

## 2,3-二氢-1*H*-吡咯嗪-7-甲酰胺类衍生物及其应用

### 本申请主张如下优先权：

本申请要求于 2018 年 05 月 25 日向中华人民共和国国家知识产权局提交的第 201810528259.1 号中国发明专利申请的权益和优先权，于 2018 年 07 月 27 日向中华人民共和国国家知识产权局提交的第 201810843225.1 号中国发明专利申请的权益和优先权，和于 2018 年 10 月 12 日向中华人民共和国国家知识产权局提交的第 201811189801.1 号中国发明专利申请的权益和优先权，在此将其全部内容以援引的方式整体并入本文中。

### 技术领域

本申请涉及一种作为核蛋白抑制剂的 2,3-二氢-1*H*-吡咯嗪-7-甲酰胺类衍生物，以及其在制备治疗与 HBV 相关疾病的药物中的应用。具体涉及式 (II) 所示化合物、式 (II-A) 所示化合物、式 (II-B) 所示化合物、式 (I) 所示化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐，以及其在制备治疗与 HBV 相关疾病的药物中的应用。

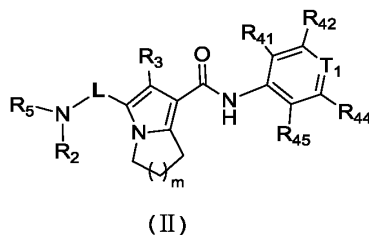
### 背景技术

乙型肝炎是由乙肝病毒入侵引起的炎症反应，其易发展成肝纤维化、肝硬化，是全球 80% 原发性肝癌的直接病因。

乙肝是世界性医学难题，目前全世界范围内还没有治疗乙肝的特效药，全球乙肝药物市场中核苷类和干扰素类占据主要地位；乙肝治疗的一线用药主要是核苷类药物，干扰素。但存在费用昂贵、易复发等问题，因此开发出一种新型的抗乙肝药物势在必行。

### 发明内容

本申请提供了式 (II) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐，



其中，

m 为 1 或 2；

L 选自 ；

T<sub>1</sub> 选自 N 和 C(R<sub>43</sub>)；

R<sub>2</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基,其中所述C<sub>1-6</sub>烷基任选被1、2或3个R<sub>b</sub>取代;

R<sub>3</sub>选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、C<sub>1-6</sub>烷基和C<sub>1-3</sub>烷氧基,所述C<sub>1-6</sub>烷基和C<sub>1-3</sub>烷氧基任选被1、2或3个R<sub>c</sub>取代;

R<sub>41</sub>、R<sub>42</sub>、R<sub>43</sub>、R<sub>44</sub>和R<sub>45</sub>分别独立地选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH和C<sub>1-3</sub>烷基,所述C<sub>1-3</sub>烷基任选被1、2或3个R<sub>d</sub>取代;

R<sub>5</sub>选自R<sub>51</sub>、C<sub>3-10</sub>环烷基和3~6元杂环烷基,其中,所述C<sub>3-10</sub>环烷基和3~6元杂环烷基任选被1、2或3个R<sub>1</sub>取代;

R<sub>51</sub>选自C<sub>1-10</sub>烷基和C<sub>1-6</sub>杂烷基,所述C<sub>1-10</sub>烷基和C<sub>1-6</sub>杂烷基任选被1、2或3个R<sub>e</sub>取代;

R<sub>1</sub>分别独立地选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-6</sub>烷基、-COO-C<sub>1-6</sub>烷基和-C<sub>1-3</sub>烷基-COO-C<sub>1-6</sub>烷基,其中所述C<sub>1-6</sub>烷基、-COO-C<sub>1-6</sub>烷基和-C<sub>1-3</sub>烷基-COO-C<sub>1-6</sub>烷基任选被1、2或3个R<sub>a</sub>取代;

R<sub>a</sub>分别独立地选自Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-3</sub>烷基和C<sub>1-3</sub>烷氧基,其中所述C<sub>1-3</sub>任选被1、2或3个R取代;

R<sub>b</sub>分别独立地选自Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN和COOH;

R<sub>c</sub>分别独立地选自Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH和C<sub>1-3</sub>烷基,其中所述C<sub>1-3</sub>任选被1、2或3个R取代;

R<sub>d</sub>分别独立地选自Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN和COOH;

R<sub>e</sub>分别独立地选自Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN和COOH;

R分别独立地选自Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN和COOH;

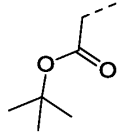
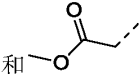
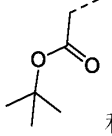
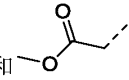
所述C<sub>1-6</sub>杂烷基和3~6元杂环烷基分别包含1、2、3或4个独立选自-NH-、-O-、-S-和N的杂原子或杂原子团。

本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>a</sub>选自Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH和-OCH<sub>3</sub>,其他变量如本申请所定义。

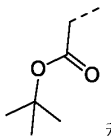
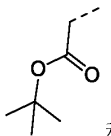
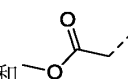
本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>c</sub>选自Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN和COOH,其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>1</sub>分别独立地选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-3</sub>烷基、-COO-C<sub>1-3</sub>烷基和-C<sub>1-3</sub>烷基-COO-C<sub>1-3</sub>烷基,其中所述C<sub>1-3</sub>烷基、-COO-C<sub>1-3</sub>烷基和-C<sub>1-3</sub>烷基-COO-C<sub>1-3</sub>烷基任选被1、2或3个R<sub>a</sub>取代,其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>1</sub>分别独立

地选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、CH<sub>3</sub>、Et、和, 其中所述CH<sub>3</sub>、Et、和任选被1、2或3个R<sub>a</sub>取代, 其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>1</sub>分别独立地选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、CH<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub>、Et、-CH<sub>2</sub>-COOH、-CH<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-

、和, 其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>2</sub>选自H和C<sub>1-3</sub>烷基, 其中所述C<sub>1-3</sub>烷基任选被1、2或3个R<sub>b</sub>取代, 其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>2</sub>选自H、CH<sub>3</sub>和Et, 其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>3</sub>选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>和C<sub>1-3</sub>烷基, 其中所述C<sub>1-3</sub>烷基任选被1、2或3个R<sub>c</sub>取代, 其他变量如本申请所定义。

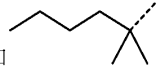
本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>3</sub>选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub>和Et, 其他变量如本申请所定义。

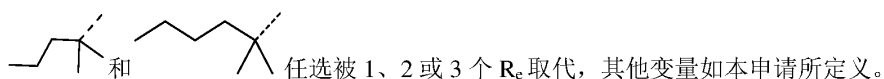
本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>41</sub>、R<sub>42</sub>、R<sub>43</sub>、R<sub>44</sub>和R<sub>45</sub>分别独立地选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN和-COOH, 其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>51</sub>选自C<sub>1-7</sub>烷基和C<sub>1-6</sub>杂烷基, 所述C<sub>1-7</sub>烷基和C<sub>1-6</sub>杂烷基任选被1、2或3个R<sub>e</sub>取代, 其他变量如本申请所定义。

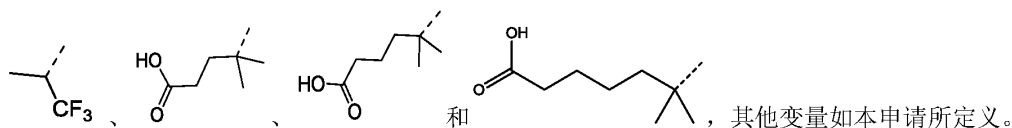
本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>51</sub>选自C<sub>1-7</sub>烷基和C<sub>1-3</sub>杂烷基, 所述C<sub>1-7</sub>烷基和C<sub>1-3</sub>杂烷基任选被1、2或3个R<sub>e</sub>取代, 其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>51</sub>选自甲

基、乙基、丙基、异丙基、、和, 所述甲基、乙基、丙基、异丙基、、



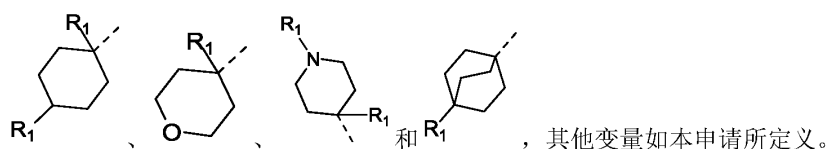
本申请的式 (II) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述  $R_{51}$  选自



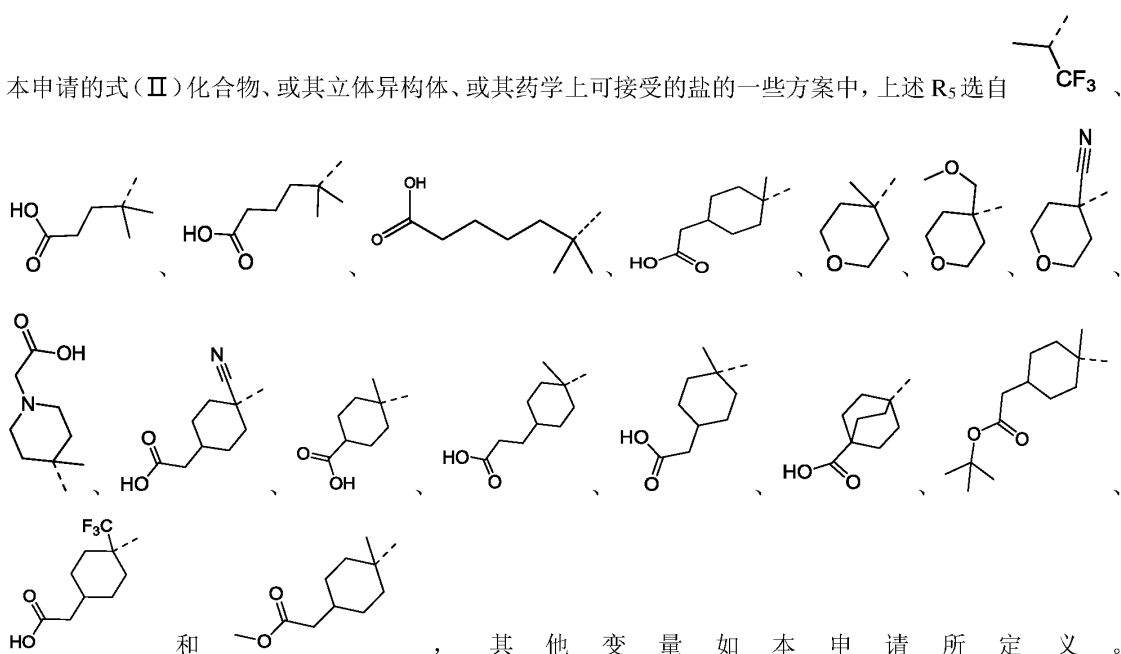
本申请的式 (II) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述  $R_5$  选自  $R_{51}$ 、 $C_{3-8}$  环烷基和 5~6 元杂环烷基，其中，所述  $C_{3-8}$  环烷基和 5~6 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_1$  取代，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述  $R_5$  选自  $R_{51}$ 、环己烷基、四氢吡喃基、哌啶基和双环[2.2.2]辛烷基，其中，所述环己烷基、四氢吡喃基、哌啶基和双环[2.2.2]辛烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_1$  取代，其他变量如本申请所定义。

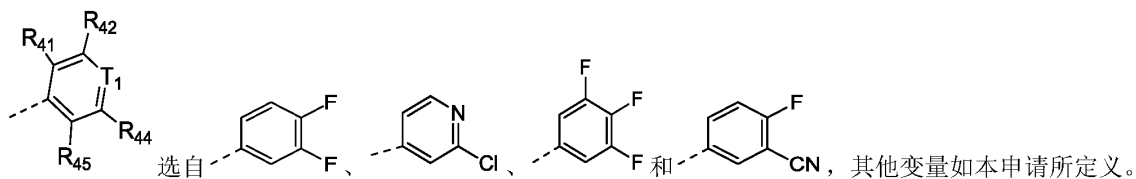
本申请的式 (II) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述  $R_5$  选自  $R_{51}$ 、



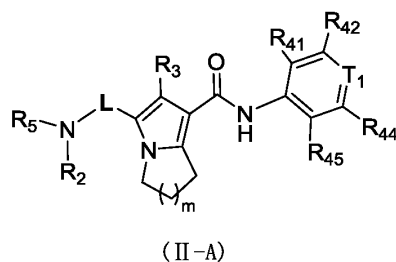
本申请的式 (II) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述  $R_5$  选自



本申请的式 (II) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述结构单元

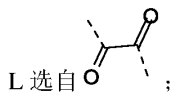


上述式 (II) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐选自式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐，



其中，

m 为 1 或 2；



T<sub>1</sub> 选自 N 和 C(R<sub>43</sub>)；

R<sub>2</sub> 选自 H 和 C<sub>1-6</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-6</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>b</sub> 取代；

R<sub>3</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、C<sub>1-6</sub> 烷基和 C<sub>1-3</sub> 烷氧基，所述 C<sub>1-6</sub> 烷基和 C<sub>1-3</sub> 烷氧基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>c</sub> 取代；

R<sub>41</sub>、R<sub>42</sub>、R<sub>43</sub>、R<sub>44</sub> 和 R<sub>45</sub> 分别独立地选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH 和 C<sub>1-3</sub> 烷基，所述 C<sub>1-3</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>d</sub> 取代；

R<sub>5</sub> 选自 R<sub>51</sub>、C<sub>3-10</sub> 环烷基和 3~6 元杂环烷基，其中，所述 C<sub>3-10</sub> 环烷基和 3~6 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>1</sub> 取代；

R<sub>51</sub> 选自 C<sub>1-7</sub> 烷基和 C<sub>1-6</sub> 杂烷基，所述 C<sub>1-7</sub> 烷基和 C<sub>1-6</sub> 杂烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>e</sub> 取代；

R<sub>1</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-6</sub> 烷基、-COO-C<sub>1-6</sub> 烷基和 -C<sub>1-3</sub> 烷基-COO-C<sub>1-6</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-6</sub> 烷基、-COO-C<sub>1-6</sub> 烷基和 -C<sub>1-3</sub> 烷基-COO-C<sub>1-6</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>a</sub> 取代；

R<sub>a</sub> 分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-3</sub> 烷基和 C<sub>1-3</sub> 烷氧基，其中所述 C<sub>1-3</sub> 任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

R<sub>b</sub> 分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH；

R<sub>c</sub> 分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH 和 C<sub>1-3</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-3</sub> 任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

R<sub>d</sub>分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH；

R<sub>e</sub>分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH；

R 分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH；

所述 C<sub>1-6</sub> 杂烷基和 3~6 元杂环烷基分别包含 1、2、3 或 4 个独立选自 -NH-、-O-、-S- 和 N 的杂原子或杂原子团。

本申请的式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>a</sub> 选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH 和 -OCH<sub>3</sub>，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>c</sub> 选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>1</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-3</sub> 烷基、-COO-C<sub>1-3</sub> 烷基和 -C<sub>1-3</sub> 烷基-COO-C<sub>1-3</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-3</sub> 烷基、-COO-C<sub>1-3</sub> 烷基和 -C<sub>1-3</sub> 烷基-COO-C<sub>1-3</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>a</sub> 取代，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>1</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、CH<sub>3</sub> 和 Et，其中所述 CH<sub>3</sub> 和 Et 任选被 1、2 或 3 个 R<sub>a</sub> 取代，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>1</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、CH<sub>3</sub>、Et、-CH<sub>2</sub>-COOH、-CH<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub> 和 -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-COOH，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>2</sub> 选自 H 和 C<sub>1-3</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-3</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>b</sub> 取代，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>2</sub> 选自 H、CH<sub>3</sub> 和 Et，其他变量如本申请所定义。

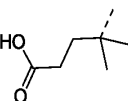
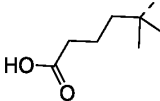
本申请的式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>3</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub> 和 C<sub>1-3</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-3</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>c</sub> 取代，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>3</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub> 和 Et，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-A) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>41</sub>、R<sub>42</sub>、R<sub>43</sub>、R<sub>44</sub> 和 R<sub>45</sub> 分别独立地选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 -COOH，其他变量如本申请所定义。

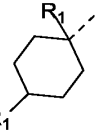
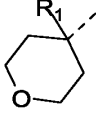
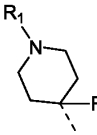
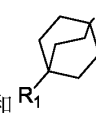
本申请的式(II-A)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述  $R_{51}$  选自  $C_{1-6}$  烷基和  $C_{1-3}$  杂烷基,所述  $C_{1-6}$  烷基和  $C_{1-3}$  杂烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_e$  取代,其他变量如本申请所定义。

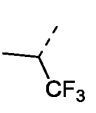
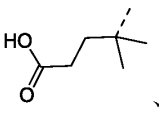
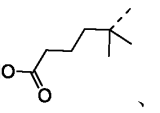
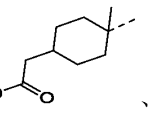
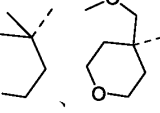
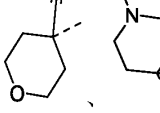
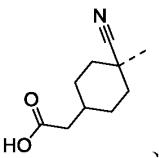
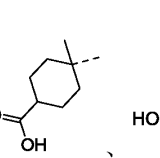
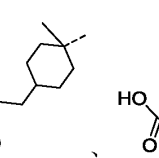
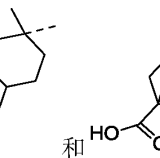
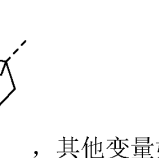
本申请的式(II-A)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述  $R_{51}$  选自甲基、乙基、丙基、异丙基、 和 , 所述甲基、乙基、丙基、异丙基、 和  任选被 1、2 或 3 个  $R_e$  取代,其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II-A)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述  $R_{51}$  选自 、 和 , 其他变量如本申请所定义。

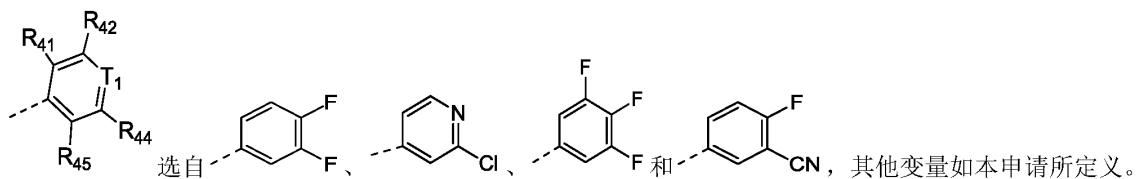
本申请的式(II-A)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述  $R_5$  选自  $R_{51}$ 、 $C_{3-8}$  环烷基和 5~6 元杂环烷基,其中,所述  $C_{3-8}$  环烷基和 5~6 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_1$  取代,其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II-A)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述  $R_5$  选自  $R_{51}$ 、环己烷基、四氢吡喃基、哌啶基和双环[2.2.2]辛烷基,其中,所述环己烷基、四氢吡喃基、哌啶基和双环[2.2.2]辛烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_1$  取代,其他变量如本申请所定义。

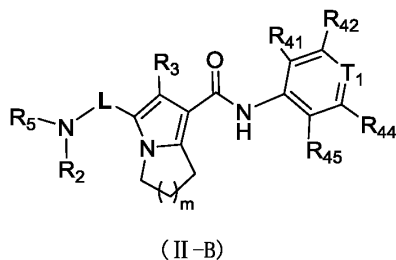
本申请的式(II-A)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述  $R_5$  选自  $R_{51}$ 、、、 和 , 其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II-A)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述  $R_5$  选自 、、、、、、、、、、 和 , 其他变量如本申请所定义。

本申请的式(II-A)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述结构单元

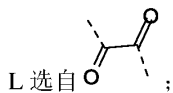


上述式 (II) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐选自式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐，



其中，

m 为 1 或 2；



T<sub>1</sub> 选自 N 和 C(R<sub>43</sub>)；

R<sub>2</sub> 选自 H 和 C<sub>1-6</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-6</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>b</sub> 取代；

R<sub>3</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、C<sub>1-6</sub> 烷基和 C<sub>1-3</sub> 烷氧基，所述 C<sub>1-6</sub> 烷基和 C<sub>1-3</sub> 烷氧基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>c</sub> 取代；

R<sub>41</sub>、R<sub>42</sub>、R<sub>43</sub>、R<sub>44</sub> 和 R<sub>45</sub> 分别独立地选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH 和 C<sub>1-3</sub> 烷基，所述 C<sub>1-3</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>d</sub> 取代；

R<sub>5</sub> 选自 R<sub>51</sub>、C<sub>3-6</sub> 环烷基和 3~6 元杂环烷基，其中，所述 5~6 元环烷基和 3~6 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>1</sub> 取代；

R<sub>51</sub> 选自 C<sub>1-6</sub> 烷基和 C<sub>1-6</sub> 杂烷基，所述 C<sub>1-6</sub> 烷基和 C<sub>1-6</sub> 杂烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>e</sub> 取代；

R<sub>1</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-6</sub> 烷基、-COO-C<sub>1-6</sub> 烷基和 -C<sub>1-3</sub> 烷基-COO-C<sub>1-6</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-6</sub> 烷基、-COO-C<sub>1-6</sub> 烷基和 -C<sub>1-3</sub> 烷基-COO-C<sub>1-6</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>a</sub> 取代；

R<sub>a</sub> 分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-3</sub> 烷基和 C<sub>1-3</sub> 烷氧基，其中所述 C<sub>1-3</sub> 任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

R<sub>b</sub> 分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH；

R<sub>c</sub> 分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH 和 C<sub>1-3</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-3</sub> 任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

R<sub>d</sub>分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH；

R<sub>e</sub>分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH；

R 分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH；

所述 C<sub>1-6</sub> 杂烷基和 3~6 元杂环烷基分别包含 1、2、3 或 4 个独立选自 -NH-、-O-、-S- 和 N 的杂原子或杂原子团。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>a</sub> 选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH 和 -OCH<sub>3</sub>，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>c</sub> 选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>1</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-3</sub> 烷基、-COO-C<sub>1-3</sub> 烷基和 -C<sub>1-3</sub> 烷基-COO-C<sub>1-3</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-3</sub> 烷基、-COO-C<sub>1-3</sub> 烷基和 -C<sub>1-3</sub> 烷基-COO-C<sub>1-3</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>a</sub> 取代，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>1</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、CH<sub>3</sub> 和 Et，其中所述 CH<sub>3</sub> 和 Et 任选被 1、2 或 3 个 R<sub>a</sub> 取代，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>1</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、CH<sub>3</sub>、Et、-CH<sub>2</sub>-COOH 和 -CH<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>2</sub> 选自 H 和 C<sub>1-3</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-3</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>b</sub> 取代，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>2</sub> 选自 H、CH<sub>3</sub> 和 Et，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>3</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub> 和 C<sub>1-3</sub> 烷基，其中所述 C<sub>1-3</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>c</sub> 取代，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>3</sub> 选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub> 和 Et，其他变量如本申请所定义。

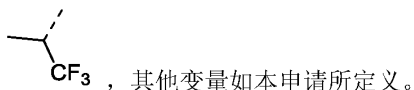
本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>41</sub>、R<sub>42</sub>、R<sub>43</sub>、R<sub>44</sub> 和 R<sub>45</sub> 分别独立地选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 -COOH，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述 R<sub>51</sub> 选自 C<sub>1-3</sub> 烷基和 C<sub>1-3</sub> 杂烷基，所述 C<sub>1-3</sub> 烷基和 C<sub>1-3</sub> 杂烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>c</sub> 取代，其他变量如本申请所定

义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_{51}$  选自甲基、乙基、丙基和异丙基, 所述甲基、乙基、丙基和异丙基任选被 1、2 或 3 个  $R_e$  取代, 其他变量如本申请所定义。

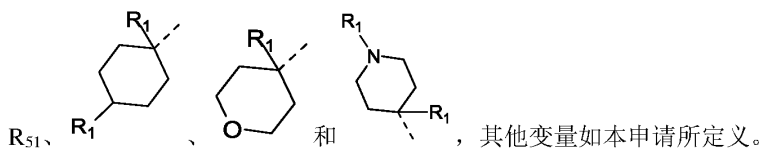
本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_{51}$  选自



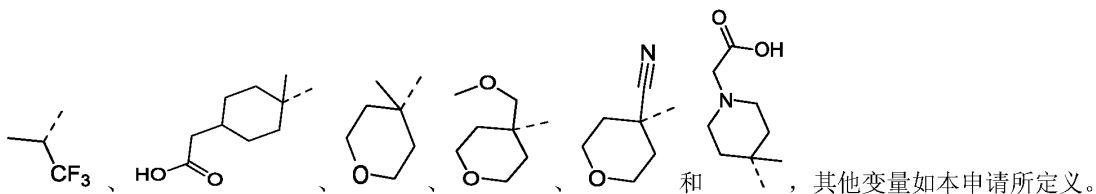
本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_5$  选自  $R_{51}$ 、 $C_{5-6}$  环烷基和 5~6 元杂环烷基, 其中, 所述 5~6 元环烷基和 5~6 元杂环烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_1$  取代, 其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_5$  选自  $R_{51}$ 、环己烷基、四氢吡喃基和哌啶基, 其中, 所述环己烷基、四氢吡喃基和哌啶基任选被 1、2 或 3 个  $R_1$  取代, 其他变量如本申请所定义。

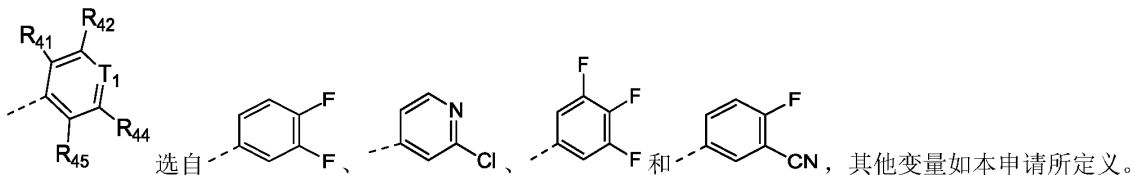
本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_5$  选自



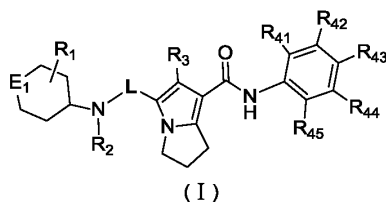
本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_5$  选自



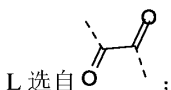
本申请的式 (II-B) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐一些方案中, 上述结构单元



上述式 (II) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐选自式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐,



其中,



E<sub>1</sub> 选自-O-、-S-和-NH-;

R<sub>1</sub>选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-6</sub>烷基、-COO-C<sub>1-6</sub>烷基和-C<sub>1-3</sub>烷基-COO-C<sub>1-6</sub>烷基,其中所述C<sub>1-6</sub>烷基、-COO-C<sub>1-6</sub>烷基和-C<sub>1-3</sub>烷基-COO-C<sub>1-6</sub>烷基任选被1、2或3个R<sub>3</sub>取代;

R<sub>2</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基,其中所述C<sub>1-6</sub>烷基任选被1、2或3个R<sub>b</sub>取代;

R<sub>3</sub>选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、C<sub>1-6</sub>烷基和C<sub>1-3</sub>烷氧基，所述C<sub>1-6</sub>烷基和C<sub>1-3</sub>烷氧基任选被1、2或3个R<sub>c</sub>取代；

R<sub>41</sub>、R<sub>42</sub>、R<sub>43</sub>、R<sub>44</sub> 和 R<sub>45</sub> 分别独立地选自 H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH 和 C<sub>1-3</sub> 烷基, 所述 C<sub>1-3</sub> 烷基任选被 1、2 或 3 个 R<sub>d</sub> 取代;

$R_a$ 选自Cl、F、Br、I、OH、 $NH_2$ 、CN、COOH和 $C_{1-3}$ 烷基,其中所述 $C_{1-3}$ 任选被1、2或3个R取代;

R<sub>b</sub>选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH;

$R_c$  选自 Cl、F、Br、I、OH、 $NH_2$ 、CN、COOH 和  $C_{1-3}$  烷基，其中所述  $C_{1-3}$  任选被 1、2 或 3 个 R 取代；

R<sub>d</sub> 分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH;

R 分别独立地选自 Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN 和 COOH。

本申请的式(I)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_a$  选自 Cl、F、Br、I、OH、 $NH_2$ 、CN 和  $COOH$ , 其他变量如本申请所定义。

本申请的式(I)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_e$  选自 Cl、F、Br、I、OH、 $NH_2$ 、CN 和  $COOH$ , 其他变量如本申请所定义。

本申请的式(I)化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中,上述R<sub>1</sub>选自H、Cl、F、Br、I、OH、NH<sub>2</sub>、CN、COOH、C<sub>1-3</sub>烷基、-COO-C<sub>1-3</sub>烷基和-C<sub>1-3</sub>烷基-COO-C<sub>1-3</sub>烷基,其中所述C<sub>1-3</sub>烷基、-COO-C<sub>1-3</sub>烷基和-C<sub>1-3</sub>烷基-COO-C<sub>1-3</sub>烷基任选被1、2或3个R<sub>a</sub>取代,其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (I) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中，上述  $R_1$  选自 H、Cl、F、Br、I、OH、 $NH_2$ 、CN、COOH、 $CH_3$  和 Et，其中所述  $CH_3$  和 Et 任选被 1、2 或 3 个  $R_a$  取代，其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (I) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_1$  选自 H、Cl、F、Br、I、OH、 $NH_2$ 、CN、COOH、 $CH_3$  和 Et, 其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (I) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_2$  选自 H 和  $C_{1-3}$  烷基, 其中所述  $C_{1-3}$  烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_b$  取代, 其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (I) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_2$  选自 H、 $CH_3$  和 Et, 其他变量如本申请所定义。

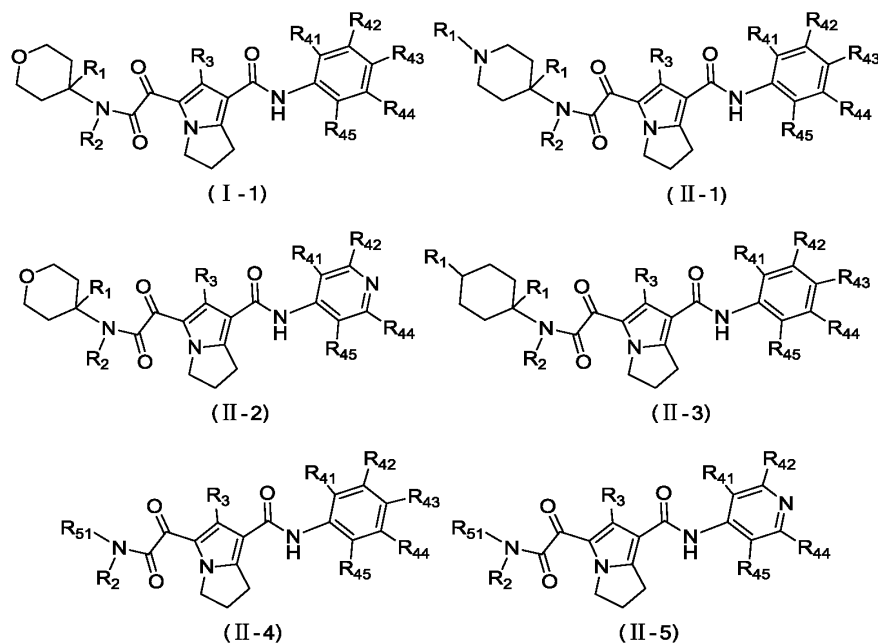
本申请的式 (I) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_3$  选自 H、Cl、F、Br、I、OH、 $NH_2$  和  $C_{1-3}$  烷基, 其中所述  $C_{1-3}$  烷基任选被 1、2 或 3 个  $R_c$  取代, 其他变量如本申请所定义。

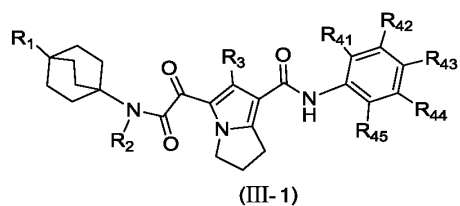
本申请的式 (I) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_3$  选自 H、Cl、F、Br、I、OH、 $NH_2$ 、 $CH_3$  和 Et, 其他变量如本申请所定义。

本申请的式 (I) 化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐的一些方案中, 上述  $R_{41}$ 、 $R_{42}$ 、 $R_{43}$ 、 $R_{44}$  和  $R_{45}$  分别独立地选自 H、Cl、F、Br、I、OH、 $NH_2$ 、CN 和 -COOH, 其他变量如本申请所定义。

本申请还有一些方案是由上述各变量任意组合而来。

本申请的一些方案中, 上述化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐, 其选自

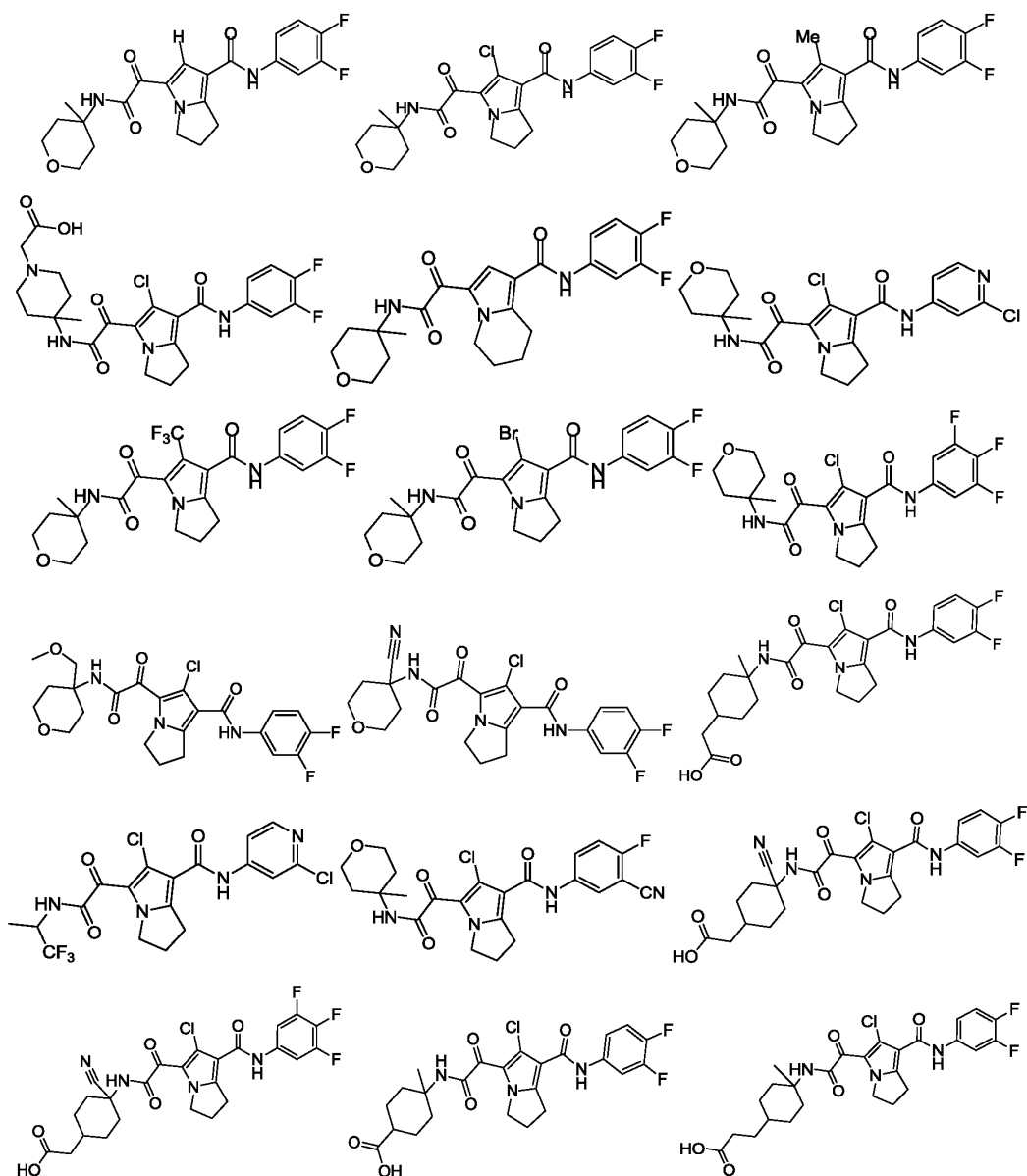


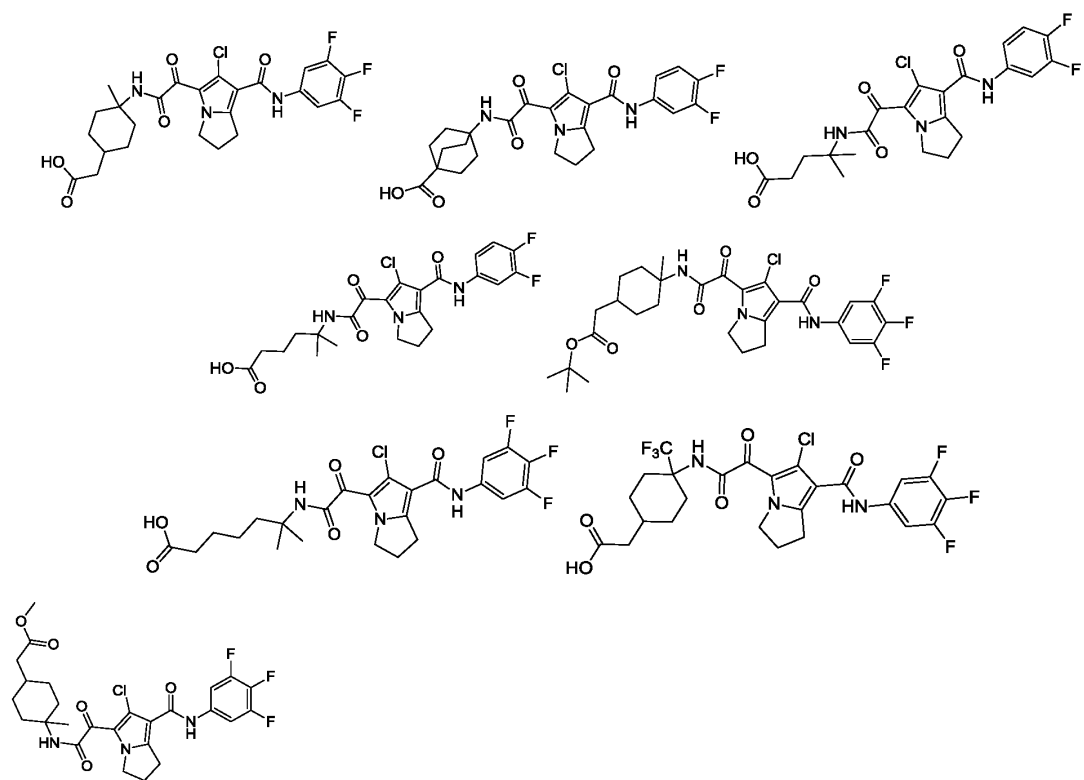


其中，

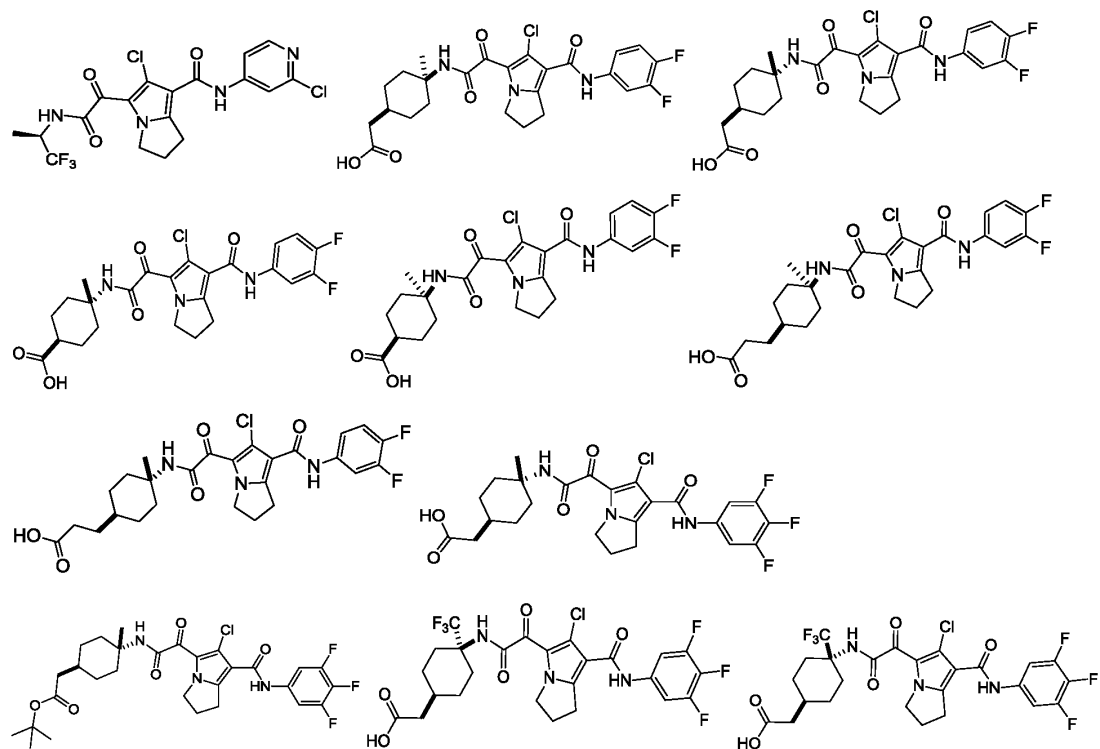
R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>41</sub>、R<sub>42</sub>、R<sub>43</sub>、R<sub>44</sub>、R<sub>45</sub>和R<sub>51</sub>如本申请所定义。

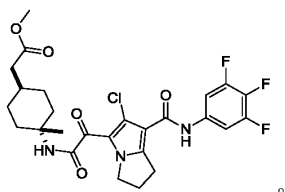
本申请还提供了下式化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐：





本申请的一些方案中，上述化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐，其选自





本申请还提供了一种药物组合物，包括作为活性成分的治疗有效量的上述化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体。

本申请还提供了上述化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐在制备核蛋白抑制剂的药物中的应用。

本申请还提供了上述化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐在作为核蛋白抑制剂中的应用。

本申请还提供了一种抑制核蛋白的方法，包括对需要该治疗或预防的哺乳动物，优选人类，给予治疗有效量的上述化合物、或其立体异构体、其药学上可接受的盐及其上述药物组合物。

本申请还提供了用作核蛋白抑制剂的上述化合物、或其立体异构体、其药学上可接受的盐及其上述药物组合物。

本申请的一些方案中，上述应用，其特征在于，核蛋白抑制剂的药物是治疗或预防 HBV 感染相关疾病的药物。

本发明本申请还提供了上述化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐在制备治疗或预防 HBV 感染相关疾病的药物中的应用。

本申请还提供了上述化合物、或其立体异构体、或其药学上可接受的盐在治疗或预防 HBV 感染相关疾病中的应用。

本申请还提供了一种治疗 HBV 感染相关疾病方法，包括对需要该治疗或预防的哺乳动物，优选人类，给予治疗有效量的上述化合物、或其立体异构体、其药学上可接受的盐及其上述药物组合物。

本申请还提供了用于治疗或预防 HBV 感染相关疾病的上述化合物、或其立体异构体、其药学上可接受的盐及其上述药物组合物。

## 技术效果

作为新类型的抗乙肝药物，本申请化合物对 HBV 的抑制作用显著。本申请的化合物在吸收、体内分布、代谢等方面表现出良好的药物代谢动力学性质，例如在体内对肝脏有良好的靶向作用。本申请的化合物毒副作用小。

## 定义和说明

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

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

术语“药学上可接受的盐”是指本申请化合物的盐，由本申请发现的具有特定取代基的化合物与相对无毒的酸或碱制备。当本申请的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱与这类化合物的中性形式接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括钠、钾、钙、铵、有机胺或镁盐或类似的盐。当本申请的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物的中性形式接触的方式获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括无机酸盐，所述无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸，碳酸氢根，磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硫酸、硫酸氢根、氢碘酸、亚磷酸等；以及有机酸盐，所述有机酸包括如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸和甲磺酸等类似的酸；还包括氨基酸（如精氨酸等）的盐，以及如葡萄糖醛酸等有机酸的盐。本申请的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团，从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

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

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

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

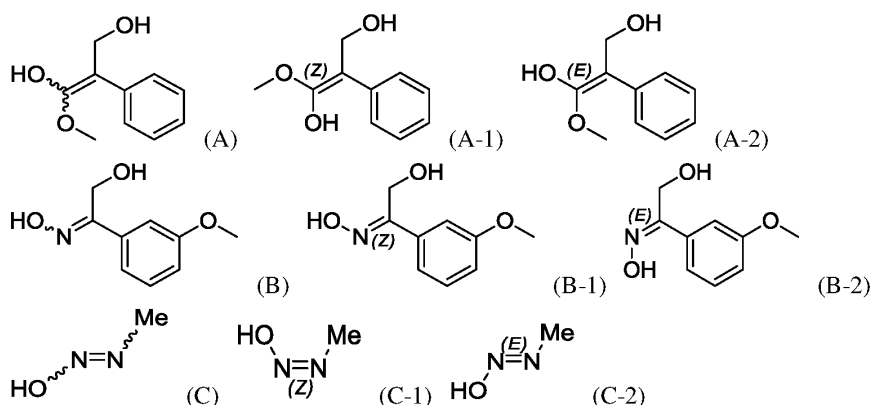
除非另有说明，术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。

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

除非另有说明，用楔形实线键（）和楔形虚线键（）表示一个立体中心的绝对构型，用直形实线键（）和直形虚线键（）表示立体中心的相对构型，用波浪线（）表示楔形实线键（）或楔形虚线键（），或用波浪线（）表示直形实线键（）和直形虚线键（）。

除非另有说明，当化合物中存在双键结构，如碳碳双键、碳氮双键和氮氮双键，且双键上的各个原子均连接有两个不同的取代基时（包含氮原子的双键中，氮原子上的一对孤对电子视为其连接的一个取代基），

如果该化合物中双键上的原子与其取代基之间用波浪线（）连接，则表示该化合物的 (Z) 型异构体、(E) 型异构体或两种异构体的混合物。例如下式 (A) 表示该化合物以式 (A-1) 或式 (A-2) 的单一异构体形式存在或以式 (A-1) 和式 (A-2) 两种异构体的混合物形式存在；下式 (B) 表示该化合物以式 (B-1) 或式 (B-2) 的单一异构体形式存在或以式 (B-1) 和式 (B-2) 两种异构体的混合物形式存在。下式 (C) 表示该化合物以式 (C-1) 或式 (C-2) 的单一异构体形式存在或以式 (C-1) 和式 (C-2) 两种异构体的混合物形式存在。



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

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

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

可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的 (R)-和 (S)-异构体以及 D 和 L 异构体。如果想得到本申请某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱

性官能团（如氨基）或酸性官能团（如羧基）时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的常规方法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合（例如由胺生成氨基甲酸盐）。

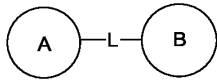
本申请的化合物可以在一个或多个构成该化合物的原子上包含非天然比例的原子同位素。例如，可用放射性同位素标记化合物，比如氚（ $^3\text{H}$ ），碘-125（ $^{125}\text{I}$ ）或 C-14（ $^{14}\text{C}$ ）。又例如，可用重氢取代氢形成氘代药物，氘与碳构成的键比普通氢与碳构成的键更坚固，相比于未氘化药物，氘代药物有降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本申请的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本申请的范围之内。

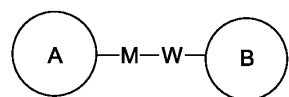
“任选”或“任选地”指的是随后描述的事件或状况可能但不是必需出现的，并且该描述包括其中所述事件或状况发生的情况以及所述事件或状况不发生的情况。

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

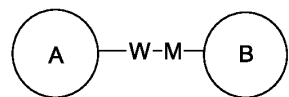
当任何变量（例如 **R**）在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立的。因此，例如，如果一个基团被 0-2 个 **R** 所取代，则所述基团可以任选地至多被两个 **R** 所取代，并且每种情况下的 **R** 都有独立的选项。此外，取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

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

当所列举的连接基团没有指明其连接方向，其连接方向是任意的，例如， 中连接基团 **L** 为 **-M-W-**，此时 **-M-W-** 既可以按与从左往右的读取顺序相同的方向连接环 **A** 和环 **B** 构成



，也可以按照与从左往右的读取顺序相反的方向连接环 **A** 和环 **B** 构成



。所述连接基团、取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

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

“环”。

除非另有规定,“3-10 元环”表示由 3 至 10 个环原子组成的环烷基、杂环烷基、环烯基或杂环烯基。所述的环包括单环,也包括螺环、并环和桥环等双环或多环体系。除非另有规定,该环任选地包含 1、2 或 3 个独立选自 O、S 和 N 的杂原子。所述 3-10 元环包括 3-10 元、3-9 元、3-8 元、3-7 元、3-6 元、3-5 元、4-10 元、4-9 元、4-8 元、4-7 元、4-6 元、4-5 元、5-10 元、5-9 元、5-8 元、5-7 元、5-6 元、6-10 元、6-9 元、6-8 元和 6-7 元环等。术语“5-7 元杂环烷基”包括哌啶基等,但不包括苯基。术语“环”还包括含有至少一个环的环系,其中的每一个“环”均独立地符合上述定义。

除非另有规定,“5~6 元环”表示由 5 至 6 个环原子组成的环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、环炔基、杂环炔基、芳基或杂芳基。所述的环包括单环,也包括螺环、并环和桥环等双环体系。除非另有规定,该环任选地包含 1、2 或 3 个独立选自 O、S 和 N 的杂原子。所述 5~6 元环包括 5 元、6 元环等。“5-6 元环”包括例如苯基、吡啶基和哌啶基等;另一方面,术语“5~6 元杂环烷基”包括哌啶基等,但不包括苯基。术语“环”还包括含有至少一个环的环系,其中的每一个“环”均独立地符合上述定义。

除非另有规定,本申请术语“5~6 元杂芳环”和“5~6 元杂芳基”可以互换使用,术语“5-6 元杂芳基”表示由 5 至 6 个环原子组成的具有共轭  $\pi$  电子体系的单环基团,其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S 和 N 的杂原子,其余为碳原子。其中氮原子任选地被季铵化,氮和硫杂原子可任选被氧化(即 NO 和 S(O)<sub>p</sub>, p 是 1 或 2)。5~6 元杂芳基可通过杂原子或碳原子连接到分子的其余部分。所述 5~6 元杂芳基包括 5 元和 6 元杂芳基。所述 5~6 元杂芳基的实例包括但不限于吡咯基(包括 *N*-吡咯基、2-吡咯基和 3-吡咯基等)、吡啶基(包括 2-吡啶基和 3-吡啶基等)、咪唑基(包括 *N*-咪唑基、2-咪唑基、4-咪唑基和 5-咪唑基等)、噁唑基(包括 2-噁唑基、4-噁唑基和 5-噁唑基等)、三唑基(1*H*-1,2,3-三唑基、2*H*-1,2,3-三唑基、1*H*-1,2,4-三唑基和 4*H*-1,2,4-三唑基等)、四唑基、异噁唑基(3-异噁唑基、4-异噁唑基和 5-异噁唑基等)、噻唑基(包括 2-噻唑基、4-噻唑基和 5-噻唑基等)、呋喃基(包括 2-呋喃基和 3-呋喃基等)、噻吩基(包括 2-噻吩基和 3-噻吩基等)、吡啶基(包括 2-吡啶基、3-吡啶基和 4-吡啶基等)、吡嗪基或嘧啶基(包括 2-嘧啶基和 4-嘧啶基等)。

除非另有规定,术语“烷基”用于表示直链或支链的饱和的碳氢基团,在一些实施方案中,所述烷基为 C<sub>1-12</sub> 烷基;在另一些实施方案中,所述烷基为 C<sub>1-6</sub> 烷基;在另一些实施方案中,所述烷基为 C<sub>1-3</sub> 烷基。其可以是一价(如甲基)、二价(如亚甲基)或者多价(如次甲基)。烷基的实例包括但不限于甲基(Me),乙基(Et),丙基(包括 *n*-丙基和异丙基),丁基(包括 *n*-丁基,异丁基, *s*-丁基和 *t*-丁基),戊基(包括 *n*-戊基,异戊基和新戊基)、己基等。例如术语“C<sub>1-10</sub> 烷基”用于表示直链或支链的由 1 至 10 个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述 C<sub>1-10</sub> 烷基包括但不限于 C<sub>1-10</sub>、C<sub>1-9</sub>、C<sub>1-8</sub>、C<sub>1-6</sub>、C<sub>1-5</sub>、C<sub>1-4</sub>、C<sub>1-3</sub>、C<sub>1-2</sub>、C<sub>2-6</sub>、C<sub>2-4</sub>、C<sub>10</sub>、C<sub>8</sub>、C<sub>7</sub>、C<sub>6</sub> 和 C<sub>5</sub> 烷基等;其可以是一价(如甲基)、二价(如亚甲基)或者多价(如次甲基)。C<sub>1-12</sub> 烷基的实例包括但不限于甲基(Me)、乙基(Et)、丙基(包括 *n*-丙基和异丙基)、丁基(包括 *n*-丁基,异丁基, *s*-丁基和

*t*-丁基)、戊基 (包括 *n*-戊基, 异戊基和新戊基)、己基、庚基、辛基等。例如术语“C<sub>1-6</sub> 烷基”用于表示直链或支链的由 1 至 6 个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述 C<sub>1-6</sub> 烷基包括但不限于 C<sub>1-5</sub>、C<sub>1-4</sub>、C<sub>1-3</sub>、C<sub>1-2</sub>、C<sub>2-6</sub>、C<sub>2-4</sub>、C<sub>6</sub> 和 C<sub>5</sub> 烷基等; 其可以是一价 (如甲基)、二价 (如亚甲基) 或者多价 (如次甲基)。C<sub>1-6</sub> 烷基的实例包括但不限于甲基 (Me)、乙基 (Et)、丙基 (包括 *n*-丙基和异丙基)、丁基 (包括 *n*-丁基, 异丁基, *s*-丁基和 *t*-丁基)、戊基 (包括 *n*-戊基, 异戊基和新戊基)、己基等。例如术语“C<sub>1-3</sub> 烷基”用于表示直链或支链的由 1 至 3 个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述 C<sub>1-3</sub> 烷基包括但不限于 C<sub>1-2</sub> 和 C<sub>2-3</sub> 烷基等; 其可以是一价 (如甲基)、二价 (如亚甲基) 或者多价 (如次甲基)。C<sub>1-3</sub> 烷基的实例包括但不限于甲基 (Me)、乙基 (Et)、丙基 (包括 *n*-丙基和异丙基) 等。

术语“杂烷基”本身或者与另一术语联合, 表示由一定数目碳原子和至少一个杂原子或杂原子团组成的, 稳定的直链或支链的烷基原子团或其组合物。在一些实施方案中, 杂原子选自 B、O、N 和 S, 其中氮和硫原子任选地被氧化, 氮杂原子任选地被季铵化。在另一些实施方案中, 杂原子团选自 -C(=O)O-、-C(=O)-、-C(=S)-、-S(=O)-、-S(=O)<sub>2</sub>-、-C(=O)N(H)-、-N(H)-、-C(=NH)-、-S(=O)<sub>2</sub>N(H)-和 -S(=O)N(H)-。在一些实施方案中, 所述杂烷基为 C<sub>1-6</sub> 杂烷基; 在另一些实施方案中, 所述杂烷基为 C<sub>1-3</sub> 杂烷基。杂原子或杂原子团可以位于杂烷基的任何内部位置, 包括该烷基与分子其余部分的连接位置, 但术语“烷氧基”、“烷氨基”和“烷硫基” (或硫代烷氧基) 属于惯用表达, 是指分别通过一个氧原子、氨基或硫原子连接到分子的其余部分的那些烷基基团。杂烷基的实例包括但不限于 -OCH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、-NHCH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-N(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>3</sub>、-SCH<sub>3</sub>、-SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-SCH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S(=O)-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S(=O)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>、和。至多两个杂原子可以是连续的, 例如 -CH<sub>2</sub>-NH-OCH<sub>3</sub>。

除非另有规定术语“烷氧基”是指分别通过一个氧原子连接到分子的其余部分的那些烷基基团。除非另有规定, C<sub>1-6</sub> 烷氧基包括 C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、C<sub>5</sub> 和 C<sub>6</sub> 的烷氧基。在一些实施方案中, 所述烷氧基为 C<sub>1-3</sub> 烷氧基。烷氧基的实例包括但不限于: 甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基和 *s*-戊氧基。例如, 术语“C<sub>1-3</sub> 烷氧基”表示通过一个氧原子连接到分子的其余部分的那些包含 1 至 3 个碳原子的烷基基团。所述 C<sub>1-3</sub> 烷氧基包括但不限于 C<sub>1-2</sub>、C<sub>2-3</sub>、C<sub>3</sub> 和 C<sub>2</sub> 烷氧基等。C<sub>1-3</sub> 烷氧基的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基 (包括正丙氧基和异丙氧基) 等。

除非另有规定, C<sub>n-n+m</sub> 或 C<sub>n</sub>-C<sub>n+m</sub> 包括 *n* 至 *n+m* 个碳的任何一种具体情况, 例如 C<sub>1-12</sub> 包括 C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、C<sub>5</sub>、C<sub>6</sub>、C<sub>7</sub>、C<sub>8</sub>、C<sub>9</sub>、C<sub>10</sub>、C<sub>11</sub>、和 C<sub>12</sub>, 也包括 *n* 至 *n+m* 中的任何一个范围, 例如 C<sub>1-12</sub> 包括 C<sub>1-3</sub>、C<sub>1-6</sub>、C<sub>1-9</sub>、C<sub>3-6</sub>、C<sub>3-9</sub>、C<sub>3-12</sub>、C<sub>6-9</sub>、C<sub>6-12</sub>、和 C<sub>9-12</sub> 等; 同理, *n* 元至 *n+m* 元表示环上原子数为 *n* 至 *n+m* 个, 例如 3-12 元环包括 3 元环、4 元环、5 元环、6 元环、7 元环、8 元环、9 元环、10 元环、11 元环、和 12 元环, 也包括 *n* 至 *n+m* 中的任何一个范围, 例如 3-12 元环包括 3-6 元环、3-9 元环、5-6 元环、5-7 元环、6-7 元环、6-8 元环、和 6-10 元环等。

除非另有规定,“环烷基”包括任何稳定的环状烷基,其包括单环、双环或者三环体系,其中双环和三环体系包括螺环、并环和桥环。在一些实施方案中,所述环烷基为  $C_{3-8}$  环烷基;在另一些实施方案中,所述环烷基为  $C_{3-6}$  环烷基;在另一些实施方案中,所述环烷基为  $C_{5-6}$  环烷基。其可以是一价、二价或者多价。这些环烷基的实例包括,但不限于,环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、降冰片烷基、[2.2.2]二环辛烷、[4.4.0]二环癸烷等。例如“ $C_{3-10}$  环烷基”表示由 3 至 10 个碳原子组成的饱和环状碳氢基团,其包括单环、双环和三环体系,其中双环和三环体系包括螺环、并环和桥环。所述  $C_{3-10}$  环烷基包括但不限于  $C_{3-8}$ 、 $C_{3-6}$ 、 $C_{3-5}$ 、 $C_{4-10}$ 、 $C_{4-8}$ 、 $C_{4-6}$ 、 $C_{4-5}$ 、 $C_{5-8}$  或  $C_{5-6}$  等;其可以是一价、二价或者多价。 $C_{3-10}$  环烷基的实例包括,但不限于,环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、降冰片烷基、[2.2.2]二环辛烷、[4.4.0]二环癸烷等。例如,“ $C_{3-8}$  环烷基”表示由 3 至 8 个碳原子组成的饱和环状碳氢基团,其包括单环和双环体系,其中双环体系包括螺环、并环和桥环。所述  $C_{3-8}$  环烷基包括但不限于  $C_{3-6}$ 、 $C_{3-5}$ 、 $C_{4-8}$ 、 $C_{4-6}$ 、 $C_{4-5}$ 、 $C_{5-8}$  或  $C_{5-6}$  环烷基等;其可以是一价、二价或者多价。 $C_{3-8}$  环烷基的实例包括,但不限于,环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、降冰片烷基、[2.2.2]二环辛烷等。

除非另有规定,术语“杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示环化的“杂烷基”,其包括单环、双环和三环体系,其中双环和三环体系包括螺环、并环和桥环。此外,就该“杂环烷基”而言,杂原子可以占据杂环烷基与分子其余部分的连接位置。在一些实施方案中,所述杂环烷基为 4~6 元杂环烷基;在另一些实施方案中,所述杂环烷基为 5~6 元杂环烷基。杂环烷基的实例包括但不限于氮杂环丁基、氧杂环丁基、硫杂环丁基、吡咯烷基、吡啶烷基、咪唑烷基、四氢噻吩基(包括四氢噻吩-2-基和四氢噻吩-3-基等)、四氢呋喃基(包括四氢呋喃-2-基等)、四氢吡喃基、哌啶基(包括 1-哌啶基、2-哌啶基和 3-哌啶基等)、哌嗪基(包括 1-哌嗪基和 2-哌嗪基等)、吗啉基(包括 3-吗啉基和 4-吗啉基等)、二噁烷基、二噻烷基、异噻唑烷基、异噻唑烷基、1,2-噁唑基、1,2-噻唑基、六氢哒嗪基、高哌嗪基、高哌啶基或氧杂环庚烷基。例如术语“3-6 元杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由 3 至 6 个环原子组成的饱和环状基团,其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S 和 N 的杂原子,其余为碳原子,其中氮原子任选地被季铵化,氮和硫杂原子可任选被氧化(即 NO 和  $S(O)_p$ , p 是 1 或 2)。其包括单环和双环体系,其中双环体系包括螺环、并环和桥环。此外,就该“3-6 元杂环烷基”而言,杂原子可以占据杂环烷基与分子其余部分的连接位置。所述 3-6 元杂环烷基包括但不限于 4-6 元、5-6 元、4 元、5 元和 6 元杂环烷基等。3-6 元杂环烷基的实例包括但不限于氮杂环丁基、氧杂环丁基、硫杂环丁基、吡咯烷基、吡啶烷基、咪唑烷基、四氢噻吩基(包括四氢噻吩-2-基和四氢噻吩-3-基等)、四氢呋喃基(包括四氢呋喃-2-基等)、四氢吡喃基、哌啶基(包括 1-哌啶基、2-哌啶基和 3-哌啶基等)、哌嗪基(包括 1-哌嗪基和 2-哌嗪基等)、吗啉基(包括 3-吗啉基和 4-吗啉基等)、二噁烷基、二噻烷基、异噻唑烷基、异噻唑烷基、1,2-噁唑基、1,2-噻唑基、六氢哒嗪基、高哌嗪基或高哌啶基等。例如术语“4-6 元杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由 4 至 6 个环原子组成的饱和环状基团,其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S 和 N 的杂原子,其余为碳原子,其中氮原子任选地被季铵化,氮和硫

杂原子可任选被氧化 (即 NO 和 S(O)<sub>p</sub>, p 是 1 或 2)。其包括单环和双环体系, 其中双环体系包括螺环、并环和桥环。此外, 就该“4-6 元杂环烷基”而言, 杂原子可以占据杂环烷基与分子其余部分的连接位置。所述 4-6 元杂环烷基包括但不限于 5-6 元、4 元、5 元和 6 元杂环烷基等。4-6 元杂环烷基的实例包括但不限于氮杂环丁基、氧杂环丁基、硫杂环丁基、吡咯烷基、吡唑烷基、咪唑烷基、四氢噻吩基 (包括四氢噻吩-2-基和四氢噻吩-3-基等)、四氢呋喃基 (包括四氢呋喃-2-基等)、四氢吡喃基、哌啶基 (包括 1-哌啶基、2-哌啶基和 3-哌啶基等)、哌嗪基 (包括 1-哌嗪基和 2-哌嗪基等)、吗啉基 (包括 3-吗啉基和 4-吗啉基等)、二噁烷基、二噻烷基、异噁唑烷基、异噻唑烷基、1,2-噁嗪基、1,2-噻嗪基、六氢哒嗪基、高哌嗪基或高哌啶基等。例如术语“5-6 元杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由 5 至 6 个环原子组成的饱和环状基团, 其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S 和 N 的杂原子, 其余为碳原子, 其中氮原子任选地被季铵化, 氮和硫杂原子可任选被氧化 (即 NO 和 S(O)<sub>p</sub>, p 是 1 或 2)。其包括单环和双环体系, 其中双环体系包括螺环、并环和桥环。此外, 就该“5-6 元杂环烷基”而言, 杂原子可以占据杂环烷基与分子其余部分的连接位置。所述 5-6 元杂环烷基包括 5 元和 6 元杂环烷基。5-6 元杂环烷基的实例包括但不限于吡咯烷基、吡唑烷基、咪唑烷基、四氢噻吩基 (包括四氢噻吩-2-基和四氢噻吩-3-基等)、四氢呋喃基 (包括四氢呋喃-2-基等)、四氢吡喃基、哌啶基 (包括 1-哌啶基、2-哌啶基和 3-哌啶基等)、哌嗪基 (包括 1-哌嗪基和 2-哌嗪基等)、吗啉基 (包括 3-吗啉基和 4-吗啉基等)、二噁烷基、二噻烷基、异噁唑烷基、异噻唑烷基、1,2-噁嗪基、1,2-噻嗪基、六氢哒嗪基、高哌嗪基或高哌啶基等。

术语“药学上可接受的载体”是指能够递送本发明有效量活性物质、不干扰活性物质的生物活性并且对宿主或者患者无毒副作用的任何制剂或载体介质代表性的载体包括水、油、蔬菜和矿物质、膏基、洗剂基质、软膏基质等。这些基质包括悬浮剂、增粘剂、透皮促进剂等。它们的制剂为化妆品领域或局部药物领域的技术人员所周知。

术语“赋形剂”通常是指配制有效的药物组合物所需要载体、稀释剂和/或介质。

词语“包括 (comprise)”或“包含 (comprise)”及其英文变体例如 comprises 或 comprising 应理解为开放的、非排他性的意义, 即“包括但不限于”。

术语“治疗”意为将本申请所述化合物或制剂进行给药以改善或消除疾病或与所述疾病相关的一个或多个症状, 且包括:

- (i) 抑制疾病或疾病状态, 即遏制其发展;
- (ii) 缓解疾病或疾病状态, 即使该疾病或疾病状态消退。

术语“预防”意为将本申请所述化合物或制剂进行给药以预防疾病或与所述疾病相关的一个或多个症状, 且包括: 预防疾病或疾病状态在哺乳动物中出现, 特别是当这类哺乳动物易患有该疾病状态, 但尚未被诊断为已患有该疾病状态时。

针对药物或药理学活性剂而言，术语“有效量”或“治疗有效量”是指无毒的但能达到预期效果的药物或药剂的足够用量。对于本发明中的口服剂型，组合物中一种活性物质的“有效量”是指与该组合物中另一种活性物质联用时为了达到预期效果所需要的用量。有效量的确定因人而异，取决于受体的年龄和一般情况，也取决于具体的活性物质，个案中合适的有效量可以由本领域技术人员根据常规试验确定。

术语“活性成分”、“治疗剂”，“活性物质”或“活性剂”是指一种化学实体，它可以有效地治疗目标紊乱、疾病或病症。

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

本申请所使用的溶剂可经市售获得。本申请采用下述缩略词：aq 代表水；HATU 代表 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐；EDC 代表 N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐；m-CPBA 代表 3-氯过氧苯甲酸；eq 代表当量、等量；CDI 代表羰基二咪唑；DCM 代表二氯甲烷；PE 代表石油醚；DIAD 代表偶氮二羧酸二异丙酯；DMF 代表 N,N-二甲基甲酰胺；DMSO 代表二甲亚砜；EtOAc 代表乙酸乙酯；EtOH 代表乙醇；MeOH 代表甲醇；CBz 代表苄氧羰基，是一种胺保护基团；BOC 代表叔丁氧羰基是一种胺保护基团；HOAc 代表乙酸；NaCNBH<sub>3</sub> 代表氰基硼氢化钠；r.t.代表室温；O/N 代表过夜；THF 代表四氢呋喃；Boc<sub>2</sub>O 代表二-叔丁基二碳酸酯；TFA 代表三氟乙酸；DIPEA 代表二异丙基乙胺；SOCl<sub>2</sub> 代表氯化亚砷；CS<sub>2</sub> 代表二硫化碳；TsOH 代表对甲苯磺酸；NFSI 代表 N-氟-N-(苯磺酰基)苯磺酰胺；NCS 代表 N-氯代琥珀亚胺；n-Bu<sub>4</sub>NF 代表氟化四丁基铵；iPrOH 代表 2-丙醇；mp 代表熔点；LDA 代表二异丙基胺基锂；POCl<sub>3</sub> 代表三氯氧磷；LiHMDS 代表六甲基二硅基胺基锂；DCE 代表二氯乙烷；DIEA 代表 N,N-二异丙基乙胺；MTBE 代表甲基叔丁基醚；TEA 代表三乙胺；DIPEA 代表 N,N-二异丙基乙胺；LLOQ 表示定量下限。

#### 附图说明

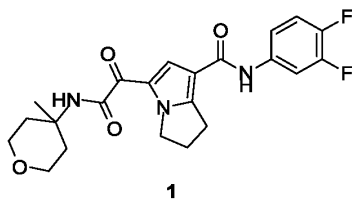
图 1：血浆中 HBV DNA 水平；

图 2：肝脏中 HBV DNA 水平。

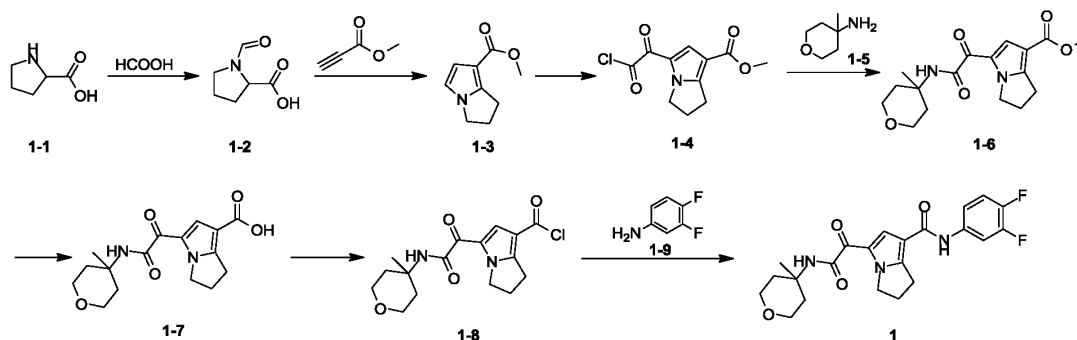
#### 具体实施方式

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

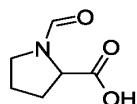
#### 实施例 1



合成路线:



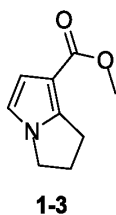
第一步



在 0 °C 下, 向化合物 **1-1** (15 g, 130.29 mmol, 1 eq) 的甲酸 (150 mL) 中加入乙酸酐 (150 mL) 的甲酸 (100 mL) 溶液。混合物在 25 °C 下搅拌 16 小时。将反应液减压浓缩, 得到化合物 **1-2**, 直接用于下一步反应。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) δ = 11.51 (br s, 1H), 8.40 - 7.97 (m, 1H), 4.64 - 4.36 (m, 1H), 3.78 - 3.46 (m, 2H), 2.38 - 2.13 (m, 2H), 2.10 - 1.89 (m, 2H).

第二步

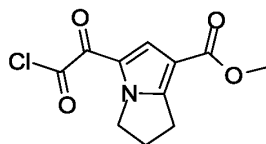


在 250 mL 烧瓶中加入化合物 **1-2** (10 g, 69.86 mmol, 1 eq) 的乙酸酐 (100 mL) 溶液中加入丙炔酸甲酯 (35.24 g, 419.17 mmol, 34.89 mL, 6 eq)。混合物在 130 °C 搅拌 6 小时。将反应液减压浓缩, 得到化合物 **1-3**。MS (ESI) *m/z*: 165.8 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) δ = 6.61 (d, *J*=2.8 Hz, 1H), 6.55 (d, *J*=2.8 Hz, 1H), 3.97 (t, *J*=7.2 Hz, 2H),

3.79 (s, 3H), 3.06 (t,  $J=7.4$  Hz, 2H), 2.54 (quin,  $J=7.3$  Hz, 2H).

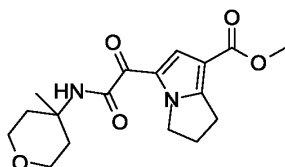
第三步



**1-4**

氮气保护下, 在 0℃向化合物 **1-3** (500 mg, 2.11 mmol, 1 *eq*) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中加入草酰氯 (535.10 mg, 4.22 mmol, 369.03  $\mu$ L, 2 *eq*), 随后加入 N,N-二甲基甲酰胺 (0.05 mL)。混合物在 25℃下搅拌 1 小时。将反应液减压浓缩。得到化合物 **1-4**, 直接用于下一步反应。

第四步

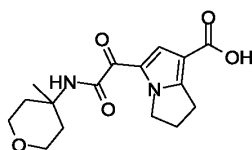


**1-6**

向化合物 **1-4** (550 mg, 2.15 mmol, 1 *eq*) 的二氯甲烷 (10 mL) 溶液中加入三乙胺 (870.23 mg, 8.60 mmol, 1.20 mL, 4 *eq*), 然后加入化合物 **1-5** (247.62 mg, 2.15 mmol, 1 *eq*)。混合物在 20℃下搅拌 1 小时。将反应液减压浓缩。残余物通过自动过柱机 COMBI-FLASH (石油醚: 乙酸乙酯= 100:0 至 80:20, V/V) 分离, 得到化合物 **1-6**。MS (ESI)  $m/z$ : 357.2  $[M+Na]^+$ 。

$^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 8.23 (s, 1H), 7.10 (br s, 1H), 4.28 (t,  $J=7.3$  Hz, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.69 - 3.66 (m, 2H), 3.60 - 3.52 (m, 2H), 3.05 (t,  $J=7.7$  Hz, 2H), 2.52 (q,  $J=7.5$  Hz, 2H), 2.06 (br d,  $J=13.8$  Hz, 2H), 1.68 (m, 2H), 1.42 (s, 3H).

第五步

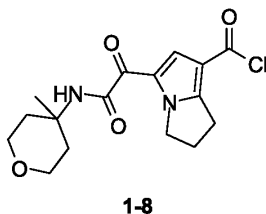


**1-7**

向化合物 **1-6** (350 mg, 1.05 mmol, 1 *eq*) 的四氢呋喃 (5 mL) 溶液中加入一水合氢氧化锂 (131.78 mg, 3.14 mmol, 3 *eq*) 的  $H_2O$  (1 mL) 溶液。混合物在 30℃下搅拌 12 小时。反应液用 2 mol/L 稀盐酸调至 pH=1~2, 用乙酸乙酯 (10 mL\*2) 萃取。合并的有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到化合物 **1-7**。MS (ESI)  $m/z$ : 343.2  $[M+Na]^+$ 。

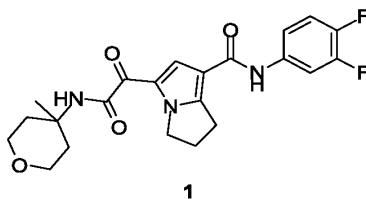
$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{MeOH-}d_4$ )  $\delta$  = 7.89 (s, 1H), 4.37 (br d,  $J=7.0$  Hz, 2H), 3.70 - 3.63 (m, 2H), 3.14 - 3.10 (m, 2H), 2.66 - 2.52 (m, 4H), 2.25 - 2.19 (m, 2H), 1.73 - 1.67 (m, 2H), 1.49 (s, 3H).

## 第六步



氮气保护下, 在  $0^\circ\text{C}$  向化合物 **1-7** (300 mg, 936.51  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的二氯甲烷 (3 mL) 溶液中加入草酰氯 (237.74 mg, 1.87 mmol, 163.96  $\mu\text{L}$ , 2 *eq*), 然后加入  $\text{N,N}$ -二甲基甲酰胺 (0.01 mL)。混合物在  $20^\circ\text{C}$  下搅拌 1 小时得到化合物 **1-8**。

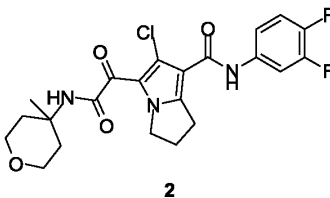
## 第七步



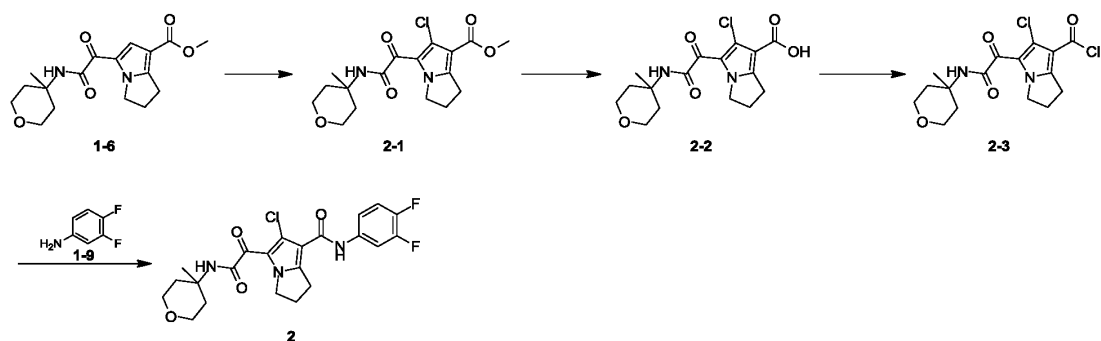
氮气保护下, 向化合物 **1-8** (300 mg, 885.52  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中加入三乙胺 (358.42 mg, 3.54 mmol, 493.01  $\mu\text{L}$ , 4 *eq*), 然后加入化合物 **1-9** (114.33 mg, 885.52  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*)。混合物在  $20^\circ\text{C}$  下搅拌 12 小时。将反应液减压浓缩, 残余物通过自动过柱机 COMBI-FLASH (石油醚: 乙酸乙酯= 100:0 至 50:50, V/V) 分离得到化合物 **1**。MS (ESI)  $m/z$ : 432.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 8.18 (s, 1H), 7.73 - 7.64 (m, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.09 - 7.02 (m, 2H), 4.31 (t,  $J=7.3$  Hz, 2H), 3.71 (td,  $J=4.3, 12.0$  Hz, 2H), 3.62 - 3.52 (m, 2H), 3.21 - 3.12 (m, 2H), 2.63 - 2.50 (m, 2H), 2.07 (br d,  $J=14.1$  Hz, 2H), 1.70 (ddd,  $J=4.3, 9.9, 14.0$  Hz, 2H), 1.43 (s, 3H).

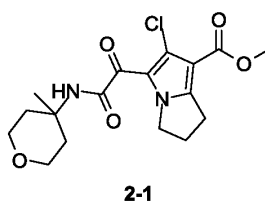
## 实施例 2



合成路线:

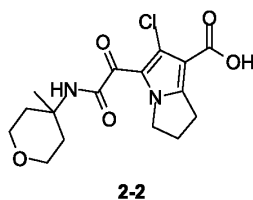


第一步



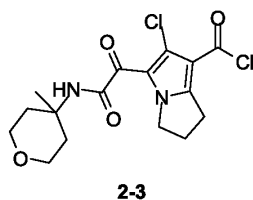
向化合物 **1-6** (150 mg, 448.61  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的乙腈 (10 mL) 溶液中加入 N-氯代丁二酰亚胺 (77.87 mg, 583.19  $\mu\text{mol}$ , 1.3 *eq*)。混合物在 40°C 搅拌 6 小时。反应液减压浓缩。残余物通过自动过柱机 COMBI-FLASH (石油醚: 乙酸乙酯= 100:0 至 80:20, V/V) 分离, 得到化合物 **2-1**。MS (ESI)  $m/z$ : 369.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

第二步



向化合物 **2-1** (60 mg, 162.68  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的乙醇 (2 mL) 溶液中加入一水合氢氧化锂 (34.13 mg, 813.42  $\mu\text{mol}$ , 5 *eq*) 的  $\text{H}_2\text{O}$  (0.5 mL) 溶液。混合物在 40°C 下搅拌 3 小时。反应液用 2 mol/L 稀盐酸调至 pH=1~2, 用乙酸乙酯 (10 mL\*2) 萃取。合并的有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到粗品化合物 **2-2**。MS (ESI)  $m/z$ : 377.1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

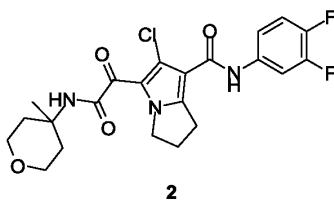
第三步



氮气保护下, 向化合物 **2-2** (40 mg, 112.74  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的二氯甲烷 (2 mL) 溶液中 0°C 下加入草酰氯 (28.62 mg, 225.49  $\mu\text{mol}$ , 19.74  $\mu\text{L}$ , 2 *eq*), 然后加入 N,N-二甲基甲酰胺 (0.01 mL)。混合物在 25°C 下搅拌

45 分钟。将反应液减压浓缩，得到化合物 **2-3**。

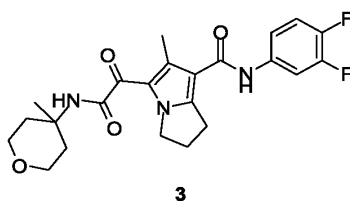
#### 第四步



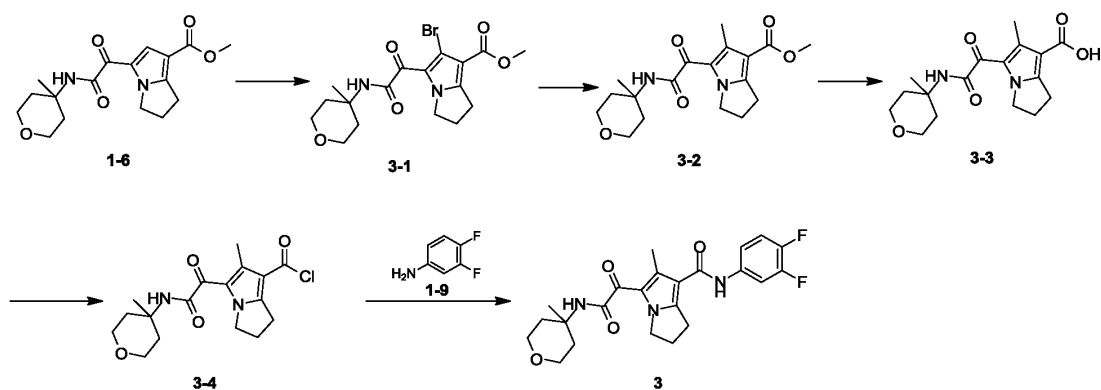
氮气保护下，向化合物 **2-3** (40 mg, 107.17  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的二氯甲烷 (3 mL) 中加入三乙胺 (43.38 mg, 428.69  $\mu\text{mol}$ , 59.67  $\mu\text{L}$ , 4 *eq*)。然后加入化合物 **1-9** (13.84 mg, 107.17  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*)。混合物在 25 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌 12 小时。将反应液减压浓缩，残余物通过制备型 HPLC (色谱柱: Waters Xbridge 150mm\*25 mm 5 $\mu\text{m}$  流动相: [水 (0.225% 甲酸) - 乙腈]; 乙腈%: 73%-83%, 7min) 分离，得到化合物 **2**。MS (ESI)  $m/z$ : 466.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 8.40 (s, 1H), 7.72 - 7.61 (m, 1H), 7.11 - 6.99 (m, 2H), 6.23 (s, 1H), 4.25 (t,  $J=7.4$  Hz, 2H), 3.80 - 3.57 (m, 4H), 3.19 (t,  $J=7.7$  Hz, 2H), 2.46 (quin,  $J=7.5$  Hz, 2H), 2.08 (br d,  $J=14.1$  Hz, 2H), 1.73 (ddd,  $J=4.4, 9.6, 13.9$  Hz, 2H), 1.48 (s, 3H)。

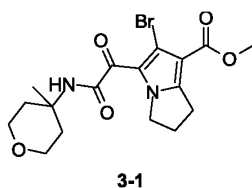
#### 实施例 3



合成路线:



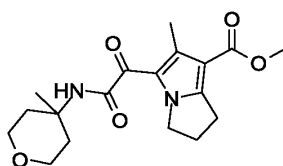
#### 第一步



在拇指瓶中加入化合物 **1-6** (300 mg, 897.22  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 和乙腈 (3 mL), 然后加入 N-溴代丁二酰亚胺 (191.62 mg, 1.08 mmol, 1.2 *eq*)。混合物在 25°C 下搅拌 12 小时。将反应液减压浓缩。残余物通过自动过柱机 COMBI-FLASH (石油醚: 乙酸乙酯= 100:0 至 80:20, V/V) 分离, 得到化合物 **3-1**。MS (ESI)  $m/z$ : 435.0  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 4.30 (t,  $J=7.4$  Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.80 - 3.67 (m, 4H), 3.13 (t,  $J=7.7$  Hz, 2H), 2.50 (q,  $J=7.5$  Hz, 2H), 2.15 (d,  $J=14.1$  Hz, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.55 (s, 3H)。

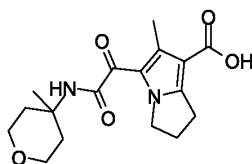
#### 第二步



**3-2**

氮气保护下, 在拇指瓶中加入化合物 **3-1** (100 mg, 241.98  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*), 甲基硼酸 (28.97 mg, 483.95  $\mu\text{mol}$ , 2 *eq*), 碳酸钾 (100.33 mg, 725.93  $\mu\text{mol}$ , 3 *eq*), 1,4-二氧六环 (2.5 mL) 和水 (0.5 mL), 然后加入 Pd (dppf)  $\text{Cl}_2$  (17.71 mg, 24.20  $\mu\text{mol}$ , 0.1 *eq*)。混合物在 80°C 下搅拌 2 小时。向反应液加入水 (5 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL\*3) 萃取。合并的有机相用稀盐酸 (10 mL) 和饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到化合物 **3-2**。MS (ESI)  $m/z$ : 348.9  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

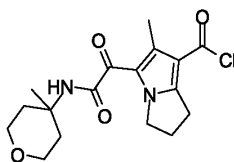
#### 第三步



**3-3**

在拇指瓶中加入化合物 **3-2** (80 mg, 229.63  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 和乙醇 (2 mL), 然后加入氢氧化钠 (27.56 mg, 688.88  $\mu\text{mol}$ , 3 *eq*) 的水 (0.5 mL) 溶液。混合物在 25°C 下搅拌 12 小时。向反应液中加入水 (5 mL), 用乙酸乙酯 (5 mL) 洗涤。水相用 2 mol/L 稀盐酸调至 pH = 1~2, 用乙酸乙酯 (10 mL\*2) 萃取。合并的有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到化合物 **3-3**。

#### 第四步

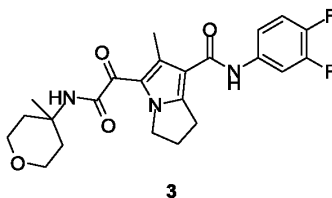


**3-4**

在 0°C 下, 向化合物 **3-3** (70 mg, 209.35  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的二氯甲烷 (3 mL) 溶液中加入草酰氯 (26.57 mg,

209.35  $\mu\text{mol}$ , 18.33  $\mu\text{L}$ , 1 *eq*), 然后加入 N,N-二甲基甲酰胺 (15.30 mg, 209.35  $\mu\text{mol}$ , 16.11  $\mu\text{L}$ , 1 *eq*)。混合物在 25°C 下搅拌 1 小时。反应液减压浓缩, 得到化合物 **3-4**。

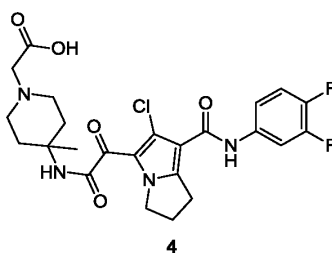
#### 第五步



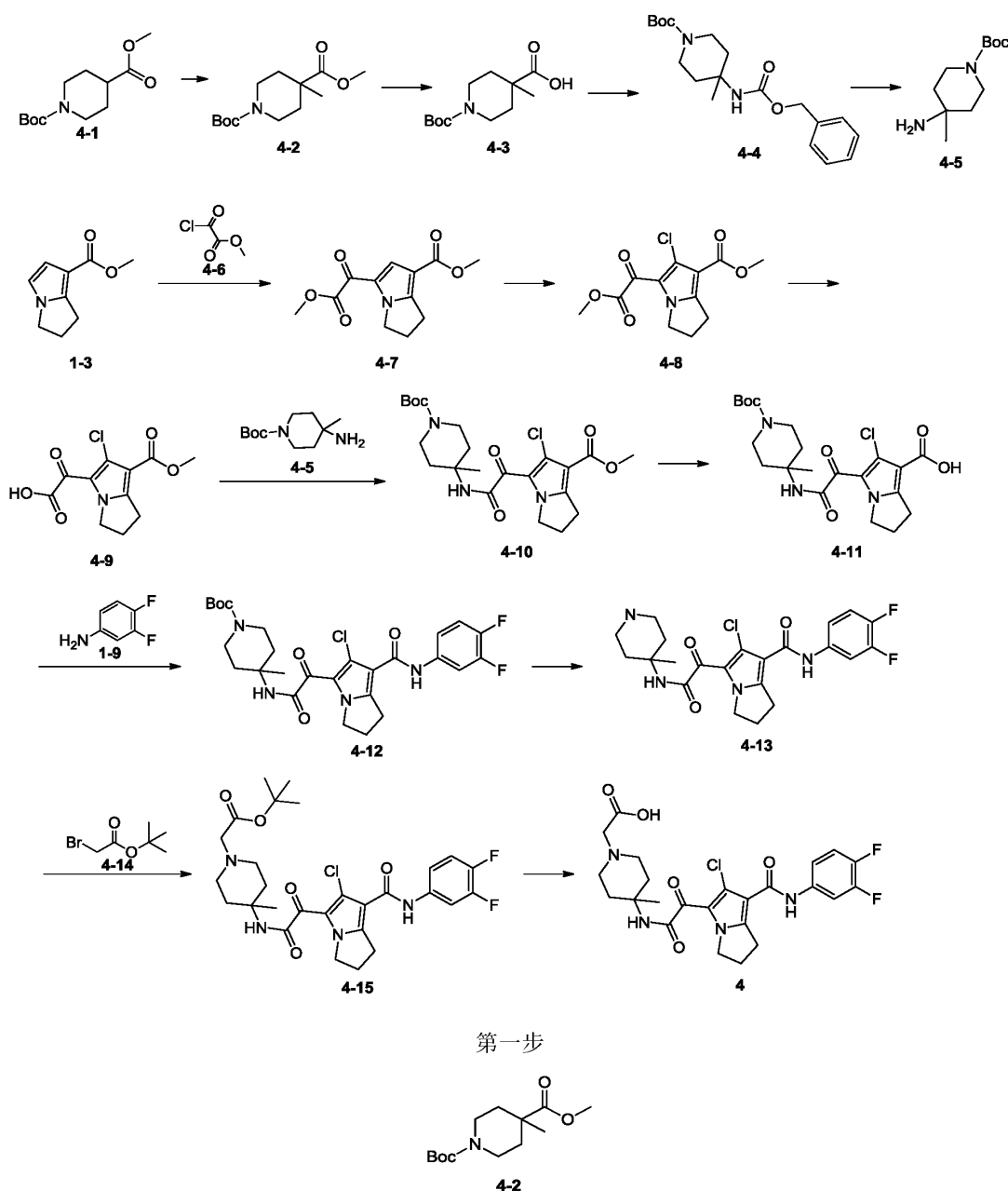
向化合物 **3-4** (75 mg, 212.58  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的二氯甲烷 (3 mL) 溶液中加入三乙胺 (86.04 mg, 850.31  $\mu\text{mol}$ , 118.35  $\mu\text{L}$ , 4 *eq*), 然后加入化合物 **1-9** (27.45 mg, 212.58  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*)。混合物在 25°C 下搅拌 1 小时。将反应液减压浓缩。残余物通过制备型 HPLC 色谱法分离 (色谱柱: Boston Green ODS 150mm\*30 mm 5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水(0.075%三氟乙酸)-乙腈]; 乙腈%: 47%-67%, 7min), 得到化合物 **3**。MS (ESI)  $m/z$ : 446.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.76 - 7.66 (m, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.19 - 7.05 (m, 1H), 6.64 - 6.46 (m, 1H), 6.56 (s, 1H), 4.30 (t,  $J=7.3$  Hz, 2H), 3.87 - 3.76 (m, 2H), 3.75 - 3.66 (m, 2H), 3.15 (t,  $J=7.5$  Hz, 2H), 2.62 - 2.52 (m, 5H), 2.15 (d,  $J=13.8$  Hz, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.56 (s, 3H)。

#### 实施例 4



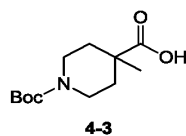
合成路线:



将二异丙胺 (49.91 g, 493.22 mmol, 69.71 mL, 1.2 *eq*) 溶于四氢呋喃 (1000 mL), 随后在 -78 °C 加入正丁基锂 (2.5 M, 197.29 mL, 1.2 *eq*), 搅拌 0.5 小时后 -78 °C 加入化合物 **4-1** (100 g, 411.02 mmol, 1 *eq*), 继续搅拌 0.5 小时后 -78 °C 加入碘甲烷 (58.34 g, 411.02 mmol, 25.59 mL, 1 *eq*)。反应在 25 °C 搅拌 16 小时。反应液倒入 1 L 饱和氯化铵溶液中淬灭, 乙酸乙酯 (500 mL\*4) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到化合物 **4-2**。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 3.79 - 3.73 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 2.99 (t,  $J$ =11.2 Hz, 2H), 2.07 - 2.04 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.40 - 1.33 (m, 2H), 1.20 (s, 3H).

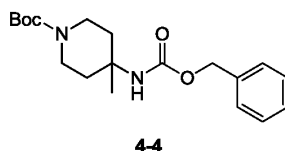
## 第二步



将化合物 **4-2** (107 g, 415.81 mmol, 1 *eq*) 溶于水 (500 mL) 和乙醇 (1000 mL), 随后加入氢氧化钾 (116.65 g, 2.08 mol, 5 *eq*), 反应在 25 °C 搅拌 16 小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇=20:1) 显示化合物 **4-2** 消耗完全, 有新点生成。反应液 40 °C 减压浓缩除去溶剂, 残余物用 500 mL 乙酸乙酯萃取, 水相用 1 M 盐酸调至 pH=3~5, 乙酸乙酯 (1 L\*3) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到化合物 **4-3**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{MeOH}-d_4$ )  $\delta$  = 3.77 (td,  $J=4.0, 13.8$  Hz, 2H), 3.02 (s, 2H), 2.05 - 2.00 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.38 - 1.31 (m, 2H), 1.22 (s, 3H).

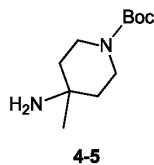
## 第三步



将化合物 **4-3** (10 g, 41.10 mmol, 1 *eq*) 溶于甲苯 (100 mL), 随后加入三乙胺 (4.99 g, 49.32 mmol, 6.87 mL, 1.2 *eq*) 和苄醇 (6.67 g, 61.65 mmol, 6.41 mL, 1.5 *eq*)。随后在氮气保护下 25 °C 加入叠氮磷酸二苯酯 (16.97 g, 61.65 mmol, 13.36 mL, 1.5 *eq*)。反应在 110 °C 搅拌 3 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示化合物 **4-3** 消耗完全, 有新点生成。反应液倒入 100 mL 饱和氯化铵溶液中淬灭, 随后用乙酸乙酯 (50 mL\*3) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到残余物。残余物经柱层析 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯= 20:1 至 5:1, V/V) 纯化处理。减压浓缩得到化合物 **4-4**。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.34 - 7.30 (m, 3H), 7.20 - 7.17 (m, 2H), 4.70 - 4.64 (m, 2H), 3.64 (s, 2H), 3.37 - 3.21 (m, 2H), 1.95 (s, 2H), 1.62 - 1.51 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.38 (s, 3H).

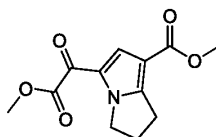
## 第四步



将化合物 **4-4** (14 g, 40.18 mmol, 1 *eq*) 溶于甲醇 (150 mL), 随后加入湿钨碳 (5 g, 10% 含量)。反应在  $\text{H}_2$  (50 Psi) 于 25 °C 下搅拌 6 小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇=10:1) 显示化合物 **4-4** 消耗完全, 有新点生成。反应液减压浓缩得到残余物。残余物经柱层析 (100-200 目硅胶, 二氯甲烷: 甲醇=10:1 至 5:1, V/V) 纯化处理, 减压浓缩得到化合物 **4-5**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.02 (br s, 2H), 3.59 – 3.49 (m, 4H), 1.98 – 1.51 (m, 4H), 1.46 – 1.44 (m, 12H).

## 第五步

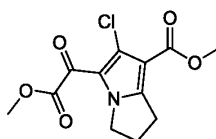


4-7

在一个干燥的单口瓶中将化合物 **1-3** (20 g, 121.07 mmol, 1 eq) 溶于 DCM (400 mL), 氮气保护 0 °C 下滴加化合物 **4-6** (29.66 g, 242.15 mmol, 22.30 mL, 2 eq), 反应在 20 °C 搅拌 16 个小时。LCMS 显示反应完毕。反应液倒入 100 mL 水中, 然后水相用 DCM 萃取 (20 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=20:1 至 1:1, V/V), 得到化合物 **4-7**。MS(ESI) m/s :252.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.76 (s, 1H), 4.38 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.14 – 3.10 (m, 2H), 2.62 – 2.55 (m, 2H).

## 第六步

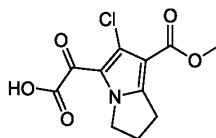


4-8

在一个干燥的 50 mL 单口瓶中将化合物 **4-7** (5 g, 19.90 mmol, 1 eq) 溶于乙腈 (100 mL) 并加入 N-氯代琥珀亚胺 (3.59 g, 26.87 mmol, 1.35 eq), 反应在 40 °C 搅拌 16 个小时。LCMS 和 TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示反应完毕。反应液倒入饱和碳酸氢钠溶液 (200 mL), 减压浓缩除去乙腈, 水相用二氯甲烷萃取 (50 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并浓缩。粗品经柱层析纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=20:1 至 3:1, V/V), 得到化合物 **4-8**。MS(ESI) m/s :286.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 4.40 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.15 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 2.59 – 2.49 (m, 2H).

## 第七步

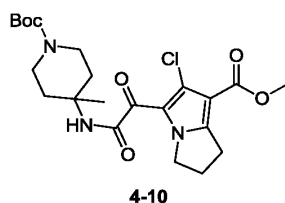


4-9

在 20 °C，将化合物 **4-8** (2.5 g, 8.75 mmol, 1 *eq*) 加到四氢呋喃 (40 mL)，乙醇 (10 mL) 和水 (10 mL) 中，随后将碳酸钾 (3.63 g, 26.25 mmol, 3 *eq*) 加到反应体系中。该反应在 45 °C 反应 12 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 显示反应结束。向反应液中加入 100 mL 水，用 1 mol/L 盐酸调至 pH=3，用乙酸乙酯萃取 (50 mL\*2)，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩得到化合物 **4-9**。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ = 4.29 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.05 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.48 - 2.40 (m, 2H).

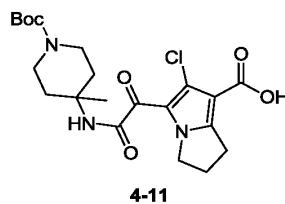
## 第八步



将化合物 **4-9** (0.4 g, 1.47 mmol, 1 *eq*)，N,N-二异丙基乙胺 (380.61 mg, 2.94 mmol, 512.95  $\mu$ L, 2 *eq*)，O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (1.68 g, 4.42 mmol, 3 *eq*) 溶于四氢呋喃 (10 mL)，搅拌 0.5 小时后加入化合物 **4-5** (473.34 mg, 2.21 mmol, 1.5 *eq*)。反应在 25 °C 搅拌 1 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=1:1) 显示化合物 **4-9** 消耗完全，有新点生成。LCMS 确认有化合物 **4-10** 生成。反应液用饱和氯化铵溶液 (20 mL) 淬灭后乙酸乙酯 (20 mL\*3) 萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。残余物经柱层析 (100-200 目硅胶，石油醚: 乙酸乙酯=20:1 至 1:1, V/V) 纯化处理，减压浓缩得到化合物 **4-10**。MS(ESI) *m/z*: 412.1 [M+H-(*t*-Bu)]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 6.03 (s, 1H), 4.32 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.70 (s, 2H), 3.25 - 3.12 (m, 4H), 2.54 - 2.47 (m, 2H), 1.69 - 1.62 (m, 4H), 1.52 (s, 3H), 1.47 (s, 9H).

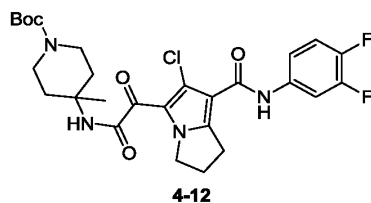
## 第九步



将化合物 **4-10** (0.5 g, 1.07 mmol, 1 *eq*) 溶于甲醇 (5 mL)，四氢呋喃 (5 mL)，水 (5 mL)，随后加入一水合氢氧化锂 (134.52 mg, 3.21 mmol, 3 *eq*)。反应在 25 °C 搅拌 3 小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇=10:1) 显示化合物 **4-10** 消耗完全，有新点生成。反应液用 1 mol/L 盐酸调至 pH=1~3，乙酸乙酯 (15 mL\*3) 萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩得到化合物 **4-11**。

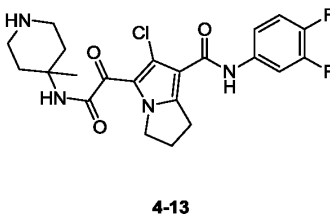
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-d<sub>4</sub>)  $\delta$  = 4.36 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.72 - 3.67 (m, 2H), 3.24 (s, 2H), 3.13 (t, *J*=4.4 Hz, 2H), 2.56 - 2.48 (m, 2H), 2.20 (d, *J*=13.6 Hz, 2H), 1.60 - 1.53 (m, 2H), 1.49 (s, 3H), 1.46 (s, 9H).

## 第十步



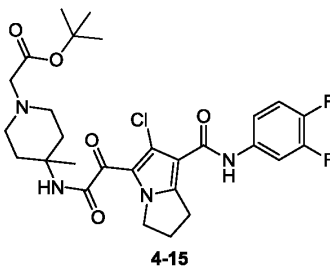
将化合物 **4-11** (0.38 g, 837.16  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*), O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸盐 (954.94 mg, 2.51 mmol, 3 *eq*), 三乙胺 (254.14 mg, 2.51 mmol, 349.57  $\mu\text{L}$ , 3 *eq*) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL), 25  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 0.5 小时后加入化合物 **1-9** (216.17 mg, 1.67 mmol, 2 *eq*)。反应在 55  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 5 小时后升温至 70  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 1 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=1:1) 显示化合物 **4-11** 消耗完全, 有新点生成。LCMS 确认化合物 **4-11** 消耗完全, 有化合物 **4-12** 生成。反应液用水 20 mL 淬灭后乙酸乙酯 (20 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。残余物经柱层析 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=20:1 至 1:1, V/V) 纯化, 减压浓缩得到化合物 **4-12**。MS(ESI)  $m/z$ : 465.1  $[\text{M-Boc}+\text{H}]^{+}$ 。

## 第十一步



将化合物 **4-12** (0.3 g, 530.97  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于乙酸乙酯 (15 mL), 随后加入盐酸/乙酸乙酯 (4 mol/L, 5 mL, 37.67 *eq*)。反应在 25  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 0.5 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=1:1) 显示化合物 **4-12** 消耗完全, 有新点生成。反应液减压浓缩得到化合物 **4-13**。

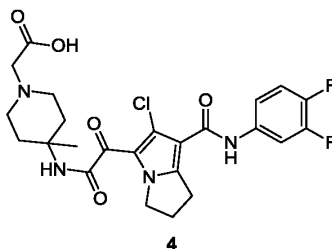
## 第十二步



将化合物 **4-13** (0.2 g, 430.21  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (10 mL), 随后加入三乙胺 (174.13 mg, 1.72 mmol, 239.52  $\mu\text{L}$ , 4 *eq*) 和化合物 **4-14** (83.91 mg, 430.21  $\mu\text{mol}$ , 63.57  $\mu\text{L}$ , 1 *eq*)。反应在 25  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 1 小时。LCMS 显示化合物 **4-13** 消耗完全, 有化合物 **4-15** 生成。反应液加水 20 mL 淬灭, 乙酸乙酯 (20 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到化合物 **4-15**。MS(ESI)  $m/z$ : 579.2  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 8.49 (s, 1H), 7.77 - 7.72 (m, 1H), 7.15 - 7.09 (m, 2H), 6.20 (s, 1H), 4.33 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 3.27 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H), 3.14 (s, 2H), 2.78 - 2.75 (m, 2H), 2.57 - 2.44 (m, 4H), 2.20 - 2.16 (m, 2H), 1.89 - 1.84 (m, 2H), 1.52 (s, 3H), 1.47 (s, 9H).

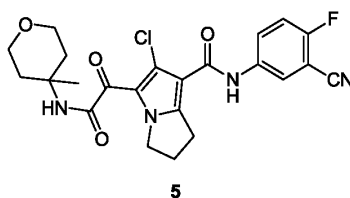
## 第十三步



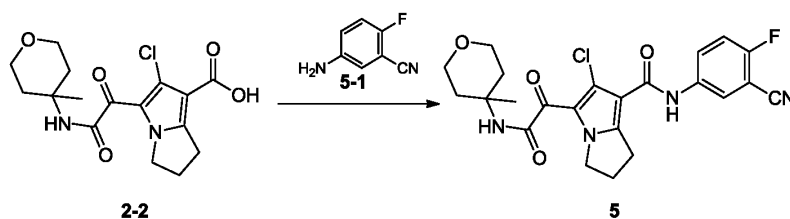
将化合物 **4-15** (0.2 g, 345.40  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (10 mL), 随后加入三氟乙酸 (7.70 g, 67.53 mmol, 5 mL, 195.51 *eq*)。反应在 25  $^\circ\text{C}$  搅拌 0.5 小时。LCMS 和 HPLC 确认反应完成。反应液减压浓缩得到残余物。残余物经制备型 HPLC (色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.04% 氨水+10 mM 碳酸氢铵) - 乙腈]; 乙腈%: 22%-42%, 10.5min) 纯化处理得到化合物 **4**。MS(ESI)  $m/z$ : 523.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 9.95 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.87 - 7.82 (m, 1H), 7.43 - 7.39 (m, 2H), 4.29 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H), 3.18 (s, 2H), 3.09 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 2.88 - 2.71 (m, 4H), 2.46 - 2.43 (m, 2H), 2.18 (d,  $J=14.0$  Hz, 2H), 1.73 (t,  $J=10.0$  Hz, 2H), 1.39 (s, 3H).

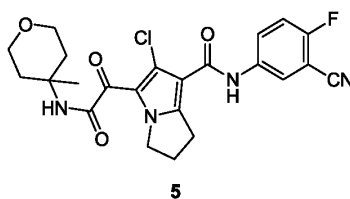
## 实施例 5



合成路线:



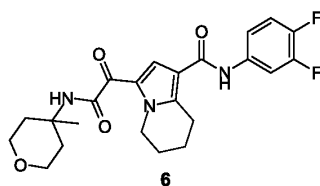
## 第一步



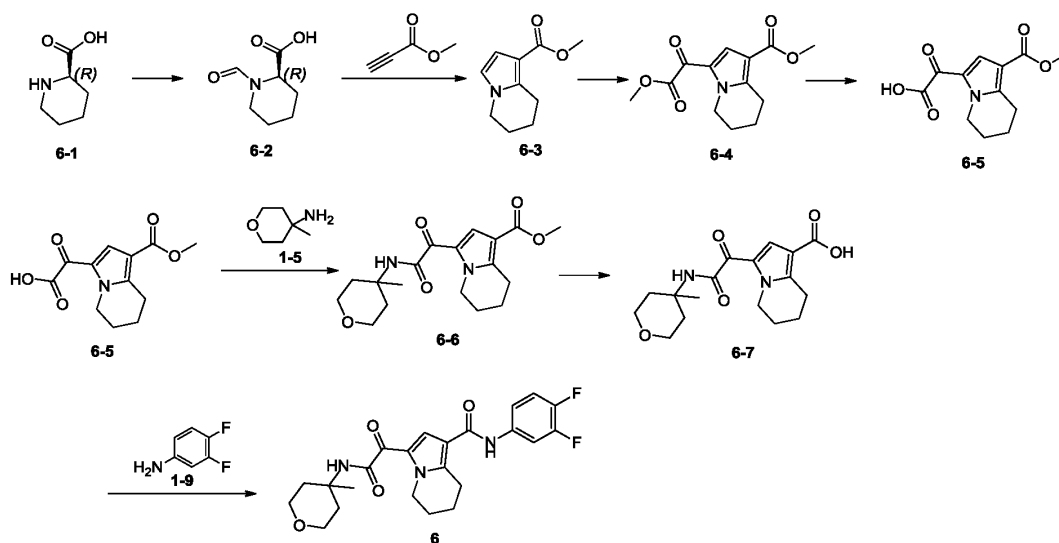
将化合物 **2-2** (0.13 g, 366.42  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*), 三乙胺 (55.62 mg, 549.63  $\mu\text{mol}$ , 76.50  $\mu\text{L}$ , 1.5 *eq*), O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸盐 (167.19 mg, 439.70  $\mu\text{mol}$ , 1.2 *eq*) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (3 mL), 25  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 0.5 小时后加入化合物 **5-1** (99.76 mg, 732.84  $\mu\text{mol}$ , 2 *eq*)。反应升温至 70  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 3 小时。LCMS 和 HPLC 确认化合物 **2-2** 消耗完全, 有化合物 **5** 生成。反应液加 2 滴水淬灭后过滤。滤液经制备型 HPLC (中性体系) (色谱柱: Waters Xbridge 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (10 mM 碳酸氢铵)-乙腈]; 乙腈%: 30%-50%, 12min) 纯化处理, 得到化合物 **5**。MS(ESI)  $m/z$ : 473.1  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。

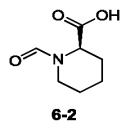
$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 10.05 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.18 (dd,  $J$ =2.8, 5.8 Hz, 1H), 7.97 (ddd,  $J$ =2.8, 5.0, 9.2 Hz, 1H), 7.52 (t,  $J$ =9.2 Hz, 1H), 4.30 (t,  $J$ =7.2 Hz, 2H), 3.65 - 3.53 (m, 4H), 3.10 (t,  $J$ =7.6 Hz, 2H), 2.48 - 2.41 (m, 2H), 2.07 (d,  $J$ =13.6 Hz, 2H), 1.56 (ddd,  $J$ =4.8, 8.8, 13.6 Hz, 2H), 1.40 (s, 3H)。

### 实施例 6



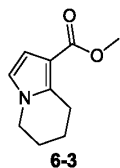
合成路线:





将化合物**6-1** (10 g, 77.43 mmol, 1 *eq*) 溶于乙酸酐 (40 mL) 和甲酸 (60 mL) 中, 反应混合物在氮气保护下于 100 °C 反应 16 小时。LCMS 检测化合物**6-2** 生成。将反应液直接减压浓缩, 得到化合物**6-2**。

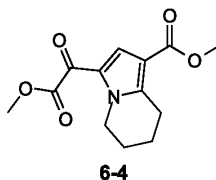
#### 第二步



将化合物 **6-2** (12.10 g, 77 mmol, 1 *eq*) 溶于乙酸酐 (120 mL) 中, 反应混合物加入丙炔酸甲酯 (32.37 g, 385.00 mmol, 32.05 mL, 5 *eq*), 整个反应体系在氮气保护下于 120 °C 反应 16 小时。LCMS 检测化合物 **6-3** 生成。反应液直接减压浓缩, 粗品经柱层析纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=50:1 至 5:1, V/V) 得到化合物 **6-3**。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 6.36 (d, *J*=3.2 Hz, 1H), 6.30 (d, *J*=3.2 Hz, 1H), 3.95 - 3.90 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.10 - 3.05 (m, 2H), 1.96 - 1.93 (m, 2H), 1.85 - 1.83 (m, 2H).

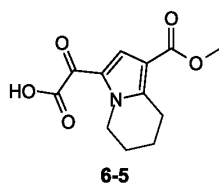
#### 第三步



将化合物 **6-3** (0.5 g, 2.79 mmol, 1 *eq*) 加到盛有二氯乙烷 (5 mL) 的拇指瓶中, 将反应降温到 0 °C, 将草酰氯单甲酯 (512.69 mg, 4.18 mmol, 385.48 μL, 1.5 *eq*) 滴加到反应体系中。该反应在 0 °C 反应 1 小时, TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示化合物 **6-3** 反应基本完全。反应液倒入冰的饱和碳酸氢钠溶液中 (20 mL), 用乙酸乙酯萃取 (20 mL\*2), 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。粗品经柱层析纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=100:0 至 10:1, V/V), 得到化合物 **6-4**。MS(ESI) *m/s*: 266.1 [M+H]<sup>+</sup>。

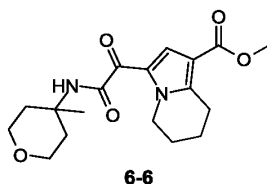
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 7.68 (s, 1H), 4.40 (t, *J*=6.0 Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.17 (t, *J*=6.0 Hz, 2H), 2.05 - 1.94 (m, 2H), 1.91 - 1.81 (m, 2H)。

#### 第四步



在 25 °C，将化合物 **6-4** (0.3 g, 1.13 mmol, 1 *eq*) 加到盛有乙醇 (5 mL) 和水 (2 mL) 的拇指瓶中，随后将碳酸钾 (468.93 mg, 3.39 mmol, 3 *eq*) 加到反应体系中。该反应在 25 °C 搅拌 1 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 显示化合物 **6-4** 反应结束，反应液用甲基叔丁基醚 (20 mL\*2) 萃取，用 1 M 盐酸调至 pH=3，用乙酸乙酯萃取 (10 mL \*3)，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩得到化合物 **6-5**。

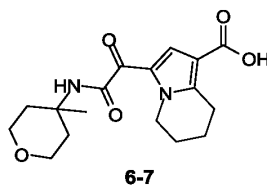
#### 第五步



在 20 °C，将化合物 **1-5** (55.01 mg, 477.64 μmol, 1.2 *eq*) 加到盛有二氯乙烷 (3 mL) 的瓶中，随后将 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (227.02 mg, 597.05 μmol, 1.5 *eq*) 和 N,N-二异丙基乙胺 (154.33 mg, 1.19 mmol, 207.99 μL, 3 *eq*) 加到反应体系中，该反应在 0 °C 反应 10 分钟后，将化合物 **6-5** (0.1 g, 398.03 μmol, 1 *eq*) 溶于二氯乙烷 (3 mL) 中，滴加到反应体系中，该反应在 20 °C 反应 20 分钟，LCMS 显示有化合物 **6-6** 生成。反应液用饱和氯化铵溶液 (10 mL\*2) 洗涤，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。粗品经制备 TLC (石油醚:乙酸乙酯=2:1, V/V) 纯化，得到化合物 **6-6**。

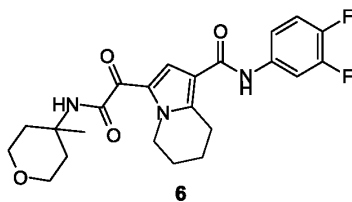
MS(ESI) m/s :349.1 [M+H]<sup>+</sup>

#### 第六步



将化合物 **6-6** (0.1 g, 287.03 μmol, 1 *eq*) 加到盛有四氢呋喃 (2 mL)，乙醇 (2 mL)，水 (2 mL) 的拇指瓶中，随后将一水合氢氧化锂 (48.18 mg, 1.15 mmol, 4 *eq*) 加到反应体系中，该反应在 20 °C 搅拌 1 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 显示化合物 **6-6** 反应结束。反应液用 10 mL 水稀释，用 1 M 盐酸调至 pH=3，用乙酸乙酯萃取 (10 mL \*3)，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩得到化合物 **6-7**。

#### 第七步

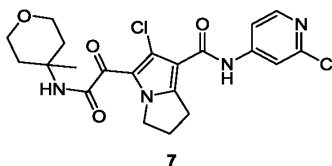


在 20 °C，将化合物 **1-9** (42.28 mg, 327.49  $\mu\text{mol}$ , 1.5 *eq*) 加到盛有二氯甲烷 (2 mL) 的拇指瓶中，随后将反应降温到 0 °C，将 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸盐 (107.92 mg, 283.82  $\mu\text{mol}$ , 1.3 *eq*)，*N,N*-二异丙基乙胺 (84.65 mg, 654.97  $\mu\text{mol}$ , 114.08  $\mu\text{L}$ , 3 *eq*) 加到反应体系中，该反应在 0 °C 搅拌 10 分钟后，将化合物 **6-7** (73 mg, 218.32  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (2 mL) 滴加到反应体系中，该反应在 0 °C 反应 20 分钟，将反应升温到 70 °C 搅拌 12 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=1:1) 显示有主点生成，LCMS 检测化合物 **6** 生成。反应液用饱和氯化铵 (10 mL) 洗涤，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。粗品经制备型 HPLC (色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.04% 氨水+10 mM 碳酸氢铵) -乙腈]; 乙腈%: 45%-65%, 10.5min) 纯化，得到化合物 **6**。

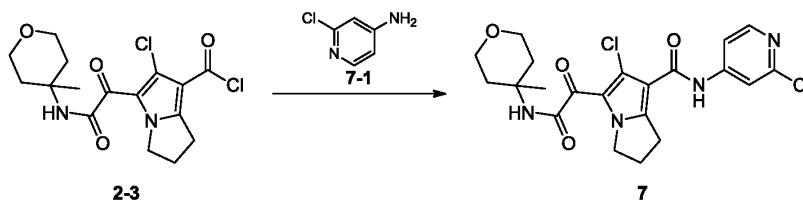
MS(ESI)  $m/z$ : 446.2 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$ = 8.04 (s, 1H), 7.79 - 7.69 (m, 1H), 7.38 - 7.30 (m, 1H), 7.26 - 7.16 (m, 1H), 4.42 (t, *J*=6.8 Hz, 2H), 3.79 - 3.62 (m, 4H), 3.20 (t, *J*=6.8 Hz, 2H), 2.23 (m, 2H), 2.00 (m, 2H), 1.88 (m, 2H), 1.71 (m, 2H), 1.50 (s, 3H).

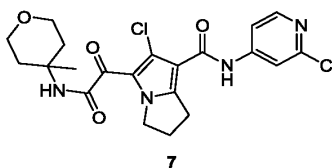
### 实施例 7



合成路线:



第一步

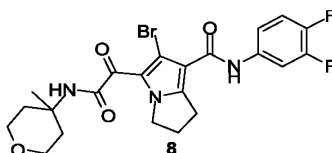


将化合物 **7-1** (36.17 mg, 281.33  $\mu\text{mol}$ , 1.5 *eq*)，三乙胺 (56.94 mg, 562.65  $\mu\text{mol}$ , 78.32  $\mu\text{L}$ , 3 *eq*) 溶于二

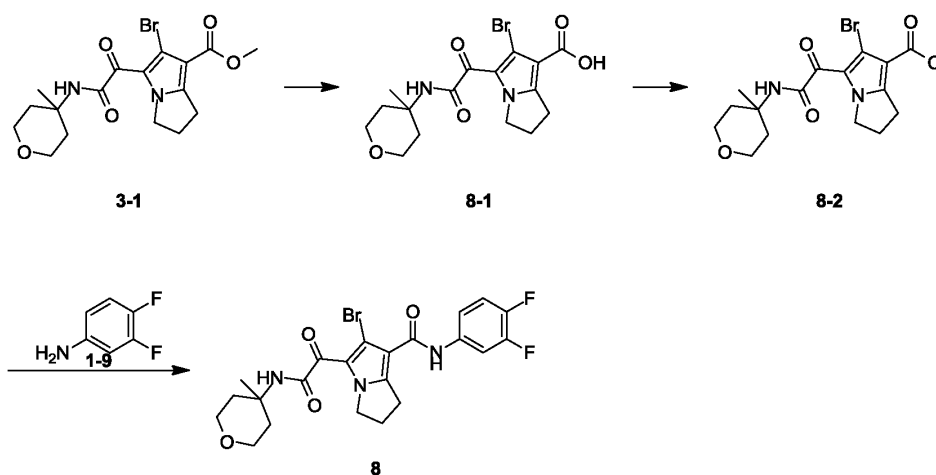
氯甲烷 (5 mL), 随后在 0 °C 加入溶于二氯甲烷 (5 mL) 的化合物 **2-3** (70 mg, 187.55  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶液。反应在 25 °C 搅拌 2 小时。LCMS 和 HPLC 显示反应完全。反应液用水 15 mL 淬灭后二氯甲烷 (15 mL\*3) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到残余物。残余物经制备型 HPLC (色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.04% 氨水+10 mM 碳酸氢铵) - 乙腈]; 乙腈%: 28%-58%, 10.5min) 纯化处理得到化合物 **7**。MS(ESI) *m/z*: 465.1 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 10.28 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.29 (d, *J*=5.6 Hz, 1H), 7.81 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.62–7.60 (m, 1H), 4.30 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.63–3.57 (m, 4H), 3.10 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 2.47–2.45 (m, 2H), 2.07 (d, *J*=13.2 Hz, 2H), 1.59–1.53 (m, 2H), 1.41 (s, 3H)。

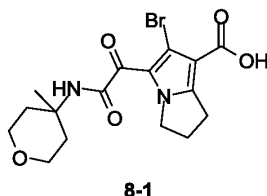
### 实施例 8



合成路线:



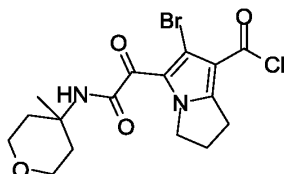
第一步



向化合物 **3-1** (300 mg, 725.93  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的四氢呋喃 (5 mL) 溶液中加入氢氧化钠 (87.11 mg, 2.18 mmol, 3 *eq*) 的水 (2 mL) 溶液, 混合物在 40 °C 下搅拌 12 小时。反应液用 2 mol/L 稀盐酸调至 pH = 1~2, 用乙酸乙酯 (10 mL\*3) 萃取。合并的有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到化合物 **8-1**。MS *m/z* (ESI): 398.9 [M+H]<sup>+</sup>。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{MeOH-}d_4$ )  $\delta$  = 4.34 (t,  $J$ =7.2 Hz, 2H), 3.82 - 3.70 (m, 4H), 3.15 (t,  $J$ =7.8 Hz, 2H), 2.50–2.48 (m, 2H), 2.22 (d,  $J$ =13.8 Hz, 2H), 1.77 - 1.65 (m, 2H), 1.55 (s, 3H).

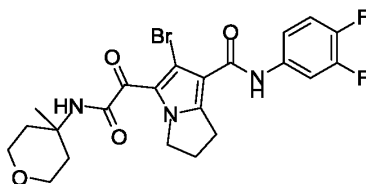
第二步



**8-2**

氮气保护下，在 0 °C 向化合物 **8-1** (280 mg, 701.34  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中滴加氯化亚砷 (166.88 mg, 1.40 mmol, 101.75  $\mu\text{L}$ , 2 *eq*)，然后加入 *N,N*-二甲基甲酰胺 (25.63 mg, 350.67  $\mu\text{mol}$ , 26.98  $\mu\text{L}$ , 0.5 *eq*)。混合物在 25 °C 下搅拌 1 小时。将反应液减压浓缩，得到化合物 **8-2**，直接用于下一步反应。

第三步

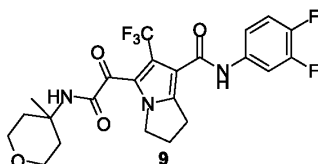


**8**

向化合物 **8-2** (300 mg, 718.25  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中加入三乙胺 (290.72 mg, 2.87 mmol, 399.89  $\mu\text{L}$ , 4 *eq*)，随后加入化合物 **1-9** (92.73 mg, 718.25  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*)。混合物在 25 °C 下搅拌 1 小时。将反应液减压浓缩。残余物通过柱层析 (100-200 目硅胶，石油醚:乙酸乙酯= 100:0 至 40:60, V/V) 分离，后通过制备型 HPLC 色谱法分离 (色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水(0.225%甲酸)-乙腈]; 乙腈%: 48%-68%, 7min)，得到化合物 **8**。MS  $m/z$  (ESI): 510.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

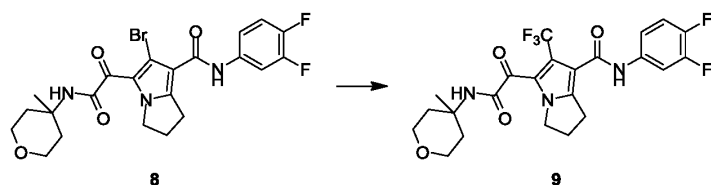
$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 8.54 (s, 1H), 7.73 - 7.62 (m, 1H), 7.11 - 7.01 (m, 2H), 6.30 (s, 1H), 4.25 (t,  $J$ =7.4 Hz, 2H), 3.76 - 3.57 (m, 4H), 3.21 (t,  $J$ =7.8 Hz, 2H), 2.46–2.43 (m, 2H), 2.08 (d,  $J$ =13.8 Hz, 2H), 1.74 (m, 2H), 1.49 (s, 3H).

### 实施例 9

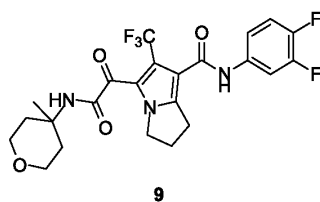


**9**

合成路线:



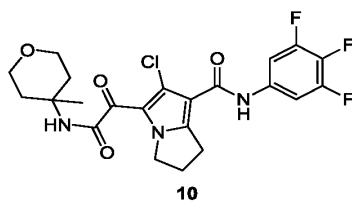
第一步



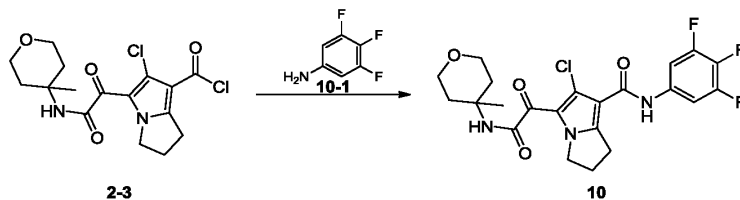
向化合物 **8** (80 mg, 156.76  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的 DMF (3 mL) 中加入氟磺酰基二氟乙酸甲酯 (180.70 mg, 940.57  $\mu\text{mol}$ , 119.67  $\mu\text{L}$ , 6 *eq*) 和六甲基磷酰三胺 (28.09 mg, 156.76  $\mu\text{mol}$ , 27.54  $\mu\text{L}$ , 1 *eq*), 氮气置换三次后, 加入碘化亚铜 (29.86 mg, 156.76  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*)。混合物在 80  $^{\circ}\text{C}$  下搅拌 12 小时。反应液用水 (10 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (10 mL\*3) 萃取。合并的有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩。残余物通过制备型 HPLC (色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水(0.225%甲酸)-乙腈]; 乙腈%: 50%-70%, 7min) 分离, 得到化合物 **9**。MS  $m/z$  (ESI): 500.2  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.68 - 7.59 (m, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.12 - 6.95 (m, 2H), 6.51 (s, 1H), 4.16 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H), 3.77 - 3.66 (m, 2H), 3.64 - 3.51 (m, 2H), 3.09 (t,  $J=7.4$  Hz, 2H), 2.50-2.48 (m, 2H), 2.06 (d,  $J=13.6$  Hz, 2H), 1.71 (t,  $J=9.6$  Hz, 2H), 1.44 (s, 3H)。

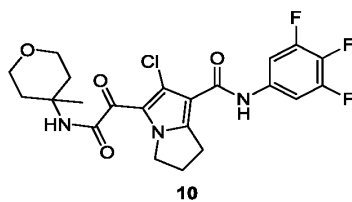
### 实施例 10



合成路线:



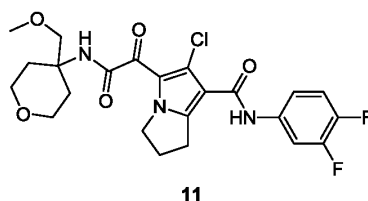
第一步



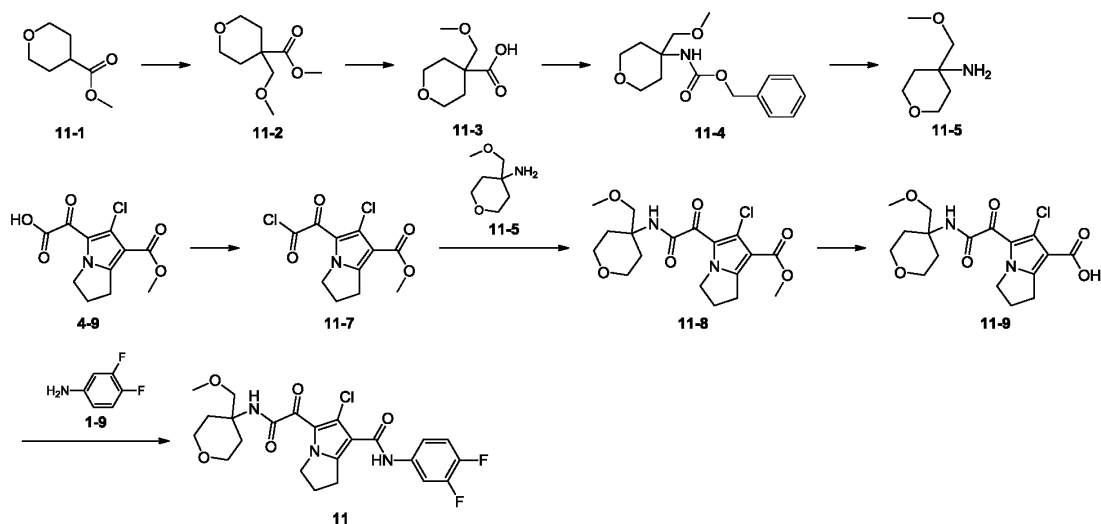
将化合物 **10-1** (59.12 mg, 401.90  $\mu\text{mol}$ , 1.5 *eq*), 三乙胺 (81.34 mg, 803.79  $\mu\text{mol}$ , 111.88  $\mu\text{L}$ , 3 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL), 随后在 0 °C 加入溶于二氯甲烷 (5 mL) 的化合物 **2-3** (0.1 g, 267.93  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*)。反应在 25 °C 搅拌 1 小时。LCMS 和 HPLC 显示化合物 **2-3** 消耗完全, 有化合物 **10** 生成。反应液用水 (10 mL) 淬灭后, 二氯甲烷 (10 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到残余物。残余物经制备型 HPLC (色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.04% 氨水+10 mM 碳酸氢铵) - 乙腈]; 乙腈%: 42%-62%, 10.5min) 纯化处理得到化合物 **10**。MS(ESI)  $m/z$ : 484.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 10.03 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.64 – 7.60 (m, 2H), 4.30 (t,  $J$ =7.2 Hz, 2H), 3.63 – 3.55 (m, 4H), 3.08 (t,  $J$ =7.6 Hz, 2H), 2.47 – 2.43 (m, 2H), 2.07 (d,  $J$ =13.2 Hz, 2H), 1.59 – 1.52 (m, 2H), 1.40 (s, 3H).

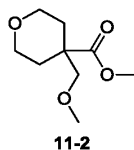
### 实施例 11



合成路线:



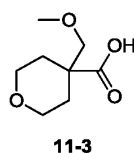
第一步



将化合物 **11-1** (10 g, 69.36 mmol, 9.26 mL, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (100 mL), 随后在 -78 °C 加入二异丙基胺基锂 (2 M, 52.02 mL, 1.5 *eq*)。搅拌 0.5 小时后 -78 °C 加入氯甲醚 (8.38 g, 104.05 mmol, 7.90 mL, 1.5 *eq*)。反应在 25 °C 搅拌 2 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示化合物 **11-1** 消耗完全, 有新点生成。反应液倒入 50 mL 饱和氯化铵溶液中, 用乙酸乙酯 (50 mL\*3) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到化合物 **11-2**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 3.82 (td,  $J=4.0, 11.8$  Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.52 - 3.46 (m, 2H), 3.40 (s, 2H), 3.30 (s, 3H), 2.09 - 2.05 (m, 2H), 1.62 - 1.54 (m, 2H).

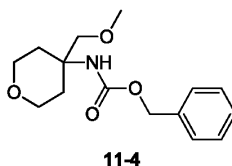
第二步



将化合物 **11-2** (12 g, 63.76 mmol, 1 *eq*) 溶于甲醇 (100 mL), 水 (50 mL), 随后加入氢氧化钠 (5.10 g, 127.51 mmol, 2 *eq*)。反应在 40 °C 搅拌 16 小时。反应液用乙酸乙酯 (50 mL\*2) 萃取, 水相用 1 mol/L 盐酸调至 pH=1~3, 乙酸乙酯 (50 mL\*3) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到化合物 **11-3**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{MeOH}-d_4$ )  $\delta$  = 3.80 (td,  $J=4.0, 11.6$  Hz, 2H), 3.58 - 3.51 (m, 2H), 3.43 (s, 2H), 3.31 (s, 3H), 2.04 - 1.99 (m, 2H), 1.62 - 1.54 (m, 2H).

第三步

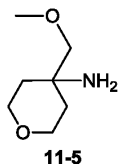


将化合物 **11-3** (8.5 g, 48.80 mmol, 1 *eq*), 三乙胺 (7.41 g, 73.19 mmol, 10.19 mL, 1.5 *eq*), 苄醇 (10.55 g, 97.59 mmol, 10.15 mL, 2 *eq*) 溶于甲苯 (100 mL), 随后在 25 °C 氮气保护下加入叠氮磷酸二苄酯 (16.11 g, 58.56 mmol, 12.69 mL, 1.2 *eq*)。反应在 110 °C 搅拌 5 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示有新点生成。反应液倒入 100 mL 饱和氯化铵溶液中, 随后用乙酸乙酯 (80 mL\*3) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。残余物经柱层析 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=100:0 至 10:1, V/V) 纯化处理。减压浓缩得到化合物 **11-4**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.34 - 7.29 (m, 5H), 3.74 - 3.49 (m, 4H), 3.36 (s, 2H), 3.33 (s, 3H), 2.18 (s,

2H), 2.04 – 1.96 (m, 2H), 1.74 - 1.66 (m, 2H).

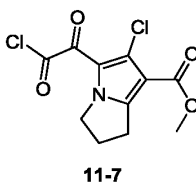
#### 第四步



在一个干燥的 250 mL 氢化瓶中，将化合物 **11-4** (14 g, 50.12 mmol, 1 eq) 溶于甲醇 (200 mL)，并加入湿钨碳 (3 g, 10% 纯度)，反应在 H<sub>2</sub> (50 Psi) 保护下于 25 °C 搅拌 16 个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示反应完毕。反应液过滤浓缩。粗品经甲基叔丁基醚 (30 mL) 匀浆后过滤，滤饼减压浓缩得到化合物 **11-5**。

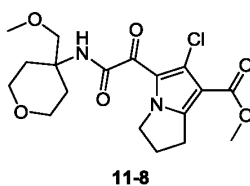
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 3.84 - 3.81 (m, 2H), 3.68 – 3.62 (m, 4H), 3.45 (s, 3H), 1.93 – 1.88 (m, 2H), 1.84 - 1.80 (m, 2H).

#### 第五步



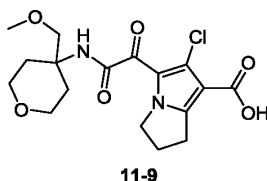
将化合物 **4-9** (0.2 g, 736.23  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于二氯甲烷 (10 mL)，随后在 0 °C 加入草酰氯 (186.89 mg, 1.47 mmol, 128.89  $\mu$ L, 2 eq) 和 *N,N*-二甲基甲酰胺 (5.38 mg, 73.62  $\mu$ mol, 5.66  $\mu$ L, 0.1 eq)。反应在氮气保护下 25 °C 搅拌 0.5 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=1:1) 显示化合物 **4-9** 消耗完全，有新点生成。反应液减压浓缩得到化合物 **11-7**。

#### 第六步



将化合物 **11-5** (150.16 mg, 826.58  $\mu$ mol, 1.20 eq, HCl)，三乙胺 (209.29 mg, 2.07 mmol, 287.88  $\mu$ L, 3 eq) 溶于二氯甲烷 (5 mL)，随后在氮气保护下 0 °C 加入化合物 **11-7** (0.2 g, 689.42  $\mu$ mol, 1 eq) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液，反应在 25 °C 搅拌 1 小时。LCMS 确认化合物 **11-7** 消耗完全，有化合物 **11-8** 生成。反应液用 15 mL 水淬灭后，二氯甲烷 (15 mL\*3) 萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩得到化合物 **11-8**。  
MS(ESI) *m/z* : 399.1 [M+H]<sup>+</sup>

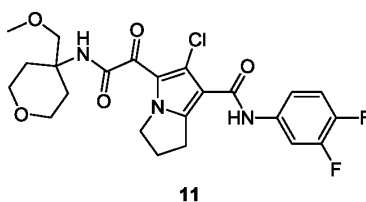
## 第七步



将化合物 **11-8** (0.4 g, 1.00 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (8 mL) 和水 (4 mL), 随后加入一水合氢氧化锂 (126.26 mg, 3.01 mmol, 3 *eq*)。反应在 25 °C 搅拌 12 小时。LCMS 确认化合物 **11-8** 消耗完全, 有化合物 **11-9** 生成。反应液用 1 M 稀盐酸调至 pH=1~3, 乙酸乙酯 (20 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到化合物 **11-9**。MS(ESI) *m/z*: 385.0 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 4.36 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.77 - 3.72 (m, 4H), 3.64 (s, 2H), 3.37 (s, 3H), 3.15 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.54 - 2.50 (m, 2H), 2.19 (d, *J*=12.8 Hz, 2H), 1.84 - 1.77 (m, 2H)。

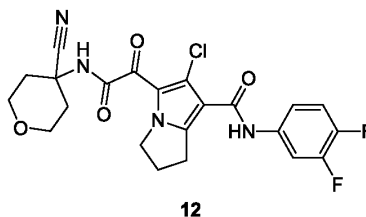
## 第八步



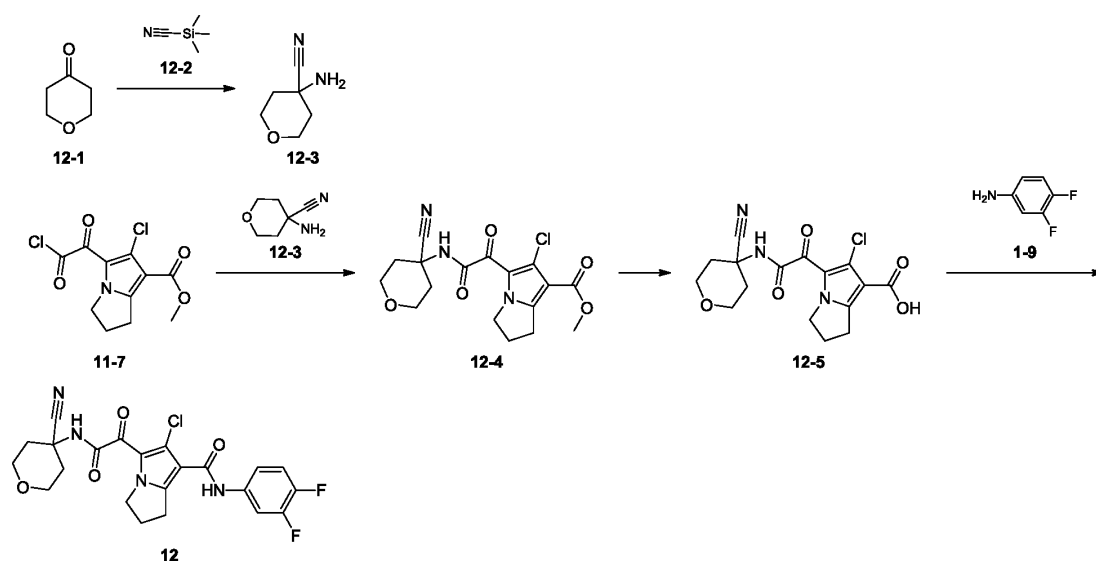
将化合物 **11-9** (0.2 g, 519.74  $\mu$ mol, 1 *eq*), 三乙胺 (210.37 mg, 2.08 mmol, 289.37  $\mu$ L, 4 *eq*), O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸盐 (592.86 mg, 1.56 mmol, 3 *eq*) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (3 mL), 25 °C 搅拌 0.5 小时后加入化合物 **1-9** (134.20 mg, 1.04 mmol, 2 *eq*)。反应在 55 °C 搅拌 3 小时。LCMS 和 HPLC 确认反应完全。反应液加 2 滴水淬灭后过滤取滤液。滤液经制备型 HPLC (中性, 色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu$ m; 流动相: [水 (10 mM 碳酸氢铵)-乙腈]; 乙腈%: 30%-60%, 12min) 纯化处理, 得到化合物 **11**。MS(ESI) *m/z*: 496.1 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9.95 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.87 - 7.81 (m, 1H), 7.43 - 7.39 (m, 2H), 4.29 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.67 - 3.55 (m, 6H), 3.28 (s, 3H), 3.08 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.43 (s, 2H), 2.07 (d, *J*=13.4 Hz, 2H), 1.68 - 1.60 (m, 2H)。

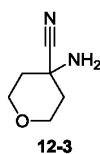
## 实施例 12



合成路线:



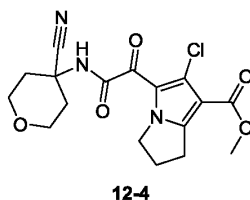
第一步



向一个干燥的 40 mL 小瓶中, 将四异丙氧基钛 (3.41 g, 11.99 mmol, 3.54 mL, 1.2 *eq*) 溶于氨气/甲醇 (7 M, 5.71 mL, 4 *eq*), 氮气保护下 30 °C 滴加化合物 12-1 (1 g, 9.99 mmol, 917.43  $\mu$ L, 1 *eq*), 搅拌 2 个小时后冷却至 -5 °C, 此温度下滴加化合物 12-2 (1.04 g, 10.49 mmol, 1.31 mL, 1.05 *eq*) 并搅拌 2 个小时, 之后温度升到 30 °C 继续搅拌 12 个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=1:1) 显示反应完毕。反应液加水 (1 mL) 淬灭然后加乙醇 (20 mL) 搅拌 30 分钟后过滤, 母液减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=10:1 至 1:1, V/V), 得到化合物 12-3。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 4.02 – 3.95 (m, 2H), 3.68 – 3.62 (m, 2H), 2.01 – 1.96 (m, 2H), 1.87 (s, 2H), 1.78 – 1.74 (m, 2H).

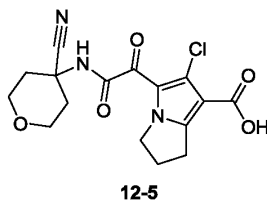
第二步



在一个干燥的 40 mL 小瓶中将化合物 12-3 (97.85 mg, 775.60  $\mu$ mol, 1.5 *eq*) 溶于二氯甲烷 (10 mL), 氮气保护 0 °C 下滴加三乙胺 (156.97 mg, 1.55 mmol, 215.91  $\mu$ L, 3 *eq*) 和化合物 11-7 (150 mg, 517.06  $\mu$ mol,

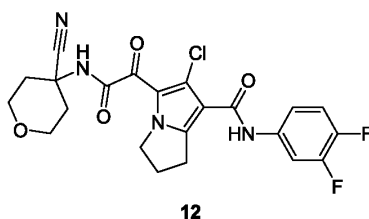
1 *eq*) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液, 反应在 30 °C 搅拌 1 个小时。LCMS 显示反应完毕。反应液加二氯甲烷 (50 mL) 稀释然后用稀盐酸 (0.5 mol/L) 洗涤 (10 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 得到化合物 **12-4**。MS(ESI) *m/z*: 380.1 [M+H]<sup>+</sup>

### 第三步



在一个干燥的 50 mL 单口瓶中将化合物 **12-4** (200 mg, 526.60 μmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (3 mL), 甲醇 (3 mL) 和水 (3 mL) 并加入一水合氢氧化锂 (44.19 mg, 1.05 mmol, 2 *eq*), 反应液在 30 °C 搅拌 16 个小时。LCMS 显示反应完毕。四氢呋喃和甲醇减压浓缩并加 20 mL 水稀释, 水相用乙酸乙酯洗涤 (5 mL\*2), 水相用 0.5 M 稀盐酸调至 pH=1, 然后水相用乙酸乙酯萃取 (10 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 得到化合物 **12-5**。MS(ESI) *m/z* 366.1 [M+H]<sup>+</sup>。

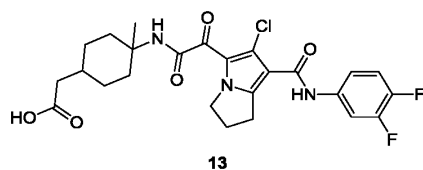
### 第四步



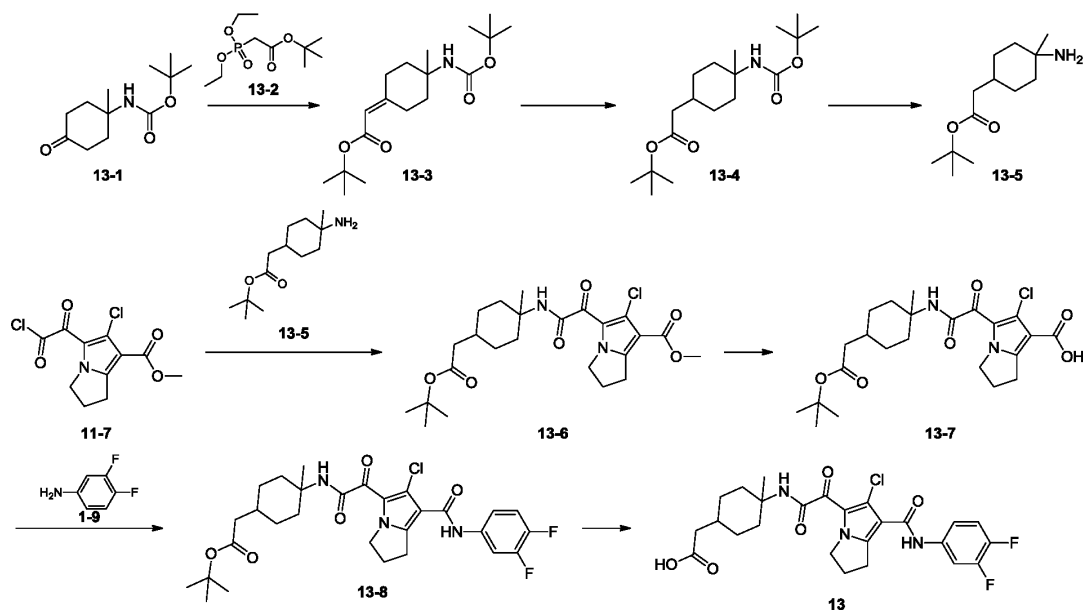
在一个干燥的 50 mL 单口瓶中将化合物 **12-5** (130 mg, 355.42 μmol, 1 *eq*) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL)。氮气保护 30 °C 下加入 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸盐 (270.28 mg, 710.83 μmol, 2 *eq*) 和三乙胺 (107.89 mg, 1.07 mmol, 148.41 μL, 3 *eq*), 搅拌 0.5 小时后加入化合物 **1-9** (68.83 mg, 533.13 μmol, 1.5 *eq*), 反应之后升到 60 °C 搅拌 15.5 个小时。LCMS 和 HPLC 显示反应完毕。反应液加 1 mL 水然后浓缩。粗品经制备型 HPLC 分离纯化 (中性体系, 色谱柱: column: Waters Xbridge 150\*25mm\*5μm; 流动相: [水(10 mM 碳酸氢铵)-乙腈]; 乙腈%: 30%-50%, 12min) 得到化合物 **12**。MS(ESI) *m/z*: 477.1 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = 9.96 (s, 1H), 9.58 (s, 1H), 7.85 - 7.80 (m, 1H), 7.42 - 7.38 (m, 2H), 4.29 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.86 - 3.82 (m, 2H), 3.57 (t, *J*=10.0 Hz, 2H), 3.09 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.46 - 2.44 (m, 2H), 2.30 - 2.27 (m, 2H), 1.95 - 1.90 (m, 2H).

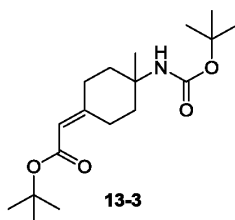
### 实施例 13



合成路线:



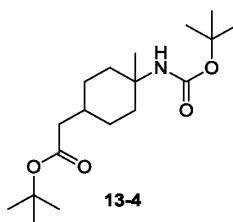
第一步



在单口瓶中将化合物 **13-1** (1 g, 4.40 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (20 mL), 氮气保护 0 °C 下加入钠氢 (615.93 mg, 60% 纯度, 3.5 *eq*), 搅拌 0.5 小时后, 加入化合物 **13-2** (2.33 g, 9.24 mmol, 2.1 *eq*), 反应在 30 °C 搅拌 30 分钟。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=10:1) 显示反应完毕。反应倒入 0.5 mol/L 稀盐酸中 (100 mL), 粗品经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=50:1 至 20:1) 得到化合物 **13-3**。

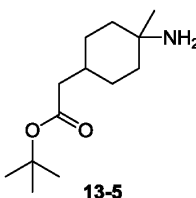
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 5.55 (s, 1H), 4.43 (s, 1H), 3.32 – 3.26 (m, 1H), 2.41 – 2.38 (m, 1H), 2.30 – 2.28 (m, 1H), 2.15 – 2.14 (m, 1H), 2.13 – 2.04 (m, 1H), 2.03 – 2.01 (m, 1H), 1.54 – 1.49 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.43 (s, 9H), 1.33 (s, 3H).

第二步



在氢化瓶中将湿钯碳 (200 mg, 10% 含量) 溶于四氢呋喃 (40 mL) 并加入化合物 **13-3** (1.35 g, 4.15 mmol, 1 *eq*), 反应在 H<sub>2</sub> (15 Psi) 保护下于 25 °C 搅拌 2 个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=10:1) 显示反应完毕。反应液过滤浓缩得到化合物 **13-4**。

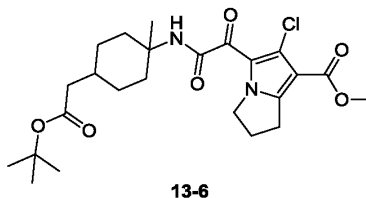
### 第三步



在一个干燥的单口瓶中将化合物 **13-4** (1.3 g, 3.97 mmol, 1 *eq*) 溶于乙酸乙酯 (30 mL) 并加入盐酸/乙酸乙酯 (4 mol/L, 10 mL, 10.08 *eq*), 反应在 30 °C 搅拌 16 个小时。反应液直接浓缩得到化合物 **13-5**。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 1.85 – 1.83 (m, 4H), 1.77 – 1.76 (m, 2H), 1.63 – 1.60 (m, 3H), 1.45 (s, 9H), 1.35 – 1.31 (m, 5H).

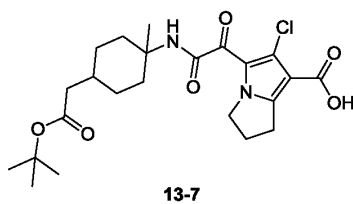
### 第四步



在一个干燥的单口瓶中将化合物 **13-5** (250 mg, 861.77  $\mu$ mol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 并加入三乙胺 (261.61 mg, 2.59 mmol, 359.85  $\mu$ L, 3 *eq*), 氮气保护 0 °C 下滴加化合物 **11-7** (293.88 mg, 1.29 mmol, 1.5 *eq*) 的二氯甲烷 (10 mL) 溶液, 反应在 30 °C 搅拌 1 个小时。LCMS 显示反应完毕。反应液倒入水中 (50 mL), 然后水相用二氯甲烷萃取 (20 mL\*3), 有机相用 0.5mol/L 稀盐酸洗涤 (20 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩得到化合物 **13-6**。MS(ESI) *m/z*: 425.2 [M+H-(*t*-Bu)]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 5.99 (s, 1H), 4.32 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.14 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.52 – 2.48 (m, 2H), 2.31 – 2.28 (m, 2H), 2.14 – 2.12 (m, 2H), 1.68 – 1.65 (m, 2H), 1.45 – 1.42 (m, 2H), 1.39 – 1.36 (m, 12H), 1.24 – 1.22 (m, 2H), 1.18 – 1.14 (m, 2H).

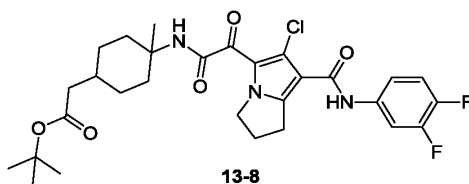
### 第五步



在一个小瓶中将化合物 **13-6** (90 mg, 187.12  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (3 mL), 甲醇 (3 mL) 和水 (3 mL) 并加入一水合氢氧化锂 (23.55 mg, 561.35  $\mu\text{mol}$ , 3 *eq*), 反应在 30 °C 搅拌 16 个小时。LCMS 显示反应完毕。反应液减压浓缩除去四氢呋喃和甲醇, 并加 20 mL 水稀释, 然后水相用乙酸乙酯洗涤 (5 mL\*2), 水相用 0.5 mol/L 稀盐酸调至 pH=1, 然后水相用乙酸乙酯萃取 (5 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经 prep-TLC (二氯甲烷: 甲醇=10:1, V/V) 分离纯化得到化合物 **13-7**。MS(ESI) *m/z*: 411.1 [M+H-(*t*-Bu)]<sup>+</sup>。

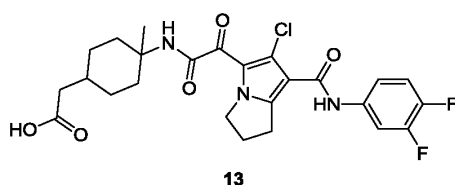
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 4.38 – 4.31 (m, 2H), 3.16 – 3.12 (m, 2H), 2.55 – 2.48 (m, 2H), 2.32 – 2.30 (m, 2H), 2.14 – 2.11 (m, 2H), 1.75-1.70 (m, 1H), 1.65 – 1.55 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.35 – 1.31 (m, 4H), 1.22 (s, 3H).

#### 第六步



在一个干燥的小瓶中将化合物 **13-7** (70 mg, 149.91  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL), 氮气保护 30 °C 下加入 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸盐 (114.00 mg, 299.82  $\mu\text{mol}$ , 2 *eq*) 和三乙胺 (45.51 mg, 449.72  $\mu\text{mol}$ , 62.60  $\mu\text{L}$ , 3 *eq*), 搅拌 30 分钟后加入化合物 **1-9** (29.03 mg, 224.86  $\mu\text{mol}$ , 1.5 *eq*), 反应升到 60 °C 继续搅拌 15.5 个小时。LCMS 显示反应完毕。反应倒入 0.2 mol/L 稀盐酸 (50 mL), 然后用乙酸乙酯萃取 (10 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 得到化合物 **13-8**。MS(ESI) *m/z*: 522.1 [M+H-(*t*-Bu)]<sup>+</sup>。

#### 第七步

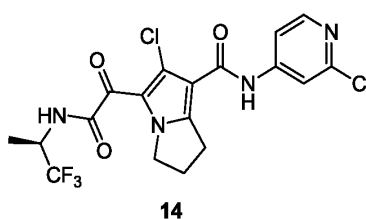


在一个干燥的单口瓶中将化合物 **13-8** (50 mg, 86.50  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于三氟乙酸 (1 mL) 和二氯甲烷 (2 mL), 反应在 25 °C 搅拌 1 个小时。LCMS 和 HPLC 显示反应完毕。反应液直接浓缩。粗品经制备型 HPLC

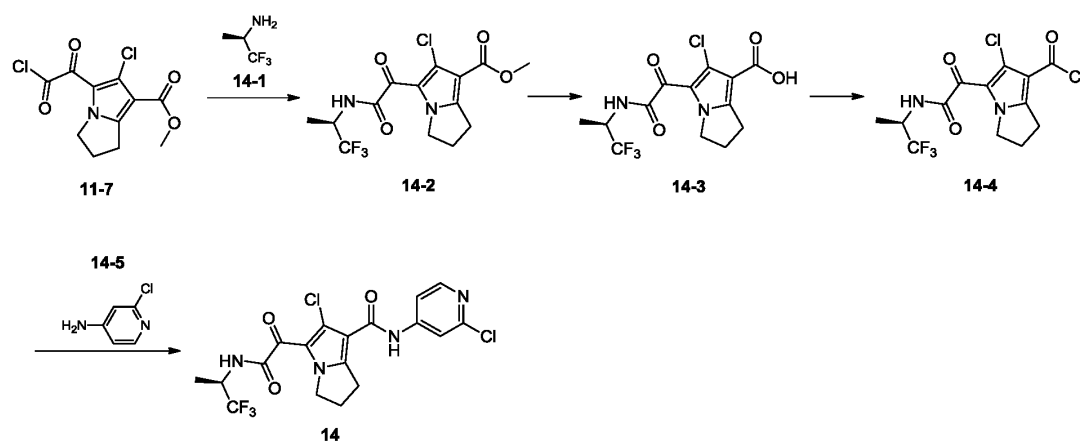
分离纯化（中性体系，色谱柱: Waters Xbridge 150\*25mm\*5 $\mu$ m;流动相: [水（10 mM 碳酸氢铵）-乙腈]; 乙腈%: 20%-40%,12min），得到化合物 **13**。MS(ESI) m/s :522.1 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9.93 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.88 - 7.83 (m, 1H), 7.44 - 7.42 (m, 2H), 4.29 (t, *J*=6.8 Hz, 2H), 3.09 (t, *J*=8.0 Hz, 2H), 2.47 - 2.45 (m, 2H), 2.24 - 2.22 (m, 2H), 2.09 - 2.07 (m, 2H), 1.65-1.60 (m, 1H), 1.54 - 1.51 (m, 2H), 1.35 (s,3H), 1.24 - 1.23 (m, 4H)。

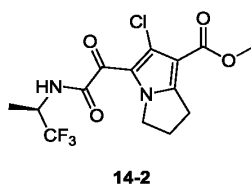
#### 实施例 14



合成路线:



第一步

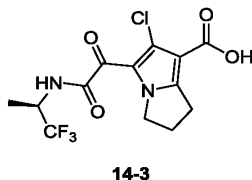


将化合物 **14-1** (124.74 mg, 1.10 mmol, 2 *eq*)，三乙胺 (167.43 mg, 1.65 mmol, 230.30  $\mu$ L, 3 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL)，随后在氮气保护下 0 °C 加入溶于二氯甲烷 (5 mL) 的化合物 **11-7** (0.16 g, 551.54  $\mu$ mol, 1 *eq*)。反应在 25 °C 搅拌 16 小时。LCMS 显示化合物 **11-7** 消耗完全，有化合物 **14-2** 生成。反应液用水 20 mL 淬灭后二氯甲烷 (15 mL\*3) 萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩得到化合物 **14-2**。MS(ESI) m/s :367.0 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 6.53 (d, *J*=9.6 Hz, 1H), 4.38 - 4.25 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.15-3.10 (m, 2H),

2.55 – 2.48 (m, 2H), 1.45 – 1.42 (m, 4H).

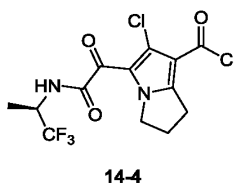
#### 第二步



将化合物 **14-2** (0.19 g, 518.11  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于甲醇 (5 mL), 四氢呋喃 (5 mL), 水 (5 mL), 随后加入一水合氢氧化锂 (65.22 mg, 1.55 mmol, 3 *eq*)。反应在 25 °C 搅拌 2 小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇=20:1) 显示化合物 **14-2** 消耗完全, 有新点生成。反应液用 1 M 盐酸调至 pH=1~3, 乙酸乙酯 (20 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到化合物 **14-3**。

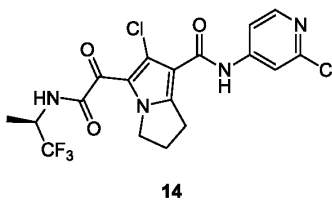
$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{MeOH}-d_4$ )  $\delta$  = 4.76 – 4.69 (m, 1H), 4.36 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H), 3.15 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 2.56 – 2.49 (m, 2H), 1.40 (d,  $J=7.0$  Hz, 3H).

#### 第三步



将化合物 **14-3** (0.1 g, 283.53  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL), 随后在氮气保护下 0 °C 加入草酰氯 (71.98 mg, 567.07  $\mu\text{mol}$ , 49.64  $\mu\text{L}$ , 2 *eq*) 和 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2.07 mg, 28.35  $\mu\text{mol}$ , 2.18  $\mu\text{L}$ , 0.1 *eq*)。反应在 25 °C 搅拌 0.5 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示化合物 **14-3** 消耗完全, 有新点生成。反应液直接减压浓缩得到化合物 **14-4**。

#### 第四步

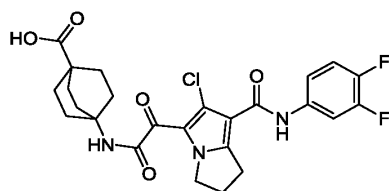


将化合物 **14-5** (69.28 mg, 538.88  $\mu\text{mol}$ , 2 *eq*), 三乙胺 (81.79 mg, 808.32  $\mu\text{mol}$ , 112.51  $\mu\text{L}$ , 3 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL), 随后在氮气保护 0 °C 加入化合物 **14-4** (0.1 g, 269.44  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液。反应升温至 25 °C 搅拌 1 小时。LCMS 和 HPLC 确认化合物 **14-4** 消耗完全, 有化合物 **14** 生成。反应液倒入 20 mL 水中淬灭, 二氯甲烷 (15 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。残余物经制备型 HPLC (中性, 色谱柱: Waters Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.04% 氨水+10 mM

碳酸氢铵)-乙腈]; 乙腈%: 37%-57%, 10.5min) 纯化处理, 得到化合物 **14**。MS(ESI)  $m/z$ : 463.0  $[M+H]^+$ 。

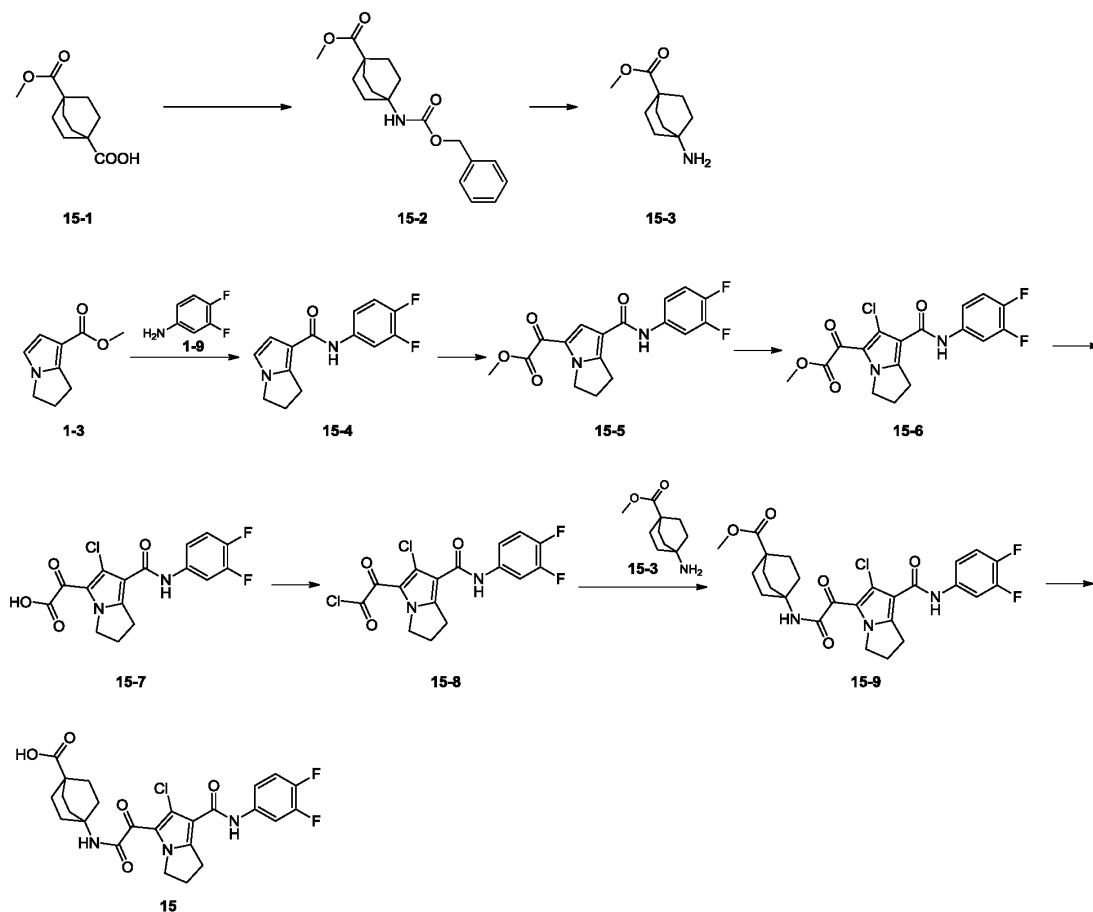
$^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 10.37 (s, 1H), 9.45 (s, 1H), 8.25 (d,  $J=6.0$  Hz, 1H), 7.79 (d,  $J=1.6$  Hz, 1H), 7.57 (dd,  $J=2.0, 6.0$  Hz, 1H), 4.72 - 4.67 (m, 1H), 4.30 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H), 3.13 - 3.10 (m, 2H), 2.47 - 2.43 (m, 2H), 1.31 (d,  $J=6.8$  Hz, 3H)。

### 实施例15

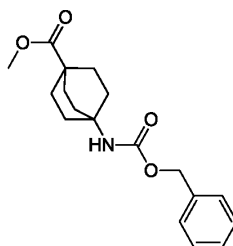


**15**

合成路线:

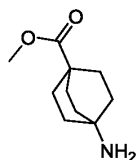


第一步

**15-2**

将化合物**15-1** (1.5 g, 7.07 mmol, 1 *eq*)，三乙胺 (1.07 g, 10.60 mmol, 1.48 mL, 1.5 *eq*)，苄醇 (1.53 g, 14.13 mmol, 1.47 mL, 2 *eq*) 加入甲苯 (15 mL) 中，随后加入叠氮磷酸二苯酯 (2.33 g, 8.48 mmol, 1.84 mL, 1.2 *eq*)。反应在110℃搅拌16小时。LCMS确认化合物**15-1**消耗完全，有化合物**15-2**生成；TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示有新点生成。反应液倒入饱和氯化铵溶液 (30 mL) 中淬灭，乙酸乙酯 (20 mL\*3) 萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶，石油醚: 乙酸乙酯=100:1 至10:1, V/V) 得到化合物**15-2**。MS(ESI) *m/z*: 318.1 [M+H]<sup>+</sup>。

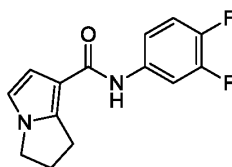
## 第二步

**15-3**

将湿钯碳 (1 g, 10% 纯度) 溶于甲醇 (20 mL)，随后加入化合物**15-2** (2 g, 6.30 mmol, 1 *eq*)。反应在H<sub>2</sub> (50 Psi) 保护下25℃搅拌16小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示化合物**15-2**消耗完全，有新点生成。反应液过滤后加入盐酸甲醇 (4 mol/L, 50 mL) 搅拌0.5小时，减压浓缩得到化合物**15-3**。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 3.65 (s, 3H), 1.99 - 1.81 (m, 12H)。

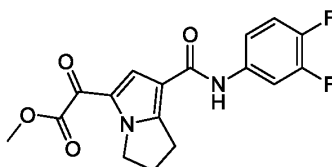
## 第三步

**15-4**

在一个干燥的小瓶中将化合物**1-3** (15 g, 90.81 mmol, 1 *eq*) 和化合物**1-9** (17.59 g, 136.21 mmol, 1.5 *eq*) 溶于甲苯 (450 mL)，0℃下缓慢加入六甲基二硅基胺基锂 (1 mol/L, 181.61 mL, 2 *eq*)，反应在25℃搅拌16个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示化合物**1-3**反应完全。将反应液倒入饱和氯化铵 (200 mL) 中，乙酸乙酯 (200 mL\*3) 萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩得到粗品。粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶，石油醚: 乙酸乙酯=5:1 至 1:1, V/V) 得到化合物**15-4**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.70 – 7.66 (m, 2H), 7.13 – 7.11 (m, 1H), 7.02 – 7.00 (m, 1H), 6.54 (d,  $J$ =2.8 Hz, 1H), 6.48 (d,  $J$ =2.8 Hz, 1H), 3.93 (t,  $J$ =7.6 Hz, 2H), 3.09 (t,  $J$ =7.2 Hz, 2H), 2.56 – 2.48 (m, 2H).

#### 第四步

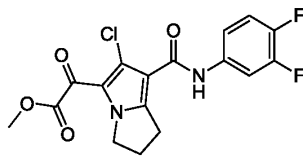


**15-5**

将化合物**15-4** (12 g, 45.76 mmol, 1 eq) 溶于二氯甲烷 (20 mL) 中, 然后加入草酰氯单甲酯 (11.21 g, 91.51 mmol, 8.43 mL, 2 eq), 反应在25℃下反应16小时。LCMS显示化合物**15-4**反应完全, 有化合物**15-5**产生。将反应液倒入饱和碳酸氢钠溶液 (200 mL), 乙酸乙酯 (200 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=5:1 至 1:1, V/V)。得到化合物**15-5**。MS(ESI) m/s :349.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.74 – 7.69 (m, 3H), 7.16 – 7.09 (m, 2H), 4.39 (t,  $J$ =7.6 Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.21 (t,  $J$ =7.6 Hz, 2H), 2.65 – 2.55 (m, 2H).

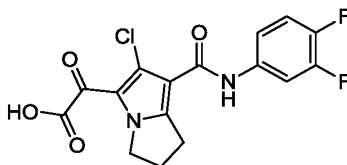
#### 第五步



**15-6**

将化合物**15-5** (5.37 g, 15.42 mmol, 1eq) 溶于醋酸 (110 mL) 中, 然后加入N-氯代琥珀亚胺 (3.29 g, 24.67 mmol, 1.6 eq), 反应在40℃反应16小时。LCMS显示有化合物**15-6**产生。将反应液倒入水 (200 mL) 中, 乙酸乙酯萃取 (200 mL\*3), 有机相依次用饱和碳酸氢钠 (1000 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到粗品。粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=3:1 至 1:5, V/V) 得到化合物**15-6**。MS(ESI) m/s :383.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 第六步

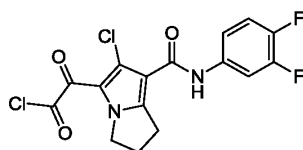


**15-7**

将化合物**15-6** (6.6 g, 17.24 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (40 mL), 乙醇 (40 mL) 和水 (40 mL) 中并加入一水合氢氧化锂 (2.17 g, 51.73 mmol, 3 *eq*), 反应在40℃搅拌1个小时。LCMS显示反应完毕。减压浓缩除去溶剂后加水 (100 mL) 稀释并用乙酸乙酯洗涤 (30 mL\*2), 水相用0.5 M稀盐酸调至pH=1后直接过滤, 滤饼用二氯甲烷 (50 mL) 打浆洗涤并过滤, 滤饼减压浓缩。得到化合物**15-7**。MS(ESI) *m/z*: 369.1 [M+H]<sup>+</sup>。

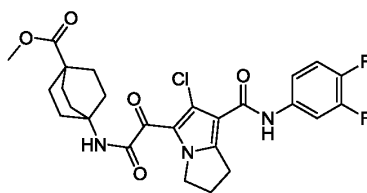
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH *d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 7.78 – 7.73 (m, 1H), 7.31 – 7.25 (m, 1H), 7.24 – 7.19 (m, 1H), 4.40 – 4.39 (m, 2H), 3.19 – 3.13 (m, 2H), 2.63 – 2.54 (m, 2H)。

## 第七步

**15-8**

将化合物**15-7** (1.1 g, 2.98 mmol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (20 mL), 氮气保护0℃下滴加草酰氯 (757.34 mg, 5.97 mmol, 522.30  $\mu$ L, 2 *eq*) 和*N,N*-二甲基甲酰胺 (21.80 mg, 298.33  $\mu$ mol, 22.95  $\mu$ L, 0.1 *eq*), 反应在25℃搅拌0.5个小时。LCMS显示反应完毕, 反应液直接减压浓缩得到化合物**15-8**。

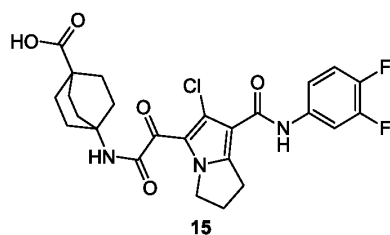
## 第八步

**15-9**

将化合物**15-3** (170.24 mg, 774.86  $\mu$ mol, 1.5 *eq*, HCl), 三乙胺 (156.82 mg, 1.55 mmol, 215.70  $\mu$ L, 3 *eq*) 溶于二氯甲烷 (10 mL), 随后在氮气保护下0℃加入化合物**15-8** (0.2 g, 516.58  $\mu$ mol, 1 *eq*) 的二氯甲烷 (10 mL) 溶液。反应在30℃搅拌16小时。LCMS确认化合物**15-8**消耗完全, 有化合物**15-9**生成。将反应液倒入1 M稀盐酸 (20 mL) 中稀释, 二氯甲烷 (20 mL\*2) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到化合物**15-9**。MS(ESI) *m/z*: 534.2 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.48 (s, 1H), 7.76 – 7.71 (m, 1H), 7.47 – 7.40 (m, 1H), 7.15 – 7.11 (m, 2H), 4.32 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.26 (t, *J*=8.0 Hz, 2H), 2.56 – 2.48 (m, 2H), 2.07 – 1.97 (m, 12H)。

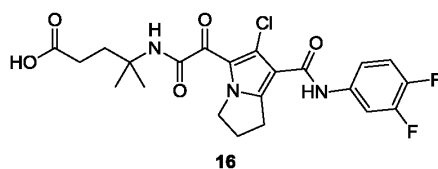
## 第九步



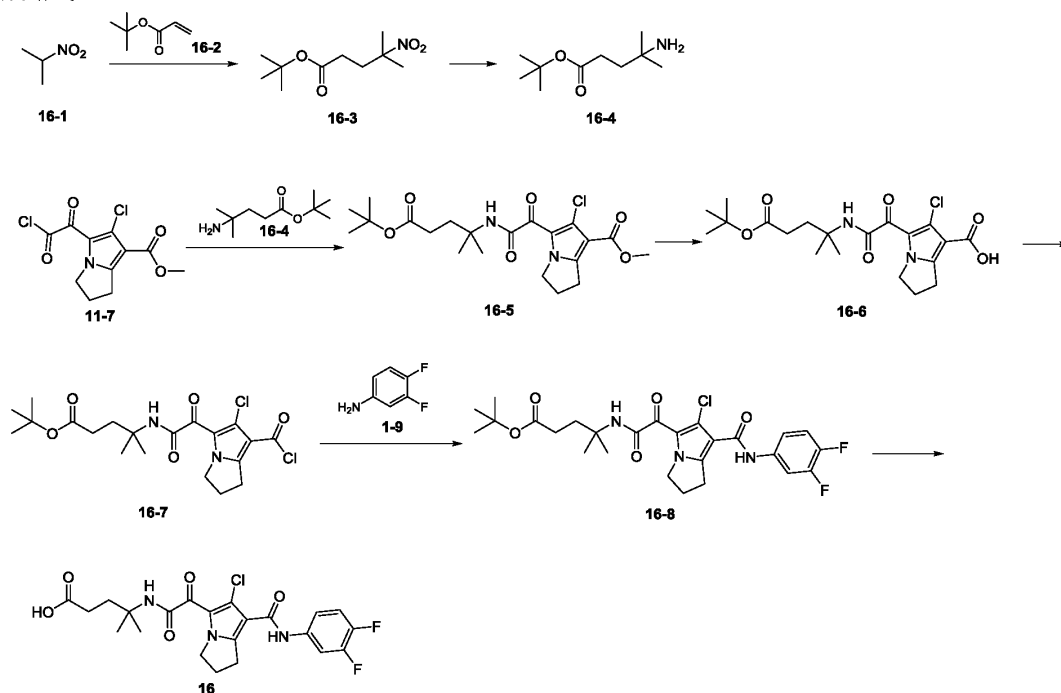
将化合物**15-9** (0.3 g, 561.85  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于水 (3 mL), 二甲基亚砜 (6 mL), 随后加入一水合氢化锂 (70.73 mg, 1.69 mmol, 3 *eq*)。反应在30℃搅拌2小时。LCMS和HPLC确认反应完全。反应液过滤后收集滤液。滤液经制备型HPLC (中性) (色谱柱: Xtimate C18150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (10 mM 碳酸氢铵) - 乙腈]; 乙腈%: 5%-50%, 20min) 纯化处理, 得到化合物**15**。MS(ESI)  $m/z$ : 518.2  $[\text{M}-\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 9.92 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.87 – 7.82 (m, 1H), 7.43 – 7.39 (m, 2H), 4.26 (t,  $J=7.0$  Hz, 2H), 3.07 (t,  $J=7.4$  Hz, 2H), 2.45 – 2.42 (m, 2H), 1.92 – 1.75 (m, 12H)。

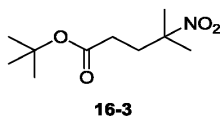
### 实施例 16



合成路线:

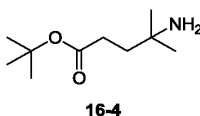


第一步

**16-3**

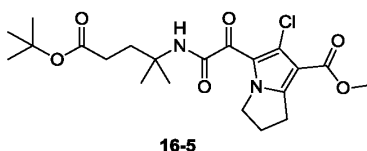
将化合物 **16-1** (1 g, 11.22 mmol, 1.01 mL, 1 *eq*), 1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一烷-7-烯 (3.42 g, 22.45 mmol, 3.38 mL, 2 *eq*) 加到无水二氯甲烷 (10 mL) 中, 随后将化合物 **16-2** (1.73 g, 13.47 mmol, 1.2 *eq*) 加到反应体系中, 该反应在 45℃ 搅拌 12 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示化合物 **16-1** 反应结束, 将反应液倒入饱和氯化铵溶液中 (20 mL), 二氯甲烷 (10 mL\*3) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。粗产物经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=100:1 至 5:1, V/V) 得到化合物 **16-3**。

## 第二步

**16-4**

将雷尼镍 (266.67 mg, 3.11 mmol, 1.69 *eq*) 加到氢化瓶中, 用乙醇淋洗 (10 mL\*2), 加入乙醇 (5 mL) 和化合物 **16-3** (0.4 g, 1.84 mmol, 1 *eq*), 在 25℃ 于氢气 (50 Psi) 下搅拌 4 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示化合物 **16-3** 反应结束, 有新点生成。反应液直接过滤, 滤液减压浓缩。得到化合物 **16-4**。  
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 2.21(t, *J*=8.0 Hz, 2H), 1.49 (t, *J*=8.0 Hz, 2H), 1.39 (s, 9H), 0.96 (s, 6H).

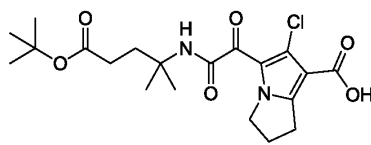
## 第三步

**16-5**

将化合物 **16-4** (0.32 g, 1.71 mmol, 1.24 *eq*) 加到二氯甲烷 (10 mL) 中, 随后将三乙胺 (697.62 mg, 6.89 mmol, 959.59 μL, 5 *eq*) 加到反应体系中, 随后将反应降温到 0 °C, 将化合物 **11-7** (0.4 g, 1.38 mmol, 1 *eq*) 溶于无水二氯甲烷 (10 mL), 滴加到反应体系中。该反应在 20 °C 反应 1 小时。LCMS 显示反应结束。反应液用饱和氯化铵洗涤 (10 mL\*3)。有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。得到化合物 **16-5**。MS(ESI) *m/z*: 385.1 [M+H-(*t*-Bu)]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 8.29 (s, 1H), 4.26 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.05 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.46 - 2.40 (m, 2H), 2.25 - 2.21(m, 2H), 1.93 - 1.88(m, 2H), 1.39 (s, 9H), 1.28 (s, 6H).

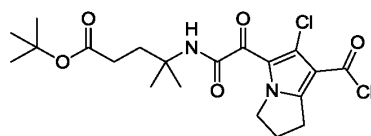
## 第四步

**16-6**

将化合物 **16-5** (0.1 g, 226.80  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 加到盛有四氢呋喃 (3 mL), 甲醇 (3 mL) 和水 (3 mL) 的瓶中, 随后将一水合氢氧化锂 (47.58 mg, 1.13 mmol, 5 *eq*) 加到反应体系中, 该反应在 25  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 12 小时。LCMS 显示化合物 **16-5** 消耗完全。向反应液中加入水 (20 mL), 用 1 M 盐酸调至 pH=3, 用乙酸乙酯萃取 (10 mL\*2), 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。粗产物经过制备型 HPLC (中性) (色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.04% 氨水+10 mM 碳酸氢铵) - 乙腈]; 乙腈%: 15%-45%, 10.5min) 分离纯化得到化合物 **16-6**。MS(ESI)  $m/z$ : 371.1  $[\text{M}+\text{H}-(\text{t-Bu})]^+$ 。

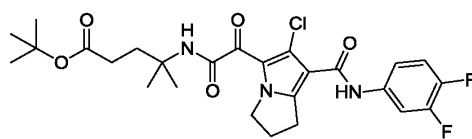
$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ = 12.50 (s, 1H), 8.26 (s, 1 H), 4.25 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H), 3.09 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H), 2.43-2.41 (m, 2H), 2.26 - 2.22 (m, 2H), 1.93 - 1.89 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.29 (s, 6H)。

## 第五步

**16-7**

将化合物 **16-6** (20 mg, 46.85  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 加到无水二氯甲烷 (2 mL) 中, 将反应降温到 0  $^{\circ}\text{C}$ , 将草酰氯 (11.89 mg, 93.70  $\mu\text{mol}$ , 8.20  $\mu\text{L}$ , 2 *eq*),  $N,N$ -2-甲基甲酰胺 (3.42 mg, 46.85  $\mu\text{mol}$ , 3.60  $\mu\text{L}$ , 1 *eq*) 依次加入到反应体系中, 该反应在 0  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 10 分钟。取一滴反应液用 1 mL 甲醇淬灭, LCMS 显示化合物 **16-6** 反应结束, 有新点生成。反应液直接减压浓缩得到化合物 **16-7**。

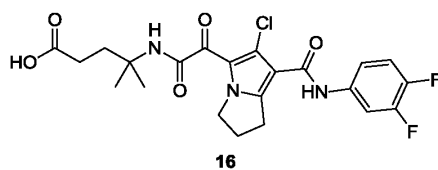
## 第六步

**16-8**

将化合物 **1-9** (18.14 mg, 140.52  $\mu\text{mol}$ , 3 *eq*) 和三乙胺 (23.70 mg, 234.21  $\mu\text{mol}$ , 32.60  $\mu\text{L}$ , 5 *eq*) 加到无水二氯甲烷 (5 mL) 中, 将反应降温到 0  $^{\circ}\text{C}$ , 将化合物 **16-7** (20.86 mg, 46.84  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于无水二氯甲烷 (5 mL) 并滴加到该反应中, 该反应在 0  $^{\circ}\text{C}$  反应 1 小时。LCMS 显示化合物 **16-7** 反应结束。将反应液倒入饱和氯化铵中 (10 mL), 二氯甲烷 (10 mL\*3) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到化合物 **16-8**, 直接用于下一步。

MS(ESI)  $m/z$ : 482.1  $[\text{M}+\text{H}-(\text{t-Bu})]^+$

## 第七步

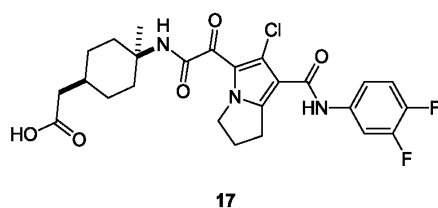


将化合物 **16-8** (25.2 mg, 46.84  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 加到无水二氯甲烷 (2 mL) 中, 随后将三乙胺 (267.04 mg, 2.34 mmol, 173.41  $\mu\text{L}$ , 50 *eq*) 加到反应体系中, 该反应在 25 $^{\circ}\text{C}$  搅拌 0.5 小时。LCMS 显示化合物 **16-8** 反应结束, 有化合物 **16** 生成。反应液用水洗涤 (20 mL\*2), 所得有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。粗产物经过制备型 HPLC (中性) (色谱柱: Ximate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.04% 氨水+10 mM 碳酸氢铵) - 乙腈]; 乙腈%: 15%-35%, 20min) 纯化处理得到化合物 **16**。

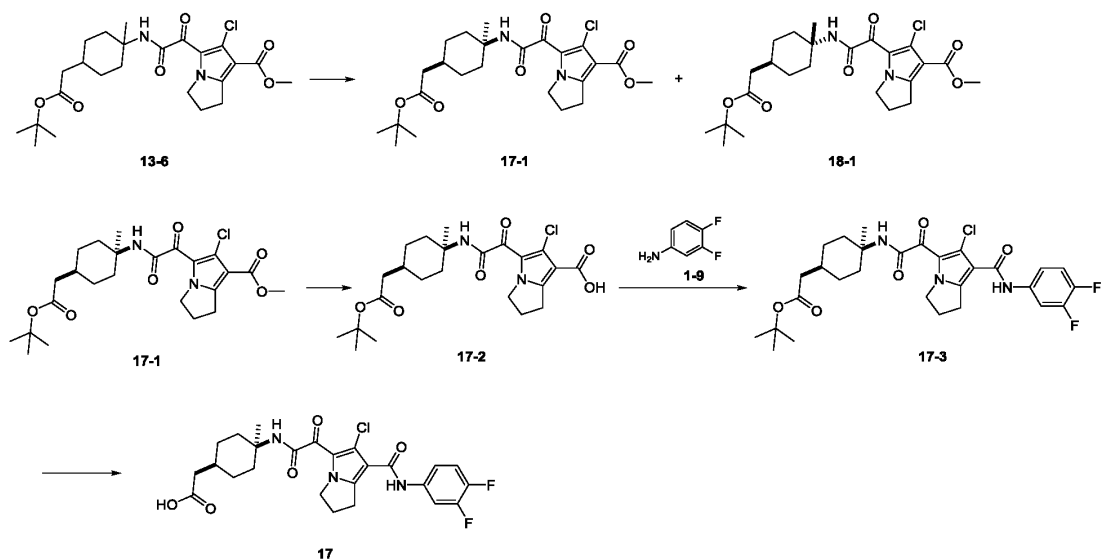
MS(ESI)  $m/z$ : 482.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 9.97 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.57 (d,  $J$ =11.6 Hz, 1H), 7.43 (s, 2H), 4.28-4.26 (m, 2H), 3.07 (m, 2H), 2.25 (m, 4H), 1.94-1.92 (m, 2H), 1.38 (s, 6H).

### 实施例 17



合成路线:



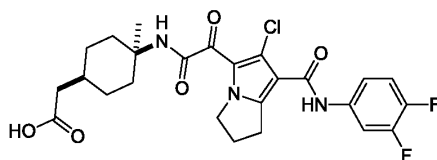
第一步



(214.54 mg, 2.12 mmol, 295.10  $\mu$ L, 3 *eq*)，2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N,N-四甲基脲六氟磷酸盐 (537.42 mg, 1.41 mmol, 2 *eq*) 和化合物**1-9** (182.48 mg, 1.41 mmol, 2 *eq*)，氮气保护60℃反应搅拌16小时。LCMS显示反应完全。反应液加乙酸乙酯 (50 mL) 稀释，然后用0.5 M稀盐酸洗涤 (10 mL\*2)，有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶，石油醚：乙酸乙酯=10: 1至1:1, V/V)，得到化合物**17-3**。MS(ESI) *m/z*: 578.2 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.48 (d, 7.6 Hz, 1H), 7.77 - 7.72 (m, 1H), 7.16-7.09 (m, 2H), 6.20 (s, 1H), 4.33 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 3.26 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.56 - 2.49 (m, 2H), 2.32 - 2.30 (m, 2H), 1.78 - 1.67 (m, 5H), 1.48 (s, 3H), 1.45 (s, 9H), 1.41 - 1.38 (m, 2H), 1.37 - 1.17 (m, 2H).

#### 第四步

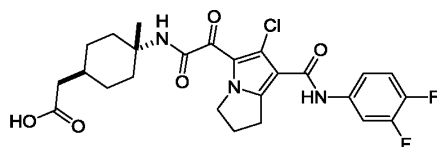


**17**

在一个干燥的单口瓶中将化合物 **17-3** (280 mg, 484.39  $\mu$ mol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (6 mL) 并加入三氟乙酸 (4.62 g, 40.52mmol, 3 mL, 83.65 *eq*)，反应在 25 °C 搅拌 1 个小时。LCMS 和 HPLC 显示反应完全。反应液减压浓缩。粗品经制备型 HPLC (中性体系，色谱柱: Waters Xbridge 150mm\*25mm\*5 $\mu$ m; 流动相: [水 (0.04%氨水+10 mM 碳酸氢铵)-乙腈]; 乙腈%: 16%-46%, 10.5min) 分离纯化，得到化合物 **17** (色谱柱: 大赛璐 AS-3 型手性柱，规格 0.46cm id x 10cm; 流动相: [A:二氧化碳, B:色谱乙醇 (0.05%异丙胺)]; B%: 5%-40%; 流速: 4 毫升/分钟; 5 分钟; 系统背压: 100 bar)，SFC 保留时间 2.18min。MS(ESI) *m/z*: 522.1 [M+H]<sup>+</sup>。

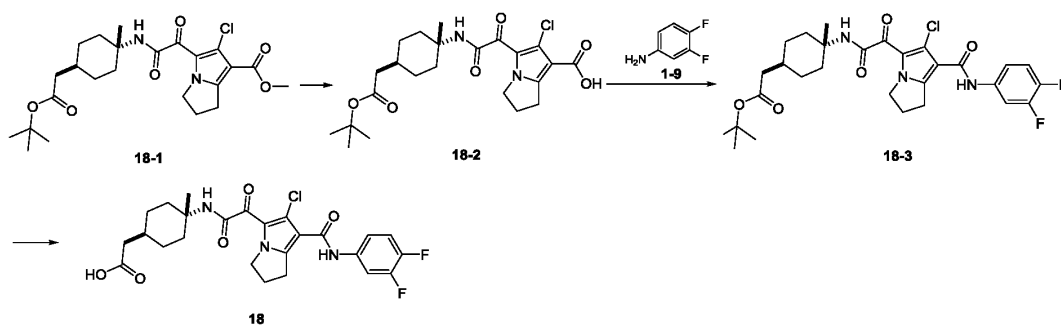
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9.91 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.87 - 7.82 (m, 1H), 7.43 - 7.39 (m, 2H), 4.29 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.08 (t, *J*=7.4 Hz, 2H), 2.46 - 2.45 (m, 2H), 2.23 (d, *J*=10.4 Hz, 2H), 2.07 (d, *J*=6.8 Hz, 2H), 1.63 (s, 1H), 1.50 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 1.34 (s, 3H), 1.29 - 1.20 (m, 4H).

#### 实施例 18

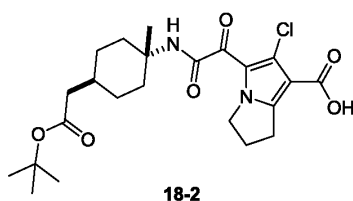


**18**

合成路线:



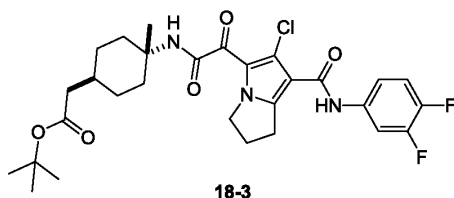
第一步



在一个单口瓶中将化合物**18-1** (550.00 mg, 1.14 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (10 mL), 水 (10 mL) 和甲醇 (10 mL) 并加入一水合氢氧化锂 (239.91 mg, 5.72 mmol, 5 *eq*), 反应在30 °C继续搅拌16个小时。LCMS显示反应完全。反应液用0.5 mol/L稀盐酸调至pH=1, 水相用乙酸乙酯萃取 (20 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 得到化合物**18-2**。

MS(ESI) *m/z* :467.1 [M+H]<sup>+</sup>

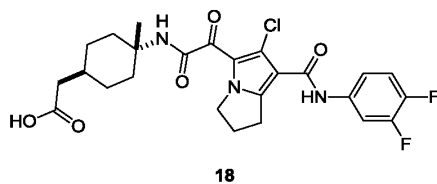
第二步



将化合物**18-2**溶于二甲基甲酰胺 (15 mL), 氮气保护30 °C下加入2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N,N-四甲基脲六氟磷酸盐 (879.42 mg, 2.31 mmol, 2 *eq*) 和三乙胺 (351.06 mg, 3.47 mmol, 482.89  $\mu$ L, 3 *eq*), 搅拌30分钟后加入化合物**1-9** (298.61 mg, 2.31 mmol, 2 *eq*), 反应升到60 °C继续搅拌15.5个小时。LCMS显示反应完全。反应倒入0.2 mol/L稀盐酸 (50 mL) 然后用乙酸乙酯萃取 (10 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=10: 1至1:1, V/V), 得到化合物**18-3**。MS(ESI) *m/z* :578.2 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.48 (s, 1H), 7.76 - 7.71 (m, 1H), 7.27 - 7.11 (m, 2H), 6.25 (s, 1H), 4.32 - 4.30 (m, 2H), 3.25 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.55 - 2.50 (m, 2H), 2.18 - 2.15 (m, 3H), 2.01 - 1.92 (m, 2H), 1.84 - 1.81 (m, 2H), 1.72 - 1.71 (m, 2H), 1.50 (s, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.28 - 1.25 (m, 2H).

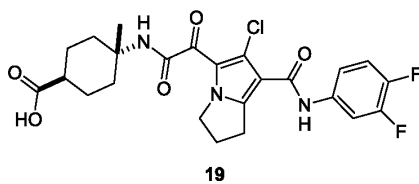
第三步



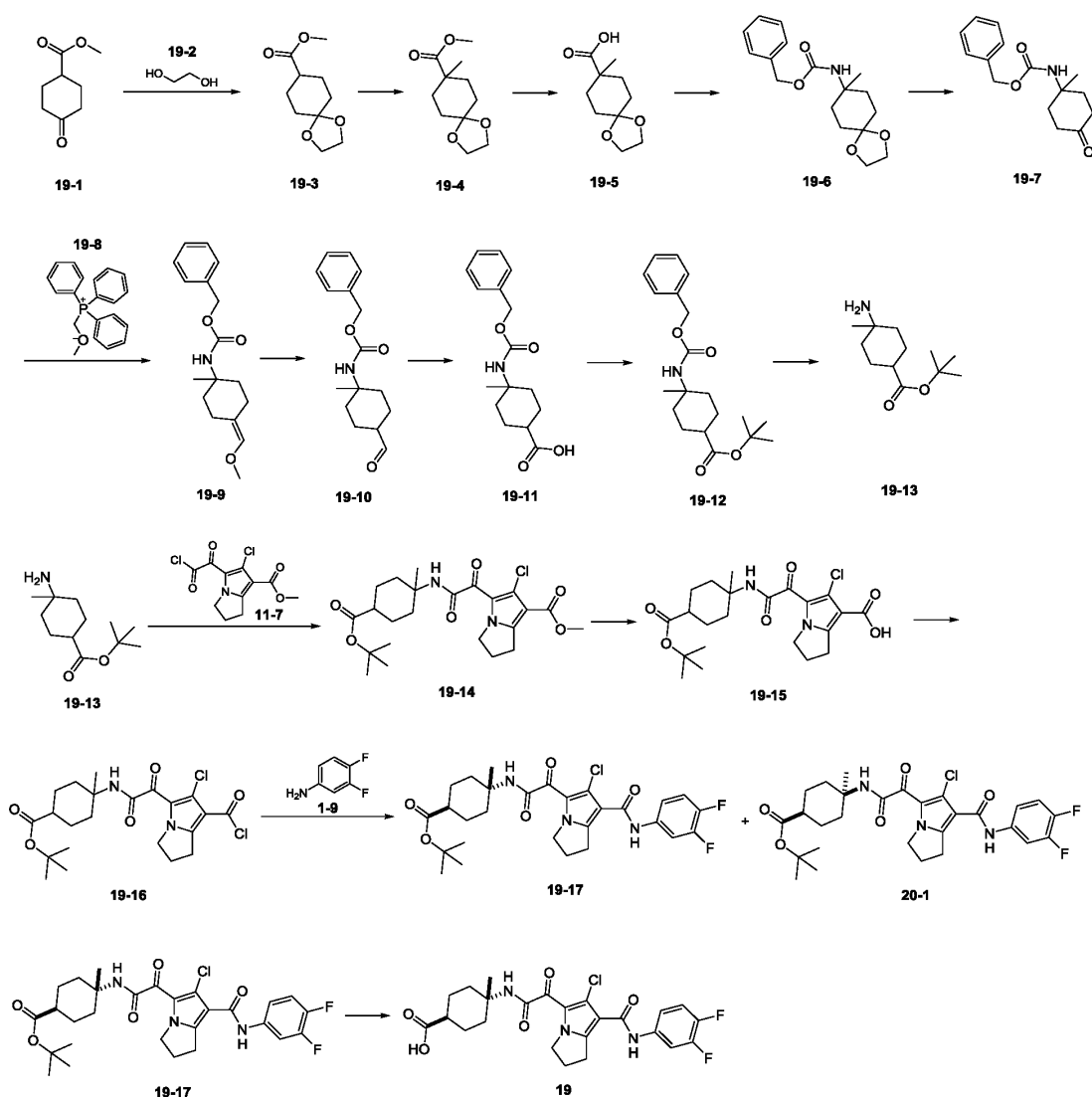
将化合物 **18-3** 溶于二氯甲烷 (6 mL) 并加入三氟乙酸 (4.62 g, 40.52 mmol, 3.00 mL, 78.07 eq), 反应在 25 °C 搅拌 1 个小时。LCMS 和 HPLC 显示反应完全。反应液减压浓缩。粗品经制备型 HPLC (中性体系) (色谱柱: Waters Xbridge 150mm\*25mm\*5 $\mu$ m; 流动相: [水 (0.04% 氨水+10 mM 碳酸氢铵) - 乙腈]; 乙腈%: 16%-46%, 10.5min) 分离纯化, 得到化合物 **18** (色谱柱: 大赛璐 AS-3 型手性柱, 规格 0.46cm id x 10cm; 流动相: [A: 二氧化碳, B: 色谱乙醇 (0.05% 异丙胺)]; B%: 5%-40%; 流速: 4 毫升/分钟; 5 分钟; 系统背压: 100 bar), SFC 保留时间 2.40min。MS(ESI) m/s : 522.1 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9.90 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.87 – 7.81 (m, 1H), 7.45 – 7.38 (m, 2H), 4.28 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.08 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.48 – 2.44 (m, 2H), 2.15 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.85 (d, *J* = 12.8 Hz, 2H), 1.76 – 1.61 (m, 5H), 1.37 (s, 3H), 1.18 – 1.15 (m, 2H).

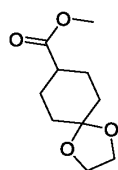
#### 实施例 19



合成路线:



第一步



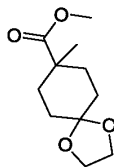
19-3

将化合物 **19-1** (65 g, 416.19 mmol, 1 eq) 和化合物 **19-2** (32.29 g, 520.24 mmol, 29.09 mL, 1.25 eq) 溶于甲苯 (1 L) 并加入化合物 (7.17 g, 41.62 mmol, 0.1 eq), 反应升到 130 °C 搅拌 48 个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示反应完全。反应液直接浓缩, 粗品经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=20:1 至 5:1, V/V), 得到化合物 **19-3**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 3.95 (s, 4H), 3.68 (s, 3H), 2.37 – 2.35 (m, 1H), 1.93 – 1.91 (m, 2H), 1.82 –

1.76 (m, 4H), 1.58 – 1.54 (m, 2H).

### 第二步

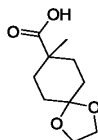


**19-4**

将二异丙基乙胺 (47.00 g, 464.46 mmol, 65.64 mL, 1.5 eq) 溶于四氢呋喃 (800 mL), 氮气保护 -78 °C 下滴加正丁基锂 (2.5 M, 185.79 mL, 1.5 eq), 搅拌30分钟后滴加化合物**19-3** (62 g, 309.64 mmol, 1 eq) 溶于四氢呋喃 (200 mL) 的溶液, 再搅拌30分钟后滴加碘甲烷 (65.93 g, 464.46 mmol, 28.91 mL, 1.5 eq), 最后反应温度升到25 °C搅拌16个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示反应完全。反应液倒入0.5 M稀盐酸 (500 mL), 水相用乙酸乙酯萃取 (100 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=20:1至10:1, V/V), 得到化合物**19-4**。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 3.93 (s, 4H), 3.66 (s, 3H), 2.14 – 2.10 (m, 2H), 1.64 – 1.60 (m, 4H), 1.59 – 1.50 (m, 2H), 1.18 (s, 3H).

### 第三步

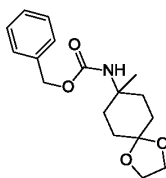


**19-5**

将化合物**19-4** (70 g, 326.71 mmol, 1 eq) 溶于四氢呋喃 (150 mL), 甲醇 (150 mL), 水 (150 mL) 并加入氢氧化钾 (91.66 g, 1.63 mol, 5 eq), 反应在25 °C继续搅拌16个小时。LCMS显示反应完全。反应液减压浓缩除去溶剂后加水 (100 mL) 稀释, 水相用乙酸乙酯洗涤 (20 mL\*2), 水相用0.5 M稀盐酸调至pH=4, 然后水相用乙酸乙酯萃取 (50 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 得到化合物**19-5**。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 3.92 (s, 4H), 2.13 – 2.08 (m, 2H), 1.67 – 1.64 (m, 4H), 1.55 – 1.50 (m, 2H), 1.23 (s, 3H).

### 第四步

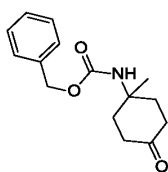


**19-6**

将化合物**19-5** (54 g, 269.69 mmol, 1 *eq*) 溶于甲苯 (500mL) 并加入三乙胺 (81.87 g, 809.07 mmol, 112.61 mL, 3 *eq*) , 叠氮化磷酸二苯酯 (89.06 g, 323.63 mmol, 70.13 mL, 1.2 *eq*) , 苯甲醇 (35.00 g, 323.63 mmol, 33.65 mL, 1.2 *eq*) , 氮气保护100 °C搅拌16个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示反应完全。反应液倒入水中 (500 mL) , 水相用乙酸乙酯萃取 (100 mL\*2) , 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶, 石油醚:乙酸乙酯=20:1至5:1, V/V) , 得到化合物**19-6**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.37 – 7.27 (m, 5H), 5.05 (s, 1H), 4.69 (s, 2H), 3.95 (s, 4H), 2.04 (s, 2H), 1.68 – 1.59 (m, 6H), 1.40 – 1.37 (m, 3H).

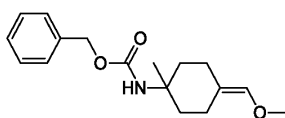
## 第五步

**19-7**

将化合物**19-6** (80 g, 261.98 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (1 L) 并加入盐酸 (2 M, 1 L, 7.63 *eq*) , 反应在50 °C搅拌16个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示反应完全。反应液减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶, 石油醚:乙酸乙酯=25:1 至 5: 1, V/V) , 得到化合物**19-7**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.40 – 7.29 (m, 5H), 5.09 (s, 2H), 4.87 (s, 1H), 2.45 – 2.38 (m, 4H), 2.31 – 2.27 (m, 2H), 1.85 – 1.82 (m, 2H), 1.46 (s, 3H).

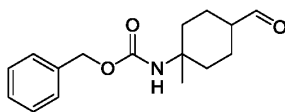
## 第六步

**19-9**

将化合物**19-8** (13.16 g, 38.27 mmol, 2 *eq*, HCl) 溶于四氢呋喃 (100 mL) , 氮气保护-10 °C下加叔丁醇钾 (4.29 g, 38.27 mmol, 2 *eq*) , 反应在-10°C搅拌1个小时后将化合物**19-7** (5 g, 19.13 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (100mL) 的溶液滴加到上述反应液, 25 °C搅拌2个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示反应完全。反应液加乙酸乙酯 (500 mL) 稀释后过滤, 母液减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=30:1 至 10:1, V/V) , 得到化合物**19-9**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.37 – 7.27 (m, 5H), 5.78 (s, 1H), 5.07 (s, 2H), 4.67 (s, 1H), 4.55 (s, 3H), 2.45 – 2.40 (m, 1H), 2.04 – 1.93 (m, 5H), 1.47 – 1.44 (m, 2H), 1.36 (s, 3H).

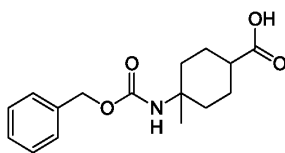
## 第七步

**19-10**

将化合物**19-9** (4 g, 13.82 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (6.5 mL), 0 °C 下滴加盐酸 (6 M, 3.23 mL, 1.4 *eq*), 反应在 0 °C 搅拌 1 个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示反应完全。反应液加水 (10 mL) 稀释, 水相用乙酸乙酯萃取 (5 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 得到化合物**19-10**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 9.65 (d,  $J$ =17.2 Hz, 2H), 7.37 – 7.27 (m, 5H), 5.06 (s, 2H), 4.61 (d,  $J$ = 56.4 Hz, 1H), 2.33 – 2.21 (m, 2H), 1.87-1.81 (m, 3H), 1.80 -1.68 (m, 2H), 1.37 (s, 3H).

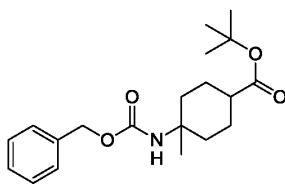
## 第八步

**19-11**

将化合物 **19-10** (1.8 g, 6.54 mmol, 1 *eq*) 溶于叔丁醇 (27 mL) 和异戊烯 (2.58 g, 36.74 mmol, 3.89 mL, 5.62 *eq*), 0 °C 下慢慢加磷酸二氢钠 (831.41 mg, 6.93 mmol, 1.06 *eq*) 和亚氯酸钠 (709.48 mg, 7.84 mmol, 1.2 *eq*) 的水 (36 mL) 溶液, 反应在 0 °C 搅拌 10 分钟。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示反应完全。反应液加水 (20 mL) 稀释, 水相用乙酸乙酯萃取 (5 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=10:1 至 3:1, V/V), 得到化合物 **19-11**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.37 – 7.27 (m, 5H), 5.06 (s, 2H), 4.65 (d,  $J$ = 4.0 Hz, 1H), 2.44 – 2.30 (m, 1H), 2.20 – 2.17 (m, 1H), 1.88 -1.66 (m, 6H), 1.36-1.31 (m, 3H).

## 第九步

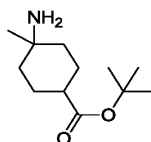
**19-12**

将化合物**19-11** (1.7 g, 5.84 mmol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (15 mL), 氮气保护 0 °C 下滴加草酰氯 (1.48 g, 11.67 mmol, 1.02 mL, 2 *eq*) 和二甲基甲酰胺 (42.65 mg, 583.51  $\mu\text{mol}$ , 44.89  $\mu\text{L}$ , 0.1 *eq*), 反应在 25 °C 搅拌 1 个小时后减压浓缩, 粗品用二氯甲烷 (5 mL) 溶解后慢慢滴加到叔丁醇 (4.32 g, 58.35 mmol, 5.58 mL, 10 *eq*) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 的溶液。反应在 50 °C 继续搅拌 16 个小时。LCMS 显示反应完全。反应液直接减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=30:1 至 10:1, V/V), 得到化合

物**19-12**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.37 – 7.27 (m, 5H), 5.05 (s, 2H), 4.64 (d,  $J$  = 14.8 Hz, 1H), 2.27 – 2.14 (m, 2H), 1.82 – 1.64 (m, 6H), 1.44 (d,  $J$  = 3.2 Hz, 9H), 1.36-1.31 (m, 3H).

第十步

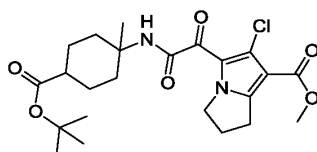


**19-13**

向氢化瓶中加入湿钯碳 (200 mg, 10% 含量), 甲醇 (20 mL) 和化合物**19-12** (1 g, 2.88 mmol, 1 *eq*), 氢气置换3次, 在25 °C下氢气 (50 Psi) 反应体系搅拌16个小时。反应液过滤后减压浓缩, 得到化合物**19-13**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{MeOH}-d_4$ )  $\delta$  = 2.18 – 2.15 (m, 2H), 1.79 – 1.55 (m, 4H), 1.45 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 9H), 1.43 – 1.37 (m, 2H), 1.12 (s, 3H).

第十一步

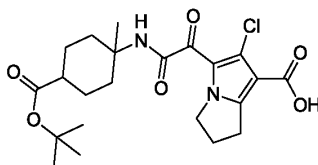


**19-14**

将化合物 **19-13** (294.13 mg, 1.38 mmol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (20mL) 并加入三乙胺 (418.57 mg, 4.14 mmol, 575.76  $\mu\text{L}$ , 3 *eq*), 氮气保护 0 °C下滴加化合物 **11-7** (400 mg, 1.38 mmol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 的溶液, 反应在 25 °C 搅拌 1 个小时。LCMS 显示反应完全。反应液倒入稀盐酸 (0.5mol/L, 50 mL), 用二氯甲烷萃取 (20 mL\*2), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 得到化合物 **19-14**。

MS (ESI)  $m/z$ : 467.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

第十二步



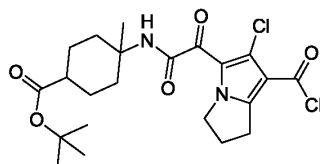
**19-15**

将化合物**19-14** (700 mg, 1.50 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (10 mL), 甲醇 (10 mL) 和水 (10 mL) 并加入一水合氢氧化锂 (188.70 mg, 4.50 mmol, 3 *eq*), 反应在25 °C搅拌16个小时。LCMS检测反应完全。反应液减压浓缩除去溶剂, 水相用0.5 mol/L稀盐酸调至pH=1, 水相用乙酸乙酯萃取 (20 mL\*3), 有机相用

无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩，得到化合物**19-15**。MS (ESI)  $m/z$ : 453.1  $[M+H]^+$ 。

$^1H$  NMR (400MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$  = 4.39 – 4.33 (m, 2H), 3.31 – 3.11 (m, 2H), 2.53 – 2.49 (m, 2H), 2.38 – 2.35 (m, 2H), 1.88 – 1.70 (m, 6H), 1.46 – 1.29 (m, 13H)。

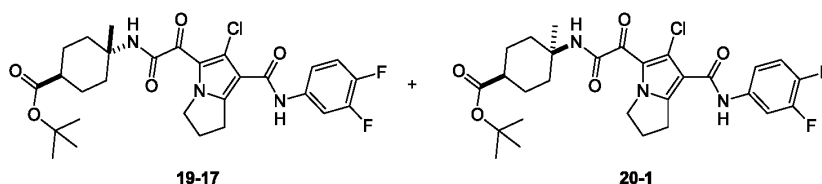
### 第十三步



**19-16**

将化合物**19-15** (470 mg, 1.04 mmol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (20 mL)，氮气保护0 °C下滴加草酰氯 (263.43 mg, 2.08 mmol, 181.68  $\mu$ L, 2 *eq*) 和二甲基甲酰胺 (7.58 mg, 103.77  $\mu$ mol, 7.98  $\mu$ L, 0.1 *eq*)，反应在25°C搅拌30分钟。取1 mL反应液加甲醇淬灭后LCMS检测显示反应完全。反应液直接减压浓缩，得到化合物**19-16**。

### 第十四步



**19-17**

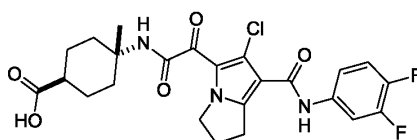
**20-1**

将化合物**1-9** (273.90 mg, 2.12 mmol, 2 *eq*) 溶于二氯甲烷 (20 mL) 并加入三乙胺 (322.01 mg, 3.18 mmol, 442.92  $\mu$ L, 3 *eq*)，氮气保护0 °C下滴加化合物**19-16** (500 mg, 1.06 mmol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (10mL) 的溶液，反应在25°C搅拌1小时。LCMS检测反应完全。反应液倒入稀盐酸 (0.5mol/L, 50 mL)，水相用乙酸乙酯萃取 (20 mL\*2)，有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩，粗品经prep-TLC分离纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=1:1, V/V) 得到化合物**19-17** ( $R_f$ =0.35) 和化合物**20-1** ( $R_f$ =0.32)。

化合物 19-17: MS (ESI)  $m/z$ : 508.1  $[M+H-(t-Bu)]^+$ 。

化合物 20-1: MS (ESI)  $m/z$ : 508.1  $[M+H-(t-Bu)]^+$ 。

### 第十五步



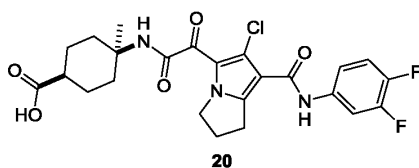
**19**

将化合物**19-17** (90 mg, 159.57  $\mu$ mol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (1 mL) 并加入三氟乙酸 (363.88 mg, 3.19 mmol, 236.29  $\mu$ L, 20 *eq*)，反应在25°C搅拌1小时。LCMS和HPLC显示反应完全。反应液减压浓缩，粗品经

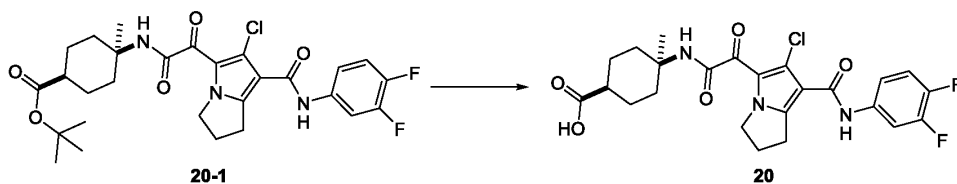
制备型HPLC分离纯化（中性体系）（色谱柱: Waters Xbridge 150mm\*25 mm 5 $\mu$ m流动相: [水（0.04%氨水+10 mM碳酸氢铵）-乙腈];B（乙腈）%: 23%-43%,10.5min）。得到化合物**19**（色谱柱: 大赛璐AS-3型手性柱, 规格0.46cm id x 10cm; 流动相: [A:二氧化碳, B:色谱乙醇（0.05%异丙胺）]; B%: 5%-40%; 流速:4毫升/分钟; 5 分钟; 系统背压:100 bar），SFC 保留时间2.44min。MS (ESI) m/z: 508.1 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ = 9.96 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.87 – 7.82 (m, 1H), 7.43 – 7.36 (m, 2H), 4.29 (t, *J*=7.0 Hz, 2H), 3.08(t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.50-2.46 (m, 2H), 2.22 (d, *J*=12.8 Hz, 2H), 2.11 (s, 1H), 1.63-1.58 (m, 4H), 1.34 (s, 3H), 1.29-1.23 (m, 2H).

### 实施例 20



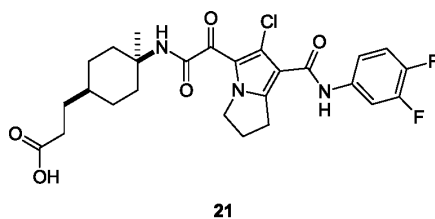
合成路线:



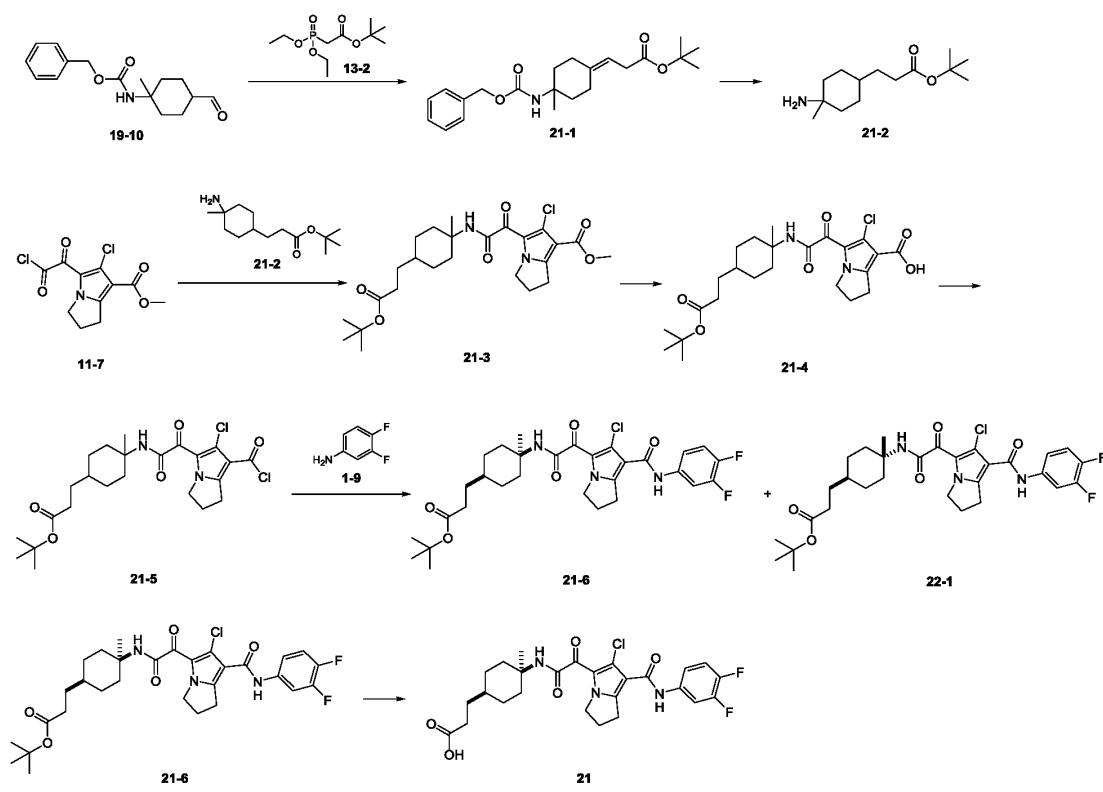
将化合物**20-1**（140 mg, 248.22  $\mu$ mol, 1 eq）溶于二氯甲烷（1 mL）并加入三氟乙酸（566.04 mg, 4.96 mmol, 367.56  $\mu$ L, 20 eq），反应在25 °C搅拌1小时。LCMS和HPLC显示反应完全。反应液减压浓缩，粗品经制备型HPLC分离纯化（中性体系）（色谱柱: Waters Xbridge 150mm\*25 mm 5 $\mu$ m流动相: [水（0.04%氨水+10 mM碳酸氢铵）-乙腈];B（乙腈）%: 18%-38%,10.5min）。得到化合物**20**（色谱柱: 大赛璐AS-3型手性柱, 规格0.46cm id x 10cm; 流动相: [A:二氧化碳, B:色谱乙醇（0.05%异丙胺）]; B%: 5%-40%; 流速:4毫升/分钟; 5 分钟; 系统背压:100 bar），SFC 保留时间2.20min。MS (ESI) m/z: 508.2 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ = 9.95 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.87 – 7.82 (m, 1H), 7.45 – 7.39 (m, 2H), 4.28 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.08 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.50-2.46 (m, 2H), 2.24 (s, 1H), 1.83-1.74 (m, 6H), 1.59 – 1.55 (m, 2H), 1.36 (s, 3H).

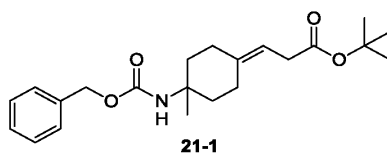
### 实施例 21



合成路线:



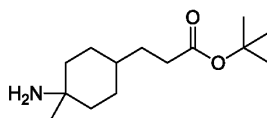
第一步



将化合物 **13-2** (3.63 g, 14.38 mmol, 2.2 eq) 溶于四氢呋喃 (20 mL), 氮气保护 0℃ 下慢慢加入氢化钠 (784.48 mg, 19.61 mmol, 60% 纯度, 3 eq), 搅拌 30 分钟后将化合物 **19-10** (1.8 g, 6.54 mmol, 1 eq) 溶于 THF (20 mL) 的溶液慢慢滴加到上述反应液, 反应升到 25 °C 搅拌 1 个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示反应完毕。反应液倒入 0.5 mol/L 稀盐酸 (10 mL), 水相用乙酸乙酯萃取 (20 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=20:1 至 10:1, V/V) 得到化合物 **21-1**。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.37-7.33 (m, 5H), 6.83-6.77 (m, 1H), 5.75-5.69 (m, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.71-4.53 (m, 2H), 2.21-2.16 (m, 2H), 1.87-1.82 (m, 1H), 1.76-1.71 (m, 2H), 1.63 (s, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.38-1.32 (m, 4H).

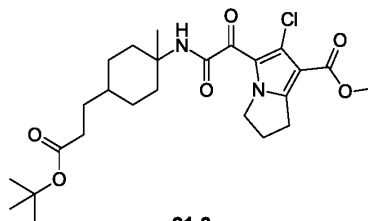
第二步

**21-2**

在氢化瓶中将钯碳 (200 mg, 10% 含量) 溶于甲醇 (30 mL) 并加入化合物 **21-1** (2 g, 5.35 mmol, 1 eq), 氢气置换 3 次, 在 25℃ 温度氢气 (50Psi) 压力下搅拌 16 个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3: 1) 显示反应完毕。反应液过滤并减压浓缩得到化合物 **21-2**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$  = 2.27-2.22 (m, 2H), 1.70-1.50 (m, 6H), 1.44 (s, 9H), 1.39-1.36 (m, 2H), 1.24-1.18 (m, 2H), 1.13-1.11 (m, 4H).

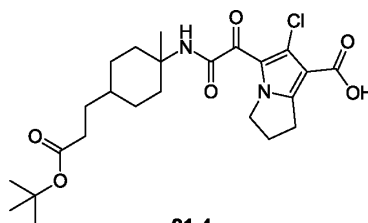
## 第三步

**21-3**

将化合物 **21-2** (332.81 mg, 1.38 mmol, 1 eq) 溶于二氯甲烷 (20 mL) 并加入三乙胺 (418.57 mg, 4.14 mmol, 575.76  $\mu\text{L}$ , 3 eq), 氮气保护 0 °C 下滴加化合物 **11-7** (400 mg, 1.38 mmol, 1 eq) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 的溶液, 反应在 25 °C 搅拌 1 个小时。LCMS 显示反应完毕。反应液倒入 0.5 mol/L 稀盐酸 (50 mL), 水相用二氯甲烷萃取 (20 mL\*2), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩得到化合物 **21-3**。

MS(ESI) m/s :439.2 [M+H-(*t*-Bu)]<sup>+</sup>。

## 第四步

**21-4**

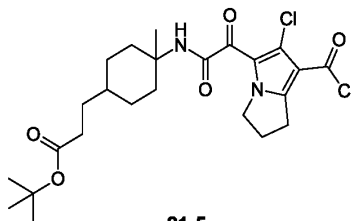
将化合物 **21-3** (700 mg, 1.41 mmol, 1 eq) 溶于四氢呋喃 (10 mL), 甲醇 (10 mL) 和水 (10 mL) 并加入一水合氢氧化锂 (178.01 mg, 4.24 mmol, 3 eq), 反应在 25℃ 搅拌 16 个小时。LCMS 显示反应完毕。反应液减压浓缩除去溶剂, 水相用 0.5 mol/L 稀盐酸调至 pH=1, 水相用乙酸乙酯萃取 (20 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。得到化合物 **21-4**。

MS(ESI) m/s :425.1 [M+H-(*t*-Bu)]<sup>+</sup>

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$  4.39-4.33 (m, 2H), 3.17-3.11 (m, 2H), 2.53-2.51 (m, 2H), 2.32-2.23 (m, 3H),

2.03-2.00 (m, 1H), 1.81-1.55 (m, 2H), 1.58-1.52 (m, 6H), 1.44 (s, 9H), 1.30-1.27 (m, 4H).

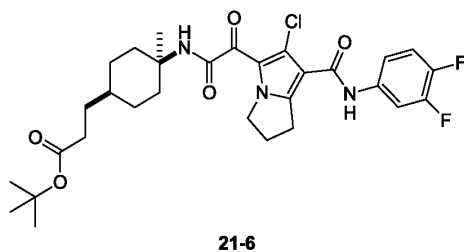
#### 第五步



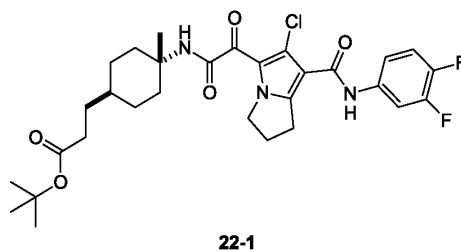
**21-5**

将化合物 **21-4** (570 mg, 1.19 mmol, 1 eq) 溶于二氯甲烷 (30 mL), 氮气保护 0℃ 下滴加草酰氯 (300.84 mg, 2.37 mmol, 207.48  $\mu$ L, 2 eq) 和 *N,N*-二甲基甲酰胺 (8.66 mg, 118.51  $\mu$ mol, 9.12  $\mu$ L, 0.1 eq), 反应在 25 °C 搅拌 30 分钟。取两滴反应液加甲醇淬灭, LCMS 显示反应完毕。反应液直接减压浓缩得到化合物 **21-5**。

#### 第六步



**21-6**



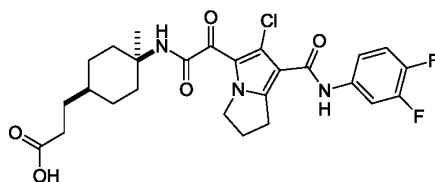
**22-1**

将化合物 **1-9** (310.21 mg, 2.40 mmol, 2 eq) 溶于二氯甲烷 (20 mL) 并加入三乙胺 (364.70 mg, 3.60 mmol, 501.65  $\mu$ L, 3 eq), 氮气保护 0 °C 下滴加化合物 **21-5** (600 mg, 1.20 mmol, 1 eq) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 的溶液, 反应在 25 °C 搅拌 1 个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=1:1) 和 LCMS 显示反应完毕。反应液倒入稀盐酸 (0.5mol/L, 50 mL), 水相用乙酸乙酯萃取 (20 mL\*2), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经 prep-TLC 分离纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=1:1, V/V) 得到化合物 **21-6** ( $R_f$ =0.35) 和化合物 **22-1** ( $R_f$ =0.32)。

化合物 21-6: MS(ESI)  $m/z$ : 536.2  $[M+H-(t-Bu)]^+$ 。

化合物 21-6: MS(ESI)  $m/z$ : 536.2  $[M+H-(t-Bu)]^+$ 。

#### 第七步

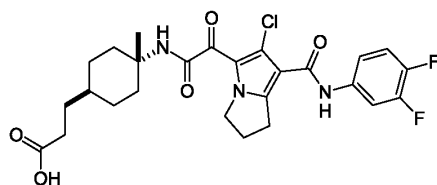


**21**

将化合物 **21-6** (70 mg, 118.23  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (1 mL) 并加入三氟乙酸 (269.61 mg, 2.36 mmol, 175.07  $\mu\text{L}$ , 20 *eq*), 反应在 25  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 1 个小时。LCMS 和 HPLC 显示反应完毕。反应液减压浓缩。粗品经制备型 HPLC 分离纯化 (中性体系, 色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (10 mM 碳酸氢铵)-乙腈]; 乙腈%: 10%-50%, 20min)。得到化合物 **21** (色谱柱: 大赛璐 OJ-3 型手性柱, 规格 0.46cm id x 5cm; 流动相: [A: 二氧化碳, B: 色谱乙醇 (0.05% 异丙胺)]; B%: 5%-40%; 流速: 4 毫升/分钟; 3 分钟; 系统背压: 100 bar), SFC 保留时间 1.27min。MS(ESI)  $m/z$ : 536.2  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。

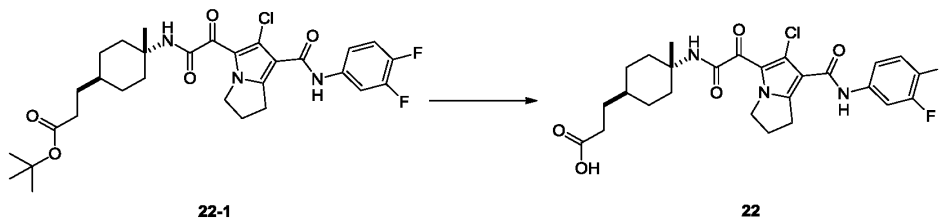
$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 9.93 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.88-7.83 (m, 1H), 7.46-7.40 (m, 2H), 4.31-4.28 (m, 2H), 3.11-3.07 (m, 2H), 2.47-2.43 (m, 2H), 2.23-2.20 (m, 4H), 1.50-1.41 (m, 4H), 1.34 (s, 3H), 1.24-1.19 (m, 5H).

### 实施例 22



**22**

合成路线:



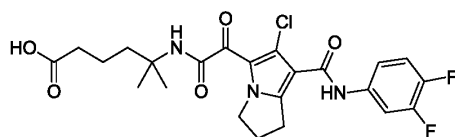
**22-1**

**22**

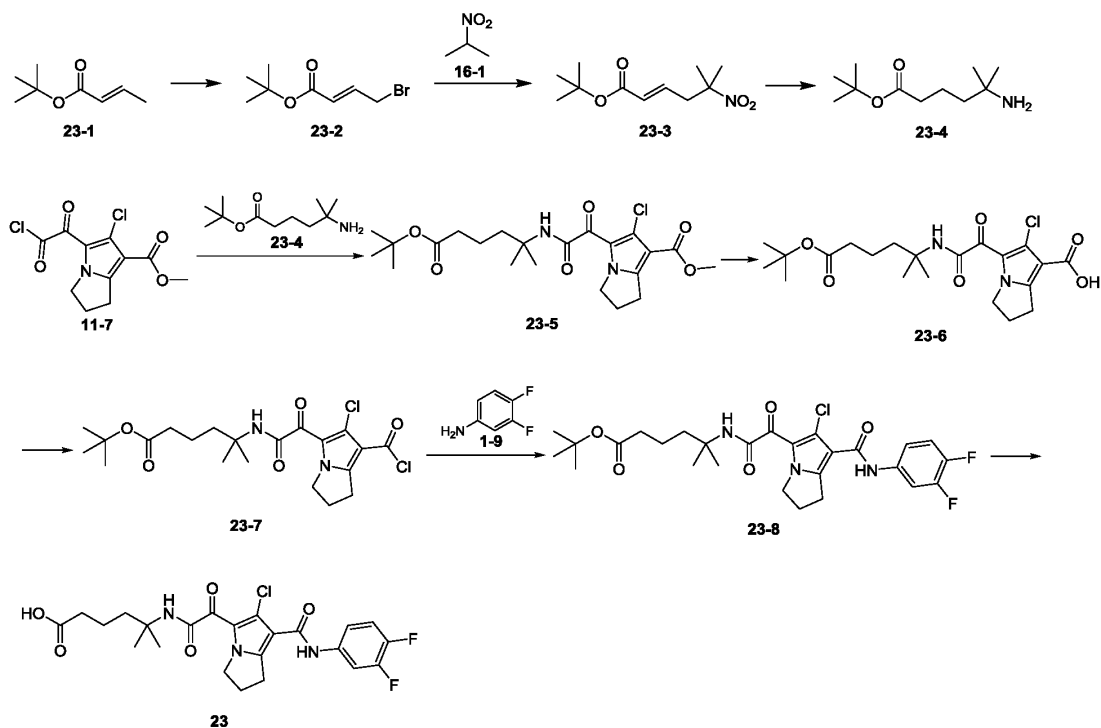
将化合物 **22-1** (80 mg, 135.12  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (1 mL) 并加入三氟乙酸 (308.12 mg, 2.70 mmol, 200.08  $\mu\text{L}$ , 20 *eq*), 反应在 25  $^{\circ}\text{C}$  搅拌 1 个小时。LCMS 和 HPLC 显示反应完毕。反应液减压浓缩。粗品经制备型 HPLC 分离纯化 (中性体系, 色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (10 mM 碳酸氢铵)-乙腈]; 乙腈%: 10%-50%, 20min)。得到化合物 **22** (色谱柱: 大赛璐 OJ-3 型手性柱, 规格 0.46cm id x 5cm; 流动相: [A: 二氧化碳, B: 色谱乙醇 (0.05% 异丙胺)]; B%: 5%-40%; 流速: 4 毫升/分钟; 3 分钟; 系统背压: 100 bar), SFC 保留时间 1.39min。MS(ESI)  $m/z$ : 536.2  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 9.92 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.87-7.82 (m, 1H), 7.43-7.39 (m, 2H), 4.29-4.25 (m, 2H), 3.09-3.04 (m, 2H), 2.47-2.44 (m, 2H), 2.19-2.15 (m, 2H), 1.86-1.83 (m, 2H), 1.69-1.59 (m, 4H), 1.45-1.43 (m, 2H), 1.36 (s, 3H), 1.17 (s, 1H), 1.09-1.06 (m, 2H).

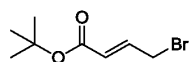
### 实施例 23

**23**

合成路线:



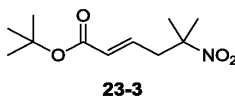
第一步

**23-2**

将化合物**23-1** (5 g, 35.16 mmol, 1 *eq*) 溶于四氯化碳 (50 mL) 中, 然后加入N-溴代琥珀亚胺 (7.51 g, 42.20 mmol, 1.2 *eq*) 和偶氮二异丁腈 (1.73 g, 10.55 mmol, 0.3 *eq*)。该反应液升温至90 °C搅拌12小时, TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示化合物**23-1**少量剩余且有新点生成。将反应液冷却至室温后加入 (50 mL) 水搅拌, 静置分出有机相用饱和氯化钠水溶液 (50 mL\*1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 残余物通过过柱机COMBI-FLASH分离 (石油醚: 乙酸乙酯=100:1至15:1, V/V) 分离纯化, 得到化合物**23-2**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 6.95 - 6.88 (m, 1H), 5.99 (dd,  $J$ =1.2, 1.2 Hz, 1H), 4.02 (t,  $J$ =3.8 Hz, 2H), 1.52 (s, 9H).

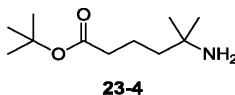
第二步



将化合物**23-2** (1.60 g, 17.91 mmol, 1.61 mL, 1.1 *eq*) 溶于甲醇 (50 mL) 中, 氮气保护在26 °C下加入四三苯基磷钯 (940.79 mg, 814.14  $\mu$ mol, 0.05 *eq*), 甲醇钠 (967.63 mg, 17.91 mmol, 1.1 *eq*) 和化合物**16-1** (3.6 g, 16.28 mmol, 1 *eq*)。该反应混合液升温至60 °C搅拌12小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示化合物**23-2**反应完全且有新点生成。将反应液倒入水 (100 mL) 中然后用乙酸乙酯 (50 mL\*2) 萃取, 有机相依次用饱和氯化钠水溶液 (100 mL\*1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 残余物经过柱机COMBI-FLASH分离纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=100: 1至10: 1, V/V), 得到化合物**23-3**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 6.71 - 6.63 (m, 1H), 5.86 - 5.82 (m, 1H), 2.78 (dd,  $J$ =1.2, 1.2 Hz, 2H), 1.61 (s, 6H), 1.48 (s, 9H).

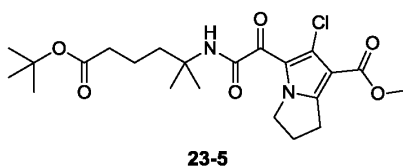
### 第三步



在干燥的氢化瓶中加入化合物**23-3** (200 mg, 872.33  $\mu$ mol, 1 *eq*) 和乙醇 (10 mL), 在氮气保护下加入雷尼镍 (200 mg, 2.33 mmol, 2.68 *eq*), 氢气置换。该反应在50 °C氢气 (50 psi) 压力下搅拌反应12小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示原料转化完全且有新点产生。反应液经硅藻土过滤, 再用乙醇 (20 mL) 洗涤, 滤液用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 得到化合物**23-4**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 2.22 (t,  $J$ =7.4 Hz, 2H), 1.55 - 1.52 (m, 2H), 1.31 (s, 9H), 1.30 - 1.28 (m, 2H), 1.03 (s, 6H).

### 第四步

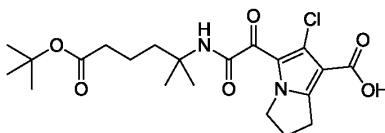


在26 °C下将化合物**23-4** (150 mg, 745.61  $\mu$ mol, 7.21e-1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 中加入碳酸氢钠 (434.37 mg, 5.17 mmol, 201.10  $\mu$ L, 5 *eq*), 搅拌下慢慢滴加化合物**11-7** (300 mg, 1.03 mmol, 1 *eq*) 和二氯甲烷 (5 mL) 的混合液。滴加完毕, 该反应在26 °C下搅拌0.5小时。LCMS显示有化合物**23-5**生成。搅拌下向反应中加入 (10 mL) 水, 静置分液得到有机相。分出的水相用二氯甲烷 (10 mL\*1) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经过主机COMBI-FLASH分离纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=50: 1 至 2:1, V/V), 得到化合物**23-5**。MS (ESI)  $m/z$ : 477.1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 6.11 (s, 1H), 4.24 (t,  $J$ =7.4 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.05 (t,  $J$ =7.6 Hz, 2H),

2.43 – 2.40 (m, 2H), 2.17 (t,  $J=7.0$  Hz, 2H), 1.70-1.69 (m, 2H), 1.57 – 1.55 (m, 2H), 1.37 (s, 9H), 1.36 (s, 6H).

#### 第五步

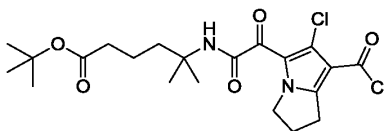


**23-6**

将化合物**23-5** (480 mg, 1.06 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (5 mL), 甲醇 (5 mL) 和水 (5 mL) 中, 加入一水合氢氧化锂 (221.37 mg, 5.28 mmol, 5 *eq*)。该反应混合液在50 °C搅拌1小时。LCMS监测显示反应完全。向反应液中加入的2.0 mol/L硫酸氢钾水溶液直至pH=5, 混合液用乙酸乙酯 (10 mL\*2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (10 mL\*1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 得到化合物**23-6**。MS (ESI)  $m/z$ : 463.3[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 4.19 (t,  $J=7.0$  Hz, 2H), 3.22 (s, 1H), 3.01 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 2.38 – 2.36 (m, 2H), 2.18 – 2.09 (m, 2H), 1.63 – 1.60 (m, 2H), 1.51 – 1.49 (m, 2H), 1.30 (d,  $J=6.4$  Hz, 15H).

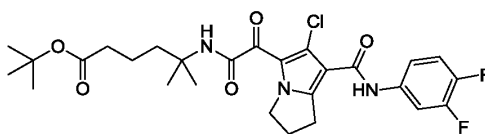
#### 第六步



**23-7**

将化合物**23-6** (100 mg, 226.80  $\mu$ mol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 中, 在0 °C下加入草酰氯 (57.57 mg, 453.60  $\mu$ mol, 39.71  $\mu$ L, 2 *eq*) 和N,N-二甲基甲酰胺 (1.66 mg, 22.68  $\mu$ mol, 1.75  $\mu$ L, 0.1 *eq*), 加料完毕, 该反应升温至26 °C搅拌0.5小时。取少量反应液加入到1 mL甲醇中淬灭, TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示原料消耗完全, 有新点产生。该反应直接减压浓缩, 得到化合物**23-7**。

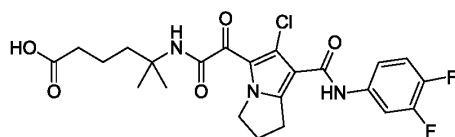
#### 第七步



**23-8**

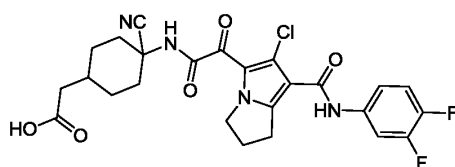
将化合物**1-9** (56.21 mg, 435.39  $\mu$ mol, 2 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 中加入碳酸氢钠 (91.44 mg, 1.09 mmol, 42.33  $\mu$ L, 5 *eq*), 在26 °C下滴加化合物**23-7** (100 mg, 217.69  $\mu$ mol, 1 *eq*) 和二氯甲烷 (5 mL) 的混合液。滴加完毕, 该反应保持在26 °C搅拌0.5小时。LCMS监测显示反应完全。搅拌下向反应中加入 (10 mL) 水, 静置分液得二氯甲烷相, 水相用二氯甲烷 (10 mL\*1) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水溶液 (10 mL\*1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩, 得到化合物**23-8**。MS (ESI)  $m/z$ : 574.4 [M+Na]<sup>+</sup>。

#### 第八步

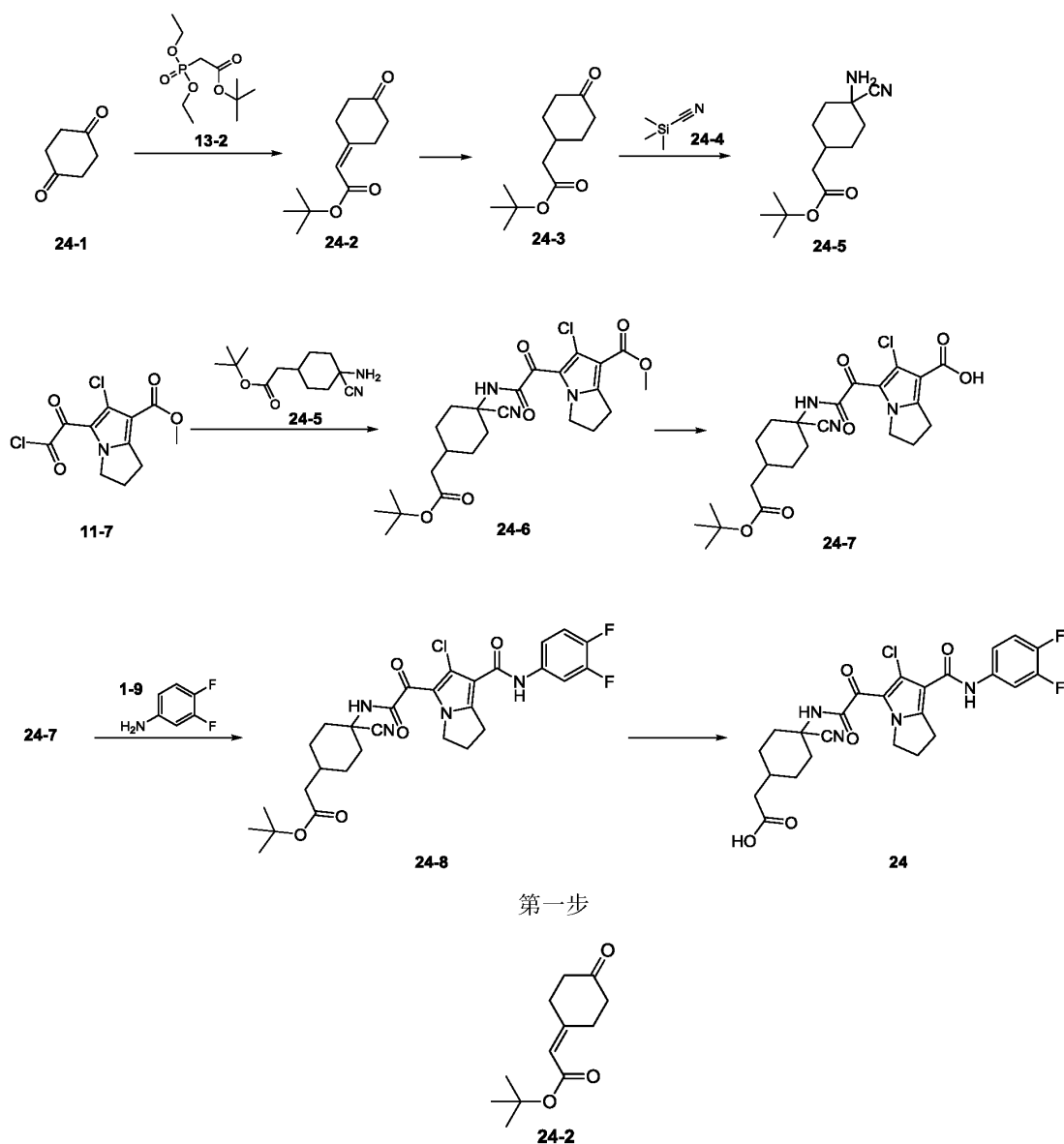
**23**

将化合物**23-8** (150 mg, 271.73  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 中, 在 26 °C 下加入三氟乙酸 (309.84 mg, 2.72 mmol, 201.19  $\mu\text{L}$ , 10 *eq*), 添加完毕, 该反应在 26 °C 下搅拌 0.5 小时。LCMS 监测显示反应完全。该反应直接减压浓缩, 粗品用制备型 HPLC 分离纯化 (色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.225% 甲酸) - 乙腈]; 乙腈%: 47%-77%, 7min), 得到化合物**23**。MS (ESI)  $m/z$ : 518.3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 12.04 (brs, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.87 – 7.82 (m, 1H), 7.43 – 7.40 (m, 2H), 4.28 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H), 3.08 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 2.47 – 2.45 (m, 2H), 2.19 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H), 1.68 (t,  $J=8.2$  Hz, 2H), 1.56 – 1.52 (m, 2H), 1.32 (s, 6H).

**实施例 24****24**

合成路线:

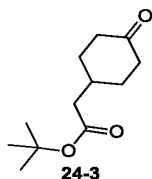


第一步

将化合物**13-2**（25 g, 99.11 mmol, 1 eq）溶于四氢呋喃（100 mL）中，然后加入氢化钠（5.95 g, 148.67 mmol, 60% 纯度, 1.5 eq），反应在0℃反应1小时，然后加入化合物**24-1**（22.23 g, 198.22 mmol, 2 eq），反应在25℃反应1小时。LCMS显示化合物**24-1**反应完全，有化合物**24-2**产生。将反应液倒入500 mL的饱和氯化铵中，用乙酸乙酯（500 mL\*3）萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩得到。粗品经柱层析分离纯化（100-200目硅胶，石油醚：乙酸乙酯=20:1 至5:1，V/V）得到化合物**24-2**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.77 (s, 1H), 3.17 (t,  $J$ =7.2 Hz, 2H), 2.63 (t,  $J$ =6.4 Hz, 2H), 2.52 – 2.47 (m, 4H), 1.49 (s, 9H).

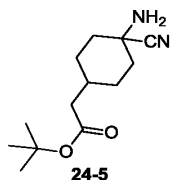
第二步



将化合物**24-2** (6 g, 28.53 mmol, 1 *eq*) 溶于乙醇 (20 mL) 中, 然后加入湿钨碳 (0.2 g, 28.53 mmol, 10% 含量, 1 *eq*) 反应 25°C 在 H<sub>2</sub> (15psi) 压力条件下反应 1 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示化合物**24-2** 反应完全。将反应液直接过滤得到粗品。粗品经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=10:1 至 3:1, V/V)。得到化合物**24-3**。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 3.45 (s, 1H), 2.40 – 2.37 (m, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.07 – 2.06 (m, 3H), 1.47 (s, 9H).

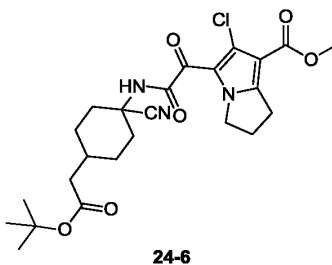
### 第三步



将四异丙基钛 (4.50 g, 15.83 mmol, 4.67 mL, 1.2 *eq*) 溶于氨气/甲醇 (7 M, 7.54 mL, 4 *eq*) 中, 然后加入化合物**24-3** (2.8 g, 13.19 mmol, 1 *eq*), 反应在 25°C 反应 2 小时, 然后降温到 -5°C, 加入化合物**24-4** (1.37 g, 13.85 mmol, 1.73 mL, 1.05 *eq*), 反应在 25°C 反应 14 小时。HPLC 显示化合物**24-3** 反应完全。将反应液中加入水 (5 mL) 中, 搅拌 0.5 小时后过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。粗品经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=3:1 至 1:1, V/V)。得到化合物**24-5**。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 2.19 – 2.06 (m, 2H), 2.06 – 2.03 (m, 2H), 1.86 – 1.82 (m, 5H), 1.60 – 1.53 (m, 2H), 1.52 (s, 9H), 1.45 – 1.38 (m, 2H).

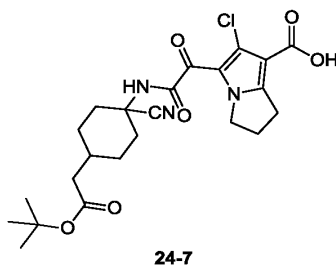
### 第四步



将化合物**24-5** (1.23 g, 5.17 mmol, 1.5 *eq*), 三乙胺 (1.05 g, 10.34 mmol, 1.44 mL, 3 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL), 随后在氮气保护下 0°C 加入化合物**11-7** (1 g, 3.45 mmol, 1 *eq*) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液。反应

升温至30℃搅拌1小时。TLC（石油醚：乙酸乙酯=3:1）显示化合物**11-7**消耗完全，有新点生成。LCMS确认有化合物**24-6**生成。反应液用水（30 mL）淬灭后二氯甲烷（30 mL\*3）萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化（100-200目硅胶，石油醚：乙酸乙酯=100:1 至 2:1，V/V）纯化处理得到化合物**24-6**。MS(ESI) *m/s* :436.0 [M+H-(*t*-Bu)]<sup>+</sup>。

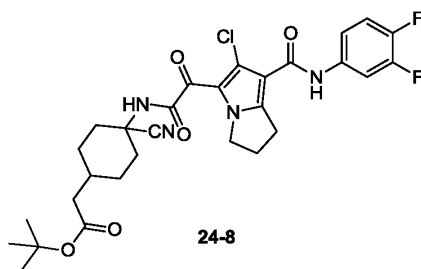
## 第五步



将化合物**24-6**（1 g, 2.03 mmol, 1 *eq*）溶于四氢呋喃（10 mL），水（5 mL），随后加入一水合氢氧化锂（255.87 mg, 6.10 mmol, 3 *eq*）。反应在30℃搅拌16小时。LCMS显示化合物**24-6**消耗完全，有化合物**24-7**生成。反应液用1.0 mol/L稀盐酸调至pH=3-5，乙酸乙酯（30 mL\*3）萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩得到化合物**24-7**。MS(ESI) *m/s* :476.1 [M-H]<sup>-</sup>。

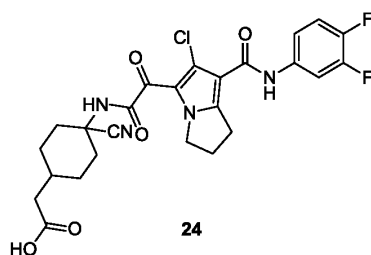
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 12.43 (br s, 1H), 9.40 (s, 1H), 4.27 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.06 (t, *J*=7.5 Hz, 2H), 2.45 - 2.40 (m, 4H), 2.15 (d, *J*=6.4 Hz, 2H), 1.91 (s, 1H), 1.79 (d, *J*=12.8 Hz, 2H), 1.64 - 1.58 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.31 - 1.23 (m, 2H).

## 第六步



将化合物**24-7**（0.4 g, 836.93  $\mu$ mol, 1 *eq*），三乙胺（127.03 mg, 1.26 mmol, 174.74  $\mu$ L, 1.5 *eq*），O-（7-氮杂苯并三唑-1-基）-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸盐（381.87 mg, 1.00 mmol, 1.2 *eq*）溶于*N,N*-二甲基甲酰胺（5 mL），25℃搅拌0.5小时后加入化合物**1-9**（324.16 mg, 2.51 mmol, 3 *eq*）。反应升温至60℃搅拌5小时。TLC（石油醚：乙酸乙酯=3:1）显示化合物**24-7**消耗完全，有新点生成；LCMS显示有化合物**24-8**生成。反应液用水（30 mL）淬灭后乙酸乙酯（20 mL\*3）萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化（100-200目硅胶，石油醚：乙酸乙酯=100:1 至 2:1，V/V）得到化合物**24-8**。MS(ESI) *m/s* :587.1 [M-H]<sup>-</sup>。

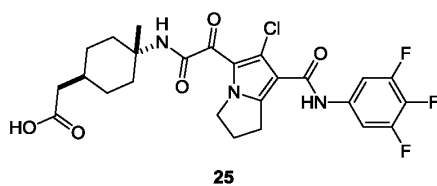
## 第七步



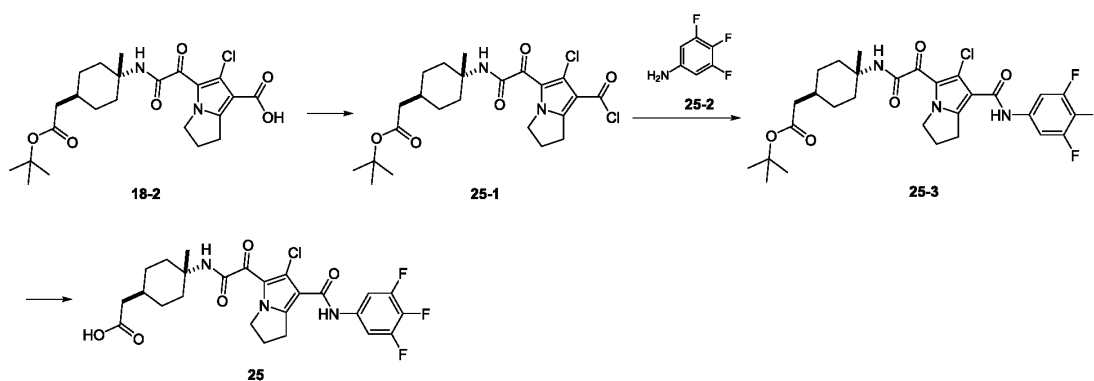
将化合物**24-8** (0.3 g, 509.31  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL), 随后加入三氟乙酸 (5 mL)。反应在30℃搅拌1小时。LCMS和HPLC显示反应完全。反应液用水 (0.1 mL) 淬灭后过滤。滤液经制备型HPLC (中性) (色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (10 mM碳酸氢铵) - 乙腈]; 乙腈%: 10%-50%, 20min) 纯化处理得到化合物**24**。MS(ESI)  $m/z$ : 531.1 [M-H]<sup>-</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9.96 (s, 1H), 9.45 (br s, 1H), 7.86 - 7.81 (m, 1H), 7.45 - 7.39 (m, 2H), 4.30 (t,  $J$ =7.2 Hz, 2H), 3.09 (t,  $J$ =7.6 Hz, 2H), 2.53 - 2.52 (m, 2H), 2.46 - 2.41 (m, 2H), 2.15 (d,  $J$ =6.8 Hz, 2H), 1.83 (d,  $J$ =12.8 Hz, 2H), 1.75 (br s, 1H), 1.65 - 1.59 (m, 2H), 1.29 - 1.20 (m, 2H).

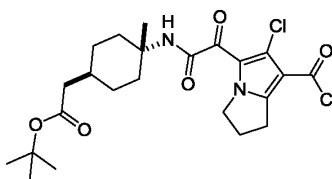
## 实施例 25



合成路线:

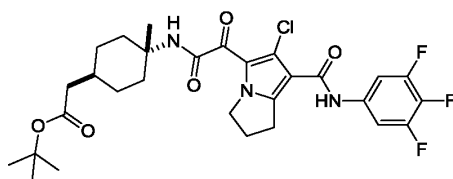


## 第一步

**25-1**

将化合物 **18-2** (500 mg, 1.07 mmol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (20 mL), 氮气保护 0 °C 下滴加草酰氯 (271.83 mg, 2.14 mmol, 187.47  $\mu$ L, 2 *eq*) 和 *N,N*-二甲基甲酰胺 (7.83 mg, 107.08  $\mu$ mol, 8.24  $\mu$ L, 0.1 *eq*), 反应在 25 °C 搅拌 1 个小时。取两滴反应液加甲醇淬灭, LCMS 显示反应完毕。反应液减压浓缩得到化合物 **25-1**。

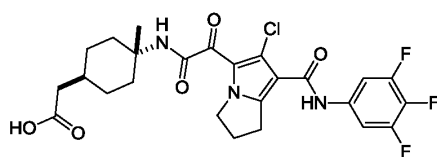
## 第二步

**25-3**

将化合物 **25-1** 溶于二氯甲烷 (15 mL) 并加入 TEA (312.70 mg, 3.09 mmol, 430.12  $\mu$ L, 3 *eq*), 氮气保护 0 °C 下滴加化合物 **25-2** (500.00 mg, 1.03 mmol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 的溶液, 反应在 25 °C 搅拌 1 个小时。LCMS 显示反应完毕。反应液倒入 0.5 mol/L 稀盐酸 (50 mL), 水相用二氯甲烷萃取 (20 mL\*3), 有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200 目硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=10:1 至 4:1, V/V) 得到化合物 **25-3**。MS(ESI) *m/s*: 540.1 [M+H-(*t*-Bu)]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.47 (s, 1H), 7.38-7.34 (m, 2H), 6.23 (s, 1H), 4.35-4.31 (m, 2H), 3.28-3.23 (m, 2H), 2.52-2.49 (m, 2H), 2.18-2.14 (m, 2H), 2.05-2.00 (m, 2H), 1.93-1.81 (m, 3H), 1.80-1.71 (m, 2H), 1.55 (s, 3H), 1.50-1.45 (m, 9H), 1.32-1.26 (m, 2H)。

## 第三步

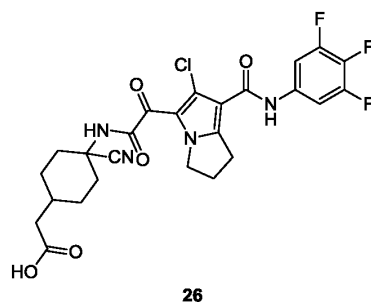
**25**

将化合物 **25-3** (100.00 mg, 167.78  $\mu$ mol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (1 mL) 并加入三氟乙酸 (382.59 mg, 3.36 mmol, 248.44  $\mu$ L, 20 *eq*), 反应在 25 °C 搅拌 1 个小时。LCMS 和 HPLC 显示反应完毕。反应液减压浓缩。粗品经制备型 HPLC 分离纯化 (中性体系, 色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu$ m; 流动相: [水 (10 mM 碳酸氢铵) - 乙腈]; 乙腈%: 10%-50%, 20min) 得到化合物 **25**。MS(ESI) *m/s*: 540.2 [M+H]<sup>+</sup>。

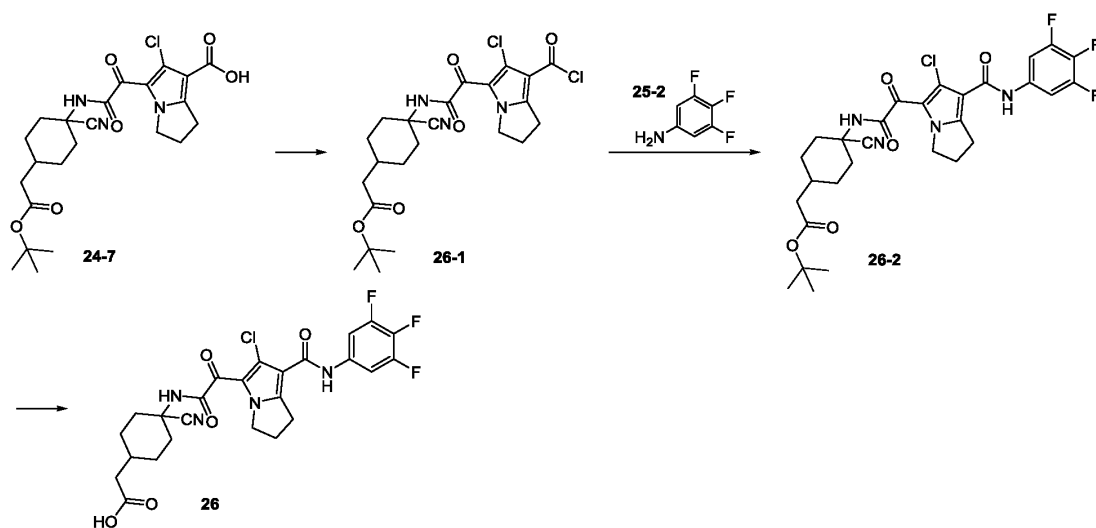
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9.99 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.65-7.57 (m, 2H), 4.30-4.26 (m, 2H), 3.09-3.05 (m, 2H), 2.47-2.43 (m, 2H), 2.16-2.12 (m, 2H), 1.85-1.80 (m, 2H), 1.75-1.61 (m, 5H), 1.35 (s, 3H), 1.21-

1.16(m, 2H).

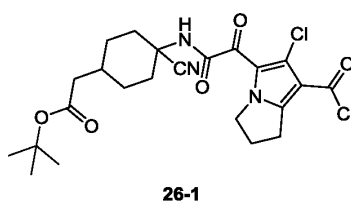
### 实施例26



合成路线:

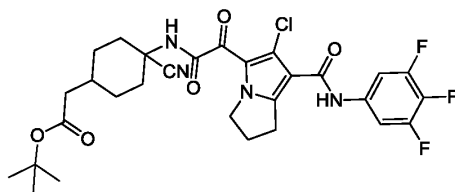


### 第一步



将化合物**24-7** (0.3 g, 627.70  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL), 随后在氮气保护下0℃加入草酰氯 (159.34 mg, 1.26 mmol, 109.89  $\mu\text{L}$ , 2 *eq*) 和*N,N*-二甲基甲酰胺 (4.59 mg, 62.77  $\mu\text{mol}$ , 4.83  $\mu\text{L}$ , 0.1 *eq*)。反应升温至30℃搅拌0.5小时。LCMS确认反应完全。反应液减压浓缩得到化合物**26-1**, 直接用于下一步。

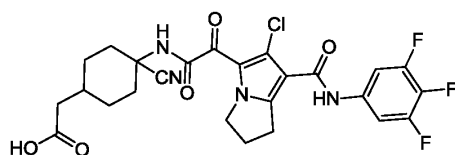
## 第二步

**26-2**

将化合物**25-2** (133.35 mg, 906.56  $\mu\text{mol}$ , 1.5 *eq*) 三乙胺 (183.47 mg, 1.81 mmol, 252.36  $\mu\text{L}$ , 3 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL), 随后在氮气保护下0℃加入化合物**26-1** (0.3 g, 604.37  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液, 反应升温至30℃搅拌1小时。LCMS和HPLC确认反应完全。反应液倒入水 (20 mL) 中, 二氯甲烷 (15 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。粗品经制备型HPLC (HCl体系, 色谱柱: Xtimate C18 100mm\*30mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.05%盐酸) - 乙腈]; 乙腈%: 50%-75%, 10min) 分离纯化得到化合物**26-2**。MS(ESI) *m/z*: 605.1 [M-H]<sup>-</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 10.07 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 7.64 – 7.59 (m, 2H), 4.30 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.09 (t, *J*=7.4 Hz, 2H), 2.53 – 2.51 (m, 2H), 2.47 – 2.44 (m, 1H), 2.42 – 2.41 (m, 2H), 2.15 (d, *J*=6.8 Hz, 2H), 1.80 (d, *J*=12.8 Hz, 2H), 1.65 – 1.56 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.32 – 1.23 (m, 2H)。

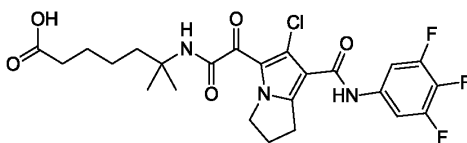
### 第三步

**26**

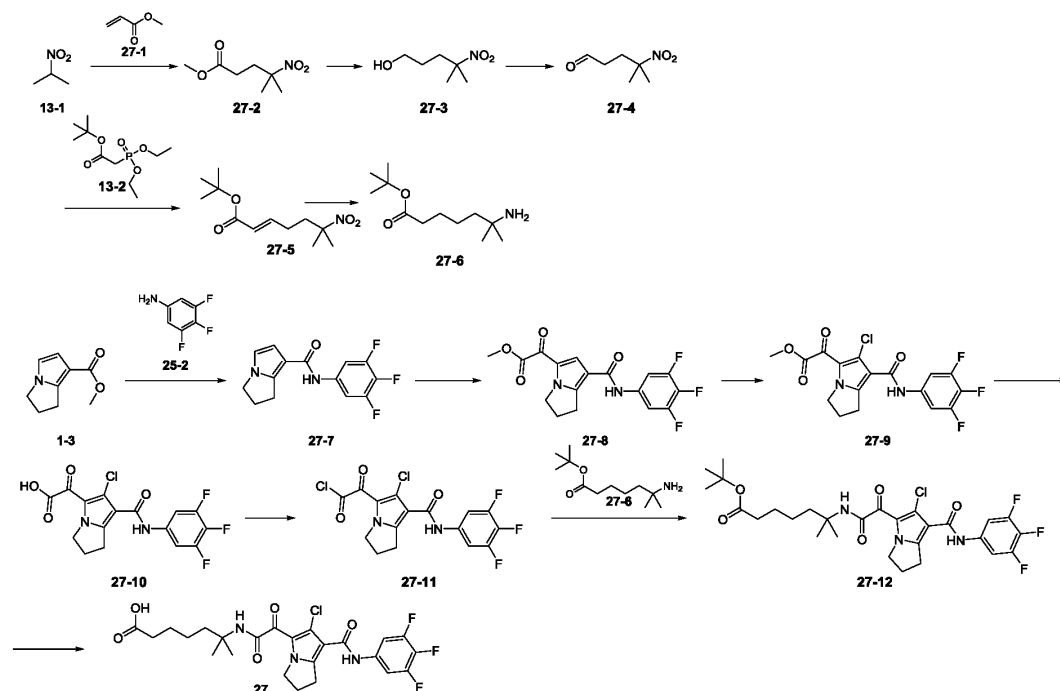
将化合物**26-2** (15 mg, 24.71  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (2 mL), 随后加入三氟乙酸 (2 mL)。反应在30℃搅拌0.5小时。LCMS和HPLC确认反应完全。反应液减压浓缩得到残余物。残余物经制备型HPLC (中性, 色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (10 mM碳酸氢铵) - 乙腈]; 乙腈%: 5%-50%, 20min) 分离纯化得到化合物**26**。MS(ESI) *m/z*: 549.1 [M-H]<sup>-</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 10.06 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 7.64 – 7.60 (m, 2H), 4.30 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.09 (t, *J*=7.8 Hz, 2H), 2.52 – 2.51 (m, 2H), 2.45 – 2.41 (m, 2H), 2.17 (d, *J*=6.8 Hz, 2H), 1.83 (d, *J*=13.6 Hz, 2H), 1.75 (br s, 1H), 1.65 – 1.59 (m, 2H), 1.30 – 1.24 (m, 2H)。

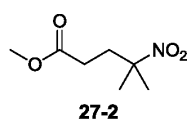
### 实施例27

**27**

合成路线:



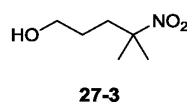
第一步



将化合物**13-1** (20 g, 224.48 mmol, 20.16 mL, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (100 mL) 中, 然后加入化合物**27-1** (23.19g, 269.38 mmol, 24.26 mL, 1.2 *eq*) 和1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一烷-7-烯 (68.35 g, 448.97 mmol, 67.67 mL, 2 *eq*), 反应在45℃搅拌12小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 显示有化合物**27-2**产生。将反应液倒入饱和氯化铵溶液 (100mL) 中, 然后用二氯甲烷 (100 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩得到粗品化合物。粗品化合物用柱层析分离纯化 (100-200目硅胶, 梯度淋洗: 石油醚: 乙酸乙酯=20:1 至5: 1, V/V)。得到化合物**27-2**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 3.69 (s, 3H), 2.35 – 2.32 (m, 2H), 2.29 – 2.26 (m, 2H), 1.60 (s, 6H).

第二步

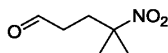


氮气保护下, 在一个干燥的瓶子中将化合物**27-2** (18 g, 102.75 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (1 L), 0℃下慢慢加入四氢铝锂 (2.14 g, 56.51 mmol, 0.55 *eq*), 反应慢慢升到25℃搅拌1个小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示反应完毕。搅拌下向反应液中慢慢滴加酒石酸钾钠饱和溶液 (9 mL) 后过滤, 滤液直接

减压浓缩得到粗品。粗品经柱层析分离纯化（100-200目硅胶，梯度淋洗：石油醚：乙酸乙酯=4:1，V/V）。得到化合物**27-3**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 3.68 – 3.63 (m, 2H), 2.04 – 1.97 (m, 2H), 1.59 (s, 6H), 1.55 – 1.51 (m, 2H).

第三步

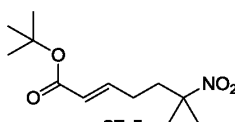


**27-4**

在一个干燥的小瓶中将化合物**27-3**（2 g, 13.59 mmol, 1 *eq*）溶于二氯甲烷（50 mL），氮气保护0℃下加入氯铬酸吡啶鎓盐（4.39 g, 20.38 mmol, 1.5 *eq*），反应在25℃搅拌1个小时。TLC（石油醚：乙酸乙酯=3:1）显示反应完毕。反应液加水（20 mL）淬灭后用二氯甲烷萃取（10 mL\*2），有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化（100-200目硅胶，梯度淋洗：石油醚:乙酸乙酯=30:1至10:1），得到化合物**27-4**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 9.78 (s, 1H), 2.52 – 2.49 (m, 2H), 2.25 – 2.23 (m, 2H), 1.60 (s, 6H).

第四步

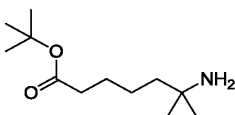


**27-5**

在一个干燥的瓶子中将化合物**13-2**（2.68 g, 10.61 mmol, 2.2 *eq*）溶于四氢呋喃（15 mL），氮气保护0℃下加氢化钠（578.69 mg, 14.47 mmol, 60% 纯度, 3 *eq*），搅拌30分钟后加入化合物**27-4**（700mg, 4.82 mmol, 1 *eq*）溶于四氢呋喃（5 mL）的溶液，反应在25℃搅拌16个小时。TLC(石油醚：乙酸乙酯=5: 1)显示反应完毕。反应液倒入稀盐酸（0.5mol/L, 20 mL）中，水相用乙酸乙酯萃取（20 mL\*3），有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经柱层析分离纯化（100-200目硅胶，梯度淋洗：石油醚：乙酸乙酯=30:1至10:1，V/V）。得到化合物**27-5**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 6.83 – 6.76 (m, 1H), 5.77 (d,  $J$ =15.6 Hz, 1H), 2.16 – 2.06 (m, 2H), 2.05 – 2.04 (m, 2H), 1.60 (s, 6H), 1.48 (s, 9H)

第五步

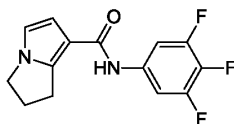


**27-6**

氩气流微吹下，在一个氢化瓶中将钨碳（150 mg, 10% 纯度）加入，然后沿瓶壁慢慢加入甲醇（20 mL），然后加入化合物**27-5**（800 mg, 3.29 mmol, 1 *eq*），氢气置换3次后，在氢气保护下（50Psi）20℃搅拌2个小时。TLC（石油醚：乙酸乙酯=5:1）显示反应完毕。反应液直接过滤并减压浓缩。得到化合物**27-6**。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 2.22 (t,  $J$ =7.6 Hz, 2H), 1.60 – 1.57 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.37 – 1.28 (m, 4H), 1.10 (s, 6H).

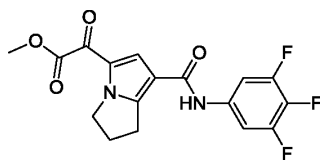
## 第六步

**27-7**

将化合物**1-3** (20 g, 121.07 mmol, 1 eq), 化合物**25-2** (26.71 g, 181.61 mmol, 1.5 eq) 溶于甲苯 (300 mL), 随后在氮气保护下0℃加入六甲基二硅基胺基锂 (1 mol/L, 242.15 mL, 2 eq)。反应升温至25℃搅拌16小时。TLC确认化合物**1-3**消耗完全, 有新点生成。LCMS确认化合物**1-3**消耗完全, 有化合物**27-7**生成。反应液倒入饱和氯化铵溶液 (500 mL) 中淬灭, 乙酸乙酯 (200 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。粗品经柱层析 (100-200目硅胶, 梯度淋洗, 石油醚: 乙酸乙酯=100:1 至 1:1.5, V/V) 分离纯化。得到化合物**27-7**。MS(ESI) m/s :281.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.44 (s, 1H), 7.37 - 7.28 (m, 2H), 6.61 (d,  $J$ =2.8 Hz, 1H), 6.45 (d,  $J$ =3.2 Hz, 1H), 3.99 (t,  $J$ =2.8 Hz, 2H), 3.13 (t,  $J$ =3.2 Hz, 2H), 2.62 – 2.55 (m, 2H)。

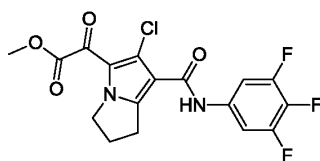
## 第七步

**27-8**

将化合物**27-7** (31 g, 110.62 mmol, 1 eq) 溶于二氯甲烷 (300 mL), 随后在氮气保护下0℃加入草酰氯单甲酯 (27.10 g, 221.23 mmol, 2 eq)。反应在25℃搅拌1.5小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 确认反应完全。反应液倒入冰水 (300 mL) 中淬灭, 乙酸乙酯 (100 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。粗品经柱层析 (100-200目硅胶, 梯度淋洗, 石油醚: 乙酸乙酯=100:1 至 2.5:1, V/V) 分离纯化。得到化合物**27-8**。MS(ESI) m/s :367.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 9.92 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.43 - 7.32 (m, 2H), 4.37 (t,  $J$ =7.4 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.19 (t,  $J$ =7.6 Hz, 2H), 2.65 – 2.57 (m, 2H)。

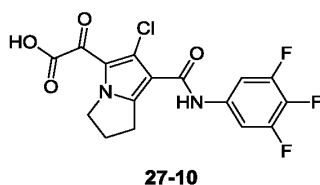
## 第八步

**27-9**

将化合物**27-8** (11 g, 21.02 mmol, 1 *eq*) 溶于醋酸 (110 mL), 随后加入N-氯代琥珀亚胺 (4.21 g, 31.53 mmol, 1.5 *eq*)。反应在40℃搅拌16小时。TLC显示化合物反应完全。反应液倒入水 (100 mL) 中淬灭, 乙酸乙酯 (50 mL\*3) 萃取, 有机相依次用饱和碳酸氢钠溶液 (50 mL\*3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。粗品经柱层析 (100-200目硅胶, 梯度淋洗: 石油醚: 乙酸乙酯=100:1 至 4:1, V/V) 分离纯化。得到化合物**27-9**。MS(ESI) *m/s*: 401.0 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.29 (s, 1H), 7.36 - 7.30 (m, 2H), 4.40 (t, *J*=7.4 Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.26 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.61 - 2.51 (m, 2H)。

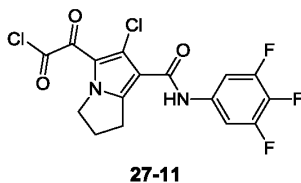
#### 第九步



将化合物**27-9** (8 g, 19.96 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (100 mL), 水 (100 mL), 随后加入一水合氢氧化锂 (2.51 g, 59.89 mmol, 3 *eq*)。反应在25℃搅拌16小时。LCMS确认化合物反应完全。反应液倒入水 (50 mL) 中, 乙酸乙酯 (50 mL\*2) 萃取, 反应液用1.0 mol/L盐酸调至pH=2, 乙酸乙酯 (50 mL\*3) 萃取, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。得到化合物**27-10**。MS(ESI) *m/s*: 387.1 [M+H]<sup>+</sup>。

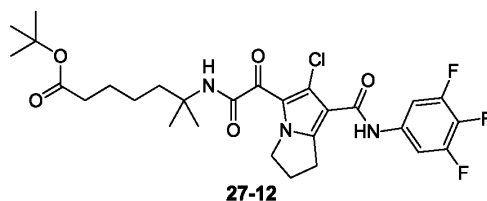
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-d<sub>4</sub>)  $\delta$  = 7.63 - 7.41 (m, 2H), 4.38 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 3.15 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.62 - 2.50 (m, 2H)。

#### 第十步



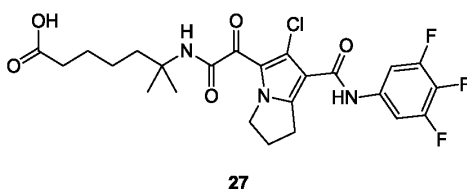
在一个干燥的小瓶中将化合物**27-10** (150 mg, 387.89  $\mu$ mol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (10 mL), 氮气保护0℃下滴加草酰氯 (98.47 mg, 775.78  $\mu$ mol, 67.91  $\mu$ L, 2 *eq*) 和N,N-二甲基甲酰胺 (2.84 mg, 38.79  $\mu$ mol, 2.98  $\mu$ L, 0.1 *eq*), 反应在20℃搅拌1个小时。取两滴反应液用甲醇淬灭后检测, TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示原料转化完全。反应液直接减压浓缩得到化合物**27-11**。

#### 第十一步



在一个干燥的小瓶中将化合物**27-6** (87.69 mg, 407.25  $\mu\text{mol}$ , 1.1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5mL) 并加入三乙胺 (112.39 mg, 1.11 mmol, 154.59  $\mu\text{L}$ , 3 *eq*)，氮气保护0℃下加入化合物**27-11** (150 mg, 370.23  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷(5mL)的溶液，反应在20℃搅拌2个小时。LCMS显示反应完毕。反应液倒入稀盐酸(0.5 mol/L, 20 mL)中，水相用二氯甲烷萃取(10 mL\*2)，有机相用无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。得到化合物**27-12**。MS(ESI) *m/z*: 528.2 [M+H-(*t*-Bu)]<sup>+</sup>。

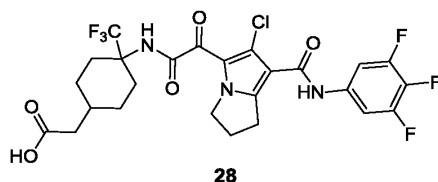
#### 第十二步



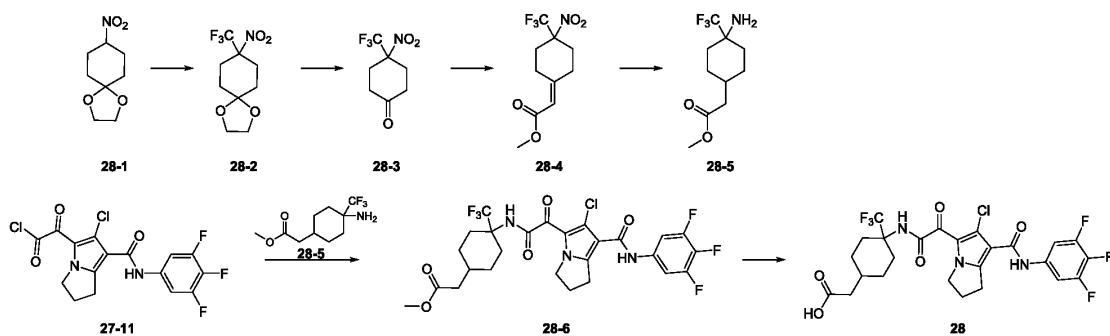
在一个干燥的小瓶中将化合物 **27-12** (150 mg, 256.84  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (1 mL) 并加入三氟乙酸 (585.69 mg, 5.14 mmol, 380.32  $\mu\text{L}$ , 20 *eq*)，反应在 20℃搅拌 1 个小时。LCMS 和 HPLC 显示反应完毕。反应液直接浓缩。粗品经制备型 HPLC 分离纯化(中性体系，色谱柱: Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ；流动相: [水 (0.04%氨水+10mM 碳酸氢铵) - 乙腈]；乙腈%: 28%-58%, 10.5min)。得到化合物 **27**。MS(ESI) *m/z*: 528.1 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 10.02 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.64 – 7.60 (m, 2H), 4.28 (t, *J*=6.8 Hz, 2H), 3.08 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 2.50 – 2.46 (m, 2H), 2.20 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 1.68 – 1.64 (m, 2H), 1.50 – 1.46 (m, 2H), 1.35-1.28 (m, 8H).

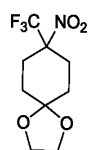
#### 实施例28



合成路线:



第一步

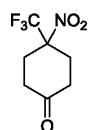


**28-2**

将化合物**28-1** (500 mg, 2.67 mmol, 1 *eq*) 和 S-(三氟甲基)二苯并噻吩三氟甲基磺酸盐 (1.40 g, 3.47 mmol, 1.3 *eq*) 加入到二氯甲烷 (10 mL) 中, 降温至 -25 °C 加入 1.8-二氮杂二环[5.4.0]十一烷-7-烯 (813.28 mg, 5.34 mmol, 805.23  $\mu$ L, 2.0 *eq*), 该反应维持在 -25 °C 搅拌 1.5 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示化合物**28-1** 反应完全并有新点生成。搅拌下向反应液中加入 (10 mL) 水, 静置分液后取二氯甲烷相并用饱和氯化钠水溶液 (10 mL\*1) 洗涤, 有机相无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经过柱机 COMBI-FLASH 分离纯化 (梯度淋洗: 石油醚: 乙酸乙酯=50:1 至 5:1, V/V) 得到化合物**28-2**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  = 3.99 – 3.92 (m, 4H), 2.82 – 2.77 (m, 2H), 2.22 – 2.17 (m, 2H), 1.83-1.79 (m, 2H), 1.61-1.55 (m, 2H).

第二步

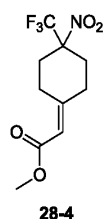


**28-3**

将化合物 **28-2** (500 mg, 1.96 mmol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (30 mL) 中, 在 0 °C 下加入硫酸 (3 mL), 该反应升温至 26 °C 搅拌 5 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3: 1) 显示化合物 **28-2** 反应完全并有新点生成。将反应液倒入冰水中 (30 mL), 慢慢加入饱和碳酸钠水溶液直至 pH=7, 然后用二氯甲烷 (20 mL\*3) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水溶液 (50 mL\*1) 洗涤, 有机相无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品物经过柱机 COMBI-FLASH 纯化分离 (石油醚: 乙酸乙酯=50:1 至 3:1, V/V) 得到化合物 **28-3**。

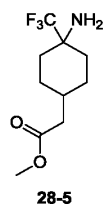
$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  = 3.12 – 3.09 (m, 2H), 2.56-2.48 (m, 2H), 2.45 – 2.39 (m, 4H).

## 第三步



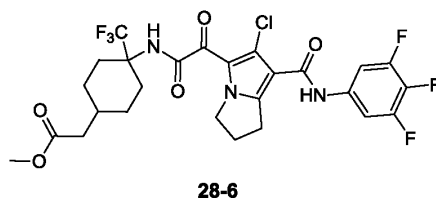
将化合物 **28-3** (270 mg, 1.28 mmol, 1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 中, 氮气保护在 26 °C 下加入甲基 (三苯基磷丙烯酸) 甲酯 (427.56 mg, 1.28 mmol, 1 *eq*), 该反应升温至 50 °C 搅拌 6 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=3:1) 显示化合物 **28-3** 反应完全并有新点生成。将反应液冷却至室温加入 (10 mL) 水, 然后用二氯甲烷 (10 mL\*2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水溶液 (10 mL\*1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品产物经过柱机 COMBI-FLASH 分离纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=50:1 至 5:1) 得到化合物 **28-4**。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CHCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 5.76 (s, 1H), 4.01 – 3.98 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.97 – 2.92 (m, 2H), 2.43-2.37 (m, 1H), 2.32 – 2.31 (m, 1 H), 2.02-1.96 (m, 3H).

## 第四步



向干燥的氢化瓶中加入化合物 **28-4** (250 mg, 935.63  $\mu$ mol, 1 *eq*) 和甲醇 (10 mL), 在氢气环境下加入钨碳 (20 mg, 935.63  $\mu$ mol, 5%纯度, 1 *eq*)。在氢气 (50Psi) 保护下 60°C 下搅拌 16 小时。LCMS 显示化合物 **28-4** 反应完全。反应液经硅藻土过滤除去钨碳, 滤液减压浓缩得到化合物 **28-5**。MS (ESI) *m/z*: 239.7 [M+H]<sup>+</sup>。

## 第五步

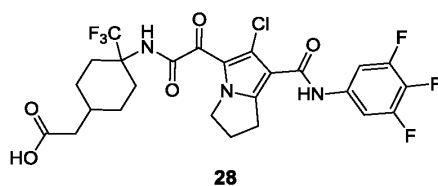


将化合物 **28-5** (67.90 mg, 283.84  $\mu$ mol, 1 *eq*) 和碳酸氢钠 (143.07 mg, 1.70 mmol, 66.24  $\mu$ L, 6 *eq*) 加入到二氯甲烷 (2 mL) 中, 在 0 °C 下慢慢加入化合物 **27-11** (115 mg, 283.84  $\mu$ mol, 1 *eq*) 和二氯甲烷 (2 mL) 的混合液。反应升温至 26 °C 搅拌 0.5 小时。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=2:1) 显示化合物 **27-11** 反应完全。向反应液中加入 (10 mL) 水然后用二氯甲烷 (5 mL\*2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水溶液

(10mL\*1) 洗涤，有机相无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。粗品经过柱机COMBI-FLASH分离（梯度淋洗：石油醚：乙酸乙酯=50:1至3:1，V/V）得到化合物**28-6**。MS (ESI) m/z: 608.3[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CHCl<sub>3</sub>) δ = 8.47 (s, 1H), 7.34 (dd, *J*=9.0, 6.4 Hz, 2H), 6.22 - 6.16 (m, 1H), 4.33 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.70 - 3.69 (m, 3H), 3.27 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.62 - 2.52 (m, 3H), 2.41 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 2.40 - 2.26 (m, 2H), 2.04 - 1.96 (m, 1H), 1.86 - 1.75 (m, 3H), 1.28 - 1.24 (m, 3H).

## 第六步

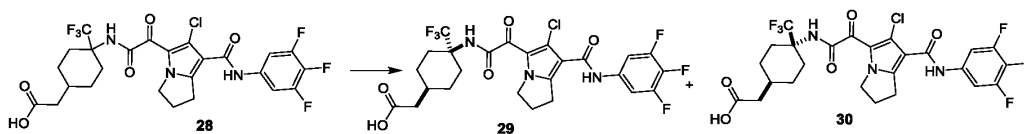


将化合物 **28-6** (60.00 mg, 98.70  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (1 mL), 甲醇 (1 mL) 和水 (1 mL) 中, 在 40  $^{\circ}\text{C}$  下加入一水合氢氧化锂 (24.85 mg, 592.18  $\mu\text{mol}$ , 6 *eq*)。该反应在 40  $^{\circ}\text{C}$  下搅拌 0.5 小时。LCMS 显示化合物 **28-6** 反应完全。向反应液中加入 2 mol/L 的硫酸氢钾水溶液至 pH=4, 然后用二氯甲烷 (10 mL\*2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水溶液洗涤, 有机相无水硫酸钠干燥过滤并减压浓缩。该残余物通过制备型 HPLC (甲酸体系) (色谱柱: Waters Xbridge 150mm\*18mm\*5 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.225%甲酸)-乙腈]; 乙腈: 55%-85%, 7min) 分离纯化得到化合物 **28**。MS (ESI)  $m/z$ : 594.3  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。

<sup>1</sup>H NMR (400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 12.12 (s, 1H), 10.07 (d, J=8.2Hz, 1 H), 8.70 (d, J=16.2Hz, 1 H), 7.63 (dd, J=10.2, 6.2Hz, 2 H), 4.31 (t, J=7.2Hz, 2 H), 3.10 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.49-2.43 (m, 3H), 2.35 - 2.25 (m, 2H), 2.16 - 2.07 (m, 2H), 1.78 - 1.65 (m, 3H), 1.59 - 1.42 (m, 2H), 1.28 - 1.17 (m, 1H).

### 实施例29, 30

合成路线:

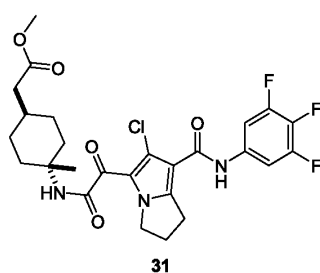


化合物 **28** (15 mg, 25.26  $\mu\text{mol}$ , 1eq) 通过 SFC 分离 (色谱柱:Phenomenex-Amylose-1 (250mm\*30mm,5 $\mu\text{m}$ );流动相:[0.1% $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$  EtOH];B%: 35%-35%,min)。得到化合物 **29** (SFC 保留时间 1.763 min)和化合物 **30** (SFC 保留时间 2.086 min), SFC 分析条件 (色谱柱: 安捷伦 1260 带 DAD 检测器手性柱, 规格 AD-3 50x3mm I.D.,3 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [A: 二氧化碳, B: 乙醇 (0.05%二乙醇胺) 梯度: B 在 2.5 分钟内从 5%到 40%, 在 40%保持 0.35 分钟, 然后保持在 1.65 分钟流动。流速: 2.5 毫升/分钟, 柱温: 40  $^{\circ}\text{C}$ 。

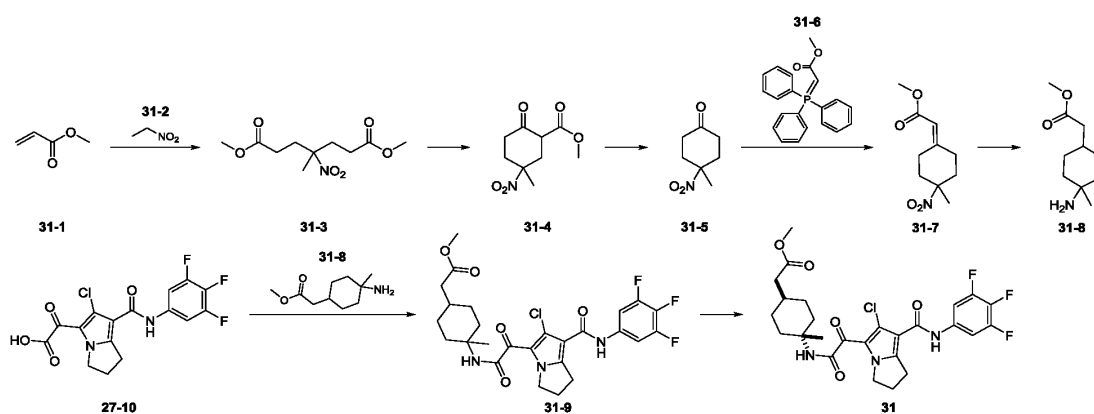
化合物 **29** <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  = 10.14 (br, s, 1 H), 8.65 (br s, 1 H), 7.68-7.62 (m, 2 H), 4.35-4.33 (m, 2 H), 3.13-3.09 (m, 2 H), 2.37-2.31 (m, 2 H), 2.09-2.03 (m, 2 H), 1.70-1.62 (m, 3 H), 1.59 - 1.48 (m, 2 H), 1.27-1.21 (m, 4 H).

化合物**30** <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  = 10.09 (s, 1 H), 8.70 (s, 1 H), 7.64 (dd,  $J$ =10.2, 6.27 Hz, 2 H), 4.31 (t,  $J$ =7.2 Hz, 2 H), 3.10 (t,  $J$ =7.2 Hz, 2 H), 2.34 - 2.25 (m, 4 H), 2.14-2.09 (m, 1 H), 1.75 - 1.32 (m, 4 H), 1.46 (br s, 2 H), 1.24 (s, 2 H).

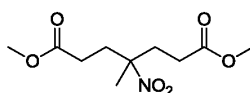
### 实施例31



合成路线:



## 第一步



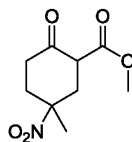
**31-3**

在一个干燥的瓶子中将化合物**31-1** (22.94 g, 266.43 mmol, 23.99 mL, 2 *eq*)，化合物**31-2** (10 g, 133.22 mmol, 9.52 mL, 1 *eq*) 和1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一十一烷-7-烯 (42.59 g, 279.75mmol, 42.17 mL, 2.1 *eq*) 溶于二氯甲烷 (200 mL)，反应在40℃搅拌3个小时。LCMS显示反应完毕。反应液倒入水中 (500 mL) 分液，水相用二氯甲烷萃取 (100 mL\*2)，有机相用无水硫酸钠干燥过滤并浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200

目硅胶，石油醚：乙酸乙酯=3:1，V/V)。得到化合物**31-3**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 3.62 (s, 6H), 2.32 – 2.27 (m, 6H), 2.22– 2.20 (m, 2H), 1.51 (s, 3H).

第二步

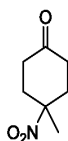


**31-4**

在一个干燥的小瓶中加入化合物**31-3** (10 g, 40.45 mmol, 1 *eq*) 溶于四氢呋喃 (100 mL) 中，并加入甲醇钠 (5 M, 9.71 mL, 1.2 *eq*)，并在15℃下搅拌16小时。LCMS显示有化合物**31-4**生成。将反应液缓慢倒入1 mol/L的稀盐酸 (100mL) 中后分液，水相用半饱和食盐水洗涤 (50mL\*3)，收集有机相，将有机相用无水硫酸钠干燥过滤后减压浓缩。得到化合物**31-4**。MS (ESI)  $m/z$ : 216.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 12.12 (s, 1H), 4.11 (s, 3H), 3.36 – 3.24 (m, 1H), 2.54 – 2.45 (m, 2H), 2.40 – 2.35 (m, 2H), 2.19 – 1.54 (m, 1H), 1.26 (s, 3H).

第三步

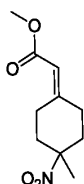


**31-5**

在一个小瓶中将化合物**31-4** (4 g, 18.59 mmol, 1 *eq*) 溶于二甲基四氢呋喃 (20 mL) 和水 (20 mL) 并加入氢氧化钾 (3.13 g, 55.76 mmol, 3 *eq*)，反应在85℃搅拌16个小时。TLC (石油醚：乙酸乙酯=3:1) 显示反应完毕。反应液分层，水相用乙酸乙酯萃取 (10 mL\*6)，有机相用无水硫酸钠干燥过滤并浓缩。粗品经柱层析分离纯化 (100-200目硅胶，梯度淋洗：石油醚：乙酸乙酯= 20:1至3:1，V/V)。得到化合物**31-5**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 2.89 – 2.78 (m, 2H), 2.50 – 2.41 (m, 2H), 2.39 – 2.27 (m, 2H), 2.06 – 1.82 (m, 2H), 1.56 (s, 3H).

第四步



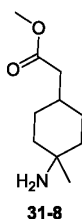
**31-7**

在一个干燥的瓶子中将化合物**31-5** (11.4 g, 72.53 mmol, 1 *eq*) 溶于甲苯 (100 mL) 并加入化合物**31-6**

(26.68 g, 79.79 mmol, 1.1 *eq*)，氮气保护下反应在110℃搅拌16个小时。LCMS显示反应完毕。反应液倒入0.5 mol/L稀盐酸中(50 mL)，水相用乙酸乙酯萃取(10 mL\*3)，有机相用无水硫酸钠干燥过滤并浓缩。粗品经柱层析分离纯化(100-200目硅胶，梯度淋洗：石油醚：乙酸乙酯=100:0 至 10:1, V/V)，得到化合物**31-7**。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.70 (s, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.51 – 3.48 (s, 1H), 2.68 – 2.63 (m, 2H), 2.35 – 2.04 (m, 3H), 1.77 – 1.60 (m, 2H), 1.59 (s, 3H).

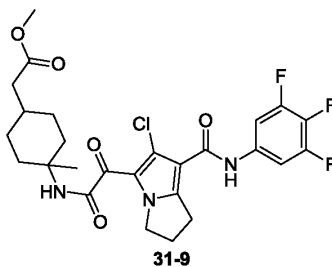
#### 第五步



将雷尼镍(7.00 g, 119.26 mmol, 3.63 *eq*)溶于甲醇(60 mL)，随后加入化合物**31-7**(7g, 32.83 mmol, 1 *eq*)。反应在氢气保护下(30Psi) 30℃搅拌16小时。TLC(二氯甲烷：甲醇=10:1)显示化合物**31-7**反应完全。反应液过滤后减压浓缩。得到化合物**31-8**。

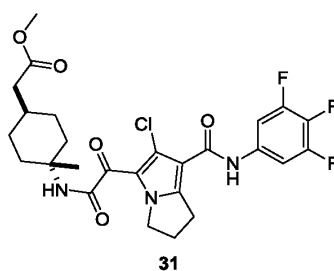
$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{MeOD-d}_4$ )  $\delta$  = 3.65 (s, 3H), 2.29 - 2.22 (m, 2H), 1.73 - 1.67 (m, 2H), 1.56 - 1.51 (m, 4H), 1.39 - 1.38 (m, 1H), 1.35 (s, 3H), 1.19 - 1.14 (m, 2H)

#### 第六步



将化合物**27-10**(0.5 g, 1.29 mmol, 1 *eq*)溶于*N,N*-二甲基甲酰胺(10 mL)，随后加入六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷(1.08 g, 2.07 mmol, 1.6 *eq*)，1-羟基苯并三氮唑(297.00 mg, 2.20 mmol, 1.7 *eq*)，*N,N*-二异丙基乙胺(668.41mg, 5.17 mmol, 900.82  $\mu\text{L}$ , 4 *eq*)，20℃搅拌0.5小时后加入化合物**31-8**(287.44 mg, 1.55mmol, 1.2 *eq*)。反应在40℃搅拌15.5小时。LCMS和HPLC确认反应完全。反应液倒入水(50 mL)中淬灭后过滤，滤液用乙酸乙酯(20 mL\*2)萃取，有机相无水硫酸钠干燥，过滤并减压浓缩。粗品经柱层析(梯度淋洗：石油醚：乙酸乙酯=100:1 至 3:1, V/V)分离纯化。然后经SFC分离(保留时间 $t$ =2.35 min)(色谱柱：DAICEL CHIRALPAK IC (250mm\*30mm,5 $\mu\text{m}$ ) ;流动相:[ Neu-MeOH];B%: 40%-40%,10min)，得到化合物**31-9**。MS (ESI)  $m/z$ : 554.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

## 第七步



化合物**31-9**（0.1 g, 180.52  $\mu\text{mol}$ , 1 *eq*）经制备型 HPLC（中性体系，色谱柱：Xtimate C18 150mm\*25mm\*5 $\mu\text{m}$ ；流动相：[水（10 mM 碳酸氢铵）-乙腈]；乙腈%：50%-80%, 10.5min）分离纯化。得到化合物**31**。MS (ESI)  $m/z$ : 554.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  = 10.01 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.66 - 7.58 (m, 2H), 4.28 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 3.58 (s, 3H), 3.08 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 2.49 - 2.43 (m, 2H), 2.26 (d,  $J=7.0$  Hz, 2H), 1.88 - 1.56 (m, 7H), 1.36 (s, 3H), 1.24 - 1.11 (m, 2H).

**实验例 1：HBV 体外测试定量 qPCR 试验**

## 1 实验目的：

通过实时定量 qPCR 试验（real time-qPCR）检测 HepG2.2.15 细胞内的 HBV DNA 含量，以化合物的  $\text{EC}_{50}$  值为指标，来评价化合物对 HBV 的抑制作用。

## 2 实验材料：

## 2.1 细胞系：HepG2.2.15 细胞

HepG2.2.15 细胞培养基（DMEM/F12，Invitrogen-11330057；10%血清，Invitrogen-10099141；100 units/ml 青霉素和 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  链霉素，Invitrogen-15140122；1% 非必需氨基酸，Invitrogen-11140076；2mM 左旋谷氨酰胺，Invitrogen-25030081；300  $\mu\text{g}/\text{ml}$  遗传霉素，Invitrogen-10131027）

## 2.2 试剂：

胰酶（Invitrogen-25300062）

DPBS（Hyclone-SH30028.01B）

DMSO（Sigma-D2650-100ML）

高通量 DNA 纯化试剂盒（QIAamp 96 DNA Blood Kit，Qiagen-51162）

定量快速启动通用探针试剂（FastStart Universal Probe Master，Roche-04914058001）

## 2.3 耗材与仪器：

96 孔细胞培养板（Corning-3599）

$\text{CO}_2$  培养箱（HERA-CELL-240）

光学封板膜（ABI-4311971）

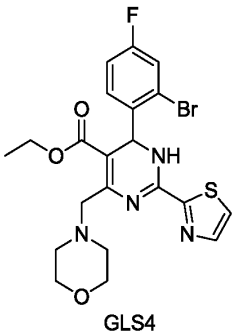
定量 PCR 96 孔板（Applied Biosystems-4306737）

荧光定量 PCR 仪（Applied Biosystems-7500 real time PCR system）

3.实验步骤和方法:

3.1 种 HepG2.2.15 细胞（4x10<sup>4</sup> 细胞/孔）到 96 孔板，在 37 °C，5 % CO<sub>2</sub> 培养过夜。

3.2第二天，稀释化合物，共8个浓度，3倍梯度稀释。加不同浓度化合物到培养孔中，双复孔。培养液中DMSO的终浓度为1%。1 μM GLS4作为100%抑制对照（WO2008154817A1公开了GLS4的结构如下：



); 1% 的DMSO作为0%抑制对照。

3.3 第五天，更换含有化合物的新鲜培养液。

3.4 第八天收取培养孔中的培养液，使用高通量 DNA 纯化试剂盒（Qiagen-51162）提取 DNA，具体步骤参照该产品说明书。

3.5 PCR 反应液的配制如表 1 所示：

表 1. PCR 反应液的配制

| 项目            | 配置 1 个孔所需体 | 配置 80 个孔所需体 |
|---------------|------------|-------------|
|               | 积 (微升)     | 积 (微升)      |
| 定量快速启动通用探针试剂  | 12.5       | 1000        |
| 上游引物 (10 微摩尔) | 1          | 80          |
| 下游引物 (10 微摩尔) | 1          | 80          |
| 探针 (10 微摩尔)   | 0.5        | 40          |

上游引物序列：GTGTCTGCGGCGTTTATCA

下游引物序列：GACAAACGGGCAACATACCTT

探针序列：5'+ FAM + CCTCTKCATCCTGCTGCTATGCCTCATC + TAMRA -3'

3.6 在 96 孔 PCR 板中每孔加入 15 μL 的反应混合液，然后每孔加入 10 μL 的样品 DNA 或 HBV DNA 的标  
准品。

3.7 PCR 的反应条件为：95℃加热 10 分钟；然后 95℃变性 15 秒，60℃延伸 1 分钟，共 40 个循环。

3.8 数据分析：

3.8.1 计算抑制百分比：% Inh. = 【1-(样品中 DNA 拷贝数 -1 μM GLS4 中 DNA 拷贝数)/(DMSO 对照中 DNA 拷贝数 -1 μM GLS4 中 DNA 拷贝数) 】×100。

3.8.2 计算 EC<sub>50</sub>：使用 GraphPad Prism 软件计算化合物对 HBV 的 50%抑制浓度（EC<sub>50</sub>）值。

3.8.3 实验结果如表 2 所示：

表 2. qPCR 实验检测 EC<sub>50</sub> 测试结果

| 供试样品<br>(标题化合物) | HBV 的 50%抑制<br>浓度 (EC <sub>50</sub> ) 值 |
|-----------------|-----------------------------------------|
| 1               | 35 nM                                   |
| 2               | 3 nM                                    |
| 3               | 5 nM                                    |
| 4               | 580 nM                                  |
| 5               | 7nM                                     |
| 6               | 110 nM                                  |
| 7               | 30 nM                                   |
| 8               | 9 nM                                    |
| 9               | 41 nM                                   |
| 10              | 2 nM                                    |
| 11              | 4 nM                                    |
| 12              | 5 nM                                    |
| 13              | 19 nM                                   |
| 14              | 70 nM                                   |
| 15              | 37 nM                                   |
| 16              | 41 nM                                   |
| 17              | 7 nM                                    |
| 18              | 11 nM                                   |
| 19              | 20 nM                                   |
| 20              | 11 nM                                   |
| 21              | 3 nM                                    |
| 22              | 14 nM                                   |

|      |        |
|------|--------|
| 23   | 27 nM  |
| 24   | 299 nM |
| 25-3 | 4 nM   |
| 25   | 4 nM   |
| 26   | 174 nM |
| 27   | 12 nM  |
| 28   | 2 nM   |
| 29   | 3 nM   |
| 30   | 1 nM   |
| 31   | 5 nM   |

。

实验例 2：hERG 钾离子通道的抑制试验

1. 实验目的：

用全自动膜片钳的方法检测待测本申请化合物对 hERG 钾离子通道的影响。

2. 实验方法

2.1. 细胞培养

实验所用的稳定表达hERG 钾离子通道的细胞来自于Aviva Biosciences 的CHO-hERG，CHO-hERG 培养于5% CO<sub>2</sub>，37 °C的环境下。CHO hERG 培养液见表3。

表3. CHO hERG 培养液

| 试剂        | 供应商        | 体积(mL) |
|-----------|------------|--------|
| F12 培养基   | Invitrogen | 500    |
| 胎牛血清      | Invitrogen | 50     |
| G418/遗传毒素 | Invitrogen | 1      |
| 潮霉素 B     | Invitrogen | 1      |

2.2. 细胞的前期准备

准备用于实验的 CHO-hERG 细胞至少培养两天以上，且细胞密度达到 75% 以上。实验开始之前，用 TrypLE 消化细胞，然后用细胞外液重悬收集细胞。

2.3. 细胞内外液的配制

细胞外液需每个月配制一次。细胞内液须分装冻存在-20℃。细胞内外液成分见表4。

表 4. 细胞内外液成分

| 组成成分                | 细胞外液(mM)        | 细胞内液(mM)        |
|---------------------|-----------------|-----------------|
| NaCl                | 145             | -               |
| KCl                 | 4               | 120             |
| KOH                 | -               | 31.25           |
| CaCl <sub>2</sub>   | 2               | 5.374           |
| MgCl <sub>2</sub>   | 1               | 1.75            |
| Glucose             | 10              | -               |
| Na <sub>2</sub> ATP | -               | 4               |
| HEPES               | 10              | 10              |
| EGTA                | -               | 10              |
| pH                  | 氢氧化钠调节 pH 为 7.4 | 氢氧化钾调节 pH 为 7.4 |
| 渗透压                 | 295mOsm         | 285mOsm         |

#### 2.4. 化合物的配制

将待测化合物和阳性对照阿米替林用 DMSO 溶解成一定浓度的储备液，然后按照不同的梯度稀释，最后按一定的比例加入细胞外液中，稀释成待测浓度。在实验开始前用肉眼检查有无沉淀。最后，待测溶液和阳性对照阿米替林中，DMSO 的浓度最高不能超过0.3%。

#### 2.5. 电压刺激方案

保持钳制电位在-80 mv，首先是给予-50 mv的电压刺激，持续80 ms以记录细胞漏电流值，随后去极化至+20 mv，维持4800 ms，打开hERG的通道，然后复极化至-50 mv 维持5000 ms，引出hERG 尾电流并记录，最后，电压恢复至钳制电位-80 mv，维持3100 ms。以上电压刺激，每15000 ms重复一次。

#### 2.6. QPatch<sup>HTX</sup>全细胞膜片钳记录

hERG QPatch<sup>HTX</sup>实验是在室温下进行的。在QPatch Assay Software 5.2(Sophion Bioscience)的软件上建立全细胞方案，电压刺激方案和化合物检测方案。

首先进行30次重复设定电压刺激，该区段为后续分析的基线区域，随后加入5  $\mu$ l细胞外液，重复三次。依次加入各个化合物的作用浓度，仍旧以5  $\mu$ l加入体积重复三次。每一测试浓度孵育细胞至少不低于5mins。整个记录过程中，各项指标需达到数据分析接收标准，若未达到该标准，则该细胞不计入分析范围，化合物将重新进行测试，以上记录过程均由Qpatch分析软件自动化操作。每一化合物测试浓度依次为0.24  $\mu$ M、1.20  $\mu$ M、6.00  $\mu$ M、30.00  $\mu$ M，每一浓度至少重复两个细胞。

#### 2.7. 数据分析

在每一个完整电流记录中，基于峰值电流在阴性对照中所占的百分比，可以计算出每一化合物作用浓

度的抑制百分比。利用标准希式方程拟合得到量效关系曲线，具体方程如下：

$$I_{(C)} = I_b + (I_{tr} - I_b) * C^n / (IC_{50}^n + C^n)$$

C为化合物测试浓度，n为斜率，I为电流

曲线拟合和抑制率计算均由Qpatch分析软件分析完成，若最低浓度下抑制率超过半数抑制或最高浓度下抑制率未达到半数抑制，则该化合物相应的IC<sub>50</sub>低于最低浓度或IC<sub>50</sub>值大于最高浓度。

2.8. 测试结果

实施例化合物 hERG IC<sub>50</sub> 值结果见表 5。

表5.实施例化合物hERG IC<sub>50</sub>值结果

| 供试样品   | hERG IC <sub>50</sub> (μM) |
|--------|----------------------------|
| 化合物 18 | >40                        |
| 化合物 25 | >40                        |

。

实验例 3：细胞色素 P450 同工酶抑制性研究

实验目的：测定受试化合物对对人肝微粒体细胞色素 P450 同工酶（CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A4）活性的抑制作用。

实验操作：首先将受试化合物（10mM）进行梯度，制备工作液（100×最终浓度），工作液浓度分别为：5,1.5,0.5,0.15,0.05,0.015,0.005 mM，同时准备 P450 同工酶（CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A4）各阳性抑制剂及其特异性底物混合物的工作液；将冷冻于-80℃冰箱的人肝微粒体置于冰上解冻，待人肝微粒体全部溶解，用 PB(磷酸缓冲液)进行稀释，制备一定浓度工作液（0.253mg/ml）；并将 20ul 底物混合液加至反应板中（Blank 孔中加入 20μl PB）同时将 158μl 人肝微粒体工作液加入反应板中，将反应板置于冰上，待用；此时将 2μl 各个浓度的受试化合物（N=1）及特异性抑制剂（N=2）加入对应孔中，无抑制剂（受试化合物或阳性抑制剂）组加入对应的有机溶剂，作为对照组样品（受试化合物对照样品为 1:1 DMSO: MeOH, 阳性对照样品为 1:9 DMSO: MeOH, ）；在 37℃水浴预孵育 10min 后，将 20μl 辅酶因子（NADPH）溶液加入反应板中，置于 37℃水浴孵育 10min；加入 400 μL 冷的乙腈溶液（内标为 200 ng/mL Tolbutamide 和 Labetalol）终止反应；将反应板置于摇床，振荡 10min；4,000rpm 离心 20min；取 200 μL 上清加至 100μL 水中，进行样品稀释；最后封板，振荡，摇匀，进行 LC/MS/MS 检测。实验结果如表 6 所示：

表 6. 受试化合物对对人肝微粒体细胞色素 P450 同工酶活性的抑制作用结果

| 化合物   | IC <sub>50</sub> (μM) |        |         |        |          |
|-------|-----------------------|--------|---------|--------|----------|
|       | CYP1A2                | CYP2C9 | CYP2C19 | CYP2D6 | CYP3A4-M |
| 化合物 2 | >50                   | >50    | >50     | >50    | >50      |

|        |     |     |     |     |     |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 化合物 17 | >50 | >50 | >50 | >50 | >50 |
| 化合物 18 | >50 | >50 | >50 | >50 | >50 |
| 化合物 25 | >50 | >50 | >50 | >50 | >50 |

实验例 4：细胞毒性测试实验步骤

1. 将化合物用DMSO（二甲基亚砜）以3倍梯度稀释9个点，双复孔，加入96孔板中。化合物浓度为最终测试浓度的200倍。
2. 将细胞用PBS（磷酸盐缓冲液）润洗一遍，加入0.25%的胰酶在37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中消化约2-5分钟后，用细胞培养基终止消化，并用枪吹打将细胞分散成单细胞。
3. 用细胞计数仪计数细胞密度，并用培养基将细胞密度调整到所需要的密度。
4. 将细胞加入到已经加好化合物的96孔板中，每孔中DMSO的终浓度为0.5%。以含0.5%DMSO的细胞孔为无毒性阴性对照，以细胞培养液孔为100%细胞毒性对照。然后将细胞板放置于37℃、5% CO<sub>2</sub>细胞培养箱内培养3天。
5. 用细胞活力检测试剂盒CellTiter-Glo，按试剂盒说明书，用多功能酶标仪Envision检测细胞板中各孔的化学发光信号（RLU，相对化学发光单位）。
6. 将原始数据（RLU）代入下面的公式，计算测试各孔的细胞活力（细胞活力%）：

$$\text{细胞活力}\% = \frac{(RLU_{\text{Sample}} - \text{Average}RLU_{\text{Mediumcontrol}})}{(\text{Average}RLU_{\text{Cellcontrol}} - \text{Average}RLU_{\text{Mediumcontrol}})} \times 100\%$$

$RLU_{\text{Sample}}$  为样品孔的信号值； $\text{Average}RLU_{\text{Cellcontrol}}$  为细胞对照孔信号平均值； $\text{Average}RLU_{\text{Mediumcontrol}}$  为培养基对照孔信号平均值。

7. 用GraphPad Prism软件，将细胞活力数据非线性拟合绘制剂量效应曲线，并得出化合物的半数细胞毒性浓度(CC<sub>50</sub>)值，结果如表7。

表 7. 半数细胞毒性浓度(CC<sub>50</sub>)值测试结果

| 化合物    | CC <sub>50</sub> (μM) |
|--------|-----------------------|
| 化合物 18 | >50                   |
| 化合物 25 | >50                   |

实验例 5：体外微粒体稳定性研究

化合物在 CD-1 小鼠和人肝微粒体中的代谢稳定性

实验目的：评定受试化合物分别在 CD-1 小鼠和人肝微粒体中的代谢稳定性

实验操作：首先将受试化合物（10mM）进行两步稀释，中间浓度为 100%甲醇稀释到 100μM，工作液浓度为磷酸钾盐缓冲液稀释到 10μM；准备 8 块 96 孔孵育板，分别命名为 T0、T5、T10、T20、T30、T60、Blank 和 NCF60；前 6 块孵育板对应的反应时间点分别为 0、5、10、20、30 和 60 分钟，Blank 板中不加入受试化合物或对照化合物，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；在 T0、

T5、T10、T20、T30、T60 和 NCF60 板上分别加入 10 $\mu$ L 受试化合物工作液和 80 $\mu$ L 微粒体工作液（肝微粒体蛋白浓度为 0.625 mg/mL），在 Blank 板中只添加微粒体工作液，然后将上述孵育板放置于 37 $^{\circ}$ C 水浴锅中预孵育大约 10 分钟；预孵育结束后，除 NCF60 板和 T0 板外，每个样品孔内添加 10  $\mu$ L NADPH 再生体系工作液以启动反应，在 NCF60 板上每孔添加 10  $\mu$ L 磷酸钾盐缓冲液；因此，在受试化合物或对照化合物的样品中，化合物、睾酮、双氯芬酸和普罗帕酮的反应终浓度为 1  $\mu$ M，肝微粒体的浓度为 0.5 mg/mL，DMSO 和乙腈在反应体系中的终浓度分别为 0.01%（v/v）和 0.99%（v/v）；孵育适当时间（如 5、10、20、30 和 60 分钟）后，分别在每个样品孔中加入 300  $\mu$ L 的终止液（含 100 ng/mL tolbutamide 和 100 ng/mL labetalol 的乙腈溶液）以终止反应；在 T0 板中先加入 300  $\mu$ L 终止液然后再加入 10  $\mu$ L NADPH 工作液；所有样品板摇匀并在离心机（3220  $\times$ g）离心 20 分钟，然后每孔取 100  $\mu$ L 上清液稀释到 300  $\mu$ L 纯水中用于液相色谱串联质谱分析。

实验结果如表 8 所示：

表 8. 受试化合物分别在 CD-1 小鼠和人肝微粒体中的代谢稳定性结果

| 化合物 | 种属      | T <sub>1/2</sub> (min) | CL <sub>int(mic)</sub><br>( $\mu$ L/min/mg) | CL <sub>int(liver)</sub><br>(mL/min/kg) |
|-----|---------|------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 17  | CD-1 小鼠 | >145                   | <9.6                                        | <38.0                                   |
|     | 人       | >145                   | <9.6                                        | <8.6                                    |
| 18  | CD-1 小鼠 | >145                   | <9.6                                        | <38.0                                   |
|     | 人       | >145                   | <9.6                                        | <8.6                                    |
| 25  | CD-1 小鼠 | >145                   | <9.6                                        | <38.0                                   |
|     | 人       | >145                   | <9.6                                        | <8.6                                    |

。

化合物在 SD 大鼠、比格犬和食蟹猴肝微粒体中的代谢稳定性

实验目的：评定受试化合物 18 和 25 分别在大鼠、比格犬和食蟹猴肝微粒体中的代谢稳定性

实验操作：首先将受试化合物（10mM）进行两步稀释，中间浓度为 100%甲醇稀释到 100 $\mu$ M，工作液浓度为磷酸钾盐缓冲液稀释到 10 $\mu$ M；准备 8 块 96 孔孵育板，分别命名为 T0、T5、T10、T20、T30、T60、Blank 和 NCF60；前 6 块孵育板对应的反应时间点分别为 0、5、10、20、30 和 60 分钟，空白板中不加入受试化合物或对照化合物，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；在 T0、T5、T10、T20、T30、T60 和 NCF60 板上分别加入 10 $\mu$ L 受试化合物工作液和 80 $\mu$ L 微粒体工作液（肝微粒体蛋白浓度为 0.625 mg/mL），在 Blank 板中只添加微粒体工作液，然后将上述孵育板放置于 37 $^{\circ}$ C 水浴锅中预孵育大约 10 分钟；预孵育结束后，除 NCF60 板和 T0 板外，每个样品孔内添加 10  $\mu$ L NADPH 再生体系工作液以启动反应，在 NCF60 板上每孔添加 10  $\mu$ L 磷酸钾盐缓冲液；因此，在受试化合物或对照化合物的样品中，化合物、睾酮、双氯芬酸和普罗帕酮的反应终浓度为 1  $\mu$ M，肝微粒体的浓度为 0.5 mg/mL，DMSO 和乙腈在反应体系中的终浓度分别为 0.01%（v/v）和 0.99%（v/v）；孵育适当时间（如 5、10、20、

30 和 60 分钟)后, 分别在每个样品孔中加入 300  $\mu\text{L}$  的终止液(含 100 ng/mL 甲苯磺丁脲和 100 ng/mL 拉贝洛尔的乙腈溶液)以终止反应; 在 T0 板中先加入 300  $\mu\text{L}$  终止液然后再加入 10  $\mu\text{L}$  NADPH 工作液; 所有样品板摇匀并在离心机(3220  $\times g$ )离心 20 分钟, 然后每孔取 100  $\mu\text{L}$  上清液稀释到 300  $\mu\text{L}$  纯水中用于液相色谱串联质谱分析。

实验结果如表 9 所示:

表 9. 受试化合物分别在 SD 大鼠、比格犬和食蟹猴肝微粒体中的代谢稳定性结果

| 化合物 | 种属    | $T_{1/2}$ (min) | $CL_{int(mic)}$<br>( $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$ ) | $CL_{int(liver)}$<br>( $\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$ ) |
|-----|-------|-----------------|-------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| 18  | SD 大鼠 | >145            | <9.6                                                              | <17.3                                                     |
| 18  | 比格犬   | >145            | <9.6                                                              | <13.8                                                     |
| 18  | 食蟹猴   | >145            | <9.6                                                              | <13.0                                                     |
| 25  | SD 大鼠 | >145            | <9.6                                                              | <17.3                                                     |
| 25  | 比格犬   | >145            | <9.6                                                              | <13.8                                                     |
| 25  | 食蟹猴   | >145            | <9.6                                                              | <13.0                                                     |

。

#### 实验例 6: 药代动力学研究

Balb/c 小鼠口服及静脉注射受试化合物的药代动力学研究:

受试化合物与 10%二甲基亚砜/60%聚乙二醇 400/30%水溶液混合, 涡旋并超声, 制备得到 0.2 mg/mL 澄清溶液, 微孔滤膜过滤后备用。选取 7 至 10 周龄的 Balb/c 雌性小鼠, 静脉注射给予候选化合物溶液, 剂量为 1 mg/kg。

受试化合物与 10%聚乙二醇硬脂酸酯水溶液混合, 涡旋并超声, 制备得到 0.3 mg/mL 澄清溶液备用。选取 7 至 10 周龄的 Balb/c 雌性小鼠, 口服给予候选化合物溶液, 剂量为 3 mg/kg。

收集全血, 制备得到血浆, 以 LC-MS/MS 方法分析药物浓度, 并用 Phoenix WinNonlin 软件计算药代参数, 结果如表 10 所示。

表 10. 受试化合物的药代动力学结果

| 剂量          | 药代动力学参数                           | 化合物 18 | 化合物 25 |
|-------------|-----------------------------------|--------|--------|
| IV(1 mg/kg) | 半衰期 $T_{1/2}$ (h)                 | 2.8    | 1.95   |
|             | 清除率 CL (ml/min/kg)                | 50.1   | 20     |
|             | 表观分布容积 $V_{dss}$ (L/kg)           | 8.8    | 3.1    |
|             | 血浆浓度-时间曲线下面积 $AUC_{0-24h}$ (nM.h) | 617    | 1488   |
| PO(3 mpk)   | 达峰时间 $T_{max}$ (h)                | 0.5    | 0.5    |
|             | 达峰浓度 $C_{max}$ (nM)               | 1460   | 1480   |
|             | 血浆浓度-时间曲线下面积 AUC (nM.h)           | 5018   | 2274   |
|             | 生物利用度 F (%)                       | 271%   | 51%    |

。

#### 实验例 7: 小鼠体内肝血比研究

Balb/c 小鼠口服受试化合物的肝血比研究

化合物 18 与 10%聚乙二醇-15 羟基硬脂酸酯水溶液混合，涡旋并超声，制备得到 0.3 mg/mL 均匀混悬液备用。选取 7 至 10 周龄的 Balb/c 雌性小鼠，口服给予候选化合物溶液，剂量为 3 mg/kg。

收集一定时间的全血，制备得到血浆，收集相应时间的肝脏组织，制备得组织均浆液，以 LC-MS/MS 方法分析药物浓度，并用 Phoenix WinNonlin 软件计算药代参数。

化合物 25 与 10%聚乙二醇-15 羟基硬脂酸酯水溶液混合，涡旋并超声，制备得到 0.3 mg/mL 澄清溶液备用。选取 7 至 10 周龄的 Balb/c 雌性小鼠，口服给予候选化合物溶液，剂量为 3 mg/kg。

收集一定时间的全血，制备得到血浆，收集相应时间的肝脏组织，制备得组织均浆液，以 LC-MS/MS 方法分析药物浓度，并用 Phoenix WinNonlin 软件计算药代参数，结果如表 11 所示。

表 11 受试化合物的肝血比结果

| 化合物                                            | 18   |       | 25   |       |
|------------------------------------------------|------|-------|------|-------|
| 基质                                             | 血浆   | 肝脏    | 血浆   | 肝脏    |
| AUC <sub>0-last</sub> (nM.h) or<br>(nmol/kg.h) | 3694 | 75412 | 3476 | 86036 |
| AUC Ratio(L/P)<br>肝脏/血浆暴露量比率                   | --   | 20.4  | --   | 24.7  |

。

实验例 8：体内药效研究

HDI/HBV 模型

实验目的：通过 HDI/HBV 小鼠模型检测化合物在小鼠体内抗乙肝病毒效果。

化合物配制：溶剂为 10%的聚乙二醇-15 羟基硬脂酸酯；将一定量的受试化合物 18 和 25 分别溶解于 10%聚乙二醇-15 羟基硬脂酸酯水溶液，涡旋并超声，制备得到均一的混悬液，保存在 4 度备用。

小鼠尾静脉高压注射 HBV 质粒 DNA 溶液：将注射质粒当天定为第 0 天，注射后 1 天为第 1 天，依此类推。在第 0 天所有动物按体重 8%的体积通过尾静脉注射含有 10μg 质粒 DNA 的生理盐水溶液，5 秒内完成注射。

给药：第 1-6 天所有动物每天灌胃给药两次（间隔时间 8/16 小时），第 7 天给药一次，所有动物在第 7 天下午安乐死。每天监控小鼠体重，整个实验过程中小鼠体重保持平稳。

样品收集：所有动物在第 1、3 和 5 天，分别在当天早上第一次给药后四小时颌下静脉采血收集血浆，所有血样收集于 K<sub>2</sub>-EDTA 抗凝管中，4℃，7000 g 离心 10 分钟，以制备约 40 μL 血浆。第 7 天所有动物在早上给药后四小时经 CO<sub>2</sub> 安乐死，心脏采血，血浆制备方法同上。收集两份肝脏组织，每份 70-100 mg，液氮速冻。样品全部收集后保存在-80℃ 冰箱进行 HBV DNA 含量的检测。

样品分析：所有的血浆样品和肝脏样品用 qPCR 法检测 HBV DNA。

实验结果：实验结果如表 12，图 1 及图 2。

表 12

|  |  |                   |
|--|--|-------------------|
|  |  | HBV-DNA reduction |
|--|--|-------------------|

| 测试化合物 | 剂量       | 血浆（第五天）<br>$\Delta \text{Log10 copies}/\mu\text{l}$ | 肝脏（第七天）<br>$\Delta \text{Log10 copies}/100 \text{ ng}$ |
|-------|----------|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 18    | 30 mg/kg | 2.84                                                | 1.99                                                   |
| 25    | 30 mg/kg | 3.57                                                | 2.36                                                   |
| 25    | 10 mg/kg | 2.0                                                 | 0.94                                                   |

°