

噁二唑化合物、包含其的药物组合物及其用途

5 发明领域

本申请涉及噁二唑化合物、包含其的药物组合物及其作为 HDAC6 抑制剂的用途。

发明背景

10 组蛋白去乙酰化酶(HDAC)可以催化组蛋白或其他蛋白的去乙酰化,其主要通过转录抑制作用在多种生物学过程中发挥重要作用。人体内的 HDAC 可以分为四类,I 类包括 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8; II 类包括 HDAC4、HDAC5、HDAC6、HDAC7、HDAC9 和 HDAC10; III 类包括 SIRT1、SIRT2、SIRT3、SIRT4、SIRT5、SIRT6 和 SIRT7; IV 类包括 HDAC11。II 类 HDAC 又可分为 IIa 亚类(HDAC4、HDAC5、HDAC7 和 HDAC9)和 IIb 亚型(HDAC6 和 HDAC10)。

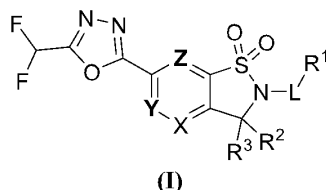
15 HDAC6 主要催化非组蛋白底物的去乙酰化,如 α -微管蛋白和 Hsp90 等。HDAC6 参与多种疾病的病理过程,包括癌症、神经系统疾病、感染、心血管疾病、免疫以及炎症相关疾病。

在肿瘤治疗领域,多数的 HDAC 抑制剂为广谱抑制剂,对 HDAC 亚型不具有选择性。HDAC 家族广谱抑制剂的副作用与其对 I 类亚型的抑制(特别是 HDAC1 和 HDAC2 的抑制)密切相关。

发明概述

20 本申请提供噁二唑化合物,其可用作 HDAC6 抑制剂来预防或治疗 HDAC6 相关性疾病。本申请的化合物对 HDAC6 有高选择性,因此避免了 HDAC 广谱抑制剂的副作用。此外,本发明的化合物还具有更好的物理化学性质(例如溶解度、物理和/或化学稳定性)、改善的药物代谢动力学性质(例如改善的生物利用度、改善的代谢稳定性、合适的半衰期和作用持续时间)、改善的安全性(较低的毒性(例如降低的心脏毒性)和/或较少的副作用)、较不易产生耐药性等更优异的性质。

25 本发明的一个方面提供化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药,其中所述化合物具有式(I)的结构:



(I)

其中

30 L 选自直接键、-C₁₋₆ 亚烷基-、-C₂₋₆ 亚烯基-和 -C₂₋₆ 亚炔基-;

X 为 CR⁶ 或 N;

Y 为 CR⁴ 或 N;

Z 为 CR⁵ 或 N;

35 R¹ 选自 H、卤素、-OH、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^a、-OC(=O)R^a、-OC(=O)NR^aR^b、-C(=O)OR^a、-OR^a、-SR^a、-S(=O)R^a、-S(=O)₂R^a、-S(=O)₂NR^aR^b、-NR^aR^b、-C(=O)NR^aR^b、-NR^a-C(=O)R^b、-NR^a-C(=O)OR^b、-NR^a-S(=O)₂-R^b、-NR^a-C(=O)-NR^aR^b、-C₁₋₆ 亚烷基-OR^a、-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b 和 -O-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b;

40 R² 和 R³ 各自独立地选自 H、卤素、-OH、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^a、-OC(=O)R^a、-OC(=O)NR^aR^b、-C(=O)OR^a、-OR^a、-SR^a、-S(=O)R^a、-S(=O)₂R^a、-S(=O)₂NR^aR^b、-NR^aR^b、-C(=O)NR^aR^b、-NR^a-C(=O)R^b、-NR^a-C(=O)OR^b、-NR^a-S(=O)₂-R^b、-NR^a-C(=O)-NR^aR^b、-C₁₋₆ 亚烷基-OR^a、-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b 和 -O-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b; 或者 R² 和 R³ 共同构成氧代基(=O); 或者 R² 和 R³ 连同其所连接的碳原子共同构成 C₃₋₆ 环烷基或 3-10 元杂环基;

45 R⁴、R⁵ 和 R⁶ 各自独立地选自 H、卤素、-OH、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^a、-OC(=O)R^a、-OC(=O)NR^aR^b、-C(=O)OR^a、-OR^a、-SR^a、-S(=O)R^a、-S(=O)₂R^a、-S(=O)₂NR^aR^b、-NR^aR^b、-C(=O)NR^aR^b、

$-\text{NR}^a-\text{C}(=\text{O})\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^b$ 、 $-\text{NR}^a-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基- OR^a 、 $-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基- NR^aR^b 和 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基- NR^aR^b ;

R^a 和 R^b 在每次出现时各自独立地选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-10} 环烷基、3-10 元杂环基、 C_{6-10} 芳基、5-14 元杂芳基和 C_{6-12} 芳烷基;

5 上述烷基、亚烷基、烯基、亚烯基、炔基、亚炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和芳烷基在每次出现时各自任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代: 卤素、 $-\text{OH}$ 、 $=\text{O}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-10 元杂环基、 C_{6-10} 芳基、5-14 元杂芳基、 C_{6-12} 芳烷基、 $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^c$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}^c$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^c$ 、 $-\text{OR}^c$ 、 $-\text{SR}^c$ 、 $-\text{S}(=\text{O})\text{R}^c$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^c$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $-\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $-\text{NR}^c-\text{C}(=\text{O})\text{R}^d$ 、 $-\text{NR}^c-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^d$ 、 $-\text{NR}^c-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^d$ 、 $-\text{NR}^c-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基- OR^c 、 $-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基- NR^cR^d 和 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 亚烷基- NR^cR^d , 所述烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和芳烷基进一步任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代: 卤素、 $-\text{OH}$ 、 $=\text{O}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}$ -叔丁基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、 $-\text{OC}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{O}$ -卤代 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-10 元杂环基、 C_{6-10} 芳基、5-14 元杂芳基和 C_{6-12} 芳烷基; 并且

15 R^c 和 R^d 在每次出现时各自独立地选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-10} 环烷基、3-10 元杂环基、 C_{6-10} 芳基、5-14 元杂芳基和 C_{6-12} 芳烷基, 所述烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和芳烷基进一步任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代: 卤素、 $-\text{OH}$ 、 $=\text{O}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}$ -叔丁基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-10 元杂环基、 C_{6-10} 芳基、5-14 元杂芳基和 C_{6-12} 芳烷基。

20 本发明的另一方面提供药物组合物, 其包含本发明的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药以及一种或多种药学上可接受的载体, 所述药物组合物优选是固体制剂、液体制剂或透皮制剂。

本发明的另一方面提供本发明的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药或者本发明的药物组合物在制备用于预防或治疗 HDAC6 相关性疾病的药物中的用途。

25 本发明的另一方面提供本发明的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药或者本发明的药物组合物, 其用于预防或治疗 HDAC6 相关性疾病。

本发明的另一方面提供预防或治疗 HDAC6 相关性疾病的方法, 所述方法包括向需要其的个体给药有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药或者本发明的药物组合物。

30

发明详述

定义

35 除非在下文中另有定义, 本文中所用的所有技术术语和科学术语的含义意图与本领域技术人员通常所理解的相同。提及本文中使用的技术意图指在本领域中通常所理解的技术, 包括那些对本领域技术人员显而易见的技术的变化或等效技术的替换。虽然相信以下术语对于本领域技术人员很好理解, 但仍然阐述以下定义以更好地解释本发明。

术语“包括”、“包含”、“具有”、“含有”或“涉及”及其在本文中的其它变体形式为包含性的(inclusive)或开放式的, 且不排除其它未列举的元素或方法步骤。

40 如本文中所使用, 术语“亚烷基”表示饱和二价烃基, 优选表示具有 1、2、3、4、5 或 6 个碳原子的饱和二价烃基, 例如亚甲基、亚乙基、亚丙基或亚丁基。

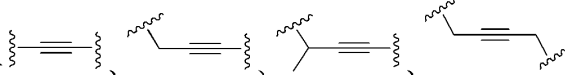
如本文中所使用, 术语“烷基”定义为直链或支链饱和脂肪族烃。在一些实施方案中, 烷基具有 1 至 12 个, 例如 1 至 6 个碳原子。例如, 如本文中所使用, 术语“ C_{1-6} 烷基”指 1 至 6 个碳原子的线性或支化的基团(例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基或正己基), 其任选地被 1 或多个(诸如 1 至 3 个)适合的取代基如卤素取代(此时该基团被称作“卤代烷基”) (例如 CF_3 、 C_2F_5 、 CHF_2 、 CH_2F 、 CH_2CF_3 、 CH_2Cl 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ 等)。术语“ C_{1-4} 烷基”指 1 至 4 个碳原子的线性或支化的脂肪族烃链(即甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基)。

如本文中所使用, 术语“烯基”意指线性的或支化的单价烃基, 其包含一个或多个双键, 且具有 2-6 个碳原子(“ C_{2-6} 烯基”)。所述烯基例如 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$ 、2-戊烯基、3-戊烯基、4-戊烯基、2-己烯基、3-己烯基、4-己烯基、5-己烯基、2-甲基-2-丙烯基和 4-甲基-3-戊烯基。当本发明的化合物含有烯基时, 所述化合物可以纯 E (异侧(entgegen))形式、纯 Z (同侧(zusammen))形式或其任意混合物形式存在。术语“亚烯基”为相应的二价基团, 包括例

50

如“C₂₋₆亚烯基”、“C₂₋₄亚烯基”等,其具体实例包括但不限于: -CH=CH-、-CH₂CH=CH-、-C(CH₃)=CH-、亚丁烯基、亚戊烯基、亚己烯基等。

如本文中所使用,术语“炔基”表示包含一个或多个三键的单价烃基,其优选具有2、3、4、5或6个碳原子,例如乙炔基、2-丙炔基、2-丁炔基、1,3-丁二炔基等。所述炔基任选地被一个或多个(诸如1至3个)相同或不同的取代基取代。术语“亚炔基”为相应的二价基团,包括例如“C₂₋₈亚炔基”、“C₂₋₆

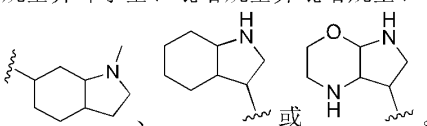
亚炔基”、“C₂₋₄亚炔基”等。其实例包括但不限于等,所述亚炔基任选地被一个或多个(诸如1至3个)相同或不同的取代基取代。

如本文中所使用,术语“亚环烷基”、“环烷基”和“环”是指具有例如3-10个(适合地具有3-8个,更适合地具有3-6个)环碳原子的饱和(即,“亚环烷基”和“环烷基”)或不饱和的(即在环内具有一个或多个双键和/或三键)单环或多环烃环,其包括但不限于(亚)环丙基(环)、(亚)环丁基(环)、(亚)环戊基(环)、(亚)环己基(环)、(亚)环庚基(环)、(亚)环辛基(环)、(亚)环壬基(环)、(亚)环癸基(环)等。

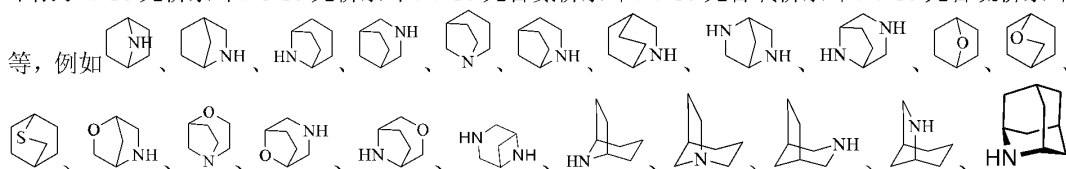
如本文中所使用,术语“环烷基”指饱和单环或多环(诸如双环)烃环(例如单环,诸如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基,或双环,包括螺环、稠合或桥连系统(诸如双环[1.1.1]戊基、双环[2.2.1]庚基、双环[3.2.1]辛基或双环[5.2.0]壬基、十氢化萘基等),其任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基取代。所述环烷基具有3至15个碳原子。例如,术语“C₃₋₆环烷基”指3至6个成环碳原子的饱和单环或多环(诸如双环)烃环(例如环丙基、环丁基、环戊基或环己基),其任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基取代,例如甲基取代的环丙基。

如本文中所使用,术语“杂环基”指饱和或不饱和的一价单环或双环基团,其在环中具有2、3、4、5、6、7、8或9个碳原子和一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)选自O、S、S(=O)、S(=O)₂和NR^a的杂原子的基团,其中R^a表示氢原子或C₁₋₆烷基或卤代-C₁₋₆烷基;所述杂环基可以通过所述碳原子中的任一个或氮原子(如果存在的话)与分子的其余部分连接。特别地,3-10元杂环基为在环中具有3-10个碳原子及杂原子的基团,例如但不限于环氧乙烷基、氮丙啶基、氮杂环丁基(azetidyl)、氧杂环丁基(oxetanyl)、四氢呋喃基、二氧杂环戊烯基(dioxolanyl)、吡咯烷基、吡咯烷酮基、咪唑烷基、吡唑烷基、吡咯啉基、四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、二噻烷基(dithianyl)、硫吗啉基、哌嗪基或三噻烷基(trithianyl)。

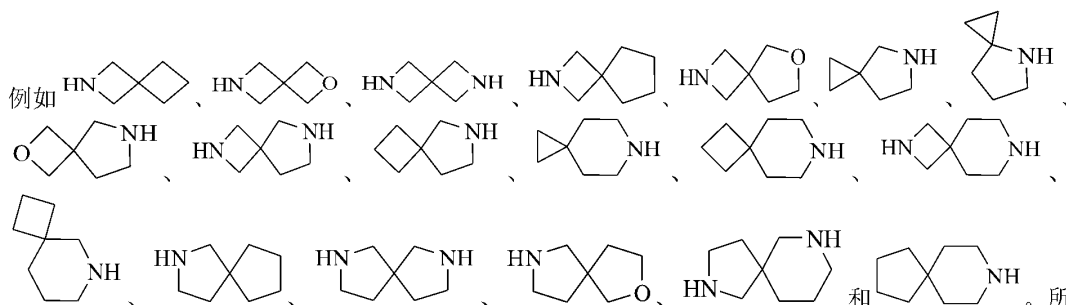
如本文中所使用,术语“杂环基”涵盖并环结构,所述并环结构与其他基团的连接点可以在并环结构中的任一环上。因此,本发明的杂环基还包括但不限于杂环基并杂环基、杂环基并环烷基、单杂环基并单杂环基、单杂环基并单环烷基,例如3-7元(单)杂环基并3-7元(单)杂环基、3-7元(单)杂环基并(单)环烷基、3-7元(单)杂环基并C₄₋₆(单)环烷基,其实例包括但不限于吡咯烷基并环丙基、环戊基并氮杂环丙基、吡咯烷基并环丁基、吡咯烷基并吡咯烷基、吡咯烷基并哌啶基、吡咯烷基并哌

嗪基、哌啶基并吗啉基、或

如本文中所使用,术语“杂环基”涵盖桥杂环基和螺杂环基。
如本文中所使用,术语“桥杂环”是指两个饱和环共用两个不直接相连的环原子形成的含有一个或多个(例如1个、2个、3个或4个)杂原子(例如氧原子、氮原子和/或硫原子)的环状结构,包括但不限于7-10元桥杂环、8-10元桥杂环、7-10元含氮桥杂环、7-10元含氧桥杂环、7-10元含硫桥杂环

等,例如等。所述“含氮桥杂环”、“含氧桥杂环”、“含硫桥杂环”任选地还含有一个或多个选自氧、氮和硫的其他杂原子。

如本文中所使用,术语“螺杂环”是指由两个或两个以上饱和环共用一个环原子形成的含有一个或多个(例如1个、2个、3个或4个)杂原子(例如氧原子、氮原子、硫原子)的环状结构,包括但不限于5-10元螺杂环、6-10元螺杂环、6-10元含氮螺杂环、6-10元含氧螺杂环、6-10元含硫螺杂环等,



述“含氮螺杂环”、“含氧螺杂环”、“含硫螺杂环”任选地还含有一个或多个选自氧、氮、硫的其他杂原子。术语“6-10元含氮螺杂环基”是指含有共计 6-10 个环原子并且其中至少一个环原子为氮原子的螺杂环基。

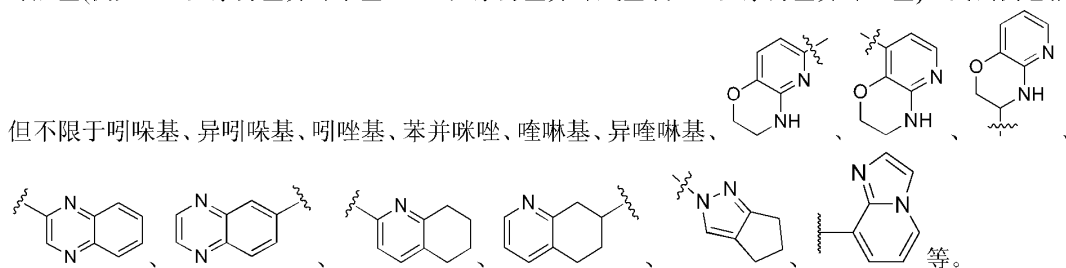
如本文中所使用,术语“芳基”指具有共轭 π 电子系统的全碳单环或稠合环多环芳族基团。例如,如本文中所使用,术语“ C_{6-14} 芳基”意指含有6至14个碳原子的芳族基团,诸如苯基或萘基。芳基任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基(例如卤素、-OH、-CN、-NO₂、 C_{1-6} 烷基等)取代。

术语“芳烷基”优选表示芳基取代的烷基，其中所述芳基和所述烷基如本文中所定义。通常，所述芳基可具有 6-14 个碳原子，并且所述烷基可具有 1-6 个碳原子。示例性芳烷基包括但不限于苄基、苄基乙基、苄基丙基、苄基丁基。

如本文中所使用, 术语“杂芳基”或“杂芳环”指含有一个或多个相同或不同杂原子的单环或多环芳族基团, 包括单环的杂芳基和含有至少一个杂芳环(至少含有一个杂原子的芳族环系)的双环或多环环系, 其可以具有 5、6、7、8、9、10、11、12、13 或 14 个环原子, 例如 5、6、7、8、9 或 10 个环原子。所述杂原子可以是氧、氮或硫。所述杂芳基上的碳原子和杂原子任选地被氧代基团取代(例如形成 $C=O$ 、 $S(=O)$ 或 $S(=O)_2$)。

如本文中所使用，术语“5-10 元杂芳基”或“5-10 元杂芳环”意指含有 5 至 10 个(例如 5 至 6 个)环原子的杂芳基(杂芳环)，包括 5-10 元含氮杂芳基、5-10 元含氧杂芳基、5-10 元含硫杂芳基、5-6 元含氮杂芳基、5-6 元含氧杂芳基、5-6 元含硫杂芳基等。所述“含氮杂芳基”、“含氧杂芳基”和“含硫杂芳基”各自任选地含有一个或多个选自氧、氮和硫的其他杂原子。其实例包括但不限于噻吩基、呋喃基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、异噁唑基、异噻唑基、三唑基、四唑基、噁三唑基、噻三唑基等，或吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基等，以及包含这些基团的 5-10 元并环基团。

如本文中所使用,术语“杂芳基”涵盖并环结构,所述并环结构与其他基团的连接点可以在并环结构中的任一环上。因此,本发明的杂芳基还包括但不限于(单)杂芳基并(单)杂芳基、(单)杂芳基并(单)芳基、(单)杂芳基并(单)杂环基和(单)杂芳基并(单)环烷基,例如 5-6 元(单)杂芳基并 5-6 元(单)杂芳基、5-6 元(单)杂芳基并苯基、5-6 元(单)杂芳基并 5-6 元(单)杂环基或 5-6 元(单)杂芳基并 C₄₋₆(单)环烷基(例如 5-6 元杂芳基并环丁基、5-6 元杂芳基并环戊基或 5-6 元杂芳基并环己基),其实例包括



如本文中所使用, 术语“卤代”或“卤素”基团定义为包括F、Cl、Br或I。

如本文中所使用,术语“烷基硫基”意指通过硫原子连接至母体分子部分的如上文所定义的烷基。C₁₋₆ 烷基硫基的代表性实例包括但不限于甲硫基、乙硫基、叔丁硫基及己硫基。

如本文中所使用,术语“含氮杂环”指饱和或不饱和的单环或双环基团,其在环中具有2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13个碳原子和至少一个氮原子,其还可任选地包含一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)选自N、O、C=O、S、S=O和S(=O)₂的环成员;所述含氮杂环通过氮原子与分子的其余部分连接。所述含氮杂环优选为饱和含氮单环。特别地,3至14元含氮杂环为在环

中具有 3-14 个碳原子及杂原子(其中至少一个为氮原子)的基团,其包括但不限于三元含氮杂环(如氮丙啶基)、四元含氮杂环(如氮杂环丁烷基)、五元含氮杂环(如吡咯基、吡咯烷基(吡咯烷环)、吡咯啉基、吡咯烷酮基、咪唑基、咪唑烷基、咪唑啉基、吡唑基、吡唑啉基)、六元含氮杂环(如哌啶基(哌啶环)、吗啉基、硫吗啉基、哌嗪基)、七元含氮杂环等。

术语“取代”指所指定的原子上的一個或多个(例如一个、两个、三个或四个)氢被从所指出的基团的选择代替,条件是未超过所指定的原子在当前情况下的正常原子价并且所述取代形成稳定的化合物。取代基和/或变量的组合仅仅当这种组合形成稳定的化合物时才是允许的。

如果取代基被描述为“任选地被取代”,则取代基可(1)未被取代或(2)被取代。如果取代基的碳被描述为任选地被取代基列表中的一个或多个取代,则碳上的一个或多个氢(至存在的任何氢的程度)可单独和/或一起被独立地选择的任选的取代基替代。如果取代基的氮被描述为任选地被取代基列表中的一个或多个取代,则氮上的一个或多个氢(至存在的任何氢的程度)可各自被独立地选择的任选的取代基替代。

如果取代基被描述为“独立地选自”一组,则各取代基独立于另一者被选择。因此,各取代基可与另一(其他)取代基相同或不同。

如本文中所使用,术语“一个或多个”意指在合理条件下的 1 个或超过 1 个,例如 2 个、3 个、4 个、5 个或 10 个。

除非指明,否则如本文中所使用,取代基的连接点可来自取代基的任意适宜位置。

当取代基的键显示为穿过环中连接两个原子的键时,则这样的取代基可键连至该可取代的环中的任一成环原子。

本发明还包括所有药学上可接受的同位素标记的化合物,其与本发明的化合物相同,除了一个或多个原子被具有相同原子序数但原子质量或质量数不同于在自然界中占优势的原子质量或质量数的原子替代。适合包含入本发明的化合物中的同位素的实例包括(但不限于)氢的同位素(例如氘(D, ^2H)、氚(T, ^3H));碳的同位素(例如 ^{11}C 、 ^{13}C 及 ^{14}C);氯的同位素(例如 ^{36}Cl);氟的同位素(例如 ^{18}F);碘的同位素(例如 ^{123}I 及 ^{125}I);氮的同位素(例如 ^{13}N 及 ^{15}N);氧的同位素(例如 ^{15}O 、 ^{17}O 及 ^{18}O);磷的同位素(例如 ^{32}P);及硫的同位素(例如 ^{35}S)。某些同位素标记的本发明的化合物(例如掺入放射性同位素的那些)可用于药物和/或底物组织分布研究(例如分析)中。放射性同位素氚(即 ^3H)及碳-14 (即 ^{14}C)因易于掺入且容易检测而特别可用于该目的。用正电子发射同位素(例如 ^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{15}O 及 ^{13}N)进行取代可在正电子发射断层显像术(PET)研究中用于检验底物受体占据情况。被同位素标记的本发明的化合物可通过与描述于随附路线和/或实施例及制备中的那些类似的方法通过使用适当的被同位素标记的试剂代替之前采用的非标记的试剂来制备。本发明的药学上可接受的溶剂合物包括其中结晶溶剂可被同位素取代的那些,例如, D_2O 、丙酮- d_6 或DMSO- d_6 。

还应当理解,本发明的某些化合物可以游离形式存在用于治疗,或适当时,以其药学上可接受的衍生物形式存在。在本发明中,药学上可接受的衍生物包括但不限于,药学上可接受的盐、酯、溶剂合物、代谢物或前药,在将它们向需要其的患者给药后,能够直接或间接提供本发明的化合物或其代谢物或残余物。因此,当在本文中提及“本发明的化合物”时,也意在涵盖化合物的上述各种衍生物形式。

本发明的化合物的药学上可接受的盐包括其酸加成盐及碱加成盐。

适合的盐的综述参见 Stahl 及 Wermuth 的“Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use” (Wiley-VCH, 2002)。用于制备本发明的化合物的药学上可接受的盐的方法为本领域技术人员已知的。

如本文中所使用,术语“酯”意指衍生自本申请中各个通式化合物的酯,其包括生理上可水解的酯(可在生理条件下水解以释放游离酸或醇形式的本发明的化合物)。本发明的化合物本身也可以是酯。

本发明的化合物可以溶剂合物(优选水合物)的形式存在,其中本发明的化合物包含作为所述化合物晶格的结构要素的极性溶剂,特别是例如水、甲醇或乙醇。极性溶剂特别是水的量可以化学计量比或非化学计量比存在。

在本发明的范围内还包括本发明的化合物的代谢物,即在给药本发明的化合物时体内形成的物质。这样的产物可由例如被给药的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、脱脂化、酶解等产生。因此,本发明包括本发明的化合物的代谢物,包括通过使本发明的化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢产物的时间的方法制得的化合物。

本发明在其范围内进一步包括本发明的化合物的前药,其为自身可具有较小药理学活性或无药

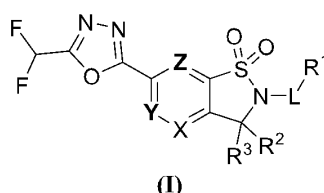
理学活性的本发明的化合物的某些衍生物当被给药至身体中或其上时可通过例如水解裂解转化成具有期望活性的本发明的化合物。通常这样的前药会是所述化合物的官能团衍生物，其易于在体内转化成期望的治疗活性化合物。关于前药的使用的其他信息可参见“Pro-drugs as Novel Delivery Systems”，第14卷，ACS Symposium Series (T. Higuchi及V. Stella)及“Bioreversible Carriers in Drug Design,” Pergamon Press, 1987 (E. B. Roche编辑，American Pharmaceutical Association)。本发明的前药可例如通过用本领域技术人员已知作为“前-部分(pro-moiety) (例如“Design of Prodrugs”，H. Bundgaard (Elsevier, 1985)中所述)”的某些部分替代本发明的化合物中存在的适当官能团来制备。

本发明还涵盖含有保护基的本发明的化合物。在制备本发明的化合物的任何过程中，保护在任何有关分子上的敏感基团或反应基团可能是必需的和/或期望的，由此形成本发明的化合物的化学保护的形式。这可以通过常规的保护基实现，例如，在 Protective Groups in Organic Chemistry, ed. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; 和 T.W. Greene & P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 1991 中所述的那些保护基，这些参考文献通过援引加入本文。使用本领域已知的方法，在适当的后续阶段可以移除保护基。

如本文中所使用，术语“约”是指在所述数值的 $\pm 0\%$ 范围内，优选 $\pm 5\%$ 范围内，更优选 $\pm 2\%$ 范围内。

化合物

在一些实施方案中，本发明提供化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中所述化合物具有式(I)的结构：



其中

L 选自直接键、-C₁₋₆ 亚烷基-、-C₂₋₆ 亚烯基-和-C₂₋₆ 亚炔基-；

X 为 CR⁶ 或 N；

Y 为 CR⁴ 或 N；

Z 为 CR⁵ 或 N；

R¹ 选自 H、卤素、-OH、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^a、-OC(=O)R^a、-OC(=O)NR^aR^b、-C(=O)OR^a、-OR^a、-SR^a、-S(=O)R^a、-S(=O)₂R^a、-S(=O)₂NR^aR^b、-NR^aR^b、-C(=O)NR^aR^b、-NR^a-C(=O)R^b、-NR^a-C(=O)OR^b、-NR^a-S(=O)₂-R^b、-NR^a-C(=O)-NR^aR^b、-C₁₋₆ 亚烷基-OR^a、-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b 和-O-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b；

R² 和 R³ 各自独立地选自 H、卤素、-OH、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^a、-OC(=O)R^a、-OC(=O)NR^aR^b、-C(=O)OR^a、-OR^a、-SR^a、-S(=O)R^a、-S(=O)₂R^a、-S(=O)₂NR^aR^b、-NR^aR^b、-C(=O)NR^aR^b、-NR^a-C(=O)R^b、-NR^a-C(=O)OR^b、-NR^a-S(=O)₂-R^b、-NR^a-C(=O)-NR^aR^b、-C₁₋₆ 亚烷基-OR^a、-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b 和-O-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b；或者 R² 和 R³ 共同构成氧代基(=O)；或者 R² 和 R³ 连同其所连接的碳原子共同构成 C₃₋₆ 环烷基或 3-10 元杂环基；

R⁴、R⁵ 和 R⁶ 各自独立地选自 H、卤素、-OH、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^a、-OC(=O)R^a、-OC(=O)NR^aR^b、-C(=O)OR^a、-OR^a、-SR^a、-S(=O)R^a、-S(=O)₂R^a、-S(=O)₂NR^aR^b、-NR^aR^b、-C(=O)NR^aR^b、-NR^a-C(=O)R^b、-NR^a-C(=O)OR^b、-NR^a-S(=O)₂-R^b、-NR^a-C(=O)-NR^aR^b、-C₁₋₆ 亚烷基-OR^a、-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b 和-O-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b；

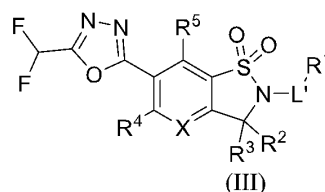
R^a 和 R^b 在每次出现时各自独立地选自 H、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₁₀ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基和 C₆₋₁₂ 芳烷基；

上述烷基、亚烷基、烯基、亚烯基、炔基、亚炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和芳烷基在每次出现时各自任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素、-OH、=O、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^c、

5

10

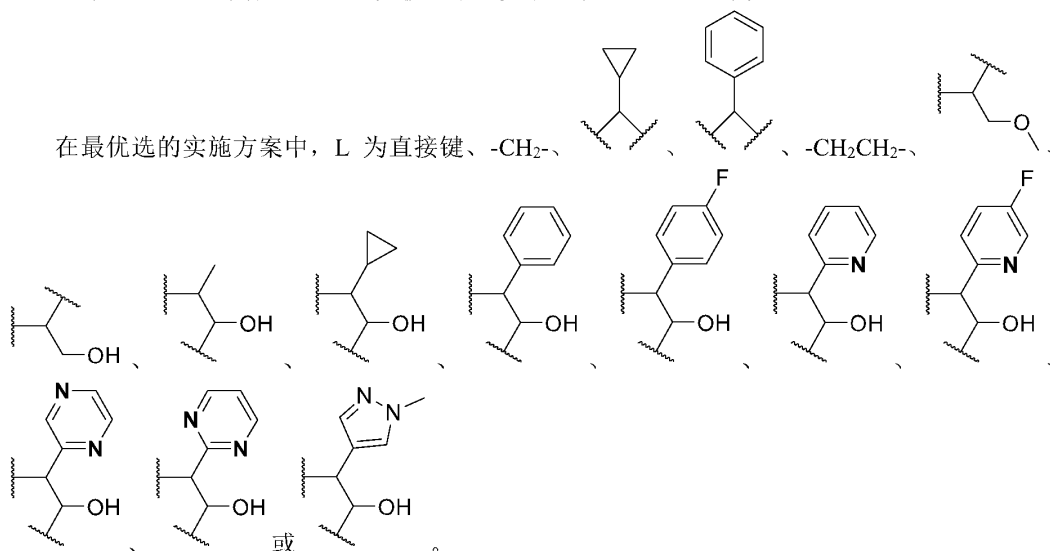
15



20

25

在最优选的实施方案中，L 为直接键、 $-CH_2-$ 、、、 $-CH_2CH_2-$ 、



7

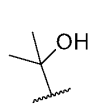
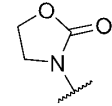
X、Y 和 Z 各自独立地为 CH、CF 或 N。

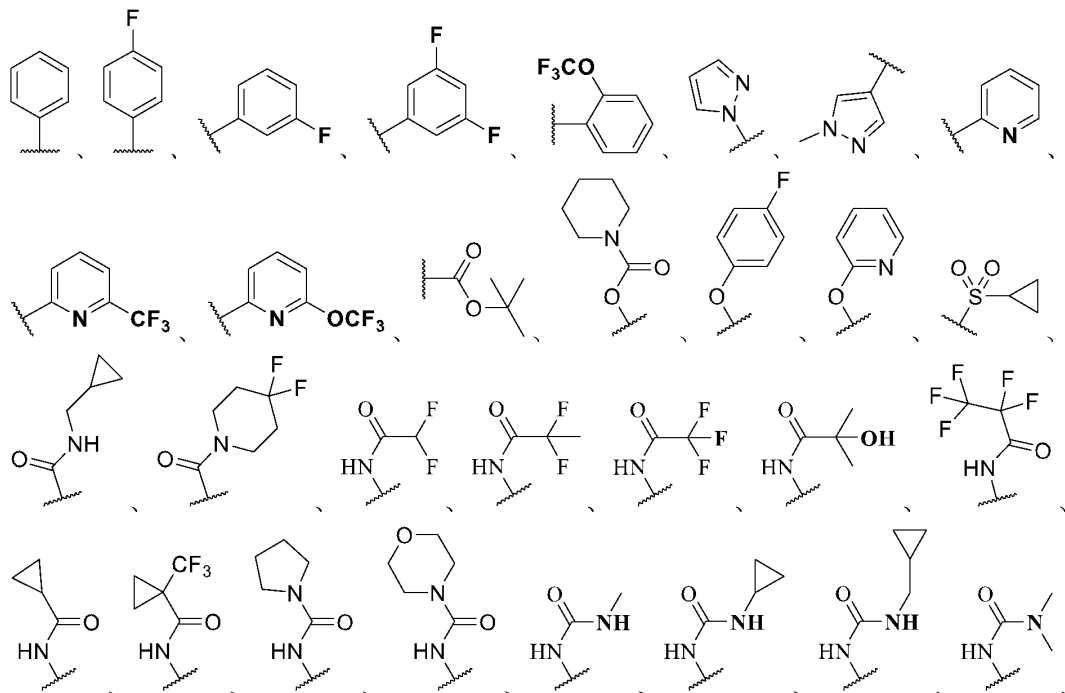
在一些实施方案中，本发明提供式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中 R¹ 选自 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基和 5-14 元杂芳基；

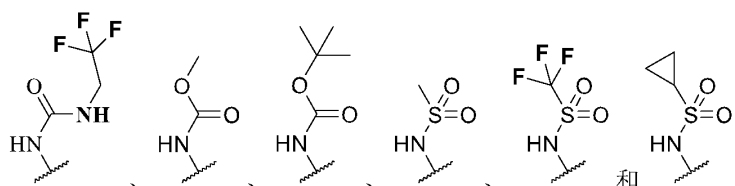
5 所述烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素、-OH、-CN、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、-C(=O)R^c、-OC(=O)R^c、-C(=O)OR^c、-OR^c、-S(=O)₂R^c、-NR^cR^d、-C(=O)NR^cR^d、-NR^c-C(=O)R^d、-NR^c-C(=O)OR^d、-NR^c-S(=O)₂-R^d 和 -NR^c-C(=O)-NR^cR^d，上述烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基进一步任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素(例如氟)、-OH、=O、C₁₋₆ 烷基(例如甲基)、卤代 C₁₋₆ 烷基(例如三氟甲基)、-OC₁₋₆ 烷基(例如甲氧基)和 -O-卤代 C₁₋₆ 烷基(例如三氟甲氧基)。

10 在一些实施方案中，本发明提供式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中 R^c 和 R^d 在每次出现时各自独立地选自 H、C₁₋₆ 烷基(例如甲基、乙基、叔丁基)、C₃₋₁₀ 环烷基(例如环丙基)、3-10 元杂环基(例如任选地被 F 取代的吡咯烷基、吗啉基或哌啶基)、C₆₋₁₀ 芳基(任选地被 F 取代的苯基)和 5-14 元杂芳基(例如吡啶基)，所述烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基进一步任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素(例如 F)、-OH、卤代 C₁₋₆ 烷基(例如三氟甲基)和 C₃₋₆ 环烷基(例如环丙基)。

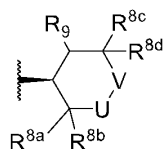
15 在一些实施方案中，本发明提供式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中 R¹ 选自甲基、环丙基、环己基、四氢吡咯基、四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、苯基、吡啶基、吡啶基、嘧啶基、哒嗪基和咪唑并吡啶基；所述基团各自任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基

取代：-F、-Cl、-OH、-CN、-NH₂、-CH₃、-CF₃、-CH₂CF₂CF₃、-NHCH₂CF₃、、、





在一些实施方案中, 本发明提供式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药, 其中 R^1 具有以下结构:



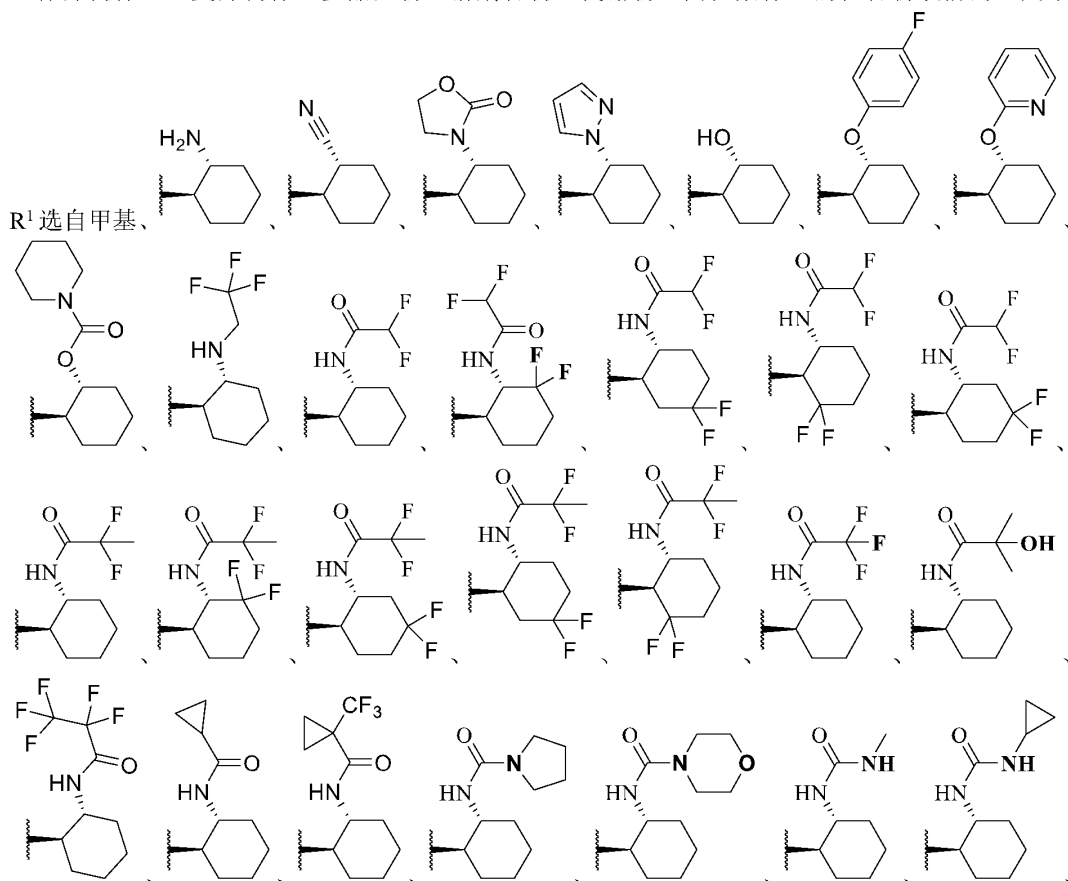
其中:

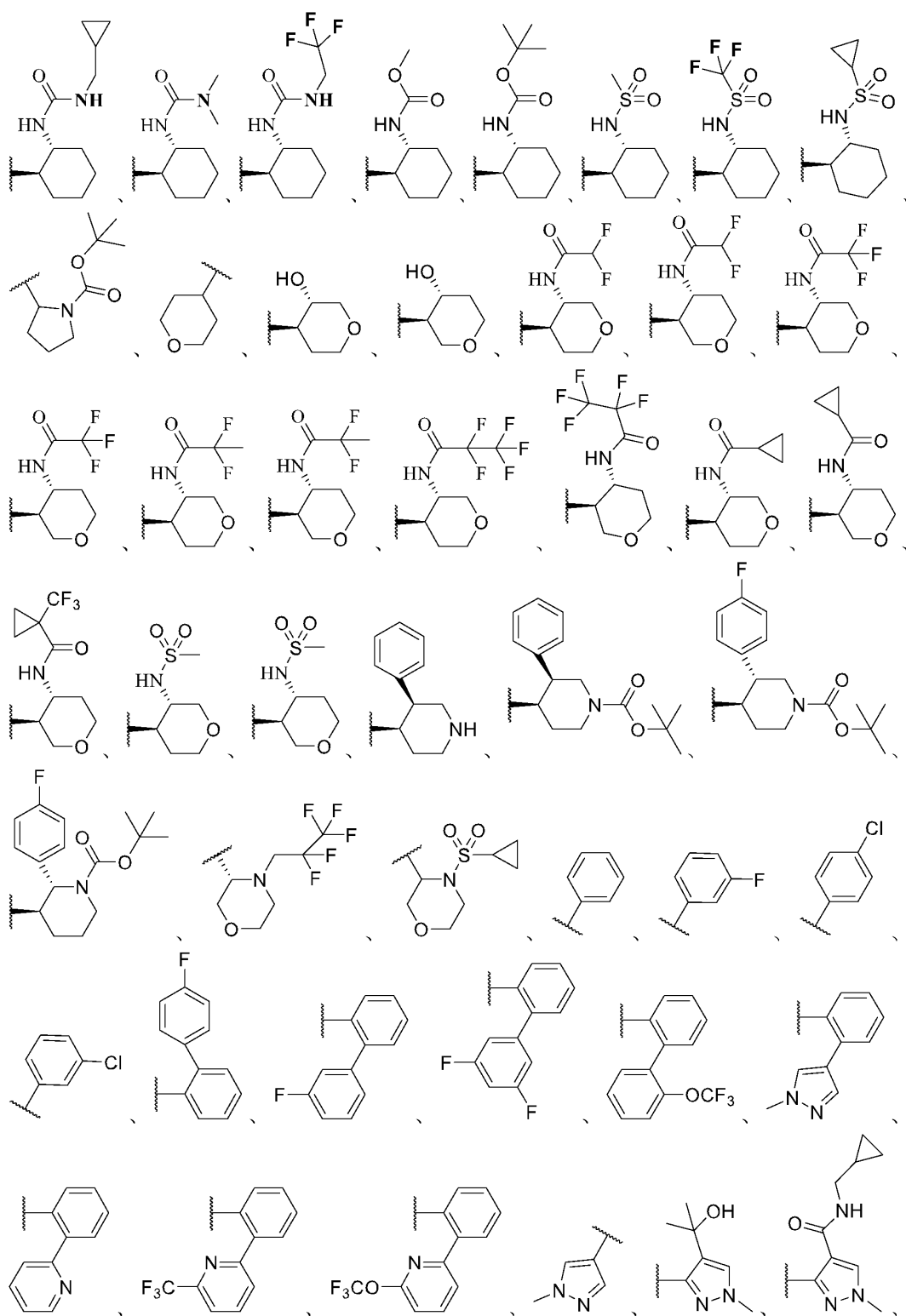
U 和 V 各自独立地为 $CR^{8e}R^{8f}$ 、 NR^{8g} 或 O;

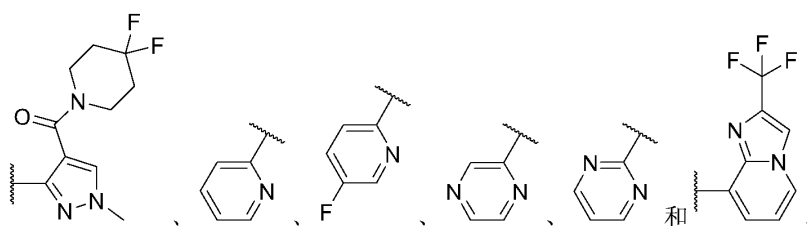
R^{8a} 、 R^{8b} 、 R^{8c} 、 R^{8d} 、 R^{8e} 、 R^{8f} 和 R^{8g} 各自独立地为 H 或卤素(例如 F); 并且

R^9 为 $-OR^c$ 、 $-NR^c-C(=O)R^d$ 、 $-NR^cR^d$ 、 $-NR^c-C(=O)OR^d$ 、 $-NR^c-S(=O)_2-R^d$ 、 $-NR^c-C(=O)-NR^cR^d$ 、 $-OC(=O)R^c$ 。

在一些实施方案中, 本发明提供式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药, 其中







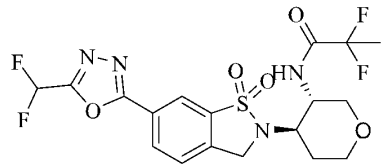
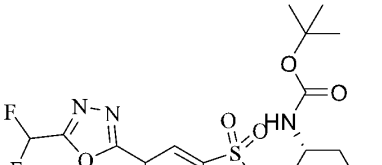
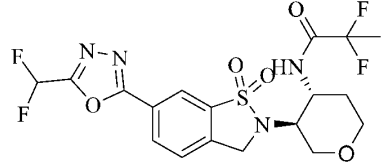
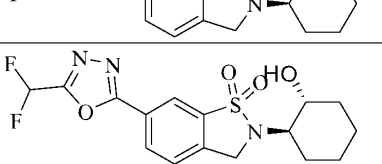
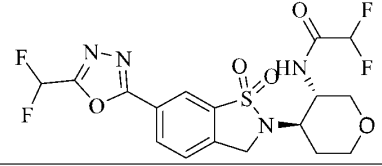
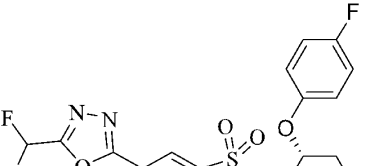
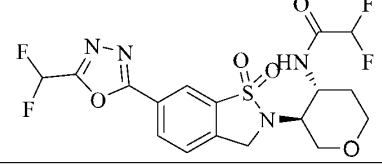
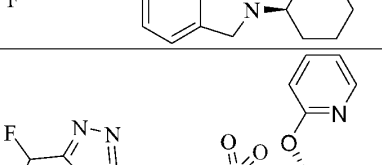
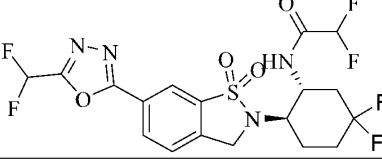
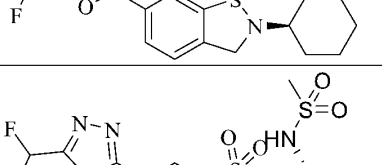
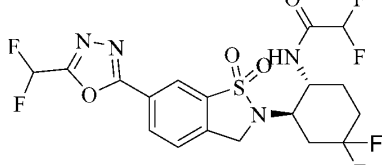
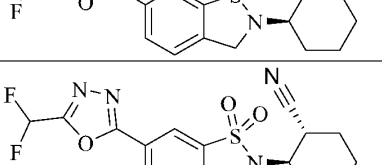
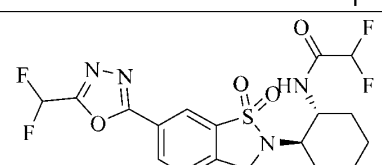
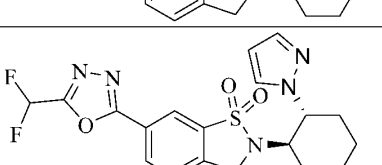
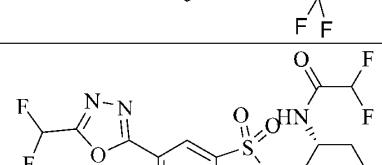
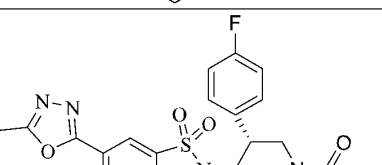
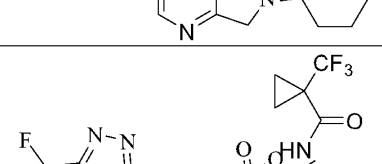
5 在一些实施方案中，本发明提供式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中 R^2 和 R^3 为 H 或 C_{1-6} 烷基，优选为 H 或甲基；或者 R^2 和 R^3 共同构成氧代基(=O)；或者 R^2 和 R^3 连同其所连接的碳原子共同构成 C_{3-6} 环烷基，优选环丙基。

在一些实施方案中，本发明提供式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中 R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地为 H 或卤素；优选地， R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地为 H 或 F。

本发明涵盖对各个实施方案进行任意组合所得的化合物。

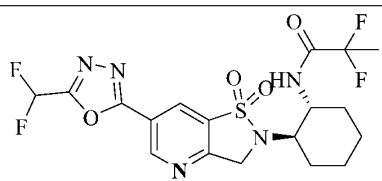
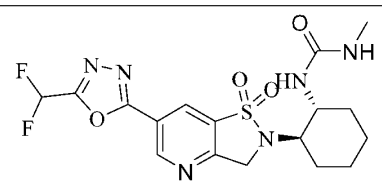
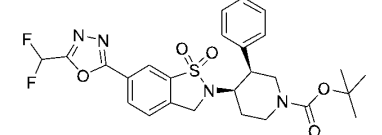
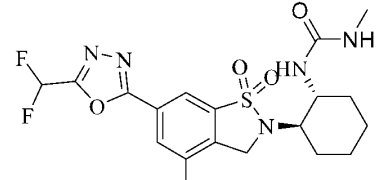
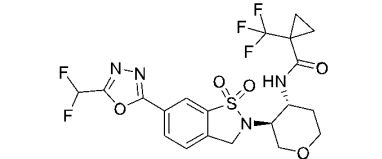
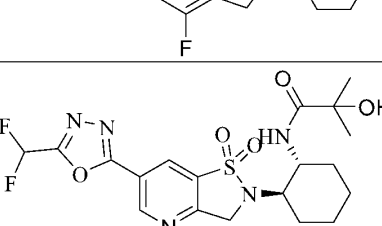
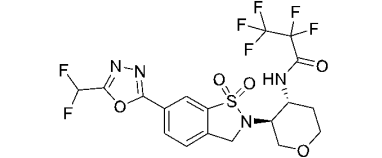
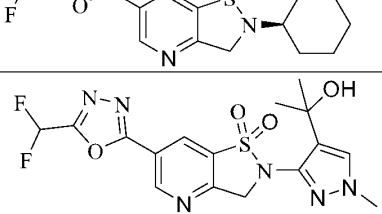
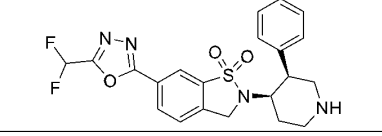
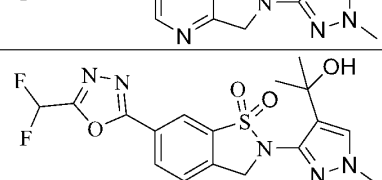
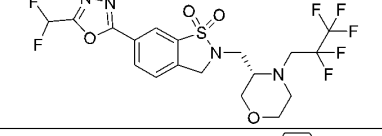
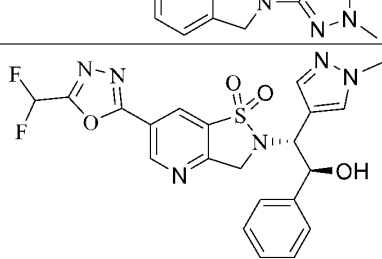
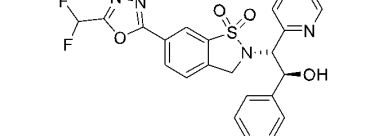
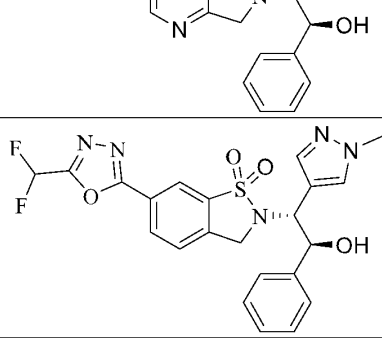
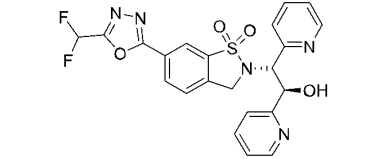
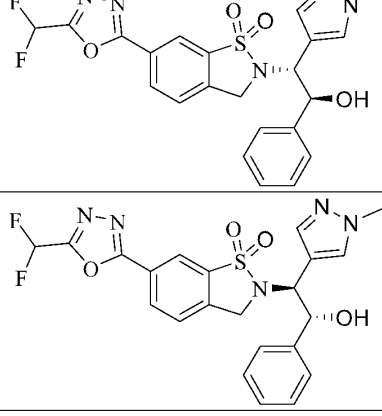
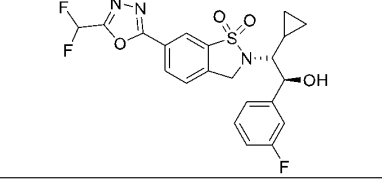
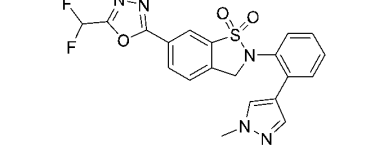
10 在优选的实施方案中，本发明提供化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中所述化合物选自：

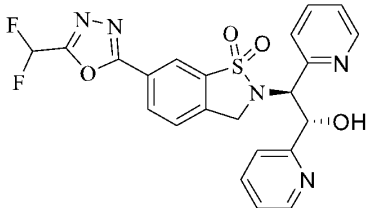
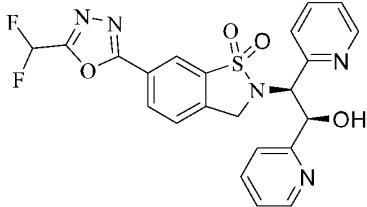
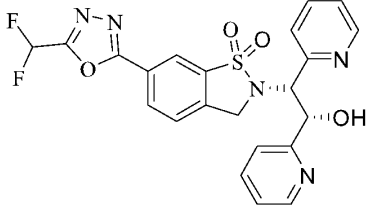
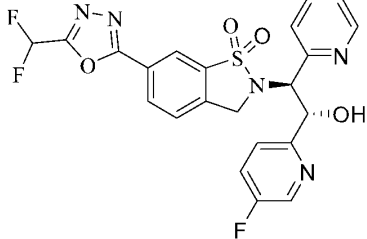
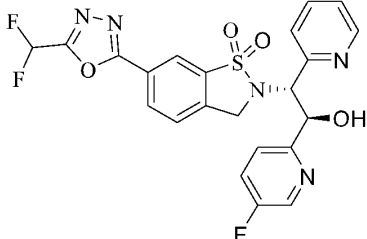
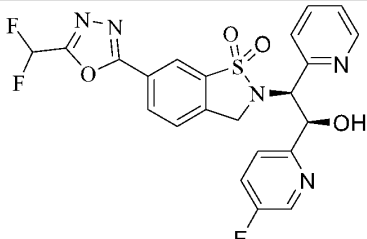
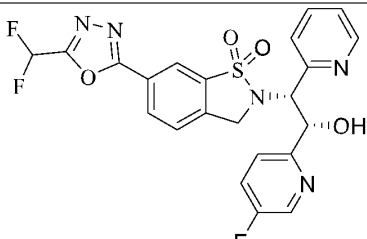
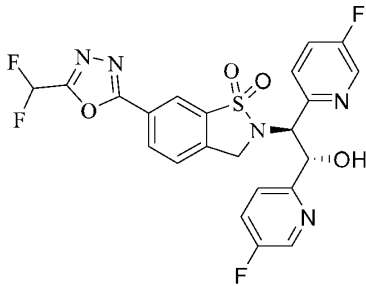
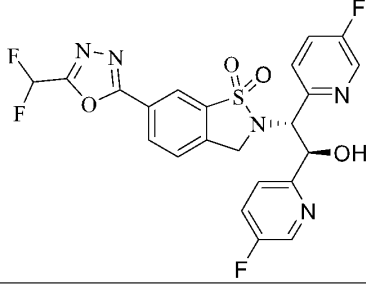
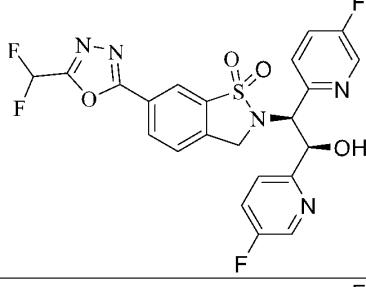
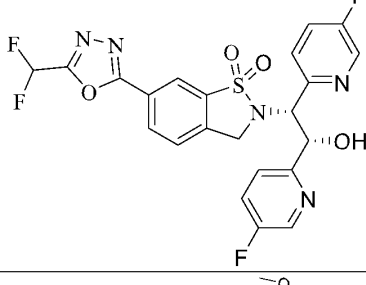
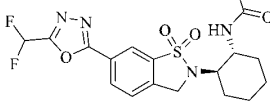
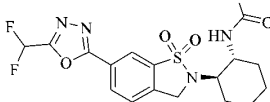
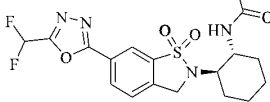
No.	结构
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	
6.	
7.	
8.	
9.	
10.	

11.		20.	
12.		21.	
13.		22.	
14.		23.	
15.		24.	
16.		25.	
17.		26.	
18.		27.	
19.			

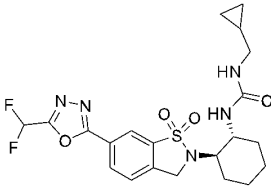
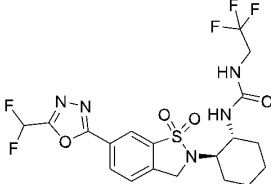
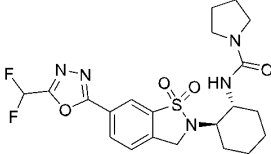
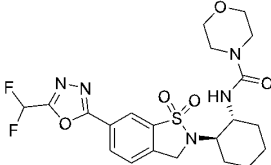
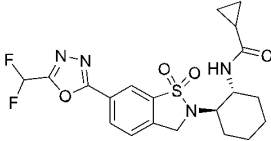
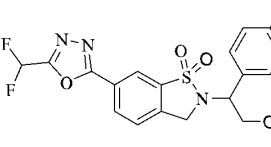
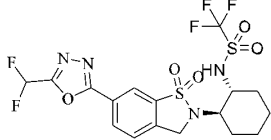
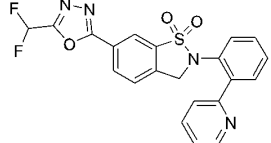
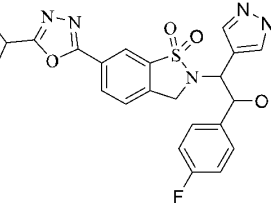
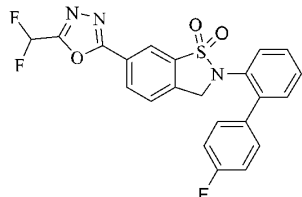
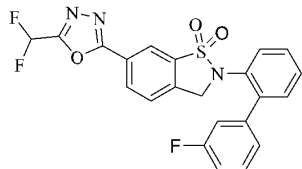
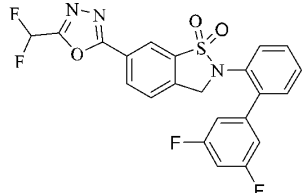
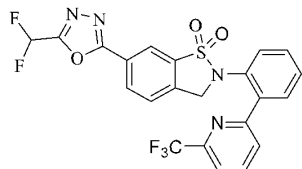
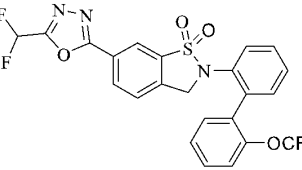
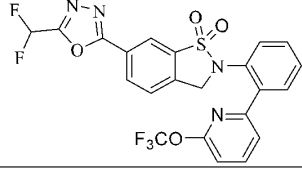
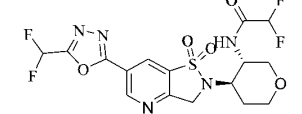
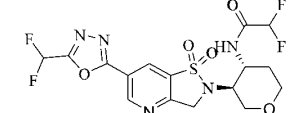
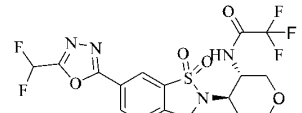
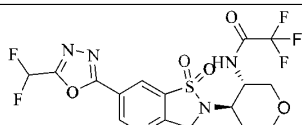
28.		36.	
29.		37.	
30.		38.	
31.		39.	
32.		40.	
33.		41.	
34.		42.	
35.		43.	

44.	
45.	
46.	
47.	
48.	
49.	
50.	
51.	
52.	
53.	
54.	
55.	
56.	
57.	
58.	
59.	
60.	
61.	
62.	

63.		73.	
64.		74.	
65.		75.	
66.		76.	
67.		77.	
68.		78.	
69.		79.	
70.		80.	
71.			
72.			

81.	
82.	
83.	
84.	
85.	
86.	
87.	
88.	
89.	
90.	
91.	
92.	
93.	
94.	

95.		102.	
96.		103.	
97.		104.	
98.		105.	
99.		106.	
100.		107.	
101.		108.	
		109.	

110.	
111.	
112.	
113.	
114.	
115.	
116.	
117.	
118.	
119.	
120.	
121.	
122.	
123.	
124.	
125.	
126.	
127.	
128.	

129.	
130.	
131.	
132.	
133.	
134.	
135.	
136.	
137.	
138.	
139.	
140.	
141.	
142.	
143.	
144.	
145.	
146.	
147.	
148.	
149.	

150.		156.	
151.		157.	
152.		158.	
153.		159.	
154.			
155.			

药物组合物 and 治疗方法

5 在一些实施方案中，本发明提供药物组合物，其包含预防或治疗有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药以及一种或多种药学上可接受的载体，所述药物组合物优选是固体制剂、液体制剂或透皮制剂。

10 在一些实施方案中，本发明提供本发明的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药或者本发明的药物组合物在制备用于预防或治疗 HDAC6 相关性疾病的药物中的用途。

在一些实施方案中，本发明提供本发明的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药或者本发明的药物组合物，其用于预防或治疗 HDAC6 相关性疾病。

在一些实施方案中, 本发明提供预防或治疗 HDAC6 相关性疾病的方法, 所述方法包括向需要其的个体给药有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药或者本发明的药物组合物。

所述 HDAC6 相关性疾病包括但不限于癌症或增生性疾病(例如, 肺癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌、脑癌、肾癌、卵巢癌、胃癌、皮肤癌、骨癌、胰腺癌、神经胶质瘤、胶质母细胞瘤、肝细胞癌、乳头状肾癌、头颈部鳞状细胞癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、多发性骨髓瘤和实体肿瘤); 威尔森氏病(Wilson's disease)、脊髓小脑型共济失调、朊病毒病、帕金森氏病(Parkinson's disease)、亨廷顿氏病(Huntington's disease)、肌萎缩性侧索硬化症、淀粉样变性、阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease)、亚历山大氏病(Alexander's disease)、酒精性肝病、囊性纤维化、皮克氏病(Pick's Disease)、脊髓性肌肉萎缩症或路易体痴呆(Lewy body dementia); 类风湿性关节炎、骨关节炎; 类风湿性脊椎炎; 牛皮癣; 炎症肠病; 慢性炎症肺病、湿疹、哮喘、局部缺血/再灌注损伤、溃疡性结肠炎、急性呼吸窘迫综合症、牛皮癣性关节炎、感染性关节炎、进行性慢性关节炎、变形性关节炎、骨关节炎、创伤性关节炎、痛性关节炎、瑞特氏综合症(Reiter's syndrome)、多软骨炎、急性滑膜炎和脊椎炎、肾小球肾炎、溶血性贫血、再生障碍性贫血、特发性血小板减少性紫癜、中性粒细胞减少症、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病(Crohn's disease)、宿主抗移植疾病、移植物抗宿主疾病、同种异体移植排斥、慢性甲状腺炎、葛瑞夫兹氏病(Graves'disease)、硬皮病、糖尿病、活动性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、重症肌无力、多发性硬化(MS)、系统性红斑狼疮、异位性皮炎、接触性皮炎、皮肤晒伤、慢性肾功能不全、史蒂芬斯-强森综合症(Stevens-Johnson syndrome)、特发性脂肪泻、肉状瘤病、格林-巴利综合症(Guillain-Barre syndrome)、葡萄膜炎、结膜炎、角膜结膜炎、中耳炎、牙周病、肺间质纤维化、哮喘、支气管炎、鼻炎、鼻窦炎、尘肺病、肺功能不全综合症、肺气肿、肺纤维化或硅肺病。

本发明中“药学上可接受的载体”是指与治疗剂一同给药的稀释剂、辅剂、赋形剂或媒介物, 并且其在合理的医学判断的范围内适于接触人类和/或其它动物的组织而没有过度的毒性、刺激、过敏反应或与合理的益处/风险比相应的其它问题或并发症。

除非另外说明, 否则如本文中所使用, 术语“治疗”意指逆转、减轻、抑制这样的术语所应用的病症或病况或者这样的病症或病况的一或多种症状的进展, 或预防这样的病症或病况或者这样的病症或病况的一或多种症状。

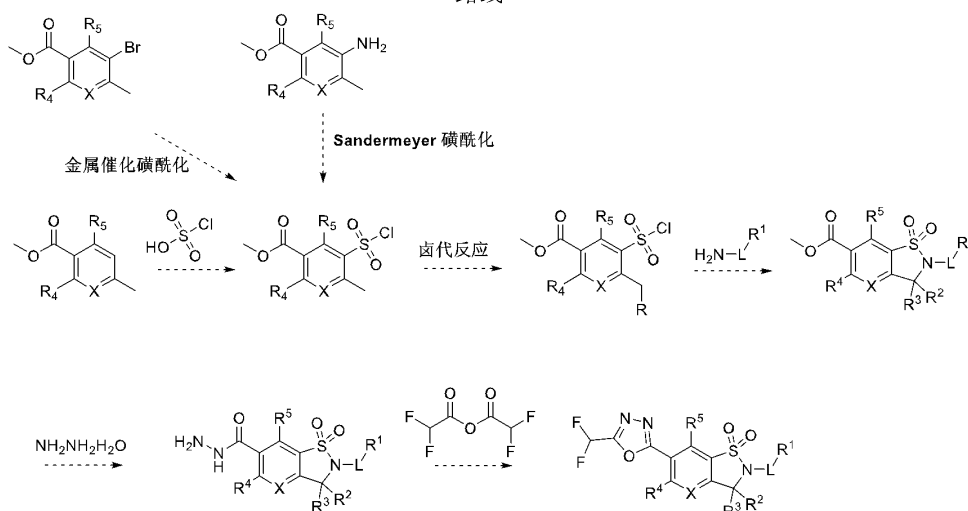
如本文所使用的“个体”包括人或非人动物。示例性个体包括患有疾病(例如本文所述的疾病)的人个体(称为患者)或正常个体。本发明中“非人动物”包括所有脊椎动物, 例如非哺乳动物(例如鸟类、两栖动物、爬行动物)和哺乳动物, 例如非人灵长类、家畜和/或驯化动物(例如绵羊、犬、猫、奶牛、猪等)。

在另种实施方案中, 本发明的药物组合物还可以包含一种或多种另外的治疗剂或预防剂。

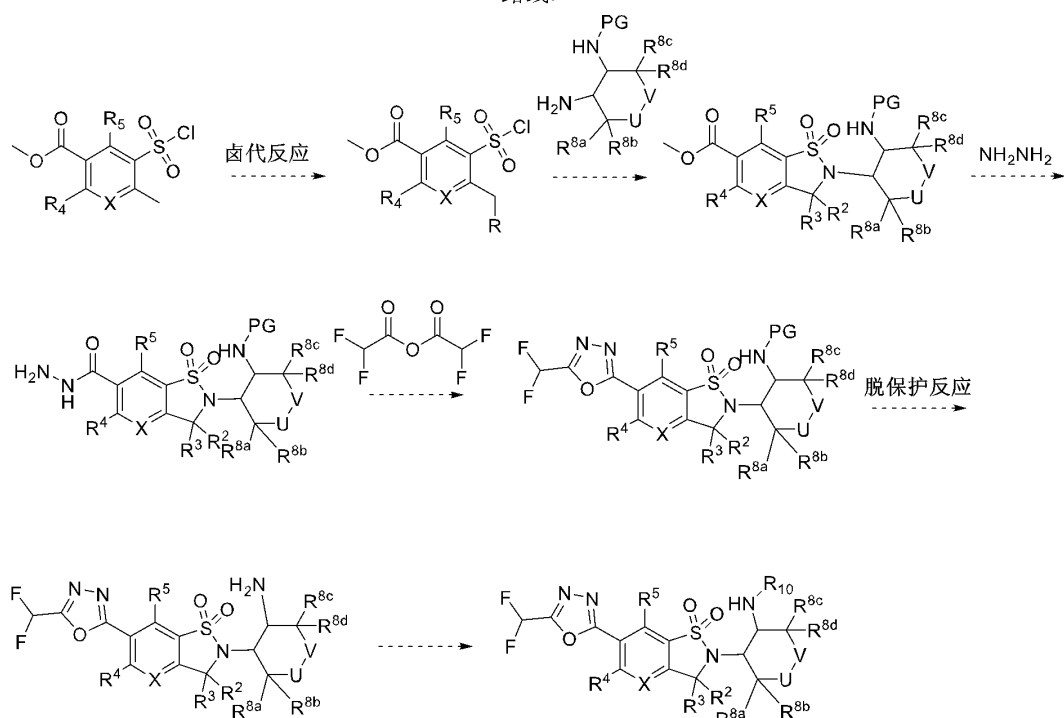
制备方法

在一些实施方案中, 本申请的化合物通过以下反应路线合成:

路线一

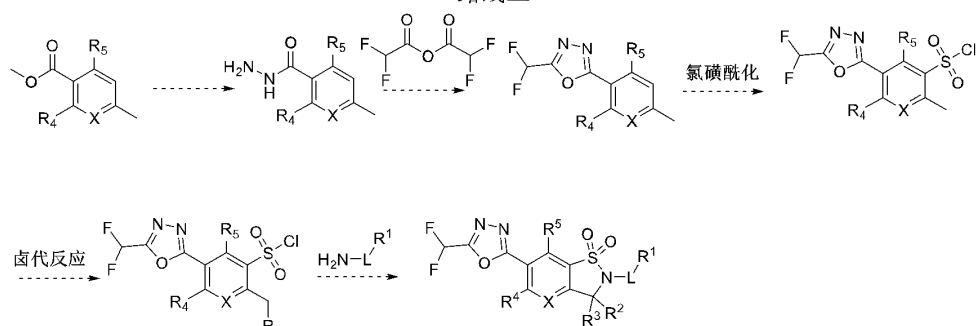


路线二

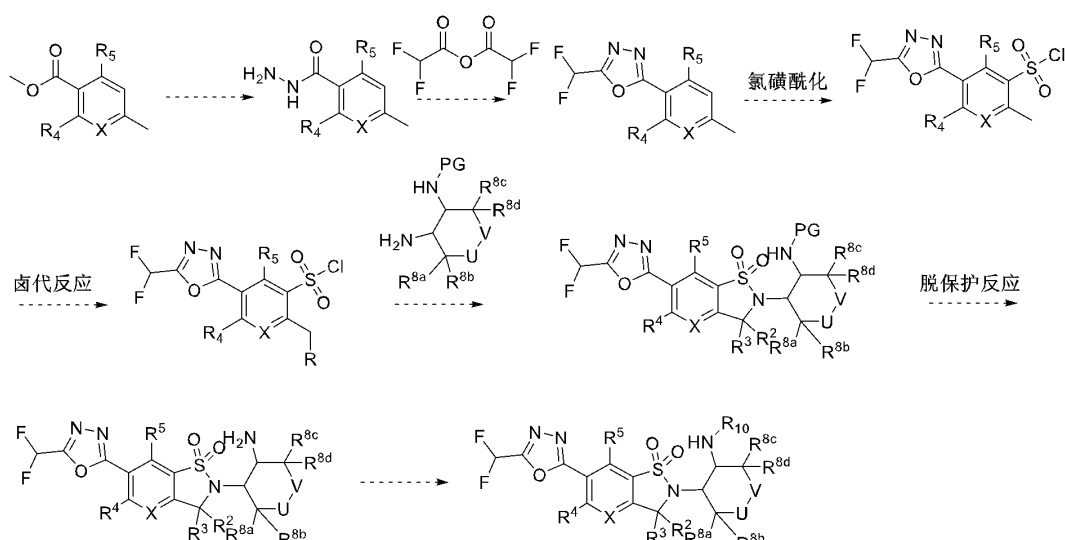


5

路线三

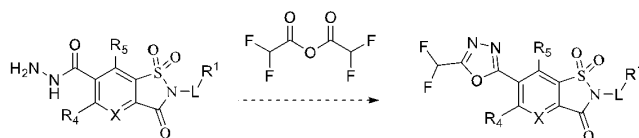
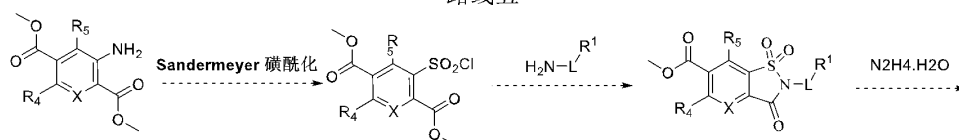


路线四



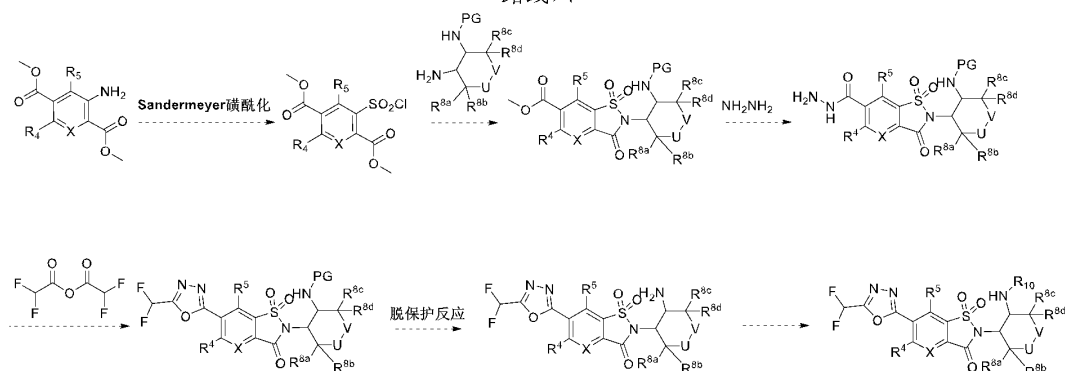
其中 R 为卤素; PG 为氨基保护基; R^{10} 为 $-C(=O)R^d$ 、 $-C(=O)OR^d$ 、 $-S(=O)_2-R^d$ 、 $C(=O)-NR^cR^d$; 并且其余各基团如本文中所定义。

路线五



其中各基团如本文中所定义。

路线六



其中 PG 为氨基保护基; R^{10} 为 $-C(=O)R^d$ 、 $-C(=O)OR^d$ 、 $-S(=O)_2-R^d$ 、 $C(=O)-NR^dR^d$; 并且其余各基团如本文中所定义。

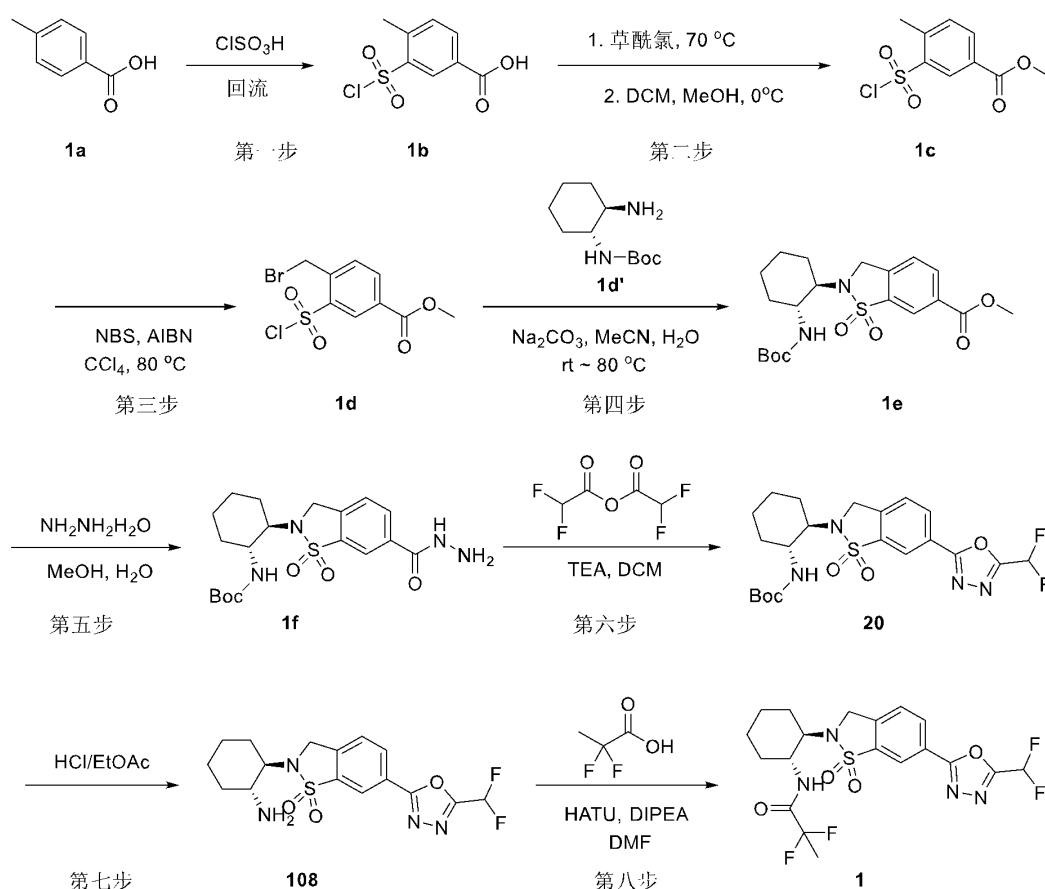
实施例

以下结合实施例进一步描述本发明，但提供这些实施例并非意在限制本发明的范围。

本发明中的缩写具有以下含义：

缩写	含义
ACN/MeCN	乙腈
AcOH	醋酸
AIBN	偶氮二异丁腈
BnSH	苄硫醇
CDCl ₃	氘代氯仿
Cs ₂ CO ₃	碳酸铯
DAST	二乙氨基三氟化硫
DCE	二氯乙烷
DCM	二氯甲烷
DIPEA/DIEA	<i>N,N</i> -二异丙基乙胺
DMF	<i>N,N</i> -二甲基甲酰胺
DMSO	二甲基亚砜
EtOAc	乙酸乙酯
EtOH	乙醇
HATU	2-(7-氮杂苯并三氮唑)- <i>N,N,N',N'</i> -四甲基脒六氟磷酸盐
LC-MS	液相色谱质谱联用
MeCN	乙腈
MeOH	甲醇
NBS	<i>N</i> -溴代丁二酰亚胺
NCS	<i>N</i> -氯代丁二酰亚胺
<i>n</i> -BuLi	正丁基锂
NMR	核磁共振
Pd ₂ (dba) ₃	三(二亚苄基丙酮)二钯
Pd(dppf)Cl ₂	1,1'-双二苯基膦二茂铁二氯化钯
Pre-HPLC	制备高效液相色谱法
SFC	手性拆分
TEA	三乙胺
TFA	三氟乙酸
THF	四氢呋喃
TLC	薄层色谱法
TsCl	对甲苯磺酰氯
Xantphos	4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽
XPhosPd-G3	甲烷磺酸(2-二环己基膦基-2',4',6'-三-异丙基-1,1'-联苯基)(2'-氨基-1,1'-联苯-2-基)钯(II)

实施例 1: (化合物 1)



第一步: (化合物 1b)

化合物 1a (5 g, 36.72 mmol)溶于氯磺酸(17.11 g, 146.88 mmol)中, 氮气保护 120 °C 搅拌 4 小时, LC-MS 显示反应完全。反应液慢慢倾入碎冰中, 把产生的固体过滤, 真空干燥得白色固体 1b (7.3 g, 75%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.35 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.80 (dd, *J* = 7.8, 2.0 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 2.61 (s, 3H)。

第二步: (化合物 1c)

化合物 1b (6.3 g, 26.85 mmol)溶于草酰氯(30 g, 236.35 mmol)中, 氮气保护 70 °C 搅拌 2 小时。TLC 显示反应完全, 甲醇淬灭, 减压除去过量草酰氯, 残留物溶于二氯甲烷(20 mL), 冷却至 0 °C, 慢慢滴加甲醇(10 mL), 加完后继续在 0 °C 下搅拌 2 小时, TLC 显示反应完全。将反应物浓缩, 柱层析纯化得白色固体 1c (5.5 g, 82%)。

¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 8.76 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.30 (dd, *J* = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.01 (s, 3H), 2.90 (s, 3H)。

第三步: (化合物 1d)

向四氯化碳(30 mL)中加入化合物 1c (2 g, 8.04 mmol)、N-溴代丁二酰亚胺(1.57 g, 8.84 mmol)和偶氮二异丁腈(132.02 mg, 0.80 mmol)。该反应液在氮气保护下 80 °C 搅拌 8 小时。TLC 监测反应, 用乙酸乙酯(100 mL)和水(30 mL)稀释, 分离出的有机相用饱和食盐水(30 mL*2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析纯化得无色油状物 1d (1.6 g, 35%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.80 – 8.76 (m, 1H), 8.41 (dd, *J* = 8.1, 1.8 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.03 (s, 3H)。

第四步: (化合物 1e)

向乙腈(30 mL)和水(6 mL)的混合溶剂中加入化合物 1d (1.6 g, 2.78 mmol)、1d' (0.6, 2.78 mmol)和碳酸钠(0.69 g, 5.56 mmol)。该反应液在 25 °C 下搅拌 30 分钟, 升温至 80 °C 并搅拌 4 小时, 用乙酸乙酯(60 mL)和水(20 mL)稀释, 分离出的有机相用饱和食盐水(15 mL*2)洗涤, 无水硫酸钠干燥,

过滤, 浓缩, 柱层析纯化得无色油 **1e** (1.02 g, 86%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 425.1$.

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.24 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 4.79 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 4.58 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.55–3.41 (m, 2H), 1.88–1.66 (m, 5H), 1.51 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 1.27 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H), 1.10 (s, 9H).

第五步: (化合物 **1f**)

向甲醇(6 mL)中加入化合物 **1e** (500 mg, 1.18 mmol)和水合肼(2.06 g, 32.92 mmol, 80%)。该反应液在封管中 80 °C 下搅拌 2 小时。LC-MS 显示反应完全, 减压除去过量甲醇, 过滤, 真空干燥得白色固体 **1f** (495 mg, 99%)

ESI m/z $[M+H]^+ = 425.2$.

第六步: (化合物 **20**)

向二氯甲烷(20 mL)中分别加入化合物 **1f** (495 mg, 1.17 mmol)、三乙胺(0.53 g, 5.23 mmol)和二氟乙酸酐(0.45 g, 2.57 mmol)。该反应液在 25°C 下搅拌 16 小时。LC-MS 显示反应完全, 浓缩, 柱层析纯化得白色固体 **20** (330 mg, 58%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 485.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.40 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.36 (dd, $J = 8.1$, 1.6 Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 4.83 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 4.62 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 3.54–3.41 (m, 2H), 1.84 (d, $J = 11.8$ Hz, 2H), 1.73 (d, $J = 17.5$ Hz, 3H), 1.52 (q, $J = 12.3$, 11.5 Hz, 1H), 1.31 (d, $J = 12.2$ Hz, 2H), 1.12 (s, 9H).

第七步: (化合物 **108**)

化合物 **20** (150 mg, 0.31 mmol)溶于 4 M 氯化氢的乙酸乙酯溶液(20 mL)中。该反应液在 25°C 下搅拌 2 小时, LC-MS 显示反应完全, 浓缩得白色固体 **108** (130 mg, 100%)。

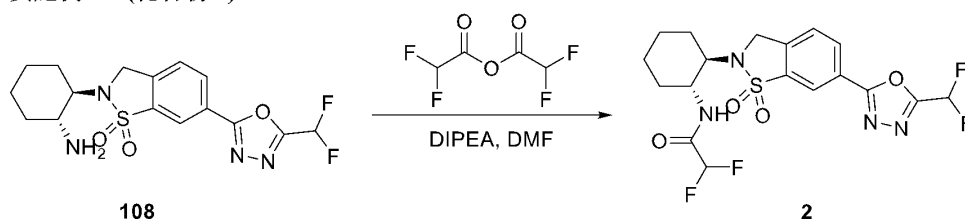
ESI m/z $[M+H]^+ = 385.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.40 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.36 (dd, $J = 8.1$, 1.6 Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 4.83 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 4.62 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 3.47 (dtd, $J = 21.6$, 10.8, 5.2 Hz, 2H), 1.84 (d, $J = 11.5$ Hz, 2H), 1.73 (d, $J = 17.5$ Hz, 3H), 1.52 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 1.31 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H).

第八步: (化合物 **1**)

向 N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)中分别加入化合物 **108** (65 mg, 0.15 mmol)、二氟丙酸(20 mg, 0.18 mmol)、N,N-二异丙基乙胺(39 mg, 0.3 mmol)和 HATU (74 mg, 0.20 mmol)。将该反应液在 25 °C 下搅拌 2 小时。LC-MS 显示反应完全, 用乙酸乙酯(40 mL)和水(15 mL)稀释, 分离出有机相用饱和食盐水(15 mL*2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析纯化得白色固体 **1** (26 mg, 36%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 477.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.97 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.74 (dd, $J = 8.1$, 1.6 Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.95 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 4.14–3.91 (m, 2H), 3.36–3.21 (m, 1H), 3.01 (td, $J = 11.0$, 4.2 Hz, 1H), 1.28–1.03 (m, 6H), 0.87 (t, $J = 19.4$ Hz, 3H), 0.71 (d, $J = 11.2$ Hz, 2H).

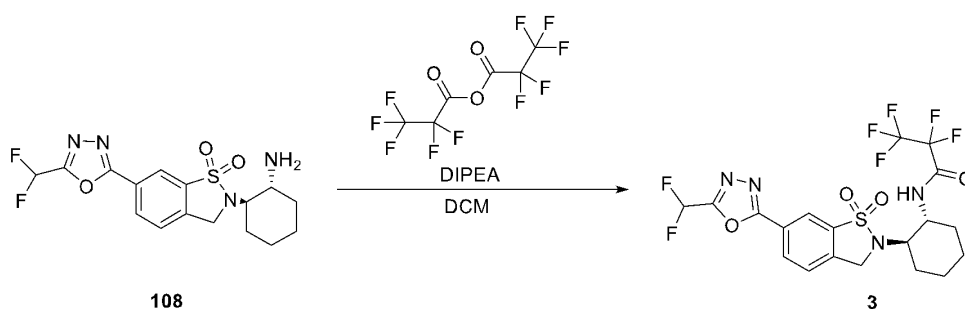
实施例 2: (化合物 **2**)



向化合物 **108** (71 mg, 0.17 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.11 g, 0.85 mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)溶液中, 在 25°C 下滴加二氟乙酸酐(59 mg, 0.34 mmol), 待滴加完毕后, 搅拌 1 小时。TLC 显示反应完全, 用乙酸乙酯(40 mL)和水(15 mL)稀释, 分离出的有机相用饱和食盐水(15 mL*2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析纯化得白色固体 **2** (36.2 mg, 46%)

ESI m/z $[M+H]^+ = 463.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.76 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 8.44–8.31 (m, 2H), 7.92 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 6.03 (t, $J = 53.8$ Hz, 1H), 4.76–4.62 (m, 2H), 3.99–3.87 (m, 1H), 3.61 (td, $J = 10.8$, 4.5 Hz, 1H), 1.94–1.57 (m, 6H), 1.32 (d, $J = 25.9$ Hz, 2H).

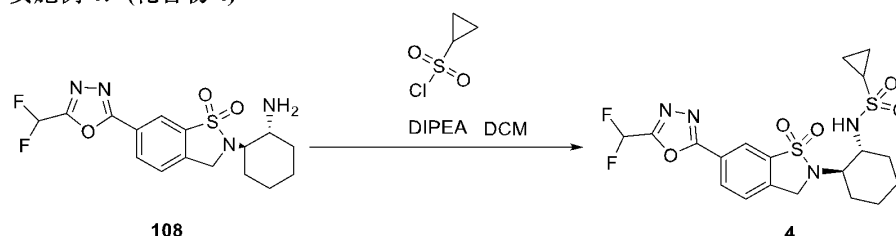
实施例 3: (化合物 **3**)



化合物 **108** (200 mg, 0.48 mmol)溶于二氯甲烷(4 mL)中,加入 N,N-二异丙基乙胺(156.27 mg, 0.50 mmol)和五氟丙酸酐(189.21 mg, 1.46 mmol)。该反应液在 10 °C 下搅拌 14 小时。LCMS 显示反应完全,反应液倒入水中,二氯甲烷萃取,有机相用饱和食盐水洗一次,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩,柱层析得白色固体 **3** (23 mg, 9%)。

ESI m/z $[M-H]^- = 529.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.44 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.39 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.35 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.56 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 4.69 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 4.56 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 4.09 – 3.90 (m, 1H), 3.63 (td, $J = 11.0, 4.2$ Hz, 1H), 1.78 (ddd, $J = 33.3, 16.2, 6.8$ Hz, 6H), 1.34 (d, $J = 9.4$ Hz, 2H)。

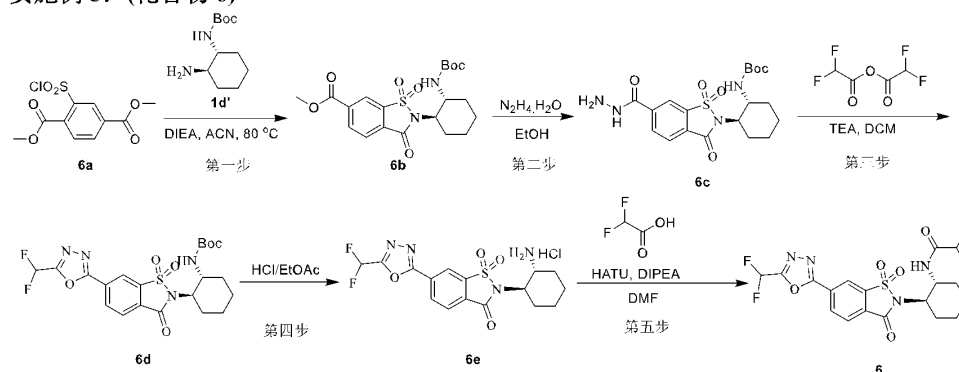
实施例 4: (化合物 **4**)



化合物 **108** (200 mg, 0.48 mmol)溶于二氯甲烷(4 mL)中,加入 N,N-二异丙基乙胺(186.11 mg, 1.44 mmol)和环丙基磺酰氯(80.98 mg, 0.58 mmol)。该反应液在 10 °C 下搅拌 14 小时。LCMS 显示反应完全,反应液倒入水中,二氯甲烷萃取,有机相用饱和食盐水洗一次,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩,制备板纯化得白色固体 **4** (27 mg, 12%)。

ESI m/z $[M-H]^- = 487.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.41 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.36 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.57 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.71 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H), 3.52 – 3.37 (m, 2H), 2.18 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 1.92 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H), 1.72 (q, $J = 13.2, 12.2$ Hz, 3H), 1.58 – 1.44 (m, 1H), 1.37 – 1.22 (m, 3H), 0.92 – 0.75 (m, 4H)。

实施例 5: (化合物 **6**)



第一步(化合物 **6b**)

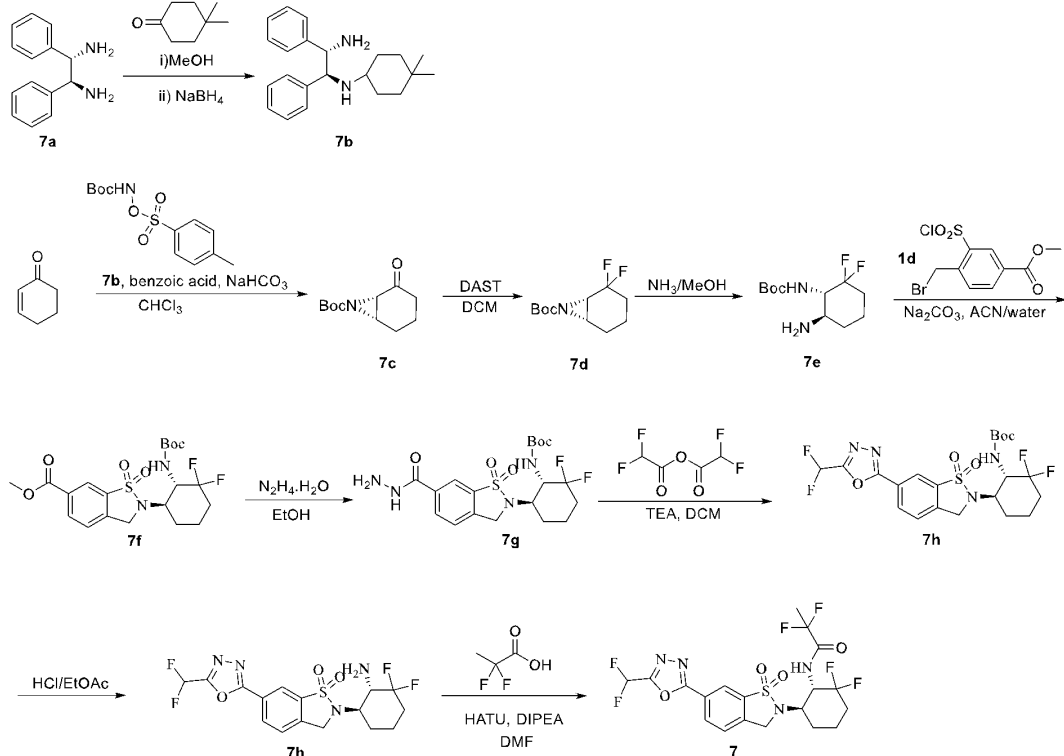
化合物 **6a** (1 g, 3.41 mmol)溶于乙腈(20 mL)中,加入二异丙基乙胺(1.1 g, 8.53 mmol)和化合物 **1d'** (730 mg, 3.41 mmol)。先室温搅拌 30 分钟,再在 80 °C 下搅拌过夜。反应液经水洗,乙酸乙酯萃取,浓缩,柱层析分离后得到化合物 **6b** (1.2 g, 82%)。

第二步至第五步(化合物 **6**)

参考实施例 1 合成路线的第五步至第八步, 在第五步中用化合物 **6b** 代替 **1e**, 在第八步中用二氟乙酸代替二氟丙酸, 得白色固体 **6**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 477.0$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.54 (s, 1H), 8.50 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.17 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.89 (t, $J=51.6$ Hz, 1H), 6.29 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 5.61 (t, $J=54.4$ Hz, 1H), 4.62-4.60 (m, 1H), 3.77-3.74 (m, 1H), 2.50-2.41 (m, 1H), 2.22-2.16 (m, 1H), 2.04-2.01 (m, 1H), 1.93-1.87 (m, 1H), 1.81-1.78 (m, 1H), 1.47-1.40 (m, 1H), 1.37-1.28 (m, 2H).

实施例 6: (化合物 **7**)



1. (化合物 **7b**)

化合物 **7a** (5.0 g, 23.6 mmol) 和 4,4-二甲基环己酮 (5.9 g, 47.2 mmol) 的甲醇 (100 mL) 溶液在室温下搅拌 1 小时。冷却至 $0^\circ C$, 加入硼氢化钠 (3.6 g, 94.3 mmol), 室温搅拌 2 小时。用水淬灭反应, 乙酸乙酯萃取。有机相经干燥、浓缩后, 在氯化氢 (4M 二氧六环溶液, 20 mL) 中搅拌 1 小时。过滤, 滤饼溶于水, 用碳酸氢钠中和, 乙酸乙酯萃取, 有机相经干燥、浓缩后得浅黄色油状物 **7b** (5 g, 66%)。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21-7.12 (m, 10H), 4.01 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 3.84 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 2.23-2.16 (m, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.74-1.64 (m, 1H), 1.531.45 (m, 1H), 1.28-1.21 (m, 3H), 1.17-0.96 (m, 3H), 0.82 (d, $J=14.4$ Hz, 6H).

2. (化合物 **7c**)

向氯仿 (200 mL) 中加入化合物 **7b** (3.6 g, 11.1 mmol)、N-Boc-O-对甲苯磺酰羟胺 (16.0 g, 55.7 mmol)、碳酸氢钠 (23.4 g, 278.7 mmol) 和苯甲酸 (6.8 g, 55.7 mmol)。室温搅拌 1 小时, 加入环己烯酮 (16.0 g, 167.2 mmol), 室温搅拌过夜。加水淬灭反应, 二氯甲烷萃取。有机相经干燥、浓缩、柱层析分离后得黄色油状物 **7c** (8.5 g, 64%)。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.10-3.05 (m, 1H), 2.89 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 2.54-2.46 (m, 1H), 2.27-2.19 (m, 1H), 2.10-1.91 (m, 2H), 1.83-1.74 (m, 1H), 1.68-1.60 (m, 1H), 1.45 (s, 9H).

3. (化合物 **7d**)

向化合物 **7c** (2.5 g, 11.8 mmol) 的二氯甲烷 (30 mL) 溶液在 $0^\circ C$ 加入 $DAST$ (12.3 g, 59.2 mmol)。室温搅拌 16 小时, 反应液倒入冰水, 二氯甲烷萃取。有机相经干燥、浓缩、柱层析分离后得黄色油状物 **7d** (5.0 g, 63%)。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2.88-2.81 (m, 2H), 1.99-1.64 (m, 4H), 1.62-1.55 (m, 2H), 1.45 (s, 9H).

4. (化合物 **7e**)

化合物 **7e** (5.0 g, 21.5 mmol) 的甲醇/氨(100 mL)溶液在室温下搅拌 3 天。反应液直接浓缩, 经柱层析分离得白色固体 **7e** (1.8 g, 33%)。

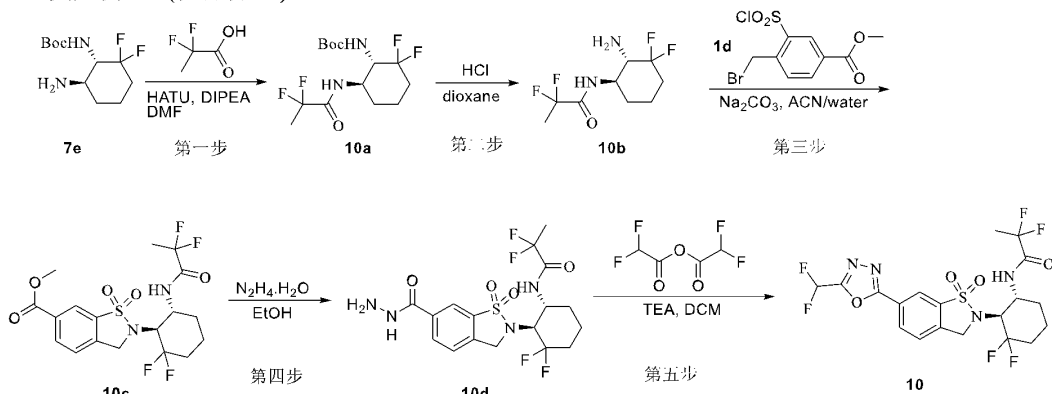
ESI m/z $[M+H]^+ = 251.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 6.89 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 3.50-3.35 (m, 1H), 2.62-2.53 (m, 1H), 2.06-1.93 (m, 1H), 1.85-1.59 (m, 3 H), 1.48 (s, 2H), 1.39 (s, 9H), 1.36-1.15 (m, 2H).

5. (化合物 **7**)

参考实施例 1 中化合物 **1** 的合成路线, 用化合物 **7e** 代替 **1d'**, 得白色固体 **7**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 512.9$. 1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.50 (s, 1H), 8.38 (d, $J=7.6$ Hz, 1 H), 7.43 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.06-6.78 (m, 2 H), 4.69 (d, $J=14.4$ Hz, 1 H), 4.50 (d, $J=14.0$ Hz, 1 H), 4.44-4.33 (m, 1 H), 3.96-3.90 (m, 1 H), 2.38-2.34 (m, 1 H), 2.24-2.19 (m, 1 H), 1.97-1.92 (m, 1 H), 1.88-1.67 (m, 3 H), 1.56 (t, $J=18.8$ Hz, 3 H).

10 实施例 7: (化合物 **10**)



1. (化合物 **10a**)

向 **7e** (0.2 g, 0.8 mmol) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 HATU (0.3 g, 0.8 mmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (0.31 g, 2.4 mmol)。25°C 下搅拌 30 分钟, 再加入二氟丙酸 (0.11 g, 0.96 mmol), 20°C 下搅拌 16 小时。加水析出固体, 过滤得到白色固体 **10a** (0.2 g, 73%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 343.1$.

2. (化合物 **10b**)

向化合物 **10a** (150 mg, 0.44 mmol) 的二氧六环 (5 mL) 溶液中加入氯化氢的二氧六环溶液 (1 mL, 4M)。室温搅拌 3 小时。反应液直接浓缩得到黄色油状物 **10b** (0.1 g, 94%)。

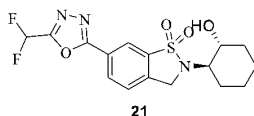
ESI m/z $[M+H]^+ = 243.1$.

5. (化合物 **10**)

参考实施例 1 中化合物 **20** 的合成路线, 在第四步中用化合物 **10b** 代替 **1d'**, 得白色固体 **10**。

ESI m/z $[M-H]^- = 511.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.70 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.48 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 8.40 (dd, $J=8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J=51.3$ Hz, 1H), 4.88 - 4.73 (m, 2H), 4.30 - 4.19 (m, 1H), 4.18 - 4.04 (m, 1H), 2.25 (s, 1H), 2.02 - 1.83 (m, 3H), 1.54 (d, $J=13.9$ Hz, 2H), 1.38 (d, $J=19.2$ Hz, 3H).

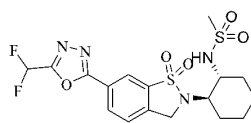
实施例 8: (化合物 **21**)



参考实施例 1 中化合物 **20** 的合成路线, 在第四步中用 (1*R*,2*R*)-2-氨基环己烷-1-醇代替 **1d'**, 得白色固体 **21**。

ESI m/z $[M-H]^- = 384.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.40 - 8.33 (m, 2H), 7.88 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.56 (t, $J=51.3$ Hz, 1H), 4.84 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 4.72 - 4.59 (m, 2H), 3.59 - 3.49 (m, 2H), 1.94 (dd, $J=27.5, 11.9$ Hz, 2H), 1.65 (d, $J=15.7$ Hz, 2H), 1.37 - 1.14 (m, 4H).

35 实施例 9: (化合物 **24**)

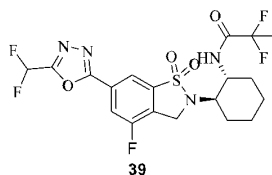


24

参考实施例 4 中化合物 4 的合成方法, 用甲基磺酰氯代替环丙基磺酰氯, 得白色固体 24。

ESI m/z $[M+H]^+ = 463.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.44 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.39 (dd, $J = 8.1$, 1.6 Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.72 (s, 2H), 3.52 - 3.39 (m, 2H), 2.84 (s, 3H), 2.17 - 2.06 (m, 1H), 1.99 - 1.63 (m, 4H), 1.47 (dd, $J = 18.2$, 7.6 Hz, 1H), 1.31 (q, $J = 16.0$, 13.4 Hz, 2H).

实施例 10: (化合物 39)

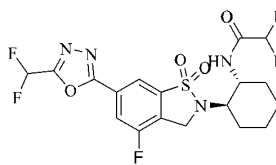


39

参考实施例 1 中化合物 1 的合成方法, 在第一步中用 3-氟-4-甲基苯甲酸甲酯代替对甲基苯甲酸, 得白色固体 39。

ESI m/z $[M+H]^+ = 494.9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.58 (d, $J = 9.6$ Hz, 1 H), 8.30 (d, $J = 0.8$ Hz, 1 H), 8.25-8.22 (m, 1 H), 7.56 (d, $J = 51.2$ Hz, 1 H), 4.77-4.66 (m, 2 H), 3.96-3.93 (m, 1 H), 3.65-3.61 (m, 1 H), 1.86-1.70 (m, 6 H), 1.54-1.44 (m, 3 H), 1.34-1.23 (m, 2 H).

实施例 11: (化合物 40)

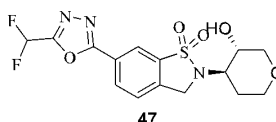


40

参考实施例 1 中化合物 1 的合成方法, 在第一步中用 3-氟-4-甲基苯甲酸甲酯代替对甲基苯甲酸, 在第八步用二氟乙酸代替二氟丙酸得白色固体 40。

ESI m/z $[M+H_2O]^+ = 498.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.73 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 8.29 (d, $J = 0.8$ Hz, 1 H), 8.23 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.57 (d, $J = 51.2$ Hz, 1 H), 6.00 (d, $J = 53.6$ Hz, 1 H), 4.78-4.67 (m, 2 H), 3.98-3.93 (m, 1 H), 3.61-3.55 (m, 1 H), 1.87-1.63 (m, 6 H), 1.35-1.23 (m, 2 H).

实施例 12: (化合物 47)

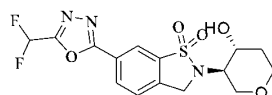


47

参考实施例 1 中化合物 20 的合成方法, 在第四步中用(3R,4R)-4-氨基-3-羟基四氢吡喃代替 1d', 得白色固体 47。

ESI m/z $[M+H]^+ = 387.9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.40 (s, 1H), 8.38-8.36 (m, 1 H), 7.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 7.70-7.44 (m, 1 H), 5.23 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H), 4.77 (d, $J = 15.6$ Hz, 1 H), 4.65 (d, $J = 15.6$ Hz, 1 H), 3.91-3.82 (m, 2 H), 3.69-3.57 (m, 2 H), 3.42-3.34 (m, 1 H), 3.15-3.09 (m, 1 H), 1.94-1.90 (m, 2 H).

实施例 13: (化合物 49)



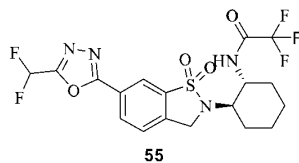
49

参考实施例 1 中化合物 20 的合成方法, 在第四步中用(3R,4R)-3-氨基-4-羟基四氢吡喃代替 1d', 得白色固体 49。

ESI m/z $[M+H]^+ = 387.9$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.40 (s, 1H), 8.38-8.36 (m, 1 H), 7.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 7.70-7.44 (m, 1 H), 5.23 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H), 4.77 (d, $J = 15.6$ Hz, 1 H), 4.65 (d, $J = 15.6$ Hz, 1 H), 3.91-3.82 (m, 2 H), 3.69-3.57 (m, 2 H), 3.42-3.34 (m, 1 H), 3.15-3.09 (m, 1 H), 1.94-1.90 (m, 2 H).

H), 3.91-3.82 (m, 2 H), 3.69-3.57 (m, 2 H), 3.42-3.34 (m, 1 H), 3.15-3.09 (m, 1 H), 1.94-1.90 (m, 2 H).

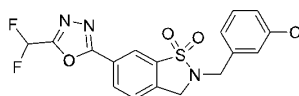
实施例 14: (化合物 55)



参考实施例 2 中化合物 **2** 的合成方法, 用三氟乙酸酐代替二氟乙酸酐, 得白色固体 **55**。

ESI m/z $[M-H]^- = 479.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.36 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.46 - 8.33 (m, 2H), 7.93 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 4.63 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 4.03 - 3.90 (m, 1H), 3.69 - 3.59 (m, 1H), 1.82 (d, $J = 17.0$ Hz, 4H), 1.73 (d, $J = 11.0$ Hz, 2H), 1.36 (d, $J = 10.4$ Hz, 2H).

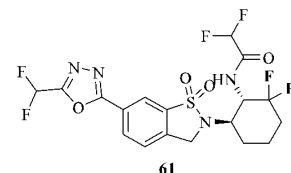
实施例 15: (化合物 60)



参考实施例 1 中化合物 **20** 的合成方法。用 3-氯苄胺代替 **1d'**, 得白色固体 **60**。

ESI m/z $[M-H]^- = 410.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.51 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.41 (dd, $J = 8.1$, 1.6 Hz, 1H), 7.90 - 7.86 (m, 1H), 7.75 - 7.45 (m, 5H), 4.54 (s, 2H), 4.53 (s, 2H).

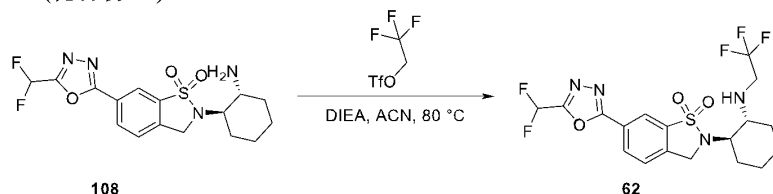
实施例 16: (化合物 61)



参考实施例 1 中化合物 **1** 的合成方法。在第四步中用 **7e** 代替 **1d'**, 在第八步中用二氟乙酸代替二氟丙酸得白色固体 **61**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 499.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.28 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 8.44 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.39 (dd, $J = 8.1$, 1.6 Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 6.19 (t, $J = 53.7$ Hz, 1H), 4.78 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 4.74 - 4.62 (m, 1H), 4.57 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 3.77 (td, $J = 11.7$, 3.9 Hz, 1H), 2.26 - 1.99 (m, 3H), 1.87 (d, $J = 13.1$ Hz, 2H), 1.64 - 1.48 (m, 1H).

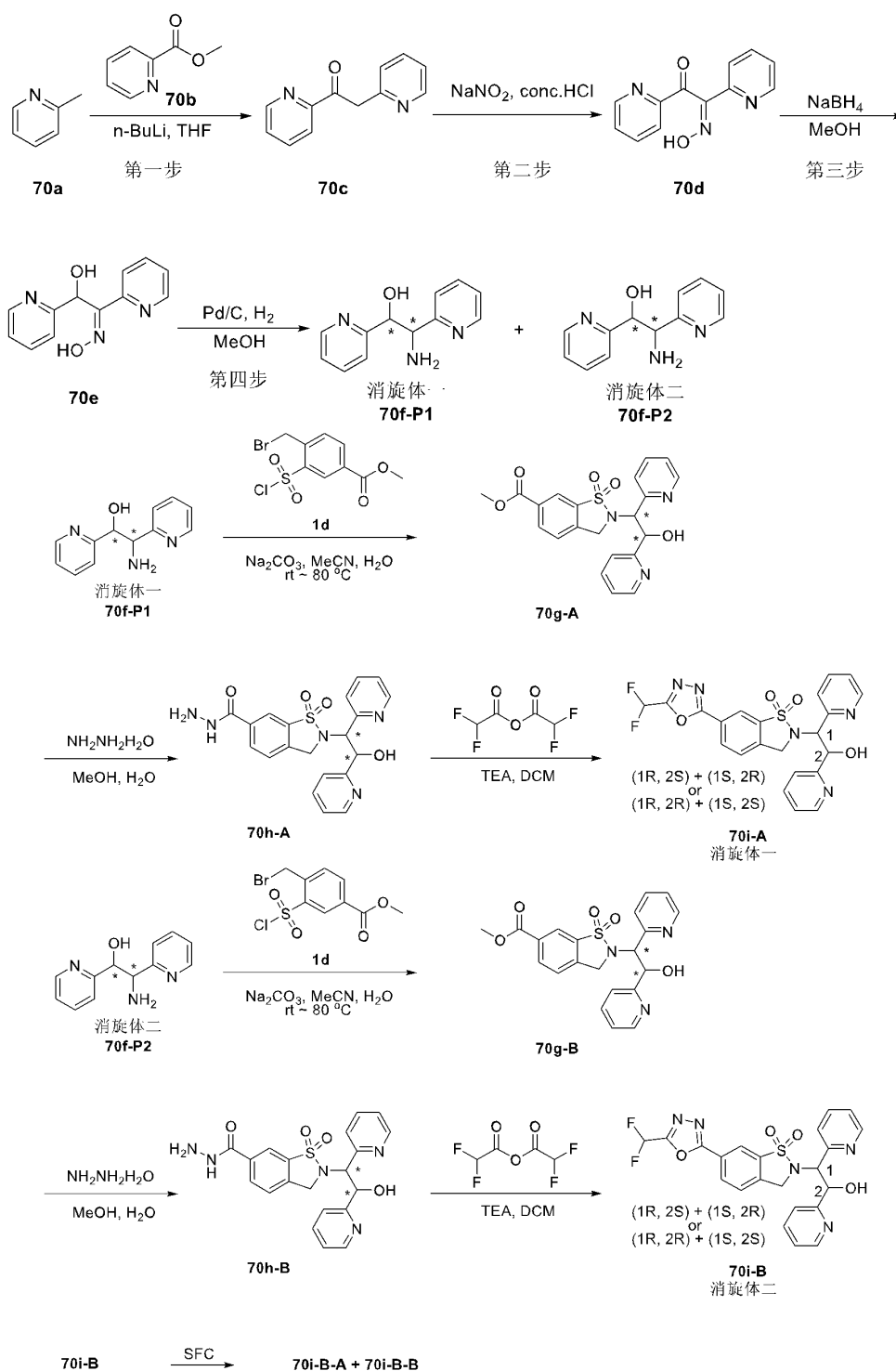
实施例 17: (化合物 62)



向化合物 **108** (100 mg, 0.65 mmol) 的乙腈 (2 mL) 溶液中, 在 25 °C 下的搅拌状态下, 加入 N,N-二异丙基乙胺 (100 mg, 0.78 mmol) 和 2,2,2-三氟乙基三氟甲磺酸酯 (91 mg, 0.39 mmol), 随后在 80 °C 下反应 16 小时。反应液经反相柱层析得到白色固体 **62** (50 mg, 41%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 467.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.45 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.40 (dd, $J = 8.1$, 1.6 Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 4.75 - 4.61 (m, 2H), 3.48 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.28 (s, 1H), 2.79 - 2.66 (m, 1H), 2.48 - 2.34 (m, 1H), 2.14 - 2.02 (m, 1H), 1.91 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 1.72 (s, 3H), 1.38 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 1.23 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 1.03 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H).

实施例 18: (化合物 70i-A, 70i-B, 70i-B-A, 70i-B-B)



1. (化合物 70c)

- 5 -78 °C 下, 向化合物 70a (2.34 g, 25.25 mmol) 的四氢呋喃(40 mL)溶液中加入正丁基锂(16.8 mL, 1.5 M in THF), 此温度下搅拌 1 小时。然后慢慢滴加化合物 70b (3.46 g, 25.25 mmol) 的四氢呋喃(20 mL) 溶液。在此温度下搅拌 3 小时, 再升到室温后搅拌过夜。稀盐酸淬灭反应, 二氯甲烷萃取, 浓缩、柱层析分离得白色固体化合物 70c (2.0g, 40%)。

2. (化合物 70d)

0 °C 下, 向盐酸(6 M, 20 mL)中加入化合物 70c (1.94 g, 9.78 mmol), 缓慢加入亚硝酸钠(1.69 g, 24.5 mmol)的水溶液(5 mL)。室温搅拌 2 小时。二氯甲烷萃取, 浓缩、柱层析分离得到黄色固体 70d (1.51 g, 68%)。

3. (化合物 70e)

0 °C 下, 向化合物 70d (1.51 g, 6.68 mmol)的甲醇(40 mL)溶液中加入硼氢化钠(304 mg, 8 mmol)。搅拌 2 小时。水洗, 二氯甲烷萃取, 浓缩得到黄色固体 70e (1.5 g, 98%)。

4. (化合物 70f-P1、70f-P2)

将化合物 70e (1.5 g, 6.5 mmol)和 Pd/C (750 mg, 10%)的甲醇(200 mL)溶液在 70 °C 氢气氛围(4.0 MPa)下搅拌 2 天。过滤, 滤液经柱层析分离得黄色油状物 70f-P1 (400 mg, 27%)和 70f-P2 (400 mg, 27%)

70f-P1: ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.51-8.47 (m, 2 H), 7.79-7.68 (m, 2 H), 7.46 (d, $J=10.4$ Hz, 1 H), 4.79 (d, $J=10.4$ Hz, 1 H), 7.26-7.20 (m, 2 H), 5.47 (s, 1 H), 4.91 (d, $J=4.8$ Hz, 1 H), 4.25 (d, $J=5.2$ Hz, 1 H), 1.94 (s, 2 H)。

70f-P2: ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.48-8.41 (m, 2 H), 7.68-7.59 (m, 2 H), 7.23-7.15 (m, 4 H), 5.46 (s, 1 H), 4.79 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 4.19 (d, $J=6.4$ Hz, 1 H), 2.04 (s, 2 H)。

5. (化合物 70i-A)

参考实施例 1 中化合物 20 的合成路线。用化合物 70f-P1 代替 1d', 得白色固体 70i-A, 为消旋体。

ESI m/z $[\text{M}+\text{H}]^+ = 485.9$ 。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.51-8.47 (m, 2 H), 8.35-8.33 (m, 2 H), 7.93 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.70-7.43 (m, 4 H), 7.24-7.18 (m, 3 H), 5.96 (d, $J=5.6$ Hz, 1 H), 5.61-5.58 (m, 1 H), 5.44 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 5.14-5.01 (m, 2 H)。

6. (化合物 70i-B)

参考实施例 1 中化合物 20 的合成路线。用化合物 70f-P2 代替 1d', 得白色固体 70i-B, 为消旋体。

ESI m/z $[\text{M}+\text{H}]^+ = 485.9$ 。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.58 (d, $J=4.0$ Hz, 1 H), 8.38 (d, $J=4.4$ Hz, 1 H), 8.30-8.28 (m, 1 H), 8.24 (s, 1 H), 7.89 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.80-7.74 (m, 2 H), 7.66-7.40 (m, 3 H), 7.37-7.31 (m, 1 H), 7.22-7.19 (m, 1 H), 6.99 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 5.47-5.44 (m, 1 H), 5.18 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 5.14-5.02 (m, 2 H)。

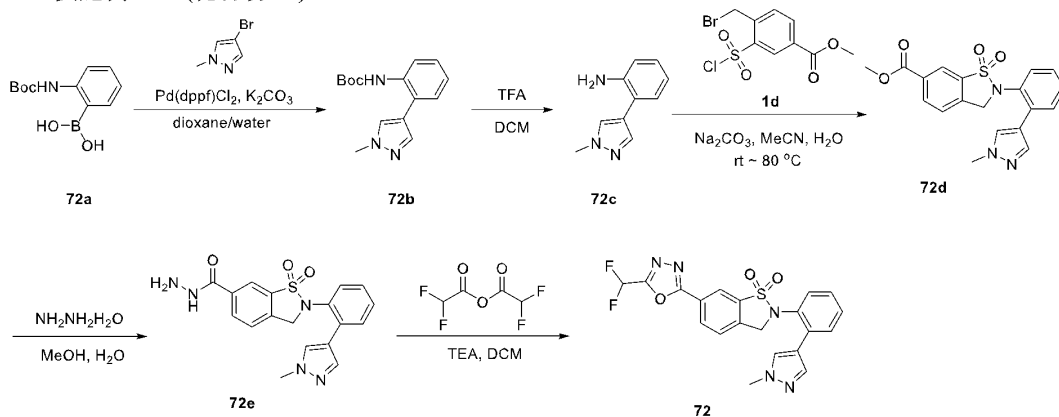
7. (化合物 70i-B-A, 70i-B-B)

化合物 70i-B (240 mg, 0.49 mmol)经手性拆分(柱: IC, 流动相: Hex/EtOH/TFA 50/50/0.3, 流速: 25 mL/min, 检测波长: 254 nm)得白色固体化合物 70i-B-A (保留时间: 21.264 分钟, 50 mg, 21%)和化合物 70i-B-B (保留时间: 29.823 分钟, 50 mg, 21%), 均为手性纯化合物。

70i-B-A: ESI m/z $[\text{M}+\text{H}]^+ = 486.0$ 。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.59 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.29 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.89(d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.80-7.74(m, 2 H), 7.66-7.63(m, 1 H), 7.53-7.41(m, 2 H), 7.33(m, 1 H), 7.23(m, 1 H), 6.03(s, 1 H), 5.47 (d, $J=7.2$ Hz, 1 H), 5.19-5.00 (m, 3 H)。

70i-B-B: ESI m/z $[\text{M}+\text{H}]^+ = 485.9$ 。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.58 (d, $J=4.0$ Hz, 1 H), 8.38 (d, $J=4.4$ Hz, 1 H), 8.30-8.28 (m, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.89(d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.80-7.75(m, 2 H), 7.66-7.41(m, 3 H), 7.34-7.31(m, 1 H), 7.23-7.20(m, 1 H), 6.01(s, 1 H), 5.46(d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 5.20-5.02 (m, 3 H)。

实施例 19: (化合物 72)



1. (化合物 72b)

将化合物 72a (1 g, 6.21 mmol)、4-溴-1-甲基-1H-吡唑(1.98 g, 6.21 mmol)、碳酸钾(2.57 g, 18.6 mmol)和 1,1'-双二苯基膦二茂铁二氯化钯(0.55 g, 0.75 mmol)加入二氧六环(5 mL)和水(1 mL)的混合溶液中, 在 80 °C 搅拌状态下反应 16 小时。将反应液倒入水中, 用二氯甲烷萃取, 浓缩, 柱层析纯化得到白色固体 72b (900 mg, 53%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 274.1$ 。

2. (化合物 72c)

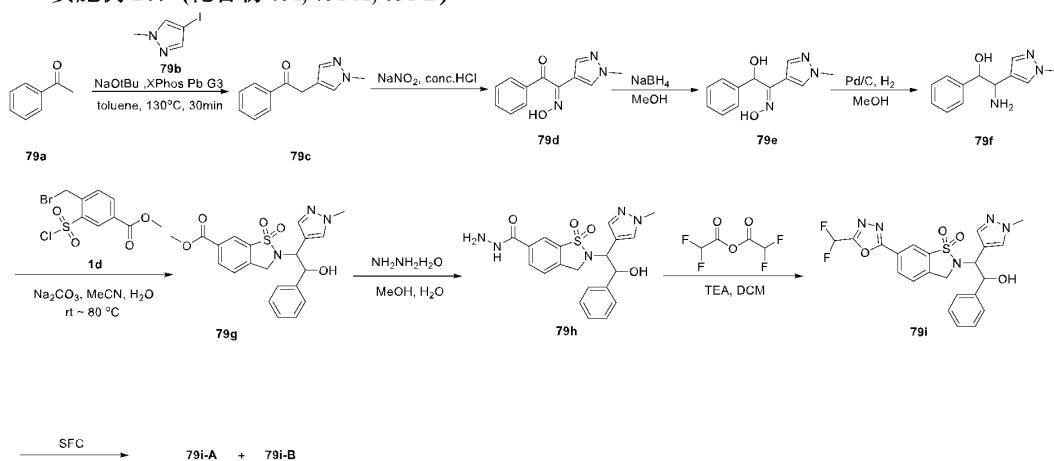
将化合物 72b (500 mg, 2.12 mmol)加入二氯甲烷(5 mL)溶液中, 在搅拌状态下加入三氟乙酸(2 mL)反应 2 小时。反应液经浓缩得到黄色油状物 72c (300 mg, 95%)。

3. (化合物 72)

参考实施例 1 中化合物 20 的合成路线。用化合物 72c 代替 1d', 经 3 步反应, 合成得白色固体 72。

ESI m/z $[M+H]^+ = 444.2$ 。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.61 - 8.57 (m, 1H), 8.46 (dd, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.77 - 7.61 (m, 3H), 7.54 (td, *J* = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 7.43 (td, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 4.83 (s, 2H), 3.81 (s, 3H)。

实施例 20: (化合物 79i, 79i-A, 79i-B)



1. (化合物 79c)

将化合物 79a (2 g, 16.6 mmol)、叔丁醇钠(3.8 g, 39.6 mmol)和 XPhosPd-G3 (1.41 g, 1.66 mmol)在甲苯(20 mL)中的混合物在氮气保护下搅拌 30 分钟, 再加入化合物 79b (3.8 g, 18.2 mmol), 130 °C 微波反应 30 分钟。水洗, 乙酸乙酯萃取, 有机相经浓缩, 柱层析分离得到棕色固体 79c (1.05 g, 32%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 201.0$ 。

2. (化合物 79f)

参考实施例 18 中 70f 的合成路线, 用 79c 代替 70c, 经 3 步反应合成得到 79f。79f 的异构体未分离, 将混合物用于下一步反应。

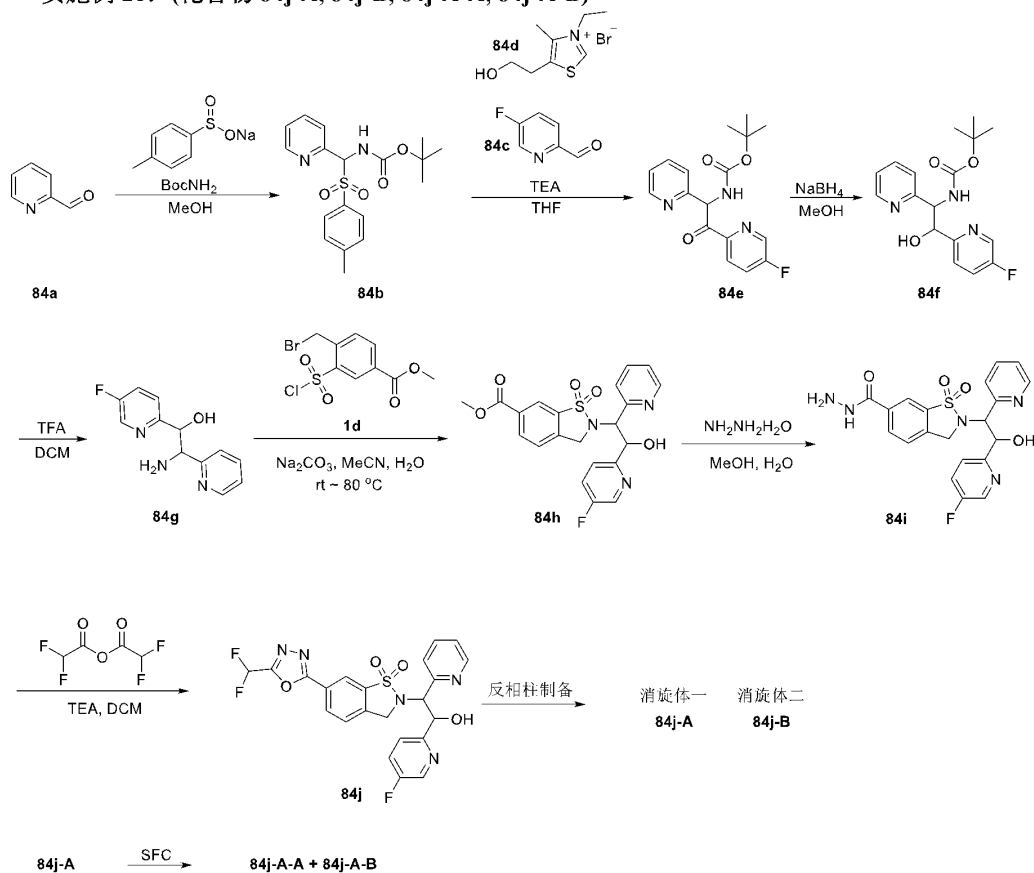
3. (化合物 79i, 79i-A, 79i-B)

参考实施例 18 中化合物 70i-A 的合成条件, 用 79f 代替 70f-P1, 经 3 步反应合成得到混合物 79i, 经手性拆分(柱: IBN, 流动相: Hex/EtOH 50/50, 流速: 25 mL/min, 检测波长: 254 nm)得白色固体 79i-A (异构体 A, 保留时间: 15.494 分钟)和 79i-B (异构体 B, 保留时间: 18.437 分钟), 均为手性纯化合物, 同时还分离得到另外两个收率较低的异构体 79i-C (保留时间: 29.632 分钟)和 79i-D (保留时间: 35.885 分钟)。

79i-A (异构体 A): ESI m/z $[M+H]^+ = 488.0$ 。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.38 (s, 1 H), 8.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 7.84 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 7.72 (s, 1 H), 7.69-7.44 (m, 2 H), 7.35-7.33 (m, 2 H), 7.28-7.25 (m, 2 H), 7.19-7.18 (m, 1 H), 6.01 (d, *J* = 4.8 Hz, 1 H), 5.25-5.23 (m, 1 H), 4.98 (d, *J* = 4.0 Hz, 1 H), 4.89 (d, *J* = 16.0 Hz, 1 H), 4.37 (d, *J* = 16.4 Hz, 1 H), 3.74 (s, 3 H)。

79i-B (异构体 B): ESI m/z $[M+H]^+ = 488.0$ 。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.38 (s, 1 H), 8.33-8.31 (m, 1 H), 7.84 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 7.72 (s, 1 H), 7.69-7.44 (m, 2 H), 7.35-7.34 (m, 2 H), 7.28-7.25 (m, 2 H), 7.19-7.18 (m, 1 H), 6.02 (d, *J* = 4.4 Hz, 1 H), 5.26-5.23 (m, 1 H), 4.98 (d, *J* = 4.4 Hz, 1 H), 4.89 (d, *J* = 16.0 Hz, 1 H), 4.37 (d, *J* = 16.0 Hz, 1 H), 3.74 (s, 3 H)。

实施例 21: (化合物 84j-A, 84j-B, 84j-A-A, 84j-A-B)



1. (化合物 84b)

向氨基甲酸叔丁酯(1.09 g, 9.3 mmol)和对甲苯磺酸钠(2.5 g, 14.0 mmol)的水溶液(14 mL)中缓慢加入化合物 84a (1.0 g, 9.3 mmol)的甲醇溶液(7 mL), 室温搅拌半小时, 再加入甲酸(0.72 mL)。室温搅拌 3 天, 反应液直接过滤, 滤饼经水洗干燥得到白色固体 **84b** (1.7 g, 50%)。

2. (化合物 84e)

向化合物 **84c** (125 mg, 4.47 mmol)、化合物 **84b** (1.7 g, 4.7 mmol)和化合物 **84d** (226 mg, 0.89 mmol)在四氢呋喃(20 mL)的溶液中加入三乙胺(7.1 g, 70.3 mmol), 60°C 下氮气保护搅拌 16 小时。反应液冷却至零度, 经饱和氯化铵处理, 乙酸乙酯萃取, 硫酸钠干燥, 柱层析分离得白色固体 **84e** (1.05 g, 70%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 332.1$ 。

3. (化合物 84f)

向化合物 **84e** (1.84 g, 5.55 mmol)在甲醇(40 mL)的溶液中缓慢加入硼氢化钠(253 mg, 6.67 mmol), 零度搅拌 1 小时。加少量水淬灭过量硼氢化钠, 反应液经直接浓缩, 柱层析分离得黄色固体 **84f** (1.75 g, 94%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 334.1$ 。

4. (化合物 84g)

向化合物 **84f** (750 mg, 2.25 mmol)在二氯甲烷(10 mL)的溶液中缓慢加入三氟乙酸(5 mL), 室温搅拌 1 小时。反应液直接浓缩得黄色油状物 **84g** (781 mg, 三氟乙酸盐)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 234.1$ 。

5. (化合物 84j-A, 84j-B)

参考实施例 1 中化合物 **20** 的合成路线。用化合物 **84g** 代替 **1d'**, 最后合成得到 **84j**, 经反相制备分离非对映异构体得白色固体 **84j-A** 与 **84j-B**。

84j-A (异构体 A): ESI m/z $[M+H]^+ = 504.0$ 。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.60 (d, $J=4.0$ Hz, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 8.30-8.28 (m, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.89 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.82-7.78 (m, 1 H), 7.72-7.70 (m, 2 H), 7.66-7.36 (m, 2 H), 7.34-7.32 (m, 1 H), 6.03 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 5.52-5.48 (m, 1 H), 5.12 (d,

$J=8.8$ Hz, 1 H), 5.09-4.98 (m, 2 H).

84j-B (异构体 B): ESI m/z $[M+H]^+ = 503.9$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.53-8.47 (m, 2 H), 8.35-8.33 (m, 2 H), 7.93-7.91 (m, 1 H), 7.71-7.43 (m, 4 H), 7.27-7.21 (m, 2 H), 6.08 (d, $J=5.2$ Hz, 1 H), 5.67-5.64 (m, 1 H), 5.38 (d, $J=5.6$ Hz, 1 H), 5.10-4.99 (m, 2 H).

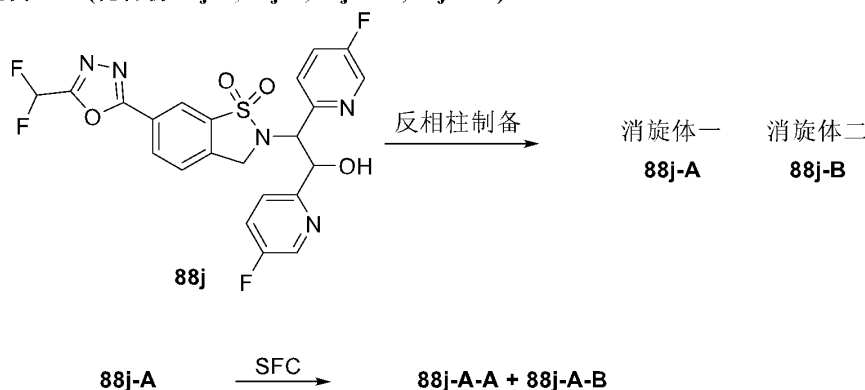
5 6. (化合物 **84j-A-A**, **84j-A-B**)

化合物 **84j-A** (100 mg)经手性拆分(柱: IC, 流动相: Hex/EtOH/TFA 40/60/0.3, 流速: 25 mL/min, 检测波长: 254 nm)得白色固体化合物 **84j-A-A** (保留时间: 15.293 分钟, 30 mg, 30%)和化合物 **84j-A-B** (保留时间: 21.500 分钟, 30 mg, 30%), 均为手性纯化合物。

10 **84j-A-A** (异构体 A-A): ESI m/z $[M+H]^+ = 504.0$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.60 (d, $J=4.0$ Hz, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 8.30-8.28 (m, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.88 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.82-7.77 (m, 1 H), 7.72-7.70 (m, 2 H), 7.66-7.41 (m, 2 H), 7.35-7.32 (m, 1 H), 6.03 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 5.52-5.48 (m, 1 H), 5.11 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 5.09-4.98 (m, 2 H).

15 **84j-A-B**(异构体 A-B): ESI m/z $[M+H]^+ = 504.0$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.60 (d, $J=4.0$ Hz, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 8.30-8.28 (m, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.89 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.82-7.78 (m, 1 H), 7.72-7.70 (m, 2 H), 7.66-7.41 (m, 2 H), 7.35-7.32 (m, 1 H), 6.03 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 5.52-5.48 (m, 1 H), 5.13-4.98 (m, 3 H).

实施例 22: (化合物 **88j-A**, **88j-B**, **88j-A-A**, **88j-A-B**)



20 1. (化合物 **88j-A**, **88j-B**)

参考实施例 21 中化合物 **84j** 的合成路线。用化合物 5-氟吡啶-2-甲醛代替 **84a**, 最后经反相制备分离非对映异构体得白色固体 **88j-A** 与 **88j-B**。

88j-A (异构体 A): ESI m/z $[M+H]^+ = 521.9$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.59 (d, $J=3.2$ Hz, 1 H), 8.37 (d, $J=1.6$ Hz, 1 H), 8.31-8.29 (m, 1 H), 8.26 (s, 1 H), 7.88 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.77-7.70 (m, 3 H), 7.67-7.41 (m, 2 H), 6.02 (d, $J=5.6$ Hz, 1 H), 5.49-5.45 (m, 1 H), 5.17 (d, $J=8.8$ Hz, 1 H), 5.07-4.96 (m, 2 H).

25 **88j-B** (异构体 B): ESI m/z $[M+H]^+ = 522.1$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.51 (d, $J=3.2$ Hz, 1 H), 8.47 (d, $J=2.8$ Hz, 1 H), 8.36-8.34 (m, 2 H), 7.94 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.69-7.43 (m, 4 H), 7.35-7.32 (m, 1 H), 6.10 (d, $J=5.2$ Hz, 1 H), 5.62-5.59 (m, 1 H), 5.42 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 5.09-4.99 (m, 2 H).

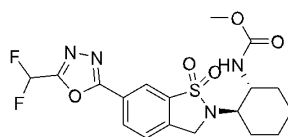
2. (化合物 **88j-A-A**, **88j-A-B**)

30 化合物 **88j-A** (100 mg)经手性拆分(柱: IC, 流动相: Hex/EtOH/TFA 40/60/0.3, 流速: 25 mL/min, 检测波长: 254 nm)。得白色固体化合物 **88j-A-A** (保留时间: 10.727 分钟, 30 mg, 30%)和化合物 **88j-A-B** (保留时间: 17.608 分钟, 20 mg, 20%), 均为手性纯化合物。

88j-A-A (异构体 A-A): ESI m/z $[M+H]^+ = 521.9$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.59 (d, $J=2.8$ Hz, 1 H), 8.37 (d, $J=1.6$ Hz, 1 H), 8.31-8.29 (m, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.88 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.76-7.69 (m, 3 H), 7.66-7.41 (m, 2 H), 6.01 (d, $J=5.6$ Hz, 1 H), 5.48-5.44 (m, 1 H), 5.16 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 5.06-4.95 (m, 2 H).

35 **88j-A-B** (异构体 A-B): ESI m/z $[M+H]^+ = 521.9$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.59 (d, $J=2.4$ Hz, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 8.31-8.29 (m, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.88 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.76-7.69 (m, 3 H), 7.66-7.41 (m, 2 H), 6.02 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 5.48-5.44 (m, 1 H), 5.17 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 5.06-4.95 (m, 2 H).

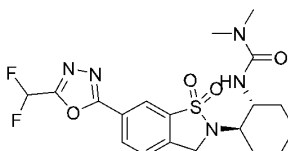
实施例 23: (化合物 **92**)



参考实施例 4 中化合物 **4** 的合成方法, 用氯甲酸甲酯代替环丙基磺酰氯得白色固体 **92**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 443.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.38-8.34 (m, 2H), 7.98 (d, $J=4$ Hz, 1H), 7.57 (t, 1H), 7.03 (d, $J=4.2$ Hz, 1H), 4.68 (s, 1H), 3.50-3.45 (m, 2H) 3.31 (s, 3H), 1.89-1.70 (m, 5H), 1.51-1.49 (m, 1H), 1.28-1.24 (m, 2H).

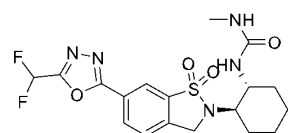
实施例 24: (化合物 **93**)



参考实施例 4 中化合物 **4** 的合成方法, 用二甲氨基甲酰氯代替环丙基磺酰氯得白色固体 **93**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 456.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.37-8.33 (m, 2H), 7.87 (d, $J=4$ Hz, 1H), 7.57 (t, 1H), 5.99 (d, $J=3.6$ Hz, 1H), 4.65 (s, 1H), 3.76-3.73 (m, 1H), 3.57-3.56 (m, 1H), 2.63 (s, 6H), 1.85-1.70 (m, 5H), 1.55-1.52 (m, 1H), 1.30-1.24 (m, 2H).

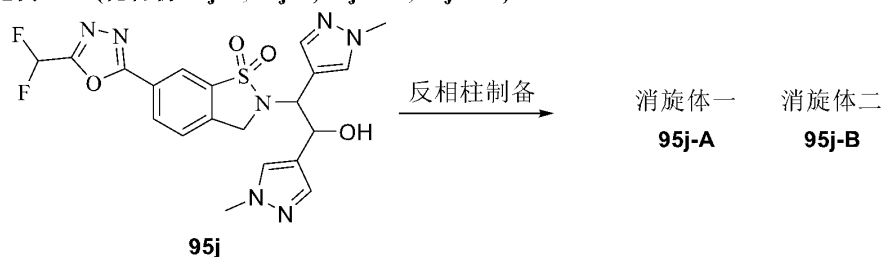
实施例 25: (化合物 **94**)



参考实施例 4 中化合物 **4** 的合成方法, 用甲氨基甲酰氯代替环丙基磺酰氯得白色固体 **94**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 442.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.39-8.35 (m, 2H), 7.91 (d, $J=8$ Hz, 1H), 7.59 (t, 1H), 5.77 (d, $J=12$ Hz, 1H), 4.64 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 4.71 (dd, $J=10$ Hz, 2H), 3.76-3.73 (m, 1H), 3.45-3.37 (m, 1H), 2.39 (d, $J=6$ Hz, 3H), 1.91-1.88 (m, 2H), 1.75-1.72 (m, 3H), 1.34-1.30 (m, 3H).

实施例 26: (化合物 **95j-A**, **95j-B**, **95j-B-A**, **95j-B-B**)



1. (化合物 **95j-A**, **95j-B**)

参考实施例 21 中化合物 **84j** 的合成路线。用 1-甲基吡啶 4-甲醛代替 **84a** 和 **84c**, 最后合成得到 **95j**, 经反相制备分离非对映异构体得白色固体 **95j-A** 与 **95j-B**。

95j-A (异构体 A): ESI m/z $[M+H]^+ = 492.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.44 (s, 1 H), 8.34 (dd, $J_1=1.2$ Hz, $J_2=8.0$ Hz, 1 H), 7.73 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.70 (s, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 7.56 (s, 1 H), 7.46 (s, 1 H), 7.36-7.10 (m, 1 H), 5.52 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 5.04 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 4.83 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 4.45 (d, $J=15.6$ Hz, 1 H), 3.81 (s, 6 H).

95j-B (异构体 B): ESI m/z $[M+H]^+ = 492.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.44 (s, 1 H), 8.34 (dd, $J_1=1.2$ Hz, $J_2=8.0$ Hz, 1 H), 7.78 (s, 1 H), 7.72 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.64 (s, 1 H), 7.49 (s, 1 H), 7.36 (s, 1 H), 7.35-7.10 (m, 1 H), 5.34 (d, $J=5.2$ Hz, 1 H), 5.03 (d, $J=5.2$ Hz, 1 H), 4.77 (d, $J=5.2$ Hz, 1 H), 4.39 (d, $J=15.6$ Hz, 1 H), 3.84 (s, 3 H), 3.79 (s, 3 H).

2. (化合物 **95j-B-A**, **95j-B-B**)

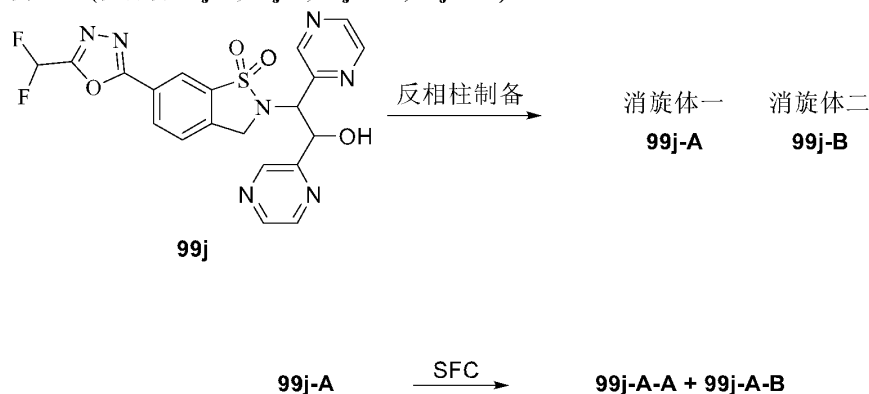
化合物 **95j-B** (40 mg) 经手性拆分(柱: IE, 流动相: MeOH/EtOH 50/50, 流速: 25 mL/min, 检测

波长: 214 nm), 得白色固体化合物 **95j-B-A** (保留时间: 12.459 分钟, 20 mg, 50%) 和化合物 **95j-B-B** (保留时间: 15.560 分钟, 20 mg, 50%), 均为手性纯化合物。

95j-B-A (异构体 B-A): ESI m/z $[M+H]^+ = 492.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.44 (s, 1 H), 8.34 (dd, $J_1=1.6$ Hz, $J_2=8.4$ Hz, 1 H), 7.78 (s, 1 H), 7.72 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.64 (s, 1 H), 7.49 (s, 1 H), 7.36 (s, 1 H), 7.35-7.10 (m, 1 H), 5.34 (d, $J=4.8$ Hz, 1 H), 5.04 (d, $J=4.8$ Hz, 1 H), 4.80 (d, $J=4.8$ Hz, 1 H), 4.39 (d, $J=15.6$ Hz, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 3.79 (s, 3 H).

95j-B-B (异构体 B-B): ESI m/z $[M+H]^+ = 492.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.44 (s, 1 H), 8.34 (dd, $J_1=1.6$ Hz, $J_2=8.4$ Hz, 1 H), 7.78 (s, 1 H), 7.72 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.64 (s, 1 H), 7.49 (s, 1 H), 7.36 (s, 1 H), 7.35-7.10 (m, 1 H), 5.34 (d, $J=4.8$ Hz, 1 H), 5.03 (d, $J=4.8$ Hz, 1 H), 4.78 (d, $J=4.8$ Hz, 1 H), 4.40 (d, $J=15.6$ Hz, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 3.79 (s, 3 H).

实施例 27: (化合物 **99j-A**, **99j-B**, **99j-A-A**, **99j-A-B**)



1. (化合物 **99j-A**, **99j-B**)

参考实施例 21 中化合物 **84j** 的合成路线。用 2-吡啶甲醛代替 **84a** 和 **84c**, 最后经反相制备分离非对映异构体得白色固体 **99j-A** 与 **99j-B**。

99j-A (异构体 A): ESI m/z $[M+H]^+ = 488.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.92 (s, 1 H), 8.83 (d, $J=1.2$ Hz, 1 H), 8.70 (s, 1 H), 8.63 (d, $J=2.4$ Hz, 1 H), 8.52-8.48 (m, 2 H), 8.32-8.30 (m, 1 H), 8.26 (s, 1 H), 7.88 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.66-7.41 (m, 1 H), 6.24 (d, $J=5.6$ Hz, 1 H), 5.54-5.50 (m, 1 H), 5.36 (d, $J=9.2$ Hz, 1 H), 5.03 (s, 2 H).

99j-B (异构体 B): ESI m/z $[M+H]^+ = 488.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.81 (s, $J=1.2$ Hz, 1 H), 8.64 (d, $J=1.2$ Hz, 1 H), 8.59-8.50 (m, 4 H), 8.37-8.35 (m, 2 H), 7.93 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.68-7.43 (m, 1 H), 6.39 (d, $J=5.2$ Hz, 1 H), 5.73-5.70 (m, 1 H), 5.56 (d, $J=5.6$ Hz, 1 H), 5.15-5.05 (s, 2 H).

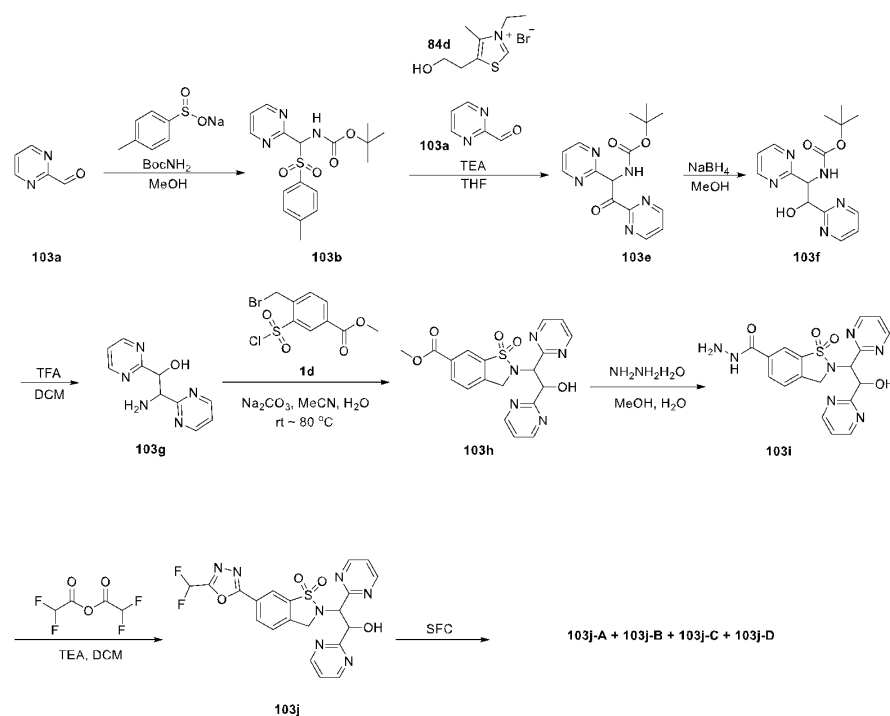
2. (化合物 **99j-A-A**, **99j-A-B**)

化合物 **99j-A** (100 mg) 经手性拆分(柱: IH, 流动相: MeOH/EtOH/TFA 50/50/0.3, 流速: 25 mL/min, 检测波长: 254 nm) 得白色固体化合物 **99j-A-A** (保留时间: 8.371 分钟, 35 mg, 35%) 和化合物 **99j-A-B** (保留时间: 11.741 分钟, 35 mg, 35%), 均为手性纯化合物。

99j-A-A (异构体 A-A): ESI m/z $[M+H]^+ = 488.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.92 (d, $J=1.2$ Hz, 1 H), 8.83 (d, $J=1.2$ Hz, 1 H), 8.70 (s, 1 H), 8.63 (d, $J=2.4$ Hz, 1 H), 8.52-8.48 (m, 2 H), 8.32-8.26 (m, 2 H), 7.88 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 7.66-7.41 (m, 1 H), 6.24 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 5.54-5.51 (m, 1 H), 5.36 (d, $J=9.2$ Hz, 1 H), 5.03 (s, 2 H).

99j-A-B (异构体 A-B): ESI m/z $[M+H]^+ = 488.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.93 (s, 1 H), 8.83 (d, $J=0.8$ Hz, 1 H), 8.70 (d, $J=2.0$ Hz, 1 H), 8.63 (d, $J=2.4$ Hz, 1 H), 8.52-8.48 (m, 2 H), 8.32-8.26 (m, 2 H), 7.88 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.66-7.41 (m, 1 H), 6.25 (d, $J=6.0$ Hz, 1 H), 5.55-5.51 (m, 1 H), 5.36 (d, $J=9.2$ Hz, 1 H), 5.04 (s, 2 H).

实施例 28: (化合物 **103j-A**, **103j-B**, **103j-C**, **103j-D**)



参考实施例 21 中化合物 84j 的合成路线。用 2-噻啉甲醛代替 84a 和 84c, 最后将得到的混合物 103j 经手性拆分(柱: IBN, 流动相: MeOH/DCM 90/10, 流速: 25 mL/min, 检测波长: 254 nm)得白色固体化合物 103j-A (保留时间: 9.214 分钟)、化合物 103j-B (保留时间: 12.041 分钟)、化合物 103j-C (保留时间: 13.807 分钟)和化合物 103j-D (保留时间: 18.648 分钟), 均为手性纯化化合物。

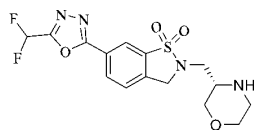
103j-A (异构体 A): ESI m/z [M+H]⁺ = 488.0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.78-8.75 (m, 4 H), 8.36-8.34 (m, 1 H), 8.31 (s, 1 H), 7.97 (d, *J*=8.4 Hz, 1 H), 7.68-7.43 (m, 1 H), 7.41-7.36 (m, 2 H), 5.94 (d, *J*=4.8 Hz, 1 H), 5.73-5.71 (m, 1 H), 5.53-5.48 (m, 2 H), 5.14 (d, *J*=16.4 Hz, 1 H).

103j-B (异构体 B): ESI m/z [M+H]⁺ = 488.0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.82-8.76 (m, 4 H), 8.32-8.30 (m, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.94 (d, *J*=8.0 Hz, 1 H), 7.67-7.38 (m, 3 H), 5.86 (d, *J*=6.0 Hz, 1 H), 5.51-5.42 (m, 2 H), 5.33 (d, *J*=16.0 Hz, 1 H), 5.06 (d, *J*=15.6 Hz, 1 H).

103j-C (异构体 C): ESI m/z [M+H]⁺ = 487.9. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.82-8.77 (m, 4 H), 8.31 (d, *J*=8.4 Hz, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.94 (d, *J*=8.0 Hz, 1 H), 7.67-7.38 (m, 3 H), 5.86 (d, *J*=6.4 Hz, 1 H), 5.51-5.42 (m, 2 H), 5.33 (d, *J*=16.0 Hz, 1 H), 5.06 (d, *J*=15.6 Hz, 1 H).

103j-D (异构体 D): ESI m/z [M+H]⁺ = 488.0. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.78-8.75 (m, 4 H), 8.36-8.34 (m, 1 H), 8.31 (s, 1 H), 7.97 (d, *J*=8.0 Hz, 1 H), 7.68-7.43 (m, 1 H), 7.41-7.36 (m, 2 H), 5.95 (d, *J*=4.8 Hz, 1 H), 5.73-5.71 (m, 1 H), 5.53-5.47 (m, 2 H), 5.13 (d, *J*=16.4 Hz, 1 H).

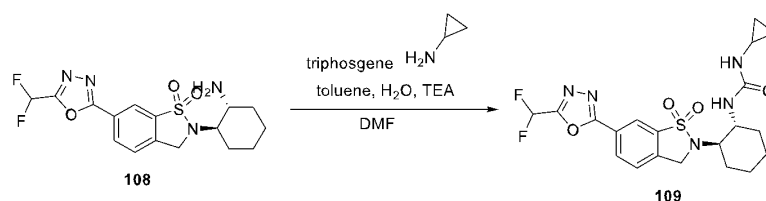
实施例 29: (化合物 107)



参考实施例 1 中化合物 108 的合成方法, 用(S)-N-Boc-3-氨基吗啡啉代替 1d', 得白色固体 107。

ESI m/z [M-H]⁻ = 387.1. ¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ 8.56 (s, 1H), 8.47 (dd, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.29 (t, *J* = 51.6 Hz, 1H), 4.75 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 4.63 (d, *J* = 14.9 Hz, 1H), 4.04 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H), 3.92 (dt, *J* = 12.2, 3.2 Hz, 1H), 3.69 (ddd, *J* = 12.3, 10.0, 2.8 Hz, 1H), 3.55 - 3.36 (m, 4H), 3.22 - 2.95 (m, 2H).

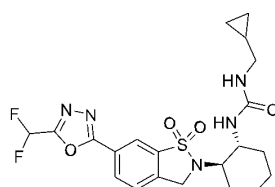
实施例 30: (化合物 109)



向环丙基胺(500 mg, 8.76 mmol)和三乙胺(2.66 g, 26.28 mmol)的甲苯(3 mL)与水(2 mL)的混合物中, 在零度下加入三光气(0.91 g, 3.07 mmol), 搅拌 2 小时。取上层甲苯相, 并加入到化合物 **108** (200 mg, 0.52 mmol)与三乙胺(130 mg, 1.3 mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)溶液中, 搅拌 2 小时。反应液经水洗, 反相柱层析分离得白色固体 **109** (30 mg, 12%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 468.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.41 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.37 (dd, $J = 8.1$, 1.6 Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 6.08 (s, 1H), 5.75 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 4.80 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 4.66 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 3.73 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 3.52 (t, $J = 10.2$ Hz, 1H), 2.23 (dd, $J = 7.0$, 4.0 Hz, 1H), 2.09 - 1.99 (m, 1H), 1.92 (d, $J = 13.1$ Hz, 2H), 1.75 (d, $J = 11.0$ Hz, 2H), 1.48 (d, $J = 11.7$ Hz, 2H), 0.46 (dt, $J = 12.4$, 7.5 Hz, 2H), 0.24 (dd, $J = 10.0$, 5.0 Hz, 1H), 0.18 - 0.08 (m, 1H).

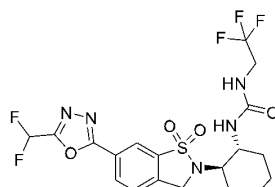
实施例 31: (化合物 110)



参考实施例 30 中化合物 **109** 的合成方法, 用环丙基胺代替环丙基胺, 得白色固体 **110**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 482.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.44 - 8.20 (m, 2H), 7.88 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.57 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 5.85 - 5.68 (m, 2H), 4.78 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 4.62 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 3.79 - 3.59 (m, 1H), 2.69 (td, $J = 6.3$, 4.7 Hz, 2H), 1.88 (d, $J = 11.7$ Hz, 2H), 1.71 (q, $J = 12.0$, 10.9 Hz, 3H), 1.45 - 1.19 (m, 4H), 0.64 - 0.53 (m, 1H), 0.10 (ddd, $J = 9.8$, 4.7, 2.7 Hz, 2H), -0.09 (dd, $J = 4.8$, 1.9 Hz, 2H).

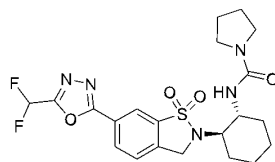
实施例 32: (化合物 111)



参考实施例 30 中化合物 **109** 的合成方法, 用三氟乙胺代替环丙基胺, 得白色固体 **111**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 510.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.41 (s, 1H), 8.38 (dd, $J = 8.1$, 1.6 Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.62 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 6.44 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 6.13 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 4.82 - 4.64 (m, 2H), 3.85 - 3.73 (m, 1H), 3.72 - 3.62 (m, 2H), 3.47 (dt, $J = 11.1$, 5.7 Hz, 1H), 1.99 - 1.88 (m, 2H), 1.76 (t, $J = 12.3$ Hz, 3H), 1.50 - 1.30 (m, 3H).

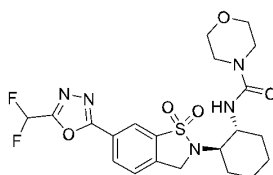
实施例 33: (化合物 112)



参考实施例 30 中化合物 **109** 的合成方法, 用四氢吡咯代替环丙基胺, 得白色固体 **112**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 482.3$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.40 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.36 (dd, $J = 8.1$, 1.6 Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 5.81 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 4.70 (q, $J = 15.6$ Hz, 2H), 3.75 (t, $J = 11.9$ Hz, 1H), 3.59 (td, $J = 11.1$, 10.7, 3.8 Hz, 1H), 3.12 (dt, $J = 9.4$, 6.1 Hz, 2H), 3.01 (dt, $J = 9.4$, 6.3 Hz, 2H), 1.87 (t, $J = 10.4$ Hz, 2H), 1.74 (q, $J = 11.3$, 10.1 Hz, 3H), 1.69 - 1.62 (m, 4H), 1.56 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 1.33 (t, $J = 10.5$ Hz, 2H).

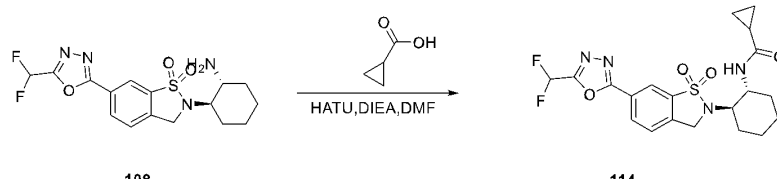
实施例 34: (化合物 113)



参考实施例 30 中化合物 **109** 的合成方法，用吗啡啉代替环丙基胺，得白色固体 **113**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 498.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.60 - 8.30 (m, 2H), 7.82 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.26 (t, $J = 51.6$ Hz, 1H), 6.28 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 4.73 - 4.60 (m, 2H), 3.98 - 3.80 (m, 1H), 3.63 (td, $J = 11.2, 4.1$ Hz, 1H), 3.51 - 3.36 (m, 4H), 3.23 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H), 2.01 (d, $J = 13.8$ Hz, 2H), 1.93 - 1.70 (m, 3H), 1.48 (q, $J = 13.8, 13.2$ Hz, 3H).

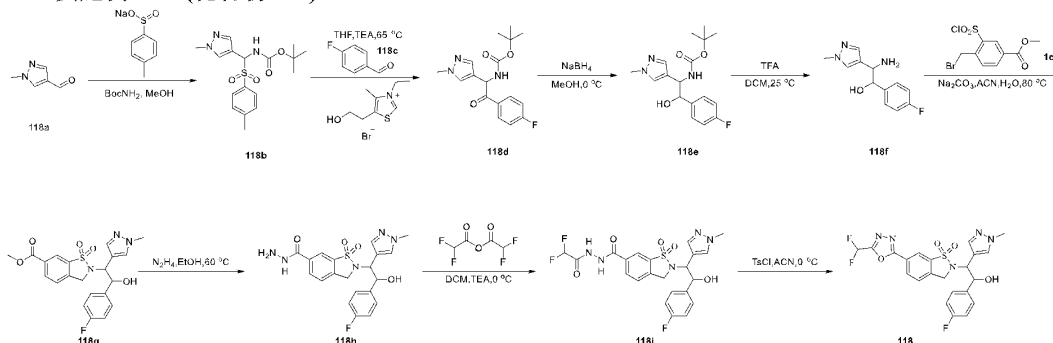
实施例 35: (化合物 **114**)



向环丙基羧酸(20 mg, 0.23 mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)的溶液中加入二异丙基乙基胺(90 mg, 0.70 mmol)和 HATU (90 mg, 0.24 mmol)。室温下搅拌 30 分钟，然后加入化合物 **108** (100 mg, 0.26 mmol)，搅拌过夜。反应液经过滤，反相柱层析分离得白色固体 **114** (30 mg, 28%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 453.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.44-8.31 (m, 2H), 7.98 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 4.80-4.53 (m, 2H), 4.00-3.82 (m, 1H), 3.49 (dd, $J = 11.3, 3.8$ Hz, 1H), 1.98-1.82 (m, 2H), 1.82-1.67 (m, 3H), 1.59-1.21 (m, 4H), 0.54 (dddd, $J = 20.3, 10.0, 7.3, 3.3$ Hz, 2H), 0.46-0.32 (m, 1H), 0.20 (ddt, $J = 9.8, 7.2, 3.9$ Hz, 1H).

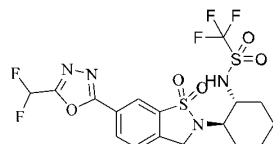
实施例 36: (化合物 **118**)



参考实施例 21 的合成方法，用 **118a** 代替 **84a**，用 **118c** 代替 **84c**，得到 **118**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 506.1$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.40 (s, 1H), 8.35 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.41 (dd, $J = 8.5, 5.5$ Hz, 2H), 7.11 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.09 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 5.26 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H), 5.06 - 4.83 (m, 2H), 4.40 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 3.79 (s, 3H).

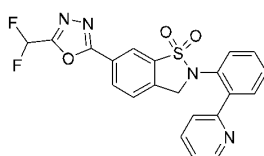
实施例 37: (化合物 **116**)



参考实施例 2 中化合物 **2** 的合成方法。用三氟甲磺酸酐代替二氟乙酸酐，得白色固体 **116**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 515.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.36 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.46 - 8.33 (m, 2H), 7.93 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 4.63 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 4.03 - 3.90 (m, 1H), 3.69 - 3.59 (m, 1H), 1.82 (d, $J = 17.0$ Hz, 4H), 1.73 (d, $J = 11.0$ Hz, 2H), 1.36 (d, $J = 10.4$ Hz, 2H).

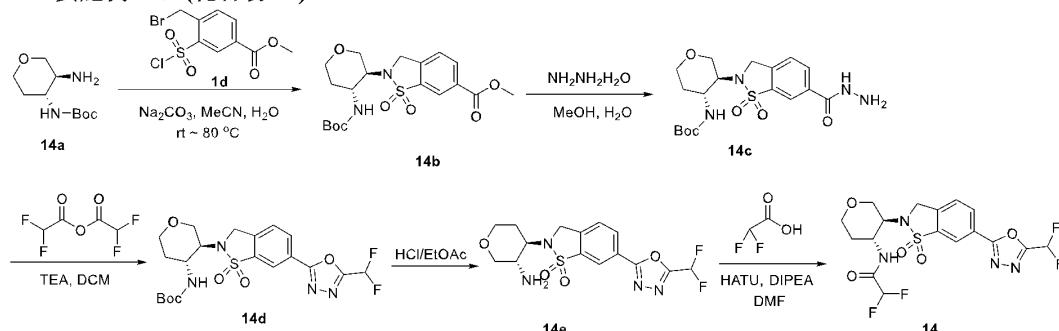
实施例 38: (化合物 **117**)



参考实施例 19 中化合物 **72** 的合成方法, 在第一步中用 2-溴吡啶代替 4-溴-1-甲基-1H-吡啶, 得白色固体 **117**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 441.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.60 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 8.47 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.41 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.80 - 7.74 (m, 4H), 7.69 - 7.64 (m, 2H), 7.54 (d, $J = 51.2$ Hz, 1H), 7.32 (ddd, $J = 6.7, 4.8, 1.7$ Hz, 1H), 4.98 (s, 2H).

实施例 39: (化合物 14)



1. (化合物 14e)

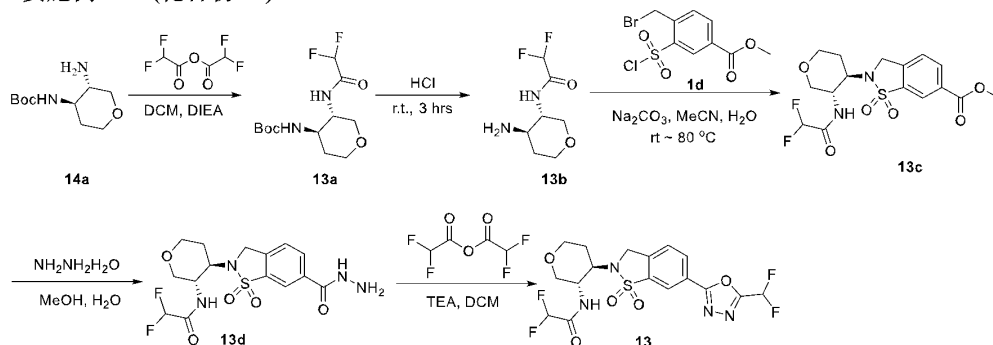
参考实施例 1 中化合物 **108** 的合成方法, 用 **14a** 代替 **1d'**, 经过四步反应, 合成得到白色固体 **14e**。

2. (化合物 14)

参考实施例 2 中化合物 **2** 的合成方法, 用化合物 **14e** 代替化合物 **108** 得到白色固体 **14**。

ESI m/z $[M-H]^- = 463.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.54 (s, 1H), 8.47 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.32 (t, $J = 51.7$ Hz, 1H), 5.95 (td, $J = 54.0, 3.3$ Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 4.43 (dt, $J = 10.5, 5.5$ Hz, 1H), 4.13 - 4.05 (m, 2H), 3.89 - 3.77 (m, 2H), 3.65 - 3.58 (m, 1H), 2.05 (ddd, $J = 18.9, 12.2, 6.6$ Hz, 3H).

实施例 40: (化合物 13)



1. (化合物 13a)

向化合物 **14a** (200 mg, 0.92 mmol) 的二氯甲烷溶液 (2 mL) 中加入二异丙基乙胺 (360 mg, 2.76 mmol)。搅拌五分钟, 在零度下滴加二氟乙酸酐 (240 mg, 1.38 mmol), 搅拌 2 小时。反应液经水处理, 乙酸乙酯萃取, 浓缩得无色油状物 **13a** (250 mg, 91%)。

ESI m/z $[M+H]^+ = 295.1$.

2. (化合物 13b)

向化合物 **13a** (250 mg, 0.85 mmol) 的二氯甲烷溶液中加入氯化氢二氧六环溶液 (1 mL, 4M)。室温搅拌 3 小时。反应液浓缩得无色油状物 **13b** (150 mg, 90%)。

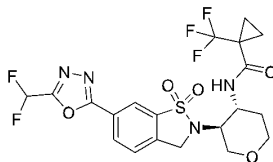
ESI m/z $[M+H]^+ = 195.1$.

3. (化合物 13)

参考实施例 1 中化合物 **20** 的合成方法。用 **13b** 代替 **1d'**, 得到白色固体 **13**。

ESI m/z $[M-H]^- = 463.2$. 1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 8.54 (s, 1H), 8.47 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.32 (t, $J = 51.7$ Hz, 1H), 5.95 (td, $J = 54.0, 3.3$ Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 4.43 (dt, $J = 10.5, 5.5$ Hz, 1H), 4.13 – 4.05 (m, 2H), 3.89 – 3.77 (m, 2H), 3.65 – 3.58 (m, 1H), 2.05 (ddd, $J = 18.9, 12.2, 6.6$ Hz, 3H).

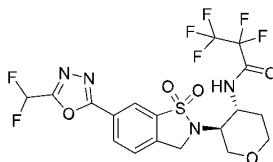
实施例 41: (化合物 **65**)



参考实施例 35 中化合物 **114** 的合成方法, 用化合物 **14e** 代替化合物 **108**, 用 1-三氟甲基环丙基甲酸代替环丙基甲酸, 得白色固体 **65**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 521.2$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.45 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.39 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 51.3$ Hz, 1H), 4.77 - 4.63 (m, 2H), 4.25 (dq, $J = 10.2, 5.3$ Hz, 1H), 3.87 (ddd, $J = 14.5, 10.6, 4.0$ Hz, 2H), 3.75 - 3.59 (m, 2H), 3.46 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 2.06 - 1.85 (m, 1H), 1.81 (dd, $J = 13.5, 4.6$ Hz, 1H), 1.41 - 1.32 (m, 1H), 1.19 - 1.12 (m, 1H), 1.08 (ddd, $J = 10.4, 8.7, 6.4$ Hz, 2H).

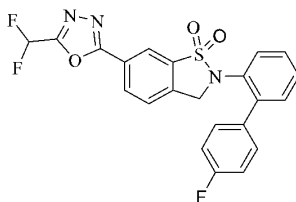
实施例 42: (化合物 **66**)



参考实施例 2 中化合物 **2** 的合成方法, 用化合物 **14e** 代替化合物 **108**, 用五氟丙酸酐代替二氟乙酸酐, 得白色固体 **66**。

ESI m/z $[M+H]^+ = 533.0$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.63 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.40 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J = 102.6$ Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 4.80 - 4.62 (m, 2H), 4.36 (s, 1H), 3.91 (dd, $J = 10.2, 4.6$ Hz, 2H), 3.84 - 3.67 (m, 2H), 3.50 (t, $J = 11.7$ Hz, 1H), 2.06 - 1.99 (m, 1H), 1.89 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H).

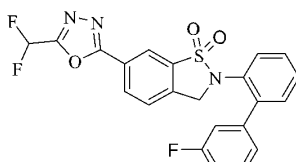
实施例 43: (化合物 **119**)



参考实施例 19 中化合物 **72** 的合成方法, 在第一步中用 4-溴-1-氟苯代替 4-溴-1-甲基-1H-吡唑, 得白色固体 **119**。ESI m/z $[M-H]^- = 456.2$

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.52 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.38 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.84 – 7.78 (m, 2H), 7.73 – 7.48 (m, 6H), 7.24 – 7.18 (m, 2H), 4.66 (s, 2H).

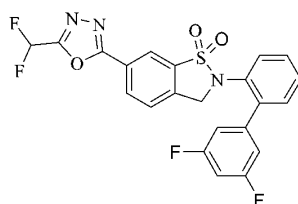
实施例 44: (化合物 **120**)



参考实施例 19 中化合物 **72** 的合成方法, 在第一步中用 3-溴-1-氟苯代替 4-溴-1-甲基-1H-吡唑, 得白色固体 **120**。

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.54 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.39 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.85 – 7.78 (m, 2H), 7.67 – 7.47 (m, 4H), 7.44 – 7.37 (m, 3H), 7.18 (tdd, $J = 9.2, 4.0, 2.2$ Hz, 1H), 4.68 (s, 2H).

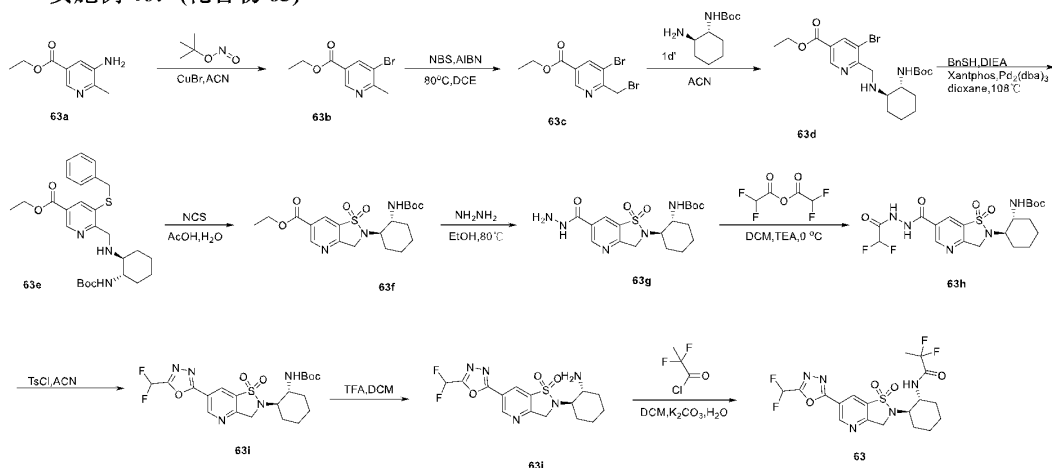
实施例 45: (化合物 **121**)



参考实施例 19 中化合物 72 的合成方法, 在第一步中用 5-溴-1,3-二氟苯代替 4-溴-1-甲基-1H-吡唑, 得白色固体 121。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.54 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 8.41 (dd, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.83 – 7.78 (m, 1H), 7.75 – 7.46 (m, 4H), 7.33 – 7.26 (m, 2H), 7.23 (tt, *J* = 9.4, 2.4 Hz, 1H), 4.78 (s, 2H).

实施例 46: (化合物 63)



1. (化合物 63b)

向反应瓶中加入化合物 63a (5 g, 27.75 mmol)、溴化亚铜(4.78 g, 33.3 mmol)和乙腈(100 mL)。降温至 0°C, 滴加亚硝酸叔丁酯(7.73 g, 74.93 mmol)。室温下搅拌两天。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩过硅胶柱(二氯甲烷/乙酸乙酯: 20-50%)得到类白色固体产物 63b (5 g, 73.83%)。MS *m/z* [M+H]⁺: 244.0。

2. (化合物 63c)

向反应瓶中加入化合物 63b (1.5 g, 6.15 mmol)、偶氮二异丁腈(0.1 g, 0.62 mmol)、N-溴代丁二酰亚胺(1.09 g, 6.15 mmol)和二氯乙烷(20 mL)。升温至 80°C, 搅拌过夜。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩并通过硅胶柱(二氯甲烷/乙酸乙酯: 30-80%)纯化, 得到黄色油状产物 63c (1.2 g, 60.46%)。MS *m/z* [M+H]⁺: 323.8

3. (化合物 63d)

向反应瓶中加入化合物 63c (1.2 g, 4.03 mmol)、化合物 1d' (1 g, 4.67 mmol)和乙腈(20 mL)。室温下搅拌 5 小时, LCMS 显示反应完全。反应液加入水(30 mL), 二氯甲烷(30 mL*2)萃取, 分液, 水洗, 饱和食盐水洗, 硫酸钠干燥, 浓缩并通过硅胶柱(二氯甲烷/乙酸乙酯: 50-90%)纯化, 得到类白色产物 63d (1 g, 产率: 54.44%)。MS *m/z* [M+H]⁺: 456.2。

4. (化合物 63e)

向反应瓶中加入化合物 63d (1 g, 2.19 mmol)、苄硫醇(0.5 g, 4.03 mmol)、N,N-二异丙基乙胺(0.8 g, 6.19 mmol), 4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(0.13 g, 0.22 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(0.20 g, 0.22 mmol)和二氧六环(20 mL)。氮气置换三次后, 升温至 106 °C 搅拌 16 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过硅胶柱(二氯甲烷/乙酸乙酯: 50-90%)纯化, 得到类白色产物 63e (400 mg, 产率: 36.53%)。MS *m/z* [M+H]⁺: 500.3。

5. (化合物 63f)

向反应瓶中加入化合物 63e (400 mg, 0.80 mmol)、N-氯代丁二酰亚胺(1070 mg, 8 mmol)、醋酸(3 mL)和水(1 mL)。室温下搅拌 3 小时。LCMS 显示反应完全。反应液加入水(20 mL), 用饱和碳酸钠溶液调节 pH=7-8, 二氯甲烷(30 mL*2)萃取, 分液, 水洗, 饱和食盐水洗, 浓缩, 通过硅胶柱(乙酸乙酯/

二氯甲烷: 30-80%)分离, 得到类白色产物 **63f** (300 mg, 产率: 85.26%)。MS m/z $[M-100]^+$: 340.1.

6. (化合物 **63g**)

向反应瓶中加入化合物 **63f** (300 mg, 0.68 mmol)、水合肼(0.5 mL)和乙醇(5 mL)。升温至 80 °C 搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩得到粗品 **63g**, 将其直接用于下一步(0.3 g, 产率: 100%)。MS m/z $[M-100]^+$: 326.1

7. (化合物 **63h**)

向反应瓶中加入化合物 **63g** (300 mg, 0.71 mmol)、三乙胺(220 mg, 2.17 mmol)和二氯甲烷(5 mL)。0 °C 条件下滴加二氟乙酸酐(250 mg, 1.44 mmol), 搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩得到浅黄色产物 **63h** (0.3 g, 产率: 84.51%)。MS m/z $[M-100]^+$: 404.2.

8. (化合物 **63i**)

0 °C 下, 向反应瓶中加入化合物 **63h** (300 mg, 0.60 mmol)、对甲苯磺酰氯(140 mg, 0.72 mmol)、三乙胺(180 mg, 1.80 mmol)和乙腈(5 mL)。25 °C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液加入水(20 mL), 二氯甲烷(30 mL*2)萃取, 分液, 水洗, 浓缩, 通过硅胶柱(乙酸乙酯/二氯甲烷: 40-90%)纯化, 得到黄色产物 **63i** (0.1 g, 产率: 34.57%)。MS m/z $[M-100]^+$: 386.1.

9. (化合物 **63j**)

向反应瓶中加入化合物 **63i** (100 mg, 0.21 mmol)和二氯甲烷(2 mL)。0 °C 条件下滴加三氟乙酸(0.2 mL), 并室温下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液加入水(10 mL), 用饱和碳酸钠水溶液调节 pH 到 7-9, 二氯甲烷(30 mL*2)萃取, 分液, 水洗, 硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到白色产物 **63j** (60 mg, 产率: 75.59%)。MS m/z $[M+H]^+$: 386.1.

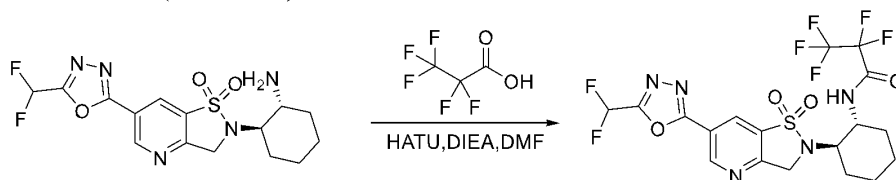
10. (化合物 **63**)

向反应瓶中加入化合物 2,2-二氟丙酸(400 mg, 3.63 mmol)、一滴 DMF 和二氯甲烷(3 mL)。缓慢滴加氯化亚砷(450 mg, 3.78 mmol), 并在 0 °C 下搅拌 2 小时, 得 2,2-二氟丙酰氯溶液。

向另一反应瓶中加入化合物 **63j** (60 mg, 0.16 mmol)、碳酸钾(100 mg, 0.72 mmol)、DCM(3 mL)和水(1 mL)。0 °C 下滴加上述 2,2-二氟丙酰氯溶液, 并室温下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩, 并通过反相柱(乙腈/0.05% 甲酸水溶液: 30-60%)纯化, 得到白色固体产物 **63** (19.2 mg, 产率: 25.83%, 纯度: 96.92%)。MS m/z $[M+H]^+$: 478.1.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.51 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 9.03 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.64 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.63 (t, J = 51.2 Hz, 1H), 4.90 – 4.68 (m, 2H), 4.05 – 3.90 (m, 1H), 3.77 – 3.65 (m, 1H), 1.91 – 1.70 (m, 6H), 1.53 (t, J = 19.5 Hz, 3H), 1.36 (s, 2H).

实施例 47: (化合物 **145**)



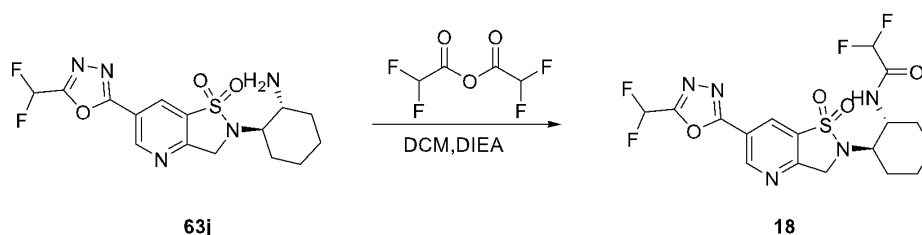
63j

145

向反应瓶中加入五氟丙酸(20 mg, 0.12 mmol)、N,N-二异丙基乙胺(30 mg, 0.23 mmol)、HATU (44 mg, 0.12 mmol)和 DMF (2 mL)。室温下搅拌半小时后加入化合物 **63j** (30 mg, 0.078 mmol), 并室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过反相柱(乙腈/0.05% 甲酸水溶液: 50-70%)纯化, 得到白色固体产物 **145** (2 mg, 产率: 4.83%)。MS m/z $[M-H]^+$: 530.2.

^1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 9.55 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.92 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.30 (t, J = 51.6 Hz, 1H), 4.78 (d, J = 16.2 Hz, 2H), 4.15 (td, J = 11.2, 4.4 Hz, 1H), 3.81 (dt, J = 13.0, 6.6 Hz, 1H), 2.16 – 1.84 (m, 6H), 1.50 (q, J = 11.6, 11.1 Hz, 2H).

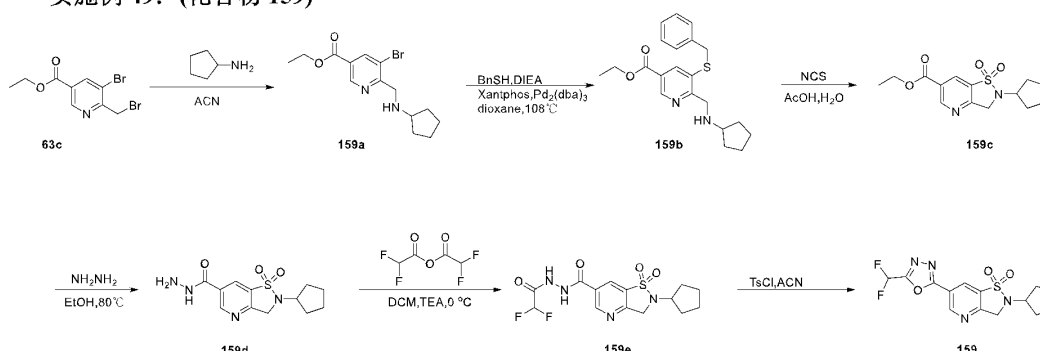
实施例 48: (化合物 **18**)



向反应瓶中加入化合物 **63j** (30 mg, 0.078 mmol)、N,N-二异丙基乙胺(30 mg, 0.039 mmol)和 DCM (3 mL)。0 °C 下滴加二氟乙酸酐(16 mg, 0.094 mmol)，并室温下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩通过反相柱(乙腈/0.05%甲酸水溶液: 30-60%)纯化，得到白色固体产物 **18** (16.6 mg, 产率: 46.02%，纯度: 100%)。MS m/z [M+H]⁺: 464.2。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.51 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 9.02 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.79 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.63 (t, J = 51.2 Hz, 1H), 6.03 (t, J = 53.8 Hz, 1H), 4.78 (q, J = 16.1 Hz, 2H), 3.99 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 3.66 (td, J = 10.4, 5.5 Hz, 1H), 2.02 – 1.77 (m, 4H), 1.77 – 1.62 (m, 2H), 1.38 (d, J = 9.7 Hz, 2H)。

实施例 49: (化合物 **159**)



1. (化合物 **159a**)

向反应瓶中加入化合物 **63c** (200 mg, 0.62 mmol)、环戊胺(60 mg, 0.64 mmol)、碳酸钾(260 mg, 1.86 mmol)和乙腈(2 mL)。室温下搅拌 3 小时，LCMS 显示反应完全。反应液加入水(30 mL)，二氯甲烷(30 mL*2)萃取，分液，水洗，饱和食盐水洗，硫酸钠干燥，过滤，浓缩得到黄色油状产物 **159a** (0.1 g, 产率: 49.35%)。MS m/z [M+H]⁺: 327.0。

2. (化合物 **159b**)

向反应瓶中加入化合物 **159a** (0.1 g, 0.31 mmol)、苄硫醇(0.06 g, 0.46 mmol)、N,N-二异丙基乙胺(0.12 g, 0.93 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(0.04 g, 0.06 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(0.03 g, 0.03 mmol)和二氧六环(3 mL)。氮气置换三次后，升温至 108 °C 搅拌 16 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过硅胶柱(二氯甲烷/乙酸乙酯: 50-90%)纯化，得到类白色产物 **159b** (50 mg, 产率: 44.16%)。MS m/z [M+H]⁺: 371.2。

3. (化合物 **159c**)

向反应瓶中加入化合物 **159b** (50 mg, 0.13 mmol)、N-氯代丁二酰亚胺(170 mg, 1.3 mmol)、醋酸(3 mL)和水(1 mL)。室温下搅拌 3 小时。LCMS 显示反应完全。反应液加入水(20 mL)，用饱和碳酸钠溶液调节 pH=7-8，二氯甲烷(30 mL*2)萃取，分液，水洗，饱和食盐水洗，浓缩，通过硅胶柱(乙酸乙酯/二氯甲烷: 30-80%)纯化，得到黄色油状产物 **159c** (20 mg, 产率: 47.75%)。MS m/z [M+H]⁺: 311.1。

4. (化合物 **159d**)

向反应瓶中加入化合物 **159c** (20 mg, 0.064 mmol)、水合肼(0.1 mL)和乙醇(2 mL)。升温至 80 °C 搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩得到粗品 **159d** (19 mg, 产率: 100%)，将其直接用于下一步反应。MS m/z [M+H]⁺: 297.1。

5. (化合物 **159e**)

向反应瓶中加入化合物 **159d** (10 mg, 0.034 mmol)、三乙胺(10 mg, 0.099 mmol)和二氯甲烷(2 mL)。0 °C 下滴加二氟乙酸酐(12 mg, 0.069 mmol)，搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩得到浅黄色产物 **159e** (10 mg, 产率: 79.3%)。MS m/z [M+H]⁺: 375.1。

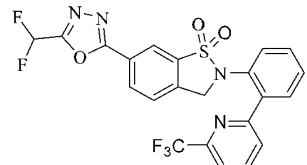
6. (化合物 **159**)

0 °C 下，向反应瓶中加入化合物 **159e** (10 mg, 0.027 mmol)、对甲苯磺酰氯(3 mg, 0.032 mmol)、三

乙胺(8 mg, 0.081 mmol)和乙腈(2 mL)。25 °C条件下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液过滤，通过反相柱纯化，得到类白色固体产物 **159** (2.6 mg, 产率: 27.31%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.54 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.91 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.29 (t, *J* = 51.6 Hz, 1H), 4.65 (s, 2H), 4.00 (q, *J* = 7.6 Hz, 1H), 2.12 (s, 2H), 2.02 – 1.81 (m, 4H), 1.73 (dd, *J* = 7.3, 4.4Hz, 2H).

实施例 50: (化合物 122)



参考实施例 19 中化合物 **72** 的合成方法, 在第一步中用 2-溴-6-三氟甲基吡啶代替 4-溴-1-甲基-1H-吡啶, 得白色固体 **122**。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.43 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.12 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.87 – 7.81 (m, 3H), 7.75 – 7.46 (m, 3H), 5.18 (s, 2H).

生物学测试

实验例 1.

采用酶活性实验评价本申请中化合物对 HDAC6 的抑制活性。

将 HDAC6 (Abcam)、测试化合物和 20 μM 底物溶液(Ac-GAK(Ac)-AMC)分别加入到 384 孔板中, 37°C 孵育 30 min, 加入 1 μM Trypsin 和 10 μM TSA, 室温孵育 15 min, 360 nm 激发, 检测 455 nm 的荧光发射强度, 进而计算各浓度下的抑制率, IC₅₀ 由 GraphPadPrism 7.0 软件拟合得到。

获得的实验结果如表 1 所示。

表 1

化合物编号	IC ₅₀ (nM)	化合物编号	IC ₅₀ (nM)	化合物编号	IC ₅₀ (nM)	化合物编号	IC ₅₀ (nM)
1	59	2	5.7	3	46.1	4	154.1
6	395	7	56.7	10	43.1	20	224.1
21	742	24	193.8	39	261.1	40	251.8
49	819.6	55	48.4	60	490.5	61	63
70i-B	37.9	72	398.8	79i-A	117.9	79i-B	75.9
70i-A	136.7	70i-B-A	216.3	70i-B-B	108.6	84j-A	42.7
84j-B	112.6	84j-A-A	210.5	84j-A-B	23.1	88j-A	131.8
88j-B	668	88j-A-A	584	88j-A-B	160	92	164.2
93	133.4	94	203	95j-A	230.8	95j-B	29.9
95j-B-A	66.8	95j-B-B	183.2	99j-A	148.5	99j-B	138.1
99j-A-A	205	99j-A-B	73.9	103j-A	285.2	103j-B	108.1
103j-C	226	103j-D	231.2	109	89.8	110	325.2
112	141.2	114	97.5	116	172.8	117	449.3

实验例 2.

采用酶活性实验评价本申请中化合物对 HDAC1-5 和 7-11 的抑制活性。

将 HDAC 不同亚型蛋白(购自 BPS)、测试化合物和 2.5-40 μM 浓度的底物溶液(购自 BPS)分别加入到 384 孔板中, 37°C 孵育 30 min, 加入 1 μM Trypsin 和 10 μM TSA, 室温孵育 15 min, 360 nm 激发, 检测 455 nm 的荧光发射强度, 进而计算各浓度下的抑制率, IC₅₀ 由 GraphPadPrism 7.0 软件拟合得到。

获得的实验结果如表 2 和表 3 所示。

表 2

HADC1 抑制率/%			HADC1 抑制率/%		
化合物编号	10 μM	1 μM	化合物编号	10 μM	1 μM
1	-3.17	8.57	2	-3.91	-11.89

表 3

化合物 编号	IC ₅₀ (μM)									
	HDAC1	HDAC2	HDAC3	HDAC4	HDAC5	HDAC7	HDAC8	HDAC9	HDAC10	HDAC11
2	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50

实验例3. α-Tublin乙酰化水平的测试

5 取对数生长期的A375/HCT116/HCC827细胞，用胰酶细胞消化液进行消化，离心，计数，以适
合的细胞密度铺到96孔板中(30000个/孔)，每孔100 μL，周围用适量PBS进行水封。第二天给予不同
浓度的化合物处理细胞(起始浓度为100 μM，5倍稀释，设置9个浓度梯度)，6h后将培养基吸出，用
100 μL的PBST洗2次。随后用4%的多聚甲醛固定细胞，室温孵育20 min。弃固定液，用PBST清洗细
10 胞。每孔加入150 μL专用封闭液(含1% Triton-100)，室温封闭2h，PBS洗去多余的封闭液。用含0.033%
的Triton-100封闭液以1:2000的比例稀释α-微管蛋白(DM1A)小鼠mAb及乙酰基-α-微管蛋白(Lys40)
(D20G3) XP兔mAb，将其加入至96孔板中，4℃孵育过夜，同时设置空白对照组。第二天用PBST洗
涤2次，用含0.033%的Triton-100封闭液以1:2000的比例稀释二抗抗小鼠IgG (H+L) (DyLight™ 680缀
合物)和抗兔IgG (H+L) (DyLight™ 800缀合物)，并将其加入至96孔板中，室温孵育2h。PBST洗涤2
次，PBS洗1次，分别用Li-COR Odyssey双色近红外激光成像仪检测700 nm和800 nm的荧光信号。
获得的实验结果如表4所示。

表 4

细胞	化合物编号	EC ₅₀ (nM)
A375	1	392.6±92.4
	2	202.5±14.8
HCT116	1	261.9
	2	139.9±39.1
HCC827	1	337.9
	2	287.5±49.3

化合物 编号	HCT116 细胞 EC ₅₀ (nM)	化合物 编号	HCT116 细胞 EC ₅₀ (nM)	化合物 编号	HCT116 细胞 EC ₅₀ (nM)	化合物 编号	HCT116 细胞 EC ₅₀ (nM)
1	261.9	2	139.9±39.1	7	245.2	10	262.2
13	133.2	14	123.8	61	194.9	65	467.4
66	322.1	70i-B-B	926.7	84j-A	543.9	87j-A-B	354.9
88j-A-B	618.5	113	238.9	114	350.9		

实验例4. 稳定性测试

20 评定受试化合物在 CD-1 小鼠(MLM)、Sprague-Dawley 大鼠(RLM)、比格犬(DLM)、食蟹猴(CLM)
和人(HLM)的肝微粒体中的一相代谢稳定性。
实验体系：
该测试体系所用到的动物和人肝微粒体购买自 Xenotech、Corning 或其他有资质的供应商，在使
用前储存在低于-60℃冰箱内。
实验简介：
25 供试品和对照化合物在 37±1℃条件下，分别与动物和人肝微粒体孵育一定的时间，最长孵育时

间为 60 分钟,在指定的时间点取出样品,用含有内标的乙腈或其他有机溶剂终止反应。离心后,所产生的上清液用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)方法进行检测。

实验方法:

1. 缓冲液的配制

5 用 4000 mL 的超纯水溶解 73.21 g 三水磷酸氢二钾和 10.78 g 磷酸二氢钾。使用 10%磷酸或者 1 M 氢氧化钾调整溶液 pH 值在 7.40±0.10 之间,其终浓度为 100 mM。

2. 工作液的配制

供试品粉末用 DMSO 或其他的有机溶剂配制成一定浓度的储备液,然后用合适的有机溶剂进行进一步的稀释。

10 对照化合物睾酮、双氯芬酸和普罗帕酮用 DMSO 配制成 10 mM 的储备液,然后用合适的有机溶剂进行进一步的稀释。

3. 肝微粒体溶液的配制

用 100 mM 磷酸钾盐缓冲液将各种属的微粒体稀释成 2×的工作液。在反应体系中微粒体的终浓度为 0.5 mg/mL。

15 4. 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)再生体系的配制

称量适量的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADP)和异柠檬酸(ISO)粉末,溶于氯化镁溶液中,振荡混匀。加入适量的异柠檬酸脱氢酶(IDH)轻轻的上下颠倒混合均匀。在反应体系中终浓度分别为: 1 mM NADP、1 mM 氯化镁、6 mM ISO 和 1 unit/mL IDH。

5. 终止液的配制

20 终止液用含有内标(甲苯磺丁脲或其他合适的化合物)的乙腈或其他有机溶剂来配制。配制好的终止液储存于 2-8℃冰箱。

6. 孵育过程

孵育将在 96 孔板中完成。准备 8 块孵育板,分别命名为 T0、T5、T15、T30、T45、T60、Blank60 和 NCF60。前 6 块板对应反应时间点分别为 0、5、15、30、45 和 60 分钟。Blank60 板中不加入供试品或对照化合物,并在孵育 60 分钟后取样。NCF60 板中用磷酸钾盐缓冲液代替 NADPH 再生体系溶液进行孵育 60 分钟。所有条件样品为三个平行。

30 将微粒体和供试品或对照化合物混合,然后将除 T0 和 NCF60 外的孵育板 Blank60、T5、T15、T30、T45 和 T60 放置于 37℃ 水浴锅中预孵育大约 10 分钟。孵育板 T0 中先加入终止液后再添加 NADPH 再生体系工作液,孵育板 NCF60 每个样品孔内添加 98 μL 磷酸钾盐缓冲液以启动反应。孵育板 Blank60、T5、T15、T30、T45 和 T60 预孵育结束后,每个样品孔内添加 98 μL NADPH 再生体系工作液以启动反应。反应的温度为 37±1℃,反应的最终体积是 200 μL,反应体系中包括 0.5 mg/mL 的微粒体、1.0 μM 的底物、1 mM NADP、6 mM ISO 和 1 unit/mL IDH。

分别在 5、15、30、45 和 60 分钟时,将含有内标的冷的终止液加入到反应板中以终止反应。

35 将终止后的所有反应板摇匀,并在 4℃,3220 ×g,离心 20 分钟。将上清液稀释一定比例后进行 LC-MS/MS 分析。

样品分析

样品分析采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)方法进行,不含标准曲线和质控样品。使用分析物峰面积与内标峰面积的比值进行半定量测定。分析物和内标的保留时间、色谱图采集和色谱图的积分采用软件 Analyst (Sciex, Framingham, Massachusetts, USA)进行处理。

40 每个分析批中每种基质中的内标峰面积的 CV 应在 20%之内。

数据分析

通过下面公式中化合物与内标峰面积的比值转化成剩余率求得化合物的体外消除速率常数 k_e :

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

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

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

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

CL_{int}(mic) = 0.693/ T_{1/2} /微粒体蛋白含量(孵育时微粒体浓度 mg/mL)
CL_{int}(liver) = CL_{int}(mic) ×肝脏中微粒体蛋白量(mg/g)× 肝重体重比
根据充分搅拌模型(well stir model)，肝固有清除率和肝清除率可以通过如下公式换算。
CL_(liver) = (CL_{int(liver)} * Q_h) / (CL_{int(liver)} + Q_h)
公式中的参数见下表。

种属	肝重体重比 (g/kg 体重) [1-2]	肝血流量(Q _h) (mL/min/kg) [1-2]	微粒体蛋白量 (mg/g 肝重)
小鼠	88	90.0	45
大鼠	40	55.2	
犬	32	30.9	
猴	30	43.6	
人	20	20.7	

[1] Brian Davies and Tim Morris, Physiological Parameters in Laboratory Animals and Human. Pharmaceutical Research, Vol. 10 No.7, 1993
[2] Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 1997, 283(1): 46-58.
获得的实验结果如表 5 所示。

表 5

化合物编号		HLM	RLM	MLM	DLM	CLM
1	R ²	0.2047	0.9052	0.2775	0.0187	0.3709
	T _{1/2} (min)	>145	96.6	>145	>145	>145
	CL _{int} (mic) (μL/min/mg)	<9.6	14.4	<9.6	<9.6	<9.6
	CL _{int} (liver) (mL/min/kg)	<8.6	25.8	<38.0	<13.8	<13.0
	剩余率 (T=60 min)	79.0%	68.9%	79.8%	86.6%	79.1%
	剩余率(NCF=60 min)	83.4%	100.2%	97.6%	98.9%	94.8%
2	R ²	0.7713	0.8854	0.7684	0.5254	0.8196
	T _{1/2} (min)	>145	>145	>145	>145	>145
	CL _{int} (mic) (μL/min/mg)	<9.6	<9.6	<9.6	<9.6	<9.6
	CL _{int} (liver) (mL/min/kg)	<8.6	<17.3	<38.0	<13.8	<13.0

	剩余率 (T=60 min)	86.1%	76.4%	84.8%	85.8%	88.8%
	剩余率(NCF=60 min)	97.3%	93.0%	99.8%	90.9%	101.5%
61	R ²					
	T1/2 (min)	239.35	128.29	294.13		
	CL _{int} (mic) (μL/min/mg)					
	CL _{int} (liver) (mL/min/kg)	7.26	19.36	18.55		
	剩余率 (T=60 min)	85.62%	72.95%	85.14%		
	剩余率(NCF=60 min)	86.25%	88.24%	83.81%		
83	R ²					
	T1/2 (min)	270.54	42.37	131.73		
	CL _{int} (mic) (μL/min/mg)					
	CL _{int} (liver) (mL/min/kg)	6.43	58.62	41.43		
	剩余率 (T=60 min)	82.70%	36.99%	72.27%		
	剩余率(NCF=60 min)	84.68%	88.49%	84.39%		

实验例5. 小鼠药代动力学测试

本实验例中测试化合物经静脉注射(IV)和灌胃(PO)给药后在BALB/c小鼠体内的药代动力学行为。

5 给药当天称量小鼠实际体重并计算给药体积。每组 3 只小鼠，每个化合物进行两组测试，一组单次静脉注射给药，另一组小鼠单次灌胃给药。通过眼眶采血方式在规定的时间内(给药后 0.25、0.5、1、2、4、8、24h)采集全血样品。血样采集以后，立即转移至贴有标签的含 K2-EDTA (0.85-1.15 mg) 的商品化样品管中，随后离心处理(3200 x g, 4℃, 10 分钟)并取血浆。将血浆转移至预冷的离心管，在干冰中速冻，随后储存在-60℃ 或更低的超低温冰箱中，直到进行 LC-MS/MS 分析。

10 血浆浓度使用LC-MS/MS方法进行测定。使用WinNonlin Version 6.3 (Pharsight, Mountain View, CA) 药动学软件，以非房室模型对化合物1和2的血浆药物浓度数据进行处理。使用线性对数梯形法计算相关药代动力学参数。

获得的实验结果如表6所示。

表6

化合物编号			IV@2mg/kg	PO@10mg/kg	PO@30mg/kg	PO@100mg/kg
1	AUC(0-t)	nM*h	9879.84	45181.61	73081.85	171466
	AUC(0-∞)	nM*h	9879.841	45181.61	73081.85	171491.9
	MRT(0-∞)	h	2.194	3.347	3.652	3.715
	t1/2z	h	1.062	0.919	0.918	1.292
	Vz	L/kg	0.684			
	Tmax	h		1	0.417	1.5
	CLz	L/h/kg	0.426			
	C0/Cmax	nM	4520.52	8971.316	17530.96	30483.15

	F	%		91.46	49.31	34.72
2	AUC(0-t)	nM*h	12552.15	77690.92	182495.53	600707.51
	AUC(0-∞)	nM*h	12552.15	77770.78	182495.53	600707.51
	MRT(0-∞)	h	2.35	4.50	3.66	4.33
	t1/2z	h	1.01	1.62	0.87	0.81
	Vz	L/kg	0.55			
	Tmax	h		0.50	0.67	1.33
	CLz	L/h/kg	0.36			
	C0/Cmax	nM	6749.28	13883.48	35033.09	87871.06
	F	%		123.92	96.93	95.71
61	AUC(0-t)	nM*h	12782.76	57008.607		
	AUC(0-∞)	nM*h	15375.84	73418.487		
	MRT(0-∞)	h	4.379	5.305		
	t1/2z	h	3.12	3.551		
	Vz	L/kg	1.175			
	Tmax	h		1		
	CLz	L/h/kg	0.261			
	C0/Cmax	nM	4522.401	12550.55		
	F	%		89.2		
83	AUC(0-t)	nM*h	8606.529	50510.891		
	AUC(0-∞)	nM*h	8781.805	63718.102		
	MRT(0-∞)	h	2.064	4.569		
	t1/2z	h	1.493	3.323		
	Vz	L/kg	1.01			
	Tmax	h		0.5		
	CLz	L/h/kg	0.469			
	C0/Cmax	nM	5273.247	12030.21		
	F	%		117.4		

化合物编号			IV@1mg/kg	PO@5mg/kg
10	AUC(0-t)	nM*h	3484.4	19868.2
	AUC(0-∞)	nM*h	3676.0	21527.0
	MRT(0-∞)	h	2.5	3.3
	t1/2z	h	1.9	2.1
	Vz	L/kg	1.5	

	Tmax	h		0.5
	CLz	L/h/kg	0.5	
	C0/Cmax	nM	1718.9	4774.7
	F	%		117.1
13	AUC(0-t)	nM*h	4418.6	21397.5
	AUC(0-∞)	nM*h	4530.5	21968.1
	MRT(0-∞)	h	1.846	2.63
	t1/2z	h	1.52	1.52
	Vz	L/kg	1.05	
	Tmax	h		0.5
	CLz	L/h/kg	0.48	
	C0/Cmax	nM	3053.4	7127.4
	F	%		97.0
14	AUC(0-t)	nM*h	4222.2	14822.7
	AUC(0-∞)	nM*h	4274.3	15232.1
	MRT(0-∞)	h	1.497	1.876
	t1/2z	h	1.277	1.48
	Vz	L/kg	0.928	
	Tmax	h		0.5
	CLz	L/h/kg	0.504	
	C0/Cmax	nM	3145.9	7271.1
	F	%		71.27
80	AUC(0-t)	nM*h	5045.6	25524.5
	AUC(0-∞)	nM*h	5279.7	34006.5
	MRT(0-∞)	h	2.6	5.6
	t1/2z	h	1.8	4.2
	Vz	L/kg	1.0	
	Tmax	h		1.0
	CLz	L/h/kg	0.4	
	C0/Cmax	nM	1913.6	7169.9
	F	%		101.2
87	AUC(0-t)	nM*h	1622.8	15052.8
	AUC(0-∞)	nM*h	1768.2	15544.8
	MRT(0-∞)	h	0.8	2.3
	t1/2z	h	0.6	1.5

	Vz	L/kg	0.9	
	Tmax	h		1.0
	CLz	L/h/kg	1.1	
	C0/Cmax	nM	1894.4	5747.0
	F	%		175.8
93	AUC(0-t)	nM*h	1074.0	4562.9
	AUC(0-∞)	nM*h	1081.7	4565.5
	MRT(0-∞)	h	0.6	1.2
	t1/2z	h	0.7	0.7
	Vz	L/kg	1.9	
	Tmax	h		0.5
	CLz	L/h/kg	2.0	
	C0/Cmax	nM	2106.4	3413.6
	F	%		84.4
113	AUC(0-t)	nM*h	1702.7	8637.18
	AUC(0-∞)	nM*h	1711.1	8711.55
	MRT(0-∞)	h	0.542	1.469
	t1/2z	h	0.605	1.149
	Vz	L/kg	1.026	
	Tmax	h		0.25
	CLz	L/h/kg	1.175	
	C0/Cmax	nM	3469.3	5133.66
	F	%		101.8

实验例6. 大鼠药代动力学测试

本实验例中测试化合物经静脉注射(IV)和灌胃(PO)给药后在SD大鼠体内的药代动力学行为。

5 给药当天称量大鼠实际体重并计算给药体积。每组3只大鼠，每个化合物进行两组测试，一组单次静脉注射给药，另一组单次灌胃给药。通过颈静脉采血方式在规定的时间内(给药后0.25、0.5、1、2、4、8、24h)采集全血样品。血样采集以后，立即转移至贴有标签的含K2-EDTA (0.85-1.15 mg)的商品化样品管中，随后离心处理(3200 x g, 4℃, 10分钟)并取血浆。将血浆转移至预冷的离心管，在干冰中速冻，随后储存在-60℃或更低的超低温冰箱中，直到进行LC-MS/MS分析。

10 血浆浓度使用LC-MS/MS方法进行测定。使用WinNonlin Version 6.3 (Pharsight, Mountain View, CA)药动学软件，以非房室模型对化合物的血浆药物浓度数据进行处理。使用线性对数梯形法计算相关药代动力学参数。

实验例7. 小鼠脑血药物浓度比

15 给药当天称量小鼠实际体重并计算给药体积。每组 9 只小鼠，化合物进行单次静脉注射(IV)给药或者灌胃(PO)给药。通过眼眶采血方式在规定的时间内采集全血样品。血样采集以后，立即转移至贴有标签的含 K2-EDTA (0.85-1.15 mg)的商品化样品管中，随后离心处理(3200 x g, 4℃, 10 分钟)并取血浆。将血浆转移至预冷的离心管，在干冰中速冻，随后储存在-60℃ 或更低的超低温冰箱中，

直到进行 LC-MS/MS 分析。分别取 20 μL 血浆样品或脑组织匀浆液加入 80 μL 的内标溶液(50 ng/mL 普罗帕酮乙腈溶液), 用封膜仪 165 ℃ 封板, 用微型振荡器(最大振速)振荡 10min, 用低速台式离心机 4000 rpm 离心 20 min, 移取 10 μL 上层清液加入 90 μL 的乙腈, 涡旋混匀后用封膜仪 165 ℃ 封板, 涡旋混匀后取 1 μL 上清液进行 LC-MS/MS 分析。使用 WinNonlin Version 6.3 (Pharsight, Mountain View, CA)药动学软件, 以非房室模型对化合物的血浆药物浓度数据进行处理。使用线性对数梯形法计算相关药代动力学参数。

数据处理: 同一时间点小鼠脑血药物浓度比=脑组织中的药物浓度/血浆中的药物浓度

化合物编号	给药剂量	时间 (h)	脑药物浓度 (ng/mL)	血药物浓度 (ng/mL)	脑/血药物浓度比
1	2 mg/kg IV	1	285	986	0.29
		4	161	453	0.36
	10 mg/kg PO	1	759	4271	0.18
		4	373	2503	0.15
2	2 mg/kg IV	1	268	1090	0.26
		4	149	595	0.25
	10 mg/kg PO	1	882	4993	0.18
		4	435	2833	0.15
4	5mg/kg PO	2	190	2263	0.08
10	5mg/kg PO	2	338	2018	0.17
		8	80	277	0.29
13	5mg/kg PO	1	218	2950	0.07
		2	174	1776	0.09
14	5mg/kg PO	1	85.56	2453	0.03
		2	42.755	1382	0.03
80	5mg/kg PO	2	160	1908	0.08
		8	72	695	0.10
87	5mg/kg PO	2	298	1056	0.28
93	5mg/kg PO	2	27	252	0.11
113	5mg/kg PO	1	44.8	1403	0.03
		2	16.209	930	0.02

实验例 8. hERG 抑制测试

将 HEK293 细胞在含有 10%胎牛血清及 0.8 mg/mL G418 的 DMEM 培养基中培养, 培养温度为 37℃, CO₂ 浓度为 5%。细胞用 TrypLE™ Express 消化后离心, 调整细胞密度为 2×10⁶ 个细胞/mL, 然后用室温平衡摇床轻混细胞 15-20 min, 上机进行膜片钳检测。将制备好的细胞的培养基置换为细胞外液。从液体池中吸取细胞内、外液分别加到 QPlate 芯片的细胞内液池、细胞与受试物池中。全细胞膜片钳记录全细胞 hERG 钾电流的电压刺激, 并将试验数据由 Qpatch 进行采集并储存。化合物以 30 μM 起始, 3 倍稀释, 设置 6 个浓度点, 每个药物浓度设定为两次给药, 时间至少为 5 分钟。将每一个细胞在不含化合物的外液中检测到的电流作为自己的对照组, 每个浓度至少使用两个细胞独立重复检测两次。所有电生理试验在室温下进行。

数据分析, 首先将每一个药物浓度作用后的电流和空白对照电流标准化 ($\frac{\text{Peak tail current}_{\text{compound}}}{\text{Peak tail current}_{\text{vehicle}}}$), 然后计算每一个药物浓度对应的抑制率 ($1 - \frac{\text{Peak tail current}_{\text{compound}}}{\text{Peak tail current}_{\text{vehicle}}}$)。对每一个浓度计算平均数和标准误, 并计算每种化合物的半抑制浓度:
$$Y = \text{Bottom} + \frac{\text{Top} - \text{Bottom}}{1 + 10^{-((\text{LogIC}_{50} - C) * \text{HillSlope})}}$$
 用以上方程对剂量依赖效应进行非线性拟合, 其中 Y 代表抑制率、C 代表受试物浓度, IC₅₀ 为半抑制浓度, HillSlope 代表希尔系数。曲线拟合以及 IC₅₀

的计算利用 Graphpad 软件完成。

实验例9. 细胞色素氧化酶P450抑制测试

1) 缓冲液的配制:

5 100 mM K-Buffer: 将9.5 mL原液A混合到40.5 mL原液B中, 用超纯水将总体积调至500 mL, 用 KOH或H₃PO₄滴定缓冲液至pH 7.4。

原液A (1 M磷酸二氢钾):136.5 g磷酸二氢钾在1 L水中;

原液B (1 M磷酸二氢钾):174.2 g磷酸二氢钾在1 L水。

2) 受试物的配制

10 受试物粉末用DMSO或其他的有机溶剂配制成一定浓度的储备液, 然后用合适的有机溶剂进行进一步的稀释。

3) 体外孵育

CYP450酶代谢表型研究的肝微粒体体外孵育体系, 是由制备的肝微粒体辅以氧化还原型辅酶, 再加入酶特异的选择性抑制剂, 在模拟生理温度及生理环境的条件下进行的生化反应。

15 4) 原型药物或代谢产物的检测

采用LC-MS/MS测定孵育液中原型药物或其代谢产物的浓度。

实验例 10. 人、大鼠、小鼠血浆蛋白结合实验

20 (1) 溶液的配制: 分别配置 0.05M 磷酸钠和 0.07M NaCl 缓冲液、对照化合物(华法林和奎尼丁在体系中的终浓度均为 1 μM)和给药液(终浓度为 1 μM)。

(2) 透析膜前处理: 首先在蒸馏水中浸泡 60 分钟; 然后加入含有 20%(v/v)的乙醇溶液(蒸馏水稀释)继续浸泡 20 分钟至开始试验。使用前用蒸馏水清洗 2 次去除剩余乙醇。

25 (3) 血浆前处理: 1)将人、大鼠、小鼠血浆置于室温解冻, 解冻后以最大 2000×g 速度室温离心 5 分钟, 保留上清液(血浆冻融会产生纤维沉淀; 血浆样本保存在室温下进行其余试验); 2)检测血浆 pH 值, 通过添加少量固体粉末 NaH₂PO₄, 将 pH 调整到 7.4±0.02。

(4) 对照组和试验组: 在平衡透析装置的给药端(Donor)加入 100 μL 含阳性对照品或受试化合物的血浆溶液, 接收端(Receiver)加入 100 μL 的空白缓冲液。

(5) 将平衡透析装置置于 37°C, 100 转/分的条件下, 孵育 5 小时。

30 (6) 对照组和试验组 T₀ 样本的制备: 取 25 μL 含阳性对照品或受试化合物的血浆溶液并补加入 25 μL 空白缓冲液。

(7) 对照组和试验组孵育 5 小时结束后, 取 25 μL 给药端样本并补加入 25 μL 空白缓冲液; 取 25 μL 接收端样本并补加入 25 μL 空白血浆。

(8) 所有样品加入 200 μL 含内标的乙腈, 样本涡旋振荡 10 分钟, 然后在 4000 rpm 离心 10 分钟。制备样品送至 UPLC-MS/MS 分析。注: 内标为 40ng/mL 的甲苯磺丁脲。

35 (9) 数据处理

通过检测 T₀ 样本、平衡透析 5 小时后供体端和受体端的样本, 计算受试化合物的血浆蛋白结合率, 依照如下公式计算:

$$\text{结合率}\% = 100 \times \frac{[\text{给药端}]5\text{h} - [\text{接收端}]5\text{h}}{[\text{给药端}]5\text{h}}$$

40 实验例 11. 污染物致突变性检测

本致突变性试验所采用的试验菌株为鼠伤寒沙门氏营养缺陷型菌株 TA98 和 TA100。试验在有或无 S9 代谢活化系统存在的条件下使用 6 孔培养板进行, 同时设溶剂对照组(DMSO)和阳性对照组, 每个处理组 2 复孔。化合物设 5 个浓度, 范围从 62.5 到 1000.0 微克/孔(浓度等同于标准 Ames 试验中的 312.5 至 5000.0 微克/皿)。培养板在 37°C下培养 48-72 小时, 然后检测每孔中细菌毒性, 并计数每孔突变菌落数。当受试化合物组回复突变菌落数超过溶剂对照组自发回复突变菌落数两倍以上, 且具有可重复性及剂量依赖性时, 认为受试物对于受试菌株具有阳性致突变性。

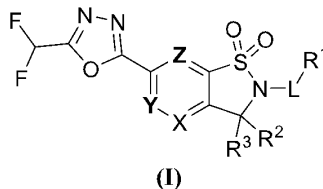
本试验使用二甲基亚砜(DMSO)溶解受试物, 并作为本试验的阴性(溶剂)对照。在无 S9 组(-S9), 分别使用 2-硝基苄和叠氮钠作为 TA98 和 TA100 的阳性对照物; 在有 S9 组(+S9), 使用 2-氨基苄作为 TA98 和 TA100 的阳性对照物。

化合物编号	污染物致突变性检测结果
61	阴性

除本文中描述的那些外，根据前述描述，本发明的多种修改对本领域技术人员而言会是显而易见的。这样的修改也意图落入所附权利要求书的范围内。本申请中所引用的各参考文献(包括所有专利、专利申请、期刊文章、书籍及任何其它公开)均以其整体援引加入本文。

权 利 要 求 书

1. 化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中所述化合物具有式(I)的结构：



其中

L 选自直接键、-C₁₋₆ 亚烷基-、-C₂₋₆ 亚烯基-和-C₂₋₆ 亚炔基-；

X 为 CR⁶ 或 N；

Y 为 CR⁴ 或 N；

Z 为 CR⁵ 或 N；

R¹ 选自 H、卤素、-OH、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^a、-OC(=O)R^a、-OC(=O)NR^aR^b、-C(=O)OR^a、-OR^a、-SR^a、-S(=O)R^a、-S(=O)₂R^a、-S(=O)₂NR^aR^b、-NR^aR^b、-C(=O)NR^aR^b、-NR^a-C(=O)R^b、-NR^a-C(=O)OR^b、-NR^a-S(=O)₂-R^b、-NR^a-C(=O)-NR^aR^b、-C₁₋₆ 亚烷基-OR^a、-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b 和-O-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b；

R² 和 R³ 各自独立地选自 H、卤素、-OH、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^a、-OC(=O)R^a、-OC(=O)NR^aR^b、-C(=O)OR^a、-OR^a、-SR^a、-S(=O)R^a、-S(=O)₂R^a、-S(=O)₂NR^aR^b、-NR^aR^b、-C(=O)NR^aR^b、-NR^a-C(=O)R^b、-NR^a-C(=O)OR^b、-NR^a-S(=O)₂-R^b、-NR^a-C(=O)-NR^aR^b、-C₁₋₆ 亚烷基-OR^a、-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b 和-O-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b；或者 R² 和 R³ 共同构成氧代基(=O)；或者 R² 和 R³ 连同其所连接的碳原子共同构成 C₃₋₆ 环烷基或 3-10 元杂环基；

R⁴、R⁵ 和 R⁶ 各自独立地选自 H、卤素、-OH、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^a、-OC(=O)R^a、-OC(=O)NR^aR^b、-C(=O)OR^a、-OR^a、-SR^a、-S(=O)R^a、-S(=O)₂R^a、-S(=O)₂NR^aR^b、-NR^aR^b、-C(=O)NR^aR^b、-NR^a-C(=O)R^b、-NR^a-C(=O)OR^b、-NR^a-S(=O)₂-R^b、-NR^a-C(=O)-NR^aR^b、-C₁₋₆ 亚烷基-OR^a、-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b 和-O-C₁₋₆ 亚烷基-NR^aR^b；

R^a 和 R^b 在每次出现时各自独立地选自 H、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₁₀ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基和 C₆₋₁₂ 芳烷基；

上述烷基、亚烷基、烯基、亚烯基、炔基、亚炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和芳烷基在每次出现时各自任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素、-OH、=O、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基、C₆₋₁₂ 芳烷基、-C(=O)R^c、-OC(=O)R^c、-OC(=O)NR^cR^d、-C(=O)OR^c、-OR^c、-SR^c、-S(=O)R^c、-S(=O)₂R^c、-S(=O)₂NR^cR^d、-NR^cR^d、-C(=O)NR^cR^d、-NR^c-C(=O)R^d、-NR^c-C(=O)OR^d、-NR^c-S(=O)₂-R^d、-NR^c-C(=O)-NR^cR^d、-C₁₋₆ 亚烷基-OR^c、-C₁₋₆ 亚烷基-NR^cR^d 和-O-C₁₋₆ 亚烷基-NR^cR^d；所述烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和芳烷基进一步任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素、-OH、=O、-C(=O)O-叔丁基、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、卤代 C₁₋₆ 烷基、-OC₁₋₆ 烷基、-O-卤代 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基和 C₆₋₁₂ 芳烷基，优选地，所述烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和芳烷基进一步任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素、-OH、=O、-C(=O)O-叔丁基、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基和 C₆₋₁₂ 芳烷基；并且

R^c 和 R^d 在每次出现时各自独立地选自 H、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₁₀ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基和 C₆₋₁₂ 芳烷基，所述烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和芳烷基进一步任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素、-OH、=O、-C(=O)O-叔丁基、-NH₂、-CN、-NO₂、C₁₋₆ 烷基、卤代 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基、5-14 元杂芳基和 C₆₋₁₂ 芳烷基。

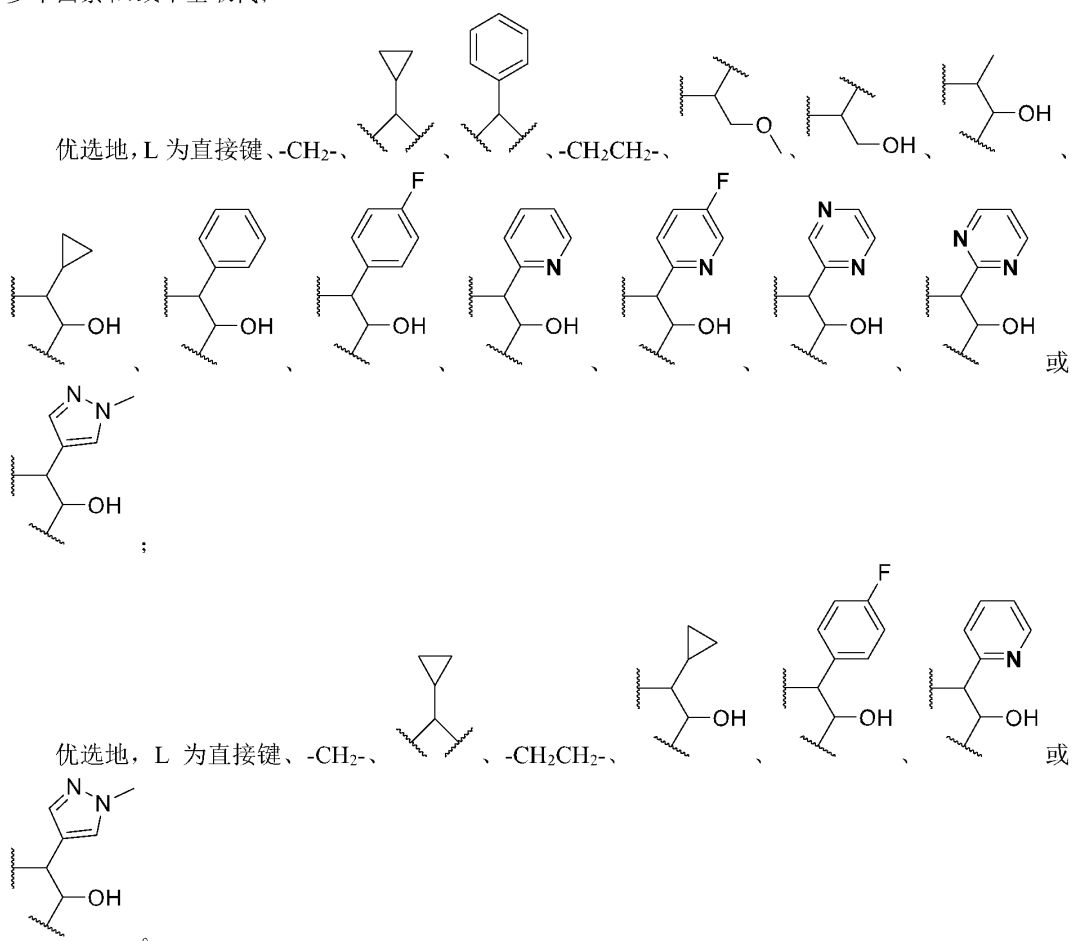
2. 权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、

溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中 L 为直接键或-C₁₋₆亚烷基-，其中所述亚烷基任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：-OH、-OCH₃、C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、3-10元杂环基、C₆₋₁₀芳基和 5-14 元杂芳基，所述烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基进一步任选地被一个或多个卤素或 C₁₋₆烷基取代；

优选地，L 为直接键或-C₁₋₆亚烷基-，其中所述亚烷基任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：-OH、C₃₋₆环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀芳基和 5-14 元杂芳基，所述环烷基、杂环基、芳基和杂芳基进一步任选地被一个或多个卤素或 C₁₋₆烷基取代；

优选地，L 为直接键、亚甲基或亚乙基，其中所述亚甲基和亚乙基任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：-OH、-OCH₃、甲基、环丙基、苯基、吡啶基、吡啶基、嘧啶基和哒嗪基，上述基团任选地进一步被一个或多个卤素和/或甲基取代；

优选地，L 为直接键、亚甲基或亚乙基，其中所述亚甲基和亚乙基任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：-OH、环丙基、苯基、吡啶基和吡啶基，上述基团任选地进一步被一个或多个卤素和/或甲基取代；



3. 权利要求 1 或 2 的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中 X、Y 和 Z 各自独立地为 CH、CF 或 N。

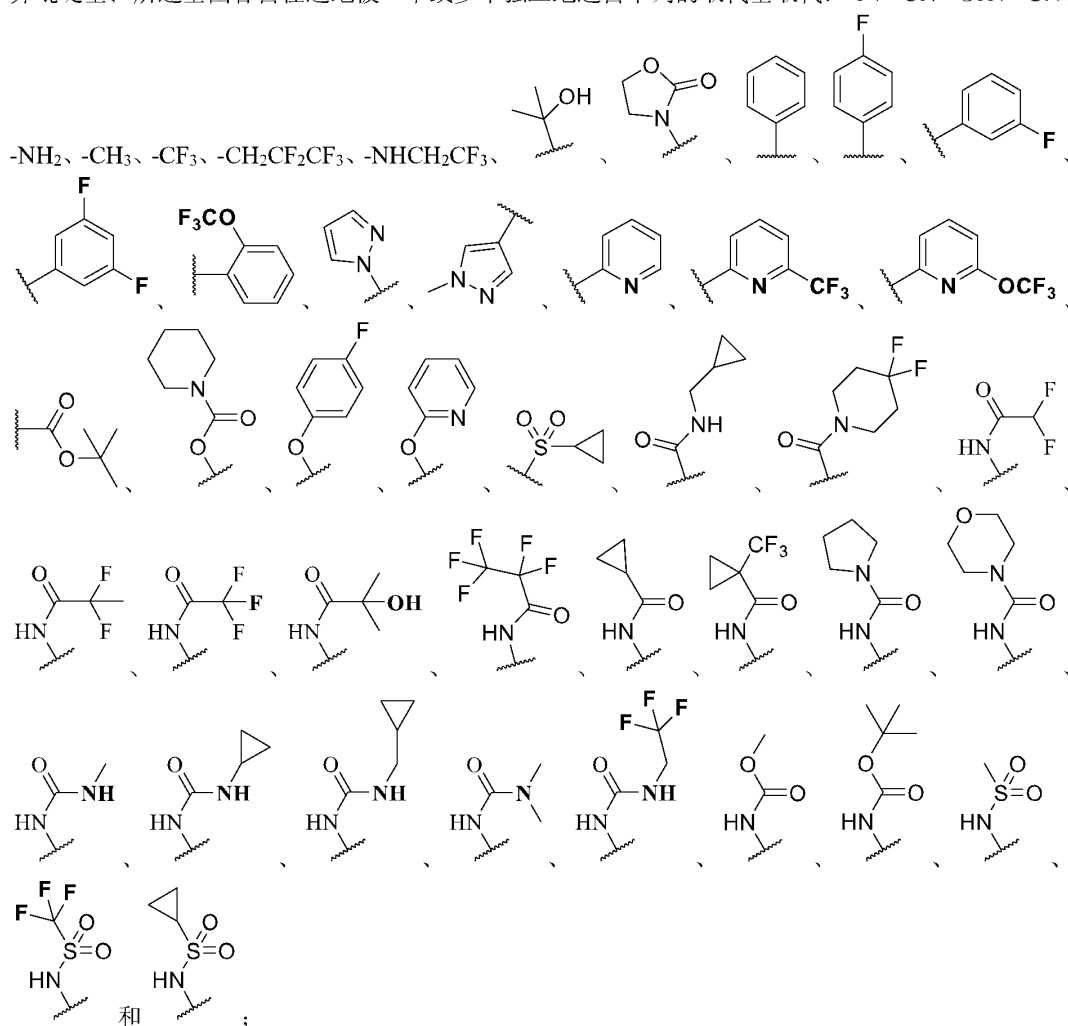
4. 权利要求 1-3 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中 R¹ 选自 C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀芳基和 5-14 元杂芳基；

所述烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基

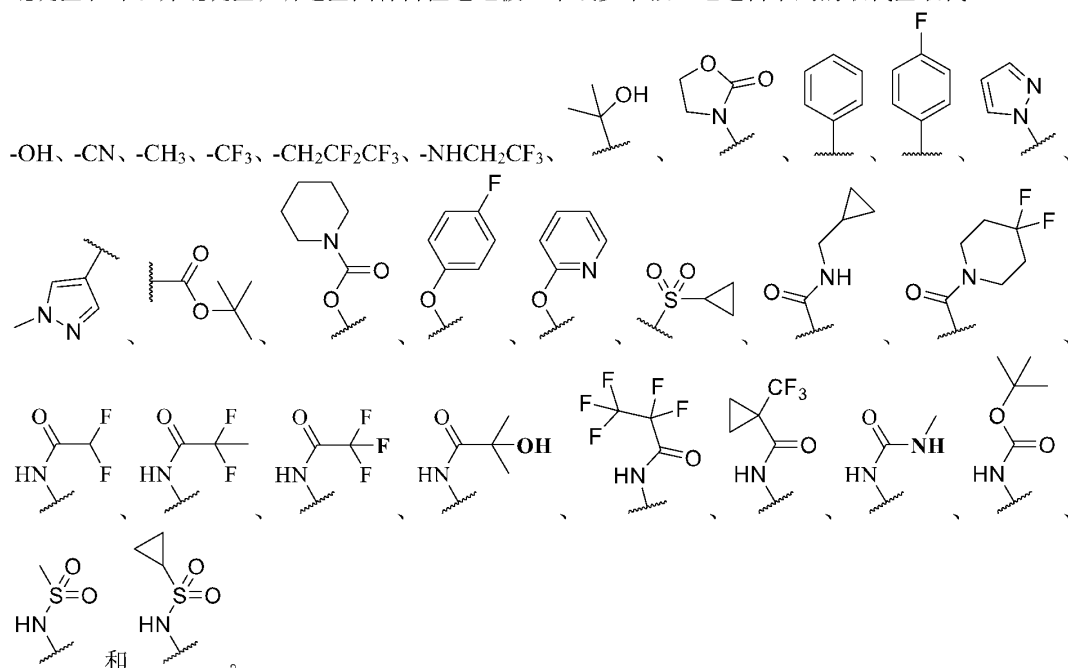
取代：卤素、-OH、-CN、C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、3-10元杂环基、C₆₋₁₀芳基、5-14元杂芳基、-C(=O)R^c、-OC(=O)R^c、-C(=O)OR^c、-OR^c、-S(=O)₂R^c、-NR^cR^d、-C(=O)NR^cR^d、-NR^c-C(=O)R^d、-NR^c-C(=O)OR^d、-NR^c-S(=O)₂-R^d和-NR^c-C(=O)-NR^cR^d；上述烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基进一步任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素(例如氟)、-OH、=O、C₁₋₆烷基(例如甲基)、卤代 C₁₋₆烷基(例如三氟甲基)、-OC₁₋₆烷基(例如甲氧基)和-O-卤代 C₁₋₆烷基(例如三氟甲氧基)，优选地，上述烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基进一步任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素(例如氟)、-OH、=O、C₁₋₆烷基(例如甲基)。

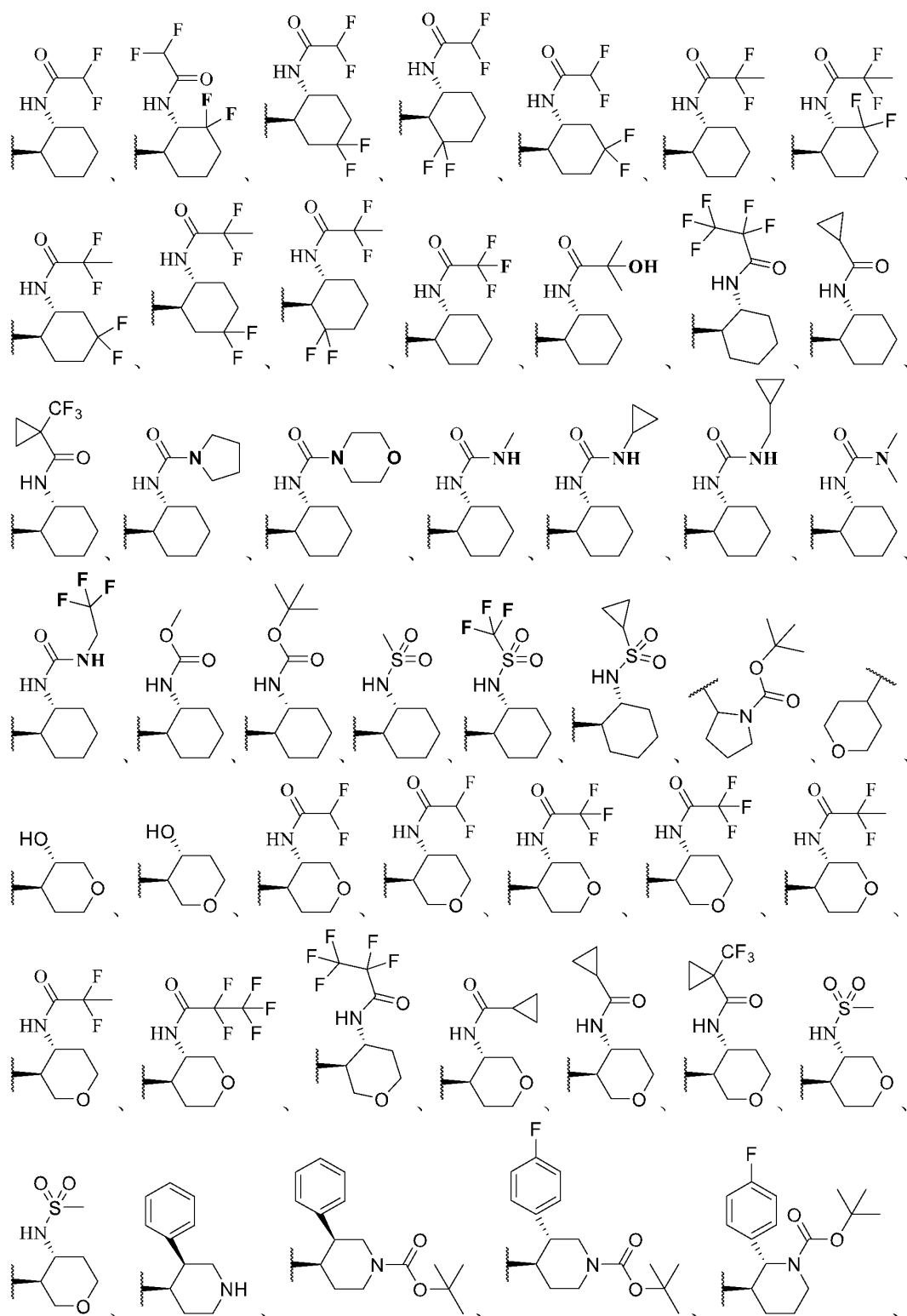
5. 权利要求 1-4 中任一化合物的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药, 其中 R^c 和 R^d 在每次出现时各自独立地选自 H、 C_{1-6} 烷基(例如甲基、乙基、叔丁基)、 C_{3-10} 环烷基(例如环丙基)、3-10 元杂环基(例如任选地被 F 取代的吡咯烷基、吗啉基或哌啶基, 优选地, 任选地被 F 取代的哌啶基)、 C_{6-10} 芳基(任选地被 F 取代的苯基)和 5-14 元杂芳基(例如吡啶基), 所述烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基进一步任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代: 卤素(例如 F)、-OH、卤代 C_{1-6} 烷基(例如三氟甲基)和 C_{3-6} 环烷基(例如环丙基)。

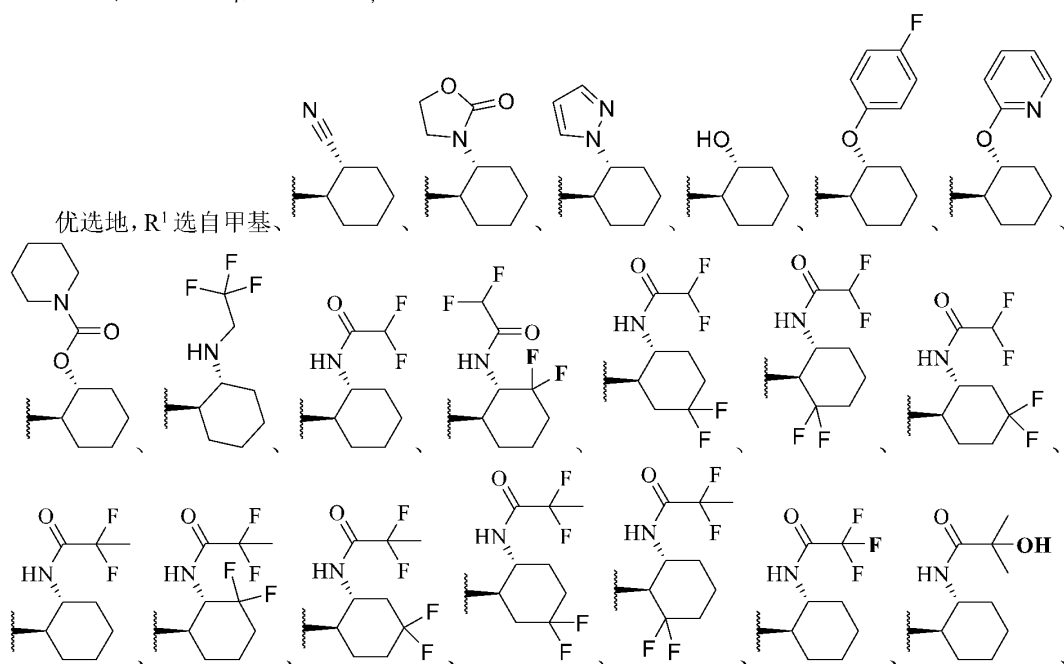
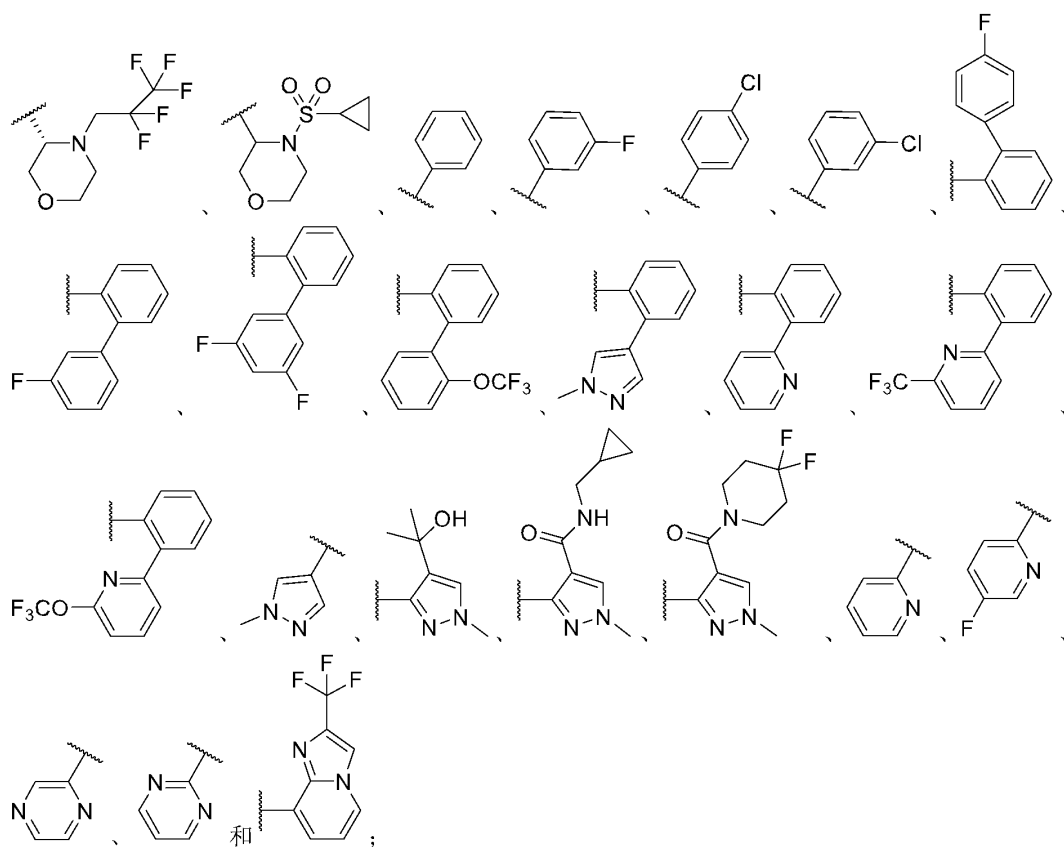
6. 权利要求 1-5 中任一化合物的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药, 其中 R' 选自甲基、环丙基、环己基、四氢吡咯基、四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、苯基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、哒嗪基和咪唑并吡啶基; 所述基团各自任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代: -F、-Cl、-OH、-CN、

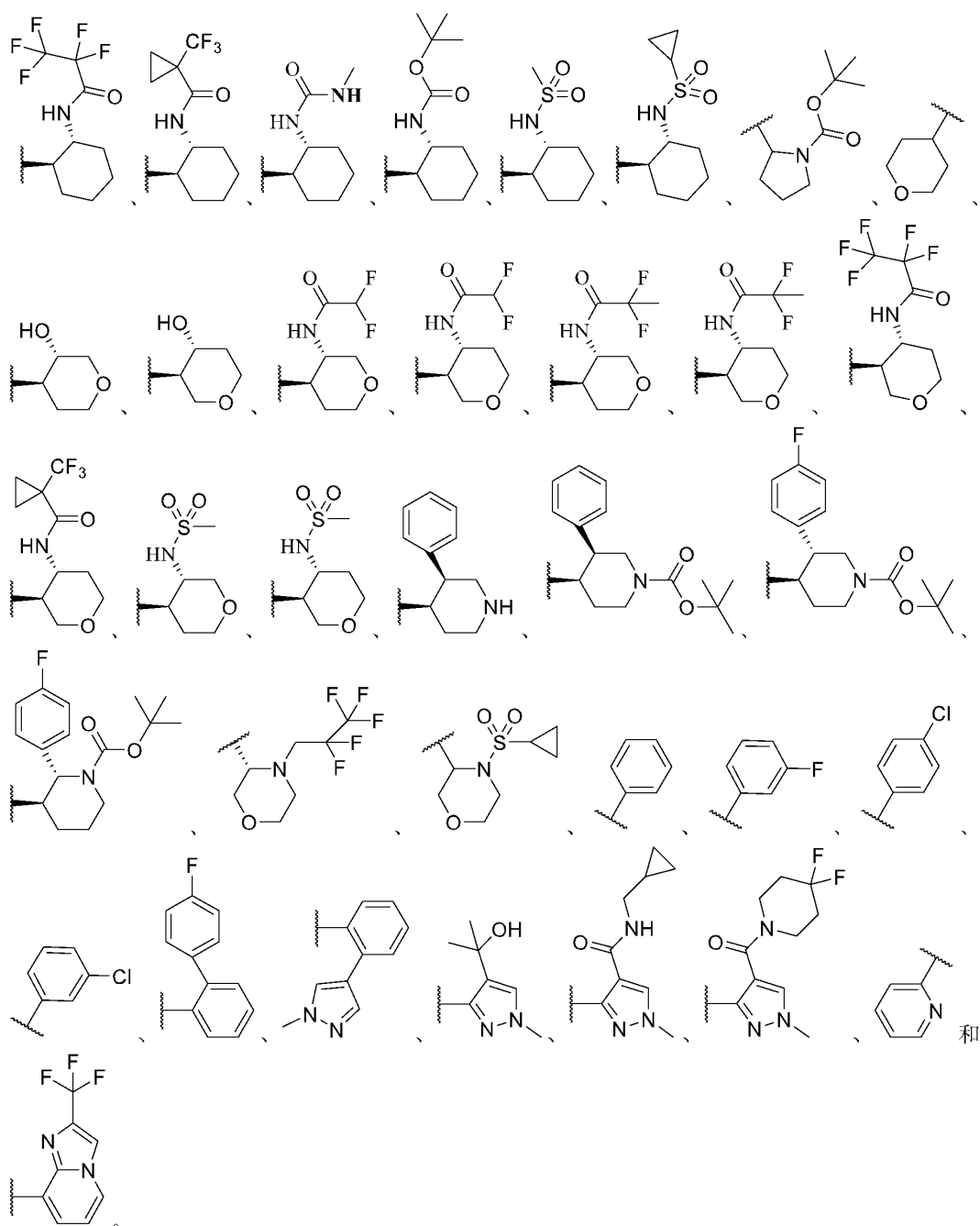


优选地, R^1 选自甲基、环己基、四氢吡咯基、四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、苯基、吡啶基、吡啶基和咪唑并吡啶基; 所述基团各自任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代: -F、-Cl、





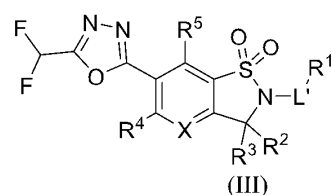
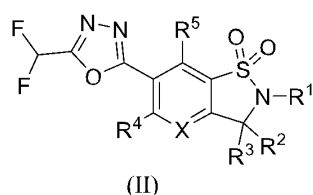




9. 权利要求 1-8 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中 R^2 和 R^3 为 H 或 C_{1-6} 烷基，优选为 H 或甲基；或者 R^2 和 R^3 共同构成氧代基(=O)；或者 R^2 和 R^3 连同其所连接的碳原子共同构成 C_{3-6} 环烷基，优选环丙基。

10. 权利要求 1-9 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中 R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地为 H 或卤素；优选地， R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地为 H 或 F。

11. 权利要求 1-10 中任一一项的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中所述化合物具有式(II)或式(III)的结构：



其中：

L'为-C₁₋₆ 亚烷基-，所述亚烷基任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：-OH、C₃₋₆ 环烷基、3-10 元杂环基、C₆₋₁₀ 芳基和 5-14 元杂芳基；优选地，所述亚烷基任选地被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：-OH、环丙基以及任选地被一个或多个卤素取代的苯基；

其余各基团如权利要求 1-10 中任一一项所定义。

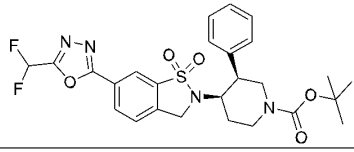
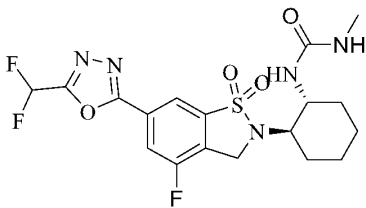
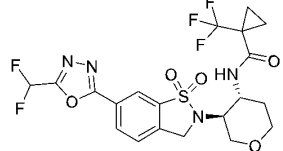
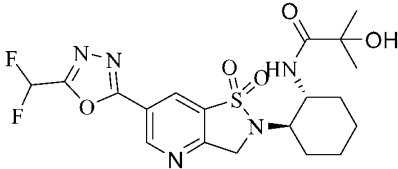
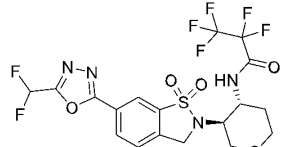
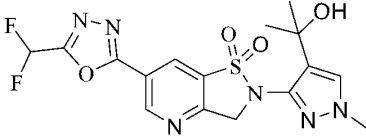
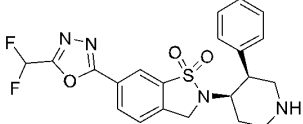
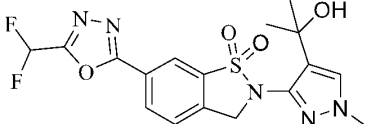
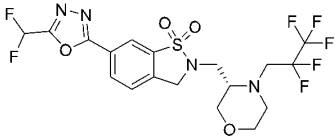
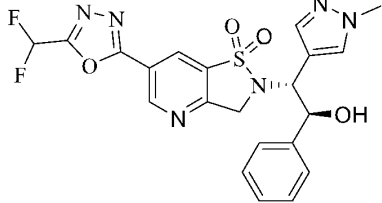
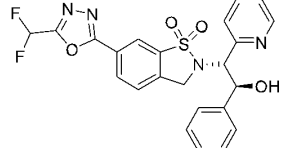
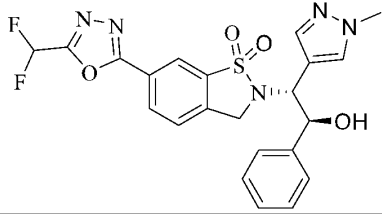
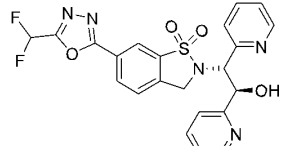
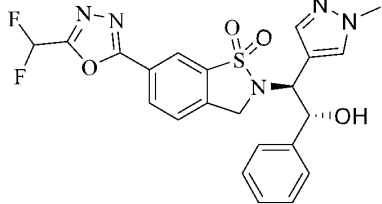
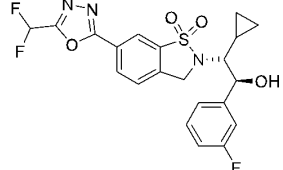
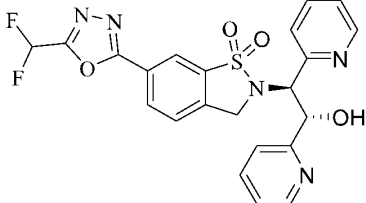
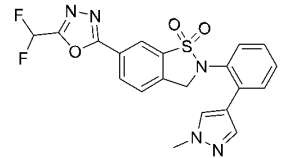
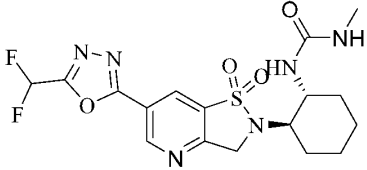
12. 权利要求 1-11 中任一一项的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药，其中所述化合物选自：

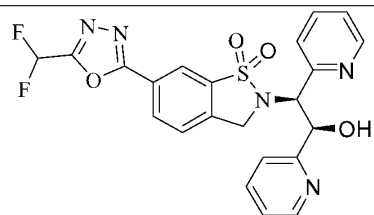
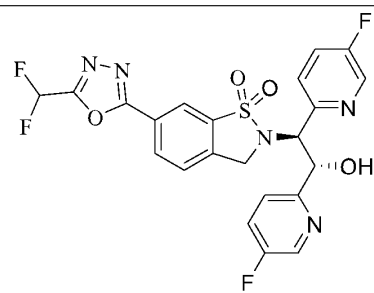
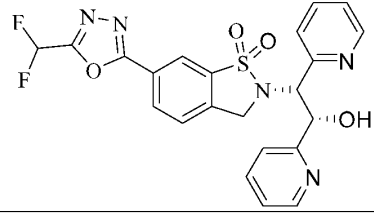
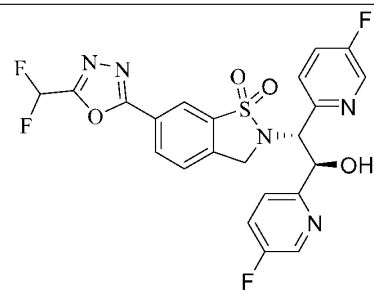
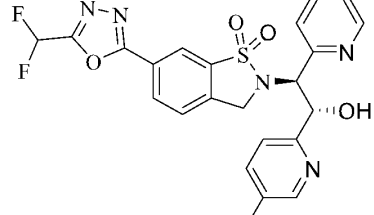
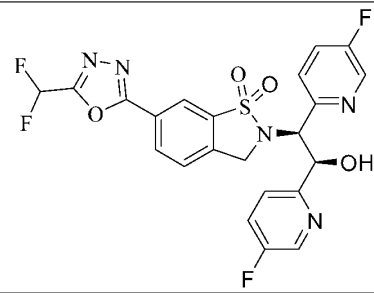
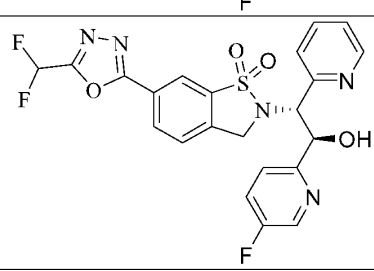
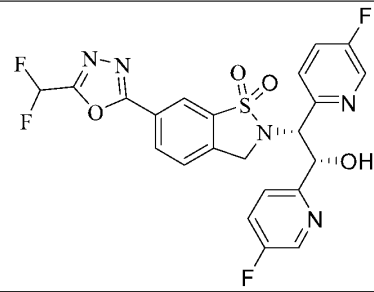
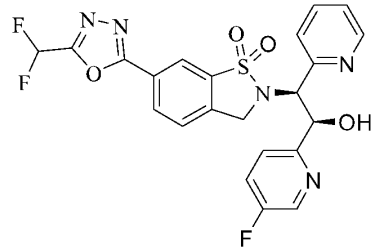
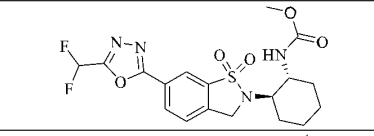
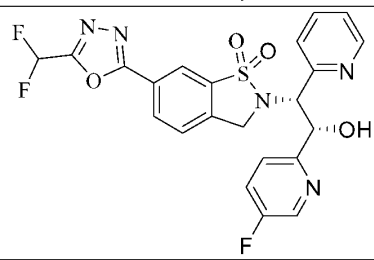
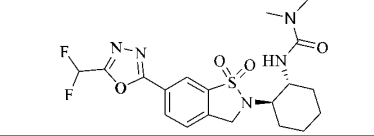
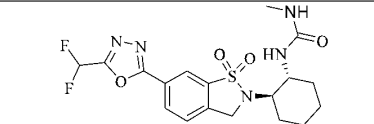
No.	结构
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	
6.	
7.	
8.	
9.	
10.	
11.	
12.	

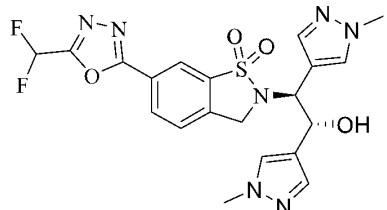
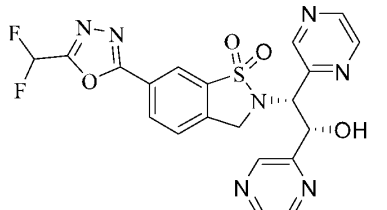
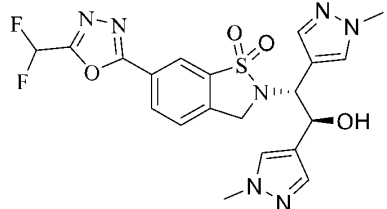
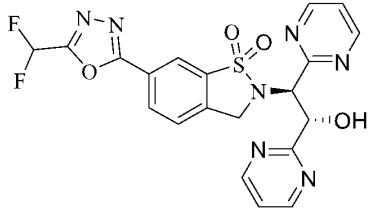
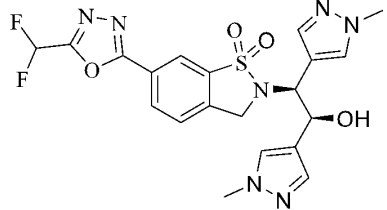
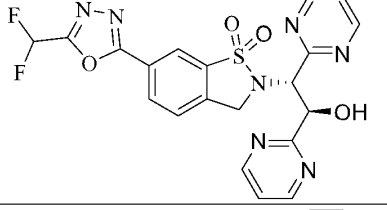
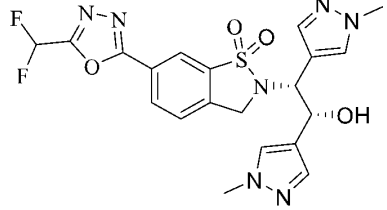
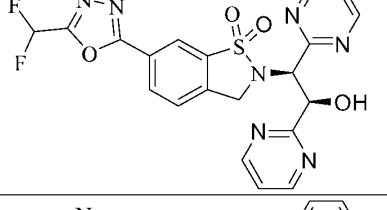
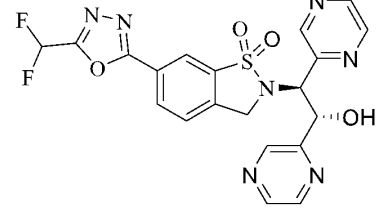
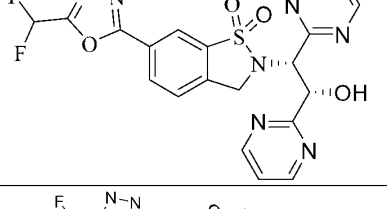
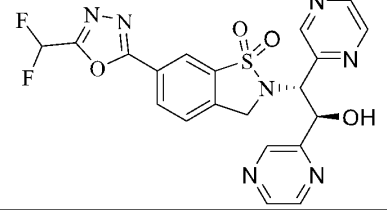
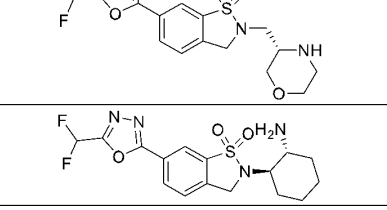
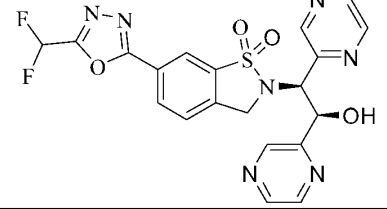
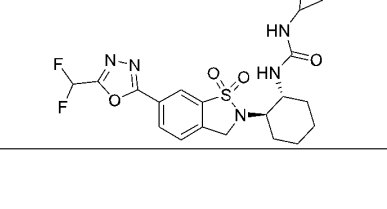
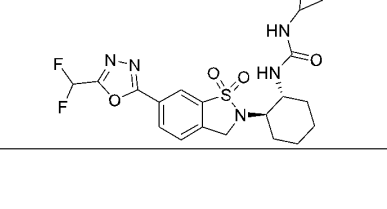
13.	
14.	
15.	
16.	
17.	
18.	
19.	
20.	
21.	
22.	
23.	
24.	
25.	
26.	
27.	
28.	
29.	

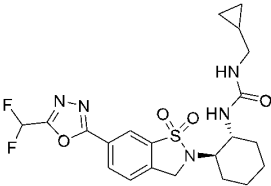
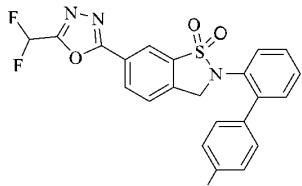
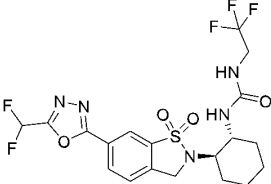
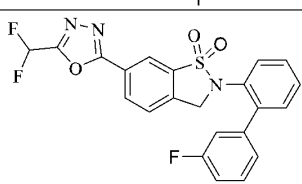
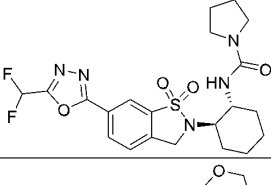
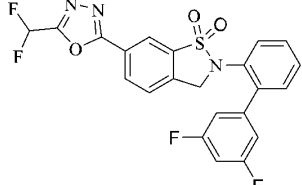
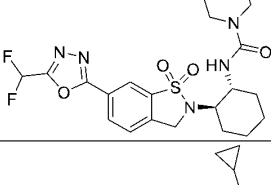
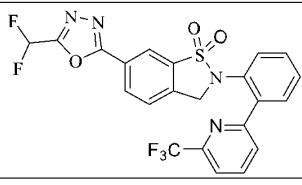
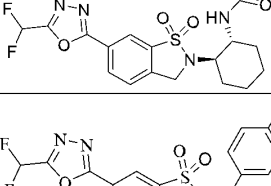
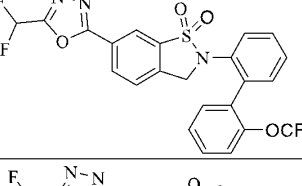
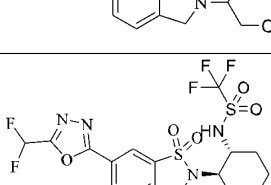
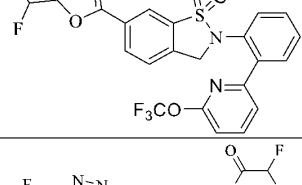
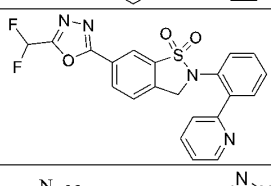
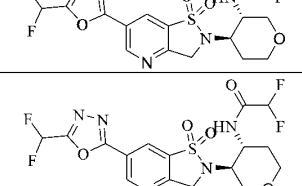
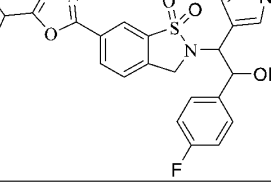
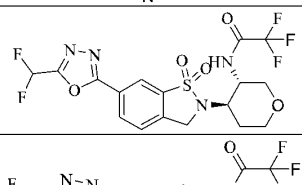
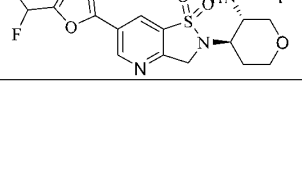
30.	
31.	
32.	
33.	
34.	
35.	
36.	
37.	
38.	
39.	
40.	
41.	
42.	
43.	
44.	
45.	

46.	
47.	
48.	
49.	
50.	
51.	
52.	
53.	
54.	
55.	
56.	
57.	
58.	
59.	
60.	
61.	
62.	
63.	

64.		74.	
65.		75.	
66.		76.	
67.		77.	
68.		78.	
69.		79.	
70.		80.	
71.		81.	
72.			
73.			

82.		88.	
83.		89.	
84.		90.	
85.		91.	
86.		92.	
87.		93.	
		94.	

95.		102.	
96.		103.	
97.		104.	
98.		105.	
99.		106.	
100.		107.	
101.		108.	
		109.	

110.		119.	
111.		120.	
112.		121.	
113.		122.	
114.		123.	
115.		124.	
116.		125.	
117.		126.	
118.		127.	
		128.	

129.	
130.	
131.	
132.	
133.	
134.	
135.	
136.	
137.	
138.	
139.	
140.	
141.	
142.	
143.	
144.	
145.	
146.	
147.	
148.	
149.	

150.		156.	
151.		157.	
152.		158.	
153.		159.	
154.			
155.			

13. 药物组合物，其包含权利要求 1-12 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药以及一种或多种药学上可接受的载体，所述药物组合物优选是固体制剂、液体制剂或透皮制剂。

14. 权利要求 1-12 中任一项的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、互变异构体、多晶型物、溶剂合物、代谢物、同位素标记的化合物或前药或者权利要求 13 的药物组合物在制备用于预防或治疗 HDAC6 相关性疾病的药物中的用途。

15. 权利要求 14 的用途，其中所述 HDAC6 相关性疾病选自癌症或增生性疾病(例如，肺癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌、脑癌、肾癌、卵巢癌、胃癌、皮肤癌、骨癌、胰腺癌、神经胶质瘤、胶质母细胞瘤、肝细胞癌、乳头状肾癌、头颈部鳞状细胞癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、多发

性骨髓瘤和实体肿瘤); 韦尔森氏病、脊髓小脑型共济失调、朊病毒病、帕金森氏病、亨廷顿氏病、肌萎缩性侧索硬化症、淀粉样变性病、阿尔茨海默氏病、亚历山大氏病、酒精性肝病、囊性纤维化、皮克氏病、脊髓性肌肉萎缩症或路易体痴呆; 类风湿性关节炎、骨关节炎; 类风湿性脊椎炎; 牛皮癣; 炎症肠病; 慢性炎性肺病、湿疹、哮喘、局部缺血/再灌注损伤、溃疡性结肠炎、急性呼吸窘迫综合症、牛皮癣性关节炎、感染性关节炎、进行性慢性关节炎、变形性关节炎、骨关节炎、创伤性关节炎、痛风性关节炎、瑞特氏综合症、多软骨炎、急性滑膜炎和脊椎炎、肾小球肾炎、溶血性贫血、再生障碍性贫血、特发性血小板减少性紫癜、中性粒细胞减少症、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、宿主抗移植物疾病、移植抗宿主疾病、同种异体移植排斥、慢性甲状腺炎、葛瑞夫兹氏病、硬皮病、糖尿病、活动性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、重症肌无力、多发性硬化(MS)、系统性红斑狼疮、异位性皮炎、接触性皮炎、皮肤晒伤、慢性肾功能不全、史蒂芬斯-强森综合症、特发性脂肪泻、肉状瘤病、格林-巴利综合症、葡萄膜炎、结膜炎、角膜结膜炎、中耳炎、牙周病、肺间质纤维化、哮喘、支气管炎、鼻炎、鼻窦炎、尘肺病、肺功能不全综合症、肺气肿、肺纤维化或硅肺病。