

# (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2022年8月11日 (11.08.2022)



(10) 国际公布号  
**WO 2022/166762 A1**

(51) 国际专利分类号:  
C07D 491/147 (2006.01) A61K 31/437 (2006.01)  
C07D 491/16 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
C07D 491/22 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/074328

(22) 国际申请日: 2022年1月27日 (27.01.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
202110159956.6 2021年2月5日 (05.02.2021) CN  
202110533304.4 2021年5月17日 (17.05.2021) CN  
202110718245.8 2021年6月28日 (28.06.2021) CN  
202110936768.X 2021年8月16日 (16.08.2021) CN  
202111355330.9 2021年11月16日 (16.11.2021) CN

(71) 申请人: 四川科伦博泰生物医药股份有限公司 (SICHUAN KELUN-BIOTECH BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号, Sichuan 611138 (CN)。

(72) 发明人: 田强(TIAN, Qiang); 中国四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号, Sichuan 611138 (CN)。张毅涛(ZHANG, Yitao); 中国四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号, Sichuan 611138 (CN)。缪羽(MIAO, Yu); 中国四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号, Sichuan 611138 (CN)。王波(WANG, Bo); 中国四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号, Sichuan 611138 (CN)。叶健(YE, Jian); 中国四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号, Sichuan 611138 (CN)。汪小蓓(WANG, Xiaobei); 中国四川省成都市温江区海峡两岸

科技产业开发园区新华大道二段666号, Sichuan 611138 (CN)。李德亮(LI, Deliang); 中国四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号, Sichuan 611138 (CN)。李芬(LI, Fen); 中国四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号, Sichuan 611138 (CN)。宋宏梅(SONG, Hongmei); 中国四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号, Sichuan 611138 (CN)。

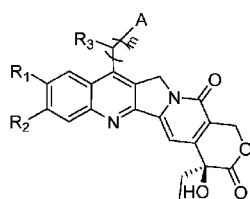
(74) 代理人: 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 (CCPIT PATENT AND TRADEMARK LAW OFFICE); 中国北京市西城区阜成门外大街2号万通新世界广场8层, Beijing 100037 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(54) Title: CAMPTOTHECIN COMPOUND, PREPARATION METHOD THEREFOR, AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 喜树碱类化合物及其制备方法和应用



(1)

(57) Abstract: The present invention relates to a Camptothecin compound having anti-tumor activity, a preparation method therefor, and an application thereof. Specifically, the present invention relates to a compound as shown below or a pharmaceutically acceptable form thereof, a pharmaceutical composition thereof, a preparation method therefor, and a use thereof. The compound can be used as a drug for treating diseases in abnormal cell proliferation.

(57) 摘要: 具有抗肿瘤活性的喜树碱类化合物, 及其制备方法和应用。具体地, 涉及如下所示化合物或其药学上可接受的形式, 其药物组合物、制备方法和用途。所述化合物可用作治疗细胞异常增殖方面疾病的药物,

WO 2022/166762 A1

本国际公布：

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

## 喜树碱类化合物及其制备方法和应用

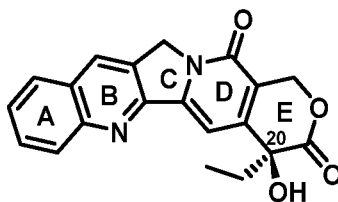
本申请是以 CN 申请号为 202110159956.6，申请日为 2021 年 2 月 5 日的申请，CN 申请号为 202110533304.4，申请日为 2021 年 5 月 17 日的申请，CN 申请号为 202110718245.8，申请日为 2021 年 6 月 28 日的申请，CN 申请号为 202110936768.X，申请日为 2021 年 8 月 16 日的申请，以及 CN 申请号为 202111355330.9，申请日为 2021 年 11 月 16 日的申请为基础，并主张其优先权，上述 CN 申请的公开内容在此作为整体引入本申请中。

### 技术领域

本发明涉及一类具有抗肿瘤活性的喜树碱类化合物及其缀合物，以及它们的制备方法和在医药领域中的应用。

### 背景技术

喜树碱(Camptothecin, CPT, 式 1)是从珙桐科植物喜树(*Camptotheca acuminata*)中分离得到的一种五环喹啉母核化合物，由喹啉环 A、吡咯环 B、吡啶酮环 D 和  $\alpha$ -羟基内酯环 E 组成，其中 20-位为 S 构型(见下文结构式)。20 世纪 70 年代初由于其优异的抗癌活性而被引入临床，后来由于出现腹泻、出血性膀胱炎等严重副反应，而终止了临床试验。



喜树碱

研究数据表明，喜树碱可与细胞 DNA 拓扑异构酶 I 形成三元复合物，从而抑制 DNA 的解旋，导致 DNA 复制受阻，进而造成细胞死亡(*Cancer Res.1989,49,6365*)。喜树碱及其衍生物在肺癌、乳腺癌、结直肠癌、卵巢癌等动物体内模型中具有很强的抗肿瘤活性(*Nature Review Cancer.2006,6,789*)。

目前已有多个喜树碱类药物被批准上市用于肿瘤治疗(*Med. Res. Rev. 2015, 35, 753*)。伊立替康为结直肠癌治疗药物；拓扑替康用于卵巢癌的治疗；贝洛替康用于卵巢癌和小细胞肺癌的治疗。喜树碱衍生物还有 Exatecan, Rubitecan, Karenitecan, Diflomotecan, Lurtotecan, Gimitecan, Namitecan, Simmitecan, Silatecan, Chimmitecan, Elomotecan 等。

喜树碱类药物或衍生物多存在骨髓抑制导致的血液毒性，比如中性粒细胞减少、白细胞减少、血小板减少、贫血等，以及胃肠道副作用，比如恶心、呕吐、腹泻等。临床

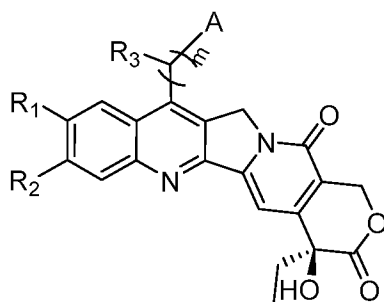
研究发现提升喜树碱类化合物安全性和有效性的措施包括改善其药代性质、调节活性、减少用量或者利用其缀合物与抗体形成抗体偶联药物等。因此，研发结构新颖并能够提升有效性、改善安全性问题的喜树碱类化合物及其缀合物仍有很高的临床需求和应用价值。

5

### 发明内容

本发明提供结构新颖的喜树碱类化合物及其缀合物，该喜树碱类化合物具有良好的抗肿瘤活性，有望用于肿瘤疾病的治疗；其缀合物有广泛的抗体偶联药物应用前景。

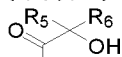
10 本发明第一方面提供化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药，其中所述化合物具有如下所示结构：



其中，

$R_1$  和  $R_2$  各自独立地选自氢、卤素、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、羟基、氰基和  $C_{3-6}$  环烷基；或者， $R_1$  和  $R_2$  与相邻碳原子连接成 5-6 元含氧杂环；

15  $R_3$  为氢或者与  $R_1$  邻位碳原子相连成六元碳环；



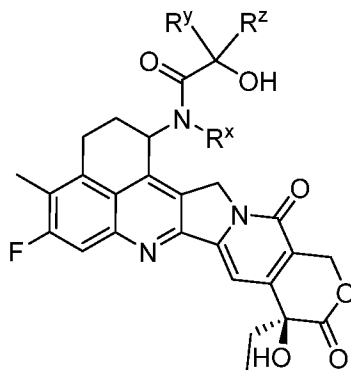
A 选自  $\begin{matrix} \text{R}_5 \\ \text{O} \\ \text{N} \\ \text{R}_4 \end{matrix}$  和  $\begin{matrix} \text{NH}_2 \end{matrix}$  中的一种；

$R_4$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧烷基、 $C_{3-6}$  环烷基和 3-6 元杂环基；

20  $R_5$  和  $R_6$  各自独立地选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷基氨基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、 $C_{3-6}$  环烷基、3-6 元杂环基、3-6 元杂环基烷基、芳基和杂芳基；或者  $R_5$  和  $R_6$  与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环或杂环；

$m=1$  或 2。

在一些实施方案中，所述化合物具有式(I)的结构：



式(I)

在式(I)中,  $R^x$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧烷基、 $C_{3-6}$  环烷基和 3-6 元杂环基;

5  $R^y$  和  $R^z$  不同时为氢, 且独立选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、 $C_{1-6}$  烷基氨基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、3-6 元杂环基烷基和 3-6 元杂环基。

在一些实施方案中,  $R^x$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧烷基、 $C_{3-6}$  环烷基和 3-6 元杂环基;

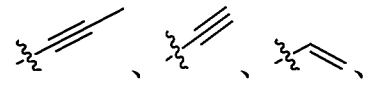
10  $R^y$  和  $R^z$  不同时为氢, 且独立选自氢、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、 $C_{1-6}$  烷基氨基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、3-6 元杂环基烷基和 3-6 元杂环基。

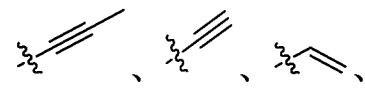
在一些实施方案中, 式(I)中,  $R^x$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧烷基、 $C_{3-6}$  环烷基、3~6 元杂环基;


$R^y$  和  $R^z$  不同时为氢, 且独立选自氢、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基。

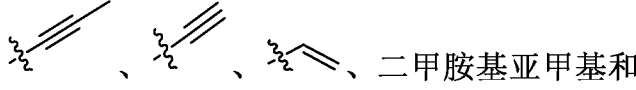
在一些实施方案中,  $R^x$  选自氢或  $C_{1-6}$  烷基。

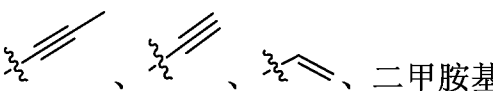
15 在一些实施方案中,  $R^x$  为氢。



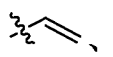
在一些实施方案中,  $R^y$  和  $R^z$  不同时为氢, 且独立选自氢、、二甲胺基亚甲基、吗啉基亚甲基和甲氧基亚甲基。

在一些实施方案中,  $R^y$  和  $R^z$  不同时为氢, 且独立选自氢、、二甲胺基亚甲基和甲氧基亚甲基。

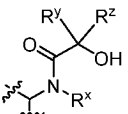
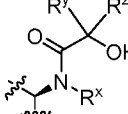
20 在一些实施方案中,  $R^y$  为氢,  $R^z$  选自 、二甲胺基亚甲基、吗啉基亚甲基和甲氧基亚甲基。

在一些实施方案中,  $R^y$  为氢,  $R^z$  选自 、二甲胺基亚甲基和甲氧基亚甲基。

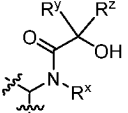
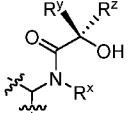
25 在一些实施方案中,  $R^x$  为氢,  $R^y$  为氢,  $R^z$  选自 、二甲胺基亚甲基、吗啉基亚甲基和甲氧基亚甲基。

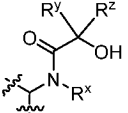
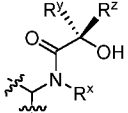
在一些实施方案中， $R^x$  为氢， $R^y$  为氢， $R^z$  选自 、、、二甲胺基亚甲基和甲氧基亚甲基。

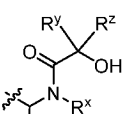
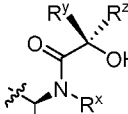
在一些实施方案中， $R^x$  为氢， $R^y$  为氢， $R^z$  选自 、 和二甲胺基亚甲基。

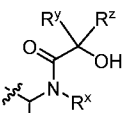
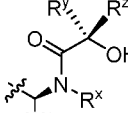
在一些实施方案中，式(I)中  处为  构型。

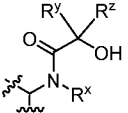
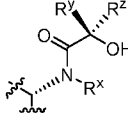
5 在一些实施方案中，式(I)中  处为  构型。

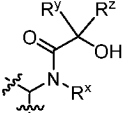
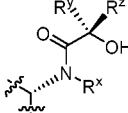
在一些实施方案中，式(I)中  处为  构型。

在一些实施方案中，式(I)中  处为  构型。

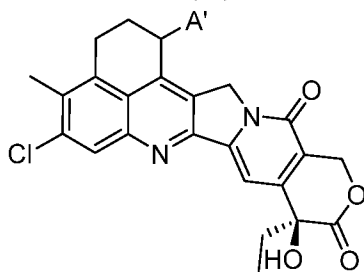
在一些实施方案中，式(I)中  处为  构型。

在一些实施方案中，式(I)中  处为  构型。

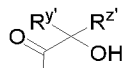
10 在一些实施方案中，式(I)中  处为  构型。

在一些实施方案中，式(I)中  处为  构型。

在一些实施方案中，所述化合物具有式(II)的结构：



式(II)

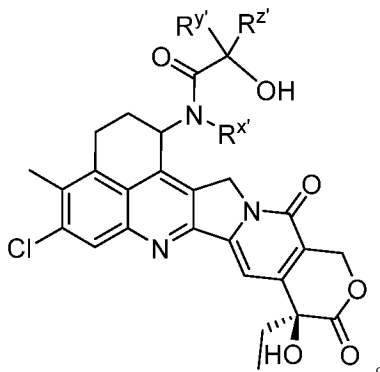


在式(II)中, A'选自  $\text{N}^{\text{R}^{\text{x}'}}\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{NH}_2$  中的一种;

$\text{R}^{\text{x}'}$  选自氢、 $\text{C}_{1-6}$  烷基、 $\text{C}_{1-6}$  卤代烷基、 $\text{C}_{1-6}$  烷氧基烷基、 $\text{C}_{3-6}$  环烷基和 3-6 元杂环基;

$\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{R}^{\text{z}'}$  独立选自氢、 $\text{C}_{1-6}$  烷基、 $\text{C}_{1-6}$  卤代烷基、 $\text{C}_{1-6}$  烷氧基烷基、 $\text{C}_{1-6}$  烷基胺基、 $\text{C}_{3-6}$  环烷基、3-6 元杂环基、3-6 元杂环基烷基、 $\text{C}_{2-6}$  烯基、 $\text{C}_{2-6}$  炔基、芳基和杂芳基, 5 或者  $\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{R}^{\text{z}'}$  与相邻碳原子连接成 3-6 元环。

在一些实施方案中, 式(II)结构如下式(II)-1 所示:



式(II)-1。

在一些实施方案中,  $\text{R}^{\text{x}'}$  选自氢、 $\text{C}_{1-6}$  烷基、 $\text{C}_{1-6}$  卤代烷基、 $\text{C}_{1-6}$  烷氧基烷基、 $\text{C}_{3-6}$  10 环烷基、3~6 元杂环基;

$\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{R}^{\text{z}'}$  独立选自氢、 $\text{C}_{1-6}$  烷基、 $\text{C}_{1-6}$  卤代烷基、 $\text{C}_{1-6}$  烷氧基烷基、 $\text{C}_{3-6}$  环烷基、3~6 元杂环基、 $\text{C}_{2-6}$  烯基、 $\text{C}_{2-6}$  炔基、芳基、杂芳基, 或者  $\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{R}^{\text{z}'}$  与相邻碳原子连接成 3-6 元环。

在一些实施方案中, 所述 3-6 元环选自 3-6 元碳环或 3-6 元杂环。

15 在一些实施方案中,  $\text{R}^{\text{x}'}$  选自氢和  $\text{C}_{1-6}$  烷基。

在一些实施方案中,  $\text{R}^{\text{x}'}$  选自氢和甲基。

在一些实施方案中,  $\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{R}^{\text{z}'}$  独立选自氢、 $\text{C}_{1-6}$  烷基、 $\text{C}_{1-6}$  烷氧基烷基、 $\text{C}_{1-6}$  烷基胺基烷基、 $\text{C}_{3-6}$  环烷基和  $\text{C}_{2-6}$  烯基, 或者  $\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{R}^{\text{z}'}$  与相邻碳原子连接成 3-6 元环烷基。

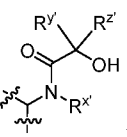
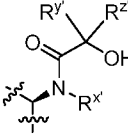
20 在一些实施方案中,  $\text{R}^{\text{y}'}$  选自氢和  $\text{C}_{1-6}$  烷基,  $\text{R}^{\text{z}'}$  选自氢、 $\text{C}_{1-6}$  烷基和  $\text{C}_{3-6}$  环烷基, 或者  $\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{R}^{\text{z}'}$  与相邻碳原子连接成 3-6 元环。

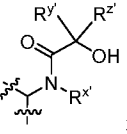
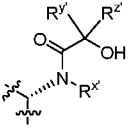
在一些实施方案中,  $\text{R}^{\text{y}'}$  选自氢和甲基,  $\text{R}^{\text{z}'}$  选自氢、甲基和环丙基, 或者  $\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{R}^{\text{z}'}$  与相邻碳原子连接成 3 元碳环。

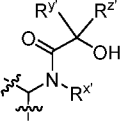
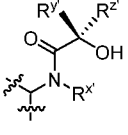
在一些实施方案中,  $\text{R}^{\text{x}'}$  选自氢和甲基,  $\text{R}^{\text{y}'}$  选自氢和甲基,  $\text{R}^{\text{z}'}$  选自氢、甲基和环丙基, 或者  $\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{R}^{\text{z}'}$  与相邻碳原子连接成 3 元碳环。

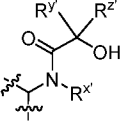
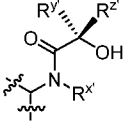
25 在一些实施方案中,  $\text{R}^{\text{x}'}$  为氢,  $\text{R}^{\text{y}'}$  选自氢和甲基,  $\text{R}^{\text{z}'}$  选自氢、甲基和环丙基, 或者  $\text{R}^{\text{y}'}$  和  $\text{R}^{\text{z}'}$  与相邻碳原子连接成 3 元碳环。

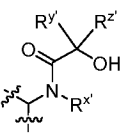
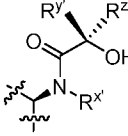
在一些实施方案中, 式(II)中 A' 为  $\text{NH}_2$ 。

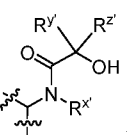
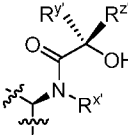
在一些实施方案中，式(II)-1 中  处为  构型。

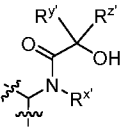
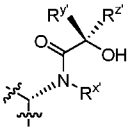
在一些实施方案中，式(II)-1 中  处为  构型。

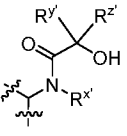
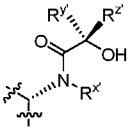
在一些实施方案中，式(II)-1 中  处为  构型。

在一些实施方案中，式(II)-1 中  处为  构型。

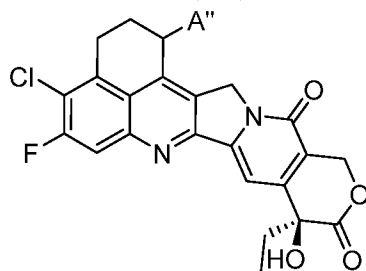
5 在一些实施方案中，式(II)-1 中  处为  构型。

在一些实施方案中，式(II)-1 中  处为  构型。

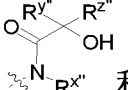

在一些实施方案中，式(II)-1 中  处为  构型。

在一些实施方案中，式(II)-1 中  处为  构型。

10 在一些实施方案中，所述化合物具有式(III)的结构：



式(III)

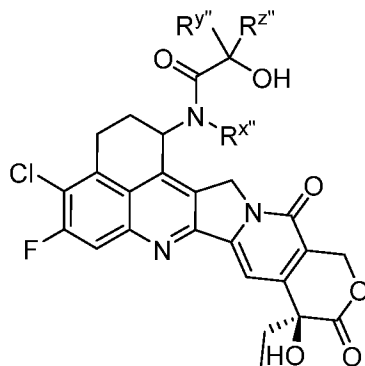
在式(III)中，A''选自  和  中的一种；

R<sup>y''</sup> 选自氢、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 卤代烷基、C<sub>1-6</sub> 烷氧烷基、C<sub>3-6</sub> 环烷基和 3-6 元杂环基；

15 R<sup>y''</sup> 和 R<sup>z''</sup> 独立选自氢、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 卤代烷基、C<sub>1-6</sub> 烷氧基烷基、C<sub>1-6</sub> 烷基胺基烷基、C<sub>3-6</sub> 环烷基、3-6 元杂环基、3-6 元杂环基烷基、4-6 元杂环基、C<sub>2-6</sub> 烯基、C<sub>2-6</sub> 炔

基、芳基和杂芳基，或者 R<sup>y''</sup>和 R<sup>z''</sup>与相邻碳原子连接成 3-6 元环。

在一些实施方案中，式(III)化合物结构如下式(III)-1 所示：



式(III)-1。

5 在一些实施方案中，R<sup>x''</sup>选自氢、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 卤代烷基、C<sub>1-6</sub> 烷氧基烷基、C<sub>3-6</sub> 环烷基、3~6 元杂环基；

R<sup>y''</sup>和 R<sup>z''</sup>独立选自氢、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 卤代烷基、C<sub>1-6</sub> 烷氧基烷基、C<sub>3-6</sub> 环烷基、4~6 元杂环基、C<sub>2-6</sub> 烯基、C<sub>2-6</sub> 炔基、芳基、杂芳基，或者 R<sup>y''</sup>和 R<sup>z''</sup>与相邻碳原子连接成 3-6 元环。

10 在一些实施方案中，R<sup>x''</sup>选自氢和 C<sub>1-6</sub> 烷基。

在一些实施方案中，R<sup>x''</sup>为氢。

在一些实施方案中，所述 3-6 元环选自 3-6 元碳环或 3-6 元杂环。

15 在一些实施方案中，R<sup>y''</sup>和 R<sup>z''</sup>各自独立地选自氢、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 卤代烷基、C<sub>1-6</sub> 烷氧基烷基、C<sub>1-6</sub> 烷胺基烷基、C<sub>3-6</sub> 环烷基和乙烯基，或者 R<sup>y''</sup>和 R<sup>z''</sup>与相邻碳原子连接成 3-6 元环。

在一些实施方案中，R<sup>y''</sup>为氢，R<sup>z''</sup>选自氢、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>3-6</sub> 环烷基和乙烯基，或者 R<sup>y''</sup>和 R<sup>z''</sup>与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环。

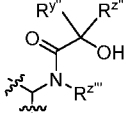
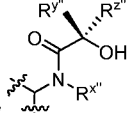
在一些实施方案中，R<sup>y''</sup>为氢，R<sup>z''</sup>选自氢、甲基、环丙基和乙烯基，或者 R<sup>y''</sup>和 R<sup>z''</sup>与相邻碳原子连接成 3 元碳环。

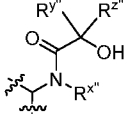
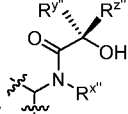
20 在一些实施方案中，R<sup>x''</sup>为氢，R<sup>y''</sup>为氢，R<sup>z''</sup>选自氢、甲基、环丙基和乙烯基，或者 R<sup>y''</sup>和 R<sup>z''</sup>与相邻碳原子连接成 3 元碳环。

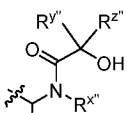
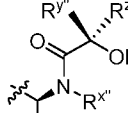
在一些实施方案中，式(III)中 A''为  $\text{NH}_2$ 。

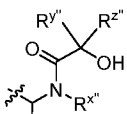
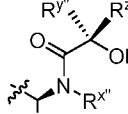
在一些实施方案中，式(III)-1 中 处为 构型。

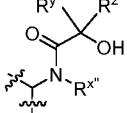
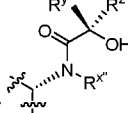
在一些实施方案中，式(III)-1 中 处为 构型。

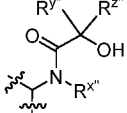
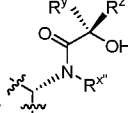
在一些实施方案中，式(III)-1 中  处为  构型。

在一些实施方案中，式(III)-1 中  处为  构型。

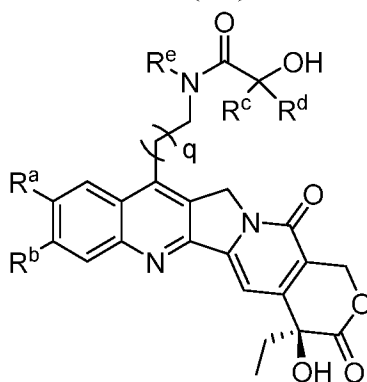
在一些实施方案中，式(III)-1 中  处为  构型。

在一些实施方案中，式(III)-1 中  处为  构型。

5 在一些实施方案中，式(III)-1 中  处为  构型。

在一些实施方案中，式(III)-1 中  处为  构型。

在一些实施方案中，所述化合物具有式(IV)的结构：



式(IV)

在式(IV)中，

$R^a$  和  $R^b$  独立选自氢、卤素、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  羟烷基、 $C_{1-6}$  烷氧烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、羟基和氰基；或者  $R^a$  和  $R^b$  与相邻碳原子连接成 5-6 元含氧杂环；

$R^c$  和  $R^d$  独立选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{1-6}$  烷胺基烷基、  
15  $C_{3-6}$  环烷基、3-6 元杂环基、3-6 元杂环基烷基、 $C_{2-6}$  烯基和  $C_{2-6}$  炔基，或者  $R^c$  和  $R^d$  与相邻碳原子连接成 3-6 元的碳环或杂环；

$R^e$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{3-6}$  环烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基和  $C_2-C_5$  杂环基；

$q=0$  或  $1$ ;

当  $q=0$  时,  $R^c$  和  $R^d$  不同时为氢。

在一些实施方案中,  $R^a$  和  $R^b$  独立选自氢、卤素、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、羟基和氰基; 或者  $R^a$  和  $R^b$  与相邻碳原子连接成 5-6 元含氧杂环;

5  $R^c$  和  $R^d$  独立选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{1-6}$  烷胺基烷基、 $C_{3-6}$  环烷基、3-6 元杂环基、3-6 元杂环基烷基、 $C_{2-6}$  烯基和  $C_{2-6}$  炔基, 或者  $R^c$  和  $R^d$  与相邻碳原子连接成 3-6 元的碳环或杂环;

$R^c$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{3-6}$  环烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基和 4-6 元杂环基;

10  $q=0$  或  $1$ ;

当  $q=0$  时,  $R^c$  和  $R^d$  不同时为氢。

在一些实施方案中, 式(IV)中,  $R^a$  和  $R^b$  独立选自氢、卤素、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、羟基、和氰基; 或者  $R^a$  和  $R^b$  与相邻碳原子连接成 5-6 元含氧杂环;

15  $R^c$  和  $R^d$  独立选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{3-6}$  环烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、4-6 元杂环基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基, 或者  $R^c$  和  $R^d$  与相邻碳原子连接成 3-6 元的碳环或杂环;

$R^c$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{3-6}$  环烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、或 4-6 元杂环基;

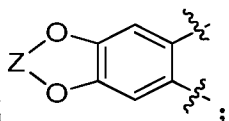
$q=0$  或  $1$ ;

20 当  $q=0$  时,  $R^c$  和  $R^d$  不同时为氢。

在一些实施方案中,  $R^a$  和  $R^b$  独立选自氢、卤素和  $C_{1-6}$  烷基, 或者  $R^a$  和  $R^b$  与相邻碳原子连接成 5-6 元含氧杂环。

在一些实施方案中,  $R^a$  和  $R^b$  独立选自氢、氟、氯和甲基, 或者  $R^a$  和  $R^b$  和与其相

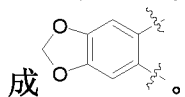
连的苯环共同形成



25 其中 Z 选自  $-CH_2-$ 、 $-CD_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$  和  $-CF_2-$ 。

在一些实施方案中,  $R^a$  为甲基,  $R^b$  为氟, 或者  $R^a$  和  $R^b$  和与其相连的苯环共同形

成

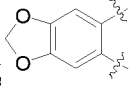





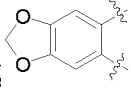
在一些实施方案中,  $R^c$  和  $R^d$  独立选自氢、、、、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基和  $C_{1-6}$  烷胺基烷基, 或者  $R^c$  和  $R^d$  与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环。

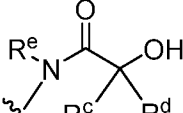
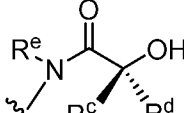
30 在一些实施方案中,  $R^c$  为氢,  $R^d$  选自氢、、、、甲氧基乙基和环丙基, 或者  $R^c$  和  $R^d$  与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环。

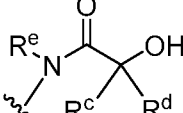
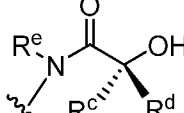
在一些实施方案中， $R^c$  选自氢和  $C_{1-6}$  烷基。

在一些实施方案中， $R^c$  选自氢和异丙基。

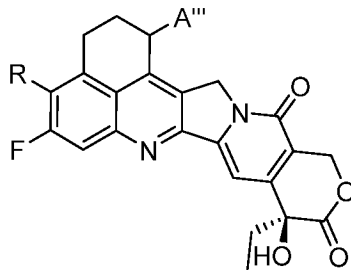
在一些实施方案中， $R^a$  为甲基， $R^b$  为氟，或者  $R^a$  和  $R^b$  和与其相连的苯环共同形成 ， $R^c$  选自氢和异丙基， $R^d$  选自氢、、、、甲氧基乙基和环丙基，或者  $R^c$  和  $R^d$  与相邻碳原子连接成 3 元碳环。

在一些实施方案中， $R^a$  为甲基， $R^b$  为氟，或者  $R^a$  和  $R^b$  和与其相连的苯环共同形成 ， $R^c$  选自氢和异丙基， $R^d$  选自氢、甲氧基乙基和环丙基，或者  $R^c$  和  $R^d$  与相邻碳原子连接成 3 元碳环。

在一些实施方案中，式(IV)中  处为  构型。

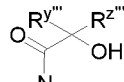
10 在一些实施方案中，式(IV)中  处为  构型。

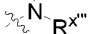
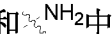
在一些实施方案中，所述化合物具有式(V)的结构：



式(V)

15 在式(V)中， $R$  选自  $C_{3-6}$  环烷基和  $C_{1-6}$  烷氧基；



$A'''$  选自  和  中的一种；

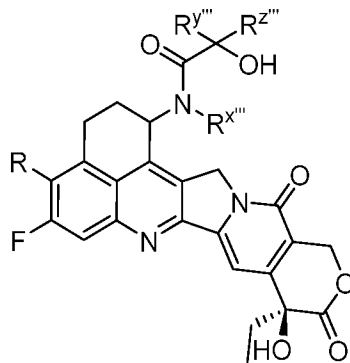
$R^x'''$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧烷基、 $C_{3-6}$  环烷基和 3-6 元杂环基；

$R^y'''$  和  $R^z'''$  独立选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{1-6}$  烷基胺基、 $C_{3-6}$  环烷基、3-6 元杂环基、3-6 元杂环基烷基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、芳基和杂芳基，或者  $R^y'''$  和  $R^z'''$  与相邻碳原子连接成 3-6 元环。

20 在一些实施方案中， $R$  选自甲氧基和环丙基。

在一些实施方案中，式 (V) 化合物结构如下式(V)-1 所示：

在一些实施方案中，式 (V) 化合物结构如下式(V)-1 所示：



式(V)-1。

在一些实施方案中，所述 3-6 元环选自 3-6 元碳环或 3-6 元杂环。

5 在一些实施方案中，R<sup>y'''</sup>和 R<sup>z'''</sup>各自独立地选自氢、C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>1-6</sub>卤代烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基烷基、C<sub>1-6</sub>烷胺基烷基、C<sub>3-6</sub>环烷基和乙烯基，或者 R<sup>y'''</sup>和 R<sup>z'''</sup>与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环。

在一些实施方案中，R<sup>y'''</sup>和 R<sup>z'''</sup>均为氢，或者 R<sup>y'''</sup>和 R<sup>z'''</sup>与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环。

在一些实施方案中，R<sup>x'''</sup>选自氢和 C<sub>1-6</sub>烷基。

10 在一些实施方案中，R<sup>x'''</sup>为氢。

在一些实施方案中，A<sup>'''</sup>为 <sup>15</sup>NH<sub>2</sub>。

在一些实施方案中，R 选自甲氧基和环丙基，R<sup>x'''</sup>为氢，R<sup>y'''</sup>和 R<sup>z'''</sup>均为氢，或者 R<sup>y'''</sup>和 R<sup>z'''</sup>与相邻碳原子连接成 3 元碳环。

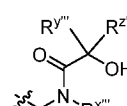
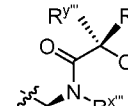
15 在一些实施方案中，式(V)-1 中 处为 构型。

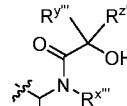
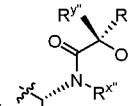
15 在一些实施方案中，式(V)-1 中 处为 构型。

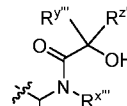
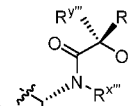
在一些实施方案中，式(V)-1 中 处为 构型。

在一些实施方案中，式(V)-1 中 处为 构型。

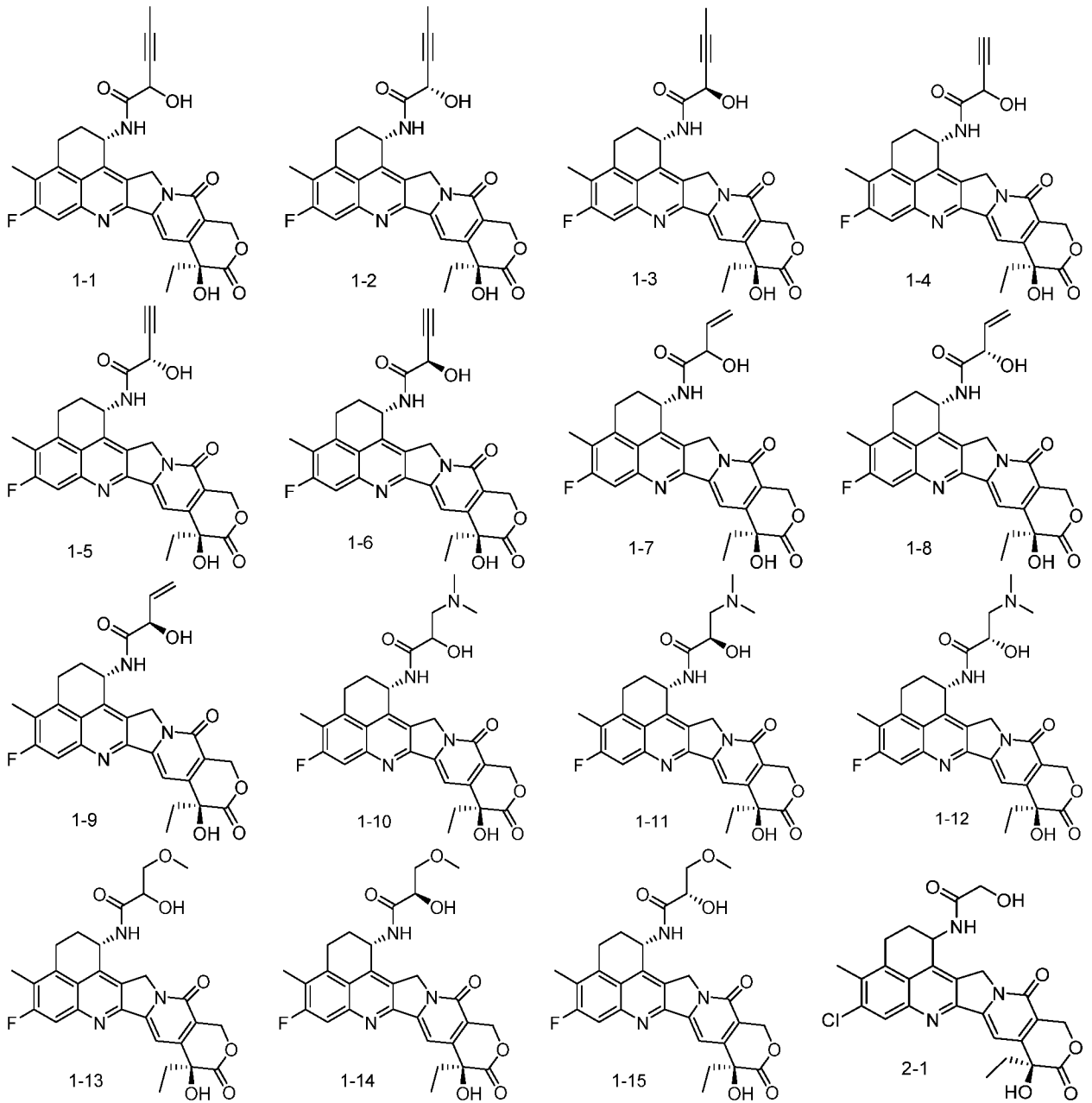
在一些实施方案中，式(V)-1 中 处为 构型。

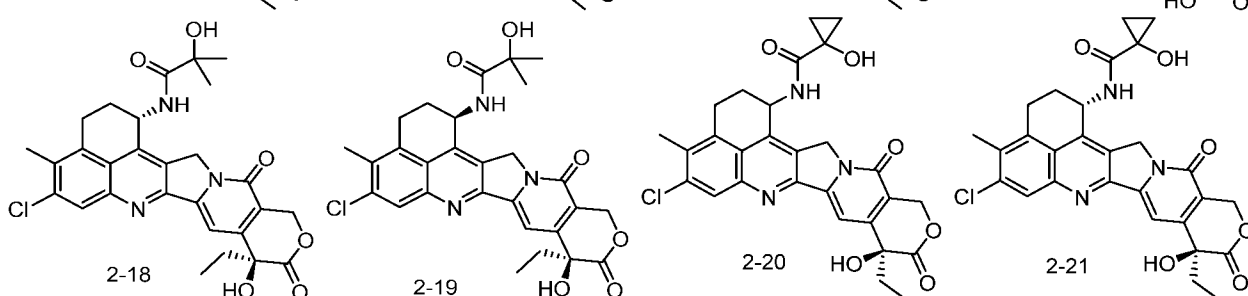
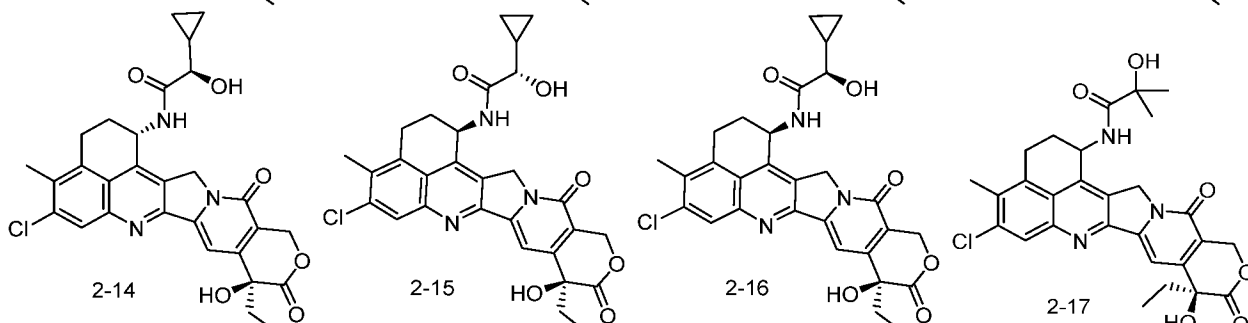
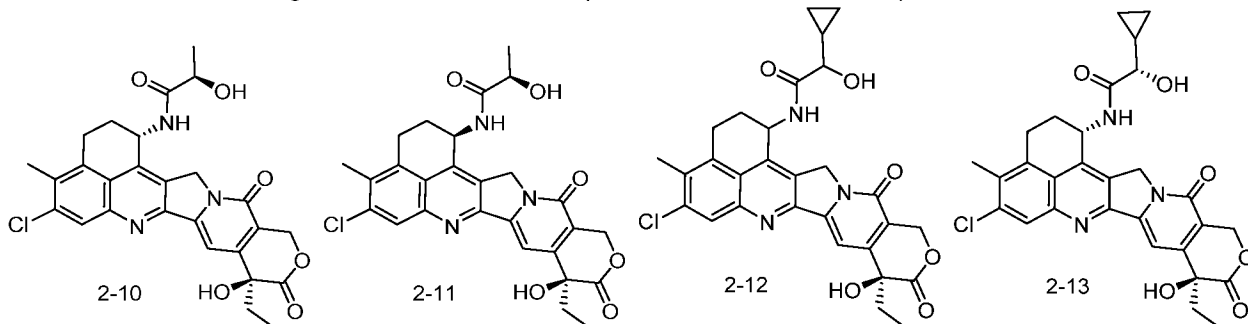
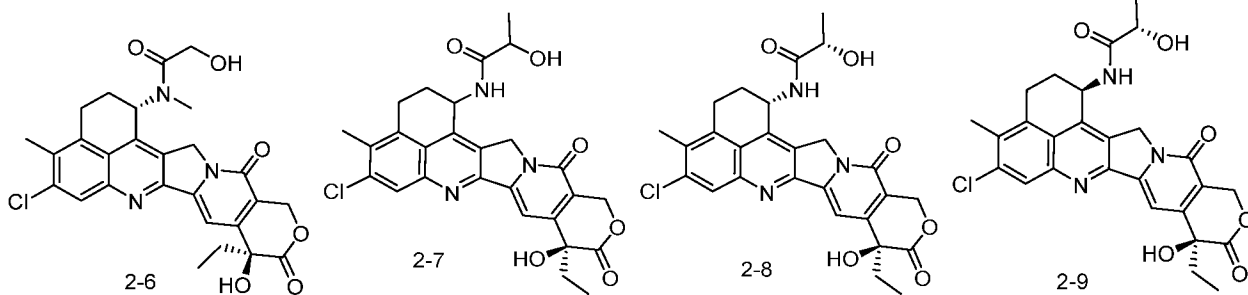
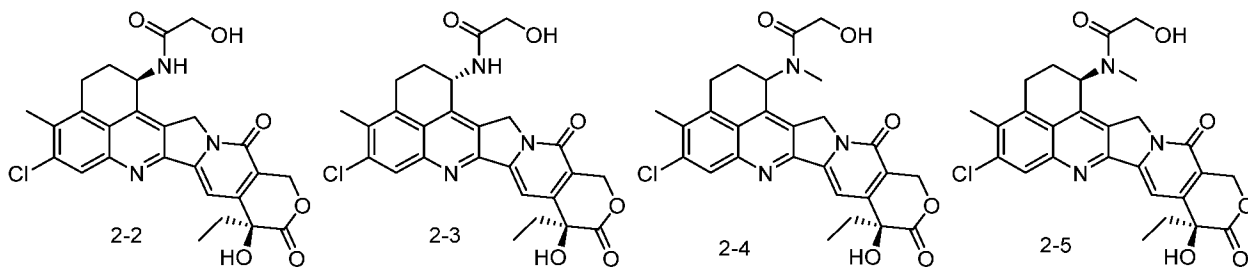
在一些实施方案中，式(V)-1中  处为  构型。

在一些实施方案中，式(V)-1中  处为  构型。

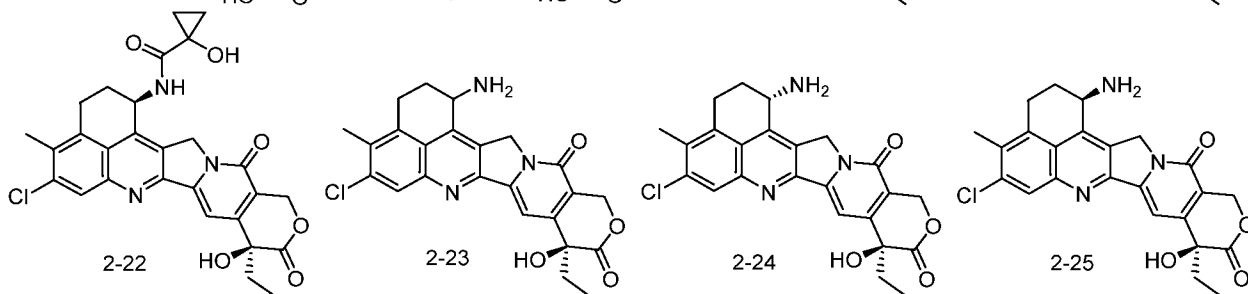
在一些实施方案中，式(V)-1中  处为  构型。

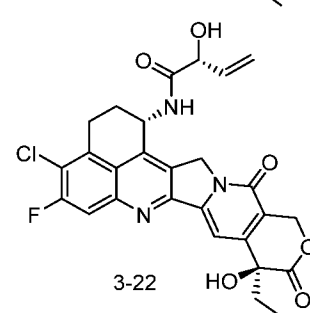
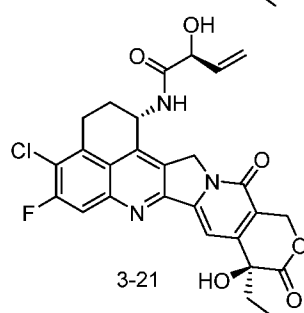
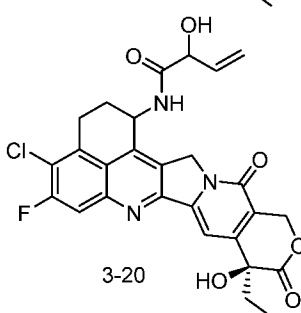
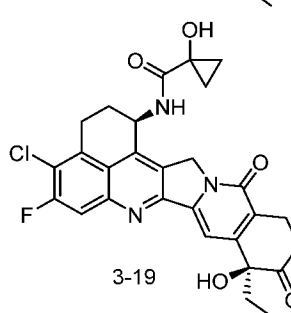
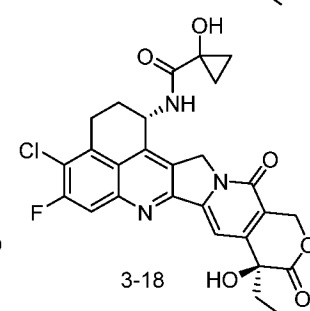
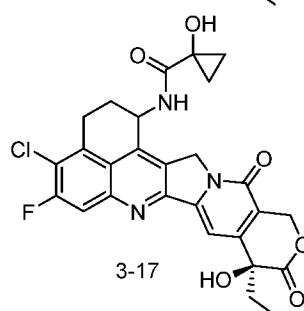
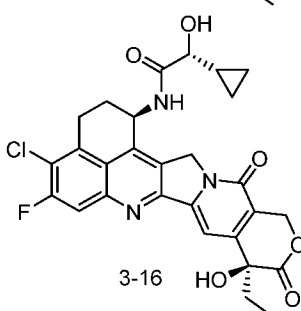
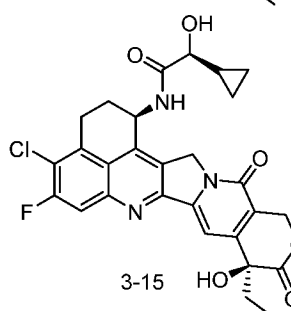
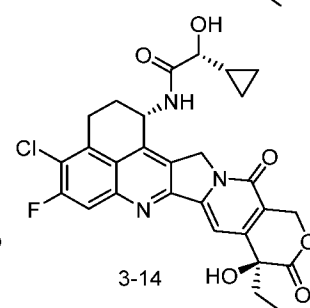
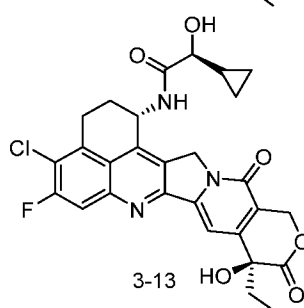
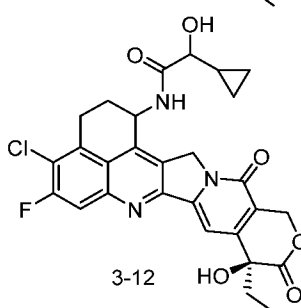
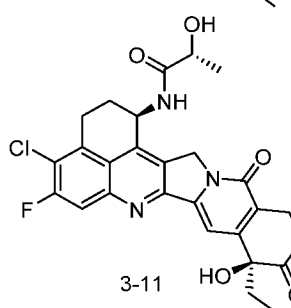
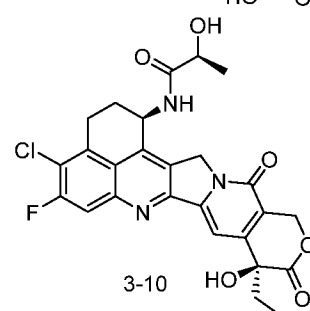
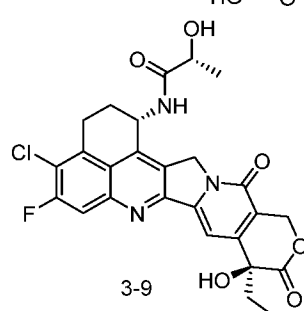
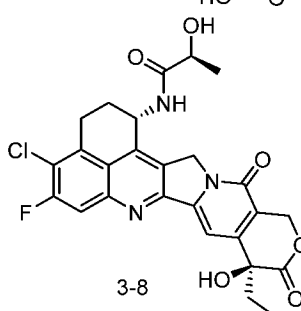
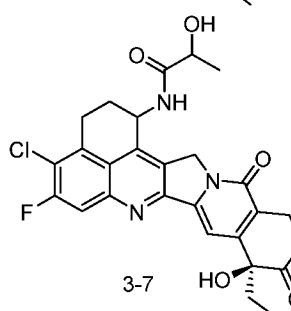
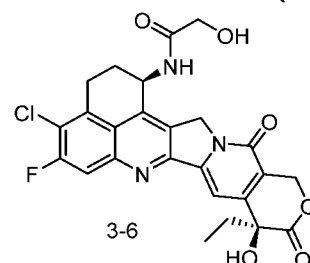
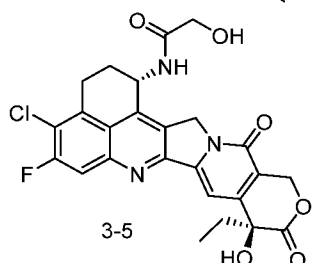
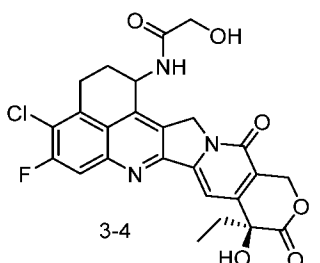
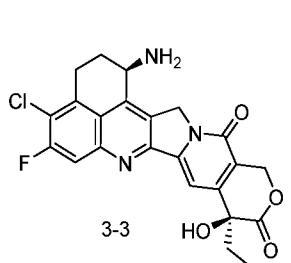
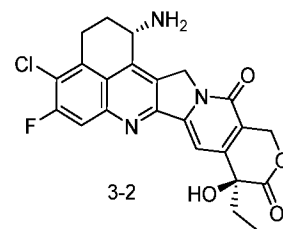
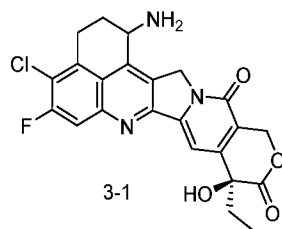
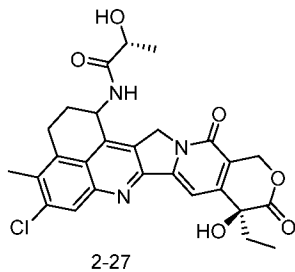
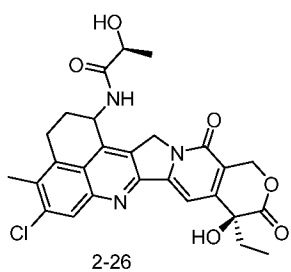
5 在一些实施方案中，本发明提供下述化合物：



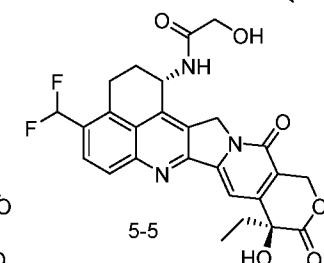
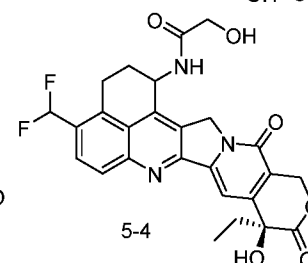
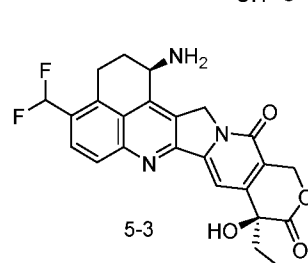
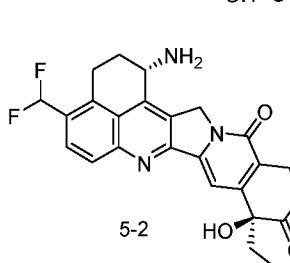
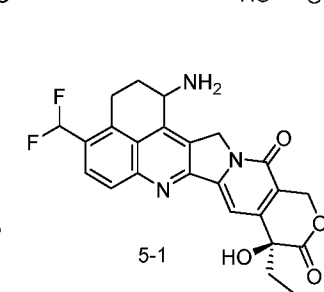
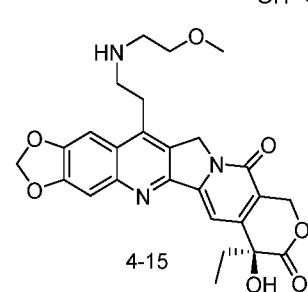
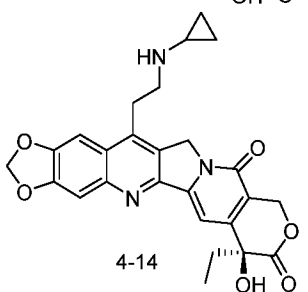
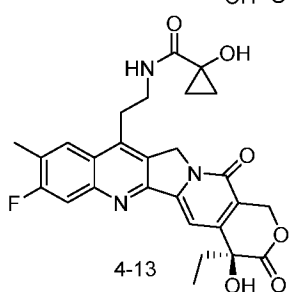
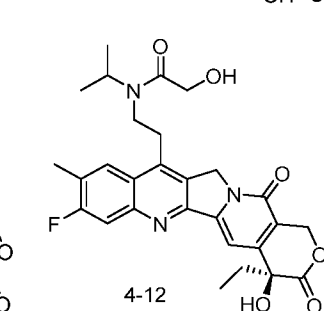
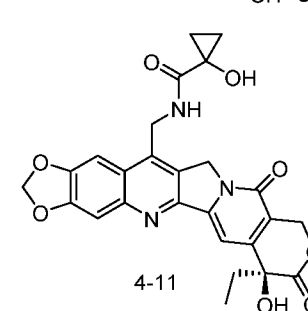
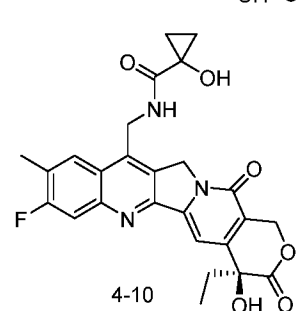
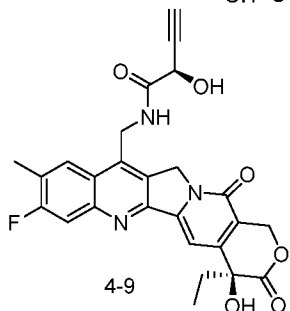
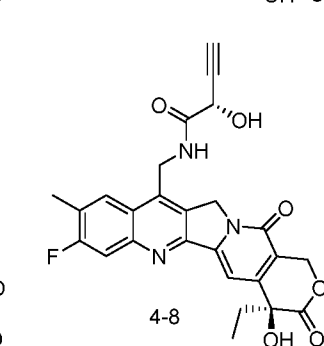
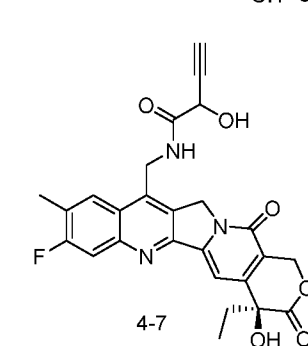
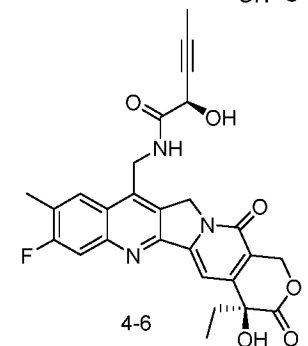
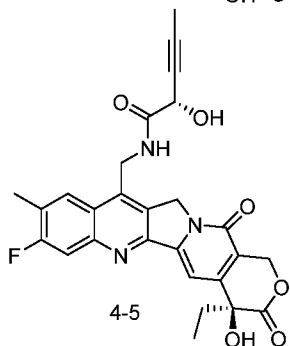
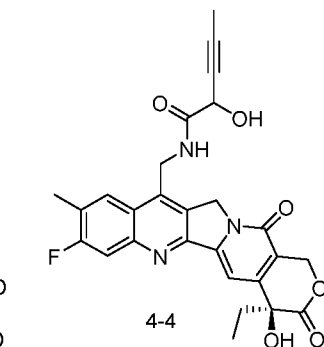
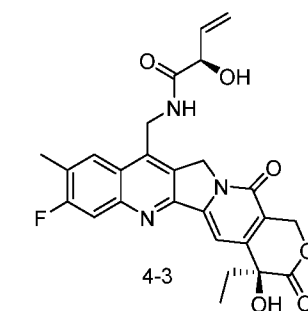
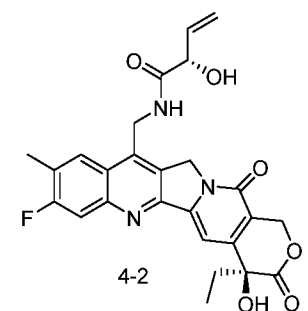
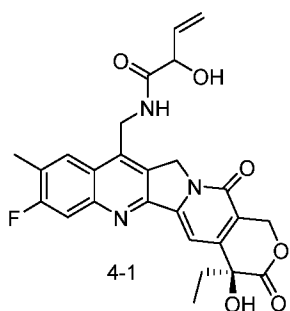
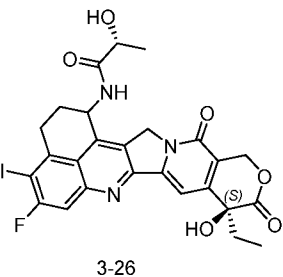
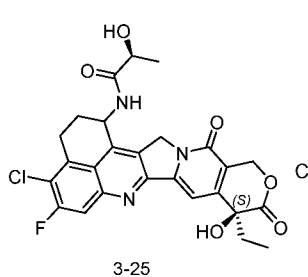
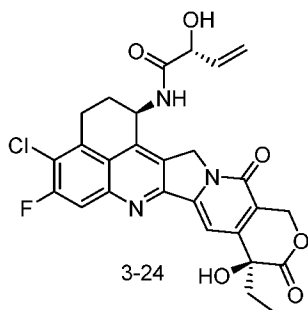
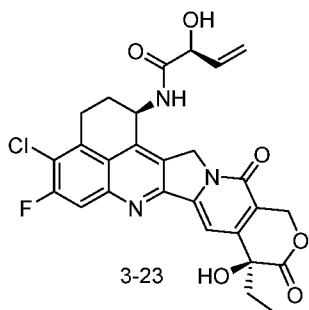


5

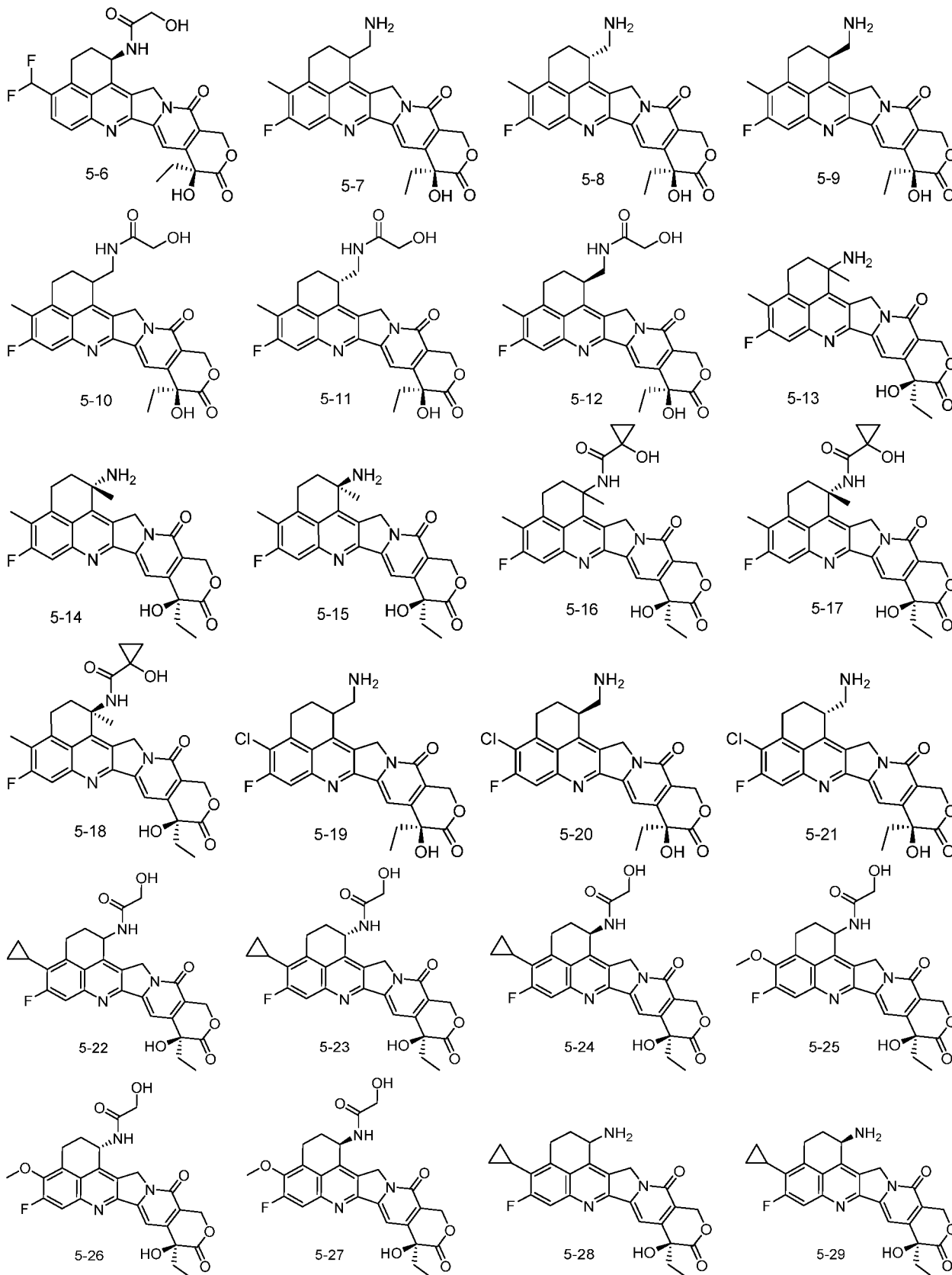




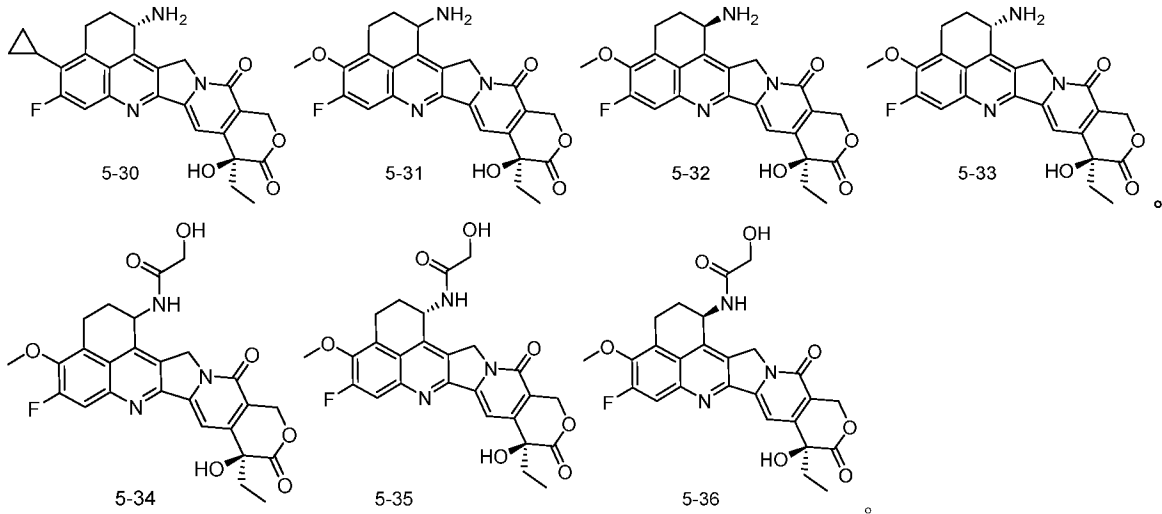
5



5



5



另一方面，本发明还提供式(VI)化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、  
5 溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药：

**M-L-E-D**  
式(VI)

其中，

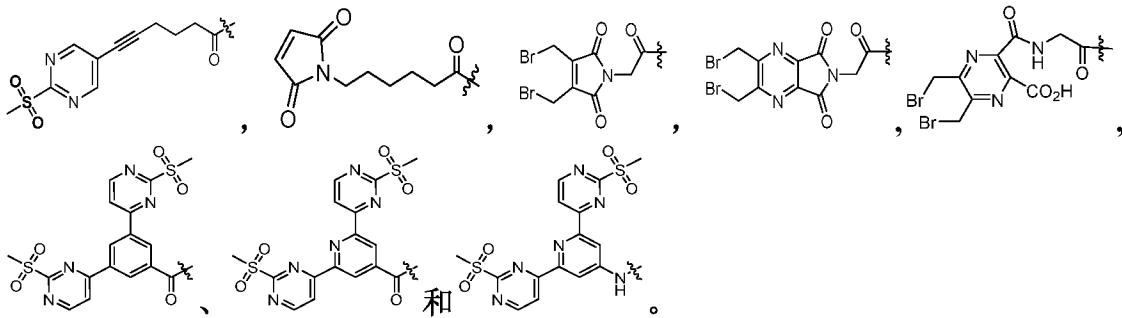
**M** 是和抗体或其抗原结合片段的接头部位；

10 **L** 是连接接头 **M** 和 **E** 之间的连接子；

**E** 是连接 **L** 和 **D** 的结构片段；

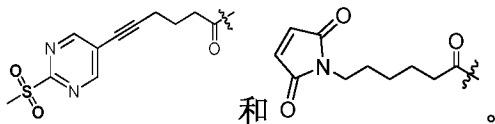
**D** 是细胞毒性药物的结构片段。

在一些实施方案中，**M** 选自以下结构：



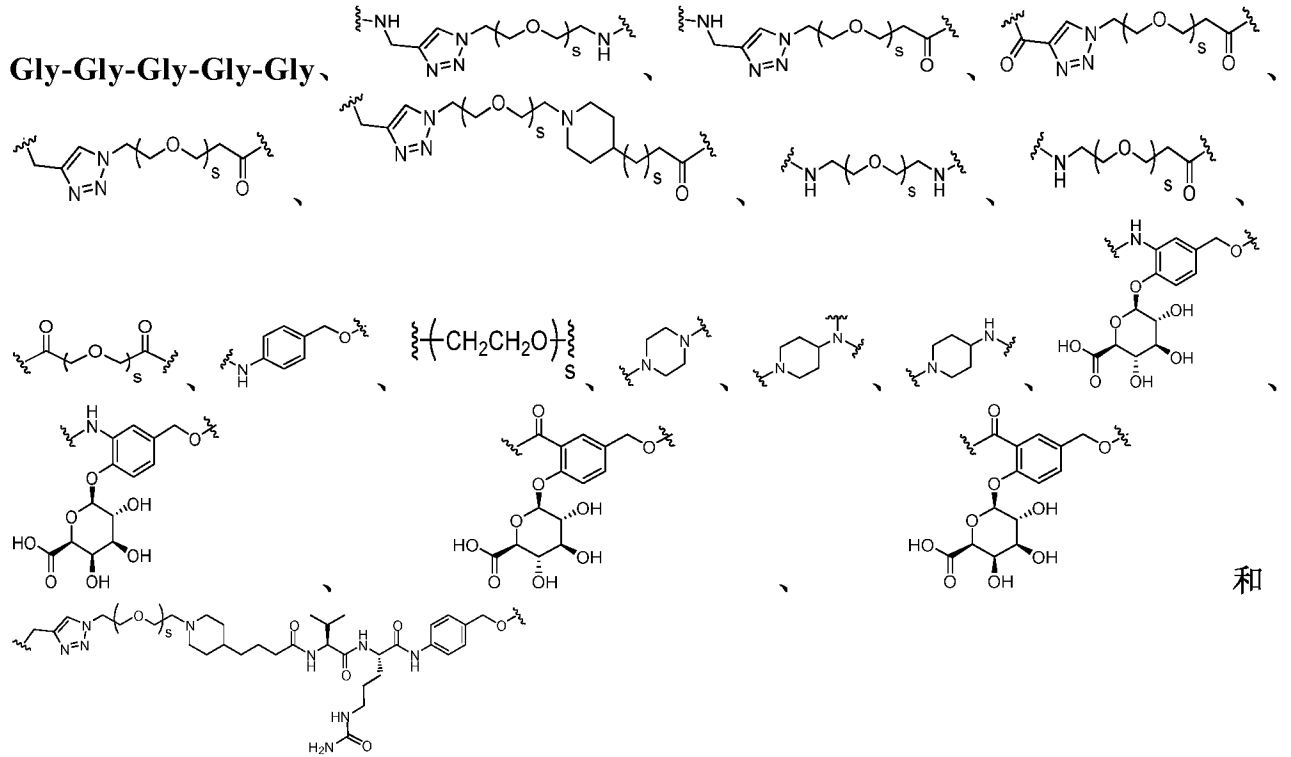
15

在一些实施方案中，**M** 选自以下结构：



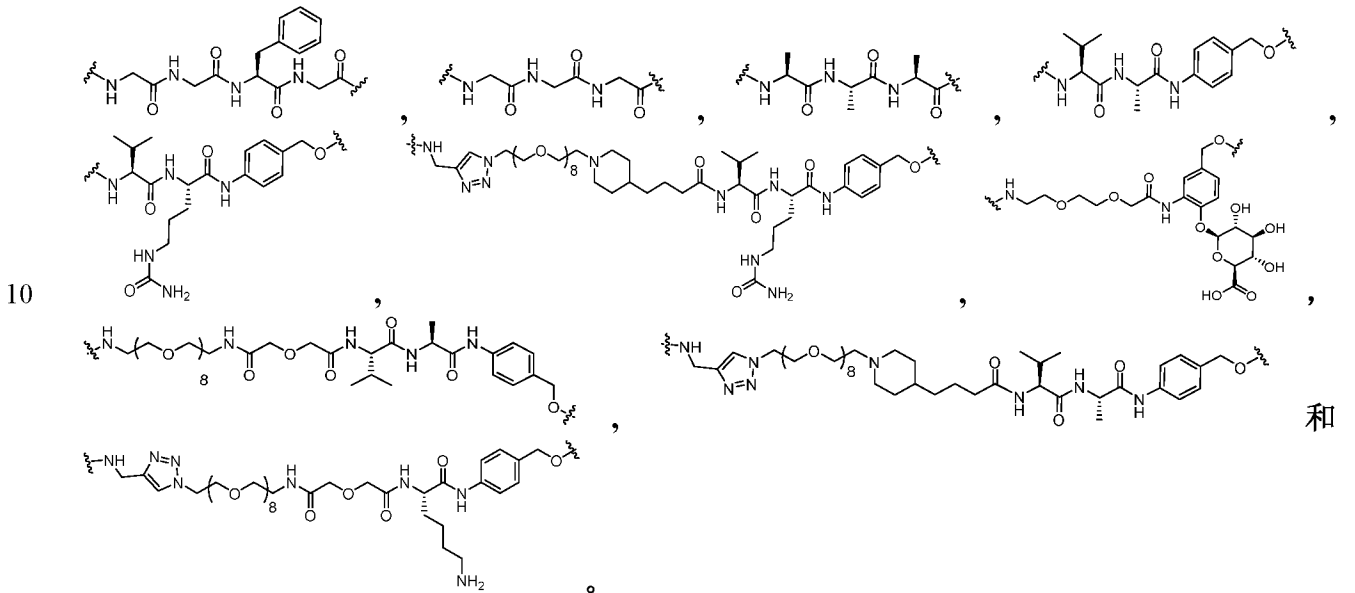
20

在一些实施方案中，**L** 选自由下述的一个或多个组成的二价结构：**C**<sub>1-6</sub> 亚烷基、**-N(R')**-、羰基、**-O-**、**Val**、**Cit**、**Phe**、**Lys**、**D-Val**、**Leu**、**Gly**、**Ala**、**Asn**、**Val-Cit**、**Val-Ala**、**Val-Lys**、**Val-Lys(Ac)**、**Phe-Lys**、**Phe-Lys(Ac)**、**D-Val-Leu-Lys**、**Gly-Gly-Arg**、**Ala-Ala-Asn**、**Ala-Ala-Ala**、**Val-Lys-Ala**、**Gly-Gly-Gly**、**Gly-Gly-Phe-Gly**、

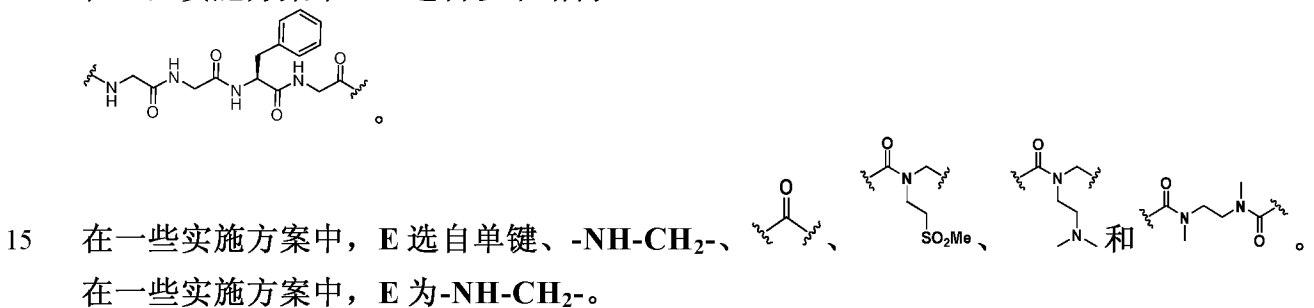


其中 R' 代表氢、C<sub>1-6</sub> 烷基或含-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-的烷基；r 选自 1-10 的整数；s 选自 1-10 的整数。

在一些实施方案中，L 选自以下结构：



在一些实施方案中，L 选自以下结构：



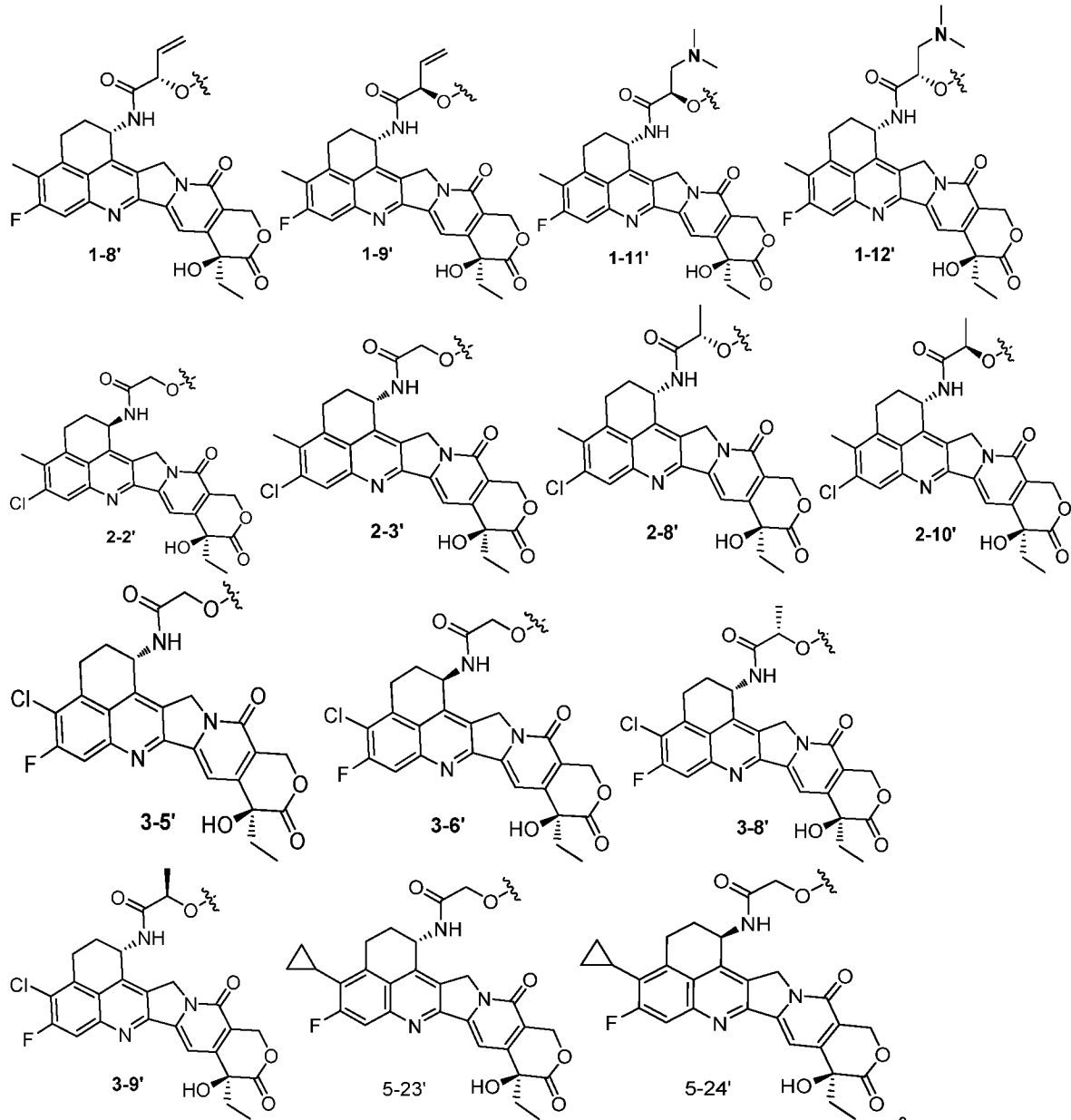
在一些实施方案中，所述细胞毒性药物选自本发明第一方面任一项所述的-化合物。

在一些实施方案中，所述细胞毒性药物选自本发明所述的化合物 1-1 至 1-15； 2-1 至 2-27； 3-1 至 3-26； 4-1 至 4-15； 或 5-1 至 5-36。

在一些实施方案中，D 选自本发明所述-化合物去氢之后的结构。

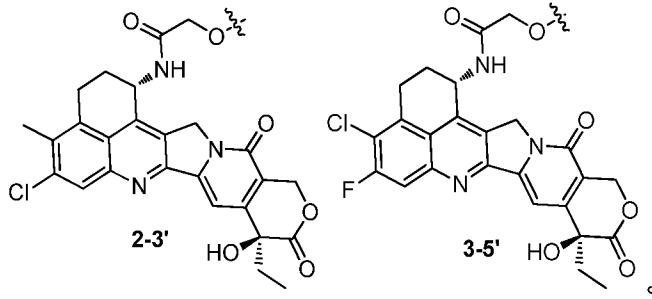
5 在一些实施方案中，D 选自本发明所述的化合物 1-1 至 1-15； 2-1 至 2-27； 3-1 至 3-26； 4-1 至 4-15； 或 5-1 至 5-36 去氢之后的结构。

在一些实施方案中，D 选自以下结构：

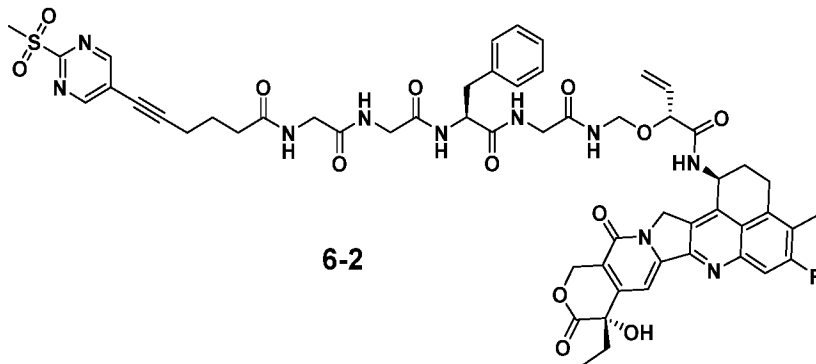
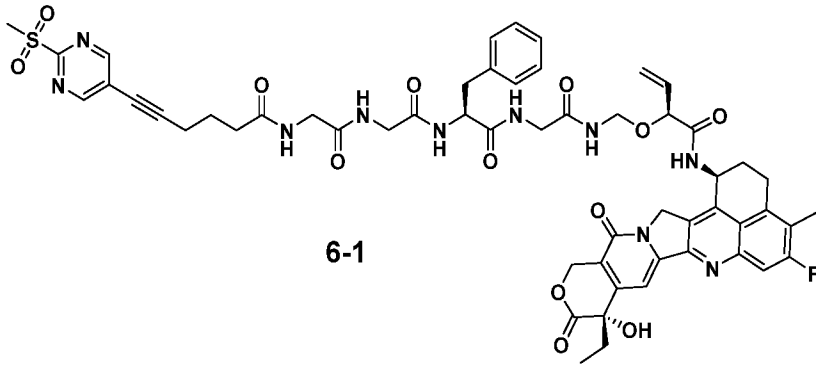


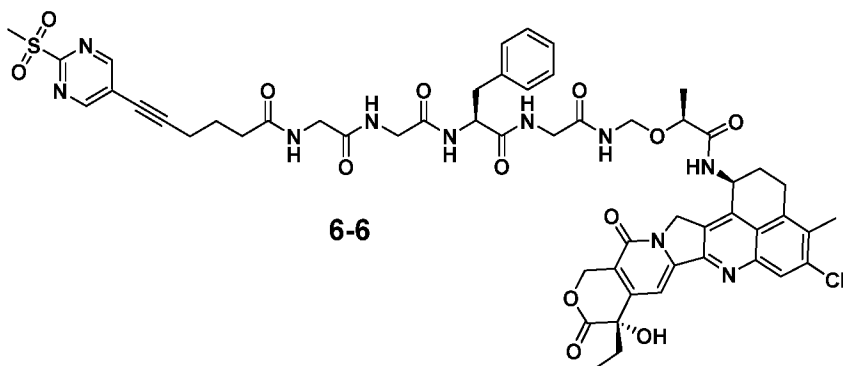
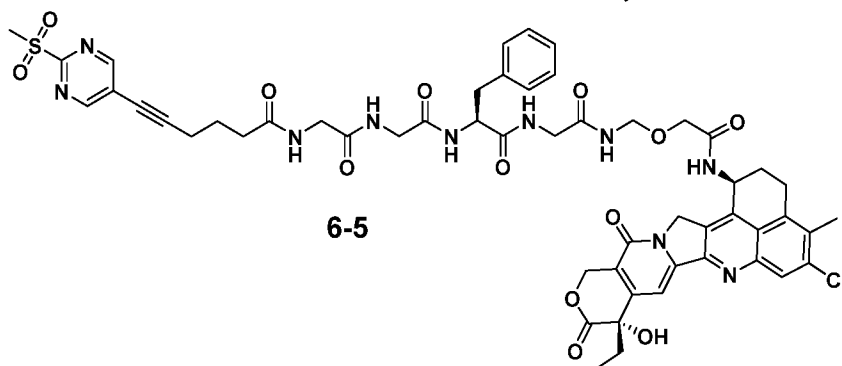
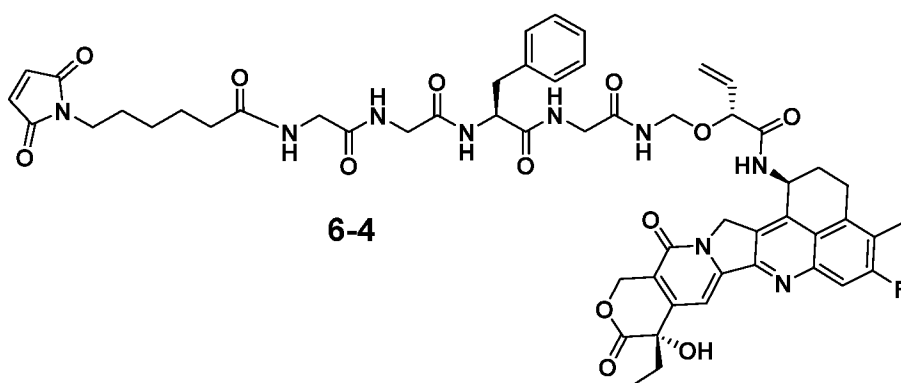
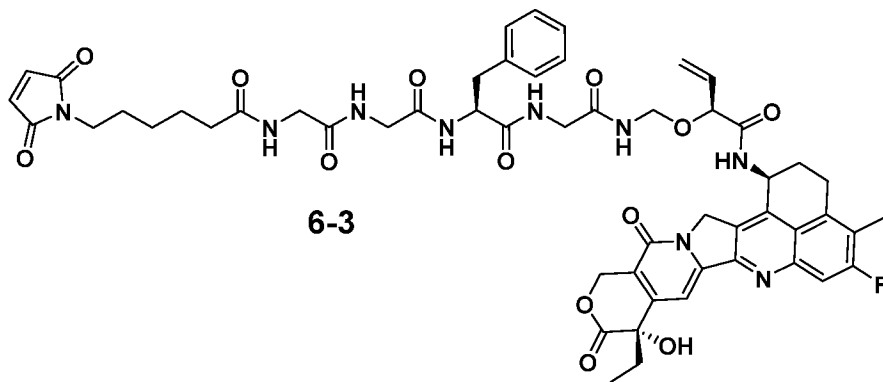
在一些实施方案中，D 选自以下结构：

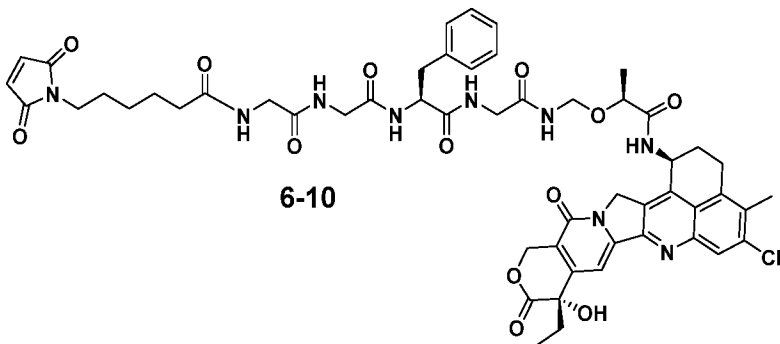
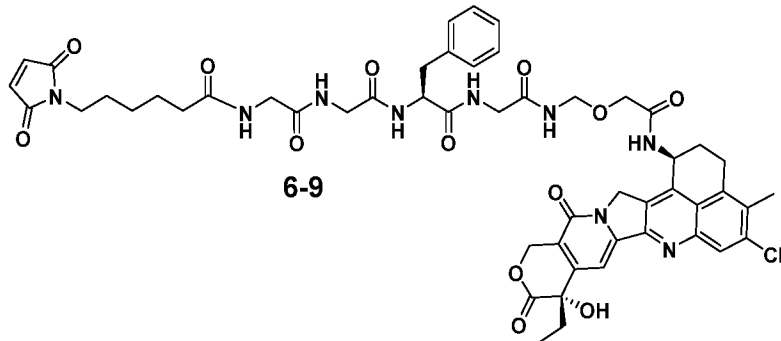
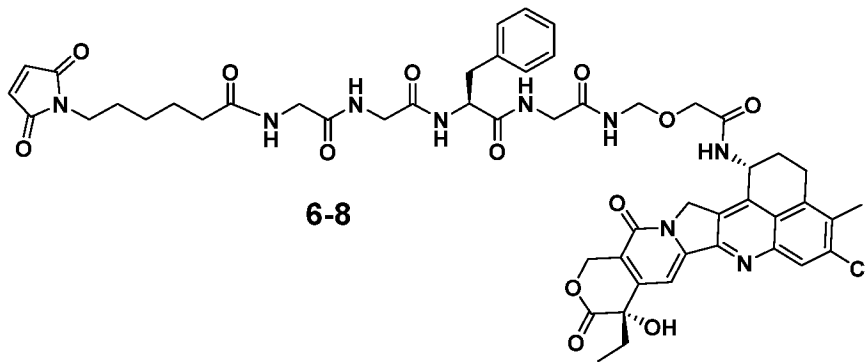
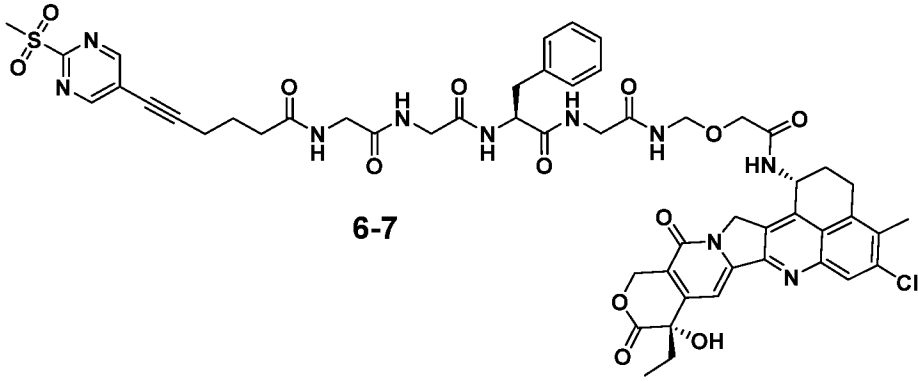
10

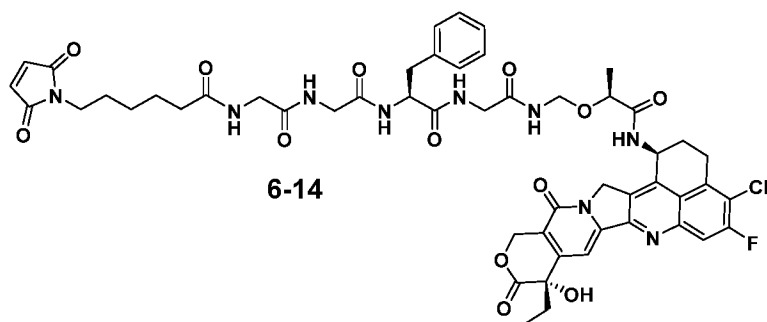
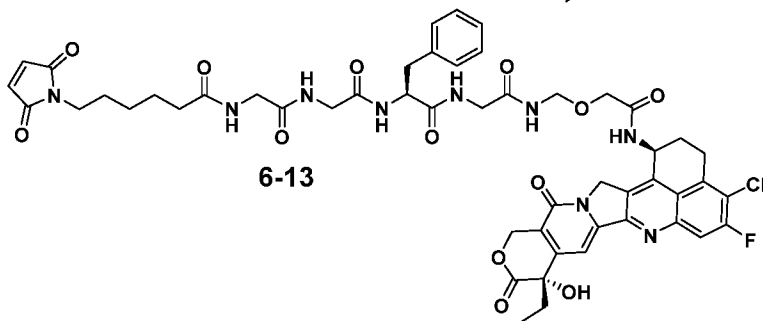
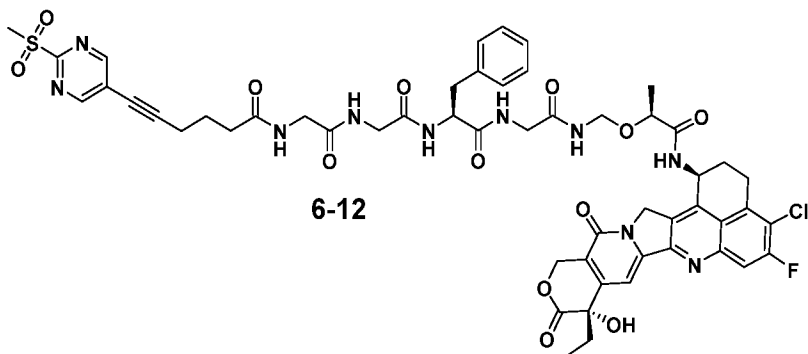
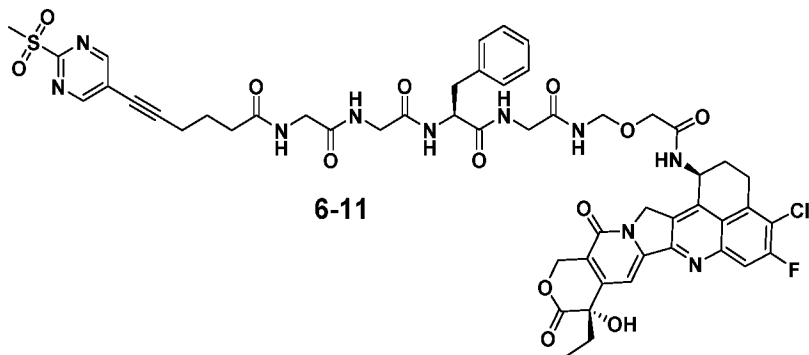


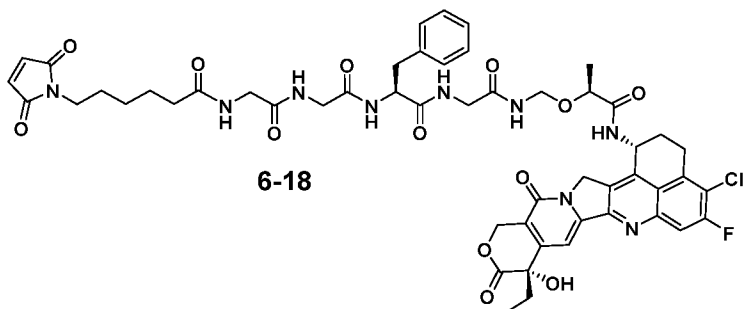
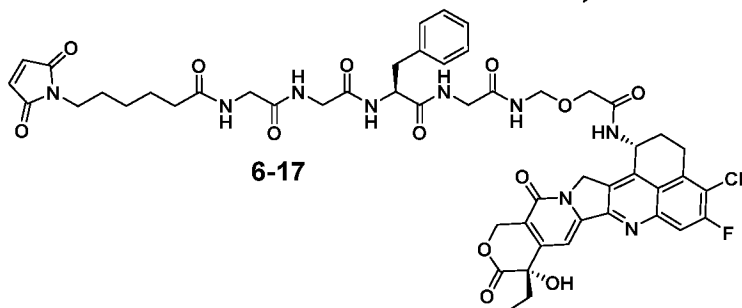
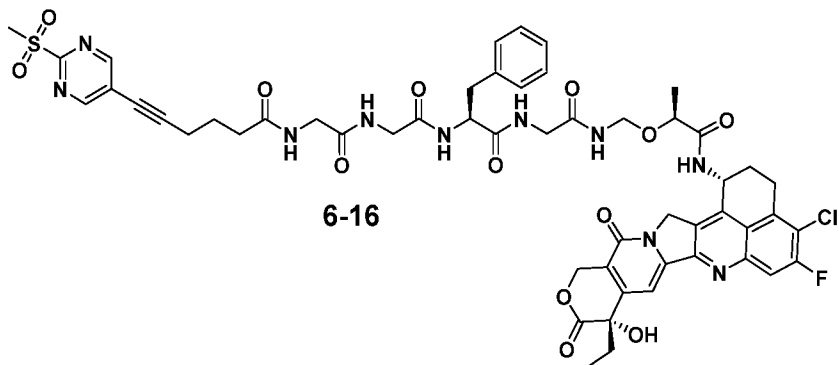
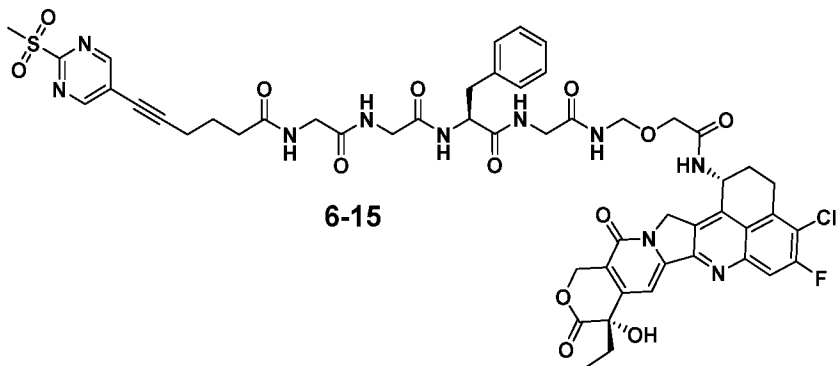
在一些实施方案中，M-L-E-D 选自以下化合物：



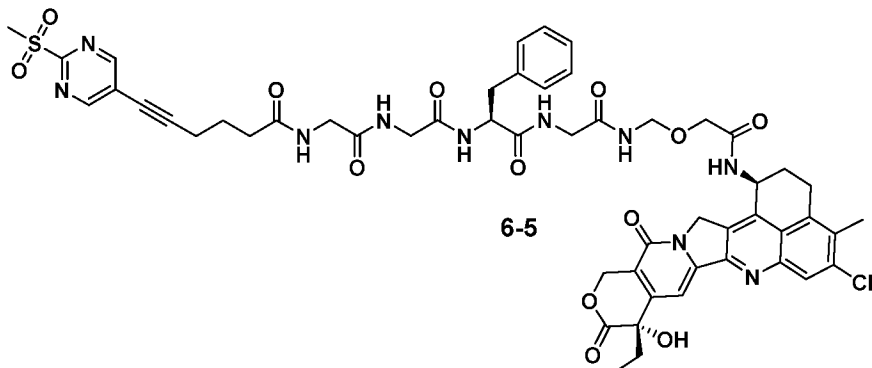


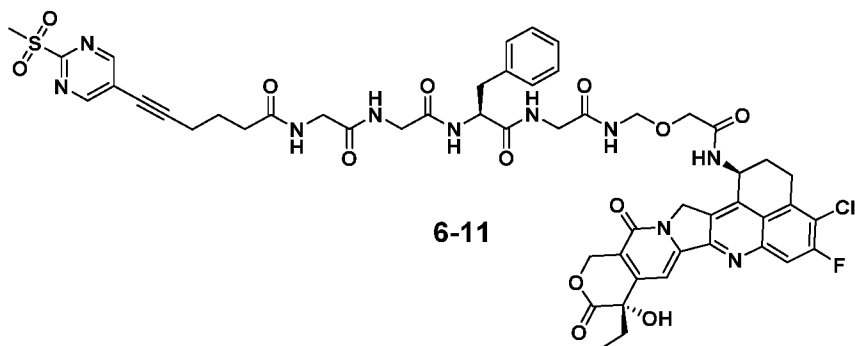






在一些实施方案中，M-L-E-D 选自以下化合物：





### 定义

除非在下文中另有定义，本文中所有的技术术语和科学术语的含义意图与本领域技术人员通常所理解的相同。提及本文中使用的技术意图指在本领域中通常所理解的技术，包括那些对本领域技术人员显而易见的技术的变化或等效技术的替换。虽然相信以下术语对于本领域技术人员很好理解，但仍然阐述以下定义以更好地解释本发明。

术语“包括”、“包含”、“具有”、“含有”或“涉及”及其在本文中的其它变体形式为包含性的(inclusive)或开放式的，且不排除其它未列举的元素或方法步骤。

如本文中所使用，化合物结构式中标记的“\*”表示被标记的碳原子为手性碳原子，本发明包括由该手性碳原子形成的一对对映异构体。如在一个化合物中含两个不同的手性碳原子，本发明包括由该手性碳原子形成的 4 个旋光异构体。

如本文中所使用，“~”表示可以是立体定向((R)或(S))或非立体定向的键。

术语“烷基”定义为直链或支链饱和脂肪族烃基。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 12 个，例如 1 至 6 个碳原子。例如，如本文中所使用，术语“C<sub>1-6</sub> 烷基”指 1 至 6 个碳原子的线性或支化的基团(例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基和正己基)，其任选地被 1 或多个(诸如 1、2 或 3 个)适合的取代基取代。

术语“烯基”是指含有至少一个碳碳双键的直链或支链的烃基，包括例如“C<sub>2-6</sub> 烯基”、“C<sub>2-4</sub> 烯基”等。其实例包括但不限于：乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、1,3-丁二烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-戊烯基、1,3-戊二烯基、1,4-戊二烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、1,4-己二烯基等。

术语“炔基”是指含有至少一个碳碳三键的直链或支链烃基。包括例如“C<sub>2-6</sub> 炔基”、“C<sub>4-6</sub> 炔基”等。其实例包括但不限于：乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、1,3-丁二炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、1,3-戊二炔基、1,4-戊二炔基、1-己炔基、2-己炔基、3-己炔基、1,4-己二炔基等。

术语“环烷基”是指饱和环状烃基，包括但不限于单环烷基和双环烷基(诸如螺环烷基、并环烷基和桥环烷基)。术语“C<sub>3-6</sub> 环烷基”指具有 3 至 6 个成环碳原子的环烷基，诸如环丙基、环丁基、环戊基、环己基等，其可任选地被 1 或多个(诸如 1、2 或 3 个)适合的取代基取代，例如甲基取代的环丙基。

术语“碳环”或“碳环基”是指饱和或部分不饱和的非芳族单环或多环结构、通过环碳

连接的烃基。其实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基和环辛基。

术语“碳环”指饱和或不饱和的非芳族单环或多环(诸如双环)烃环(例如单环, 诸如环丙烷环、环丁烷环、环戊烷环、环己烷环、环庚烷环、环辛烷环、环壬烷环, 或双环, 包括螺环、稠合或桥连系统(诸如双环[1.1.1]戊烷环、双环[2.2.1]庚烷环、双环[3.2.1]辛烷环或双环[5.2.0]壬烷环、十氢化萘环等), 其可任选地被1或多个(诸如1、2或3个)适合的取代基取代。术语“3-6元碳环”是指含3、4、5或6个成环碳原子的碳环。

术语“杂环基”或“杂环”是指饱和或部分饱和的, 单环或多环(诸如双环)的非芳香族环状结构, 其环原子由碳原子以及至少一个(例如1、2或3个)选自氮、氧和硫的杂原子构成。如果满足价键要求, 杂环基可以通过任意一个环原子与分子的其余部分连接。本发明中的杂环基优选为3-6元杂环基。本发明中所使用的术语“3-6元杂环基”是指具有3至6个环原子的杂环基, 包括3元杂环基、4元杂环基、5元杂环基和6元杂环基, 包括含氮杂环基、含氧杂环基, 例如4-6元杂环基, 例如4-6元含氮杂环基、4-6元含氧杂环基。常见的杂环基包括(但不限于)氮杂环丁烷基(azetidiny)、氧杂环丁烷基(oxetanyl)、四氢呋喃基(tetrahydrofuryl)、吡咯烷基(pyrrolidiny)、吡咯烷酮基(pyrrolidinonyl)、咪唑烷基(imidazolidiny)、吡唑烷基(pyrazolidiny)、四氢吡喃基(tetrahydropyranyl)、哌啶基(piperidiny)、哌嗪基(piperazinyl)、吗啉基(morpholinyl)。本发明中的杂环基可任选地被一或多个本发明所描述的取代基取代。本发明中的杂环基任选地与一或多个芳香环或非芳香环稠合。

术语“含氧杂环”是指一个或多个(例如1、2或3个)环原子为氧原子的如前所述的杂环, 例如5-6元含氧杂环, 具体实例包括但不限于环氧乙烷环、四氢呋喃环、呋喃环、四氢吡喃环、吡喃环等。本发明所述的“含氮杂环”是指一个或多个(例如1、2或3个)环原子为氮原子的如前所述的杂环。

术语“卤代烷基”是指被一或多个(诸如1、2或3个)相同或不同的卤素原子取代的烷基, 其中烷基定义如上所述。例如, 本发明中所使用的术语“C<sub>1-6</sub>卤代烷基”是指具有1至6个碳原子的卤代烷基。常见的卤代烷基包括(但不限于)-CH<sub>2</sub>F、-CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>Cl等。本发明中的卤代烷基任选地被一或多个本发明所描述的取代基取代。

术语“芳基”是指芳烃分子的芳核碳原子上去掉一个氢原子得到的基团。例如6-14元芳基, 具体实例包括但不限于苯基、萘基、蒽基等。

术语“杂芳基”是指含至少一个选自N、O和S的环成员的芳香环状基团。具体实例包括但不限于5-6元杂芳基、5-6元含氮杂芳基、5-6元含氧杂芳基等, 例如呋喃基、噻吩基、吡咯基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、咪唑基、吡唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、吡啶基、嘧啶基、哒嗪基、吡嗪基、1,2,3-三嗪基、1,3,5-三嗪

基、1,2,4,5-四嗪基等。

术语“烷氧基”是指具有“烷基-O-”结构的基团，其中烷基定义如上所述。例如C<sub>1-6</sub>烷氧基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、C<sub>1-3</sub>烷氧基或C<sub>1-2</sub>烷氧基等。常见的烷氧基包括(但不限于)甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基、戊氧基、己氧基等。本发明中的烷氧基任选地被一或多个本发明所描述的取代基取代。

(O)术语“烷氧基烷基”是指被一个或多个(例如1、2、3或4个)烷氧基取代的烷基，其中烷氧基及烷基的定义如上所述。例如，本发明中所使用的术语“C<sub>1-6</sub>烷氧基烷基”是指具有1-6个碳原子、被一个或多个(例如1、2、3或4个)烷氧基取代的烷基。常见的烷氧基烷基包括(但不限于)CH<sub>3</sub>O-CH<sub>2</sub>-、C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-O-CH<sub>2</sub>-、C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-等。

术语“卤代”或“卤素”基团定义为包括F、Cl、Br或I。

术语“氮氧化物”是指本申请化合物结构中的至少一个氮原子的氧化物(例如单-或二-氧化物)。氮的单-氧化物可以以单一的位置异构体或位置异构体的混合物的形式存在。

术语“取代”指所指定的原子上的一個或多个(例如一个、两个、三个或四个)氢被从所指出的基团的选择代替，条件是未超过所指定的原子在当前情况下的正常原子价并且所述取代形成稳定的化合物。取代基和/或变量的组合仅仅当这种组合形成稳定的化合物时才是允许的。

如果取代基被描述为“任选地被取代”，则取代基可(1)未被取代或(2)被取代。如果取代基的碳被描述为任选地被取代基列表中的一个或多个取代基所取代，则碳上的一个或多个氢(至存在的任何氢的程度)可单独和/或一起被独立地选择的任选的取代基替代。如果取代基的氮被描述为任选地被取代基列表中的一个或多个取代，则氮上的一个或多个氢(至存在的任何氢的程度)可各自被独立地选择的任选的取代基替代。

如果取代基被描述为“独立地选自”一组，则各取代基独立于另一者被选择。因此，各取代基可与另一(其他)取代基相同或不同。

如本文中所使用，术语“一个或多个”意指在合理条件下的1个或超过1个，例如2个、3个、4个、5个或10个。

除非指明，否则如本文中所使用，取代基的连接点可来自取代基的任意适宜位置。

术语“立体异构体”表示由于至少一个不对称中心形成的异构体。在具有一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)不对称中心的化合物中，其可产生外消旋混合物、单一对映异构体、非对映异构体混合物和单独的非对映异构体。特定个别分子也可以几何异构体(顺式/反式)存在。类似地，本发明的化合物可以两种或更多种处于快速平衡的结构不同的形式的混合物(通常称作互变异构体)存在。互变异构体的代表性实例包括酮-烯醇互变异构体、苯酚-酮互变异构体、亚硝基-肟互变异构体、亚胺-烯胺互变异构体等。要理解，本申请的范围涵盖所有这样的以任意比例(例如60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)的异构体或其混合物。

本文中可使用实线(—)、实楔形(▲)或虚楔形(⋯)描绘本发明的化合物的碳-碳键。

使用实线以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明，包括该碳原子处的所有可能的立体异构体(例如，特定的对映异构体、外消旋混合物等)。使用实或虚楔形以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明，存在所示的立体异构体。当存在于外消旋混合物中时，使用实及虚楔形以定义相对立体化学，而非绝对立体化学。除非另外指明，否则本发明的化合物意欲可以

5 立体异构体(其包括顺式及反式异构体、光学异构体(例如 **R** 及 **S** 对映异构体)、非对映异构体、几何异构体、旋转异构体、构象异构体、阻转异构体及其混合物)的形式存在。本发明的化合物可表现一种以上类型的异构现象，且由其混合物(例如外消旋混合物及非对映异构体对)组成。

本发明涵盖本发明的化合物的所有可能的结晶形式或多晶型物，其可为单一多晶型物

10 或多于一种多晶型物的任意比例的混合物。

还应当理解，本发明的某些化合物可以游离形式存在用于治疗，或适当时，以其药学上可接受的衍生物形式存在。在本发明中，药学上可接受的衍生物包括但不限于，可药用盐、酯、溶剂合物、代谢物或前药，在将它们向需要其的患者给药后，能够直接或间接提供本发明的化合物或其代谢物或残余物。因此，当在本文中提及“本发明的化合物”时，也

15 意在涵盖化合物的上述各种衍生物形式。

本发明的化合物的可药用盐包括其酸加成盐及碱加成盐。

适合的酸加成盐由形成药学可接受盐的酸来形成，包括天冬氨酸盐、延胡索酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、六氟磷酸盐等。

适合的碱加成盐由形成药学可接受盐的碱来形成，包括铝盐、精氨酸盐、胆碱盐、二

20 乙胺盐等。

适合的盐的综述参见 **Stahl 及 Wermuth 的“Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use” (Wiley-VCH, 2002)**。用于制备本发明的化合物的可药用盐的方法为本领域技术人员已知的。

术语“酯”意指衍生自本申请中各个通式化合物的酯，其包括生理上可水解的酯(可在

25 生理条件下水解以释放游离酸或醇形式的本发明的化合物)。本发明的化合物本身也可以是酯。

本发明的化合物可以溶剂合物(优选水合物)的形式存在，其中本发明的化合物包含作为所述化合物晶格的结构要素的极性溶剂，特别是例如水、甲醇或乙醇。极性溶剂特别是水的量可以化学计量比或非化学计量比存在。

在本发明的范围内还包括本发明的化合物的代谢物，即在给药本发明的化合物时体内形成的物质。这样的产物可由例如被给药的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、脱脂化、酶解等产生。因此，本发明包括本发明的化合物的代谢物，包括通过

30 使本发明的化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢产物的时间的方法制得的化合物。

本发明在其范围内进一步包括本发明的化合物的前药。通常这样的前药会是所述化合物的官能团衍生物，其易于在体内转化成期望的治疗活性化合物。因此，在这些情况中，

35

用于本发明的治疗方法的术语“给药”应包括用所要求保护的化合物中的一种或多种的前药形式来治疗各种疾病或病症，但是在向个体给药后所述前药形式在体内转化成上述化合物。例如，在“**Design of Prodrug**”, ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985中，描述了选择和制备适合的前药衍生物的常规方法。

5 本发明在其范围内进一步包括本发明的化合物的同位素标记物，其与本发明的化合物相同，除了一个或多个原子被具有相同原子序数但原子质量或质量数不同于在自然界中占优势的原子质量或质量数的原子替代。

本发明还涵盖含有保护基的本发明的化合物。在制备本发明的化合物的任何过程中，保护在任何有关分子上的敏感基团或反应基团可能是必需的和/或期望的，由此形成本发明的化合物的化学保护的形式。这可以通过常规的保护基实现，例如，在 **Protective**  
10 **Groups in Organic Chemistry**, ed. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; 和 **T.W. Greene & P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis**, John Wiley & Sons, 1991 中所述的那些保护基，这些参考文献通过援引加入本文。使用本领域已知的方法，在适当的后续阶段可以移除保护基。

15

#### 药物组合物

在第三个方面，本发明提供一种药物组合物，其包含本发明第一方面或第二方面所述的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药，以及一种或多种药学上可接受的载体。

20 术语“药物组合物”是指可以用作药物的组合物，其包含药物活性成分(API)(或治疗剂)以及可选的一种或多种药学上可接受载体。术语“药学上可接受的载体”是指与治疗剂一同给药的辅料，并且其在合理的医学判断的范围内适于接触人类和/或其它动物的组织而没有过度的毒性、刺激性、过敏反应或与合理的益处/风险比相应的其它问题或并发症。

上述药物组合物可以系统地作用和/或局部地作用，其可以通过适合的剂型来实现。  
25 所述剂型包括但不限于片剂、胶囊剂、锭剂、硬糖剂、散剂、喷雾剂、乳膏剂、软膏剂、栓剂、凝胶剂、糊剂、洗剂、软膏剂、水性混悬剂、可注射溶液剂、酞剂、糖浆剂。

上述药物组合物可以包含 0.01 mg 至 1000 mg 的至少一种本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药。

30 本发明还提供了上述药物组合物或其相应的制剂形式的制备方法，其包括将至少一种本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药与一种或多种药学上可接受的载体组合。

#### 药盒产品

在第四个方面，本发明提供一种药盒产品，其包含：

35 a)作为第一治疗剂的至少一种本发明第一方面或第二方面所述的化合物或其可药用盐、

酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药，或者作为第一药物组合物的第三方面所述的药物组合物；

b) 任选存在的作为第二治疗剂的至少一种其他治疗剂，或者作为第二药物组合物的包含其他治疗剂的药物组合物；和

5 c) 任选存在的包装和/或说明书。

上述药盒产品可以包含 0.01 mg 至 1000 mg 的至少一种本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药。

本发明还提供了上述药盒的制备方法，其包括将至少一种本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药或者上述药物组合物与任选存在的至少一种其他治疗剂或者包含其他治疗剂的药物组合物、包装和/或说明书组合。

### 医药用途

本发明的化合物能够表现出较强的抑制细胞异常增殖方面的作用。

15 因此，本申请提供了本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药或者上述药物组合物，其用于治疗细胞异常增殖方面的疾病。

另外，本申请还提供了本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药或者上述药物组合物在制备用于治疗细胞异常增殖方面的疾病的药物中的用途。

20 在一些实施方案中，所述细胞异常增殖方面的疾病包括(但不限于)肿瘤，例如晚期实体瘤。

本申请还提供本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药或者本发明的药物组合物在制备制剂中的用途，所述制剂用于抑制肿瘤细胞的增殖。在某些实施方案中，所述制剂用于体内或者体外施用。例如，所述制剂可被施用至受试者体内，以抑制受试者体内的肿瘤细胞的增殖；或者，所述制剂可被施用至体外细胞(例如细胞系或者来自受试者的细胞)，以抑制体外肿瘤细胞的增殖。

30 本发明所述肿瘤包括(但不限于)：脑瘤、肺癌、鳞状上皮细胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巢癌、腹膜癌、胰腺癌、乳腺癌、头颈癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、结直肠癌、肝癌、肾癌、食管腺癌、食管鳞状细胞癌、前列腺癌、雌性生殖道癌、原位癌、淋巴瘤、神经纤维瘤、甲状腺癌、骨癌、皮肤癌、脑癌、结肠癌、睾丸癌、胃肠道间质瘤、前列腺肿瘤、肥大细胞肿瘤、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、胶质瘤或肉瘤。

### 35 治疗方法

在另一个方面，本发明提供了一种用于治疗细胞异常增殖方面的疾病的方法，其包括下列步骤：将治疗有效量的本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药或者上述药物组合物施用于对其有需求的个体。

5 术语“有效量”是指能够诱发细胞、组织、器官或生物体(例如个体)产生生物或医学反应，并且足以实现所需预防和/或治疗效果的剂量。

可调整给药方案以提供最佳所需响应。例如，可单次给药，可随时间分剂量给药，或可根据实际情况按比例减少或增加剂量后给药。可以理解的是，对于任何特定个体，具体的给药方案应根据需要以及给药组合物或监督组合物的给药人员的专业判断而调整。

10 本发明的化合物的给药量将取决于个体情况、疾病或病症的严重性、给药的速率、化合物的处置及处方医师的判断。一般而言，有效量为约 0.001-10000 mg/kg 受试者体重/天。在合适的情况下，有效量为约 0.01-1000 mg/kg 受试者体重/天。可以每天、每两天或每三天给药约 0.01-1000 mg/kg 受试者体重，通常约 0.1-500 mg/kg 受试者体重。示例性的给药方案为每天一次或多次，或者每周一次或多次，或者每月一次或多次。多次给药时，单剂  
15 剂量之间的间隔通常可以是每天、每周、每月或每年。或者，可以缓释制剂的形式给药，在这种情况下需要较低的给药频率。给药剂量和频率可根据药物在受试者体内的半衰期而不同，也可以根据是预防性应用还是治疗性应用而不同。在预防性应用中，以相对低频率的间隔长期施用相对低的剂量；在治疗性应用中，有时需要以较短的间隔施用相对高的剂量，直至疾病的进展被延缓或停止，优选直至个体表现出疾病症状的部分或完全改善，此  
20 后可以采用预防性应用。

术语“治疗”是指减轻或消除所针对的疾病或病症。如果受试者接受了治疗量的本发明的化合物或其药学上可接受的形式或者本发明的药物组合物，该受试者的至少一种指标和症状表现出可观察到的和/或可检测出的缓解和/或改善，则表明该受试者已被成功地“治  
25 疗”。可以理解的是，治疗不仅包括完全地治疗，还包括未达到完全地治疗，但实现了一些生物学或医学相关的结果。

术语“施用(administrate / administrating / administration)”(或“给药”)是指将药物活性成分(比如本发明的化合物)或包含药物活性成分的药物组合物(例如本发明的药物组合物)应用于个体或其细胞、组织、器官、生物流体等部位，以便使药物活性成分或药物组合物与个体或其细胞、组织、器官、生物流体等部位接触的过程。常见的施用方式包括(但不  
30 限于)口服施用、皮下施用、肌肉施用、腹膜下施用、眼部施用、鼻部施用、舌下施用、直肠施用、阴道施用等。

术语“对其有需求”是指医生或其他护理人员对个体需要或者将要从预防和/或治疗过程中获益的判断，该判断的得出基于医生或其他护理人员在其专长领域中的各种因素。

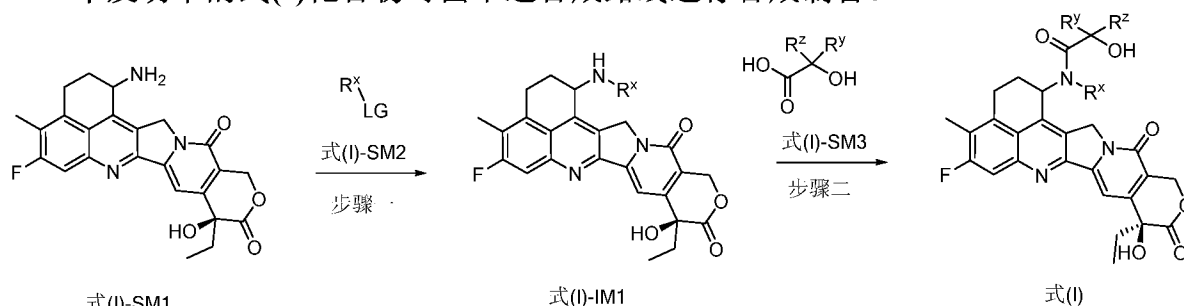
术语“个体”(或称受试者)是指人类或非人动物。本发明的个体包括患有疾病和/或病症的个体(患者)和正常的个体。本发明的非人动物包括所有脊椎动物，例如非哺乳动物，例  
35

如鸟类、两栖类、爬行类等，和哺乳动物，例如非人灵长类、家畜和/或驯化动物(例如绵羊、犬、猫、奶牛、猪等)。

### 制备方法

5 本发明第四方面提供了所述化合物的合成方法。

本发明中的式(I)化合物可由下述合成路线进行合成制备。



其中，R<sup>x</sup>、R<sup>y</sup>和R<sup>z</sup>含义如前文所述；LG为离去基团，选自甲磺酰基、三氟甲磺酰氧基和卤素，优选三氟甲磺酰氧基或碘；

10 步骤一：

通过式(I)-SM1化合物和式(I)-SM2化合物发生取代反应得到式(I)-IM1化合物。

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选50℃；

15 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自卤代烃类(例如二氯甲烷(DCM)、氯仿(TCM)、1,2-二氯乙烷(1,2-DCE)等)、腈类(例如乙腈(AN)等)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、四氢呋喃(THF)、1,4-二氧六环(Dioxane)、二甲基亚砷(DMSO)及其任意组合，优选乙腈。

20 在部分实施方案中，该步骤在适合的碱存在下进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺(TEA)、叔丁醇钾(t-BuOK)和吡啶(Py)，所述无机碱可选自磷酸钾(K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)、氢化钠(NaH)、碳酸钾(K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)、碳酸钠(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)、碳酸氢钠(NaHCO<sub>3</sub>)、碳酸铯(Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)和NaOH，优选Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>或NaHCO<sub>3</sub>；

步骤二：

通过式(I)-IM1化合物和式(I)-SM3化合物发生缩合反应得到式(I)化合物；

25 在部分实施方案中，该步骤在合适的缩合试剂下进行，所述缩合试剂可选自HATU、HBTU、EDCI、DCC和HOBT，优选HATU；

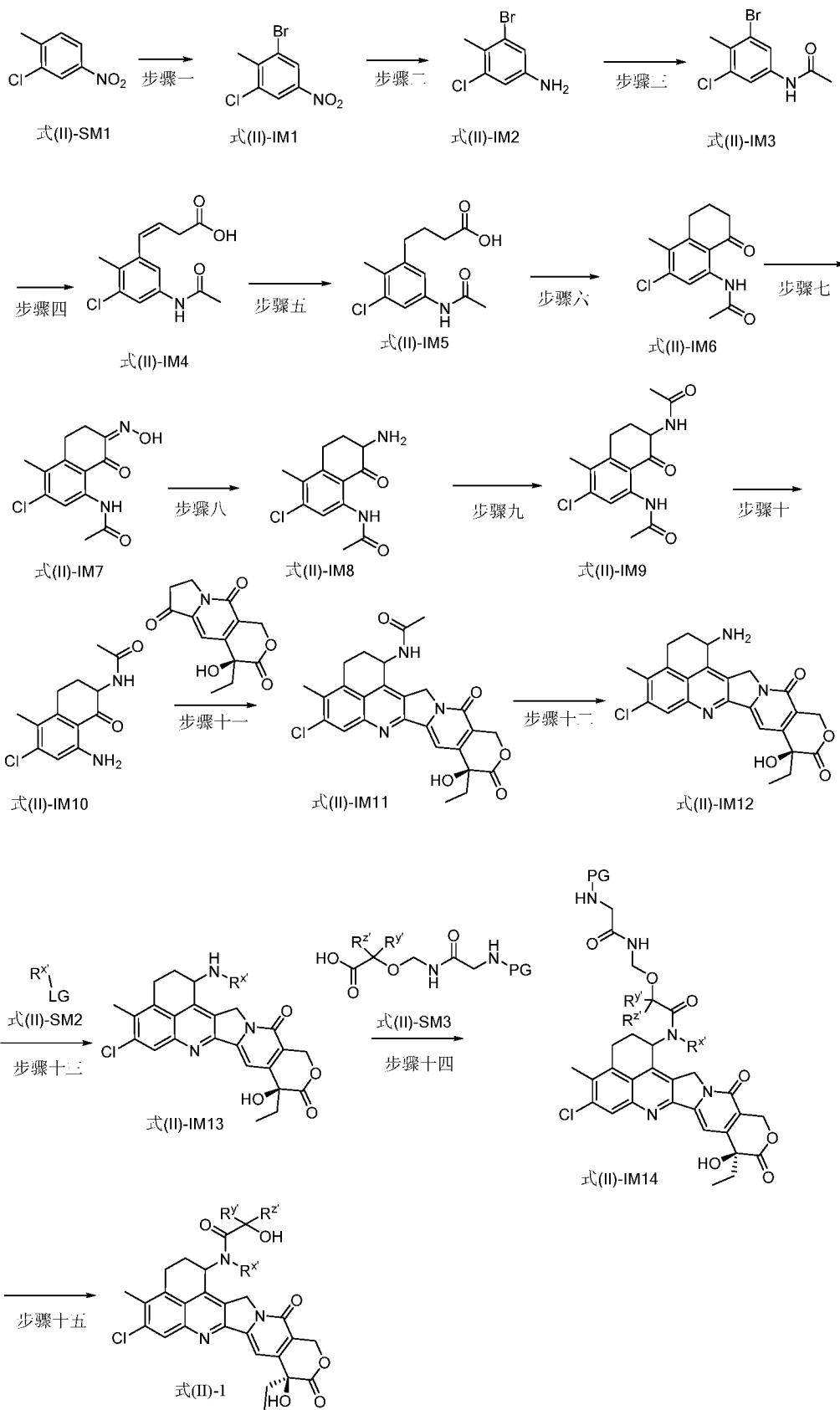
在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选25℃；

30 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砷、正庚烷、

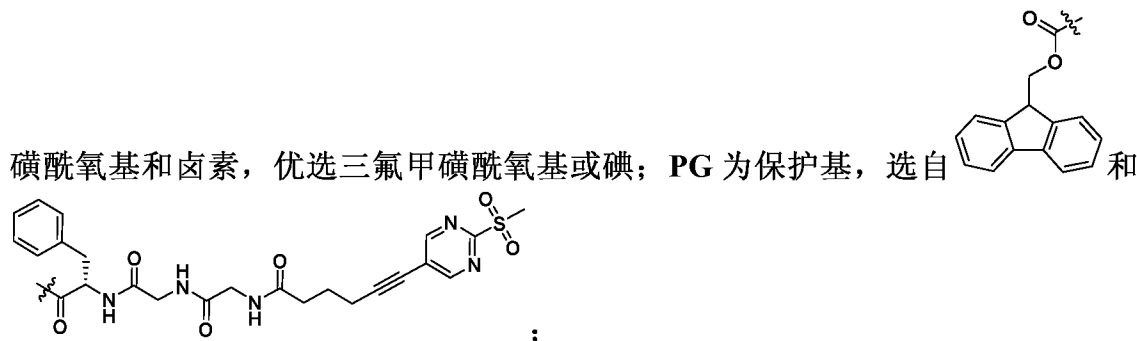
正己烷、乙酸乙酯，优选 N,N-二甲基甲酰胺。

在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自 DIPEA、TEA、t-BuOK 和 Py，所述无机碱可选自 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、NaH、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 NaOH，优选 DIPEA。

5 本发明中的式(II)-1 化合物可由下述合成路线进行合成制备。



其中,  $R^x$ 、 $R^y$ 和 $R^z$  含义如前文所述; LG 为离去基团, 选自甲磺酰基、三氟甲



#### 步骤一

5 通过式(II)-SM1 化合物发生取代反应得到式(II)-IM1 化合物。

在部分实施方案中, 该步骤在适合的温度下进行, 所述温度为 20°C、25°C、50°C、60°C、100°C, 优选 50°C;

在部分实施方案中, 该步骤在适合的有机溶剂中进行, 所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、  
10 乙酸乙酯, 优选正庚烷。

#### 步骤二

通过式(II)-IM1 化合物发生还原反应得到式(II)-IM2 化合物;

在部分实施方案中, 该步骤在合适的还原剂存在下进行, 所述还原剂可选自钨催化剂、铂催化剂、铑催化剂, 优选铂催化剂;

15 在部分实施方案中, 该步骤在适合的温度下进行, 所述温度为 20°C、25°C、50°C、60°C、100°C, 优选 60°C;

在部分实施方案中, 该步骤在适合的有机溶剂中进行, 所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯, 优选乙酸乙酯。

#### 20 步骤三

通过式(II)-IM2 化合物发生取代反应得到式(II)-IM3 化合物,

在部分实施方案中, 该步骤在适合的温度下进行, 所述温度为 20°C、25°C、50°C、60°C、100°C, 优选 20°C;

在部分实施方案中, 该步骤在适合的有机溶剂中进行, 所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、  
25 乙酸乙酯, 优选乙酸乙酯;

在部分实施方案中, 该步骤在碱性条件下进行, 提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类, 所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠; 所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾, 优选三乙胺。  
30

## 步骤四

通过式(II)-IM3 化合物发生偶联反应得到式(II)-IM4 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、50℃、60℃、70℃、100℃，优选 70℃；

5 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯、水，优选四氢呋喃和水混合溶剂；

在部分实施方案中，该步骤在碱性条件下进行，提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类，所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、  
10 二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠；所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾，优选 N,N-二异丙基乙胺。

## 步骤五

通过式(II)-IM4 化合物发生还原反应得到式(II)-IM5 化合物；

15 在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂下进行，所述还原剂可选自钨催化剂、铂催化剂、铈催化剂，优选铂催化剂；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 40℃；

20 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选四氢呋喃。

## 步骤六

通过式(II)-IM5 化合物发生关环反应得到式(II)-IM6 化合物；

25 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 5℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自三氟乙酸、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，叔丁醇，优选四氢呋喃和叔丁醇的混合溶剂。

## 步骤七

30 通过式(II)-IM6 化合物发生取代反应得到式(II)-IM7 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 5℃；

35 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自三氟乙酸、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选三氟乙酸；

在部分实施方案中，该步骤在碱性条件下进行，提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类，所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠；所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾，优选叔丁醇钾。

#### 步骤八

通过式(II)-IM7 化合物发生还原反应得到式(II)-IM8 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂下进行，所述还原剂可选自钨催化剂、铂催化剂、铑催化剂，优选钨催化剂；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 20℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选甲醇。

#### 步骤九

通过式(II)-IM8 化合物发生取代反应得到式(II)-IM9 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 20℃；

在部分实施方案中，该步骤在碱性条件下进行，提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类，所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠；所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾，优选吡啶。

#### 步骤十

通过式(II)-IM9 化合物发生水解反应得到式(II)-IM10 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 60℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选甲醇。

在部分实施方案中，所述反应在酸性条件下进行，提供酸性条件的试剂包括盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸，优选为盐酸。

#### 步骤十一

通过式(II)-IM10 化合物和(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃 O[3,4-F]吡啶-3,6,10(4H)-酮发生环合反应得到式(II)-IM11 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、

50°C、60°C、100°C、140°C，优选 140°C；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲苯、甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选甲苯。

5 在部分实施方案中，所述反应在酸性条件下进行，提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸，优选为对甲苯磺酸。

#### 步骤十二

通过式(II)-IM11 化合物发生水解反应得到式(II)-IM12 化合物；

10 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20°C、25°C、40°C、50°C、60°C、100°C、140°C，优选 100°C；

在部分实施方案中，所述反应在酸性条件下进行，提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸，优选为盐酸。

#### 步骤十三

15 通过式(II)-IM12 化合物和式(II)-SM2 化合物和发生取代反应得到式(II)-IM13 化合物。

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20°C、25°C、40°C、50°C、60°C、100°C、140°C，优选 50°C；

20 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自卤代烃类(例如二氯甲烷(DCM)、氯仿(TCM)、1,2-二氯乙烷(1,2-DCE)等)、腈类(例如乙腈(AN)等)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、四氢呋喃(THF)、1,4-二氧六环(Diox)、二甲基亚砜(DMSO)及其任意组合，优选乙腈。

25 在部分实施方案中，该步骤在适合的碱存在下进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自 N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺(TEA)、叔丁醇钾(t-BuOK)和吡啶(Py)，所述无机碱可选自磷酸钾(K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)、氢化钠(NaH)、碳酸钾(K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)、碳酸钠(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)、碳酸氢钠(NaHCO<sub>3</sub>)、碳酸铯(Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)和 NaOH，优选 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 或 NaHCO<sub>3</sub>；

#### 步骤十四

通过式(II)-IM13 化合物和式(II)-SM3 化合物发生缩合反应得到式(II)-IM14 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在合适的缩合试剂下进行，所述缩合试剂可选自 HATU、HBTU、EDCI、DCC 和 HOBT，优选 HATU；

30 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20°C、25°C、40°C、50°C、60°C、100°C，优选 25°C；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选 N,N-二甲基甲酰胺。

35 在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述

有机碱可选自 DIPEA、TEA、t-BuOK 和 Py，所述无机碱可选自  $K_3PO_4$ 、NaH、 $K_2CO_3$ 、 $Na_2CO_3$ 、 $Cs_2CO_3$  和 NaOH，优选 DIPEA。

#### 步骤十五

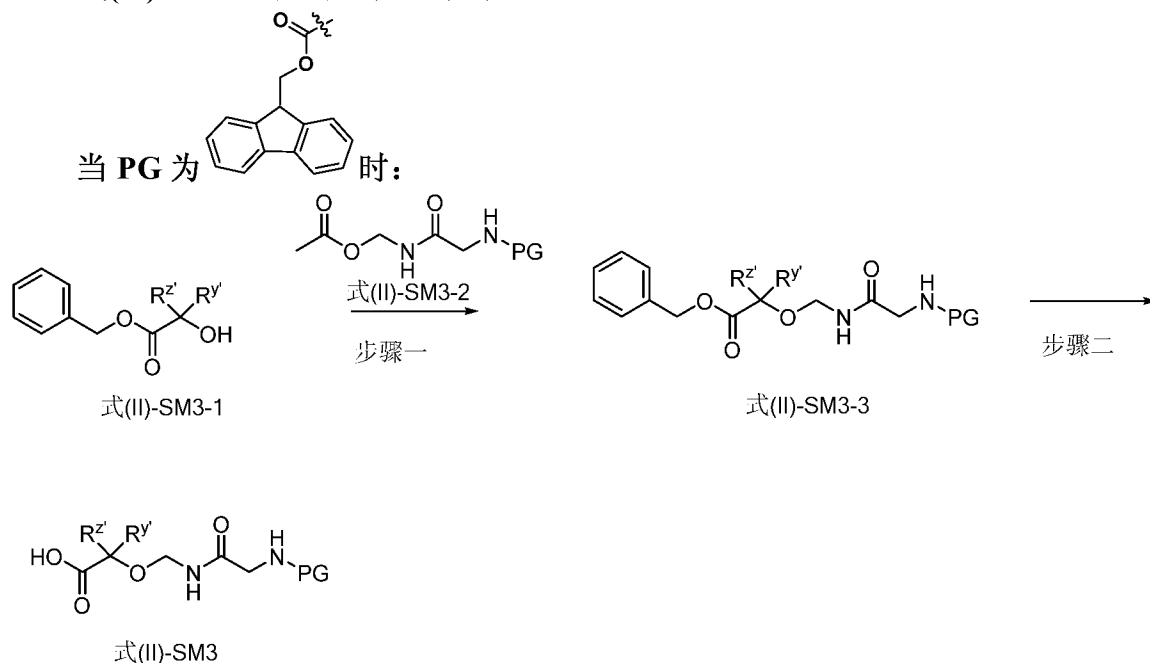
通过式(II)-IM14 化合物的酸解反应得到式(II)-1 化合物；

- 5 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选 25℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选二氯甲烷和甲醇的混合溶液(体积比 2: 1)。

- 10 在部分实施方案中，所述反应在酸性条件下进行，提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸，优选为盐酸。

式(II)-SM3 合成方法如下所示：



- 15 步骤一

通过式(II)-SM3-1 化合物和式(II)-SM3-2 化合物发生取代反应得到式(II)-SM3-3 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选 0-25℃；

- 20 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选四氢呋喃。

在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自 DIPEA、TEA、t-BuOK 和 Py，所述无机碱可选自  $K_3PO_4$ 、NaH、 $K_2CO_3$ 、 $Na_2CO_3$ 、 $Cs_2CO_3$  和 NaOH，优选  $K_2CO_3$ 。

- 25

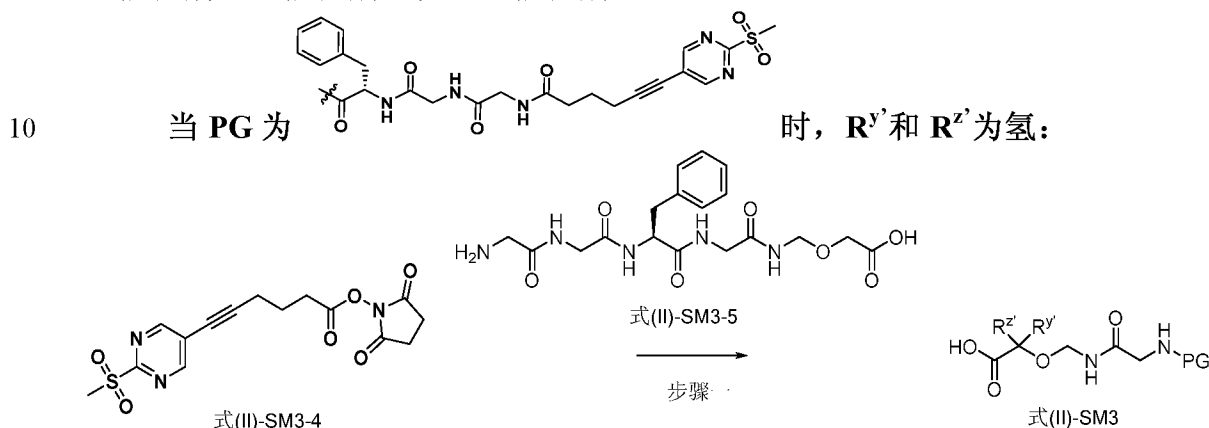
## 步骤二

通过式(II)-SM3-3 化合物发生氢化反应得到式(II)-SM3 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选 25℃；

- 5 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选甲醇。

在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂下进行，所述还原剂可选自钨催化剂、铂催化剂、铑催化剂，优选钨催化剂；



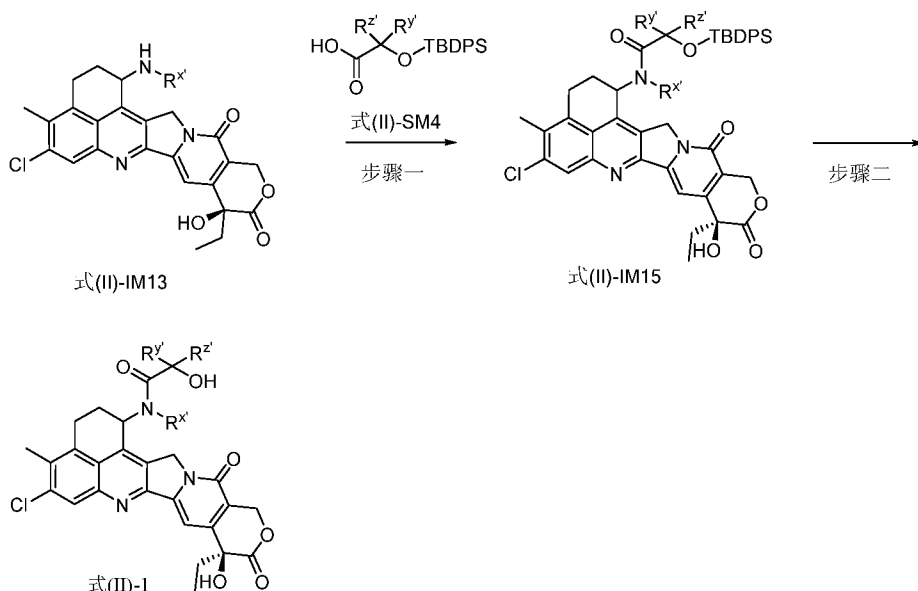
## 步骤一

通过式(II)-SM3-4 化合物和式(II)-SM3-5 化合物发生缩合反应得到式(II)-SM3 化合物；

- 15 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选 25℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选 N,N-二甲基甲酰胺。

- 20 或者，式(II)-1 化合物可由下述合成路线进行合成制备：



### 步骤一

通过式(II)-IM13 化合物和式(II)-SM4 化合物发生缩合反应得到式(II)-IM15 化合物；  
在部分实施方案中，该步骤在合适的缩合试剂下进行，所述缩合试剂可选自 HATU、

5 HBTU、EDCI、DCC 和 HOBT，优选 HATU；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、  
50℃、60℃、100℃，优选 25℃；

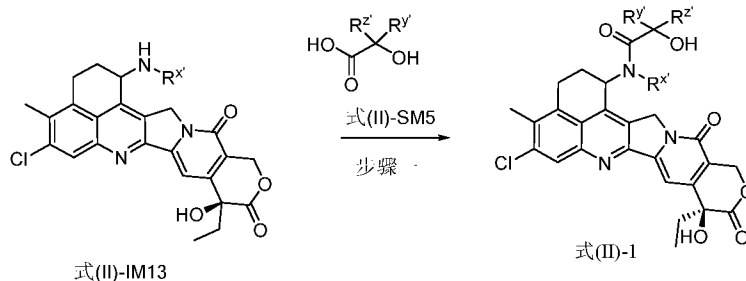
在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、  
四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、  
10 正己烷、乙酸乙酯，优选 N,N-二甲基甲酰胺。

在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述  
有机碱可选自 DIPEA、TEA、t-BuOK 和 Py，所述无机碱可选自 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、NaH、  
K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 NaOH，优选 DIPEA。

### 步骤二

15 通过式(II)-IM15 化合物脱除硅保护基得到式(II)-1 化合物；

或者，式(II)化合物可由下述合成路线进行合成制备：



### 步骤一

通过式(II)-IM13 化合物和式(II)-SM5 化合物发生缩合反应得到式(II)化合物；

20 在部分实施方案中，该步骤在合适的缩合试剂下进行，所述缩合试剂可选自 HATU、

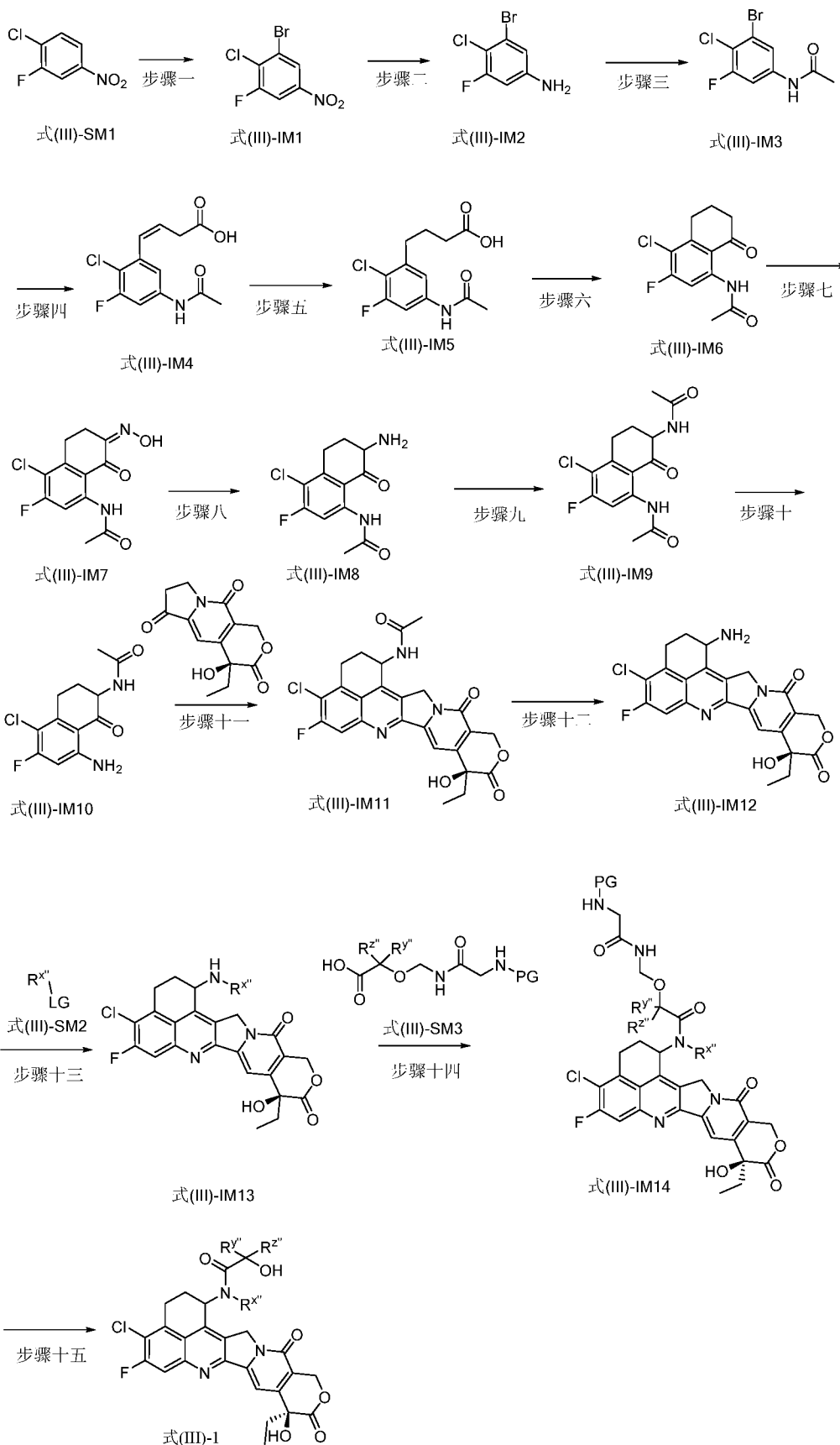
**HBTU、EDCI、DCC 和 HOBt**，优选 **HATU**；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 25℃；

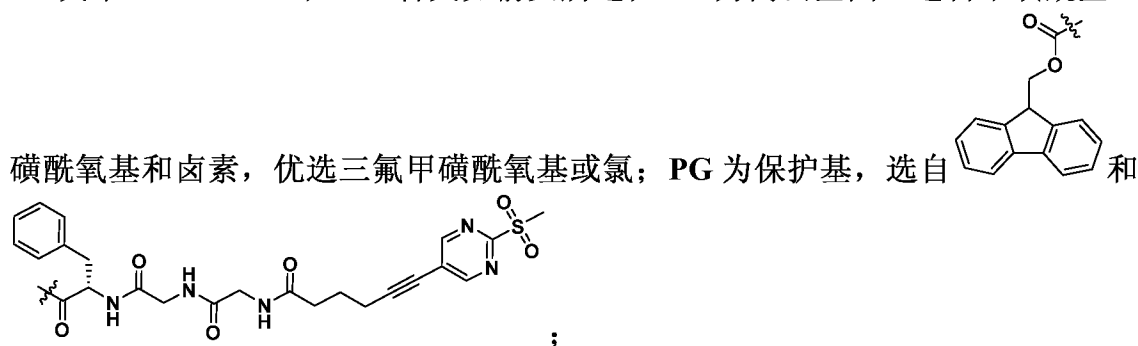
5 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选 N,N-二甲基甲酰胺。

在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自 DIPEA、TEA、t-BuOK 和 Py，所述无机碱可选自 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、NaH、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 NaOH，优选 DIPEA。

10 本发明中的式(III)-1 化合物可由下述合成路线进行合成制备。



其中， $R^x$ 、 $R^y$ 和 $R^z$ 含义如前文所述；LG为离去基团，选自甲磺酰基、三氟甲



#### 步骤一

5 通过式(III)-SM1化合物发生取代反应得到式(III)-IM1化合物。

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20°C、25°C、50°C、60°C、100°C，优选 50°C；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选正庚烷。

#### 步骤二

通过式(III)-IM1化合物发生还原反应得到式(III)-IM2化合物；

在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂存在下进行，所述还原剂可选自钨催化剂、钯催化剂、铑催化剂，优选钯催化剂；

15 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20°C、25°C、50°C、60°C、100°C，优选 60°C；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选乙酸乙酯。

#### 步骤三

20 通过式(III)-IM2化合物发生取代反应得到式(III)-IM3化合物，

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20°C、25°C、50°C、60°C、100°C，优选 20°C；

25 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选乙酸乙酯；

30 在部分实施方案中，该步骤在碱性条件下进行，提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类，所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠；所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾，优选三乙胺。

## 步骤四

通过式(III)-IM3 化合物发生偶联反应得到式(III)-IM4 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、50℃、60℃、70℃、100℃，优选 70℃；

5 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯、水，优选四氢呋喃和水混合溶剂；

在部分实施方案中，该步骤在碱性条件下进行，提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类，所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、  
10 二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠；所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾，优选 N,N-二异丙基乙胺。

## 步骤五

通过式(III)-IM4 化合物发生还原反应得到式(III)-IM5 化合物；

15 在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂下进行，所述还原剂可选自钨催化剂、铂催化剂、铈催化剂，优选铂催化剂；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 40℃；

20 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选四氢呋喃。

## 步骤六

通过式(III)-IM5 化合物发生关环反应得到式(III)-IM6 化合物；

25 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 5℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自三氟乙酸、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，叔丁醇，优选四氢呋喃和叔丁醇的混合溶剂。

## 步骤七

30 通过式(III)-IM6 化合物发生取代反应得到式(III)-IM7 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 5℃；

35 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自三氟乙酸、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选三氟乙酸；

在部分实施方案中，该步骤在碱性条件下进行，提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类，所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠；所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾，优选叔丁醇钾。

#### 步骤八

通过式(III)-IM7 化合物发生还原反应得到式(III)-IM8 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂下进行，所述还原剂可选自钨催化剂、铂催化剂、铑催化剂，优选钨催化剂；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 20℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选甲醇。

#### 步骤九

通过式(III)-IM8 化合物发生取代反应得到式(III)-IM9 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 20℃；

在部分实施方案中，该步骤在碱性条件下进行，提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类，所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠；所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾，优选吡啶。

#### 步骤十

通过式(III)-IM9 化合物发生水解反应得到式(III)-IM10 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 60℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选甲醇。

在部分实施方案中，所述反应在酸性条件下进行，提供酸性条件的试剂包括盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸，优选为盐酸。

#### 步骤十一

通过式(III)-IM10 化合物和(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃 O[3,4-F]吡啶-3,6,10(4H)-酮发生环合反应得到式(III)-IM11 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、

50°C、60°C、100°C、140°C，优选 140°C；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲苯、甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选甲苯。

5 在部分实施方案中，所述反应在酸性条件下进行，提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸，优选为对甲苯磺酸。

#### 步骤十二

通过式(III)-IM11 化合物发生水解反应得到式(III)-IM12 化合物；

10 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20°C、25°C、40°C、50°C、60°C、100°C、140°C，优选 100°C；

在部分实施方案中，所述反应在酸性条件下进行，提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸，优选为盐酸。

#### 步骤十三

15 通过式(III)-IM12 化合物和式(III)-SM2 化合物和发生取代反应得到式(III)-IM13 化合物。

发生取代反应得到式(II)-IM13 化合物。

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20°C、25°C、40°C、50°C、60°C、100°C、140°C，优选 50°C；

20 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自卤代烃类(例如二氯甲烷(DCM)、氯仿(TCM)、1,2-二氯乙烷(1,2-DCE)等)、腈类(例如乙腈(AN)等)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、四氢呋喃(THF)、1,4-二氧六环(Dioxane)、二甲基亚砜(DMSO)及其任意组合，优选乙腈。

25 在部分实施方案中，该步骤在适合的碱存在下进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自 N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺(TEA)、叔丁醇钾(t-BuOK)和吡啶(Py)，所述无机碱可选自磷酸钾(K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)、氢化钠(NaH)、碳酸钾(K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)、碳酸钠(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)、碳酸氢钠(NaHCO<sub>3</sub>)、碳酸铯(Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)和 NaOH，优选 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 或 NaHCO<sub>3</sub>；

#### 步骤十四

30 通过式(III)-IM13 化合物和式(III)-SM3 化合物发生缩合反应得到式(III)-IM14 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在合适的缩合试剂下进行，所述缩合试剂可选自 HATU、HBTU、EDCI、DCC 和 HOBT，优选 HATU；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20°C、25°C、40°C、50°C、60°C、100°C，优选 25°C；

35 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、

四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选N,N-二甲基甲酰胺。

在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自DIPEA、TEA、t-BuOK和Py，所述无机碱可选自K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、NaH、

5 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>和NaOH，优选DIPEA。

步骤十五

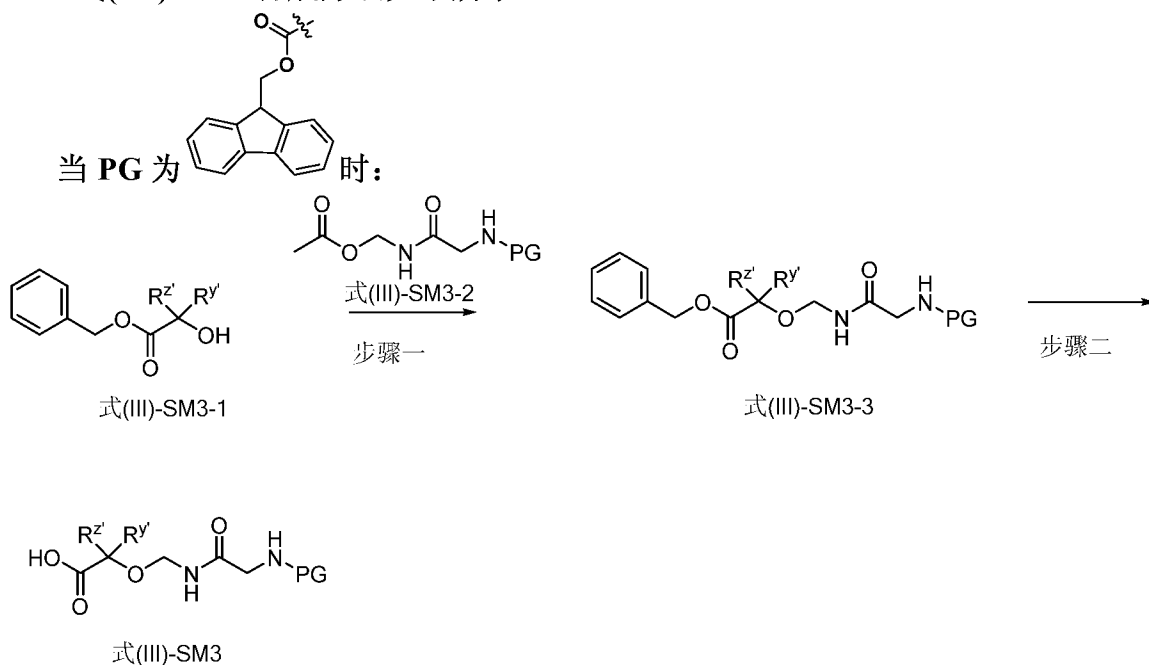
通过式(III)-IM14化合物通过酸解反应得到式(III)-1化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选25℃；

10 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选二氯甲烷和甲醇的混合溶液(体积比2:1)。

在部分实施方案中，所述反应在酸性条件下进行，提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸，优选为盐酸。

15 式(III)-SM3合成方法如下所示：



步骤一：

20 通过式(III)-SM3-1化合物和式(II)-SM3-2化合物发生取代反应得到式(III)-SM3-3化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选0-25℃；

25 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选四氢呋喃。

在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自 DIPEA、TEA、t-BuOK 和 Py，所述无机碱可选自  $K_3PO_4$ 、NaH、 $K_2CO_3$ 、 $Na_2CO_3$ 、 $Cs_2CO_3$  和 NaOH，优选  $K_2CO_3$ 。

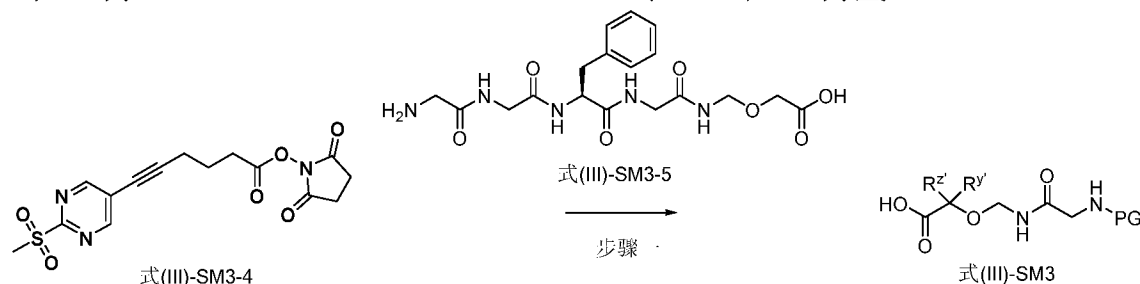
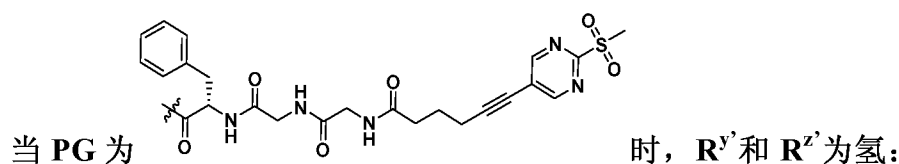
步骤二：

5 通过式(III)-SM3-3 化合物发生氢化反应得到式(III)-SM3 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选 25℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选甲醇。

在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂下进行，所述还原剂可选自钨催化剂、铂催化剂、铑催化剂，优选钨催化剂；



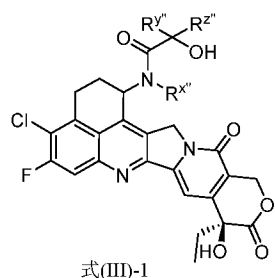
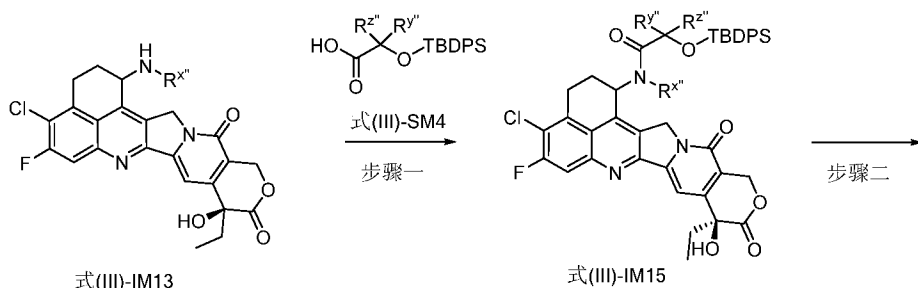
步骤一：

通过式(III)-SM3-4 化合物和式(III)-SM3-5 化合物发生缩合反应得到式(III)-SM3 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选 25℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选 N,N-二甲基甲酰胺。

或者，式(III)-1 化合物可由下述合成路线进行合成制备：



步骤一:

通过式(III)-IM13 化合物和式(III)-SM4 化合物发生缩合反应得到式(III)-IM15 化合物;

- 5 在部分实施方案中, 该步骤在合适的缩合试剂下进行, 所述缩合试剂可选自 HATU、HBTU、EDCI、DCC 和 HOBt, 优选 HATU;

在部分实施方案中, 该步骤在适合的温度下进行, 所述温度为 20°C、25°C、40°C、50°C、60°C、100°C, 优选 25°C;

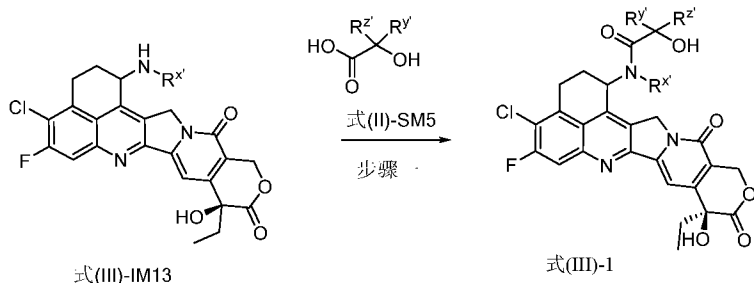
- 10 在部分实施方案中, 该步骤在适合的有机溶剂中进行, 所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯, 优选 N,N-二甲基甲酰胺。

在部分实施方案中, 该步骤在适合的碱中进行, 所述碱包括有机碱或无机碱, 所述有机碱可选自 DIPEA、TEA、t-BuOK 和 Py, 所述无机碱可选自 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、NaH、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 NaOH, 优选 DIPEA。

- 15 步骤二:

通过式(III)-IM15 化合物脱除硅保护基得到式(III)-1 化合物;

或者, 式(III)-1 化合物可由下述合成路线进行合成制备:



步骤一:

- 20 通过式(III)-IM13 化合物和式(III)-SM5 化合物发生缩合反应得到式(III)-1 化合物;

在部分实施方案中，该步骤在合适的缩合试剂下进行，所述缩合试剂可选自 HATU、HBTU、EDCI、DCC 和 HOBt，优选 HATU；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 25℃；

- 5 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选 N,N-二甲基甲酰胺。

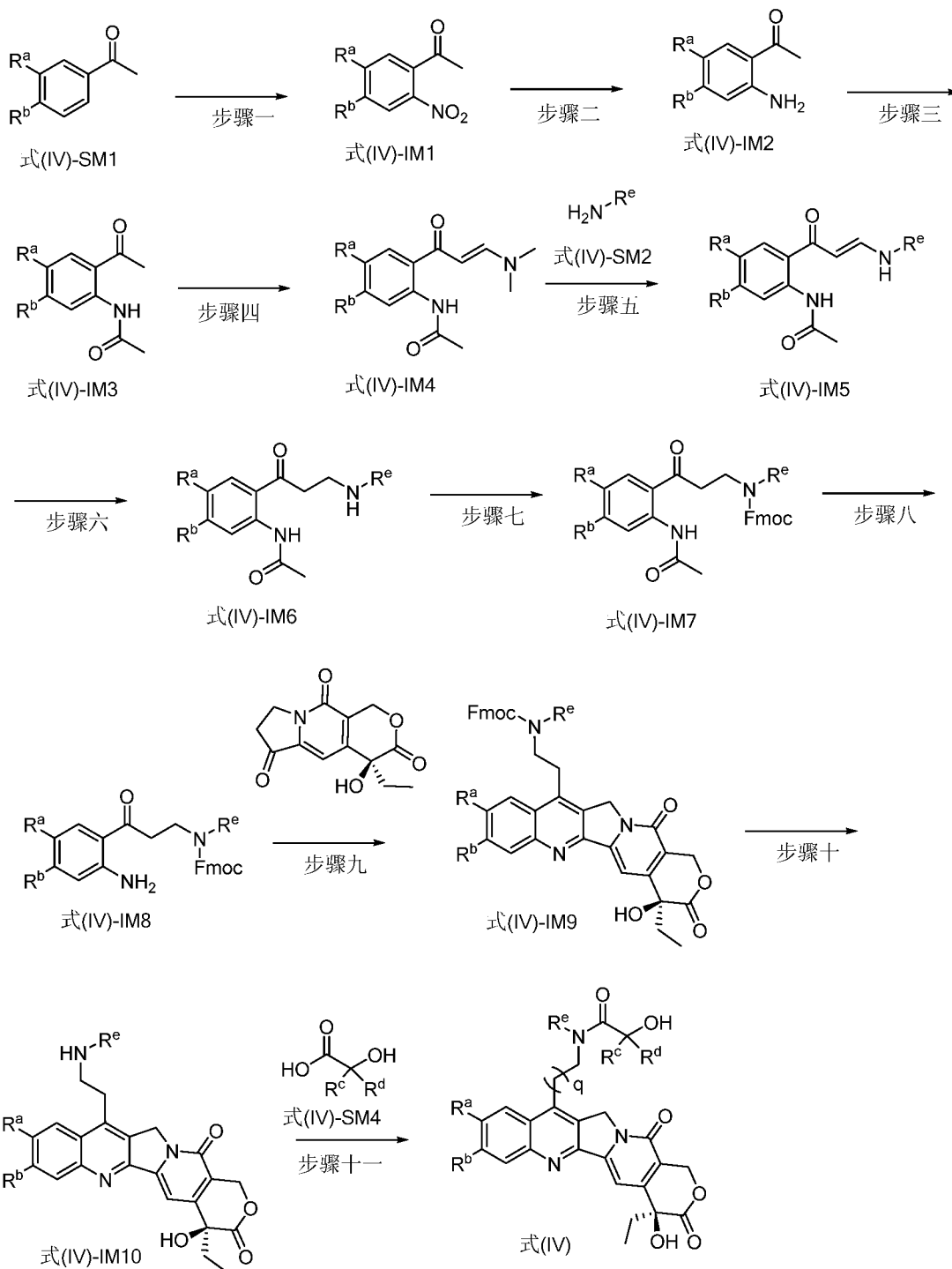
在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自 DIPEA、TEA、t-BuOK 和 Py，所述无机碱可选自 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、NaH、

- 10 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 NaOH，优选 DIPEA。

本发明中的式(IV)化合物可由下述合成路线进行合成制备：

其中，R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>、R<sup>c</sup>、R<sup>d</sup> 和 R<sup>e</sup> 含义如前文所述；

当 q=1 时，



### 步骤一

通过式(IV)-SM1 化合物发生硝化反应得到式(IV)-IM1 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 25℃。

### 步骤二

通过式(IV)-IM1 化合物发生氢化反应得到式(IV)-IM2 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂下进行，所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂，优选钯催化剂；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 25℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选乙酸乙酯。

#### 步骤三

通过式(IV)-IM2 化合物发生酰化反应得到式(IV)-IM3 化合物，

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、50℃、60℃、100℃，优选 25℃；

#### 10 步骤四

通过式(IV)-IM3 化合物与 DMF-DMA 反应得到式(IV)-IM4 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、120℃，优选 120℃；

#### 步骤五

15 通过式(IV)-IM4 和式(IV)-SM2 化合物发生取代反应得到式(IV)-IM5 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选 50℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、乙醇、N、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜，优选乙醇；

#### 20 步骤六

通过式(IV)-IM5 化合物发生还原反应得到式(IV)-IM6 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂下进行，所述还原剂优选硼氢化钠；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 0-25℃；

25 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自四氢呋喃、冰醋酸、甲醇及其混合溶液，优选冰醋酸。

#### 步骤七

通过式(IV)-IM6 化合物的氨基用 Fmoc 保护得到式(IV)-IM7 化合物；

#### 步骤八

30 通过式(IV)-IM7 化合物的氨基脱除乙酰基保护基得到式(IV)-IM8 化合物；

#### 步骤九

通过式(IV)-IM8 化合物在酸性条件下发生闭环反应得到式(IV)-IM9 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、120℃，优选 120℃；

35 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲苯、

二甲苯、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜，优选甲苯和二甲苯；  
在部分实施方案中，该步骤在酸性条件下进行；

提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸，优选为对甲苯磺酸。

5 步骤十

通过式(IV)-IM9 化合物脱除 Fmoc 保护基得到式(IV)-IM10 化合物；

步骤十一

通过式(IV)-IM10 化合物和式(IV)-SM4 化合物发生缩合反应得到式(IV)化合物；

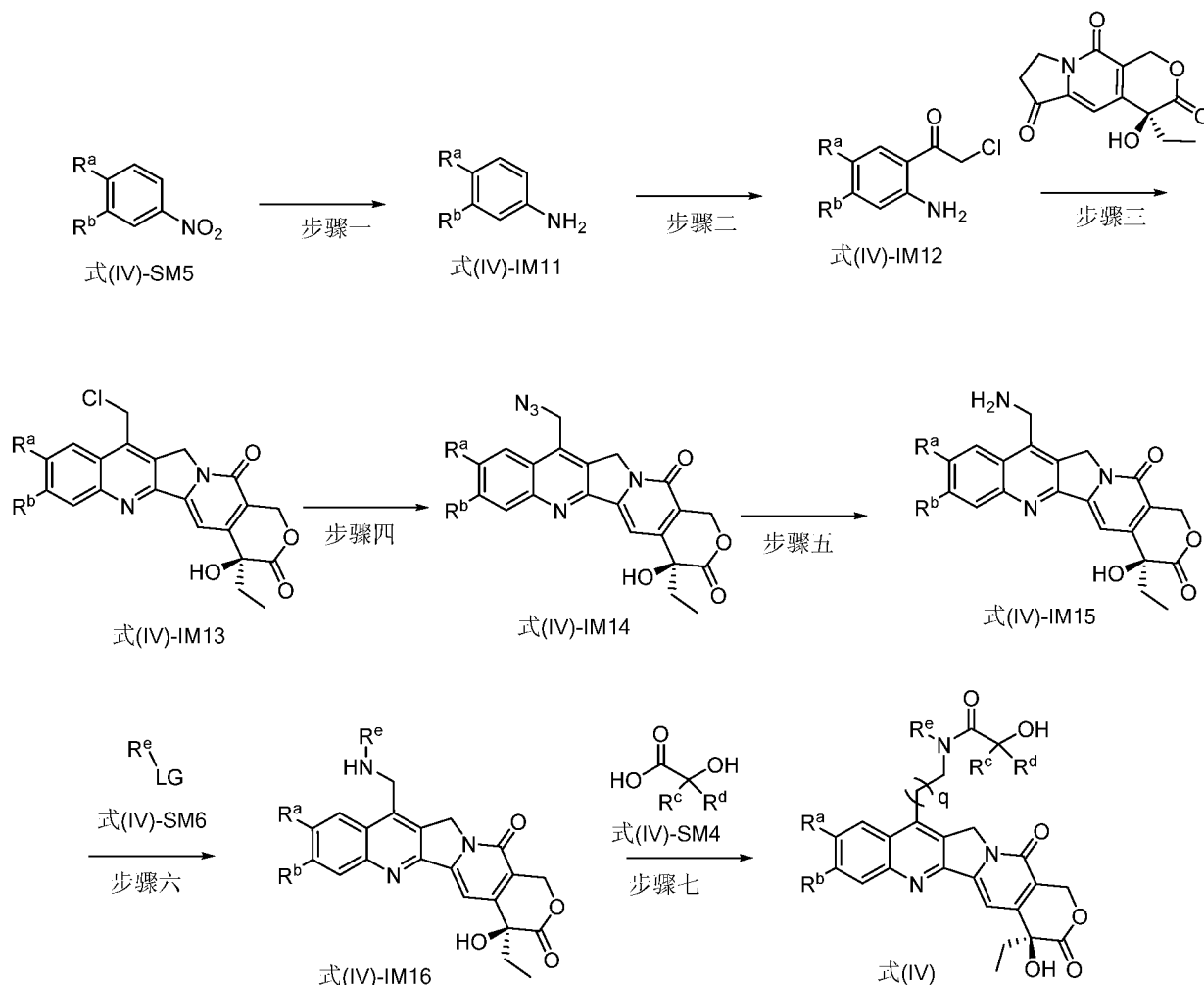
10 在部分实施方案中，该步骤在合适的缩合试剂下进行，所述缩合试剂可选自 HATU、HBTU、EDCI、DCC 和 HOBt，优选 HBTU；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 25℃；

15 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选 N,N-二甲基甲酰胺。

在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自 DIPEA、TEA、t-BuOK 和 Py，所述无机碱可选自 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、NaH、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 NaOH，优选 DIPEA。

或者，当 q=0 时，



LG 为离去基团，选自甲磺酰基、三氟甲磺酰氧基和卤素，优选三氟甲磺酰氧基或碘；

步骤一

5 通过式(IV)-SM5 化合物发生还原反应得到式(IV)-IM11 化合物，

在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂存在下进行，所述还原剂可选自钨催化剂、铂催化剂、铈催化剂，优选铂催化剂；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、50℃、60℃、100℃，优选 25℃；

10 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选乙酸乙酯和四氢呋喃。

步骤二

通过式(IV)-IM11 化合物发生傅克酰基化反应得到式(IV)-IM12 化合物；

15 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 25℃。

步骤三

通过式(IV)-IM12 在酸性条件下发生闭环反应得到式(IV)-IM13 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、120℃，优选 120℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲苯、二甲苯、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砷，优选甲苯和二甲苯；

在部分实施方案中，该步骤在酸性条件下进行；

提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸，优选为对甲苯磺酸。

#### 步骤四

10 通过式(IV)-IM13 发生取代反应得到式(IV)-IM14 化合物；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选 25℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、乙醇、N、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砷，优选二甲基亚砷；

15 步骤五

通过式(IV)-IM14 化合物发生还原反应得到式(IV)-IM15 化合物，

在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂存在下进行，所述还原剂可选自钨催化剂、铂催化剂、铑催化剂、三苯基膦、亚磷酸三乙酯，优选亚磷酸三乙酯；

20 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、50℃、60℃、80℃、100℃，优选 80℃；

在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砷、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯、甲苯、及其混合溶液，优选甲醇和甲苯的混合溶液。

#### 步骤六

25 通过式(IV)-IM15 化合物和式(IV)-SM6 化合物发生取代反应得到式(IV)-IM16 化合物。

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选 50℃；

30 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自卤代烃类(例如二氯甲烷(DCM)、氯仿(TCM)、1,2-二氯乙烷(1,2-DCE)等)、腈类(例如乙腈(AN)等)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、四氢呋喃(THF)、1,4-二氧六环(Dioxane)、二甲基亚砷(DMSO)及其任意组合，优选乙腈。

35 在部分实施方案中，该步骤在适合的碱存在下进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自 N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺(TEA)、叔丁醇钾(t-BuOK)和

吡啶(Py)，所述无机碱可选自磷酸钾(K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)、氢化钠(NaH)、碳酸钾(K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)、碳酸钠(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)、碳酸氢钠(NaHCO<sub>3</sub>)、碳酸铯(Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)和 NaOH，优选 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 或 NaHCO<sub>3</sub>；

步骤七

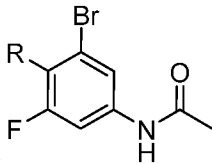
通过式(IV)-IM16 化合物和式(IV)-SM4 化合物发生缩合反应得到式(IV)化合物；

5 在部分实施方案中，该步骤在合适的缩合试剂下进行，所述缩合试剂可选自 HATU、HBTU、EDCI、DCC 和 HOBt，优选 HBTU；

在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为 20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选 25℃；

10 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选 N,N-二甲基甲酰胺。

在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自 DIPEA、TEA、t-BuOK 和 Py，所述无机碱可选自 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、NaH、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 NaOH，优选 DIPEA。

15 本发明中的式(V)-1 化合物可使用起始物料 ，按照式(III)同理的合成路线进行合成制备。

### 发明的有益效果

20 本发明提供式(I)-式(IV)所示的喜树碱类化合物，及其药物组合物、制备方法和用途。该类化合物具有良好的抗肿瘤活性，有克服耐药的潜力，可用于治疗细胞异常增殖性疾病，所述病症包括但不限于晚期实体瘤。

### 具体实施方式

25 以下通过具体实施方式的描述对本申请作进一步说明，但这并非是对本申请的限制。本领域技术人员根据本申请的教导，可以做出各种修改或改进，而不脱离本申请的基本思想和范围。

本发明中的缩写具有以下含义：

试剂英文缩写	试剂中文全称	试剂英文缩写	试剂中文全称
NBS	N-溴代琥珀酰亚胺	HATU	N,N,N',N'-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲
DMF-DMA	N,N-二甲基甲酰胺	DIPEA	二异丙基乙胺

	二甲基缩醛		
THF	四氢呋喃	DMSO	二甲基亚砜
DMF	N,N-二甲基甲酰胺	Pd/C	钯碳
LCMS	液相质谱联用	Py	吡啶
FBS	胎牛血清	CCK8	2-(2-甲氧基-4-硝苯基)-3-(4-硝苯基)-5-(2,4-二磺基苯)-2H-四唑单钠盐

以下的实施例中记载的化合物的结构通过核磁共振( $^1\text{H NMR}$ )或质谱(MS)来确定。

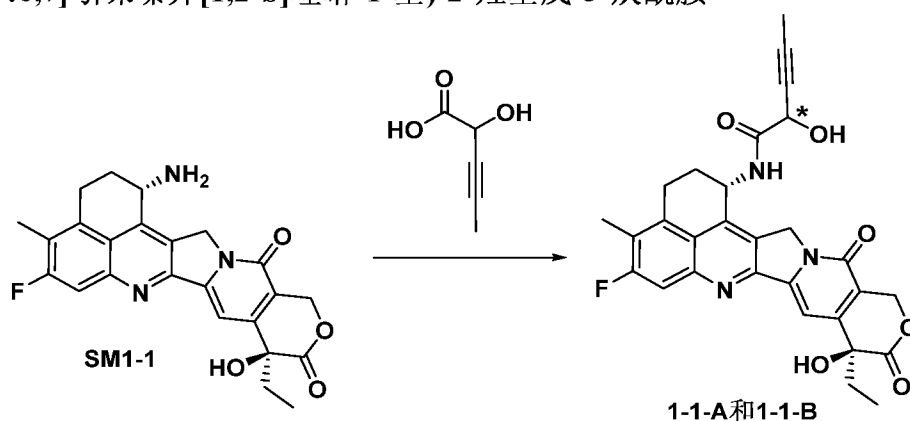
核磁共振( $^1\text{H NMR}$ )的测定仪器使用 Bruker 400 MHz 核磁共振仪；六氘代二甲基亚砜(DMSO- $d_6$ )；内标物质为四甲基硅烷(TMS)。

实施例中使用的核磁共振(NMR)图谱中的缩写示于以下。

- 5 s: 单峰(singlet)、d: 二重峰(doublet)、t: 三重峰(triplet)、q: 四重峰(quartet)、m: 多重峰(multiplet)、br: 宽峰(broad)、J: 偶合常数、Hz: 赫兹、DMSO- $d_6$ : 氘化二甲基亚砜。 $\delta$ 值用 ppm 值表示。

质谱(MS)的测定仪器使用 Agilent (ESI)质谱仪, 型号为 Agilent 6120B。

- 10 实施例一 (R)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基戊-3-炔酰胺和(S)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基戊-3-炔酰胺



\*位置表示该处原子手性为R或S

- 15 将化合物 2-羟基戊-3-炔酸(4.29 mg, 37.63  $\mu\text{mol}$ )用 DMF(1 mL)溶解, 加入 HATU(21.46 mg, 56.44  $\mu\text{mol}$ )、SM1-1(10.00 mg, 22.94  $\mu\text{mol}$ )和 DIPEA(7.29 mg, 56.44  $\mu\text{mol}$ ), 25 $^{\circ}\text{C}$ 反应 2 小时。反应液经减压浓缩, 浓缩物直接经制备高效液相色谱纯化(条件如下)得标题化合物 1-1-A 3.24 mg 和 1-1-B 3.98 mg。

色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0  $\mu\text{m}$

- 20 流动相 A:乙腈; 流动相 B:水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	30	70	28
18	90	10	28

保留时间: 1-1-A: 10.8 min; 1-1-B: 11.1 min.

1-1-A 结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.58 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.78 (d,  $J = 11.2$  Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.17 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 5.58–5.47 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 4.73–4.64 (m, 1H), 3.25–3.06 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.27–2.05 (m, 2H), 1.96–1.77 (m, 5H), 0.87 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

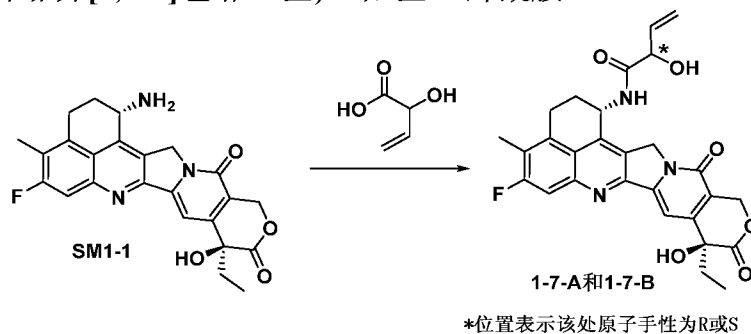
ESI-MS ( $m/z$ ): 532.2 [ $M+H$ ] $^+$ .

1-1-B 结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.62 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.78 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.19 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 5.58–5.47 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.21 (d,  $J = 4.8$  Hz, 2H), 4.73–4.65 (m, 1H), 3.27–3.06 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.27–2.05 (m, 2H), 1.93–1.80 (m, 2H), 1.80 (d,  $J = 2.0$  Hz, 3H), 0.87 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

ESI-MS ( $m/z$ ): 532.2 [ $M+H$ ] $^+$ .

实施例二 (S)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4]:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基-3-烯酰胺和(R)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4]:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基-3-烯酰胺



将化合物乙烯乙醇酸(9.61 mg, 94.07  $\mu\text{mol}$ )用 DMF (2 mL)溶解, 加入 HATU(44.70 mg, 117.58  $\mu\text{mol}$ )、化合物 SM1-1(25.00 mg, 0.047 mmol)和 DIPEA(24.30 mg, 188.13  $\mu\text{mol}$ ), 25 $^{\circ}\text{C}$ 反应 2 小时。反应液经减压浓缩, 浓缩物直接经制备高效液相色谱纯化, 得标题化合物 1-7-A(4.00 mg)和 1-7-B(1.38 mg)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0  $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05% 甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	30	70	28

2	30	70	28
18	90	10	28

保留时间: 1-7-A: 8.7 min; 1-7-B: 9.1 min.

1-7-A 结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.51 (s,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.76 (s,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.15–6.04 (m, 1H), 5.58–5.49 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.39 (s, 1H), 5.24–5.01 (m, 3H), 4.54 (s,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 3.24–3.05 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.16 (s, 2H), 1.91–1.79 (m, 2H), 0.87 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

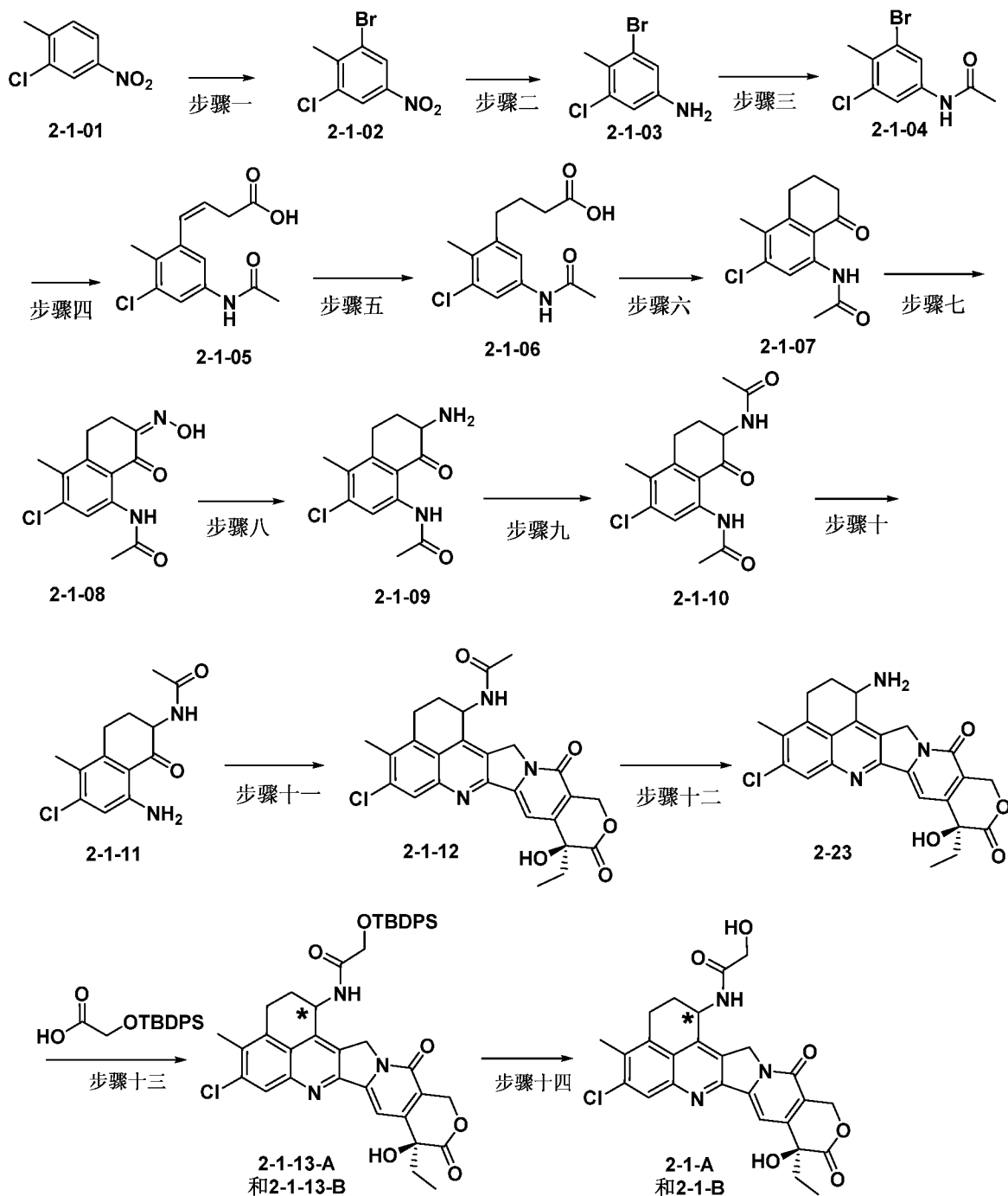
ESI-MS (m/z): 520.1 [M+H] $^+$ .

1-7-B 结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.48 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.12–5.92 (m, 1H), 5.54–5.47 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.37 (dt,  $J = 1.7$  Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 5.16–5.14 (m, 1H), 4.5–4.52 (m, 1H), 3.22–3.08 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.25–2.16 (m, 1H), 2.16–2.06 (m, 1H), 1.93–1.79 (m, 2H), 0.87 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

ESI-MS (m/z): 520.1 [M+H] $^+$ .

15 实施例三 N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺和 N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺



\*位置表示该处原子手性为R或S

### 步骤一：1-氯-3-溴-2-甲基-5-硝基苯的合成

25℃下，将化合物 2-1-01(5.00 g, 29.14 mmol)溶于正庚烷(25 mL)中，加入浓硫酸(25 mL)，加热至 50℃，50℃下分批次加入 NBS(6.22 g, 34.97 mmol)，保持 50℃反应 2 小时，用薄层色谱检测反应(乙酸乙酯:石油醚=1:10)，将冷却至室温的反应液滴加入冰水中，甲苯萃取，有机相合并，经亚硫酸钠溶液洗，水洗，饱和食盐水洗，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，粗品用制备高效液相色谱纯化，制备液冷冻干燥得标题化合物 4.88 g。

色谱柱：C18 ODS 45 mm×450 mm×8.0 μm

流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

时间[ <b>min</b> ]	流动相 A [%]	流动相 B[%]	流速[mL/ <b>min</b> ]
<b>0</b>	<b>60</b>	<b>40</b>	<b>60</b>
<b>10</b>	<b>60</b>	<b>40</b>	<b>60</b>
<b>40</b>	<b>100</b>	<b>0</b>	<b>60</b>

步骤二：3-氯-5-溴-4-甲基苯胺的合成

25℃下，将化合物 2-1-02(4.88 g, 19.48 mmol)溶于乙酸乙酯(100 mL)中，加入铂碳(2.00 g, 19.48 mmol, 含量 5%)，氢气置换后在氢气球保护下 60℃反应 4 小时，用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液过滤，滤液经浓缩，得粗品标题化合物 3.68 g，未经进一步纯化直接用于下一步反应。

步骤三：N-(3-氯-5-溴-4-甲基苯基)乙酰胺的合成

20℃下，将化合物 2-1-03(3.63 g, 14.82 mmol)溶于乙酸乙酯(70 mL)，加入三乙胺(4.50 g, 44.45 mmol)和醋酸酐(2.27 g, 22.23 mmol)，保持 20℃反应 20 小时，用高效液相质谱联用色谱监测反应。向反应液加入水，乙酸乙酯萃取，合并有机相，经无水硫酸钠干燥，减压浓缩得粗品，粗品经乙酸乙酯:石油醚=1:5 混合溶剂打浆得标题化合物 2.86 g。

步骤四：(Z)-4-(5-乙酰胺基-3-氯-2-甲基苯基)丁-3-烯酸的合成

20℃下，将化合物 2-1-04(1.80 g, 6.86 mmol)溶于 THF (20 mL)和水(5 mL)中，加入乙烯基乙酸(708.31 mg, 8.23 mmol)，DIPEA(1.95 g, 15.08 mmol)，三(邻甲基苯基)磷(62.60 mg, 0.20 mmol)，反应体系经氮气置换后加热至 70℃反应 5 小时，用高效液相质谱联用色谱监测反应。向反应液中加入 1 N 氢氧化钠溶液调节 pH=8，加入乙酸乙酯萃取。剩余水相经 1 N 盐酸调节 pH=3，乙酸乙酯萃取，合并有机相，经无水硫酸钠干燥，减压浓缩，得标题化合物 0.82 g，直接用于下一步反应。

步骤五：4-(5-乙酰胺基-3-氯-2-甲基苯基)丁酸的合成

20℃下，将化合物 2-1-05(2.60 g, 9.71 mmol)溶于 THF(50 mL)中，加入 Pd/C(0.52 g, 含量 10%)，体系经氢气置换后在氢气球保护下 40℃反应 2 小时，用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液过滤，滤液经减压浓缩，得标题化合物 2.43 g，未经进一步纯化直接用于下一步反应。

步骤六：N-(3-氯-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

将化合物 2-1-06(2.43 g, 9.01 mmol)溶于三氟乙酸(10 mL)中，降温至 5℃，滴加入三氟乙酸酐(3.78 g, 18.02 mmol, 2.50 mL)，保持 5℃反应 4 小时，用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液加入水中，用 10 N 氢氧化钠溶于调节 pH=9，加入乙酸乙酯萃取，合并有机相，经无水硫酸钠干燥，减压浓缩，经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-20%)，得标题化合物 1.53 g。

步骤七：(Z)-N-(3-氯-7-(羟基亚氨基)-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

5℃下，将叔丁醇钾(1.50 g, 13.37 mmol)溶于 THF(16 mL)和叔丁醇(4 mL)中，滴加入化合物 2-1-07(1.53 g, 6.08 mmol)的 THF 溶液(16 mL)，10 分钟后滴加入亚硝酸戊酯

(1.14 g, 9.73 mmol), 保持 5°C 反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。用 1 N 盐酸将反应液调节 pH=5, 乙酸乙酯萃取, 合并有机相经无水硫酸钠干燥, 经减压浓缩, 浓缩物经甲基叔丁基醚打浆得标题化合物 1.20 g。

步骤八: N-(7-氨基-3-氯-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺

5 20°C 下, 将化合物 2-1-08(0.50 g, 1.78 mmol)溶于甲醇(8 mL)和 2 N 盐酸(8 mL)中, 加入 Pd/C(0.15 g, 含量 10%), 体系经氢气置换后在氢气球保护下保持 5°C 反应 2 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应液过滤, 滤液经减压浓缩, 得标题化合物的盐酸盐 0.52 g, 未经进一步纯化直接用于下一步反应。

步骤九: N,N'-(3-氯-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1,7-二基)二乙酰胺的合成

10 20°C 下, 将化合物 2-1-09(0.52 g, 1.70 mmol)溶于吡啶(5 mL)中, 加入醋酸酐(2 mL), 保持 20°C 反应 2 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液加入水中, 乙酸乙酯萃取, 有机相经水洗, 合并, 经无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 浓缩物经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-30%)得标题化合物 0.22 g。

步骤十: N-(8-氨基-6-氯-5-甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酰胺的合成

15 20°C 下, 将化合物 2-1-10(0.45 g, 1.46 mmol)溶于甲醇(16 mL)中, 加入 2 N 盐酸(16 mL), 加热至 60°C 反应 2 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。向冷却后的反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液调节 pH=8, 乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 经无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得标题化合物 0.23 g, 未经进一步纯化直接用于下一步反应。

20 步骤十一: N-((9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺的合成

将化合物 2-1-11(0.23 g, 0.78 mmol)溶于甲苯(10 mL)中, 加入(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10(4H)-三酮(0.23 g, 0.87 mmol), 对甲基苯磺酸(26.73 mg, 0.16 mmol), 加热至 140°C 反应 5 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液浓缩, 粗品经快速硅胶柱纯化(甲醇:二氯甲烷=0-10%), 得标题化合物 0.15 g。

25 步骤十二: (9S)-1-氨基-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

将化合物 2-1-12(40.00 mg, 0.08 mmol)加入浓盐酸(1 mL)中, 加热至 100°C 反应 5 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液过滤, 滤液用制备高效液相色谱纯化, 制备液经冷冻干燥得标题化合物 2-23 的三氟乙酸盐 12.00 mg。

30 色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%三氟乙酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B[%]	流速[mL/min]
0	5	95	28
2	5	95	28
18	50	50	28

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):452.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤十三: 2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺和 2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺的合成

25℃下, 将化合物 2-23 的三氟乙酸盐(40.00 mg, 81.91 μmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中, 依次加入 2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)乙酸(30.91 mg, 98.29 μmol), HATU(62.25 mg, 163.81 μmol)和 N,N-二异丙基乙胺(42.34 mg, 327.63 μmol), 保持 25℃反应 0.5 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后向反应液中加入水, 用二氯甲烷/甲醇(v/v=10/1)萃取, 有机相合并, 经无水硫酸钠干燥后减压浓缩, 粗品经制备薄层色谱纯化(二氯甲烷:甲醇=20:1)分离得到两个异构体, 依据 Rf 值将两个异构体命名为 2-1-13-A(15.00 mg, Rf 值为 0.3)和 2-1-13-B(12.00 mg, Rf 值为 0.35)。

步骤十四: N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺和 N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺的合成

25℃下, 在两个反应瓶中分别将 2-1-13-A(15.00 mg)和 2-1-13-B (12.00 mg)溶于四氢呋喃(1 mL)中, 滴加入四丁基氟化铵(1M 四氢呋喃溶液)/冰醋酸混合液(v/v=13/1)(50 uL), 保持 25℃反应 0.5 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后将反应液分别用制备高效液相色谱纯化, 制备液分别冻干对应得到标题化合物 2-1-A(6.94 mg)和 2-1-B(4.00 mg)。

色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A:乙腈; 流动相 B:水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	20	80	28
3	20	80	28
18	90	10	28

2-1-A 结构表征数据如下:

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.43 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.65–5.36 (m, 4H), 5.21 (q, J = 19.0 Hz, 2H), 3.95 (d, J = 5.7 Hz, 2H), 3.26–3.11 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.30–2.08 (m, 2H), 1.94–1.79 (m, 2H), 0.87 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z): 510.1[M+H]<sup>+</sup>.

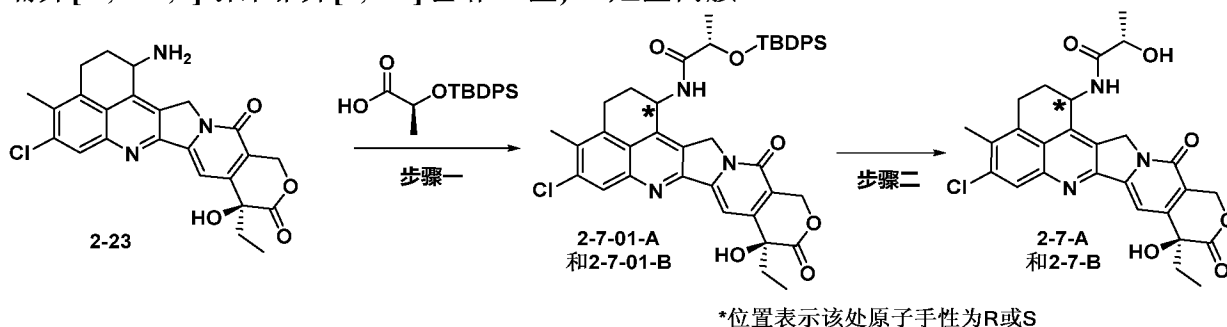
2-1-B 结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.45 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.64–5.35 (m, 4H), 5.19 (q,  $J = 19.0$  Hz, 2H), 3.97 (d,  $J = 5.2$  Hz, 2H), 3.27–3.10 (m, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.27–2.10 (m, 2H), 1.93–1.80 (m, 2H), 0.88 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).

ESI-MS ( $m/z$ ): 510.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

5

实施例四 (2S)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺和(2S)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺



10

步骤一: (2S)-2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-1-基)丙胺 和 (2S)-2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-1-基)丙胺的合成

15

25℃下, 将 2-23 的盐酸盐(30.00 mg, 61.43  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中, 依次加入(S)-2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)丙酸(24.21 mg, 73.72  $\mu\text{mol}$ ), HATU(35.01 mg, 92.14  $\mu\text{mol}$ )和 N,N-二异丙基乙胺(23.82 mg, 184.29  $\mu\text{mol}$ ), 保持 25℃反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后向反应液中加入水, 用二氯甲烷/甲醇(v/v=10/1)萃取, 有机相合并, 经无水硫酸钠干燥后减压浓缩, 粗品经制备薄层色谱纯化(二氯甲烷:甲醇=15:1)分离得到两个异构体, 依据 Rf 值将两个异构体命名为 2-7-01-A(6.00 mg, Rf 值为 0.35)和 2-7-01-B(6.00 mg, Rf 值为 0.40)。

20

步骤二: (2S)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺和(2S)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺的合成

25

25℃下, 在两个反应瓶中分别将 2-7-01-A(6.00 mg, 7.87  $\mu\text{mol}$ )和 2-7-01-B(6.00 mg, 7.87  $\mu\text{mol}$ )溶于无水四氢呋喃(1 mL)中, 滴加入四丁基氟化铵(1 M 四氢呋喃溶液)/冰醋酸混合液(v/v=13/1)(50  $\mu\text{L}$ ), 保持 25℃反应 0.5 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后将反应液分别用制备高效液相色谱纯化, 制备液分别冻干对应得到标题化合

30

物 2-7-A(2.50 mg)和 2-7-B(3.00 mg)。

色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A:乙腈; 流动相 B:水(0.05%甲酸)

时间[ <i>min</i> ]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/ <i>min</i> ]
0	15	85	28
16	90	10	28

2-7-A 结构表征数据如下:

5  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.38 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.56 – 5.47 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.26 – 5.11 (m, 2H), 4.17 – 4.06 (m, 1H), 3.27 – 3.10 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.27 – 2.08 (m, 2H), 1.86 (tt,  $J = 14.1, 7.3$  Hz, 2H), 1.30 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).

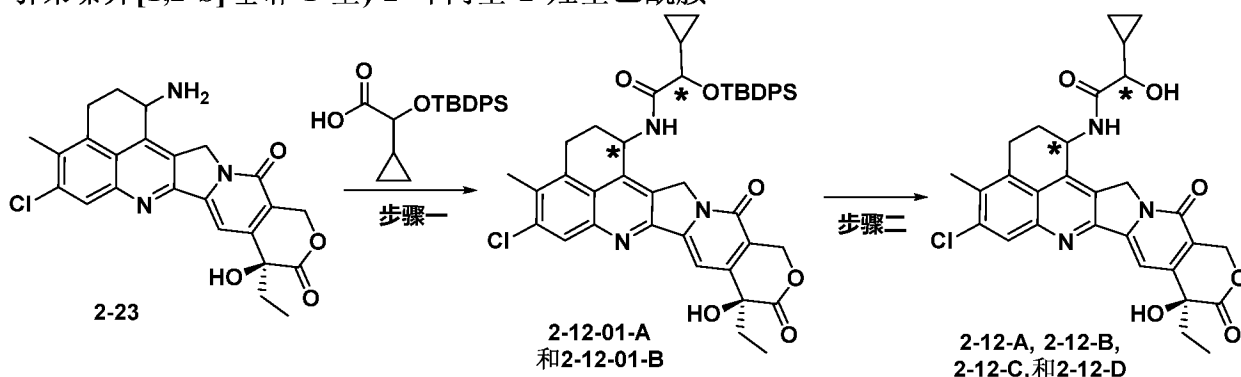
ESI-MS ( $m/z$ ): 524.2 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ .

10 2-7-B 结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.48 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.67 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 5.55 (dd,  $J = 14.6, 7.3$  Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.24 (d,  $J = 19.0$  Hz, 1H), 5.03 (d,  $J = 19.0$  Hz, 1H), 4.21–4.08 (m, 1H), 3.28 – 3.08 (m, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.16 (d,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 1.94–1.82 (m, 2H), 1.42 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 0.88 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).

15 ESI-MS ( $m/z$ ): 524.2 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ .

实施例五 (2S)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和 (2S)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和 (2R)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和 (2R)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺



\*位置表示该处原子手性为R或S

步骤一：(2S)-2-((叔丁基二苯基硅)氧基)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基乙酰胺和(2S)-2-((叔丁基二苯基硅)氧基)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基乙酰胺和(2R)-2-((叔丁基二苯基硅)氧基)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基乙酰胺和(2R)-2-((叔丁基二苯基硅)氧基)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基乙酰胺的合成

25℃下，将 2-23 的盐酸盐(30.00 mg, 61.43 μmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中，依次加入 2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-2-环丙基乙酸(26.13 mg, 73.72 μmol)，HATU(35.01 mg, 92.14 μmol)和 N,N-二异丙基乙胺(23.82 mg, 184.29 μmol)，保持 25℃反应 1 小时，用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后向反应液中加入水，用二氯甲烷/甲醇(v/v=10/1)萃取，有机相合并，经无水硫酸钠干燥后减压浓缩，粗品经制备薄层色谱纯化(二氯甲烷:甲醇=15:1)分离得到两组异构体，依据 Rf 值将两组异构体命名为 2-12-01-A(8.00 mg, Rf 值为 0.35)和 2-12-01-B(10.00 mg, Rf 值为 0.40)。

步骤二：(2S)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和(2S)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和(2R)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和(2R)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺合成

25℃下，在两个反应瓶中分别将 2-12-01-A(8.00 mg, 10.15 μmol)和 2-12-01-B(10.00 mg, 12.68 μmol)溶于无水四氢呋喃(1 mL)中，滴加入四丁基氟化铵(1 M 四氢呋喃溶液)/冰醋酸混合液(v/v=13/1)(50 μL)，保持 25℃反应 0.5 小时，用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后将反应液分别用制备高效液相色谱纯化，2-12-01-A 为原料的反应分离出两个异构体产物，制备液分别冻干对应得到化合物 2-12-A (0.77 mg)、2-12-B (1.03 mg)；2-12-01-B 为原料的反应分离出两个异构体产物，制备液分别冻干对应得到化合物 2-12-C(2.50 mg)、2-12-D(1.00 mg)。2-12-A/2-12-B 纯化条件如下：

色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A:乙腈；流动相 B:水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	20	80	28

2	20	80	28
18	80	20	28

出峰保留时间为：2-12-A：10.0-11.0 min，2-12-B：11.0-12.5 min

2-12-C/2-12-D 纯化条件如下：

色谱柱：SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	20	80	28
2	20	80	28
18	80	20	28

5 出峰保留时间为：2-12-C：10.6-11.4 min，2-12-D：11.4-12.5 min

2-12-A 结构表征数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.38 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.63–5.53 (m, 1H), 5.51 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.28 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 5.16 (d, *J* = 19.1 Hz, 1H), 3.60 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 3.28–3.11 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.22–2.10 (m, 2H), 1.86 (tt, *J* = 14.1, 7.3 Hz, 2H), 1.23 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.56–0.36 (m, 4H).

ESI-MS (*m/z*): 550.2 [M+H]<sup>+</sup>.

2-12-B 结构表征数据如下：

15 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.36 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.57–5.48 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.40 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 5.26 (d, *J* = 19.3 Hz, 1H), 5.18 (d, *J* = 19.0 Hz, 1H), 3.65–3.60 (m, 1H), 3.26–3.12 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.26–2.09 (m, 2H), 1.86 (tt, *J* = 14.1, 7.2 Hz, 2H), 1.19–1.08 (m, 1H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 0.51–0.27 (m, 4H).

ESI-MS (*m/z*): 550.2 [M+H]<sup>+</sup>.

20 2-12-C 结构表征数据如下：

25 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.42 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.56 (dd, *J* = 14.8, 6.8 Hz, 1H), 5.52 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.29 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 5.16 (d, *J* = 19.1 Hz, 1H), 3.62–3.58 (m, 1H), 3.27–3.08 (m, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.27–2.08 (m, 2H), 1.87 (tt, *J* = 14.0, 7.2 Hz, 2H), 1.25 (dd, *J* = 13.2, 6.8 Hz, 1H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 0.64–0.28 (m, 4H).

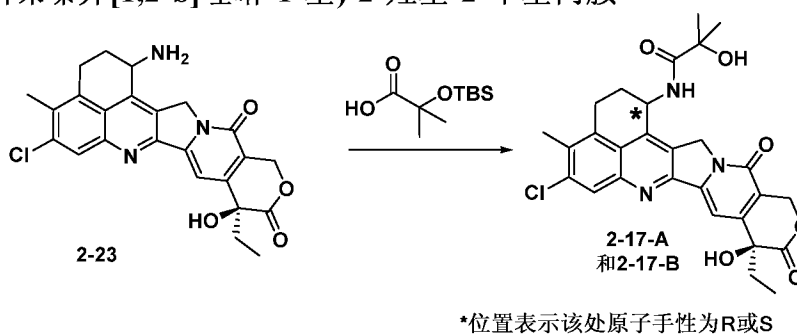
ESI-MS (*m/z*): 550.1 [M+H]<sup>+</sup>.

2-12-D 结构表征数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.38 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.59–5.49 (m, 1H), 5.43 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.26 (d, *J* = 19.1 Hz, 1H),

5.17 (d,  $J = 19.0$  Hz, 1H), 3.64 (t,  $J = 5.8$  Hz, 1H), 3.17 (dd,  $J = 15.6, 8.3$  Hz, 2H), 2.27–2.07 (m, 2H), 1.94–1.79 (m, 2H), 1.19–1.06 (m, 1H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 0.49–0.28 (m, 4H).  
ESI-MS ( $m/z$ ): 550.1  $[M+H]^+$ .

- 5 实施例六 N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基-2-甲基丙胺和 N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基-2-甲基丙胺



- 10 25°C下, 将 2-23 的盐酸盐(30.00 mg, 61.43  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中, 依次加入 2-((叔丁基二甲基硅基)氧基)-2-甲基丙酸(16.10 mg, 73.72  $\mu\text{mol}$ ), HATU(35.01 mg, 92.14  $\mu\text{mol}$ )和 N,N-二异丙基乙胺(23.82 mg, 184.29  $\mu\text{mol}$ ), 保持 25°C 反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后将反应液浓缩, 粗品经制备高效液相色谱纯化分离得到两个异构体, 制备液分别冻干, 依据出峰保留时间将两个异构体命名为 2-17-
- 15 A(2.65 mg)和 2-17-B(2.69 mg)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0  $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05% 甲酸)

时间[ $\text{min}$ ]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[ $\text{mL}/\text{min}$ ]
0	20	80	28
2	20	80	28
18	80	20	28

出峰保留时间为: 2-17-A: 9.5-10.2 min 和 2-17-B: 10.4-10.6 min。

2-17-A 结构表征数据如下:

- 20  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.36 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.55–5.45 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.28 (d,  $J = 19.0$  Hz, 1H), 5.05 (d,  $J = 19.0$  Hz, 1H), 3.27–3.11 (m, 2H), 2.51 (s, 1H), 2.24–2.10 (m, 2H), 1.86 (tt,  $J = 14.0, 7.2$  Hz, 2H), 1.46 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).

MS  $m/z$  (ESI): 538.2  $[M+H]^+$ .

- 25 2-17-B 结构表征数据如下:

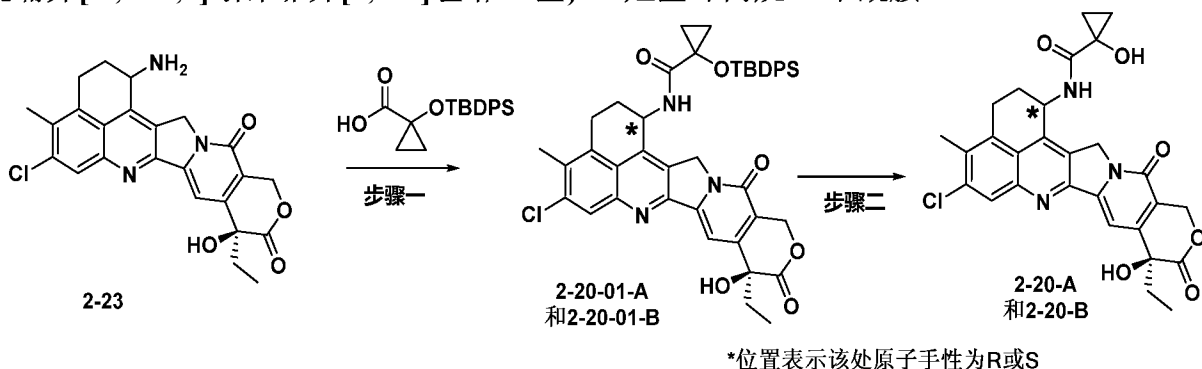
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.40 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.53

(s, 1H), 5.60–5.46 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.29 (d, J = 19.0 Hz, 1H), 5.02 (d, J = 19.0 Hz, 1H), 3.28 - 3.08 (m, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.22–2.10 (m, 2H), 1.87 (tt, J = 14.2, 7.2 Hz, 2H), 1.47 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 0.88 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

MS m/z (ESI): 538.2 [M+H]<sup>+</sup>.

5

实施例七 N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-甲酰胺 和 N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-甲酰胺



10

步骤一: 1-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)环丙烷-1-甲酰胺和 1-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)环丙烷-1-甲酰胺的合成

15

25℃下, 将 2-23 的盐酸盐(30.00 mg, 61.43 μmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中, 依次加入 1-((叔丁基二苯基硅基)氧基)环丙烷-1-羧酸(25.10 mg, 73.72 μmol), HATU(35.01 mg, 92.14 μmol)和 N,N-二异丙基乙胺(23.82 mg, 184.29 μmol), 保持 25℃反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后向反应液中加入水, 用二氯甲烷/甲醇(v/v=10/1)萃取, 有机相合并, 经无水硫酸钠干燥后减压浓缩, 粗品经制备薄层色谱纯化(二氯甲烷:甲醇=15:1)分离得到两个异构体, 依据 R<sub>f</sub> 值将两个异构体命名为 2-20-01-A(4.00 mg, R<sub>f</sub> 值为 0.30)和 2-20-01-B(4.00 mg, R<sub>f</sub> 值为 0.35)。

20

步骤二: N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-甲酰胺和 N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-甲酰胺的合成

25

25℃下, 在两个反应瓶中分别将 2-20-01-A(4.00 mg, 5.17 μmol)和 2-20-01-B(4.00 mg, 5.17 μmol)溶于无水四氢呋喃(1 mL)中, 滴加入四丁基氟化铵(1 M 四氢呋喃溶液)/冰醋酸混合液(v/v=13/1)(50 μL), 保持 25℃反应 0.5 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。

反应完成后将反应液分别用制备高效液相色谱纯化，制备液分别冻干对应得到标题化合物 2-20-A(0.71 mg)和 2-20-B(1.05 mg)。

2-20-A 纯化条件如下：

色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

5 流动相 A:乙腈；流动相 B:水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	15	85	28
16	90	10	28

2-20-B 纯化条件如下：

色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A:乙腈；流动相 B:水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	20	80	28
2	20	20	28
18	80	20	28

2-20-A 结构表征数据如下：

10 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.58 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 5.55 (dd, J = 13.2, 8.2 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.26 (d, J = 19.0 Hz, 1H), 5.10 (d, J = 19.0 Hz, 1H), 3.29–3.09 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.31–2.15 (m, 2H), 1.93–1.80 (m, 2H), 1.25–1.14 (m, 2H), 0.98–0.90 (m, 2H), 0.87 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z):536.2 [M+H]<sup>+</sup>.

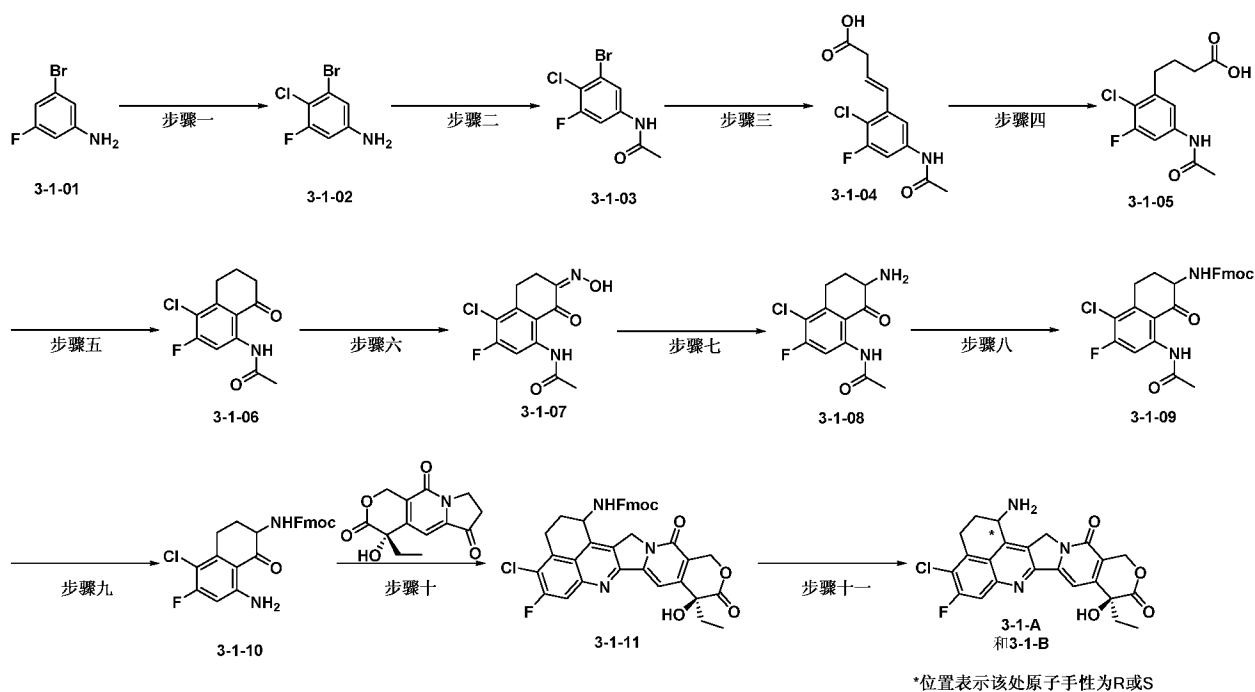
15 2-20-B 结构表征数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.63 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.35 (s, 1H), 5.55 (dd, J = 13.5, 8.6 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.29 (d, J = 19.1 Hz, 1H), 5.08 (d, J = 19.1 Hz, 1H), 3.28–3.10 (m, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.30–2.14 (m, 2H), 1.93–1.81 (m, 2H), 1.26–1.14 (m, 2H), 1.02–0.90 (m, 2H), 0.89 (d, J = 10.9 Hz, 3H).

20 ESI-MS (m/z):536.2 [M+H]<sup>+</sup>.

实施例八 (1S,9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮

25



### 步骤一：3-溴-4-氯-5-氟苯胺的合成

将化合物 3-1-01(2.00 g, 10.53 mmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(30 mL)中, 然后缓慢加入 N-氯代丁二酰亚胺(1.69 g, 12.63 mmol), 加毕, 室温反应 16 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液经减压浓缩得粗品, 粗品经快硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-25%)得标题化合物 0.95 g。

结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  6.77 (dd,  $J = 2.5, 1.4$  Hz, 1H), 6.51 (dd,  $J = 11.7, 2.5$  Hz, 1H), 5.84 (s, 2H).

### 步骤二：N-(3-溴-4-氯-5-氟苯基)乙酰胺的合成

将化合物 3-1-02(0.95 g, 4.23 mmol)溶于乙酸乙酯(20 mL)中, 氮气保护下加入乙酸酐(648.13 mg, 6.35 mmol), 加毕, 升温至 50°C 反应 15 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液用甲醇(5 mL)淬灭后, 直接经减压蒸干得粗品, 粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-40%)得标题化合物 1.01 g。

结构表征数据如下:

ESI-MS ( $m/z$ ):265.9[M+H] $^+$ .

### 步骤三：(E)-4-(5-乙酰氨基-2-氯-3-氟苯基)-3-丁烯酸的合成

将化合物 3-1-03 和 3-丁烯酸(387.65 mg, 4.50 mmol)溶于 1,4 二氧六环(24 mL)和水(8 mL)的混合溶剂中, 然后加入 N,N-二异丙基乙胺(1.45 g, 11.26 mmol), 三(邻甲基苯基)磷(114.21 mg, 375.24  $\mu\text{mol}$ )和醋酸钨(42.12 mg, 187.62  $\mu\text{mol}$ ), 加毕, 反应体系用氮气置换三次, 并在氮气氛围下升温至 100°C 反应 16 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液冷却至室温后, 加入 1 N 的氢氧化钠水溶液(60 mL)和乙酸乙酯(50 mL)振荡分层。分出下层水相后, 用 4 mol/L 盐酸水溶液调节 pH 至 3 左右, 然后用乙酸乙酯萃取, 合并

有机相用饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液经减压蒸干，得到标题化合物的粗品 1.00 g。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):272.0[M+H]<sup>+</sup>.

5 步骤四：4-(5-乙酰氨基-2-氯-3-氟苯基)丁酸的合成

将化合物 3-1-04 的粗品(1.00 g, 3.68 mmol)溶于四氢呋喃(15 mL)，然后加入 10% 钨碳(0.10 g)，加毕，然后用氢气球置换反应体系三次，并在氢气氛围下反应 4 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液过滤，滤液减压浓缩干，得标题化合物的粗品 1.00 g。

10 结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):274.0[M+H]<sup>+</sup>.

步骤五：N-(4-氯-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

15 将化合物 3-1-05 的粗品(1.00 g, 3.65 mmol)溶于三氟乙酸(5 mL)中，降温至 5°C 后，缓慢加入三氟乙酸酐(3.84 g, 18.27 mmol, 2.54 mL)，加毕，保持 5°C 反应 2 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液缓慢倒入水中，然后用乙酸乙酯萃取，合并有机相，用饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥有机相，然后过滤，滤液经减压蒸干得粗品，粗品经快速硅胶柱纯化，得标题化合物 0.43 g。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):256.1[M+H]<sup>+</sup>.

20 步骤六：N-(4-氯-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

将四氢呋喃(16 mL)和叔丁醇(4 mL)加入反应液瓶中，冰浴降温至 5°C 后，加入叔丁醇钾(415.18 mg, 3.70 mmol)，然后将化合物 3-1-06(0.43 mg, 1.68 mmol)溶于四氢呋喃(1 mL)中，并缓慢滴加入反应液，10 分钟后再加入亚硝酸异戊酯(315.24 mg, 2.69 mmol)，加毕，保持 5 °C 反应 1 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液用饱和氯化铵水溶液淬灭后，用乙酸乙酯萃取，合并有机相，用饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥有机相，然后过滤，滤液经减压浓缩，得标题化合物的粗品 455.00 mg。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):285.0[M+H]<sup>+</sup>.

步骤七：N-(7-氨基-4-氯-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

30 将化合物 3-1-07 的粗品(0.40 g, 1.41 mmol)溶于甲醇(10 mL)中，然后加入 3 mol/L 的盐酸水溶液(1 mL)和 10% 钨碳(40.00 mg)，加毕，用氢气球置换反应体系三次，并在氢气氛围下室温反应 1 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液过滤，滤液经减压浓缩干，得标题化合物的盐酸盐粗品 0.43 g。

结构表征数据如下：

35 ESI-MS (m/z):271.0[M+H]<sup>+</sup>.

步骤八：(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰胺-5-氯-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

将化合物 3-1-08 的盐酸盐粗品(0.43 g, 1.19 mmol)溶于 1,4-二氧六环(15 mL)中, 然后加入碳酸氢钠(400.35 mg, 4.77 mmol)、水(5 mL)和 9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(481.81 mg, 1.43 mmol), 加毕, 室温下搅拌反应 2 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液倒入水中, 然后用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液经减压浓缩得粗品。粗品经 C18 反相柱纯化(乙腈: 0.05% 甲酸水=20%-100%), 得标题化合物 301.00 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):493.2[M+H]<sup>+</sup>.

步骤九：(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-5-氯-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

将化合物 3-1-09(300.00 mg, 608.61 μmol)溶于二氧六环(5 mL)中, 加入 12 mol/L 的浓盐酸(1 mL), 加毕, 升温至 60 °C 反应 2 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液倒入水中, 然后用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液经减压浓缩得粗品。粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-50%), 得标题化合物 198.00 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):451.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤十：(9H-芴-9-基)甲基((9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯的合成

将(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚啉-3,6,10(4H)-三酮(138.72 mg, 526.96 μmol)和化合物 3-1-10(198.00 mg, 439.13 μmol)加入甲苯(10 mL)中, 然后再加入对甲苯磺酸(75.53 mg, 439.13 μmol), 加毕, 升温至 140°C 反应 4 小时, 反应液直接 140°C 下减压蒸干得粗品, 粗品经快速硅胶柱纯化(甲醇:二氯甲烷=0-5%), 得标题化合物 256.00 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):678.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤十一：(1S,9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

将化合物 3-1-11(201.18 mg, 296.67 μmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)中, 然后加入二乙胺(108.49 mg, 1.48 mmol), 加毕, 室温反应 0.5 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液经减压蒸出二乙胺后, 用 1 mol/L 盐酸水溶液调 pH 至 2-3 后, 反应液直

接用制备高效液相色谱纯化，得标题化合物 3-1-A (44.00 mg)，3-1-B(43.00 mg)。

色谱柱：SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	10	90	28
3	10	90	28
18	70	30	28

3-1-A(6 min LCMS 出峰靠前，保留时间：1.276 min)

5 结构表征数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.00 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.62 (d, *J* = 19.3 Hz, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.38 (d, *J* = 19.3 Hz, 1H), 4.43–4.38 (m, 1H), 3.28–3.10 (m, 2H), 2.22–2.12 (m, 1H), 2.12–2.02 (m, 1H), 1.93–1.80 (m, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (*m/z*):456.1[M+H]<sup>+</sup>.

10 3-1-B(6 min LCMS 出峰靠后，保留时间：1.300 min)结构表征数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.98 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 5.61 (d, *J* = 19.4 Hz, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.32 (d, *J* = 19.4 Hz, 1H), 4.44–4.36 (m, 1H), 3.33–3.25 (m, 1H), 3.22–3.11 (m, 1H), 2.23 - 2.13 (m, 1H), 2.11–2.03 (m, 1H), 1.96 -1.82 (m, 2H), 0.89 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

15 ESI-MS (*m/z*):456.1[M+H]<sup>+</sup>.

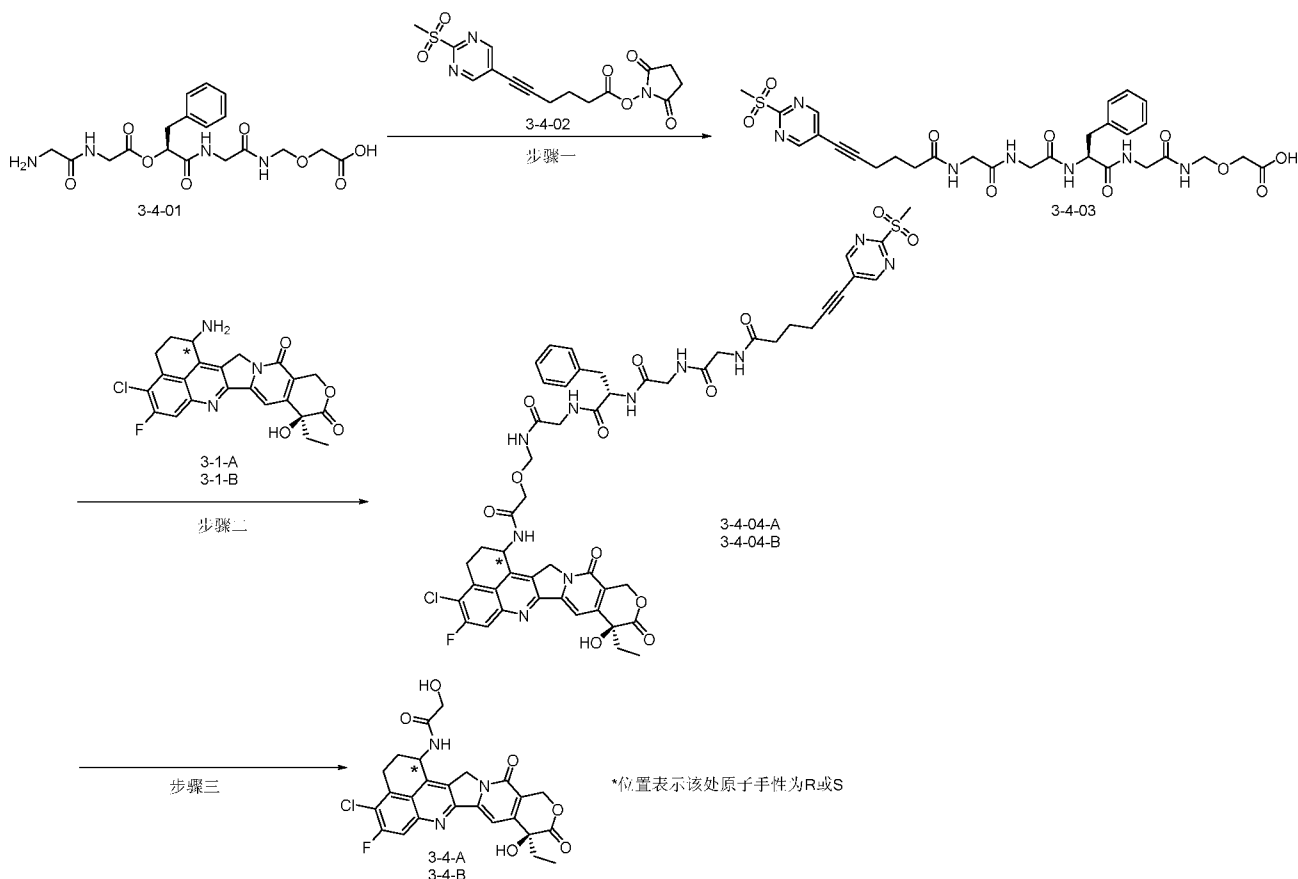
6 min LCMS 条件：

色谱柱：Waters SunFire C18 OBD 4.6 mm×50 mm×5.0 μm

流动相 A：0.05%乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	90	10	2
4.2	10	90	2
5.7	10	90	2
5.71	90	10	2
6.70	90	10	2

20 实施例九 N-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺和 N-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺



步骤一：(S)-10-苄基-23-(2-(甲磺酰基)咪唑-5-基)-6,9,12,15,18-五氧代-3-氧代-5,8,11,14,17-五氮杂十八烷-22-炔羧酸的合成

将化合物 3-4-01(30.00 mg, 70.00  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中, 加入 2,5-二氧吡咯烷-1-基 6-(2-(甲磺酰基)咪唑-5-基)己基-5-炔酰胺(28.00 mg, 77.00  $\mu\text{mol}$ ), 室温反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应液直接用制备高效液相色谱纯化, 制备液冷冻干燥得标题化合物 3-4-03(20.00 mg)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0  $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	10	90	28
2.00	10	90	28
18.00	90	10	28

10 结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):691.0[M+18]<sup>+</sup>.

15 步骤二: N-((S)-10-苄基-1-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧杂-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲基磺酰基)咪唑-5-基)己基-5-酰胺和 N-((S)-10-苄基-1-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-

2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧杂-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己基-5-酰胺的合成

5 将单一构型的化合物 3-1-A(36.00 mg, 79.70  $\mu\text{mol}$ )和化合物 3-4-03(64.43 mg, 95.64  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)中, 然后加入 4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基吗啉盐酸盐(46.98 mg, 159.40  $\mu\text{mol}$ )和三乙胺(24.19 mg, 239.10  $\mu\text{mol}$ ), 加毕, 室温反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经高效液相色谱纯化, 得到单一构型的标题化合物 3-4-04-A (51.00 mg)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0  $\mu\text{m}$

10 流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	30	70	28
3	30	70	28
18	90	10	28

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):1111.0[M+H]<sup>+</sup>.

15 将单一构型的化合物 3-1-B(36.00 mg, 79.70  $\mu\text{mol}$ )和化合物 3-4-03(64.43 mg, 95.64  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)中, 然后加入 4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基吗啉盐酸盐(46.98 mg, 159.40  $\mu\text{mol}$ )和三乙胺(24.19 mg, 239.10  $\mu\text{mol}$ ), 加毕, 室温反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经高效液相色谱纯化, 得到单一构型的标题化合物 3-4-04-B(52.00 mg)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0  $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	30	70	28
3	30	70	28
18	90	10	28

20 结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):1111.0[M+H]<sup>+</sup>.

25 步骤三: N-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺和 N-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺的合成

称取化合物 3-4-04-A(40.00 mg, 35.99  $\mu\text{mol}$ )溶于二氯甲烷(2 mL)和甲醇(1 mL)的混合溶剂中, 然后加入 4 mol/L 盐酸乙酸乙酯(1 mL), 加毕, 室温反应 0.5 小时, 用高效液相

质谱联用色谱检测反应。反应液直接经减压浓缩干得粗品，粗品经高效液相色谱纯化，得单一构型的标题化合物 3-4-A (4.75 mg)。

色谱柱：SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	15	85	28
3	15	85	28
18	90	10	28

5 结构表征数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.50 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.67–5.60 (m, 1H), 5.49 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.21 (s, 2H), 3.96 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.32–3.22 (m, 2H), 2.28–2.15 (m, 2H), 1.93–1.80 (m, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

10 ESI-MS (m/z):514.0[M+H]<sup>+</sup>.

称取化合物 3-4-04-B(40.00 mg, 35.99 μmol)溶于二氯甲烷(2 mL)和甲醇(1 mL)的混合溶剂中，然后加入 4 mol/L 盐酸乙酸乙酯(1 mL)，加毕，室温反应 0.5 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经减压浓缩干得粗品，粗品经高效液相色谱纯化，得单一构型的标题化合物 3-4-B (8.24 mg)。

15 色谱柱：SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

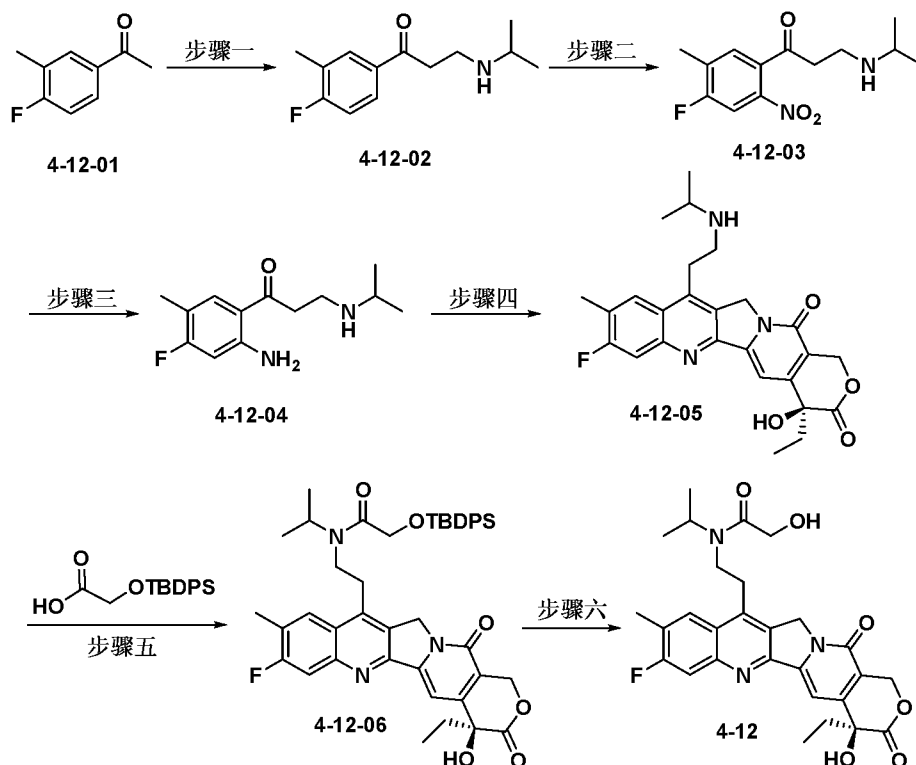
时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	15	85	28
3	15	85	28
18	90	10	28

结构表征数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.52 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.68–5.58 (m, 1H), 5.53 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.43 (d, *J* = 2.9 Hz, 2H), 20 5.20 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 3.97 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.31–3.21 (m, 2H), 2.26–2.15 (m, 2H), 1.92–1.82 (m, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z):514.0[M+H]<sup>+</sup>.

25 实施例十 (S)-N-(2-(4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲基-3,14-二氧代-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-11-基)乙基)-2-羟基-N-异丙基乙酰胺



步骤一：1-(4-氟-3-甲基苯基)-3-(异丙胺基)丙烷-1-酮的合成

20°C 下，将化合物 4-12-01(500.00 mg, 3.29 mmol)、甲醛水溶液(2.5 mL, 37%)和异丙胺(388.46 mg, 6.57 mmol)于异丙醇(5 mL)中，0°C 下滴加浓盐酸(2.5 mL)，反应液 100°C 下搅拌 16 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液经减压浓缩得粗品，粗品经制备高效液相色谱纯化，制备液冷冻干燥，得标题化合物 200.00 mg。

色谱柱：SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	10	90	28
2.00	10	90	28
18.00	90	10	28

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z): 224.1 [M+H]<sup>+</sup>.

步骤二：1-(4-氟-5-甲基-2-硝基苯基)-3-(异丙胺基)丙烷-1-酮的合成

0°C 下，将化合物 4-12-02(100.00 mg, 0.49 mmol)于浓硫酸(0.5 mL)中，加硝酸钾(54.34 mg, 0.54 mmol)，反应液保持 0°C 反应 1 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液倒入冰水中，经反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水=0-30%)得到标题化合物 90.00 mg。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z): 269.0 [M+H]<sup>+</sup>.

步骤三：1-(2-氨基-4-氟-5-甲基苯基)-3-(异丙胺基)丙烷-1-酮的合成

25°C 下，将化合物 4-12-03(200.00 mg, 0.75mmol)于甲醇(20.0 mL)中，加 10%钯碳(10.00 mg)，反应液氢气置换，并于氢气环境中保持 20°C 反应 16 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液过滤，经减压浓缩，得标题化合物 183.00 mg。

5 结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z): 239.1 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤四：(S)-4-乙基-8-氟-4-羟基-11-(2-(异丙胺基)乙基)-9-甲基-1,12-二氢-14H-吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-3,14(4H)-二酮的合成

10 25°C 下，将化合物 4-12-04(50.00 mg, 0.21 mmol)和(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吡啶-3,6,10(4H)-三酮(55.23 mg, 0.21 mmol)于甲苯(3 mL)中，加对甲苯磺酸(3.61 mg, 0.02 mmol)，反应液 130°C 反应 4 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液经减压浓缩，粗品用制备高效液相色谱纯化，制备液冷冻干燥，得标题化合物的三氟乙酸盐 2.00 mg。

色谱柱：SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

15 流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%三氟乙酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	8	92	28
2.00	8	92	28
18.00	60	40	28

结构表征数据如下：

20 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.58 (s, 2H), 8.22 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 10.7 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 5.47 (s, 2H), 5.41 (s, 2H), 3.58–3.45 (m, 3H), 3.31–3.23 (m, 2H), 2.56 (s, 3H), 1.98–1.80 (m, 2H), 1.26 (d, J = 6.3 Hz, 6H), 0.89 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z): 466.2 [M+H]<sup>+</sup>

步骤五：(S)-2-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-N-(2-(4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲基-3,14-二氧代-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-11-基)乙基)-N-异丙基乙酰胺的合成

25 将化合物 4-12-05(22.00 mg, 47.26 μmol)和 2-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)乙酸(16.35 mg, 51.99 μmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中，然后加入 HATU(21.55 mg, 56.71 μmol)和 N,N-二异丙基乙胺(18.32 mg, 141.78 μmol)，加毕，室温反应 0.5 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经 C18 反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水溶液 =30%-100%)，得标题化合物 18.00 mg。

30 结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):762.3[M+H]<sup>+</sup>。

步骤六: (S)-N-(2-(4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲基-3,14-二氧代-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-11-基)乙基)-2-羟基-N-异丙基乙酰胺的合成

将化合物 4-12-06(18.00 mg, 23.62  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中, 然后加入氟化钾(6.86 mg, 118.12  $\mu\text{mol}$ ), 加毕升温至 50°C 反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱

检测反应。反应液直接经高效液相色谱纯化得标题化合物 1.53 mg。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0  $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

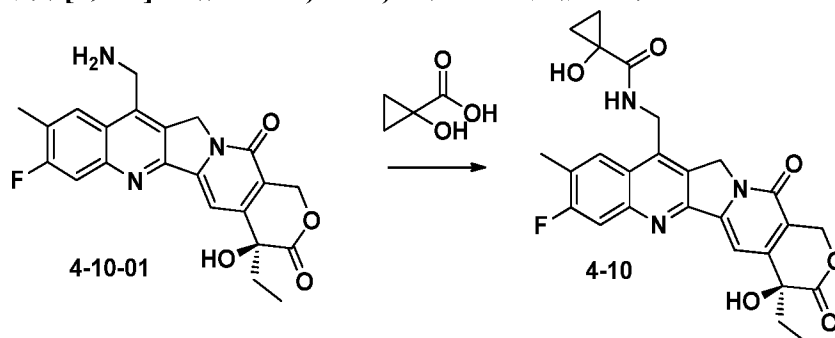
时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	15	85	28
18.00	90	10	28

结构表征数据如下:

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.53 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.91 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.44 (d,  $J = 13.8$  Hz, 4H), 4.72 (t,  $J = 5.5$  Hz, 1H), 4.21 (d,  $J = 5.5$  Hz, 2H), 3.99–3.90 (m, 1H), 3.54–3.38 (m, 4H), 2.54 (s, 3H), 1.92–1.83 (m, 2H), 1.17 (dd,  $J = 6.6, 3.1$  Hz, 6H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).

ESI-MS ( $m/z$ ):524.2[M+H] $^+$ .

实施例十一 (S)-N-((4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲基-3,14-二氧基-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-11-基)甲基)-1-羟基环丙烷甲酰胺



将原料(S)-11-(氨基甲基)-4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲基-1H-吡喃[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-3,14(4H,12H)-二酮(4-10-01, 参照专利 WO2020219287 合成方法制备, 30.00 mg, 67.00  $\mu\text{mol}$ ), 1-羟基环丙烷羧酸(7.56 mg, 0.074 mmol)溶于 DMF(1 mL), 搅拌下加入 HBTU(34.30 mg, 0.14 mmol)和二异丙基乙胺(26.09 mg, 0.20 mmol), 室温反应 4 小时。加水

和乙酸乙酯搅拌, 静置分液, 有机相用饱和食盐水洗涤后减压浓缩。浓缩物经制备薄层色谱纯化(二氯甲烷:甲醇=20:1), 再用制备高效液相色谱纯化得固体 1.20 mg。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0  $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	15	85	28
18.00	90	10	28

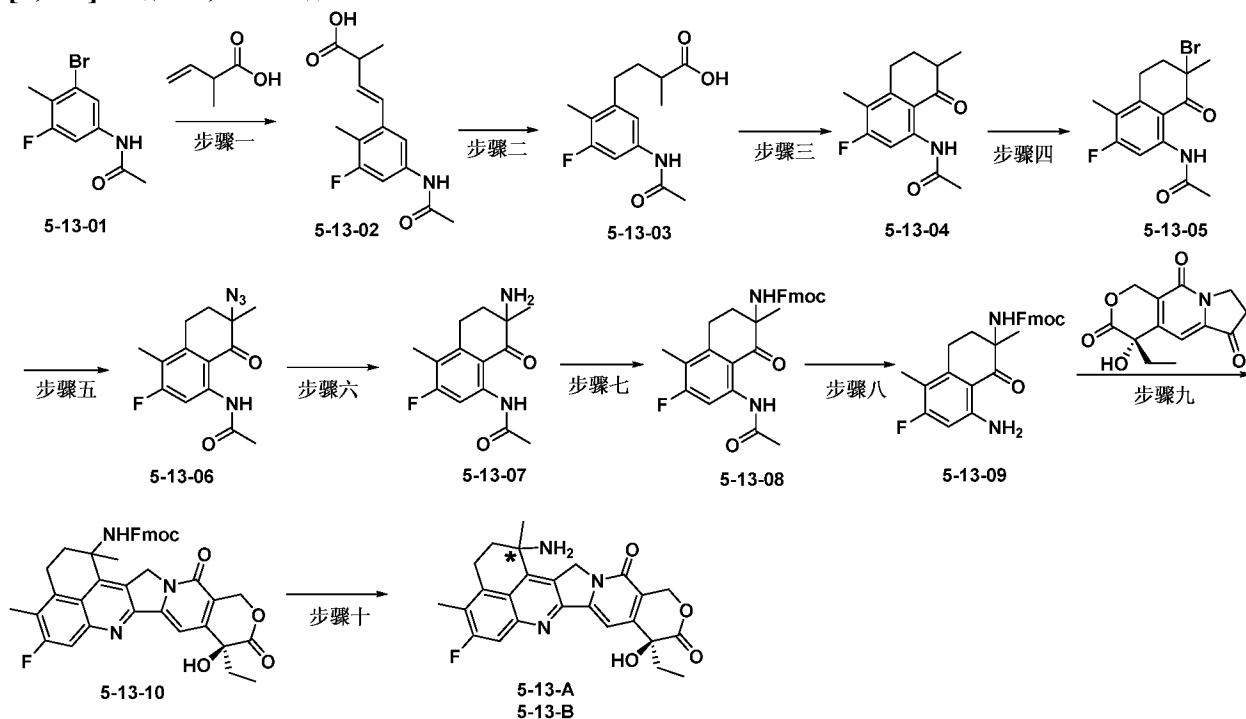
0.00	20	80	28
2.00	20	80	28
18.00	80	20	28

结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.96 (t,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 8.51 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.90 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.30 (s, 2H), 6.30 (s, 1H), 5.52 (s, 2H), 5.44 (s, 2H), 4.84 (d,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 1.91–1.81 (m, 2H), 1.01 (dd,  $J = 7.2, 4.1$  Hz, 2H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 0.83 (t,  $J = 3.6$  Hz, 2H).

ESI-MS ( $m/z$ ): 494.1 [ $\text{M}+1$ ] $^+$ .

实施例十二 (1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮



步骤一: (E)-4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲基苯基)-2-甲基-3-丁烯酸的合成

称取 N-(3-溴-5-氟-4-甲基苯基)乙酰胺(2.00 g, 8.13 mmol)和 2-甲基-3-丁烯酸(976.44 mg, 9.75 mmol)溶于 1,4-二氧六环(15 mL)和水(5 mL)的混合溶剂中, 然后加入三(邻甲苯基)膦(247.37 mg, 812.76  $\mu\text{mol}$ )、醋酸钨(91.24 mg, 406.38  $\mu\text{mol}$ )和 N,N-二异丙基乙胺(2.31 g, 17.88 mmol), 加毕, 氮气置换反应体系三次, 并在氮气氛围下升温至 80 $^{\circ}\text{C}$  反应 3 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液冷却至室温后, 加入 1 mol/L 氢氧化钠水溶液(60 mL)和乙酸乙酯(50 mL)振荡分层。分出下层水相后, 用 4 mol/L 盐酸水溶液调

节 pH 至 3 左右, 然后用乙酸乙酯萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液经减压浓缩得标题化合物 1.90 g。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):266.1[M+H]<sup>+</sup>.

5 步骤二: 4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲基苯基)-2-甲基丁酸的合成

将(E)-4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲基苯基)-2-甲基-3-丁烯酸(1.90 g, 7.16 mmol)溶于甲醇(40 mL)中, 氮气保护下加入 10%钯碳(0.15 g), 然后用氢气球置换反应体系三次, 并在氢气氛围下反应 2 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液过滤, 滤液经减压浓缩干得标题化合物 1.51 g。

10 结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):268.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤三: N-(3-氟-4,7-二甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

15 称取 4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲基苯基)-2-甲基丁酸(1.50 g, 5.61 mmol)溶于三氟乙酸(20 mL)中, 降温至 5°C 后滴加入三氟乙酸酐(2.36 g, 11.22 mmol), 加毕, 保持 5°C 反应 2 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液缓慢倒入饱和碳酸氢钠水溶液中, 然后用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液经减压蒸干得粗品, 粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-30%)得标题化合物 1.05 g。

结构表征数据如下:

20 ESI-MS (m/z):250.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤四: N-(7-溴-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代 5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

25 称取 N-(3-氟-4,7-二甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(0.55 g, 2.21 mmol)溶于醋酸(8 mL)中, 然后加入溴素(387.85 mg, 2.43 mmol), 加毕, 升温至 50°C 反应 15 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经减压蒸干得粗品, 粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-30%)得标题化合物 461.00 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):328.0[M+H]<sup>+</sup>.

步骤五: N-(7-叠氮基-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代 5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

30 称取 N-(7-溴-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代 5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(460.00 mg, 1.40 mmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)中, 然后加入叠氮化钠(273.37 mg, 4.21 mmol), 加毕, 室温反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液缓慢倒入水中, 然后用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液经减压蒸干得粗品, 粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-50%), 得标题化合物 347.00 mg。

35 结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):291.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤六: N-(7-氨基-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代 5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

称取 N-(7-叠氨基-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代 5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(347.00 mg, 1.20 mmol)溶于四氢呋喃(10 mL)中, 氮气保护下加入 10%钯碳(30.00 mg), 然后用氢气球置换反应体系三次, 并在氢气氛围下反应 2 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液过滤, 滤液经减压浓缩干得粗品, 粗品经 C18 反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水溶液=0%-30%)得标题化合物 205.00 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):265.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤七: (9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰氨基-6-氟-2,5-二甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

称取 N-(7-氨基-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代 5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(200.00 mg, 756.73 μmol)溶于 1,4-二氧六环(6 mL)和水(3 mL)的混合溶剂中, 然后加入碳酸氢钠(254.28 mg, 3.03 mmol)和 9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(650.55 mg, 1.14 mmol), 加毕, 室温下搅拌反应 2 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液缓慢倒入水中, 然后用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液经减压蒸干得粗品, 粗品经 C18 反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水溶液=20%-80%)得标题化合物 301.00 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):487.0[M+H]<sup>+</sup>.

步骤八: (9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-6-氟-2,5-二甲基-1-氧代 1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

将(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰氨基-6-氟-2,5-二甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯(101.00 mg, 207.59 μmol)溶于 1,4-二氧六环(5 mL)中, 然后加入 3 mol/L 盐酸水溶液(5 mL), 加毕, 升温至 50°C 反应 15 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液缓慢倒入饱和碳酸氢钠水溶液中, 然后用乙酸乙酯萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液经减压蒸干得粗品, 粗品经快速硅胶柱纯化(甲醇:二氯甲烷=0%-5%)得标题化合物 71.00 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):445.2[M+H]<sup>+</sup>.

步骤九: (9H-芴-9-基)甲基((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯的合成

将(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-6-氟-2,5-二甲基-1-氧代 1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯(35.00 mg, 132.96 μmol)和(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚啉-3,6,10(4H)-

三酮(49.25 mg, 110.80  $\mu\text{mol}$ )加入甲苯(3 mL)中, 然后加入对甲苯磺酸(19.08 mg, 110.80  $\mu\text{mol}$ ), 加毕, 升温至 140°C 反应 4 小时, 反应液直接 140°C 下经减压蒸干得粗品。粗品经 C18 反相柱纯化(乙腈:0.05% 甲酸水溶液=20%-80%)得标题化合物 21.00 mg。

结构表征数据如下:

5 ESI-MS (m/z):672.2[M+H]<sup>+</sup>.

步骤十: (1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

10 将(9H-芴-9-基)甲基((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯(21.00 mg, 31.26  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中, 然后加入二乙胺(0.2 mL), 加毕, 室温反应 0.5 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液经减压蒸出乙二胺后, 用 1 mol/L 盐酸水溶液调节 pH 至 2-3 后, 反应液直接用制备高效液相色谱纯化, 得两个异构体 5-13-A(1.30 mg)和 5-13-B(1.68 mg)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0  $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05% 甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	10	90	28
3.00	10	90	28
18.00	90	10	28

5-13-A(6 min LCMS 出峰靠前, 保留时间: 1.373 min)结构表征数据如下:

20 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.88 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 5.60 (d, *J* = 3.5 Hz, 2H), 5.46 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 3.25–3.17 (m, 2H), 2.41 (s, 3H), 2.38–2.28 (m, 2H), 1.91–1.84 (m, 2H), 1.79 (s, 3H), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z):450.2[M+H]<sup>+</sup>.

5-13-B(6 min LCMS 出峰靠后, 保留时间: 1.523 min)结构表征数据如下:

25 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.76 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.73 (d, *J* = 19.8 Hz, 1H), 5.50–5.40 (m, 3H), 3.26–3.17 (m, 1H), 3.08–2.96 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.19–2.11 (m, 1H), 2.04 (td, *J* = 13.0, 5.1 Hz, 1H), 1.91–1.79 (m, 2H), 1.34 (s, 3H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z):450.2[M+H]<sup>+</sup>.

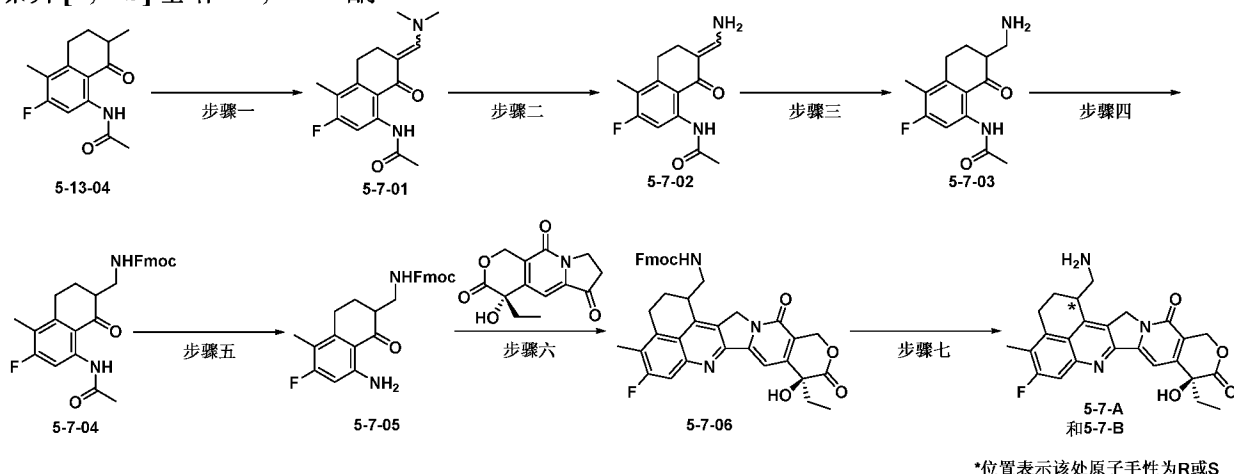
6 min LCMS 条件:

30 色谱柱: Waters SunFire C18 OBD 4.6 mm×50 mm×5.0  $\mu\text{m}$

流动相 A: 0.05% 乙腈; 流动相 B: 水(0.05% 甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	90	10	2
4.2	10	90	2
5.7	10	90	2
5.71	90	10	2
6.70	90	10	2

实施例十三 (1S,9S)-1-(氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-(氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮



步骤一：N-(7-((二甲氨基)亚甲基)-3-氟-4-甲基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

10 将化合物 5-13-04(1.00 g, 4.25 mmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛(10 mL)中，然后升温至 120°C 反应 3 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液冷却至室温后，直接经减压蒸干得粗品，粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=20%-100%)得标题化合物 891.00 mg。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):291.1[M+H]<sup>+</sup>。

15 步骤二：N-(7-(氨基亚甲基)-3-氟-4-甲基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

将化合物 5-7-01(0.89 g, 3.07 mmol)溶于乙醇(25 mL)中，然后加入乙酸铵(2.36 g, 30.65 mmol)，加毕，室温反应 16 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液溶剂减压蒸干，然后加入二氯甲烷(30 mL)和水(20 mL)后，搅拌静置分出有机相，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液经减压蒸干得标题化合物 785.00 mg。

20 结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):263.1[M+H]<sup>+</sup>。

步骤三: N-(7-(氨基甲基)-3-氟-4-甲基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

将化合物 5-7-02(0.80 g, 3.05 mmol)溶于乙醇(200 mL)中, 然后加入 10% 钨碳(0.40 mg)和浓盐酸(0.2 mL), 加毕, 用氢气球置换反应体系三次, 然后在氢气氛围下室温反应 3 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液直接过滤, 滤液经减压蒸干得标题化合物的盐酸盐 905.00 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):265.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤四: (9H-芴-9-基)甲基((8-乙酰胺-6-氟-5-甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)甲基)氨基甲酸酯的合成

将化合物 5-7-03 的盐酸盐(0.90 g, 2.99 mmol)溶于 1,4-二氧六环(20 mL)中, 然后加入碳酸氢钠(1.01 g, 11.97 mmol)、水(10 mL)和 9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(1.21 g, 3.59 mmol), 加毕, 室温下搅拌反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液倒入水中, 然后用乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液经减压整干得粗品。粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-15 50%)得标题化合物 1.30 g。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):487.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤五: (9H-芴-9-基)甲基((8-氨基-6-氟-5-甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)甲基)氨基甲酸酯的合成

将化合物 5-7-04(0.80 g, 1.64 mmol)溶于 1,4-二氧六环(20 mL)中, 氮气保护下加入 3 mol/L 盐酸水溶液(20 mL), 加毕, 升温至 60°C 反应 15 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液缓慢倒入水中, 然后用乙酸乙酯萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液经减压蒸干得粗品。粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-40%)得标题化合物 561.00 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):445.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤六: (9H-芴-9-基)甲基(((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)甲基)氨基甲酸酯的合成

将(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚啉-3,6,10(4H)-三酮(597.00 mg, 2.27 mmol)和化合物 5-7-05(840.00 mg, 1.89 mmol)加入甲苯(60 mL)中, 然后再加入对甲苯磺酸(325.00 mg, 1.89 mmol), 加毕, 升温至 140°C 反应 4 小时, 然后反应液直接在 140°C 下减压蒸干得粗品。粗品经快速硅胶柱纯化(甲醇:二氯甲烷=0-5%)得标题化合物 563.00 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):672.2[M+H]<sup>+</sup>.

步骤七：(1S,9S)-1-(氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-(氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

将化合物 5-7-06 (454.00 mg, 675.89 μmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(5 mL)中，然后加入二乙胺(1 mL)，加毕室温反应 0.5 小时，用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液减压蒸出乙二胺后，用甲酸调节 pH 至 2-3 后，反应液直接用制备高效液相色谱纯化，制备液分别冻干对应得到标题化合物 5-7-A(32.00 mg)和 5-7-B(56.00 mg)。

色谱柱：SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	10	90	28
3	10	90	28
18	90	10	28

5-7-A(6 min LCMS 出峰靠前，保留时间：1.488 min)结构表征数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.88 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 5.60 (d, *J* = 3.5 Hz, 2H), 5.46 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 3.25–3.17 (m, 2H), 2.41 (s, 3H), 2.38–2.28 (m, 2H), 1.91–1.84 (m, 2H), 1.79 (s, 3H), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z):450.2[M+H]<sup>+</sup>.

5-7-B(6 min LCMS 出峰靠后，保留时间：1.596 min)结构表征数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.76 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.73 (d, *J* = 19.8 Hz, 1H), 5.50–5.40 (m, 3H), 3.26–3.17 (m, 1H), 3.08–2.96 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.19–2.11 (m, 1H), 2.04 (td, *J* = 13.0, 5.1 Hz, 1H), 1.91–1.79 (m, 2H), 1.34 (s, 3H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z):450.2[M+H]<sup>+</sup>.

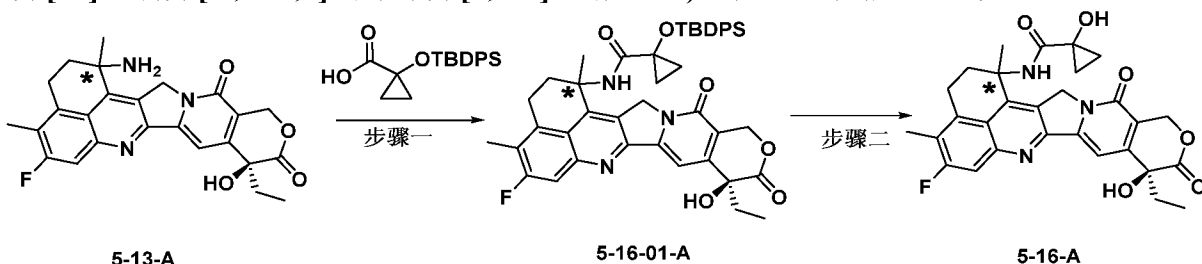
6 min LCMS 条件：

色谱柱：Waters SunFire C18 OBD 4.6 mm×50 mm×5.0 μm

流动相 A：0.05%乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	90	10	2
4.2	10	90	2
5.7	10	90	2
5.71	90	10	2
6.70	90	10	2

实施例十四 N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-羧酰胺或 N-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-羧酰胺



5-13-A  
\*位置表示该处原子手性为R或S

5-16-01-A

5-16-A

步骤一：1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)环丙烷-1-甲酰胺或 1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-N-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)环丙烷-1-甲酰胺的合成

将单一构型的化合物 5-13-A(10.00 mg, 22.25  $\mu\text{mol}$ )和 1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)环丙烷-1-羧酸(11.36 mg, 33.37  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中, 然后加入 HATU(12.68 mg, 33.37  $\mu\text{mol}$ )和 N,N-二异丙基乙胺(8.63 mg, 66.74  $\mu\text{mol}$ ), 加毕, 室温反应 0.5 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经 C18 反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水溶液=30%-100%)得到单一标题化合物 5-16-01-A(7 mg)。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):772.3[M+H]<sup>+</sup>.

步骤二：N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-羧酰胺或 N-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-羧酰胺的合成

将化合物 5-16-01-A(7.00 mg, 9.07  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中, 然后加入氟化钾(2.63 mg, 45.34  $\mu\text{mol}$ ), 加毕升温至 50°C 反应 1 小时, 用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经高效液相色谱纯化得单一标题化合物 5-16-A(1.73 mg)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0  $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

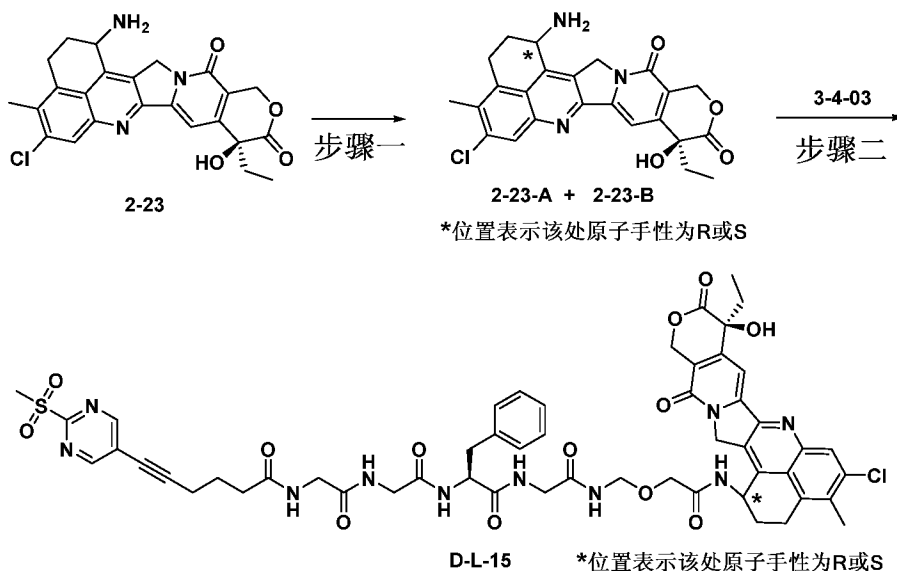
时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	10	90	28
18.00	90	10	28

结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.26 (s, 1H), 7.78 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.56 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.52 (d,  $J = 19.3$  Hz, 1H), 5.43 (d,  $J = 4.4$  Hz, 2H), 4.94 (d,  $J = 19.2$  Hz, 1H), 3.30–3.24 (m, 1H), 3.11–3.00 (m, 1H), 2.95–2.84 (m, 1H), 2.39 (s, 3H), 1.98–1.80 (m, 3H), 1.62 (s, 3H), 0.87 (t,  $J = 7.9$  Hz, 3H).

ESI-MS ( $m/z$ ):534.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

实施例十五 N-((10S)-10-苄基-1-(((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4';6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧代-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)十六烷酰胺或 N-((10S)-10-苄基-1-(((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4';6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧代-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)十六烷酰胺



步骤一:(9S)-1-氨基-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的分离纯化

将化合物 2-23(16.00 mg)用制备高效液相色谱纯化, 在下述纯化条件下分离得到两个非对映异构体, 得到 2-23-A 的三氟乙酸盐 5.10 mg(保留时间 9.85 min)和 2-23-B 的三氟乙酸盐 7.12 mg(保留时间 10.62 min)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0  $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%三氟乙酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B[%]	流速[mL/min]
0	5	95	28

2	5	95	28
18	50	50	28

结构表征数据如下：

2-23-A:

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.42 (s, 3H), 8.27 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 5.78-5.63 (m, 1H), 5.50-5.36 (m, 3H), 5.10-5.06 (m, 1H), 3.20-3.04 (m, 2H), 2.56 (s, 3H), 2.26-2.13 (m, 2H), 1.93-1.79 (m, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z):452.1[M+H]<sup>+</sup>.

2-23-B:

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.42 (s, 3H), 8.27 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 5.78-5.63 (m, 1H), 5.50-5.36 (m, 3H), 5.10-5.06 (m, 1H), 3.20-3.04 (m, 2H), 2.55 (s, 3H), 2.26-2.13 (m, 2H), 1.93-1.79 (m, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z):452.0[M+H]<sup>+</sup>.

步骤二：N-((10S)-10-苄基-1-(((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4';6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧代-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)十六烷酰胺或 N-((10S)-10-苄基-1-(((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4';6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧代-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)十六烷酰胺的合成

25℃下，将 2-23-A 的三氟乙酸盐 (34.71 mg, 61.43 μmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中，依次加入 3-4-03 (49.66 mg, 73.72 μmol)、HATU (35.01 mg, 92.14 μmol)和 N,N-二异丙基乙胺(23.82 mg, 184.29 μmol)，保持 25℃反应 0.5 小时，用高效液相质谱联用色谱监测反应，反应完成将反应液用制备高效液相色谱纯化(条件如下)，制备液冷冻干燥得标题化合物 D-L-15 11.04 mg，保留时间 7.5 min。

色谱柱：SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

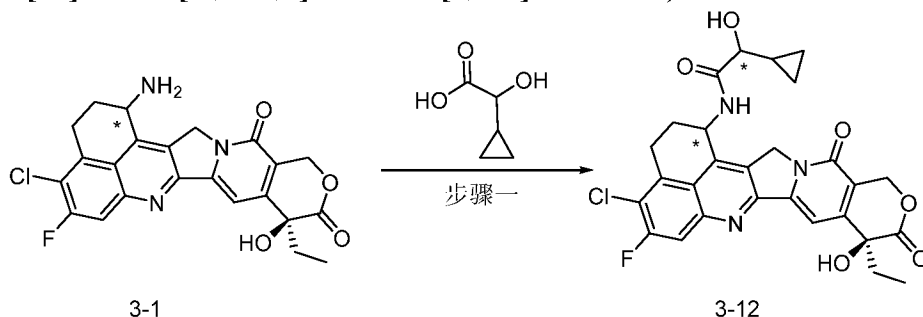
时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	30	70	28
3	30	70	28
18	90	10	28

结构表征数据如下：

D-L-15:

ESI-MS (m/z):1107.3[M+H]<sup>+</sup>.

实施例十六 N-((9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺



\*位置表示该处原子手性为R或S

步骤一：N-((9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺的合成

将单一构型的化合物 3-1-A 的甲酸盐(50 mg, 109.68  $\mu\text{mol}$ )和 2-环丙基-2-羟基乙酸(25.47 mg, 219.36  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)中, 然后加入 HATU (7.57 mg, 219.36  $\mu\text{mol}$ )和 N,N-二异丙基乙胺(42.53 mg, 329.04  $\mu\text{mol}$ ), 加毕, 室温反应 0.5 小时; 用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物的两个异构体(3-12-A: 12.96 mg, 3-12-B: 13.56 mg)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0 $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	30	90	28
3.00	30	90	28
18.00	90	10	28

3-12-A (6 min LCMS 出峰靠前)结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8.44 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 8.05 (d,  $J = 10.2$  Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.62 (q,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 5.52 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.24 (q,  $J = 19.2$  Hz, 2H), 3.61 (dd,  $J = 6.2, 5.1$  Hz, 1H), 3.32 – 3.21 (m, 2H), 2.19 (q,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 1.92 – 1.80 (m, 2H), 1.26 – 1.20 (m, 1H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 0.57 – 0.34 (m, 4H).

ESI-MS ( $m/z$ ):554.0[M+H] $^+$ .

3-12-B (6 min LCMS 出峰靠后)结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8.43 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 8.06 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 5.57 (q,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.30 – 5.17 (m, 2H), 3.64 (d,  $J = 6.2$  Hz, 1H), 3.29 (q,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 2.28 – 2.13 (m, 2H), 1.93 – 1.78 (m, 2H), 1.18 – 1.08 (m, 1H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 0.50 – 0.29 (m, 4H).

ESI-MS ( $m/z$ ):554.0[M+H] $^+$ .

将另一单一构型的化合物 3-1-B 的甲酸盐(50 mg, 109.68  $\mu\text{mol}$ )和 2-环丙基-2-羟基乙

酸(25.47 mg, 219.36  $\mu\text{mol}$ )溶于 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)中, 然后加入 HATU (7.57 mg, 219.36  $\mu\text{mol}$ )和 N,N-二异丙基乙胺(42.53 mg, 329.04  $\mu\text{mol}$ ), 加毕, 室温反应 0.5 小时; 用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物的两个异构体(3-12-C: 20.19 mg, 3-12-D: 18.33 mg)。

5 色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0 $\mu\text{m}$

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[ $\text{min}$ ]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[ $\text{mL}/\text{min}$ ]
0.00	30	90	28
3.00	30	90	28
18.00	90	10	28

3-12-C (6 min LCMS 出峰靠前)结构表征数据如下:

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.47 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 8.06 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.62 (q,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 5.53 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.32 – 5.16 (m, 2H), 3.61 (dd,  $J = 6.3, 5.1$  Hz, 1H), 3.32 – 3.22 (m, 2H), 2.19 (q,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 1.92 – 1.80 (m, 2H), 1.28 – 1.20 (m, 1H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 0.54 – 0.35 (m, 4H).

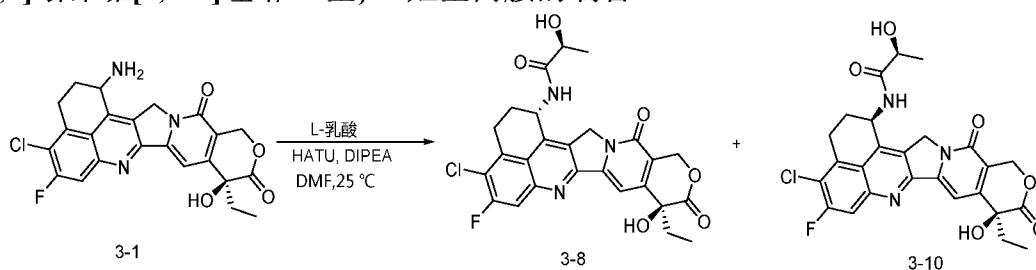
ESI-MS ( $m/z$ ):554.0[M+H] $^+$ .

3-12-D (6 min LCMS 出峰靠后)结构表征数据如下:

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.44 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 8.05 (d,  $J = 10.2$  Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.58 (q,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 5.45 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.31 – 5.14 (m, 2H), 3.65 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 3.33 – 3.21 (m, 2H), 2.28 – 2.13 (m, 2H), 1.95 – 1.80 (m, 2H), 1.16 – 1.09 (m, 1H), 0.88 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 0.46 – 0.31 (m, 4H).

ESI-MS ( $m/z$ ):554.0[M+H] $^+$ .

20 实施例十七: (S)-N-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺和(S)-N-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺的制备



3-7-A & 3-7-B

25  $^{\circ}\text{C}$  下, 将(9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-2,3,12,15-四氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13(1H,9H)-二酮 (80.0 mg, 175.5  $\mu\text{mol}$ )和 L-乳酸(31.6 mg, 351.0

$\mu\text{mol}$ ),溶于 DMF (3 mL)中, 然后加入 HATU (121.1 mg, 351.0  $\mu\text{mol}$ )和 DIPEA (68.0 mg, 526.5  $\mu\text{mol}$ ), 室温反应 2 hr; 反应液直接用制备高效液相色谱纯化得到化合物 3-7-A(6.1 mg, 收率 12%)和化合物 3-7-B(9.6 mg, 收率 20%)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0 $\mu\text{m}$

5 流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	30	70	24
2.00	30	70	24
18.00	90	10	24

化合物 3-7-A(6 min LC-MS 出峰靠前, 保留时间 2.49 min)结构表征数据如下:

MS m/z (ESI): 528.2 [M+H]<sup>+</sup>

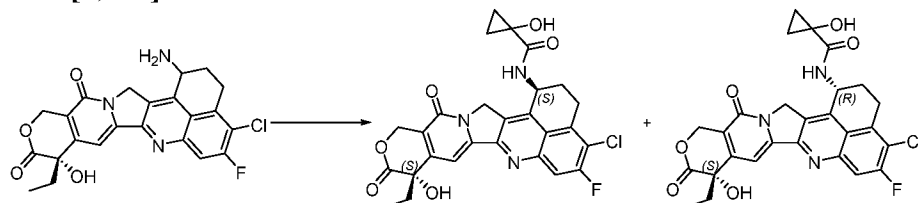
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.55 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.67 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 5.65 – 5.59 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.29 – 5.21 (m, 1H), 5.14 – 5.10 (m, 1H), 4.15 – 4.10 (m, 1H), 3.27 – 3.20 (m, 1H), 2.22 – 2.15 (m, 2H), 1.92 – 1.81 (m, 2H), 1.41 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.30 – 1.23 (m, 1H), 0.89 – 0.85 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

化合物 3-7-B(6 min LC-MS 出峰靠后, 保留时间 2.50 min)结构表征数据如下:

MS m/z (ESI): 528.2 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.46 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.56 (s, 1H), 5.60 – 5.53 (ms, 1H), 5.51 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.27 – 5.14 (m, 2H), 4.16 – 4.08 (m, 1H), 3.28 – 3.22 (m, 1H), 2.22 – 2.19 (m, 2H), 1.92 – 1.81 (m, 2H), 1.49 – 1.39 (m, 1H), 1.29 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

20 实施例十八 N-((1*S*,9*S*)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基-1-羟基环丙基甲酰胺化合物和 N-((1*R*,9*S*)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基-1-羟基环丙基甲酰胺化合物的合成



3-1

3-17-A &amp; 3-17-B

25 25 $^{\circ}\text{C}$  下, 将(9*S*)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-2,3,12,15-四氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-10,13(1*H*,9*H*)-二酮 (80 mg, 175.49  $\mu\text{mol}$ )和 1-羟基环丙烷羧酸 (35.83 mg, 350.98  $\mu\text{mol}$ ),溶于 DMF (2 mL)中, 然后加入 HATU (121.14 mg, 350.98  $\mu\text{mol}$ )和 DIPEA (68.04 mg, 526.47  $\mu\text{mol}$ ), 加完后, 室温反应 0.5 hr; 反应液浓缩至干直接用高

效液相质谱联用色谱检测反应；反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物 3-17-A 5.3 mg 和 3-17-B 3.5 mg。

色谱柱：SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0μm

流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	15	85	28
2.00	15	85	28
18.00	90	10	28

5 结构表征数据如下：

3-17-A(6 min LCMS 出峰靠前，保留时间：2.657 min)结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):540.0[M+H]<sup>+</sup>。

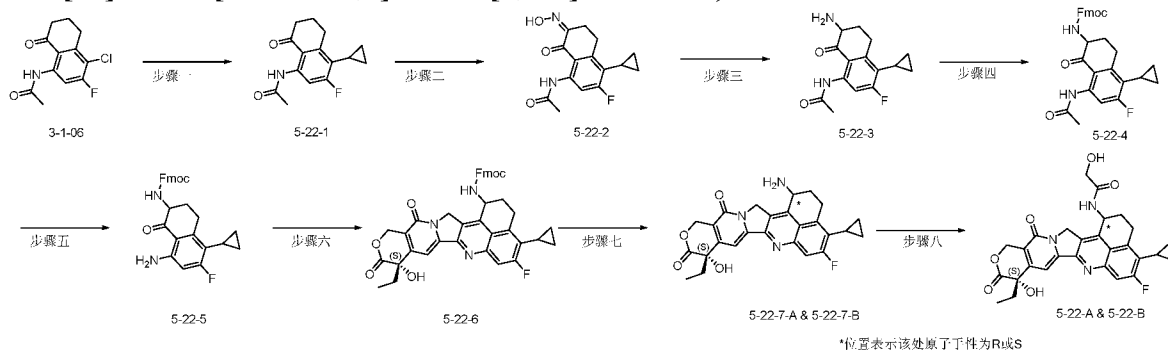
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.69 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.32 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 5.34 – 5.24 (m, 1H), 5.20 – 5.10(m, 10 1H), 2.26 (s, 2H), 2.00 (s, 1H), 1.88 (s, 2H), 1.47 – 1.12 (m, 8H), 1.01 – 0.80(m, 6H)。

3-17-A(6 min LCMS 出峰靠后，保留时间：2.724 min)结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):540.0[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.69 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.32 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 5.34 – 5.24 (m, 1H), 5.20 – 5.10(m, 15 1H), 2.26 (s, 2H), 2.00 (s, 1H), 1.88 (s, 2H), 1.47 – 1.12 (m, 8H), 1.01 – 0.80(m, 6H)。

实施例十九 N-((1S,9S)-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧-1,2,3,9,10,12,13,15-四氢苯并[de]吡喃并[3', 4': 6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺化合物的合成



20 步骤一：N-(4-氯-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

将 N-(4-氯-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(570 mg, 2.23 mmol)和环丙基硼酸(574.56 mg, 6.69 mmol)溶于 1,4-二氧六环中，加入二氯二叔丁基-(4-二甲基氨基苯基)膦钯(II) (480 mg, 677.97 μmol)和碳酸铯(2.17 g, 6.69 mmol)，氮气保护后，微波 115°C 反应 2 h；用高效液相质谱联用色谱检测反应；反应液用乙酸乙酯稀释后过滤，滤液用乙酸乙酯(30ml\*3)萃取，合并有机相，用饱和食盐水(50 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥有机相，然

25

后过滤，滤液减压蒸干，粗品经柱层析硅胶柱纯化(PE: EA=1:4)，得到标题化合物 550 mg。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):262.1[M+H]<sup>+</sup>。

5 步骤二：N-(4-环丙基-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成  
将四氢呋喃(30 mL)和叔丁醇(10 mL)加入反应液瓶中，冰浴降温至 5°C 后，加入叔丁醇钾(945 mg, 8.42 mmol)，然后将 N-(4-氯-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(1.0 g, 3.83 mmol)溶于四氢呋喃(1 mL)中，并缓慢滴加入反应液，10 分钟后再加入亚硝酸异戊酯 (718 mg, 6.12 mmol)，加毕，保持 5 °C 反应 1 小时；用高效液相质  
10 谱联用色谱检测反应；反应液用饱和氯化铵水溶液(50 mL)淬灭后，用乙酸乙酯(40ml\*3)萃取，合并有机相，用饱和食盐水(50 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥有机相，然后过滤，滤液减压蒸干得标题化合物的粗品 1.2 g。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):291.1[M+H]<sup>+</sup>。

15 步骤三：N-(7-氨基-4-环丙基-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺盐酸盐的合成  
将 N-(4-环丙基-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的粗品(1.2 g, 1.41 mmol)溶于甲醇(7.5 mL)和四氢呋喃(7.5 mL)中，然后加入 1 mol/L 的盐酸水溶液(7.5 mL)和 10% 钯碳(450 mg)，加毕，用氢气球置换反应体系三次，并在氢气氛围下室温反应 1 小时；用高效液相质谱联用色谱检测反应；反应液过滤，滤液减压浓缩干得到粗  
20 品 1.05 g。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):277.1[M+H]<sup>+</sup>。

步骤四：(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰胺-5-环丙基-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

25 将 N-(7-氨基-4-环丙基-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的盐酸盐粗品(1.05 g, 3.80 mmol)溶于 1,4-二氧六环(10 mL)中，然后加入碳酸氢钠(1.3 g, 15.20mmol)、水(10 mL)和 9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(1.54 g, 4.56 mmol)，加毕，室温下搅拌反应 2 小时；用高效液相质谱联用色谱检测反应；反应液倒入水(50 mL)中，然后用乙酸乙酯(40 mL\*3)萃取，合并有机相，用饱和食盐水(50 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥有机相，过滤，  
30 滤液减压整干得粗品。粗品经 C18 反相柱纯化得标题化合物 2.0 g。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):499.2[M+H]<sup>+</sup>。

步骤五：(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-5-环丙基-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

35 将(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰胺-5-环丙基-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯

(2.0 g, 3.21 mmol, 80%)溶于二氧六环(20 mL)中, 加入 12mol/L 的浓盐酸 (5 mL), 加毕, 升温至 70 °C 反应 2 小时; 用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液倒入水(40 mL)中, 然后用乙酸乙酯(30 mL\*3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水(40 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液减压整干得粗品。粗品经柱层析硅胶柱纯化(PE: EA=2:1), 得

5 标题化合物 740 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):457.3[M+H]<sup>+</sup>。

步骤六: (9H-苈-9-基)甲基((9S)-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4:6,7]吡啶[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯的

10 合成

将(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吡啶[1,2-b]喹啉-3,6,10(4H)-三酮(442 mg, 1.68 mmol)和(9H-苈-9-基)甲基(8-氨基-5-环丙基-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯(640 mg, 1.40 mmol)加入甲苯 (30 mL)中, 然后再加入对甲苯磺酸(242 mg, 1.40 mmol), 加毕, 升温至 135°C 反应 2 小时, 反应液直接 140°C 下减压蒸干得粗品; 粗品经柱层析

15 硅胶柱纯化(DCM: MeOH=33:1), 得标题化合物 1.02 g。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):684.1[M+H]<sup>+</sup>。

步骤七: (1S,9S)-1-氨基-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4': 6,7]吡啶[1,2-b]喹啉-10,13-二酮(化合物 5-29-1)&(1R,9S)-1-氨基-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

20

将(9H-苈-9-基)甲基((9S)-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4:6,7]吡啶[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯(1.02 g, 1.49 mmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(15 mL)中, 然后加入二乙胺(5ml), 加毕, 室温反应 0.5 小时; 用

25

高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液减压蒸出二乙胺后, 用 1 mol/L 盐酸水溶液调 pH 至 2-3 后, 反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物的两个异构体(5-22-7-A: 60 mg; 5-22-7-B: 55 mg)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0μm

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	10	90	28
3.00	10	90	28
18.00	70	30	28

30

5-22-7-A (6 min LCMS 出峰靠前, 保留时间: 2.28 min)结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):462.2[M+H]<sup>+</sup>。

5-22-7-B (6 min LCMS 出峰靠后, 保留时间: 2.35 min) 结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z): 462.2 [M+H]<sup>+</sup>.

步骤八 N-((1S,9S)-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧-1,2,3,9,10,12,13,15-四氢苯并[de]吡喃并[3', 4': 6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺和 N-((1R,9S)-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧-1,2,3,9,10,12,13,15-四氢苯并[de]吡喃并[3', 4': 6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺的合成

25°C 下, 将单一构型的化合物 5-28-7-A (40 mg, 86 μmol) 和乙醇酸 (8 mg, 104 μmol) 溶于 DMF (2 mL) 中, 然后加入 HATU (40 mg, 104 μmol) 和 DIPEA (36 mg, 258 μmol), 加完后, 室温反应 0.5 hr; 反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液直接用制备高效液相色谱纯化得化合物 5-22-A 12.5 mg。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05% 甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	10	90	28
2.00	10	90	28
18.00	90	10	28

结构表征数据如下:

5-22-A (6 min LCMS 出峰靠前, 保留时间: 2.540 min) 结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z): 520.0 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.46 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.64 – 5.56 (m, 1H), 5.49 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 3.96 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.25 – 2.10 (m, 2H), 2.04 – 1.79 (m, 4H), 1.23 (s, 2H), 1.15 – 1.05 (m, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.80 – 0.70 (m, 2H).

25°C 下, 将单一构型的化合物 5-28-7-B (30 mg, 65 μmol) 和乙醇酸 (6 mg, 78 μmol) 溶于 DMF (2 mL) 中, 然后加入 HATU (40 mg, 104 μmol) 和 DIPEA (17 mg, 130 μmol), 加完后, 室温反应 0.5 hr; 反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液直接用制备高效液相色谱纯化得化合物 5-22-B 13.83 mg。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0 μm

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05% 甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	10	90	28
2.00	10	90	28
18.00	90	10	28

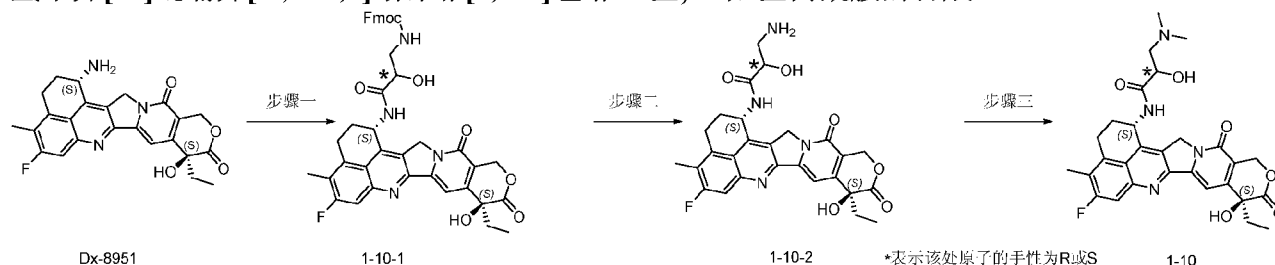
结构表征数据如下:

5-22-B (6 min LCMS 出峰靠前, 保留时间: 2.612 min) 结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):520.0[M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.49 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.60 (s, 1H), 5.51 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.25 – 5.13 (m, 2H), 3.97 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.18 (s, 2H), 2.04 – 1.91 (m, 4H), 1.90 – 1.80 (m, 1H), 1.23 (s, 6H), 1.15 – 1.05(m, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 4H), 0.80 – 0.70 (m, 2H).

实施例二十 (R)-3-(二甲胺)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺和 (S)-3-(二甲胺)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺的合成



步骤一：(9H-氟-9-基)甲基 ((S)-3-(((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-2-羟基-3-氧丙基)氨基甲酸酯和(9H-氟-9-基)甲基 ((R)-3-(((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-2-羟基-3-氧丙基)氨基甲酸酯的合成

25°C 下，将(1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-2,3,12,15-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-10,13(1H,9H)-二酮甲磺酸盐(72 mg, 166 μmol)和 3-(((9H-芬-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-2-羟基丙酸 (65 mg, 199 μmol,)溶于 DMF (2 mL)中，然后加入 HATU (95 mg, 250 μmol)和 DIPEA (65 mg, 498 μmol)，加完后，室温反应 0.5 hr；反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应；反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物(化合物 1-10-1-A)24 mg 和(化合物 1-10-1-B)28 mg。

色谱柱：SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0μm

流动相 A：乙腈；流动相 B：水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	15	85	28
2.00	15	85	28
18.00	90	10	28

化合物 1-10-1-A(6 min LCMS 出峰靠前，保留时间：3.283 min)结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):745.4[M+H]<sup>+</sup>.

化合物 1-10-1-B(6 min LCMS 出峰靠后, 保留时间: 3.465 min)结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):745.4[M+H]<sup>+</sup>.

步骤二: (R)-3-氨基-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺的合成和(S)-3-氨基-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺的合成

25°C 下, 将化合物 1-10-1-B (28 mg, 37 μmol)溶于 DMF (2 mL)中, 然后加入二乙胺 (1 mL), 加完后, 室温反应 1.0 hr; 反应液浓缩至干得到产物粗品(化合物 1-10-2-B)28 mg, 直接用于下一步反应。

25°C 下, 将化合物 1-10-1-A (24 mg, 33 μmol)溶于 DMF (2 mL)中, 然后加入二乙胺 (1 mL), 加完后, 室温反应 1.0 hr; 反应液浓缩至干得到产物粗品(化合物 1-10-2-A)24 mg, 直接用于下一步反应。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):523.2[M+H]<sup>+</sup>.

步骤三: (R)-3-(二甲胺)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺的合成和(S)-3-(二甲胺)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺的合成

25°C 下, 将化合物 1-10-2-B (28 mg, 37 μmol,70%)溶于甲醇中 (2 mL)中, 然后加入甲醛水溶液 (1 mL), 加完后, 室温反应 16.0 hr 后, 再加入氰基硼氢化钠 (7.07 mg, 96.45 μmol), 室温反应 1.0 hr; 反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物(化合物 1-10B)1.3 mg。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0μm

流动相 A: 甲醇; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	15	85	28
2.00	15	85	28
18.00	90	10	28

化合物 1-10-B(6 min LCMS 出峰靠前, 保留时间: 1.937min)结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):551.2[M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.48 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.31 (s, 2H), 7.80 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.54 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.34 (d, J = 19.2 Hz, 1H), 5.19 (d, J = 19.1 Hz, 1H), 4.09 – 4.06 (m, 1H), 3.20 – 3.15 (m, 2H), 2.59 – 2.53 (m, 1H), 2.45 – 2.42 (m, 1H), 2.42 – 2.38 (s, 3H), 2.23 – 2.19 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 2.13 (s, 6H), 2.12 – 2.08 (m, 1H), 2.02

– 1.95 (m, 1H), 1.90 – 1.85 (m, 2H), 1.23 (s, 2H), 0.88 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

25°C 下, 将化合物 1-10-2-A (24 mg, 33  $\mu$ mol, 70%) 溶于甲醇中 (2 mL) 中, 然后加入甲醛水溶液 (1 mL), 加完后, 室温反应 16.0 hr 后, 再加入氰基硼氢化钠 (6.06 mg, 96.45  $\mu$ mol), 室温反应 1.0 hr; 反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物(化合物 1-10-A)4.44 mg。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0 $\mu$ m

流动相 A: 甲醇; 流动相 B: 水(0.05% 甲酸)

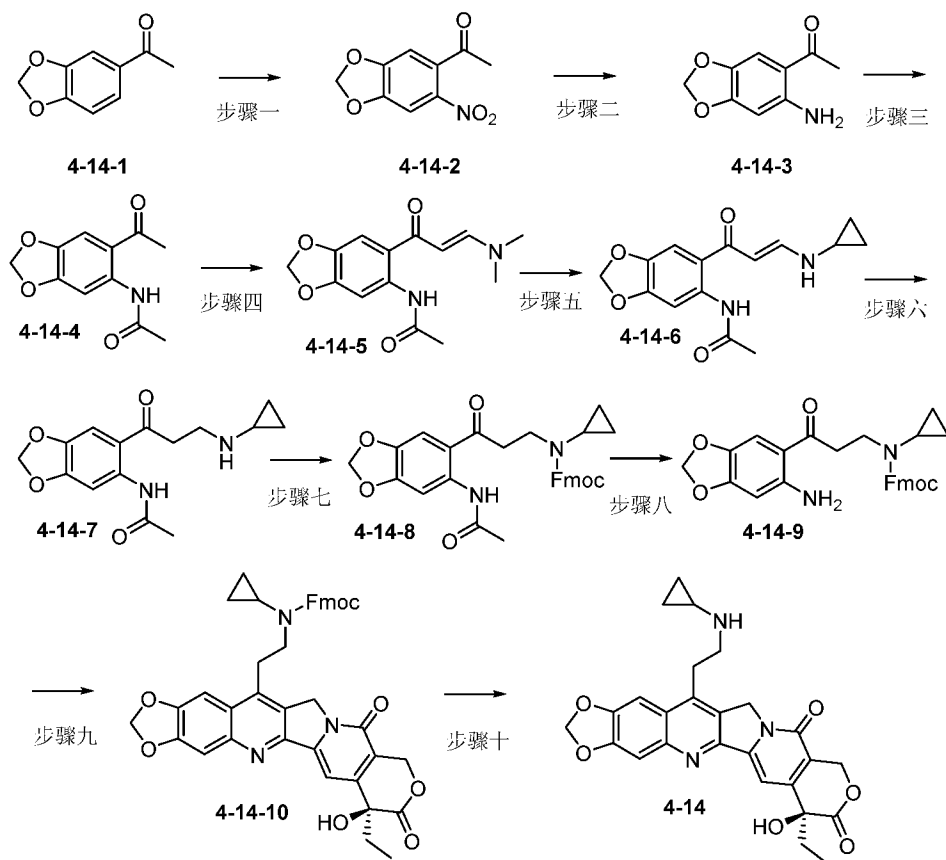
时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	15	85	28
2.00	15	85	28
18.00	90	10	28

化合物 1-10-A(6 min LCMS 出峰靠前, 保留时间: 1.920min) 结构表征数据如下:

ESI-MS ( $m/z$ ): 551.2[M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.58 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.84 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 5.66 – 5.59 (m, 1H), 5.49 (s, 2H), 5.35 (d,  $J = 19.1$  Hz, 1H), 5.17 (d,  $J = 18.9$  Hz, 1H), 4.23 – 4.16 (m, 1H), 3.23 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 2.75 – 2.67 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.30 (s, 6H), 2.27 – 2.17 (m, 2H), 2.14 – 1.99 (m, 1H), 1.98 – 1.87 (m, 2H), 1.30 (s, 2H), 0.93 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).

实施例二十一 (S)-14-(2-(环丙胺基)乙基)-7-乙基-7-羟基-7H-[1,3]二氧杂戊环并[4,5-g]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-8,11(10H,13H)-二酮(化合物 4-14)



#### 步骤一：2-硝基-4,5-亚甲二氧基苯乙酮的合成

将化合物 4-14-1(10.0 g, 60.92 mmol)溶于硝基甲烷(100 mL), 搅拌下缓慢滴入浓硝酸(26 mL), 室温反应 2 小时。TLC 监控反应, 原料少量残余, 产物明显。缓慢滴入饱和碳酸氢钠水溶液中中和反应, 加入二氯甲烷萃取 3 次, 有机相合并, 饱和食盐水洗涤 3 次后干燥, 浓缩得粗品。硅胶柱纯化(洗脱剂: 0-20% 乙酸乙酯/石油醚)得标题化合物 9.8 g。

#### 步骤二：6-氨基-3,4-亚甲二氧基苯乙酮的合成

将化合物 4-14-2(2.0 g, 9.56 mmol)溶于乙酸乙酯(20 mL), 加入 10% 钯碳(0.2 g), 氢气置换并保护下搅拌反应 4 小时。过滤, 滤液减压浓缩后得标题化合物粗品 1.7 g。

#### 步骤三：6-乙酰氨基-3,4-亚甲二氧基苯乙酮的合成

将化合物 4-14-3(1.7 g, 9.49 mmol)溶于乙酸酐(17 mL), 搅拌反应 1 小时。减压蒸除溶剂, 加水搅拌, 过滤, 固体水洗后真空干燥得标题化合物粗品 2.08 g。

#### 步骤四：(E)-N-(6-(3-(二甲氨基)丙烯酰)苯并[d][1,3]二氧杂戊环-5-基)乙酰胺的合成

将化合物 4-14-4(1.88 g, 8.50 mmol)溶于 DMF-DMA(30 mL), 升温 120℃ 反应 2 小时。减压蒸除溶剂后得标题化合物粗品 2.33 g。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z): 277.2[M+1]<sup>+</sup>。

#### 步骤五：(E)-N-(6-(3-(环丙基氨基)丙烯酰)苯并[d][1,3]二氧杂戊环-5-基)乙酰胺的合成

将化合物 4-14-5(200 mg, 0.72 mmol)溶于乙醇(5 mL), 滴入环丙胺(413.3 mg, 7.24

mmol), 升温 50℃ 反应 16 小时。减压蒸除溶剂得标题化合物粗品 208 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):289.2[M+1]<sup>+</sup>.

步骤六: N-(6-(3-(环丙基氨基)丙酰基)苯并[d][1,3]二氧杂戊环-5-基)乙酰胺的合成

5 将化合物 4-14-6(208 mg, 0.72 mmol)溶于冰醋酸(4 mL), 冰水浴冷却搅拌下加入硼氢化钠(13.65 mg, 0.36 mmol), 恢复室温搅拌 3 小时。减压蒸除溶剂得标题化合物粗品 209 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):291.1[M+1]<sup>+</sup>.

10 步骤七: (9H-苈-9-基)甲基(3-(6-乙酰氨基苯并[d][1,3]二氧杂戊环-5-基)-3-氧丙基)(环丙基)氨基甲酸酯的合成

将化合物 4-14-7(200 mg, 0.69 mmol)溶于 1,4-二氧六环(20 mL)和水(20 mL), 搅拌下加入 9-苈甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(395 mg, 0.68 mmol)和碳酸氢钠(231.5 mg, 2.76 mmol), 室温反应 2 小时。加水和乙酸乙酯搅拌, 静置分液, 有机相用饱和食盐水洗涤后干燥浓缩, 硅胶柱纯化(洗脱剂: 30%乙酸乙酯/石油醚), 得标题化合物 350 mg。

步骤八: (9H-苈-9-基)甲基(3-(6-氨基苯并[d][1,3]二氧杂戊环-5-基)-3-氧丙基)(环丙基)氨基甲酸酯的合成

将化合物 4-14-8(350mg, 0.68mmol)溶于 1,4-二氧六环(10 mL), 滴入 3 N 盐酸水溶液(10 mL), 升温 60℃ 搅拌反应 16 小时。加入水和乙酸乙酯搅拌, 静置分液, 有机相水洗后干燥浓缩, 硅胶柱纯化(洗脱剂: 33%乙酸乙酯/石油醚), 得标题化合物 218 mg。

步骤九: (S)-(9H-苈-9-基)甲基环丙基(2-(7-乙基-7-羟基-8,11-二氧基-8,10,11,13-四氢-7H-[1,3]二氧杂戊环并[4,5-g]吡喃并[3,4]:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-14-基)乙基)氨基甲酸酯的合成

将化合物 4-14-9(40 mg, 0.085 mmol)和(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃[3,4-f]吡啶并[3,6,10(4H)-三酮(24.62 mg, 0.094 mmol)溶于甲苯(1 mL), 加入对甲苯磺酸(2.93 mg, 0.017 mmol), 升温 120℃ 反应 4 小时。减压浓缩得标题化合物粗品 59 mg。

结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):698.1[M+1]<sup>+</sup>.

30 步骤十: (S)-14-(2-(环丙胺基)乙基)-7-乙基-7-羟基-7H-[1,3]二氧杂戊环并[4,5-g]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-8,11(10H,13H)-二酮的合成

将化合物 4-14-10(59 mg, 0.085 mmol)溶于 DMF(1 mL), 滴入二乙胺(0.5 mL), 搅拌反应 1 小时。减压蒸除二乙胺, 滴入 3 N 盐酸酸化后, 经高效液相制备纯化(纯化条件如下), 冻干得标题化合物的三氟乙酸盐 12.66 mg。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0μm

35 流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%三氟乙酸)

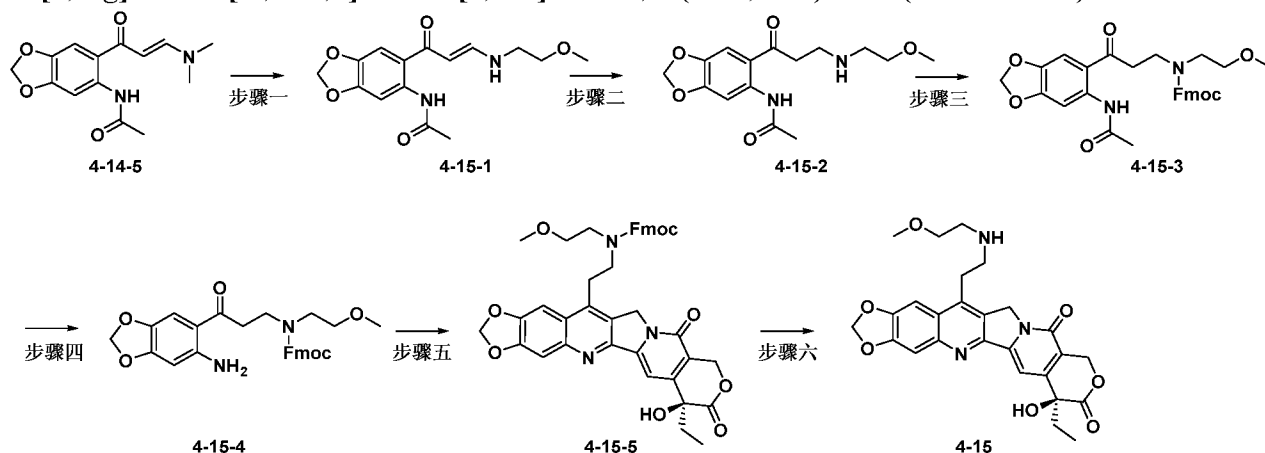
时间[ <i>min</i> ]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[ <i>mL/min</i> ]
0	20	80	28
2	20	80	28
18	80	20	28

结构表征数据如下:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.73 (s, 2H), 7.67 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.33 (s, 2H), 5.44 (s, 2H), 5.34 (s, 2H), 3.40 (s, 4H), 2.82 (s, 1H), 1.91 - 1.81 (m, 2H), 0.87 (t,  $J = 7.2$  Hz, 5H), 0.79 (d,  $J = 7.4$  Hz, 2H).

5 ESI-MS ( $m/z$ ):476.1[M+1] $^+$ .

实施例二十二(S)-7-乙基-7-羟基-14-(2-((2-甲氧基乙基)氨基)乙基)-7H-[1,3]二氧杂环并[4,5-*g*]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉[1,2-*b*]喹啉-8,11(10H,13H)-二酮(化合物 4-15)



10

步骤一: (E)-N-(6-(3-((2-甲氧基乙基)氨基)丙烯酰)苯并[d][1,3]二氧杂环-5-基)乙酰胺的合成

将化合物 4-14-5(200 mg, 0.72mmol)溶于乙醇(5 mL), 滴入 2-甲氧基乙胺(543.7 mg, 7.24 mmol), 升温 50°C 反应 16 小时。LCMS 监控反应, 原料有少量残余, 产物明显。减压蒸除溶剂, 得标题化合物 221mg, 直接进行下一步反应。

15

结构表征数据如下:

ESI-MS ( $m/z$ ):307.1[M+1] $^+$

步骤二: N-(6-(3-((2-甲氧基乙基)氨基)丙酰基)苯并[d][1,3]二氧杂环-5-基)乙酰胺的合成

将化合物 4-15-1(200 mg, 0.65 mmol)溶于冰醋酸(4 mL), 冰水浴冷却搅拌下加入硼氢化钠(12.35 mg, 0.33 mmol), 恢复室温搅拌 3 小时。LCMS 监控反应, 原料消失, 产物明显。减压蒸除溶剂, 得标题化合物 200mg, 直接进行下一步反应。

20

ESI-MS ( $m/z$ ):309.1[M+1] $^+$

步骤三：(9H-苈-9-基)甲基(3-(6-乙酰氨基苯并[d][1,3]二氧醇-5-基)-3-氧丙基)(2-甲氧基乙基)氨基甲酸酯的合成

将化合物 4-15-2 的粗品(200 mg, 0.65 mmol)溶于 1,4-二氧六环(20 mL)和水(20 mL), 搅拌下加入 9-苈甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(372 mg, 0.65 mmol)和碳酸氢钠(231.5 mg, 2.76 mmol), 室温反应 2 小时。TLC 监控原料消失, 产物明显。加水和乙酸乙酯搅拌, 静置分液, 有机相用饱和食盐水洗涤后干燥浓缩, 硅胶柱纯化(洗脱剂: 50%乙酸乙酯/石油醚), 得标题化合物 180 mg。

步骤四：((9H-苈-9-基)甲基(3-(6-氨基苯并[d][1,3]二恶英-5-基)-3-氧丙基)(2-甲氧基乙基)氨基甲酸酯的合成

10 将化合物 4-15-3(180 mg, 0.68 mmol)溶于 1,4-二氧六环(5 mL), 滴入 3N 盐酸水溶液(5 mL), 升温 60°C 搅拌反应 16 小时。加入水和乙酸乙酯搅拌, 静置分液, 有机相水洗后干燥浓缩, 硅胶柱纯化(洗脱剂: 45%乙酸乙酯/石油醚), 得标题化合物 132mg。

15 步骤五：(S)-(9H-苈-9-基)甲基(2-(7-乙基-7-羟基-8,11-二氧基-8,10,11,13-四氢-7H-[1,3]二氧杂环并[4,5-g]吡喃并[3', 4]: 6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-14-基)乙基)(2-甲氧基乙基)氨基甲酸酯的合成

将化合物 4-15-4(130 mg, 0.266 mmol)和 rac-(4S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吡啶-3,6,10-三酮(70.05 mg, 0.266 mmol)溶于甲苯(4 mL), 加入对甲苯磺酸(9.16 mg, 0.053 mmol), 升温 120°C 反应 4 小时。LCMS 监控反应, 原料消失, 产物明显。减压浓缩, 得标题化合物的粗品 190 mg。

20 结构表征数据如下:

ESI-MS (*m/z*): 716.1[M+1]<sup>+</sup>

步骤六：(S)-7-乙基-7-羟基-14-(2-((2-甲氧基乙基)氨基)乙基)-7H-[1,3]二氧杂环并[4,5-g]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-8,11(10H,13H)-二酮的合成

25 将化合物 4-15-5(190 mg, 0.265 mmol)溶于 DMF(3 mL), 滴入二乙胺(2 mL), 搅拌反应 1 小时。LCMS 监控反应, 原料消失, 产物明显。减压蒸除二乙胺, 滴入 3N 盐酸酸化后制备纯化, 冻干得标题化合物 99.28 mg。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0μm

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	20	80	28
2	20	80	28
18	80	20	28

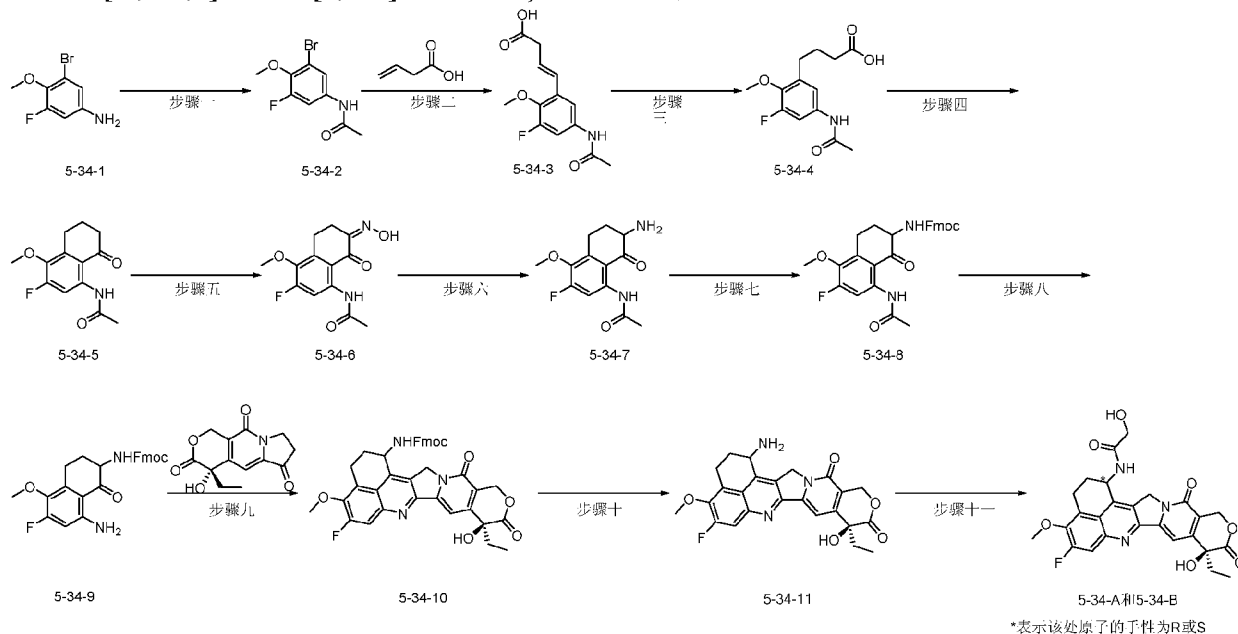
结构表征数据如下:

30 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.68 (s, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.32 (s, 2H), 5.44 (s, 2H), 5.31 (s, 2H), 3.65 – 3.58 (m, 2H), 3.42 (d, *J* = 10.2 Hz,

2H), 3.36 (s, 3H), 3.22 (d,  $J = 4.0$  Hz, 4H), 1.94 – 1.80 (m, 2H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).

ESI-MS ( $m/z$ ): 494.2[M+1]<sup>+</sup>

5 实施例二十三 N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺 & N-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺



10 步骤一：N-(3-溴-5-氟-4-甲氧基苯基)乙酰胺的合成

将 3-溴-5-氟-4-甲氧基-苯胺(1.7 g, 7.73 mmol) 溶于四氢呋喃(30 mL) 中，然后加入三乙胺(2.35 g, 23.18 mmol) 和乙酸酐(1.18 g, 11.59 mmol)，加毕，升温至 50°C 搅拌反应 4 小时；用高效液相质谱联用色谱检测反应；将反应液冷却至室温后，用乙酸乙酯(50 mL) 稀释，然后用清水(30 mL)和饱和食盐水(30 mL)各洗涤一次，分出有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压蒸干得粗品，经(石油醚：乙酸乙酯=5:1)打浆纯化得标题化合物 1.1 g。

结构表征数据如下：

ESI-MS ( $m/z$ ): 262.0[M+H]<sup>+</sup>。

步骤二：(E)-4-(5-乙酰胺基-3-氟-2-甲氧基苯基)-3-丁烯酸的合成

20 将 N-(3-溴-5-氟-4-甲氧基苯基)乙酰胺(1.1 g, 4.20 mmol)和 3-丁烯酸(397.47 mg, 4.62 mmol)溶于 1,4 二氧六环(20 mL)和水(5 mL)的混合溶剂中，然后加入三乙胺(1.27 g, 12.59 mmol)，三(邻甲基苯基)磷(127.75 mg, 419.73 μmol)和醋酸钨(47.12 mg, 209.89 μmol)，加毕，反应体系用氮气置换三次，并在氮气氛围下升温至 100°C 反应 4 小时；用高效液相

质谱联用色谱检测反应；反应液冷却至室温后，加入 1 mol/L 的氢氧化钠水溶液(50 mL)和乙酸乙酯(50 mL)振荡分层。分出下层水相后，用 4 mol/L 盐酸水溶液调节 pH 至 3 左右，然后用乙酸乙酯(40 mL\*2)萃取，合并有机相用饱和食盐水(40 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压蒸干得到标题化合物的粗品 1.1 g。

5 结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):268.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤三：4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲氧基苯基)丁酸的合成

10 将(E)-4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲氧基苯基)-3-丁烯酸的粗品(1.1 g, 4.12 mmol)溶于甲醇(20 mL)，然后加入 10%钯碳(100 mg)，加毕，然后用氢气球置换反应体系三次，并在氢气氛围下反应 4 小时；用高效液相质谱联用色谱检测反应；反应液过滤，滤液减压浓缩干得标题化合物的粗品 1.05 g。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):270.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤四：N-(3-氟-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

15 将 4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲氧基苯基)丁酸的粗品(1.1 g, 4.09 mmol)溶于三氟乙酸(10 mL)中，降温至 5°C 后，缓慢加入三氟乙酸酐(4.29 g, 20.43 mmol)，加毕，自然升至室温反应 2 小时；用高效液相质谱联用色谱检测反应；反应液缓慢倒入水(60 mL)中，然后用乙酸乙酯(40 mL\*3)萃取，合并有机相，用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤至中性，然后再用饱和食盐水(40 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥有机相，然后过滤，滤液减压蒸干得粗品，经快速  
20 硅胶柱(乙酸乙酯:石油醚=0-40%)纯化得标题化合物 503 mg。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):252.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤五：N-(3-氟-7-(羟基亚氨基)-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

25 将四氢呋喃(15 mL)和叔丁醇(4 mL)加入反应液瓶中，冰浴降温至 5°C 后，加入叔丁醇钾(491.26 mg, 4.38 mmol)，然后将 N-(3-氟-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(500 mg, 1.99 mmol)溶于四氢呋喃(5 mL)中，并缓慢滴加入反应液，10 分钟后再加入亚硝酸异戊酯(373.01 mg, 3.18 mmol)，加毕，保持 5°C 反应 1 小时；用高效液相质谱联用色谱检测反应；反应液用饱和氯化铵水溶液(50 mL)淬灭后，用乙酸乙酯(40\*2)萃取，合并有机相，用饱和食盐水(40 mL)洗涤，无水硫酸钠干燥有机相，然后过滤，滤液减压  
30 蒸干得标题化合物的粗品 550 mg。

结构表征数据如下：

ESI-MS (m/z):281.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤六：N-(7-氨基-3-氟-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

35 将 N-(3-氟-7-(羟基亚氨基)-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的粗品(520 mg, 1.86 mmol)溶于甲醇(10 mL)和四氢呋喃(10 mL)的混合溶液中，然后加入 1 mol/L 的

盐酸水溶液 (3.71 mL)和 10%钯碳(50 mg), 加毕, 用氢气球置换反应体系三次, 并在氢气氛围下室温反应 1 小时; 用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液过滤, 滤液减压浓缩干得标题化合物的盐酸盐粗品 551 mg。

结构表征数据如下:

5 ESI-MS (m/z):267.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤七: (9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰胺-6-氟-5-甲氧基-1-氧基-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

10 将 N-(7-氨基-3-氟-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的盐酸盐粗品(550 mg, 1.64 mmol)溶于 1,4-二氧六环(15 mL)中, 然后加入碳酸氢钠(549.45 mg, 6.54 mmol)、水 (5 mL)和 9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(1.12 g, 1.96 mmol), 加毕, 室温下搅拌反应 2 小时; 用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液倒入水(50 mL)中, 然后用乙酸乙酯 (40 mL\*2)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水(40 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液减压整干得粗品。粗品经 C18(乙腈/0.05%甲酸水溶液, 20%乙腈~100%乙腈)反相柱纯化得标题化合物 410 mg。

15 结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):489.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤八: (9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-6-氟-5-甲氧基-1-氧基-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

20 将(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰胺-6-氟-5-甲氧基-1-氧基-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯 (410 mg, 839.29 μmol)溶于二氧六环(10 mL)中, 加入 12mol/L 的浓盐酸 (2 mL), 加毕, 升温至 70 °C 反应 2 小时; 用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液倒入水(30 mL)中, 然后用乙酸乙酯(30 mL\*2)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水(30 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 滤液减压整干得粗品。经快速硅胶(乙酸乙酯:石油醚=0-60%)纯化得标题化合物 351 mg。

25 结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):447.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤九: (9H-芴-9-基)甲基((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4:6,7]吲哚啉[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯的合成

30 将(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚啉-3,6,10(4H)-三酮(247.64 mg, 940.71 μmol)和(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-6-氟-5-甲氧基-1-氧基-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯(350 mg, 783.93 μmol)加入甲苯 (15 mL)中, 然后再加入对甲苯磺酸(134.84 mg, 783.93 μmol), 加毕, 升温至 135°C 反应 4 小时, 反应液直接 135°C 下减压蒸干得粗品; 粗品经快速硅胶(甲醇:二氯甲烷=0-6%)柱纯化得标题化合物 358 mg。

35 结构表征数据如下:

ESI-MS (m/z):674.2[M+H]<sup>+</sup>.

步骤十：(9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4': 6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

将(9H-苄-9-基)甲基((9S)- 9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4:6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯(358 mg, 531.41 μmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)中, 然后加入二乙胺(0.4 mL), 加毕, 室温反应 0.5 小时; 用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液减压蒸干得粗品, 粗品经乙酸乙酯打浆纯化得标题化合物 220 mg。

结构表征数据如下:

10 ESI-MS (m/z):452.1[M+H]<sup>+</sup>.

步骤十一：N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺&N-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺的合成

15 将(9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4': 6,7]吡啶啉[1,2-b]喹啉-10,13-二酮(50 mg, 110.76 μmol)和 2-羟基乙酸(16.85 mg, 221.51 μmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)中, 然后加入 HATU(84.17 mg, 221.51 μmol)和 N,N-二异丙基乙胺(42.94 mg, 332.27 μmol), 加毕, 室温反应 0.5 小时; 用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液直接用制备高效液相色谱纯化得单一构型标题化合物的两个异构体(5-34-A: 6.22 mg, 5-34-B: 9.81 mg)

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0μm

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	10	90	28
2.00	10	90	28
18.00	90	10	28

5-34-A 结构表征数据如下:

25 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.53 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 5.58 (q, J = 7.5, 7.0 Hz, 1H), 5.42 (d, J = 2.1 Hz, 2H), 5.25 – 5.09 (m, 2H), 3.98 (s, 2H), 3.96 (d, J = 1.1 Hz, 3H), 3.30 – 3.10 (m, 2H), 2.15 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 1.93 – 1.80 (m, 2H), 0.87 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z):510.2[M+H]<sup>+</sup>.

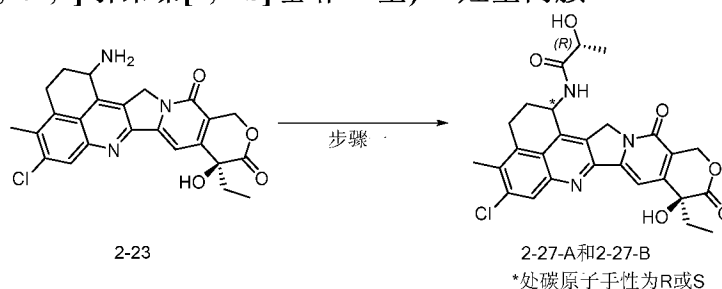
5-34-B 结构表征数据如下:

30 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.55 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 5.59 (q, J = 7.4, 6.8 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.25 – 5.11 (m, 2H), 3.99 (s, 2H), 3.96

(d,  $J = 1.1$  Hz, 3H), 3.30 – 3.13 (m, 2H), 2.15 (q,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 1.93 – 1.82 (m, 2H), 0.88 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).

ESI-MS ( $m/z$ ):510.2[M+H]<sup>+</sup>.

- 5 实施例二十四 (2R)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺 & (2R)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺



- 10 步骤一：(2R)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺 & (2R)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺的合成

- 15 将(9S)-1-氨基-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-10,13-二酮(50 mg, 110.64  $\mu$ mol)和 (2R)-2-羟基丙酸(19.93 mg, 221.29  $\mu$ mol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)中, 然后加入 HATU (84.09 mg, 221.29  $\mu$ mol)和 N,N-二异丙基乙胺(42.90 mg, 331.93  $\mu$ mol), 加毕, 室温反应 0.5 小时; 用高效液相质谱联用色谱检测反应; 反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物的两个异构体(2-27-A: 5.73 mg, 2-27-B: 7.59 mg)

- 20 色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0 $\mu$ m

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%三氟乙酸)

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	30	90	28
2.00	30	90	28
18.00	90	10	28

2-27-A 结构表征数据如下:

- 25 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.45 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.56 (q,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.25 (d,  $J = 19.0$  Hz, 1H), 5.08 (d,  $J = 19.0$  Hz, 1H), 4.13 (q,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 3.27 – 3.12 (m, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.23 – 2.13 (m, 2H), 1.92 – 1.80 (m, 2H), 1.41 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).

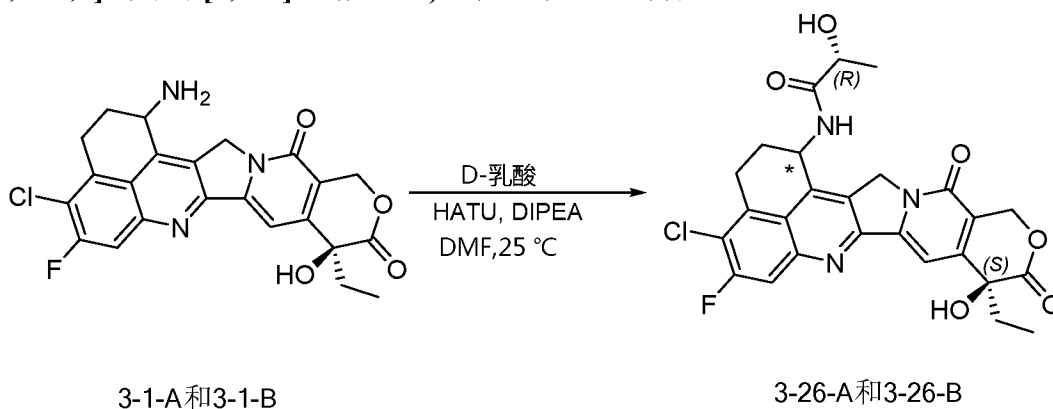
ESI-MS (m/z):524.2[M+H]<sup>+</sup>.

2-27-B 结构表征数据如下:

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.40 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.55 – 5.49 (m, 1H), 5.43 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 5.18 (q, *J* = 19.0 Hz, 2H), 4.13 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H), 3.24 – 3.12 (m, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.22 – 2.10 (m, 2H), 1.92 – 1.82 (m, 2H), 1.30 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

ESI-MS (m/z):524.2[M+H]<sup>+</sup>.

10 实施例二十五: (R)-N-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺和 (R)-N-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺的制备



\*处碳原子手性为R或S

15 25°C 下, 将 3-1-A (20.0 mg, 43.9 μmol)和 D-乳酸(7.90 mg, 87.8 μmol)溶于 DMF (1.0 mL)中, 然后加入 HATU (33.4 mg, 87.8 μmol)和 DIPEA (17.0 mg, 131.6 μmol), 室温反应 2 hr; 将反应液浓缩掉大部分 DMF, 残留用制备高效液相色谱纯化得到化合物 3-26-A(15.4 mg, 收率 64%)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm×150 mm×5.0μm

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

20 保留时间: 5.3~6.2 min

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	30	70	28
2.00	30	70	28
18.00	90	10	28

结构表征数据如下:

MS m/z (ESI): 528.2 [M+H]<sup>+</sup>

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.52 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H), 8.05 (d,  $J = 10.0$  Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.62 – 5.59 (m, 2H), 5.43 (s, 2H), 5.28 – 5.10 (m, 2H), 4.13 – 4.11 (m, 1H), 3.41 – 3.38 (m, 1H), 3.28 – 3.22 (m, 1H), 2.20 – 2.18 (m, 2H), 1.92 – 1.80 (m, 2H), 1.40 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 0.87 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

5  $25^\circ\text{C}$  下, 将 3-1-B (20.0 mg, 43.9  $\mu\text{mol}$ )和 D-乳酸(7.90 mg, 87.8  $\mu\text{mol}$ )溶于 DMF (1.0 mL)中, 然后加入 HATU (33.4 mg, 87.8  $\mu\text{mol}$ )和 DIPEA (17.0 mg, 131.6  $\mu\text{mol}$ ), 室温反应 2 hr; 将反应液浓缩掉大部分 DMF, 残留用制备高效液相色谱纯化得到化合物 3-26-B(4.8 mg, 收率 20%)。

色谱柱: SunFire Prep C18 OBD 19 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5.0 $\mu\text{m}$

10 流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 水(0.05%甲酸)

保留时间: 7.5~8.5 min

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	30	70	28
4.00	30	70	28
20.00	90	10	28

结构表征数据如下:

MS  $m/z$  (ESI): 528.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

15  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.48 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 8.06 (d,  $J = 10.4$  Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.57 (br, 1H), 5.61 – 5.55 (m, 1H), 5.48 – 5.39 (m, 2H), 5.27 – 5.16 (m, 2H), 4.15 – 4.10 (m, 1H), 3.32 – 3.21 (m, 3H), 2.23 – 2.16 (m, 2H), 1.92 – 1.81 (m, 2H), 1.30 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 0.87 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

## 生物学评价

### 20 一、肿瘤细胞增殖抑制试验

#### 1. 化合物对 HT29 细胞增殖的抑制作用

(1) 细胞铺板: 首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 HT29, 用胰酶消化细胞, 离心后重悬细胞计数, 调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 1。

表 1. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
HT29	人结肠癌细胞	中国科学院细胞库

25 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育: 待细胞贴壁后, 移除细胞中培养基, 将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中, 孵育 72 h。

体外细胞活性检测: 孵育结束后, 每孔加入 Cell Counting-Lite<sup>TM</sup> 2.0 试剂 (Vazyme/诺唯赞) 50  $\mu\text{L}$ , 避光振荡混匀, 反应 10min 后即可进行检测, 酶标仪 (厂家: BMG, 型号: PHERAStar-FS) 读数。利用不含细胞的培养基 (含 Cell Counting-

Lite™) 获得背景 RLU, 含有细胞的培养基 (含 Cell Counting-Lite™) 获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1- (样品 RLU-样品 RLU) / (溶媒 RLU-背景 RLU) ×100%, 按照四参数模型拟合曲线, 计算化合物的半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>), 检测结果如表 2 所示。

(2) 数据结果

5

表 2. HT29 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	11.27
实施例一(1-1-A)	1.28
实施例一(1-1-B)	1.54
实施例三(2-1-A)	5.03
实施例三(2-2-B)	7.52
实施例四(2-7-A)	1.56
实施例四(2-7-B)	5.44
实施例五(2-12-A)	3.01
实施例五(2-12-B)	2.34
实施例五(2-12-C)	1.49
实施例五(2-12-D)	3.29
实施例六(2-17-A)	1.24
实施例六(2-17-B)	1.59
实施例七(2-20-A)	1.29
实施例七(2-20-B)	4.03
实施例八(3-1-A)	0.16
实施例八(3-1-B)	0.71
实施例九(3-4-A)	5.55
实施例九(3-4-B)	4.98
实施例十(4-12)	4.79
实施例十一(4-10)	0.52
实施例十二(5-13-A)	0.88
实施例十三(5-7-A)	3.13
实施例十三(5-7-B)	4.66
实施例十四(5-16-A)	3.87
实施例二十(1-10-A)	61.60
实施例二十(1-10-B)	10.26
实施例二十一(4-14)	0.56

实施例二十二(4-15)	5.20
--------------	------

测试结果表明，表 2 中本发明的化合物对 HT29 结肠癌细胞增殖具有较强的增殖抑制作用。

## 2. 化合物对 A549 细胞增殖的抑制作用

(1) 细胞铺板：首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 A549，用胰酶消化细胞，离心后重悬细胞计数，调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 3。

表 3. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
A549	人肺癌细胞	中国科学院细胞库

本发明化合物和肿瘤细胞共孵育：待细胞贴壁后，移除细胞中培养基，将稀释好的生物活性分子（本发明化合物）加入到上述板孔中，孵育 72 h。

体外细胞活性检测：孵育结束后，每孔加入 Cell Counting-Lite™ 2.0 试剂（Vazyme/诺唯赞）50 0L，避光振荡混匀，反应 10min 后即可进行检测，酶标仪（厂家：BMG，型号：PHERAStar-FS）读数。利用不含细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得背景 RLU，含有细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1-（样品 RLU-样品 RLU）/（溶媒 RLU-背景 RLU）×100%，按照四参数模型拟合曲线，计算化合物的半数抑制浓度（IC50），检测结果如表 4 所示。

(2) 数据结果

表 4. A549 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	94.18
实施例一(1-1-A)	66.56
实施例四(2-7-A)	6.97
实施例四(2-7-B)	16.39
实施例五(2-12-A)	6.96
实施例五(2-12-B)	5.52
实施例五(2-12-C)	6.64
实施例七(2-20-A)	8.14
实施例七(2-20-B)	23.06
实施例十一(4-10)	68.48

测试结果表明，表 4 中本发明的化合物对 A549 人肺癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

## 3. 化合物对 NCI-H1806 细胞增殖的抑制作用

(1) 细胞铺板：首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 HCC1806，用胰酶消化细胞，

离心后重悬细胞计数，调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 5。

表 5. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
HCC1806	人乳腺鳞状癌细胞	ATCC

本发明化合物和肿瘤细胞共孵育：待细胞贴壁后，移除细胞中培养基，将稀释好的生物活性分子（本发明化合物）加入到上述板孔中，孵育 72 h。

- 5 体外细胞活性检测：孵育结束后，每孔加入 Cell Counting-Lite™ 2.0 试剂（Vazyme/诺唯赞）50 yL，避光振荡混匀，反应 10min 后即可进行检测，酶标仪（厂家：BMG，型号：PHERAStar-FS）读数。利用不含细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得背景 RLU，含有细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1-（样品 RLU-样品 RLU）/（溶媒 RLU-背景 RLU）×100%，按
- 10 按照四参数模型拟合曲线，计算化合物的半数抑制浓度（IC50），检测结果如表 6 所示。

(2) 数据结果

表 6. HCC1806 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	3.03
实施例三(2-1-A)	1.43
实施例四(2-7-A)	1.25
实施例五(2-12-A)	1.40
实施例五(2-12-B)	1.07
实施例五(2-12-C)	2.08
实施例十二(5-13-A)	0.96
实施例十六 (3-12-A)	0.16
实施例十六 (3-12-B)	1.76
实施例十六 (3-12-C)	1.91
实施例十六 (3-12-D)	1.53
实施例十七 (3-7-B)	1.94
实施例十八 (3-17-A)	1.70
实施例十八 (3-17-B)	2.26
实施例十九 (5-22-A)	2.57
实施例十九 (5-22-B)	3.71
实施例二十四 (2-27-A)	4.55
实施例二十四 (2-27-B)	3.93
实施例二十五 (3-26-A)	1.27

实施例二十五 (3-26-B)	4.93
-----------------	------

测试结果表明，表 6 中本发明的化合物对 HCC1806 人乳腺鳞状癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

#### 4. 化合物对 SKOV-3 细胞增殖的抑制作用

- (1) 细胞铺板：首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 SKOV-3，用胰酶消化细胞，离心后重悬细胞计数，调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 7。

表 7. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
SKOV-3	人卵巢癌细胞	南京科佰生物

本发明化合物和肿瘤细胞共孵育：待细胞贴壁后，移除细胞中培养基，将稀释好的生物活性分子（本发明化合物）加入到上述板孔中，孵育 72 h。

- 体外细胞活性检测：孵育结束后，每孔加入 Cell Counting-Lite™ 2.0 试剂（Vazyme/诺唯赞）50 μl，避光振荡混匀，反应 10min 后即可进行检测，酶标仪（厂家：BMG，型号：PHERAStar-FS）读数。利用不含细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得背景 RLU，含有细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1-（样品 RLU-样品 RLU）/（溶媒 RLU-背景 RLU）×100%，按照四参数模型拟合曲线，计算化合物的半数抑制浓度（IC50），检测结果如表 8 所示。

- (2) 数据结果

表 8. SKOV-3 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	17.14
实施例一(1-1-A)	7.81
实施例三(2-1-A)	7.12
实施例四(2-7-A)	8.64
实施例四(2-7-B)	9.47
实施例五(2-12-A)	6.85
实施例五(2-12-B)	4.99
实施例五(2-12-C)	6.52
实施例七(2-20-A)	6.79
实施例十二(5-13-A)	2.09
实施例二十一(4-14)	2.16

测试结果表明，表 8 中本发明的化合物对 SKOV-3 人卵巢癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

#### 5. 化合物对 NCI-H358 细胞增殖的抑制作用

(1) 细胞铺板：首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 NCI-H358，用胰酶消化细胞，离心后重悬细胞计数，调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 9。

表 9. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
NCI-H358	人非小细胞肺癌细胞	南京科佰生物

5 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育：待细胞贴壁后，移除细胞中培养基，将稀释好的生物活性分子（本发明化合物）加入到上述板孔中，孵育 72 h。

10 体外细胞活性检测：孵育结束后，每孔加入 Cell Counting-Lite™ 2.0 试剂（Vazyme/诺唯赞）50 μl，避光振荡混匀，反应 10min 后即可进行检测，酶标仪（厂家：BMG，型号：PHERAStar-FS）读数。利用不含细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得背景 RLU，含有细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1-（样品 RLU-样品 RLU）/（溶媒 RLU-背景 RLU）×100%，按照四参数模型拟合曲线，计算化合物的半数抑制浓度（IC50），检测结果如表 10 所示。

## (2) 数据结果

表 10. NCI-H358 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	58.84
实施例一(1-1-A)	65.22
实施例二(1-7-A)	11.38
实施例二(1-7-B)	51.52
实施例三(2-1-A)	68.62
实施例四(2-7-A)	35.42
实施例四(2-7-B)	51.06
实施例五(2-12-A)	17.65
实施例五(2-12-B)	15.76
实施例五(2-12-C)	23.08
实施例七(2-20-A)	18.56
实施例十二(5-13-A)	7.01
实施例十六(3-12-A)	15.45
实施例十六(3-12-B)	19.77
实施例十六(3-12-C)	28.29
实施例十六(3-12-D)	20.75
实施例十七(3-7-A)	49.38
实施例十七(3-7-B)	22.22

实施例十八 (3-17-A)	13.34
实施例十八 (3-17-B)	37.34
实施例十九 (5-22-A)	29.94
实施例十九 (5-22-B)	61.36
实施例二十一(4-14)	11.98
实施例二十二(4-15)	17.76
实施例二十四 (2-27-A)	56.46
实施例二十四 (2-27-B)	69.12
实施例二十五 (3-26-A)	31.64

测试结果表明，表 10 中本发明的化合物对 NCI-H358 人非小细胞肺癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

#### 6. 化合物对 NCI-N87 细胞增殖的抑制作用

(1) 细胞铺板：首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 NCI-N87，用胰酶消化细胞，离心后重悬细胞计数，调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 11。

表 11. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
NCI-N87	人胃癌细胞	ATCC

本发明化合物和肿瘤细胞共孵育：待细胞贴壁后，移除细胞中培养基，将稀释好的生物活性分子（本发明化合物）加入到上述板孔中，孵育 72 h。

体外细胞活性检测：孵育结束后，每孔加入 Cell Counting-Lite™ 2.0 试剂（Vazyme/诺唯赞）50 μL，避光振荡混匀，反应 10min 后即可进行检测，酶标仪（厂家：BMG，型号：PHERAStar-FS）读数。利用不含细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得背景 RLU，含有细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1-（样品 RLU-样品 RLU）/（溶媒 RLU-背景 RLU）×100%，按照四参数模型拟合曲线，计算化合物的半数抑制浓度（IC<sub>50</sub>），检测结果如表 12 所示。

#### (2) 数据结果

表 12. NCI-N87 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	7.18
实施例一(1-1-A)	4.58
实施例二(1-7-A)	2.70
实施例二(1-7-B)	5.48
实施例四(2-7-A)	3.76
实施例五(2-12-A)	4.91

实施例五(2-12-B)	4.97
实施例五(2-12-C)	4.51
实施例七(2-20-A)	4.54
实施例八(3-1-A)	0.37
实施例八(3-1-B)	1.34
实施例九(3-4-A)	4.38
实施例九(3-4-B)	6.51
实施例十一(4-10)	2.29
实施例十二(5-13-A)	2.33
实施例十三(5-7-A)	6.03
实施例十三(5-7-B)	7.31
实施例十六 (3-12-A)	0.44
实施例十六 (3-12-B)	3.45
实施例十六 (3-12-C)	3.99
实施例十六 (3-12-D)	3.03
实施例十七 (3-7-A)	5.32
实施例十七 (3-7-B)	4.54
实施例十八 (3-17-A)	3.01
实施例十八 (3-17-B)	4.19
实施例十九 (5-22-A)	3.35
实施例十九 (5-22-B)	5.51
实施例二十四 (2-27-A)	8.32
实施例二十四 (2-27-B)	14.67
实施例二十五 (3-26-A)	1.23
实施例二十五 (3-26-B)	25.34

测试结果表明，表 12 中本发明的化合物对 NCI-N87 人胃癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

#### 7. 化合物对 HeLa 细胞增殖的抑制作用

(1) 细胞铺板：首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 HeLa，用胰酶消化细胞，离心后重悬细胞计数，调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 13。

表 13. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
HeLa	人宫颈癌细胞	南京科佰生物

本发明化合物和肿瘤细胞共孵育：待细胞贴壁后，移除细胞中培养基，将稀释好的

生物活性分子（本发明化合物）加入到上述板孔中，孵育 72 h。

体外细胞活性检测：孵育结束后，每孔加入 Cell Counting-Lite™ 2.0 试剂（Vazyme/诺唯赞）50 μL，避光振荡混匀，反应 10min 后即可进行检测，酶标仪（厂家：BMG，型号：PHERAStar-FS）读数。利用不含细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得背景 RLU，含有细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1-（样品 RLU-样品 RLU）/（溶媒 RLU-背景 RLU）×100%，按照四参数模型拟合曲线，计算化合物的半数抑制浓度（IC50），检测结果如表 14 所示。

## （2）数据结果

表 14.Hela 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	17.57
实施例一(1-1-A)	4.57
实施例一(1-1-B)	3.65
实施例三(2-1-A)	16.98
实施例四(2-7-A)	13.77
实施例五(2-12-A)	13.25
实施例五(2-12-B)	16.68
实施例七(2-20-A)	11.17
实施例十一(4-10)	3.04

10 测试结果表明，表 14 中本发明的化合物对 Hela 人宫颈癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

## 8. 化合物对 HCC70 细胞增殖的抑制作用

（1）细胞铺板：首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 HCC70，用胰酶消化细胞，离心后重悬细胞计数，调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 15。

15

表 15. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
HCC70	人乳腺癌细胞	南京科佰生物

本发明化合物和肿瘤细胞共孵育：待细胞贴壁后，移除细胞中培养基，将稀释好的生物活性分子（本发明化合物）加入到上述板孔中，孵育 72 h。

20 体外细胞活性检测：孵育结束后，每孔加入 Cell Counting-Lite™ 2.0 试剂（Vazyme/诺唯赞）50 μL，避光振荡混匀，反应 10min 后即可进行检测，酶标仪（厂家：BMG，型号：PHERAStar-FS）读数。利用不含细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得背景 RLU，含有细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1-（样品 RLU-样品 RLU）/（溶媒 RLU-背景 RLU）×100%，按

照四参数模型拟合曲线，计算化合物的半数抑制浓度（IC<sub>50</sub>），检测结果如表 16 所示。

(2) 数据结果

表 16. HCC70 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	226.10
实施例一(1-1-A)	224.85
实施例四(2-7-A)	150.70
实施例四(2-7-B)	192.20
实施例五(2-12-A)	170.93
实施例五(2-12-B)	176.16
实施例五(2-12-C)	210.68
实施例七(2-20-A)	104.99
实施例十二(5-13-A)	36.65

5 测试结果表明，表 16 中本发明的化合物对 HCC70 人乳腺癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

9. 化合物对 MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用

(1) 细胞铺板：首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 MDA-MB-231，用胰酶消化细胞，离心后重悬细胞计数，调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 17。

表 17. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
MDA-MB-231	人乳腺癌细胞	南京科佰生物

10 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育：待细胞贴壁后，移除细胞中培养基，将稀释好的生物活性分子（本发明化合物）加入到上述板孔中，孵育 72 h。

15 体外细胞活性检测：孵育结束后，每孔加入 Cell Counting-Lite™ 2.0 试剂（Vazyme/诺唯赞）50 μl，避光振荡混匀，反应 10min 后即可进行检测，酶标仪（厂家：BMG，型号：PHERAStar-FS）读数。利用不含细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得背景 RLU，含有细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1-（样品 RLU-样品 RLU）/（溶媒 RLU-背景 RLU）×100%，按照四参数模型拟合曲线，计算化合物的半数抑制浓度（IC<sub>50</sub>），检测结果如表 18 所示。

(2) 数据结果

表 18. MDA-MB-231 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	381.70
实施例一(1-1-A)	363.60

实施例三(2-1-A)	299.70
实施例四(2-7-A)	123.50
实施例五(2-12-A)	123.50
实施例九(3-4-A)	284.80
实施例十二(5-13-A)	332.60
实施例十三(5-7-B)	172.40
实施例二十(1-10-A)	97.57
实施例二十(1-10-B)	27.24
实施例二十二(4-15)	175.40

测试结果表明，表 18 中本发明的化合物对 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

#### 10. 化合物对 Jeko-1 细胞增殖的抑制作用

(1) 细胞铺板：首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 Jeko-1，将细胞离心后重悬并细胞计数，最后调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 19。

表 19. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
Jeko-1	人套细胞淋巴瘤细胞	ATCC

本发明化合物和肿瘤细胞共孵育：待细胞铺板后，按照一定的稀释比例将稀释好的生物活性分子（本发明化合物）加入到上述板孔中，孵育 72 h。

体外细胞活性检测：孵育结束后，每孔加入 Cell Counting-Lite™ 2.0 试剂（Vazyme/诺唯赞）50 μl，避光振荡混匀，反应 10min 后即可进行检测，酶标仪（厂家：BMG，型号：PHERAStar-FS）读数。利用不含细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得背景 RLU，含有细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1-（样品 RLU-样品 RLU）/（溶媒 RLU-背景 RLU）×100%，按照四参数模型拟合曲线，计算化合物的半数抑制浓度（IC<sub>50</sub>），检测结果如表 20 所示。

15 (2) 数据结果

表 20. Jeko-1 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	1.25
实施例一(1-1-A)	1.33
实施例二(1-7-A)	0.15
实施例二(1-7-B)	0.66
实施例四(2-7-A)	0.28
实施例九(3-4-A)	0.27

实施例九(3-4-B)	0.15
实施例十一(4-10)	0.45
实施例十三(5-7-A)	0.16
实施例十三(5-7-B)	0.18
实施例二十一(4-14)	0.34
实施例二十二(4-15)	0.11

测试结果表明，表 20 中本发明的化合物对 Jeko-1 人套细胞淋巴瘤细胞增殖具有显著的抑制作用。

### 11. 化合物对 MDA-MB-453 细胞增殖的抑制作用

(1) 细胞铺板：首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞 MDA-MB-453，用胰酶消化细胞，离心后重悬细胞计数，调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表 21。

表 21. 肿瘤细胞来源

细胞名称	肿瘤类型	来源
MDA-MB-453	人乳腺癌细胞	康诺泰

本发明化合物和肿瘤细胞共孵育：待细胞贴壁后，移除细胞中培养基，将稀释好的生物活性分子（本发明化合物）加入到上述板孔中，孵育 72 h。

体外细胞活性检测：孵育结束后，每孔加入 Cell Counting-Lite™ 2.0 试剂（Vazyme/诺唯赞）50  $\mu$ l，避光振荡混匀，反应 10min 后即可进行检测，酶标仪（厂家：BMG，型号：PHERAStar-FS）读数。利用不含细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得背景 RLU，含有细胞的培养基（含 Cell Counting-Lite™）获得溶媒 RLU。细胞抑制率=1-（样品 RLU-样品 RLU）/（溶媒 RLU-背景 RLU） $\times$ 100%，按照四参数模型拟合曲线，计算化合物的半数抑制浓度（IC<sub>50</sub>），检测结果如表 22 所示。

### (2) 数据结果

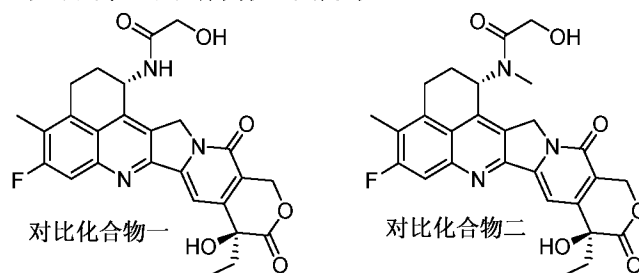
表 22. MDA-MB-453 细胞增殖抑制活性

名称	IC <sub>50</sub> (nM)
对比化合物一	6.99
实施例十六(3-12-A)	0.47
实施例十六(3-12-B)	4.32
实施例十六(3-12-C)	5.52
实施例十六(3-12-D)	3.98
实施例十七(3-7-A)	6.23
实施例十七(3-7-B)	4.87
实施例十八(3-17-A)	3.32
实施例十八(3-17-B)	6.16

实施例十九 (5-22-A)	7.34
实施例十九 (5-22-B)	5.67
实施例二十四 (2-27-A)	11.83
实施例二十五 (3-26-A)	3.95

测试结果表明, 表 22 中本发明的化合物对 MDA-MB-453 人乳腺癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

对比化合物一和对比化合物二的结构如下所示:

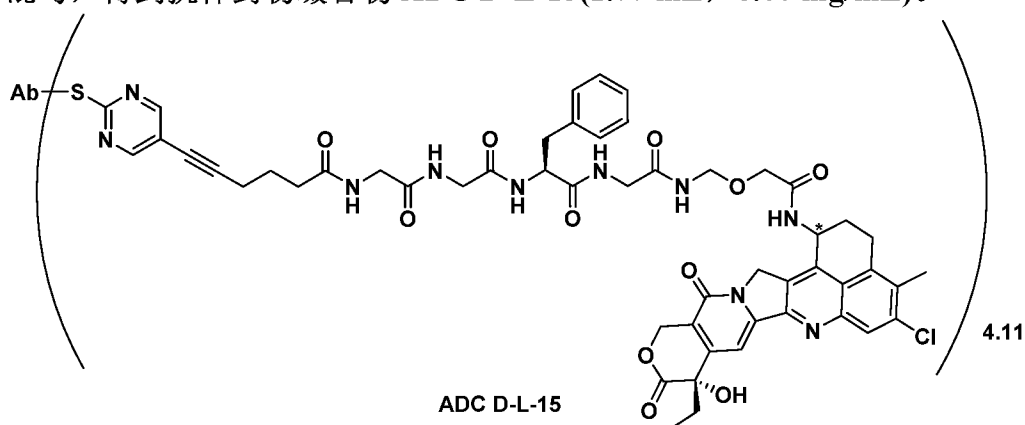


5

## 二、抗体偶联试验

ADC D-L-15 样品的偶联制备如下:

取 1.036 mL hIgG 抗体(抗鸡溶菌酶抗体, 19.3 mg/mL), 用 0.1 M 依地酸二钠的溶液 (pH 7.6) 稀释, 然后用 1 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  溶液调 pH 至 7.6, 加入 2.4 倍物质的量的 10 mM TCEP(三(2-羧乙基)膦)溶液(pH 7.6)混匀, 室温放置 90 min。向上述溶液体系加入 5 倍物质的量的溶解在二甲基亚砜的化合物 D-L-15, 混匀, 室温静置 2 h, 完毕后采用 NAP-5 凝胶柱(Cytiva)将缓冲液置换为 pH 6.0 的 10 mM 组氨酸缓冲溶液, 然后添加蔗糖和吐温 20, 混匀, 得到抗体药物缀合物 ADC D-L-15(1.77 mL, 8.60 mg/mL)。



其中: Ab为hIgG

\*位置表示该处原子手性为R或S

15

利用 LC-MS 测定 ADC D-L-15 分子量, 计算药物/抗体比 DAR 值为 4.11, 如表 23、表 24 所示。

表 23: ADC D-L-15 实测分子量

肽链		mAb	DAR1	DAR2	DAR3	DAR4
LC	实测值	23356.98	24384.43	N/A	N/A	N/A
HC	实测值	50172.24	51199.41	52226.65	53253.93	N/A

表 24: ADC D-L-15 的 DAR 值

名称	最大信号强度	比率	DAR
LC-DAR0	3266.67	0.453	4.11
LC-DAR1	3948.06	0.547	
HC-DAR0	551.28	0.175	
HC-DAR1	1141.65	0.362	
HC-DAR2	774.39	0.246	
HC-DAR3	685.97	0.218	
HC-DAR4	0.00	0.000	

色谱测定条件:

液相色谱柱: Thermo MAbPac RP 3.0\*100 mm;

流动相 A: 0.1%FA/H<sub>2</sub>O; 流动相 B: 0.1%FA/ACN;

5 流速: 0.25 mL/min; 样品室温度: 8 °C; 柱温: 60 °C; 进样量: 2 μL;

时间(分钟)	2	20	22	25	26	30
流动相 A (体积%)	75	60	5	5	75	75
流动相 B (体积%)	25	40	95	95	25	25

质谱测定条件:

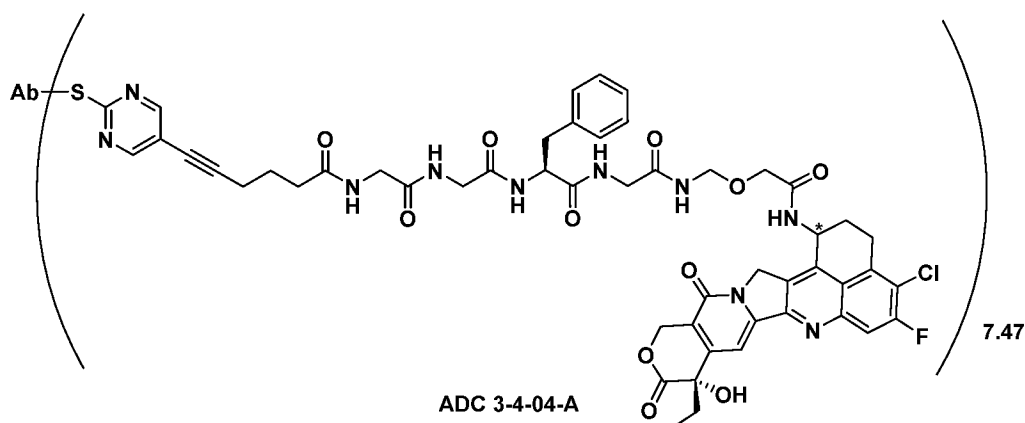
质谱型号: AB Sciex Triple TOF 5600+;

GS1 35; GS2 35; CUR 30; TEM 350; ISVF 5500; DP 250; CE 10;

Accumulation time 0.5 s; m/z 600-4000; Time bins to sum 40。

10 ADC 3-4-04-A 样品的偶联制备如下:

取 0.518 mL hIgG 抗体(抗鸡溶菌酶抗体, 19.3 mg/mL), 用 0.1 M 依地酸二钠的溶液 (pH 7.6) 稀释, 然后用 1 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液调 pH 至 7.6, 加入 5.5 倍物质的量的 10 mM TCEP(三(2-羧乙基)膦)溶液(pH 7.6)混匀, 室温放置 90 min。向上述溶液体系加入 10 倍物质的量的溶解在二甲基亚砷的化合物 3-4-04-A, 混匀, 室温静置 2 h, 完毕后采用  
15 NAP-5 凝胶柱(Cytiva)将缓冲液置换为 pH 6.0 的 10 mM 组氨酸缓冲溶液, 然后添加蔗糖和吐温 20, 混匀, 得到抗体药物缀合物 ADC 3-4-04-A(1.50 mL, 5.60 mg/mL)。



其中：Ab为hIgG

\*位置表示该处原子手性为R或S

利用 LC-MS 测定 ADC 3-4-04-A 分子量，计算药物/抗体比 DAR 值为 7.47，如表 25、表 26 所示，色谱测定条件同 ADC D-L-15。

表 25：ADC 3-4-04-A 实测分子量

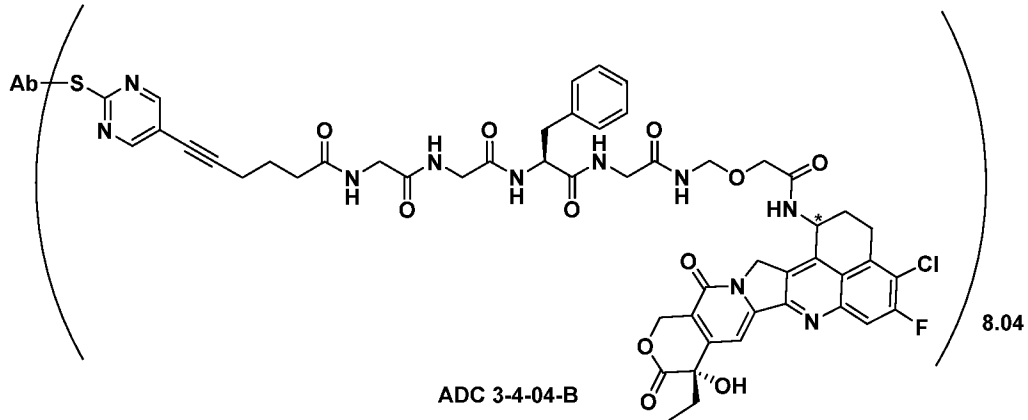
肽链		mAb	DAR1	DAR2	DAR3	DAR4
LC	实测值	23356.79	24388.20	N/A	N/A	N/A
HC	实测值	50171.57	51199.68	52233.48	53265.97	54297.82

5 表 26：ADC 3-4-04-A 的 DAR 值

名称	最大信号强度	比率	DAR
LC-DAR0	223.44	0.061	7.47
LC-DAR1	3458.32	0.939	
HC-DAR0	122.34	0.068	
HC-DAR1	0.09	0.000	
HC-DAR2	1.11	0.001	
HC-DAR3	1682.87	0.932	
HC-DAR4	0.18	0.000	

ADC 3-4-04-B 样品的偶联制备如下：

10 取 0.518 mL hIgG 抗体(抗鸡溶菌酶抗体，19.3 mg/mL)，用 0.1 M 依地酸二钠的溶液 (pH 7.6) 稀释，然后用 1 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液调 pH 至 7.6，加入 5.5 倍物质的量的 10 mM TCEP(三(2-羧乙基)膦)溶液(pH 7.6)混匀，室温放置 90 min。向上述溶液体系加入 10 倍物质的量的溶解在二甲基亚砷的化合物 3-4-04-B，混匀，室温静置 2 h，完毕后采用 NAP-5 凝胶柱(Cytiva)将缓冲液置换为 pH 6.0 的 10 mM 组氨酸缓冲溶液，然后添加蔗糖和吐温 20，混匀，得到抗体药物缀合物 ADC 3-4-04-B(1.50 mL，5.60 mg/mL)。



其中：Ab为hIgG

\*位置表示该处原子手性为R或S

利用 LC-MS 测定 ADC 3-4-04-B 分子量，计算药物/抗体比 DAR 值为 8.04，如表 27、表 28 所示，色谱测定条件同 ADC D-L-15。

表 27：ADC 3-4-04-B 实测分子量

肽链		mAb	DAR1	DAR2	DAR3	DAR4
LC	实测值	23356.32	24388.01	N/A	N/A	N/A
HC	实测值	50166.19	51196.05	52232.67	53265.82	54296.20

5 表 28：ADC 3-4-04-B 的 DAR 值

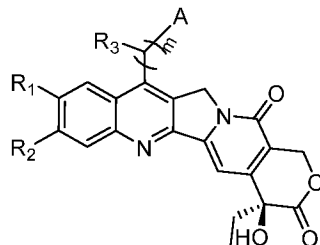
名称	最大信号强度	比率	DAR
LC-DAR0	0.02	0.000	8.04
LC-DAR1	3735.97	1.000	
HC-DAR0	0.68	0.000	
HC-DAR1	0.12	0.000	
HC-DAR2	0.05	0.000	
HC-DAR3	1867.41	0.980	
HC-DAR4	36.69	0.019	

上述实验证明：本发明的细胞毒性药物-连接子类化合物可以顺利与抗体偶联得到抗体药物缀合物。

10 尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述，本领域技术人员将会理解，根据已经公开的所有教导，可以对那些细节进行各种修改和替换，这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部范围由所附权利要求及其任何等同物给出。

## 权 利 要 求

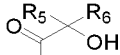
1. 化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药，其中所述化合物具有如下所示结构：





其中，

$R_1$  和  $R_2$  各自独立地选自氢、卤素、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、羟基、氰基和  $C_{3-6}$  环烷基；或者， $R_1$  和  $R_2$  与相邻碳原子连接成 5-6 元含氧杂环；

$R_3$  为氢或者与  $R_1$  邻位碳原子相连成六元碳环；



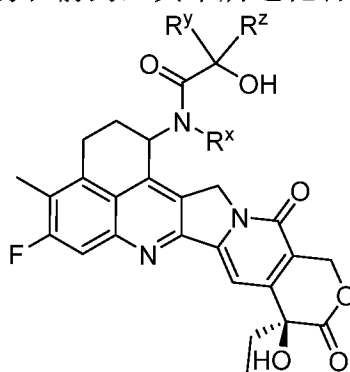
A 选自  和  中的一种；

$R_4$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧烷基、 $C_{3-6}$  环烷基和 3-6 元杂环基；

$R_5$  和  $R_6$  各自独立地选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、 $C_{3-6}$  环烷基、3-6 元杂环基、芳基和杂芳基；或者  $R_5$  和  $R_6$  与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环或杂环；

$m=1$  或 2。

2. 权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药，其中所述化合物具有式(I)的结构：









式(I)

上式(I)中， $R^x$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧烷基、 $C_{3-6}$  环烷基和 3-6 元杂环基；

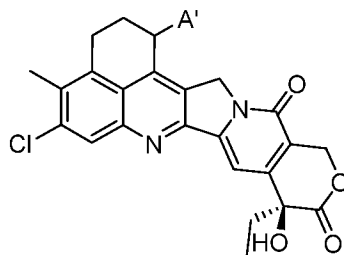
$R^y$  和  $R^z$  不同时为氢，且独立选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、3-6 元杂环基烷基和 3-6 元杂环基；

优选地， $R^x$  选自氢和  $C_{1-6}$  烷基；优选地， $R^x$  为氢；

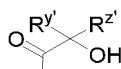
优选地,  $R^y$  和  $R^z$  不同时为氢, 且独立选自氢、、、、二甲胺基亚甲基、吗啉基亚甲基和甲氧基亚甲基;



优选地,  $R^y$  为氢,  $R^z$  选自 、、、二甲胺基亚甲基、吗啉基亚甲基和甲氧基亚甲基。

3. 权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药, 其中所述化合物具有式(II)的结构:



式(II)



上式(II)中,  $A'$  选自  和  中的一种;

$R^x$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧烷基、 $C_{3-6}$  环烷基和 3-6 元杂环基;

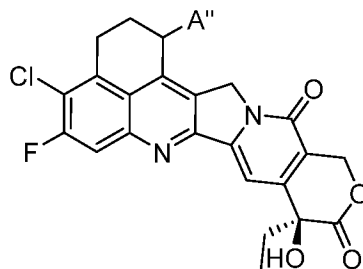
$R^y$  和  $R^z$  独立选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{1-6}$  烷基胺基、 $C_{1-6}$  烷氧烷基、 $C_{3-6}$  环烷基、3-6 元杂环基、3-6 元杂环基烷基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、芳基和杂芳基, 或者  $R^y$  和  $R^z$  与相邻碳原子连接成 3-6 元环;

优选地,  $R^x$  选自氢和  $C_{1-6}$  烷基;

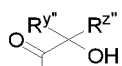
优选地,  $R^y$  和  $R^z$  独立选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{1-6}$  烷基胺基、 $C_{3-6}$  环烷基和  $C_{2-6}$  烯基, 或者  $R^y$  和  $R^z$  与相邻碳原子连接成 3-6 元环烷基;



优选地,  $R^y$  选自氢和  $C_{1-6}$  烷基,  $R^z$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基和  $C_{3-6}$  环烷基, 或者  $R^y$  和  $R^z$  与相邻碳原子连接成 3-6 元环烷基。

4. 权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药, 其中所述化合物具有式(III)的结构:



式(III)



上式(III)中,  $A''$  选自  和  中的一种;

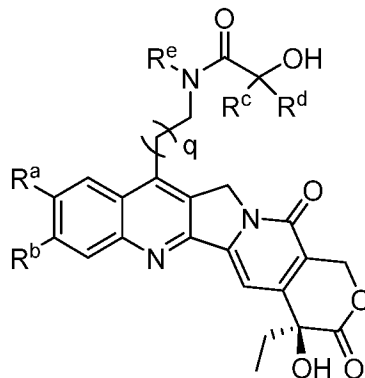
$R^{x''}$ 选自氢、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 卤代烷基、 $C_{1-6}$ 烷氧烷基、 $C_{3-6}$ 环烷基和3-6元杂环基；  
 $R^{y''}$ 和 $R^{z''}$ 独立选自氢、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 卤代烷基、 $C_{1-6}$ 烷氧基烷基、 $C_{1-6}$ 烷胺基烷基、 $C_{1-6}$ 烷氧烷基、 $C_{3-6}$ 环烷基、3-6元杂环基、3-6元杂环基烷基、4-6元杂环基、 $C_{2-6}$ 烯基、 $C_{2-6}$ 炔基、芳基和杂芳基，或者 $R^{y''}$ 和 $R^{z''}$ 与相邻碳原子连接成3-6元环；

优选地， $R^{x''}$ 为氢；

优选地， $R^{y''}$ 和 $R^{z''}$ 各自独立地选自氢、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 卤代烷基、 $C_{1-6}$ 烷氧基烷基、 $C_{1-6}$ 烷胺基烷基、 $C_{3-6}$ 环烷基和乙烯基，或者 $R^{y''}$ 和 $R^{z''}$ 与相邻碳原子连接成3-6元环；

优选地， $R^{y''}$ 为氢， $R^{z''}$ 选自氢、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{3-6}$ 环烷基和乙烯基，或者 $R^{y''}$ 和 $R^{z''}$ 与相邻碳原子连接成3-6元碳环。

5. 权利要求1所述的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药，其中所述化合物具有式(IV)的结构：



式(IV)

上式(IV)中，

$R^a$ 和 $R^b$ 独立选自氢、卤素、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 羟烷基、 $C_{1-6}$ 烷氧烷基、 $C_{1-6}$ 烷氧基、 $C_{1-6}$ 卤代烷基、羟基和氰基；或者 $R^a$ 和 $R^b$ 与相邻碳原子连接成5-6元含氧杂环；

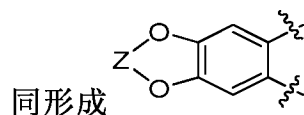
$R^c$ 和 $R^d$ 独立选自氢、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{1-6}$ 卤代烷基、 $C_{1-6}$ 烷氧基烷基、 $C_{1-6}$ 烷胺基烷基、 $C_{3-6}$ 环烷基、3-6元杂环基、3-6元杂环基烷基、 $C_{2-6}$ 烯基和 $C_{2-6}$ 炔基，或者 $R^c$ 和 $R^d$ 与相邻碳原子连接成3-6元的碳环或杂环；

$R^e$ 选自氢、 $C_{1-6}$ 烷基、 $C_{3-6}$ 环烷基、 $C_{1-6}$ 卤代烷基、 $C_{1-6}$ 烷氧烷基和 $C_2-C_5$ 杂环基；  
 $q=0$ 或1；

当 $q=0$ 时， $R^c$ 和 $R^d$ 不同时为氢；

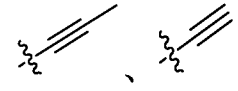
优选地， $R^a$ 和 $R^b$ 独立选自氢、卤素和 $C_{1-6}$ 烷基，或者 $R^a$ 和 $R^b$ 与相邻碳原子连接成5-6元含氧杂环；

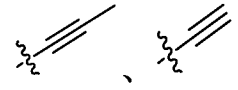
优选地， $R^a$ 和 $R^b$ 独立选自氢、氟、氯和甲基，或者 $R^a$ 和 $R^b$ 和与其相连的苯环共



其中Z选自 $-CH_2-$ 、 $-CD_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 和 $-CF_2-$ ；

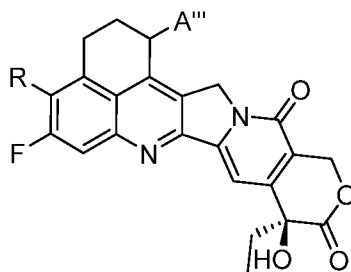
优选地,  $R^a$  为甲基,  $R^b$  为氟, 或者  $R^a$  和  $R^b$  和与其相连的苯环共同形成 ;

优选地,  $R^c$  和  $R^d$  独立选自氢、、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基和  $C_{1-6}$  烷基氨基, 或者  $R^c$  和  $R^d$  与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环;

优选地,  $R^c$  为氢,  $R^d$  选自氢、、甲氧基乙基和环丙基, 或者  $R^c$  和  $R^d$  与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环;

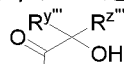
优选地,  $R^e$  选自氢和  $C_{1-6}$  烷基。

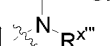
6. 权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药, 其中所述化合物具有式(V)的结构:



式(V)

上式(V)中,  $R$  选自  $C_{3-6}$  环烷基和  $C_{1-6}$  烷氧基;



$A'''$  选自  和  $NH_2$  中的一种;

$R^{x'''}$  选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{3-6}$  环烷基和 3-6 元杂环基 (例如 3-6 元碳环或 3-6 元杂环);

$R^{y'''}$  和  $R^{z'''}$  独立选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{1-6}$  烷基氨基、 $C_{3-6}$  环烷基、3-6 元杂环基、3-6 元杂环基烷基、 $C_{2-6}$  烯基、 $C_{2-6}$  炔基、芳基和杂芳基, 或者  $R^{y'''}$  和  $R^{z'''}$  与相邻碳原子连接成 3-6 元环;

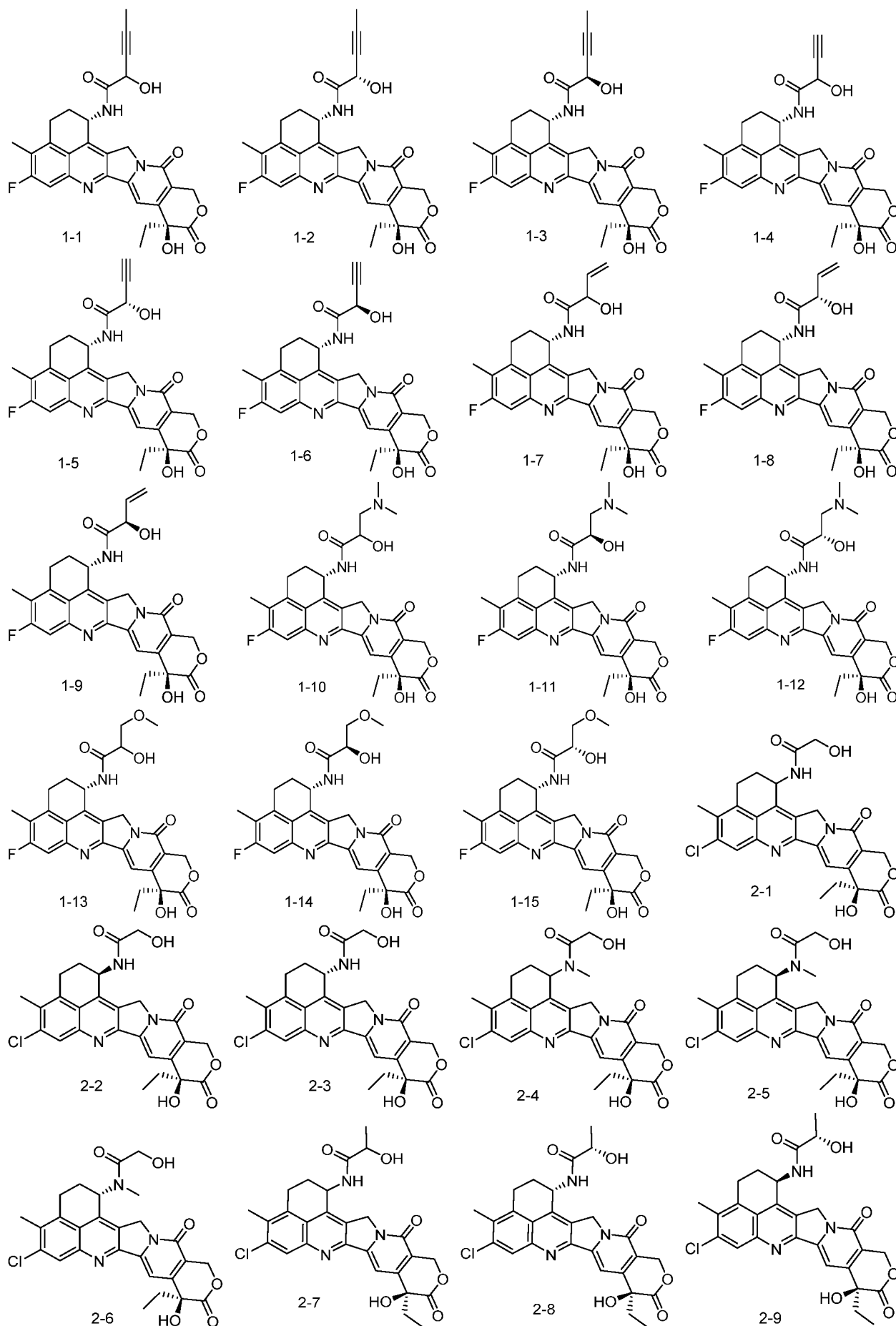
优选地,  $R$  选自甲基、甲氧基和环丙基; 优选地,  $R^{y'''}$  和  $R^{z'''}$  各自独立地选自氢、 $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  卤代烷基、 $C_{1-6}$  烷氧基烷基、 $C_{1-6}$  烷基氨基、 $C_{3-6}$  环烷基和乙烯基, 或者  $R^{y'''}$  和  $R^{z'''}$  与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环;

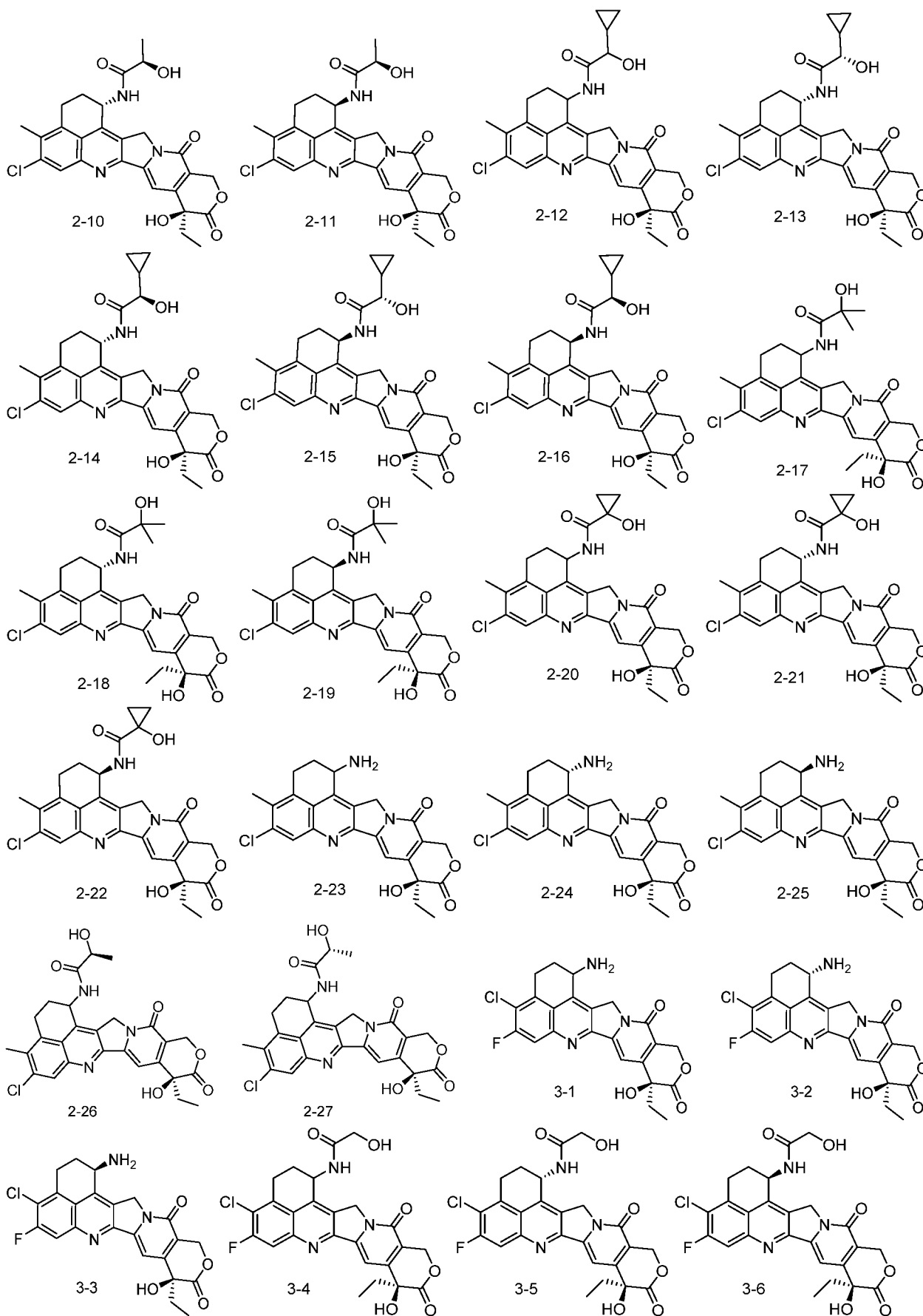
优选地,  $R^{y'''}$  和  $R^{z'''}$  均为氢, 或者  $R^{y'''}$  和  $R^{z'''}$  与相邻碳原子连接成 3-6 元碳环;

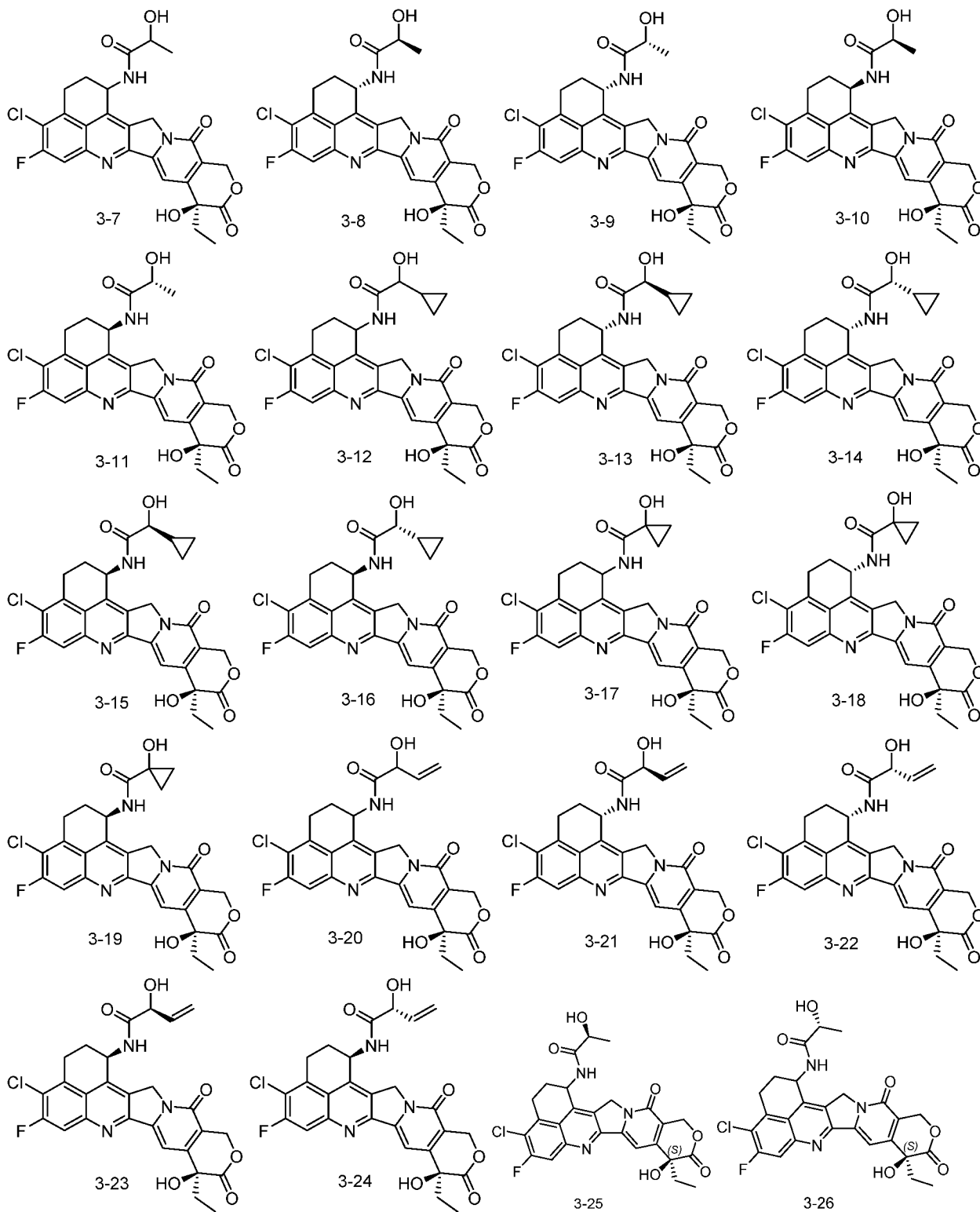
优选地,  $R^{x'''}$  选自氢和  $C_{1-6}$  烷基;

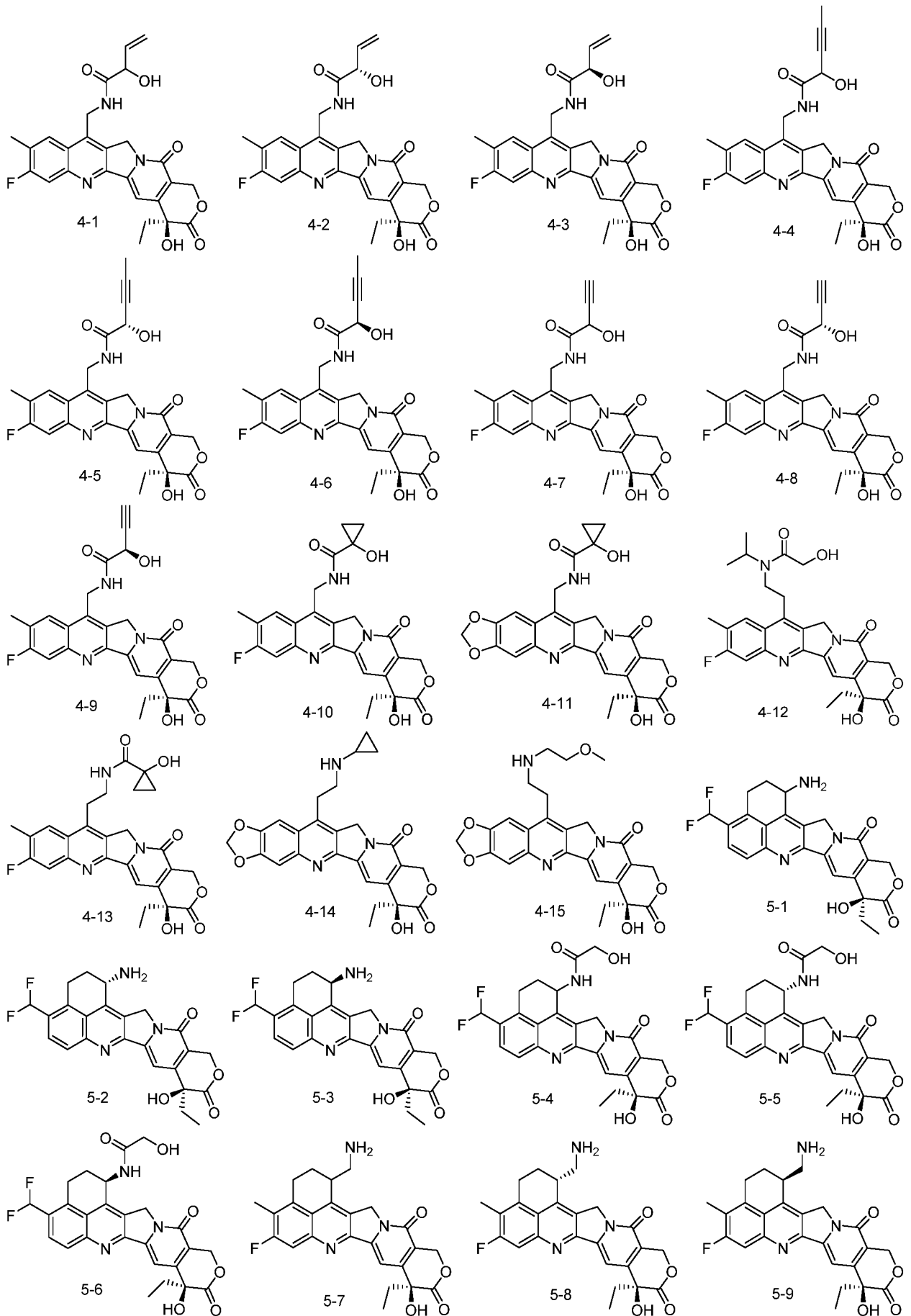
优选地,  $R^{x'''}$  为氢。

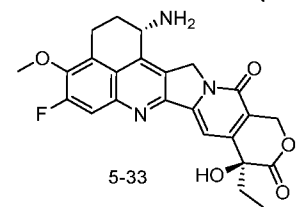
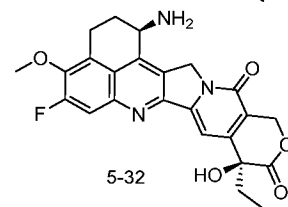
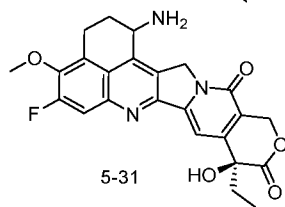
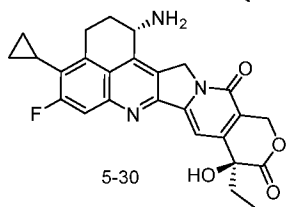
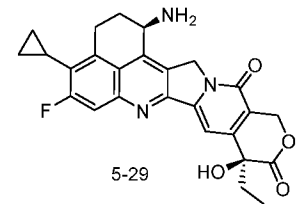
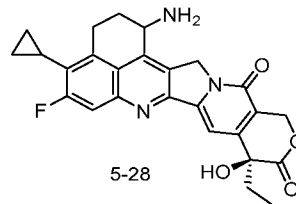
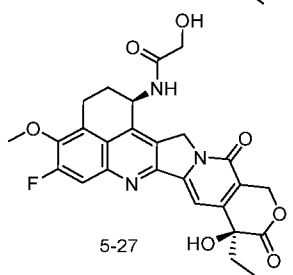
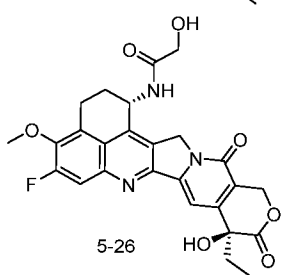
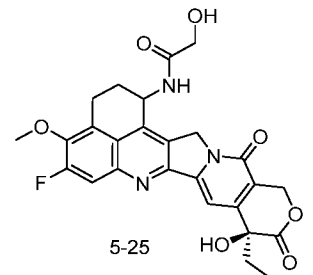
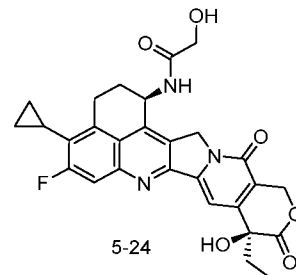
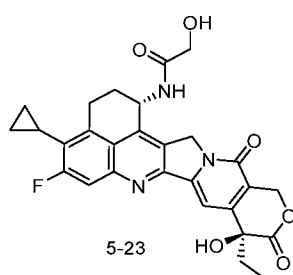
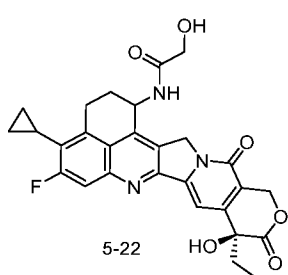
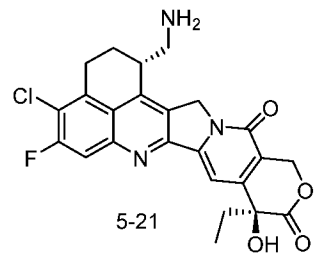
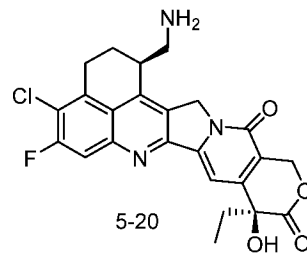
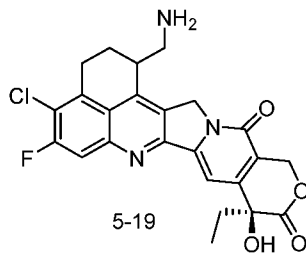
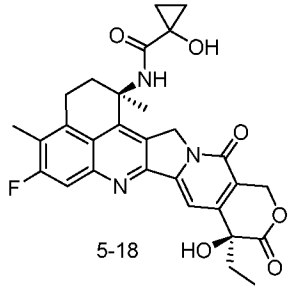
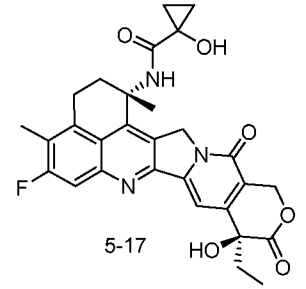
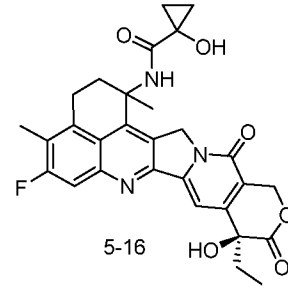
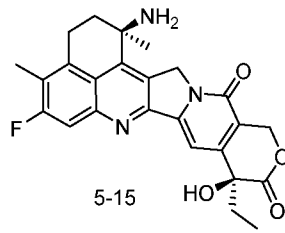
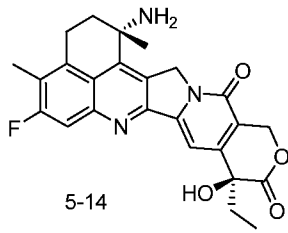
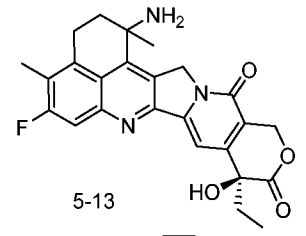
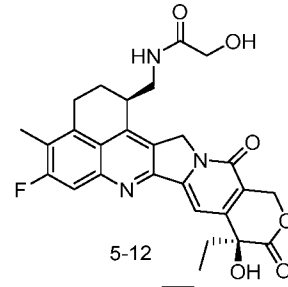
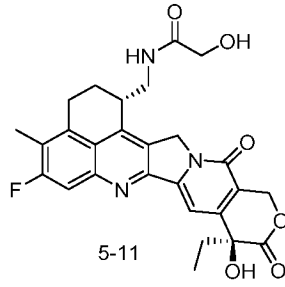
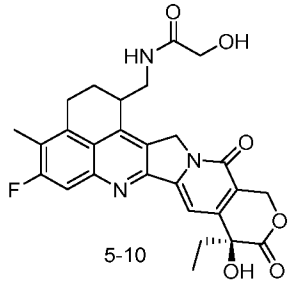
7. 权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药, 所述化合物结构如下所示:

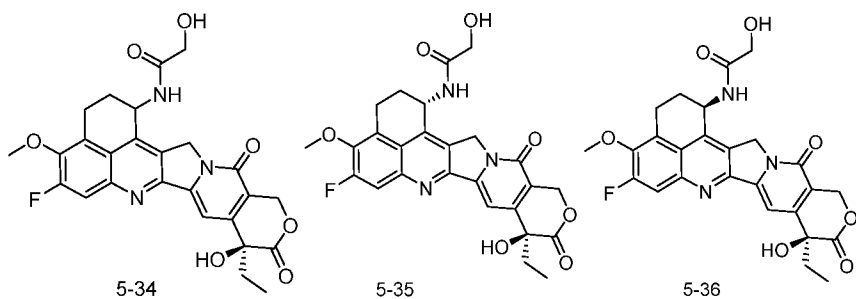












8. 式(VI)所示化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药，其中所述化合物结构如下所示：

**M-L-E-D**

**式(VI)**

其中，

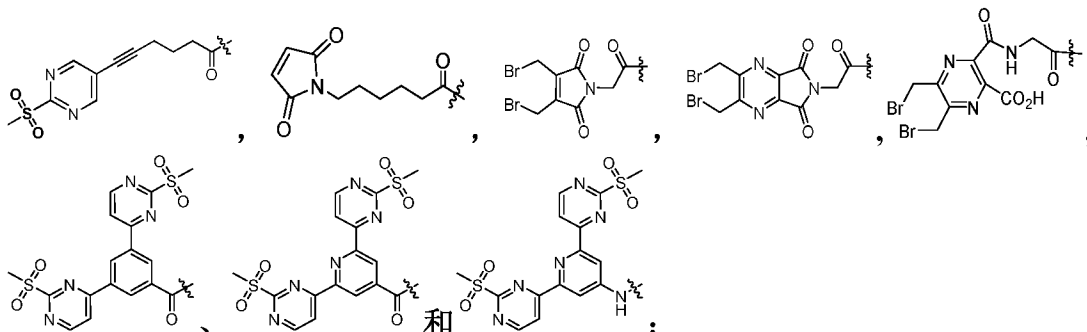
**M** 是和抗体或其抗原结合片段的接头部位；

**L** 是连接接头 **M** 和 **E** 之间的连接子；

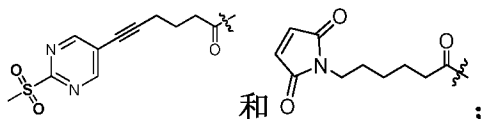
**E** 是连接 **L** 和 **D** 的结构片段；

**D** 是细胞毒性药物的结构片段；

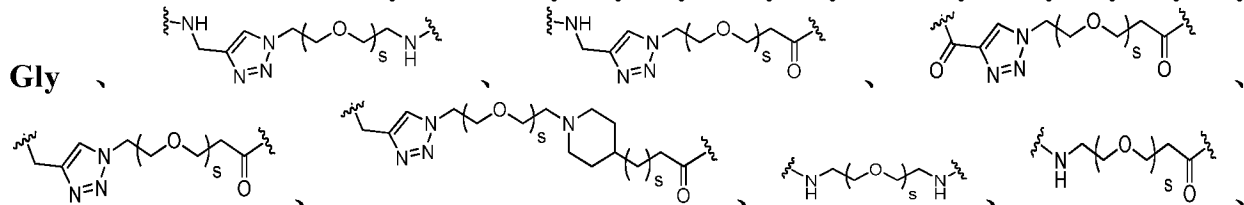
优选地，**M** 选自以下结构：

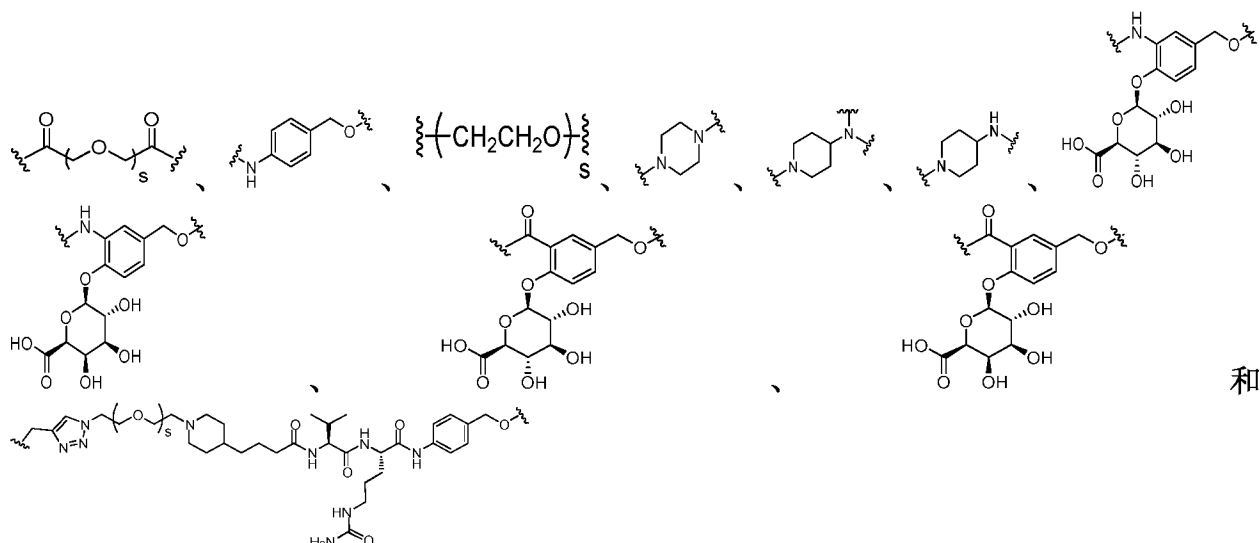


优选地，**M** 选自以下结构：



优选地，**L** 选自由下述的一个或多个组成的二价结构：**C**<sub>1-6</sub> 亚烷基、-N(R')-、羰基、-O-、Val、Cit、Phe、Lys、D-Val、Leu、Gly、Ala、Asn、Val-Cit、Val-Ala、Val-Lys、Val-Lys(Ac)、Phe-Lys、Phe-Lys(Ac)、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn、Ala-Ala-Ala、Val-Lys-Ala、Gly-Gly-Gly、Gly-Gly-Phe-Gly、Gly-Gly-Gly-Gly-

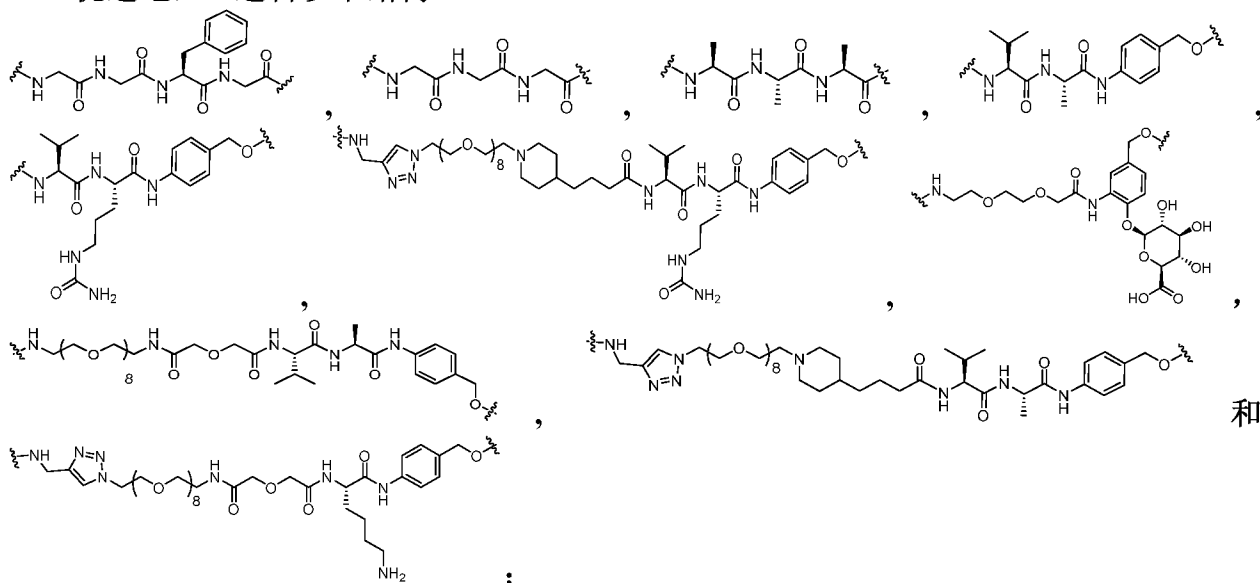




和

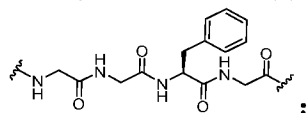
其中 R'代表氢、C<sub>1-6</sub> 烷基或含-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-的烷基；r 选自 1-10 的整数；s 选自 1-10 的整数；

优选地，L 选自以下结构：

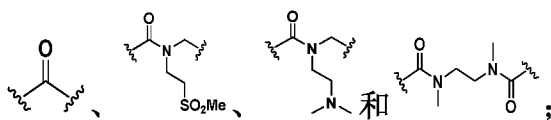


和

优选地，L 选自以下结构：



优选地，E 选自单键、-NH-CH<sub>2</sub>-、



优选地，E 为-NH-CH<sub>2</sub>-；

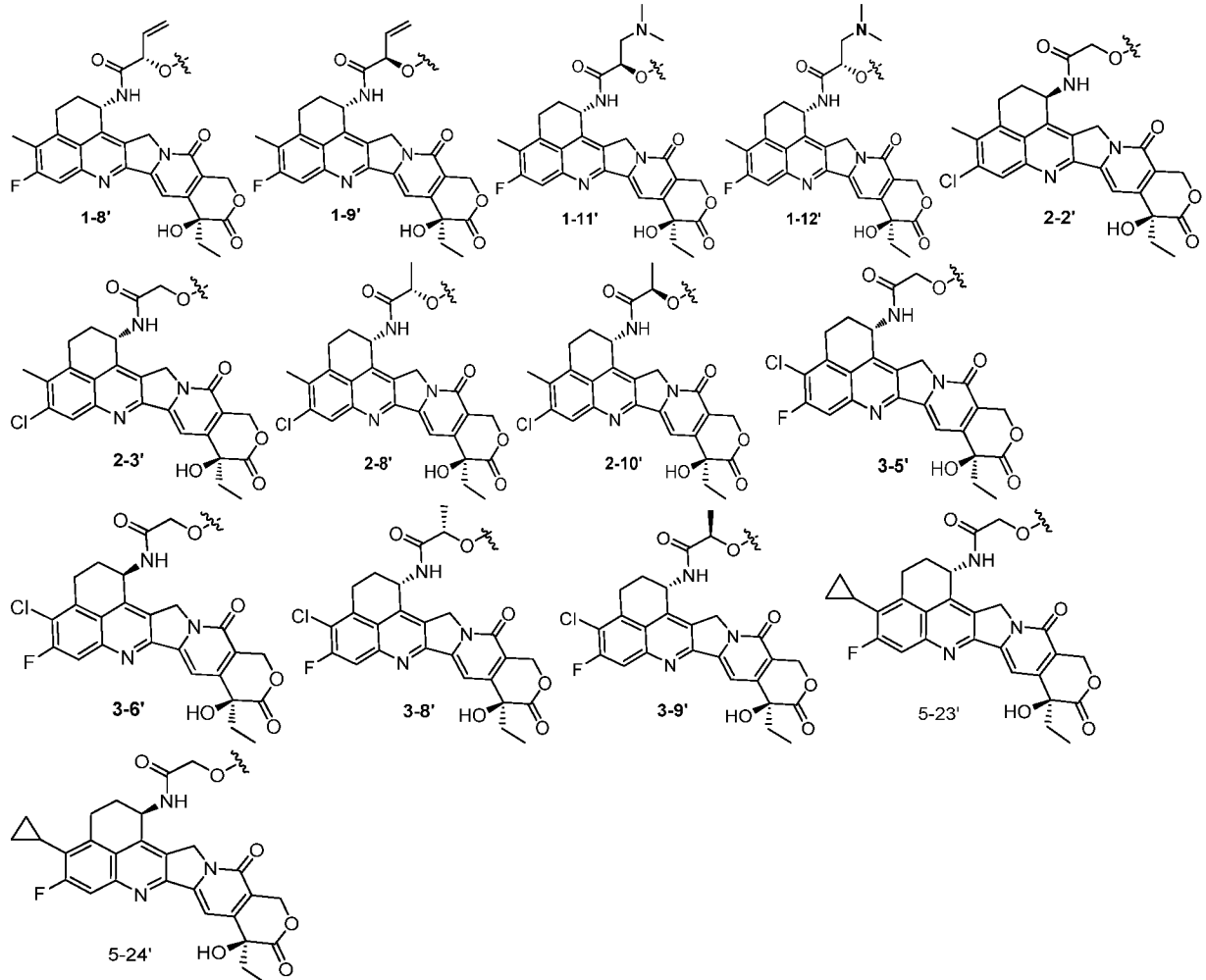
优选地，所述细胞毒性药物选自权利要求 1-6 任意一项所述的-化合物；

优选地，所述细胞毒性药物选自权利要求 7 所述的化合物 1-1 至 1-15；2-1 至 2-27；3-1 至 3-26；4-1 至 4-15；或 5-1 至 5-36；

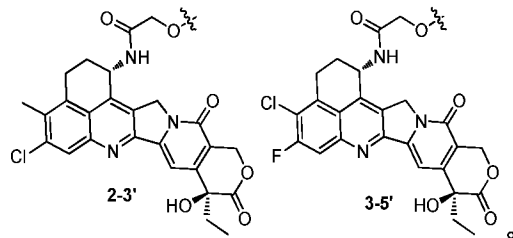
优选地，D 选自权利要求 1-6 任意一项所述的-化合物去氢之后的结构；

优选地，D选自权利要求7所述的化合物1-1至1-15；2-1至2-27；3-1至3-26；4-1至4-15；或5-1至5-36去氢之后的结构；

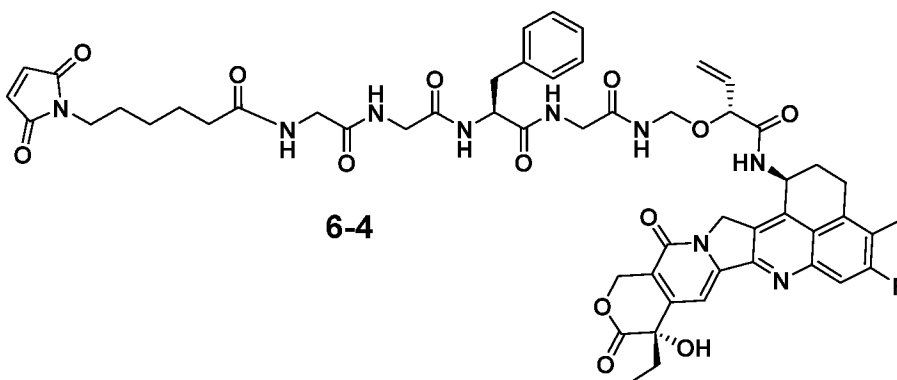
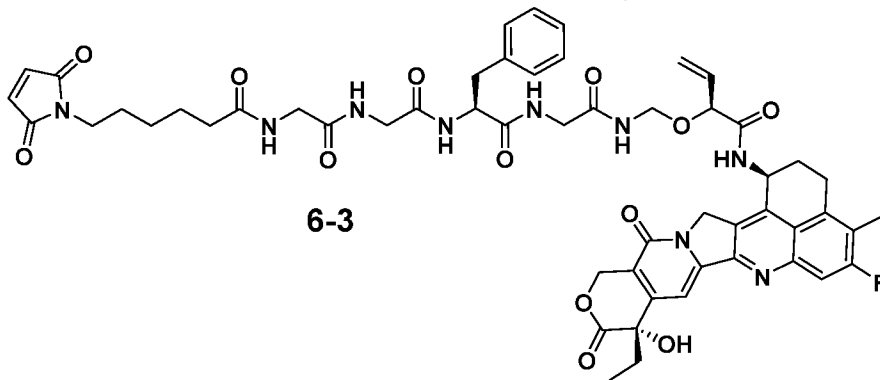
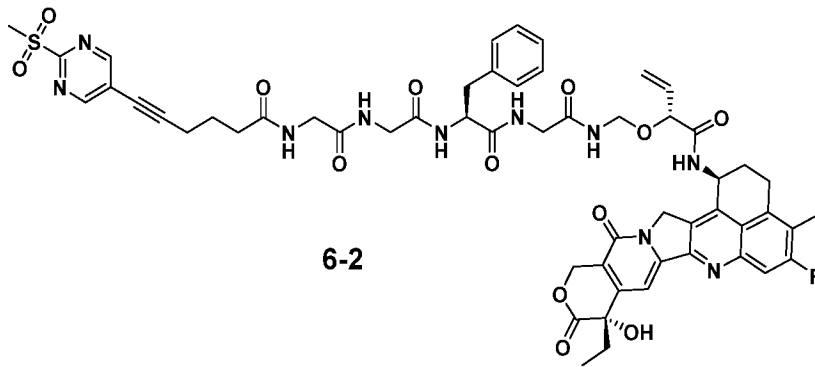
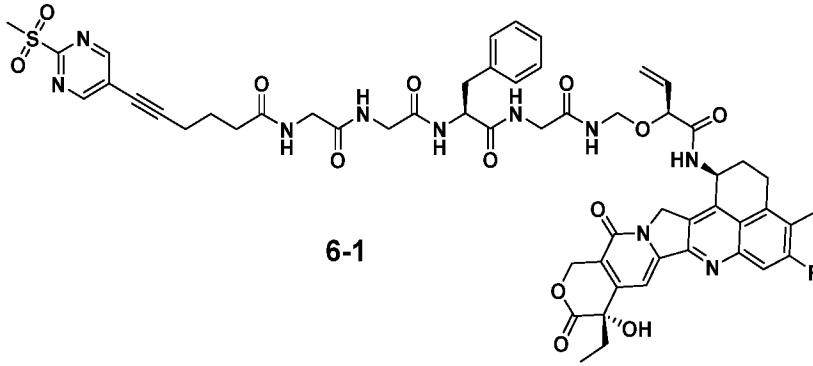
优选地，D选自以下结构：

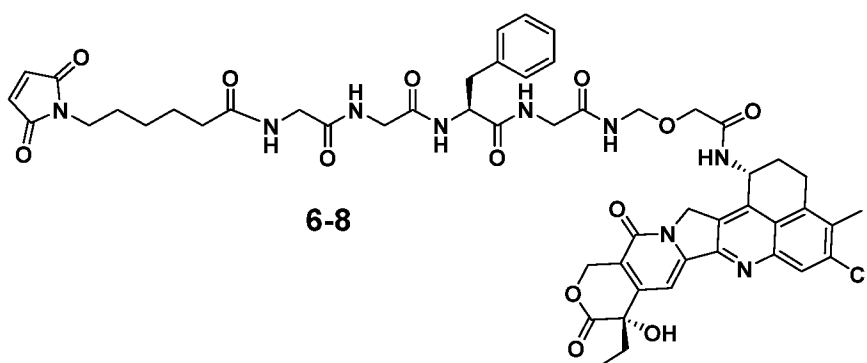
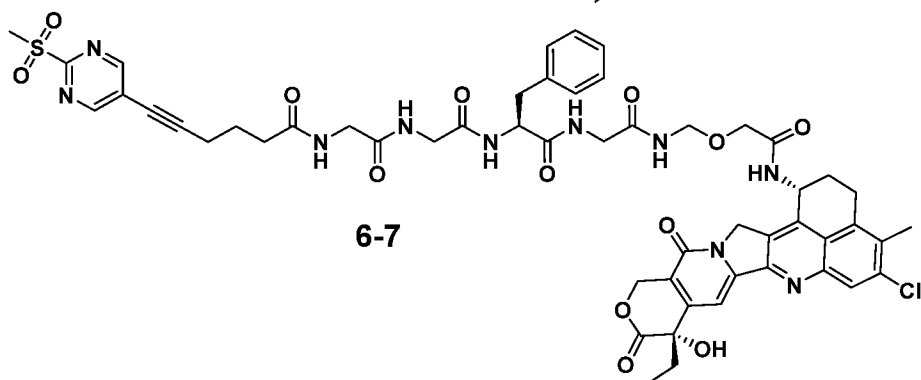
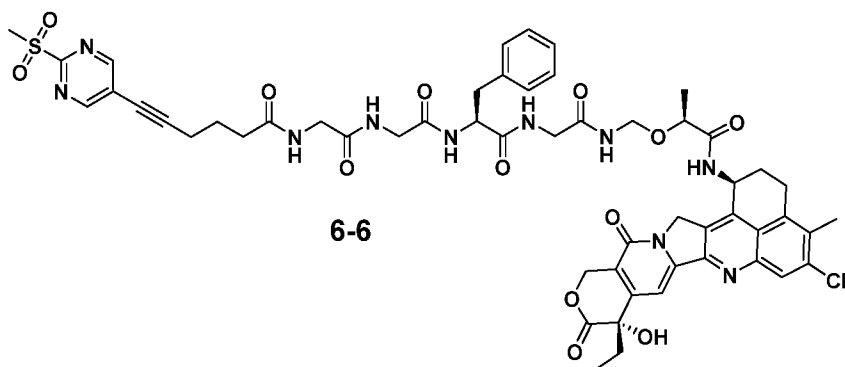
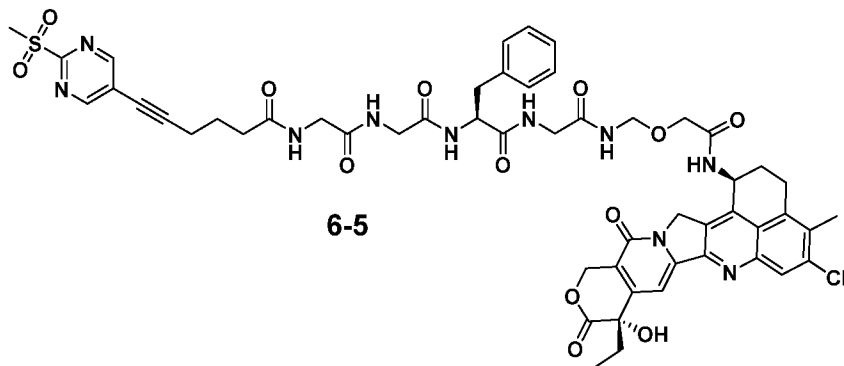


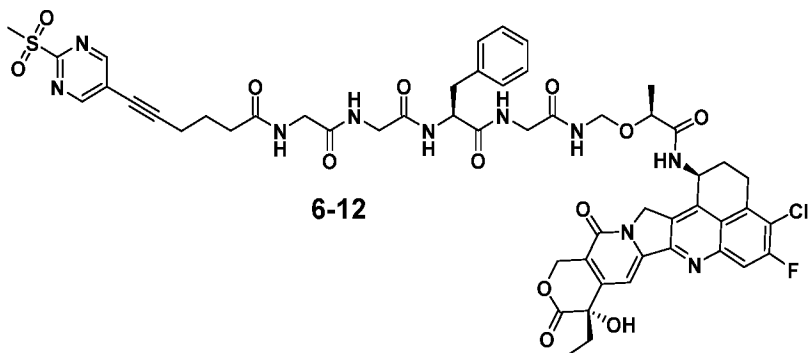
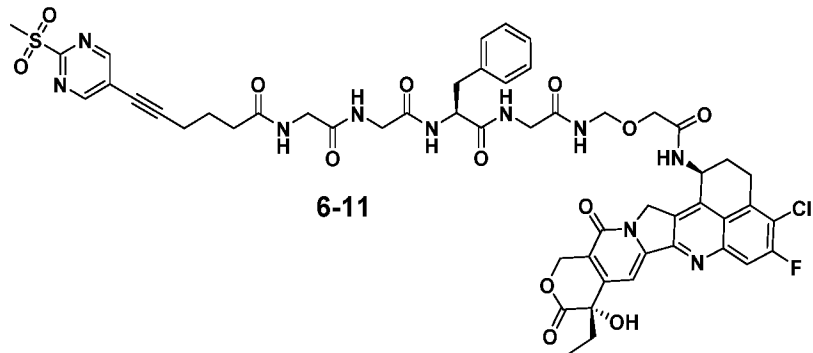
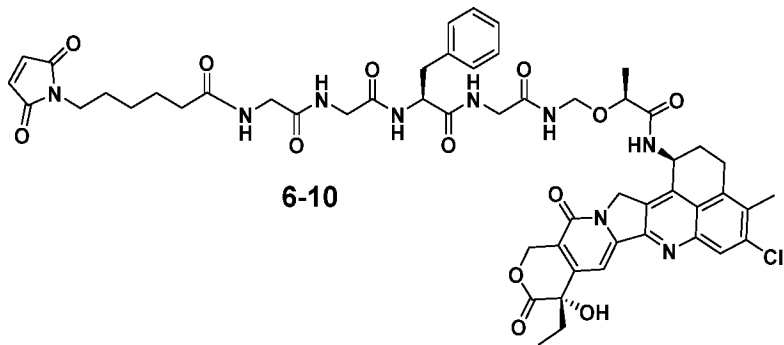
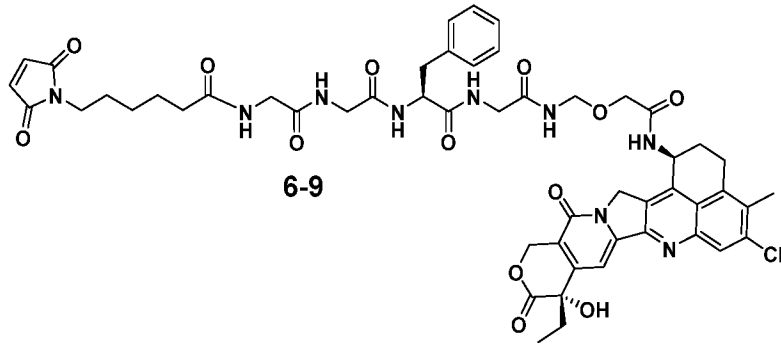
优选地，D优选自以下结构：

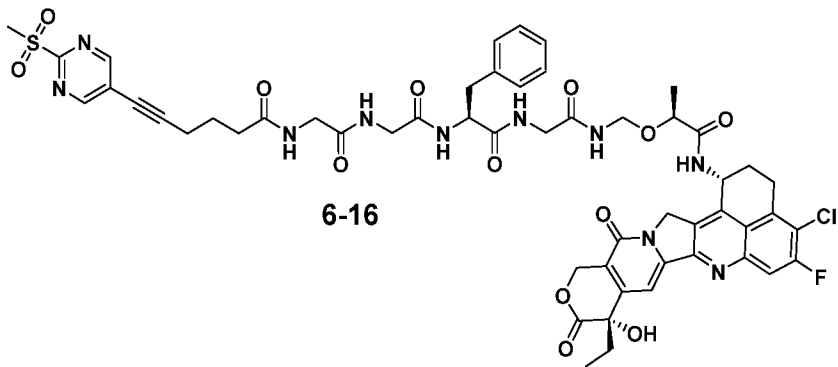
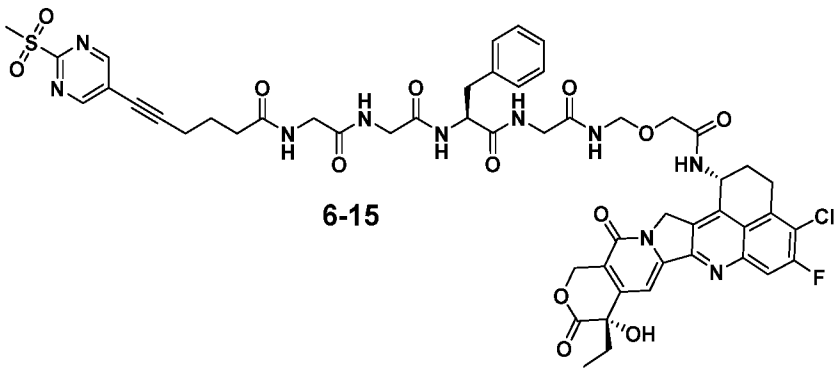
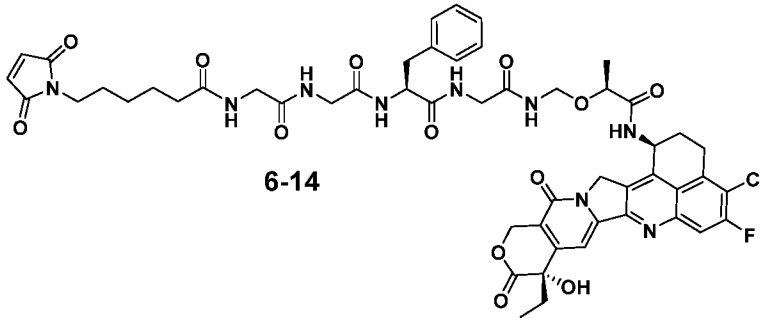
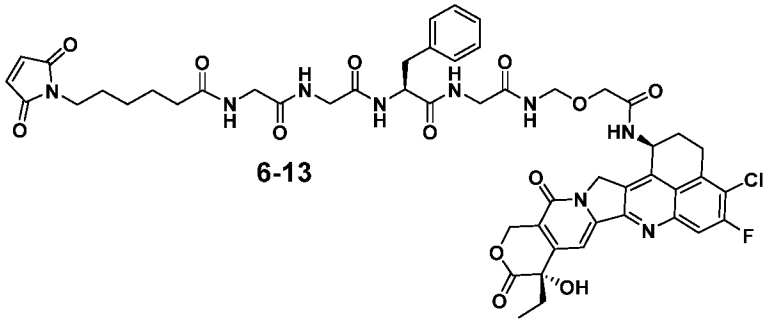


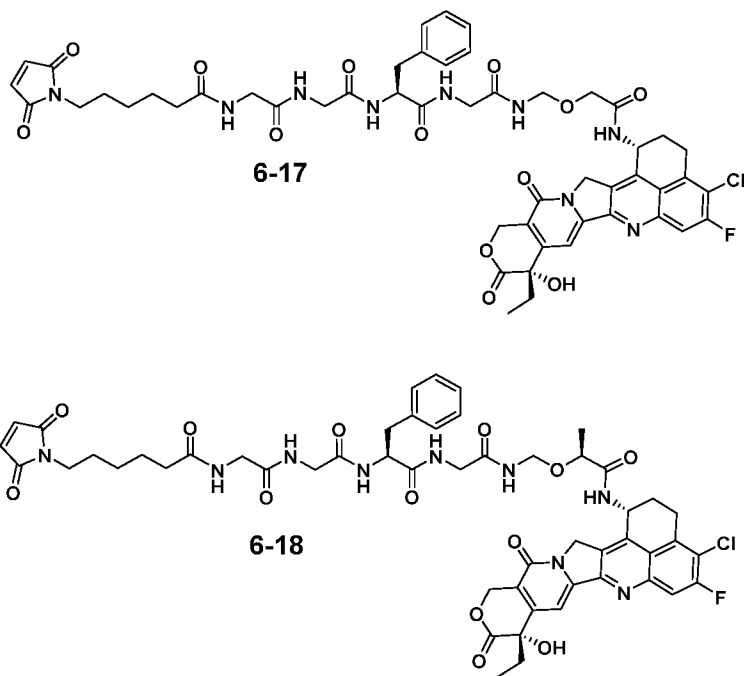
9. 根据权利要求8所述的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药，所述化合物结构如下所示：



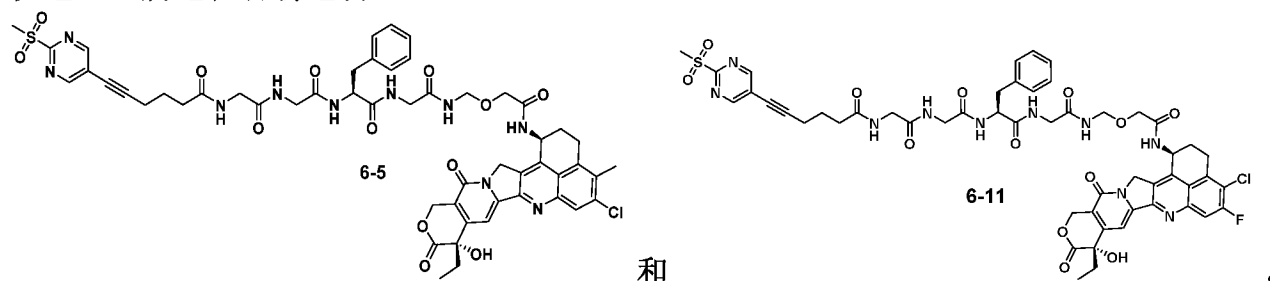








优选地，所述化合物选自：



10. 一种药物组合物，其包含权利要求 1-9 任一项的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药，以及一种或多种药学上可接受的载体。

11. 一种药盒产品，其包含：

a) 作为第一治疗剂的至少一种权利要求 1-9 任一项的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药，或者权利要求 10 的药物组合物；

b) 任选存在的作为第二治疗剂的至少一种其他治疗剂，或者作为第二药物组合物的包含其他治疗剂的药物组合物；和

c) 任选存在的包装和/或说明书。

12. 权利要求 1-9 任一项的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药、权利要求 10 的药物组合物或者权利要求 11 的药盒产品在制备用于治疗细胞异常增殖方面的疾病的药物中的用途。

13. 一种治疗细胞异常增殖方面的疾病的方法，其包括以下步骤：将治疗有效量的权利要求 1-9 任一项的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮

氧化物、同位素标记物、代谢物和前药或者权利要求 10 的药物组合物施用于对其有需求的个体向。

14. 权利要求 1-9 任一项的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药、权利要求 10 的药物组合物或者权利要求 11 的药盒产品，其用于治疗细胞异常增殖方面的疾病。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/074328

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
C07D 491/147(2006.01)i; C07D 491/16(2006.01)i; C07D 491/22(2006.01)i; A61K 31/437(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D; A61K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, ISI Web of Knowledge, STN (REGISTRY, MARPAT, CAPLUS): 喜树碱, 喜树碱缀合物, 连接器, 检索结构式, structural formula search, camptothecin		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 113943310 A (SICHUAN BAILI PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al.) 18 January 2022 (2022-01-18) claims 1, 6-7, 13-14, 16, and 25	1-4, 6-14
PX	CN 113827736 A (SICHUAN BAILI PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al.) 24 December 2021 (2021-12-24) claims 5-6, 7, 9, and 19-20	1-4, 6-14
PX	WO 2021147993 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. et al.) 29 July 2021 (2021-07-29) description, page 2, line 1 to page 11, last line, and embodiments 2-3	1-4, 6-14
X	REGISTRY. "RN: 2577204-71-6, 2577204-69-2, 2577204-54-5, 2577204-46-5, 2577204-44-3, 2577204-16-9, 2414254-40-1, 2414254-39-8, 2414254-38-7" STN, 27 January 2021 (2021-01-27),	1-2
X	CN 112125915 A (SICHUAN BAILI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 25 December 2020 (2020-12-25) claims 1, 7-8, 12, 14, and 21-22	1-4, 6-14
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&amp;” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search <b>14 April 2022</b>		Date of mailing of the international search report <b>05 May 2022</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China</b> Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer  Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/074328

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 111689980 A (SICHUAN BAILI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 22 September 2020 (2020-09-22) claims 1 and 5-6, and embodiments 1-23	1-4, 6-14
X	EP 0495432 A1 (DAIICHI SEIYAKU CO., LTD. et al.) 22 July 1992 (1992-07-22) embodiments, and page 3, line 1 to page. 4, line 15	1, 3-4, 6-7, 10-14
X	WO 2020219287 A1 (IMMUNOGEN INC.) 29 October 2020 (2020-10-29) abstract, and description, paragraphs [0007]-[0047] and [0261]-[0263]	1, 5, 7-14
X	CN 111936169 A (SEATTLE GENETICS INC.) 13 November 2020 (2020-11-13) claim 1, and embodiments 1-8 and embodiments 1-1 to 10-1	1, 5, 7-14

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: **13**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
[1] Claim 13 relates to a method for treating a disease. However, a search is conducted on the basis of a corresponding pharmaceutical use thereof.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2022/074328**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN	113943310	A	18 January 2022	None	
CN	113827736	A	24 December 2021	WO 2021249228	A1 16 December 2021
WO	2021147993	A1	29 July 2021	TW 202140077	A 01 November 2021
CN	112125915	A	25 December 2020	None	
CN	111689980	A	22 September 2020	None	
EP	0495432	A1	22 July 1992	DE 69211023	D1 04 July 1996
				CA 2059305	A1 17 July 1992
				NO 920201	D0 15 January 1992
				ES 2090366	T3 16 October 1996
				HK 1001561	A1 26 June 1998
				AU 1018592	A 23 July 1992
				GR 3020395	T3 30 September 1996
				KR 920014816	A 25 August 1992
				AT 138661	T 15 June 1996
				FI 920194	A0 16 January 1992
				JP H0559061	A 09 March 1993
				IE 920079	A1 29 July 1992
				RU 2071476	C1 10 January 1997
				DK 0495432	T3 21 October 1996
WO	2020219287	A1	29 October 2020	TW 202106691	A 16 February 2021
				AU 2020263231	A1 18 November 2021
				US 2021077482	A1 18 March 2021
				KR 20220027828	A 08 March 2022
				SG 11202110922Q	A 28 October 2021
				CA 3137125	A1 29 October 2020
				EP 3958977	A1 02 March 2022
				IL 286846	D0 31 October 2021
				CN 113766954	A 07 December 2021
CN	111936169	A	13 November 2020	SG 11202009527P	A 29 October 2020
				BR 112020020466	A2 12 January 2021
				TW 202010498	A 16 March 2020
				CA 3094313	A1 10 October 2019
				AR 114473	A1 09 September 2020
				AU 2019247434	A1 08 October 2020
				IL 277748	D0 30 November 2020
				MA 52669	A 17 February 2021
				EA 202092410	A1 09 February 2021
				KR 20210006362	A 18 January 2021
				EP 3773736	A1 17 February 2021
				JP 2021521111	A 26 August 2021
				WO 2019195665	A1 10 October 2019
				US 2019343828	A1 14 November 2019

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/074328

<p><b>A. 主题的分类</b></p> <p>C07D 491/147(2006.01)i; C07D 491/16(2006.01)i; C07D 491/22(2006.01)i; A61K 31/437(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																										
<p><b>B. 检索领域</b></p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07D; A61K; A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, ISI Web of Knowledge, STN(REGISTRY, MARPAT, CAPLUS): 喜树碱, 喜树碱缀合物, 连接子, 检索结构式, camptothecin</p>																										
<p><b>C. 相关文件</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 113943310 A (四川百利药业有限责任公司等) 2022年1月18日 (2022 - 01 - 18) 权利要求1, 6-7, 13-14, 16, 25</td> <td>1-4, 6-14</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>CN 113827736 A (四川百利药业有限责任公司等) 2021年12月24日 (2021 - 12 - 24) 权利要求5-6, 7, 9, 19-20</td> <td>1-4, 6-14</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>WO 2021147993 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO. 等) 2021年7月29日 (2021 - 07 - 29) 说明书第2页第1行至第11页最后一行, 实施例2-3</td> <td>1-4, 6-14</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>REGISTRY. "RN: 2577204-71-6, 2577204-69-2, 2577204-54-5, 2577204-46-5, 2577204-44-3, 2577204-16-9, 2414254-40-1, 2414254-3</td> <td>1-2</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 112125915 A (四川百利药业有限责任公司) 2020年12月25日 (2020 - 12 - 25) 权利要求1, 7-8, 12, 14, 21-22</td> <td>1-4, 6-14</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 111689980 A (四川百利药业有限责任公司) 2020年9月22日 (2020 - 09 - 22) 权利要求1, 5-6, 实施例1-23</td> <td>1-4, 6-14</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>EP 0495432 A1 (DAIICHI SEIYAKU CO. 等) 1992年7月22日 (1992 - 07 - 22) 实施例以及第3页第1行至第4页第15行</td> <td>1, 3-4, 6-7, 10-14</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 113943310 A (四川百利药业有限责任公司等) 2022年1月18日 (2022 - 01 - 18) 权利要求1, 6-7, 13-14, 16, 25	1-4, 6-14	PX	CN 113827736 A (四川百利药业有限责任公司等) 2021年12月24日 (2021 - 12 - 24) 权利要求5-6, 7, 9, 19-20	1-4, 6-14	PX	WO 2021147993 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO. 等) 2021年7月29日 (2021 - 07 - 29) 说明书第2页第1行至第11页最后一行, 实施例2-3	1-4, 6-14	X	REGISTRY. "RN: 2577204-71-6, 2577204-69-2, 2577204-54-5, 2577204-46-5, 2577204-44-3, 2577204-16-9, 2414254-40-1, 2414254-3	1-2	X	CN 112125915 A (四川百利药业有限责任公司) 2020年12月25日 (2020 - 12 - 25) 权利要求1, 7-8, 12, 14, 21-22	1-4, 6-14	X	CN 111689980 A (四川百利药业有限责任公司) 2020年9月22日 (2020 - 09 - 22) 权利要求1, 5-6, 实施例1-23	1-4, 6-14	X	EP 0495432 A1 (DAIICHI SEIYAKU CO. 等) 1992年7月22日 (1992 - 07 - 22) 实施例以及第3页第1行至第4页第15行	1, 3-4, 6-7, 10-14
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																								
PX	CN 113943310 A (四川百利药业有限责任公司等) 2022年1月18日 (2022 - 01 - 18) 权利要求1, 6-7, 13-14, 16, 25	1-4, 6-14																								
PX	CN 113827736 A (四川百利药业有限责任公司等) 2021年12月24日 (2021 - 12 - 24) 权利要求5-6, 7, 9, 19-20	1-4, 6-14																								
PX	WO 2021147993 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO. 等) 2021年7月29日 (2021 - 07 - 29) 说明书第2页第1行至第11页最后一行, 实施例2-3	1-4, 6-14																								
X	REGISTRY. "RN: 2577204-71-6, 2577204-69-2, 2577204-54-5, 2577204-46-5, 2577204-44-3, 2577204-16-9, 2414254-40-1, 2414254-3	1-2																								
X	CN 112125915 A (四川百利药业有限责任公司) 2020年12月25日 (2020 - 12 - 25) 权利要求1, 7-8, 12, 14, 21-22	1-4, 6-14																								
X	CN 111689980 A (四川百利药业有限责任公司) 2020年9月22日 (2020 - 09 - 22) 权利要求1, 5-6, 实施例1-23	1-4, 6-14																								
X	EP 0495432 A1 (DAIICHI SEIYAKU CO. 等) 1992年7月22日 (1992 - 07 - 22) 实施例以及第3页第1行至第4页第15行	1, 3-4, 6-7, 10-14																								
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																										
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>"&amp;" 同族专利的文件</p>																										
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年4月14日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年5月5日</p>																								
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>陈曦</p> <p>电话号码 86-(10)53962145</p>																								

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	WO 2020219287 A1 (IMMUNOGEN INC.) 2020年10月29日 (2020 - 10 - 29) 摘要, 说明书第[0007]-[0047], [00261]-[00263]段	1, 5, 7-14
X	CN 111936169 A (西雅图遗传学公司) 2020年11月13日 (2020 - 11 - 13) 权利要求1, 实施例1-8, 实施例1-1至实施例10-1	1, 5, 7-14

## 第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1.  权利要求： 13  
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：  
[1] 权利要求13涉及疾病的治疗方法，但基于其相应的制药用途作出检索。
2.  权利要求：  
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3.  权利要求：  
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/074328

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	113943310	A	2022年1月18日	无			
CN	113827736	A	2021年12月24日	WO	2021249228	A1	2021年12月16日
WO	2021147993	A1	2021年7月29日	TW	202140077	A	2021年11月1日
CN	112125915	A	2020年12月25日	无			
CN	111689980	A	2020年9月22日	无			
EP	0495432	A1	1992年7月22日	DE	69211023	D1	1996年7月4日
				CA	2059305	A1	1992年7月17日
				NO	920201	D0	1992年1月15日
				ES	2090366	T3	1996年10月16日
				HK	1001561	A1	1998年6月26日
				AU	1018592	A	1992年7月23日
				GR	3020395	T3	1996年9月30日
				KR	920014816	A	1992年8月25日
				AT	138661	T	1996年6月15日
				FI	920194	A0	1992年1月16日
				JP	H0559061	A	1993年3月9日
				IE	920079	A1	1992年7月29日
				RU	2071476	C1	1997年1月10日
				DK	0495432	T3	1996年10月21日
WO	2020219287	A1	2020年10月29日	TW	202106691	A	2021年2月16日
				AU	2020263231	A1	2021年11月18日
				US	2021077482	A1	2021年3月18日
				KR	20220027828	A	2022年3月8日
				SG	11202110922Q	A	2021年10月28日
				CA	3137125	A1	2020年10月29日
				EP	3958977	A1	2022年3月2日
				IL	286846	D0	2021年10月31日
				CN	113766954	A	2021年12月7日
CN	111936169	A	2020年11月13日	SG	11202009527P	A	2020年10月29日
				BR	112020020466	A2	2021年1月12日
				TW	202010498	A	2020年3月16日
				CA	3094313	A1	2019年10月10日
				AR	114473	A1	2020年9月9日
				AU	2019247434	A1	2020年10月8日
				IL	277748	D0	2020年11月30日
				MA	52669	A	2021年2月17日
				EA	202092410	A1	2021年2月9日
				KR	20210006362	A	2021年1月18日
				EP	3773736	A1	2021年2月17日
				JP	2021521111	A	2021年8月26日
				WO	2019195665	A1	2019年10月10日
				US	2019343828	A1	2019年11月14日