

## 多并环取代的 5-羧酸噻吩并嘧啶二酮类化合物及其应用

本发明主张如下优先权：

CN202110204744.5，申请日 2021 年 02 月 23 日；

CN202110523923.5，申请日 2021 年 05 月 13 日；

CN202210125821.2，申请日 2022 年 02 月 10 日。

## 技术领域

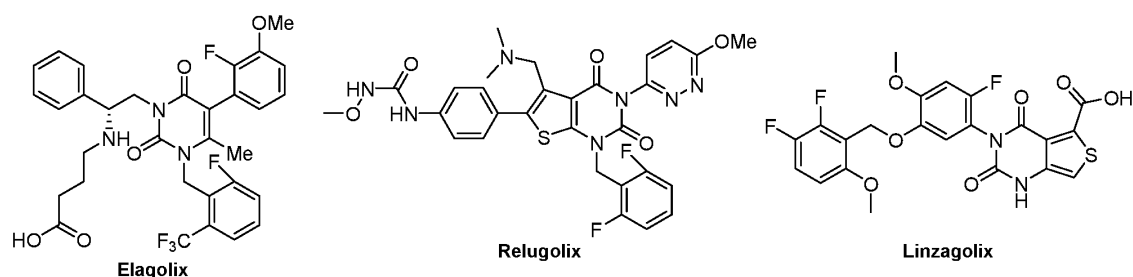
本发明涉及一系列多并环取代的 5-羧酸噻吩并嘧啶二酮类化合物及其应用，具体涉及式 (II) 所示化合物及其药学上可接受的盐。

## 背景技术

子宫内膜异位症是子宫外存在子宫内膜样组织，子宫内膜异位症不致命，但其带来的症状：慢性盆骨疼痛，痛经这虽然不是致命的疾病，但是会对患者的生活带来诸多的痛苦，包括疼痛，不孕不育等，极难治愈，容易复发。另外，这个疾病临床用药存在用药时间长，副作用多，给药不便等缺点。根据世界银行 2017 年的人口计算，全世界大约有 1.9 亿女性患有子宫内膜异位症。

子宫内膜异位症的发病机制还不是很明确，现在临床治疗的方案要么是控制雌激素水平，要么是控制炎症，或者两者兼而有之。譬如一线治疗采用的是非甾体抗炎药或者口服避孕药，二线治疗有口服芳香化酶抑制剂，达那唑或者注射促性腺素释放激素 (GnRH) 激动剂。但是，口服避孕药有将近三分之一到四分之一的患者无响应率，孕激素则有容易发生肥胖的副作用，特别是想要怀孕的患者需要禁用，芳香化酶则有心脏毒性和脂代谢异常等副作用，促性腺素释放素则有围绝经期副作用。多肽类的 GnRH 受体激动剂或拮抗剂化合物存在许多问题，如口服吸收性、剂型、剂量体积、药物稳定性、持续作用以及代谢稳定性等问题。

小分子化合物可以口服给药，方便快捷，优势明显。GnRH 受体拮抗剂通过竞争性结合 GnRH 受体，阻断 GnRH 与受体结合，直接抑制下丘脑-垂体-卵巢轴，进而抑制卵泡刺激素和黄体生成素的分泌，降低雌激素水平，起效快，副作用小。目前，小分子 GnRH 受体拮抗剂研发处于最靠前的除了最先上市的 Elagolix 之外，2020 年 12 月 FDA 批准了第二款小分子口服拮抗剂 Relugolix 第一个适应症治疗晚期前列腺癌，治疗子宫肌瘤的适应症已经在日本获批，子宫内膜异位症已经进入临床三期，第三个拮抗剂 Linzagolix 治疗子宫内膜异位症和子宫肌瘤的适应症均以处于临床三期。

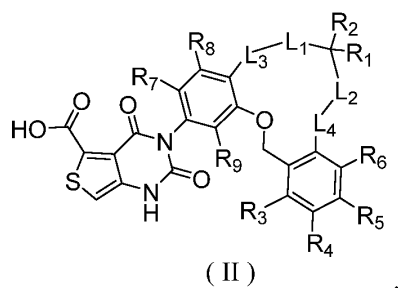


尽管大量有意义的临床试验已在这些领域进行，但是目前还需要继续研究开发更加有效的小分子 GnRH 受体拮抗剂。

### 发明内容

本发明提供了一种新型多并环类结构 GnRH 受体拮抗剂，此类结构对 GnRH 受体有显著的抑制活性。

本发明提供了式 (II) 所示化合物或其药学上可接受的盐，



其中，

$L_1$  和  $L_2$  分别独立地选自  $-(CH_2)_n-$ ；

$L_3$  和  $L_4$  分别独立地选自  $-CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-O-$  和  $-S-$ ；

$R_1$  和  $R_2$  分别独立地选自 H、OH、F、Cl、 $C_{1-3}$  烷基和  $C_{1-3}$  烷氧基，所述  $C_{1-3}$  烷基和  $C_{1-3}$  烷氧基分别独立地任选被 1、2 或 3 个  $R_a$  取代；

或者， $R_1$  和  $R_2$  与其共同连接的碳原子一起形成  $C_{3-6}$  环烷基或 4-6 元杂环烷基，所述  $C_{3-6}$  环烷基或 4-6 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_b$  取代；

$R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、 $R_8$  和  $R_9$  分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、 $NH_2$ 、CN、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基和  $C_{3-6}$  环烷基，所述  $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基和  $C_{3-6}$  环烷基分别独立地任选被 1、2 或 3 个  $R_c$  取代；

$n$  选自 0、1 和 2；

各  $R_a$ 、 $R_b$  和  $R_c$  分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、 $NH_2$  和 OH。

在本发明的一些方案中，上述  $R_1$  和  $R_2$  分别独立地选自 H、OH、F 和  $CH_3$ ，所述  $CH_3$  任选被 1、2 或 3 个 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  $R_1$  和  $R_2$  分别独立地选自 H，其他变量如本发明所定义。

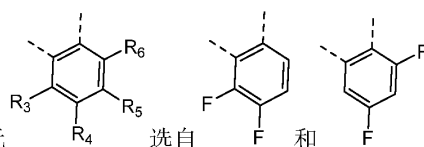
在本发明的一些方案中，上述  $R_1$  和  $R_2$  与其共同连接的原子一起形成环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基或氮杂环丁基，所述环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基或氮杂环丁基任选被 1、2 或 3 个  $R_6$  取代，其他变量如本发明所定义。

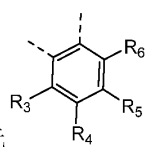
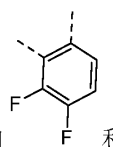
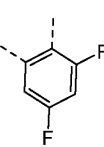
在本发明的一些方案中，上述  $R_1$  和  $R_2$  与其共同连接的原子一起形成环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基，所述环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基任选被 1、2 或 3 个 F 取代，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述  $R_1$  和  $R_2$  与其共同连接的原子一起形成 , 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述  $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$  和  $R_6$  分别独立地选自 H、F、Cl、OH、 $NH_2$ 、CN、 $CH_3$ 、 $CF_3$ 、 $OCH_3$  和  $OCF_3$ ，其他变量如本发明所定义。

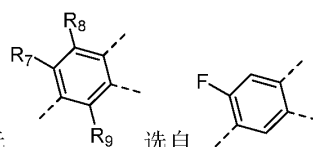
在本发明的一些方案中，上述  $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$  和  $R_6$  分别独立地选自 H 和 F，其他变量如本发明所定义。

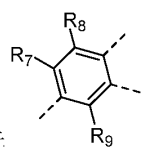
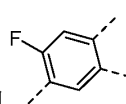


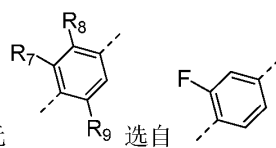
在本发明的一些方案中，上述结构单元选自  和  和 ，其他变量如本发明所定义。

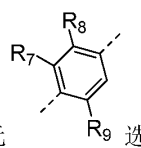
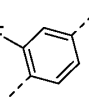
在本发明的一些方案中，上述  $R_7$ 、 $R_8$  和  $R_9$  分别独立地选自 H、F、Cl、OH、 $NH_2$ 、CN、 $CH_3$ 、 $CF_3$ 、 $OCH_3$  和  $OCF_3$ ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述  $R_7$ 、 $R_8$  和  $R_9$  分别独立地选自 H 和 F，其他变量如本发明所定义。



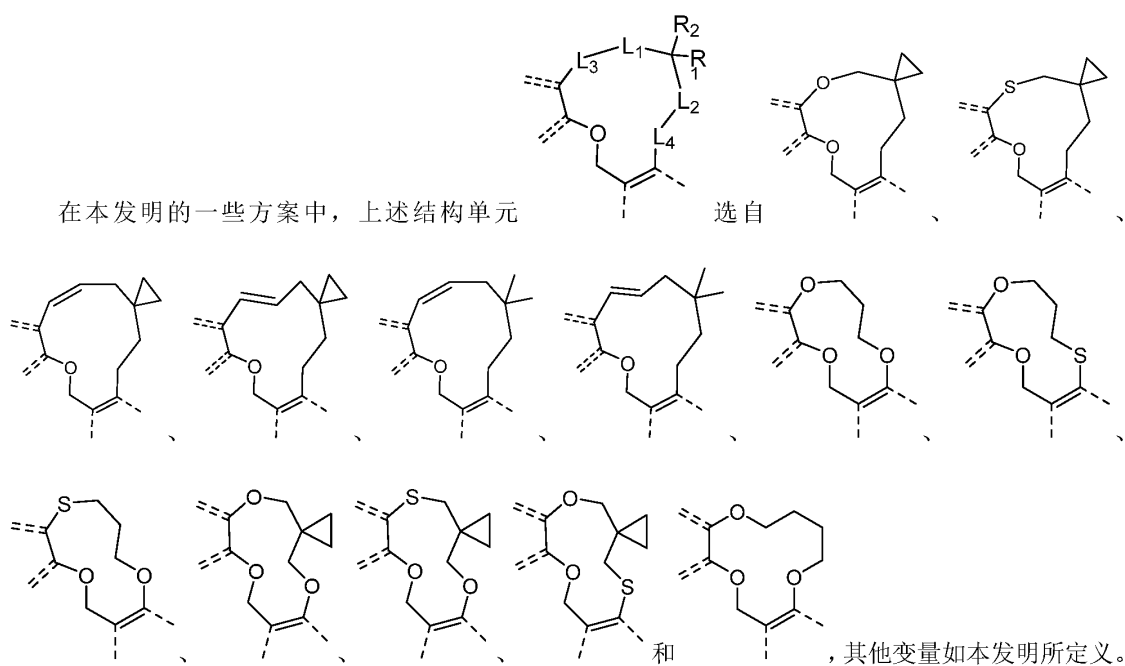
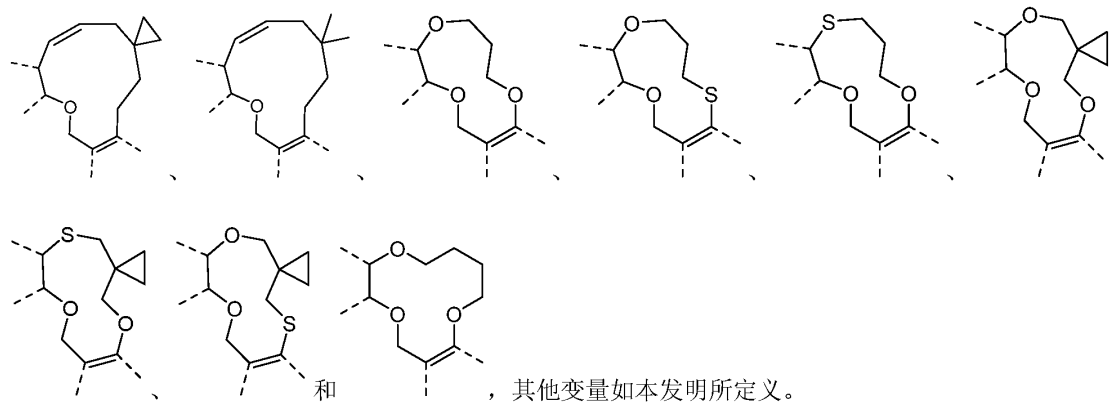
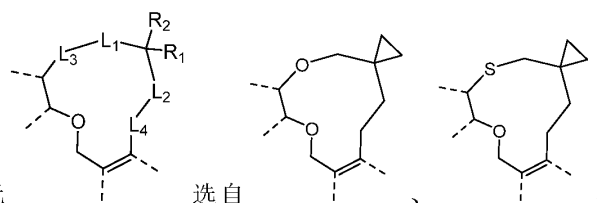
在本发明的一些方案中，上述结构单元选自  和 ，其他变量如本发明所定义。

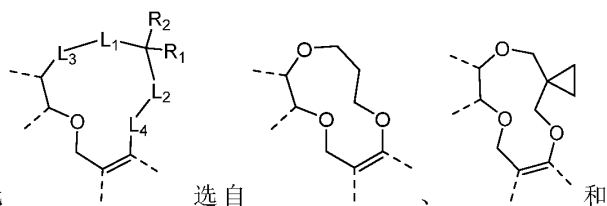


在本发明的一些方案中，上述结构单元选自  和 ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述  $L_3$  和  $L_4$  分别独立地选自 O，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述  $n$  选自 1 和 2，其他变量如本发明所定义。

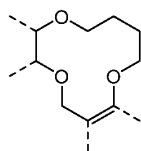




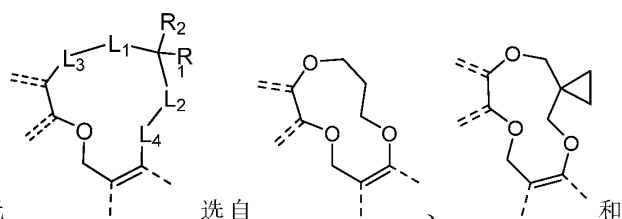
在本发明的一些方案中，上述结构单元

选自

和



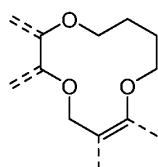
，其他变量如本发明所定义。



在本发明的一些方案中，上述结构单元

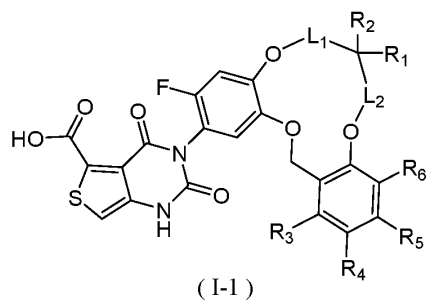
选自

和



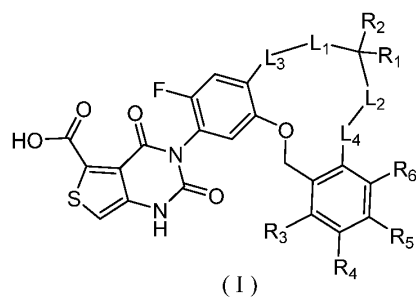
，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述化合物或其药学上可接受的盐，其选自，



其中，L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>和R<sub>6</sub>分别如本发明所定义。

本发明还提供了式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐，



其中,

$L_1$  和  $L_2$  分别独立地选自  $-(CH_2)_n-$ ;

$L_3$  和  $L_4$  分别独立地选自  $-CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-O-$  和  $-S-$ ;

$R_1$  和  $R_2$  分别独立地选自 H、OH、F、Cl、 $C_{1-3}$  烷基和  $C_{1-3}$  烷氧基, 所述  $C_{1-3}$  烷基和  $C_{1-3}$  烷氧基任选被 1、2 或 3 个  $R_a$  取代;

或者,  $R_1$  和  $R_2$  与其共同连接的原子一起形成  $C_{3-6}$  环烷基或 4-6 元杂环烷基, 所述  $C_{3-6}$  环烷基或 4-6 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_b$  取代;

$R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$  和  $R_6$  分别独立地选自 H、F、Cl、Br 和 I;

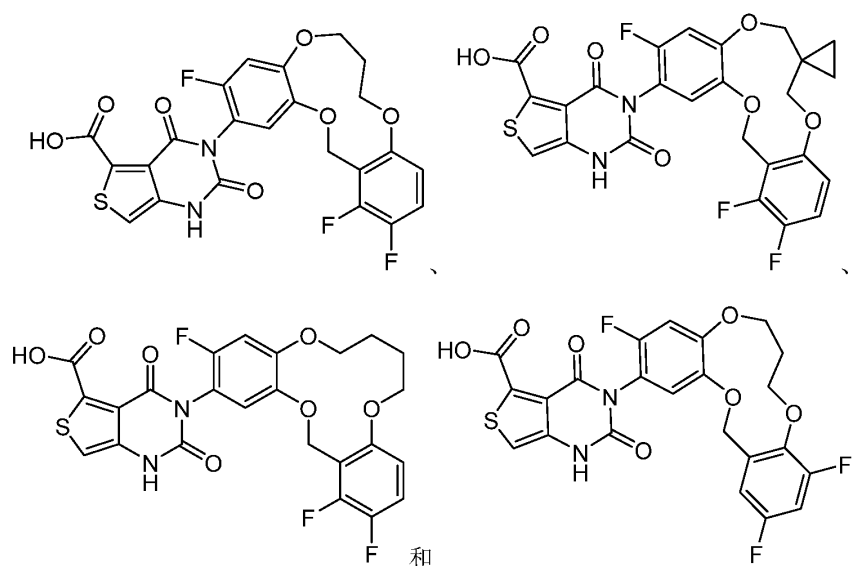
$n$  选自 0、1 和 2;

各  $R_a$  和  $R_b$  分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I;

所述“4-6 元杂环烷基”包含 1、2 或 3 个选自 N、NH、O 和 S 的杂原子。

本发明还有一些方案由上述变量任意组合而来。

本发明还提供了下列所示化合物或其药学上可接受的盐,



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 GnRH 受体拮抗剂相关的药物中的应用。

本发明的一些方案中，上述 GnRH 受体拮抗剂相关的药物是用于预防和/或治疗子宫内膜异位症和/或子宫肌瘤相关疾病的药物。

### 技术效果

本发明化合物对人源促性腺激素释放激素受体具有显著的抑制作用，能够显著抑制小鼠子宫内膜异位病灶体积的增长，药效优秀；PK 结果显示本发明化合物在血浆中的暴露量高，清除率低，半衰期长，口服生物利用度高，展现了优秀的药代动力学性质，良好的开发口服给药的分子。

### 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。当本文中出現商品名时，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。

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。

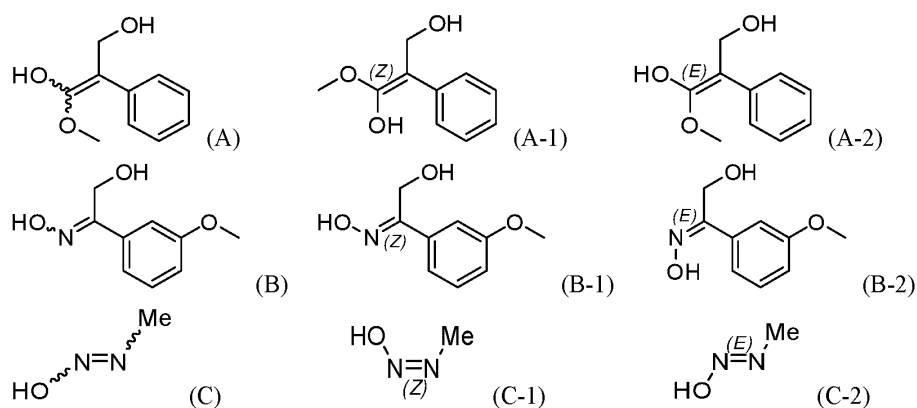
除非另有说明，术语“顺反异构体”或者“几何异构体”系由因双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而引起。

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，“(+)”表示右旋，“(-)”表示左旋，“(±)”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，当化合物中存在双键结构，如碳碳双键、碳氮双键和氮氮双键，且双键上的各个原子均连接有两个不同的取代基时（包含氮原子的双键中，氮原子上的一对孤对电子视为其连接的一个取代基），如果该化合物中双键上的原子与其取代基之间用波浪线 (  ) 连接，则表示该化合物的 (Z) 型异构体、(E) 型异构体或两种异构体的混合物。例如下式 (A) 表示该化合物以式 (A-1) 或式 (A-2) 的单一异构体形式存在或以式 (A-1) 和式 (A-2) 两种异构体的混合物形式存在；下式 (B) 表示该化合物以式 (B-1) 或式 (B-2) 的单一异构体形式存在或以式 (B-1) 和式 (B-2) 两种异构体的混合物形式存在。下式 (C) 表示该化合物以式 (C-1) 或式 (C-2) 的单一异构体形式存在或以式 (C-1) 和式 (C-2) 两种异构体的混合物形式存在。



除非另有说明，术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指在室温下，不同官能团异构体处于动态平衡，并能很快的相互转化。若互变异构体是可能的（如在溶液中），则可以达到互变异构体的化学平衡。例

如, 质子互变异构体 (proton tautomer) (也称质子转移互变异构体 (prototropic tautomer)) 包括通过质子迁移来进行的互相转化, 如酮-烯醇异构化和亚胺-烯胺异构化。价键异构体 (valence tautomer) 包括一些成键电子的重组来进行的相互转化。其中酮-烯醇互变异构化的具体实例是戊烷-2,4-二酮与 4-羟基戊-3-烯-2-酮两个互变异构体之间的互变。

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%。

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 ( $^3\text{H}$ ), 碘-125 ( $^{125}\text{I}$ ) 或 C-14 ( $^{14}\text{C}$ )。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。

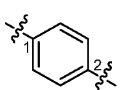
当任何变量 (例如 R) 在化合物的组成或结构中出现一次以上时, 其在每一种情况下的定义都是独立的。因此, 例如, 如果一个基团被 0-2 个 R 所取代, 则所述基团可以任选地至多被两个 R 所取代, 并且每种情况下的 R 都有独立的选项。此外, 取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

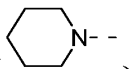
当一个连接基团的数量为 0 时, 比如-(CRR)<sub>0</sub>-, 表示该连接基团为单键。

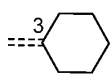
当其中一个变量选自单键时, 表示其连接的两个基团直接相连, 比如 A-L-Z 中 L 代表单键时表示该结构实际上是 A-Z。

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-OCH<sub>3</sub>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;表示通过该环己基中的 3 位碳原子与其他基团通过双键相连。

除非另有规定,术语“C<sub>1-3</sub> 烷基”本身或者与其他术语联合分别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 C<sub>1-3</sub> 烷基包括 C<sub>1-2</sub> 和 C<sub>2-3</sub> 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)。C<sub>1-3</sub> 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“C<sub>1-3</sub> 烷氧基”本身或者与其他术语联合分别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 C<sub>1-3</sub> 烷氧基包括 C<sub>1-2</sub>、C<sub>2-3</sub>、C<sub>3</sub> 和 C<sub>2</sub> 烷氧基等。C<sub>1-3</sub> 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,“C<sub>3-6</sub> 环烷基”表示由 3 至 6 个碳原子组成的饱和单环碳氢基团,所述 C<sub>3-6</sub> 环烷基包括 C<sub>3-5</sub>、C<sub>4-5</sub> 和 C<sub>5-6</sub> 环烷基等;其可以是一价、二价或者多价。C<sub>3-6</sub> 环烷基的实例包括,但不限于,环丙基、环丁基、环戊基、环己基等。

除非另有规定,术语“4-6 元杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由 4 至 6 个环原子组成的饱和单环基团,其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S 和 N 的杂原子,其余为碳原子,其中氮原子任选地被季铵化,氮和硫杂原子可任选被氧化(即 NO 和 S(O)<sub>p</sub>, p 是 1 或 2)。此外,就该“4-6 元杂环烷基”而言,杂原子可以占据杂环烷基与分子其余部分的连接位置。所述 4-6 元杂环烷基包括 5-6 元、4 元、5 元和 6 元杂环烷基等。4-6 元杂环烷基的实例包括但不限于氮杂环丁基、氧杂环丁基、硫杂环丁基、吡咯烷基、

吡唑烷基、咪唑烷基、四氢噻吩基 (包括四氢噻吩-2-基和四氢噻吩-3-基等)、四氢呋喃基 (包括四氢呋喃-2-基等)、四氢吡喃基、哌啶基 (包括 1-哌啶基、2-哌啶基和 3-哌啶基等)、哌嗪基 (包括 1-哌嗪基和 2-哌嗪基等)、吗啉基 (包括 3-吗啉基和 4-吗啉基等)、二噁烷基、二噻烷基、异噻唑烷基、异噻唑烷基、1,2-噻嗪基、1,2-噻嗪基和六氢哒嗪基等。

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  $C_{1-12}$  包括  $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_4$ 、 $C_5$ 、 $C_6$ 、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_9$ 、 $C_{10}$ 、 $C_{11}$ 、和  $C_{12}$ , 也包括  $n$  至  $n+m$  中的任何一个范围, 例如  $C_{1-12}$  包括  $C_{1-3}$ 、 $C_{1-6}$ 、 $C_{1-9}$ 、 $C_{3-6}$ 、 $C_{3-9}$ 、 $C_{3-12}$ 、 $C_{6-9}$ 、 $C_{6-12}$ 、和  $C_{9-12}$  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上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 $\alpha$ 辐射, 扫描方式:  $\phi/\omega$  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。

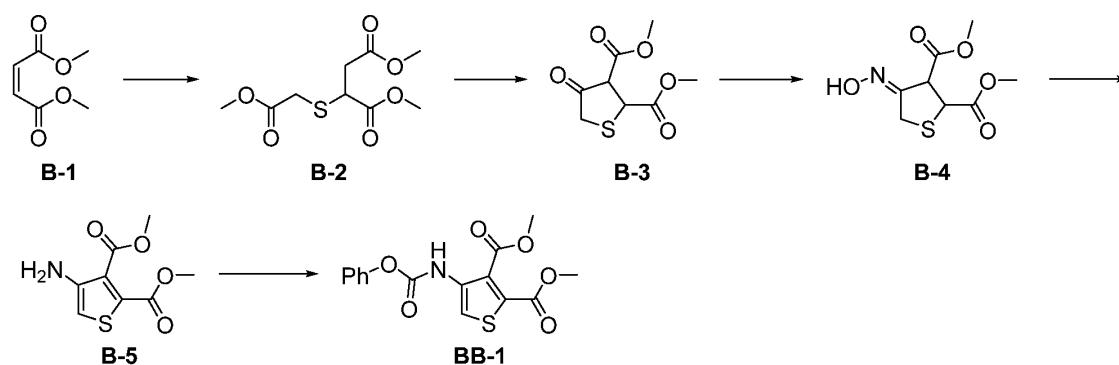
本发明采用下述缩略词: DMSO代表二甲基亚砜; MeOH代表甲醇; ACN 代表乙腈; DEA代表二乙胺; CO<sub>2</sub>代表二氧化碳; psi代表磅力/平方英寸; Ac代表乙酰基, Ph代表苯基, DMAC代表N,N-二甲基乙酰胺; Solutol代表聚乙二醇-15羟基硬脂酸酯; PEG代表聚乙二醇。

本发明所使用的溶剂可经市售获得。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。

### 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。本文已经详细地描述了本发明, 其中也公开了其具体实施方式, 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进行各种变化和改进行将是显而易见的。

#### 参考例 1: 中间体 BB-1



#### 第一步

向化合物 **B-1**（顺丁烯二酸二甲酯，50克，346.92毫摩尔）和巯基乙酸甲酯（37.01克，348.68毫摩尔）的四氢呋喃（300毫升）溶液中加入哌啶（886.18毫克，10.41毫摩尔），混合物在25℃搅拌2小时。薄层色谱板（石油醚：乙酸乙酯=5:1）监测反应完全后，加入300毫升水，用乙酸乙酯萃取两次，每次200毫升，合并的有机相用200毫升饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩干得到化合物 **B-2**。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 3.89 - 3.81 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.75 (d, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.55 - 3.32 (m, 2H), 3.00 (m, 1H), 2.73 (m, 1H)。

#### 第二步

在20℃以下，向甲醇（10毫升）中加入钠（2.78克，120.92毫摩尔），64℃以下搅拌至固体溶解，配置成甲醇钠甲醇溶液，冷却到20℃，加入到 **B-2**（10克，39.96毫摩尔）的四氢呋喃（20毫升）溶液中，反应液66℃氮气保护下搅拌3小时。加入异丙醚（100毫升），醋酸（1毫升），冷却到20℃，过滤，滤饼加入到磷酸（10毫升）和水（20毫升）的混合物中，用乙酸乙酯萃取两次，每次20毫升，合并的有机相用30毫升饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩干得到化合物 **B-3**。

#### 第三步

化合物 **B-3**（7.4克，33.91毫摩尔），吡啶（4.03克，50.89毫摩尔），羟胺盐酸盐（2.47克，35.57毫摩尔）的混合物在50℃搅拌2小时。反应液加入2毫升磷酸，20毫升水，用乙酸乙酯萃取两次，每次20毫升，合并有机层，20毫升饱和碳酸氢钠洗涤，20毫升饱和氯化钠水溶液洗一次，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩干得到化合物 **B-4**。

#### 第四步

向化合物 **B-4**（5.2克，22.29毫摩尔）的醋酸（5毫升）中，加入4摩尔每升盐酸乙酸乙酯（52.00毫升），反应液在25℃下搅拌12小时。反应液过滤，滤饼减压浓缩干得到化合物 **B-5** 的盐酸盐。

MS-ESI计算值 $[\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}]^+$  184.0，实测值184.1。

## 第五步

向化合物 **B-5** (2克, 7.95毫摩尔, 盐酸盐) 的四氢呋喃 (20毫升) 和水 (10毫升) 中, 加碳酸钾 (1.65克, 11.92毫摩尔), 在5-10°C滴加氯甲酸苯酯 (2.49克, 15.89毫摩尔), 反应液在5-10°C下搅拌1小时。向反应液中加入50毫升水, 用乙酸乙酯萃取两次, 每次50毫升, 合并有机相, 用50毫升饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩干, 加入乙酸乙酯 (5毫升), 石油醚 (50毫升), 30°C打浆30分钟, 过滤, 减压干燥滤饼得到化合物 **BB-1**。

MS-ESI计算值[M+H]<sup>+</sup> 336.1, 实测值336.1。

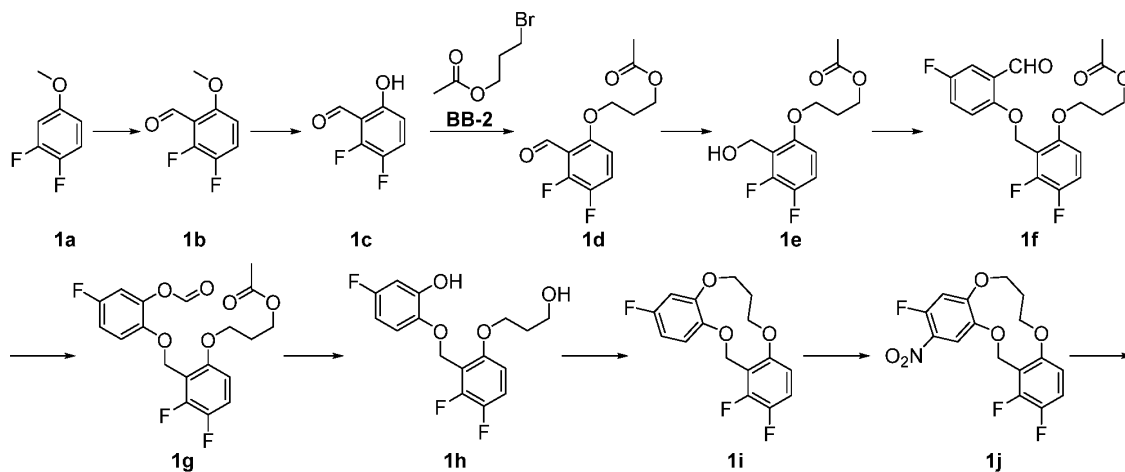
参考例 2: 中间体 **BB-2**

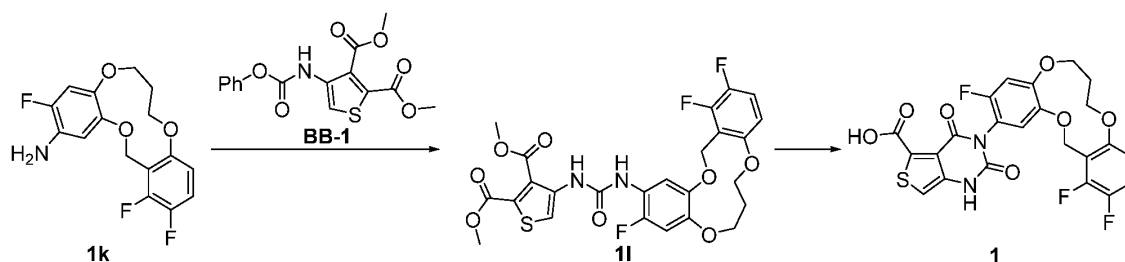
## 第一步

向化合物 **B-6** (3-溴丙醇, 5 克, 35.97 毫摩尔) 和 4-二甲氨基吡啶 (439.49 毫克, 3.6 毫摩尔) 的二氯甲烷 (25 毫升) 的溶液中, 逐滴加入醋酸酐 (4.04 克, 39.57 毫摩尔) 的二氯甲烷溶液 (5 毫升)。该混合物升温至 25°C 并在 25°C 下搅拌 4 小时。该反应液用 1 摩尔/升的盐酸洗涤 (10 毫升×2), 收集水相用二氯甲烷 (30 毫升×3) 萃取, 合并有机相用饱和碳酸氢钠水溶液 (10 毫升×2) 洗涤, 饱和食盐水 (10 毫升×2) 洗涤, 收集有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到中间体化合物 **BB-2**。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 4.18 - 4.25 (m, 2 H), 3.44 - 3.51 (m, 2 H), 2.15 - 2.23 (m, 2 H), 2.07 (s, 3 H)。

## 实施例 1





#### 第一步

在 $-70^{\circ}\text{C}$ 下，向化合物 **1a** (3,4-二氟苯甲醚，40 克，277.5 毫摩尔) 的四氢呋喃 (400 毫升) 溶液中滴加二异丙基胺基锂 (166.53 毫升，浓度：2 摩尔/升)，该反应体系在 $-70^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 0.5 小时。在 $-70^{\circ}\text{C}$  至  $-60^{\circ}\text{C}$  下，向反应液中逐滴滴加 N,N-二甲基甲酰胺 (25.62 毫升，333.06 毫摩尔) 的四氢呋喃 (24 毫升) 溶液，该反应体系在 $-70^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 1 小时。在 $-65^{\circ}\text{C}$ 向反应体系中加入醋酸 (25 毫升) 和水 (100 毫升)，用乙酸乙酯 (200 毫升 $\times$ 3) 萃取，合并有机相用水 (100 毫升 $\times$ 3)，饱和食盐水 (100 毫升 $\times$ 3) 依次洗涤。收集有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物 **1b**。

#### 第二步

在 $-20^{\circ}\text{C}$ 下，向化合物 **1b** (10 克，58.10 毫摩尔) 的二氯甲烷 (100 毫升) 溶液中，逐滴加入三溴化硼 (29.11 克，116.19 毫摩尔)。该混合物缓慢升温至  $25^{\circ}\text{C}$ ，并在  $25^{\circ}\text{C}$  下搅拌 12 小时。向反应体系中逐滴加入甲醇 (200 毫升) 和水 (100 毫升)，该混合物升温至  $40^{\circ}\text{C}$  并在  $40^{\circ}\text{C}$  下搅拌 2 小时。分液，水相用二氯甲烷 (300 毫升 $\times$ 2) 萃取，合并有机相用氢氧化钠水溶液 (1 摩尔/升，400 毫升 $\times$ 3) 萃取。萃取液用浓盐酸酸化 pH 至 2~3，用乙酸乙酯萃取 (300 毫升 $\times$ 3)，收集有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物 **1c**。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 11.13 (s, 1H), 10.29 (s, 1H), 7.37 (q,  $J$  = 9.3 Hz, 1H), 6.77 - 6.68 (m, 1H)。

#### 第三步

向化合物 **1c** (1.5 克，9.49 毫摩尔) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (20 毫升) 溶液中加入碘化钠 (284.42 毫克，1.90 毫摩尔) 和碳酸钾 (1.97 克，14.23 毫摩尔)。该混合物在  $25^{\circ}\text{C}$  下搅拌 0.5 小时。然后加入化合物 **BB-2** (2.06 克，11.39 毫摩尔)，该混合物升温至  $60^{\circ}\text{C}$  并在  $60^{\circ}\text{C}$  下搅拌 12 小时。将该反应体系倒入 30 毫升水中，用乙酸乙酯 (50 毫升 $\times$ 5) 萃取，合并有机相用水 (20 毫升 $\times$ 5) 洗涤，饱和食盐水洗涤 1 次。有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物 **1d**。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 10.45 - 10.38 (m, 1H), 7.37 - 7.28 (m, 1H), 6.74 - 6.65 (m, 1H), 4.28 (t,  $J$  = 6.2 Hz, 2H), 4.16 - 4.13 (m, 2H), 2.22 - 2.16 (m, 2H), 2.06 (s, 3H)。

#### 第四步

在  $0^{\circ}\text{C}$  下，向化合物 **1d** (3.25 克，12.59 毫摩尔) 的四氢呋喃 (30 毫升) 溶剂中加入硼氢化钠 (490 毫克，

12.95 毫摩尔)的水溶液(3 毫升),该反应体系在 0°C 下搅拌 0.5 小时。在 0°C 下,向反应体系中加入水(10 毫升),用乙酸乙酯(30 毫升×3)萃取,合并有机相用水(10 毫升×2)洗涤,饱和食盐水(10 毫升×)洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩得到化合物 **1e**。

#### 第五步

向化合物 **1e**(2.65 克, 10.18 毫摩尔)和 5-氟-2-羟基苯甲醛(1.57 克, 11.2 毫摩尔)的四氢呋喃(20 毫升)溶液中,加入三正丁基磷(3.71 克, 18.33 毫摩尔),搅拌 0.1 小时,然后在 0°C 下逐滴加入偶氮二甲酰二哌啶(4.62 克, 18.33 毫摩尔)的四氢呋喃(5 毫升)溶液。该混合物升至 25°C 并在 25°C 下搅拌 12 小时。将该反应体系倒入 10 毫升的水中,用乙酸乙酯(30 毫升×3)萃取,合并有机相用水(10 毫升×3),食盐水(10 毫升×3)洗涤。收集有机相用无水硫酸钠干燥,过滤浓缩,粗品经柱层析纯化(硅胶,石油醚:乙酸乙酯 = 1/0 ~ 20/1)得到化合物 **1f**。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 10.31 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 3.2, 8.4 Hz, 1H), 7.33 - 7.27 (m, 1H), 7.23 - 7.18 (m, 1H), 7.18 - 7.11 (m, 1H), 6.72 - 6.57 (m, 1H), 5.25 (d, *J* = 2.8 Hz, 2H), 4.19 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 4.06 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.09 - 2.06 (m, 2H), 2.04 (s, 3H)。

#### 第六步

在 0°C 下,向化合物 **1f**(1.04 克, 2.72 毫摩尔)的二氯甲烷(10 毫升)溶液中,加入间氯过氧苯甲酸(1.66 克, 85% 纯度, 8.16 毫摩尔),该混合物升温至 25°C 并在 25°C 下搅拌 12 小时。向该反应液中加入 2 毫升饱和亚硫酸钠水溶液,在加入 10 毫升水,用乙酸乙酯(30 毫升×3)萃取,合并有机相用水(10 毫升×2)洗涤,饱和食盐水(10 毫升×2)洗涤,并用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩,得到的粗品制备色谱纯化(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)得到化合物 **1g**。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.19 (s, 1H), 7.18 - 7.08 (m, 2H), 7.00 - 6.93 (m, 1H), 6.89 (dd, *J* = 3.2, 8.4 Hz, 1H), 6.63 - 6.57 (m, 1H), 5.14 - 5.09 (m, 2H), 4.23 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 4.04 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.14 - 2.09 (m, 2H), 2.06 (s, 3H)。

#### 第七步

向化合物 **1g**(1 克, 2.51 毫摩尔)的甲醇 10 毫升溶液中加入氢氧化钾(1 毫升, 20% 纯度, 489.03 微摩尔)的水溶液,该混合物在 25°C 下搅拌 6 小时。将该反应液倒入 10 毫升水中,然后用乙酸乙酯(30 毫升×3)萃取,合并有机相用水(10 毫升×2)洗涤,饱和食盐水(10 毫升×2)洗涤,收集有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩,粗品经柱层析纯化(硅胶,石油醚:乙酸乙酯 = 5/1-3/1)得到化合物 **1h**。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.15 (q, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.00 (dd, *J* = 5.2, 8.8 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.69 - 6.62 (m, 2H), 6.53 (dt, *J* = 3.0, 8.6 Hz, 1H), 5.17 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H), 4.22 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.88 (q, *J* = 5.0 Hz, 2H),

2.49 (br s, 1H), 2.15 - 2.05 (m, 2H)。

#### 第八步

在 0°C 下，向化合物 **1h** (421 毫克, 1.28 毫摩尔) 的四氢呋喃 (400 毫升) 溶剂中，加入钠氢 (135.04 毫克, 60% 纯度, 3.38 毫摩尔)，该混合物在 0°C 下搅拌 0.5 小时。在 0°C 下，将对甲苯磺酰氯 (244.50 毫克, 1.28 毫摩尔) 的四氢呋喃溶液 (5 毫升) 逐滴加入反应体系中，该混合物在 25°C 下搅拌 12 小时。向该反应液中加入 10 毫升水，用乙酸乙酯 (30 毫升×3) 萃取，合并有机相用水 (10 毫升×2) 洗涤，饱和食盐水 (10 毫升×2) 洗涤，并用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩后，粗品用制备色谱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯 = 3:1) 得到化合物 **1i**。

#### 第九步

在 80°C 下，向化合物 **1i** (53 毫克, 170.82 微摩尔) 的醋酸 (1 毫升) 溶液中，逐滴加入硝酸 (1.46 毫升, 60% 纯度, 19.51 毫摩尔)，该混合物在 80°C 下搅拌 2 小时。将该反应液倒入 40 毫升冰水中，用饱和碳酸氢钠水溶液调节 pH 至 7，水相用乙酸乙酯 (30 毫升×5) 萃取，合并有机相用水 (30 毫升×3) 洗涤，饱和食盐水 (20 毫升×1) 洗涤，并用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物 **1j**。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.92 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.14 - 7.10 (m, 1H), 6.76 - 6.73 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 6.57 - 6.12 (m, 1H), 5.20 (d, *J* = 1.2 Hz, 2H), 4.48 - 4.42 (m, 2H), 4.37 - 4.31 (m, 2H), 2.17 - 2.14 (m, 2H)。

#### 第十步

向化合物 **1j** (46 毫克, 129.48 微摩尔) 的乙酸乙酯 (10 毫升) 溶液中，加入湿钯碳 (10 毫克, 10% 纯度)，用氢气置换三次。该混合物在氢气氛围下 (15 psi)，24°C 下搅拌 12 小时。反应液用硅藻土助滤，过滤，滤液浓缩得到化合物 **1k**。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.17 - 7.07 (m, 2H), 6.82 - 6.78 (m, 1H), 6.76 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 6.68 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.63 - 6.56 (m, 1H), 5.07 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H), 4.35 - 4.31 (m, 2H), 4.16 - 4.11 (m, 2H), 2.13 - 2.09 (m, 2H); LC-MS: *m/z* = 326.1 [M+H]<sup>+</sup>。

#### 第十一步

向化合物 **1k** (41 毫克, 78.41 微摩尔) 的四氢呋喃 (3 毫升) 溶液中，加入化合物 **BB-1** (26.29 毫克, 78.41 微摩尔) 和三乙胺 (7.93 毫克, 78.41 微摩尔)。该混合物在 70°C 下搅拌 10 小时。将该反应液中倒入 10 毫升水中，用乙酸乙酯 (30 毫升×5) 萃取，合并有机相用水 (10 毫升×3) 洗涤，饱和食盐水 (10 毫升×1) 洗涤，并用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩后制备色谱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯 = 2/1) 得到化合物 **1l**。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.86 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.16 - 7.06 (m, 1H), 6.84 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 6.78 (m, 1H), 6.57 (br s, 1H), 5.16 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H), 4.36 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 4.22 (t, *J* = 5.2 Hz,

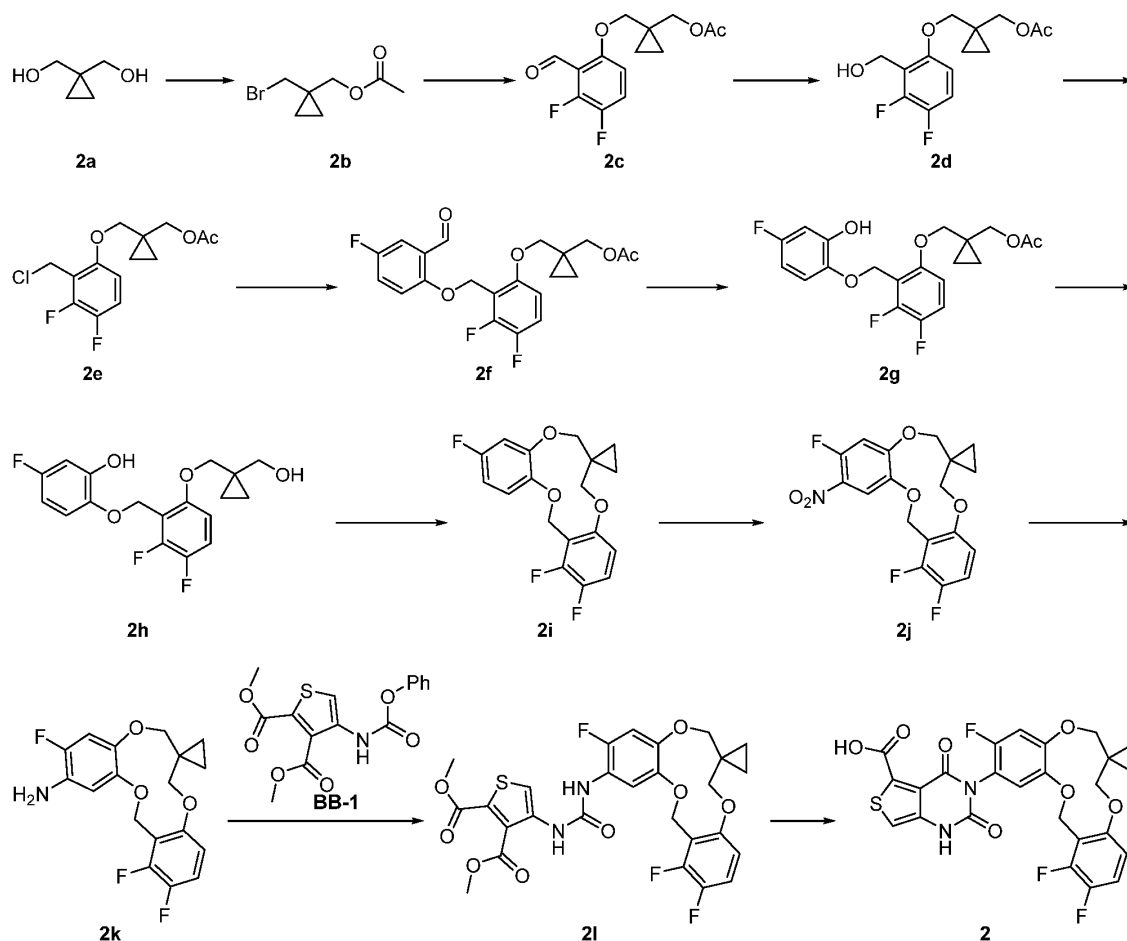
2H), 3.91 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 2.11 (m, 2H); LC-MS:  $m/z = 567.1$   $[M+H]^+$ .

## 第十二步

向化合物 **11** (22 mg, 28.57 微摩尔, 73.57%纯度) 的四氢呋喃 (2 毫升) 和甲醇 (1 毫升) 的溶液中加入一水合氢氧化锂 (5.99 毫克, 142.85 微摩尔) 水溶液 (1 毫升), 该混合物在 26°C 下搅拌 2 小时。向该反应液中加入 1 摩尔/升稀盐酸调节 pH 至 6 左右, 然后用乙酸乙酯 (5 毫升×5) 萃取, 合并有机相用水 (5 毫升×3) 洗涤, 收集有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩, 粗品用制备色谱纯化 (二氯甲烷: 甲醇 = 10/1) 得到化合物 **1**。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 12.05 - 11.76 (br s, 1H), 7.44 - 7.32 (m, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.25 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 7.08 - 7.00 (m, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.14 - 5.09 (m, 1H), 5.09 - 5.04 (m, 1H), 4.48 (br t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 4.30 (br t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 2.01 - 1.91 (m, 2H); LC-MS: *m/z* = 521.1 [M+H]<sup>+</sup>.

## 实施例 2



### 第一步

在0-5℃, 向化合物**2a** (1,1-环丙烷二甲醇, 10克, 97.91毫摩尔) 的二氯甲烷 (20毫升) 溶液中滴加入氢溴酸醋酸溶液 (72.00克, 293.65毫摩尔, 33%纯度), 混合物在10-20℃下搅拌2小时。加入100毫升水, 用二氯甲烷萃取两次, 每次20毫升, 合并有机相, 用饱和碳酸氢钠洗涤两次, 每次50毫升, 有机相用50毫升饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩干得到化合物**2b**。

#### 第二步

向化合物2,3-二氟-6-羟基苯甲醛 (5克, 31.63毫摩尔) 的N,N-二甲基甲酰胺 (50毫升) 溶液中加入碳酸钾 (6.57克, 47.55毫摩尔), 碘化钠 (948.08毫克, 6.33毫摩尔), 化合物**2b** (9.82克, 47.44毫摩尔)。混合物在60℃搅拌12小时。向反应液中加入100毫升水, 用乙酸乙酯萃取两次, 每次50毫升, 合并的有机相用水洗涤两次, 每次50毫升, 50毫升饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩干, 经柱层析纯化 (硅胶, 100-200目, 石油醚: 乙酸乙酯=1:0到10:1) 得到化合物**2c**。

#### 第三步

在0-5℃, 向化合物**2c** (4.5克, 15.83毫摩尔) 的四氢呋喃 (40毫升) 溶液中, 加入硼氢化钠 (0.83克, 21.94毫摩尔) 的水 (5毫升) 溶液。反应液25℃搅拌1小时。向反应液中加入50毫升水, 用乙酸乙酯萃取2次, 每次20毫升, 合并的有机相用10毫升饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩干得到化合物**2d**。

#### 第四步

在0-5℃, 向化合物**2d** (4.4克, 15.37毫摩尔) 的二氯甲烷 (40毫升) 中, 加入吡啶 (3.65克, 46.11毫摩尔), 氯化亚砷 (3.66克, 30.74毫摩尔)。反应物在25℃氮气保护下搅拌12小时。向反应液中加入50毫升水, 用乙酸乙酯萃取两次, 每次50毫升, 合并有机层, 20毫升饱和碳酸氢钠洗涤, 30毫升饱和氯化钠水溶液洗一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩干得到化合物**2e**。

#### 第五步

向化合物5-氟-2-羟基苯甲醛 (1.84克, 13.13毫摩尔) 和化合物**2e** (4.0克, 13.13毫摩尔) 的乙腈 (40毫升) 溶液中, 加碳酸钾 (2.72克, 19.69毫摩尔), 碘化钠 (196.77毫克, 1.31毫摩尔), 反应液在60℃氮气保护下搅拌12小时。反应液过滤, 滤液加入50毫升水, 用乙酸乙酯萃取两次, 每次50毫升, 合并有机相, 用50毫升饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩干, 经硅胶柱层析 (100-200目, 石油醚: 乙酸乙酯=1:0到20:1) 纯化得到化合物**2f**。

#### 第六步

在0-5℃, 向化合物**2f** (2.2克, 5.39毫摩尔) 的二氯甲烷 (25毫升) 中, 加间氯过氧苯甲酸 (1.20克, 5.93毫摩尔, 85%纯度), 反应液在30℃下搅拌36小时。反应液过滤, 滤液加入20毫升饱和碳酸氢钠水溶液, 用二氯甲烷萃取两次, 每次20毫升, 合并有机相, 用饱和碳酸氢钠洗涤两次, 每次20毫升, 20毫升饱和食盐水

水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩干得到化合物**2g**。

#### 第七步

将化合物 **2g** (2.2 克, 5.18 毫摩尔) 的甲醇 (10 毫升) 和水 (2 毫升), 加入碳酸钾 (2.15 克, 15.55 毫摩尔)。反应液在 40°C 下搅拌 2 小时。向反应液中加入 30 毫升水, 用乙酸乙酯萃取两次, 每次 20 毫升, 有机层合并, 用 30 毫升饱和氯化钠水溶液洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩干, 经硅胶柱层析 (100-200 目, 石油醚: 乙酸乙酯=20: 1 到 5:1) 纯化得到化合物 **2h**。

#### 第八步

在 0°C, 向化合物 **2h** (1.63 克, 4.60 毫摩尔) 的四氢呋喃 (30 毫升) 溶液中, 加入钠氢 (552.04 毫克, 13.80 毫摩尔, 60% 纯度), 对甲苯磺酰氯 (877.06 毫克, 4.60 毫摩尔), 反应在 35°C 氮气保护下搅拌 60 小时。向反应液中加入 2 毫升饱和氯化铵水溶液, 10 毫升水, 用乙酸乙酯萃取两次, 每次 10 毫升, 合并有机相, 用 10 毫升饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 经硅胶柱层析 (100-200 目, 石油醚: 乙酸乙酯=1:0 到 10:1) 纯化得到化合物 **2i**。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.19 - 7.06 (m, 2H), 6.75 - 6.67 (m, 3H), 5.17 (d,  $J$  = 1.6 Hz, 2H), 4.13 (s, 2H), 3.98 (s, 2H), 0.72 (s, 4H)。

#### 第九步

在 60°C, 向化合物 **2i** (360 毫克, 1.07 毫摩尔) 的醋酸 (3 毫升) 溶液中, 滴加硝酸 (518.84 毫克, 5.35 毫摩尔, 纯度 65%), 反应在 60°C 下搅拌 2 小时。薄向反应液中加 10 毫升水, 析出固体, 过滤, 滤饼减压干燥, 经硅胶柱层析 (100-200 目, 石油醚: 乙酸乙酯=10:1 到 5:1) 纯化得到化合物 **2j**。

#### 第十步

在 79°C, 向化合物 **2j** (200 毫克, 524.52 微摩尔) 的乙醇 (4 毫升) 和水 (0.8 毫升) 溶液中, 加入氯化铵 (140.29 毫克, 2.62 毫摩尔), 还原铁粉 (146.46 毫克, 2.62 毫摩尔), 反应在 79°C 下搅拌 3 小时。反应液中加水 (10 毫升), 用乙酸乙酯萃取两次, 每次 10 毫升, 合并有机相, 用 10 毫升饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩过, 经硅胶柱层析 (100-200 目, 石油醚: 乙酸乙酯=1:0 到 5:1) 纯化得到化合物 **2k**。

LC-MS:  $m/z$  = 352.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 第十一步

向化合物 **BB-1** (143.17 毫克, 426.96 微摩尔) 和化合物 **2k** (150 毫克, 426.96 微摩尔) 的四氢呋喃 (5 毫升) 溶液中, 加入三乙胺 (43.2 毫克, 426.96 微摩尔), 反应在 35°C 下搅拌 60 小时。反应液减压浓缩干, 经硅胶柱层析 (100-200 目, 石油醚: 乙酸乙酯=20: 1 到 5: 1) 纯化得到化合物 **2l**。

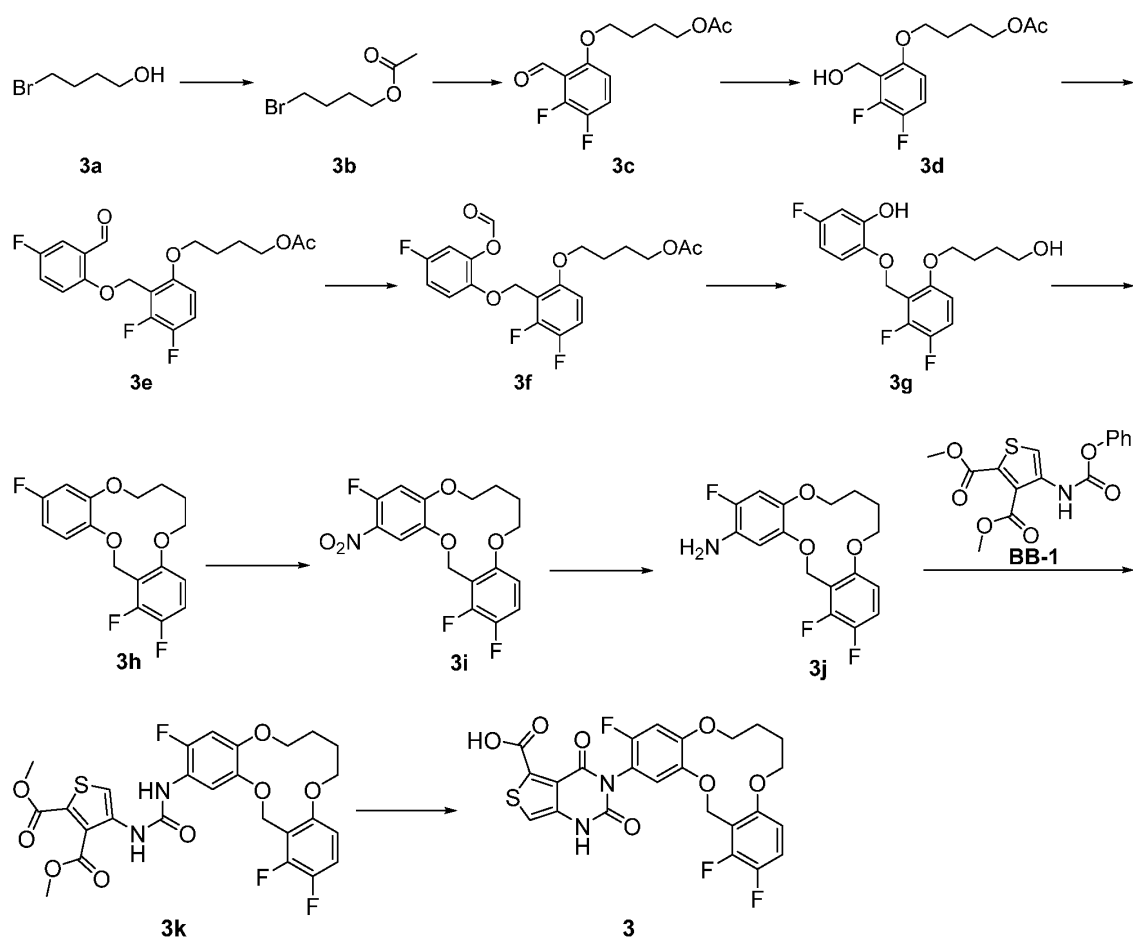
LC-MS:  $m/z$  = 593.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 第十二步

向化合物**2l** (100毫克, 168.77微摩尔) 的四氢呋喃 (2毫升), 甲醇 (2毫升), 加入一水合氢氧化锂 (35.41毫克, 843.83微摩尔) 的水 (2毫升) 溶液, 反应在20°C搅拌2小时。反应液用1摩尔每升的盐酸调节pH到4-5, 析出固体, 过滤, 滤饼减压浓缩干, 加入乙酸乙酯 (5毫升), 石油醚 (25毫升), 20°C打浆30分钟, 过滤, 滤饼减压干燥得到化合物**2**。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 11.72 (br s, 1H), 7.38 (q,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 7.25 (br d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.16 - 7.03 (m, 2H), 6.99 (br s, 1H), 5.10 (br s, 2H), 4.28 (s, 2H), 4.10 - 4.03 (m, 2H), 0.68 - 0.60 (m, 4H); LC-MS:  $m/z$  = 547.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

### 实施例 3



### 第一步

在0-5°C, 向化合物**3a** (4-溴-1-丁醇, 10克, 65.35毫摩尔) 的二氯甲烷 (100毫升) 溶液中加入三乙胺 (9.92克, 98.03毫摩尔), 醋酸酐 (7.34克, 71.89毫摩尔), 混合物在25°C氮气保护下搅拌12小时。向反应液中加入100毫升水, 用二氯甲烷萃取两次, 每次100毫升, 合并有机相用100毫升饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠

干燥，过滤，滤液减压浓缩得到化合物**3b**。

#### 第二步

向化合物2,3-二氟-6-羟甲基苯甲醛（4克，25.30毫摩尔）的N,N-二甲基甲酰胺（40毫升）溶液中加入碳酸钾（5.26克，38.04毫摩尔），碘化钠（758.45毫克，5.06毫摩尔），化合物**3b**（6.42克，32.89毫摩尔）。混合物在60℃搅拌12小时。向反应液中加入100毫升水，用乙酸乙酯萃取两次，每次50毫升，合并的有机相用水洗涤两次，每次50毫升，50毫升饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得到化合物**3c**。

#### 第三步

在0-5℃，向化合物**3c**（5克，18.37毫摩尔）的四氢呋喃（30毫升）溶液中，加入硼氢化钠（800毫克，21.15毫摩尔）的水（3毫升）溶液。反应液25℃搅拌1小时。向反应液中加入50毫升水，用乙酸乙酯萃取两次，每次20毫升，合并的有机相用10毫升饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得到化合物**3d**。

#### 第四步

在0-5℃，向化合物5-氟-2-羟基苯甲醛（2.66克，18.96毫摩尔）和化合物**3d**（5.2克，18.96毫摩尔）的四氢呋喃（50毫升）中，加入三正丁基膦（5.75克，28.44毫摩尔），偶氮二甲酰二哌啶（7.18克，28.44毫摩尔）。反应物在25℃氮气保护下搅拌12小时。将反应液过滤，滤液加入50毫升水，用乙酸乙酯萃取两次，每次50毫升，合并有机层，用50毫升饱和氯化钠水溶液洗一次，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩，经硅胶柱层析（100-200目，石油醚：乙酸乙酯=1：0到20:1）纯化得到化合物**3e**。

#### 第五步

向化合物**3e**（2.6克，6.56毫摩尔）的二氯甲烷30毫升）中，加间氯过氧苯甲酸（1.33克，6.56毫摩尔，纯度85%），反应液在25℃下搅拌12小时。反应液过滤，滤液加入30毫升碳酸氢钠，用二氯甲烷萃取两次，每次10毫升，合并有机相，用饱和碳酸氢钠洗涤三次，每次30毫升，饱和食盐水（10毫升）洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩干，经硅胶柱层析（100-200目，石油醚：乙酸乙酯=1：0到10:1）纯化得到化合物**3f**。

#### 第六步

向化合物**3f**（1.5克，3.90毫摩尔）的甲醇（2毫升）和水（2毫升），加入碳酸钾（1.08克，7.81毫摩尔）。反应液在25℃下搅拌12小时。向反应液中加入30毫升水，用乙酸乙酯萃取两次，每次20毫升，有机层合并，用30毫升饱和氯化钠水溶液洗，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得到化合物**3g**。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.14 (q, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.02-7.0 (m, 1H), 6.66 - 6.45 (m, 2H), 6.63-6.53 (m, 1H), 5.11 (d, *J* = 1.8 Hz, 2H), 4.07 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.70 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 1.97 - 1.89 (m, 2H), 1.76 - 1.70 (m, 2H)。

#### 第七步

在0°C, 向化合物**3g** (800毫克, 2.34毫摩尔) 的四氢呋喃 (20毫升) 溶液中, 加入钠氢 (233.71毫克, 5.84毫摩尔, 60%纯度), 对甲苯磺酰氯 (445.56毫克, 2.34微摩尔), 反应在25°C氮气保护下搅拌60小时。向反应液中加入2毫升饱和氯化铵水溶液, 10毫升水, 用乙酸乙酯萃取两次, 每次10毫升, 合并有机相, 用10毫升饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 经硅胶柱层析 (100-200目, 石油醚: 乙酸乙酯=1:0到10:1) 纯化得到化合物**3h**。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.17 - 7.10 (m, 2H), 6.70-6.62 (m, 3H), 5.04 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 2H), 4.16 - 4.13 (m, 4H), 2.10 - 2.04 (m, 4H)。

#### 第八步

在0-5°C, 向化合物**3h** (100毫克, 308.36微摩尔) 的醋酸 (1毫升) 溶液中, 加入硝酸 (149.46毫克, 1.54毫摩尔, 纯度65%), 反应在60°C下搅拌1小时。向反应液中加入10毫升水, 析出固体, 过滤, 滤饼减压干燥, 再加入乙酸乙酯 (1毫升), 石油醚 (10毫升), 25°C下打浆30分钟, 过滤, 滤饼减压干燥得到化合物**3i**。

#### 第九步

向化合物**3i** (100毫克, 270.79微摩尔) 的乙酸乙酯 (10毫升) 溶液中, 加入湿钨碳 (10毫克, 纯度10%, 50%水), 反应在25°C下15 psi氢气下搅拌7小时。反应液过滤, 滤液浓缩得到化合物**3j**。

LC-MS:  $m/z$  = 340.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 第十步

向化合物**BB-1** (69.18毫克, 206.30微摩尔) 和化合物**3j** (70毫克, 206.30微摩尔) 的四氢呋喃 (5毫升) 溶液中, 加入三乙胺 (41.75毫克, 412.60微摩尔), 反应在35°C下搅拌36小时。反应液减压浓缩干, 加入乙酸乙酯 (2毫升), 石油醚 (20毫升), 25°C打浆30分钟, 过滤, 滤饼减压干燥得到化合物**3k**。

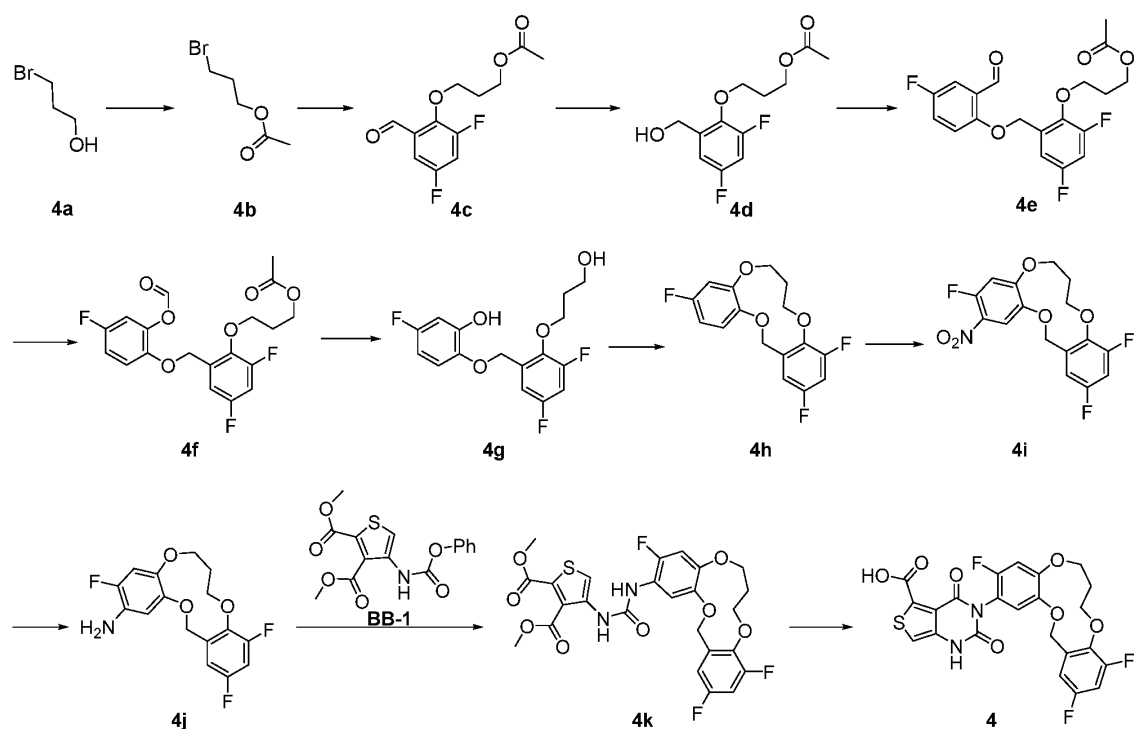
LC-MS:  $m/z$  = 581.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 第十一步

向化合物**3k** (150毫克, 258.39微摩尔) 的四氢呋喃 (1毫升), 甲醇 (1毫升), 水 (1毫升) 溶液中, 加入一水合氢氧化锂 (65.06毫克, 1.55毫摩尔), 反应在25°C搅拌2小时。反应液用1摩尔每升的盐酸调节pH到4-5, 25°C搅拌10分钟, 析出固体, 过滤, 滤饼减压浓缩干, 加入乙酸乙酯 (5毫升), 石油醚 (20毫升), 25°C打浆30分钟, 过滤, 减压干燥, 再经高效液相制备色谱分离 (柱子: 3\_Phenomenex Luna C18 75\*30 mm\*3  $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水(0.05%盐酸)-乙腈]; 乙腈%: 47%-67%) 纯化得到化合物**3**。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 12.03 (br s, 1H), 7.44 (q,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 7.39 - 7.35 (m, 2H), 7.17 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H), 6.95 - 6.88 (m, 1H), 4.99 (s, 2H), 4.17 - 4.14 (m, 4H), 1.96 (br s, 4H); LC-MS:  $m/z$  = 535.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 实施例 4



### 第一步

将化合物 **4a** (3-溴丙醇, 12 克, 86.34 毫摩尔) 溶于 60 毫升的二氯甲烷溶液中, 加入三乙胺 (13.10 克, 129.50 微摩尔) 在 25°C 下搅拌 20 分钟, 将反应液冷却到 0 摄氏度, 然后将乙酸酐 (10.58 克, 103.60 毫摩尔) 溶于 10 毫升的二氯甲烷中, 滴加到反应液中, 在 25°C 下搅拌 12 小时。将反应液倒入 50 毫升的水中, 并用 1N 的稀盐酸调节 pH 至 3-5, 有机相用水洗涤三次, 每次 30 毫升, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得化合物 **4b**。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 4.21 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 3.47 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.25 - 2.13 (m, 2H), 2.07 (s, 3H)。

### 第二步

将化合物 3,5-二氟-2-羟基-苯甲醛 (7.5 克, 47.44 毫摩尔), 化合物 **4b** (11.16 克, 61.67 毫摩尔) 溶于 100 毫升的 N,N-二甲基甲酰胺中, 再加入碳酸钾 (13.11 克, 94.88 毫摩尔), 然后加热到 75°C, 在 75°C 下搅拌 12 小时。将反应液冷却到 25°C, 倒入 200 毫升的水中, 并用乙酸乙酯萃取三次, 每次 100 毫升, 合并有机相, 并用水洗涤 4 次, 每次 100 毫升, 有机相浓缩, 粗品经硅胶柱 (硅胶, 100-200 目, 石油醚: 乙酸乙酯 = 1/0-20/1) 纯化得化合物 **4c**。

### 第三步

将化合物 **4c** (12 克, 46.47 毫摩尔) 溶于 100 毫升的四氢呋喃和 10 毫升的水中, 冷却到 0°C, 分批加入

硼氢化钠 (2.11 克, 55.77 毫摩尔), 然后在 25°C 下搅拌 3 小时。用 1 摩尔/升的稀盐酸淬灭反应至 pH 值为 6 左右, 再用乙酸乙酯萃取两次, 每次 50 毫升, 合并有机相, 再用饱和食盐水 100 毫升洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得化合物 **4d**。

#### 第四步

将化合物 **4d** (8 克, 30.74 毫摩尔), 5-氟水杨醛 (5.6 克, 39.96 毫摩尔), 三正丁基膦 (12.44 克, 61.48 毫摩尔) 溶于 50 毫升的四氢呋喃溶液中, 并冷却到 0°C, 然后分批加入偶氮二甲酰二哌啶 (15.51 克, 61.48 毫摩尔), 在氮气保护下 25°C 搅拌 12 小时。将反应液倒入 50 毫升的水中, 并用乙酸乙酯萃取两次, 每次 50 毫升, 合并有机相, 浓缩, 粗品经硅胶柱 (硅胶, 100-200 目, 石油醚: 乙酸乙酯 = 1/0-20/1) 纯化得化合物 **4e**。

#### 第五步

将化合物 **4e** (6.5 克, 17.00 毫摩尔) 溶于 55 毫升的二氯甲烷溶液中, 加入间氯过氧苯甲酸 (4.83 克, 23.80 毫摩尔, 纯度: 85%), 然后加热到 35°C, 在 35°C 下搅拌 12 小时。将反应液冷却到 25°C, 过滤, 滤液用水洗涤两次, 每次 25 毫升, 再用饱和碳酸氢钠洗涤两次, 每次 20 毫升, 再用饱和亚硫酸钠溶液洗涤两次, 每次 30 毫升。有机相浓缩, 粗品经硅胶柱 (硅胶, 100-200 目, 石油醚: 乙酸乙酯 = 1/0-20/1) 纯化得化合物 **4f**。

#### 第六步

将化合物 **4f** (5 克, 12.55 毫摩尔) 溶于 50 毫升的甲醇和 10 毫升的水中, 加入碳酸钾 (5.2 克, 37.66 毫摩尔), 然后在 25°C 下搅拌 12 小时。过滤, 滤液浓缩, 粗品用 20 毫升的乙酸乙酯稀释, 并用 20 毫升的饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得化合物 **4g**。

#### 第七步

将化合物 **4g** (1.63 克, 4.97 毫摩尔) 溶于 20 毫升的四氢呋喃中, 冷却到 0°C, 加入钠氢 (595.77 毫克, 60% 纯度, 14.90 毫摩尔), 然后在 0°C 下搅拌 0.5 小时, 再加入对甲苯磺酰氯 (946.61 毫克, 4.97 毫摩尔), 然后加热到 50°C, 在 50°C 下搅拌 24 小时。反应液冷却到 25°C, 加入 20 毫升的饱和氯化铵溶液淬灭反应, 并用 20 毫升的乙酸乙酯萃取一次, 浓缩, 粗品经硅胶柱 (硅胶, 100-200 目, 石油醚: 乙酸乙酯 = 1/0-20/1) 纯化得化合物 **4h**。

#### 第八步

将化合物 **4h** (130 毫克, 418.99 微摩尔) 溶于 2 毫升的醋酸中, 加入硝酸 (81.24 毫克, 837.99 微摩尔, 纯度: 65%), 然后加热到 65°C, 并在 65°C 下搅拌 1 小时。将反应液冷却到 25°C, 倒入 5 毫升的水中,

并用乙酸乙酯萃取两次，每次 5 毫升，合并有机相，并用饱和碳酸氢钠溶液洗涤两次，每次 5 毫升，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得化合物 **4i**。

#### 第九步

将化合物 **4i** (110 毫克, 309.63 微摩尔) 溶于 3 毫升的乙酸乙酯中，在氮气保护下加入钯碳 (50 毫克, 纯度: 10%), 并用氢气置换 3 次, 在氢气 (15psi) 氛围下 25°C 搅拌 12 小时。将反应液过滤, 滤液浓缩得化合物 **4j** 直接用于下一步。

LC-MS:  $m/z = 326.1$   $[M+H]^+$ 。

#### 第十步

将化合物 **4j** (100 毫克, 307.43 微摩尔), 化合物 **BB-1** (103.09 毫克, 307.43 微摩尔) 溶于 5 毫升的四氢呋喃溶液中, 加入三乙胺 (31.11 毫克, 307.43 微摩尔), 然后加热到 70 摄氏度, 然后在 70°C 下搅拌 12 小时。将反应液浓缩, 粗品经薄层色谱板 (石油醚: 乙酸乙酯 = 3:1) 纯化得到化合物 **4k**。

LC-MS:  $m/z = 567.1$   $[M+H]^+$ 。

#### 第十一步

将化合物 **4k** (80 毫克, 141.22 微摩尔) 溶于 3 毫升的四氢呋喃和 0.5 毫升的甲醇中, 将一水合氢氧化锂 (35.56 毫克, 847.30 微摩尔) 溶于 0.5 毫升的水中, 滴加到反应液中, 然后在 25°C 下搅拌 2 小时。用 1 摩尔/升的稀盐酸调节 pH 至 2-3, 再用 3 毫升的水稀释, 乙酸乙酯萃取 3 次, 每次 3 毫升, 合并有机相, 用 5 毫升的饱和食盐水洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得化合物 **4**。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta = 14.45$  (br s, 1H), 12.03 (s, 1H), 7.47 - 7.35 (m, 3H), 7.26 (br d,  $J = 10.4$  Hz, 1H), 7.18 (br d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.37 (br s, 2H), 4.21 (br s, 2H), 2.09 (br s, 2H); LC-MS:  $m/z = 521.1$   $[M+H]^+$ 。

#### 生物测试数据

##### 实验例 1 本发明化合物对人源促性腺素释放激素受体活性的测试

实验目的: 应用 FLIPR 检测技术, 在细胞水平上检测受试化合物对促性腺素释放激素受体的抑制活性

主要实验材料及来源:

Fluo-4 Direct<sup>TM</sup>试剂盒——Invitrogen-F10471 公司

384 孔多聚赖氨酸包被细胞板——Greiner-781946 公司

384 孔化合物板——Greiner-781280 公司

化合物制备 ECHO (声波移液系统)——Labcyte 公司

FLIPR (荧光成像读板仪)——Molecular Devices 公司

实验步骤:

取对数生长期的 GnRH/HEK293 (人胚胎肾细胞 293) 培养细胞, 用 DPBS (杜氏磷酸缓冲盐) 缓冲液清洗, 加入适量 0.05% 的 EDTA (乙二胺四乙酸)-胰酶放置于 37°C 二氧化碳培养箱中消化, 1~2 分钟取出细胞加入培养基终止消化。反复吹打分散细胞后离心收取细胞, 以每孔 20,000 个细胞, 20  $\mu$ L 的密度种入 384 孔多聚赖氨酸包被细胞板, 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 培养箱孵育过夜。

第二天每孔加入 20  $\mu$ L 2 $\times$  Fluo-4 Direct™ 缓冲液, 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 培养箱孵育 50 分钟, 室温放置细胞 10 min。将 0.2 mM Leuprolide acetate (醋酸亮瑞丙林) 用 ECHO 做 4 倍 10 个点的梯度稀释, 并转移 900 nL 到化合物板。添加 30  $\mu$ L FLIPR 缓冲盐溶液至化合物板中, 1000 rpm 离心 1 min。运行 FLIPR 仪器软件, 按照设定程序, 加入 10  $\mu$ L 实验用缓冲盐溶液, 读取荧光信号。然后再加入 10  $\mu$ L 激动剂参考化合物, 读取荧光信号, 计算 EC<sub>80</sub>, 准备 6 $\times$  EC<sub>80</sub> 浓度的激动剂。

将 2 mM 受试化合物及合适浓度的参考化合物用 ECHO 做 4 倍 10 个点的梯度稀释, 并转移 900 nL 至化合物板。添加 30  $\mu$ L FLIPR 缓冲盐溶液至化合物板中, 1000 rpm 离心 1 min。运行 FLIPR 仪器软件, 按照设定程序, 添加 10  $\mu$ L 受试及参考化合物到细胞板中, 读取荧光信号。再添加 10  $\mu$ L 6 $\times$  EC<sub>80</sub> 浓度的激动剂到细胞板中, 读取荧光信号。

计算化合物对促性腺激素释放激素受体的钙流抑制的 IC<sub>50</sub>, 即在稳定表达 GnRH 受体的细胞内 Ca<sup>2+</sup>流动被抑制一半时的药物浓度, 应用 GraphPad Prism 5.0 软件计算药物的 IC<sub>50</sub>。

实验结果:

本发明中化合物对人源促性腺激素释放激素受体抑制活性通过以上试验方法进行测定, 测得的 IC<sub>50</sub> 见表 1:

表 1 本发明中化合物对人源促性腺激素释放激素受体活性抑制 IC<sub>50</sub>

| 化合物编号 | IC <sub>50</sub> (nM) |
|-------|-----------------------|
| 化合物 1 | 3.2                   |
| 化合物 2 | 9.2                   |
| 化合物 3 | 10.1                  |
| 化合物 4 | 18.0                  |

结论: 本发明化合物对人源促性腺激素释放激素受体具有显著的抑制作用。

实验例 2 体内药效评价

实验目的: 本发明化合物在小鼠子宫内膜异位症模型中的药效评价。

试验方案:

2.1 主要试剂及耗材

C57BL6/J 雌性小鼠, 游标卡尺 (ARZ-1331), 8-0 缝合线, 体式显微镜。

2.2 实验步骤

8 周龄雌性 C57BL/6/J 雌性小鼠动物动情周期检测：阴道涂片观察，由于整个动情周期大约 4 天，根据实际涂片结果选择在实验当天符合动情具体周期的小鼠进行实验。

建模：处于动情间期的供体小鼠的子宫角切下，纵向打开并对切下来的活组织切片剪成2×2 mm大小。用异氟烷气体麻醉受体小鼠，并沿中线切口1 cm 以暴露腹腔。子宫内膜异位症小鼠：供体的四个子宫碎片缝合到处于发情期小鼠的腹膜壁上；假手术小鼠：缝合大小相似的腹部脂肪碎片。使用8-0 黑色丝线缝合移植的组织以及腹肌和皮肤。Sham 组（假手术组）：每只Sham 组都打开腹腔移植脂肪碎片，其余步骤都一致。

建模4周后二次开腹，使用游标卡尺测量并计算异位灶体积（V<sub>1</sub>）确定造模成功。选取V<sub>1</sub>较为均一的12只小鼠分为2组，每组6 只：Vehicle（溶媒对照组）、药物组。

Sham组（假手术组，6只）：正常饲养；Vehicle组（溶媒对照组，6只）：每天灌胃一次溶媒，连续8周，溶媒为10%DMAC+10%solutol+80%生理盐水；化合物组（6只）：每天上午10:00灌胃100 mpk，连续8周，溶媒为10%DMAC+10%solutol+80%生理盐水。

给药8周后小鼠取材：使用游标卡尺测量并计算异位灶体积（V<sub>2</sub>），计算抑制率。计算公式：异位灶体积V = π/6×length×width× height，length表示异位灶的长，width表示异位灶的宽，height表示异位灶的高；

$$\text{抑制率} = \left( 1 - \frac{\text{化合物给药的} V_2 - \text{化合物给药的} V_1}{\text{溶媒对照的} V_2 - \text{溶媒对照的} V_1} \right) \times 100\%$$

实验结果：实验结果如表2所示。

表2 本发明化合物在小鼠子宫内膜异位症模型中的抑制结果

| 组别      | 小鼠子宫内膜异位病灶体积(mm <sup>3</sup> , Mean± SD, n=6) |                | 抑制率    |
|---------|-----------------------------------------------|----------------|--------|
|         | V <sub>1</sub>                                | V <sub>2</sub> |        |
| Sham    | 0±0                                           | 0±0            | -      |
| Vehicle | 9.75±1.61                                     | 51.39±16.73    | -      |
| 化合物1    | 9.89±1.51                                     | 6.78±4.46      | 107.5% |

试验结论：本发明化合物能够显著抑制小鼠子宫内膜异位病灶体积的增长，体内药效优秀。

实验例3 药代动力学评价

实验目的：研究本发明化合物在小鼠体内药代动力学性质。

试验方案：

各受试化合物分别与 DMAC 混合，涡旋 2 分钟，再将受试化合物的 DMAC 溶液混合后涡旋 2 分钟，

制备得到 10 mg/mL 的澄清溶液。取 0.0600 mL 的 10 mg/mL 溶液加入 0.300 mL Solutol，涡旋 2 分钟，再加入 2.400 mL 的生理盐水，涡旋 2 分钟得到 0.2 mg/mL 的澄清溶液，用于 PO 组给药。取 0.500 mL 的 PO 组给药溶液，涡旋 2 分钟，加入 0.0500 mL 的 DMAC，混合后涡旋 2 分钟，然后加入 0.0500 mL 的 solutol，涡旋 2 分钟，最后加入 0.400 mL 的生理盐水，涡旋两分钟得到 0.1 mg/mL 的澄清溶液，微孔滤膜过滤后得到注射（IV）组给药溶液。

将 4 只雄性 CD-1 小鼠分为 2 组。第 1 组动物单次静脉给药，剂量为 0.5 mg/kg，溶媒为 10%DMAC/10%Solutol/80%生理盐水，给药体积为 5 mL/kg。第 2 组动物单次灌胃口服 2 mg/kg 的受试化合物，口服溶媒为 10%DMAC/10%Solutol/80%生理盐水，口服体积为 10 mL/kg。在给药后 0.033（仅静脉注射）、0.083、0.25、0.5、1、2、4 和 12 小时采集全血。全血在 3200 g, 2-8°C 离心 10 min 后得到血浆，用 LC/MS/MS 法测定血浆中受试化合物的浓度，并用 Phoenix WinNonlin 软件计算药代参数。

实验结果：

测试结果见表 3。各参数含义：IV：静脉注射；PO：口服；C<sub>0</sub>：初始血药浓度；C<sub>max</sub>：体循环中最大药物浓度；T<sub>max</sub>：达到 C<sub>max</sub> 所需的时间；T<sub>1/2</sub>：半衰期；V<sub>dss</sub>：表观分布容积；Cl：清除率；AUC<sub>0-last</sub>：药时曲线下面积。

表 3 化合物 1 在血浆中的药物代谢动力学（PK）测试结果

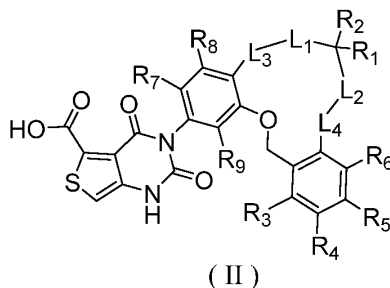
| PK 参数                            | IV (0.5 mg/kg) | PO (2 mg/kg) |
|----------------------------------|----------------|--------------|
| C <sub>0</sub> (nmol/L)          | 13513          | --           |
| C <sub>max</sub> (nmol/L)        | --             | 25800        |
| T <sub>max</sub> (h)             | --             | 0.500        |
| T <sub>1/2</sub> (h)             | 5.66           | 5.03         |
| V <sub>dss</sub> (L/kg)          | 0.159          | --           |
| Cl (mL/min/kg)                   | 0.332          | --           |
| AUC <sub>0-last</sub> (h*nmol/L) | 48307          | 142824       |
| 生物利用度 (%)                        | --             | 95.3         |

“--”是指未测试或未获得数据

结论：本发明化合物在血浆中的暴露量高，清除率低，半衰期长，口服生物利用度高，展现了优秀的药代动力学性质。

## 权 利 要 求

1. 式 (II) 所示化合物或其药学上可接受的盐,



其中,

$L_1$  和  $L_2$  分别独立地选自  $-(CH_2)_n-$ ;

$L_3$  和  $L_4$  分别独立地选自  $-CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-O-$  和  $-S-$ ;

$R_1$  和  $R_2$  分别独立地选自 H、OH、F、Cl、 $C_{1-3}$  烷基和  $C_{1-3}$  烷氧基, 所述  $C_{1-3}$  烷基和  $C_{1-3}$  烷氧基分别独立地任选被 1、2 或 3 个  $R_a$  取代;

或者,  $R_1$  和  $R_2$  与其共同连接的原子一起形成  $C_{3-6}$  环烷基或 4-6 元杂环烷基, 所述  $C_{3-6}$  环烷基或 4-6 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_b$  取代;

$R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、 $R_8$  和  $R_9$  分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、OH、 $NH_2$ 、CN、 $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基和  $C_{3-6}$  环烷基, 所述  $C_{1-3}$  烷基、 $C_{1-3}$  烷氧基和  $C_{3-6}$  环烷基分别独立地任选被 1、2 或 3 个  $R_c$  取代;

$n$  选自 0、1 和 2;

各  $R_a$ 、 $R_b$  和  $R_c$  分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I、 $NH_2$  和 OH。

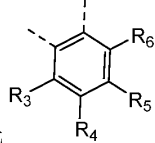
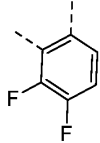
2. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $R_1$  和  $R_2$  分别独立地选自 H、OH、F 和  $CH_3$ , 所述  $CH_3$  任选被 1、2 或 3 个 F 取代。

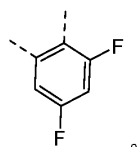
3. 根据权利要求 2 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $R_1$  和  $R_2$  分别独立地选自 H。

4. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $R_1$  和  $R_2$  与其共同连接的原子一起形成环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基或氮杂环丁基, 所述环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基或氮杂环丁基任选被 1、2 或 3 个 F 取代。

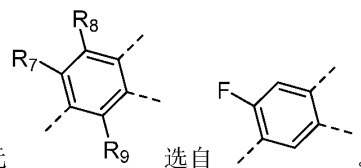
5. 根据权利要求 4 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $R_1$  和  $R_2$  与其共同连接的原子一起形成 .

6. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$  和  $R_6$  分别独立地选自 H 和 F。

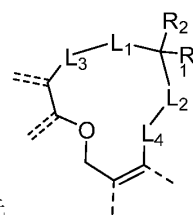
7. 根据权利要求 6 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 结构单元
- 
- 选自
- 
- 和



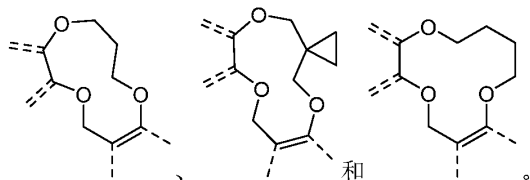
8. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $R_7$ 、 $R_8$  和  $R_9$  分别独立地选自 H 和 F。



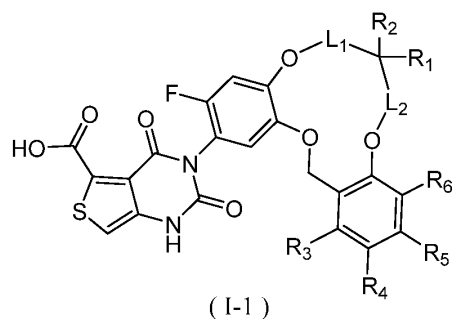
9. 根据权利要求 8 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 结构单元
10. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $L_3$  和  $L_4$  分别独立地选自 O。
11. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $n$  选自 1 和 2。



12. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 结构单元

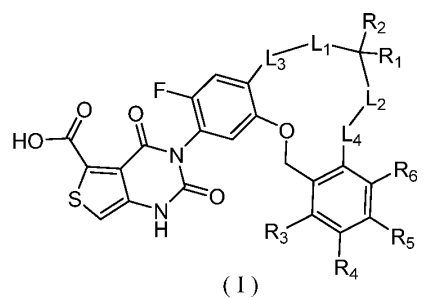


13. 根据权利要求 1~12 任意一项所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物选自,



其中,  $L_1$ 、 $L_2$ 、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$  和  $R_6$  分别如权利要求 1~12 任意一项所定义。

14. 根据权利要求 1~12 任意一项所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物选自,



其中,

$L_1$  和  $L_2$  分别独立地选自  $-(CH_2)_n-$ ;

$L_3$  和  $L_4$  分别独立地选自  $-CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-O-$  和  $-S-$ ;

$R_1$  和  $R_2$  分别独立地选自 H、OH、F、Cl、 $C_{1-3}$  烷基和  $C_{1-3}$  烷氧基, 所述  $C_{1-3}$  烷基和  $C_{1-3}$  烷氧基任选被 1、2 或 3 个  $R_a$  取代;

或者,  $R_1$  和  $R_2$  与其共同连接的原子一起形成  $C_{3-6}$  环烷基或 4-6 元杂环烷基, 所述  $C_{3-6}$  环烷基或 4-6 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_b$  取代;

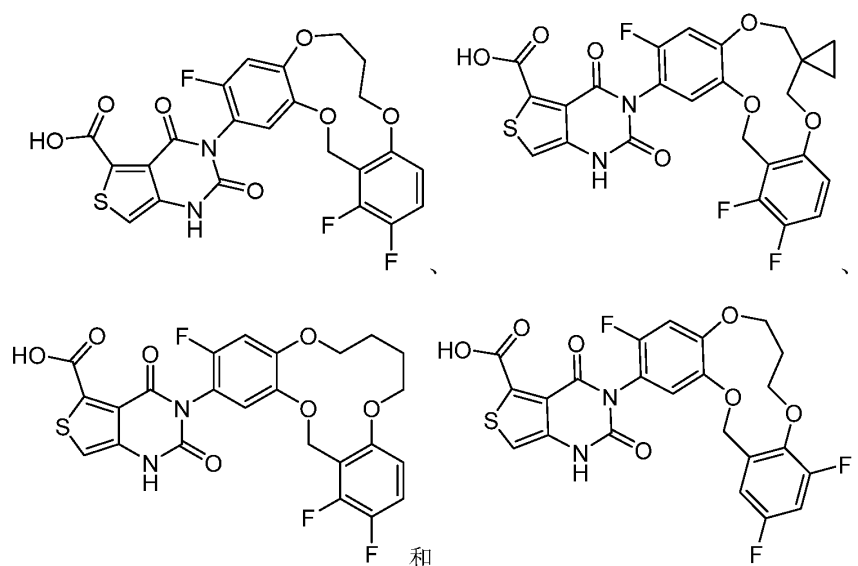
$R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$  和  $R_6$  分别独立地选自 H、F、Cl、Br 和 I;

$n$  选自 0、1 和 2;

各  $R_a$  和  $R_b$  分别独立地选自 H、F、Cl、Br、I;

所述“4-6 元杂环烷基”包含 1、2 或 3 个选自 N、NH、O 和 S 的杂原子。

15. 下列所示化合物或其药学上可接受的盐,



16. 根据权利要求 1~15 任意一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备 GnRH 受体拮抗剂相关的药物中的应用。
17. 根据权利要求 16 所述的应用，其中，所述 GnRH 受体拮抗剂相关的药物是用于预防和/或治疗子宫内膜异位症和/或子宫肌瘤相关疾病的药物。