



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 118401507 A

(43) 申请公布日 2024.07.26

(21) 申请号 202280051554.7

(22) 申请日 2022.07.20

(30) 优先权数据

63/223,788 2021.07.20 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.01.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/037756 2022.07.20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/003973 EN 2023.01.26

(71) 申请人 丹娜法伯癌症研究院

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 S·布尔拉格 X·刘

R·C·舍恩菲尔德

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所

11517

专利代理师 顾云峰 吴瑜

(51) Int.Cl.

C07D 401/06 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07D 513/04 (2006.01)

C07D 491/052 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

权利要求书64页 说明书145页

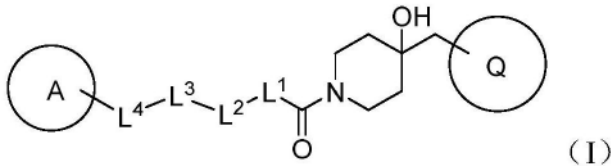
(54) 发明名称

靶向泛素特异性蛋白酶7 (USP7) 的抑制剂

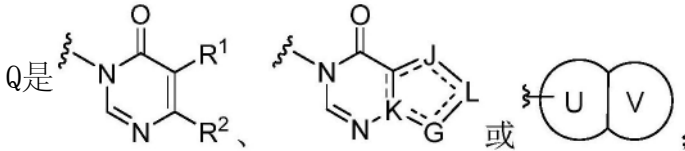
(57) 摘要

本文公开了去泛素化 (DUB) 酶 USP7 (泛素特异性蛋白酶7) 的抑制剂。还提供了治疗由 USP7 调节的疾病或病症的方法。

1. 一种式(I)的化合物:



或其药学上可接受的盐,其中:



G是 CR^{10} 、 NR^{10} 或N;

J是 CR^{10} 、 NR^{10} 、N或S;

L是 NR^{10} 、 CR^{10} 、 CR^{11} 或N;

K是C或N;

当化合价允许时,||是单键或双键,条件是含有J、L和G的环是芳族的;

U是任选地被一个或多个Ha1、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-OH$ 、氧代或 C_{1-3} 烷基取代的5至6元杂环基;

V是5至6元杂芳基或 C_{3-6} 环烷基,其中所述5至6元杂芳基或 C_{5-6} 环烷基任选地被一个或多个Ha1、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-OH$ 、氧代或 C_{1-3} 烷基取代;

R^1 是H;

R^2 是H或 $-NHC_{1-3}$ 亚烷基(C_{5-7} 杂环基),

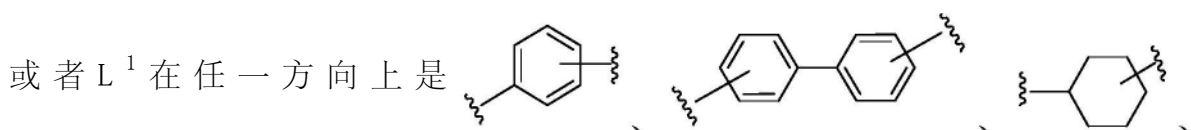
或者 R^1 和 R^2 与它们所连接的碳原子结合在一起形成 C_{6-10} 芳基或5至6元杂芳基,其中所述 C_{6-10} 芳基或所述5至6元杂芳基任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代:Ha1、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{6-10} 芳基、5至6元杂芳基、4至7元杂环基、 $-NHC(=O)C_{1-3}$ 亚烷基(NR^3R^4)、 $-C(=O)NHC_{1-3}$ 亚烷基(NR^3R^4)、 $-NHC_{1-3}$ 亚烷基(4至7元杂环基)、 $-OC_{1-3}$ 亚烷基(4至7元杂环基)、 $-OC_{1-3}$ 亚烷基- $O-(NR^3R^4)$ 、 $-NHC_{1-3}$ 亚烷基(NR^3R^4)或 $-OC_{1-3}$ 亚烷基(NR^3R^4),并且其中所述 C_{1-3} 烷基、所述 C_{6-10} 芳基、所述5至6元杂芳基或所述4至7元杂环基任选地独立地被一个或多个Ha1、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 C_{1-3} 烷基或 $-C_{0-2}$ 烷基(5至6元杂环基)取代;

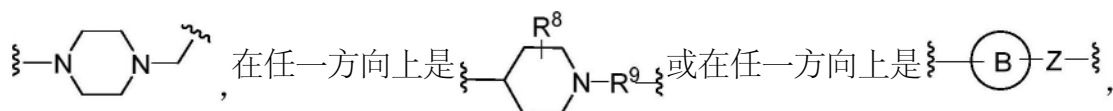
R^3 是 C_{1-3} 烷基;

R^4 是 C_{1-3} 烷基,

或者 R^3 和 R^4 与它们所连接的氮原子结合在一起形成5至7元杂环基或5至7元杂芳基,其中所述5至7元杂环基任选地被一个或多个 C_{1-3} 烷基取代;

L^1 是被一个或多个 $-C_{0-2}$ 烷基(C_6 芳基)、 $-NHC_{0-2}$ 烷基(C_6 芳基)或 $-C_{0-2}$ 烷基(5至6元杂芳基)取代的 C_{2-4} 亚烷基,其中所述 C_{2-4} 亚烷基中的一个或多个碳任选地被N替换,所述N任选地被 C_{1-3} 烷基取代;



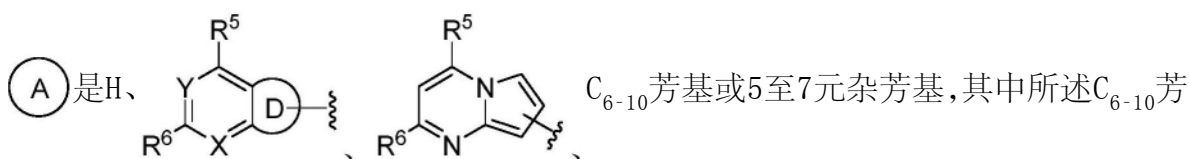


其中所述-C₀₋₂烷基(C₆芳基)或所述-C₀₋₂烷基(5至6元杂芳基)任选地独立地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃或C₁₋₃烷基取代;Z是C₁₋₄亚烷基,并且(B)是C₆₋₁₀亚芳基、5至7元亚杂环基或5至7元亚杂芳基,并且其中所述C₁₋₄亚烷基、所述5至7元亚杂环基和所述5至7元亚杂芳基各自任选地独立地被C₀₋₂烷基(C₆芳基)或C₃₋₆环烷基取代;

L²是-NH-、键或 ,其中(C)是5元亚杂芳基;

L³是-C(=O)-、-S(=O)₂-、C₆₋₁₀亚芳基或键;

L⁴是C₁₋₃亚烷基、C₂₋₄亚烯基或键;



X是N或CH;

Y是N或CR⁷;

R⁵是Ha1、-NH₂、-NH₂(C₁₋₃烷基)、-OH、C₁₋₃烷氧基或C₁₋₃烷基;

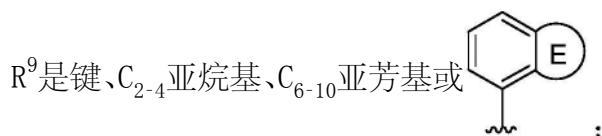
R⁶是H、Ha1、-NH₂、-OH、-C(O)NH₂、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₆₋₁₀芳基、5至6元杂芳基或C₃₋₅环烷基,其中-NH₂、-OH、所述C₁₋₃烷基、所述C₆₋₁₀芳基、所述5至6元杂芳基或所述C₃₋₅环烷基任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷基(NH₂)或C₁₋₃烷基(CF₃)取代;

R⁷是H、Ha1、C₁₋₃烷基、C₁₋₃卤代烷基、氰基、C₃₋₅环烷基、-C(O)NH₂、-C(O)N(C₁₋₃烷基)₂、-C(O)NHC₃₋₅环烷基或-C(=O)NHC₁₋₃烷基,其中当R⁷是-C(O)N(C₁₋₃烷基)₂时,所述两个C₁₋₃烷基任选地与它们所连接的N原子结合在一起以形成3至7元杂环基;

或者R⁷和R⁶与它们所连接的碳原子结合在一起形成C₅₋₇环烷基、C₆₋₈桥连的双环环烷基或5至6元杂环基,其中所述C₅₋₇环烷基或所述5至6元杂环基任选地被一个或多个C₁₋₃烷基、氧代或-C(=O)C₁₋₃烷基取代,其中同一碳上的两个C₁₋₃烷基任选地与它们所连接的碳原子结合在一起以形成螺环;

(D)是C₆₋₁₀芳基、5至6元杂环基或5至6元杂芳基;

R⁸是C₆₋₁₀芳基,其任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷基(NH₂)或C₁₋₃烷基(CF₃)取代;



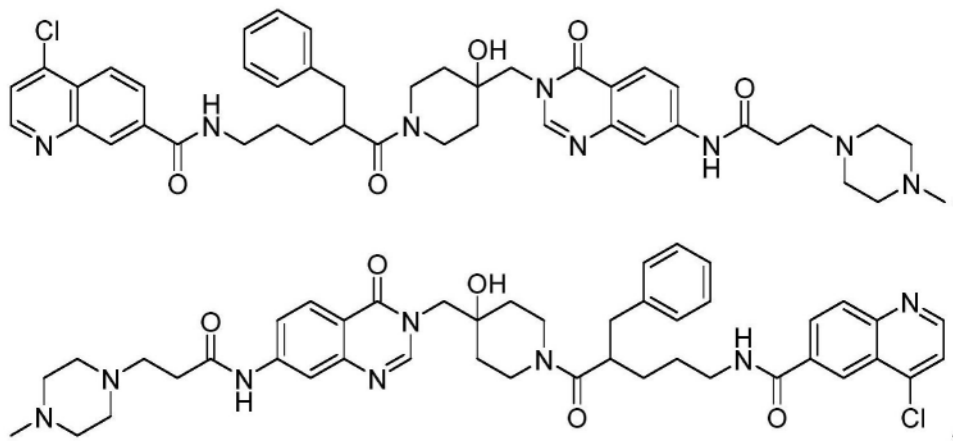
(E)是5至6元杂环基,其任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷基

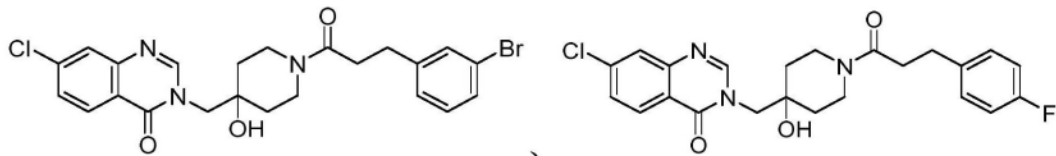
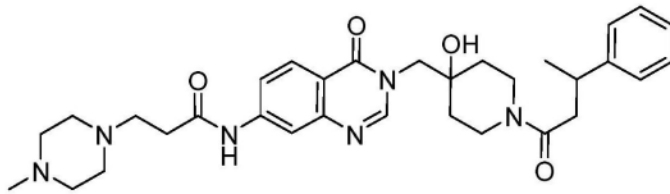
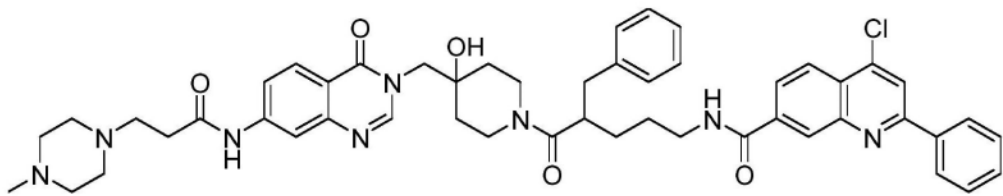
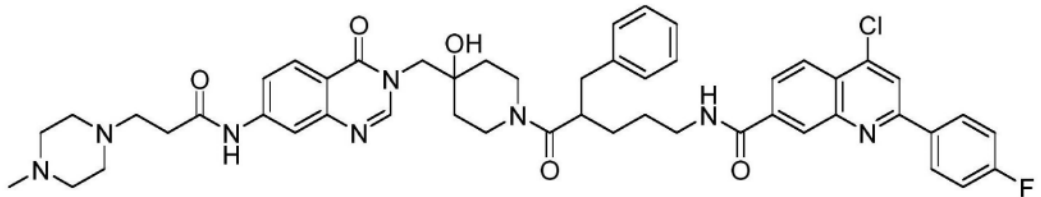
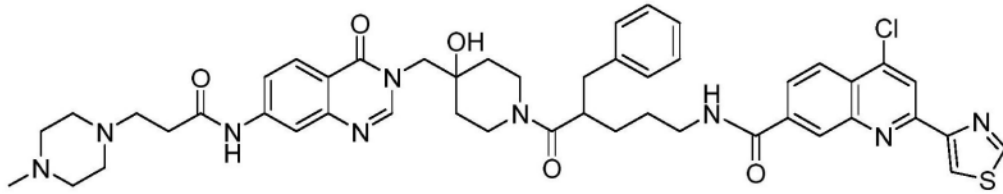
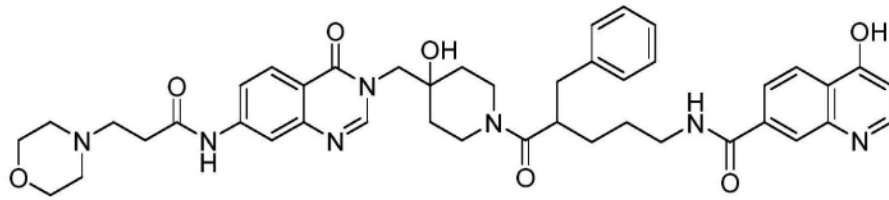
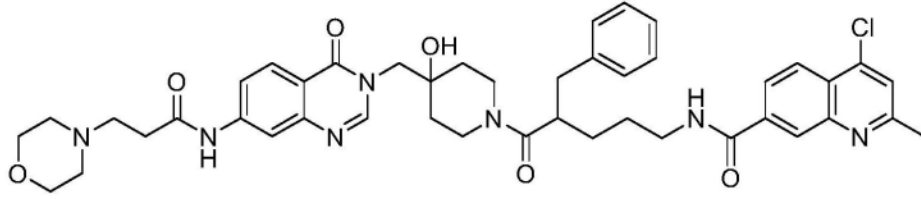
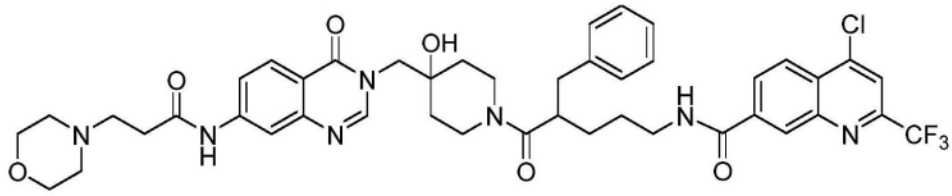
(NH₂) 或C₁₋₃烷基 (CF₃) 取代;

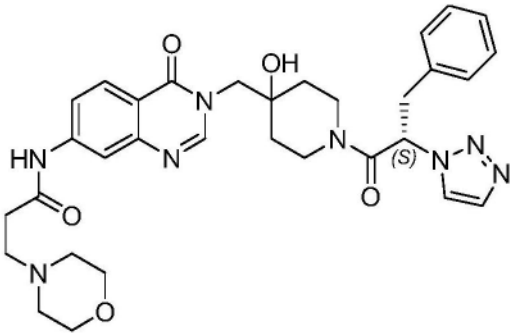
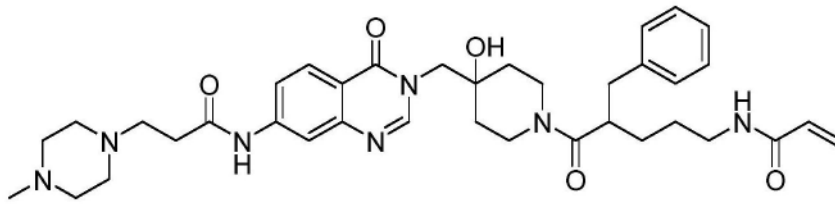
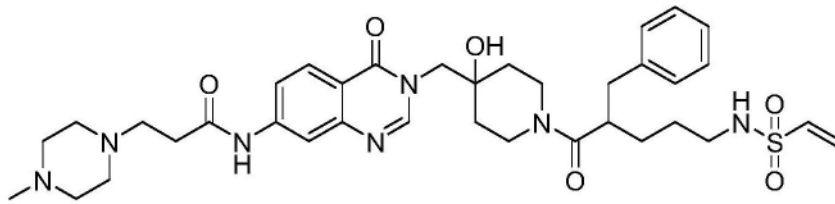
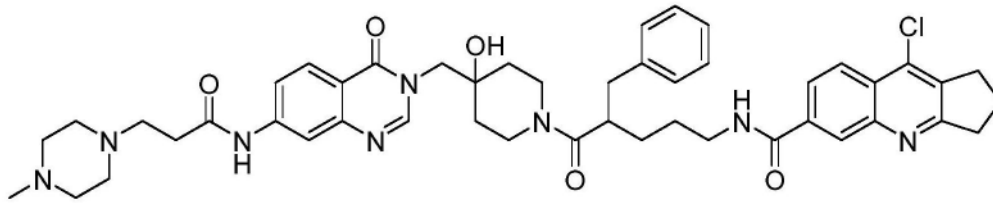
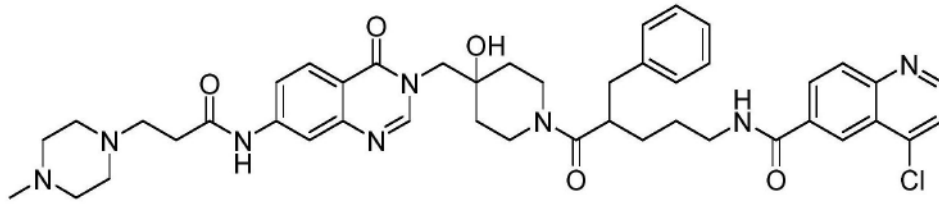
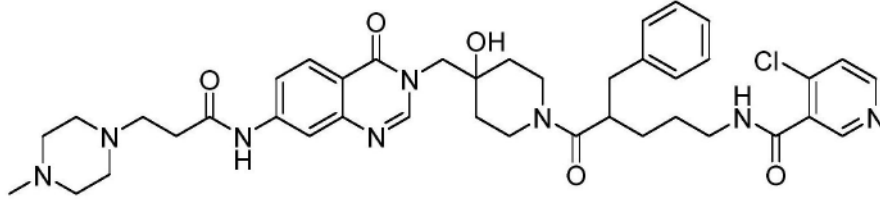
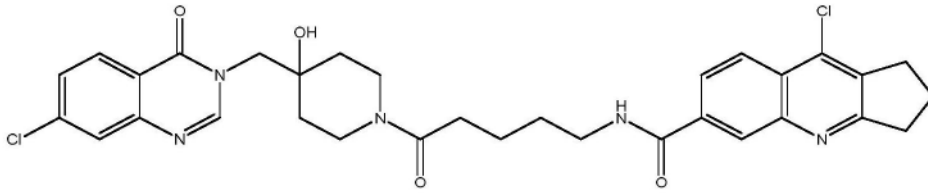
R¹⁰是H、C₁₋₃亚烷基 (C₅₋₇杂环基) 或C₆₋₁₀芳基, 其中C₁₋₃亚烷基 (C₅₋₇杂环基) 或C₆₋₁₀芳基任
选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷基 (NH₂)、C₁₋₃烷基 (CF₃) 或C₁₋₃烷基
(NH₂) (CF₃) 取代; 并且

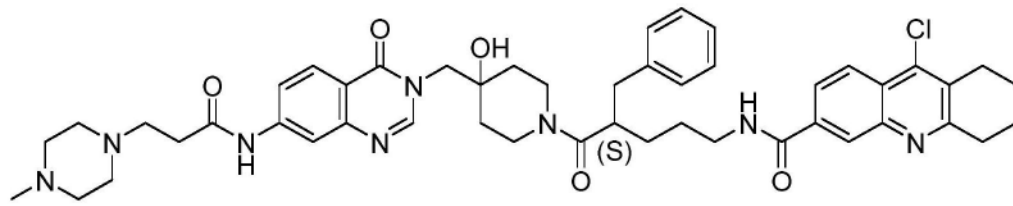
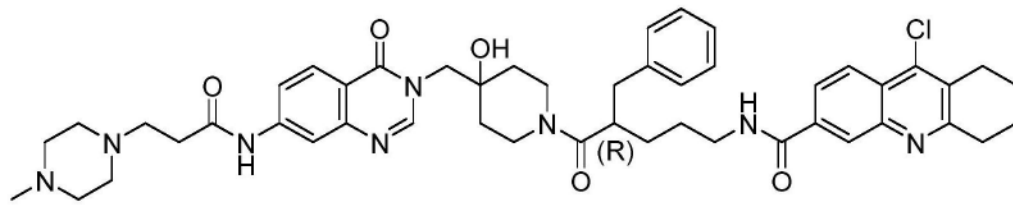
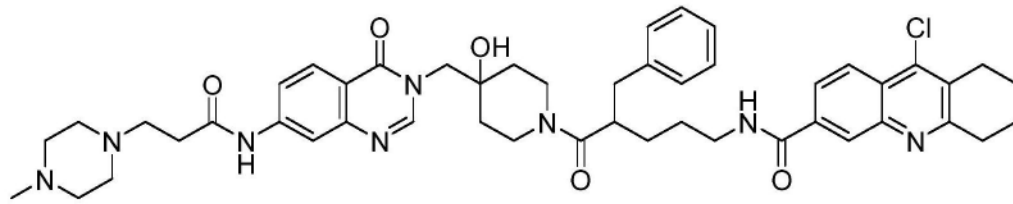
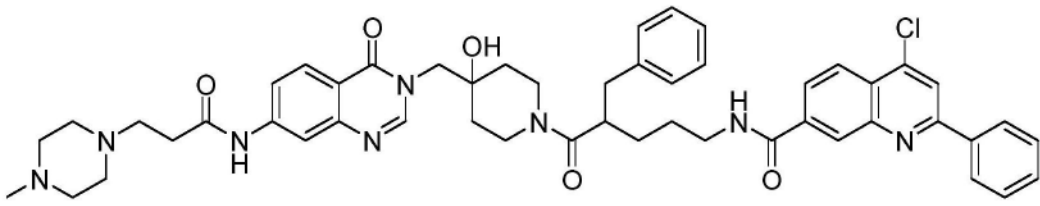
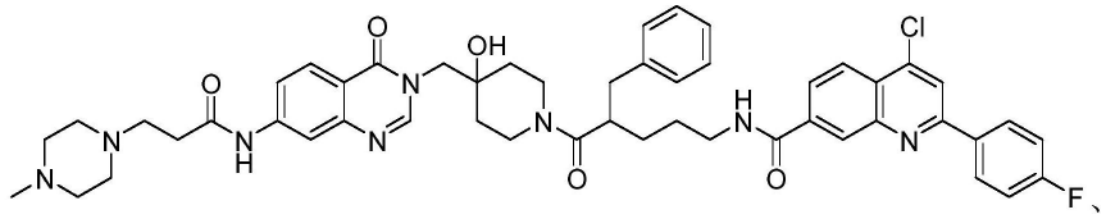
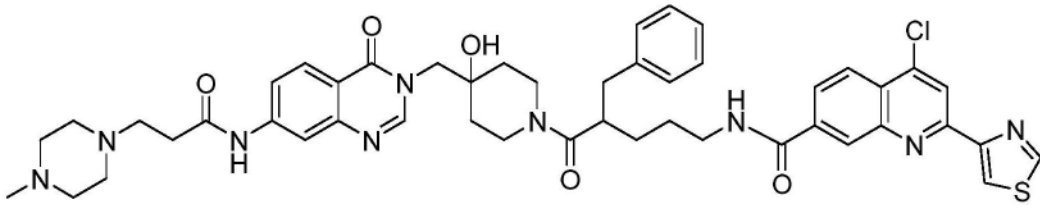
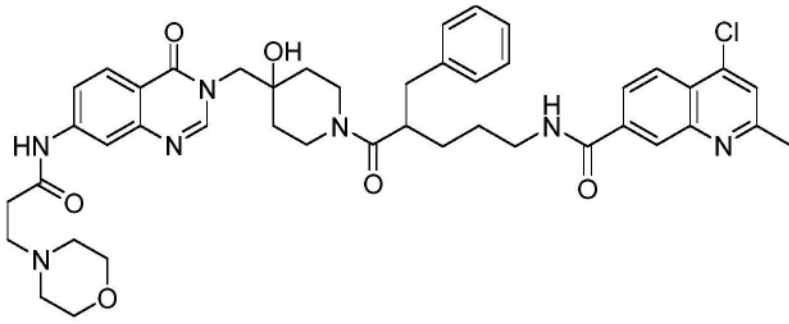
R¹¹是Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃或C₁₋₃烷基,

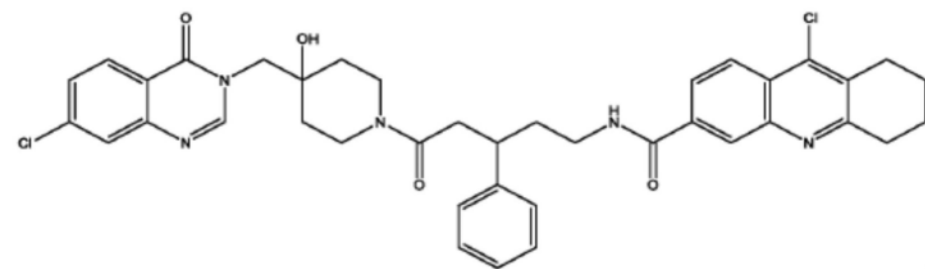
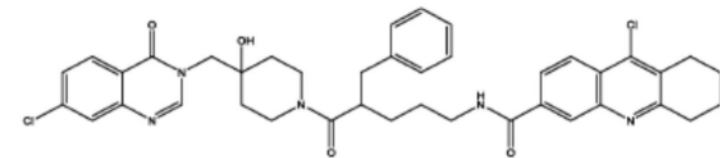
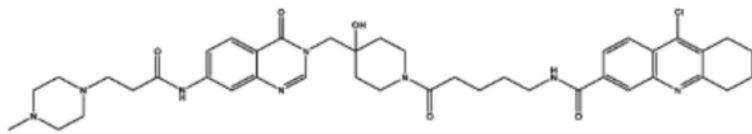
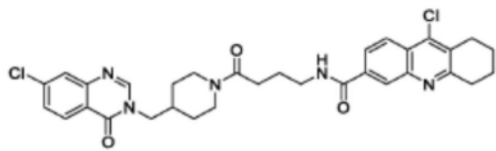
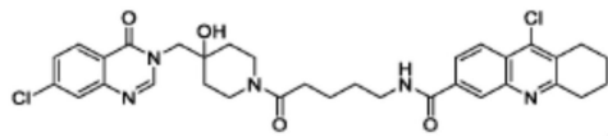
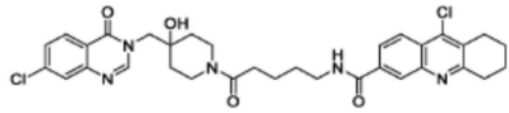
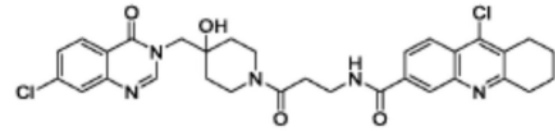
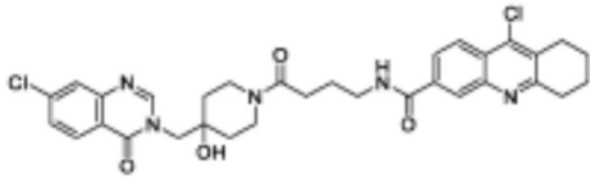
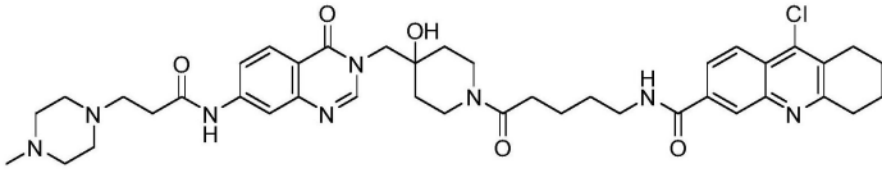
条件是所述化合物不是

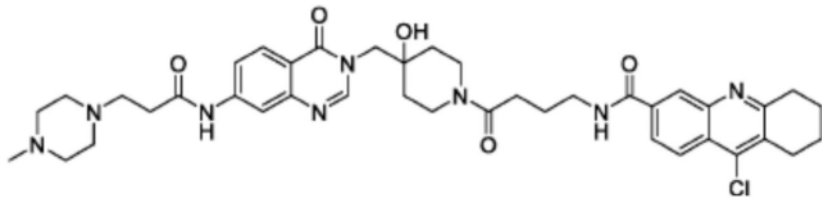
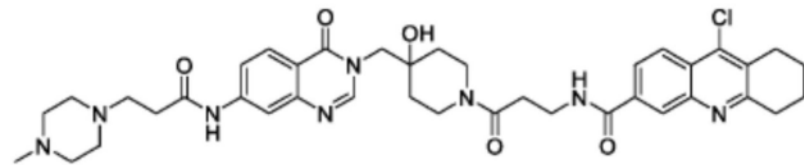
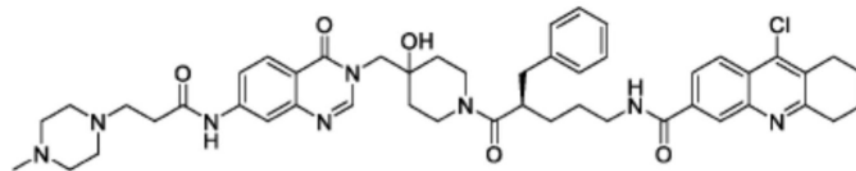
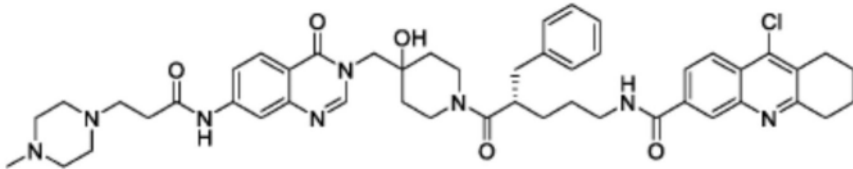
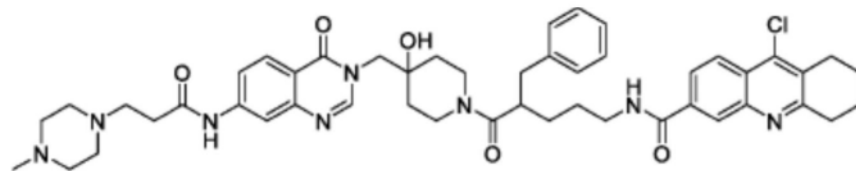
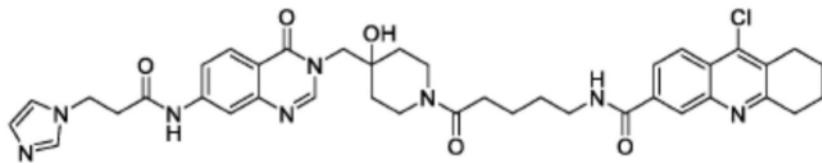
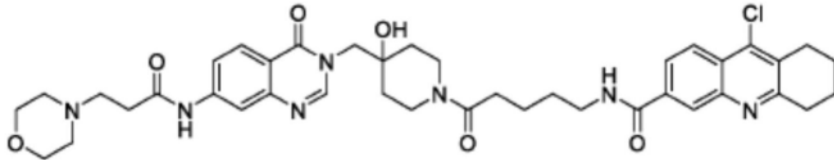
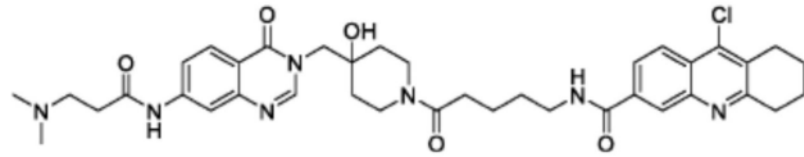
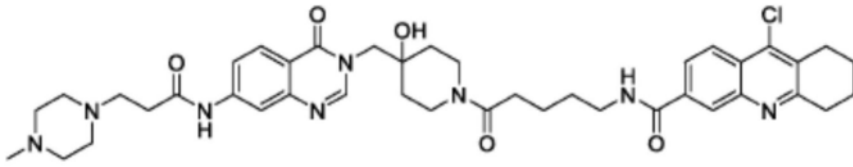


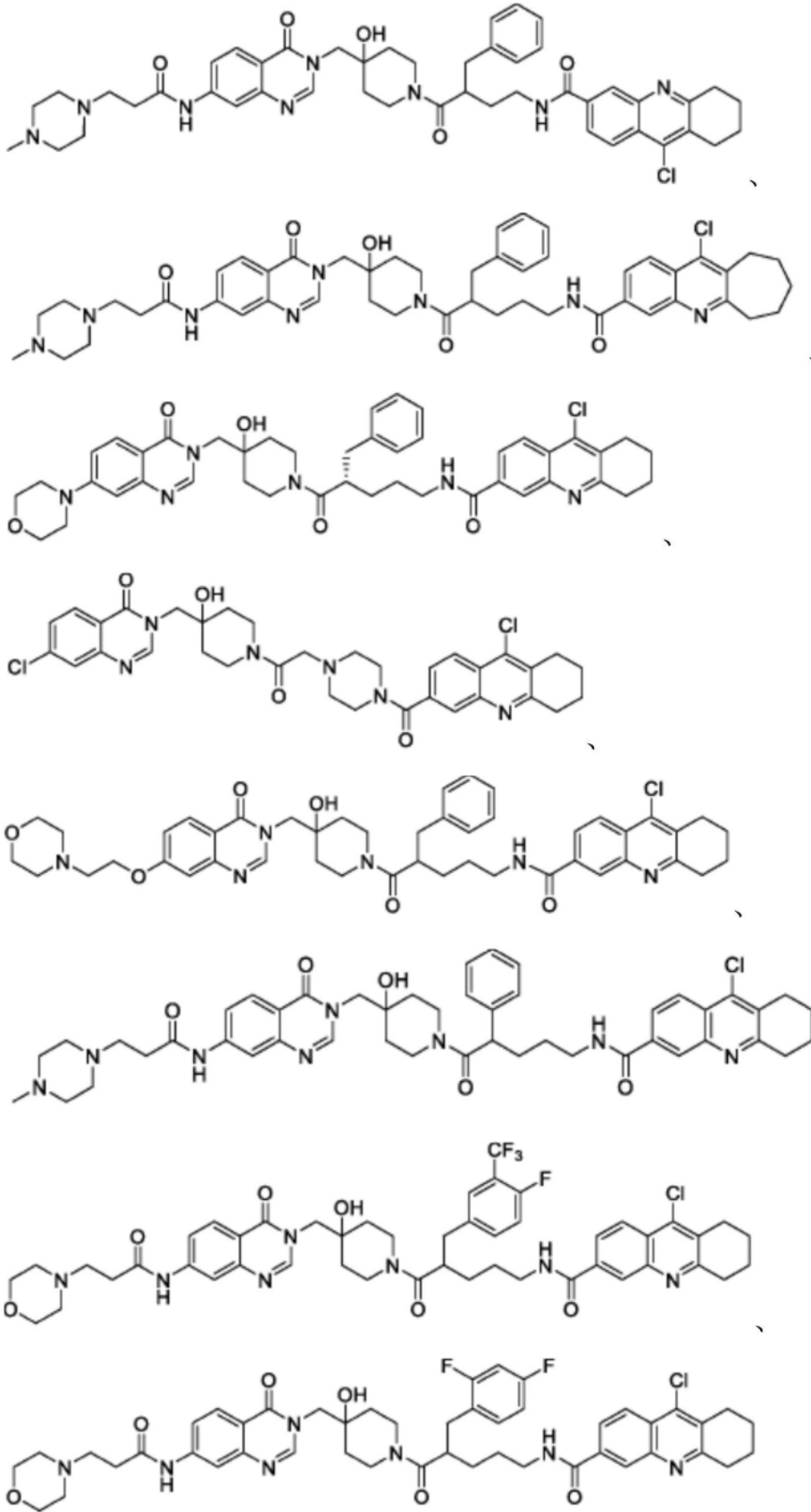


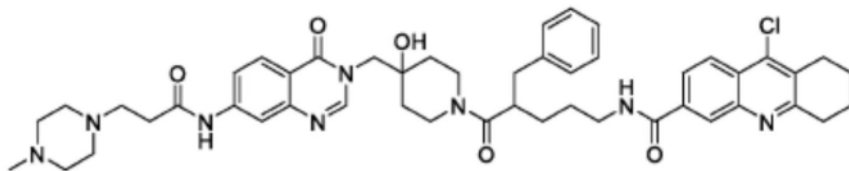
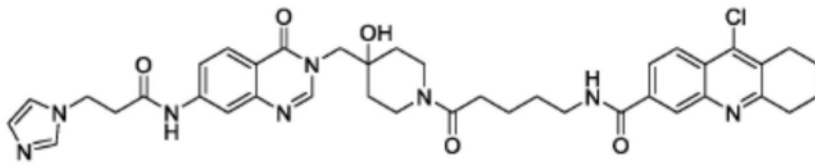
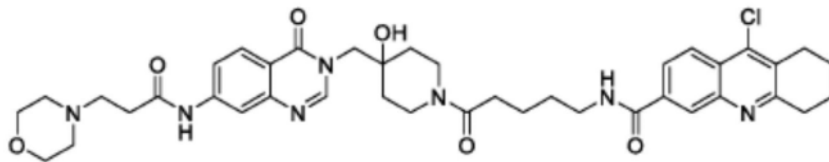
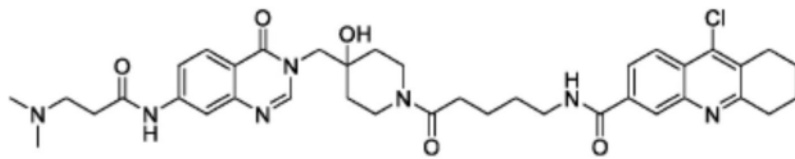
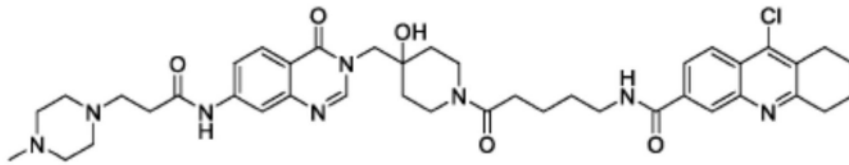
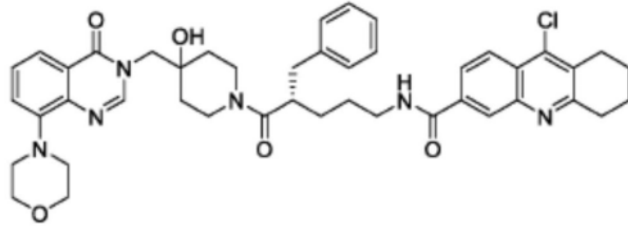
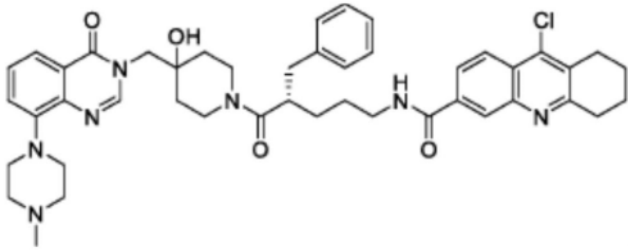


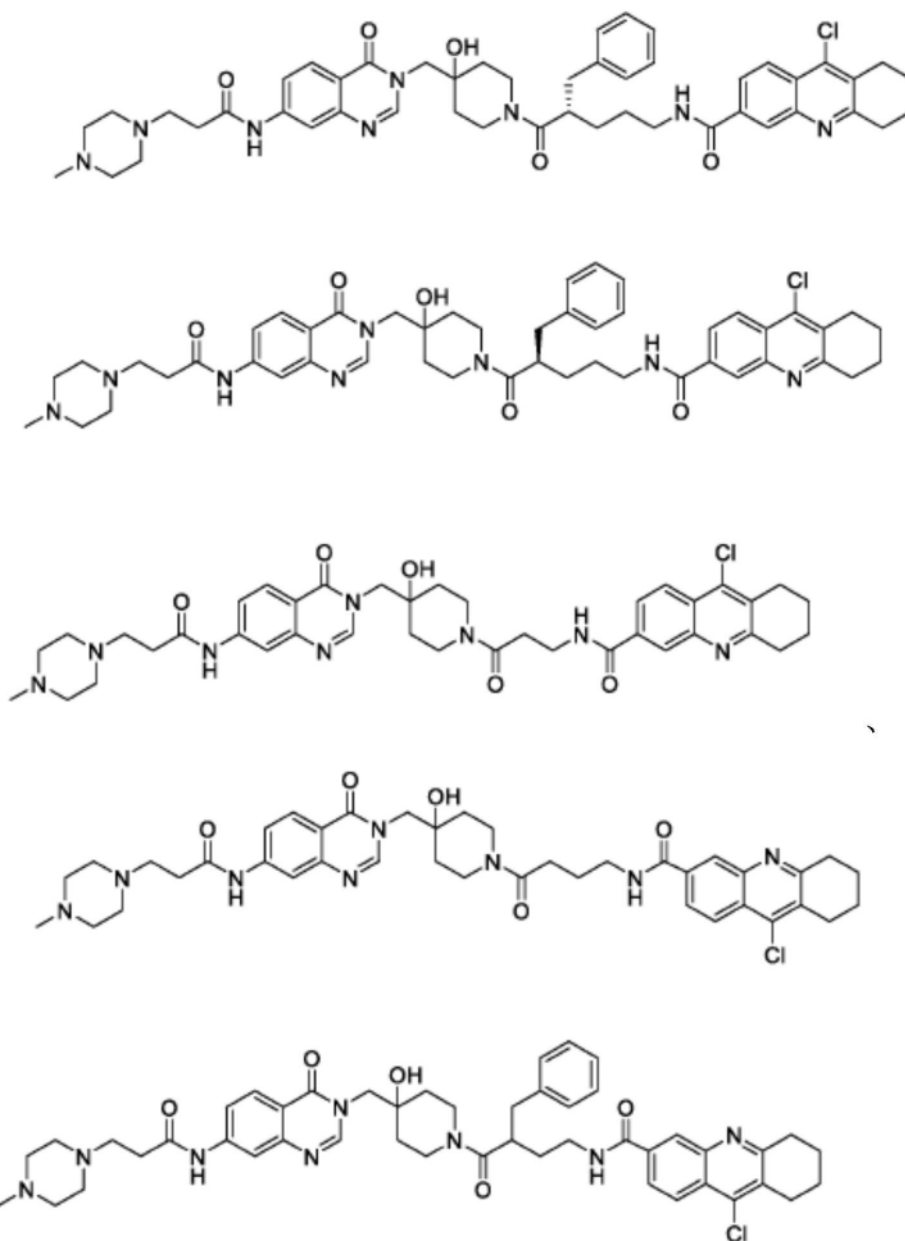




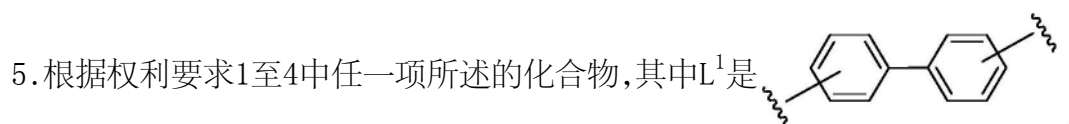
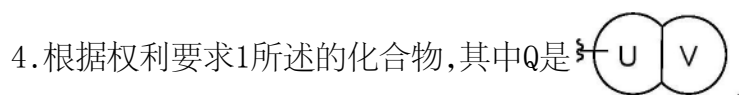
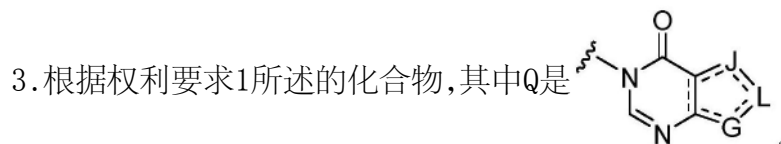
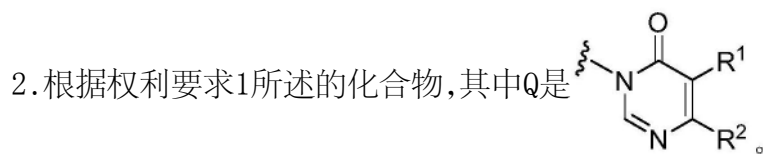


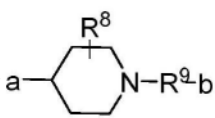


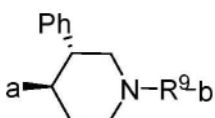


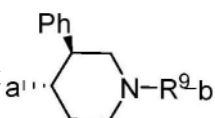


或



6. 根据权利要求1至4中任一项所述的化合物, 其中 L^1 是  , 其中a是与羰基的连接点, 并且b是与 L^2 的连接点。

7. 根据权利要求1至4中任一项所述的化合物, 其中 L^1 是  , 其中a是与羰基的连接点, 并且b是与 L^2 的连接点。

8. 根据权利要求1至4中任一项所述的化合物, 其中 L^1 是  , 其中a是与羰基的连接点, 并且b是与 L^2 的连接点。

9. 根据权利要求6至8中任一项所述的化合物, 其中 R^9 是 C_{2-4} 亚烷基。

10. 根据权利要求6至8中任一项所述的化合物, 其中 R^9 是 C_{6-10} 亚芳基。

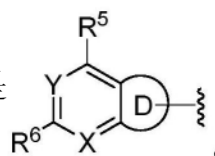
11. 根据权利要求1至10中任一项所述的化合物, 其中 L^2 是 $-NH-$ 。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物, 其中 L^3 是 $-S(=O)_2-$ 。

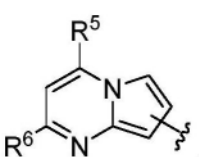
13. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物, 其中 L^3 是 $-C(=O)-$ 。

14. 根据权利要求1至13中任一项所述的化合物, 其中(A)是H并且 L^4 是 C_{1-3} 烷基或 C_{3-4} 烯基。

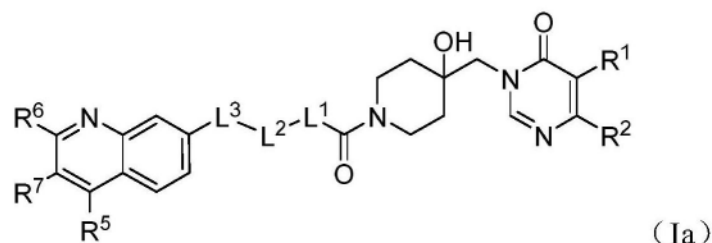
15. 根据权利要求1至14中任一项所述的化合物, 其中 L^4 是 C_{3-4} 烯基。

16. 根据权利要求1至13中任一项所述的化合物, 其中(A)是  。

17. 根据权利要求16所述的化合物, 其中(D)是5至6元杂环基或5至6元杂芳基。


18. 根据权利要求1至13中任一项所述的化合物, 其中(A)是  。

19. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述式(I)的化合物是式(Ia)的化合物:



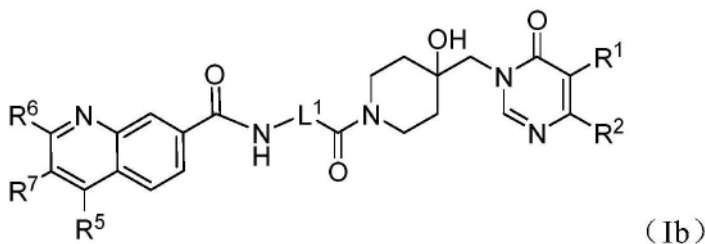
或其药学上可接受的盐。

20. 根据权利要求19所述的化合物, 其中 L^2 是 $-NH-$ 。

21. 根据权利要求19所述的化合物,其中L²是 .

22. 根据权利要求19至21中任一项所述的化合物,其中L³是 -C(=O) -。

23. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述式(I)的化合物是式(Ib)的化合物:



或其药学上可接受的盐。

24. 根据权利要求1至23中任一项所述的化合物,其中R⁵是Hal。

25. 根据权利要求24所述的化合物,其中R⁵是Cl。

26. 根据权利要求1至23中任一项所述的化合物,其中R⁵是-OH。

27. 根据权利要求1至23中任一项所述的化合物,其中R⁵是Me。

28. 根据权利要求1至27中任一项所述的化合物,其中R⁷是H。

29. 根据权利要求1至28中任一项所述的化合物,其中R⁶是H。

30. 根据权利要求1至28中任一项所述的化合物,其中R⁶是F、-NH₂或-OH,并且其中-NH₂或-OH任选地被C₁₋₃烷基取代。

31. 根据权利要求1至28中任一项所述的化合物,其中R⁶是C₁₋₃烷基,并且其中所述C₁₋₃烷基任选地被一个或多个Hal或-NH₂取代。

32. 根据权利要求1至28中任一项所述的化合物,其中R⁶是C₆₋₁₀芳基,并且其中所述C₆₋₁₀芳基任选地被一个或多个Hal、-NH₂、-CN、-CF₃、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷基(NH₂)或C₁₋₃烷基(CF₃)取代。

33. 根据权利要求1至28中任一项所述的化合物,其中R⁶是5至6元杂芳基。

34. 根据权利要求1至28中任一项所述的化合物,其中R⁶是C₃₋₅环烷基,并且其中所述C₃₋₅环烷基任选地被一个或多个Hal取代。

35. 根据权利要求1至28中任一项所述的化合物,其中R⁷和R⁶与它们所连接的碳原子结合在一起形成C₅环烷基或5至6元杂环基,并且其中所述C₅环烷基或所述5至6元杂环基任选地被一个或多个C₁₋₃烷基、氧代或-C(=O)C₁₋₃烷基取代。

36. 根据权利要求1至28中任一项所述的化合物,其中R⁷和R⁶与它们所连接的碳原子结合在一起形成5至6元杂环基,并且其中所述5至6元杂环基任选地被一个或多个C₁₋₃烷基、氧代或-C(=O)C₁₋₃烷基取代。

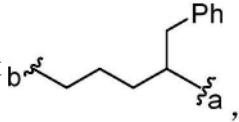
37. 根据权利要求1至28中任一项所述的化合物,其中R⁷和R⁶与它们所连接的碳原子结合在一起形成C₅环烷基。

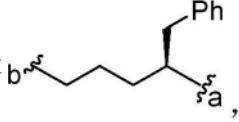
38. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物,其中L¹是被一个或多个-C₀₋₂烷基(C₆芳基)取代的C₂₋₄亚烷基。

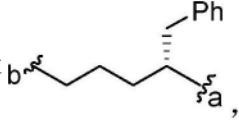
39. 根据权利要求38所述的化合物,其中所述一个或多个-C₀₋₂烷基(C₆芳基)被一个或多个Hal、-NH₂、-CN、-CF₃或C₁₋₃烷基取代。

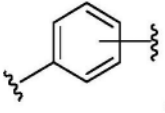
40. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物,其中L¹是被-CH₂Ph取代的C₂₋₄

亚烷基。

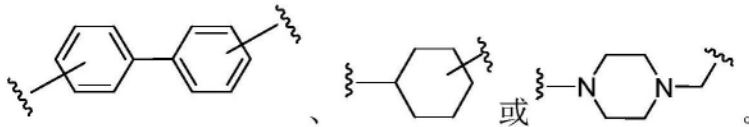
41. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物, 其中 L^1 是  , 其中a是与羰基的连接点, 并且b是与 L^2 的连接点。

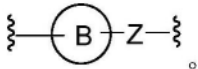
42. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物, 其中 L^1 是  , 其中a是与羰基的连接点, 并且b是与 L^2 的连接点。

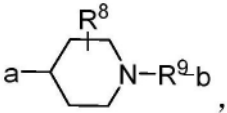
43. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物, 其中 L^1 是  , 其中a是与羰基的连接点, 并且b是与 L^2 的连接点。

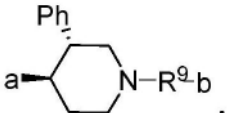
44. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物, 其中 L^1 是  。

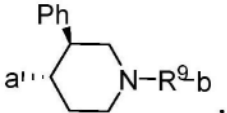
45. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物, 其中 L^1 在任一方向上是



46. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物, 其中 L^1 在任一方向上是  。

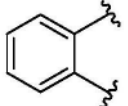
47. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物, 其中 L^1 是  , 其中a是与羰基的连接点, 并且b是与 L^2 的连接点。

48. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物, 其中 L^1 是  , 其中a是与羰基的键, 并且b是与 L^2 的键。

49. 根据权利要求1至4和11至37中任一项所述的化合物, 其中 L^1 是  , 其中a是与羰基的连接点, 并且b是与 L^2 的连接点。


50. 根据权利要求47至49中任一项所述的化合物, 其中 R^9 是 C_{2-4} 亚烷基。

51. 根据权利要求47至49中任一项所述的化合物, 其中 R^9 是 C_{6-10} 亚芳基。

52. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中R⁹是 。

53. 根据权利要求1至10中任一项所述的化合物,其中L²是键。

54. 根据权利要求1至10中任一项所述的化合物,其中L²是-NH-。

55. 根据权利要求1至10中任一项所述的化合物,其中L²是 。

56. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其中L³是-C(=O)-。

57. 根据权利要求1至56中任一项所述的化合物,其中R¹是H。

58. 根据权利要求1至57中任一项所述的化合物,其中R²是-NHC₁₋₃亚烷基(C₅₋₇杂环基)。

59. 根据权利要求1至56中任一项所述的化合物,其中R¹和R²与它们所连接的碳原子结合在一起形成C₆₋₁₀芳基。

60. 根据权利要求59所述的化合物,其中所述C₆₋₁₀芳基被一个或多个-NHC(=O)C₁₋₃亚烷基(NR³R⁴)取代。

61. 根据权利要求59所述的化合物,其中所述C₆₋₁₀芳基被一个或多个-NHC(=O)C₂亚烷基(NMe₂)取代。

62. 根据权利要求59所述的化合物,其中所述C₆₋₁₀芳基被一个或多个-OC₁₋₃亚烷基(NR³R⁴)取代。

63. 根据权利要求60或62所述的化合物,其中R³和R⁴各自独立地是C₁₋₃烷基。

64. 根据权利要求63所述的化合物,其中R³和R⁴各自是Me。

65. 根据权利要求60或62所述的化合物,其中R³和R⁴与它们所连接的氮原子结合在一起形成5至7元杂环基。

66. 根据权利要求65所述的化合物,其中所述5至7元杂环基被一个或多个C₁₋₃烷基取代。

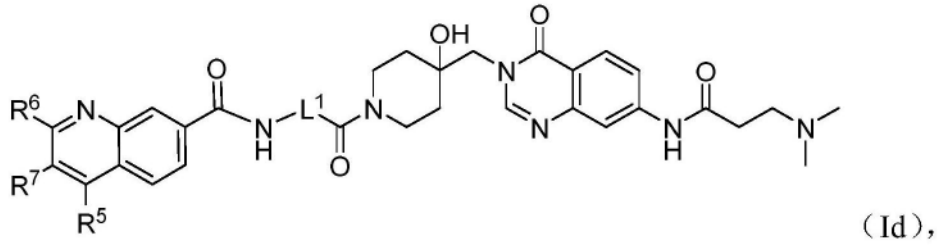
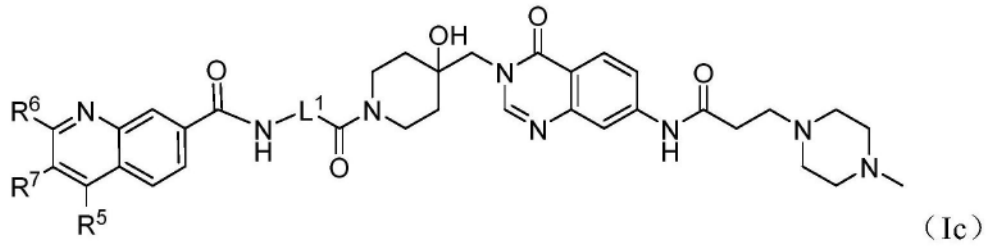
67. 根据权利要求60或62所述的化合物,其中R³和R⁴与它们所连接的氮原子结合在一起形成5至7元杂芳基。

68. 根据权利要求1至56中任一项所述的化合物,其中R¹和R²与它们所连接的碳原子结合在一起形成5至6元杂芳基。

69. 根据权利要求68所述的化合物,其中所述5至6元杂芳基被一个或多个C₆₋₁₀芳基取代。

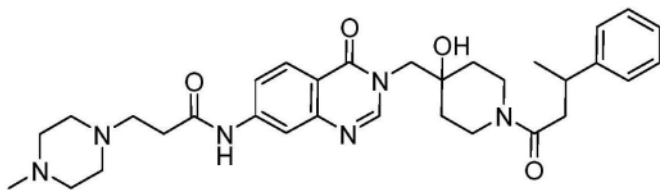
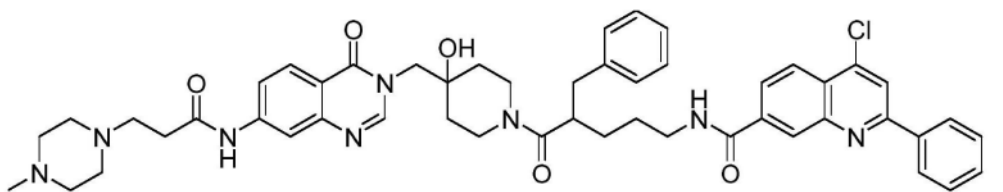
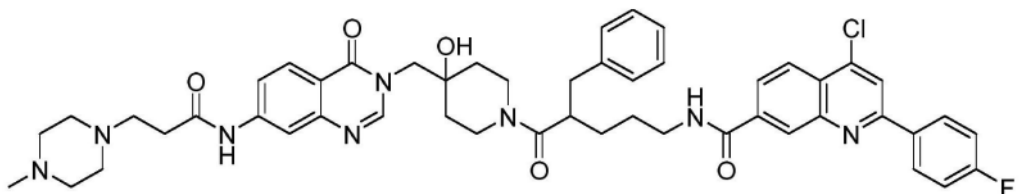
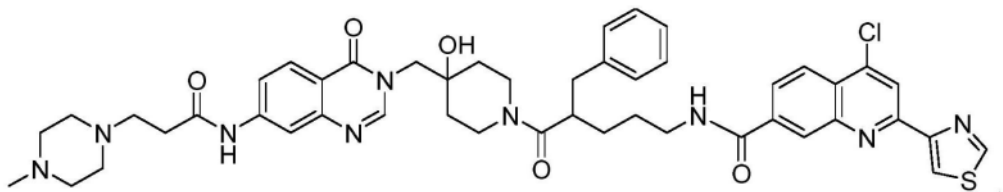
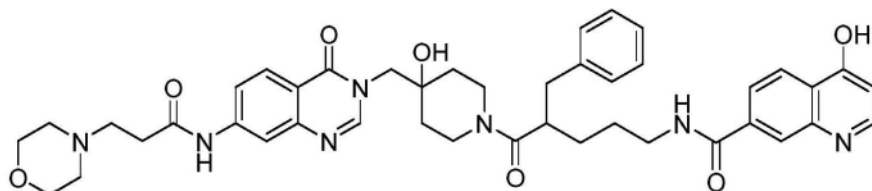
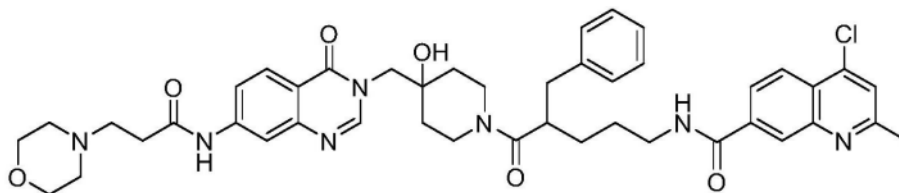
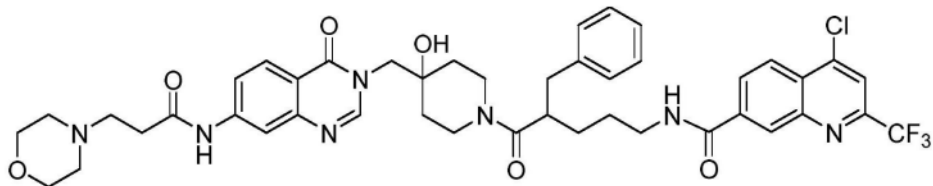
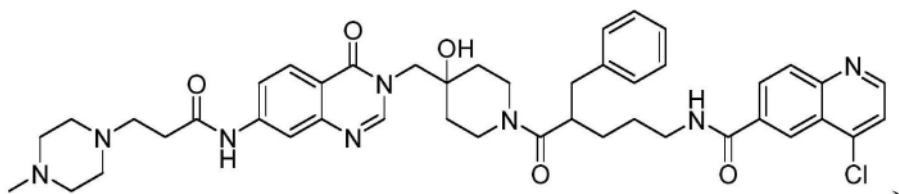
70. 根据权利要求68所述的化合物,其中所述C₆₋₁₀芳基被一个或多个Hal、-NH₂、-CN、-CF₃或C₁₋₃烷基取代。

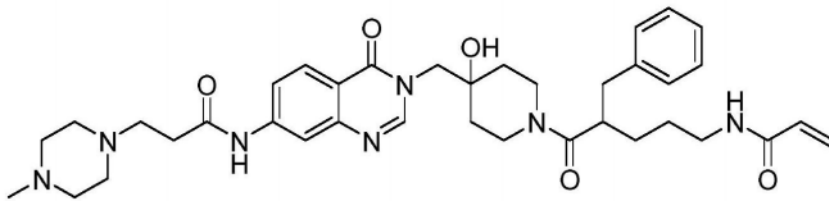
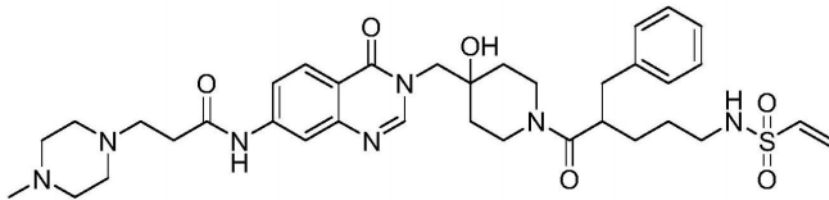
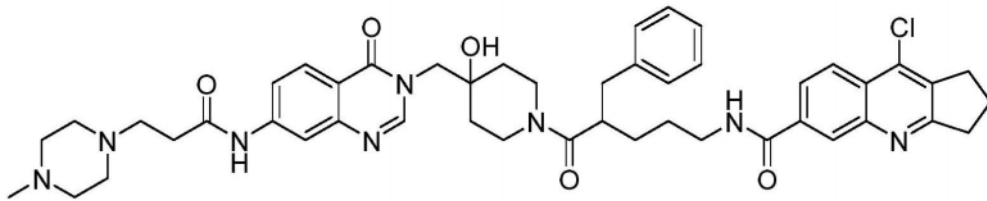
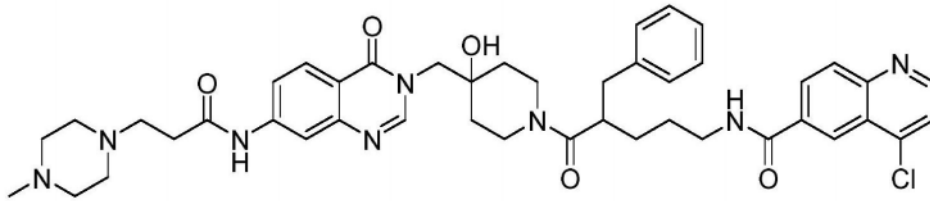
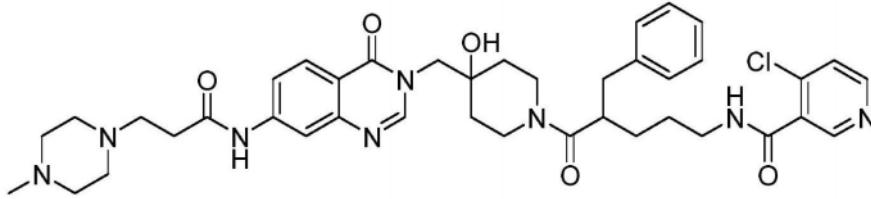
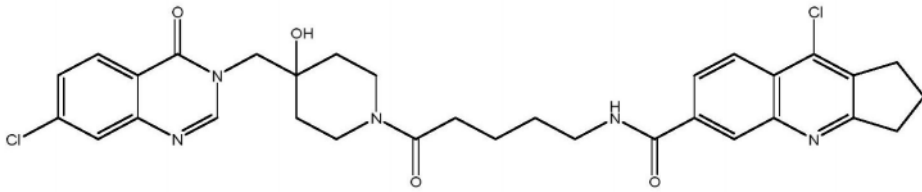
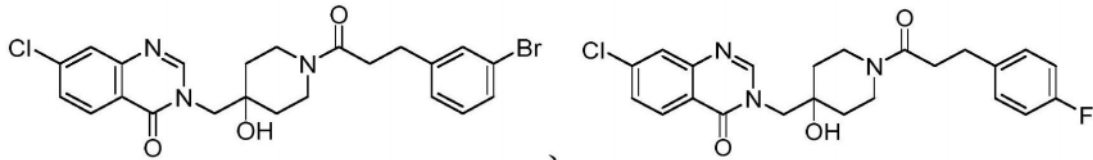
71. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述式(I)的化合物是式(Ic)的化合物或式(Id)的化合物:

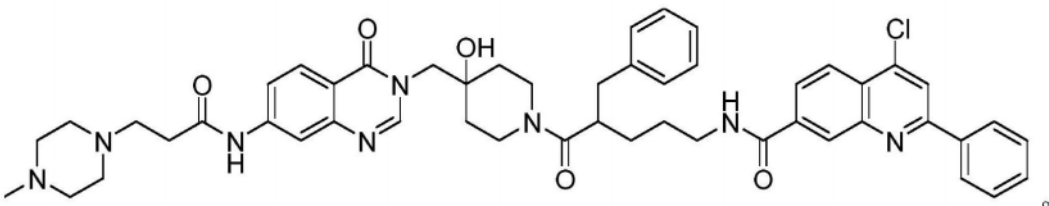
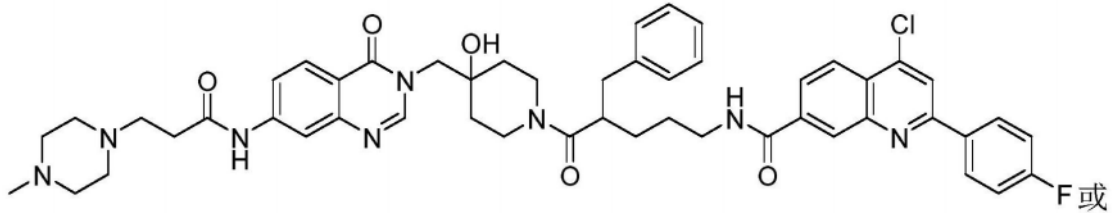
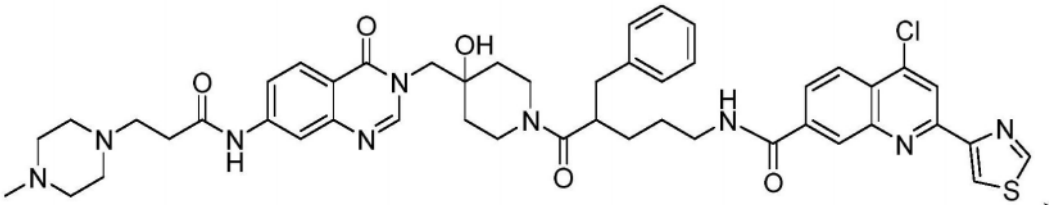
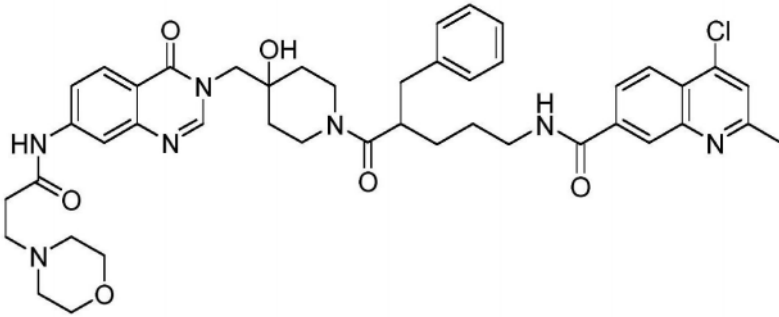
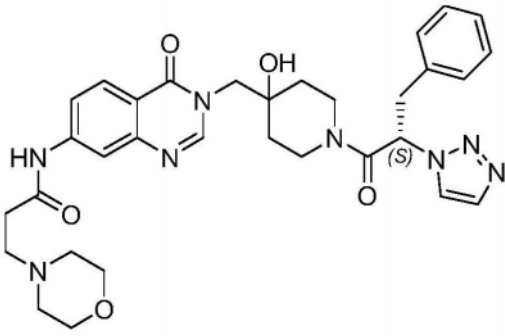


或其药学上可接受的盐。

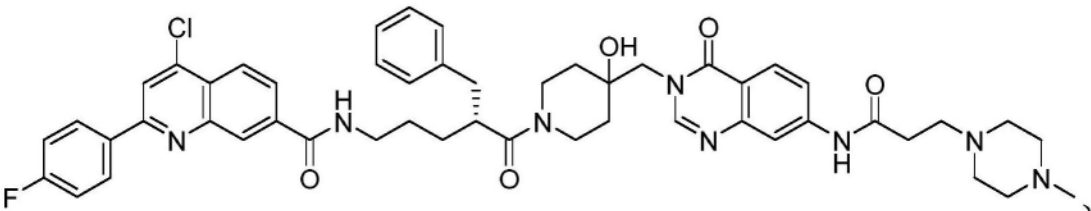
72. 根据权利要求1至71中任一项所述的化合物,其中所述化合物不是:

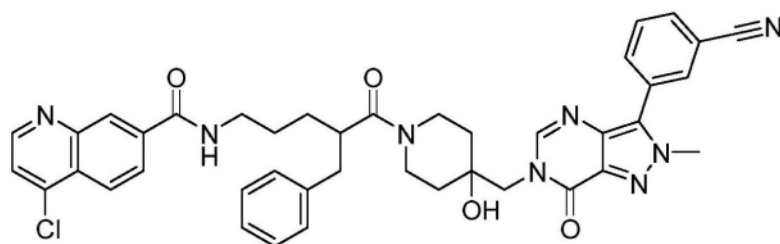
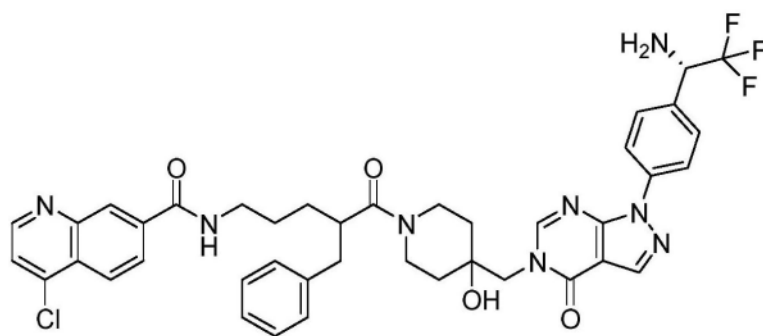
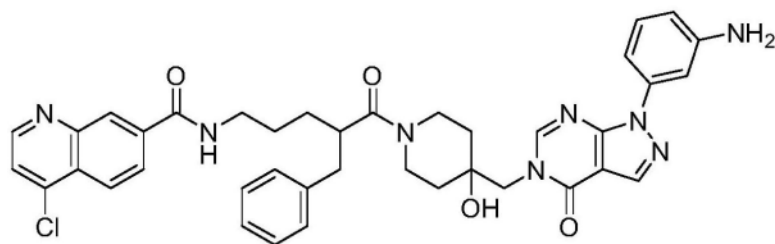
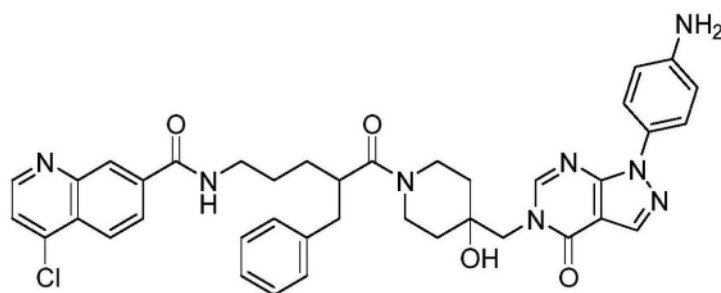
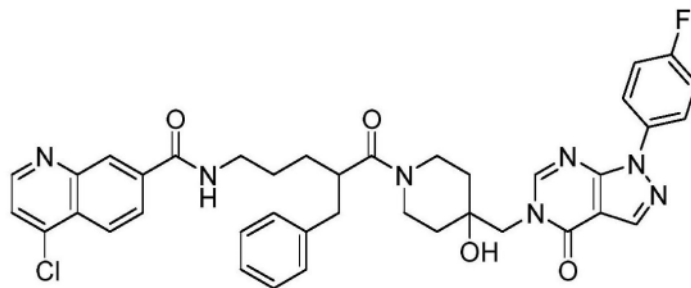
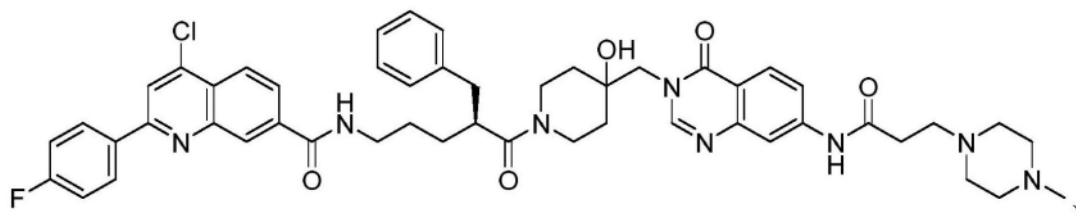


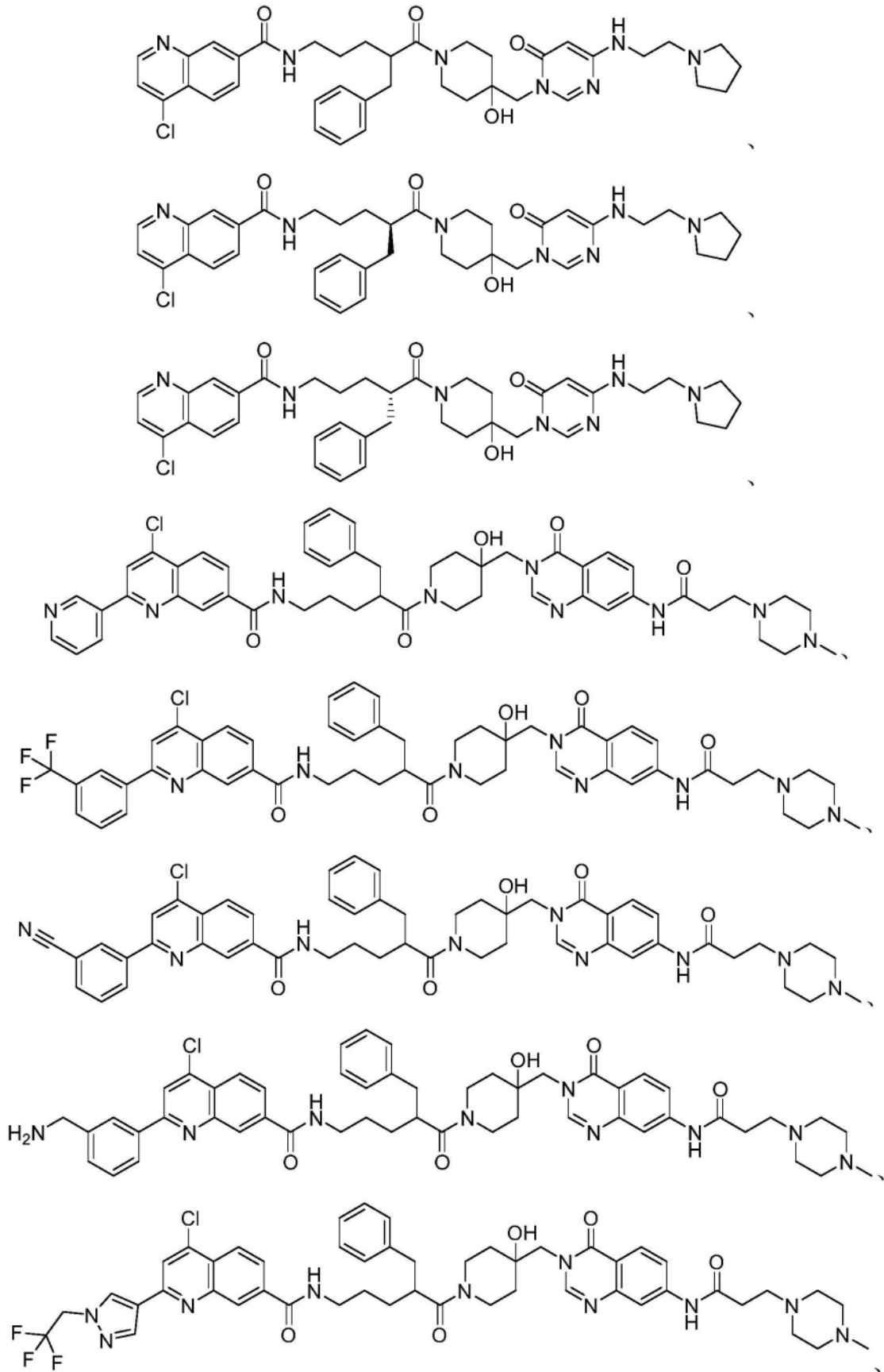


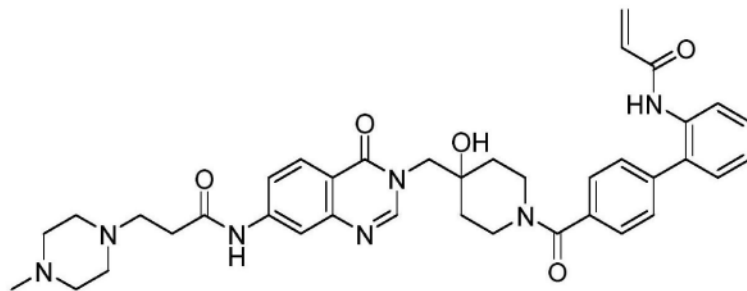
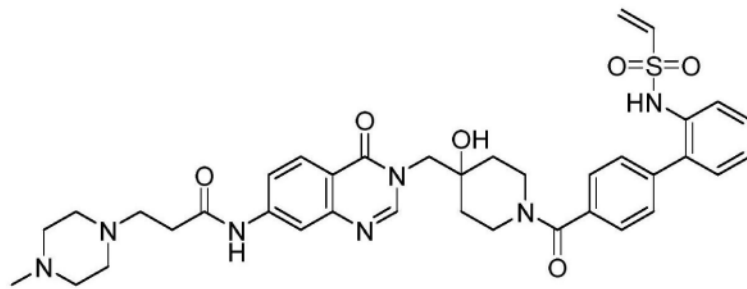
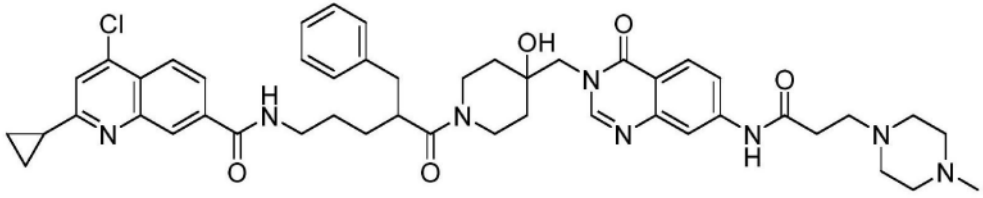
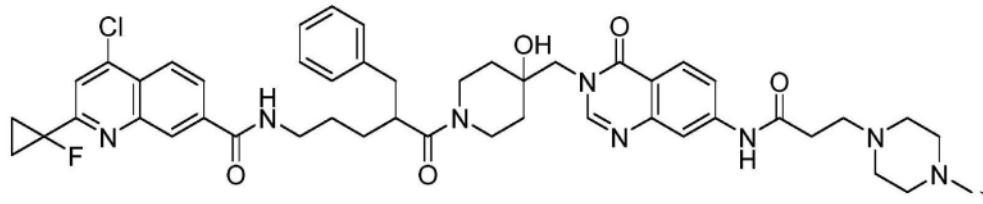
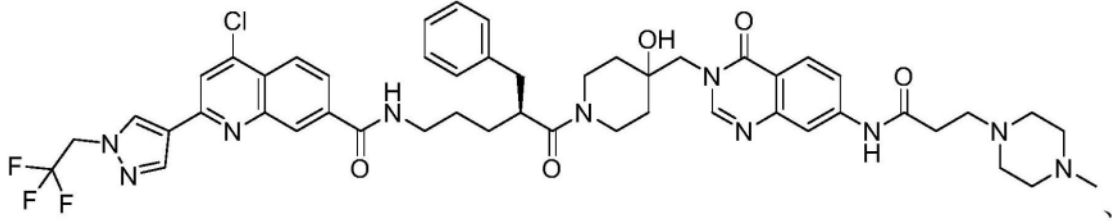
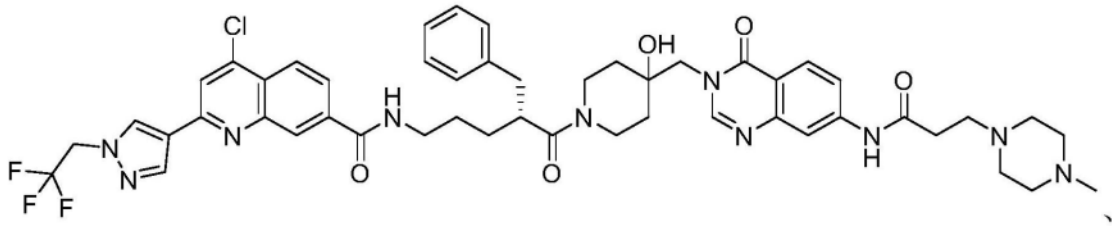


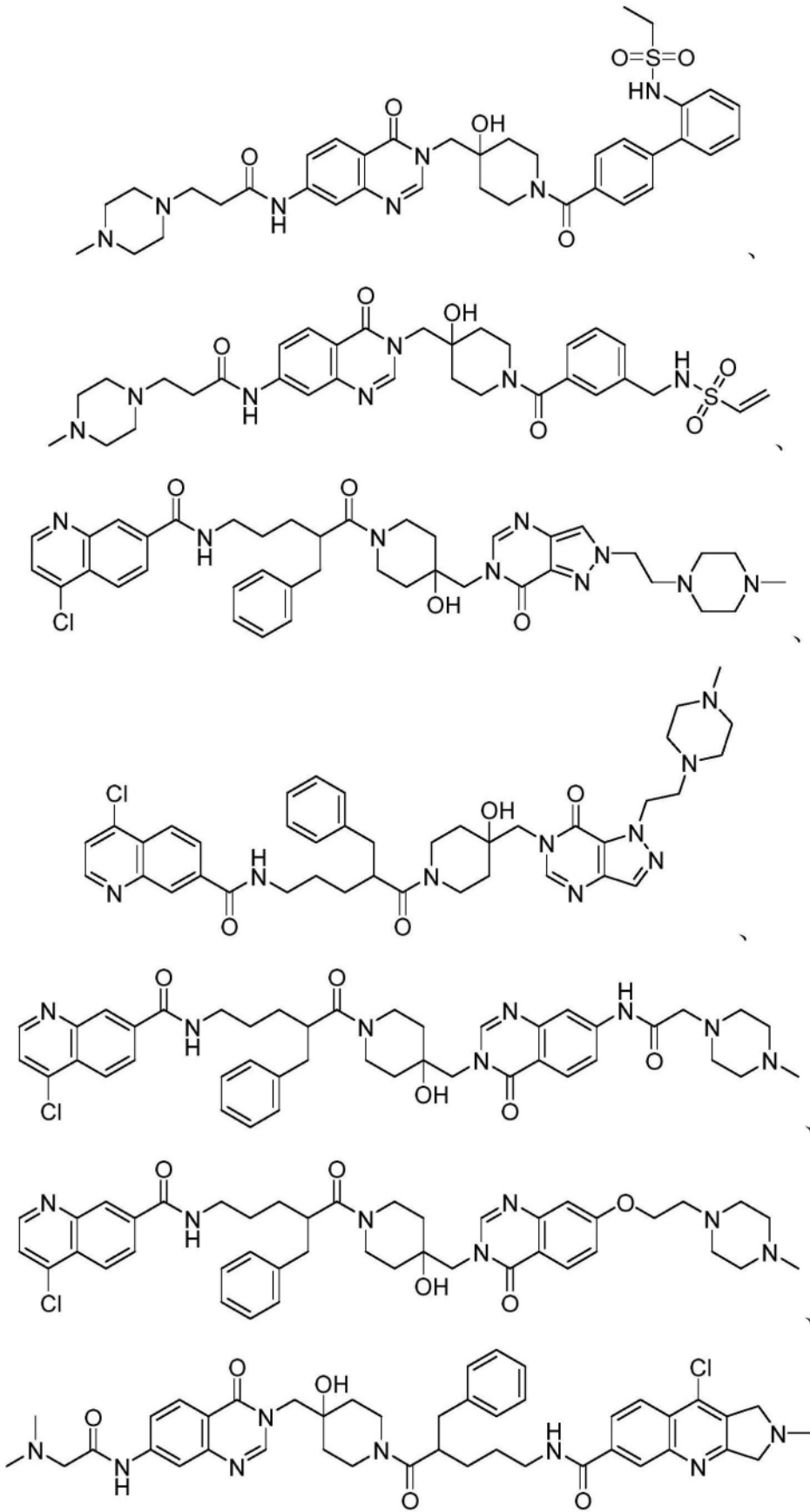
73. 根据权利要求1所述的化合物,其选自由以下组成的群组:

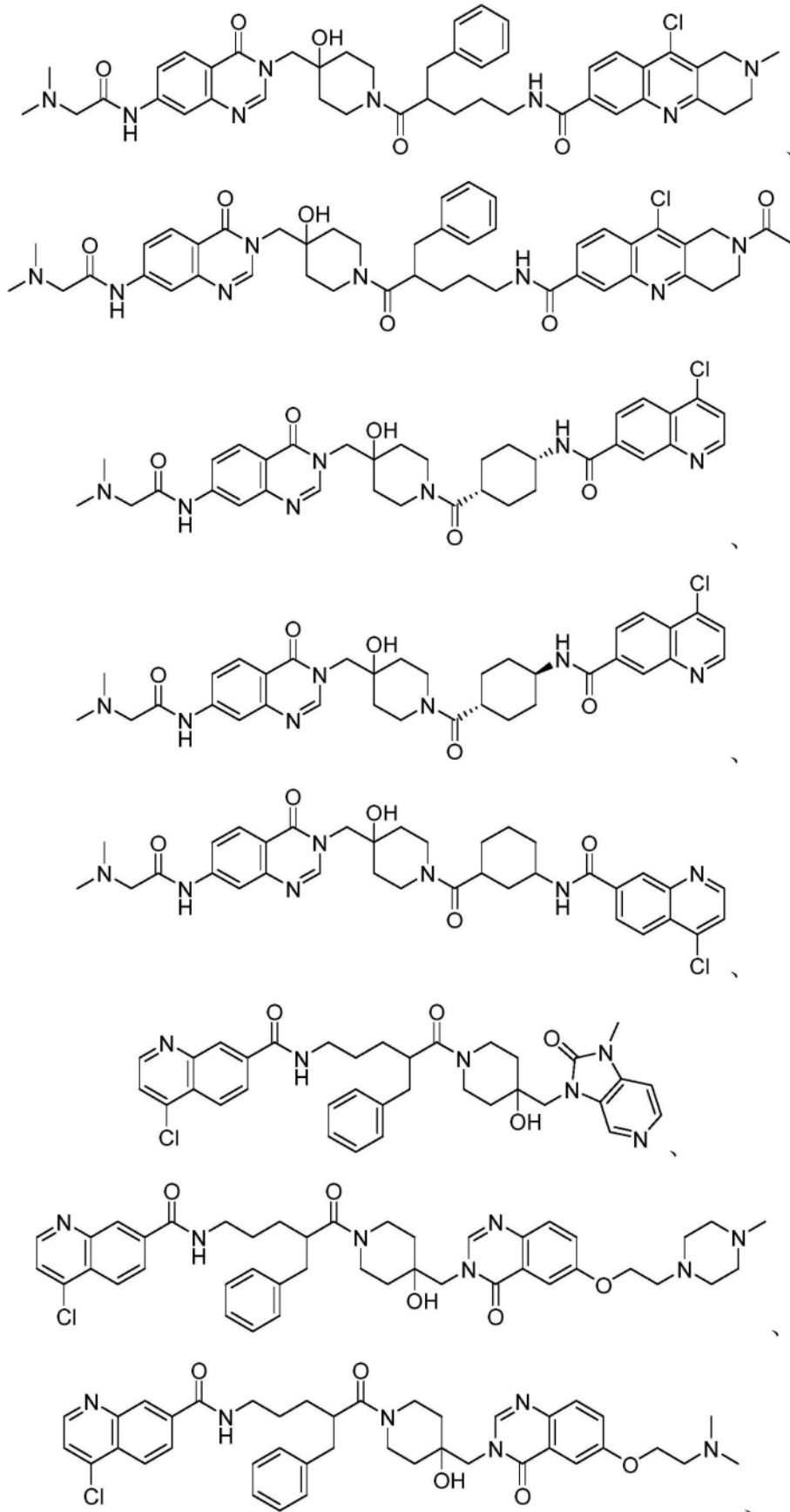


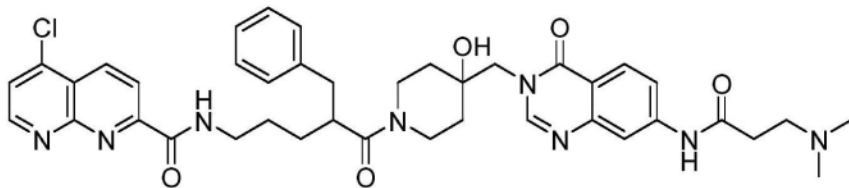
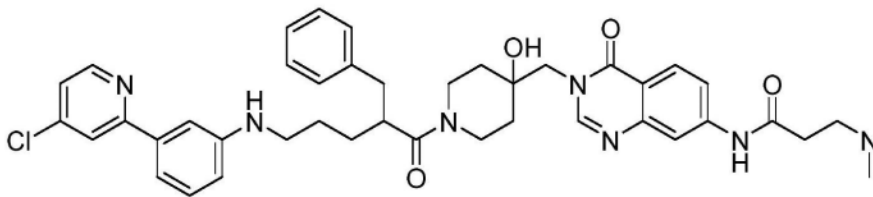
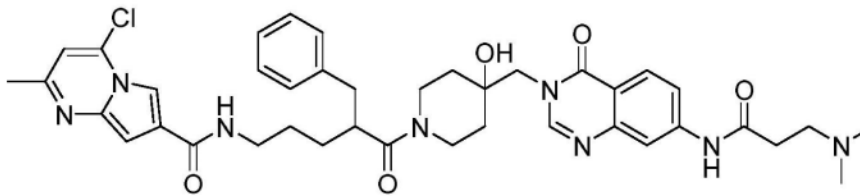
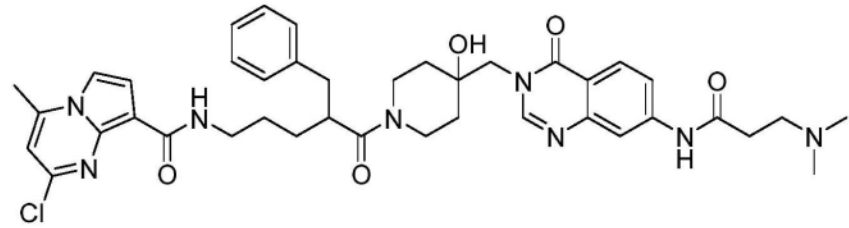
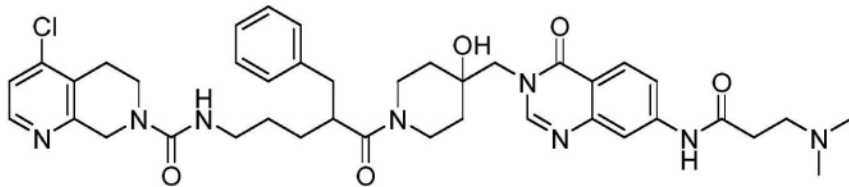
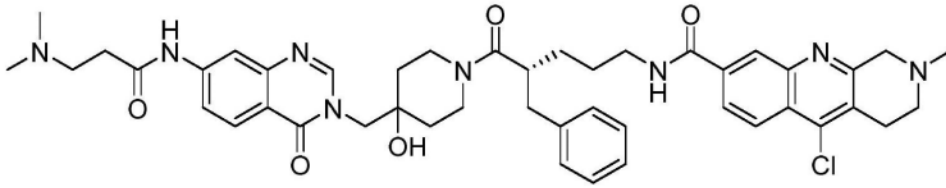
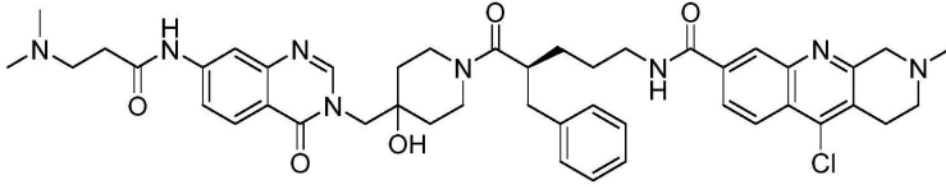
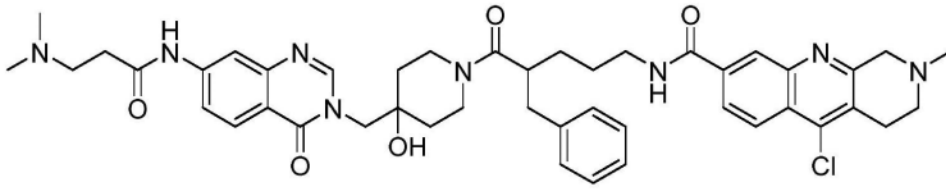


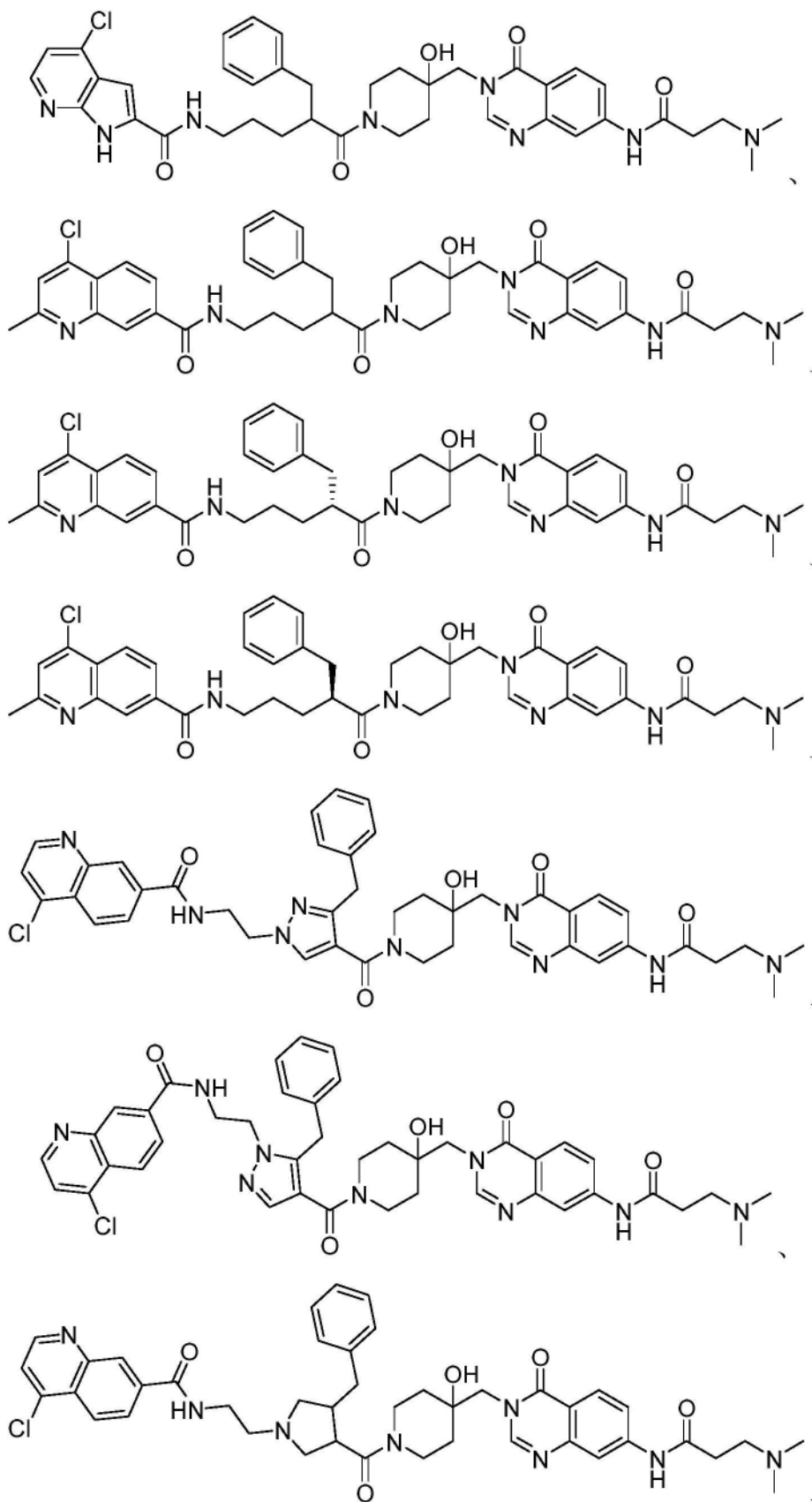


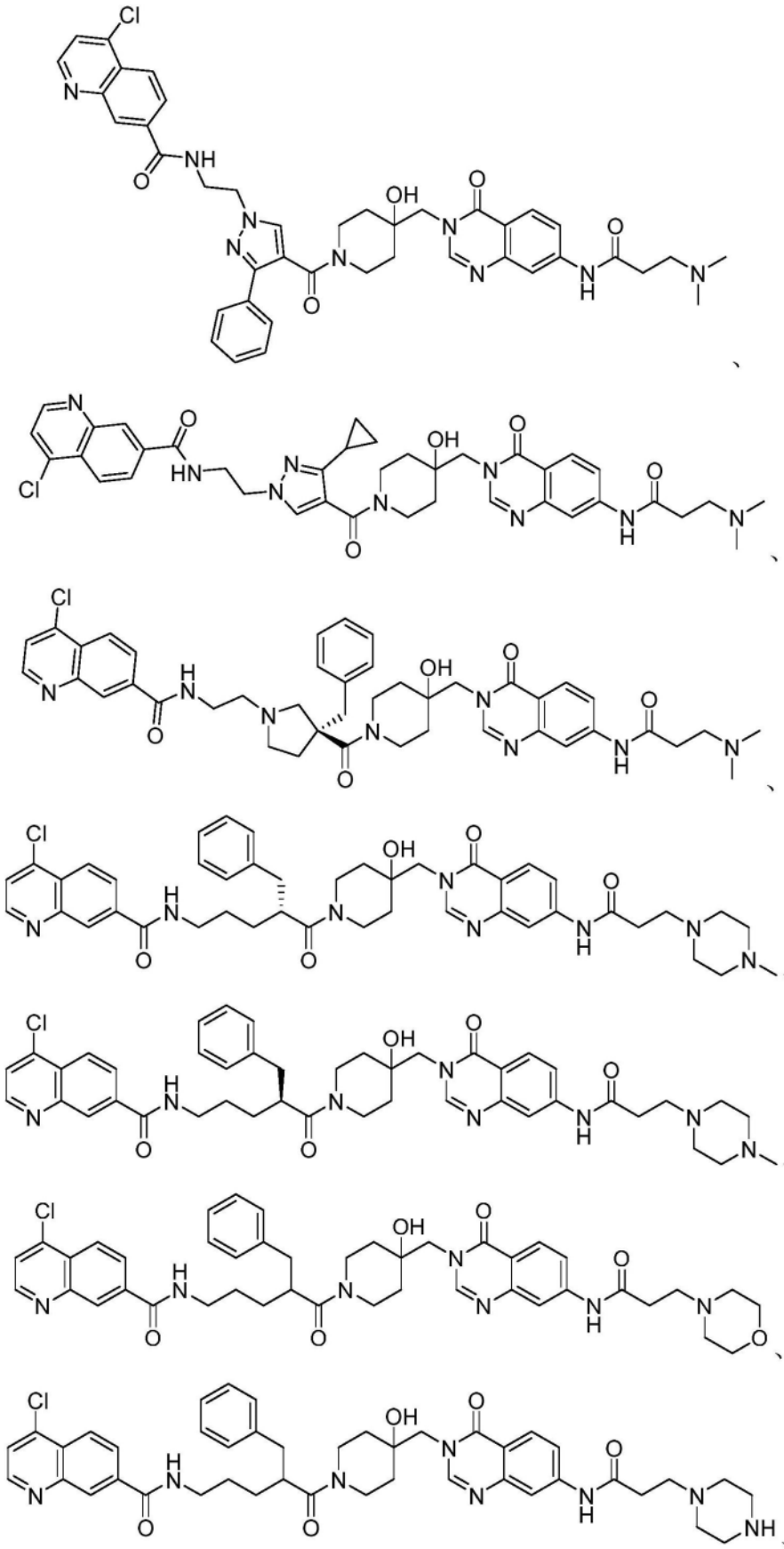


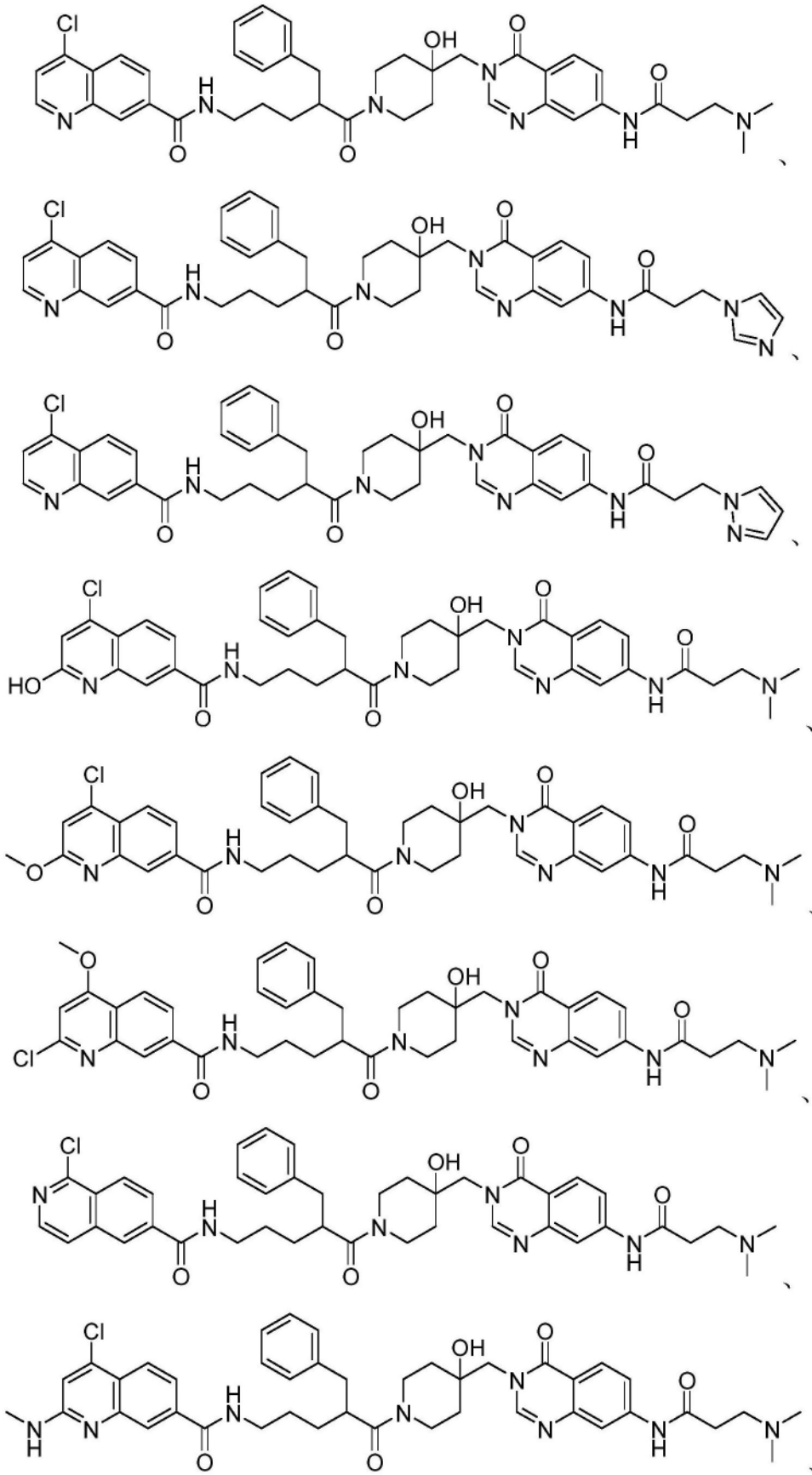


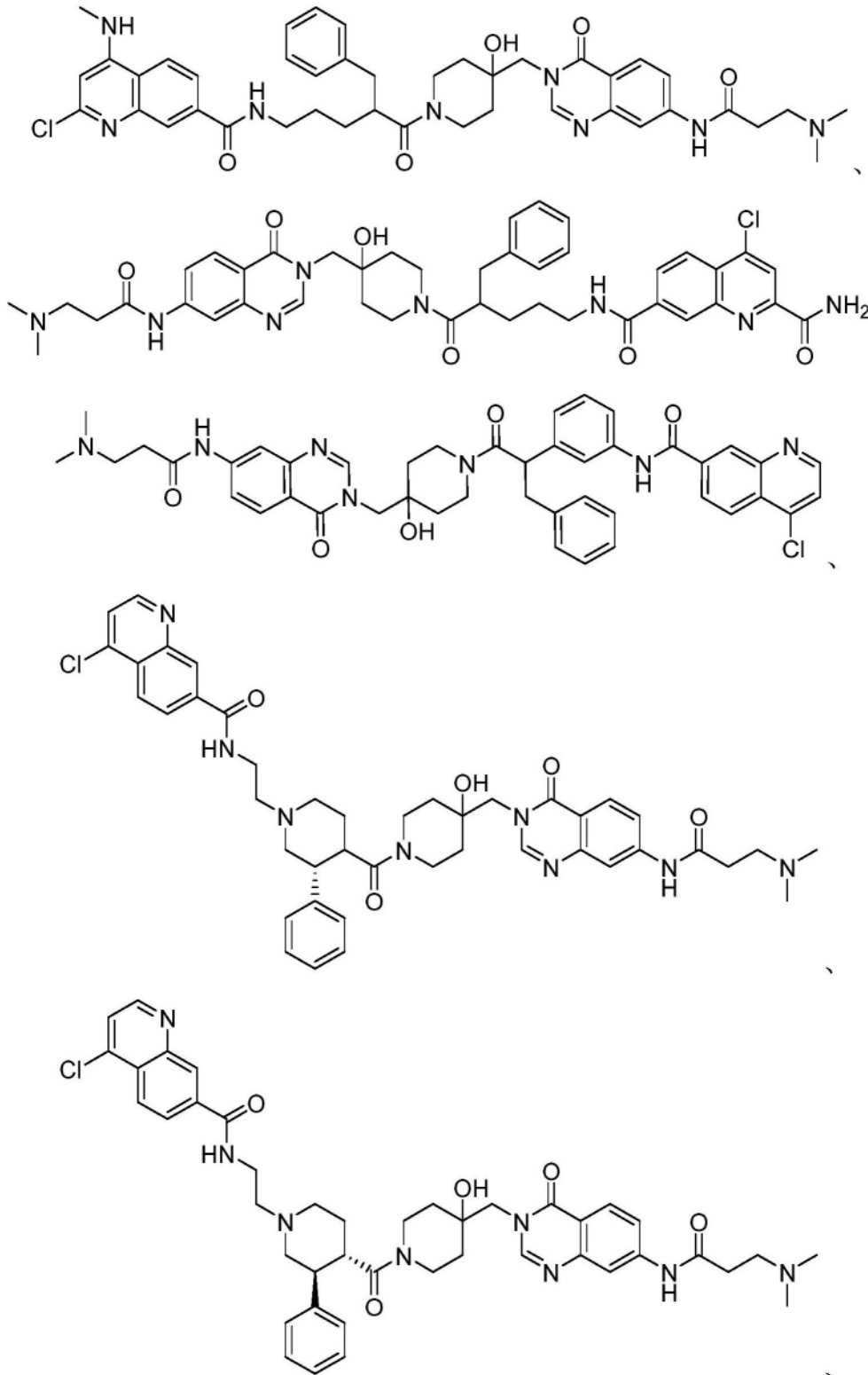


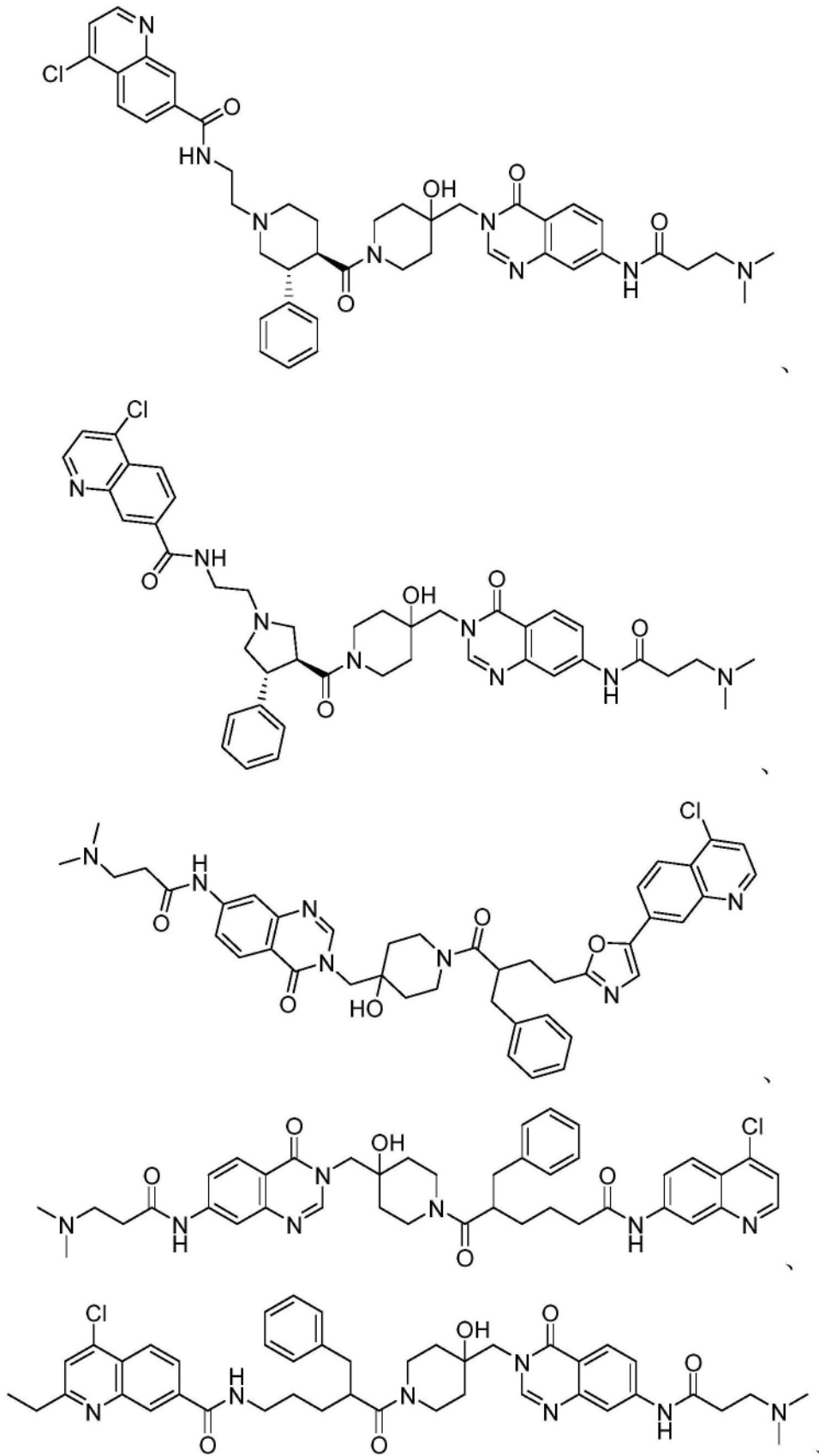


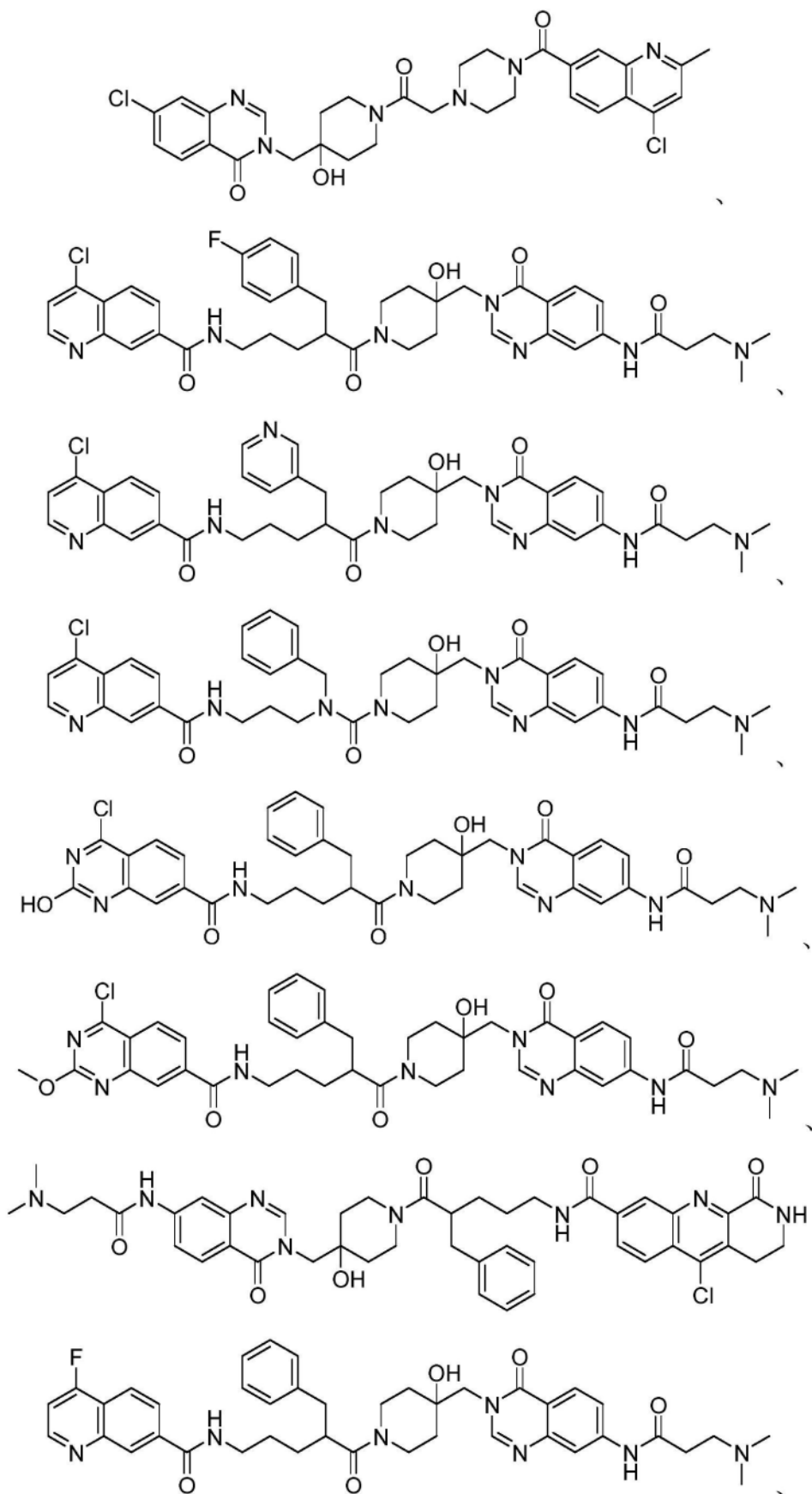


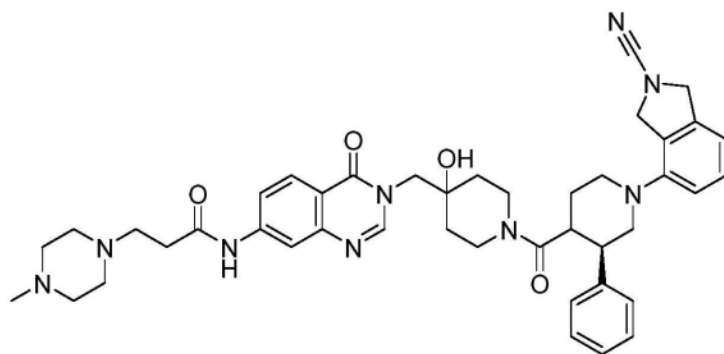
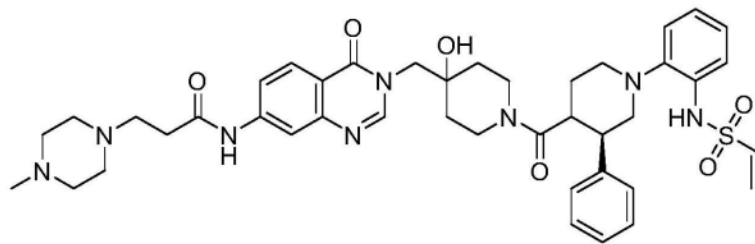
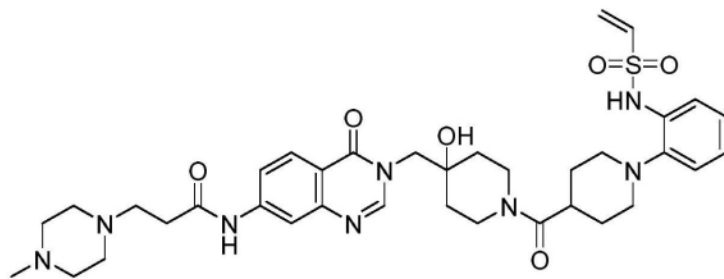
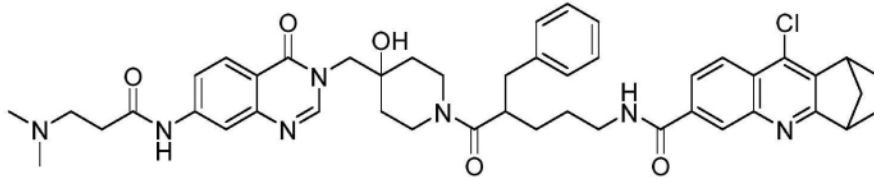
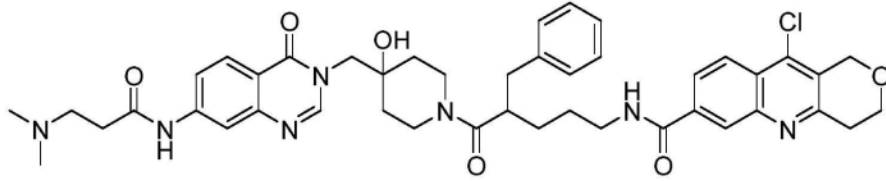
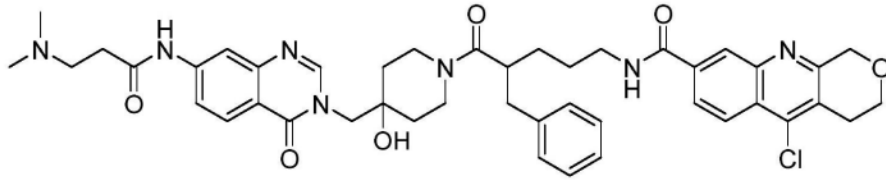
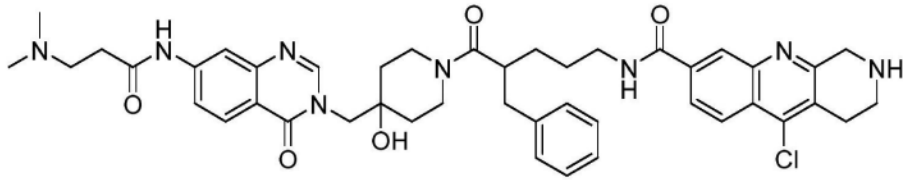


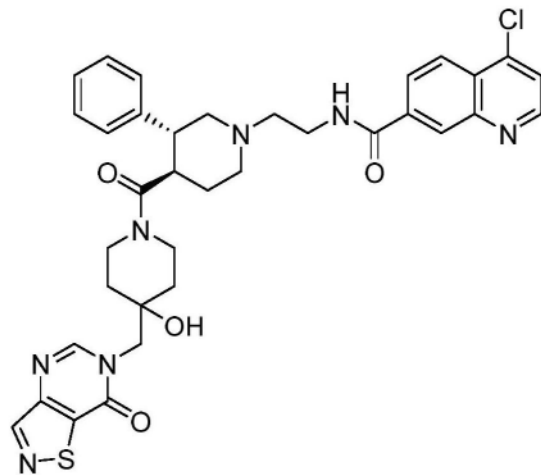
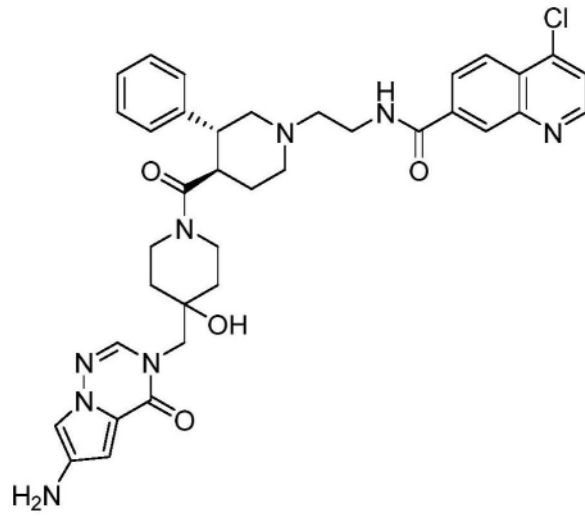
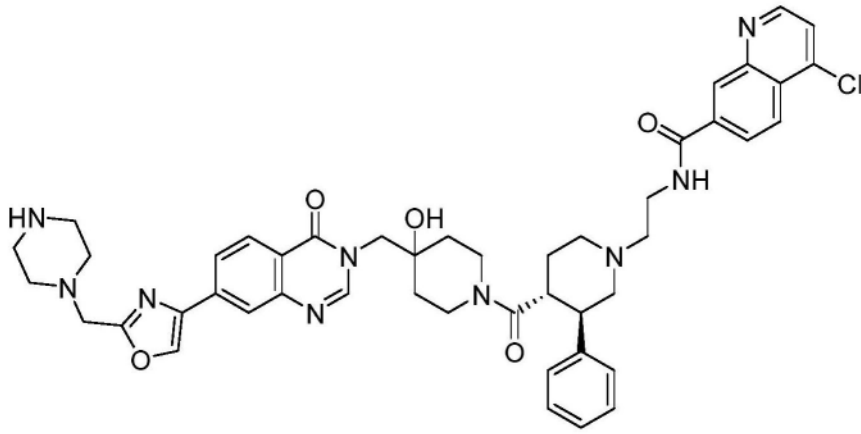


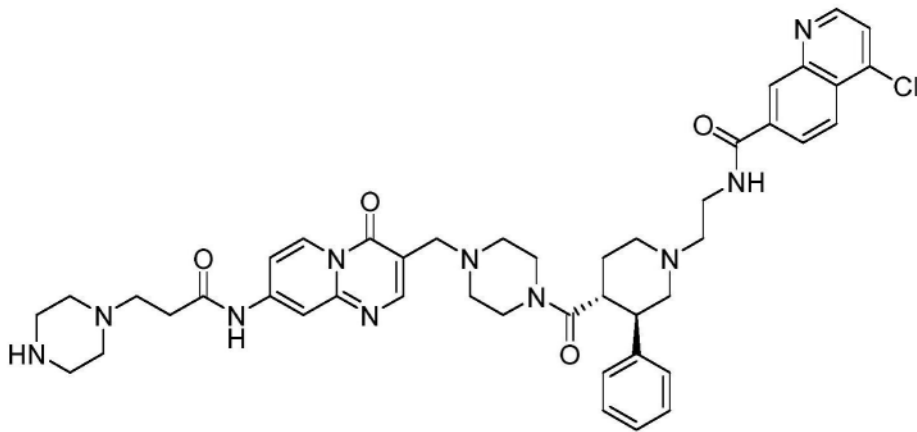
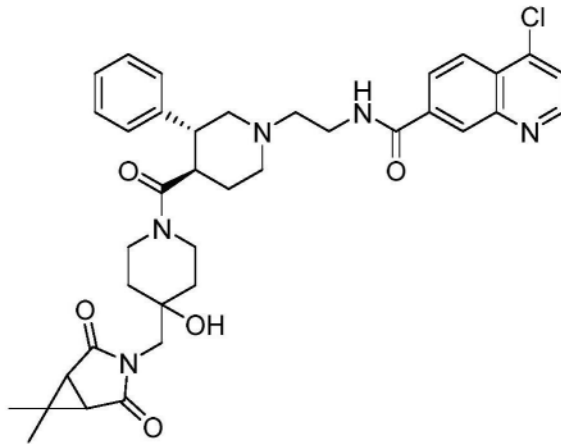
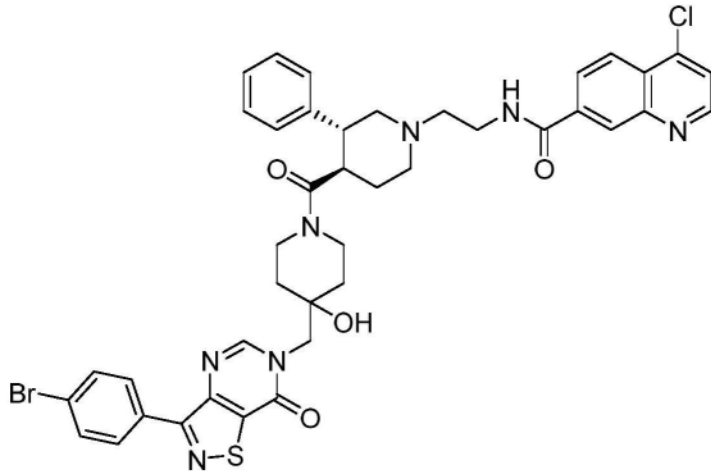


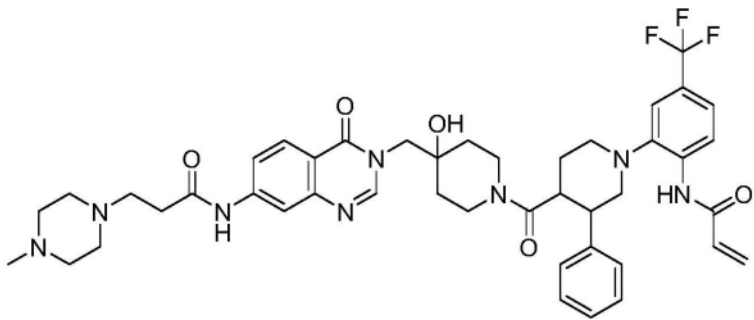
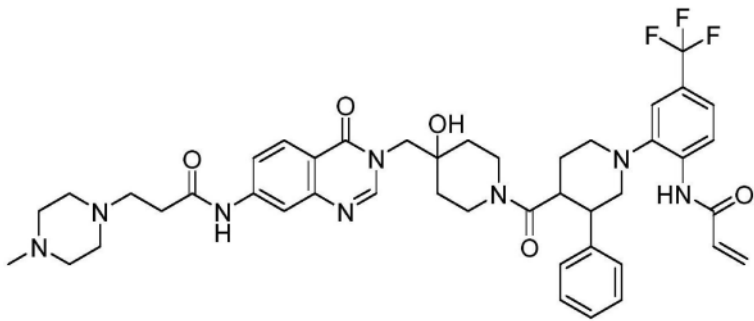
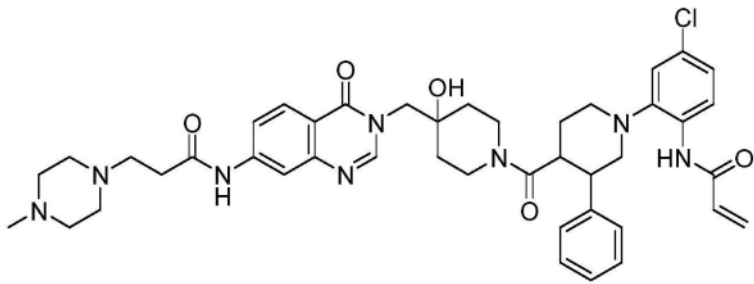
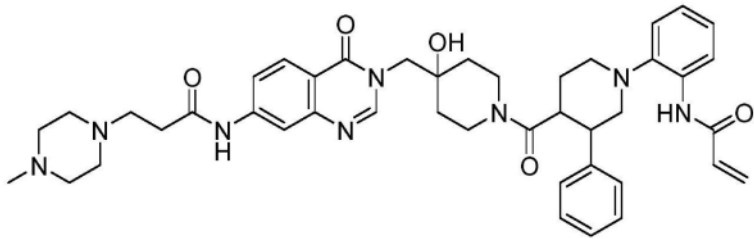
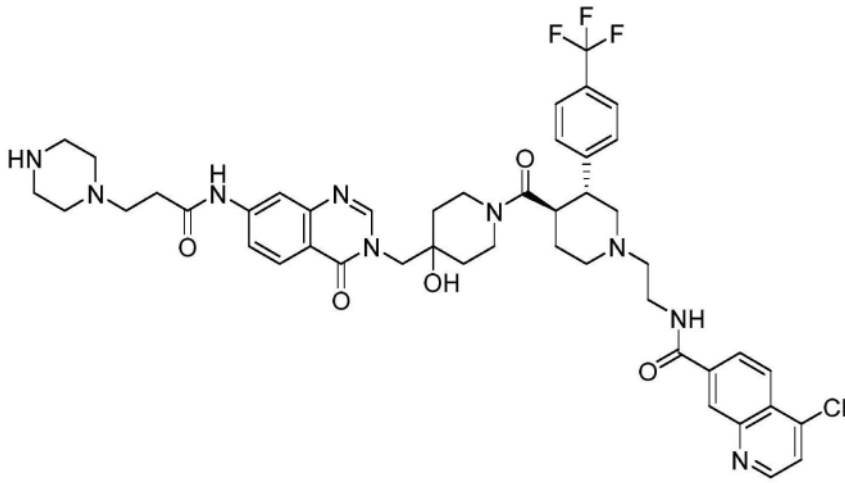


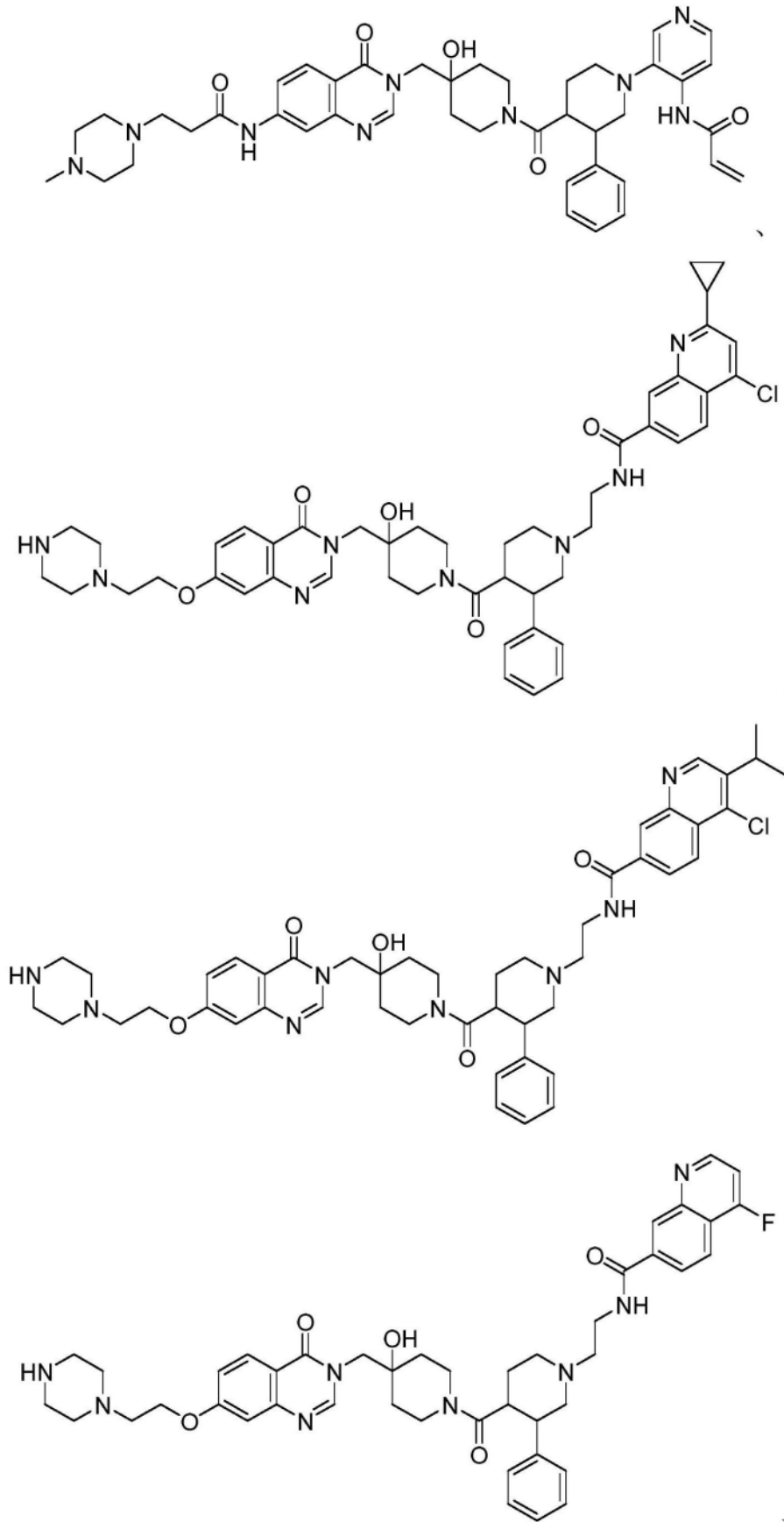


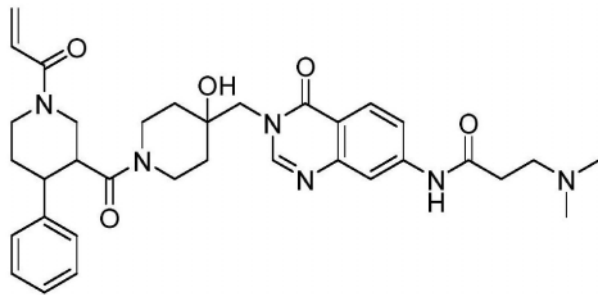
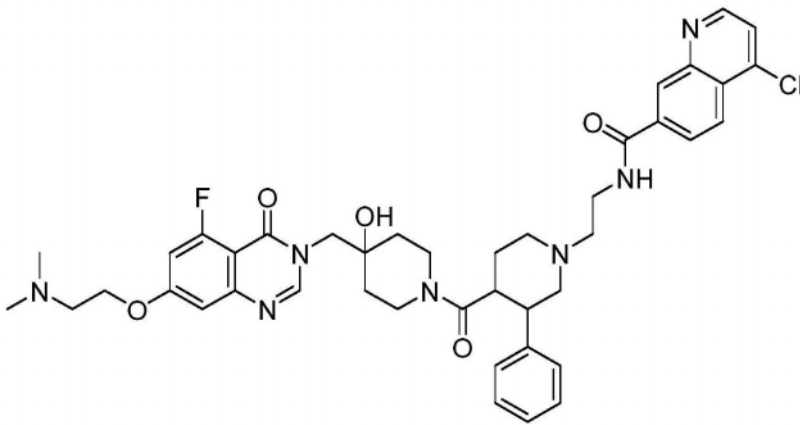
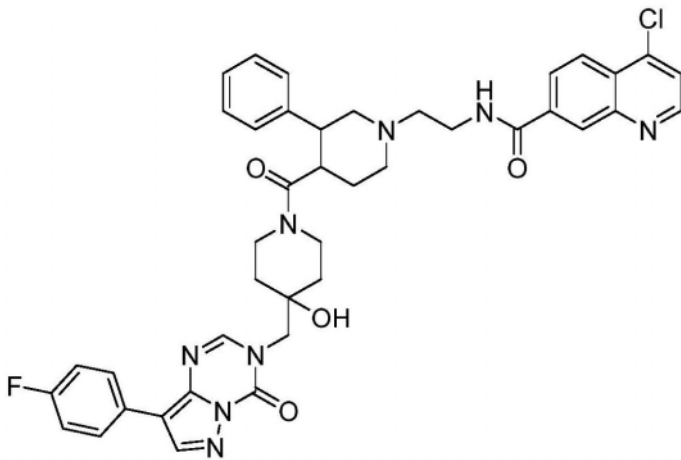
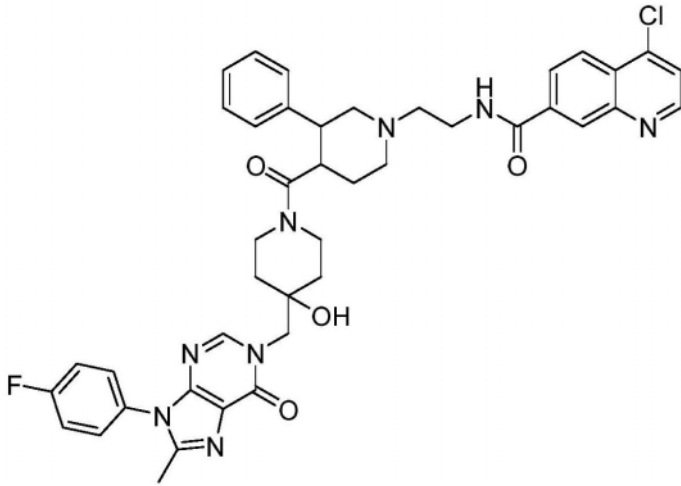


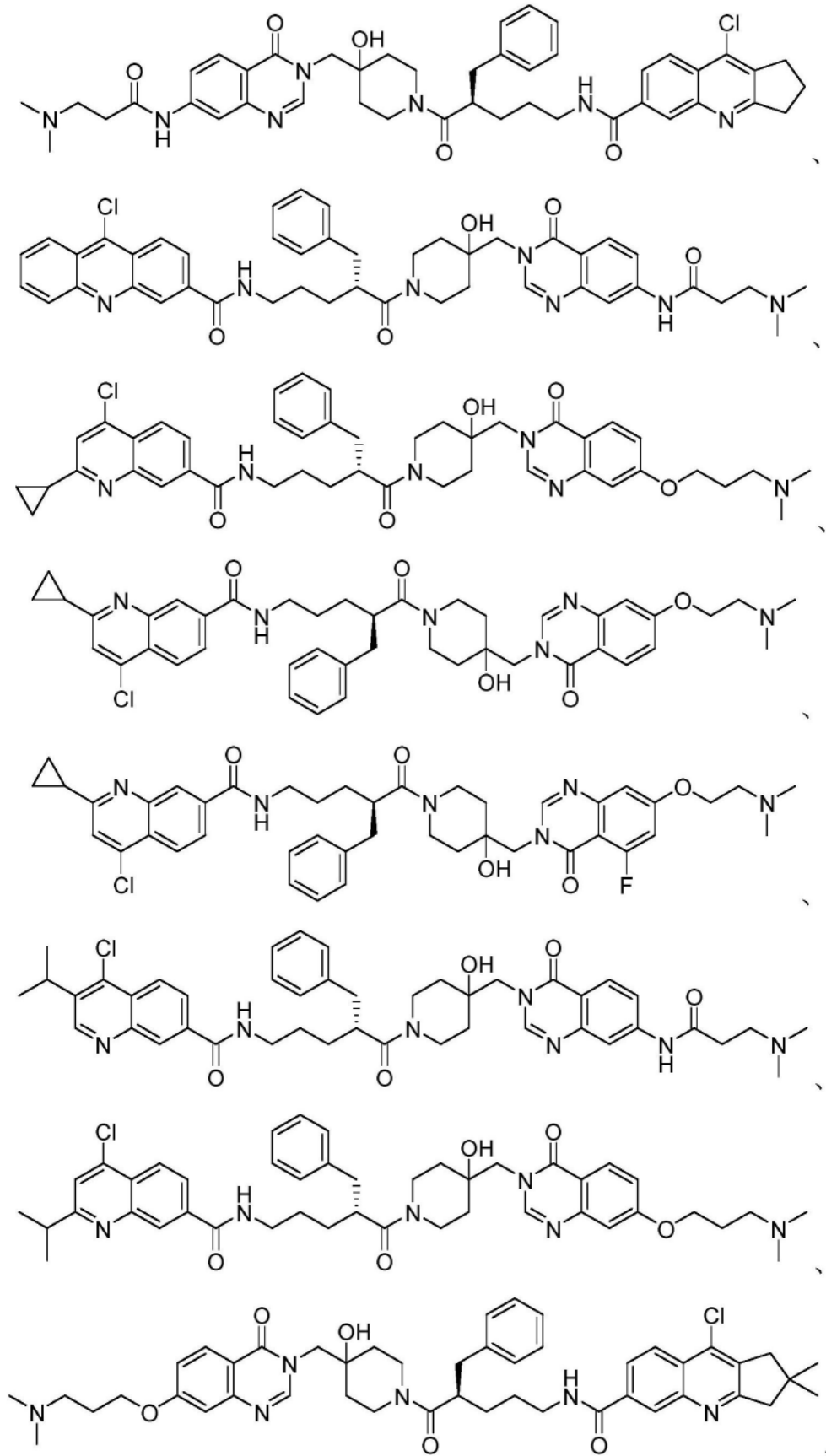


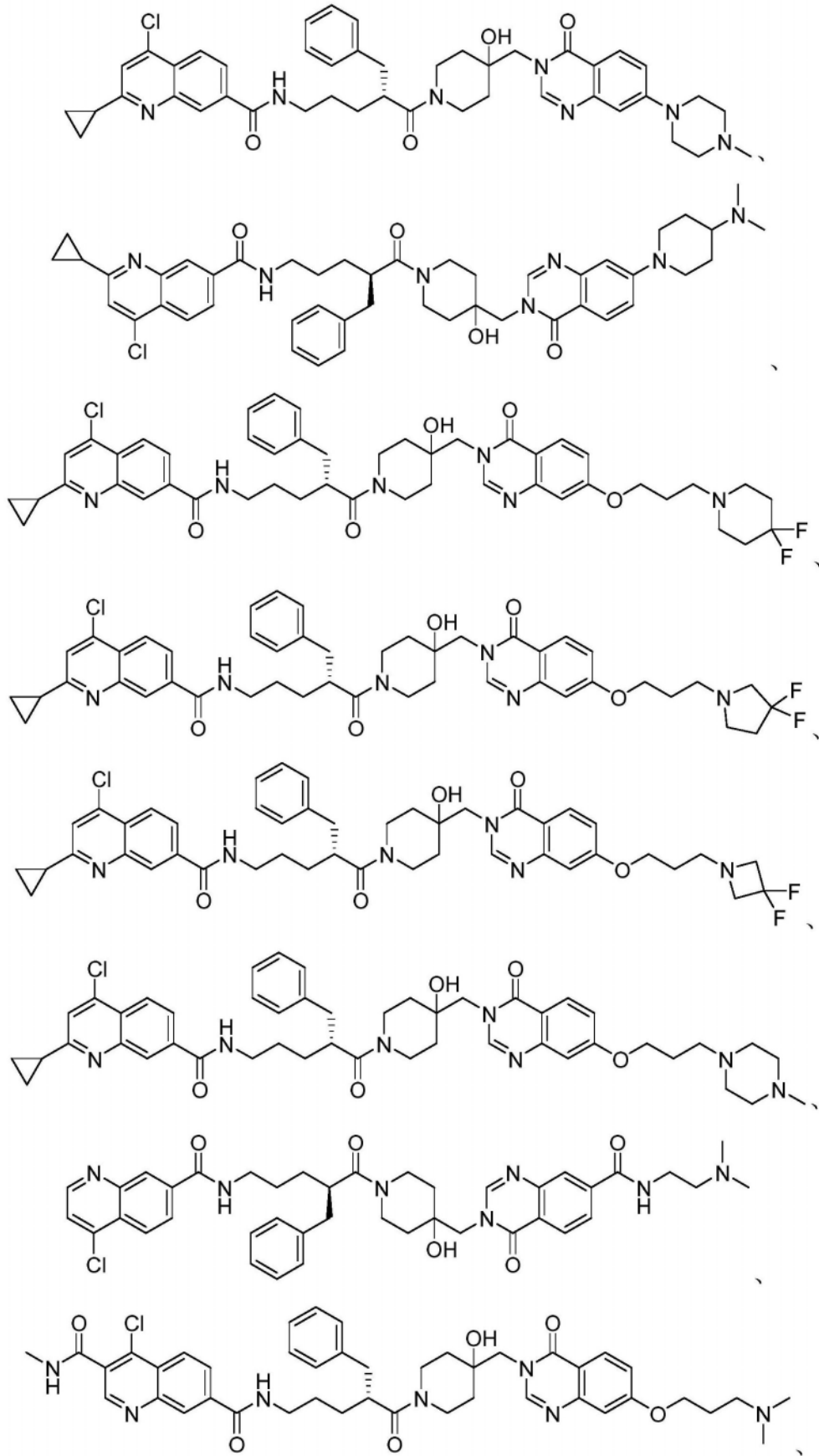


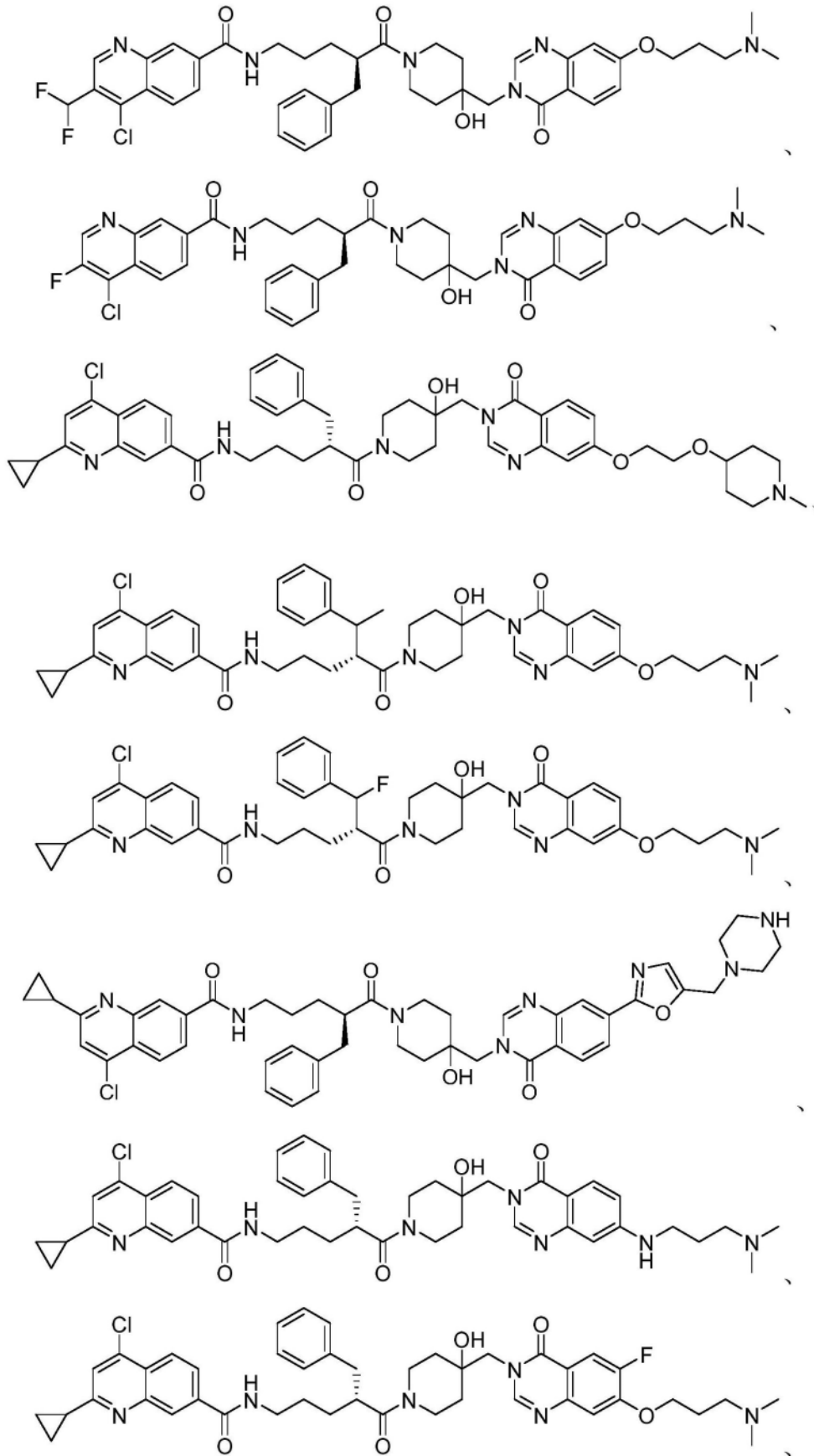


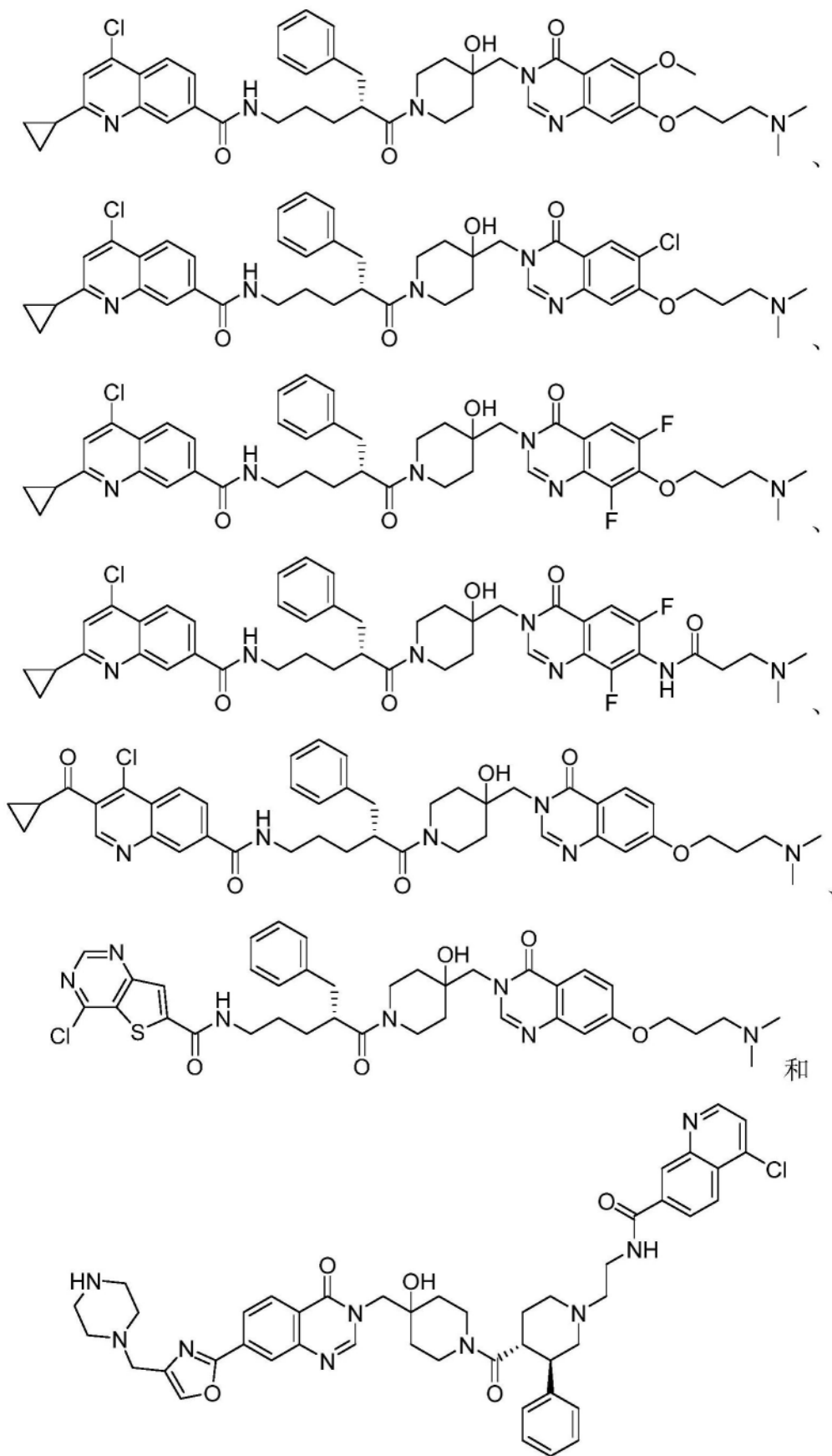






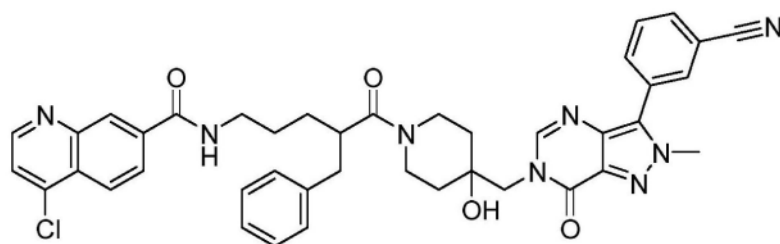
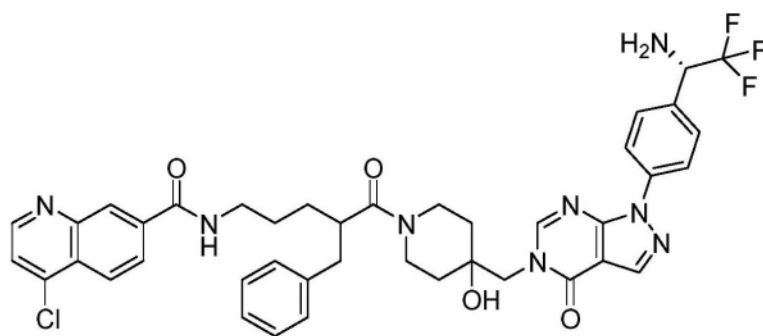
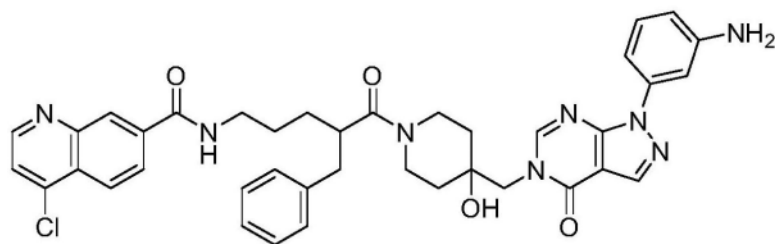
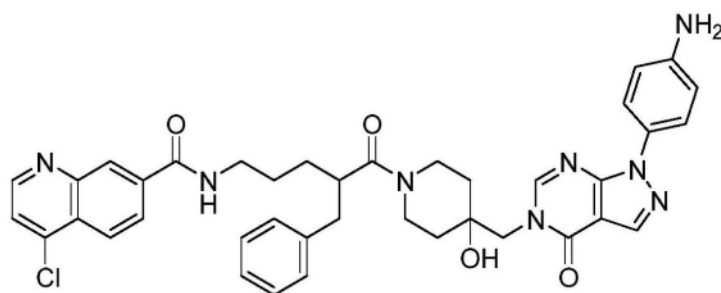
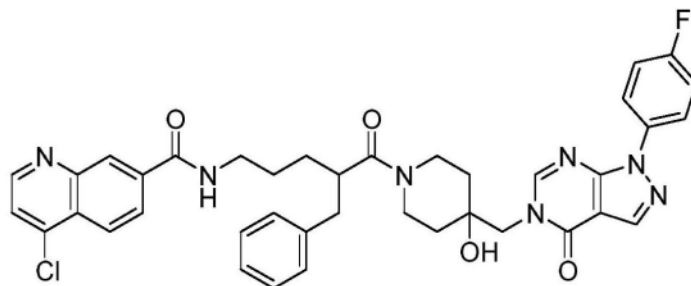
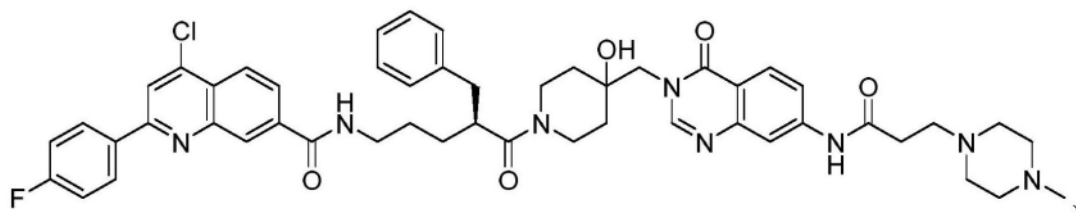


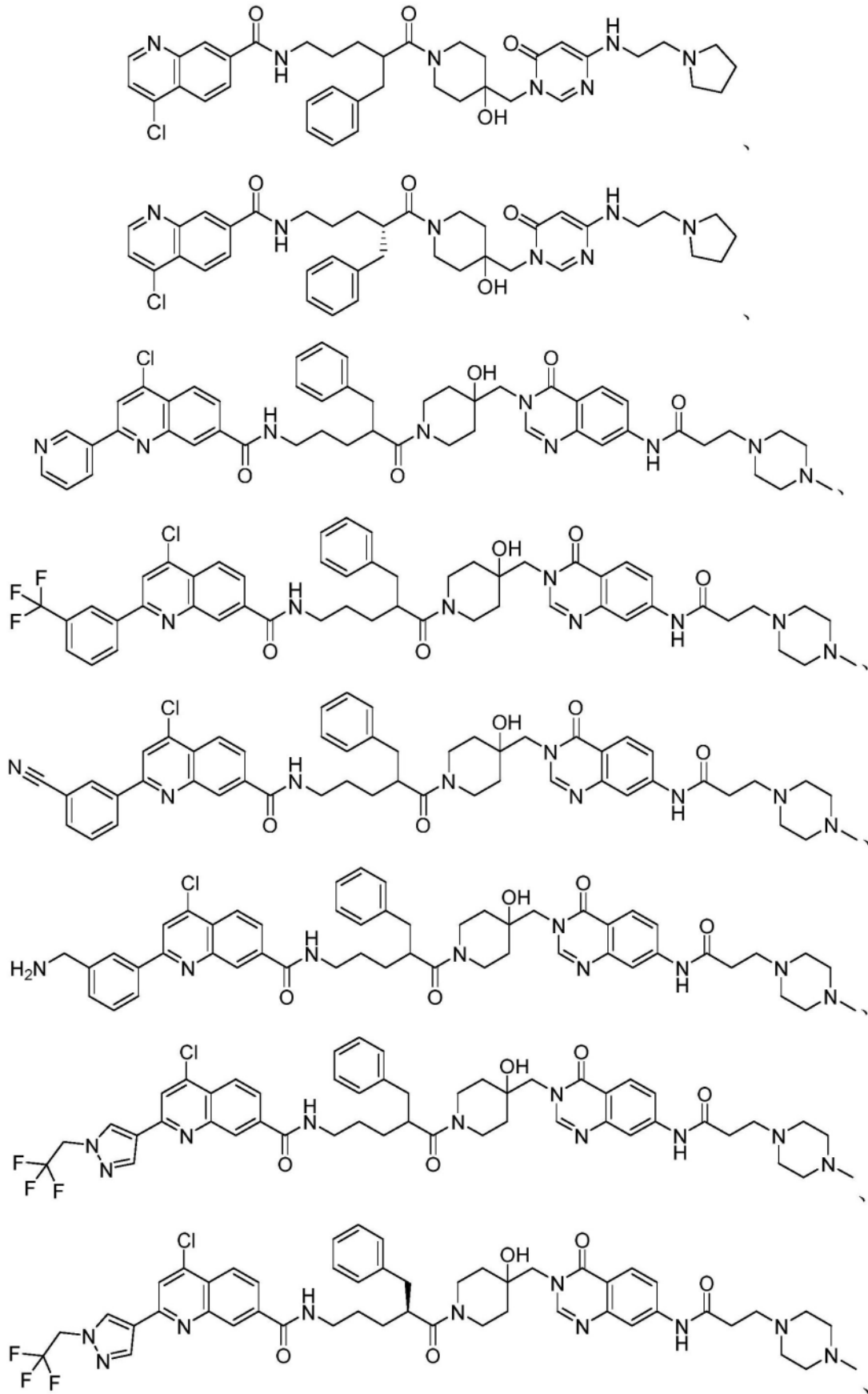


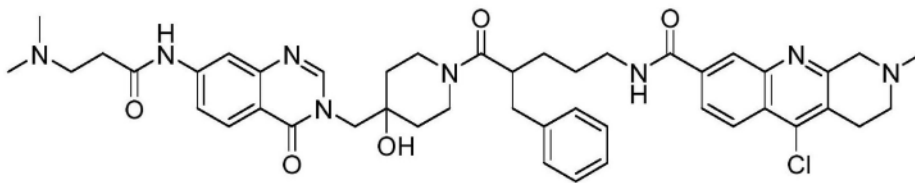
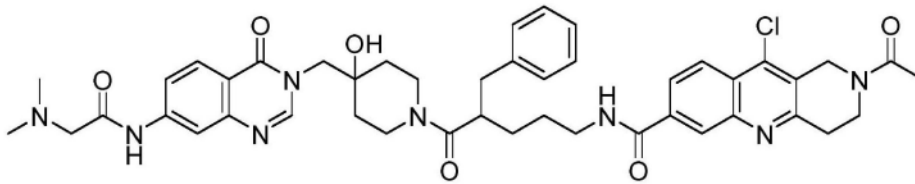
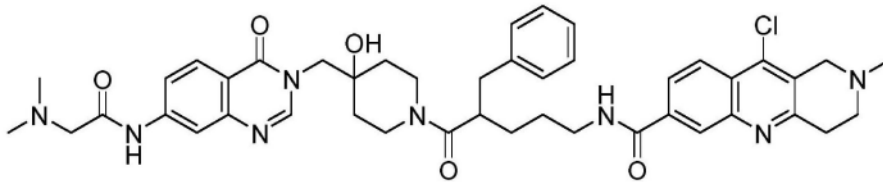
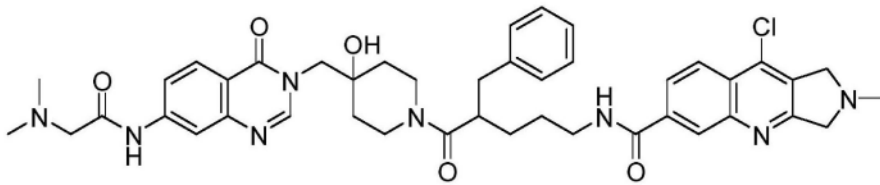
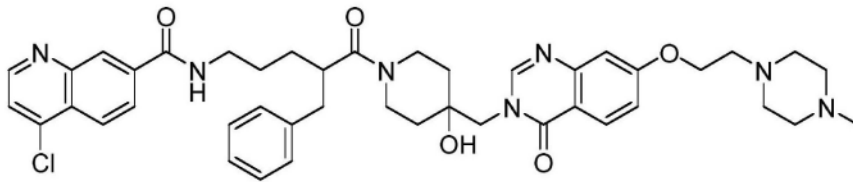
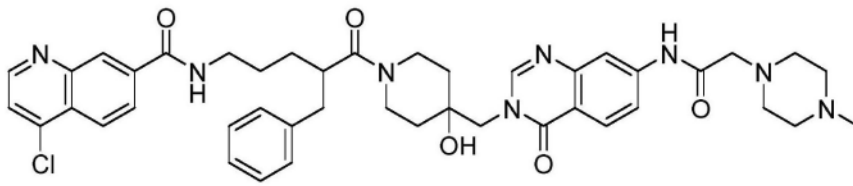
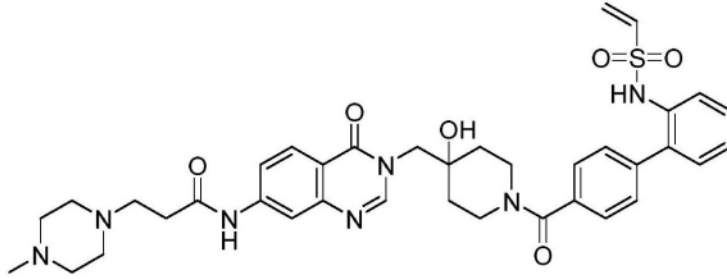
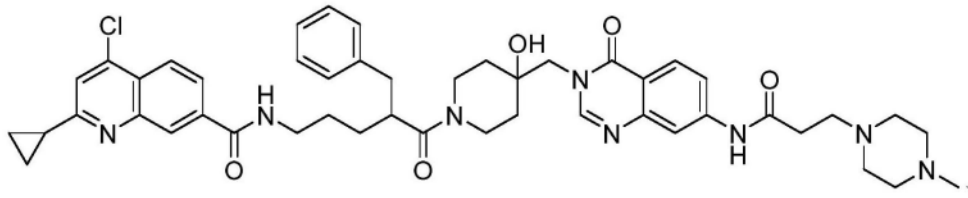


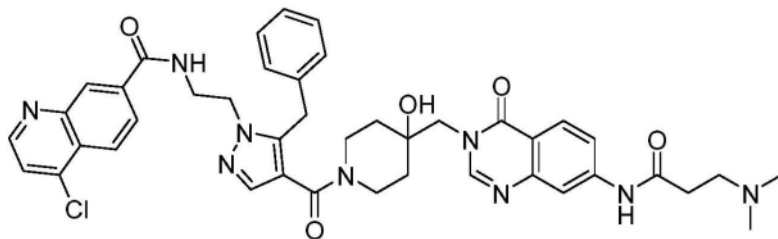
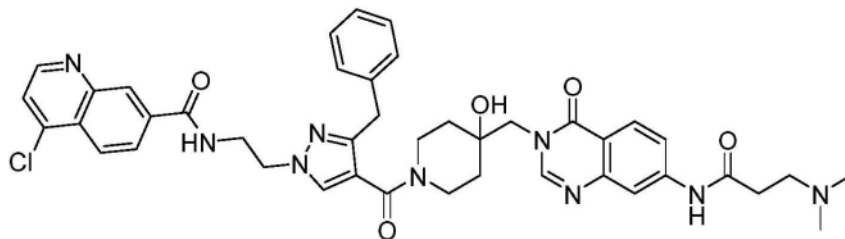
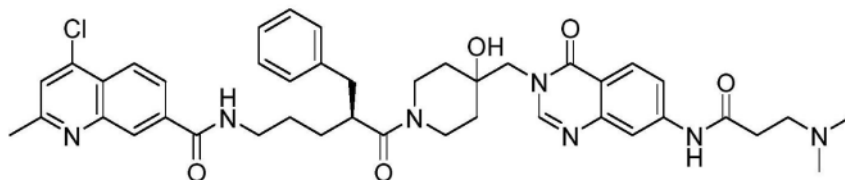
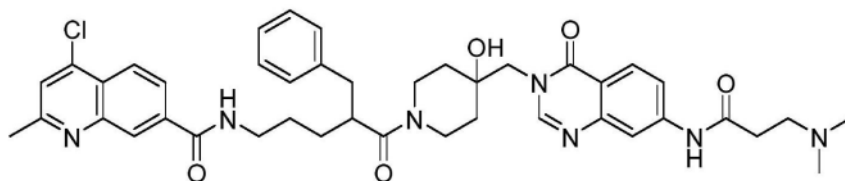
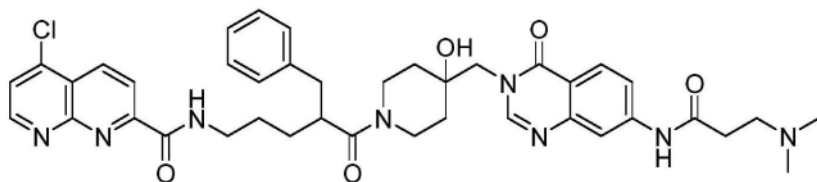
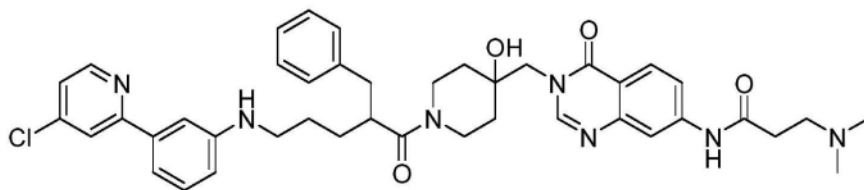
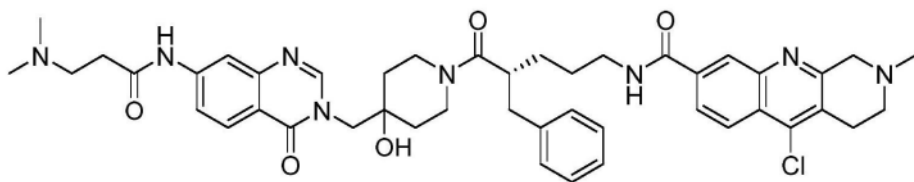
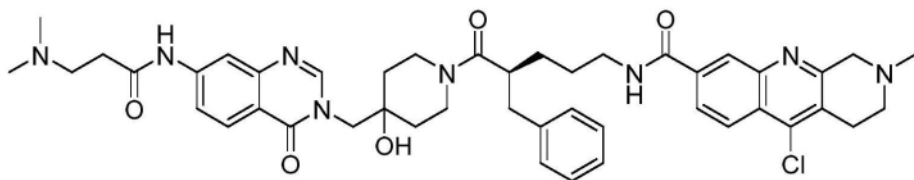
或其药学上可接受的盐。

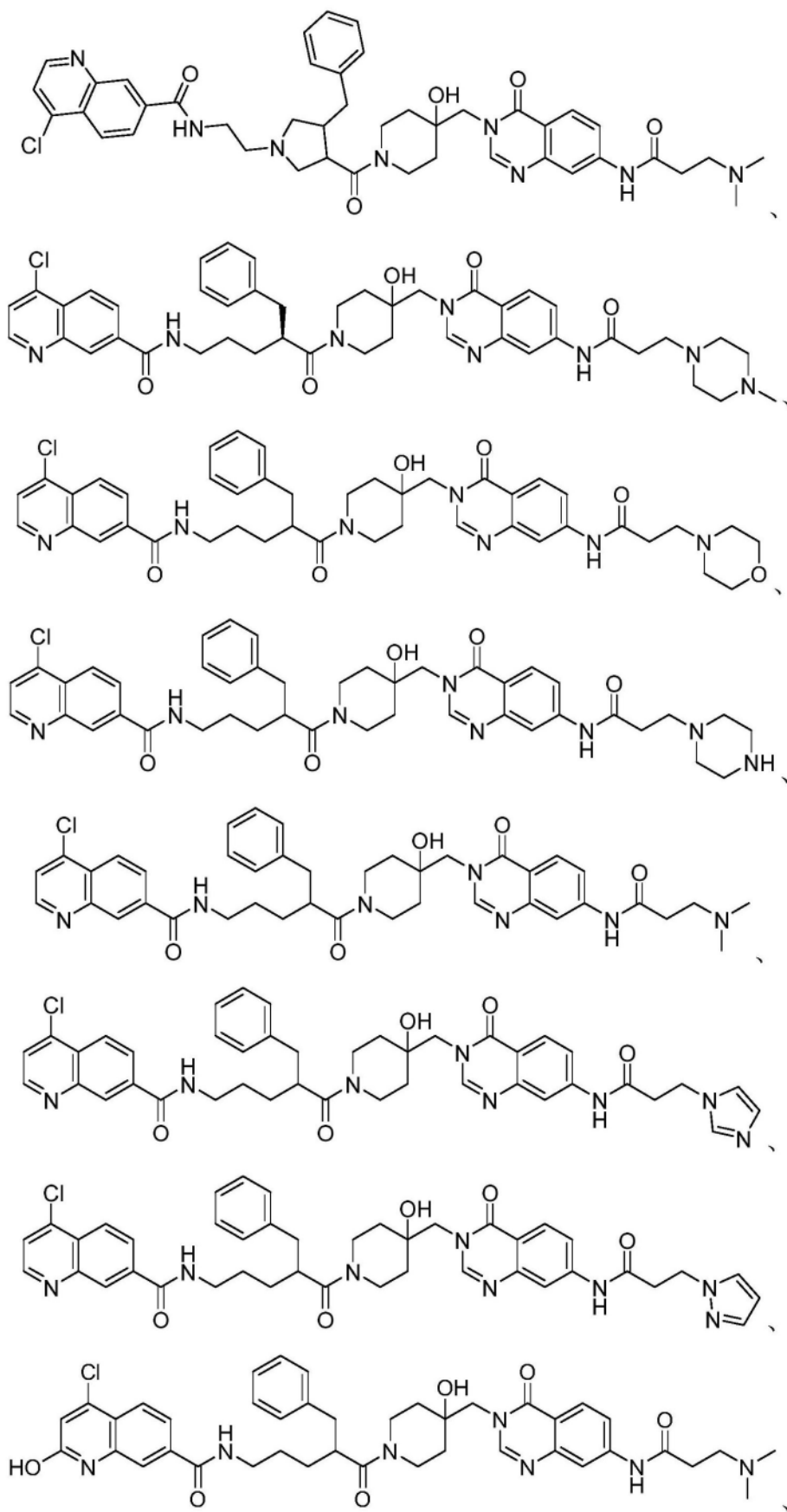
74. 根据权利要求73所述的化合物, 其中所述化合物选自:

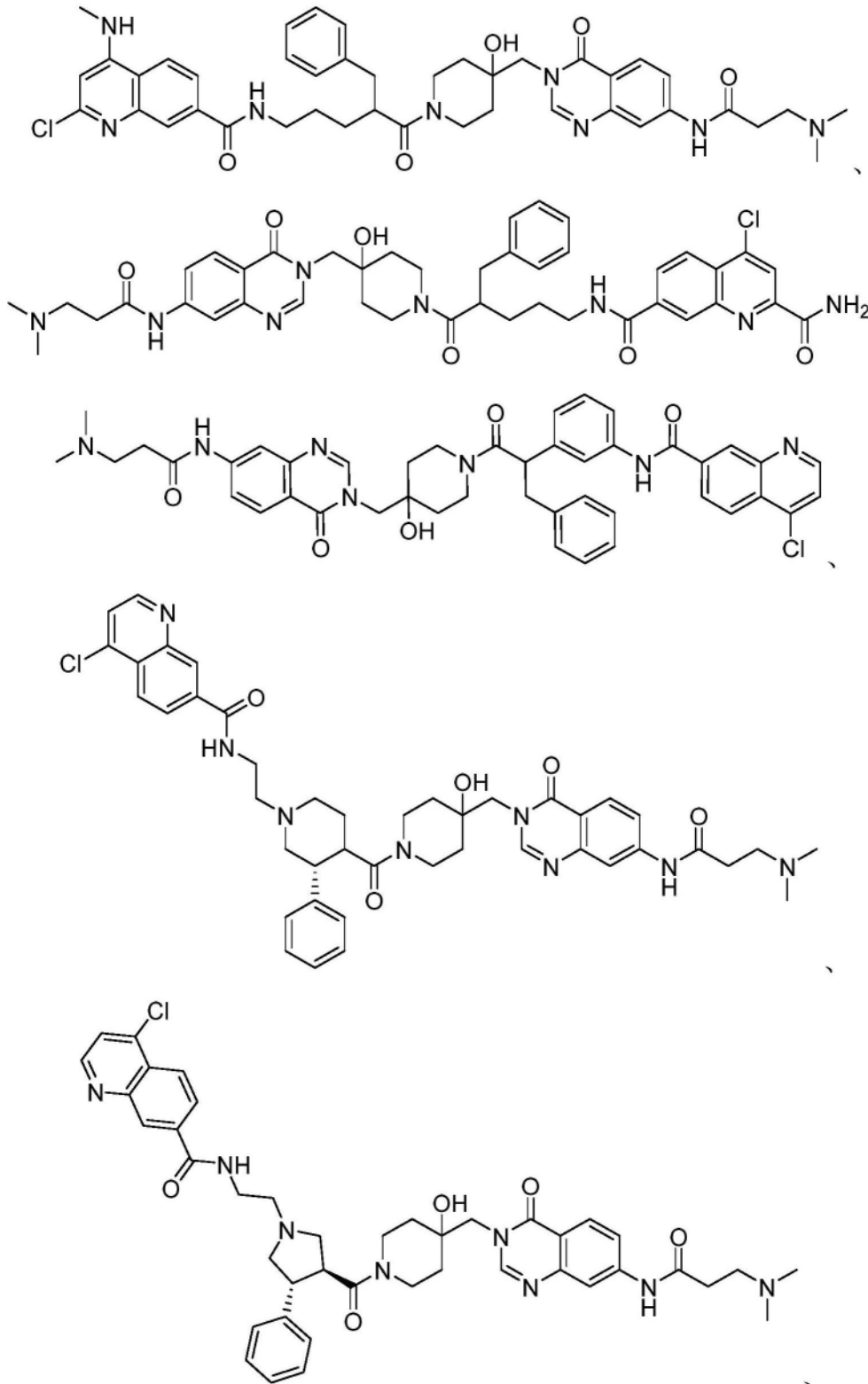


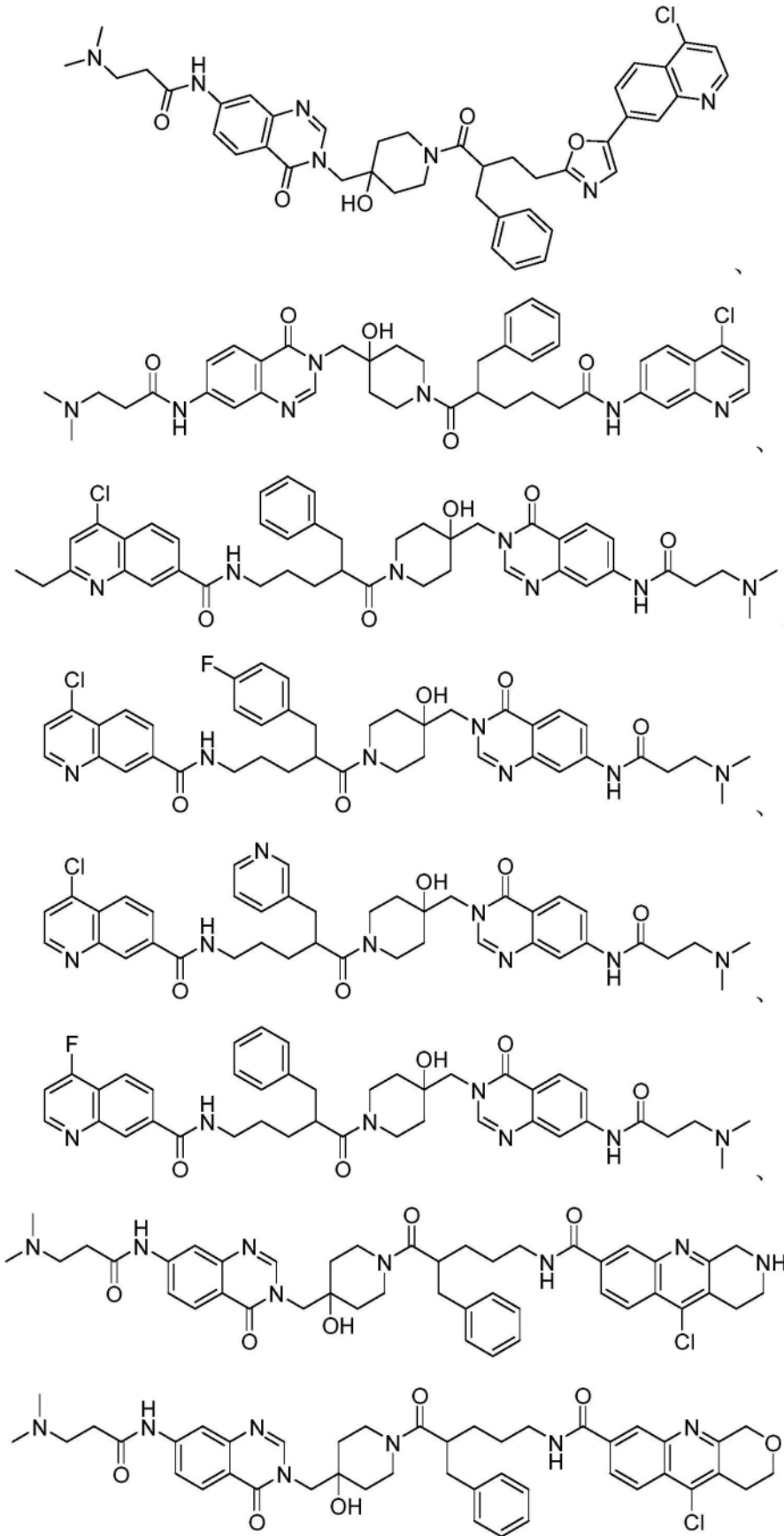


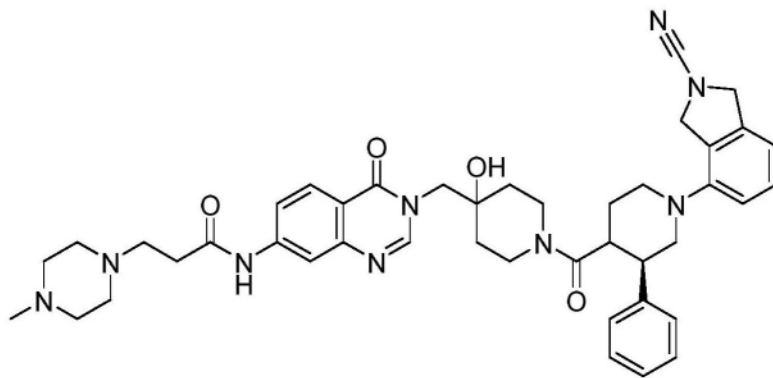
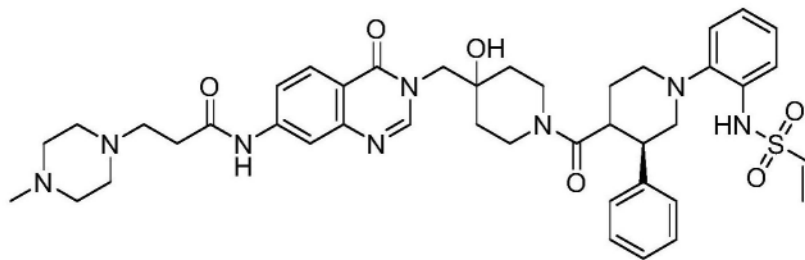
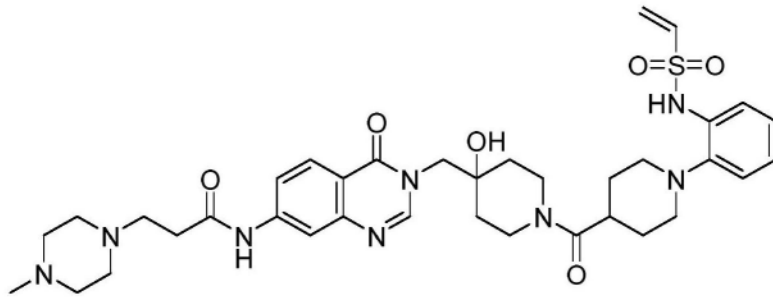
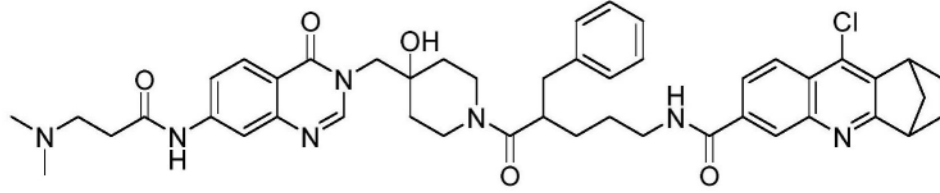
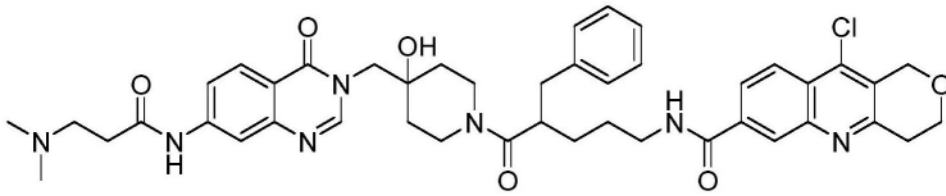


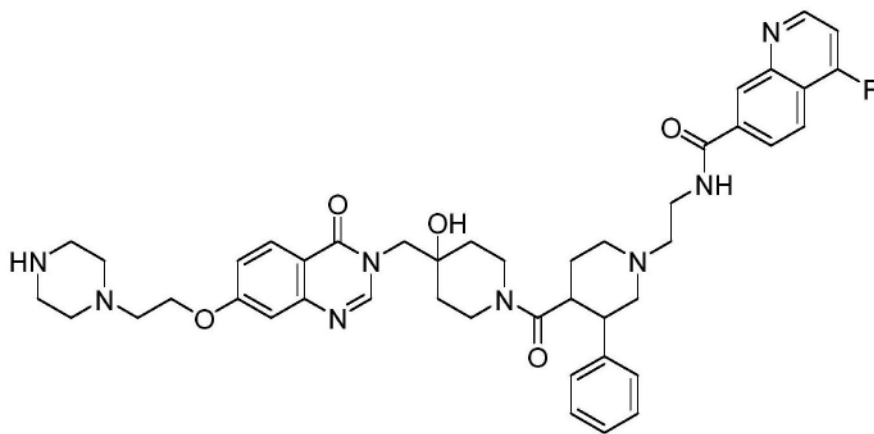
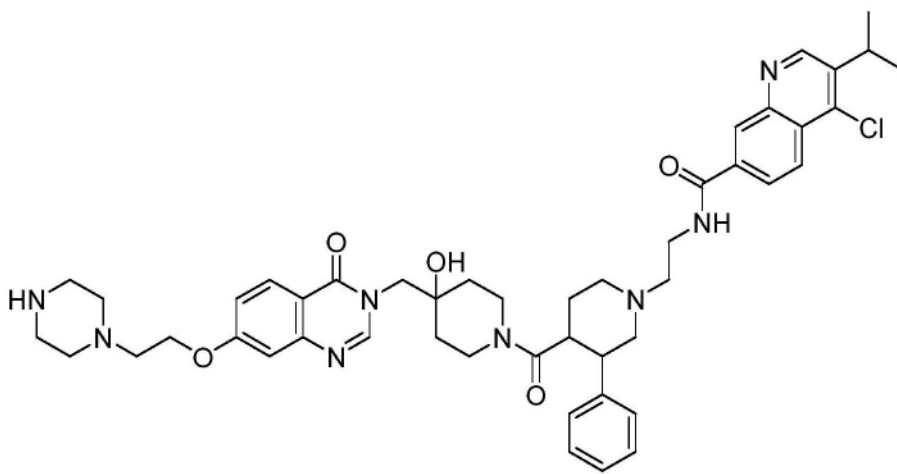
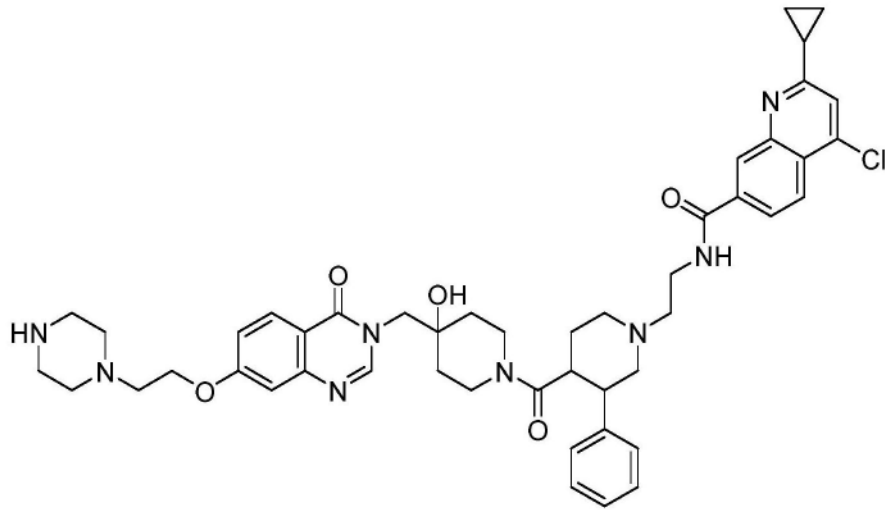


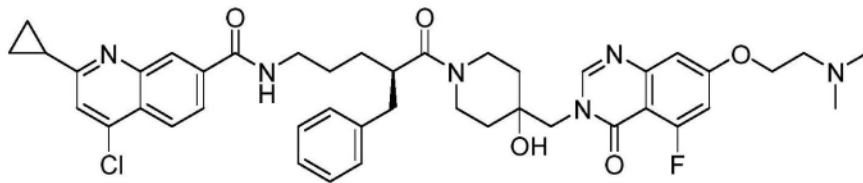
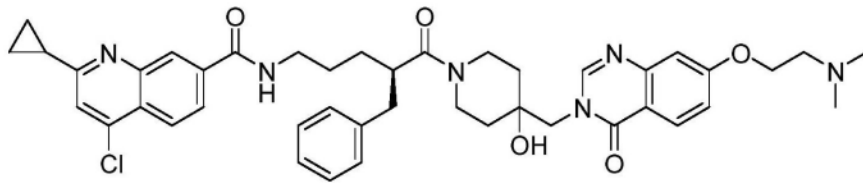
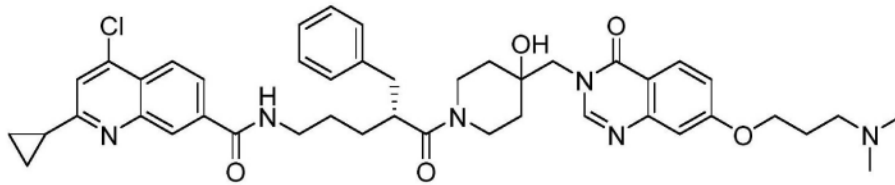
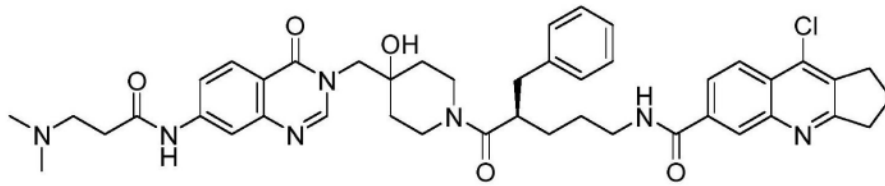
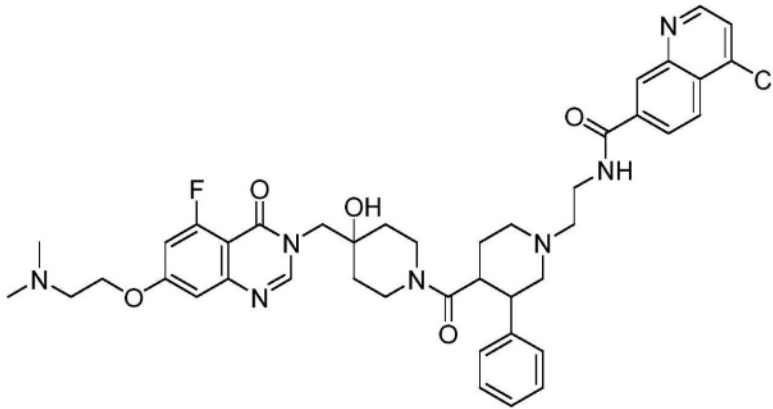
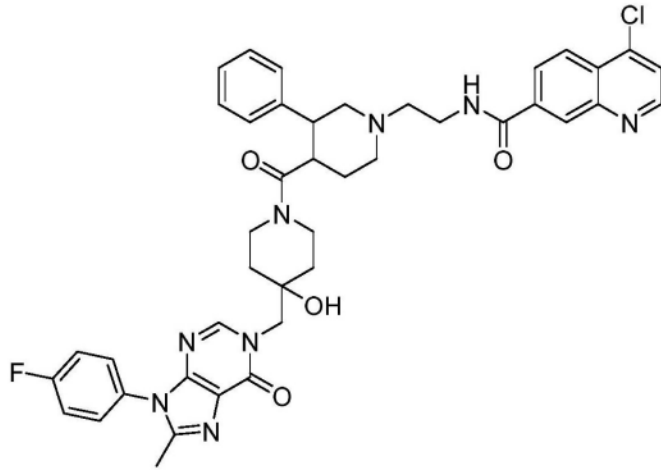


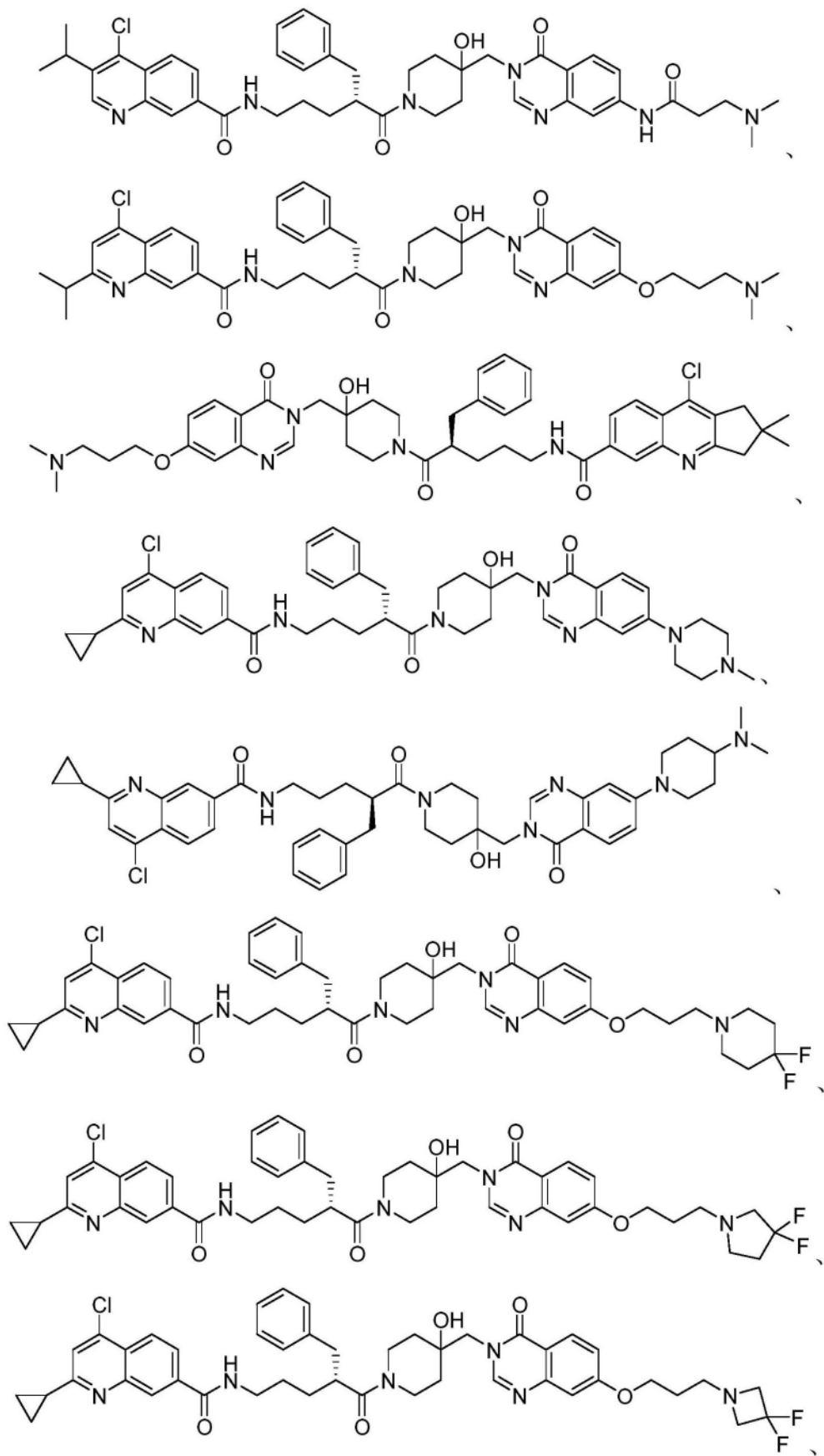


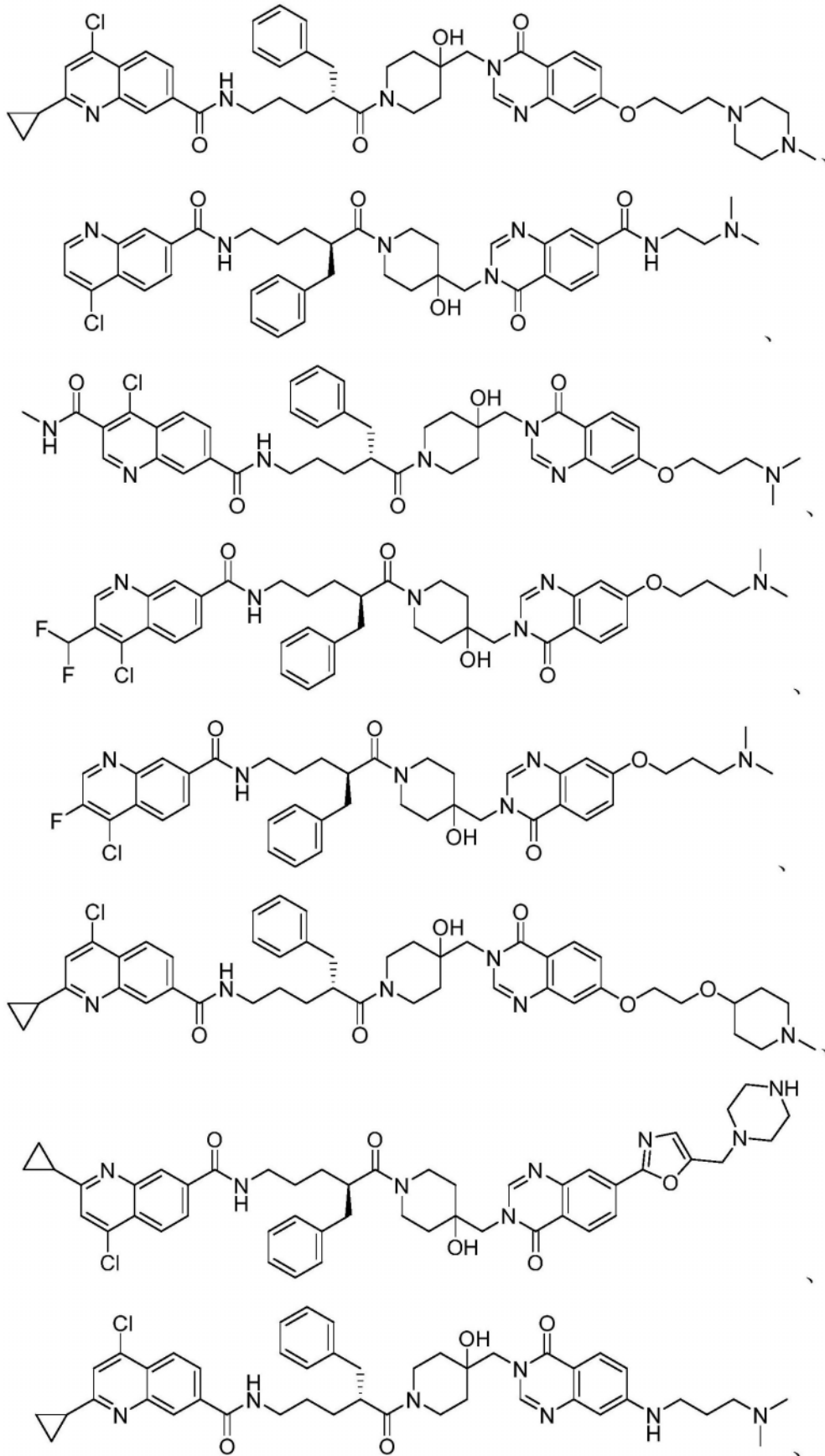


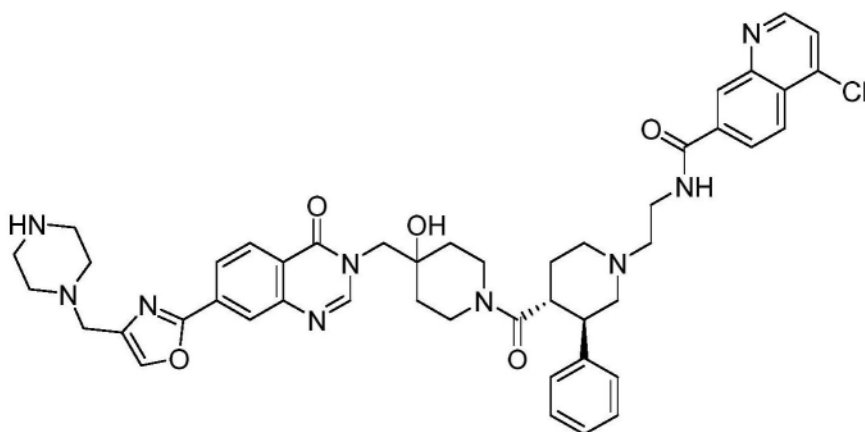
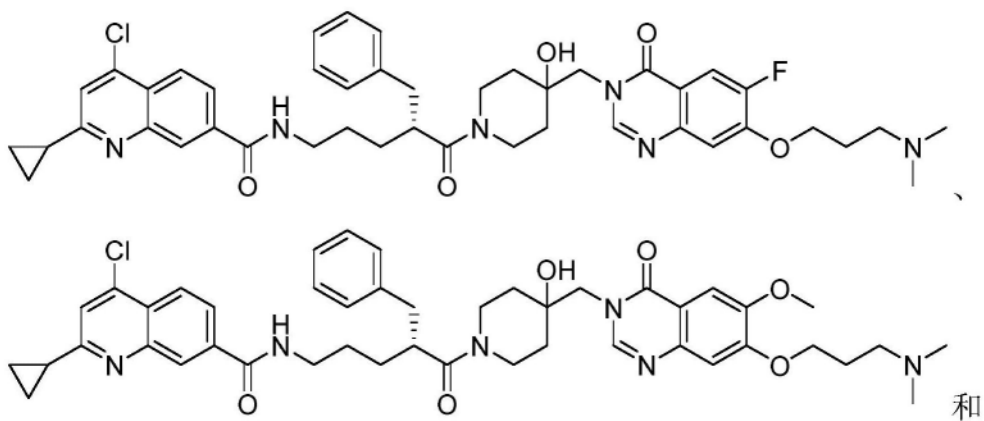






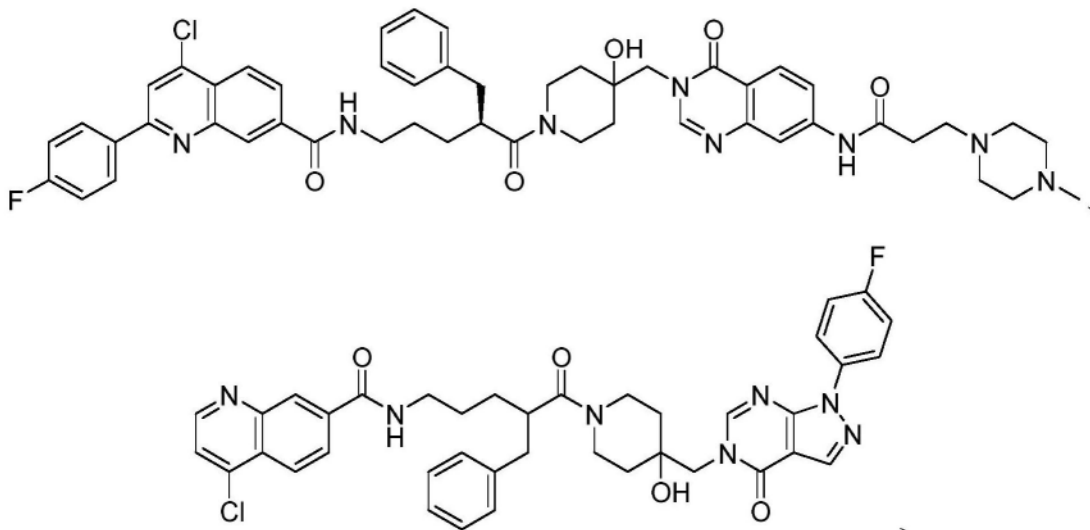


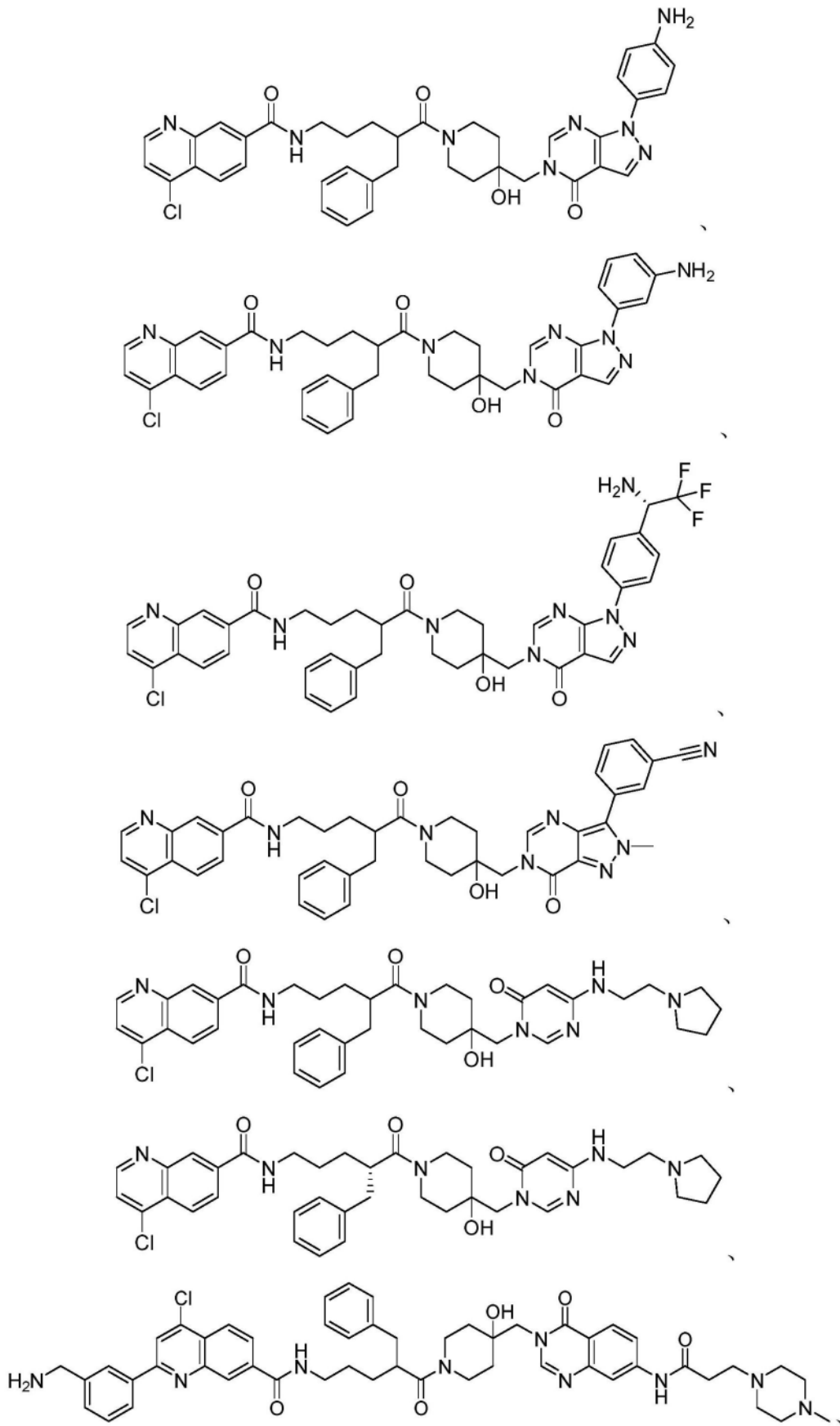


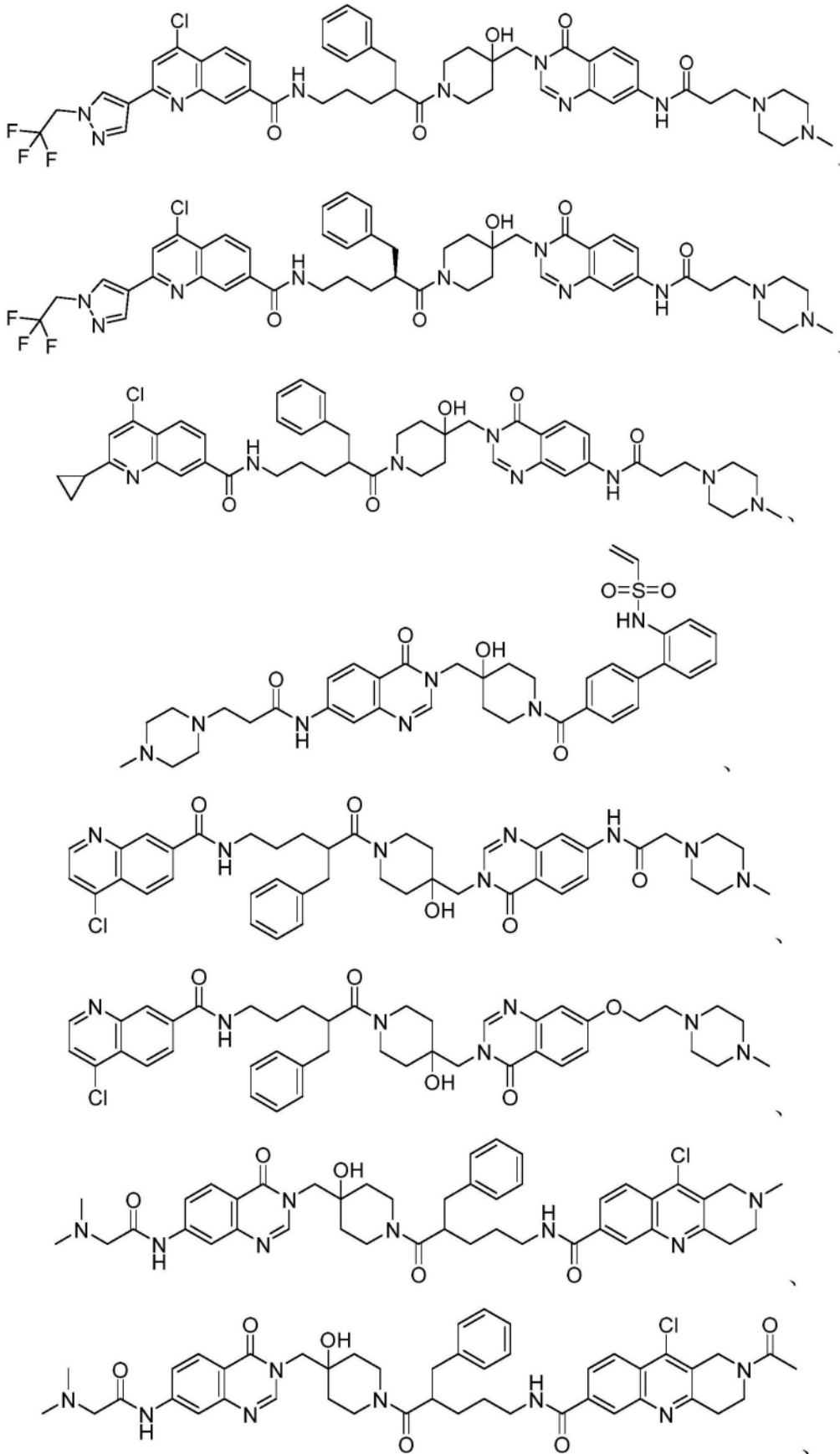


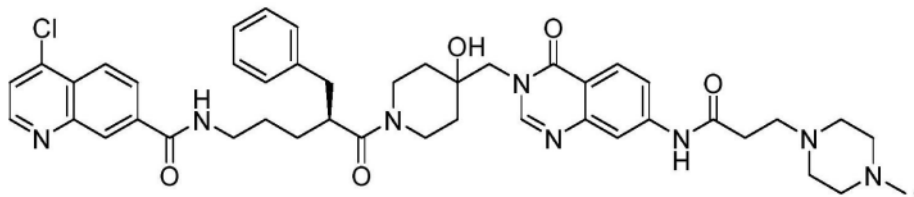
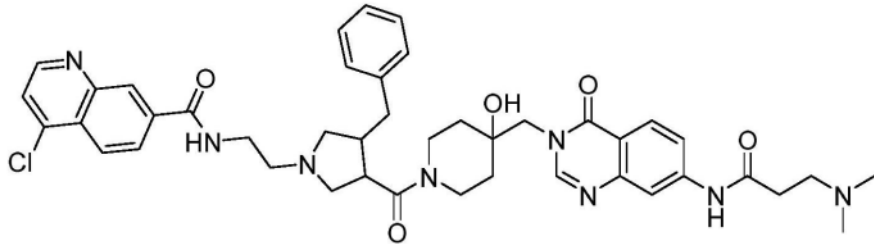
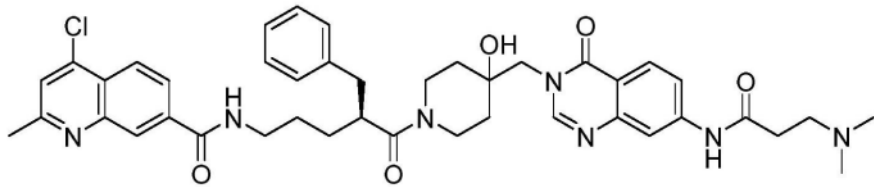
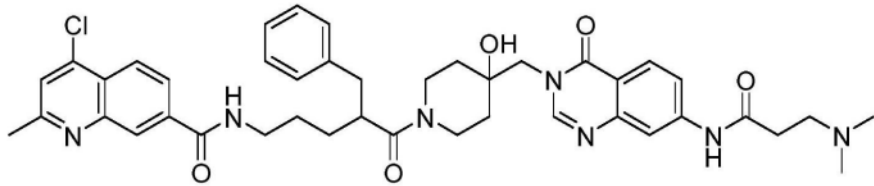
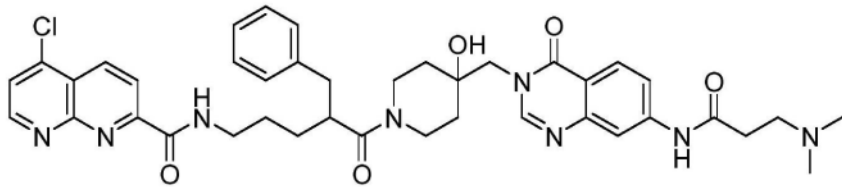
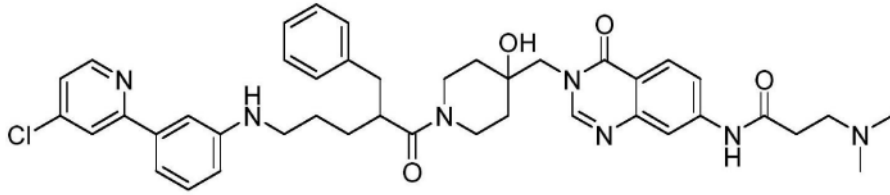
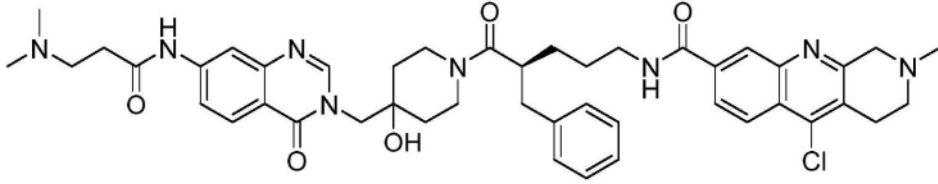
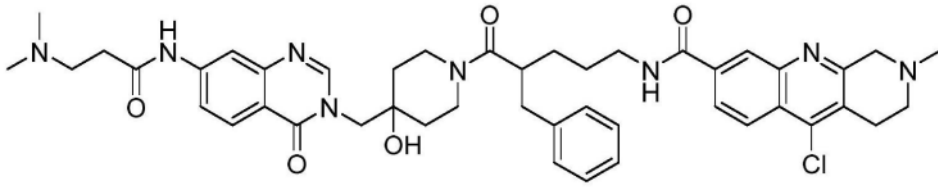
或其药学上可接受的盐。

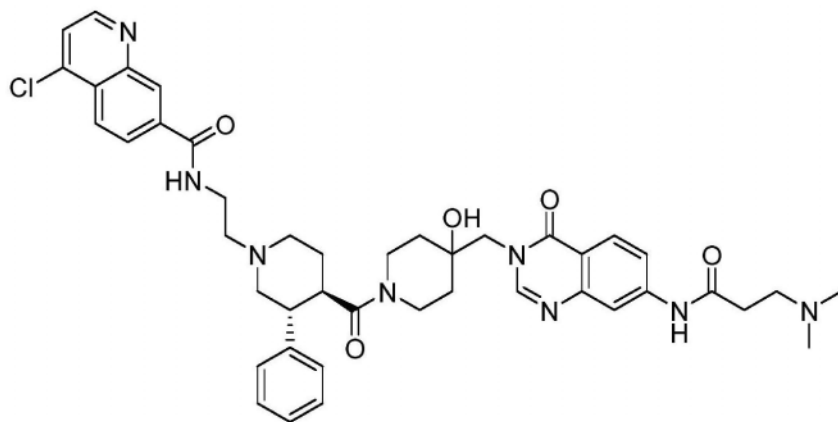
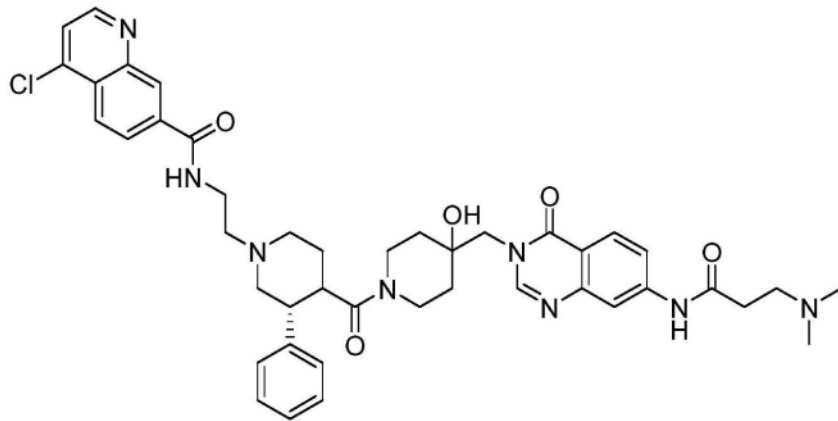
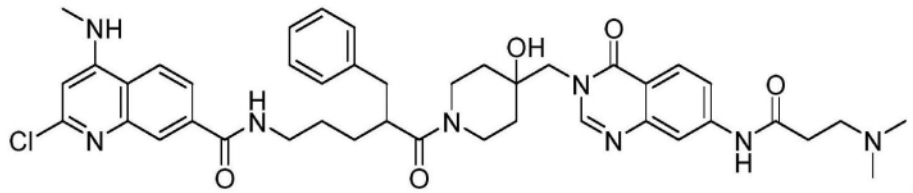
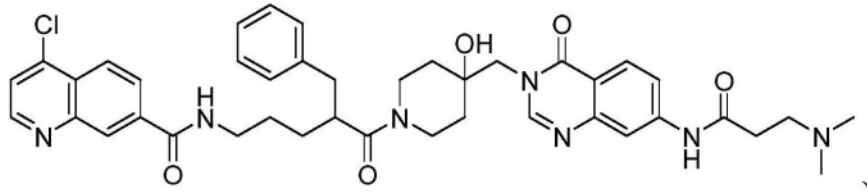
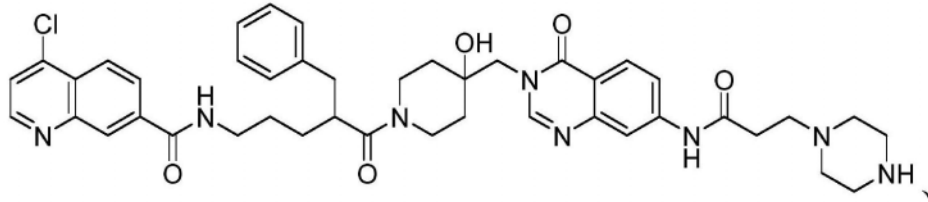
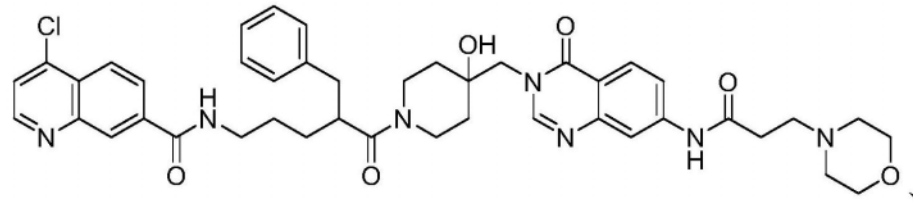
75. 根据权利要求73或74所述的化合物,其中所述化合物选自:

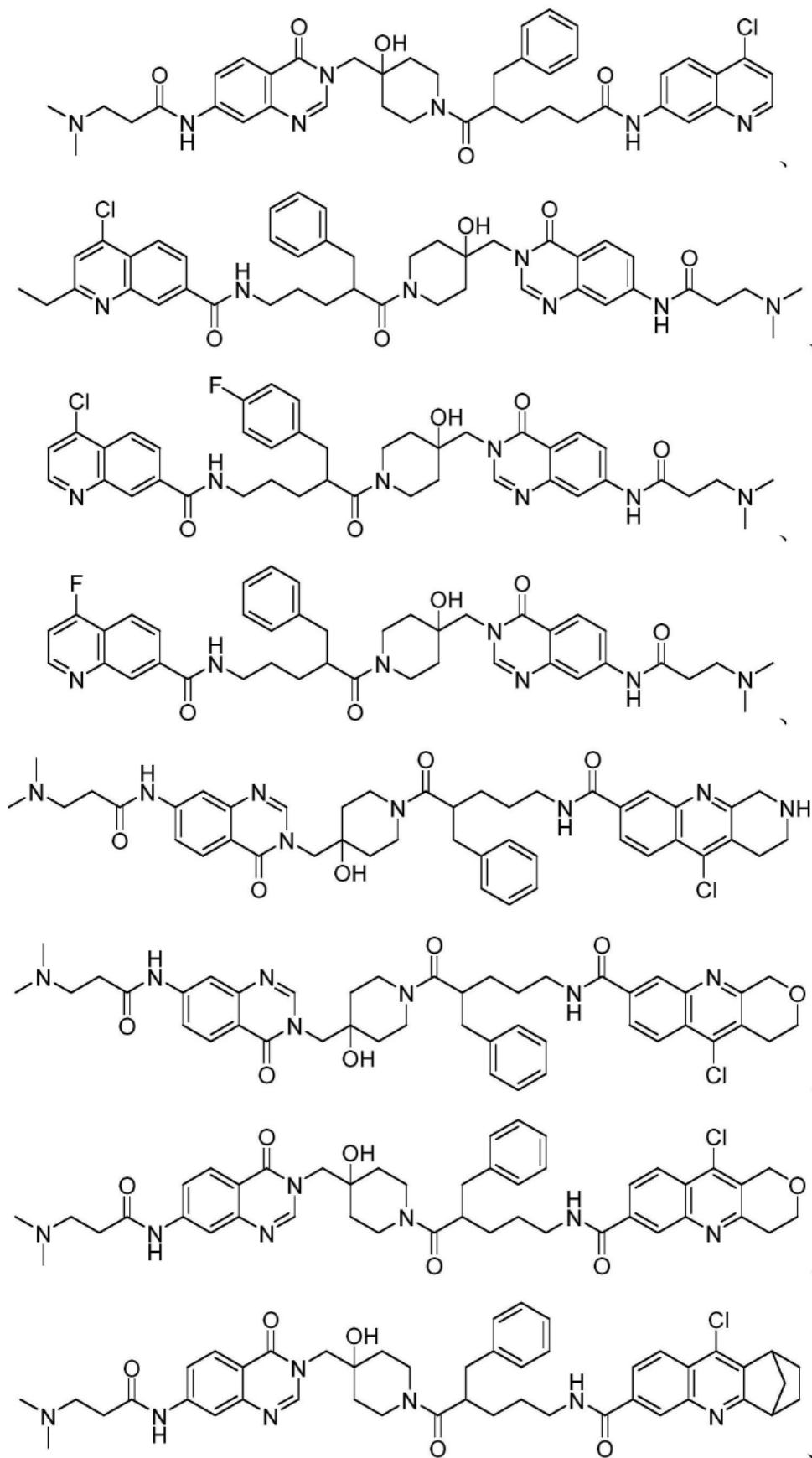


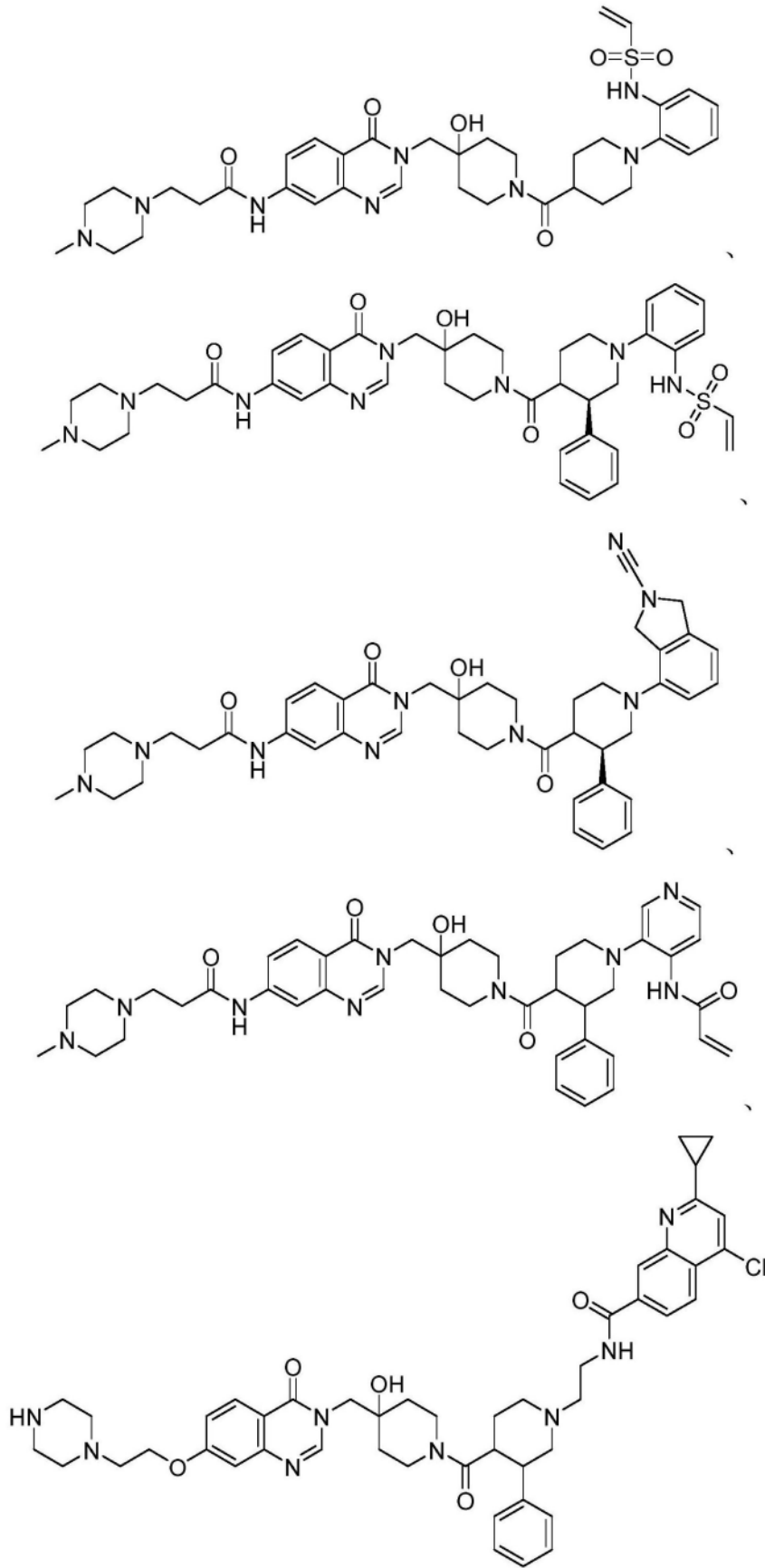


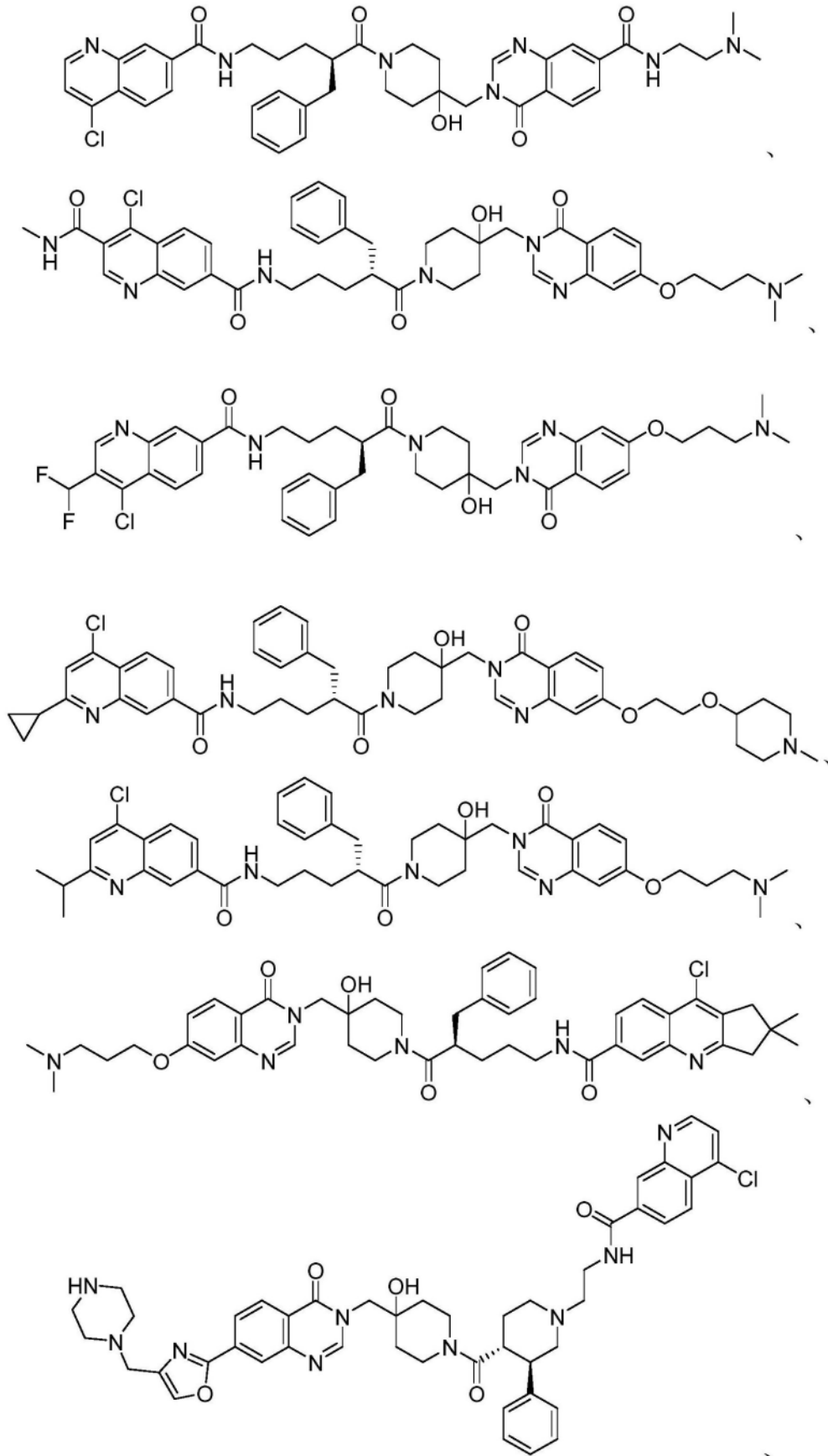


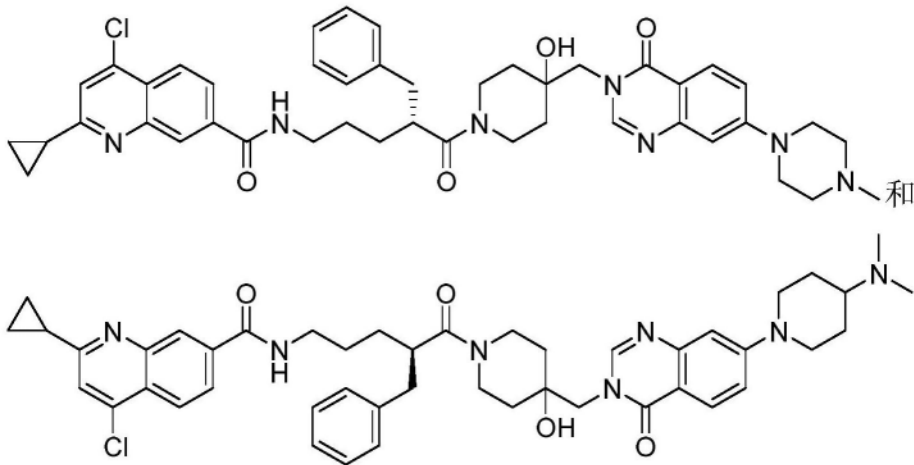












或其药学上可接受的盐。

76. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至75中任一项所述的化合物和药学上可接受的载剂。

77. 一种治疗由USP7调节的疾病或病症的方法,其包含向有此需要的受试者施用根据权利要求1至75中任一项所述的化合物或根据权利要求76所述的药物组合物。

78. 一种抑制USP7的方法,其包含向有此需要的受试者施用根据权利要求1至75中任一项所述的化合物或根据权利要求76所述的药物组合物。

79. 根据权利要求77所述的方法,其中与USP7的抑制相关的所述疾病或病症是癌症和转移、神经退行性疾病、免疫病症、糖尿病、骨和关节疾病、骨质疏松症、关节炎炎性病症、心血管疾病、缺血性疾病、病毒感染和疾病、病毒传染性和/或潜伏期以及细菌感染和疾病。

80. 一种治疗癌症的方法,其包含向有此需要的受试者施用根据权利要求1至75中任一项所述的化合物或根据权利要求76所述的药物组合物。

81. 根据权利要求80所述的方法,其中所述癌症是脂肪肉瘤、神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、乳腺癌、膀胱癌、神经胶质瘤、肾上腺皮质癌、多发性骨髓瘤、结肠直肠癌、结肠癌、前列腺癌、非小细胞肺癌、人乳头瘤病毒相关的宫颈癌、口咽癌、阴茎癌、卵巢癌、肛门癌、甲状腺癌、阴道癌、爱泼斯坦-巴尔病毒相关的鼻咽癌、胃癌、直肠癌、甲状腺癌、霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和尤文肉瘤。

82. 根据权利要求80所述的方法,其中所述癌症是神经母细胞瘤、多发性骨髓瘤、乳腺癌、神经胶质瘤、结肠癌、前列腺癌或卵巢癌。

83. 根据权利要求80所述的方法,其中所述癌症是多发性骨髓瘤。

84. 根据权利要求80所述的方法,其中所述癌症是尤文肉瘤。

85. 一种抑制USP7的方法,其中根据权利要求1至75中任一项所述的化合物与USP7形成共价键。

86. 根据权利要求85所述的方法,其中所述共价键用USP7的半胱氨酸残基形成。

87. 根据权利要求1至75中任一项所述的化合物在制备用于治疗由USP7调节的疾病的药物中的用途。

88. 根据权利要求1至75中任一项所述的化合物,其用于治疗由USP7调节的疾病。

靶向泛素特异性蛋白酶7 (USP7) 的抑制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2021年7月20日提交的美国临时申请第63/223,788号的优先权的权益,所述美国临时申请的全部内容通过引用并入本文。

背景技术

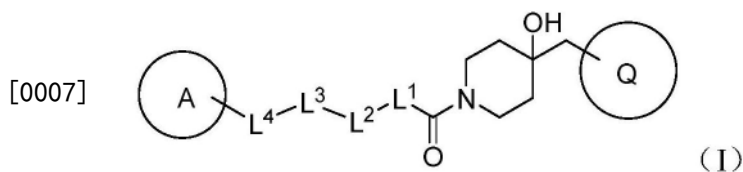
[0003] 在过去的5至10年中,去泛素化酶 (DUB) 作为药物靶标受到了极大的关注。DUB抑制剂有效地促进致癌蛋白的降解,特别是难以直接靶向的蛋白,因为它们被DUB家族成员稳定。高度优化和良好表征的DUB抑制剂因此成为备受追捧的工具。然而,大多数报道的DUB抑制剂是对其主要靶标具有弱(微摩尔)效力的多药理药剂,因此限制了它们在靶标验证和机制研究中的应用。

[0004] DUB酶USP7 (泛素特异性蛋白酶7) 已经被证明参与许多细胞过程的调节,包括表观遗传学、细胞周期、DNA修复、免疫、病毒感染和肿瘤发生。USP7,也被称为疱疹病毒相关泛素特异性蛋白酶 (HAUSP),最初被发现是作为一种在病毒溶解生长中起作用的蛋白质。当USP7通过稳定p53的主要E3连接酶MDM2参与调节肿瘤抑制因子p53的降解时,人们对这种酶的兴趣增加了。

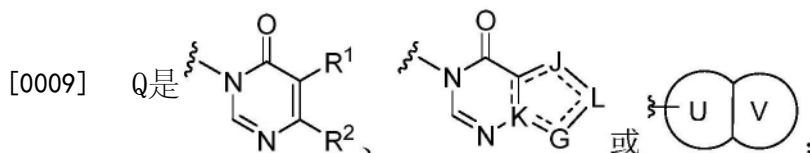
[0005] 与其对不同底物和生物过程的调节一致,USP7已经成为多种恶性肿瘤(包括多发性骨髓瘤、乳腺癌、神经母细胞瘤、神经胶质瘤和卵巢癌)的药物靶点。然而,已知的USP7抑制剂显示出对USP7的中等效力和对其他DUB的差的选择性。除了适度的效力和选择性之外,已知USP7抑制剂化合物的报道的缺点包括差的溶解性和一般毒性。因此,需要开发更有效和选择性的不可逆USP7抑制剂。

发明内容

[0006] 在一些实施例中,本公开涉及一种式 (I) 的化合物:



[0008] 或其药学上可接受的盐,其中:



[0010] G是CR¹⁰、NR¹⁰或N;

[0011] J是CR¹⁰、NR¹⁰、N或S;

[0012] L是NR¹⁰、CR¹⁰、CR¹¹或N;

[0013] K是C或N;

[0014] 当化合价允许时, \parallel 是单键或双键, 条件是含有J、L和G的环是芳族的;

[0015] U是任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、-OH、氧代或C₁₋₃烷基取代的5至6元杂环基;

[0016] V是5至6元杂芳基或C₃₋₆环烷基, 其中所述5至6元杂芳基或C₅₋₆环烷基任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、-OH、氧代或C₁₋₃烷基取代;

[0017] R¹是H;

[0018] R²是H或-NHC₁₋₃亚烷基 (C₅₋₇杂环基),

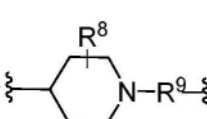
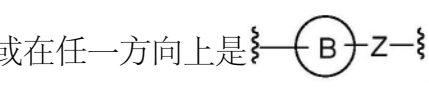
[0019] 或者R¹和R²与它们所连接的碳原子结合在一起形成C₆₋₁₀芳基或5至6元杂芳基, 其中所述C₆₋₁₀芳基或所述5至6元杂芳基任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代: Ha1、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₆₋₁₀芳基、5至6元杂芳基、4至7元杂环基、-NHC(=O)C₁₋₃亚烷基 (NR³R⁴)、-C(=O)NHC₁₋₃亚烷基 (NR³R⁴)、-NHC₁₋₃亚烷基 (4至7元杂环基)、-OC₁₋₃亚烷基 (4至7元杂环基)、-OC₁₋₃亚烷基-0- (NR³R⁴)、-NHC₁₋₃亚烷基 (NR³R⁴) 或-OC₁₋₃亚烷基 (NR³R⁴), 并且其中所述C₁₋₃烷基、所述C₆₋₁₀芳基、所述5至6元杂芳基或所述4至7元杂环基任选地独立地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、C₁₋₃烷基或-C₀₋₂烷基 (5至6元杂环基) 取代;

[0020] R³是C₁₋₃烷基;

[0021] R⁴是C₁₋₃烷基,

[0022] 或者R³和R⁴与它们所连接的氮原子结合在一起形成5至7元杂环基或5至7元杂芳基, 其中所述5至7元杂环基任选地被一个或多个C₁₋₃烷基取代;

[0023] L¹是被一个或多个-C₀₋₂烷基 (C₆芳基)、-NHC₀₋₂烷基 (C₆芳基) 或-C₀₋₂烷基 (5至6元杂芳基) 取代的C₂₋₄亚烷基, 其中所述C₂₋₄亚烷基中的一个或多个碳任选地被N替换, 所述N任选地被C₁₋₃烷基取代;

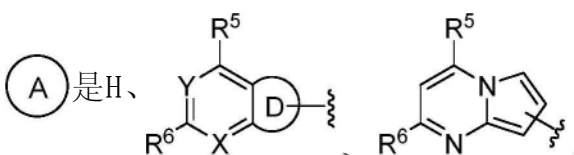
[0024] 或者L¹在任一方向上是  在任一方向上是  或在任一方向上是 ,

[0025] 其中所述-C₀₋₂烷基 (C₆芳基) 或所述-C₀₋₂烷基 (5至6元杂芳基) 任选地独立地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃或C₁₋₃烷基取代; Z是C₁₋₄亚烷基, 并且 $\textcircled{\text{B}}$ 是C₆₋₁₀亚芳基、5至7元亚杂环基或5至7元亚杂芳基, 并且其中所述C₁₋₄亚烷基、所述5至7元亚杂环基和所述5至7元亚杂芳基各自任选地独立地被C₀₋₂烷基 (C₆芳基) 或C₃₋₆环烷基取代;

[0026] L²是-NH-、键或 $\textcircled{\text{C}}$, 其中 $\textcircled{\text{C}}$ 是5元亚杂芳基;

[0027] L³是-C(=O)-、-S(=O)₂-、C₆₋₁₀亚芳基或键;

[0028] L⁴是C₁₋₃亚烷基、C₂₋₄亚烯基或键;

[0029]  **(A)** 是H、 C_{6-10} 芳基或5至7元杂芳基,其中所述

C_{6-10} 芳基或所述5至7元杂芳基任选地被一个或多个Ha1、-CN、 C_{1-3} 卤代烷基、-NHC(=O) C_{1-3} 烯基取代;

[0030] X是N或CH;

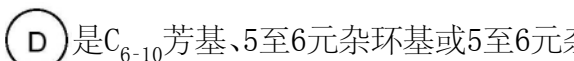
[0031] Y是N或 CR^7 ;

[0032] R^5 是Ha1、-NH₂、-NH₂(C_{1-3} 烷基)、-OH、 C_{1-3} 烷氧基或 C_{1-3} 烷基;

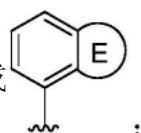
[0033] R^6 是H、Ha1、-NH₂、-OH、-C(O)NH₂、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{6-10} 芳基、5至6元杂芳基或 C_{3-5} 环烷基,其中-NH₂、-OH、所述 C_{1-3} 烷基、所述 C_{6-10} 芳基、所述5至6元杂芳基或所述 C_{3-5} 环烷基任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基(NH₂)或 C_{1-3} 烷基(CF₃)取代;

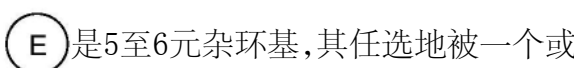
[0034] R^7 是H、Ha1、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 卤代烷基、氰基、 C_{3-5} 环烷基、-C(O)NH₂、-C(O)N(C_{1-3} 烷基)₂、-C(O)NHC₃₋₅环烷基或-C(=O)NHC₁₋₃烷基,其中当 R^7 是-C(O)N(C_{1-3} 烷基)₂时,所述两个 C_{1-3} 烷基任选地与它们所连接的N原子结合在一起以形成3至7元杂环基;

[0035] 或者 R^7 和 R^6 与它们所连接的碳原子结合在一起形成 C_{5-7} 环烷基、 C_{6-8} 桥连的双环环烷基或5至6元杂环基,其中所述 C_{5-7} 环烷基或所述5至6元杂环基任选地被一个或多个 C_{1-3} 烷基、氧代或-C(=O) C_{1-3} 烷基取代,其中同一碳上的两个 C_{1-3} 烷基任选地与它们所连接的碳原子结合在一起以形成螺环;

[0036]  **(D)** 是 C_{6-10} 芳基、5至6元杂环基或5至6元杂芳基;

[0037] R^8 是 C_{6-10} 芳基,其任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基(NH₂)或 C_{1-3} 烷基(CF₃)取代;

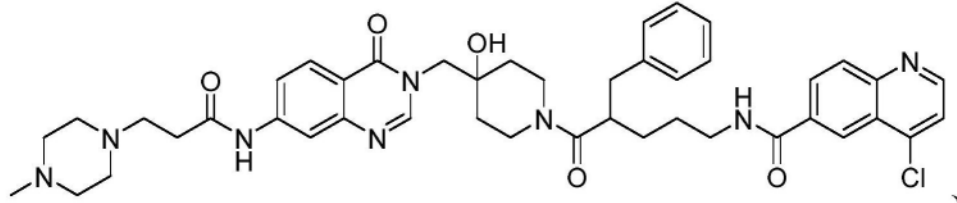
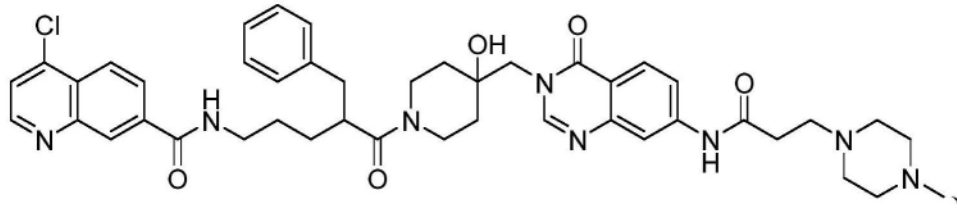
[0038] R^9 是键、 C_{2-4} 亚烷基、 C_{6-10} 亚芳基或  ;

[0039]  **(E)** 是5至6元杂环基,其任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基(NH₂)或 C_{1-3} 烷基(CF₃)取代;

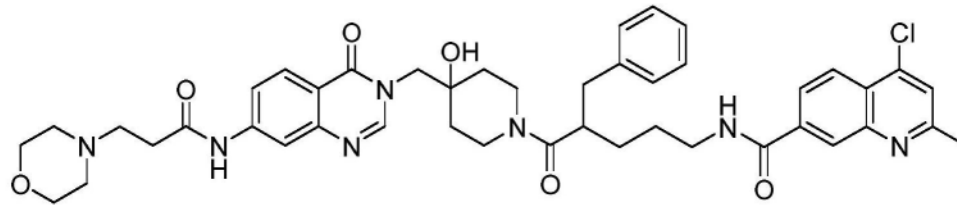
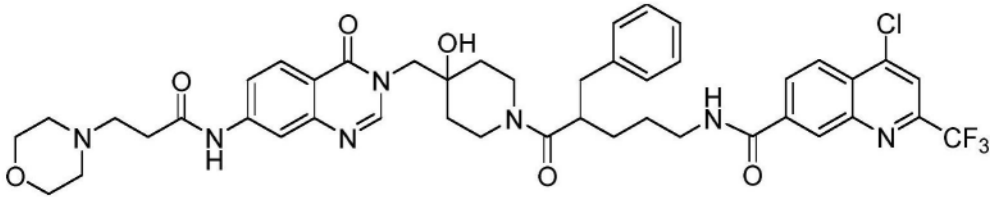
[0040] R^{10} 是H、 C_{1-3} 亚烷基(C_{5-7} 杂环基)或 C_{6-10} 芳基,其中 C_{1-3} 亚烷基(C_{5-7} 杂环基)或 C_{6-10} 芳基任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基(NH₂)、 C_{1-3} 烷基(CF₃)或 C_{1-3} 烷基(NH₂)(CF₃)取代;并且

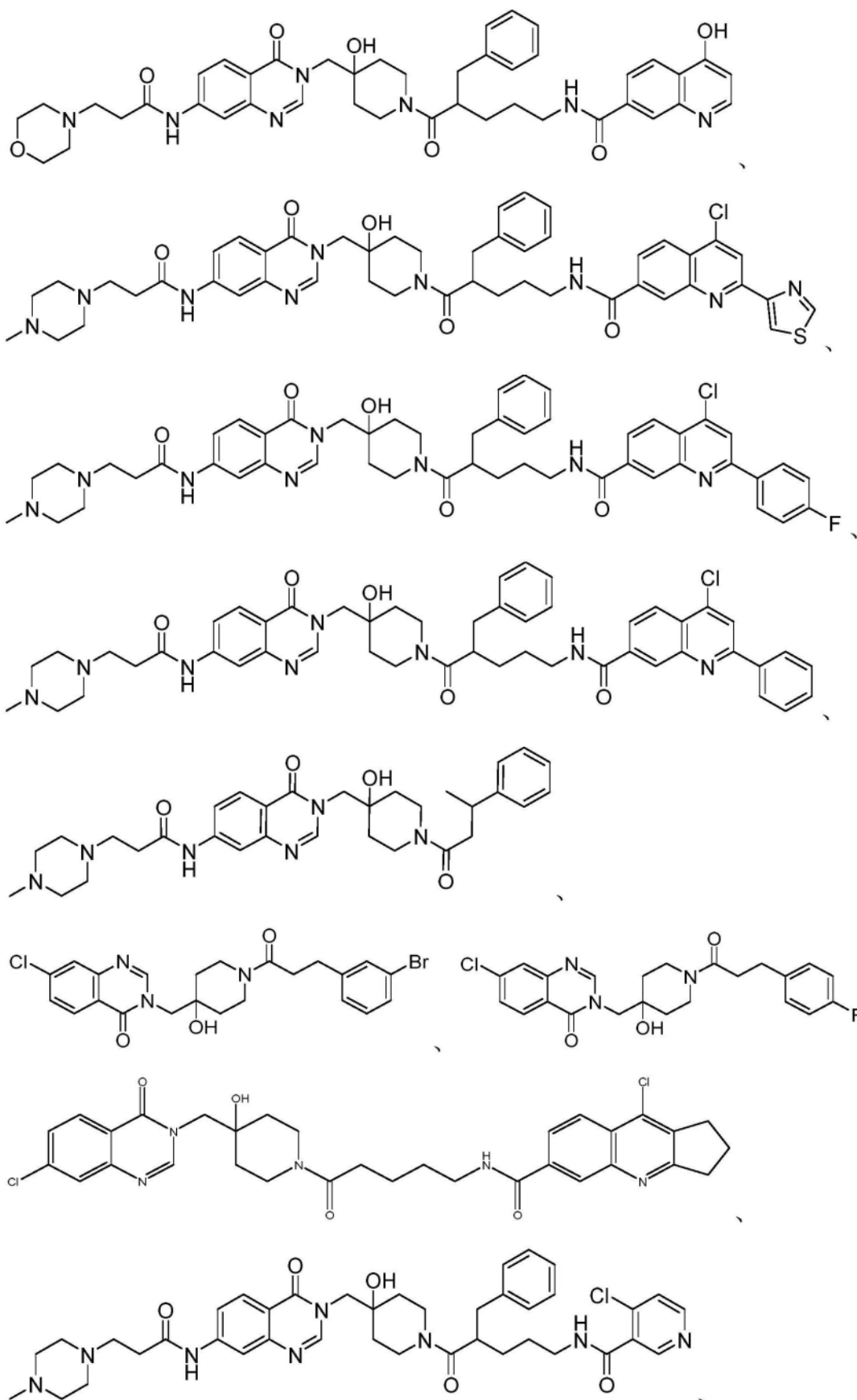
[0041] R^{11} 是Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃或 C_{1-3} 烷基,

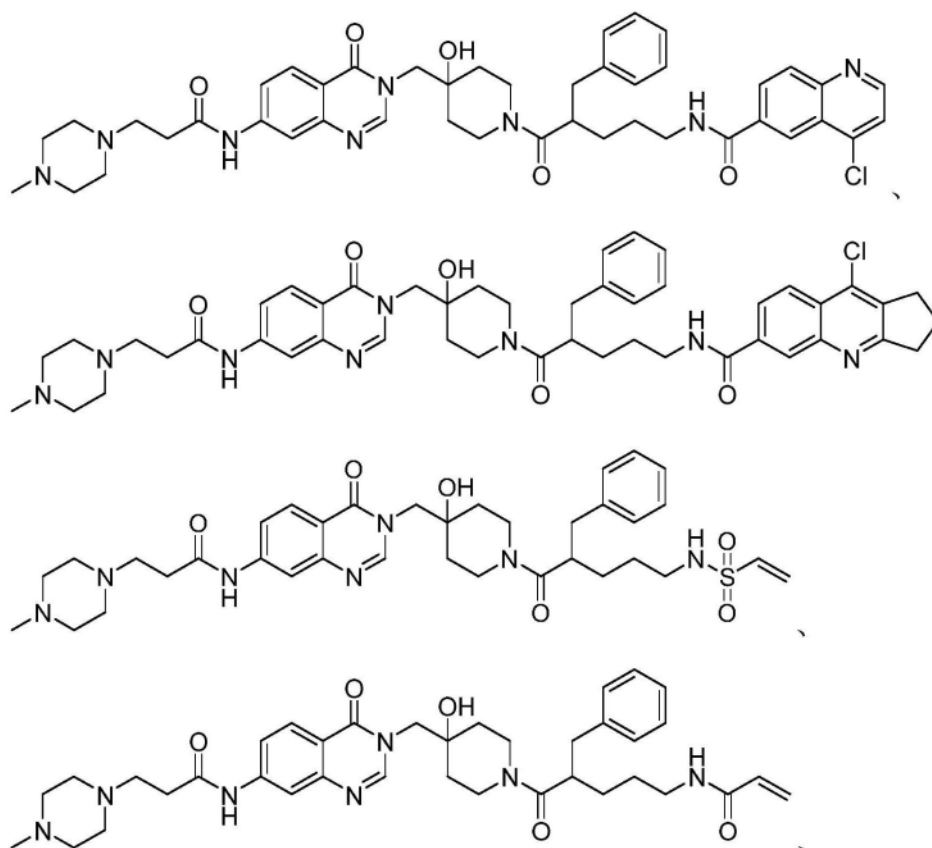
[0042] 条件是所述化合物不是



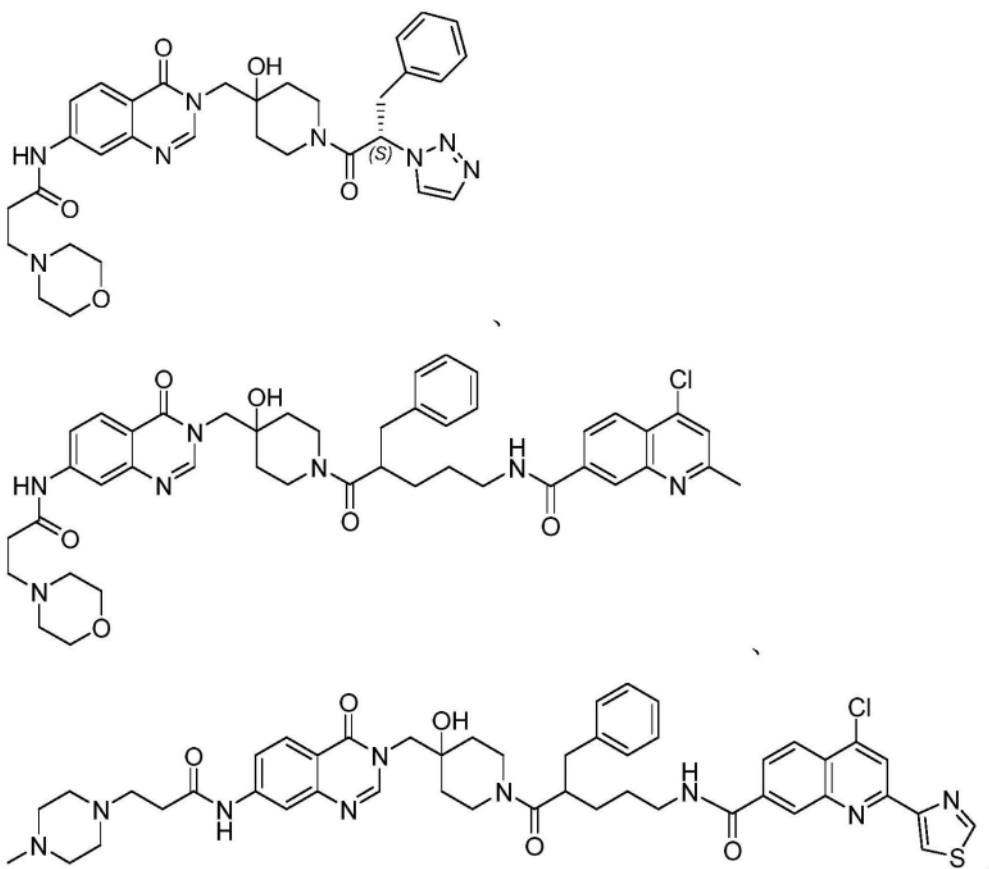
[0043]



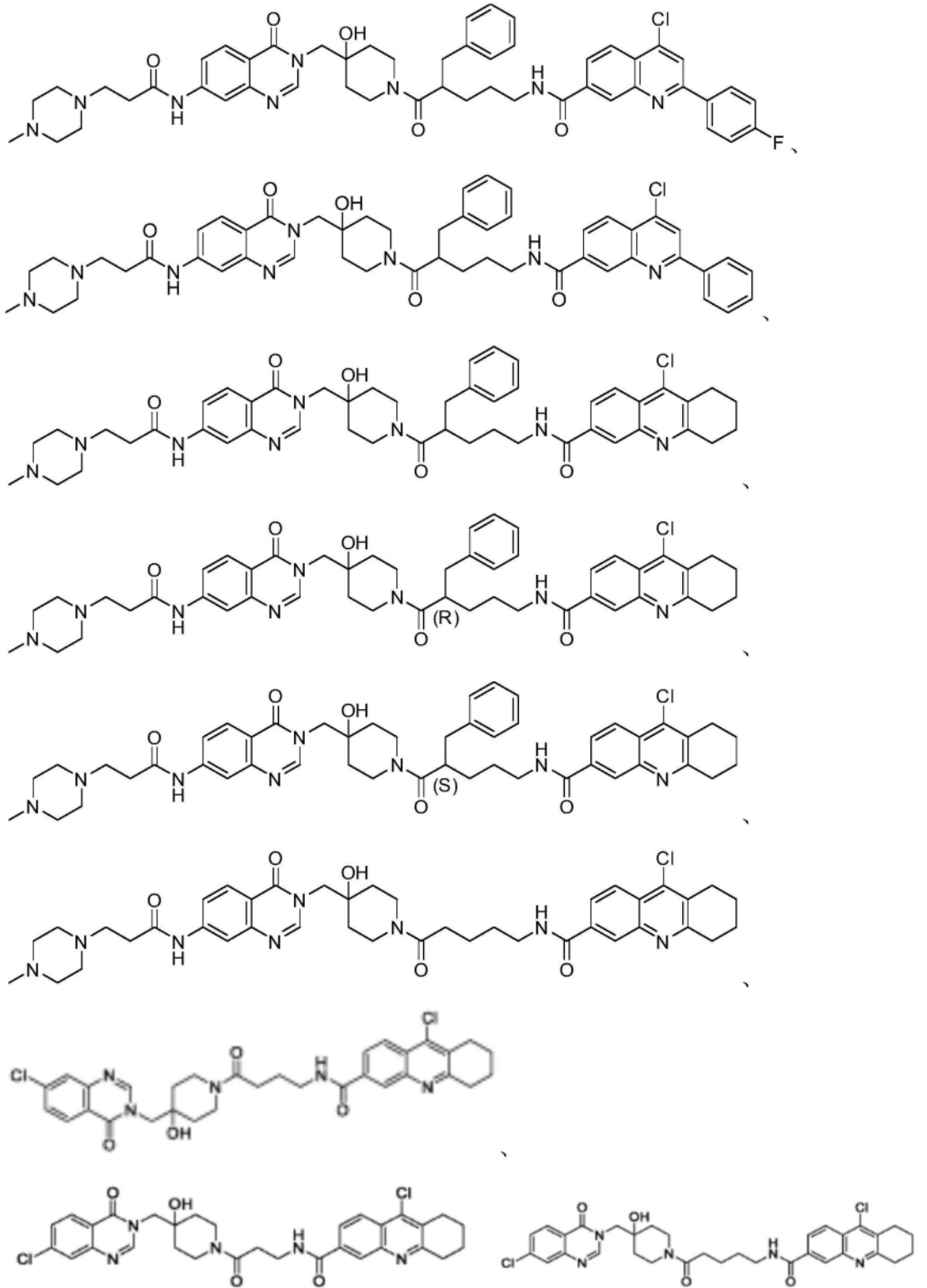


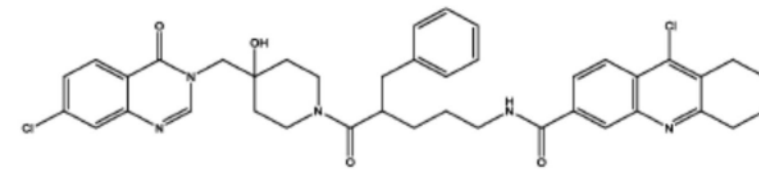
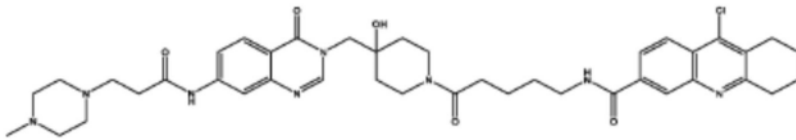
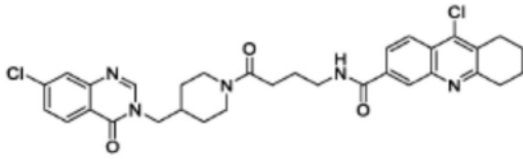
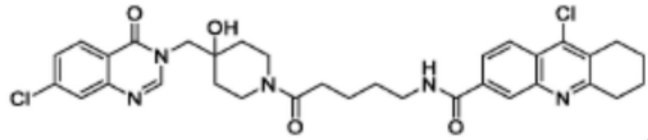


[0045]

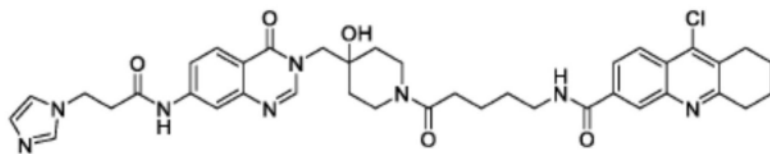
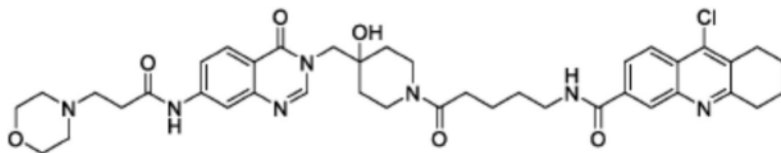
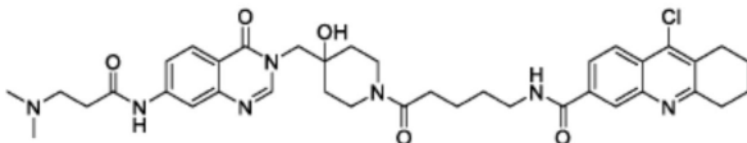
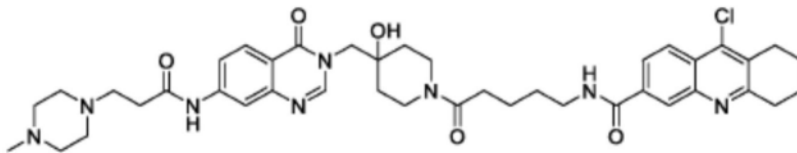
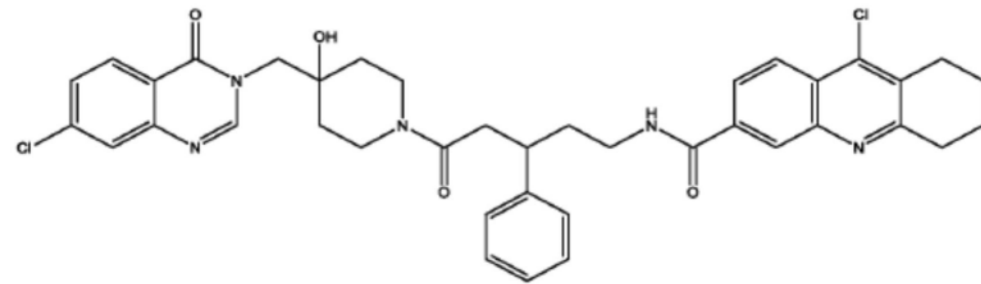


[0046]

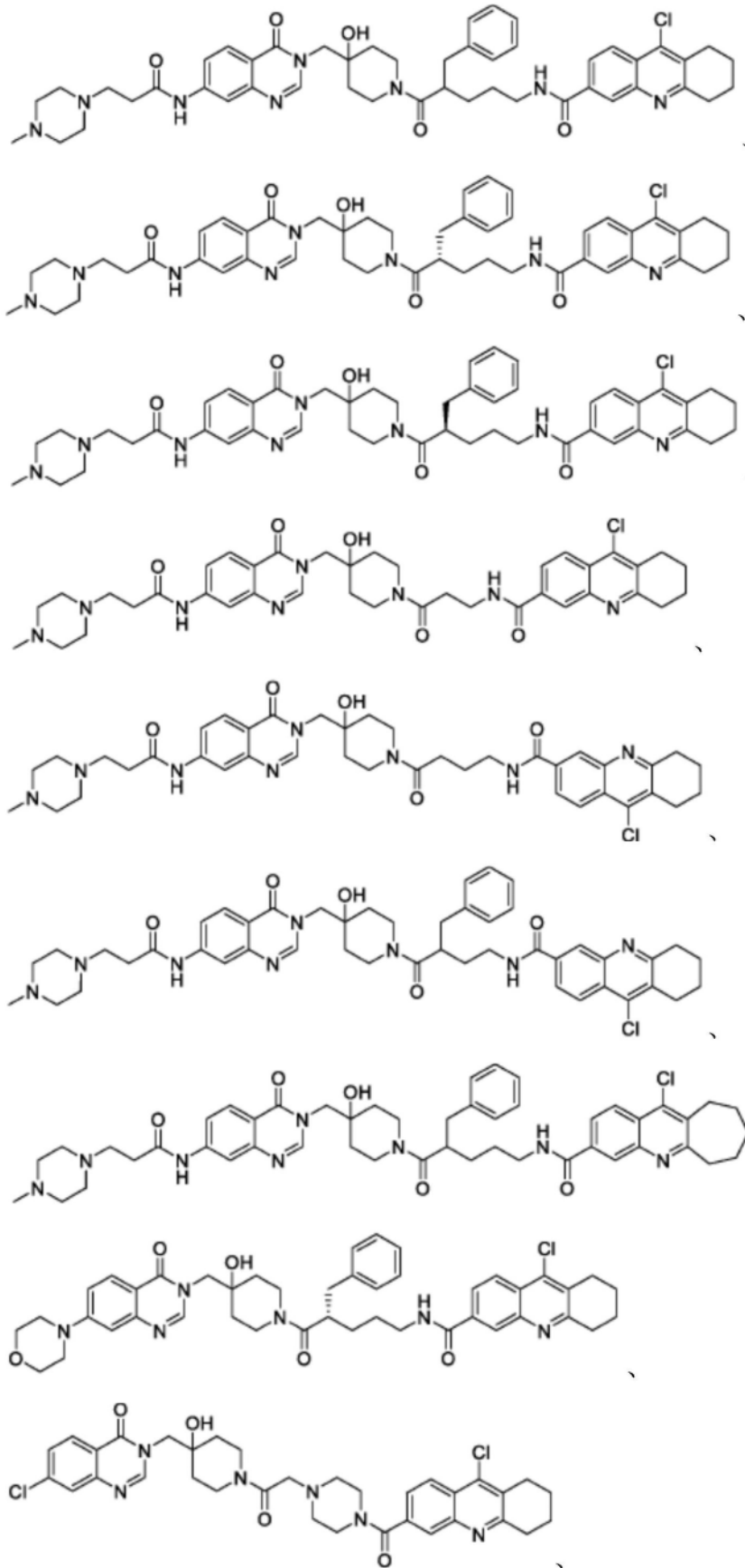


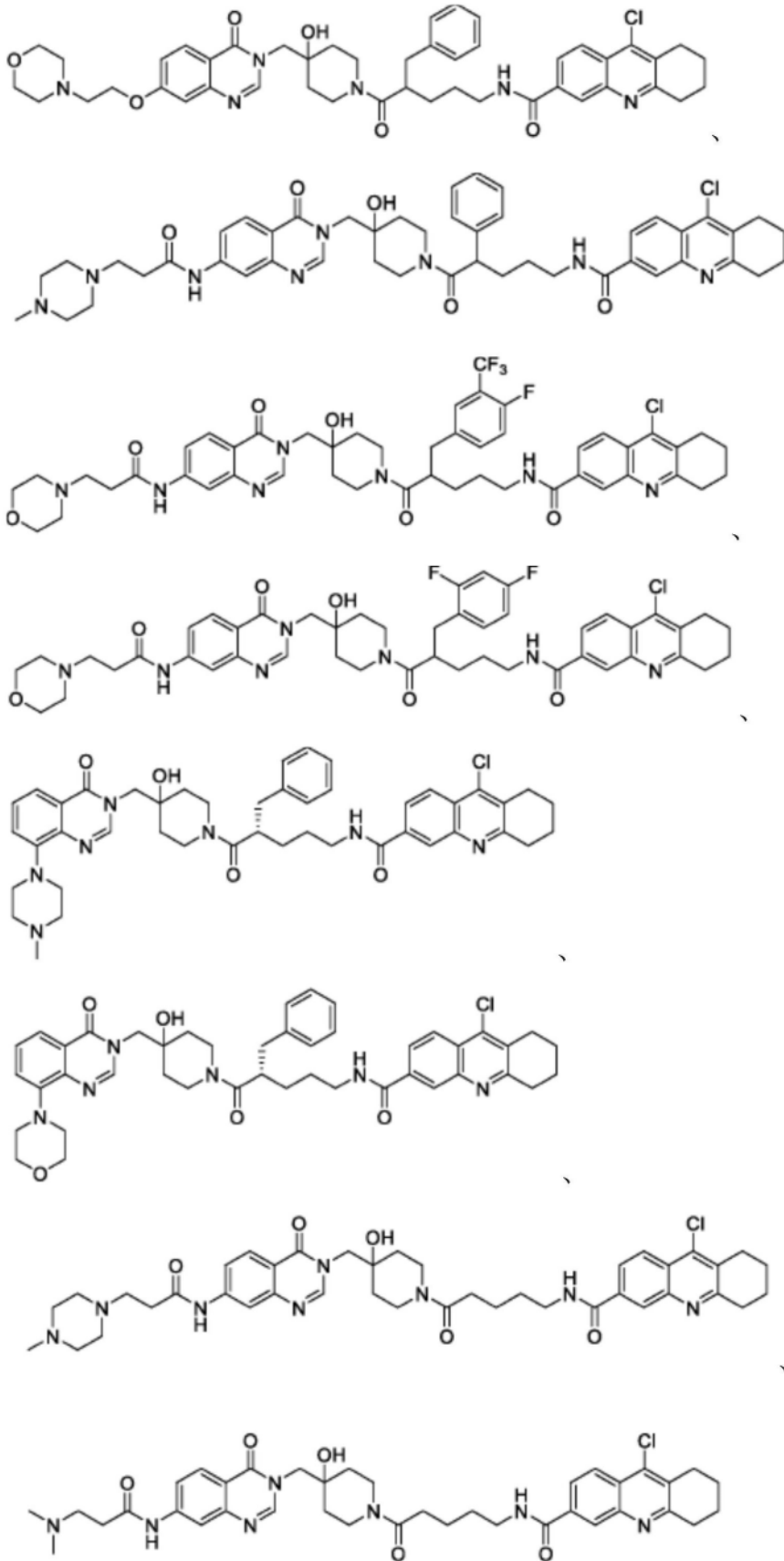


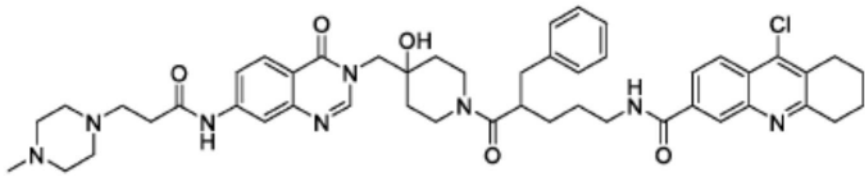
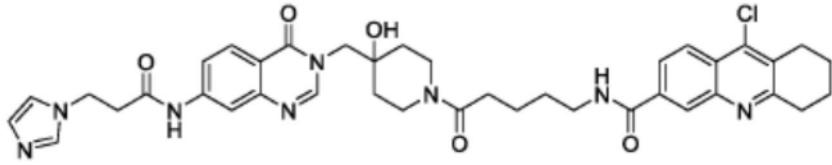
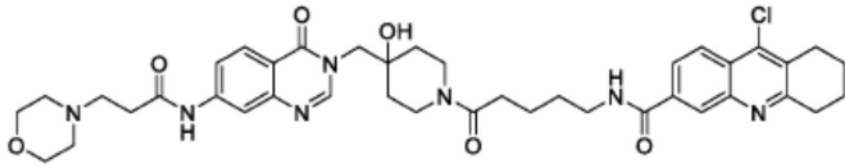
[0047]



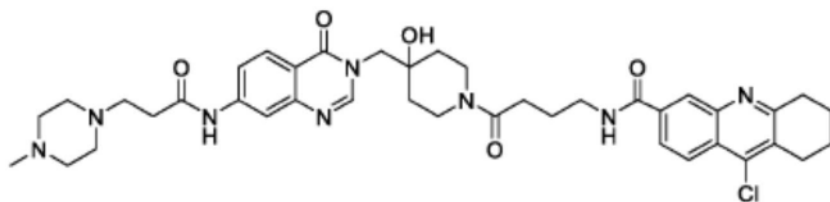
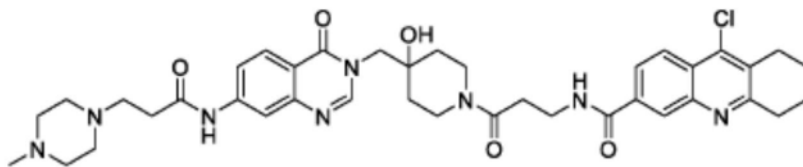
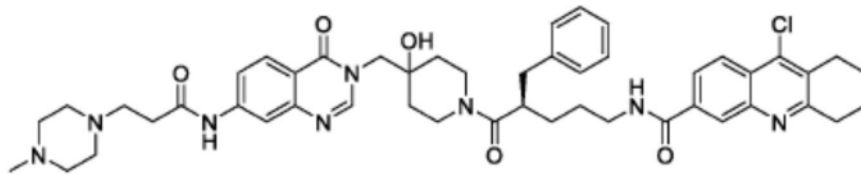
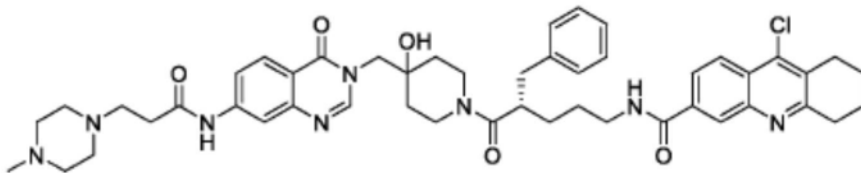
[0048]





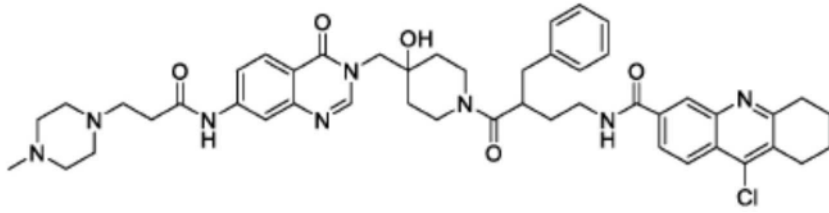


[0050]



或

[0051]



[0052] 在一些实施例中,本公开涉及一种药物组合物,其包含式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物)和药学上可接受的载剂。

[0053] 在一些实施例中,本公开涉及一种治疗由USP7调节的疾病或病症的方法,其包含向有此需要的受试者施用式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物),或包含式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物)的药物组合物。

[0054] 在一些实施例中,本公开涉及一种抑制USP7的方法,其包含向有此需要的受试者施用式(I)的化合物或包含式(I)的化合物的药物组合物。

[0055] 在一些实施例中,本公开涉及一种治疗癌症的方法,其包含向有此需要的受试者施用式(I)的化合物或包含式(I)的化合物的药物组合物。

[0056] 在一些实施例中,本公开涉及一种抑制USP7的方法,其中式(I)的化合物与USP7形成共价键。在一些实施例中,共价键用USP7的半胱氨酸残基形成。

[0057] 在一些实施例中,本公开涉及式(I)的化合物在制备用于治疗由USP7调节的疾病的药物中的用途。

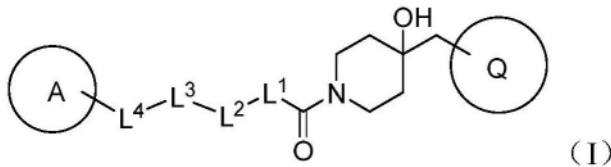
[0058] 在一些实施例中,本公开涉及用于治疗由USP7调节的疾病的式(I)的化合物。

具体实施方式

[0059] USP7(泛素特异性蛋白酶7)/HAUSP(疱疹相关泛素特异性蛋白酶)是USP家族的135kDa蛋白。USP7已经被证明与病毒蛋白相互作用,所述病毒蛋白如ICP0(Vmw110),一种刺激病毒裂解周期的启动的单纯疱疹病毒立即早期基因,以及EBNA1(爱泼斯坦-巴尔核抗原-1)。DUB USP7已经被证明参与许多细胞过程的调节,包括表观遗传学、细胞周期、DNA修复、免疫、病毒感染和肿瘤发生。当USP7通过稳定p53的主要E3连接酶MDM2参与调节肿瘤抑制因子p53的降解时,人们对这种酶的兴趣增加了。与最近的报道一致,USP7沉默也显示通过促进Mdm2降解增加稳态p53水平。最近表明,USP7与p53的结合受TSPYL5的调节,TSPYL5是一种可能通过与p53竞争结合USP7的相同区域而参与乳腺癌发生的蛋白质。最近,USP7的上调和下调都显示出通过导致组成性高p53水平而抑制体外结肠癌细胞增殖和体内肿瘤生长。

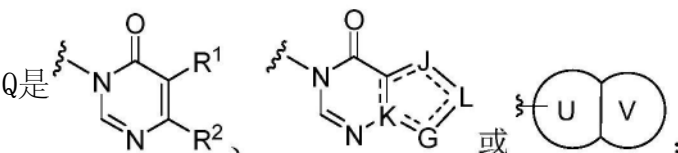
[0060] 在一些实施例中,本公开涉及式(I)的化合物,

[0061]



[0062] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0063]



[0064] G是CR¹⁰、NR¹⁰或N;

[0065] J是CR¹⁰、NR¹⁰、N或S;

[0066] L是NR¹⁰、CR¹⁰、CR¹¹或N;

[0067] K是C或N;

[0068] 当化合价允许时, \parallel 是单键或双键, 条件是含有J、L和G的环是芳族的;

[0069] U是任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、-OH、氧代或C₁₋₃烷基取代的5至6元杂环基;

[0070] V是5至6元杂芳基或C₃₋₆环烷基, 其中所述5至6元杂芳基或C₅₋₆环烷基任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、-OH、氧代或C₁₋₃烷基取代;

[0071] R¹是H;

[0072] R²是-NHC₁₋₃亚烷基 (C₅₋₇杂环基),

[0073] 或者R¹和R²与它们所连接的碳原子结合在一起形成C₆₋₁₀芳基或5至6元杂芳基, 其中所述C₆₋₁₀芳基或5至6元杂芳基任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代: Ha1、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基、C₆₋₁₀芳基、5至6元杂芳基、4至7元杂环基、-NHC(=O)C₁₋₃亚烷基 (NR³R⁴)、-C(=O)NHC₁₋₃亚烷基 (NR³R⁴)、-NHC₁₋₃亚烷基 (4至7元杂环基)、-OC₁₋₃亚烷基 (4至7元杂环基)、-OC₁₋₃亚烷基-O-(NR³R⁴) 或-OC₁₋₃亚烷基 (NR³R⁴), 并且其中所述C₁₋₃烷基、C₆₋₁₀芳基、5至6元杂芳基或4至7元杂环基任选地独立地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、C₁₋₃烷基或-C₀₋₂烷基 (5至6元杂环基) 取代;

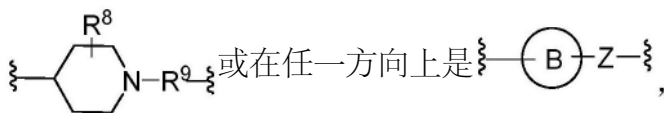
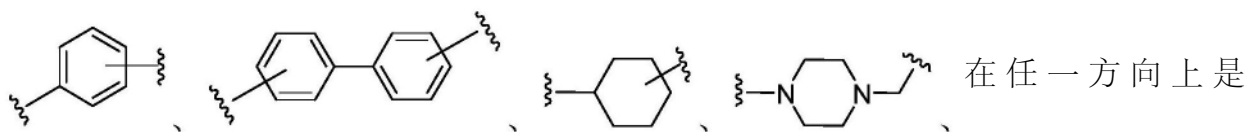
[0074] R³是C₁₋₃烷基;

[0075] R⁴是C₁₋₃烷基,

[0076] 或者R³和R⁴与它们所连接的氮原子结合在一起形成5至7元杂环基或5至7元杂芳基, 其中所述5至7元杂环基任选地被一个或多个C₁₋₃烷基取代;

[0077] L¹是C₂₋₄亚烷基, 其被一个或多个-C₀₋₂烷基 (C₆芳基)、-NHC₀₋₂烷基 (C₆芳基) 或-C₀₋₂烷基 (5至6元杂芳基) 取代,

[0078] 在任一方向上是

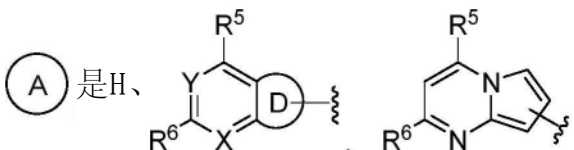


[0079] 其中所述-C₀₋₂烷基 (C₆芳基) 或所述-C₀₋₂烷基 (5至6元杂芳基) 任选地独立地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃或C₁₋₃烷基取代; Z是C₁₋₄亚烷基, 并且 B 是C₆₋₁₀亚芳基、5至7元亚杂环基或5至7元亚杂芳基, 并且其中所述C₁₋₄亚烷基、所述5至7元亚杂环基和所述5至7元亚杂芳基各自任选地独立地被C₀₋₂烷基 (C₆芳基) 或C₃₋₆环烷基取代;

[0080] L²是-NH-、键或 C , 其中 C 是5元亚杂芳基;

[0081] L³是-C(=O)-、-S(=O)₂-、C₆₋₁₀亚芳基或键;

[0082] L^4 是 C_{1-3} 亚烷基、 C_{2-4} 亚烯基或键；

[0083]  C_{6-10} 芳基或5至7元杂芳基，其中所述

C_{6-10} 芳基或所述5至7元杂芳基任选地被一个或多个Ha1、-CN、 C_{1-3} 卤代烷基、-NHC(=O) C_{1-3} 烯基取代；

[0084] X是N或CH；


[0085] Y是N或 CR^7 ；

[0086] R^5 是Ha1、-NH₂、-NH₂(C_{1-3} 烷基)、-OH、 C_{1-3} 烷氧基或 C_{1-3} 烷基；

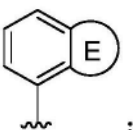
[0087] R^6 是H、Ha1、-NH₂、-OH、-C(O)NH₂、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{6-10} 芳基、5至6元杂芳基或 C_{3-5} 环烷基，其中-NH₂、-OH、所述 C_{1-3} 烷基、所述 C_{6-10} 芳基、所述5至6元杂芳基或所述 C_{3-5} 环烷基任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基(NH₂)或 C_{1-3} 烷基(CF₃)取代；


[0088] R^7 是H、Ha1、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 卤代烷基或-C(=O)NHC C_{1-3} 烷基，

[0089] 或者 R^7 和 R^6 与它们所连接的碳原子结合在一起形成 C_5 环烷基、 C_{6-8} 桥连的双环环烷基或5至6元杂环基，其中所述 C_5 环烷基或5至6元杂环基任选地被一个或多个 C_{1-3} 烷基、氧代或-C(=O) C_{1-3} 烷基取代；

[0090]  是 C_{6-10} 芳基、5至6元杂环基或5至6元杂芳基；

[0091] R^8 是 C_{6-10} 芳基，其任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基(NH₂)或 C_{1-3} 烷基(CF₃)取代；

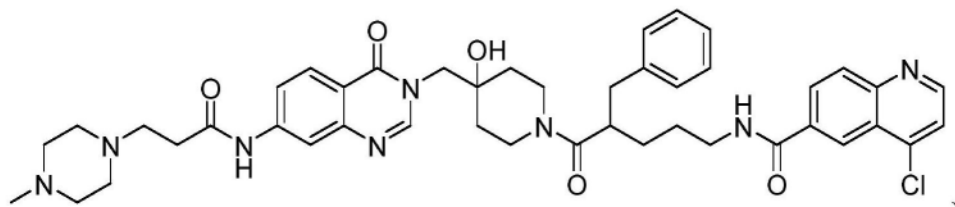
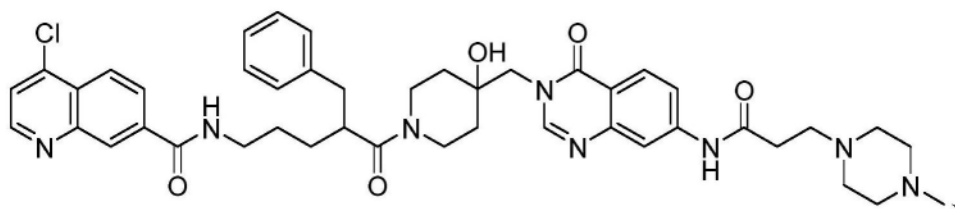
[0092] R^9 是键、 C_{2-4} 亚烷基、 C_{6-10} 亚芳基或  ；

[0093]  是5至6元杂环基，其任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基(NH₂)或 C_{1-3} 烷基(CF₃)取代；

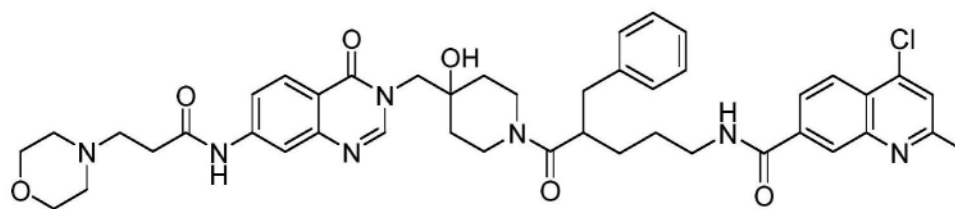
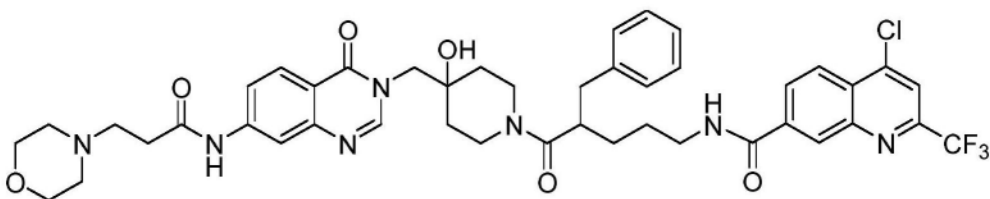
[0094] R^{10} 是H、 C_{1-3} 亚烷基(C_{5-7} 杂环基)或 C_{6-10} 芳基，其中 C_{1-3} 亚烷基(C_{5-7} 杂环基)或 C_{6-10} 芳基任选地被一个或多个Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基(NH₂)、 C_{1-3} 烷基(CF₃)或 C_{1-3} 烷基(NH₂)(CF₃)取代；并且

[0095] R^{11} 是Ha1、-NH₂、-CN、-CF₃或 C_{1-3} 烷基，

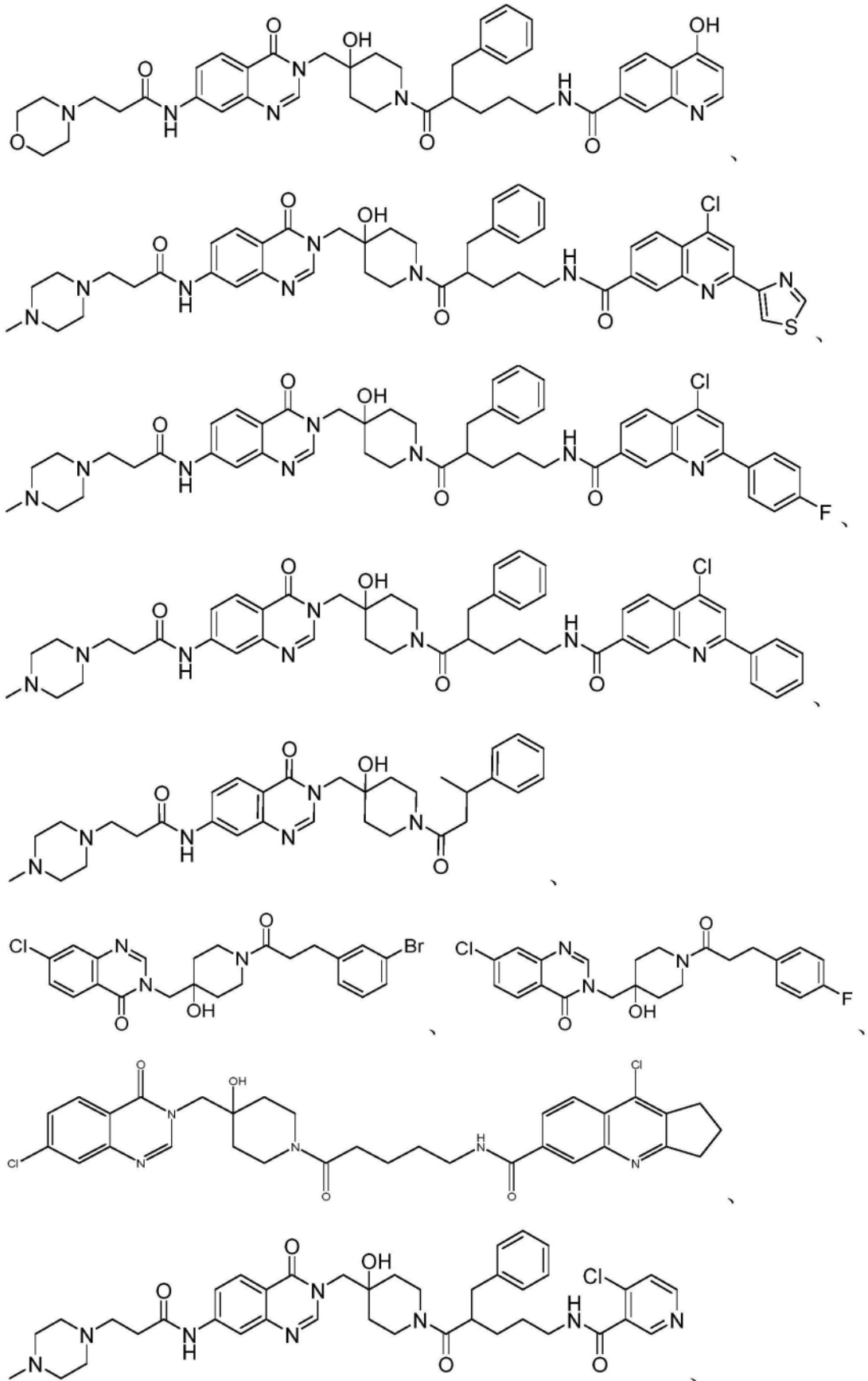
[0096] 条件是所述化合物不是

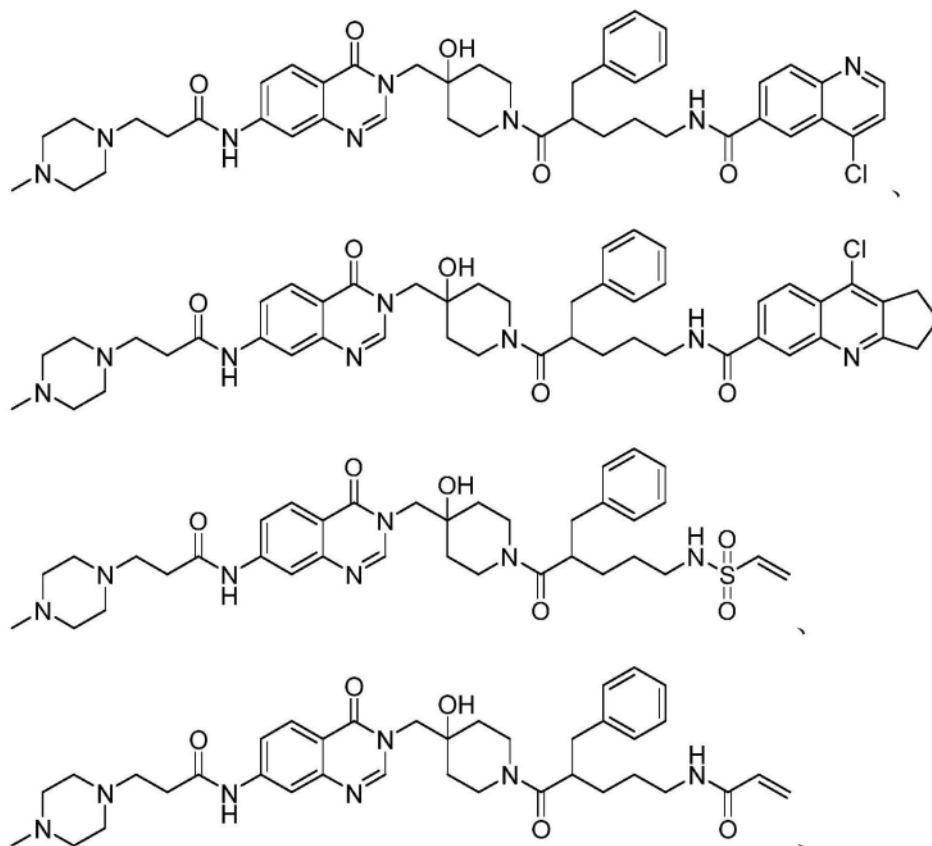


[0097]

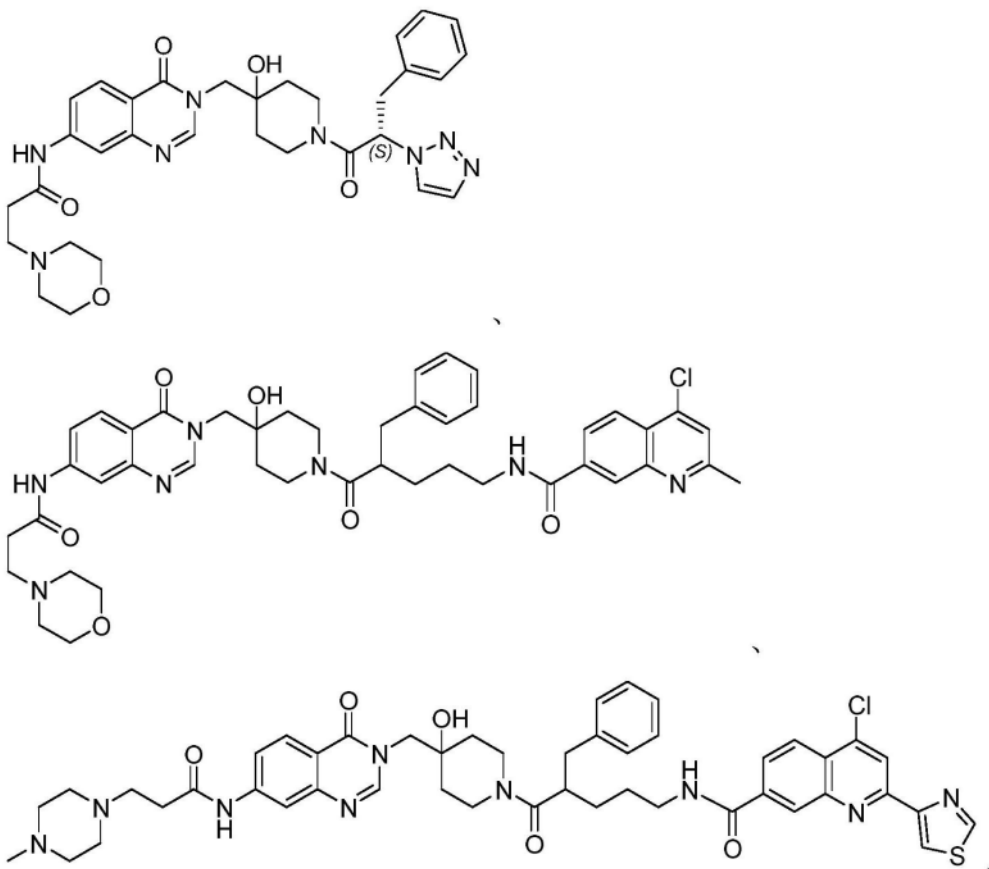


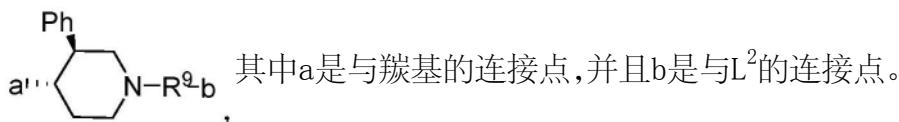
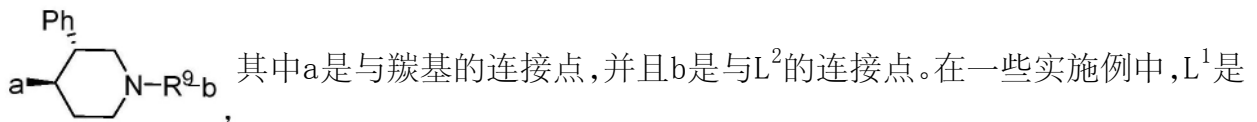
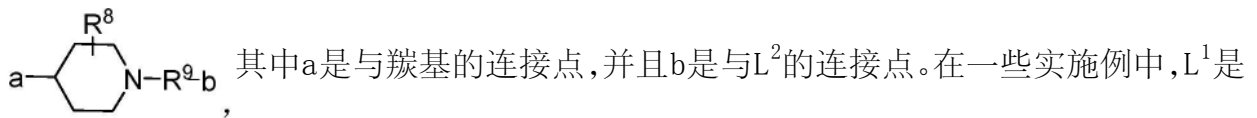
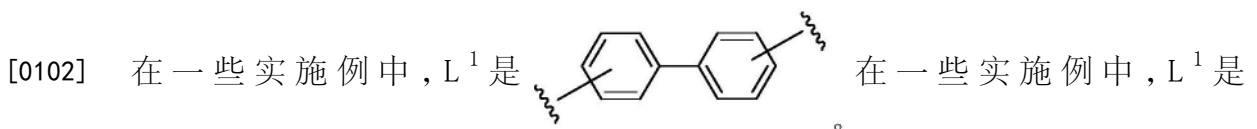
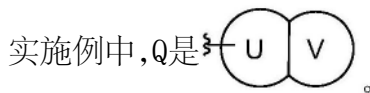
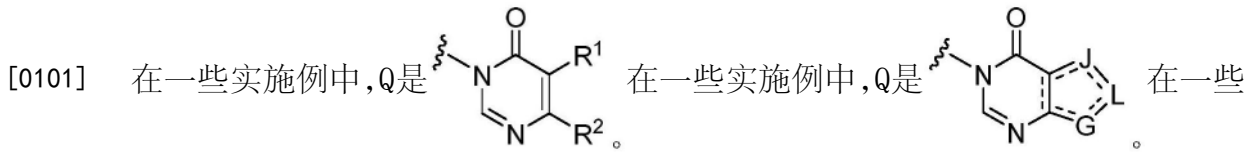
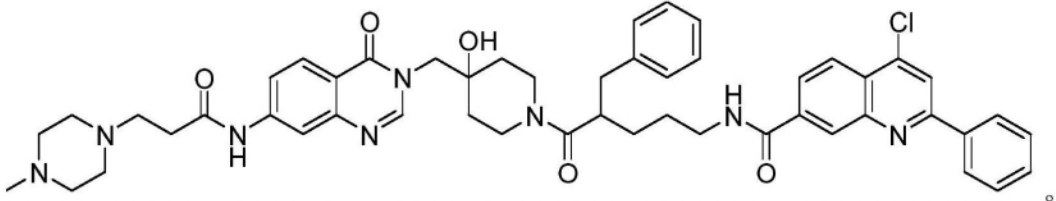
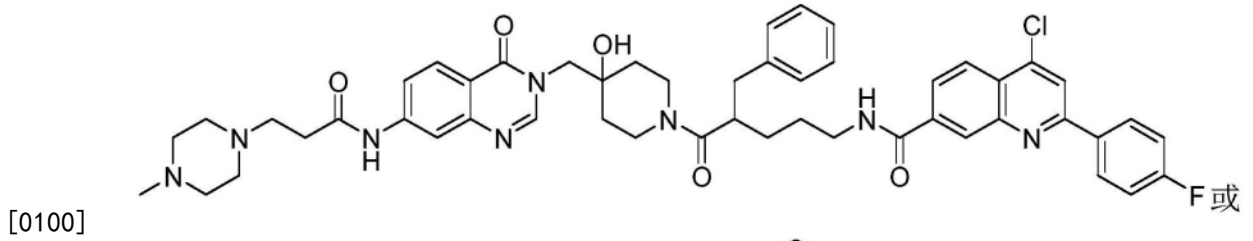
[0098]





[0099]



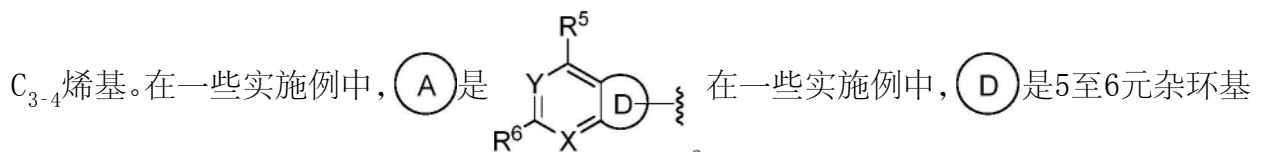



[0103] 在一些实施例中, R⁹ 是 C₂₋₄ 亚烷基。在一些实施例中, R⁹ 是 C₆₋₁₀ 亚芳基。

[0104] 在一些实施例中, L² 是 -NH-。

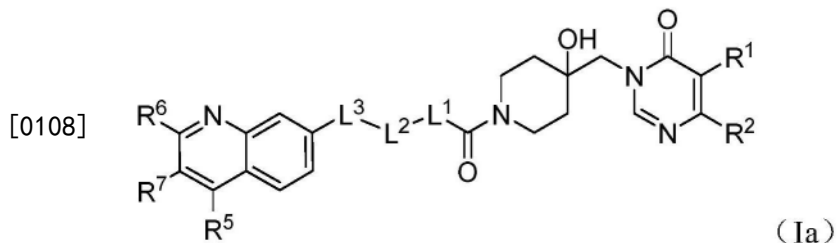
[0105] 在一些实施例中, L³ 是 -S(=O)₂-。在一些实施例中, L³ 是 -C(=O)-。

[0106] 在一些实施例中, (A) 是 H, 并且 L⁴ 是 C₁₋₃ 烷基或 C₃₋₄ 烯基。在一些实施例中, L⁴ 是

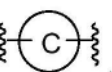


或5至6元杂芳基。在一些实施例中, (A) 是 

[0107] 在一些实施例中, 式 (I) 的化合物是式 (Ia) 的化合物:

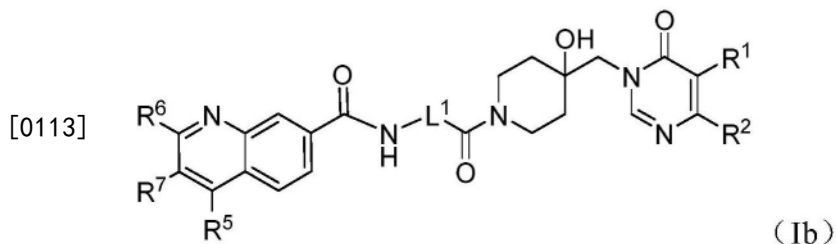


[0109] 或其药学上可接受的盐。

[0110] 在一些实施例中, L^2 是 $-NH-$ 。在一些实施例中, L^2 是 。

[0111] 在一些实施例中, L^3 是 $-C(=O)-$ 。

[0112] 在一些实施例中, 式 (I) 的化合物是式 (Ib) 的化合物:



[0114] 或其药学上可接受的盐。

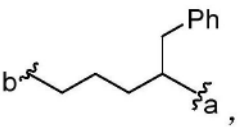
[0115] 在一些实施例中, R^5 是 $Ha1$, 如 R^5 是 Cl 。在一些实施例中, R^5 是 $-OH$ 。在一些实施例中, R^5 是 Me 。

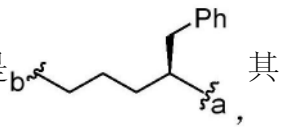
[0116] 在一些实施例中, R^7 是 H 。

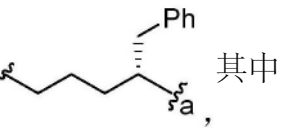
[0117] 在一些实施例中, R^6 是 H 。在一些实施例中, R^6 是 F 、 $-NH_2$ 或 $-OH$, 并且 $-NH_2$ 或 $-OH$ 任选地被 C_{1-3} 烷基取代。在一些实施例中, R^6 是 C_{1-3} 烷基, 并且 C_{1-3} 烷基任选地被一个或多个 $Ha1$ 或 $-NH_2$ 取代。在一些实施例中, R^6 是 C_{6-10} 芳基, 并且 C_{6-10} 芳基任选地被一个或多个 $Ha1$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷基 (NH_2) 或 C_{1-3} 烷基 (CF_3) 取代。在一些实施例中, R^6 是 5 至 6 元杂芳基。在一些实施例中, R^6 是 C_{3-5} 环烷基, 并且 C_{3-5} 环烷基任选地被一个或多个 $Ha1$ 取代。

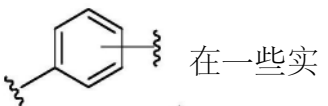
[0118] 在一些实施例中, R^7 和 R^6 与它们所连接的碳原子结合在一起形成 C_5 环烷基或 5 至 6 元杂环基, 并且 C_5 环烷基或 5 至 6 元杂环基任选地被一个或多个 C_{1-3} 烷基、氧代或 $-C(=O)C_{1-3}$ 烷基取代。在一些实施例中, R^7 和 R^6 与它们所连接的碳原子结合在一起形成 5 至 6 元杂环基, 并且 5 至 6 元杂环基任选地被一个或多个 C_{1-3} 烷基、氧代或 $-C(=O)C_{1-3}$ 烷基取代。在一些实施例中, R^7 和 R^6 与它们所连接的碳原子结合在一起形成 C_5 环烷基。

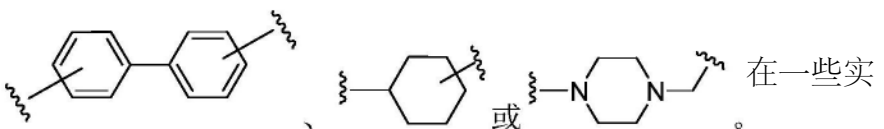
[0119] 在一些实施例中, L^1 是被一个或多个 $-C_{0-2}$ 烷基 (C_6 芳基) 取代的 C_{2-4} 亚烷基。在一些实施例中, 一个或多个 $-C_{0-2}$ 烷基 (C_6 芳基) 被一个或多个 $Ha1$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 或 C_{1-3} 烷基取代。

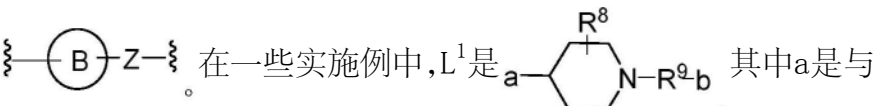
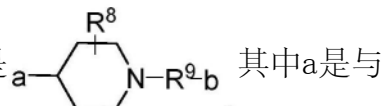
在一些实施例中, L^1 是被 $-CH_2Ph$ 取代的 C_{2-4} 亚烷基。在一些实施例中, L^1 是 

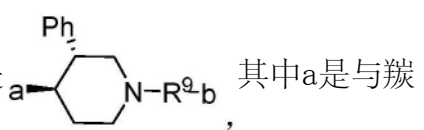
其中 a 是与羰基的连接点, 并且 b 是与 L^2 的连接点。在一些实施例中, L^1 是 

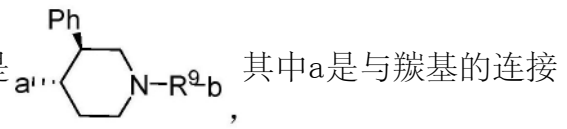
其中 a 是与羰基的连接点, 并且 b 是与 L^2 的连接点。在一些实施例中, L^1 是 

a 是与羰基的连接点, 并且 b 是与 L^2 的连接点。在一些实施例中, L^1 是 

在一些实施例中, L^1 在任一方向上是 

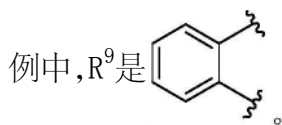
在一些实施例中, L^1 在任一方向上是  在一些实施例中, L^1 是 

其中 a 是与羰基的连接点, 并且 b 是与 L^2 的连接点。在一些实施例中, L^1 是 

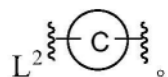
其中 a 是与羰基的连接点, 并且 b 是与 L^2 的连接点。在一些实施例中, L^1 是 

点, 并且 b 是与 L^2 的连接点。

[0120] 在一些实施例中, R^9 是 C_{2-4} 亚烷基。在一些实施例中, R^9 是 C_{6-10} 亚芳基。在一些实施例中,



[0121] 在一些实施例中, L^2 是键。在一些实施例中, L^2 是 $-NH-$ 。在一些实施例中,



[0122] 在一些实施例中, L^3 是 $-C(=O)-$ 。

[0123] 在一些实施例中, R^1 是 H。

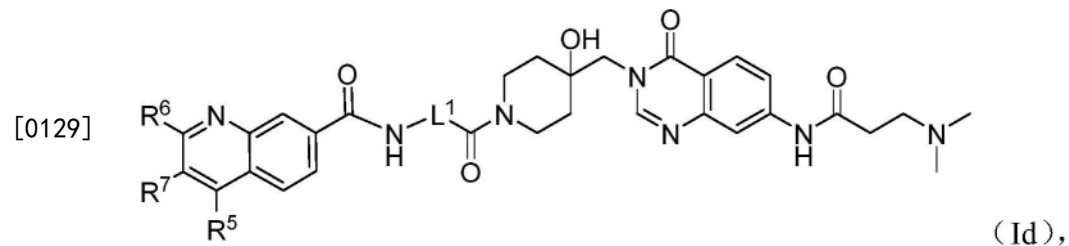
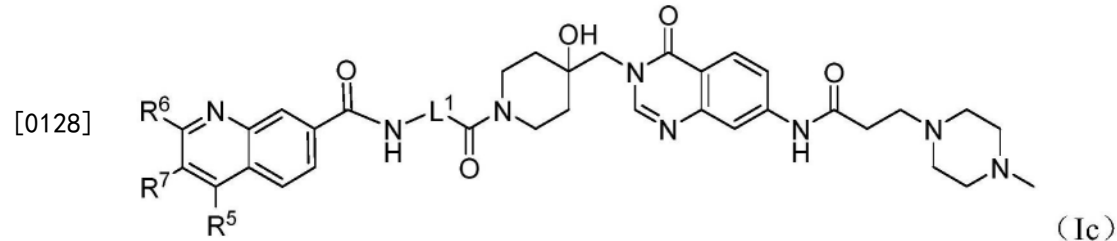
[0124] 在一些实施例中, R^2 是 $-NHC_{1-3}$ 亚烷基 (C_{5-7} 杂环基)。在一些实施例中, R^1 和 R^2 与它们所连接的碳原子结合在一起形成 C_{6-10} 芳基。在一些实施例中, C_{6-10} 芳基被一个或多个 $-NHC(=O)C_{1-3}$ 亚烷基 (NR^3R^4) 取代。在一些实施例中, C_{6-10} 芳基被一个或多个 $-NHC(=O)C_2$ 亚烷基 (NMe_2) 取代。在一些实施例中, C_{6-10} 芳基被一个或多个 $-OC_{1-3}$ 亚烷基 (NR^3R^4) 取代。

[0125] 在一些实施例中, R^3 和 R^4 各自独立地是 C_{1-3} 烷基。在一些实施例中, R^3 和 R^4 各自是

Me。在一些实施例中， R^3 和 R^4 与它们所连接的氮原子结合在一起形成5至7元杂环基。在一些实施例中，5至7元杂环基被一个或多个 C_{1-3} 烷基取代。在一些实施例中， R^3 和 R^4 与它们所连接的氮原子结合在一起形成5至7元杂芳基。

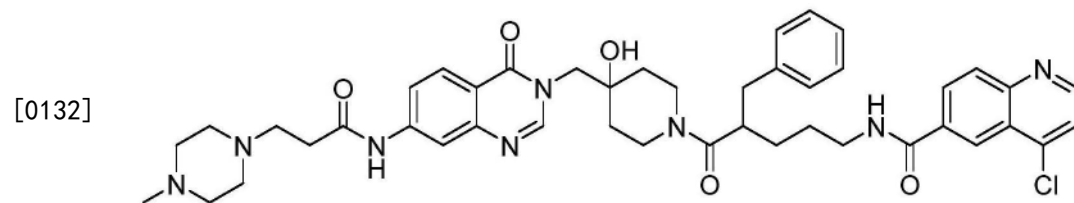
[0126] 在一些实施例中， R^1 和 R^2 与它们所连接的碳原子结合在一起形成5至6元杂芳基。在一些实施例中，5至6元杂芳基被一个或多个 C_{6-10} 芳基取代。在一些实施例中， C_{6-10} 芳基被一个或多个Ha1、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 或 C_{1-3} 烷基取代。

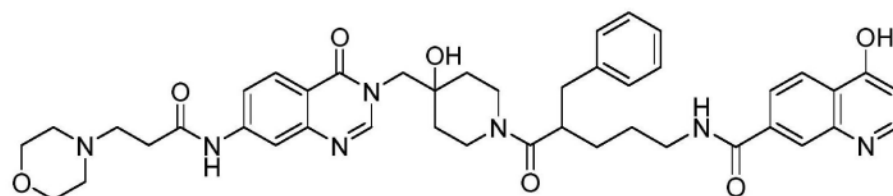
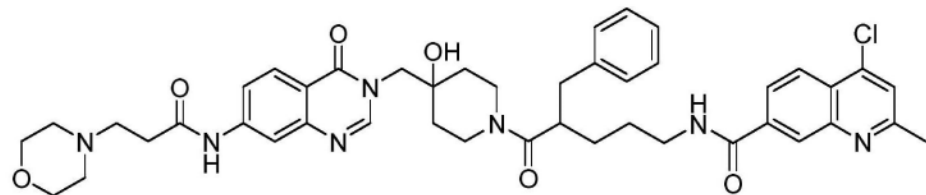
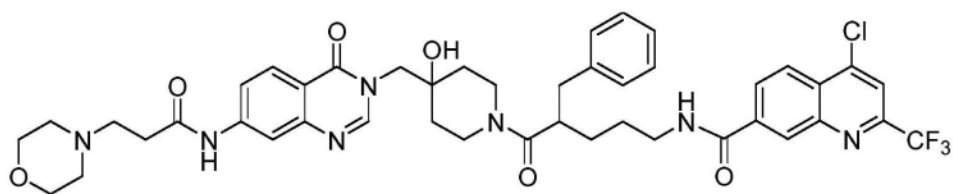
[0127] 在一些实施例中，式(I)的化合物是式(Ic)的化合物或式(Id)的化合物：



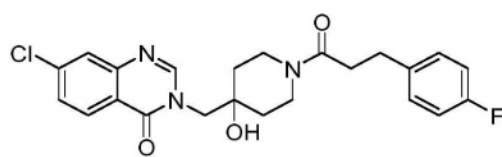
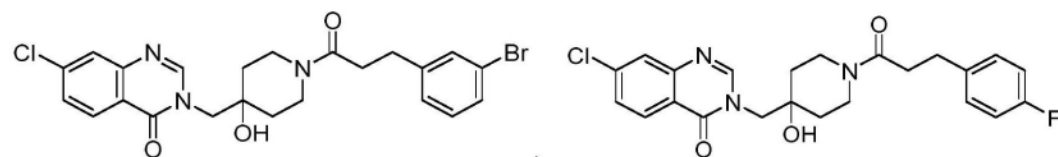
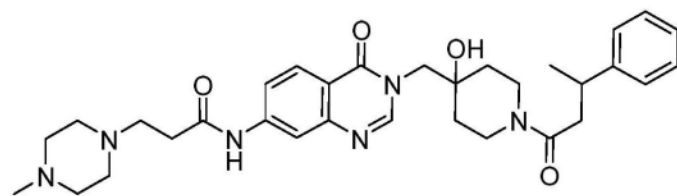
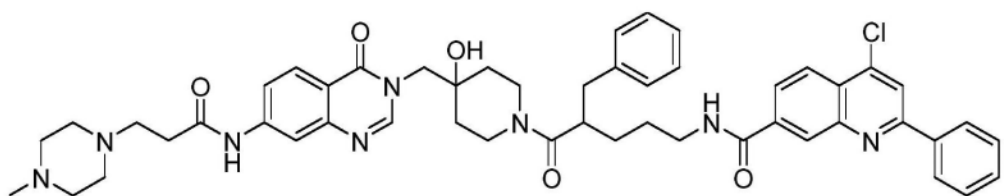
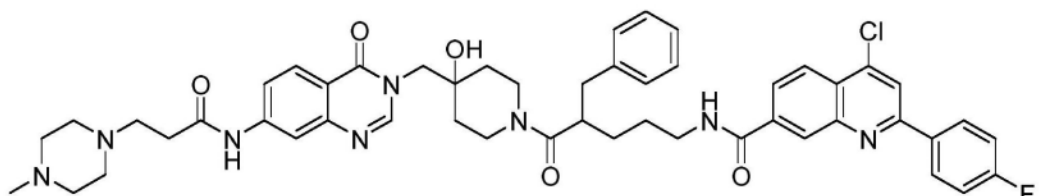
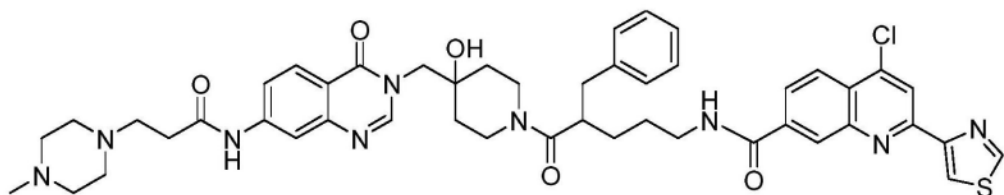
[0130] 或其药学上可接受的盐。

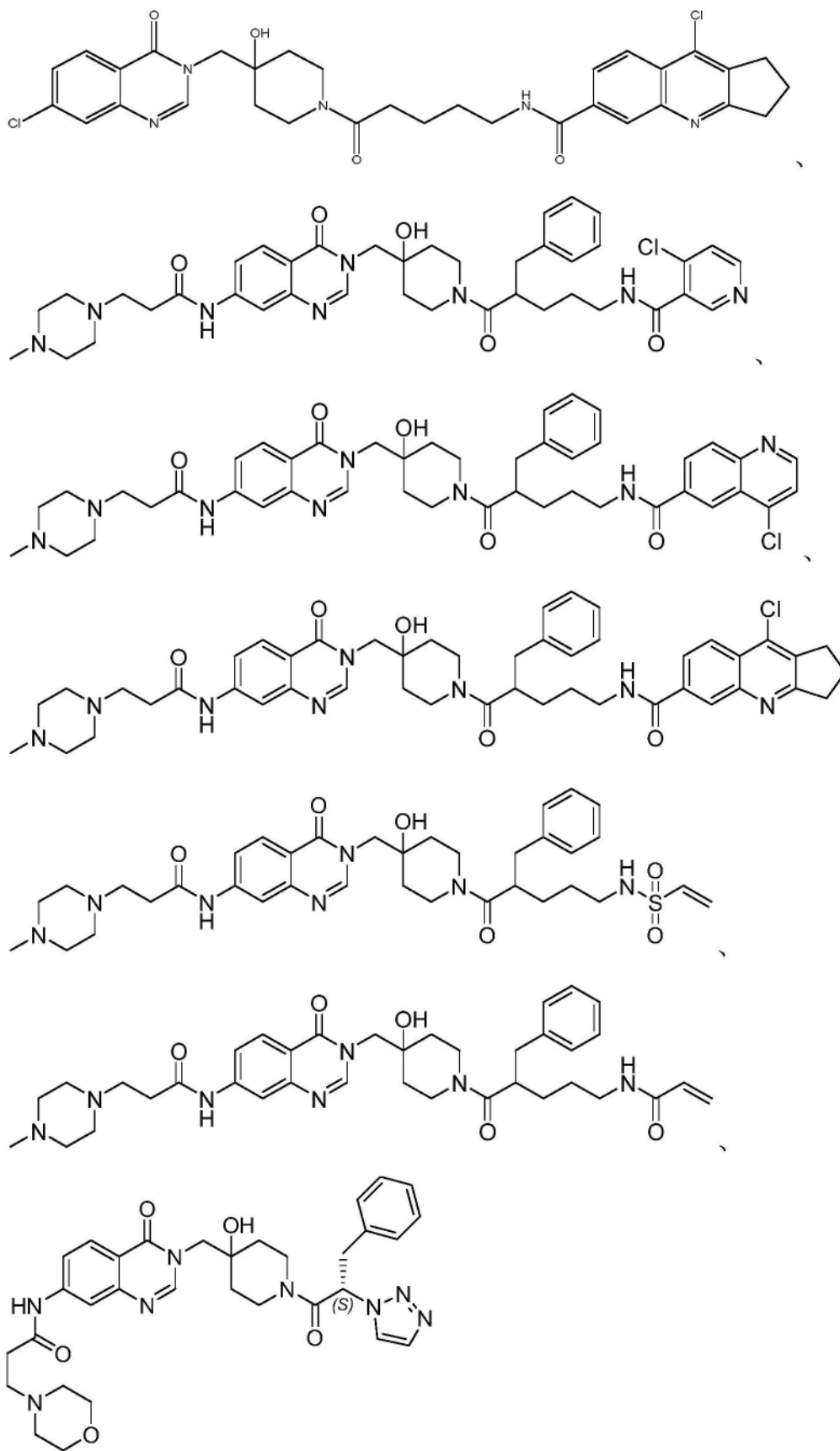
[0131] 在一些实施例中，式(I)的化合物不是

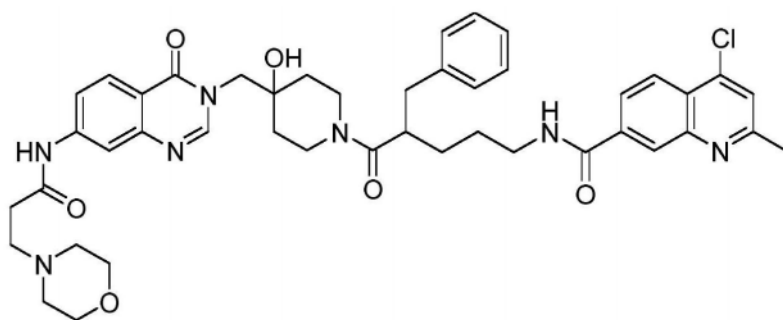




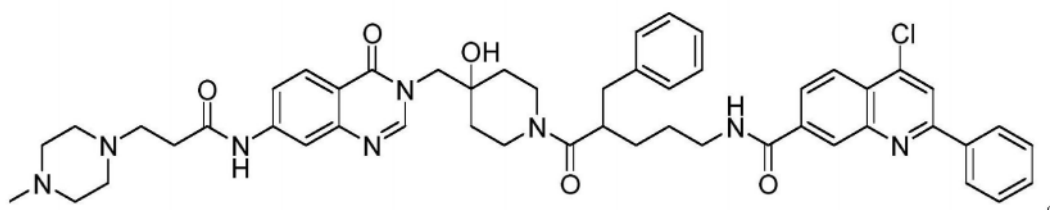
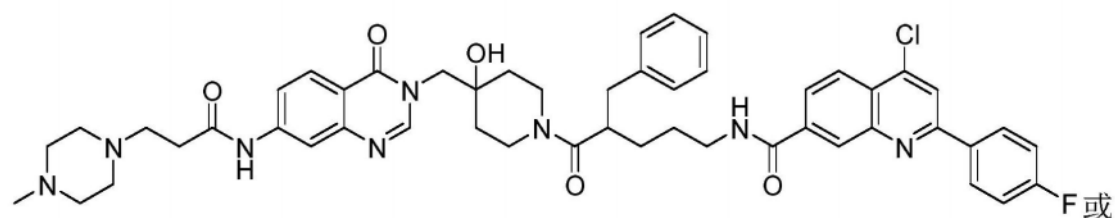
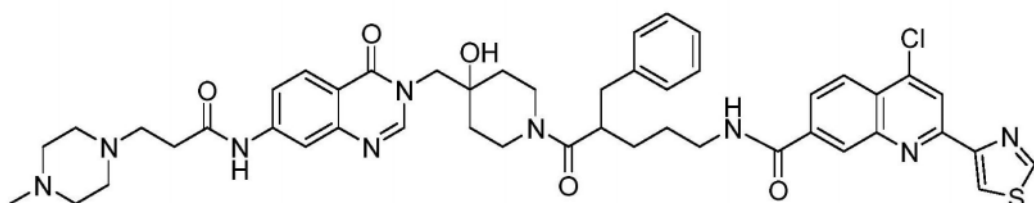
[0133]







[0135]

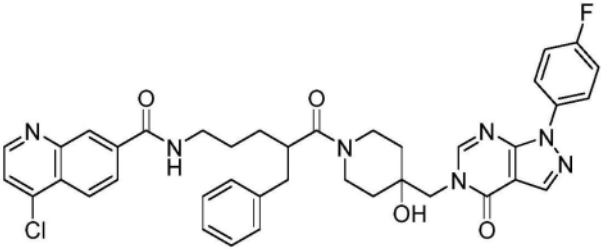
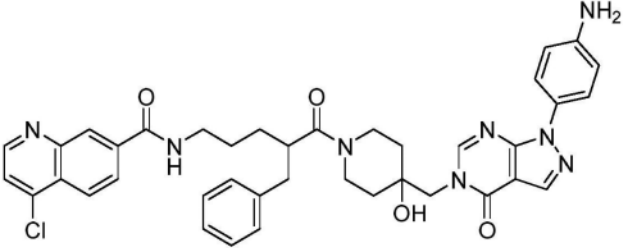
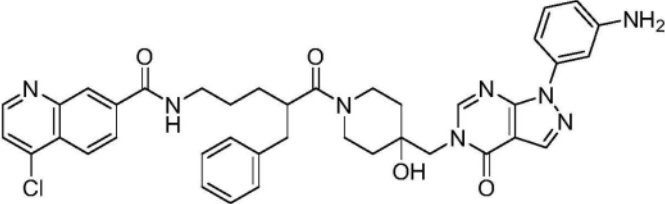
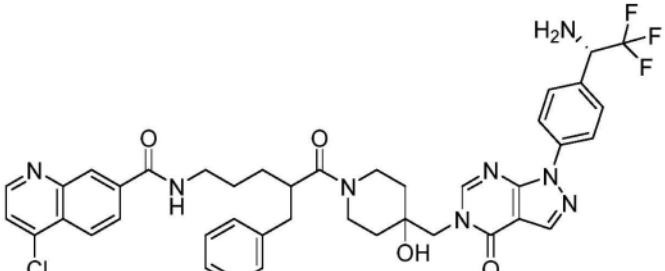
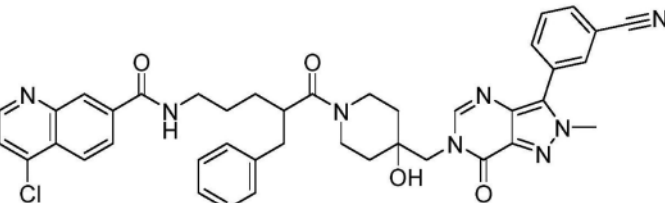
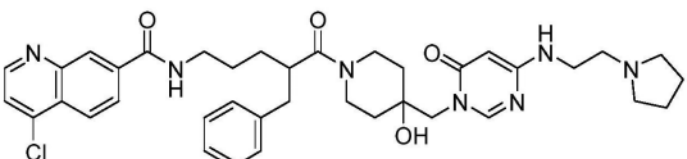


[0136] 在某些实施例中,式(I)的化合物选自由以下组成的群组:

[0137]

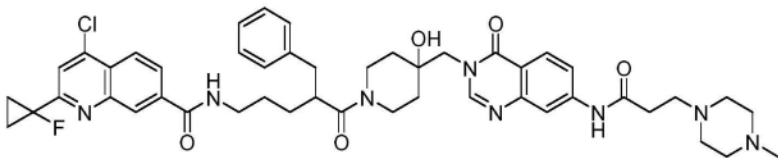
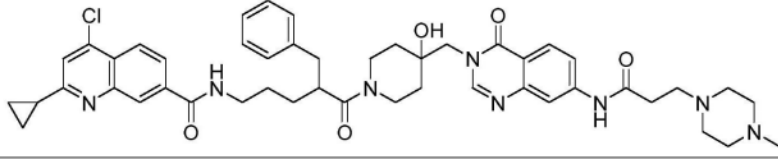
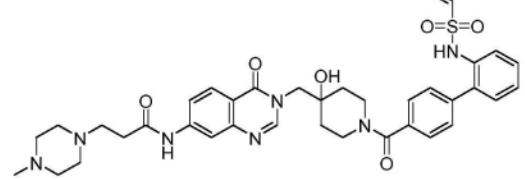
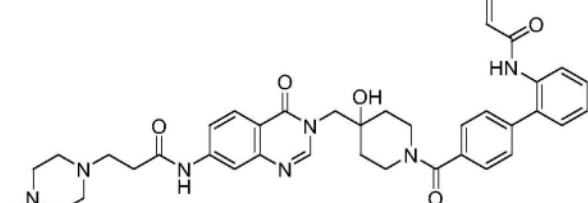
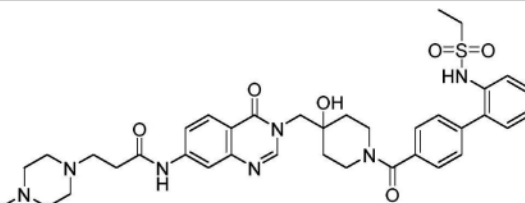
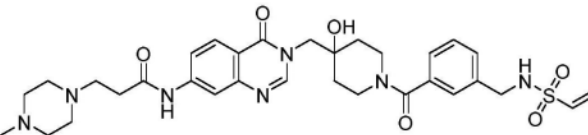
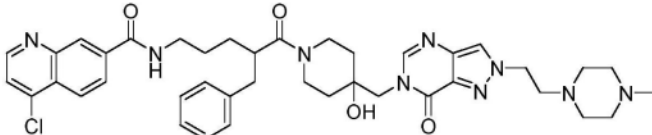
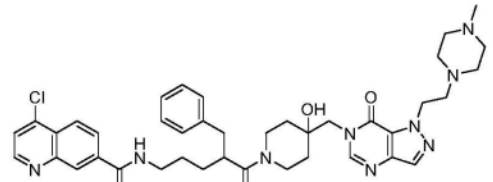
化合物编号	化合物结构
4	
5	

[0138]

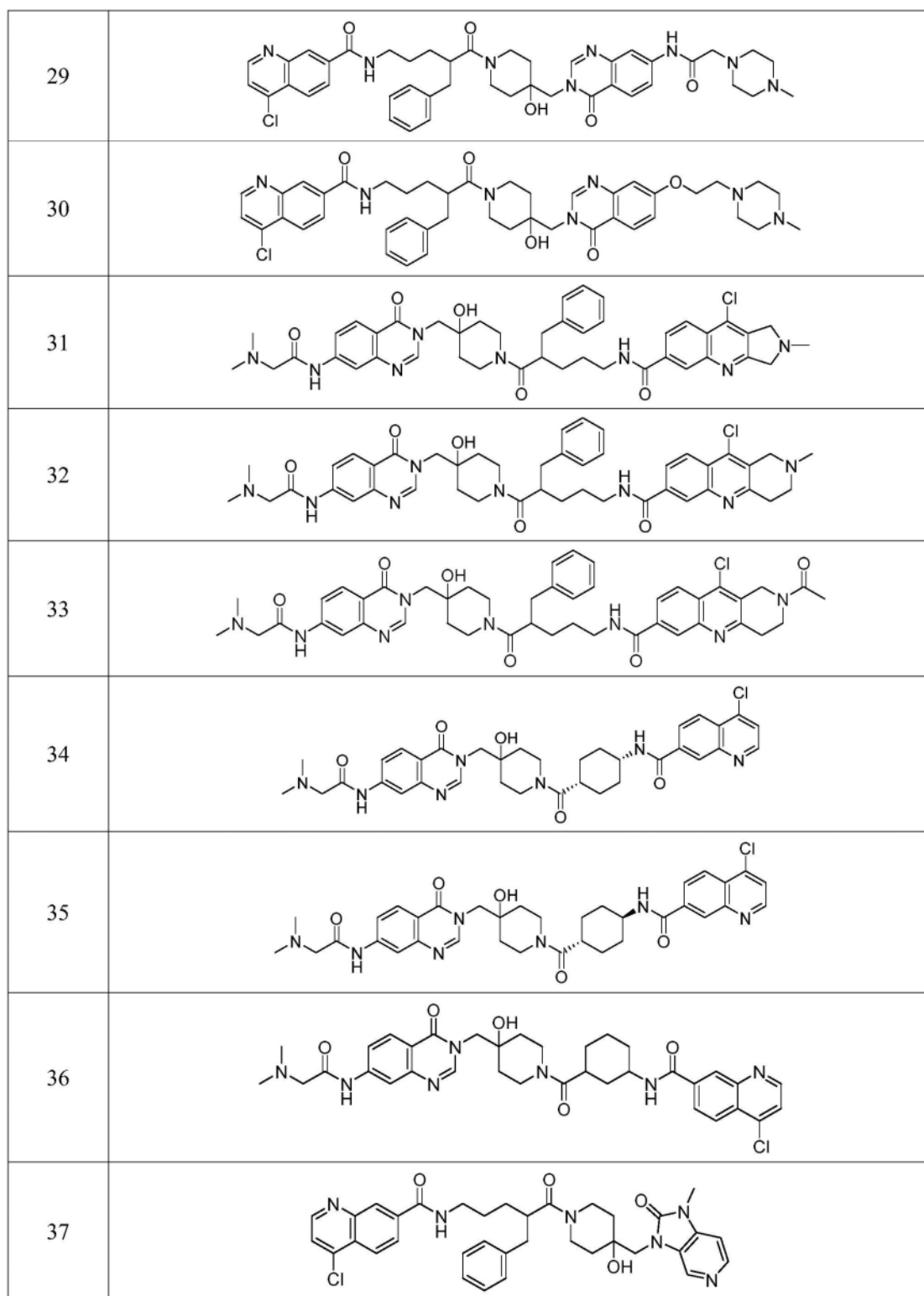
6	
7	
8	
9	 <p>(伯胺的绝对立体化学)</p>
10	
11	

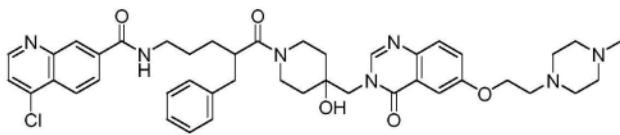
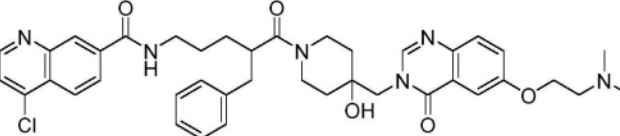
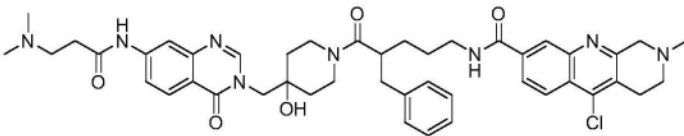
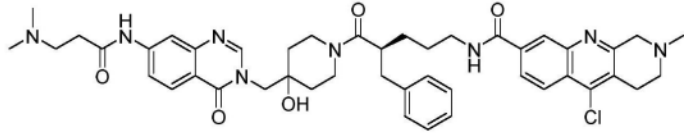
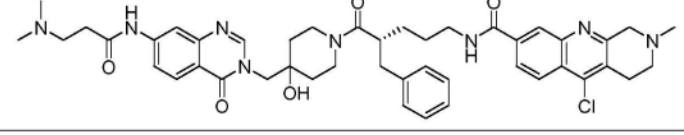
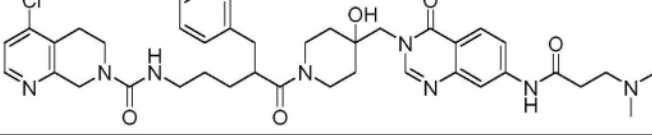
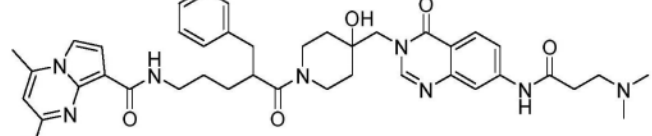
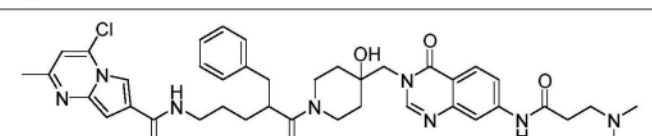
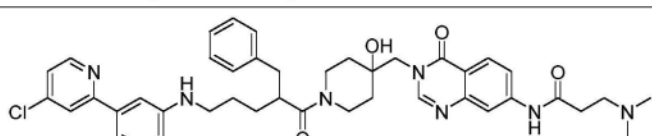
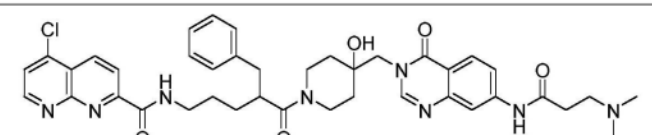
12	
13	
14	
15	
[0139] 16	
17	
18	
19	
20	

[0140]

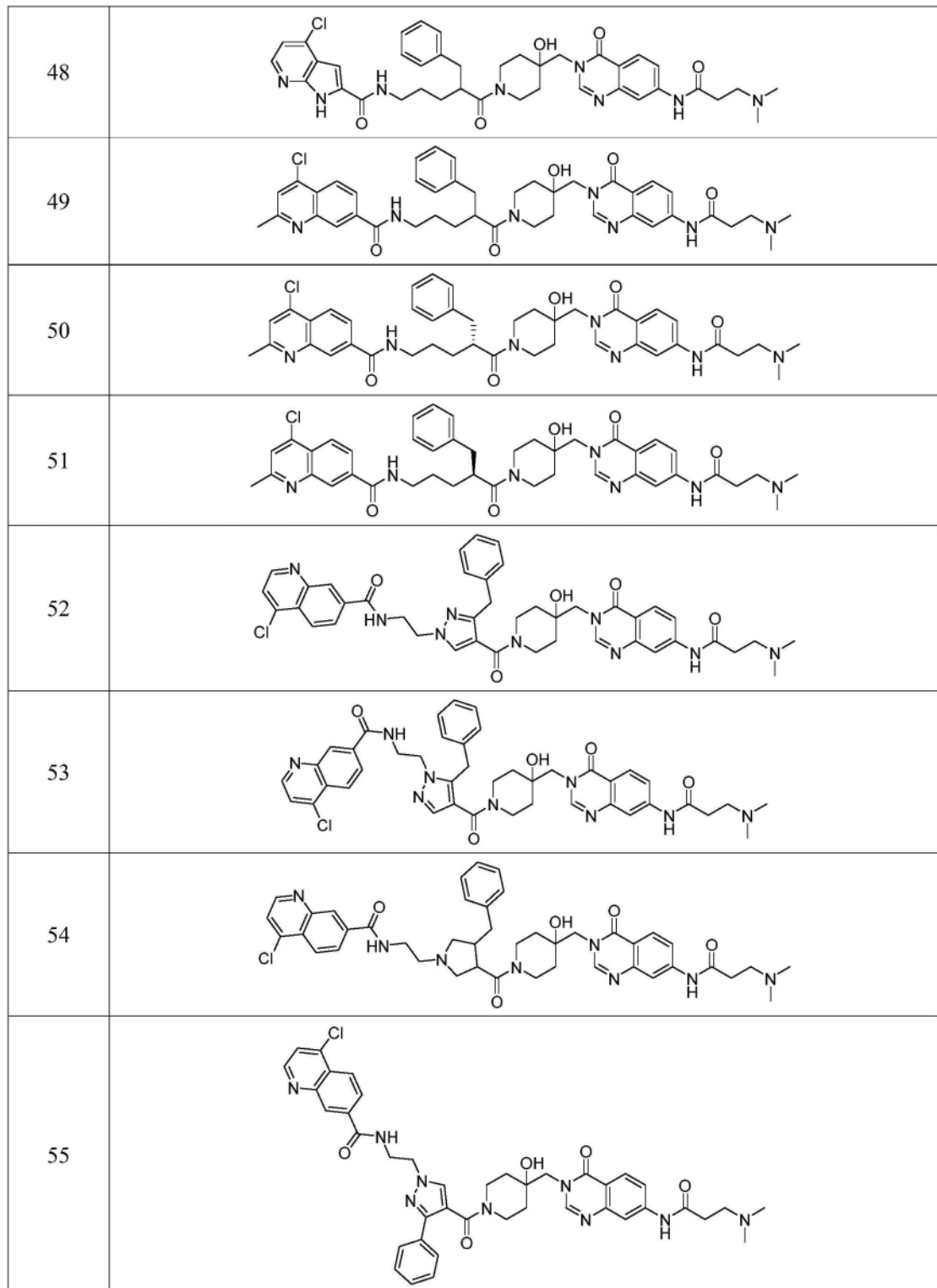
21	
22	
23	
24	
25	
26	
27	
28	

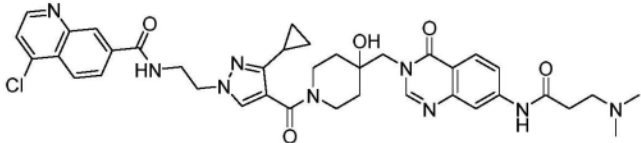
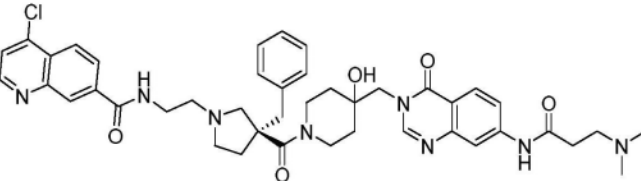
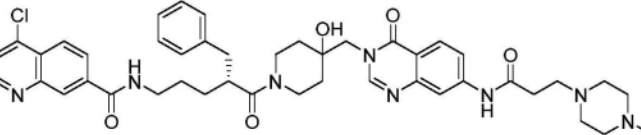
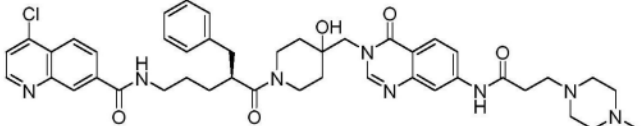
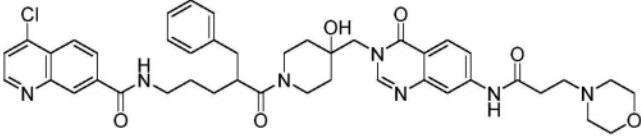
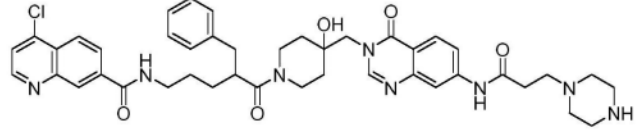
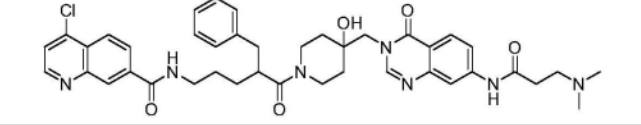
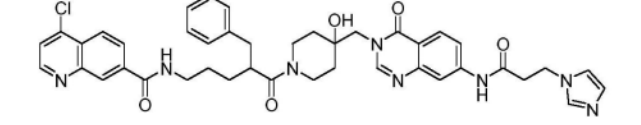
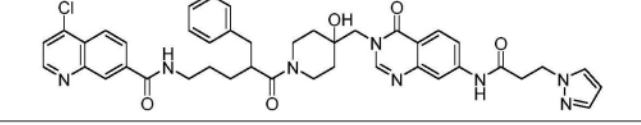
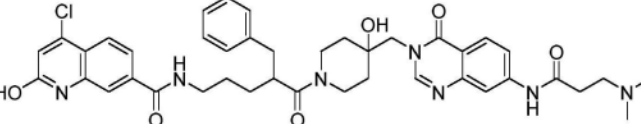
[0141]



38	
39	
40	
41	
42	
[0142]	
43	
44	
45	
46	
47	

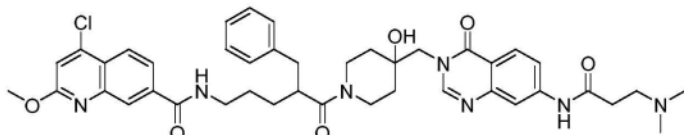
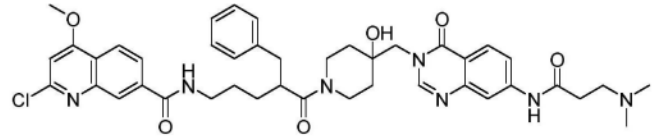
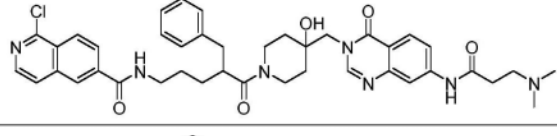
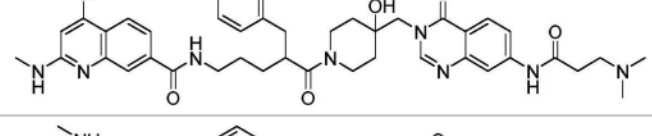
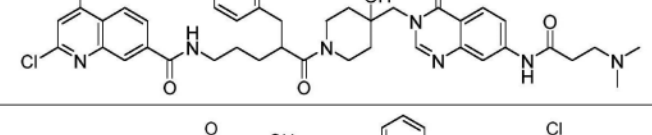
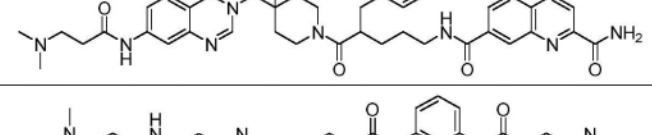
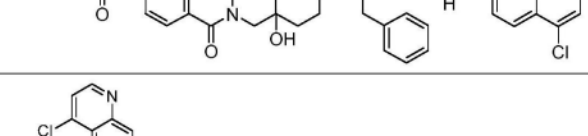
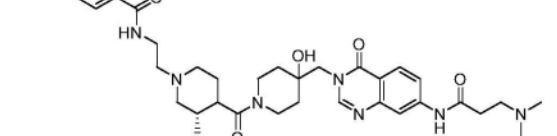

[0143]



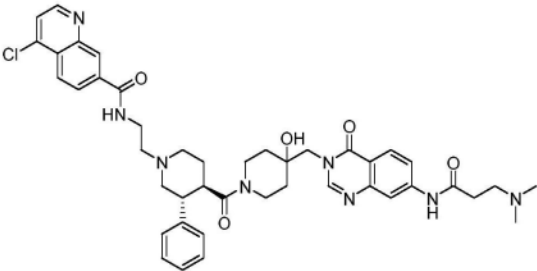
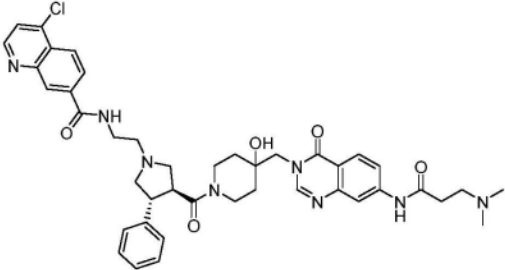
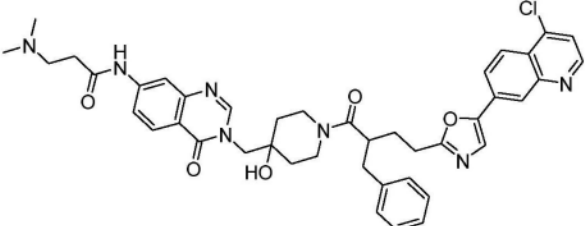
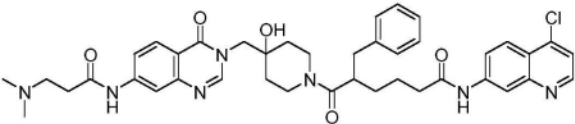
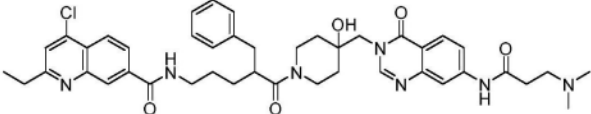
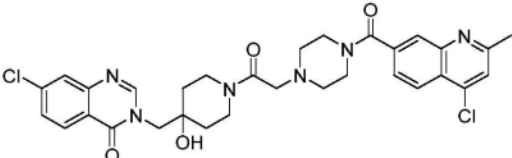
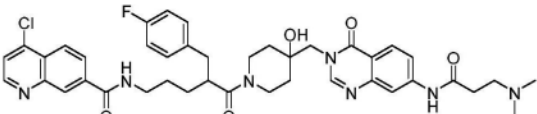
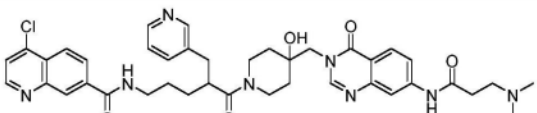
56	
57	
58	
59	
60	
61	
62	
63	
64	
65	

[0144]

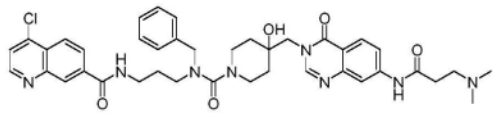
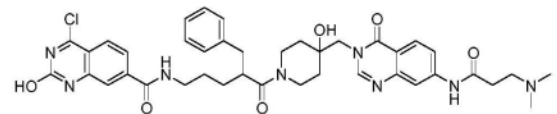
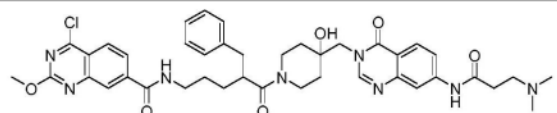
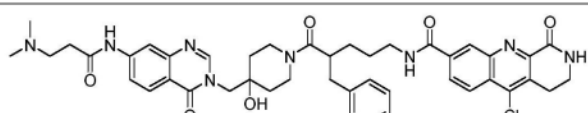
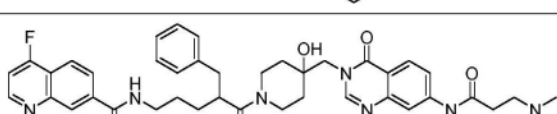
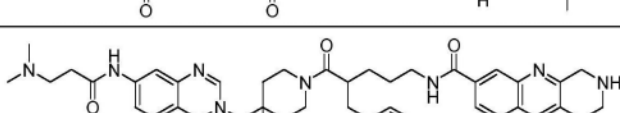
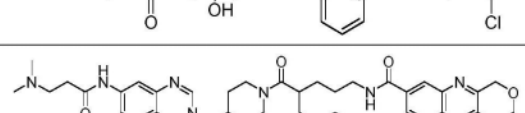
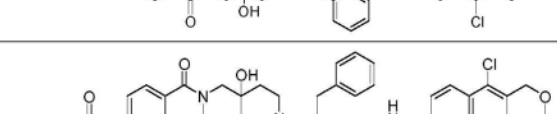
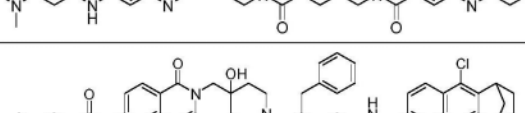
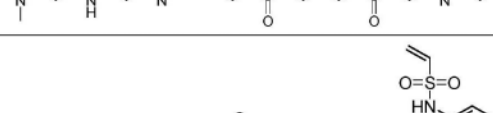
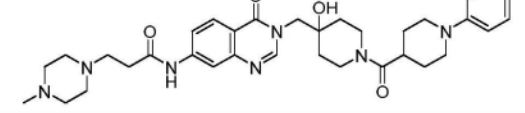
[0145]

66	
67	
68	
69	
70	
71	
72	
73	
74	

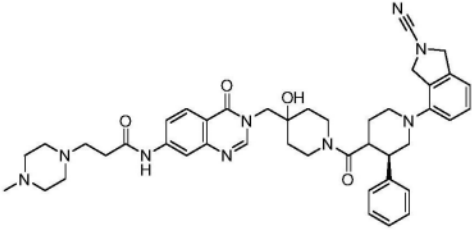
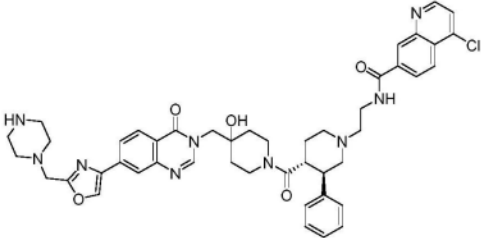
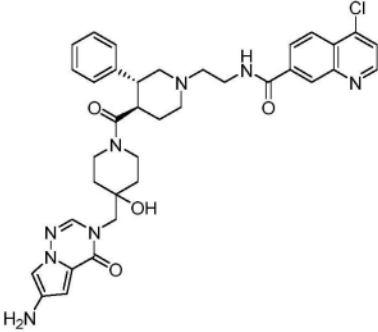
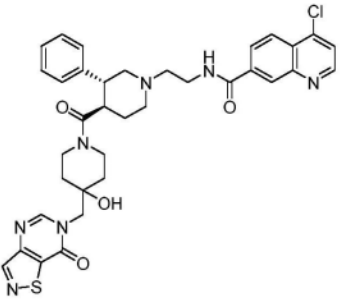
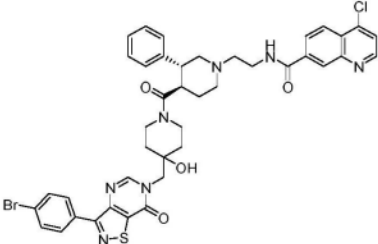
[0146]

75	
76	
77	
78	
79	
80	
81	
82	

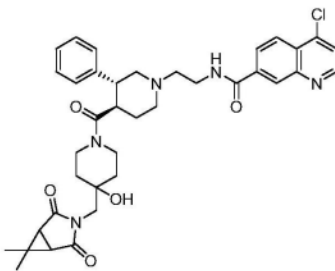
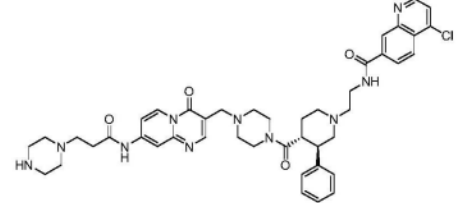
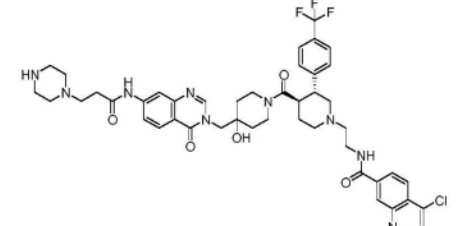
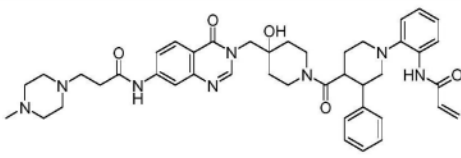
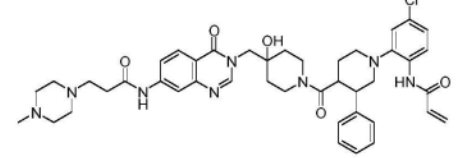
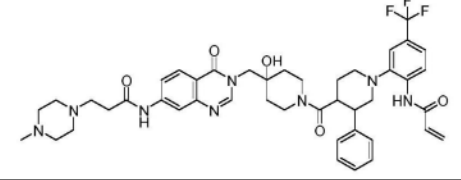
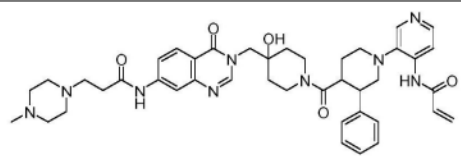
[0147]

83	
84	
85	
86	
87	
88	
89	
90	
91	
92	
93	

[0148]

94	
95	
96	
97	
98	

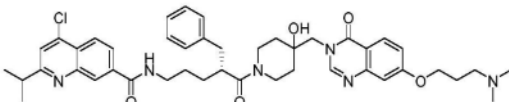
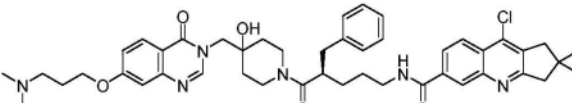
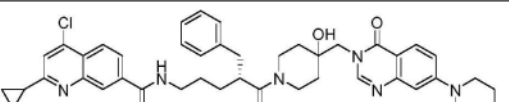
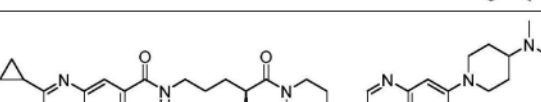
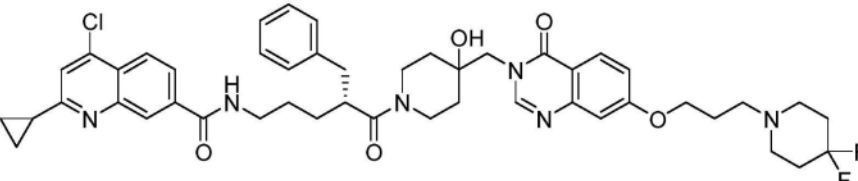
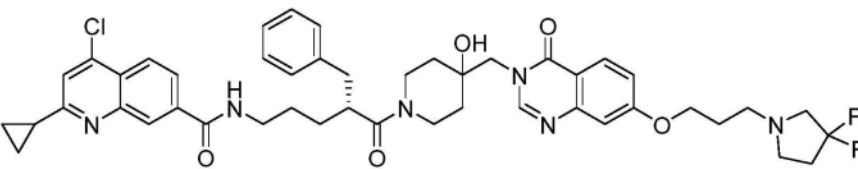
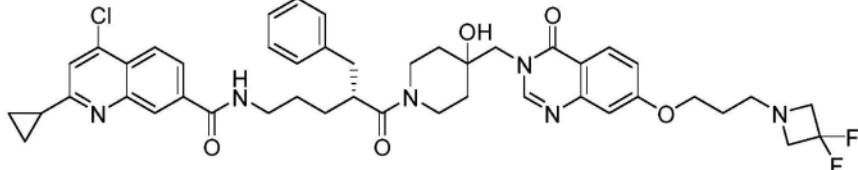
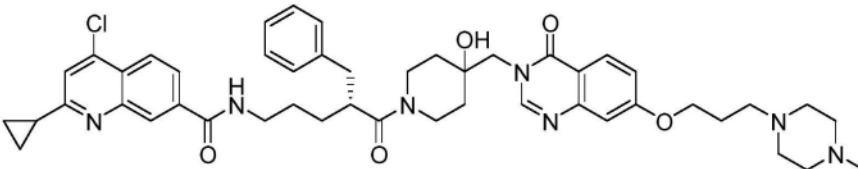
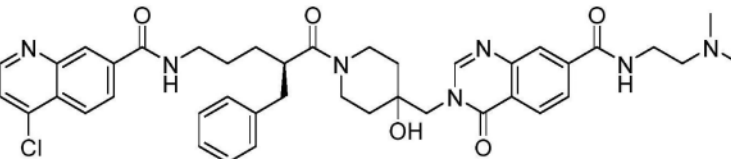
[0149]

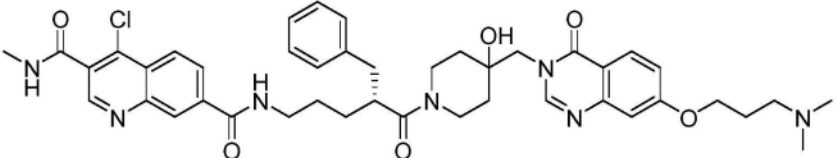
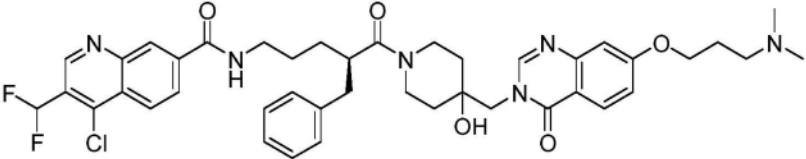
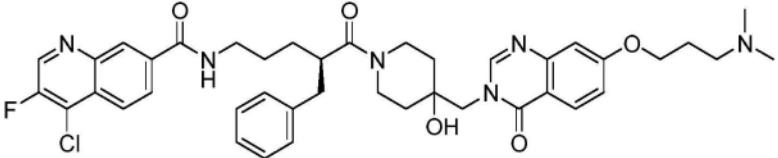
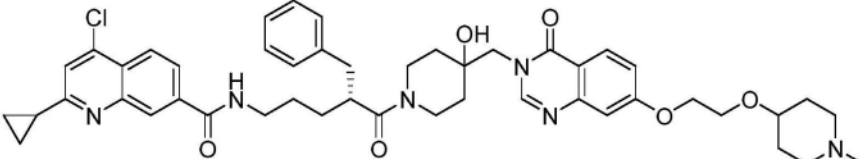
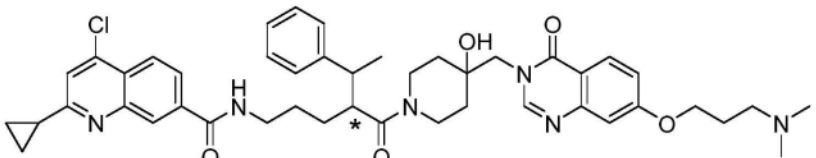
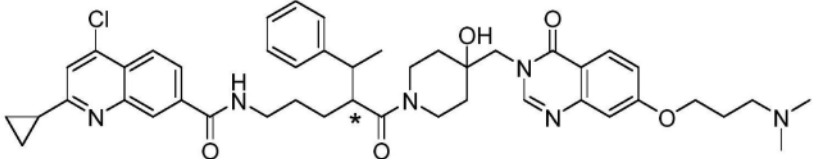
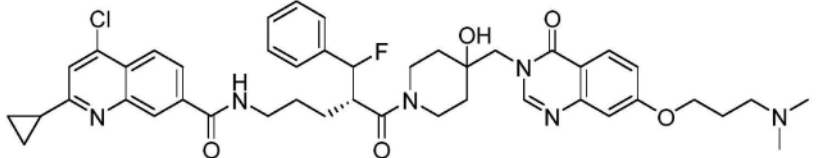
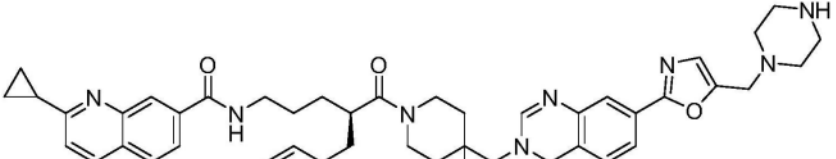
99	
100	
101	
102	
103	
104	
106	

[0151]

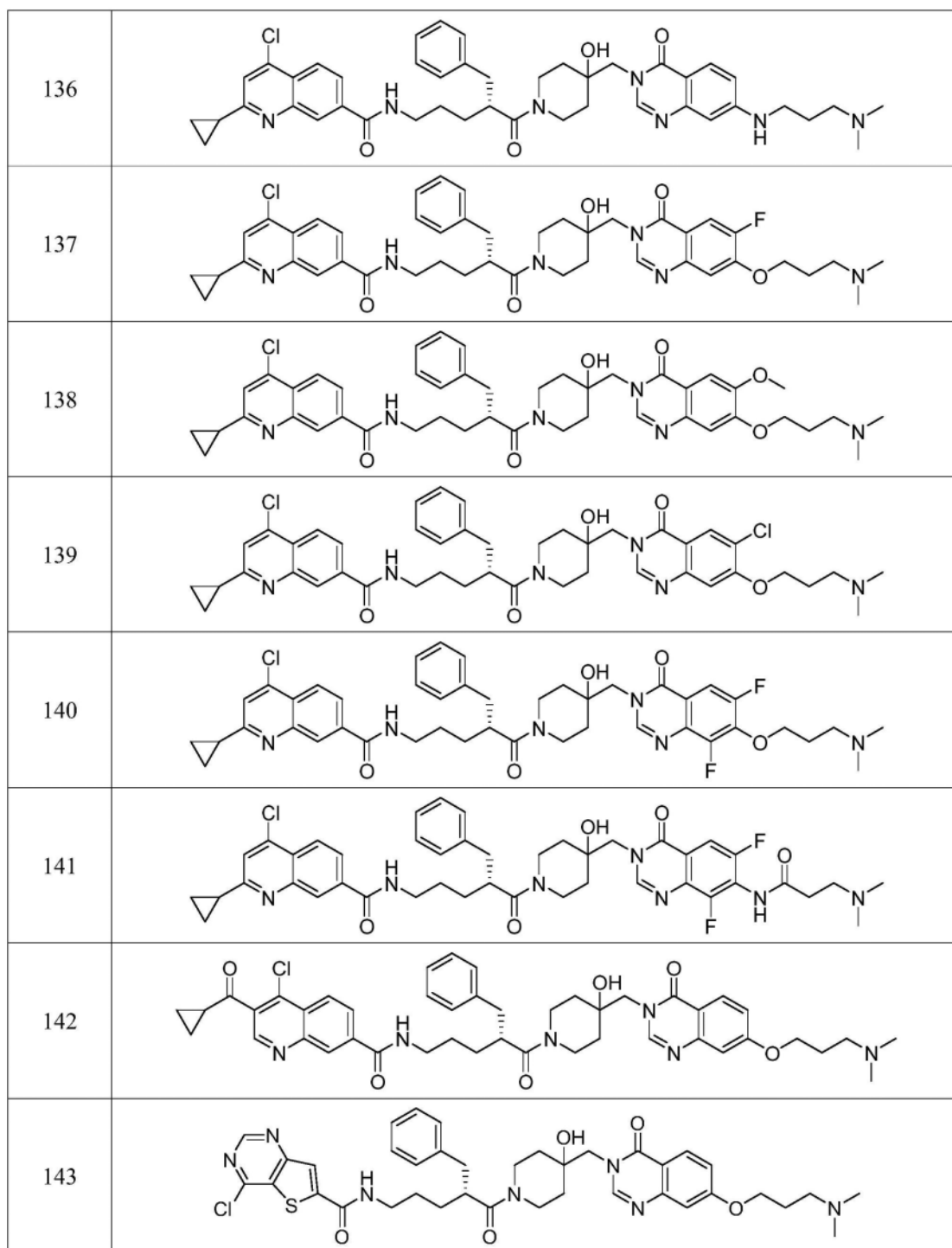
112	
113	
114	
115	
116	<p>(绝对立体化学未经验证; 在 C*处与下一个化合物相反的立体化学)</p>
	<p>(绝对立体化学未经验证; 在 C*处与 116 相反的立体化学)</p>
117	
118	
119	

[0152]

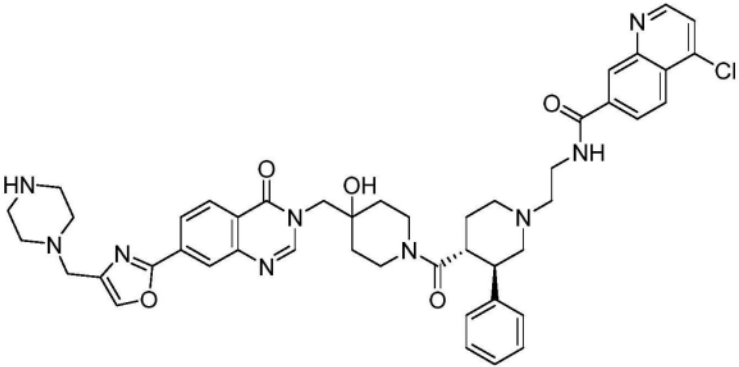
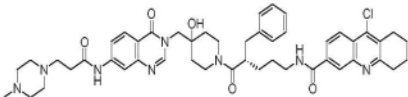
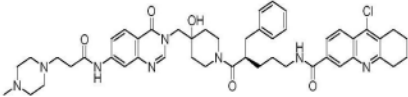
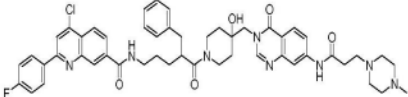
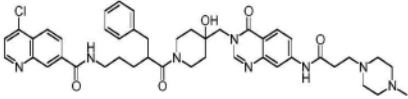
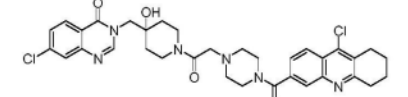
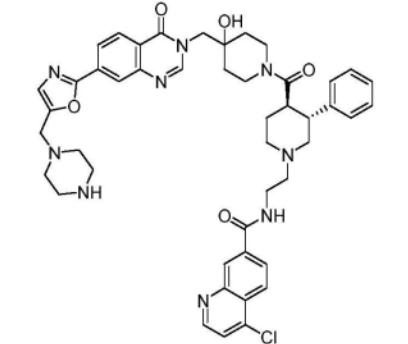
120	
121	
122	
123	
124	
125	
126	
127	
128	

129	
130	
131	
132	
[0153] 133	 <p>(绝对立体化学未经验证; 在 C*处与下一个化合物相反的立体化学)</p>
	 <p>(绝对立体化学未经验证; 在 C*处与 133 相反的立体化学)</p>
134	
135	

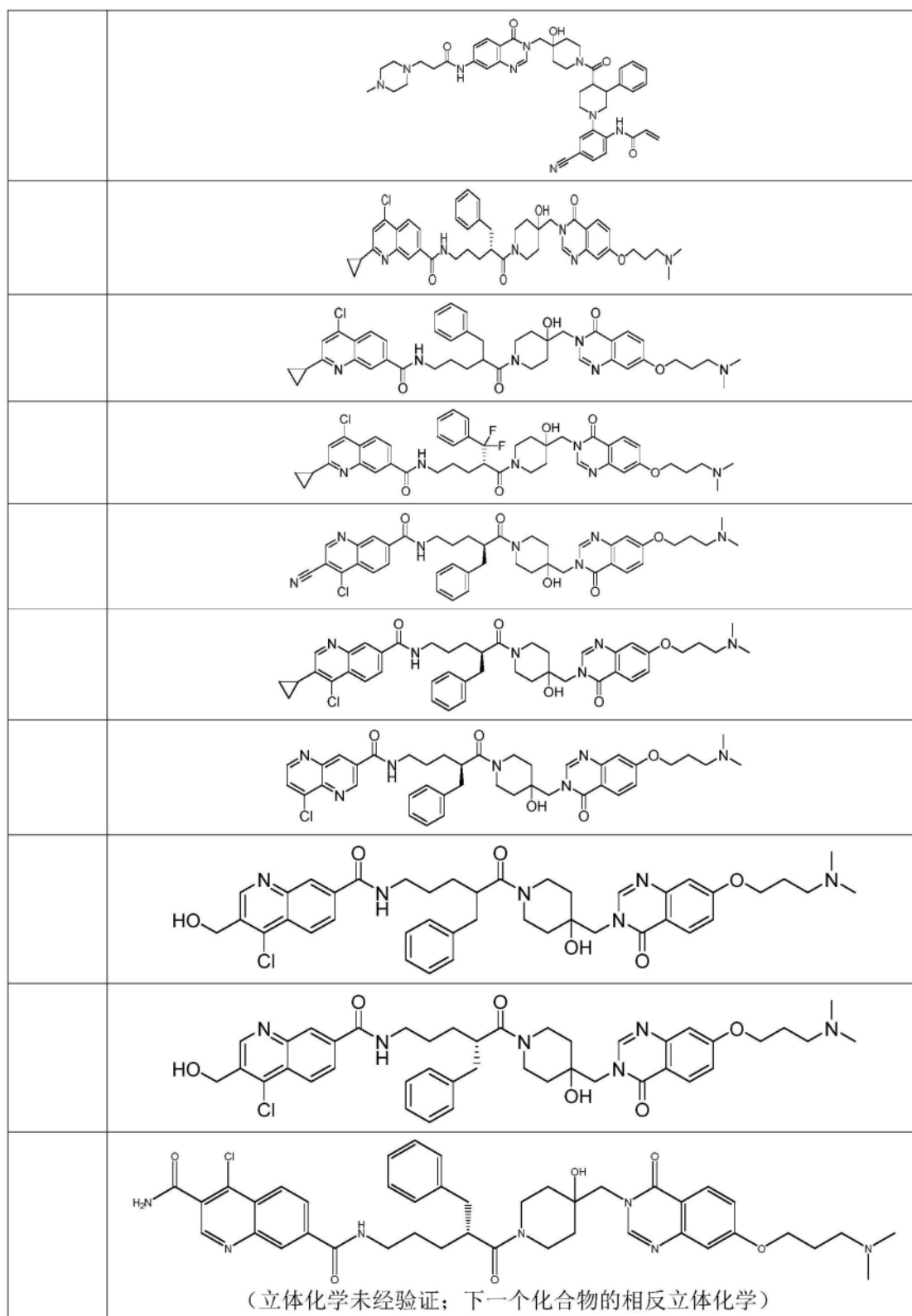
[0154]



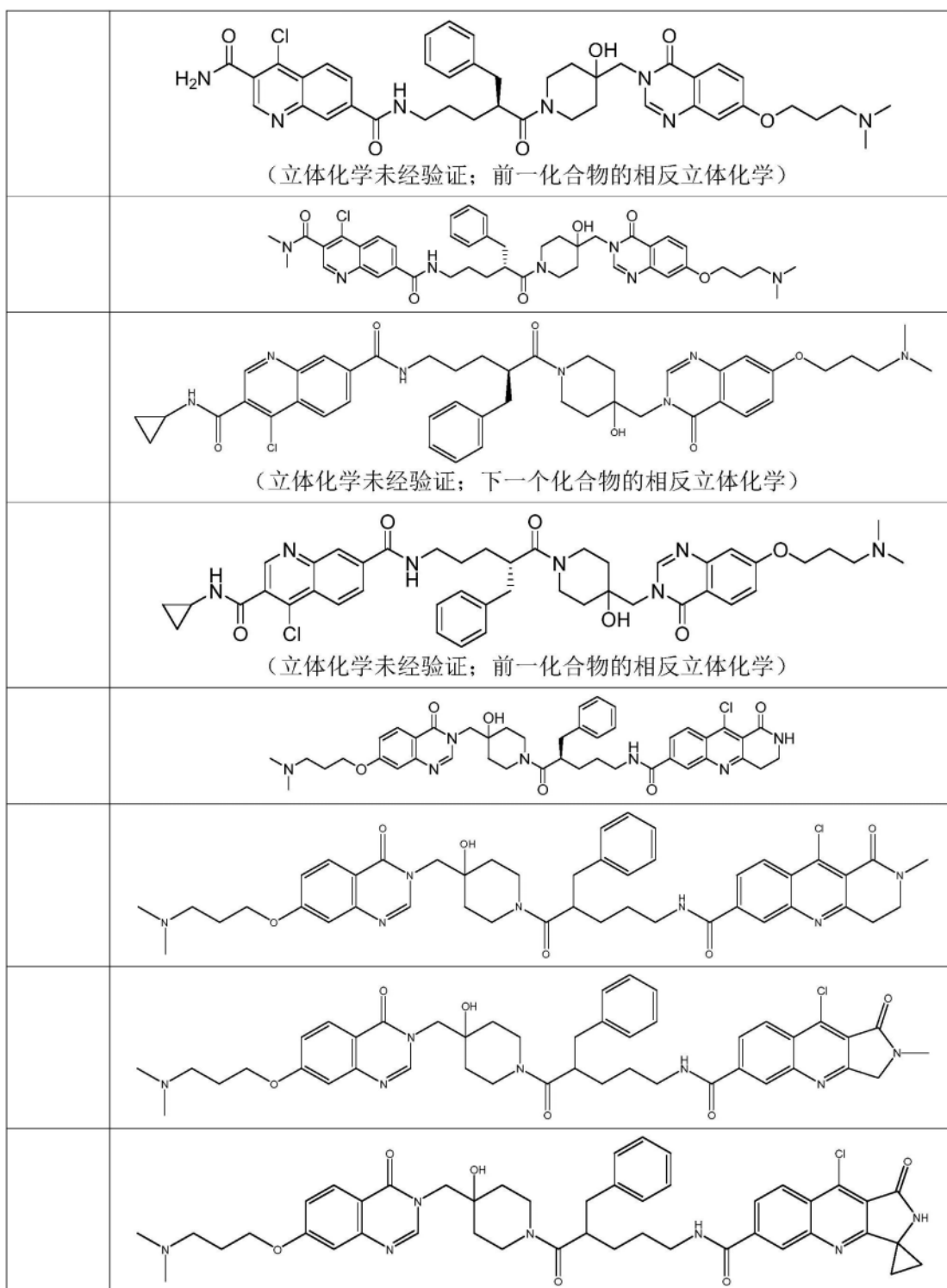
[0155]

144	
	 <p>*绝对立体化学未经验证； 作为下一个化合物的相反立体化学</p>
	 <p>*绝对立体化学未经验证； 与前一化合物相反的立体化学</p>
	
	
	
	

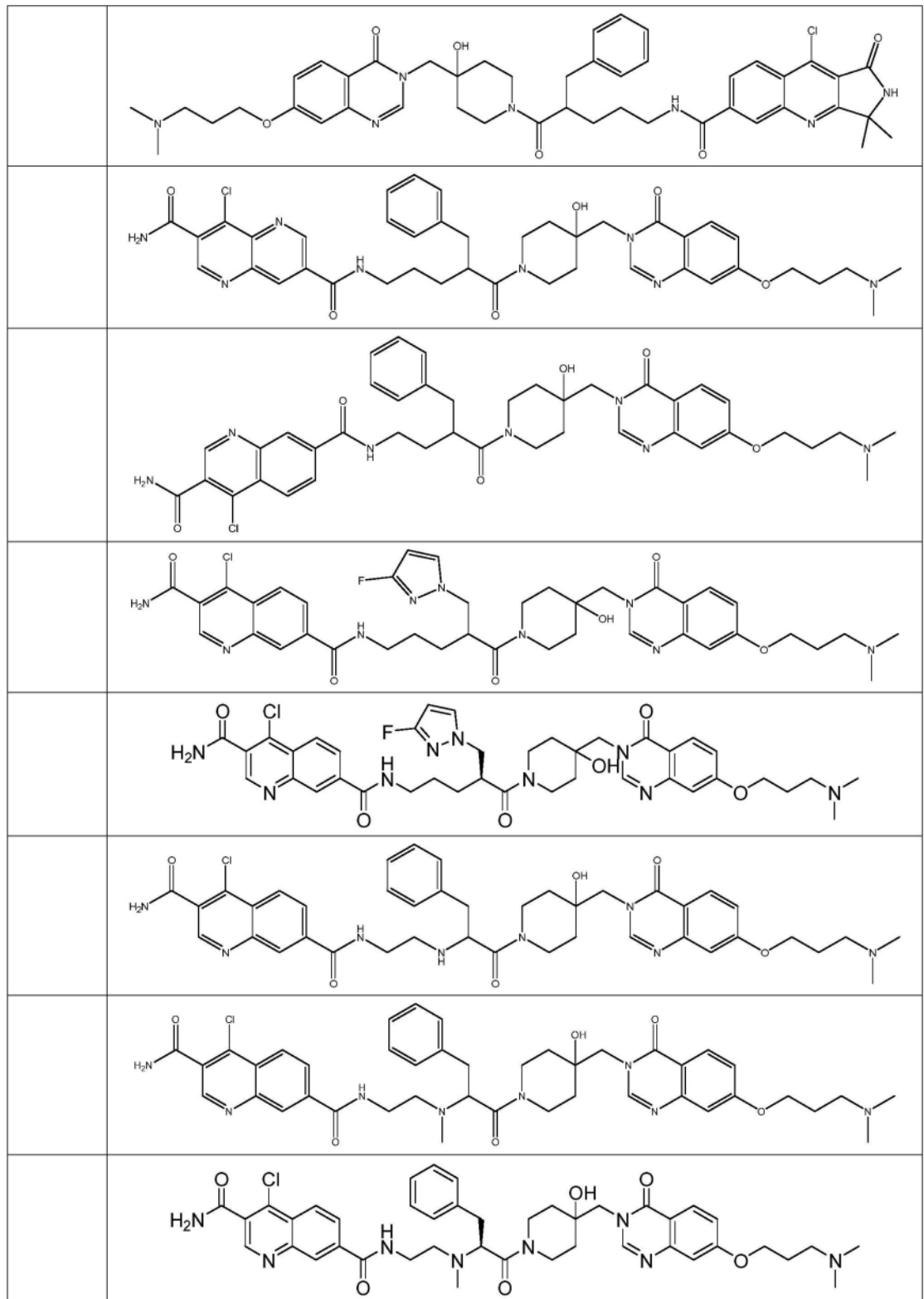
[0156]



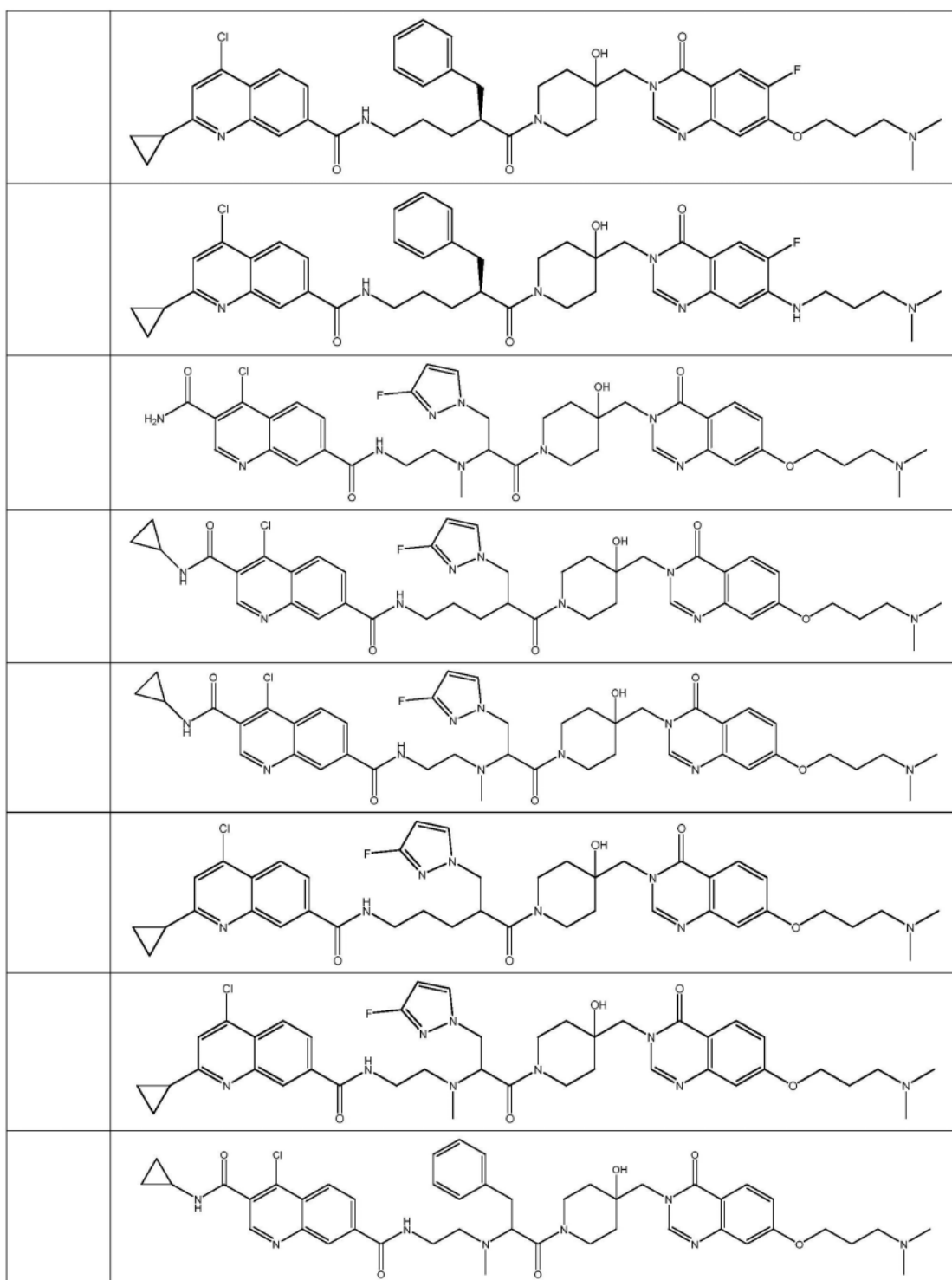
[0157]

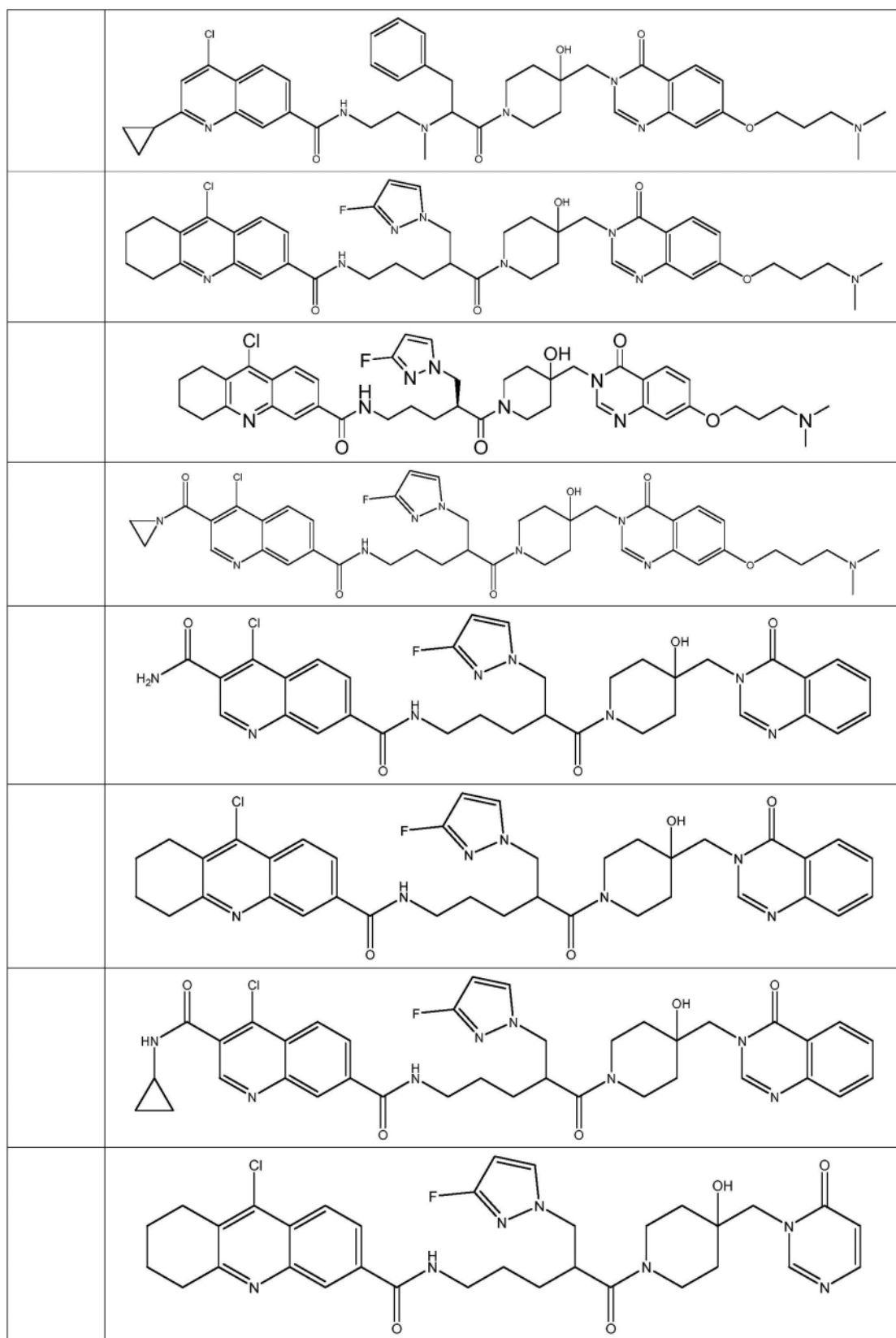


[0158]

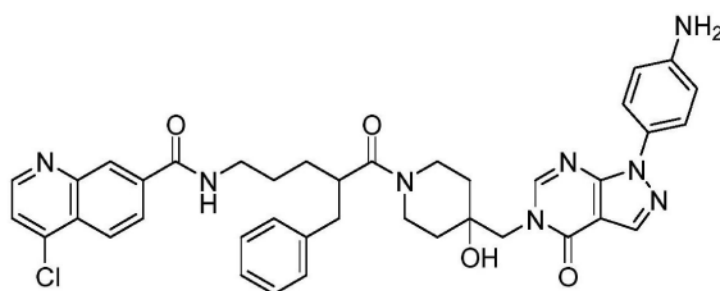
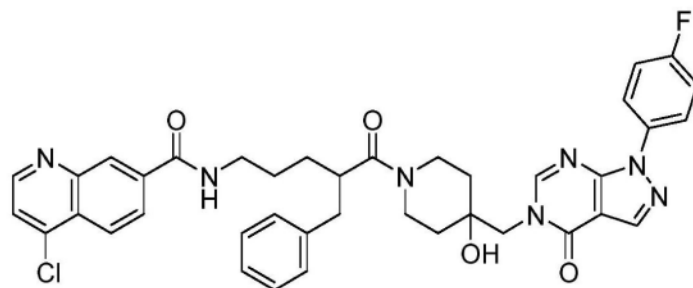
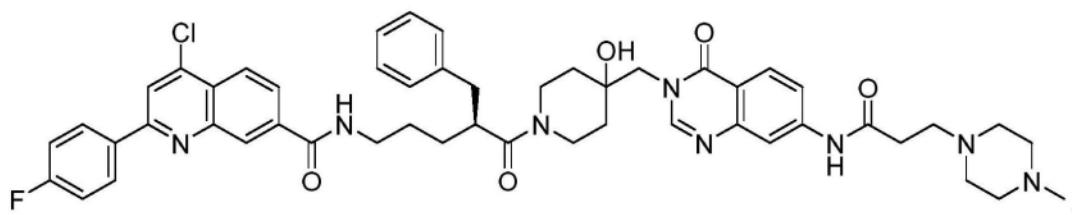


[0159]

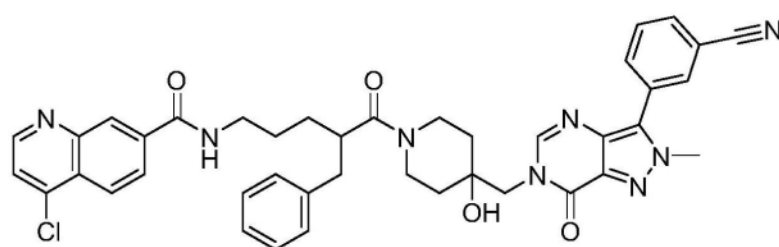
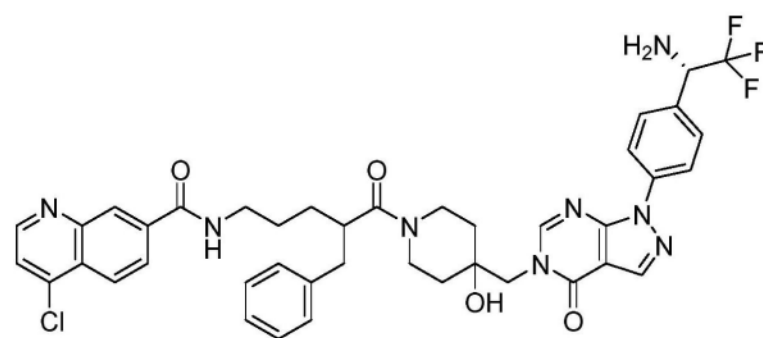
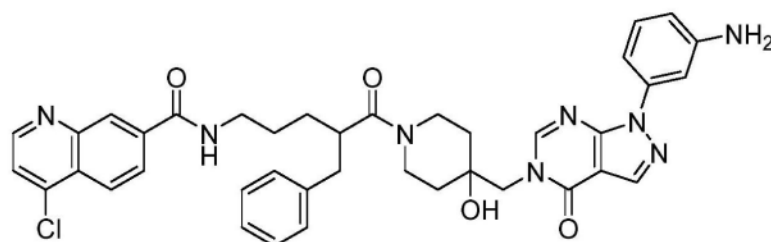


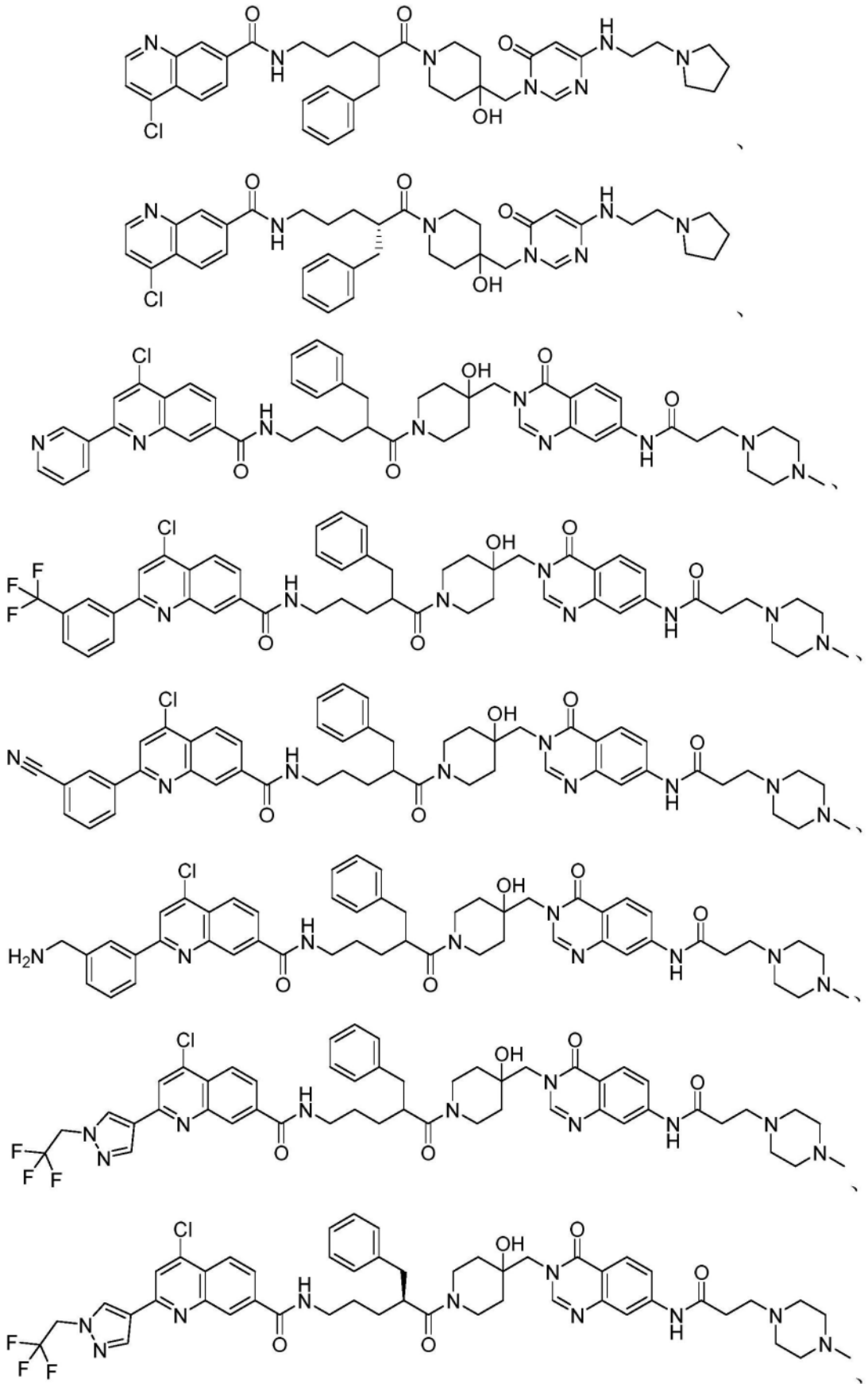


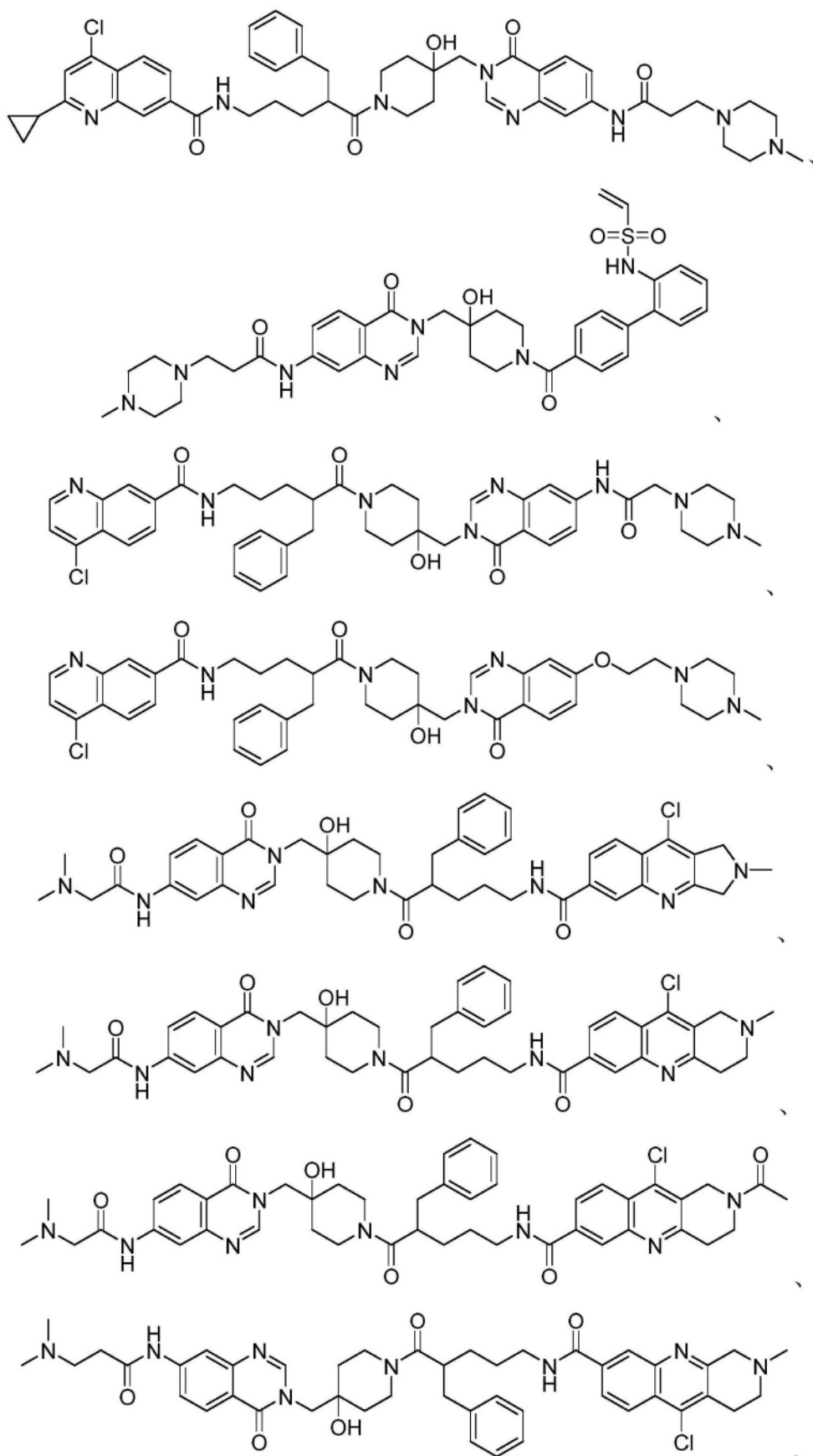
[0161] 在一些实施例中,式(I)的化合物选自:

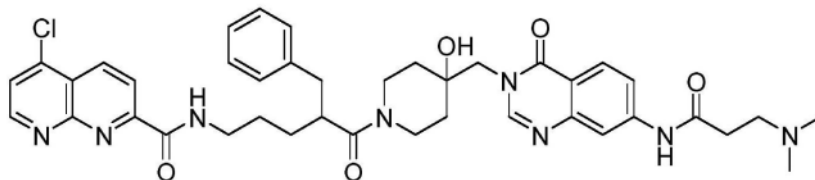
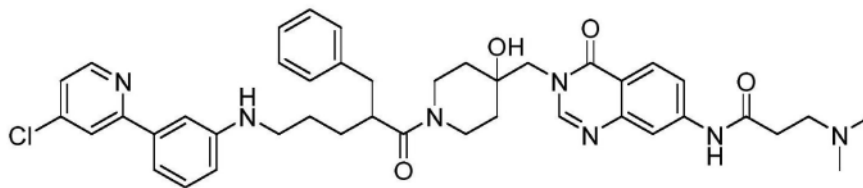
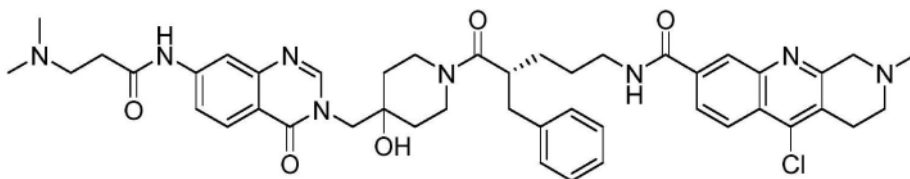
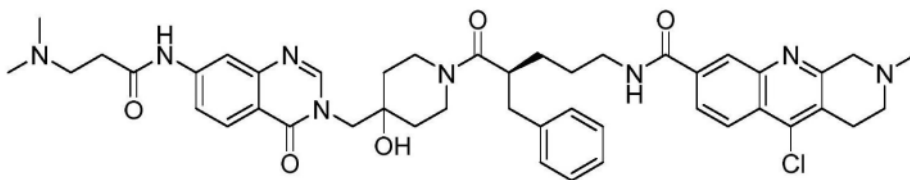


[0162]

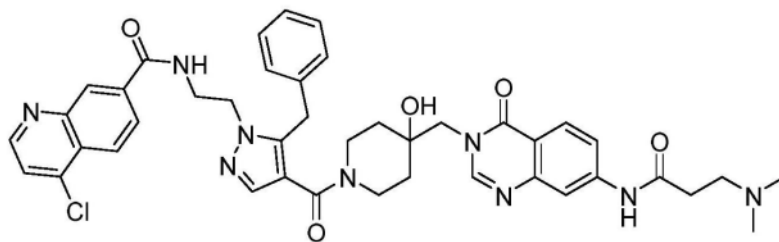
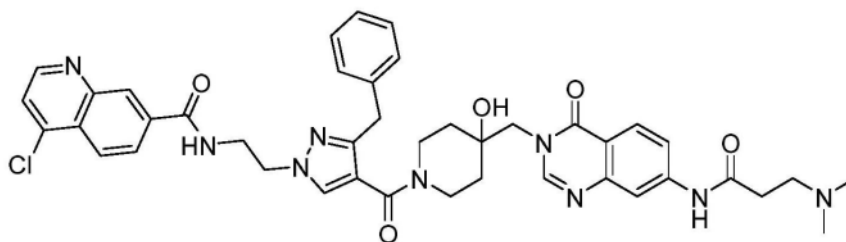
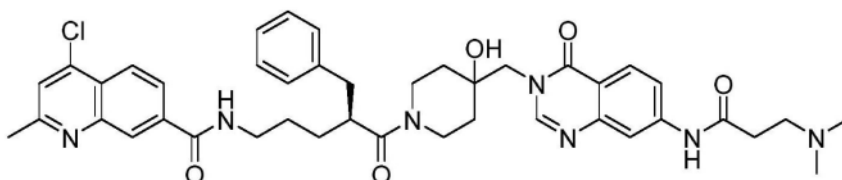
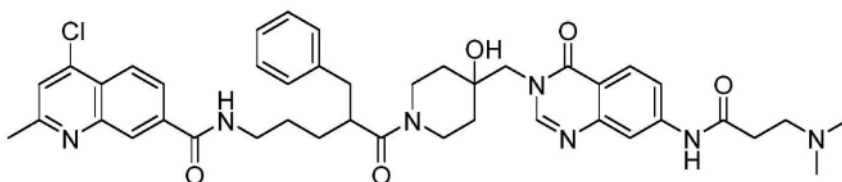




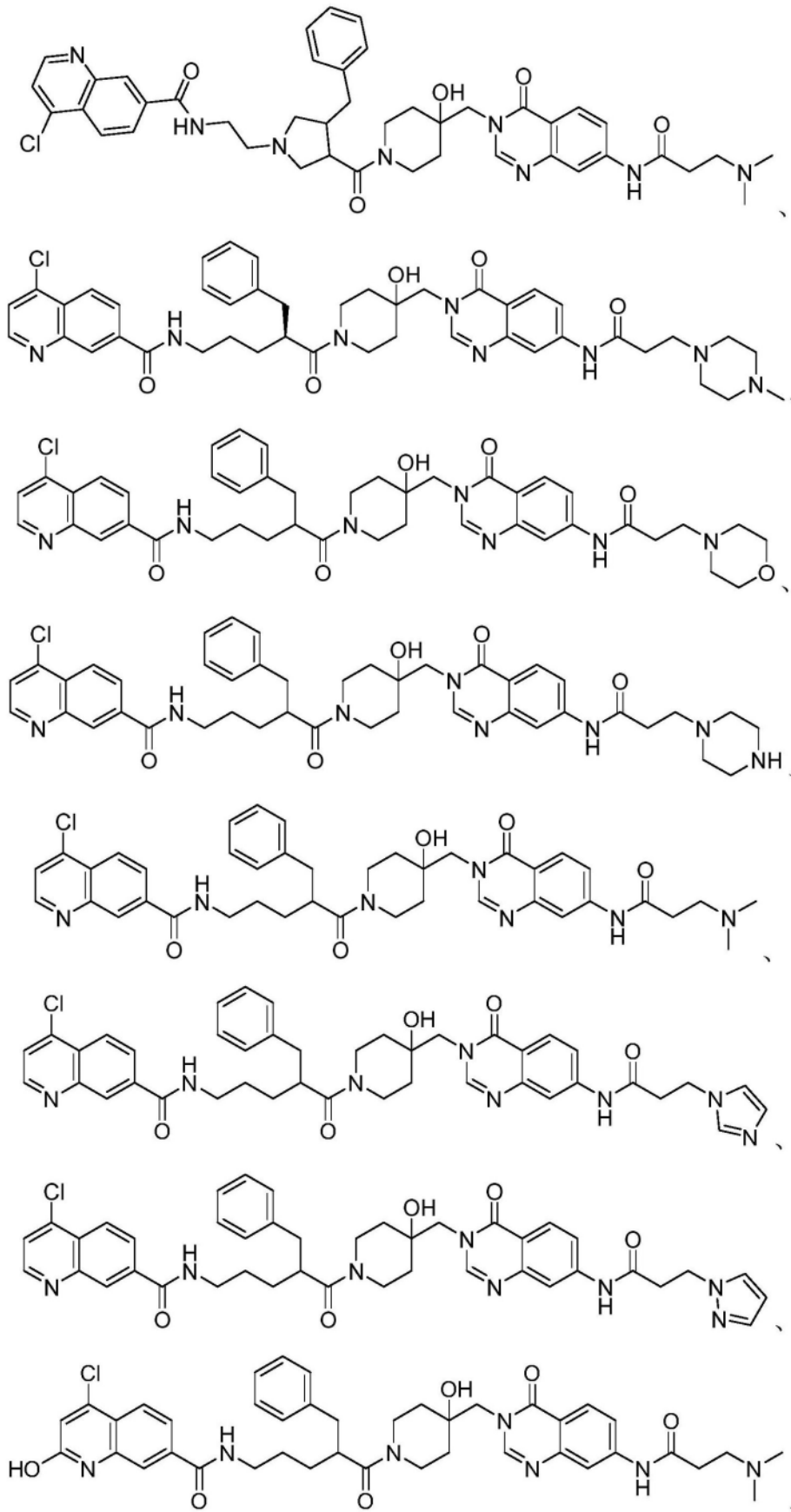


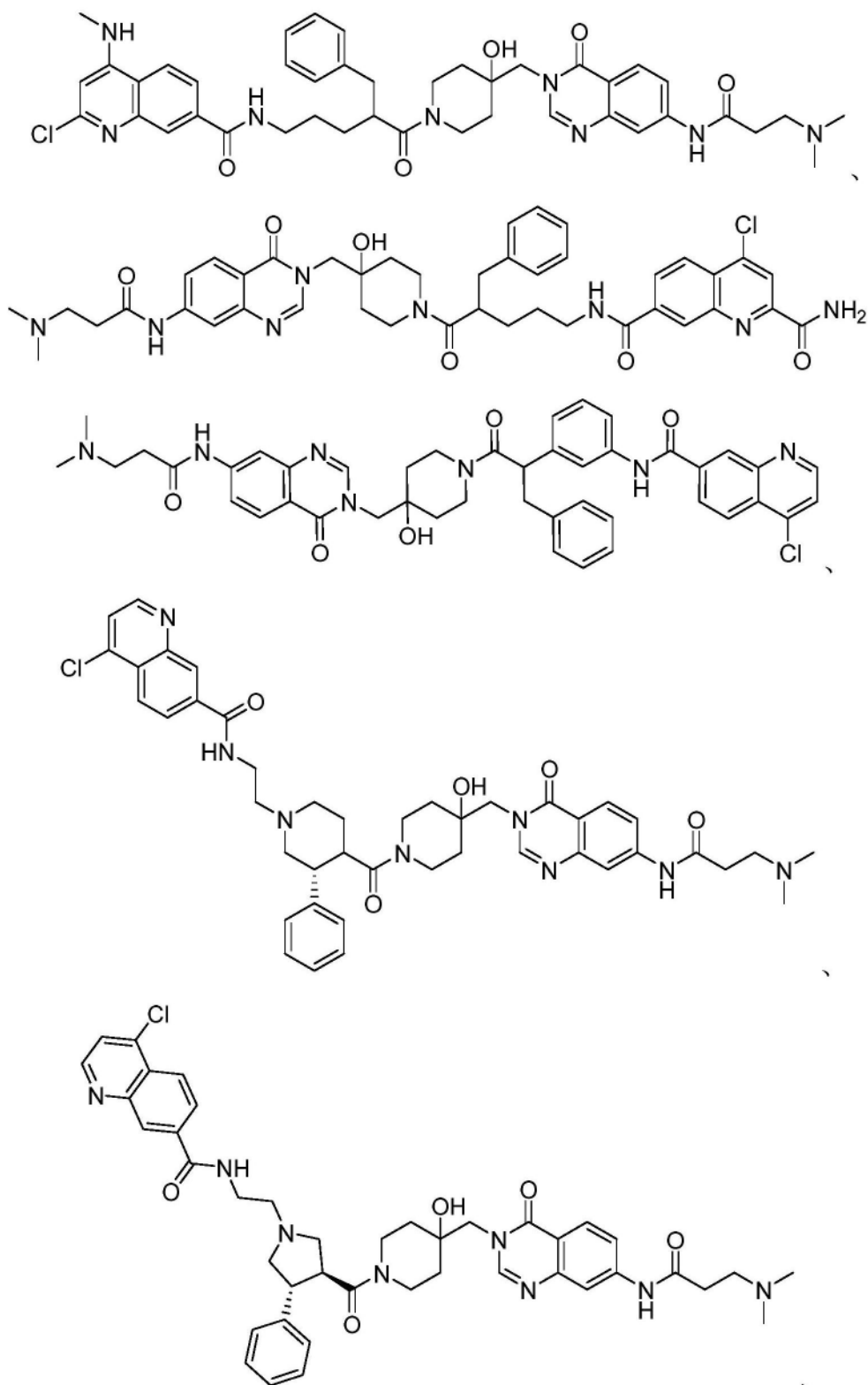


[0165]

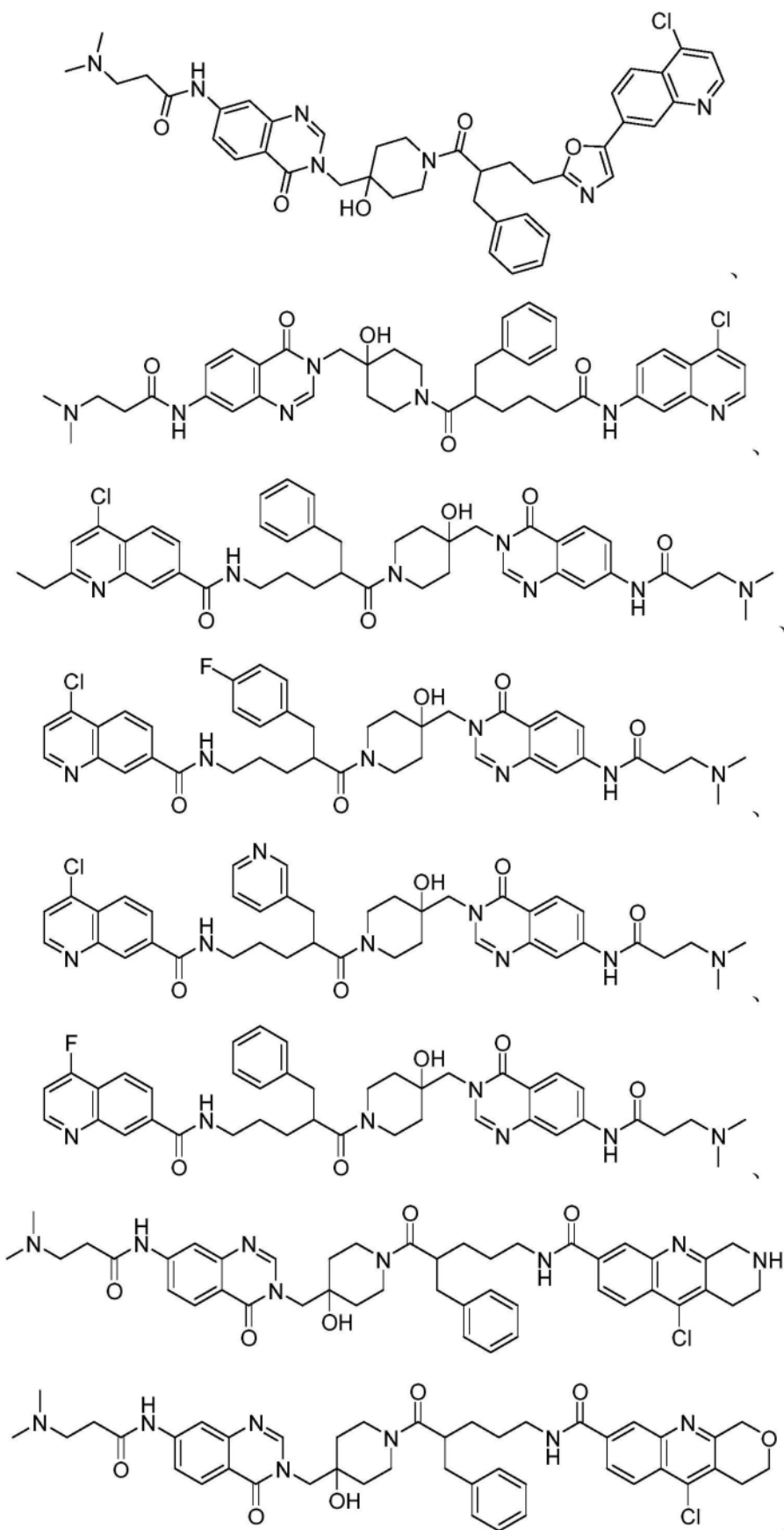


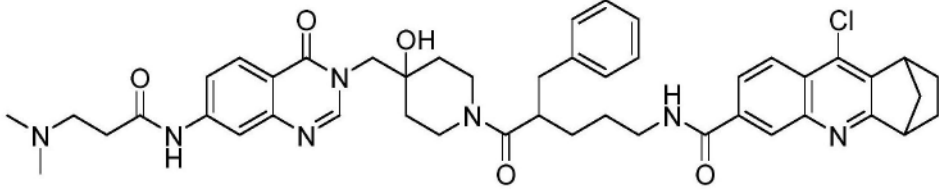
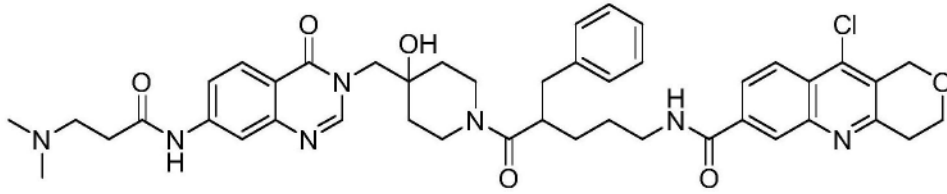
[0166]



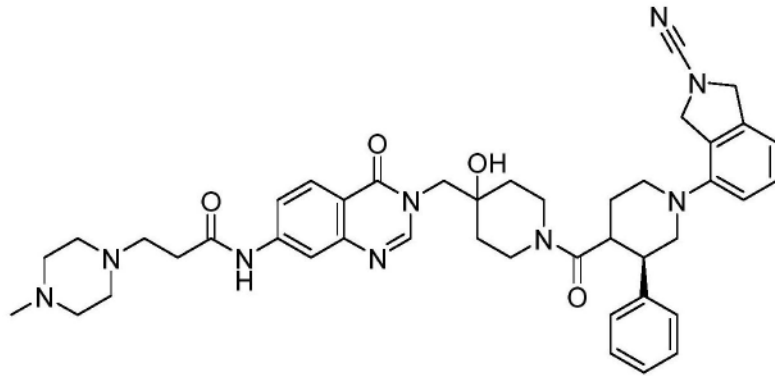
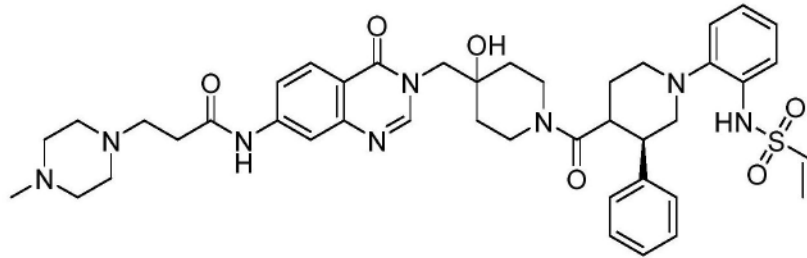
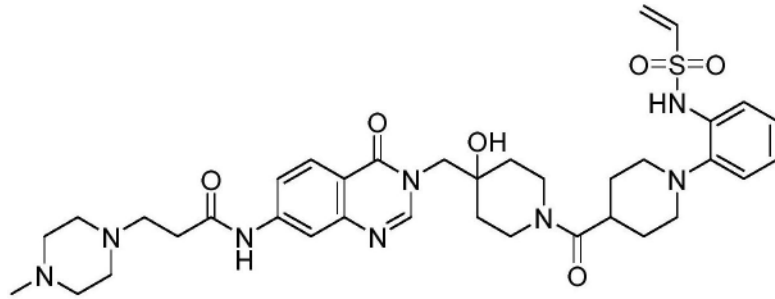


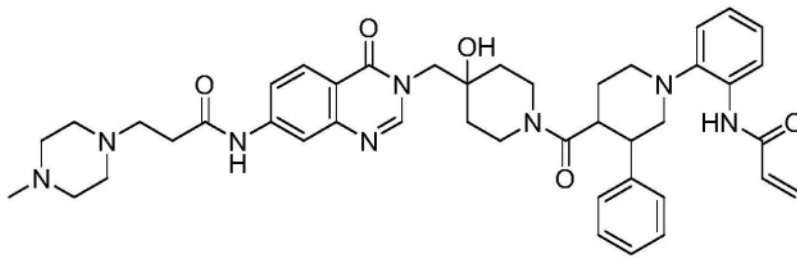
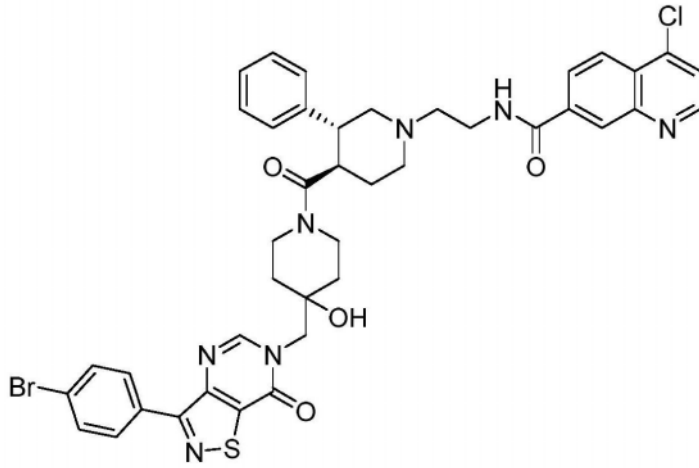
[0168]



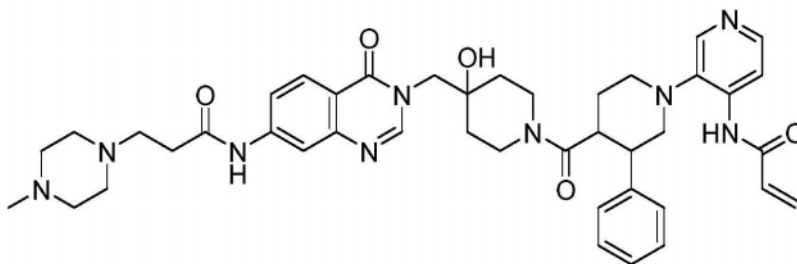
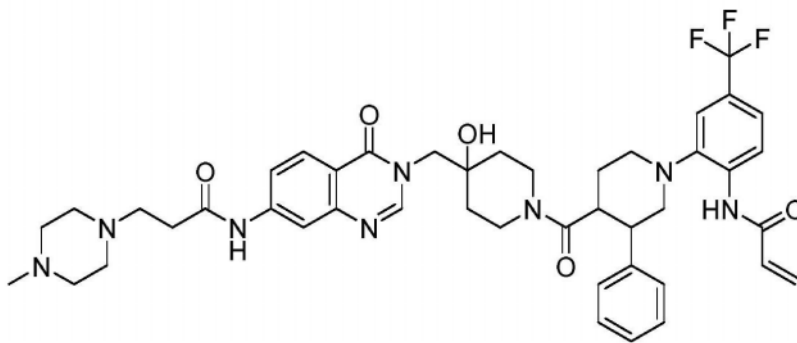
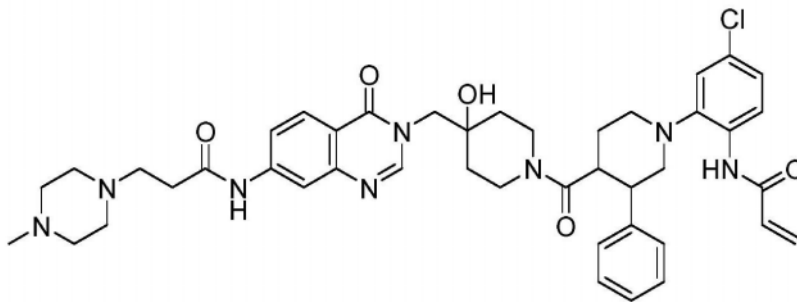


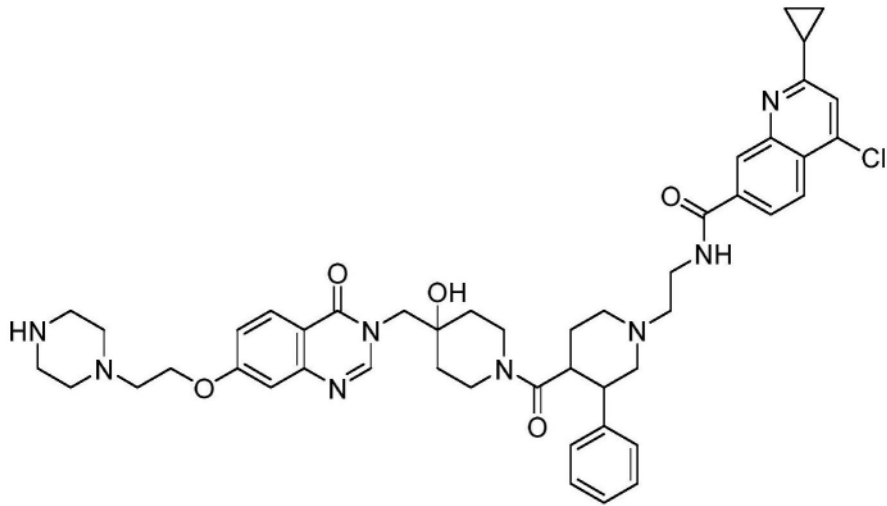
[0169]



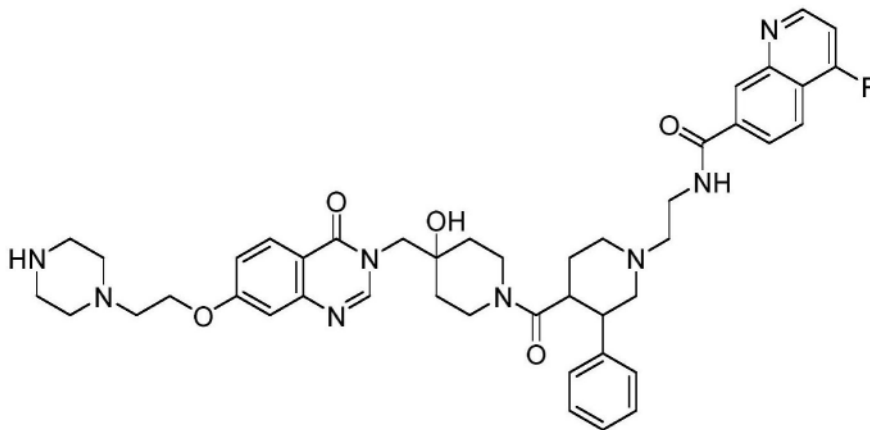
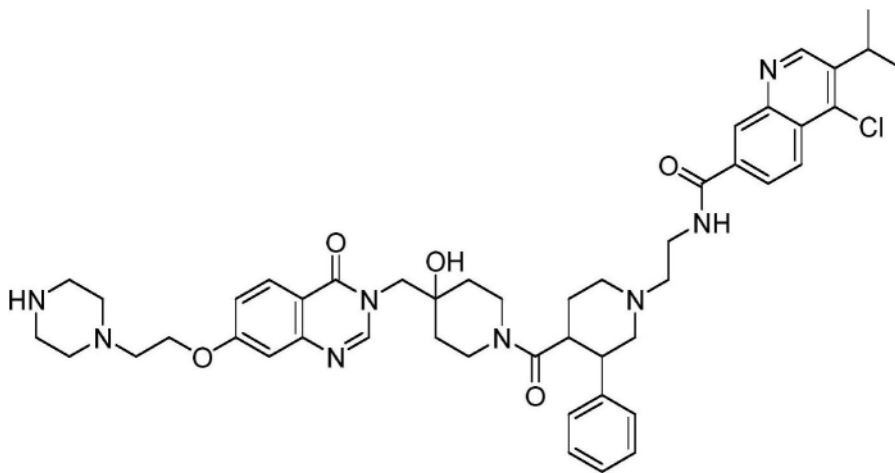


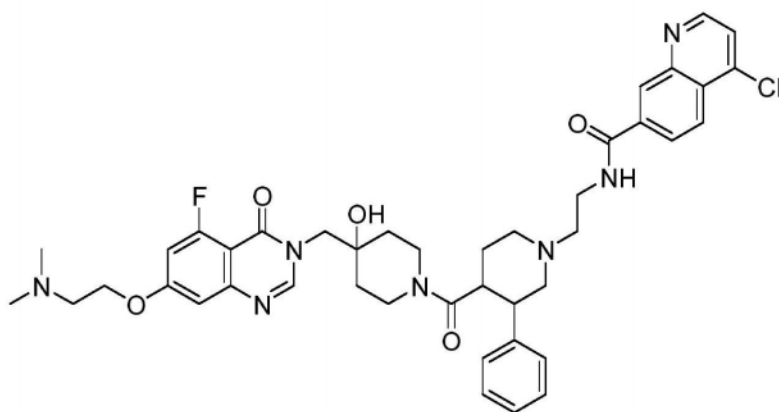
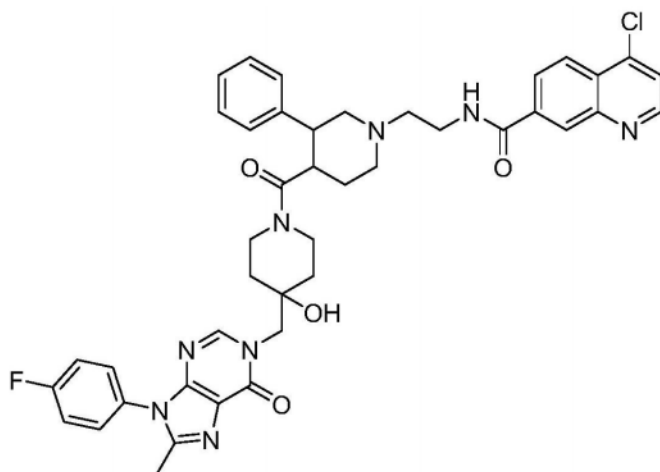
[0170]



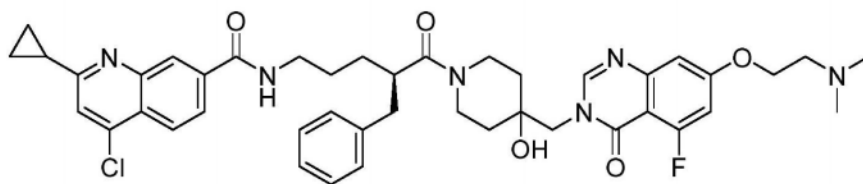
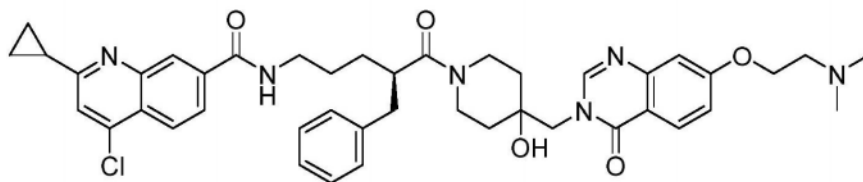
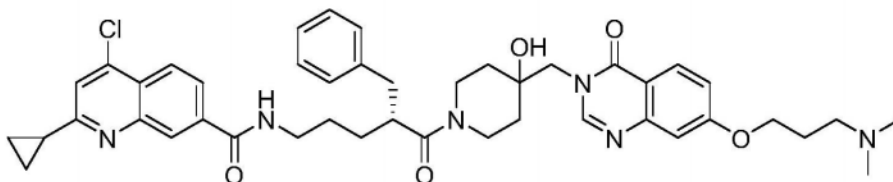
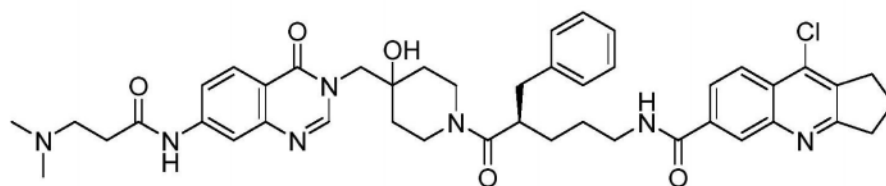


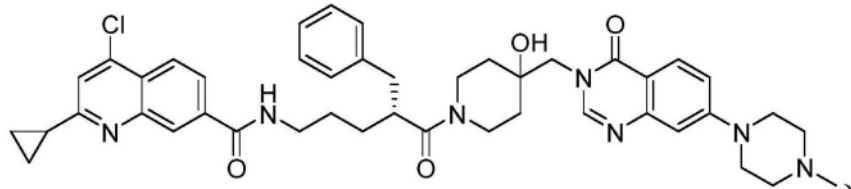
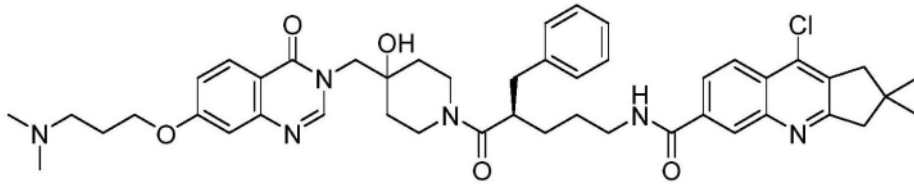
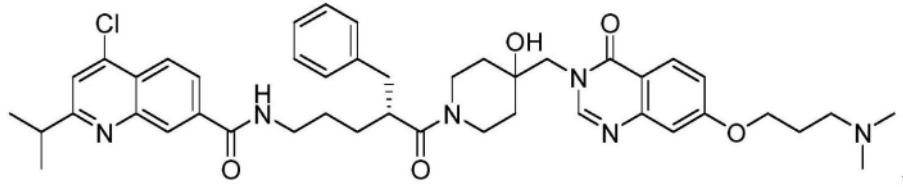
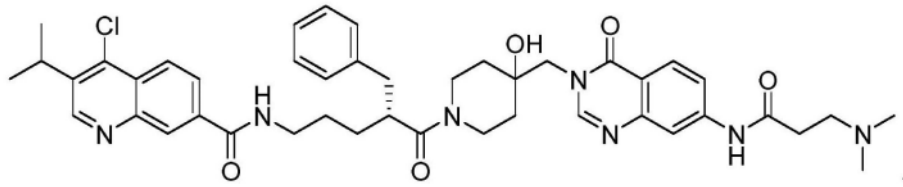
[0171]



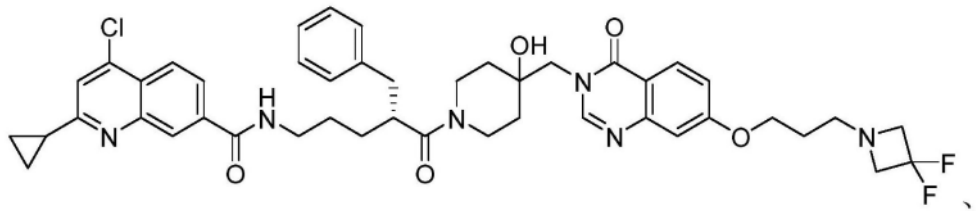
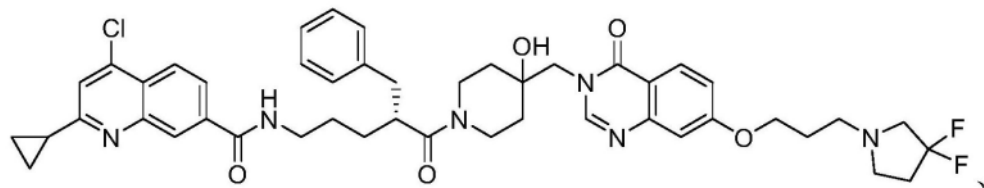
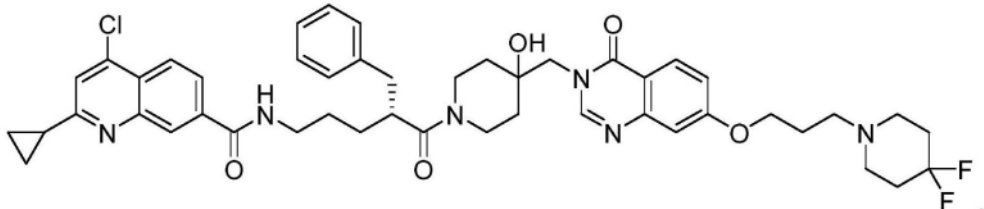
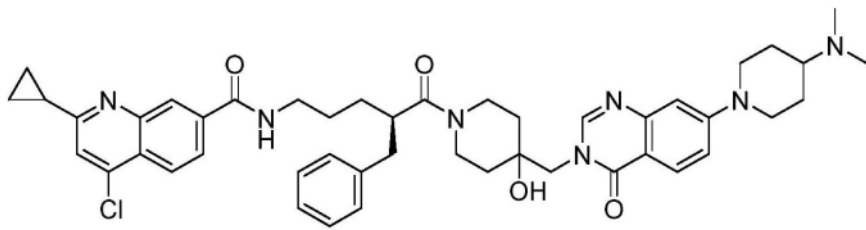


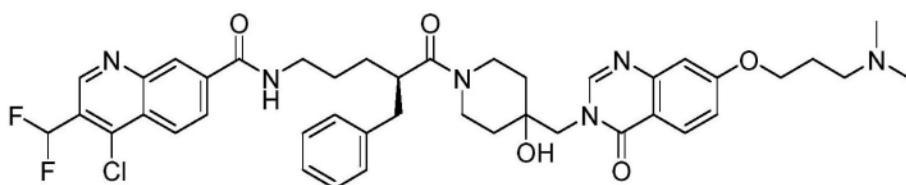
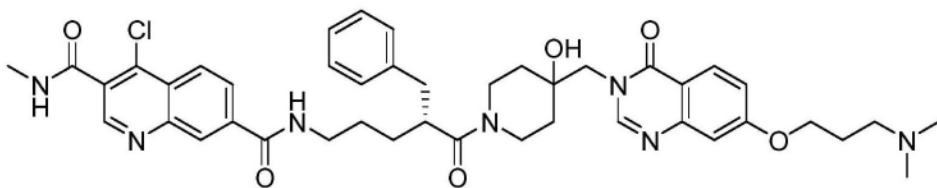
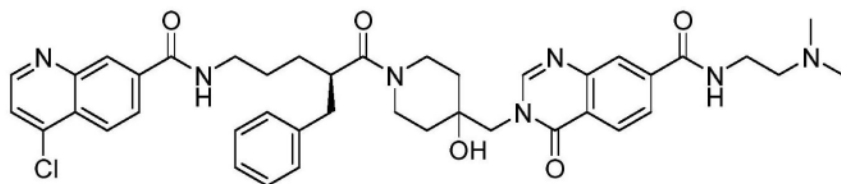
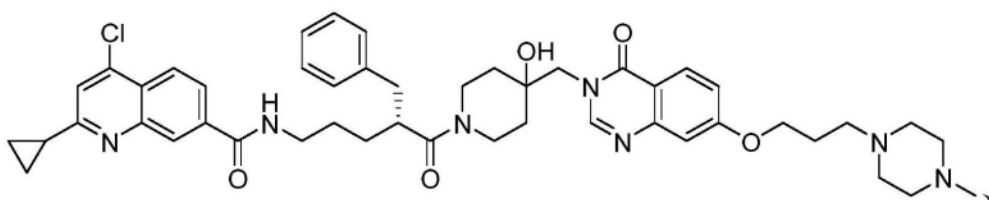
[0172]



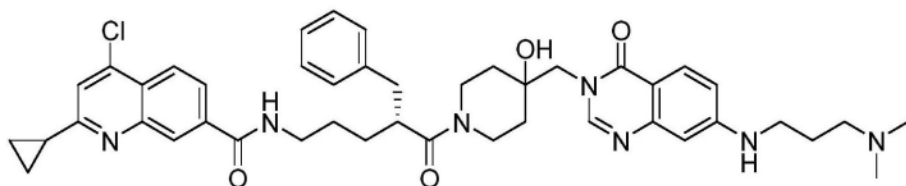
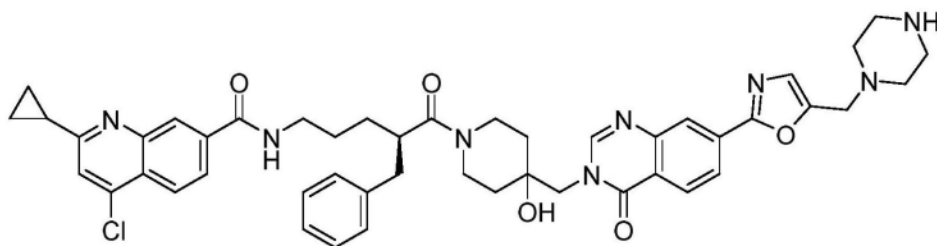
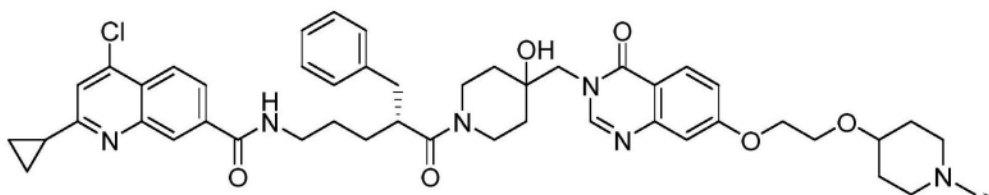
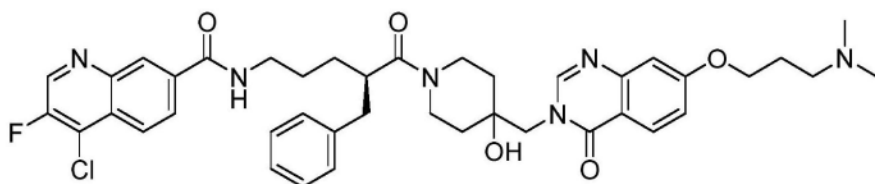


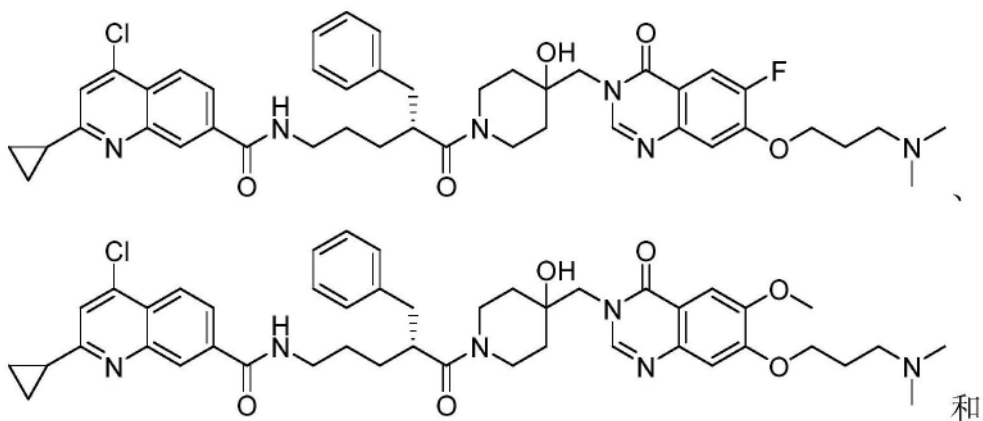
[0173]



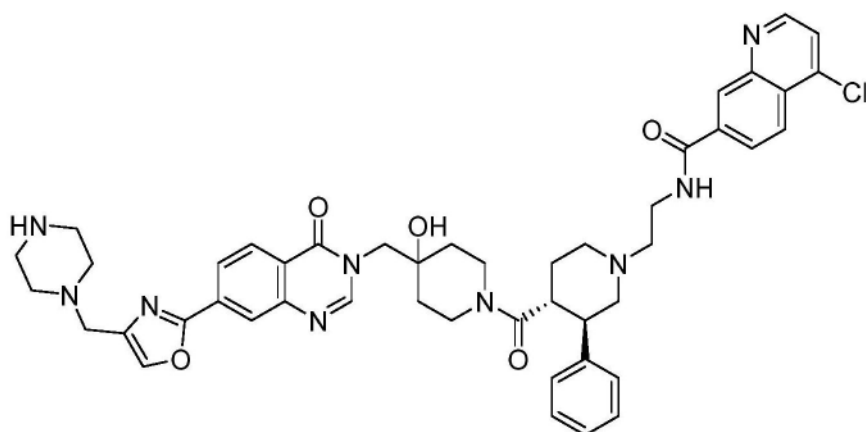


[0174]



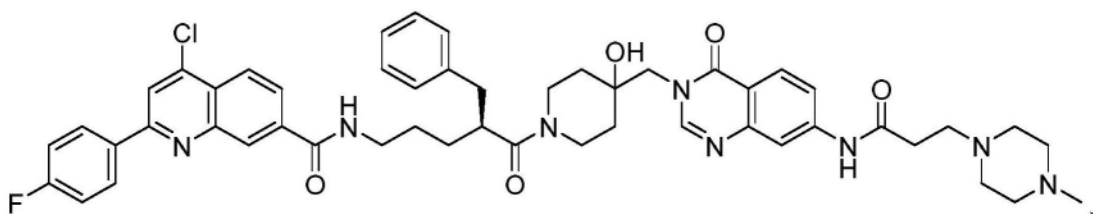


[0175]

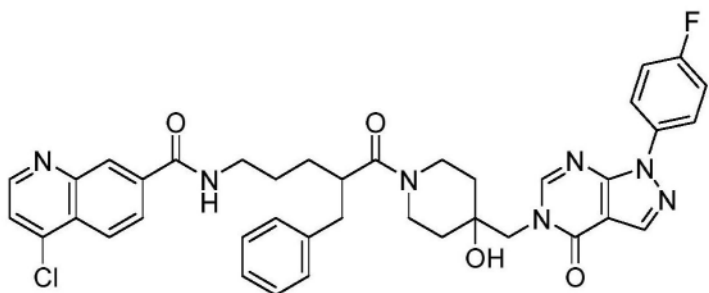


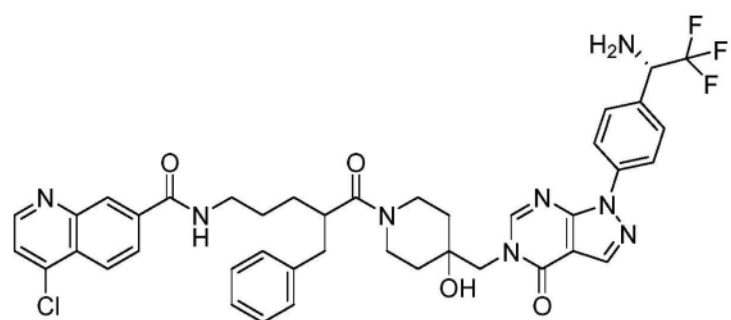
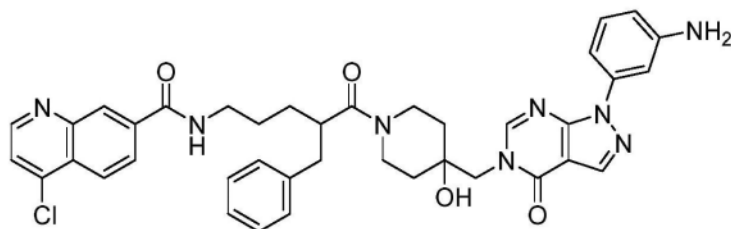
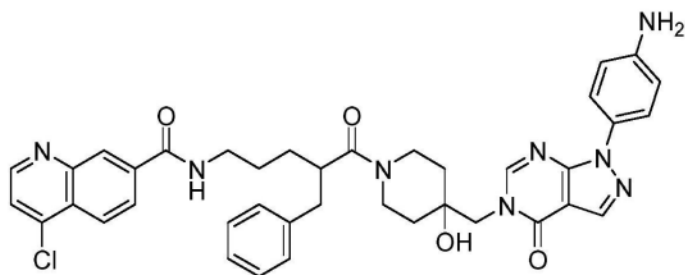
[0176] 或其药学上可接受的盐。

[0177] 在一些实施例中,式(I)的化合物选自:

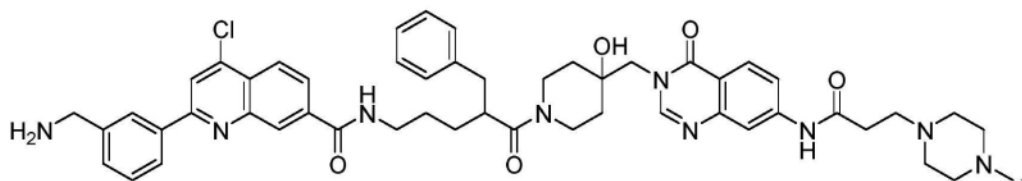
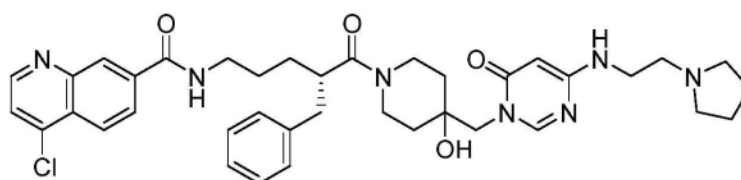
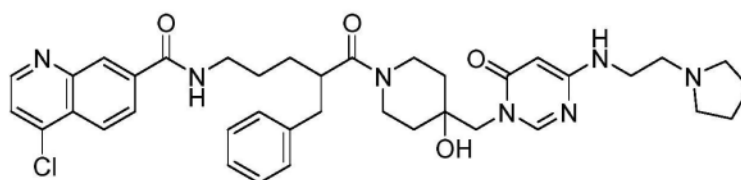
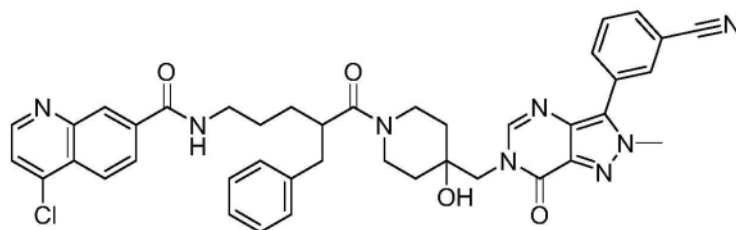


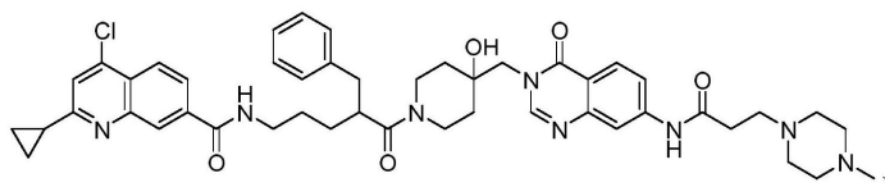
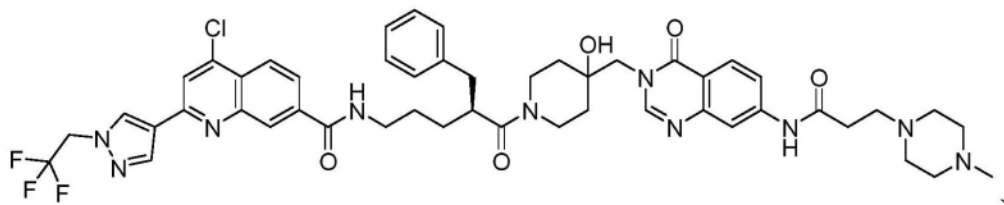
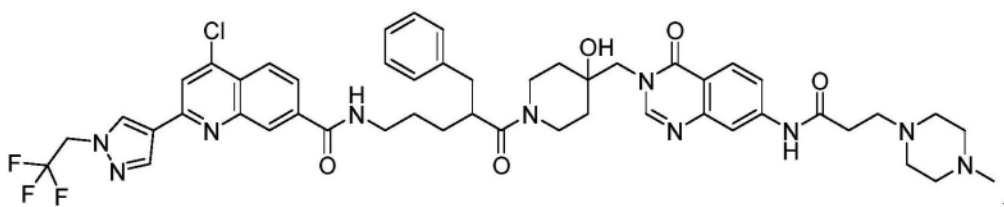
[0178]



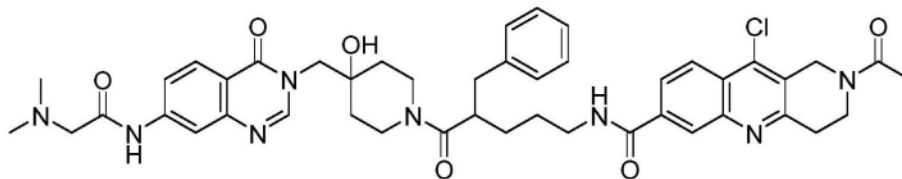
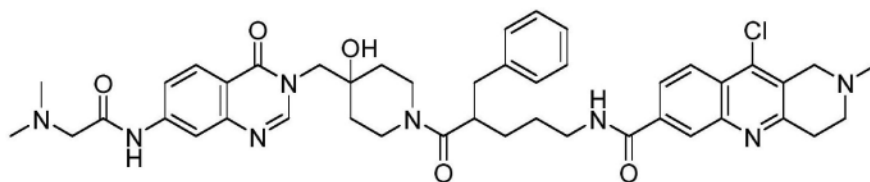
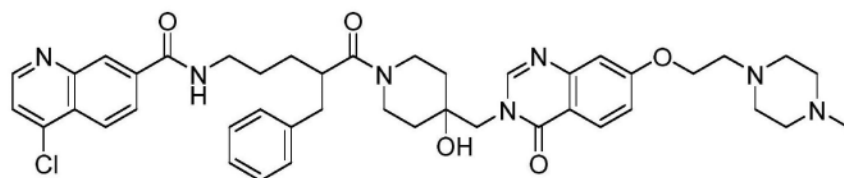
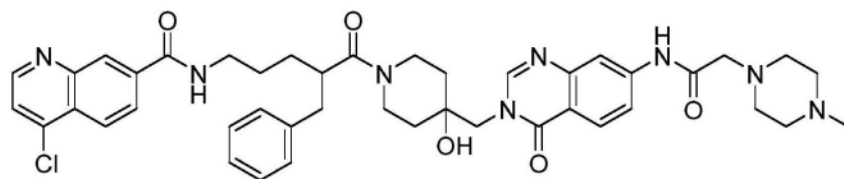
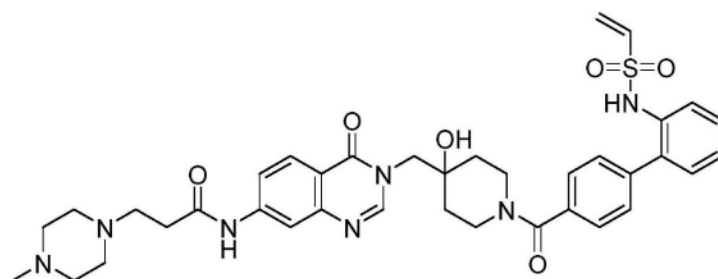


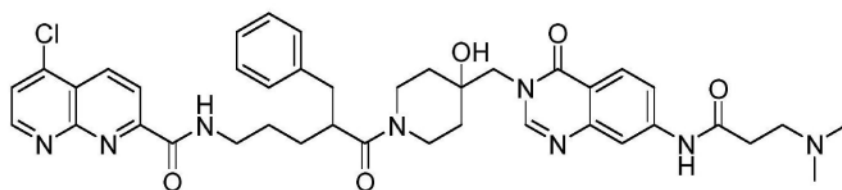
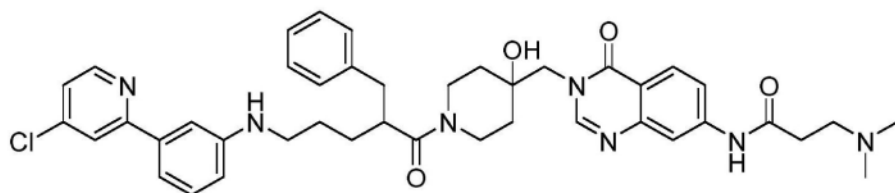
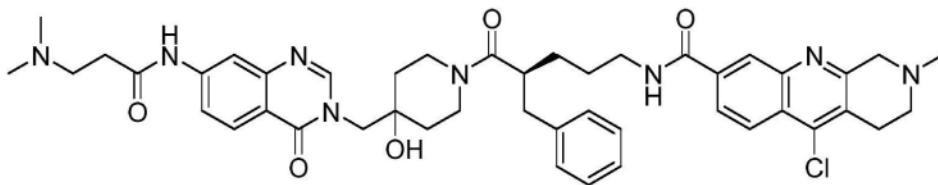
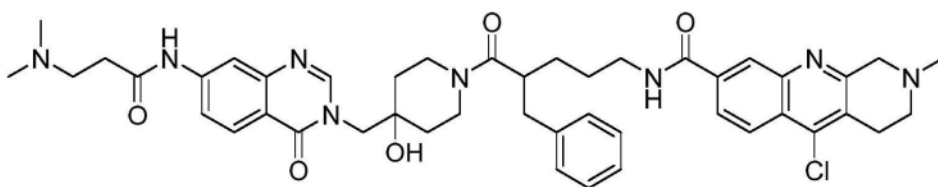
[0179]



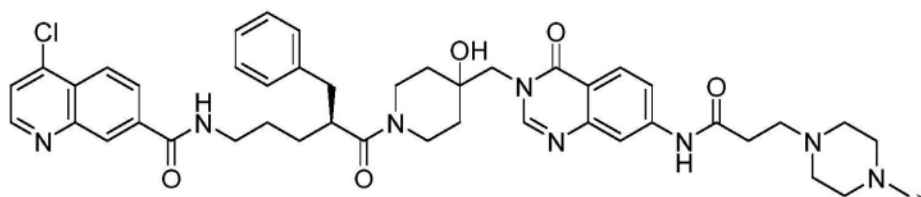
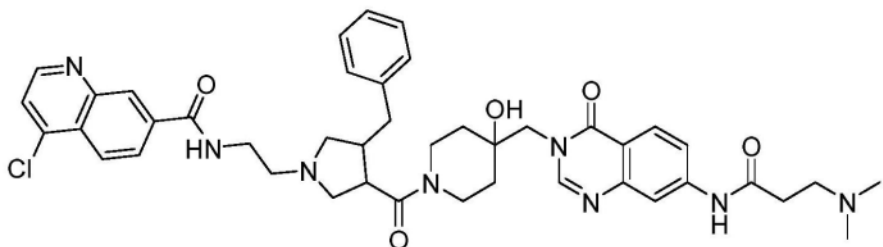
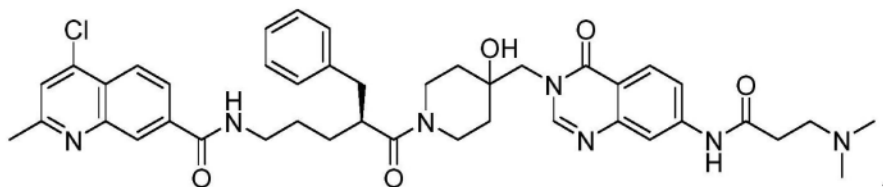
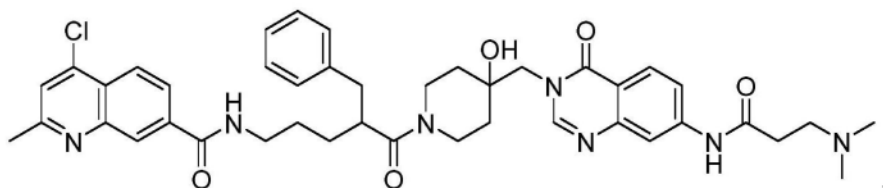


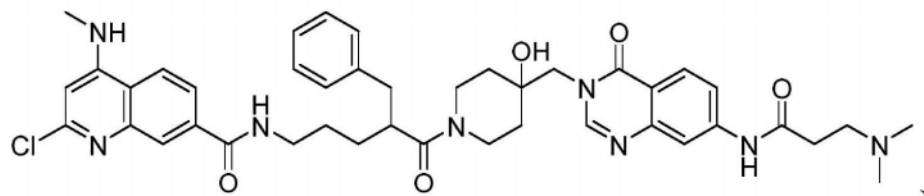
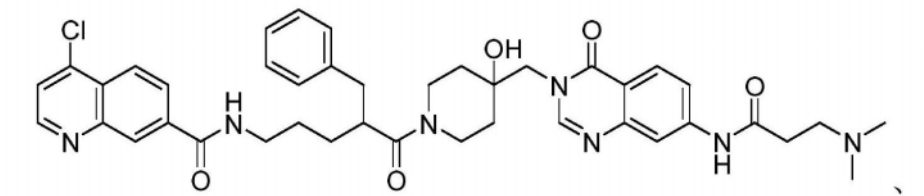
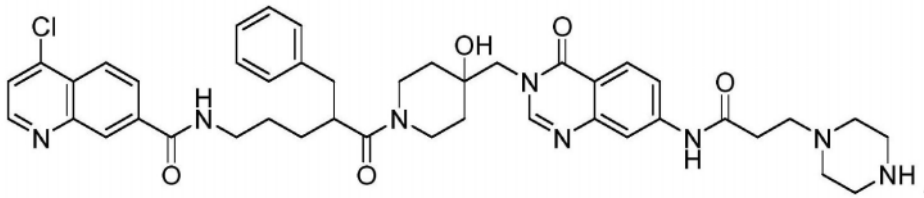
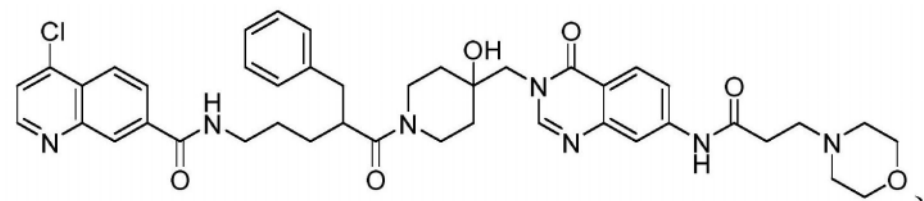
[0180]



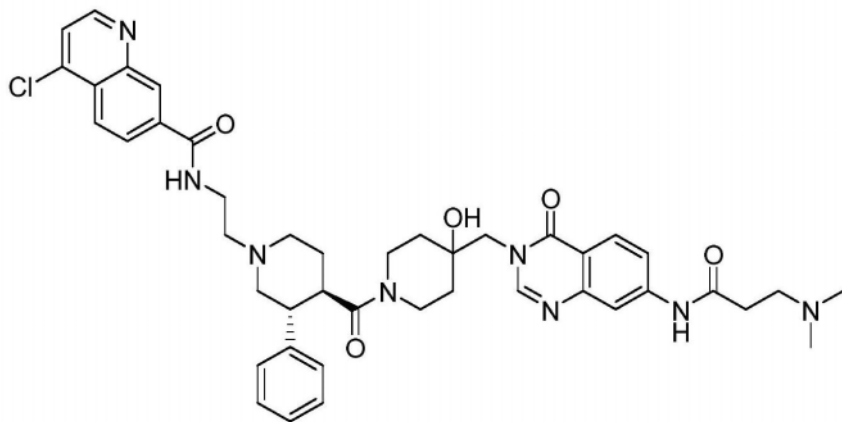
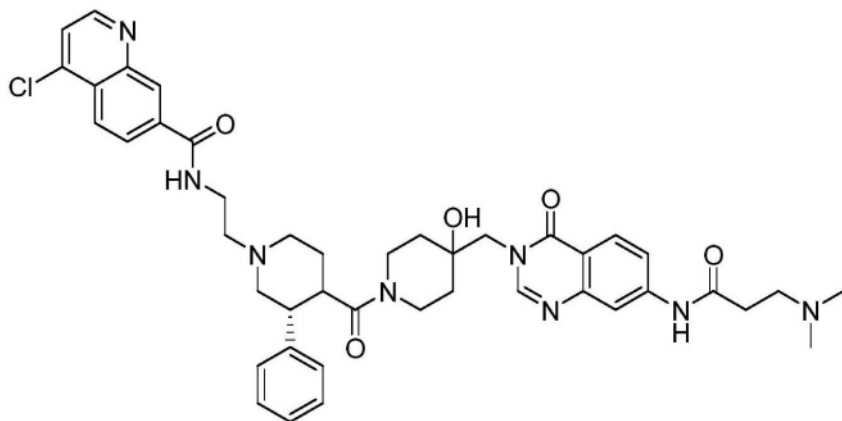


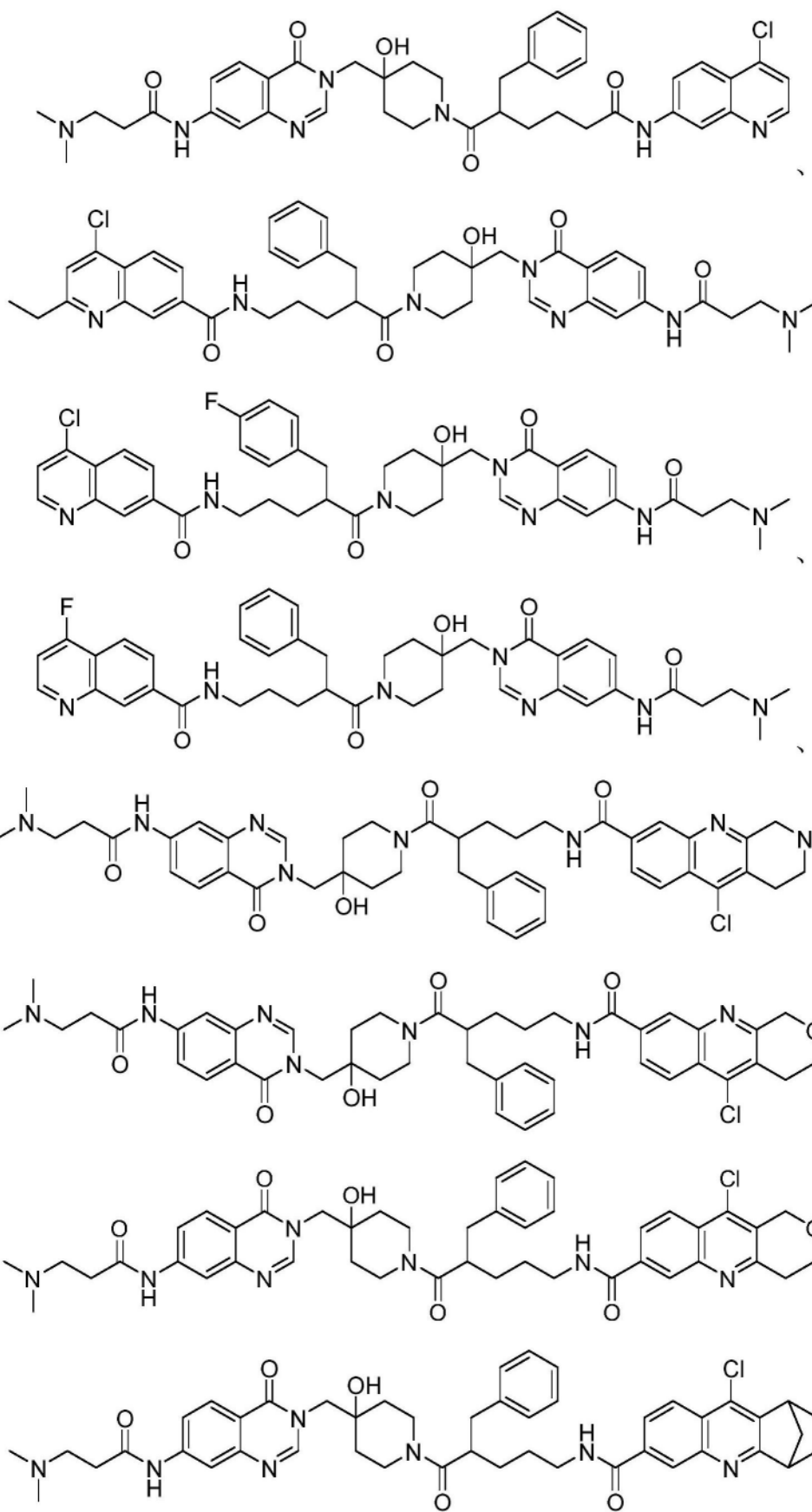
[0181]



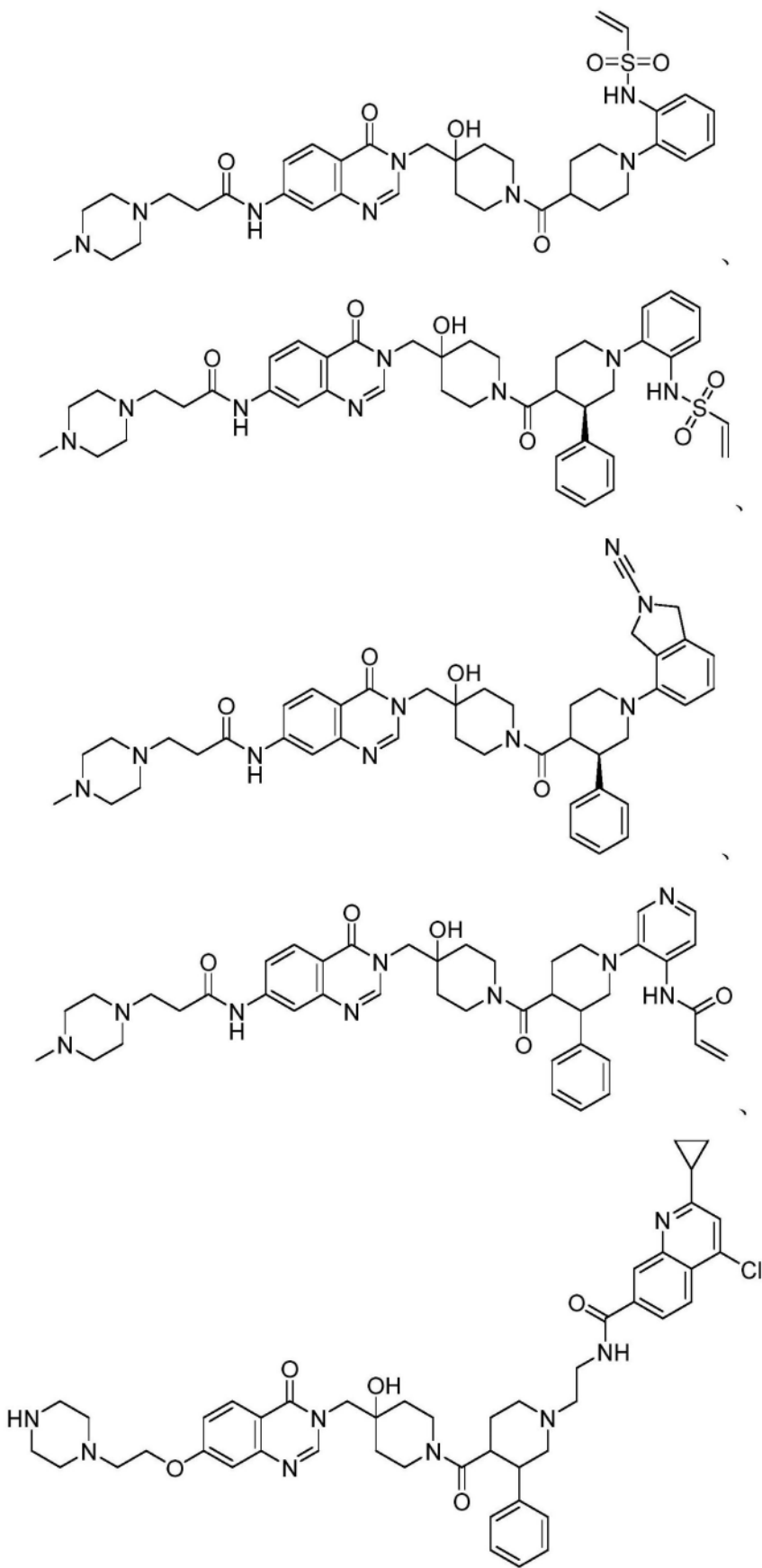


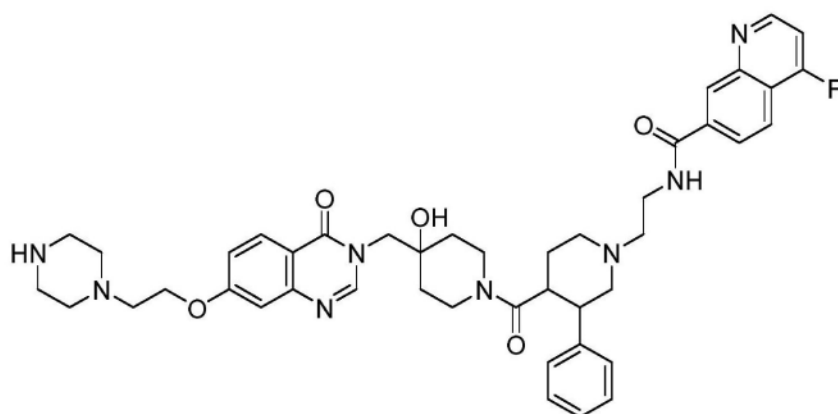
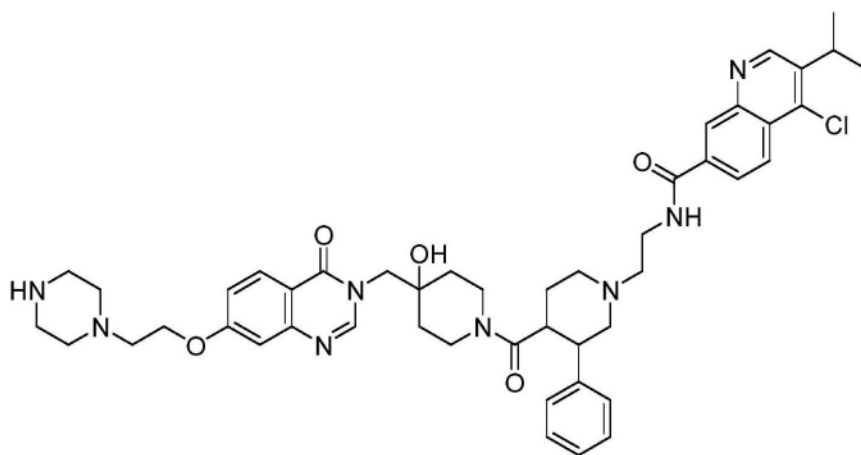
[0182]



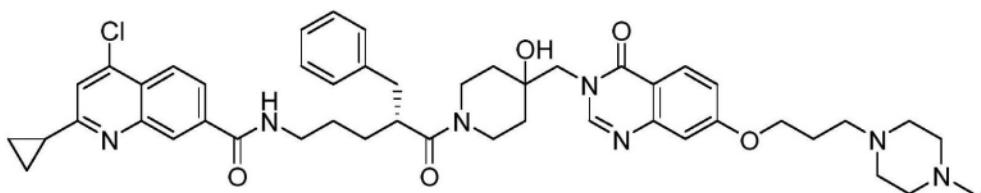
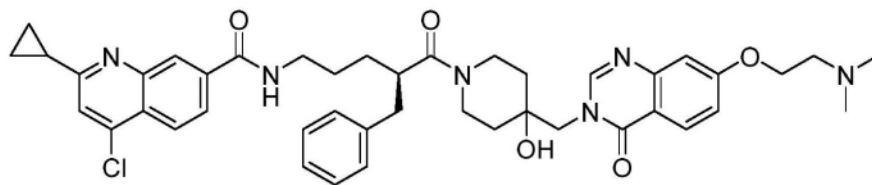
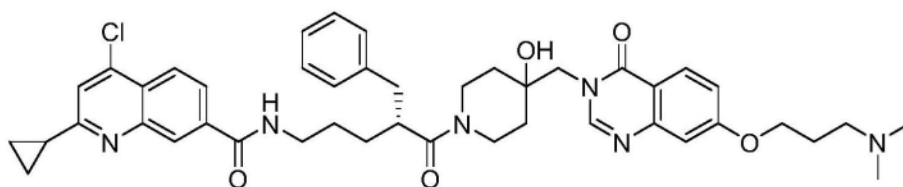
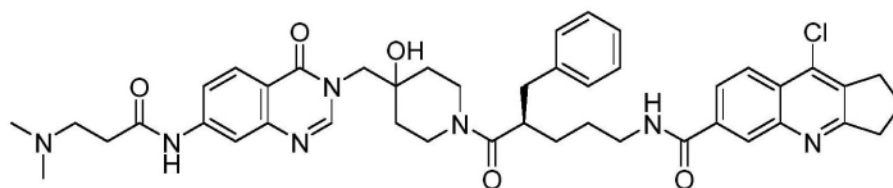


[0184]

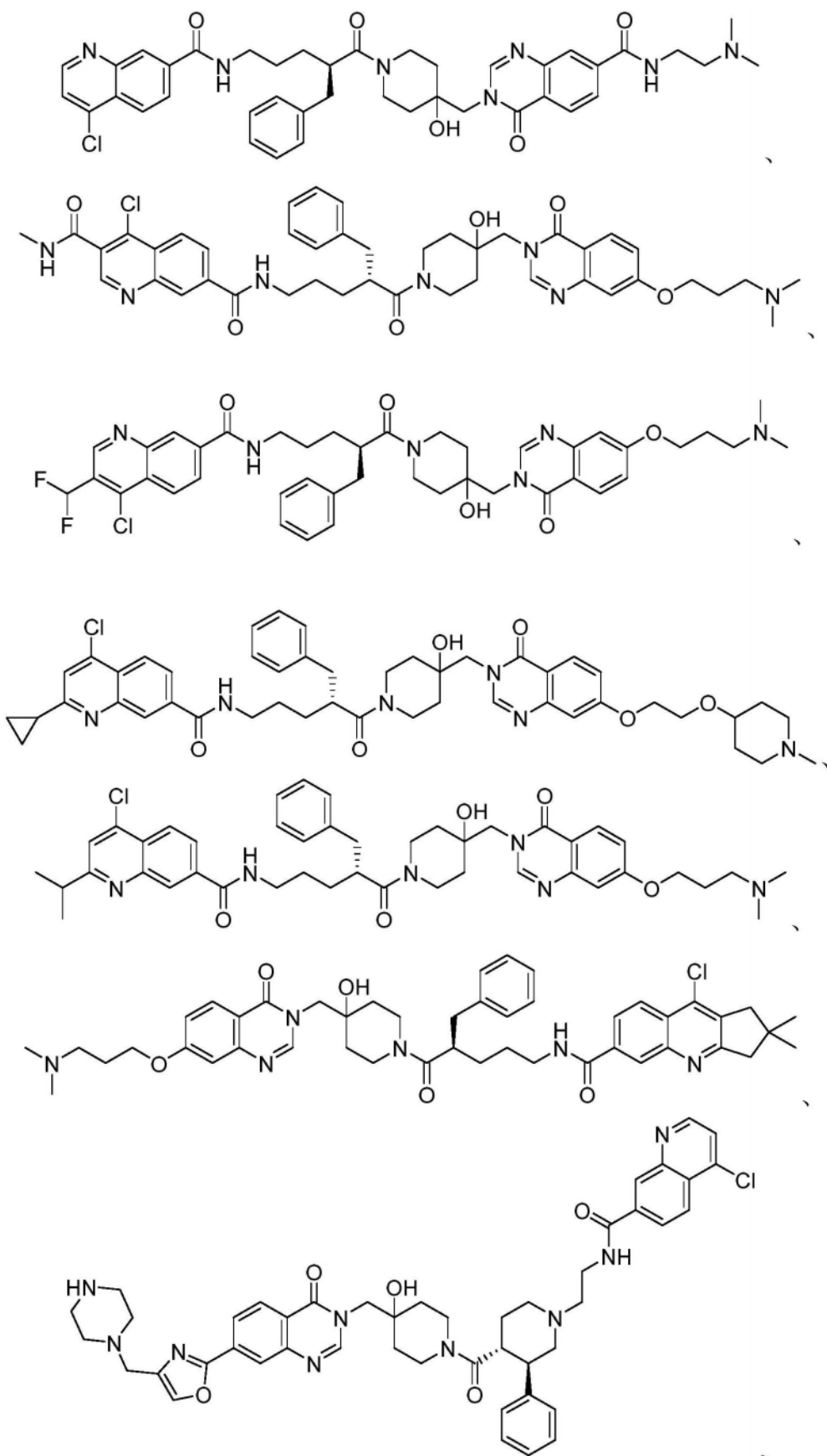


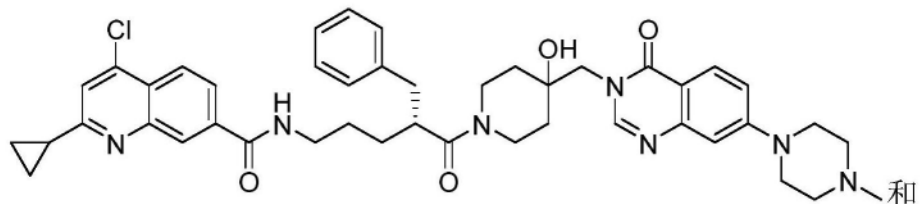


[0185]

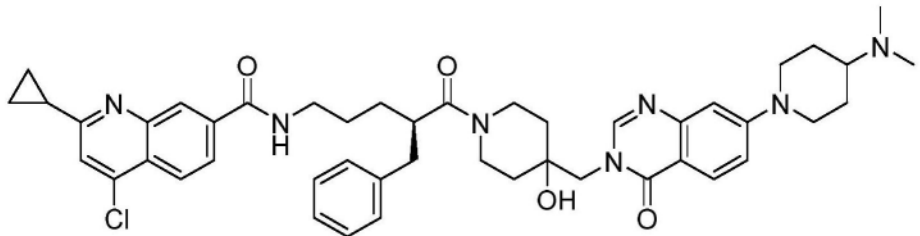


[0186]





[0187]



[0188] 或其药学上可接受的盐。

[0189] 在一些实施例中,本公开涉及一种药物组合物,其包含式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物)和药学上可接受的载剂。

[0190] 在一些实施例中,本公开涉及一种治疗由USP7调节的疾病或病症的方法,其包含向有此需要的受试者施用式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物),或包含式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物)的药物组合物。

[0191] 在一些实施例中,本公开涉及一种抑制USP7的方法,其包含向有此需要的受试者施用式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物),或包含式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物)的药物组合物。在一些实施例中,与USP7抑制相关的疾病或病症是癌症和转移、神经退行性疾病、免疫病症、糖尿病、骨和关节疾病、骨质疏松症、关节炎炎性病症、心血管疾病、缺血性疾病、病毒感染和疾病、病毒传染性和/或潜伏期以及细菌感染和疾病。

[0192] 在一些实施例中,本公开涉及一种治疗癌症的方法,其包含向有此需要的受试者施用式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物),或包含式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物)的药物组合物。在一些实施例中,癌症是脂肪肉瘤、神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、乳腺癌、膀胱癌、神经胶质瘤、肾上腺皮质癌、多发性骨髓瘤、结肠直肠癌、结肠癌、前列腺癌、非小细胞肺癌、人乳头瘤病毒相关的宫颈癌、口咽癌、阴茎癌、卵巢癌、肛门癌、甲状腺癌、阴道癌、爱泼斯坦-巴尔病毒相关的鼻咽癌、胃癌、直肠癌、甲状腺癌、霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和尤文肉瘤。在一些实施例中,癌症是神经母细胞瘤、多发性骨髓瘤、乳腺癌、神经胶质瘤、结肠癌、前列腺癌或卵巢癌。在一些实施例中,癌症是多发性骨髓瘤。在一些实施例中,癌症是尤文肉瘤。

[0193] 在一些实施例中,本公开涉及一种抑制USP7的方法,其中式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物)与USP7形成共价键。在一些实施例中,共价键用USP7的半胱氨酸残基形成。

[0194] 在一些实施例中,本公开涉及式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物)在制备用于治疗由USP7调节的疾病的药物中的用途。

[0195] 在一些实施例中,本公开涉及用于治疗由USP7调节的疾病的式(I)的化合物(如选自化合物4至144的化合物)。

[0196] 使用方法

[0197] 泛素是一种76个残基的蛋白质,其经由异肽键与蛋白质动态缀合。通常,泛素的C-

末端甘氨酸连接至底物赖氨酸侧链,并且泛素也可以经由半胱氨酸、丝氨酸和苏氨酸侧链以及N-末端胺与底物缀合。McDowell,G.S.&Philpott,A.非典型泛素化:机制和后果(Non-canonical ubiquitylation:Mechanisms and consequences),《国际生物化学和细胞生物学杂志(Int.J.Biochem.Cell Biol.)》45,1833-1842(2013)。泛素本身具有7个赖氨酸侧链,并且存在通过这些赖氨酸侧链或N-末端甲硫氨酸残基缀合的天然存在的泛素的线性链或混合链。泛素缀合是通过泛素激活酶(E1)、缀合酶(E2)和连接酶(E3)的协同作用实现的,并且可以被去泛素酶(DUB)逆转。不同拓扑结构的单泛素标签或泛素链介导蛋白质构象变化以及与许多支架和衔接蛋白的结合,并且泛素化在许多细胞过程中起着关键作用,包括蛋白酶体降解(Nandi,D.等人,泛素-蛋白酶体系统(The Ubiquitin-Proteasome System),《生物科学杂志(J Biosci)》31,137-155(2016)),膜运输(Hurley,J.H.&Stenmark,H.泛素依赖性膜运输的分子机制(Molecular Mechanisms of Ubiquitin-Dependent Membrane Traffic),《生物物理学年度评论(Annu.Rev.Biophys.)》40,119-142(2011)),染色质动力学(Shilatifard,A.通过甲基化和泛素化的染色质修饰:基因表达调控的含义(Chromatin Modifications by Methylation和Ubiquitination:Implications in the Regulation of Gene Expression)《生物化学年鉴(Annu.Rev.Biochem.)》75,243-269(2006))和DNA修复(Jackson,S.P.&Durocher,D.综述泛素和SUMO对DNA损伤响应的调节(Review Regulation of DNA Damage Responses by Ubiquitin和SUMO),《分子细胞(Mol.Cell)》49,795-807(2013))。泛素信号传导也与许多疾病环境有关,包括癌症(Senft,D.,Qi,J.&Ronai,Z.A.致癌转化和癌症疗法中的泛素连接酶(Ubiquitin ligases in oncogenic transformation and cancer therapy),《自然评论癌症(Nat.Rev.Cancer)》18,69-88(2018);Pinto-Fernandez,A.&Kessler,B.M.DUBbing癌症:作为治疗靶点的涉及表观遗传学、DNA损伤和细胞周期的去双甲基化酶(DUBbing cancer:Deubiquitylating enzymes involved in epigenetics,DNA damage and the cell cycle as therapeutic targets),《遗传学前沿(Front.Genet.)》7,1-13(2016))、感染(Isaacson,M.K.&Ploegh,H.L.泛素化、泛素样修饰物和病毒感染中的去泛素化(Ubiquitination,Ubiquitin-like Modifiers, and Deubiquitination in Viral Infection),《细胞宿主微生物(Cell Host Microbe)》5,559-570(2009))和神经变性(Ciechanover,A.&Brundin,P.神经退行性疾病中的泛素蛋白酶体系统:有时是鸡,有时是蛋(The ubiquitin proteasome system in neurodegenerative diseases:sometimes the chicken,sometimes the egg),《神经元(Neuron)》40,427-446神经系统中的泛素蛋白酶体系统(The ubiquitin proteasome system in neurodeg)(2003))。特别是,泛素-蛋白酶体系统(UPS)已经成为肿瘤学中感兴趣的目标,因为蛋白酶体抑制剂和二价底物-E3配体两者已经被批准作为靶向的癌症疗法(Manasanch,E.E.&Orlowski,R.Z.癌症疗法中的蛋白酶体抑制剂(Proteasome inhibitors in cancer therapy),《自然评论临床肿瘤学(Nat.Rev.Clin.Oncol.)》14,417-433(2017);Bartlett,J.B.等人,沙利度胺及其IMiD衍生物作为抗癌药剂的进展(The evolution of thalidomide and its IMiD derivatives as anticancer agents),《自然评论癌症(Nat.Rev.Cancer)》4,314-322(2004))。目前临床上没有DUB抑制剂,这部分地是由于缺乏高质量的探针化合物来解决基础DUB生物学的探索和临床前疾病模型中的靶验证。

[0198] 存在大约100个人类DUB,其属于七个不同的家族,其中六个是半胱氨酸蛋白酶(泛

素特异性蛋白酶[USP],泛素C-末端水解酶[UCH],卵巢肿瘤蛋白酶[OTU],Josephin,Mindy和ZUFSP),并且其中一个为锌金属蛋白酶家族(JAB/MPN/MOV34[JAMM/MPN])。最近开发了若干种靶向USP7的高质量探针。这些探针具有针对USP7的一位数或两位数nM效力、USP7催化结构域结合的共结构确认以及验证针对40+DUB的选择性的活性分布图的特征。Lamberto, I.等人,USP7的有效和选择性非共价活性位点抑制剂的结构导向开发(Structure-Guided Development of a Potent and Selective Non-covalent Active-Site Inhibitor of USP7),《细胞化学生物学(Cell Chem. Biol.)》24,1490-1500(2017);Kategaya, L.等人,USP7小分子抑制剂干扰泛素结合(USP7 small-molecule inhibitors interfere with ubiquitin binding),《自然(Nature)》550,534-538(2017);Turnbull, A.P.等人,通过选择性小分子抑制剂抑制USP7的分子基础(Molecular basis of USP7 inhibition by selective small-molecule inhibitors),《自然》550,481-486(2017);和Gavory, G.等人,高度有效和选择性变构USP7抑制剂的发现和表征(Discovery and characterization of highly potent and selective allosteric USP7 inhibitors),7,(2017)。总的来说,这项工作代表了对USP7和更广泛的DUB的成药能力的思考发生了巨大变化;在2017年之前,在蛋白质数据库(PDB)中没有发表过USP:小分子共晶体结构,并且通过研究报道的DUB概况一致地发现,以前报道的DUB抑制剂通常具有弱($\geq 1\mu\text{M}$)亲和力,并且缺乏DUB之间的高度选择性。Ritorto, M.S.等人,通过MALDI-TOF质谱法来筛选DUB活性和特异性(Screening of DUB activity and specificity by MALDI-TOF mass spectrometry),《自然通讯(Nat. Commun.)》5,4763(2014)。

[0199] USP7是研究最广泛的DUB之一,并且它与多种底物、细胞途径和疾病状态有关。USP7首先被发现作为疱疹病毒E3连接酶ICP0的相互作用伴侣和稳定剂。Everett, R.D.等人,一种新的泛素特异性蛋白酶与PML核结构域动态相关,并且结合至疱疹病毒调节蛋白(A novel ubiquitin-specific protease is dynamically associated with the PML nuclear domain and binds to a herpesvirus regulatory protein),16,1519-1530(1997)。自那以后,还报道了USP7与许多哺乳动物E3连接酶相互作用并对其进行调节,包括MDM2(Li, M.等人,HAUSP在p53-Mdm2途径中的动态作用(A dynamic role of HAUSP in the p53-Mdm2 pathway),《分子细胞(Mol. Cell)》13,879-886(2004))、UHRF1(Ma, H.等人,表观遗传调节因子UHRF1的M期磷酸化调节其与去泛素化酶USP7的物理关联和稳定性(M phase phosphorylation of the epigenetic regulator UHRF1 regulates its physical association with the deubiquitylase USP7 and stability)《美国国家科学院院刊(Proc. Natl. Acad. Sci.)》109,4828-4833(2012))、TRIM27(Zaman, M.M.-U.等人,通过TRIM27-USP7复合物的泛素化-去泛素化调节肿瘤坏死因子 α 诱导的细胞凋亡(Ubiquitination-Deubiquitination by the TRIM27-USP7 Complex Regulates Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Apoptosis),《分子细胞生物学(Mol. Cell. Biol.)》33,4971-4984(2013))、RING1B(de Bie, P.等人,USP7对多梳蛋白RING1B泛素化的调节(Regulation of the Polycomb protein RING1B ubiquitination by USP7),《生物化学和生物物理研究通讯(Biochem. Biophys. Res. Commun.)》400,389-395(2010))、RAD18(Zlatanou, A.等人,USP7对于维持Rad18的稳定性和DNA损伤耐受性至关重要(USP7 is essential for maintaining Rad18 stability and DNA damage tolerance),35,965-976

(2015))、RNF220 (Ma, P. 等人, 泛素连接酶RNF220通过USP7介导的-连环蛋白去泛素化增强典型Wnt信号传导 (The Ubiquitin Ligase RNF220 Enhances Canonical Wnt Signaling through USP7-Mediated Deubiquitination of-*Catenin*).《分子细胞生物学》34, 4355-4366 (2014))、MARCH7 (Nathan, J.A. 等人, 泛素E3连接酶MARCH7受去泛素化酶USP7和USP9X的不同调节 (The ubiquitin E3 ligase MARCH7 is differentially regulated by the deubiquitylating enzymes USP7 and USP9X), *Traffic* 9, 1130-1145 (2008))、RNF168 (Zhu, Q., Sharma, N., He, J., Wani, G. & Wani, A.A. USP7去泛素酶通过稳定RNF168促进泛素依赖性DNA损伤信号传导 (USP7 deubiquitinase promotes ubiquitin-dependent DNA damage signaling by stabilizing RNF168), 《细胞周期 (Cell Cycle)》14, 1413-1425 (2015))、和RNF169 (An, L. 等人, 双重效用NLS驱动RNF169依赖性DNA损伤响应 (Dual-utility NLS drives RNF169-dependent DNA damage responses), 《美国国家科学院院刊》114, E2872-E2881 (2017))。此外, 在具有GMPS和UVSSA的二元复合物中发现了USP7, 并且USP7结合似乎对这些蛋白质的细胞功能至关重要。Van Der Knaap, J.A. 等人, GMP合成酶通过表观遗传沉默子USP7刺激组蛋白H2B去泛素化 (GMP synthetase stimulates histone H2B deubiquitylation by the epigenetic silencer USP7), 《分子细胞》17, 695-707 (2005); Schwertman, P. 等人, UV敏感综合征蛋白UVSSA募集USP7以调节转录偶联修复 (UV-sensitive syndrome protein UVSSA recruits USP7 to regulate transcription-coupled repair), 《自然遗传学 (Nat. Genet.)》44, 598-602 (2012)。

[0200] 在所有这些潜在的底物中, USP7与MDM2的相互作用从机理和治疗的角度来看引起了最大的兴趣。USP7通过其TRAF结构域结合MDM2和p53两者, 并且已经显示对这两种蛋白具有DUB活性。存在新出现的假设, 即USP7充当分子开关, 其中在正常细胞生长期间中, 它去泛素化并且稳定MDM2, 但在存在细胞应激信号的情况下, 它会将其优选的底物改变为p53。Brazhnik, P. & Kohn, K.W. HAUSP通过Mdm2调节从自体泛素化到p53泛素化的转换 (计算机发现) (HAUSP-regulated switch from auto-to p53 ubiquitination by Mdm2 (in silico discovery)), 《数学生物科学 (Math. Biosci.)》210, 60-77 (2007); Kim, R.Q. & Sixma, T.K. USP7的调节: E3综合征的高发生率 (Regulation of USP7: A high incidence of E3 complexes), 《分子生物学杂志 (J. Mol. Biol.)》429, 3395-3408 (2017)。鉴于p53在肿瘤抑制中的关键作用, USP7已经被提议作为TP53-WT肿瘤的治疗靶点, 其推定的作用机制涉及增加p53蛋白水平, 类似于MDM2-p53相互作用抑制剂RG-7388和MDM2/MDM4双重抑制剂ATSP-7041的作用, 这两种抑制剂目前都在临床研究中。Ding, Q. 等人, 发现RG7388, 一种在临床开发中有效的选择性p53-MDM2抑制剂 (Discovery of RG7388, a potent and selective p53-MDM2 inhibitor in clinical development), 《药物化学杂志 (J. Med. Chem.)》56, 5979-5983 (2013); Chang, Y.S. 等人, 钉合 α -螺旋肽药物开发: 用于p53依赖性癌症疗法的MDM2和MDMX的强效双重抑制剂 (Stapled α -helical peptide drug development: A potent dual inhibitor of MDM2 and MDMX for p53-dependent cancer therapy), 《美国国家科学院院刊》110, E3445-E3454 (2013)。然而, 鉴于USP7靶向多种底物, 关于p53突变状态在预测对USP7抑制的响应中的相对重要性存在公开的争论。先前对非选择性USP7抑制剂的若干项研究表明, USP7抑制剂对p53 WT和突变疾病都有效。Chauhan, D. 等人的文章泛素特异性蛋白酶-7的小分子抑制剂诱导多发性骨髓瘤细胞凋亡并且克服硼替佐米耐药性 (A Small

Molecule Inhibitor of Ubiquitin-Specific Protease-7Induces Apoptosis in Multiple Myeloma Cells and Overcomes Bortezomib Resistance)《癌症细胞(Cancer Cell)》22,345-358(2012);Wang,M.等人,USP7抑制剂P5091诱导具有不同P53状态的卵巢癌中的细胞死亡(The USP7Inhibitor P5091 Induces Cell Death in Ovarian Cancers with Different P53 Status),《细胞生理学和生物化学(Cell.Physiol.Biochem.)》43,1755-1766(2018)。这些结果在使用Genentech的DUB选择性USP7抑制剂GNE-6640的研究中得到支持,当在181细胞组中筛选时,所述抑制剂在TP53-WT或突变细胞系中没有产生显著不同的响应。Kategaya,L.等人,USP7小分子抑制剂干扰泛素结合(USP7 small-molecule inhibitors interfere with ubiquitin binding),《自然》550,534-538(2017)。另一方面,已经发现在选择性USP7抑制剂化合物42的情况下,TP53状态是尤文肉瘤和其他癌细胞类型中响应的关键预测因子。Roti,G.等人,《实验医学杂志(J.Exp.Med.)》,215,197-216(2018)。

[0201] 在以前选择性USP7抑制剂的报道中,主要缺失的部分之一是DUB家族以外的非靶标谱。很好的注释的脱靶标概况将有助于澄清USP7抑制剂的p53非依赖性作用是否是由于其他USP7底物或其他化合物靶标。基于与USP7的催化结构域结合的化合物42的结构,设计了一种不可逆的、可亲和标记的类似物的合理合成,这将足以用于蛋白质组范围的概括分析实验和USP7/p53生物学的后续研究。

[0202] USP7还通过Bmi1/Mel18的稳定作用改变了p16INK4a肿瘤抑制因子的水平。Maertens等人,《欧洲分子生物学学会杂志(Embo J.)》,29,2553-2565(2010)。参与基因组完整性/调节的另外的蛋白质,如DNMT1 DNA甲基化酶和Claspin衔接子也由USP7稳定。Du等人,《科学信号传导(Science Signaling)》,3(146):ra80(2010);Faustrup等人,《细胞生物学杂志(J.Cell Biol.)》,184(1):13-9(2009)。重要的是,USP7和DNMT1(一种参与维持表观遗传甲基化的蛋白,需要沉默参与发育和癌症的基因)的丰度与人类结肠癌相关(Du等人,2010)。在人类细胞中,USP7也显示出对熟知的肿瘤抑制基因PTEN进行去泛素化,这引起其核输出,从而使其失活。参见Song等人,《自然》,455(7214),813-7(2008)。更重要的是,在前列腺癌中首次报道了USP7的过表达,并且这种过表达与肿瘤的侵袭性直接相关(Song等人,2008)。

[0203] 最近,若干表观遗传修饰剂,包括甲基转移酶PHF8(Wang等人,2016a),脱甲基酶DNMT1(Du等人,2010,Felle等人,《核酸研究(Nucleic Acids Res)》39,8355-65,2011,Qin等人,《细胞生物技术研究(J Cell Biochem)》,112,439-44,2011),和乙酰转移酶Tip60(Dar等人,《分子细胞生物学(Mol Cell Biol)》,33,3309-20,2013)以及H2B本身(van der Knaap等人,《分子细胞》17,695-707,2005)已经被鉴定为USP7的直接靶标。USP7的其他值得注意的靶标包括转录因子FOXP3,其在Treg细胞中将此DUB酶与免疫应答联系起来(van Loosdregt等人,《免疫学(Immunity)》39,259-71,2013),以及N-Myc,其在神经母细胞瘤细胞中是稳定的,Tavana等人,《自然医学(Nat Med)》22,1180-1186,2016。与USP7对不同底物和生物过程的调节一致,USP7已经成为多种恶性肿瘤的药物靶标,所述恶性肿瘤包括多发性骨髓瘤(Chauhan等人,《癌症细胞》,22,345-58,2012)、乳腺癌(Wang等人,2016a)、神经母细胞瘤(Tavana等人,2016)、神经胶质瘤(Cheng等人,《肿瘤学报道(Oncol Rep)》29,1730-6,2013)和卵巢癌(Zhang等人,《东北实验医学杂志(Tohoku J Exp Med)》,239,165-75,

2016)。USP7在人类细胞中也显示出去泛素化FOXO4,这引起其核输出并因此引起其失活;因此,致癌的PI3K/PKB信号传导通路被激活(van der Horst等人,《自然细胞生物学(Nat Cell Biol.)》2006,8,1064-1073)。最后,USP7在p53介导的对各种类型的应激(如DNA损伤和氧化应激)的细胞响应中起重要作用(Marchenko等人,《欧洲分子生物学学会杂志》2007,26,923-934.Meulmeester等人,《分子细胞》2005,18,565-576,van der Horst等人,《自然细胞生物学》2006,8,1064-1073)。

[0204] 多发性骨髓瘤(MM)是一种不可治愈的血液恶性肿瘤,其特征在于骨髓中异常浆细胞的积聚,这阻碍了正常血细胞的产生。近年来,由于在治疗方案中引入蛋白酶体抑制剂和免疫调节剂,MM患者的平均存活率有所提高,但仍相当低,仅为5年。蛋白酶体抑制剂硼替佐米验证了泛素蛋白酶体系统作为MM药物开发的治疗靶点。由于其在p53降解中的作用,USP7是MM的治疗靶点。与正常骨髓细胞相比,USP7在MM患者肿瘤细胞和MM细胞系中高度表达。TP53的突变或缺失是MM的晚期事件,表明经由药物抑制USP7增加p53可能是这种恶性肿瘤的有效治疗策略。

[0205] 尤文肉瘤是一种罕见类型的癌症,其发生在骨骼中或骨骼周围的软组织中。尤文肉瘤更常见于青少年和年轻人。目前尤文肉瘤的治疗标准是化疗、放疗和手术。

[0206] 本文公开了用于治疗 and 预防受益于USP7调节的疾病和病况的方法,其包含向有此需要的受试者施用本文公开的化合物的任何一种或其药学上可接受的盐。

[0207] 本文公开了用于治疗 and 预防受益于USP7抑制的疾病和病况的方法,其包含向有此需要的受试者施用本文公开的化合物中的任何一种或其药学上可接受的盐。

[0208] 本文公开了用于抑制USP7的方法,其包含向有此需要的受试者施用本文公开的化合物中的任何一种或其药学上可接受的盐。

[0209] 在一些实施例中,本文公开了治疗由USP7调节的疾病或病症的方法,其包含向有此需要的受试者施用本文公开的化合物中的任何一种或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,本文公开了预防由USP7调节的疾病或病症的方法,其包含向有此需要的受试者施用本文公开的化合物中的任何一种或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,USP7的调节涉及抑制USP7。

[0210] 在一些实施例中,所述疾病或病症选自癌症和转移、神经退行性疾病、免疫病症、糖尿病、骨和关节疾病、骨质疏松症、关节炎炎性病症、心血管疾病、缺血性疾病、病毒感染和疾病、病毒传染性和/或潜伏期以及细菌感染和疾病。

[0211] 本文公开了USP7抑制剂用于制备用于治疗或预防由USP7调节的疾病或病况的药物的用途,其中所述药物包含本文公开的化合物中的任何一种或其药学上可接受的盐。

[0212] 本文公开了用于治疗由USP7调节的疾病或病况的公开的化合物中的任何一种或其药学上可接受的盐。

[0213] 本文公开了治疗癌症的方法,其包含向有此需要的受试者施用本文公开的化合物中的任何一种或其药学上可接受的盐。

[0214] 本文公开了抑制USP7的方法,其中本文公开的化合物中的任何一种或其药学上可接受的盐与USP7形成共价键。在一些实施例中,共价键用USP7的半胱氨酸残基形成。在一些实施例中,USP7的半胱氨酸残基是半胱氨酸223(C223)。

[0215] 在本文公开的方法和用途的一些实施例中,USP7的调节涉及抑制USP7。在一些实

施例中,USP7的抑制是不可逆的。在一些实施例中,抑制USP7是针对疾病或病况的新疗法。

[0216] 在一些实施例中,示例性癌症包括但不限于p53 WT癌症。

[0217] 在一些实施例中,示例性癌症包括但不限于实体瘤。

[0218] 在一些实施例中,示例性癌症包括但不限于脂肪肉瘤、神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、乳腺癌、膀胱癌、神经胶质瘤、肾上腺皮质癌、多发性骨髓瘤、结肠直肠癌、结肠癌、前列腺癌、非小细胞肺癌、人乳头瘤病毒相关的宫颈癌、口咽癌、阴茎癌、卵巢癌、肛门癌、甲状腺癌、阴道癌、爱泼斯坦-巴尔病毒相关的鼻咽癌、胃癌、直肠癌、甲状腺癌、霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和尤文肉瘤。

[0219] 在一些实施例中,癌症选自神经母细胞瘤、多发性骨髓瘤、乳腺癌、神经胶质瘤、结肠癌、前列腺癌和卵巢癌。在一些实施例中,癌症是神经母细胞瘤、乳腺癌、神经胶质瘤、多发性骨髓瘤或卵巢癌。在一些实施例中,癌症是多发性骨髓瘤。在一些实施例中,癌症是尤文肉瘤。

[0220] 本文公开了治疗神经退行性疾病的方法,其包含向有此需要的受试者施用本文公开的化合物中的任何一种或其药学上可接受的盐。

[0221] 在一些实施例中,神经退行性疾病包括但不限于阿尔茨海默病、多发性硬化、亨廷顿舞蹈病、传染性脑膜炎、脑脊髓炎、帕金森病、肌萎缩性侧索硬化或脑炎。

[0222] 在某些实施例中,本发明的化合物可以单独使用或与另一种类型的治疗剂联合施用。如本文所用,短语“联合施用”是指两种或更多种不同治疗性化合物的任何形式的施用,使得第二化合物在先前施用的治疗性化合物在体内仍然有效的情况下施用(例如,两种化合物在受试者中同时有效,这可能包括两种化合物的协同作用)。例如,不同的治疗化合物可以在同一制剂中或在分开的制剂中同时或依次施用。在某些实施例中,不同的治疗性化合物可以在1小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或一周内施用。因此,接受此类治疗的受试者可以受益于不同治疗化合物的联合作用。

[0223] 在某些实施例中,本发明的化合物与一种或多种另外的治疗剂的联合施用相对于本发明的化合物(例如,式I或Ia的化合物)或一种或多种另外的治疗药剂的每次单独施用提供了改善的功效。在某些此类实施例中,联合施用提供了相加效应,其中相加效应是指本发明的化合物和一种或多种另外的治疗药剂的单独施用的每种效应的总和。在一些实施例中,联合施用提供了协同效应。在一些实施例中,组合指数小于0.6。

[0224] 在一些实施例中,另外的治疗药剂是DNA损伤剂。在一些实施例中,另外的治疗药剂是p53稳定剂。在一些实施例中,另外的治疗药剂选自RG7388、依托泊苷、GSK2830371和阿霉素。

[0225] 定义

[0226] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术术语和科学术语具有与本公开领域的技术人员通常所理解的含义相同的含义。以下参考文献为技术人员提供了本公开中使用的许多术语的一般定义:Singleton等人,《微生物学和分子生物学词典(Dictionary of Microbiology and Molecular Biology)》(第2版,1994);《剑桥科学与技术词典(The Cambridge Dictionary of Science and Technology)》(Walker编辑,1988);《遗传学词汇表(The Glossary of Genetics)》,第5版,R.Rieger等人(编辑),Springer Verlag(1991);Hale&Marham,《哈珀-柯林斯生物学词典(The Harper Collins Dictionary of Biology)》

(1991)。除非另有说明,否则如本文所用的以下术语具有以下赋予它们的含义。

[0227] 在本公开中,“包含 (comprises)”、“包含 (comprising)”、“含有 (containing)”和“具有 (having)”等可以具有美国专利法中赋予它们的含义,并且可以意指“包括 (includes)”、“包括 (including)”等;“基本上由……组成 (consisting essentially of)”或“基本上由……组成 (consists essentially)”同样具有美国专利法中规定的含义并且所述术语是开放式的,允许存在多于所列举的那些,只要所列举的那些的基本或新颖特征不因存在多于所列举的那些而改变,但是排除现有技术实施例。

[0228] 除非具体说明或从上下文中显而易见,否则如本文所用,术语“或”应被理解为包括性的。除非具体说明或从上下文中显而易见,否则如本文所用,术语“一个/一种 (a)”、“一个/一种 (an)”和“所述 (the)”应被理解为单数或复数。

[0229] 除非另有说明,否则术语“和/或”在本公开中用于意指“和”或“或”。

[0230] 术语“酰基”是本领域公认的,并且是指由通式烃基C(=O)-表示的基团,优选地烷基C(=O)-表示的基团。

[0231] 术语“酰基氨基”是本领域公认的,并且是指被酰基取代的氨基,并且例如可以由式烃基C(=O)NH-表示。

[0232] 术语“烷氧基”是指连接有氧的烷基,优选地低级烷基。代表性的烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基等。

[0233] 术语“烷氧基烷基”是指被烷氧基取代的烷基,并且可以由通式烷基-O-烷基表示。

[0234] 如本文使用的,术语“烯基”是指含有至少一个双键的脂族基团,并且旨在包括“未取代的烯基”和“取代的烯基”,后者是指在烯基的一个或多个碳上具有取代氢的取代基的烯基部分。此类取代基可以出现在一个或多个碳上,这些碳包括或不包括在一个或多个双键中。此外,如下所述,此类取代基包括所有预期用于烷基的取代基,除非稳定性受到限制。例如,预期了烯基被一个或多个烷基、碳环基、芳基、杂环基或杂芳基取代。

[0235] “烷基”基团或“烷烃”是完全饱和的直链或支链非芳香烃。通常,直链或支链烷基具有1至约20个碳原子,优选地1至约10个碳原子,除非另有定义。直链和支链烷基的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基、戊基和辛基。C1至C6直链或支链烷基也称为“低级烷基”。

[0236] 此外,如在整个说明书、实例和权利要求中使用的术语“烷基”(或“低级烷基”)旨在包括“未取代的烷基”和“取代的烷基”,后者是指具有取代烃主链的一个或多个碳上的氢的取代基的烷基部分。如果没有另外规定,此类取代基可以包括例如卤素、羟基、羰基(如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、亚膦酸酯、氨基、酰胺基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、亚磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳族或杂芳族部分。本领域技术人员应理解,如果合适,烃链上被取代的部分本身也可以被取代。例如,取代的烷基的取代基可以包括取代和未取代形式的氨基、叠氮基、亚氨基、酰胺基、磷酰基(包括膦酸酯和次膦酸酯)、磺酰基(包括硫酸酯、亚磺酰胺基、氨磺酰基和磺酸酯)和甲硅烷基,以及醚、烷硫基、羰基(包括酮、醛、羧酸酯和酯)、-CF₃、-CN等。示例性取代的烷基如下所述。环烷基可以进一步被烷基、烯基、烷氧基、烷硫基、氨基烷基、羰基取代的烷基、-CF₃、-CN等取代。此外,当化合价允许时,“烷基”也指双自由基(例如,“亚烷基”)。

[0237] 当与化学部分(如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基)结合使用时,术语“C_{x-y}”意在包括在链中含有x至y个碳的基团。例如,术语“C_{x-y}烷基”是指取代或未取代的饱和烃基团,包括在链中含有x至y个碳的直链烷基和支链烷基,包括卤代烷基如三氟甲基和2,2,2-三氟乙基等。C₀烷基表示氢,其中所述基团在末端位置,如果是内部键。术语“C_{2-y}烯基”和“C_{2-y}炔基”是指取代或未取代的不饱和脂族基团,其长度和可能的取代类似于上述烷基,但分别含有至少一个双键或三键。

[0238] 如本文使用的术语“杂烷基”是指碳原子和至少一个杂原子的饱和或不饱和链,其中没有两个杂原子是相邻的。

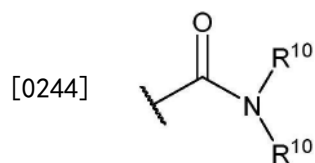
[0239] 此外,如在整个说明书、实例和权利要求中使用的术语“杂烷基”(或“低级杂烷基”)旨在包括“未取代的杂烷基”和“取代的杂烷基”,后者是指在主链的一个或多个碳或杂原子上具有取代氢的取代基的杂烷基部分。如果没有另外规定,此类取代基可以包括例如卤素、羟基、羰基(如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、亚膦酸酯、氨基、酰胺基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氨基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、亚磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳族或杂芳族部分。本领域技术人员将理解,如果合适,在杂烷基链上被取代的部分本身也可以被取代。例如,取代的杂烷基的取代基可以包括取代和未取代形式的氨基、叠氨基、亚氨基、酰胺基、磷酰基(包括膦酸酯和次膦酸酯)、磺酰基(包括硫酸酯、亚磺酰胺基、氨磺酰基和磺酸酯)和甲硅烷基,以及醚、烷硫基、羰基(包括酮、醛、羧酸酯和酯)、-CF₃、-CN等。

[0240] 本文所用的术语“烷基氨基”是指被至少一个烷基取代的氨基。

[0241] 本文所用的术语“烷硫基”是指被烷基取代的硫醇基,并且可以由通式烷基S-表示。

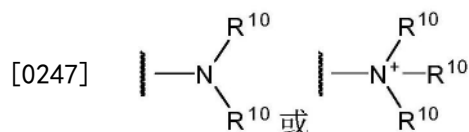
[0242] 如本文所用的术语“炔基”是指含有至少一个三键的脂族基团,并且旨在包括“未取代的炔基”和“取代的炔基”,后者是指在炔基的一个或多个碳上具有取代氢的取代基的炔基部分。此类取代基可以出现在一个或多个碳上,这些碳包括或不包括在一个或多个三键中。此外,如上所述,此类取代基包括所有预期用于烷基的取代基,除非稳定性受到限制。例如,预期炔基被一个或多个烷基、碳环基、芳基、杂环基或杂芳基取代。

[0243] 本文所用的术语“酰胺”是指基团



[0245] 其中每个R¹⁰独立地代表氢或烃基团,或者两个R¹⁰与它们所连接的N原子结合在一起形成在环结构中具有4至8个原子的杂环。

[0246] 术语“胺”和“氨基”是本领域公认的,并且是指未取代的和取代的胺及其盐,例如,可以由以下表示的部分:



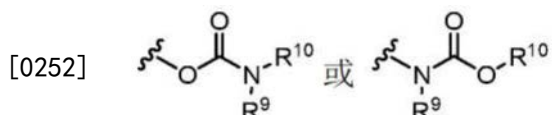
[0248] 其中每个R¹⁰独立地代表氢或烃基团,或者两个R¹⁰与它们所连接的N原子结合在一

起形成在环结构中具有4至8个原子的杂环。本文所用的术语“氨基烷基”是指被氨基取代的烷基。

[0249] 本文所用的术语“芳烷基”是指被芳基取代的烷基。

[0250] 本文所用的术语“芳基”包括取代或未取代的单环芳族基团,其中环的每个原子是碳。优选地,环是5至7元环,更优选地6元环。术语“芳基”还包括具有两个或更多个环的多环体系,其中两个或更多个碳为两个相邻环所共有,其中至少一个环是芳族的,例如,其他环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。芳基包括苯、萘、菲、苯酚、苯胺等。此外,当化合价允许时,“芳基”也指双自由基(例如,“亚芳基”)。

[0251] 术语“氨基甲酸酯”是本领域公认的并且是指基团



[0253] 其中 R^9 和 R^{10} 独立地表示氢或烃基团如烷基,或者 R^9 和 R^{10} 与插入的原子结合在一起形成在环结构中具有4至8个原子的杂环。

[0254] 如本文使用的术语“碳环(carbocycle)”和“碳环(carbocyclic)”是指饱和或不饱和环,其中环的每个原子是碳。术语碳环包括芳香族碳环和非芳香族碳环两者。非芳香族碳环包括环烷烃环和环烯烃环,在环烷烃环中所有碳原子都是饱和的,在环烯烃环中含有至少一个双键。

[0255] 术语“碳环”包括5至7元单环和8至12元双环。双环碳环的每个环可以选自饱和环、不饱和环和芳族环。碳环包括双环分子,其中在两个环之间共享一个、两个或三个或更多个原子。术语“稠合碳环”是指双环碳环,其中每个环与另一个环共享两个相邻原子。稠合碳环的每个环可以选自饱和环、不饱和环和芳族环。在一个示例性实施例中,芳环,例如苯基,可以与饱和或不饱和环(例如环己烷、环戊烷或环己烯)稠合。当化合价允许时,饱和、不饱和和芳族双环的任何组合包括在碳环的定义中。示例性“碳环”包括环戊烷、环己烷、双环[2.2.1]庚烷、1,5-环辛二烯、1,2,3,4-四氢萘、双环[4.2.0]辛-3-烯、萘和金刚烷。示例性稠合碳环包括十氢化萘、萘、1,2,3,4-四氢吡啶、1,2,3,4-四氢萘、双环[4.2.0]辛烷、4,5,6,7-四氢-1H-茚和双环[4.1.0]庚-3-烯。“碳环”可以在能够携带氢原子的任何一个或多个位置被取代。

[0256] “环烷基”基团是完全饱和的环状烃。“环烷基”包括单环和双环。典型地,单环环烷基具有3至约10个碳原子,更典型地3至8个碳原子,除非另有定义。双环环烷基的第二个环可以选自饱和环、不饱和环和芳族环。环烷基包括双环分子,其中一个、两个或三个或更多个原子在两个环之间共享。此外,当化合价允许时,“环烷基”也指双自由基(例如,“亚环烷基”)。术语“稠合的环烷基”是指双环环烷基,其中每个环与另一个环共享两个相邻原子。稠合的双环环烷基的第二个环可以选自饱和环、不饱和环和芳族环。“环烯基”基团是含有一个或多个双键的环状烃。

[0257] 如本文使用的术语“碳环烷基”是指被碳环基团取代的烷基。

[0258] 术语“碳酸酯”是本领域公认的,并且是指基团-OC(=O)R₁₀,其中R₁₀代表烃基团。

[0259] 本文使用的术语“羧基”是指由式CO₂H表示的基团。

[0260] 如本文使用的术语“酯”是指基团-C(O)OR₁₀,其中R₁₀代表烃基团。

[0261] 本文所用的术语“醚”是指通过氧与另一烃基连接的烃基。因此,烃基的醚取代基可以是烃基-0-。醚可以是对称的或不对称的。醚的实例包括但不限于杂环-0-杂环和芳基-0-杂环。醚包括“烷氧基烷基”,其可以由通式烷基-0-烷基表示。

[0262] 如本文使用的术语“卤代”、“Hal”和“卤素(halogen)”意指卤素,并且包括氯、氟、溴和碘。

[0263] 本文所用的术语“杂芳烷基(hetaralkyl)”和“杂芳烷基(heteroaralkyl)”是指被杂芳基取代的烷基。

[0264] 术语“杂芳基(heteroaryl)”和“杂芳基(hetaryl)”包括取代或未取代的芳族单环结构,优选地5至7元环,更优选地5至6元环,其环结构包括至少一个杂原子,优选地一至四个杂原子,更优选地一或两个杂原子。术语“杂芳基(heteroaryl)”和“杂芳基(hetaryl)”还包括具有两个或更多个环的多环体系,其中两个或更多个碳为两个相邻环所共有,其中至少一个环是杂芳族的,例如,其他环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂芳基包括例如吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、唑、噻唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪和嘧啶等。此外,当化合价允许时,“杂芳基”也指双自由基(例如,“亚杂芳基”)。

[0265] 本文所用的术语“杂原子”是指除碳或氢以外的任何元素的原子。优选的杂原子是氮、氧和硫。

[0266] 术语“杂环基”、“杂环”和“杂环的”是指取代或未取代的非芳族环结构,优选地3至10元环,更优选地3至7元环,其环结构包括至少一个杂原子,优选地一至四个杂原子,更优选地一或两个杂原子。术语“杂环基”和“杂环的”还包括具有两个或更多个环的多环体系,其中两个或更多个碳为两个相邻环所共有,其中至少一个环是杂环的,例如,其他环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂环基包括例如哌啶、哌嗪、吡咯烷、吗啉、内酯、内酰胺等。此外,当化合价允许时,“杂环基”也指双自由基(例如,“亚杂环基”)。

[0267] 如本文使用的术语“杂环烷基”是指被杂环基团取代的烷基。

[0268] 如本文所用,术语“烃基”是指通过碳原子键合的基团,其不具有=O或=S取代基,并且通常具有至少一个碳-氢键和主要碳主链,但可以任选地包括杂原子。因此,对于本申请的目的,基团(如甲基、乙氧基乙基、2-吡啶基和三氟甲基)被认为是烃基,但取代基如乙酰基(其在连接碳上具有=O取代基)和乙氧基(其通过氧而不是碳连接)不是烃基。烃基包括但不限于芳基、杂芳基、碳环、杂环基、烷基、烯基、炔基及其组合。

[0269] 本文所用的术语“羟基烷基”是指被羟基取代的烷基。

[0270] 当与化学部分(如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基)结合使用时,术语“低级”意在包括其中在取代基中存在十个或更少,优选地六个或更少的非氢原子的基团。例如,“低级烷基”是指含有十个或更少碳原子,优选地六个或更少碳原子的烷基。在某些实施例中,本文定义的酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基取代基分别是低级酰基、低级酰氧基、低级烷基、低级烯基、低级炔基或低级烷氧基,无论它们是单独出现还是与其他取代基组合出现,如在叙述羟基烷基和芳烷基中(在这种情况下,例如,当计算烷基取代基中的碳原子时,不计算芳基中的原子)。

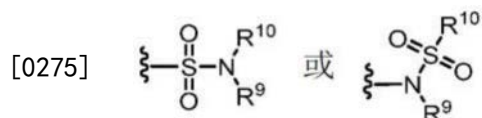
[0271] 术语“多环基”、“多环”和“多环的”是指两个或更多个环(例如,环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基),其中两个或更多个原子为两个相邻所共有,例如环是“稠环”。多环的每个环可以是取代的或未取代的。在某些实施例中,多环的每个环在环中含有3

至10个原子,优选地5至7个原子。

[0272] 术语“取代的”是指具有代替主链的一个或多个碳上的氢的取代基的部分。应当理解,“取代”或“被……取代”包括隐含的条件,即这种取代与被取代的原子和取代基的允许化合价一致,并且所述取代产生稳定的化合物,例如,其不会自发地经历转化,如通过重排、环化、消除等。如本文所用,术语“取代的”预期包括有机化合物的所有可允许的取代基。在广义方面,可允许的取代基包括有机化合物的非环状和环状、支化和非支化、碳环和杂环、芳族和非芳族取代基。对于合适的有机化合物,可允许的取代基可以是一个或多个并且可以相同或不同。出于本发明的目的,如氮等杂原子可以具有氢取代基和/或本文所述的有机化合物的满足杂原子的化合价的任何可允许的取代基。取代基可以包括本文所述的任何取代基,例如卤素、羟基、羰基(如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、亚膦酸酯、氨基、酰胺基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、亚磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳族或杂芳族部分。本领域技术人员将理解,如果合适,取代基本身可以被取代。除非具体指出为“未取代的”,否则本文提及化学部分应被理解为包括取代的变体。例如,提及“芳基”基团或部分隐含地包括取代的变体和未取代的变体两者。

[0273] 术语“硫酸酯”是本领域公认的并且指基团-OS₃H或其药学上可接受的盐。

[0274] 术语“磺酰胺”是本领域公认的,并且是指由以下通式表示的基团:



[0276] 其中R⁹和R¹⁰独立地代表氢或烷基,如烷基,或者R⁹和R¹⁰与插入的原子一起形成在环结构中具有4至8个原子的杂环。

[0277] 术语“亚砷”是本领域公认的并且是指基团-S(O)-R₁₀,其中R₁₀代表烷基。

[0278] 术语“磺酸酯”是本领域公认的,并且是指基团SO₃H,或其药学上可接受的盐。

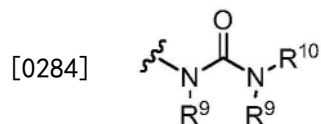
[0279] 术语“砷”是本领域公认的,并且是指基团-S(O)₂-R₁₀,其中R₁₀代表烷基。

[0280] 本文所用的术语“硫代烷基”是指被硫醇基团取代的烷基。

[0281] 如本文使用的术语“硫酯”是指基团-C(O)SR₁₀或-SC(O)R₁₀,其中R₁₀代表烷基。

[0282] 本文所用的术语“硫醚”等同于其中氧被硫替代的醚。

[0283] 术语“脲”是本领域公认的,并且可以由以下通式表示:



[0285] 其中R⁹和R¹⁰独立地代表氢或烷基,如烷基,或者R⁹的出现与R¹⁰和插入的原子结合在一起形成在环结构中具有4至8个原子的杂环。

[0286] 术语“保护基团”是指一组原子,当其连接到分子中的反应性官能团上时,掩盖、降低或阻止所述官能团的反应性。通常,在合成过程期间,可以根据需要选择性地除去保护基团。保护基团的实例可以在Greene和Wuts,有机化学中的保护基团(Protective Groups in Organic Chemistry),第3版,1999,John Wiley&Sons,NY和Harrison等人,合成有机方法简编(Compendium of Synthetic Organic Methods),第1-8卷,1971-1996,John Wiley&

Sons, NY中找到。代表性的氮保护基团包括但不限于甲酰基、乙酰基、三氟乙酰基、苄基、苄氧基羰基(“CBZ”)、叔丁氧基羰基(“Boc”)、三甲基甲硅烷基(“TMS”)、2-三甲基甲硅烷基-乙磺酰基(“TES”)、三苯甲基和取代的三苯甲基、烯丙氧基羰基、9-苄基甲氧基羰基(“Fmoc”)、硝基-羧基氧基羰基(“NVOC”)等。代表性的羟基保护基团包括但不限于羟基被酰化(酯化)或烷基化的那些基团,如苄基和三苯甲基醚,以及烷基醚、四氢吡喃基醚、三烷基甲硅烷基醚(例如TMS或TIPS基团)、二醇醚,如乙二醇和丙二醇衍生物和烯丙基醚。

[0287] 术语“前药”旨在涵盖在生理条件下可转化为本发明的治疗性活性剂的化合物(例如,式I化合物)。用于制备前药的常用方法是包括一个或多个选定的部分,这些部分在生理条件下被水解以显示所需的分子。在其他实施例中,前药被受试者的酶促活性转化。例如,酯或碳酸酯(例如,醇或羧酸的酯或碳酸酯)是本发明的优选的前药。在某些实施例中,上述制剂中的一些或所有式I的化合物可以用相应的合适的前药替代,例如,其中母体化合物中的羟基以酯的形式存在,或者母体化合物中存在的碳酸酯或羧酸以酯的形式存在。

[0288] 本发明包括如本文所述的所有药学上可接受的同位素标记的化合物,其中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通常在自然界中发现的原子质量或质量数的原子替代。在某些实施例中,本发明的化合物富含此类同位素标记的物质(例如,组合物中化合物的同位素分布不同于天然或典型同位素分布的化合物)。

[0289] 适合包含在本发明的化合物中的同位素的实例包括氢的同位素如 ^2H 和 ^3H 碳如 ^{11}C 、 ^{13}C 和 ^{14}C ,氯如 ^{36}Cl ,氟如 ^{18}F ,碘如 ^{123}I 和 ^{125}I ,氮如 ^{13}N 和 ^{15}N ,氧如 ^{15}O 、 ^{17}O 和 ^{18}O ,磷如 ^{32}P ,以及硫如 ^{35}S 。

[0290] 本文公开的某些同位素标记的化合物(例如并入放射性同位素的化合物)可用于药物和/或基质组织分布研究。放射性同位素氚(即 ^3H)和碳-14(即 ^{14}C)考虑到其易于并入和易于检测,可用于此目的。

[0291] 用较重的同位素如氘(即 ^2H)取代可以提供某些治疗优势,这些优势源于更大的代谢稳定性,例如体内半衰期增加或剂量需求减少,因此在一些情况下可能是优选的。

[0292] 用发射正电子的同位素,如 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{15}O 和 ^{13}N 进行替代,可用于检查底物受体占位的正电子发射断层扫描(PET)研究。

[0293] 本发明的化合物可以具有一个或多个不对称碳原子,并且可以以光学纯的对映异构体、对映异构体的混合物例如如外消旋体、光学纯的非对映异构体、非对映异构体的混合物、非对映异构体族配对或非对映异构体外消旋体的混合物的形式存在。光学活性形式可以通过例如拆分外消旋体、通过不对称合成或不对称色谱法(用手性吸附剂或洗脱剂的色谱法)获得。也就是说,某些公开的化合物可以以各种立体异构形式存在。

[0294] 立体异构体是仅在其空间排列方面不同的化合物。对映异构体为镜像不可重叠的立体异构体对,最常是因为其含有充当手性中心的不对称取代碳原子。“对映异构体”意指为彼此的镜像且不可重叠的一对分子中的一个。“非对映异构体”是没有镜像关系的立体异构体,最常见的原因是它们含有两个或更多个不对称取代的碳原子,并且代表一个或多个手性碳原子周围取代基的构型。化合物的对映异构体可以例如通过使用一种或多种熟知的技术方法(例如如手性色谱法和基于此的分离方法)从外消旋物中分离对映异构体来制备。本领域技术人员可以容易地确定从外消旋混合物中分离本文所述的化合物的对映异构体的合适的技术和/或方法。

[0295] “几何异构体”意指与碳-碳双键、环烷基环或桥连的双环系统相关的取代基原子的取向不同的异构体。碳-碳双键的每一侧上的原子(除了H外)可以是E(取代基在碳-碳双键的相对侧)或Z(取代基在同一侧上定向)构型。“R”、“S”、“S*”、“R*”、“E”、“Z”、“顺式”和“反式”表示相对于核心分子的构型。某些公开的化合物可以以阻转异构体形式存在。阻转异构体是由围绕单键的受阻旋转产生的立体异构体,其中旋转的空间应变势垒足够高以允许分离构象异构体。本发明的化合物可以通过异构体特异性合成或从异构体混合物中拆分被制备成单独的异构体。常规的拆分技术包括使用光学活性酸形成异构体对的每种异构体的游离碱的盐(随后分级结晶并再生游离碱),使用光学活性胺形成异构体对的每种异构体的酸形式的盐(随后分级结晶并再生游离酸),使用旋光纯酸、胺或醇形成异构体对的每种异构体的酯或酰胺(随后进行色谱分离并除去手性助剂),或者使用各种熟知的色谱方法拆分起始材料或最终产物的异构体混合物。

[0296] 非对映异构体的重量纯度是一种非对映异构体的重量与所有非对映异构体的重量的比率。当公开的化合物的立体化学被命名或由结构描述时,命名或描述的立体异构体相对于其他立体异构体为至少约60重量%、约70重量%、约80重量%、约90重量%、约99重量%或约99.9重量%。当单一对映异构体被命名或由结构描述时,所描述或命名的对映异构体为至少约60重量%、约70重量%、约80重量%、约90重量%、约99重量%或约99.9重量%的光学纯的。当单个非对映异构体被命名或由结构描述时,所描述或命名的非对映异构体为至少约60重量%、约70重量%、约80重量%、约90重量%、约99重量%或约99.9重量%纯的。光学纯度百分比是对映异构体的重量与对映异构体的重量加上其光学异构体的重量的比率。

[0297] 按摩尔分数计的纯度百分比是对映异构体(或非对映异构体)的摩尔数与对映异构体(或非对映异构体)的摩尔数加上其光学异构体的摩尔数的比率。当公开的化合物的立体化学被命名或由结构描述时,命名或描述的立体异构体相对于其他立体异构体按摩尔分数计为至少约60%、约70%、约80%、约90%、约99%或约99.9%纯的。当单个对映异构体被命名或由结构描述时,所描述或命名的对映异构体按摩尔分数计为至少约60%、约70%、约80%、约90%、约99%或约99.9%纯的。当单个非对映异构体被命名或由结构描述时,所描述或命名的非对映异构体按摩尔分数计为至少约60%、约70%、约80%、约90%、约99%或约99.9%纯的。

[0298] 当公开的化合物被命名或由结构描述而没有指明立体化学,并且所述化合物具有至少一个手性中心时,应当理解所述名称或结构涵盖所述化合物的不含相应光学异构体的任一对映异构体、所述化合物的外消旋混合物或相对于其相应光学异构体富含一种对映异构体的混合物。当公开的化合物被命名或由结构描述而没有指明立体化学并且具有两个或多个手性中心时,应当理解所述名称或结构涵盖不含其他非对映异构体的非对映异构体、不含其他非对映异构体对的大量非对映异构体、非对映异构体的混合物、非对映异构体对的混合物、一种非对映异构体相对于其他非对映异构体富集的非对映异构体的混合物、或者一种或多种非对映异构体相对于其他非对映异构体富集的非对映异构体的混合物本发明包含所有这些形式。

[0299] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”意指式(I)的化合物的任何药学上可接受的盐。例如,本文所述的任何化合物的药学上可接受的盐包括那些在合理的医学判断范围

内、适合用于与人和动物的组织接触而没有不适当的毒性、刺激、过敏反应并且与合理的益处/风险比相称的盐。药学上可接受的盐是本领域中熟知的。例如, 药学上可接受的盐描述于: 贝尔吉 (Berge) 等人, 医药科学杂志 (J. Pharmaceutical Sciences) 66:1-19, 1977 以及医药级盐: 特性、选择和用途 (Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use) (P.H. 斯塔尔 (P.H. Stahl) 和 C.G. 韦穆特 (C.G. Wermuth) 编), 德国化学学会出版社 (Wiley-VCH), 2008。这些盐可以在本文所述的化合物的最终分离和纯化期间原位制备, 或者通过使游离碱基团与合适的有机酸反应单独制备。

[0300] 本发明的化合物可以具有可电离的基团, 以便能够制备成药学上可接受的盐。这些盐可以是涉及无机酸或有机酸的酸加成盐, 或者在本发明的化合物的酸性形式的情况下, 这些盐可以由无机碱或有机碱制备。通常, 这些化合物以药学上可接受的盐的形式制备或使用, 所述盐作为药学上可接受的酸或碱的加成产物制备。合适的药学上可接受的酸和碱以及用于制备合适的盐的方法是本领域熟知的。盐可由药学上可接受的无毒酸和碱 (包括无机和有机酸和碱) 制备。

[0301] 代表性的酸加成盐包括乙酸盐、己二酸盐、褐藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙烷磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚糖酸盐、己酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙烷磺酸盐、乳糖醛酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、硫酸月桂盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲烷磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟碱酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、泛酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、特戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、十一烷酸盐和戊酸盐。代表性的碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙和镁, 以及无毒的铵、季铵和胺阳离子, 包括但不限于铵、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺和乙胺。

[0302] 预期施用的术语“受试者”包括但不限于人类 (即, 任何年龄组的男性或女性, 例如, 儿科受试者 (例如, 婴儿、儿童、青少年) 或成人受试者 (例如, 年轻人、中年人 or 老年人)) 和/或其他灵长类动物 (例如, 食蟹猴、恒河猴); 哺乳动物, 包括商业上相关的哺乳动物, 如牛、猪、马、绵羊、山羊、猫和/或狗; 和/或鸟类, 包括商业上相关的鸟类, 如鸡、鸭、鹅、鹌鹑和/或火鸡。优选的受试者是人类。

[0303] 如本文所用, “预防”病症或病况的治疗剂是指在统计样品中, 相对于未处理的对照样品, 减少经处理的样品中病症或病况的发生, 或相对于未处理的对照样品, 延迟病症或病况的一种或多种症状的发作或降低其严重性的化合物。

[0304] 在治疗中, 目标是防止或减缓 (减轻) 不期望的生理状况、病症或疾病, 或者获得有益的或期望的临床结果。有益的或期望的临床结果包括但不限于症状的缓解; 病况、病症或疾病的程度的减轻; 病况、病症或疾病的稳定 (即不恶化) 状态; 病况、病症或疾病进展的发作延迟或减缓; 病况、病症或疾病状态的改善或缓解 (无论是部分或全部), 无论是可检测的还是不可检测的; 至少一个可测量的物理参数的改善, 所述物理参数不一定是患者可辨别的; 或病况、病症或疾病的增强或改善。治疗包括在没有水平过度副作用的情况下引发临床上显著的反应。如果不接受治疗, 治疗还包括与预期的生存期相比延长生存期。

[0305] 实例

[0306] 实例1:本公开的示例性化合物的制备

[0307] 分析方法、材料和仪器

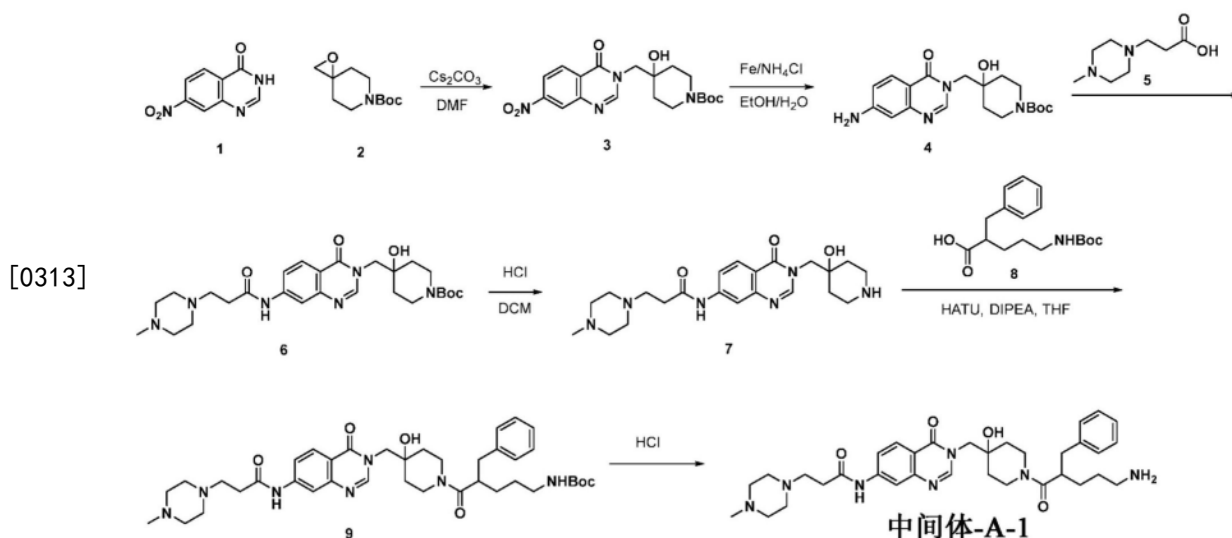
[0308] 所有的试剂都是在中国商业获得的并且在不需要进一步纯化的情况下使用。

[0309] 使用四甲基硅烷 (TMS) 作为参考标准品 (0.0ppm), 在Bruker仪器 (400MHz或500MHz) 上记录 CDCl_3 、 CD_3OD 或 DMSO-d_6 溶液 (以ppm报道) 的 $^1\text{H-NMR}$ 光谱。

[0310] 使用具有电喷雾电离源的Agilent G6100系列质谱仪进行质谱测量。

[0311] 在Biotage系统 (制造商:Biotage Sweden AB) 上使用硅胶柱进行柱层析。

[0312] 中间体A-1的合成



[0314] 4-羟基-4-((7-硝基-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (中间体3)

[0315] 将7-硝基喹唑啉-4(3H)-酮 (5.0g, 26.0mmol) 和1-氧杂-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羧酸叔丁酯 (6.9g, 32.0mmol) 在DMF (60.0mL) 中的混合物在80℃下搅拌16小时。在冷却至室温后,将混合物倒入水 (200mL) 中,收集所得的固体,并且通过硅胶柱色谱法 (EA\PE=2\1) 进一步纯化,以得到呈黄色固体的化合物3 (3.0g, 产率28%)。LCMS (m/z): 349.1 [M+56+H]⁺。

[0316] 4-((7-氨基-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯 (中间体4)

[0317] 将中间体3 (2700mg, 6.6mmol)、Fe (1848mg, 6.6mmol) 和 NH_4Cl (1848mg, 6.6mmol) 在EtOH (50.0mL) 和 H_2O (6.0mL) 中的混合物在80℃下搅拌2小时。在冷却至室温后,用EtOAc (100mL) 稀释混合物,用饱和 NaHCO_3 溶液 (100mL) 洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并在真空中浓缩,以得到呈白色固体的化合物4 (2.0g, 产率:83%)。LCMS (m/z): 375.2 [M+H]⁺。

[0318] 4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌啶-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (中间体6)

[0319] 在0℃下,将草酰氯 (1142mg, 9.0mmol) 逐滴加入到中间体5 (1032mg, 6.0mmol) 和DMF (0.2mL) 在DCM (30.0mL) 中的混合物中,将混合物在室温下搅拌1小时,在真空下除去溶剂,将残余物溶解在DCM (20mL) 中,并且在0℃下逐滴加入到中间体4 (748mg, 2.0mmol)、 Et_3N (1200mg, 12.0mmol) 和DMAP (24mg, 0.2mmol) 在DCM (30.0mL) 中的溶液中,将混合物在0℃下搅拌2小时,用饱和 NaHCO_3 溶液 (100mL) 稀释并且用DCM (100mL × 2) 提取,将合并的有机相经

无水 Na_2SO_4 干燥,浓缩并通过硅胶柱色谱法($\text{MeOH}/\text{DCM}=1/20$)纯化,以得到呈黄色固体的中间体6(1000mg,产率:65%)。LCMS(m/z):529.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0320] N-(3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(中间体7)

[0321] 将中间体6(1000mg,1.9mmol)、 HCl -二噁烷(4M,9.5mL)在DCM(9.0mL)中的混合物在室温下搅拌2小时。将混合物在真空下浓缩,以留下呈白色固体的粗中间体7(900mg,产率100%)。LCMS(m/z):429.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

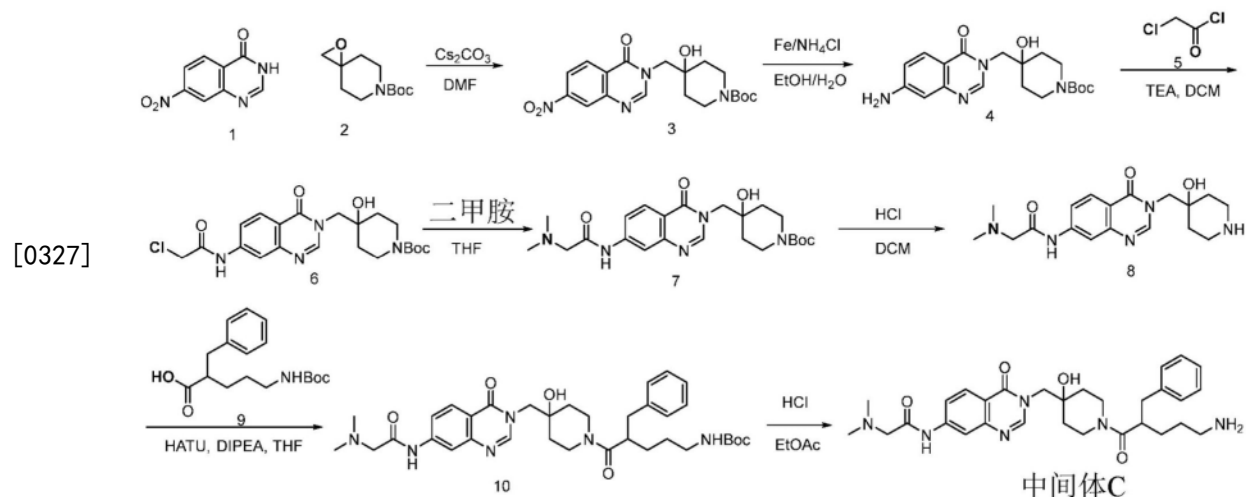
[0322] (4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)氨基甲酸叔丁酯(中间体9)

[0323] 将中间体8(645mg,2.1mmol)、HATU(878mg,2.3mmol)和DIPEA(1.8mL,10.5mmol)在DCM(20.0mL)中的混合物在室温下搅拌1小时,然后将混合物逐滴加入到中间体7(900mg,2.1mmol)和DIPEA(1.8mL,10.5mmol)在DCM(20.0mL)中的混合物中,将所得的混合物在室温下搅拌2小时,用水(100mL)稀释并且用DCM(100mL \times 2)提取,将合并的有机相经无水 Na_2SO_4 干燥,浓缩并通过硅胶柱色谱法($\text{MeOH}/\text{DCM}=1/10$)纯化,以得到呈黄色固体的中间体9(1.4g,产率93%)。LCMS(m/z):718.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0324] N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(中间体A-1)

[0325] 向中间体9(1400mg,1.9mmol)在DCM(10.0mL)中的混合物中加入在1,4-二噁烷中的 HCl 溶液(4M,5.0mL),将混合物在室温下搅拌2小时并在真空中浓缩,以得到呈白色固体的中间体A-1(1.4g,产率100%)。LCMS(m/z):618.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0326] 中间体C的合成



[0328] 4-羟基-4-((7-硝基-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体3)

[0329] 将7-硝基喹唑啉-4(3H)-酮(5.0107g,26.21mmol,1.0当量)、1-氧杂-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羧酸叔丁酯(6.7786g,31.78mmol,1.2当量)和 Cs_2CO_3 (12.7185g,39.04mmol,1.5当量)在DMF(60mL)中的混合物在80 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌16小时。将所得的混合物倒入冰水(200mL)中。将乙酸乙酯(500mL)加入到所得的混合物中。分离各层,并且用乙酸乙酯(150mL)提取水相。用饱和 NaCl 溶液洗涤有机相,并且经 Na_2SO_4 干燥。通过旋转蒸发(40 $^{\circ}\text{C}$)浓缩滤液,以得到

呈棕色固体的目标中间体3 (9.88g, 24.455mmol, 93.31%产率)。LCMS (m/z): 349.3 [M-55]⁺。

[0330] 4-((7-氨基-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体4)

[0331] 将中间体3 (9.88g, 24.445mmol, 1.0当量)、Fe (6.8292g, 122.28mmol, 5.0当量)和NH₄Cl (6.5353g, 122.18mmol, 5.0当量)在乙醇/H₂O (75mL/15mL)中的混合物在80℃下搅拌2小时。在搅拌的同时加入乙酸乙酯(100mL),并且将所得的混合物在真空下过滤。滤液用乙酸乙酯(50mL×3)提取,并且合并的有机层用饱和NaCl溶液(100mL)洗涤。将有机相浓缩并通过快速柱色谱法(DCM/MeOH=10/1)纯化,以得到呈暗褐色固体的目标中间体4 (6.48g, 17.326mmol, 70.88%产率)。LCMS (m/z): 375.3 [M+H]⁺。

[0332] 4-((7-(2-氯乙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体6)

[0333] 将中间体5 (0.112g, 1.0mmol, 2.0当量)在无水DCM(10mL)中的混合物逐滴加入到4 (0.1871g, 0.5mmol, 1.0当量)和Et₃N (0.32mL, 3.0当量)在无水DCM(10mL)中的溶液中,同时在冰水浴中搅拌。然后移开冰水浴,并且将所得的混合物在室温下搅拌另外4小时。向反应混合物中加入水(10mL)和DCM(50mL),并且分离各层。用DCM(50mL×3)提取水相。将合并的有机相用饱和NaCl溶液(10mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并过滤。通过旋转蒸发(30℃)浓缩滤液,以提供呈暗灰色固体的目标中间体6 (0.272g, 0.604mmol, 60.44%产率)。LCMS (m/z): 451.1 [M+H]⁺。

[0334] 4-((7-(2-(二甲基氨基)乙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体7)

[0335] 在微波管中,将二甲胺(2M, 3mL, 6mmol, 4.0当量)和中间体6 (0.675g, 1.5mmol, 1.0当量)在THF (8mL)中的混合物在25℃下搅拌16小时。在真空下除去有机溶剂。将乙酸乙酯(200mL)加入到反应混合物中。然后用水(10mL)洗涤混合物,并且分离各层。用乙酸乙酯(100mL×3)提取水相。将合并的有机相用饱和NaCl溶液(100mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并过滤。使用旋转蒸发(40℃)浓缩滤液以提供呈暗褐色固体的中间体7 (0.645g, 1.404mmol, 93.62%产率)。LCMS (m/z): 460.3 [M+H]⁺。

[0336] 2-(二甲基氨基)-N-(3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)乙酰胺(中间体8)

[0337] 将中间体7 (0.1191g, 0.259mmol, 1.0当量)和在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M, 2mL, 20.0当量)在DCM(8mL)中的混合物在室温下搅拌2小时。使用旋转蒸发(50℃)浓缩反应混合物,以得到呈白色固体的中间体8 (0.093g, 0.259mmol, 99.86%产率)。LC-MS (m/z): 360.2 [M+H]⁺。

[0338] 4-苄基-5-(4-((7-(2-(二甲基氨基)乙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基氨基甲酸叔丁酯(中间体10)

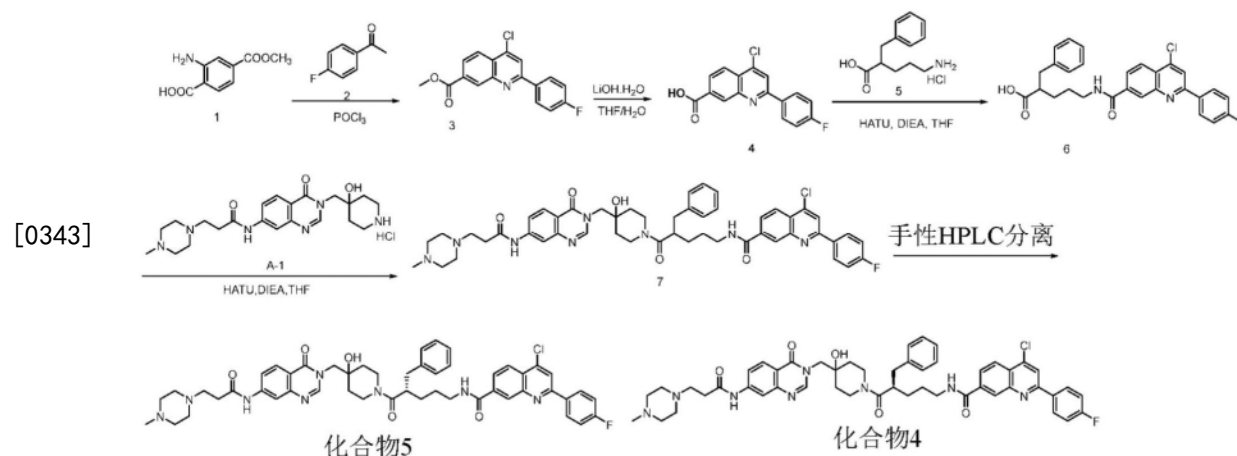
[0339] 在室温下搅拌中间体8 (0.6636g, 1.847mmol, 1.2当量)和DIPEA (0.4200g, 3.250mmol, 3.0当量)在THF (10mL)中的混合物,同时在室温下搅拌中间体9 (0.3312g, 1.078mmol, 1.0当量)、HATU (0.4532g, 1.192mmol, 1.2当量)和DIPEA (0.2633g, 2.037mmol, 2.0当量)在THF (15mL)中的混合物。在一小时后,将两种混合物混合在一起,并且将所得的混合物在室温下搅拌另外2小时。向反应混合物中加入水(10mL)和DCM(100mL),并且分离各

层。用DCM(100mL×3)提取水相。将合并的有机相用饱和NaCl溶液(100mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并过滤。将滤液浓缩并通过快速柱色谱法(EA/MeOH=9/1)纯化,以得到呈黄色固体的中间体10(0.453g,0.699mmol,64.85%产率)。LC-MS(m/z):649.4[M+H]⁺。

[0340] N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-2-(二甲基氨基)乙酰胺(中间体C)

[0341] 将中间体10(0.453g,0.7mmol,1.0当量)和HCl/1,4-二噁烷(4M,3.5mL,20.0当量)在EtOAc(10mL)中的混合物在室温下搅拌5小时。然后在真空下除去溶剂,以得到呈白色固体的目标化合物中间体C(0.3832g,0.699mmol,100%产率)。LC-MS(m/z):649.4[M+H]⁺。

[0342] 化合物4和5的合成



[0344] 4-氯-2-(4-氟苯基)喹啉-7-羧酸甲酯(中间体3)

[0345] 将2-氨基-4-(甲氧羰基)苯甲酸(585mg,5.0mmol)和1-(4-氟苯基)乙酮(1036mg,7.5mmol)在POCl₃(10mL)中的混合物在100℃下搅拌3小时,在冷却至室温后,将混合物在真空中浓缩,将残余物放入冰水(20mL)中,用固体NaHCO₃调节至pH 8至9,并且用DCM(3×50mL)提取。将合并的有机物经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过硅胶上的快速色谱法(DCM/MeOH=40/1)纯化,以得到中间体3(174mg,产率11%)。LCMS:(m/z)316.0[M+H]⁺

[0346] 4-氯-2-(4-氟苯基)喹啉-7-羧酸(中间体4)

[0347] 向4-氯-2-(4-氟苯基)喹啉-7-羧酸甲酯(255mg,0.808mmol)在THF(20mL)中的溶液中加入LiOH·H₂O(68mg,1.616mmol)在H₂O(5mL)中的溶液。将混合物在室温下搅拌16小时,并且在真空中除去溶剂。将残余物溶于水中,并且用1M HCl酸化至pH 4至5,所得的混合物用乙酸乙酯(3×50mL)提取,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩,以留下呈粘稠的胶状物的粗产物(233mg,产率95.8%)。LCMS:(m/z)330.2[M+Na]⁺

[0348] 2-苄基-5-(4-氯-2-(4-氟苯基)喹啉-7-羧酰胺基)戊酸(中间体6)

[0349] 将4-氯-2-(4-氟苯基)喹啉-7-羧酸(203mg,0.67mmol)、HATU(255mg,0.67mmol)和DIEA(173mg,1.34mmol)在THF(10mL)中的混合物在室温下搅拌30分钟,然后加入到DIEA(134mg,1.34mmol)和5-氨基-2-苄基戊酸盐(163mg,0.67mmol)在THF(10mL)中的混合物中。将混合物在室温下搅拌16小时,浓缩并通过快速柱色谱法(DCM/CH₃OH=20/1)纯化,以得到呈白色固体的中间体6(265mg,产率70%)。LCMS:(m/z)491.2[M+H]⁺

[0350] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-(4-氟苯基)喹啉-7-羧酰胺(中间体7)

[0351] 将N-(3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺盐酸盐(240mg, 0.49mmol)、2-苄基-5-(4-氯-2-(4-氟苯基)喹啉-7-羧酰胺基)戊酸(210mg, 0.49mmol)、HATU(205mg, 0.539mmol)和DIEA(190mg, 1.47mmol)在THF(10mL)中的混合物在室温下搅拌16小时。混合物在真空中浓缩,将残余物通过快速色谱法(DCM/MeOH=10/1)纯化,以得到粗产物,粗产物通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)进一步纯化,以得到呈白色固体的中间体7(115mg, 产率26%)。LCMS: (m/z) 901.8[M+H]⁺

[0352] (S)-N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-(4-氟苯基)喹啉-7-羧酰胺(化合物5)

[0353] (R)-N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-(4-氟苯基)喹啉-7-羧酰胺(化合物4)

[0354] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-(4-氟苯基)喹啉-7-羧酰胺(92mg, 0.102mmol)通过手性HPLC(仪器: Gilson-281, 柱: SA20*250, 10um, 流动相: MEOH(0.2% 甲醇氨): ACN(0.2% 甲醇氨) = 70:30, 流速: 40ml/min, 每次注射的运行时间: 22分钟, 注射: 1.5ml, 样品溶液: 100mg在45mL MeOH中)纯化,以得到呈固体的化合物5(29.5mg)和化合物4(9.0mg)。

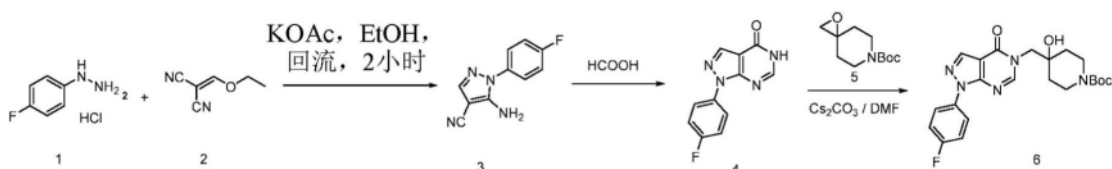
[0355] 化合物5:

[0356] ¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.57(s, 1H), 9.15(s, 1H), 8.94-8.86(m, 1H), 8.65-8.61(m, 1H), 8.50-8.35(m, 3H), 8.28-8.23(m, 1H), 8.17-7.97(m, 4H), 7.65-7.57(m, 1H), 7.44-7.35(m, 2H), 7.27-7.07(m, 4H), 4.88(s, 1H), 4.17-3.99(m, 1H), 3.91-3.57(m, 3H), 3.31-3.10(m, 4H), 2.89-2.52(m, 9H), 2.47-2.20(m, 6H), 2.13(s, 3H), 1.72-1.03(m, 8H), LCMS: (m/z) 901.4[M+H]⁺,

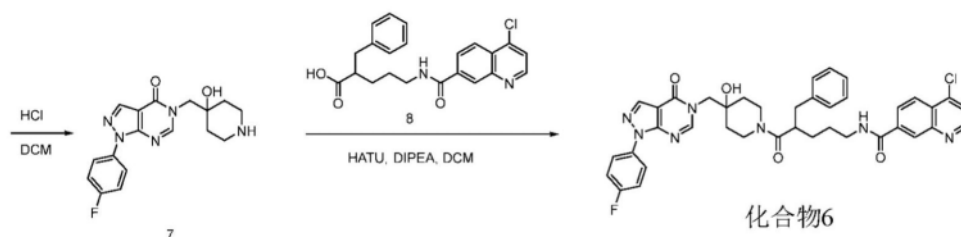
[0357] 化合物4:

[0358] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 8.99-8.88(m, 1H), 8.66-8.63(m, 1H), 8.54-8.47(m, 1H), 8.45-8.36(m, 2H), 8.30-8.21(m, 1H), 8.20-7.98(m, 4H), 7.69-7.58(m, 1H), 7.46-7.35(m, 2H), 7.27-7.07(m, 4H), 4.18-3.97(m, 1H), 3.94-3.38(m, 6H), 3.23-3.29(m, 4H), 2.91-2.54(m, 6H), 2.45-2.18(m, 6H), 2.13(s, 3H), 1.71-1.00(m, 8H), LCMS: (m/z) 901.4[M+H]⁺,

[0359] 化合物6的合成



[0360]



[0361] 5-氨基-1-(4-氟苯基)-1H-吡唑-4-甲腈(中间体3)

[0362] 将(4-氟苯基)肼(1.6g, 10.0mmol)和KOAc(0.98g, 10.0mmol)在EtOH(80.0mL)中的混合物在80℃下搅拌20分钟,然后加入2-(乙氧基亚甲基)丙二腈(1.2g, 10.0mmol),将混合物在80℃下搅拌2小时,浓缩并通过硅胶柱色谱法(EA/PE=1/3)纯化,以得到呈黄色固体的中间体3(1.5g, 产率:75%)。LCMS(m/z):203.1[M+H]⁺。

[0363] 1-(4-氟苯基)-1,5-二氢-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-酮(中间体4)

[0364] 中间体3(808mg, 4.0mmol)和HCOOH(8.0mL)的混合物在100℃下搅拌16小时。在冷却至室温后,用冰冷的水(100mL)稀释混合物,过滤并在空气中干燥,以得到呈白色固体的中间体4(600mg, 产率:65%)。LCMS(m/z):231.1[M+H]⁺。

[0365] 4-((1-(4-氟苯基)-4-氧代-1,4-二氢-5H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体6)

[0366] 将中间体4(400mg, 1.45mmol)、1-氧杂-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羧酸叔丁酯(370mg, 1.73mmol)和Cs₂CO₃(709mg, 2.1mmol)在DMF(15.0mL)中的混合物在80℃下搅拌16小时。在冷却至室温后,将混合物用水(100mL)稀释并用EtOAc(100mL*2)提取,将合并的有机相经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过硅胶柱色谱法(EA/PE=1/2)纯化,以获得呈白色固体的中间体6(500mg, 产率:77.7%)。LCMS(m/z):344.1[M-100+H]⁺。

[0367] 1-(4-氟苯基)-5-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-1,5-二氢-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-酮(中间体7)

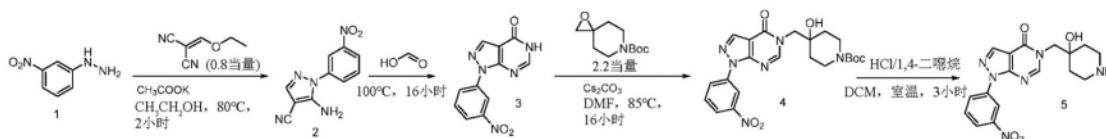
[0368] 将中间体6(60mg, 0.13mmol)和在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M, 0.6mL)在DCM(6.0mL)中的混合物在室温下搅拌2小时,将混合物浓缩,以留下呈白色固体的粗中间体7(60mg, 100%)。LCMS(m/z):344.1[M+H]⁺。

[0369] N-(4-苄基-5-(4-((1-(4-氟苯基)-4-氧代-1,4-二氢-5H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物6)

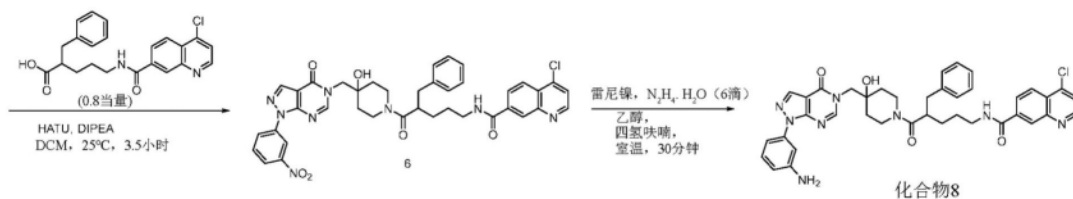
[0370] 将2-苄基-5-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)戊酸(中间体8)(39.6mg, 0.1mmol)、化合物7(34.3mg, 0.1mmol)、HATU(41.8mg, 0.11mmol)和DIPEA(0.1mL, 0.5mmol)在DCM(6.0mL)中的混合物在室温下搅拌1小时,将混合物用DCM(30mL)稀释,用水(20.0mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以获得呈白色固体的化合物6(40mg, 产率55%)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400MHz):δ(ppm) 8.94-8.88(m, 2H), 8.61-8.59(m, 1H), 8.39-8.35(m, 1H), 8.29-8.25(m, 2H), 8.20-8.15(m, 1H), 8.09-8.04

THF (3.0mL) 中的混合物在室温下搅拌3小时, 过滤混合物, 浓缩滤液并通过制备型HPLC (C18柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 含有0.05% NH_4HCO_3) 纯化, 以得到呈白色固体的中间体7 (21mg, 产率36%)。 ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz): δ (ppm) 8.93-8.88 (m, 2H), 8.61-8.59 (m, 1H), 8.28-8.16 (m, 4H), 7.86 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 7.53-7.51 (m, 2H), 7.26-7.12 (m, 5H), 6.68 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 5.39 (s, 2H), 4.81 (s, 1H), 4.16-3.61 (m, 4H), 3.15-3.13 (m, 3H), 2.86-2.62 (m, 4H), 1.65-1.09 (m, 8H)。LCMS (m/z): 719.2 [M+H] $^+$;

[0383] 化合物8的合成



[0384]



[0385] 5-氨基-1-(3-硝基苯基)-1H-吡唑-4-甲腈 (中间体2)

[0386] 将(3-硝基苯基)肼 (1002.8mg, 5.289mmol, 1.0当量) 和KOAc (517.3mg, 5.271mmol, 0.8当量) 在 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (50mL) 中的混合物在圆底烧瓶中在80°C下搅拌30分钟。然后向反应混合物中加入5-氨基-1-(3-硝基苯基)-1H-吡唑-4-甲腈 (537.1mg, 4.398mmol, 0.8当量), 将所得的混合物在80°C下搅拌另外2小时。在过滤后, 将滤液在真空下浓缩至干燥, 并且通过快速柱色谱法 (EA/PE=2/8) 纯化, 以得到呈棕色固体的中间体2 (0.236g, 19.47% 产率)。LCMS: (m/z) 230.7 [M+H] $^+$

[0387] 1-(3-硝基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4(5H)-酮 (中间体3)

[0388] 在圆底烧瓶中, 将5-氨基-1-(3-硝基苯基)-1H-吡唑-4-甲腈 (236mg, 1.030mmol, 1.0当量) 溶解在甲酸 (15mL) 中。将所得的混合物在100°C下搅拌16小时。在搅拌下将反应混合物倒入冰水 (50mL) 中, 收集所得的固体并在真空下干燥, 以得到呈白色固体的中间体3 (93mg, 35.15% 产率)。LCMS: (m/z) 257.7 [M+H] $^+$

[0389] 4-羟基-4-((1-(3-硝基苯基)-4-氧代-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5(4H)-基)甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (中间体4)

[0390] 将1-(3-硝基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4(5H)-酮 (169mg, 0.657mmol, 1.0当量)、1-氧杂-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羧酸叔丁酯 (308.6mg, 1.446mmol, 2.2当量) 和 Cs_2CO_3 (535.2mg, 1.643mmol, 2.5当量) 的混合物在85°C下搅拌16小时。向反应混合物中加入乙酸乙酯 (100mL), 并且将所得的混合物用水 (10mL \times 4) 洗涤。用乙酸乙酯 (50mL \times 6) 提取水相。将合并的有机相用饱和NaCl溶液 (10mL) 洗涤, 并且经 Na_2SO_4 干燥。在过滤后, 通过旋转蒸发 (40°C) 浓缩滤液。粗残余物通过快速柱色谱法 (EA/PE=1/2) 纯化, 以得到呈白色固体的中间体4 (231mg, 0.491mmol, 74.78% 产率)。LC-MS: (m/z) 371.1 [M-100+H] $^+$

[0391] 5-(((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-1-(3-硝基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4(5H)-酮 (中间体5)

[0392] 向4-羟基-4-((1-(3-硝基苯基)-4-氧代-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5(4H)-基)甲

基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(231mg, 0.491mmol, 1.0当量)在二氯甲烷(5mL)中的溶液中加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M, 15mL, 20.0当量),将混合物在室温下搅拌3小时,然后在真空中浓缩,以得到呈白色固体的中间体5(181.7mg, 0.491mmol, 100%产率)。LC-MS: (m/z) 371.1[M+H]⁺

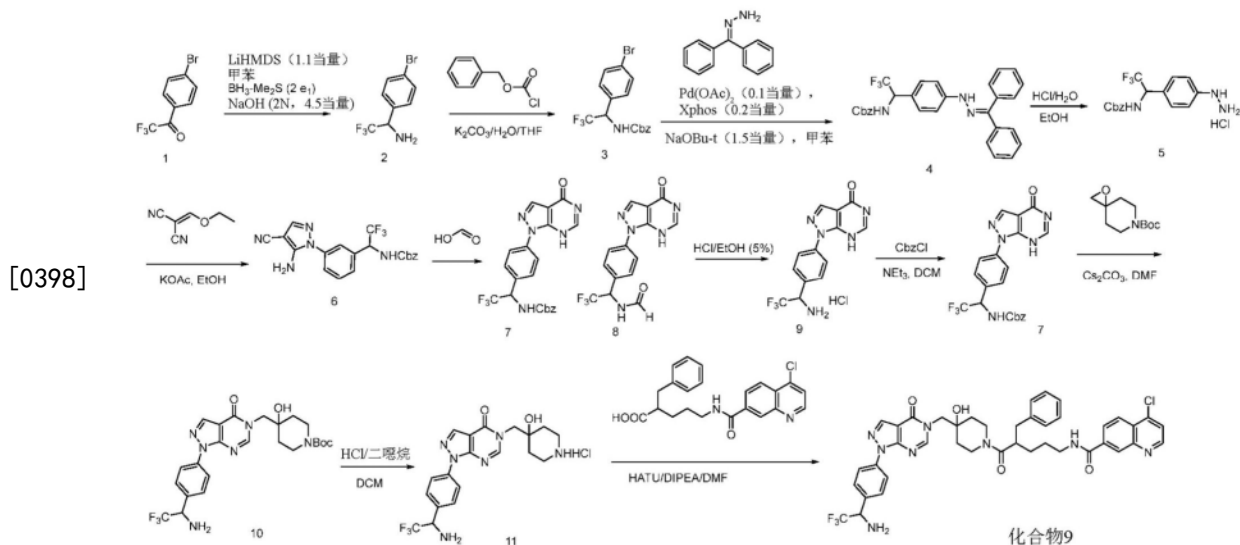
[0393] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((1-(3-硝基苯基)-4-氧代-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(中间体6)

[0394] 将2-苄基-5-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)戊酸(57.0mg, 0.144mmol, 0.8当量)、HATU(65.5mg, 0.172mmol, 1.0当量)和DIPEA(93.0mg, 0.720mmol, 5.0当量)在二氯甲烷(2mL)中的混合物在25℃下搅拌30分钟。然后向反应混合物中加入5-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-1-(3-硝基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4(5H)-酮(67.8mg, 0.183mmol, 1.0当量),并且将所得的混合物在25℃下搅拌另外3.5小时。向反应混合物中加入二氯甲烷(50mL)和水(10mL),并且分离各层。用二氯甲烷(50mL×3)提取水相。将合并的有机相用饱和NaCl溶液(10mL)洗涤,并且经Na₂SO₄干燥。在过滤后,通过旋转蒸发(40℃)浓缩滤液。粗残余物通过快速色谱法(DCM/MeOH=1/5)纯化,以得到呈白色固体的中间体6(115mg, 0.153mmol, 83.61%产率)。LCMS(m/z): 749.2[M+H]⁺

[0395] N-(5-(4-((1-(3-氨基苯基)-4-氧代-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-4-苄基-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物8)

[0396] 将N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((1-(3-硝基苯基)-4-氧代-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(97mg, 0.1296mmol, 1.0当量)、雷尼镍(100mg)和N₂H₄·H₂O(6滴)在乙醇(2mL)和四氢呋喃(2mL)中的混合物在室温下搅拌30分钟。然后通过旋转蒸发(40℃)浓缩反应混合物,并通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)进一步纯化,以得到呈白色固体的目标化合物8(10.6mg, 0.015mmol, 11.39%产率)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400MHz): δ(ppm) 8.94-8.89(m, 2H), 8.62-8.58(m, 1H), 8.32-8.15(m, 4H), 7.86(d, J=4.4Hz, 1H), 7.28-7.12(m, 8H), 6.57(br, 1H), 5.44(s, 2H), 4.83(s, 1H), 4.16-3.58(m, 4H), 3.31-3.09(m, 3H), 2.86-2.62(m, 4H), 1.67-1.07(m, 8H)。LCMS(m/z): 719.3[M+H]⁺

[0397] 化合物9的合成



[0399] 1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟乙胺(中间体2)

[0400] 向1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟乙酮(2530mg, 10.0mmol)在甲苯(60mL)中的混合物中逐滴加入LiHMDS(11mL, 11mmol)。在室温下搅拌15分钟后,加入硼烷-THF(10mL, 20mmol)。将所得的混合物在室温下搅拌20分钟,冷却至0℃,然后加入2N NaOH溶液(23mL)。在室温下搅拌90分钟后,用EtOAc(100mL)稀释混合物,分离有机层,用2N NaOH溶液(100mL)、水(100mL)和盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过柱色谱法(10% EtOAc在己烷中)纯化,以得到呈油状物的中间体2(2.22g, 产率87.4)。LCMS: (m/z) 254.0、256.0[M+H]⁺

[0401] 1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟乙基氨基甲酸苄酯(中间体3)

[0402] 在0℃下,向中间体2(1967mg, 7.74mmol)在THF(25mL)中的溶液中加入K₂CO₃(1451mg, 8.51mmol)在水(25mL)中的溶液,然后逐滴加入氯甲酸苄酯(1451mg, 8.51mmol)。将混合物在室温下搅拌16小时。向混合物中加入盐水(20mL)和乙酸乙酯(50mL),并且分离各相。用EtOAc(40mL×2)提取水相。将合并的有机相经硫酸镁干燥,过滤并在真空中浓缩。残余物通过快速柱色谱法(PE/EtOAc=10/1)纯化,以得到呈油状物的中间体3(2.05g, 产率68.6%)。LCMS: (m/z) 410.0[M+Na]⁺

[0403] 1-(4-(2-(二苯基亚甲基)胍基)苯基)-2,2,2-三氟乙基氨基甲酸苄酯(中间体4)

[0404] 在氩气气氛下,将1-(4-溴苯基)-2,2,2-三氟乙基氨基甲酸苄酯(2.126g, 5.48mmol)在甲苯(20mL)中的溶液加入到(二苯基亚甲基)胍(1.129g, 6.58mmol)、叔丁醇钠(790mg, 8.22mmol)、乙酸钡(II)(123mg, 0.55mmol)和X-phos(524mg, 1.1mmol)在甲苯(30mL)中的混合物中。将反应混合物在90℃下搅拌16小时。在冷却至室温后,混合物用EtOAc(200mL)稀释,用盐水(200mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过快速柱色谱法(DCM/MeOH=30/1)纯化,以得到呈浅黄色固体的中间体4(1.575g, 产率52.3%)。LCMS: (m/z) 504.2[M+H]⁺

[0405] 2,2,2-三氟-1-(4-胍基苯基)乙基氨基甲酸苄酯盐酸盐(中间体5)

[0406] 向1-(4-(2-(二苯基亚甲基)胍基)苯基)-2,2,2-三氟乙基氨基甲酸苄酯(805mg, 1.6mmol)在EtOH(32mL)中的混合物中加入浓HCl溶液(8.0mL, 96.0mmol)。将混合物在45℃下搅拌4小时。在冷却至室温后,混合物用H₂O(40mL)稀释,并用DCM(3×50mL)提取。用H₂O(2×25mL)提取合并的有机物,将合并的水相浓缩并冻干,以得到呈浅棕色固体的中间体5(300mg)。LCMS: (m/z) 340.1[M+H]⁺

[0407] 1-(3-(5-氨基-4-氰基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙基氨基甲酸苄酯(中间体6)

[0408] 将2,2,2-三氟-1-(4-胍基苯基)乙基氨基甲酸苄酯盐酸盐(350mg, 0.93mmol)、2-(乙氧基亚甲基)丙二腈(114mg, 0.93mmol)和KOAc(91mg, 0.93mmol)在EtOH(20mL)中的混合物在80℃下搅拌2小时。在冷却至室温后,过滤混合物,并用EtOH(10mL)洗涤。将合并的滤液和洗液浓缩,以留下呈浅黄色固体的粗中间体6(330mg, 产率80%)。LCMS: (m/z) 416.1[M+H]⁺

[0409] 2,2,2-三氟-1-(4-(4-氧代-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1(7H)-基)苯基)乙基氨基甲酸苄酯(7)和N-(2,2,2-三氟-1-(4-(4-氧代-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1(7H)-基)苯基)乙基)甲酰胺(中间体8)

[0410] 将1-(3-(5-氨基-4-氰基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙基氨基甲酸苄酯

(330mg, 0.79mmol) 在HCOOH(10mL)中的混合物在100℃下搅拌16小时。在冷却至室温后,将混合物混合物倒入冰水(30mL)中,并用EtOAc(3×50mL)提取。用盐水(100mL)洗涤合并的有机物,经Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,以得到呈浅黄色固体的中间体7(26%在LCMS)和8(60%在LCMS)的混合物(总共270mg),其被直接用于下一步骤。LCMS:7:(m/z)441.3[M+H]⁺,8:(m/z)338.1[M+H]⁺

[0411] 1-(4-(1-氨基-2,2,2-三氟乙基)苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4(7H)-酮(中间体9)

[0412] 将化合物7和8(243mg,0.72mmol)在HCl/EtOH(5%,10mL)中的混合物在80℃下搅拌2小时。将混合物浓缩,以得到呈棕色固体的中间体9(260mg)。LCMS:(m/z)310.1[M+H]⁺

[0413] 2,2,2-三氟-1-(4-(4-氧代-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1(7H)-基)苯基)乙基氨基甲酸苄酯(中间体7)

[0414] 向1-(4-(1-氨基-2,2,2-三氟乙基)苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4(7H)-酮盐酸盐(260mg,0.84mmol)和NEt₃(255mg,2.521mmol)在DCM(20mL)中的搅拌的混合物中加入CbzCl(172mg,1.00mmol)的溶液。将混合物在室温下搅拌16小时,用DCM(100mL)稀释,用NaHCO₃水溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过快速柱色谱法(DCM/MeOH=30/1)纯化,以得到呈棕色固体的中间体7(158mg,产率47%)。LCMS:(m/z)444.1[M+H]⁺

[0415] 4-((1-(4-(1-氨基-2,2,2-三氟乙基)苯基)-4-氧代-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体10)

[0416] 向2,2,2-三氟-1-(4-(4-氧代-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1(7H)-基)苯基)乙基氨基甲酸苄酯(136mg,0.306mmol)和1-氧杂-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羧酸1,1-二甲基乙酯(85mg,0.398mmol)在DMF(10mL)中的搅拌的混合物中加入Cs₂CO₃(150mg,0.459mmol)。将混合物在90℃下搅拌7小时。在冷却至室温后,混合物用H₂O(30mL)稀释并且用EtOAc(3×30mL)提取,将合并的有机相经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的中间体10(46.9mg,产率25.2%)。LCMS:(m/z)545.3[M+Na]⁺

[0417] 1-(4-(1-氨基-2,2,2-三氟乙基)苯基)-5-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4(5H)-酮盐酸盐(中间体11)

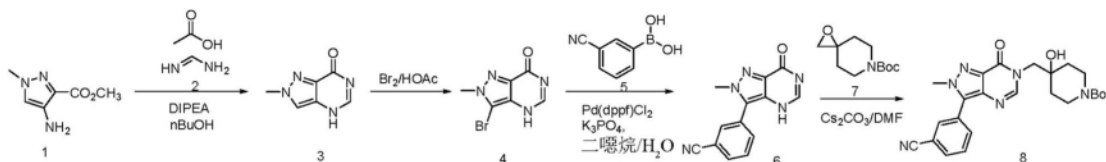
[0418] 在0℃下,向4-((1-(4-(1-氨基-2,2,2-三氟乙基)苯基)-4-氧代-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯(46.9mg,0.09mmol)在DCM(5mL)中的混合物中加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M,0.45mL,1.8mmol)。将混合物在室温下搅拌4小时并在真空中浓缩,以得到呈白色固体的中间体11(42mg,产率100%)。LCMS:(m/z)423.1[M+H]⁺,

[0419] N-(5-(4-((1-(4-(1-氨基-2,2,2-三氟乙基)苯基)-4-氧代-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-4-苄基-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物9)

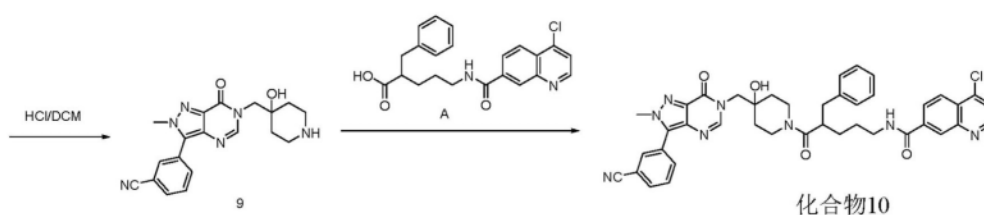
[0420] 将1-(4-(1-氨基-2,2,2-三氟乙基)苯基)-5-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4(5H)-酮盐酸盐(42mg,0.091mmol)、2-苄基-5-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)戊酸(28mg,0.07mmol)、HATU(29mg,0.077mmol)和DIPEA(36mg,0.091mmol)在DMF(5mL)中的混

合物在室温下搅拌1小时。混合物直接通过制备型HPLC (C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃) 纯化, 以得到呈白色固体的化合物9 (18.2mg, 产率24.8%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 8.96-8.84 (m, 2H), 8.61-8.58 (m, 1H), 8.39-8.35 (m, 1H), 8.31-8.24 (m, 2H), 8.20-8.13 (m, 1H), 8.09-8.01 (m, 2H), 7.86 (d, 4.8Hz), 7.70-7.68 (m, 2H), 7.29-7.09 (m, 5H), 4.84 (s, 1H), 4.65-4.54 (m, 1H), 4.18-3.56 (m, 4H), 3.19-3.08 (m, 2H), 2.88-2.55 (m, 6H), 1.70-1.04 (m, 8H)。LCMS: (m/z) 801.3 [M+H]⁺

[0421] 化合物10的合成



[0422]



[0423] 1-(4-硝基苯基)-1,5-二氢-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-酮(中间体3)

[0424] 将4-氨基-1-甲基-1H-吡唑-3-羧酸甲酯(500mg, 3.2mmol)、乙酸甲脒(370mg, 3.5mmol)和DIPEA(3.0mL)在n-BuOH(4.0mL)中的混合物在110℃下搅拌1小时。在冷却至室温后,过滤混合物以得到呈灰白色固体的中间体3(450mg, 产率93%)。LCMS(m/z): 151.1 [M+H]⁺。

[0425] 3-溴-2-甲基-2,4-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮(中间体4)

[0426] 将中间体3(400mg, 2.6mmol)和Br₂(853mg, 5.2mmol)在AcOH(15.0mL)中的混合物在95℃下搅拌16小时。在冷却至室温后,过滤混合物,以得到呈黄色固体的粗化合物4(800mg)。LCMS(m/z): 229.1 [M+H]⁺。

[0427] 3-(2-甲基-7-氧代-4,7-二氢-2H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)苄腈(中间体6)

[0428] 将化合物4(700mg, 3.0mmol)、(3-氰基苯基)硼酸(1100mg, 7.5mmol)、K₃PO₄(1900mg, 9.0mmol)和Pd(dppf)Cl₂(220mg, 0.3mmol)在1,4-二噁烷(20.0mL)和H₂O(4.0mL)中的混合物在微波反应器中在150℃下加热40分钟,混合物用水(50mL)稀释并用EtOAc(50mL×2)提取,将合并的有机相经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过硅胶柱色谱法(MeOH/DCM=1/30)纯化,以得到呈白色固体的中间体6(300mg, 产率40%)。LCMS(m/z): 252.2 [M+H]⁺。

[0429] 4-((3-(3-氰基苯基)-2-甲基-7-氧代-2,7-二氢-6H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-6-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体8)

[0430] 将中间体6(125mg, 0.5mmol)、1-氧杂-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羧酸叔丁酯(127mg, 0.6mmol)和Cs₂CO₃(244mg, 0.75mmol)在DMF(10.0mL)中的混合物在80℃下搅拌16小时。在冷却至室温后,用EtOAc(100mL)稀释混合物,用水(20mL×4)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩,并通过硅胶柱色谱法(EA/PE=1/2)纯化,以得到呈黄色固体的中间体8(150mg, 产率64%)。LCMS(m/z): 409.2 [M-55+H]⁺。

[0431] 3-(6-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-2-甲基-7-氧代-6,7-二氢-2H-吡唑并[4,3-d]

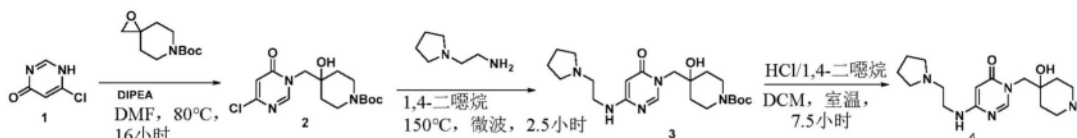
嘧啶-3-基) 苯甲腈 (中间体9)

[0432] 向中间体8 (92.8mg, 0.2mmol) 在DCM (4.0mL) 中的混合物中加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液 (4M, 1.0mL), 将混合物在室温下搅拌2小时并在真空中浓缩, 以留下呈油状物的粗制中间体9 (80mg)。LCMS (m/z): 365.2 [M+H]⁺。

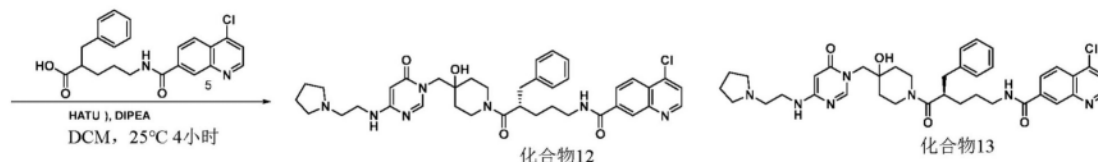
[0433] N-(4-苄基-5-(4-((3-(3-氰基苯基)-2-甲基-7-氧代-2,7-二氢-6H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-6-基) 甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺 (化合物10)

[0434] 将化合物A (79.2mg, 0.2mmol)、HATU (83.6mg, 0.22mmol) 和DIPEA (0.2mL, 1.0mmol) 在DCM (10.0mL) 中的混合物在室温下搅拌30分钟, 将混合物加入到中间体9 (72.8mg, 0.2mmol) 和DIPEA (0.1mL, 0.2mmol) 在DCM (10.0mL) 中的溶液中, 将所得的混合物在室温下搅拌2小时, 用DCM (20mL) 稀释, 用水 (20mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤, 浓缩并通过硅胶柱色谱法 (MeOH/DCM=1/20) 和制备型HPLC (C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃) 纯化, 以得到呈白色固体的化合物10 (43.3mg, 产率29%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz): δ (ppm) 8.93-8.88 (m, 2H), 8.61-8.58 (m, 1H), 8.30-8.26 (m, 1H), 8.21-8.15 (m, 2H), 8.09-8.05 (m, 1H), 8.01-7.95 (m, 2H), 7.86 (d, J=4.8Hz, 1H), 7.82-7.78 (m, 1H), 7.29-7.12 (m, 5H), 4.80 (s, 1H), 4.17-4.15 (m, 4H), 3.95-3.60 (m, 3H), 3.28-3.16 (m, 3H), 3.13-2.67 (m, 4H), 1.65-1.09 (m, 8H)。LCMS (m/z): 743.3 [M+H]⁺

[0435] 化合物11、12和13合成



[0436]



[0437] 4-((4-氯-6-氧代嘧啶-1(6H)-基) 甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯 (中间体2)

[0438] 将1-氧杂-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羧酸叔丁酯 (5026mg, 23.6mmol)、6-氯嘧啶-4(1H)-酮 (1536mg, 11.8mmol) 和DIEA (3mL) 在DMF (50mL) 中的混合物在80°C下搅拌过夜。混合物用EtOAc (100mL) 稀释, 用水 (100mL) 和盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 浓缩并通过硅胶柱色谱法 (EA/PE=1/2) 纯化, 以得到呈白色固体的中间体2 (2.7g, 产率66%)。LCMS: (m/z) 366 [M+Na]⁺

[0439] 4-羟基-4-((6-氧代-4-((2-(吡咯烷-1-基) 乙基) 氨基) 嘧啶-1(6H)-基) 甲基) 哌啶-1-羧酸叔丁酯 (中间体3)

[0440] 将化合物2 (498mg, 1.45mmol) 和2-(吡咯烷-1-基) 乙-1-胺 (550mg, 4.8mmol) 在1,4-二噁烷 (10mL) 中的混合物在微波反应器中在150°C下加热2.5小时。将反应混合物浓缩并通过HPLC纯化, 以得到呈白色固体的中间体3 (200mg, 产率32.6%)。LCMS: (m/z) 422 [M+H]⁺

[0441] 3-((4-羟基哌啶-4-基) 甲基)-6-((2-(吡咯烷-1-基) 乙基) 氨基) 嘧啶-4(3H)-酮 (中间体4)

[0442] 向化合物3 (200mg, 0.47mmol) 在DCM (4mL) 中的混合物中加入HCl-二噁烷 (2mL), 将

混合物在室温下搅拌2小时并浓缩,以留下呈黄色固体的粗中间体4 (250mg)。LCMS (m/z) : 322 [M+H]⁺

[0443] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((6-氧代-4-(2-(吡咯烷-1-基)乙基氨基)嘧啶-1(6H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物11、12、13)

[0444] 将中间体4 (180mg, 0.5mmol)、中间体5 (200mg, 0.5mmol)、DIEA (0.5mL) 和HATU (198mg, 0.55mmol) 在DMF (4mL) 中的混合物在室温下搅拌30分钟。反应混合物通过制备型HPLC (C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃) 直接纯化,以得到100mg的化合物11,将其通过手性HPLC分离,以得到两种对映异构体:呈白色固体的化合物12 (异构体1:29.6mg) 和呈白色固体的化合物13 (异构体2:24mg)。

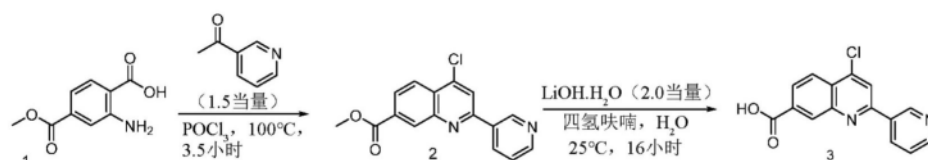
[0445] 化合物12:

[0446] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 8.99-8.81 (m, 2H), 8.59 (d, J=4.8Hz, 1H), 8.28 (dd, J=8.7, 2.0Hz, 1H), 8.22-8.13 (m, 1H), 7.90 (dd, J=30.3, 14.0Hz, 2H), 7.31-7.07 (m, 5H), 6.96 (s, 1H), 5.08 (s, 1H), 4.11-3.94 (m, 1H), 3.75-3.65 (m, 3H), 3.31-3.13 (m, 6H), 2.73 (ddd, J=26.2, 24.9, 16.8Hz, 9H), 1.78-1.39 (m, 9H), 1.20 (ddd, J=53.0, 32.7, 12.5Hz, 4H)。LC-MS: (m/z) 700 [M+H]⁺

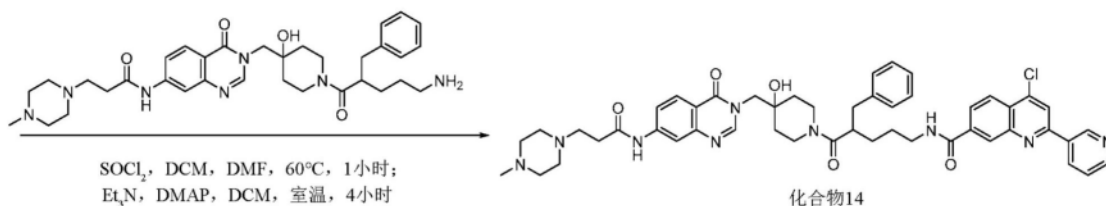
[0447] 化合物13:

[0448] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 8.99-8.81 (m, 2H), 8.59 (d, J=4.8Hz, 1H), 8.28 (dd, J=8.7, 2.0Hz, 1H), 8.22-8.13 (m, 1H), 7.90 (dd, J=30.3, 14.0Hz, 2H), 7.31-7.07 (m, 5H), 6.96 (s, 1H), 5.08 (s, 1H), 4.11-3.94 (m, 1H), 3.75-3.65 (m, 3H), 3.31-3.13 (m, 6H), 2.73 (ddd, J=26.2, 24.9, 16.8Hz, 9H), 1.80-1.60 (m, 5H), 1.50 (s, 3H), 1.38-1.00 (m, 4H)。LC-MS: (m/z) 700 [M+H]⁺

[0449] 化合物14的合成



[0450]



[0451] 4-氯-2-(吡啶-3-基)喹啉-7-羧酸甲酯(中间体2)

[0452] 将2-氨基-4-(甲氧基羰基)苯甲酸 (506.1mg, 2.593mmol) 和1-(吡啶-3-基)乙酮 (322.4mg, 2.661mmol) 在POCl₃ (8mL) 中的混合物在100°C下搅拌3.5小时。在搅拌的同时将冰水 (50mL) 倒入反应混合物中。向溶液中加入饱和Na₂CO₃溶液以调节至pH 8。向溶液中加入DCM (50mL), 并且分离各层。用DCM (40mL × 6) 提取水相,将合并的有机相用饱和NaCl溶液 (100mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过快速柱色谱法 (EA/PE=1/4) 纯化,以得到呈黄色固体的中间体2 (0.260g, 产率33.63%)。LCMS: (m/z) 299.1 [M+H]⁺

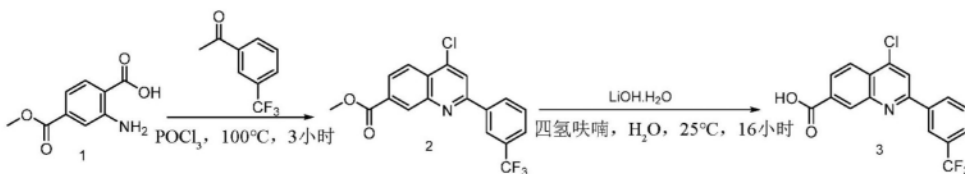
[0453] 4-氯-2-(吡啶-3-基)喹啉-7-羧酸(中间体3)

[0454] 将4-氯-2-(吡啶-3-基)喹啉-7-羧酸甲酯(260mg, 0.872mmol, 1.0当量)和LiOH·H₂O(74.9mg, 1.785mmol, 2.0当量)在四氢呋喃(10mL)和水(3mL)中的混合物在25℃下搅拌16小时。在真空下浓缩反应混合物,用水(50mL)稀释残余物,用稀释的HCl溶液调节至pH 4,然后冻干过夜,以得到呈黄色固体的中间体3(180mg, 72.68%产率)。LCMS: (m/z) 285.0[M+H]⁺

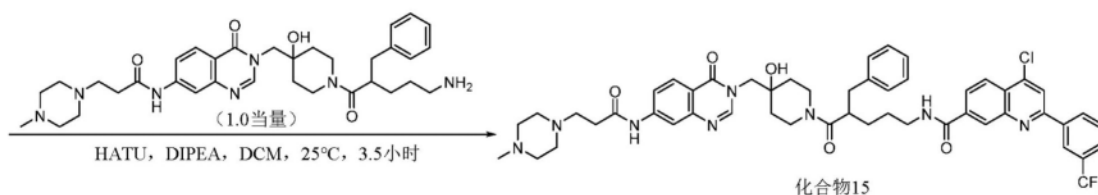
[0455] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-(吡啶-3-基)喹啉-7-羧酰胺(化合物14)

[0456] 在冰水浴中搅拌的同时,将SOCl₂(76μL, 0.8当量)加入到4-氯-2-(吡啶-3-基)喹啉-7-羧酸(0.1857g, 0.654mmol, 1.0当量)在无水二氯甲烷(10mL)和N,N-二甲基甲酰胺(0.1mL)中的溶液中。将混合物在60℃下搅拌1小时,然后在真空中浓缩,将残余物溶解在无水二氯甲烷(25mL)中,在冰水浴中搅拌的同时逐滴加入到N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(225.2mg, 0.365mmol, 0.6当量)、Et₃N(0.2mL, 8.0当量)和DMAP(4.5mg, 0.037mmol, 0.1当量)在无水二氯甲烷(15mL)中的溶液中。将所得的混合物在室温下搅拌4小时,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的目标化合物14(14.9mg, 2.58%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.55(d, J=6.9Hz, 1H), 9.49(s, 1H), 9.00-8.94(m, 1H), 8.80-8.60(m, 4H), 8.32-8.0(m, 5H), 7.65-7.57(m, 2H), 7.28-7.10(m, 5H), 4.87(s, 1H), 4.17-4.01(m, 1H), 3.95-3.49(m, 3H), 3.45-2.65(m, 13H), 2.60-2.10(m, 9H), 1.75-1.02(m, 8H)。LC-MS: (m/z) 884.3[M+H]⁺

[0457] 化合物15的合成



[0458]



[0459] 4-氯-2-(3-(三氟甲基)苯基)喹啉-7-羧酸甲酯(中间体2)

[0460] 将2-氨基-4-(甲氧基羰基)苯甲酸(344.3mg, 1.7652mmol, 1.0当量)和1-(3-(三氟甲基)苯基)乙酮(504.3mg, 2.6819mmol, 1.5当量)在POCl₃(6mL)中的混合物在100℃下搅拌3小时。在真空中浓缩反应混合物,在搅拌的同时加入冰水,用固体碳酸氢钠和饱和碳酸钠溶液将混合物调节至pH 8。加入二氯甲烷(50mL),并且分离各层。用二氯甲烷(40mL×3)洗涤水相,用饱和NaCl溶液(100mL)洗涤合并的有机相,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过快速柱色谱法(EA/PE=1/5)纯化,以得到呈白色固体的中间体2(250mg, 0.685mmol, 产率38.80%)。LCMS(m/z): 366.0[M+H]⁺

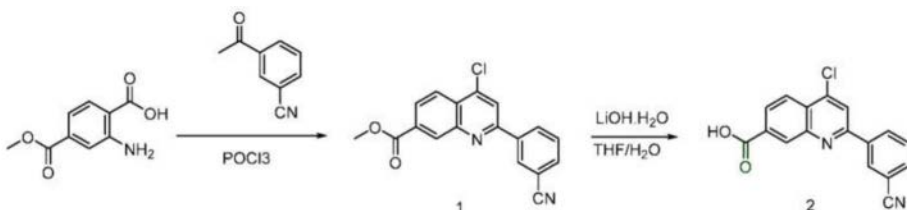
[0461] 4-氯-2-(3-(三氟甲基)苯基)喹啉-7-羧酸(中间体3)

[0462] 将4-氯-2-(3-(三氟甲基)苯基)喹啉-7-羧酸甲酯(250mg, 0.685mmol, 1.0当量)和LiOH·H₂O(56.4mg, 1.344mmol, 2.0当量)在四氢呋喃(10mL)和H₂O(3mL)中的混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物在真空中浓缩,用水(50mL)稀释,并用稀HCl溶液将调节至pH约5。用乙酸乙酯(50mL×3)提取混合物,用饱和NaCl溶液(100mL)洗涤合并的有机相,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩,以留下呈白色固体的粗中间体3(173mg, 0.493mmol, 71.95%产率)。LC-MS(m/z): 352.0[M+H]⁺

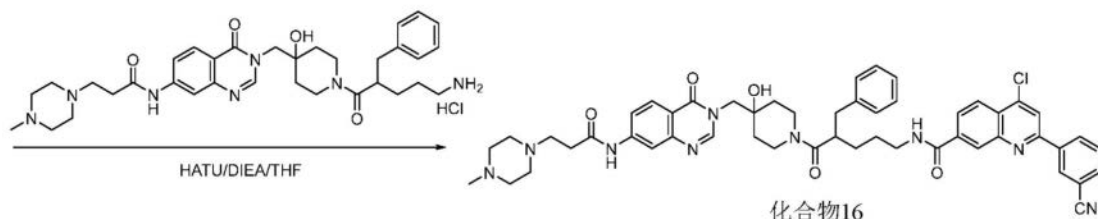
[0463] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-(3-(三氟甲基)苯基)喹啉-7-羧酰胺(化合物15)

[0464] 将4-氯-2-(3-(三氟甲基)苯基)喹啉-7-羧酸(32mg, 0.091mmol, 1.0当量)、DIPEA(75.8mg, 0.587mmol, 5.0当量)和HATU(41.6mg, 0.109mmol, 1.2当量)在二氯甲烷(2mL)中的混合物在25℃下搅拌30分钟,然后加入N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(57.1mg, 0.093mmol, 1.0当量)。将所得的混合物在25℃搅拌3.5小时,并用二氯甲烷(10mL)和水(50mL)稀释。分离各层,并且用二氯甲烷(50mL×3)提取水相。将合并的有机相经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的目标化合物15(27.9mg, 32.26%产率)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.52(d, J=7.6Hz, 1H), 8.95-8.90(m, 1H), 8.73-8.62(m, 4H), 8.31-8.27(m, 1H), 8.22-8.16(m, 1H), 8.12-7.98(m, 3H), 7.93-7.89(m, 1H), 7.85-7.80(m, 1H), 7.64-7.56(m, 1H), 7.26-7.10(m, 5H), 4.85-4.84(m, 1H), 4.16-3.60(m, 5H), 3.20-3.10(m, 2H), 2.85-2.60(m, 7H), 2.45-2.20(m, 7H), 1.75-0.95(m, 10H)。LC-MS(m/z): 951.3[M+H]⁺

[0465] 化合物16的合成



[0466]



[0467] 4-氯-2-(3-氰基苯基)喹啉-7-羧酸甲酯(中间体1)

[0468] 将2-氨基-4-(甲氧基羰基)苯甲酸(558mg, 2.86mmol)和3-乙酰基苄胺(623mg, 4.29mmol)在POCl₃(10mL)中的混合物在100℃下搅拌3小时,在冷却至室温后,浓缩混合物,将残余物放入冰水(20mL)中,用固体NaHCO₃调节至pH 8至9,并且用DCM(50mL×3)提取。将合并的有机相经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过快速柱色谱法(DCM/MeOH=40/1)纯化,以得到呈浅黄色固体的中间体1(245mg, 产率11%)。LCMS: (m/z) 323.1[M+H]⁺,

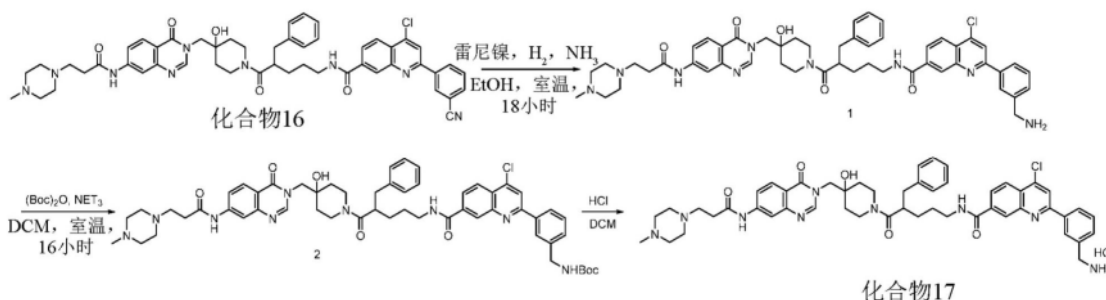
[0469] 4-氯-2-(3-氰基苯基)喹啉-7-羧酸(中间体2)

[0470] 向4-氯-2-(3-氰基苯基)喹啉-7-羧酸甲酯(245mg, 0.759mmol)在THF(10mL)中的溶液中加入LiOH·H₂O(48mg, 1.138mmol)在H₂O(5mL)中的溶液。将混合物在室温下搅拌16小时,然后在真空中浓缩。用水(20mL)稀释残余物,并用1M HCl溶液(pH 4至5)酸化,所得的混合物用乙酸乙酯(3x50 mL)提取。将合并的有机相干燥并在真空中浓缩,以留下呈黄色固体的粗中间体2(120mg,产率51.3%)。LCMS: (m/z) 309.1 [M+Na]⁺

[0471] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-(3-氰基苯基)喹啉-7-羧酰胺(化合物16)

[0472] 将中间体2(62mg, 0.2mmol)、SM-2(124mg, 0.2mmol)、HATU(84mg, 0.22mmol)和DIEA(78mg, 0.6mmol)在THF(5mL)中的混合物在室温下搅拌2小时。将混合物浓缩并通过快速柱色谱法(DCM/MeOH=10/1)和制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的化合物16(24mg, 产率13%)。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.52(d, J=9.5Hz, 1H), 8.98-8.89(m, 1H), 8.79(d, J=9.0Hz, 1H), 8.70(d, J=8.5Hz, 1H), 8.68-8.62(m, 2H), 8.31-8.27(m, 1H), 8.21-8.14(m, 1H), 8.12-7.97(m, 4H), 7.82-7.75(m, 1H), 7.63-7.55(m, 1H), 7.26-7.08(m, 5H), 4.84(d, J=8.0Hz, 1H), 4.18-3.98(m, 1H), 3.90-3.58(m, 3H), 3.32-3.09(m, 4H), 2.91-2.52(m, 9H), 2.47-2.18(m, 6H), 2.14(s, 3H), 1.70-1.02(m, 8H)。LCMS: (m/z) 908.3 [M+H]⁺

[0473] 化合物17的合成



[0475] 2-(3-(氨基甲基)苯基)-N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(中间体1)

[0476] 向化合物16(239mg, 0.263mmol)在EtOH(40mL)中的混合物中加入雷尼镍(309mg, 5.26mmol)和NH₃在CH₃OH(7M, 5mL)中的溶液。将混合物在H₂(1大气压)下在50℃下搅拌16小时。将混合物冷却至室温并过滤,用EtOH(20mL)洗涤滤饼,浓缩合并的滤液和洗涤液,以留下呈灰色固体的粗中间体1(254mg)。LCMS: (m/z) 912.3 [M+H]⁺,

[0477] 3-(7-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基氨基甲酰基)-4-氯喹啉-2-基)苄基氨基甲酸叔丁酯(中间体2)

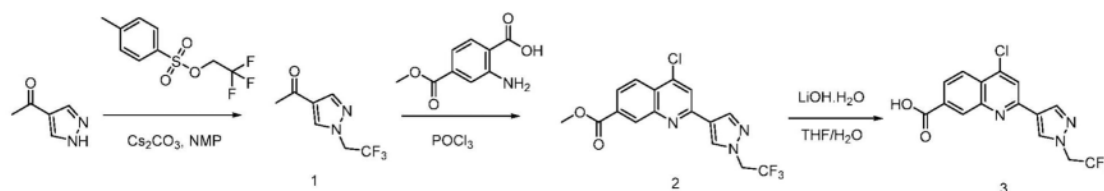
[0478] 在室温下,向2-(3-(氨基甲基)苯基)-N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(254mg, 0.278mmol)和TEA(56mg, 0.556mmol)在DCM(20mL)中的混合物中加入

(Boc)₂O (67mg, 0.306mmol)。将混合物在室温下搅拌16小时,用DCM(100mL)稀释,用NaHCO₃水溶液(100mL)和盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的中间体2(48mg,产率17%)。LCMS: (m/z) 1012.5 [M+Na]⁺

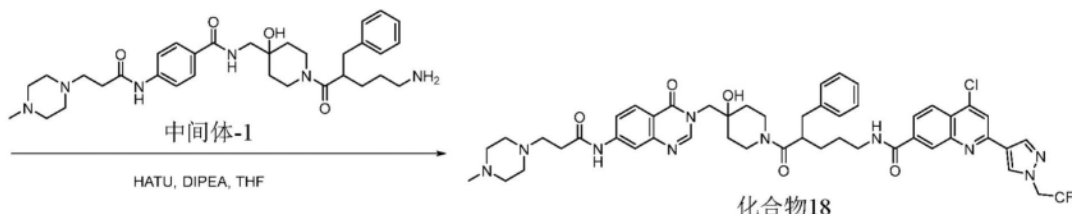
[0479] 2-(3-(氨基甲基)苯基)-N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺盐酸盐(化合物17)

[0480] 向3-(7-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基氨基甲酰基)-4-氯喹啉-2-基)苄基氨基甲酸叔丁酯(40mg, 0.04mmol)在DCM(5mL)中的搅拌的混合物中加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M, 0.5mL, 2mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时,并在真空中浓缩,残余物用Et₂O研磨,以得到呈白色固体的化合物17(36mg,产率95%)。¹H NMR(400MHz, CD₃OD) δ(ppm) 9.95(d, J=12.0Hz, 1H), 8.49-8.46(m, 1H), 8.25-8.15(m, 4H), 8.12-7.92(m, 3H), 7.57-7.47(m, 3H), 7.21-6.92(m, 5H), 4.10(s, 2H), 3.98-3.23(m, 15H), 3.08-2.92(m, 3H), 2.84(s, 3H), 2.70-2.58(m, 3H), 1.72-0.91(m, 8H)。LCMS: (m/z) 912.4 [M+H]⁺

[0481] 化合物18的合成



[0482]



[0483] 1-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)乙酮(中间体1)

[0484] 向1-(1H-吡唑-4-基)乙酮(500mg, 4.54mmol)和2,2,2-三氟乙基4-甲基苯磺酸酯(1270mg, 4.99mmol)在NMP(10mL)中的混合物中加入Cs₂CO₃(2219mg, 6.81mmol)。将混合物在60℃搅拌18小时,在冷却至室温后,混合物用H₂O(30mL)稀释,并用EtOAc(3x 40mL)提取。用盐水(2x 20mL)洗涤合并的有机物,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过快速柱色谱法(在PE中的0至50% EtOAc)纯化,以得到呈油状物的中间体1(720mg,产率82.6%)。LCMS: (m/z) 193.1 [M+H]⁺,

[0485] 4-氯-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)喹啉-7-羧酸甲酯(中间体2)

[0486] 将中间体1(720mg, 3.75mmol)和2-氨基-4-(甲氧基羰基)苯甲酸(1098mg, 5.625mmol)在POCl₃(10mL)中的混合物在100℃下搅拌3小时,在冷却至室温后,将混合物在真空中浓缩,将残余物放入冰水(20mL)中,用固体NaHCO₃调节至pH 8至9,并用DCM(50mL x 3)提取。将合并的有机物经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过快速柱色谱法(DCM/MeOH=40/1)纯化,以得到呈浅黄色固体的中间体2(105mg,产率7.5%)。LCMS: (m/z) 370.1 [M+H]⁺

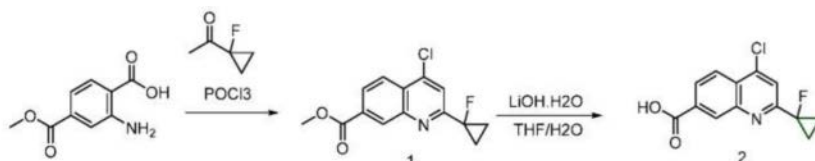
[0487] 4-氯-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)喹啉-7-羧酸(中间体3)

[0488] 向4-氯-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)喹啉-7-羧酸甲酯(105mg, 0.284mmol)在THF(50mL)中的溶液中加入LiOH·H₂O(18mg, 0.426mmol)在H₂O(2mL)中的溶液。将混合物在室温下搅拌16小时,然后在真空中浓缩。将残余物溶于水(20mL)中,并用1M HCl溶液(pH 4至5)酸化,所得的混合物用乙酸乙酯(50mL×3)提取,将合并的有机相经无水Na₂SO₄干燥,并在真空中浓缩,以留下呈固体的粗中间体3(95mg,产率94.2%)。LCMS:(m/z) 356.0[M+H]⁺

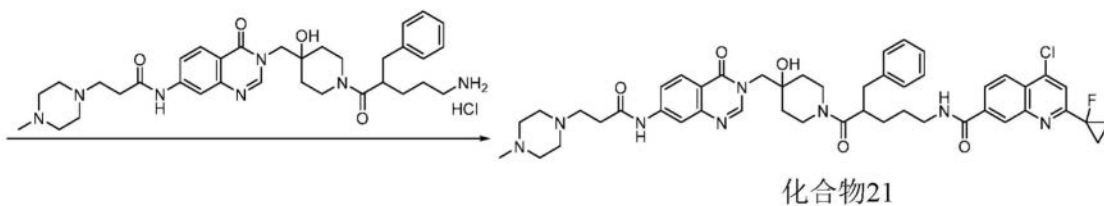
[0489] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)喹啉-7-羧酰胺(化合物18)

[0490] 将4-氯-2-(1-(2,2,2-三氟乙基)-1H-吡唑-4-基)喹啉-7-羧酸(95mg, 0.267mmol)、N-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)苯甲酰胺盐酸盐(178mg, 0.267mmol)、HATU(112mg, 0.294mmol)和DIPEA(103mg, 0.801mmol)在THF(10mL)中的混合物在室温下搅拌2小时。将混合物浓缩并通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的化合物18(32.5mg, 产率13%)。¹H NMR(400MHz, CD₃OD) δ(ppm) 10.53(d, J=4.8Hz, 1H), 8.93-8.86(m, 1H), 8.71(s, 1H), 8.53(d, J=10.4Hz, 1H), 8.41(s, 1H), 8.30(d, J=3.2Hz, 1H), 8.23-8.18(m, 1H), 8.15-8.98(m, 4H), 7.65-7.57(m, 1H), 7.28-7.07(m, 5H), 5.29(q, J=8.4Hz, 2H), 4.88(s, 1H), 4.18-3.98(m, 1H), 3.97-3.54(m, 3H), 3.35-3.10(m, 4H), 2.92-2.53(m, 9H), 2.49-2.20(m, 6H), 2.14(s, 3H), 1.71-1.00(m, 8H)。LCMS:(m/z) 955.3[M+H]⁺

[0491] 化合物21的合成



[0492]



[0493] 4-氯-2-(1-氟环丙基)喹啉-7-羧酸甲酯(中间体1)

[0494] 在室温下,向1-(1-氟环丙基)乙酮(169mg, 1.66mmol)在POCl₃(6mL)中的混合物中加入2-氨基-4-(甲氧基羰基)苯甲酸(162mg, 0.83mmol)将混合物在微波反应器中在100℃下加热30分钟。在冷却至室温后,浓缩混合物,将残余物放入冰水(20mL)中,用NaHCO₃溶液调节至pH 8至9,并用DCM(50mL×3)提取。将合并的有机物经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过快速色谱法(DCM/MeOH=40/1)纯化,以得到呈固体的中间体(12mg, 产率2.76%)。LCMS:(m/z) 280.1[M+H]⁺

[0495] 4-氯-2-(1-氟环丙基)喹啉-7-羧酸(中间体2)

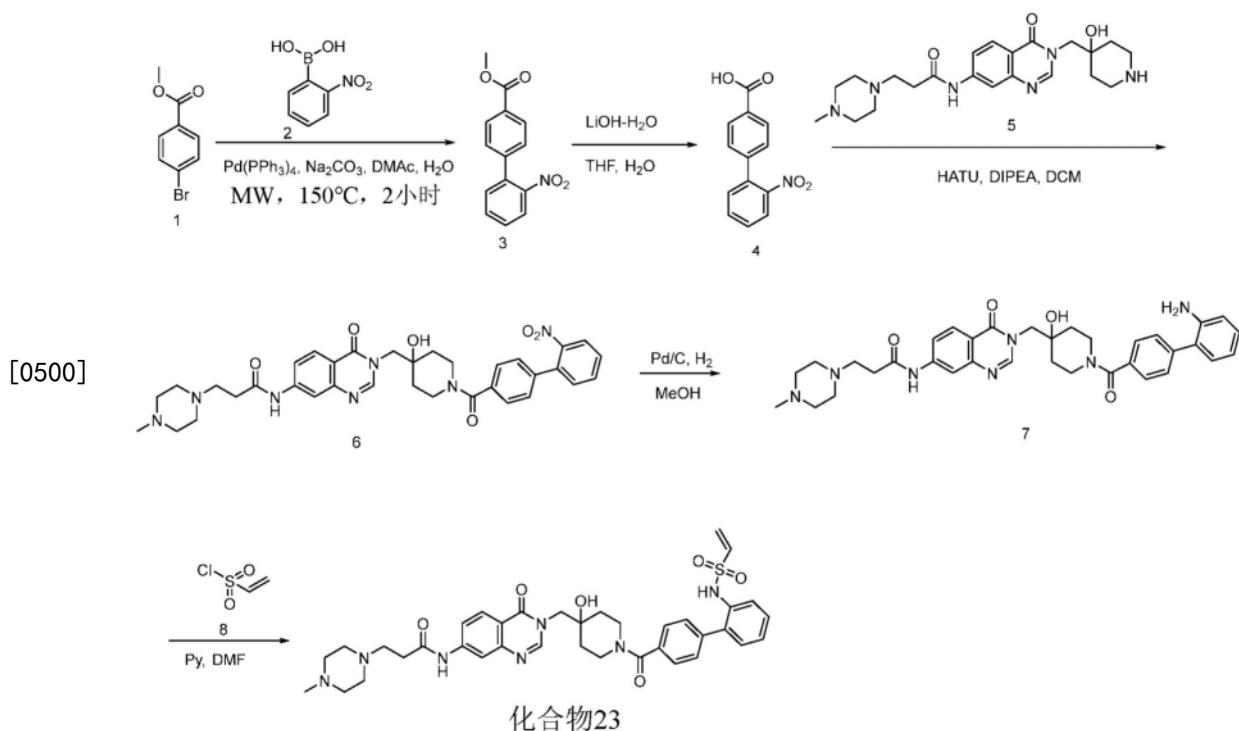
[0496] 向4-氯-2-(1-氟环丙基)喹啉-7-羧酸甲酯(12mg, 0.043mmol)在THF(3mL)和H₂O(1.0mL)中的混合物中加入LiOH·H₂O(2.7mg, 0.065mmol)。将混合物在室温下搅拌16小时,

并且用在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M,0.02mL,0.08mmol)猝灭。将混合物浓缩,以留下呈白色固体的粗中间体2(19mg,产率100%)。LCMS:(m/z)266.1[M+H]⁺

[0497] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-(1-氟环丙基)喹啉-7-羧酰胺(化合物21)

[0498] 向4-氯-2-(1-氟环丙基)喹啉-7-羧酸(19mg,粗品0.071mmol)、N-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)苯甲酰胺盐酸盐(46mg,0.071mmol)和DIEA(37mg,0.284mmol)在DMF(5mL)中的搅拌的溶液中加入HATU(30mg,0.078mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,用EtOAc(100mL)稀释,用NaHCO₃水溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的化合物21(12.4mg,产率20%)。¹H NMR(400MHz,CD3OD)δ(ppm)10.52(s,1H),8.89-8.82(m,1H),8.48(dd,J=1.2Hz,10.0Hz,1H),8.28-8.23(m,1H),8.17-7.95(m,5H),7.65-7.57(m,1H),7.27-7.07(m,5H),(m,5H),4.84(s,1H),4.16-3.97(m,1H),3.94-3.55(m,3H),3.30-3.08(m,4H),2.90-2.79(m,1H),2.79-2.60(m,5H),2.57-2.52(m,2H),2.47-2.22(m,7H),2.14(s,3H),1.72-1.02(m,12H)。LCMS:(m/z)865.3[M+H]⁺

[0499] 化合物23的合成



[0501] 2'-硝基-[1,1'-联苯]-4-羧酸甲酯(中间体3)

[0502] 将4-溴苯甲酸甲酯(1500mg,7.0mmol)、(2-硝基苯基)硼酸(1520mg,9.1mmol)、NaHCO₃(1806mg,21.0mmol)和Pd(PPh₃)₄(404mg,0.35mmol)在DMAc(20.0mL)和H₂O(4.0mL)中的混合物在微波反应器中在150°C下加热2小时。混合物用H₂O(30mL)稀释并用EtOAc(50mL)提取,有机相经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过硅胶柱色谱法(EA/PE=1/2)纯化,以得到呈白色固体的中间体3(1.2g,产率67%)。LCMS(m/z):258.1[M+H]⁺。

[0503] 2'-硝基-[1,1'-联苯]-4-羧酸(中间体4)

[0504] 将化合物3(1000mg, 3.8mmol)和LiOH(186mg, 7.7mmol)在THF(15.0mL)和H₂O(3.0mL)中的混合物在40℃下搅拌16小时在真空中浓缩混合物,用水(50mL)稀释残余物并用EtOAc(50mL)洗涤,用浓HCl溶液将水相调节至pH 5,收集所得的固体并在真空下干燥,以得到呈白色固体的中间体4(800mg, 产率86%)。LCMS(m/z):244.1[M+H]⁺。

[0505] N-(3-((4-羟基-1-(2'-硝基-[1,1'-联苯]-4-羧基)哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(中间体6)

[0506] 将中间体4(122mg, 0.5mmol)、HATU(209mg, 0.55mmol)和DIPEA(0.6mL, 2.5mmol)在DCM(10.0mL)中的混合物在室温下搅拌1小时,然后将反应溶液逐滴加入到中间体5(214mg, 0.1mmol)和DIPEA(0.1mL, 0.5mmol)在DCM(5.0mL)中的混合物中,将混合物在室温下搅拌2小时,用DCM(50mL)稀释,用水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过硅胶柱色谱法(MeOH/DCM=1/20)纯化,以得到呈黄色固体的中间体6(250mg, 产率76%)。LCMS(m/z):654.3[M+H]⁺。

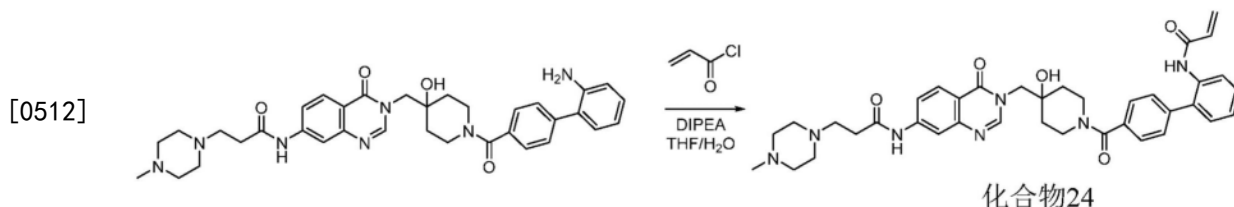
[0507] N-(3-((1-(2'-氨基-[1,1'-联苯]-4-羧基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(中间体7)

[0508] 将化合物6(250mg, 0.38mmol)和Pd/C(120mg)在MeOH(30.0mL)中的混合物在室温下在H₂(1大气压)下搅拌16小时。过滤混合物,浓缩滤液以得到呈黄色固体的中间体7(200mg, 产率84%)。LCMS(m/z):624.3[M+H]⁺。

[0509] N-(3-((4-羟基-1-(2'-(乙烯基磺酰胺基)-[1,1'-联苯]-4-羧基)哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(化合物23)

[0510] 在室温下,将乙烯磺酰氯(100mg, 0.8mmol)在干燥的DMF(1.0mL)中的溶液逐滴加入到中间体7(100mg, 0.16mmol)和干燥的吡啶(252mg, 3.2mmol)在干燥的DMF(3.0mL)中的混合物中,将混合物在室温下搅拌16小时,用N₂吹扫溶剂,将残余物溶解在DMF中,通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以获得呈白色固体的化合物23(34.3mg, 产率30%)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400MHz):δ(ppm)10.52(s, 1H), 9.26(m, 1H), 8.22(s, 1H), 8.09-8.02(m, 3H), 7.62-7.60(m, 1H), 7.50-7.43(m, 4H), 7.38-7.29(m, 4H), 6.60(dd, J₁=16.4Hz, J₂=10.0Hz, 1H), 5.93(d, J=16.8Hz, 1H), 5.95(d, J=10.0Hz, 1H), 5.04(s, 1H), 4.25-4.15(m, 1H), 4.02(br, 2H), 3.60-3.45(m, 1H), 3.25-3.10(m, 1H), 2.66-2.62(m, 3H), 2.60-2.54(m, 2H), 2.42-2.33(m, 7H), 2.14(s, 3H), 1.63-1.238(m, 5H)。LCMS(m/z):714.1[M+H]⁺

[0511] 化合物24的合成

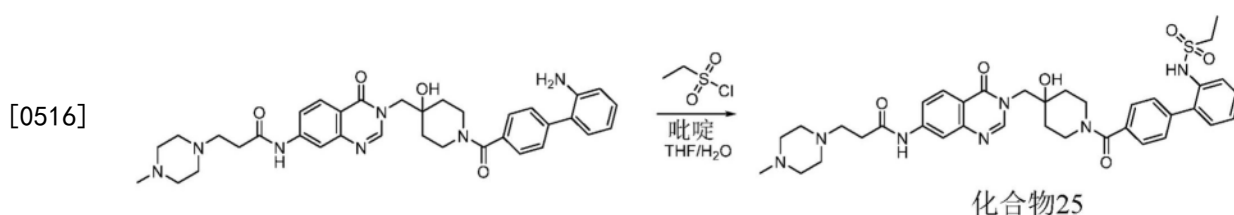


[0513] N-(4'-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-羧基)联苯-2-基)丙烯酰胺(化合物24)

[0514] 在0℃下,向N-(3-((1-(2'-氨基联苯羧基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,

4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(40mg, 0.064mmol)和DIPEA(24mg, 0.192mmol)在THF/H₂O(6mL/2mL)中的混合物中加入丙烯酰氯(17.4mg, 0.192mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时,用EtOAc(50mL)稀释,用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的化合物24(8mg, 产率18.5%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.51(s, 1H), 9.52(s, 1H), 8.21(s, 1H), 8.08(d, J=1.6Hz, 1H), 8.01(d, J=1.6Hz, 1H), 7.63-7.53(m, 2H), 7.46-7.29(m, 7H), 6.36-6.27(m, 1H), 6.16-6.09(m, 1H), 5.68-5.61(m, 1H), 5.02(s, 1H), 4.26-3.96(m, 4H), 3.24-3.10(m, 1H), 2.69-2.54(m, 4H), 2.46-2.20(m, 7H), 2.14(s, 3H), 1.71-1.17(m, 5H)。LCMS: (m/z) 678.3[M+H]⁺

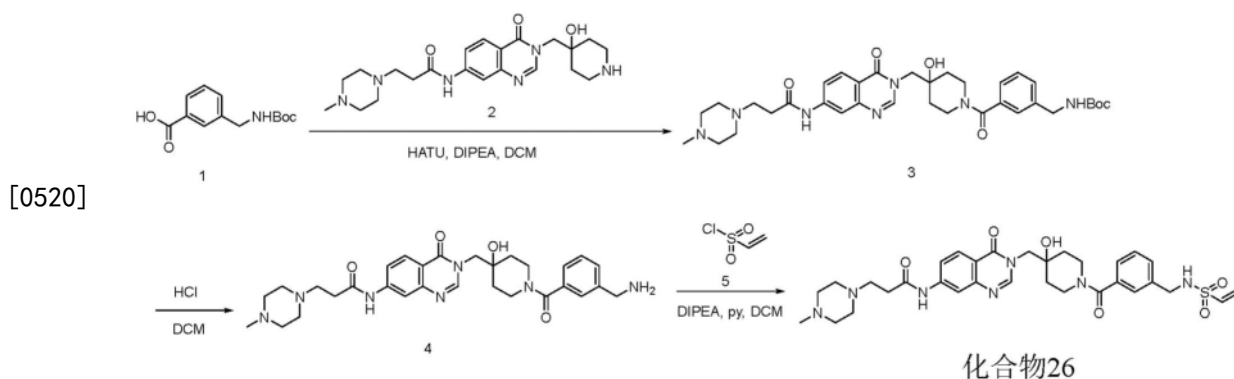
[0515] 化合物25的合成



[0517] N-(3-((1-(2'-乙基磺酰胺基)联苯羰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(化合物25)

[0518] 在0℃下,向N-(3-((1-(2'-氨基联苯羰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(60mg, 0.096mmol)和吡啶(38mg, 0.48mmol)在THF/H₂O(5mL/1mL)中的混合物中加入乙磺酰氯(123mg, 0.96mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时。混合物用EtOAc(50mL)稀释,用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的化合物25(20.3mg, 产率29.6%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.52(s, 1H), 8.94(s, 1H), 8.21(s, 1H), 8.08(d, J=8.4Hz, 1H), 8.01(d, J=1.6Hz, 1H), 7.61(dd, J=2.0Hz, 8.8Hz, 1H), 7.50(d, J=8.0Hz, 2H), 7.45(d, J=8.0Hz, 2H), 7.42-7.38(m, 2H), 7.37-7.31(m, 2H), 5.04(s, 1H), 4.20(bs, 1H), 4.02(s, 2H), 3.24-3.11(m, 2H), 2.80(q, J=7.2Hz, 2H), 2.64(t, 6J=8.0Hz, 3H), 2.53(t, J=6.8Hz, 2H), 2.48-2.23(m, 7H), 2.15(s, 3H), 1.73-1.29(m, 5H), 0.97(t, J=7.2Hz, 3H)。LCMS: (m/z) 716.7[M+H]⁺

[0519] 化合物26的合成



[0521] (3-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-羰基)苄基)氨基甲酸叔丁酯(中间体3)

[0522] 将3-(((叔丁氧基羰基)氨基)甲基)苯甲酸(200mg,0.8mmol)、HATU(334mg,0.88mmol)、DIPEA(0.5mL,2.0mmol)和DCM(20.0mL)的混合物在室温下搅拌1小时,将反应混合物逐滴加入到化合物2(340mg,0.8mmol)和DIPEA(0.5mL,2.0mmol)在DCM(20.0mL)中的混合物中,将混合物在室温下搅拌2小时,用DCM(50mL)稀释,用水(50mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩并通过硅胶柱色谱法($\text{MeOH}/\text{DCM}=1/20$)纯化,以得到呈黄色固体的中间体3(400mg,产率75%)。LCMS(m/z):662.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

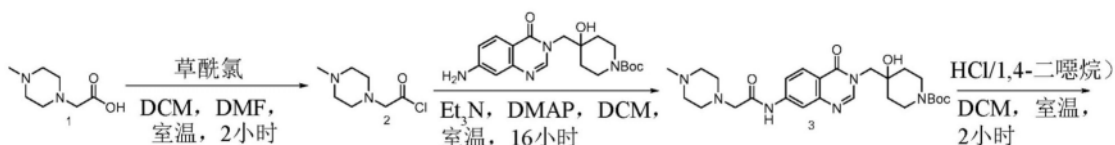
[0523] N-(3-((1-(3-(氨基甲基)苯甲酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(中间体4)

[0524] 将化合物3(400mg,0.6mmol)、在1,4-二噁烷中的HCl溶液(3.0mL)和DCM(5.0mL)的混合物在室温下搅拌2小时,将混合物在真空中浓缩,以得到呈固体的粗产物(300mg)。LCMS(m/z):562.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

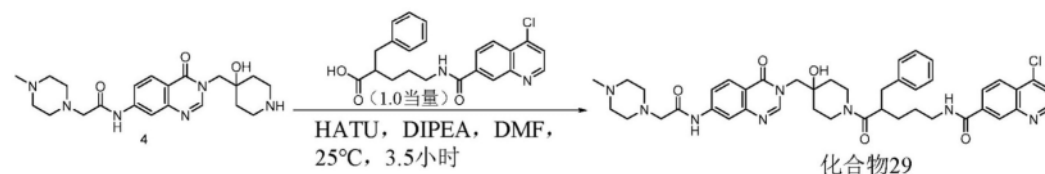
[0525] N-(3-((4-羟基-1-(3-(乙烯基磺酰胺基甲基)苯甲酰基)哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺(化合物26)

[0526] 将乙磺酰氯(220mg,1.75mmol)逐滴加入到化合物4(200mg,0.35mmol)、DIPEA(225mg,1.75mmol)和Py(4.0mL)和dry DCM(2.0mL)的混合物中,将混合物在室温下搅拌2小时,用水(0.5mL)淬灭,并且用 N_2 吹去溶剂,将残余物溶解在DMSO(1mL)中并且通过制备型HPLC(C18柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$,含有0.05% NH_4HCO_3)纯化以获得呈白色固体的化合物26(15mg,产率6.6%)。 ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm)10.52(s,1H),8.20(s,1H),8.08-7.89(m,3H),7.62-7.59(m,1H),7.43-7.27(m,4H),6.69(dd, $J_1=16.4\text{Hz}$, $J_2=10.0\text{Hz}$,1H),6.03(d, $J=16.4\text{Hz}$,1H),5.95(d, $J=10.0\text{Hz}$,1H),5.02(s,1H),4.27-4.00(m,5H),3.20-3.09(m,3H),2.67-2.62(m,2H),2.54-2.50(m,2H),2.42-2.17(m,7H),2.13(s,3H),1.59-1.29(m,5H)。LCMS(m/z):652.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0527] 化合物29的合成



[0528]



[0529] 2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰氯(中间体2)

[0530] 在冰水浴中搅拌的同时,向2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酸(474.9mg,3.002mmol,1.0当量)在无二氯甲烷(30mL)和N,N-二甲基甲酰胺(0.1mL)中的溶液中加入草酰氯(0.41mL,1.0当量)。将所得的混合物在室温下搅拌2小时,然后在真空中浓缩,以留下呈棕色固体的粗中间体2(525.21mg,2.983mmol,99%产率)。LCMS(m/z):173.2 $[\text{M}-\text{Cl}+\text{OCH}_3]^+$

[0531] 4-羟基-4-((7-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体3)

[0532] 在冰水浴中搅拌的同时,向4-((7-氨基-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯(374.3mg,1.0mmol,0.33当量)、 Et_3N (1.06mL,2.67当量)和DMAP

(12.3mg, 0.107mmol, 0.03当量) 在无水二氯甲烷 (20mL) 中的混合物中逐滴加入 2-(4-甲基哌嗪-1-基) 乙酰氯 (525.21mg, 2.983mmol, 1.0当量) 在无水二氯甲烷 (30mL) 中的溶液。将所得的混合物在室温下搅拌另外 16 小时, 然后浓缩并通过快速柱色谱法 (DCM/MeOH=9/1) 纯化, 以得到呈棕色固体的目标中间体 3 (286mg, 0.556mmol, 55.6% 产率)。LC-MS (m/z): 515.3 [M+H]⁺

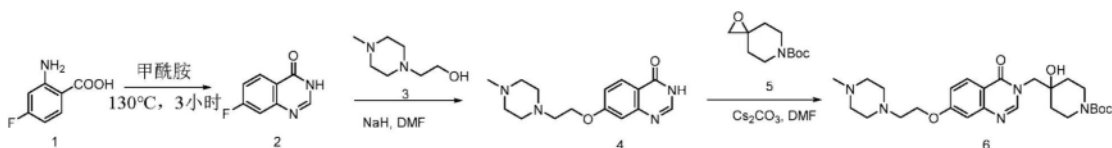
[0533] N-(3-((4-羟基哌啶-4-基) 甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-2-(4-甲基哌嗪-1-基) 乙酰胺 (中间体 4)

[0534] 向 4-羟基-4-((7-(2-(4-甲基哌嗪-1-基) 乙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基) 甲基) 哌啶-1-羧酸叔丁酯 (276mg, 0.537mmol, 1.0当量) 在二氯甲烷 (5mL) 中的溶液中加入在 1,4-二噁烷中的 HCl 溶液 (4M, 30mL, 20.0当量)。将所得的混合物在室温下搅拌另外 2 小时, 然后在真空中浓缩, 以留下呈白色固体的粗中间体 4 (222.3mg, 0.537mmol, 100% 产率)。LC-MS (m/z): 208.2 [M/2+H]⁺

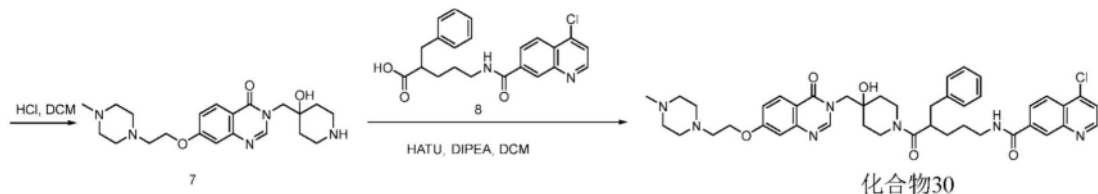
[0535] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(2-(4-甲基哌嗪-1-基) 乙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基) 甲基) 哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺 (化合物 29)

[0536] 将 2-苄基-5-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基) 戊酸 (47.9mg, 0.121mmol, 1.0当量)、HATU (55.1mg, 0.145mmol, 1.2当量) 和 DIPEA (31.3mg, 0.242mmol, 2.0当量) 在 N,N-二甲基丙酰胺 (2mL) 中的混合物在 25°C 下搅拌 1.5 小时, 然后逐滴加入到 N-(3-((4-羟基哌啶-4-基) 甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-2-(4-甲基哌嗪-1-基) 乙酰胺 (0.05g, 0.121mmol, 1.0当量) 和 DIPEA (0.0469g, 0.363mmol, 3.0当量) 在 N,N-二甲基甲酰胺 (2mL) 中的混合物中, 将所得的混合物在 25°C 下搅拌另外 3.5 小时, 浓缩并通过制备型 HPLC 纯化, 以得到呈白色固体的目标化合物 29 (11.3mg, 产率 11.79%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 10.15 (brs, 1H), 8.98-8.84 (m, 2H), 8.60 (d, J=5.2Hz, 1H), 8.32-8.01 (m, 5H), 7.86 (d, J=4.8Hz, 1H), 7.74-7.65 (m, 1H), 7.28-7.07 (m, 5H), 4.86 (s, 1H), 4.17-3.57 (m, 6H), 3.21-3.07 (m, 5H), 2.89-2.64 (m, 5H), 2.45-2.26 (m, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.69-1.03 (m, 10H)。LC-MS (m/z): 793.3 [M+H]⁺

[0537] 化合物 30 的合成



[0538]



[0539] 7-氟喹唑啉-4(3H)-酮 (中间体 2)

[0540] 将 2-氨基-4-氟苯甲酸 (1550mg, 10mmol) 在甲酰胺 (6.0mL) 中的混合物在 130°C 下搅拌 3 小时。在冷却至室温后, 将反应混合物倒入水 (100mL) 中, 收集所得的固体并在真空下干燥, 以得到呈棕色固体的中间体 2 (1.3g, 产率 78%)。LCMS (m/z): 165.1 [M+H]⁺。

[0541] 7-(2-(4-甲基哌嗪-1-基) 乙氧基) 喹唑啉-4(3H)-酮 (中间体 4)

[0542] 将 NaH (1100mg, 27.5mmol) 分批加入到中间体 3 (1584mg, 11.0mmol) 在 DMF (20.0mL)

中的混合物中,将混合物在室温下搅拌1小时,然后加入2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙-1-醇(900mg,5.5mmol),将所得的混合物在100℃下搅拌2小时。在冷却至室温后,用水(100mL)稀释反应混合物并用DCM(50mL)洗涤,在真空中浓缩水相,将残余物溶解在混合物(DCM/EA=3/1(80mL))中,在室温下搅拌3小时并过滤,以得到呈黄色固体的中间体4(1.2g,产率75%)。LCMS(m/z):289.2[M+H]⁺。

[0543] 4-羟基-4-((7-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙氧基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体6)

[0544] 将中间体4(800mg,2.8mmol)、1-氧杂-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羧酸叔丁酯(715mg,3.3mmol)和Cs₂CO₃(1369mg,4.2mmol)在DMF(12.0mL)中的混合物在80℃下搅拌16小时。在冷却至室温后,将反应混合物用EtOAc(100mL)稀释,用水(20mL*4)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过硅胶柱色谱法(MeOH/DCM=1/20)纯化,以获得呈黄色固体的中间体6(290mg,产率21%)。LCMS(m/z):502.4[M+H]⁺。

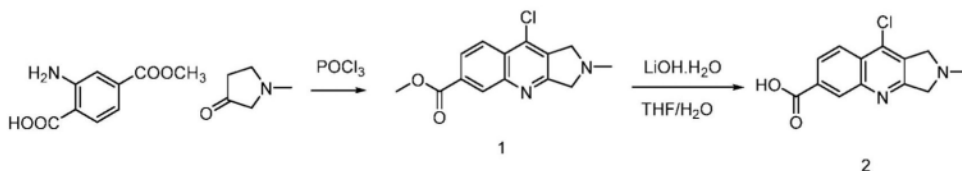
[0545] 3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-7-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙氧基)喹唑啉-4(3H)-酮(中间体7)

[0546] 向中间体6(90mg,0.18mmol)在DCM(2.0mL)中的混合物中加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M,1.0mL),将混合物在室温下搅拌2小时,并在真空中浓缩,以留下呈固体的粗中间体7(80mg)。LCMS(m/z):402.1[M+H]⁺。

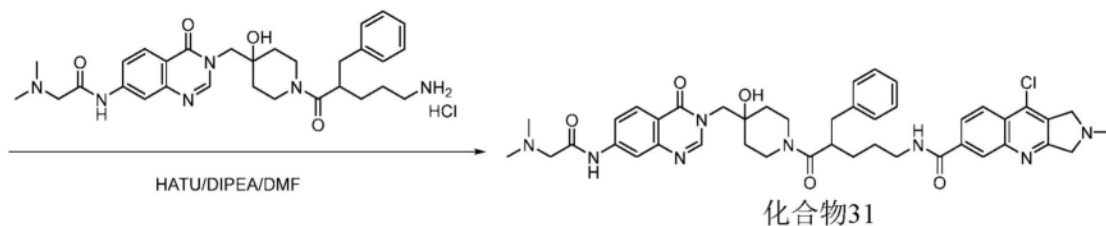
[0547] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙氧基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物30)

[0548] 将中间体8(79mg,0.2mmol)、HATU(84mg,0.22mmol)和DIPEA(1.0mL,0.5mmol)在DCM(10.0mL)中的混合物在室温下搅拌30分钟,然后将混合物逐滴加入到中间体7(80mg,0.2mmol)和DIPEA(1.0mL,0.5mmol)在DCM(10.0mL)中的溶液中,将所得的混合物在室温下搅拌2小时,用水(20mL)稀释并用DCM(20mL×3)提取,将合并的有机相经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以获得呈白色固体的化合物30(38mg,产率24%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ(ppm)8.94-8.87(m,2H),8.61-8.59(m,1H),8.29-8.26(m,1H),8.20-7.98(m,3H),7.86(d,J=4.8Hz,1H),7.26-7.07(m,7H),4.84(s,1H),4.23-4.19(m,2H),4.15-3.60(m,4H),3.31-3.13(m,4H),2.87-2.65(m,6H),2.51-2.40(m,7H),2.15(s,3H),1.64-1.06(m,8H)。LCMS(m/z):780.2[M+H]⁺

[0549] 化合物31的合成



[0550]



[0551] 9-氯-2-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-b]喹啉-6-羧酸甲酯(中间体1)

[0552] 在微波辐射下,将2-氨基-4-(甲氧基羰基)苯甲酸(390mg,2.0mmol)和1-甲基吡咯烷-3-酮(990mg,10.0mmol)在POCl₃(10mL)中的混合物在100℃下搅拌30分钟。在真空中浓缩混合物,残余物用DCM(100mL)稀释,并且用Na₂CO₃水溶液调节至pH 7至8。分离有机层,用DCM(50mL×3)提取水层。合并的有机物用盐水(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过快速色谱法(DCM/MeOH=30/1)纯化,以得到呈棕色固体的中间体1(62mg,产率10.7%)。LCMS:(m/z)277.1[M+H]⁺

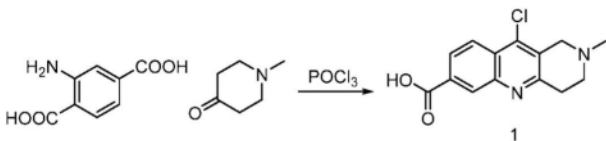
[0553] 9-氯-2-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-b]喹啉-6-羧酸(中间体2)

[0554] 向9-氯-2-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-b]喹啉-6-羧酸甲酯(62mg,0.224mmol)在THF/H₂O(10mL/2mL)中的混合物中加入LiOH·H₂O(14mg,0.336mmol)。将混合物在室温下搅拌16小时,然后加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M,0.1mL,0.4mmol),将混合物浓缩并在真空下干燥,以留下呈黄色固体的粗中间体2(70mg,产率100%)。LCMS:(m/z)263.0[M+H]⁺

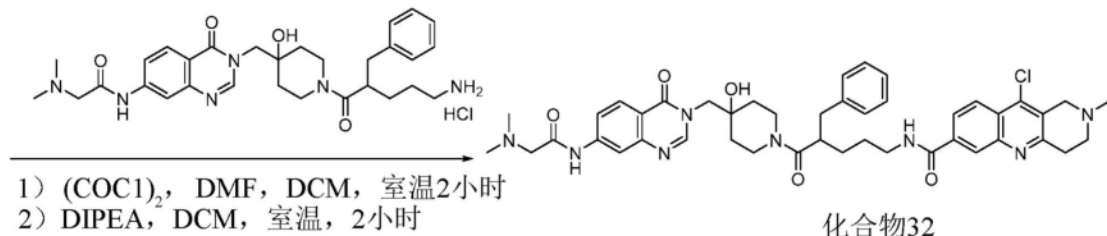
[0555] N-(4-苄基-5-(4-((7-(2-(二甲基氨基)乙酰胺基)-4-氧代喹啉啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-9-氯-2-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-b]喹啉-6-羧酰胺(化合物31)

[0556] 向9-氯-2-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯并[3,4-b]喹啉-6-羧酸(32mg,粗品0.1mmol)、N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉啉-7-基)-2-(二甲基氨基)乙酰胺盐酸盐(58mg,0.1mmol)和DIEA(52mg,0.4mmol)在DMF(5mL)中的搅拌的溶液中加入HATU(421mg,0.11mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,然后浓缩,残余物通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05%NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的化合物31(34.5mg,产率43%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ(ppm)10.20(d,4.8Hz,1H),8.85-8.77(m,1H),8.52(dd,J=1.2Hz,11.6Hz,1H),8.22-8.16(m,1H),8.15-8.00(m,4H),7.79-7.00(m,1H),7.27-7.07(m,5H),4.83(d,J=2.4Hz,1H),4.16-3.96(m,5H),3.95-3.76(m,2H),3.67-3.56(m,2H),3.30-3.23(m,2H),3.15(s,3H),2.90-2.60(m,3H),2.59-2.53(m,3H),2.30(s,6H),1.69-0.99(m,8H)。LCMS:(m/z)793.3[M+H]⁺

[0557] 化合物32的合成



[0558]



[0559] 10-氯-2-甲基-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,6]萘啶-7-羧酸(中间体1)

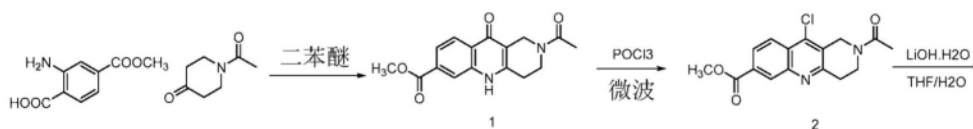
[0560] 在微波辐射下,将2-氨基对苯二甲酸(181mg,1.0mmol)和1-甲基哌啶-4-酮(226mg,2.0mmol)在POCl₃(8mL)中的混合物在100℃下搅拌30分钟。在真空中浓缩混合物,

用H₂O (10mL) 稀释残余物,并且通过制备型HPLC (C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃) 纯化,以得到呈白色固体的中间体1 (47.8mg, 产率15.7%)。LCMS: (m/z) 277.1 [M+H]⁺

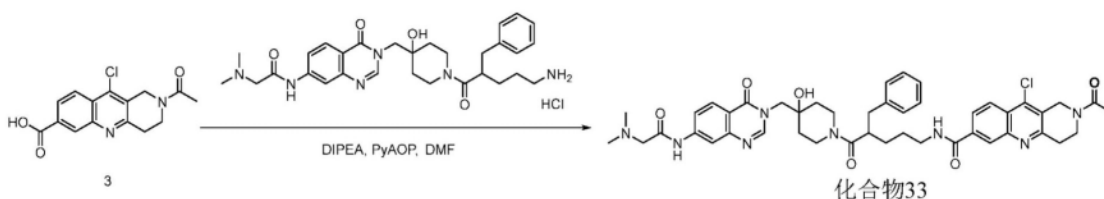
[0561] N-(4-苄基-5-(4-((7-(2-(二甲基氨基)乙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-10-氯-2-甲基-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,6]萘啶-7-羧酰胺(化合物32)

[0562] 向10-氯-2-甲基-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,6]萘啶-7-羧酸 (47.8mg, 0.173mmol) 在干燥的DCM (10mL) 中的搅拌的溶液中加入干燥的DMF (0.05mL), 随后在0℃下加入 (COCl)₂ (33mg, 0.26mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时并在真空中浓缩, 将残余物用DCM (10mL) 稀释, 并逐滴加入到N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)-2-(二甲基氨基)乙酰胺盐酸盐 (101mg, 0.173mmol) 和DIEA (89mg, 0.692mmol) 在DCM (10mL) 中的混合物中。将所得的混合物在室温下搅拌2小时, 浓缩并通过制备型HPLC (C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃) 纯化, 以得到呈白色固体的化合物32 (20.7mg, 产率15%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 10.20 (d, J=5.2Hz, 1H), 8.84-8.73 (m, 1H), 8.48 (d, J=11.2Hz, 1H), 8.23-7.98 (m, 5H), 7.79-7.70 (m, 1H), 7.30-7.05 (m, 5H), 4.83 (s, 1H), 4.17-3.95 (m, 1H), 3.95-3.54 (m, 5H), 3.29-3.22 (m, 2H), 3.20-2.60 (m, 11H), 2.47 (s, 3H), 2.29 (s, 6H), 1.71-0.99 (m, 8H)。LCMS: (m/z) 807.3 [M+H]⁺

[0563] 化合物33的合成



[0564]



[0565] 2-乙酰基-10-氧代-1,2,3,4,5,10-六氢苯并[b][1,6]萘啶-7-羧酸甲酯(中间体1)

[0566] 将2-氨基-4-(甲氧基羰基)苯甲酸 (586mg, 3.0mmol) 和1-乙酰基哌啶-4-酮 (847mg, 6.0mmol) 在二苯醚 (30mL) 中的混合物在200℃下搅拌4小时。在冷却至室温后, 加入PE (200mL), 将混合物在室温下搅拌30分钟并过滤, 滤饼通过快速色谱法 (DCM/MeOH=30/1) 纯化, 以得到呈棕色固体的中间体1 (300mg, 产率33%)。LCMS: (m/z) 301.1 [M+H]⁺

[0567] 2-乙酰基-10-氯-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,6]萘啶-7-羧酸甲酯(中间体2)

[0568] 将1-乙酰基哌啶-4-酮 (300mg, 1.0mmol) 在POCl₃ (10mL) 中的混合物在80℃下在微波辐射下搅拌20分钟。在冷却至室温后, 将混合物在真空中浓缩, 将残余物用H₂O (20mL) 稀释, 调节至pH 5至6并且用DCM (3x50 mL) 提取, 将合并的有机物用盐水 (100mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 浓缩并通过快速柱色谱法 (DCM/MeOH=30/1) 纯化, 以得到呈棕色固体的中间体2 (125mg, 产率39%)。LCMS: (m/z) 319.1 [M+H]⁺

[0569] 2-乙酰基-10-氯-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,6]萘啶-7-羧酸(中间体3)

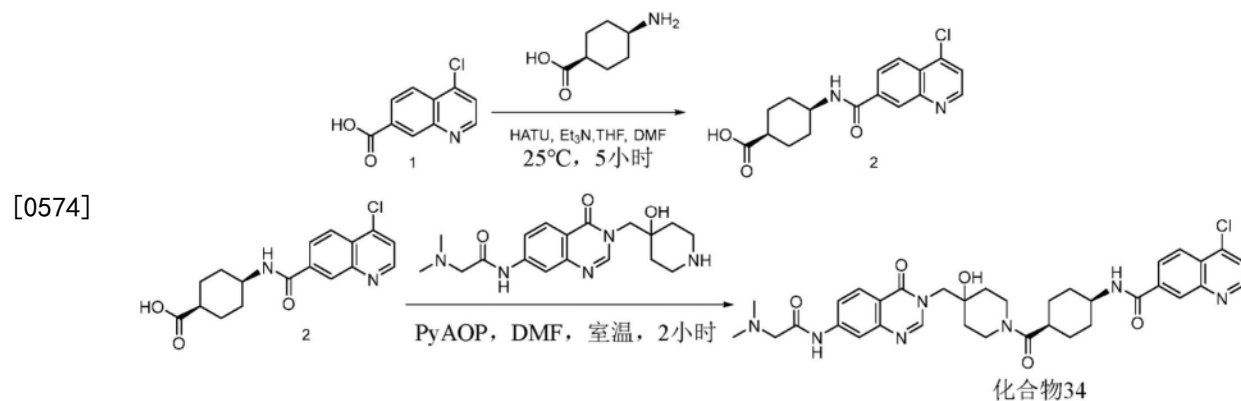
[0570] 向2-乙酰基-10-氯-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,6]萘啶-7-羧酸甲酯 (125mg, 0.393mmol) 在THF/H₂O (10mL/2mL) 中的混合物中加入LiOH·H₂O (25mg, 0.59mmol)。将混合物

在室温下搅拌16小时,然后加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M,0.2mL,0.8mmol),将混合物浓缩并在真空下干燥,以留下呈黄色固体的粗中间体3(100mg,产率84%)。LCMS: (m/z) 305.1[M+H]⁺

[0571] 2-乙酰基-N-(4-苄基-5-(4-((7-(2-(二甲基氨基)乙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-10-氯-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,6]萘啶-7-羧酰胺(化合物33)

[0572] 向2-乙酰基-10-氯-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,6]萘啶-7-羧酸(80mg,0.263mmol)和N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)-2-(二甲基氨基)乙酰胺盐酸盐(154mg,0.263mmol)在DMF(5mL)中的搅拌的混合物中加入DIPEA(93mg,0.72mmol)和PyAOP(137mg,0.289mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,然后通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05%NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的化合物33(24.4mg,产率12.1%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆,60°C)δ(ppm)10.00(s,1H),8.61(s,1H),8.48(s,1H),8.21(d,J=8.8Hz,1H),8.16-7.97(m,4H),7.73(d,J=7.6Hz,1H),7.27-7.05(m,5H),4.88(s,2H),4.70(s,1H),4.15-3.54(m,6H),3.37-3.18(m,7H),3.06-2.60(m,5H),2.31(s,6H),2.16(s,2H),1.76-1.06(m,8H)。LCMS: (m/z) 835.3[M+H]⁺

[0573] 化合物34的合成



[0575] (1s,4s)-4-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)环己烷羧酸(中间体2)

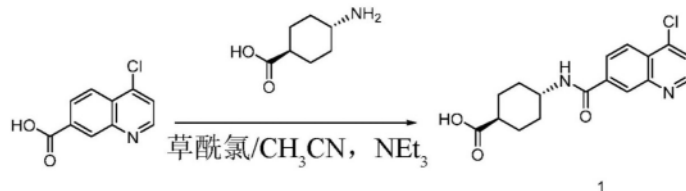
[0576] 将4-氯喹啉-7-羧酸(0.1235g,0.592mmol,1.0当量)、HATU(0.2399g,0.631mmol,1.05当量)和Et₃N(0.1236g,1.221mmol,2.0当量)在四氢呋喃(15mL)和N,N-二甲基甲酰胺(0.1mL)中的混合物在25°C下搅拌一小时,然后加入(1s,4s)-4-氨基环己烷羧酸(0.1269g,0.887mmol,1.5当量)。将所得的混合物在25°C下搅拌另外5小时。向混合物中加入水(10mL),并且分离各层。用乙酸乙酯(150mL×3)提取水相。将合并的有机相用饱和NaCl溶液(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的目标中间体2(43mg,0.129mmol,21.87%)。LCMS(m/z):333.1[M+H]⁺

[0577] 4-氯-N-((1s,4s)-4-(4-((7-(2-(二甲基氨基)乙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)环己基)喹啉-7-羧酰胺(化合物34)

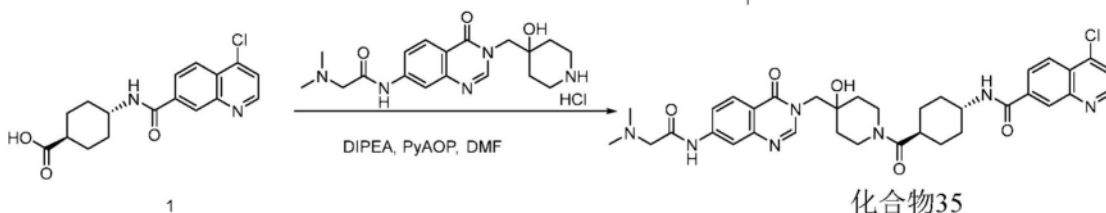
[0578] 将中间体2(43mg,0.129mmol,1.0当量)和2-(二甲基氨基)-N-(3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)乙酰胺(55.7mg,0.155mmol,1.2当量)在N,N-二甲基甲酰胺(8mL)中的混合物在室温下搅拌一小时。然后加入PyAOP(73.5mg,0.141mmol,1.1当量)。将所得的混合物在室温下搅拌另外2小时,用乙酸乙酯(50mL)稀释,用饱和Na₂CO₃

溶液(100mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的目标化合物34(22.4mg, 25.79%)。 ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6 , 60°C) δ (ppm) 10.23 (s, 1H), 8.94 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 8.70-8.62 (m, 2H), 8.28-8.07 (m, 5H), 7.86 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 7.76 (dd, $J=7.6\text{Hz}$, 1.2Hz, 1H), 5.009 (s, 1H), 4.07-3.93 (m, 4H), 3.73-3.68 (m, 1H), 3.168 (s, 2H), 3.02-2.95 (m, 2H), 2.74 (br, 1H), 2.306 (s, 6H), 1.91-1.65 (m, 4H), 1.65-1.53 (m, 2H), 1.53-1.43 (m, 6H)。LC-MS (m/z): 674.3 [M+H]⁺

[0579] 化合物35的合成



[0580]



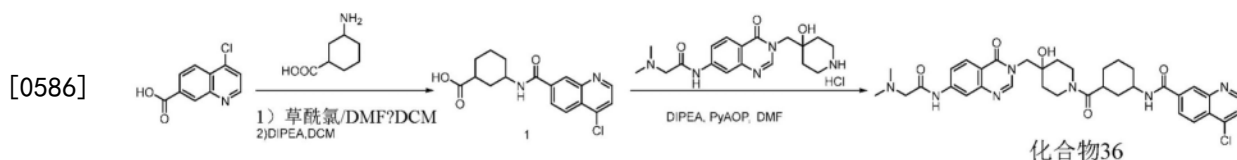
[0581] (1R,4R)-4-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)环己烷羧酸(中间体1)

[0582] 在室温下,向4-氯喹啉-7-羧酸(104mg, 0.5mmol)在干燥 CH_3CN (10mL)中的混合物中加入草酰氯(70mg, 0.55mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时,然后逐滴加入到反式-4-氨基环己烷羧酸(143mg, 1.0mmol)和TEA(202mg, 2.0mmol)在干燥THF(10mL)中的混合物中。将混合物在室温下搅拌4小时并在真空中浓缩,将残余物用DCM(100mL)稀释,用盐水(100mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 含有0.05% NH_4HCO_3)纯化,以得到呈白色固体的中间体1(60mg, 产率36%)。LCMS: (m/z) 333.1 [M+H]⁺,

[0583] 4-氯-N-((1R,4R)-4-(4-((7-(2-(二甲基氨基)乙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)环己基)喹啉-7-羧酰胺(化合物35)

[0584] 向(1R,4R)-4-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)环己烷羧酸(80mg, 0.24mmol)和2-(二甲基氨基)-N-(3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)乙酰胺盐酸盐(95mg, 0.24mmol)在DMF(5mL)中的搅拌的混合物中加入DIPEA(93mg, 0.72mmol)和PyAOP(138mg, 0.264mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,然后通过制备型HPLC(C18柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 含有0.05% NH_4HCO_3)纯化,以得到呈白色固体的目标化合物35(27.2mg, 产率16.6%)。 ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 10.19 (s, 1H), 8.93 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 8.70 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 8.61 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 8.27 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.17 (dd, $J=1.6\text{Hz}$, 8.8Hz, 1H), 8.12-8.05 (m, 2H), 7.86 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 7.76 (dd, $J=2.0\text{Hz}$, 8.8Hz, 1H), 4.98 (s, 1H), 4.13-4.02 (m, 2H), 3.99-3.88 (m, 1H), 3.86-3.68 (m, 2H), 3.14 (s, 2H), 3.02-2.91 (m, 1H), 2.64-2.53 (m, 1H), 2.29 (s, 6H), 1.94 (s, 2H), 1.73 (s, 2H), 1.61-1.37 (m, 8H)。LCMS: (m/z) 674.3 [M+H]⁺

[0585] 化合物36的合成



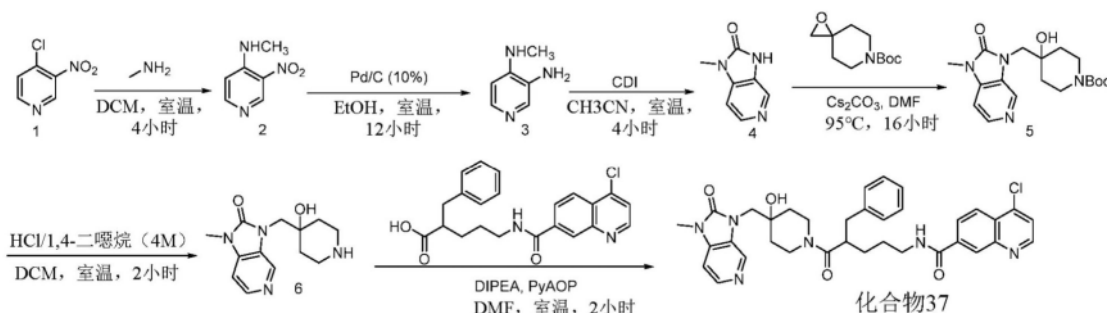
[0587] 3-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)环己烷羧酸(中间体1)

[0588] 向4-氯喹啉-7-羧酸(207mg, 1.0mmol)在干燥DCM(15mL)中的搅拌的溶液中加入干燥DMF(0.05mL),然后在0°C下加入(COCl)₂(190mg, 1.5mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时,并且在真空中浓缩,将残余物用无水DCM(15mL)稀释并逐滴加入到3-氨基环己烷羧酸(143mg, 1.0mmol)和DIEA(517mg, 4.0mmol)在干燥DCM(15mL)中的混合物中。将所得的混合物在室温下搅拌16小时,用MeOH(5mL)淬灭,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的中间体1(90mg, 产率27%)。LCMS: (m/z) 333.1 [M+H]⁺

[0589] 4-氯-N-(3-(4-((7-(2-(二甲基氨基)乙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)环己基)喹啉-7-羧酰胺(化合物36)

[0590] 向3-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)环己烷羧酸(90mg, 0.27mmol)和2-(二甲基氨基)-N-(3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)乙酰胺盐酸盐(107mg, 0.27mmol)在DMF(5mL)中的搅拌的混合物中加入DIPEA(105mg, 0.81mmol)和PyAOP(155mg, 0.297mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,然后通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)直接纯化,以得到呈白色固体的目标化合物36(23.9mg, 产率13%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.20(d, J=3.2Hz, 1H), 8.93(t, J=4.8Hz, 1H), 8.72(t, J=7.6Hz, 1H), 8.62(d, J=8.8Hz, 1H), 8.27(t, J=8.4Hz, 1H), 8.23-8.14(m, 3H), 8.12-8.03(m, 2H), 7.86(t, J=4.8Hz, 1H), 7.75(t, J=7.6Hz, 1H), 4.98(s, 1H), 4.13-3.89(m, 4H), 3.83-3.72(m, 1H), 3.32-3.27(m, 1H), 3.14(s, 2H), 3.02-2.90(m, 1H), 2.88-2.77(m, 1H), 2.29(s, 6H), 1.94-1.21(m, 12H)。LCMS: (m/z) 674.3 [M+H]⁺

[0591] 化合物37的合成



[0593] N-甲基-3-硝基吡啶-4-胺(中间体2)

[0594] 将4-氯-3-硝基吡啶(2g, 12.73mmol, 1.0当量)、甲胺(12.7mL, 2M, 在THF, 2.0当量)在DCM(20mL)中的混合物在室温下搅拌4小时。将水(50mL)加入到反应混合物中,过滤所得的悬浮液,在真空下干燥滤饼,以得到呈固体的目标中间体2(1.74g, 11.36mmol, 89.31%产率)。LCMS(m/z): 154.1

[0595] N4-甲基吡啶-3,4-二胺(中间体3)

[0596] 将中间体2(1g, 6.7mmol, 1.0当量)和Pd/C(10%, 0.21g, 0.03当量)在EtOH(10mL)

中的混合物在室温下在H₂ (1大气压) 下搅拌12小时。混合物通过硅藻土过滤,将滤液在真空下浓缩,以得到呈固体的目标中间体3 (0.72g, 5.9mmol, 88.06%产率)。LCMS (m/z): 124.1

[0597] 1-甲基-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮(中间体4)

[0598] 将中间体3 (0.4g, 3.2mmol, 1.0当量) 和CDI (0.53g, 3.36mmol, 1.05当量) 在CH₃CN (10mL) 中的混合物在室温下搅拌4小时。过滤混合物,将收集的固体用CH₃CN洗涤,以得到呈白色粉末的目标中间体4 (0.28g, 1.9mmol, 59.4%产率)。LCMS (m/z): 150.1

[0599] 4-羟基-4-((1-甲基-2-氧代-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-3(2H)-基)甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体5)

[0600] 将中间体4 (80mg, 0.54mmol, 1.0当量)、1-氧杂-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羧酸叔丁酯 (170mg, 0.8mmol, 1.5当量) 和Cs₂CO₃ (300mg, 0.8mmol, 1.5当量) 在DMF (4mL) 中的混合物在95℃下搅拌16小时。将混合物浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的中间体5 (169mg, 0.468mmol, 86.69%)。LCMS (m/z): 363.2

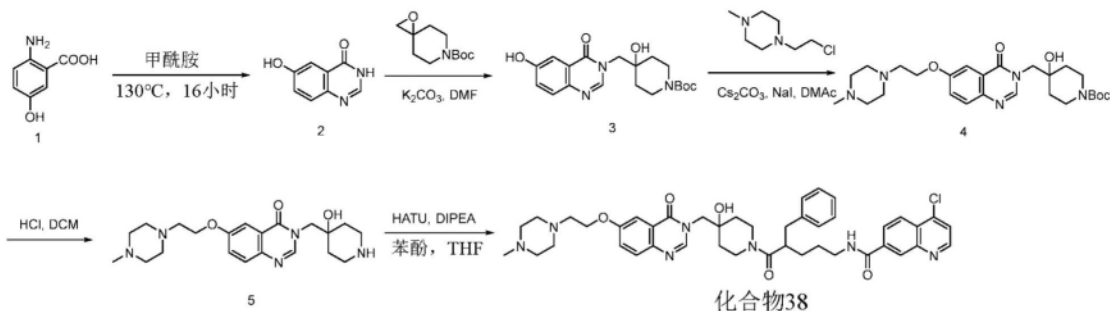
[0601] 3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-1-甲基-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-2(3H)-酮(中间体6)

[0602] 向中间体5 (208mg, 0.574mmol, 1.0当量) 在DCM (10mL) 中的混合物中加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液 (4M, 3.0mL, 20.0当量),将混合物在室温下搅拌2小时。然后在真空下除去溶剂,以得到呈浅黄色固体的中间体6 (150mg, 0.573mmol, 99%)。LC-MS (m/z): 263.2 [M+H]⁺

[0603] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((1-甲基-2-氧代-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-3(2H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物37)

[0604] 将中间体6 (54.5mg, 0.208mmol, 1.0当量)、2-苄基-5-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)戊酸 (66.3mg, 0.167mmol, 1.2当量) 和DIPEA (133.7mg, 1.035mmol, 5.0当量) 在DMF (5mL) 中的混合物在室温下搅拌。在10分钟后,向反应混合物中加入PyAOP (99.4mg, 0.191mmol, 1.1当量)。将所得的混合物在室温下搅拌2小时。向反应混合物中加入乙酸乙酯 (50mL)。向混合物中加入饱和Na₂CO₃溶液 (20mL),并且分离各层。将有机相用饱和NaCl溶液 (50mL) 洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的目标化合物37 (16.3mg, 12.24%产率)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm), 8.92 (d, J=4.8Hz, 1H), 8.91-8.85 (m, 1H), 8.60 (d, J=4.8Hz, 1H), 8.45-8.13 (m, 4H), 7.80-7.82 (m, 1H), 7.27-7.01 (m, 6H), 4.76 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.22-4.01 (m, 1H), 3.77-3.50 (m, 4H), 3.33-3.23 (m, 4H), 3.21-3.07 (m, 2H), 2.86-2.63 (m, 3H), 1.72-0.99 (m, 8H)。LC-MS (m/z): 641.3 [M+H]⁺

[0605] 化合物38的合成



[0607] 6-羟基喹啉-4(3H)-酮(中间体2)

[0608] 将2-氨基-5-羟基苯甲酸 (3000mg, 19.6mmol) 和甲酰胺 (15.0mL) 的混合物在130℃

下搅拌16小时在冷却至室温后,将混合物倒入水(100mL)中,收集滤饼并用MeOH(20mL)洗涤,以得到呈棕色固体的中间体2(2.0g,产率62%)。LCMS(m/z):163.1[M+H]⁺。

[0609] 4-羟基-4-((6-羟基-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体3)

[0610] 将中间体2(600mg,3.7mmol)、1-氧杂-6-氮杂螺[2.5]辛烷-6-羧酸叔丁酯(606mg,2.8mmol)和K₂CO₃(580mg,4.2mmol)在DMF(15.0mL)中的混合物在60℃下搅拌16小时。在冷却至室温后,将混合物用EtOAc(50mL)稀释,用水(20mL*4)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的中间体3(600mg,产率57%)。LCMS(m/z):376.3[M+H]⁺。

[0611] 4-羟基-4-((6-(2-(4-甲基哌啶-1-基)乙氧基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体4)

[0612] 将中间体3(300mg,0.8mmol)、1-(2-氯乙基)-4-甲基哌啶(225mg,0.96mmol)、Cs₂CO₃(521mg,1.6mmol)和NaI(24mg,0.16mmol)在DMAc(6.0mL)中的混合物在120℃下搅拌16小时。将混合物用水(2.0mL)稀释,并通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)直接纯化,以得到呈白色固体的中间体3(170mg,产率42%)。LCMS(m/z):502.2[M+H]⁺。

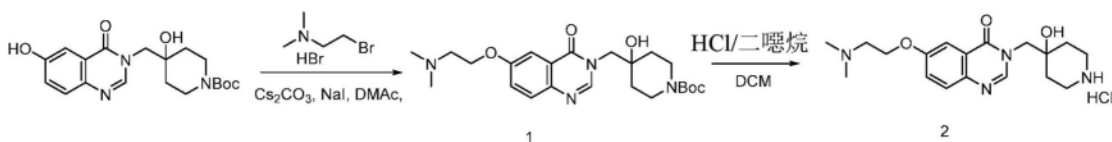
[0613] 3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-6-(2-(4-甲基哌啶-1-基)乙氧基)喹唑啉-4(3H)-酮(中间体5)

[0614] 向中间体4(170mg,0.339mmol)在DCM(15mL)中的混合物中加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(2.0mL,4M,8.0mmol),将混合物在室温下搅拌2.5小时,并在真空下浓缩,以得到呈白色固体的目标中间体5(134mg,98%产率)。LCMS(m/z):402.1[M+H]⁺。

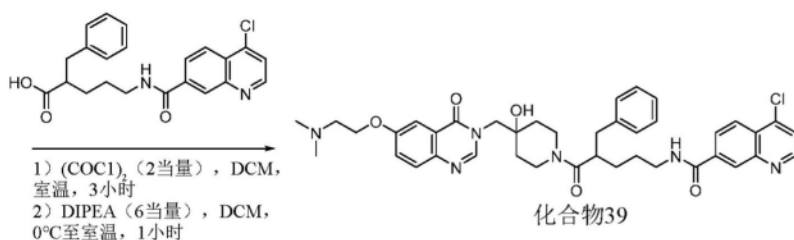
[0615] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((6-(2-(4-甲基哌啶-1-基)乙氧基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物38)

[0616] 将2-苄基-5-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)戊酸(0.0463g,0.1167mmol,1.0当量)、HATU(0.0524g,0.1378mmol,1.2当量)和DIPEA(0.0459g,0.3552mmol,2.0当量)在THF(4mL)中的混合物在室温下搅拌1小时,然后逐滴加入到中间体5(0.1150g,0.2864mmol,1.2当量)、苯酚(46.3mg,0.4920mmol,3.6当量)和DIPEA(0.0665g,0.5146mmol,3.0当量)在THF(4mL)中的混合物中,将混合物在室温下搅拌2小时。向反应混合物中加入水(100mL)和DCM(100mL),并且分离各层。用DCM(50mL×3)提取水相。将合并的有机相用饱和NaCl溶液(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过执行型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的目标化合物38(14mg,15.38%产率)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ(ppm) 8.92(d,J=4.4Hz,1H),8.87(t,J=5.6Hz,1H),8.58(d,J=10.8Hz,1H),8.29-8.25(m,1H),8.16(t,J=10.4Hz,1H),8.09-8.04(m,1H),7.83(d,J=4.4Hz,1H),7.60(d,J=8.8Hz,1H),7.59-7.49(m,1H),7.45-7.38(m,1H),7.28-7.07(m,5H),4.86(br,1H),4.24-3.80(m,5H),3.68-3.55(m,2H),3.34-3.25(m,2H),3.30-3.07(m,2H),2.90-2.60(m,6H),2.45-2.09(m,9H),1.74-1.01(m,8H)。LCMS(m/z):780.3[M+H]⁺。

[0617] 化合物39的合成



[0618]



[0619] 4-((6-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羧酸叔丁酯(中间体1)

[0620] 将4-羟基-4-((6-羟基-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(275mg, 0.73mmol)、2-溴-N,N-二甲基乙胺氢溴酸盐(172mg, 0.74mmol)、 Cs_2CO_3 (476mg, 1.46mmol)和NaI(25mg, 0.17mmol)在DMAC(6.0mL)中的混合物在120℃下搅拌16小时。将混合物用水(30mL)稀释并用DCM(20mL×2)提取,将合并的有机相经无水 Na_2SO_4 干燥,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$,含有0.05% NH_4HCO_3)纯化,以得到呈棕色固体的中间体1(91mg,产率28%)。LCMS(m/z):447.3[M+H]⁺。

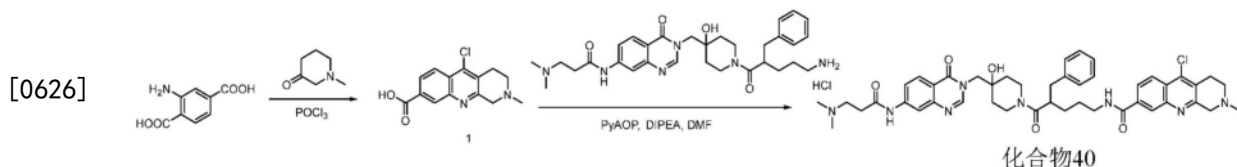
[0621] 6-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)喹唑啉-4(3H)-酮盐酸盐(中间体2)

[0622] 在室温下,向N-(4-苄基-5-(4-((6-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(91mg, 0.2mmol)在DCM(3mL)中的溶液中加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M, 1mL, 4mmol)。将混合物室温下搅拌3小时,并且在真空中浓缩,留下呈浅黄色固体的粗中间体2(77mg,产率100%)。LCMS:(m/z)347.2[M+H]⁺

[0623] N-(4-苄基-5-(4-((6-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物39)

[0624] 向2-苄基-5-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)戊酸(38mg, 0.096mmol)在干燥DCM(10mL)中的搅拌的溶液中加入干燥DMF(0.05mL),然后在0℃下加入 $(\text{COCl})_2$ (18.3mg, 0.144mmol)。将反应混合物在室温下搅拌3小时,并在真空中浓缩,将残余物用干燥DCM(10mL)稀释,并逐滴加入到6-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)喹唑啉-4(3H)-酮盐酸盐(38.5mg, 0.096mmol)和DIEA(50mg, 0.384mmol)在干燥DCM(10mL)中的混合物中。将所得的混合物在室温下搅拌2小时,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$,含有0.05% NH_4HCO_3)纯化,以得到呈白色固体的产物(18.5mg,产率26.6%)。¹H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm) 8.93(d, J=4.8Hz, 1H), 8.88(q, J=5.6Hz, 1H), 8.60(d, J=10.4Hz, 1H), 8.30-8.24(m, 1H), 8.20-8.13(m, 1H), 8.11-8.05(m, 1H), 7.85(d, J=4.8Hz, 1H), 7.64-7.49(m, 2H), 7.45-7.37(m, 1H), 7.28-7.06(m, 5H), 4.83(bs, 1H), 4.30-3.80(m, 5H), 3.79-3.36(m, 10H), 3.22-3.06(m, 2H), 2.91-2.80(m, 1H), 2.80-2.60(m, 4H), 2.23(d, J=10.0Hz, 6H), 1.75-1.01(m, 8H)。LCMS:(m/z)725.3[M+H]⁺

[0625] 化合物40的合成



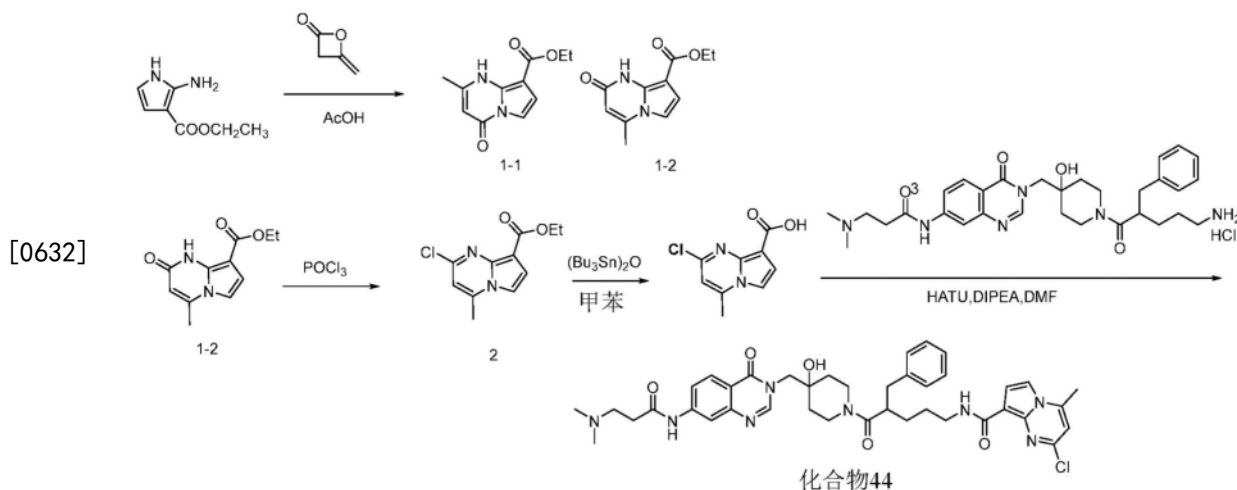
[0627] 5-氯-2-甲基-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,7]萘啶-8-羧酸(中间体1)

[0628] 在微波辐射下,将2-氨基对苯二甲酸(181mg,1.0mmol)和1-甲基哌啶-3-酮(226mg,2.0mmol)在POCl₃(5mL)中的混合物在100℃下搅拌30分钟。在冷却至室温后,将混合物浓缩并通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的中间体1(56mg,产率18.4%)。LCMS(m/z):277.1[M+H]⁺。

[0629] N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-5-氯-2-甲基-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,7]萘啶-8-羧酰胺(化合物40)

[0630] 向5-氯-2-甲基-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,7]萘啶-8-羧酸(30mg,0.108mmol),N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺盐酸盐(65mg,0.108mmol)和DIPEA(56mg,0.432mmol)在干燥DMF(5mL)中的搅拌的溶液中加入PyAOP(62mg,0.119mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1小时,用EtOAc(100mL)稀释,用Na₂CO₃溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的化合物40(23mg,产率26%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ(ppm)10.48(d,J=6.0Hz,1H),8.84-8.76(m,1H),8.51-8.44(m,1H),8.20-8.00(m,5H),7.66-7.58(m,1H),7.28-7.08(m,5H),4.84(d,J=2.8Hz,1H),4.17-3.97(m,1H),3.90-3.55(m,5H),3.33-3.24(m,2H),3.20-3.09(m,2H),3.06-2.98(m,2H),2.92-2.52(m,9H),2.41(d,J=9.2Hz,3H),2.18(s,6H),1.72-1.02(m,8H)。LCMS:(m/z)821.3[M+H]⁺。

[0631] 化合物44的合成



[0633] 5-氯-2-甲基-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,7]萘啶-8-羧酸(中间体1)

[0634] 向2-氨基-1H-吡咯-3-羧酸乙酯(846mg,6.5mmol)在HOAc(12mL)中的混合物中加入4-亚甲基氧杂环丁烷-2-酮(1295mg,18.1mmol)。将混合物在110℃(预热)下搅拌2小时。在冷却至室温后,浓缩混合物并通过快速色谱法(PE/EA=1/1)纯化,以得到呈黄色固体的2-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡咯并[1,2-a]嘧啶-8-羧酸乙酯(1-1,530mg,产率36.9%)和呈

红色固体的4-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡咯并[1,2-a]嘧啶-8-羧酸乙酯(1-2,360mg,产率25%)。LCMS(m/z):1-2,221.1[M+H]⁺。

[0635] 2-氯-4-甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-8-羧酸乙酯(中间体2)

[0636] 在微波辐射下,将4-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡咯并[1,2-a]嘧啶-8-羧酸乙酯(120mg,0.54mmol)在POCl₃(5mL)中的混合物在80℃下搅拌45分钟。在冷却后,在真空中浓缩混合物,用DCM(100mL)稀释残余物,用NaHCO₃溶液调节至pH 7-8,分离有机相,用DCM(50mL×2)提取水相,将合并的有机相用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,以得到呈棕色固体的粗中间体2(130mg,产率99%)。LCMS:(m/z)239.1[M+H]⁺。

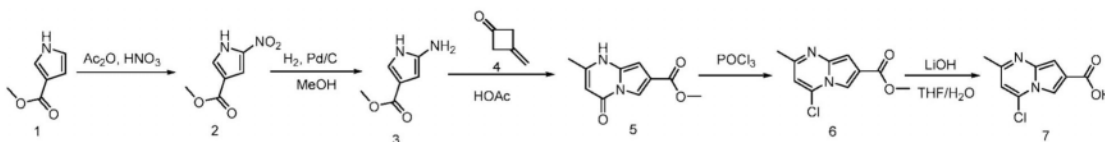
[0637] 2-氯-4-甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-8-羧酸(中间体3)

[0638] 将2-氯-4-甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-8-羧酸乙酯(82mg,0.343mmol)和(Bu₃Sn)₂O(818mg,1.372mmol)在干燥甲苯(3mL)中的混合物加热至回流持续48小时。在冷却后,混合物在真空中浓缩,残余物用EtOAc(50mL)稀释,并用饱和NaHCO₃溶液(50mL×3)提取。用3N盐酸溶液将合并的水相调节至pH 4至5,并用DCM(50mL×3)提取。将合并的有机物经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩,以留下呈黄色固体的粗中间体3(31.6mg,产率43.9%)。LCMS:(m/z)211.0[M+H]⁺。

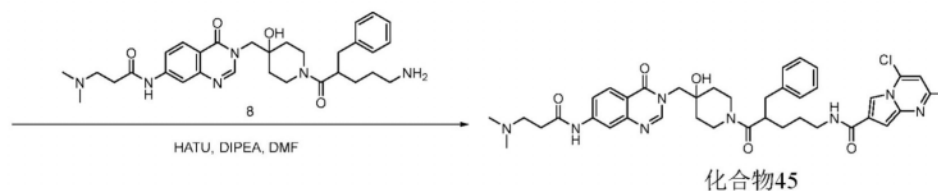
[0639] N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-2-氯-4-甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-8-羧酰胺(化合物44)

[0640] 向2-氯-4-甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-8-羧酸(31.6mg,0.15mmol)、N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺盐酸盐(90mg,0.15mmol)和DIPEA(78mg,0.6mmol)在DMF(5mL)中的搅拌的溶液中加入HATU(63mg,0.17mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,用EtOAc(100mL)稀释,用NaHCO₃水溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的化合物44(24.8mg,产率22%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ(ppm)10.48(d,J=5.2Hz,1H),8.16-7.99(m,3H),7.92-7.86(m,1H),7.65-7.58(m,1H),7.54-7.50(m,1H),7.38-7.33(m,1H),7.25-7.06(m,5H),7.02(d,J=2.8Hz,1H),4.82(s,1H),4.15-3.96(m,1H),3.96-3.54(m,4H),3.19-3.06(m,2H),2.89-2.63(m,7H),2.62-2.52(m,4H),2.19(s,6H),1.71-0.98(m,8H)。LCMS:(m/z)755.9[M+H]⁺。

[0641] 化合物45的合成



[0642]



[0643] 5-硝基-1H-吡咯-3-羧酸甲酯(中间体2)

[0644] 在50℃下,将1H-吡咯-3-羧酸甲酯(500mg,4.00mmol)在乙酸酐(4.8mL)中的溶液逐滴加入到硝酸(70%,1.0mL)和乙酸酐(2.4mL)的混合物中。将混合物在60℃下搅拌过夜。在冷却至室温后,将反应混合物倒入碎冰中,用EtOAc(50mL)提取混合物,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过快速柱色谱法(乙酸乙酯:石油醚=1:1)纯化,以获得呈黄色固体的中间体2(130mg,产率19.1%)。LCMS(m/z):171.7[M+1]⁺。

[0645] 5-氨基-1H-吡咯-3-羧酸甲酯(中间体3)

[0646] 向5-硝基-1H-吡咯-3-羧酸甲酯(130.0mg,0.76mmol)在MeOH(10mL)中的溶液中加入Pd/C(10%,13mg),将混合物在室温下在H₂(1大气压)下搅拌过夜,并通过硅藻土过滤,将滤液在真空中浓缩,以得到呈灰色固体的中间体3(80mg,产率74.8%)。LCMS(m/z):141.1[M+H]⁺。

[0647] 2-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡咯并[1,2-a]嘧啶-7-羧酸甲酯(中间体5)

[0648] 向5-氨基-1H-吡咯-3-羧酸甲酯(80.0mg,0.57mmol)在HOAc(10mL)中的溶液中一次性加入3-亚甲基环丁烷-1-酮(134.4mg,1.60mmol)。将反应混合物在110℃下搅拌2小时并在真空中浓缩,残余物通过硅胶上的快速柱色谱法(PE/EA:20至10:1)纯化,以得到呈白色固体的中间体5(70mg,产率59.5%)。LCMS:(m/z)207.1[M+H]⁺。

[0649] 4-氯-2-甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-7-羧酸甲酯(中间体6)

[0650] 将2-甲基-4-氧代-1,4-二氢吡咯并[1,2-a]嘧啶-7-羧酸甲酯(70.0mg,0.34mmol)在POCl₃(5mL)中的混合物在80℃下加热1小时。将反应混合物在真空中浓缩,将残余物用饱和NaHCO₃溶液调节至pH 6-7,并用乙酸乙酯(20mL*3)提取,将合并的有机相用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,以留下呈白色固体的粗中间体6(70mg,产率92.1%)。LCMS:(m/z)225.1[M+H]⁺。

[0651] 4-氯-2-甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-7-羧酸(中间体7)

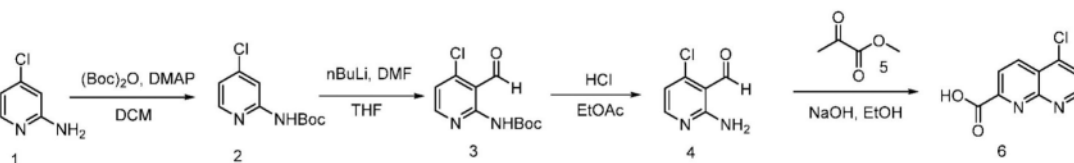
[0652] 将LiOH(11.2mg,0.312mmol)在H₂O(5mL)中的溶液加入到4-氯-2-甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-7-羧酸甲酯(70.0mg,0.312mmol)在THF(5mL)中的溶液中,将混合物在室温下搅拌过夜,用1N HCl溶液调节至pH 1至2并用乙酸乙酯(20mL*3)提取,将合并的有机相用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,以得到呈白色固体的中间体7(56mg,产率85.4%)。LCMS:(m/z)211.1[M+H]⁺。

[0653] N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-7-羧酰胺(化合物45)

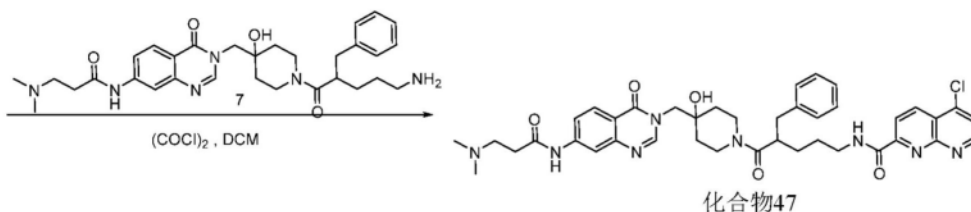
[0654] 向4-氯-2-甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-7-羧酸(20.1mg,0.10mmol)、N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺(56.3mg,0.10mmol)和DIPEA(41.5mg,0.30mmol)在DMF(10mL)中的混合物中加入HATU(41.8mg,0.11mmol)。将混合物在室温下搅拌30分钟,用EtOAc(80mL)稀释,用饱和NaHCO₃溶液(5mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩并通过制备型HPLC(C18柱,CH₃CN/H₂O,含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以获得呈白色固体的化合物45(15mg,产率20.0%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ(ppm) 10.48(d,J=4.4Hz,1H),8.35(dt,J=11.3,5.8Hz,1H),8.18-7.99(m,3H),7.88(dd,J=15.6,1.5Hz,1H),7.62(td,J=9.0,2.0Hz,1H),7.27-7.19(m,2H),7.17-7.08(m,3H),6.91(dd,J=13.0,1.5Hz,1H),6.83(s,1H),4.85(s,1H),4.13(d,J

=12.5Hz, 1H), 4.04-3.76 (m, 2H), 3.63 (d, J=13.6Hz, 1H), 3.25 (d, J=6.0Hz, 2H), 3.11 (d, J=10.5Hz, 2H), 2.85 (t, J=10.7Hz, 1H), 2.70 (ddd, J=17.2, 12.9, 6.8Hz, 3H), 2.60 (t, J=5.8Hz, 5H), 2.54 (s, 1H), 2.19 (s, 6H), 1.69-1.56 (m, 1H), 1.45 (dd, J=17.0, 13.2Hz, 4H), 1.33-1.05 (m, 3H). LCMS (m/z): 756.3 [M+H]⁺.

[0655] 化合物47的合成



[0656]



[0657] (4-氯吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(中间体2)

[0658] 向4-氯吡啶-2-胺(3.0g, 23.3mmol)在DCM(100mL)中的溶液中加入二碳酸二叔丁酯(5.6g, 25.7mmol),然后缓慢加入DMAP(0.57g, 4.66mmol)。剧烈鼓泡持续约1小时,然后在真空中浓缩反应。残余物通过硅胶上的快速柱色谱法(PE/EA:20至10:1)纯化,以得到呈白色固体的中间体2(2.8g, 产率52.4%)。LCMS (m/z): 173.1 [M-55]⁺

[0659] (4-氯-3-甲酰基吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(中间体3)

[0660] 在-60℃下,向(4-氯吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(1.8g, 7.87mmol)在THF(30mL)中的溶液中逐滴加入正丁基锂溶液(2.5M在己烷中, 7.4mL, 18.50mmol)。将溶液在-60℃下搅拌1小时,然后逐滴加入DMF(2.7g, 36.99mmol)。在-60℃下搅拌1小时后,通过逐滴加入饱和氯化铵溶液(50mL)使反应混合物淬灭。混合物用乙酸乙酯(50mL×3)提取,将合并的有机相经无水MgSO₄干燥,过滤,浓缩并通过柱色谱法纯化(用乙酸乙酯/PE, 1:10洗脱),以得到呈白色固体的中间体3(1g, 产率49.5%)。LCMS (m/z): 201.0 [M-55]⁺

[0661] 2-氨基-4-氯烟碱醛(中间体4)

[0662] 向(4-氯-3-甲酰基吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯(1.0g, 3.90mmol)中加入在EtOAc(20mL)中的HCl溶液,将混合物在室温下搅拌过夜并过滤,将滤饼在真空中干燥以获得呈白色固体的中间体4(600mg, 产率98.5%)。LCMS: (m/z) 157.1 [M+H]⁺

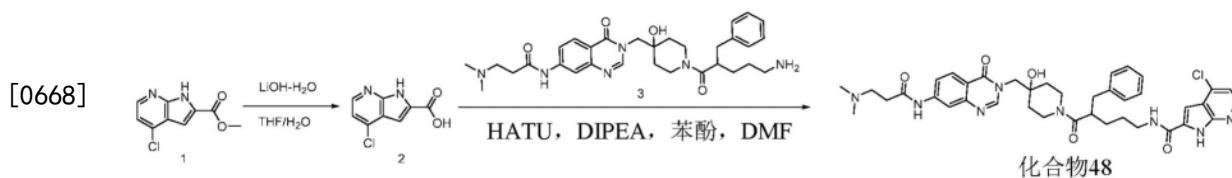
[0663] 5-氯-1,8-萘啶-2-羧酸(中间体6)

[0664] 向2-氨基-4-氯烟碱醛(450mg, 2.87mmol)和2-氧代丙酸甲酯(322.5mg, 5.75mmol)在EtOH(10mL)和H₂O(2mL)中的混合物中加入在H₂O(10mL)中的NaOH(420.2mg, 10.5mmol)溶液。将混合物在室温下搅拌另外3小时,用1N HCl溶液调节至pH1至2,并在减压下浓缩,用乙酸乙酯(20mL×3)提取残余物,将合并的有机相用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩,以获得呈白色固体形式的中间体6(280mg, 产率46.7%)。LCMS: (m/z) 291.1 [M+Na]⁺。

[0665] N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-5-氯-1,8-萘啶-2-羧酰胺(化合物47)

[0666] 在0℃下在N₂下,向5-氯-1,8-萘啶-2-羧酸(40mg,0.192mmol)在干燥DCM(5mL)中的混合物中加入一滴DMF,然后加入(COCl)₂(36.5mg,0.290mmol),将混合物在0℃下搅拌10分钟,然后温热至室温持续另外1小时。在0至5℃下,将混合物逐滴加入到N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺(70mg,0.124mmol)在干燥DCM(5mL)中的混合物中,然后温热至室温持续1小时。反应混合物用DCM(80mL)稀释,用饱和NaHCO₃溶液(5mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过柱色谱法(DCM:MeOH 10:1)纯化,以获得呈白色固体的化合物47(14.1mg,产率18.6%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 10.51(d,J=6.5Hz,1H),9.15(t,J=4.5Hz,2H),8.85(dd,J=8.6,2.8Hz,1H),8.39(dd,J=11.9,8.6Hz,1H),8.19-7.90(m,4H),7.62(dd,J=11.5,9.4Hz,1H),7.32-6.98(m,5H),4.82(s,1H),4.17-3.74(m,4H),3.64-3.60(m,2H),3.16(s,2H),2.82-2.65(m,6H),2.57(s,1H),2.30(s,6H),1.75-1.30(m,6H),1.2-1.1(m,2H)。LCMS(m/z):753.3[M+H]⁺。

[0667] 化合物48的合成



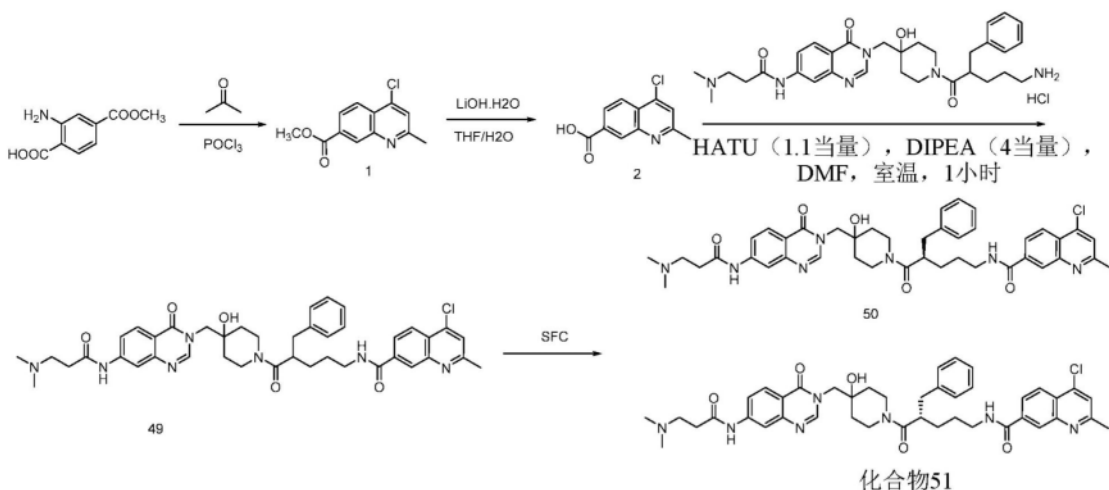
[0669] 4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-羧酸(2)

[0670] 将LiOH(17.1mg,0.71mmol)在H₂O(5mL)中的溶液加入到4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-羧酸甲酯(100.0mg,0.47mmol)在THF(5mL)中的溶液中,将混合物在室温下搅拌过夜,用1N HCl溶液调节至pH 1至2并浓缩,以留下呈白色固体的粗中间体2(110mg,粗品),其被直接用于下一步骤。LCMS(m/z):197.1[M+H]⁺。

[0671] N-(4-苄基-5-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-羧酰胺(化合物48)

[0672] 向N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺(69.0mg,0.12mmol)、4-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-2-羧酸(40.1mg,0.20mmol)、DIPEA(41.5mg,0.30mmol)和苯酚(28.2mg,0.30mmol)在DMF(10mL)中的混合物中加入HATU(41.8mg,0.11mmol),将混合物在室温下搅拌30分钟,用饱和NaHCO₃溶液(30mL)稀释并用乙酸乙酯(20mL×3)提取,将合并的有机相用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以获得呈白色固体的化合物48(5.9mg,产率7.96%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ(ppm) 12.49(s,1H),10.65(d,J=4.2Hz,1H),9.40(s,1H),8.63(dd,J=12.1,6.1Hz,1H),8.33-7.96(m,4H),7.68-7.57(m,1H),7.26(d,J=5.2Hz,1H),7.21(dd,J=9.9,4.6Hz,2H),7.15(dd,J=12.3,4.8Hz,2H),7.09(dd,J=13.8,6.6Hz,1H),4.82(s,1H),4.17-3.91(m,2H),3.82(d,J=13.6Hz,1H),3.63(d,J=13.7Hz,2H),3.41(d,J=5.2Hz,2H),3.25(d,J=5.6Hz,2H),3.15(d,J=11.0Hz,2H),2.91(t,J=6.9Hz,2H),2.83(d,J=4.3Hz,6H),2.75-2.71(m,1H),2.67(dd,J=12.7,5.1Hz,1H),1.65-1.55(m,1H),1.55-1.35(m,4H),1.33-1.06(m,3H)。LCMS(m/z):741.3[M+H]⁺。

[0673] 化合物49、50和51合成



[0675] 5-氯-2-甲基-1,2,3,4-四氢苯并[b][1,7]萘啶-8-羧酸 (中间体1)

[0676] 在微波辐射下,将2-氨基-4-(甲氧基羰基)苯甲酸(605mg,3.1mmol)和丙酮(1.8g,31mmol)在 POCl_3 (10mL)中的混合物在 100°C 下搅拌30分钟。在真空中浓缩混合物,将残余物用DCM(100mL)稀释,用 Na_2CO_3 溶液调节至pH 7至8,并用DCM($50\text{mL}\times 3$)提取。将合并的有机物用盐水(100mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩并通过快速柱色谱法(DCM/MeOH=30/1)纯化,以得到呈棕色固体的中间体1(237mg,产率32.2%)。LCMS(m/z):236.1[M+H]⁺。

[0677] 4-氯-2-甲基喹啉-7-羧酸(中间体2)

[0678] 向4-氯-2-甲基喹啉-7-羧酸甲酯(237mg,1.0mmol)在THF/ H_2O (10mL/2mL)中的混合物中加入 $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (63mg,1.5mmol)。将混合物在室温下搅拌16小时,然后加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M,0.4mL,1.6mmol),浓缩混合物,以留下呈黄色固体的粗中间体2(280mg,产率100%)。LCMS:(m/z)222.0[M+H]⁺,

[0679] N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-甲基喹啉-7-羧酰胺(化合物49)

[0680] 向4-氯-2-甲基喹啉-7-羧酸(28mg,粗品0.1mmol)、N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺盐酸盐(60mg,0.1mmol)和DIPEA(52mg,0.4mmol)在DMF(5mL)中的搅拌的溶液中加入HATU(42mg,0.11mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,然后通过制备型HPLC(C18柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$,含有0.05% TFA)直接纯化,以得到呈固体的化合物49(33.9mg,产率44%)。¹H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ (ppm)10.71(d,J=4.4Hz,1H),9.53(s,1H),8.87-8.79(m,1H),8.53-8.47(m,1H),8.23-8.01(m,5H),7.78(d,J=2.4Hz,1H),7.68-7.59(m,1H),7.27-7.06(m,5H),4.18-3.88(m,4H),3.67-3.52(m,3H),3.46-3.37(m,2H),3.35-3.24(m,2H),3.21-3.08(m,2H),2.98-2.89(m,2H),2.84(d,J=4.0Hz,6H),2.79-2.59(m,5H),1.77-0.99(m,7H)。LCMS:(m/z)766.3[M+H]⁺。

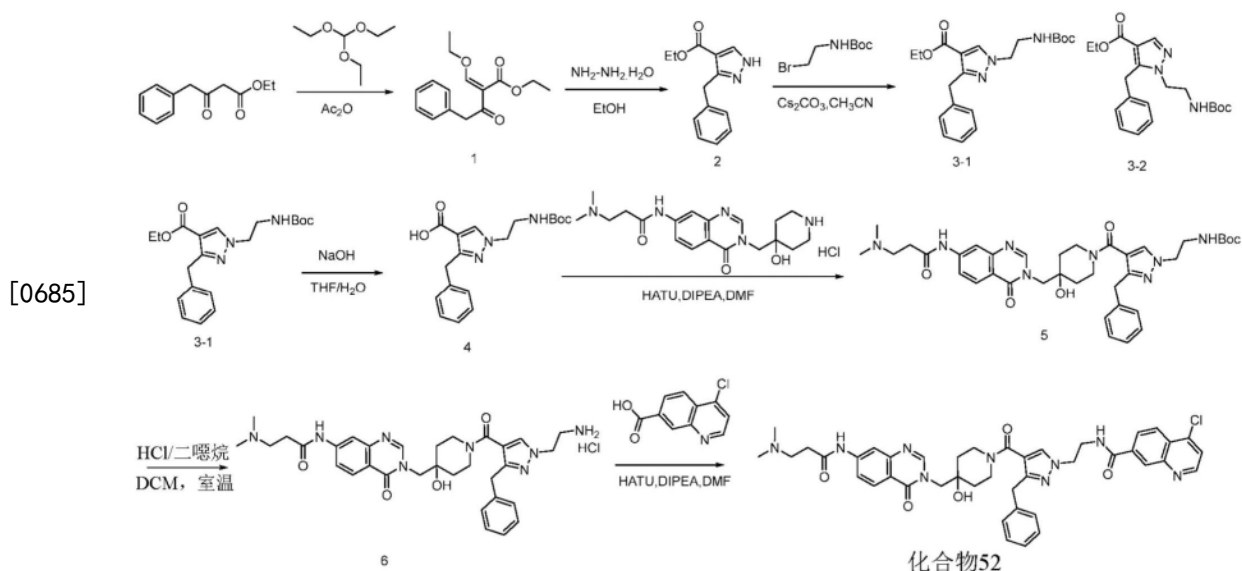
[0681] (R)-N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-甲基喹啉-7-羧酰胺(化合物50)

[0682] (S)-N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-甲基喹啉-7-羧酰胺(化合物51)

[0683] N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲

基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯-2-甲基喹啉-7-羧酰胺(21mg, 0.1mmol)通过手性HPLC(仪器: Gilson-281, 柱: IC 20*250, 10 μ m; 流动相: MEOH(0.2% 甲醇氨): CAN(0.2% 甲醇氨) = 50:50; 流速: 50mL/min; 每次注射的运行时间: 26分钟; 注射: 1ml; 样品溶液: 20mg在3mL MEOH中)纯化, 以得到2种对映异构体化合物50(8.5mg), LCMS: (m/z) 766.3 [M+H]⁺, 和化合物51(8.5mg), LCMS: (m/z) 766.3 [M+H]⁺。

[0684] 化合物52的合成



[0686] (Z)-2-(乙氧基亚甲基)-3-氧代-4-苯基丁酸乙酯(中间体1)

[0687] 将3-氧代-4-苯基丁酸乙酯(2062mg, 10mmol)、三乙氧基甲烷(4456mg, 30mmol)和Ac₂O(1633mg, 16mmol)的混合物在100℃下搅拌17小时。在冷却后, 混合物用EtOAc(100mL)和H₂O(100mL)稀释, 将混合物在室温下搅拌10分钟, 分离有机相, 用NaHCO₃水溶液(50mL)和盐水(50mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并浓缩, 以留下呈红色油状物的粗中间体1(2.62g)。LCMS(m/z): 263.1 [M+H]⁺。

[0688] 3-苄基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(中间体2)

[0689] 在0℃下, 向(Z)-2-(乙氧基亚甲基)-3-氧代-4-苯基丁酸乙酯(2358mg, 9.0mmol)在干燥EtOH(30mL)中的搅拌的溶液中加入NH₂-NH₂·H₂O(85%, 583mg, 9.9mmol)。将混合物在室温下搅拌12小时, 混合物在真空中浓缩, 将残余物用EtOAc(100mL)稀释, 用H₂O(100mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤, 浓缩并通过快速柱色谱法(PE/EA=1/1)纯化, 以得到呈固体的中间体2(1.346g, 产率65%)。LCMS: (m/z) 231.1 [M+H]⁺,

[0690] 3-苄基-1-(2-(叔丁氧基羰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(中间体3-1)

[0691] 5-苄基-1-(2-(叔丁氧基羰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(中间体3-2)

[0692] 向3-苄基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(1.26g, 5.47mmol)和Cs₂CO₃(3.564g, 10.94mmol)在CH₃CN(40mL)中的混合物中加入2-溴乙基氨基甲酸叔丁酯(1.838g, 8.20mmol)。将混合物在室温下搅拌16小时并过滤。用DCM洗涤固体, 浓缩合并的滤液和洗涤液, 并且通过快速柱色谱法(DCM/CH₃OH=10/1)纯化, 以得到3-苄基-1-(2-(叔丁氧基羰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(3-1, 920mg, 产率38%)和5-苄基-1-(2-(叔丁氧基羰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(3-2, 430mg, 产率17.8%)。LCMS: 3-1、(m/z) 374.0 [M+H]⁺、3-2、(m/z) 374.0 [M+H]⁺,

[0693] 3-苄基-1-(2-(叔丁氧基羰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-羧酸(中间体4)

[0694] 将3-苄基-1-(2-(叔丁氧基羰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(460mg, 1.23mmol)和NaOH(197mg, 4.92mmol)在THF/H₂O(10mL/2mL)中的混合物加热至回流持续16小时。将混合物冷却至室温,用1N HCl溶液酸化,并用EtOAc(50mL)提取。将有机相经无水Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,以留下呈白色固体的粗中间体4(390mg,产率92%)。LCMS:(m/z) 346.2[M+H]⁺。

[0695] 2-(3-苄基-4-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)-1H-吡唑-1-基)乙基氨基甲酸叔丁酯(中间体5)

[0696] 向3-苄基-1-(2-(叔丁氧基羰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-羧酸(138mg, 0.4mmol)、3-(二甲基氨基)-N-(3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)丙酰胺盐酸盐(164mg, 0.4mmol)和DIPEA(207mg, 1.6mmol)在DMF(6mL)中的搅拌的溶液中加入HATU(167mg, 0.44mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,用EtOAc(100mL)稀释,用H₂O(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。残余物通过快速柱色谱法(DCM/MeOH=10/1)纯化,以得到呈白色固体的中间体5(216mg,产率77%)。LCMS:(m/z) 701.4[M+H]⁺。

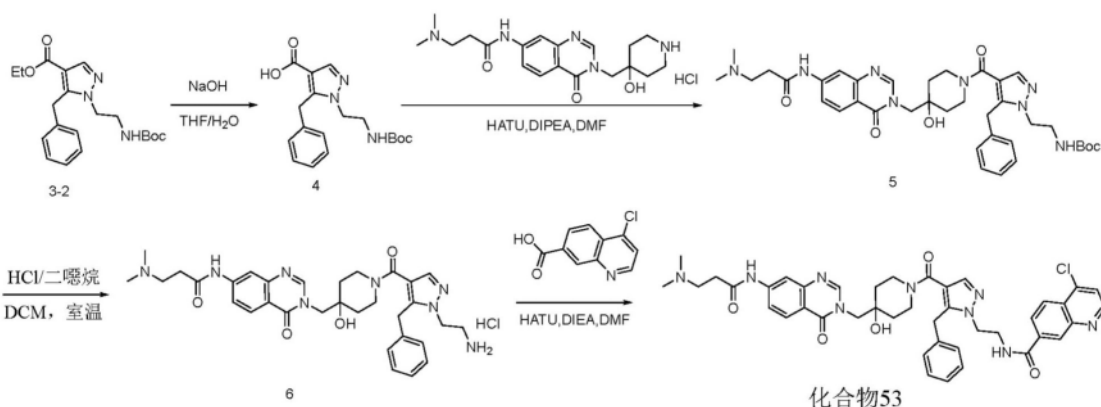
[0697] N-(3-((1-(1-(2-氨基乙基)-3-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺盐酸盐(中间体6)

[0698] 向2-(3-苄基-4-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)-1H-吡唑-1-基)乙基氨基甲酸叔丁酯(216mg, 0.308mmol)在DCM(10mL)中的溶液中加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M, 1.5mL, 6.0mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时并浓缩,以得到呈盐酸盐的中间体6(220mg,产率100%)。LCMS:(m/z) 601.3[M+H]⁺。

[0699] N-(2-(3-苄基-4-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)-1H-吡唑-1-基)乙基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物52)

[0700] 向N-(3-((1-(1-(2-氨基乙基)-3-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺盐酸盐(74mg, 0.116mmol)、4-氯喹啉-7-羧酸(24mg, 0.116mmol)和DIPEA(60mg, 0.464mmol)在DMF(6mL)中的搅拌的溶液中加入HATU(48mg, 0.128mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,用EtOAc(100mL)稀释,用H₂O(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。将残余物通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的化合物52(18.8mg, 产率20.5%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.47(s, 1H), 9.00(t, J=5.6Hz, 1H), 8.88(d, J=4.8Hz, 1H), 8.54(d, J=1.2Hz, 1H), 8.23(d, J=8.4Hz, 1H), 8.15(s, 1H), 8.11-8.03(m, 3H), 7.84(s, 1H), 7.82(d, J=4.8Hz, 1H), 7.61(dd, J=2.0Hz, 8.8Hz, 1H), 7.19-7.05(m, 5H), 4.87(s, 1H), 3.30(t, J=6.0Hz, 2H), 3.96-3.69(m, 8H), 3.01(bs, 2H), 2.61-2.52(m, 4H), 2.18(s, 6H), 1.22(bs, 4H)。LCMS:(m/z) 790.3[M+H]⁺。

[0701] 化合物53的合成



[0702]

[0703] 5-苄基-1-(2-(叔丁氧基羰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-羧酸(中间体4)

[0704] 将5-苄基-1-(2-(叔丁氧基羰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(430mg, 1.15mmol)和NaOH(184mg, 4.60mmol)在THF/H₂O(10/2mL)中的混合物在回流下搅拌16小时。将混合物冷却至室温,用1N HCl溶液酸化,用EtOAc(50mL×3)提取,将合并的有机相经无水Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,以留下呈白色固体的粗中间体4(400mg,产率100%)。LCMS(m/z): 346.1[M+H]⁺。

[0705] 2-(5-苄基-4-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)-1H-吡唑-1-基)乙基氨基甲酸叔丁酯(中间体5)

[0706] 向5-苄基-1-(2-(叔丁氧基羰基氨基)乙基)-1H-吡唑-4-羧酸(138mg, 0.4mmol)、3-(二甲基氨基)-N-(3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)丙酰胺盐酸盐(164mg, 0.4mmol)和DIPEA(207mg, 1.6mmol)在DMF(6mL)中的搅拌的溶液中加入HATU(167mg, 0.44mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时。混合物用EtOAc(100mL)稀释,用H₂O(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。残余物通过快速柱色谱法(DCM/MeOH=10/1)纯化,以得到呈白色固体的中间体5(100mg,产率35.7%)。LCMS:(m/z)701.4[M+H]⁺

[0707] N-(3-((1-(1-(2-氨基乙基)-5-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺盐酸盐(中间体6)

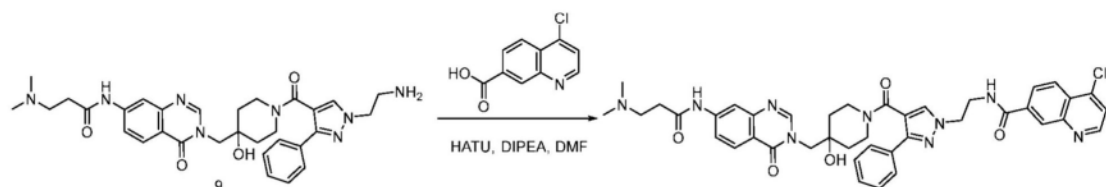
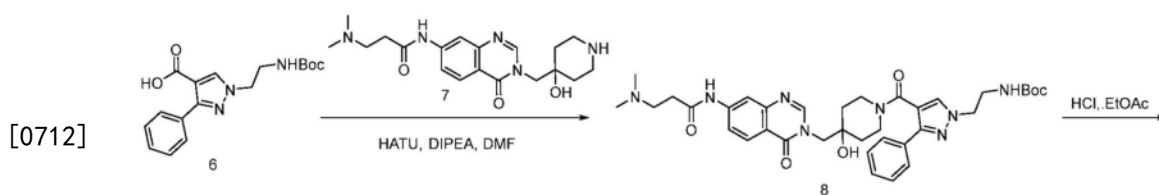
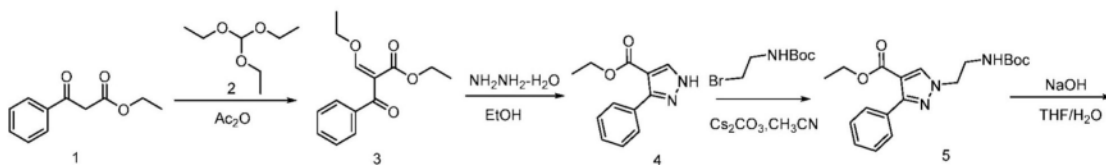
[0708] 向2-(5-苄基-4-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)-1H-吡唑-1-基)乙基氨基甲酸叔丁酯(100mg, 0.143mmol)在DCM(5mL)中的溶液中加入在1,4-二噁烷中的HCl溶液(4M, 0.8mL, 3.2mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时并浓缩,以留下呈盐酸盐的粗产物(101mg,产率100%)。LCMS:(m/z)301.0[M/2+H]⁺。

[0709] N-(2-(5-苄基-4-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)-1H-吡唑-1-基)乙基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物53)

[0710] 向N-(3-((1-(1-(2-氨基乙基)-5-苄基-1H-吡唑-4-羰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺盐酸盐(101mg, 0.158mmol)、4-氯喹啉-7-羧酸(32.8mg, 0.158mmol)和DIEA(82mg, 0.632mmol)在DMF(5mL)中的搅拌的溶液中加入HATU(66mg, 0.174mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,用EtOAc(100mL)稀释,用H₂O(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩。残余物通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)纯化,以得到呈白色固体的产物(42.2mg,产率34%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.52(s, 1H), 9.07(t, J=5.6Hz, 1H), 8.92(d, J=4.4Hz, 1H),

8.53 (s, 1H), 8.27 (d, J=8.8Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.15-8.04 (m, 3H), 7.84 (d, J=4.4Hz, 1H), 7.64 (dd, J=1.6Hz, 9.2Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.29-7.10 (m, 5H), 4.99 (s, 1H), 4.26 (t, J=5.6Hz, 2H), 4.14 (s, 2H), 3.99-3.57 (m, 6H), 3.29-2.98 (m, 2H), 2.61 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.54 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 2.08 (bs, 4H). LCMS: (m/z) 790.3 [M+H]⁺.

[0711] 化合物55的合成



化合物55

[0713] (Z)-2-苯甲酰基-3-乙氧基丙烯酸乙酯(中间体3)

[0714] 将3-氧代-3-苯基丙酸乙酯(1.0g, 5.20mmol)和原甲酸三乙酯(1.6g, 8.32mmol)的混合物加热至回流持续30分钟,然后加入乙酸酐(1.6g, 15.60mmol),将所得的混合物加热至回流持续12小时。将混合物冷却至室温,用EtOAc(100mL)和水(50mL)稀释,将混合物在室温下搅拌10分钟,以分解过量的原甲酸三乙酯。分离有机相,用EtOAc(50mL)提取水层。将合并的有机层用水(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩,以留下呈黄色固体的粗中间体3(1.5g,粗品)。LCMS (m/z): 249.1 [M+H]⁺

[0715] 3-苯基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(中间体4)

[0716] 在0℃下,将肼一水合物(1.2g, 2.21mmol)在乙醇(1mL)中的溶液逐滴加入到(Z)-2-苯甲酰基-3-乙氧基丙烯酸乙酯(0.5g, 2.01mmol)在乙醇(5mL)中的溶液中。将反应混合物在室温下搅拌12小时,然后过滤,用水和冷乙醇洗涤滤饼,并在真空下干燥,以得到呈黄色固体的中间体4(0.35g,产率80.4%)。LCMS (m/z): 217.1 [M+H]⁺

[0717] 1-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)-3-苯基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(中间体5)

[0718] 将3-苯基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(230.0mg, 1.06mmol)、(2-溴乙基)氨基甲酸叔丁酯(238.4mg, 1.06mmol)和Cs₂CO₃(345.4mg, 1.06mmol)在MeCN(10mL)中的混合物在80℃下搅拌过夜,将混合物冷却至室温,用H₂O(30mL)稀释并用乙酸乙酯(20mL×3)提取,将合并的有机相用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过硅胶上的快速柱色谱法(EA/PE:5至20:1)纯化,以得到呈白色固体的中间体5(360mg,产率94.2%)。LCMS: (m/z) 360.2 [M+H]⁺

[0719] 1-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)-3-苯基-1H-吡唑-4-羧酸(中间体6)

[0720] 将NaOH (57.9mg, 40.00mmol) 在H₂O (5mL) 中的溶液加入到1-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)-3-苯基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯 (260.0mg, 0.72mmol) 在THF (5mL) 中的溶液中, 将混合物在70℃下搅拌过夜。在冷却至室温后, 用1N HCl溶液将混合物调节至pH 1至2, 并用乙酸乙酯 (20mL×3) 提取, 将合并的有机相用盐水 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并浓缩, 以得到180mg的粗产物, 将所述粗产物通过HPLC纯化, 以得到呈白色固体的中间体6 (80mg, 产率33%)。LCMS: (m/z) 332.2[M+H]⁺。

[0721] (2-(4-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)-3-苯基-1H-吡唑-1-基)乙基)氨基甲酸叔丁酯 (中间体8)

[0722] 向1-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)-3-苯基-1H-吡唑-4-羧酸 (37.0mg, 0.112mmol)、3-(二甲基氨基)-N-(3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)丙酰胺 (41.7mg, 0.112mmol) 和DIPEA (46.3mg, 0.336mmol) 在DMF (10mL) 中的混合物中加入HATU (46.8mg, 0.123mmol), 将混合物在室温下搅拌30分钟, 用EtOAc (80mL) 稀释, 用饱和NaHCO₃溶液 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并浓缩, 以留下粗中间体8 (52.1mg, 产率67.9%), 其被直接用于下一步骤。LCMS: (m/z) 687.4[M+H]⁺。

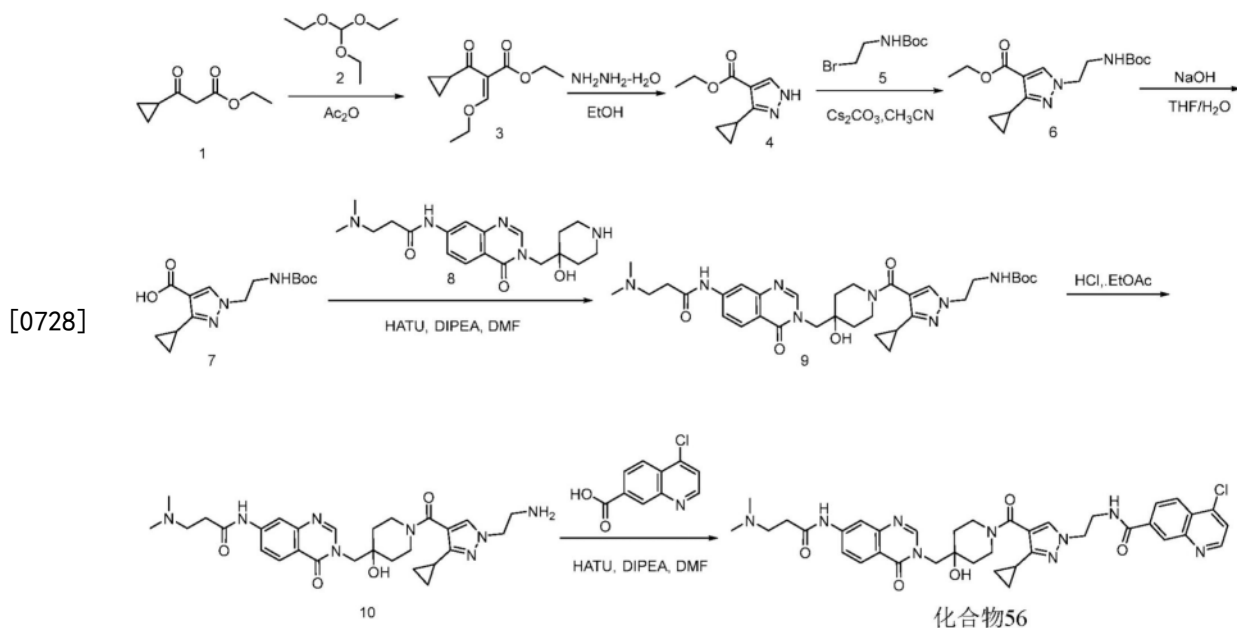
[0723] N-(3-((1-(1-(2-氨基乙基)-3-苯基-1H-吡唑-4-羰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺 (中间体9)

[0724] 向粗中间体8 (52.1mg, 0.0759mmol) 中加入在EtOAc (1M, 5mL) 中的HCl溶液, 将混合物在室温下搅拌过夜并在减压下浓缩, 以留下呈白色固体的粗中间体9 (45.3mg, 粗品)。LCMS: (m/z) 587.3[M+H]⁺。

[0725] 4-氯-N-(2-(4-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)-3-苯基-1H-吡唑-1-基)乙基)喹啉-7-羧酰胺 (化合物55)

[0726] 向N-(3-((1-(1-(2-氨基乙基)-3-苯基-1H-吡唑-4-羰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺 (45.3mg, 0.0772mmol)、4-氯喹啉-7-羧酸 (16.1mg, 0.0772mmol) 和DIPEA (32.1mg, 0.2316mmol) 在DMF (10mL) 中的混合物中加入HATU (32.3mg, 0.0849mmol), 将混合物在室温下搅拌30分钟, 用EtOAc (80mL) 稀释, 用饱和NaHCO₃溶液 (50mL) 洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 浓缩并通过制备型HPLC纯化, 以得到呈白色固体的化合物55 (10.2mg, 产率17.0%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 10.62 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.88 (d, J=4.7Hz, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.23 (d, J=8.7Hz, 1H), 8.16-8.10 (m, 2H), 8.05 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.96 (s, 1H), 7.82 (d, J=4.7Hz, 1H), 7.62 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.54 (d, J=7.3Hz, 2H), 7.31 (t, J=7.3Hz, 2H), 7.25 (t, J=7.3Hz, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.40 (d, J=5.3Hz, 2H), 4.18 (br, 1H), 4.0-3.75 (m, 5H), 3.05-1.95 (m, 2H), 2.81 (br, 2H), 2.66-2.55 (m, 2H), 2.35 (s, 6H), 1.42 (br, 2H), 1.20-0.95 (m, 2H)。LCMS (m/z): 775.7[M+H]⁺。

[0727] 化合物56的合成



[0729] (E)-2-(环丙烷羰基)-3-乙氧基丙烯酸乙酯(中间体3)

[0730] 将3-环丙基-3-氧代丙酸乙酯(1.0g, 6.40mmol)和原甲酸三乙酯(1.1g, 7.68mmol)的混合物加热至回流持续30分钟,然后加入乙酸酐(1.96g, 19.2mmol),将所得的混合物加热至回流持续12小时。将混合物冷却至室温,用EtOAc(100mL)和水(50mL)稀释,将混合物在室温下搅拌10分钟,以分解过量的原甲酸三乙酯。分离有机相,用EtOAc(50mL)提取水层。将合并的有机层用水(50mL)和盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并在真空中浓缩,以留下呈黄色固体的粗中间体3(1g,产率73.6%)。LCMS(m/z):213.1[M+H]⁺

[0731] 3-环丙基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(中间体4)

[0732] 在0℃下,将肼一水合物(0.25g, 5.18mmol)在乙醇(10mL)中的溶液逐滴加入到(E)-2-(环丙烷羰基)-3-乙氧基丙烯酸乙酯(1.0g, 4.71mmol)在乙醇(10mL)中的溶液中。将反应混合物在室温下搅拌12小时,收集所得的固体,用水和冷乙醇洗涤,并在真空下干燥,以得到粗产物,将所述粗产物通过快速柱色谱法(PE:EA 20至10:1)进一步纯化,以得到呈黄色固体的中间体4(560mg,产率66.0%)。LCMS(m/z):181.1[M+H]⁺

[0733] 1-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)-3-环丙基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(中间体6)

[0734] 将3-环丙基-1H-吡唑-4-羧酸酯(560.0mg, 3.11mmol)、(2-溴乙基)氨基甲酸乙叔丁酯(1044.6mg, 4.66mmol)和Cs₂CO₃(1013.3mg, 3.11mmol)在CH₃CN(10mL)中的混合物在80℃下搅拌过夜,将混合物冷却至室温,用H₂O(30mL)稀释并用乙酸乙酯(20mL×3)提取,将合并的有机相用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过硅胶上的快速柱色谱法(PE/EA:20:1至10:1)纯化,以得到呈白色固体的中间体6(250mg,产率25.0%)。LCMS:(m/z)324.2[M+H]⁺

[0735] 1-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)-3-环丙基-1H-吡唑-4-羧酸(中间体7)

[0736] 将NaOH(49.5mg, 1.24mmol)在H₂O(10mL)中的溶液加入到1-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)-3-环丙基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(200.0mg, 0.62mmol)在EtOH(5mL)中的溶液中,将混合物在90℃下搅拌过夜。在冷却至室温后,将混合物用1N HCl溶液调节至pH 1至2并用乙酸乙酯(20mL×3)提取,将合并的有机相用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤

并浓缩,以留下呈白色固体的中间体7(138mg,产率75.4%)。LCMS:(m/z)296.2[M+H]⁺。

[0737] (2-(3-环丙基-4-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)-1H-吡唑-1-基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(中间体9)

[0738] 向1-(2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)-3-环丙基-1H-吡唑-4-羧酸(59.1mg,0.20mmol),3-(二甲基氨基)-N-(3-((4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)丙酰胺(74.1mg,0.20mmol)和DIPEA(77.6mg,0.60mmol)在DMF(10mL)中的混合物中加入HATU(83.7mg,0.22mmol),将混合物在室温下搅拌30分钟,用EtOAc(80mL)稀释,用饱和NaHCO₃溶液(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,以留下粗化合物,将所述粗化合物通过硅胶上的快速柱色谱法(DCM/MeOH:10:1)纯化,以得到呈白色固体的中间体9(50mg,产率38.5%)。LCMS:(m/z)651.3[M+H]⁺。

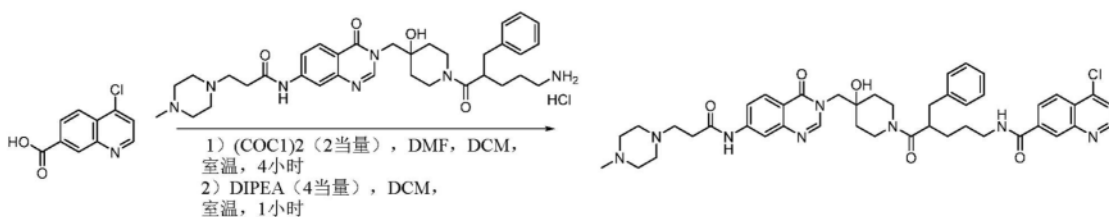
[0739] N-(3-((1-(1-(2-氨基乙基)-3-环丙基-1H-吡唑-4-羰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺(中间体10)

[0740] 向粗化合物9(50.0mg,0.077mmol)中加入在EtOAc(1M,5mL)中的HCl溶液,将混合物在室温下搅拌过夜并在减压下浓缩,以留下呈白色固体的粗中间体10(50mg,粗品)。LCMS:(m/z)551.3[M+H]⁺。

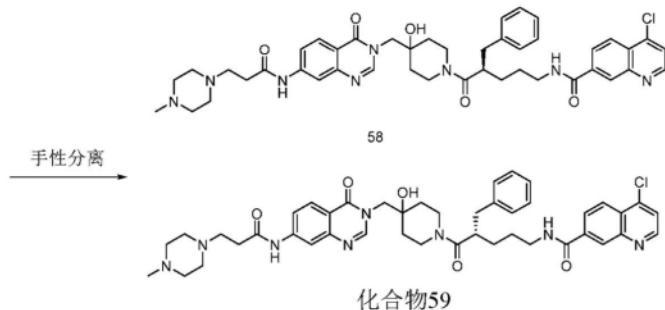
[0741] 4-氯-N-(2-(3-环丙基-4-(4-((7-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-羰基)-1H-吡唑-1-基)乙基)喹啉-7-羧酰胺(化合物56)

[0742] 向N-(3-((1-(1-(2-氨基乙基)-3-环丙基-1H-吡唑-4-羰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-7-基)-3-(二甲基氨基)丙酰胺(50.0mg,0.10mmol)、4-氯喹啉-7-羧酸(20.8mg,0.10mmol)和DIPEA(38.8mg,0.30mmol)在DMF(10mL)中的混合物中加入HATU(41.8mg,0.11mmol),将混合物在室温下搅拌30分钟,用EtOAc(80mL)稀释,用饱和NaHCO₃溶液(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的化合物56(1.3mg,产率1.93%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ(ppm)10.49(s,1H),8.95(s,1H),8.88(d,J=4.6Hz,1H),8.52(s,1H),8.27-8.16(m,2H),8.08(dd,J=19.2,8.7Hz,3H),7.86-7.76(m,2H),7.62(d,J=8.7Hz,1H),4.96(s,1H),4.23(t,J=5.7Hz,2H),3.94(s,2H),3.75-3.6(m,2H),3.25-3.10(m,4H),2.58(d,J=5.9Hz,2H),2.54(s,1H),2.18(s,6H),1.99-1.88(m,2H),1.55-1.45(m,2H),1.45-1.30(m,2H),0.78(d,J=8.0Hz,2H),0.72(d,J=2.7Hz,2H)。LCMS(m/z):740.3[M+H]⁺。

[0743] 化合物58和59的合成



[0744]



[0745] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺

[0746] 向4-氯喹啉-7-羧酸(83mg, 0.4mmol)在干燥DCM(10mL)中的混合物中加入DMF(2滴), 然后加入(COCl)₂(101mg, 0.8mmol)。将混合物在室温下搅拌4小时并在真空中浓缩, 将残余物重新溶解在DCM(10mL)中, 并且在0℃下逐滴加入到N-(3-((1-(5-氨基-2-苄基戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺盐酸盐(209mg, 0.32mmol)和DIPEA(155mg, 1.2mmol)在DCM(10mL)中的混合物中。将混合物在室温下搅拌1小时, 浓缩并通过制备型HPLC(C18柱, CH₃CN/H₂O, 含有0.05% NH₄HCO₃)纯化, 以得到呈白色固体的N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(75.7mg, 产率29%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.52(d, J=4.0Hz, 1H), 8.95-8.85(m, 2H), 8.60(dd, J=1.2Hz, 10.8Hz, 1H), 8.28(dd, J=5.6Hz, 10.8Hz, 1H), 8.21-7.98(m, 5H), 7.85(d, J=4.8Hz, 1H), 7.65-7.58(m, 1H), 7.27-7.07(m, 5H), 4.84(s, 1H), 4.20-3.98(m, 1H), 3.97-3.56(m, 3H), 3.34-3.08(m, 4H), 2.91-2.60(m, 6H), 2.58-2.52(m, 2H), 2.48-2.21(m, 7H), 2.15(s, 3H), 1.72-1.02(m, 8H)。LCMS(m/z): 807.4[M+H]⁺。

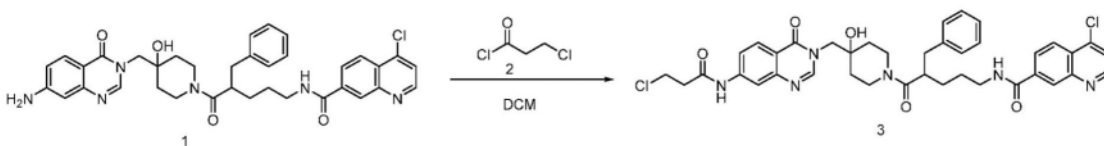
[0747] (R)-N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物58)

[0748] (S)-N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物59)

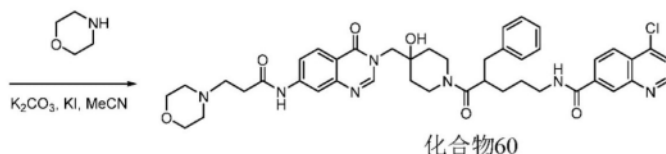
[0749] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(20mg, 0.025mmol)通过手性HPLC(仪器: Gilson-281, 柱: IC、20*250、10um; 流动相: MEOH(0.2% 甲醇氨): CAN(0.2% 甲醇氨) = 50:50; 流速: 50mL/min; 运行时间: 每次注射: 30分钟。)分离, 以得到呈固体的(R)-N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(8.8mg)和呈固体的(S)-N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(9.1mg)。LCMS(m/z): 化合物58、807.4[M+H]

$]^{+}$; 化合物59、807.4[M+H] $^{+}$ 。

[0750] 化合物60的合成



[0751]



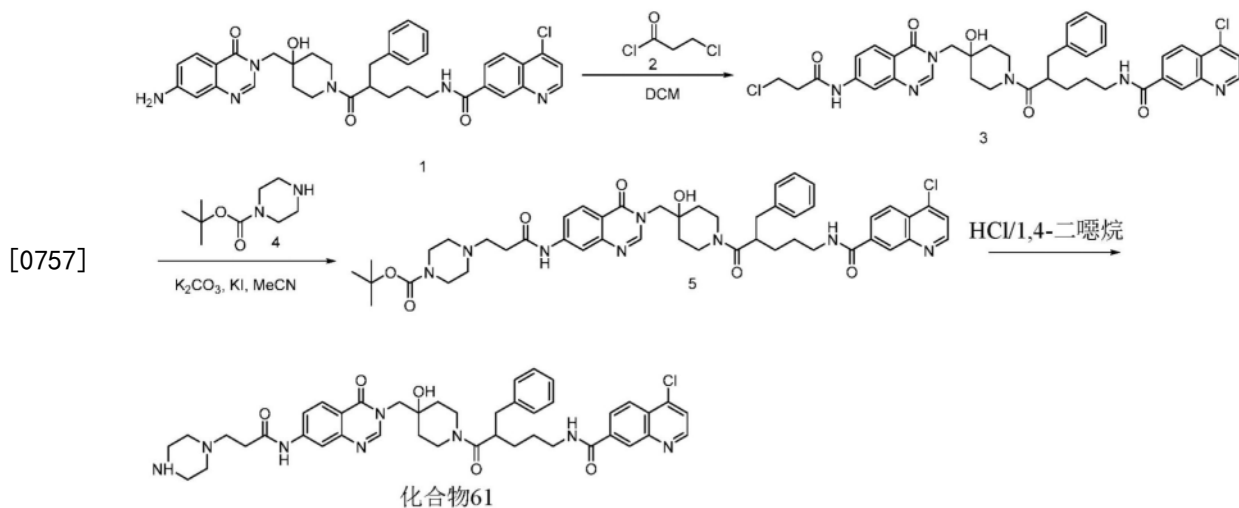
[0752] N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-氯丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(中间体3)

[0753] 向N-(5-(4-((7-氨基-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-4-苄基-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(400.0mg, 0.6124mmol)在干燥DCM(10mL)中的将混合物逐滴加入3-氯丙酰氯(233.2mg, 1.8372mmol),将混合物在室温下搅拌1小时,然后加入MTBE(10mL),过滤所得的悬浮液,将滤饼在真空下干燥,以得到呈白色固体的中间体3(350mg,产率76.9%)。LCMS(m/z):743.2[M+H] $^{+}$

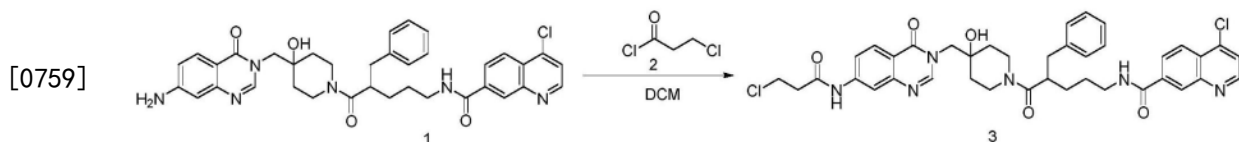
[0754] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((7-(3-吗啉代丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物60)

[0755] 将N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-氯丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(60.0mg, 0.0807mmol)、吗啉(21.1mg, 0.242mmol)、 K_2CO_3 (55.7mg, 0.403mmol)和KI(77.0mg, 0.403mmol)在MeCN(5ml)中的混合物在微波辐射下在120℃下加热3小时,将混合物在真空中浓缩,将残余物用 H_2O (20mL)稀释并用乙酸乙酯(20mL*3)提取,将合并的有机物用盐水(50mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以获得呈白色固体的化合物60(19.5mg,产率30.5%)。 1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 10.66(d, J=4.8Hz, 1H), 9.78(s, 1H), 8.98-8.84(m, 2H), 8.60(d, J=9.7Hz, 1H), 8.28(dd, J=8.7Hz, 5.4Hz, 1H), 8.19-8.12(m, 2H), 8.08-8.03(m, 1H), 7.86(d, J=4.7Hz, 1H), 7.70-7.57(m, 1H), 7.25-7.07(m, 5H), 4.83(s, 1H), 4.13(d, J=12.1Hz, 1H), 3.99(s, 2H), 3.94-3.87(m, 1H), 3.82(d, J=13.8Hz, 1H), 3.68-3.60(m, 5H), 3.30(s, 2H), 3.14(s, 4H), 2.94(t, J=6.8Hz, 2H), 2.88-2.81(m, 1H), 2.80-2.61(m, 4H), 1.65(s, 1H), 1.50(s, 3H), 1.28-1.23(m, 2H), 4.96(s, 1H), 1.15-1.0(m, 2H)。LCMS(m/z):794.3[M+H] $^{+}$ 。

[0756] 化合物61的合成



[0758] N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-氯丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(中间体3)



[0760] 向N-(5-(4-((7-氨基-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-4-苄基-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(400mg, 0.612mmol)在干燥DCM(10mL)中的混合物中逐滴加入3-氯丙酰氯(233mg, 1.837mmol),将混合物在室温下搅拌1小时,然后加入MTBE(10mL),过滤所得的悬浮液,将滤饼在真空下干燥,以得到呈白色固体的中间体3(350mg,产率76.9%)。LCMS(m/z):743.2[M+H]⁺

[0761] 4-(3-((3-((1-(2-苄基-5-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)氨基)-3-氧代丙基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(中间体5)

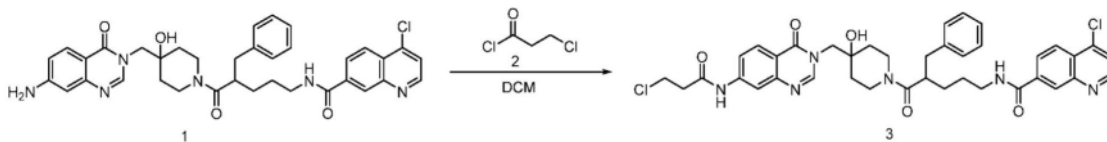
[0762] 将N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-氯丙酰胺基)-4-氧代喹唑啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(60.0mg, 0.081mmol)、哌嗪-1-羧酸叔丁酯(45.1mg, 0.242mmol)、K₂CO₃(55.7mg, 0.403mmol)和KI(66.9mg, 0.403mmol)在MeCN(5ml)中的混合物在微波辐射下在120℃下加热3小时,将混合物在真空中浓缩,将残余物用H₂O(20mL)稀释并用乙酸乙酯(20mL*3)提取,将合并的有机物用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的中间体5(30mg,产率41.6%)。LCMS(m/z):893.4[M+H]⁺。

[0763] N-(4-苄基-5-(4-羟基-4-((4-氧代-7-(3-(哌嗪-1-基)丙酰胺基)喹唑啉-3(4H)-基)甲基)哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物61)

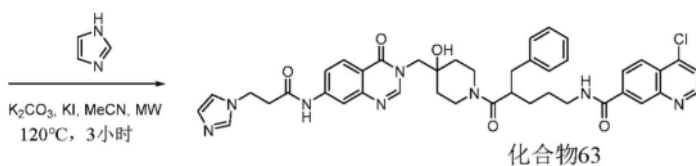
[0764] 向4-(3-((3-((1-(2-苄基-5-(4-氯喹啉-7-羧酰胺基)戊酰基)-4-羟基哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-7-基)氨基)-3-氧代丙基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(30mg, 0.03mmol)在1,4-二噁烷(5mL)中的混合物中加入在1,4-二噁烷(5mL)中的HCl溶液,将混合物在室温下搅拌5小时,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的化合物61(5.2mg,产率19.5%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) 10.59(d, J=4.8Hz, 1H), 8.93(dd, J=4.7, 1.5Hz, 1H), 8.89(dt, J=11.2, 5.7Hz, 1H), 8.63-8.55(m, 1H), 8.28(dd, J=8.7, 5.3Hz, 1H), 8.16(ddd, J=26.6, 17.5, 5.5Hz, 3H), 8.01(dd, J=6.6, 1.8Hz, 1H), 7.85(d, J=

4.7Hz, 1H), 7.65-7.58 (m, 1H), 7.17 (dtd, J=23.6, 15.5, 7.4Hz, 6H), 4.85 (s, 1H), 4.17-3.97 (m, 1H), 3.94-3.79 (m, 1H), 3.63 (d, J=13.7Hz, 2H), 3.15 (d, J=9.7Hz, 2H), 2.88-2.82 (m, 1H), 2.79-2.73 (m, 2H), 2.69 (s, 4H), 2.63-2.58 (m, 4H), 2.56-2.53 (m, 2H), 2.36 (s, 4H), 1.75-1.60 (m, 1H), 1.50 (s, 3H), 1.40-1.25 (m, 2H), 1.20-1.0 (m, 2H). LCMS (m/z): 793.3 [M+H]⁺.

[0765] 化合物63的合成



[0766]



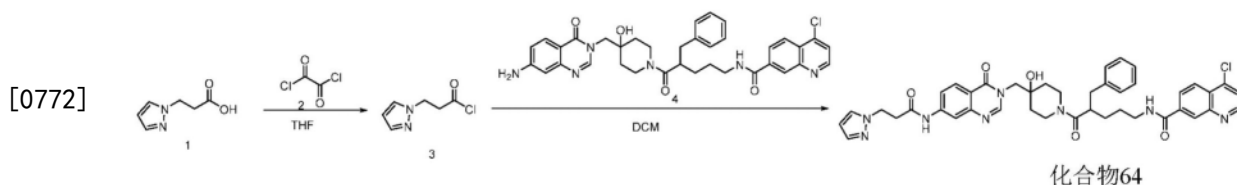
[0767] N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-氯丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(中间体3)

[0768] 向N-(5-(4-((7-氨基-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-4-苄基-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(400mg, 0.612mmol)在干燥DCM(10mL)中的混合物中逐滴加入3-氯丙酰氯(233.2mg, 1.837mmol),将混合物在室温下搅拌1小时,然后加入MTBE(10mL),过滤所得的悬浮液,将滤饼在真空下干燥,以得到呈白色固体的中间体3(350mg,产率76.9%)。LCMS (m/z): 743.2 [M+H]⁺

[0769] N-(5-(4-((7-(3-(1H-咪唑-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-4-苄基-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物63)

[0770] 将N-(4-苄基-5-(4-((7-(3-氯丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(60.0mg, 0.081mmol)、1H-咪唑(45.1mg, 0.242mmol)、K₂CO₃(55.7mg, 0.403mmol)和KI(66.9mg, 0.403mmol)在MeCN(5mL)中的混合物在微波辐射下在120°C下加热3小时,将混合物在真空中浓缩,将残余物用H₂O(20mL)稀释并用乙酸乙酯(20mL*3)提取,将合并的有机物用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的化合物63(2.0mg,产率4.0%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 10.60 (d, J=4.7Hz, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.97-8.83 (m, 2H), 8.60 (d, J=9.7Hz, 1H), 8.28 (dd, J=8.6, 4.8Hz, 1H), 8.20-7.97 (m, 4H), 7.86 (d, J=4.7Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.60 (d, J=17.3Hz, 2H), 7.26-7.08 (m, 5H), 4.85 (s, 1H), 4.51 (t, J=5.8Hz, 2H), 4.10-4.05 (m, 1H), 3.90-3.75 (m, 1H), 3.63 (d, J=13.6Hz, 2H), 3.14 (s, 2H), 3.07 (s, 2H), 2.84 (d, J=10.9Hz, 1H), 2.75-2.60 (m, 2H), 2.69-2.52 (m, 2H), 1.65 (s, 1H), 1.50 (s, 3H), 1.35-1.25 (m, 2H), 1.18-1.00 (m, 2H). LCMS (m/z): 775.3 [M+H]⁺.

[0771] 化合物64的合成



[0773] 3-(1H-吡唑-1-基)丙酰氯(中间体3)

[0774] 向3-(1H-吡唑-1-基)丙酸(14.0mg,0.10mmol)在THF(5.0mL)中的冰冷的溶液中加入草酰氯(63.5mg,0.50mmol),将混合物在0至5℃下搅拌10分钟,然后在室温下搅拌另外1小时。将混合物浓缩,以留下呈红色固体的粗中间体3(18mg,粗品)。LCMS(m/z):155.1[M+H]⁺

[0775] N-(5-(4-((7-(3-(1H-吡唑-1-基)丙酰胺基)-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-4-苄基-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(化合物64)

[0776] 在0℃下,将上述粗3-(1H-吡唑-1-基)丙酰氯(18.0mg,0.113mmol)在干燥DCM(2mL)中的溶液逐滴加入到N-(5-(4-((7-氨基-4-氧代喹啉-3(4H)-基)甲基)-4-羟基哌啶-1-基)-4-苄基-5-氧代戊基)-4-氯喹啉-7-羧酰胺(37.1mg,0.0567mmol)在DCM(5mL)中的溶液中,将混合物在室温下搅拌2小时,用H₂O(10mL)稀释并用DCM(20mL×3)提取,将合并的有机物用盐水(50mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,浓缩并通过制备型HPLC纯化,以得到呈白色固体的化合物64(3.1mg,产率7.0%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ(ppm)10.46(d,J=4.7Hz,1H),8.93(d,J=4.7Hz,1H),8.88(dt,J=11.0,5.6Hz,1H),8.60(d,J=10.5Hz,1H),8.28(dd,J=8.7,5.3Hz,1H),8.21-8.04(m,3H),8.03-7.99(m,1H),7.85(d,J=4.7Hz,1H),7.71(d,J=2.0Hz,1H),7.64-7.55(m,1H),7.44(d,J=1.4Hz,1H),7.23(dd,J=15.7,8.2Hz,2H),7.18-7.07(m,3H),6.21(t,J=2.0Hz,1H),4.84(s,1H),4.45(t,J=6.7Hz,2H),4.20-4.0(m,1H),3.94-3.79(m,1H),3.63(d,J=13.6Hz,2H),3.35-3.25(m,2H),3.20-3.10(m,2H),2.97(t,J=6.7Hz,2H),2.85(t,J=10.9Hz,1H),2.76-2.65(m,2H),1.75-1.60(m,1H),1.55-1.0(m,7H)。LCMS(m/z):775.3[M+H]⁺。

[0777] 实例2:使用本公开的示例性化合物的体外测定

[0778] 使用示例性USP7不可逆抑制剂的酶测定

[0779] 表1和表2:USP7测定中示例性化合物的USP7活性。++++表示小于约20nM的IC₅₀,+++表示约20nM至约100nM的IC₅₀,++表示约100nM至约1μM的IC₅₀,并且+表示大于1μM的IC₅₀;示例性化合物的小鼠肝微粒体稳定性;示例性化合物的血浆稳定性。ND是指未公开。

[0780] 表1

[0781]

化合物	IC ₅₀ , μM	MLM t _{1/2} , 分钟	血浆 t _{1/2} , 分钟	化合物	IC ₅₀ , μM	MLM t _{1/2} , 分钟	血浆 t _{1/2} , 分钟
4	+	ND	ND	58	+	ND	ND
5	++	18	320	59	+++	ND	78.9
6	+++	1.0	ND	60	+++	2.71	ND
7	++++	4.3	ND	61	+++	28.41	193.37
8	+++	ND	ND	62	+++	12.28	193.72
9	+++	ND	ND	63	++	4.16	ND
10	+++	1.5	ND	64	++	ND	ND
11	+++	12.1	ND	65	++	12.8	ND
12	+	ND	ND	66	+	ND	ND
13	+++	ND	91.9	67	+	ND	ND
14	++	ND	ND	68	+	ND	ND
15	++	ND	ND	69	+	4.5	ND
16	++	ND	ND	70	+++	10.3	ND
17	+++	ND	ND	71	++	54.6	ND
18	+++	21.2	ND	72	++	29.5	ND
19	+	ND	ND	73	+++	46.84	191.17
20	+++	25.8	226.0	74	+	ND	ND
21	+	18.5	ND	75	++++	69.41	67.42
22	+++	18.3	134.9	76	++	ND	ND
23	+++	49.3	10.5	78	++++	14.55	77.26
24	+	ND	23.0	79	+++	10.48	234.31
25	+	ND	ND	80	+	5.41	ND
26	+	ND	ND	81	+++	11.85	ND
27	+	20.0	ND	82	++	ND	ND
28	+	ND	ND	83	+	ND	ND
29	+++	16.7	ND	87	++++	23.17	60.79
30	+++	15.7	6706.0	88	+	ND	ND
31	++	2.9	ND	89	+++	3.34	ND
32	+++	2.5	ND	90	+++	ND	ND
33	++++	2.1	ND	91	+++	2.97	335.22
34	+	ND	ND	92	+++	ND	ND
35	+	ND	ND	93	++++	14.68	10.31
36	+	ND	ND	94	++	30.78	1.31

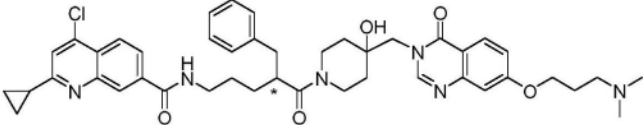
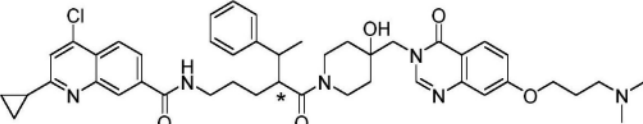
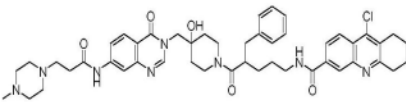
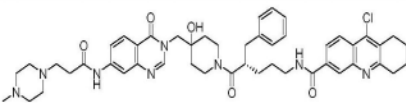
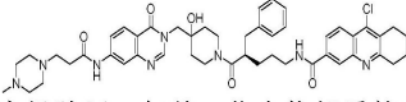
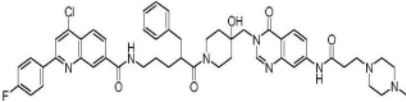
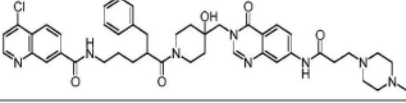
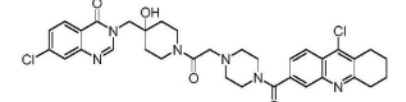
[0782]

37	+	ND	ND	98	++	ND	ND
38	+	ND	ND	99	+	ND	ND
39	+	ND	ND	100	+	ND	ND
40	+++	7.4	ND	101	+	ND	ND
41	++++	ND	ND	102	++	26.91	4.25
42	++	ND	ND	103	++	ND	ND
43	+++	8.3	185.7	104	++	ND	ND
44	+	ND	ND				
45	+	ND	ND	106	++ (1小时) ++++ (6小时) ++++ (16小时)	38.95	6.8
46	+	ND	ND	107	+++	ND	ND
47	+++	12.4		108	++++	14	∞^*
48	+	ND	ND	109	++++	22.41	101.85
49	++++	13.5	ND	110	++	2.21	ND
50	+	ND	ND	112	++	45.26	305.08
51	+++	ND	ND	114	++++	4.13	702.27
52	++	15.1	ND	116	++++	27.08	∞^*
53	++	ND	ND	117	+++	20.28	∞^*
54	+++	36.5	ND	118	++	ND	ND
55	+	35.6	ND	119	++++	3.04	ND
77	+++	1.73	160.8	120	++++	5.89	ND
130	++++	ND	ND	121	++++	6	ND
131	++	ND	ND	122	+++	3091	226.19
56	+	95.9	ND	123	++++	24.26	177.72
57	+	ND	ND	136	++++	ND	ND
132	+++	6.96	∞^*	138	+++	ND	ND
135	+++	ND	ND	136	++++	ND	ND
144	+++	ND	ND				

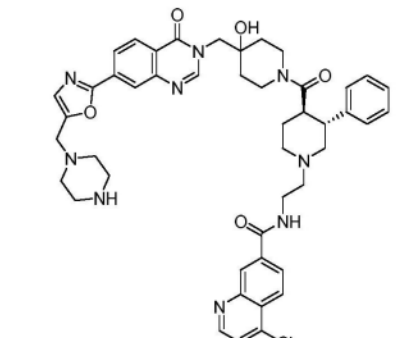
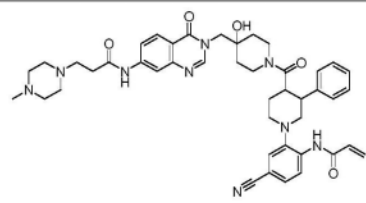
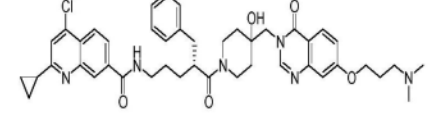
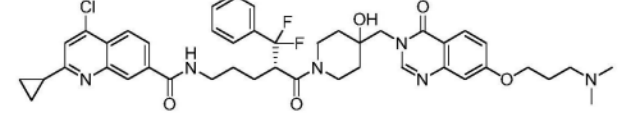
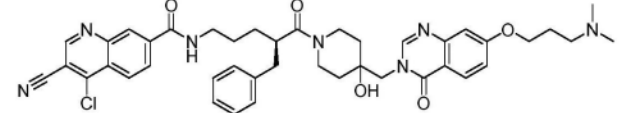
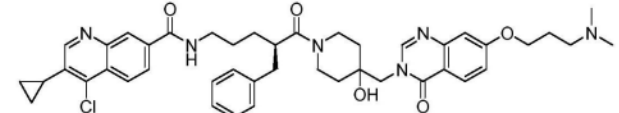
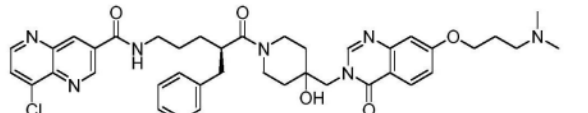
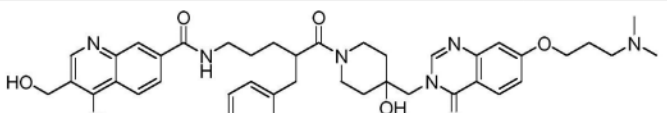
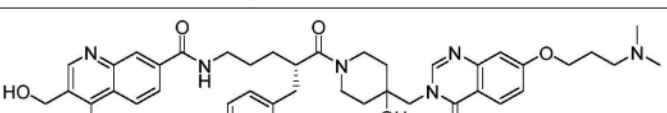
[0783] *如果在60分钟时的剩余百分比高于50%，则使用外推法计算 $t_{1/2}$ ；如果在60分钟时的剩余百分比接近100%，并且默认情况下 $t_{1/2}$ 的值 <0 ，则 $t_{1/2}$ 被报道为“ ∞ ”。

[0784] 表2

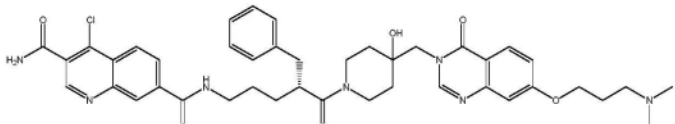
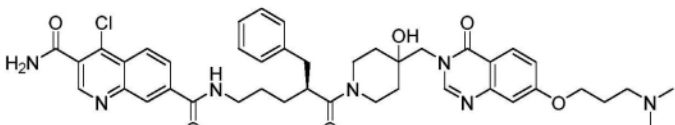
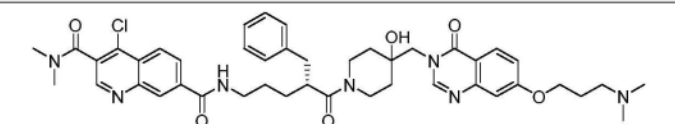
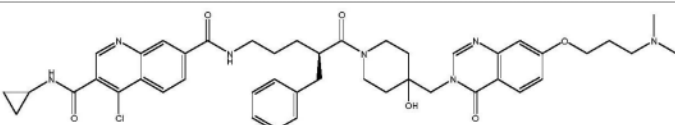
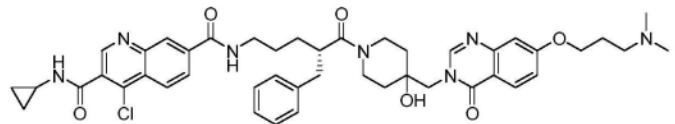
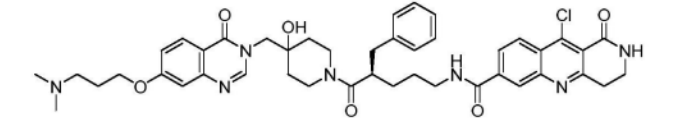
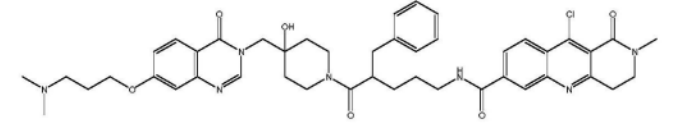
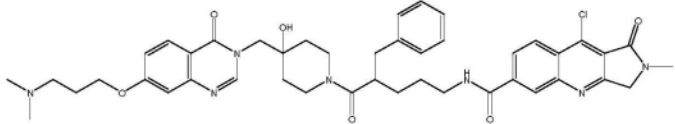
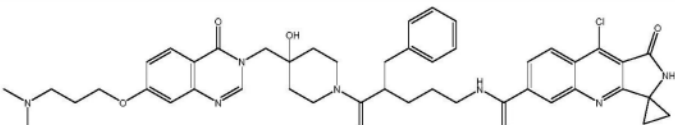
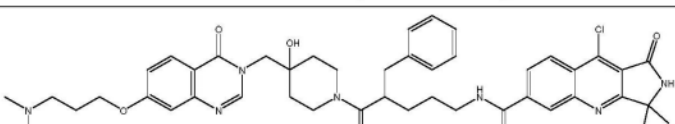
[0785]

化合物	IC ₅₀ , μM	MLM t _{1/2} , 分钟	血浆 t _{1/2} , 分钟
 (绝对立体化学未经验证; 与 116 相反的立体化学)	ND	ND	ND
 (绝对立体化学未经验证; 与 133 相反的立体化学)	+++	7.27	ND
	++++	NA	NA
 (立体化学未经验证; 作为下一个化合物的相反立体化学)	++++	2	>500
 (立体化学未经验证; 与前一化合物相反的立体化学)	++	NA	NA
	++	22.7	NA
	+++	11.0	327.6
	+	2.31	NA

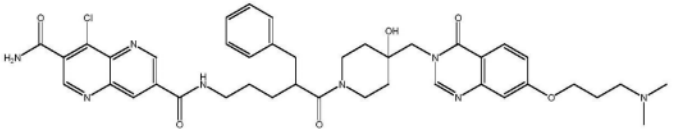
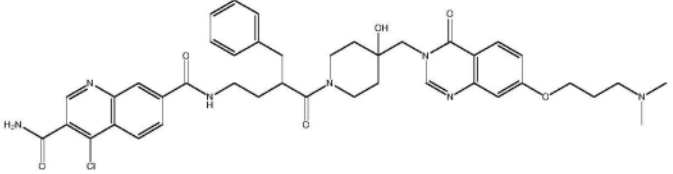
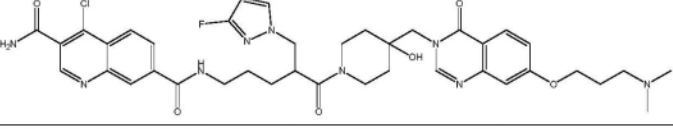
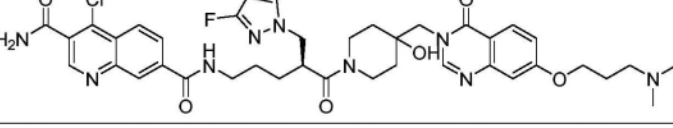
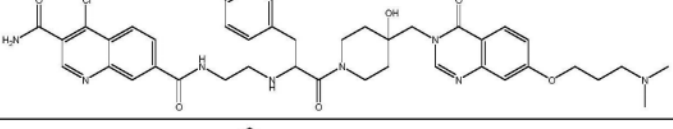
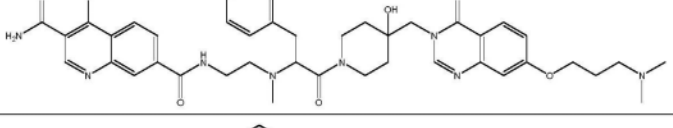
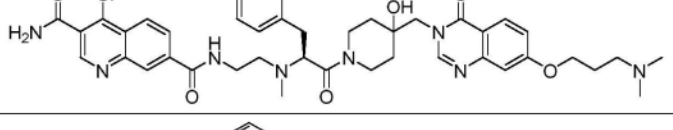
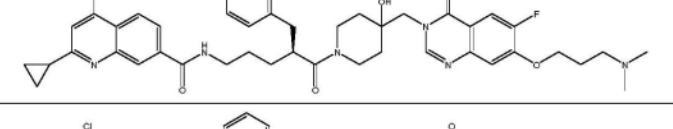
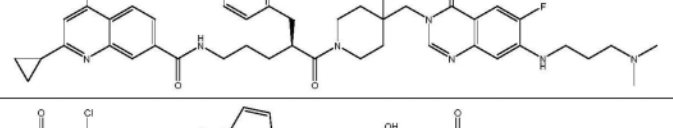
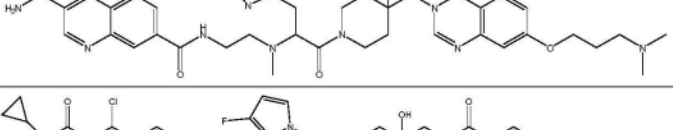
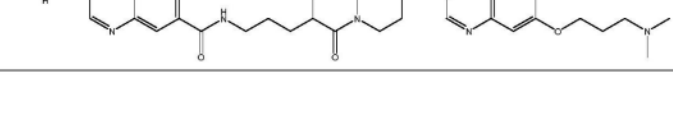
[0786]

	+++	ND	ND
	+	ND	ND
	++++	27.08	∞^*
	ND	ND	ND
	++++	1.67	ND
	++++	31.86	ND
	++	43.96	ND
	++++	57.64	ND
	++++	ND	ND

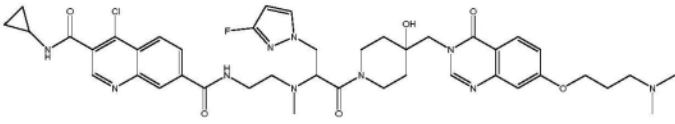
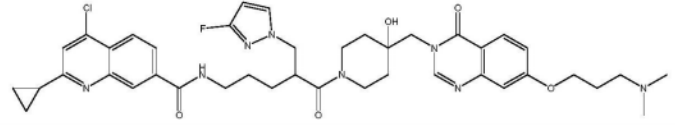
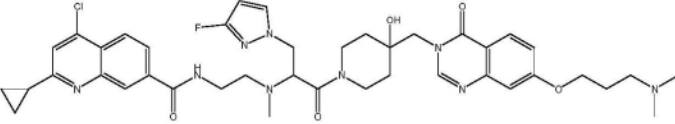
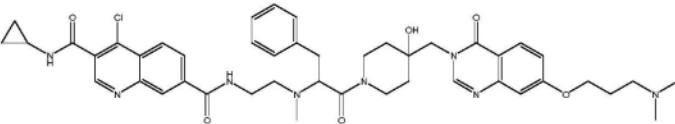
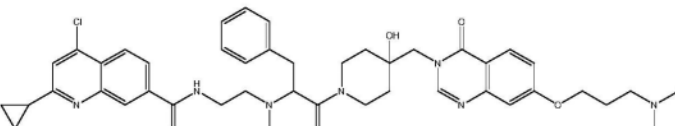
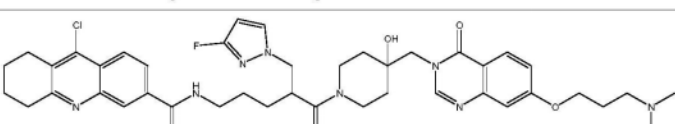
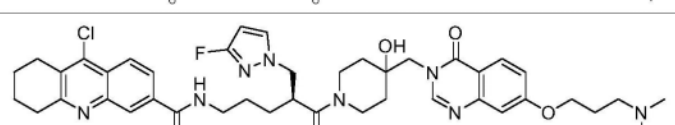
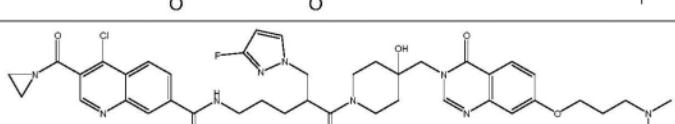
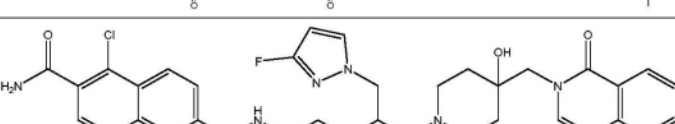
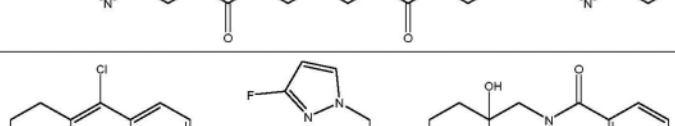
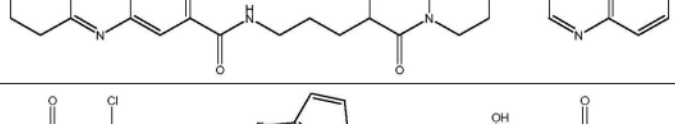
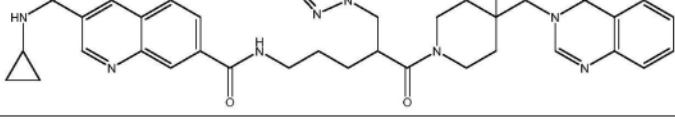
[0787]

	++++	46.65	111.74
(立体化学未经验证; 下一个化合物的相反立体化学)			
	++++	30.25	
(立体化学未经验证; 前一化合物的相反立体化学)			
	++	33.75	
	++++	44.14	28.89
(立体化学未经验证; 下一个化合物的相反立体化学)			
	++++	62.44	
(立体化学未经验证; 前一化合物的相反立体化学)			
	++	10.17	NA
	+++	14.43	NA
	++++	11.27	NA
	ND	ND	ND
	+	16.3	NA

[0788]

	ND	ND	ND
	++++	28.21	NA
	++++	130.56	85.92
	++++	223.19	85.92
	++++	65.45	
	++++	36.41	
	+	100.97	148.99
	++++	22.09	
	++++	18.56	
	+++	106.24	
	++++	151.51	

[0789]

	ND	ND	ND
	++++	16.99	188.25
	++	NA	NA
	+++	46.55	NA
	++	NA	NA
	++++	2.46	396.23
	ND	6.96	127.44
	ND	ND	ND
	++++	6.51	ND
	++++	0.56	393.74
	+++	4.61	ND
[0790] 	ND	ND	ND

[0791] USP7测定方案

[0792] 1. 材料:

[0793] USP7、活性人重组蛋白 (CP, 批号20200225001)、泛素罗丹明110 (Rh110) (BostonBiochem, 目录号U-555)、DMSO (Sigma, 目录号N34869)、DTT (Sangon Biotech, 目录号A620058-0005)、1M Tris pH 8.0 (Sigma, 目录号T2694-1L)、Tween-20 (Sigma, 目录号P2287-100ML)、EDTA (Invitrogen, 目录号15575020)、BSA (Sigma, 目录号B2064-100G)、384孔测定板 (Corning, 目录号3573)、Echo合格的384孔聚丙烯微孔板2.0, 透明平底 (LABCYTE, 目录号001-14555)。

[0794] 2. 仪器信息:

名称	型号	制造商	SN
Precision	PRC384U	BioTek	214145
Echo 550液体处理器	Echo 550	Labcyte	E5XX-1045
离心机	Avanti J-15R	BECKMAN COULTER	JBR20A055
多模式检测平台	SpectraMax Paradigm	Molecular	33270-2051

[0796] 3. 实验方法:

[0797] 用100% DMSO将化合物稀释至反应中最终所需最高抑制剂浓度的400倍。对于所有化合物, 将化合物转移到384孔Echo板的一个孔中, 并且在下一个孔中通过100% DMSO的3倍稀释液连续稀释化合物, 以此类推, 通过Precision将总浓度稀释至10。将30 μ L的100% DMSO加入两个空孔中, 在同一384孔Echo板中进行无化合物对照和无酶对照。将所述板作为来源板。

[0798] 对于USP7测定, 通过Echo 550液体处理器将每个孔的50nL从来源板转移到384孔测定板 (OptiPlate™-384F黑色测定板)。

[0799] 准备1 \times 测定缓冲液:

50 mM	Tris-HCl pH8.0
0.5 mM	EDTA
0.01%	BSA

0.01%	Tween-20
-------	----------

[0802] 在1 \times 测定缓冲液中加入适量的USP7, 以制备2 \times 酶溶液 (USP7最终浓度: 0.05nM)。在1 \times 测定缓冲液中加入适量泛素-罗丹明110, 以制备2 \times 底物溶液 (泛素-罗丹明110终浓度: 190nM)。向384孔测定板的每个反应孔中添加10 μ L的2 \times 酶溶液, 除了不含酶的对照孔外 (对于低对照, 添加10 μ L的1 \times 测定缓冲液)。以1000rpm离心1分钟, 并在室温下温育15分钟。将2 \times 底物溶液转移至测定板。向384孔测定板的每个孔中添加10 μ L的2 \times 底物溶液以开始反应。以1000rpm离心1分钟。在SpectraMax Paradigm上动态读取板持续20分钟, 激发波长为485nm, 发射波长为535nm。从读取器复制原始数据 (斜率), 以使用等式 (1) 在Excel中获得抑制值:

[0803] 等式 (1): $\text{Inh}\% = (\text{最大信号}) / (\text{Max} - \text{Min}) * 100$

[0804] 从酶和底物的作用中获得最大信号。仅从底物获得最小信号。为了拟合XLFit excel插件版本5.4.0.8中的数据以获得IC₅₀值, 请使用等式 (2):

- [0805] 等式(2): $Y = \text{底部} + (\text{顶部} - \text{底部}) / (1 + ((IC_{50}/X) * \text{希尔系数 (HillSlope)}))$
- [0806] Y是抑制%,并且X是化合物浓度。
- [0807] 血浆测定方案
- [0808] 1. 预热的0.05M磷酸钠和0.07M NaCl缓冲液, pH 7.4。将14.505g/L $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 、1.483g/L $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 和4.095g/L NaCl溶解在去离子水中。然后用磷酸滴定碱性溶液至pH 7.40。在冰箱中保存长达7天。在实验当天检查pH,并且如果超出7.4+/-0.1的规格,则进行调整。
- [0809] 2. 血浆制备:
- [0810] 冷冻的血浆通过快速置于37°C下被解冻。以3,000rpm离心血浆持续8分钟以去除凝块,吸取并汇集上清液作为待在实验中使用的血浆。检查并记录血浆的pH。仅使用pH 7.4至pH 8范围内的血浆。如果高于pH 8,则丢弃血浆。通过使用5% CO_2 培养箱和PBS缓冲液,在4小时平衡透析时间后达到7.4的pH。将血浆放在冰上直到使用。
- [0811] 3. 测试的化合物和参比化合物掺入溶液:
- [0812] 0.5mM测试化合物掺入溶液A:向190 μ L DMSO中加入10 μ L的10mM测试化合物储备溶液。
- [0813] 0.02mM掺入溶液B:向960 μ L的含0.5% BSA的0.05mM磷酸钠缓冲液中加入40 μ L的掺入溶液A。
- [0814] 在37°C下预热血浆和掺入溶液B持续5分钟。对于所有时间点(5、15、30、45、60分钟)向指定的孔中加入10 μ L预热的掺入溶液B。
- [0815] 对于0分钟,向0分钟板的孔中加入400 μ L的含有内部标准品(IS)的乙腈(ACN),然后加入90 μ L的血浆。对于时间点(0、5、15、30、45、60分钟),向指定的孔中加入90 μ L预热的血浆,并开始计时。在5、15、30、45、60分钟时,分别向相应板的孔中加入400 μ L的含IS的ACN以终止反应。在淬灭后,在振动器(IKA, MTS2/4)上摇动板10分钟(600rpm/min),然后以5594g离心15分钟(Thermo Multifuge \times 3R)。将来自每个孔的50 μ L上清液转移到含有50 μ L超纯水(Millipore ZMQS50F01)的96孔样品板中,用于LC/MS分析。
- [0816] 微粒体测定方案
- [0817] 1. 缓冲液A:1.0L的包含1.0mM EDTA缓冲液B的0.1M磷酸二氢钾缓冲液:1.0L的包含1.0mM EDTA的0.1M磷酸氢二钾缓冲液
- [0818] 缓冲液C:0.1M磷酸钾缓冲液,1.0mM EDTA, pH 7.4,用缓冲液A滴定700mL的缓冲液B,同时用pH计监测。
- [0819] 2. 参比化合物(酮舍林)和测试化合物掺入溶液:
- [0820] 500 μ M掺入溶液:将10 μ L的10mM DMSO储备溶液加入到190 μ L的ACN中。微粒体中的1.5 μ M掺入溶液(0.75mg/mL):将1.5 μ L的500 μ M掺入溶液和18.75 μ L的20mg/mL肝微粒体加入到479.75 μ L的冰上的缓冲液C中。
- [0821] 3. 通过将NADPH溶解在缓冲液C中制备NADPH储备溶液(6mM)。将30 μ L的含0.75mg/mL微粒体溶液的1.5 μ M掺入溶液分配到冰上不同时间点(0分钟、5分钟、15分钟、30分钟、45分钟)的指定的测定板中。对于0分钟,向0分钟板的孔中加入135 μ L的含有IS的ACN,然后加入15 μ L的NADPH储备溶液(6mM)。将所有其他板在37°C下预温育5分钟。向板中加入15 μ L的NADPH储备溶液(6mM)以开始反应和计时。在5分钟、15分钟、30分钟和45分钟时,分别向相应

板的孔中加入135 μ L的含有IS的ACN以终止反应。在淬灭后,在振荡器(IKA,MTS2/4)上摇动板10分钟(600rpm/min),然后以5594g离心15分钟(Thermo Multifuge \times 3R)。将来自每个孔的50 μ L上清液转移到含有50 μ L超纯水(Millipore,ZMQS50F01)的96孔样品板中,用于LC/MS分析。

[0822] 通过引用并入

[0823] 本文提及的所有出版物和专利都特此通过引用以其整体并入,就好像每个单独的出版物或专利都被具体地且单独地指出通过引用并入。在冲突的情况下,以本申请,包括本文中的任何定义为准。

[0824] 等同物

[0825] 虽然已经讨论了本发明的具体实施例,但是上述说明是说明性的而不是限制性的。在阅读本说明书和以下权利要求书后,本发明的许多变化对于本领域技术人员将变得显而易见。本发明的全部范围应当通过参考权利要求以及其等同物的全部范围和说明书以及这些变化来确定。