH_3CN$”是指氰基硼氫化鈉，“HOAc”是指乙酸，“DMF”是指*N*,*N*-二甲基甲醯胺，“THF”是指四氫呋喃，“Dess-Martin試劑”是指戴斯-馬丁試劑。

【0073】 “任選”或“任選地”意味著隨後所描述地事件或環境可以但不必發生，該說明包括該事件或環境發生或不發生地場合，也即包括取代的或未取代的兩種情形。例如，“任選被烷基取代的雜

環基團”意味著烷基可以但不必須存在，該說明包括雜環基團被烷基取代的情形和雜環基團不被烷基取代的情形。

【0074】 “取代的”指基團中的一個或多個“氫原子”彼此獨立地被相應數目的取代基取代。不言而喻，取代基僅處在它們的可能的化學位置，符合化學上的價鍵理論，本領域技術人員能夠在不付出過多努力的情況下確定(通過實驗或理論)可能或不可能的取代。例如，具有游離氫的氨基或羥基與具有不飽和鍵的碳原子(如烯烴)結合時可能是不穩定的。

【0075】 “立體異構體”，其英文名稱為stereoisomer，是指由分子中原子在空間上排列方式不同所產生的異構體，它可分為順反異構體、對映異構體兩種，也可分為對映異構體和非對映異構體兩大類。由於單鍵的旋轉而引起的立體異構體稱為構象異構體(conformational stereo-isomer)，有時也稱為旋轉異構體(rotamer)。因鍵長、鍵角、分子內有雙鍵、有環等原因引起的立體異構體稱為構型異構體(configuration stereo-isomer)，構型異構體又分為兩類。其中因雙鍵或成環碳原子的單鍵不能自由旋轉而引起的異構體成為幾何異構體(geometric isomer)，也稱為順反異構體(cis-trans isomer)，分為Z、E兩種構型。例如：順-2-丁烯和反-2-丁烯是一對幾何異構體，因分子中沒有反軸對稱性而引起的具有不同旋光性能的立體異構體稱為旋光異構體(optical isomer)，分為R、S構型。在本發明中所述“立體異構體”如未特別指明，可理解為包含上述對映異構體、構型異構體和構象異構體中的一種或幾種。

【0076】 “藥學上可接受鹽”在本發明中是指藥學上可接受的酸加成鹽，包括無機酸鹽和有機酸鹽，這些鹽可通過本專業已知的方法製備。

【0077】 “藥物組合物”表示含有一種或多種本文所述化合物或其生理學上/可藥用的鹽或前體藥物與其他化學組分的混合物，以及其他組分例如生理學/可藥用的載體和賦形劑。藥物組合物的目的是促進對生物體的給藥，利於活性成分的吸收進而發揮生物活性。

【0078】 下面結合實施例對本發明做進一步詳細、完整地說明，但決非限制本發明，本發明也並非僅局限於實施例的內容。

【0079】 本發明的化合物結構是通過核磁共振(NMR) 或/和液質聯用色譜(LC-MS)來確定的。NMR化學位移(δ)以百萬分之一(ppm)的單位給出。NMR的測定是用Bruker AVANCE-400/500核磁儀，測定溶劑為氘代二甲基亞碸(DMSO-d_6)，氘代甲醇(CD_3OD)和氘代氯仿($CDCl_3$)，內標為四甲基矽烷(TMS)。

【0080】 液質聯用色譜LC-MS的測定用Agilent 6120質譜儀。HPLC的測定使用安捷倫1200DAD高壓液相色譜儀(Sunfire C18 150 × 4.6 mm色譜柱)和Waters 2695-2996高壓液相色譜儀(Gimini C18 150 × 4.6 mm色譜柱)。

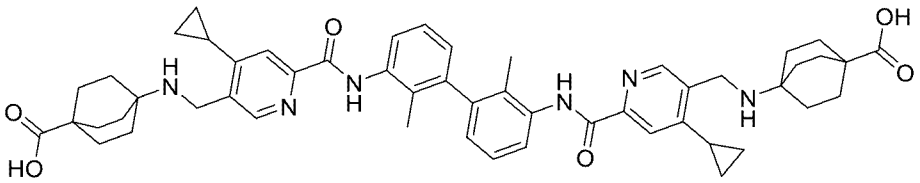
【0081】 薄層層析矽膠板使用煙台黃海HSGF254或青島GF254矽膠板，TLC採用的規格是0.15 mm～0.20 mm，薄層層析分離純化產品採用的規格是0.4 mm～0.5 mm。柱層析一般使用煙台黃海矽膠200～300目矽膠為載體。

【0082】 本發明實施例中的起始原料是已知的並且可以在市場上買到，或者可以採用或按照本領域已知的方法來合成。

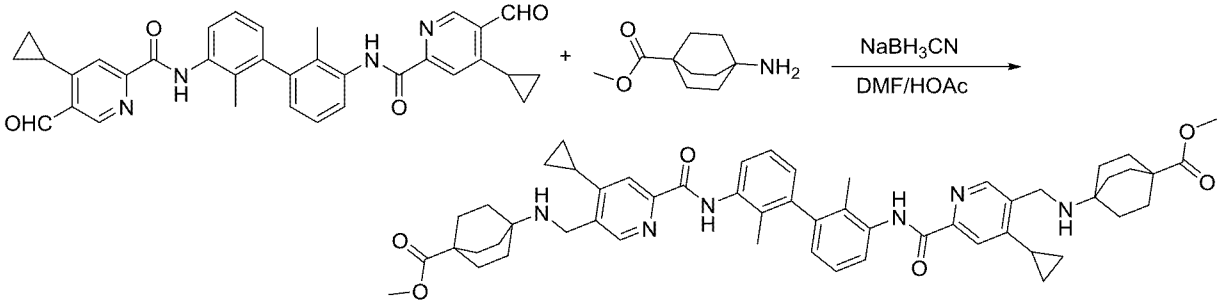
【0083】 在無特殊說明的情況下，本發明的所有反應均在連續的磁力攪拌下，在乾燥氮氣或氬氣氛下進行，溶劑為乾燥溶劑，反應溫度單位為攝氏度(℃)。

【0084】 **具體實施例化合物製備**

【0085】 **實施例1：4-(((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)-4-環丙基吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸的製備**



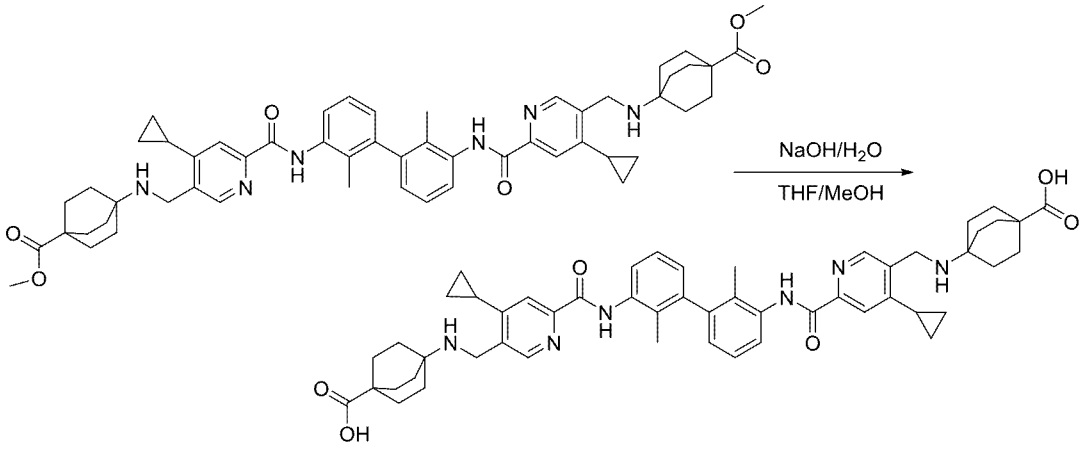
【0086】 **第一步：4-(((4-環丙基-6-((3'-(4-環丙基-5-(((4-(甲氧羰基)二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0087】 將*N*,*N*'-(2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(4-環丙基-5-甲醯基吡啶甲醯胺) [參照WO2021008491A1中合成方法製備] (200 mg, 0.358 mmol) 置於DMF (5 mL)中，然後加入4-氨基二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸甲酯 (656.1 mg, 3.58 mmol) 和

HOAc (1.5 mL)，室溫攪拌1小時。加入氰基硼氫化鈉 (225.0 mg, 3.58 mmol)，室溫攪拌過夜。反應完畢後，反向柱層析分離得到4-(((4-環丙基-6-((3'-(4-環丙基-5-(((4-(甲氧羰基)二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸甲酯 (180 mg, 0.20 mmol, 收率：56.3%)。MS m/z (ESI): 893.6 $[M+H]^+$。

【0088】 第二步：**4-(((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)-4-環丙基吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸的合成**

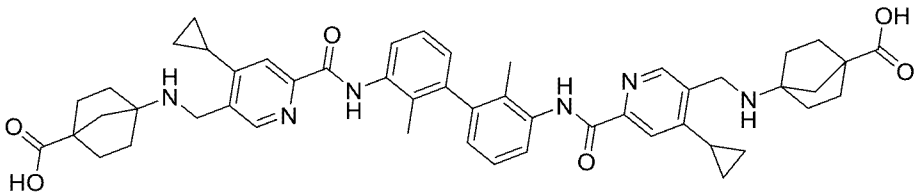


【0089】 將4-(((4-環丙基-6-((3'-(4-環丙基-5-(((4-(甲氧羰基)二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸甲酯(350 mg, 0.39 mmol)置於MeOH (5 mL)，THF (5 mL)和水(5 mL)混合液中，然後加入NaOH (314 mg, 7.84 mmol)，氮氣保護下，加熱50度攪拌過夜。反應完畢後，反應液用甲酸調至pH~6，反應液濃縮。粗品經反向柱層析分離得到

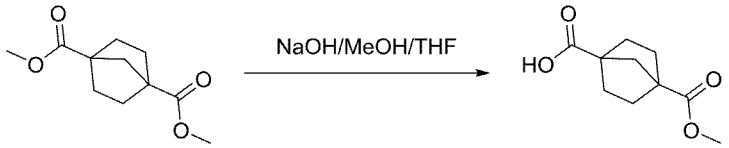
4-(((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)-4-環丙基吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸 (180 mg, 0.187 mmol，收率：47.8%)。MS m/z (ESI): 865.6 $[M+H]^+$。

【0090】 ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.31 (s, 2H), 8.55 (s, 2H), 7.89 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.57 (s, 2H), 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 3.87 (s, 4H), 2.28 (td, J = 8.3, 4.2 Hz, 2H), 2.00 (s, 6H), 1.77 (dd, J = 10.5, 5.3 Hz, 12H), 1.60 (dd, J = 10.3, 5.5 Hz, 12H), 1.12 (dt, J = 7.7, 4.9 Hz, 4H), 0.84 (q, J = 5.2 Hz, 4H).

【0091】 **實施例2：4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)的製備**



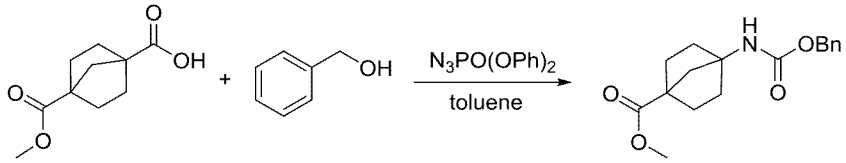
【0092】 第一步：**4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸的合成**



【0093】 將二甲基二環[2.2.1]庚烷-1,4-二羧酸酯(2.0 g, 9.42 mmol)溶於THF(40 mL)中，滴加NaOH (377 mg，9.42mmol)的甲醇溶液(8 mL)，室溫下攪拌過夜。反應完全後，小心濃縮反應液至溶劑完全去除。固體經石油醚洗滌後過濾，濾餅溶解在水(50

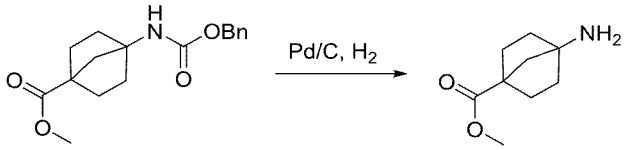
mL)中，水溶液經2M鹽酸酸化至pH~4，然後用乙酸乙酯萃取。有機相用水和飽和食鹽水洗滌，無水硫酸鈉乾燥。過濾，濾液濃縮得到4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸(1.49 g，產率：80.0%)。

【0094】 第二步：**4-(((苄氧基)羰基)氨基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



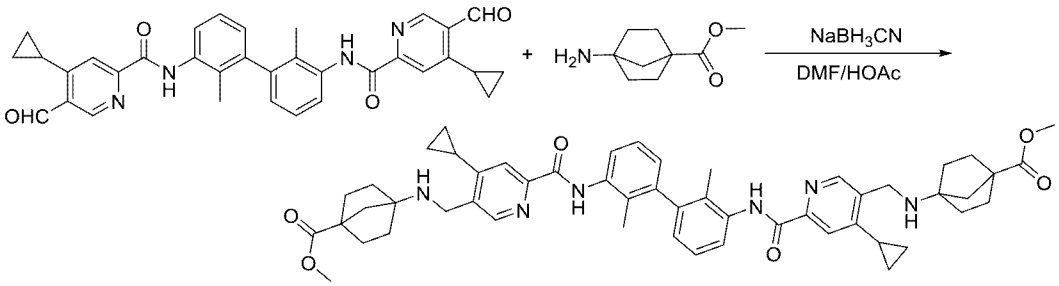
【0095】 將4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸 (700 mg, 3.53 mmol)溶於甲苯(30 mL)中，然後加入疊氮磷酸二苯酯(0.91 mL, 4.24 mmol)和三乙胺 (0.98 mL, 7.06 mmol)，氮氣保護下加熱120度反應2小時。反應液冷卻至室溫，然後加入苄醇(0.73 mL, 7.06 mmol)，氮氣保護下100度反應18小時。反應完畢後，反應液濃縮，粗品經柱層析分離得到4-(((苄氧基)羰基)氨基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (1000 mg, 3.30 mmol，收率：93.4%)。MS m/z (ESI): 304.0 $[M+H]^+$。

【0096】 第三步：**4-氨基二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



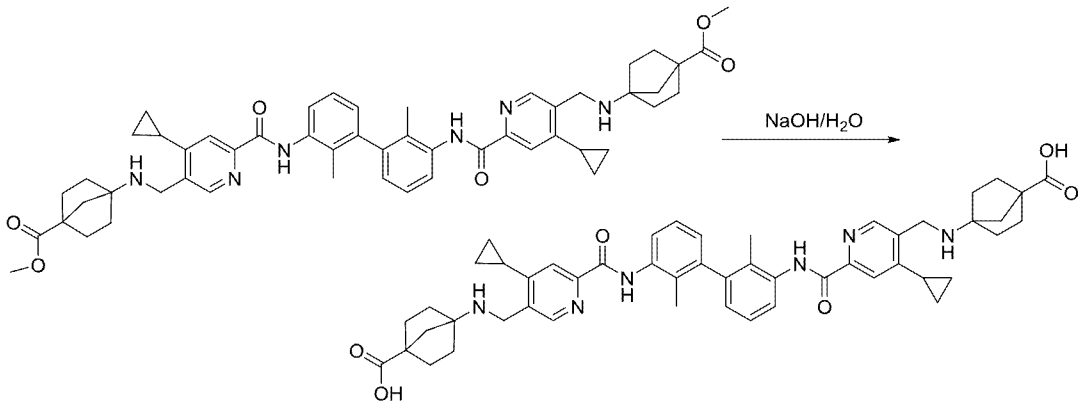
【0097】 將4-(((苄氧基)羰基)氨基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯(1000 mg, 3.30 mmol)溶於甲醇 (30 mL)中，然後加入10% Pd/C (100 mg)，常壓氫氣氛圍下，室溫攪拌過夜。反應完畢後，過濾，濾液濃縮後得到4-氨基二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (500 mg, 2.955 mmol，收率：89.6%)。MS m/z (ESI): 170.0 $[M+H]^+$。

【0098】 第四步：二甲基 **4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯)**的合成



【0099】 將*N*,*N*'-(2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(4-環丙基-5-甲醯基吡啶甲醯胺)(200 mg, 0.358 mmol)溶於DMF (5 mL)，然後加入4-氨基二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯(484.7 mg, 2.864 mmol)和HOAc (1.5 mL)，室溫攪拌60分鐘，再加入$NaBH_3CN$ (225.0 mg, 3.58 mmol)，氮氣保護下室溫攪拌過夜。反應完畢後，反應液用柱層析(水/乙腈/甲酸)分離得到二甲基4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯) (230 mg, 0.266 mmol，收率：74.3%)。MS m/z (ESI): 865.4 $[M+H]^+$。

【0100】 第五步：**4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)**的合成

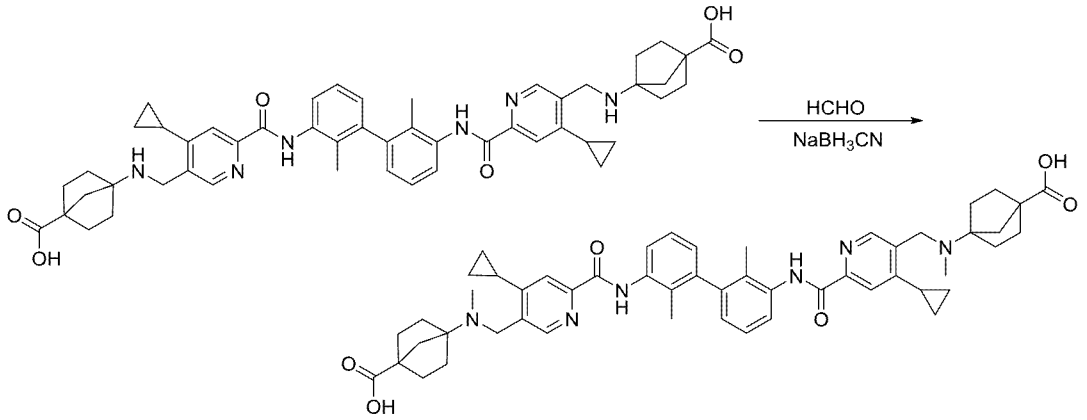


【0101】 將二甲基 4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯) (230 mg, 0.266 mmol) 加入MeOH (5 mL)，THF (5 mL)和水(5 mL)混合液中，然後加入NaOH (212.7 mg, 5.317 mmol)，氮氣保護下，加熱50度攪拌1小時。反應完畢後，反應液用甲酸調至pH~6，反應液濃縮。粗品用反相柱層析分離得到4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸) (160 mg, 0.181 mmol，收率：67.9%)。MS m/z (ESI): 837.4 $[M+H]^+$。

【0102】 ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.33 (s, 2H), 8.69 (s, 2H), 7.86 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.63 (s, 2H), 7.32 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 6.99 (dd, J = 7.6, 1.3 Hz, 2H), 4.38 – 4.02 (m, 4H), 2.31 – 2.24 (m, 2H), 2.12 – 1.46 (m, 26H), 1.15 (d, J = 7.9 Hz, 4H), 0.95 – 0.78 (m, 4H).

【0103】 **實施例3：4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-**

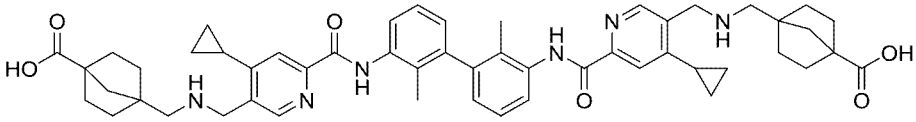
二基))二(亞甲基))二(甲基氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)的製備



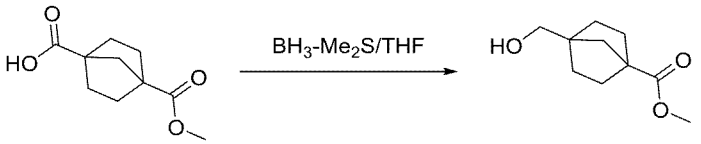
【0104】 將4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸) (50 mg, 0.060 mmol)溶於DMF (3 mL)中，然後加入HOAc (1 mL) 和35%甲醛水溶液 (37.5 mg, 0.597 mmol)，室溫攪拌0.5小時後加入$NaBH_3CN$ (37.5 mg, 0.597 mmol)，氮氣保護下，室溫攪拌過夜。反應完畢後，反應液用反相柱層析分離得到4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(甲基氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸) (12 mg, 0.013 mmol，收率：21.6%)。MS m/z (ESI): 865.6 $[M+H]^+$。

【0105】 ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.30 (s, 2H), 8.52 (s, 2H), 7.90 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.59 (s, 2H), 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 3.81 (s, 4H), 2.40 (td, J = 8.2, 4.2 Hz, 2H), 2.11(s, 6H), 2.05 – 1.95 (m, 10H), 1.87 – 1.57 (m, 16H), 1.12 (d, J = 8.1 Hz, 4H), 0.84 (d, J = 5.2 Hz, 4H).

【0106】 實施例4：4,4'-((((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(亞甲基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)的製備



【0107】 第一步：4-(羥甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成



【0108】 將4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸 (800 mg, 4.04 mmol)溶於乾燥THF (40 mL)中，冰水浴冷卻下緩慢滴加BH_3•Me_2S/THF溶液 (5.25 mL, 5.25 mmol)，滴完後室溫攪拌過夜。反應液中滴入MeOH (10 mL)，回流4小時淬滅。加入乙酸乙酯和水萃進行萃取，有機相用水和飽和食鹽水洗滌，無水硫酸鈉乾燥。過濾，濾液濃縮，粗品用柱層析分離得到4-(羥甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (600 mg，產率：80.7%)。

【0109】 ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.70 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 2.06 – 1.93 (m, 2H), 1.73 – 1.62 (m, 4H), 1.58 – 1.54 (m, 2H), 1.43 – 1.34 (m, 2H).

【0110】 第二步：4-甲醯基二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成

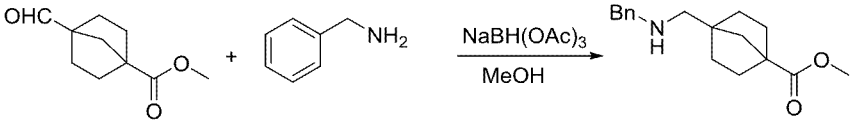


【0111】 將4-(羥甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (600 mg, 3.27 mmol)溶於CH_2Cl_2 (20 mL)中，然後加入Dess-Martin試劑

(1.66 g, 3.91 mmol)。室溫攪拌反應，TLC監測反應至原料消失。經矽藻土過濾，濾液濃縮後柱層析分離得到4-甲醯基二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (500 mg，產率：84.3%)。

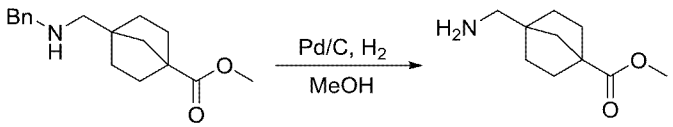
【0112】 ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.81 (s, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.13 – 2.00 (m, 4H), 1.86 – 1.82 (m, 2H), 1.79 – 1.68 (m, 2H), 1.60 – 1.52 (m, 2H).

【0113】 第三步：**4-((苯甲基氨基)甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0114】 將4-甲醯基二環[2.2.1]庚烷1-羧酸甲酯 (200 mg, 1.10 mmol)和苄胺 (235 mg, 2.20 mmol)加入MeOH (20 mL)和HOAc (0.2 mL)混合液中，氮氣保護下，室溫攪拌30分鐘，然後加入$NaBH(OAc)_3$ (465 mg, 2.20 mmol)，繼續室溫攪拌過夜。反應完全，加入飽和$NaHCO_3$水溶液，並用CH_2Cl_2萃取。有機相用飽和食鹽水洗滌，並用無水硫酸鈉乾燥。過濾，濾液濃縮後粗品用柱層析分離得到4-((苯甲基氨基)甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (300 mg，收率：100%)。MS m/z (ESI): 274.2 $[M+H]^+$。

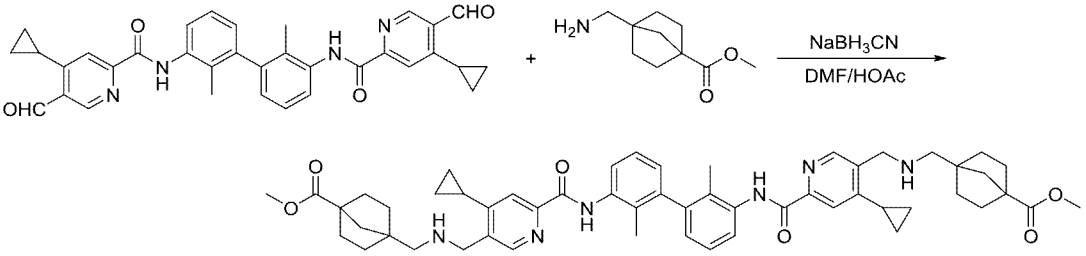
【0115】 第四步：**4-(氨基甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0116】 將4-((苯甲基氨基)甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (300 mg, 1.10 mmol)和10% Pd/C (50 mg)置於甲醇 (30 mL)中，常壓氫氣氛圍下，室溫攪拌過夜。反應液過濾，濾液濃縮後得

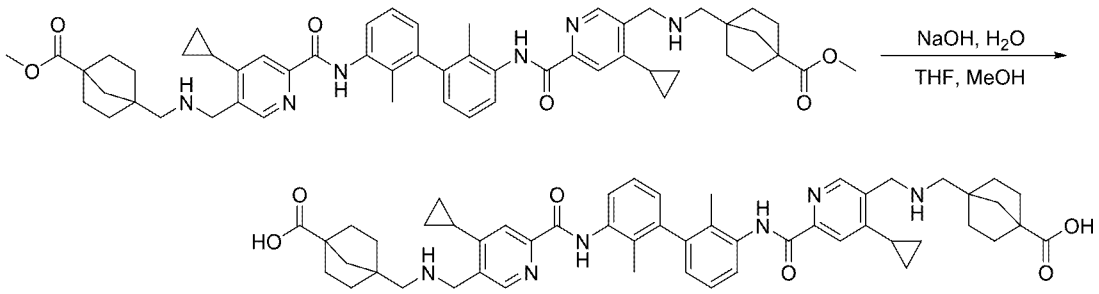
到4-(氨基甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (194 mg，收率：96.5%)。MS m/z (ESI): 184.1 $[M+H]^+$。

【0117】 第五步：甲基 **4-({[(4-環丙基-6-{[3-(3-{4-環丙基-5-[({[4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-基]甲基}氨基)甲基]吡啶-2-醯氨基}-2-甲基苯基)-2-甲基苯基]氨基甲醯}吡啶-3-基)甲基]氨基}甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯的合成**



【0118】 將*N*,*N*'-(2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(4-環丙基-5-甲醯基吡啶甲醯胺) (115 mg, 0.206 mmol)和4-(氨基甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (189 mg, 1.03 mmol)置於DMF (3 mL)和HOAc (0.75 mL)混合液中，氮氣保護下，室溫攪拌1小時，然後加入$NaBH_3CN$ (65 mg, 1.03 mmol)，繼續室溫攪拌過夜。反應完全，反應混合物用反向柱層析分離得到甲基4-({[(4-環丙基-6-{[3-(3-{4-環丙基-5-[({[4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-基]甲基}氨基)甲基]吡啶-2-醯氨基}-2-甲基苯基)-2-甲基苯基]氨基甲醯}吡啶-3-基)甲基]氨基}甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯 (124 mg，收率：67.5%)。MS m/z (ESI): 893.5 $[M+H]^+$。

【0119】 第六步：**4,4'-((((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(亞甲基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)的合成**

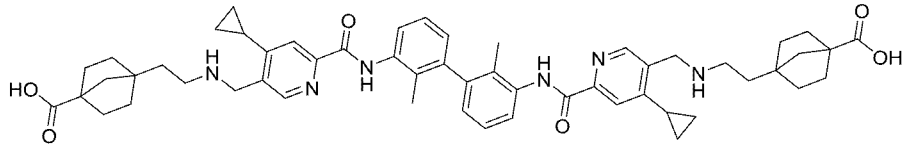


【0120】 將甲基 4-({[(4-環丙基-6-{[3-(3-{4-環丙基-5-[({[4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-基]甲基}氨基)甲基]吡啶-2-醯氨基}-2-甲基苯基)-2-甲基苯基]氨基甲醯}吡啶-3-基)甲基]氨基}甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯 (124 mg, 0.139 mmol)置於MeOH (3 mL)，THF (3 mL)和水 (1.5 mL)混合液中，加入NaOH (83 mg, 2.08 mmol)，氮氣保護下，加熱50度攪拌1小時。反應完全，反應液用甲酸調至pH~6，反應液濃縮，粗品用反向柱層析分離得到4,4'-((((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(亞甲基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)甲酸鹽 (45.5 mg，收率：34.1%)。MS m/z (ESI): 865.5 $[M+H]^+$。

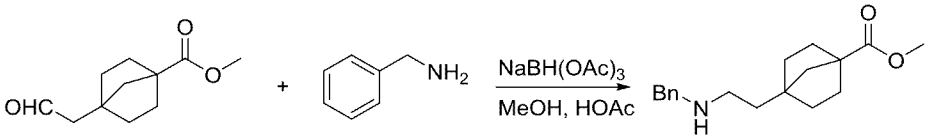
【0121】 ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.30 (s, 2H), 8.57 (s, 2H), 7.88 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.60 (s, 2H), 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 6.98 (m, 2H), 3.98 (s, 4H), 2.67 (s, 4H), 2.28 (m, 2H), 2.01 (m, 6H), 1.90 – 1.82 (m, 4H), 1.65 – 1.58 (m, 4H), 1.54 (t, J = 10.3 Hz, 4H), 1.45 (m, 4H), 1.32 (m, 4H), 1.15 – 1.09 (m, 4H), 0.88 – 0.82 (m, 4H).

【0122】 **實施例5：4-((((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.1]庚基-1-基)乙基)氨基甲基)-4-環丙基甲基吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基**

-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)乙基)二環[2.2.1]庚基-1-羧酸的製備

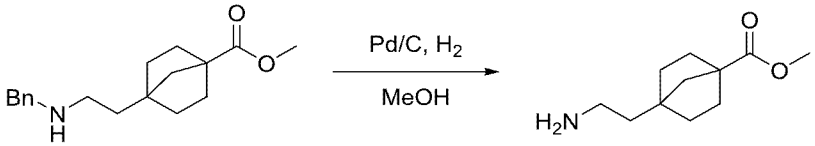


【0123】 第一步：**4-(2-(苯甲基氨基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0124】 將4-(2-羰基乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (350 mg, 1.78 mmol)和苄胺(382 mg, 3.57 mmol)置於MeOH(20 mL)和HOAc(0.2 mL)混合液中，氮氣保護下，室溫攪拌30分鐘，然後加入$NaBH(OAc)_3$ (756 mg, 3.57 mmol)，繼續室溫攪拌過夜。反應完全，加入飽和$NaHCO_3$水溶液，並用CH_2Cl_2萃取。有機相用用飽和食鹽水洗滌，並用無水硫酸鈉乾燥。過濾，濾液濃縮後用柱層析分離得到4-(2-(苯甲基氨基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (425 mg，收率：82.9%)。MS m/z (ESI): 288.2 $[M+H]^+$。

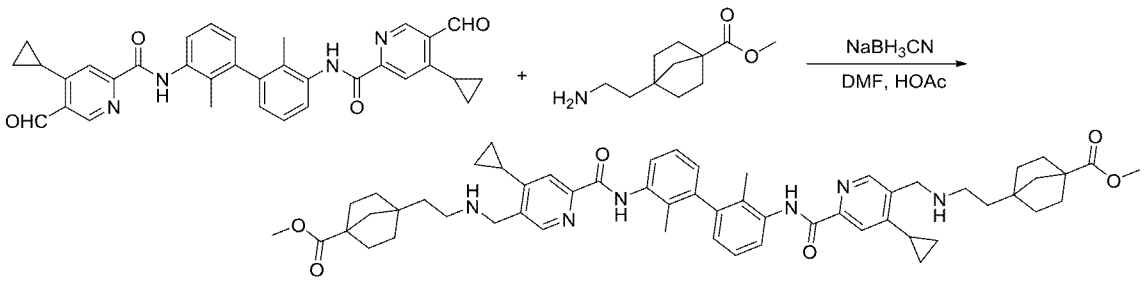
【0125】 第二步：**4-(2-氨基乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0126】 將4-(2-(苯甲基氨基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (425 mg, 1.48 mmol)和10% Pd/C (50 mg)置於甲醇 (30 mL)中，常壓氫氣氛圍下，室溫攪拌過夜。反應完全，過濾，濾液

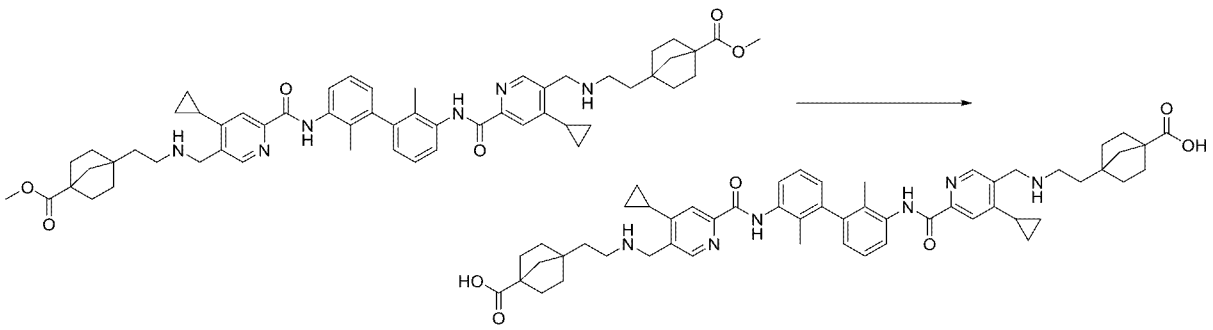
濃縮後得到4-(2-氨基乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (246 mg， 收率：84.3%)。MS m/z (ESI): 198.1 $[M+H]^+$。

【0127】 第三步：二甲基 **4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(乙基-2,1-二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯)**的合成



【0128】 將*N*,*N*'-(2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(4-環丙基-5-甲醯基吡啶甲醯胺) (110 mg, 0.197 mmol)和4-(2-氨基乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (233 mg, 1.18 mmol)置於DMF (3 mL)和HOAc (0.75 mL) 混合液中，氮氣保護下，室溫攪拌1小時，然後加入$NaBH_3CN$ (74 mg, 1.18 mmol)，繼續室溫攪拌過夜。反應完全，反應混合物用反向柱層析分離得到二甲基4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(乙基-2,1-二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯) (100 mg，收率：55.1%)。MS m/z (ESI): 921.5 $[M+H]^+$。

【0129】 第四步：**4-((((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.1]庚基-1-基)乙基)氨基甲基)-4-環丙基甲基吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)乙基)二環[2.2.1]庚基-1-羧酸**的合成



【0130】 將二甲基 4,4'-((((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(乙基-2,1-二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯) (100 mg, 0.108 mmol)置於甲醇 (3 mL)，THF (3 mL)和水 (1.5 mL) 混合液中，再加入NaOH (90 mg, 2.25 mmol)，加熱50度攪拌1小時。反應完全，反應液用甲酸調至pH ~6，反應液濃縮後用反向柱層析分離得到4-((((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.1]庚基-1-基)乙基)氨基甲基)-4-環丙基甲基吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)乙基)二環[2.2.1]庚基-1-羧酸 (45.5 mg，收率：34.1%)。MS m/z (ESI): 893.5 $[M+H]^+$。

【0131】 ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.30 (s, 2H), 8.55 (s, 2H), 7.88 (m, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 6.98 (m, 2H), 3.96 (s, 4H), 2.63 (t, J = 7.8 Hz, 4H), 2.29 (m, 2H), 2.00 (s, 6H), 1.86 (m, 4H), 1.69 (t, J = 7.8 Hz, 4H), 1.56 – 1.30 (m, 16H), 1.16 – 1.10 (m, 4H), 0.87 – 0.82 (m, 4H).

【0132】 <u>生物學測試評價</u>

【0133】 一、**PD-1/PD-L1 HTRF**結合活性測試

【0134】 本發明實施例化合物對於PD-1/PD-L1蛋白相互作用的影響通過Cisbio的PD-1/PD-L1 binding assay kit來測定(#64ICP01PEG或者64ICP01PEH)，具體實驗方法如下：

1) 在384孔板中加入稀釋好的化合物以及4 μL的Tag1-PD-L1蛋白和4 μL的Tag2-PD-1蛋白；

2) 在室溫孵育15分鐘，再加入5 μL的抗Tag1-Eu3+的抗體和5 μL抗Tag2-XL665的抗體；

3) 室溫孵育2小時或4度孵育過夜之後，Pelkin Elmer的EnVision上讀數。分別讀取665 nm下的讀數和620 nm下的讀數，將二者的比值作為每個孔的讀數；

4) 將化合物處理之後得到每個孔的讀數和DMSO處理的孔的讀數進行比較，得到化合物抑制百分比；

5) 通過非線性回歸分析不同化合物濃度下的抑制百分比來測定本發明實施例化合物的IC_{50}值。具體實驗結果見表1。

【0135】 **二、Jurkat報告基因細胞活性測試**

【0136】 本發明實施例化合物對於表達在細胞表面的PD-1/PD-L1蛋白相互作用的影響以及帶來的T細胞功能的影響通過Jurkat報告基因細胞活性測試來測定。簡言之，就是將NF-κB-luc的報告基因質粒和人體PD-1的質粒轉染到Jurkat細胞中，建立同時穩定表達PD-1和NF-κB-luc報告基因的穩轉細胞株，採用流式細胞術鑒定PD-1的表面表達水平，用OKT-3以及Raiji細胞刺激之後報告基因的反應來鑒定報告基因的表達水平。

【0137】 另外，將人體PD-L1的表達質粒轉染到Raji細胞中得到穩定表達PD-L1的細胞株。然後通過Jurkat/NF-κB-luc/PD-1

細胞和Raji-PD-L1細胞共培養，並用OKT-3刺激，在此基礎上加入化合物，通過報告基因反應的讀數來反映化合物對PD-1/PD-L1相互作用的抑制作用對於T細胞活化訊號通路的增強。具體實驗方法如下：

1) 在白色 96 孔板中(corning, 3610)加入 30 μL 的不同稀釋濃度的化合物或者抗體，再加入 10 μL 的 OKT3(Biolegend, 317326)(OKT3 終濃度為 1 μg/mL)；

2) 每孔加入 20 μL Raji-PD-L1 細胞懸液，每孔 5×10^4 cells，培養箱中孵育 20 分鐘；

3) 每孔加入 20 μL Jurkat/NF-κB-luc/PD-1 細胞懸液，每孔 5×10^4 cells，混勻，6h 後檢測 Bright-glo(Promega, E2620)；

4) 將化合物處理之後得到每個孔的讀數和 DMSO 處理的孔的讀數進行比較，得到化合物作用的活化倍數；

5) 通過非線性回歸分析不同化合物濃度下的活化倍數來測定本發明實施例化合物的 EC_{50} 值。具體實驗結果見表 1：

【0138】 表 1：生物學測試結果

實施例編號	PD-1/PD-L1 HTRF 結合活性 IC_{50}/nM	細胞活性 EC_{50}/nM
1	2.56	135
2	3.67	151
3	4.62	1383
4	1.46	247
5	4.19	163

【0139】 從具體實施例化合物生物活性數據來看，本發明系列化合物對PD-1/PD-L1的蛋白相互作用具有很強的抑制作用，而且這種抑制作用在細胞水平上能增強或恢復T細胞的活化。

【0140】 三、藥代動力學評價(利用Caco-2細胞系評價候選藥物的透膜性和腸道吸收潛力)

【0141】 本試驗採用Caco-2細胞為人結腸癌細胞，在適當的培養條件下，Caco-2細胞可以形成具有許多特性的分化單層細胞，例如緊密連接，微絨毛和刷狀緣酶的表達等，與正常腸上皮相似。化合物在Caco-2細胞模型上的滲透性與人體內吸收密切相關，Caco-2細胞模型已被廣泛地應用於評估化合物在腸道滲透性和主動轉運過程。本試驗採用Caco-2細胞模型評價本發明實施例化合物以及對比化合物的滲透性和外排比(Efflux ratio)。具體方法如下：

1） Caco-2 細胞培養液為含 10%滅活胎牛血清和 1%非必須氨基酸的改良 Eagle's 培養基（MEM）。細胞接種於聚碳酸脂濾膜並置於 37°C，5% CO_2 培養箱中培養。

2） 細胞接種後培養 21~28 天可用於轉運實驗，並通過路西法黃的表觀滲透係數（P_{app}）來表徵和驗證細胞單層的緻密性。

3） 實驗中將化合物溶解於 DMSO 中製備 10 mM 的儲備液，本試驗用於評價滲透性的參照化合物使用美托洛爾，阿替洛爾和紅黴素，分別作為高滲透性和低滲透性的陽性化合物以及 P-gp 的陽性底物。根據本試驗方法獲得的參照化合物測定的表觀滲透係數如下：

參照化合物	P_{app} (10^{-6} cm·s^{-1})		P_{app}(B-A)/ P_{app}(A-B)	滲透性評價
	A-B	B-A		
美托洛爾	24.70	31.13	1.26	高滲透性
阿替洛爾	0.42	0.57	1.37	低滲透性
紅黴素	0.20	21.65	107.3	高外排比

【0142】 使用含有25 mM HEPES（pH 7.4）的漢克斯平衡鹽溶液（HBSS，Invitrogen）進行稀釋得到工作液。受試化合物的檢測濃度為10 μM。此研究為頂膜側到基底側（A-B）和基底側到頂膜側（B-A）的雙向滲透實驗，需在37°C孵育90分鐘。孵育結束後，經緩衝液稀釋的樣品用LC-MS/MS進行檢測。化合物的濃度用標準曲線進行定量。

4）表觀滲透係數 P_{app} 值（cm/s）：

$$P_{app} = (VA / (Area \times time)) \times ([drug]accepter /(([drug]initial, donor) \times Dilution\ Factor)$$

【0143】 其中“VA”是指受體孔中的體積，“Area”是指膜的表面積，“time”是以秒為單位的總轉運時間。

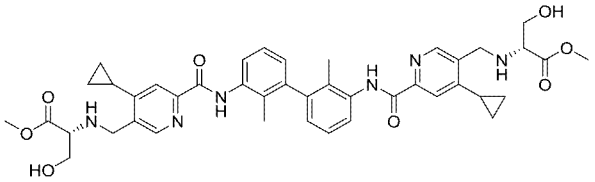
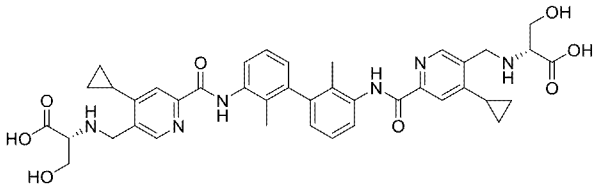
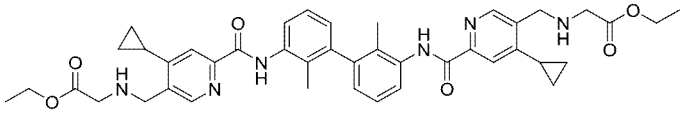
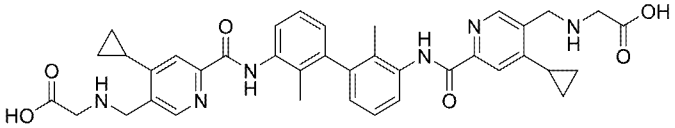
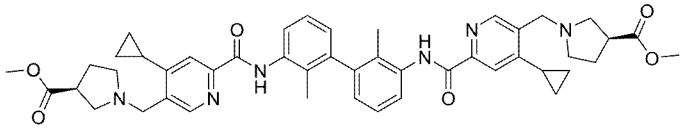
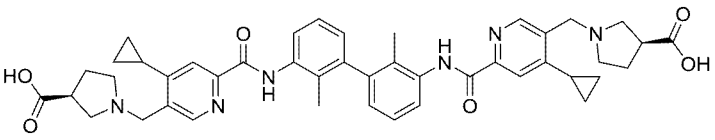
5）根據上述計算公式測得相應化合物表觀透膜系數值 P_{app} 以及外排比 ER=P_{app}(B-A)/ P_{app}(A-B)，結果如表 2：

【0144】 **表2：Caco-2透膜性測試試驗結果**

實施例編號	P_{app} (10^{-6} cm·s^{-1})		P_{app}(B-A)/ P_{app}(A-B)
	A-B	B-A	
1	2.46	16.53	6.75
4	9.79	21.68	2.21
5	2.45	15.68	6.40
對比化合物 **1**	<2.28*	<1.85*	/
對比化合物 **2**	0.67	0.36	0.53
對比化合物 **3**	N/A	N/A	/
對比化合物 **4**	<0.24*	0.98	/
對比化合物 **5**	<1.79	<0.65	/
對比化合物 **6**	0.34	5.51	16.26

【0145】 $^{*}P_{app}$值表示為“<”某數值時表示該數值是採用接收器側最小標準濃度計算得到，取決於接收器側真實濃度定量限。“N/A”表示未檢測到。

【0146】 表3：對比化合物結構

對比化合物		結構式
1	WO2019149183 實施例 104	
2	WO2019149183 實施例 105	
3	WO2019149183 實施例 121	
4	WO2019149183 實施例 122	
5	WO2019149183 實施例 133	
6	WO2019149183 實施例 134	

【0147】 表2透膜性試驗數據表明本發明實施例化合物通過化合物兩側末端連接基團的修飾，A-B端透膜性有了顯著的提高，而對比化合物2、4、6同樣是對稱的二酸結構，但是A-B都非常低，透膜性很差。另外，發明人進一步通過小鼠體內藥代動力學實驗發現這類化合物直接口服幾乎沒有吸收，只能通過前藥(對比化合物

1、3、5)的方式進行口服給藥，與本發明實施例化合物存在代謝途徑存在差別。

【0148】 四、小鼠和大鼠體內藥代動力學評價

【0149】 **1.** 研究目的

【0150】 本試驗目的為研究本發明部分化合物的藥代動力學行為，給藥方式分別為：ICR小鼠或大鼠經單次口服(PO)或靜脈注射給藥(IV)。

【0151】 **2.** 試驗方案

【0152】 **2.1**試驗藥品

【0153】 本試驗用化合物來自本發明具體實施例化合物以及所列對比化合物。

【0154】 **2.2**試驗動物

【0155】 ICR小鼠 雄性 N=9 原始來源：上海西普爾-必凱實驗動物有限公司。

【0156】 ICR大鼠 雄性 N=3 原始來源：上海西普爾-必凱實驗動物有限公司。

【0157】 **2.3**藥物配製與給藥

【0158】 稱取化合物分別溶於相應的溶媒中，搖勻、超聲，配成無色澄清溶液。9隻小鼠和3隻大鼠，禁食一夜後口服。小鼠給藥劑量為10 mg/kg(或IV 2 mg/kg)，大鼠給藥劑量為5 mg/kg(或IV 1 mg/kg)。

【0159】 **2.4**樣品採集

【0160】 約90 μL /時間點經頜下靜脈取血，肝素鈉抗凝，採集後放置冰上，並於1小時之內離心分離血漿(離心條件：8000轉/分

鐘，6分鐘，2-8度)。採血時間點為0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24小時。樣品放於負20度冰箱保存。

【0161】 血漿樣品40 μL，加入160 μL含有內標的冰冷乙腈，渦旋3分鐘，11000轉/分鐘離心5分鐘。取上清液100 μL加入到100 μL水中，取5 μL進樣到LC/MS/MS進行分析。對比化合物1、3、5同時分析前藥化合物和相應的原型化合物2、4、6，具體分析結果見表4。

【0162】 **2.5**測試結果

【0163】 表**4**：測試化合物的小鼠暴露量以及口服利用度

實施例編號	給藥劑量	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (hr*ng/mL)	口服利用度(F%)
實施例 **1**	PO (10 mpk)	1912.1	8786.2	19.5%
	IV (2 mpk)	4003.3	8995.8	/
實施例 **4**	PO (10 mpk)	4546.7	17564.0	57.5%
	IV (2 mpk)	3523.3	6109.2	/
實施例 **5**	PO (10 mpk)	2983.3	14569.9	134%
	IV (2 mpk)	1040.3	2169.4	/
對比化合物 **1**	PO (10 mpk)	0	0	0%
	檢測對比化合物 2	1813.3	3968	33.7%
對比化合物 **2**	PO (10 mpk)	0	0	0%
	IV (2 mpk)	5640.0	2355	/
對比化合物 **3**	PO (10 mpk)	0	0	0%
	檢測對比化合物 4	412.3	592	/
對比化合物 **5**	PO (10 mpk)	30.4	/	/
	檢測對比化合物 6	437.7	866	/
對比化合物 **6**	PO (10 mpk)	46.2	147	/

【0164】 實驗表明本發明實施例化合物與對比化合物相比，口服暴露量有了顯著的提高，具有很好的口服利用度，能夠很好的支持下一步口服給藥的開發。

【0165】 表5：測試化合物的大鼠暴露量以及口服利用度

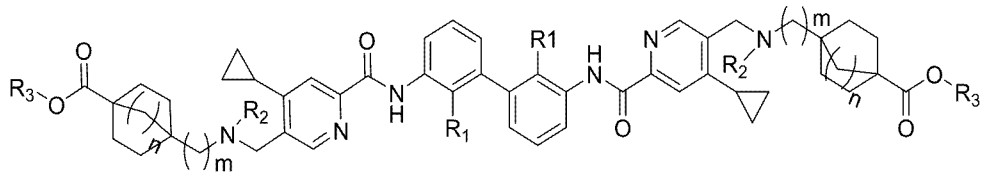
實施例編號	給藥劑量	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (hr*ng/mL)	口服利用度(F%)
實施例 1	PO (5 mpk)	426.0	2222.6	18.9%
	IV (1 mpk)	3537	2351	/
實施例 4	PO (5 mpk)	1980	4836	44%
	IV (1 mpk)	1863	2197	/
實施例 5	PO (5 mpk)	492	1607	15.9%
	IV (1 mpk)	1883	2023	/
對比化合物 1	PO (5 mpk)	0	0	0%
	檢測對比化合物 2	266	629	1.6%
對比化合物 2	PO	/	/	/
	IV (1 mpk)	13167	7642	/

【0166】 實驗表明本發明實施例化合物與對比化合物相比，口服暴露量有了顯著的提高，具有很好的口服利用度，能夠很好的支持下一步口服給藥的開發。

【0167】 在本發明提及的所有文獻都在本申請中引用作為參考，就如同每一篇文獻被單獨引用作為參考那樣。此外應理解，在閱讀了本發明的上述講授內容之後，本領域技術人員可以對本發明作各種改動或修改，這些等價形式同樣落於本申請所附申請專利範圍所限定的範圍。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】　式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽：



(I)

其中，兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基，所述C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基、羥基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和羥基，所述C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基、羥基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-10}烷基、C_{3-10}環烷基和3-10元雜環基，所述C_{1-10}烷基、C_{3-10}環烷基和3-10元雜環基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基、3-6元雜環基、C_{6-10}芳基、5-8元雜芳基、C_{3-6}環烷氧基、3-6元雜環氧基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

兩個m相同或不相同，且各自獨立地為0、1、2、3或4；

兩個n相同或不相同，且各自獨立地為0、1、2、3或4。

【請求項2】 根據請求項1所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基取代C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基；

優選的，兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、氟、氯、氰基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基和環丙基。

【請求項3】 根據請求項1所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和羥基；

優選的，兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基和羥基。

【請求項4】 根據請求項1所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和3-6元雜環基，所述C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和3-6元雜環基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基、3-6元雜環基、C_{3-6}環烷氧基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

優選的，兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、環丙基、環丁基、環戊基、氧雜環丁基和氮雜環丁基，所述甲基、乙基、異丙基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基、氮雜環丁基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基、氮雜環丁基、環丙基氧基、環丁氧基、甲氧基、乙氧基和異丙氧基的取代基所取代；

更優選的，兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基和氮雜環丁基。

【請求項5】 根據請求項1所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，兩個R_1相同，且選自氫、氘、氟、氯、氰基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基和環丙基；

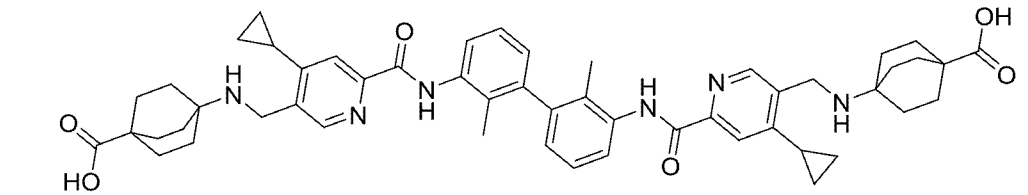
兩個R_2相同，且選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基和羥基；

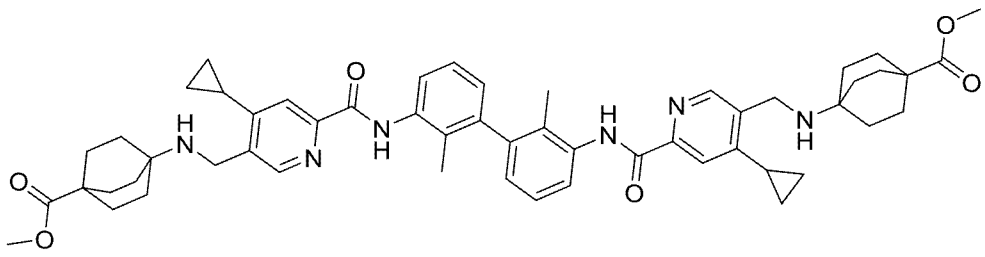
兩個R_3相同，且選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基和氮雜環丁基；

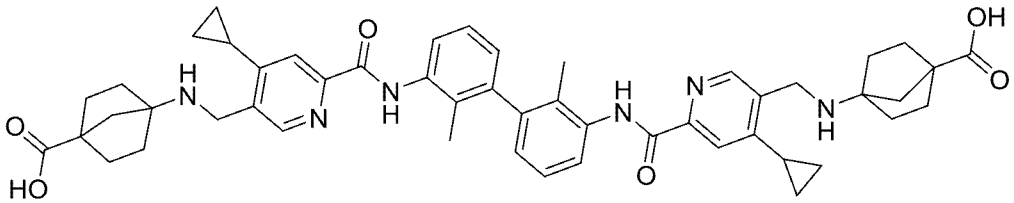
兩個m相同，且為0、1或2；

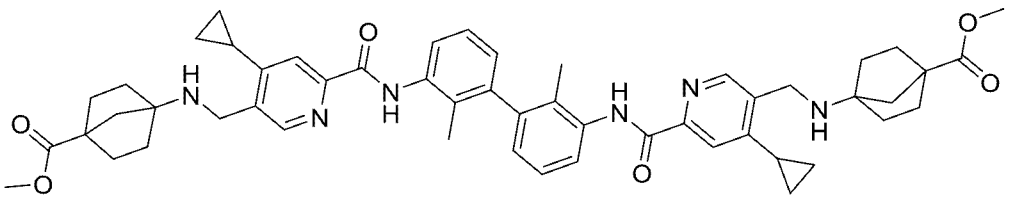
兩個n相同，且為1或2。

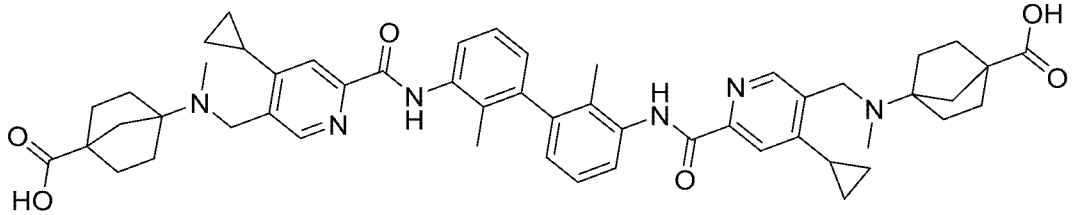
【請求項6】 根據請求項1所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，選自如下化合物：

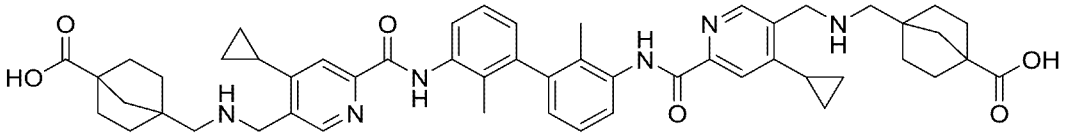


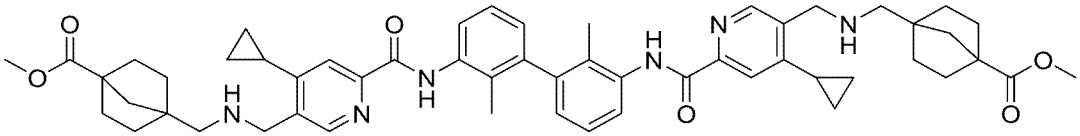


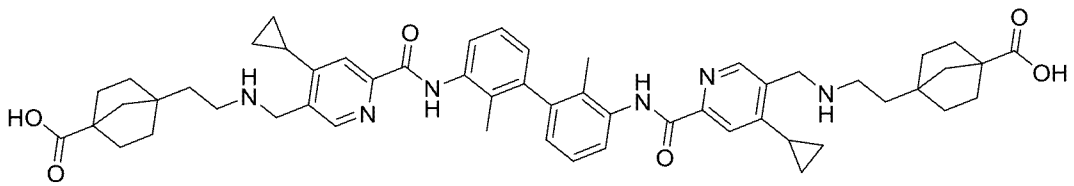




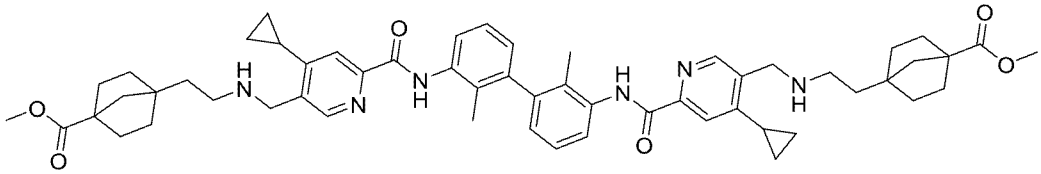








或



。

【請求項7】　一種藥物組合物，其包括如請求項1-6中任一項所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽及可藥用的載體。

【請求項8】　一種如請求項1-6中任一項所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽在製備治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的有關疾病藥物中的應用。

【請求項9】　根據請求項8所述的應用，其特徵在於，所述的由PD-1/PD-L1訊號通路介導的有關疾病選自癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病。

【請求項10】　根據請求項9所述的應用，其特徵在於，所述癌症或腫瘤選自淋巴瘤(包括但不限於淋巴細胞性淋巴瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、T細胞淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡中心淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或原發性縱隔大B細胞淋巴瘤)、肉瘤(包括但不限於卡波西肉瘤、纖維肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、骨肉瘤、平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、軟組織肉瘤、血管肉瘤或淋巴管肉瘤)、黑色素瘤、膠質母細胞瘤、滑膜瘤、腦膜瘤、膽道腫瘤、胸腺腫瘤、神經腫瘤、精原細胞瘤、腎母細胞瘤、多形性腺瘤、肝細胞乳頭狀瘤、腎小管腺瘤、囊腺瘤、乳頭瘤、腺瘤、平滑肌瘤、橫紋肌瘤、血管瘤、淋巴管瘤、骨瘤、軟骨瘤、脂肪瘤、纖維瘤、中樞神經系統腫瘤、脊柱軸瘤、腦幹膠質瘤、垂體腺瘤、多發性骨髓瘤、卵巢腫瘤、骨髓增生異常綜合症或間皮瘤，前列腺癌、復發或已

對現有藥物產生抗性的前列腺癌、甲狀腺癌、甲狀旁腺癌、肛門癌、睾丸癌、尿道癌、陰莖癌、膀胱癌、輸尿管癌、子宮癌、卵巢癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、外陰癌、腎上腺癌、默克爾細胞癌、胚胎癌、慢性或急性白血病(包括但不限於急性髓系白血病、慢性髓系白血病、急性淋巴細胞白血病、慢性粒細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病)、支氣管癌、食管癌、鼻咽癌、肝細胞癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、基底細胞癌、肺癌、乳腺癌、腺癌、乳頭狀癌、囊腺癌、鱗狀非小細胞肺癌、非鱗狀非小細胞肺癌、直腸癌、結腸癌、結直腸癌、胃癌、胰腺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、頭頸部癌、胃腸道、骨癌、皮膚癌、小腸癌、內分泌系統癌、腎盂癌、表皮樣癌、腹壁癌、腎細胞癌、移行細胞癌或絨毛膜癌，以及轉移性的腫瘤；

所述的免疫相關疾病及紊亂選自風濕性關節炎、腎衰竭、紅斑狼瘡、哮喘、牛皮癬、潰瘍性結腸炎、胰腺炎、過敏、纖維化、貧血纖維肌痛症、阿爾茨海默病、充血性心力衰竭、中風、主動脈瓣狹窄、動脈硬化、骨質疏鬆症、帕金森病、感染、克隆氏病、潰瘍性結腸炎、過敏性接觸性皮炎和濕疹、系統性硬化症和多發性硬化症；

所述感染性疾病選自細菌性傳染病、病毒性傳染病或真菌性傳染病；

所述傳染性疾病或感染性疾病選自膿毒症、肝臟感染、HIV、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、D型肝炎、皰疹病毒、乳頭瘤病毒或流感；

所述代謝性疾病選自糖尿病、糖尿病酮症酸中毒、高血糖高滲綜合症、低血糖症、痛風、營養不良症、維生素A缺乏病、壞血病、維生素D缺乏病或骨質疏鬆症。

【請求項11】 根據請求項1-6中任一項所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其用作治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病的藥物。

【發明說明書】

【中文發明名稱】一種全對稱聯苯基衍生物及其製備方法和應用

【技術領域】

【0001】 本發明屬於藥物合成領域，具體涉及一種全對稱聯苯基衍生物及其製備方法和應用。

【先前技術】

【0002】 免疫系統在控制和清除如癌症之類的疾病中扮演著非常重要的角色。然而腫瘤細胞常常能夠發展出逃逸或抑制免疫系統的監控的策略來促進自己的惡性生長。其中一個很重要的機制就是改變免疫細胞上共刺激和共抑制的免疫檢查點分子的表達。阻斷免疫檢查點分子比如PD-1的訊號通路，已經被證明是非常有希望而有效的治療手段。

【0003】 程序性細胞死亡分子1(PD-1)，又被稱為CD279，是表達在活化T細胞，自然殺傷T細胞，B細胞以及巨噬細胞表面的一種受體分子，它的結構包含了一個胞外的免疫球蛋白可變區類似的結構域，一個跨膜區域和一個胞內區域，其中胞內區域包含著兩個磷酸化位點，位於基於免疫受體酪氨酸激酶的抑制域和基於免疫受體酪氨酸激酶的轉換域，提示PD-1能負向調節T細胞受體介導的訊號通路。

【0004】 PD-1有兩個配體，PD-L1和PD-L2，它們在表達譜上有所不同。PD-L1蛋白在巨噬細胞和樹突狀細胞中在脂多糖(LPS)和粒細胞－巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)處理之後會上調，在T細胞和B細胞經過T細胞受體和B細胞受體訊號通路的刺激之後也

會有上調。它還在幾乎所有的腫瘤細胞中有高表達，並且在干擾素(IFN)gamma刺激之後會有表達的上調，實際上，腫瘤PD-L1的表達狀態被認為在多種腫瘤種類中具有預後的相關性PD-L2的表達，相反地，是較為集中的，主要表達在樹突狀細胞上。

【0005】 當PD-1表達的T細胞和其配體表達的細胞接觸之後，那些抗原刺激之後的功能性活動，比如細胞增殖，細胞因子釋放以及細胞裂解活性都被抑制了。因此，PD-1和其配體的相互作用在功能上作為內在的負反饋調節機制能使人們在感染，免疫耐受或者腫瘤發生時來防止T細胞的過度活化，從而降低自身免疫疾病，促進自身免疫耐受。長期的抗原刺激，比如在腫瘤或者長期感染中發生的，會造成T細胞表達高水平的PD-1，並且在對這些長期抗原的反應中缺乏活性，沒有功能，也就是人們說的T細胞功能耗竭。B細胞也有PD-1及其配體帶來的抑制作用以及相應的功能衰竭。

【0006】 一些來自臨床前動物研究的證據表明PD-1和其配體能負向調節免疫反應。PD-1缺陷的小鼠會產生紅斑狼瘡樣的急性增生性腎小球腎炎以及擴張性心肌病。利用PD-L1的抗體來阻斷PD-1/PD-L1的相互作用已經在很多系統中顯示出恢復和增強T細胞活化的功能。PD-L1的單株抗體也能為晚期癌症病人帶來福利。一些臨床前的動物腫瘤模型也顯示通過單株抗體阻斷PD-1/PD-L1的訊號通路能增強免疫反應，並導致對一系列組織學上有顯著不同的腫瘤的免疫反應，利用長期感染的LCMV模型，PD-1/PD-L1的相互作用已被發現能抑制病毒特異性的CD8 T細胞的活化，擴增和效應細胞功能的獲取。除了能增強對於長期抗原

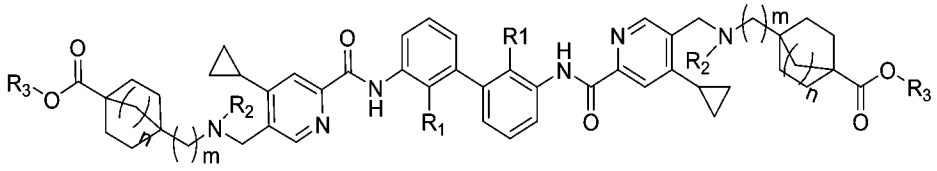
的免疫反應之外，阻斷PD-1/PD-L1通路還被發現能增強對於疫苗的反應，包括在長期感染環境下，對於治療性疫苗的反應。

【0007】 綜上所述，除了已有的單株抗體之外，如果能開發阻斷PD-1/PD-L1蛋白與蛋白相互作用的化合物，將可以作為一種可以阻斷PD-1/PD-L1介導的抑制訊號通路的有效治療手段來增強或者復原T細胞的功能。因此，靶向阻斷PD-1/PD-L1相互作用的化合物將會在多種癌症的免疫治療以及其他和免疫相關的疾病中具有很好的療效。

【發明內容】

【0008】 本發明的目的在於提供一種整體上全對稱聯苯基衍生物及其製備方法和應用，從而有望開發出新一代PD-1/PD-L1抑制劑。

【0009】 本發明第一方面提供一種式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽：



(I)

【0010】 其中，兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基，所述C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基、羥基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

【0011】 兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和羥基，所述C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基、羥基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

【0012】 兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-10}烷基、C_{3-10}環烷基和3-10元雜環基，所述C_{1-10}烷基、C_{3-10}環烷基和3-10元雜環基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基、3-6元雜環基、C_{6-10}芳基、5-8元雜芳基、C_{3-6}環烷氧基、3-6元雜環氧基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

【0013】 兩個m相同或不相同，且各自獨立地為0、1、2、3或4；

【0014】 兩個n相同或不相同，且各自獨立地為0、1、2、3或4。

【0015】 作為優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基取代C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基。

【0016】 作為進一步優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、氟、氯、氰基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基和環丙基。

【0017】 作為優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和羥基。

【0018】 作為進一步優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基和羥基。

【0019】 作為優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和3-6元雜環基，所述C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和3-6元雜環基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基、3-6元雜環基、C_{3-6}環烷氧基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代。

【0020】 作為進一步優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、環丙基、環丁基、環戊基、氧雜環丁基和氮雜環丁基，所述甲基、乙基、異丙基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基、氮雜環丁基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基、氮雜環丁基、環丙基氧基、環丁氧基、甲氧基、乙氧基和異丙氧基的取代基所取代。

【0021】 作為更進一步優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基和氮雜環丁基。

【0022】 作為更進一步優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽中兩個R_1相同，且選自氫、氘、氟、氯、氰基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基和環丙基；

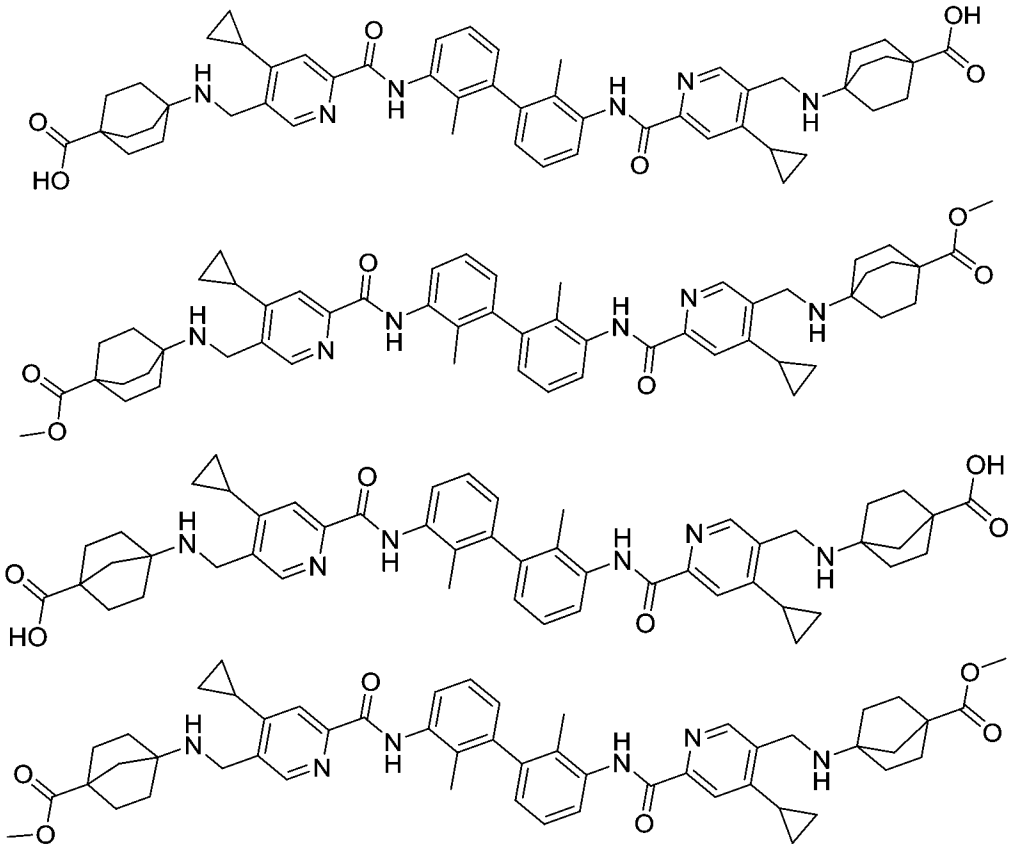
【0023】 兩個R_2相同，且選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基和羥基；

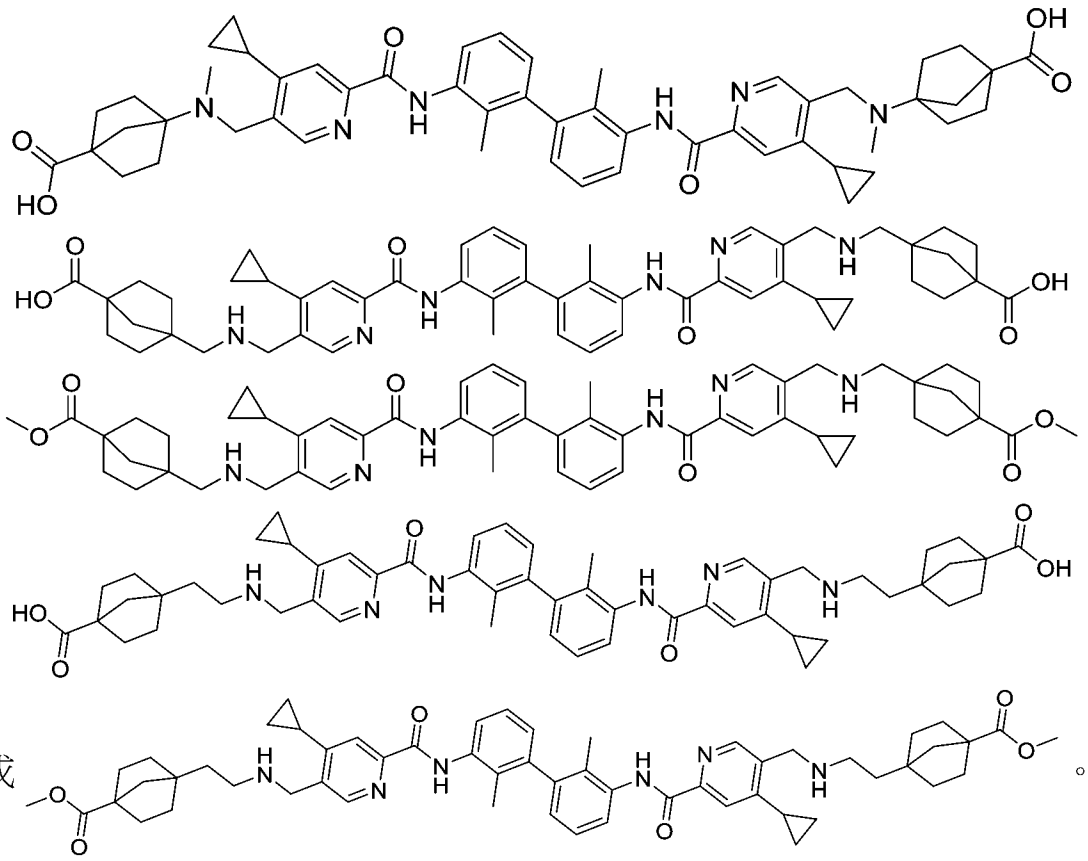
【0024】 兩個R_3相同，且選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基和氮雜環丁基；

【0025】 兩個m相同，且為0、1或2；

【0026】 兩個n相同，且為1或2。

【0027】 作為最優選的方案，所述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽包括但不限於如下化合物：





或

。

【0028】 本發明第二方面提供一種藥物組合物，其包括前述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽及可藥用的載體。

【0029】 本發明第三方面提供一種前述式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽在製備治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的有關疾病藥物中的應用。

【0030】 作為優選的方案，所述的由PD-1/PD-L1訊號通路介導的有關疾病選自癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病。

【0031】 作為進一步優選的方案，所述癌症或腫瘤選自淋巴瘤(包括但不限於淋巴細胞性淋巴瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、T細胞淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡中心淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或原發性縱隔大B細胞淋巴瘤)、肉瘤(包括但不限於卡波西肉瘤、纖維肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、骨肉瘤、

平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、軟組織肉瘤、血管肉瘤或淋巴管肉瘤)、黑色素瘤、膠質母細胞瘤、滑膜瘤、腦膜瘤、膽道腫瘤、胸腺腫瘤、神經腫瘤、精原細胞瘤、腎母細胞瘤、多形性腺瘤、肝細胞乳頭狀瘤、腎小管腺瘤、囊腺瘤、乳頭瘤、腺瘤、平滑肌瘤、橫紋肌瘤、血管瘤、淋巴管瘤、骨瘤、軟骨瘤、脂肪瘤、纖維瘤、中樞神經系統腫瘤、脊柱軸瘤、腦幹膠質瘤、垂體腺瘤、多發性骨髓瘤、卵巢腫瘤、骨髓增生異常綜合症或間皮瘤，前列腺癌、復發或已對現有藥物產生抗性的前列腺癌、甲狀腺癌、甲狀旁腺癌、肛門癌、睾丸癌、尿道癌、陰莖癌、膀胱癌、輸尿管癌、子宮癌、卵巢癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、外陰癌、腎上腺癌、默克爾細胞癌、胚胎癌、慢性或急性白血病(包括但不限於急性髓系白血病、慢性髓系白血病、急性淋巴細胞白血病、慢性粒細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病)、支氣管癌、食管癌、鼻咽癌、肝細胞癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、基底細胞癌、肺癌、乳腺癌、腺癌、乳頭狀癌、囊腺癌、鱗狀非小細胞肺癌、非鱗狀非小細胞肺癌、直腸癌、結腸癌、結直腸癌、胃癌、胰腺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、頭頸部癌、胃腸道、骨癌、皮膚癌、小腸癌、內分泌系統癌、腎盂癌、表皮樣癌、腹壁癌、腎細胞癌、移行細胞癌或絨毛膜癌，以及轉移性的腫瘤；

【0032】 所述的免疫相關疾病及紊亂選自風濕性關節炎、腎衰竭、紅斑狼瘡、哮喘、牛皮癬、潰瘍性結腸炎、胰腺炎、過敏、纖維化、貧血纖維肌痛症、阿爾茨海默病、充血性心力衰竭、中風、主動脈瓣狹窄、動脈硬化、骨質疏鬆症、帕金森病、感染、克隆氏

病、潰瘍性結腸炎、過敏性接觸性皮炎和濕疹、系統性硬化症和多發性硬化症；

【0033】 所述感染性疾病選自細菌性傳染病、病毒性傳染病或真菌性傳染病；

【0034】 所述傳染性疾病或感染性疾病選自膿毒症、肝臟感染、HIV、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、D型肝炎、皰疹病毒、乳頭瘤病毒或流感；

【0035】 所述代謝性疾病選自糖尿病、糖尿病酮症酸中毒、高血糖高滲綜合症、低血糖症、痛風、營養不良症、維生素A缺乏病、壞血病、維生素D缺乏病或骨質疏鬆症。

【0036】 本發明第四方面提供一種式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其用作治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病的藥物。

【0037】 本發明還涉及提供一種治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病的方法，包括給予有需要的患者臨床有效量的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽。

【實施方式】

【0038】 本申請的發明人經過廣泛而深入地研究，首次研發出一種如通式(I)結構聯苯基系列化合物。本發明系列化合物對PD-1/PD-L1的相互作用具有很強的抑制作用，可廣泛應用於製備預防和/或治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的癌症或腫瘤、免疫相

關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病的藥物，有望開發成新一代PD-1/PD-L1抑制劑。在此基礎上，完成了本發明。

【0039】 詳細說明：除非有相反陳述或特別說明，下列用在說明書和申請專利範圍中的術語具有下述含義。

【0040】 “烷基”指直鏈或含支鏈的飽和脂族烴基團，優選包括1至10個或1至4個碳原子的直鏈烷基和含支鏈烷基，包括但不限於甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第三丁基、第二丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基或其各種支鏈異構體等。“C_{1-10}烷基”指包括1至10個碳原子的直鏈烷基和含支鏈烷基，“C_{1-4}烷基”指包括1至4個碳原子的直鏈烷基和含支鏈烷基。

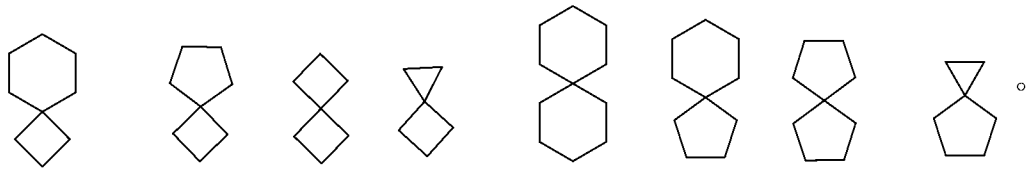
【0041】 烷基可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、

氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

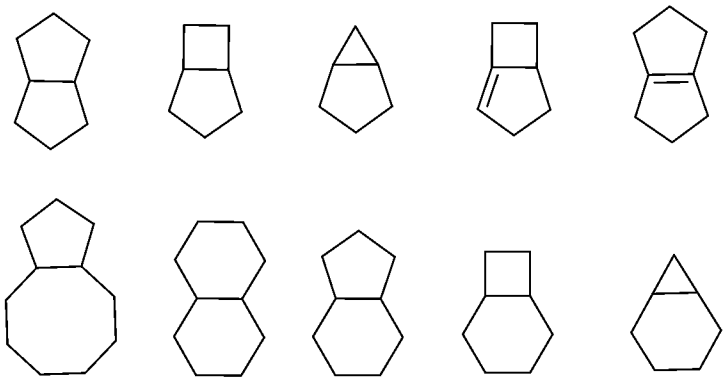
【0042】 “環烷基”或“碳環”指飽和或部分不飽和單環或多環環狀烴取代基，所述部分不飽和環狀烴是指環狀烴可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統，環烷基分為單環環烷基、多環環烷基，優選包括3至10個或3至6個碳原子的環烷基，例如，“C_{3-10}環烷基”指包括3至10個碳原子的環烷基，“C_{3-6}環烷基”指包括3至6個碳原子的環烷基，其中：

【0043】 單環環烷基包括但不限於環丙基、環丁基、環戊基、環戊烯基、環己基、環己烯基、環己二烯基、環庚基、環庚三烯基、環辛基等。

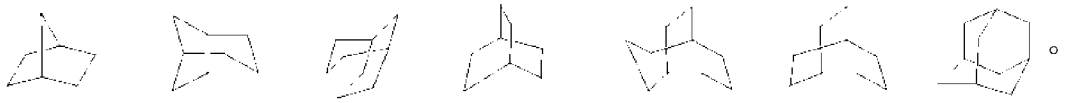
【0044】 多環環烷基包括螺環、稠環和橋環的環烷基。“螺環烷基”指單環之間共用一個碳原子(稱螺原子)的多環基團，這些可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統。根據環與環之間共用螺原子的數目將螺環烷基分為單螺環烷基、雙螺環烷基或多螺環烷基，螺環烷基包括但不限於：



【0045】 “稠環烷基”指系統中的每個環與體系中的其他環共享毗鄰的一對碳原子的全碳多環基團，其中一個或多個環可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統。根據組成環的數目可以分為雙環、三環、四環或多環稠環烷基，稠環烷基包括但不限於：



【0046】 “橋環烷基”指任意兩個環共用兩個不直接連接的碳原子的全碳多環基團，這些可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統。根據組成環的數目可以分為雙環、三環、四環或多環橋環烷基，橋環烷基包括但不限於：



【0047】 所述環烷基環可以稠合於芳基、雜芳基或雜環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為環烷基，包括但不限於茚滿基、四氫萘基、苯并環庚烷基等。

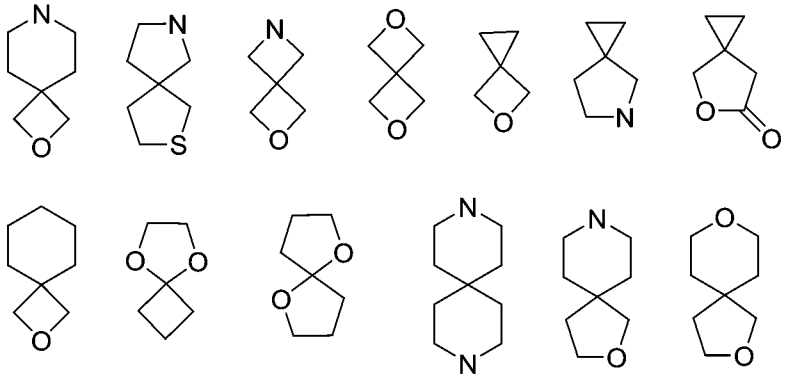
【0048】 “環烷基”或“碳環”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和$-SF_5$。

【0049】 “雜環基”或“雜環”指飽和或部分不飽和單環或多環環狀烴取代基，所述部分不飽和環狀烴是指環狀烴可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統，雜環基中一個或多個(優選1、2、3或4個)環原子選自N、O、

N•O或S(O)$_r$(其中r是整數0、1、2)的雜原子，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-的環部分，其餘環原子為碳。優選包括3至10個或3至6個環原子的雜環基，例如，“3-6元雜環基”指包含3至6個環原子的雜環基，“3-10元雜環基”指包含3至10個環原子的雜環基。

【0050】 單環雜環基包括但不限於吡咯烷基、哌啶基、哌啡基、嗎啉基、硫代嗎啉基、高哌啡基、氧雜環丁烷基、四氫呋喃基等。

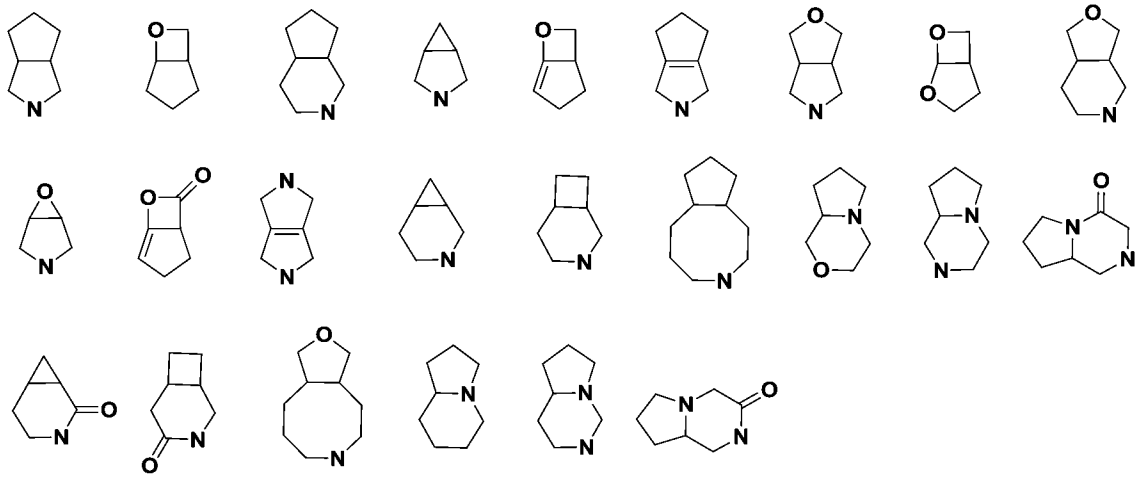
【0051】 多環雜環基包括螺環、稠環和橋環的雜環基。“螺雜環基”指單環之間共用一個原子(稱螺原子)的多環雜環基團，其中一個或多個(優選1、2、3或4個)環原子選自N、O、N•O或S(O)$_r$(其中r是整數0、1、2)的雜原子，其餘環原子為碳。這些可以含有一個或多個雙鍵(優選1、2或3個)，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統。根據環與環之間共用螺原子的數目將螺雜環基分為單螺雜環基、雙螺雜環基或多螺雜環基。螺雜環基包括但不限於：



。

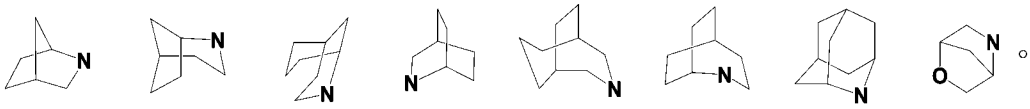
【0052】 “稠雜環基”指系統中的每個環與體系中的其他環共享毗鄰的一對原子的多環雜環基團，一個或多個(優選1、2、3或4個)環可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統，其中一個或多個(優選1、2、3或4個)環原子選自N、O、N•O或S(O)$_r$(其中r是整數0、1、2) 的雜原子，其

餘環原子為碳。根據組成環的數目可以分為雙環、三環、四環或多環稠雜環烷基，稠雜環基包括但不限於：



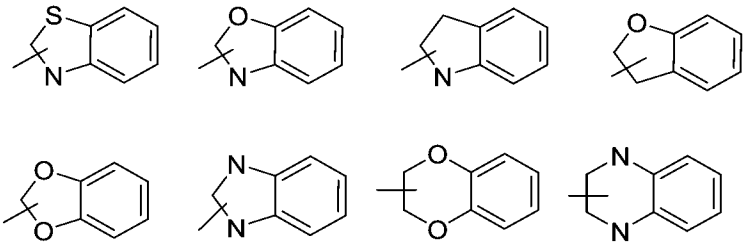
。

【0053】 “橋雜環基”指任意兩個環共用兩個不直接連接的原子的多環雜環基團，這些可以含有一個或多個(優選1、2或3個)雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的π電子系統，其中一個或多個(優選1、2、3或4個)環原子選自N、O、N•O或S(O)$_r$(其中r是整數0、1、2)的雜原子，其餘環原子為碳。根據組成環的數目可以分為雙環、三環、四環或多環橋雜環基，橋雜環基包括但不限於：



。

【0054】 所述雜環基環可以稠合於芳基、雜芳基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為雜環基，包括但不限於：

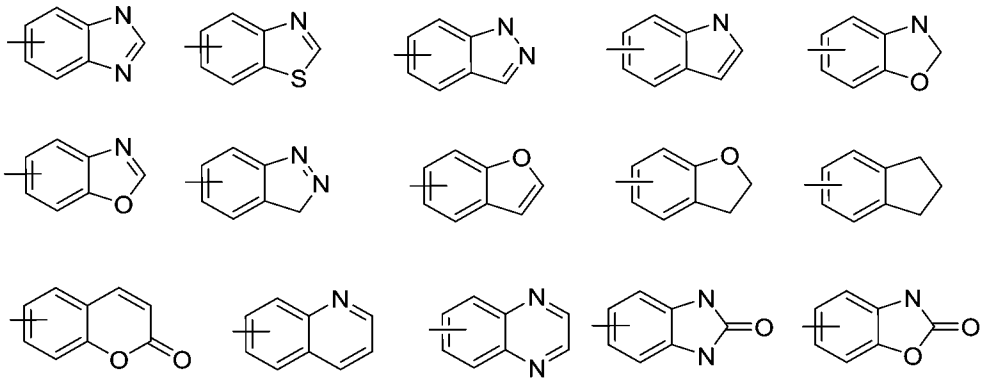


。

【0055】 “雜環基”或“雜環”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代

C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和$-SF_5$。

【0056】 “芳基”或“芳環”指全碳單環或稠合多環(也就是共享毗鄰碳原子對的環)基團，具有共軛的π電子體系的多環(即其帶有相鄰對碳原子的環)基團，優選含有6-10個碳的全碳芳基，例如，“C_{6-10}芳基”指含有6-10個碳的全碳芳基，包括但不限於苯基和萘基。所述芳基環可以稠合於雜芳基、雜環基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為芳基環，包括但不限於：

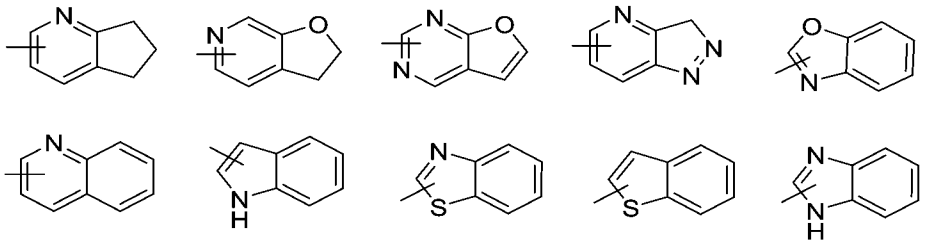


。

【0057】 “芳基”或“芳環”可以是取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和$-SF_5$。

【0058】 “雜芳基”或“雜芳環”指包含一個或多個(優選1、2、3或4個)雜原子的雜芳族體系，所述雜原子包括N、O、N•O和S(O)r(其中r是整數0、1、2)的雜原子，優選含有5-10個或5-8個環原子的雜芳族體系，例如，“5-8元雜芳基”指含有5-8個環原子的雜芳族體系，“5-10元雜芳基”指含有5-10個環原子的雜芳族體系，包括

但不限於呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、*N*-烷基吡咯基、嘧啶基、吡咑基、咪唑基、四唑基等。所述雜芳基環可以稠合於芳基、雜環基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為雜芳基環，包括但不限於：



。

【0059】 “雜芳基”或“雜芳環”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0060】 “鏈烯基”指由至少兩個碳原子和至少一個碳-碳雙鍵組成的如上述定義的烷基，優選含有2-10個碳的直鏈或含支鏈烯基，例如，“C_{2-10}鏈烯基”指含有2-10個碳的直鏈或含支鏈烯基。包括但不限於乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-，2-或3-丁烯基等。

【0061】 “鏈烯基”可以是取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0062】 “鏈炔基”指至少兩個碳原子和至少一個碳-碳三鍵組成的如上所定義的烷基，優選含有2-10個碳的直鏈或含支鏈炔基，

例如，“C_{2-10}鏈炔基”指含有2-10個碳的直鏈或含支鏈炔基。包括但不限於乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-，2-或3-丁炔基等。

【0063】 “鏈炔基”可以是取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0064】 “烷氧基”指-O-烷基，其中烷基的定義如上所述，例如，“C_{1-4}烷氧基”指含1-4個碳的烷基氧基，包括但不限於甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基等。

【0065】 “烷氧基”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基，優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0066】 “環烷氧基”或“環烷基氧基”指-O-環烷基，其中環烷基的定義如上所述，例如，“C_{3-6}環烷氧基”指含3-6個碳的環烷基氧基，包括但不限於環丙氧基、環丁氧基、環戊氧基、環己氧基等。

【0067】 “環烷氧基”或“環烷基氧基”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0068】 “雜環氧基”或“雜環基氧基”指-O-雜環基，其中雜環基的定義如上所述，包括但不限於氮雜環丁基氧基、氧雜環丁基氧基、氮雜環戊基氧基、氮、氧雜環己基氧基等。

【0069】 “雜環氧基”或“雜環基氧基”可以是任選取代的或未取代的，當被取代時，取代基優選為一個或多個(優選1、2、3或4個)以下基團，獨立地選自氘、鹵素、氰基、硝基、疊氮基、C_{1-10}烷基、鹵取代C_{1-10}烷基、氘取代C_{1-10}烷基、C_{2-10}鏈烯基、C_{2-10}鏈炔基、C_{3-10}環烷基、3-10元雜環基、C_{6-10}芳基、5-10元雜芳基、=O、=S和-SF_5。

【0070】 “鹵取代C_{1-4}烷基”指烷基上的氫任選的被氟、氯、溴、碘原子取代的1-4個碳烷基團，包括但不限於二氟甲基、二氯甲基、二溴甲基、三氟甲基、三氯甲基、三溴甲基等。

【0071】 “氘取代C_{1-4}烷基”指烷基上的氫任選的被氘原子取代的1-4個碳烷基團。包括但不限於一氘甲基、二氘甲基、三氘甲基等。

【0072】 “鹵素”指氟、氯、溴或碘，“NaOH”是指氫氧化鈉，“BH_3•Me_2S”是指二甲硫醚硼烷，“MeOH”是指甲醇，“$NaBH_3CN$”是指氰基硼氫化鈉，“HOAc”是指乙酸，“DMF”是指*N*,*N*-二甲基甲醯胺，“THF”是指四氫呋喃，“Dess-Martin試劑”是指戴斯-馬丁試劑。

【0073】 “任選”或“任選地”意味著隨後所描述地事件或環境可以但不必發生，該說明包括該事件或環境發生或不發生地場合，也即包括取代的或未取代的兩種情形。例如，“任選被烷基取代的雜

環基團”意味著烷基可以但不必須存在，該說明包括雜環基團被烷基取代的情形和雜環基團不被烷基取代的情形。

【0074】 “取代的”指基團中的一個或多個“氫原子”彼此獨立地被相應數目的取代基取代。不言而喻，取代基僅處在它們的可能的化學位置，符合化學上的價鍵理論，本領域技術人員能夠在不付出過多努力的情況下確定(通過實驗或理論)可能或不可能的取代。例如，具有游離氫的氨基或羥基與具有不飽和鍵的碳原子(如烯烴)結合時可能是不穩定的。

【0075】 “立體異構體”，其英文名稱為stereoisomer，是指由分子中原子在空間上排列方式不同所產生的異構體，它可分為順反異構體、對映異構體兩種，也可分為對映異構體和非對映異構體兩大類。由於單鍵的旋轉而引起的立體異構體稱為構象異構體(conformational stereo-isomer)，有時也稱為旋轉異構體(rotamer)。因鍵長、鍵角、分子內有雙鍵、有環等原因引起的立體異構體稱為構型異構體(configuration stereo-isomer)，構型異構體又分為兩類。其中因雙鍵或成環碳原子的單鍵不能自由旋轉而引起的異構體成為幾何異構體(geometric isomer)，也稱為順反異構體(cis-trans isomer)，分為Z、E兩種構型。例如：順-2-丁烯和反-2-丁烯是一對幾何異構體，因分子中沒有反軸對稱性而引起的具有不同旋光性能的立體異構體稱為旋光異構體(optical isomer)，分為R、S構型。在本發明中所述“立體異構體”如未特別指明，可理解為包含上述對映異構體、構型異構體和構象異構體中的一種或幾種。

【0076】 “藥學上可接受鹽”在本發明中是指藥學上可接受的酸加成鹽，包括無機酸鹽和有機酸鹽，這些鹽可通過本專業已知的方法製備。

【0077】 “藥物組合物”表示含有一種或多種本文所述化合物或其生理學上/可藥用的鹽或前體藥物與其他化學組分的混合物，以及其他組分例如生理學/可藥用的載體和賦形劑。藥物組合物的目的是促進對生物體的給藥，利於活性成分的吸收進而發揮生物活性。

【0078】 下面結合實施例對本發明做進一步詳細、完整地說明，但決非限制本發明，本發明也並非僅局限於實施例的內容。

【0079】 本發明的化合物結構是通過核磁共振(NMR) 或/和液質聯用色譜(LC-MS)來確定的。NMR化學位移(δ)以百萬分之一(ppm)的單位給出。NMR的測定是用Bruker AVANCE-400/500核磁儀，測定溶劑為氘代二甲基亞碸(DMSO-d_6)，氘代甲醇(CD_3OD)和氘代氯仿($CDCl_3$)，內標為四甲基矽烷(TMS)。

【0080】 液質聯用色譜LC-MS的測定用Agilent 6120質譜儀。HPLC的測定使用安捷倫1200DAD高壓液相色譜儀(Sunfire C18 150 × 4.6 mm色譜柱)和Waters 2695-2996高壓液相色譜儀(Gimini C18 150 × 4.6 mm色譜柱)。

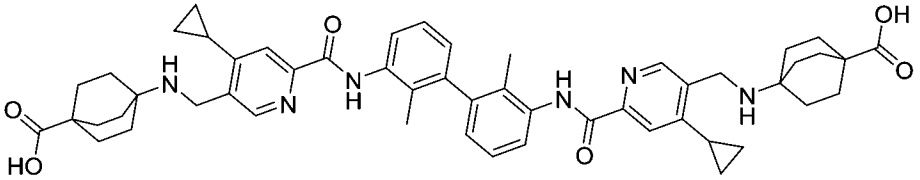
【0081】 薄層層析矽膠板使用煙台黃海HSGF254或青島GF254矽膠板，TLC採用的規格是0.15 mm～0.20 mm，薄層層析分離純化產品採用的規格是0.4 mm～0.5 mm。柱層析一般使用煙台黃海矽膠200～300目矽膠為載體。

【0082】 本發明實施例中的起始原料是已知的並且可以在市場上買到，或者可以採用或按照本領域已知的方法來合成。

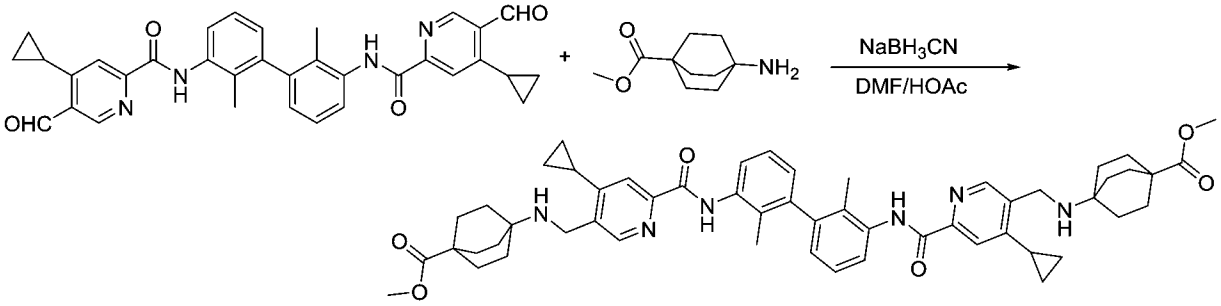
【0083】 在無特殊說明的情況下，本發明的所有反應均在連續的磁力攪拌下，在乾燥氮氣或氬氣氛下進行，溶劑為乾燥溶劑，反應溫度單位為攝氏度(℃)。

【0084】 **具體實施例化合物製備**

【0085】 **實施例1：4-(((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)-4-環丙基吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸的製備**



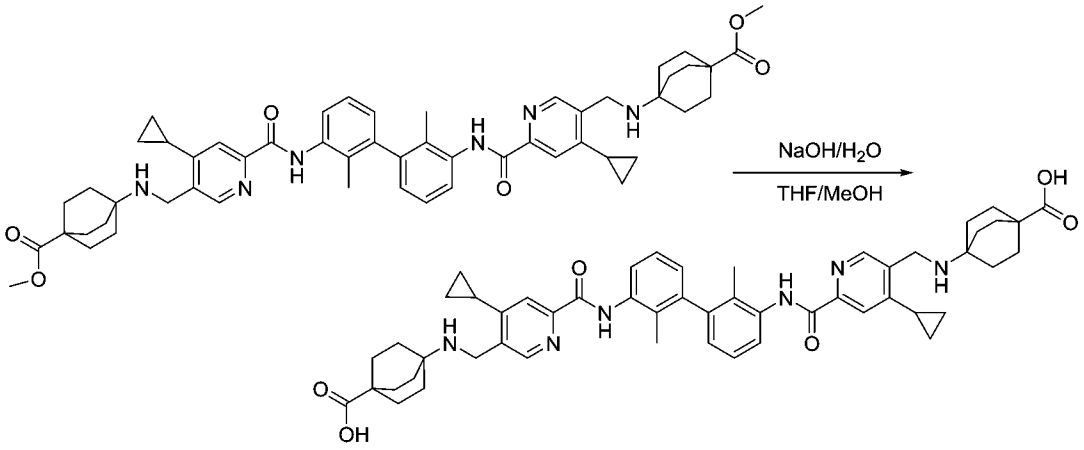
【0086】 **第一步：4-(((4-環丙基-6-((3'-(4-環丙基-5-(((4-(甲氧羰基)二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0087】 將*N*,*N*'-(2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(4-環丙基-5-甲醯基-2-吡啶甲醯胺) [參照WO2021008491A1中合成方法製備] (200 mg, 0.358 mmol) 置於DMF (5 mL)中，然後加入4-氨基二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸甲酯 (656.1 mg, 3.58 mmol)

和HOAc (1.5 mL)，室溫攪拌1小時。加入氰基硼氫化鈉 (225.0 mg, 3.58 mmol)，室溫攪拌過夜。反應完畢後，反向柱層析分離得到4-(((4-環丙基-6-((3'-(4-環丙基-5-(((4-(甲氧羰基)二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸甲酯 (180 mg, 0.20 mmol, 收率：56.3%)。MS m/z (ESI): 893.6 $[M+H]^+$。

【0088】 **第二步：4-(((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)-4-環丙基吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸的合成**

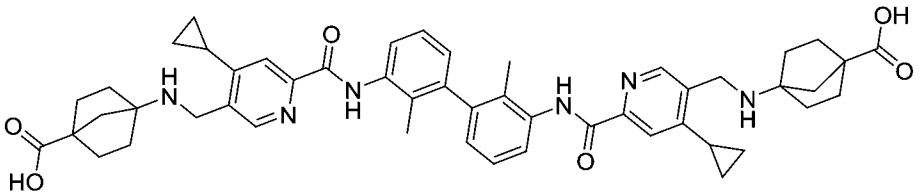


【0089】 將4-(((4-環丙基-6-((3'-(4-環丙基-5-(((4-(甲氧羰基)二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸甲酯(350 mg, 0.39 mmol)置於MeOH (5 mL)，THF (5 mL)和水(5 mL)混合液中，然後加入NaOH (314 mg, 7.84 mmol)，氮氣保護下，加熱50度攪拌過夜。反應完畢後，反應液用甲酸調至pH~6，反應液濃縮。粗品經反向柱層析分離得到

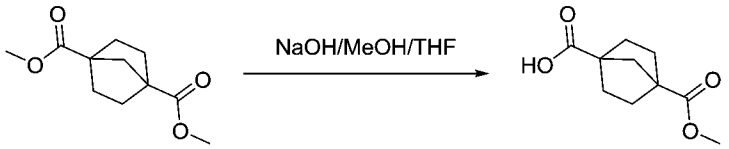
4-(((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.2]辛烷-1-基)氨基)甲基)-4-環丙基吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)二環[2.2.2]辛烷-1-羧酸 (180 mg, 0.187 mmol，收率：47.8%)。MS m/z (ESI): 865.6 $[M+H]^+$。

【0090】 ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.31 (s, 2H), 8.55 (s, 2H), 7.89 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.57 (s, 2H), 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 3.87 (s, 4H), 2.28 (td, J = 8.3, 4.2 Hz, 2H), 2.00 (s, 6H), 1.77 (dd, J = 10.5, 5.3 Hz, 12H), 1.60 (dd, J = 10.3, 5.5 Hz, 12H), 1.12 (dt, J = 7.7, 4.9 Hz, 4H), 0.84 (q, J = 5.2 Hz, 4H).

【0091】 實施例2：4,4'-(((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)的製備



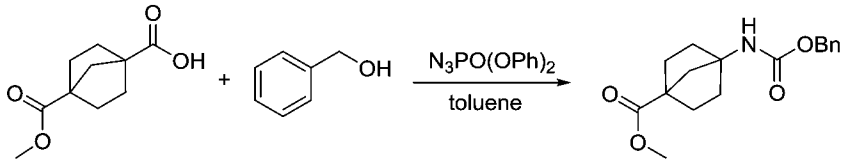
【0092】 第一步：4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸的合成



【0093】 將二甲基二環[2.2.1]庚烷-1,4-二羧酸酯(2.0 g, 9.42 mmol)溶於THF(40 mL)中，滴加NaOH (377 mg，9.42mmol)的甲醇溶液(8 mL)，室溫下攪拌過夜。反應完全後，小心濃縮反應液至溶劑完全去除。固體經石油醚洗滌後過濾，濾餅溶解在水(50

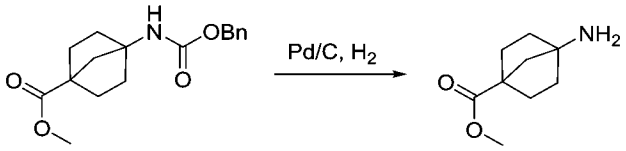
mL)中，水溶液經2M鹽酸酸化至pH~4，然後用乙酸乙酯萃取。有機相用水和飽和食鹽水洗滌，無水硫酸鈉乾燥。過濾，濾液濃縮得到4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸(1.49 g，產率：80.0%)。

【0094】 **第二步：4-(((苄氧基)羰基)氨基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



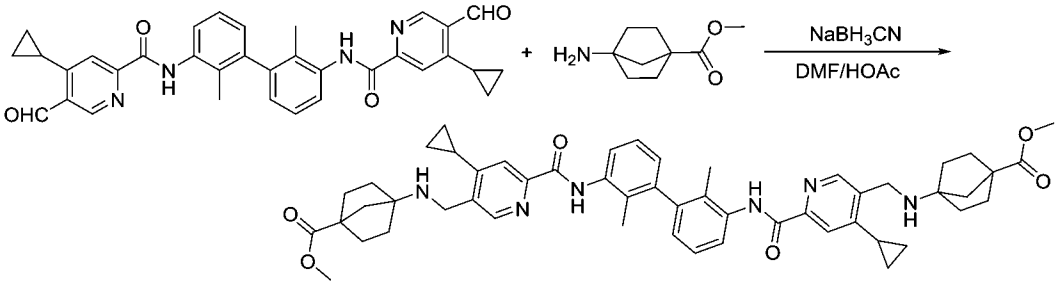
【0095】 將4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸 (700 mg, 3.53 mmol)溶於甲苯(30 mL)中，然後加入疊氮磷酸二苯酯(0.91 mL, 4.24 mmol)和三乙胺 (0.98 mL, 7.06 mmol)，氮氣保護下加熱120度反應2小時。反應液冷卻至室溫，然後加入苄醇(0.73 mL, 7.06 mmol)，氮氣保護下100度反應18小時。反應完畢後，反應液濃縮，粗品經柱層析分離得到4-(((苄氧基)羰基)氨基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (1000 mg, 3.30 mmol，收率：93.4%)。MS m/z (ESI): 304.0 $[M+H]^+$。

【0096】 **第三步：4-氨基二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



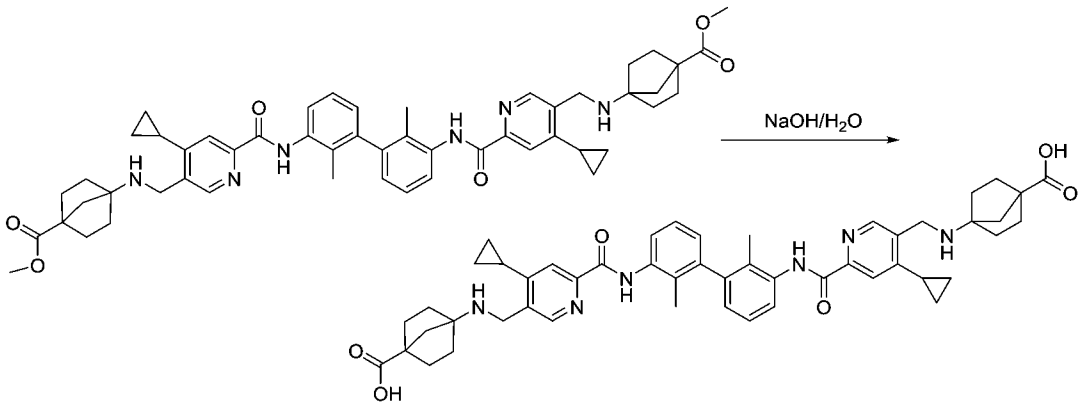
【0097】 將4-(((苄氧基)羰基)氨基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯(1000 mg, 3.30 mmol)溶於甲醇 (30 mL)中，然後加入10% Pd/C (100 mg)，常壓氫氣氛圍下，室溫攪拌過夜。反應完畢後，過濾，濾液濃縮後得到4-氨基二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (500 mg, 2.955 mmol，收率：89.6%)。MS m/z (ESI): 170.0 $[M+H]^+$。

【0098】 **第四步：二甲基 4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯)的合成**



【0099】 將*N*,*N*'-(2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(4-環丙基-5-甲醯基-2-吡啶甲醯胺)(200 mg, 0.358 mmol)溶於DMF (5 mL)，然後加入4-氨基二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯(484.7 mg, 2.864 mmol)和HOAc (1.5 mL)，室溫攪拌60分鐘，再加入$NaBH_3CN$ (225.0 mg, 3.58 mmol)，氮氣保護下室溫攪拌過夜。反應完畢後，反應液用柱層析(水/乙腈/甲酸)分離得到二甲基 4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯) (230 mg, 0.266 mmol，收率：74.3%)。MS m/z (ESI): 865.4 $[M+H]^+$。

【0100】 **第五步：4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)的合成**

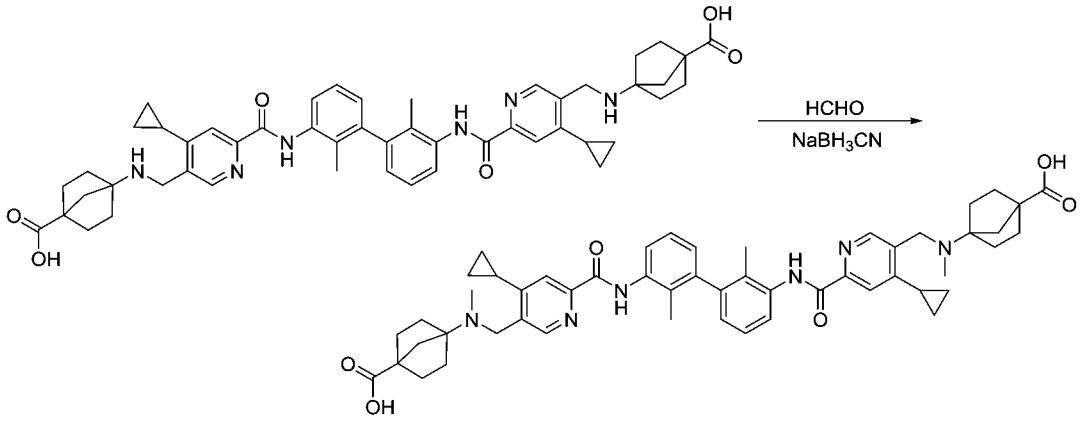


【0101】 將二甲基 4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯) (230 mg, 0.266 mmol) 加入MeOH (5 mL)，THF (5 mL)和水(5 mL)混合液中，然後加入NaOH (212.7 mg, 5.317 mmol)，氮氣保護下，加熱50度攪拌1小時。反應完畢後，反應液用甲酸調至pH~6，反應液濃縮。粗品用反相柱層析分離得到4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸) (160 mg, 0.181 mmol，收率：67.9%)。MS m/z (ESI): 837.4 $[M+H]^+$。

【0102】 ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.33 (s, 2H), 8.69 (s, 2H), 7.86 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.63 (s, 2H), 7.32 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 6.99 (dd, J = 7.6, 1.3 Hz, 2H), 4.38 – 4.02 (m, 4H), 2.31 – 2.24 (m, 2H), 2.12 – 1.46 (m, 26H), 1.15 (d, J = 7.9 Hz, 4H), 0.95 – 0.78 (m, 4H).

【0103】 實施例3：4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-

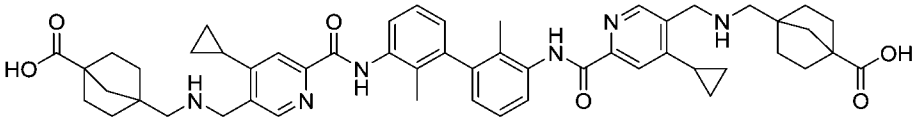
二基))二(亞甲基))二(甲基氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)的製備



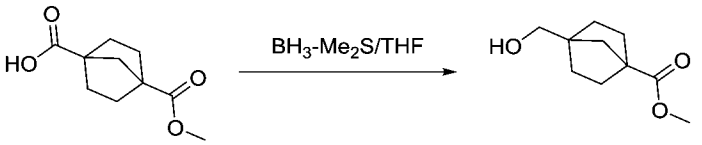
【0104】 將4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸) (50 mg, 0.060 mmol)溶於DMF (3 mL)中，然後加入HOAc (1 mL) 和35%甲醛水溶液 (37.5 mg, 0.597 mmol)，室溫攪拌0.5小時後加入$NaBH_3CN$ (37.5 mg, 0.597 mmol)，氮氣保護下，室溫攪拌過夜。反應完畢後，反應液用反相柱層析分離得到4,4'-((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(甲基氮雜烷二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸) (12 mg, 0.013 mmol，收率：21.6%)。MS m/z (ESI): 865.6 $[M+H]^+$。

【0105】 ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.30 (s, 2H), 8.52 (s, 2H), 7.90 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.59 (s, 2H), 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 3.81 (s, 4H), 2.40 (td, J = 8.2, 4.2 Hz, 2H), 2.11(s, 6H), 2.05 – 1.95 (m, 10H), 1.87 – 1.57 (m, 16H), 1.12 (d, J = 8.1 Hz, 4H), 0.84 (d, J = 5.2 Hz, 4H).

【0106】 **實施例4：4,4'-((((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(亞甲基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)的製備**



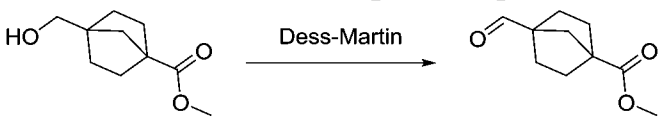
【0107】 **第一步：4-(羥甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0108】 將4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸 (800 mg, 4.04 mmol)溶於乾燥THF (40 mL)中，冰水浴冷卻下緩慢滴加BH_3•Me_2S/THF溶液 (5.25 mL, 5.25 mmol)，滴完後室溫攪拌過夜。反應液中滴入MeOH (10 mL)，回流4小時淬滅。加入乙酸乙酯和水萃進行萃取，有機相用水和飽和食鹽水洗滌，無水硫酸鈉乾燥。過濾，濾液濃縮，粗品用柱層析分離得到4-(羥甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (600 mg，產率：80.7%)。

【0109】 ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.70 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 2.06 – 1.93 (m, 2H), 1.73 – 1.62 (m, 4H), 1.58 – 1.54 (m, 2H), 1.43 – 1.34 (m, 2H).

【0110】 **第二步：4-甲醯基二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**

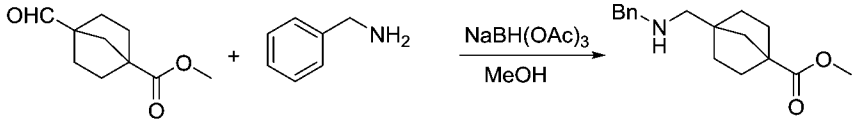


【0111】 將4-(羥甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (600 mg, 3.27 mmol)溶於CH_2Cl_2 (20 mL)中，然後加入Dess-Martin試劑

(1.66 g, 3.91 mmol)。室溫攪拌反應，TLC監測反應至原料消失。經矽藻土過濾，濾液濃縮後柱層析分離得到4-甲醯基二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (500 mg，產率：84.3%)。

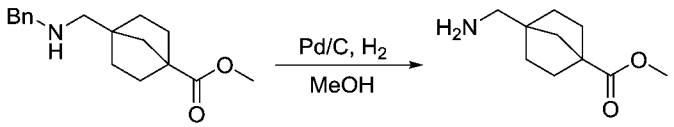
【0112】 ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.81 (s, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.13 – 2.00 (m, 4H), 1.86 – 1.82 (m, 2H), 1.79 – 1.68 (m, 2H), 1.60 – 1.52 (m, 2H).

【0113】 **第三步：4-((苯甲基氨基)甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0114】 將4-甲醯基二環[2.2.1]庚烷1-羧酸甲酯 (200 mg, 1.10 mmol)和苄胺 (235 mg, 2.20 mmol)加入MeOH (20 mL)和HOAc (0.2 mL)混合液中，氮氣保護下，室溫攪拌30分鐘，然後加入$NaBH(OAc)_3$ (465 mg, 2.20 mmol)，繼續室溫攪拌過夜。反應完全，加入飽和$NaHCO_3$水溶液，並用CH_2Cl_2萃取。有機相用飽和食鹽水洗滌，並用無水硫酸鈉乾燥。過濾，濾液濃縮後粗品用柱層析分離得到4-((苯甲基氨基)甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (300 mg，收率：100%)。MS m/z (ESI): 274.2 $[M+H]^+$。

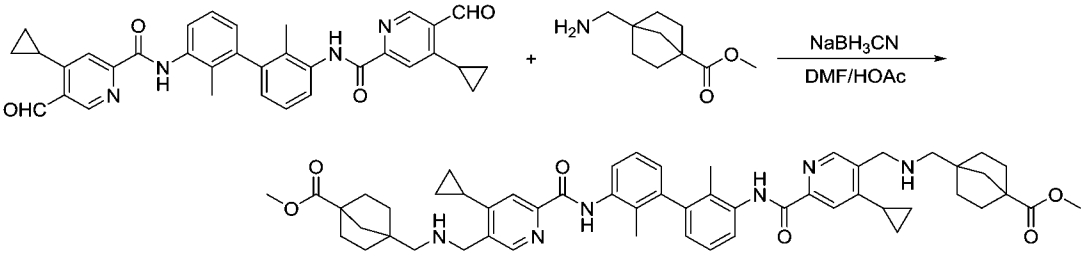
【0115】 **第四步：4-(氨基甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0116】 將4-((苯甲基氨基)甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (300 mg, 1.10 mmol)和10% Pd/C (50 mg)置於甲醇 (30 mL)中，常壓氫氣氛圍下，室溫攪拌過夜。反應液過濾，濾液濃縮後得

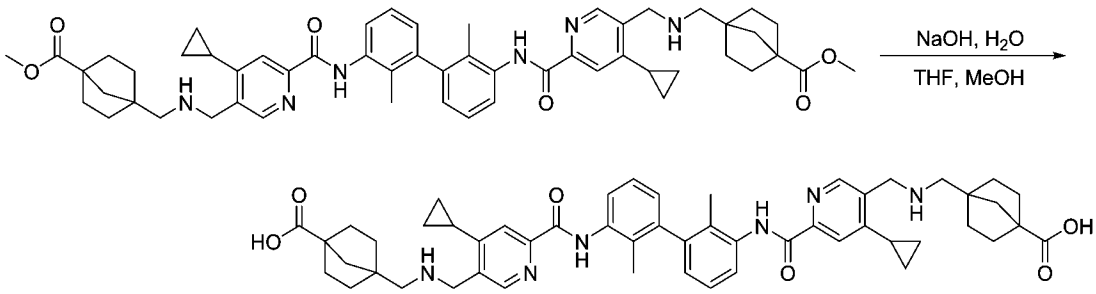
到4-(氨基甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (194 mg，收率：96.5%)。MS m/z (ESI): 184.1 $[M+H]^+$。

【0117】 第五步：甲基 4-({[(4-環丙基-6-{[3-(3-{4-環丙基-5-[({[4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-基]甲基}氨基)甲基]吡啶-2-醯氨基}-2-甲基苯基)-2-甲基苯基]氨基甲醯}吡啶-3-基)甲基]氨基}甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯的合成



【0118】 將*N*,*N*'-(2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(4-環丙基-5-甲醯基-2-吡啶甲醯胺) (115 mg, 0.206 mmol)和4-(氨基甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (189 mg, 1.03 mmol)置於DMF (3 mL)和HOAc (0.75 mL)混合液中，氮氣保護下，室溫攪拌1小時，然後加入$NaBH_3CN$ (65 mg, 1.03 mmol)，繼續室溫攪拌過夜。反應完全，反應混合物用反向柱層析分離得到甲基4-({[(4-環丙基-6-{[3-(3-{4-環丙基-5-[({[4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-基]甲基}氨基)甲基]吡啶-2-醯氨基}-2-甲基苯基)-2-甲基苯基]氨基甲醯}吡啶-3-基)甲基]氨基}甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯 (124 mg，收率：67.5%)。MS m/z (ESI): 893.5 $[M+H]^+$。

【0119】 第六步：4,4'-((((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(亞甲基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)的合成

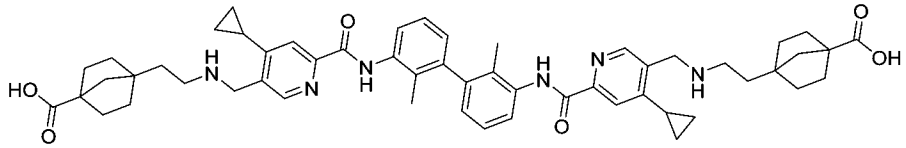


【0120】 將甲基 4-({[(4-環丙基-6-{[3-(3-{4-環丙基-5-[({[4-(甲氧羰基)二環[2.2.1]庚烷-1-基]甲基}氨基)甲基]吡啶-2-醯氨基}-2-甲基苯基)-2-甲基苯基]氨基甲醯}吡啶-3-基)甲基]氨基}甲基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯 (124 mg, 0.139 mmol)置於MeOH (3 mL)，THF (3 mL)和水 (1.5 mL)混合液中，加入NaOH (83 mg, 2.08 mmol)，氮氣保護下，加熱50度攪拌1小時。反應完全，反應液用甲酸調至pH~6，反應液濃縮，粗品用反向柱層析分離得到4,4'-((((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(亞甲基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸)甲酸鹽 (45.5 mg，收率：34.1%)。MS m/z (ESI): 865.5 $[M+H]^+$。

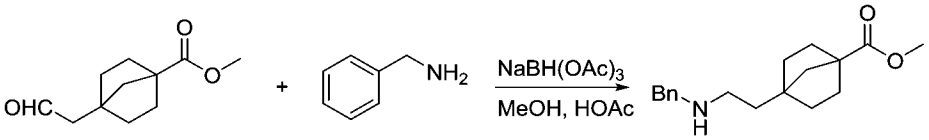
【0121】 ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.30 (s, 2H), 8.57 (s, 2H), 7.88 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.60 (s, 2H), 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 6.98 (m, 2H), 3.98 (s, 4H), 2.67 (s, 4H), 2.28 (m, 2H), 2.01 (m, 6H), 1.90 – 1.82 (m, 4H), 1.65 – 1.58 (m, 4H), 1.54 (t, J = 10.3 Hz, 4H), 1.45 (m, 4H), 1.32 (m, 4H), 1.15 – 1.09 (m, 4H), 0.88 – 0.82 (m, 4H).

【0122】 **實施例5：4-((((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.1]庚基-1-基)乙基)氨基甲基)-4-環丙基-2-吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基**

-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)乙基)二環[2.2.1]庚基-1-羧酸的製備

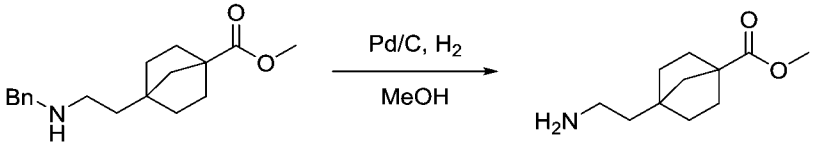


【0123】 **第一步：4-(2-(苯甲基氨基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0124】 將4-(2-羰基乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (350 mg, 1.78 mmol)和苄胺(382 mg, 3.57 mmol)置於MeOH(20 mL)和HOAc(0.2 mL)混合液中，氮氣保護下，室溫攪拌30分鐘，然後加入$NaBH(OAc)_3$ (756 mg, 3.57 mmol)，繼續室溫攪拌過夜。反應完全，加入飽和$NaHCO_3$水溶液，並用CH_2Cl_2萃取。有機相用用飽和食鹽水洗滌，並用無水硫酸鈉乾燥。過濾，濾液濃縮後用柱層析分離得到4-(2-(苯甲基氨基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (425 mg，收率：82.9%)。MS m/z (ESI): 288.2 $[M+H]^+$。

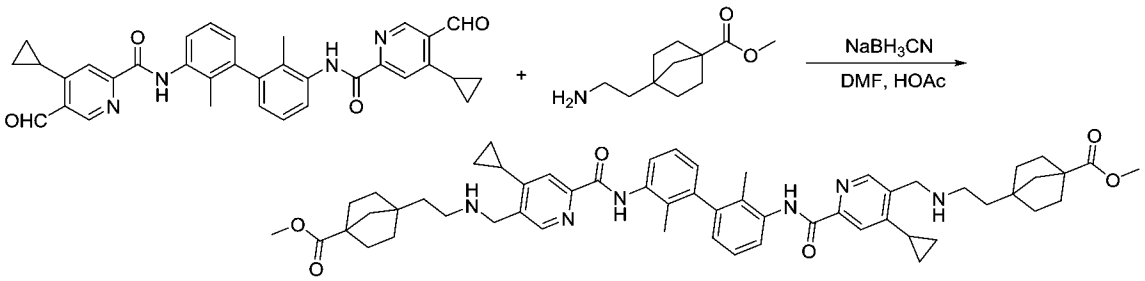
【0125】 **第二步：4-(2-氨基乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯的合成**



【0126】 將4-(2-(苯甲基氨基)乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (425 mg, 1.48 mmol)和10% Pd/C (50 mg)置於甲醇 (30 mL)中，常壓氫氣氛圍下，室溫攪拌過夜。反應完全，過濾，濾液

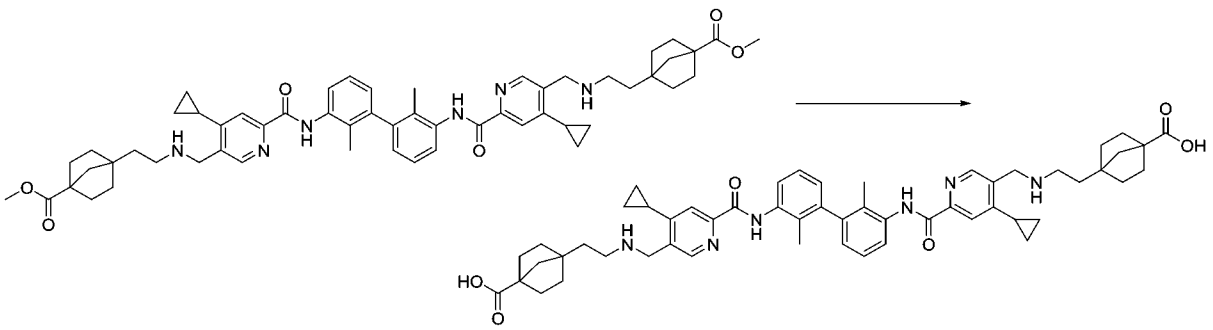
濃縮後得到4-(2-氨基乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (246 mg， 收率：84.3%)。MS m/z (ESI): 198.1 $[M+H]^+$。

【0127】 第三步：二甲基 4,4'-((((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(乙基-2,1-二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯)的合成



【0128】 將*N*,*N*'-(2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(4-環丙基-5-甲醯基-2-吡啶甲醯胺) (110 mg, 0.197 mmol)和4-(2-氨基乙基)二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸甲酯 (233 mg, 1.18 mmol)置於DMF (3 mL)和HOAc (0.75 mL) 混合液中，氮氣保護下，室溫攪拌1小時，然後加入$NaBH_3CN$ (74 mg, 1.18 mmol)，繼續室溫攪拌過夜。反應完全，反應混合物用反向柱層析分離得到二甲基4,4'-((((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(乙基-2,1-二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯) (100 mg，收率：55.1%)。MS m/z (ESI): 921.5 $[M+H]^+$。

【0129】 第四步：4-((((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.1]庚基-1-基)乙基)氨基甲基)-4-環丙基-2-吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)乙基)二環[2.2.1]庚基-1-羧酸的合成



【0130】 將二甲基 4,4'-((((((((2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3,3'-二基)二(氮雜烷二基))二(羰基))二(4-環丙基吡啶-6,3-二基))二(亞甲基))二(氮雜烷二基))二(乙基-2,1-二基))二(二環[2.2.1]庚烷-1-羧酸酯) (100 mg, 0.108 mmol)置於甲醇 (3 mL)，THF (3 mL)和水 (1.5 mL) 混合液中，再加入NaOH (90 mg, 2.25 mmol)，加熱50度攪拌1小時。反應完全，反應液用甲酸調至pH ~6，反應液濃縮後用反向柱層析分離得到4-((((6-((3'-(5-(((4-羧基二環[2.2.1]庚基-1-基)乙基)氨基甲基)-4-環丙基-2-吡啶醯氨基)-2,2'-二甲基-[1,1'-聯苯基]-3-基)氨基甲醯)-4-環丙基吡啶-3-基)甲基)氨基)乙基)二環[2.2.1]庚基-1-羧酸 (45.5 mg，收率：34.1%)。MS m/z (ESI): 893.5 $[M+H]^+$。

【0131】 ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.30 (s, 2H), 8.55 (s, 2H), 7.88 (m, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 6.98 (m, 2H), 3.96 (s, 4H), 2.63 (t, J = 7.8 Hz, 4H), 2.29 (m, 2H), 2.00 (s, 6H), 1.86 (m, 4H), 1.69 (t, J = 7.8 Hz, 4H), 1.56 – 1.30 (m, 16H), 1.16 – 1.10 (m, 4H), 0.87 – 0.82 (m, 4H).

【0132】 <u>生物學測試評價</u>

【0133】 **一、PD-1/PD-L1 HTRF結合活性測試**

【0134】 本發明實施例化合物對於PD-1/PD-L1蛋白相互作用的影響通過Cisbio的PD-1/PD-L1 binding assay kit來測定(#64ICP01PEG或者64ICP01PEH)，具體實驗方法如下：

1) 在384孔板中加入稀釋好的化合物以及4 μL的Tag1-PD-L1蛋白和4 μL的Tag2-PD-1蛋白；

2) 在室溫孵育15分鐘，再加入5 μL的抗Tag1-Eu3+的抗體和5 μL抗Tag2-XL665的抗體；

3) 室溫孵育2小時或4度孵育過夜之後，Pelkin Elmer的EnVision上讀數。分別讀取665 nm下的讀數和620 nm下的讀數，將二者的比值作為每個孔的讀數；

4) 將化合物處理之後得到每個孔的讀數和DMSO處理的孔的讀數進行比較，得到化合物抑制百分比；

5) 通過非線性回歸分析不同化合物濃度下的抑制百分比來測定本發明實施例化合物的IC_{50}值。具體實驗結果見表1。

【0135】 **二、Jurkat報告基因細胞活性測試**

【0136】 本發明實施例化合物對於表達在細胞表面的PD-1/PD-L1蛋白相互作用的影響以及帶來的T細胞功能的影響通過Jurkat報告基因細胞活性測試來測定。簡言之，就是將NF-κB-luc的報告基因質粒和人體PD-1的質粒轉染到Jurkat細胞中，建立同時穩定表達PD-1和NF-κB-luc報告基因的穩轉細胞株，採用流式細胞術鑒定PD-1的表面表達水平，用OKT-3以及Raiji細胞刺激之後報告基因的反應來鑒定報告基因的表達水平。

【0137】 另外，將人體PD-L1的表達質粒轉染到Raji細胞中得到穩定表達PD-L1的細胞株。然後通過Jurkat/NF-κB-luc/PD-1

細胞和Raji-PD-L1細胞共培養，並用OKT-3刺激，在此基礎上加入化合物，通過報告基因反應的讀數來反映化合物對PD-1/PD-L1相互作用的抑制作用對於T細胞活化訊號通路的增強。具體實驗方法如下：

1) 在白色 96 孔板中(corning, 3610)加入 30 μL 的不同稀釋濃度的化合物或者抗體，再加入 10 μL 的 OKT3(Biolegend, 317326)(OKT3 終濃度為 1 μg/mL)；

2) 每孔加入 20 μL Raji-PD-L1 細胞懸液，每孔 5×10^4 cells，培養箱中孵育 20 分鐘；

3) 每孔加入 20 μL Jurkat/NF-κB-luc/PD-1 細胞懸液，每孔 5×10^4 cells，混勻，6h 後檢測 Bright-glo(Promega, E2620)；

4) 將化合物處理之後得到每個孔的讀數和 DMSO 處理的孔的讀數進行比較，得到化合物作用的活化倍數；

5) 通過非線性回歸分析不同化合物濃度下的活化倍數來測定本發明實施例化合物的 EC_{50} 值。具體實驗結果見表 1：

【0138】 **表 1：生物學測試結果**

實施例編號	PD-1/PD-L1 HTRF 結合活性 IC_{50}/nM	細胞活性 EC_{50}/nM
1	2.56	135
2	3.67	151
3	4.62	1383
4	1.46	247
5	4.19	163

【0139】 從具體實施例化合物生物活性數據來看，本發明系列化合物對PD-1/PD-L1的蛋白相互作用具有很強的抑制作用，而且這種抑制作用在細胞水平上能增強或恢復T細胞的活化。

【0140】 三、藥代動力學評價(利用Caco-2細胞系評價候選藥物的透膜性和腸道吸收潛力)

【0141】 本試驗採用Caco-2細胞為人結腸癌細胞，在適當的培養條件下，Caco-2細胞可以形成具有許多特性的分化單層細胞，例如緊密連接，微絨毛和刷狀緣酶的表達等，與正常腸上皮相似。化合物在Caco-2細胞模型上的滲透性與人體內吸收密切相關，Caco-2細胞模型已被廣泛地應用於評估化合物在腸道滲透性和主動轉運過程。本試驗採用Caco-2細胞模型評價本發明實施例化合物以及對比化合物的滲透性和外排比(Efflux ratio)。具體方法如下：

1）Caco-2細胞培養液為含10%滅活胎牛血清和1%非必須氨基酸的改良Eagle's培養基（MEM）。細胞接種於聚碳酸脂濾膜並置於37°C，5% CO_2培養箱中培養。

2）細胞接種後培養21~28天可用於轉運實驗，並通過路西法黃的表觀滲透係數（P_{app}）來表徵和驗證細胞單層的緻密性。

3）實驗中將化合物溶解於DMSO中製備10 mM的儲備液，本試驗用於評價滲透性的參照化合物使用美托洛爾，阿替洛爾和紅黴素，分別作為高滲透性和低滲透性的陽性化合物以及P-gp的陽性底物。根據本試驗方法獲得的參照化合物測定的表觀滲透係數如下：

參照化合物	P_{app} (10^{-6} cm·s^{-1})		P_{app}(B-A)/ P_{app}(A-B)	滲透性評價
	A-B	B-A		
美托洛爾	24.70	31.13	1.26	高滲透性
阿替洛爾	0.42	0.57	1.37	低滲透性
紅黴素	0.20	21.65	107.3	高外排比

【0142】 使用含有25 mM HEPES（pH 7.4）的漢克斯平衡鹽溶液（HBSS，Invitrogen）進行稀釋得到工作液。受試化合物的檢測濃度為10 μM。此研究為頂膜側到基底側（A-B）和基底側到頂膜側（B-A）的雙向滲透實驗，需在37°C孵育90分鐘。孵育結束後，經緩衝液稀釋的樣品用LC-MS/MS進行檢測。化合物的濃度用標準曲線進行定量。

4）表觀滲透係數 P_{app} 值（cm/s）：

$$P_{app} = (VA / (Area \times time)) \times ([drug]accepter /(([drug]initial, donor) \times Dilution\ Factor)$$

【0143】 其中“VA”是指受體孔中的體積，“Area”是指膜的表面積，“time”是以秒為單位的總轉運時間。

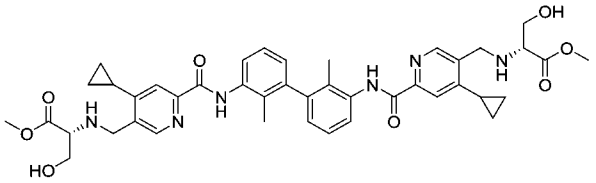
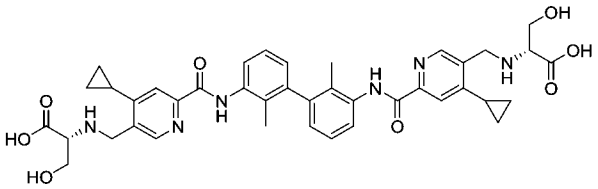
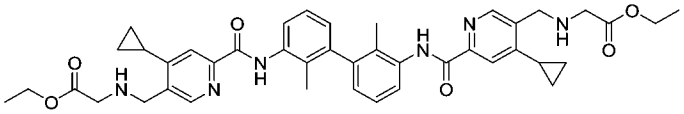
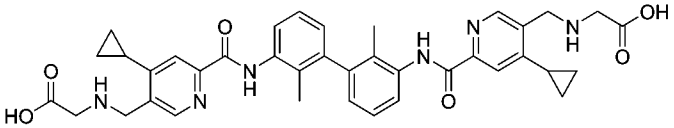
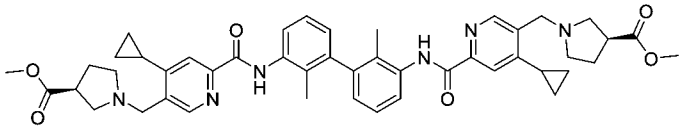
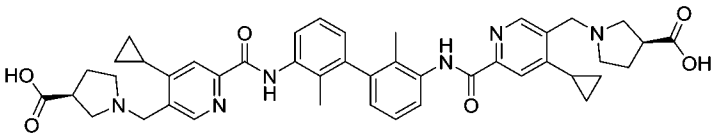
5）根據上述計算公式測得相應化合物表觀透膜系數值 P_{app} 以及外排比 $ER=P_{app}(B-A)/ P_{app}(A-B)$，結果如表 2：

【0144】 **表2：Caco-2透膜性測試試驗結果**

實施例編號	**P_{app} (10^{-6} cm·s^{-1})**		**$P_{app}(B-A)/ P_{app}(A-B)$**
	A-B	B-A	
1	2.46	16.53	6.75
4	9.79	21.68	2.21
5	2.45	15.68	6.40
對比化合物 1	<2.28*	<1.85*	/
對比化合物 2	0.67	0.36	0.53
對比化合物 3	N/A	N/A	/
對比化合物 4	<0.24*	0.98	/
對比化合物 5	<1.79	<0.65	/
對比化合物 6	0.34	5.51	16.26

【0145】 $^{*}P_{app}$值表示為“<”某數值時表示該數值是採用接收器側最小標準濃度計算得到，取決於接收器側真實濃度定量限。“N/A”表示未檢測到。

【0146】 **表3：對比化合物結構**

對比化合物		結構式
1	WO2019149183 實施例 104	
2	WO2019149183 實施例 105	
3	WO2019149183 實施例 121	
4	WO2019149183 實施例 122	
5	WO2019149183 實施例 133	
6	WO2019149183 實施例 134	

【0147】 表2透膜性試驗數據表明本發明實施例化合物通過化合物兩側末端連接基團的修飾，A-B端透膜性有了顯著的提高，而對比化合物2、4、6同樣是對稱的二酸結構，但是A-B都非常低，透膜性很差。另外，發明人進一步通過小鼠體內藥代動力學實驗發現這類化合物直接口服幾乎沒有吸收，只能通過前藥(對比化合物

1、3、5)的方式進行口服給藥，與本發明實施例化合物存在代謝途徑存在差別。

【0148】 **四、小鼠和大鼠體內藥代動力學評價**

【0149】 **1. 研究目的**

【0150】 本試驗目的為研究本發明部分化合物的藥代動力學行為，給藥方式分別為：ICR小鼠或大鼠經單次口服(PO)或靜脈注射給藥(IV)。

【0151】 **2. 試驗方案**

【0152】 **2.1試驗藥品**

【0153】 本試驗用化合物來自本發明具體實施例化合物以及所列對比化合物。

【0154】 **2.2試驗動物**

【0155】 ICR小鼠 雄性 N=9 原始來源：上海西普爾-必凱實驗動物有限公司。

【0156】 ICR大鼠 雄性 N=3 原始來源：上海西普爾-必凱實驗動物有限公司。

【0157】 **2.3藥物配製與給藥**

【0158】 稱取化合物分別溶於相應的溶媒中，搖勻、超聲，配成無色澄清溶液。9隻小鼠和3隻大鼠，禁食一夜後口服。小鼠給藥劑量為10 mg/kg(或IV 2 mg/kg)，大鼠給藥劑量為5 mg/kg(或IV 1 mg/kg)。

【0159】 **2.4樣品採集**

【0160】 約90 μL /時間點經頜下靜脈取血，肝素鈉抗凝，採集後放置冰上，並於1小時之內離心分離血漿(離心條件：8000轉/分

鐘，6分鐘，2-8度)。採血時間點為0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24小時。樣品放於負20度冰箱保存。

【0161】 血漿樣品40 μL，加入160 μL含有內標的冰冷乙腈，渦旋3分鐘，11000轉/分鐘離心5分鐘。取上清液100 μL加入到100 μL水中，取5 μL進樣到LC/MS/MS進行分析。對比化合物1、3、5同時分析前藥化合物和相應的原型化合物2、4、6，具體分析結果見表4。

【0162】 **2.5測試結果**

【0163】 **表4：測試化合物的小鼠暴露量以及口服利用度**

實施例編號	**給藥劑量**	**C_{max} (ng/mL)**	**AUC_{last} (hr*ng/mL)**	**口服利用度(F%)**
實施例 1	PO (10 mpk)	1912.1	8786.2	19.5%
	IV (2 mpk)	4003.3	8995.8	/
實施例 4	PO (10 mpk)	4546.7	17564.0	57.5%
	IV (2 mpk)	3523.3	6109.2	/
實施例 5	PO (10 mpk)	2983.3	14569.9	134%
	IV (2 mpk)	1040.3	2169.4	/
對比化合物 1	PO (10 mpk)	0	0	0%
	檢測對比化合物 2	1813.3	3968	33.7%
對比化合物 2	PO (10 mpk)	0	0	0%
	IV (2 mpk)	5640.0	2355	/
對比化合物 3	PO (10 mpk)	0	0	0%
	檢測對比化合物 4	412.3	592	/
對比化合物 5	PO (10 mpk)	30.4	/	/
	檢測對比化合物 6	437.7	866	/
對比化合物 6	PO (10 mpk)	46.2	147	/

【0164】 實驗表明本發明實施例化合物與對比化合物相比，口服暴露量有了顯著的提高，具有很好的口服利用度，能夠很好的支持下一步口服給藥的開發。

【0165】 **表5：測試化合物的大鼠暴露量以及口服利用度**

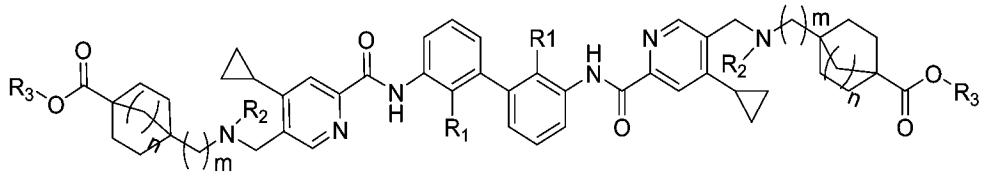
實施例編號	給藥劑量	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (hr*ng/mL)	口服利用度(F%)
實施例 1	PO (5 mpk)	426.0	2222.6	18.9%
	IV (1 mpk)	3537	2351	/
實施例 4	PO (5 mpk)	1980	4836	44%
	IV (1 mpk)	1863	2197	/
實施例 5	PO (5 mpk)	492	1607	15.9%
	IV (1 mpk)	1883	2023	/
對比化合物 1	PO (5 mpk)	0	0	0%
	檢測對比化合物 2	266	629	1.6%
對比化合物 2	PO	/	/	/
	IV (1 mpk)	13167	7642	/

【0166】 實驗表明本發明實施例化合物與對比化合物相比，口服暴露量有了顯著的提高，具有很好的口服利用度，能夠很好的支持下一步口服給藥的開發。

【0167】 在本發明提及的所有文獻都在本申請中引用作為參考，就如同每一篇文獻被單獨引用作為參考那樣。此外應理解，在閱讀了本發明的上述講授內容之後，本領域技術人員可以對本發明作各種改動或修改，這些等價形式同樣落於本申請所附申請專利範圍所限定的範圍。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】　一種式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽：



(I)

其中，兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基，所述C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基、羥基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和羥基，所述C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基、羥基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-10}烷基、C_{3-10}環烷基和3-10元雜環基，所述C_{1-10}烷基、C_{3-10}環烷基和3-10元雜環基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基、3-6元雜環基、C_{6-10}芳基、5-8元雜芳基、C_{3-6}環烷氧基、3-6元雜環氧基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

兩個m相同或不相同，且各自獨立地為0、1、2、3或4；

兩個n相同或不相同，且各自獨立地為0、1、2、3或4。

【請求項2】 根據請求項1所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、鹵素、氰基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基取代C_{1-4}烷基和C_{3-6}環烷基；

優選的，兩個R_1相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、氟、氯、氰基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基和環丙基。

【請求項3】 根據請求項1所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、環丙基取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和羥基；

優選的，兩個R_2相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基和羥基。

【請求項4】 根據請求項1所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和3-6元雜環基，所述C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基和3-6元雜環基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、C_{1-4}烷基、鹵取代C_{1-4}烷基、氘取代C_{1-4}烷基、C_{3-6}環烷基、3-6元雜環基、C_{3-6}環烷氧基和C_{1-4}烷氧基的取代基所取代；

優選的，兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、環丙基、環丁基、環戊基、氧雜環丁基和氮雜環丁基，所述甲基、乙基、異丙基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基、氮雜環丁基任選進一步被一個或多個選自氘、鹵素、氰基、羥基、羧基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基、氮雜環丁基、環丙基氧基、環丁氧基、甲氧基、乙氧基和異丙氧基的取代基所取代；

更優選的，兩個R_3相同或不相同，且各自獨立地選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基和氮雜環丁基。

【請求項5】 根據請求項1所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，兩個R_1相同，且選自氫、氘、氟、氯、氰基、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基和環丙基；

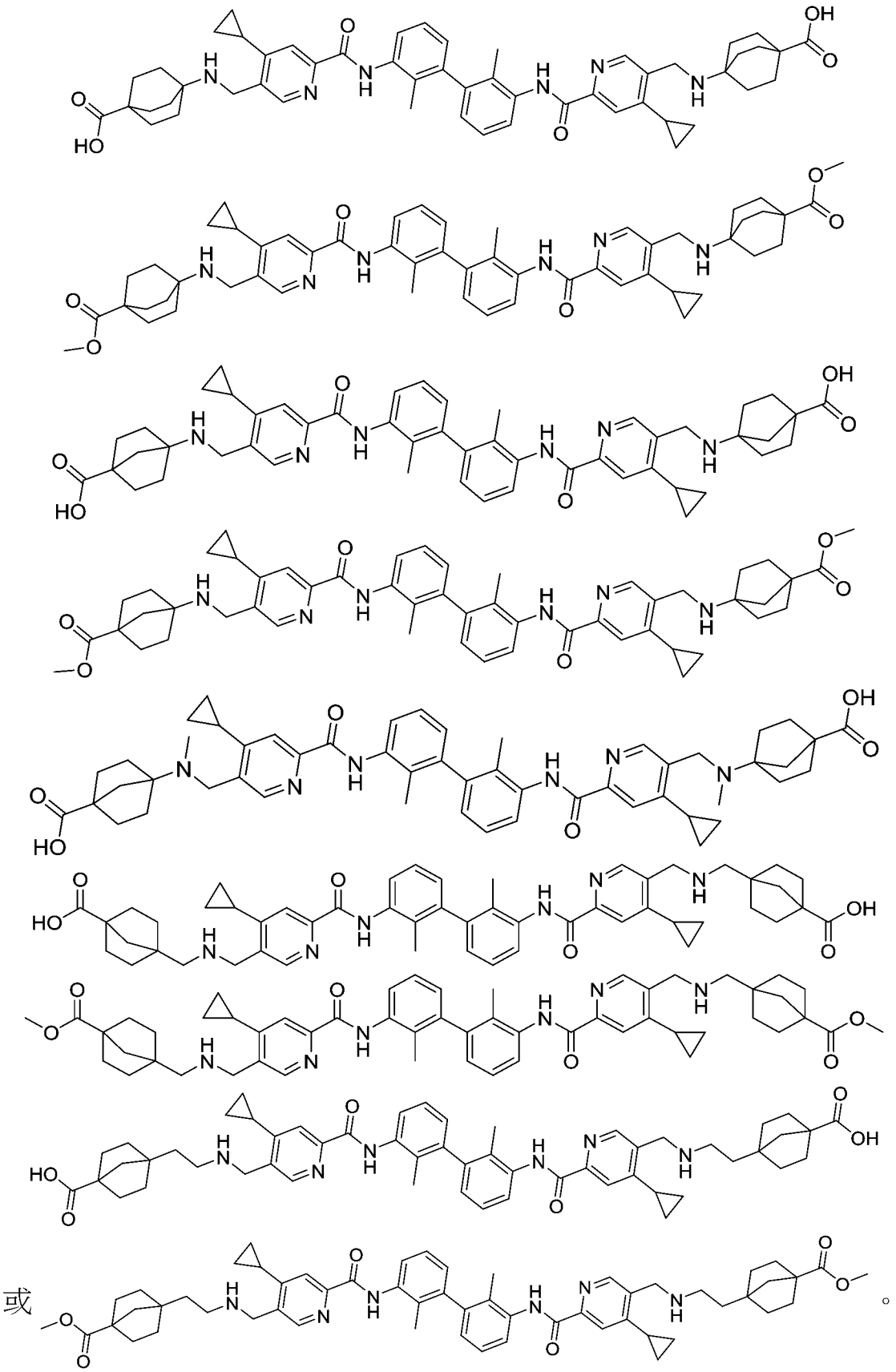
兩個R_2相同，且選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基和羥基；

兩個R_3相同，且選自氫、氘、甲基、乙基、異丙基、三氟甲基、三氘甲基、環丙甲基、環丙基、環丁基、氧雜環丁基和氮雜環丁基；

兩個m相同，且為0、1或2；

兩個n相同，且為1或2。

【請求項6】 根據請求項1所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，選自如下化合物：



或

。

【請求項7】 一種藥物組合物，其包括如請求項1-6中任一項所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽及可藥用的載體。

【請求項8】 一種如請求項1-6中任一項所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽在製備治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的有關疾病藥物中的應用。

【請求項9】 根據請求項8所述的應用，其特徵在於，所述的由PD-1/PD-L1訊號通路介導的有關疾病選自癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病。

【請求項10】 根據請求項9所述的應用，其特徵在於，所述癌症或腫瘤選自淋巴瘤(包括但不限於淋巴細胞性淋巴瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、T細胞淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡中心淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或原發性縱隔大B細胞淋巴瘤)、肉瘤(包括但不限於卡波西肉瘤、纖維肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、骨肉瘤、平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、軟組織肉瘤、血管肉瘤或淋巴管肉瘤)、黑色素瘤、膠質母細胞瘤、滑膜瘤、腦膜瘤、膽道腫瘤、胸腺腫瘤、神經腫瘤、精原細胞瘤、腎母細胞瘤、多形性腺瘤、肝細胞乳頭狀瘤、腎小管腺瘤、囊腺瘤、乳頭瘤、腺瘤、平滑肌瘤、橫紋肌瘤、血管瘤、淋巴管瘤、骨瘤、軟骨瘤、脂肪瘤、纖維瘤、中樞神經系統腫瘤、脊柱軸瘤、腦幹膠質瘤、垂體腺瘤、多發性骨髓瘤、卵巢腫瘤、骨髓增生異常綜合症或間皮瘤，前列腺癌、復發或已

對現有藥物產生抗性的前列腺癌、甲狀腺癌、甲狀旁腺癌、肛門癌、睾丸癌、尿道癌、陰莖癌、膀胱癌、輸尿管癌、子宮癌、卵巢癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、外陰癌、腎上腺癌、默克爾細胞癌、胚胎癌、慢性或急性白血病(包括但不限於急性髓系白血病、慢性髓系白血病、急性淋巴細胞白血病、慢性粒細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病)、支氣管癌、食管癌、鼻咽癌、肝細胞癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、基底細胞癌、肺癌、乳腺癌、腺癌、乳頭狀癌、囊腺癌、鱗狀非小細胞肺癌、非鱗狀非小細胞肺癌、直腸癌、結腸癌、結直腸癌、胃癌、胰腺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、頭頸部癌、胃腸道、骨癌、皮膚癌、小腸癌、內分泌系統癌、腎盂癌、表皮樣癌、腹壁癌、腎細胞癌、移行細胞癌或絨毛膜癌，以及轉移性的腫瘤；

所述的免疫相關疾病及紊亂選自風濕性關節炎、腎衰竭、紅斑狼瘡、哮喘、牛皮癬、潰瘍性結腸炎、胰腺炎、過敏、纖維化、貧血纖維肌痛症、阿爾茨海默病、充血性心力衰竭、中風、主動脈瓣狹窄、動脈硬化、骨質疏鬆症、帕金森病、感染、克隆氏病、潰瘍性結腸炎、過敏性接觸性皮炎和濕疹、系統性硬化症和多發性硬化症；

所述感染性疾病選自細菌性傳染病、病毒性傳染病或真菌性傳染病；

所述傳染性疾病或感染性疾病選自膿毒症、肝臟感染、HIV、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、D型肝炎、皰疹病毒、乳頭瘤病毒或流感；

所述代謝性疾病選自糖尿病、糖尿病酮症酸中毒、高血糖高滲綜合症、低血糖症、痛風、營養不良症、維生素A缺乏病、壞血病、維生素D缺乏病或骨質疏鬆症。

【請求項11】 根據請求項1-6中任一項所述的式(I)化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其用作治療由PD-1/PD-L1訊號通路介導的癌症或腫瘤、免疫相關疾病及紊亂、傳染性疾病、感染性疾病或代謝性疾病的藥物。