



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 115768769 B

(45) 授权公告日 2024.10.22

(21) 申请号 202180045797.5

(22) 申请日 2021.06.30

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 115768769 A

(43) 申请公布日 2023.03.07

(66) 本国优先权数据  
202010614735.9 2020.06.30 CN  
202110296535.8 2021.03.19 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2022.12.27

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/CN2021/103597 2021.06.30

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02022/002142 ZH 2022.01.06

(73) 专利权人 南京再明医药有限公司  
地址 210032 江苏省南京市江北新区华康  
路99号

(72) 发明人 刘磊 刘扬 赵春艳 唐任宏  
任晋生

(74) 专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事  
务所(普通合伙) 11277  
专利代理师 李茂家 闫俊萍

(51) Int.Cl.  
C07D 413/12 (2006.01)  
A61K 31/517 (2006.01)  
A61K 31/502 (2006.01)  
C07D 471/08 (2006.01)  
C07D 471/04 (2006.01)  
A61K 31/4439 (2006.01)  
C07D 405/12 (2006.01)  
A61P 7/06 (2006.01)  
A61K 31/428 (2006.01)  
C07D 413/14 (2006.01)  
C07D 405/14 (2006.01)  
C07D 401/12 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61P 3/10 (2006.01)

(56) 对比文件  
WO 2019/094312 A1, 2019.05.16  
WO 2019/173804 A1, 2019.09.12  
US 2019/062304 A1, 2019.02.28

审查员 刘露

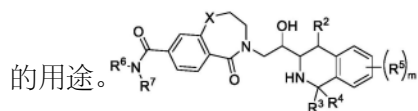
权利要求书7页 说明书53页 附图1页

(54) 发明名称

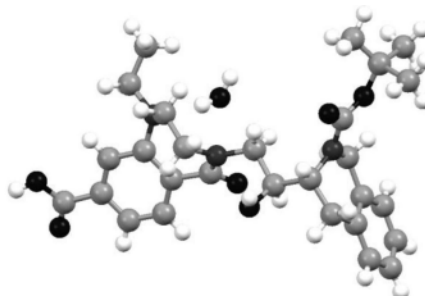
四氢异喹啉类化合物及其用途

(57) 摘要

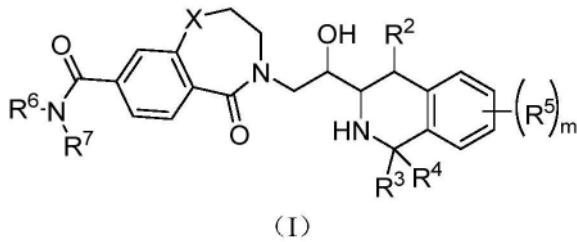
本申请描述了作为PRMT5抑制剂的四氢异喹啉化合物及其药学上可接受的盐,所述化合物具有式(I)结构且具有本申请所述取代基和结构特征。本申请还描述了包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物,以及所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐、包含其的药物组合物在制备预防或治疗PRMT5介导的疾病的药物中



(I)



1. 式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐:



其中,

X选自NR<sup>1</sup>或O;

R<sup>1</sup>选自H或C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基,其中C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基任选被1个或多个R<sup>a</sup>取代;

R<sup>2</sup>、R<sup>5</sup>独立地选自H、卤素、CN或任选被1个或多个R<sup>b</sup>取代的以下基团: NH<sub>2</sub>或C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基;

R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>独立地选自H、氧、卤素、CN或任选被1个或多个R<sup>b</sup>取代的以下基团: NH<sub>2</sub>或C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基;

m选自0、1或2;

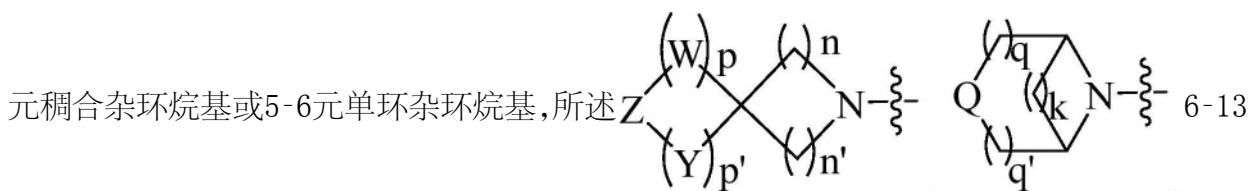
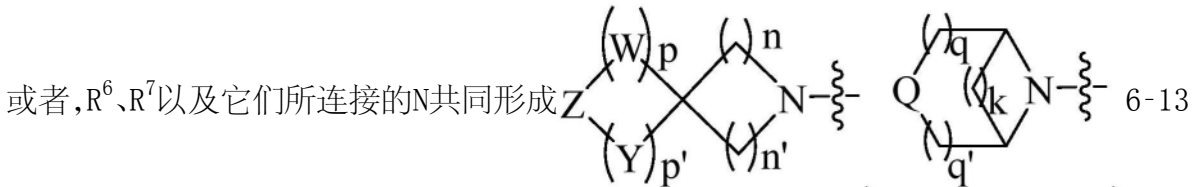
R<sup>a</sup>选自卤素、=O、OH、CN、NO<sub>2</sub>或C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基;

R<sup>b</sup>选自卤素、OH、CN、=O、NO<sub>2</sub>或C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基;

R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>独立选自H或C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基,所述C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基任选被1个或多个R<sup>c</sup>取代;

R<sup>c</sup>选自卤素、OH、CN、=O、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基、C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基氧基、5-10元杂芳基或5-10元杂芳基氧基,所述C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基、C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基氧基、5-10元杂芳基或5-10元杂芳基氧基任选被1个或多个R<sup>c1</sup>取代;

R<sup>c1</sup>选自卤素、OH、=O、CN、NO<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基;



元稠合杂环烷基或5-6元单环杂环烷基任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代;

n、n'、p、p' 独立地选自1、2、3或4, 且n+n'+p+p' ≤ 10;

W、Y独立地选自CH<sub>2</sub>、NH或O;

Z选自CH<sub>2</sub>、NH、O或键;

q、q' 和k独立地选自1、2或3;

Q选自CH<sub>2</sub>、NH、O或键;

R<sup>d</sup>选自卤素、OH、=O、CN、NO<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基-NH- 或 (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)<sub>2</sub>-N-, 所述C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基-NH- 或 (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)<sub>2</sub>-N- 任选被1个或多个R<sup>d1</sup>取代;

R<sup>d1</sup>选自氘、卤素、OH、=O、CN、NO<sub>2</sub>或C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基。

2. 根据权利要求1所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,R<sup>1</sup>选自H、CH<sub>3</sub>或CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

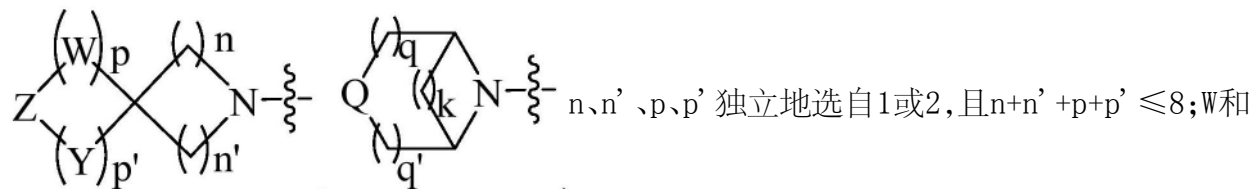
3. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,R<sup>c</sup>选自C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基或5-10元杂芳基,所述C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基或5-10元杂芳基任选被一个或多个R<sup>c1</sup>取代。

4. 根据权利要求3所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,R<sup>c</sup>选自任选被1个或多个R<sup>c1</sup>取代的苯基或吡啶基;R<sup>c1</sup>选自卤素。

5. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>独立地选自H或C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基,所述C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基任选被1个或多个R<sup>c</sup>取代。

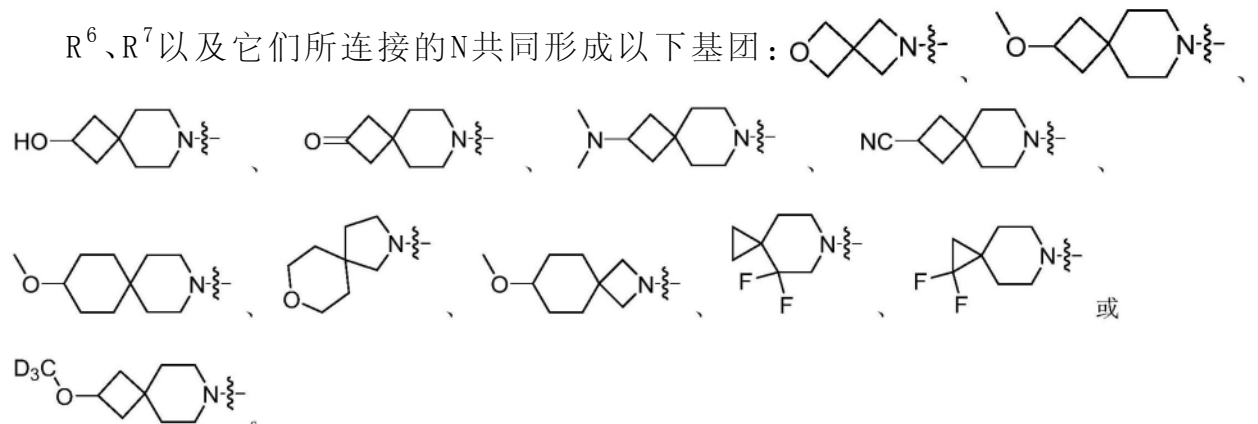
6. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>独立地选自CH<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、苄基、4-氟苯乙基或吡啶-3-乙基。

7. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的

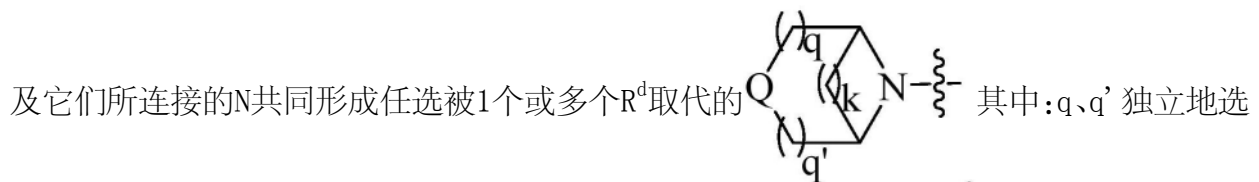


Y选自CH<sub>2</sub>; Z选自O、CH<sub>2</sub>或键。

8. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,

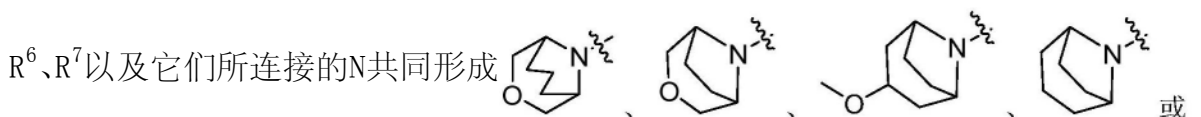


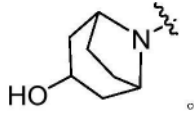
9. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以



自1或2,k选自1、2或3;Q选自CH<sub>2</sub>或O。

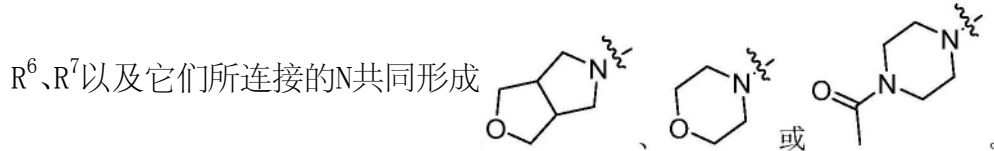
10. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,



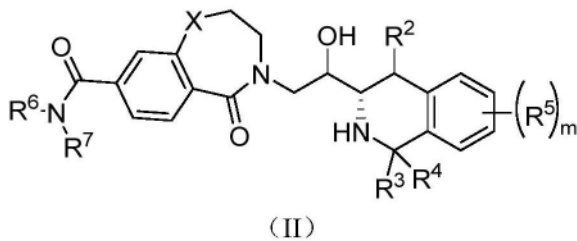


11. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于, $R^6$ 、 $R^7$ 以及它们所连接的N共同形成6-13元稠合杂环烷基或5-6元单环杂环烷基,所述6-13元稠合杂环烷基或5-6元单环杂环烷基任选被1个或多个 $R^d$ 取代。

12. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,

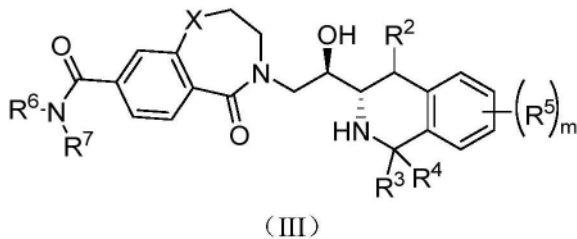


13. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐选自式(II)化合物或其药学上可接受的盐:



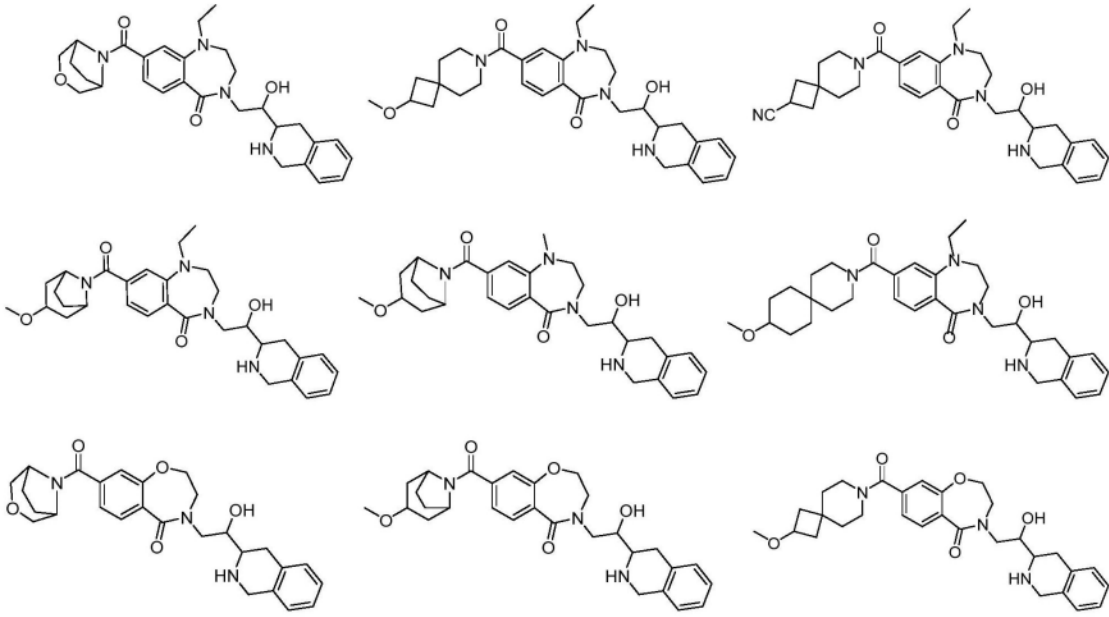
其中X、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 和m如权利要求1或2中所定义。

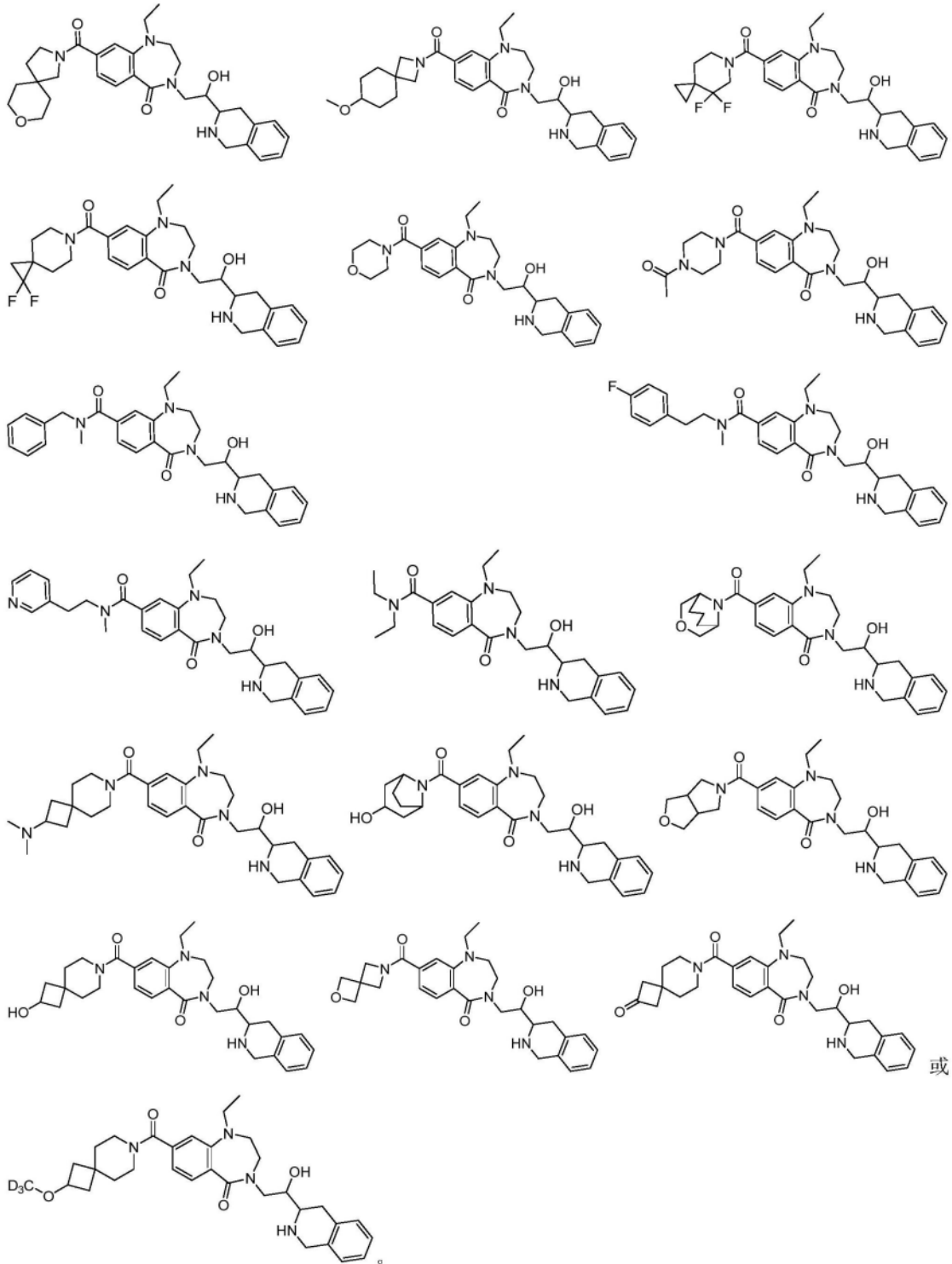
14. 根据权利要求1或2所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐选自式(III)化合物或其药学上可接受的盐:



其中X、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 和m如权利要求1或2中所定义。

15. 根据权利要求1所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述化合物具有选自如下之一的结构:





16. 根据权利要求1所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述化合物具有选自如下之一的结构:





## 四氢异喹啉类化合物及其用途

[0001] 本申请要求2020年6月30日向国家知识产权局提交的,专利申请号为202010614735.9,发明名称为“四氢异喹啉类化合物及其用途”和2021年3月19日向国家知识产权局提交的,专利申请号为202110296535.8,发明名称为“四氢异喹啉类化合物及其用途”的申请的优先权。所述申请的全文通过引用的方式结合于本申请中。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及作为PRMT5抑制剂的四氢异喹啉类化合物、其制备方法、含有该化合物的药物组合物以及其在治疗由PRMT5介导或与PRMT5相关的疾病中的用途。

### 背景技术

[0003] 表观遗传学改变是驱动和维持肿瘤恶性化表型的关键介质。DNA甲基化,组蛋白乙酰化和甲基化,非编码RNA,翻译后修饰的变化都是癌症发生的表观遗传驱动力,而与DNA序列的变化无关。精氨酸甲基化是一类重要的翻译后修饰,通过调节转录和转录后RNA处理影响细胞生长和增殖,凋亡,血管生成和转移。存在三种类型的甲基精氨酸, $\omega$ -NG-单甲基精氨酸(MMA), $\omega$ -NG,N'G-不对称二甲基精氨酸(ADMA)和 $\omega$ -NG,N'G-对称二甲基精氨酸(SDMA)。这种修饰是由蛋白质精氨酸甲基转移酶(PRMT)家族催化的,从S-腺苷甲硫氨酸(AdoMet)把甲基转移到组蛋白和非组蛋白的精氨酸侧链。在人类基因组中注释了九个PRMT基因,基于产生的甲基精氨酸类型分为I型(PRMT1,2,3,4,6和8),II型(PRMT5和PRMT9),和III型酶(PRMT7)。PRMT5主要是II型酶,可催化精氨酸的对称二甲基化。PRMT5是在检测与Janus酪氨酸激酶(Jak2)相互作用蛋白的双杂交实验中被首次发现的。

[0004] PRMT5是一种通用的转录抑制因子,与其他转录因子形成复合物,包括BRG1和hBRM,Blimp1以及Snail。PRMT5通过对多种细胞质和细胞核中的底物的甲基化,包括组蛋白H4残基Arg3(H4R3)和H3残基Arg8(H3R8)而参与多种不同的细胞生物学过程。H4R3甲基化与转录抑制相关,而H3R8甲基化被视为即与转录激活又和转录抑制有关。PRMT5除了直接诱导抑制性组蛋白标记外,该酶在基因沉默中的作用还通过形成多抑制蛋白复合物来介导,包括NuRD组分,HDACs,MDM蛋白和DNA甲基转移酶。PRMT5通过与一些结合蛋白的相互作用进而影响其底物特异性。这种蛋白质复合物中的核心成分是MEP50。MEP50对于PRMT5的酶学活性是必须的。研究发现,PRMT5可以甲基化参与RNA剪接的蛋白,比如SmD3,可用于跟踪细胞生物PRMT5的化学活性。

[0005] PRMT5在肿瘤发生中起重要作用。研究发现PRMT5在多种肿瘤中的表达上调,包括淋巴瘤,肺癌,乳腺癌和结直肠癌。此外,PRMT5表达在套细胞淋巴瘤(MCL)病人样本中增高,而PRMT5敲除则可以抑制MCL细胞增殖,表明PRMT5在MCL中起重要作用。PRMT5过表达促进细胞增生,在黑色素瘤,乳腺癌和肺癌细胞系中,PRMT5敲除则可以抑制这些细胞的增殖。因此,PRMT5是癌症治疗的潜在靶点。

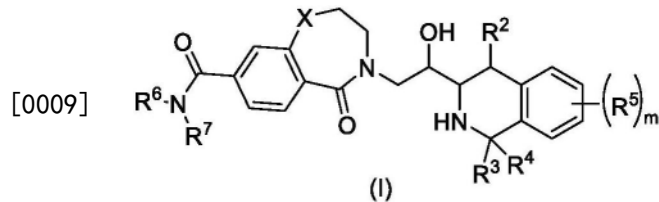
[0006] 甲基硫腺苷磷酸化酶(MTAP)的丧失赋予了细胞对PRMT5及其结合蛋白WDR77的选择性依赖。MTAP由于与通常缺失的肿瘤抑制基因CDKN2A靠近而经常丢失。携带MTAP缺失的

细胞的胞内甲硫基腺苷 (MTA, 被MTAP裂解的代谢物) 浓度增加。此外, MTA特异性抑制PRMT5的酶活性。与MTAP表达的细胞相比, MTA或PRMT5小分子抑制剂显著抑制MTAP缺失的癌细胞系的细胞活力。

[0007] 因此, 本领域需要开发能够抑制PRMT5的活性并治疗各种PRMT5相关疾病的小分子活性化合物。

## 发明内容

[0008] 本发明提供一种式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐,



[0010] 其中,

[0011] X选自 $CR^8R^9$ 、 $NR^1$ 或O;

[0012]  $R^1$ 选自H、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_2$ - $C_{10}$ 烯基、 $C_2$ - $C_{10}$ 炔基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基, 其中 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_2$ - $C_{10}$ 烯基、 $C_2$ - $C_{10}$ 炔基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^a$ 取代;

[0013]  $R^2$ 、 $R^5$ 独立地选自H、卤素、CN或任选被1个或多个 $R^b$ 取代的以下基团: $NH_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基;

[0014]  $R^3$ 、 $R^4$ 独立地选自H、氧、卤素、CN或任选被1个或多个 $R^b$ 取代的以下基团: $NH_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基;

[0015] 或者 $R^3$ 、 $R^4$ 以及它们连接的C共同形成 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基, 所述 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^e$ 取代;

[0016]  $R^8$ 、 $R^9$ 独立地选自H、OH、CN、 $NO_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基, 所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^f$ 取代;

[0017] m选自0、1、2、3或4;

[0018]  $R^a$ 选自卤素、=O、OH、CN、 $NO_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基;

[0019]  $R^b$ 选自卤素、OH、CN、=O、 $NO_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基、3-10元杂环基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基氧基、3-10元杂环基氧基、 $C_2$ - $C_{10}$ 烯基、 $C_2$ - $C_{10}$ 炔基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基氧基或5-10元杂芳基氧基;

[0020]  $R^e$ 、 $R^f$ 独立选自卤素、=O、OH、CN、 $NO_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基或 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基;

[0021]  $R^6$ 、 $R^7$ 独立选自H、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基, 所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^c$ 取代;

[0022]  $R^c$ 选自卤素、OH、CN、=O、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基、5-10元杂芳基氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基氧基、3-10元杂环基或3-10元杂环基氧基, 所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基、5-10元杂芳基氧基、 $C_3$ -

$C_{10}$ 环烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基氧基、3-10元杂环基或3-10元杂环基氧基任选被1个或多个 $R^{c1}$ 取代；

[0023]  $R^{c1}$ 选自卤素、OH、=O、CN、 $NO_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基或 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基；

[0024] 或者， $R^6$ 、 $R^7$ 以及它们所连接的N共同形成6-13元螺杂环烷基、6-13元稠合杂环烷基、6-13元桥杂环烷基、3-8元单环杂环烷基或5-10元杂芳基，所述6-13元螺杂环烷基、6-13元稠合杂环烷基、6-13元桥杂环烷基、3-8元单环杂环烷基或5-10元杂芳基任选被1个或多个 $R^d$ 取代；

[0025]  $R^d$ 选自卤素、OH、=O、CN、 $NO_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基-NH-、( $C_1$ - $C_{10}$ 烷基)<sub>2</sub>-N-、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基-NH-、( $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基)<sub>2</sub>-N-或3-10元杂环基，所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基-NH-、( $C_1$ - $C_{10}$ 烷基)<sub>2</sub>-N-、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基-NH-、( $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基)<sub>2</sub>-N-或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^{d1}$ 取代；

[0026]  $R^{d1}$ 选自氘、卤素、OH、=O、CN、 $NO_2$ 或 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基。

[0027] 在一些实施方案中， $R^6$ 、 $R^7$ 独立选自H、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基，所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^c$ 取代； $R^c$ 选自卤素、OH、CN、=O、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基、5-10元杂芳基氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基氧基、3-10元杂环基或3-10元杂环基氧基，所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基氧基、5-10元杂芳基、5-10元杂芳基氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基氧基、3-10元杂环基或3-10元杂环基氧基任选被1个或多个 $R^{c1}$ 取代； $R^{c1}$ 选自卤素、OH、=O、CN、 $NO_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基或 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基；或者， $R^6$ 、 $R^7$ 以及它们所连接的N共同形成6-13元螺杂环烷基、6-13元桥杂环烷基、3-8元单环杂环烷基或5-10元杂芳基，所述6-13元螺杂环烷基、6-13元桥杂环烷基、3-8元单环杂环烷基或5-10元杂芳基任选被1个或多个 $R^d$ 取代； $R^d$ 选自卤素、OH、=O、CN、 $NO_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基-NH-、( $C_1$ - $C_{10}$ 烷基)<sub>2</sub>-N-、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基-NH-、( $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基)<sub>2</sub>-N-或3-10元杂环基，所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^{d1}$ 取代； $R^{d1}$ 选自卤素、OH、=O、CN、 $NO_2$ 或 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基。

[0028] 在一些实施方案中， $R^1$ 选自H、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基，所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^a$ 取代。

[0029] 在一些实施方案中， $R^1$ 选自H、任选被1个或多个 $R^a$ 取代的 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基。

[0030] 在一些实施方案中， $R^1$ 选自H、 $CH_3$ 或 $CH_2CH_3$ 。

[0031] 在一些实施方案中， $R^1$ 选自 $CH_3$ 或 $CH_2CH_3$ 。

[0032] 在一些实施方案中， $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 独立地选自H、卤素、CN或任选被1个或多个 $R^b$ 取代的以下基团： $NH_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基；或者 $R^3$ 、 $R^4$ 以及它们连接的C共同形成 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基，所述 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^c$ 取代。

[0033] 在一些实施方案中， $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 独立地选自H、卤素、CN、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基，所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基

任选被1个或多个 $R^b$ 取代。

[0034] 在一些实施方案中, $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 独立地选自H、卤素、CN、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基或 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基。

[0035] 在一些实施方案中, $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 均为H。

[0036] 在一些实施方案中, $R^8$ 、 $R^9$ 独立选自H、OH、CN、 $NO_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基或 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基。

[0037] 在一些实施方案中,X选自 $NR^1$ 或O。

[0038] 在一些实施方案中,X选自 $NCH_3$ 、 $NCH_2CH_3$ 或O。

[0039] 在一些实施方案中,m选自0、1或2。

[0040] 在一些实施方案中,m选自0或1。

[0041] 在一些实施方案中,m选自0。

[0042] 在一些实施方案中, $R^6$ 、 $R^7$ 独立选自H、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基,所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^c$ 取代。

[0043] 在一些实施方案中, $R^6$ 、 $R^7$ 独立地选自H、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基,所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^c$ 取代。

[0044] 在一些实施方案中, $R^6$ 、 $R^7$ 独立地选自H或任选被1个或多个 $R^c$ 取代的 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基。

[0045] 在一些实施方案中, $R^c$ 选自卤素、OH、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基,所述 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^{c1}$ 取代。

[0046] 在一些实施方案中, $R^c$ 选自卤素、OH、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基或5-10元杂芳基,所述 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基或5-10元杂芳基任选被1个或多个 $R^{c1}$ 取代。

[0047] 在一些实施方案中, $R^c$ 选自 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基或5-10元杂芳基,所述 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基或5-10元杂芳基任选被1个或多个 $R^{c1}$ 取代。

[0048] 在一些实施方案中, $R^c$ 选自任选被1个或多个 $R^{c1}$ 取代的苯基或吡啶基。

[0049] 在一些实施方案中, $R^{c1}$ 选自卤素、OH、=O、CN或 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基。

[0050] 在一些实施方案中, $R^{c1}$ 选自卤素。

[0051] 在一些实施方案中, $R^{c1}$ 选自F。

[0052] 在一些实施方案中, $R^6$ 、 $R^7$ 独立地选自 $CH_3$ 、 $CH_2CH_3$ 、苄基、4-氟苯乙基或吡啶-3-乙基。

[0053] 在一些实施方案中, $R^6$ 、 $R^7$ 以及它们所连接的N共同形成6-13元螺杂环烷基、6-13元稠合杂环烷基、6-13元桥杂环烷基、3-8元单环杂环烷基或5-10元杂芳基,所述6-13元螺杂环烷基、6-13元桥杂环烷基、3-8元单环杂环烷基或5-10元杂芳基任选被1个或多个 $R^d$ 取代。

[0054] 在一些实施方案中, $R^d$ 选自卤素、OH、=O、CN、 $NO_2$ 、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基-NH-、( $C_1$ - $C_{10}$ 烷基) $_2$ -N-、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基氧基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基-NH-、( $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基) $_2$ -N-或3-10元杂环基,所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_6$ - $C_{10}$ 芳基、5-10元杂芳基、 $C_3$ - $C_{10}$ 环烷基或3-10元杂环基任选被1个或多个 $R^{d1}$ 取代。

[0055] 在一些实施方案中, $R^d$ 选自卤素、OH、=O、 $NO_2$ 、CN、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基-NH-或( $C_1$ - $C_{10}$ 烷基) $_2$ -N-,所述 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷氧基、 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基-NH-或( $C_1$ - $C_{10}$ 烷基) $_2$ -N-任选被1个或多个 $R^{d1}$ 取代。

[0056] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自卤素、OH、 $\text{NO}_2$ 、CN、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基-NH-或  $(\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基) $_2$ -N-, 所述 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基-NH-或  $(\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基) $_2$ -N-任选被1个或多个 $R^{d1}$ 取代。

[0057] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自卤素、OH、=O、CN、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基-NH-或  $(\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基) $_2$ -N-, 所述 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基-NH-或  $(\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基) $_2$ -N-任选被1个或多个 $R^{d1}$ 取代。

[0058] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自卤素、CN、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基或 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基, 所述 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基或 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基任选被1个或多个 $R^{d1}$ 取代。

[0059] 在一些实施方案中,  $R^{d1}$  选自卤素、OH、=O、CN、 $\text{NO}_2$ 或 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基。

[0060] 在一些实施方案中,  $R^{d1}$  选自卤素、OH、=O、CN或 $\text{NO}_2$ 。

[0061] 在一些实施方案中,  $R^{d1}$  选自卤素或=O。

[0062] 在一些实施方案中,  $R^{d1}$  选自氘或=O。

[0063] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自卤素、OH、=O、 $\text{NO}_2$ 、CN、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基-NH-或  $(\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基) $_2$ -N-。

[0064] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自卤素、OH、 $\text{NO}_2$ 、CN、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基-NH-或  $(\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基) $_2$ -N-。

[0065] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自卤素、OH、=O、CN、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基-NH-或  $(\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基) $_2$ -N-。

[0066] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自卤素、CN、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷基或 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ 烷氧基。

[0067] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自F、=O、OH、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、CN、 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $\text{OCH}_3$ 或 $\text{OCD}_3$ 。

[0068] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自F、=O、OH、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、CN、 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $\text{OCH}_3$ 或 $\text{OCD}_3$ 。

[0069] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自F、=O、OH、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、CN、 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 或 $\text{OCH}_3$ 。

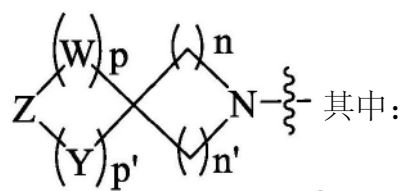
[0070] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自F、=O、OH、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、CN、 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 $\text{OCH}_3$ 。

[0071] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自F、CN、 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 $\text{OCH}_3$ 。

[0072] 在一些实施方案中,  $R^d$  选自F、CN、 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 $\text{OCH}_3$ 。

[0073] 在一些实施方案中,  $R^6$ 、 $R^7$ 以及它们所连接的N共同形成6-13元螺杂环烷基, 所述6-13元螺杂环烷基任选被1个或多个 $R^d$ 取代。

[0074] 在一些实施方案中,  $R^6$ 、 $R^7$ 以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个 $R^d$ 取代的



[0075]  $n$ 、 $n'$ 、 $p$ 、 $p'$  独立地选自1、2、3或4, 且 $n+n'+p+p' \leq 10$ ;

[0076] W、Y独立地选自 $\text{CH}_2$ 、NH或O;

[0077] Z选自 $\text{CH}_2$ 、NH、O或键。

[0078] 在一些实施方案中,  $n$ 、 $n'$ 、 $p$ 、 $p'$  独立地选自1、2或3, 且 $n+n'+p+p' \leq 10$ 。

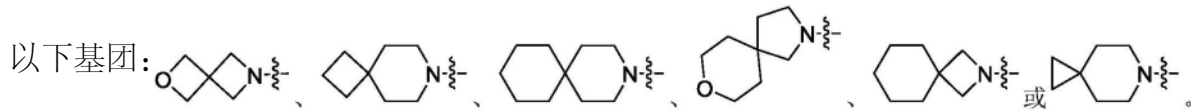
[0079] 在一些实施方案中,  $n$ 、 $n'$ 、 $p$ 、 $p'$  独立地选自1或2, 且 $n+n'+p+p' \leq 8$ 。

[0080] 在一些实施方案中, W和Y选自 $\text{CH}_2$ 。

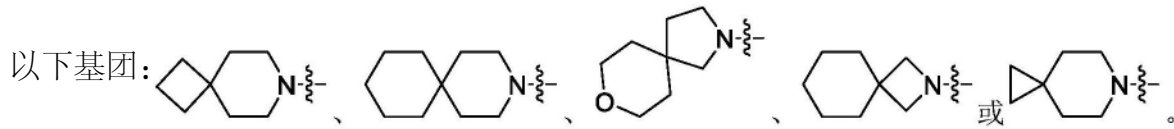
[0081] 在一些实施方案中, Z选自O、 $\text{CH}_2$ 或键。

[0082] 在一些实施方案中,Z选自CH<sub>2</sub>或键。

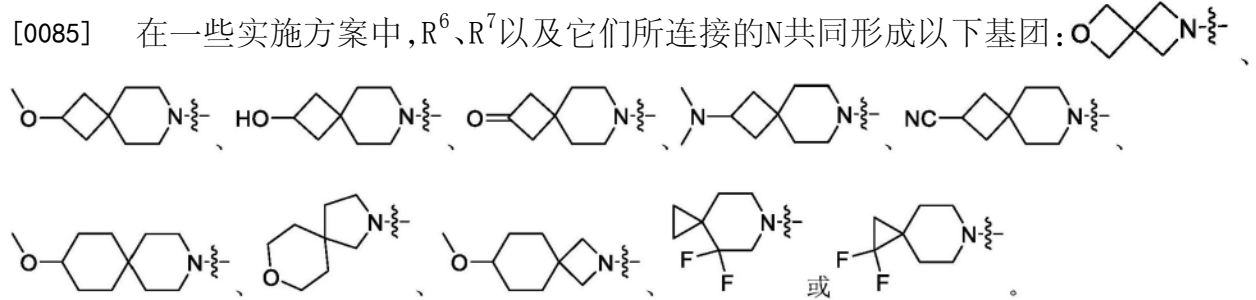
[0083] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的



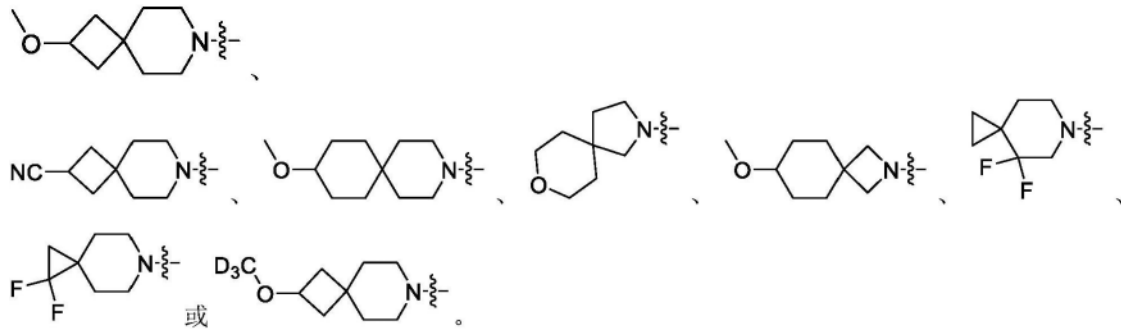
[0084] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的



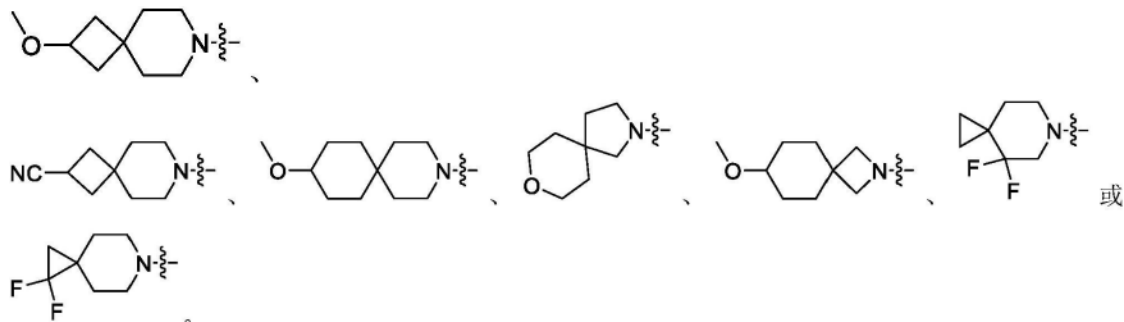
[0085] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成以下基团:



[0086] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成以下基团:

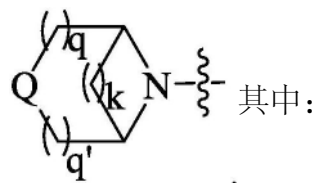


[0087] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成以下基团:



[0088] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成6-13元桥杂环烷基,所述6-13元桥杂环烷基任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代。

[0089] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的



[0090] q、q' 和k独立地选自1、2或3；

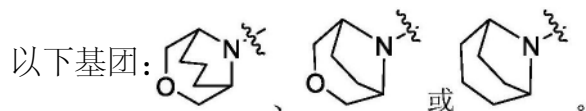
[0091] Q选自CH<sub>2</sub>、NH、O或键。

[0092] 在一些实施方案中,q、q' 独立地选自1或2,k选自1、2或3。

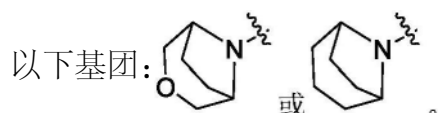
[0093] 在一些实施方案中,q、q' 和k独立地选自1或2。

[0094] 在一些实施方案中,Q选自CH<sub>2</sub>或O。

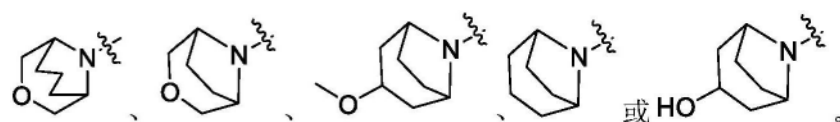
[0095] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的



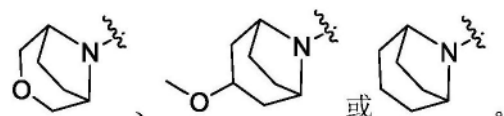
[0096] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的



[0097] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成



[0098] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成



[0099] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的6-13元稠合杂环烷基、3-8元单环杂环烷基或5-10元杂芳基。

[0100] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的3-8元单环杂环烷基或5-10元杂芳基。

[0101] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的5-6元单环杂环烷基或5-6元杂芳基。

[0102] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的6-13元稠合杂环烷基或5-6元单环杂环烷基。

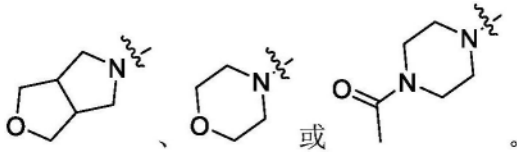
[0103] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的5-6元单环杂环烷基。

[0104] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的

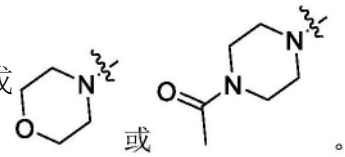


[0105] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成任选被1个或多个R<sup>d</sup>取代的吗啉环或哌嗪环。

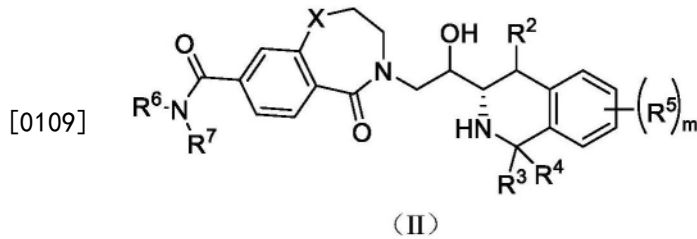
[0106] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>以及它们所连接的N共同形成



[0107] 在一些实施方案中,  $R^6$ 、 $R^7$  以及它们所连接的N共同形成

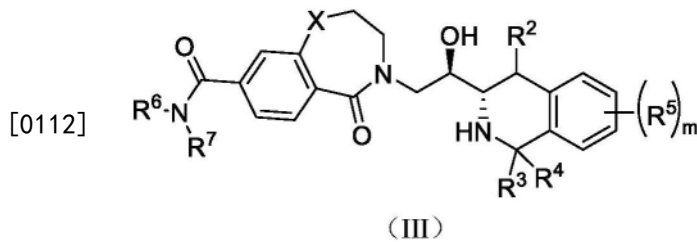


[0108] 在一些实施方案中, 本发明的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐选自式 (II) 化合物或其药学上可接受的盐,



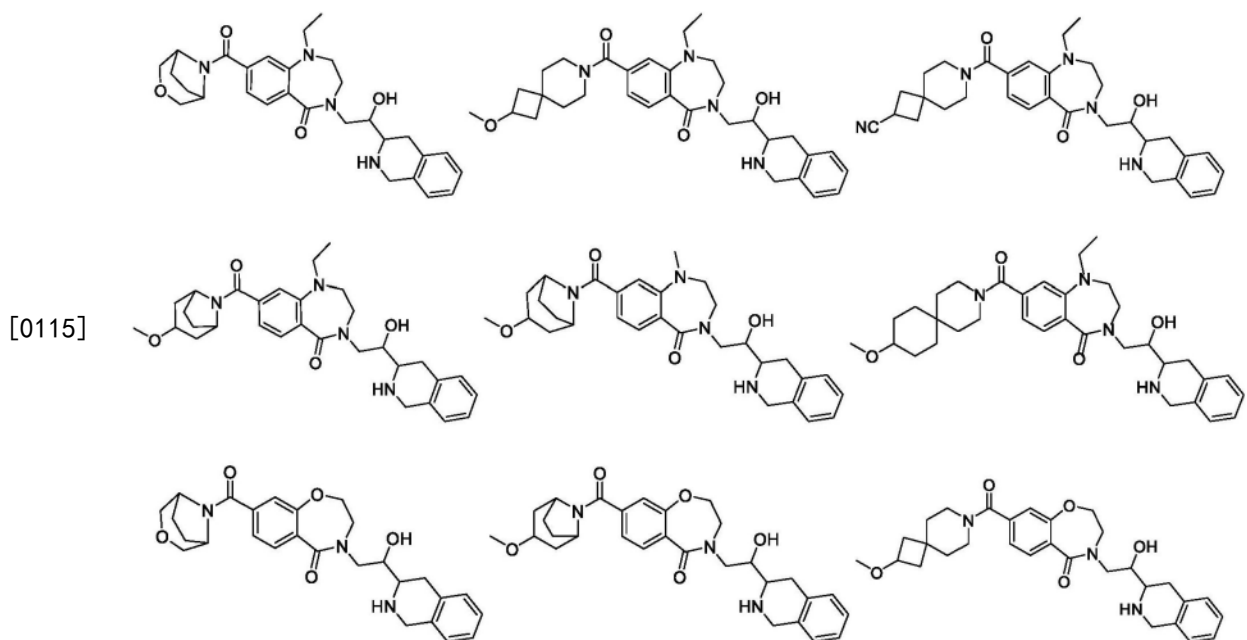
[0110] 其中X、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 和m如上文中所定义。

[0111] 在一些实施方案中, 本发明的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐选自式 (III) 化合物或其药学上可接受的盐:



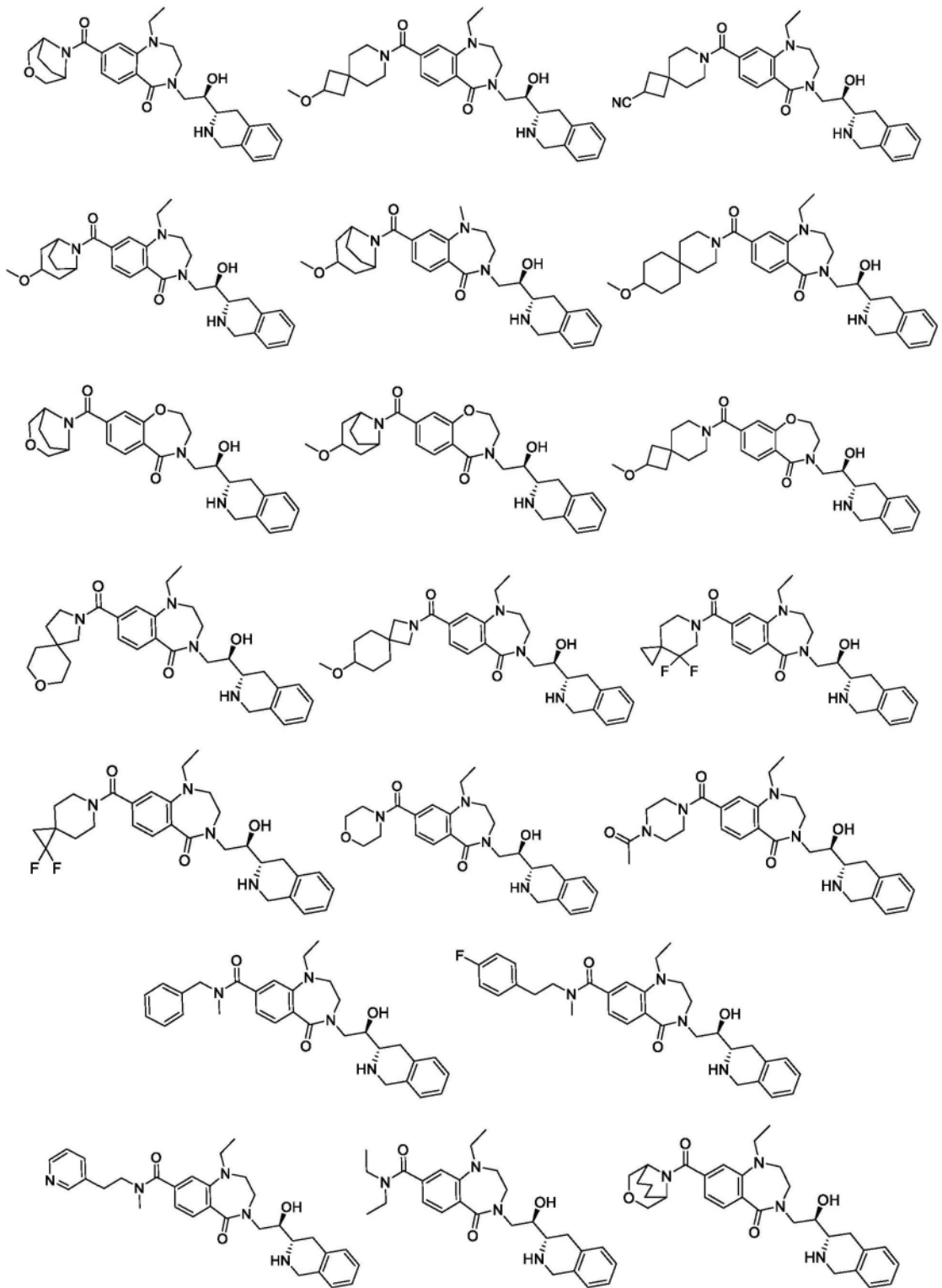
[0113] 其中X、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 和m如上文中所定义。

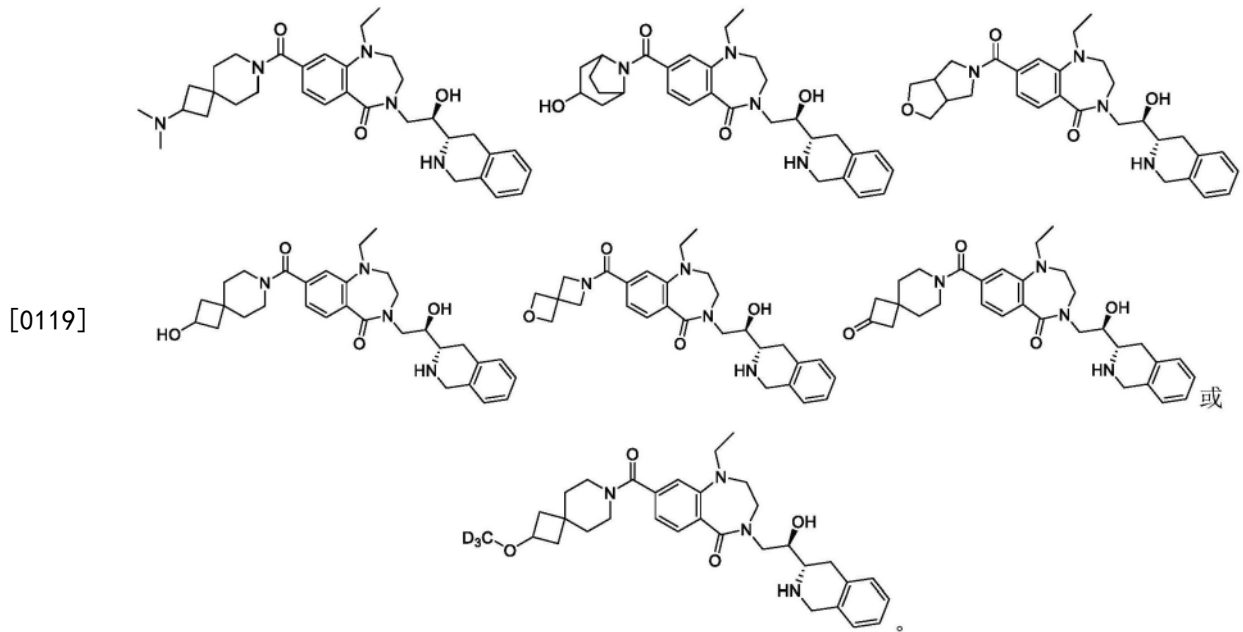
[0114] 在一些实施方案中, 本发明的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐选自以下化合物或其药学上可接受的盐:





[0118]





[0120] 在一些实施方案中,所述式(I)化合物药学上可接受的盐选自盐酸盐。

[0121] 另一方面,本发明涉及药物组合物,其包含本发明的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0122] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物还包括药学上可接受的辅料。

[0123] 另一方面,本发明涉及治疗哺乳动物由PRMT5介导的疾病的方法,包括对需要该治疗的哺乳动物,优选人类,给予治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物。

[0124] 另一方面,本发明涉及式(I)化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物在制备预防或者治疗PRMT5介导的疾病的药物中的用途。

[0125] 另一方面,本发明涉及式(I)化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物在预防或者治疗PRMT5介导的疾病中的用途。

[0126] 另一方面,本发明涉及式(I)化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物,用于预防或者治疗PRMT5介导的疾病。

[0127] 另一方面,本发明涉及预防或者治疗PRMT5介导的疾病的式(I)化合物或其药学上可接受的盐、或其药物组合物。

[0128] 在一些实施方案中,所述PRMT5介导的疾病为癌症。

[0129] 术语定义和说明

[0130] 除非另有说明,本发明中所用的下列术语具有下列含义。一个特定的术语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的,而应该按照本领域普通的含义去理解。当本文中出現商品名时,意在指代其对应的商品或其活性成分。

[0131] 除非另有说明,本发明说明书和权利要求书中记载的基团和术语定义,包括其作为实例的定义、示例性的定义、优选的定义、表格中记载的定义、实施例中具体化合物的定义等,可以彼此之间任意组合和结合。这样的组合和结合后的基团定义及化合物结构,应当属于本发明说明书记载的范围内。

[0132] 本发明中的“ $\lambda$ ”处表示连接位点。

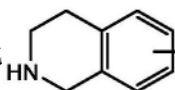
[0133] 术语“被取代”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代,只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为氧代(即=O)时,意味着两个氢原子被取代,氧代不会发生在芳香基上。

[0134] 术语“任选”或“任选地”是指随后描述的事件或情况可以发生或不发生,该描述包括发生所述事件或情况和不发生所述事件或情况。例如,乙基“任选”被卤素取代,指乙基可以是未被取代的( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、单取代的(如 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$ )、多取代的(如 $\text{CHFCH}_2\text{F}$ 、 $\text{CH}_2\text{CHF}_2$ 等)或完全被取代的( $\text{CF}_2\text{CF}_3$ )。本领域技术人员可理解,对于包含一个或多个取代基的任何基团,不会引入任何在空间上不可能存在和/或不能合成的取代或取代模式。

[0135] 本文中的 $\text{C}_m\text{-C}_n$ ,是该部分具有 $m\text{-}n$ 范围中的整数个碳原子。例如“ $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ ”是指该基团可具有1个碳原子、2个碳原子、3个碳原子、4个碳原子、5个碳原子、6个碳原子、7个碳原子、8个碳原子、9个碳原子或10个碳原子。

[0136] 当任何变量(例如R)在化合物的组成或结构中出现一次以上时,其在每一种情况下的定义都是独立的。例如,如果一个基团被2个R所取代,则每个R都有独立的选项。

[0137] 当一个取代基的键交叉连接到一个环上的两个原子时,这种取代基可以与这个环

上的任意原子相键合。例如,结构单元  表示 $\text{R}^5$ 可在苯环上的任意一个位置发生取代。

[0138] 术语“卤”或“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

[0139] 术语“羟基”指-OH基团。

[0140] 术语“氰基”指-CN基团。

[0141] 术语“氨基”指- $\text{NH}_2$ 基团。

[0142] 术语“烷基”是指通式为 $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ 的烃基。该烷基可以是直链或支链的。例如,术语“ $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基”应理解为表示具有1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个碳原子的直链或支链饱和一价烃基。所述烷基是例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基、异戊基、2-甲基丁基、1-甲基丁基、1-乙基丙基、1,2-二甲基丙基、新戊基、1,1-二甲基丙基、4-甲基戊基、3-甲基戊基、2-甲基戊基、1-甲基戊基、2-乙基丁基、1-乙基丁基、3,3-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,1-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基或1,2-二甲基丁基等;术语“ $\text{C}_{1-6}$ 烷基”指含有1至6个碳原子的烷基(例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、新戊基、己基、2-甲基戊基等)。类似地,烷氧基、烷基氨基和二烷基氨基的烷基部分(即烷基)具有上述相同定义。

[0143] 术语“烷氧基”指-O-烷基。优选地,“ $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷氧基”可以包含“ $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基”。

[0144] 术语“烷基氨基”指-NH-烷基。

[0145] 术语“二烷基氨基”指-N(烷基) $_2$ 。

[0146] 术语“ $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 烯基”应理解为优选表示直链或支链的一价烃基,其包含一个或多个双键并且具有2、3、4、5、6、7、8、9或10个碳原子,优选“ $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基”,进一步优选“ $\text{C}_2\text{-C}_4$ 烯基”,更进一步优选 $\text{C}_2$ 或 $\text{C}_3$ 烯基。应理解,在所述烯基包含多于一个双键的情况下,所述双键可相互分离或共轭。所述烯基例如乙烯基、烯丙基、(E)-2-甲基乙烯基、(Z)-2-甲基乙烯基、(E)-丁-2-烯基、(Z)-丁-2-烯基、(E)-丁-1-烯基、(Z)-丁-1-烯基、异丙烯基、2-甲基丙-2-烯基、

1-甲基丙-2-烯基、2-甲基丙-1-烯基、(E)-1-甲基丙-1-烯基、(Z)-1-甲基丙-1-烯基。

[0147] 术语“ $C_2-C_{10}$ 炔基”应理解为优选表示直链或支链的一价烃基,其包含一个或多个三键并且具有2、3、4、5、6、7、8、9或10个碳原子,优选“ $C_2-C_6$ 炔基”,进一步优选“ $C_2-C_4$ 炔基”,更进一步优选 $C_2$ 或 $C_3$ 炔基。所述炔基是例如乙炔基、丙-1-炔基、丙-2-炔基、丁-1-炔基、丁-2-炔基、丁-3-炔基、1-甲基丙-2-炔基。

[0148] 术语“环烷基”指完全饱和的并且可以以呈单环、并环、桥环或螺环存在的碳环。除非另有指示,该碳环通常为3至10元环。环烷基非限制性实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、降冰片基(双环[2.2.1]庚基)、双环[2.2.2]辛基、金刚烷基、螺[4.5]癸烷等。螺环烷基指以螺环存在的环烷基。优选地,“ $C_3-C_{10}$ 环烷基”进一步优选“ $C_3-C_6$ 环烷基”。

[0149] 术语“环烷基氧基”可理解为“环烷基-0-”,优选地,“ $C_3-C_{10}$ 环烷基氧基”可以包含“ $C_3-C_6$ 环烷基氧基”。

[0150] 术语“杂环烷基”是指完全饱和的并且可以以单环、并环、桥环或螺环存在的环状基团。除非另有指示,该杂环通常为含有1至3个独立地选自硫、氧和/或氮的杂原子(优选1或2个杂原子)的3至20元环。“3-8元单环杂环烷基”是指环原子数为3、4、5、6、7或8的完全饱和且以单环存在的环状基团,其含有1至3个独立地选自硫、氧和/或氮的杂原子(优选1或2个杂原子)。3元杂环烷基的实例包括但不限于环氧乙烷基、环硫乙烷基、环氮乙烷基,4元杂环烷基的非限制性实例包括但不限于吡啶基、噁丁环基、噻丁环基,5元杂环烷基的实例包括但不限于四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、咪唑烷基、四氢吡唑基,6元杂环烷基的实例包括但不限于哌啶基、四氢吡喃基、四氢噻喃基、吗啉基、哌嗪基、1,4-噻噁烷基、1,4-二氧六环基、硫代吗啉基、1,3-二噻烷基、1,4-二噻烷基,7元杂环烷基的实例包括但不限于氮杂环庚烷基、氧杂环庚烷基、硫杂环庚烷基。单环杂环烷基优选为具有5或6个环原子的单环杂环烷基。螺杂环烷基指以螺环存在的杂环烷基。

[0151] 术语“6-13元螺杂环烷基”是指环原子数为6、7、8、9、10、11、12或13的完全饱和的且以螺环存在的环状基团,其含有1至3个独立地选自硫、氧和/或氮的杂原子(优选1或2个杂原子)。

[0152] 术语“6-13元稠合杂环烷基”是指环原子数为6、7、8、9、10、11、12或13的完全饱和的且以并环/稠合存在的环状基团,其含有1至3个独立地选自硫、氧和/或氮的杂原子(优选1或2个杂原子)。

[0153] 术语“6-13元桥杂环烷基”是指环原子数为6、7、8、9、10、11、12或13的完全饱和的且以桥环存在的环状基团,其含有1至3个独立地选自硫、氧和/或氮的杂原子(优选1或2个杂原子)。

[0154] 术语“杂环基”,是指单环杂环基、稠合杂环基系统,稠合杂环包括并稠合杂环基、螺杂环基、桥杂环基,可以是饱和的、部分饱和的或不饱和的,但不是芳香性的。

[0155] 术语“3-10元杂环基”意指饱和的或部分饱和的一价单环或双环烃环,其包含1-5个,优选1-3个选自N、O和S的杂原子。特别地,所述杂环基可以包括但不限于:4元环,如氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基;5元环,如四氢呋喃基、二氧杂环戊烯基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、吡咯啉基;或6元环,如四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、二噻烷基、硫代吗啉基、哌嗪基或三噻烷基;或部分饱和的6元环如四氢吡啶基;或7元环,如二氮杂环庚烷基。任选地,所述

3-10元杂环基可以是8-10元的苯并稠合的杂环基或8-10元的杂芳基稠合的杂环基,包括但不限于如苯并哌啶基、吡啶并哌啶基或嘧啶并哌啶基等;所述杂环基3-10元杂环基还可以包括但不限于5,5元环,如六氢环戊并[c]吡咯-2(1H)-基环,或者5,6元双环,如六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-2(1H)-基环。含氮原子的环可以是部分不饱和的,即它可以包含一个或多个双键,例如但不限于2,5-二氢-1H-吡咯基、4H-[1,3,4]噻二嗪基、4,5-二氢噁唑基或4H-[1,4]噻嗪基,或者,它可以是苯并稠合的,例如但不限于二氢异喹啉基。根据本发明,所述杂环基是无芳香性的。

[0156] 术语“3-10元杂环基氧基”应理解为“3-10元杂环基-0”。

[0157] 术语“C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基”应理解为优选表示具有6~10个碳原子的一价芳香性或部分芳香性的单环或双环烃环。特别是具有6个碳原子的环(“C<sub>6</sub>芳基”),例如苯基;或者具有9个碳原子的环(“C<sub>9</sub>芳基”),例如茛苳基或茛苳基,或者具有10个碳原子的环(“C<sub>10</sub>芳基”),例如萘基。

[0158] 术语“C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基氧基”可理解为“C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>芳基-0”。

[0159] 术语“5-10元杂芳基”应理解为包括这样的一价单环或双环芳族环系:其具有5、6、7、8、9、10个环原子,特别是5或6或9或10个环原子,且其包含1-5个,优选1-3各独立选自N、O和S的杂原子并且,另外在每一种情况下可为苯并稠合的。特别地,杂芳基选自噻吩基、呋喃基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、异噁唑基、异噻唑基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基等以及它们的苯并衍生物,例如苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并咪唑基、苯并三唑基、吡唑基、吡啶基、异吡啶基等;或吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基等,以及它们的苯并衍生物,例如喹啉基、喹唑啉基、异喹啉基等;或吡辛因基、吡嗪基、嘌呤基等以及它们的苯并衍生物;或噌啉基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、萘啶基、蝶啶基等。

[0160] 术语“5-10元杂芳基氧基”可理解为“5-10元杂芳基-0”。

[0161] 术语“治疗”意为将本发明所述化合物或制剂进行给药以预防、改善或消除疾病或与所述疾病相关的一个或多个症状,且包括:

[0162] (i) 预防疾病或疾病状态在哺乳动物中出现,特别是当这类哺乳动物易患有该疾病状态,但尚未被诊断为已患有该疾病状态时;

[0163] (ii) 抑制疾病或疾病状态,即遏制其发展;

[0164] (iii) 缓解疾病或疾病状态,即使该疾病或疾病状态消退。

[0165] 术语“治疗有效量”意指(i) 治疗或预防特定疾病、病况或障碍,(ii) 减轻、改善或消除特定疾病、病况或障碍的一种或多种症状,或(iii) 预防或延迟本文中所述的特定疾病、病况或障碍的一种或多种症状发作的本发明化合物的用量。构成“治疗有效量”的本发明化合物的量取决于该化合物、疾病状态及其严重性、给药方式以及待被治疗的哺乳动物的年龄而改变,但可例行性地由本领域技术人员根据其自身的知识及本公开内容而确定。

[0166] 术语“药学上可接受的”,是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言,它们在可靠的医学判断的范围之内,适用于与人类和动物的组织接触使用,而没有过多的毒性、刺激性、过敏性反应或其它问题或并发症,与合理的利益/风险比相称。

[0167] 作为药学上可接受的盐,例如,可以提及金属盐、铵盐、与有机碱形成的盐、与无机酸形成的盐、与有机酸形成的盐、与碱性或者酸性氨基酸形成的盐等。

[0168] 术语“药物组合物”是指一种或多种本发明的化合物或其盐与药学上可接受的辅料组成的混合物。药物组合物的目的是有利于对有机体给予本发明的化合物。

[0169] 术语“药学上可接受的辅料”是指对有机体无明显刺激作用,而且不会损害该活性化合物的生物活性及性能的那些辅料。合适的辅料是本领域技术人员熟知的,例如碳水化合物、蜡、水溶性和/或水可膨胀的聚合物、亲水性或疏水性材料、明胶、油、溶剂、水等。

[0170] 词语“包括(comprise)”或“包含(comprise)”及其英文变体例如comprises或comprising应理解为开放的、非排他性的意义,即“包括但不限于”。


[0171] 本发明的化合物和中间体还可以以不同的互变异构体形式存在,并且所有这样的形式包含于本发明的范围内。术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指可由低能垒互变的不同能量的结构异构体。例如,质子互变异构体(也称为质子转移互变异构体)包括经由质子迁移的互变,如酮-烯醇及亚胺-烯胺异构化。质子互变异构体的具体实例是咪唑部分,其中质子可在两个环氮间迁移。价互变异构体包括通过一些成键电子的重组的互变。

[0172] 本发明还包括与本文中记载的那些相同的,但一个或多个原子被原子量或质量数不同于自然中通常发现的原子量或质量数的原子置换的同位素标记的本发明化合物。可结合到本发明化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、碘和氯的同位素,诸如分别为 $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{17}\text{O}$ 、 $^{18}\text{O}$ 、 $^{31}\text{P}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 和 $^{36}\text{Cl}$ 等。

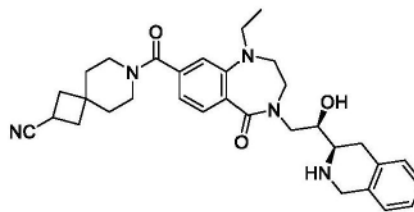
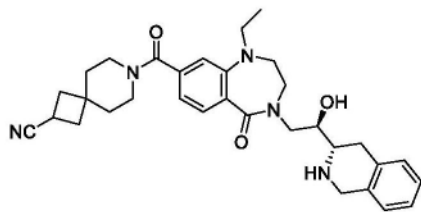
[0173] 某些同位素标记的本发明化合物(例如用 $^3\text{H}$ 及 $^{14}\text{C}$ 标记的那些)可用于化合物和/或底物组织分布分析中。氚化(即 $^3\text{H}$ )和碳-14(即 $^{14}\text{C}$ )同位素对于由于它们易于制备和可检测性是尤其优选的。正电子发射同位素,诸如 $^{15}\text{O}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{11}\text{C}$ 和 $^{18}\text{F}$ 可用于正电子发射断层扫描(PET)研究以测定底物占有率。通常可以通过与公开于下文的方案和/或实施例中的那些类似的下列程序,通过同位素标记试剂取代未经同位素标记的试剂来制备同位素标记的本发明化合物。

[0174] 此外,用较重同位素(诸如氘(即 $^2\text{H}$ ))取代可以提供某些由更高的代谢稳定性产生的治疗优点(例如增加的体内半衰期或降低的剂量需求),并且因此在某些情形下可能是优选的,其中氘取代可以是部分或完全的,部分氘取代是指至少一个氢被至少一个氘取代。

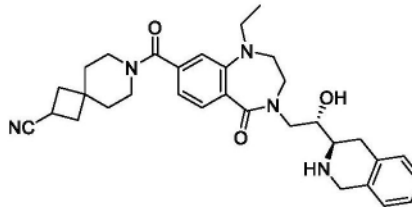
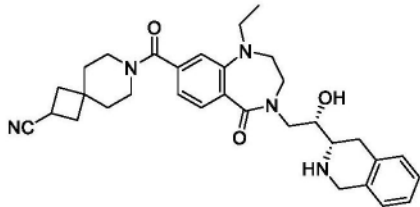
[0175] 本发明的化合物的所有的同位素组成的变换,无论放射性与否,都包括在本发明的范围之内。

[0176] 本发明化合物可以是不对称的,例如,具有一个或多个立体异构体。立体异构体是指由分子中原子在空间上排列方式不同所产生的异构体,除非另有说明,所有立体异构体都包括,如顺反异构体、构象异构体、对映异构体和非对映异构体。本发明的含有不对称碳原子的化合物可以以光学活性纯的形式或外消旋形式被分离出来。光学活性纯的形式可以从外消旋混合物拆分,或通过使用手性原料或手性试剂合成。本文中消旋体或者对映体纯的化合物的图示法来自Maehr, J. Chem. Ed. 1985, 62: 114-120。除非另有说明,用楔形键和虚线键()表示一个立体中心的绝对构型。当本文所述化合物含有烯属双键或其它几何不对称中心,除非另有规定,它们包括E、Z几何异构体。同样地,所有的互变异构形式均包括在本发明的范围之内。

[0177] 立体异构体的非限制性实例包括但不限于:



[0178]



[0179] 本发明的药物组合物可通过将本发明的化合物与适宜的药学上可接受的辅料组合而制备,例如可配制成固态、半固态、液态或气态制剂,如片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、膏剂、乳剂、悬浮剂、栓剂、注射剂、吸入剂、凝胶剂、微球及气溶胶等。

[0180] 给予本发明化合物或其药学上可接受的盐或其药物组合物的典型途径包括但不限于口服、直肠、局部、吸入、肠胃外、舌下、阴道内、鼻内、眼内、腹膜内、肌内、皮下、静脉内给药。

[0181] 本发明的药物组合物可以采用本领域众所周知的方法制造,如常规的混合法、溶解法、制粒法、制糖衣药丸法、磨细法、乳化法、冷冻干燥法等。

[0182] 在一些实施方案中,药物组合物是口服形式。对于口服给药,可以通过将活性化合物与本领域熟知的药学上可接受的辅料混合,来配制该药物组合物。这些辅料能使本发明的化合物被配制成片剂、丸剂、锭剂、糖衣剂、胶囊剂、液体、凝胶剂、浆剂、悬浮剂等,用于对患者的口服给药。

[0183] 可以通过常规的混合、填充或压片方法来制备固体口服组合物。例如,可通过下述方法获得:将所述的活性化合物与固体辅料混合,任选地碾磨所得的混合物,如果需要则加入其它合适的辅料,然后将该混合物加工成颗粒,得到了片剂或糖衣剂的核心。适合的辅料包括但不限于:粘合剂、稀释剂、崩解剂、润滑剂、助流剂、甜味剂或矫味剂等。

[0184] 药物组合物还可适用于肠胃外给药,如合适的单位剂型的无菌溶液剂、混悬剂或冻干产品。

[0185] 本文所述的通式I化合物的所有施用方法中,每天给药的剂量为0.01到100mg/kg体重,优选为0.05到50mg/kg体重,更优选0.1到30mg/kg体重,以单独或分开剂量的形式。

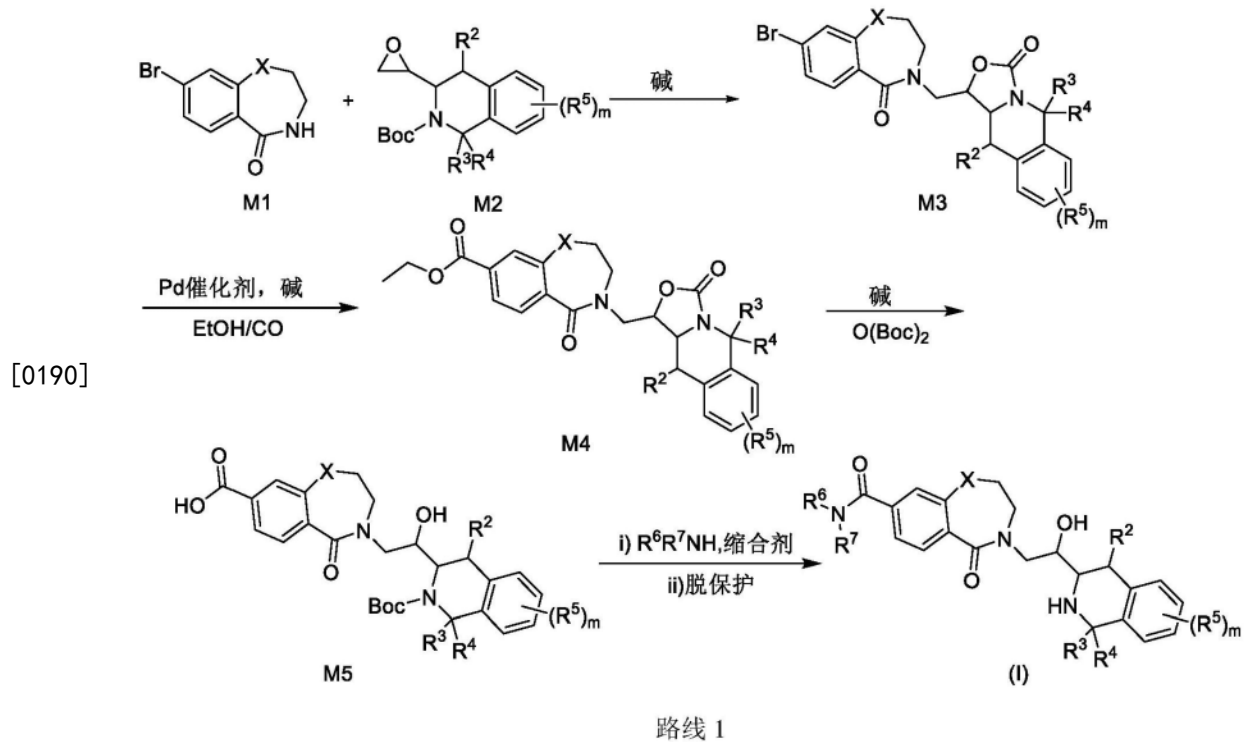
[0186] 本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的多种合成方法来制备,包括下面列举的具体实施方式、其与其他化学合成方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术人员所熟知的等同替换方式,优选的实施方式包括但不限于本发明的实施例。

[0187] 本发明具体实施方式的化学反应是在合适的溶剂中完成的,所述的溶剂须适合于本发明的化学变化及其所需的试剂和物料。为了获得本发明的化合物,有时需要本领域技术人员在已有实施方式的基础上对合成步骤或者反应流程进行修改或选择。

[0188] 本领域合成路线规划中的一个重要考量因素是为反应性官能团(如本发明中的氨基)选择合适的保护基,例如,可参考Greene's Protective Groups in Organic Synthesis(4th Ed).Hoboken,New Jersey:John Wiley&Sons,Inc.本发明引用的所有参考

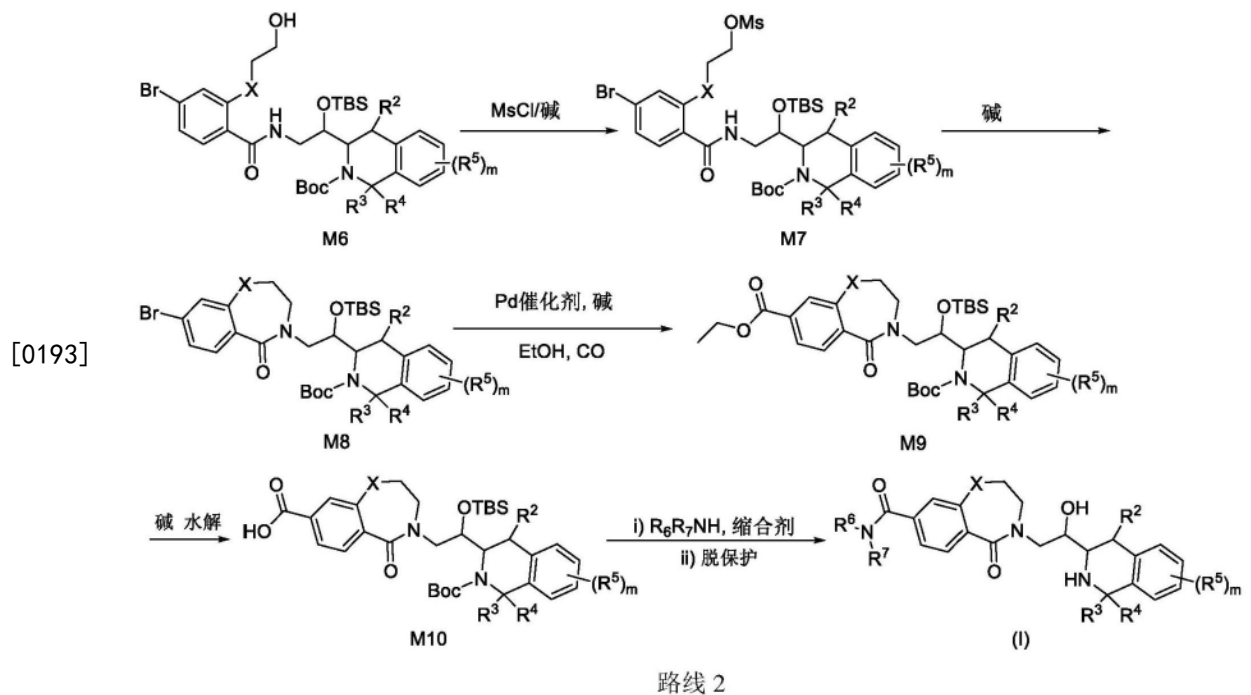
文献整体上并入本发明。

[0189] 在一些实施方案中,本发明通式(I)的化合物可以由有机合成领域技术人员通过路线1来制备:



[0191] 化合物M1与M2在碱存在下反应生成M3,M3在钯催化剂/碱/乙醇/CO存在下反应生成M4,M4在碱的存在下脱羧基保护,在Boc酸酐的存在下生成M5,M5在缩合剂的存在下与 $R^6R^7NH$ 反应,并进一步脱去氨基保护基生成式(I)化合物。

[0192] 在一些实施方案中,本发明通式(I)的化合物可以由有机合成领域技术人员通过路线2来制备:



[0194] 化合物M6在MsCl和碱存在下反应生成M7, M7在碱存在下反应生成M8, M8在钯催化剂/碱/乙醇/CO存在下反应生成M9, M9在碱的存在下水解反应得到M10, M10在缩合剂的存在下与R<sup>6</sup>R<sup>7</sup>NH反应, 并进一步脱去氨基保护基生成式(I)化合物。

### 附图说明

[0195] 图1为化合物1-8单晶的球棍图。

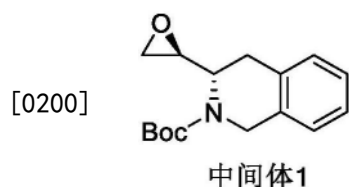
[0196] 图2为Z-138皮下瘤模型中接受受试化合物的小鼠的肿瘤生长曲线。

[0197] 图3为Z-138皮下瘤模型中接受受试化合物的小鼠的体重变化曲线。

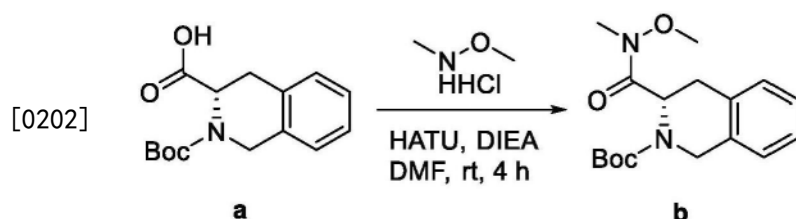
### 具体实施方式

[0198] 为清楚起见, 进一步用实施例来阐述本发明, 但是实施例并非限制本发明的范围。本发明所使用的所有试剂是市售的, 无需进一步纯化即可使用。

[0199] 实施例1、(S)-3-((S)-环氧乙烷-2-基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(中间体1)的制备



[0201] 化合物b的制备:

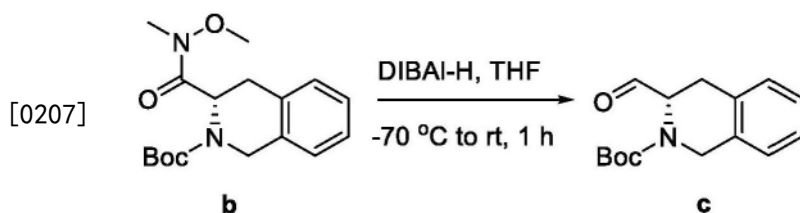


[0203] 室温下将(S)-2-(叔丁氧羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-羧酸(a) (55g, 200mmol), 二甲羟胺盐酸盐(29.4g, 300mmol), 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐(91g, 240mmol)加入到1L单口瓶中, 再加入无水N,N-二甲基甲酰胺(500mL), 氮气保护后冰浴冷却, 然后滴加N,N-二异丙基乙胺(104mL, 600mmol)。反应液在室温反应4小时。反应完全后旋蒸除去过量的N,N-二异丙基乙胺和N,N-二甲基甲酰胺, 然后冰浴冷却, 用饱和食盐水(1L)稀释, 用乙酸乙酯萃取(200mL X 2), 有机相合并后用5%碳酸钠水溶液洗涤(500mL X 2), 然后用饱和食盐水洗涤(500mL)。无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩后硅胶柱层析(洗脱剂梯度: 石油醚/乙酸乙酯=2/1)纯化, 得到目标中间体(S)-3-(甲氧基(甲基)氨基甲酰)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(b) (62g, 收率: 97%)。

[0204] LCMS: Rt: 1.76min; MS m/z (ESI): 321.3 [M+H]。

[0205] 手性HPLC: Rt: 3.159min。

[0206] 化合物c的制备:

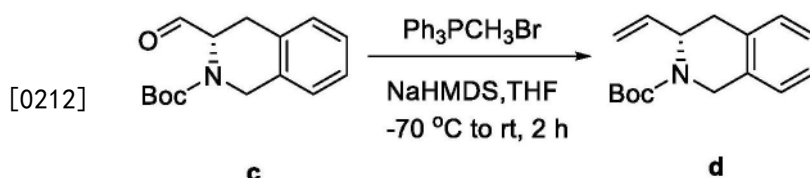


[0208] 室温下将(S)-3-(甲氧基(甲基)氨基甲酰)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(b) (20g, 62.5mmol)称量到500mL三口瓶中,加入无水四氢呋喃(200mL),冷却至-70℃,缓慢滴加二异丁基氢化铝(DIBAL-H)甲苯溶液(1.5mol/L, 83mL, 125mmol),反应液在-70℃搅拌1小时。反应完全后在-70℃缓慢加入饱和氯化铵溶液(100mL)淬灭,然后加入0.5mol/L盐酸水溶液稀释(200mL)。分层后有机相用饱和氯化钠水溶液洗涤(200mL X 2),然后用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,残余物用硅胶柱层析(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=8/1)纯化,得中间体(S)-3-乙酰基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(c) (15g, 收率: 92%)。

[0209] LCMS:Rt:1.93min;MS m/z (ESI):206.1 [M-56+H]。

[0210] 手性HPLC:Rt:2.018min。

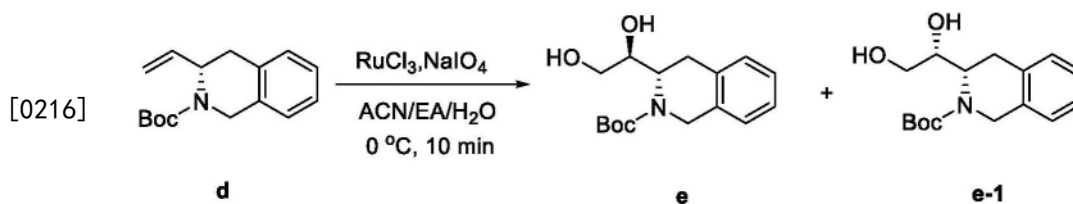
[0211] 化合物d的制备:



[0213] 将甲基三苯基溴化磷(238g, 0.67mol)分散到无水四氢呋喃(1.5L)中,氮气保护下冷却至-70℃,缓慢滴加二(三甲基硅基)氨基钠(334mL, 0.67mol),控制温度低于-50℃,滴加完毕后缓慢升至室温,搅拌2小时。重新冷却至-70℃,缓慢滴加(S)-3-乙酰基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(c) (87g, 0.33mol)的四氢呋喃溶液(200mL),控制温度低于-50℃,滴加完毕后缓慢升至室温过夜。TLC检测反应完毕后,冷却至0℃,加入饱和氯化铵溶液淬灭,缓慢加入1mol/L盐酸水溶液调节pH到3-4,加入乙酸乙酯(500mL)萃取。有机相用饱和食盐水洗涤(200mL X 2),无水硫酸钠干燥后过滤,滤液减压浓缩。残余物加入混合溶剂(乙酸乙酯/石油醚=1/4)重结晶,过滤除去析出的三苯基氧化磷,滤液浓缩后硅胶柱层析(乙酸乙酯/石油醚=1/8)得目标产物(S)-3-乙烯基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(d) (85g, 收率:98%)。

[0214] 手性HPLC:Rt:1.883min。

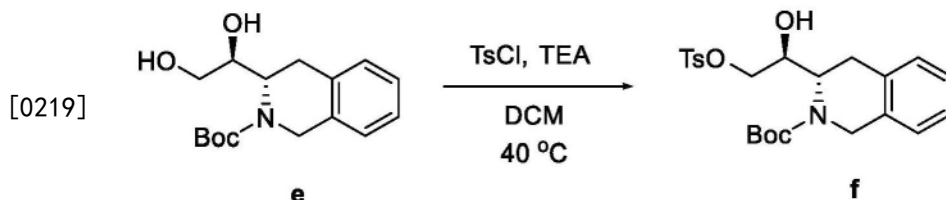
[0215] 化合物e的制备:



[0217] 将(S)-3-乙烯基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(d) (25.9g, 0.1mol)溶于乙酸乙酯/乙腈(500mL/500mL)溶液中,冷却至0℃,在10分钟内加入高碘酸钠(32.1g,

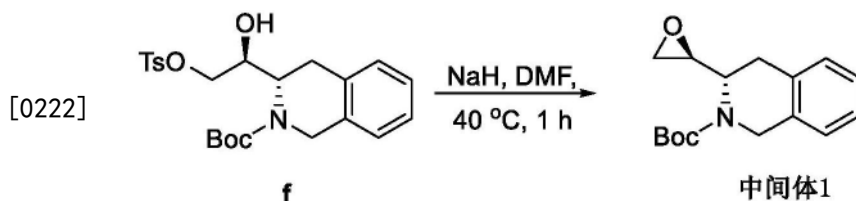
0.15mol) 与三氯化钨水合物 (1.6g, 7.7mmol) 的水溶液, 反应液在 0℃ 搅拌 10 分钟。TLC 检测反应完毕, 加入硫代硫酸钠饱和溶液 (150mL) 淬灭, 搅拌 30 分钟后分层, 有机相用饱和食盐水洗涤 (200mL X 2), 无水硫酸钠干燥, 过滤后滤液减压浓缩, 残余物经硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚 = 1/2-1/1), 得产物 (S)-3-((S)-1,2-二羟基乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯 (e) (极性较小的产物, 14g, 收率 48%)。加大洗脱剂极性 (乙酸乙酯/石油醚 = 2/1-1/0), 得产物 (S)-3-((R)-1,2-二羟基乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯 (e-1) (极性较大的产物, 8g, 收率 28%)。

[0218] 化合物 f 的制备:



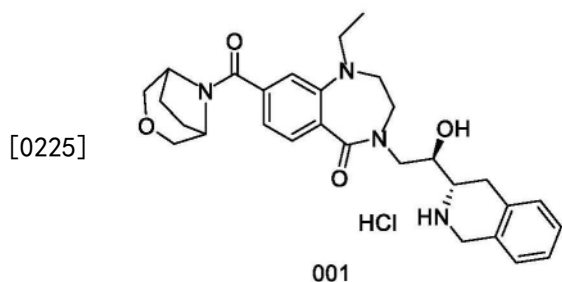
[0220] 将 (S)-3-((S)-1,2-二羟基乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯 (e) (14g, 0.047mol) 溶于二氯甲烷 (150mL) 中, 加入三乙胺 (9.90mL, 0.072mol) 后在搅拌状态下分批次加入对甲苯磺酰氯 (10.0g, 0.052mol), 反应液在 40℃ 搅拌过夜。将反应液冷却至室温, 用饱和食盐水洗涤 (100mL X 2), 有机相用无水硫酸钠干燥。过滤后滤液减压浓缩, 残余物经硅胶柱层析 (乙酸乙酯/石油醚 = 1/4) 得目标产物 (S)-3-((S)-1-羟基-2-(甲苯磺酰氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯 (f) (12.6g, 收率 59%)。

[0221] 化合物中间体 1 的制备:

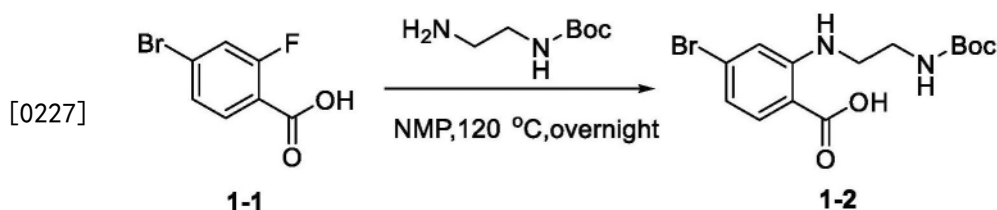


[0223] 将 (S)-3-((S)-1-羟基-2-(甲苯磺酰氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯 (f) (12.6g, 28.2mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (150mL) 中, 氮气保护下分批次加入氢化钠 (1.70g, 42.3mmol), 反应液在 40℃ 搅拌 1 小时, TLC 检测反应完全。冷却至 0℃, 滴加饱和食盐水淬灭, 反应液直接反相硅胶色谱柱 (水/乙腈 = 50/10) 纯化, 柱层析所得溶液用乙酸乙酯萃取 (200mL X 3), 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到中间体 (S)-3-((S)-环氧乙烷-2-基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯 (中间体 1) (6.5g, 收率 72%)。

[0224] 实施例 2、8-(3-氧杂-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-酮盐酸盐 (化合物 001) 的制备



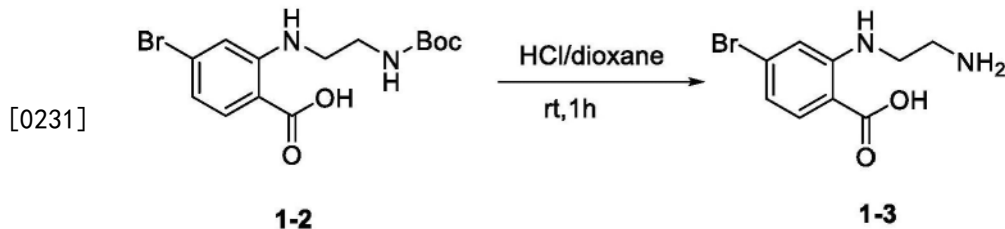
[0226] 化合物1-2的制备:



[0228] 室温下将4-溴-2-氟苯甲酸(1-1)(7.5g,34.2mmol)和N-叔丁氧羰基-1,2-乙二胺(16.4g,102.7mmol)加入到N-甲基吡咯烷酮(30mL)中。加入完毕后,升温至120℃反应16小时。反应完全后,将反应液缓慢加入到水(150mL)中,用2mol/L稀盐酸调节溶液pH至5~6,然后用乙酸乙酯萃取(150mL X 2)。合并有机相,用饱和食盐水(150mL X 2)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤。将滤液减压浓缩得到目标中间体4-溴-2-((2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)氨基)苯甲酸(1-2)(粗品,11.0g,收率:89%)。

[0229] LCMS:Rt:1.836min;MS m/z(ESI):359.0[M+H]。

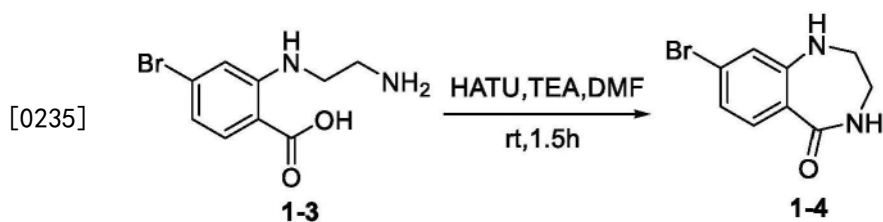
[0230] 化合物1-3的制备:



[0232] 室温下将4-溴-2-((2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)氨基)苯甲酸(1-2)(11.0g,30.6mmol),加入到4mol/L盐酸/二氧六环溶液(30mL)中,然后在室温反应1小时。反应完全后将反应液减压浓缩,得到目标中间体2-((2-氨基乙基)氨基)-4-溴苯甲酸(1-3)(粗品,8g,收率:100%)。

[0233] LCMS:Rt:0.688min;MS m/z(ESI):259.0[M+H]。

[0234] 化合物1-4的制备:

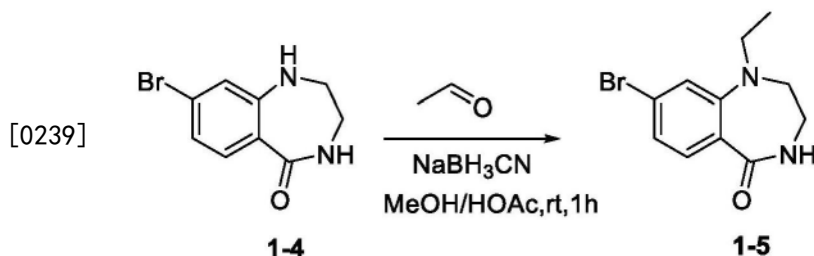


[0236] 室温下将2-((2-氨基乙基)氨基)-4-溴苯甲酸(1-3)(3g,11.6mmol),2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(8.8g,23.2mmol)和三乙胺(4.7g,46.4mmol)加入到超干N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中,室温反应1.5小时。反应完全后加入饱和食盐水

(100mL),用乙酸乙酯萃取(100mL X 2),有机相用饱和食盐水洗涤(50mL X 2),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物用正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到目标中间体8-溴-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(1-4)(1.6g,收率:57%)。

[0237] LCMS:Rt:1.173min;MS m/z (ESI):241.0[M+H]。

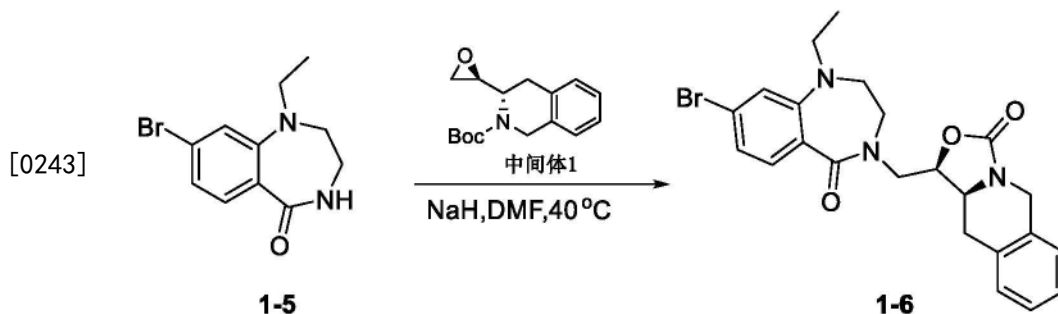
[0238] 化合物1-5的制备:



[0240] 室温下将8-溴-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(1-4)(1.6g,6.6mmol),氰基硼氢化钠(834mg,13.3mmol)和乙醛(584mg,13.3mmol)加入到醋酸(2mL)和甲醇(20mL)混合溶液中,室温反应1小时。反应完全后加入2mol/L稀盐酸(1mL)和水(50.0mL),用乙酸乙酯(50.0mL X 2)萃取。有机相合并,用饱和食盐水(50mL X 2)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物经正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=1/2)纯化,得到目标中间体8-溴-1-乙基-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(1-5)(1.1g,收率:62%)。

[0241] LCMS:Rt:1.499min;MS m/z (ESI):269.0[M+H]。

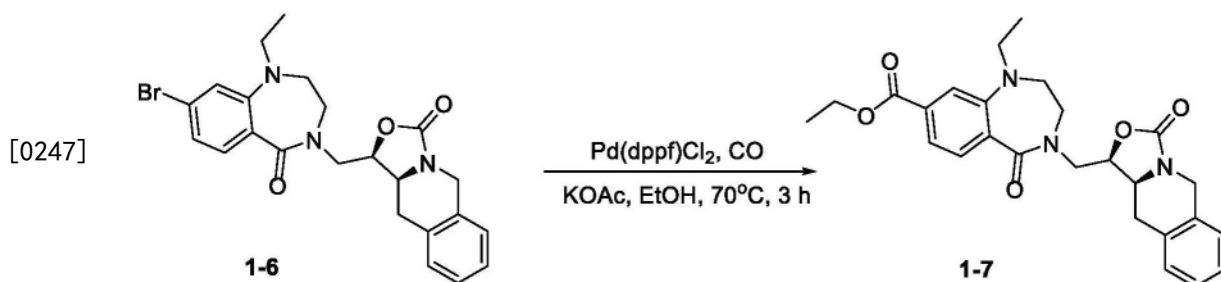
[0242] 化合物1-6的制备:



[0244] 室温下将8-溴-1-乙基-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(1-5)(400mg,1.52mmol)加入到超干N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中,然后加入氢化钠(90.9mg,2.27mmol)。添加完毕,加热至40℃搅拌1h后,再加入实施例1制得的中间体1(500mg,1.82mmol),反应16小时。反应完全后,加入水(100mL),用乙酸乙酯(100mL X 2)萃取。有机相合并,用饱和食盐水洗涤(50mL X 2),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物经正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到目标中间体(1R,10aS)-1-((8-溴-1-乙基-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂草-4-基)甲基)-1,5,10,10a-四氢-3H-噁唑并[3,4-b]异喹啉-3-酮(1-6)(150mg,收率:21%)。

[0245] LCMS:Rt:1.872min;MS m/z (ESI):470.1[M+H]。

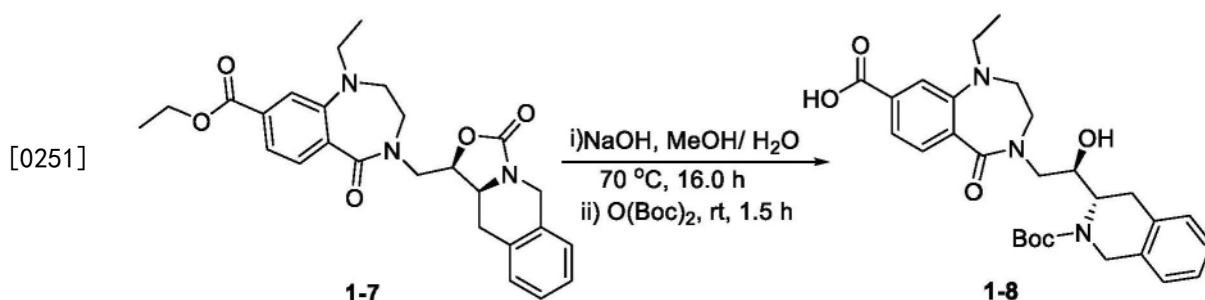
[0246] 化合物1-7的制备:



[0248] 室温下将中间体(1R,10aS)-1-((8-溴-1-乙基-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂草-4-基)甲基)-1,5,10,10a-四氢-3H-噁唑并[3,4-b]异喹啉-3-酮(1-6)(150mg,0.32mmol),[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯(11.7mg,0.02mmol)和醋酸钾(94mg,0.96mmol)加入到无水乙醇(10mL)中,CO置换3次,加热至70°C反应3.0小时。反应完全后冷却至室温,将反应液减压浓缩,加入饱和食盐水(50mL),然后用乙酸乙酯(50mL X 2)萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物经正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=1/2)纯化,得到目标中间体1-乙基-5-氧代-4-(((1R,10aS)-3-羰基-1,5,10,10a-四氢-3H-噁唑并[3,4-b]异喹啉-1-基)甲基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-8-羧酸乙酯(1-7)(130mg,收率:87%)。

[0249] LCMS:Rt:1.784min;MS m/z(ESI):464.1[M+H]。

[0250] 化合物1-8的制备:



[0252] 室温下将1-乙基-5-氧代-4-(((1R,10aS)-3-羰基-1,5,10,10a-四氢-3H-噁唑并[3,4-b]异喹啉-1-基)甲基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-8-羧酸乙酯(1-7)(130mg,0.28mmol)加入到甲醇(4mL)和水(4mL)的混合溶液中,然后加入氢氧化钠(90mg,2.24mmol),加热至70°C,反应16.0小时。反应完全后,将反应体系降温至室温,加入Boc酸酐(122mg,0.56mmol)反应1.5小时。反应完全后,将反应体系降温至0°C,用1mol/L的盐酸水溶液调节反应液的pH至5.0,后用乙酸乙酯(30mL X 3)萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物经反相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:乙腈/水=43%)得到目标中间体4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-羟基乙基)-1-乙基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-8-羧酸(1-8)(粗品,60mg,收率:42%)。

[0253] LCMS:Rt:1.722min;MS m/z(ESI):510.3[M+H]。

[0254] 化合物1-8的单晶X-射线结构测定和单晶X-射线分析:

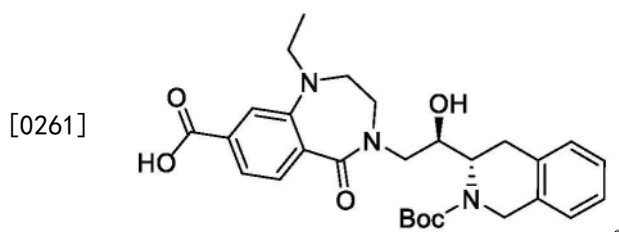
[0255] 单晶制备方法:称取化合物1-8(10.0mg)放入3mL螺口玻璃瓶中,加入甲醇2mL,搅拌5分钟后固体溶清。向玻璃瓶中加入0.5mL水,继续搅拌5分钟。溶液经0.22μm微孔滤膜滤至3mL螺口玻璃瓶中,玻璃瓶口用保鲜膜覆盖。用针头在瓶口处扎8个小孔,室温放置7天,制得上述化合物单晶。

[0256] 所得单晶样品进行X-射线分析,测试结果见表1和图1。

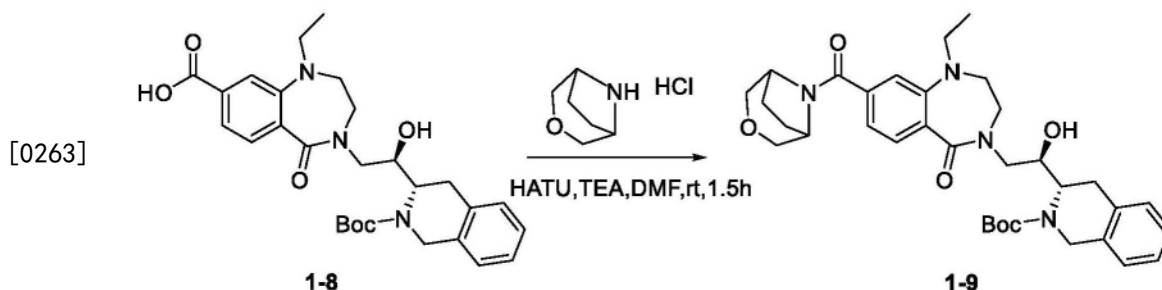
[0257] 表1化合物1-8的单晶样品和晶体数据

|   |                                 |                                  |
|---|---------------------------------|----------------------------------|
| [0258]  | 化学式                             | $C_{28}H_{35}N_3O_6 \cdot H_2O$  |
|   | 化学式量                            | 527.60                           |
|   | 晶系                              | 单斜                               |
|   | 空间群                             | P 1 21 1                         |
|   | a, Å                            | a=6.0902(12)                     |
|   | b, Å                            | b=9.601(2)                       |
|   | c, Å                            | c=23.026(5)                      |
| [0259]  | $\alpha$ , deg                  | 90                               |
|   | $\beta$ , deg                   | 90.334 (6)                       |
|   | $\gamma$ , deg                  | 90                               |
|   | 体积, Å <sup>3</sup>              | 1346.4 (5)                       |
|   | Z                               | 2                                |
|   | $D_{calc}$ , g cm <sup>-3</sup> | 1.301                            |
|   | 温度, K                           | 100 (2)                          |
|   | 辐射 (波长)                         | Mo K $\alpha$ (0.71073)          |
|   | 仪器                              | BRUKER D8 VENTURE PHOTON II      |
|   | h, k, l 范围                      | -8<=h<=7, -12<=k<=12, -30<=l<=30 |
|   | $\theta$ 范围                     | 2.298-28.383                     |
|   | 程序                              | SHELXL-2014                      |
|   | 采集的数据                           | 28356                            |
|   | Unique data                     | 6667                             |
|   | R (F <sub>o</sub> )             | 0.0676                           |
| R <sub>w</sub> (F <sub>o</sub> <sup>2</sup> ) | 0.1957                          |                                  |
| 拟合优度  | 1.018                           |                                  |
| 绝对构型测定  | Flack parameter (0.0 (2))       |                                  |

[0260] 通过上述X-射线晶体衍射实验,可以确定化合物1-8的化学结构和绝对构型如下:



[0262] 化合物1-9的制备:

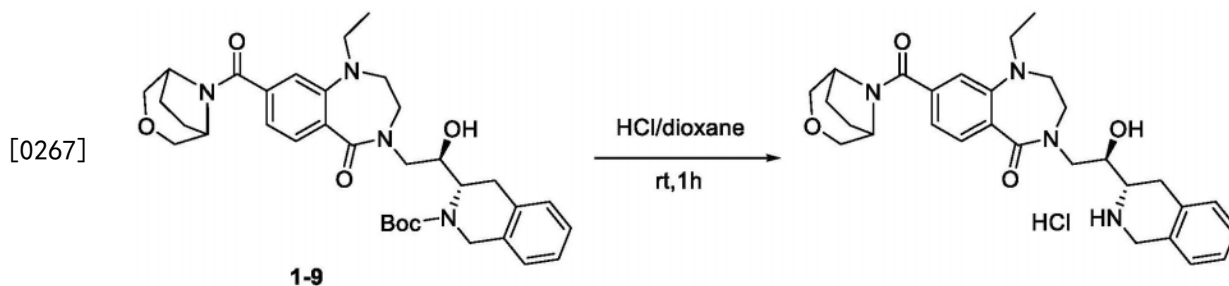


[0264] 室温下将4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-羟基乙基)-1-乙基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-8-羧酸(1-8) (60mg, 0.12mmol), 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (89.4mg, 0.24mmol)

和三乙胺(47.5mg,0.47mmol)加入到超干N,N-二甲基甲酰胺(5.0mL)中,然后加入3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐(26.3mg,0.18mmol),室温反应1.5小时。反应完全后加入饱和食盐水(30mL),用乙酸乙酯(30mL X 2)萃取,有机相用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物经正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=1/2)纯化,得到目标中间体(3S)-3-((1R)-2-(8-(3-氧杂-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1-乙基-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂草-4-基)-1-羟基乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(1-9)(20mg,收率:28%)。

[0265] LCMS:Rt:1.779min;MS m/z (ESI):605.2[M+H]。

[0266] 化合物001的制备:



[0268] 在0℃下向(3S)-3-((1R)-2-(8-(3-氧杂-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1-乙基-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂草-4-基)-1-羟基乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(1-9)(20mg,0.033mmol)加入4mol/L盐酸/二氧六环溶液(1.0mL),反应1小时。反应完全后减压浓缩,残余物用高效液相制备色谱法(洗脱剂梯度:

| 仪器    | Waters 2767  |           |           |
|-------|--|-----------|-----------|
| 流动相   | A: 0.1% HCl in H <sub>2</sub> O, B: CH <sub>3</sub> CN |           |           |
| 色谱柱   | Waters sunfire C18 19*250mm 10μm                       |           |           |
| 进样量   | 500 μL   |           |           |
| 运行梯度表 | 时间(min)  | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
|       | 0  | 90        | 5         |
|       | 1  | 80        | 20        |
|       | 11   | 60        | 40        |
|       | 11.2   | 5         | 95        |
|       | 13   | 5         | 95        |
|       | 13.2   | 95        | 5         |
| 15    | 95   | 5         |           |

[0269]

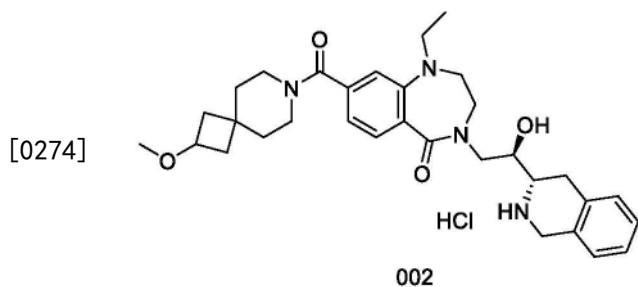
[0270] )纯化,得到目标化合物8-(3-氧杂-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物001)(3.65mg,收率:20%)。

[0271] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CD<sub>3</sub>OD):δ7.65-7.63(m,1H),7.31-7.16(m,6H),4.64(s,1H),4.50-4.36(m,2H),4.33-4.29(m,1H),3.99-3.96(m,2H),3.84-3.77(m,1H),3.79-3.57(m,8H),3.47-3.46(m,1H),3.34-3.30(m,2H),3.29-3.25(m,2H),2.05-1.99(m,4H),1.18-1.14(m,3H)。

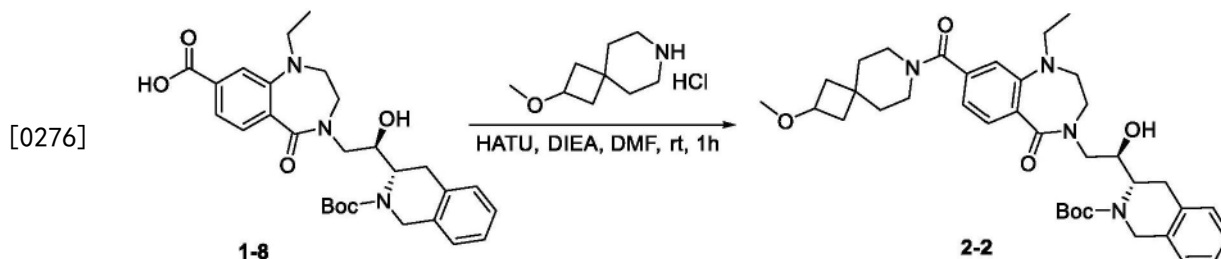
[0272] LCMS:Rt:0.798min;MS m/z (ESI):505.2[M+H]。

[0273] 实施例3,1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-甲氧基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮

盐酸盐(化合物002)的制备



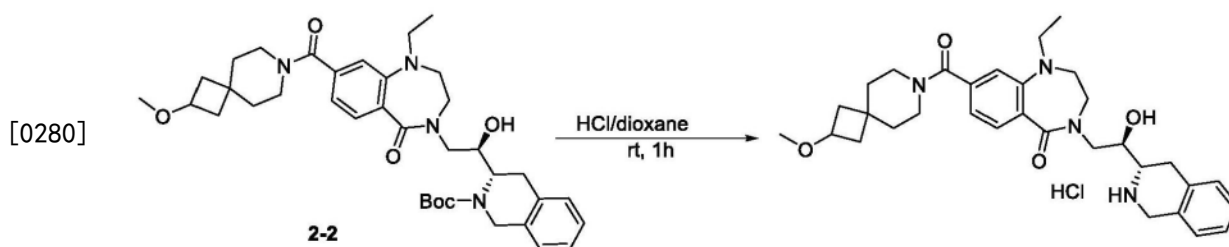
[0275] 化合物2-2的制备:



[0277] 室温下将4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-羟基乙基)-1-乙基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-8-羧酸(1-8)(100mg, 0.196mmol), 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(231mg, 0.608mmol)和N,N-二异丙基乙胺(157mg, 1.216mmol)加入到超干N,N-二甲基甲酰胺(2.5mL)中,然后加入2-甲氧基-7-氮杂螺[3.5]壬烷盐酸盐(53mg, 0.275mmol),室温搅拌反应1.0小时。反应完全后加入水(30mL),然后用乙酸乙酯(30mL X 3)萃取,合并有机相并用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物用正相硅胶色谱柱(洗脱剂:二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到目标中间体(S)-3-((R)-2-(1-乙基-8-(2-甲氧基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-4-基)-1-羟基乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(2-2)(110mg, 收率:86.7%)。

[0278] LCMS:Rt:2.062min;MS m/z(ESI):647.3[M+H].

[0279] 化合物002的制备:

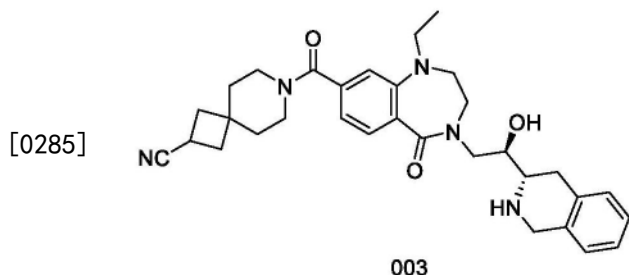


[0281] 室温下将(S)-3-((R)-2-(1-乙基-8-(2-甲氧基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-4-基)-1-羟基乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(2-2)(110mg, 0.170mmol)加入到4mol/L盐酸/二氧六环(2.5mL)溶液中。室温搅拌反应1.0小时。反应完全后将反应液减压浓缩,残余物用高效液相制备色谱法(洗脱剂及梯度参考实施例2)纯化,得到目标化合物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-甲氧基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-酮盐酸盐(化合物002)(39.81mg, 收率:42.8%)。

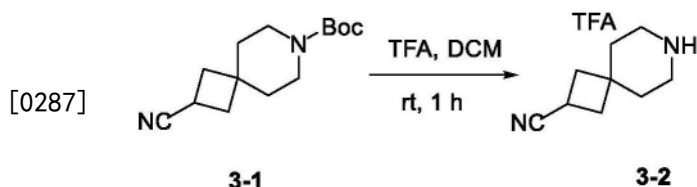
[0282]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$ 7.64 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H) , 7.35-7.22 (m, 4H) , 7.12 (d,  $J=8\text{Hz}$ , 2H) , 4.51-4.36 (m, 2H) , 4.33-4.30 (m, 1H) , 4.04-3.89 (m, 2H) , 3.73-3.61 (m, 7H) , 3.51-3.50 (m, 1H) , 3.38-3.34 (m, 4H) , 3.31-3.30 (m, 2H) , 3.22 (s, 3H) , 2.29-2.23 (m, 2H) , 1.71-1.68 (m, 4H) , 1.55 (s, 2H) , 1.17 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H) .

[0283] LCMS: Rt: 1.355min; MS  $m/z$  (ESI) : 547.4 [M+H] .

[0284] 实施例4、7-(1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-8-羰基)-7-氮杂螺[3.5]壬烷-2-甲腈(化合物003)的制备



[0286] 化合物3-2的制备:



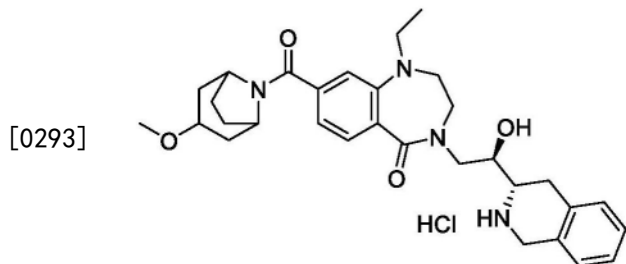
[0288] 室温下将2-氰基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯(3-1) (600mg, 2.4mmol) 溶于二氯甲烷(2mL), 缓慢加入三氟乙酸(1mL), 反应液在室温下搅拌1小时。反应完全后将反应液减压浓缩, 得中间体7-氮杂螺[3.5]壬烷-2-甲腈三氟乙酸盐(3-2) (粗品, 590mg, 收率: 100%)。

[0289] 其余步骤参考实施例2的合成方法, 将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为7-氮杂螺环[3.5]壬烷-2-甲腈三氟乙酸盐(3-2)。制备所得盐酸盐终产物溶于二氯甲烷, 用饱和碳酸氢钠水溶液中中和洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩后得到目标产物7-(1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-8-羰基)-7-氮杂螺[3.5]壬烷-2-甲腈(化合物003)。

[0290]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$ 7.55 (d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H) , 7.13-7.09 (m, 3H) , 7.04-7.02 (m, 1H) , 6.98-6.95 (m, 2H) , 4.06-3.87 (m, 4H) , 3.80-3.75 (m, 1H) , 3.65-3.60 (m, 4H) , 3.51-3.49 (m, 1H) , 3.37-3.31 (m, 3H) , 3.29-3.18 (m, 3H) , 3.02-2.83 (m, 3H) , 2.34-2.32 (m, 2H) , 2.19-2.16 (m, 2H) , 1.75-1.62 (m, 4H) , 1.11 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H) .

[0291] LCMS: Rt: 1.324min; MS  $m/z$  (ESI) : 542.3 [M+H] .

[0292] 实施例5、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(3-甲氧基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物004)的制备

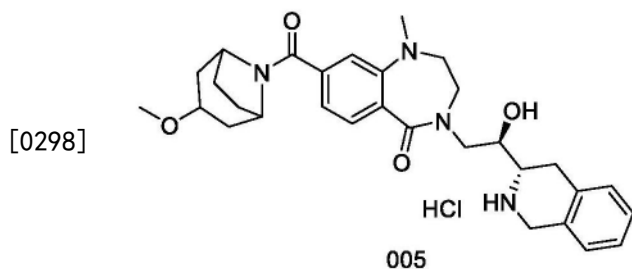


[0294] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为3-甲氧基-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐,得到目标产物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(3-甲氧基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物004)。

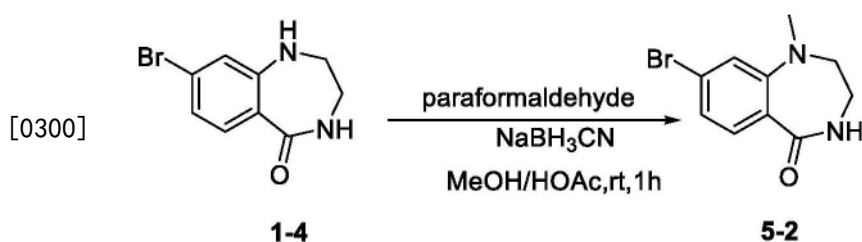
[0295]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.68 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.30-7.22 (m, 6H), 4.68 (s, 1H), 4.51-4.37 (m, 2H), 4.33-4.31 (m, 1H), 4.03-3.98 (m, 2H), 3.74-3.62 (m, 5H), 3.60-3.50 (m, 2H), 3.44-3.32 (m, 2H), 3.30 (s, 3H), 3.28-3.22 (m, 2H), 2.25-2.07 (m, 4H), 2.01-1.89 (m, 4H), 1.19 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H) .

[0296] LCMS: Rt: 1.347min; MS  $m/z$  (ESI): 533.2 [M+H] .

[0297] 实施例6、4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(3-甲氧基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1-甲基-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物005)的制备



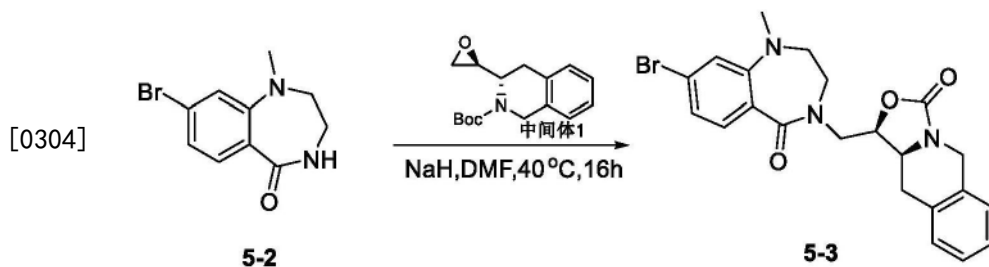
[0299] 化合物5-2的制备:



[0301] 室温下将8-溴-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(1-4) (500mg, 2.07mmol), 氰基硼氢化钠(260.7mg, 4.15mmol)和多聚甲醛(125mg, 4.15mmol)加入到醋酸(1mL)和甲醇(10mL)混合溶液中,室温反应1小时。反应完全后加入2mol/L稀盐酸(1mL)、水(50mL),用乙酸乙酯(50mL X 2)萃取。有机相合并,用饱和食盐水(40mL X 3)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物经正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=1/2)纯化,得到目标中间体8-溴-1-甲基-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(5-2) (400mg, 收率:76%)。

[0302] LCMS: Rt: 1.359min; MS  $m/z$  (ESI): 255.0 [M+H] .

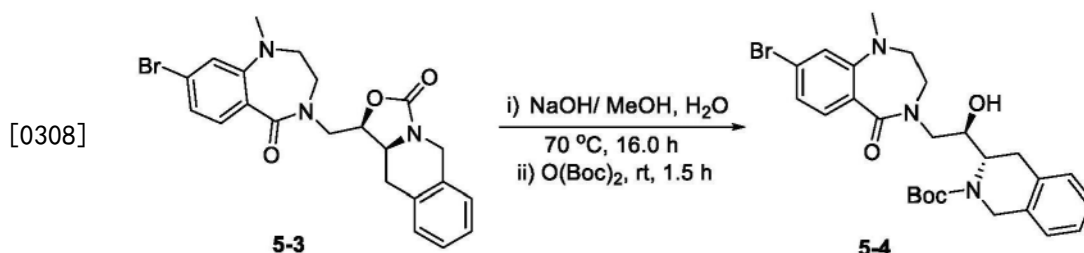
[0303] 化合物5-3的制备:



[0305] 室温下将8-溴-1-甲基-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-酮(5-2)(400mg,1.57mmol)加入到超干N,N-二甲基甲酰胺(40mL)中,然后加入氢化钠(75.3mg,1.88mmol)。添加完毕,加热至40°C搅拌1小时后,再加入(S)-3-((S)-环氧乙烷-2-基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(中间体1)(518mg,1.88mmol),反应16小时。反应完全后,加入水(120mL),用乙酸乙酯(100mL X 2)萃取。有机相合并,用饱和食盐水(50mL X 2)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物经正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=1/1)纯化,得到目标中间体(1R,10aS)-1-((8-溴-1-甲基-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-4-基)甲基)-1,5,10,10a-四氢-3H-噁唑并[3,4-b]异喹啉-3-酮(5-3)(520mg,收率:73%)。

[0306] LCMS:Rt:1.749min;MS m/z(ESI):456.0[M+H].

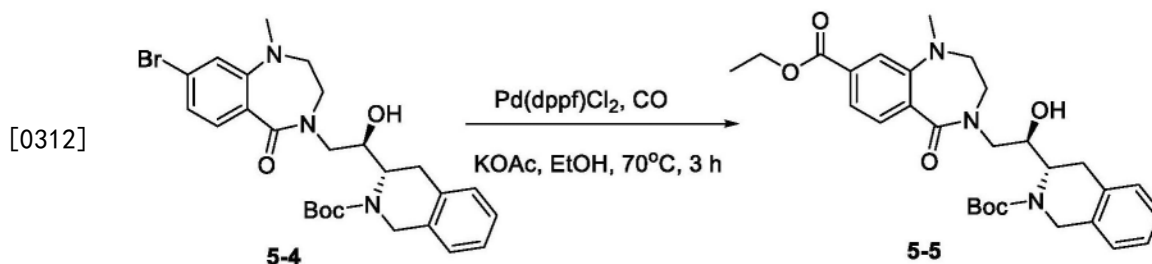
[0307] 化合物5-4的制备:



[0309] 室温下将(1R,10aS)-1-((8-溴-1-甲基-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-4-基)甲基)-1,5,10,10a-四氢-3H-噁唑并[3,4-b]异喹啉-3-酮(5-3)(520mg,1.14mmol)加入到甲醇(5mL)和水(5mL)的混合溶液中,加入氢氧化钠(274mg,6.84mmol),加热至70°C,反应16.0小时。反应完全后,将反应体系降温至室温,加入Boc酸酐(497mg,2.28mmol)反应1.5小时。反应完全后,用乙酸乙酯(30mL X 3)萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物经正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=1/1)纯化,得到目标中间体(S)-3-((R)-2-((8-溴-1-甲基-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-4-基)-1-羟基乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(5-4)(530mg,收率:88%)。

[0310] LCMS:Rt:2.088min;MS m/z(ESI):530.1[M+H].

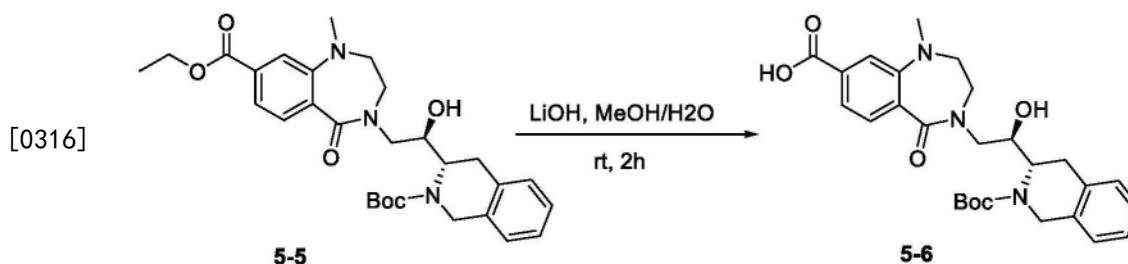
[0311] 化合物5-5的制备:



[0313] 室温下将(S)-3-((R)-2-(8-溴-1-甲基-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-4-基)-1-羟基乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(5-4)(530mg,1mmol), [1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯二氯甲烷络合物(38mg,0.05mmol)和醋酸钾(294mg,3mmol)加入到无水乙醇(15mL)中,CO置换3次,加热至70°C反应3.0小时。反应完全后冷却至室温,将反应液减压浓缩,加入饱和食盐水(50mL),然后用乙酸乙酯(50mL X 2)萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物经正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=1/1)纯化,得到目标中间体4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-羟基乙基)-1-甲基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-8-羧酸乙酯(5-5)(500mg,收率:96%)。

[0314] LCMS:Rt:1.965min;MS m/z (ESI):524.2[M+H].

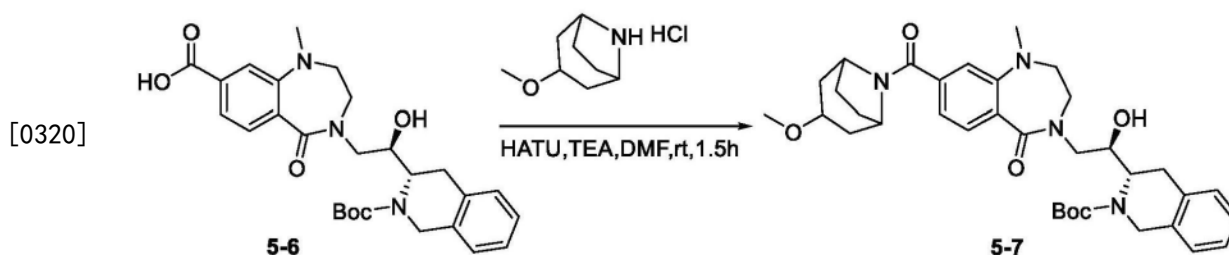
[0315] 化合物5-6的制备:



[0317] 室温下将中间体4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-羟基乙基)-1-甲基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-8-羧酸乙酯(5-5)(500mg,0.96mmol)加入到甲醇(5mL)和水(5mL)的混合溶液中,然后加入氢氧化锂一水合物(161mg,3.82mmol),室温反应2小时。反应完全后,用1mol/L的盐酸水溶液调节反应液的pH至5.0,用乙酸乙酯(30mL X 3)萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩,得到目标中间体4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-羟基乙基)-1-甲基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-8-羧酸(5-6)(420mg,收率:88%)。

[0318] LCMS:Rt:1.686min;MS m/z (ESI):496.2[M+H].

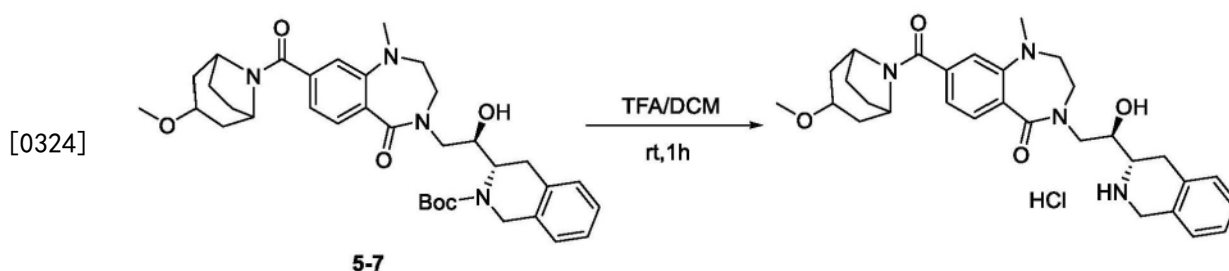
[0319] 化合物5-7的制备:



[0321] 室温下将4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-羟基乙基)-1-甲基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-8-羧酸(5-6)(70mg, 0.14mmol), 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(106mg, 0.28mmol)和三乙胺(57mg, 0.56mmol)加入到超干N,N-二甲基甲酰胺(5.0mL), 然后再加入3-甲氧基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷盐酸盐(30mg, 0.17mmol), 室温反应1.5小时。反应完全后加入饱和食盐水(30mL), 用乙酸乙酯(30mL X 2)萃取, 有机相用饱和食盐水(30mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩。残余物经正相硅胶色谱柱(洗脱剂: 乙酸乙酯)纯化, 得到目标中间体(3S)-3-((1R)-1-羟基-2-(8-(3-甲氧基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1-甲基-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂草-4-基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(5-7)(65mg, 收率: 75%)。

[0322] LCMS: Rt: 1.831min; MS m/z (ESI): 619.3 [M+H]。

[0323] 化合物005的制备:

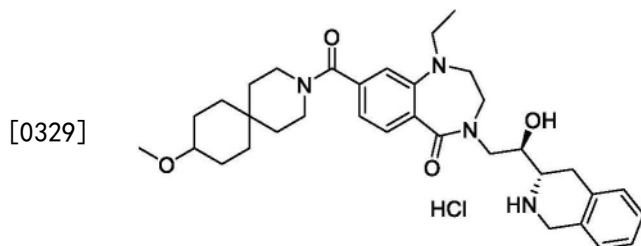


[0325] 室温下将(3S)-3-((1R)-1-羟基-2-(8-(3-甲氧基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1-甲基-5-氧代-1,2,3,5-四氢-4H-苯并[e][1,4]二氮杂草-4-基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(5-7)(65mg, 0.1mmol)加入到二氯甲烷(2mL)中, 然后加入三氟乙酸(1ml), 室温反应1小时。反应完全后减压浓缩, 残余物用高效液相制备色谱法(洗脱剂及梯度参考实施例2)纯化, 得到目标化合物4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(3-甲氧基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1-甲基-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物5)(20.33mg, 收率: 37%)。

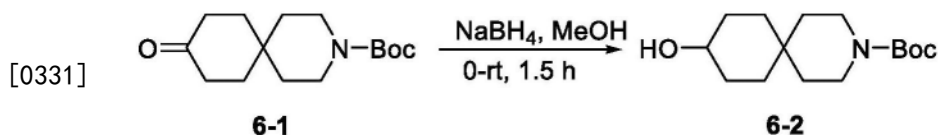
[0326]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.67-7.65 (m, 1H), 7.31-7.19 (m, 6H), 4.69 (s, 1H), 4.50-4.33 (m, 3H), 4.05-4.00 (m, 2H), 3.70-3.60 (m, 4H), 3.57-3.52 (m, 3H), 3.35-3.32 (m, 1H), 3.28-3.22 (m, 4H), 2.98 (s, 3H), 2.23-2.06 (m, 4H), 2.00-1.90 (m, 4H)。

[0327] LCMS: Rt: 1.271min; MS m/z (ESI): 519.2 [M+H]。

[0328] 实施例7、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(9-甲氧基-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物006)的制备



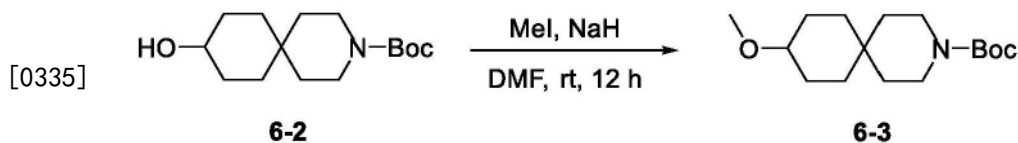
[0330] 化合物6-2的制备:



[0332] 室温下将9-氧代-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯(6-1)(400mg,1.5mmol)加入到甲醇中(10mL),0℃下加入硼氢化钠(171mg,4.5mmol),室温反应1.5小时。加入氯化铵水溶液(10mL)淬灭反应,用乙酸乙酯(50mL X 2)萃取。有机相合并,用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物用正相硅胶色谱柱(石油醚/乙酸乙酯=2/1)纯化,得到9-羟基-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯(6-2)(305mg,收率:76%)。

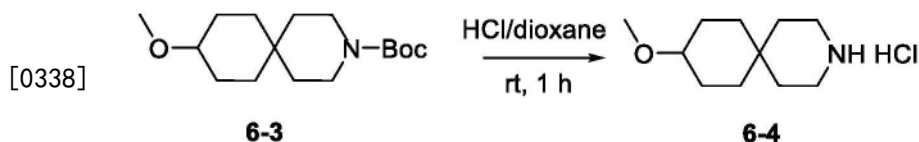
[0333] LCMS:Rt:1.570min;MS m/z(ESI):270.0[M+H].

[0334] 化合物6-3的制备:



[0336] 将9-羟基-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯(6-2)(540mg,2mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(10mL),冷却至0℃,分批加入氢化钠(320mg,8mmol),然后0℃反应1.0小时。加入碘甲烷(568mg,4mmol)后室温搅拌过夜。反应完全后加入饱和氯化铵溶液(10mL)淬灭,用饱和食盐水(50mL)稀释,乙酸乙酯(20mL X 2)萃取,有机相用饱和食盐水(30mL X 2)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩得到目标中间体9-甲氧基-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯(6-3)(粗品,560mg,收率:100%)。

[0337] 化合物6-4的制备:



[0339] 将9-甲氧基-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯(6-3)(560mg,2mmol)溶于二氧六环(1mL),冷却至0℃,加入4mol/L盐酸/二氧六环溶液(4mL),0℃反应1.0小时。反应完全后将反应液减压浓缩,残余物用甲基叔丁基醚打浆,过滤得到目标中间体9-甲氧基-3-氮杂螺[5.5]十一烷盐酸盐(6-4)(192mg,收率:44%)。

[0340] LCMS:Rt:0.415min;MS m/z(ESI):184.2[M+H].

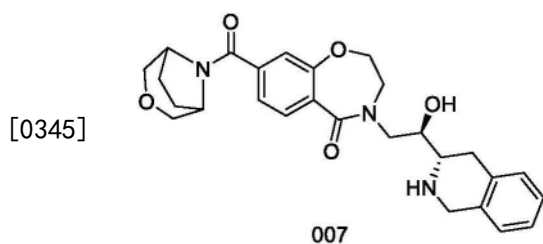
[0341] 其余步骤参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为9-甲氧基-3-氮杂螺[5.5]十一烷盐酸盐(6-4),得到目标产物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(9-甲氧基-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-酮盐酸盐(化合物006)。

[0342]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,CD<sub>3</sub>OD): $\delta$ 7.62-7.60(m,1H),7.31-7.21(m,4H),7.08-7.03(m,2H),4.47-4.38(m,2H),4.30-4.27(m,1H),3.99-3.95(m,1H),3.74-3.56(m,7H),3.43-3.38(m,3H),3.32-3.31(m,3H),3.27-3.22(m,5H),1.78-1.70(m,4H),1.63-1.57(m,1H),1.51-1.38(m,5H),1.32-1.23(m,2H),1.15(t,J=7Hz,3H).

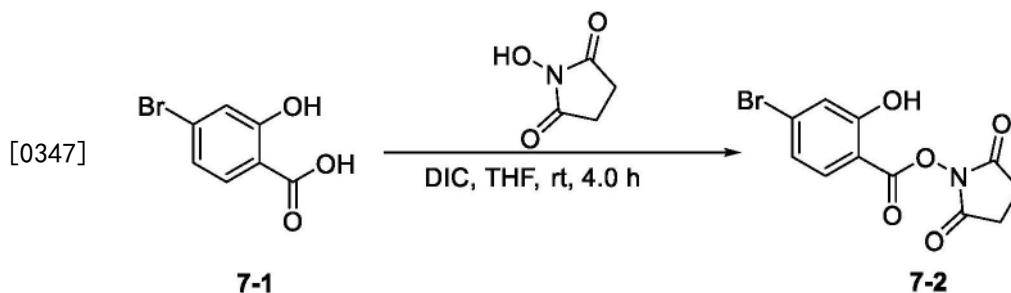
[0343] LCMS:Rt:1.347min;MS m/z(ESI):575.3[M+H].

[0344] 实施例8-8-(3-氧杂-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-4-((R)-2-羟基-2-((S)-

1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-3,4-二氢苯并[f][1,4]氧氮杂草-5(2H)-酮(化合物007)的制备



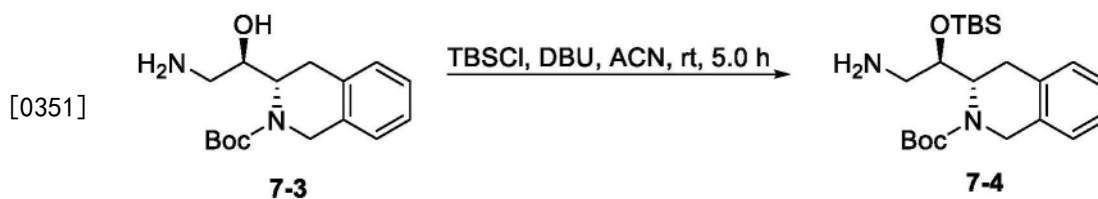
[0346] 化合物7-2的制备:



[0348] 室温下将4-溴-2-羟基苯甲酸(7-1)(2.5g,11.5mmol)和N-羟基丁二甲酰胺(2.65g,23.0mmol)加入到超干四氢呋喃(75.0mL),然后加入N,N'-二异丙基碳二亚胺(2.9g,23.0mmol),室温反应4.0小时。反应完全后减压浓缩,残余物用正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=2/1)纯化,得到目标中间体2,5-二羰基吡咯烷-1-基4-溴-2-羟基苯甲酸酯(7-2)(3.45g,收率:96%)。

[0349] LCMS:Rt:1.546min;MS m/z(ESI):311.8[M-H]。

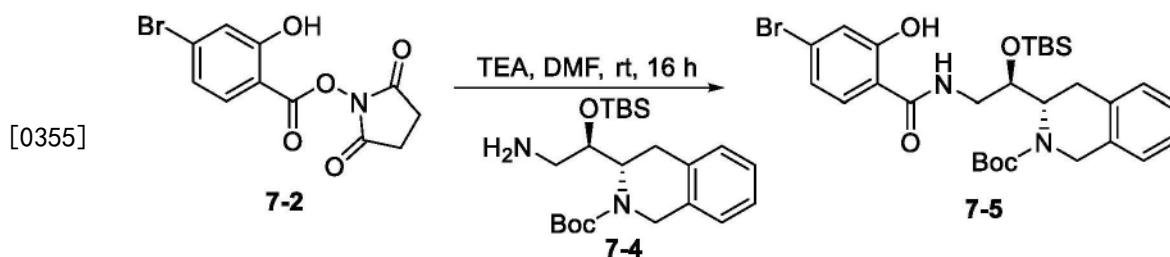
[0350] 化合物7-4的制备:



[0352] 室温下将(S)-3-((R)-2-氨基-1-羟基乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-3,合成方法参考US10494376B2)(1.0g,3.42mmol)和1,8-二氮杂二环十一碳-7-烯(2.1g,13.68mmol)加入到乙腈(30.0mL)中,然后在0℃下加入叔丁基二甲基氯硅烷(1.03g,6.85mmol),室温反应5.0小时。反应完全后,加入水(50mL),用乙酸乙酯(50mL X 2)萃取,有机相用饱和食盐水(30mL X 3)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物用正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:二氯甲烷/甲醇=50/1)纯化,得到目标中间体(S)-3-((R)-2-氨基-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-4)(1.21g,收率:87%)。

[0353] LCMS:Rt:1.321min;MS m/z(ESI):407.1[M+H]。

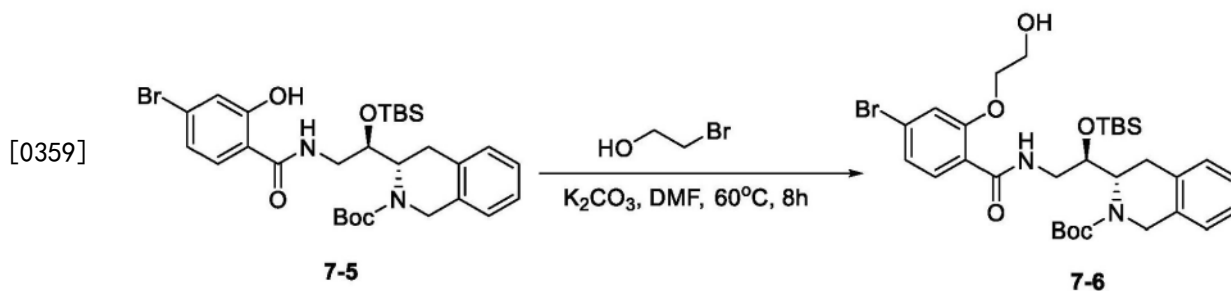
[0354] 化合物7-5的制备:



[0356] 室温下将2,5-二羰基吡咯烷-1-基4-溴-2-羟基苯甲酸酯(7-2)(773.0mg, 2.46mmol)和(S)-3-((R)-2-氨基-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-4)(1.1g, 2.71mmol)加入到超干N,N-二甲基甲酰胺(15.0mL),然后加入三乙胺(1.8mL),室温反应16.0小时。反应完全后,加入水(100mL),用乙酸乙酯(100mL X 2)萃取,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物用正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=5/1)纯化,得到目标中间体(S)-3-((R)-2-(4-溴-2-羟基苯甲酰氨基)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-5)(1.1g,收率:74%)。

[0357] LCMS:Rt:1.814min;MS m/z (ESI):605.1[M+H]。

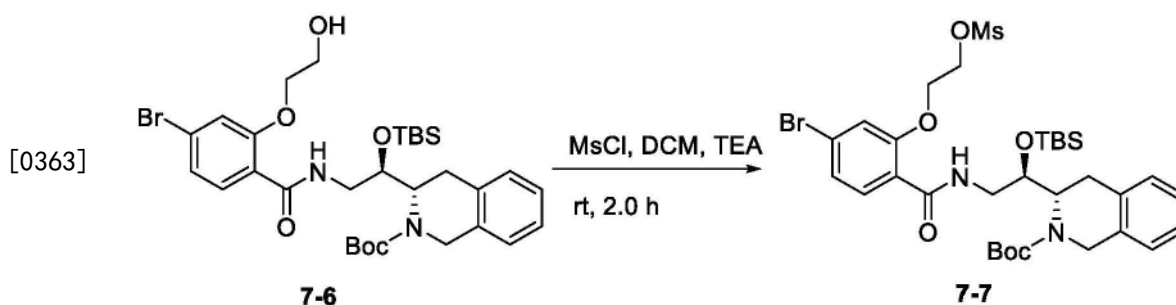
[0358] 化合物7-6的制备:



[0360] 室温下将(S)-3-((R)-2-(4-溴-2-羟基苯甲酰氨基)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-5)(500.0mg, 0.825mmol)和2-溴乙醇(231.0mg, 1.85mmol)加入到N,N-二甲基甲酰胺(8.0mL)然后加入碳酸钾(340.0mg, 2.46mmol)。升温至60°C反应8.0小时。反应完全后,加入水(50mL),用乙酸乙酯(50mL X 2)萃取,有机相用饱和食盐水(30mL X 3)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物用正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=3/1)纯化,得到目标中间体(S)-3-((R)-2-(4-溴-2-(2-羟基乙氧基)苯甲酰氨基)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸酯(7-6)(454mg,收率:85%)。

[0361] LCMS:Rt:2.40min;MS m/z (ESI):649.1[M+H]。

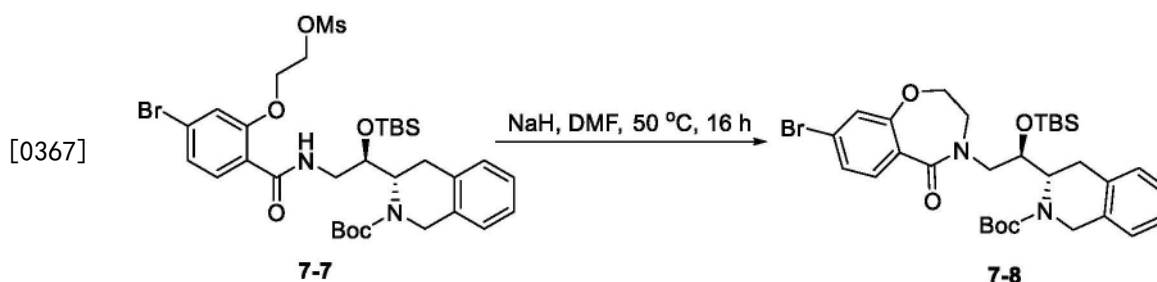
[0362] 化合物7-7的制备:



[0364] 室温下将(S)-3-((R)-2-(4-溴-2-(2-羟基乙氧基)苯甲酰氨基)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸酯(7-6)(454mg,0.7mmol)和三乙胺(212.0mg,2.1mmol)加入到二氯甲烷(10.0mL)中,降温至0℃,然后加入甲基磺酰氯(160.0mg,1.4mmol),室温反应2.0小时。反应完全后,加入水(50mL),用二氯甲烷(50mL X 3)萃取,有机相用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物用正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=2/1)纯化,得到目标中间体(S)-3-((R)-2-(4-溴-2-(2-((甲磺酰)氧基)乙氧基)苯甲酰氨基)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-7)(510mg,收率:100%)。

[0365] LCMS:Rt:2.123min;MS m/z (ESI):727.1[M+H]。

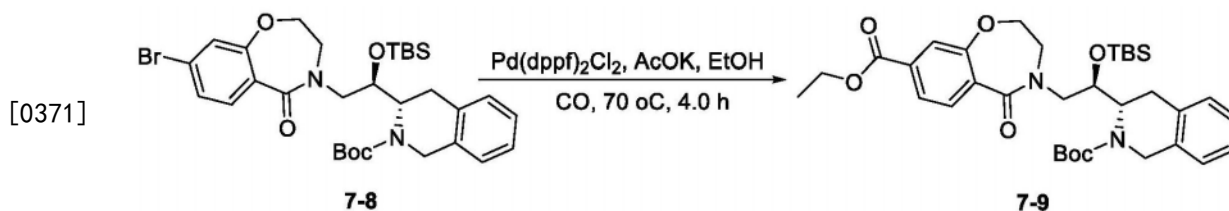
[0366] 化合物7-8的制备:



[0368] 室温下将(S)-3-((R)-2-(4-溴-2-(2-((甲磺酰)氧基)乙氧基)苯甲酰氨基)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-7)(510mg,0.7mmol)加入到超干N,N-二甲基甲酰胺(10.0mL)中,然后加入氢化钠(36.4mg,0.91mmol),50℃反应16.0小时。反应完全后,加入水(50mL),用乙酸乙酯(50mL X 3)萃取,有机相用饱和食盐水(50mL X 3)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物用正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化,得到目标中间体(S)-3-((R)-2-(8-溴-5-羰基-2,3-二氢苯并[f][1,4]氧氮杂萸-4(5H)-基)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-8)(341mg,收率:77%)。

[0369] LCMS:Rt:2.405min;MS m/z (ESI):631.1[M+H]。

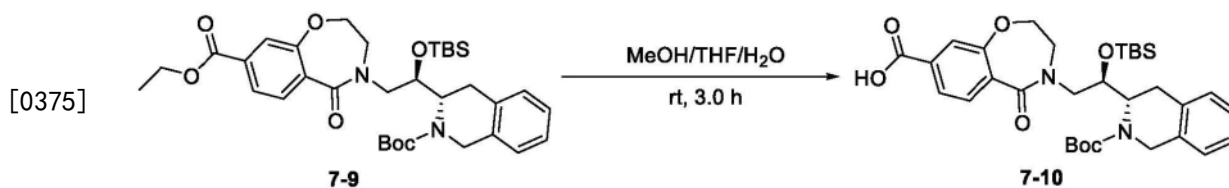
[0370] 化合物7-9的制备:



[0372] 室温下将(S)-3-((R)-2-(8-溴-5-羰基-2,3-二氢苯并[f][1,4]氧氮杂萸-4(5H)-基)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-8)(291mg,0.46mmol),[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯(17mg,0.023mmol)和醋酸钾(135mg,1.38mmol)加入到无水乙醇(17.0mL)中,CO置换3次,加热至70℃反应4.0小时。反应完全后冷却至室温,减压浓缩。残余物经正相硅胶色谱柱(洗脱剂梯度:石油醚/乙酸乙酯=5/1)纯化,得到目标中间体4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-5-氧代-2,3,4,5-四氢苯并[f][1,4]氧氮杂萸-8-羧酸乙酯(7-9)(261mg,收率:91%)。

[0373] LCMS:Rt:1.532min;MS m/z (ESI):625.0[M+H]。

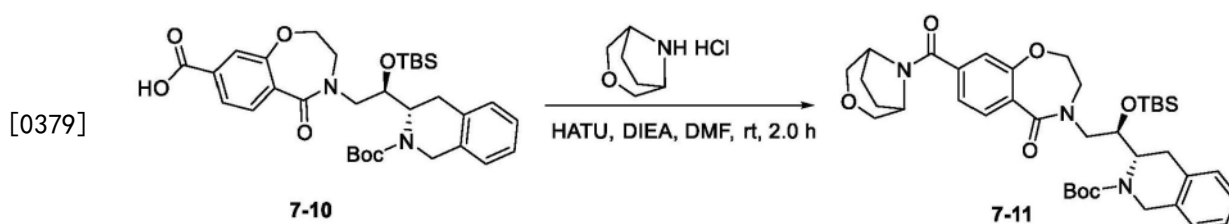
[0374] 化合物7-10的制备:



[0376] 室温下将4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-5-氧代-2,3,4,5-四氢苯并[f][1,4]氧氮杂草-8-羧酸乙酯(7-9)(261mg,0.42mmol)加入到甲醇(5.0mL),四氢呋喃(5.0mL)和水(5.0mL)的混合溶液中,然后加入氢氧化锂一水合物(140.0mg,3.34mmol),室温反应3.0小时。反应完全后,将反应体系降温至0℃,用1N的盐酸水溶液调节反应液的pH至5.0,用乙酸乙酯(30mL X 2)萃取。有机相合并用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。得到目标中间体4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-5-氧代-2,3,4,5-四氢苯并[f][1,4]氧氮杂草-8-羧酸(7-10)(241mg,收率:97%)。

[0377] LCMS:Rt:0.788min;MS m/z (ESI):597.2[M+H]。

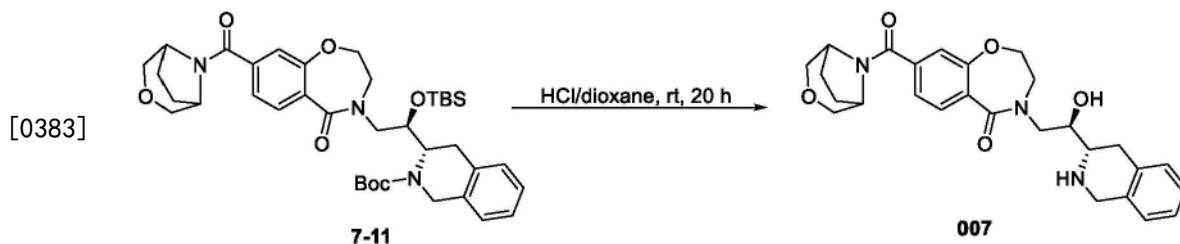
[0378] 化合物7-11的制备:



[0380] 室温下将4-((R)-2-((S)-2-(叔丁氧基羰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-5-氧代-2,3,4,5-四氢苯并[f][1,4]氧氮杂草-8-羧酸(7-10)(20mg,0.033mmol),2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(25.5mg,0.067mmol)和N,N-二异丙基乙胺(17.0mg,0.134mmol)加入到超干N,N-二甲基甲酰胺(1.0mL)中,然后加入3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐(6.5mg,0.044mmol),室温反应2.0小时。反应完全后加入饱和食盐水(30mL),用乙酸乙酯(30mL X 2)萃取,有机相用饱和食盐水(30mL X 2)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。残余物用Prep-TLC(展开剂:石油醚/乙酸乙酯=1/1)纯化,得到目标中间体(3S)-3-((1R)-2-(8-(3-氧杂-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-5-氧代-2,3-二氢苯并[f][1,4]氧氮杂草-4(5H)-基)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-11)(20.1mg,收率:87%)。

[0381] LCMS:Rt:1.813min;MS m/z (ESI):692.4[M+H]。

[0382] 化合物007的制备:



[0384] 在0℃下将(3S)-3-((1R)-2-(8-(3-氧杂-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-5-氧代-2,3-二氢苯并[f][1,4]氧氮杂草-4(5H)-基)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-羧酸叔丁酯(7-11)(20.1mg)加入到盐酸/二氧六环溶液(4mol/L,5.0mL)中,反应液在室温下搅拌20小时。反应完全后减压浓缩,残余物用高效液相制备色谱法,采用下述洗脱剂梯度纯化:

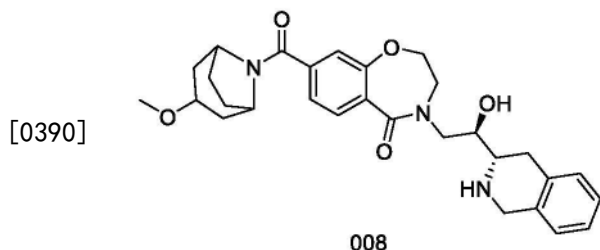
| 仪器    | Waters 2767   |           |           |
|-------|---|-----------|-----------|
| 流动相   | A: 0.1%NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> in H <sub>2</sub> O B: CH <sub>3</sub> CN |           |           |
| 色谱柱   | Waters sunfire C18 19*250mm 10μm  |           |           |
| 进样量   | 500 μL  |           |           |
| 运行梯度表 | 时间(min)   | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
|       | 0   | 90        | 5         |
|       | 1   | 80        | 20        |
|       | 11  | 60        | 40        |
|       | 11.2  | 5         | 95        |
|       | 13  | 5         | 95        |
|       | 13.2  | 95        | 5         |
| 15    | 95  | 5         |           |

[0386] 得到目标化合物8-(3-氧杂-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-3,4-二氢苯并[f][1,4]氧氮杂草-5(2H)-酮(化合物007)(7.09mg,收率:51%)。

[0387] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CD<sub>3</sub>OD):δ7.79(d,J=8.0Hz,1H),7.31-7.26(m,1H),7.18-7.08(m,4H),7.08-7.02(m,1H),4.63(s,1H),4.56-4.47(m,2H),4.10-3.94(m,5H),3.84-3.63(m,6H),3.62-3.52(m,1H),2.99-2.82(m,3H),2.12-1.92(m,4H)。

[0388] LCMS:Rt:1.525min;MS m/z(ESI):478.1[M+H]。

[0389] 实施例9、4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(3-甲氧基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-3,4-二氢苯并[f][1,4]氧氮杂草-5(2H)-酮(化合物008)的制备



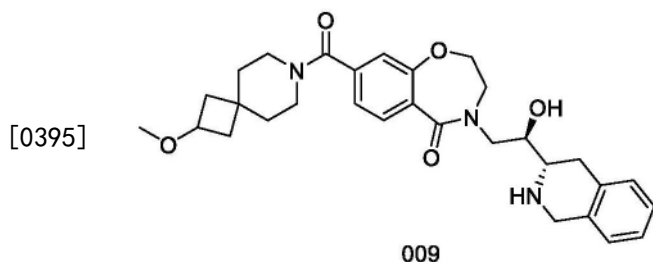
[0391] 参考实施例8的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为3-甲氧基-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐,得到目标产物4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(3-甲氧基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-3,4-二氢苯并[f]

[1,4]氧氮杂草-5(2H)-酮(化合物008)。

[0392]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 7.78 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.24 (dd,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1.6Hz, 1H), 7.13-7.03 (m, 5H), 4.66 (s, 1H), 4.53-4.50 (m, 2H), 4.07-3.94 (m, 5H), 3.76-3.66 (m, 3H), 3.55 (s, 1H), 3.29 (s, 3H), 2.95-2.85 (m, 3H), 2.19-2.07 (m, 4H), 1.95-1.86 (m, 4H)。

[0393] LCMS: Rt: 1.305min; MS  $m/z$  (ESI): 506.3 [M+H]。

[0394] 实施例10、4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-甲氧基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-3,4-二氢苯并[f][1,4]氧氮杂草-5(2H)-酮(化合物009)的制备

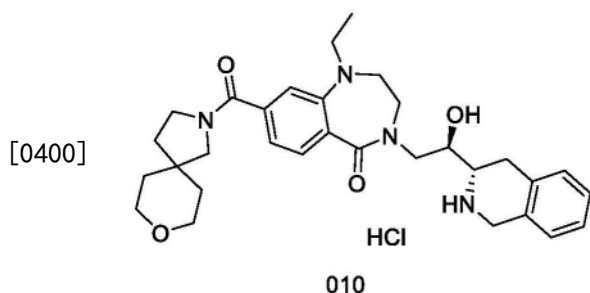


[0396] 参考实施例8的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为2-甲氧基-7-氮杂螺[3.5]壬烷盐酸盐,得到目标化合物4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-甲氧基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-3,4-二氢苯并[f][1,4]氧氮杂草-5(2H)-酮(化合物009)。

[0397]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 7.77 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.16 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.15-7.07 (m, 3H), 7.07-6.99 (m, 2H), 4.57-4.45 (m, 2H), 4.10-3.85 (m, 5H), 3.80-3.54 (m, 5H), 3.36-3.30 (m, 2H), 3.21 (s, 3H), 3.00-2.82 (m, 3H), 2.31-2.18 (m, 2H), 1.79-1.60 (m, 4H), 1.54 (s, 2H)。

[0398] LCMS: Rt: 1.306min; MS  $m/z$  (ESI): 520.3 [M+H]。

[0399] 实施例11、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(8-氧杂-2-氮杂螺[4.5]癸烷-2-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物010)的制备



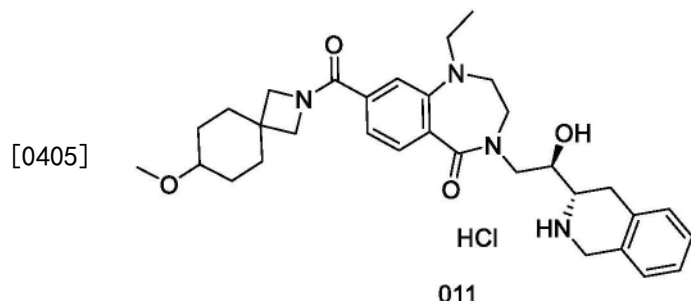
[0401] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为8-氧杂-2-氮杂螺[4.5]癸烷,得到目标产物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(8-氧杂-2-氮杂螺[4.5]癸烷-2-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物010)。

[0402]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 7.71 (dd,  $J=7.9, 2.0\text{Hz}$ , 1H), 7.42-7.19 (m, 6H), 4.52-4.31 (m, 3H), 4.07-3.97 (m, 1H), 3.80-3.62 (m, 9H), 3.62-3.49 (m, 4H), 3.49-3.33 (m, 3H), 3.29-3.20 (m, 2H), 1.96 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 1.89 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 1H), 1.72-1.63 (m, 2H), 1.59-

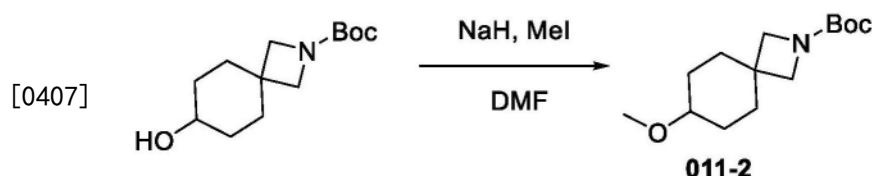
1.49 (m, 2H), 1.20 (t, J=7.0Hz, 3H).

[0403] LCMS: Rt: 1.230min MS m/z (ESI): 533.2 [M+H].

[0404] 实施例12、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(7-甲氧基-2-氮杂螺[3.5]壬烷-2-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物011)的制备



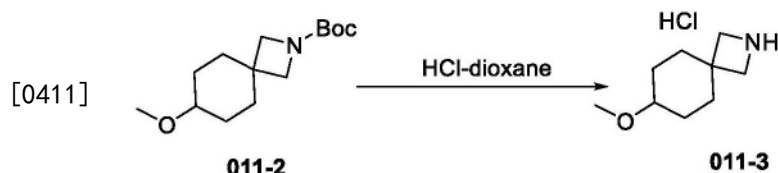
[0406] 化合物011-2的制备:



[0408] 室温下将7-羟基-2-氮杂螺[3.5]壬烷-2-羧酸叔丁酯(50mg, 0.207mmol)加入到超干N,N-二甲基甲酰胺(1.5mL), 然后冰浴下加入钠氢(20mg, 0.498mmol) 室温反应0.5小时, 再加入碘甲烷(59mg, 0.414mmol) 室温反应1.5小时。反应完全后, 用饱和氯化铵水溶液淬灭反应, 乙酸乙酯(30mL X2) 萃取, 有机相合并后用饱和食盐水洗涤(50mL X3), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到目标中间体7-甲氧基-2-氮杂螺[3.5]壬烷-2-羧酸叔丁酯(011-2) (51mg)。

[0409] LCMS: Rt: 1.800min MS m/z (ESI): 256.0 [M+H].

[0410] 化合物011-3的制备:



[0412] 室温下将7-甲氧基-2-氮杂螺[3.5]壬烷-2-羧酸叔丁酯(011-2) (51mg, 0.2mmol) 加入到盐酸-二氧六环溶液中(4N, 3.0mL), 室温反应1小时。反应完全后, 反应液减压浓缩, 得到中间体7-甲氧基-2-氮杂螺[3.5]壬烷盐酸盐(011-3) (33.7mg)。

[0413] LCMS: Rt: 0.391min MS m/z (ESI): 156.3 [M+H].

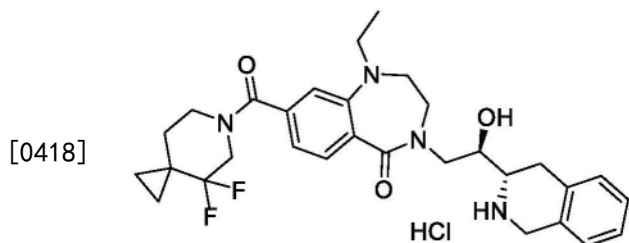
[0414] 其余步骤参考实施例2的合成方法, 将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为7-甲氧基-2-氮杂螺[3.5]壬烷盐酸盐(011-3), 得到目标产物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(7-甲氧基-2-氮杂螺[3.5]壬烷-2-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物011)。

[0415]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.70 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.51-7.46 (m, 2H), 7.31-7.22 (m, 4H), 4.49-4.33 (m, 3H), 4.05-3.88 (m, 3H), 3.85 (s, 2H), 3.72-3.58 (m, 6H), 3.47-3.40 (m, 2H), 3.35-3.31 (m, 3H), 3.30-3.21 (m, 3H), 1.94-1.38 (m, 4H), 1.62-1.56 (m, 2H), 1.44-1.38

(m, 2H), 1.20 (t, J=7.2Hz, 3H).

[0416] LCMS: Rt: 1.302min MS m/z (ESI): 547.2 [M+H].

[0417] 实施例13、8-(4,4-二氟-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物012)的制备



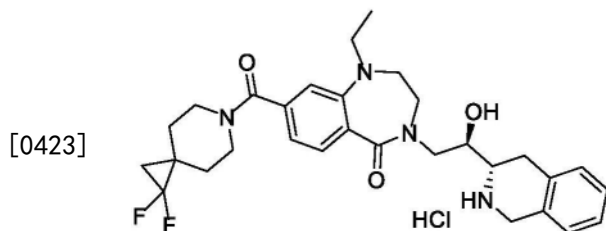
012

[0419] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为4,4-二氟-6-氮杂螺[2.5]辛烷盐酸盐,得到目标产物8-(4,4-二氟-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物012)。

[0420]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.74 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.31-7.22 (m, 6H), 4.50-4.35 (m, 3H), 4.04-4.00 (m, 2H), 3.87 (s, 1H), 3.74-3.63 (m, 7H), 3.55-3.35 (m, 3H), 3.28-3.22 (m, 2H), 1.73-1.66 (m, 2H), 1.21 (t, J=6.8Hz, 3H), 0.91 (s, 2H), 0.57 (s, 2H).

[0421] LCMS: Rt: 1.361min MS m/z (ESI): 539.3 [M+H].

[0422] 实施例14、8-(1,1-二氟-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物013)的制备



013

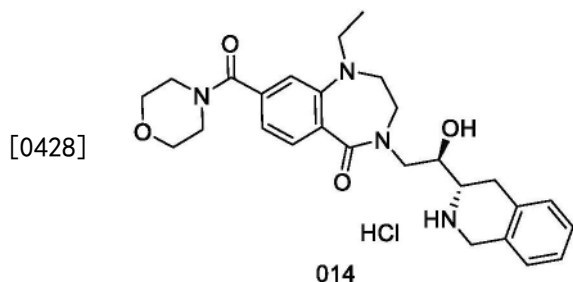
[0424] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为1,1-二氟-6-氮杂螺[2.5]辛烷盐酸盐,得到目标产物8-(1,1-二氟-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物013)。

[0425]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.70 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.31-7.22 (m, 6H), 4.49-4.33 (m, 3H), 4.01 (dd, J=4.4Hz, 14.0Hz, 1H), 3.80 (s, 2H), 3.73-3.58 (m, 6H), 3.48-3.35 (m, 4H), 3.27-3.21 (m, 2H), 1.78-1.611 (m, 4H), 1.26-1.25 (m, 2H), 1.20 (t, J=6.8Hz, 3H).

[0426] LCMS: Rt: 1.330min MS m/z (ESI): 539.3 [M+H].

[0427] 实施例15、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(吗啉-4-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物014)的制

备

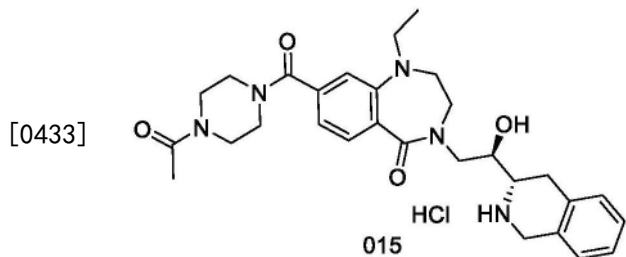


[0429] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为吗啉,得到目标产物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(吗啉-4-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物014)。

[0430]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.62(d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H), 7.32-7.20(m, 4H), 7.12-7.06(m, 2H), 4.50-4.37(m, 2H), 4.34-4.26(m, 1H), 3.98(dd,  $J=14.2, 4.5\text{Hz}$ , 1H), 3.84-3.53(m, 12H), 3.50-3.39(m, 3H), 3.30-3.20(m, 3H), 1.16(t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H)。

[0431] LCMS: Rt: 1.336min MS  $m/z$  (ESI): 479.1 [M+H]。

[0432] 实施例16、8-(4-乙酰基哌嗪-1-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物015)的制备

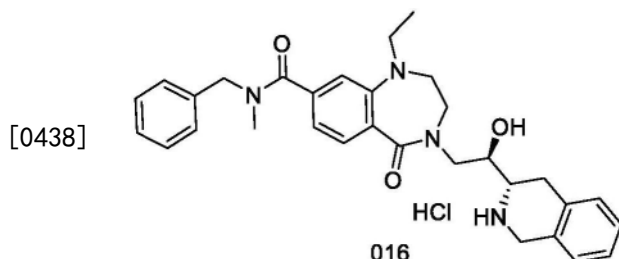


[0434] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为1-乙酰基哌嗪,得到目标产物8-(4-乙酰基哌嗪-1-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物015)。

[0435]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.61(d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.31-7.20(m, 4H), 7.10-7.03(m, 2H), 4.50-4.36(m, 2H), 4.33-4.22(m, 1H), 3.97(dd,  $J=14.2, 4.4\text{Hz}$ , 1H), 3.86-3.35(m, 15H), 3.28-3.11(m, 3H), 2.21-2.04(m, 3H), 1.15(t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H)。

[0436] LCMS: Rt: 1.574min MS  $m/z$  (ESI): 520.3 [M+H]。

[0437] 实施例17、N-苄基-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-N-甲基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂-8-甲酰胺盐酸盐(化合物016)的制备

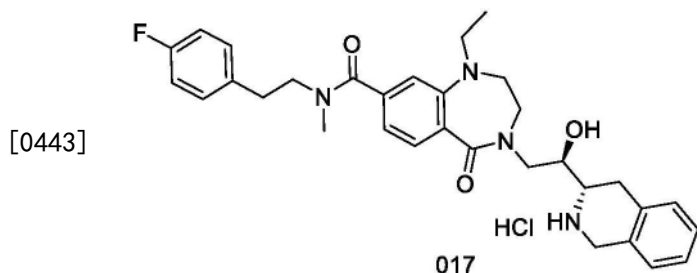


[0439] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为N-甲基-1-苄基甲胺,得到目标产物N-苄基-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-N-甲基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂-8-甲酰胺盐酸盐(化合物016)。

[0440]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 7.67-7.57 (m, 1H), 7.42-7.17 (m, 9H), 7.16-6.99 (m, 2H), 4.76 (s, 1H), 4.55 (s, 1H), 4.47-4.36 (m, 2H), 4.33-4.24 (m, 1H), 4.04-3.87 (m, 1H), 3.76-3.34 (m, 7H), 3.27-3.16 (m, 2H), 3.11-2.86 (m, 4H), 1.23-0.90 (m, 3H) .

[0441] LCMS: Rt: 1.460min MS m/z (ESI): 513.1 [M+H] .

[0442] 实施例18、1-乙基-N-(4-氟苯乙基)-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-N-甲基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂-8-甲酰胺盐酸盐(化合物017)的制备



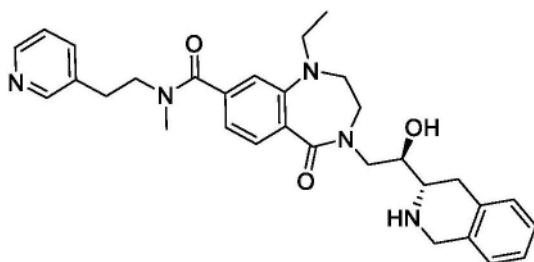
[0444] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为2-(4-氟苯基)-N-甲基乙胺,得到目标产物1-乙基-N-(4-氟苯乙基)-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-N-甲基-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂-8-甲酰胺盐酸盐(化合物017)。

[0445]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 7.56 (dd,  $J=35.7, 7.8\text{Hz}$ , 1H), 7.38-7.16 (m, 5H), 7.09-6.84 (m, 4H), 6.77-6.67 (m, 1H), 4.52-4.38 (m, 2H), 4.35-4.26 (m, 4.5Hz, 1H), 3.98 (dd,  $J=14.2, 4.4\text{Hz}$ , 1H), 3.87-3.50 (m, 7H), 3.49-3.38 (m, 1H), 3.30-3.09 (m, 6H), 3.06-2.95 (m, 1H), 2.89-2.79 (m, 2H), 1.20-1.06 (m, 3H) .

[0446] LCMS: Rt: 1.274min MS m/z (ESI): 545.3 [M+H] .

[0447] 实施例19、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-N-甲基-5-氧代-N-(2-(吡啶-3-基)乙基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂-8-甲酰胺盐酸盐(化合物018)的制备

[0448]



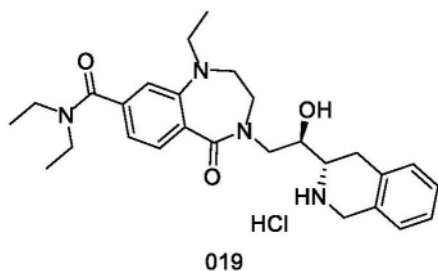
[0449] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为N-甲基-2-(吡啶-3-基)乙-1-胺,得到目标产物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-N-甲基-5-氧代-N-(2-(吡啶-3-基)乙基)-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-8-甲酰胺盐酸盐(化合物018)。

[0450]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 9.07-8.56 (m, 3H), 8.19-7.96 (m, 1H), 7.77-7.52 (m, 1H), 7.39-7.18 (m, 4H), 7.17-6.52 (m, 2H), 4.53-4.28 (m, 3H), 4.13-3.82 (m, 3H), 3.79-3.42 (m, 6H), 3.41-3.31 (m, 3H), 3.29-2.93 (m, 6H), 1.17 (s, 3H) .

[0451] LCMS: Rt: 1.654min MS m/z (ESI): 528.3 [M+H] .

[0452] 实施例20、N,N,1-三乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-8-甲酰胺盐酸盐(化合物019)的制备

[0453]



019

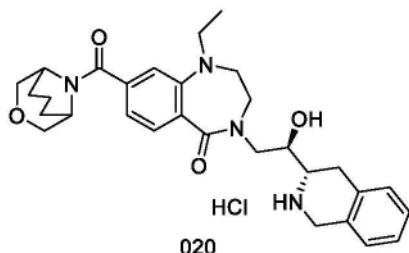
[0454] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为二乙胺,得到目标产物N,N,1-三乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-5-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂革-8-甲酰胺盐酸盐(化合物019)。

[0455]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, MeOD)  $\delta$ 7.69 (d, J=7.7Hz, 1H), 7.34-7.21 (m, 4H), 7.20-7.12 (m, 2H), 4.51-4.38 (m, 2H), 4.38-4.31 (m, 1H), 4.06-3.96 (m, 1H), 3.75-3.61 (m, 5H), 3.60-3.49 (m, 3H), 3.47-3.33 (m, 3H), 3.29-3.20 (m, 3H), 1.26 (t, J=7.1Hz, 3H), 1.22-1.10 (m, 6H) .

[0456] LCMS: Rt: 1.274min MS m/z (ESI): 465.3 [M+H] .

[0457] 实施例21、8-(3-氧杂-9-氮杂二环[3.3.1]壬烷-9-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂革-5-酮盐酸盐(化合物020)的制备

[0458]



020

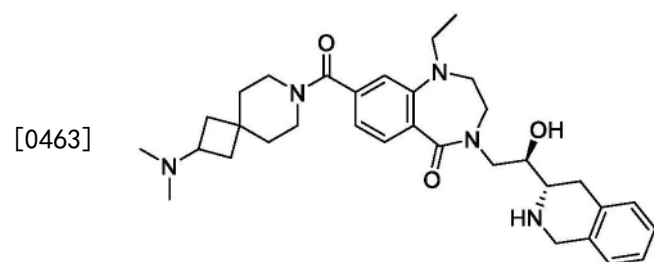
[0459] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为3-氧

杂-9-氮杂双环[3.3.1]壬烷盐酸盐,得到目标产物8-(3-氧杂-9-氮杂二环[3.3.1]壬烷-9-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物020)。

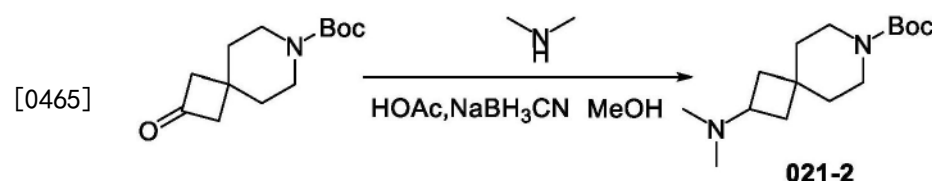
[0460]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ 7.63 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.28-7.21 (m, 4H), 7.11 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 4.50 (s, 1H), 4.42-4.31 (m, 2H), 4.30-4.29 (m, 1H), 4.03-3.95 (m, 2H), 3.87-3.85 (m, 2H), 3.78-3.66 (m, 7H), 3.58 (s, 1H), 3.33-3.30 (m, 2H), 3.29-3.25 (m, 2H), 2.69-2.55 (m, 1H), 1.99-1.83 (m, 4H), 1.66-1.64 (m, 1H), 1.15 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H)。

[0461] LCMS: Rt: 1.382min; MS  $m/z$  (ESI): 519.5 [M+H]。

[0462] 实施例22、8-(2-(二甲氨基)-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物021)制备



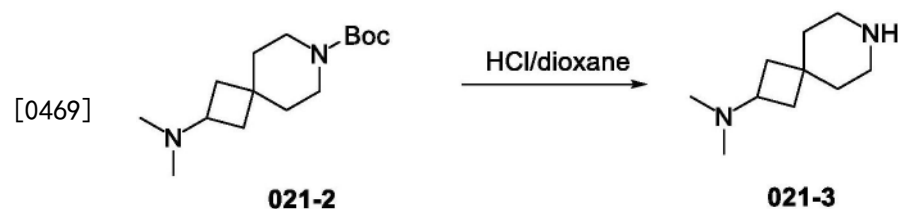
[0464] 化合物021-2的制备:



[0466] 室温下将2-氧代-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯(1g, 4.2mmol), 加入甲醇(10mL)溶解后, 再加入乙酸(1.5mL, 20.9mmol), 二甲胺(10.5mL, 20.9mmol) 常温反应0.5小时后, 加入氰基硼氢化钠(1.3g, 20.9mmol), 反应完全后, 减压浓缩除去甲醇, 加乙酸乙酯(50mL)溶解, 氯化钠溶液(10mL X2)洗涤, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩, 得2-(二甲氨基)-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯(021-2) (800mg)。

[0467] LCMS: Rt: 1.054min MS  $m/z$  (ESI): 269.1 [M+H]。

[0468] 化合物021-3的制备:



[0470] 室温下将2-(二甲氨基)-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯(021-2) (800mg, 2.9mmol), 加入到氯化氢-二氧六环(2.5mL, 4mol/L)溶液中。室温搅拌反应1.0小时。反应完全后将反应液减压浓缩, 乙酸乙酯(3mL)打浆, 收集产品得N,N-二甲基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-2-胺(021-3) 盐酸盐(700mg)。

[0471] LCMS: Rt: 0.263min MS  $m/z$  (ESI): 169.1 [M+H]。

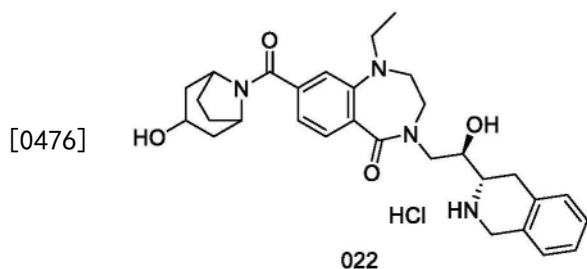
[0472] 其余步骤参考实施例2的合成, 将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为

N,N-二甲基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-2-胺(021-3)盐酸盐,得到目标产物8-(2-(二甲氨基)-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物021)。

[0473]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 7.60(d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.33-7.19(m, 4H), 7.07-6.99(m, 2H), 4.49-4.36(m, 2H), 4.34-4.27(m, 1H), 3.98(dd,  $J=14.2, 4.6\text{Hz}$ , 1H), 3.80-3.60(m, 6H), 3.60-3.52(m, 3H), 3.48-3.37(m, 2H), 3.29-3.20(m, 4H), 2.78(s, 6H), 2.38(s, 2H), 2.06(t,  $J=10.3\text{Hz}$ , 2H), 1.80-1.56(m, 4H), 1.14(t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H)。

[0474] LCMS: Rt: 0.517min; MS  $m/z$  (ESI): 560.6[M+H]。

[0475] 实施例23、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(3-羟基-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物022)的制备

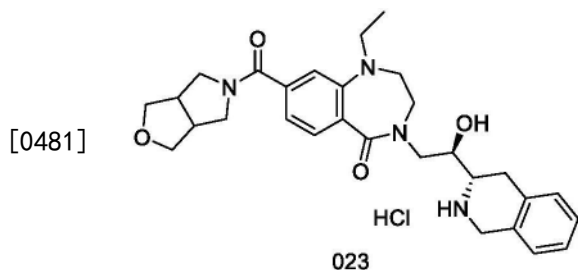


[0477] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-3-醇,得到目标化合物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(3-羟基-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物022)。

[0478]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 7.68(d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H), 7.37-7.17(m, 6H), 4.70(s, 1H), 4.51-4.37(m, 2H), 4.37-4.28(m, 1H), 4.15-3.93(m, 3H), 3.76-3.50(m, 6H), 3.47-3.33(m, 2H), 3.28-3.15(m, 2H), 2.47-2.12(m, 2H), 2.08-1.87(m, 4H), 1.79(d,  $J=14.4\text{Hz}$ , 1H), 1.39-1.24(m, 1H), 1.18(t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H)。

[0479] LCMS: Rt: 1.310min; MS  $m/z$  (ESI): 519.5[M+H]。

[0480] 实施例24、1-乙基-8-(六氢-1H-咪喃并[3,4-c]吡咯-5-羰基)-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物023)的制备

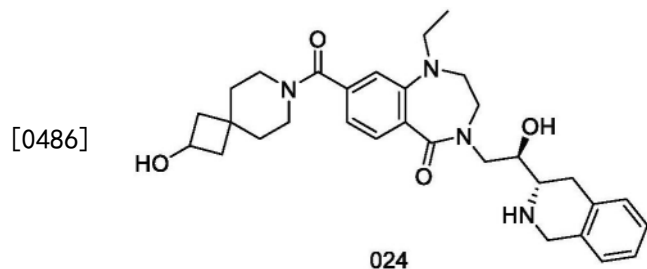


[0482] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为六氢-1H-咪喃并[3,4-c]吡咯,得到目标化合物1-乙基-8-(六氢-1H-咪喃并[3,4-c]吡咯-5-羰基)-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物023)。

[0483]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$ 7.63 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H) , 7.30-7.17 (m, 6H) , 4.43-4.42 (m, 2H) , 4.31-4.28 (m, 1H) , 4.00-3.97 (m, 1H) , 3.95-3.85 (m, 3H) , 3.81-3.68 (m, 8H) , 3.66-3.60 (m, 3H) , 3.37-3.34 (m, 2H) , 3.30-3.25 (m, 2H) , 3.03-2.99 (m, 2H) , 1.16 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H) .

[0484] LCMS:Rt:1.316min;MS  $m/z$  (ESI) :505.5[M+H]。

[0485] 实施例25、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-羟基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(化合物024)的制备

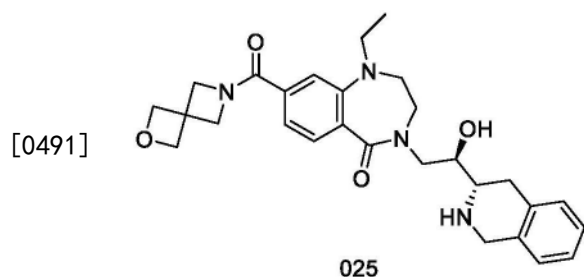


[0487] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为7-氮杂螺[3.5]壬烷-2-醇盐酸盐,最终制备得到目标化合物024的盐酸盐。所得盐酸盐用水溶解,用饱和碳酸氢钠调节pH至8。水相用乙酸乙酯萃取3次,有机相用饱和氯化钠溶液洗涤3次后,用无水硫酸钠干燥。过滤后滤液浓缩,加纯水冷冻干燥,得到目标产物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-羟基-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(化合物024)。

[0488]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 7.56 (d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H) , 7.15-7.06 (m, 3H) , 7.06-7.00 (m, 1H) , 6.99-6.92 (m, 2H) , 4.31-4.16 (m, 1H) , 4.09-3.85 (m, 4H) , 3.78 (dd,  $J=14.0, 6.4\text{Hz}$ , 1H) , 3.71-3.56 (m, 4H) , 3.55-3.46 (m, 1H) , 3.40-3.31 (m, 2H) , 3.28-3.11 (m, 3H) , 3.04-2.91 (m, 2H) , 2.91-2.80 (m, 1H) , 2.36-2.21 (m, 2H) , 1.78-1.59 (m, 4H) , 1.53 (s, 2H) , 1.11 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 3H) .

[0489] LCMS:Rt:1.016minMS  $m/z$  (ESI) :533.2[M+H]。

[0490] 实施例26、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(化合物025)的制备

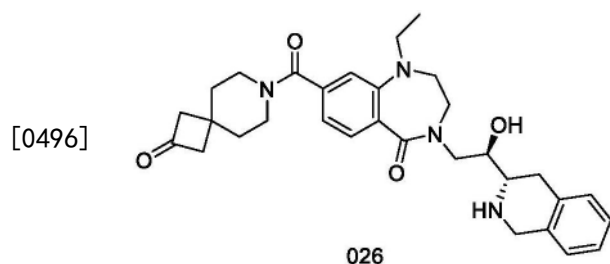


[0492] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷,最终所得化合物经制备色谱法纯化(Waters sunfireC18柱,19\*250mm10 $\mu\text{m}$ ;使用水(含有0.1%氨水)和乙腈的极性递减的混合物作为洗脱液),得到目标产物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(化合物025)。

[0493]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.56 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1H), 7.25-7.18 (m, 2H), 7.19-7.02 (m, 4H), 4.83-4.75 (m, 4H), 4.51 (s, 2H), 4.32 (s, 2H), 4.14-3.95 (m, 3H), 3.90 (dd,  $J=14.1$ , 3.8Hz, 1H), 3.77 (dd,  $J=14.1$ , 6.5Hz, 1H), 3.65-3.56 (m, 2H), 3.55-3.44 (m, 1H), 3.40-3.32 (m, 1H), 3.28-3.15 (m, 2H), 3.15-2.86 (m, 3H), 1.13 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H).

[0494] LCMS: Rt: 1.346min; MS  $m/z$  (ESI): 491.4 [M+H].

[0495] 实施例27、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-氧代-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(化合物026)的制备

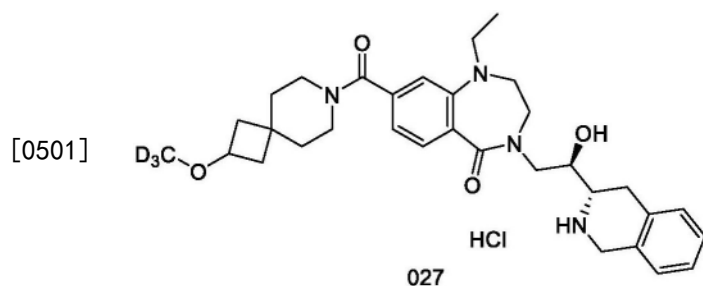


[0497] 参考实施例2的合成方法,将3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷盐酸盐替换为7-氮杂螺[3.5]壬烷-2-酮盐酸盐。最终化合物通过色谱柱制备纯化(洗脱剂及梯度参考实施例1),所得洗脱液用饱和碳酸氢钠调节pH至8-9,用乙酸乙酯萃取3次,有机相用饱和氯化钠溶液洗涤3次后,用无水硫酸钠干燥。过滤后滤液浓缩,加纯水冷冻干燥,得到目标产物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-氧代-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮(化合物026)。

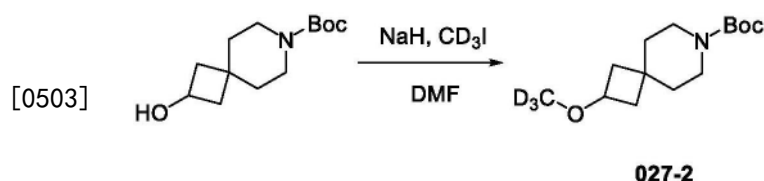
[0498]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.57 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.13-6.99 (m, 6H), 4.07-3.87 (m, 4H), 3.81-3.61 (m, 5H), 3.55-3.33 (m, 4H), 3.27-3.16 (m, 3H), 3.03-2.93 (m, 2H), 2.90-2.83 (m, 4H), 1.857 (s, 2H), 1.734 (s, 2H), 1.12 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 3H).

[0499] LCMS: Rt: 1.067min; MS  $m/z$  (ESI): 531.2 [M+H].

[0500] 实施例28、1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-(甲氧基- $\text{d}_3$ )-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羰基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂草-5-酮盐酸盐(化合物027)的制备



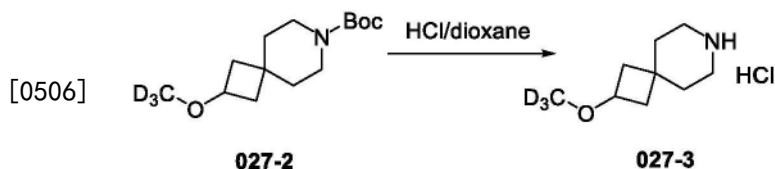
[0502] 化合物027-2的制备:



[0504] 室温下将2-羟基-7-氮杂螺环[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯(1.5g),溶于N,N-二甲基

甲酰胺 (15mL), 0℃加入氢化钠 (300mg), 0℃反应0.5小时后加入氘代碘甲烷 (1g)。室温反应16小时, TLC检测反应完全后, 用氨水 (5mL) 淬灭反应, 加水 (15mL) 稀释, 水相用乙酸乙酯 (20mL) 萃取2次。萃取液有机相用饱和氯化钠水溶液 (20mL) 洗涤2次, 无水硫酸钠干燥后过滤, 浓缩。残余物正相硅胶色谱柱 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1) 纯化收集产品, 浓缩得2-(甲氧基-d<sub>3</sub>)-7-氮杂螺环[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 (027-2) (1.5g)。

[0505] 化合物027-3的制备:



[0507] 室温下将2-(甲氧基-d<sub>3</sub>)-7-氮杂螺环[3.5]壬烷-7-羧酸叔丁酯 (027-2) (1.5g), 用氯化氢-二氧六环 (15mL, 4M) 溶液溶解后, 室温反应搅拌2小时。TLC检测反应完全, 直接减压浓缩, 残余物用乙酸乙酯 (5mL) 打浆, 过滤。固体干燥后得2-(甲氧基-d<sub>3</sub>)-7-氮杂螺环[3.5]壬烷盐酸盐 (027-3) (1.0g)。

[0508] 其余步骤参考实施例3化合物002的合成方法, 将2-甲氧基-7-氮杂螺[3.5]壬烷盐酸盐替换为2-(甲氧基-d<sub>3</sub>)-7-氮杂螺环[3.5]壬烷盐酸盐 (027-3), 得到目标产物1-乙基-4-((R)-2-羟基-2-((S)-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-基)乙基)-8-(2-(甲氧基-d<sub>3</sub>)-7-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧基)-1,2,3,4-四氢-5H-苯并[e][1,4]二氮杂萘-5-酮盐酸盐 (化合物027)。

[0509] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ7.67 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.29-7.23 (m, 4H), 7.21-7.14 (m, 2H), 4.48-4.32 (m, 3H), 4.00-3.91 (m, 2H), 3.73-3.61 (m, 7H), 3.53-3.42 (m, 1H), 3.34-3.29 (m, 4H), 3.27-3.21 (m, 2H), 2.26-2.24 (m, 2H), 1.68-1.55 (m, 6H), 1.19 (t, J=7.0Hz, 3H)。

[0510] LCMS: Rt: 1.469min; MS m/z (ESI): 550.4 [M+H]。

[0511] 生物学活性及相关性质测试例

[0512] 测试实施例1: PRMT5酶学活性抑制实验材料: PRMT5/MEP50蛋白购于BPS bioscience公司(美国); 组蛋白H4多肽 (Histone H4 Peptide) 底物购于生工生物工程(上海)股份有限公司; Anti-Histone H4 (symmetric dimethyl R3) 抗体-ChIP Grade购于艾博抗公司(美国); S-(5'-腺苷)-L-甲硫氨酸氯化物二盐酸盐购于西格玛公司(美国); 384孔板、AlphaScreen链霉亲和素供体微珠 (AlphaScreen Streptavidin Donor beads)、AlphaScreen蛋白A受体微珠 (AlphaScreen Protein A Acceptor beads) 和多功能酶标仪 Envision 2104 multi-label Reader 购于珀金埃尔默仪器有限公司(美国); Echo 550移液器 (Echo 550 Liquid Handler) 购于Labcyte公司(美国)。

[0513] 酶学活性检测: 利用Echo将化合物打入384孔板中, 使终浓度为0-1000nM (起始浓度1000nM, 3倍稀释, 10个点), DMSO含量为0.5%。每孔加入10μL 2X PRMT5/MEP50溶液, 常温孵育30分钟。每孔加入10μL 2X PRMT5/MEP50底物溶液启动反应, 常温孵育60分钟。准备含AlphaScreen Protein A Acceptor beads和Anti-Histone H4 (symmetric dimethyl R3) 抗体的6X检测试剂, 每孔加入5μL, 常温孵育60分钟。准备含AlphaScreen Streptavidin Donor beads的6X检测试剂, 每孔加入5μL, 常温孵育60分钟。Envision检测信号值。测试结果见表2。

[0514] 测试实施例2: 化合物对肿瘤细胞增殖的抑制活性实验

[0515] 材料与细胞:Z-138细胞购于ATCC(美国);IMDM培养基和青霉素-链霉素购于西格玛公司(美国);马血清购于Hyclone公司(美国);96孔板购于康宁公司(美国);Cell-Titer Glo试剂购于普洛麦格公司(美国)。

[0516] 细胞培养:Z-138细胞用含10%马血清+1%青霉素-链霉素的IMDM培养液于37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下培养。处于对数生长期细胞方可用于实验。

[0517] 细胞增殖活性检测:利用Cell-Titer Glo试剂检测化合物对Z-138细胞的增殖抑制活性。调整细胞浓度,每孔180μL接种96孔板(500/孔),置于37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下平衡10-15分钟。每孔加入20μL含化合物的培养液,使终浓度达到0-300nM(起始浓度300nM,3倍稀释,10个点),DMSO含量为0.1%。细胞板置于37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下孵育8天。其中第四天换液:缓慢吸去100μL上清,并补充100μL含有化合物的新鲜培养液,保持化合物浓度不变。通过Cell-Titer Glo试剂检测细胞活性。测试结果见表2。

[0518] 测试实施例3:化合物对SDMA的抑制活性实验

[0519] 材料与细胞:Z-138细胞购于ATCC(美国);IMDM培养基和青霉素-链霉素购于西格玛公司(美国);马血清购于Hyclone公司(美国);Hoechst抗体购于invitrogen公司(美国);Alexa Fluor 488 goat anti-rabbit IgG抗体购于Invitrogen公司(美国);Anti-dimethyl-Arginine symmetric (SYM11)抗体购于Merck公司(美国);DPBS购于Gibco公司(美国);Nonfat Dry milk购于Cell signaling technology公司(美国);多聚甲醛购于北京索莱宝科技有限公司;384孔板和Echo 550 Liquid Handler购于Labcyte公司(美国);ImageXpress Nano购于Molecular Devices公司(美国)。

[0520] 细胞培养:Z-138细胞用含10%马血清+1%青霉素-链霉素的IMDM培养液于37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下培养。处于对数生长期细胞方可用于实验。

[0521] 免疫荧光检测:利用免疫荧光检测化合物对Z-138细胞中SDMA的影响。调整细胞浓度为1\*10<sup>5</sup>/mL,每孔40μL接种384孔板(4000/孔),置于37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下平衡10-15分钟。利用Echo将化合物打入384孔板中,使终浓度为0-300nM(起始浓度300nM,3倍稀释,10个点),DMSO含量为0.1%。细胞板置于37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下孵育2天。每孔加入40μL 8%多聚甲醛,常温孵育30分钟。弃上清,DPBS洗板,每孔加入40μL 0.5%PBST(磷酸盐吐温缓冲液),常温孵育60分钟。弃上清,0.05%PBST洗板,每孔加入40μL封闭液(1%Nonfat milk in 0.05%PBST),常温孵育60分钟。弃上清,每孔加入20μL一抗(SYM11,1:500封闭液稀释),4℃过夜。弃上清,0.05%PBST洗板,每孔加入20μL二抗(Alexa Fluor 488 goat anti-rabbit 1:1000和Hoechst 1:5000封闭液稀释),常温孵育60分钟。弃上清,0.05%PBST洗板,ImageXpress Nano检测荧光强度。测试结果见表

[0522] 表2

| 化合物        | 酶学活性抑制<br>IC <sub>50</sub> (nM) | 细胞增殖抑制<br>Z-138 IC <sub>50</sub> (nM) | 细胞 SDMA 抑制<br>IC <sub>50</sub> (nM) |
|------------|---------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| 001        | 4.56                            | 3.47                                  | 3.80                                |
| 002        | 4.05                            | 2.19                                  | 1.40                                |
| 003        | 2.02                            | 1.21                                  | 0.80                                |
| 004        | 4.53                            | 1.87                                  | 1.40                                |
| 005        | 6.73                            | 4.27                                  | 1.50                                |
| 006        | 3.62                            | 4.80                                  | 1.80                                |
| 007        | 7.66                            | 7.55                                  | NA                                  |
| 008        | 12.24                           | 6.04                                  | NA                                  |
| 009        | 4.96                            | 2.97                                  | 6.10                                |
| 010        | NA                              | 1.93                                  | NA                                  |
| 011        | NA                              | 2.20                                  | NA                                  |
| 012        | NA                              | 4.09                                  | NA                                  |
| [0523] 013 | NA                              | 2.37                                  | NA                                  |
| 014        | NA                              | 11.69                                 | NA                                  |
| 015        | NA                              | 11.14                                 | NA                                  |
| 016        | NA                              | 45.10                                 | NA                                  |
| 017        | NA                              | 27.59                                 | NA                                  |
| 018        | NA                              | 25.99                                 | NA                                  |
| 019        | NA                              | 20.44                                 | NA                                  |
| 020        | NA                              | 3.71                                  | NA                                  |
| 021        | NA                              | 8.35                                  | NA                                  |
| 022        | NA                              | 14.72                                 | NA                                  |
| 023        | NA                              | 16.78                                 | NA                                  |
| 024        | NA                              | 10.61                                 | NA                                  |
| 025        | NA                              | 138.47                                | NA                                  |
| 026        | NA                              | 5.62                                  | NA                                  |
| 027        | NA                              | 2.36                                  | NA                                  |

[0524] 注：“NA”表示未测试。

[0525] 测试实施例4：小鼠药代动力学实验

[0526] 实验材料：CB17-SCID小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司；DMSO、HP-β-CD(羟丙基-β-环糊精)、MC(甲基纤维素)、乙腈购自Merck公司(美国)、K2EDTA抗凝管购自江苏新康医疗器械有限公司。

[0527] 实验方法：雌性CB17-SCID小鼠6只(20-30g, 4-6周), 随机分成2组, 每组3只。第1组尾静脉注射给予化合物002, 剂量为2mg/kg, 溶媒为5%DMSO+95%10%HP-β-CD的水溶液, 第2组口服给予化合物002, 剂量10mg/kg, 溶媒为0.5%MC水溶液。动物实验前正常喂食喂水。每组小鼠于给药前及给药后0.083(仅静脉注射组)、0.25、0.5、1、2、4、6、8和24h进行静脉采血。收集的全血样品置于K2EDTA抗凝管中, 离心5min后(4000rpm, 4℃)取血浆待测。

[0528] 取小鼠血浆样品10μL, 加入150μL乙腈溶剂(其中含内标化合物)沉淀蛋白, 涡旋0.5min后, 离心(4700rpm, 4℃)15min, 上清液用含0.05%(v/v)甲酸的水稀释2倍, 进样3μL于LC-MS/MS系统(AB Sciex Triple Quad 6500+)进行定量检测。在测定样品浓度时随行CB17-SCID小鼠血浆标准曲线(线性范围:0.5-1000ng/mL)和质控样品。对于10倍稀释样品的制备, 取2μL小鼠血浆样品加入18μL的空白血浆, 涡旋0.5min后, 加入300μL乙腈溶剂(其中含内标化合物)沉淀蛋白, 其余处理步骤同不稀释样品。

[0529] 药代动力学测试结果如表3所示。

[0530] 表3 小鼠药代动力学测试结果

|                   | PK 参数                         | 化合物 002   |
|-------------------|-------------------------------|-----------|
| 小鼠 IV<br>(2 mpk)  | Cl <sub>obs</sub> (mL/min/kg) | 61.1±6.2  |
|                   | T <sub>1/2</sub> (h)          | 3.56±0.55 |
|                   | V <sub>ss_obs</sub> (L/kg)    | 8.20±0.60 |
| [0531]            | T <sub>max</sub> (h)          | 0.33±0.14 |
| 小鼠 PO<br>(10 mpk) | C <sub>max</sub> (ng/mL)      | 827±79    |
|                   | T <sub>1/2</sub> (h)          | 2.68±0.20 |
|                   | AUC <sub>last</sub> (h*ng/mL) | 2646±563  |
|                   | F (%)                         | 96.5±20.5 |

[0532] 测试实施例5:肝细胞代谢稳定性测试实验材料:人肝细胞购自Biopredic公司;小鼠肝细胞购自BioIVT公司;乙腈和甲醇购自Merck公司;AOPI染色剂购自Nexcelom公司;地塞米松购自NIFDC公司;DMSO购自北京索莱宝科技有限公司;DPBS (10x)、GlutaMAX™-1 (100x) 和人重组胰岛素购自Gibco by Life Technologies;胎牛血清购自Coming公司;甲酸购自DIKMAPURE公司;Isotonic Percoll购自GE Healthcare公司;阿普唑仑购自Supelco公司;咖啡因购自ChromaDex.inc;HEPES、甲苯磺丁脲和Williams' Medium E购自Sigma公司。

[0533] 实验准备:

[0534] 将受试物粉末用DMSO配制高浓度储备液,使用前用乙腈稀释到100μM的工作液,受试物终浓度为1μM。

[0535] 肝细胞复苏液的具体制备信息见以下表4。混合49.5mL Williams' E Medium和0.5mL GlutaMAX作为孵育液。将肝细胞复苏液和孵育液于使用前置于37°C水浴中至少预热15分钟。取一管超低温保存的肝细胞,确保肝细胞在复苏之前仍处于低温冰冻状态。将肝细胞迅速置于37°C水浴中并轻摇直至所有冰晶全部分散,喷洒70%乙醇后转移至生物安全柜中。将肝细胞小管的内容物倾入盛有50mL复苏培养基的离心管中,将其于100g离心10分钟。离心后,吸出复苏培养基并加入足量孵育培养基得到细胞密度约 $1.5 \times 10^6$ 个细胞/mL的细胞混悬液。用Cellometer Vision对肝细胞进行计数及确定活细胞密度,肝细胞成活率必须大于75%。利用孵育培养基稀释肝细胞混悬液至活细胞密度为 $0.5 \times 10^6$ 个活细胞/mL。

[0536] 表4 肝细胞复苏液制备

|        | 试剂                 | 初始浓度        | 最终浓度    | 试剂体积量   |
|--------|--------------------|-------------|---------|---------|
|        | Williams' Medium E | -           | -       | 31.2 mL |
|        | Isotonic Percoll   | -           | 30%     | 13.5 mL |
|        | DPBS (10x)         | -           | -       | 1.5 mL  |
| [0537] | GlutaMAX™-1(100x)  | 200 mM/100x | 2 mM    | 500 μL  |
|        | HEPES              | 1 M         | 15 mM   | 750 μL  |
|        | FBS                | -           | 5%      | 2.5 mL  |
|        | 人重组胰岛素             | 4 mg/mL     | 4 μg/mL | 50 μL   |
|        | 地塞米松               | 10 mM       | 1 μM    | 5 μL    |

[0538] 实验方法:

[0539] 转移247.5μL活细胞(人肝细胞或鼠肝细胞)的混悬液或培养基到96孔深孔板,将深孔板置于涡旋上孵箱中预热10分钟。所有样品均采用双平行孵育。每孔加入2.5μL100μM受试物进行反应起始,将深孔板放回孵箱涡旋器上。孵育样品,分别于0、15、30、60、90和120分钟,取25μL混悬液,加入125μL含内标的乙腈(100nM阿普唑仑,200nM咖啡因,100nM甲苯磺

丁脲)终止反应。涡旋10分钟,于3220g、4℃条件离心30分钟,离心结束后转移100 $\mu$ L上清液到进样板,加入150 $\mu$ L纯水混匀,用于LC-MS/MS分析。

[0540] 所有的数据计算均通过Microsoft Excel软件进行。通过提取离子图谱检测峰面积。通过对母药消除百分比的自然对数与时间进行线性拟合,检测母药的体外半衰期( $t_{1/2}$ )。

[0541] 体外半衰期( $t_{1/2}$ )通过斜率计算:

[0542]  $\text{in vitro } t_{1/2} = 0.693/k$

[0543] 实验结果如表5所示。

[0544] 表5 肝细胞代谢稳定性测试结果

| 化合物 | 人 $t_{1/2}$ (min) | 鼠 $t_{1/2}$ (min) |
|-----|-------------------|-------------------|
| 001 | 1471.30           | 122.34            |
| 002 | 252.37            | 94.62             |
| 003 | 7862.70           | 118.05            |
| 004 | 671.53            | 52.26             |
| 005 | 336.63            | 77.84             |
| 024 | 772.45            | 35.29             |

[0546] 测试实施例6:小鼠体内药效实验

[0547] 实验材料:Z138细胞购自ATCC;IMDM培养液、青链霉素和0.25%胰酶-EDTA购自Gibco公司;马血清、PBS购自Hyclone公司;Matrigel购自Corning公司。

[0548] 动物信息:CB17-SCID小鼠,雌性,6-7周,体重约14-20克,动物购自上海灵畅生物科技有限公司,将小鼠饲养在SPF级的环境中,每个笼位单独送排风,所有动物都可以自由获取标准认证的商业实验室饮食和自由饮水。

[0549] 实验方法:

[0550] 细胞培养:人套细胞淋巴瘤Z-138细胞株体外培养,培养条件为IMDM(细胞培养液)中加入10%马血清,1%青链霉素溶液,37℃、5%CO<sub>2</sub>孵箱。一周两次用0.25%胰酶-EDTA消化液进行常规消化处理传代。当细胞饱和度为85%-90%,数量达到要求时,收取细胞,计数。

[0551] 细胞接种:将0.1ml/(含 $1 \times 10^7$ )Z-138细胞悬液(PBS:Matrigel=1:1)皮下接种于每只小鼠的右后背。在接种后第18天,测量肿瘤平均体积达到约125mm<sup>3</sup>时,依据肿瘤体积和动物体重采用随机分层分组方法开始分组给药。PBS为无钙镁离子的磷酸缓冲盐溶液,Matrigel是基质胶。

[0552] 给药:化合物002的给药剂量为1.5mg/kg,5mg/kg或15mg/kg,PO,每天两次给药(BID) x 3周。每组6只小鼠。

[0553] 肿瘤测量和实验指标:

[0554] 每周两次用游标卡尺测量肿瘤直径。肿瘤体积的计算公式为: $V = 0.5a \times b^2$ ,a和b分别表示肿瘤的长径和短径。每周两次测量小鼠体重。

[0555] 化合物的抑瘤效用肿瘤生长抑制率TGI(%)来评价。

[0556]  $TGI(\%) = [(1 - (\text{某处理组给药结束时平均瘤体积} - \text{该处理组开始给药时平均瘤体积}) / (\text{溶剂对照组治疗结束时平均瘤体积} - \text{溶剂对照组开始治疗时平均瘤体积}))] \times 100\%$ 。

[0557] 实验结果:

[0558] 见表6、图2和图3。实验过程中无小鼠发病或死亡。

[0559] 表6 Z-138皮下瘤模型肿瘤体积

| 组别        | 受试化合物   | 给药量       | 给药频率 | 平均肿瘤体积 (mm <sup>3</sup> ) |     |     |     |     |     |      | TGI (%) |
|-----------|---------|-----------|------|---------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|---------|
|           |         |           |      | 0天                        | 4天  | 7天  | 11天 | 14天 | 18天 | 21天  |         |
| 组1        | 溶剂对照    | /         | BID  | 125                       | 216 | 286 | 422 | 543 | 741 | 1007 | /       |
| [0560] 组2 | 化合物 002 | 1.5 mg/kg | BID  | 125                       | 151 | 203 | 374 | 436 | 567 | 689  | 36.0%   |
| 组3        | 化合物 002 | 5 mg/kg   | BID  | 124                       | 157 | 197 | 281 | 310 | 452 | 585  | 47.8%   |
| 组4        | 化合物 002 | 15 mg/kg  | BID  | 126                       | 140 | 113 | 59  | 34  | 18  | 16   | 112.5%  |

[0561] 实验结论:

[0562] 在小鼠皮下移植瘤Z-138模型中,本发明化合物002在1.5mg/kg,5mg/kg和15mg/kg一天两次给药对肿瘤生长都具有显著抑制作用,并呈现较好的剂量反应关系,15mg/kg一天两次给药,具有缩小肿瘤的效果。化合物002在本次药效实验所尝试剂量下未显著影响小鼠体重,也未引起任何小鼠死亡,小鼠可以耐受。

[0563] 以上,对本发明的实施方式进行了说明。但是,本发明不限于上述实施方式。凡在本发明的精神和原则之内,所做的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

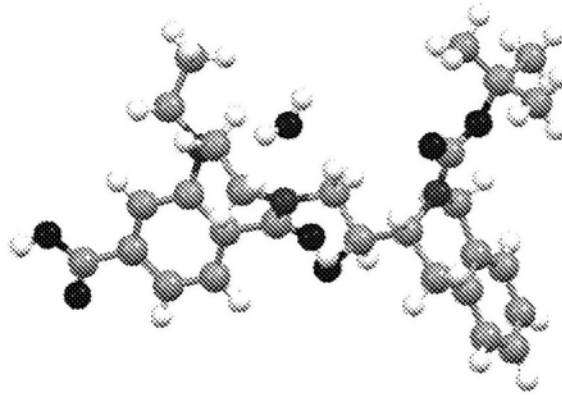


图1

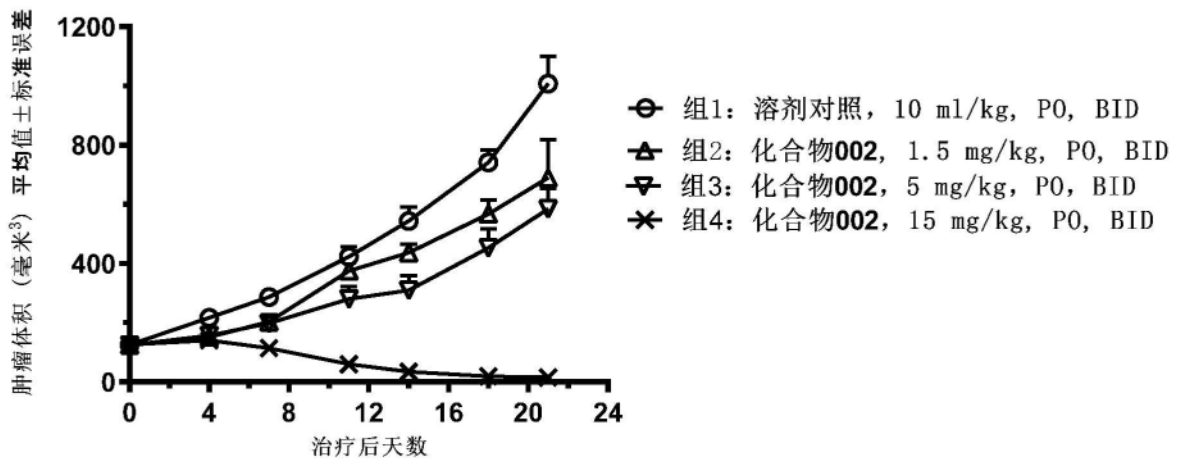


图2

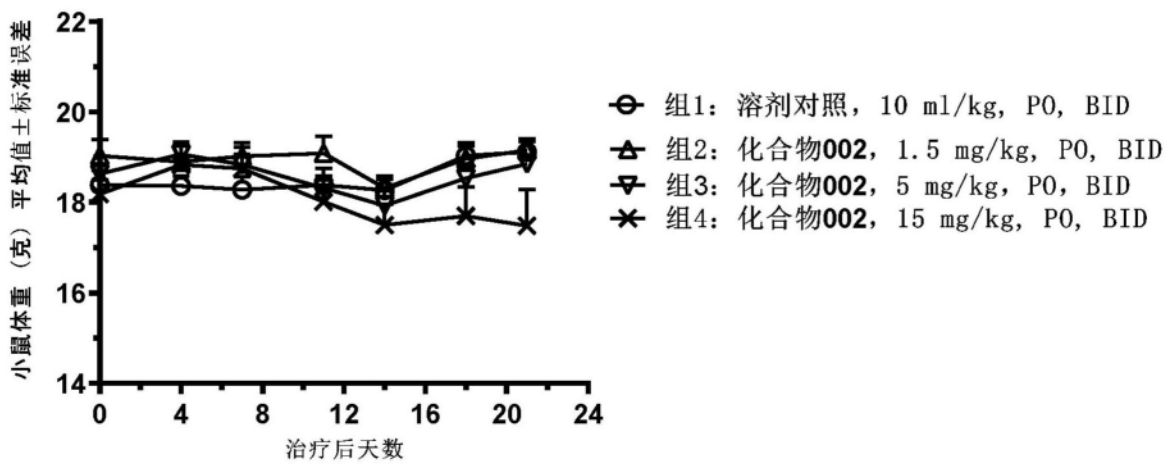


图3