

呋喃稠环取代的戊二酰亚胺类化合物

本申请主张如下优先权：

CN202110286500.6，申请日：2021-3-17；

CN202110712765.8，申请日：2021-6-25；

CN202111314330.4，申请日：2021-11-8；

CN202210187905.9，申请日：2022-2-28。

技术领域

本发明涉及一系列呋喃稠环取代的戊二酰亚胺类化合物，及其在制备治疗相关疾病药物中的应用，具体涉及式(II)所示化合物及其药学上可接受的盐。

背景技术

已知雄激素受体信号传导在前列腺癌的发病机制中起着至关重要的作用，并参与其他雄激素受体阳性癌症的发生，用拮抗雄激素受体的抗雄激素抑制雄激素受体信号传导已被用于或拟用于前列腺癌的治疗。

AR 基因编码雄激素受体蛋白，其配体主要为睾酮和二氢睾酮，该受体广泛分布于人体内的大部分器官和组织，介导雄激素的生物效应。雄激素受体在胞浆中能与热休克蛋白(Hsp)结合，当雄激素与雄激素受体结合后，该受体被激活，热休克蛋白解离，雄激素受体形成二聚体进入核中，并与 DNA 上雄激素应答元件(ARE)结合，启动该元件下游一系列基因的转录表达，其中包括前列腺特异性抗原(PSA)、前列腺酸性磷酸酶(PAP)和细胞周期素依赖激酶(CDK)抑制剂 p21WAF1/CIP1 等基因，最终导致细胞分化，促进组织器官的发育。雄激素具有维持前列腺生长发育的功能，在无雄激素的环境中前列腺细胞会自发凋亡，而在正常雄激素水平的环境中前列腺细胞能持续生长分化。因此，有研究认为雄激素的过量分泌以及雄激素受体反应性过强都会造成前列腺细胞生长不受抑制，是前列腺癌发生发展的危险因素。

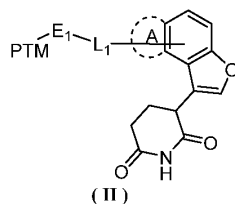
前列腺癌 (PCa) 是美国男性中最常诊断的非皮肤癌之一，是癌症死亡的第二大常见原因，在美国每年有超过 200,000 例新发病例和超过 30,000 例死亡。雄激素剥夺治疗 (ADT) 是晚期 PCa 的标准治疗。晚期 PCa 患者接受 ADT，通过促黄体激素释放激素 (LHRH) 激动剂、LHRH 拮抗剂或双侧睾丸切除术。尽管最初对 ADT 有反应，但疾病进展不可避免，癌症出现去势抵抗性前列腺癌 (CRPC)。高达 30% 接受放疗或手术初级治疗的前列腺癌患者将在初级治疗后 10 年内发生转移性疾病。每年约有 50,000 例患者将发生转移性疾病，称为转移性 CRPC (mCRPC)。

蛋白降解靶向嵌合体 (Proteolysis Targeting Chimera, PROTAC) 是一种应用泛素-蛋白酶体系统靶向特定蛋白质并诱导其在细胞内降解的技术。泛素-蛋白酶体系统是细胞内蛋白质降解的主要途径，其正常生理功能主要负责清除细胞内变性、突变或有害蛋白质，细胞内 80%以上蛋白质的降解都依赖于泛素-蛋白酶体系统。PROTAC 利用细胞自身的蛋白质破坏机制，清除细胞中的特异性靶向蛋白。

本公开描述了化合物，包括组成相同的组合物，其功能是招募内源性蛋白到 E3 泛素连接酶，例如，cereblon (CRBN) E3 泛素连接酶，用于泛素化和随后的降解，以及使用相同的方法。特别地，本公开提供了双功能或蛋白水解靶向嵌合 (PROTAC) 化合物，发现其可作为靶向泛素化和雄激素受体 (AR) 降解的调节剂。

发明内容

本发明提供式(II)所示化合物或其药学上可接受的盐，



其中，

PTM 选自靶向结合于 AR 蛋白的药物或其衍生物；

L₁ 选自 -(CH₂)_n-，所述各 CH₂ 任选被 R₁ 置换；

R₁ 选自 C₃₋₇ 环烷基、6 元杂环烷基、-NR_a-、-CR_bR_c-、-CH₂CH₂O- 和 -NHC(=O)-；

R_a 选自 H 和 C₁₋₃ 烷基；

R_b、R_c 选自 H、D 和 F；

E₁ 选自单键和 O；

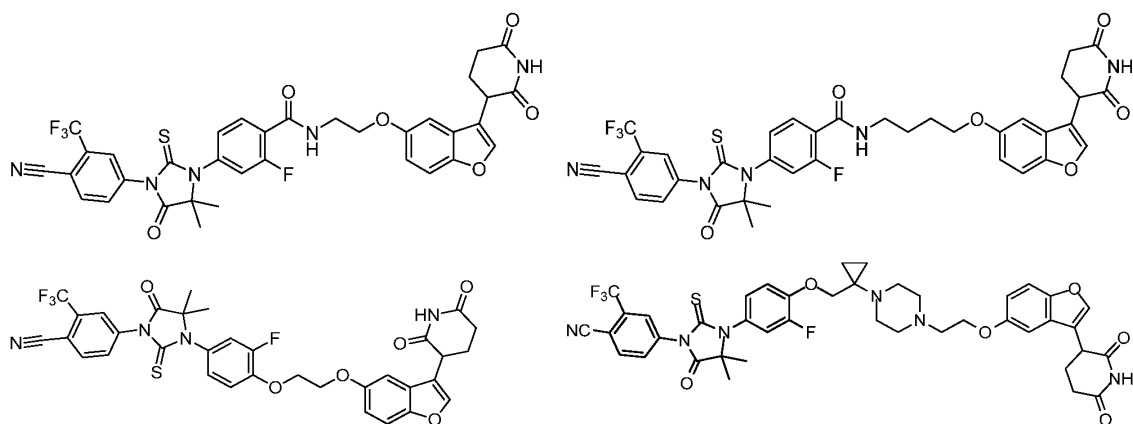
环 A 不存在；

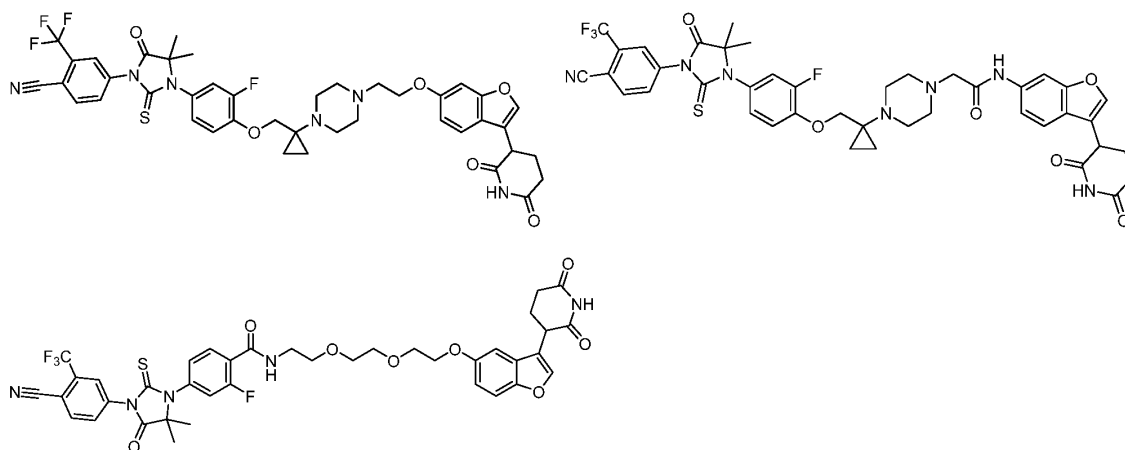
或者环 A 选自苯基和 5 元杂芳基；

n 选自 1、2、3、4、5 和 6；

所述 6 元杂环烷基和 5 元杂芳基分别包含 1、2 或 3 个独立选自 -NH-、-O-、-S- 和 N 的杂原子或杂原子团；

条件是，所述化合物不选自：





在本发明的一些方案中，上述 PTM 选自

和

，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 R_a 选自 H 和 CH_3 ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 R_1 选自环丙基、环己基、哌嗪基、哌啶基、 $-NR_a-$ 、 $-CH_2CH_2O-$ 、 $-NHC(=O)-$ 和 $-C(=O)NH-$ ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 R_1 选自

，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 R_1 选自

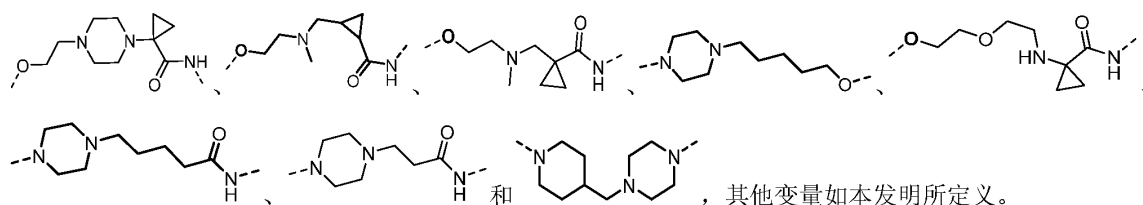
和 $-NHC(=O)-$ ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述 L_1 选自

和

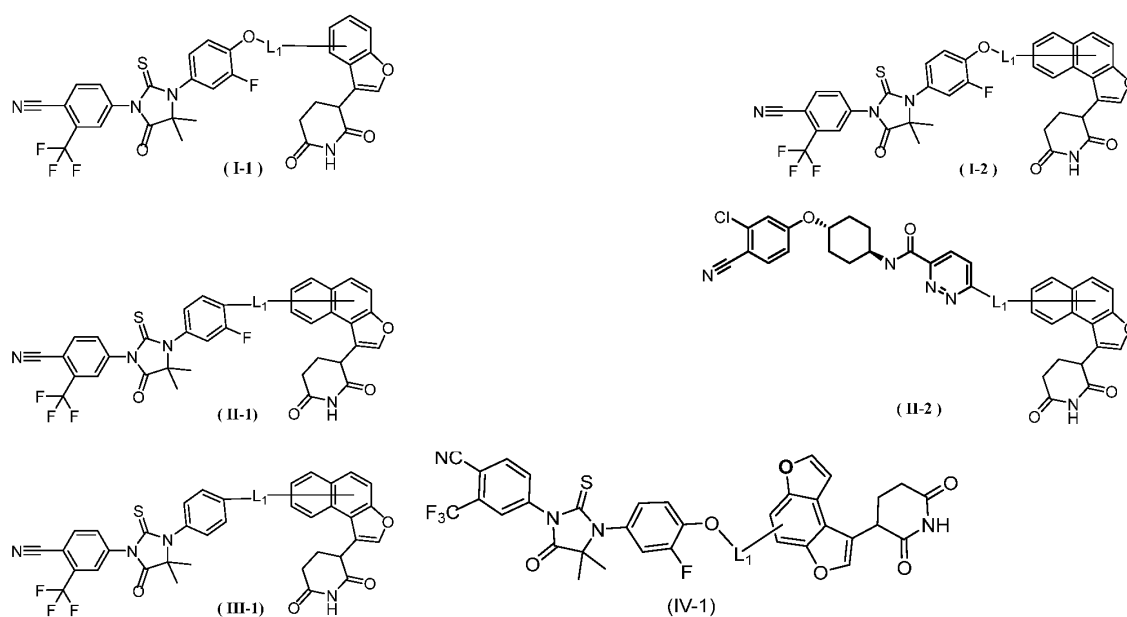
，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，上述结构单元 $-E_1-L_1-$ 选自



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

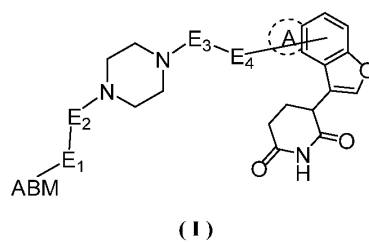
在本发明的一些方案中，上述化合物选自式(I-1)、(I-2)、(II-1)、(II-2)、(III-1)和(IV-1)所示的结构：



其中，

L_1 如本发明所定义。

本发明提供式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐，



其中，

E_1 选自单键、O 和 NH；

E_2 选自单键和 C_{1-3} 烷基；

E_3 选自 C_{1-3} 烷基和环丙基；

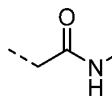
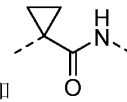
E₄ 选自单键和 -C(=O)NH-;

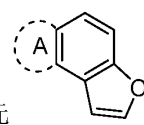
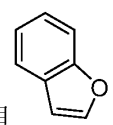
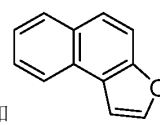
环 A 不存在;

或者环 A 选自苯基;

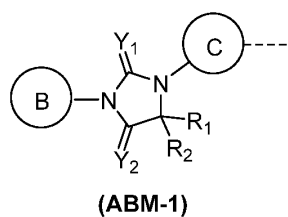
ABM 选自结合于 AR 靶向蛋白的药物或其衍生物。

在本发明的一些方案中, 上述结构单元-E₁-E₂-选自单键和 -OCH₂CH₂-, 其它变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 上述结构单元-E₃-E₄-选自 C₁₋₃ 烷基、 和 , 其它变量如本发明所定义。

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

在本发明的一些方案中, 上述 ABM 选自式 (ABM-1) 的结构:



其中,

R₁ 和 R₂ 选自甲基;

或者, R₁ 与 R₂ 与共同相连的碳原子成 C₄₋₆ 环烷基;

Y₁ 和 Y₂ 分别独立地选自 O 和 S;

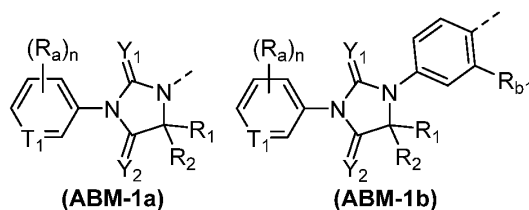
环 B 选自苯基和吡啶基, 所述苯基和吡啶基任选被 1、2 或 3 个 R_a 取代;

环 C 选自单键或苯基, 所述苯基任选被 1、2 或 3 个 R_b 取代;

R_a 选自 F、Cl、Br、I、CN、CH₃、CF₃ 和 NO₂;

R_b 选自 F 和 Cl。

在本发明的一些方案中, 上述 ABM 选自式 (ABM-1a) 和 (ABM-1b) 的结构:



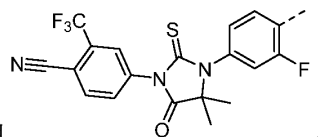
其中,

T₁ 选自 CH 和 N;

R_{b1} 选自 H 和 F;

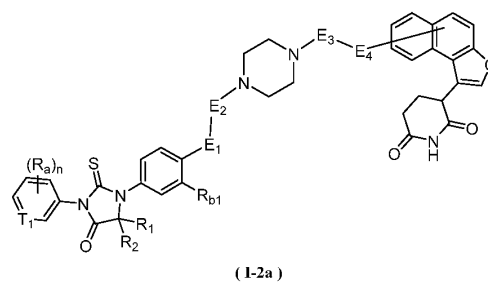
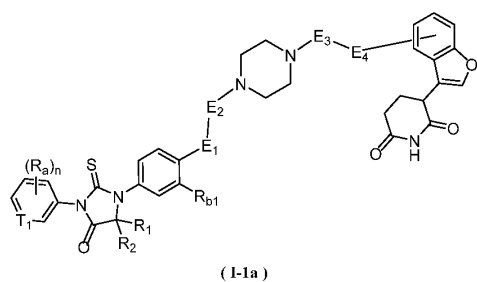
n 选自 1、2 和 3;

Y₁、Y₂、R_a、R₁ 和 R₂ 如本发明所定义。



在本发明的一些方案中，上述 ABM 选自

在本发明的一些方案中，上述化合物选自式(I-1a)和(I-2a)所示的结构：

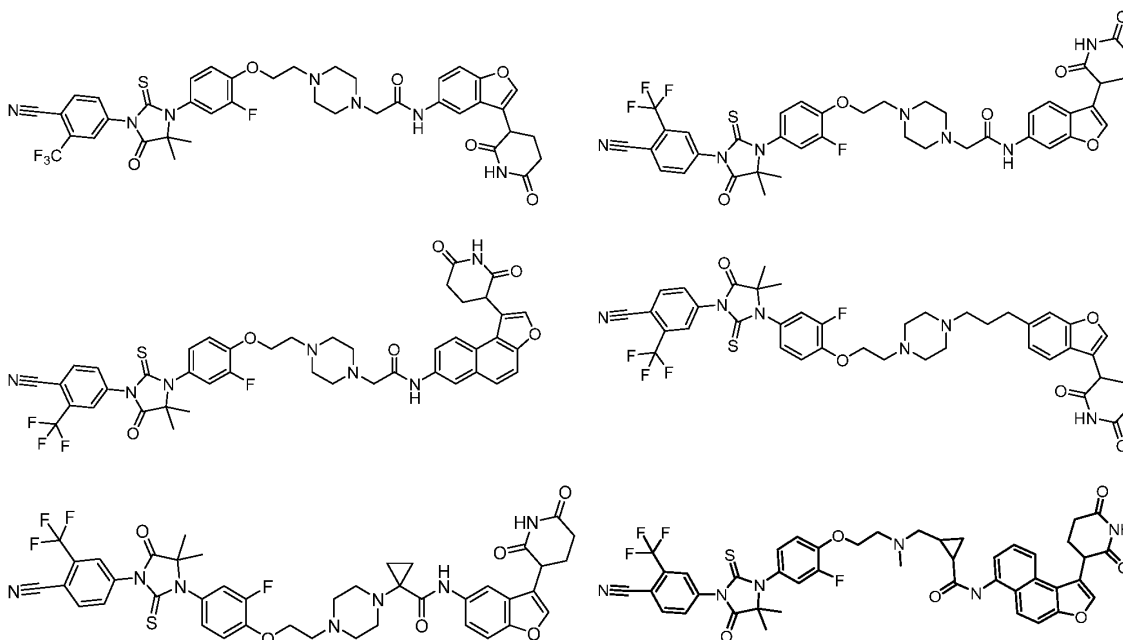


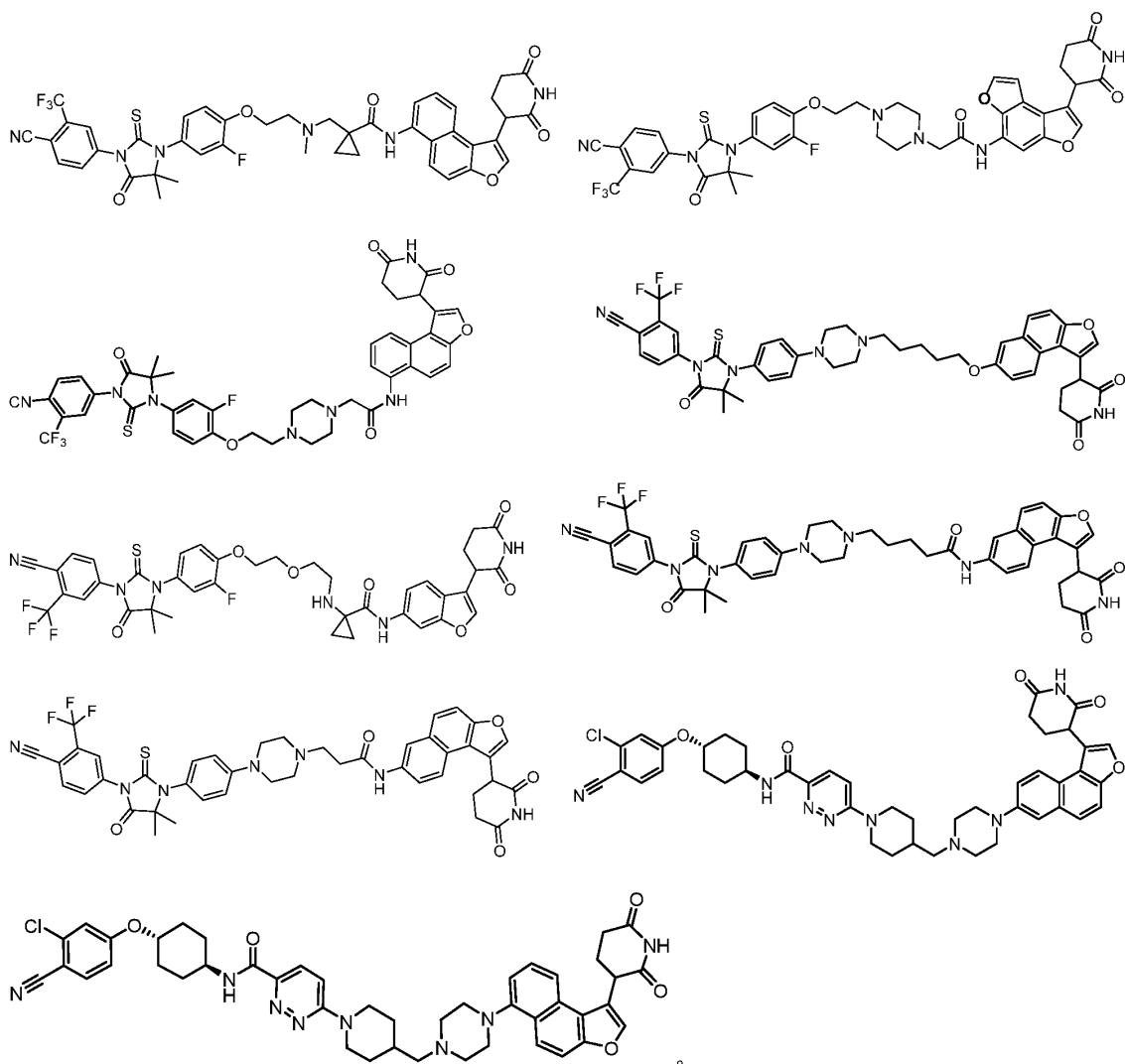
其中，

T₁、R₁、R₂、R_a、R_{b1}、n、E₁、E₂、E₃ 和 E₄ 如本发明任意一项所定义。

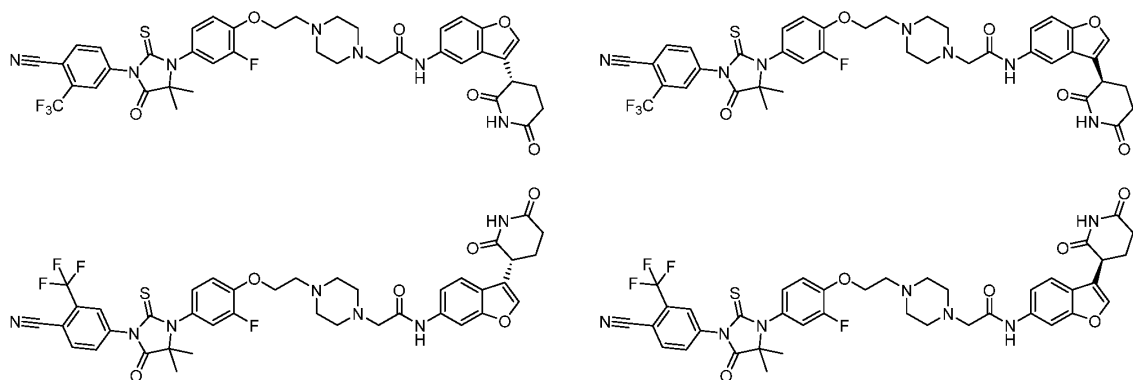
本发明还有一些方案是由上述各变量任意组合而来。

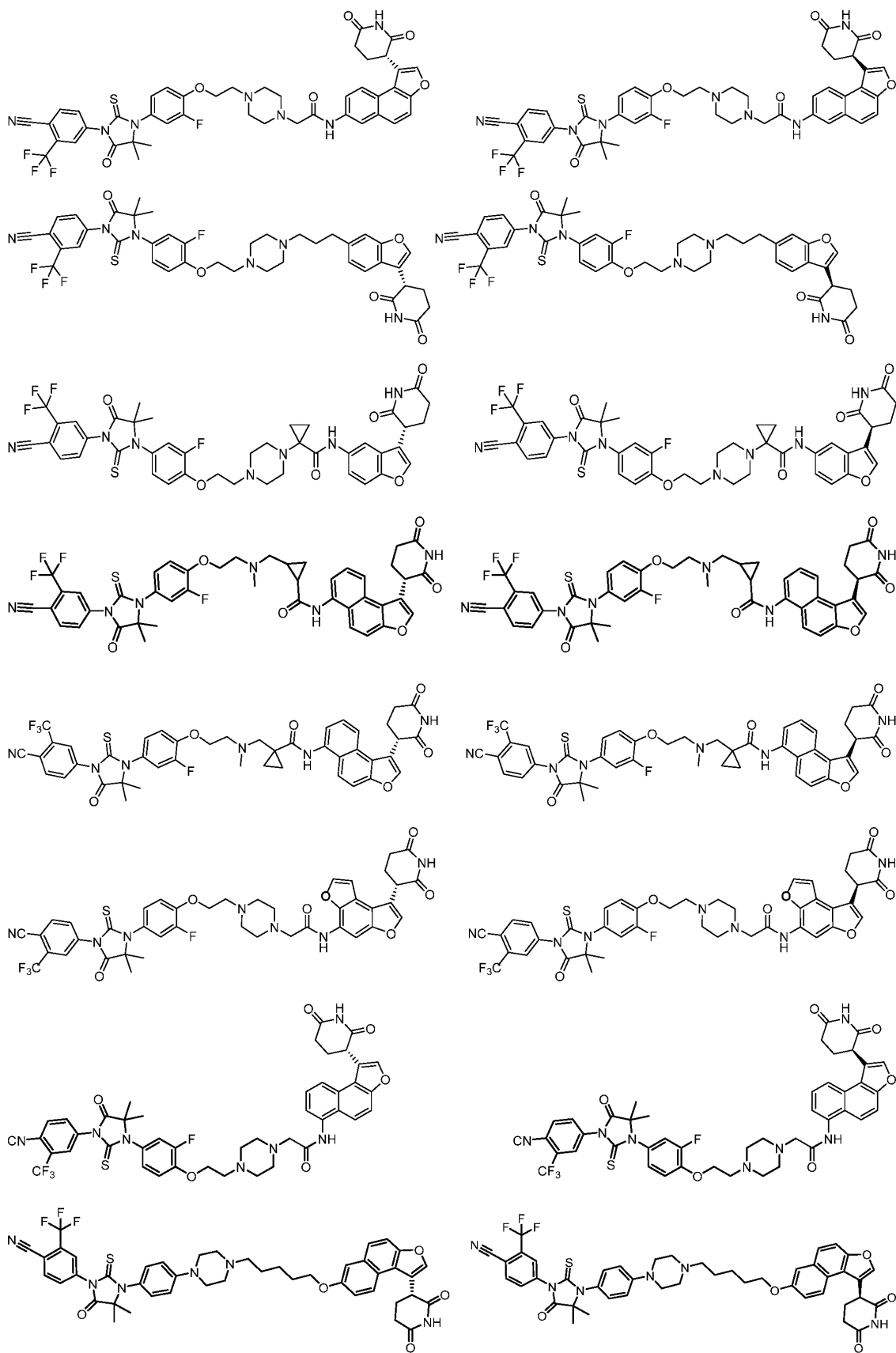
本发明还提供下述化合物或其药学上可接受的盐：

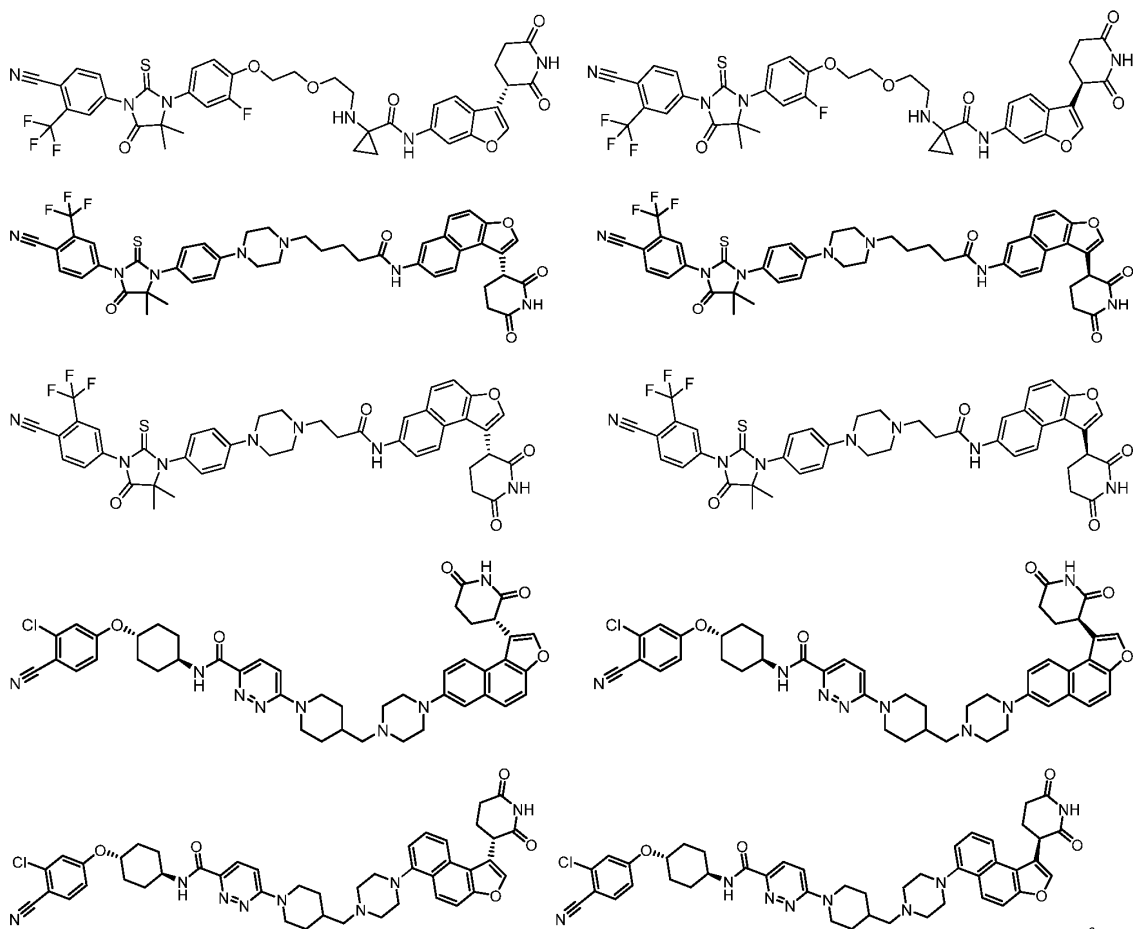




本发明还提供下述化合物或其药学上可接受的盐：







本发明还提供上述化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗制备治疗前列腺癌的药物中的应用。

定义和说明

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

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

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

加成盐的实例包括无机酸盐, 所述无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸, 碳酸氢根, 磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硫酸、硫酸氢根、氢碘酸、亚磷酸等; 以及有机酸盐, 所述有机酸包括如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸和甲磺酸等类似的酸; 还包括氨基酸(如精氨酸等)的盐, 以及如葡萄糖醛酸等有机酸的盐。本发明的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团, 从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

术语“药物或其衍生物”包括已开发可结合于靶向蛋白的药物或其衍生物。

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

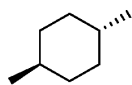
本发明的化合物可以存在特定的几何或立体异构体形式。本发明设想所有的这类化合物, 包括顺式和反式异构体、(-)-和(+)-对映体、(R)-和(S)-对映体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体, 及其外消旋混合物和其他混合物, 例如对映异构体或非对映体富集的混合物, 所有这些混合物都属于本发明的范围之内。烷基等取代基中可存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及它们的混合物, 均包括在本发明的范围之内。

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

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

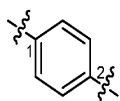
除非另有说明, “(+)”表示右旋, “(-)”表示左旋, “(±)”表示外消旋。

除非另有说明, 用楔形实线键()和楔形虚线键()表示一个立体中心的绝对构型; 在结构中没有立体中心的情况下, 楔形实线键()和楔形虚线键()同时出现表示相对构型, 例如, 用



表示反-1,4-二甲基环己烷。

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。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集团中的1和2位的碳原子与其他基团相连。

本发明的化合物可以存在特定的。除非另有说明, 术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指在室温

下,不同官能团异构体处于动态平衡,并能很快的相互转化。若互变异构体是可能的(如在溶液中),则可以达到互变异构体的化学平衡。例如,质子互变异构体(proton tautomer)(也称质子转移互变异构体(prototropic tautomer))包括通过质子迁移来进行的互相转化,如酮-烯醇异构化和亚胺-烯胺异构化。价键异构体(valence tautomer)包括一些成键电子的重组来进行的相互转化。其中酮-烯醇互变异构化的具体实例是戊烷-2,4-二酮与4-羟基戊-3-烯-2-酮两个互变异构体之间的互变。

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

除非另有说明,术语“异构体过量”或“对映体过量”指两种异构体或两种对映体相对百分数之间的差值。例如,其中一种异构体或对映体的含量为90%,另一种异构体或对映体的含量为10%,则异构体或对映体过量(cc值)为80%。

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

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

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

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

术语“被置换”指特定的原子或基团可以被替换为指定的其他原子或基团。如 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_3$ 中的 CH_2 可被 O、S、NH 置换得到 CH_3OCH_3 、 CH_3SCH_3 和 CH_3NHCH_3 。

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

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

当一个取代基为空缺时，表示该取代基是不存在的，比如 A-X 中 X 为空缺时表示该结构实际上是 A。当所列举的取代基中没有指明其通过哪一个原子连接到被取代的基团上时，这种取代基可以通过其任何原子相键合，例如，吡啶基作为取代基可以通过吡啶环上任意一个碳原子连接到被取代的基团上。

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

除非另有规定，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”。

除非另有规定，“C3-7 环烷基”表示由 3 至 7 个碳原子组成的饱和环状碳氢基团，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。所述 C3-7 环烷基包括 C3-6、C3-5、C3-4、C4-7、C4-6、C4-5、C5-7 或 C5-6 环烷基等；其可以是一价、二价或者多价。C3-7 环烷基的实例包括，但不限于，环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等。

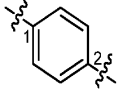
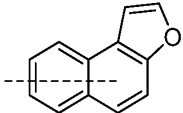
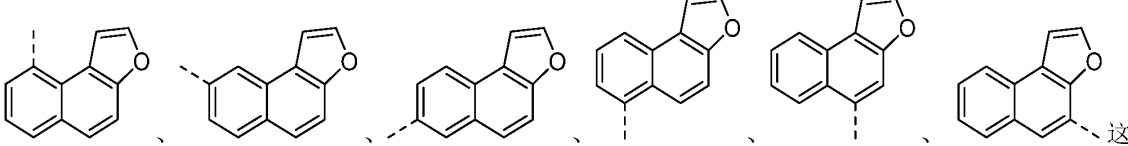
除非另有规定，术语“6 元杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由 6 个环原子组成的饱和环状基团，其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S 和 N 的杂原子，其余为碳原子，其中氮原子任选地被季铵化，氮和硫杂原子可任选被氧化（即 NO 和 $\text{S}(\text{O})_p$ ，p 是 1 或 2）。其包括单环和双环体系，其中双环体系包括螺环、并环和桥环。6 元杂环烷基的实例包括但不限于四氢吡喃基、哌啶基（包括 1-哌啶基、2-哌啶基和 3-哌啶基等）、哌嗪基（包括 1-哌嗪基和 2-哌嗪基等）或吗啉基（包括 3-吗啉基和 4-吗啉基等）等。

除非另有规定，本发明术语“5 元杂芳环”和“5 元杂芳基”可以互换使用，术语“5 元杂芳基”表示由 5 个环原子组成的具有共轭 π 电子体系的单环基团，其 1、2 或 3 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 $\text{S}(\text{O})_p$ ，p 是 1 或 2）。5 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 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

噻唑基和 5-异噻唑基等)、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)。

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

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;  表示萘环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 6 种连接方式。

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

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

本发明所使用的溶剂可经市售获得。本发明采用下述缩略词: aq 代表水; eq 代表当量、等量; CDI 代

表羰基二咪唑；DCM 代表二氯甲烷；PE 代表石油醚；DMF 代表 N, N-二甲基甲酰胺；DMSO 代表二甲亚砜；EtOAc 代表乙酸乙酯；EtOH 代表乙醇；MeOH 代表甲醇；Boc 代表叔丁氧羰基是一种胺保护基团；r.t.代表室温；O/N 代表过夜；THF 代表四氢呋喃；Boc2O 代表二-叔丁基二碳酸酯；M 代表 mol/L；HPLC 代表高效液相色谱。

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

技术效果

本发明化合物具有优异的 AR 蛋白降解作用、细胞增殖抑制作用和显著的抑瘤作用。

附图说明

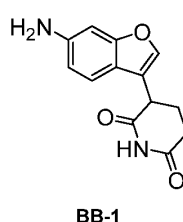
图 1：恩杂鲁胺和 WX001 在细胞系 LNCaP AR 蛋白降解活性。

图 2：WX002 在细胞系 LNCaP AR 蛋白降解活性。

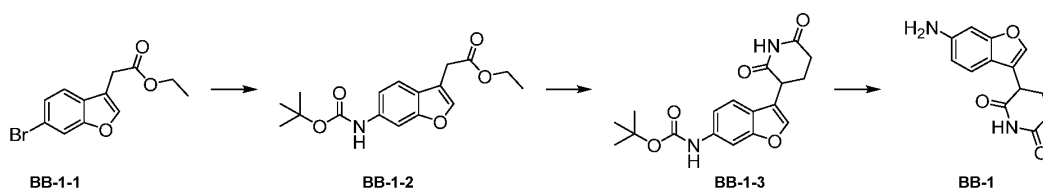
具体实施方式

下面通过实施例对本发明进行详细描述，但并不意味着对本发明任何不利限制。本文已经详细地描述了本发明，其中也公开了其具体实施方式，对本领域的技术人员而言，在不脱离本发明精神和范围的情况下针对本发明具体实施方式进行各种变化和改进行将是显而易见的。

参考例 1



合成路线：



步骤 1：中间体 BB-1-2 的合成

将化合物 BB-1-1(1 g, 3.53 mmol)和氨基甲酸叔丁酯(2.07 g, 17.66 mmol)加到甲苯(15 mL)和水(1.5 mL)中，将三(二亚苄基丙酮)二钯(226.41 mg, 247.25 μ mol)，2-二叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯(209.98 mg, 494.49 μ mol)，磷酸钾(3.00 g, 14.13 mmol)依次慢慢的加到反应中，混合物用氮气置换 3 次后升温到 100°C 搅拌 12 小时。反应液冷却到室温，减压旋掉大部分的有机溶剂。用乙酸乙酯稀释(30 mL)，有机相经水洗涤 2 次(30 mL $\times$ 2)，无水硫酸钠干燥，过滤，减压旋干。所得残留物经柱层析分离(洗脱剂：石油醚/乙酸乙酯=1/0-3/2,体积比)，得到中间体 BB-1-2。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ :7.83 - 7.73(m, 1H), 7.57(s, 1H), 7.47 -

7.40(m, 1H), 7.14 - 7.05(m, 1H), 6.81(br d, J=1.0 Hz, 1H), 4.19(q, J=7.0 Hz, 2H), 3.67(d, J=1.3 Hz, 2H), 1.49 - 1.42(m, 9H), 1.32 - 1.23(m, 3H)。

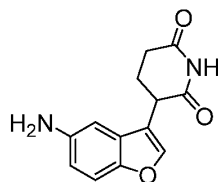
步骤 2: 中间体 BB-1-3 的合成

0°C下, 将化合物 BB-1-2(300 mg, 939.40 μ mol)和丙烯酰胺(73.45 mg, 1.03 mmol, 71.31 μ L)加到四氢呋喃(5 mL)中, 将叔丁醇钾(158.12 mg, 1.41 mmol)慢慢加到反应中, 混合物氮气置换 3 次后在 0°C 搅拌 1 小时。反应液慢慢加到饱和氯化铵水溶液(20 mL)中, 用乙酸乙酯萃取 2 次(20 mL $\times$ 2), 有机相用饱和食盐水洗涤 1 次(20 mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干。所得残留物经柱层析分离(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-3/1, 体积比), 得到中间体 BB-1-3。

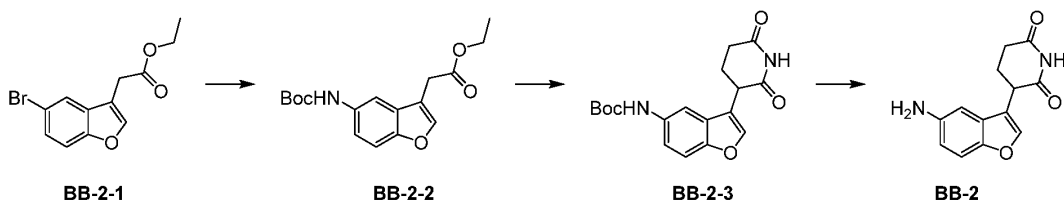
步骤 3: 中间体 BB-1 的盐酸盐的合成

将化合物 BB-1-3(40 mg, 116.16 μ mol)加到乙酸乙酯(2 mL)中, 将盐酸/二氧六环(4 M, 1 mL)慢慢滴加到反应中。混合物氮气置换 3 次后在 25°C 搅拌 12 小时。反应液直接旋干得到中间体 BB-1 的盐酸盐。

参考例 2



合成路线:



步骤 1: 中间体 BB-2-2 的合成

室温和氮气保护下, 将中间体 BB-2-1(4 g, 14.13 mmol)和氨基甲酸叔丁酯(4.97 g, 42.39 mmol)加入到甲苯(70 mL)和水(10 mL)的混合液中, 随后依次加入磷酸钾(12.00 g, 56.51 mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯(905.63 mg, 988.99 μ mol)和 2-二叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯(839.93 mg, 1.98 mmol), 反应混合物在 110°C 和氮气保护下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 经硅藻土过滤, 滤液中加入水(100 mL), 用乙酸乙酯(500 mL $\times$ 2)萃取。合并有机相, 用饱和食盐水(300 mL $\times$ 2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 所得残余物经过柱分离(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=0/1-10/1, 体积比), 得到中间体 BB-2-2。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 7.71(br s, 1H), 7.63(s, 1H), 7.37(d, J=8.8 Hz, 1H), 7.14(dd, J=2.0, 8.8 Hz, 1H), 6.59(br s, 1H), 4.20(q, J=7.2 Hz, 2H), 3.67(d, J=0.8 Hz, 2H), 1.53(s, 9H), 1.29(t, J=7.2 Hz, 3H)。

步骤 2: 中间体 BB-2-3 的合成

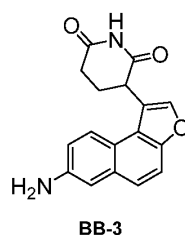
将化合物 BB-2-2 (0.75 g, 1.69 mmol) 和叔丁醇钾 (284.42 mg, 2.53 mmol) 加到四氢呋喃 (8 mL) 中, 将丙烯酰胺 (312.60 mg, 2.03 mmol) 慢慢的加到反应液中, 混合物用氮气置换 3 次后在 0-5°C 搅拌 2 小时。反应完毕, 将反应液慢慢加到饱和氯化铵水溶液中 (20 mL), 乙酸乙酯萃取 2 次 (20 mL×2), 合并有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干, 所得残余物经过柱分离(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-1/1, 体积比), 得到中间体 BB-2-3。MS-ESI m/z : 245.0 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 8.13 (br s, 1H), 7.65 (br s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.32 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.04 (dd, $J=2.1, 8.8$ Hz, 1H), 6.57 (br s, 1H), 3.91 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 2.80 - 2.53 (m, 2H), 2.35 - 2.20 (m, 2H), 1.45 (s, 9H)。

步骤 3: 中间体 BB-2 的盐酸盐的合成

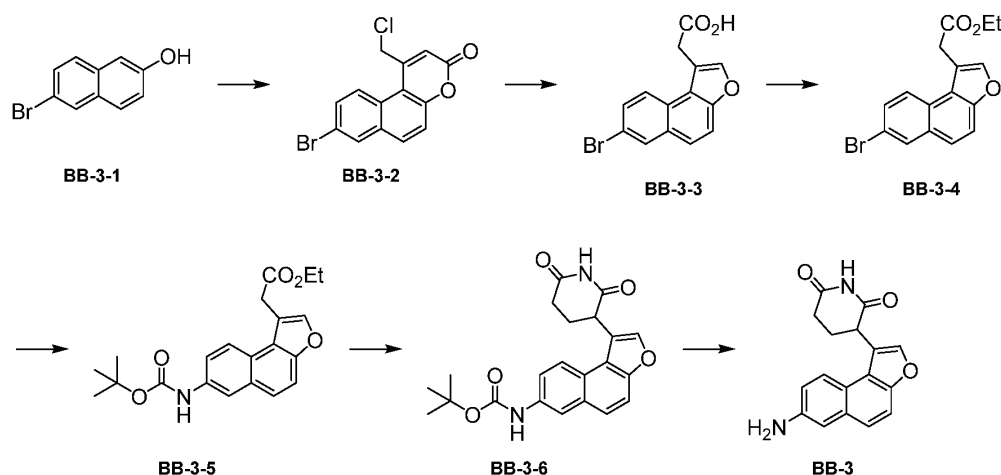
室温下, 将中间体 BB-2-3 (300 mg, 871.18 μ mol) 溶于盐酸/乙酸乙酯溶液 (4 M, 5 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 反应液减压浓缩除去溶剂得到中间体 BB-2 的盐酸盐。

1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.97 (s, 1H), 10.34 (br s, 2H), 8.05 (s, 1H), 7.72 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.35 (dd, $J=2.1, 8.7$ Hz, 1H), 4.20 (dd, $J=4.8, 12.3$ Hz, 1H), 2.88 - 2.73 (m, 1H), 2.68 - 2.58 (m, 1H), 2.30 (dq, $J=4.4, 12.6$ Hz, 1H), 2.20 - 2.10 (m, 1H)。

参考例 3



合成路线:



步骤 1: 中间体 BB-3-2 的合成

室温和氮气保护下, 将浓硫酸 (220.80 g, 2.21 mol, 120 mL, 纯度: 98%) 滴加到冰水 (40 mL) 中, 随后加入化合物 BB-3-1 (10 g, 44.83 mmol), 冷却至 5~10°C, 缓慢滴加 4-氯乙酰乙酸乙酯 (7.38 g, 44.83 mmol), 反应

混合物升温至室温并搅拌反应 16 小时，再升温至 50°C 并继续搅拌反应 16 小时。反应完毕后，冷却至室温，倒入冰水(1 L)中，有大量固体析出，过滤，收集滤饼。所得固体加入甲苯(400 mL)，减压除去溶剂，再加入甲苯(400 mL)，再减压除去溶剂，得到中间体 BB-3-2。

步骤 2: 中间体 BB-3-3 的合成

室温和氮气保护下，将中间体 BB-3-2(14.5 g, 44.81 mmol)溶于氢氧化钠(8.70 g, 217.52 mmol)的水(150 mL)溶液中，反应混合物加热至 80°C 并搅拌反应 5 小时。反应完毕后，冷却至室温，加入二氯甲烷(150 mL)稀释，分液后收集有机相，水相用二氯甲烷(150 mL×3)萃取。水相用 2 M 稀盐酸调节 pH 值至 4，用乙酸乙酯(200 mL×3)萃取。合并有机相，用饱和食盐水(50 mL×2)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压除去溶剂，得到中间体 BB-3-3。

步骤 3: 中间体 BB-3-4 的合成

室温和氮气保护下，将中间体 BB-3-3(11.3 g, 37.03 mmol)溶于乙醇(300 mL)中，随后加入浓硫酸(2.08 g, 20.78 mmol, 1.13 mL, 纯度: 98%)，反应混合物加热至 80°C 搅拌反应 12 小时。反应结束后，冷却至室温，减压浓缩除去溶剂，加入水(150 mL)，用乙酸乙酯(150 mL×1, 100 mL×3)萃取。合并有机相，用饱和食盐水(50 mL×2)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-97/3, 体积比)，得到中间体 BB-3-4。¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ : 8.35(d, J=2.0 Hz, 1H), 8.09(t, J=4.4 Hz, 2H), 7.86(s, 2H), 7.73(dd, J=2.0, 8.8 Hz, 1H), 4.18-4.09(m, 4H), 1.18(t, J=7.2 Hz, 3H)。

步骤 4: 中间体 BB-3-5 的合成

室温下，在搅拌条件下将中间体 BB-3-4(2.00 g, 6.00 mmol)溶于甲苯(60 mL)和水(6 mL)中，之后依次加入叔丁基氨基甲酸酯(3.52 g, 30.01 mmol)，三(二亚苄基丙酮)二钯(384.78 mg, 420.20 μ mol)，2-二叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯(356.87 mg, 840.40 μ mol)，磷酸钾(5.10 g, 20.01 mmol)。反应混合物体系经氮气置换三次，缓慢升温至 105°C，氮气保护条件下，反应 12 小时。反应完毕后，冷却至室温，向所得反应液中加入水(50 mL)，用乙酸乙酯(50 mL×3)萃取。合并有机相，依次用饱和食盐水(50 mL×3)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离纯化(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=10/1-5/1, 体积比)，得到中间体 BB-3-5。

步骤 5: 中间体 BB-3-6 的合成

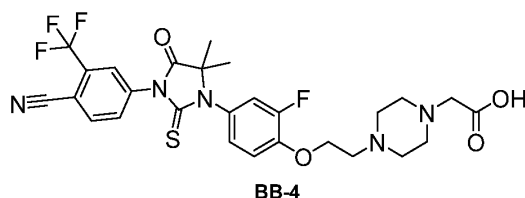
0°C 和氮气保护下，将 BB-3-5(4.00 g, 10.83 mmol)溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺(60 mL)溶剂中，向其中分别加入叔丁醇钾(1.22 g, 10.83 mmol)和丙烯酰胺(1.67 g, 10.83 mmol)，反应混合物在 0°C 下搅拌反应 3 小时。反应完毕后，向反应液中加入水(50 mL)，用乙酸乙酯(100 mL×3)萃取，合并有机相，依次用饱和食盐水(30 mL×2)洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离纯化(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=3/1-1/1, 体积比)，得到中间体 BB-3-6。MS-ESI *m/z*: 338.4 [M+H]⁺。 ¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ : 10.95(s, 1H), 9.55(s, 1H), 8.25(s, 1H), 7.96(d, J=4.0 Hz, 2H), 7.72(s, 2H), 2.89(s, 3H), 2.74(s, 2H), 1.52(s,

9H)。

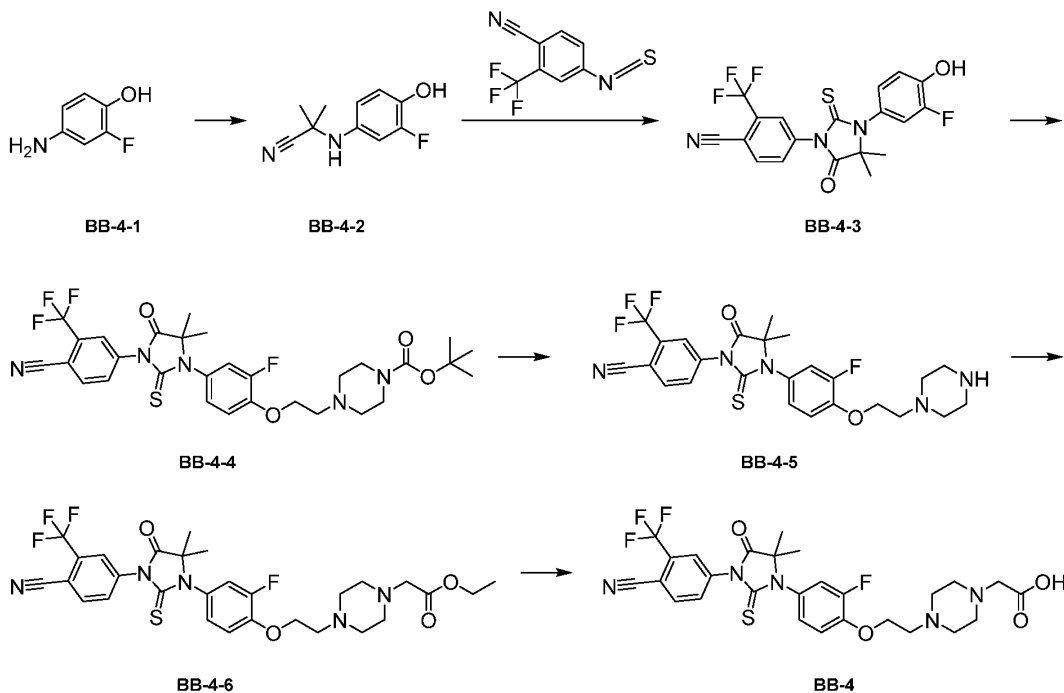
步骤 6: 中间体 BB-3 的盐酸盐的合成

0°C下, 将 BB-3-6(1.0 g, 2.54 mmol)溶解于乙酸乙酯(20 mL)中, 向其中缓慢加入盐酸乙酸乙酯(2.54 mL), 氮气氛围下, 反应混合液搅拌 4 小时。反应结束后, 减压浓缩得 BB-3 的盐酸盐。MS-ESI m/z: 294.31[M+H]⁺。

参考例 4



合成路线:



步骤 1: 中间体 BB-4-2 的合成

在 0-5°C和氮气保护下, 将化合物 BB-4-1(10 g, 78.67 mmol)溶于二氯甲烷(120 mL)和丙酮(60 mL), 依次慢慢滴加氰基三甲基硅烷(12.45 g, 125.50 mmol, 15.70 mL), 三甲基硅基三氟甲磺酸酯(820.00 mg, 3.69 mmol, 666.67 μL), 反应混合物在 25°C搅拌 2 小时, 反应完毕后, 冷却至 0-5°C, 加入水(200 mL)稀释, 乙酸乙酯(200 mL×3)萃取。合并的有机相经饱和食盐水(100 mL×2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=10/1-5/1, 体积比)分离, 得到化合物 BB-4-2。H NMR(400MHz, CDCl₃)δ: 6.83(t, J=9.0 Hz, 1H), 6.74(dd, J=2.7, 12.1 Hz, 1H), 6.66 - 6.59(m, 1H), 1.65(s,

6H)。

步骤 2: 化合物 BB-4-3 的合成

在室温下和氮气保护下, 将化合物BB-4-2(8 g, 45.40 mmol)溶于*N,N*-二甲基乙酰胺(150 mL), 4-硫代异氰酸酯-2-(三氟甲基)苯腈(10.36 g, 45.40 mmol)分批加入反应液中, 反应混合物在25°C搅拌12小时, 加入甲醇(60 mL), 稀盐酸(2M, 60 mL), 反应混合物在70°C搅拌3小时, 反应完毕后, 冷却至室温, 加入水(500 mL)稀释, 用乙酸乙酯(200 mL×3)萃取。合并有机相, 用饱和食盐水(100 mL×2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=3/1-1/1, 体积比), 得到化合物 BB-4-3。¹H NMR(400MHz, CDCl₃)δ: 8.03 - 7.94(m, 1H), 8.02 - 7.94(m, 1H), 8.05 - 7.92(m, 1H), 8.04 - 7.92(m, 1H), 8.15 - 7.89(m, 1H), 7.86(d, J=1.5 Hz, 1H), 7.82 - 7.79(m, 1H), 7.19 - 7.10(m, 2H), 6.99 - 6.90(m, 2H), 6.06(br s, 1H), 1.58(s, 6H)。

步骤 3: 化合物 BB-4-4 的合成

在室温下和氮气保护下, 将化合物BB-4-3(2 g, 4.72 mmol)溶于*N,N*-二甲基甲酰胺(50 mL), 依此加入叔丁基4-(2-溴乙基)哌嗪-1-甲酸酯(1.66 g, 5.67 mmol), 碳酸钾(1.31 g, 9.45mmol), 碘化钾(784.17 mg, 4.72 mmol), 反应混合物加热至 80°C 搅拌反应12小时。反应完毕后, 冷却至室温, 加入水(100 mL)稀释, 用乙酸乙酯(100 mL×3)萃取。合并有机相, 用饱和食盐水(100 mL×2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=3/1-1/1, 体积比), 得到化合物 BB-4-4。MS-ESI m/z: 636.3 [M+H]⁺。

步骤 4: 化合物 BB-4-5 的盐酸盐的合成

在室温下和氮气保护下, 将化合物 BB-4-4(2.0 g, 3.15 mmol)溶于乙酸乙酯(50 mL), 盐酸乙酸乙酯(4 M, 3.93 mL)慢慢滴加到反应混合物中, 反应混合物在 25°C搅拌 12 小时, 反应完毕后, 反应混合物减压浓缩得到化合物 BB-4-5 的盐酸盐。¹H NMR(400MHz, CD₃OD)δ: 8.23 - 8.13(m, 2H), 8.00(dd, J=1.8, 8.3 Hz, 1H), 7.40(t, J=8.9 Hz, 1H), 7.32(dd, J=2.4, 11.4 Hz, 1H), 7.24(br d, J=8.8 Hz, 1H), 4.69 - 4.60(m, 2H), 3.88 - 3.79(m, 6H), 3.75 - 3.65(m, 4H), 1.58(s, 6H)。

步骤 5: 化合物 BB-4-6 的合成

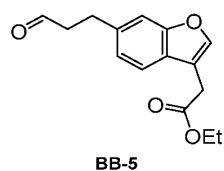
在室温下和氮气保护下, 将化合物 BB-4-5(1.5 g, 2.62 mmol, 盐酸盐)溶于乙腈(50 mL), 依次加入溴乙酸乙酯(875.85 mg, 5.24 mmol, 580.04 μL), 碳酸钾(724.86 mg, 5.24 mmol), 反应混合物加热至 80°C搅拌反应 5 小时, 反应完毕后, 冷却至室温, 加入水(100 mL)稀释, 用乙酸乙酯(100 mL×3)萃取。合并有机相, 用饱和食盐水(100 mL×2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=3/1-1/1, 体积比), 得到化合物 BB-4-6。MS-ESI m/z: 622.2 [M+H]⁺。

步骤 6: 化合物 BB-4 的合成

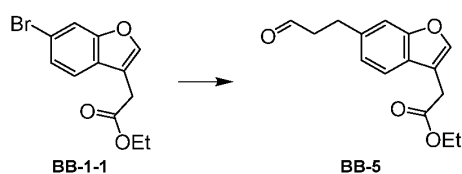
在室温下和氮气保护下, 化合物 BB-4-6(1.5 g, 2.42 mmol)溶于乙醇(50 mL), 氢氧化锂(1 M, 7.25 mL)慢

慢滴加到反应混合物中, 反应混合物在 25°C 搅拌 12 小时。反应完毕, 反应混合物用 2M 盐酸调节到 pH=2-3, 反应混合物减压浓缩得化合物 BB-4。MS-ESI m/z: 594.1 [M+H]⁺。

参考例 5

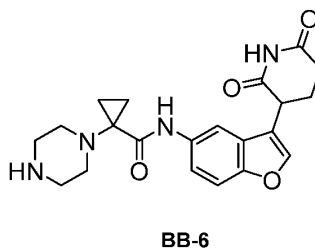


合成路线:

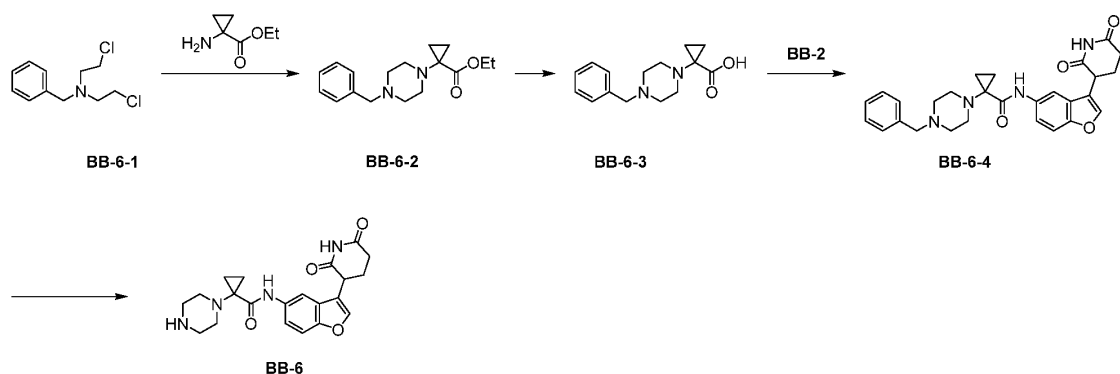


将化合物 BB-1-1(3 g, 10.60 mmol)和烯丙醇(1.34 g, 23.07 mmol, 1.57 mL)加到二氧六环(30 mL)中, 将 *N*-环己基-*N*-甲基-环己胺(2.48 g, 12.72 mmol, 2.70 mL), 三叔丁基膦(4.29 g, 2.12 mmol, 4.97 mL, 含量 10%)和三(二亚苄基丙酮)二钯(970.32 mg, 1.06 mmol)缓慢加到反应中。混合物用氮气置换 3 次后在 30°C 搅拌 12 小时。反应液慢慢加到水(50 mL)中, 用乙酸乙酯萃取 3 次(50 mL×3), 合并有机相的用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干。所得残余物经过柱层析分离(洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=0/1-3/1, 体积比), 得到化合物 BB-5。¹H NMR(400MHz, CDCl₃)δ: 9.84(s, 1H), 7.60(s, 1H), 7.50(d, J=8.0 Hz, 1H), 7.33(s, 1H), 7.12(dd, J=1.0, 8.0 Hz, 1H), 4.24 - 4.16(m, 2H), 3.69(d, J=0.8 Hz, 2H), 3.14 - 3.03(m, 2H), 2.90 - 2.78(m, 2H), 1.29(t, J=7.2 Hz, 3H)。

参考例 6



合成路线:



步骤 1: 中间体 BB-6-2 的合成

25°C下将化合物 1-氨基环丙烷-1-甲酸乙酯盐酸盐 (1.0 g, 6.04 mmol) 加入到乙醇 (10 mL) 中, 开启搅拌, 依次加入化合物 N-苯甲基-2-氯-N-(2-氯乙基)乙胺盐酸盐 (1.78 g, 6.64 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (7.88 g, 60.98 mmol, 10.62 mL)。氮气保护下, 加热至 80°C, 氮气保护下, 继续搅拌 12 小时。反应完毕后, 反应液冷却至室温, 然后直接旋干, 粗品加入水 (20 mL), 乙酸乙酯 (20 mL×2) 萃取。合并有机相加入半饱和食盐水 (10 mL×2) 洗涤, 有机相加入无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 所得残余物经过柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=3/1-1/1, 体积比) 分离得到中间体 BB-6-2。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.40-7.27 (m, 5 H), 4.18 (q, J=7.20 Hz, 2H), 3.55 (s, 2H), 3.02 (s, 4H), 2.40 (s, 4H), 1.28-1.34 (m, 5H), 0.94 (q, J=3.6 Hz, 2H)。

步骤 2: 中间体 BB-6-3 的合成

25°C下将中间体 BB-6-2 (0.3 g, 1.04 mmol) 加入到乙醇 (20 mL) 中, 开启搅拌, 依次加入化合物氢氧化钾 (583.66 mg, 10.40 mmol), 加热至 120°C, 继续搅拌 12 小时。反应完毕后, 反应液冷却至室温, 旋干。然后加入水 (40 mL), 乙酸乙酯 (40 mL×2) 萃取。水相加入 4M 稀盐酸调节 pH 至 3, 然后加入乙酸乙酯 (40 mL) 萃取, 产物在水相里, 收集水相冻干。得到化合物 BB-6-3。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 10.70 (s, 1H), 7.59 (s, 2H), 7.45 (s, 3H), 4.26 (s, 2H), 3.46 (t, J=12.4 Hz, 2H), 3.21 (d, J=11.6 Hz, 2H), 2.94 (d, J=12.8 Hz, 2H), 2.83 (s, 2H), 1.16 (s, 2H), 0.94 (s, 2H)。

步骤 3: 化合物 BB-6-4 的合成

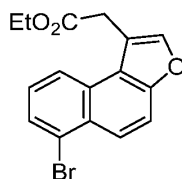
25°C下, 将中间体 BB-6-3 加入到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (20 mL) 中, 开启搅拌, 依次加入化合物 BB-2 (938.21 mg, 3.84 mmol), 2-(7-氧化苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸盐 (2.19 g, 5.76 mmol), 三乙胺 (1.55 g, 15.37 mmol, 2.14 mL)。氮气保护下, 继续搅拌 12 小时。反应完毕后, 反应液加入水 (50 mL), 乙酸乙酯 (50 mL×2) 萃取, 合并有机相, 加入半饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 有机相加入无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 所得残余物经过柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/1-0/1, 体积比) 分离得到中间体 BB-6-4。MS-ESI *m/z*: 487.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 10.91 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.53 (d, J=8.8 Hz, 1H), 7.41 (dd, J=8.8, 1.6 Hz, 1H), 7.35-7.28 (m, 4H), 7.27-7.22 (m, 1H), 4.12 (dd, J=12.0, 4.8 Hz, 1H), 3.50 (s, 2H), 3.40-3.30 (m, 2H), 2.89 (s, 2H), 2.83-2.74 (m, 1H), 2.73 (s, 2H), 2.61-2.60

(m, 1H), 2.56-2.55 (m, 2H), 2.34-2.20 (m, 1H), 2.14-2.10 (m, 1H), 1.08 - 1.06 (m, 4 H)。

步骤 4: 化合物 BB-6 的合成

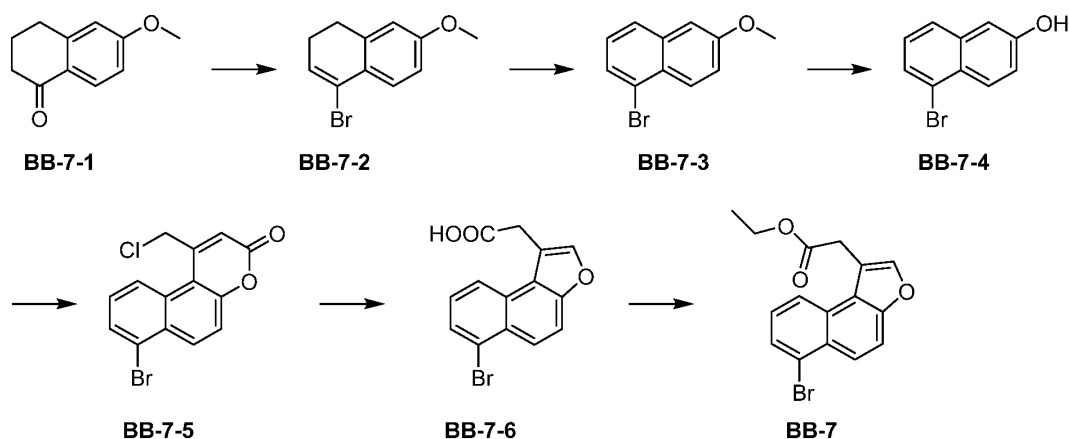
25°C下将化合物 BB-6-4 (50 mg, 97.91 μ mol) 溶于四氢呋喃 (10 mL) 中, 氩气保护下加入湿钨碳 (5 mg, 10.28 μ L), 氢气置换 3 次, 保持压力在 40Psi, 反应液加热至 30°C, 氢气氛围中, 搅拌 12 小时。反应完毕后, 反应液冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂得到化合物 BB-6。MS-ESI m/z: 397.1[M+H]⁺。

参考例 7



BB-7

合成路线:



步骤 1: 化合物 BB-7-2 的合成

25°C下将化合物亚磷酸三苯酯 (48.42 g, 156.06 mmol, 41.04 mL) 溶于二氯甲烷 (250 mL) 中, 在氮气氛围下, 降温至 -70°C, 滴加液溴 (27.21 g, 170.25 mmol, 8.78 mL), 加完后依次滴加三乙胺 (18.66 g, 184.44 mmol, 25.67 mL) 和化合物 BB-7-1 (25.00 g, 141.88 mmol) 的二氯甲烷 (60 mL) 溶液, 加完后缓慢升温至 25°C, 搅拌 12 小时。反应完毕, 向反应液中缓慢倒入饱和的亚硫酸钠水溶液 (400 mL) 中, 搅拌 10 分钟, 用二氯甲烷萃取 (200 mL×3), 有机相用饱和食盐水洗涤 (100 mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂为纯石油醚) 纯化。得到化合物 BB-7-2。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.48 (d, J=8.78 Hz, 1H), 6.75 (dd, J=8.53, 2.51 Hz, 1H), 6.68 (d, J=2.76 Hz, 1H), 6.30 (t, J=4.77 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 2.82 (t, J=8.03 Hz, 2H), 2.35 (td, J=8.03, 5.02 Hz, 2H)。

步骤 2: 化合物 BB-7-3 的合成

25°C下将化合物 BB-7-2 (10.00 g, 41.82 mmol) 溶于甲苯 (100 mL) 中, 氮气保护下降温至 0°C, 分批

加入二氯二氰基苯醌 (10.44 g, 46.00 mmol), 加完后 25°C下反应 15 小时。向反应液中滴加饱和亚硫酸钠水溶液 (200 mL) 淬灭反应, 搅拌 10 分钟后加 1N 的氢氧化钠水溶液 (100 mL), 用乙酸乙酯 (50mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤 (100 mL), 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。所得粗品经石油醚 (50 mL) 打浆 10 分钟, 过滤, 滤饼用石油醚 (25 mL×2) 淋洗, 滤液旋干, 粗品经柱层析 (洗脱剂为纯石油醚) 纯化。得到化合物 BB-7-3。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.13 (d, J=9.29 Hz, 1H), 7.67 (d, J=8.28 Hz, 1H), 7.61 (d, J=7.28 Hz, 1H), 7.21–7.26 (m, 2H), 7.11 (d, J=2.51 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H)。

步骤 3: 化合物 BB-7-4 的合成

25°C下将化合物 BB-7-3 (4.90 g, 20.67 mmol) 溶于二氯甲烷 (50 mL), 降温至 0°C, 缓慢滴加三溴化硼 (6.21 g, 24.80 mmol, 2.39 mL), 加完后 25°C下搅拌 3 小时。将反应液倒入冰水 (250 mL) 淬灭反应, 用二氯甲烷 (100 mL) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤(100 mL×1), 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。得到化合物 BB-7-4。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.19 (d, J=9.03 Hz, 1H), 7.63–7.73 (m, 2H), 7.26–7.32 (m, 1H), 7.23 (dd, J=9.03, 2.51 Hz, 1H), 7.19 (d, J=2.51 Hz, 1H)。

步骤 4: 化合物 BB-7-5 的合成

20°C下将化合物 BB-7-4(2.50 g, 11.21 mmol) 溶于甲烷磺酸 (25 mL), 滴加 4-氯乙酰乙酸乙酯 (2.77 g, 16.81 mmol, 2.27 mL), 20°C下搅拌 15 小时。将反应液倒入冰水中 (200 mL) 淬灭, 搅拌 10 分钟, 过滤, 滤饼用水淋洗 (30 mL×3)后旋干。得到化合物 BB-7-5。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8.56 (d, J=8.78 Hz, 1H), 8.46 (d, J=9.29 Hz, 1 H), 7.71 (d, J=9.29 Hz, 1H), 7.63 (dd, J=8.66, 7.65 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 5.39 (s, 2H)。

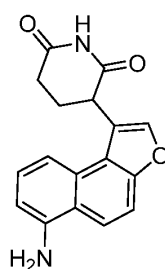
步骤 5: 化合物 BB-7-6 的合成

25°C下将化合物 BB-7-5 (0.10 g, 309.05 μmol) 加入到氢氧化钠 (2 M, 1.03 mL) 的水溶液中, 80°C搅拌 3 小时。反应液降温至 25°C, 用水 (10 mL) 稀释, 用稀盐酸 (2 M, 水溶液) 调节 pH=3, 用乙酸乙酯 (10 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤 (10 mL×1), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液旋干。得到化合物 BB-7-6。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 12.59 (br s, 1H), 8.24 (d, J=8.38 Hz, 1H), 7.96 (d, J=9.26 Hz, 1H), 7.90 (d, J=7.50 Hz, 1H), 7.54 (dd, J=2.8 Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 4.08 (s, 2H)。

步骤 6: 化合物 BB-7 的合成

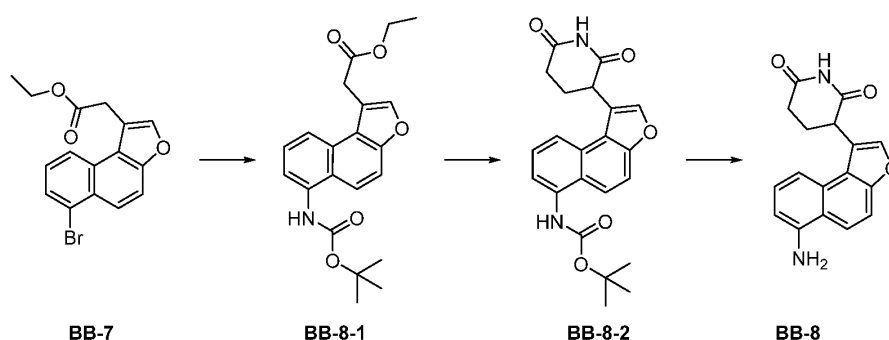
25°C下将化合物 BB-7-6 (1.40 g, 4.59 mmol) 溶于无水乙醇 (14 mL), 缓慢滴加硫酸 (413.28 mg, 4.13 mmol, 224.61 μL, 98%浓度) 后升温至 80°C, 搅拌 12 小时。将反应液减压浓缩除去溶剂, 加乙酸乙酯 (60 mL) 稀释, 加饱和碳酸氢钠水溶液 (60 mL), 乙酸乙酯 (60 mL×2) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤 (60 mL×1), 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。加石油醚 (5 mL) 室温打浆, 搅拌 10 分钟后过滤, 滤饼用石油醚 (5 mL×2) 淋洗, 收集滤饼并旋干。得到化合物 BB-7。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.22 (t, J=8.41Hz, 2H), 7.78–7.85 (m, 2H), 7.75 (d, J=9.29Hz, 1H), 7.41 (t, J=7.91Hz, 1H), 4.23 (q, J=7.03 Hz, 2H), 4.06 (s, 2H), 1.26 (t, J=7.15Hz, 3H)。

参考例 8



BB-8

合成路线:



步骤 1: 化合物 8-1 的合成

将化合物 BB-7 (5 g, 15.01 mmol) 溶于甲苯 (50 mL) 和水 (10 mL) 的混合溶剂中, 加入氨基甲酸叔丁酯 (2.64 g, 22.51 mmol), 磷酸钾 (12.74 g, 60.03 mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯 (961.96 mg, 1.05 mmol) 和 2-二叔丁基膦-2,4,6-三异丙基联苯 (892.16 mg, 2.10 mmol), 氮气置换 3 次, 升温至 100°C 搅拌 15 小时。将反应液降至室温, 过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (30 mL×3) 淋洗, 滤液用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。向粗品中加入甲基叔丁基醚 (50 mL), 搅拌 10 分钟, 过滤, 滤饼用甲基叔丁基醚 (10 mL×2) 淋洗, 收集滤饼得到化合物 BB-8-1。

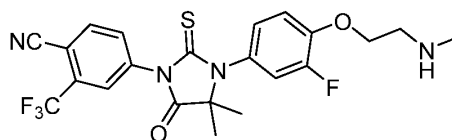
步骤 2: 化合物 BB-8-2 的合成

将化合物 BB-8-1 (4.2 g, 11.37 mmol) 和丙烯酰胺 (888.93 mg, 12.51 mmol, 863.04 μ L) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (40 mL) 中, 氮气保护下降至 0°C, 滴加叔丁醇钾 (2.55 g, 22.74 mmol) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL) 溶液, 升温到 20°C 搅拌 2 小时。将反应液倒入 0.2N 稀盐酸 (200 mL) 中, 用乙酸乙酯 (100 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。向粗品中加入二氯甲烷 (20 mL), 搅拌 10 分钟, 过滤, 滤饼用二氯甲烷 (10 mL) 淋洗, 收集滤饼得到化合物 BB-8-2。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.94 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.04-7.96 (m, 3H), 7.79 (d, *J*=9.6 Hz, 1H), 7.55-7.51 (m, 2H), 4.67 (dd, *J*=4.4 Hz, 12.0 Hz, 1H), 2.93-2.84 (m, 1H), 2.66-2.60 (m, 1H), 2.45-2.36 (m, 1H), 2.33-2.26 (m, 1H), 1.49 (s, 9H)。

步骤 3: 化合物 BB-8 的盐酸盐的合成

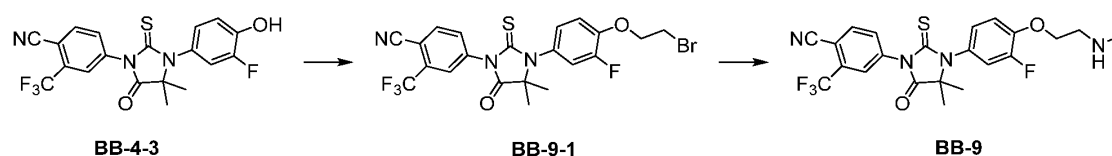
将化合物 BB-8-2 (1 g, 2.54 mmol) 溶于乙酸乙酯 (10 mL) 中, 滴加盐酸/乙酸乙酯 (4 M, 50.00 mL) 20°C 搅拌 15 小时。将反应液减压浓缩得到化合物 BB-8 的盐酸盐。

参考例 9



BB-9

合成路线:



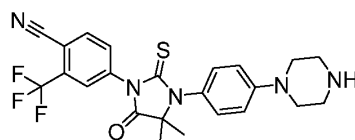
步骤 1: 化合物 BB-9-1 的合成

将化合物 BB-4-3 (13 g, 30.71 mmol), 碳酸钾 (8.49 g, 61.41 mmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (300 mL) 中, 加入 1,2-二溴乙烷 (28.84 g, 153.53 mmol, 11.58 mL), 升温至 80°C 搅拌 12 小时。将反应液降至室温, 加入水 (1 L), 用乙酸乙酯 (300 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (300 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=4/1) 分离得到化合物 BB-9-1。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.00-7.96 (m, 2H), 7.85-7.83 (m, 1H), 7.14-7.04 (m, 3H), 4.44 (t, J=6.0 Hz, 2H), 3.71 (t, J=6.4 Hz, 2H), 1.60 (s, 6H)。

步骤 2: 化合物 BB-9 的合成

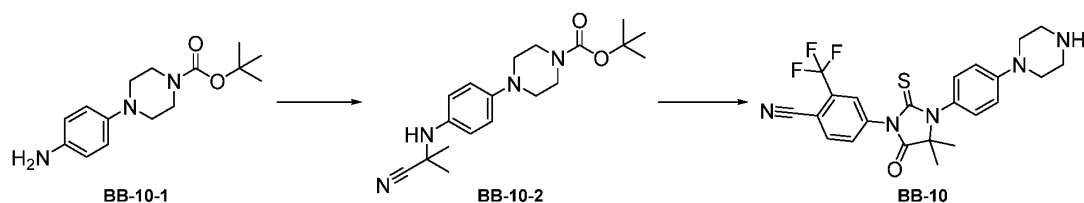
将化合物 BB-9-1 (3 g, 5.66 mmol) 和甲胺盐酸盐 (1.91 g, 28.28 mmol) 置于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (30 mL) 中, 加入碳酸钾 (11.73 g, 84.85 mmol), 升温至 50°C 搅拌 12 小时。反应液降至室温, 加入水 (70 mL), 用乙酸乙酯 (50 mL×4) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (70 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=50/1~10/1) 分离得到化合物 BB-9。

参考例 10: 片段 BB-10



BB-10

合成路线:



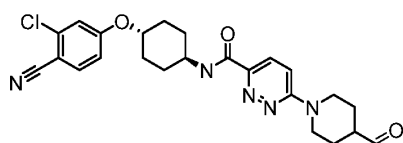
步骤 1: 化合物 BB-10-2 的合成

在 0°C 和氮气保护下, 将化合物 BB-10-1 (5 g, 18.03 mmol) 溶于二氯甲烷 (50 mL) 和丙酮 (25 mL), 依次慢慢滴加氰基三甲基硅烷 (2.68 g, 27.04 mmol, 3.38 mL), 三甲基硅基三氟甲磺酸酯 (400.67 mg, 1.80 mmol, 325.74 μ L), 反应混合物在 20°C 搅拌 2 小时。反应完毕后, 反应液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-4/1, 体积比) 分离, 得到化合物 BB-10-2。

步骤 2: 化合物 BB-10 的合成

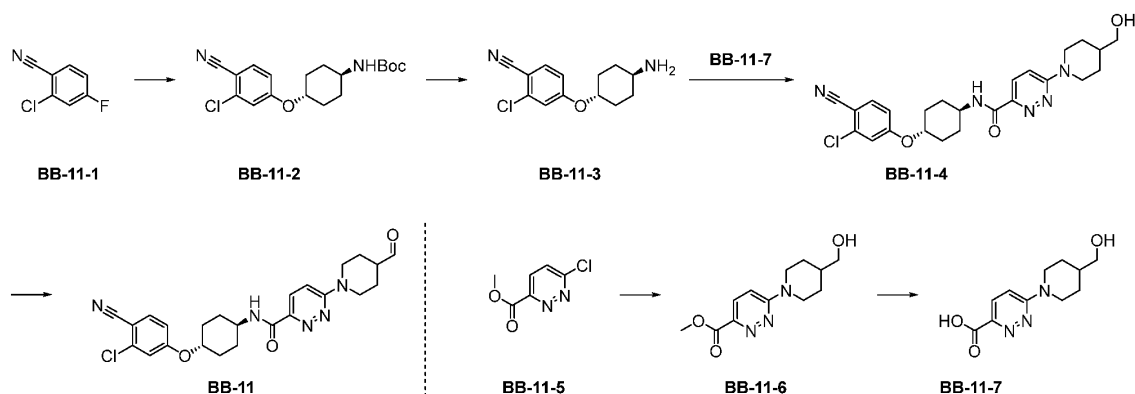
在室温下和氮气保护下, 将化合物 BB-10-2 (10 g, 29.03 mmol) 溶于 *N,N*-二甲基乙酰胺 (100 mL), 4-硫代异氰酸酯-2-(三氟甲基)苯腈 (6.62 g, 29.03 mmol) 分批加入反应液中, 反应混合物在 20°C 搅拌 3 小时, 加入甲醇 (100 mL), 稀盐酸 (2 M, 56.32 mL), 反应混合物在 70°C 搅拌 2 小时, 反应完毕后, 冷却至室温, 加入水 (100 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (100 mL $\times$ 3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL $\times$ 3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=20/1-10/1, 体积比), 得到化合物 BB-10。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.99 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.96 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.84 (dd, *J*=2.0, 8.4 Hz, 1H), 7.22 (d, *J*=9.2 Hz, 2H), 7.04 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 3.64-3.57 (m, 4H), 3.45-3.38 (m, 4H), 1.58 (s, 6H)。

参考例 11: 片段 BB-11



BB-11

合成路线:



步骤 1: 化合物 BB-11-2 的合成

0°C和氮气保护下, 将化合物 BB-11-1 (0.87 g, 5.57 mmol) 和化合物 [(1R,4R)-4-羟基环己基]氨基甲酸叔丁酯 (1.00 g, 4.64 mmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (20 mL) 中, 随后加入钠氢 (278.68 mg, 6.97 mmol, 60%) 并在 0°C 下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 向反应液中加入水 (50 mL), 用乙酸乙酯 (50 mL×3) 萃取。合并有机相, 依次用水 (50 mL×3) 和饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-6/1, 体积比) 分离得到化合物 BB-11-2。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.00 (s, 1H), 7.56-7.47 (m, 1H), 6.97-6.92 (m, 1H), 6.84-6.72 (m, 1H), 4.29-4.17 (m, 1H), 4.13-4.08 (m, 1H), 2.14-2.03 (m, 4H), 1.47-1.38 (m, 9H), 1.26-1.20 (m, 4H)。

步骤 2: 化合物 BB-11-3 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 BB-11-2 (2.70 g, 7.70 mmol) 溶于甲醇 (5 mL) 中, 随后加入 4M 氯化氢甲醇溶液 (25 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂得到化合物 BB-11-3 的盐酸盐, 直接用于下一步反应。

步骤 3: 化合物 BB-11-6 的合成

室温下, 将化合物 BB-11-5 (10.00 g, 57.95 mmol) 和 4-哌啶甲醇 (6.67 g, 57.95 mmol) 溶于二甲亚砜 (100 mL) 中, 随后加入三乙胺 (11.73 g, 115.90 mmol, 16.13 mL), 反应混合物加热至 90°C 并搅拌反应 12 小时。反应完毕后冷却至室温, 向反应液中加入水 (200 mL), 用二氯甲烷萃取 (100 mL × 4)。合并有机相, 依次用水 (100 mL × 2) 和饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=1/0-20/1, 体积比), 得到化合物 BB-11-6。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.79 (d, J=9.2 Hz, 1H), 7.27 (d, J=9.6 Hz, 1H), 4.57-4.53 (m, 1H), 4.53-4.48 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.30-3.24 (m, 2H), 2.99 (td, J=1.9, 12.7 Hz, 2H), 1.81-1.66 (m, 3H), 1.21-1.06 (m, 2H)。

步骤 4: 化合物 BB-11-7 的合成

室温下, 将 BB-11-6 (2.00 g, 7.96 mmol) 溶于四氢呋喃 (15 mL) 中, 随后加入 2 M 氢氧化钠水溶液 (15 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 用 4 M 盐酸调节 pH 值至 4-5, 减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 BB-11-7 的粗品, 直接用于下一步反应。

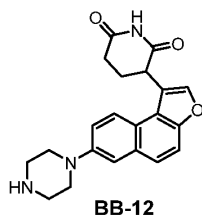
步骤 5: 化合物 BB-11-4 的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 BB-11-3 的盐酸盐 (7.65 mmol) 和化合物 BB-11-7 (7.65 mmol, 粗品) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (46 mL) 中, 随后加入二异丙基乙基胺 (1.03 g, 7.96 mmol, 1.39 mL) 和 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (3.03 g, 7.96 mmol) 并在室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 向反应液中加入水 (100 mL), 用乙酸乙酯 (70 mL×3) 萃取。合并有机相, 依次用水 (100 mL×2) 和饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=1/0-20/1, 体积比), 得到化合物 BB-11-4。MS-ESI *m/z*: 470.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.58 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.85 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.79 (d, *J*=9.6 Hz, 1H), 7.38 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 7.33 (d, *J*=9.6 Hz, 1H), 7.13 (dd, *J*=2.4, 8.8 Hz, 1H), 4.60-4.44 (m, 4H), 3.92-3.79 (m, 1H), 3.32-3.27 (m, 2H), 3.07-2.95 (m, 2H), 2.18-2.05 (m, 2H), 1.95-1.84 (m, 2H), 1.81-1.68 (m, 3H), 1.68-1.51 (m, 2H), 1.51-1.48 (m, 2H), 1.20-1.06 (m, 2H)。

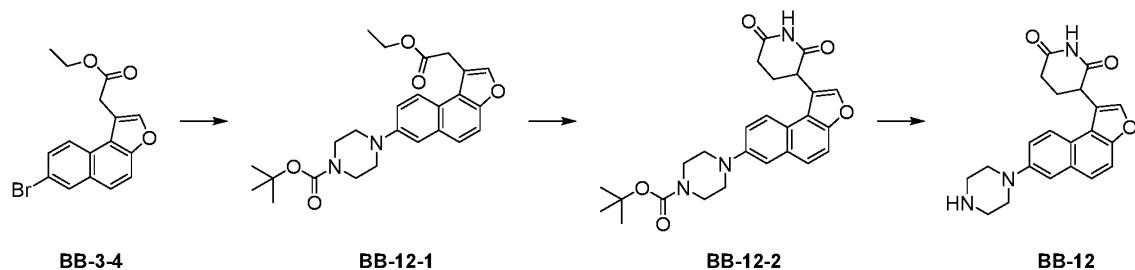
步骤 6: 化合物 BB-11 的合成

室温下, 将化合物 BB-11-4 (100.02 mg, 205.06 μ mol) 溶于二氯甲烷 (6 mL) 中, 随后加入戴斯-马丁氧化剂 (130.46 mg, 307.59 μ mol) 并在室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 向反应液中加入水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-0/1, 体积比), 得到化合物 BB-11。MS-ESI *m/z*: 468.2 [M+H]⁺。

参考例 12: 片段 BB-12



合成路线:



步骤 1: 化合物 BB-12-1 的合成

25°C 下将化合物 BB-3-4 (10.00 g, 30.01 mmol) 和 1-叔丁氧羰基哌嗪 (8.39 g, 45.02 mmol) 加到甲苯 (150 mL) 和水 (20 mL) 中, 将三(二亚苄基丙酮)二钯 (1.92 g, 2.10 mmol), 磷酸钾 (19.11 g, 90.04 mmol), 2-二

叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯 (1.78 g, 4.20 mmol) 慢慢的加到反应中, 混合物用氮气置换 3 次后升温到 100°C 搅拌 12 小时。反应液冷却到 25°C, 经硅藻土过滤, 滤饼用 20 mL 乙酸乙酯洗涤。滤液加到 300 mL 乙酸乙酯和 300 mL 水中, 水相用乙酸乙酯萃取 (200 mL×2), 合并有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚: 乙酸乙酯=50/1~5/1) 分离得到化合物 BB-12-1。

MS-ESI m/z : 439.0 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 8.15 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.60 (s, 2H), 7.36 (dd, $J=2.5, 9.0$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 4.23 (q, $J=7.1$ Hz, 2H), 4.04 (s, 2H), 3.71 - 3.62 (m, 4H), 3.29 - 3.20 (m, 4H), 1.53 (s, 9H), 1.28 (dt, $J=7.2$ Hz, 3H)。

步骤 2: 化合物 BB-12-2 的合成

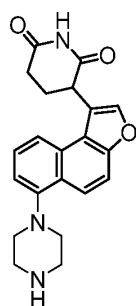
0°C 下将化合物 BB-12-1 (8.6 g, 15.86 mmol) 和丙烯酰胺 (1.13 g, 15.86 mmol, 1.09 mL) 加到 *N,N* 二甲基甲酰胺 (80 mL) 中, 开启搅拌, 将叔丁醇钾 (2.67 g, 23.80 mmol) 分批加入到反应中, 反应液用氮气置换 3 次后在 0°C 搅拌 1 小时。反应完毕, 将反应液慢慢滴加到饱和氯化铵水溶液中 (480 mL), 有大量固体析出, 过滤, 滤饼用水洗涤 2 次 (20 mL×2), 收集滤饼减压旋干。所得粗品加到甲醇 (10 mL) 中搅拌 30 分钟, 过滤, 滤饼用甲醇洗涤 (5 mL), 收集滤饼减压旋干得到化合物 BB-12-2。 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.96 (br dd, $J=2.9, 6.1$ Hz, 1H), 8.02 (br d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.97 - 7.91 (m, 1H), 7.72 - 7.65 (m, 2H), 7.44 - 7.37 (m, 2H), 4.62 (br dd, $J=4.3, 11.8$ Hz, 1H), 3.53 (br s, 4H), 3.22 - 3.20 (m, 4H), 2.93 - 2.83 (m, 1H), 2.68 - 2.57 (m, 1H), 2.39 (dq, $J=4.3, 12.5$ Hz, 1H), 2.26 (br dd, $J=3.9, 8.7$ Hz, 1H), 1.44 (s, 9H)。

步骤 3: 化合物 BB-12 的盐酸盐的合成

将化合物 BB-12-2 (3.4 g, 7.34 mmol) 加到乙酸乙酯 (20 mL) 中, 开启搅拌, 慢慢加入盐酸乙酸乙酯溶液 (4 M, 30 mL), 反应液用氮气置换 3 次后在 25°C 搅拌 12 小时。反应完毕, 过滤, 滤饼用乙酸乙酯洗涤 (5 mL×2), 收集滤饼减压旋干得到化合物 BB-12 的盐酸盐。 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.96 (s, 1H), 9.65 (br s, 2H), 8.07 (br d, $J=9.3$ Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.75 - 7.69 (m, 2H), 7.53 (d, $J=2.3$ Hz, 2H), 7.45 (dd, $J=2.4, 9.2$ Hz, 1H), 4.64 (br dd, $J=4.4, 11.9$ Hz, 1H), 3.54 (br d, $J=5.0$ Hz, 4H), 3.28 (br s, 4H), 2.94 - 2.82 (m, 1H), 2.67 - 2.58 (m, 1H), 2.39 (br dd, $J=4.0, 12.5$ Hz, 1H), 2.30 - 2.17 (m, 1H)。

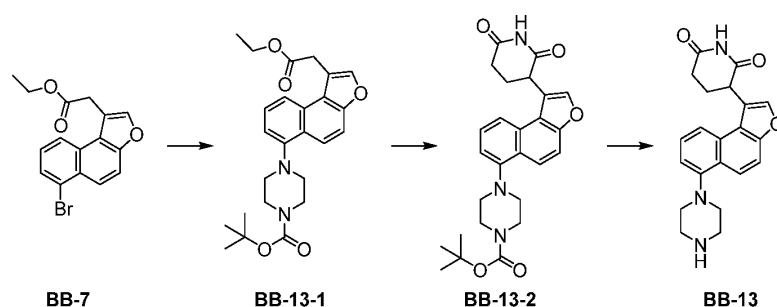
参考例 13: 片段 BB-13

30



BB-13

合成路线:



步骤 1: 化合物 BB-13-1 的合成

25°C下将化合物 BB-7 (1.4 g, 4.20 mmol) 和 1-叔丁氧羰基哌嗪 (1.17 g, 6.30 mmol) 加到二氧六环 (20 mL) 和水 (4 mL) 中, 将三(二亚苄基丙酮)二钯 (269.35 mg, 294.14 μmol), 磷酸钾 (2.68 g, 12.61 mmol), 2-叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯 (249.81 mg, 588.28 μmol) 慢慢的加到反应中, 混合物用氮气置换 3 次后升温到 100°C 搅拌 12 小时。反应液冷却到 25°C, 经硅藻土过滤, 滤饼用 20 mL 乙酸乙酯洗涤。滤液加到乙酸乙 (100 mL) 和水 (100 mL) 中, 水相用乙酸乙酯萃取 (100 mL $\times$ 2), 合并有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=50/1~10/1) 分离得到化合物 BB-13-1。MS: ESI m/z : 439.0 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.17 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.86 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 7.53 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 4.20 - 4.09 (m, 4H), 3.36 - 2.59 (m, 8H), 1.45 (s, 9H), 1.20 (t, $J=7.0$ Hz, 3H)。

步骤 2: 化合物 BB-13-2 的合成

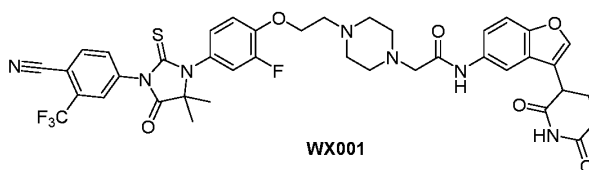
0°C下将化合物 BB-13-1 (1.5 g, 3.26 mmol) 和丙烯酰胺 (231.68 mg, 3.26 mmol, 224.93 μL) 加到 N,N 二甲基甲酰胺 (20 mL) 中, 开启搅拌, 将叔丁醇钾 (438.91 mg, 3.91 mmol) 慢慢分批加入到反应中, 反应液用氮气置换 3 次后在 0°C 搅拌 1 小时。混合物慢慢滴加到饱和氯化铵水溶液 (75 mL), 有固体析出, 过滤。滤饼用水洗涤 (5 mL $\times$ 2), 收集固体减压旋干。粗品加到 5 mL 甲醇中搅拌 15 分钟, 过滤, 过滤用甲醇洗涤 (3 mL $\times$ 2), 收集固体减压旋干。得到化合物 BB-13-2。MS-ESI m/z : 464.0 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.19 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J=16.8$ Hz, 2H), 7.78 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.51 (br t, $J=8.0$ Hz, 1H),

7.18 (br d, $J=7.5$ Hz, 1H), 4.66 (br d, $J=7.8$ Hz, 1H), 3.34 (m, 4H), 3.17 (m, 4H), 2.89 - 2.81 (m, 1H), 2.68 - 2.55 (m, 1H), 2.40 (dq, $J=3.8, 12.4$ Hz, 1H), 2.26 (br s, 1H), 1.44 (s, 9H)。

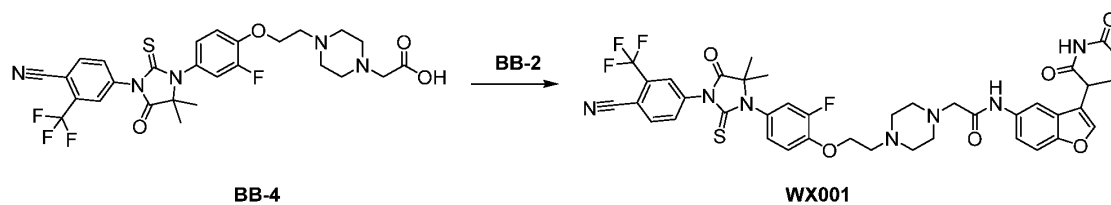
步骤 3: 化合物 BB-13 的盐酸盐的合成

将化合物 BB-13-2 (0.6 g, 1.16 mmol) 加到乙酸乙酯 (6 mL) 中, 开启搅拌, 将盐酸乙酸乙酯 (4 M, 10 mL) 慢慢加入到反应中, 反应用氮气置换 3 次后在 25°C 搅拌 12 小时。混合物减压旋干得到化合物 BB-13 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 364.0[M+H]⁺。

实施例 1

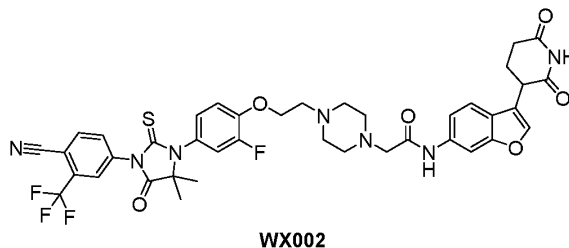


合成路线:

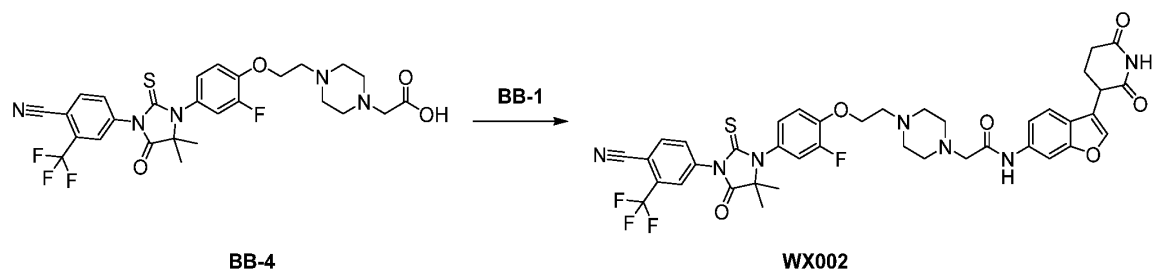


在室温和氮气保护下, 化合物 BB-4 (0.3 g, 505.40 μmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL), 加入 BB-2 (123.44 mg, 505.40 μmol , 盐酸盐), 三乙胺 (255.70 mg, 2.53 mmol, 351.72 μL), 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (288.25 mg, 758.10 μmol), 反应混合物在 20°C 搅拌 2 小时, 反应完毕后, 加入水 (50 mL), 用乙酸乙酯 (50 mL $\times$ 3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL $\times$ 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过制备 HPLC 分离 (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% 盐酸), 冻干, 得到目标化合物 WX001。MS-ESI m/z : 820.2 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.94 (s, 1H), 10.61 (s, 1H), 8.40 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.29 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 8.08 (m, 1H), 7.93-7.92 (m, 2H), 7.57 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.49-7.43 (m, 3H), 7.40 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 4.59 (s, 2H), 4.15-4.11 (m, 1H), 3.62-3.54 (m, 6H), 2.90-2.51 (m, 8H), 2.25-2.15 (m, 2H), 1.52 (s, 6H)。

实施例 2

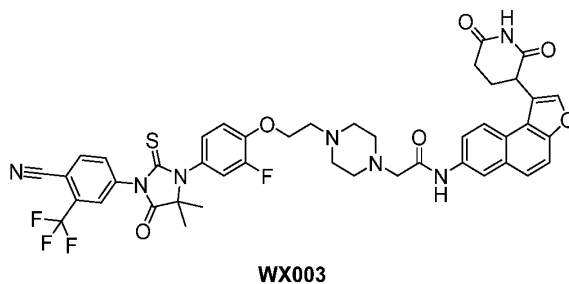


合成路线:

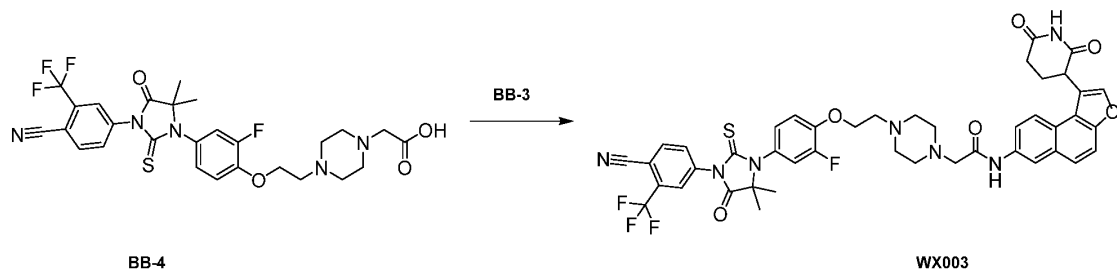


将化合物 BB-4(100 mg, 168.47 μmol)和中间体 BB-1(47.29 mg, 168.47 μmol)的盐酸盐加到 *N,N*-二甲基甲酰胺(2 mL)中, 将 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯(96.08 mg, 252.70 μmol)和三乙胺(34.09 mg, 336.93 μmol , 46.90 μL)慢慢的加到反应中, 混合物用氮气置换 3 次后在 25 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 12 小时。反应液倒入 20 mL 水和 30 mL 乙酸乙酯中, 分出有机相用水洗涤 2 次(20 mL $\times$ 2), 收集有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干, 所得残余物经制备 HPLC 分离(流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% 盐酸)得到化合物 WX002。MS-ESI m/z : 820.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.90(s, 1H), 10.47(br s, 1H), 8.40(d, $J=8.3$ Hz, 1H), 8.28(d, $J=1.5$ Hz, 1H), 8.13 - 7.97(m, 2H), 7.87(s, 1H), 7.54(d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.47 - 7.29(m, 3H), 7.26 - 7.13(m, 1H), 4.54(br s, 2H), 4.12(dd, $J=4.8, 11.8$ Hz, 1H), 3.67 - 3.45(m, 2H), 2.83 - 2.67(m, 2H), 2.63 - 2.43(m, 10H), 2.39 - 2.25(m, 1H), 2.19 - 2.03(m, 1H), 1.52(s, 6H)。

实施例 3



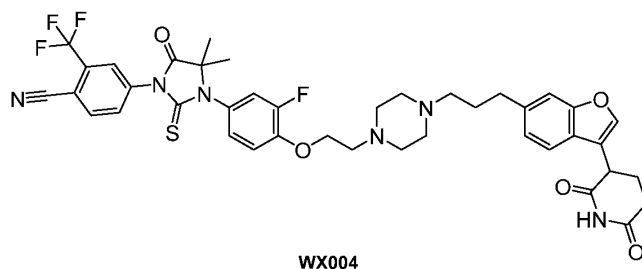
合成路线:



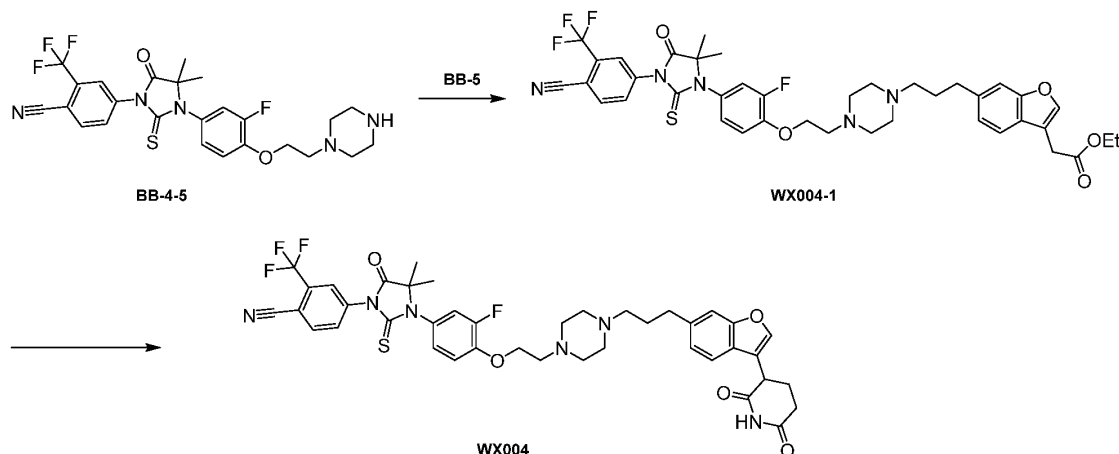
室温和氮气保护条件下, 将 BB-3 的盐酸盐(378 mg, 1.08 mmol)和 BB-4(767.86 mg, 1.29 mmol)溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺(5 mL)溶剂中, 分别向其中加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯(614.82 mg, 1.62 mmol)和三乙胺(272.70 mg, 2.69 mmol)反应混合物在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 3 小时。反应完毕后, 向反应液

中加入水(50 mL), 用乙酸乙酯(100 mL×2)萃取。合并有机相, 依次用饱和食盐水(100 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经制备 HPLC 分离(流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% 盐酸), 得到目标化合物 WX003。MS-ESI m/z : 870.1 $[M+H]^+$. 1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.96(s, 1H), 10.73(s, 1H), 8.41-8.40(m, 2H), 8.39(d, $J=1.6$ Hz, 1H), 8.08(d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.07(dd, $J=1.6, 8.4$ Hz, 1H), 8.01(s, 1H), 7.78(s, 3H), 7.75(d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.46-7.37(m, 2H), 7.23(d, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.68(dd, $J=4.0, 11.2$ Hz, 1H), 4.58(s, 2H), 3.98(m, 1H), 3.47(s, 9H), 2.95 - 2.58(m, 3H), 2.49 - 2.21(m, 3H), 1.52(s, 6H)。

实施例 4



合成路线:



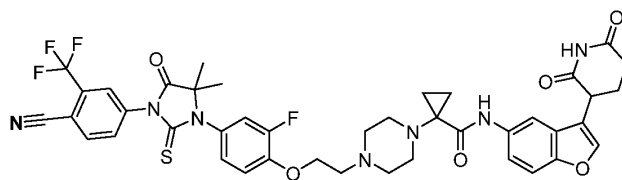
步骤 1: WX004-1 的合成

将化合物 BB-5(102.38 mg, 393.35 μ mol)和 BB-4-5(150 mg, 262.23 μ mol, 145.82 μ L, 盐酸盐)加到二氯甲烷(10 mL)中, 将三乙胺(53.07 mg, 524.46 μ mol, 73.00 μ L)慢慢加到反应中, 混合物在 25°C 搅拌 0.5 小时, 将醋酸硼氢化钠(138.94 mg, 655.58 μ mol)慢慢加入到反应中, 混合物氮气置换 3 次后在 25°C 搅拌 11.5 小时。反应慢慢加入 50 mL 水中, 用二氯甲烷萃取 3 次(50 mL×3), 合并有机相减压旋干。所得残余物经过柱层析(洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=1/0-5.7/1, 体积比)纯化得到化合物 WX004-1。MS-ESI m/z : 780.1 $[M+H]^+$ 。

步骤 2: WX004 的合成

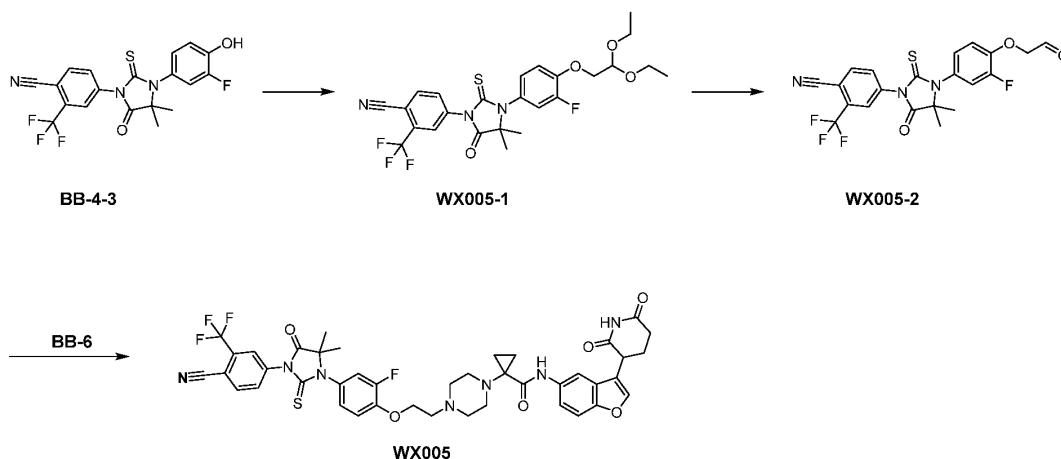
0℃将化合物 WX004-1(280 mg, 309.14 μmol)和丙烯酰胺(26.37 mg, 370.97 μmol, 25.60 μL)加到 *N,N*-二甲基甲酰胺(5 mL)中, 将叔丁醇钾(173.45 mg, 1.55 mmol)慢慢分批加到反应中, 混合物氮气置换 3 次后在 0℃搅拌 1 小时。反应慢慢加入到饱和氯化铵的溶液中, 用乙酸乙酯萃取 2 次(20 mL×2), 合并有机相用饱和食盐水洗涤 2 次(20 mL×2), 收集有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干。所得残余物经制备 HPLC 分离(流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl), 得到目标化合物 WX004。MS-ESI *m/z*: 805.4 [M+H]⁺. ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆)δ: 10.89(s, 1H), 8.40(d, J=8.3 Hz, 1H), 8.28(d, J=1.0 Hz, 1H), 8.07(dd, J=1.4, 8.2 Hz, 1H), 7.85(d, J=6.8 Hz, 1H), 7.53(dd, J=4.0, 7.8 Hz, 1H), 7.49 - 7.32(m, 3H), 7.21(br d, J=8.8 Hz, 1H), 7.15(dd, J=5.5, 7.3 Hz, 1H), 4.53(br d, J=1.0 Hz, 2H), 4.12(dd, J=4.9, 11.9 Hz, 1H), 3.83 - 3.62(m, 5H), 3.27 - 3.06(m, 2H), 2.84 - 2.65(m, 3H), 2.57(br dd, J=4.1, 17.2 Hz, 4H), 2.49 - 2.42(m, 2H), 2.40 - 2.26(m, 1H), 2.19 - 2.01(m, 3H), 1.52(s, 6H)。

实施例 5



WX005

合成路线:



步骤 1: 中间体 WX005-1 的合成

室温下, 将 BB-4-3(1.00 g, 2.36 mmol)和溴乙醛缩二乙醇 (512.01 mg, 2.60 mmol)溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL)中, 向其中加入碳酸钾 (391.73 mg, 2.83 mmol), 反应混合物在 80℃氮气保护下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 向混合物加入水 (50 mL), 用乙酸乙酯(50 mL×3)萃取。合并有机相, 依次用饱和食盐水 (50 mL×3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过柱层析

分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-3/1, 体积比), 得到中间体 WX005-1。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.01-7.94 (m, 2H), 7.84 (dd, J=2.0, 8.4 Hz, 1H), 7.16-7.10 (m, 1H), 7.09-7.00 (m, 2H), 4.88 (t, J=5.2 Hz, 1H), 4.13 (d, J=5.2 Hz, 2H), 3.86-3.76 (m, 2H), 3.72-3.62 (m, 2H), 1.59 (s, 6H), 1.27 (t, J=7.0 Hz, 6H)。

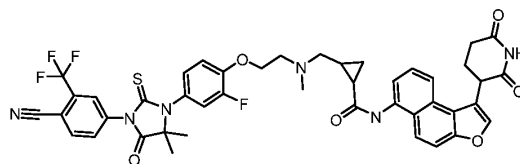
步骤 2: 中间体 WX005-2 的合成

室温下, 将 WX005-1 (500.00 mg, 926.71 μmol)溶于乙醇 (20 mL)中, 向其中加入乙酸 (5.25 g, 87.42 mmol)和盐酸 (1M, 2.5 mL), 反应混合物在 80°C氮气保护下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 减压浓缩除去溶剂(乙醇), 向混合物加入水 (30 mL), 用乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取。合并有机相, 依次用饱和食盐水 (30 mL×3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-1/1, 体积比), 得到中间体 WX005-2。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.92 (s, 1H), 8.02-7.92 (m, 2H), 7.84 (dd, J=2.0, 8.0 Hz, 1H), 7.19-7.10 (m, 1H), 7.10-7.01 (m, 2H), 4.74 (s, 2H), 1.60 (s, 6H)。

步骤 3: 化合物 WX005 的合成

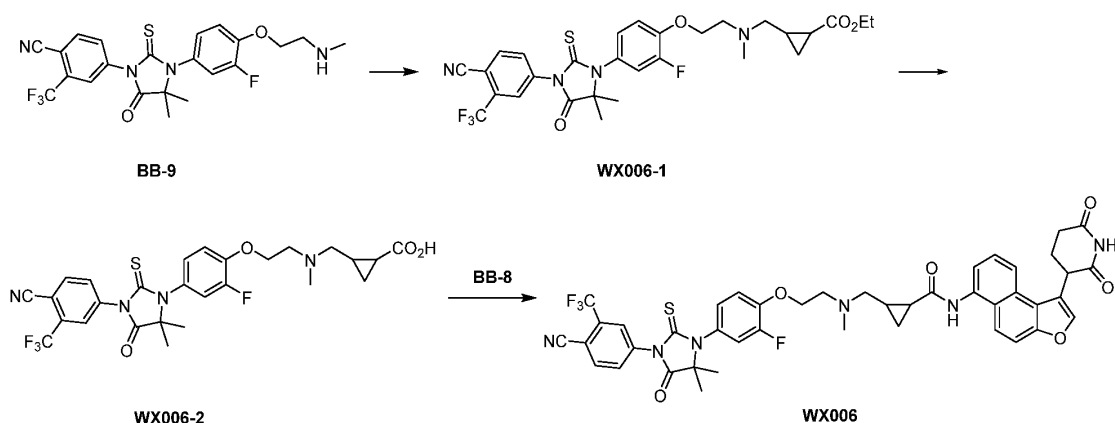
25°C下将化合物 WX005-2 (40 mg, 85.94 μmol) 加入到二氯甲烷(10 mL)中, 开启搅拌, 然后加入化合物 BB-6 (36.80 mg, 77.35 μmol), 三乙酰氧基硼氢化钠 (54.65 mg, 257.83 μmol)。氮气保护下, 继续搅拌 12 小时。反应完毕后, 反应液加入水(50 mL), 乙酸乙酯(50 mL×2)萃取, 合并有机相加入半饱和食盐水(50 mL×2)洗涤, 有机相加入无水硫酸钠干燥后过滤, 旋干。所得残余物经制备 HPLC 分离(流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl), 得到目标化合物 WX005。ESI m/z: 846.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 10.89 (s, 2H), 9.77 (s, 1H), 8.39 (d, J=8.4 Hz, 1H), 8.27 (d, J=1.25 Hz, 1H), 8.07 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.96 (d, J=1.2 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.51 - 7.56 (m, 1H), 7.44 - 7.50 (m, 1H), 7.35 - 7.44 (m, 2H), 7.21 - 7.23 (m, 1H), 4.61 (s, 2H), 4.11 (dd, J=12.0, 4.8 Hz, 1H), 3.5 - 3.60 (m, 4H), 3.50 - 3.51 (m, 2H), 2.93 - 3.02 (m, 2H), 2.80 - 2.90 (m, 2H), 2.70 - 2.79 (m, 1H), 2.55 - 2.68 (m, 1H), 2.22 - 2.35 (m, 1H), 2.06 - 2.19 (m, 1H), 1.51 (s, 6H), 1.14 - 1.21 (m, 2H), 1.08-1.10 (m, 2H)。

实施例 6



合成路线:

36



步骤 1: 化合物 WX006-1 的合成

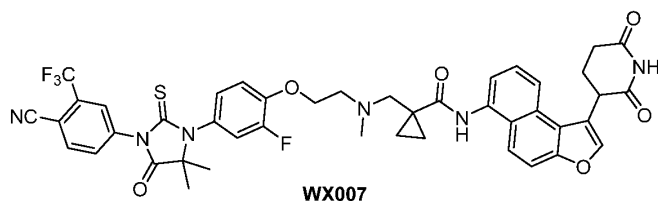
将化合物 BB-9 (71.00 mg, 499.50 μmol , 66.36 μL) 和化合物 2-甲酰基-1-环丙羧酸乙酯 (0.2 g, 416.25 μmol) 溶于二氯甲烷 (4 mL) 和冰乙酸 (0.1 mL) 的混合溶剂中, 20°C 加入三乙氧基硼氢化钠 (132.33 mg, 624.38 μmol), 20°C 搅拌 15 小时。向反应液中加入水 (2 mL), 搅拌 10 分钟, 加入饱和碳酸氢钠水溶液 (5 mL), 用二氯甲烷 (5 mL $\times$ 4) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。经板层析分离纯化 (展开剂: 二氯甲烷/甲醇=10/1) 得到化合物 WX006-1。

步骤 2: 化合物 WX006-2 的合成

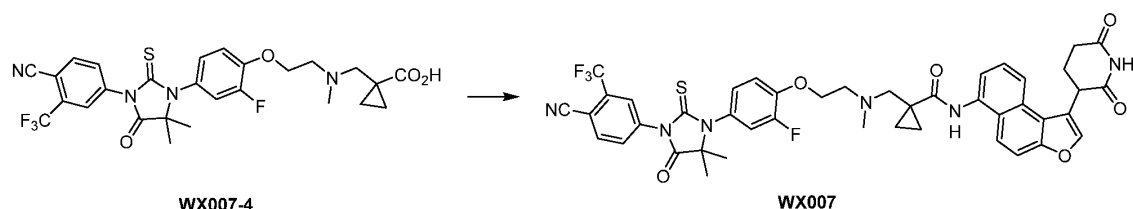
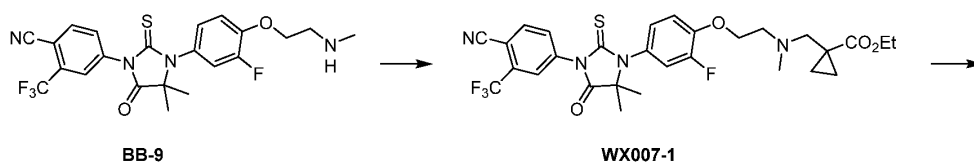
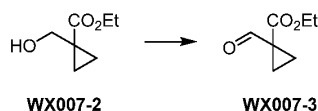
将化合物 WX006-1 (0.11 g, 181.33 μmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL) 和水 (0.4 mL) 的混合溶剂中, 加入一水合氢氧化锂 (38.05 mg, 906.65 μmol), 20°C 搅拌 15 小时。向反应液中加入乙酸乙酯 (5 mL), 用 1N 的氢氧化锂水溶液 (2 mL $\times$ 5) 洗涤, 水相用 1N 稀盐酸调节 pH=4-5, 用二氯甲烷 (5 mL $\times$ 3) 萃取, 有机相直接用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干得到化合物 WX006-2。

步骤 3: 化合物 WX006 的合成

将化合物 WX006-2 (90 mg, 155.55 μmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中, 加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基胍六氟磷酸酯 (88.72 mg, 233.33 μmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (100.52 mg, 777.77 μmol , 135.47 μL), 搅拌 10 分钟后加入化合物 BB-8 的盐酸盐 (54.94 mg, 186.66 μmol), 20°C 搅拌 60 小时。反应液经制备 HPLC (流动相: 乙腈/水; 中性体系) 分离纯化后得到化合物 WX006。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 8.15-8.13 (m, 2H), 8.06-8.05 (m, 1H), 7.98 (t, *J*=10 Hz, 2H), 7.84 (s, 1H), 7.69 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 7.58 - 7.55 (m, 2H), 7.29 - 7.19 (m, 2H), 7.10- 7.08 (m, 1H), 4.65-4.61 (m, 1H), 4.33 (t, *J*=5.2 Hz, 2H), 3.07 (t, *J*=4.8 Hz, 2H), 2.92 - 2.84 (m, 1H), 2.77 - 2.70 (m, 2H), 2.61 - 2.58 (t, 1H), 2.55 (s, 3H) 2.46-2.42 (m, 2H), 1.94-1.91 (m, 1H), 1.67-1.65 (m, 1H), 1.52 (s, 6H), 1.35-1.31 (m, 1H), 0.95-0.90 (m, 1H)。



合成路线:



步骤 1: 化合物 WX007-1 的合成

将化合物 WX007-2 (0.5 g, 3.47 mmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 中, 反应液降至 0°C, 向反应液中分批加入戴斯-马丁氧化剂 (2.94 g, 6.94 mmol, 2.15 mL), 缓慢升温至 20°C 搅拌 2 小时。将反应液倒入 0-10°C 的饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 和 10% 的硫代硫酸钠的水溶液 (30 mL) 中, 用二氯甲烷 (10 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤得到化合物 WX007-3 的溶液。将化合物 WX007-3 的溶液和化合物 BB-9 (1.4 g, 2.91 mmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 和冰乙酸 (0.1 mL) 中, 20°C 加入三乙氧基硼氢化钠 (1.24 g, 5.83 mmol) 并搅拌 12 小时。向反应液中加入水 (50 mL), 用二氯甲烷 (30 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (20 mL×3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/1~0/1) 纯化得到化合物 WX007-1。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.00-7.96 (m, 2H), 7.85 (dd, J = 1.6 Hz, 8.4 Hz, 1H), 7.14-7.02 (m, 3H), 4.21-4.18 (m, 2H), 4.13 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 2.98-2.90 (m, 2H), 2.78 (s, 2H), 2.41 (s, 3H), 1.59 (s, 6H), 1.29-1.23 (m, 5H), 0.88-0.85 (m, 2H)。

步骤 2: 化合物 WX007-4 的合成

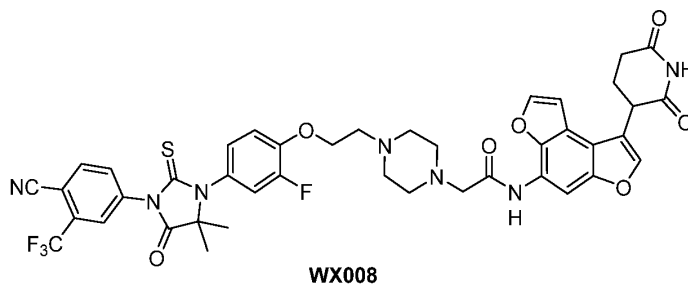
将化合物 WX007-1 (0.53 g, 873.68 μmol) 溶于四氢呋喃 (5 mL) 和水 (1 mL) 中, 加入一水合氢氧化锂 (183.30 mg, 4.37 mmol), 20°C 搅拌 24 小时。升温至 40°C 搅拌 24 小时。将反应液用 1N 盐酸调节 pH=6~7, 旋出大部分四氢呋喃, 加入甲基叔丁基醚 (30 mL) 和 10% 的碳酸钾水溶液 (20 mL×3), 分液, 水相用 1N

盐酸调节 pH=5~6, 用二氯甲烷 (50 mL×3) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干得到化合物 WX007-4。

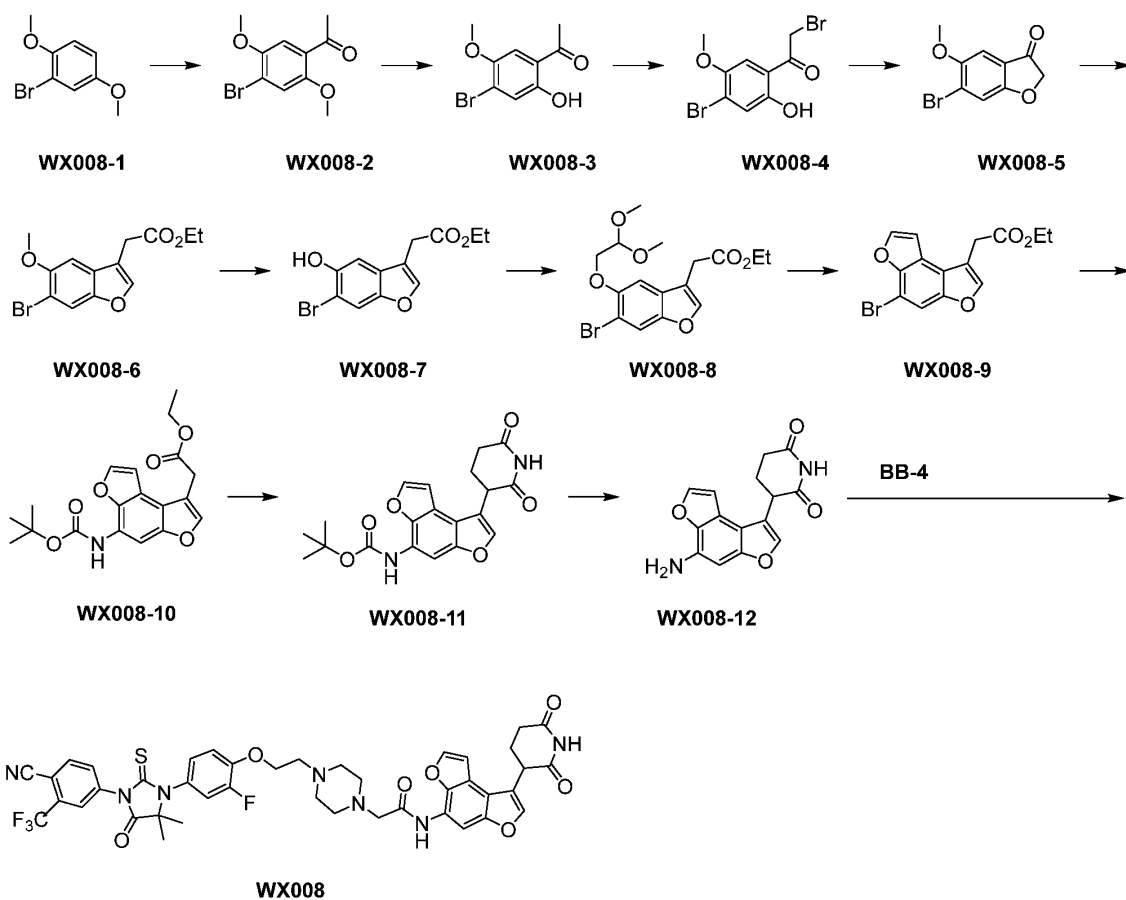
步骤 3: 化合物 WX007 的合成

将化合物 WX007-4 (50 mg, 86.42 μmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (44.68 mg, 345.68 μmol , 60.21 μL) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中, 20°C 加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (39.43 mg, 103.70 μmol) 并搅拌 5 分钟, 加入化合物 BB-8 的盐酸盐 (34.30 mg, 103.70 μmol), 20°C 搅拌 12 小时。反应液减压浓缩除去溶剂得到粗品, 粗品经制备 HPLC (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl) 分离纯化后, 得到化合物 WX007。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 8.17-8.15 (m, 3H), 7.98 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.87-7.84 (m, 2H), 7.74 (d, *J*=9.6 Hz, 1H), 7.62 (t, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.45 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 7.28-7.25 (m, 2H), 7.12 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 4.65 (dd, *J*=5.6 Hz, 11.2 Hz, 1H), 4.52 (t, *J*=4.4 Hz, 2H), 3.90 (dd, *J*=4.0 Hz, 13.2 Hz, 1H), 3.83-3.79 (m, 1H), 3.65-3.61 (m, 1H), 3.32-3.29 (m, 1H), 3.08 (s, 3H), 2.94-2.85 (m, 1H), 2.77-2.72 (m, 1H), 2.53-2.43 (m, 2H), 1.92-1.84 (m, 2H), 1.53 (s, 6H), 1.48-1.45 (m, 1H), 1.39-1.35 (m, 1H)。

实施例 8



合成路线:



步骤 1: 化合物 WX008-2 的合成

将化合物 WX008-1 (100 g, 460.70 mmol) 和乙酰氯 (54.25 g, 691.05 mmol, 49.31 mL) 溶于二氯甲烷 (1000 mL) 中, 氮气置换并保护, 20°C 下分批加入三氯化铝 (92.15 g, 691.05 mmol, 37.76 mL), 反应液搅拌 2 小时。将反应液倒入冰的 6N 盐酸 (400 mL) 中, 用二氯甲烷 (700 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (700 mL×3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干得到的粗品经甲醇 (500 mL) 打浆搅拌 15 分钟, 过滤, 用甲醇 (100 mL×2) 淋洗滤饼, 收集滤饼得到化合物 WX008-2。

步骤 2: 化合物 WX008-3 的合成

将 WX008-2 (20 g, 77.19 mmol) 溶于二氯甲烷 (200 mL) 中, 降温至 -70°C, 滴加三溴化硼 (17.40 g, 69.47 mmol, 6.69 mL), 慢慢升温至 20°C 搅拌 1 小时。将反应液倒入 4N 盐酸 (100 mL) 中, 用乙酸乙酯 (100 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (100 mL×3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤, 旋干, 所得残留物经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=7/1) 分离得到化合物 WX008-3。

步骤 3: 化合物 WX008-4 的合成

将化合物 WX008-3 (13.84 g, 56.47 mmol) 溶于氯仿 (70 mL) 和乙酸乙酯 (70 mL) 中, 加入溴化铜 (25.23 g, 112.95 mmol, 5.29 mL), 升温至 90°C 搅拌 16 小时。将反应液降至室温, 过滤, 用二氯甲烷 (110 mL) 淋洗滤饼, 得到化合物 WX008-4 的二氯甲烷溶液。

步骤 4: 化合物 WX008-5 的合成

在 0°C, 将三乙胺 (11.43 g, 112.97 mmol, 15.72 mL) 缓慢滴加至化合物 WX008-4 的二氯甲烷溶液中, 滴加完毕, 升温至 20°C, 搅拌 2 小时。用饱和氯化铵水溶液 (100 mL×3) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 得到化合物 WX008-5 的二氯甲烷溶液。

步骤 5: 化合物 WX008-6 的合成

在 WX008-5 的二氯甲烷溶液中加入甲苯 (150 mL) 和乙氧甲酰基亚甲基三苯基膦 (23.62 g, 67.79 mmol), 升温至 130°C, 用分水器分离低沸点溶剂, 搅拌 12 小时。降至室温, 直接减压浓缩得到粗品。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=10/1) 分离得到化合物 WX008-6。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.70 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 4.20 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.67 (s, 2H), 1.28 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。

步骤 6: 化合物 WX008-7 的合成

将化合物 WX008-6 (4 g, 12.77 mmol) 溶于二氯甲烷 (40 mL) 中, 降温至 -70°C, 滴加三溴化硼 (3.36 g, 13.41 mmol, 1.29 mL), 保温搅拌 0.5 小时, 慢慢升温至 0°C 搅拌 1 小时。降至 -70°C, 补加三溴化硼 (3.36 g), 慢慢升温至 0°C 搅拌 1 小时。将反应液倒入 1N 盐酸 (50 mL) 中, 用二氯甲烷 (50 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (50 mL×3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=5/1) 分离得到化合物 WX008-7。

步骤 7: 化合物 WX008-8 的合成

将化合物 WX008-7 (1.8 g, 6.02 mmol) 和碳酸钾 (1.83 g, 13.24 mmol) 置于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 加入 2-溴-1,1-二甲氧基乙烷 (1.22 g, 7.22 mmol, 847.58 μL), 升温至 100°C 搅拌 12 小时。将反应液降至室温, 加入水 (50 mL), 用乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (30 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=10/1) 分离得到化合物 WX008-8。

步骤 8: 化合物 WX008-9 的合成

将化合物 WX008-8 (1.84 g, 4.75 mmol) 置于甲苯 (20 mL) 中, 加入多聚磷酸 (1.84 g, 8.74 mmol), 升温至 100°C 搅拌 12 小时。将反应液降至室温, 加入水 (30 mL), 用乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取, 有机相用饱和碳酸氢钠水溶液 (30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=10/1) 分离得到化合物 WX008-9。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.81 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.71 (m, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.13 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.20 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.85 (d, J = 0.8 Hz, 2H), 1.25 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。

步骤 9: 化合物 WX008-10 的合成

将化合物 WX008-9 (700 mg, 2.17 mmol), 2-二叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯 (128.78 mg, 303.28 μmol), 氨基甲酸叔丁酯 (304.53 mg, 2.60 mmol), 磷酸钾 (1.84 g, 8.67 mmol) 和三(二亚苄基丙酮)二钯 (138.86 mg, 151.64 μmol) 置于甲苯 (10 mL) 和水 (2 mL) 中, 氮气置换并保护, 升温至 100°C 搅拌 6 小时。将反应液降至室温, 加入水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (20 mL $\times$ 3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (20 mL $\times$ 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。向粗品中加入正庚烷 (10 mL) 并搅拌 15 分钟, 过滤, 用正庚烷 (3 mL $\times$ 3) 淋洗滤饼, 收集滤饼得到化合物 WX008-10。

步骤 10: 化合物 WX008-11 的合成

将化合物 WX008-10 (760 mg, 2.11 mmol) 和丙烯酰胺 (165.35 mg, 2.33 mmol, 160.53 μL) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (20 mL) 中, 20°C 加入叔丁醇钾 (498.34 mg, 4.44 mmol), 20°C 搅拌 1 小时。将反应液倒入 0-10°C 的 1N 盐酸 (20 mL) 中, 用乙酸乙酯 (20 mL $\times$ 3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/1) 分离得到化合物 WX008-11。

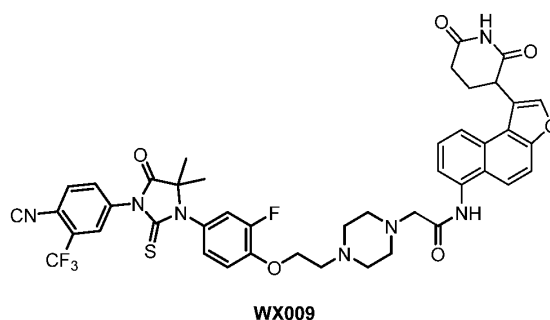
步骤 11: 化合物 WX008-12 的盐酸盐的合成

将化合物 WX008-11 (240 mg, 624.38 μmol) 置于乙酸乙酯 (1 mL) 中, 加入盐酸/乙酸乙酯 (4 M, 10 mL), 20°C 搅拌 3 小时。将反应液直接减压浓缩得到化合物 WX008-12 的盐酸盐。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.94 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.09 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 4.29 (dd, $J = 4.8$ Hz, 12.0 Hz, 1H), 2.86-2.77 (m, 1H), 2.68-2.58 (m, 1H), 2.34-2.22 (m, 1H), 2.19-2.14 (m, 1H)。

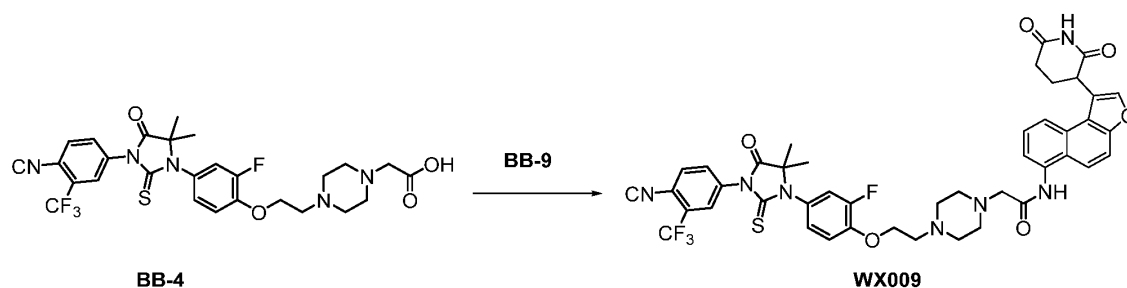
步骤 12: 化合物 WX008 的合成

将化合物 BB-4 (125.29 mg, 211.07 μmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (90.93 mg, 703.57 μmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中, 20°C 加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (86.94 mg, 228.66 μmol) 并搅拌 5 分钟。20°C 加入化合物 WX008-12 的盐酸盐 (50 mg, 175.89 μmol) 并搅拌 12 小时。将反应液直接减压浓缩。粗品经制备 HPLC (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl) 分离纯化后, 得到化合物 WX008。 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.19 (s, 1H), 8.17-8.15 (m, 2H), 7.98 (dd, $J = 1.6$ Hz, 8.0 Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.40-7.35 (m, 1H), 7.32 (dd, $J = 2.4$ Hz, 11.6 Hz, 1H), 7.25-7.22 (m, 1H), 7.02 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 4.60-4.58 (m, 2H), 4.29 (dd, $J = 5.2$ Hz, 11.6 Hz, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.77-3.69 (m, 6H), 3.42 (m, 4H), 2.92-2.83 (m, 1H), 2.79-2.73 (m, 1H), 2.44-2.30 (m, 2H), 1.57 (s, 6H)。

实施例 9



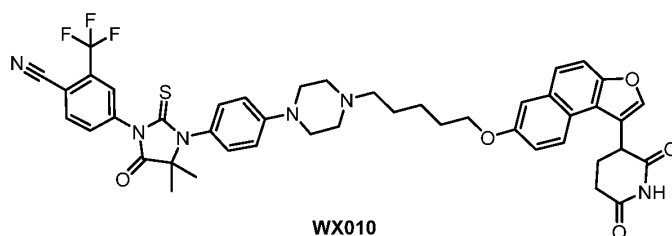
合成路线:



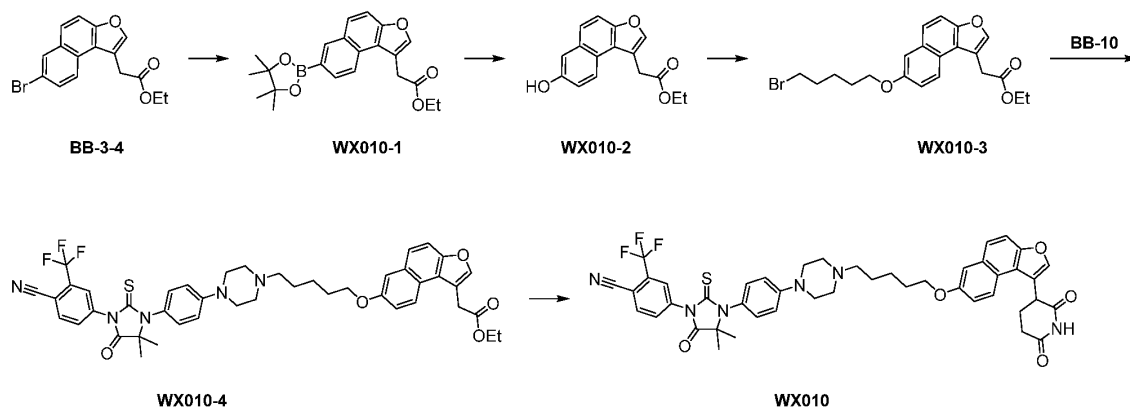
化合物 WX009 的合成

将化合物 BB-4 (200 mg, 336.93 μmol)和 BB-8 的盐酸盐 (133.73 mg, 404.32 μmol) 加到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 将 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯(256.22 mg, 673.86 μmol)和 *N,N*-二异丙基乙胺 (130.64 mg, 1.01 mmol)慢慢的加到反应中, 混合物用氮气置换 3 次后在 20°C 搅拌 12 小时。反应液倒入 10 mL 水和 10 mL 乙酸乙酯中, 分出有机相用水洗涤 3 次 (10mL $\times$ 3), 收集有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干。粗品经制备 HPLC 纯化 (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl) 得到化合物 WX009。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.95 (s, 1H), 10.69 - 10.37 (m, 1H), 8.39 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 8.27 (d, *J*=1.5 Hz, 1H), 8.17 - 7.97 (m, 4H), 7.86 (d, *J*=9.3 Hz, 1H), 7.68 - 7.54 (m, 2H), 7.49 - 7.33 (m, 2H), 7.22 (br d, *J*=8.0 Hz, 1H), 4.70 (br dd, *J*=4.3, 11.8 Hz, 1H), 4.66 - 4.46 (m, 2H), 4.28 - 3.98 (m, 2H), 3.81 - 3.61 (m, 10H), 3.00 - 2.81 (m, 1H), 2.72 - 2.60 (m, 1H), 2.47 - 2.37 (m, 1H), 2.35 - 2.21 (m, 1H), 1.51 (s, 6H)。

实施例 10



合成路线:



步骤 1: 化合物 WX010-1 的合成

室温下将化合物 BB-3-4 (2 g, 6.00 mmol) 加入到二氧六环 (20 mL) 的溶剂中, 开启搅拌, 加入化合物联硼酸频那醇酯 (2.29 g, 9.00 mmol), [1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯(439.23 mg, 600.28 μ mol) 和醋酸钾 (1.18 g, 12.01 mmol), 反应液升温至 100°C, 氮气保护下, 搅拌 12 小时。反应完毕后, 反应液冷却至室温, 加入水 (30 mL), 乙酸乙酯 (30 mL $\times$ 2) 萃取。合并有机相加入半饱和食盐水 (30 mL $\times$ 2) 洗涤, 有机相加入无水硫酸钠干燥后过滤, 旋干, 所得粗品经过柱层析分离 (洗脱剂, 石油醚: 乙酸乙酯= 1/0~ 4/1) 纯化得到化合物 WX010-1。MS-ESI m/z : 380.9[M+H]⁺. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 8.47 (s, 1H), 8.19 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.94 (d, J=8.3 Hz, 1H), 7.83 - 7.75 (m, 2H), 7.65 (d, J=9.0 Hz, 1H), 4.23 (q, J=7.1 Hz, 2H), 4.09 - 4.09 (m, 1H), 4.08 (s, 1H), 1.41 (s, 12H), 1.30 - 1.25 (m, 3H)。

步骤 2: 化合物 WX010-2 的合成

室温下将化合物 WX010-1 (2.3 g, 6.05 mmol) 加入到四氢呋喃 (40 mL) 和水 (20 mL) 的混合溶剂中, 开启搅拌, 加入化合物碳酸氢钠 (1.02 g, 12.10 mmol, 470.52 μ L), 反应液降温至 0°C, 将双氧水 (5.49 g, 48.39 mmol, 4.65 mL, 30%浓度) 缓慢滴加至反应液中, 氮气保护下, 继续搅拌 2 小时。反应液在冰浴下缓慢滴加饱和亚硫酸钠水溶液 (50 mL) 滴加完毕后, 继续搅拌 10 分钟。在加入乙酸乙酯 (100 mL $\times$ 2) 萃取。有机相加入无水硫酸钠干燥后, 过滤, 旋干。粗品经过柱层析(洗脱剂: 石油醚: 乙酸乙酯= 8/1~4/1)分离纯化得到化合物 WX010-2。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 8.13 (d, J=8.9 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.64 - 7.51 (m, 2H), 7.29 (d, J=2.6 Hz, 1H), 7.18 (dd, J=2.6, 8.9 Hz, 1H), 4.23 (q, J=7.1 Hz, 2H), 4.05 (d, J=0.9 Hz, 2H), 1.31 - 1.22 (m, 3H)。

步骤 3: 化合物 WX010-3 的合成

将化合物 WX010-2 (400 mg, 1.33 mmol) 和 1,5-二溴戊烷 (1.53 g, 6.64 mmol, 897.79 μ L) 加到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 开启搅拌, 将碳酸钾 (550.41 mg, 3.98 mmol) 和碘化钠 (198.99 mg, 1.33 mmol) 慢慢加入到反应中, 混合物用氮气置换 3 次后在 80°C 搅拌 10 小时。反应液冷却到 25°C, 往里面加入乙酸乙

酯 (30 mL) 和水 (30 mL), 分出有机相用饱和食盐水洗涤 2 次 (30 mL×2)。收集有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干, 所得粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=50/1~10/1) 分离纯化得到化合物 WX010-3。MS-ESI m/z : 418.9[M+H]⁺. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 8.06 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.53 (s, 2H), 7.25 - 7.10 (m, 3H), 4.17 - 4.08 (m, 3H), 4.03 (t, J=6.3 Hz, 2H), 3.96 (s, 2H), 3.39 (t, J=6.8 Hz, 2H), 1.97 - 1.86 (m, 2H), 1.85 - 1.77 (m, 2H), 1.69 - 1.57 (m, 3H), 1.18 (t, J=7.2 Hz, 3H)。

步骤 4: 化合物 WX010-4 的合成

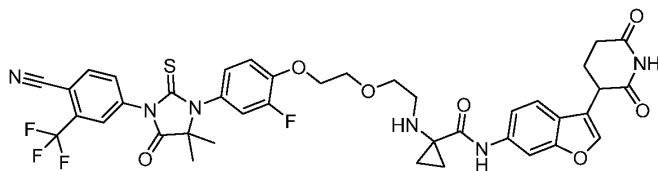
将化合物 BB-10 (200 mg, 422.37 μ mol) 和 WX010-3 (177.11 mg, 422.37 μ mol, 72.61 μ L) 加到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 开启搅拌, 将碳酸钾 (175.12 mg, 1.27 mmol) 和碘化钾 (70.12 mg, 422.37 μ mol) 慢慢加入到反应中, 反应液用氮气置换 3 次后在 80°C 搅拌 12 小时。反应液冷却到室温, 用乙酸乙酯 (30 mL) 稀释, 有机相用水洗涤 2 次 (20 mL×2), 收集有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干。所得粗品经柱层析 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=50/1~10/1) 分离纯化得到化合物 WX010-4。

MS-ESI m/z : 812.3 [M+H]⁺.

步骤 5: 化合物 WX010 的合成

0°C 将化合物 WX010-4 (300 mg, 369.50 μ mol) 和丙烯酰胺 (26.26 mg, 369.50 μ mol, 25.50 μ L) 加到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 将叔丁醇钾 (82.92 mg, 739.00 μ mol) 慢慢分批加到反应中, 混合物氮气置换 3 次后在 0°C 搅拌 1 小时。反应慢慢加入到饱和氯化铵 (50 mL) 中, 用乙酸乙酯萃取 2 次 (50 mL×2), 合并有机相用饱和食盐水洗涤 3 次 (30 mL×3), 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干。粗品经制备 HPLC (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl) 分离得到化合物 WX010。MS-ESI m/z : 837.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 11.23 (br s, 1H), 10.95 (s, 1H), 8.39 (d, J=8.3 Hz, 1H), 8.30 (d, J=1.3 Hz, 1H), 8.15 - 8.04 (m, 2H), 7.98 (d, J=6.8 Hz, 1H), 7.82 - 7.68 (m, 2H), 7.53 (d, J=2.3 Hz, 1H), 7.34 - 7.20 (m, 3H), 7.14 (br d, J=9.0 Hz, 2H), 4.65 (br dd, J=4.1, 11.9 Hz, 1H), 4.18 - 4.09 (m, 2H), 4.03 (s, 1H), 3.93 (br s, 2H), 3.60 (br d, J=11.3 Hz, 2H), 3.38 - 3.23 (m, 2H), 3.22 - 3.04 (m, 4H), 2.98 - 2.79 (m, 1H), 2.71 - 2.53 (m, 1H), 2.41 (br dd, J=3.9, 12.7 Hz, 1H), 2.31 - 2.17 (m, 1H), 1.95 - 1.76 (m, 4H), 1.64 - 1.43 (m, 8H)。

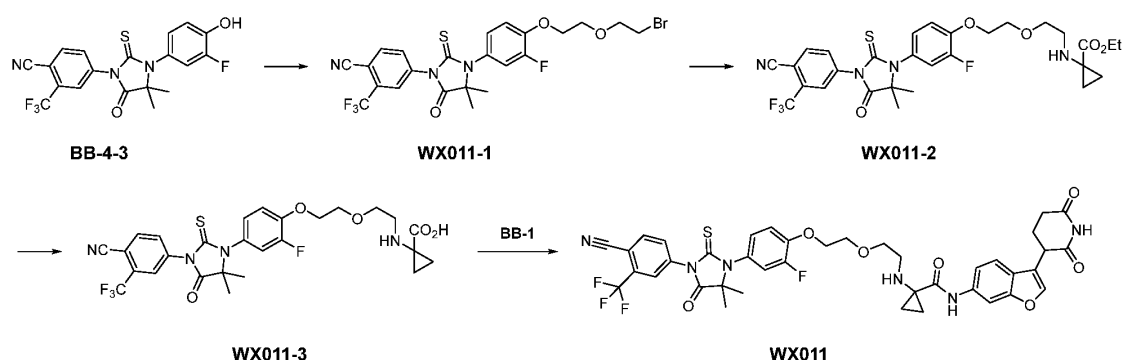
实施例 11



WX011

合成路线:

45



步骤 1: 化合物 WX011-1 的合成

将化合物 BB-4-3 (1 g, 2.36 mmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (30 mL) 中, 加入碳酸钾 (652.86 mg, 4.72 mmol) 和 2,2'-二溴二乙醚 (2.74 g, 11.81 mmol, 1.48 mL), 升温到 80°C 搅拌 30 小时。向反应液中加入水 (150 mL), 用乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=3/1) 纯化得到化合物 WX011-1。

步骤 2: 化合物 WX011-2 的合成

将 1-氨基环丙烷甲酸乙酯盐酸盐 (346.01 mg, 2.09 mmol) 和碳酸钾 (577.48 mg, 4.18 mmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 加入化合物 WX011-1 (0.6 g, 1.04 mmol), 升温至 75°C 搅拌 15 小时。向反应液中加入水 (50 mL), 用乙酸乙酯 (15 mL×2) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=3/1) 纯化得到化合物 WX011-2。

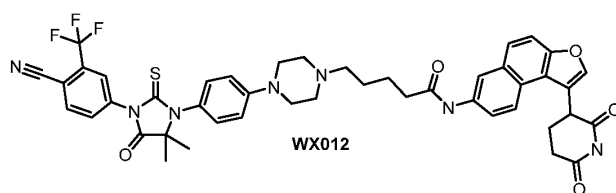
步骤 3: 化合物 WX011-3 的合成

将化合物 WX011-2 (0.2 g, 321.22 μmol) 溶于四氢呋喃 (4 mL) 和水 (1 mL) 的混合溶剂中, 20°C 加入一水合氢氧化锂 (67.40 mg, 1.61 mmol), 搅拌 30 小时。向反应液中加入水 (5 mL), 用 1N 稀盐酸调节至 pH=5, 用乙酸乙酯 (10 mL×4) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干得到化合物 WX011-3。

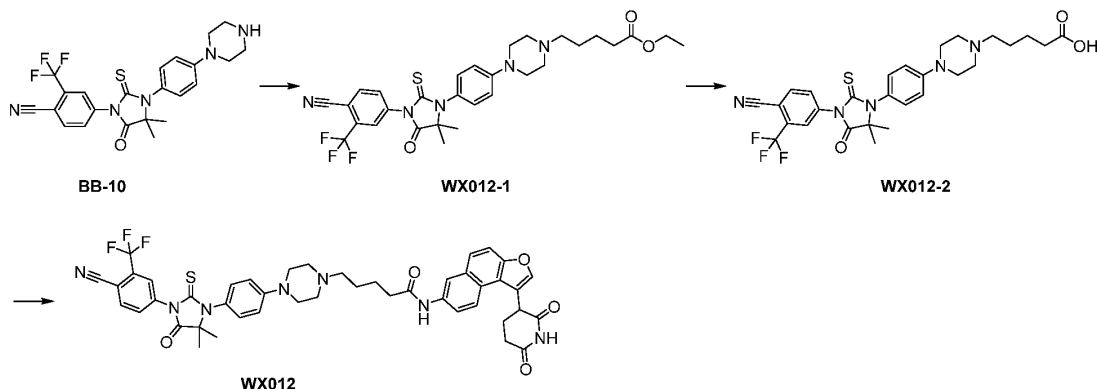
步骤 4: 化合物 WX011 的合成

将化合物 WX011-3 (80 mg, 134.55 μmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1 mL), 加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (76.74 mg, 201.82 μmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (69.56 mg, 538.20 μmol, 93.74 μL), 搅拌 10 分钟, 加入化合物 BB-1 的盐酸盐 (49.10 mg, 174.91 μmol), 20°C 搅拌 15 小时。反应液经制备 HPLC (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl) 分离纯化得到化合物 WX011。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.16-8.14 (m, 2H), 7.95 (dd, J=1.6 Hz, 8.4 Hz, 1H), 7.91 (d, J=1.6 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.50 (d, J=8.8 Hz, 1H), 7.30-7.22 (m, 3H), 7.16-7.14 (m, 1H), 4.35 (t, J=4.0 Hz, 2H), 4.10 (dd, J=4.2 Hz, 11.6 Hz, 1H), 3.99-3.97 (m, 2H), 3.89 (t, J=2.8 Hz, 2H), 3.47 (s, 2H), 2.83-2.66 (m, 2H), 2.42-2.32 (m, 1H), 2.29-2.22 (m, 1H), 1.81-1.78 (m, 2H), 1.65-1.63 (m, 2H), 1.54 (s, 9H)。

实施例 12



合成路线:



步骤 1: 化合物 WX012-1 的合成

将化合物 BB-10 和 5-溴戊酸乙酯 (662.33 mg, 3.17 mmol, 505.59 μ L) 加到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 开启搅拌, 将碳酸钾 (262.69 mg, 1.90 mmol) 和碘化钠 (94.97 mg, 633.56 μ mol) 慢慢加入到反应中, 反应液用氮气置换 3 次后在 80°C 搅拌 12 小时。反应完毕, 冷却到 25°C, 用乙酸乙酯 (20 mL) 稀释, 有机相用水洗涤 2 次 (20 mL $\times$ 2), 用饱和食盐水洗涤 1 次 (20 mL), 收集有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=50/1~10/1) 分离纯化得到化合物 WX012-1。MS-ESI m/z : 602.1[M+H]⁺。

步骤 2: 化合物 WX012-2 的合成

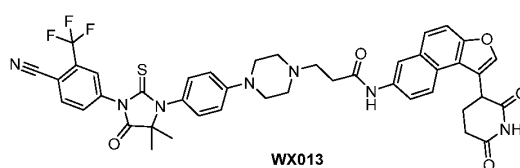
将化合物 WX012-1 (170 mg, 282.54 μ mol) 加到无水乙醇 (2.5 mL) 和水 (0.5 mL) 中, 开启搅拌, 将一水合氢氧化锂 (29.64 mg, 706.35 μ mol) 慢慢加入到反应中, 反应液用氮气置换 3 次后在 25°C 搅拌 12 小时。反应完毕, 反应液加入水 (10 mL), 减压旋掉大部分的有机溶剂, 水相用 2N 盐酸调至 pH=3, 水相直接冻干。得到化合物 WX012-2。MS-ESI m/z : 574.0[M+H]⁺。

步骤 3: 化合物 WX012 的盐酸盐的合成

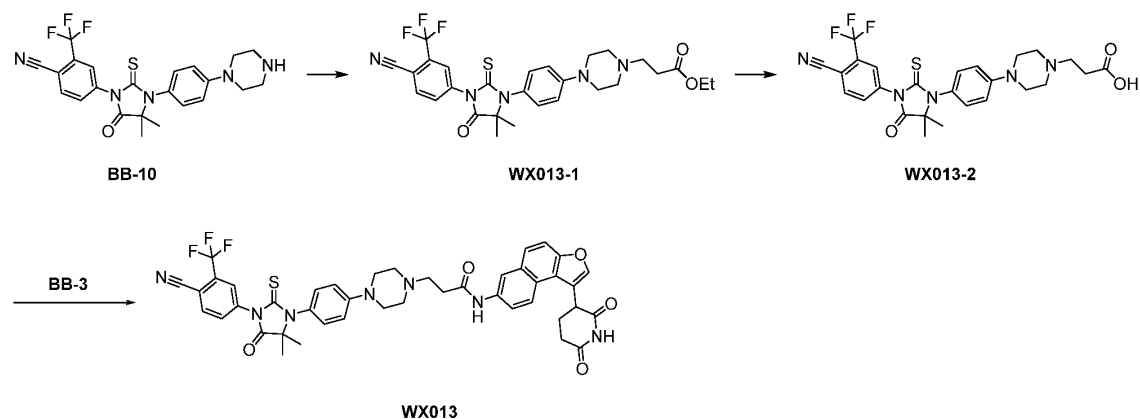
将化合物 BB-3 的盐酸盐 (54.30 mg, 139.46 μ mol) 加到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 将 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (165.71 mg, 435.82 μ mol) 和三乙胺 (52.92 mg, 522.99 μ mol, 72.79 μ L) 慢慢加到反应中, 混合物氮气置换 3 次后在 25°C 搅拌 3 小时。反应液用乙酸乙酯 (30 mL) 稀释,

有机相用水洗涤 2 次 (20 mL×2), 收集有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干的粗品经制备 HPLC (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl) 分离得到化合物 WX012 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 850.4[M+H]⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 10.95 (s, 1H), 10.54 (br d, J=4.5 Hz, 1H), 10.29 (s, 1H), 8.48 - 8.35 (m, 2H), 8.29 (d, J=1.3 Hz, 1H), 8.18 - 8.04 (m, 2H), 7.99 (s, 1H), 7.79 - 7.69 (m, 3H), 7.28 - 7.21 (m, 2H), 7.14 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.65 (br dd, J=4.4, 12.2 Hz, 1H), 3.94 (br d, J=11.3 Hz, 2H), 3.62 (br d, J=10.8 Hz, 2H), 3.28 - 3.07 (m, 6H), 2.95 - 2.80 (m, 1H), 2.69 - 2.59 (m, 1H), 2.49 - 2.36 (m, 3H), 2.33 - 2.22 (m, 1H), 1.92 - 1.77 (m, 2H), 1.76 - 1.65 (m, 2H), 1.49 (s, 6H)。

实施例 13



合成路线:



步骤 1: 化合物 WX013-1 的合成

将化合物 BB-10 (0.15 g, 284.79 μ mol) 和溴代丙酸乙酯 (103.11 mg, 569.57 μ mol, 72.61 μ L) 加到乙腈 (5 mL) 中, 开启搅拌, 将碳酸钾 (78.72 mg, 569.57 μ mol) 和碘化钾 (47.28 mg, 284.79 μ mol) 慢慢加入到反应中, 反应液用氮气置换 3 次后在 80°C 搅拌 2 小时。反应液冷却到室温, 往里面加入乙酸乙酯 (50 mL) 和水 (50 mL), 分出有机相用饱和食盐水洗涤 2 次 (30 mL×2)。收集有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干。粗品经柱层析 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=50/1-10/1, 体积比) 纯化得到化合物 WX013-1。MS-ESI m/z : 574.0 [M+H]⁺。

步骤 2: 化合物 WX013-2 的合成

将化合物 WX013-1 (0.2 g, 348.66 μ mol) 加到无水乙醇 (4 mL) 和水 (1 mL) 中, 开启搅拌, 将一水合

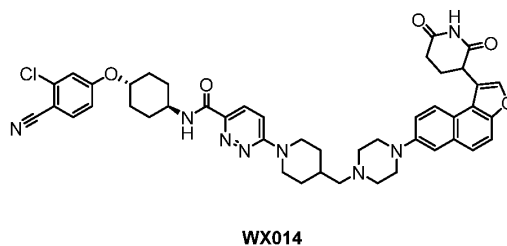
氢氧化锂 (43.89 mg, 1.05 mmol) 慢慢加入到反应中, 反应液用氮气置换 3 次后在 25°C 搅拌 12 小时。反应减压旋掉大部分的乙醇, 往里面加入 20 mL 水。水相用 2N 的盐酸调至 pH=3-4, 水相直接冻干。得到化合物 WX013-2。MS-ESI m/z: 546.0 [M+H]⁺。

步骤 3: 化合物 WX013 的盐酸盐的合成

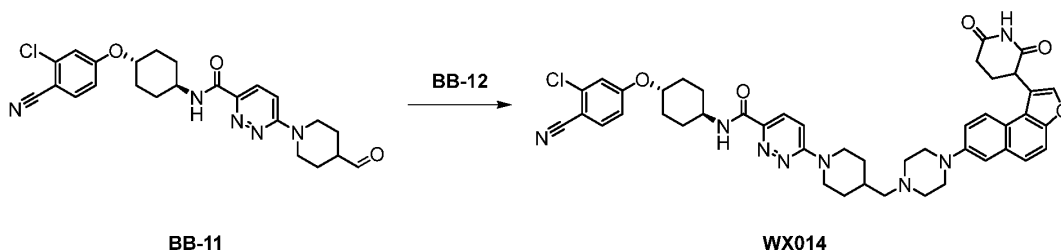
将化合物 WX013-2 (60 mg, 109.98 μmol) 和 BB-3 的盐酸盐加到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (3 mL) 中, 将 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (83.63 mg, 219.95 μmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (42.64 mg, 329.93 μmol, 57.47 μL) 慢慢的加到反应中, 混合物用氮气置换 3 次后在 20°C 下搅拌 12 小时。反应完毕, 将反应液倒入水和乙酸乙酯 (10 mL:10 mL) 的混合溶剂中, 分出有机相用水洗涤 3 次 (10 mL×3), 收集有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压旋干的粗品经制备 HPLC 纯化 (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl) 得到化合物 WX013 的盐酸盐。MS-ESI m/z: 822.3[M+H]⁺。

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 10.95 (s, 1H), 10.54 (br s, 1H), 10.46 (br s, 1H), 8.47 - 8.35 (m, 2H), 8.29 (br s, 1H), 8.16 (br s, 1H), 8.08 (br d, J=8.5 Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.80 - 7.67 (m, 3H), 7.34 - 7.20 (m, 2H), 7.16 (br d, J=8.8 Hz, 2H), 4.68 (br s, 1H), 3.98 (m, 2H), 3.64 (m, 2H), 3.55 (m, 4H), 3.23 (m, 2H), 3.05 (br s, 2H), 2.86 (m, 1H), 2.67 (m, 1H), 2.63 - 2.62 (m, 1H), 2.41 - 2.33 (m, 1H), 1.49 (br s, 6H)。

实施例 14



合成路线:

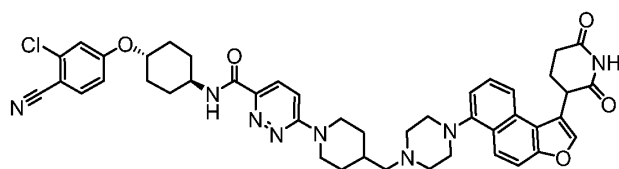


化合物 WX014 的盐酸盐的合成

将化合物 BB-11 (400 mg, 854.80 μmol) 和化合物 BB-12 的盐酸盐 (403.83 mg, 1.11 mmol) 溶于二氯甲烷 (30 mL), 加入醋酸硼氢化钠 (543.50 mg, 2.56 mmol), 反应混合物在氮气保护下, 室温搅拌 12 小时。

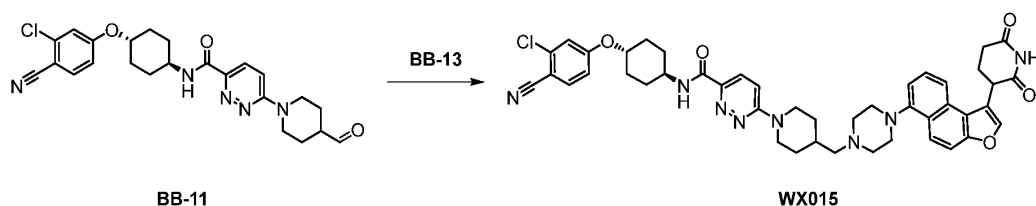
反应完毕, 加入二氯甲烷 (100 mL) 和水 (100 mL) 稀释反应液, 有机相分离, 用无水硫酸钠干燥, 过滤减压浓缩有机相, 所得粗品经过制备 HPLC 纯化 (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl) 得到化合物 WX014 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 815.2 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.97 (s, 1H), 10.83 (br s, 1H), 8.63 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.05 (br d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.91 - 7.84 (m, 2H), 7.73 (s, 2H), 7.54 - 7.43 (m, 3H), 7.41 - 7.38 (m, 1H), 7.16 - 7.11 (m, 1H), 4.63 (br dd, $J=4.0, 12.0$ Hz, 1H), 4.58 - 4.46 (m, 3H), 3.98 - 3.81 (m, 3H), 3.66 (br d, $J=11.0$ Hz, 2H), 3.43 (br t, $J=12.2$ Hz, 2H), 3.28 - 3.05 (m, 6H), 2.96 - 2.83 (m, 1H), 2.76 - 2.58 (m, 2H), 2.56 - 2.53 (m, 1H), 2.46 - 2.37 (m, 1H), 2.31 - 2.21 (m, 2H), 2.11 (br d, $J=9.0$ Hz, 2H), 2.02 (br d, $J=12.0$ Hz, 2H), 1.90 (br d, $J=10.5$ Hz, 2H), 1.72 - 1.58 (m, 2H), 1.58 - 1.45 (m, 2H)。

实施例 15



WX015

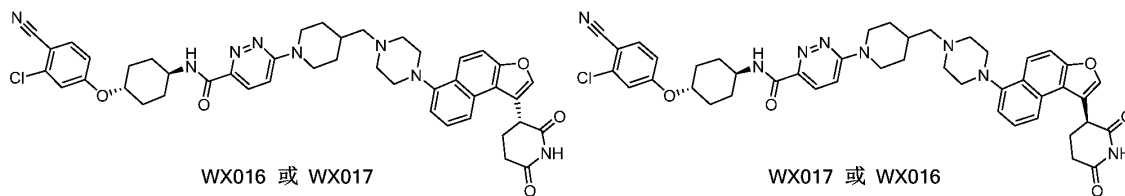
合成路线:



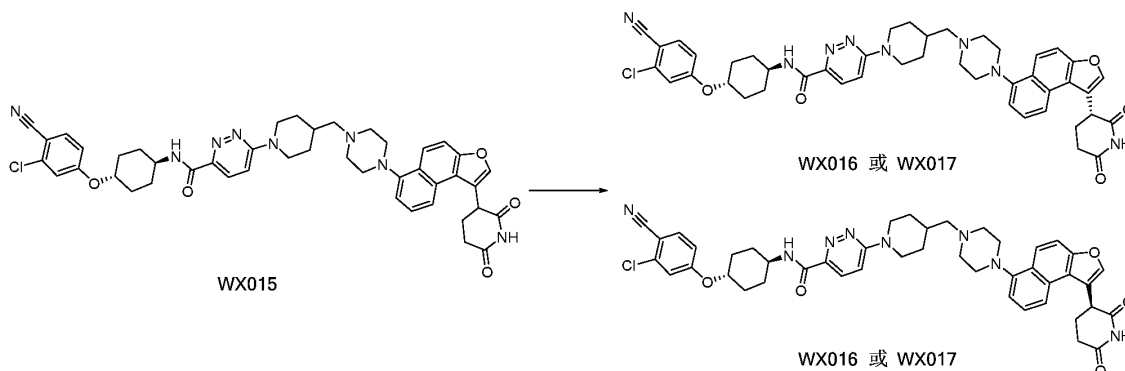
化合物 WX015 的盐酸盐的合成

将化合物 BB-11 (400 mg, 854.80 μ mol) 和化合物 BB-13 的盐酸盐 (403.83 mg, 1.11 mmol) 溶于二氯甲烷 (30 mL), 加入醋酸硼氢化钠 (181.17 mg, 854.80 μ mol), 反应混合物在氮气保护下, 室温搅拌 12 小时。反应完毕, 加入二氯甲烷 (100 mL) 和水 (100 mL) 稀释反应液, 有机相分离, 用无水硫酸钠干燥, 过滤减压浓缩有机相, 所得粗品经制备 HPLC 纯化 (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.05% HCl) 得到化合物 WX015 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 815.2 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.96 (s, 1H), 10.82 (br s, 1H), 8.63 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 8.17 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.96 (br d, $J=5.8$ Hz, 1H), 7.86 (dt, $J=9.4, 15.6$ Hz, 3H), 7.60 - 7.51 (m, 2H), 7.39 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 7.27 - 7.22 (m, 1H), 7.14 (dd, $J=2.3, 8.8$ Hz, 1H), 4.68 (br dd, $J=3.9, 11.9$ Hz, 1H), 4.58 - 4.47 (m, 3H), 3.92 - 3.81 (m, 1H), 3.69 (br s, 3H), 3.50 - 3.38 (m, 3H), 3.23 - 3.06 (m, 4H), 2.98 - 2.81 (m, 1H), 2.70 - 2.58 (m, 1H), 2.45 - 2.20 (m, 4H), 2.16 - 1.99 (m, 5H), 1.91 (br d, $J=10.3$ Hz, 2H), 1.71 - 1.58 (m, 2H), 1.57 - 1.42 (m, 2H), 1.40 - 1.27 (m, 2H)。

实施例 16 和实施例 17



合成路线:



化合物 16 和化合物 17 的合成

将化合物 BB-11 (7 g, 14.96 mmol) 和化合物 BB-13 的盐酸盐 (7.18 g, 17.95 mmol) 溶于二氯甲烷 (500 mL) 中, 室温搅拌 12 小时, 加入醋酸硼氢化钠 (4.76 g, 22.44 mmol), 反应混合物在氮气保护下, 室温搅拌 12 小时。反应完毕, 加入水 (200 mL) 稀释反应液, 有机相分离, 饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤减压浓缩有机相, 所得粗品经柱层析分离 (洗脱剂: 二氯甲烷: 甲醇=10/1) 得到化合物 WX015, 化合物 WX015 经过手性 HPLC 拆分 (柱型: DAICEL CHIRALPAK IE (250mm*30mm, 10 μ m); 流动相: A(IPA), B(ACN), B%: 50%~100%; 流速: 80mL/min) 得到化合物 WX016 和 WX017。

分析方法: 色谱柱: Chiralpak IA 100*4.6mm, 3 μ m; 流动相: A: 正己烷 (0.1%二乙胺); B: 异丙醇: 乙腈=2:1, A:B=40:60; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 波长: 220 nm。

WX016: 保留时间为 4.679 min, ee%: 98.77%; MS-ESI m/z: 815.4 [M+H]⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 10.97 (s, 1H), 8.60 (d, J=8.3 Hz, 1H), 8.16 (d, J=9.3 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.91 - 7.74 (m, 4H), 7.51 (t, J=7.9 Hz, 1H), 7.41 - 7.31 (m, 2H), 7.21 - 7.10 (m, 2H), 4.66 (br dd, J=4.1, 11.7 Hz, 1H), 4.58 - 4.45 (m, 3H), 3.94 - 3.79 (m, 1H), 3.223.00 (m, 7H), 2.89 (ddd, J=5.3, 12.2, 17.4 Hz, 2H), 2.69 - 2.56 (m, 2H), 2.47 - 2.33 (m, 2H), 2.29 (br d, J=7.0 Hz, 3H), 2.11 (br d, J=9.3 Hz, 2H), 2.00 - 1.81 (m, 5H), 1.72 - 1.58 (m, 2H), 1.58 - 1.44 (m, 2H), 1.26 - 1.09 (m, 2H).

WX017: 保留时间为 5.797 min, ee%: 99.86%; MS-ESI m/z: 815.4 [M+H]⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 11.00 (br s, 1H), 8.60 (br d, J=8.3 Hz, 1H), 8.22 - 8.13 (m, 1H), 8.04 - 7.95 (m, 1H), 7.94 - 7.71 (m, 4H), 7.57 - 7.47 (m, 1H), 7.41 - 7.31 (m, 2H), 7.16 (br dd, J=8.0, 19.1 Hz, 2H), 4.66 (br d, J=7.3 Hz, 1H), 4.58 - 4.40 (m, 3H), 3.87 (br d, J=7.8 Hz, 1H), 3.28 - 2.97 (m, 7H), 2.88 (br t, J=12.3 Hz, 2H), 2.69 - 2.56 (m, 2H), 2.49 - 2.35 (m, 2H), 2.28 (br d, J=6.0 Hz, 3H), 2.17 - 2.00 (m, 2H), 2.00 - 1.79 (m, 5H), 1.71 - 1.58 (m, 2H), 1.51 (q, J=10.6 Hz, 2H), 1.26 - 1.01 (m, 2H).

生物数据

测试例1: 人前列腺癌LNCaP细胞的AR蛋白水平及下游效应前列腺特异性抗原 (PSA) 蛋白的调控的体外测试

实验目的: 用 WB (Western Blot, 蛋白质印迹法) 的方法, 研究化合物在不同浓度条件下对人前列腺癌 LNCaP 细胞的 AR 蛋白水平及下游效应前列腺特异性抗原 (PSA) 蛋白的调控。

实验方案:

- 1) 将 LNCaP 细胞解冻并传代至少 2 次;
- 2) 将 LNCaP 细胞以每孔 3×10⁵ 个细胞接种在 6 孔板中, 隔夜贴壁后用一定浓度的受试化合物处理;
- 3) 处理 24 小时后, 将培养的细胞样品上清弃去, 用 DPBS (杜氏磷酸盐缓冲液) 洗涤 2 次, 然后用一定量 100°C预热的 2% SDS 裂解液 (SDS Lysis Buffer) 裂解细胞, 收集后以 100°C变性 15 分钟;
- 4) 上述裂解液变性冷却后进行蛋白定量测试 (Pierce BCA 蛋白测定试剂盒, Thermo), 然后以 5 倍上样缓冲液 (含二硫苏糖醇 (DDT), 碧云天) 按相同蛋白浓度定容, 再以 100°C还原变性 10 分钟;
- 5) 通过 SDS-PAGE 分离上述样品 (10~20 μg 蛋白), 并转移到 PVDF 膜 (Biorad) 上;
- 6) 根据目的蛋白分子量裁剪条带, 以封闭液 (3%牛血清白蛋白 TBS-T 溶液, 其中 TBS-T 溶液为含 0.2% Tween-20 的 Tris-HCl 缓冲液) 封闭 1 小时, 再用一抗 (anti-AR (#5153, CST)、anti-PSA/KLK3 (#5365, CST) 和 anti-β-actin (#4970, CST), 以封闭液分别按 1:1000、1:1000 和 1:2000 稀释配制) 4°C孵育过夜;
- 7) 最后用 HRP 连接的二抗 (anti-rabbit IgG (#7074, CST), 以封闭液按 1:2000 稀释配制) 室温孵育 1 小时, 然后用化学发光底物 (Clarity ECL, Biorad) 检测膜上的条带。

实验结果:

测试结果如图 1, 图 2 所示。

结论: 本发明化合物对 AR 蛋白展现出良好的降解活性, 其降解能力呈现良好的浓度依赖性, 本发明化合物可显著影响对应下游 PSA 效应变化, 其影响程度呈现良好的浓度依赖性。

测试例 2: 在人前列腺癌 LNCaP 细胞中的抗增殖作用评估

实验目的

本实验通过检测受试化合物在人前列腺癌 LNCaP 细胞中对细胞增殖的抑制作用。

实验材料：

1. 细胞系及培养方法

表 1. 细胞系及培养方法

细胞系	肿瘤类型	生长特点	培养方法
LNCaP	人前列腺癌	贴壁	无酚红 1640 + 10% FBS

2. 培养基及试剂

表 2. 培养基及试剂

培养基及试剂	生产商	货号
无酚红 RPMI 1640	GIBCO	11835030
Dulbecco's PBS	CORNING	21-031-CVC
FBS	ExCell Bio	FSP500
Penicillin-Streptomycin Solution	HyClone	SV30010
0.25% Trypsin	GIBCO	25200072

3. 多孔板

Greiner CELLSTAR® 96-孔板，平底黑板(带盖及透明底), # 655090。

4. 细胞活性实验所用试剂及仪器

- (1) Promega CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测试剂盒 (Promega-G7573)。
- (2) 2104 EnVision® 读板器, PerkinElmer。

实验方案

1. 细胞培养

将肿瘤细胞系按上述培养条件在 37℃, 5% CO₂ 的培养箱中进行培养。定期传代，取处于对数生长期的细胞用于铺板。

2. 细胞铺板

- (1). 用台盼兰进行细胞染色并计数活细胞；
- (2). 将细胞浓度调整至合适浓度；

表 3.细胞铺板数

Cell line	Density (per 96-well)
LNCaP	4500

- (3). 按上表所示在培养板中每孔加入 90 μL 细胞悬液，在空白对照空中加入不含细胞的培养液；
- (4). 将培养板在 37℃, 5% CO₂, 及 100% 相对湿度的培养箱中培养过夜。

3. 化合物存储板制备

制备化合物起始浓度400倍浓度的母液存储板：将化合物用DMSO从最高浓度梯度稀释至最低浓度。每次现用现配。

化合物起始浓度10倍浓度的工作液的配制及化合物处理细胞

- (1). 在V形底的96孔板中加入78 μL细胞培养液，从化合物起始浓度400倍浓度的母液存储板中吸取2 μL化合物加入96孔板的细胞培养液中。在溶媒对照和空白对照中加入2 μLDMSO。加入化合物或DMSO后用排枪吹打混匀。
- (2). 加药：取 10 μL 的化合物起始浓度 10 倍浓度的工作液加入到细胞培养板中。在溶媒对照和空白对照中加入 10 μL DMSO-细胞培养液混合液。
- (3). 将 96 孔细胞板放回培养箱中培养 6 天。

5. CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测

以下步骤按照 Promega CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测试剂盒(Promega-G7573)的说明书来进行。

- (1). 将 CellTiter-Glo 缓冲液融化并放置至室温；
- (2). 将 CellTiter-Glo 底物放置至室温；
- (3). 在一瓶 CellTiter-Glo 底物中加入 100 mL CellTiter-Glo 缓冲液以溶解底物，从而配制 CellTiter-Glo 工作液；
- (4). 缓慢涡旋震荡使充分溶解；
- (5). 取出细胞培养板放置 30 分钟使其平衡至室温；
- (6). 在每孔中加入 50 μL（等于每孔中细胞培养液一半体积）的 CellTiter-Glo 工作液。用铝箔纸包裹细胞板以避光；
- (7). 将培养板在轨道摇床上振摇 2 分钟以诱导细胞裂解；
- (8). 培养板在室温放置 10 分钟以稳定发光信号；
- (9). 在 2104 EnVision 读板器上检测发光信号。

6. 数据分析

用下列公式来计算检测化合物的抑制率（Inhibition rate，IR）： $IR\ (\%) = (RLU_{\text{溶媒对照}} - RLU_{\text{化合物}}) / (RLU_{\text{溶媒对照}} - RLU_{\text{空白对照}}) * 100\%$ 。在 Excel 中计算不同浓度化合物的抑制率，然后用 GraphPad Prism 软件作抑制曲线图和计算相关参数，包括最小抑制率，最大抑制率及 IC50。

实验结果：

测试结果见表 4。

表 4 本发明化合物在 LNCaP 细胞系中的细胞增殖抑制作用

化合物	LNCaP IC50 (nM)
-----	-----------------

WX001	332.6
WX002	46
WX003	230
WX004	25
WX005	190
WX015 的盐酸盐	45
WX016	31
WX017	44

结论：本发明化合物在人前列腺癌细胞 LNCaP 中展现出优异细胞增殖的抑制作用。

测试例 3：人前列腺癌 LNCaP 细胞皮下异种移植肿瘤 CB-17 SCID 模型的体内药效学研究
细胞培养

人前列腺癌 LNCaP 细胞（ECACC-89110211）体外单层培养，培养条件为 RPMI-1640 培养基中加 10% 胎牛血清，100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素，37℃ 5% CO₂ 孵箱培养。一周两次用胰酶-EDTA 进行常规消化处理传代。当细胞饱和度为 80%-90%，数量到达要求时，收取细胞，计数，接种。

实验动物

CB-17 SCID 小鼠，6-8 周龄，雄性，体重 18-22 克。

实验方案

将 0.2 mL（1×10⁷ 个）LNCaP 细胞（加基质胶，体积比为 1:1）皮下接种于每只小鼠的右后背，肿瘤平均体积达到约 80 mm³ 时对小鼠进行去势手术，166 mm³ 时开始分组给药。实验动物分组及给药方案见表 5。

表 5. 实验动物分组及给药方案

组别	N1	化合物治疗	剂量 (mg/kg)	给药体积参 数 (μL/g) ²	给药途径	给药 频次
1	6	溶媒组 (10% DMSO/10% Solutol	--	10	p.o.	BID
2	6	恩杂鲁胺	20	10	p.o.	QD
3	6	WX002	50	10	p.o.	BID

注：

1. N: 每组小鼠数目
2. 给药体积：根据小鼠体重 10 μL/g。如果体重下降超过 15%，给药方案应做出相应调整。

3. BID 时间间隔为 8hr

肿瘤测量和实验指标

每周两次用游标卡尺测量肿瘤直径。肿瘤体积的计算公式为： $V = 0.5 \times a \times b^2$ ，a 和 b 分别表示肿瘤的长径和短径。

化合物的抑瘤疗效用 TGI (%)评价。TGI (%)，反映肿瘤生长抑制率。 $TGI(\%) = [1 - (\text{某处理组给药结束时平均瘤体积} - \text{该处理组开始给药时平均瘤体积}) / (\text{溶剂对照组治疗结束时平均瘤体积} - \text{溶剂对照组开始治疗时平均瘤体积})] \times 100\%$ 。

实验结果

测试结果见表 6。

表 6. 化合物对 LNCaP 异种移植瘤模型的抑瘤效果

组别	肿瘤体积 (mm ³) (第 0 天)	肿瘤体积 (mm ³) (第 21 天)	TGI (%) (第 21 天)
溶媒组	166±24	653±114	N/A
恩杂鲁胺(20 mg/kg)	166±18	157±37	101.9
WX002(30mg/kg(D0-D3), 50mg/kg(D4-D21))	166±18	219±39	89.1

结论：本发明化合物在人前列腺癌LNCaP异种移植瘤模型上展示了显著的抑瘤作用。

测试例 4：人前列腺癌 LNCaP 细胞的 AR 蛋白水平的调控的体外测试

实验目的：用 ICW 方法测试化合物在 LNCap 细胞中对雄激素受体 AR 的降解作用

实验方法:

第一天

- 1.将细胞培养基、0.025%胰蛋白酶和 磷酸盐缓冲液于 37℃水浴锅中预热。
- 2.胰蛋白酶消化的细胞用 1000 转离心 5 分钟，弃上清后用新鲜培养基重悬细胞。
- 3.将细胞按 4k/36μL/孔的密度接种于 COL-Coated CellCarrier-384 板中。
- 4.接种细胞的 384 细胞板放在超净台中静置 10 分钟。
- 5.将细胞板放置二氧化碳细胞培养箱中培养过夜。

第二天

- 1. 将 10 mM 浓度的化合物在进行倍比稀释前稀释到 3mM (3μL+7μL 二甲基亚砜)。
- 2. 用 Bravo 仪器将化合物在 Echo 板中进行 3 倍系列稀释(4μL+8μL)。

3. 设置 ZPE 和 HPE 对照孔, ZPE 对照孔为二甲基亚砜。
4. 将 Echo 板用 1000 转离心 1 分钟后, 用 Echo 将稀释好的化合物从 Echo 板转移至中间板中, 200 nL/孔。
5. 用 Multidrop combi 将细胞培养基加入中间板中, 20 μ L/孔。
6. 将中间板放置于水平震荡器上震荡 1 分钟, 使化合物与培养基充分混合。
7. 用 Bravo 将中间稀释板中的化合物转移至细胞板中, 4 μ L/孔。
8. 将细胞板放置于水平震荡器上震荡 1 分钟, 800 转离心 30 秒。
9. 将细胞板放回二氧化碳培养箱中继续培养 24 小时。

第三天

1. 冰箱中取出 4%的多聚甲醛放至室温。
2. 将细胞板从培养箱中取出。
3. 细胞板中直接加入 4%多聚甲醛, 40 μ L/孔。
4. 室温孵育 20 分钟
5. 手动甩去细胞板中的培养基, 倒置于离心机中, 800 转离心 7 秒, 充分去除残留的培养基。
6. 细胞板加入 4%的多聚甲醛, 25 μ L/孔。
7. 室温孵育 30 分钟。
8. 手动甩去细胞板中的多聚甲醛溶液, 倒置于离心机中, 800 转离心 7 秒。
9. 加入 0.1%Triton, 25 μ L/孔。
10. 室温孵育 10 分钟。
11. 手动甩去细胞板中 0.1%的 Triton 溶液, 倒置于离心机中, 800 转离心 7 秒。
12. 加入 Intercept® (PBS) Blocking Buffer, 25 μ L/孔。
13. 室温孵育 1 小时。
14. 手动甩去细胞板中的 Intercept® (PBS) Blocking Buffer 溶液, 倒置于离心机中, 800 转离心 7 秒。
15. 加入一抗溶液, 20 μ L/孔。细胞板置于离心机中, 800 转离心 7 秒。
16. 将细胞板封膜后放置 4°C孵育过夜。

第四天

1. 手动甩去细胞板中的一抗溶液, 倒置于离心机中, 800 转离心 7 秒。
2. 110 μ L PBS 洗 3 次。
3. 细胞板倒置于离心机中, 800 转离心 7 秒。
4. 加入二抗和 DAPI 溶液, 20 μ L/孔。细胞板置于离心机中, 800 转离心 7 秒。
5. 室温孵育 1 小时。

6. 手动甩去细胞板中的二抗和 DAPI 溶液，倒置于离心机中，800 转离心 7 秒。
7. 用 110 μ L PBS 洗 3 次后，细胞板中残留 30 μ L PBS。
8. 细胞板置于离心机中，800 转离心 7 秒。
9. Operetta 仪器扫描细胞板。

实验结果

测试结果见表 4。

表 7. 化合物在 LNCap 细胞中对雄激素受体 AR 的降解作用

#	化合物编号	DC50 (nM)	Dmax
1	WX002	8.9	72.01
2	WX009	10.1	64.66
3	WX014 的盐酸盐	22.4	76.22
4	WX015 的盐酸盐	13.7	102.09
5	WX016	14.0	95.66
6	WX017	15.1	100.32

结论： 本发明化合物对 AR 展现出良好的降解活性。

测试例 5： In cell western 分析 293T AR F876L 细胞中 AR 蛋白的表达水平

实验目的: 本实验通过 In Cell Western 实验检测化合物 WX015、WX016 和 WX017 对细胞系 293T AR F876L 中点突变的 AR 蛋白表达水平的影响，评估化合物对 AR F876L 点突变蛋白的降解作用。

实验材料：

1. 细胞系及培养方法

表 8. 细胞系及培养方法

细胞系	细胞类型	生长特点	培养方法
293T AR F876L	Embryo kidney cell	贴壁生长	DMEM + 10% FBS + 1%AA

2. 培养基及试剂

表 9. 培养基及试剂

培养基及试剂	生产商	货号
DMEM	GIBCO	11995-065
PBS	Cytiva	SH30256.01
FBS	Hyclone	SH30084.03
Antibiotic-antimycotic	GIBCO	15240-062
0.25% Trypsin	GIBCO	25200072

DMSO	SIGMA	D2650
------	-------	-------

3. 仪器

表 10. 仪器

仪器	供应商	Catalog #
Odyssey Gel Imaging System	LI-COR	CLx
二氧化碳培养箱	Thermo Scientific	Heracell 2401
自动细胞计数仪	Countstar	IC-1000
倒置显微镜	Nikon	ECLIPSE Ts2
生物安全柜	苏净安泰	BSC-1600 A3
脱色摇床	Hm-Kylin	TS-1

4. 抗体

表 11. 抗体

抗体	供应商 & 货号
Anti-mouse IgG (H+L) (DyLight™ 680 Conjugate)	CST-5470S
Androgen Receptor (D6F11) XP® Rabbit mAb	CST-5153

实验方法:

1. 细胞培养:

将细胞系在培养条件在 37 °C, 5% CO₂ 的培养箱中进行培养。定期传代, 取处于对数生长期的细胞用于铺板。

2. 细胞铺板:

- 1) 用台盼兰进行细胞染色并计数活细胞。
- 2) 将细胞浓度调整至合适浓度, 密度为 20000/孔。
- 3) 在 96 孔培养板中每孔加入 90 μ L 细胞悬液, 在空白对照空中加入不含细胞的培养液。
- 4) 将培养板在 37 °C, 5% CO₂, 及 100% 相对湿度的培养箱中培养过夜。

3. 化合物存储板制备和 In cell western 检测:

- 1) 制备 400 倍 化合物存储板: 将化合物用 DMSO 从最高浓度梯度稀释至最低浓度。
- 2) 10 倍化合物工作液的配制: 在 V 形底的 96 孔板中加入 78 μ L 细胞培养液, 从 400X 化合物存储板中吸取 2 μ L 化合物加入 96 孔板的细胞培养液中。在溶媒对照和空白对照中加入 2 μ L DMSO。加入化合物或 DMSO 后用排枪吹打混匀。

- 3) 加药：取 10 μL 的 10 倍化合物工作液加入到细胞培养板中。在溶媒对照和空白对照中加入 10 μL DMSO-细胞培养液混合液。DMSO 终浓度为 0.25%。
 - 4) 将 96 孔细胞板放回培养箱中培养 48h。
 - 5) 去除培养基，并加 PBS 清洗一遍；
 - 6) 加入 8%福尔马林溶液（PBS 稀释），4℃ 孵育过夜。
 - 7) 去除 8%福尔马林溶液，每孔加入 150μL Licor Blocking buffer，室温放于摇床封闭 1.5h；
 - 8) 倒去封闭液，每孔加入 50 μL 用 Licor Blocking buffer 稀释的一抗（DMSO 孔不加入一抗），4℃过夜孵育后用 PBST(含 0.1%Triton-X)清洗 5 次，每次 5 min；
 - 9) 每孔加入 50 μL 用 Licor Blocking buffer 稀释的二抗，室温孵育 1h 后用 PBST(含 0.1%Triton-X)清洗 3 次，ddH2O 清洗 2 次，每孔再加入 100 μL PBS 准备检测；
 - 10) 检测：倒去孔板中的 PBS，Li-COR odyssey 双色近红外激光成像仪检测每孔 700nm 的荧光信号。
4. 数据分析

运用Image Studio Ver 5.2 软件对免疫印迹化学发光谱带的密度强度进行相对定量。

实验结果

测试结果见表 12。

表 12. 化合物在 293T AR F876L 细胞中对雄激素受体 AR 的降解作用

#	化合物编号	DC50 (nM)	Dmax
1	WX015 盐酸盐	43	85
2	WX016	18	86
3	WX017	97	95

结论：本发明化合物具有较强的降解 F876L点突变AR蛋白的能力。

测试例 6： 化合物的小鼠药代动力学评价

实验目的：

本研究受试化合物选用 CB-17 SCID 雄性小鼠，应用 LCMS/MS 法定量测定小鼠静脉注射或口服给予测试化合物和参比化合物不同时间点的血浆中的药物浓度，以评价受试药物在小鼠的药代动力学特征。

实验材料：

CB-17 SCID 小鼠（雄性，20-30g,7-10 周龄，北京维通利华或上海斯莱克）。

实验操作：

将测试化合物的澄清溶液或混悬溶液经尾静脉注射到小鼠体内（不禁食），或灌胃给予到小鼠（不禁食）。静脉注射给药于 0 h (给药前) 和给药后 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24h 从颈静脉穿刺采血，

置于添加了 EDTA-K2 的抗凝管中，在 4℃，将混合物充分涡旋混合并在 13000rpm 下离心 10 分钟；口服灌胃给药于 0 h（给药前）和给药后 0.5，1，2，4，6，8，24h 从颈静脉穿刺采血，置于添加了 EDTA-K2 的抗凝管中，将混合物充分涡旋混合并在 13000rpm 下离心 10 分钟。采用 LC-MS/MS 法测定血药浓度，使用 WinNonlin™Version 6.3(Pharsight,Mountain View,CA)药代学软件，以非房室型线性对数梯形法计算相关药代动力学参数。

实验结果：测试结果见表 13

表 13. 本发明化合物在小鼠中的药代动力学参数

小鼠药代参数	静脉注射(1 mg/mL)			口服(10 mg/mL)			
	血浆清除率 (mL/min/kg)	半衰期 (h)	药时曲线面积 (0-last, h*nmol/L)	达峰浓度 (nmol/L)	达峰时间 (h)	药时曲线面积 (0-last, h*nmol/L)	生物利用度 F(%)
WX016	1.41	31.4	6192	1770	24	30541	49.3
WX017	3.92	8.31	4651	1227	24	22390	48.1

结论：本发明化合物在小鼠体内展示良好的成药性。

测试例 7： 化合物的大鼠药代动力学评价

实验目的：

本研究受试化合物选用 SD 雄性大鼠，应用 LCMS/MS 法定量测定大鼠静脉注射或口服给予测试化合物和参比化合物不同时间点的血浆中的药物浓度，以评价受试药物在大鼠的药代动力学特征。

实验材料：

SD 大鼠（雄性，北京维通利华）。

实验操作：

将测试化合物的澄清溶液或混悬溶液经尾静脉注射到大鼠体内（不禁食），或灌胃给予到大鼠（不禁食）。静脉注射给药于 0 h (给药前) 和给药后 0.25h, 0.5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h, 48h 从颈静脉穿刺采血，置于添加了肝素钠的抗凝管中，血液样本采集后置于冰上，并于 1 小时之内离心分离血浆(离心条件：6000g, 3 分钟, 2-8℃)；口服灌胃给药于 0 h（给药前）和给药后 0.25h, 0.5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h, 48h 从颈静脉穿刺采血，置于添加了肝素钠的抗凝管中，血液样本采集后置于冰上，并于 1 小时之内离心分离血浆(离心条件：6000g, 3 分钟, 2-8℃)。采用 LC-MS/MS 法测定血药浓度，使用 WinNonlin™Version 8.2.0 (Pharsight,Mountain View,CA)药代学软件，以非房室型线性对数梯形法计算相关药代动力学参数。

实验结果：测试结果见表 14

表 14. 本发明化合物在大鼠中的药代动力学参数

小鼠药 代参数	静脉注射(2 mg/mL)			口服(10 mg/mL)			
	血浆清除率 (mL/min/kg)	半衰 期 (h)	药时曲线面积 (0-last, h*nmol/L)	达 峰 浓 度 (nmol/L)	达峰时间 (h)	药时曲线面积 (0-last, h*nmol/L)	生物利 用度 F(%)
WX016	4.71	21.2	6949	451	13.3	14716	42.35
WX017	6.86	10.2	5846	349	7.33	7420	25.38

结论：本发明化合物在大鼠体内展示良好的成药性。

测试例 8： 化合物的比格犬药代动力学评价

实验目的：

本研究受试化合物选用比格犬，应用 LCMS/MS 法定量比格犬静脉注射或口服给予测试化合物和参比化合物不同时间点的血浆中的药物浓度，以评价受试药物在比格犬的药代动力学特征。

实验材料：

比格犬（雄性，江苏亚东实验动物研究院有限公司）。

实验操作：

将测试化合物的澄清溶液或混悬溶液经尾静脉注射到比格犬体内（正常给食），或灌胃给予到比格犬（正常给食）。静脉注射给药于 0h(给药前) 和给药后 0.25h, 0.5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h, 48h 从前肢静脉穿刺采血，置于添加了 EDTA-2K 的抗凝管中，血液样本采集后置于冰上，并于 1 小时之内离心分离血浆(离心条件：6000g, 3 分钟, 2-8℃)；口服灌胃给药于 0 h（给药前）和给药后 0.25h, 0.5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h, 48h 从前肢静脉穿刺采血，置于添加了 EDTA-2K 的抗凝管中，血液样本采集后置于冰上，并于 1 小时之内离心分离血浆(离心条件：6000g, 3 分钟, 2-8℃)。采用 LC-MS/MS 法测定血药浓度，使用 WinNonlinTMVersion 8.2.0 (Pharsight,Mountain View,CA)药代学软件，以非房室型线性对数梯形法计算相关药代动力学参数。

实验结果：测试结果见表 15

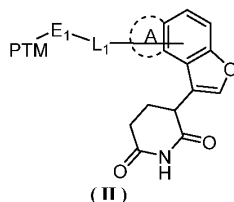
表 15. 本发明化合物在比格犬中的药代动力学参数

小鼠药 代参数	静脉注射(0.5 mg/mL)		口服(3 mg/mL)			
	血浆清除率 (mL/min/kg)	药时曲线面积(0-last, h*nmol/L)	达 峰 浓 度 (nmol/L)	达峰时 间 (h)	药时曲线面积 (0-last, h*nmol/L)	生物利 用度 F(%)
WX016	0.66	2641	175	6	5442	34.3
WX017	5.3	1713	178	4.67	4808	46.8

结论：本发明化合物在比格犬体内展示良好的成药性。

权利要求书

1. 式(II)所示化合物或其药学上可接受的盐,



其中,

PTM 选自靶向结合于 AR 蛋白的药物或其衍生物;

L_1 选自 $-(CH_2)_n-$, 所述各 CH_2 任选被 R_1 置换;

R_1 选自 C_{3-7} 环烷基、6 元杂环烷基、 $-NR_d-$ 、 $-CR_bR_c-$ 、 $-CH_2CH_2O-$ 和 $-NHC(=O)-$;

R_a 选自 H 和 C_{1-3} 烷基;

R_b 、 R_c 各自独立地选自 H、D 和 F;

E_1 选自单键和 O;

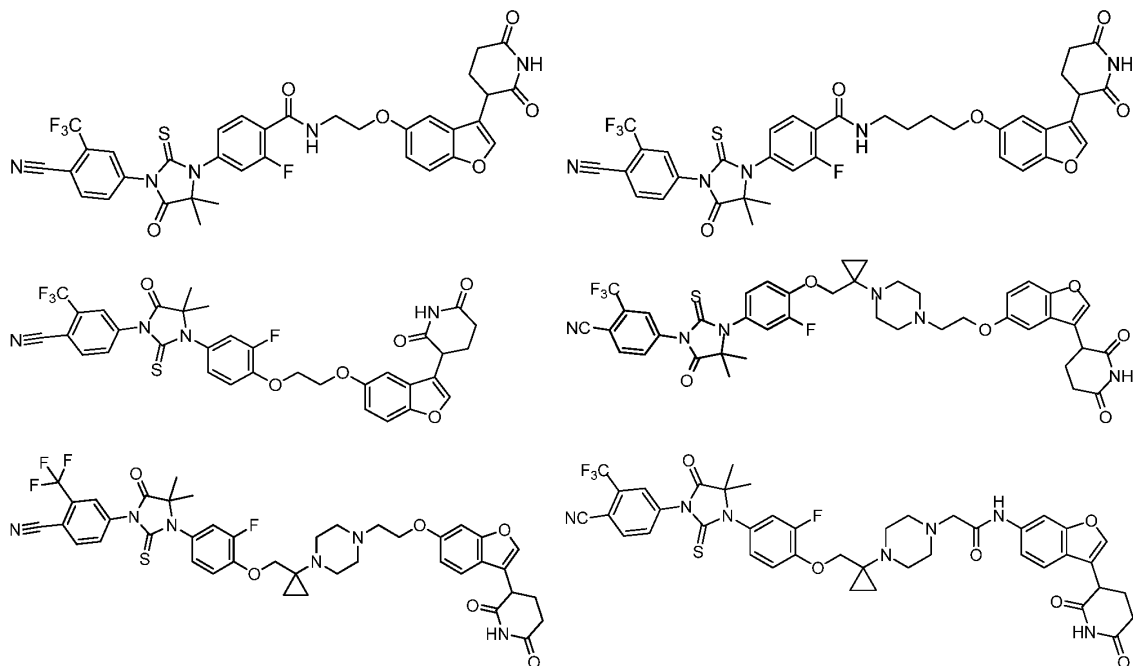
环 A 不存在;

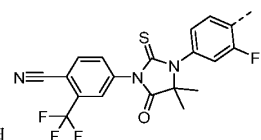
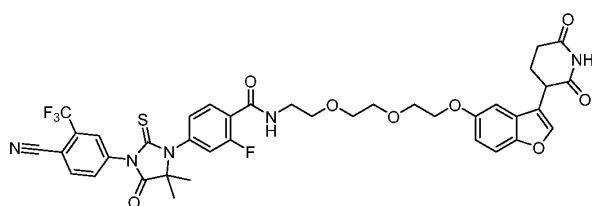
或者环 A 选自苯基和 5 元杂芳基;

n 选自 1、2、3、4、5 和 6;

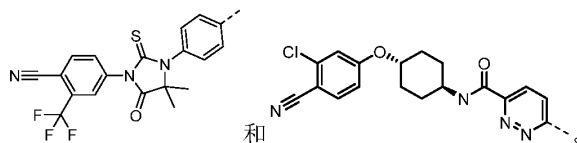
所述 6 元杂环烷基和 5 元杂芳基分别包含 1、2 或 3 个独立选自 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 和 N 的杂原子或杂原子团;

条件是, 所述化合物不选自:





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, PTM 选自

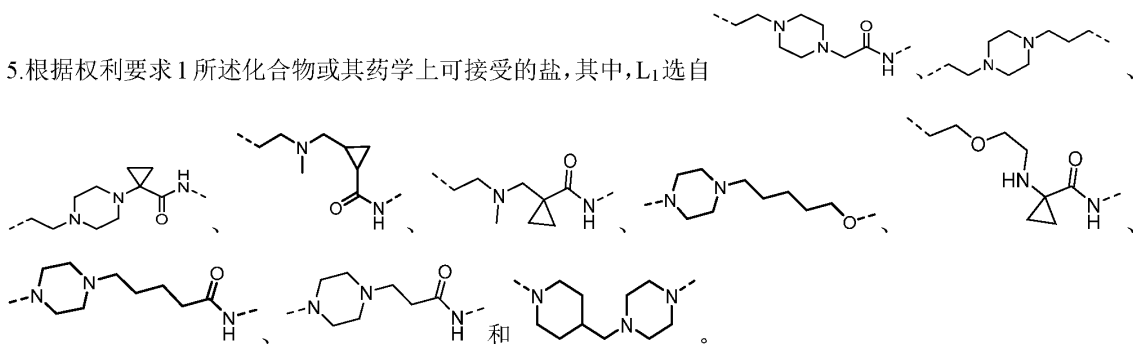


3. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_a 选自 H 和 CH_3 。

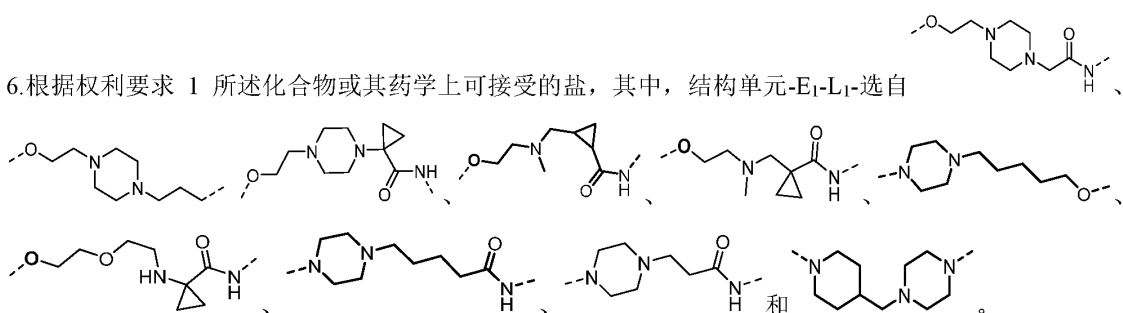
4. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R_1 选自

-NH-, -N(CH₃)-, -CH₂CH₂O-, -NHC(=O)-和-C(=O)NH-。

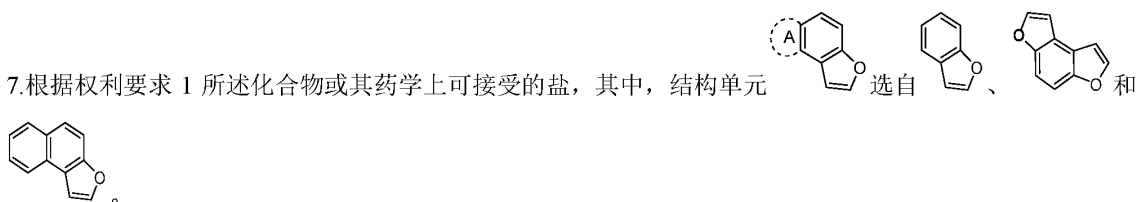
5. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, L_1 选自



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, 结构单元-E₁-L₁-选自

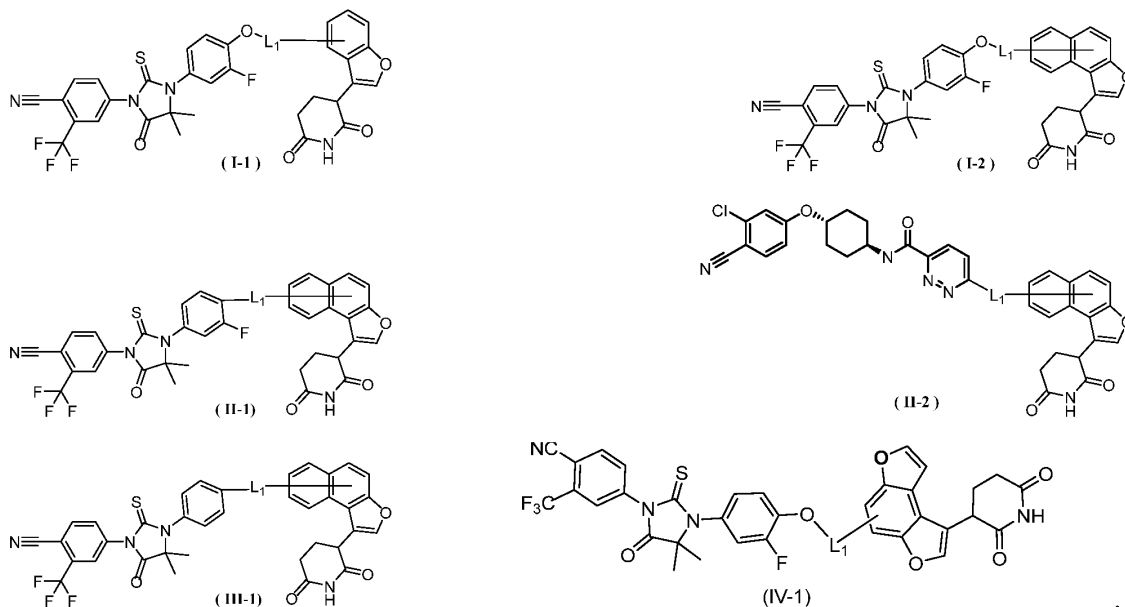


7. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 结构单元



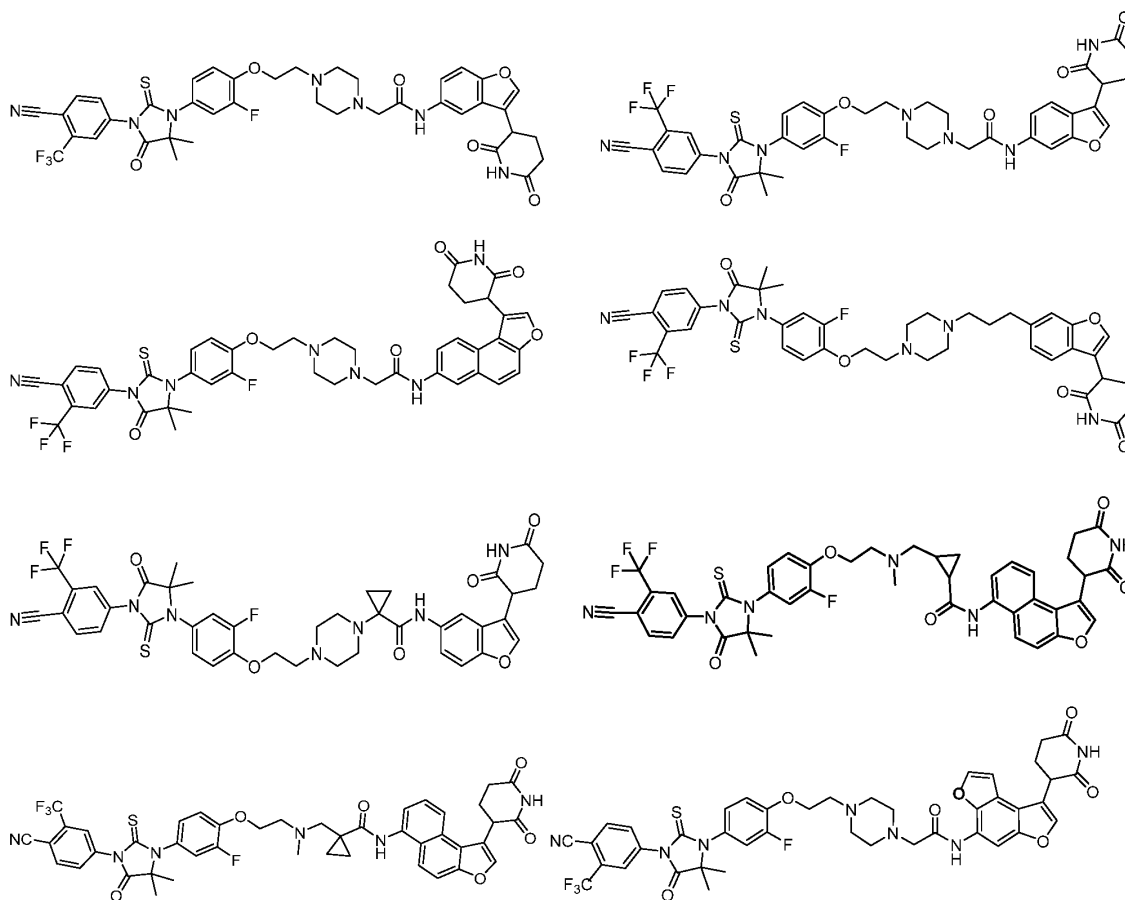
8. 根据权利要求 1-6 任意一项所述化合物或其药学上可接受的盐, 其化合物选自式(I-1)、(I-2)、(II-1)、(II-

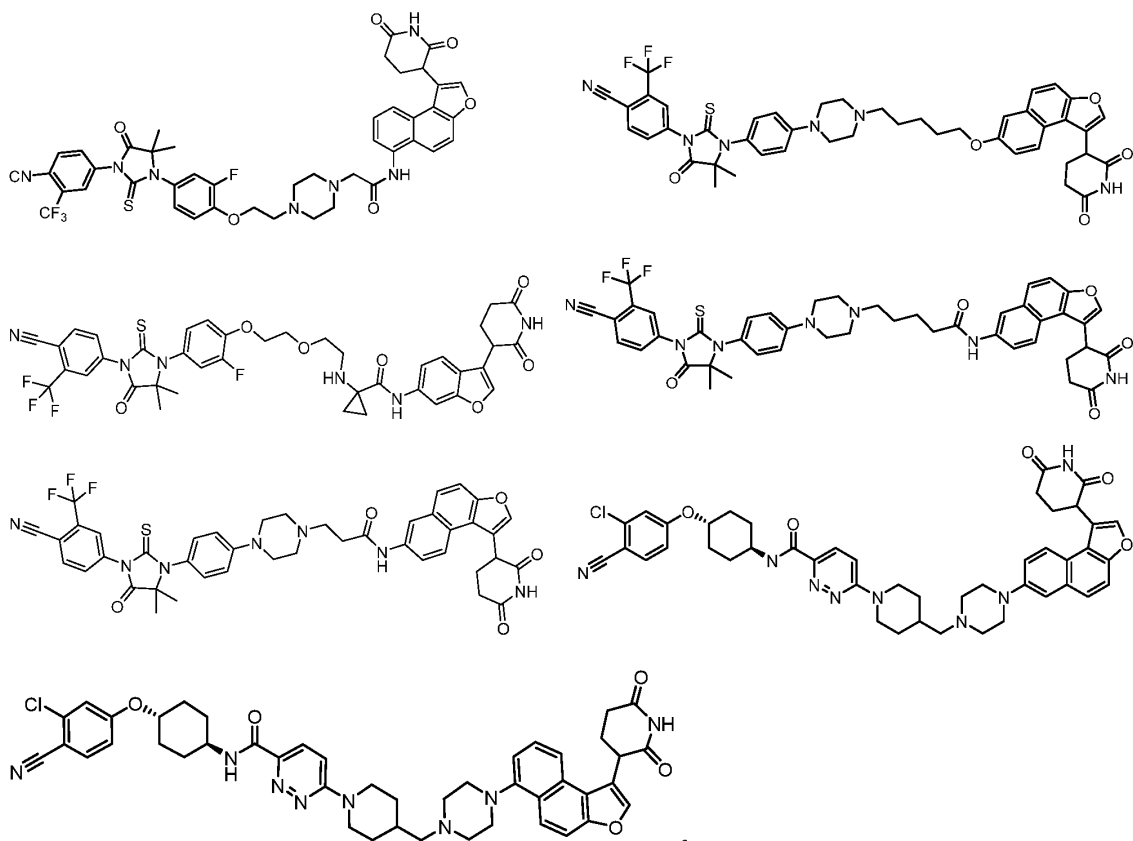
2)、(III-1)和(IV-1)所示的结构:



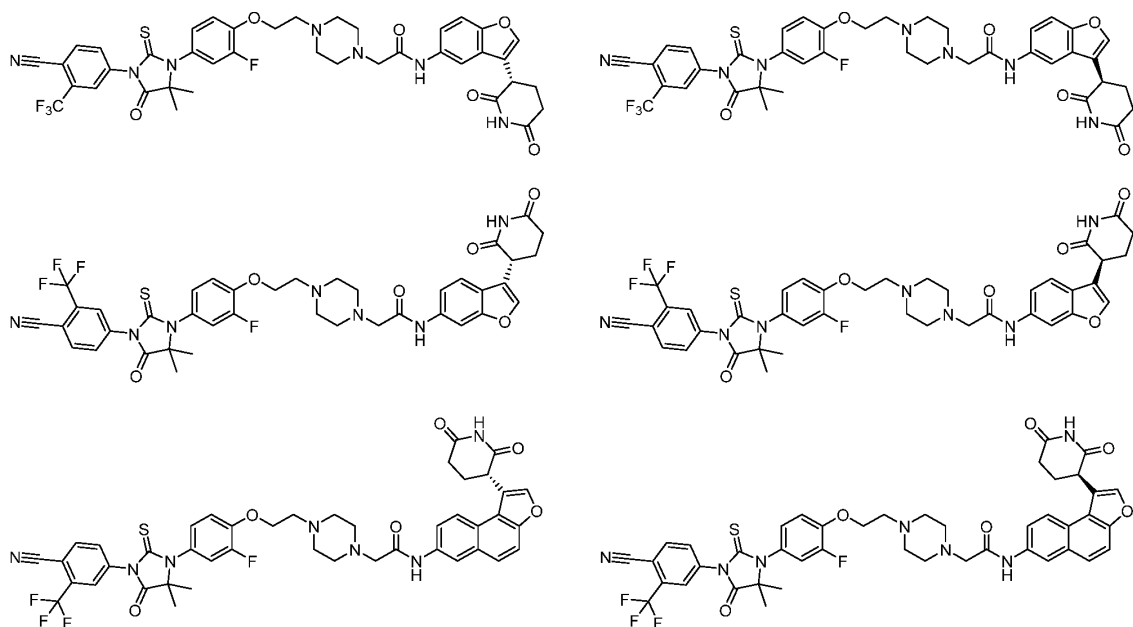
其中, L₁ 如权利要求 1-6 任意一项所定义。

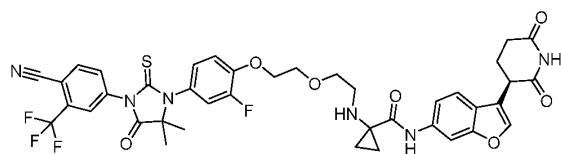
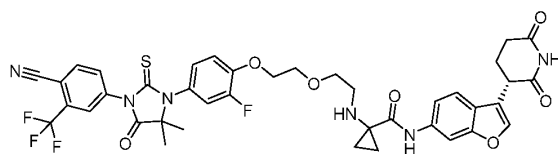
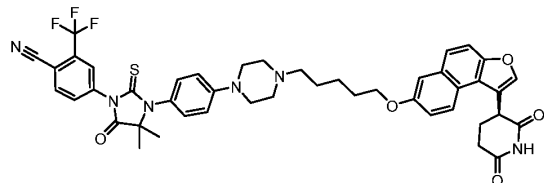
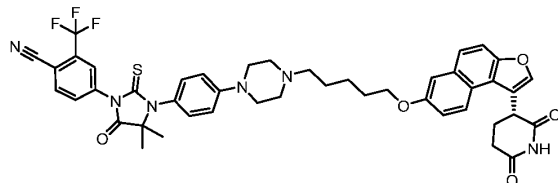
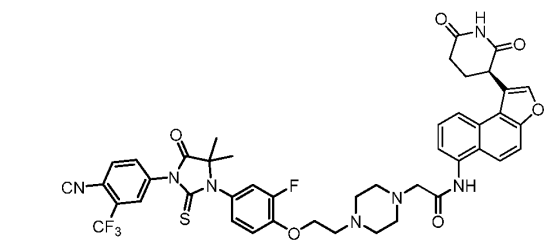
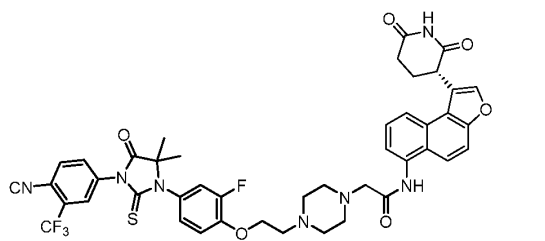
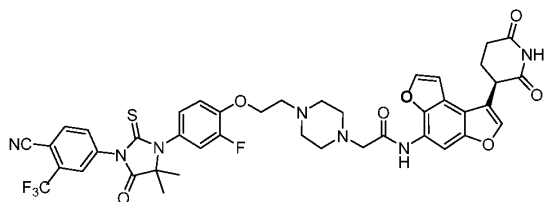
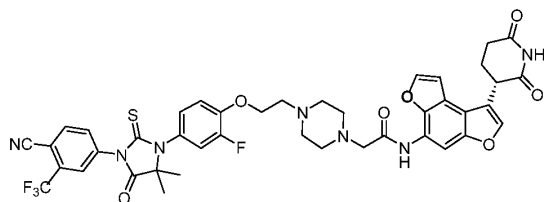
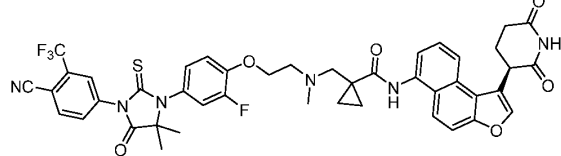
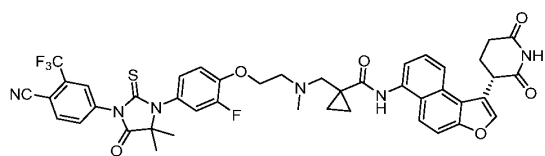
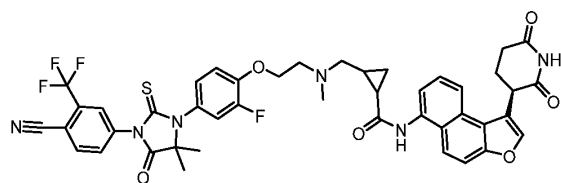
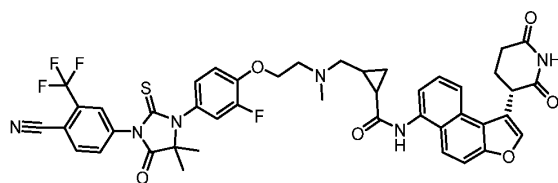
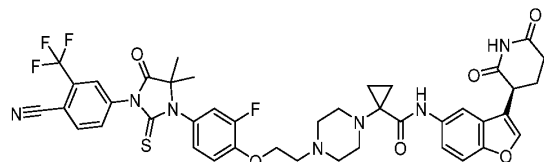
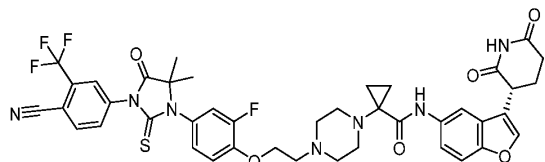
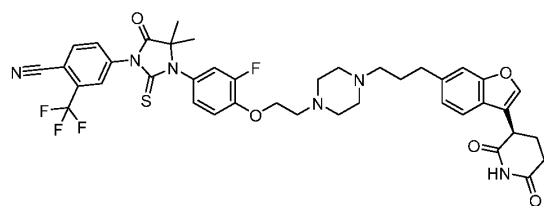
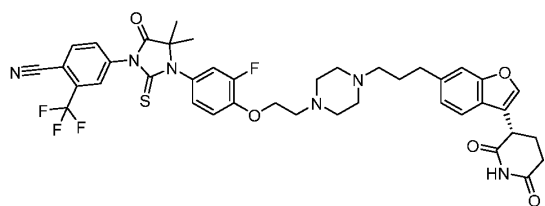
9. 下式所示化合物或其药学上可接受的盐, 其选自:

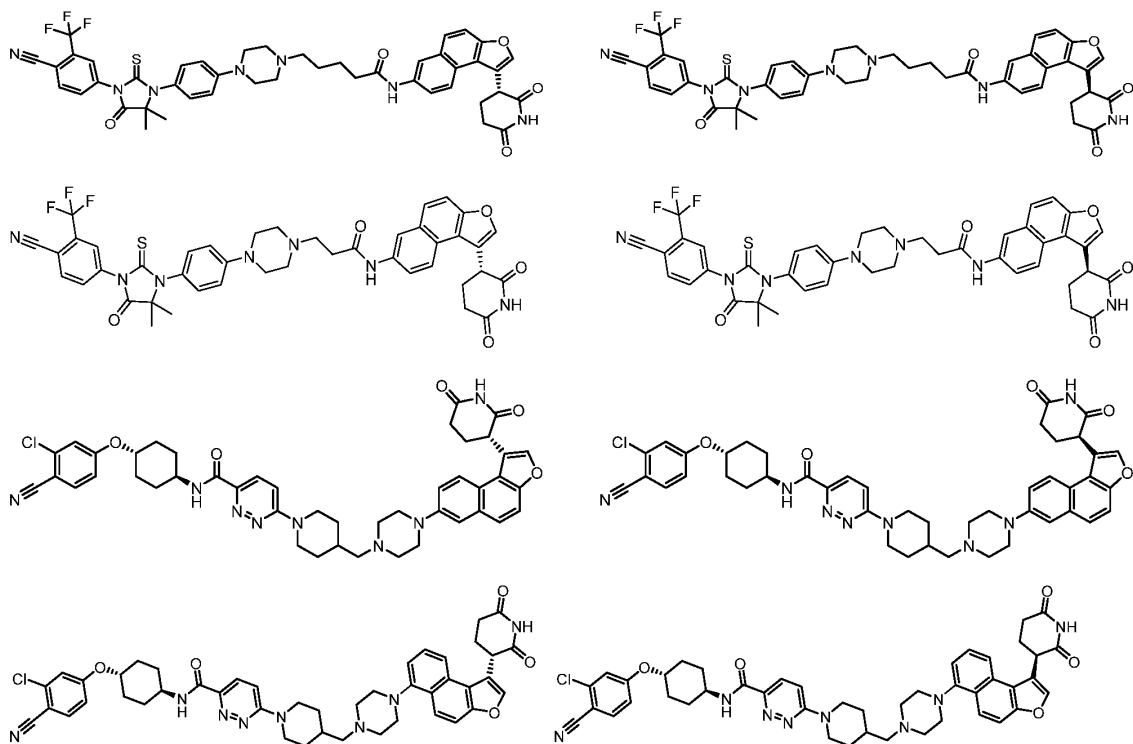




10. 根据权利要求 8 所述的化合物或其药学上可接受的盐，其选自：







11. 根据权利要求1-10任意一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗前列腺癌的药物中的应用。