

苯基丙酰胺类化合物及其应用

本申请要求申请日为 2020 年 4 月 30 日的中国专利申请 CN202010365940.6 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

技术领域

本发明涉及苯基丙酰胺类化合物在制备治疗疼痛和瘙痒相关疾病的药物中的应用，具体涉及式 (I) 所示化合物或其药学上可接受的盐。

背景技术

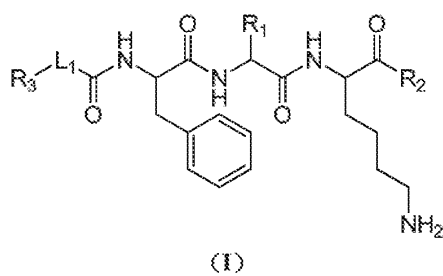
本发明化合物是一类新的 κ 激动剂，及其在制备治疗疼痛和瘙痒相关疾病的药物中的应用。

阿片受体是一类重要的跨越七膜的 G 蛋白偶联受体，包括 MOR、DOR、KOR 和 OLR 等亚型，它们广泛分布在整个大脑、脊髓和外周。 κ 阿片受体 (KOR) 由位于人类染色体 8q11.2 上的单个基因 OPRK 编码。与 MOR 相似，KOR 在大脑、脊髓和外周神经中广泛表达。 κ 阿片受体激动剂可通过至少两种机制产生镇痛作用：(i) 对疼痛信号的神经元转运的直接抑制作用和 (ii) 间接的抗炎作用。

中枢性作用的阿片受体激动剂可抑制疼痛，但它们与局限性副作用有关，例如镇静、烦躁不安和尿量增加。激活外周阿片受体可产生镇痛作用，减轻中枢神经系统的副作用。这种方法已被证明可以缓解传统中枢阿片类药物的疼痛。外周限制性的 KOR 激动剂不会越过血脑屏障，因此不会对位于大脑或脊髓的 KOR 产生影响。可以通过作用于位于外周的 κ 受体来减少疼痛信号的传导，而不会引起中枢介导的不良反应。

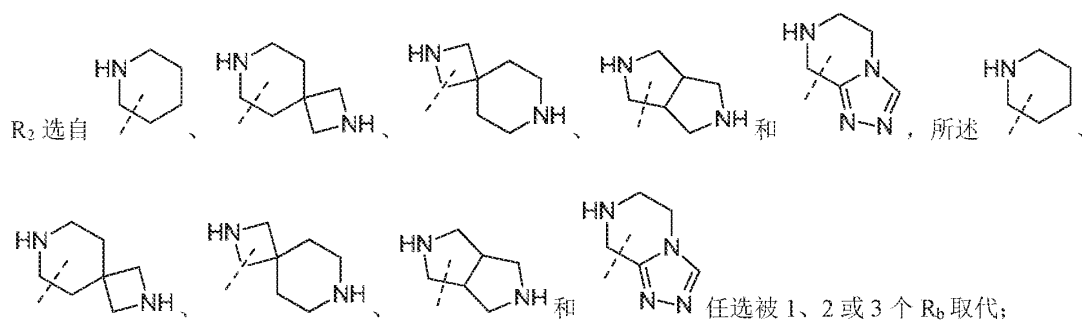
发明内容

本发明提供了式 (I) 所示化合物或其药学上可接受的盐，



其中，

R_1 选自 C_{3-5} 环烷基和 $-C_{1-3}$ 烷基- C_{3-5} 环烷基，所述 C_{3-5} 环烷基和 $-C_{1-3}$ 烷基- C_{3-5} 环烷基任选被 1、2 或 3 个 R_a 取代；



L₁ 选自 -N(R_e)-C(R_c)(R_d)-, 氮原子与 R₃ 相连, 碳原子与 L₁ 相连;

R₃ 自 -C₁₋₃ 烷基-苯基, 所述 -C₁₋₃ 烷基-苯基任选被 1、2 或 3 个 R_f 取代;

R₄ 和 R_f 选自 F、Cl、Br 和 CH₃;

R_b 选自 F、Cl、Br、NH₂、COOH、C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、-C(=O)-C₁₋₃ 烷基和 -NH-C(=O)NH-C₁₋₃ 烷基, 所述 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、-C(=O)-C₁₋₃ 烷基和 -NH-C(=O)NH-C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代;

R_c 和 R_d 分别独立地选自 H、NH₂ 和 CH₃;

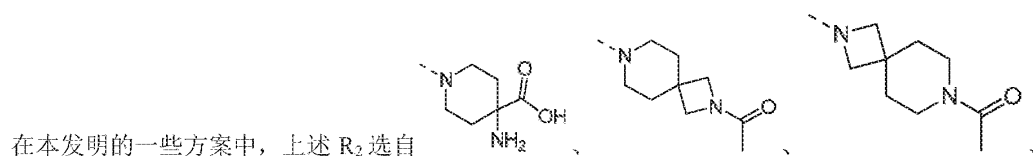
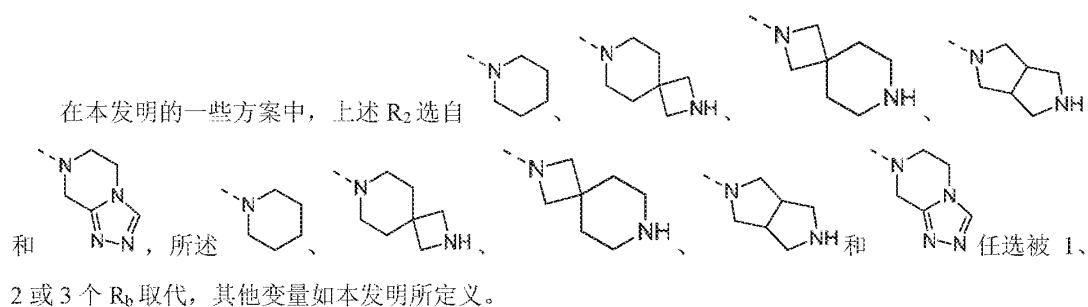
R_e 选自 H 和 CH₃;

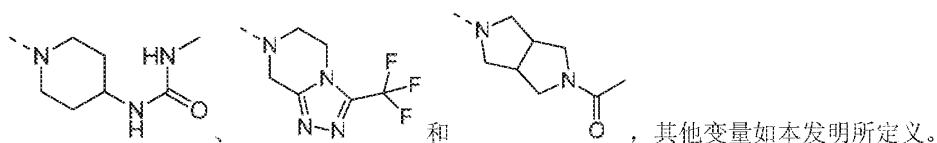
R 选自 F、Cl 和 Br。

在本发明的一些方案中, 上述 R₁ 选自环丙基、环戊基和 -CH₂-环丙基, 所述环丙基、环戊基和 -CH₂-环丙基任选被 1、2 或 3 个 R_a 取代, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 上述 R₁ 选自 , 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 上述 R_b 选自 F、Cl、Br、NH₂、COOH、CH₃、CF₃、OCH₃、-C(=O)-CH₃ 和 -NH-C(=O)NH-CH₃, 其他变量如本发明所定义。





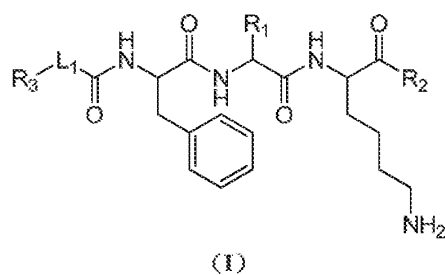
在本发明的一些方案中，上述 R_3 选自  和 ，所述  和  任选被 1、2 或 3 个 R_f 取代，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 R_3 选自  和 ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 上述 L_1 选自 $-NH-CH_2-$, 其他变量如本发明所定义。

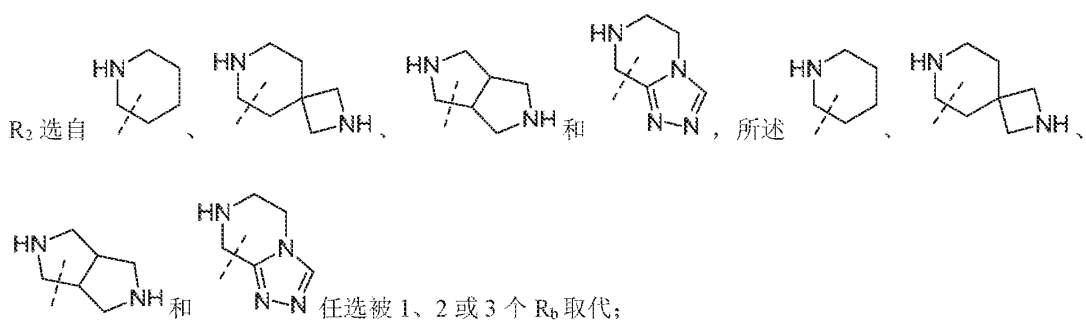
在本发明的一些方案中，上述 R_3 - L_1 选自 ，其他变量如本发明所定义。

本发明提供了式 (I) 所示化合物或其药学上可接受的盐,



其中,

R₁ 选自 C₃₋₅ 环烷基和 -C₁₋₃ 烷基-C₃₋₅ 环烷基, 所述 C₃₋₅ 环烷基和 -C₁₋₃ 烷基-C₃₋₅ 环烷基任选被 1、2 或 3 个 R_a 取代;



L_1 选自 $-C(R_c)(R_d)-$ 和 $-N(R_e)-C(R_c)(R_d)-$;

R₃ 自-C₁₋₃ 烷基-苯基, 所述-C₁₋₃ 烷基-苯基任选被 1、2 或 3 个 R_f 取代;

R_a 和 R_f 选自 F、Cl、Br 和 CH_3 ;

R_b 选自 F、Cl、Br、 NH_2 、 $COOH$ 、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基和 $-C(=O)-C_{1-3}$ 烷基, 所述 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基和 $-C(=O)-C_{1-3}$ 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代;

R_c 和 R_d 分别独立地选自 H、 NH_2 和 CH_3 ;

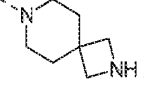
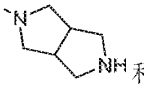
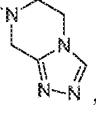
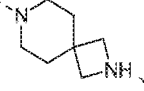
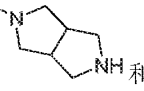
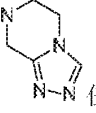
R_e 选自 H 和 CH_3 ;

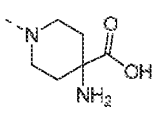
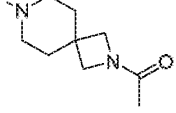
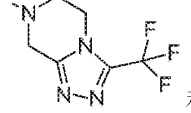
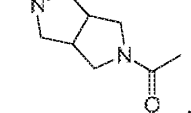
R 选自 F、Cl 和 Br。

在本发明的一些方案中, 上述 R_1 选自环丙基、环戊基和 $-CH_2$ -环丙基, 所述环丙基、环戊基和 $-CH_2$ -环丙基任选被 1、2 或 3 个 R_a 取代, 其他变量如本发明所定义。

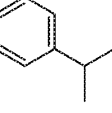
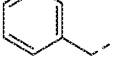
在本发明的一些方案中, 上述 R_1 选自  和 , 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 上述 R_b 选自 F、Cl、Br、 NH_2 、 $COOH$ 、 CH_3 、 CF_3 、 OCH_3 和 $-C(=O)-CH_3$, 其他变量如本发明所定义。

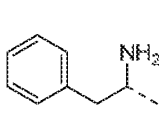
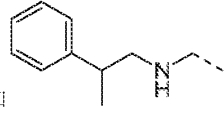
在本发明的一些方案中, 上述 R_2 选自 , ,  和 , 所述 , ,  和  任选被 1、2 或 3 个 R_b 取代, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 上述 R_2 选自 , ,  和 , 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 上述 R_3 选自  和 , 所述  和  任选被 1、2 或 3 个 R_f 取代, 其他变量如本发明所定义。

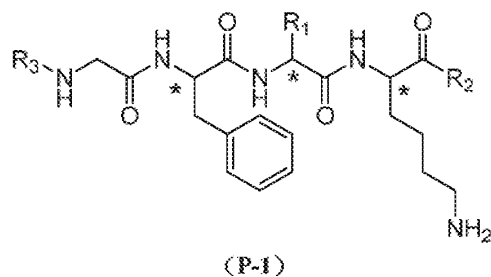
在本发明的一些方案中, 上述 R_3 选自  和 , 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 上述 L_1 选自 $-CH_2-$ 、 $-CH(NH_2)-$ 和 $-NH-CH_2-$, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 R₃-L₁-选自  和 ，其他变量如本发明所定义。

本发明还有一些方案是由上述各变量任意组合而来。

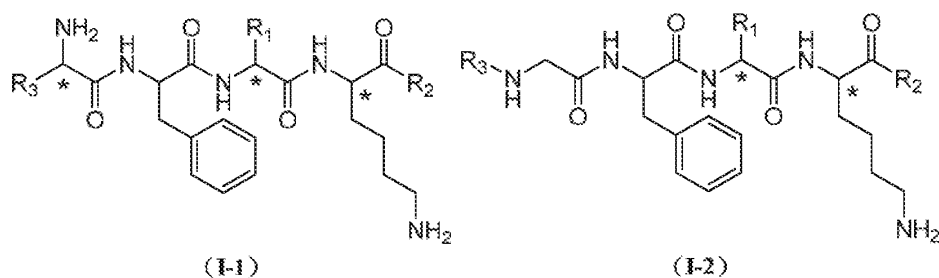
本发明的一些方案中，上述述化合物或其药学上可接受的盐，其选自：



R₁、R₂ 和 R₃ 如本发明所定义；

带“*”碳原子为手性碳原子，以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在。

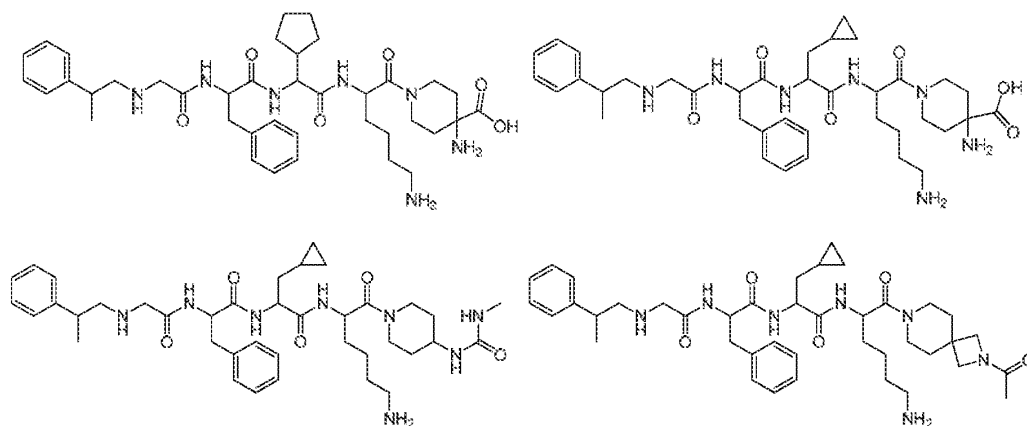
本发明的一些方案中，上述述化合物或其药学上可接受的盐，其选自：

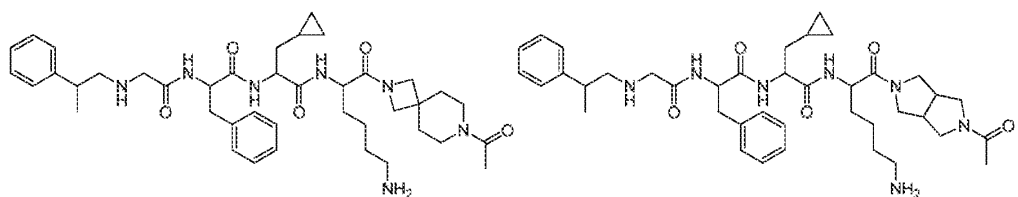


R₁、R₂ 和 R₃ 如本发明所定义；

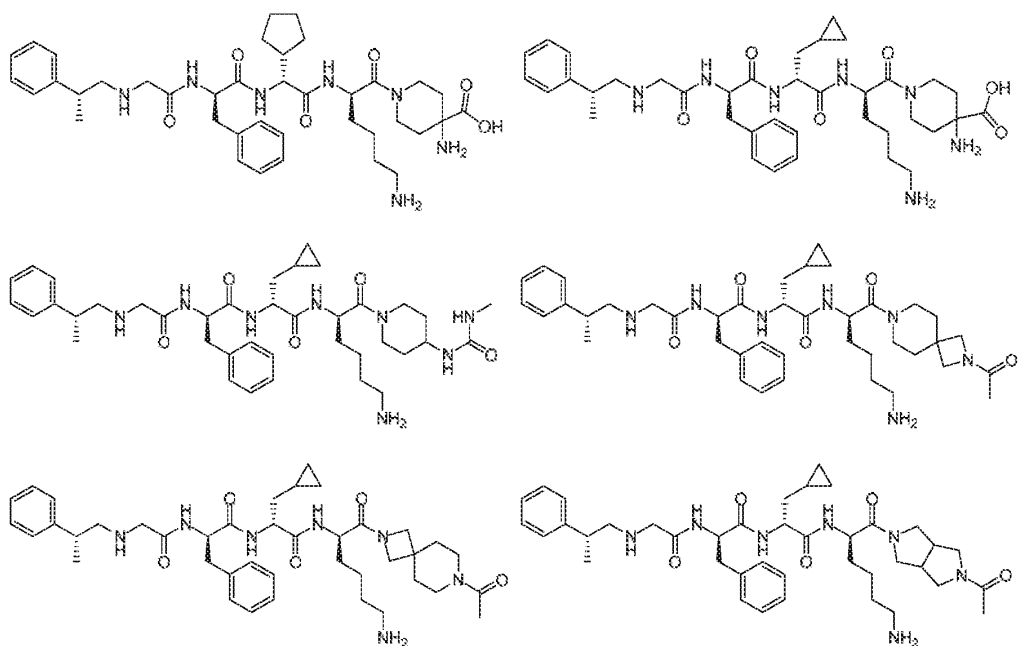
带“*”碳原子为手性碳原子，以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在。

本发明还提供了下式所示化合物或其药学上可接受的盐，





本发明的一些方案中，上述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自：



本发明还提供了上述化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗与 κ 受体激动剂相关疾病的药物上的应用。

本发明的一些方案中，上述的应用，其特征在于，所述 κ 受体激动剂相关药物是用于疼痛和瘙痒的药物。

定义和说明

除非另有说明，本文所用的下列术语和短语旨在具有下列含义。一个特定的术语或短语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的，而应该按照普通的含义去理解。当本文中出现商品名时，意在指代其对应的商品或其活性成分。

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

术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的盐，由本发明发现的具有特定取代基的化合物与相对无毒的酸或碱制备。当本发明的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱与这类化合物的中性形式接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成

盐包括钠、钾、钙、铵、有机胺或镁盐或类似的盐。当本发明的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物的中性形式接触的方式获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括无机酸盐，所述无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、碳酸氢根、磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硫酸、硫酸氢根、氢碘酸、亚磷酸等；以及有机酸盐，所述有机酸包括如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸和甲磺酸等类似的酸；还包括氨基酸（如精氨酸等）的盐，以及如葡萄糖醛酸等有机酸的盐。本发明的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团，从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

本发明的药学上可接受的盐可由含有酸根或碱基的母体化合物通过常规化学方法合成。一般情况下，这样的盐的制备方法是：在水或有机溶剂或两者的混合物中，经由游离酸或碱形式的这些化合物与化学计量的适当的碱或酸反应来制备。

除非另有说明，术语“异构体”意在包括几何异构体、顺反异构体、立体异构体、对映异构体、旋光异构体、非对映异构体和互变异构体。

本发明的化合物可以存在特定的几何或立体异构体形式。本发明设想所有的这类化合物，包括顺式和反式异构体、(-)-和(+)-对映体、(R)-和(S)-对映体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体，及其外消旋混合物和其他混合物，例如对映异构体或非对映体富集的混合物，所有这些混合物都属于本发明的范围之内。烷基等取代基中可存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及它们的混合物，均包括在本发明的范围之内。

除非另有说明，术语“对映异构体”或者“旋光异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。

除非另有说明，术语“顺反异构体”或者“几何异构体”系由因双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而引起。

除非另有说明，术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。

除非另有说明，“(D)”或者“(+)”表示右旋，“(L)”或者“(-)”表示左旋，“(DL)”或者“(±)”表示外消旋。

除非另有说明，用楔形实线键（）和楔形虚线键（）表示一个立体中心的绝对构型，用直形实线键（）和直形虚线键（）表示立体中心的相对构型，用波浪线（）表示楔形实线键（）或楔形虚线键（），或用波浪线（）表示直形实线键（）和直形虚线键（）。

除非另有说明，术语“富含一种异构体”、“异构体富集”、“富含一种对映体”或者“对映体富集”指其中一种异构体或对映体的含量小于 100%，并且，该异构体或对映体的含量大于等于 60%，或者大于等于 70%，或者大于等于 80%，或者大于等于 90%，或者大于等于 95%，或者大于等于 96%，或者大于等于 97%，或者大于等于 98%，或者大于等于 99%，或者大于等于 99.5%，或者大于等于 99.6%，或者大于等于 99.7%，或者大于等于 99.8%，或者大于等于 99.9%。

除非另有说明，术语“异构体过量”或“对映体过量”指两种异构体或两种对映体相对百分数之间的

差值。例如，其中一种异构体或对映体的含量为 90%，另一种异构体或对映体的含量为 10%，则异构体或对映体过量 (ee 值) 为 80%。

可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的(R)-和(S)-异构体以及 *D* 和 *L* 异构体。如果想得到本发明某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱性官能团（如氨基）或酸性官能团（如羧基）时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的常规方法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合（例如由胺生成氨基甲酸盐）。

本发明的化合物可以在一个或多个构成该化合物的原子上包含非天然比例的原子同位素。例如，可用放射性同位素标记化合物，比如氚 (^3H)，碘-125 (^{125}I) 或 C-14 (^{14}C)。又例如，可用重氢取代氢形成氘代药物，氘与碳构成的键比普通氢与碳构成的键更坚固，相比于未氘化药物，氘代药物有降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本发明的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本发明的范围之内。

术语“任选”或“任选地”指的是随后描述的事件或状况可能但不是必需出现的，并且该描述包括其中所述事件或状况发生的情况以及所述事件或状况不发生的情况。

术语“被取代的”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代，取代基可以包括重氢和氢的变体，只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为氧（即=O）时，意味着两个氢原子被取代。氧取代不会发生在芳香基上。术语“任选被取代的”是指可以被取代，也可以不被取代，除非另有规定，取代基的种类和数目在化学上可以实现的基础上可以是任意的。

当任何变量（例如 R）在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立的。因此，例如，如果一个基团被 0-2 个 R 所取代，则所述基团可以任选地至多被两个 R 所取代，并且每种情况下的 R 都有独立的选项。此外，取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

当一个连接基团的数量为 0 时，比如 $-(\text{CRR})_0-$ ，表示该连接基团为单键。

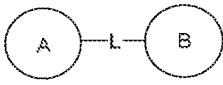
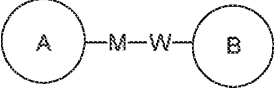
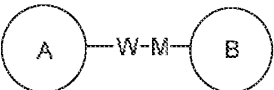
当一个取代基数量为 0 时，表示该取代基是不存在的，比如 $-\text{A}-(\text{R})_0$ 表示该结构实际上是 $-\text{A}$ 。

当一个取代基为空缺时，表示该取代基是不存在的，比如 $\text{A}-\text{X}$ 中 X 为空缺时表示该结构实际上是 A。

当其中一个变量选自单键时，表示其连接的两个基团直接相连，比如 $\text{A}-\text{L}-\text{Z}$ 中 L 代表单键时表示该结构实际上是 $\text{A}-\text{Z}$ 。

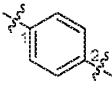
当一个取代基的键可以交叉连接到一个环上的两个以上原子时，这种取代基可以与这个环上的任意原子相键合，例如，结构单元  或  表示其取代基 R 可在环己基或者环己二烯上的任意一个位置发生取代。当所列举的取代基中没有指明其通过哪一个原子连接到被取代的基团上时，这种取代基可以通过其任何原子相键合，例如，吡啶基作为取代基可以通过吡啶环上

任意一个碳原子连接到被取代的基团上。

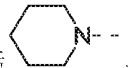
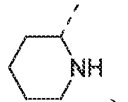
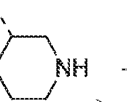
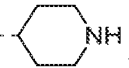
当所列举的连接基团没有指明其连接方向，其连接方向是任意的，例如， 中连接基团 L 为 -M-W-，此时 -M-W- 既可以按与从左往右的读取顺序相同的方向连接环 A 和环 B 构成 ，也可以按照与从左往右的读取顺序相反的方向连接环 A 和环 B 构成 。所述连接基团、取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

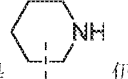
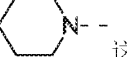
除非另有规定，当某一基团具有一个或多个可连接位点时，该基团的任意一个或多个位点可以通过化学键与其他基团相连。当该化学键的连接方式是不定位的，且可连接位点存在 H 原子时，则连接化学键时，该位点的 H 原子的个数会随所连接化学键的个数而对应减少变成相应价数的基团。所述位点与其他基团连接的化学键可以用直形实线键（）、直形虚线键（）、或波浪线（）表示。

例如 -OCH₃ 中的直形实线键表示通过该基团中的氧原子与其他基团相连； 中的直形虚线键表示

通过该基团中的氮原子的两端与其他基团相连； 中的波浪线表示通过该苯基基团中的 1 和

2 位碳原子与其他基团相连； 表示该哌啶基上的任意可连接位点可以通过 1 个化学键与其他

基团相连，至少包括 、、、 这 4 种连接方式，即使 -N- 上

画出了 H 原子，但是  仍包括  这种连接方式的基团，只是在连接 1 个化学键时，该位点的 H 会对应减少 1 个变成相应的一价哌啶基。

除非另有规定，术语“C₁₋₃ 烷基”用于表示直链或支链的由 1 至 3 个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述 C₁₋₃ 烷基包括 C₁₋₂ 和 C₂₋₃ 烷基等；其可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基）。C₁₋₃ 烷基的实例包括但不限于甲基（Me）、乙基（Et）、丙基（包括 *n*-丙基和异丙基）等。

除非另有规定，术语“C₁₋₃ 烷氧基”表示通过一个氧原子连接到分子的其余部分的那些包含 1 至 3 个碳原子的烷基基团。所述 C₁₋₃ 烷氧基包括 C₁₋₂、C₂₋₃、C₃ 和 C₂ 烷氧基等。C₁₋₃ 烷氧基的实例包括但

不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基(包括正丙氧基和异丙氧基)等。

除非另有规定,“C₃₋₅环烷基”表示由3至5个碳原子组成的饱和环状碳氢基团,其为单环体系,所述C₃₋₅环烷基包括C₃₋₄和C₄₋₅环烷基等;其可以是一价、二价或者多价。C₃₋₅环烷基的实例包括,但不限于,环丙基、环丁基、环戊基等。

除非另有规定,C_{n-n+m}或C_n-C_{n+m}包括n至n+m个碳的任何一种具体情况,例如C₁₋₁₂包括C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁、和C₁₂,也包括n至n+m中的任何一个范围,例如C₁₋₁₂包括C₁₋₃、C₁₋₆、C₁₋₉、C₃₋₆、C₃₋₉、C₃₋₁₂、C₆₋₉、C₆₋₁₂、和C₉₋₁₂等;同理,n元至n+m元表示环上原子数为n至n+m个,例如3-12元环包括3元环、4元环、5元环、6元环、7元环、8元环、9元环、10元环、11元环、和12元环,也包括n至n+m中的任何一个范围,例如3-12元环包括3-6元环、3-9元环、5-6元环、5-7元环、6-7元环、6-8元环、和6-10元环等。

本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的常规方法来确认结构,如果本发明涉及化合物的绝对构型,则该绝对构型可以通过本领域常规技术手段予以确证。例如单晶X射线衍射法(SXRD),把培养出的单晶用Bruker D8 venture衍射仪收集衍射强度数据,光源为CuK α 辐射,扫描方式: ϕ/ω 扫描,收集相关数据后,进一步采用直接法(Shelxs97)解析晶体结构,便可以确证绝对构型。

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

本发明所使用的溶剂可经市售获得。

本发明采用下述缩略词:aq代表水;HATU代表O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐;eq代表当量、等量;DCM代表二氯甲烷;PE代表石油醚;DMF代表N,N-二甲基甲酰胺;DMSO代表二甲亚砜;EtOAc代表乙酸乙酯;EtOH代表乙醇;MeOH代表甲醇;CBz代表苄氧羰基,是一种胺保护基团;BOC代表叔丁氧羰基是一种胺保护基团;rt代表室温;O/N代表过夜;THF代表四氢呋喃;Boc₂O代表二叔丁基二碳酸酯;TFA代表三氟乙酸;DIPEA代表二异丙基乙基胺;Pd₂(dba)₃代表三(二亚苄基丙酮)二钯。

化合物依据本领域常规命名原则或者使用ChemDraw®软件命名,市售化合物采用供应商目录名称。

技术效果

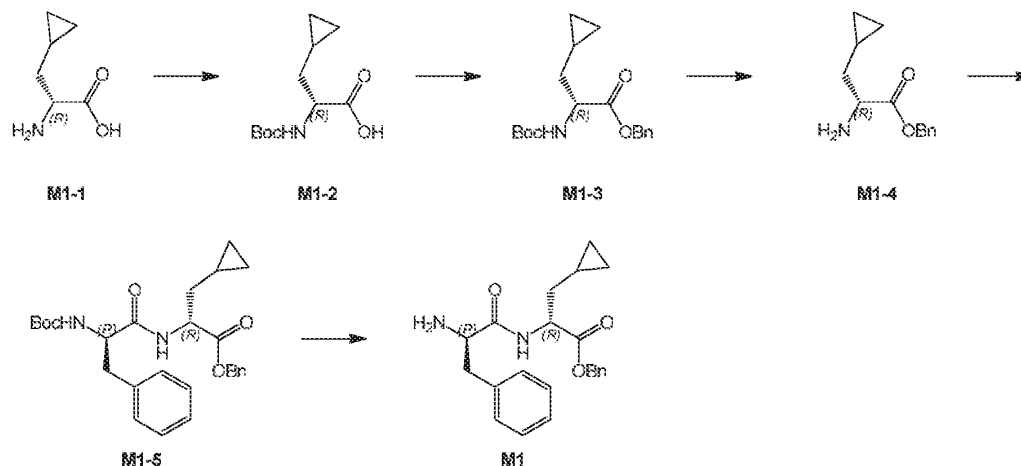
本发明化合物具有显著的Kappa受体激动作用;在人和SD大鼠血浆中表现为非常高的血浆蛋白游离率;本发明化合物无相关药药相互作用风险;本发明化合物具有良好的药代动力学性质。

具体实施方式

下面通过实施例对本发明进行详细描述,但并不意味着对本发明任何不利限制。本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的多种合成方法来制备,包括下面列举的具体实施方式、其与其他化学合成方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术人员所熟知的等同替换方式,优选的实施方式

包括但不限于本发明的实施例。对本领域的技术人员而言，在不脱离本发明精神和范围的情况下针对本发明具体实施方式各种变化和改进行将是显而易见的。

参考例 1: 合成中间体 M1



步骤 1: 中间体 M1-2 的制备

将化合物 **M1-1** (1.1 g, 8.52 mmol) 溶于 1,4-二氧六环 (10 mL) 中, 加入氢氧化钠 (408.80 mg, 10.22 mmol) 的水 (10 mL) 溶液, 接着加入二碳酸二叔丁酯 (2.23 g, 10.22 mmol), 反应液体 20°C 下继续搅拌 15 小时。向反应液中加入 30 mL 水, 用饱和硫酸氢钾溶液调节 pH 至 3 左右, 乙酸乙酯 (50 mL*2) 萃取, 合并萃取后的有机相用 60 mL 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 得到化合物 **M1-2**, 该化合物不经进一步纯化直接用于下一步反应。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 5.09 - 5.07 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 4.28 - 4.26 (m, 1H), 1.63 - 1.53 (m, 2H), 1.32 (s, 9H), 0.70 - 0.58 (m, 1H), 0.42 - 0.32 (m, 2H), 0.05 - -0.05 (m, 2H)。

下中间体使用与中间体 **M1-2** 类似的方法合成得到:

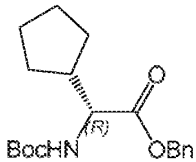
中间体 编号	结构式	谱图
中间体 M2-2		¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃) δ: 5.08 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H), 4.26 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 2.29 - 2.21 (m, 1H), 1.85 - 1.55 (m, 6H), 1.45 (s, 9H), 1.40 - 1.31 (m, 2H)。

步骤 2: 中间体 M1-3 的制备

将化合物 **M1-2** (1.95 g, 8.51 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL) 中, 加入碳酸钾 (1.41 g, 10.21 mmol) 和溴化苄 (1.75 g, 10.21 mmol), 反应液在 20°C 下继续搅拌 15 小时。将反应液用 80 mL 乙酸乙酯稀释, 依次用水 (50 mL*2) 和饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 得到的粗品经硅胶柱层析 (洗脱剂: 0-10% 乙酸乙酯/石油醚) 分离纯化, 得到化合物

M1-3。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 7.38 - 7.25 (m, 5H), 5.12 (d, *J*=2.4 Hz, 2H), 4.40 - 4.36 (m, 1H), 1.64 - 1.60 (m, 2H), 1.39 (s, 9H), 0.68 - 0.56 (m, 1H), 0.46 - 0.29 (m, 2H), 0.07 - -0.08 (m, 2H)。

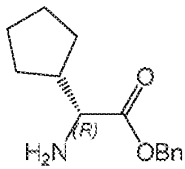
下中间体使用与中间体 **M1-3** 类似的方法合成得到:

中间体编号	结构式	谱图
中间体 M2-3		¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃) δ: 7.33 - 7.19 (m, 5H), 5.19 - 5.02 (m, 2H), 4.95 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H), 4.21 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 2.19 - 2.08 (m, 1H), 1.61 - 1.41 (m, 6H), 1.40 (s, 9H), 1.27 - 1.14 (m, 2H)。

步骤 3: 中间体 **M1-4** 的制备

将化合物 **M1-3** (2.4 g, 7.51 mmol) 溶于乙酸乙酯 (10 mL) 中, 加入 4 M 盐酸-乙酸乙酯溶液 (10 mL), 反应液在 20°C 下继续反应 0.5 小时。减压除去有机溶剂, 得到粗品化合物 **M1-4** 的盐酸盐, 该化合物不经进一步纯化直接用于下一步反应。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ: 7.32 - 7.19 (m, 5H), 5.19 - 5.08 (m, 2H), 4.02 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 1.82 - 1.54 (m, 2H), 0.70 - 0.55 (m, 1H), 0.47 - 0.32 (m, 2H), 0.08 - -0.09 (m, 2H)。

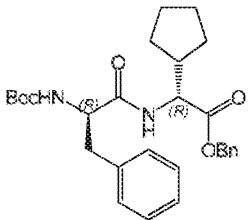
下中间体使用与中间体 **M1-4** 类似的方法合成得到:

中间体编号	结构式	谱图
中间体 M2-4		¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ: 7.51 - 7.31 (m, 5H), 5.38 - 5.23 (m, 2H), 3.98 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 3.33 (td, <i>J</i> = 1.6 Hz, <i>J</i> = 3.2 Hz, 1H), 2.43 - 2.20 (m, 1H), 1.89 - 1.33 (m, 8H)。

步骤 4: 中间体 **M1-5** 的制备

将化合物 **M1-4** 的盐酸盐 (1.9 g, 7.43 mmol) 和 Boc-D-苯丙氨酸 (1.97 g, 7.43 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (20 mL) 中, 加入二异丙基乙胺 (2.88 g, 22.29 mmol, 3.88 mL) 和 HATU (4.24 g, 11.14 mmol), 反应液在 20°C 下搅拌 16 小时。反应液用 80 mL 乙酸乙酯稀释, 依次用水 (40 mL*2) 和饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 所得粗品经硅胶柱层析 (洗脱剂: 10~25% 乙酸乙酯/石油醚) 分离纯化, 得到化合物 **M1-5**。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 7.44 - 7.21 (m, 10H), 6.53 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.17 (q, *J* = 12.0 Hz, 2H), 5.10 - 5.00 (m, 1H), 4.72 - 4.61 (m, 1H), 4.42 - 4.38 (m, 1H), 3.13 - 3.02 (m, 2H), 1.79 - 1.70 (m, 1H), 1.68 - 1.56 (m, 1H), 1.44 (s, 9H), 0.63 - 0.49 (m, 1H), 0.46 - 0.28 (m, 2H), 0.07 - -0.09 (m, 2H)。

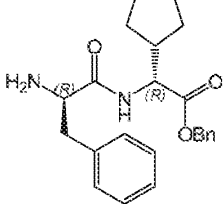
下中间体使用与中间体 **M1-5** 类似的方法合成得到:

中间体编号	结构式	谱图
中间体 M2-5		^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 7.46 - 7.16 (m, 10H), 6.33 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.56 - 4.52 (m, 1H), 4.38 - 4.34 (m, 1H), 3.21 - 2.96 (m, 2H), 2.28 - 2.12 (m, 1H), 1.64 - 1.47 (m, 6H), 1.44 (s, 9H), 1.35 - 1.18 (m, 2H)。

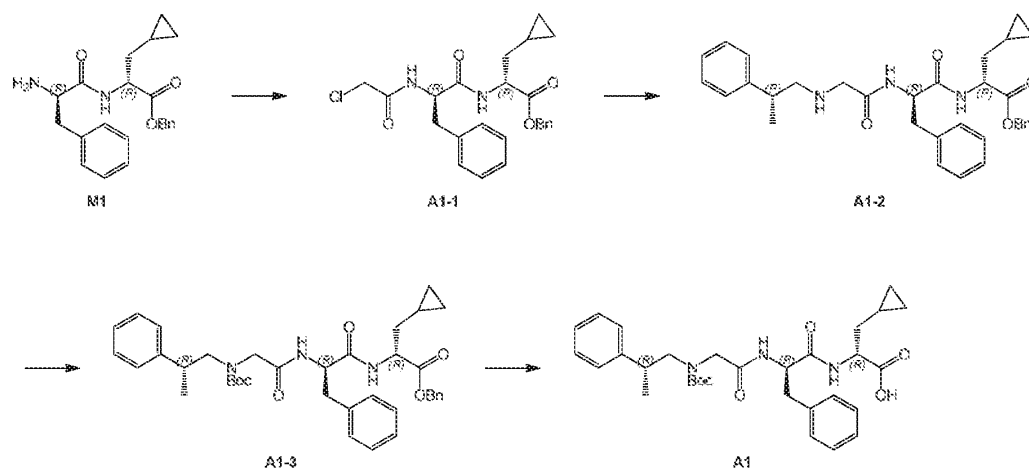
步骤 5: 中间体 M1 的制备

将化合物 **M1-5** (3.4 g, 7.29 mmol) 溶于乙酸乙酯 (30 mL) 中, 加入 4 M 盐酸-乙酸乙酯溶液 (30 mL), 反应液在 20°C 下继续反应 1 小时。减压除去有机溶剂, 得到化合物 **M1** 的盐酸盐, 该化合物不经进一步纯化直接用于下一步反应。 ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ : 7.35 - 7.11 (m, 10H), 5.08 (s, 2H), 4.49 - 4.46 (m, 1H), 4.09 - 4.00 (m, 1H), 3.16 - 3.12 (m, 1H), 2.87 - 2.84 (m, 1H), 1.92 - 1.89 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 1.73 - 1.50 (m, 2H), 0.79 - 0.60 (m, 1H), 0.43 - 0.22 (m, 2H), 0.09 - -0.12 (m, 2H)。

下中间体使用与中间体 **M1** 类似的方法合成得到:

参考例	中间体编号	结构式	谱图
参考例 2	中间体 M2		^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ : 7.44 - 7.24 (m, 10H), 5.24 - 5.23 (m, 1H), 5.26 - 5.13 (m, 1H), 4.40 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.22 - 4.11 (m, 1H), 3.26 - 3.15 (m, 1H), 2.95 - 2.89 (m, 1H), 2.39 - 2.23 (m, 1H), 1.85 - 1.53 (m, 6H), 1.47 - 1.32 (m, 2H)。

参考例 3: 合成中间体 A1



步骤 1: 中间体 A1-1 的制备

将化合物 **M1** 的盐酸盐 (1.2 g, 3.27 mmol) 混悬于二氯甲烷 (15 mL) 中, 加入三乙胺 (994.08 mg, 9.82 mmol), 缓慢滴入氯乙酰氯 (554.77 mg, 4.91 mmol, 390.68 μ L), 反应液在 20°C 下继续搅拌 18 小时。反应液用 50 mL 二氯甲烷稀释, 依次用 30 mL 饱和氯化铵溶液和 30 mL 饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 得到粗品化合物 **A1-1**, 该化合物不经进一步纯化直接用于下一步反应。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 7.51 - 7.38 (m, 5H), 7.35 - 7.24 (m, 5H), 6.30 (d, J=7.6 Hz, 1H), 5.38 - 5.14 (m, 2H), 4.81 - 4.59 (m, 2H), 3.29 - 3.02 (m, 3H), 1.83 - 1.67 (m, 2H), 1.48 (t, J=7.2 Hz, 1H), 0.66 - 0.50 (m, 1H), 0.45 - 0.39 (m, 2H), 0.08 - -0.09 (m, 2H); MS m/z = 443.2 [M+H]⁺。

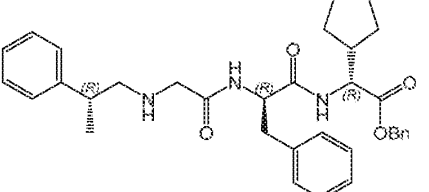
下中间体使用与中间体 **A1-1** 类似的方法合成得到:

中间体编号	结构式	谱图
中间体 A2-1		MS m/z = 457.1 [M+H] ⁺ 。

步骤 2: 中间体 A1-2 的制备

将化合物 **A1-1** (1.42 g, 3.21 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL) 中, 加入化合物(R)-(+)- β -甲基苯乙胺 (660.41 mg, 3.85 mmol), 碘化钾 (1.06 g, 6.41 mmol) 和碳酸钾 (1.33 g, 9.62 mmol), 反应液在 60°C 下继续搅拌 16 小时。降温, 减压除去有机溶剂, 加入 30 mL 水, 用二氯甲烷萃取 (30 mL * 2), 合并萃取后的有机相, 饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 得到粗品化合物 **A1-2**, 该化合物不经进一步纯化直接用于下一步反应。MS m/z = 542.3 [M+H]⁺。

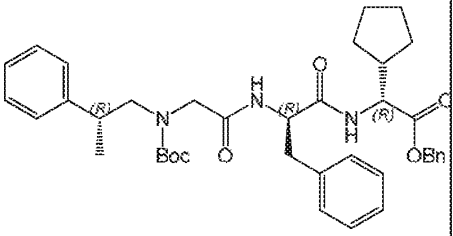
下中间体使用与中间体 **A1-2** 类似的方法合成得到:

中间体编号	结构式	谱图
中间体 A2-2		MS m/z =556.2 [M+H] ⁺ .

步骤 3: 中间体 A1-3 的制备

将化合物 **A1-2** (1.7 g, 3.14 mmol) 溶于二氯甲烷 (15 mL) 中, 加入二异丙基乙胺 (1.22 g, 9.42 mmol, 1.64 mL), 和 Boc 酸酐 (1.37 g, 6.28 mmol), 反应液在 20°C 下继续搅拌 16 小时。减压除去有机溶剂, 得到的粗品经硅胶柱层析 (洗脱剂: 10~30% 乙酸乙酯/石油醚) 分离纯化, 得到化合物 **A1-3**。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 7.46 - 7.28 (m, 10H), 7.25 - 7.18 (m, 5H), 6.77 - 6.32 (m, 2H), 5.25 - 5.05 (m, 2H), 4.77 - 4.54 (m, 2H), 3.90 - 3.06 (m, 7H), 1.75 - 1.61 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.26 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.66 - 0.48 (m, 1H), 0.41 - 0.33 (m, 2H), 0.09 - -0.11 (m, 2H)。

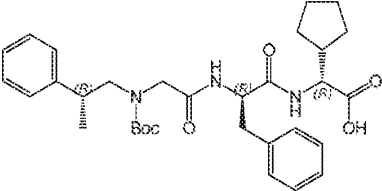
下中间体使用与中间体 **A1-3** 类似的方法合成得到:

中间体编号	结构式	谱图
中间体 A2-3		¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃) δ: 7.45 - 7.30 (m, 6H), 7.29 - 7.15 (m, 9H), 6.78 - 6.06 (m, 2H), 4.69 - 4.55 (m, 1H), 4.50 - 4.46 (m, 1H), 3.81 - 3.75 (m, 1H), 3.55 - 3.19 (m, 2H), 3.13 - 3.01 (m, 4H), 2.22 - 2.11 (m, 1H), 1.59 - 1.44 (m, 6H), 1.42 (s, 9H), 1.28 - 1.10 (m, 5H); MS m/z =656.3 [M+H] ⁺ .

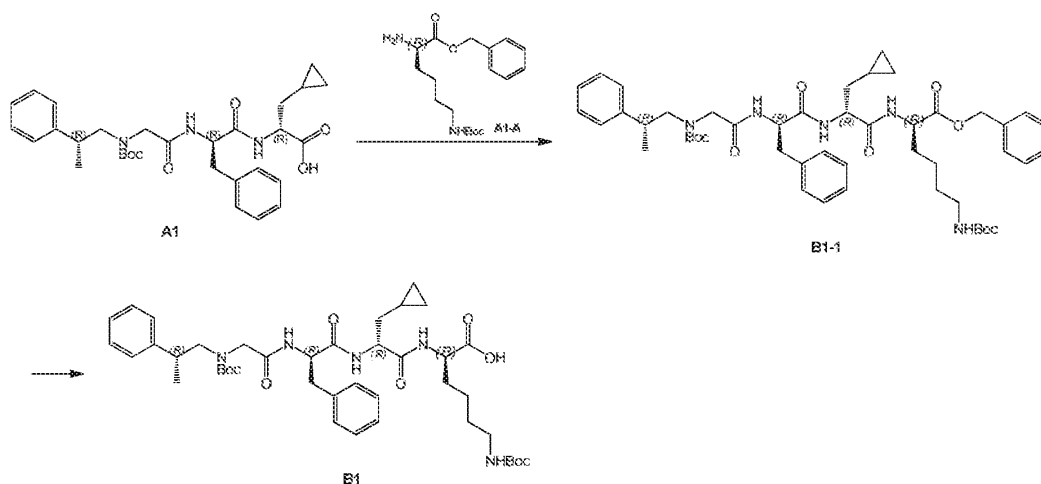
步骤 4: 中间体 A1 的制备

将化合物 **A1-3** (1.05 g, 1.64 mmol) 溶于乙醇 (30 mL) 中, 氮气保护下, 加入 10% 钨/碳 (150 mg, 155.33 μmol), 反应液在 20°C, 15 psi 氢气压力下继续搅拌 15 小时。反应液经硅藻土过滤, 减压除去有机溶剂, 得到化合物 **A1**, 该化合物不经进一步纯化直接用于下一步反应。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 7.30 - 7.09 (m, 10H), 7.00 - 6.64 (m, 2H), 4.80 - 4.66 (m, 1H), 4.52 - 4.44 (m, 1H), 3.83 - 3.59 (m, 2H), 3.55 - 2.83 (m, 5H), 1.78 - 1.52 (m, 2H), 1.36 (s, 9H), 1.18 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.60 - 0.52 (m, 1H), 0.40 - 0.30 (m, 2H), 0.05 - -0.05 (m, 2H)。

下中间体使用与中间体 **A1** 类似的方法合成得到:

参考例	中间体编号	结构式	谱图
参考例 4	中间体 A2		$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 7.37 - 7.11 (m, 10H), 6.95 - 6.44 (m, 2H), 4.77 - 4.23 (m, 2H), 3.85 - 3.69 (m, 1H), 3.60 - 3.33 (m, 2H), 3.30 - 2.83 (m, 4H), 2.39 - 2.07 (m, 2H), 1.80 - 1.48 (m, 5H), 1.40 (s, 9H), 1.33 - 1.01 (m, 6H); MS m/z = 566.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

参考例 5: 合成中间体 B1



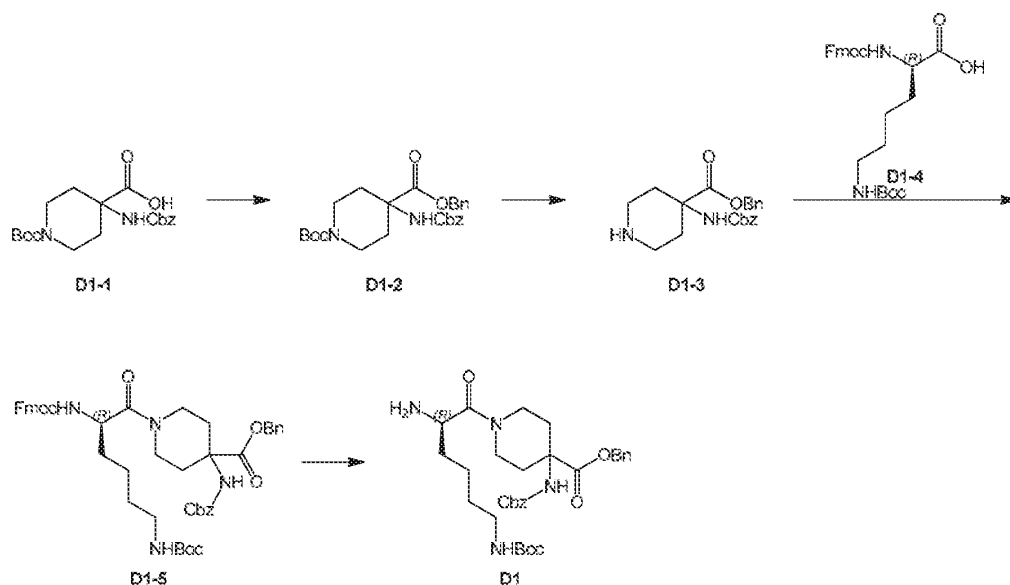
步骤 1: 中间体 B1-1 的制备

将化合物 **A1** (1.9 g, 3.44 mmol) 和化合物 **A1-A** (1.16 g, 3.44 mmol) 溶于 DMF (20 mL) 中, 加入二异丙基乙胺 (1.34 g, 10.33 mmol, 1.80 mL) 和 HATU (1.96 g, 5.17 mmol), 反应液在 20°C 下继续搅拌 15 小时。用 150 mL 乙酸乙酯稀释, 有机相依次用水 (60 mL*2) 和饱和食盐水 (80 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 所得粗产物经硅胶柱层析 (洗脱剂: 10~40% 乙酸乙酯/石油醚) 分离纯化, 得到化合物 **B1-1**。MS m/z = 870.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 中间体 B1 的制备

将化合物 **B1-1** (1.4 g, 1.61 mmol) 溶于乙醇 (20 mL) 中, 加入钪酸 (0.2 g, 10% 纯度), 反应液在 20°C, 氢气压力为 15 psi 下继续反应 15 小时。反应液经硅藻土过滤, 减压除去有机溶剂, 得到化合物 **B1**, 该化合物不经进一步纯化直接用于下一步反应。MS m/z = 802.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

参考例 6: 合成中间体 D1



步骤 1: 中间体 **D1-2** 的制备

将化合物 **D1-1** (3 g, 7.93 mmol) 溶于 N,N -二甲基甲酰胺 (30 mL) 中, 加入碳酸钾 (1.31 g, 9.51 mmol) 和溴化苄 (1.63 g, 9.51 mmol, 1.13 mL), 反应液在 20°C 下继续搅拌 15 小时。向反应液中加入 50 mL 水, 用乙酸乙酯 (60 mL*2) 萃取, 合并萃取后的有机相, 用饱和食盐水 (60 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 得到的粗品经硅胶柱层析 (洗脱剂: 5~25% 乙酸乙酯/石油醚) 分离纯化, 得到化合物 **D1-2**。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.33 - 7.19 (m, 10H), 5.06 (s, 2H), 4.98 (s, 2H), 4.95 (s, 1H), 3.75 - 3.71 (m, 2H), 3.06 - 3.00 (m, 2H), 2.02 - 1.92 (m, 4H), 1.37 (s, 9H)。

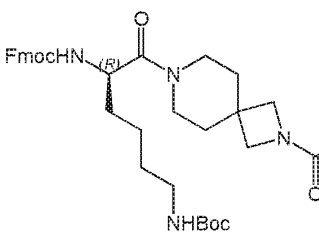
步骤 2: 中间体 **D1-3** 的制备

将化合物 **D1-2** (3.7 g, 7.90 mmol) 溶于乙酸乙酯 (10 mL) 中, 加入 4M 盐酸/乙酸乙酯 (10 mL), 反应液在 20°C 下继续搅拌 1 小时。减压除去有机溶剂, 得到化合物 **D1-3** 的盐酸盐, 该化合物不经进一步纯化直接用于下一步反应。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.37 - 7.31 (m, 10H), 5.16 (s, 2H), 5.06 (s, 2H), 3.37 - 3.30 (m, 4H), 3.27 - 3.11 (m, 2H), 2.40 - 2.21 (m, 4H)。

步骤 3: 中间体 **D1-5** 的制备

将化合物 **D1-3** 的盐酸盐 (3 g, 7.41 mmol) 和化合物 **D1-4** (3.47 g, 7.41 mmol) 溶于 N,N -二甲基甲酰胺 (30 mL) 中, 加入二异丙基乙胺 (2.87 g, 22.23 mmol, 3.87 mL) 和 HATU (4.23 g, 11.11 mmol), 反应液在 20°C 下继续搅拌 14 小时。反应液用 100 mL 乙酸乙酯稀释, 依次用水 (50 mL*2) 和饱和食盐水 (60 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 得到粗品经硅胶柱层析 (洗脱剂: 15~30% 乙酸乙酯/石油醚) 分离纯化, 得到化合物 **D1-5**。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.78 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.67 - 7.57 (m, 2H), 7.47 - 7.28 (m, 14H), 5.84 - 5.68 (m, 1H), 5.26 - 5.01 (m, 5H), 4.74 - 4.53 (m, 2H), 4.39 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 4.27 - 4.19 (m, 1H), 4.03 - 3.57 (m, 2H), 3.51 - 3.25 (m, 1H), 3.20 - 3.01 (m, 2H), 2.30 - 2.14 (m, 2H), 2.02 - 1.96 (m, 2H), 1.79 - 1.65 (m, 2H), 1.60 - 1.30 (m, 14H)。

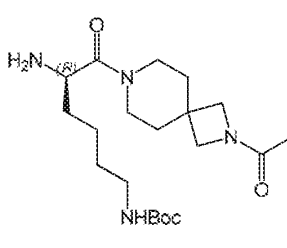
下中间体使用与中间体 **D1-5** 类似的方法合成得到:

中间体编号	结构式	谱图
中间体 D2-5		^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 7.78 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.62 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.46 - 7.39 (m, 2H), 7.38 - 7.29 (m, 2H), 5.86 - 5.76 (m, 1H), 4.73 - 4.55 (m, 2H), 4.40 - 4.34 (m, 2H), 4.28 - 4.17 (m, 1H), 3.93 - 3.70 (m, 4H), 3.66 - 3.30 (m, 3H), 3.24 - 3.04 (m, 3H), 1.91 (d, $J = 2.8$ Hz, 3H), 1.83 - 1.52 (m, 8H), 1.44 (s, 9H)。

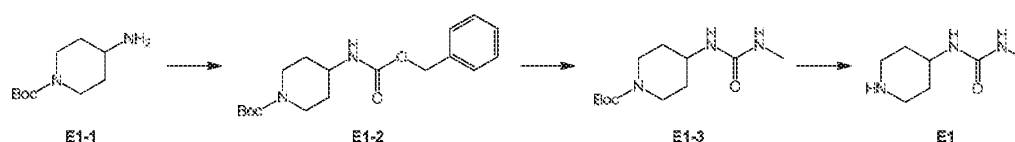
步骤 4: 中间体 **D1** 的制备

将化合物 **D1-5** (3 g, 3.66 mmol) 溶于二氯甲烷 (15 mL) 中, 加入哌啶 (3.12 g, 36.63 mmol, 3.62 mL), 反应液在 20°C 下继续搅拌 16 小时。减压除去有机溶剂, 加入 30 mL 乙腈打浆, 过滤, 滤液旋干, 所得粗产物经硅胶柱层析 (洗脱剂: 35% 乙酸乙酯/石油醚~10% 甲醇/二氯甲烷) 分离纯化, 得到化合物 **D1** 的盐酸盐。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 7.41 - 7.29 (m, 10H), 5.16 (s, 2H), 5.08 (s, 2H), 4.62 - 4.58 (m, 1H), 3.75 - 3.60 (m, 2H), 3.43 - 3.08 (m, 4H), 2.29 - 2.13 (m, 2H), 2.05 - 1.87 (m, 2H), 1.68 - 1.54 (m, 4H), 1.54 - 1.39 (m, 15H); MS m/z = 597.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

下中间体使用与中间体 **D1** 类似的方法合成得到:

参考例	中间体编号	结构式	谱图
参考例 7	中间体 D2		^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 4.66 (s, 1H), 3.88 (d, $J = 3.6$ Hz, 2H), 3.78 - 3.74 (m, 1H), 3.76 (d, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.60 - 3.56 (m, 1H), 3.49 - 3.33 (m, 2H), 3.24 - 3.09 (m, 3H), 2.70 - 2.64 (m, 2H), 1.91 (s, 3H), 1.88 - 1.73 (m, 4H), 1.72 - 1.50 (m, 4H), 1.47 - 1.43 (m, 2H), 1.45 (s, 9H); MS m/z = 397.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

参考例 8: 合成中间体 **E1**



步骤 1: 中间体 E1-2 的制备

将化合物 E1-1 (2 g, 9.99 mmol), 吡啶 (880.00 mg, 11.13 mmol, 897.96 μ L) 溶于四氢呋喃 (45 mL) 中, 氮气保护下, 0°C 滴加氯甲酸苯酯 (1.56 g, 9.99 mmol, 1.25 mL), 加完后 20°C 继续反应 2 小时。反应结束后, 减压除去有机溶剂, 粗产物用乙酸乙酯稀释, 然后用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 所得粗产品经柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1), 得到化合物 E1-2。MS m/z = 301.9[M-56+Na]⁺。

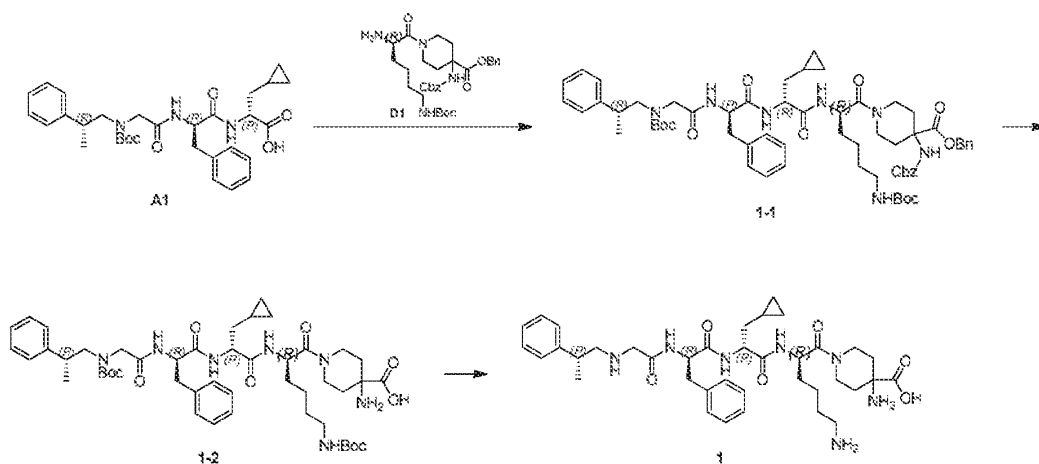
步骤 2: 中间体 E1-3 的制备

将化合物 E1-2 (0.6 g, 1.87 mmol) 溶于甲醇 (15 mL) 中, 加入甲胺溶液 (2 M, 842.74 μ L), 加完后升温至 50°C 继续反应 15 小时。冷却, 减压除去有机溶剂, 所得粗产品经柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=1:1) 得到化合物 E1-3。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 4.26 - 4.10 (m, 2H), 4.03 - 3.80 (m, 2H), 3.75 - 3.61 (m, 1H), 2.79 (br t, J = 12.4 Hz, 2H), 2.70 (d, J = 4.8 Hz, 3H), 1.91 - 1.80 (m, 2H), 1.38 (s, 9H)。

步骤 2: 中间体 E1 的制备

将化合物 E1-3 (249.03 mg, 967.73 μ mol) 溶于乙酸乙酯 (3 mL) 中, 加入氯化氢乙酸乙酯溶液 (4 M, 2.42 mL), 加完后在 20°C 继续反应 1 小时。减压除去有机溶剂, 所得粗产品经柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1), 得到化合物 E1 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ : 3.84 - 3.70 (m, 1H), 3.41 (br d, J = 13.2 Hz, 2H), 3.17 - 3.05 (m, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.12 (br dd, J = 3.2, 14.0 Hz, 2H), 1.75 - 1.62 (m, 2H); MS m/z = 158.1[M+H]⁺。

实施例 1: 化合物 1 的制备

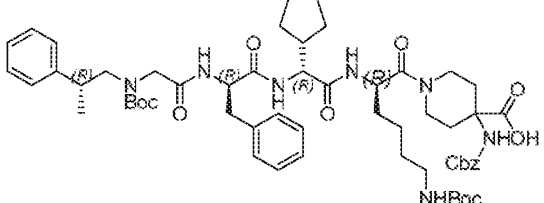


步骤 1: 中间体 1-1 的制备

将化合物 A1 (220 mg, 398.79 μ mol) 和化合物 D1 (237.96 mg, 398.79 μ mol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 加入二异丙基乙胺 (154.62 mg, 1.20 mmol, 208.38 μ L) 和 HATU (227.45 mg, 598.18 μ mol), 反应液在 20°C 下继续搅拌 16 小时。反应液用 60 mL 乙酸乙酯稀释, 依次用水 (30 mL*2) 和饱和食盐水 (40 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 所得粗产物经硅胶柱层

析(洗脱剂: 50% 乙酸乙酯/石油醚到 5% 甲醇/二氯甲烷)分离纯化, 得到化合物 **1-1**。MS m/z = 1130.6 $[M+H]^+$ 。

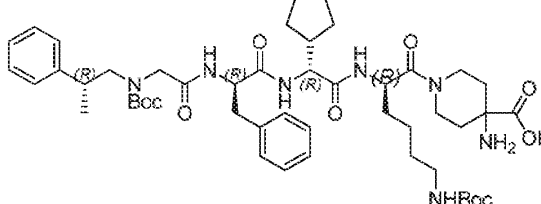
以下中间体使用与中间体 **1-1** 类似的方法合成得到:

中间体编号	结构式	谱图
中间体 2-1		MS m/z : 1144.7 $[M+H]^+$ 。

步骤 2: 中间体 **1-2** 的制备

将化合物 **1-1** (200 mg, 176.93 μmol) 溶于乙醇 (10 mL) 中, 加入 10% 钨/碳 (20 mg, 176.93 μmol), 反应液在 20°C 下, 15 Psi 氢气压力下继续搅拌 15 小时。反应液经硅藻土过滤, 减压除去有机溶剂, 得到化合物 **1-2**, 该化合物不经进一步纯化直接用于下一步反应。MS m/z = 906.6 $[M+H]^+$ 。

以下中间体使用与中间体 **1-2** 类似的方法合成得到:

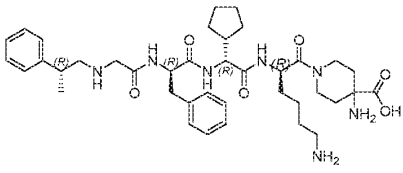
中间体编号	结构式	谱图
中间体 2-2		MS m/z : 920.6 $[M+H]^+$ 。

步骤 3: 化合物 **1** 的制备

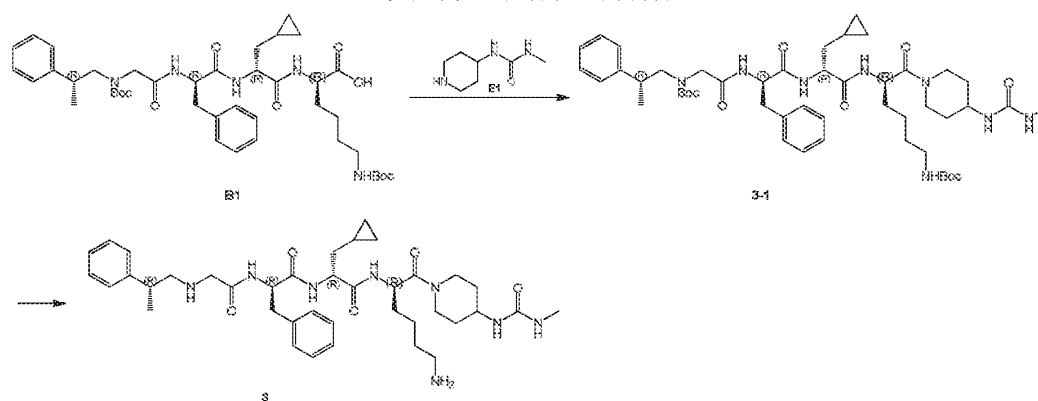
将化合物 **1-2** (155 mg, 171.06 μmol) 溶于乙酸乙酯 (5 mL) 中, 加入 4M 盐酸/乙酸乙酯 (5 mL), 反应液在 20°C 下继续搅拌 0.5 小时。减压除去大部分溶剂, 加入 20 mL 乙酸乙酯打浆, 过滤, 得到滤饼粗产物通过高效液相色谱法 (柱子: Venusil ASB Phenyl 150*30mm*5 μm ; 流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈]; B(乙腈) %: 8%-38%, 9min) 分离纯化, 得到化合物 **1** 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ : 7.26 - 7.08 (m, 9H), 7.07 - 6.97 (m, 1H), 4.62 - 4.50 (m, 1H), 4.31 - 4.18 (m, 1H), 4.08 - 3.83 (m, 1H), 3.80 - 3.49 (m, 4H), 3.25 - 3.24 (m, 1H), 3.12 - 2.88 (m, 4H), 2.86 - 2.68 (m, 3H), 2.25 - 2.03 (m, 2H), 1.93 - 1.50 (m, 7H), 1.49 - 1.25 (m, 4H), 1.24 - 1.15 (m, 3H), 0.77 - 0.56 (m, 1H), 0.49 - 0.23 (m, 2H), 0.12 - -0.10 (m, 2H); MS m/z = 706.4 $[M+H]^+$ 。

以下化合物使用与化合物 **1** 类似的方法合成得到:

实施例	中间体编号	结构式	谱图

2	化合物 2		¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ: 7.43 - 7.34 (m, 2H), 7.33 - 7.24 (m, 7H), 7.19-7.13 (m, 1H), 4.78 - 4.67 (m, 1H), 4.21 - 4.00 (m, 2H), 3.98 - 3.85 (m, 2H), 3.81 - 3.65 (m, 2H), 3.50 - 3.36 (m, 1H), 3.25 - 3.05 (m, 4H), 3.01 - 2.81 (m, 3H), 2.40 - 2.19 (m, 3H), 2.09 - 1.79 (m, 4H), 1.78 - 1.43 (m, 12H), 1.38 - 1.31 (m, 4H); MS m/z = 720.4 [M+H] ⁺ .
---	----------	---	---

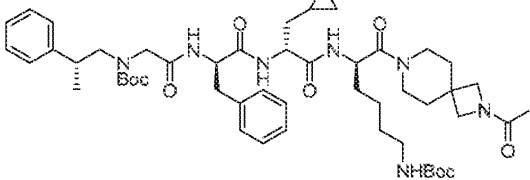
实施例 3: 化合物 3 的制备



步骤 1: 中间体 3-1 的制备

将化合物 **B1** (0.2 g, 256.42 μmol), 化合物 **E1** 的盐酸盐 (70.81 mg, 307.71 μmol) 溶于 DMF (5 mL) 中, 加入 HATU (146.25 mg, 384.64 μmol) 和二异丙基乙胺 (99.42 mg, 769.27 μmol, 133.99 μL), 反应液在 20°C 继续搅拌 15 小时。将反应液用 50 mL 乙酸乙酯稀释, 有机相依次用水 (30 mL*2), 饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压除去有机溶剂, 所得粗产物通过硅胶柱层析 (洗脱剂: 0~5% 甲醇/二氯甲烷) 分离纯化, 得到化合物 **3-1**。MS m/z = 919.6 [M+H]⁺。

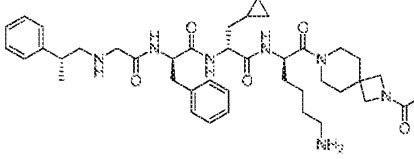
以下中间体使用与中间体 **3-1** 类似的方法合成得到:

中间体编号	结构式	谱图
中间体 4-1		MS m/z: 930.6 [M+H] ⁺ .

步骤 2: 化合物 3 的制备

将化合物 3-1 (0.19 g, 206.71 μmol) 溶于乙酸乙酯 (4 mL) 中, 加入氯化氢乙酸乙酯溶液 (4 M, 2 mL), 反应液在 20°C 继续搅拌 2 小时。减压除去有机溶剂, 所得粗产品经高效液相色谱法分离纯化(柱子: Venusil ASB Phenyl 150*30mm*5 μm ; 流动相: [水(0.05% HCl)-ACN]; B(乙腈) %: 15%-45%, 9min), 得到化合物 3。¹H NMR (400MHz, METHANOL-d₄) δ : 7.41 - 7.37 (m, 2H), 7.33 - 7.26 (m, 7H), 7.20 - 7.11 (m, 1H), 4.77 - 4.69 (m, 1H), 4.45 - 4.27 (m, 2H), 4.08 - 3.94 (m, 1H), 3.91 - 3.82 (m, 1H), 3.81 - 3.74 (m, 1H), 3.68 (br d, J = 15.6 Hz, 1H), 3.24 (br dd, J = 4.0, 14.0 Hz, 2H), 3.18 - 3.05 (m, 3H), 3.01 - 2.86 (m, 4H), 2.73 (s, 3H), 2.03 - 1.88 (m, 2H), 1.83 - 1.67 (m, 6H), 1.58 (td, J = 6.8, 14.0 Hz, 1H), 1.47 (br s, 3H), 1.38 - 1.32 (m, 4H), 0.79 (br d, J = 7.2 Hz, 1H), 0.56 - 0.41 (m, 2H), 0.23 - 0.10 (m, 2H); MS m/z = 719.2 [M+H]⁺。

以下化合物使用与化合物 3 类似的方法合成得到:

实施例	中间体编号	结构式	谱图
4	化合物 4		¹ H NMR (400MHz, CD ₃ OD) δ : 7.26 - 7.22 (m, 2H), 7.18 - 7.11 (m, 7H), 7.10 - 7.01 (m, 1H), 4.24 - 4.23 (m, 1H), 3.85 - 3.81 (m, 2H), 3.65 - 3.44 (m, 6H), 3.31 - 3.30 (m, 2H), 3.10 - 2.98 (m, 5H), 2.77 - 2.70 (m, 3H), 1.75 - 1.70 (m, 2H), 1.62 - 1.50 (m, 9H), 1.45 - 1.35 (m, 3H), 1.19 - 1.17 (m, 3H), 0.63 - 0.61 (m, 1H), 0.36 - 0.29 (m, 2H), 0.01 - 0.00 (m, 2H); MS m/z = 730.5 [M+H] ⁺ 。

实验例 1: Kappa 受体 cAMP 测试

溶液与缓冲液:

实验缓冲液: 1* HBSS (+/+)(SIGMA #H1387) + 20mMHEPES (LONZA #17-737E)

刺激缓冲液 (STB): 200 μM IBMX (SIGMA #I7018) 和 3 μM NKH477 (SIGMA #N3290) 实验缓冲液

实验方法与步骤:

化合物的配制

用 DMSO (Amresco #0231) 溶解化合物粉末, 化合物溶液浓度为 10 mM。受试化合物取 1 μL , 加入 49 μL DMSO, 稀释为 200 μM 溶液。

取一块 LDV 384 孔板, 将上一步稀释后的化合物溶液按顺序分别加入 A1~H1 孔; 取一支预先配

好的 200 μM U-50488 (Tocris #0495/25)加入 P1 孔；向 A2~A11, B2~H22, P2~P11 各孔分别加入 10.8 μL DMSO, 1000 rpm 离心 30 秒。

用 bravo 对化合物进行连续梯度稀释，以上一步准备的 LDV 板第 1 列为起始浓度列，每次吸取 5 μL 至后一列并吹打混匀。

稀释完成后，向 A24 孔加入 10 μL 200 μM U-50488 作为 HPE (100%抑制率活性)，向 P24 孔加入 10 μL DMSO 作为 ZPE (0%抑制率活性)，1000 rpm 离心 30 秒。

用 Echo 550 按照实验布局，将上一步中稀释好的化合物溶液转移至实验板 Corning 3824, 50 nL 每孔。

实验步骤

从 -80°C 冰箱取一支冻存的 KOR cAMP 细胞，置于 37°C 水浴中解冻。

待解冻完毕，吸取管内细胞至一支 15 mL 离心管，并加入 4 mL 实验缓冲液。

1000 rpm 离心 5 分钟，弃上清，再加入 5 mL 实验缓冲液，用移液器轻轻吹打混匀。

在细胞计数仪上计数并调整细胞密度至 1.5×10^6 个/mL。

用 Multidrop Combi 将 STB 加至已含化合物的实验板中，每孔 5 μL 。

用 Multidrop Combi 将准备好的细胞悬液加至已含化合物的实验板中，每孔 5 μL 。

300 rpm 离心 30 秒，37°C 培养箱内孵育 40 分钟。

配制 cAMP 标准曲线，取一支预先配好并分装冻存的 2848 nM cAMP 溶液解冻，以 2848 nM 作为最高浓度点进行 4 倍连续梯度稀释，共 16 个浓度点。

将稀释好的 cAMP 溶液用排枪转移至一块新的 Corning 3824 实验板，每孔 10 μL ，共 3 列重复。

待 40 分钟孵育完成后，用 Multidrop Combi 将 D2 (Cisbio #62AM4PEJ) 加至实验板（包括标准曲线实验板）中，每孔 5 μL 。

用 Multidrop Combi 将 Ac (Cisbio #62AM4PEJ) 加至实验板（包括标准曲线实验板）中，每孔 5 μL ，室温孵育 60 分钟。

实验板用 Envision 读数。

实验结果：

结果见表 1。

表 1 化合物对 Kappa 受体 EC_{50} 值

化合物编号	EC_{50} (nM)
化合物 1	0.085
化合物 2	0.311
化合物 3	0.040
化合物 4	0.034

结果表明：本发明化合物具有显著的 Kappa 受体激动作用。

实验例 2：血浆蛋白结合率 (PPB) 测试

1. 实验目的

测定受试化合物在人、SD 大鼠血浆中的蛋白结合率。

2. 实验方法

2.1 准备血浆

将冻存的血浆置于流动的冷自来水中解冻，然后以 $3220 \times g$ 离心 5 分钟并去除其中的悬浮物和沉淀物，测定血浆 pH 值，只有 pH 在 7.0~8.0 之间的血浆才可以用于实验。

2.2 溶液配制

溶液名称	组成	pH	储存条件
工作溶液	2 μM 测试化合物和对照化合物的 DMSO 溶液	ND	2-8°C
空白血浆	Sprague-Dawley 大鼠、人	7.0-8.0 之间	低于-30°C
透析缓冲液	100 mM 磷酸钠和 150 mM 氯化钠缓冲液	7.4 ± 0.1	2-8°C
含供试品或对照化合物的血浆	2 μM 测试化合物对照化合物的血浆样品	ND	室温

2.3 实验操作

实验将采用 96 孔平衡透析板 (HTDialysis 装置) 来测定供试品和对照化合物的血浆蛋白结合率。实验开始前，将透析膜按照使用说明书进行预处理，然后按要求组装透析装置。取人、SD 大鼠的空白血浆 (血浆购买自 BioreclamationIVT)，加入受试化合物工作溶液或华法林工作溶液，使血浆样品中受试化合物与华法林终浓度均为 2 μM 。将样品充分混合。移取 50 μL 受试化合物和华法林血浆样品到样品接收板中，立即加入相应体积的对应空白血浆或缓冲液，使得每个样品孔的终体积为 100 μL ，血浆：透析缓冲液的体积比为 1:1，将终止溶液加入测试化合物和对照化合物的这些 T0 样品中。将板密封并以 800 rpm 振荡 10 分钟。然后将这些 T0 样品与其他透析后样品一起保存在 2-8°C 下，等待与其它透析完的样品一起进行后续处理；将 150 μL 受试化合物和华法林血浆样品加入到每个透析孔的给药端，在透析孔对应的接收端中加入 150 μL 空白透析缓冲液。然后将透析板封上透气膜后置于湿润的 5% CO_2 的培养箱中，在 37°C、100 rpm 振荡孵育 4 小时。透析结束时，将来自透析装置的缓冲液侧和血浆 (基质) 侧的 50 μL 样品等分试样放入新的 96 孔板 (样品收集板) 中。在每个样品中添加等体积的相对空白基质 (缓冲液或血浆) 以达到最终体积 100 μL ，每个孔中血浆 (基质)：透析缓冲液的体积比为 1:1 (v: v)。所有样品均经过蛋白质沉淀进一步处理，用于 LC/MS/MS 分析。并通过以下公式计算化合物的游离率(Unbound) %、结合率(Bound) % 和回收率(Recovery) %:

$$\% \text{ Unbound} = 100 * F_C / T_C,$$

$$\% \text{ Bound} = 100 - \% \text{ Unbound},$$

$$\% \text{ Recovery} = 100 * (F_C + T_C) / T_0.$$

其中 F_C 是透析板缓冲液端化合物的浓度； T_C 是透析板血浆端化合物的浓度； T_0 是零时刻血浆样品中化合物的浓度。

3. 实验结果

结果见表 2。

表 2 化合物在人和大鼠血浆中的游离率

化合物编号	血浆中的游离率	
	人血浆	SD 大鼠血浆
化合物 1	55.2%	44.7%

实验结论：本发明化合物在人和 SD 大鼠血浆中表现为非常高的血浆蛋白游离率。

实验例 3. 细胞色素 P450 同工酶抑制活性测试

1. 实验目的

测定受试化合物对人细胞色素 P450 同工酶不同亚型的抑制活性。

2. 实验方法

准备受试化合物、标准抑制剂（100×最终浓度）和混合底物工作溶液；将冷冻于-80℃冰箱的微粒体（购自 Corning Inc）取出解冻。将 20 μL 的待测化合物和标准抑制剂溶液加至相应孔位，同时将 20 μL 相应的溶剂加至无抑制剂对照孔位（NIC）和空白对照孔位（Blank）孔位；其次将 20 μL 混合底物溶液加至相应孔位，Blank 孔位除外（将 20 μL PB 加至 Blank 孔位）；准备人肝微粒体溶液（使用后标记日期立刻放回冰箱），随即将 158 μL 人肝微粒体溶液加至所有孔位；将上述样品板放入 37℃水浴预孵育，随即准备辅酶因子（NADPH）溶液；10 分钟后，添加 20 μL NADPH 溶液到所有孔位，样品板摇匀后，放入 37℃水浴孵育 10 分钟；在相应时间点，加入 400 μL 冷的乙腈溶液（内标为 200 ng/mL 甲苯磺丁脲和拉贝洛尔）终止反应；样品板混合均匀后，4000 rpm 离心 20 分钟，沉淀蛋白质；取 200 μL 上清加至 100 μL 水中，摇匀后送 LC/MS/MS 检测。

3. 实验结果

结果见表 3。

表 3 化合物对 P450 同工酶抑制的 IC₅₀ 值

化合物编号	细胞色素 P450 同工酶 IC ₅₀ (μM)				
	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4-M
化合物 1	>50	>50	>50	>50	>50

实验结论：本发明化合物对 CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A4-M 的抑制 IC₅₀ 均大于 50 μM，无相关药药相互作用风险。

实验例 4：肝细胞中的代谢稳定性（HMS）研究

1. 实验目的

测试供试品在人和大鼠肝细胞中的代谢稳定性。

2. 实验材料

2.1 供试化合物（10 mM），对照品：7-乙氧基香豆素（7-Ethoxycoumarin, 30 mM），7-羟基香豆素（7-Hydroxycoumarin, 对照品, 30 mM）

2.2 细胞

肝细胞	细胞活力	供应商 Cat No.
大鼠肝细胞	85%	BioreclamationIVTM00005
人肝细胞	84%	Bioreclamation IVTX008001

2.3 缓冲体系:

解冻培养基: 威廉姆斯的培养基 E 含 5% 胎牛血清和 30% Percoll 溶液及其他辅助用品。

孵育培养基: 威廉姆斯培养基 E (不含酚红), 其中包含 2 mM L-谷氨酰胺和 25 mM 羟乙基哌嗪乙硫磺酸。

终止溶液: 乙腈中含有 200 ng / mL 的甲苯磺丁酰胺和拉贝洛尔作为内标。

稀释溶液: 超纯水。

3. 实验方法

- 1) 将准确量的阳性对照化合物溶解在二甲基亚砜 (DMSO) 中, 配制成 30 mM 溶液。
- 2) 在 96 孔板上用 DMSO 将 10 mM 测试化合物和 30 mM 阳性对照化合物稀释至 1 mM 和 3 mM。
- 3) 用乙腈将 1 mM 的测试化合物和 3 mM 的阳性对照化合物稀释到 100 μ M 和 300 μ M 的定量溶液中。
- 4) 将冻存的细胞融化, 分离并悬浮在培养液中, 然后用预热的培养液稀释至 0.5×10^6 cells / mL。
- 5) 在 96 孔板中添加 198 μ L 预热的细胞悬液。
- 6) 在一组预先标记的 96 孔板中转移 100 μ L 终止溶液 (乙腈含有 200 ng / mL 的甲苯磺丁酰胺和 200 ng / mL 的拉贝洛尔作为内标)。
- 7) 向 96 孔板的每个孔中一式两份加入 2 μ L 100 μ M 测试化合物或 300 μ M 阳性对照定量溶液。
- 8) 对于 T_0 样品, 混合以达到均匀悬浮约 1 分钟, 然后立即将每个样品 20 μ L 转移到含有 100 μ L 冰冷终止溶液的孔中, 然后混合。
- 9) 在 95% 加湿的培养箱中, 在 5% CO_2 中于 37°C 孵育所有平板, 以约 600 rpm 的恒定摇动开始反应。
- 10) 在 15、30、60 和 90 分钟时, 混合样品, 然后在每个时间点将 20 μ L 每个样品转移到含有 100 μ L 冰冷终止溶液的孔中, 然后混合。
- 11) 通过在每个孔中添加除细胞悬液以外的相同成分, 在 T_0 和 T_{90} 制备培养基对照 (MC) 样品板 (标记为 T_0 -MC 和 T_{90} -MC)。生成最终浓度表
- 12) 在每个相应的时间点, 通过从培养箱中移出平板并与 100 μ L 冰冷的终止溶液混合来终止反应。
- 13) 立即在平板振荡器上以 500 rpm 涡旋振荡平板 10 分钟。然后, 将所有样品板在 4°C 下以 3220 x g 离心 20 分钟。

14) 离心后, 将 35 μ L/孔的样品板中的上清液转移至另一组预先标记的 96 孔板中, 该板根据板图包含 70 μ L 超纯水。

15) 将分析板密封并在 4°C 下储存, 直到 LC-MS-MS 分析为止。

通过下面公式求得受试化合物和对照化合物的剩余率:

$$\text{剩余率 (\%)} = \frac{\text{任一时间点化合物与内标的峰面积比值}}{\text{0分钟时化合物与内标的峰面积比值}} \times 100\%$$

通过绘制时间对剩余率的对数作图计算受试化合物和对照化合物在肝细胞中的消除速率常数 k , 以消除速率 k 求得半衰期 ($T_{1/2}$) 和体外固有清除率 (CL_{int}), 公式如下:

$$T_{1/2} = 0.693 / k$$

$$CL_{int}(\text{hep}) = k / \text{每毫升细胞量 (million cells/mL)}$$

$$CL_{int}(\text{liver}) = CL_{int}(\text{hep}) \times \text{肝重体重比} \times \text{每克肝脏中的肝细胞数量}$$

公式中各种属的参数如下表:

种属	肝重体重比 (g/kg Body Weight)	肝血流量(Q_h) (mL/min/kg)	肝细胞数量 (of cells/g liver)
小鼠	88	90.0	135×10^6
大鼠	40	55.2	117×10^6
犬	32	30.9	215×10^6
猴	30	43.6	120×10^6
人	20	20.7	139×10^6

4. 实验结果

结果见表 4。

表 4 化合物在人和大鼠肝固有清除率

化合物编号	肝固有清除率 (mL/min/Kg)	
	人	大鼠
化合物 1	<17.8	<29.9

实验结论: 本发明化合物在人和大鼠中均为低清除。

实验例 5: SD 大鼠体内药代动力学研究

1. 实验目的:

测试化合物在 SD 大鼠体内药代动力学

2. 实验材料:

Sprague Dawley 大鼠 (雄性, 6~10 周龄, 购自北京维通利华实验动物有限公司)

3. 实验方法:

将化合物 1 与生理盐水混合, 制备得到 1 mg/mL 的澄清溶液, 用于注射组给药, 微孔滤膜过滤后备用。静脉注射给予受试化合物 3 mg/kg, 静脉给药的溶媒为生理盐水。动物于给药后 0, 0.083, 0.25,

0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 24 小时采集血浆样品。采用 LC-MS/MS 法测定血药浓度, 使用 WinNonlin™ Version 6.3 (Pharsight, Mountain View, CA) 药动学软件, 以非房室模型线性对数梯形法计算相关药代动力学参数。

4. 实验结果

实验结果如下表 5:

表 5 化合物 1 在大鼠上的药代动力学数据

	C_0 (μM)	$T_{1/2}$ (hr)	V_{dss} (L/kg)	Cl (mL/min/kg)	AUC_{0-last} ($\mu\text{M}\cdot\text{hr}$)
化合物 1	17.6	1.33	0.29	9.90	7.2

注: C_0 为起始浓度, $T_{1/2}$ 为消除半衰期, V_{dss} 为稳态表观分布容积, Cl 为总清除率, AUC_{0-last} 为从 0 时间到最后一个可定量时间点的血浆浓度-时间曲线下面积。

实验结论: 本发明化合物具有良好的药代动力学性质。