(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 117567478 B
(45)授权公告日 2025.03.21

(21)申请号 202311518671.2
(22)申请日 2022.01.27
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 117567478 A
(43)申请公布日 2024.02.20
(66)本国优先权数据
202110159956.6 2021.02.05 CN
202110533304.4 2021.05.17 CN
202110718245.8 2021.06.28 CN
202110936768.X 2021.08.16 CN
202111355330.9 2021.11.16 CN
(62)分案原申请数据
202280008418.X 2022.01.27
(73)专利权人 四川科伦博泰生物医药股份有限公司
地址 611138 四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号
(72)发明人 田强 张毅涛 缪羽 王波 叶健 汪小蓓 李德亮 李芬 宋宏梅
(74)专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所有限公司 11038
专利代理师 杜仙
(51)Int.Cl.
C07D 491/22(2006.01)
A61K 31/4745(2006.01)
A61K 47/64(2017.01)
A61P 35/00(2006.01)
(56)对比文件
CN 112125915 A,2020.12.25
CN 111689980 A,2020.09.22
EP 0495432 A1,1992.07.22
WO 2020219287 A1,2020.10.29
CN 111936169 A,2020.11.13
CN 1158334 A,1997.09.03
WO 2019114666 A1,2019.06.20
审查员 杨晨辰

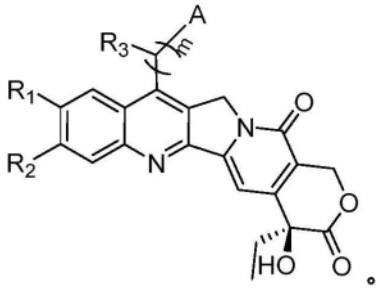
权利要求书4页 说明书118页

(54)发明名称

喜树碱类化合物及其制备方法和应用

(57)摘要

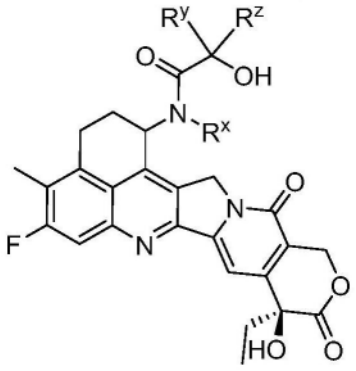
具有抗肿瘤活性的喜树碱类化合物,及其制备方法和应用。具体地,涉及如下所示化合物或其药学上可接受的形式,其药物组合物、制备方法和用途。所述化合物可用作治疗细胞异常增殖方面疾病的药物,



。

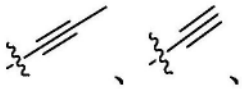
CN 117567478 B

1.化合物或其可药用盐,其中所述化合物具有式(I)的结构:

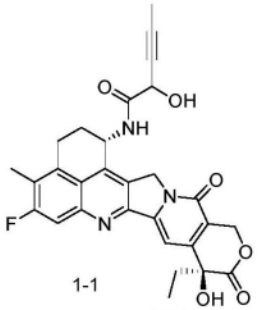


式(I)

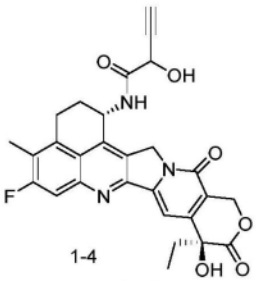
上式(I)中,R^x为氢;

R^y为氢,R^z选自二甲胺基亚甲基。

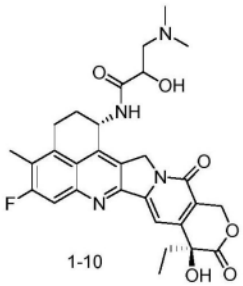
2.化合物或其可药用盐,所述化合物结构如下所示:



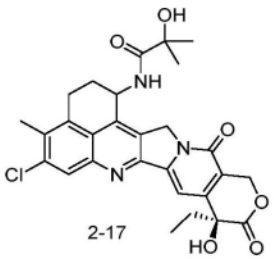
1-1



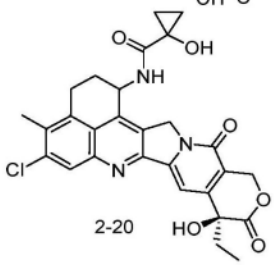
1-4



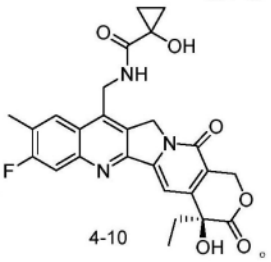
1-10



2-17

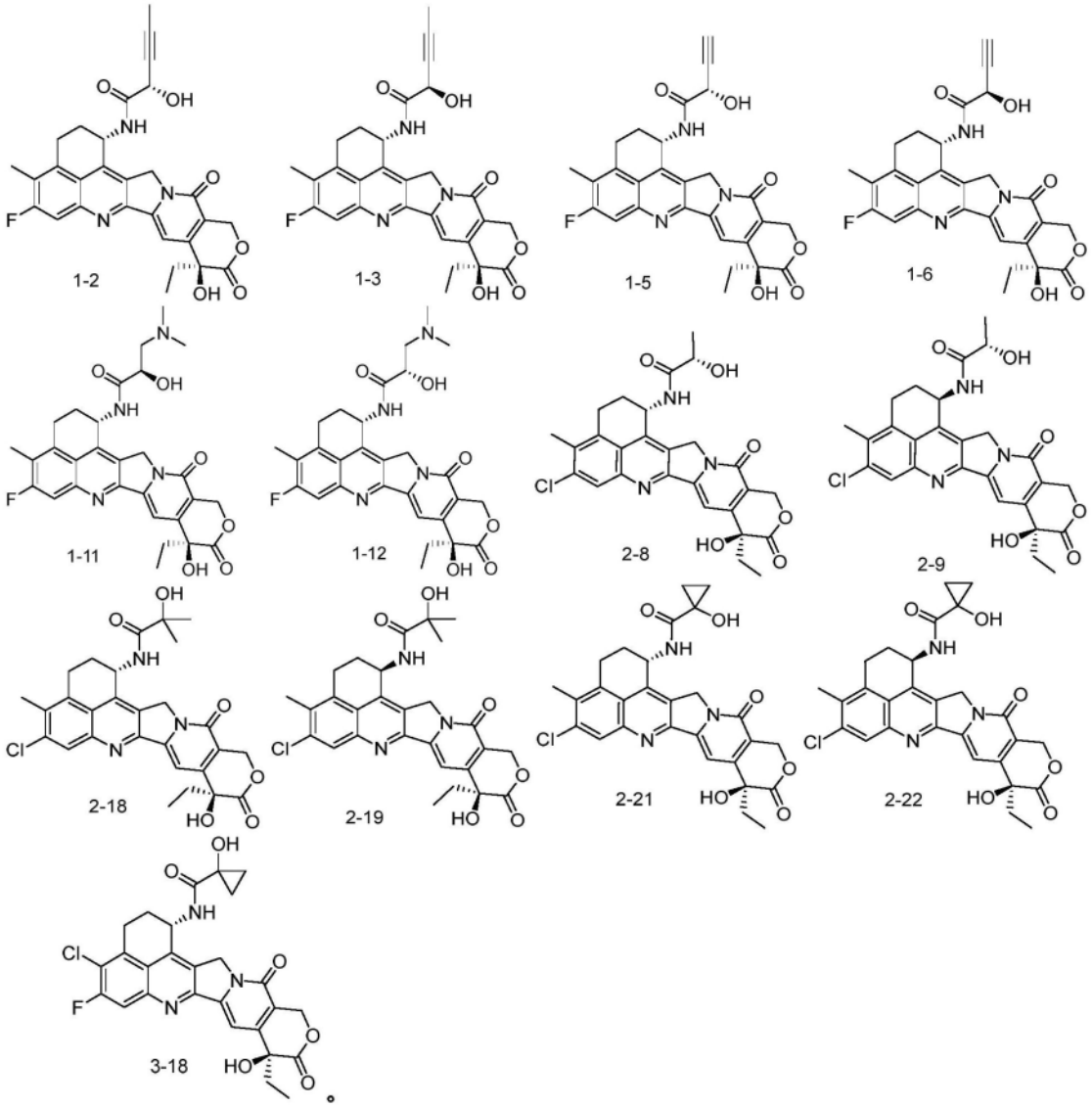


2-20



4-10。

3.化合物或其可药用盐,所述化合物结构如下所示:



4.式(VI)所示化合物或其可药用盐,其中所述化合物结构如下所示:

M-L-E-D

式(VI)

其中,

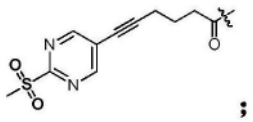
M是和抗体或其抗原结合片段的接头部位;

L是连接接头M和E之间的连接子;

E是连接L和D的结构片段;

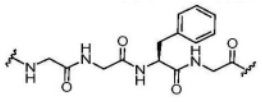
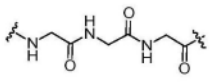
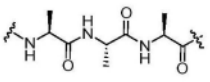
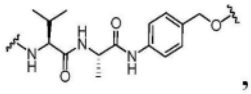
D选自权利要求1-3任意一项所述的化合物去氢之后的结构;

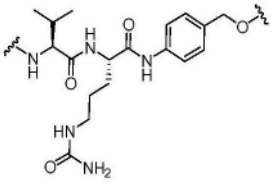
其中,M具有以下结构:



;

L选自以下结构:

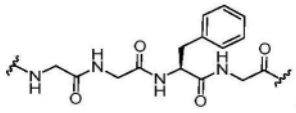
，，，，

且

；

E选自单键、-NH-CH_2-、。

5.权利要求4的化合物或其可药用盐,L具有以下结构：

。

6.权利要求5的化合物或其可药用盐,E为-NH-CH_2-。

7.式(VI)所示化合物或其可药用盐,其中所述化合物结构如下所示：

M-L-E-D

式(VI)

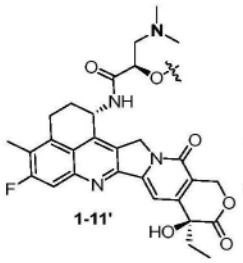
其中,

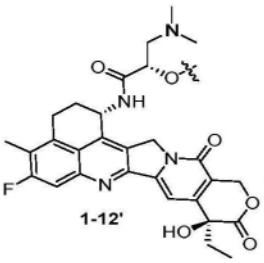
M是和抗体或其抗原结合片段的接头部位；

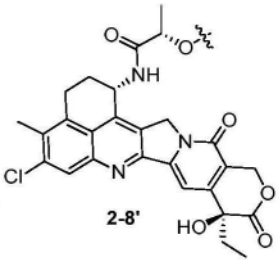
L是连接接头M和E之间的连接子；

E是连接L和D的结构片段；

D选自以下结构：

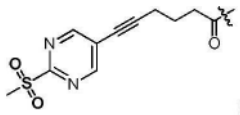

1-11'


1-12'

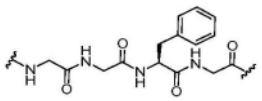
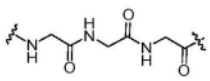
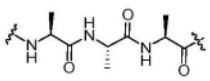
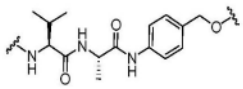

2-8'

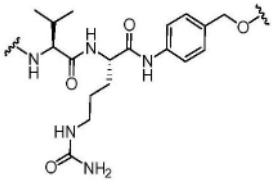
；

M具有以下结构：

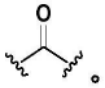
；

L选自以下结构：

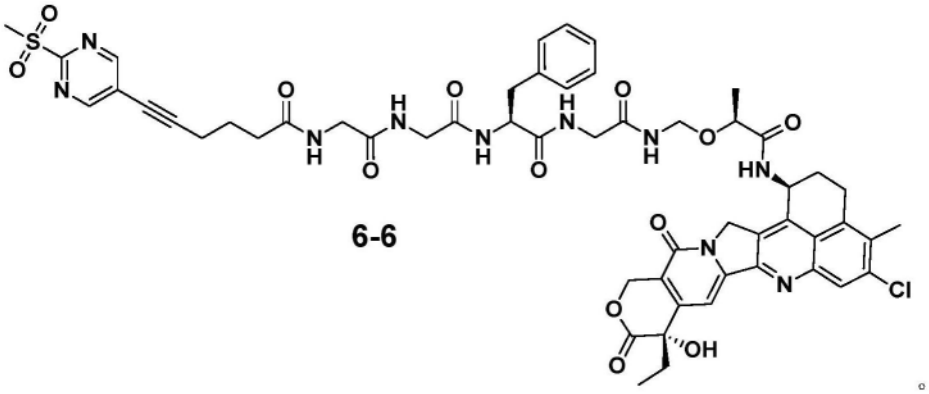
，，，，

且

；

E选自单键、-NH-CH_2-、。

8.化合物或其可药用盐,所述化合物结构如下所示:



9.一种药物组合物,其包含权利要求1-8任一项的化合物或其可药用盐,以及一种或多种药学上可接受的载体。

10.一种药盒产品,其包含:

a)作为第一治疗剂的至少一种权利要求1-8任一项的化合物或其可药用盐,或者权利要求9的药物组合物;和

b)任选存在的包装和/或说明书。

11.权利要求1-8任一项的化合物或其可药用盐、权利要求9的药物组合物或者权利要求10的药盒产品在制备用于治疗细胞异常增殖方面的疾病的药物中的用途;所述细胞异常增殖方面的疾病选自结肠癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胃癌、宫颈癌、淋巴瘤。

喜树碱类化合物及其制备方法和应用

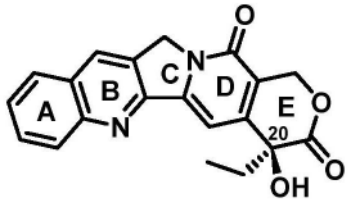
[0001] 本申请是2022年1月27日提交的、发明名称为“喜树碱类化合物及其制备方法和应用”的申请号为202280008418.X的中国专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及一类具有抗肿瘤活性的喜树碱类化合物及其缀合物,以及它们的制备方法和在医药领域中的应用。

背景技术

[0003] 喜树碱(Camptothecin,CPT,式1)是从珙桐科植物喜树(Camptothecaacuminata)中分离得到的一种五环喹啉母核化合物,由喹啉环AB、吡咯环C、吡啶酮环D和α-羟基内酯环E组成,其中20-位为S构型(见下文结构式)。20世纪70年代初由于其优异的抗癌活性而被引入临床,后来由于出现腹泻、出血性膀胱炎等严重副反应,而终止了临床试验。

[0004] 

喜树碱

[0005] 研究数据表明,喜树碱可与细胞DNA拓扑异构酶I形成三元复合物,从而抑制DNA的解旋,导致DNA复制受阻,进而造成细胞死亡(Cancer Res.1989,49,6365)。喜树碱及其衍生物在肺癌、乳腺癌、结直肠癌、卵巢癌等动物体内模型中具有很强的抗肿瘤活性(Nature Review Cancer.2006,6,789)。

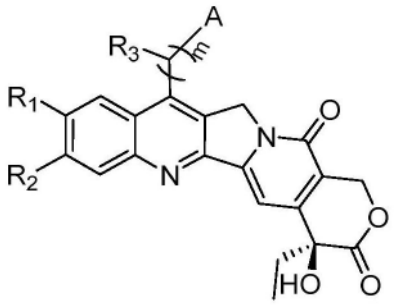
[0006] 目前已有多个喜树碱类药物被批准上市用于肿瘤治疗(Med.Res.Rev.2015,35,753)。伊立替康为结直肠癌治疗药物;拓扑替康用于卵巢癌的治疗;贝洛替康用于卵巢癌和小细胞肺癌的治疗。喜树碱衍生物还有Exatecan,Rubitecan,Karenitecan,Diflomotecan,Lurtotecan,Gimatecan,Namitecan,Simmitecan,Silatecan,Chimmitecan,Elomotecan等。

[0007] 喜树碱类药物或衍生物多存在骨髓抑制导致的血液毒性,比如中性粒细胞减少、白细胞减少、血小板减少、贫血等,以及胃肠道副作用,比如恶心、呕吐、腹泻等。临床研究发现提升喜树碱类化合物安全性和有效性的措施包括改善其药代性质、调节活性、减少用量或者利用其缀合物与抗体形成抗体偶联药物等。因此,研发结构新颖并能够提升有效性、改善安全性问题的喜树碱类化合物及其缀合物仍有很高的临床需求和应用价值。

发明内容

[0008] 本发明提供结构新颖的喜树碱类化合物及其缀合物,该喜树碱类化合物具有良好的抗肿瘤活性,有望用于肿瘤疾病的治疗;其缀合物有广泛的抗体偶联药物应用前景。

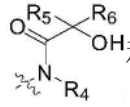
[0009] 本发明第一方面提供化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药,其中所述化合物具有如下所示结构:

[0010] 

[0011] 其中,

[0012] R_1和R_2各自独立地选自氢、卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}卤代烷基、羟基、氰基和C_{3-6}环烷基;或者,R_1和R_2与相邻碳原子连接成5-6元含氧杂环;

[0013] R_3为氢或者与R_1邻位碳原子相连成六元碳环;

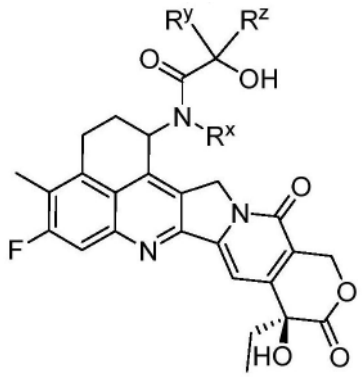
[0014] A选自和中的一种;

[0015] R_4选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧烷基、C_{3-6}环烷基和3-6元杂环基;

[0016] R_5和R_6各自独立地选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-6}环烷基、3-6元杂环基、3-6元杂环基烷基、芳基和杂芳基;或者R_5和R_6与相邻碳原子连接成3-6元碳环或杂环;

[0017] m=1或2。

[0018] 在一些实施方案中,所述化合物具有式(I)的结构:

[0019] 

式(I)

[0020] 在式(I)中,R^x选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧烷基、C_{3-6}环烷基和3-6元杂环基;

[0021] R^y和R^z不同时为氢,且独立选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、3-6元杂环基烷基和3-6元杂环基。

[0022] 在一些实施方案中,R^x选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧烷基、C_{3-6}环烷基和3-6元杂环基;

[0023] R^y和R^z不同时为氢,且独立选自氢、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、3-6元杂环基烷基和3-6元杂环基。

[0024] 在一些实施方案中,式(I)中,R^x选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧烷基、C_{3-6}环烷基、3~6元杂环基;

[0025] R^y和R^z不同时为氢,且独立选自氢、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基。

[0026] 在一些实施方案中,R^x选自氢或C_{1-6}烷基。

[0027] 在一些实施方案中,R^x为氢。

[0028] 在一些实施方案中,R^y和R^z不同时为氢,且独立选自氢、、二甲胺基亚甲基、吗啉基亚甲基和甲氧基亚甲基。

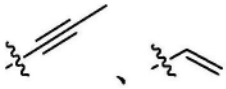
[0029] 在一些实施方案中,R^y和R^z不同时为氢,且独立选自氢、、二甲胺基亚甲基和甲氧基亚甲基。

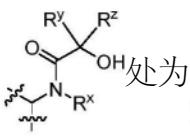
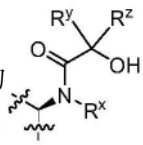
[0030] 在一些实施方案中,R^y为氢,R^z选自二甲胺基亚甲基、吗啉基亚甲基和甲氧基亚甲基。

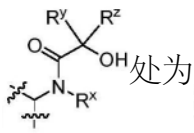
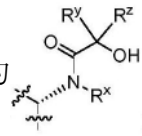
[0031] 在一些实施方案中,R^y为氢,R^z选自二甲胺基亚甲基和甲氧基亚甲基。

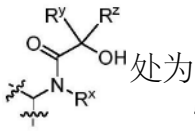
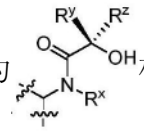
[0032] 在一些实施方案中,R^x为氢,R^y为氢,R^z选自二甲胺基亚甲基、吗啉基亚甲基和甲氧基亚甲基。

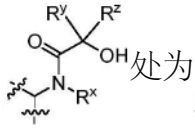
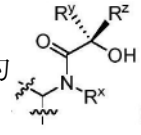
[0033] 在一些实施方案中,R^x为氢,R^y为氢,R^z选自二甲胺基亚甲基和甲氧基亚甲基。

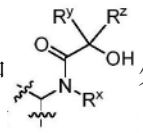
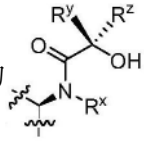
[0034] 在一些实施方案中,R^x为氢,R^y为氢,R^z选自和二甲胺基亚甲基。

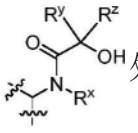
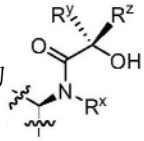
[0035] 在一些实施方案中,式(I)中处为构型。

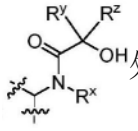
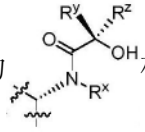
[0036] 在一些实施方案中,式(I)中处为构型。

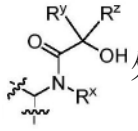
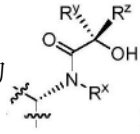
[0037] 在一些实施方案中,式(I)中处为构型。

[0038] 在一些实施方案中,式(I)中处为构型。

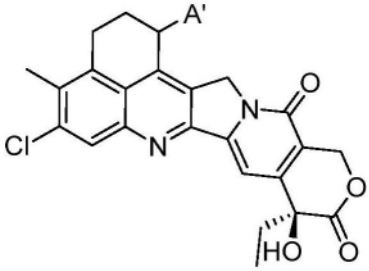
[0039] 在一些实施方案中,式(I)中处为构型。

[0040] 在一些实施方案中,式(I)中处为构型。

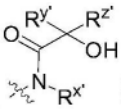
[0041] 在一些实施方案中,式(I)中处为构型。

[0042] 在一些实施方案中,式(I)中处为构型。

[0043] 在一些实施方案中,所述化合物具有式(II)的结构:

[0044] 

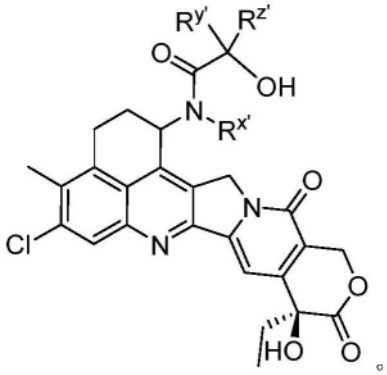
式(II)

[0045] 在式(II)中,A'选自和中的一种;

[0046] $R^{x'}$选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧烷基、C_{3-6}环烷基和3-6元杂环基;

[0047] $R^{y'}$和$R^{z'}$独立选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{3-6}环烷基、3-6元杂环基、3-6元杂环基烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基和杂芳基,或者$R^{y'}$和$R^{z'}$与相邻碳原子连接成3-6元环。

[0048] 在一些实施方案中,式(II)结构如下式(II)-1所示:

[0049] 

式(II)-1。

[0050] 在一些实施方案中,$R^{x'}$选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{3-6}环烷

基、3～6元杂环基；

[0051] $R^{y'}$和$R^{z'}$独立选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{3-6}环烷基、3～6元杂环基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、杂芳基，或者$R^{y'}$和$R^{z'}$与相邻碳原子连接成3-6元环。

[0052] 在一些实施方案中，所述3-6元环选自3-6元碳环或3-6元杂环。

[0053] 在一些实施方案中，$R^{x'}$选自氢和C_{1-6}烷基。

[0054] 在一些实施方案中，$R^{x'}$选自氢和甲基。

[0055] 在一些实施方案中，$R^{y'}$和$R^{z'}$独立选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{3-6}环烷基和C_{2-6}烯基，或者$R^{y'}$和$R^{z'}$与相邻碳原子连接成3-6元环烷基。

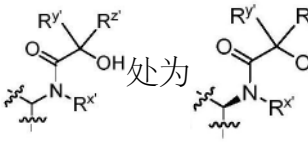
[0056] 在一些实施方案中，$R^{y'}$选自氢和C_{1-6}烷基，$R^{z'}$选自氢、C_{1-6}烷基和C_{3-6}环烷基，或者$R^{y'}$和$R^{z'}$与相邻碳原子连接成3-6元环。

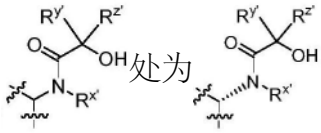
[0057] 在一些实施方案中，$R^{y'}$选自氢和甲基，$R^{z'}$选自氢、甲基和环丙基，或者$R^{y'}$和$R^{z'}$与相邻碳原子连接成3元碳环。

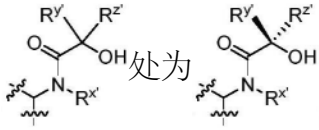
[0058] 在一些实施方案中，$R^{x'}$选自氢和甲基，$R^{y'}$选自氢和甲基，$R^{z'}$选自氢、甲基和环丙基，或者$R^{y'}$和$R^{z'}$与相邻碳原子连接成3元碳环。

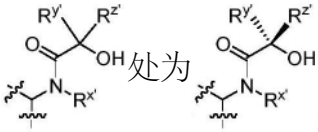
[0059] 在一些实施方案中，$R^{x'}$为氢，$R^{y'}$选自氢和甲基，$R^{z'}$选自氢、甲基和环丙基，或者$R^{y'}$和$R^{z'}$与相邻碳原子连接成3元碳环。

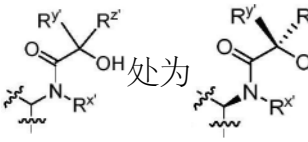
[0060] 在一些实施方案中，式(II)中A'为。

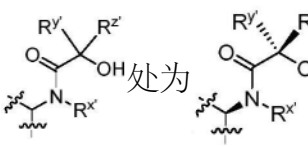
[0061] 在一些实施方案中，式(II)-1中处为构型。

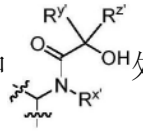
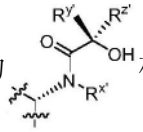
[0062] 在一些实施方案中，式(II)-1中处为构型。

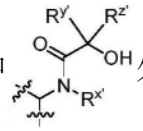
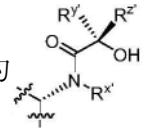
[0063] 在一些实施方案中，式(II)-1中处为构型。

[0064] 在一些实施方案中，式(II)-1中处为构型。

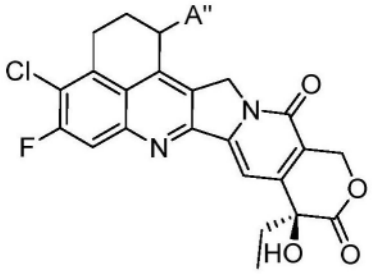
[0065] 在一些实施方案中，式(II)-1中处为构型。

[0066] 在一些实施方案中，式(II)-1中处为构型。

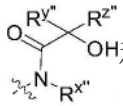
[0067] 在一些实施方案中,式(II)-1中处为构型。

[0068] 在一些实施方案中,式(II)-1中处为构型。

[0069] 在一些实施方案中,所述化合物具有式(III)的结构:

[0070] 

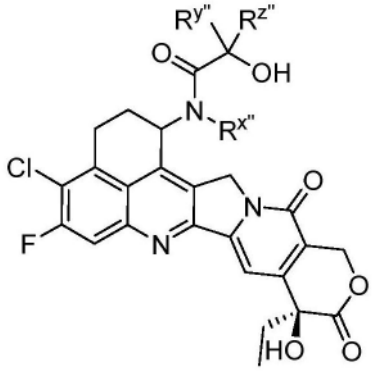
式(III)

[0071] 在式(III)中,A"选自和中的一种;

[0072] $R^{x"}$选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧烷基、C_{3-6}环烷基和3-6元杂环基;

[0073] $R^{y"}$和$R^{z"}$独立选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{3-6}环烷基、3-6元杂环基、3-6元杂环基烷基、4-6元杂环基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基和杂芳基,或者$R^{y"}$和$R^{z"}$与相邻碳原子连接成3-6元环。

[0074] 在一些实施方案中,式(III)化合物结构如下式(III)-1所示:

[0075] 

式(III)-1。

[0076] 在一些实施方案中,$R^{x"}$选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{3-6}环烷基、3~6元杂环基;

[0077] $R^{y"}$和$R^{z"}$独立选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{3-6}环烷基、4~6元杂环基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、杂芳基,或者$R^{y"}$和$R^{z"}$与相邻碳原子连接成3-6元环。

[0078] 在一些实施方案中,$R^{x"}$选自氢和C_{1-6}烷基。

[0079] 在一些实施方案中,$R^{x"}$为氢。

[0080] 在一些实施方案中,所述3-6元环选自3-6元碳环或3-6元杂环。

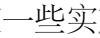
[0081] 在一些实施方案中,$R^{y"}$和$R^{z"}$各自独立地选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧

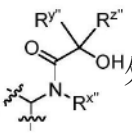
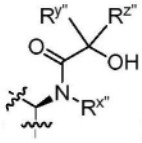
基烷基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{3-6}环烷基和乙烯基，或者$R^{y"}$和$R^{z"}$与相邻碳原子连接成3-6元环。

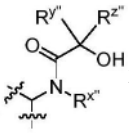
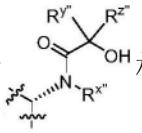
[0082] 在一些实施方案中，$R^{y"}$为氢，$R^{z"}$选自氢、C_{1-6}烷基、C_{3-6}环烷基和乙烯基，或者$R^{y"}$和$R^{z"}$与相邻碳原子连接成3-6元碳环。

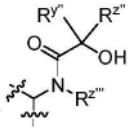
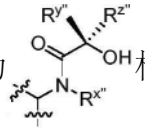
[0083] 在一些实施方案中，$R^{y"}$为氢，$R^{z"}$选自氢、甲基、环丙基和乙烯基，或者$R^{y"}$和$R^{z"}$与相邻碳原子连接成3元碳环。

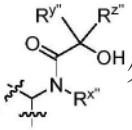
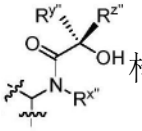
[0084] 在一些实施方案中，$R^{x"}$为氢，$R^{y"}$为氢，$R^{z"}$选自氢、甲基、环丙基和乙烯基，或者$R^{y"}$和$R^{z"}$与相邻碳原子连接成3元碳环。

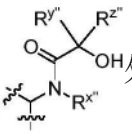
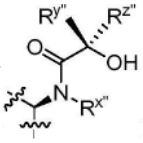
[0085] 在一些实施方案中，式(III)中A"为。

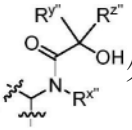
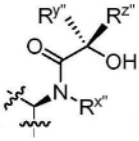
[0086] 在一些实施方案中，式(III)-1中处为构型。

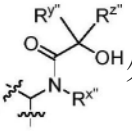
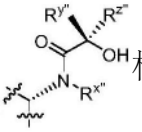
[0087] 在一些实施方案中，式(III)-1中处为构型。

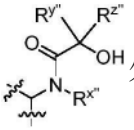
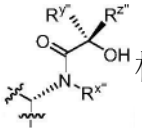
[0088] 在一些实施方案中，式(III)-1中处为构型。

[0089] 在一些实施方案中，式(III)-1中处为构型。

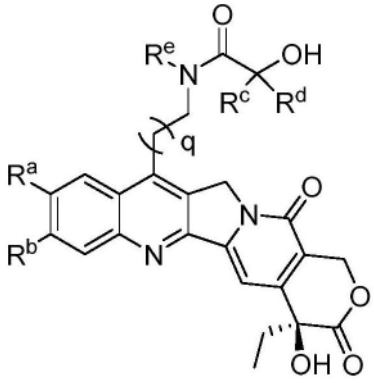
[0090] 在一些实施方案中，式(III)-1中处为构型。

[0091] 在一些实施方案中，式(III)-1中处为构型。

[0092] 在一些实施方案中，式(III)-1中处为构型。

[0093] 在一些实施方案中，式(III)-1中处为构型。

[0094] 在一些实施方案中，所述化合物具有式(IV)的结构：

[0095] 

式(IV)

[0096] 在式(IV)中,

[0097] R^a和R^b独立选自氢、卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}羟烷基、C_{1-6}烷氧烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}卤代烷基、羟基和氰基;或者R^a和R^b与相邻碳原子连接成5-6元含氧杂环;

[0098] R^c和R^d独立选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{3-6}环烷基、3-6元杂环基、3-6元杂环基烷基、C_{2-6}烯基和C_{2-6}炔基,或者R^c和R^d与相邻碳原子连接成3-6元的碳环或杂环;

[0099] R^e选自氢、C_{1-6}烷基、C_{3-6}环烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基和C_2-C_5杂环基;

[0100] q=0或1;

[0101] 当q=0时,R^c和R^d不同时为氢。

[0102] 在一些实施方案中,R^a和R^b独立选自氢、卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}卤代烷基、羟基和氰基;或者R^a和R^b与相邻碳原子连接成5-6元含氧杂环;

[0103] R^c和R^d独立选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{3-6}环烷基、3-6元杂环基、3-6元杂环基烷基、C_{2-6}烯基和C_{2-6}炔基,或者R^c和R^d与相邻碳原子连接成3-6元的碳环或杂环;

[0104] R^e选自氢、C_{1-6}烷基、C_{3-6}环烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基和4-6元杂环基;

[0105] q=0或1;

[0106] 当q=0时,R^c和R^d不同时为氢。

[0107] 在一些实施方案中,式(IV)中,R^a和R^b独立选自氢、卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{1-6}卤代烷基、羟基、和氰基;或者R^a和R^b与相邻碳原子连接成5-6元含氧杂环;

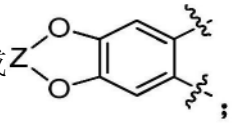
[0108] R^c和R^d独立选自氢、C_{1-6}烷基、C_{3-6}环烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、4-6元杂环基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基,或者R^c和R^d与相邻碳原子连接成3-6元的碳环或杂环;

[0109] R^e选自氢、C_{1-6}烷基、C_{3-6}环烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、或4-6元杂环基;

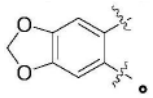
[0110] q=0或1;

[0111] 当q=0时,R^c和R^d不同时为氢。

[0112] 在一些实施方案中,R^a和R^b独立选自氢、卤素和C_{1-6}烷基,或者R^a和R^b与相邻碳原子连接成5-6元含氧杂环。

[0113] 在一些实施方案中,R^a和R^b独立选自氢、氟、氯和甲基,或者R^a和R^b和与其相连的苯环共同形成;

[0114] 其中Z选自-CH_2-、-CD_2-、-CH_2CH_2-和-CF_2-。

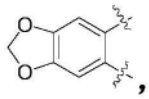
[0115] 在一些实施方案中，R^a为甲基，R^b为氟，或者R^a和R^b和与其相连的苯环共同形成。

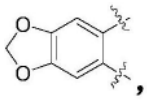
[0116] 在一些实施方案中，R^c和R^d独立选自氢、、C_{1-6}烷氧基烷基和C_{1-6}烷胺基烷基，或者R^c和R^d与相邻碳原子连接成3-6元碳环。

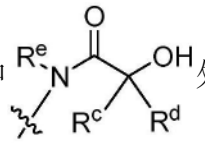
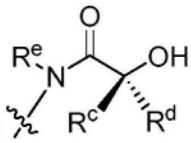
[0117] 在一些实施方案中，R^c为氢，R^d选自氢、甲氧基乙基和环丙基，或者R^c和R^d与相邻碳原子连接成3-6元碳环。

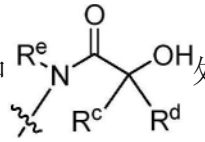
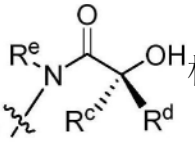
[0118] 在一些实施方案中，R^e选自氢和C_{1-6}烷基。

[0119] 在一些实施方案中，R^e选自氢和异丙基。

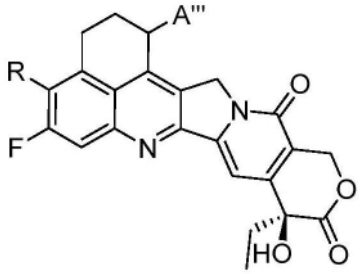
[0120] 在一些实施方案中，R^a为甲基，R^b为氟，或者R^a和R^b和与其相连的苯环共同形成，R^e选自氢和异丙基，R^c为氢，R^d选自氢、甲氧基乙基和环丙基，或者R^c和R^d与相邻碳原子连接成3元碳环。

[0121] 在一些实施方案中，R^a为甲基，R^b为氟，或者R^a和R^b和与其相连的苯环共同形成，R^e选自氢和异丙基，R^c为氢，R^d选自氢、甲氧基乙基和环丙基，或者R^c和R^d与相邻碳原子连接成3元碳环。

[0122] 在一些实施方案中，式(IV)中处为构型。

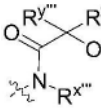
[0123] 在一些实施方案中，式(IV)中处为构型。

[0124] 在一些实施方案中，所述化合物具有式(V)的结构：

[0125] 

式(V)

[0126] 在式(V)中，R选自C_{3-6}环烷基和C_{1-6}烷氧基；

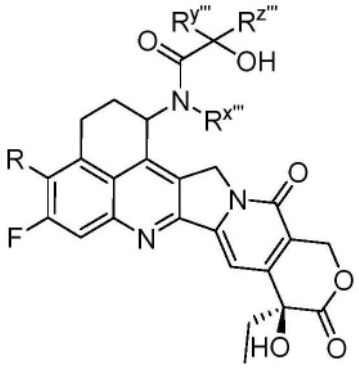
[0127] A”’选自和中的一种；

[0128] $R^{x'''}$选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧烷基、C_{3-6}环烷基和3-6元杂环基；

[0129] $R^{y'''}$和$R^{z'''}$独立选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{3-6}环烷基、3-6元杂环基、3-6元杂环基烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基和杂芳基，或者$R^{y'''}$和$R^{z'''}$与相邻碳原子连接成3-6元环。

[0130] 在一些实施方案中，R选自甲氧基和环丙基。

[0131] 在一些实施方案中，式(V)化合物结构如下式(V)-1所示：

[0132] 

式(V)-1。

[0133] 在一些实施方案中，所述3-6元环选自3-6元碳环或3-6元杂环。

[0134] 在一些实施方案中，$R^{y'''}$和$R^{z'''}$各自独立地选自氢、C_{1-6}烷基、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}烷氧基烷基、C_{1-6}烷胺基烷基、C_{3-6}环烷基和乙烯基，或者$R^{y'''}$和$R^{z'''}$与相邻碳原子连接成3-6元碳环。

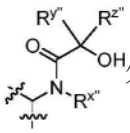
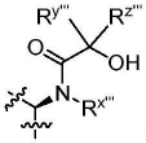
[0135] 在一些实施方案中，$R^{y'''}$和$R^{z'''}$均为氢，或者$R^{y'''}$和$R^{z'''}$与相邻碳原子连接成3-6元碳环。

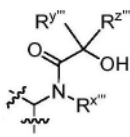
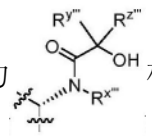
[0136] 在一些实施方案中，$R^{x'''}$选自氢和C_{1-6}烷基。

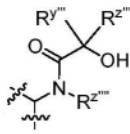
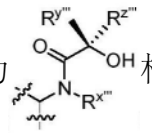
[0137] 在一些实施方案中，$R^{x'''}$为氢。

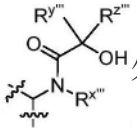
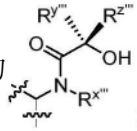
[0138] 在一些实施方案中，A”’为。

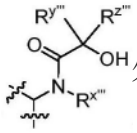
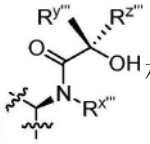
[0139] 在一些实施方案中，R选自甲氧基和环丙基，$R^{x'''}$为氢，$R^{y'''}$和$R^{z'''}$均为氢，或者$R^{y'''}$和$R^{z'''}$与相邻碳原子连接成3元碳环。

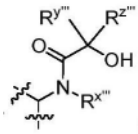
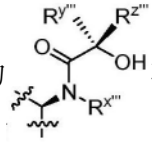
[0140] 在一些实施方案中，式(V)-1中处为构型。

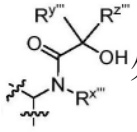
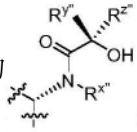
[0141] 在一些实施方案中，式(V)-1中处为构型。

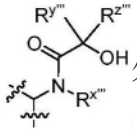
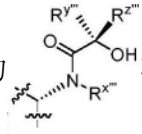
[0142] 在一些实施方案中，式(V)-1中处为构型。

[0143] 在一些实施方案中,式(V)-1中处为构型。

[0144] 在一些实施方案中,式(V)-1中处为构型。

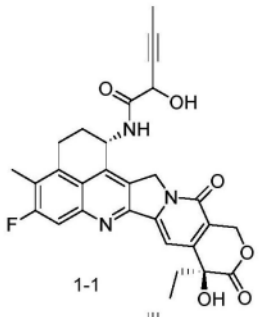
[0145] 在一些实施方案中,式(V)-1中处为构型。

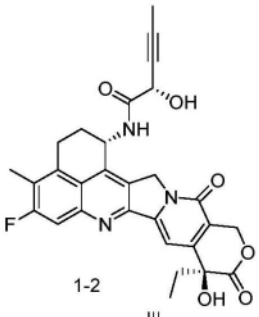
[0146] 在一些实施方案中,式(V)-1中处为构型。

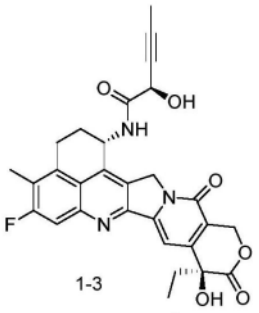
[0147] 在一些实施方案中,式(V)-1中处为构型。

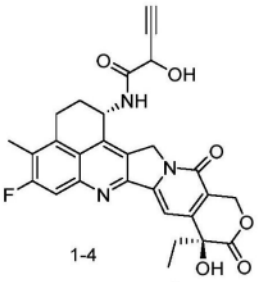
[0148] 在一些实施方案中,本发明提供下述化合物:

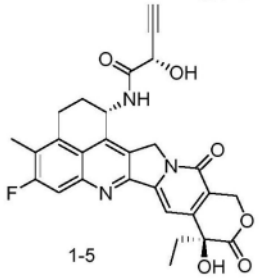
[0149]

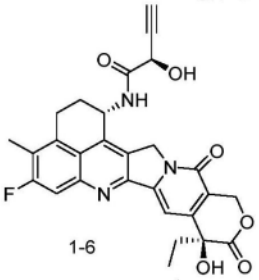

1-1

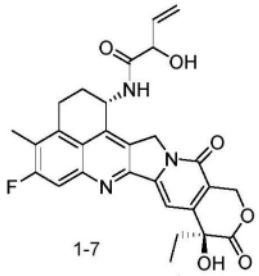

1-2

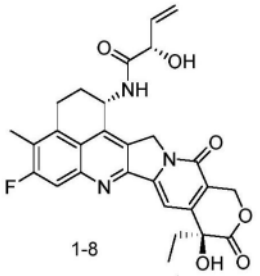

1-3

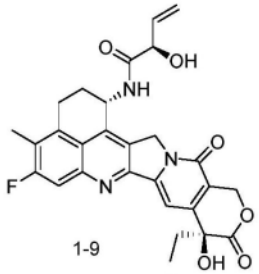

1-4

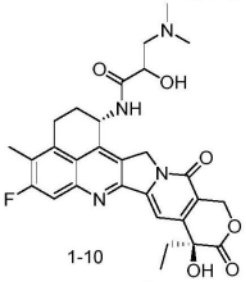

1-5

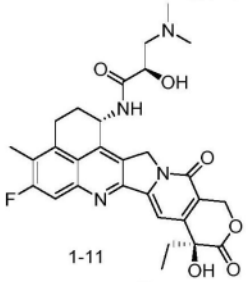

1-6

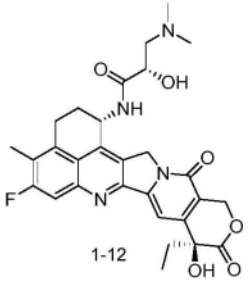

1-7

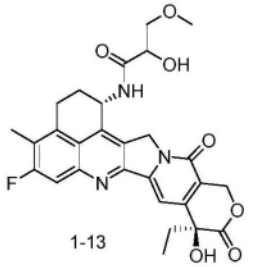

1-8

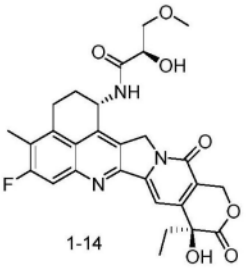

1-9

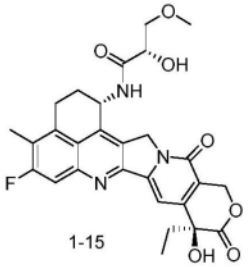

1-10

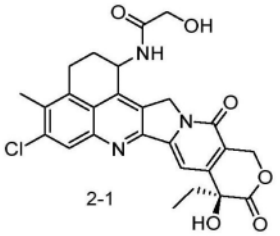

1-11


1-12

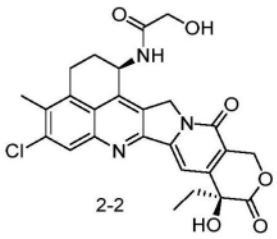

1-13

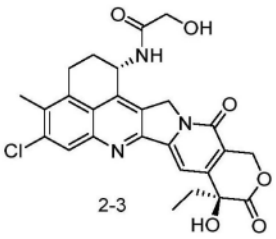

1-14

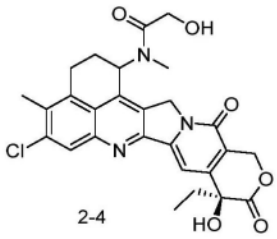

1-15

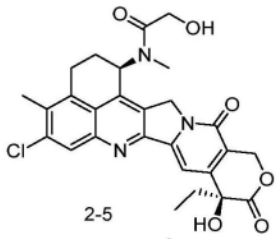

2-1

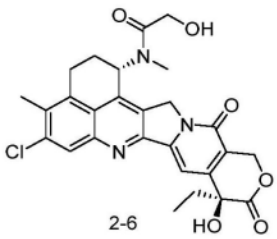
[0150]

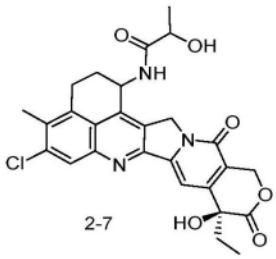

2-2

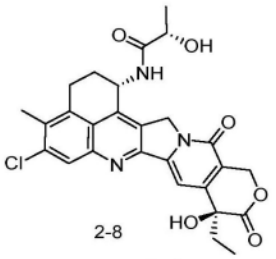

2-3

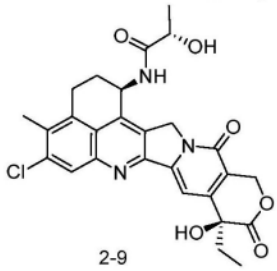

2-4

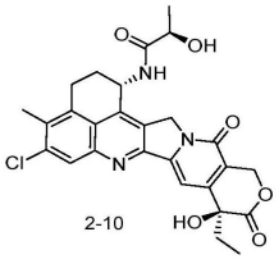

2-5

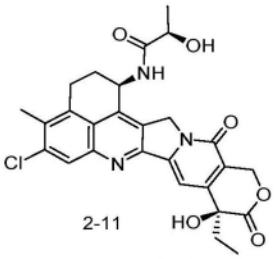

2-6

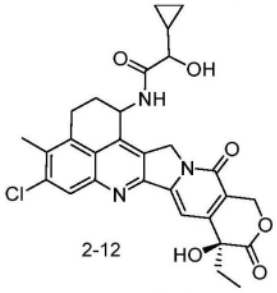

2-7

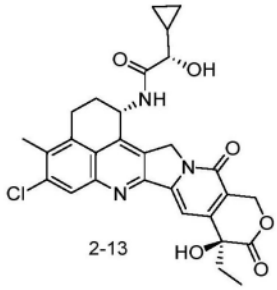

2-8

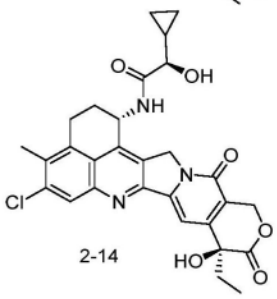

2-9

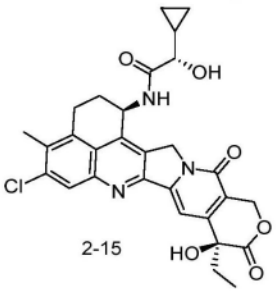

2-10

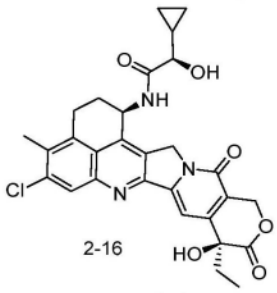

2-11

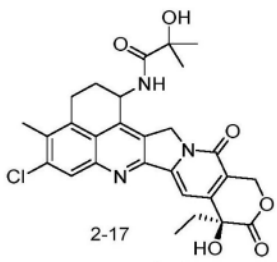

2-12

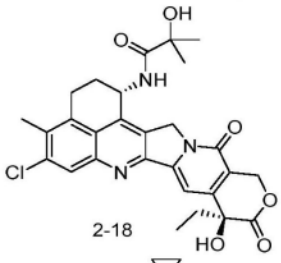

2-13

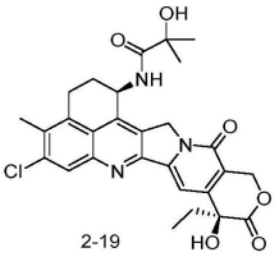

2-14

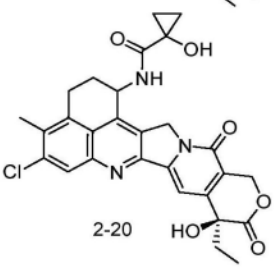

2-15

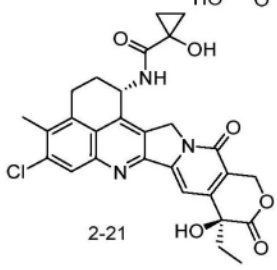

2-16

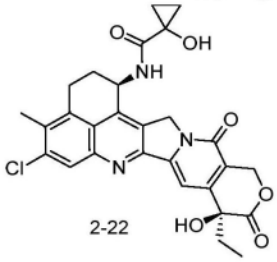

2-17

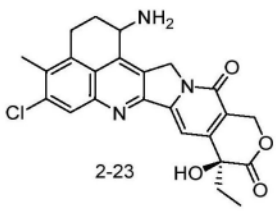

2-18

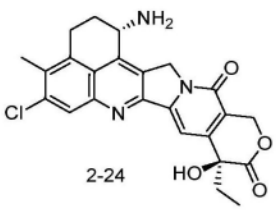

2-19

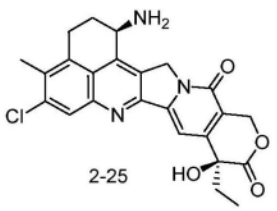

2-20


2-21

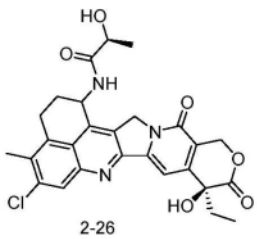

2-22

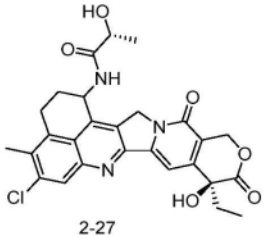

2-23

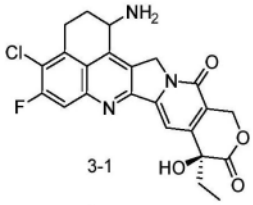

2-24

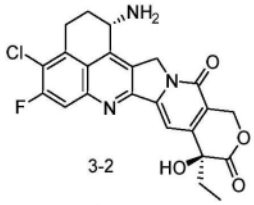

2-25

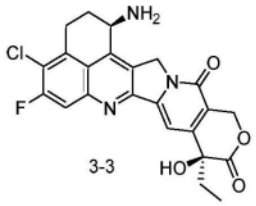
[0151]

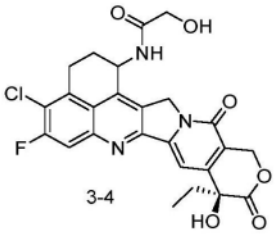

2-26

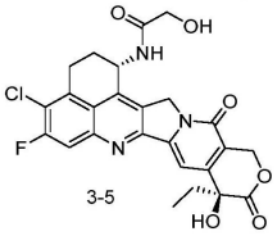

2-27

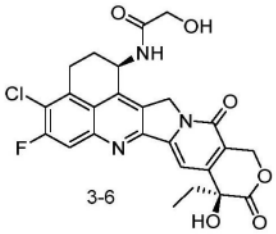

3-1

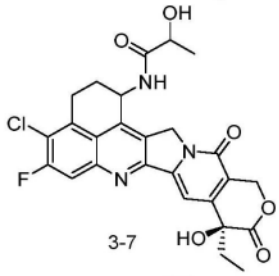

3-2

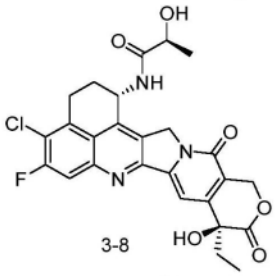

3-3

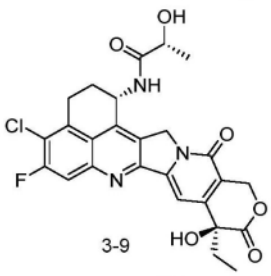

3-4

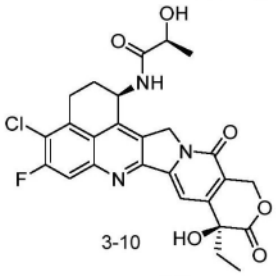

3-5

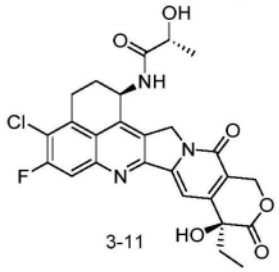

3-6

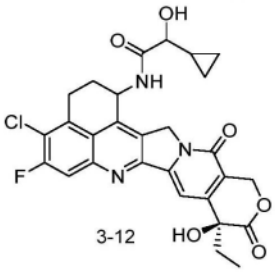

3-7

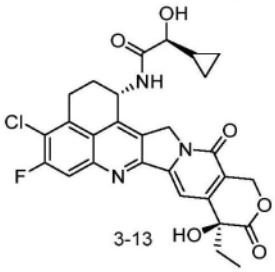

3-8

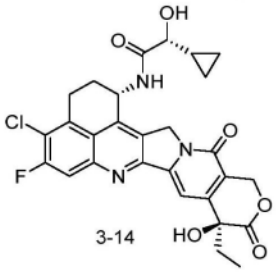

3-9

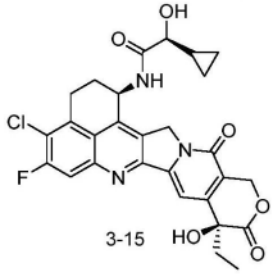

3-10

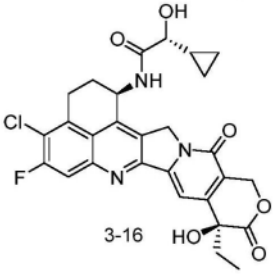

3-11

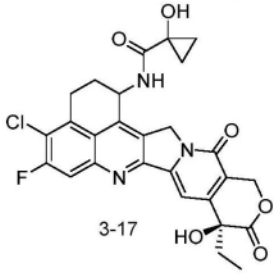

3-12

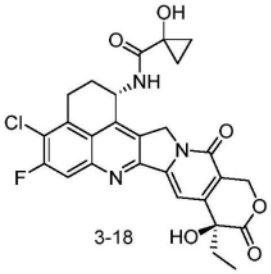

3-13

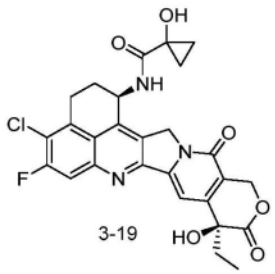

3-14

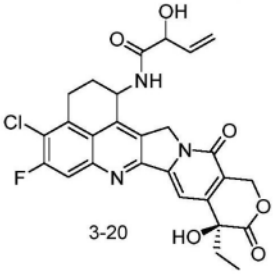

3-15

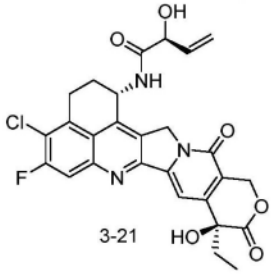

3-16

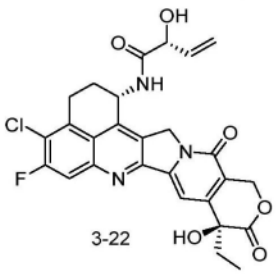

3-17


3-18

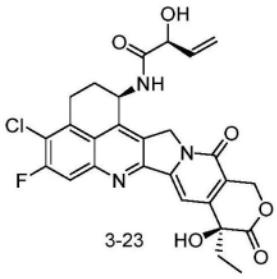

3-19

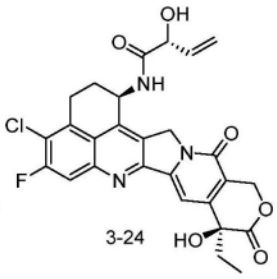

3-20

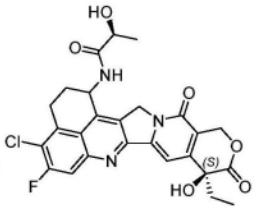

3-21

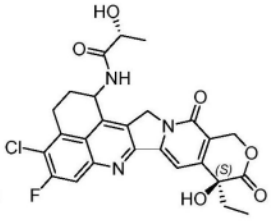

3-22

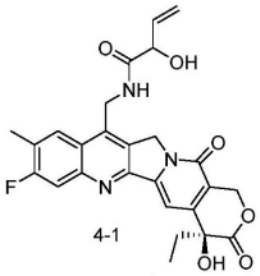
[0152]

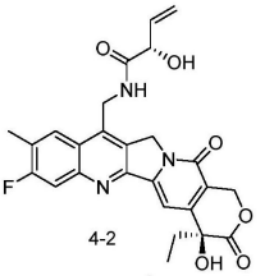

3-23

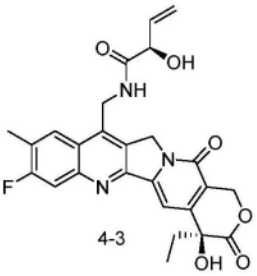

3-24

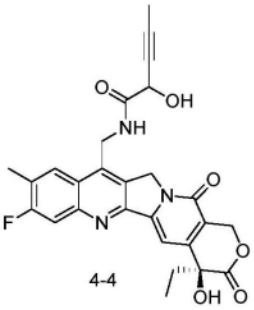

3-25

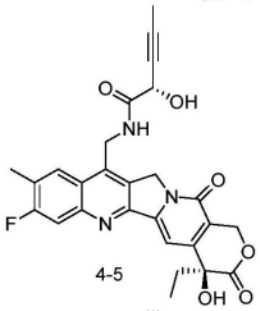

3-26

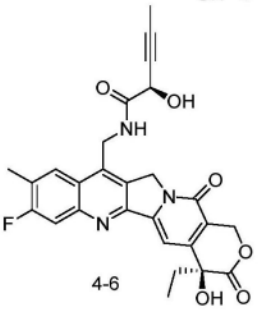

4-1

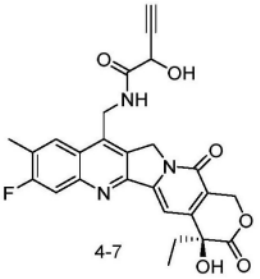

4-2

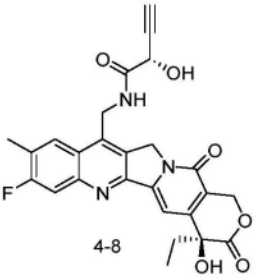

4-3

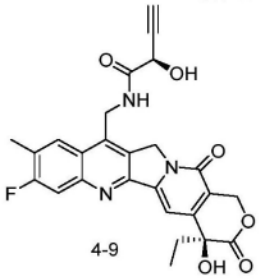

4-4

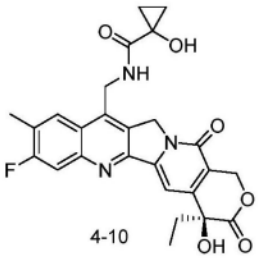

4-5

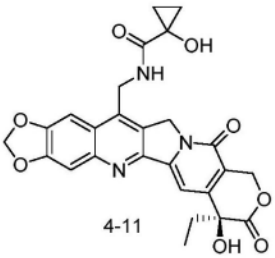

4-6

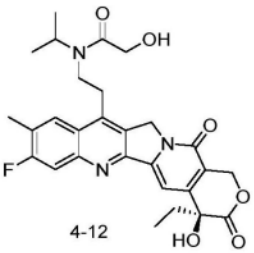

4-7

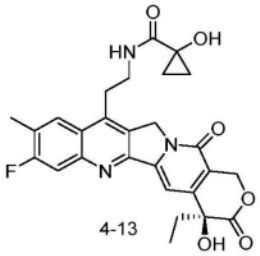

4-8

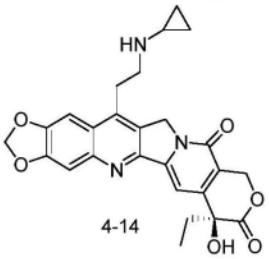

4-9

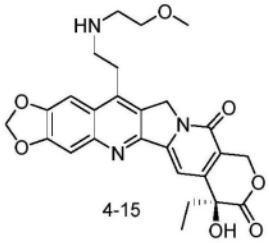

4-10

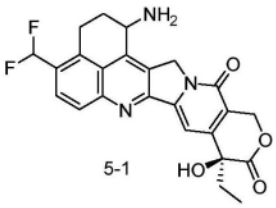

4-11

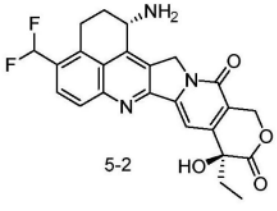

4-12

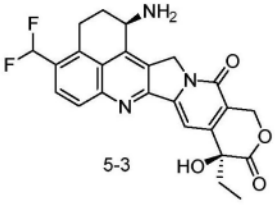

4-13

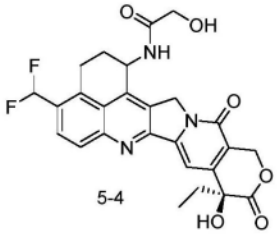

4-14

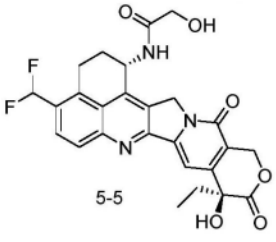

4-15


5-1

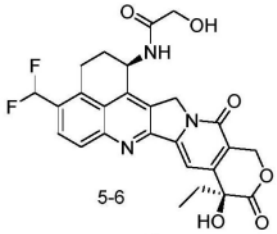

5-2

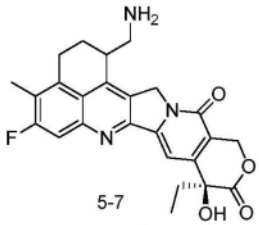

5-3

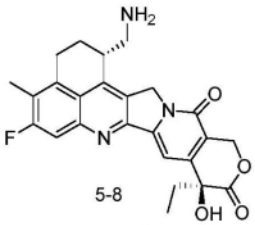

5-4

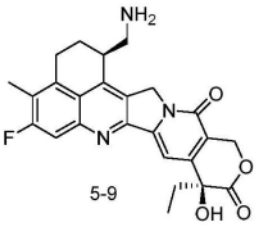

5-5

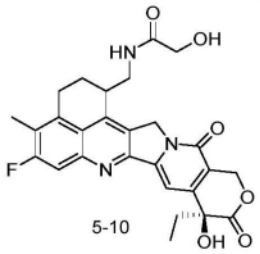
[0153]

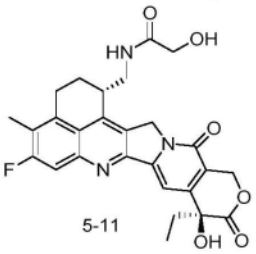

5-6

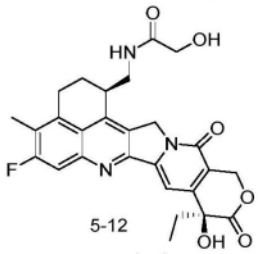

5-7

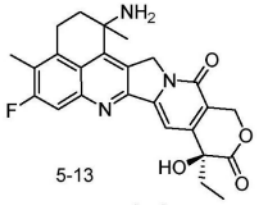

5-8

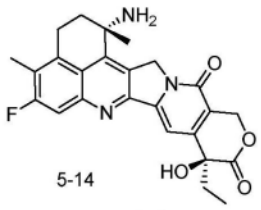

5-9

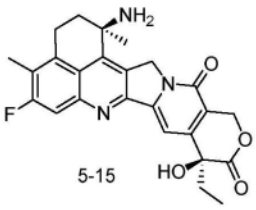

5-10

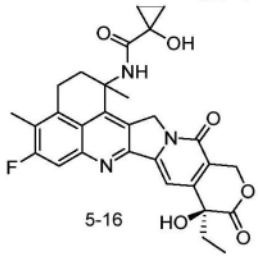

5-11

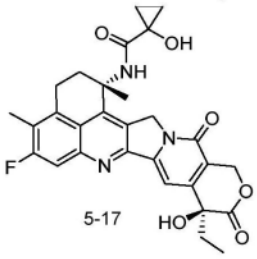

5-12

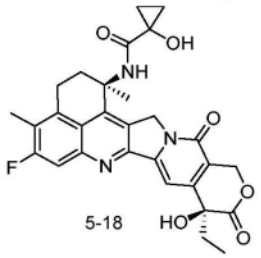

5-13

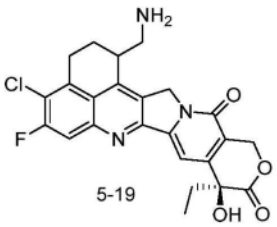

5-14

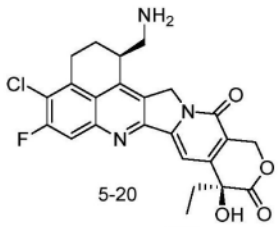

5-15

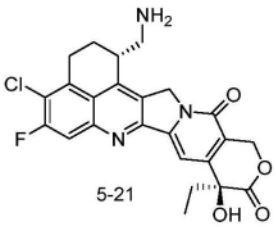

5-16

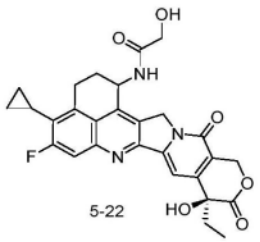

5-17

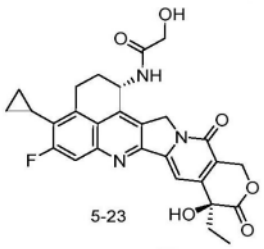

5-18

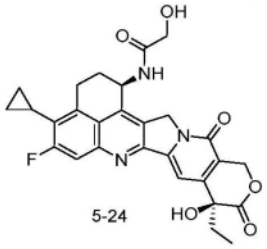

5-19

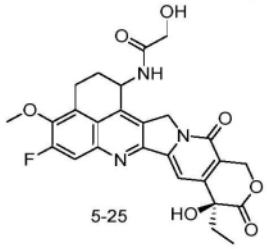

5-20

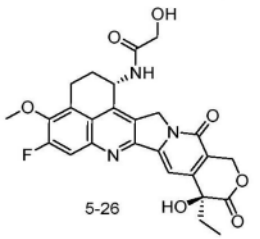

5-21

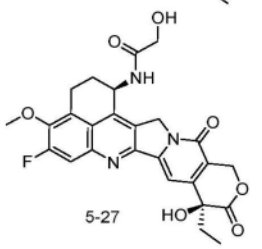

5-22

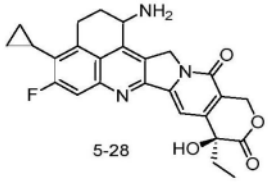

5-23

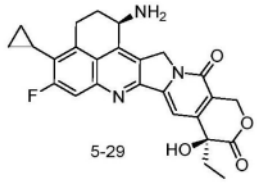

5-24

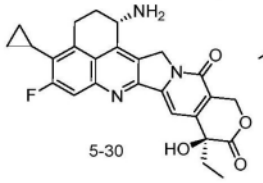

5-25

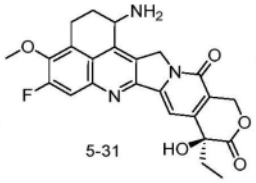

5-26

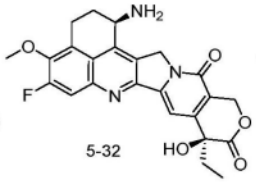

5-27

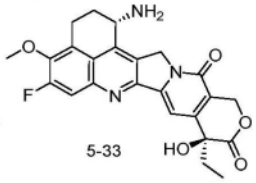

5-28

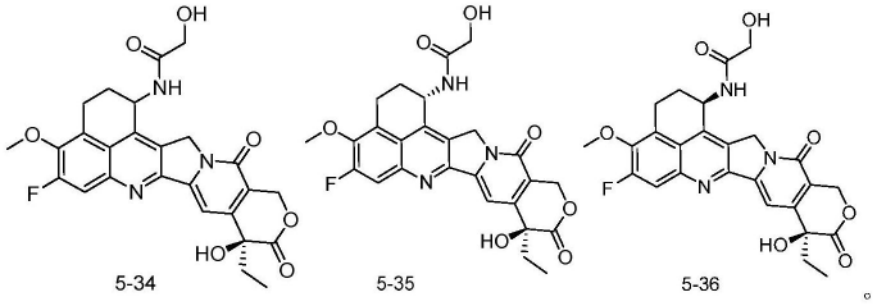

5-29


5-30


5-31


5-32


5-33

[0154] 

[0155] 另一方面,本发明还提供式(VI)化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药:

[0156] M-L-E-D

[0157] 式(VI)

[0158] 其中,

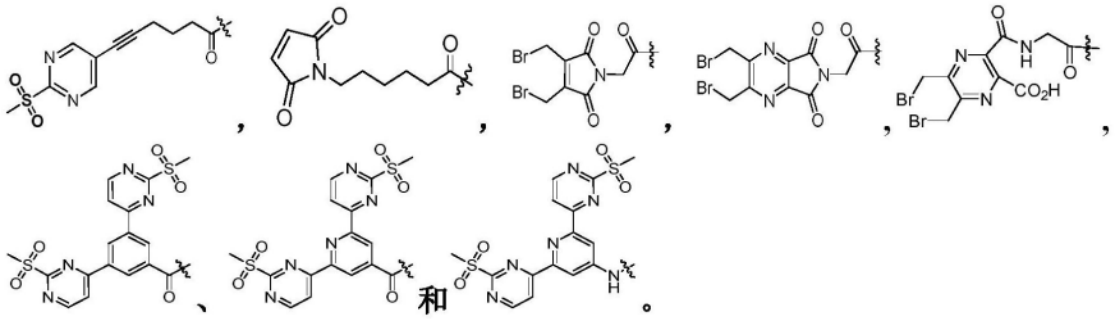
[0159] M是和抗体或其抗原结合片段的接头部位;

[0160] L是连接接头M和E之间的连接子;

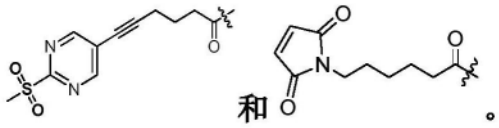
[0161] E是连接L和D的结构片段;

[0162] D是细胞毒性药物的结构片段。

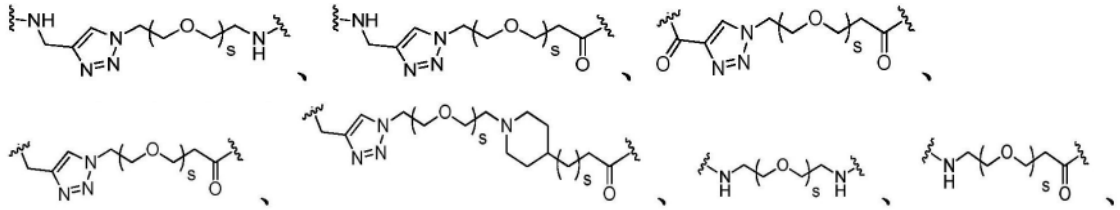
[0163] 在一些实施方案中,M选自以下结构:

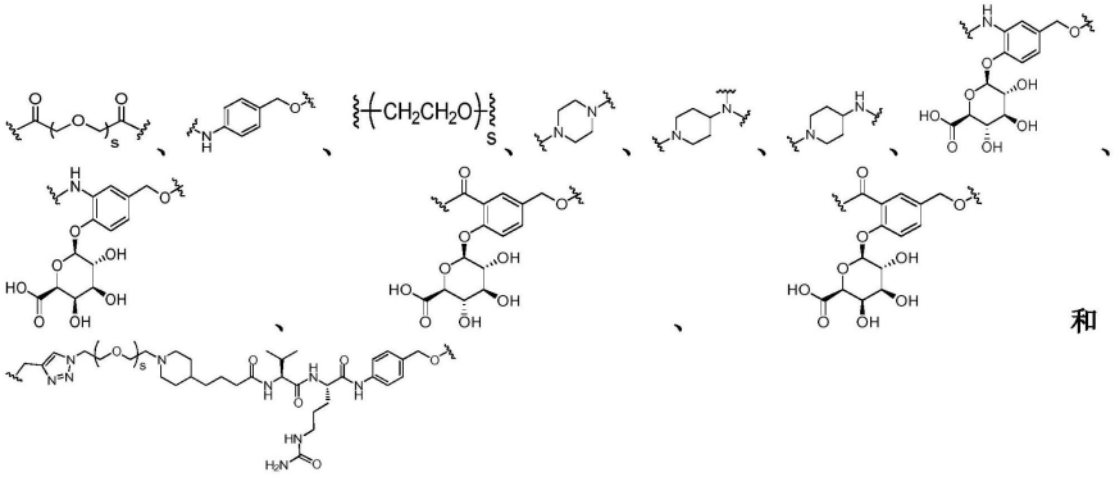
[0164] 

[0165] 在一些实施方案中,M选自以下结构:

[0166] 

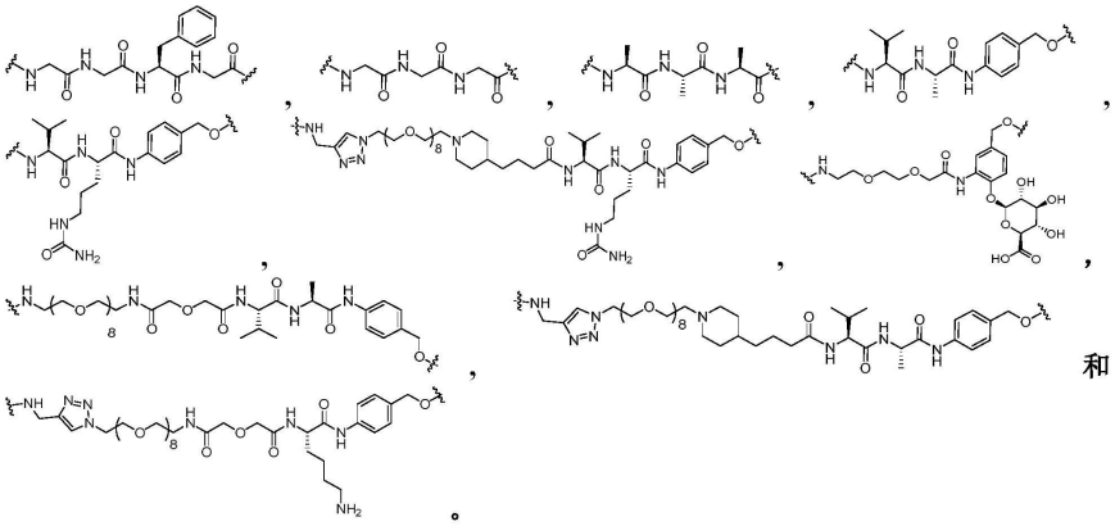
[0167] 在一些实施方案中,L选自由下述的一个或多个组成的二价结构:C_{1-6}亚烷基、-N(R')-、羰基、-O-、Val、Cit、Phe、Lys、D-Val、Leu、Gly、Ala、Asn、Val-Cit、Val-Ala、Val-Lys、Val-Lys(Ac)、Phe-Lys、Phe-Lys(Ac)、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn、Ala-Ala-Ala、Val-Lys-Ala、Gly-Gly-Gly、Gly-Gly-Phe-Gly、Gly-Gly-Gly-Gly-Gly、



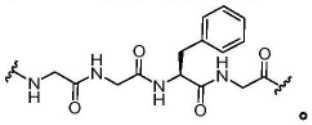
[0168] 

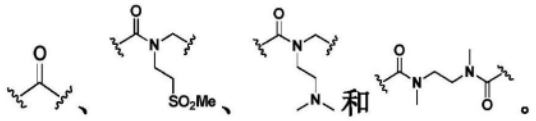
[0169] 其中R'代表氢、C_{1-6}烷基或含-$(CH_2CH_2O)_r$-的烷基;r选自1-10的整数;s选自1-10的整数。

[0170] 在一些实施方案中,L选自以下结构:

[0171] 

[0172] 在一些实施方案中,L选自以下结构:

[0173] 

[0174] 在一些实施方案中,E选自单键、-NH-CH_2-、

在一些实施方案中,E为-NH-CH_2-。

[0175] 在一些实施方案中,所述细胞毒性药物选自本发明第一方面任一项所述的-化合物。

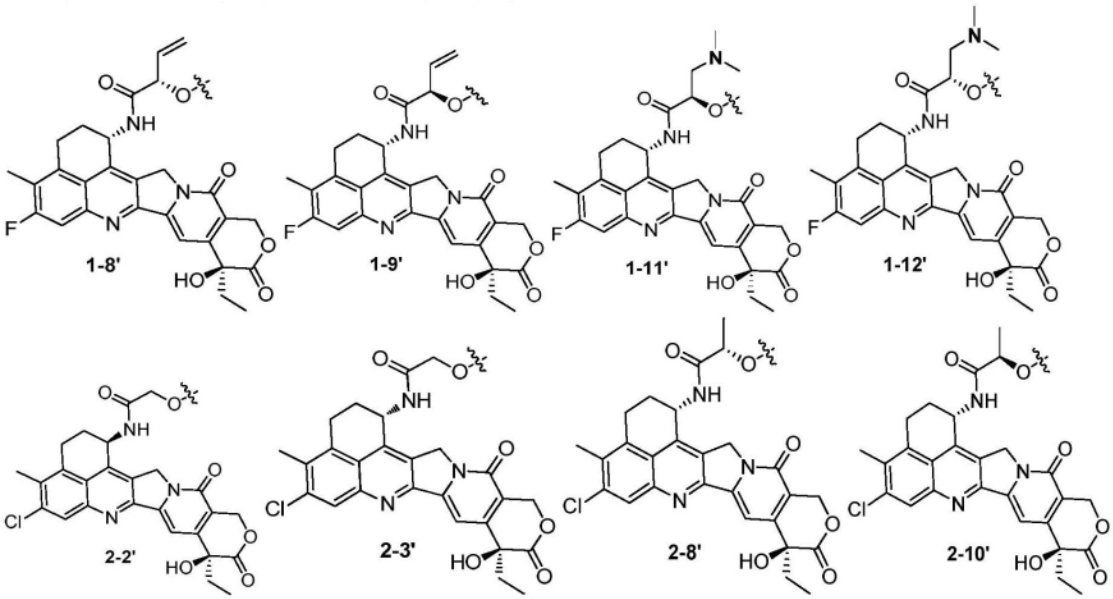
[0176] 在一些实施方案中,所述细胞毒性药物选自本发明所述的化合物1-1至1-15;2-1至2-27;3-1至3-26;4-1至4-15;或5-1至5-36。

[0177] 在一些实施方案中,D选自本发明所述-化合物去氢之后的结构。

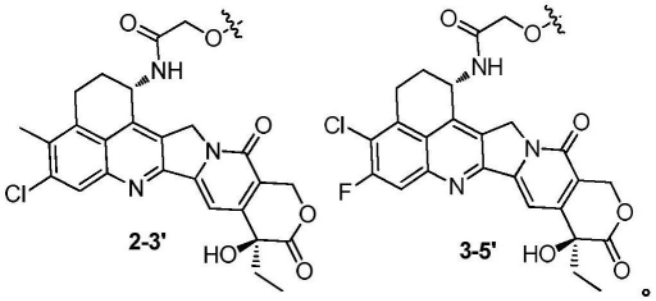
[0178] 在一些实施方案中,D选自本发明所述的化合物1-1至1-15;2-1至2-27;3-1至3-

26;4-1至4-15;或5-1至5-36去氢之后的结构。

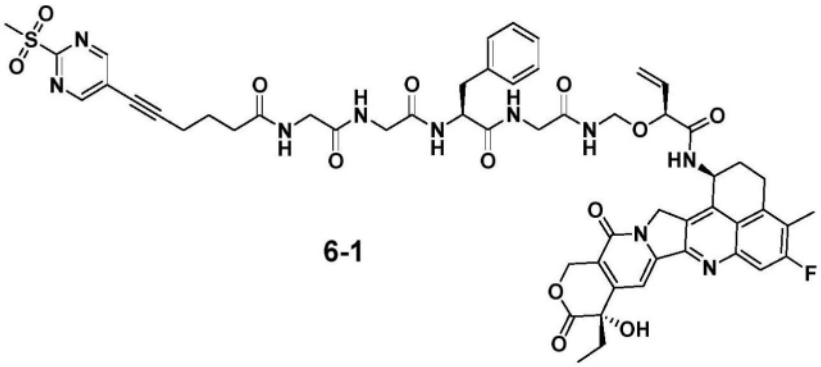
[0179] 在一些实施方案中,D选自以下结构:

[0180] 

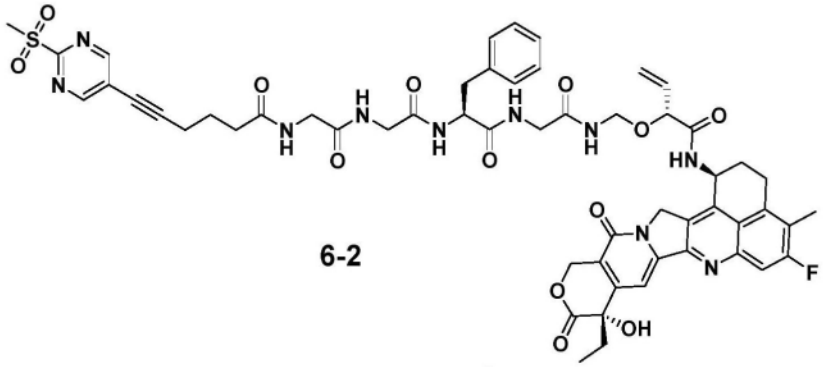
[0181] 在一些实施方案中,D选自以下结构:

[0182] 

[0183] 在一些实施方案中,M-L-E-D选自以下化合物:

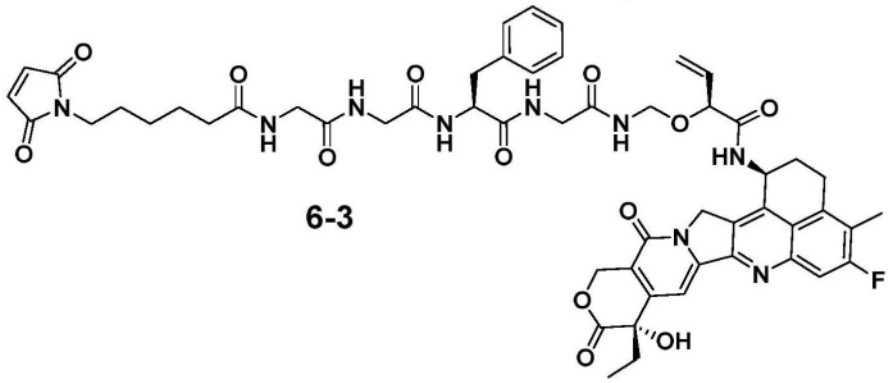


6-1

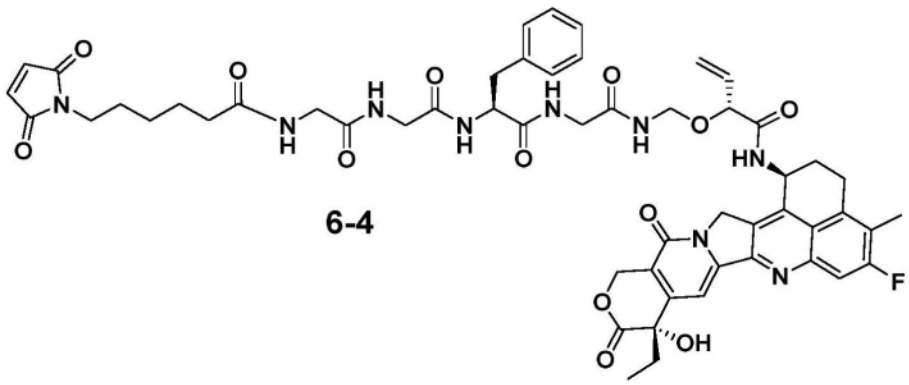


6-2

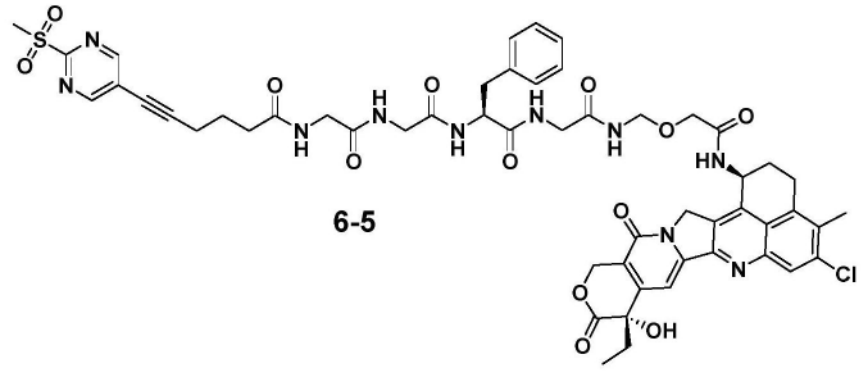
[0184]



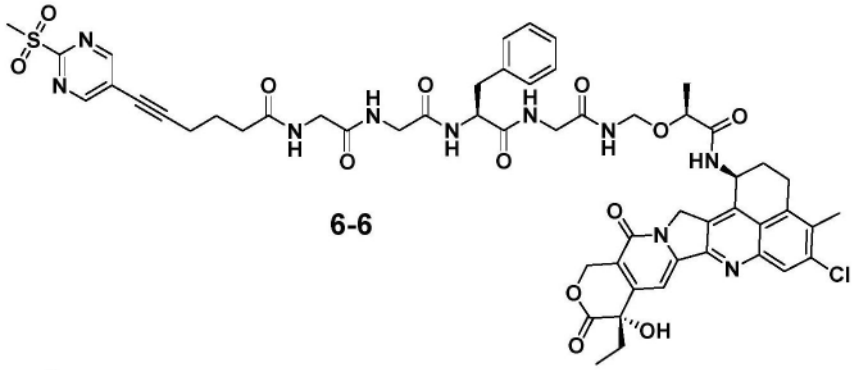
6-3



6-4

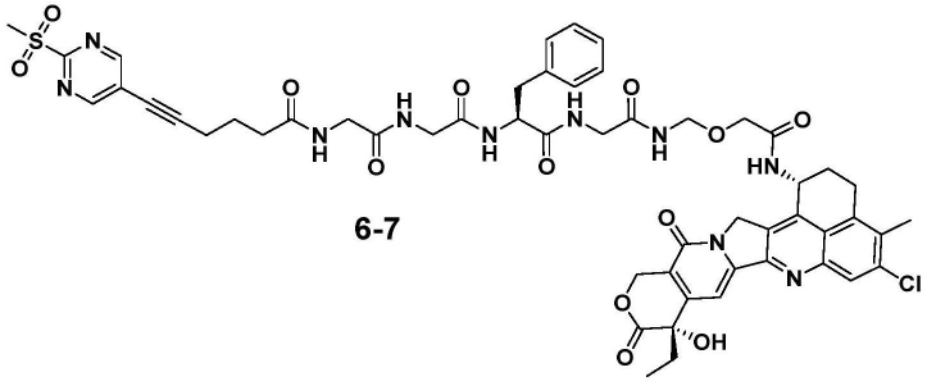


6-5

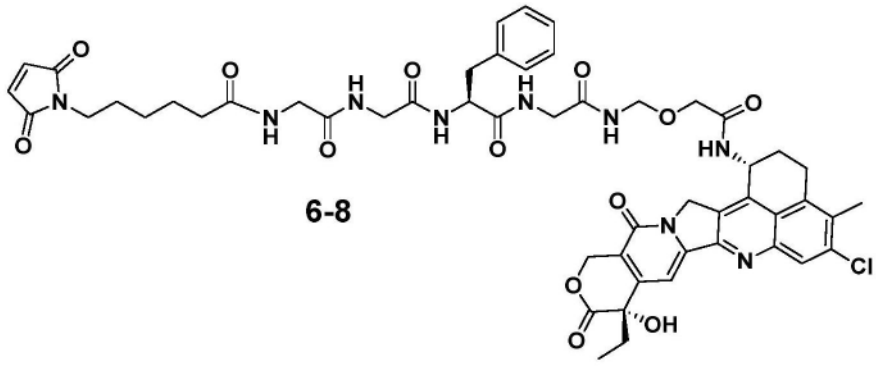


6-6

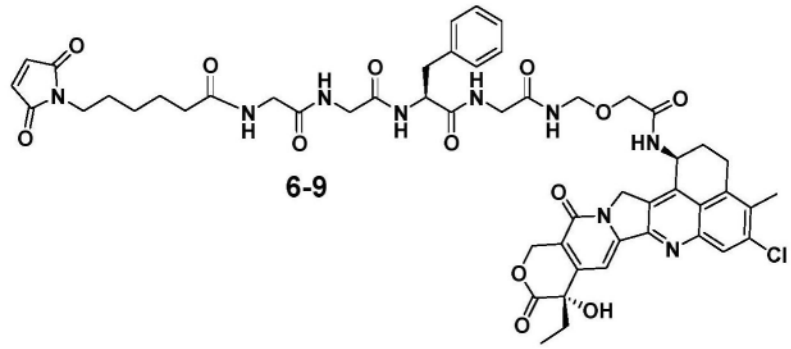
[0185]



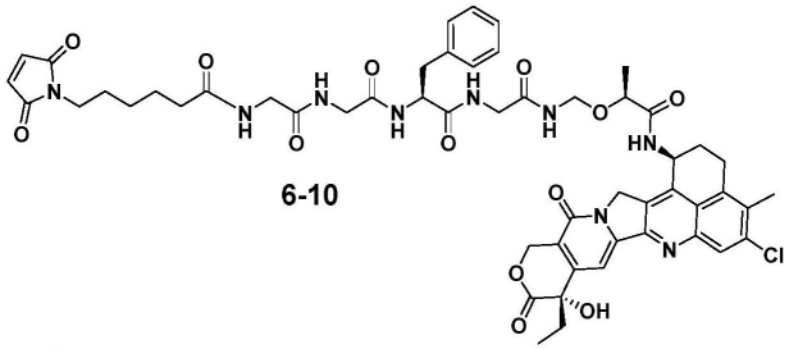
6-7



6-8

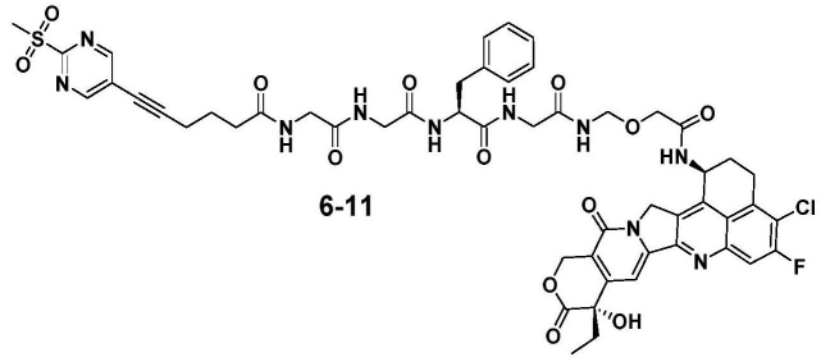


6-9

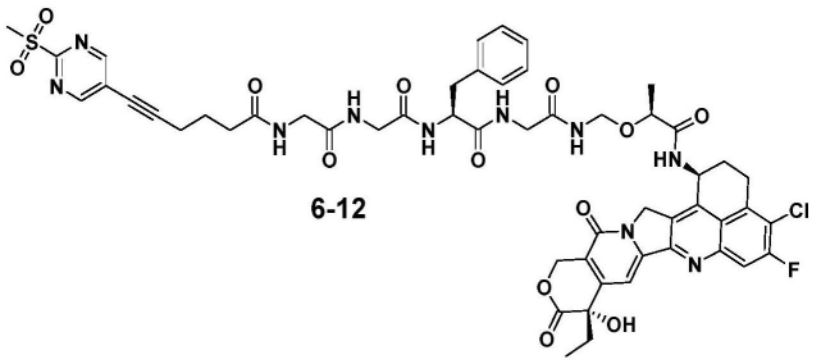


6-10

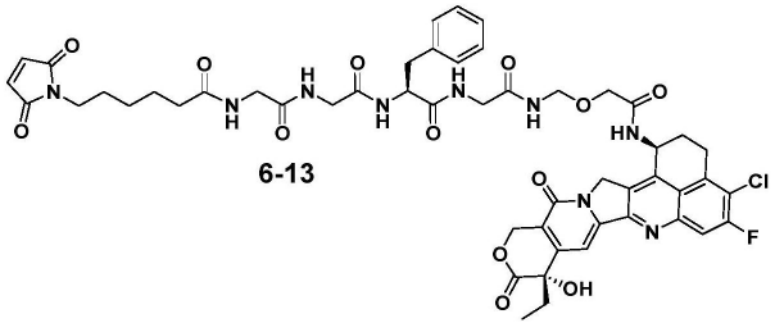
[0186]



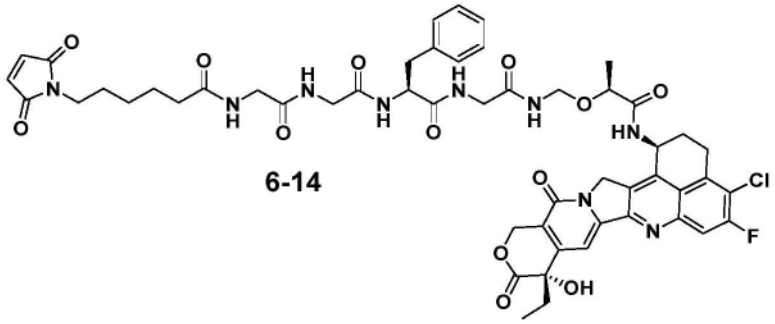
6-11



6-12

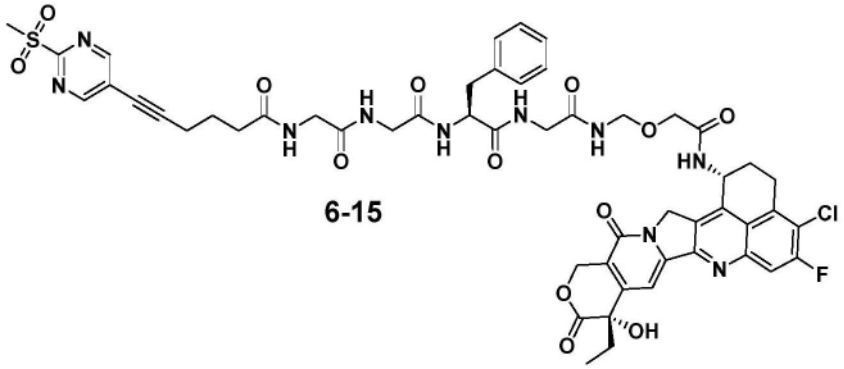


6-13

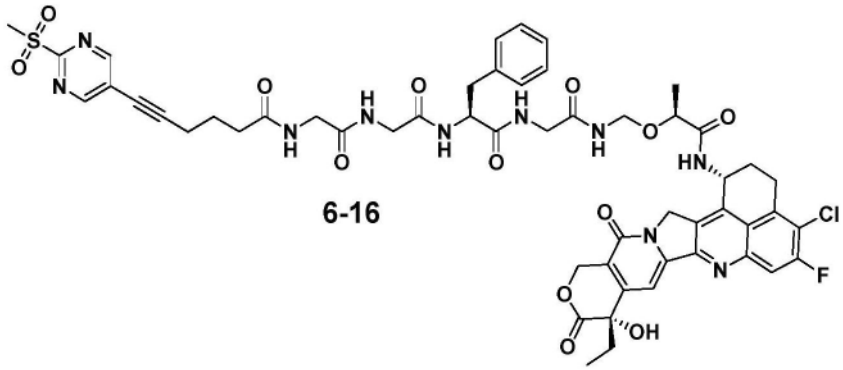


6-14

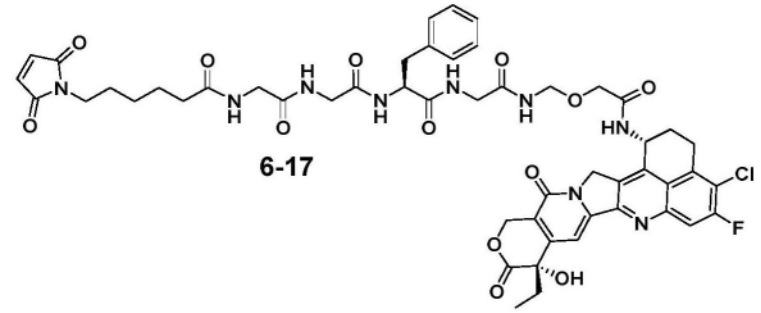
[0187]



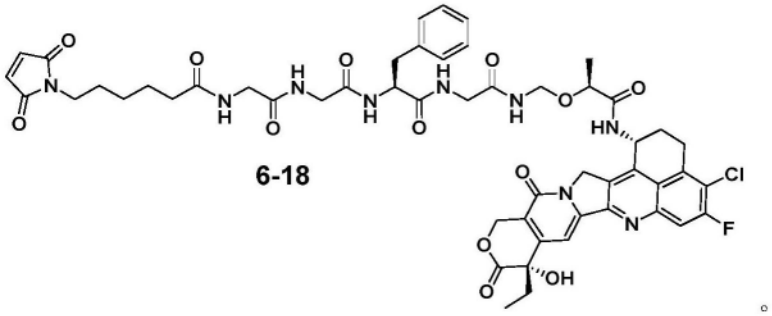
6-15



6-16

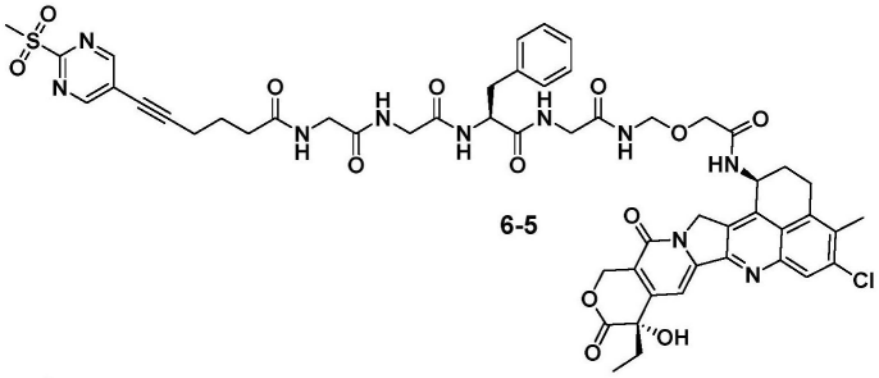


6-17

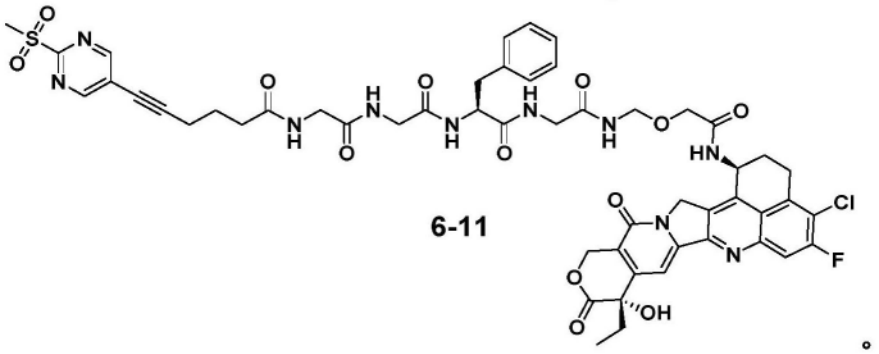


6-18

[0188] 在一些实施方案中，M-L-E-D 选自以下化合物：



6-5



6-11

[0189] 定义

[0190] 除非在下文中另有定义，本文中所用的所有技术术语和科学术语的含义意图与本领域技术人员通常所理解的相同。提及本文中使用的技术意图指在本领域中通常所理解的技术，包括那些对本领域技术人员显而易见的技术的变化或等效技术的替换。虽然相信以下术语对于本领域技术人员很好理解，但仍然阐述以下定义以更好地解释本发明。

[0191] 术语“包括”、“包含”、“具有”、“含有”或“涉及”及其在本文中的其它变体形式为包含性的(inclusive)或开放式的，且不排除其它未列举的元素或方法步骤。

[0192] 如本文中所使用，化合物结构式中标记的“*”表示被标记的碳原子为手性碳原子，

本发明包括由该手性碳原子形成的一对对映异构体。如在一个化合物中含两个不同的手性碳原子,本发明包括由该手性碳原子形成的4个旋光异构体。

[0193] 如本文中所使用,“〰”表示可以是立体定向((R)或(S))或非立体定向的键。

[0194] 术语“烷基”定义为直链或支链饱和脂肪族烃基。在一些实施方案中,烷基具有1至12个,例如1至6个碳原子。例如,如本文中所使用,术语“C_{1-6}烷基”指1至6个碳原子的线性或支化的基团(例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基和正己基),其任选地被1或多个(诸如1、2或3个)适合的取代基取代。

[0195] 术语“烯基”是指含有至少一个碳碳双键的直链或支链的烃基,包括例如“C_{2-6}烯基”、“C_{2-4}烯基”等。其实例包括但不限于:乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、1,3-丁二烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-戊烯基、1,3-戊二烯基、1,4-戊二烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、1,4-己二烯基等。

[0196] 术语“炔基”是指含有至少一个碳碳三键的直链或支链烃基。包括例如“C_{2-6}炔基”、“C_{4-6}炔基”等。其实例包括但不限于:乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、1,3-丁二炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、1,3-戊二炔基、1,4-戊二炔基、1-己炔基、2-己炔基、3-己炔基、1,4-己二炔基等。

[0197] 术语“环烷基”是指饱和环状烃基,包括但不限于单环烷基和双环烷基(诸如螺环烷基、并环烷基和桥环烷基)。术语“C_{3-6}环烷基”指具有3至6个成环碳原子的环烷基,诸如环丙基、环丁基、环戊基、环己基等,其可任选地被1或多个(诸如1、2或3个)适合的取代基取代,例如甲基取代的环丙基。

[0198] 术语“碳环”或“碳环基”是指饱和或部分不饱和的非芳族单环或多环结构、通过环碳连接的烃基。其实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基和环辛基。

[0199] 术语“碳环”指饱和或不饱和的非芳族单环或多环(诸如双环)烃环(例如单环,诸如环丙烷环、环丁烷环、环戊烷环、环己烷环、环庚烷环、环辛烷环、环壬烷环,或双环,包括螺环、稠合或桥连系统(诸如双环[1.1.1]戊烷环、双环[2.2.1]庚烷环、双环[3.2.1]辛烷环或双环[5.2.0]壬烷环、十氢化萘环等),其可任选地被1或多个(诸如1、2或3个)适合的取代基取代。术语“3-6元碳环”是指含3、4、5或6个成环碳原子的碳环。

[0200] 术语“杂环基”或“杂环”是指饱和或部分饱和的,单环或多环(诸如双环)的非芳香族环状结构,其环原子由碳原子以及至少一个(例如1、2或3个)选自氮、氧和硫的杂原子构成。如果满足价键要求,杂环基可以通过任意一个环原子与分子的其余部分连接。本发明中的杂环基优选为3-6元杂环基。本发明中所使用的术语“3-6元杂环基”是指具有3至6个环原子的杂环基,包括3元杂环基、4元杂环基、5元杂环基和6元杂环基,包括含氮杂环基、含氧杂环基,例如4-6元杂环基,例如4-6元含氮杂环基、4-6元含氧杂环基。常见的杂环基包括(但不限于)氮杂环丁烷基(azetidinyl)、氧杂环丁烷基(oxetanyl)、四氢呋喃基(tetrahydrofuryl)、吡咯烷基(pyrrolidinyl)、吡咯烷酮基(pyrrolidinonyl)、咪唑烷基(imidazolidinyl)、吡唑烷基(pyrazolidinyl)、四氢吡喃基(tetrahydropyranyl)、哌啶基(piperidinyl)、哌嗪基(piperazinyl)、吗啉基(morpholinyl)。本发明中的杂环基可任选地被一或多个本发明所描述的取代基取代。本发明中的杂环基任选地与一或多个芳香环或非芳香环稠合。

[0201] 术语“含氧杂环”是指一个或多个(例如1、2或3个)环原子为氧原子的如前所述的杂环,例如5-6元含氧杂环,具体实例包括但不限于环氧乙烷环、四氢呋喃环、呋喃环、四氢吡喃环、吡喃环等。本发明所述的“含氮杂环”是指一个或多个(例如1、2或3个)环原子为氮原子的如前所述的杂环。

[0202] 术语“卤代烷基”是指被一或多个(诸如1、2或3个)相同或不同的卤素原子取代的烷基,其中烷基定义如上所述。例如,本发明中所使用的术语“C_{1-6}卤代烷基”是指具有1至6个碳原子的卤代烷基。常见的卤代烷基包括(但不限于)-CH_2F、-CHF_2、-CF_3、-CH_2CF_3、-CF_2CF_3、-$CH_2CH_2CF_3$、-CH_2Cl等。本发明中的卤代烷基任选地被一或多个本发明所描述的取代基取代。

[0203] 术语“芳基”是指芳烃分子的芳核碳原子上去掉一个氢原子得到的基团。例如6-14元芳基,具体实例包括但不限于苯基、萘基、蒽基等。

[0204] 术语“杂芳基”是指含至少一个选自N、O和S的环成员的芳香环状基团。具体实例包括但不限于5-6元杂芳基、5-6元含氮杂芳基、5-6元含氧杂芳基等,例如呋喃基、噻吩基、吡咯基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、咪唑基、吡唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、吡啶基、嘧啶基、哒嗪基、吡嗪基、1,2,3-三嗪基、1,3,5-三嗪基、1,2,4,5-四嗪基等。

[0205] 术语“烷氧基”是指具有“烷基-O-”结构的基团,其中烷基定义如上所述。例如C_{1-6}烷氧基、C_{1-4}烷氧基、C_{1-3}烷氧基或C_{1-2}烷氧基等。常见的烷氧基包括(但不限于)甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基、戊氧基、己氧基等。本发明中的烷氧基任选地被一或多个本发明所描述的取代基取代。

[0206] ()()术语“烷氧基烷基”是指被一个或多个(例如1、2、3或4个)烷氧基取代的烷基,其中烷氧基及烷基的定义如上所述。例如,本发明中所使用的术语“C_{1-6}烷氧基烷基”是指具有1-6个碳原子、被一个或多个(例如1、2、3或4个)烷氧基取代的烷基。常见的烷氧基烷基包括(但不限于)CH_3O-CH_2-,$C_2H_5-O-CH_2-$、$C_2H_5-O-CH_2CH_2-$等。

[0207] 术语“卤代”或“卤素”基团定义为包括F、Cl、Br或I。

[0208] 术语“氮氧化物”是指本申请化合物结构中的至少一个氮原子的氧化物(例如单-或二-氧化物)。氮的单-氧化物可以以单一的位置异构体或位置异构体的混合物的形式存在。

[0209] 术语“取代”指所指定的原子上的一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)氢被从所指出的基团的选择代替,条件是未超过所指定的原子在当前情况下的正常原子价并且所述取代形成稳定的化合物。取代基和/或变量的组合仅仅当这种组合形成稳定的化合物时才是允许的。

[0210] 如果取代基被描述为“任选地被取代”,则取代基可(1)未被取代或(2)被取代。如果取代基的碳被描述为任选地被取代基列表中的一个或多个取代基所取代,则碳上的一个或多个氢(至存在的任何氢的程度)可单独和/或一起被独立地选择的任选的取代基替代。如果取代基的氮被描述为任选地被取代基列表中的一个或多个取代,则氮上的一个或多个氢(至存在的任何氢的程度)可各自被独立地选择的任选的取代基替代。

[0211] 如果取代基被描述为“独立地选自”一组,则各取代基独立于另一者被选择。因此,各取代基可与另一(其他)取代基相同或不同。

[0212] 如本文中所使用,术语“一个或多个”意指在合理条件下的1个或超过1个,例如2个、3个、4个、5个或10个。

[0213] 除非指明,否则如本文中所使用,取代基的连接点可来自取代基的任意适宜位置。

[0214] 术语“立体异构体”表示由于至少一个不对称中心形成的异构体。在具有一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)不对称中心的化合物中,其可产生外消旋混合物、单一对映异构体、非对映异构体混合物和单独的非对映异构体。特定个别分子也可以几何异构体(顺式/反式)存在。类似地,本发明的化合物可以两种或更多种处于快速平衡的结构不同的形式的混合物(通常称作互变异构体)存在。互变异构体的代表性实例包括酮-烯醇互变异构体、苯酚-酮互变异构体、亚硝基-肟互变异构体、亚胺-烯胺互变异构体等。要理解,本申请的范围涵盖所有这样的以任意比例(例如60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)的异构体或其混合物。

[0215] 本文中可使用实线(-)、实楔形()或虚楔形()描绘本发明的化合物的碳-碳键。使用实线以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明,包括该碳原子处的所有可能的立体异构体(例如,特定的对映异构体、外消旋混合物等)。使用实或虚楔形以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明,存在所示的立体异构体。当存在于外消旋混合物中时,使用实及虚楔形以定义相对立体化学,而非绝对立体化学。除非另外指明,否则本发明的化合物意欲可以立体异构体(其包括顺式及反式异构体、光学异构体(例如R及S对映异构体)、非对映异构体、几何异构体、旋转异构体、构象异构体、阻转异构体及其混合物)的形式存在。本发明的化合物可表现一种以上类型的异构现象,且由其混合物(例如外消旋混合物及非对映异构体对)组成。

[0216] 本发明涵盖本发明的化合物的所有可能的结晶形式或多晶型物,其可为单一多晶型物或多于一种多晶型物的任意比例的混合物。

[0217] 还应当理解,本发明的某些化合物可以游离形式存在用于治疗,或适当时,以其药学上可接受的衍生物形式存在。在本发明中,药学上可接受的衍生物包括但不限于,可药用盐、酯、溶剂合物、代谢物或前药,在将它们向需要其的患者给药后,能够直接或间接提供本发明的化合物或其代谢物或残余物。因此,当在本文中提及“本发明的化合物”时,也意在涵盖化合物的上述各种衍生物形式。

[0218] 本发明的化合物的可药用盐包括其酸加成盐及碱加成盐。

[0219] 适合的酸加成盐由形成药学可接受盐的酸来形成,包括天冬氨酸盐、延胡索酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、六氟磷酸盐等。

[0220] 适合的碱加成盐由形成药学可接受盐的碱来形成,包括铝盐、精氨酸盐、胆碱盐、二乙胺盐等。

[0221] 适合的盐的综述参见Stahl及Wermuth的“Handbook of Pharmaceutical Salts:Properties,Selection,and Use”(Wiley-VCH,2002)。用于制备本发明的化合物的可药用盐的方法为本领域技术人员已知的。

[0222] 术语“酯”意指衍生自本申请中各个通式化合物的酯,其包括生理上可水解的酯(可在生理条件下水解以释放游离酸或醇形式的本发明的化合物)。本发明的化合物本身也可以是酯。

[0223] 本发明的化合物可以溶剂合物(优选水合物)的形式存在,其中本发明的化合物包

含作为所述化合物晶格的结构要素的极性溶剂,特别是例如水、甲醇或乙醇。极性溶剂特别是水的量可以化学计量比或非化学计量比存在。

[0224] 在本发明的范围内还包括本发明的化合物的代谢物,即在给药本发明的化合物时体内形成的物质。这样的产物可由例如被给药的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、脱脂化、酶解等产生。因此,本发明包括本发明的化合物的代谢物,包括通过使本发明的化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢产物的时间的方法制得的化合物。

[0225] 本发明在其范围内进一步包括本发明的化合物的前药。通常这样的前药会是所述化合物的官能团衍生物,其易于在体内转化成期望的治疗活性化合物。因此,在这些情况中,用于本发明的治疗方法的术语"给药"应包括用所要求保护的化合物中的一种或多种的前药形式来治疗各种疾病或病症,但是在向个体给药后所述前药形式在体内转化成上述化合物。例如,在"Design of Prodrug",ed.H.Bundgaard,Elsevier,1985中,描述了选择和制备适合的前药衍生物的常规方法。

[0226] 本发明在其范围内进一步包括本发明的化合物的同位素标记物,其与本发明的化合物相同,除了一个或多个原子被具有相同原子序数但原子质量或质量数不同于在自然界中占优势的原子质量或质量数的原子替代。

[0227] 本发明还涵盖含有保护基的本发明的化合物。在制备本发明的化合物的任何过程中,保护在任何有关分子上的敏感基团或反应基团可能是必需的和/或期望的,由此形成本发明的化合物的化学保护的形式。这可以通过常规的保护基实现,例如,在Protective Groups in Organic Chemistry,ed.J.F.W.McOmie,Plenum Press,1973;和T.W.Greene& P.G.M.Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis,John Wiley&Sons,1991中所述的那些保护基,这些参考文献通过援引加入本文。使用本领域已知的方法,在适当的后续阶段可以移除保护基。

[0228] 药物组合物

[0229] 在第三个方面,本发明提供一种药物组合物,其包含本发明第一方面或第二方面所述的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药,以及一种或多种药学上可接受的载体。

[0230] 术语"药物组合物"是指可以用作药物的组合物,其包含药物活性成分(API)(或治疗剂)以及可选的一种或多种药学上可接受载体。术语"药学上可接受的载体"是指与治疗剂一同给药的辅料,并且其在合理的医学判断的范围内适于接触人类和/或其它动物的组织而没有过度的毒性、刺激性、过敏反应或与合理的益处/风险比相应的其它问题或并发症。

[0231] 上述药物组合物可以系统地作用和/或局部地作用,其可以通过适合的剂型来实现。所述剂型包括但不限于片剂、胶囊剂、锭剂、硬糖剂、散剂、喷雾剂、乳膏剂、软膏剂、栓剂、凝胶剂、糊剂、洗剂、软膏剂、水性混悬剂、可注射溶液剂、酏剂、糖浆剂。

[0232] 上述药物组合物可以包含0.01mg至1000mg的至少一种本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药。

[0233] 本发明还提供了上述药物组合物或其相应的制剂形式的制备方法,其包括将至少一种本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药与一种或多种药学上可接受的载体组合。

[0234] 药盒产品

[0235] 在第四个方面,本发明提供一种药盒产品,其包含:

[0236] a)作为第一治疗剂的至少一种本发明第一方面或第二方面所述的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药,或者作为第一药物组合物的第三方面所述的药物组合物;

[0237] b)任选存在的作为第二治疗剂的至少一种其他治疗剂,或者作为第二药物组合物的包含其他治疗剂的药物组合物;和

[0238] c)任选存在的包装和/或说明书。

[0239] 上述药盒产品可以包含0.01mg至1000mg的至少一种本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药。

[0240] 本发明还提供了上述药盒的制备方法,其包括将至少一种本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物或前药或者上述药物组合物与任选存在的至少一种其他治疗剂或者包含其他治疗剂的药物组合物、包装和/或说明书组合。

[0241] 医药用途

[0242] 本发明的化合物能够表现出较强的抑制细胞异常增殖方面的作用。

[0243] 因此,本申请提供了本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药或者上述药物组合物,其用于治疗细胞异常增殖方面的疾病。

[0244] 另外,本申请还提供了本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药或者上述药物组合物在制备用于治疗细胞异常增殖方面的疾病的药物中的用途。

[0245] 在一些实施方案中,所述细胞异常增殖方面的疾病包括(但不限于)肿瘤,例如晚期实体瘤。

[0246] 本申请还提供本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药或者本发明的药物组合物在制备制剂中的用途,所述制剂用于抑制肿瘤细胞的增殖。在某些实施方案中,所述制剂用于体内或者体外施用。例如,所述制剂可被施用至受试者体内,以抑制受试者体内的肿瘤细胞的增殖;或者,所述制剂可被施用至体外细胞(例如细胞系或者来自受试者的细胞),以抑制体外肿瘤细胞的增殖。

[0247] 本发明所述肿瘤包括(但不限于):脑瘤、肺癌、鳞状上皮细胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巢癌、腹膜癌、胰腺癌、乳腺癌、头颈癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、结直肠癌、肝癌、肾癌、食管腺癌、食管鳞状细胞癌、前列腺癌、雌性生殖道癌、原位癌、淋巴瘤、神经纤维瘤、甲状腺癌、骨癌、皮肤癌、脑癌、结肠癌、睾丸癌、胃肠道间质瘤、前列腺肿瘤、肥大细胞肿瘤、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、胶质瘤或肉瘤。

[0248] 治疗方法

[0249] 在另一个方面,本发明提供了一种用于治疗细胞异常增殖方面的疾病的方法,其包括下列步骤:将治疗有效量的本发明的化合物或其可药用盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、氮氧化物、同位素标记物、代谢物和前药或者上述药物组合物施用于对其有需求

的个体。

[0250] 术语“有效量”是指能够诱发细胞、组织、器官或生物体(例如个体)产生生物或医学反应,并且足以实现所需预防和/或治疗效果的剂量。

[0251] 可调整给药方案以提供最佳所需响应。例如,可单次给药,可随时间分剂量给药,或可根据实际情况按比例减少或增加剂量后给药。可以理解的是,对于任何特定个体,具体的给药方案应根据需要以及给药组合物或监督组合物的给药人员的专业判断而调整。

[0252] 本发明的化合物的给药量将取决于个体情况、疾病或病症的严重性、给药的速率、化合物的处置及处方医师的判断。一般而言,有效量为约0.001-10000mg/kg受试者体重/天。在合适的情况下,有效量为约0.01-1000mg/kg受试者体重/天。可以每天、每两天或每三天给药约0.01-1000mg/kg受试者体重,通常约0.1-500mg/kg受试者体重。示例性的给药方案为每天一次或多次,或者每周一次或多次,或者每月一次或多次。多次给药时,单次剂量之间的间隔通常可以是每天、每周、每月或每年。或者,可以缓释制剂的形式给药,在这种情况下需要较低的给药频率。给药剂量和频率可根据药物在受试者体内的半衰期而不同,也可以根据是预防性应用还是治疗性应用而不同。在预防性应用中,以相对低频率的间隔长期施用相对低的剂量;在治疗性应用中,有时需要以较短的间隔施用相对高的剂量,直至疾病的进展被延缓或停止,优选直至个体表现出疾病症状的部分或完全改善,此后可以采用预防性应用。

[0253] 术语“治疗”是指减轻或消除所针对的疾病或病症。如果受试者接受了治疗量的本发明的化合物或其药学上可接受的形式或者本发明的药物组合物,该受试者的至少一种指标和症状表现出可观察到的和/或可检测出的缓解和/或改善,则表明该受试者已被成功地“治疗”。可以理解的是,治疗不仅包括完全地治疗,还包括未达到完全地治疗,但实现了一些生物学或医学相关的结果。

[0254] 术语“施用(administrate/administrating/administration)”(或“给药”)是指将药物活性成分(比如本发明的化合物)或包含药物活性成分的药物组合物(例如本发明的药物组合物)应用于个体或其细胞、组织、器官、生物流体等部位,以便使药物活性成分或药物组合物与个体或其细胞、组织、器官、生物流体等部位接触的过程。常见的施用方式包括(但不限于)口服施用、皮下施用、肌内施用、腹膜下施用、眼部施用、鼻部施用、舌下施用、直肠施用、阴道施用等。

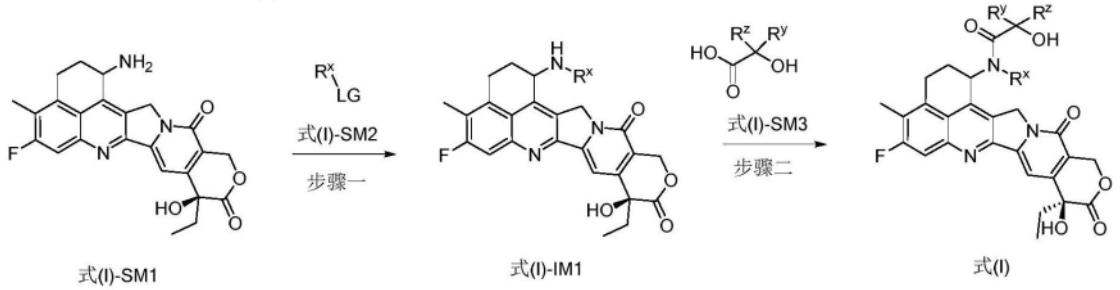
[0255] 术语“对其有需求”是指医生或其他护理人员对个体需要或者将要从预防和/或治疗过程中获益的判断,该判断的得出基于医生或其他护理人员在其专长领域中的各种因素。

[0256] 术语“个体”(或称受试者)是指人类或非人动物。本发明的个体包括患有疾病和/或病症的个体(患者)和正常的个体。本发明的非人动物包括所有脊椎动物,例如非哺乳动物,例如鸟类、两栖类、爬行类等,和哺乳动物,例如非人灵长类、家畜和/或驯化动物(例如绵羊、犬、猫、奶牛、猪等)。

[0257] 制备方法

[0258] 本发明第四方面提供了所述化合物的合成方法。

[0259] 本发明中的式(I)化合物可由下述合成路线进行合成制备。

[0260] 

[0261] 其中,R^x、R^y和R^z含义如前文所述;LG为离去基团,选自甲磺酰基、三氟甲磺酰氧基和卤素,优选三氟甲磺酰氧基或碘;

[0262] 步骤一:

[0263] 通过式(I)-SM1化合物和式(I)-SM2化合物发生取代反应得到式(I)-IM1化合物。

[0264] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选50℃;

[0265] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自卤代烃类(例如二氯甲烷(DCM)、氯仿(TCM)、1,2-二氯乙烷(1,2-DCE)等)、腈类(例如乙腈(AN)等)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、四氢呋喃(THF)、1,4-二氧六环(Dioxane)、二甲基亚砜(DMSO)及其任意组合,优选乙腈。

[0266] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱存在下进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺(TEA)、叔丁醇钾(t-BuOK)和吡啶(Py),所述无机碱可选自磷酸钾(K_3PO4)、氢化钠(NaH)、碳酸钾(K_2CO_3)、碳酸钠(Na_2CO_3)、碳酸氢钠($NaHCO_3$)、碳酸铯(Cs_2CO_3)和NaOH,优选Na_2CO_3或$NaHCO_3$;

[0267] 步骤二:

[0268] 通过式(I)-IM1化合物和式(I)-SM3化合物发生缩合反应得到式(I)化合物;

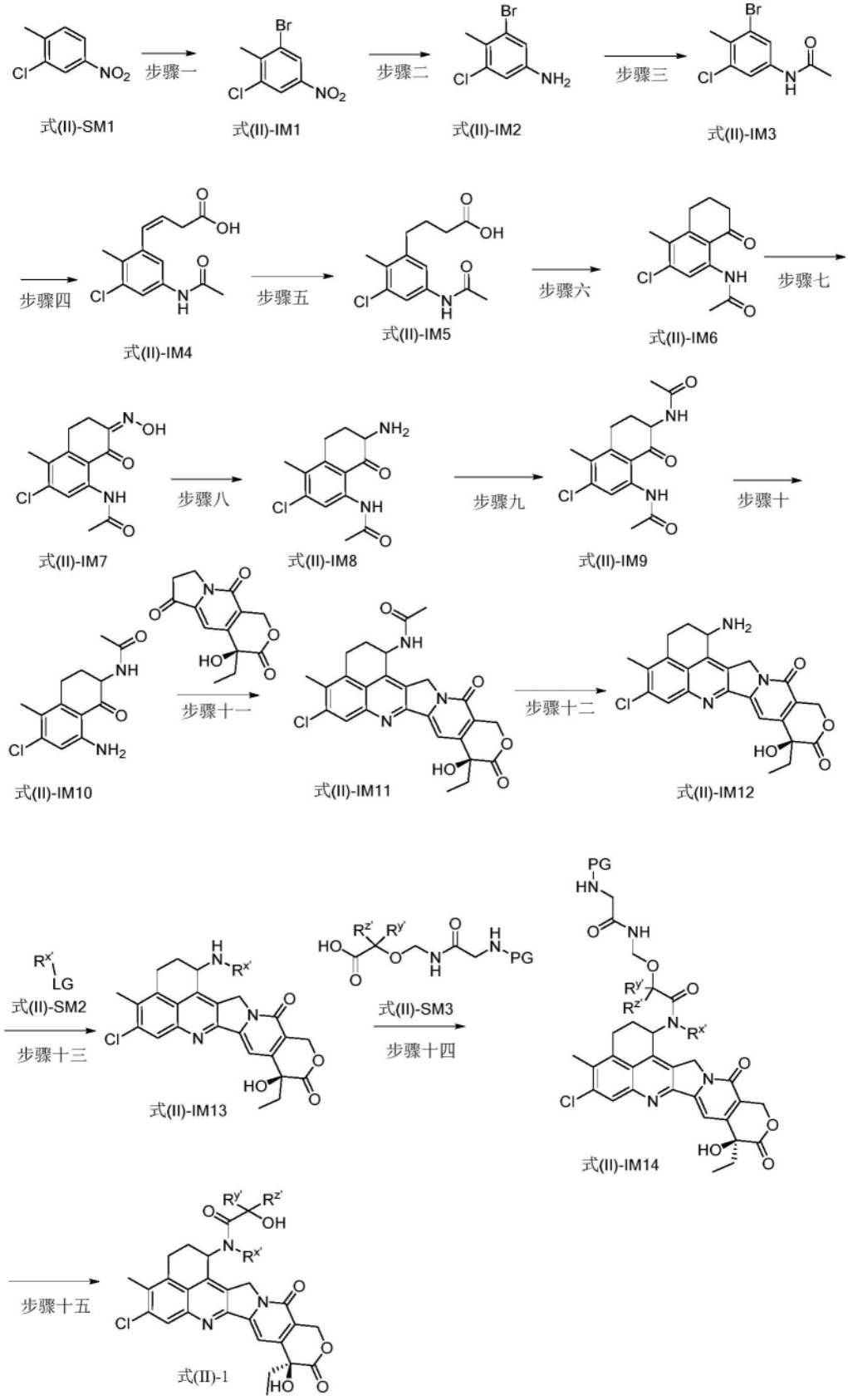
[0269] 在部分实施方案中,该步骤在合适的缩合试剂下进行,所述缩合试剂可选自HATU、HBTU、EDCI、DCC和HOBT,优选HATU;

[0270] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃;

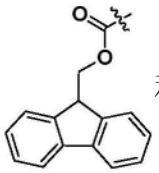
[0271] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选N,N-二甲基甲酰胺。

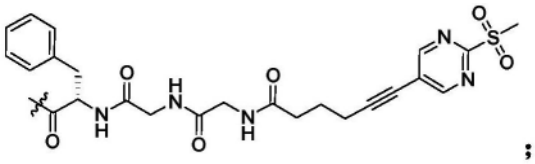
[0272] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱中进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自DIPEA、TEA、t-BuOK和Py,所述无机碱可选自K_3PO_4、NaH、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3和NaOH,优选DIPEA。

[0273] 本发明中的式(II)-1化合物可由下述合成路线进行合成制备。

[0274] 

[0275] 其中,$R^{x'}$、$R^{y'}$和$R^{z'}$含义如前文所述;LG为离去基团,选自甲磺酰基、三氟甲磺酰氧

基和卤素,优选三氟甲磺酰氧基或碘;PG为保护基,选自  和

[0276]  ;

[0277] 步骤一

[0278] 通过式(II)-SM1化合物发生取代反应得到式(II)-IM1化合物。

[0279] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、100℃,优选50℃;

[0280] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选正庚烷。

[0281] 步骤二

[0282] 通过式(II)-IM1化合物发生还原反应得到式(II)-IM2化合物;

[0283] 在部分实施方案中,该步骤在合适的还原剂存在下进行,所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂,优选铂催化剂;

[0284] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、100℃,优选60℃;

[0285] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选乙酸乙酯。

[0286] 步骤三

[0287] 通过式(II)-IM2化合物发生取代反应得到式(II)-IM3化合物,

[0288] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、100℃,优选20℃;

[0289] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选乙酸乙酯;

[0290] 在部分实施方案中,该步骤在碱性条件下进行,提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠;所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾,优选三乙胺。

[0291] 步骤四

[0292] 通过式(II)-IM3化合物发生偶联反应得到式(II)-IM4化合物;

[0293] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、70℃、100℃,优选70℃;

[0294] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯、水,优选四氢呋喃和水混合溶剂;

[0295] 在部分实施方案中,该步骤在碱性条件下进行,提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠;所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾,优选N,N-二异丙基乙胺。

[0296] 步骤五

[0297] 通过式(II)-IM4化合物发生还原反应得到式(II)-IM5化合物;

[0298] 在部分实施方案中,该步骤在合适的还原剂下进行,所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂,优选铂催化剂;

[0299] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选40℃;

[0300] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选四氢呋喃。

[0301] 步骤六

[0302] 通过式(II)-IM5化合物发生关环反应得到式(II)-IM6化合物;

[0303] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选5℃;

[0304] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自三氟乙酸、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,叔丁醇,优选四氢呋喃和叔丁醇的混合溶剂。

[0305] 步骤七

[0306] 通过式(II)-IM6化合物发生取代反应得到式(II)-IM7化合物;

[0307] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选5℃;

[0308] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自三氟乙酸、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选三氟乙酸;

[0309] 在部分实施方案中,该步骤在碱性条件下进行,提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠;所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾,优选叔丁醇钾。

[0310] 步骤八

[0311] 通过式(II)-IM7化合物发生还原反应得到式(II)-IM8化合物;

[0312] 在部分实施方案中,该步骤在合适的还原剂下进行,所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂,优选钯催化剂;

[0313] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50

℃、60℃、100℃,优选20℃;

[0314] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选甲醇。

[0315] 步骤九

[0316] 通过式(II)-IM8化合物发生取代反应得到式(II)-IM9化合物;

[0317] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选20℃;

[0318] 在部分实施方案中,该步骤在碱性条件下进行,提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠;所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾,优选吡啶。

[0319] 步骤十

[0320] 通过式(II)-IM9化合物发生水解反应得到式(II)-IM10化合物;

[0321] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选60℃;

[0322] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选甲醇。

[0323] 在部分实施方案中,所述反应在酸性条件下进行,提供酸性条件的试剂包括盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸,优选为盐酸。

[0324] 步骤十一

[0325] 通过式(II)-IM10化合物和(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃O[3,4-F]吲哚嗪-3,6,10(4H)-酮发生环合反应得到式(II)-IM11化合物;

[0326] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选140℃;

[0327] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲苯、甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选甲苯。

[0328] 在部分实施方案中,所述反应在酸性条件下进行,提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸,优选为对甲苯磺酸。

[0329] 步骤十二

[0330] 通过式(II)-IM11化合物发生水解反应得到式(II)-IM12化合物;

[0331] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选100℃;

[0332] 在部分实施方案中,所述反应在酸性条件下进行,提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸,优选为盐酸。

[0333] 步骤十三

[0334] 通过式(II)-IM12化合物和式(II)-SM2化合物和发生取代反应得到式(II)-IM13

化合物。

[0335] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选50℃;

[0336] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自卤代烃类(例如二氯甲烷(DCM)、氯仿(TCM)、1,2-二氯乙烷(1,2-DCE)等)、腈类(例如乙腈(AN)等)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、四氢呋喃(THF)、1,4-二氧六环(Diox)、二甲基亚砜(DMSO)及其任意组合,优选乙腈。

[0337] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱存在下进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺(TEA)、叔丁醇钾(t-BuOK)和吡啶(Py),所述无机碱可选自磷酸钾(K_3PO_4)、氢化钠(NaH)、碳酸钾(K_2CO_3)、碳酸钠(Na_2CO_3)、碳酸氢钠($NaHCO_3$)、碳酸铯(Cs_2CO_3)和NaOH,优选Na_2CO_3或$NaHCO_3$;

[0338] 步骤十四

[0339] 通过式(II)-IM13化合物和式(II)-SM3化合物发生缩合反应得到式(II)-IM14化合物;

[0340] 在部分实施方案中,该步骤在合适的缩合试剂下进行,所述缩合试剂可选自HATU、HBTU、EDCI、DCC和HOBT,优选HATU;

[0341] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃;

[0342] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选N,N-二甲基甲酰胺。

[0343] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱中进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自DIPEA、TEA、t-BuOK和Py,所述无机碱可选自K_3PO_4、NaH、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3和NaOH,优选DIPEA。

[0344] 步骤十五

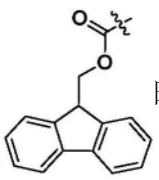
[0345] 通过式(II)-IM14化合物的酸解反应得到式(II)-1化合物;

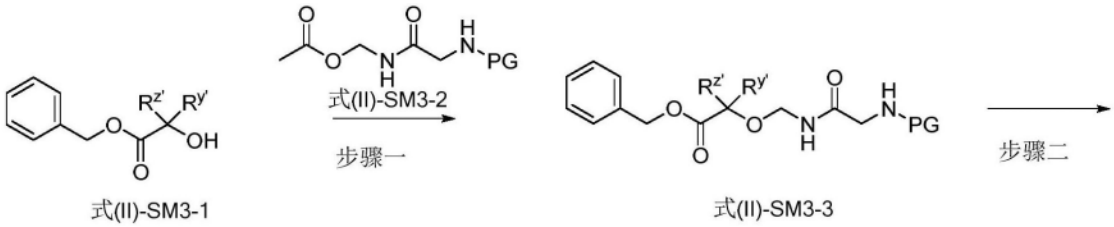
[0346] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选25℃;

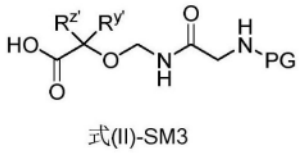
[0347] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂,优选二氯甲烷和甲醇的混合溶液(体积比2:1)。

[0348] 在部分实施方案中,所述反应在酸性条件下进行,提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸,优选为盐酸。

[0349] 式(II)-SM3合成方法如下所示:

[0350] 当PG为  时:

[0351] 



[0352] 步骤一

[0353] 通过式(II)-SM3-1化合物和式(II)-SM3-2化合物发生取代反应得到式(II)-SM3-3化合物;

[0354] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选0-25℃;

[0355] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂,优选四氢呋喃。

[0356] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱中进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自DIPEA、TEA、t-BuOK和Py,所述无机碱可选自K_3PO_4、NaH、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3和NaOH,优选K_2CO_3。

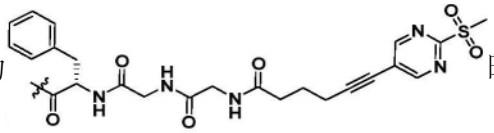
[0357] 步骤二

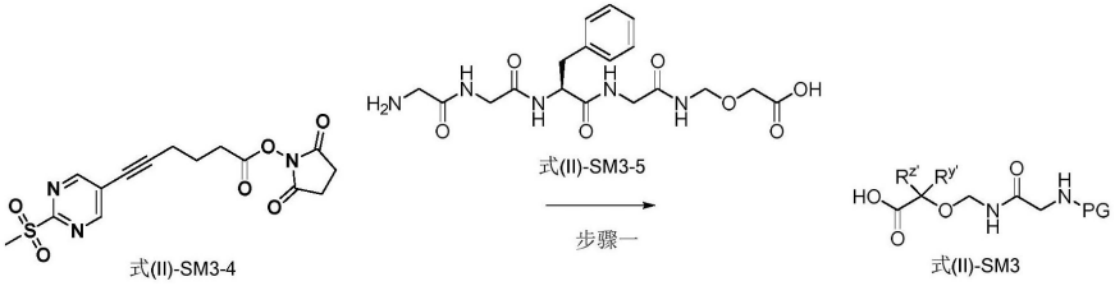
[0358] 通过式(II)-SM3-3化合物发生氢化反应得到式(II)-SM3化合物;

[0359] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选25℃;

[0360] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂,优选甲醇。

[0361] 在部分实施方案中,该步骤在合适的还原剂下进行,所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂,优选钯催化剂;

[0362] 当PG为时,$R^{y'}$和$R^{z'}$为氢:

[0363] 

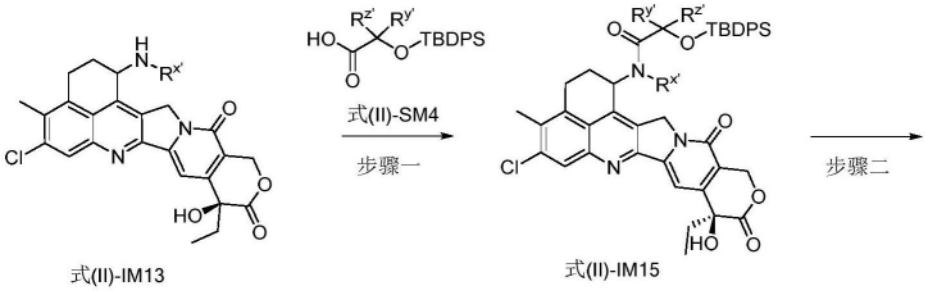
[0364] 步骤一

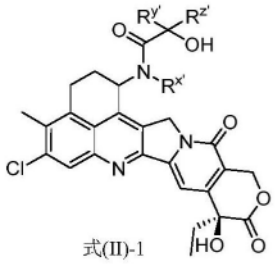
[0365] 通过式(II)-SM3-4化合物和式(II)-SM3-5化合物发生缩合反应得到式(II)-SM3化合物；

[0366] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选25℃；

[0367] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂,优选N,N-二甲基甲酰胺。

[0368] 或者,式(II)-1化合物可由下述合成路线进行合成制备：



[0369] 

[0370] 步骤一

[0371] 通过式(II)-IM13化合物和式(II)-SM4化合物发生缩合反应得到式(II)-IM15化合物；

[0372] 在部分实施方案中,该步骤在合适的缩合试剂下进行,所述缩合试剂可选自HATU、HBTU、EDCI、DCC和HOBT,优选HATU；

[0373] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃；

[0374] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选N,N-二甲基甲酰胺。

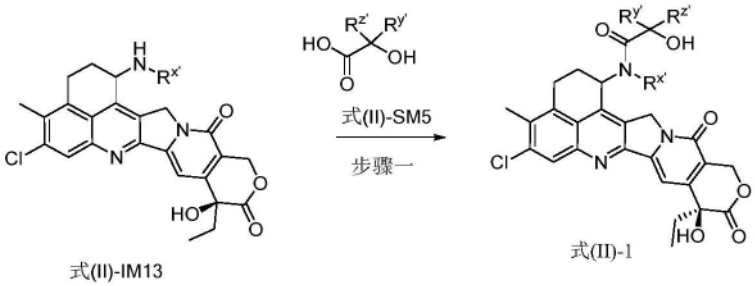
[0375] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱中进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述

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

[0376] 步骤二

[0377] 通过式(II)-IM15化合物脱除硅保护基得到式(II)-1化合物;

[0378] 或者,式(II)化合物可由下述合成路线进行合成制备:

[0379] 

[0380] 步骤一

[0381] 通过式(II)-IM13化合物和式(II)-SM5化合物发生缩合反应得到式(II)化合物;

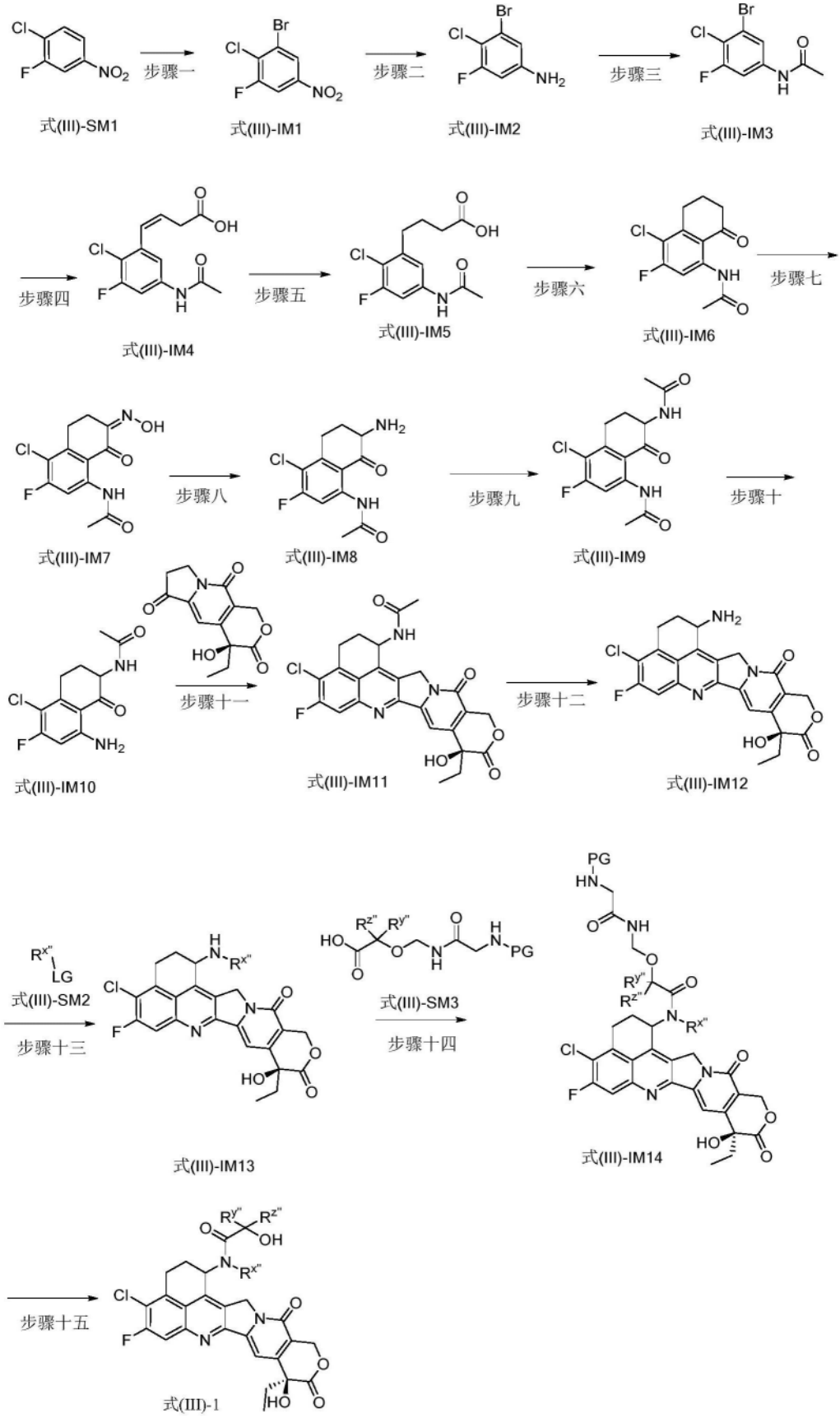
[0382] 在部分实施方案中,该步骤在合适的缩合试剂下进行,所述缩合试剂可选自HATU、HBTU、EDCI、DCC和HOBT,优选HATU;

[0383] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃;

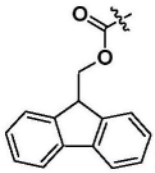
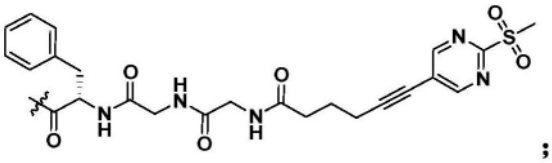
[0384] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选N,N-二甲基甲酰胺。

[0385] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱中进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自DIPEA、TEA、t-BuOK和Py,所述无机碱可选自K_3PO_4、NaH、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3和NaOH,优选DIPEA。

[0386] 本发明中的式(III)-1化合物可由下述合成路线进行合成制备。

[0387] 

[0388] 其中,$R^{x"}$、$R^{y"}$和$R^{z"}$含义如前文所述;LG为离去基团,选自甲磺酰基、三氟甲磺酰氧

基和卤素,优选三氟甲磺酰氧基或氯;PG为保护基,选自和;

[0389] 步骤一

[0390] 通过式(III)-SM1化合物发生取代反应得到式(III)-IM1化合物。

[0391] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、100℃,优选50℃;

[0392] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选正庚烷。

[0393] 步骤二

[0394] 通过式(III)-IM1化合物发生还原反应得到式(III)-IM2化合物;

[0395] 在部分实施方案中,该步骤在合适的还原剂存在下进行,所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂,优选铂催化剂;

[0396] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、100℃,优选60℃;

[0397] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选乙酸乙酯。

[0398] 步骤三

[0399] 通过式(III)-IM2化合物发生取代反应得到式(III)-IM3化合物,

[0400] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、100℃,优选20℃;

[0401] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选乙酸乙酯;

[0402] 在部分实施方案中,该步骤在碱性条件下进行,提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠;所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾,优选三乙胺。

[0403] 步骤四

[0404] 通过式(III)-IM3化合物发生偶联反应得到式(III)-IM4化合物;

[0405] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、70℃、100℃,优选70℃;

[0406] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯、水,优选四氢呋喃和水混合溶剂;

[0407] 在部分实施方案中,该步骤在碱性条件下进行,提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠;所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾,优选N,N-二异丙基乙胺。

[0408] 步骤五

[0409] 通过式(III)-IM4化合物发生还原反应得到式(III)-IM5化合物;

[0410] 在部分实施方案中,该步骤在合适的还原剂下进行,所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂,优选铂催化剂;

[0411] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选40℃;

[0412] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选四氢呋喃。

[0413] 步骤六

[0414] 通过式(III)-IM5化合物发生关环反应得到式(III)-IM6化合物;

[0415] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选5℃;

[0416] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自三氟乙酸、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,叔丁醇,优选四氢呋喃和叔丁醇的混合溶剂。

[0417] 步骤七

[0418] 通过式(III)-IM6化合物发生取代反应得到式(III)-IM7化合物;

[0419] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选5℃;

[0420] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自三氟乙酸、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选三氟乙酸;

[0421] 在部分实施方案中,该步骤在碱性条件下进行,提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠;所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾,优选叔丁醇钾。

[0422] 步骤八

[0423] 通过式(III)-IM7化合物发生还原反应得到式(III)-IM8化合物;

[0424] 在部分实施方案中,该步骤在合适的还原剂下进行,所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂,优选钯催化剂;

[0425] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50

℃、60℃、100℃,优选20℃;

[0426] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选甲醇。

[0427] 步骤九

[0428] 通过式(III)-IM8化合物发生取代反应得到式(III)-IM9化合物;

[0429] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选20℃;

[0430] 在部分实施方案中,该步骤在碱性条件下进行,提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述有机碱类包括但不限于三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、双三甲基硅基胺基钠;所述无机碱包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、叔丁醇钾、氢化钠、氢氧化钠、氢氧化钾,优选吡啶。

[0431] 步骤十

[0432] 通过式(III)-IM9化合物发生水解反应得到式(III)-IM10化合物;

[0433] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选60℃;

[0434] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选甲醇。

[0435] 在部分实施方案中,所述反应在酸性条件下进行,提供酸性条件的试剂包括盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸,优选为盐酸。

[0436] 步骤十一

[0437] 通过式(III)-IM10化合物和(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃O[3,4-F]吲哚嗪-3,6,10(4H)-酮发生环合反应得到式(III)-IM11化合物;

[0438] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选140℃;

[0439] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲苯、甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选甲苯。

[0440] 在部分实施方案中,所述反应在酸性条件下进行,提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸,优选为对甲苯磺酸。

[0441] 步骤十二

[0442] 通过式(III)-IM11化合物发生水解反应得到式(III)-IM12化合物;

[0443] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选100℃;

[0444] 在部分实施方案中,所述反应在酸性条件下进行,提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸,优选为盐酸。

[0445] 步骤十三

[0446] 通过式(III)-IM12化合物和式(III)-SM2化合物和发生取代反应得到式(III)-

IM13化合物。

[0447] 发生取代反应得到式(II)-IM13化合物。

[0448] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选50℃;

[0449] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自卤代烃类(例如二氯甲烷(DCM)、氯仿(TCM)、1,2-二氯乙烷(1,2-DCE)等)、腈类(例如乙腈(AN)等)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、四氢呋喃(THF)、1,4-二氧六环(Dioxane)、二甲基亚砜(DMSO)及其任意组合,优选乙腈。

[0450] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱存在下进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺(TEA)、叔丁醇钾(t-BuOK)和吡啶(Py),所述无机碱可选自磷酸钾(K_3PO_4)、氢化钠(NaH)、碳酸钾(K_2CO_3)、碳酸钠(Na_2CO_3)、碳酸氢钠($NaHCO_3$)、碳酸铯(Cs_2CO_3)和NaOH,优选Na_2CO_3或$NaHCO_3$;

[0451] 步骤十四

[0452] 通过式(III)-IM13化合物和式(III)-SM3化合物发生缩合反应得到式(III)-IM14化合物;

[0453] 在部分实施方案中,该步骤在合适的缩合试剂下进行,所述缩合试剂可选自HATU、HBTU、EDCI、DCC和HOBT,优选HATU;

[0454] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃;

[0455] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选N,N-二甲基甲酰胺。

[0456] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱中进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自DIPEA、TEA、t-BuOK和Py,所述无机碱可选自K_3PO_4、NaH、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3和NaOH,优选DIPEA。

[0457] 步骤十五

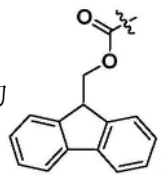
[0458] 通过式(III)-IM14化合物通过酸解反应得到式(III)-1化合物;

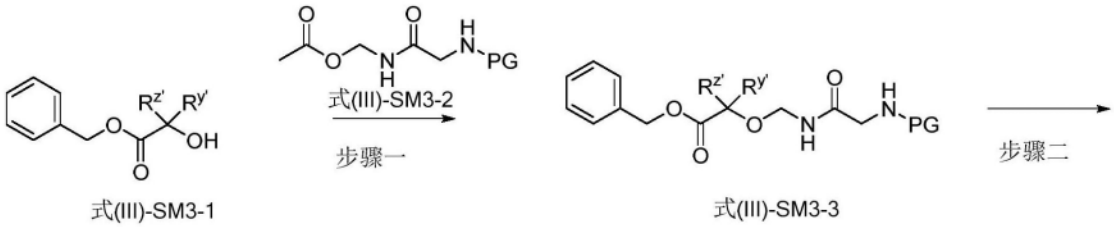
[0459] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选25℃;

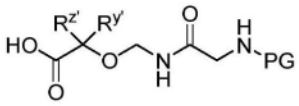
[0460] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂,优选二氯甲烷和甲醇的混合溶液(体积比2:1)。

[0461] 在部分实施方案中,所述反应在酸性条件下进行,提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸,优选为盐酸。

[0462] 式(III)-SM3合成方法如下所示:

[0463] 当PG为  时:

[0464] 



[0465] 步骤一：

[0466] 通过式(III)-SM3-1化合物和式(II)-SM3-2化合物发生取代反应得到式(III)-SM3-3化合物；

[0467] 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选0-25℃；

[0468] 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选四氢呋喃。

[0469] 在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自DIPEA、TEA、t-BuOK和Py，所述无机碱可选自K_3PO_4、NaH、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3和NaOH，优选K_2CO_3。

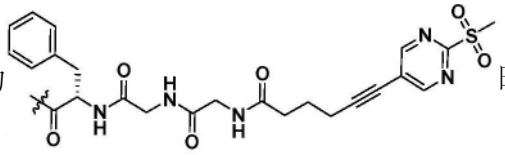
[0470] 步骤二：

[0471] 通过式(III)-SM3-3化合物发生氢化反应得到式(III)-SM3化合物；

[0472] 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选25℃；

[0473] 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选甲醇。

[0474] 在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂下进行，所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂，优选钯催化剂；

[0475] 当PG为时，$R^{y'}$和$R^{z'}$为氢：

[0476] 

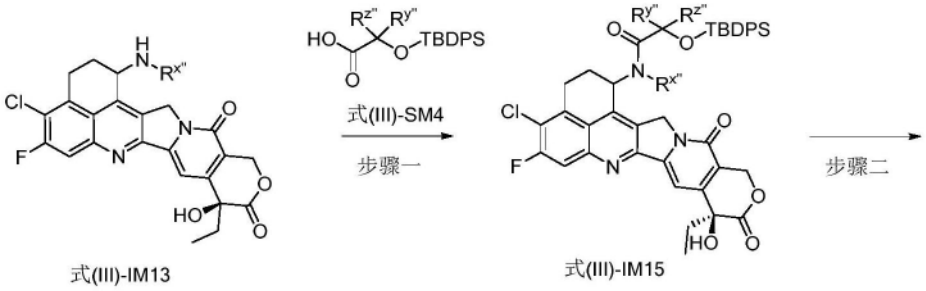
[0477] 步骤一：

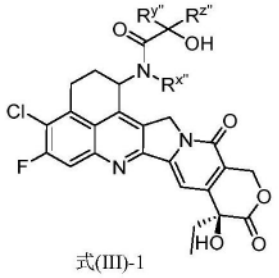
[0478] 通过式(III)-SM3-4化合物和式(III)-SM3-5化合物发生缩合反应得到式(III)-SM3化合物；

[0479] 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃，优选25℃；

[0480] 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯及其混合溶剂，优选N,N-二甲基甲酰胺。

[0481] 或者，式(III)-1化合物可由下述合成路线进行合成制备：



[0482] 

[0483] 步骤一：

[0484] 通过式(III)-IM13化合物和式(III)-SM4化合物发生缩合反应得到式(III)-IM15化合物；

[0485] 在部分实施方案中，该步骤在合适的缩合试剂下进行，所述缩合试剂可选自HATU、HBTU、EDCI、DCC和HOBT，优选HATU；

[0486] 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选25℃；

[0487] 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选N,N-二甲基甲酰胺。

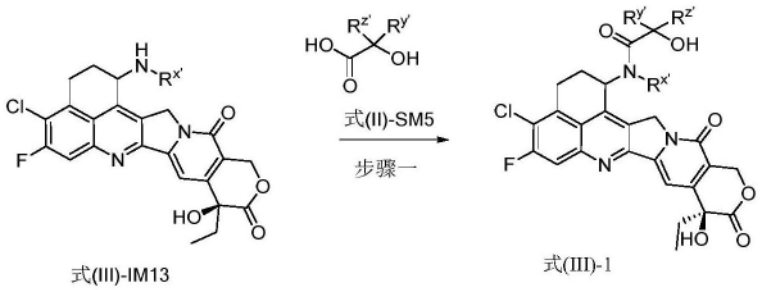
[0488] 在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述

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

[0489] 步骤二:

[0490] 通过式(III)-IM15化合物脱除硅保护基得到式(III)-1化合物;

[0491] 或者,式(III)-1化合物可由下述合成路线进行合成制备:

[0492] 

[0493] 步骤一:

[0494] 通过式(III)-IM13化合物和式(III)-SM5化合物发生缩合反应得到式(III)-1化合物;

[0495] 在部分实施方案中,该步骤在合适的缩合试剂下进行,所述缩合试剂可选自HATU、HBTU、EDCI、DCC和HOBT,优选HATU;

[0496] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃;

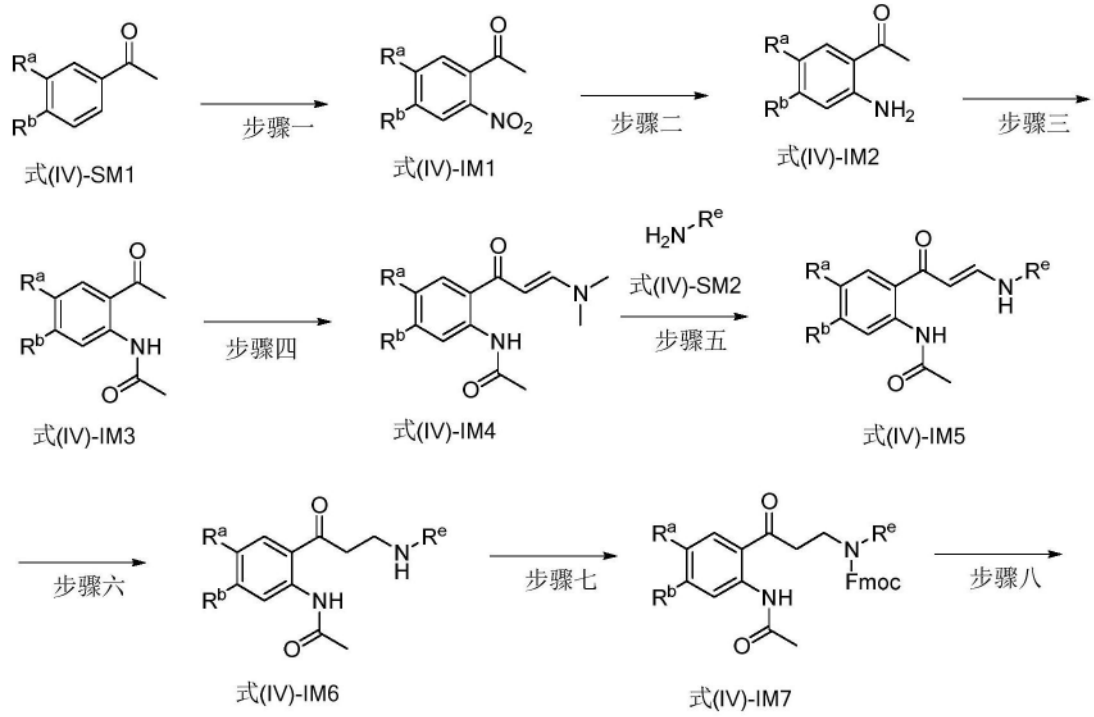
[0497] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选N,N-二甲基甲酰胺。

[0498] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱中进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自DIPEA、TEA、t-BuOK和Py,所述无机碱可选自K_3PO_4、NaH、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3和NaOH,优选DIPEA。

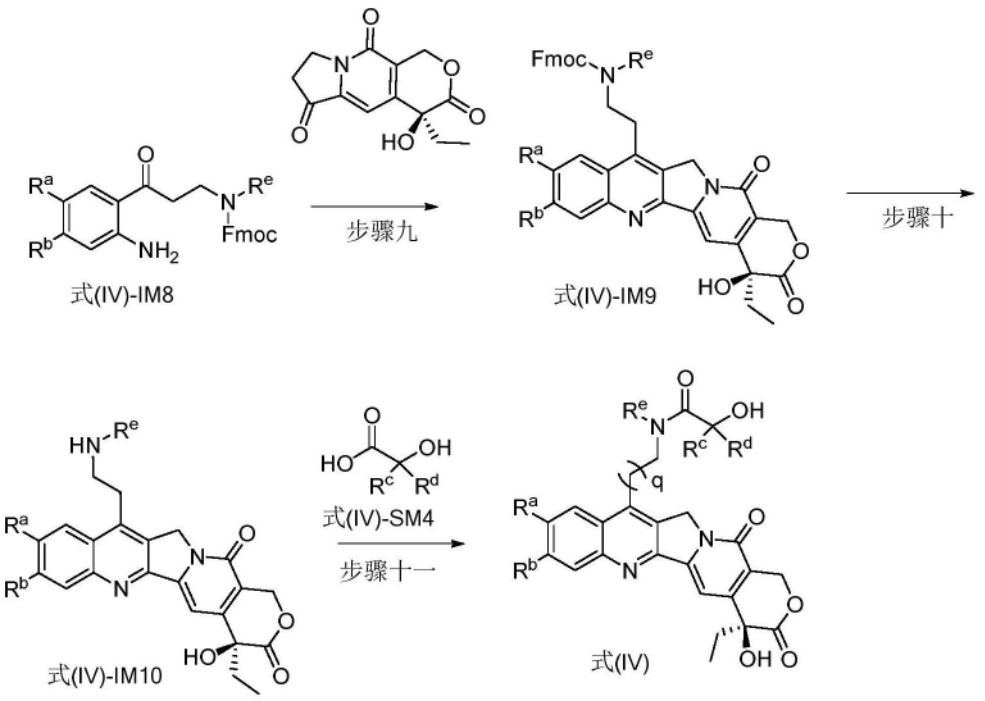
[0499] 本发明中的式(IV)化合物可由下述合成路线进行合成制备:

[0500] 其中,R^a、R^b、R^c、R^d和R^e含义如前文所述;

[0501] 当q=1时,



[0502]



[0503] 步骤一

[0504] 通过式(IV)-SM1化合物发生硝化反应得到式(IV)-IM1化合物;

[0505] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃。

[0506] 步骤二

[0507] 通过式(IV)-IM1化合物发生氢化反应得到式(IV)-IM2化合物;

[0508] 在部分实施方案中,该步骤在合适的还原剂下进行,所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂,优选钯催化剂;

[0509] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃;

[0510] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选乙酸乙酯。

[0511] 步骤三

[0512] 通过式(IV)-IM2化合物发生酰化反应得到式(IV)-IM3化合物,

[0513] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃;

[0514] 步骤四

[0515] 通过式(IV)-IM3化合物与DMF-DMA反应得到式(IV)-IM4化合物;

[0516] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、120℃,优选120℃;

[0517] 步骤五

[0518] 通过式(IV)-IM4和式(IV)-SM2化合物发生取代反应得到式(IV)-IM5化合物;

[0519] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选50℃;

[0520] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、乙醇、N,N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜,优选乙醇;

[0521] 步骤六

[0522] 通过式(IV)-IM5化合物发生还原反应得到式(IV)-IM6化合物;

[0523] 在部分实施方案中,该步骤在合适的还原剂下进行,所述还原剂优选硼氢化钠;

[0524] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选0-25℃;

[0525] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、冰醋酸、甲醇及其混合溶液,优选冰醋酸。

[0526] 步骤七

[0527] 通过式(IV)-IM6化合物的氨基用Fmoc保护得到式(IV)-IM7化合物;

[0528] 步骤八

[0529] 通过式(IV)-IM7化合物的氨基脱除乙酰基保护基得到式(IV)-IM8化合物;

[0530] 步骤九

[0531] 通过式(IV)-IM8化合物在酸性条件下发生闭环反应得到式(IV)-IM9化合物;

[0532] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、120℃,优选120℃;

[0533] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲苯、二甲苯、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜,优选甲苯和二甲苯;

[0534] 在部分实施方案中,该步骤在酸性条件下进行;

[0535] 提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸,优选为对甲苯磺酸。

[0536] 步骤十

[0537] 通过式(IV)-IM9化合物脱除Fmoc保护基得到式(IV)-IM10化合物；

[0538] 步骤十一

[0539] 通过式(IV)-IM10化合物和式(IV)-SM4化合物发生缩合反应得到式(IV)化合物；

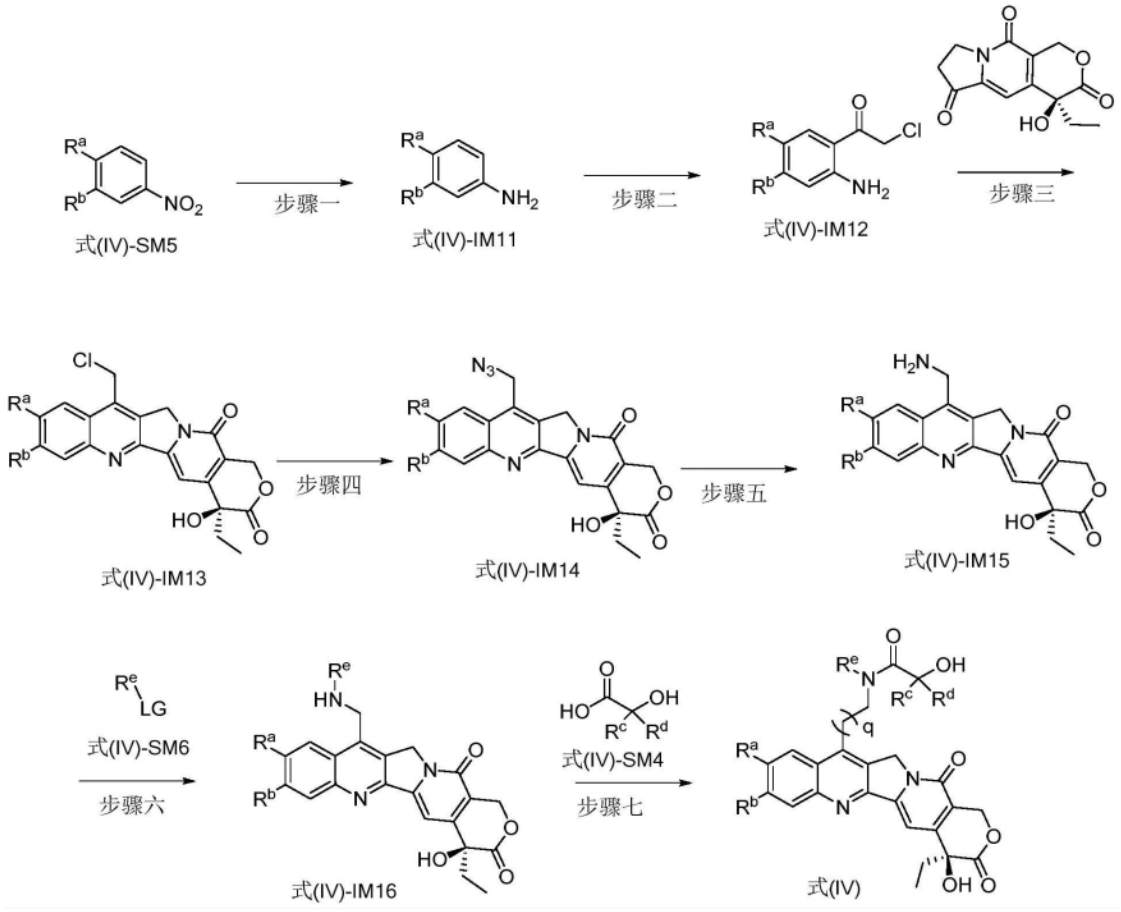
[0540] 在部分实施方案中，该步骤在合适的缩合试剂下进行，所述缩合试剂可选自HATU、HBTU、EDCI、DCC和HOBT，优选HBTU；

[0541] 在部分实施方案中，该步骤在适合的温度下进行，所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃，优选25℃；

[0542] 在部分实施方案中，该步骤在适合的有机溶剂中进行，所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯，优选N,N-二甲基甲酰胺。

[0543] 在部分实施方案中，该步骤在适合的碱中进行，所述碱包括有机碱或无机碱，所述有机碱可选自DIPEA、TEA、t-BuOK和Py，所述无机碱可选自K_3PO_4、NaH、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3和NaOH，优选DIPEA。

[0544] 或者，当q＝0时，

[0545] 

[0546] LG为离去基团，选自甲磺酰基、三氟甲磺酰氧基和卤素，优选三氟甲磺酰氧基或碘；

[0547] 步骤一

[0548] 通过式(IV)-SM5化合物发生还原反应得到式(IV)-IM11化合物，

[0549] 在部分实施方案中，该步骤在合适的还原剂存在下进行，所述还原剂可选自钯催

化剂、铂催化剂、铑催化剂,优选铂催化剂;

[0550] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃;

[0551] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选乙酸乙酯和四氢呋喃。

[0552] 步骤二

[0553] 通过式(IV)-IM11化合物发生傅克酰基化反应得到式(IV)-IM12化合物;

[0554] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为5℃、20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃。

[0555] 步骤三

[0556] 通过式(IV)-IM12在酸性条件下发生闭环反应得到式(IV)-IM13化合物;

[0557] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、120℃,优选120℃;

[0558] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲苯、二甲苯、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜,优选甲苯和二甲苯;

[0559] 在部分实施方案中,该步骤在酸性条件下进行;

[0560] 提供酸性条件的试剂包括对甲苯磺酸、盐酸、三氟乙酸、甲酸、硫酸、甲磺酸,优选为对甲苯磺酸。

[0561] 步骤四

[0562] 通过式(IV)-IM13发生取代反应得到式(IV)-IM14化合物;

[0563] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选25℃;

[0564] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、乙醇、N,N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜,优选二甲基亚砜;

[0565] 步骤五

[0566] 通过式(IV)-IM14化合物发生还原反应得到式(IV)-IM15化合物,

[0567] 在部分实施方案中,该步骤在合适的还原剂存在下进行,所述还原剂可选自钯催化剂、铂催化剂、铑催化剂、三苯基膦、亚磷酸三乙酯,优选亚磷酸三乙酯;

[0568] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、50℃、60℃、80℃、100℃,优选80℃;

[0569] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯、甲苯、及其混合溶液,优选甲醇和甲苯的混合溶液。

[0570] 步骤六

[0571] 通过式(IV)-IM15化合物和式(IV)-SM6化合物发生取代反应得到式(IV)-IM16化合物。

[0572] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃、140℃,优选50℃;

[0573] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自卤代烃类(例如二氯甲烷(DCM)、氯仿(TCM)、1,2-二氯乙烷(1,2-DCE)等)、腈类(例如乙腈(AN)等)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、四氢呋喃(THF)、1,4-二氧六环(Dioxane)、二甲基亚砜(DMSO)及其任意组合,优选乙腈。

[0574] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱存在下进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺(TEA)、叔丁醇钾(t-BuOK)和吡啶(Py),所述无机碱可选自磷酸钾(K_3PO4)、氢化钠(NaH)、碳酸钾(K_2CO_3)、碳酸钠(Na_2CO_3)、碳酸氢钠($NaHCO_3$)、碳酸铯(Cs_2CO_3)和NaOH,优选Na_2CO_3或$NaHCO_3$;

[0575] 步骤七

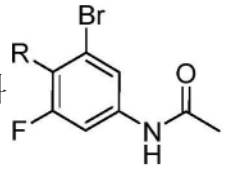
[0576] 通过式(IV)-IM16化合物和式(IV)-SM4化合物发生缩合反应得到式(IV)化合物;

[0577] 在部分实施方案中,该步骤在合适的缩合试-剂下进行,所述缩合试剂可选自HATU、HBTU、EDCI、DCC和HOBT,优选HBTU;

[0578] 在部分实施方案中,该步骤在适合的温度下进行,所述温度为20℃、25℃、40℃、50℃、60℃、100℃,优选25℃;

[0579] 在部分实施方案中,该步骤在适合的有机溶剂中进行,所述有机溶剂可选自甲醇、四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甲基亚砜、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯,优选N,N-二甲基甲酰胺。

[0580] 在部分实施方案中,该步骤在适合的碱中进行,所述碱包括有机碱或无机碱,所述有机碱可选自DIPEA、TEA、t-BuOK和Py,所述无机碱可选自K_3PO_4、NaH、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3和NaOH,优选DIPEA。

[0581] 本发明中的式(V)-1化合物可使用起始物料

,按照式(III)同理的合成路线进行合成制备。

[0582] 发明的有益效果

[0583] 本发明提供式(I)-式(IV)所示的喜树碱类化合物,及其药物组合物、制备方法和用途。该类化合物具有良好的抗肿瘤活性,有克服耐药的潜力,可用于治疗细胞异常增殖性病症,所述病症包括但不限于晚期实体瘤。

具体实施方式

[0584] 以下通过具体实施方式的描述对本申请作进一步说明,但这并非是对本申请的限制。本领域技术人员根据本申请的教导,可以做出各种修改或改进,而不脱离本申请的基本思想和范围。

[0585] 本发明中的缩写具有以下含义:

[0586]

试剂英文缩写	试剂中文全称	试剂英文缩写	试剂中文全称
NBS	N-溴代琥珀酰亚胺	HATU	N,N,N',N'-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲
DMF-DMA	N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛	DIPEA	二异丙基乙胺

[0587]

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

[0588] 以下的实施例中记载的化合物的结构通过核磁共振(^{1}H NMR)或质谱(MS)来确定。

[0589] 核磁共振(^{1}H NMR)的测定仪器使用Bruker 400MHz核磁共振仪;六氘代二甲基亚砜(DMSO-d_6);内标物质为四甲基硅烷(TMS)。

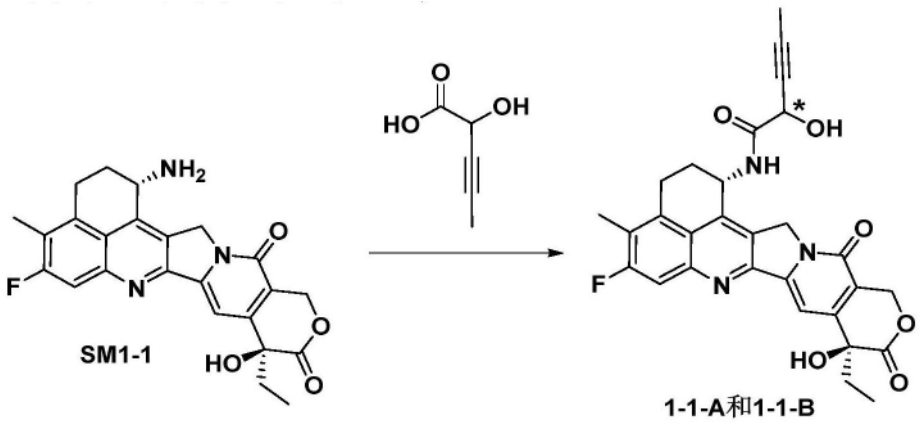
[0590] 实施例中使用的核磁共振(NMR)图谱中的缩写示于以下。

[0591] s:单峰(singlet)、d:二重峰(doublet)、t:三重峰(triplet)、q:四重峰(quartet)、m:多重峰(multiplet)、br:宽峰(broad)、J:偶合常数、Hz:赫兹、DMSO-d6:氘化二甲基亚砜。δ值用ppm值表示。

[0592] 质谱(MS)的测定仪器使用Agilent(ESI)质谱仪,型号为Agilent 6120B。

[0593] 实施例一(R)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基戊-3-炔酰胺和(S)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基戊-3-炔酰胺

[0594]



*位置表示该处原子手性为R或S

[0595] 将化合物2-羟基戊-3-炔酸(4.29mg,37.63μmol)用DMF(1mL)溶解,加入HATU(21.46mg,56.44μmol)、SM1-1(10.00mg,22.94μmol)和DIPEA(7.29mg,56.44μmol),25℃反

应2小时。反应液经减压浓缩,浓缩物直接经制备高效液相色谱纯化(条件如下)得标题化合物1-1-A 3.24mg和1-1-B 3.98mg。

[0596] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0597] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0598]

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]

[0599]

0	30	70	28
18	90	10	28

[0600] 保留时间:1-1-A:10.8min;1-1-B:11.1min.

[0601] 1-1-A结构表征数据如下:

[0602] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.58(d,J=8.4Hz,1H),7.78(d,J=11.2Hz,1H),7.31(s,1H),6.54(s,1H),6.17(d,J=6.0Hz,1H),5.58-5.47(m,1H),5.42(s,2H),5.23(s,2H),4.73-4.64(m,1H),3.25-3.06(m,2H),2.39(s,3H),2.27-2.05(m,2H),1.96-1.77(m,5H),0.87(t,J=7.2Hz,3H).

[0603] ESI-MS(m/z):532.2[M+H]$^+$.

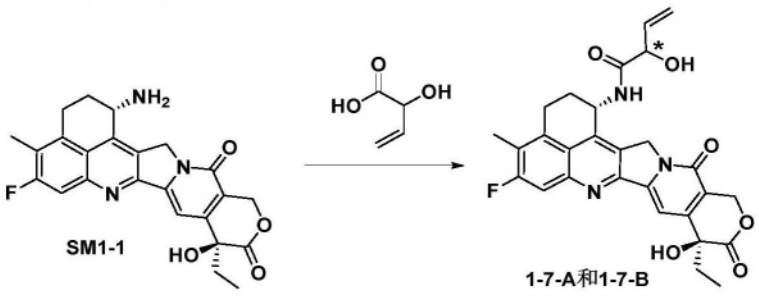
[0604] 1-1-B结构表征数据如下:

[0605] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.62(d,J=8.8Hz,1H),7.78(d,J=10.8Hz,1H),7.31(s,1H),6.54(s,1H),6.19(d,J=6.0Hz,1H),5.58-5.47(m,1H),5.42(s,2H),5.21(d,J=4.8Hz,2H),4.73-4.65(m,1H),3.27-3.06(m,2H),2.39(s,3H),2.27-2.05(m,2H),1.93-1.80(m,2H),1.80(d,J=2.0Hz,3H),0.87(t,J=7.2Hz,3H).

[0606] ESI-MS(m/z):532.2[M+H]$^+$.

[0607] 实施例二(S)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4]:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基-3-烯酰胺和(R)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4]:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基-3-烯酰胺

[0608]



[0609] 将化合物乙烯乙醇酸(9.61mg,94.07μmol)用DMF(2mL)溶解,加入HATU(44.70mg,117.58μmol)、化合物SM1-1(25.00mg,0.047mmol)和DIPEA(24.30mg,188.13μmol),25℃反应2小时。反应液经减压浓缩,浓缩物直接经制备高效液相色谱纯化,得标题化合物1-7-A(4.00mg)和1-7-B(1.38mg)。

[0610] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0611] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0612]

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	30	70	28
2	30	70	28

[0613]

18	90	10	28

[0614] 保留时间:1-7-A:8.7min;1-7-B:9.1min.

[0615] 1-7-A结构表征数据如下:

[0616] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.51(s,J=8.8Hz,1H),7.76(s,J=10.8Hz,1H),7.29(s,1H),6.52(s,1H),6.15-6.04(m,1H),5.58-5.49(m,1H),5.42(s,2H),5.39(s,1H),5.24-5.01(m,3H),4.54(s,J=4.9Hz,1H),3.24-3.05(m,2H),2.37(s,3H),2.16(s,2H),1.91-1.79(m,2H),0.87(t,J=7.2Hz,3H).

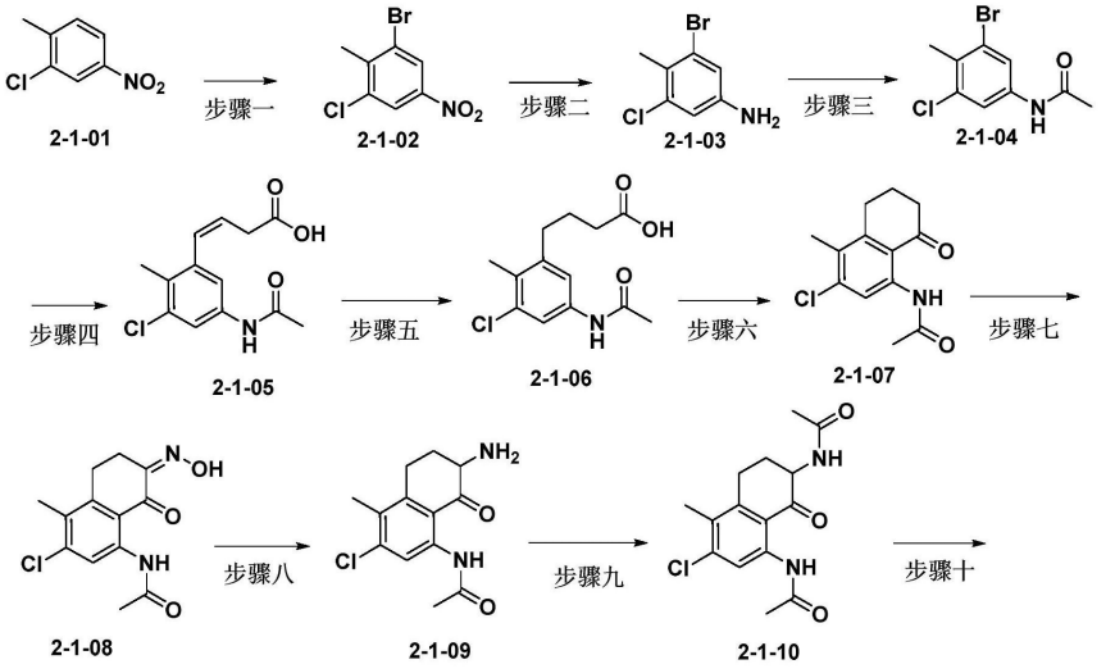
[0617] ESI-MS(m/z):520.1[M+H]$^+$.

[0618] 1-7-B结构表征数据如下:

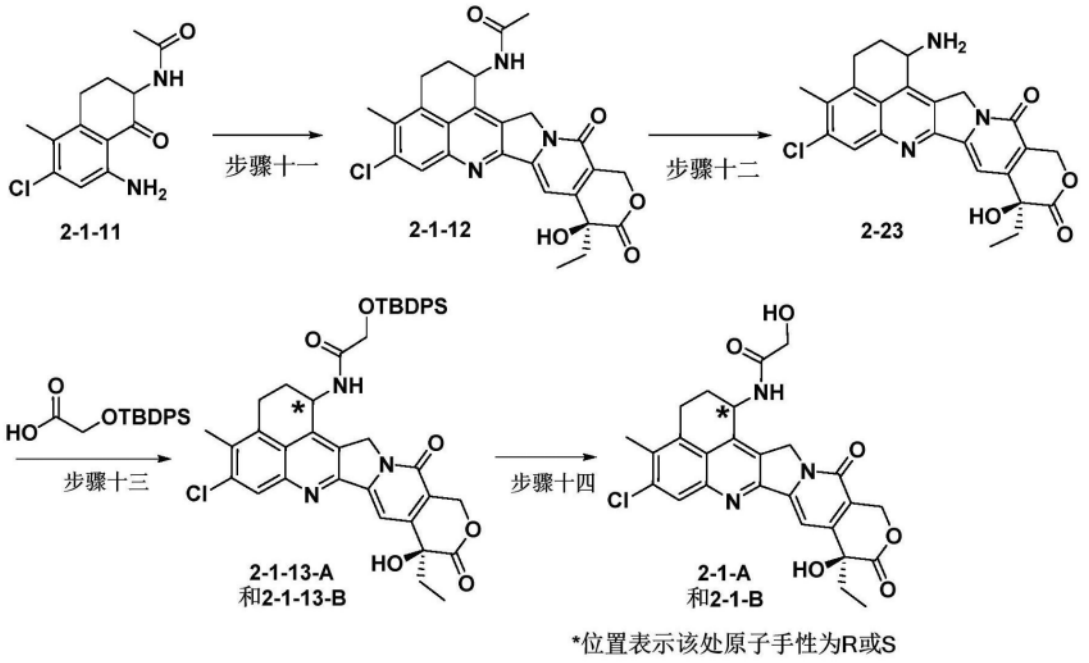
[0619] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.48(s,1H),7.78(s,1H),7.30(s,1H),6.12-5.92(m,1H),5.54-5.47(m,1H),5.42(s,2H),5.37(dt,J=1.7Hz,1H),5.18(s,2H),5.16-5.14(m,1H),4.5-4.52(m,1H),3.22-3.08(m,2H),2.38(s,3H),2.25-2.16(m,1H),2.16-2.06(m,1H),1.93-1.79(m,2H),0.87(t,J=7.2Hz,3H).

[0620] ESI-MS(m/z):520.1[M+H]$^+$.

[0621] 实施例三N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺和N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺



[0622]



[0623] 步骤一:1-氯-3-溴-2-甲基-5-硝基苯的合成

[0624] 25℃下,将化合物2-1-01(5.00g,29.14mmol)溶于正庚烷(25mL)中,加入浓硫酸(25mL),加热至50℃,50℃下分批次加入NBS(6.22g,34.97mmol),保持50℃反应2小时,用薄层色谱检测反应(乙酸乙酯:石油醚=1:10),将冷却至室温的反应液滴加入冰水中,甲苯萃取,有机相合并,经亚硫酸钠溶液洗,水洗,饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,减压浓缩,粗品用制备高效液相色谱纯化,制备液冷冻干燥得标题化合物4.88g。

[0625] 色谱柱:C18 ODS 45mm×450mm×8.0μm

[0626] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0627]

时间[min]	流动相A[%]	流动相B[%]	流速[mL/min]
0	60	40	60

10	60	40	60
40	100	0	60

[0628] 步骤二:3-氯-5-溴-4-甲基苯胺的合成

[0629] 25℃下,将化合物2-1-02(4.88g,19.48mmol)溶于乙酸乙酯(100mL)中,加入铂碳(2.00g,19.48mmol,含量5%),氢气置换后在氢气球保护下60℃反应4小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液过滤,滤液经浓缩,得粗品标题化合物3.68g,未经进一步纯化直接用于下一步反应。

[0630] 步骤三:N-(3-氯-5-溴-4-甲基苯基)乙酰胺的合成

[0631] 20℃下,将化合物2-1-03(3.63g,14.82mmol)溶于乙酸乙酯(70mL),加入三乙胺(4.50g,44.45mmol)和醋酸酐(2.27g,22.23mmol),保持20℃反应20小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。向反应液加入水,乙酸乙酯萃取,合并有机相,经无水硫酸钠干燥,减压浓缩得粗品,粗品经乙酸乙酯:石油醚=1:5混合溶剂打浆得标题化合物2.86g。

[0632] 步骤四:(Z)-4-(5-乙酰胺基-3-氯-2-甲基苯基)丁-3-烯酸的合成

[0633] 20℃下,将化合物2-1-04(1.80g,6.86mmol)溶于THF(20mL)和水(5mL)中,加入乙烯基乙酸(708.31mg,8.23mmol),DIPEA(1.95g,15.08mmol),三(邻甲基苯基)磷(62.60mg,0.20mmol),反应体系经氮气置换后加热至70℃反应5小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。向反应液中加入1N氢氧化钠溶液调节pH=8,加入乙酸乙酯萃取。剩余水相经1N盐酸调节pH=3,乙酸乙酯萃取,合并有机相,经无水硫酸钠干燥,减压浓缩,得标题化合物0.82g,直接用于下一步反应。

[0634] 步骤五:4-(5-乙酰胺基-3-氯-2-甲基苯基)丁酸的合成

[0635] 20℃下,将化合物2-1-05(2.60g,9.71mmol)溶于THF(50mL)中,加入Pd/C(0.52g,含量10%),体系经氢气置换后在氢气球保护下40℃反应2小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液过滤,滤液经减压浓缩,得标题化合物2.43g,未经进一步纯化直接用于下一步反应。

[0636] 步骤六:N-(3-氯-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0637] 将化合物2-1-06(2.43g,9.01mmol)溶于三氟乙酸(10mL)中,降温至5℃,滴加入三氟乙酸酐(3.78g,18.02mmol,2.50mL),保持5℃反应4小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液加入水中,用10N氢氧化钠溶于调节pH=9,加入乙酸乙酯萃取,合并有机相,经无水硫酸钠干燥,减压浓缩,经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-20%),得标题化合物1.53g。

[0638] 步骤七:(Z)-N-(3-氯-7-(羟基亚氨基)-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0639] 5℃下,将叔丁醇钾(1.50g,13.37mmol)溶于THF(16mL)和叔丁醇(4mL)中,滴加入化合物2-1-07(1.53g,6.08mmol)的THF溶液(16mL),10分钟后滴加入亚硝酸戊酯(1.14g,9.73mmol),保持5℃反应1小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。用1N盐酸将反应液调节pH=5,乙酸乙酯萃取,合并有机相经无水硫酸钠干燥,经减压浓缩,浓缩物经甲基叔丁基醚打浆得标题化合物1.20g。

[0640] 步骤八:N-(7-氨基-3-氯-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺

[0641] 20℃下,将化合物2-1-08(0.50g,1.78mmol)溶于甲醇(8mL)和2N盐酸(8mL)中,加

入Pd/C(0.15g,含量10%),体系经氢气置换后在氢气球保护下保持5℃反应2小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应液过滤,滤液经减压浓缩,得标题化合物的盐酸盐0.52g,未经进一步纯化直接用于下一步反应。

[0642] 步骤九:N,N'-(3-氯-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1,7-二基)二乙酰胺的合成

[0643] 20℃下,将化合物2-1-09(0.52g,1.70mmol)溶于吡啶(5mL)中,加入醋酸酐(2mL),保持20℃反应2小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液加入水中,乙酸乙酯萃取,有机相经水洗,合并,经无水硫酸钠干燥,减压浓缩,浓缩物经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-30%)得标题化合物0.22g。

[0644] 步骤十:N-(8-氨基-6-氯-5-甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酰胺的合成

[0645] 20℃下,将化合物2-1-10(0.45g,1.46mmol)溶于甲醇(16mL)中,加入2N盐酸(16mL),加热至60℃反应2小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。向冷却后的反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液调节pH=8,乙酸乙酯萃取,合并有机相,经无水硫酸钠干燥,减压浓缩,得标题化合物0.23g,未经进一步纯化直接用于下一步反应。

[0646] 步骤十一:N-((9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺的合成

[0647] 将化合物2-1-11(0.23g,0.78mmol)溶于甲苯(10mL)中,加入(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10(4H)-三酮(0.23g,0.87mmol),对甲基苯磺酸(26.73mg,0.16mmol),加热至140℃反应5小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液浓缩,粗品经快速硅胶柱纯化(甲醇:二氯甲烷=0-10%),得标题化合物0.15g。

[0648] 步骤十二:(9S)-1-氨基-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

[0649] 将化合物2-1-12(40.00mg,0.08mmol)加入浓盐酸(1mL)中,加热至100℃反应5小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。将反应液过滤,滤液用制备高效液相色谱纯化,制备液经冷冻干燥得标题化合物2-23的三氟乙酸盐12.00mg。

[0650] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0651] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%三氟乙酸)

[0652]

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

[0653] 结构表征数据如下:

[0654] ESI-MS(m/z):452.1$[M+H]^+$.

[0655] 步骤十三:2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺和2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺的合成

[0656] 25℃下,将化合物2-23的三氟乙酸盐(40.00mg,81.91μmol)溶于N,N-二甲基甲酰

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

[0657] 步骤十四:N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺和N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺的合成

[0658] 25℃下,在两个反应瓶中分别将2-1-13-A(15.00mg)和2-1-13-B(12.00mg)溶于四氢呋喃(1mL)中,滴加入四丁基氟化铵(1M四氢呋喃溶液)/冰醋酸混合液(v/v=13/1)(50uL),保持25℃反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后将反应液分别用制备高效液相色谱纯化,制备液分别冻干对应得到标题化合物2-1-A(6.94mg)和2-1-B(4.00mg)。

[0659] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0660] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0661]

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

[0662] 2-1-A结构表征数据如下:

[0663] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.43(d,J=8.8Hz,1H),8.16(s,1H),7.31(s,1H),6.55(s,1H),5.65-5.36(m,4H),5.21(q,J=19.0Hz,2H),3.95(d,J=5.7Hz,2H),3.26-3.11(m,2H),2.53(s,3H),2.30-2.08(m,2H),1.94-1.79(m,2H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).

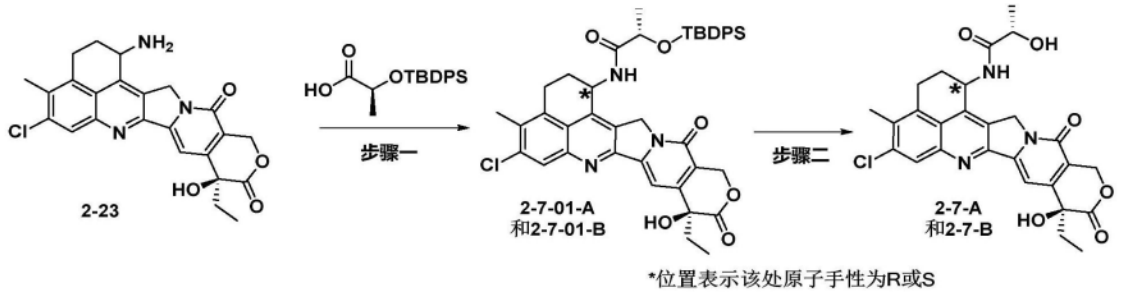
[0664] ESI-MS(m/z):510.1[M+H]$^+$.

[0665] 2-1-B结构表征数据如下:

[0666] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.45(d,J=8.9Hz,1H),8.15(s,1H),7.31(s,1H),6.54(s,1H),5.64-5.35(m,4H),5.19(q,J=19.0Hz,2H),3.97(d,J=5.2Hz,2H),3.27-3.10(m,2H),2.51(s,3H),2.27-2.10(m,2H),1.93-1.80(m,2H),0.88(t,J=7.3Hz,3H).

[0667] ESI-MS(m/z):510.1[M+H]$^+$.

[0668] 实施例四(2S)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺和(2S)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺

[0669] 

[0670] 步骤一:(2S)-2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)丙胺和(2S)-2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)丙胺的合成

[0671] 25℃下,将2-23的盐酸盐(30.00mg,61.43μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,依次加入(S)-2-((叔丁基二苯基硅)氧基)丙酸(24.21mg,73.72μmol),HATU(35.01mg,92.14μmol)和N,N-二异丙基乙胺(23.82mg,184.29μmol),保持25℃反应1小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后向反应液中加入水,用二氯甲烷/甲醇(v/v=10/1)萃取,有机相合并,经无水硫酸钠干燥后减压浓缩,粗品经制备薄层色谱纯化(二氯甲烷:甲醇=15:1)分离得到两个异构体,依据Rf值将两个异构体命名为2-7-01-A(6.00mg,Rf值为0.35)和2-7-01-B(6.00mg,Rf值为0.40)。

[0672] 步骤二:(2S)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺和(2S)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺的合成

[0673] 25℃下,在两个反应瓶中分别将2-7-01-A(6.00mg,7.87μmol)和2-7-01-B(6.00mg,7.87μmol)溶于无水四氢呋喃(1mL)中,滴加入四丁基氟化铵(1M四氢呋喃溶液)/冰醋酸混合液(v/v=13/1)(50μL),保持25℃反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后将反应液分别用制备高效液相色谱纯化,制备液分别冻干对应得到标题化合物2-7-A(2.50mg)和2-7-B(3.00mg)。

[0674] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0675] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0676]

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

[0677] 2-7-A结构表征数据如下:

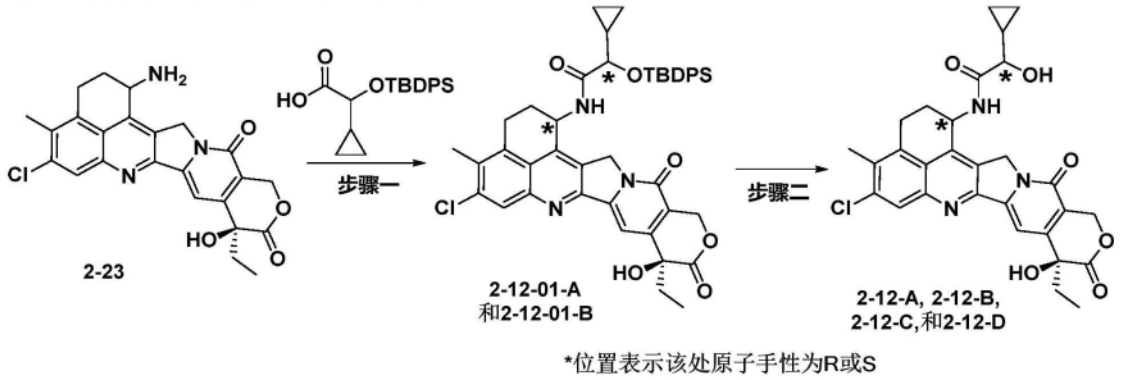
[0678] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.38(d,J=8.8Hz,1H),8.15(s,1H),7.31(s,1H),6.55(s,1H),5.56-5.47(m,2H),5.42(s,2H),5.26-5.11(m,2H),4.17-4.06(m,1H),3.27-3.10(m,2H),2.52(s,3H),2.27-2.08(m,2H),1.86(tt,J=14.1,7.3Hz,2H),1.30(d,J=6.7Hz,3H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).

[0679] ESI-MS(m/z):524.2[M+H]$^+$.

[0680] 2-7-B结构表征数据如下:

[0681] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.48(d,J＝9.1Hz,1H),8.12(s,1H),7.30(s,1H),6.54(s,1H),5.67(d,J＝4.8Hz,1H),5.55(dd,J＝14.6,7.3Hz,1H),5.43(s,2H),5.24(d,J＝19.0Hz,1H),5.03(d,J＝19.0Hz,1H),4.21-4.08(m,1H),3.28 -3.08(m,2H),2.51(s,3H),2.16(d,J＝6.2Hz,2H),1.94-1.82(m,2H),1.42(d,J＝6.8Hz,3H),0.88(t,J＝7.3Hz,3H).ESI-MS(m/z):524.2[M+H]$^+$.

[0682] 实施例五(2S)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和(2S)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和(2R)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和(2R)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺

[0683] 

[0684] 步骤一:(2S)-2-((叔丁基二苯基硅)氧基)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基乙酰胺和(2S)-2-((叔丁基二苯基硅)氧基)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基乙酰胺和(2R)-2-((叔丁基二苯基硅)氧基)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基乙酰胺和(2R)-2-((叔丁基二苯基硅)氧基)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基乙酰胺的合成

[0685] 25℃下,将2-23的盐酸盐(30.00mg,61.43μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,依次加入2-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-2-环丙基乙酸(26.13mg,73.72μmol),HATU(35.01mg,92.14μmol)和N,N-二异丙基乙胺(23.82mg,184.29μmol),保持25℃反应1小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后向反应液中加入水,用二氯甲烷/甲醇(v/v＝10/1)萃取,有机相合并,经无水硫酸钠干燥后减压浓缩,粗品经制备薄层色谱纯化(二氯

甲烷:甲醇＝15:1)分离得到两组异构体,依据Rf值将两组异构体命名为2-12-01-A(8.00mg,Rf值为0.35)和2-12-01-B(10.00mg,Rf值为0.40)。

[0686] 步骤二:(2S)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和(2S)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和(2R)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺和(2R)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺合成

[0687] 25℃下,在两个反应瓶中分别将2-12-01-A(8.00mg,10.15μmol)和2-12-01-B(10.00mg,12.68μmol)溶于无水四氢呋喃(1mL)中,滴加入四丁基氟化铵(1M四氢呋喃溶液)/冰醋酸混合液(v/v＝13/1)(50μL),保持25℃反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后将反应液分别用制备高效液相色谱纯化,2-12-01-A为原料的反应分离出两个异构体产物,制备液分别冻干对应得到化合物2-12-A(0.77mg)、2-12-B(1.03mg);2-12-01-B为原料的反应分离出两个异构体产物,制备液分别冻干对应得到化合物2-12-C(2.50mg)、2-12-D(1.00mg)。2-12-A/2-12-B纯化条件如下:

[0688] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0689] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0690]

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

[0691]

2	20	80	28
18	80	20	28

[0692] 出峰保留时间为:2-12-A:10.0-11.0min,2-12-B:11.0-12.5min

[0693] 2-12-C/2-12-D纯化条件如下:

[0694] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0695] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0696]

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

[0697] 出峰保留时间为:2-12-C:10.6-11.4min,2-12-D:11.4-12.5min

[0698] 2-12-A结构表征数据如下:

[0699] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.38(d,J＝8.9Hz,1H),8.15(s,1H),7.30(s,1H),6.54(s,1H),5.63-5.53(m,1H),5.51(d,J＝5.1Hz,1H),5.42(s,2H),5.28(d,J＝19.2Hz,1H),5.16(d,J＝19.1Hz,1H),3.60(t,J＝5.6Hz,1H),3.28-3.11(m,2H),2.52(s,3H),2.22-2.10

(m,2H),1.86(tt,J＝14.1,7.3Hz,2H),1.23(d,J＝4.9Hz,1H),0.87(t,J＝7.2Hz,3H),0.56-0.36(m,4H).

[0700] ESI-MS(m/z):550.2[M+H]$^+$.

[0701] 2-12-B结构表征数据如下:

[0702] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.36(d,J＝8.7Hz,1H),8.16(s,1H),7.31(s,1H),6.55(s,1H),5.57-5.48(m,1H),5.42(s,2H),5.40(d,J＝5.4Hz,1H),5.26(d,J＝19.3Hz,1H),5.18(d,J＝19.0Hz,1H),3.65-3.60(m,1H),3.26-3.12(m,2H),2.52(s,3H),2.26-2.09(m,2H),1.86(tt,J＝14.1,7.2Hz,2H),1.19-1.08(m,1H),0.87(t,J＝7.3Hz,3H),0.51-0.27(m,4H).

[0703] ESI-MS(m/z):550.2[M+H]$^+$.

[0704] 2-12-C结构表征数据如下:

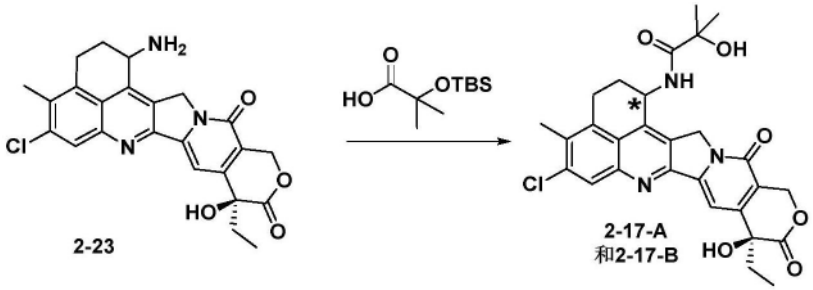
[0705] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.42(d,J＝9.0Hz,1H),8.15(s,1H),7.31(s,1H),6.54(s,1H),5.56(dd,J＝14.8,6.8Hz,1H),5.52(d,J＝5.2Hz,1H),5.42(s,2H),5.29(d,J＝19.2Hz,1H),5.16(d,J＝19.1Hz,1H),3.62-3.58(m,1H),3.27 -3.08(m,2H),2.51(s,3H),2.27-2.08(m,2H),1.87(tt,J＝14.0,7.2Hz,2H),1.25(dd,J＝13.2,6.8Hz,1H),0.87(t,J＝7.3Hz,3H),0.64-0.28(m,4H).

[0706] ESI-MS(m/z):550.1[M+H]$^+$.

[0707] 2-12-D结构表征数据如下:

[0708] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.38(d,J＝8.7Hz,1H),8.16(s,1H),7.31(s,1H),6.54(s,1H),5.59-5.49(m,1H),5.43(d,J＝5.3Hz,1H),5.43(s,2H),5.26(d,J＝19.1Hz,1H),5.17(d,J＝19.0Hz,1H),3.64(t,J＝5.8Hz,1H),3.17(dd,J＝15.6,8.3Hz,2H),2.27-2.07(m,2H),1.94-1.79(m,2H),1.19-1.06(m,1H),0.87(t,J＝7.3Hz,3H),0.49-0.28(m,4H).ESI-MS(m/z):550.1[M+H]$^+$.

[0709] 实施例六N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基-2-甲基丙胺和N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基-2-甲基丙胺

[0710] 

*位置表示该处原子手性为R或S

[0711] 25℃下,将2-23的盐酸盐(30.00mg,61.43μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,依次加入2-((叔丁基二甲基硅基)氧基)-2-甲基丙酸(16.10mg,73.72μmol),HATU(35.01mg,92.14μmol)和N,N-二异丙基乙胺(23.82mg,184.29μmol),保持25℃反应1小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后将反应液浓缩,粗品经制备高效液相色谱

纯化分离得到两个异构体,制备液分别冻干,依据出峰保留时间将两个异构体命名为2-17-A(2.65mg)和2-17-B(2.69mg)。

[0712] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0713] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0714]

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

[0715] 出峰保留时间为:2-17-A:9.5-10.2min和2-17-B:10.4-10.6min。

[0716] 2-17-A结构表征数据如下:

[0717] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.36(d,J=9.1Hz,1H),8.13(s,1H),7.30(s,1H),6.54(s,1H),5.55-5.45(m,2H),5.42(s,2H),5.28(d,J=19.0Hz,1H),5.05(d,J=19.0Hz,1H),3.27-3.11(m,2H),2.51(s,1H),2.24-2.10(m,2H),1.86(tt,J=14.0,7.2Hz,2H),1.46(s,3H),1.35(s,3H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).

[0718] MS m/z(ESI):538.2[M+H]$^+$.

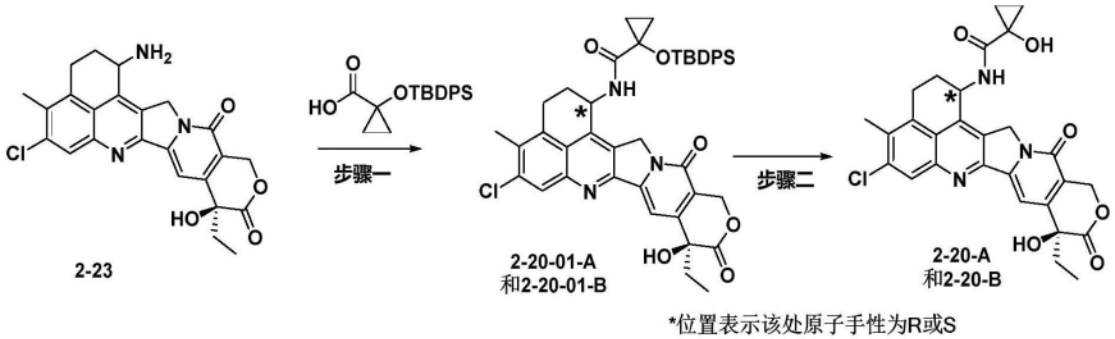
[0719] 2-17-B结构表征数据如下:

[0720] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.40(d,J=9.2Hz,1H),8.13(s,1H),7.30(s,1H),6.53(s,1H),5.60-5.46(m,2H),5.42(s,2H),5.29(d,J=19.0Hz,1H),5.02(d,J=19.0Hz,1H),3.28-3.08(m,2H),2.50(s,3H),2.22-2.10(m,2H),1.87(tt,J=14.2,7.2Hz,2H),1.47(s,3H),1.35(s,3H),0.88(t,J=7.3Hz,3H).

[0721] MS m/z(ESI):538.2[M+H]$^+$.

[0722] 实施例七N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-甲酰胺和N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-甲酰胺

[0723]



[0724] 步骤一:1-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)环丙烷-1-甲酰胺和1-((叔丁基二苯基硅基)氧基)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)环丙烷-1-甲酰胺的合成

[0725] 25℃下,将2-23的盐酸盐(30.00mg,61.43umol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,依次加入1-((叔丁基二苯基硅基)氧基)环丙烷-1-羧酸(25.10mg,73.72umol),HATU(35.01mg,92.14umol)和N,N-二异丙基乙胺(23.82mg,184.29μmol),保持25℃反应1小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后向反应液中加入水,用二氯甲烷/甲醇(v/v=10/1)萃取,有机相合并,经无水硫酸钠干燥后减压浓缩,粗品经制备薄层色谱纯化(二氯甲烷:甲醇=15:1)分离得到两个异构体,依据Rf值将两个异构体命名为2-20-01-A(4.00mg,Rf值为0.30)和2-20-01-B(4.00mg,Rf值为0.35)。

[0726] 步骤二:N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-甲酰胺和N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-甲酰胺的合成

[0727] 25℃下,在两个反应瓶中分别将2-20-01-A(4.00mg,5.17μmol)和2-20-01-B(4.00mg,5.17μmol)溶于无水四氢呋喃(1mL)中,滴加入四丁基氟化铵(1M四氢呋喃溶液)/冰醋酸混合液(v/v=13/1)(50μL),保持25℃反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应完成后将反应液分别用制备高效液相色谱纯化,制备液分别冻干对应得到标题化合物2-20-A(0.71mg)和2-20-B(1.05mg)。

[0728] 2-20-A纯化条件如下:

[0729] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0730] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0731]

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

[0732] 2-20-B纯化条件如下:

[0733] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0734] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0735]

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

[0736] 2-20-A结构表征数据如下:

[0737] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.58(d,J=9.0Hz,1H),8.15(s,1H),7.31(s,1H),6.55(s,1H),6.30(s,1H),5.55(dd,J=13.2,8.2Hz,1H),5.43(s,2H),5.26(d,J=19.0Hz,1H),5.10(d,J=19.0Hz,1H),3.29-3.09(m,2H),2.52(s,3H),2.31-2.15(m,2H),1.93-1.80(m,2H),1.25-1.14(m,2H),0.98-0.90(m,2H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).

[0738] ESI-MS(m/z):536.2[M+H]$^+$.

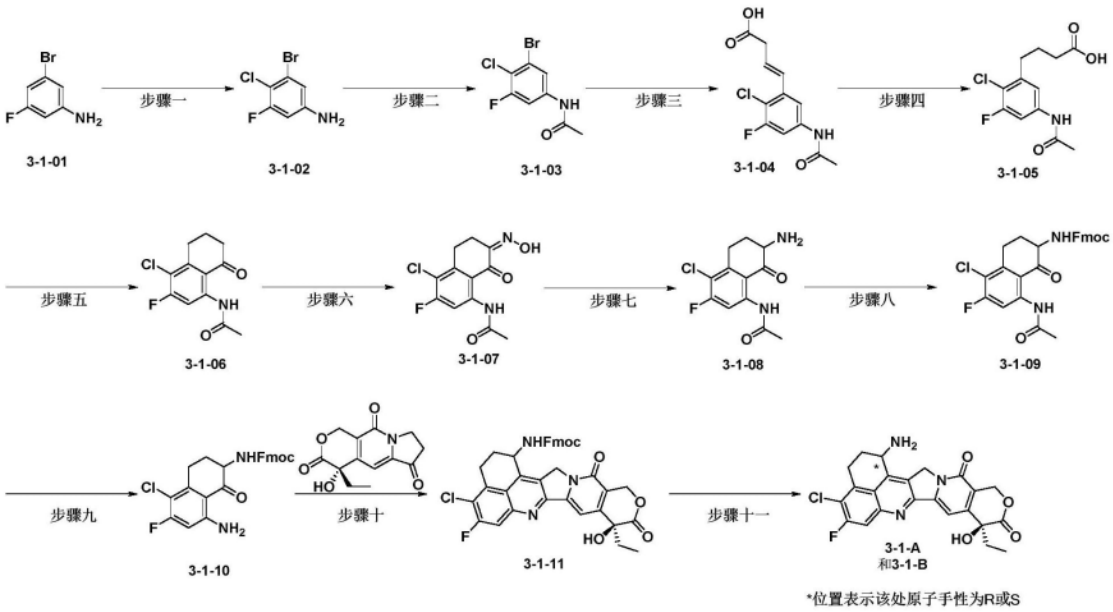
[0739] 2-20-B结构表征数据如下:

[0740] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.63(d,J=9.0Hz,1H),8.15(s,1H),7.31(s,1H),6.54(s,1H),6.35(s,1H),5.55(dd,J=13.5,8.6Hz,1H),5.43(s,2H),5.29(d,J=19.1Hz,1H),

5.08(d,J＝19.1Hz,1H),3.28-3.10(m,2H),2.51(s,3H),2.30-2.14(m,2H),1.93-1.81(m,2H),1.26-1.14(m,2H),1.02-0.90(m,2H),0.89(d,J＝10.9Hz,3H).

[0741] ESI-MS(m/z):536.2[M+H]$^+$.

[0742] 实施例八(1S,9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮

[0743] 

[0744] 步骤一:3-溴-4-氯-5-氟苯胺的合成

[0745] 将化合物3-1-01(2.00g,10.53mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(30mL)中,然后缓慢加入N-氯代丁二酰亚胺(1.69g,12.63mmol),加毕,室温反应16小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液经减压浓缩得粗品,粗品经快硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚＝0-25%)得标题化合物0.95g。

[0746] 结构表征数据如下:

[0747] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ6.77(dd,J＝2.5,1.4Hz,1H),6.51(dd,J＝11.7,2.5Hz,1H),5.84(s,2H).

[0748] 步骤二:N-(3-溴-4-氯-5-氟苯基)乙酰胺的合成

[0749] 将化合物3-1-02(0.95g,4.23mmol)溶于乙酸乙酯(20mL)中,氮气保护下加入乙酸酐(648.13mg,6.35mmol),加毕,升温至50℃反应15小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液用甲醇(5mL)淬灭后,直接经减压蒸干得粗品,粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚＝0-40%)得标题化合物1.01g。

[0750] 结构表征数据如下:

[0751] ESI-MS(m/z):265.9[M+H]$^+$.

[0752] 步骤三:(E)-4-(5-乙酰氨基-2-氯-3-氟苯基)-3-丁烯酸的合成

[0753] 将化合物3-1-03和3-丁烯酸(387.65mg,4.50mmol)溶于1,4二氧六环(24mL)和水(8mL)的混合溶剂中,然后加入N,N-二异丙基乙胺(1.45g,11.26mmol),三(邻甲基苯基)磷(114.21mg,375.24μmol)和醋酸钯(42.12mg,187.62μmol),加毕,反应体系用氮气置换三

次,并在氮气氛围下升温至100℃反应16小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液冷却至室温后,加入1N的氢氧化钠水溶液(60mL)和乙酸乙酯(50mL)振荡分层。分出下层水相后,用4mol/L盐酸水溶液调节pH至3左右,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液经减压蒸干,得到标题化合物的粗品1.00g。

[0754] 结构表征数据如下:

[0755] ESI-MS(m/z):272.0[M+H]$^+$.

[0756] 步骤四:4-(5-乙酰氨基-2-氯-3-氟苯基)丁酸的合成

[0757] 将化合物3-1-04的粗品(1.00g,3.68mmol)溶于四氢呋喃(15mL),然后加入10%钯碳(0.10g),加毕,然后用氢气球置换反应体系三次,并在氢气氛围下反应4小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液过滤,滤液减压浓缩干,得标题化合物的粗品1.00g。

[0758] 结构表征数据如下:

[0759] ESI-MS(m/z):274.0[M+H]$^+$.

[0760] 步骤五:N-(4-氯-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0761] 将化合物3-1-05的粗品(1.00g,3.65mmol)溶于三氟乙酸(5mL)中,降温至5℃后,缓慢加入三氟乙酸酐(3.84g,18.27mmol,2.54mL),加毕,保持5℃反应2小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液缓慢倒入水中,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,然后过滤,滤液经减压蒸干得粗品,粗品经快速硅胶柱纯化,得标题化合物0.43g。

[0762] 结构表征数据如下:

[0763] ESI-MS(m/z):256.1[M+H]$^+$.

[0764] 步骤六:N-(4-氯-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0765] 将四氢呋喃(16mL)和叔丁醇(4mL)加入反应液瓶中,冰浴降温至5℃后,加入叔丁醇钾(415.18mg,3.70mmol),然后将化合物3-1-06(0.43mg,1.68mmol)溶于四氢呋喃(1mL)中,并缓慢滴加入反应液,10分钟后再加入亚硝酸异戊酯(315.24mg,2.69mmol),加毕,保持5℃反应1小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液用饱和氯化铵水溶液淬灭后,用乙酸乙酯萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,然后过滤,滤液经减压浓缩,得标题化合物的粗品455.00mg。

[0766] 结构表征数据如下:

[0767] ESI-MS(m/z):285.0[M+H]$^+$.

[0768] 步骤七:N-(7-氨基-4-氯-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0769] 将化合物3-1-07的粗品(0.40g,1.41mmol)溶于甲醇(10mL)中,然后加入3mol/L的盐酸水溶液(1mL)和10%钯碳(40.00mg),加毕,用氢气球置换反应体系三次,并在氢气氛围下室温反应1小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液过滤,滤液经减压浓缩干,得标题化合物的盐酸盐粗品0.43g。

[0770] 结构表征数据如下:

[0771] ESI-MS(m/z):271.0[M+H]$^+$.

[0772] 步骤八:(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰胺-5-氯-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

[0773] 将化合物3-1-08的盐酸盐粗品(0.43g,1.19mmol)溶于1,4-二氧六环(15mL)中,然后加入碳酸氢钠(400.35mg,4.77mmol)、水(5mL)和9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(481.81mg,1.43mmol),加毕,室温下搅拌反应2小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液倒入水中,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液经减压浓缩得粗品。粗品经C18反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水=20%-100%),得标题化合物301.00mg。

[0774] 结构表征数据如下:

[0775] ESI-MS(m/z):493.2[M+H]$^+$.

[0776] 步骤九:(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-5-氯-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

[0777] 将化合物3-1-09(300.00mg,608.61μmol)溶于二氧六环(5mL)中,加入12mol/L的浓盐酸(1mL),加毕,升温至60℃反应2小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液倒入水中,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液经减压浓缩得粗品。粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-50%),得标题化合物198.00mg。

[0778] 结构表征数据如下:

[0779] ESI-MS(m/z):451.1[M+H]$^+$.

[0780] 步骤十:(9H-芴-9-基)甲基((9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯的合成

[0781] 将(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10(4H)-三酮(138.72mg,526.96μmol)和化合物3-1-10(198.00mg,439.13μmol)加入甲苯(10mL)中,然后再加入对甲苯磺酸(75.53mg,439.13μmol),加毕,升温至140℃反应4小时,反应液直接140℃下减压蒸干得粗品,粗品经快速硅胶柱纯化(甲醇:二氯甲烷=0-5%),得标题化合物256.00mg。

[0782] 结构表征数据如下:

[0783] ESI-MS(m/z):678.1[M+H]$^+$.

[0784] 步骤十一:(1S,9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

[0785] 将化合物3-1-11(201.18mg,296.67μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中,然后加入二乙胺(108.49mg,1.48mmol),加毕,室温反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液经减压蒸出乙二胺后,用1mol/L盐酸水溶液调pH至2-3后,反应液直接用制备高效液相色谱纯化,得标题化合物3-1-A(44.00mg),3-1-B(43.00mg)。

[0786] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0787] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0788]

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

3	10	90	28
18	70	30	28

[0789] 3-1-A(6min LCMS出峰靠前,保留时间:1.276min)

[0790] 结构表征数据如下:

[0791] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.00(d,J=10.3Hz,1H),7.33(s,1H),6.54(s,1H),5.62(d,J=19.3Hz,1H),5.44(s,2H),5.38(d,J=19.3Hz,1H),4.43-4.38(m,1H),3.28-3.10(m,2H),2.22-2.12(m,1H),2.12-2.02(m,1H),1.93-1.80(m,2H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).ESI-MS(m/z):456.1[M+H]$^+$.

[0792] 3-1-B(6min LCMS出峰靠后,保留时间:1.300min)结构表征数据如下:

[0793] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.98(d,J=10.3Hz,1H),7.32(s,1H),5.61(d,J=19.4Hz,1H),5.44(s,2H),5.32(d,J=19.4Hz,1H),4.44-4.36(m,1H),3.33-3.25(m,1H),3.22-3.11(m,1H),2.23-2.13(m,1H),2.11-2.03(m,1H),1.96 -1.82(m,2H),0.89(t,J=7.3Hz,3H).

[0794] ESI-MS(m/z):456.1[M+H]$^+$.

[0795] 6min LCMS条件:

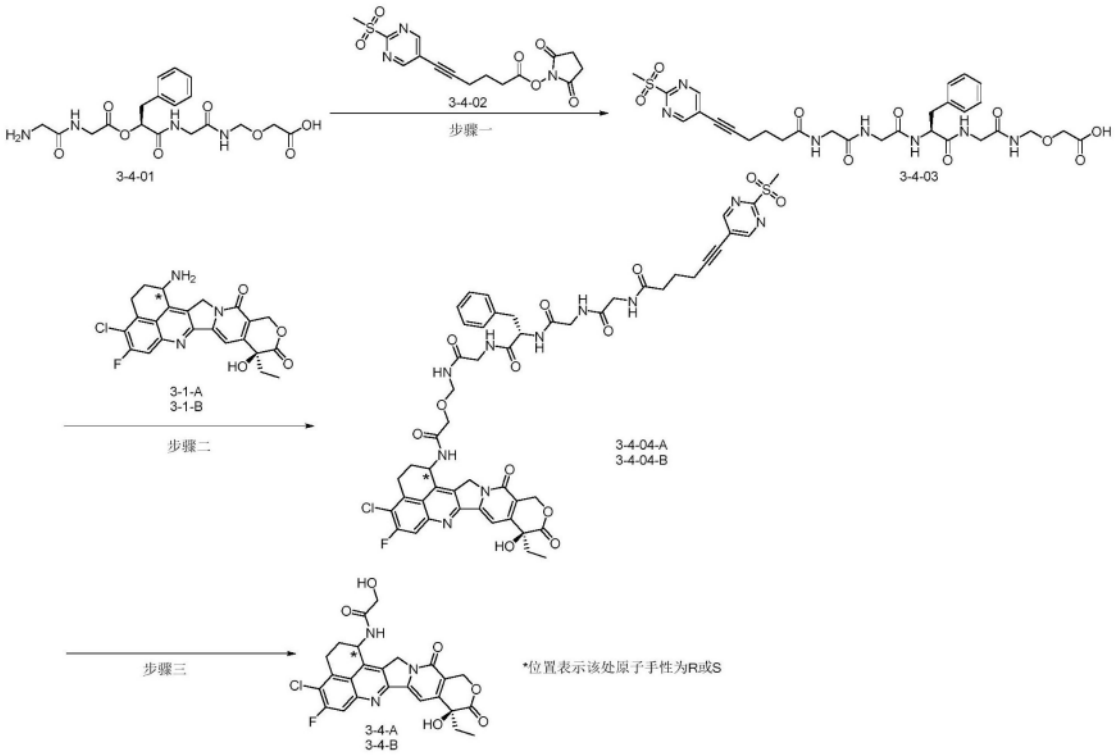
[0796] 色谱柱:Waters SunFire C18 OBD 4.6mm×50mm×5.0μm

[0797] 流动相A:0.05%乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0798]

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

[0799] 实施例九N-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺和N-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺

[0800] 

[0801] 步骤一:(S)-10-苄基-23-(2-(甲磺酸基)嘧啶-5-基)-6,9,12,15,18-五氧代-3-氧代-5,8,11,14,17-五氮杂十八烷-22-炔羧酸的合成

[0802] 将化合物3-4-01(30.00mg,70.00μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,加入2,5-二氧吡咯烷-1-基6-(2-(甲磺酸)嘧啶-5-基)己基-5-炔酰胺(28.00mg,77.00μmol),室温反应1小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应。反应液直接用制备高效液相色谱纯化,制备液冷冻干燥得标题化合物3-4-03(20.00mg)。

[0803] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0804] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0805]

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

[0806] 结构表征数据如下:

[0807] ESI-MS(m/z):691.0[M+18]$^+$.

[0808] 步骤二:N-((S)-10-苄基-1-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧杂-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己基-5-酰胺和N-((S)-10-苄基-1-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧杂-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己基-5-酰胺的合成

[0809] 将单一构型的化合物3-1-A(36.00mg,79.70μmol)和化合物3-4-03(64.43mg,95.64μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中,然后加入4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲

基吗啉盐酸盐(46.98mg,159.40μmol)和三乙胺(24.19mg,239.10μmol),加毕,室温反应1小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经高效液相色谱纯化,得到单一构型的标题化合物3-4-04-A(51.00mg)。

[0810] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0811] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0812]

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

[0813] 结构表征数据如下:

[0814] ESI-MS(m/z):1111.0[M+H]$^+$.

[0815] 将单一构型的化合物3-1-B(36.00mg,79.70μmol)和化合物3-4-03(64.43mg,95.64μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中,然后加入4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基吗啉盐酸盐(46.98mg,159.40μmol)和三乙胺(24.19mg,239.10μmol),加毕,室温反应1小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经高效液相色谱纯化,得到单一构型的标题化合物3-4-04-B(52.00mg)。

[0816] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0817] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0818]

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

[0819] 结构表征数据如下:

[0820] ESI-MS(m/z):1111.0[M+H]$^+$.

[0821] 步骤三:N-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺和N-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺的合成

[0822] 称取化合物3-4-04-A(40.00mg,35.99μmol)溶于二氯甲烷(2mL)和甲醇(1mL)的混合溶剂中,然后加入4mol/L盐酸乙酸乙酯(1mL),加毕,室温反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经减压浓缩干得粗品,粗品经高效液相色谱纯化,得单一构型的标题化合物3-4-A(4.75mg)。

[0823] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0824] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0825]

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

[0826] 结构表征数据如下：

[0827] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.50(d,J＝8.9Hz,1H),8.05(d,J＝10.3Hz,1H),7.33(s,1H),6.55(s,1H),5.67-5.60(m,1H),5.49(t,J＝5.8Hz,1H),5.43(s,2H),5.21(s,2H),3.96(d,J＝5.8Hz,2H),3.32-3.22(m,2H),2.28-2.15(m,2H),1.93-1.80(m,2H),0.87(t,J＝7.3Hz,3H).

[0828] ESI-MS(m/z):514.0[M+H]$^+$.

[0829] 称取化合物3-4-04-B(40.00mg,35.99μmol)溶于二氯甲烷(2mL)和甲醇(1mL)的混合溶剂中,然后加入4mol/L盐酸乙酸乙酯(1mL),加毕,室温反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经减压浓缩干得粗品,粗品经高效液相色谱纯化,得单一构型的标题化合物3-4-B(8.24mg)。

[0830] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0831] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05％甲酸)

[0832]

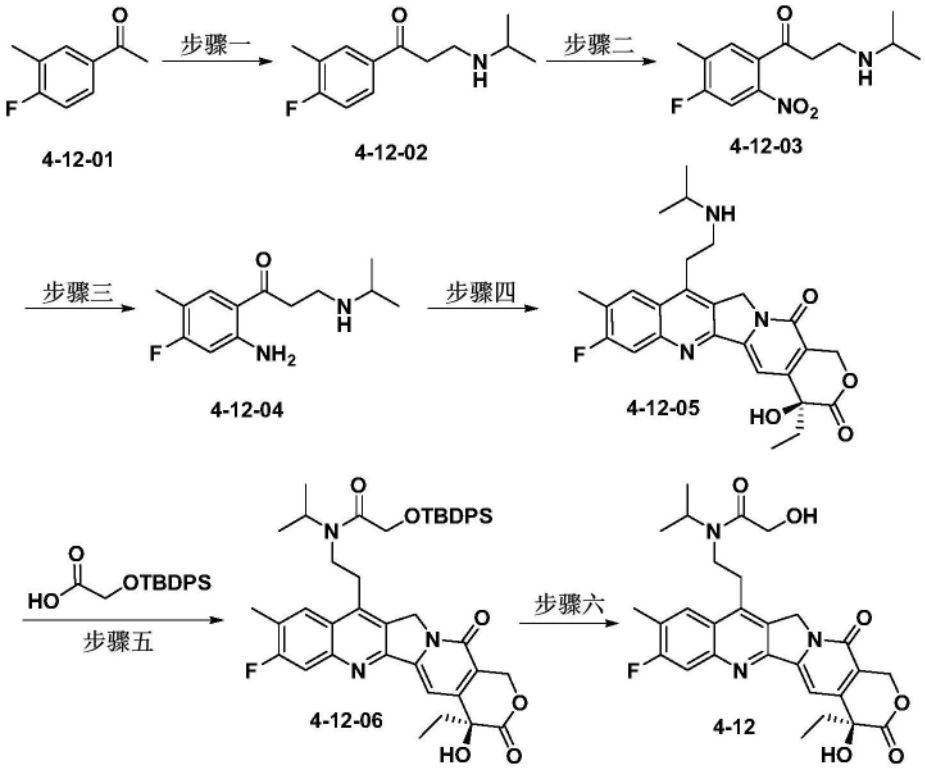
时间[min]	流动相A[％]	流动相B[％]	流速[mL/min]
0	15	85	28
3	15	85	28
18	90	10	28

[0833] 结构表征数据如下：

[0834] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.52(d,J＝9.0Hz,1H),8.05(d,J＝10.3Hz,1H),7.34(s,1H),6.55(s,1H),5.68-5.58(m,1H),5.53(t,J＝5.8Hz,1H),5.43(d,J＝2.9Hz,2H),5.20(d,J＝7.3Hz,2H),3.97(d,J＝5.7Hz,2H),3.31-3.21(m,2H),2.26-2.15(m,2H),1.92-1.82(m,2H),0.87(t,J＝7.3Hz,3H).

[0835] ESI-MS(m/z):514.0[M+H]$^+$.

[0836] 实施例十(S)-N-(2-(4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲基-3,14-二氧代-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-11-基)乙基)-2-羟基-N-异丙基乙酰胺

[0837] 

[0838] 步骤一:1-(4-氟-3-甲基苯基)-3-(异丙胺基)丙烷-1-酮的合成

[0839] 20℃下,将化合物4-12-01(500.00mg,3.29mmol)、甲醛水溶液(2.5mL,37%)和异丙胺(388.46mg,6.57mmol)于异丙醇(5mL)中,0℃下滴加浓盐酸(2.5mL),反应液100℃下搅拌16小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液经减压浓缩得粗品,粗品经制备高效液相色谱纯化,制备液冷冻干燥,得标题化合物200.00mg。

[0840] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0841] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0842]

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

[0843] 结构表征数据如下:

[0844] ESI-MS(m/z):224.1$[M+H]^+$.

[0845] 步骤二:1-(4-氟-5-甲基-2-硝基苯基)-3-(异丙胺基)丙烷-1-酮的合成

[0846] 0℃下,将化合物4-12-02(100.00mg,0.49mmol)于浓硫酸(0.5mL)中,加硝酸钾(54.34mg,0.54mmol),反应液保持0℃反应1小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液倒入冰水中,经反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水=0-30%)得到标题化合物90.00mg。

[0847] 结构表征数据如下:

[0848] ESI-MS(m/z):269.0$[M+H]^+$.

[0849] 步骤三:1-(2-氨基-4-氟-5-甲基苯基)-3-(异丙胺基)丙烷-1-酮的合成

[0850] 25℃下,将化合物4-12-03(200.00mg,0.75mmol)于甲醇(20.0mL)中,加10%钯碳(10.00mg),反应液氢气置换,并于氢气环境中保持20℃反应16小时,用高效液相质谱联用

色谱检测反应。将反应液过滤,经减压浓缩,得标题化合物183.00mg。

[0851] 结构表征数据如下:

[0852] ESI-MS(m/z):239.1[M+H]$^+$.

[0853] 步骤四:(S)-4-乙基-8-氟-4-羟基-11-(2-(异丙胺基)乙基)-9-甲基-1,12-二氢-14H-吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-3,14(4H)-二酮的合成

[0854] 25℃下,将化合物4-12-04(50.00mg,0.21mmol)和(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10(4H)-三酮(55.23mg,0.21mmol)于甲苯(3mL)中,加对甲苯磺酸(3.61mg,0.02mmol),反应液130℃反应4小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液经减压浓缩,粗品用制备高效液相色谱纯化,制备液冷冻干燥,得标题化合物的三氟乙酸盐2.00mg。

[0855] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0856] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%三氟乙酸)

[0857]

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

[0858] 结构表征数据如下:

[0859] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.58(s,2H),8.22(d,J=8.1Hz,1H),7.97(d,J=10.7Hz,1H),7.35(s,1H),6.59(s,1H),5.47(s,2H),5.41(s,2H),3.58-3.45(m,3H),3.31-3.23(m,2H),2.56(s,3H),1.98-1.80(m,2H),1.26(d,J=6.3Hz,6H),0.89(t,J=7.3Hz,3H).

[0860] ESI-MS(m/z):466.2[M+H]$^+$

[0861] 步骤五:(S)-2-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-N-(2-(4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲基-3,14-二氧代-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-11-基)乙基)-N-异丙基乙酰胺的合成

[0862] 将化合物4-12-05(22.00mg,47.26μmol)和2-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)乙酸(16.35mg,51.99μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,然后加入HATU(21.55mg,56.71μmol)和N,N-二异丙基乙胺(18.32mg,141.78μmol),加毕,室温反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经C18反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水溶液=30%-100%),得标题化合物18.00mg。

[0863] 结构表征数据如下:

[0864] ESI-MS(m/z):762.3[M+H]$^+$.

[0865] 步骤六:(S)-N-(2-(4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲基-3,14-二氧代-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-11-基)乙基)-2-羟基-N-异丙基乙酰胺的合成

[0866] 将化合物4-12-06(18.00mg,23.62μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,然后加入氟化钾(6.86mg,118.12μmol),加毕升温至50℃反应1小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经高效液相色谱纯化得标题化合物1.53mg。

[0867] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0868] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0869]

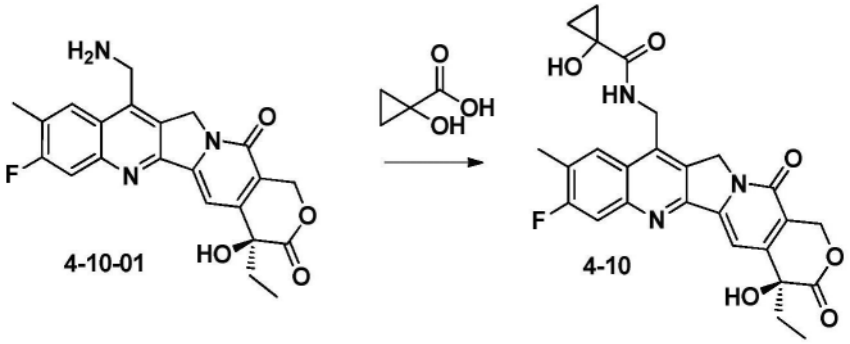
时间[min]	流动相A[%]	流动相B[%]	流速[mL/min]
0.00	15	85	28
18.00	90	10	28

[0870] 结构表征数据如下:

[0871] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.53(d,J=8.2Hz,1H),7.91(d,J=10.8Hz,1H),7.32(s,1H),6.55(s,1H),5.44(d,J=13.8Hz,4H),4.72(t,J=5.5Hz,1H),4.21(d,J=5.5Hz,2H),3.99-3.90(m,1H),3.54-3.38(m,4H),2.54(s,3H),1.92-1.83(m,2H),1.17(dd,J=6.6,3.1Hz,6H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).

[0872] ESI-MS(m/z):524.2[M+H]$^+$.

[0873] 实施例十一(S)-N-((4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲基-3,14-二氧基-3,4,12,14-四氢-1H-吡喃[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-11-基)甲基)-1-羟基环丙烷甲酰胺

[0874] 

[0875] 将原料(S)-11-(氨基甲基)-4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲基-1H-吡喃[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-3,14(4H,12H)-二酮(4-10-01,参照专利WO2020219287合成方法制备,30.00mg,67.00μmol),1-羟基环丙烷羧酸(7.56mg,0.074mmol)溶于DMF(1mL),搅拌下加入HBTU(34.30mg,0.14mmol)和二异丙基乙胺(26.09mg,0.20mmol),室温反应4小时。加水和乙酸乙酯搅拌,静置分液,有机相用饱和食盐水洗涤后减压浓缩。浓缩物经制备薄层色谱纯化(二氯甲烷:甲醇=20:1),再用制备高效液相色谱纯化得固体1.20mg。

[0876] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0877] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0878]

时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0.00	20	80	28
2.00	20	80	28

[0879]

18.00	80	20	28

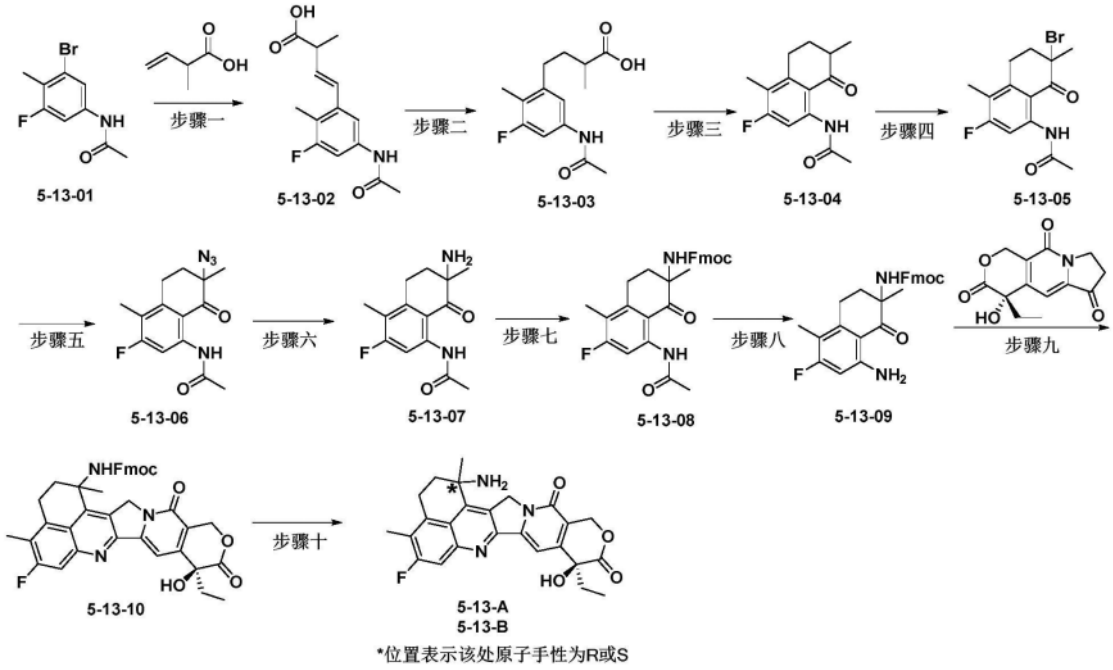
[0880] 结构表征数据如下:

[0881] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.96(t,J=6.0Hz,1H),8.51(d,J=8.0Hz,1H),7.90(d,J=10.8Hz,1H),7.31(s,1H),6.53(s,1H),6.30(s,2H),6.30(s,1H),5.52(s,2H),5.44(s,2H),4.84(d,J=6.0Hz,2H),2.51(s,3H),1.91-1.81(m,2H),1.01(dd,J=7.2,4.1Hz,2H),0.87(t,J=7.3Hz,3H),0.83(t,J=3.6Hz,2H).

[0882] ESI-MS(m/z):494.1[M+1]$^+$.

[0883] 实施例十二(1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮

[0884]



[0885] 步骤一:(E)-4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲基苯基)-2-甲基-3-丁烯酸的合成

[0886] 称取N-(3-溴-5-氟-4-甲基苯基)乙酰胺(2.00g,8.13mmol)和2-甲基-3-丁烯酸(976.44mg,9.75mmol)溶于1,4-二氧六环(15mL)和水(5mL)的混合溶剂中,然后加入三(邻甲苯基)膦(247.37mg,812.76μmol)、醋酸钯(91.24mg,406.38μmol)和N,N-二异丙基乙胺(2.31g,17.88mmol),加毕,氮气置换反应体系三次,并在氮气氛围下升温至80℃反应3小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液冷却至室温后,加入1mol/L氢氧化钠水溶液(60mL)和乙酸乙酯(50mL)振荡分层。分出下层水相后,用4mol/L盐酸水溶液调节pH至3左右,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液经减压浓缩得标题化合物1.90g。

[0887] 结构表征数据如下:

[0888] ESI-MS(m/z):266.1[M+H]$^+$.

[0889] 步骤二:4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲基苯基)-2-甲基丁酸的合成

[0890] 将(E)-4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲基苯基)-2-甲基-3-丁烯酸(1.90g,7.16mmol)溶于甲醇(40mL)中,氮气保护下加入10%钯碳(0.15g),然后用氢气球置换反应体系三次,并在氢气氛围下反应2小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液过滤,滤液经减压浓缩干得标题化合物1.51g。

[0891] 结构表征数据如下:

[0892] ESI-MS(m/z):268.1[M+H]$^+$.

[0893] 步骤三:N-(3-氟-4,7-二甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0894] 称取4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲基苯基)-2-甲基丁酸(1.50g,5.61mmol)溶于三氟乙酸(20mL)中,降温至5℃后滴加入三氟乙酸酐(2.36g,11.22mmol),加毕,保持5℃反应2小

时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液缓慢倒入饱和碳酸氢钠水溶液中中,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液经减压蒸干得粗品,粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-30%)得标题化合物1.05g。

[0895] 结构表征数据如下:

[0896] ESI-MS(m/z):250.1[M+H]$^+$.

[0897] 步骤四:N-(7-溴-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0898] 称取N-(3-氟-4,7-二甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(0.55g,2.21mmol)溶于醋酸(8mL)中,然后加入溴素(387.85mg,2.43mmol),加毕,升温至50℃反应15小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经减压蒸干得粗品,粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-30%)得标题化合物461.00mg。

[0899] 结构表征数据如下:

[0900] ESI-MS(m/z):328.0[M+H]$^+$.

[0901] 步骤五:N-(7-叠氮基-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0902] 称取N-(7-溴-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(460.00mg,1.40mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(10mL)中,然后加入叠氮化钠(273.37mg,4.21mmol),加毕,室温反应1小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液缓慢倒入水中,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液经减压蒸干得粗品,粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-50%),得标题化合物347.00mg。

[0903] 结构表征数据如下:

[0904] ESI-MS(m/z):291.1[M+H]$^+$.

[0905] 步骤六:N-(7-氨基-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0906] 称取N-(7-叠氮基-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(347.00mg,1.20mmol)溶于四氢呋喃(10mL)中,氮气保护下加入10%钯碳(30.00mg),然后用氢气球置换反应体系三次,并在氢气氛围下反应2小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液过滤,滤液经减压浓缩干得粗品,粗品经C18反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水溶液=0%-30%)得标题化合物205.00mg。

[0907] 结构表征数据如下:

[0908] ESI-MS(m/z):265.1[M+H]$^+$.

[0909] 步骤七:(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰氨基-6-氟-2,5-二甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

[0910] 称取N-(7-氨基-3-氟-4,7-二甲基-8-氧代5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(200.00mg,756.73μmol)溶于1,4-二氧六环(6mL)和水(3mL)的混合溶剂中,然后加入碳酸氢钠(254.28mg,3.03mmol)和9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(650.55mg,1.14mmol),加毕,室温下搅拌反应2小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液缓慢倒入水中,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液经减压蒸干得粗品,粗品经C18反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水溶液=20%-80%)得标题

化合物301.00mg。

[0911] 结构表征数据如下：

[0912] ESI-MS(m/z):487.0[M+H]$^+$.

[0913] 步骤八：(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-6-氟-2,5-二甲基-1-氧代1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

[0914] 将(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰氨基-6-氟-2,5-二甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯(101.00mg,207.59μmol)溶于1,4-二氧六环(5mL)中,然后加入3mol/L盐酸水溶液(5mL),加毕,升温至50℃反应15小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液缓慢倒入饱和碳酸氢钠水溶液中,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液经减压蒸干得粗品,粗品经快速硅胶柱纯化(甲醇:二氯甲烷=0%-5%)得标题化合物71.00mg。

[0915] 结构表征数据如下：

[0916] ESI-MS(m/z):445.2[M+H]$^+$.

[0917] 步骤九：(9H-芴-9-基)甲基((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯的合成

[0918] 将(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-6-氟-2,5-二甲基-1-氧代1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯(35.00mg,132.96μmol)和(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10(4H)-三酮(49.25mg,110.80μmol)加入甲苯(3mL)中,然后加入对甲苯磺酸(19.08mg,110.80μmol),加毕,升温至140℃反应4小时,反应液直接140℃下经减压蒸干得粗品。粗品经C18反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水溶液=20%-80%)得标题化合物21.00mg。

[0919] 结构表征数据如下：

[0920] ESI-MS(m/z):672.2[M+H]$^+$.

[0921] 步骤十：(1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

[0922] 将(9H-芴-9-基)甲基((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯(21.00mg,31.26μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,然后加入二乙胺(0.2mL),加毕,室温反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液经减压蒸出乙二胺后,用1mol/L盐酸水溶液调节pH至2-3后,反应液直接用制备高效液相色谱纯化,得两个异构体5-13-A(1.30mg)和5-13-B(1.68mg)。

[0923] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0924] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0925]

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

18.00	90	10	28

[0926] 5-13-A(6min LCMS出峰靠前,保留时间:1.373min)结构表征数据如下:

[0927] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.88(d,J=10.6Hz,1H),7.36(s,1H),6.58(s,1H),5.60(d,J=3.5Hz,2H),5.46(d,J=2.5Hz,2H),3.25-3.17(m,2H),2.41(s,3H),2.38-2.28(m,2H),1.91-1.84(m,2H),1.79(s,3H),0.88(t,J=7.3Hz,3H).

[0928] ESI-MS(m/z):450.2[M+H]$^+$.

[0929] 5-13-B(6min LCMS出峰靠后,保留时间:1.523min)结构表征数据如下:

[0930] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.76(d,J=10.8Hz,1H),7.30(s,1H),6.52(s,1H),5.73(d,J=19.8Hz,1H),5.50-5.40(m,3H),3.26-3.17(m,1H),3.08-2.96(m,1H),2.38(s,3H),2.19-2.11(m,1H),2.04(td,J=13.0,5.1Hz,1H),1.91-1.79(m,2H),1.34(s,3H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).

[0931] ESI-MS(m/z):450.2[M+H]$^+$.

[0932] 6min LCMS条件:

[0933] 色谱柱:Waters SunFire C18 OBD 4.6mm×50mm×5.0μm

[0934] 流动相A:0.05%乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0935]

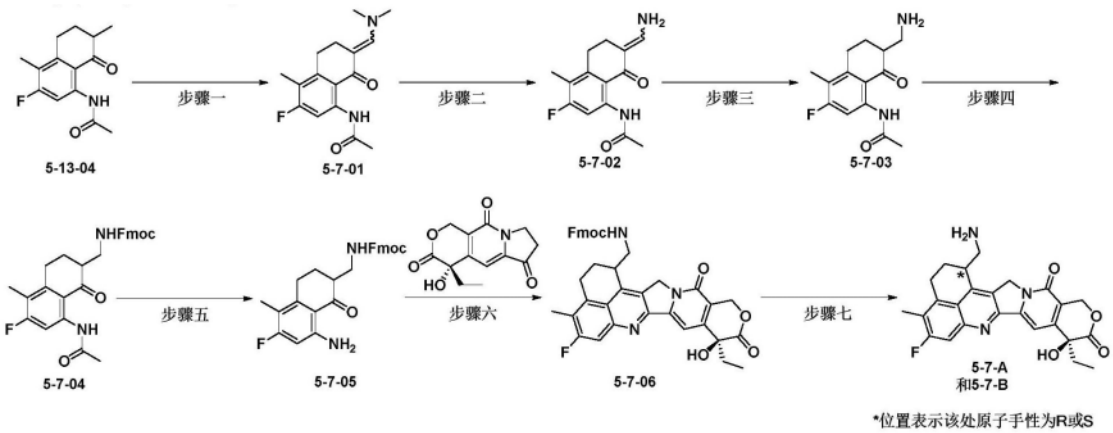
时间[min]	流动相 A [%]	流动相 B [%]	流速[mL/min]
0	90	10	2

[0936]

4.2	10	90	2
5.7	10	90	2
5.71	90	10	2
6.70	90	10	2

[0937] 实施例十三(1S,9S)-1-(氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-(氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮

[0938]



[0939] 步骤一:N-(7-((二甲氨基)亚甲基)-3-氟-4-甲基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0940] 将化合物5-13-04(1.00g,4.25mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛(10mL)

中,然后升温至120℃反应3小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液冷却至室温后,直接经减压蒸干得粗品,粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=20%-100%)得标题化合物891.00mg。

[0941] 结构表征数据如下:

[0942] ESI-MS(m/z):291.1[M+H]$^+$.

[0943] 步骤二:N-(7-(氨基亚甲基)-3-氟-4-甲基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0944] 将化合物5-7-01(0.89g,3.07mmol)溶于乙醇(25mL)中,然后加入乙酸铵(2.36g,30.65mmol),加毕,室温反应16小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液溶剂减压蒸干,然后加入二氯甲烷(30mL)和水(20mL)后,搅拌静置分出有机相,用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液经减压蒸干得标题化合物785.00mg。

[0945] 结构表征数据如下:

[0946] ESI-MS(m/z):263.1[M+H]$^+$.

[0947] 步骤三:N-(7-(氨基甲基)-3-氟-4-甲基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[0948] 将化合物5-7-02(0.80g,3.05mmol)溶于乙醇(200mL)中,然后加入10%钯碳(0.40mg)和浓盐酸(0.2mL),加毕,用氢气球置换反应体系三次,然后在氢气氛围下室温反应3小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液直接过滤,滤液经减压蒸干得标题化合物的盐酸盐905.00mg。

[0949] 结构表征数据如下:

[0950] ESI-MS(m/z):265.1[M+H]$^+$.

[0951] 步骤四:(9H-芴-9-基)甲基((8-乙酰胺-6-氟-5-甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)甲基)氨基甲酸酯的合成

[0952] 将化合物5-7-03的盐酸盐(0.90g,2.99mmol)溶于1,4-二氧六环(20mL)中,然后加入碳酸氢钠(1.01g,11.97mmol)、水(10mL)和9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(1.21g,3.59mmol),加毕,室温下搅拌反应1小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液倒入水中,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液经减压整干得粗品。粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-50%)得标题化合物1.30g。

[0953] 结构表征数据如下:

[0954] ESI-MS(m/z):487.1[M+H]$^+$.

[0955] 步骤五:(9H-芴-9-基)甲基((8-氨基-6-氟-5-甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)甲基)氨基甲酸酯的合成

[0956] 将化合物5-7-04(0.80g,1.64mmol)溶于1,4-二氧六环(20mL)中,氮气保护下加入3mol/L盐酸水溶液(20mL),加毕,升温至60℃反应15小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。将反应液缓慢倒入水中,然后用乙酸乙酯萃取,合并有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液经减压蒸干得粗品。粗品经快速硅胶柱纯化(乙酸乙酯:石油醚=0-40%)得标题化合物561.00mg。

[0957] 结构表征数据如下:

[0958] ESI-MS(m/z):445.1[M+H]$^+$.

[0959] 步骤六:(9H-芴-9-基)甲基(((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)甲基)氨基甲酸酯的合成

[0960] 将(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10(4H)-三酮(597.00mg,2.27mmol)和化合物5-7-05(840.00mg,1.89mmol)加入甲苯(60mL)中,然后再加入对甲苯磺酸(325.00mg,1.89mmol),加毕,升温至140℃反应4小时,然后反应液直接在140℃下减压蒸干得粗品。粗品经快速硅胶柱纯化(甲醇:二氯甲烷=0-5%)得标题化合物563.00mg。

[0961] 结构表征数据如下:

[0962] ESI-MS(m/z):672.2[M+H]$^+$.

[0963] 步骤七:(1S,9S)-1-(氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-(氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

[0964] 将化合物5-7-06(454.00mg,675.89μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中,然后加入二乙胺(1mL),加毕室温反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液减压蒸出乙二胺后,用甲酸调节pH至2-3后,反应液直接用制备高效液相色谱纯化,制备液分别冻干对应得到标题化合物5-7-A(32.00mg)和5-7-B(56.00mg)。

[0965] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0966] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0967]

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

[0968] 5-7-A(6min LCMS出峰靠前,保留时间:1.488min)结构表征数据如下:

[0969] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.88(d,J=10.6Hz,1H),7.36(s,1H),6.58(s,1H),5.60(d,J=3.5Hz,2H),5.46(d,J=2.5Hz,2H),3.25-3.17(m,2H),2.41(s,3H),2.38-2.28(m,2H),1.91-1.84(m,2H),1.79(s,3H),0.88(t,J=7.3Hz,3H).

[0970] ESI-MS(m/z):450.2[M+H]$^+$.

[0971] 5-7-B(6min LCMS出峰靠后,保留时间:1.596min)结构表征数据如下:

[0972] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ7.76(d,J=10.8Hz,1H),7.30(s,1H),6.52(s,1H),5.73(d,J=19.8Hz,1H),5.50-5.40(m,3H),3.26-3.17(m,1H),3.08-2.96(m,1H),2.38(s,3H),2.19-2.11(m,1H),2.04(td,J=13.0,5.1Hz,1H),1.91-1.79(m,2H),1.34(s,3H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).

[0973] ESI-MS(m/z):450.2[M+H]$^+$.

[0974] 6min LCMS条件:

[0975] 色谱柱:Waters SunFire C18 OBD 4.6mm×50mm×5.0μm

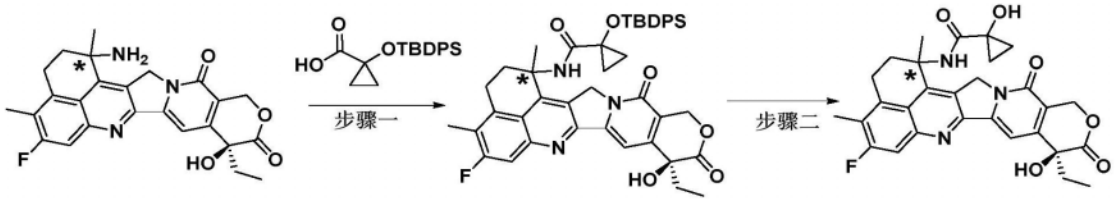
[0976] 流动相A:0.05%乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0977]

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

[0978] 实施例十四N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-羧酰胺或N-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-羧酰胺

[0979]



5-13-A 5-16-01-A 5-16-A

*位置表示该处原子手性为R或S

[0980] 步骤一:1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)环丙烷-1-甲酰胺或1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-N-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)环丙烷-1-甲酰胺的合成

[0981] 将单一构型的化合物5-13-A(10.00mg,22.25μmol)和1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)环丙烷-1-羧酸(11.36mg,33.37μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,然后加入HATU(12.68mg,33.37μmol)和N,N-二异丙基乙胺(8.63mg,66.74μmol),加毕,室温反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经C18反相柱纯化(乙腈:0.05%甲酸水溶液=30%-100%)得到单一标题化合物5-16-01-A(7mg)。

[0982] 结构表征数据如下:

[0983] ESI-MS(m/z):772.3[M+H]$^+$.

[0984] 步骤二:N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-羧酰胺或N-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,4-二甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-1-羟基环丙烷-1-羧酰胺的合成

[0985] 将化合物5-16-01-A(7.00mg,9.07μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,然后加入氟化钾(2.63mg,45.34μmol),加毕升温至50℃反应1小时,用高效液相质谱联用色谱检测反应。反应液直接经高效液相色谱纯化得单一标题化合物5-16-A(1.73mg)。

[0986] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0987] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[0988]

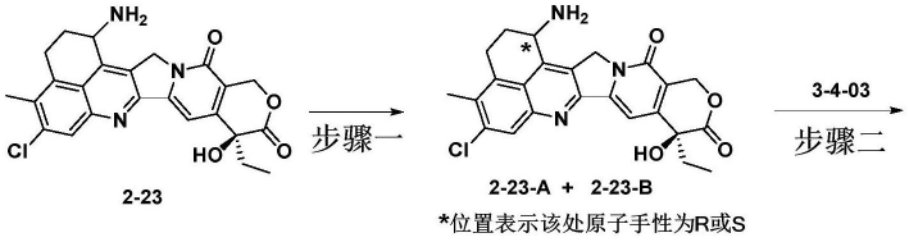
时间[min]	流动相A[%]	流动相B[%]	流速[mL/min]
0.00	10	90	28
18.00	90	10	28

[0989] 结构表征数据如下：

[0990] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.26(s,1H),7.78(d,J＝10.8Hz,1H),7.30(s,1H),6.56(s,1H),6.52(s,1H),5.52(d,J＝19.3Hz,1H),5.43(d,J＝4.4Hz,2H),4.94(d,J＝19.2Hz,1H),3.30-3.24(m,1H),3.11-3.00(m,1H),2.95-2.84(m,1H),2.39(s,3H),1.98-1.80(m,3H),1.62(s,3H),0.87(t,J＝7.9Hz,3H).

[0991] ESI-MS(m/z):534.2[M+H]$^+$.

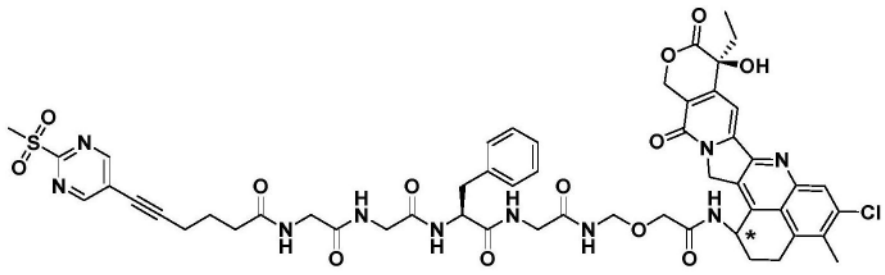
[0992] 实施例十五N-((10S)-10-苄基-1-(((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4';6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧代-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)十六烷酰胺或N-((10S)-10-苄基-1-(((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4';6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧代-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)十六烷酰胺



2-23　　2-23-A + 2-23-B

*位置表示该处原子手性为R或S

[0993]



D-L-15　　*位置表示该处原子手性为R或S

[0994] 步骤一:(9S)-1-氨基-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的分离纯化

[0995] 将化合物2-23(16.00mg)用制备高效液相色谱纯化,在下述纯化条件下分离得到两个非对映异构体,得到2-23-A的三氟乙酸盐5.10mg(保留时间9.85min)和2-23-B的三氟乙酸盐7.12mg(保留时间10.62min)。

[0996] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[0997] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%三氟乙酸)

[0998]

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

18	50	50	28

[0999] 结构表征数据如下：

[1000] 2-23-A：

[1001] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.42(s,3H),8.27(s,1H),7.36(s,1H),6.59(s,1H),5.78-5.63(m,1H),5.50-5.36(m,3H),5.10-5.06(m,1H),3.20-3.04(m,2H),2.56(s,3H),2.26-2.13(m,2H),1.93-1.79(m,2H),0.88(t,J＝7.2Hz,3H).

[1002] ESI-MS(m/z):452.1[M+H]$^+$.

[1003] 2-23-B：

[1004] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.42(s,3H),8.27(s,1H),7.36(s,1H),6.58(s,1H),5.78-5.63(m,1H),5.50-5.36(m,3H),5.10-5.06(m,1H),3.20-3.04(m,2H),2.55(s,3H),2.26-2.13(m,2H),1.93-1.79(m,2H),0.88(t,J＝7.2Hz,3H).

[1005] ESI-MS(m/z):452.0[M+H]$^+$.

[1006] 步骤二:N-((10S)-10-苄基-1-(((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4';6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧代-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)十六烷酰胺或N-((10S)-10-苄基-1-(((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4';6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧代-5,8,11,14-四氮杂十六烷-16-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)十六烷酰胺的合成

[1007] 25℃下,将2-23-A的三氟乙酸盐(34.71mg,61.43μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中,依次加入3-4-03(49.66mg,73.72μmol)、HATU(35.01mg,92.14μmol)和N,N-二异丙基乙胺(23.82mg,184.29μmol),保持25℃反应0.5小时,用高效液相质谱联用色谱监测反应,反应完成将反应液用制备高效液相色谱纯化(条件如下),制备液冷冻干燥得标题化合物D-L-15 11.04mg,保留时间7.5min。

[1008] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1009] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1010]

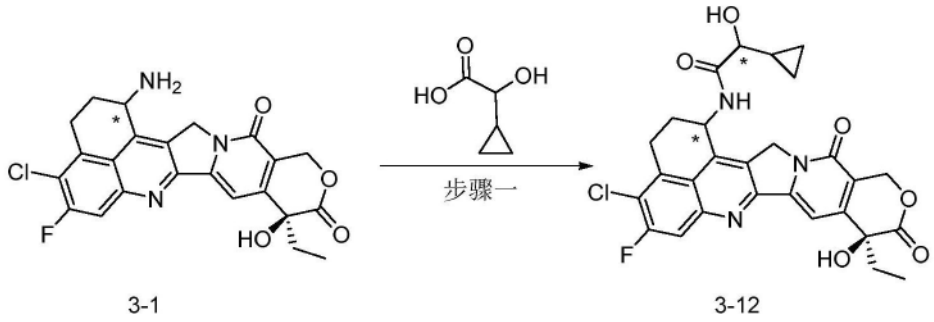
时间[min]	流动相A[%]	流动相B[%]	流速[mL/min]
0	30	70	28
3	30	70	28
18	90	10	28

[1011] 结构表征数据如下：

[1012] D-L-15：

[1013] ESI-MS(m/z):1107.3[M+H]$^+$.

[1014] 实施例十六N-((9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺

[1015] 

3-1 3-12

*位置表示该处原子手性为R或S

[1016] 步骤一:N-((9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-环丙基-2-羟基乙酰胺的合成

[1017] 将单一构型的化合物3-1-A的甲酸盐(50mg,109.68μmol)和2-环丙基-2-羟基乙酸(25.47mg,219.36μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中,然后加入HATU(7.57mg,219.36μmol)和N,N-二异丙基乙胺(42.53mg,329.04μmol),加毕,室温反应0.5小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物的两个异构体(3-12-A:12.96mg,3-12-B:13.56mg)。

[1018] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1019] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1020]

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

[1021] 3-12-A(6min LCMS出峰靠前)结构表征数据如下:

[1022] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.44(d,J=9.0Hz,1H),8.05(d,J=10.2Hz,1H),7.33(s,1H),6.54(s,1H),5.62(q,J=6.7Hz,1H),5.52(d,J=5.1Hz,1H),5.42(s,2H),5.24(q,J=19.2Hz,2H),3.61(dd,J=6.2,5.1Hz,1H),3.32-3.21(m,2H),2.19(q,J=6.5Hz,2H),1.92-1.80(m,2H),1.26-1.20(m,1H),0.87(t,J=7.3Hz,3H),0.57-0.34(m,4H).

[1023] ESI-MS(m/z):554.0[M+H]+.

[1024] 3-12-B(6min LCMS出峰靠后)结构表征数据如下:

[1025] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ8.43(d,J=8.7Hz,1H),8.06(d,J=10.3Hz,1H),7.33(s,1H),5.57(q,J=6.7Hz,1H),5.43(s,2H),5.30-5.17(m,2H),3.64(d,J=6.2Hz,1H),3.29(q,J=6.7Hz,2H),2.28-2.13(m,2H),1.93-1.78(m,2H),1.18-1.08(m,1H),0.87(t,J=7.3Hz,3H),0.50-0.29(m,4H).

[1026] ESI-MS(m/z):554.0[M+H]+.

[1027] 将另一单一构型的化合物3-1-B的甲酸盐(50mg,109.68μmol)和2-环丙基-2-羟基乙酸(25.47mg,219.36μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中,然后加入HATU(7.57mg,219.36μmol)和N,N-二异丙基乙胺(42.53mg,329.04μmol),加毕,室温反应0.5小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物的两个异构体(3-12-C:20.19mg,3-12-D:18.33mg)。

[1028] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1029] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1030]

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

[1031] 3-12-C(6min LCMS出峰靠前)结构表征数据如下:

[1032] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.47(d,J=9.0Hz,1H),8.06(d,J=10.3Hz,1H),7.33(s,1H),6.54(s,1H),5.62(q,J=6.5Hz,1H),5.53(d,J=5.1Hz,1H),5.43(s,2H),5.32-5.16(m,2H),3.61(dd,J=6.3,5.1Hz,1H),3.32-3.22(m,2H),2.19(q,J=6.5Hz,2H),1.92-1.80(m,2H),1.28-1.20(m,1H),0.87(t,J=7.3Hz,3H),0.54-0.35(m,4H).

[1033] ESI-MS(m/z):554.0[M+H]+.

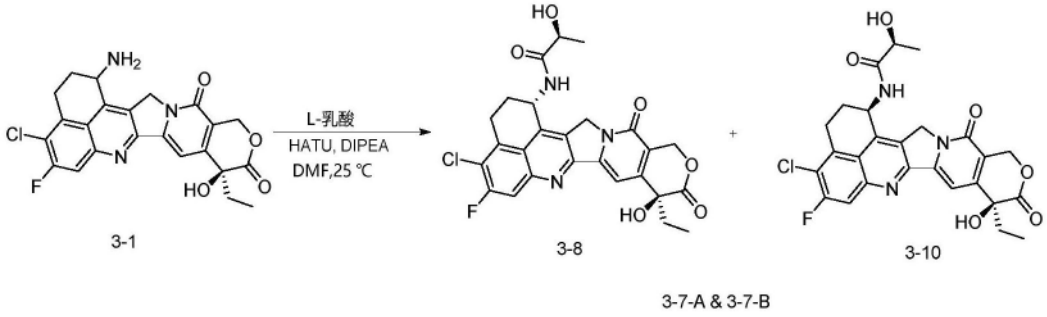
[1034] 3-12-D(6min LCMS出峰靠后)结构表征数据如下:

[1035] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.44(d,J=8.8Hz,1H),8.05(d,J=10.2Hz,1H),7.34(s,1H),6.55(s,1H),5.58(q,J=6.7Hz,1H),5.45(d,J=5.2Hz,1H),5.43(s,2H),5.31-5.14(m,2H),3.65(t,J=5.7Hz,1H),3.33-3.21(m,2H),2.28-2.13(m,2H),1.95-1.80(m,2H),1.16-1.09(m,1H),0.88(t,J=7.3Hz,3H),0.46-0.31(m,4H).

[1036] ESI-MS(m/z):554.0$[M+H]^+$.

[1037] 实施例十七:(S)-N-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺和(S)-N-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺的制备

[1038]



[1039] 25℃下,将(9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-2,3,12,15-四氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-10,13(1H,9H)-二酮(80.0mg,175.5μmol)和L-乳酸(31.6mg,351.0μmol,)溶于DMF(3mL)中,然后加入HATU(121.1mg,351.0μmol)和DIPEA(68.0mg,526.5μmol),室温反应2hr;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得到化合物3-7-A(6.1mg,收率12%)和化合物3-7-B(9.6mg,收率20%)。

[1040] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1041] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1042]

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

18.00	90	10	24

[1043] 化合物3-7-A(6min LC-MS出峰靠前,保留时间2.49min)结构表征数据如下:

[1044] MS m/z(ESI):528.2[M+H]$^+$

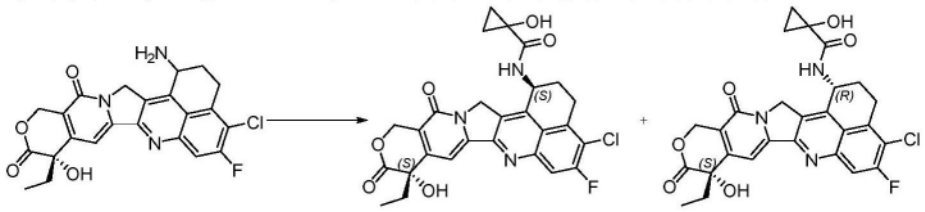
[1045] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.55(d,J=9.2Hz,1H),8.06(d,J=10.4Hz,1H),7.33(s,1H),6.55(s,1H),6.67(d,J=4.8Hz,1H),5.65-5.59(m,1H),5.43(s,2H),5.29-5.21(m,1H),5.14-5.10(m,1H),4.15-4.10(m,,1H),3.27-3.20(m,1H),2.22-2.15(m,2H),1.92-1.81(m,2H),1.41(d,J=6.8Hz,3H),1.30-1.23(m,1H),0.89-0.85(t,J=7.2Hz,3H).

[1046] 化合物3-7-B(6min LC-MS出峰靠后,保留时间2.50min)结构表征数据如下:

[1047] MS m/z(ESI):528.2[M+H]$^+$

[1048] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.46(d,J=8.8Hz,1H),8.06(d,J=10.4Hz,1H),7.33(s,1H),6.56(s,1H),5.60-5.53(ms,1H),5.51(d,J=5.2Hz,1H),5.43(s,2H),5.27-5.14(m,2H),4.16-4.08(m,1H),3.28-3.22(m,1H),2.22-2.19(m,2H),1.92-1.81(m,2H),1.49-1.39(m,1H),1.29(d,J=6.8Hz,3H),0.87(t,J=7.2Hz,3H).

[1049] 实施例十八N-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基-1-羟基环丙基甲酰胺化合物和N-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基-1-羟基环丙基甲酰胺化合物的合成

[1050] 

3-1 3-17-A & 3-17-B

[1051] 25℃下,将(9S)-1-氨基-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-2,3,12,15-四氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-10,13(1H,9H)-二酮(80mg,175.49μmol)和1-羟基环丙烷羧酸(35.83mg,350.98μmol,)溶于DMF(2mL)中,然后加入HATU(121.14mg,350.98μmol)和DIPEA(68.04mg,526.47μmol),加完后,室温反应0.5hr;反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物3-17-A 5.3mg和3-17-B 3.5mg。

[1052] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1053] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1054]

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

[1055] 结构表征数据如下:

[1056] 3-17-A(6min LCMS出峰靠前,保留时间:2.657min)结构表征数据如下:

[1057] ESI-MS(m/z):540.0[M+H]+.

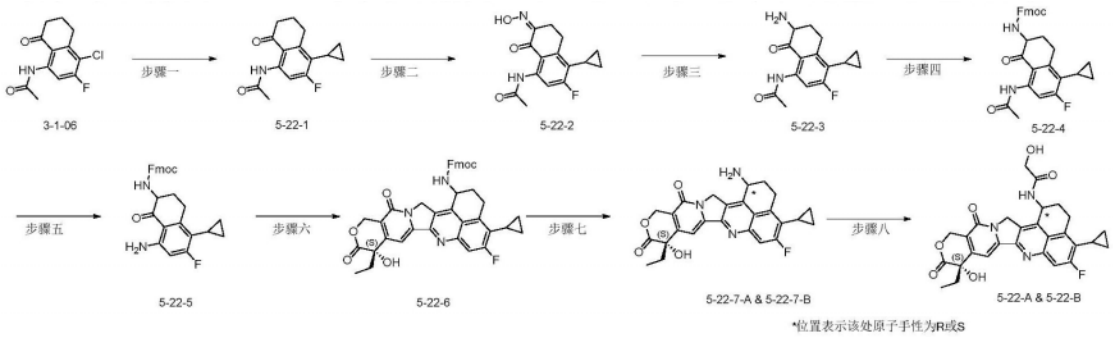
[1058] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.69(d,J＝8.8Hz,1H),8.06(d,J＝10.2Hz,1H),7.35(s,1H),6.57(s,1H),6.32(s,1H),5.62(s,1H),5.45(s,2H),5.34-5.24(m,1H),5.20-5.10(m,1H),2.26(s,2H),2.00(s,1H),1.88(s,2H),1.47-1.12(m,8H),1.01-0.80(m,6H).

[1059] 3-17-A(6min LCMS出峰靠后,保留时间:2.724min)结构表征数据如下:

[1060] ESI-MS(m/z):540.0[M+H]+.

[1061] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.69(d,J＝8.8Hz,1H),8.06(d,J＝10.2Hz,1H),7.35(s,1H),6.57(s,1H),6.32(s,1H),5.62(s,1H),5.45(s,2H),5.34-5.24(m,1H),5.20-5.10(m,1H),2.26(s,2H),2.00(s,1H),1.88(s,2H),1.47-1.12(m,8H),1.01-0.80(m,6H).

[1062] 实施例十九N-((1S,9S)-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧-1,2,3,9,10,12,13,15-四氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺化合物的合成

[1063] 

[1064] 步骤一:N-(4-氯-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[1065] 将N-(4-氯-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基团)乙酰胺(570mg,2.23mmol)和环丙基硼酸(574.56mg,6.69mmol)溶于1,4-二氧六环中,加入二氯二叔丁基-(4-二甲基氨基苯基)膦钯(II)(480mg,677.97μmol)和碳酸铯(2.17g,6.69mmol),氮气保护后,微波115℃反应2h;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液用乙酸乙酯稀释后过滤,滤液用乙酸乙酯(30ml*3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,然后过滤,滤液减压蒸干,粗品经柱层析硅胶柱纯化(PE:EA＝1:4),得到标题化合物550mg。

[1066] 结构表征数据如下:

[1067] ESI-MS(m/z):262.1[M+H]$^+$.

[1068] 步骤二:N-(4-环丙基-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[1069] 将四氢呋喃(30mL)和叔丁醇(10mL)加入反应液瓶中,冰浴降温至5℃后,加入叔丁醇钾(945mg,8.42mmol),然后将N-(4-氯-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(1.0g,3.83mmol)溶于四氢呋喃(1mL)中,并缓慢滴加入反应液,10分钟后再加入亚硝酸异戊酯(718mg,6.12mmol),加毕,保持5℃反应1小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液用饱和氯化铵水溶液(50mL)淬灭后,用乙酸乙酯(40ml*3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,然后过滤,滤液减压蒸干得标题化合物的粗品1.2g。

[1070] 结构表征数据如下:

[1071] ESI-MS(m/z):291.1[M+H]$^+$.

[1072] 步骤三:N-(7-氨基-4-环丙基-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺盐酸盐的合成

[1073] 将N-(4-环丙基-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的粗品(1.2g,1.41mmol)溶于甲醇(7.5mL)和四氢呋喃(7.5mL)中,然后加入1mol/L的盐酸水溶液(7.5mL)和10%钯碳(450mg),加毕,用氢气球置换反应体系三次,并在氢气氛围下室温反应1小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液过滤,滤液减压浓缩干得到粗品1.05g。

[1074] 结构表征数据如下:

[1075] ESI-MS(m/z):277.1[M+H]$^+$.

[1076] 步骤四:(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰胺-5-环丙基-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1077] 将N-(7-氨基-4-环丙基-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的盐酸盐粗品(1.05g,3.80mmol)溶于1,4-二氧六环(10mL)中,然后加入碳酸氢钠(1.3g,15.20mmol)、水(10mL)和9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(1.54g,4.56mmol),加毕,室温下搅拌反应2小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液倒入水(50mL)中,然后用乙酸乙酯(40mL*3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(50mL)洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液减压整干得粗品。粗品经C18反相柱纯化得标题化合物2.0g。

[1078] 结构表征数据如下:

[1079] ESI-MS(m/z):499.2[M+H]$^+$.

[1080] 步骤五:(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-5-环丙基-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1081] 将(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰胺-5-环丙基-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯(2.0g,3.21mmol,80%)溶于二氧六环(20mL)中,加入12mol/L的浓盐酸(5mL),加毕,升温至70℃反应2小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液倒入水(40mL)中,然后用乙酸乙酯(30mL*3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(40mL)洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液减压整干得粗品。粗品经柱层析硅胶柱纯化(PE:EA=2:1),得标题化合物740mg。

[1082] 结构表征数据如下:

[1083] ESI-MS(m/z):457.3[M+H]$^+$.

[1084] 步骤六:(9H-芴-9-基)甲基((9S)-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯的合成

[1085] 将(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10(4H)-三酮(442mg,1.68mmol)和(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-5-环丙基-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯(640mg,1.40mmol)加入甲苯(30mL)中,然后再加人对甲苯磺酸(242mg,1.40mmol),加毕,升温至135℃反应2小时,反应液直接140℃下减压蒸干得粗品;粗品经柱层析硅胶柱纯化(DCM:MeOH=33:1),得标题化合物1.02g。

[1086] 结构表征数据如下:

[1087] ESI-MS(m/z):684.1[M+H]$^+$.

[1088] 步骤七:(1S,9S)-1-氨基-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-10,13-二酮(化合物5-29-1)&(1R,9S)-1-氨基-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

[1089] 将(9H-芴-9-基)甲基((9S)-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯(1.02g,1.49mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(15mL)中,然后加入二乙胺(5ml),加毕,室温反应0.5小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液减压蒸出乙二胺后,用1mol/L盐酸水溶液调pH至2-3后,反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物的两个异构体(5-22-7-A:60mg;5-22-7-B:55mg)。

[1090] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1091] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1092]

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

[1093] 5-22-7-A(6min LCMS出峰靠前,保留时间:2.28min)结构表征数据如下:

[1094] ESI-MS(m/z):462.2$[M+H]^+$.

[1095] 5-22-7-B(6min LCMS出峰靠后,保留时间:2.35min)结构表征数据如下:

[1096] ESI-MS(m/z):462.2$[M+H]^+$.

[1097] 步骤八N-((1S,9S)-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧-1,2,3,9,10,12,13,15-四氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺和N-((1R,9S)-4-环丙基-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧-1,2,3,9,10,12,13,15-四氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺的合成

[1098] 25℃下,将单一构型的化合物5-28-7-A(40mg,86μmol)和乙醇酸(8mg,104μmol,)溶于DMF(2mL)中,然后加入HATU(40mg,104μmol)和DIPEA(36mg,258μmol),加完后,室温反应0.5hr;反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得化合物5-22-A 12.5mg。

[1099] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1100] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1101]

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

[1102] 结构表征数据如下:

[1103] 5-22-A(6min LCMS出峰靠前,保留时间:2.540min)结构表征数据如下:

[1104] ESI-MS(m/z):520.0$[M+H]^+$.

[1105] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.46(d,J=8.9Hz,1H),7.74(d,J=11.9Hz,1H),7.30(s,1H),6.53(s,1H),5.64-5.56(m,1H),5.49(t,J=5.8Hz,1H),5.42(s,2H),5.19(s,2H),

3.96(d,J＝5.7Hz,2H),2.25-2.10(m,2H),2.04-1.79(m,4H),1.23(s,2H),1.15-1.05(m,2H),0.87(t,J＝7.2Hz,3H),0.80-0.70(m,2H).

[1106] 25℃下,将将单一构型的化合物5-28-7-B(30mg,65μmol)和乙醇酸(6mg,78μmol)溶于DMF(2mL)中,然后加入HATU(40mg,104μmol)和DIPEA(17mg,130μmol),加完后,室温反应0.5hr;反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得化合物5-22-B 13.83mg。

[1107] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1108] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1109]

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

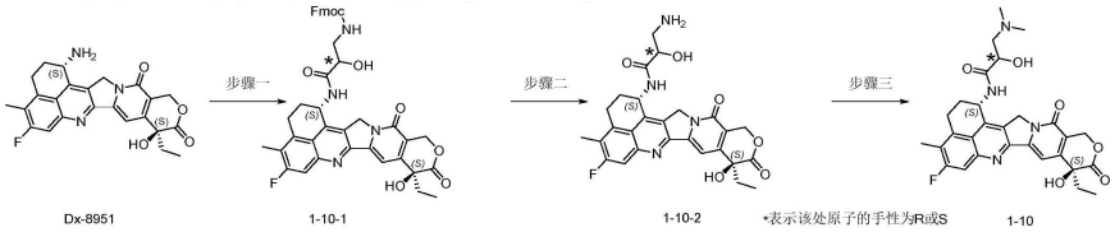
[1110] 结构表征数据如下:

[1111] 5-22-B(6min LCMS出峰靠后,保留时间:2.612min)结构表征数据如下:

[1112] ESI-MS(m/z):520.0[M+H]$^+$.

[1113] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.49(d,J＝8.9Hz,1H),7.74(d,J＝11.9Hz,1H),7.31(s,1H),6.53(s,1H),5.60(s,1H),5.51(t,J＝5.9Hz,1H),5.43(s,2H),5.25-5.13(m,2H),3.97(d,J＝5.8Hz,2H),2.18(s,2H),2.04-1.91(m,4H),1.90-1.80(m,1H),1.23(s,6H),1.15-1.05(m,2H),0.87(t,J＝7.2Hz,4H),0.80-0.70(m,2H).

[1114] 实施例二十(R)-3-(二甲胺)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺和(S)-3-(二甲胺)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺的合成

[1115] 

[1116] 步骤一:(9H-氟-9-基)甲基((S)-3-(((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-2-羟基-3-氧丙基)氨基甲酸酯和(9H-氟-9-基)甲基((R)-3-(((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)氨基)-2-羟基-3-氧丙基)氨基甲酸酯的合成

[1117] 25℃下,将(1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-2,3,12,15-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-10,13(1H,9H)-二酮甲磺酸盐(72mg,166μmol)和3-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-2-羟基丙酸(65mg,199μmol,)溶于DMF(2mL)中,然后加入HATU(95mg,250μmol)和DIPEA(65mg,498μmol),加完后,室温反应0.5hr;反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题

化合物(化合物1-10-1-A)24mg和(化合物1-10-1-B)28mg。

[1118] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1119] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1120]

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

[1121] 化合物1-10-1-A(6min LCMS出峰靠前,保留时间:3.283min)结构表征数据如下:

[1122] ESI-MS(m/z):745.4$[M+H]^+$.

[1123] 化合物1-10-1-B(6min LCMS出峰靠后,保留时间:3.465min)结构表征数据如下:

[1124] ESI-MS(m/z):745.4$[M+H]^+$.

[1125] 步骤二:(R)-3-氨基-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺的合成和(S)-3-氨基-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺的合成

[1126] 25℃下,将化合物1-10-1-B(28mg,37μmol)溶于DMF(2mL)中,然后加入二乙胺(1mL),加完后,室温反应1.0hr;反应液浓缩至干得到产物粗品(化合物1-10-2-B)28mg,直接用于下一步反应。

[1127] 25℃下,将化合物1-10-1-A(24mg,33μmol)溶于DMF(2mL)中,然后加入二乙胺(1mL),加完后,室温反应1.0hr;反应液浓缩至干得到产物粗品(化合物1-10-2-A)24mg,直接用于下一步反应。

[1128] 结构表征数据如下:

[1129] ESI-MS(m/z):523.2$[M+H]^+$.

[1130] 步骤三:(R)-3-(二甲胺)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺的合成和(S)-3-(二甲胺)-N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-1,2,3,9,10,12,13,15-八氢苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙酰胺的合成

[1131] 25℃下,将化合物1-10-2-B(28mg,37μmol,70%)溶于甲醇中(2mL)中,然后加入甲醛水溶液(1mL),加完后,室温反应16.0hr后,再加入氰基硼氢化钠(7.07mg,96.45μmol),室温反应1.0hr;反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物(化合物1-10B)1.3mg。

[1132] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1133] 流动相A:甲醇;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1134]

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

[1135] 化合物1-10-B(6min LCMS出峰靠后,保留时间:1.937min)结构表征数据如下:

[1136] ESI-MS(m/z):551.2[M+H]$^+$.

[1137] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.48(d,J=8.6Hz,1H),8.31(s,2H),7.80(d,J=11.0Hz,1H),7.31(s,1H),6.55(s,1H),5.54(s,1H),5.43(s,2H),5.34(d,J=19.2Hz,1H),5.19(d,J=19.1Hz,1H),4.09-4.06(m,1H),3.20-3.15(m,2H),2.59-2.53(m,1H),2.45-2.42(m,1H),2.42-2.38(s,3H),2.23-2.19(d,J=7.0Hz,1H),2.13(s,6H),2.12-2.08(m,1H),2.02-1.95(m,1H),1.90-1.85(m,2H),1.23(s,2H),0.88(d,J=7.2Hz,3H).

[1138] 25℃下,将化合物1-10-2-A(24mg,33μmol,70%)溶于甲醇中(2mL)中,然后加入甲醛水溶液(1mL),加完后,室温反应16.0hr后,再加入氰基硼氢化钠(6.06mg,96.45μmol),室温反应1.0hr;反应液浓缩至干直接用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物(化合物1-10-A)4.44mg。

[1139] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1140] 流动相A:甲醇;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1141]

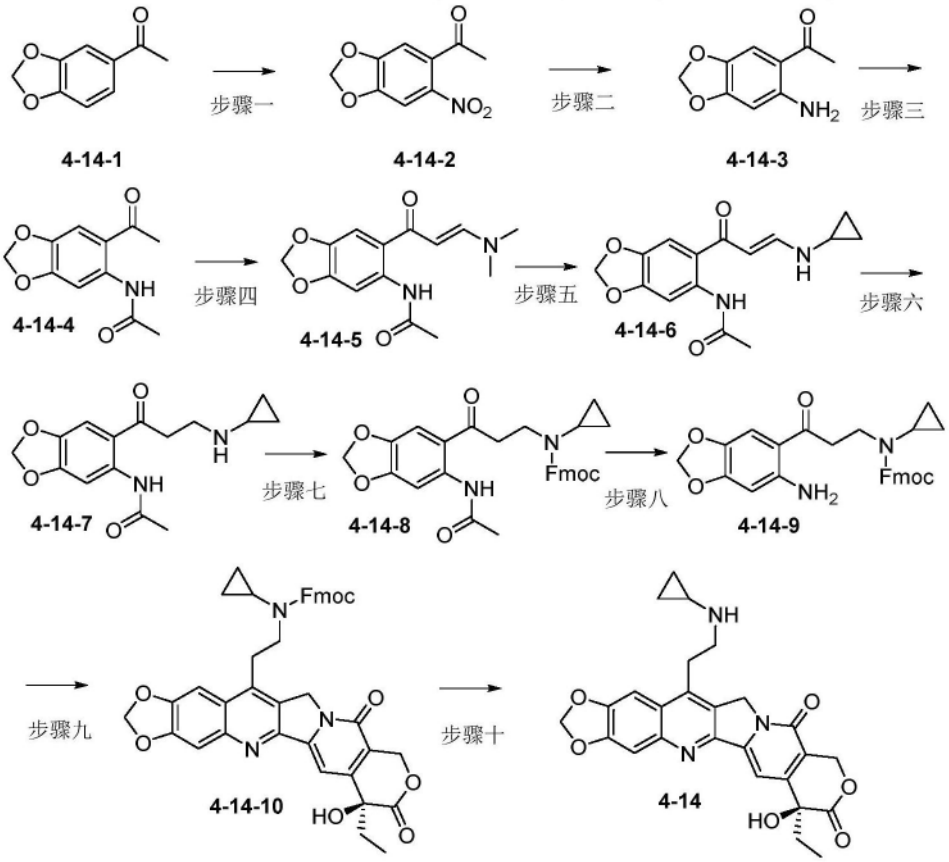
时间[min]	流动相A[%]	流动相B[%]	流速[mL/min]
0.00	15	85	28
2.00	15	85	28
18.00	90	10	28

[1142] 化合物1-10-A(6min LCMS出峰靠前,保留时间:1.920min)结构表征数据如下:

[1143] ESI-MS(m/z):551.2[M+H]$^+$.

[1144] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.58(d,J=9.0Hz,1H),8.28(s,1H),7.84(d,J=10.9Hz,1H),7.37(s,1H),6.61(s,1H),5.66-5.59(m,1H),5.49(s,2H),5.35(d,J=19.1Hz,1H),5.17(d,J=18.9Hz,1H),4.23-4.16(m,1H),3.23(d,J=7.8Hz,2H),2.75-2.67(m,2H),2.45(s,3H),2.30(s,6H),2.27-2.17(m,2H),2.14-1.99(m,1H),1.98-1.87(m,2H),1.30(s,2H),0.93(t,J=7.3Hz,3H).

[1145] 实施例二十一(S)-14-(2-(环丙胺基)乙基)-7-乙基-7-羟基-7H-[1,3]二氧杂戊环并[4,5-g]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-8,11(10H,13H)-二酮(化合物4-14)

[1146] 

[1147] 步骤一:2-硝基-4,5-亚甲二氧基苯乙酮的合成

[1148] 将化合物4-14-1(10.0g,60.92mmol)溶于硝基甲烷(100mL),搅拌下缓慢滴入浓硝酸(26mL),室温反应2小时。TLC监控反应,原料少量残余,产物明显。缓慢滴入饱和碳酸氢钠水溶液中和反应,加入二氯甲烷萃取3次,有机相合并,饱和食盐水洗涤3次后干燥,浓缩得粗品。硅胶柱纯化(洗脱剂:0-20%乙酸乙酯/石油醚)得标题化合物9.8g。

[1149] 步骤二:6-氨基-3,4-亚甲二氧基苯乙酮的合成

[1150] 将化合物4-14-2(2.0g,9.56mmol)溶于乙酸乙酯(20mL),加入10%钯碳(0.2g),氢气置换并保护下搅拌反应4小时。过滤,滤液减压浓缩后得标题化合物粗品1.7g。

[1151] 步骤三:6-乙酰氨基-3,4-亚甲二氧基苯乙酮的合成

[1152] 将化合物4-14-3(1.7g,9.49mmol)溶于乙酸酐(17mL),搅拌反应1小时。减压蒸除溶剂,加水搅拌,过滤,固体水洗后真空干燥得标题化合物粗品2.08g。

[1153] 步骤四:(E)-N-(6-(3-(二甲氨基)丙烯酰)苯并[d][1,3]二氧杂戊环-5-基)乙酰胺的合成

[1154] 将化合物4-14-4(1.88g,8.50mmol)溶于DMF-DMA(30mL),升温120℃反应2小时。减压蒸除溶剂后得标题化合物粗品2.33g。

[1155] 结构表征数据如下:

[1156] ESI-MS(m/z):277.2[M+1]$^+$.

[1157] 步骤五:(E)-N-(6-(3-(环丙基氨基)丙烯酰)苯并[d][1,3]二氧杂戊环-5-基)乙酰胺的合成

[1158] 将化合物4-14-5(200mg,0.72mmol)溶于乙醇(5mL),滴入环丙胺(413.3mg,

7.24mmol),升温50℃反应16小时。减压蒸除溶剂得标题化合物粗品208mg。

[1159] 结构表征数据如下:

[1160] ESI-MS(m/z):289.2[M+1]$^+$.

[1161] 步骤六:N-(6-(3-(环丙基氨基)丙酰基)苯并[d][1,3]二氧杂戊环-5-基)乙酰胺的合成

[1162] 将化合物4-14-6(208mg,0.72mmol)溶于冰醋酸(4mL),冰水浴冷却搅拌下加入硼氢化钠(13.65mg,0.36mmol),恢复室温搅拌3小时。减压蒸除溶剂得标题化合物粗品209mg。

[1163] 结构表征数据如下:

[1164] ESI-MS(m/z):291.1[M+1]$^+$.

[1165] 步骤七:(9H-芴-9-基)甲基(3-(6-乙酰氨基苯并[d][1,3]二氧杂戊环-5-基)-3-氧丙基)(环丙基)氨基甲酸酯的合成

[1166] 将化合物4-14-7(200mg,0.69mmol)溶于1,4-二氧六环(20mL)和水(20mL),搅拌下加入9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(395mg,0.68mmol)和碳酸氢钠(231.5mg,2.76mmol),室温反应2小时。加水和乙酸乙酯搅拌,静置分液,有机相用饱和食盐水洗涤后干燥浓缩,硅胶柱纯化(洗脱剂:30%乙酸乙酯/石油醚),得标题化合物350mg。

[1167] 步骤八:(9H-芴-9-基)甲基(3-(6-氨基苯并[d][1,3]二氧杂戊环-5-基)-3-氧丙基)(环丙基)氨基甲酸酯的合成

[1168] 将化合物4-14-8(350mg,0.68mmol)溶于1,4-二氧六环(10mL),滴入3N盐酸水溶液(10mL),升温60℃搅拌反应16小时。加入水和乙酸乙酯搅拌,静置分液,有机相水洗后干燥浓缩,硅胶柱纯化(洗脱剂:33%乙酸乙酯/石油醚),得标题化合物218mg。

[1169] 步骤九:(S)-(9H-芴-9-基)甲基环丙基(2-(7-乙基-7-羟基-8,11-二氧基-8,10,11,13-四氢-7H-[1,3]二氧杂戊环并[4,5-g]吡喃并[3,4]:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-14-基)乙基)氨基甲酸酯的合成

[1170] 将化合物4-14-9(40mg,0.085mmol)和(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10(4H)-三酮(24.62mg,0.094mmol)溶于甲苯(1mL),加入对甲苯磺酸(2.93mg,0.017mmol),升温120℃反应4小时。减压浓缩得标题化合物粗品59mg。

[1171] 结构表征数据如下:

[1172] ESI-MS(m/z):698.1[M+1]$^+$.

[1173] 步骤十:(S)-14-(2-(环丙胺基)乙基)-7-乙基-7-羟基-7H-[1,3]二氧杂戊环并[4,5-g]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-8,11(10H,13H)-二酮的合成

[1174] 将化合物4-14-10(59mg,0.085mmol)溶于DMF(1mL),滴入二乙胺(0.5mL),搅拌反应1小时。减压蒸除二乙胺,滴入3N盐酸酸化后,经高效液相制备纯化(纯化条件如下),冻干得标题化合物的三氟乙酸盐12.66mg。

[1175] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1176] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%三氟乙酸)

[1177]

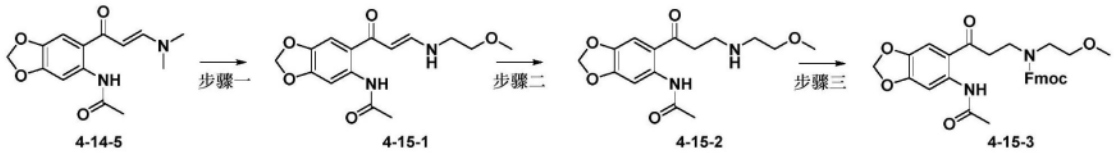
时间[min]	流动相A[%]	流动相B[%]	流速[mL/min]
0	20	80	28
2	20	80	28
18	80	20	28

[1178] 结构表征数据如下：

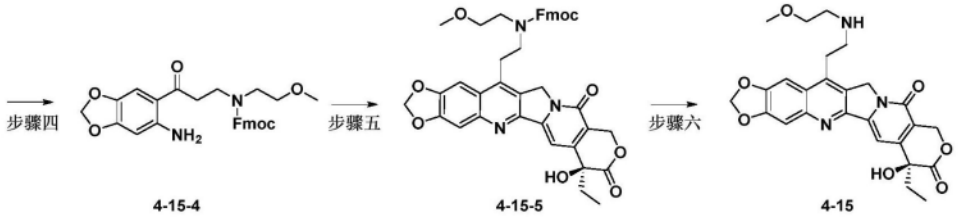
[1179] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.73(s,2H),7.67(s,1H),7.57(s,1H),7.26(s,1H),6.54(s,1H),6.33(s,2H),5.44(s,2H),5.34(s,2H),3.40(s,4H),2.82(s,1H),1.91-1.81(m,2H),0.87(t,J＝7.2Hz,5H),0.79(d,J＝7.4Hz,2H).

[1180] ESI-MS(m/z):476.1[M+1]$^+$.

[1181] 实施例二十二(S)-7-乙基-7-羟基-14-(2-((2-甲氧基乙基)氨基)乙基)-7H-[1,3]二氧杂环并[4,5-g]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-8,11(10H,13H)-二酮(化合物4-15)



[1182]



[1183] 步骤一：(E)-N-(6-(3-((2-甲氧基乙基)氨基)丙烯酰)苯并[d][1,3]二氧杂环-5-基)乙酰胺的合成

[1184] 将化合物4-14-5(200mg,0.72mmol)溶于乙醇(5mL)，滴入2-甲氧基乙胺(543.7mg,7.24mmol)，升温50℃反应16小时。LCMS监控反应，原料有少量残余，产物明显。减压蒸除溶剂，得标题化合物221mg，直接进行下一步反应。

[1185] 结构表征数据如下：

[1186] ESI-MS(m/z):307.1[M+1]$^+$

[1187] 步骤二：N-(6-(3-((2-甲氧基乙基)氨基)丙酰基)苯并[d][1,3]二氧杂环-5-基)乙酰胺的合成

[1188] 将化合物4-15-1(200mg,0.65mmol)溶于冰醋酸(4mL)，冰水浴冷却搅拌下加入硼氢化钠(12.35mg,0.33mmol)，恢复室温搅拌3小时。LCMS监控反应，原料消失，产物明显。减压蒸除溶剂，得标题化合物200mg，直接进行下一步反应。

[1189] ESI-MS(m/z):309.1[M+1]$^+$

[1190] 步骤三：(9H-芴-9-基)甲基(3-(6-乙酰氨基苯并[d][1,3]二氧醇-5-基)-3-氧丙基)(2-甲氧基乙基)氨基甲酸酯的合成

[1191] 将化合物4-15-2的粗品(200mg,0.65mmol)溶于1,4-二氧六环(20mL)和水(20mL)，搅拌下加入9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(372mg,0.65mmol)和碳酸氢钠(231.5mg,2.76mmol)，室温反应2小时。TLC监控原料消失，产物明显。加水和乙酸乙酯搅拌，静置分液，有机相用饱和食盐水洗涤后干燥浓缩，硅胶柱纯化(洗脱剂:50％乙酸乙酯/石油醚)，得标题化合物180mg。

[1192] 步骤四：((9H-芴-9-基)甲基(3-(6-氨基苯并[d][1,3]二恶英-5-基)-3-氧丙基)(2-甲氧基乙基)氨基甲酸酯的合成

[1193] 将化合物4-15-3(180mg,0.68mmol)溶于1,4-二氧六环(5mL),滴入3N盐酸水溶液(5mL),升温60℃搅拌反应16小时。加入水和乙酸乙酯搅拌,静置分液,有机相水洗后干燥浓缩,硅胶柱纯化(洗脱剂:45%乙酸乙酯/石油醚),得标题化合物132mg。

[1194] 步骤五:(S)-(9H-芴-9-基)甲基(2-(7-乙基-7-羟基-8,11-二氧基-8,10,11,13-四氢-7H-[1,3]二氧杂环并[4,5-g]吡喃并[3',4]:6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-14-基)乙基)(2-甲氧基乙基)氨基甲酸酯的合成

[1195] 将化合物4-15-4(130mg,0.266mmol)和rac-(4S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10-三酮(70.05mg,0.266mmol)溶于甲苯(4mL),加入对甲苯磺酸(9.16mg,0.053mmol),升温120℃反应4小时。LCMS监控反应,原料消失,产物明显。减压浓缩,得标题化合物的粗品190mg。

[1196] 结构表征数据如下:

[1197] ESI-MS(m/z):716.1[M+1]$^+$

[1198] 步骤六:(S)-7-乙基-7-羟基-14-(2-((2-甲氧基乙基)氨基)乙基)-7H-[1,3]二氧杂环并[4,5-g]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-8,11(10H,13H)-二酮的合成

[1199] 将化合物4-15-5(190mg,0.265mmol)溶于DMF(3mL),滴入二乙胺(2mL),搅拌反应1小时。LCMS监控反应,原料消失,产物明显。减压蒸除二乙胺,滴入3N盐酸酸化后制备纯化,冻干得标题化合物99.28mg。

[1200] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1201] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

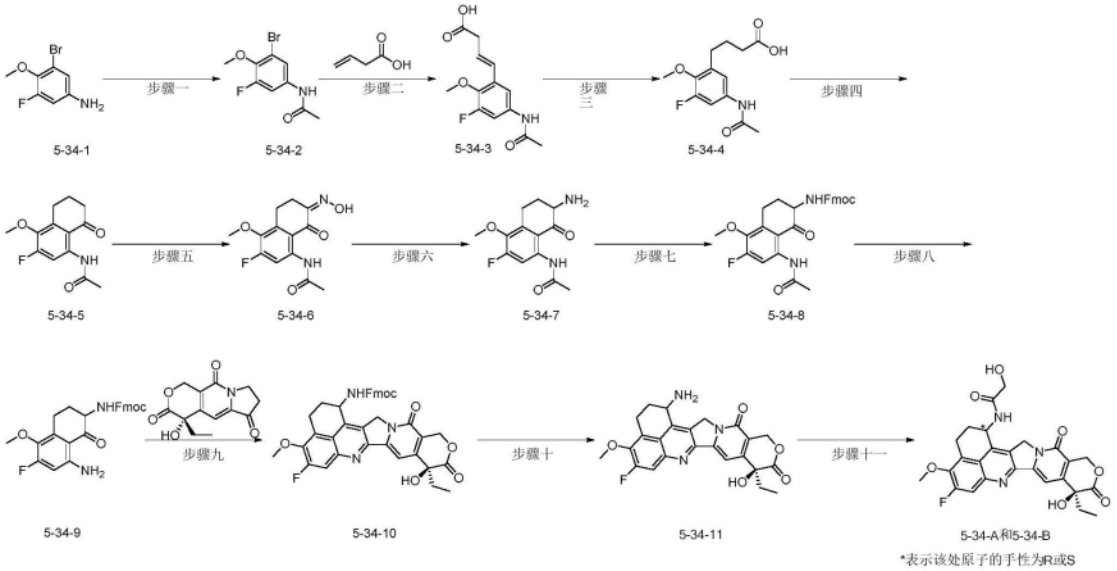
[1202]

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

[1203] 结构表征数据如下:

[1204] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ8.68(s,2H),7.68(s,1H),7.56(s,1H),7.26(s,1H),6.52(s,1H),6.32(s,2H),5.44(s,2H),5.31(s,2H),3.65-3.58(m,2H),3.42(d,J=10.2Hz,2H),3.36(s,3H),3.22(d,J=4.0Hz,4H),1.94-1.80(m,2H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).ESI-MS(m/z):494.2[M+1]$^+$

[1205] 实施例二十三N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺&N-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺

[1206] 

[1207] 步骤一:N-(3-溴-5-氟-4-甲氧基苯基)乙酰胺的合成

[1208] 将3-溴-5-氟-4-甲氧基-苯胺(1.7g,7.73mmol)溶于四氢呋喃(30mL)中,然后加入三乙胺(2.35g,23.18mmol)和乙酸酐(1.18g,11.59mmol),加毕,升温至50℃搅拌反应4小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;将反应液冷却至室温后,用乙酸乙酯(50mL)稀释,然后用清水(30mL)和饱和食盐水(30mL)各洗涤一次,分出有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压蒸干得粗品,经(石油醚:乙酸乙酯=5:1)打浆纯化得标题化合物1.1g。

[1209] 结构表征数据如下:

[1210] ESI-MS(m/z):262.0[M+H]$^+$.

[1211] 步骤二:(E)-4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲氧基苯基)-3-丁烯酸的合成

[1212] 将N-(3-溴-5-氟-4-甲氧基苯基)乙酰胺(1.1g,4.20mmol)和3-丁烯酸(397.47mg,4.62mmol)溶于1,4二氧六环(20mL)和水(5mL)的混合溶剂中,然后加入三乙胺(1.27g,12.59mmol),三(邻甲基苯基)磷(127.75mg,419.73μmol)和醋酸钯(47.12mg,209.89μmol),加毕,反应体系用氮气置换三次,并在氮气氛围下升温至100℃反应4小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液冷却至室温后,加入1mol/L的氢氧化钠水溶液(50mL)和乙酸乙酯(50mL)振荡分层。分出下层水相后,用4mol/L盐酸水溶液调节pH至3左右,然后用乙酸乙酯(40mL*2)萃取,合并有机相用饱和食盐水(40mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压蒸干得到标题化合物的粗品1.1g。

[1213] 结构表征数据如下:

[1214] ESI-MS(m/z):268.1[M+H]$^+$.

[1215] 步骤三:4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲氧基苯基)丁酸的合成

[1216] 将(E)-4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲氧基苯基)-3-丁烯酸的粗品(1.1g,4.12mmol,)溶于甲醇(20mL),然后加入10%钯碳(100mg),加毕,然后用氢气球置换反应体系三次,并在氢气氛围下反应4小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液过滤,滤液减压浓缩干得标题化合物的粗品1.05g。

[1217] 结构表征数据如下:

[1218] ESI-MS(m/z):270.1[M+H]$^+$.

[1219] 步骤四:N-(3-氟-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[1220] 将4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲氧基苯基)丁酸的粗品(1.1g,4.09mmol)溶于三氟乙酸(10mL)中,降温至5℃后,缓慢加入三氟乙酸酐(4.29g,20.43mmol),加毕,自然升至室温反应2小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液缓慢倒入水(60mL)中,然后用乙酸乙酯(40mL*3)萃取,合并有机相,用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤至中性,然后再用饱和食盐水(40mL)洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,然后过滤,滤液减压蒸干得粗品,经快速硅胶柱(乙酸乙酯:石油醚=0-40%)纯化得标题化合物503mg。

[1221] 结构表征数据如下:

[1222] ESI-MS(m/z):252.1[M+H]$^+$.

[1223] 步骤五:N-(3-氟-7-(羟基亚氨基)-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[1224] 将四氢呋喃(15mL)和叔丁醇(4mL)加入反应液瓶中,冰浴降温至5℃后,加入叔丁醇钾(491.26mg,4.38mmol),然后将N-(3-氟-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺(500mg,1.99mmol)溶于四氢呋喃(5mL)中,并缓慢滴加入反应液,10分钟后再加入亚硝酸异戊酯(373.01mg,3.18mmol),加毕,保持5℃反应1小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液用饱和氯化铵水溶液(50mL)淬灭后,用乙酸乙酯(40*2)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(40mL)洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,然后过滤,滤液减压蒸干得标题化合物的粗品550mg。

[1225] 结构表征数据如下:

[1226] ESI-MS(m/z):281.1[M+H]$^+$.

[1227] 步骤六:N-(7-氨基-3-氟-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的合成

[1228] 将N-(3-氟-7-(羟基亚氨基)-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的粗品(520mg,1.86mmol)溶于甲醇(10mL)和四氢呋喃(10mL)的混合溶液中,然后加入1mol/L的盐酸水溶液(3.71mL)和10%钯碳(50mg),加毕,用氢气球置换反应体系三次,并在氢气氛围下室温反应1小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液过滤,滤液减压浓缩干得标题化合物的盐酸盐粗品551mg。

[1229] 结构表征数据如下:

[1230] ESI-MS(m/z):267.1[M+H]$^+$.

[1231] 步骤七:(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰胺-6-氟-5-甲氧基-1-氧基-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1232] 将N-(7-氨基-3-氟-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺的盐酸盐粗品(550mg,1.64mmol)溶于1,4-二氧六环(15mL)中,然后加入碳酸氢钠(549.45mg,6.54mmol)、水(5mL)和9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(1.12g,1.96mmol),加毕,室温下搅拌反应2小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液倒入水(50mL)中,然后用乙酸乙酯(40mL*2)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(40mL)洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液减压整干得粗品。粗品经C18(乙腈/0.05%甲酸水溶液,20%乙腈~100%乙腈)反相柱纯化得标题化合物410mg。

[1233] 结构表征数据如下:

[1234] ESI-MS(m/z):489.1[M+H]$^+$.

[1235] 步骤八:(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-6-氟-5-甲氧基-1-氧基-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯的合成

[1236] 将(9H-芴-9-基)甲基(8-乙酰胺-6-氟-5-甲氧基-1-氧基-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯(410mg,839.29μmol)溶于二氧六环(10mL)中,加入12mol/L的浓盐酸(2mL),加毕,升温至70℃反应2小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液倒入水(30mL)中,然后用乙酸乙酯(30mL*2)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(30mL)洗涤,无水硫酸钠干燥有机相,过滤,滤液减压整干得粗品。经快速硅胶(乙酸乙酯:石油醚=0-60%)纯化得标题化合物351mg。

[1237] 结构表征数据如下:

[1238] ESI-MS(m/z):447.1[M+H]$^+$.

[1239] 步骤九:(9H-芴-9-基)甲基((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯的合成

[1240] 将(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10(4H)-三酮(247.64mg,940.71μmol)和(9H-芴-9-基)甲基(8-氨基-6-氟-5-甲氧基-1-氧基-1,2,3,4-四氢萘-2-基)氨基甲酸酯(350mg,783.93μmol)加入甲苯(15mL)中,然后再加人对甲苯磺酸(134.84mg,783.93μmol),加毕,升温至135℃反应4小时,反应液直接135℃下减压蒸干得粗品;粗品经快速硅胶(甲醇:二氯甲烷=0-6%)柱纯化得标题化合物358mg。

[1241] 结构表征数据如下:

[1242] ESI-MS(m/z):674.2[M+H]$^+$.

[1243] 步骤十:(9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-10,13-二酮的合成

[1244] 将(9H-芴-9-基)甲基((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯(358mg,531.41μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中,然后加入二乙胺(0.4mL),加毕,室温反应0.5小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液减压蒸干得粗品,粗品经乙酸乙酯打浆纯化得标题化合物220mg。

[1245] 结构表征数据如下:

[1246] ESI-MS(m/z):452.1[M+H]$^+$.

[1247] 步骤十一:N-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺&N-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺的合成

[1248] 将(9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-10,13-二酮(50mg,110.76μmol)和2-羟基乙酸(16.85mg,221.51μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中,然后加人HATU(84.17mg,221.51μmol)和N,N-二异丙基乙胺(42.94mg,332.27μmol),加毕,室温反应0.5小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得单一构型标题化合物的两个异构体(5-34-A:6.22mg,5-34-B:9.81mg)

[1249] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1250] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1251]

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

[1252] 5-34-A结构表征数据如下:

[1253] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.53(d,J=9.0Hz,1H),7.89(d,J=12.3Hz,1H),7.33(s,1H),5.58(q,J=7.5,7.0Hz,1H),5.42(d,J=2.1Hz,2H),5.25-5.09(m,2H),3.98(s,2H),3.96(d,J=1.1Hz,3H),3.30-3.10(m,2H),2.15(q,J=7.4Hz,2H),1.93-1.80(m,2H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).

[1254] ESI-MS(m/z):510.2[M+H]$^+$.

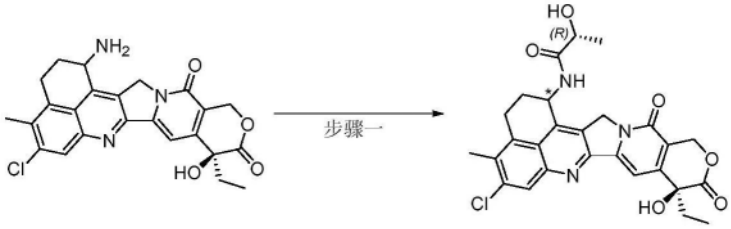
[1255] 5-34-B结构表征数据如下:

[1256] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.55(d,J=9.0Hz,1H),7.90(d,J=12.3Hz,1H),7.34(s,1H),5.59(q,J=7.4,6.8Hz,1H),5.43(s,2H),5.25-5.11(m,2H),3.99(s,2H),3.96(d,J=1.1Hz,3H),3.30-3.13(m,2H),2.15(q,J=6.4Hz,2H),1.93-1.82(m,2H),0.88(t,J=7.3Hz,3H).

[1257] ESI-MS(m/z):510.2[M+H]$^+$.

[1258] 实施例二十四(2R)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺&(2R)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺

[1259]



2-23 2-27-A和2-27-B

*处碳原子手性为R或S

[1260] 步骤一:(2R)-N-((1S,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺&(2R)-N-((1R,9S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺的合成

[1261] 将(9S)-1-氨基-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-10,13-二酮(50mg,110.64μmol)和(2R)-2-羟基丙酸(19.93mg,221.29μmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(2mL)中,然后加入HATU(84.09mg,221.29μmol)和N,N-二异丙基乙胺(42.90mg,331.93μmol),加毕,室温反应0.5小时;用高效液相质谱联用色谱检测反应;反应液直接用制备高效液相色谱纯化得标题化合物的两个异构体(2-27-A:5.73mg,2-27-B:7.59mg)

[1262] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1263] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%三氟乙酸)

[1264]

时间[min]	流动相A[%]	流动相B[%]	流速[mL/min]
0.00	30	90	28
2.00	30	90	28
18.00	90	10	28

[1265] 2-27-A结构表征数据如下:

[1266] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.45(d,J=9.1Hz,1H),8.14(s,1H),7.30(s,1H),6.54(s,1H),5.63(s,1H),5.56(q,J=8.0Hz,1H),5.42(s,2H),5.25(d,J=19.0Hz,1H),5.08(d,J=19.0Hz,1H),4.13(q,J=6.7Hz,1H),3.27-3.12(m,2H),2.51(s,3H),2.23-2.13(m,2H),1.92-1.80(m,2H),1.41(d,J=6.8Hz,3H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).

[1267] ESI-MS(m/z):524.2[M+H]$^+$.

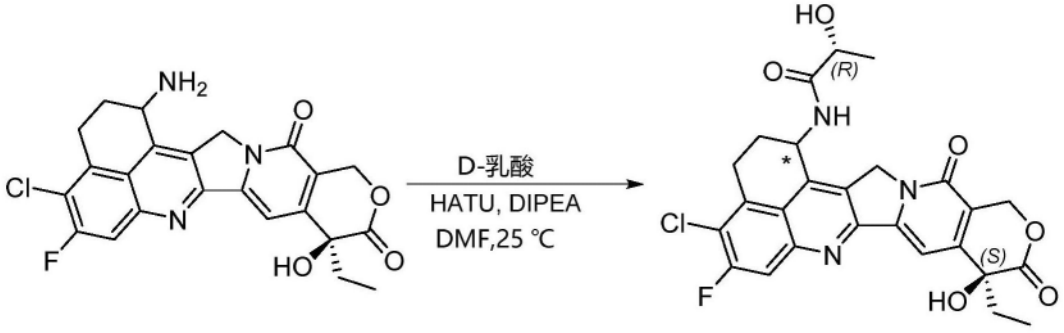
[1268] 2-27-B结构表征数据如下:

[1269] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.40(d,J=8.9Hz,1H),8.15(s,1H),7.31(s,1H),6.54(s,1H),5.55-5.49(m,1H),5.43(d,J=2.2Hz,2H),5.18(q,J=19.0Hz,2H),4.13(q,J=6.6Hz,1H),3.24-3.12(m,2H),2.51(s,3H),2.22-2.10(m,2H),1.92-1.82(m,2H),1.30(d,J=6.7Hz,3H),0.88(t,J=7.3Hz,3H).

[1270] ESI-MS(m/z):524.2[M+H]$^+$.

[1271] 实施例二十五:(R)-N-((1S,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺和(R)-N-((1R,9S)-4-氯-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基丙胺的制备

[1272]



3-1-A和3-1-B

3-26-A和3-26-B

*处碳原子手性为R或S

[1273] 25℃下,将3-1-A(20.0mg,43.9μmol)和D-乳酸(7.90mg,87.8μmol)溶于DMF(1.0mL)中,然后加入HATU(33.4mg,87.8μmol)和DIPEA(17.0mg,131.6μmol),室温反应2hr;将反应液浓缩掉大部分DMF,残留用制备高效液相色谱纯化得到化合物3-26-A(15.4mg,收率64%)。

[1274] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1275] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1276] 保留时间:5.3~6.2min

[1277]

时间[min]	流动相A[%]	流动相B[%]	流速[mL/min]
0.00	30	70	28
2.00	30	70	28
18.00	90	10	28

[1278] 结构表征数据如下：

[1279] MS m/z(ESI):528.2[M+H]$^+$

[1280] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.52(d,J＝9.2Hz,1H),8.05(d,J＝10.0Hz,1H),7.33(s,1H),6.55(s,1H),5.62-5.59(m,2H),5.43(s,2H),5.28-5.10(m,2H),4.13-4.11(m,1H),3.41-3.38(m,1H),3.28-3.22(m,1H),2.20-2.18(m,2H),1.92-1.80(m,2H),1.40(d,J＝6.8Hz,3H),0.87(t,J＝7.2Hz,3H).

[1281] 25℃下,将3-1-B(20.0mg,43.9μmol)和D-乳酸(7.90mg,87.8μmol)溶于DMF(1.0mL)中,然后加入HATU(33.4mg,87.8μmol)和DIPEA(17.0mg,131.6μmol),室温反应2hr;将反应液浓缩掉大部分DMF,残留用制备高效液相色谱纯化得到化合物3-26-B(4.8mg,收率20%)。

[1282] 色谱柱:SunFire Prep C18 OBD 19mm×150mm×5.0μm

[1283] 流动相A:乙腈;流动相B:水(0.05%甲酸)

[1284] 保留时间:7.5～8.5min

[1285]

时间[min]	流动相A[%]	流动相B[%]	流速[mL/min]
0.00	30	70	28
4.00	30	70	28
20.00	90	10	28

[1286] 结构表征数据如下：

[1287] MS m/z(ESI):528.2[M+H]$^+$

[1288] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.48(d,J＝8.8Hz,1H),8.06(d,J＝10.4Hz,1H),7.34(s,1H),6.57(br,1H),5.61-5.55(m,1H),5.48-5.39(m,2H),5.27-5.16(m,2H),4.15-4.10(m,1H),3.32-3.21(m,3H),2.23-2.16(m,2H),1.92-1.81(m,2H),1.30(d,J＝6.4Hz,3H),0.87(t,J＝7.2Hz,3H).

[1289] 生物学评价

[1290] 一、肿瘤细胞增殖抑制试验

[1291] 1.化合物对HT29细胞增殖的抑制作用

[1292] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞HT29,用胰酶消化细胞,离心后重悬细胞计数,调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表1。

[1293] 表1.肿瘤细胞来源

[1294]

细胞名称	肿瘤类型	来源
HT29	人结肠癌细胞	中国科学院细胞库

[1295] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞贴壁后,移除细胞中培养基,将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72h。

[1296] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂

(Vazyme/诺唯赞)50yL,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率＝1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC50),检测结果如表2所示。

[1297] (2)数据结果

[1298] 表2.HT29细胞增殖抑制活性

[1299]

名称	IC_{50}(nM)
对比化合物一	11.27
实施例一(1-1-A)	1.28
实施例一(1-1-B)	1.54
实施例三(2-1-A)	5.03
实施例三(2-2-B)	7.52

[1300]

实施例四(2-7-A)	1.56
实施例四(2-7-B)	5.44
实施例五(2-12-A)	3.01
实施例五(2-12-B)	2.34
实施例五(2-12-C)	1.49
实施例五(2-12-D)	3.29
实施例六(2-17-A)	1.24
实施例六(2-17-B)	1.59
实施例七(2-20-A)	1.29
实施例七(2-20-B)	4.03
实施例八(3-1-A)	0.16
实施例八(3-1-B)	0.71
实施例九(3-4-A)	5.55
实施例九(3-4-B)	4.98
实施例十(4-12)	4.79
实施例十一(4-10)	0.52
实施例十二(5-13-A)	0.88
实施例十三(5-7-A)	3.13
实施例十三(5-7-B)	4.66
实施例十四(5-16-A)	3.87
实施例二十(1-10-A)	61.60
实施例二十(1-10-B)	10.26
实施例二十一(4-14)	0.56
实施例二十二(4-15)	5.20

[1301] 测试结果表明,表2中本发明的化合物对HT29结肠癌细胞增殖具有较强的增殖抑制作用。

[1302] 2.化合物对A549细胞增殖的抑制作用

[1303] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞A549,用胰酶消化细胞,离心后重悬细胞计数,调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表3。

[1304] 表3.肿瘤细胞来源

[1305]

细胞名称	肿瘤类型	来源
A549	人肺癌细胞	中国科学院细胞库

[1306] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞贴壁后,移除细胞中培养基,将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72h。

[1307] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂(Vazyme/诺唯赞)50 0L,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率=1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC50),检测结果如表4所示。

[1308] (2)数据结果

[1309] 表4.A549细胞增殖抑制活性

[1310]

名称	IC_{50}(nM)
对比化合物一	94.18
实施例一(1-1-A)	66.56
实施例四(2-7-A)	6.97
实施例四(2-7-B)	16.39
实施例五(2-12-A)	6.96
实施例五(2-12-B)	5.52
实施例五(2-12-C)	6.64
实施例七(2-20-A)	8.14
实施例七(2-20-B)	23.06
实施例十一(4-10)	68.48

[1311] 测试结果表明,表4中本发明的化合物对A549人肺癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

[1312] 3.化合物对HCC1806细胞增殖的抑制作用

[1313] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞HCC1806,用胰酶消化细胞,离心后重悬细胞计数,调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表5。

[1314] 表5.肿瘤细胞来源

[1315]

细胞名称	肿瘤类型	来源
HCC1806	人乳腺鳞状癌细胞	ATCC

[1316] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞贴壁后,移除细胞中培养基,将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72h。

[1317] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂(Vazyme/诺唯赞)50yL,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率=1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC50),检测结果如表6所示。

[1318] (2)数据结果

[1319] 表6.HCC1806细胞增殖抑制活性

[1320]

名称	IC_{50}(nM)

对比化合物一	3.03
实施例三(2-1-A)	1.43
实施例四(2-7-A)	1.25
实施例五(2-12-A)	1.40
实施例五(2-12-B)	1.07
实施例五(2-12-C)	2.08
实施例十二(5-13-A)	0.96
实施例十六(3-12-A)	0.16
实施例十六(3-12-B)	1.76
实施例十六(3-12-C)	1.91
实施例十六(3-12-D)	1.53
实施例十七(3-7-B)	1.94
实施例十八(3-17-A)	1.70
实施例十八(3-17-B)	2.26
实施例十九(5-22-A)	2.57
实施例十九(5-22-B)	3.71
实施例二十四(2-27-A)	4.55
实施例二十四(2-27-B)	3.93
实施例二十五(3-26-A)	1.27
实施例二十五(3-26-B)	4.93

[1321] 测试结果表明,表6中本发明的化合物对HCC1806人乳腺鳞状癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

[1322] 4.化合物对SKOV-3细胞增殖的抑制作用

[1323] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞SKOV-3,用胰酶消化细胞,离心后重悬细胞计数,调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表7。

[1324] 表7.肿瘤细胞来源

[1325]

细胞名称	肿瘤类型	来源
SKOV-3	人卵巢癌细胞	南京科佰生物

[1326] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞贴壁后,移除细胞中培养基,将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72 h。

[1327] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂(Vazyme/诺唯赞)50μ0,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率=1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC50),检测结果如表8所示。

[1328] (2)数据结果

[1329] 表8.SKOV-3细胞增殖抑制活性

[1330]

名称	IC_{50}(nM)

对比化合物一	17.14
实施例一(1-1-A)	7.81
实施例三(2-1-A)	7.12
实施例四(2-7-A)	8.64
实施例四(2-7-B)	9.47
实施例五(2-12-A)	6.85
实施例五(2-12-B)	4.99
实施例五(2-12-C)	6.52
实施例七(2-20-A)	6.79
实施例十二(5-13-A)	2.09
实施例二十一(4-14)	2.16

[1331] 测试结果表明,表8中本发明的化合物对SKOV-3人卵巢癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

[1332] 5.化合物对NCI-H358细胞增殖的抑制作用

[1333] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞NCI-H358,用胰酶消化细胞,离心后重悬细胞计数,调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表9。

[1334] 表9.肿瘤细胞来源

[1335]

细胞名称	肿瘤类型	来源
NCI-H358	人非小细胞肺癌细胞	南京科佰生物

[1336] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞贴壁后,移除细胞中培养基,将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72h。

[1337] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂(Vazyme/诺唯赞)50μ0,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率=1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC50),检测结果如表10所示。

[1338] (2)数据结果

[1339] 表10.NCI-H358细胞增殖抑制活性

[1340]

名称	IC_{50}(nM)
对比化合物一	58.84
实施例一(1-1-A)	65.22
实施例二(1-7-A)	11.38
实施例二(1-7-B)	51.52
实施例三(2-1-A)	68.62
实施例四(2-7-A)	35.42
实施例四(2-7-B)	51.06
实施例五(2-12-A)	17.65
实施例五(2-12-B)	15.76

实施例五(2-12-C)	23.08
实施例七(2-20-A)	18.56
实施例十二(5-13-A)	7.01
实施例十六(3-12-A)	15.45
实施例十六(3-12-B)	19.77
实施例十六(3-12-C)	28.29
实施例十六(3-12-D)	20.75
实施例十七(3-7-A)	49.38
实施例十七(3-7-B)	22.22
实施例十八(3-17-A)	13.34
实施例十八(3-17-B)	37.34
实施例十九(5-22-A)	29.94
实施例十九(5-22-B)	61.36
实施例二十一(4-14)	11.98
实施例二十二(4-15)	17.76
实施例二十四(2-27-A)	56.46
实施例二十四(2-27-B)	69.12
实施例二十五(3-26-A)	31.64

[1341] 测试结果表明,表10中本发明的化合物对NCI-H358人非小细胞肺癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

[1342] 6.化合物对NCI-N87细胞增殖的抑制作用

[1343] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞NCI-N87,用胰酶消化细胞,离心后重悬细胞计数,调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表11。

[1344] 表11.肿瘤细胞来源

[1345]

细胞名称	肿瘤类型	来源
NCI-N87	人胃癌细胞	ATCC

[1346] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞贴壁后,移除细胞中培养基,将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72h。

[1347] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂(Vazyme/诺唯赞)50μL,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率=1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC50),检测结果如表12所示。

[1348] (2)数据结果

[1349] 表12.NCI-N87细胞增殖抑制活性

[1350]

名称	IC_{50}(nM)
对比化合物一	7.18
实施例一(1-1-A)	4.58
实施例二(1-7-A)	2.70
实施例二(1-7-B)	5.48
实施例四(2-7-A)	3.76
实施例五(2-12-A)	4.91
实施例五(2-12-B)	4.97
实施例五(2-12-C)	4.51
实施例七(2-20-A)	4.54
实施例八(3-1-A)	0.37
实施例八(3-1-B)	1.34
实施例九(3-4-A)	4.38
实施例九(3-4-B)	6.51
实施例十一(4-10)	2.29
实施例十二(5-13-A)	2.33
实施例十三(5-7-A)	6.03
实施例十三(5-7-B)	7.31
实施例十六（3-12-A）	0.44
实施例十六（3-12-B）	3.45
实施例十六（3-12-C）	3.99

[1351]

实施例十六（3-12-D）	3.03
实施例十七（3-7-A）	5.32
实施例十七（3-7-B）	4.54
实施例十八（3-17-A）	3.01
实施例十八（3-17-B）	4.19
实施例十九（5-22-A）	3.35
实施例十九（5-22-B）	5.51
实施例二十四（2-27-A）	8.32
实施例二十四（2-27-B）	14.67
实施例二十五（3-26-A）	1.23
实施例二十五（3-26-B）	25.34

[1352] 测试结果表明,表12中本发明的化合物对NCI-N87人胃癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

[1353] 7.化合物对Hela细胞增殖的抑制作用

[1354] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞Hela,用胰酶消化细胞,离心后重悬细胞计数,调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表13。

[1355] 表13.肿瘤细胞来源

[1356]

细胞名称	肿瘤类型	来源
Hela	人宫颈癌细胞	南京科佰生物

[1357] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞贴壁后,移除细胞中培养基,将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72h。

[1358] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂(Vazyme/诺唯赞)50μL,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率=1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC50),检测结果如表14所示。

[1359] (2)数据结果

[1360] 表14.Hela细胞增殖抑制活性

[1361]

名称	IC_{50}(nM)
对比化合物一	17.57
实施例一(1-1-A)	4.57
实施例一(1-1-B)	3.65
实施例三(2-1-A)	16.98
实施例四(2-7-A)	13.77

[1362]

实施例五(2-12-A)	13.25
实施例五(2-12-B)	16.68
实施例七(2-20-A)	11.17
实施例十一(4-10)	3.04

[1363] 测试结果表明,表14中本发明的化合物对Hela人宫颈癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

[1364] 8.化合物对HCC70细胞增殖的抑制作用

[1365] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞HCC70,用胰酶消化细胞,离心后重悬细胞计数,调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表15。

[1366] 表15.肿瘤细胞来源

[1367]

细胞名称	肿瘤类型	来源
HCC70	人乳腺癌细胞	南京科佰生物

[1368] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞贴壁后,移除细胞中培养基,将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72h。

[1369] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂(Vazyme/诺唯赞)50μ0,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率=1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC50),检测结果如表16所示。

[1370] (2)数据结果

[1371] 表16.HCC70细胞增殖抑制活性

[1372]

名称	IC_{50}(nM)
对比化合物一	226.10
实施例一(1-1-A)	224.85
实施例四(2-7-A)	150.70
实施例四(2-7-B)	192.20
实施例五(2-12-A)	170.93
实施例五(2-12-B)	176.16
实施例五(2-12-C)	210.68
实施例七(2-20-A)	104.99
实施例十二(5-13-A)	36.65

[1373] 测试结果表明,表16中本发明的化合物对HCC70人乳腺癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

[1374] 9.化合物对MDA-MB-231细胞增殖的抑制作用

[1375] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞MDA-MB-231,用胰酶消化细胞,离心后重悬细胞计数,调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表17。

[1376] 表17.肿瘤细胞来源

[1377]

细胞名称	肿瘤类型	来源
MDA-MB-231	人乳腺癌细胞	南京科佰生物

[1378] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞贴壁后,移除细胞中培养基,将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72h。

[1379] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂(Vazyme/诺唯赞)50)m,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率=1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC50),检测结果如表18所示。

[1380] (2)数据结果

[1381] 表18.MDA-MB-231细胞增殖抑制活性

[1382]

名称	IC_{50}(nM)
对比化合物一	381.70
实施例一(1-1-A)	363.60
实施例三(2-1-A)	299.70
实施例四(2-7-A)	123.50
实施例五(2-12-A)	123.50
实施例九(3-4-A)	284.80
实施例十二(5-13-A)	332.60
实施例十三(5-7-B)	172.40
实施例二十(1-10-A)	97.57
实施例二十(1-10-B)	27.24
实施例二十二(4-15)	175.40

[1383] 测试结果表明,表18中本发明的化合物对MDA-MB-231人乳腺癌细胞增殖具有显著的抑制作用。

[1384] 10.化合物对Jeko-1细胞增殖的抑制作用

[1385] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞Jeko-1,将细胞离心后重悬并细胞计数,最后调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表19。

[1386] 表19.肿瘤细胞来源

[1387]

细胞名称	肿瘤类型	来源

[1388]

Jeko-1	人套细胞淋巴瘤细胞	ATCC

[1389] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞铺板后,按照一定的稀释比例将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72 h。

[1390] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂(Vazyme/诺唯赞)50 0赞,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率=1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC50),检测结果如表20所示。

[1391] (2)数据结果

[1392] 表20.Jeko-1细胞增殖抑制活性

[1393]

名称	IC_{50}(nM)
对比化合物一	1.25
实施例一(1-1-A)	1.33
实施例二(1-7-A)	0.15
实施例二(1-7-B)	0.66
实施例四(2-7-A)	0.28
实施例九(3-4-A)	0.27

实施例九(3-4-B)	0.15
实施例十一(4-10)	0.45
实施例十三(5-7-A)	0.16
实施例十三(5-7-B)	0.18
实施例二十一(4-14)	0.34
实施例二十二(4-15)	0.11

[1394] 测试结果表明,表20中本发明的化合物对Jeko-1人套细胞淋巴瘤细胞增殖具有显著的抑制作用。

[1395] 11.化合物对MDA-MB-453细胞增殖的抑制作用

[1396] (1)细胞铺板:首先采用相应的培养基培养肿瘤细胞MDA-MB-453,用胰酶消化细胞,离心后重悬细胞计数,调整细胞至合适的浓度进行铺板。肿瘤细胞来源见表21。

[1397] 表21.肿瘤细胞来源

[1398]

细胞名称	肿瘤类型	来源
MDA-MB-453	人乳腺癌细胞	康诺泰

[1399] 本发明化合物和肿瘤细胞共孵育:待细胞贴壁后,移除细胞中培养基,将稀释好的生物活性分子(本发明化合物)加入到上述板孔中,孵育72h。

[1400] 体外细胞活性检测:孵育结束后,每孔加入Cell Counting-Lite™ 2.0试剂(Vazyme/诺唯赞)50 0赞,避光振荡混匀,反应10min后即可进行检测,酶标仪(厂家:BMG,型号:PHERAStar-FS)读数。利用不含细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得背景RLU,含有细胞的培养基(含Cell Counting-Lite™)获得溶媒RLU。细胞抑制率=1-(样品RLU-样品RLU)/(溶媒RLU-背景RLU)×100%,按照四参数模型拟合曲线,计算化合物的半数抑制浓度(IC_{50}),检测结果如表22所示。

[1401] (2)数据结果

[1402] 表22.MDA-MB-453细胞增殖抑制活性

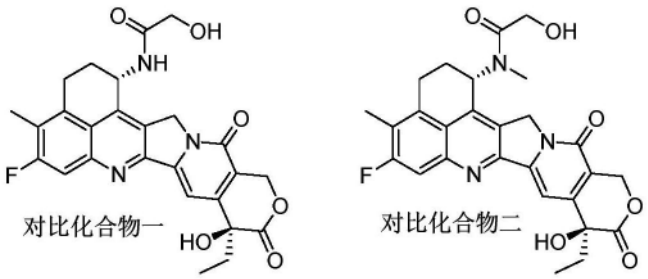
[1403]

名称	IC_{50}(nM)
对比化合物一	6.99
实施例十六(3-12-A)	0.47
实施例十六(3-12-B)	4.32
实施例十六(3-12-C)	5.52
实施例十六(3-12-D)	3.98
实施例十七(3-7-A)	6.23
实施例十七(3-7-B)	4.87
实施例十八(3-17-A)	3.32
实施例十八(3-17-B)	6.16
实施例十九(5-22-A)	7.34
实施例十九(5-22-B)	5.67
实施例二十四(2-27-A)	11.83
实施例二十五(3-26-A)	3.95

[1404] 测试结果表明,表22中本发明的化合物对MDA-MB-453人乳腺癌细胞增殖具有显著

的抑制作用。

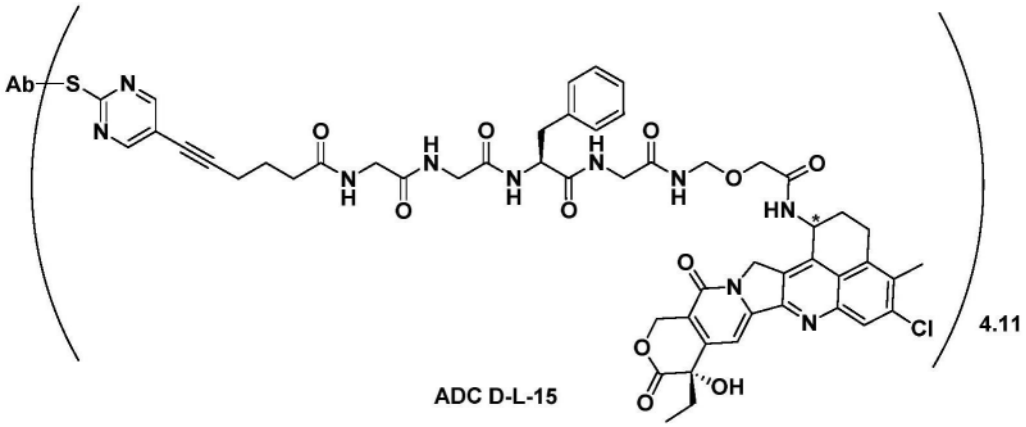
[1405] 对比化合物一和对比化合物二的结构如下所示：

[1406] 

[1407] 二、抗体偶联试验

[1408] ADC D-L-15样品的偶联制备如下：

[1409] 取1.036mL hIgG抗体(抗鸡溶菌酶抗体,19.3mg/mL),用0.1M依地酸二钠的溶液(pH 7.6)稀释,然后用1M Na_2HPO_4溶液调pH至7.6,加入2.4倍物质的量的10mM TCEP(三(2-羧乙基)膦)溶液(pH 7.6)混匀,室温放置90min。向上述溶液体系加入5倍物质的量的溶解在二甲基亚砜的化合物D-L-15,混匀,室温静置2h,完毕后采用NAP-5凝胶柱(Cytiva)将缓冲液置换为pH 6.0的10mM组氨酸缓冲溶液,然后添加蔗糖和吐温20,混匀,得到抗体药物缀合物ADC D-L-15(1.77mL,8.60mg/mL)。

[1410] 

[1411] 利用LC-MS测定ADC D-L-15分子量,计算药物/抗体比DAR值为4.11,如表23、表24所示。

[1412] 表23:ADC D-L-15实测分子量

[1413]

肽链		mAb	DAR1	DAR2	DAR3	DAR4
LC	实测值	23356.98	24384.43	N/A	N/A	N/A
HC	实测值	50172.24	51199.41	52226.65	53253.93	N/A

[1414] 表24:ADC D-L-15的DAR值

[1415]

名称	最大信号强度	比率	DAR
LC-DAR0	3266.67	0.453	
LC-DAR1	3948.06	0.547	
HC-DAR0	551.28	0.175	
HC-DAR1	1141.65	0.362	4.11
HC-DAR2	774.39	0.246	
HC-DAR3	685.97	0.218	
HC-DAR4	0.00	0.000	

[1416] 色谱测定条件:

[1417] 液相色谱柱:Thermo MAbPac RP 3.0*100mm;

[1418] 流动相A:0.1%FA/H_2O;流动相B:0.1%FA/ACN;

[1419] 流速:0.25mL/min;样品室温度:8℃;柱温:60℃;进样量:2μL;

[1420]

时间(分钟)	2	20	22	25	26	30

[1421]

流动相 A (体积%)	75	60	5	5	75	75
流动相 B (体积%)	25	40	95	95	25	25

[1422] 质谱测定条件:

[1423] 质谱型号:AB Sciex Triple TOF 5600+;

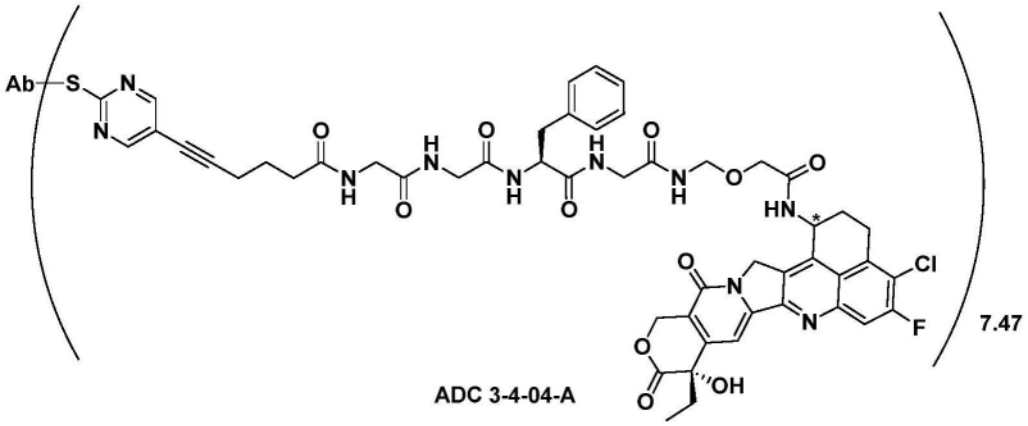
[1424] GS1 35;GS2 35;CUR 30;TEM 350;ISVF 5500;DP 250;CE 10;

[1425] Accumulation time 0.5s;m/z 600-4000;Time bins to sum 40。

[1426] ADC 3-4-04-A样品的偶联制备如下:

[1427] 取0.518mL hIgG抗体(抗鸡溶菌酶抗体,19.3mg/mL),用0.1M依地酸二钠的溶液(pH 7.6)稀释,然后用1M Na_2HPO_4溶液调pH至7.6,加入5.5倍物质的量的10mM TCEP(三(2-羧乙基)膦)溶液(pH 7.6)混匀,室温放置90min。向上述溶液体系加入10倍物质的量的溶解在二甲基亚砜的化合物3-4-04-A,混匀,室温静置2h,完毕后采用NAP-5凝胶柱(Cytiva)将缓冲液置换为pH 6.0的10mM组氨酸缓冲溶液,然后添加蔗糖和吐温20,混匀,得到抗体药物缀合物ADC 3-4-04-A(1.50mL,5.60mg/mL)。

[1428]



ADC 3-4-04-A

其中：Ab为hIgG

*位置表示该处原子手性为R或S

[1429] 利用LC-MS测定ADC 3-4-04-A分子量,计算药物/抗体比DAR值为7.47,如表25、表26所示,色谱测定条件同ADC D-L-15。

[1430] 表25:ADC 3-4-04-A实测分子量

[1431]

肽链		mAb	DAR1	DAR2	DAR3	DAR4
LC	实测值	23356.79	24388.20	N/A	N/A	N/A
HC	实测值	50171.57	51199.68	52233.48	53265.97	54297.82

[1432] 表26:ADC 3-4-04-A的DAR值

[1433]

名称	最大信号强度	比率	DAR
LC-DAR0	223.44	0.061	7.47
LC-DAR1	3458.32	0.939	
HC-DAR0	122.34	0.068	
HC-DAR1	0.09	0.000	

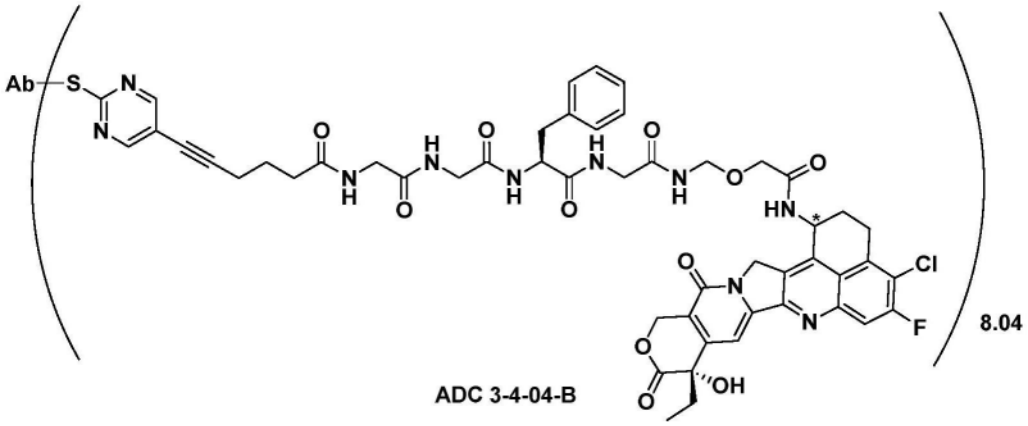
[1434]

HC-DAR2	1.11	0.001	
HC-DAR3	1682.87	0.932	
HC-DAR4	0.18	0.000	

[1435] ADC 3-4-04-B样品的偶联制备如下：

[1436] 取0.518mL hIgG抗体(抗鸡溶菌酶抗体,19.3mg/mL),用0.1M依地酸二钠的溶液(pH 7.6)稀释,然后用1M Na_2HPO_4溶液调pH至7.6,加入5.5倍物质的量的10mM TCEP(三(2-羧乙基)膦)溶液(pH 7.6)混匀,室温放置90min。向上述溶液体系加入10倍物质的量的溶解在二甲基亚砜的化合物3-4-04-B,混匀,室温静置2h,完毕后采用NAP-5凝胶柱(Cytiva)将缓冲液置换为pH 6.0的10mM组氨酸缓冲溶液,然后添加蔗糖和吐温20,混匀,得到抗体药物缀合物ADC 3-4-04-B(1.50mL,5.60mg/mL)。

[1437]



ADC 3-4-04-B

其中：Ab为hIgG

*位置表示该处原子手性为R或S

[1438] 利用LC-MS测定ADC 3-4-04-B分子量,计算药物/抗体比DAR值为8.04,如表27、表28所示,色谱测定条件同ADC D-L-15。

[1439] 表27:ADC 3-4-04-B实测分子量

[1440]

肽链		mAb	DAR1	DAR2	DAR3	DAR4
LC	实测值	23356.32	24388.01	N/A	N/A	N/A
HC	实测值	50166.19	51196.05	52232.67	53265.82	54296.20

[1441] 表28:ADC 3-4-04-B的DAR值

[1442]

名称	最大信号强度	比率	DAR
LC-DAR0	0.02	0.000	
LC-DAR1	3735.97	1.000	
HC-DAR0	0.68	0.000	
HC-DAR1	0.12	0.000	8.04
HC-DAR2	0.05	0.000	
HC-DAR3	1867.41	0.980	
HC-DAR4	36.69	0.019	

[1443] 上述实验证明:本发明的细胞毒性药物-连接子类化合物可以顺利与抗体偶联得到抗体药物缀合物。

[1444] 尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述,本领域技术人员将会理解,根据已经公开的所有教导,可以对那些细节进行各种修改和替换,这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部范围由所附权利要求及其任何等同物给出。