

说明书

发明名称: 杂芳基衍生物及其应用

[0001] 本发明主张如下的优先权:

[0002] 1)于2023年9月28日向中国国家知识产权局提交的第202311284906.6号中国专利申请的优先权和权益, 2)于2023年10月26日向中国国家知识产权局提交的第202311410637.3号中国专利申请的优先权和权益, 3)于2023年12月28日向中国国家知识产权局提交的第202311849240.4号中国专利申请的优先权和权益, 4)于2024年4月29日向中国国家知识产权局提交的第202410539834.3号中国专利申请的优先权和权益, 和5)于2024年9月20日向中国国家知识产权局提交的第202411320022.6号中国专利申请的优先权和权益, 所述申请公开的内容通过引用整体并入本文中。

技术领域

[0003] 本发明涉及一类杂芳基衍生物及其应用, 具体涉及式(I)和(V)所示化合物或其药学上可接受的盐。

背景技术

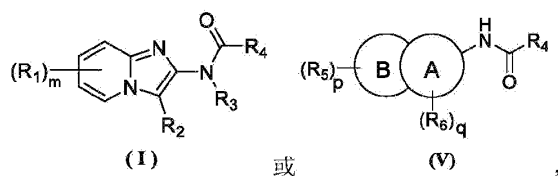
[0004] 电压门控型Kv7/KCNQ钾离子通道广泛存在于神经系统, 在调节神经兴奋性中发挥着重要的作用。针对Kv7钾离子通道开放剂的研究, 为治疗神经过度兴奋相关疾病如癫痫、疼痛的新药研发提供了广阔的空间。

[0005] Kv7家族有5个亚型, 其中Kv7.2和Kv7.3(由KCNQ2和KCNQ3编码)是形成广泛表达的神经元电压门控钾离子通道的同源亚基, 是参与神经元信号传导和调节癫痫过度兴奋状态的关键亚基。KCNQ2与KCNQ3, 主要分布在脑部, 在小脑皮质、杏仁核、尾状核和海马中高表达, 形成同源四聚体/异源四聚体(M型钾离子通道), 是形成M电流的分子基础。M电流的增加可以使细胞膜超极化, 从而降低神经元兴奋性, 并阻止动作电位爆发的发生和传播以及由此引起的发作。增强神经元中Kv7.2/Kv7.3通道的开放状态有利于超极化的静息状态(resting state), 会降低快速动作电位的尖峰(即爆发放电), 稳定了神经元静息膜电位, 从而限制了神经元的兴奋性, 这也是发挥抗癫痫药效的原因。

[0006] 瑞替加滨已经在临床中证明KCNQ2/3钾离子通道开放剂对于治疗惊厥和癫痫优效，因此开发KCNQ2/3的开放剂已经成为临床治疗癫痫等神经疾病的热点问题。生物制药公司Xenon公司的XEN1101，已经进入临床3期，用于治疗局灶性癫痫发作。Biohaven公司的BHV-7000，也已经完成了临床1期的实验，显著降低了相关的副作用，是非常有前景的用于治疗癫痫和疼痛等神经系统的药物。

[0007] 发明内容

[0008] 本发明提供了式(I)和(V)所示化合物或其药学上可接受的盐，



[0009] 其中，

[0010] 环A选自9-10元双环杂芳基；

[0011] 环B与环A并环，环B选自C₄₋₇环烷基、C₄₋₇环烯基、4-7元杂环烷基和4-7元杂环烯基；

[0012] 各R₁分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CF₃、C₂₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、C₃₋₇环烷基和4-7元杂环烷基，所述C₂₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、C₃₋₇环烷基和4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2或3个R_a取代；

[0013] R₂选自环丁基、C₅₋₈桥环环烷基、C₅₋₈螺环环烷基、苯基、5-6元杂芳基、4-7元杂环烷基和C₅₋₈环烯基，所述环丁基、C₅₋₈桥环环烷基、C₅₋₈螺环环烷基、苯基、5-6元杂芳基、4-7元杂环烷基和C₅₋₈环烯基分别独立地任选被1、2或3个R_b取代；

[0014] R₃选自H和-C(O)C₁₋₄烷基；

[0015] R₄选自C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、-CH₂-C₃₋₇环烷基、-CH₂-4-7元杂环烷基，所述C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、-CH₂-C₃₋₇环烷基、-CH₂-4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2、3、4或5个R_c取代；

[0016] 各R₅分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、=O、C₁₋₄烷基和C₁₋₄烷氧基，所述C₁₋₄烷基和C₁₋₄烷氧基分别独立地任选被1、2或3个卤素取代；

[0017] 各 R_6 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、CN、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-7} 环烷基、3-7元杂环烷基和苯基，所述 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-7} 环烷基、4-7元杂环烷基和苯基分别独立地任选被1、2或3个 R_{6a} 取代；各 R_4 和 R_c 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CH_3 和 CF_3 ；

[0018] 各 R_b 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、 $=O$ 、OH、 NH_2 、CN、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 烷氧基，所述 C_{1-4} 烷基和 C_{1-3} 烷氧基分别独立地任选被1、2或3个F取代；

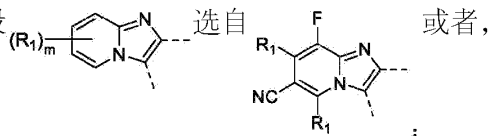
[0019] 各 R_{6a} 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 烷氧基，所述 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 烷氧基分别独立地任选被1、2、3、4或5个F取代；

[0020] m 选自1、2、3和4；

[0021] p 和 q 分别独立地选自1、2和3；

[0022] 条件是，

[0023] 1)当 R_2 选自苯基和5-6元杂芳基，所述苯基和5-6元杂芳基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代时，结构片段



[0024] 2)当 R_2 选自环丁基，所述环丁基任选被1、2或3个 R_b 取代时， m 选自2、3和4。

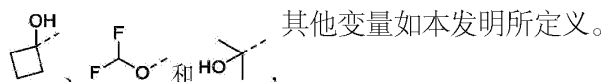
[0025] 本发明的一些技术方案中，上述各 R_4 分别独立地选自H、F和OH，其他变量如本发明所定义。

[0026] 本发明的一些技术方案中，上述各 R_b 分别独立地选自H、F、 $=O$ 、 CH_3 和 OCF_3 ，其他变量如本发明所定义。

[0027] 本发明的一些技术方案中，上述各 R_c 分别独立地选自H、F和 CH_3 ，其他变量如本发明所定义。

[0028] 本发明的一些技术方案中，上述 R_1 分别独立地选自H、F、Cl、OH、 NH_2 、CN、 CF_3 、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基，所述 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基分别独立地任选被1、2或3个 R_4 取代，其他变量如本发明所定义。

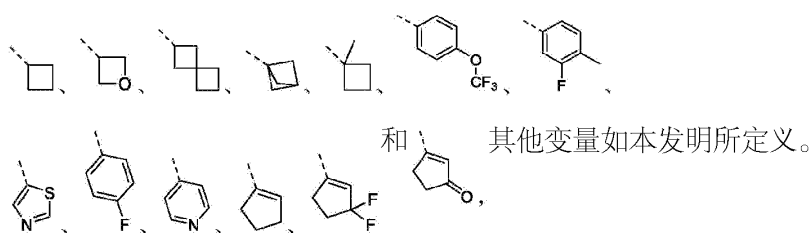
[0029] 本发明的一些技术方案中, 上述各 R_1 分别独立地选自H、F、CN、 CF_3 、



[0030] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基和4-7元杂环烷基, 所述 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基和4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代, 其他变量如本发明所定义。

[0031] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自环丁基、螺[3.3]庚烷基、双环[1.1.1]戊烷基、苯基、吡唑基、噻唑基、吡啶基、氧杂环丁基、氮杂环丁基、哌啶基、哌嗪基、环戊烯基和环己烯基, 所述环丁基、螺[3.3]庚烷基、双环[1.1.1]戊烷基、苯基、吡唑基、噻唑基、吡啶基、氧杂环丁基、氮杂环丁基、哌啶基、哌嗪基、环戊烯基和环己烯基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代, 其他变量如本发明所定义。

[0032] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自



[0033] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 为 其他变量如本发明所定义。

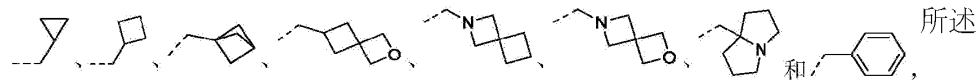
[0034] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 其他变量如本发明所定义。

[0035] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 其他变量如本发明所定义。

[0036] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 其他变量如本发明所定义。

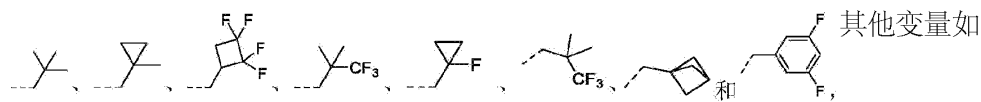
[0037] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 其他变量如本发明所定义。

[0038] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$

 $\text{C(CH}_3)_3$, $\text{CH}_2\text{C(CH}_3)_3$, OCH_3 , OCH_2CH_3 , $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $\text{OCH(CH}_3)_2$,
$$\text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, \text{C}(\text{CH}_3)_3, \text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3, \text{OCH}_3, \text{OCH}_2\text{CH}_3$$
 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ 、

立地任选被1、2、3、4或5个R取代，其他变量如本发明所定义。

[0039] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自



本发明所定义。

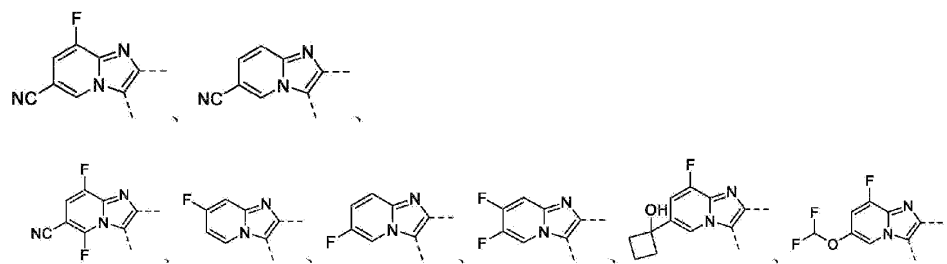
[0040] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自 ~~Y~~ 其他变量如本发明所定义。

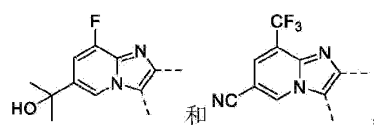
[0041] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自  其他变量如本发明所定义。

[0042] 本发明的一些技术方案中, 上述R₄选自  其他变量如本发明所定义。

[0043] 本发明的一些技术方案中, 上述R₄选自  其他变量如本发明所定义。

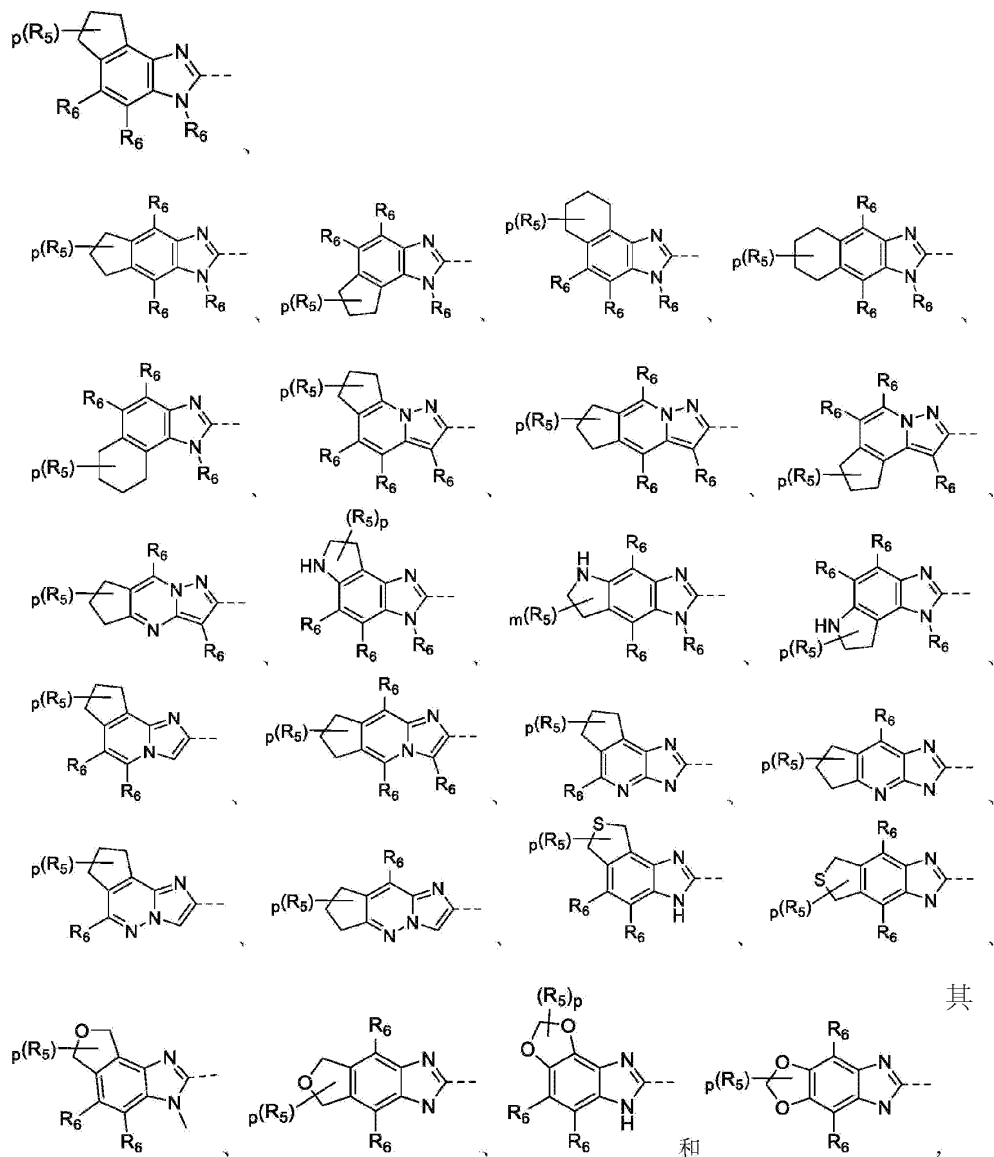
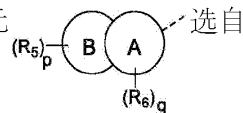
[0044] 本发明的一些技术方案中, 上述结构单元  选自





其他变量如本发明所定义。

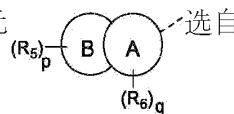
[0045] 本发明的一些技术方案中，上述结构单元



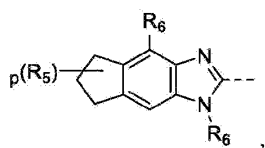
其

他变量如本发明所定义。

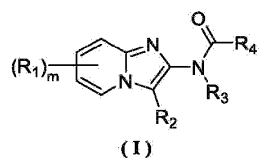
[0046] 本发明的一些技术方案中, 上述结构单元



其他变量如本发明所定义。



[0047] 本发明提供了式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐,



[0048] 其中,

[0049] 各 R_1 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CF_3 、 C_{2-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-7} 环烷基和4-7元杂环烷基, 所述 C_{2-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-7} 环烷基和4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2或3个 R_a 取代;

[0050] R_2 选自环丁基、 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基、苯基、5-6元杂芳基、4-7元杂环烷基和 C_{5-8} 环烯基, 所述环丁基、 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基、苯基、5-6元杂芳基、4-7元杂环烷基和 C_{5-8} 环烯基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代;

[0051] R_3 选自H和 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基;

[0052] R_4 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-CH_2-C_{3-7}$ 环烷基、 $-CH_2-4-7$ 元杂环烷基, 所述 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-CH_2-C_{3-7}$ 环烷基、 $-CH_2-4-7$ 元杂环烷基分别独立地任选被1、2、3、4或5个 R_c 取代;

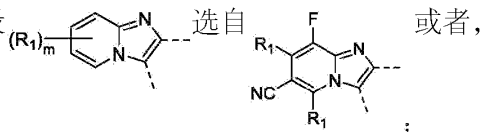
[0053] 各 R_a 和 R_c 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CH_3 和 CF_3 ;

[0054] 各 R_b 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、 $=O$ 、OH、 NH_2 、CN、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 烷氧基, 所述 C_{1-4} 烷基和 C_{1-3} 烷氧基分别独立地任选被1、2或3个F取代;

[0055] m 选自1、2、3和4;

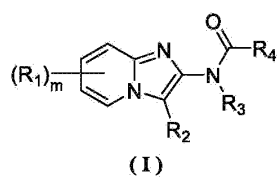
[0056] 条件是,

[0057] 1)当 R_2 选自苯基和5-6元杂芳基,所述苯基和5-6元杂芳基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代时,结构片段



[0058] 2)当 R_2 选自环丁基,所述环丁基任选被1、2或3个 R_b 取代时, m 选自2、3和4。

[0059] 本发明还提供了式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐,



[0060] 其中,

[0061] 各 R_1 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 C_{2-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-7} 环烷基和4-7元杂环烷基,所述 C_{2-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-7} 环烷基和4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2或3个 R_d 取代;

[0062] R_2 选自环丁基、 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基、苯基、5-6元杂芳基、4-7元杂环烷基和 C_{5-8} 环烯基,所述环丁基、 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基、苯基、5-6元杂芳基、4-7元杂环烷基和 C_{5-8} 环烯基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代;

[0063] R_3 选自H和 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基;

[0064] R_4 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-CH_2-C_{3-7}$ 环烷基、 $-CH_2-4-7$ 元杂环烷基,所述 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-CH_2-C_{3-7}$ 环烷基、 $-CH_2-4-7$ 元杂环烷基分别独立地任选被1、2、3、4或5个 R_c 取代;

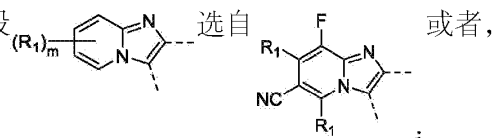
[0065] 各 R_d 和 R_c 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CH_3 和 CF_3 ;

[0066] 各 R_b 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、 $=O$ 、OH、 NH_2 、CN、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 烷氧基,所述 C_{1-4} 烷基和 C_{1-3} 烷氧基分别独立地任选被1、2或3个F取代;

[0067] m 选自1、2、3和4;

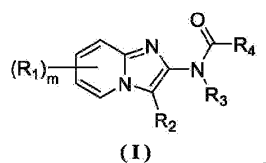
[0068] 条件是,

[0069] 1)当 R_2 选自苯基和5-6元杂芳基,所述苯基和5-6元杂芳基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代时,结构片段



[0070] 2)当 R_2 选自环丁基,所述环丁基任选被1、2或3个 R_b 取代时, m 选自2、3和4。

[0071] 本发明还提供了式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐,



[0072] 其中,

[0073] 各 R_1 分别独立地选自F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 C_{2-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-7} 环烷基和4-7元杂环烷基,所述 C_{2-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-7} 环烷基和4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2或3个 R_d 取代;

[0074] R_2 选自环丁基、 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基、苯基、5-6元杂芳基、4-7元杂环烷基,所述环丁基、 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基、苯基、5-6元杂芳基、4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代;

[0075] R_3 选自H和 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基;

[0076] R_4 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-CH_2-C_{3-7}$ 环烷基、 $-CH_2-4-7$ 元杂环烷基,所述 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-CH_2-C_{3-7}$ 环烷基、 $-CH_2-4-7$ 元杂环烷基分别独立地任选被1、2、3、4或5个 R_c 取代;

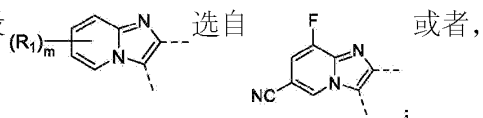
[0077] 各 R_d 和 R_c 分别独立地选自F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 CH_3 和 CF_3 ;

[0078] 各 R_b 分别独立地选自F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 烷氧基,所述 C_{1-4} 烷基和 C_{1-3} 烷氧基分别独立地任选被1、2或3个F取代;

[0079] m 选自1、2、3和4;

[0080] 条件是,

[0081] 1)当 R_2 选自苯基和5-6元杂芳基,所述苯基和5-6元杂芳基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代时,结构片段



[0082] 2)当 R_2 选自环丁基,所述环丁基任选被1、2或3个 R_b 取代时, m 选自2、3和4。

[0083] 本发明的一些技术方案中,上述各 R_a 分别独立地选自H、F和OH,其他变量如本发明所定义。

[0084] 本发明的一些技术方案中,上述各 R_a 分别独立地选自F和OH,其他变量如本发明所定义。

[0085] 本发明的一些技术方案中,上述各 R_b 分别独立地选自H、F、=O、 CH_3 和 OCF_3 ,其他变量如本发明所定义。

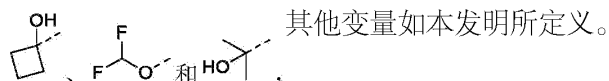
[0086] 本发明的一些技术方案中,上述各 R_b 分别独立地选自F、 CH_3 和 OCF_3 ,其他变量如本发明所定义。

[0087] 本发明的一些技术方案中,上述各 R_c 分别独立地选自H、F和 CH_3 ,其他变量如本发明所定义。

[0088] 本发明的一些技术方案中,上述各 R_c 分别独立地选自F和 CH_3 ,其他变量如本发明所定义。

[0089] 本发明的一些技术方案中,上述各 R_1 分别独立地选自H、F、Cl、OH、 NH_2 、CN、 CF_3 、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基,所述 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基分别独立地任选被1、2或3个 R_a 取代,其他变量如本发明所定义。

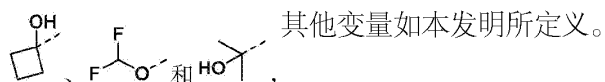
[0090] 本发明的一些技术方案中,上述各 R_1 分别独立地选自H、F、CN、 CF_3 、



[0091] 本发明的一些技术方案中,上述各 R_1 分别独立地选自H、F、CN和 CF_3 ,其他变量如本发明所定义。

[0092] 本发明的一些技术方案中, 上述各 R_1 分别独立地选自H、F、Cl、OH、 NH_2 、CN、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基, 所述 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基分别独立地任选被1、2或3个 R_3 取代, 其他变量如本发明所定义。

[0093] 本发明的一些技术方案中, 上述各 R_1 选自H、F、CN、



[0094] 本发明的一些技术方案中, 上述各 R_1 分别独立地选自F、Cl、OH、 NH_2 、CN、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基, 所述 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基分别独立地任选被1、2或3个 R_3 取代, 其他变量如本发明所定义。

[0095] 本发明的一些技术方案中, 上述各 R_1 选自F、CN、

[0096] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基、4-7元杂环烷基和 C_{5-8} 环烯基, 所述 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基、4-7元杂环烷基和 C_{5-8} 环烯基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代, 其他变量如本发明所定义。

[0097] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基和4-7元杂环烷基, 所述 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基和4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代, 其他变量如本发明所定义。

[0098] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 C_{5-8} 桥环环烷基和 C_{5-8} 环烯基, 所述 C_{5-8} 桥环环烷基和 C_{5-8} 环烯基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代, 其他变量如本发明所定义。

[0099] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 C_{5-8} 桥环环烷基, 所述 C_{5-8} 桥环环烷基任选被1、2或3个 R_b 取代, 其他变量如本发明所定义。

[0100] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 , 其他变量如本发明所定义。

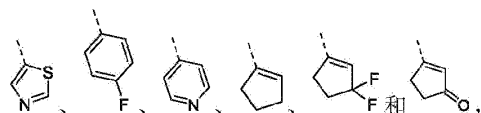
[0101] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自环丁基、螺[3.3]庚烷基、双环[1.1.1]戊烷基、苯基、吡唑基、噻唑基、吡啶基、氧杂环丁基、氮杂环丁基、哌啶基、哌嗪基、环戊烯基和环己烯基, 所述环丁基、螺[3.3]庚烷基、双环[1.1.1]戊烷基、苯基、吡唑基、噻唑基、吡啶基、氧杂环丁基、氮杂环丁基、哌啶基、哌嗪基、环戊烯基和环己烯基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代, 其他变量如本发明所定义。

[0102] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自环丁基、螺[3.3]庚烷基、双环[1.1.1]戊烷基、苯基、吡唑基、噻唑基、吡啶基、氧杂环丁基、氮杂环丁基、哌啶基和哌嗪基, 所述环丁基、螺[3.3]庚烷基、双环[1.1.1]戊烷基、苯基、吡唑基、噻唑基、吡啶基、氧杂环丁基、氮杂环丁基、哌啶基和哌嗪基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代, 其他变量如本发明所定义。

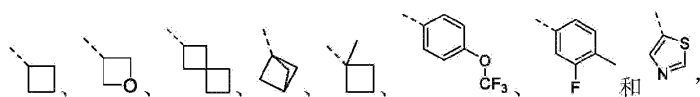
[0103] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自



其他变量如本发明所定义。



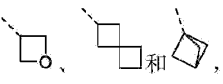
[0104] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自



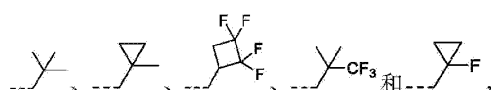
其他变量如本发明所定

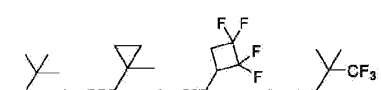
义。

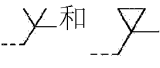
[0105] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基和4-7元杂环烷基, 所述 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基和4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代, 其他变量如本发明所定义。

[0106] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_2 选自 , 其他变量如本发明所定义。

[0107] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、和 , 所述 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、和 分别独立地任选被1、2、3、4或5个 R_c 取代, 其他变量如本发明所定义。

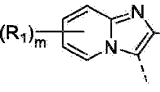
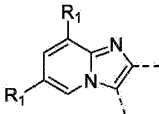
[0108] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自 , 其他变量如本发明所定义。

[0109] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自 , 其他变量如本发明所定义。

[0110] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自 , 其他变量如本发明所定义。

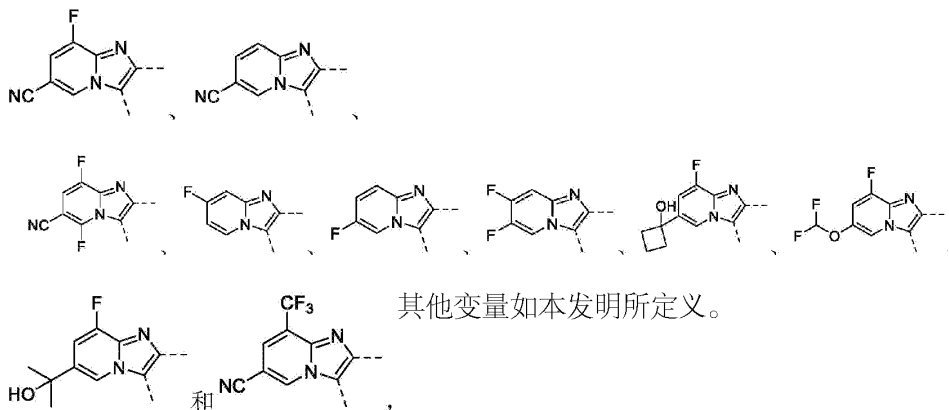
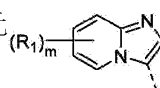
[0111] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自 , 其他变量如本发明所定义。

[0112] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自 , 其他变量如本发明所定义。本发

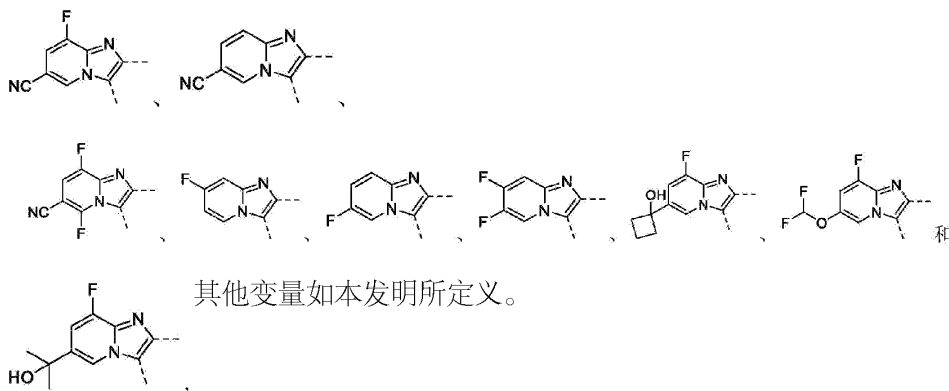
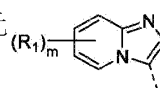
明的一些技术方案中, 上述结构单元 选自 , 其他变量如本发明所定义。

14

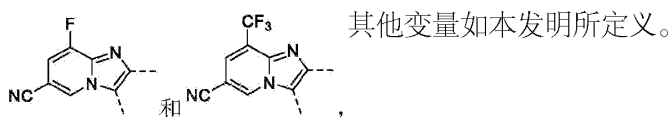
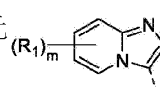
[0113] 本发明的一些技术方案中, 上述结构单元  选自



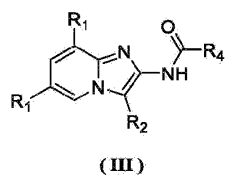
[0114] 本发明的一些技术方案中, 上述结构单元  选自



[0115] 本发明的一些技术方案中, 上述结构单元 R_1 、 选自



[0116] 本发明的一些技术方案中,上述化合物或其药学上可接受的盐,其选自,

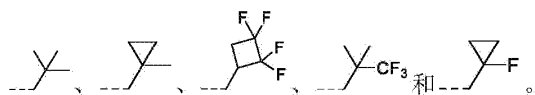


[0117] 其中,

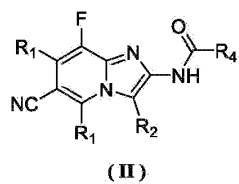
[0118] 各R₁分别独立地选自H、F、CN、CF₃、, 和 R₂选自C₅₋₈桥

环烷基、C₅₋₈螺环烷基、4-7元杂环烷基和C₅₋₈环烯基, 所述C₅₋₈桥环烷基、C₅₋₈螺环烷基、4-7元杂环烷基和C₅₋₈环烯基分别独立地任选被1、2或3个R_b取代;

[0119] R₄选自



[0120] 本发明的一些技术方案中, 上述化合物或其药学上可接受的盐, 其选自,

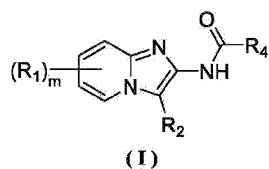


[0121] 其中,

[0122] R₂选自苯基、5-6元杂芳基和C₅₋₈环烯基, 所述苯基、5-6元杂芳基和C₅₋₈环烯基分别独立地任选被1、2或3个R_b取代;

[0123] 各R_b、各R₁和R₄如本发明所定义。

[0124] 本发明的一些技术方案中, 上述化合物或其药学上可接受的盐, 其选自,

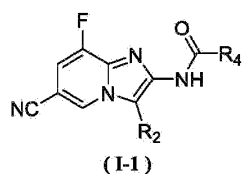


[0125] 其中,

[0126] R_2 选自 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基和4-7元杂环烷基，所述 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基和4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代；

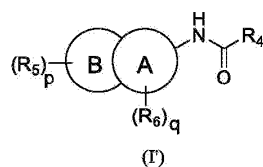
[0127] 各 R_1 、 R_4 、 R_b 和 m 如本发明所定义。

[0128] 本发明的一些技术方案中，上述化合物或其药学上可接受的盐，其选自，



[0129] 其中， R_2 和 R_4 如本发明所定义。

[0130] 本发明还提供了式(I')所示化合物或其药学上可接受的盐，



[0131] 其中，

[0132] 环A选自9-10元双环杂芳基；

[0133] 环B与环A并环，环B选自 C_{4-7} 环烷基、 C_{4-7} 环烯基、4-7元杂环烷基和4-7元杂环烯基；

[0134] 各 R_5 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、=O、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 烷氧基，所述 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 烷氧基分别独立地任选被1、2或3个卤素取代；

[0135] 各 R_6 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、CN、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-7} 环烷基、3-7元杂环烷基和苯基，所述 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{3-7} 环烷基、4-7元杂环烷基和苯基分别独立地任选被1、2或3个 R_{6a} 取代； R_4 选自 C_{1-6} 烷基、 $-CH_2-C_{3-7}$ 环烷基、 $-CH_2-4-7$ 元杂环烷基和 $-CH_2-$ 苯基，所述 C_{1-6} 烷基、 $-CH_2-C_{3-7}$ 环烷基、 $-CH_2-4-7$ 元杂环烷基和 $-CH_2-$ 苯基分别独立地任选被1、2、3、4或5个 R_c 取代；

[0136] 各 R_{6a} 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 烷氧基，所述 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 烷氧基分别独立地任选被1、2、3、4或5个F取代；

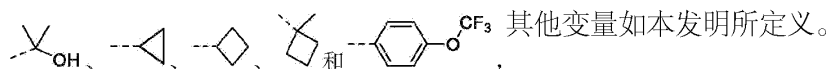
[0137] 各 R_c 分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、 CH_3 和 CF_3 ;

[0138] m 和 n 分别独立地选自1、2和3。

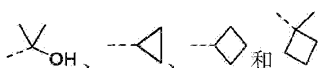
[0139] 本发明的一些技术方案中, 上述各 R_5 分别独立地选自H、F和 CH_3 , 其他变量如本发明所定义。

[0140] 本发明的一些技术方案中, 上述各 R_6 分别独立地选自H、F、Cl、CN、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基、氮杂环丁基和苯基, 所述 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基、氮杂环丁基和苯基分别独立地任选被1、2或3个 R_{6a} 取代, 其他变量如本发明所定义。

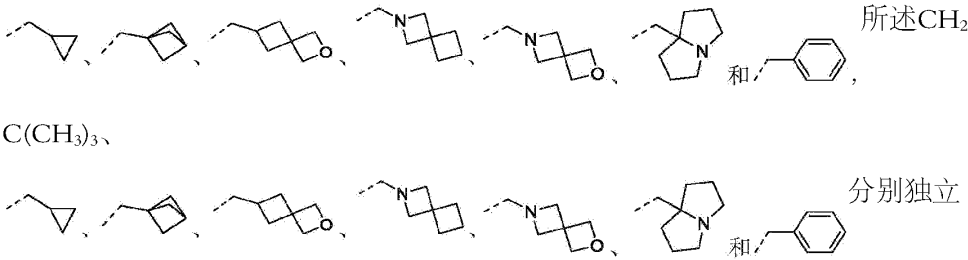
[0141] 本发明的一些技术方案中, 上述各 R_6 分别独立地选自H、F、Cl、 CH_3 、 CF_3 、 CH_2CH_3 、 $C(CH_3)_3$ 、CN、



[0142] 本发明的一些技术方案中, 上述各 R_6 分别独立地选自H、F、Cl、CN、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基, 所述 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 、 $OCH_2CH_2CH_3$ 、 $OCH(CH_3)_2$ 、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基分别独立地任选被1、2或3个 R_{6a} 取代, 其他变量如本发明所定义。

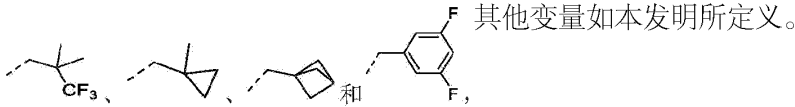
[0143] 本发明的一些技术方案中, 上述各 R_6 分别独立地选自H、F、Cl、 CH_3 、 CF_3 、 CH_2CH_3 、 $C(CH_3)_3$ 、CN、 其他变量如本发明所定义。

[0144] 本发明的一些技术方案中, 上述 R_4 选自 $CH_2C(CH_3)_3$ 、



地任选被1、2、3、4或5个R_c取代，其他变量如本发明所定义。

[0145] 本发明的一些技术方案中，上述R₄选自CH₂C(CH₃)₃、

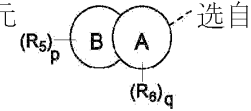


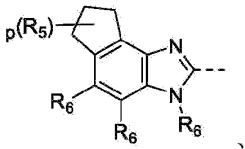
[0146] 本发明的一些技术方案中，上述环A选自苯并咪唑基、苯并吡唑基、吡啶并咪唑基、吡啶并吡唑基、嘧啶并咪唑基、嘧啶并吡唑基、𫔿噪基和𫔿嗪并咪唑基，其他变量如本发明所定义。

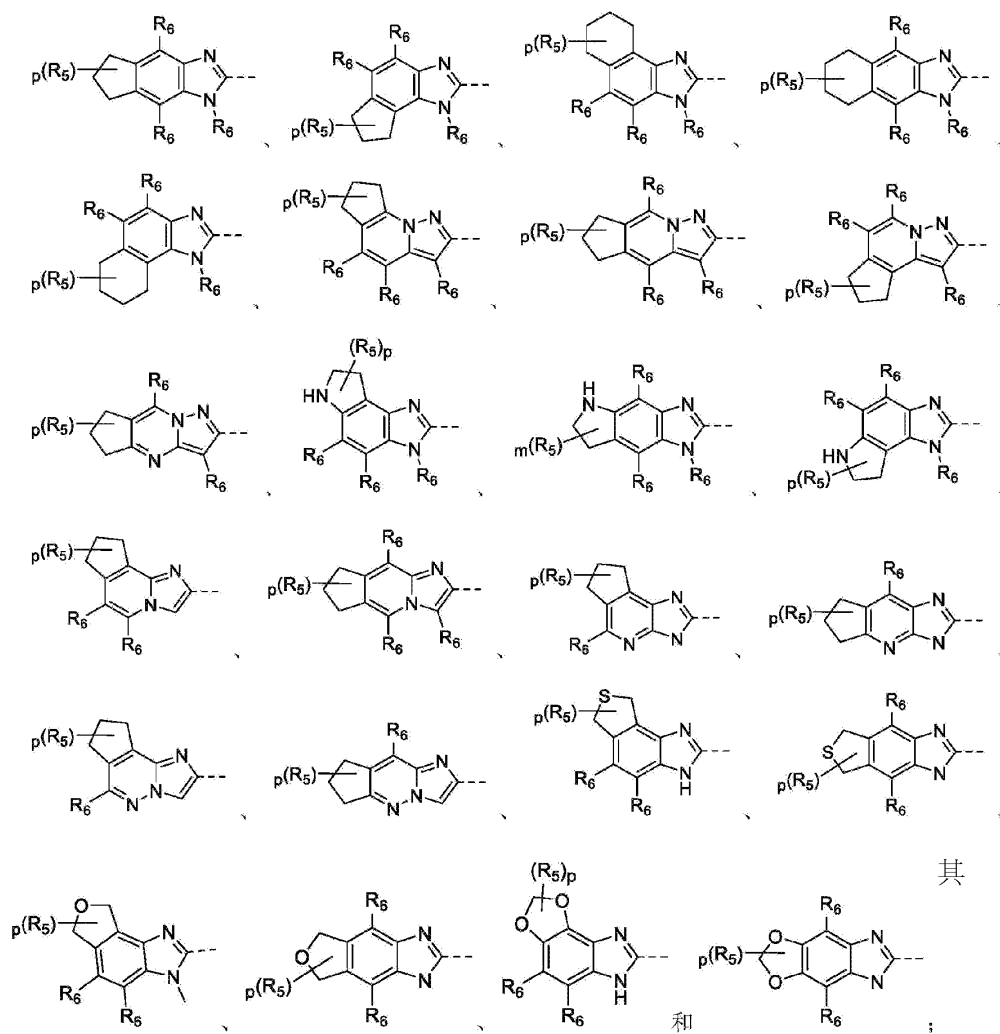
[0147] 本发明的一些技术方案中，上述环A选自苯并咪唑基、苯并吡唑基、吡啶并咪唑基、吡啶并吡唑基、嘧啶并咪唑基和嘧啶并吡唑基，其他变量如本发明所定义。

[0148] 本发明的一些技术方案中，上述环B选自环戊基、环己基、环戊烯基、环己烯基、四氢吡咯基、二氢吡咯基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、四氢噻吩基、二氢噻吩基、1,3-二氧杂环戊烯基和1,4-二氧杂环己烯基，其他变量如本发明所定义。

[0149] 本发明的一些技术方案中，上述环B选自环戊基、环己基、环戊烯基、环己烯基、吡咯烷基和吡咯烯基，其他变量如本发明所定义。

[0150] 本发明的一些技术方案中，上述结构单元  选自

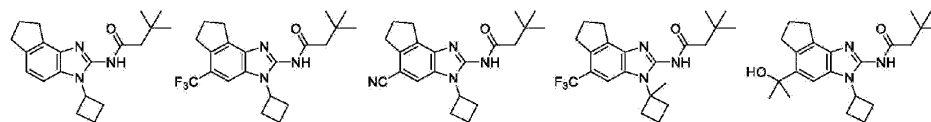


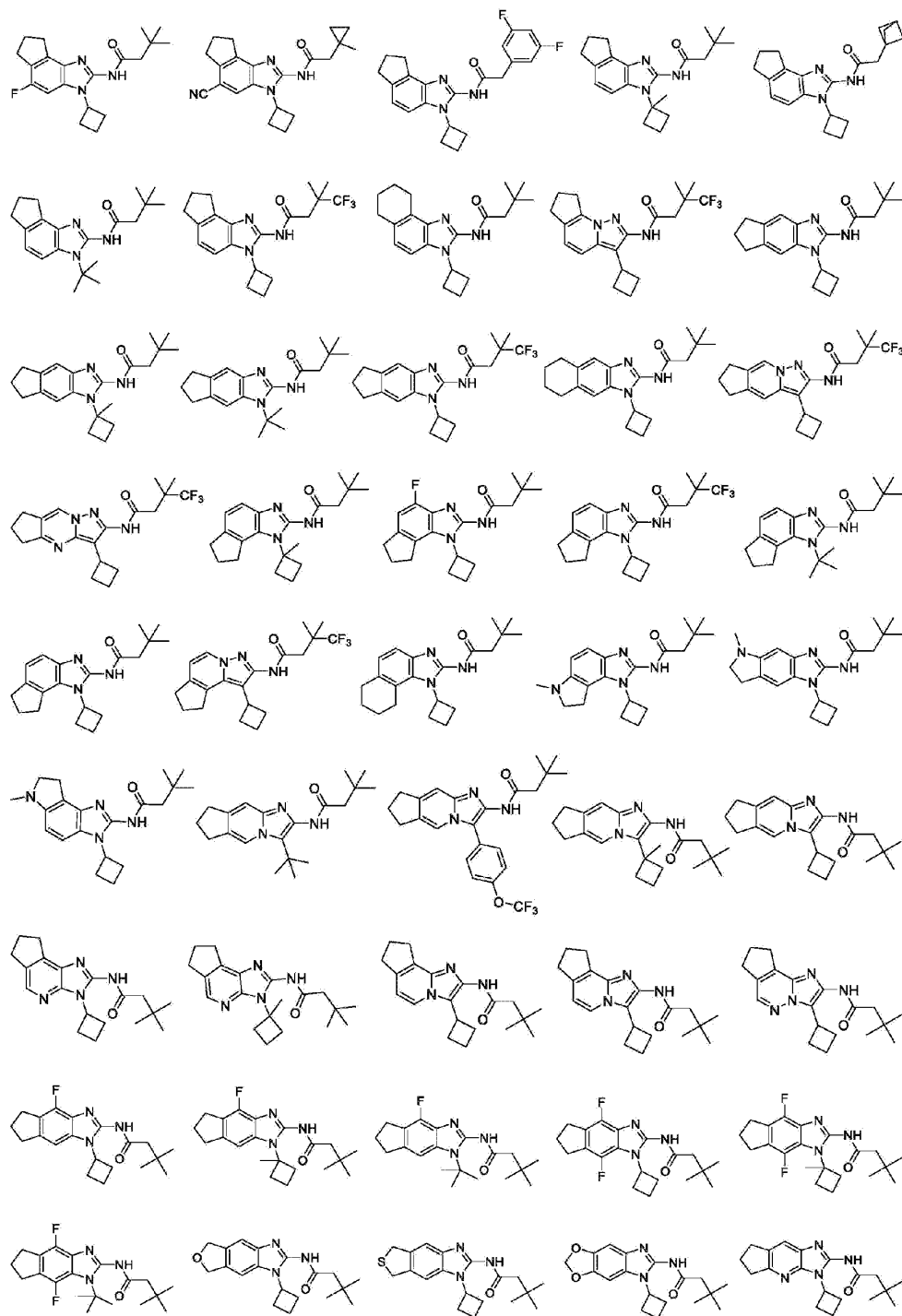


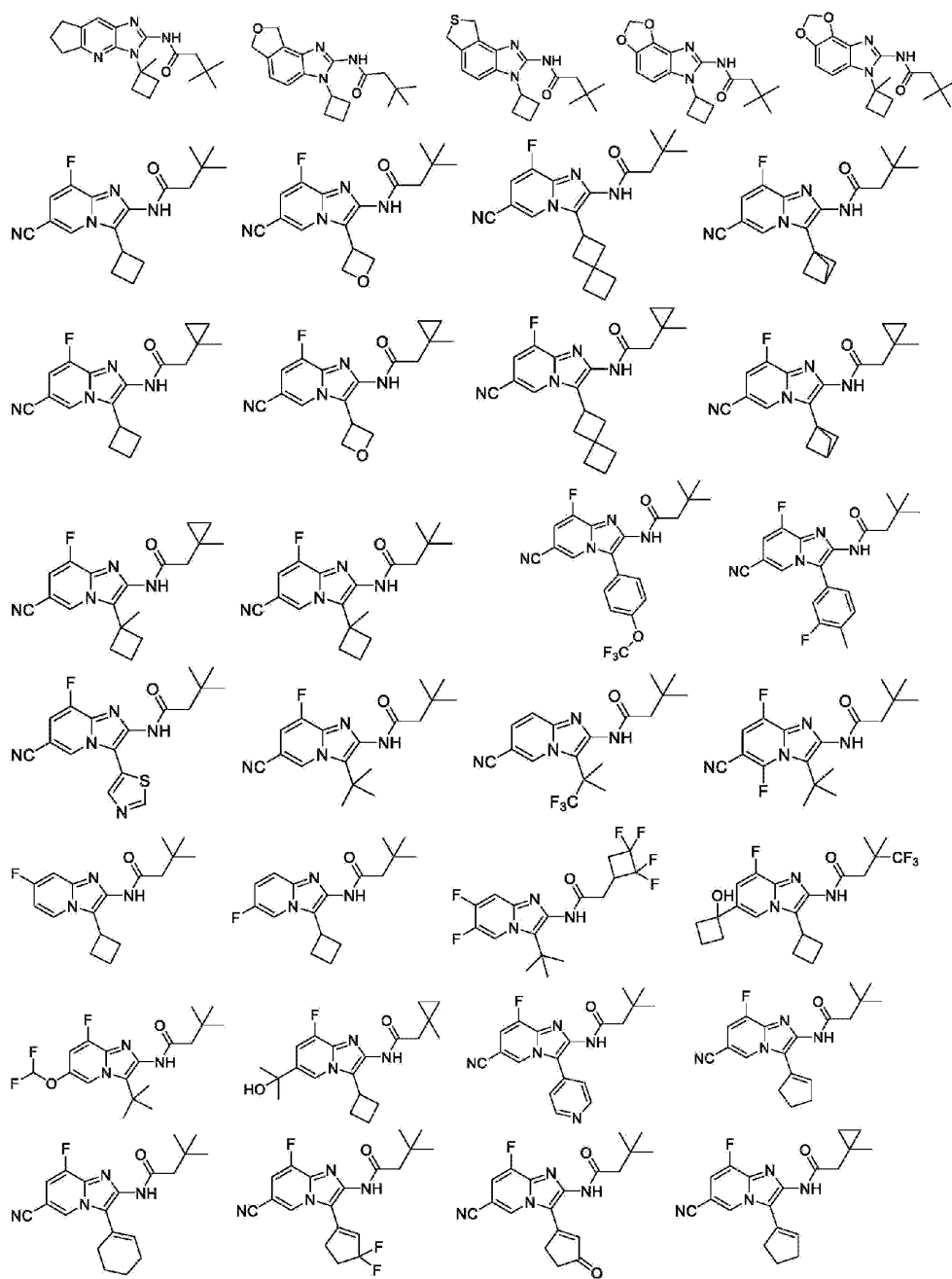
中 R_5 、 R_6 和 p 如本发明所定义。

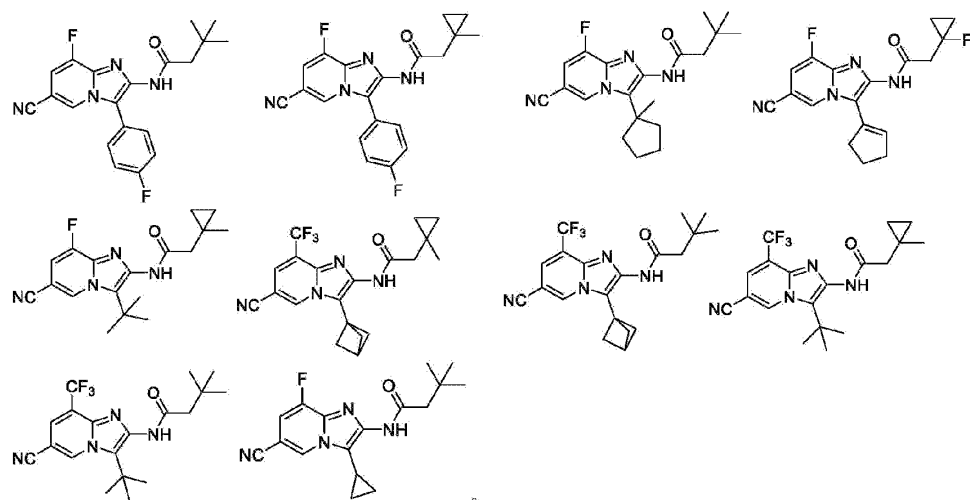
[0151] 本发明还有一些方案是由上述各变量任意组合而来。

[0152] 本发明还提供了下列所示化合物或其药学上可接受的盐，









[0153] 本发明还提供一种药物组合物，其含有治疗或预防有效量的本发明所述化合物、其立体异构体及其药学上可接受的盐；进一步地，所述药物组合物还包括药学上可接受的辅料。

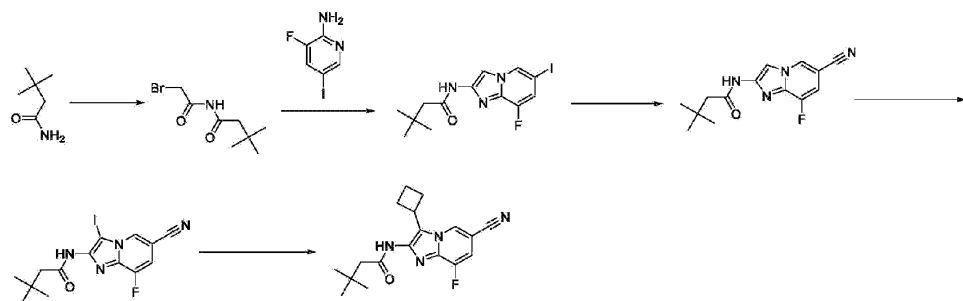
[0154] 本发明还提供了上述化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗Kv7钾离子通道开放剂相关疾病的药物中的应用。

[0155] 本发明的一些方案中，上述Kv7钾离子通道开放剂相关疾病包括但不限于癫痫、炎症性疼痛、神经性疼痛、偏头痛、抑郁、焦虑障碍、脑卒中、阿尔茨海默症、神经变性疾病、神经元兴奋过度状态、可卡因滥用引起的并发症、尼古丁戒断综合症、酒精戒断综合症和耳鸣等。

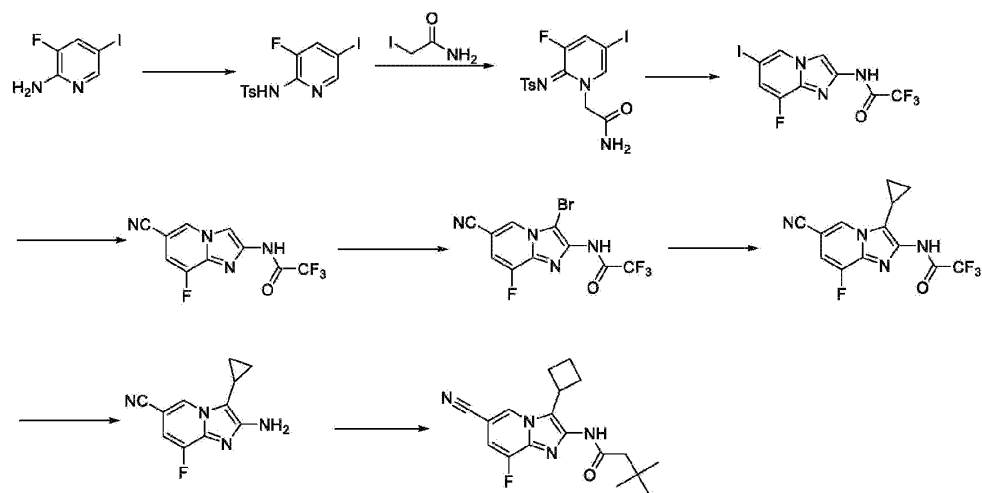
[0156] 本发明的一些方案中，上述Kv7钾离子通道包括Kv7.2、Kv7.3、Kv7.4和Kv7.5；优选Kv7.2和Kv7.3。

[0157] 本发明还提供了下列合成路线：

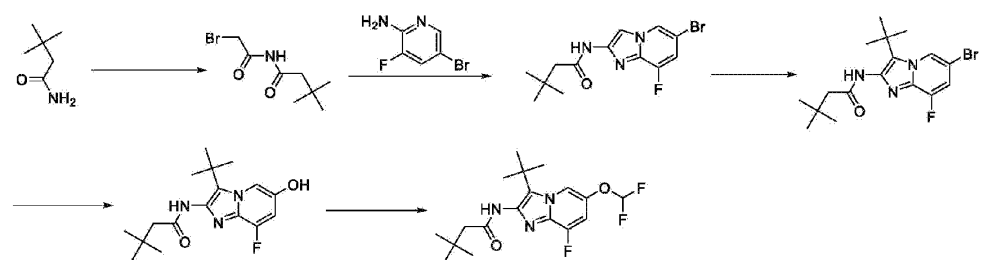
[0158] 路线1：



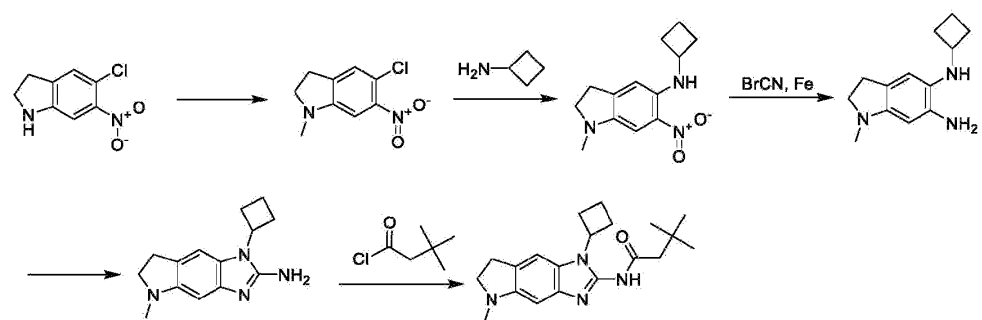
[0159] 路线2:



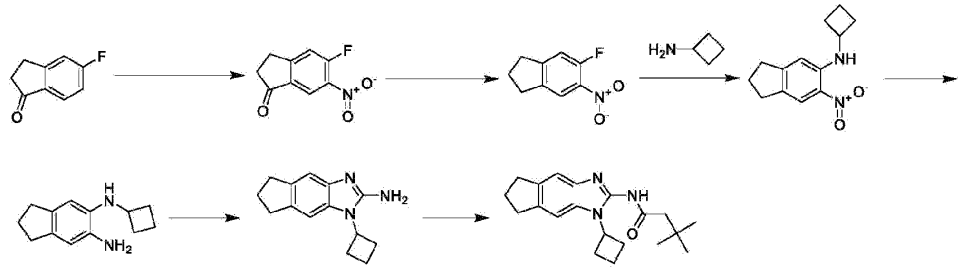
[0160] 路线3:



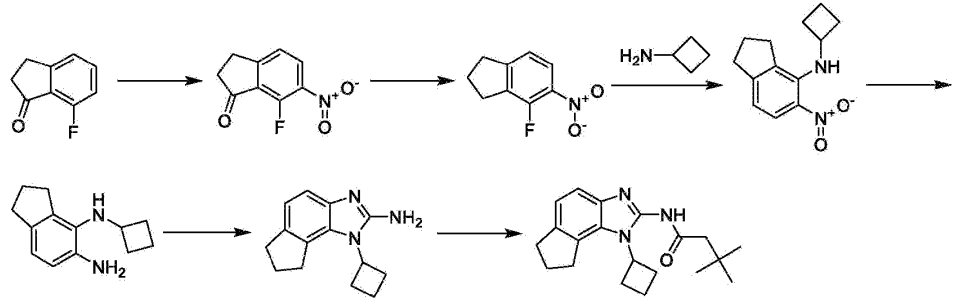
[0161] 路线4:



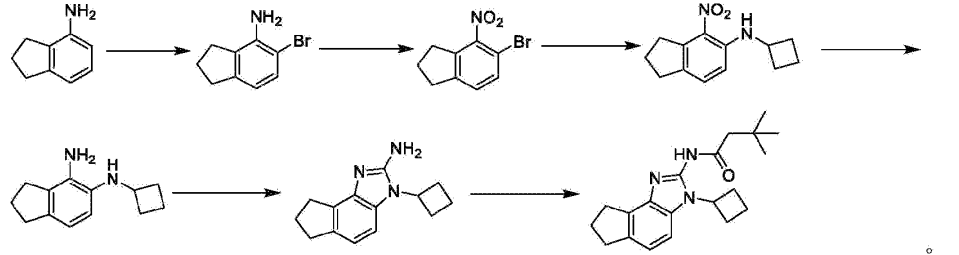
[0162] 路线5:



[0163] 路线6:



[0164] 路线7:



[0165] 本发明还提供了下列测试方法:

[0166] 测试方法1: hKCNQ2/3铯流试验

[0167] 实验目的: 在稳定表达的hKCNQ2/3的CHO细胞系中, 使用FLIPR铯通量测试化合物的体外浓度-反应关系。

[0168] 实验细胞和试剂:

[0169] (1)细胞系:

[0170] 稳定转染hKCNQ2/3的CHO细胞。

[0171] (2)细胞培养基试剂:

[0172] 细胞培养基试剂信息见表1。

[0173] 表1: 细胞培养基试剂信息

名称	供应商	批号	终浓度
F12(培养基)	/	/	/
FBS（胎牛血清）	/	/	10%
Pen/Strep(青霉素、链霉素)	Invitrogen	15140-122	1%
G418(抗生素)	Invitrogen	10131027	400 µg/mL

- [0174] (3)细胞培养：
- [0175] 该细胞系每周按1:2–1:3的传代比例传代3次。当细胞在T-75细胞瓶中生长至汇合度>80%时，使用0.25%胰蛋白酶–EDTA溶液消化约1分钟，然后从细胞瓶中转移细胞进行传代。根据传代比例，将细胞转移到另一个装有细胞生长完整培养基的T-75细胞瓶中。注意：为了保持细胞的对数生长，细胞的生长应保持在亚汇合单层状态。根据细胞倍增的时间，每2–3天传代一次细胞。
- [0176] 实验流程：
- [0177] (1)第一天，细胞准备：按上述方法消化细胞，使用Cell Countess测定细胞密度和活力。用细胞生长完全培养基调节单细胞悬液的体积。然后将hKCNQ2/3_CHO细胞以约20000个细胞/孔(30 µ L/孔)的密度接种到PDL预包被的384孔板上。然后将板在37℃、5% CO₂湿润空气的培养箱中孵育过夜。
- [0178] (2)第二天，化合物准备：待测化合物用二甲基亚砜(DMSO)稀释成储存浓度，并保存在–20℃的冰箱中。在ECHO液体工作站上设置化合物添加程序，使用ECHO将化合物添加到板中。阳性参照使用Retigabine(RTG)，最高浓度为100 µ M，3倍稀释，9个剂量为打板所需的板图。用含有5mM K⁺和1mM TI⁺的刺激缓冲液制备板。
- [0179] 注:1)K₂SO₄和TI₂SO₄在1 × 无氯化物缓冲液中制备。当涉及到不同的电压门控钾通道时，需要调整TI⁺和K⁺的浓度。TI⁺浓度约0.5mM ~ 5mM，K⁺浓度约5mM ~ 30mM。2)K₂SO₄和TI₂SO₄每1mM溶液中含有2mM K⁺和TI⁺，最终浓度需根据离子浓度计算。3)TlCl易沉淀，需无氯化物缓冲液。
- [0180] (3)第二天，实验测试：待细胞达到汇合度后，从培养箱中取出细胞分析板。准备实验缓冲液和稀释TI⁺染料(分子设备#R8222)。用液体工作站Bravo丢弃培养基，每孔加入25 µ L TI⁺染料。孵育1h后，将细胞分析板、复合板和FLIPR尖端置于FLIPR TETRA(Molecular Devices, USA)中，进行FLIPR检测。设置好针尖后，

读取基线60秒，然后从复合板(3×)中加入12.5 μL到细胞测定板中，同时记录数据至少5分钟。

- [0181] (4)数据处理：最大信号由FLIPR软件生成。数据分析使用Excel(2013)和Prism 6.01。数据质量控制S/B>2.00，Z因子>0.50。IC₅₀或EC₅₀定义为最低和最高平台之间的中线，使用Prism 6.01使用四参数logistic模型计算。
- [0182] 测试方法2：小鼠药代动力学评价
- [0183] 实验方法：受试化合物与5% DMSO/60%聚乙二醇(PEG400)/35%水混合，涡旋并超声，制备得到0.2mg/mL澄清溶液，微孔滤膜过滤后备用。选取25至35克的CD-1雄性小鼠，静脉注射给予候选化合物溶液，剂量1mg/kg。禁食，口服给予候选化合物溶液，剂量为5mg/kg。动物给药后，在0.083、0.25、0.5、1、2、4、8、12及24小时分别采血25 μL，置于预先加有EDTA-K2的商品化抗凝管中。将试管离心10分钟分离血浆，并于-60℃保存。用LC/MS/MS法测定血浆样品中的目标化合物含量，并用Phoenix WinNonlin软件(美国Pharsight公司)计算药代参数。
- [0184] 各参数定义：IV：静脉注射；PO：口服；C₀：静脉注射后瞬时的需要浓度；C_{max}：给药后出现的血药浓度最高值；T_{max}：给药后达到药峰浓度所需的时间；T_{1/2}：血药浓度下降一半所需的时间；V_{dss}：表观分布容积，指药物在体内达到动态平衡时体内药量与血药浓度的比例常数。Cl：清除率，指单位时间从体内清除的药物表观分布容积数；T_{last}：最后一个检测点的时间；AUC_{0-last}：药时曲线下面积，指血药浓度曲线对时间轴所包围的面积；F：药物被吸收进入血液循环的速度和程度的一种量度，是评价药物吸收程度的重要指标。
- [0185] 技术效果
- [0186] 本发明化合物与Kv7.2蛋白以及结合位点高度同源的人源Kv7.3蛋白都具有较好的结合，对hKCNQ2/3钾离子通道具有显著的激动效果，并具有良好的药代动力学性质，可以发挥良好的药效作用。
- [0187] 定义和说明
- [0188] 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。当本文中出现的商品名时，意在指代其对应的商品或其活性成分。

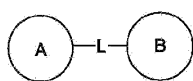
- [0189] 这里所采用的术语“药学上可接受的”，是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言，它们在可靠的医学判断的范围之内，适用于与人类和动物的组织接触使用，而没有过多的毒性、刺激性、过敏性反应或其他问题或并发症，与合理的利益/风险比相称。
- [0190] 术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的盐，由本发明发现的具有特定取代基的化合物与相对无毒的酸或碱制备。当本发明的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱与这类化合物接触的方式获得碱加成盐。当本发明的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物接触的方式获得酸加成盐。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。
- [0191] 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。
- [0192] “药物组合物”表示含有一种或多种本申请所述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，以及其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。
- [0193] 术语“药学上可接受的辅料”是指对有机体无明显刺激作用，而且不会损害该活性化合物的生物活性及性能的那些辅料。合适的辅料是本领域技术人员熟知的，例如碳水化合物、蜡、水溶性和/或水可膨胀的聚合物、亲水性或疏水性材料、明胶、油、溶剂、水等。
- [0194] 本发明的药物组合物可通过将本发明的化合物与适宜的药学上可接受的辅料组合而制备。
- [0195] 本发明的药物组合物可以采用本领域众所周知的方法制造，如常规的混合法、溶解法、制粒法、制糖衣药丸法、磨细法、乳化法、冷冻干燥法等。

- [0196] 术语“治疗”意为将本发明所述化合物或制剂进行给药以改善或消除疾病或与所述疾病相关的一个或多个症状，且包括：
- [0197] (i)抑制疾病或疾病状态，即遏制其发展；
- [0198] (ii)缓解疾病或疾病状态，即使该疾病或疾病状态消退。
- [0199] 术语“预防”意为将本发明所述化合物或制剂进行给药以预防疾病或与所述疾病相关的一个或多个症状，包括预防疾病或疾病状态在哺乳动物中出现，特别是当这类哺乳动物易患有该疾病状态，但尚未被诊断为已患有该疾病状态时。
- [0200] 术语“治疗有效量”意指(i)治疗或预防特定疾病、病况或障碍，(ii)减轻、改善或消除特定疾病、病况或障碍的一种或多种症状，或(iii)预防或延迟本文中所述的特定疾病、病况或障碍的一种或多种症状发作的本发明化合物的用量。构成“治疗有效量”的本发明化合物的量取决于该化合物、疾病状态及其严重性、给药方式以及待被治疗的哺乳动物的年龄而改变，但可例行性地由本领域技术人员根据其自身的知识及本发明内容而确定。
- [0201] 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。
- [0202] 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。
- [0203] 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。
- [0204] 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。
- [0205] 除非另有说明，“(+)”表示右旋，“(-)”表示左旋，“(±)”表示外消旋。
- [0206] 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

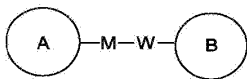
线()表示楔形实线键()或楔形虚线键()，或用波浪线()表示直形实线键()或直形虚线键()。

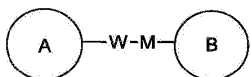
- [0207] 除非另有说明，术语“富含一种异构体”、“异构体富集”、“富含一种对映体”或者“对映体富集”指其中一种异构体或对映体的含量小于100%，并且，该异构体或对映体的含量大于等于60%，或者大于等于70%，或者大于等于80%，或者大于等于90%，或者大于等于95%，或者大于等于96%，或者大于等于97%，或者大于等于98%，或者大于等于99%，或者大于等于99.5%，或者大于等于99.6%，或者大于等于99.7%，或者大于等于99.8%，或者大于等于99.9%。
- [0208] 除非另有说明，术语“异构体过量”或“对映体过量”指两种异构体或两种对映体相对百分数之间的差值。例如，其中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%。
- [0209] 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)。
- [0210] 本发明的某些化合物可以以阻转异构体存在，其是构象异构体，当由于与分子的其他部分的空间相互作用而阻止或大大减缓绕分子中单键的旋转时出现。本发明公开的化合物包括所有的阻转异构体，可以是纯的单独的阻转异构体、或者是富含其中一种阻转异构体、或者是各自的非特异性混合物。如果围绕单键的旋转势能足够高，并且构象之间的相互转化足够慢，则可以允许分离异构体。

- [0211] 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。
- [0212] 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 $=\text{O}$)时，意味着两个氢原子被取代。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。
- [0213] 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。
- [0214] 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。
- [0215] 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 $-\text{A}$ 。
- [0216] 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 。
- [0217] 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 $\text{A}-\text{Z}$ 。
- [0218] 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，

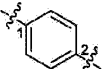
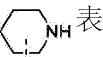


中连接基团L为 $-\text{M}-\text{W}-$ ，此时 $-\text{M}-\text{W}-$ 既可以按与从左往右的

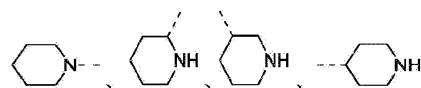
读取顺序相同的方向连接环A和环B构成  也可以按照与从左

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。

[0219] 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。

[0220] 除非另有规定，环上原子的数目通常被定义为环的元数，例如，“5-7元环”是指环绕排列5-7个原子的“环”。

[0221] 除非另有规定，术语“卤代素”或“卤素”本身或作为另一取代基的一部分表示氟、氯、溴或碘原子。

[0222] 除非另有规定，术语“C₁₋₆烷基”本身或者与其他术语联合分别用于表示直链或支链的由1至6个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述C₁₋₆烷基包括C₁₋₂、C₁₋₃、C₁₋₄、C₁₋₅、C₂₋₃、C₂₋₄、C₃、C₄、C₅、C₆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)。C₁₋₆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)、丁基(包括n-丁基, 异丁基, s-丁基和t-丁基)等。

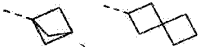
[0223] 除非另有规定, 术语“C₁₋₄烷基”用于表示直链或支链的由1至4个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述C₁₋₄烷基包括C₁₋₂、C₁₋₃和C₂₋₃烷基等; 其可以是一价(如甲基)、二价(如亚甲基)或者多价(如次甲基)。C₁₋₄烷基的实例包括但不限于甲基(Me)、乙基(Et)、丙基(包括n-丙基和异丙基)、丁基(包括n-丁基, 异丁基, s-丁基和t-丁基)等。

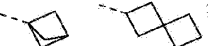
[0224] 除非另有规定, 术语“C₂₋₄烷基”本身或者与其他术语联合分别用于表示直链或支链的由2至4个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述C₂₋₄烷基包括C₂₋₄和C₂₋₃烷基等; 其可以是一价(如乙基)、二价(如亚乙基)或者多价(如次乙基)。C₂₋₄烷基的实例包括但不限于乙基(Et)、丙基(包括n-丙基和异丙基)、丁基(包括n-丁基, 异丁基, s-丁基和t-丁基)等。

[0225] 除非另有规定, 术语“C₁₋₄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4个碳原子的烷基基团。所述C₁₋₄烷氧基包括C₁₋₃、C₁₋₂、C₂₋₄、C₄和C₃烷氧基等。其可以是一价、二价或者多价。C₁₋₄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)、丁氧基(包括n-丁氧基、异丁氧基、s-丁氧基和t-丁氧基)等。

[0226] 除非另有规定, 术语“C₁₋₆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6个碳原子的烷基基团。所述C₁₋₆烷氧基包括C₁₋₄、C₁₋₃、C₁₋₂、C₂₋₆、C₂₋₄、C₆、C₅、C₄和C₃烷氧基等。C₁₋₆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)、丁氧基(包括n-丁氧基、异丁氧基、s-丁氧基和t-丁氧基)、戊氧基(包括n-戊氧基、异戊氧基和新戊氧基)、己氧基等。

[0227] 除非另有规定, “C₃₋₇环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由3至7个碳原子组成的饱和环状碳氢基团。其包含单环或多环, 其中多环包括螺环、并环和桥环等。所述C₃₋₇环烷基包括C₃₋₅、C₃₋₆、C₄₋₅、C₄₋₆、C₅₋₇、C₄、C₅、C₆、C₇

环烷基等；其可以是一价、二价或者多价。 C_{3-7} 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。

[0228] 除非另有规定，“ C_{4-7} 环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由4至7个碳原子组成的饱和环状碳氢基团。其包含单环或多环，其中多环包括螺环、并环和桥环等。所述 C_{4-7} 环烷基包括 C_{4-5} 、 C_{4-6} 、 C_4 、 C_5 、 C_6 、 C_7 环烷基等；其可以是一价、二价或者多价。 C_{4-7} 环烷基的实例包括但不限于，环丁基、环戊基、环己基、等。

[0229] 除非另有规定，“ C_{5-8} 桥环环烷基”表示由5至8个碳原子组成的饱和桥环碳氢基团。所述 C_{5-8} 桥环环烷基包括 C_{5-6} 、 C_{5-7} 、 C_{5-8} 、 C_{6-7} 、 C_{6-8} 或 C_{7-8} 桥环环烷基等；其可以是一价、二价或者多价。 C_{5-8} 桥环环烷基的实例包括但不限于等。

[0230] 除非另有规定，“ C_{5-8} 螺环环烷基”表示由5至8个碳原子组成的饱和螺环碳氢基团。所述 C_{5-8} 螺环环烷基包括 C_{5-6} 、 C_{5-7} 、 C_{5-8} 、 C_{6-7} 、 C_{6-8} 或 C_{7-8} 螺环环烷基等；其可以是一价、二价或者多价。 C_{5-8} 螺环环烷基的实例包括但不限于等。

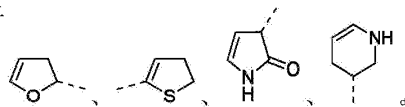
[0231] 除非另有规定，术语“4-7元杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由4至7个环原子组成的饱和环状基团，其1、2、3或4个环原子为独立选自O、S和N的杂原子，其余为碳原子，其中，碳原子任选地被氧代(即C(O))，氮原子任选地被季铵化，氮和硫杂原子可任选被氧化(即NO和S(O)_p，p是1或2)。其包括单环或多环，其中多环包括螺环、并环和桥环。此外，就该“4-7元杂环烷基”而言，杂原子可以占据杂环烷基与分子其余部分的连接位置。所述4-7元杂环烷基包括4-5元、4-6元、5-6元、5-7元、4元、5元、6元、7元杂环烷基等。4-7元杂环烷基的实例包括但不限于吡咯烷基、吡唑烷基、咪唑烷基、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、异噁唑烷基、异噻唑烷基、1,2-噁嗪基、1,2-噻嗪基、六氢哒嗪基、高哌嗪基、高哌啶基、等。

- [0232] 除非另有规定, “C₅₋₈环烯基”表示包含至少一个碳-碳双键的由5至8个碳原子组成的部分不饱和的环状碳氢基团, 其包括单环和双环体系, 其中双环体系包括螺环、并环和桥环, 此体系的任意环都是非芳香性的。所述C₅₋₈环烯基包括C₅₋₆、C₅₋₇、C₆₋₇、C₆₋₈、C₇₋₈环烯基等; 其可以是一价、二价或者多价。C₅₋₈环烯基的实例包括但不限于, 环戊烯基、环戊二烯基、环己烯基、环己二烯基等。
- [0233] 除非另有规定, “C₄₋₇环烯基”表示包含至少一个碳-碳双键的由4至7个碳原子组成的部分不饱和的环状碳氢基团, 其包括单环和多环体系, 其中多环体系包括螺环、并环和桥环, 此体系的任意环都是非芳香性的。所述C₄₋₇环烯基包括C₄₋₅、C₅₋₆、C₄、C₅、C₆、C₇环烯基等; 其可以是一价、二价或者多价。C₄₋₇环烯基的实例包括但不限于, 环丁烯基、环戊烯基、环戊二烯基、环己烯基、环己二烯基等。
- [0234] 除非另有规定, 本发明术语“5-6元杂芳环”和“5-6元杂芳基”可以互换使用, 术语“5-6元杂芳基”表示由5至6个环原子组成的具有共轭 π 电子体系的单环基团, 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)_p, p是1或2)。5-6元杂芳基可通过杂原子或碳原子连接到分子的其余部分。所述5-6元杂芳基包括5元和6元杂芳基。所述5-6元杂芳基的实例包括但不限于吡咯基(包括N-吡咯基、2-吡咯基和3-吡咯基等)、吡唑基(包括2-吡唑基和3-吡唑基等)、咪唑基(包括N-咪唑基、2-咪唑基、4-咪唑基和5-咪唑基等)、噁唑基(包括2-噁唑基、4-噁唑基和5-噁唑基等)、三唑基(1H-1,2,3-三唑基、2H-1,2,3-三唑基、1H-1,2,4-三唑基和4H-1,2,4-三唑基等)、四唑基、异噁唑基(3-异噁唑基、4-异噁唑基和5-异噁唑基等)、噻唑基(包括2-噻唑基、4-噻唑基和5-噻唑基等)、呋喃基(包括2-呋喃基和3-呋喃基等)、噻吩基(包括2-噻吩基和3-噻吩基等)。

基等)、吡啶基(包括2-吡啶基、3-吡啶基和4-吡啶基等)、吡嗪基或嘧啶基(包括2-嘧啶基和4-嘧啶基等)。

- [0235] 除非另有规定，术语“4-7元杂环烯基”本身或者与其他术语联合分别表示包含至少一个碳-碳双键的由4至7个环原子组成的部分不饱和的环状基团，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，碳原子任选地被氧代(即C(O))，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)_p，p是1或2)。其包括单环或多环，其中多环体系包括螺环、并环和桥环，此体系的任意环都是非芳香性的。此外，就该“4-7元杂环烯基”而言，杂原子可以占据杂环烯基与分子其余部分的连接位置。所述4-7元杂环烯基包括4-5元、4-6元、5-6元、5-7元、4元、5元、6元和7元杂环烯基等。4-7元杂环烯基的实例包括但不限于



- [0236] 除非另有规定，本发明术语“9-10元双环杂芳环”和“9-10元双环杂芳基”可以互换使用，术语“9-10元杂芳基”是表示由9或10个环原子组成的具有共轭 π 电子体系的环状基团，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。其为双环体系，其中各个环均为芳香性的。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)_p，p是1或2)。9-10元杂芳基可通过杂原子或碳原子连接到分子的其余部分。所述9-10元双环杂芳基包括9元和10元双环杂芳基等。所述9-10元双环杂芳基的实例包括但不限于苯并咪唑基、苯并吡唑基、吡啶并咪唑基、吡啶并吡唑基等。

- [0237] 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。

- [0238] 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。

[0239] 本发明所使用的缩略语: prep-HPLC代表高效液相色谱法制备分离; DPPA代表叠氮磷酸二苯酯。

[0240] 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。

附图说明

[0241] 图1化合物A与KCNQ2的结合模式图;

[0242] 图2化合物B与KCNQ2的结合模式图;

[0243] 图3化合物C与KCNQ2的结合模式图;

[0244] 图4化合物D与KCNQ2的结合模式图;

[0245] 图5化合物E与KCNQ2的结合模式图;

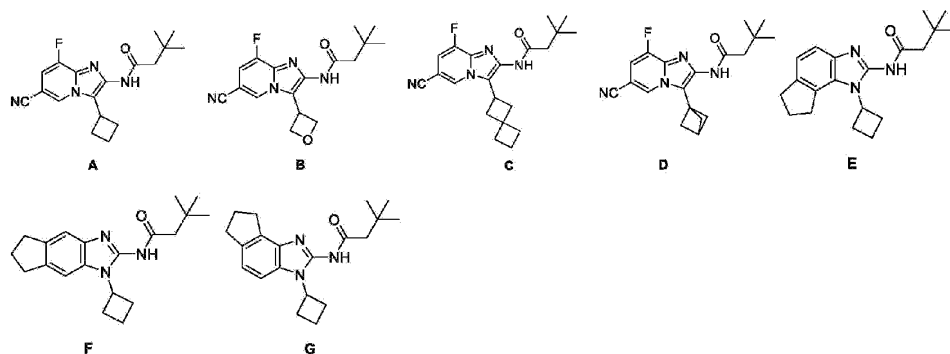
[0246] 图6化合物F与KCNQ2的结合模式图;

[0247] 图7化合物G与KCNQ2的结合模式图。

具体实施方式

[0248] 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将是显而易见的。

[0249] 计算例1



[0250] 通过使用Maestro(Schrödinger 版本2022-1)中的Glide SP¹¹和默认选项进行的。选取PDB数据库中KCNQ2与Retigabine的共晶结构PDB:7CR2, 经过能量优化后, 作为对接模板。为了准备蛋白质, 使用Maestro¹²的蛋白质准备向导模块添加氢原子, 并使用OPLS4力场, 对于配体的准备, 使用LigPrep生成了分子的三维结构, 并进行了能量最小化¹³, 使用Confgen模块对小分子构象进行采样。以7CR2中Retigabine作为质心生成了边长为25Å*25 Å*25Å的正方体对接网格。在分子对接过程中在蛋白模型中分别放置化合物, 分析蛋白质受体与配体的相互作用类型, 然后根据计算得到的docking score以及结合模式选择并保存了合理对接构象, 化合物A~G的结合模式如图1至图7所示。

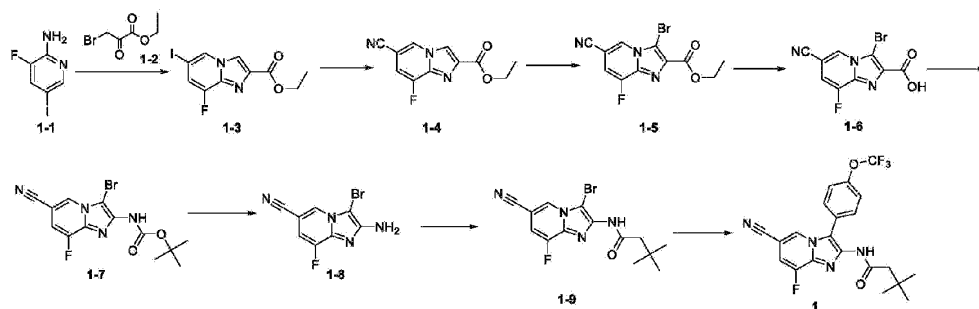
[0251] [1]Glide, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2022.

[0252] [2]Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2022.

[0253] [3]LigPrep, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2022.

[0254] 结论: 本发明化合物与KCNQ2有较好的结合。

[0255] 实施例1



[0256] 第一步: 将化合物1-1(10g, 42.02mmol)加入到乙醇(200mL)中, 加入1-2(9.83g, 50.42mmol), 在氮气保护下加热至85°C反应12小时。将反应液降至室温后, 减压浓缩, 得到粗品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯=100/0~10/90, 至二氯甲烷/甲醇=100/0~5/95, V/V)分离得到化合物1-3。LCMS(ESI): 335.0[M+H]⁺。

[0257] 第二步: 将化合物1-3(1.14g, 3.41mmol)加入到N,N-二甲基乙酰胺(20mL)中, 依次加入氰化锌(601.01mg, 5.12mmol)、四三苯基磷钼(197.16mg, 170.62 μmol)和1,1-双(二苯基膦)二茂铁氯化钼(124.84mg, 170.62 μmol), 将反应液在氮气保护下

加热至130℃反应2小时。将反应液降至室温后，减压过滤，收集滤液，减压浓缩得粗品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~50/50,V/V)分离得到化合物1-4。LCMS(ESI):234.0[M+H]⁺。

[0258] 第三步：将化合物1-4(1.5g,6.43mmol)加入到N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中，冰水浴降温至0℃后，加入N-溴代丁二酰亚胺(1.37g,7.72mmol)，将反应液在氮气保护下升温至25℃反应2小时。向反应液中加入水(40mL)，有固体析出，减压过滤，收集滤饼得化合物1-5。LCMS(ESI):312.0[M+H]⁺。

[0259] 第四步：将化合物1-5(1g,3.20mmol)加入到甲醇(1.5mL)、四氢呋喃(3mL)、水(3mL)中，然后加入氢氧化锂(153.48mg,6.41mmol)，将反应液在氮气保护下25℃反应1小时。反应完全后，逐滴加入盐酸(10 mL,2M)淬灭后，加入水(100mL)，乙酸乙酯萃取(100mL)，饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，减压过滤蒸干，即得化合物1-6。LCMS(ESI):284.1[M+H]⁺。

[0260] 第五步：将化合物1-6(270mg,950.57 μmol)加入到叔丁醇(5mL)中，依次加入N,N-二异丙基乙胺(147.42mg,1.14mmol)和叠氮磷酸二苄酯(313.91mg,1.14mmol)，将反应液在氮气保护下加热至85℃反应12小时。反应液减压浓缩，向剩余物中加入乙酸乙酯(100mL)，用水(100mL×3)洗，收集有机相，再用饱和食盐水溶液(100mL)洗，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得到的粗品化合物。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~20/80,V/V)分离得到化合物1-7。LCMS(ESI):356.9[M+H]⁺。

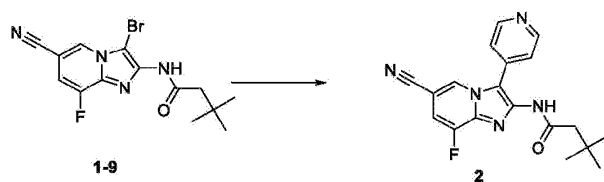
[0261] 第六步：将化合物1-7(50mg,140.78 μmol)加入到二氯甲烷(1mL)中，在0℃加入三氟乙酸(0.5mL)。反应液在氮气保护下25℃反应1小时。将反应液减压浓缩得粗品，加入水(10mL)和乙酸乙酯(20mL)，使用饱和碳酸氢钠调节pH至碱性，用水(10mL×3)洗，收集有机相，再用饱和食盐水溶液(10mL)洗，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得到的粗品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~50/50,V/V)分离得到化合物1-8。LCMS(ESI):254.9[M+H]⁺。

[0262] 第七步：将化合物1-8(35mg,137.23 μmol)加入到丙酮(4mL)中，在0℃依次加入N,N-二异丙基乙胺(19.51mg,150.95 μmol)和叔丁基乙酰氯(19.40mg, 144.09 μmol)。反应液在氮气保护下25℃反应2小时。向反应液中缓慢加入水(25mL)，用乙

酸乙酯萃取(25mL×2),合并有机相再用饱和食盐水洗涤(25mL),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩得粗品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~50/50,V/V)分离得到化合物1-9。LCMS(ESI):353.0[M+H]⁺。

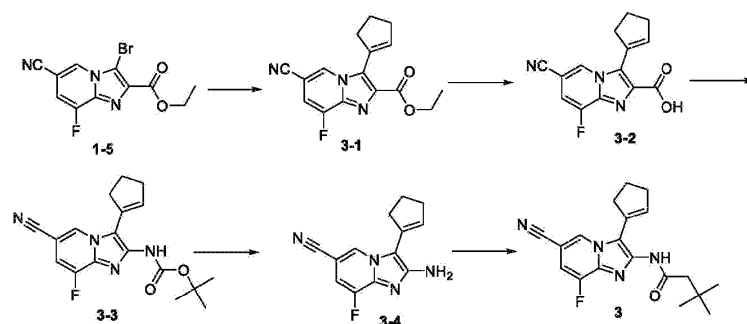
[0263] 第八步:将化合物1-9(32mg,90.60 μmol)加入到二氧六环(5mL)中,然后加入对三氟甲氧基苯硼酸(27.99mg,135.90 μmol)、[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(6.63mg,9.06 μmol)、碳酸钾(25.04mg,181.21 μmol)和水(0.5mL),氮气保护下85℃下搅拌2小时。向反应液中加入水(20mL),用乙酸乙酯萃取(20mL×2),合并有机相再用饱和食盐水洗涤(20mL),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩得粗品。粗品经Prep-HPLC(色谱柱:2_Phenomenex Gemini C18 75*40mm*3 μm;流动相:[水(氨水+碳酸氢铵)-乙腈];乙腈比例:50%-80%)分离得到化合物1。LCMS(ESI):435.0[M+H]⁺。1H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.27(s,1H)7.54(dJ=8.8Hz,2H)7.42(br dJ=8.8Hz,2H)7.11(dJ=8.8Hz,1H)2.20(br s,2H)0.99(s,9H)。

[0264] 实施例2



[0265] 将化合物1-9(0.11g,311.45 μmol)加入到二氧六环(5mL)中,然后加入对4-吡啶硼酸(76.56mg,622.90 μmol)、[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(35.99mg,31.14 μmol)、碳酸钾(86.09mg,622.90 μmol)和水(0.5mL),氮气保护下85℃下搅拌2小时。向反应液中加入水(20mL),用乙酸乙酯萃取(20mL×2),合并有机相再用饱和食盐水洗涤(20mL),无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩得粗品。粗品经Prep-HPLC(色谱柱:Welch Xtimate C18 150*25mm*5 μm;流动相:[水(氨水+碳酸氢铵)-乙腈];乙腈比例:18%-48%)分离得到化合物2,LCMS(ESI):352.1[M+H]⁺。1H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.84(dJ=4.0Hz,2H),8.40(s,1H),7.94(s,1H),7.43(dJ=5.6Hz,2H),7.16(dJ=8Hz,1H),2.23(s,2H),1.03(s,9H)。

[0266] 实施例3



[0267] 第一步：将化合物1-5(1.33g,4.26mmol)加入到二氧六环(20mL)中，依次加入2-环戊烯-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼烷(1.65g,8.52mmol)、四三苯基膦钯(246.22mg,213.08 μ mol)、碳酸钾(1.18g,8.52mmol)和水(2mL)，将反应液在氮气保护下加热至85℃反应2小时。向反应液中加入乙酸乙酯(200mL)，用水(200mL $\times$ 3)洗，收集有机相，再用饱和食盐水溶液(100mL)洗，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得到的粗品，粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0 $\sim$ 20/80,V/V)分离得到化合物3-1。LCMS(ESI):300.1[M+H]⁺。

[0268] 第二步：将化合物3-1(0.95g,3.17mmol)加入到甲醇(1.5mL)、四氢呋喃(3mL)、水(3mL)中，加入氢氧化锂(152.03mg,6.35mmol)，将反应液在氮气保护下25℃反应1小时。反应完全后，逐滴加入盐酸(10mL,2M)淬灭后，加入水(100mL)，乙酸乙酯萃取(100mL)，饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得到的粗品化合物3-2。LCMS(ESI):272.1[M+H]⁺。

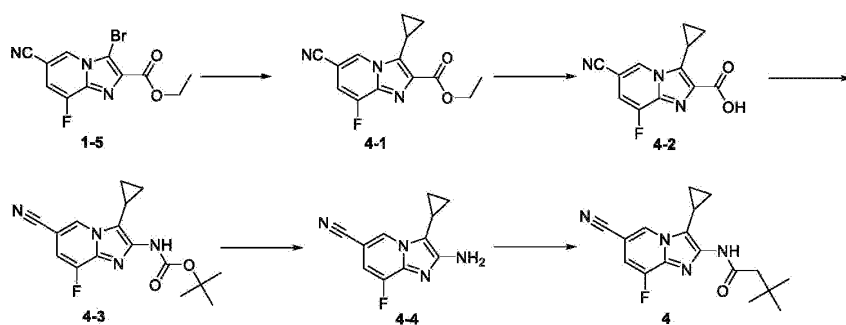
[0269] 第三步：将化合物3-2(0.86g,3.17mmol)加入到叔丁醇(20mL)中，依次加入N,N-二异丙基乙胺(491.71mg,3.80mmol)和叠氮磷酸二苯酯(1.05g,3.80mmol)，将反应液在氮气保护下加热至85℃反应6小时。向反应液中加入乙酸乙酯(100mL)，用水(100mL $\times$ 3)洗，收集有机相，再用饱和食盐水溶液(100mL)洗，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得到的粗品，粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0 $\sim$ 20/80,V/V)分离得到化合物3-3。LCMS(ESI):343.3[M+H]⁺。

[0270] 第四步：将化合物3-3(0.2g,584.17 μ mol)加入到二氯甲烷(1mL)中,在0℃加入三氟乙酸(0.5mL)。将反应液在氮气保护下25℃反应1小时。将反应液减压浓缩得粗品化合物，加入水(10mL)和乙酸乙酯(20mL)，使用饱和碳酸氢钠调节pH至碱性，用水(10mL $\times$ 3)洗，收集有机相，再用饱和食盐水溶液(10mL)洗，无水硫酸钠

干燥,减压浓缩得到的粗品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~50/50,V/V)分离得到化合物3-4。LCMS(ESI):243.1[M+H]⁺。

- [0271] 第五步: 将化合物3-4(100mg,412.79 μmol)加入到丙酮(5mL)中, 在0℃依次加入N,N-二异丙基乙胺(58.68mg,454.07 μmol)和叔丁基乙酰氯(58.34mg, 433.43 μmol)。将反应液在氮气保护下25℃反应2小时。向反应液中缓慢加入水(50mL), 用乙酸乙酯萃取(50mL×2), 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得粗品, 粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~50/50,V/V)分离得到化合物3。LCMS(ESI):341.2[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.61(m,1H),8.45(s,1H),7.12(dJ=8.4Hz,1H),6.20(s,1H),2.69-2.67(m,4H),2.31(s,2H),2.14-2.07(m,2H),1.10(s,9H)。

- [0272] 实施例4



- [0273] 第一步: 将化合物1-5(1g,3.20mmol)加入到二氧六环(10mL)中, 依次加入环丙基三氟硼酸钾(948.28mg,6.41mmol)、[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(234.45mg,320.42 μmol)、碳酸钾(885.69mg,6.41mmol), 将反应液在氮气保护下加热至85℃反应24小时。向反应液中加入乙酸乙酯(200mL), 用水(200 mL×3)洗, 收集有机相,用饱和食盐水溶液(200mL)洗, 无水硫酸钠干燥,减压浓缩得粗品化合物。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~20/80,V/V)分离得到化合物4-1。LCMS(ESI):274.1[M+H]⁺。
- [0274] 第二步: 将化合物4-1(0.69g,2.53mmol)加入到甲醇(1.5mL)、四氢呋喃(3mL)、水(3mL)中, 加入氢氧化锂(120.95mg,5.05mmol), 将反应液在氮气保护下25℃反应1小时。反应完全后, 逐滴加入盐酸(10mL,2M)淬灭后, 加入水(100mL), 乙酸

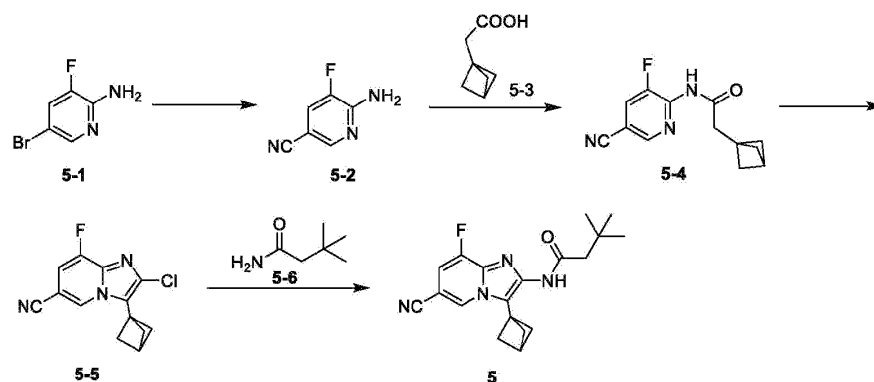
乙酯萃取(100mL)，饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得到的粗品化合物4-2。LCMS(ESI):246.1[M+H]⁺。

[0275] 第三步：将化合物4-2(0.4g,1.63mmol)加入到叔丁醇(10mL)中，依次加入N,N-二异丙基乙胺(252.99mg,1.96mmol)和DPPA(538.71mg,1.96mmol)，将反应液在氮气保护下加热至85℃反应6小时。向反应液中加入乙酸乙酯(100mL)，用水(100mL×3)洗，收集有机相，再用饱和食盐水溶液(100mL)洗，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得到的粗品，粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~20/80,V/V)分离得到化合物4-3。LCMS(ESI):317.1[M+H]⁺。

[0276] 第四步：将化合物4-3(106mg,335.09 μmol)加入到二氯甲烷(1mL)中，在0℃加入三氟乙酸(0.5mL)。将反应液在氮气保护下25℃反应1小时。将反应液浓缩得粗品化合物。加入水(10mL)和乙酸乙酯(20mL)，使用饱和碳酸氢钠调节pH至碱性，用水(10mL×3)洗，收集有机相，再用饱和食盐水溶液(100mL)洗，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得到的粗品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~50/50,V/V)分离得到化合物4-4。LCMS(ESI):217.1[M+H]⁺。

[0277] 第五步：将化合物4-4(64mg,296.00 μmol)加入到丙酮(5mL)中，在0℃依次加入N,N-二异丙基乙胺(42.08mg,325.60 μmol)和叔丁基乙酰氯(43.83mg, 325.60 μmol)。将反应液在氮气保护下25℃反应2小时。向反应液中缓慢加入水(50mL)，用乙酸乙酯萃取(50mL×2)，合并有机相再用饱和食盐水(50mL)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得粗品，粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~50/50,V/V)分离得到化合物4。LCMS(ESI):315.2[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ 8.51(s,1H),7.80(s,1H),7.06(d,J=8.0Hz,1H),2.34(s,2H),2.10-2.01(m,1H),1.15(s,9H),1.14-1.07(m,2H),0.63-0.57(m,2H)。

[0278] 实施例5



[0279] 第一步：将四氢呋喃(10mL)，水(40mL)，化合物5-1(2g,10.47mmol)，氰化锌(1.23g,10.47mmol)加入100mL单口瓶中开始搅拌；氮气置换后，将甲烷磺酸(2-二叔丁基膦基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯基)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钯(II)(831.80mg,1.05mmol)加入其中，升温至45℃，反应15小时。将反应液降至室温，加入水(50mL)，加入乙酸乙酯萃取(30mL×2)；得到的有机相用饱和食盐水(30mL)洗涤后，加入无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩；剩余物通过硅胶柱层析分离纯化(V/V石油醚:乙酸乙酯=1:0~2:3)，得到粗品；向粗品中加入甲基叔丁基醚(5mL)搅拌10min后，过滤，滤饼干燥后得到5-2。LCMS(ESI):138.0[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.19(s,1H),7.43-7.40(m,1H),5.21(bris,2H).

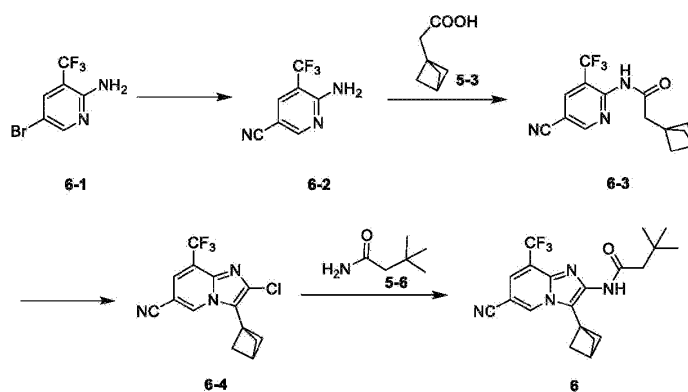
[0280] 第二步：将化合物5-3(331.22mg,2.63mmol)加入二氯甲烷(12mL)，中，开始搅拌；然后依次再加入吡啶(941.9 μL,11.67mmol)，正丁基磷酸酐(2,4,6-tributyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinane 2,4,6-trioxide, CAS:163755-62-2, 6.31g,8.75mmol,50%乙酸乙酯溶液)，化合物5-2(400mg,2.92mmol)，室温15℃反应48小时。向反应体系中加入水(20mL)和二氯甲烷(20mL)后，分液；得到的有机相加入无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得粗品。粗品通过硅胶柱层析分离纯化(V/V石油醚:乙酸乙酯=1:0~1:1)，得到化合物5-4。LCMS(ESI):246.2[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.50(d,J=1.6Hz,1H),7.75(bris,1H),7.69(dd,J=9.2Hz,1.6Hz,1H),2.86(s,2H),2.54(s,1H),1.87(s,6H).

[0281] 第三步：将化合物5-4(20mg,81.55 μmol)加入氯苯(4mL)中，开始搅拌；然后再依次加入二氯亚砷(29.61 μL,407.74 μmol)，吡啶(23.04 μL,285.42 μmol)，将温度升至90℃，反应13小时。反应液在50℃下减压浓缩。粗品通过硅胶

柱层析分离纯化(梯度洗脱:石油醚:乙酸乙酯=100:0~85:15),得到化合物5-5。LCMS(ESI):262.1[M+H]⁺。 ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.38(s,1H), 7.05(dd,J=9.2Hz,1.2Hz,1H),2.77(s,1H),2.49(s,6H).

[0282] 第四步:将化合物5-5(50mg,191.07 μmol),化合物5-6(264.08mg,2.29mmol)加入二氧六环(5mL)中,开始搅拌;氮气置换后,再依次加入碳酸铯(186.77mg,573.22 μmol),碘化钾(95.15mg,573.22 μmol),甲磺酸(2-二环己基膦基-3,6-二甲氧基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钯(II)(34.64mg,38.21 μmol),升温至回流反应3小时。反应液降至室温后,向反应体系中加入饱和氯化铵(20mL)溶液后,加入乙酸乙酯萃取(20mL×2次);得到的有机相用饱和食盐水(15mL)洗涤后,加入无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。剩余物通过硅胶柱层析分离纯化(V/V石油醚:乙酸乙酯=1:0~1:1),得到粗品,再经制备高效液相色谱分离(色谱柱:WePure Biotech X P tC18 100mm*30mm*10 μm;流动相:A(水,含10mM碳酸氢铵)和B(乙腈);梯度:B%:32%-62%),得到化合物5。LCMS(ESI):341.1[M+H]⁺。 ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.42(s,1H),7.33(brs,1H),7.02(d,J=9.2Hz,1H),2.73(s,1H),2.42(s,6H),2.32(s,2H),1.14(s,9H).

[0283] 实施例6



[0284] 第一步:将四氢呋喃(25mL),水(100mL),化合物6-1(5g,20.75mmol),氰化锌(4.87g,41.49mmol)加入250mL单口瓶中开始搅拌;氮气置换后,将甲磺酸(2-二叔丁基膦基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯基)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钯(II)(1.65g,2.07mmol)加入其中,升温至45℃,反应15小时。加入水(50mL),加入乙

酸乙酯萃取(80mL×2);得到的有机相用饱和食盐水(100mL)洗涤后,加入无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩;剩余物通过硅胶柱层析分离纯化(V/V石油醚:乙酸乙酯=1:0~2:3),得粗品,再加入甲基叔丁基醚(10mL)搅拌10分钟,过滤,干燥滤饼得化合物6-2。LCMS(ESI):188.2[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.50(d,J=1.6Hz,1H),7.95(s,1H),5.53(s,2H)。

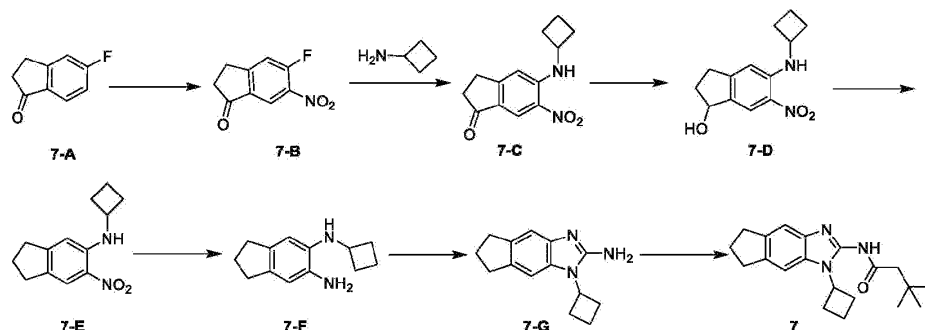
[0285] 第二步:将二氯甲烷(10mL),5-3(394.39mg,3.13mmol),N,N-二甲基甲酰胺(129.52 μL,1.68mmol)加入100mL三口瓶中,开始搅拌;将温度降至0~5℃后,将草酰氯(357.88 μL,4.09mmol)滴加到其中,升至室温20℃,反应1小时;然后将化合物6-2(450mg,2.40mmol)加入,随即将4-二甲氨基吡啶(293.80mg,2.40mmol)和三乙胺(2.01mL,14.43mmol)的二氯甲烷(3mL)滴入,室温15℃,反应18小时。向反应体系中加入饱和氯化铵溶液(30mL)及二氯甲烷(15mL)后,分液;得到的有机相用饱和氯化铵溶液(30mL)洗涤,加入无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩得粗品。粗品通过硅胶柱层析分离纯化(V/V石油醚:乙酸乙酯=1:0~3:2),得到化合物6-3。LCMS(ESI):296.1[M+H]⁺。

[0286] 第三步:将氯苯(36mL),化合物6-3(360mg,1.22mmol)加入100mL单口瓶中,开始搅拌;然后依次将二氯亚砷(442.78 μL,6.10mmol),吡啶(34.44 μL,4.27mmol)加入其中,升温至90℃,反应15小时。反应液减压浓缩。粗品通过硅胶柱层析分离纯化(V/V石油醚:乙酸乙酯=1:0~17:3),得到化合物6-4。LCMS(ESI):312.1[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.67(s,1H),7.66(s,1H),2.79(s,1H),2.51(s,6H)。

[0287] 第四步:将化合物5-6(480.37mg,4.17mmol),化合物6-4(130mg,417.08 μmol)加入二氧六环(8mL)中,开始搅拌;氮气置换后,再加入碳酸铯(407.68mg,1.25mmol),甲磺酸(2-二环己基膦基-3,6-二甲氧基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钯(II)(75.62mg,83.42 μmol),碘化钾(103.85mg,625.62 μmol),升温至120℃,反应1.5小时。反应液降至室温,向反应体系中加入20mL饱和氯化铵溶液后,加入乙酸乙酯萃取(20mL×2);得到的有机相用饱和食盐水(15mL)洗涤后,加入无水硫酸钠干燥,过滤,滤液减压浓缩。粗品通过硅胶柱层析分离纯化(V/V石油醚:乙酸乙酯=1:0~1:1),再经制

备高效液相色谱分离(色谱柱:Waters Xbridge BEH C18 100mm*30mm*10 μ m;
流动相: A(水, 含10mM碳酸氢铵)和B(乙腈); 梯度: B%:40%–70%), 得到化
合物6。LCMS(ESI):391.1[M+H]⁺。 ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.73(s,1H),
7.80(brs,1H),7.62(s,1H),2.74(s,1H),2.40(s,6H),2.35(s,2H),1.13(s,9H)。

[0288] 实施例7



[0289] 第一步: 将化合物7-A(10g,66.60mmol)分批缓慢加入到发烟硝酸(100mL)中,
在0℃搅拌8小时。将反应液缓慢倒入冰水(500mL)中,有固体析出,过滤,收
集滤饼,减压干燥得到化合物7-B。 ¹H NMR(CDCl₃,400MHz): δ ppm 8.45(d,J=
7.0Hz,1H),7.42(d,J=10.0Hz,1H),3.32–3.20(m,2H),2.97–2.79(m,2H)。

[0290] 第二步: 将化合物7-B(1g,5.12mmol)加入四氢呋喃(15mL)中,再加入环丁
胺(400.89mg,5.64mmol)和N,N-二异丙基乙胺(1.99g,15.37mmol),在25℃搅拌
16小时。加入水(20mL)稀释,用乙酸乙酯(20mL×2)萃取,合并的有机层用
饱和食盐水(20mL)洗涤后,用硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩得到化合物7-
C。MS ESI:246.9[M+H]⁺。

[0291] 第三步: 将化合物7-C(0.9g,3.65mmol)加入四氢呋喃(15mL)中,再加入硼氢化
钠(207.40mg,5.48mmol),在0℃搅拌1小时。加入饱和氯化铵水溶液(20mL)稀释,
水层用乙酸乙酯(20mL×2)萃取。合并的有机层用饱和食盐水(20mL)洗涤后,用
无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩得到化合物7-D。MS ESI: 249.0[M+H]⁺。

[0292] 第四步: 将化合物7-D(0.85g,3.42mmol)加入三氟乙酸(10mL)中,再加入三乙基
硅烷(796.19mg,6.85mmol),在25℃搅拌16小时。加入碳酸氢钠水溶液(20mL)稀
释水层,用乙酸乙酯(20mL×2)萃取。合并的有机层用饱和食盐水(20毫升)洗涤

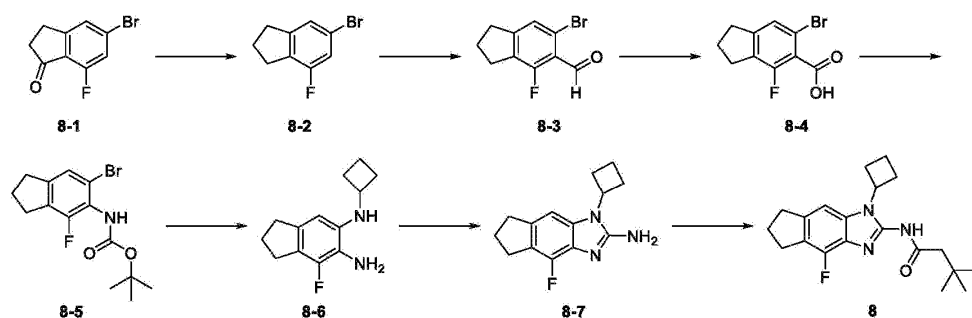
后,用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩得到化合物7-E。MS ESI: 233.1[M+H]⁺。

[0293] 第五步:将化合物7-E(0.7g,3.01mmol)加入乙醇(50mL)和水(10mL)中,再加入还原铁粉(841.56mg,15.07mmol)和氯化铵(806mg,15.07mmol),在90℃搅拌16小时。加入水(50mL)稀释水层用乙酸乙酯(50mL×2)萃取。合并的有机层用饱和食盐水(50mL)洗涤后,用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩得到化合物7-F。MS ESI: 202.9[M+H]⁺。

[0294] 第六步:将化合物7-F(0.6g,2.97mmol)加入乙醇(25mL)中,再加入溴化腈(628.31mg,5.93mmol),在25℃搅拌16小时。加入碳酸氢钠水溶液(50mL)稀释,水层用乙酸乙酯(50mL×2)萃取。合并的有机层用饱和食盐水(50mL)洗涤后,用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩得到化合物7-G。MS ESI: 227.9[M+H]⁺。

[0295] 第七步:将化合物7-G(0.15g,0.660mmol)加入丙酮(20mL)中,再加入N,N-二异丙基乙胺(252.60mg,1.95mmol)和叔丁基乙酰氯(131.54mg,0.977mmol),在25℃搅拌16小时。反应液减压浓缩,加入丙酮(10mL)和NaOH水溶液(2N,20mL),在25℃下搅拌1小时,用乙酸乙酯(50mL×2)萃取。合并的有机层用饱和食盐水(50mL)洗涤后,用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩得到粗品。粗品经过柱层析(石油醚/乙酸乙酯,1/0~2/1,V/V)分离得到化合物7。MS ESI: 326.1[M+H]⁺。¹H NMR(DMSO-d₆,400MHz): δ ppm 10.26(br s,1H),7.55(br s,1H),7.35(s,1H),4.73(br s,1H),3.00-2.85(m,4H),2.84-2.54(m,2H),2.33(br s,2H),2.26(s,2H),2.09-2.02(m,2H),1.94(q,J=10.2Hz,1H),1.86-1.74(m,1H),1.05(s,9H)。

[0296] 实施例8



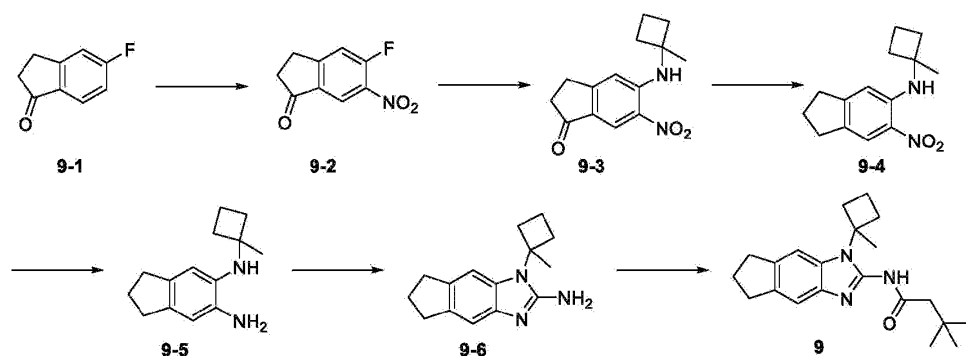
- [0297] 第一步：将化合物8-1(6g,26.20mmol)加入到三氟乙酸(30mL)中，加入三乙基硅烷(9.14g,78.59mmol)，将反应液在氮气保护下控温在25℃反应24小时。向反应液中逐滴滴加饱和碳酸氢钠溶液，调pH至7-8，用乙酸乙酯(150mL×3)萃取，无水硫酸钠干燥，过滤，减压旋干得到粗品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0,V/V)分离纯化得到化合物8-2。
- [0298] 第二步：将二异丙基胺锂的四氢呋喃正庚烷混合溶液(2M,22.32mL)加入到四氢呋喃(30mL)中，降温至-78℃后，加入化合物8-2(6.4g,29.76mmol)，搅拌反应30分钟后，加入N,N-二甲基甲酰胺(89.28mmol,6.87mL)，将反应液在氮气保护下升温至25℃反应30分钟。向反应液逐滴滴加饱和氯化铵溶液(500mL)，用乙酸乙酯(100mL×3)萃取，无水硫酸钠干燥，过滤，减压旋干得到粗品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~5/1,V/V)分离纯化得到化合物8-3。
- [0299] 第三步：将化合物8-3(5g,20.57mmol)加入到水(50mL)和叔丁醇(50mL)混合溶液中，降温至0℃后，加入亚氯酸钠(7.44g,82.26mmol)，磷酸二氢钠(9.87g,82.28mmol)和2-甲基-2-丁烯(205.70mmol,21.79mL)，将反应液在氮气保护下维持温度至0℃反应2小时。将反应液用乙酸乙酯(100mL×3)萃取，无水硫酸钠干燥，过滤，减压旋干得到化合物8-4。LCMS(ESI):259.0[M+H]⁺。
- [0300] 第四步：将化合物8-4(1.7g,6.56mmol)加入到叔丁醇(17mL)中，降温至0℃后，加入N,N-二异丙基乙胺(1.37mL)和叠氮磷酸二苯酯(2.17g,7.87mmol)，将反应液在氮气保护下升温至80℃反应2小时。将反应液减压旋干得到粗品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0~20/1,V/V)分离纯化得到化合物8-5。LCMS(ESI):232.0[M-Boc+H]⁺。1H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 7.24(s,1H), 5.95(s,1H),2.89-2.94(m,4H),2.09-2.16(m,2H),1.51(s,9H)。
- [0301] 第五步：将化合物8-5(0.4g,1.21mmol)加入到二氧六环(5mL)中，加入环丁胺(2.42mmol,207.61 μL)，甲磺酸(2-二环己基磷-2,6-二异丙氧基-1,1-联苯基)(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钯(II)(219.63mg,242.28 μmol),2-二环己基磷-2,6-二异丙氧基-1,1-联苯(260.10mg,484.57 μmol)和叔丁醇钾(271.87mg,2.42mmol)，将反应液在氮气保护下升温至100℃反应2小时。将反应液减压旋干得到粗

品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0-20/1,V/V)分离纯化得到化合物8-6。LCMS(ESI):221.1[M+H]⁺。

[0302] 第六步: 将化合物8-6(0.266g,1.21mmol)加入到乙醇(5mL)中, 加入溴化氰(2.42mmol,177.27 μL), 将反应液在氮气保护下维持温度在25℃反应1小时。将反应液减压旋干得到粗品。粗品经柱层析(二氯甲烷/甲醇,100/0-20/1,V/V)分离纯化得到化合物8-7。LCMS(ESI):246.0[M+H]⁺。

[0303] 第七步: 将化合物8-7(55mg,179.38 μmol)加入到丙酮(5mL)中, 加入N,N-二异丙基乙胺(34.37 μL), 将反应液在氮气保护下降温至0℃后, 逐滴滴加叔丁基乙酰氯(27.41 μL), 将反应液在氮气保护下维持温度在25℃反应1小时。将反应液减压过滤, 收集滤液, 减压旋干; 加入甲醇(5mL), 10%的氢氧化钠水溶液(2mL), 搅拌反应1小时后, 减压旋干, 用乙酸乙酯(10mL × 3)萃取, 饱和氯化钠水溶液洗, 无水硫酸钠干燥, 减压旋干, 得到粗品。粗品经柱层析(石油醚/乙酸乙酯,100/0-10/1,V/V)分离纯化得到化合物8。LCMS(ESI):344.3[M+H]⁺。 ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ ppm 10.36(s,1H),7.44(s,1H),4.70-4.79ppm(m,1H),3.03(t,J=7.2Hz,2H),2.96(t,J=7.2Hz,2H),2.72-2.85ppm(m,2H),2.38-2.40ppm(m,2H),2.29(s,2H),2.11-2.13ppm(m,2H),1.92-1.97ppm(m,1H),1.81-1.86ppm(m,1H),1.066(s,9H)

[0304] 实施例9



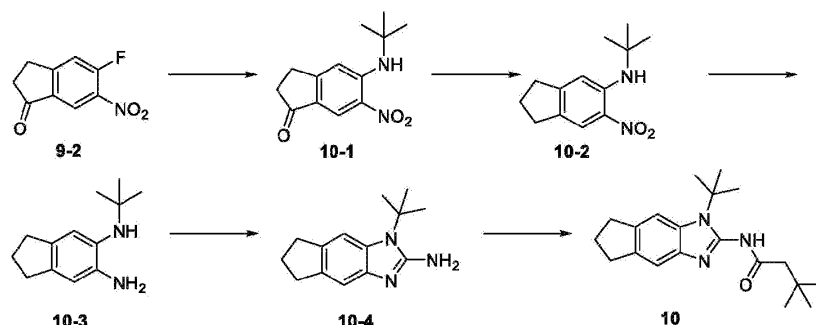
[0305] 第一步: 将化合物9-1(10g,66.60mmol)分批加入到发烟硝酸(100mL)中, 在0℃下搅拌反应8小时。将反应液缓慢倒入冰水(500mL)中, 过滤, 收集滤饼, 减压干

燥得到化合物9-2。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 8.44(d,J=7.2Hz,1H),7.42(d,J=10.4Hz,1H),3.27(t,J=6.0Hz,2H),2.81-2.84(m,2H)。

- [0306] 第二步：将化合物9-2(1g,5.12mmol)加入四氢呋喃(15mL)中，再加入1-甲基环丁胺盐酸盐(972.00mg,6.15mmol)和N,N-二异丙基乙胺(2.68mL)，将反应液维持在25℃下搅拌反应16小时。加入水(20mL)稀释，用乙酸乙酯(20mL×3)萃取，合并的有机相用饱和食盐水(20mL×2)洗涤后，用硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物9-3。LCMS(ESI):261.1[M+H]⁺。
- [0307] 第三步：将化合物9-3(0.5g,1.92mmol)加入到三氟乙酸(5mL)中，加入三乙基硅烷(613.63 μL)，将反应液在氮气保护下控温在25℃反应24小时。将反应液控温至0℃，逐滴滴加饱和碳酸氢钠溶液，调pH至7-8，用乙酸乙酯(50mL×2)萃取，饱和食盐水(20mL×2)洗，无水硫酸钠干燥，过滤，减压旋干得到化合物9-4。
- [0308] 第四步：将化合物9-4(0.8g,3.25mmol)加入乙醇(40mL)和水(10mL)中，再加入还原铁粉(907.01mg)和氯化铵(868.68mg)，将反应液升温至90℃搅拌16小时。加入水(200mL)稀释，用乙酸乙酯(20mL×2)萃取。合并的有机相用饱和食盐水(20mL×2)洗涤后，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物9-5。
- [0309] 第五步：将化合物9-5(0.7g,3.24mmol)加入乙醇(10mL)中，再加入溴化腈(685.51mg,6.47mmol)，将反应液控温在25℃搅拌反应12小时。加入乙酸乙酯(50mL)稀释后，加入10%的碳酸氢钠水溶液(50mL)淬灭，水相用乙酸乙酯(50mL×2)萃取，合并的有机相用饱和食盐水(50mL)洗涤后，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物9-6。
- [0310] 第六步：将叔丁基乙酰氯(209.16mg,1.55mmol,215.85 μL)加入丙酮(10mL)中，再加入N,N-二异丙基乙胺(541.30 μL)和化合物9-6(0.25g,1.04mmol)，在25℃搅拌16小时。向反应液中加入水(20mL)，乙酸乙酯(20mL×3)萃取，合并有机相，用饱和食盐水(20mL×2)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到粗品。将粗品加入乙腈(5mL)中，加入氢氧化钠水溶液(1M,4.57mL)，将反应液控温在25℃下搅拌反应2小时，加水(20mL)，加入乙酸乙酯(20mL×3)萃取，合并的有机相用饱和食盐水(20mL×2)洗涤后，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩，得到粗品。将粗品经pre-HPLC(柱型:C18 100×40mm；流动相:[H₂O(TFA)-

ACN]; 梯度:23%–53% ACN, 8min)分离得到化合物9。LCMS(ESI):340.1[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 6.93–7.13(m,2H),2.95(t,J=6.8Hz,4H),2.76–2.90(m,2H),2.52(t,J=8.0Hz,2H),2.31(s,2H),2.06–2.20(m,2H),1.86–2.06(m,3H),1.67(s,3H),1.07ppm(s,9H)

[0311] 实施例10



[0312] 第一步：将化合物9-2(1g,5.12mmol)加入四氢呋喃(20mL)中，再加入叔丁胺(592.32 μL)和N,N-二异丙基乙胺(2.68mL)，将反应液维持在25℃下搅拌反应16小时。加入水(20mL)稀释，用乙酸乙酯(20mL×3)萃取，合并的有机层用饱和食盐水(20mL×2)洗涤后，用硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物10-1。

[0313] 第二步：将化合物10-1(0.5g,2.01mmol)加入到三氟乙酸(5mL)中，加入三乙基硅烷(965.00 μL)，将反应液在氮气保护下控温在25℃反应24小时。将反应液控温至0℃，逐滴滴加饱和碳酸氢钠溶液，调pH至7–8，用乙酸乙酯(50mL×2)萃取，饱和食盐水(20mL×2)，无水硫酸钠干燥，过滤，减压旋干得到化合物10-2。LCMS(ESI):179.1[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 7.95(s,1H), 6.66(s,1H),2.84(q,J=7.2Hz,4H),2.06–2.10(m,2H),0.98(s,1H)。

[0314] 第三步：将化合物10-2(0.1g,426.82 μmol)加入乙醇(30mL)和水(8mL)中,再加入铁粉(119.19mg,2.13mmol)和氯化铵(114.15mg,2.13mmol)，将反应液升温至90℃搅拌16小时。加入水(200mL)稀释，水相用乙酸乙酯(20mL×3)萃取。合并的有机相用饱和食盐水(20mL×2)洗涤后，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物10-3。

[0315] 第四步：将化合物10-3(0.3g,1.47mmol)加入乙醇(5mL)中，再加入溴化腈(311.06mg,2.94mmol)，将反应液控温在25℃搅拌反应12小时。将反应液减压旋

干,得到粗品。粗品经pre-HPLC(Welch Xtimate C18150*25mm*5 μ m; 流动相:[H₂O(NH₃.H₂O+NH₄HCO₃)-ACN]; 梯度:33%-63% ACN, 8min)分离得到化合物10-4。

[0316] 第五步:将叔丁基乙酰氯(16.66 μ L)加入丙酮(10mL)中,再加入N,N-二异丙基乙胺(20.89 μ L)和化合物10-4(25mg,109.02 μ mol),在25℃搅拌16小时。向反应液中加入水(20mL),乙酸乙酯(20mLx3)萃取,合并的有机相用饱和食盐水(20mL x2)洗涤后,用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩得到粗品。将粗品加入乙腈(5mL)中,加入氢氧化钠水溶液(1M,4.57mL),将反应液控温在25℃下搅拌反应2小时,加水(20mL),加入乙酸乙酯(20mL x 3)萃取,合并的有机相用饱和食盐水(20mL x2)洗涤后,用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩,得到粗品。将粗品经pre-HPLC(柱型:Welch Xtimate C18 150*25mm*5 μ m; 流动相:[H₂O(NH₃H₂O+NH₄HCO₃)-ACN]; 梯度:58%-88% ACN, 8min)分离得到化合物10。LCMS(ESI):328.2[M+H]⁺。 ¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ ppm 7.53(s,1H),7.23-7.05(m,1H),2.92-3.01(qJ=7.2Hz,4H),2.39(s,2H),2.13(tJ=7.6Hz,2H),1.93(s,9H),1.07ppm(s,9H)

[0317] 生物测试

[0318] 实验例1:hKCNQ2/3铯流试验

[0319] 实验目的:在稳定表达的hKCNQ2/3的CHO细胞系中,使用FLIPR铯通量测试化合物的体外浓度-反应关系。

[0320] 实验细胞和试剂:

[0321] (1)细胞系:稳定转染hKCNQ2/3的CHO细胞。

[0322] (2)细胞培养基试剂:包括F12培养基、胎牛血清FBS(10%)、青霉素-链霉素(Invitrogen、货号15140-122)、G418(Invitrogen、货号10131027)。

[0323] (3)细胞培养:

[0324] 该细胞系每周按1:2-1:3的传代比例传代3次。当细胞在T-75细胞瓶中生长至汇合度>80%时,使用0.25%胰蛋白酶-EDTA溶液消化约1分钟,然后从细胞瓶中转移细胞进行传代。根据传代比例,将细胞转移到另一个装有细胞生长完整培养基的T-75细胞瓶中。注意:为了保持细胞的对数生长,细胞的生长应保持在亚汇合单层状态。根据细胞倍增的时间,每2-3天传代一次细胞。

[0325] 实验流程:

[0326] (1)第一天,细胞准备:按上述方法消化细胞,使用Cell Countess测定细胞密度和活力。用细胞生长完全培养基调整单细胞悬液的体积。然后将hKCNQ2/3_CHO细胞以约20000cells/孔(30 μ L/孔)的密度接种到PDL预包被的384孔板上。然后将板在37℃、5% CO₂湿润空气的培养箱中孵育过夜。

[0327] (2)第二天,化合物准备:待测化合物用二甲基亚砜(DMSO)稀释成储存浓度,并保存在-20℃的冰箱中。在液体工作站ECHO上设置化合物添加程序,使用液体工作站ECHO将化合物添加到板中。阳性参照使用Retigabine(RTG),最高浓度为100 μ M,3倍稀释,共稀释9个剂量。用含有5mM K⁺和1mM TI⁺的缓冲液添加补充到板中。

[0328] 注:1)K₂SO₄和TI₂SO₄在1×无氯化物缓冲液中制备。当涉及到不同的电压门控钾通道时,需要调整TI⁺和K⁺的浓度。TI⁺浓度约0.5mM~5mM,K⁺浓度约5mM~30mM。2)K₂SO₄和TI₂SO₄每1mM溶液中含有2mM K⁺和TI⁺,最终浓度需根据离子浓度计算。3)TiCl₃易沉淀,需用无氯化物缓冲液。

[0329] (3)第二天,实验测试:待细胞达到汇合度后,从培养箱中取出细胞分析板。准备实验缓冲液和稀释TI⁺染料(分子设备#R8222)。用液体工作站Bravo丢弃培养基,每孔加入25 μ L TI⁺染料。孵育1h后,将细胞分析板、复合板和FLIPR尖端置于FLIPR^{TETRA}(Molecular Devices, USA)中,进行FLIPR检测。设置好针尖后,读取基线60秒,然后从复合板(3×)中加入12.5 μ L到细胞测定板中,同时记录数据至少5分钟。

[0330] (4)数据处理:

[0331] 最大信号由FLIPR软件生成。数据分析使用Excel(2013)和Prism 6.01。数据质量控制S/B>2.00,Z因子>0.50。IC₅₀或EC₅₀定义为最低和最高平台之间的中线,使用Prism 6.01使用四参数logistic模型计算。

[0332] 实验结果见表1。

[0333] 表1本发明化合物对hKCNQ2/3的激动作用实验结果

化合物编号	EC ₅₀ (μM)
化合物 3	0.48
化合物 5	0.20
化合物 6	0.71
化合物 7	0.42
化合物 8	0.42
化合物 9	0.16
化合物 10	0.12

- [0334] 结论：本发明化合物对KCNQ2/3具有明显的激动作用。
- [0335] 实验例2：评估待测化合物对最大电休克诱导的癫痫模型行为学药效学研究
- [0336] 实验目的：
- [0337] 本研究利用雄性CD-1小鼠行为学检测待测化合物对最大电休克诱导的小鼠急性癫痫惊厥行为影响。
- [0338] 实验材料：
- [0339] 雄性CD-1小鼠(25-35g)为实验用动物，标准饲料饲养(北京维通利华实验动物有限公司)。
- [0340] 实验过程：
- [0341] 实验动物到达动物房设施后，需适应至少1周，每天观察小鼠体征情况，并在给药前1天根据体重进行随机分组。电刺激前1h分别对各组口服给予不同剂量的待测化合物，测试当天对各组雄性CD-1小鼠角膜处局部使用2%利多卡因进行麻醉，后使用银制双极电极对小鼠角膜，以18mA、60Hz、0.6ms脉冲波宽和1s的刺激时间进行电刺激诱导惊厥行为。随后观察小鼠电刺激后癫痫发作的潜伏期，四肢僵直的持续时间，统计每组惊厥保护率。
- [0342] 实验结果如下表：
- [0343] 表2本发明化合物的药效学测试结果

化合物编号	剂量(mg/kg)	惊厥保护率
化合物 1	5	66.7%
化合物 3	5	66.7%
化合物 7	5	66.67%
化合物 8	5	50%
化合物 9	5	50%
化合物 10	5	33.33%

[0344] 实验结论：本发明化合物在最大电休克诱导的癫痫模型上具有良好的抗惊厥活性。

[0345] 实验例3：化合物药代动力学评价

[0346] 实验目的：

[0347] 本试验目的是评价化合物单次静脉推注和灌胃给药后的药代动力学行为，考察灌胃给药后的生物利用度，为临床研究提供动物试验资料。

[0348] 实验材料：

[0349] CD-1小鼠(雄性,7~9周龄)

[0350] 实验操作：

[0351] 以标准方案测试化合物静脉注射及口服给药后的啮齿类动物药代特征，实验中候选化合物配成澄清溶液，给予小鼠单次静脉注射及口服给药。静注及口服溶媒为5%DMSO/60%PEG400/35%water配成的混合溶媒。该项目使用四只雌性CD-1小鼠，两只小鼠进行静脉注射给药，收集给药后0.083，0.25，0.5，1，2，4，8，24h的血浆样品；另外两只小鼠口服灌胃给药，收集给药后0.25，0.5，1，2，4，8，24h的血浆样品，在4℃下3,200×g搅拌10分钟，分离上清得血浆样品，加入20倍体积含内标的甲醇溶液沉淀蛋白，12000×g搅拌15min，4℃离心取上清液50μL转移至96-well plate二次离心取上清进样，以LC-MS/MS分析方法定量分析血药浓度，并计算药代参数，如达峰浓度(C_{max})，清除率(CL)，半衰期(T_{1/2})，组织分布(V_{dss})，药时曲线下面积(AUC_{0-last})，生物利用度(F)等。

[0352] 实验结果如表3所示：

[0353] 表3本发明化合物的药代动力学测试结果

化合物编号	给药剂量 mg/kg	达峰浓度 C _{max} (nM)	清除率 CL (mL/min/kg)	组织分布 V _{dss} (L/kg)	半衰期 T _{1/2} (IV, h)	药时曲线下面积 AUC _{0-last} PO (nM.hr)	生物利用度 F (%)
化合物 1	IV:1 PO:5	355	67.8	4.89	0.88	1405	51.1
化合物 3	IV:0.5 PO:2	1154	25.6	0.94	0.5	2346	57.3

- [0354] 实验结论：本发明化合物具有良好的药代动力学性质，包括良好的口服生物利用度，口服暴露量，半衰期和清除率等。
- [0355] 实验例4：血浆蛋白结合率评价
- [0356] 实验目的：
- [0357] 采用平衡透析法测定化合物在CD-1小鼠、Sprague-Dawley大鼠、比格犬、食蟹猴和人血浆中的蛋白结合率。
- [0358] 实验材料：
- [0359] 商品化血浆，双层透析膜以及平衡透析装置。
- [0360] 实验操作：
- [0361] 双层透析膜在超纯水中浸泡约1小时，取出后一分为二，再置于乙醇：水(20：80，v：v)溶液中浸泡20分钟或放置于2~8℃，有效期为1个月。在实验开始之前，将透析膜用超纯水漂洗两次，并继续在超纯水中浸泡20分钟备用。
- [0362] 在实验当天，将冻存的CD-1小鼠、Sprague-Dawley大鼠、比格犬、食蟹猴和人血浆在流动的冷自来水中解冻，待血浆完全解冻后，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，直接使用pH在 7.4 ± 0.1 范围里的血浆，或使用经1%磷酸或1M氢氧化钠调节后pH在 7.4 ± 0.1 范围内的血浆。
- [0363] 血浆样品的配制过程：分别取 $597 \mu\text{L}$ 上述五个物种的空白血浆，加入 $3 \mu\text{L}$ 化合物或华法林的工作溶液并充分混合，得到化合物浓度为 $2 \mu\text{M}$ ，及华法林浓度为 $2 \mu\text{M}$ 的血浆样品($n=1$)。有机相DMSO的浓度为0.5%。在进行下一步之前，将样品充分混合。
- [0364] T0样品的配制过程：移取 $50 \mu\text{L}$ 化合物和华法林的血浆样品到样品接收板中($n=3$)，立即加入 $50 \mu\text{L}$ 空白PBS，然后向化合物与华法林的T0样品中加入 $500 \mu\text{L}$ 终止液并存储于2~8℃，等待与其它透析完的样品一起进行后续处理。
- [0365] 血浆样品的透析过程：将 $100 \mu\text{L}$ 化合物($2 \mu\text{M}$)和华法林($2 \mu\text{M}$)血浆样品加入到每个透析孔的给药端($n=3$)，在透析孔对应的接收端中加入 $100 \mu\text{L}$ 空白PBS。将透析板置于5% CO_2 的培养箱中，在37℃下、约100rpm振荡孵育4小时。
- [0366] 透析结束后，移取 $50 \mu\text{L}$ 透析后的PBS样品和透析后的血浆样品($n=3$)到新的96孔板中(样品接收板)。在样品中加入相应体积的对应空白血浆或PBS，使得每个

样品孔的终体积为100 μ L，血浆与PBS的体积比为1： 1。所有样品经过蛋白沉淀后进行LC-MS/MS分析。

[0367] 化合物的游离率(% Unbound)、结合率(% Bound)和回收率(% Recovery)的计算公式如下：

[0368] $\% \text{Unbound} = 100 \times F/T$

[0369] $\% \text{Bound} = 100 - \% \text{Unbound}$

[0370] $\% \text{Recovery} = 100 \times (F+T)/T_0$

[0371] 其中F是透析接收端化合物的浓度； T是透析供应端化合物的浓度； T0是零时刻血浆中化合物的浓度。

[0372] 实验结果如表4所示：

[0373] 表4本发明化合物的血浆蛋白结合率测试结果

化合物编号	Unbound PPB%(h,r,m,d,c)
化合物 1	5.1/ 7.1/ 4.7/ 4.6/ 7.2
化合物 3	10.9/ 9.7/ 8.7/ 20.3/ 13.4
化合物 5	23.1/16.6 /14.1/27.8/15.9
化合物 7	0.4 / 0.3 / 0.3 / 0.6 / 1.2
化合物 9	0.3/ 0.2/ 0.2/ 0.4/ 0.4

[0374] 实验结论： 本发明化合物具有合适的血浆蛋白结合率。

[0375] 实验例5： 渗透性评价

[0376] 实验目的：

[0377] 本研究的目的是在MDR1-MDCK I细胞中进行化合物的P-gp底物评估研究。

[0378] 实验材料：

[0379] MDR1-MDCK I 细胞系。

[0380] 实验操作：

[0381] 转运实验： 供试品、纳多洛尔和美托洛尔的给药浓度为2.00 μ M，地高辛的给药浓度为10.0 μ M，双向(A-B和B-A方向)给药，每个给药浓度做二个平行。将给药液、接收液和转运缓冲液置于37.0℃水浴锅中预孵育30分钟。细胞层用转运缓冲液润洗两遍。将给药液和接收液分别加入到对应的细胞板孔位(每个顶端和

基底端孔分别加样75.0和250 μL)。加样后,将细胞板置于37.0℃,5.0% CO₂和饱和湿度的培养箱中孵育90分钟。取起始给药液作为T0样品。孵育90分钟后,每孔收集样品,分别标记为A-B接收端、B-A接收端、A-B给药端以及B-A给药端。收集样品后,将所有样品与适量体积转运缓冲液和终止液混合。所有的样品漩涡震荡后于3220 × g, 20.0℃离心10分钟,转移适量体积的上清液到样品分析板,封板后样品若不立即分析则储存于2.0-8.0℃。采用LC-MS/MS的方法进行分析。

- [0382] 细胞膜完整性测试: 转运实验结束后,采用荧光黄检测实验(Lucifer Yellow Rejection Assay)检测MDR1-MDCK II细胞层的完整性。除去顶端和基底端孔内剩余的溶液,分别在顶端孔加入75.0 μL含100 μM荧光黄的转运缓冲液,在基底端孔中加入250 μL转运缓冲液,将细胞板在37.0℃,5.0% CO₂及饱和湿度条件下的细胞培养箱中孵育30分钟,然后从顶端取20.0 μL样品与60.0 μL转运缓冲液混合,从基底端取80.0 μL样品,用酶标仪在425/528nm(激发/发射)波谱处检测其相对荧光强度(relative fluorescence unit, RFU)。
- [0383] 本研究中化合物和对照化合物纳多洛尔、美托洛尔以及地高辛的样品分析采用LC-MS/MS方法进行。分析物和内标的保留时间、色谱图采集和色谱图的积分采用软件Analyst(Sciex, Framingham, MA, USA)进行处理。样品分析不含标准曲线和质控样品,使用分析物峰面积与内标峰面积的比值进行半定量测定。
- [0384] 采用如下公式计算表观渗透系数(P_{app} , cm/s)、外排率(efflux ratio, ER)、以及回收率(溶液回收率(%))(% Solution Recovery)。

$$P_{app} = \frac{V_R}{Area \times Time} \times \frac{[drug]_{receiver}}{[drug]_{initial, donor}} = \frac{V_R}{Area \times Time} \times \frac{C_R}{C_0}$$

$$Efflux\ Ratio = \frac{P_{app}(B-A)}{P_{app}(A-B)}$$

$$\%Solution\ Recovery = \frac{C_R \times V_R + C_D \times V_D}{C_0 \times V_D} \times 100$$

- [0385] VR是接收端溶液的体积(A面为0.0750mL, B面为0.250mL); Area是细胞单层的表面积(0.143cm²); Time是孵育时间(5400s); C0是给药端化合物或对照化合物的起始峰面积比值; VD是给药端的体积(A面为0.0750mL, B面为0.250mL); CD

和CR分别为给药端和接收端化合物或对照化合物的峰面积比值。荧光黄透率(% Lucifer Yellow)用如下公式计算:

$$\%Lucifer\ Yellow=\frac{V_{Basolateral}\times RFU_{Basolateral}}{V_{Apical}\times RFU_{Apical}+V_{Basolateral}\times RFU_{Basolateral}}\times 100$$

[0386] RFU_{Apical}和RFU_{Basolateral}分别是荧光黄在顶端和基底端的相对荧光强度。V_{Apical}与V_{Basolateral}分别是顶端和基底端的上样体积(分别为0.0750和0.250mL)。

[0387] 实验结果如表5所示:

[0388] 表5本发明化合物的渗透性测试结果

化合物编号	HMDR1 Papp(10 ⁻⁶ cm/s)A to B, B to A, ER
化合物 1	3.64, 18.3, 5.04
化合物 3	7.52, 31.2, 4.15
化合物 5	12.4, 42.4, 3.41

[0389] 实验结论: 本发明化合物具有良好的渗透性质。

[0390] 实验例6: 溶解度评价

[0391] 实验目的:

[0392] 本实验目的是采用直接紫外法, 测定化合物在室温条件下于50mM磷酸缓冲溶液pH(2.0、6.5、和7.4)中孵育24小时的动力学溶解度。

[0393] 实验操作:

[0394] 取10 μL测试化合物和对照化合物的DMSO储备液加入于96孔板中; 分别加入490 μL的测试介质于96孔板中, 封板, 涡旋2分钟。样品孵育浓度为200 μM, 其中, DMSO占比为2%。将96孔板至于摇板机上以800转/分钟的转速, 在室温条件下孵育24小时, 以达到溶解平衡。孵育结束后, 将样品放入离心机, 在25℃的条件下以4000转/分钟的转速离心10分钟。将离心完成的样品上清转移至过滤板, 4000转 /分钟的转速离心5分钟, 过滤得到滤液。滤液的浓度使用LC-UV线性定量分析(根据需要进行样品的稀释)。

[0395] 使用Empower软件获取和处理实验数据。通过绘制峰面积与它们在 μM中的浓度关系进行线性回归分析。

[0396] 实验结果如表6所示:

[0397] 表6本发明化合物的溶解度测试结果

化合物编号	KSY: pH(2.0/ 6.5/ 7.4)(μg/mL)
化合物 3	3.78/ 3.68/ 4.43
化合物 5	4.46/ 4.57/ 4.79
化合物 6	21.7/ 20.9/ 21.4

- [0398] 实验结论：本发明化合物具有合适的溶解度。
- [0399] 实验例7：肝微粒体稳定性评价
- [0400] 实验目的：
- [0401] 本研究的目的是评定供试品在CD-1小鼠、Sprague-Dawley(SD)大鼠、比格犬、食蟹猴和人肝微粒体中的一相代谢稳定性。
- [0402] 实验材料：
- [0403] 该测试体系所用到的动物和人肝微粒体购买自Xenotech、Corning或其他有资质的供应商。
- [0404] 实验操作：
- [0405] 缓冲液的配制：用4000mL的超纯水溶解73.21g三水磷酸氢二钾和10.78g磷酸二氢钾。使用10.0%磷酸或者1.00M氢氧化钾调整溶液pH值在 7.40 ± 0.10 之间，其终浓度为100mM。
- [0406] 工作液的配制：供试品粉末用DMSO配制成10.0mM的储备液，然后用合适的有机溶剂进行进一步的稀释。对照化合物睾酮、双氯芬酸和普罗帕酮用DMSO配制成10.0mM的储备液，然后用合适的有机溶剂进行进一步的稀释。
- [0407] 肝微粒体溶液的配制：用100mM磷酸钾盐缓冲液将各种属的微粒体稀释成0.56mg/mL的工作液。在反应体系中微粒体的终浓度为0.500mg/mL。详细的配制方案将在实验记录中进行描述。
- [0408] 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)溶液的配制：适量的还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸，溶于氯化镁溶液中，振荡混匀。在反应体系中终浓度分别为：1.00mM NADPH和1.00mM氯化镁。详细的配制方案将在实验记录中进行描述。
- [0409] 终止液的配制：终止液用含有内标(甲苯磺丁脲和拉贝洛尔)的乙腈来配制。配制好的终止液储存于2.0-8.0℃冰箱。详细的配制方案将在实验记录中进行描述。

- [0410] 孵育过程：准备2块96孔孵育板，分别命名为T60孵育板和NCF60孵育板。在T60孵育板和NCF60孵育板上分别加入445 μ L微粒体工作液(肝微粒体蛋白浓度为0.56mg/mL)，然后将上述孵育板在37℃预孵育大约10分钟。预孵育结束后，在T60孵育板和NCF60孵育板上分别加入5 μ L供试品或对照化合物工作液，混匀。在NCF60孵育板上每孔添加50 μ L磷酸钾盐缓冲液启动反应；在T0终止板中加入180 μ L的终止液(含250nM tolbutamide和250nM labetalol的乙腈溶液)和6 μ L的NADPH工作液，从T60孵育板中取出54 μ L样品至T0终止板(T0样品产生)。在T60孵育板上每孔添加44 μ L NADPH工作液启动反应。在Blank板中只添加54 μ L微粒体工作液、6 μ L的NADPH工作液和180 μ L的终止液。因此，在供试品或对照化合物的样品中，化合物、睾酮、双氯芬酸和普罗帕酮的反应终浓度为1 μ M，肝微粒体的浓度为0.5mg/mL，DMSO和乙腈在反应体系中的终浓度分别为0.01 % (v/v)和0.99 % (v/v)。孵育适当时间(如5、15、30、45和60分钟)后，分别在每个终止板的样品孔中加入180 μ L的终止液(含250nM tolbutamide和250 nM labetalol的乙腈溶液)，之后从T60或NCF60孵育板中取出60 μ L样品以终止反应。所有样品板摇匀并在3220 $\times$ g离心20分钟，然后每孔取80 μ L上清液稀释到240 μ L纯水中用于液相色谱串联质谱分析。
- [0411] 数据分析：
- [0412] 本研究中化合物的样品分析采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)方法进行，不含标准曲线和质控样品。使用分析物峰面积与内标峰面积的比值进行半定量测定。分析物和内标的保留时间、色谱图采集和色谱图的积分采用软件Analyst(S ciex, Framingham, Massachusetts, USA)进行处理。
- [0413] 每个分析批中每种基质中的内标峰面积的CV应在20%之内。
- [0414] 最高浓度样品的峰高不超过 2.00×10^6 cps(使用API 4000或API 5500)或 4.00×10^7 cps(使用API 6500或API 6500Plus)。内标的峰高不超过 2.00×10^6 cps(使用API 4000或API 5500)或 4.00×10^7 cps(使用API 6500或API 6500Plus)。
- [0415] 通过下面公式中化合物与内标峰面积的比值转化成剩余率求得化合物和对照化合物的体外消除速率常数 k_e ：

剩余率(%)=

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

$$C_t=C_0 \times e^{-k_e \times t}$$

[0416] 当

$$C_t=\frac{1}{2}C_0$$

$$T_{1/2}=\frac{\text{Ln}2}{k_e}=\frac{0.693}{k_e}$$

[0417] 通过 k_e 计算体外肝微粒体固有清除率(CLint(mic))和肝固有清除率(CLint(liver))。

[0418] $CL_{int}(mic)=0.693/T_{1/2}/\text{微粒体蛋白含量(孵育时微粒体浓度mg/mL)}$

[0419] $CL_{int}(liver)=CL_{int}(mic) \times \text{肝脏中微粒体蛋白量(mg/g)} \times \text{肝重体重比}$

[0420] 根据充分搅拌模型(well-stirred model)，推算体内肝清除率(CL(liver))：

[0421] $CL(liver)=(CL_{int}(liver) \times f_u \times Q_h)/(CL_{int}(liver) \times f_u+Q_h)$

[0422] 默认 f_u (血液中的游离分数)等于1。

[0423] 实验结果如表7所示：

[0424] 表7本发明化合物的肝微粒体稳定性测试结果

化合物编号	MMS(h/ r/ m/ d/ c)CL _{int} (mL/min/kg)
化合物 1	30/ 193/ 220/ 16/ 130
化合物 3	19/123 /103 / <14/ 129
化合物 5	<8.6/<17/<38/<13.8/15.3

[0425] 实验结论：本发明化合物具有良好的肝微粒体稳定性。

[0426] 实验例8：药物药物相互作用评价

[0427] 实验目的：

[0428] 采用CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6和CYP3A的特异性探针底物用鸡尾酒法来评价化合物对人肝微粒体细胞色素P450同工酶(CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6和CYP3A)活性的抑制作用。

[0429] 实验材料：

[0430] 人肝微粒体，探针底物，阳性对照抑制剂和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸。

[0431] 实验操作：

[0432] 在反应板的相应孔中加入20 μ L底物溶液，空白孔中加入20 μ L磷酸钾缓冲液。

- [0433] 在相应的孔中加入2 μ L的供试品化合物和阳性对照工作液，在无抑制剂孔和空白孔中加入2 μ L溶剂。
- [0434] 配制人肝微粒体工作液，并在反应板各孔中加入158 μ L的人肝微粒体工作液。
- [0435] 反应板在37.0℃条件下预热10分钟。
- [0436] 加入20 μ L NADPH辅助因子工作液至反应板中，启动反应。
- [0437] 在37.0℃水浴中混合孵育10分钟后，加入400 μ L终止液到反应板终止反应。
- [0438] 样品板置于离心机，在4000rpm条件下离心20分钟。
- [0439] 取出上清液200 μ L并加入适当的100 μ L纯水稀释液，摇板至混合均匀。
- [0440] 采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)方法进行分析。
- [0441] 数据分析:
- [0442] 以剩余活性百分比为纵坐标，供试品浓度为横坐标，使用XL fit软件中三参数或四参数进行非线性回归分析，计算得到供试品的IC₅₀值。当XL fit软件拟合得到的IC₅₀大于最高给药浓度(50.0 μ M)或无法拟合得到IC₅₀时，则IC₅₀值标记为“>50.0 μ M”。
- [0443] 三参数方程:
- $$y = \frac{\max}{1 + \left(\frac{x}{IC_{50}}\right)^{-\text{hillslope}}}$$
- [0444] 四参数方程:
- $$y = \min + \frac{\max - \min}{1 + \left(\frac{x}{IC_{50}}\right)^{-\text{hillslope}}}$$
- [0445] max: 最大酶活性; min: 最小酶活性; x: 供试品或阳性对照抑制剂的浓度; y: 对应浓度下的酶活性; hillslope: 斜率; IC₅₀: 半抑制浓度; 当最小酶活性在± 10%内时使用四参数方程，否则使用三参数方程。实验结果如表8所示:
- [0446] 表8本发明化合物的药物药物相互作用测试结果

化合物编号	CYP(μM)1A2/2C9/2C19/2D6/3A4
化合物 1	>50 / 46 / 31 / 42 / 14
化合物 3	All>50
化合物 5	All>50
化合物 6	All>50

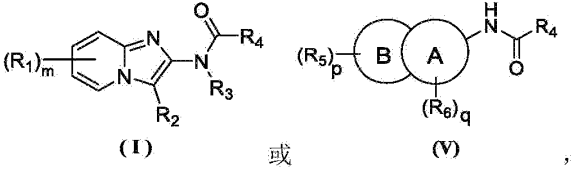
- [0447] 实验结论：本发明化合物具有较低的CYP抑制，药物药物相互作用风险低。
- [0448] 实验例9：hERG钾通道作用全自动膜片钳(Qpatch)测试
- [0449] 实验方法：
- [0450] CHO-hERG细胞培养于175cm²培养瓶中，待细胞密度生长到60~80%，移走培养液，用7mL PBS(磷酸盐缓冲液)洗一遍，然后加入3mL细胞解离试剂消化。待消化完全后加入7mL培养液中和，然后离心，吸走上清液，再加入5mL培养液重悬，以确保细胞密度为 $2\sim5\times10^6/\text{mL}$ 。
- [0451] 将化合物母液用DMSO进行稀释，取10 μL 化合物母液加入至20 μL DMSO溶液中，3倍连续稀释至6个DMSO浓度。分别取4 μL 6个DMSO浓度的化合物，加入至396 μL 的细胞外液中，100倍稀释至6个中间浓度，再分别取80 μL 的6个中间浓度化合物，加入至320 μL 的细胞外液中，5倍稀释至需要测试的最终浓度。最高测试浓度为40.00 μM ，依次分别为40.00，13.33，4.44，1.48，0.49，0.16 μM 共6个浓度。最终测试浓度中的DMSO含量不超过0.2%，此浓度的DMSO对hERG钾通道没有影响。化合物准备由Bravo仪器完成整个稀释过程。
- [0452] 记录电生理过程，单细胞高阻抗封接和全细胞模式形成过程全部由Qpatch仪器自动完成，在获得全细胞记录模式后，细胞钳制在-80毫伏，在给予一个5秒的+40毫伏去极化刺激前，先给予一个50毫秒的-50毫伏前置电压，然后复极化到-50毫伏维持5秒，再回到-80毫伏。每15秒施加此电压刺激，记录2分钟后给予细胞外液记录5分钟，然后开始给药过程，化合物浓度从最低测试浓度开始，每个测试浓度给予2.5分钟。每个浓度至少测试3个细胞($n\geq3$)。
- [0453] 数据分析：
- [0454] 实验数据由GraphPad Prism 5.0软件进行分析，结果见表9。
- [0455] 表9本发明化合物对hERG钾通道的IC₅₀值测试结果

化合物编号	IC ₅₀ (μM)
化合物 1	>40
化合物 3	>40

- [0456] 实验结论：本发明化合物对hERG钾通道没有明显的抑制效果，其心脏毒性风险低。

权利要求书

[权利要求 1] 式(I)或(V)所示化合物或其药学上可接受的盐，



其中，

环A选自9-10元双环杂芳基；

环B与环A并环，环B选自C₄₋₇环烷基、C₄₋₇环烯基、4-7元杂环烷基和4-7元杂环烯基；

各R₁分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CF₃、C₂₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、C₃₋₇环烷基和4-7元杂环烷基，所述C₂₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、C₃₋₇环烷基和4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2或3个R_a取代；

R₂选自环丁基、C₅₋₈桥环环烷基、C₅₋₈螺环环烷基、苯基、5-6元杂芳基、4-7元杂环烷基和C₅₋₈环烯基，所述环丁基、C₅₋₈桥环环烷基、C₅₋₈螺环环烷基、苯基、5-6元杂芳基、4-7元杂环烷基和C₅₋₈环烯基分别独立地任选被1、2或3个R_b取代；

R₃选自H和-C(O)C₁₋₄烷基；

R₄选自C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、-CH₂-C₃₋₇环烷基、-CH₂-4-7元杂环烷基，所述C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、-CH₂-C₃₋₇环烷基、-CH₂-4-7元杂环烷基分别独立地任选被1、2、3、4或5个R_c取代；

各R₅分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、=O、C₁₋₄烷基和C₁₋₄烷氧基，所述C₁₋₄烷基和C₁₋₄烷氧基分别独立地任选被1、2或3个卤素取代；

各R₆分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、CN、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、C₃₋₇环烷基、3-7元杂环烷基和苯基，所述C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基

基、C₃₋₇环烷基、4-7元杂环烷基和苯基分别独立地任选被1、2或3个R_{6a}取代；

各R_a和R_c分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、CH₃和CF₃；

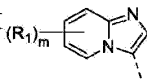
各R_b分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、=O、OH、NH₂、CN、C₁₋₄烷基和C₁₋₄烷氧基，所述C₁₋₄烷基和C₁₋₃烷氧基分别独立地任选被1、2或3个F取代；

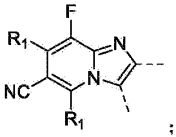
各R_{6a}分别独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、C₁₋₄烷基和C₁₋₄烷氧基，所述C₁₋₄烷基和C₁₋₄烷氧基分别独立地任选被1、2、3、4或5个F取代；

m选自1、2、3和4；

p和q分别独立地选自1、2和3；

条件是，

1)当R₂选自苯基和5-6元杂芳基，所述苯基和5-6元杂芳基分别独立地任选被1、2或3个R_b取代时，结构片段选自

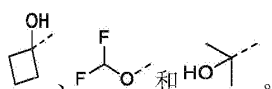


或者，

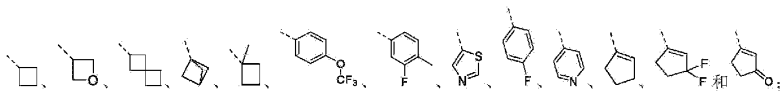
2)当R₂选自环丁基，所述环丁基任选被1、2或3个R_b取代时，m选自2、3和4。

- [权利要求 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，各R_a分别独立地选自H、F和OH。
- [权利要求 3] 根据权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐，其中，各R_b分别独立地选自H、F、=O、CH₃和OCF₃。
- [权利要求 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，各R_c分别独立地选自H、F和CH₃。

[权利要求 5] 根据权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 各 R_1 分别独立地选自H、F、Cl、OH、 NH_2 、CN、 CF_3 、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、OCH₃、OCH₂CH₃、OCH₂CH₂CH₃、OCH(CH₃)₂、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基, 所述 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、OCH₃、OCH₂CH₃、OCH₂CH₂CH₃、OCH(CH₃)₂、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁基和氮杂环丁基分别独立地任选被1、2或3个 R_4 取代; 或者, 各 R_1 分别独立地选自H、F、CN、 CF_3 、

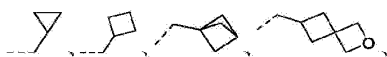


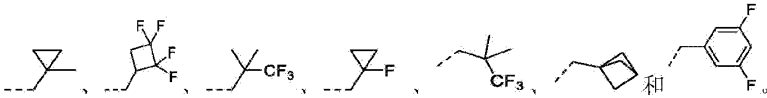
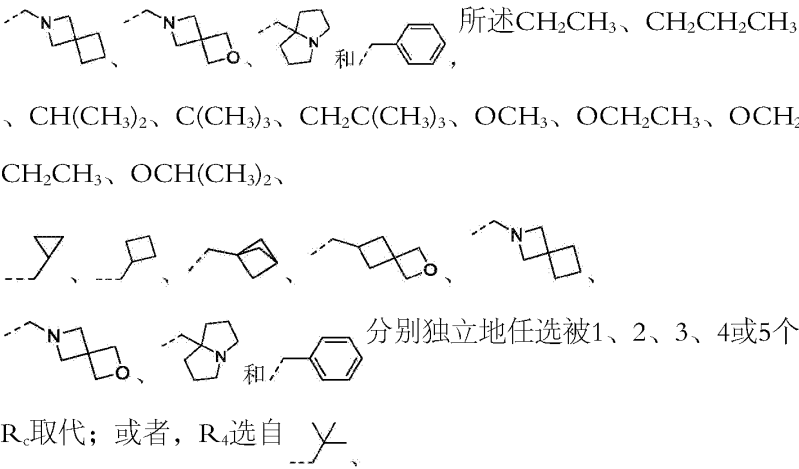
[权利要求 6] 根据权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_2 选自环丁基、螺[3.3]庚烷基、双环[1.1.1]戊烷基、苯基、吡唑基、噻唑基、吡啶基、氧杂环丁基、氮杂环丁基、哌啶基、哌嗪基、环戊烯基和环己烯基, 所述环丁基、螺[3.3]庚烷基、双环[1.1.1]戊烷基、苯基、吡唑基、噻唑基、吡啶基、氧杂环丁基、氮杂环丁基、哌啶基、哌嗪基、环戊烯基和环己烯基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代; 或者, R_2 选自



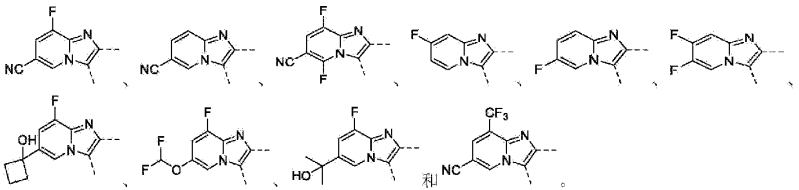
或者, R_2 为

[权利要求 7] 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_4 选自 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $C(CH_3)_3$ 、 $CH_2C(CH_3)_3$ 、OCH₃、OCH₂CH₃、OCH₂CH₂CH₃、OCH(CH₃)₂、

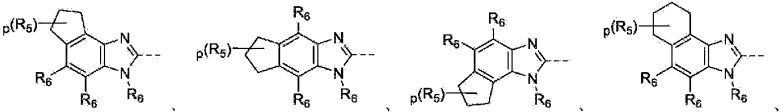


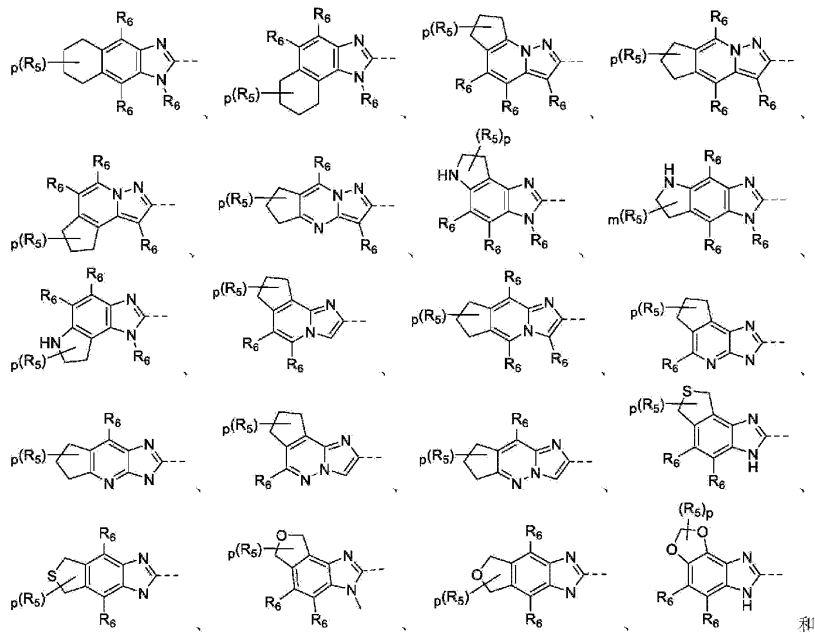


[权利要求 8] 根据权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐，其中，结构单元(R₁)_m选自

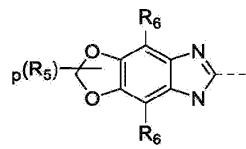


[权利要求 9] 根据权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐，其中，结构单元(R₅)_p选自

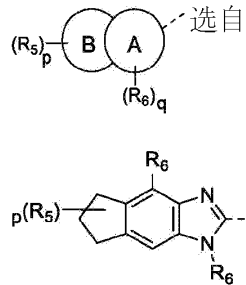




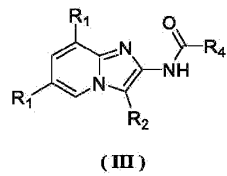
其中R₅、R₆和p如权利要求1所定义。



[权利要求 10] 根据权利要求9所述化合物或其药学上可接受的盐，结构单元



[权利要求 11] 根据权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐，其选自，

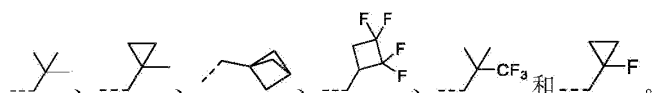


其中，

各 R_1 分别独立地选自H、F、CN、 CF_3 、、和；

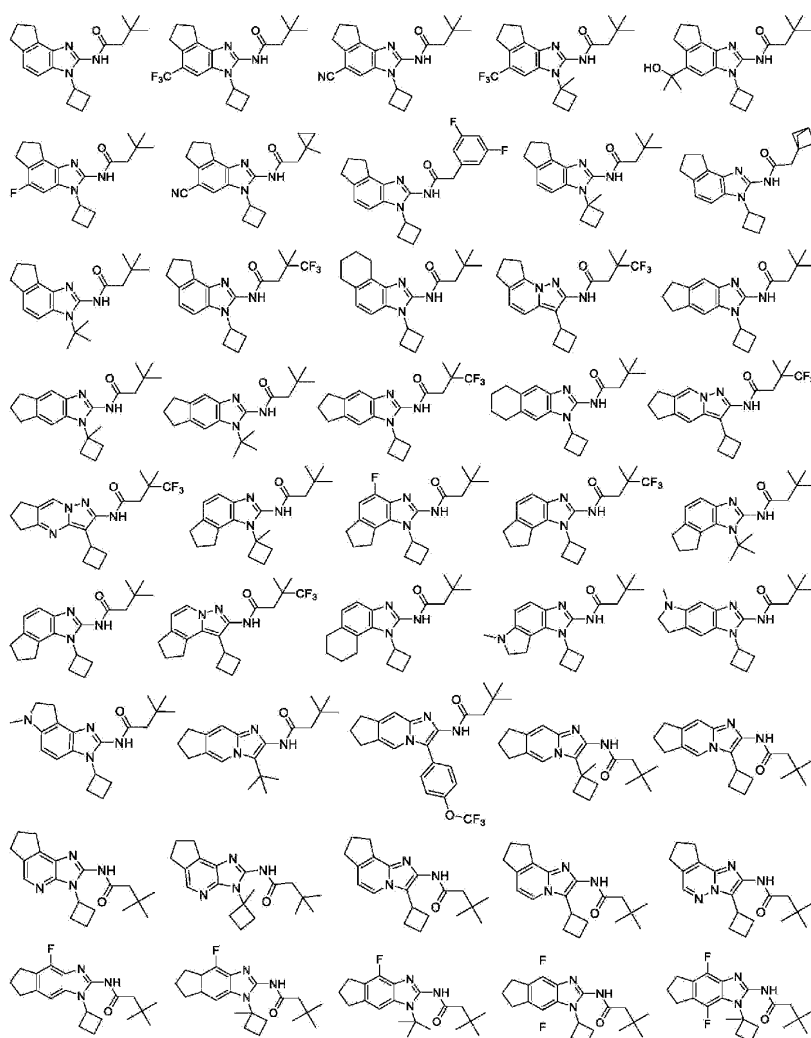
R_2 选自 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基、4-7元杂环烷基和 C_{5-8} 环烯基，所述 C_{5-8} 桥环环烷基、 C_{5-8} 螺环环烷基、4-7元杂环烷基和 C_{5-8} 环烯基分别独立地任选被1、2或3个 R_b 取代；

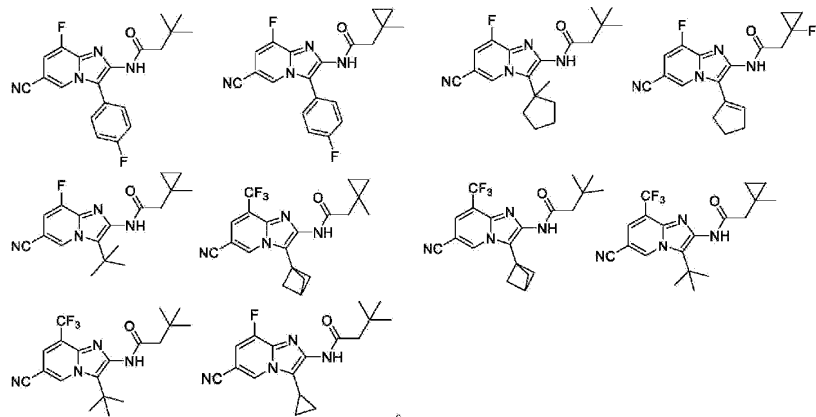
R_4 选自



[权利要求 12]

下列所示化合物或其药学上可接受的盐，





- [权利要求 13] 一种药物组合物，其含有治疗或预防有效量的权利要求1-12中任意一项所述化合物、其立体异构体及其药学上可接受的盐；进一步地，所述药物组合物还包括药学上可接受的辅料。
- [权利要求 14] 权利要求1~12任意一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、或权利要求13所述的药物组合物在制备治疗Kv7钾离子通道开放剂相关疾病的药物中的应用。
- [权利要求 15] 根据权利要求14所述的应用，其中，所述Kv7钾离子通道开放剂相关疾病选自癫痫、炎症性疼痛、神经性疼痛、偏头痛、抑郁、焦虑障碍、脑卒中、阿尔茨海默症、神经变性疾病、神经元兴奋过度状态、可卡因滥用引起的并发症、尼古丁戒断综合症、酒精戒断综合症或耳鸣。