

一类可用作 KCNQ 钾通道激动剂的新型化合物、其制备 方法和用途

技术领域

本发明属于药学领域，具体而言，涉及一类可用作钾离子通道激动剂的新型化合物，其制备方法，以及该化合物及其药学上可接受的盐或含有它们中任何一种的药物组合物在制备治疗神经系统疾病如癫痫、惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风以及神经退行性疾病的药物中的应用。

背景技术

癫痫 (epilepsy) 是一种大脑神经元突发性异常放电导致的神经功能失调综合征，表现为运动、感觉、意识、精神、植物神经等方面障碍，发病率近 1%，严重威胁人类生命与健康。癫痫发生的神经电生理基础是神经元过度同步放电，亦称为癫痫样放电。神经兴奋性失调是引发癫痫样放电的主要原因。中枢神经系统分布的钾、钠、钙离子通道的活动的平衡决定着神经元的兴奋性，如果这种平衡失调，可能会导致神经兴奋性异常进而导致癫痫发作。

钾离子通道在调节神经元的兴奋性方面发挥着重要的作用，其离子基础是胞内钾离子浓度高于胞外，膜电位去极化激活通道后，带正电荷的钾离子外流，膜电位因而变负（负极化甚或超极化），细胞兴奋性降低。近年来对癫痫遗传学的研究表明，钾离子通道异常可直接导致癫痫 (Wulff, H.等, Chem Rev **2008**, 108 (5), 1744-73.)，如良性新生儿家族性惊厥 (BFNC)。

电压门控离子通道 (VGICs) 是继蛋白激酶和 G 蛋白偶联受体后第三大类信号传导分子 (Harmar, A. J.等, Nucleic Acids Res **2009**, 37 (Database issue), D680-5.)，在其 78 个家族成员中，超过一半是钾离子通道，按其功能及结构特点，钾离子通道主要可以分为四大类：内向整流钾通道 (K_{ir})；双孔钾通道 (K_{2p})；钙激活钾通道 (K_{Ca}) 及电压门控钾通道 (K_V) (Wulff, H.等, Nat

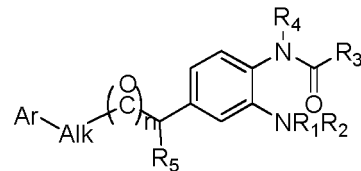
Rev Drug Discov **2009**, 8 (12), 982-1001.)。

电压门控钾通道 (K_v) 是钾通道超家族中的重要成员, 共有 12 个成员 ($K_v1.X-K_v12.X$)。其中 KCNQ 通道是电压门控钾通道的第 7 个成员 (K_v7)，它包括五个亚型, 分别命名为 KCNQ1 到 KCNQ5。与其它钾通道相比, KCNQ 通道激活阈值较低, 在动作电位阈值下 ($-60mV$) 即可打开, 并且其激活缓慢, 在持续去极化时也不失活, 这些特点使 KCNQ 通道在调节细胞兴奋性方面处于基础水平, 其开放可降低神经兴奋性, 而功能抑制则可引起神经细胞膜电位去极化, 兴奋性增强, 诱发更多的神经冲动。

基于 KCNQ 靶点的显著优点, 其激动剂被认为是治疗癫痫的有效药物。该类钾通道激动剂通过激活钾通道, 降低神经细胞兴奋性, 不仅可用于治疗癫痫, 也可用于其它神经兴奋性过高引起的疾病如惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风以及神经退行性疾病。

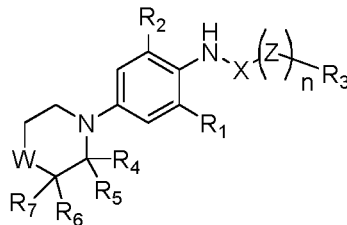
已报道的 KCNQ 激动剂主要有如下几种:

1) 专利 US5384330 中公开的具有如下结构的一些化合物。



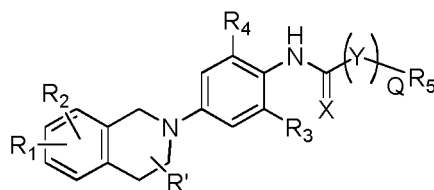
其结构特点是含有一个邻氮二取代苯环。

2) 专利 WO2005/087754 A1 中描述的如下结构的 KCNQ 激动剂。



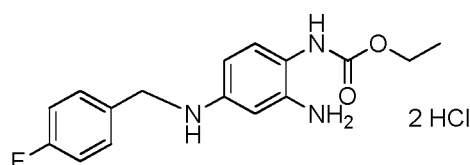
其结构特点是含有对二氮取代苯环, 且其中一个氮又在饱和环 (也可能是杂环, 此时 $W=O$) 中。而另外一个氮相邻位置有 R_1 , R_2 取代。

3) 专利 WO2008024398-B1 中描述了如下结构



此类化合物的结构与专利 WO2005/087754 结构相似,只是在饱和环上又增加了一个并环结构单元。

目前最有代表性的 KCNQ 激动剂是 GSK(葛兰素史克)开发的已上市抗癫痫药 Retigabine (瑞替加宾), 结构如下:



Retigabine 是第一个系统研究的 KCNQ 激动剂, 其能够激活 KCNQ2-5, 主要用于部分发作型癫痫成人患者的治疗。Retigabine 吸收较快, 单次给药后约 1.5-2 小时便会达到最大血浆浓度。

Retigabine 的结构中含有一个富电子被三个氮所取代的苯环, 其中有两个氮原子处于邻位, 且一个氮原子以氨基的形式存在, 该结构特点导致 Retigabine 在合成及储存时容易氧化变质。此外, 本申请的发明人在研究 Retigabine 组织分布时发现, Retigabine 在小鼠的脑组织浓度不高, 这很可能影响了其药效最大程度的发挥。因此有必要开发活性更高、性质更加稳定、特别是更加利于脑组织浓度分布的钾通道激动剂, 用于开发治疗神经系统疾病如癫痫、惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风以及神经退行性疾病等的新型药物。

本申请的发明人研究发现, 当 Retigabine 分子中仲胺-NH-上的 N 原子进一步被取代时, 所得化合物不仅保持或增强了 Retigabine 的钾通道激动活性, 且与 Retigabine 相比具有更高的脑组织分布浓度, 因而具有更佳的治疗效果。

发明内容

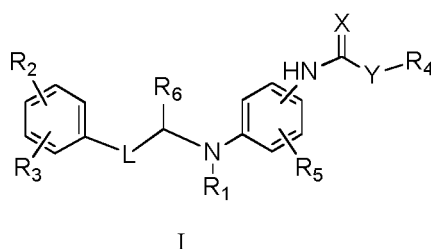
本发明的目的在于提供一类新型的化合物及其药学上可接受的盐, 所述化合物可作为 KCNQ 钾通道激动剂。

本发明的另一目的在于提供上述化合物的制备方法。

本发明的另一目的在于提供一类药物组合物，所述药物组合物包含作为有效成分的所述化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的辅料。

本发明的又一目的是提供上述化合物及其药学上可接受的盐或含有它们中任何一种的药物组合物在制备治疗神经系统疾病等的药物中的用途。

本发明所述的化合物具有以下通式 I 的结构：



其中：

L 是连接基团，为不存在，或选自 , , 或 , 它们均可任选地被 C₁-C₄ 烷基取代；

R₁ 选自：H，C₁-C₆ 烷基，可任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷氧基、C₁-C₄ 烷基羰基、卤素原子、C₆-C₁₀ 芳基或卤代 C₆-C₁₀ 芳基取代的 C₁-C₆ 烷基，C₃-C₆ 环烷基，C₁-C₆ 烷基羰基，C₁-C₆ 烷氧基羰基，C₁-C₆ 烷基胺基羰基，C₂-C₈ 链烯基，可任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷基羰基、C₁-C₄ 烷氧基、卤素原子、C₆-C₁₀ 芳基或卤代 C₆-C₁₀ 芳基取代的 C₂-C₈ 链烯基，C₅-C₇ 环烯基，C₂-C₈ 链炔基，可任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷基羰基、C₁-C₄ 烷氧基、卤素原子、C₆-C₁₀ 芳基或卤代 C₆-C₁₀ 芳基取代的 C₂-C₈ 链炔基或 C₆-C₁₀ 芳基；

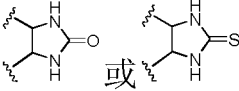
R₂ 选自卤素原子、C₁-C₄ 烷氧基；

R₃ 选自：H，卤素原子，三氟甲基，氰基，硝基，C₁-C₄ 烷基羰基、C₁-C₄ 烷氧基羰基；

X 为 O，S 或 NH；

Y 为不存在，O 或 NR₇，其中 R₇ 选自 H、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₂-C₆ 链炔基、C₃-C₈ 环烷基；

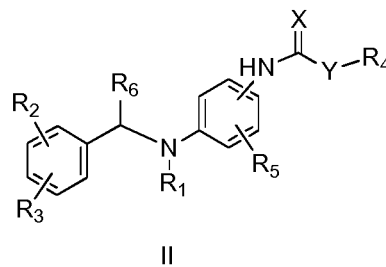
R₄ 选自：C₁-C₆ 烷基，C₂-C₆ 链烯基，C₂-C₆ 链炔基或 C₆-C₁₀ 芳基；

R_5 选自: H, 卤素原子, 氨基, C_1 - C_6 烷基, $\text{HN}=\text{C}(\text{X})\text{Y}-\text{R}_4$, 或 R_5 与其相邻的 $\text{HN}=\text{C}(\text{X})\text{Y}-\text{R}_4$ 一起形成  的并环结构;

R_6 为 H, C_1 - C_6 烷基, C_3 - C_6 环烷基;

上述取代基的定义中所述卤素原子或卤代基团中的卤素原子为 F、Cl 或 Br。

更优选的, 本发明所述的化合物具有如通式 II 所述结构:



其中:

R_1 选自: H, C_1 - C_6 烷基, 可任选被羟基、氨基、 C_1 - C_4 烷基羰基、卤素原子、 C_6 - C_{10} 芳基或卤代 C_6 - C_{10} 芳基取代的 C_1 - C_6 烷基, C_3 - C_6 环烷基, C_1 - C_6 烷基羰基, C_1 - C_6 烷氧基羰基, C_1 - C_6 烷基胺基羰基, C_2 - C_8 链烯基, 可任选被羟基、氨基、 C_1 - C_4 烷基羰基、 C_1 - C_4 烷氧基、卤素原子、 C_6 - C_{10} 芳基或卤代 C_6 - C_{10} 芳基取代的 C_2 - C_8 链烯基, C_5 - C_7 环烯基, C_2 - C_8 链炔基, 可任选被羟基、氨基、 C_1 - C_4 烷基羰基、 C_1 - C_4 烷氧基、卤素原子、 C_6 - C_{10} 芳基或卤代 C_6 - C_{10} 芳基取代的 C_2 - C_8 链炔基, 或 C_6 - C_{10} 芳基;

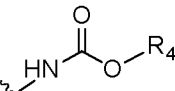
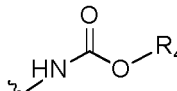
R_2 选自卤素原子、 C_1 - C_4 烷氧基;

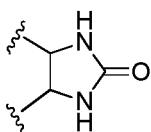
R_3 选自: H, 卤素原子, 三氟甲基, 硝基;

X 为 O;

Y 为不存在或 O;

R_4 选自: C_1 - C_6 烷基, C_2 - C_6 链烯基, C_2 - C_6 链炔基或 C_6 - C_{10} 芳基;

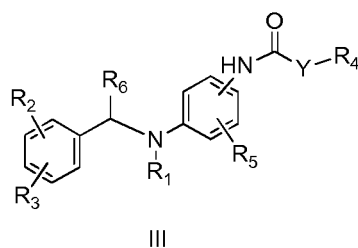
R_5 选自: H, 卤素原子, 氨基, , 或 R_5 与其相邻的 

一起形成  的并环结构;

R_6 为 H, C_1 - C_6 烷基, C_3 - C_6 环烷基;

上述取代基的定义中所述卤素原子或卤代基团中的卤素原子为 F、Cl 或 Br。

最优选的本发明所述的化合物具有如通式 III 的结构:



其中:

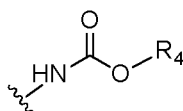
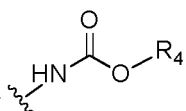
R_1 选自: H, C_1 - C_6 烷基, 任选被羟基、氨基、 C_1 - C_4 烷基羰基、卤素原子、苯基或卤代苯基取代的 C_1 - C_6 烷基, C_2 - C_8 链烯基, 任选被羟基、氨基、卤素原子、苯基或卤代苯基取代的 C_2 - C_8 链烯基, C_5 - C_7 环烯基, C_2 - C_8 链炔基, 任选被羟基、氨基、卤素原子、苯基或卤代苯基取代的 C_2 - C_8 链炔基;

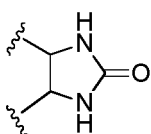
R_2 选自 F、Cl 或甲氧基;

R_3 选自: H, 卤素原子或三氟甲基;

Y 为不存在或 O;

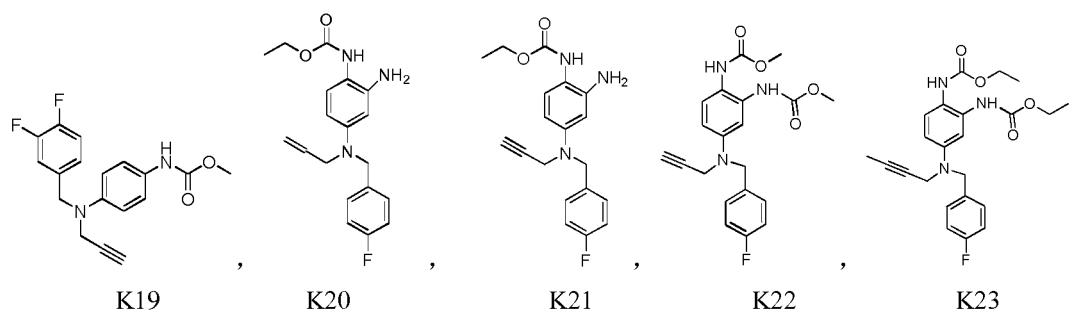
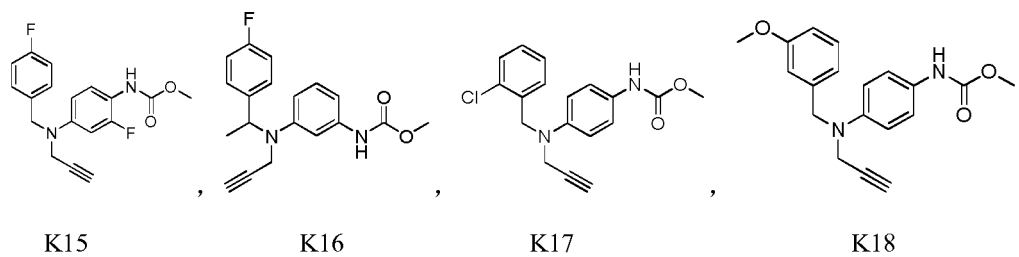
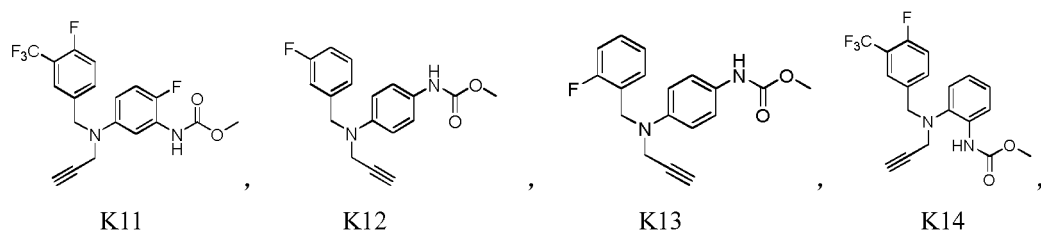
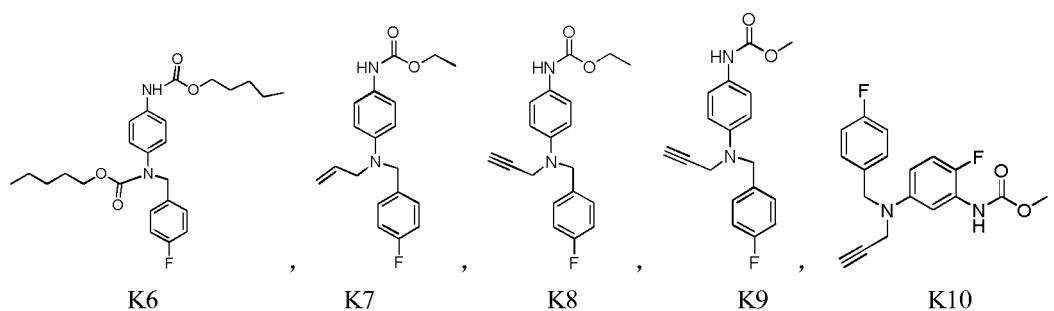
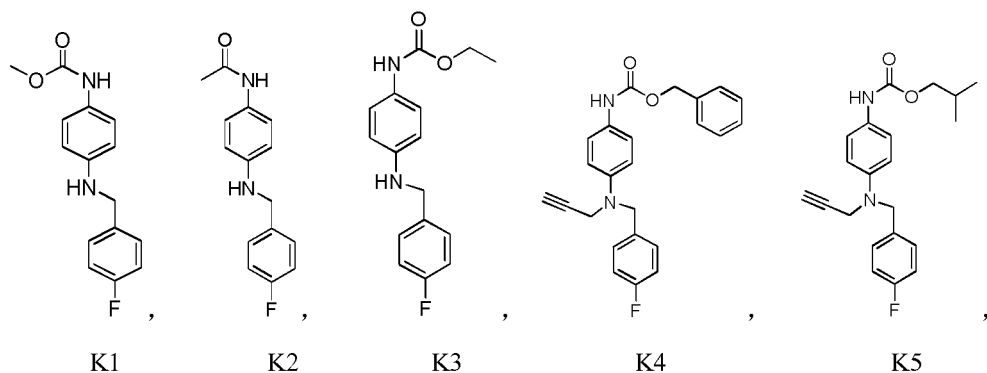
R_4 选自: C_1 - C_6 烷基, C_2 - C_6 链烯基, C_2 - C_6 链炔基或 C_6 - C_{10} 芳基;

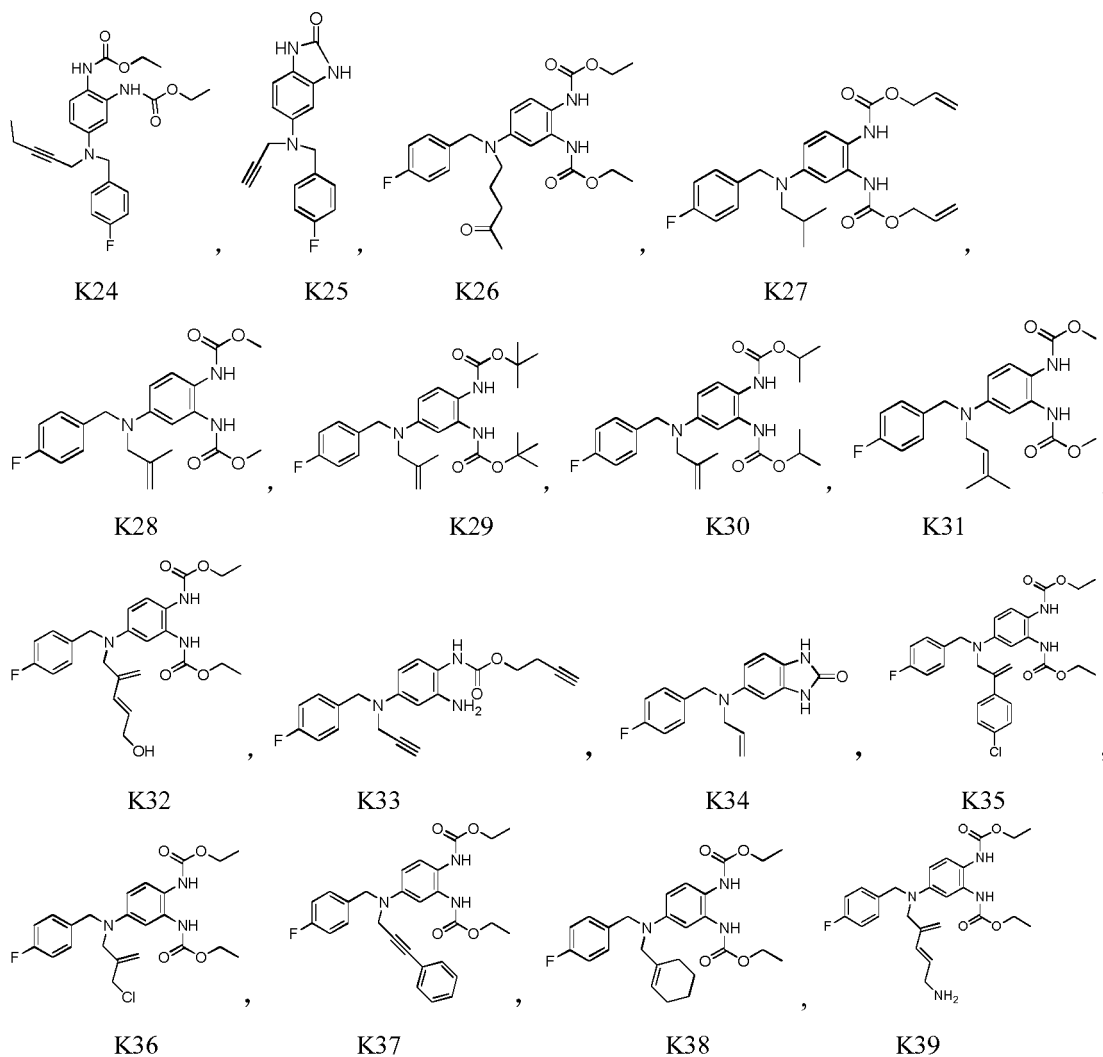
R_5 选自: H, 卤素原子, 氨基, , 或 R_5 与其相邻的 .

一起形成  的并环结构;

R_6 为 H, C_1 - C_6 烷基。

根据本发明最优选方案, 部分代表性优选化合物如下:



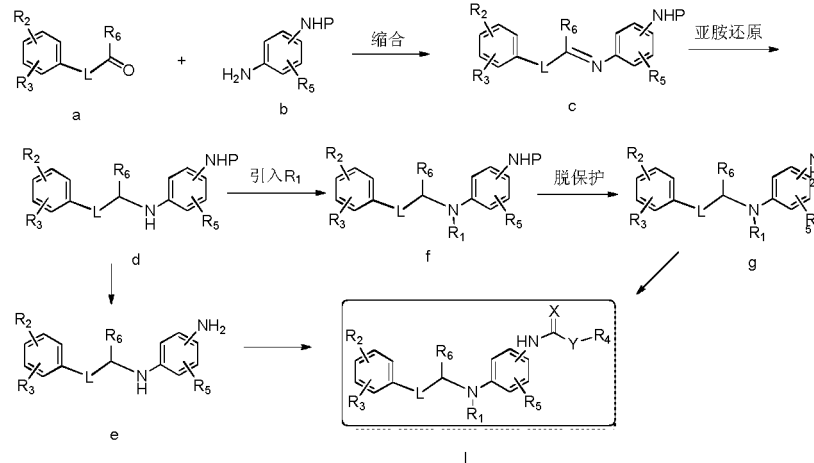


本发明中上述化合物或其药学上可接受的盐为上述化合物与酸形成的盐，所述酸选自为马来酸、琥珀酸、柠檬酸、酒石酸、富马酸、甲酸、乙酸、丙酸、丙二酸、草酸、苯甲酸、邻苯二甲酸、甲磺酸、苯磺酸、甲苯磺酸、萘磺酸、1,5-萘二磺酸、樟脑酸、樟脑磺酸、水杨酸、乙酰水杨酸、天门冬氨酸、谷氨酸、乳酸、葡萄糖酸、维 C 酸、没食子酸、杏仁酸、苹果酸、山梨酸、三氟乙酸、牛磺酸、高牛磺酸、2-羟基乙磺酸、肉桂酸、盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、磷酸或高氯酸。

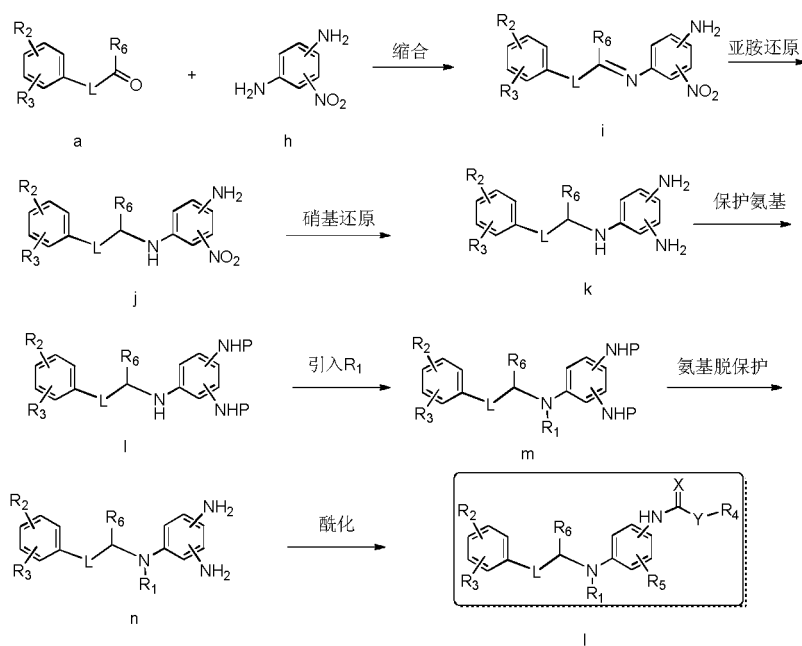
本发明的另一方面提供了上述化合物或其药学上可接受的盐的制备方法，主要有以下几种制备方法。其中 P 为任选氨基保护基，具体可参考《有机合成中的保护基》（华东理工大学有机化学教研组，华东理工大学出版社，2004）。

方法一:

羰基化合物 **a** 与苯胺 **b** 在弱酸如对甲苯磺酸催化下缩合得到亚胺 **c**，后者在还原剂如硼氢化钠作用下还原亚胺得仲胺 **d**。仲胺 **d** 通过与卤代烃的取代反应、 α,β -不饱和羰基化合物的加成反应、或者是酰化反应等手段引入取代基 R_1 得到中间体 **f**。利用本领域人员知晓的公知条件脱去中间体 **d** 或 **f** 中的氨基保护基 **P** 得到中间体胺 **e** 或 **g**，胺 **e** 或 **g** 再与酰化剂 $\text{Cl}-\overset{\text{X}}{\text{C}}=\text{Y}-\text{R}_4$ 反应得到如通式 I 所示化合物。

**方法一****方法二:**

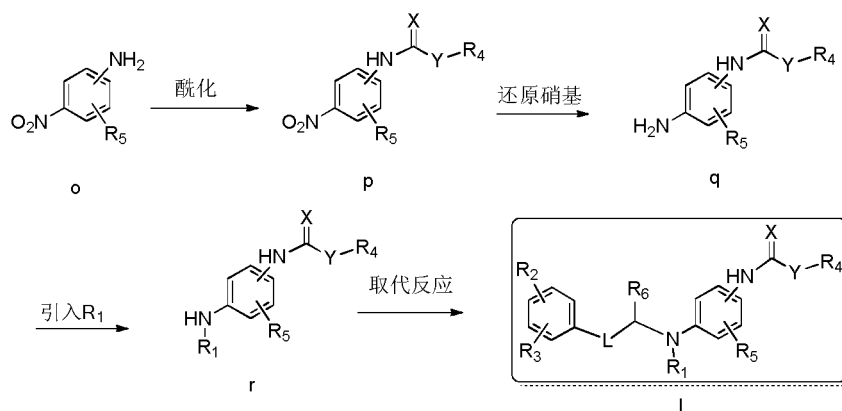
羰基化合物 **a** 与硝基取代的苯二胺类化合物 **h** 在弱酸如对甲苯磺酸催化下缩合得到亚胺 **i**，后者在还原剂如硼氢化钠作用下还原亚胺得到中间体胺 **j**。采用本领域人员熟知方法如 Pd-C 催化氢化或 SnCl_2 (氯化亚锡) 还原硝基后得二氨基中间体 **k**，通过引入两个氨基保护基 **P** 后得中间体 **l**，采用与方法一中相似的方法引入取代基 R_1 得中间体 **m**，再脱除保护基 **P** 后裸露两个氨基得中间体 **n**，再与酰化剂 $\text{Cl}-\overset{\text{X}}{\text{C}}=\text{Y}-\text{R}_4$ 作用得到如通式 I 所示化合物。



方法二

方法三:

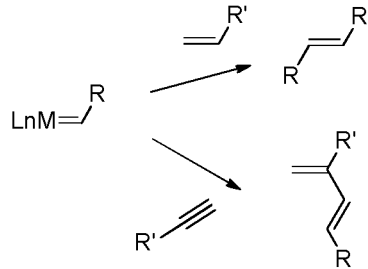
酰化剂 $\text{Cl}-\text{C}(=\text{X})-\text{Y}-\text{R}_4$ 与硝基取代的苯胺类化合物 **o** 反应得中间体 **p**, 还原硝基后的氨基化合物 **q**, 采用前述方法引入取代基 R_1 得中间体 **r**, 中间体 **r** 进一步通过与卤代烃 $\text{R}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{L}-\text{CH}(\text{R}_6)-\text{Cl}$ 或 $\text{R}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{L}-\text{CH}(\text{R}_6)-\text{Br}$ 发生取代反应得到如通式 **I** 所示化合物。



方法三

方法四：

当通式 I 所示化合物中的取代基 R_1 为链烯基或链炔基时，还可进一步通过烯烃复分解反应（Olefin metathesis）得到其它如通式 I 所示的本发明所述化合物。所述常规烯烃复分解反应为金属钨卡宾配合物（Grubbs 催化剂）催化下烯烃与烯烃或烯烃与炔烃之间的重组反应，反应通式如下：

**方法五：化合物盐的合成**

本发明所述的如通式 I 所示化合物还可转化为其药学上可接受的盐如盐酸盐等，一般方法是将相应的酸的溶液加入到上述化合物的溶液中，成盐完全后减压除去溶剂即得本发明所述化合物的相应的盐。

本发明的又一方面提供了上述化合物及其药学上可接受的盐或含有它们中任何一种的药物组合物作为 KCNQ 钾通道激动剂的用途，特别是在制备治疗神经系统疾病等的药物中的用途。

本发明的又一方面提供了一种药物组合物，所述药物组合物包含治疗有效量的作为有效成分的所述化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的辅料。

本发明的再一方面提供了一种治疗神经系统疾病的方法，其包括向需要该治疗的患者给药治疗有效量的上述化合物及其药学上可接受的盐或含有它们中任何一种的药物组合物。

所述神经系统疾病包括癫痫、惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风以及神经退行性疾病。

有益效果

本发明中描述的新型化合物相对于现有药物瑞替加宾(Retigabine)，其性质更加稳定，不易氧化变质。

同时，本发明所提供的化合物不仅保持了 Retigabine 的钾通道激动活性，且体内抗癫痫效应显著，具有更高的脑组织分布浓度，因而具有更佳的治疗效果。

具体实施方式

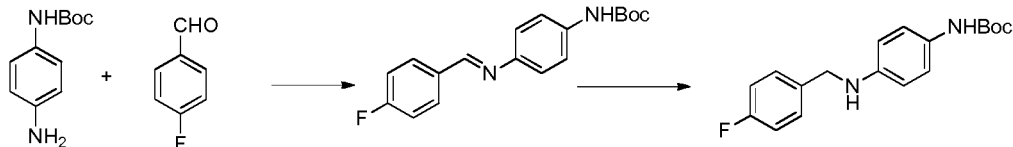
下面结合具体实施例对本发明做进一步阐述，但本发明不局限于这些实施例。

一、化合物的制备实施例

下述制备实施例中，NMR 用 Varian 生产的 Mercury-Vx 300M 仪器测定，NMR 定标： δ H 7.26 ppm(CDCl_3)，2.50 ppm(DMSO-d_6)，3.15 ppm(CD_3OD)；试剂主要由上海化学试剂公司提供；TLC 薄层层析硅胶板由山东烟台会友硅胶开发有限公司生产，型号 HSGF 254；化合物纯化使用的正相柱层析硅胶为山东青岛海洋化工厂分厂生产，型号 zcx-11，200-300 目。

制备实施例 1：4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺甲酸甲酯 (K1) 的合成

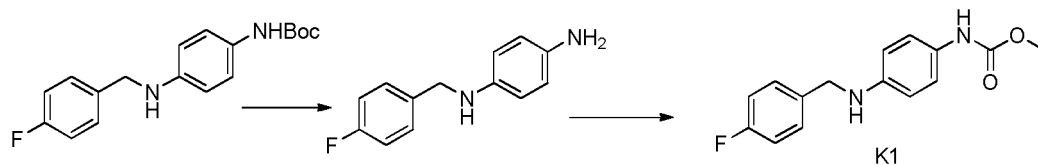
1.1、4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯的合成



将单 Boc-对苯二胺(2.57g, 0.0123mol)和对甲苯磺酸(62mg, 0.32mmol)加入甲苯(50mL)中，然后再加入对氟苯甲醛(1.68g, 0.0135mol)，加热共沸除水 12 小时，趁热过滤，滤液冷却后固体析出，过滤干燥后得粗产物，直接进行下一步反应。

上述粗产物(3.5g, 11.1mmol)溶于二氧六环/MeOH(30mL，二氧六环/甲醇的体积比为 4:1)中，分批加入 NaBH_4 (697mg, 0.018mol)，室温搅拌直至反应完全。加水淬灭，EtOAc 萃取(15mL×3 次)，有机相用饱和食盐水洗涤，无水 Na_2SO_4 干燥，浓缩后得产物 4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯(3.5g)。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): δ 7.31(t, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.14(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.01(t, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.56(d, $J=9.0\text{Hz}$, 2H), 6.22(s, 1H), 4.27(s, 2H), 1.50(s, 9H)。

1.2、4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺甲酸甲酯 (K1) 的合成



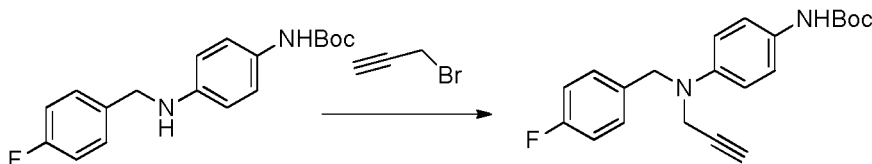
将上步得到的 4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯 (100mg, 0.32mmol) 溶于 CH_2Cl_2 (2mL) 中, 加入三氟醋酸 (TFA, 1.5mL), 室温搅拌 1h 后, 浓缩, 所得化合物溶于二氧六环 (10mL) 中, 加入二异丙基乙胺 (120mg, 1.18mmol), 0°C 下缓慢滴加入氯甲酸甲酯 (45mg, 0.49mmol), 室温搅拌 1h, 加水稀释, EtOAc 萃取 (10mL $\times$ 3 次), 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 浓缩过柱 (PE/EtOAc=4:1) 得产物 4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺甲酸甲酯 (K1)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7.13-7.26(m, 4H), 6.87-6.96(m, 4H), 6.61(s, 1H), 4.26(s, 2H), 3.77(s, 3H)。

采用与制备实施例 1 相似的操作, 制得下列化合物:

化合物	结构式	^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) 数据, δ
K2		7.69(d, $J=7.8\text{Hz}$, 2H), 7.40-7.46(m, 6H), 7.24-7.34(m, 4H), 6.85-6.91(m, 4H), 6.61(s, 1H), 4.73(s, 2H), 4.38(s, 2H), 4.04-4.13(m, 1H), 1.52(s, 9H)
K3		7.29(t, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.03(t, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 6.95(d, $J=6.6\text{Hz}$, 2H), 6.88(d, $J=6.9\text{Hz}$, 2H), 4.55(s, 2H), 4.03(s, 2H), 2.59(q, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 2.25(s, 1H), 1.10(t, $J=7.5\text{Hz}$, 3H)

制备实施例 2: 4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯 (K9) 的合成

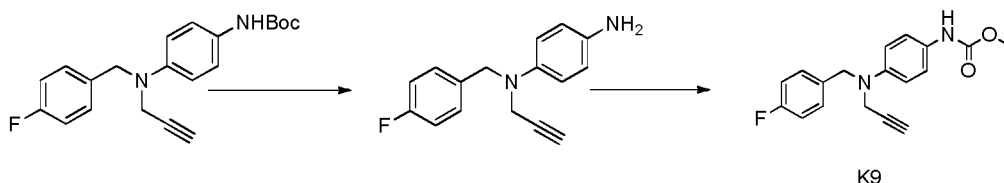
2.1、4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯的合成



将化合物 4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯 (316mg, 1mmol) 溶于 DMF (N,N-二甲基甲酰胺) (5mL) 中, 滴加入炔丙基溴 (178mg, 1.5mmol) 以及二异丙基乙胺 ($i\text{-Pr}_2\text{NEt}$) (258mg, 2mmol), 80°C 下搅拌 2h, 冷却, 加水稀释, EtOAc 萃取 (10mL $\times$ 3 次), 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4

干燥，浓缩过柱（PE/EtOAc 的体积比=8:1）得产物 4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯（330mg，93.2%）。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.21-7.30(m, 4H), 7.00(t, *J*=8.4Hz, 2H), 6.86(d, *J*=9.0Hz, 2H), 6.32(s, 1H), 4.42(s, 2H), 3.92(d, *J*=2.4Hz, 2H), 2.20(t, *J*=2.4Hz, 1H), 1.50(s, 9H)。

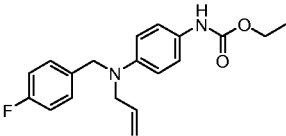
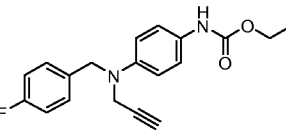
2.2、4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯的合成



将上步得到的 4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯（100mg，0.282mmol）溶于 CH₂Cl₂（2mL）中，加入三氟醋酸（TFA，1.5mL），室温搅拌 1h 后，浓缩，所得化合物溶于二氧六环（10mL）中，加入二异丙基乙胺（109mg，0.846mmol），0°C 下缓慢滴加入氯甲酸甲酯（40mg，0.423mmol），室温搅拌 1h，加水稀释，EtOAc 萃取（10mL×3 次），有机相用饱和食盐水洗涤，无水 Na₂SO₄ 干燥，浓缩过柱（PE/EtOAc=4:1）得产物 4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯（K9）（78mg，88.6%）。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.23-7.28(m, 4H), 6.99(t, *J*=8.4Hz, 2H), 6.83(d, *J*=8.7Hz, 2H), 4.41(s, 2H), 3.91(s, 2H), 3.72(s, 3H), 2.22(s, 1H)。

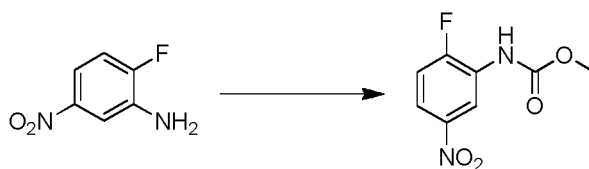
采用与制备实施例 2 相似的方法，制得下列化合物：

化合物	结构式	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300 MHz)数据, δ
K4		7.35-7.39(m, 4H), 7.25-7.30(m, 5H), 7.03(d, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 6.85(d, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 5.18(s, 2H), 4.44(s, 2H), 3.94(s, 2H), 2.22(s, 1H)
K5		7.23-7.29(m, 4H), 6.99(t, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 6.83(d, <i>J</i> =9.3Hz, 2H), 6.67(s, 1H), 4.42(s, 2H), 3.93(s, 2H), 3.91(d, <i>J</i> =4.2Hz, 2H), 2.21(s, 1H), 1.92-1.97(m, 1H), 0.94(d, <i>J</i> =6.6Hz, 6H)
K6		7.30(d, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 7.16(t, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 6.97(d, <i>J</i> =8.4Hz, 3H), 6.74(s, 1H), 4.76(s, 2H), 4.07-4.16(m, 4H), 1.64-1.68(m, 2H), 1.53-1.56(m, 2H), 1.33-1.35(m, 4H), 1.23-1.27(m, 4H), 0.91(t, <i>J</i> =5.4Hz, 3H), 0.84(t, <i>J</i> =6.3Hz, 3H)

K7		7.15-7.23(m, 4H), 6.99(t, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.63(d, $J=9.0\text{Hz}$, 2H), 6.53(s, 1H), 5.80-5.89(m, 1H), 5.18(d, $J=1.5\text{Hz}$, 1H), 5.13(d, $J=3.3\text{Hz}$, 1H), 4.44(s, 2H), 4.18(q, $J=6.6\text{Hz}$, 2H), 3.93(d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 1.26(t, $J=6.6\text{Hz}$, 3H)
K8		7.23-7.29(m, 4H), 7.00(t, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 6.85(d, $J=9.0\text{Hz}$, 2H), 6.59(s, 1H), 4.42(s, 2H), 4.18(q, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 3.92(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 2.21(t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 1.28(t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H)

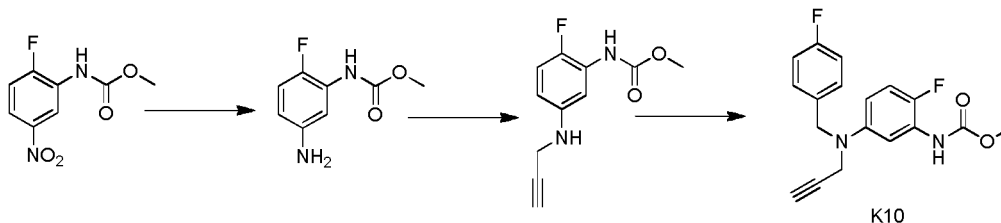
制备实施例 3: 2-氟-5-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯(K10)的合成

3.1、2-氟-5-硝基苯胺甲酸甲酯的合成



氮气保护下 2-氟-3-硝基苯胺 (156mg, 1mmol) 溶于干燥的 THF (5mL) 中, 冰浴冷却至 0°C, 加入氢化钠 (40mg, 60%, 1mmol), 升至室温下搅拌 60min, 降至 0°C, 加入氯甲酸甲酯 (85.2 μ L, 1.1mmol), 搅拌 10min 后, 加水 (10mL) 稀释, EtOAc (10mL $\times$ 3 次) 萃取, 合并有机相, 有机相饱和食盐水 (15mL $\times$ 3), 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 过柱 (PE/EtOAc = 10:1-5:1) 得产物 2-氟-5-硝基苯胺甲酸甲酯 (245mg, 84.5%)。

3.2、2-氟-5-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯 (K10) 的合成



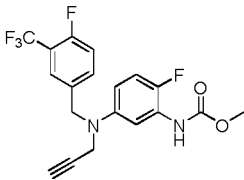
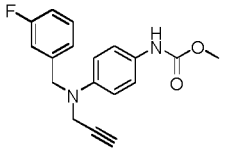
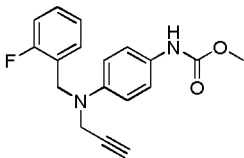
上步所得化合物 2-氟-5-硝基苯胺甲酸甲酯 (95mg, 0.443mmol) 溶于乙酸乙酯 (15mL) 中, N₂ 置换, 快速加入 Pd-C (10%, 5mg), H₂ 置换, 室温下反应 6h, 过滤, 浓缩后得无色油状物为化合物 2-氟-5-氨基苯胺甲酸甲酯 (72.5mg, 89.1%), 直接用于下步反应;

氮气保护下化合物 2-氟-5-氨基苯胺甲酸甲酯 (72.5mg, 0.39mmol) 溶于

干燥的 DMF (5mL) 中, 加入炔丙基溴 (44 μ L, 0.59mmol), DIPEA (140 μ L, 0.78mmol)。60°C 下搅拌 6 小时, 加水 (10mL) 稀释, EtOAc (10mL $\times$ 3 次) 萃取, 合并有机相, 有机相饱和食盐水 (15mL $\times$ 3), 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 过柱 (PE/EtOAc =6:1-4:1) 得产物 2-氟-5-(N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯 (70.1mg, 81%);

氮气保护下 2-氟-5-(N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯 (70mg, 0.32 mmol) 溶于干燥的 DMF (5mL) 中, 加入对氟溴苄 (81 μ L, 0.64mmol), 二异丙基乙基胺 (DIPEA) (115 μ L, 0.64mmol)。60°C 下搅拌 6 小时, 加水 (10mL) 稀释, EtOAc (10mL $\times$ 3 次) 萃取, 合并有机相, 有机相饱和食盐水 (15mL $\times$ 3), 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 过柱 (PE/EtOAc =6:1-4:1) 得产物 2-氟-5-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯(K10)(88.7mg, 84%)。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.79(s, 1H), 7.30(m, 2H), 7.01(m, 2H), 6.93(dd, J =9.9 Hz, J =9.0 Hz, 2H), 6.83(s, 1H), 6.51(m, 1H), 7.01(m, 2H), 4.44(s, 2H), 3.94(d, J =2.4 Hz, 2H), 3.79(s, 3H), 2.24(t, J =2.4 Hz, 1H)。

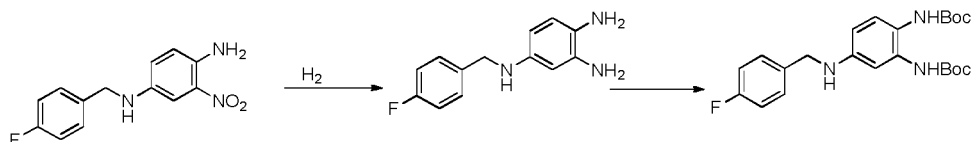
采用与制备实施例 3 相似的方法, 制得下列化合物:

化合物	结构式	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300 MHz)数据, δ
K11		7.80 (s, 1H), 7.59 (d, J =6.6Hz, 1H), 7.55 (m, 1H), 7.15 (t, J =8.1Hz, 2H), 6.95 (dd, J =9.0Hz, J =10.5 Hz, 2H), 6.84 (s, 1H), 6.48 (m, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.97 (d, J =2.4Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 2.27 (t, J =2.1Hz, 1H)
K12		7.31 (t, J =8.7 Hz, J =5.7 Hz, 1H), 7.25 (m, 2H), 7.10 (d, J =7.2 Hz, 2H), 7.04 (d, J =9.9 Hz, 1H), 6.95 (td, J =8.4 Hz, J =2.1 Hz, 1H), 6.81 (d, J =10.8 Hz, 2H), 6.57 (s, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.98 (d, J =2.1 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H)
K13		7.32 (t, J =8.7 Hz, J =7.5 Hz, 1H), 7.24 (m, 3H), 7.10 (d, J =7.2 Hz, 1H), 7.06 (d, J =9.9 Hz, 1H), 6.80 (d, J =5.7 Hz, 2H), 6.64 (s, 1H), 4.56 (s, 2H), 4.10 (d, J =2.4 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.25 (t, J =2.4, 1H)

K14		8.08 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.56 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.36 (dd, $J=6.6\text{Hz}$, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.19 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 7.12 (t, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 7.01 (td, $J=7.5\text{Hz}$, $J=1.5\text{Hz}$, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.59 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 2.36 (t, $J=2.1\text{Hz}$, 1H)
K15		7.80 (brs, 1H), 7.55 (d, $J=6.3\text{ Hz}$, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.17 (t, $J=9.6\text{ Hz}$, 1H), 6.64-6.59 (m, 2H), 6.53 (s, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.97 (d, $J=2.7\text{ Hz}$, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.26 (t, $J=2.7\text{ Hz}$, 1H)
K16		7.37-7.29(m, 2H), 7.25(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.06-6.93(m, 4H), 6.43(brs, 1H), 4.90(m, 1H), 3.78(d, $J=2.4\text{Hz}$, 2H), 3.75(s, 3H), 2.16(t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 1.54-1.47(m, 3H)
K17		7.41-7.30(m, 2H), 7.25-7.19(m, 4H), 6.46(brs, 1H), 4.59(s, 2H), 4.06(d, $J=2.4\text{Hz}$, 2H), 3.75(s, 3H), 2.25(t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H)
K18		7.26-7.22(m, 4H), 6.90-6.85(m, 4H), 6.48(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 6.43(brs, 1H), 4.42(s, 2H), 3.93(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 3.80(s, 3H), 3.75(s, 3H), 2.21(t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H)
K19		7.26(d, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 7.18-7.05(m, 3H), 6.85(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 6.47(brs, 1H), 4.42(s, 2H), 3.96(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 3.69(s, 3H), 2.23(t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H)

制备实施例 4: 2-氨基-4-(N-对氟苄基-N-烯丙基-胺基)-苯胺甲酸乙酯 (K20) 的合成

4.1、2-(叔丁氧基羰基胺基)-4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯的合成



按照与制备实施例 1 相似的操作, 以邻硝基对苯二胺和对氟苯甲醛为原料, 制得中间体 2-硝基-4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺。将 2-硝基-4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺 (2.61g, 0.01mol) 溶于 THF (30mL) 中, N_2 置换, 快速加入

Pd-C (10%, 261mg), H₂ 置换, 加氢反应过夜, 过滤, 浓缩得产物 2-氨基-4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺 (2.3g, 99.6%, 无色油状物, 产物不稳定, 极易被氧化变坏), 迅速用于下步反应。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.32(t, *J*=8.7Hz, 2H), 7.02(t, *J*=8.7Hz, 2H), 6.58(d, *J*=8.7Hz, 1H), 6.01-6.08(m, 2H), 4.22(s, 2H)。

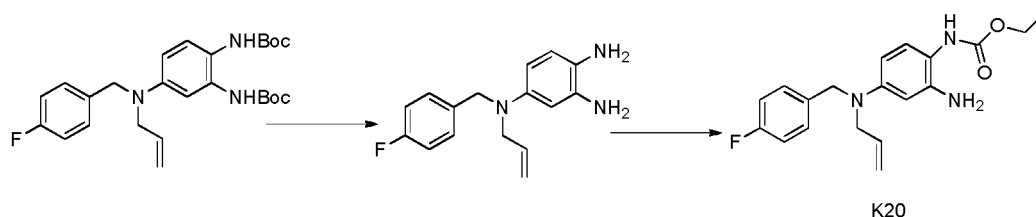
上步产物 2-氨基-4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺 (1g, 4.32mmol) 溶于 THF/H₂O(40mL, 1:1)中, 加入二叔丁氧基碳酸酐(Boc₂O)(2.83g, 12.96mmol) 以及碳酸氢钠(1.16g, 12.96mmol), 室温搅拌过夜。加水稀释, EtOAc(30mL×3 次) 萃取, 合并有机相, 有机相用无水 Na₂SO₄ 干燥, 减压旋除溶剂后硅胶柱层析纯化 (PE/EtOAc=5:1) 得中间体 2-(叔丁氧基羰基胺基)-4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯 (1.67g, 89.5%, 无色油状物)。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.28(t, *J*=8.7Hz, 2H), 7.00(t, *J*=8.7Hz, 3H), 6.89(s, 1H), 6.26(d, *J*=8.7Hz, 1H), 4.25(s, 2H), 1.48(s, 18H)。

4.2、2-(叔丁氧基羰基胺基)-4-(N-对氟苄基-N-烯丙基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯的合成



将中间体 2-(叔丁氧基羰基胺基)-4-(N-对氟苄基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯 (150mg, 0.348mmol) 溶于 DMF (5mL) 中, 滴加入烯丙基溴 (55mg, 0.452mmol) 以及 i-Pr₂NEt (99mg, 0.766mmol), 50°C 下搅拌 2h, 冷却, 加水 (10mL) 稀释, EtOAc (10mL×3 次) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥, 浓缩过柱 (PE/EtOAc=4:1) 得化合物 2-(叔丁氧基羰基胺基)-4-(N-对氟苄基-N-烯丙基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯 (143mg, 87.2%, 无色油状物)。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.18(t, *J*=6.9Hz, 2H), 6.90-7.06(m, 4H), 6.49(s, 1H), 6.48(d, *J*=8.7Hz, 1H), 5.79-5.88(m, 1H), 5.18(s, 1H), 5.13(s, 1H), 4.44(s, 2H), 3.92(d, *J*=3.6Hz, 2H), 1.49(s, 18H)。¹³C NMR(75 MHz, CDCl₃): δ 163.5, 160.3, 154.9, 153.5, 147.5, 134.4, 134.3, 133.4, 128.4, 128.3, 127.0, 116.7, 115.5, 115.2, 80.4, 53.4, 53.1, 28.3。

4.3、2-氨基-4-(N-对氟苄基-N-烯丙基-胺基)-苯胺甲酸乙酯 (K20) 的合成

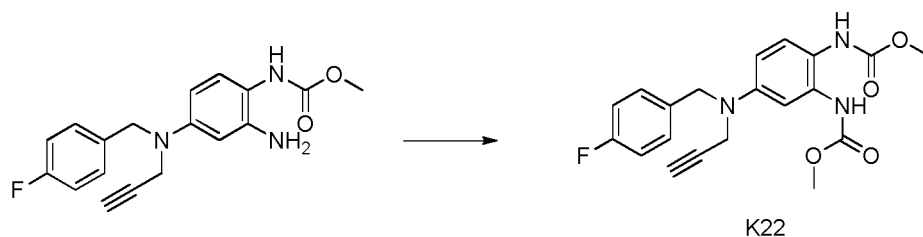


化合物 2-(叔丁氧基羰基胺基)-4-(N-对氟苄基-N-烯丙基-胺基)-苯胺甲酸叔丁酯 (80mg, 0.17mmol) 溶于 CH_2Cl_2 (0.2mL) 中, 加入 TFA (1mL), 室温搅拌 1h 后, 浓缩, 所得残余物溶于二氧六环 (10mL) 中, 加入 DIPEA (66mg, 0.51mmol), 0°C 下缓慢滴加入氯甲酸乙酯 (18mg, 0.17mmol) 的二氧六环 (2mL) 溶液, 室温搅拌 1h, 加水稀释, EtOAc (10mL $\times$ 3 次) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 浓缩过柱 (PE/EtOAc=4:1-2:1) 得产物 2-氨基-4-(N-对氟苄基-N-烯丙基-胺基)-苯胺甲酸乙酯 (K20) (28mg, 无色油状物)。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): δ 7.18(t, $J=8.1\text{Hz}$, 2H), 6.99(t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.91(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 6.12(d, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.06(d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 5.80-5.86(m, 1H), 5.19(s, 1H), 5.14(d, $J=3.0\text{Hz}$, 1H), 4.44(s, 2H), 4.20(q, $J=6.9\text{Hz}$, 2H), 3.91(d, $J=4.5\text{Hz}$, 2H), 3.59(brs, 2H), 1.28(t, $J=6.9\text{Hz}$, 3H)。

采用与制备实施例 4 相似的方法, 制得下列化合物:

化合物	结构式	^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz)数据, δ
K21		7.25(t, $J=8.1\text{Hz}$, 2H), 6.99(t, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.26-6.31(m, 3H), 4.44(s, 2H), 4.17(q, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 3.93(s, 2H), 2.22(s, 1H), 1.27(t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H)
K29		7.16 (dd, $J=7.5\text{ Hz}$, $J=5.7\text{ Hz}$, 2H), 7.06 (d, $J=8.7\text{ Hz}$, 1H), 6.98 (t, $J=8.4\text{ Hz}$, 2H), 6.91 (brs, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.37 (s, 1H), 6.37 (d, $J=8.7\text{ Hz}$, 2H), 4.87 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.83 (s, 2H), 1.72 (s, 3H), 1.48 (s, 18H)
K33		7.25(t, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.15(s, 1H), 7.01(t, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.40(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 4.46(s, 2H), 4.29(t, $J=4.5\text{Hz}$, 2H), 3.96(s, 2H), 3.67(s, 8H), 3.80(t, $J=9.0\text{Hz}$, 2H), 2.23(s, 1H)

制备实施例 5: 2-(甲氧基羰基-胺基)-4-(N-对氟苄基-N-烯丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯 (K22) 的合成



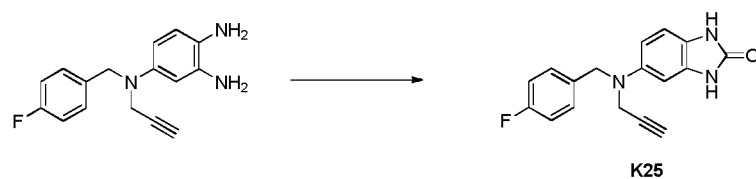
按照制备实施例 4 的相似操作制得化合物 2-氨基-4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯。所得化合物(80mg, 0.24mmol)溶于二氧六环(10mL)中, 加入 DIPEA (100mg, 0.98mmol), 0°C 下缓慢滴加入氯甲酸甲酯(50mg, 0.53mmol)的二氧六环(2mL)溶液, 室温搅拌直至原料反应完全。加水稀释, EtOAc (10mL×3 次)萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄干燥, 浓缩过柱(PE/EtOAc=4:1-2:1)得产物 2-(甲氧基羰基-胺基)-4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯(K22)(68mg, 72%)。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.25(t, *J*=8.4Hz, 2H), 7.12(d, *J*=8.7Hz, 2H), 6.99(t, *J*=8.7Hz, 2H), 6.57(d, *J*=8.7Hz, 1H), 4.45(s, 2H), 3.94(s, 2H), 3.71(s, 6H), 2.22(s, 1H)。

采用与制备实施例 5 相似的方法, 制得下列化合物:

化合物	结构式	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300 MHz)数据, δ
K23		7.25(t, <i>J</i> =8.4Hz, 2H), 7.09-7.15(m, 2H), 7.01(t, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 6.59(d, <i>J</i> =6.0Hz, 1H), 4.47(s, 2H), 4.20(q, <i>J</i> =6.3Hz, 4H), 3.91(s, 2H), 1.79(s, 3H), 1.28(t, <i>J</i> =7.2Hz, 6H)
K24		7.26(t, <i>J</i> =9.0Hz, 2H), 7.15(d, <i>J</i> =8.4Hz, 2H), 7.03(t, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 6.60(d, <i>J</i> =8.7Hz, 1H), 4.49(s, 2H), 4.20(q, <i>J</i> =6.9Hz, 4H), 3.95(s, 2H), 2.17(q, <i>J</i> =5.7Hz, 2H), 1.29(t, <i>J</i> =6.9Hz, 6H), 1.10(t, <i>J</i> =7.5Hz, 3H)
K26		7.14 (dd, <i>J</i> =8.7 Hz, <i>J</i> =5.4 Hz, 2H), 7.07 (d, <i>J</i> =9.0 Hz, 1H), 7.00 (t, <i>J</i> =8.4 Hz, 2H), 6.41 (brs, 1H), 6.41 (dd, <i>J</i> =8.7 Hz, <i>J</i> =2.4, 2H), 4.47 (s, 2H), 4.19 (m, 4H), 3.35 (t, <i>J</i> =7.2 Hz, 2H), 2.47 (t, <i>J</i> =6.9 Hz, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.90 (m, 2H), 1.29 (t, <i>J</i> =6.9 Hz, 6H)。
K27		7.17 (dd, <i>J</i> =8.4 Hz, <i>J</i> =5.4 Hz, 4H), 7.03 (d, <i>J</i> =9.0 Hz, 1H), 6.97 (t, <i>J</i> =9.0 Hz, 4H), 6.72 (brs, 2H), 6.35 (dd, <i>J</i> =9.0 Hz, <i>J</i> =2.7 Hz, 2H), 4.50 (s, 4H), 4.22 (t, <i>J</i> =6.9 Hz, 4H), 4.13 (t, <i>J</i> =7.2 Hz, 4H), 3.99 (s, 4H), 1.67 (s, 6H), 1.28 (m, 12H)

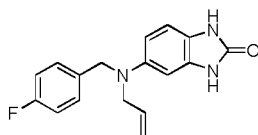
K28		7.21 (dd, $J=8.7$ Hz, $J=5.7$ Hz, 2H), 7.09 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.03 (t, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.41 (s, 1H), 6.41 (d, $J=8.7$, 2H), 4.92 (s, 1H), 4.85 (s, 1H), 3.88 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 1.77 (s, 3H)
K30		7.17 (dd, $J=8.7$ Hz, $J=5.4$ Hz, 2H), 7.06 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 6.99 (t, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.86 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 6.38 (dd, $J=8.7$ Hz, $J=2.4$ Hz, 2H), 4.97 (m, $J=6.3$ Hz, 2H), 4.88 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.50 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 561.73 (s, 3H), 1.27 (m,)
K31		7.19 (dd, $J=8.4$ Hz, $J=5.7$ Hz, 2H), 7.06 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.96 (t, $J=8.4$ Hz, 3H), 6.42 (s, 1H), 6.42 (dd, $J=8.7$ Hz, $J=2.4$ Hz, 2H), 5.23 (t, $J=6.3$ Hz, 2H), 4.43 (s, 2H), 3.91 (d, $J=6.3$ Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 1.71 (s, 3H), 1.63 (s, 3H)
K35		7.34-7.26 (m, 4H), 7.19-7.14 (dd, $J=8.4$ Hz, $J=8.1$ Hz, 4H), 7.07 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 6.98 (t, $J=8.7$ Hz, 4H), 6.54 (s, 1H), 6.44 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 5.44 (s, 1H), 5.16 (s, 1H), 4.55 (s, 2H), 4.29 (s, 2H), 4.19 (m, 4H), 1.28 (t, $J=7.2$ Hz, 6H)
K36		7.17 (dd, $J=8.4$ Hz, $J=5.4$ Hz, 2H), 7.08 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.99 (t, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.94 (s, 1H), 6.44 (dd, $J=9.0$ Hz, $J=2.7$ Hz, 1H), 6.44 (brs, 1H), 5.29 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.18 (m, 4H), 4.07 (s, 2H), 1.28 (m, 6H)
K37		7.39-7.37 (m, 2H), 7.34-7.26 (m, 5H), 7.18 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.02 (t, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.66 (dd, $J=8.7$ Hz, $J=2.1$ Hz, 1H), 6.52 (brs, 1H), 4.56 (s, 2H), 4.20 (m, 6H), 1.29 (m, 6H)
K38		7.16 (dd, $J=8.4$ Hz, $J=5.4$ Hz, 2H), 7.05 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 6.98 (t, $J=9.0$ Hz, 4H), 6.88 (brs, 2H), 6.39 (dd, $J=9.0$ Hz, $J=2.7$ Hz, 2H), 5.50 (s, 1H), 4.47 (s, 4H), 4.20 (m, 4H), 3.80 (s, 2H), 2.04 (m, 2H), 1.99 (m, 2H), 1.60 (m, 4H), 1.28 (m, 6H)

制备实施例 6: 5-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯并咪唑-2-酮 (K25) 的合成



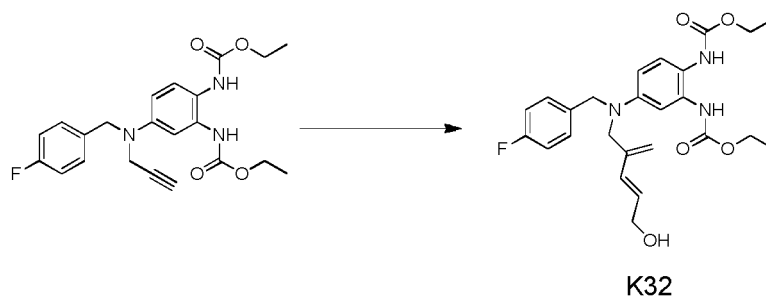
按照制备实施例 4 的方法制得 2-氨基-4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺, 将该化合物 (27mg, 0.1mmol) 溶于 THF (5mL) 中, 滴加入固体三光气 (30mg, 0.1mmol) 的 THF (2mL) 溶液以及 Et₃N (30mg, 0.3mmol) 室温搅拌 2h, 浓缩, 过柱 (PE/EtOAc/MeOH=10:10:1-5:5:1) 得产物 5-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯并咪唑-2-酮 (K25) (25mg, 84.5%)。¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 7.34 (t, *J*=8.7Hz, 2H), 7.03 (t, *J*=8.7Hz, 2H), 6.89 (d, *J*=8.7Hz, 1H), 6.72 (d, *J*=8.7Hz, 2H), 4.42 (s, 2H), 3.95 (s, 2H), 2.60 (s, 1H)。

采用与制备实施例 6 相似的方法, 制得化合物 5-(N-对氟苄基-N-烯丙基-胺基)-苯并咪唑-2-酮 (K34)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10.22 (s, 1H), 10.14 (s, 1H), 7.26 (t, *J*=7.8 Hz, 2H), 7.13 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 6.69 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 6.32 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 6.28 (s, 1H)。



K34

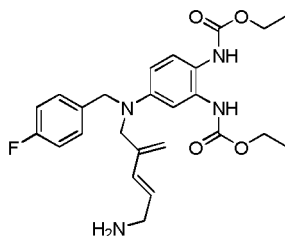
制备实施例 7: 2-(乙氧基羰基-胺基)-4-[N-对氟苄基-N-1-(6-羟基-2-甲烯基-3-己烯基)-胺基]-苯胺甲酸乙酯 (K32) 的合成



按照制备实施例 5 相似的方法制得化合物 2-(乙氧基羰基-胺基)-4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸乙酯, 氩气保护下, 将该化合物 (15mg, 0.036mmol) 和烯丙醇 (21mg, 0.36mmol) 溶于无水二氯甲烷 (3ml), 通氩

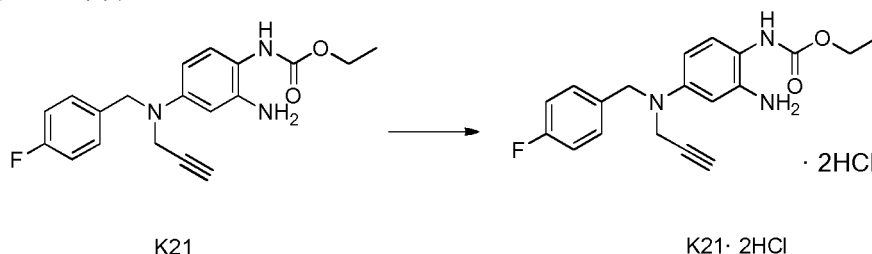
气除氧 15 分钟。快速加入 Grubbs II 催化剂, 换气三次, 回流过夜。减压旋除溶剂后硅胶柱层析纯化 (PE/EtOAc=4:1-2:1) 得产物 2-(乙氧基羰基-胺基)-4-[N-对氟苄基-N-1-(6-羟基-2-甲烯基-3-己烯基)-胺基]-苯胺甲酸乙酯 K32 (15mg, 85%), 黑色油状物。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.18 (dd, $J=8.7$ Hz, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.07-6.96 (m, 5H), 6.40 (dd, $J=8.7$ Hz, $J=2.7$ Hz, 1H), 6.36 (s, 1H), 5.88-5.79 (dt, $J=16.2$ Hz, $J=5.15$ Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.52 (s, 1H), 4.18 (m, 4H), 4.10 (s, 2H), 1.28 (m, 6H)。

采用与制备实施例 7 相似的方法, 制得化合物 2-(乙氧基羰基-胺基)-4-[N-对氟苄基-N-1-(6-氨基-2-甲烯基-3-己烯基)-胺基]-苯胺甲酸乙酯 (K39)。¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.17 (dd, $J=8.4$ Hz, $J=5.4$ Hz, 2H), 7.07 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.98 (t, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.59 (s, 1H), 6.35 (dd, $J=9.0$ Hz, $J=2.7$ Hz, 1H), 6.29 (d, $J=15.9$ Hz, 1H), 5.76 (d, $J=15.9$ Hz, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.99 (s, 1H), 4.49 (s, 2H), 4.17 (m, 4H), 4.08 (s, 2H), 1.25 (m, 6H)。



K39

制备实施例 8: 2-氨基-4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸乙酯二盐酸盐的制备 (K21·2HCl)



K21

K21·2HCl

取化合物 2-氨基-4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸乙酯 (K21) 511mg(1.5mmol)溶于二氯甲烷(5mL), 加入 5N 盐酸的乙酸乙酯溶液(1mL),

搅拌 10 分钟，旋去溶剂，即得到 2-氨基-4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯胺甲酸乙酯二盐酸盐 (K21·2HCl) (624mg)。

采用与制备实施例 8 相似的方法，分别得到化合物 K3 的盐酸盐 K3·HCl，K17 的盐酸盐 K17·HCl，K18 的盐酸盐 K18·HCl 以及化合物 K20 的二盐酸盐 K20·2HCl

二、电生理实验实施例：本发明的化合物在中国仓鼠卵母细胞 (CHO) 上的电生理实验

1、细胞培养与转染

中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) (中国科学院细胞库) 培养液配方：50/50 DMEM/F-12 (Cellgro, Manassas, VA)，加入 10% 小牛血清 (FBS) (Gibco, 澳大利亚)，2mM L-谷氨酸 (Invitrogen)。表达 KCNQ 通道及其突变：转染前 24 小时，用胰蛋白酶 (Sigma, 中国) 消化后铺于直径 60mm 的皿中。转染使用 Lipofectamine2000TM 试剂 (Invitrogen)，根据其 protocol 进行操作。转染后 24 小时，细胞消化后重新铺于 poly-L-lysine (Sigma) 浸泡的玻片上。共转染 GFP (绿色荧光蛋白)，可在荧光显微镜下确认转染细胞。

2、CHO 细胞上的电生理记录：

在室温下，采用 Axopatch-200B 放大器 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 进行全细胞式电压钳记录。硼硅酸盐玻璃毛细管 (World Precision Instruments, Sarasota, FL) 拉制成电极，电极内填充细胞内液后的电阻应为 3-5MΩ。细胞内液配方：145mM KCl，1 mM MgCl₂，5 mM EGTA，10 mM HEPES，5mM MgATP (KOH 调至 pH=7.3)。记录期间，通过 BPS 灌流系统 (ALA Scientific Instruments, Westburg, NY) 持续灌流细胞外液。细胞外液：140 mM NaCl，5mM KCl，2 mM CaCl₂，1.5 mM MgCl₂，10 mM HEPES，10 mM 葡萄糖 (NaOH 调至 pH=7.4)。电信号 1kHz 滤波后用 DigiData 1322A 在 pClamp 9.2 软件 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 中转换为数字信号。串联电阻补偿 60-80% 目前的研究中采用多电压方案。方案中钳制电压定为 -100mV。细胞在一系列 2000ms 刺激电压 (从 -90mV 到 +50mV，间隔 10mV) 诱导电流。

3. 实验结果:

其中 $V_{1/2}$ 为半数激活电压, $\Delta V_{1/2}$ 为半数激活电压左移值, 负号 (-) 表示电流激活曲线左移, 正号 (+) 表示右移。 I/I_0 为激活倍数, 其中 I_0 为 -10mV 测试电压刺激下产生的电流峰值的最大值, I 是给药 (化合物浓度为 10 μ M) 后同样在 -10mV 测试电压刺激下产生的电流峰值的最大值, $I/I_0 > 1$ 表示激动活性, $I/I_0 < 1$ 代表抑制活性。 N 为所测细胞数。 NT 表示未测。

化合物	$\Delta V_{1/2}$ (mV)	I/I_0	N
K1	-8.1 $\pm$ 3.1	2.84 $\pm$ 0.08	3
K2	-3.0 $\pm$ 2.0	1.50 $\pm$ 0.08	4
K3·HCl	-13.9 $\pm$ 2.5	2.41 $\pm$ 0.20	3
K4	-11.5 $\pm$ 2.0	2.09 $\pm$ 0.25	3
K5	-14.3 $\pm$ 3.3	1.23 $\pm$ 0.08	4
K6	-1.6 $\pm$ 3.0	1.24 $\pm$ 0.02	3
K7	-4.7 $\pm$ 2.0	1.35 $\pm$ 0.27	2
K8	-7.3 $\pm$ 2.5	1.99 $\pm$ 0.37	3
K9	-24.21 $\pm$ 2.4	3.27 $\pm$ 0.10	3
K10	-18.7 $\pm$ 2.6	2.75 $\pm$ 0.31	3
K11	-15.7 $\pm$ 1.0	2.24 $\pm$ 0.36	3
K12	-21.1 $\pm$ 1.9	2.33 $\pm$ 0.17	3
K13	-7.6 $\pm$ 1.9	2.31 $\pm$ 0.36	3
K14	-14.7 $\pm$ 2.1	1.43 $\pm$ 0.04	4
K15	-22.0 $\pm$ 1.5	2.09 $\pm$ 0.31	3
K16	-20.6 $\pm$ 4.5	1.47 $\pm$ 0.10	3
K17·HCl	-16.5 $\pm$ 2.4	2.29 $\pm$ 0.38	3
K18·HCl	-12.5 $\pm$ 3.2	2.72 $\pm$ 0.22	3
K19	-14.9 $\pm$ 2.7	2.52 $\pm$ 0.23	3
K20	-49.7 $\pm$ 3.4	1.75 $\pm$ 0.12	3
K21	-47.9 $\pm$ 3.5	1.53 $\pm$ 0.15	3
K22	-27.31 $\pm$ 3.9	2.10 $\pm$ 0.35	3
K23	-15.34 $\pm$ 3.8	1.44 $\pm$ 0.14	3
K24	-1.87 $\pm$ 2.5	1.2 $\pm$ 0.1	3
K25	-5.8 $\pm$ 1.7	1.8 $\pm$ 0.1	3
K26	NT	1.25 $\pm$ 0.07	3
K27	NT	1.52 $\pm$ 0.17	3
K28	NT	1.43 $\pm$ 0.05	3
K29	NT	1.24 $\pm$ 0.10	3
K30	NT	1.57 $\pm$ 0.25	3
K31	NT	1.36 $\pm$ 0.13	3
K32	-6.0 $\pm$ 1.5	1.76 $\pm$ 0.09	3

K33	-36.8±3.3	NT	3
K34	NT	1.44±0.16	3
K35	NT	NT	
K36	NT	NT	
K37	NT	NT	
K38	NT	0.16±0.02	3
K39	NT	1.03±0.11	3

三、化合物的体内药效评价实施例

体内药效实施例 1：化合物 K9 和 K1 对戊四唑（PTZ）诱导惊厥的治疗作用

1、实验目的：

比较本发明的化合物 K9、K1 和 Retigabine（实验室参照 US5384330 所公开的方法自制得到抗惊厥作用。

2、样品处理：

Retigabine：淡灰色粉末，易溶于水。呈无色、透明液体。

化合物 K9：黄色颗粒，不易溶于水。加入 0.2%CMC 溶液，然后超声 30min 后，呈均匀悬浊液。

化合物 K1：淡黄色颗粒，不易溶于水。加入 0.2%CMC 溶液，然后超声 30min 后，呈均匀悬浊液。

3、实验动物：

C57BL/6J 小鼠（购自中科院实验动物中心）：16-18 克。

4、实验步骤：

灌胃给予受试药物（30mg/kg）；一小时后，皮下注射戊四唑（PTZ 80mg/kg）；立即观察动物在 60min 以内的反应。

5、实验结果：

化合物	剂量、给药途径、观察时间	N (只)	惊厥发生率	阵挛潜伏期(秒)	全身强直性发作潜伏期(秒)	死亡率
K9		10	4/10	351±84.3	1382±339	4/10
K1	30mg/kg, 灌胃 给药后 1h	10	4/10	250±114	1785±408	3/10
Retigabine		10	5/10	无典型阵挛 发作	1472±961	4/10

PTZ 对照	10	9/10	134±51.5	921±248	8/10
--------	----	------	----------	---------	------

动物接受 Retigabine 处理后，安静，运动减少，20min 后，逐渐恢复，1h 后，未见明显异常。动物分别接受 K9 和 K1 处理后，能明显降低惊厥发生率，表现为延长 PTZ 急性惊厥小鼠发作性阵挛潜伏期，延长全身强直性发作潜伏期以及降低死亡率。结果显示，三者具有效果相当的抗惊厥作用。

体内药效实施例 2：腹腔注射化合物 K21 对 PTZ（戊四唑）和 MES（最大电流刺激）诱导的动物模型治疗作用的测试实验

1、实验目的：

比较 K21 和阳性化合物 Retigabine 的抗惊厥作用。

2、样品处理：

Retigabine：淡灰色粉末，易溶于水。呈无色、透明液体。

K21：茶青色片状颗粒，不易溶于水。先用 50ul 的 DMSO 溶解，再加入 0.5% HEC 溶液，呈均匀悬浊液。

3、实验动物：

雄性 KM 小鼠（购自中科院实验动物中心）：（22±2）克。

4、实验步骤：

（1）PTZ 测试：腹腔注射（10 mg/kg、5mg/kg、2.5mg/kg，0.1ml/10g）各种受试药物；30min 后皮下注射戊四唑（PTZ，100mg/kg）；立即观察并记录动物在 1h 内的反应情况。

（2）MES 测试：YLS-9A 型生理药理电子刺激仪，采用配置 8，设置刺激电压 160V、波数 90 个（即刺激时间 5.4 sec）。耳夹电极给予电刺激 1 次，以后肢强直性伸直为惊厥指标，实验前一天进行筛选。实验时，先腹腔注射（10 mg/kg，0.1ml/10g）各种受试药物，30min 后按照前一天设置的参数进行 MES 测试，立即观察并记录动物的反应情况。

5、实验结果：

（1）PTZ 测试结果

化合物	剂量	给药途径、观察时间	阵挛发生率	阵挛潜伏期（sec）	前肢强直发生	后肢强直发生	后肢强直潜伏期（sec）	死亡率
-----	----	-----------	-------	------------	--------	--------	--------------	-----

		率		率			
K21	10mg/kg	12/12	226±51 ^{**}	0/12 ^{***}		0/12 ^{***}	
K21	5mg/kg	10/10	238±54 ^{***}	3/10	0/10 ^{***}	1/10 ^{**}	
K21	2.5mg/kg	腹腔注射、观察 1h	184±42	2/10	0/10 ^{***}	1/10 ^{**}	
Retigabine	10mg/kg	10/10	239±113 ^{**}		4/12 [*]	1100±319	2/12 ^{**}
Retigabine	5mg/kg	10/10	184±40	4/10	2/10 [*]	883±151	5/10
Retigabine	2.5mg/kg	10/10	179±60	5/10	1/10 ^{**}	827	7/10
生理盐水	0.2ml	11/11	137±24	3/11	8/11	1033±364	9/11

p*<0.05, *p*<0.01, ****p*<0.001

(2) MES 测试结果

化合物	剂量、给药途径	惊厥发生率	死亡率
K21	10mg/kg,	2/10 ^{***}	0
Retigabine	腹腔注射	4/11 ^{**}	0
生理盐水	给药	10/10	10%

p*<0.05, *p*<0.01, ****p*<0.001

6、实验结论：

化合物 K21 在 MES 测试中完全抑制大发作的发生，在 PTZ 测试中，能明显降低动物惊厥发生率和死亡率，延长 PTZ 诱导的急性惊厥小鼠阵挛性发作潜伏期且存在一定的剂量效应关系。化合物 K21 的抗惊厥效果在相同给药剂量下稍强于阳性化合物 Retigabine。二者均显示一定镇静的作用。

体内药效实施例 3：K21 口服给药对 PTZ 和 MES 诱导的动物模型的治疗作用

1、实验目的：

比较 K21 和阳性化合物 Retigabine 口服给药的抗惊厥作用。

2、样品处理：

Retigabine：淡灰色粉末，易溶于水。呈无色、透明液体。

K21: 茶青色片状颗粒, 不易溶于水。先用 50 μ L 的 DMSO 溶解, 再加入 0.2% CMC 溶液, 超声 20 min 后, 呈均匀悬浊液。

3、实验动物:

雄性 KM 小鼠(购自中科院实验动物中心), PTZ 实验中, 动物体重(22 $\pm$ 2)克; MES 实验中, 动物体重 18 g。

4、实验步骤:

(1) PTZ 测试

动物禁食 12h, 灌胃给予受试化合物 CF341 和 retigabine (30 mg/kg, 0.2ml/10g), 1h 后皮下注射戊四唑 (PTZ, 100mg/kg), 立即观察并记录动物在 1h 内的反应情况。

(2) MES 测试

YLS-9A 型生理药理电子刺激仪, 采用配置 8, 设置刺激电压 160 V、波数 90 个 (即刺激时间 5.4 sec)。耳夹电极给予电刺激 1 次, 以后肢强直性伸直为惊厥指标, 实验前一天进行筛选。

动物禁食 12h, 灌胃给予 (30 mg/kg, 0.2 ml/10g) 各种受试药物, 1h 后按照前一天设置的参数进行 MES 测试, 立即观察并记录动物的反应情况。

5、实验结果:

(1) PTZ 测试结果

化合物	剂量	给药途径、观察时间	阵挛发生率	阵挛潜伏期 (sec)	前肢强直发生率	后肢强直发生率	前肢强直潜伏期 (sec)	死亡率
K21	30mg/kg	灌胃给药、观察 1h	12/12	148 $\pm$ 37*	5/12	0/12**	1561 $\pm$ 690	3/12
Retigabine	30mg/kg		12/12	177 $\pm$ 70	3/12**	0/12**	1063 $\pm$ 284	0/12**
生理盐水	0.4ml		12/12	104 $\pm$ 18	9/12	7/12	964 $\pm$ 174	7/12

与阴性对照组相比, * p <0.05, ** p <0.01.

(2) MES 测试结果

化合物	剂量、给药途径	惊厥发生率	药物保护率
K21	30mg/kg, 灌胃	2/13***	84.6%***

Retigabine	给药	5/13 ^{***}	61.5% ^{***}
NS		13/13	0%

与阴性对照组相比，^{***} $p < 0.001$.

7、实验结论:

化合物 K21 和 retigabine 在 MES 测试中均明显抑制大发作的发生，且效果相当；在 PTZ 测试中，retigabine 能明显降低动物惊厥发生率和死亡率，而化合物 K21 能明显抑制动物的强直发作，死亡率虽较对照组的有所降低，但无显著性差异。

四、化合物的药代动力学研究实施例

药代动力学研究实施例 1: K9 和 Retigabine 在小鼠脑组织分布试验研究

1、给药方案

健康 KM 小鼠 108 只，雄性，体重 18-20 g，试验前禁食 12 h，自由饮水。给药后 2 h 统一进食。具体安排见下表：

组别	动物数	化合物	给药方式	给药剂量 (mg/kg)	给药体积 (ml/kg)	采样时间点 (h)
1	27	K9	灌胃	20	10	0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 和 10 h
2	27	K9	静脉	20	10	5 min, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 和 10 h
3	27	Retigabine	灌胃	20	10	0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 和 10 h
4	27	Retigabine	静脉	20	10	5 min, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 和 10 h

试验前禁食 12 h，自由饮水。给药后 2 h 统一进食。

小鼠灌胃和静脉给药后在以上设定时间点，腹主动脉放血处死，每个时间点 3 只小鼠。每只动物收集 0.5 ml 全血，置肝素化试管中，3000 rpm 离心 10 min，分离血浆，于 -20°C 冰箱中冷冻保存。动物处死后，解剖摘取全脑，用冰生理盐水冲洗残留血液，吸干后，贴好标签，-20°C 冰箱中冷冻保存。

2、试验结果

以液相色谱-串联质谱法测定血浆和脑组织中 K9 和 Retigabine 的浓度。

2.1、K9

小鼠灌胃给予 20 mg/kg 化合物 K9 后，在血浆和脑组织中达峰浓度 $C_{\max}$ 分别为 2197 ng/ml 和 4421 ng/g；药时曲线下面积 AUC_{0-t} 分别为 1865 ng·h/ml 和 3565 ng·h/g。脑组织中的暴露量约相当于血浆的 1.9 倍。消除半衰期约为 1.2 h。

小鼠静脉注射 20 mg/kg 化合物 K9 后，在血浆和脑组织中的药时曲线下面积 AUC_{0-t} 分别为 7185 ng·h/ml 和 10694 ng·h/g，血浆清除率为 2.78 L/h/kg。化合物 K9 在脑中的暴露量相当于血浆的 1.5 倍。

经剂量校正后，按血浆 AUC_{0-t} 计，小鼠灌胃给予 20 mg/kg 化合物 K9 后的绝对生物利用度为 26%。

2.2 Retigabine

小鼠灌胃给予 20 mg/kg Retigabine 后，在血浆和脑组织中达峰浓度 $C_{\max}$ 分别为 2788 ng/ml 和 849 ng/g；药时曲线下面积 AUC_{0-t} 分别为 21088 ng·h/ml 和 3460 ng·h/g。脑组织中的暴露量约相当于血浆的 16%。消除半衰期约为 7h。

小鼠静脉注射 20 mg/kg Retigabine 后，在血浆和脑组织中的药时曲线下面积 AUC_{0-t} 分别为 59987 ng·h/ml 和 8661 ng·h/g，血浆清除率为 0.322 L/h/kg。Retigabine 在脑中的暴露量相当于血浆的 14%。

经剂量校正后，按血浆 AUC_{0-t} 计，小鼠灌胃给予 20 mg/kg Retigabine 后的绝对生物利用度为 35.2%。

药代动力学研究实施例 2：K20·2HCl 和 K21·2HCl 在小鼠脑组织的分布试验研究

1、给药方案

KM 小鼠 54 只，雄性，体重 18-20 g，试验前禁食 12 h，自由饮水。给药后 2 h 统一进食。具体安排见下表：

组别	动物数	化合物	给药方式	给药剂量 (mg/kg)	给药体积 (ml/kg)	采样时间点 (h)
1	27	K20·2HCl	灌胃	20	10	0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 9 和 24 h

2	27	K21·2HCl	灌胃	5*	10	0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 9 和 24 h
---	----	----------	----	----	----	---------------------------------------

“*”小鼠灌胃给予 20 mg/kg 化合物 K21·2HCl 后，出现明显的躁动不安症状，1 只死亡。故剂量降低为 5 mg/kg。

试验前禁食 12 h，自由饮水。给药后 2 h 统一进食。

小鼠灌胃给药后在以上设定时间点，腹主动脉放血处死，每个时间点 3 只小鼠。每只动物收集 0.5 ml 全血，置肝素化试管中，11000 rpm 离心 10 min，分离血浆，于-20℃ 冰箱中冷冻保存。动物处死后，解剖摘取全脑，用冰生理盐水冲洗残留血液，吸干后，贴好标签，-20℃ 冰箱中冷冻保存。

2、试验结果

2.1、K20·2HCl

小鼠灌胃给予 20 mg/kg 化合物 K20·2HCl 后，血浆和脑组织中原形药物 K20·2HCl 和代谢物 retigabine 的浓度达峰时间 $T_{\max}$ 均为 0.25 h，代谢物 retigabine 在血浆和脑组织中的暴露量分别为原形药物 K20·2HCl 的 2.9%和 1.8%；原形药物 K20·2HCl 在脑组织中的浓度为血浆浓度的 2.3 倍，代谢物 retigabine 为 1.4 倍。

2.2、K21·2HCl

小鼠灌胃给予 5 mg/kg 化合物 K21·2HCl 后，血浆和脑组织中原形药物 K21·2HCl 和代谢物 retigabine 的浓度达峰时间 $T_{\max}$ 均为 0.25 h，代谢物 retigabine 在血浆和脑组织中的暴露量分别为原形药物 K21·2HCl 的 5.4%和 4.6%；原形药物 K21·2HCl 在脑组织中的浓度为血浆浓度的 2.4 倍，代谢物 retigabine 为 2.0 倍。

从上述试验结果可以看出，本发明所提供的化合物不仅保持了 Retigabine 的钾通道激动活性，且体内抗癫痫效应显著：

1、在雄性 KM 小鼠模型上腹腔注射给药，化合物 K21·2HCl 的抗惊厥效果优于阳性化合物 Retigabine；

2、同样在雄性 KM 小鼠模型上按剂量 10mg/kg 灌胃给药，化合物 K21·2HCl 和 Retigabine 在 MES 测试中效果相当，能明显抑制大发作的发生；

在 PTZ 测试中，Retigabine 能明显降低动物惊厥发生率和死亡率，化合物 K21·2HCl 能明显抑制动物的强直发作。

药代动力学研究显示：该类化合物相较于 Retigabine，具有更好的脑组织浓度分布：

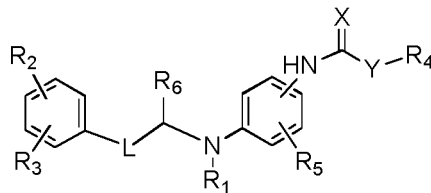
1、小鼠灌胃给予 20 mg/kg 化合物 K9 后，化合物在脑组织中的暴露量约相当于血浆的 1.9 倍；小鼠静脉注射 20 mg/kg 化合物 K9 后，化合物在脑中的暴露量相当于血浆的 1.5 倍。同样条件下，Retigabine 灌胃以及静脉注射给药，其在小鼠脑中的暴露量分别为血浆的 16%和 14%；

2、小鼠灌胃给予 20 mg/kg 化合物 K20 后，化合物在脑组织中的浓度为血浆浓度的 2.3 倍；

3、小鼠灌胃给予 5 mg/kg 化合物 K21·2HCl 后，化合物在脑组织中的浓度为血浆浓度的 2.4 倍。

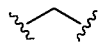
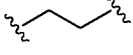
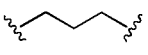
权 利 要 求

1、一类具有以下通式 I 的结构的化合物或其药学上可接受的盐：



I

其中：

L 是连接基团，为不存在，或选自 , , 或 , 它们均可任选地被 C₁-C₄ 烷基取代；

R₁ 选自：H，C₁-C₆ 烷基，可任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷氧基、C₁-C₄ 烷基羰基、卤素原子、C₆-C₁₀ 芳基或卤代 C₆-C₁₀ 芳基取代的 C₁-C₆ 烷基，C₃-C₆ 环烷基，C₁-C₆ 烷基羰基，C₁-C₆ 烷氧基羰基，C₁-C₆ 烷基胺基羰基，C₂-C₈ 链烯基，可任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷基羰基、C₁-C₄ 烷氧基、卤素原子、C₆-C₁₀ 芳基或卤代 C₆-C₁₀ 芳基取代的 C₂-C₈ 链烯基，C₅-C₇ 环烯基，C₂-C₈ 链炔基，可任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷基羰基、C₁-C₄ 烷氧基、卤素原子、C₆-C₁₀ 芳基或卤代 C₆-C₁₀ 芳基取代的 C₂-C₈ 链炔基或 C₆-C₁₀ 芳基；

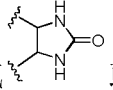
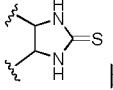
R₂ 选自卤素原子、C₁-C₄ 烷氧基；

R₃ 选自：H，卤素原子，三氟甲基，氰基，硝基，C₁-C₄ 烷基羰基、C₁-C₄ 烷氧基羰基；

X 为 O，S 或 NH；

Y 为不存在，O 或 NR₇，其中 R₇ 选自 H、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 链烯基、C₂-C₆ 链炔基、C₃-C₈ 环烷基；

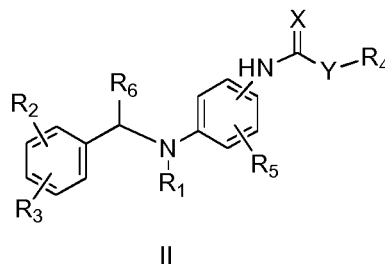
R₄ 选自：C₁-C₆ 烷基，C₂-C₆ 链烯基，C₂-C₆ 链炔基或 C₆-C₁₀ 芳基；

R₅ 选自：H，卤素原子，氨基，C₁-C₆ 烷基胺基，HN-C(=X)-Y-R₄，或 R₅ 与其相邻的 HN-C(=X)-Y-R₄ 一起形成  或  的并环结构；

R_6 为 H, C_1 - C_6 烷基, C_3 - C_6 环烷基;

上述取代基中所述卤素原子或卤代基团中的卤素原子为 F、Cl 或 Br。

2、根据权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述化合物具有如通式 II 所述结构:



其中:

R_1 选自: H, C_1 - C_6 烷基, 可任选被羟基、氨基、 C_1 - C_4 烷基羰基、卤素原子、 C_6 - C_{10} 芳基或卤代 C_6 - C_{10} 芳基取代的 C_1 - C_6 烷基, C_3 - C_6 环烷基, C_1 - C_6 烷基羰基, C_1 - C_6 烷氧基羰基, C_1 - C_6 烷胺基羰基, C_2 - C_8 链烯基, 可任选被羟基、氨基、 C_1 - C_4 烷基羰基、 C_1 - C_4 烷氧基、卤素原子、 C_6 - C_{10} 芳基或卤代 C_6 - C_{10} 芳基取代的 C_2 - C_8 链烯基, C_5 - C_7 环烯基, C_2 - C_8 链炔基, 可任选被羟基、氨基、 C_1 - C_4 烷基羰基、 C_1 - C_4 烷氧基、卤素原子、 C_6 - C_{10} 芳基或卤代 C_6 - C_{10} 芳基取代的 C_2 - C_8 链炔基, 或 C_6 - C_{10} 芳基;

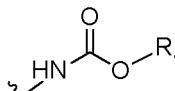
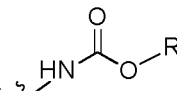
R_2 选自卤素原子、 C_1 - C_4 烷氧基;

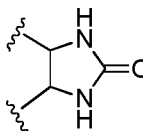
R_3 选自: H, 卤素原子, 三氟甲基, 硝基;

X 为 O;

Y 为不存在或 O;

R_4 选自: C_1 - C_6 烷基, C_2 - C_6 链烯基, C_2 - C_6 链炔基或 C_6 - C_{10} 芳基;

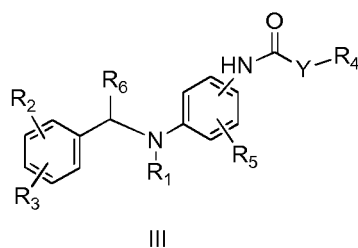
R_5 选自: H, 卤素原子, 氨基, , 或 R_5 与其相邻的 

一起形成  的并环结构;

R_6 为 H, C_1 - C_6 烷基, C_3 - C_6 环烷基;

上述取代基的定义中所述卤素原子或卤代基团中的卤素原子为 F、Cl 或 Br。

3、根据权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述化合物具有如通式 III 所述结构：



其中：

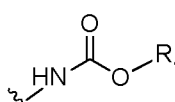
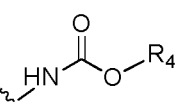
R₁ 选自：H，C₁-C₆ 烷基，任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷基羰基、卤素原子、苯基或卤代苯基取代的 C₁-C₆ 烷基，C₂-C₈ 链烯基，任选被羟基、氨基、卤素原子、苯基或卤代苯基取代的 C₂-C₈ 链烯基，C₅-C₇ 环烯基，C₂-C₈ 链炔基，任选被羟基、氨基、卤素原子、苯基或卤代苯基取代的 C₂-C₈ 链炔基；

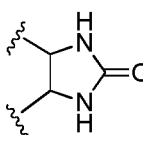
R₂ 选自 F、Cl 或甲氧基；

R₃ 选自：H，卤素原子或三氟甲基；

Y 为不存在或 O；

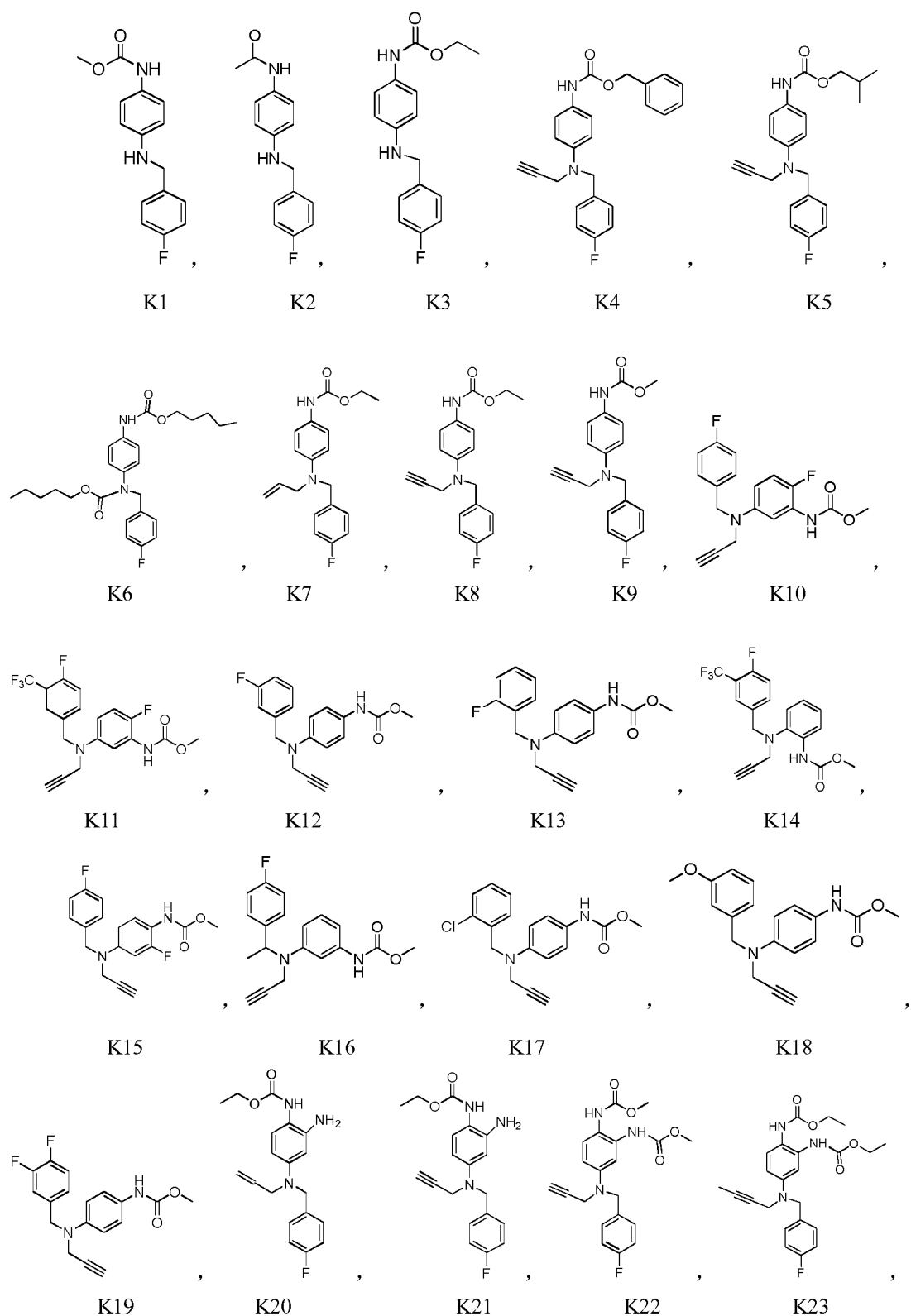
R₄ 选自：C₁-C₆ 烷基，C₂-C₆ 链烯基，C₂-C₆ 链炔基或 C₆-C₁₀ 芳基；

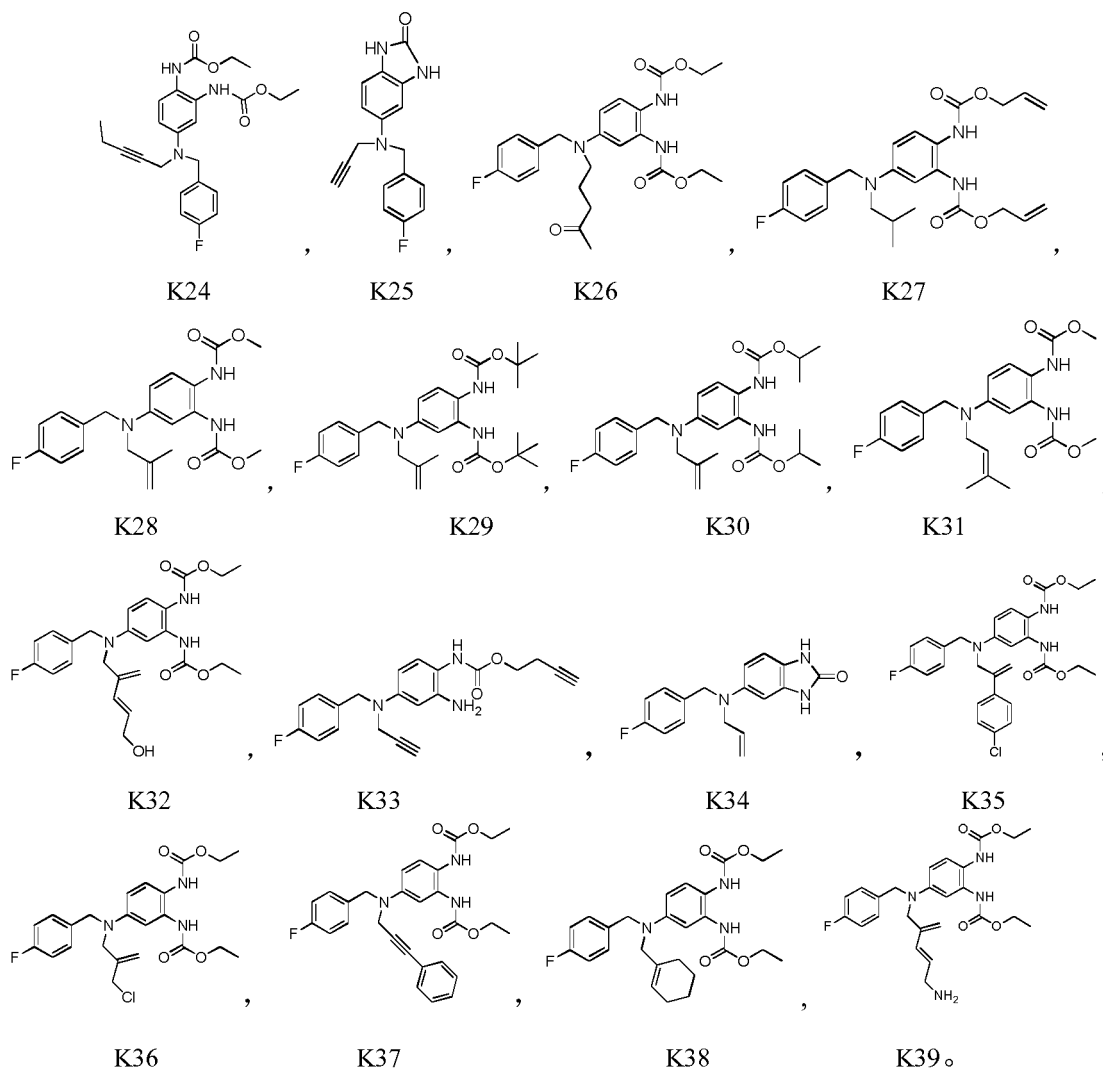
R₅ 选自：H，卤素原子，氨基，，或 R₅ 与其相邻的

一起形成 的并环结构；

R₆ 为 H，C₁-C₆ 烷基。

4、根据权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述化合物选自以下化合物 K1 至 K39：





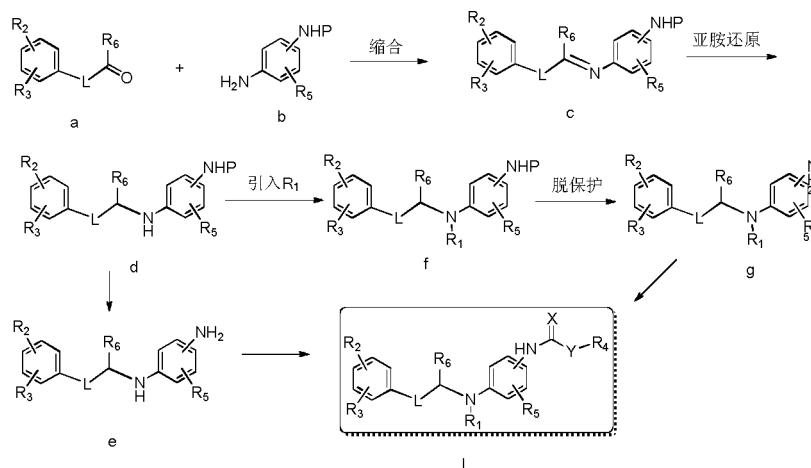
5、根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述化合物的药学上可接受的盐为所述化合物与与酸形成的盐，所述酸选自马来酸、琥珀酸、柠檬酸、酒石酸、富马酸、甲酸、乙酸、丙酸、丙二酸、草酸、苯甲酸、邻苯二甲酸、甲磺酸、苯磺酸、甲苯磺酸、萘磺酸、1,5-萘二磺酸、樟脑酸、樟脑磺酸、水杨酸、乙酰水杨酸、天门冬氨酸、谷氨酸、乳酸、葡萄糖酸、维C酸、没食子酸、杏仁酸、苹果酸、山梨酸、三氟乙酸、牛磺酸、高牛磺酸、2-羟基乙磺酸、肉桂酸、盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、磷酸或高氯酸。

6、一种权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐的制备方法，其特征在于，所述方法为以下方法中的任意一种：

方法一:

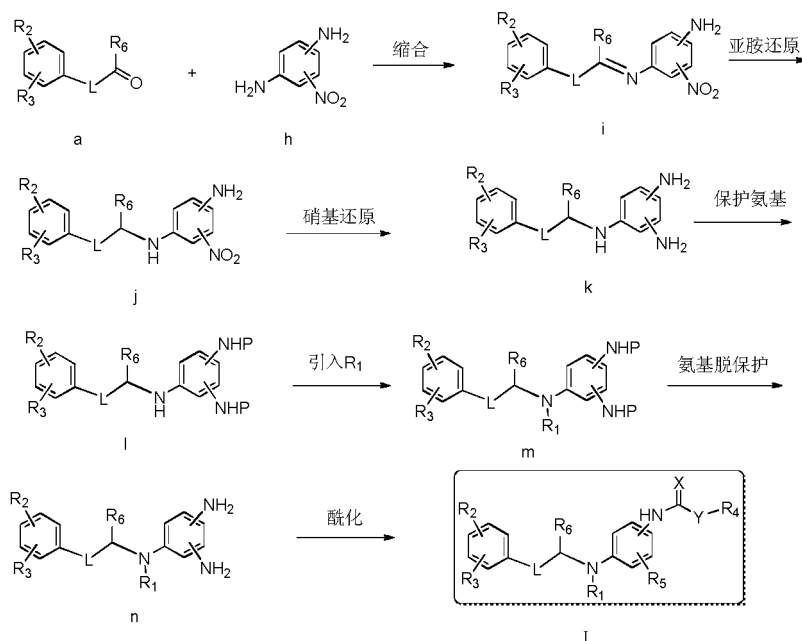
羰基化合物 **a** 与苯胺 **b** 在为对甲苯磺酸的弱酸催化下缩合得到亚胺 **c**, 后者在为硼氢化钠的还原剂作用下还原亚胺得仲胺 **d**; 仲胺 **d** 通过与卤代烃的取代反应、 α,β -不饱和羰基化合物的加成反应或者是酰化反应引入取代基 R_1 得到中间体 **f**; 脱去中间体 **d** 或 **f** 中的氨基保护基 **P** 得到中间体胺 **e** 或 **g**,

胺 **e** 或 **g** 再与酰化剂 $\text{Cl}-\overset{\text{X}}{\underset{\text{Y}}{\text{C}}}-\text{R}_4$ 反应得到如通式 **I** 所示化合物;

**方法一****方法二:**

羰基化合物 **a** 与硝基取代的苯二胺类化合物 **h** 在为对甲苯磺酸的弱酸催化下缩合得到亚胺 **i**, 后者在为硼氢化钠的还原剂作用下还原亚胺得到中间体胺 **j**; 还原硝基后得二氨基中间体 **k**, 通过引入两个氨基保护基 **P** 后得中间体 **l**, 采用与方法一中相似的方法引入取代基 R_1 得中间体 **m**, 再脱除保护基

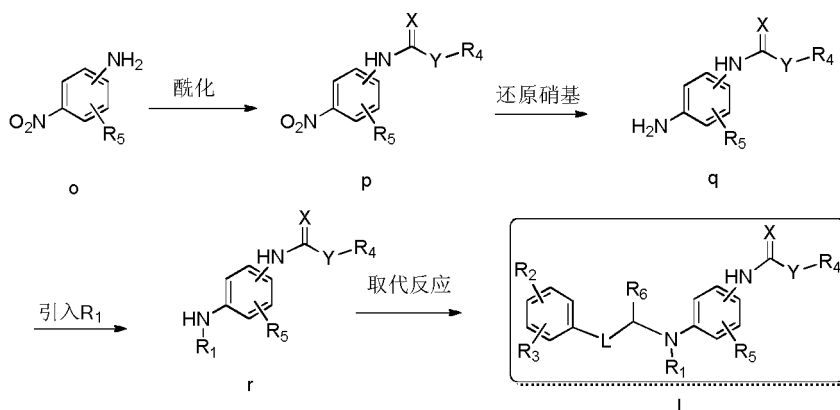
P 后裸露两个氨基得中间体 **n**, 再与酰化剂 $\text{Cl}-\overset{\text{X}}{\underset{\text{Y}}{\text{C}}}-\text{R}_4$ 作用得到如通式 **I** 所示化合物; 其中还原硝基反应中采用 Pd-C 催化氢化或 SnCl_2 进行;



方法二

方法三:

酰化剂 $\text{Cl}-\text{C}(=\text{X})-\text{Y}-\text{R}_4$ 与硝基取代的苯胺类化合物 **o** 反应得中间体 **p**, 还原硝基后的氨基化合物 **q**, 采用前述方法引入取代基 R_1 得中间体 **r**, 中间体 **r** 进一步通过与卤代烃 $\text{R}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{L}-\text{C}(=\text{X})-\text{Y}-\text{R}_4$ 或 $\text{R}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{L}-\text{C}(=\text{X})-\text{Y}-\text{R}_4$ 发生取代反应得到如通式 **I** 所示化合物;



方法三

方法四:

当通式 **I** 所示化合物中的取代基 R_1 为链烯基或链炔基时, 还可进一步通

过烯烃复分解反应得到其它通式 I 所示的本发明所述化合物；

方法五：化合物盐的合成

本发明所述的如通式 I 所示化合物可通过以下方法转化为其药学上可接受的盐：将相应的酸的溶液加入到上述化合物的溶液中，成盐完全后减压除去溶剂即得本发明所述化合物的相应的盐。

7、一类药物组合物，其特征在于，所述药物组合物包含作为有效成分的权利要求 1 中所述化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的辅料。

8、根据权利要求 1 中所述化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗神经系统疾病的药物中的用途。

9、根据权利要求 8 所述的用途，其特征在于，所述神经系统疾病包括癫痫、惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风以及神经退行性疾病。