

甾体类化合物、用途及其制备方法

技术领域

本发明涉及药物领域，具体涉及甾体类化合物、用途及其制备方法。

技术背景

神经精神疾病包括焦虑症、抑郁症、精神分裂症等等，在我国疾病总负担中排名居首位，约占疾病总负担的 20%（王俊成等，中国卫生事业管理,2009(5):348-350）。随着社会主义现代化进程的不断发展，人们工作节奏的加快和生活压力的增加，导致各类神经精神疾病患者明显增加，且症状进展明显加快，对于开发、研究和生产抗神经精神疾病的药品就显得更为紧迫。同时临床数据表明，许多患者同时被多种神经精神疾病所困扰。神经精神疾病的高共病率使得临床治疗面临更大的挑战。

在动物体内，GABA（gamma-aminobutyric acid） γ -氨基丁酸仅存在于神经组织中，免疫学研究表明，其浓度最高的区域为大脑中黑质。GABA 是目前研究较为深入的一种重要的抑制性神经递质，它参与多种代谢活动，具有很高的生理活性。GABA 系统是大脑和中枢神经系统的主要抑制信号通路，对调节中枢神经系统功能具有重要意义。GABA(A)受体(GABAAR)是一种离子性受体和配体门控离子通道。其内源性配体 γ -aminobutyric acid(GABA)，主要的抑制性神经递质在中枢神经系统。GABA(A)受体激活后，有选择地让 Cl^- 通过其孔隙。 Cl^- 在内部电压小于静息电位时流出神经元细胞，在内部电压大于静息电位(即-75mv)时流入神经元细胞。这可以成功减少动作电位发生的机会，对神经传递产生抑制作用。焦虑症和抑郁症具有极高的共病率并被认为是具有互相重叠和同现现象。焦虑和抑郁也是精神分裂症的重要情绪症状。而研究成果证实 GABA 能系统和 GABA(A)受体在这三种疾病的病因病理学中都发挥了重要作用，表明一个与 GABA 能系统相关的病理生理学过程可能是这 3 种疾病的共同决定因素之一。GABA 能系统和 GABA(A)受体在分子层面，临床前和临床层面都被证实参与了焦虑抑郁和精神分裂症中的病理过程，并且 GABA(A)受体已经被长期作为这些疾病治疗的一个重要药物靶点。

临床试验已经证实，GABA(A)受体除了与 GABA 本身结合，形成受体复合物(GRC)改变大脑兴奋性以外，还能和其他一些特定结构的小分子化合物结合，如巴比妥类（商品名速可眠）药物、苯并二氮杂卓类药物（商品名地西泮）等等，这些药物分别结合在 GABA(A)受体上特异性的变构位点上，产生其治疗上的效果。除此之外，还有研究显示 GABA(A)受体上还存在对于类固醇类（甾体类）化合物的独特的位点(Lan,N.C.等人，Neurochem.Res.16:347-356(1991))。

神经活性类固醇可内源地出现。最有效的内源性神经活性类固醇为 3α -羟基-5-还原孕

甾烷-20-酮和 3 α -21-二羟基-5-还原孕甾烷-20-酮，其分别为激素类固醇孕酮和脱氧皮质酮的代谢物。这些类固醇代谢物改变脑兴奋性的能力在 1986 年被认识到(Majewska, M.D. et al, Science 232:1004-1007(1986); Harrison, N.L. et al, J Pharmacol. Exp. Ther. 241:346-353(1987))。卵巢激素孕酮及其代谢物已被证明对脑兴奋性有深度的影响(Backstrom, T. et al, Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl. 130:19-24(1985); Pfaff, D. and McEwen, B. S., et al, Science 219:808-814(1983) ; Gyermek et al, J Med Chem. 11:117(1968) ; Lambert, J. et al, Trends Pharmacol. Sci. 8:224-227(1987))。孕酮及其代谢物的水平随着月经周期的阶段而改变。已有许多文献证明，孕酮及其代谢物的水平在月经开始之前降低。每月一次重现的在月经开始之前的一些身体症状也已被许多文献证明。已变成与经前综合征(PMS)有关的这些症状包括应激(紧张)、焦虑和偏头痛(Dalton, K., Premenstrual Syndrome and Progesterone Therapy, 2nd edition, Chicago Year book, Chicago(1984))。具有 PMS 的受试者具有每月一次重现的在经期前存在且在经期后不存在的症状。

另外的研究还发现，孕酮的减少与女性癫痫患者即月经性癫痫的发作频率的增加有关(Laidlaw, J., Lancet, 1235-1237(1956))。对于孕酮代谢物的减少，已观察到更直接的关联(Rosciszewska 等, J. Neurol. Neurosurg. Psych. 49:47-51(1986))。另外，对于具有原发性全身性小发作癫痫的患者，疾病发生率已与经前症状的发生率有关(Backstrom, T. et al, J. Psychosom. Obstet. Gynaecol. 2:8-20(1983))。已发现类固醇脱氧皮质酮在治疗具有与月经周期有关的癫痫患者方面是有效的(Aird, R. B. and Gordan, G., J. Amer. Med. Soc. 145:715-719(1951))。

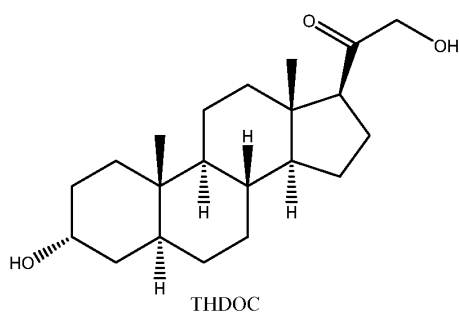
除以上病症外，产后抑郁症(PND)也与低的孕酮水平有关。在分娩之后，孕酮水平立即急剧降低，导致 PND 的发作。PND 的症状范围从轻度抑郁症到需要住院治疗的精神病。PND 也与重度焦虑和应激性(irritability)有关。PND 有关的抑郁症不能通过经典的抗抑郁药治疗，且经历 PND 的女性中出现 PMS 的概率有所增加(Dalton, K., Premenstrual Syndrome and Progesterone Therapy, 2nd edition, Chicago Year book, Chicago(1984))。这些观察结果或多或少的都暗示孕酮和脱氧皮质酮，特别是它们的代谢物在调节脑兴奋性状态中的关键作用，其相关临床适应症显示为月经性癫痫、PMS 和 PND。

很多研究基于 GABA (A) 受体进行研究，以期获得能够有效治疗相关疾病的药物，CN103958540A、CN10533928A 等公开了一系列神经类固醇化合物，用于治疗精神神经性疾病。GABA (A)： γ -氨基丁酸受体 (GABA R) 的一种亚型，GABA R 有 3 种受体亚型，包括 GABA (A)、GABA (B) 和 GABA (C)。GABA (A) 受体是一种氯离子通道。

GABA (A) 由五个亚基(多肽链)组合成一个五边形异质寡聚体结构，五个亚基中，有两对是一样的，所以一个具体的 GABA (A) 受体含有三种类型的亚基，常见的为 α 、 β 以

及 γ 。每种亚基又有几种不同的亚型,如 α 有 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 、 $\alpha 6$, β 有 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$, γ 有 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$ 、 $\gamma 4$ 。另外还有 δ 、 ϵ 、 $\rho 1-3$ 、 θ 、 π 等亚基可以与 α 、 β 一起形成五聚体。

据统计,目前共有 23 种不同亚基组合的 GABA (A) 受体。配体的具体组合形式与在大脑神经元的分布区域有一定关系。例如,含有 γ 亚基的 GABA (A) 受体主要分布在突触内,含有 δ 亚基的 GABA (A) 受体主要分布在突触外(extrasynaptic)。(Activation of GABA(A) Receptors:Views from Outside the Synaptic Cleft,Neuron. vol 56, 2007,763-770); 根据现有研究 (Endogenous neurosteroids regulate GABAA receptors through two discrete transmembrane sites: Nature . Vol 444. 23 November.2006.486-489) 显示,内源性的甾体类化合物如四氢脱氧皮质脂酮 (THDOC) 在高浓度(微摩尔级)的情况下可以直接激活突触内的受体亚型 $\alpha 1 \beta 2 \gamma 2$ (以下简称 GABA_{A1}),而在较低浓度(亚微摩尔级)的情况下,可以增强 GABA 对 $\alpha 1 \beta 2 \gamma 2$ 的作用幅度。

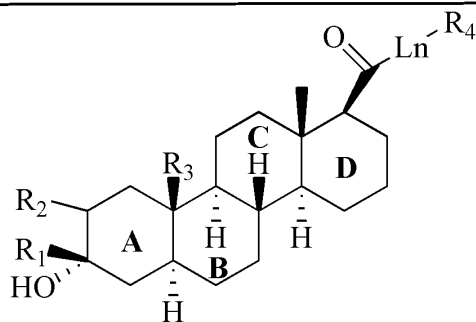


而甾体类化合物对突触外的受体亚型(例如 $\alpha 4 \beta 3 \delta$,以下简称 GABA_{A4})则未见有直接激活的报道。

发明内容

本发明目的之一是提供一种疗效更好的甾体化合物,能够更有效治疗精神神经疾病。本发明化合物预期能提供良好的活性效力、药代动力学(PK)性能、口服生物利用度、可配制性(formulatability)、稳定性、安全性、清除率和/或代谢性能、和降低麻醉、镇静等副作用等效果。

基于上述目的,本发明提供一种式 I 化合物及其药学上可接受的盐:



式 I

其中 R1 是氢，取代或未取代的 C1-6 烷基、取代或未取代的 C1-6 烷氧基、取代或未取代的 C2-6 链烯基，取代或未取代的 C2-6 炔基，或取代或未取代的 C3-6 碳环基；

R2 是氢、卤素、取代或未取代的 C1-6 烷基、取代或未取代的 C1-6 烷氧基、取代或未取代的 C2-6 烯基、取代或未取代的 C2-6 炔基、取代或未取代的 C3-6 碳环基；

R3 是氢，未取代的 C1-6 烷基或 $\text{-CH}_2\text{OR}^a$ ，其中 R^a 是氢，取代或未取代的 C1-6 烷基，取代或未取代的 C1-6 烷氧基、取代或未取代的 C2-6 烯基、取代或未取代的 C2-6 炔基、取代或未取代的 C3-6 碳环基；

L 为 -C(Rb)(Rb)- ，每个 Rb 独立地是氢或 C1-C6 烷基，n 为 0-3 的整数，

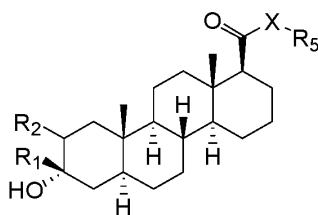
R4 是卤素或取代或未取代的杂芳基或杂环基。

进一步优选的化合物，所述 R1 是氢，取代或未取代的 C1-6 烷基；R2 是氢，取代或未取代的 C1-6 烷基；R3 是氢，未取代的 C1-6 烷基；Rb 为氢，n 为 1-2 的整数；R4 是杂芳基，且被氰基、硝基、羟基、卤基、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 卤代烷基、 -C(O)Rd 、 -C(O)N(Re)(Rf) 、 -C(O)O(Rd) 、 -N(Re)(Rf) 、 -OC(O)N(Re)(Rf) 、 -OC(O)O(Rd) 、 -OC(O)Rd 、 $\text{-S(O)}_{0-2}\text{Rd}$ 、 $\text{-S(O)}_{0-2}\text{ORd}$ 或 $\text{-S(O)}_{0-2}\text{N(Re)(Rf)}$ 任意取代；每个 Rd 是氢或 C1-C6 烷基；每个 Re 和 Rf 独立地是氢、C1-C6 烷基、碳环基、杂环基、芳基、杂芳基。

进一步优选的化合物，R1 是氢或甲基；R2 是氢；R3 是氢；L 为 CH_2 ；R4 是单环或双环杂芳基或单环或双环的杂环基，其中杂原子是氧或氮或硫，所述双环选自螺环或稠环。

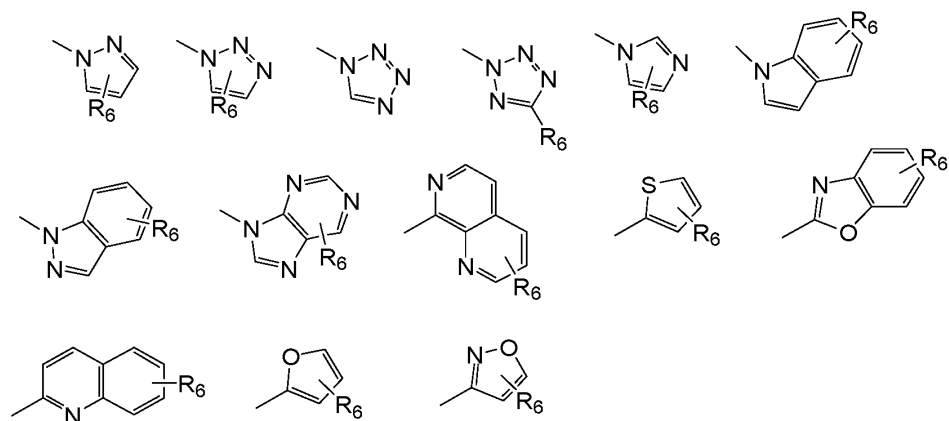
进一步优选的化合物，所述 R4 为包含 2-4 个氮原子的 5 元或 6 元杂芳基，且被氰基、硝基、羟基、卤基、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 卤代烷基任意取代。

或者如式 II 化合物所示：



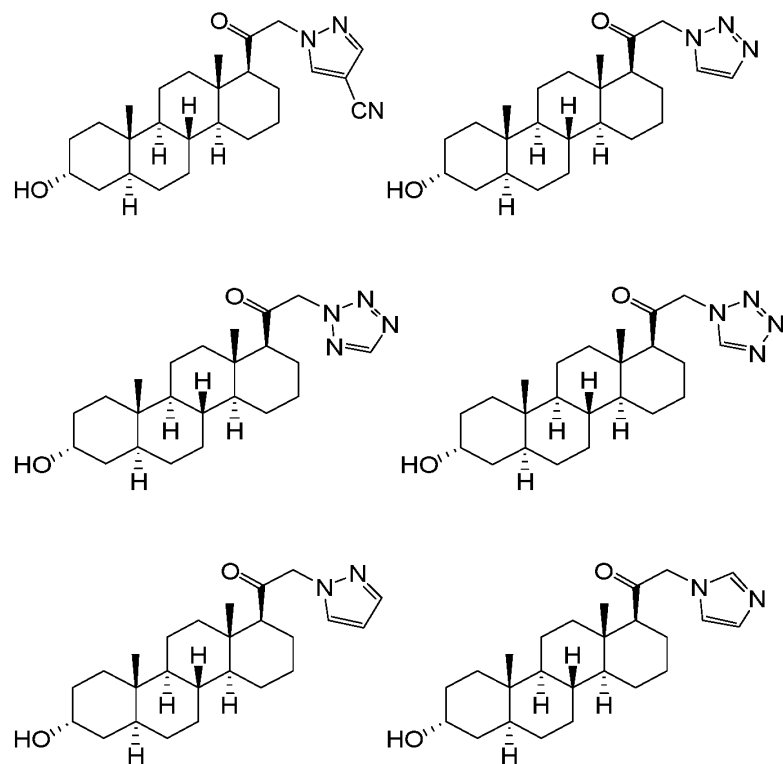
式 11

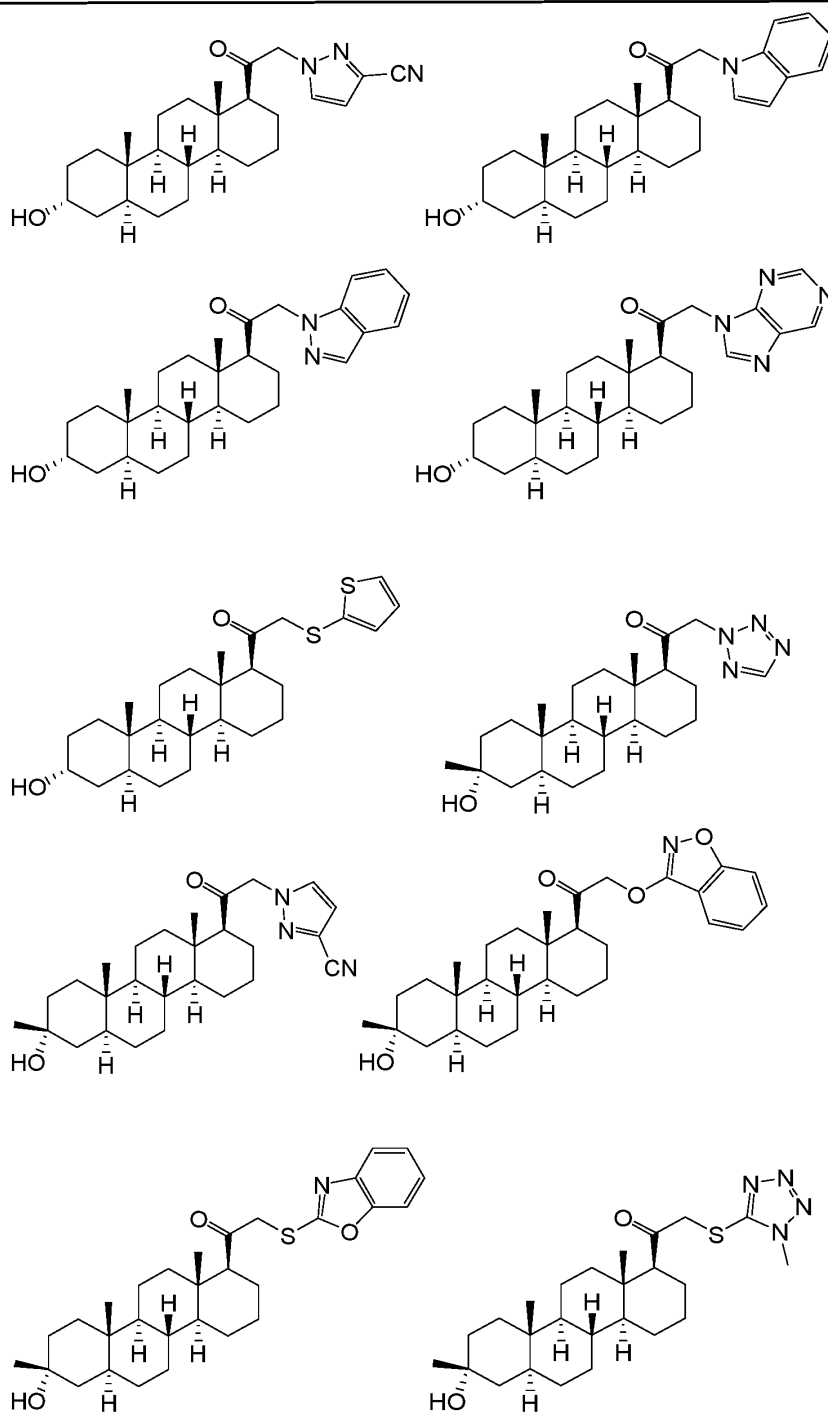
其中，R1 是氢，被卤素取代或未取代的 C1-3 烷基；R2 是氢、卤素、被卤素取代或未取代的 C1-6 烷基或 C1-6 烷氧基；X 是 CH₂、N、O 或 S；R5 选自如下基团：

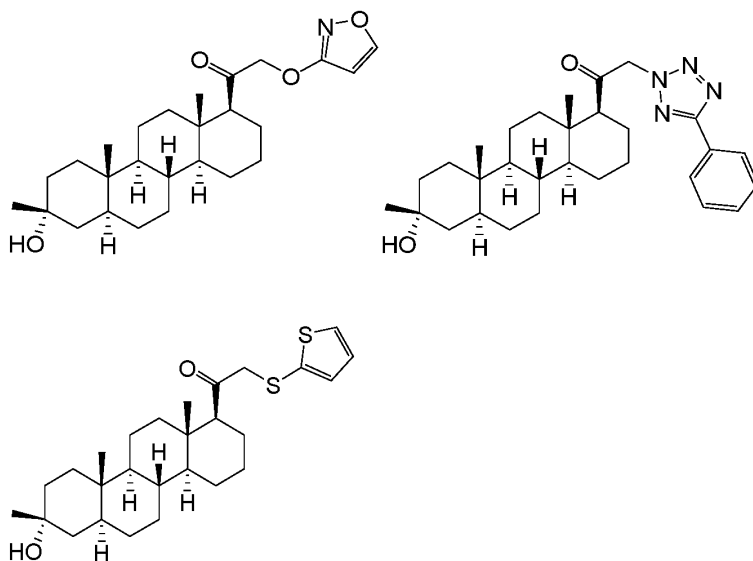


其中 R6 为 H、卤素、CN、CF₃、NO₂、被卤素取代或未取代的 C1-6 的烷基或 C1-6 的烷氧基。

或者，本发明化合物优选自：







本发明还提供一种药物组合物，其包括上述任一的化合物或其可药用盐，以及药学上可用的赋形剂。

本文描述的化合物可以充当 GABA 调节剂，例如，以正的或负的方式影响 GABA (A) 受体。作为中枢神经系统(CNS)的兴奋性的调节剂，当通过其调节 GABA (A) 受体的能力介导时，预期这样的化合物具有 CNS 活性。

本发明还进一步提供了上述化合物或药物组合物的在用于制备预防或治疗神经系统疾病药物中的用途；其中所述神经系统疾病优选自：睡眠障碍、心境障碍、精神分裂症谱系障碍、痉挛性障碍、记忆障碍和/或认知障碍、运动障碍、人格障碍、自闭症谱系障碍、疼痛、外伤性脑损伤、血管疾病、物质滥用障碍和/或截断综合症或耳鸣；所述心境障碍为抑郁症；其中抑郁症为破坏性心境失调障碍、重性抑郁障碍、持续性抑郁障碍、经前期烦躁障碍、物质或药物所致的障碍、由其它躯体疾病所致的障碍、其它特定的抑郁障碍和未特定的抑郁障碍，优选轻度抑郁、中度抑郁、重度抑郁或产后抑郁。进一步优选重度抑郁或产后抑郁。且上述化合物或药物组合物能通过口服、皮下、静脉或肌肉内给药等方式给药。

定义

化学定义

本文描述的化合物可包括一个或多个不对称中心，且因此可以存在多种异构体形式，例如，对映异构体和/或非对映异构体形式。例如，本文描述的化合物可为单独的对映异构体、非对映异构体或几何异构体，或者可为立体异构体的混合物的形式，包括外消旋混合物和富含一种或多种立体异构体的混合物。异构体可通过本领域技术人员已知的方法从混合物中分离，所述方法包括：手性高压液相色谱法(HPLC)以及手性盐的形成和结晶；或者优选的异构

体可通过不对称合成来制备。

下列术语意图具有下面随其提供的含义，并且在理解本发明的说明书和预期范围中是有用的。当描述本发明时，可以包括化合物、含有该化合物的药物组合物，以及该化合物和组合物的试验方法。本发明中涉及的术语定义可以参照下面的描述，任何下面所定义的部分可以被许多取代基取代，而且相应的定义在下面列出的它们的范围内，包括这种取代部分。除非另作说明，术语“取代”如下面所定义。

“烷基”是指具有 1 至 20 个碳原子的直链或支链饱和烃基团(“C 1-20 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 12 个碳原子(“C 1-12 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 10 个碳原子(“C 1-10 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 9 个碳原子(“C 1-9 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 8 个碳原子(“C 1-8 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 7 个碳原子(“C 1-7 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 6 个碳原子(“C 1-6 烷基”，本文还指的是“低级烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 5 个碳原子(“C 1-5 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 4 个碳原子(“C 1-4 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 3 个碳原子(“C 1-3 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 至 2 个碳原子(“C 1-2 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 1 个碳原子(“C 1 烷基”)。在一些实施方案中，烷基具有 2 至 6 个碳原子(“C 2-6 烷基”)。C 1-6 烷基的例子包括：甲基(C 1)、乙基(C 2)、正丙基(C 3)、异丙基(C 3)、正丁基(C 4)、叔丁基(C 4)、仲丁基(C 4)、异丁基(C 4)、正戊基(C 5)、3-戊基(C 5)、戊基(C 5)、新戊基(C 5)、3-甲基-2-丁基(C 5)、叔戊基(C 5)和正己基(C 6)。烷基的其它例子包括正庚基(C 7)、正辛基(C 8)，等等。除非另作说明，否则，烷基的每个独立地任选被取代，即，未取代的(“未取代的烷基”)或被一个或多个取代基取代(“取代的烷基”)；例如，1 至 5 个取代基、1 至 3 个取代基或 1 个取代基。在一些实施方案中，所述烷基是未取代的 C 1-10 烷基(例如，-CH₃)。在一些实施方案中，烷基是取代的 C 1-10 烷基。

“烯基”是指具有 2 至 20 个碳原子、一个或多个碳-碳双键(例如，1、2、3 或 4 个碳-碳双键)以及任选一个或多个碳-碳叁键(例如，1、2、3 或 4 个碳-碳叁键)的直链或支链烃基团(“C 2-20 烯基”)。在一些实施方案中，烯基不含有任何叁键。在一些实施方案中，烯基具有 2 至 10 个碳原子(“C 2-10 烯基”)。在一些实施方案中，烯基具有 2 至 9 个碳原子(“C 2-9 烯基”)。在一些实施方案中，烯基具有 2 至 8 个碳原子(“C 2-8 烯基”)。在一些实施方案中，烯基具有 2 至 7 个碳原子(“C 2-7 烯基”)。在一些实施方案中，烯基具有 2 至 6 个碳原子(“C 2-6 烯基”)。在一些实施方案中，烯基具有 2 至 5 个碳原子(“C 2-5 烯基”)。在一些实施方案中，烯基具有 2 至 4 个碳原子(“C 2-4 烯基”)。在一些实施方案中，烯基具有 2 至 3 个碳原子(“C 2-3 烯基”)。在一些实施方案中，烯基具有 2 个碳原子(“C 2 烯基”)。一个或多个碳-碳双键可以在内部(例

如，在 2-丁烯基中)或端部(例如，在 1-丁烯基中)。C 2-4 烯基的例子包括：乙烯基(C 2)、1-丙烯基(C 3)、2-丙烯基(C 3)、1-丁烯基(C 4)、2-丁烯基(C 4)、丁二烯基(C 4)，等等。C 2-6 烯基的例子包括：上述的 C 2-4 烯基，以及戊烯基(C 5)、戊二烯基(C 5)、己烯基(C 6)，等等。烯基的其它例子包括：庚烯基(C 7)、辛烯基(C 8)，辛三烯基(C 8)，等等。除非另作说明，否则，烯基的每个独立地任选被取代，即，未取代的(“未取代的烯基”)或被一个或多个取代基取代(“取代的烯基”)；例如，1 至 5 个取代基、1 至 3 个取代基或 1 个取代基。在一些实施方案中，烯基是未取代的 C 2-10 烯基。在一些实施方案中，烯基是取代的 C 2-10 烯基。

“炔基”是指具有 2 至 20 个碳原子、一个或多个碳-碳叁键(例如，1、2、3 或 4 个碳-碳叁键)以及任选一个或多个碳-碳双键(例如，1、2、3 或 4 个碳-碳双键)的直链或支链烃基团(“C 2-20 炔基”)。在一些实施方案中，炔基不含有任何双键。在一些实施方案中，炔基具有 2 至 10 个碳原子(“C 2-10 炔基”)。在一些实施方案中，炔基具有 2 至 9 个碳原子(“C 2-9 炔基”)。在一些实施方案中，炔基具有 2 至 8 个碳原子(“C 2-8 炔基”)。在一些实施方案中，炔基具有 2 至 7 个碳原子(“C 2-7 炔基”)。在一些实施方案中，炔基具有 2 至 6 个碳原子(“C 2-6 炔基”)。在一些实施方案中，炔基具有 2 至 5 个碳原子(“C 2-5 炔基”)。在一些实施方案中，炔基具有 2 至 4 个碳原子(“C 2-4 炔基”)。在一些实施方案中，炔基具有 2 至 3 个碳原子(“C 2-3 炔基”)。在一些实施方案中，炔基具有 2 个碳原子(“C 2 炔基”)。一个或多个碳叁键可以在内部(例如，在 2-丁炔基中)或端部(例如，在 1-丁炔基中)。C 2-4 炔基的例子包括但不限于：乙炔基(C 2)、1-丙炔基(C 3)、2-丙炔基(C 3)、1-丁炔基(C 4)、2-丁炔基(C 4)，等等。C 2-6 炔基的例子包括：上述 C 2-4 炔基，以及戊炔基(C 5)、己炔基(C 6)，等等。炔基的其它例子包括庚炔基(C 7)、辛炔基(C 8)，等等。除非另作说明，否则，炔基的每个独立地任选被取代，即，未取代的(“未取代的炔基”)或被一个或多个取代基取代(“取代的炔基”)；例如，1 至 5 个取代基、1 至 3 个取代基或 1 个取代基。在一些实施方案中，炔基是未取代的 C 2-10 炔基。在一些实施方案中，炔基是取代的 C 2-10 炔基。

“芳基”是指具有提供在芳族环系中的 6-14 个环碳原子和零个杂原子的单环或多环的(例如，双环或三环) $4n+2$ 芳族环体系(例如，具有以环状排列共享的 6、10 或 14 个 π 电子)的基团(“C 6-14 芳基”)。在一些实施方案中，芳基具有六个环碳原子(“C 6 芳基”；例如，苯基)。在一些实施方案中，芳基具有十个环碳原子(“C 10 芳基”；例如，萘基，例如，1-萘基和 2-萘基)。在一些实施方案中，芳基具有十四个环碳原子(“C 14 芳基”；例如，蒽基)。“芳基”还包括这样的环系统，在这种环系统中，上述芳基环与一个或多个碳环基或杂环基稠合，其中，原子团或连接点在所述芳基环上，在这种情况下，碳原子的数目继续表示所述芳基环系统中的碳原子数目。典型的芳基包括但不限于衍生自以下的基团：醋蒽烯、茕烯、醋菲烯

(acephenanthrylene)、蒽、蒽、苯、晕苯、荧蒽、苈、并六苯、茚满、茚、萘、并八苯、辛芬、辛搭烯、卵苯、戊-2,4-二烯、并五苯、戊搭烯、戊芬、茺、非那烯、菲、茈、七曜烯、茺、皮蒽、玉红省、苯并菲和联三萘。具体地说，芳基包括苯基、萘基、茚基和四氢萘基。除非另作说明，否则，芳基的每个独立地任选被取代，即，未取代(“未取代的芳基”)或被一个或多个取代基取代(“取代的芳基”)。在一些实施方案中，芳基是未取代的 C 6-14 芳基。在一些实施方案中，芳基是取代的 C 6-14 芳基。在一些实施方案中，芳基被一个或多个选自卤素、C 1-C 8 烷基、C 1-C 8 卤代烷基、氰基、羟基、C 1-C 8 烷氧基和氨基的基团取代。

“杂芳基”是指具有提供在芳族环系中的环碳原子和 1-4 个环杂原子的 5-10 元单环或双环的 $4n+2$ 芳族环体系(例如，具有以环状排列共享的 6 或 10 个 π 电子)的基团，其中每个杂原子独立地选自氮、氧和硫(“5-10 元杂芳基”)。在含有一个或多个氮原子的杂芳基中，只要化合价允许，连接点可以是碳或氮原子。杂芳基双环系统在一个或两个环中可以包括一个或多个杂原子。“杂芳基”包括其中上述杂芳基环与一个或多个碳环基或杂环基稠合的环系，其中，连接点在杂芳基环上，且在这样的情况中，环成员的数目继续表示杂芳基环系中环成员的数目。“杂芳基”还包括其中上述杂芳基环与一个或多个芳基稠合的环系，其中，连接点在芳基或杂芳基环上，且在这样的情况中，环成员的数目表示稠合(芳基/杂芳基)环系中环成员的数目。其中一个环不包含杂原子的双环杂芳基(例如，吡啶基、喹啉基、呋喃基等)，连接点可在任一环上，即，带有杂原子的环(例如，2-吡啶基)或不包含杂原子的环(例如，5-吡啶基)上。在一些实施方案中，杂芳基是具有环碳原子和 1-4 个环杂原子(存在于芳香环系中)的 5-10 元芳香环系，其中，每个杂原子独立地选自氮、氧和硫(“5-10 元杂芳基”)。在一些实施方案中，杂芳基是具有环碳原子和 1-4 个环杂原子(存在于芳香环系中)的 5-8 元芳香环系，其中，每个杂原子独立地选自氮、氧和硫(“5-8 元杂芳基”)。在一些实施方案中，杂芳基是具有环碳原子和 1-4 个环杂原子(存在于芳香环系中)的 5-6 元芳香环系，其中，每个杂原子独立地选自氮、氧和硫(“5-6 元杂芳基”)。在一些实施方案中，5-6 元杂芳基具有 1-3 个选自氮、氧和硫的环杂原子。在一些实施方案中，5-6 元杂芳基具有 1-2 个选自氮、氧和硫的环杂原子。在一些实施方案中，5-6 元杂芳基具有 1 个选自氮、氧和硫的环杂原子。除非另作说明，否则，杂芳基的每个独立地任选被取代的，即，未取代(“未取代的杂芳基”)或被一个或多个取代基取代(“取代的杂芳基”)。在一些实施方案中，杂芳基是未取代的 5-14 元杂芳基。在一些实施方案中，杂芳基是取代的 5-14 元杂芳基。含有一个杂原子的 5 元杂芳基包括但不限于：吡咯基、呋喃基和噻吩基。含有两个杂原子的 5 元杂芳基包括但不限于：咪唑基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基和异噻唑基。含有三个杂原子的 5 元杂芳基包括但不限于：三唑基、噁二唑基和噻二唑基。含有四个杂原子的 5 元杂芳基包括但不限于：四唑基。含有一个杂原子的 6 元杂芳基

包括但不限于：吡啶基。含有两个杂原子的 6 元杂芳基包括但不限于：哒嗪基、嘧啶基和吡嗪基。含有三个或四个杂原子的 6 元杂芳基分别包括但不限于：三嗪基和四嗪基。含有一个杂原子的 7 元杂芳基包括但不限于：氮杂环庚三烯基、氧杂环庚三烯基和硫杂环庚三烯基。5,6-双环杂芳基包括但不限于：吡啶基、异吡啶基、吡啶基、苯并三唑基、苯并噻吩基、异苯并噻吩基、苯并呋喃基、苯并异呋喃基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并噻二唑基、苯并噻唑基、苯并异噻唑基、苯并噻二唑基、茚嗪基和嘌呤基。6,6-双环杂芳基包括但不限于：萘基、喹啉基、喹啉基、异喹啉基、噌琳基、喹喔琳基、酞嗪基和喹唑啉基。

“碳环基”或“碳环”是指在非芳香环系中具有 3 至 10 个环碳原子和零个杂原子的非芳香环基团(“C 3-10 碳环基”)。在一些实施方案中,碳环基具有 3 至 8 个环碳原子(“C 3-8 碳环基”)。在一些实施方案中,碳环基具有 3 至 6 个环碳原子(“C 3-6 碳环基”)。在一些实施方案中,碳环基具有 3 至 6 个环碳原子(“C 3-6 碳环基”)。在一些实施方案中,碳环基具有 5 至 10 个环碳原子(“C 5-10 碳环基”)。示例性的 C 3-6 碳环基包括但不限于:环丙基(C 3)、环丙烯基(C 3)、环丁基(C 4)、环丁烯基(C 4)、环戊基(C 5)、环戊烯基(C 5)、环己基(C 6)、环己烯基(C 6)、环己二烯基(C 6),等等。示例性的 C 3-8 碳环基包括但不限于:上述 C 3-6 碳环基,以及环庚基(C 7)、环庚烯基(C 7)、环庚二烯基(C 7)、环庚三烯基(C 7)、环辛基(C 8)、环辛烯基(C 8)、二环[2.2.1]庚基(C 7)、二环[2.2.2]辛基(C 8),等等。示例性的 C 3-10 碳环基包括但不限于:上述 C 3-8 碳环基,以及环壬基(C 9)、环壬烯基(C 9)、环癸基(C 10)、环癸烯基(C 10)、八氢-1H-茚基(C 9)、十氢萘基(C 10)、螺[4.5]癸基(C 10),等等。正如前述实例所说明的那样,在一些实施方案中,碳环基为单环(“单环碳环基”)或包含稠环体系、桥环体系或螺环体系的碳环基,例如双环体系(“双环碳环基”),且可为饱和的或者可为部分不饱和的碳环基。“碳环基”还包括其中上述碳环基环与一个或多个芳基或杂芳基稠合的环体系,其中,连接点在碳环基环上,且在这样的情况中,碳的数目继续表示碳环体系中的碳的数目。除非另作说明,否则,碳环基的每个独立地为任选取代的,即,未取代的(“未取代的碳环基”)或被一个或多个取代基取代(“取代的碳环基”)。在一些实施方案中,碳环基是未取代的 C 3-10 碳环基。在一些实施方案中,碳环基是取代的 C 3-10 碳环基。在一些实施方案中,“碳环基”是具有 3 至 10 个环碳原子的单环的饱和碳环基(“C 3-10 环烷基”)。在一些实施方案中,环烷基具有 3 至 8 个环碳原子(“C 3-8 环烷基”)。在一些实施方案中,环烷基具有 3 至 6 个环碳原子(“C 3-6 环烷基”)。在一些实施方案中,环烷基具有 5 至 6 个环碳原子(“C 5-6 环烷基”)。在一些实施方案中,环烷基具有 5 至 10 个环碳原子(“C 5-10 环烷基”)。C 5-6 环烷基的例子包括环戊基(C 5)和环己基(C 6)。C 3-6 环烷基的例子包括上述 C 5-6 环烷基,以及环丙基(C 3)和环丁基(C 4)。C 3-8 环烷基的例子包括上述 C 3-6 环烷基,以及环庚基(C 7)和环辛基(C 8)。除非另作说明,

否则，环烷基的每种情况独立地是未取代的(“未取代的环烷基”)或被一个或多个取代基取代(“取代的环烷基”)。在一些实施方案中，环烷基是未取代的 C 3-10 环烷基。在一些实施方案中，环烷基是取代的 C 3-10 环烷基。

“杂环基”或“杂环”是指具有环碳原子和 1 至 4 个环杂原子的 3 至 10 元非芳香环系的原子团，其中，每个杂原子独立地选自氮、氧、硫、硼、磷和硅(“3-10 元杂环基”)。在包含一个或多个氮原子的杂环基中，只要化合价允许，连接点可为碳或氮原子。杂环基可为单环的(“单环杂环基”)或稠环体系、桥环体系或螺环体系，例如双环体系(“双环杂环基”)，且可为饱和的或者可为部分不饱和的杂环基。杂环基双环系统在一个或两个环中可以包括一个或多个杂原子。“杂环基”还包括其中上述杂环基环与一个或多个碳环基稠合的环体系，其中，连接点在碳环基或杂环基环上，或其中上述杂环基环与一个或多个芳基或杂芳基稠合的环体系，其中，连接点在杂环基环上，且在这样的情况下，环成员的数目继续表示在杂环基环体系中环成员的数目。除非另作说明，否则，杂环基的每个独立地为任选地取代的，即，未取代的(“未取代的杂环基”)或被一个或多个取代基取代(“取代的杂环基”)。在一些实施方案中，杂环基是未取代的 3-10 元杂环基。在一些实施方案中，杂环基是取代的 3-10 元杂环基。在一些实施方案中，杂环基为具有环碳原子和 1-4 个环杂原子的 5-10 元非芳香环系，其中，每个杂原子独立地选自氮、氧、硫、硼、磷和硅(“5-10 元杂环基”)。在一些实施方案中，杂环基为具有环碳原子和 1-4 个环杂原子的 5-8 元非芳香环系，其中，每个杂原子独立地选自氮、氧和硫(“5-8 元杂环基”)。在一些实施方案中，杂环基为具有环碳原子和 1-4 个环杂原子的 5-6 元非芳香环系，其中，每个杂原子独立地选自氮、氧和硫(“5-6 元杂环基”)。在一些实施方案中，5-6 元杂环基具有 1-3 个选自氮、氧和硫的环杂原子。在一些实施方案中，5-6 元杂环基具有 1-2 个选自氮、氧和硫的环杂原子。在一些实施方案中，5-6 元杂环基具有一个选自氮、氧和硫的环杂原子。

“杂”当用于描述化合物或存在于化合物上的基团时，是指所述化合物或基团中的一个或多个碳原子已被氮、氧或硫杂原子替代。杂可应用于上述任何烃基：例如，烷基，例如，杂烷基；环烷基，例如，杂环基；芳基，例如，杂芳基；环烯基，例如，环杂烯基等等；其具有 1 至 5 个杂原子，尤其是 1 至 3 个杂原子。

“烷氧基”是指基团-OR，其中，R 为取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、取代或未取代的碳环基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。具体烷氧基是甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基、正己氧基和 1,2-二甲基丁氧基。具体烷氧基是低级烷氧基，即，具有 1 至 6 个碳原子。进一步的具体烷氧基具有 1-4 个碳原子。示例性的“取代的烷氧基”

包括但不限于： $-\text{O}-(\text{CH}_2)_t(\text{C}_6-\text{C}_{10} \text{ 芳基})$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_t(5-10 \text{ 元杂芳基})$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_t(\text{C}_3-\text{C}_{10} \text{ 环烷基})$ 和 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_t(4-10 \text{ 元杂环基})$ ，其中 t 为 0 至 4 的整数，且存在的任何芳基、杂芳基、环烷基或杂环基本身可被未取代的 C_1-C_4 烷基、卤素、未取代的 C_1-C_4 烷氧基、未取代的 C_1-C_4 卤代烷基、未取代的 C_1-C_4 羟基烷基、或未取代的 C_1-C_4 卤代烷氧基或羟基取代。

“羧基”是指基团 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 。

“氰基”是指基团 $-\text{CN}$ 。

“卤代”或“卤素”是指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)和碘(I)。在一些实施方案中，卤素基团是氟或氯。

“羟基”是指基团 $-\text{OH}$ 。

“硝基”是指基团 $-\text{NO}_2$ 。

其它定义

术语“药学上可接受的盐”是指，在可靠的医学判断范围内，适合与人和低等动物的组织接触而没有过度毒性、刺激性、变态反应等等，并且与合理的益处/危险比例相称的那些盐。可药用盐在本领域是众所周知的。例如，Berge 等人在 *J.Pharmaceutical Sciences*(1977)66:1-19 中详细描述的可药用盐。本发明化合物的可药用盐包括衍生自合适无机和有机酸和碱的盐。可药用无毒酸加成盐的例子是氨基与无机酸形成的盐，例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸，或与有机酸形成的盐，例如乙酸、草酸、马来酸、酒石酸、枸橼酸、琥珀酸或丙二酸，或使用本领域使用的方法形成的盐，例如，离子交换方法。其它可药用盐包括：己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、重硫酸盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、甘油磷酸盐、葡糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酯酸盐、过硫酸盐、3-苯丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、特戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐，等等。衍生自合适的碱的可药用盐包括碱金属、碱土金属、铵和四烷基铵盐。代表性的碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁盐，等等。如果合适的话，进一步的可药用盐包括使用反离子形成的无毒的铵盐、季铵盐和胺阳离子，反离子例如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、低级烷基磺酸根和芳基磺酸根。

附图说明

附图 1 为对照品血浆及脑含量随时间变化图

附图 2 为 KH022 血浆及脑含量随时间变化图

具体实施方式

为了更好的解释本发明的技术方案，本发明提供部分化合物的合成或生物学实施例，并不是对发明保护范围的进一步限定。

原料和方法

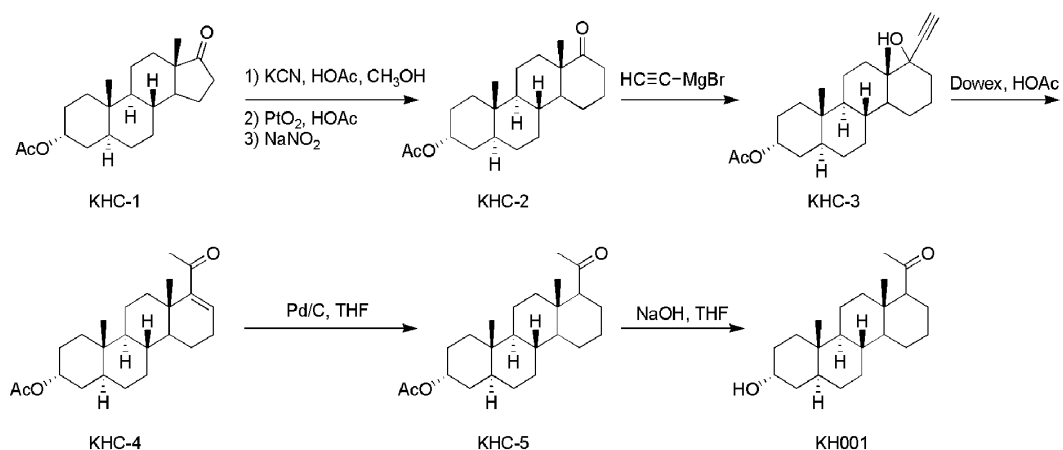
使用下列一般方法和工艺，由容易获得的起始原料可以制备本文提供的化合物。应理解，在给予的典型的或优选的工艺条件下(即，反应温度、时间、反应物的摩尔比、溶剂、压力，等等)，还可以使用其它工艺条件，除非另有说明。最佳反应条件可以随所使用的具体反应物或溶剂而变化，但这种条件可以由本领域技术人员通过常规优化来确定。

另外，对本领域技术人员显而易见的是，可能需要常规保护基，以防止某些官能团进行不希望的反应。对于具体官能团的合适保护基团以及对于保护和脱保护的合适条件的选择在本领域中是公知的。

本文提供的化合物可通过已知的标准方法分离和纯化。这种方法包括 (但不限于)重结晶、柱色谱法、HPLC 或超临界流体色谱法(SFC)。关于本文列出的代表性的吡唑的制备细节，提供下列反应路线。本文提供的化合物，可通过有机合成领域的技术人员由已知的或商购的原料和试剂制备。

本发明化合物可按照本领域描述的方法，并使用合适的试剂、原料和本领域技术人员已知的纯化方法制备。

实施例 1 化合物 KH001 的合成



化合物 KHC-2: 向化合物 KHC-1 (100.0 g, 0.3 mol) 的甲醇溶液中 (4 L) 分别加入氰化

钾 (600.0 g, 9.2 mol), 醋酸 (640 mL), 反应室温搅拌过夜。然后将反应溶液倒入水中, 乙酸乙酯萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 并真空浓缩, 得到的粗品溶于醋酸 (2.5 L) 中, 向反应液中加入二氧化铂 (24.0 g, 0.1 mol), 用氢气氢化。TLC 显示反应完成, 将反应液过滤, 滤液浓缩约 200 mL, 加入 2.4 L 冰水稀释, 向混合液中慢慢滴加亚硝酸钠 (46.0 g, 0.7 mol) 水溶液, 加入完成后, 室温搅拌 15 小时。然后用乙酸乙酯萃取, 将合并的有机层用盐水洗涤, 干燥, 浓缩, 将粗品用硅胶柱色谱纯化, 得到化合物 KHC-2 (57.3 g, 产率 55%)

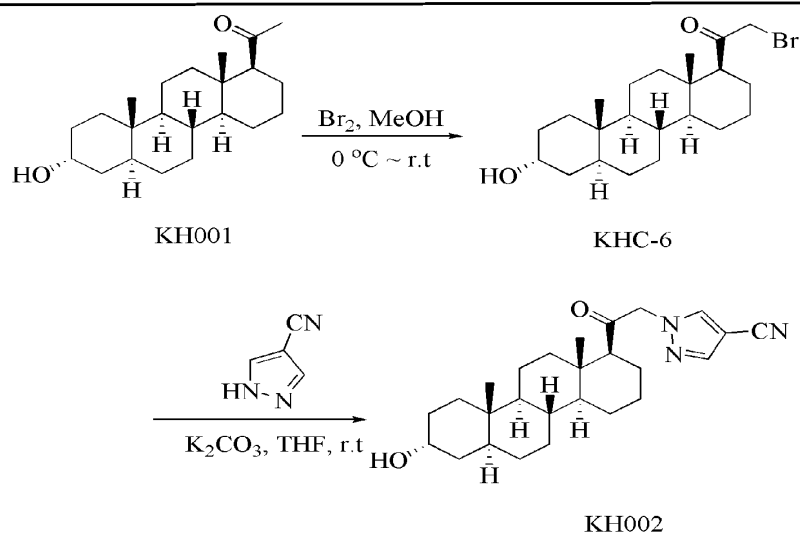
化合物 KHC-3: 在氮气氛围下, 在 -78 °C, 将乙炔基溴化镁 (395 mL, 0.5 M) 逐滴加入到化合物 KHC-2 (57.3 g, 164.5 mmol) 的四氢呋喃溶液中 (1 L), 然后逐渐升至室温, 在室温搅拌过夜。将饱和氯化铵水溶液慢慢地滴加到上述混合物中, 然后用乙酸乙酯萃取, 有机相用盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得到的粗品用硅胶柱色谱纯化, 得到化合物 KHC-3 (33.7 g, 产率 55%)

化合物 KHC-4: 将化合物 KHC-3 (33.7 g, 90.5 mmol) 溶于混合溶剂醋酸 (200 mL) 和水 (20 mL) 中, 然后加入 Dowex-50 (10.0 g) 加热回流反应。监测反应完全后, 冷却至室温, 将树脂过滤, 乙酸乙酯洗涤, 滤液用 40% 的氢氧化钠水溶液中和, 有机层用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得到的粗品用硅胶柱色谱纯化, 得到化合物 KHC-4 (23.6 g, 产率 70%)

化合物 KHC-5: 将化合物 KHC-4 (23.6 g, 63.3 mmol) 和钯黑 (1.2 g) (在四氢呋喃 (200 mL) 中) 用氢气氢化, 在室温搅拌过夜后, 通过硅藻土垫过滤该混合物, 乙酸乙酯洗涤, 并将滤液真空浓缩, 提供粗品化合物。用丙酮重结晶, 得到化合物 KHC-5 (19.0 g, 产率 80%)

化合物 KH001: 向化合物 KHC-5 (19.0 g, 50.8 mmol) 的四氢呋喃 (200 mL) 中缓慢滴加氢氧化钠水溶液 (50 mL, 1 M)。在室温搅拌过夜后, 用稀盐酸调节 pH, 用乙酸乙酯萃取, 有机相用盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得到的粗品用硅胶柱色谱纯化, 得到化合物 KHC (13.5 g, 产率 80%) ¹H NMR(400MHz, CDCl₃), δ 4.06 (s, 1H), 2.32-2.28 (dd, 1H), 2.15 (s, 3H), 1.84-1.77 (m, 2H), 1.74-1.61 (m, 5H), 1.61-1.54 (m, 3H), 1.48-1.46 (m, 1H), 1.33-1.14 (m, 10H), 1.02-0.95 (m, 1H), 0.93 (s, 3H), 0.85-0.79 (m, 3H), 0.75 (s, 3H).

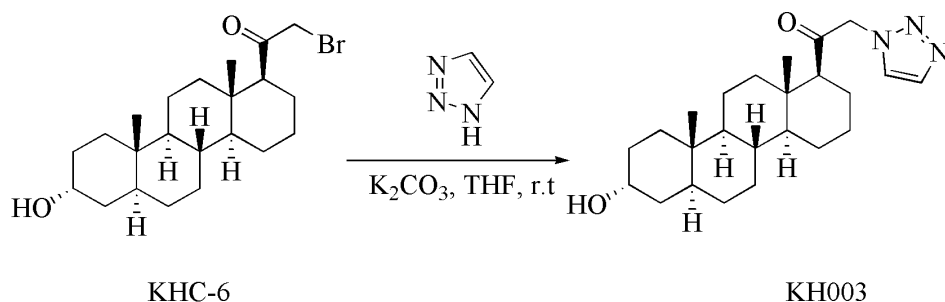
实施例 2 化合物 KH002 的合成



化合物 KHC-6: 将实施例 1 中合成的化合物 KH001 (1.5 g, 4.5 mmol), 溶于甲醇 (40 mL) 至澄清, 在冰浴下搅拌冷却至内温 5℃, 然后缓慢滴加溴素 (1.5 g, 9.2 mmol)。撤去冰浴, 室温反应 4 小时, 反应液橙色变成淡黄色, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 30 mL, 用乙酸乙酯 (2*35 mL) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得淡黄色固体粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (二氯甲烷洗脱), 得白色固体 (1.0 g, 56.7%)。

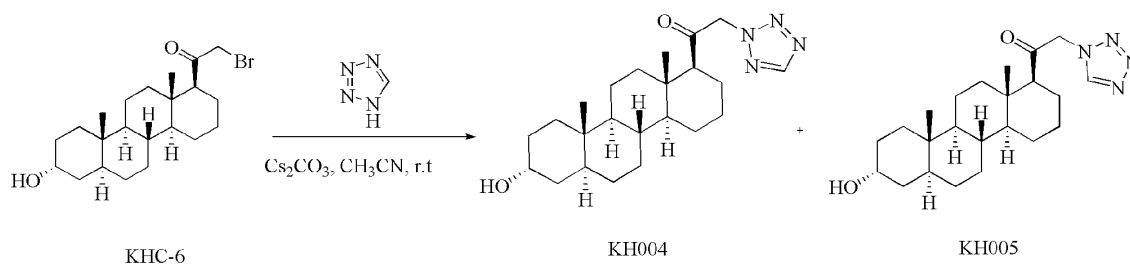
化合物 KH002: 化合物 KHC-6 (80 mg, 0.2 mmol), 溶于四氢呋喃 (5 mL) 至澄清, 加入 K₂CO₃ (83 mg, 0.6 mmol) 和 4-氰基吡唑 (56 mg, 0.6 mmol), 室温反应过夜。TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得淡黄色固体粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (二氯甲烷/甲醇=100:1 洗脱) 然后重结晶 (乙酸乙酯/石油醚=1:10), 得白色固体 (36 mg, 42.5%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.82 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 5.06-4.93 (m, 2H), 4.05-4.04 (m, 1H), 2.32 (dd, 1H), 1.88-1.83 (m, 2H), 1.79-1.66 (m, 4H), 1.64-1.58 (m, 2H), 1.54-1.44 (m, 4H), 1.39-1.13 (m, 9H), 1.04-0.97 (m, 1H), 0.94 (s, 3H), 0.85-0.75 (m, 3H), 0.74 (s, 3H)。

实施例 3 化合物 KH003 的合成



化合物 KH003: 化合物 KHC-6 (50 mg, 0.1 mmol), 溶于四氢呋喃 (5 mL) 溶解澄清, 加入 K_2CO_3 (50 mg, 0.3 mmol) 和 1H-三氮唑 (25 mg, 0.3 mmol)。室温反应过夜。TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得淡黄色固体粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (二氯甲烷/甲醇=150:1 洗脱) 然后重结晶 (乙酸乙酯/石油醚=1:10), 得白色固体 (17 mg, 35.5%)。 ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.76 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 5.31-5.17 (m, 2H), 4.06-4.05 (m, 1H), 2.37 (d, 1H), 1.87-1.61 (m, 8H), 1.52-1.10 (m, 13H), 1.04-0.98 (m, 1H), 0.95 (s, 3H), 0.92-0.79 (m, 3H), 0.74 (s, 3H)。

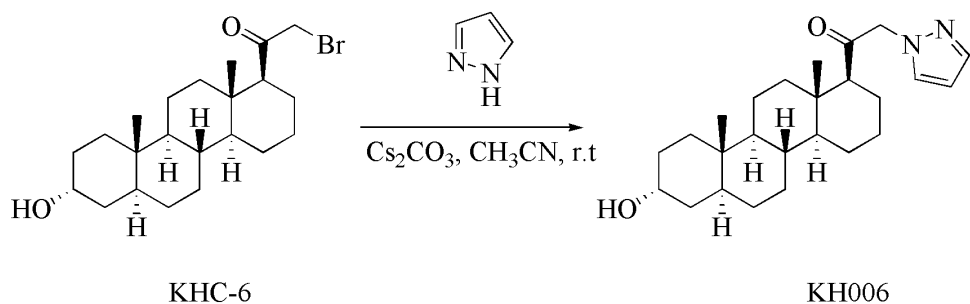
实施例 4 化合物 KH004 和 KH005 的合成



化合物 KH004 和 KH005: 化合物 KHC-6 (103 mg, 0.2 mmol), 溶于乙腈 (15 mL) 至澄清, 加入 Cs_2CO_3 (244 mg, 0.7 mmol) 和 1H-四氮唑 (53 mg, 0.7 mmol)。室温反应过夜。TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*25 mL) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得淡黄色固体粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (二氯甲烷/甲醇=150:1 至 90:1 洗脱), 得到两个化合物, 然后分别重结晶 (乙酸乙酯/石油醚=1:10), 得白色固体 1 (24 mg, 24.0%) 和白色固体 2 (36 mg, 36.0%)。白色固体 1 (KH004) ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.57 (s, 1H), 5.50 (s, 2H), 4.06-4.05 (m, 1H), 2.35 (dd, 1H), 1.92-1.81 (m, 3H), 1.74-1.68 (m, 3H), 1.64-1.57 (m, 4H), 1.46-1.11 (m, 10H), 1.05-0.98 (m, 2H), 0.96 (s, 3H), 0.88-0.78 (m, 3H), 0.75 (s, 3H)。白色固体 2 (KH005) ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.71 (s, 1H), 5.38 -5.23 (m, 2H), 4.06-4.05 (m, 1H), 2.41 (dd, 1H), 2.28 (dd, 1H),

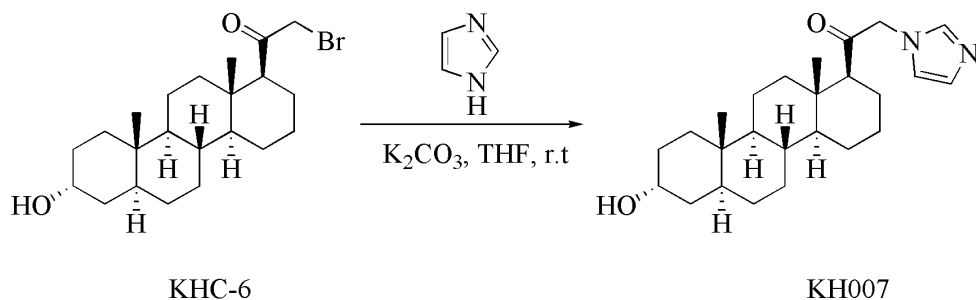
1.91-1.72 (m, 4H), 1.68-1.51 (m, 7H), 1.47-1.11 (m, 10H), 1.06-0.99 (m, 1H), 0.95 (s, 3H), 0.91-0.78 (m, 3H), 0.75 (s, 3H)。

实施例 5 化合物 KH006 的合成



化合物 KH006: 化合物 KHC-6 (50 mg, 0.1 mmol), 溶于乙腈 (8 mL) 至澄清, 加入 Cs_2CO_3 (117 mg, 0.3 mmol) 和 1H-吡唑 (24 mg, 0.3 mmol)。室温反应过夜。TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得淡黄色固体粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (二氯甲烷/甲醇=100:1 洗脱), 然后重结晶 (乙酸乙酯/石油醚=1:10), 得白色固体 (24 mg, 50.2%)。
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.56 (d, 1H), 7.39 (d, 1H), 6.34 (s, 1H), 5.03-4.92 (m, 2H), 4.05-4.04 (m, 1H), 2.28 (dd, 1H), 1.86-1.73 (m, 4H), 1.71-1.61 (m, 3H), 1.60-1.49 (m, 4H), 1.48-1.09 (m, 10H), 1.03-0.97 (m, 1H), 0.95 (s, 3H), 0.81-0.76 (m, 3H), 0.74 (s, 3H)。

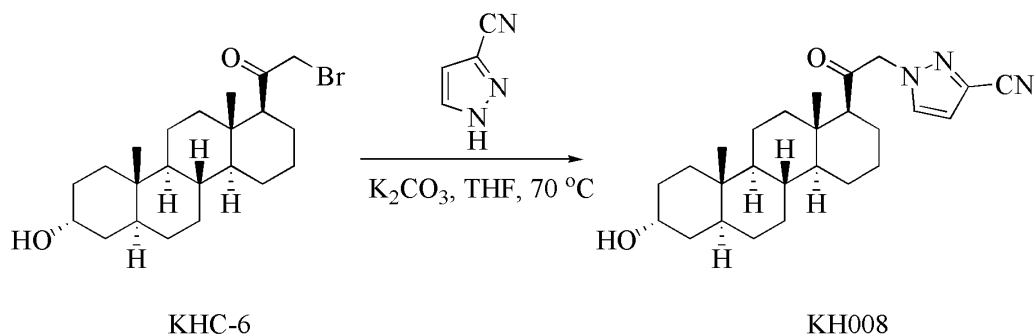
实施例 6 化合物 KH007 的合成



化合物 KH007: 化合物 KHC-6 (150 mg, 0.3 mmol), 溶于四氢呋喃 (10 mL) 至澄清, 加入 K_2CO_3 (152 mg, 1.1 mmol) 和 1H-咪唑 (75 mg, 1.1 mmol)。室温反应过夜。TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得淡黄色固体粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (二氯甲烷/甲醇=30:1 洗脱), 然后重结晶 (乙酸乙酯), 得白色固体 (35 mg, 24.1%)。
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.47 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 4.74(d, 2H), 4.06-4.05 (m,

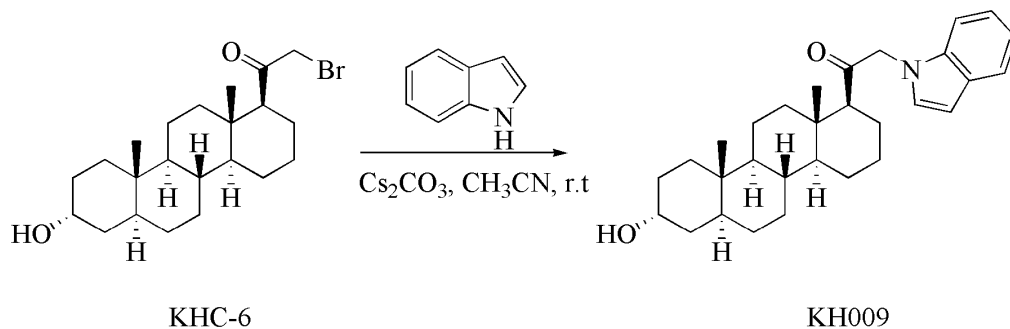
1H), 2.30 (dd, 1H), 1.88-1.68 (m, 4H), 1.64-1.56 (m, 3H), 1.52-1.45 (m, 4H), 1.40-1.11 (m, 10H), 1.04-0.97 (m, 1H), 0.95 (s, 3H), 0.83-0.77 (m, 3H), 0.75 (s, 3H).

实施例 7 化合物 KH008 的合成



化合物 KH008: 化合物 KHC-6 (100 mg, 0.2 mmol), 溶于四氢呋喃 (10 mL) 至澄清, 加入 K_2CO_3 (97 mg, 0.7 mmol) 和 3-氰基吡啶 (68 mg, 0.7 mmol)。加热 70 °C 反应 2 小时。TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得淡黄色固体粗品。用制备 TLC 色谱纯化 (展开剂: 石油醚/丙酮=3:1), 然后重结晶 (乙腈), 得白色固体 (20 mg, 19.4%)。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.44 (d, 1H), 6.72 (d, 1H), 6.34 (s, 1H), 5.00 (q, 2H), 4.06-4.05 (m, 1H), 2.32 (dd, 1H), 1.88-1.68 (m, 4H), 1.63-1.60 (m, 3H), 1.50-1.45 (m, 4H), 1.41-1.11 (m, 10H), 1.04-0.97 (m, 1H), 0.95 (s, 3H), 0.87-0.79 (m, 3H), 0.75 (s, 3H).

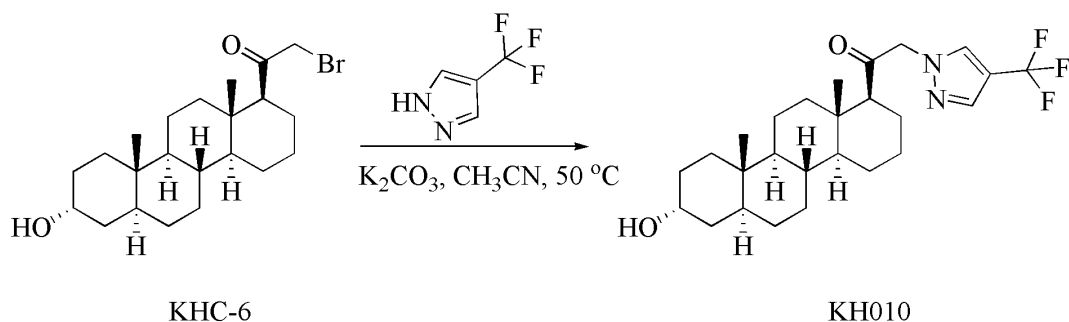
实施例 8 化合物 KH009 的合成



化合物 KH009: 化合物 KHC-6 (50 mg, 0.1 mmol), 溶于乙腈 (5 mL) 至澄清, 加入 Cs_2CO_3 (120 mg, 0.3 mmol) 和 1H-吲哚 (68 mg, 0.7 mmol)。室温反应过夜。TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得淡黄色固体粗品。用制备 TLC 色谱纯化 (展开剂:

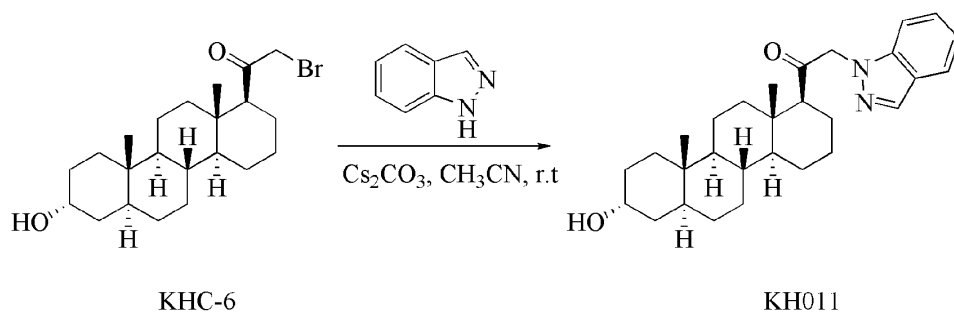
二氯甲烷/乙酸乙酯=10:1)，得浅黄色固体（34 mg，62.4%）。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.65-7.63 (m, 1H), 7.21-7.18 (m, 1H), 7.13-7.10 (m, 2H), 7.01-7.00 (m, 1H), 6.57 (d, 1H), 4.83 (d, 2H), 4.06-4.05 (m, 1H), 2.30 (dd, 1H), 1.82-1.72 (m, 4H), 1.64-1.61 (m, 3H), 1.51-1.45 (m, 4H), 1.41-1.11 (m, 10H), 1.01-0.96 (m, 1H), 0.96 (s, 3H), 0.92-0.77 (m, 3H), 0.74 (s, 3H).

实施例 9 化合物 KH010 的合成



化合物 KH010: 化合物 KHC-6 (100 mg, 0.2 mmol)，溶于乙腈 (5 mL) 至澄清，加入 K₂CO₃ (101 mg, 0.7 mmol) 和 4-(三氟甲基)-1H-吡唑 (35 mg, 0.2 mmol)。加热到 50℃ 反应 2 小时。TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取，合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得淡黄色固体粗品。用硅胶柱快速色谱纯化（展开剂：石油醚/丙酮=7:1），然后重结晶（乙腈）得白色固体 (61mg, 53.1%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.71 (d, 2H), 4.98 (q, 2H), 4.06-4.05 (m, 1H), 2.32 (dd, 1H), 1.87-1.68 (m, 4H), 1.64-1.57 (m, 3H), 1.52-1.45 (m, 4H), 1.41-1.11 (m, 10H), 1.04-0.97 (m, 1H), 0.95 (s, 3H), 0.87-0.82 (m, 3H), 0.74 (s, 3H).

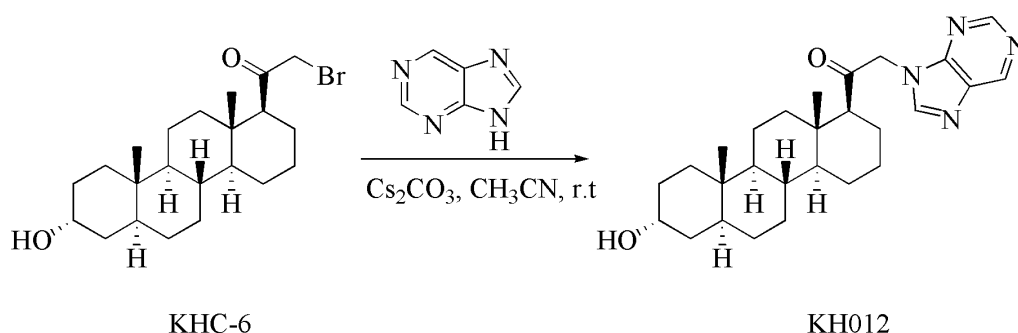
实施例 10 化合物 KH011 的合成



化合物 KH011: 化合物 KHC-6 (50 mg, 0.1 mmol)，溶于乙腈 (5 mL) 至澄清，加入 Cs₂CO₃ (120 mg, 0.3 mmol) 和 1H-吡唑 (43 mg, 0.3 mmol)。室温搅拌过夜。TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取，合并有机相用饱和食盐水洗

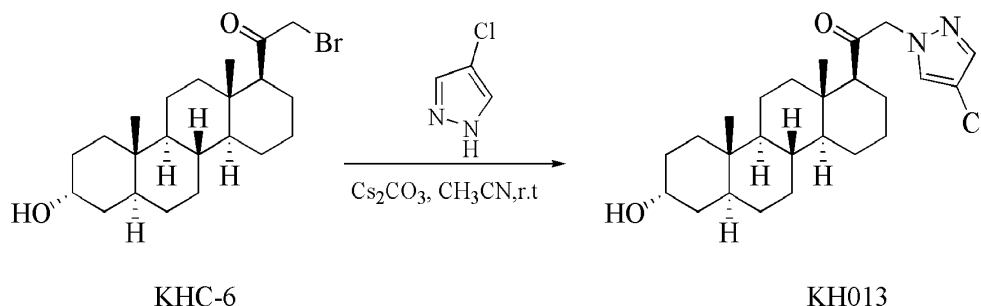
涂、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得淡黄色固体粗品。用制备 TLC 色谱纯化（展开剂：石油醚/丙酮=3:1），然后重结晶（乙腈），得白色固体（20mg, 36.6%）。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.11 (s, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.45-7.41 (m, 1H), 7.23-7.19 (m, 2H), 5.31-5.20 (m, 2H), 4.06-4.05 (m, 1H), 2.35 (dd, 1H), 1.87-1.72 (m, 4H), 1.67-1.63 (m, 3H), 1.54-1.45 (m, 4H), 1.42-1.14 (m, 10H), 1.01-0.98 (m, 1H), 0.96 (s, 3H), 0.93-0.78 (m, 3H), 0.75 (s, 3H)。

实施例 11 化合物 KH012 的合成



化合物 KH012: 化合物 KHC-6（50 mg, 0.1 mmol），溶于乙腈（5 mL）至澄清，加入 Cs₂CO₃（120 mg, 0.3 mmol）和 1H-咪唑（44 mg, 0.3 mmol）。室温搅拌过夜。TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20 mL）萃取，合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得淡黄色固体粗品。用制备 TLC 色谱纯化（展开剂：二氯甲烷/甲醇=20:1），然后重结晶（乙腈），得白色固体（5mg, 9.1%）。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.22 (s, 1H), 9.06(s, 1H), 8.25(s, 1H), 5.18 (q, 2H), 4.07-4.06 (m, 1H), 2.49 (dd, 1H), 1.93-1.72 (m, 4H), 1.68-1.65 (m, 3H), 1.58-1.45 (m, 4H), 1.42-1.13 (m, 10H), 1.06-1.00 (m, 1H), 0.96 (s, 3H), 0.90-0.80 (m, 3H), 0.74 (s, 3H)。

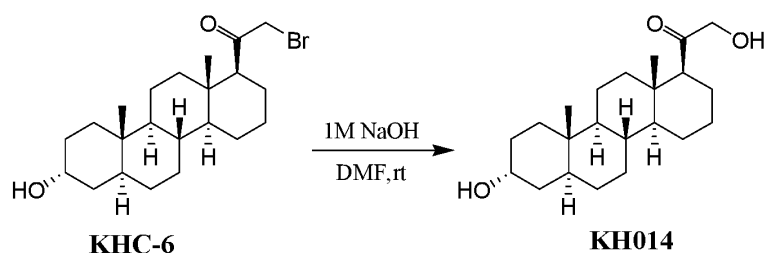
实施例 12 化合物 KH013 的合成



化合物 KH013: 化合物 KHC-6（80 mg, 0.2 mmol），溶于乙腈（8 mL）至澄清，加入 Cs₂CO₃（196 mg, 0.6 mmol）和 4-氯吡唑（62 mg, 0.6 mmol）。室温反应过夜。TLC 监测反应显示

反应完全。反应液加入水 15 mL，用乙酸乙酯（2*30 mL）萃取，合并有机相用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得淡黄色固体粗品。用硅胶柱快速色谱纯化（二氯甲烷/甲醇=100:1 洗脱）然后重结晶（乙酸乙酯/石油醚=1:10），得白色固体（28 mg，32.3%）。
 $^1\text{H NMR}$ δ 7.46 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 4.96-4.83 (m, 2H), 4.06-4.05 (m, 1H), 2.19 (dd, 1H), 1.86-1.71 (m, 4H), 1.64-1.55 (m, 3H), 1.51-1.45 (m, 4H), 1.45-1.10 (m, 10H), 1.03-0.96 (m, 1H), 0.95 (s, 3H), 0.86-0.77 (m, 3H), 0.74 (s, 3H).

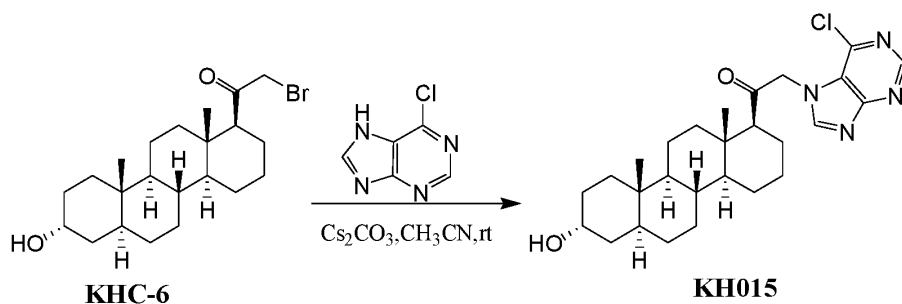
实施例 13 化合物 KH014 的合成



化合物 KH014: 化合物 KHC-6（60 mg，0.15 mmol），加入 N,N-二甲基甲酰胺 5 mL 溶解澄清，加入 1M NaOH（1 mL，1.00 mmol）。室温反应过夜，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20 mL）萃取，合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化（二氯甲烷/甲醇=50:1 展开），得白色固体（12 mg，22.92%）。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 4.94 - 4.89 (m, 1H), 4.18 (t, 1H), 4.06 - 4.02 (m, 2H), 3.80 (t, 1H), 2.27 (dd, 1H), 1.77 - 0.65 (m, 27H), 0.68 (s, 3H).

实施例 14 化合物 KH015 的合成

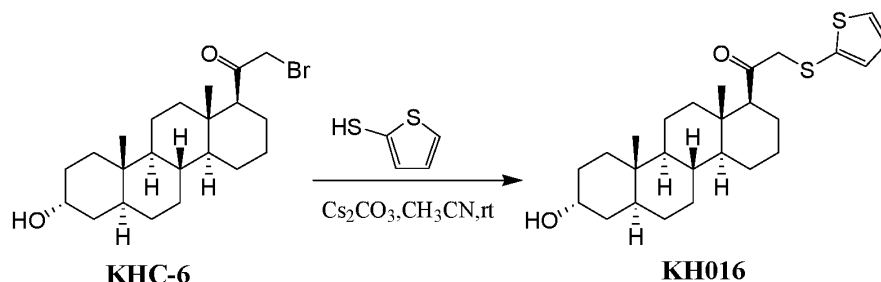


化合物 KH015: 化合物 KHC-6（60 mg，0.15 mmol），加入乙腈 5 mL 溶解澄清，加入 Cs_2CO_3 （98 mg，0.30 mmol）和 6-氯嘌呤（46 mg，0.30 mmol）。室温反应过夜，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20 mL）萃取，合并有机相用饱和氯化钠

水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化（二氯甲烷/甲醇=40:1 展开），得白色固体（39 mg，53.61%）。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.60 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 5.41 (q, 2H), 4.20 (d, 1H), 3.79 (t, 1H), 2.56 (dd, 1H), 1.80 – 0.75 (m, 27H), 0.69 (s, 3H).

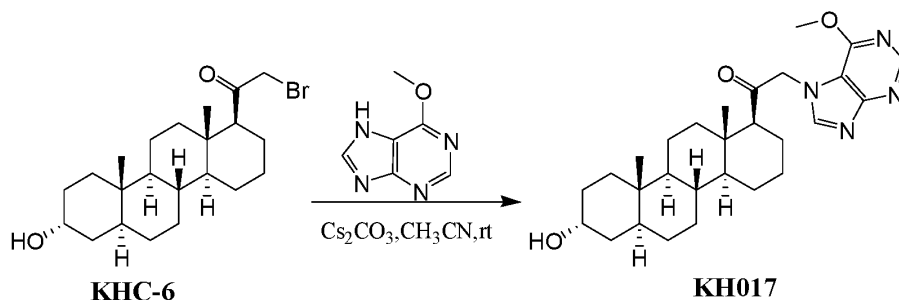
实施例 15 化合物 KH016 的合成



化合物 KH016: 化合物 KHC-6（60 mg，0.15 mmol），加入乙腈 5 mL 溶解澄清，加入 Cs_2CO_3 （98 mg，0.30 mmol）和 2-巯基噻吩（17 mg，0.30 mmol）。室温反应过夜，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20 mL）萃取，合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化（二氯甲烷/甲醇=40:1 展开），得白色固体（19 mg，28.34%）。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.35 (d, 1H), 7.14 (d, 1H), 6.95 (dd, 1H), 4.04 (t, 1H), 3.62 (q, 2H), 2.45 (dd, 1H), 1.65 – 0.81 (m, 27H), 0.73 (s, 3H).

实施例 16 化合物 KH017 的合成

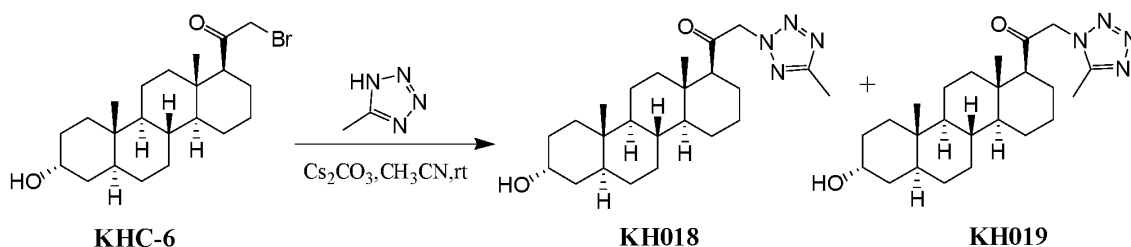


化合物 KH017: 化合物 KHC-6（60 mg，0.15 mmol），加入乙腈 5 mL 溶解澄清，加入 Cs_2CO_3 （98 mg，0.30 mmol）和 6-甲氧基嘌呤（45 mg，0.30 mmol）。室温反应过夜，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20 mL）萃取，合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化（二氯甲烷/甲醇=40:1 展开），得白色固体（46 mg，63.76%）。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.57 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 5.37 (q, 2H), 4.20 (d, 1H), 3.91 (s,

3H), 3.79 (t, 1H), 2.53 (dd, 1H), 1.79 – 0.75 (m, 27H), 0.69 (s, 3H).

实施例 17 化合物 KH018 和 KH019 的合成

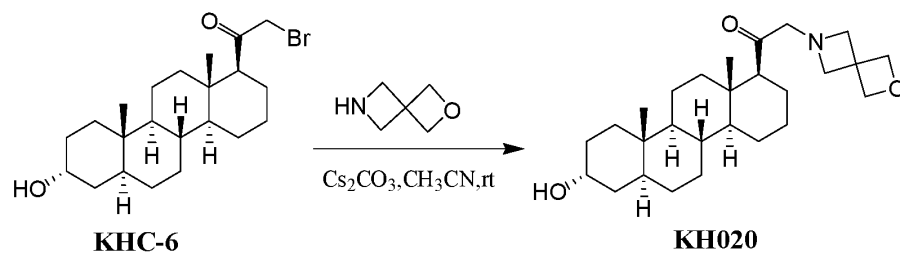


化合物 KH018 和 KH019: 化合物 KHC-6 (60 mg, 0.15 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (98 mg, 0.30 mmol) 和 5-甲基-1H-四氮唑 (25 mg, 0.30 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=40:1 展开), 分别得白色固体 KH6070053-1 (13 mg, 20.88%) 和白色固体 KH6070053-2 (27 mg, 43.37%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.39 (s, 2H), 4.05 (t, 1H), 2.56 (s, 3H), 2.34 (dd, 1H), 1.92 – 0.76 (m, 27H), 0.74 (s, 3H).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.15 (dd, 2H), 4.06 (t, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.39 (dd, 1H), 1.95 – 0.78 (m, 27H), 0.75 (s, 3H).

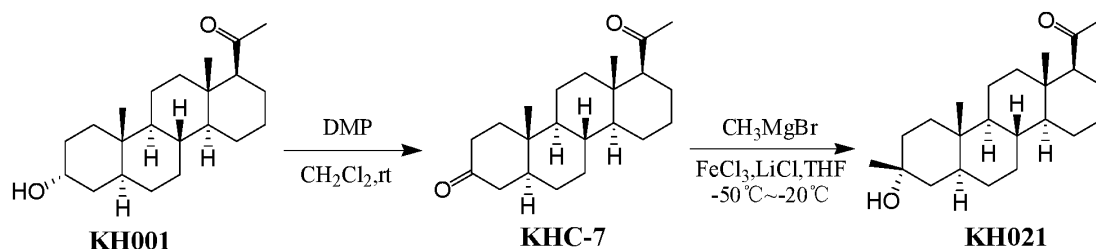
实施例 18 化合物 KH020 的合成



化合物 KH020: 化合物 KHC-6 (60 mg, 0.15 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (98 mg, 0.30 mmol) 和 2-氧杂-6-氮杂-螺[3,3]庚烷 (30 mg, 0.30 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=40:1 展开), 得白色固体 (21 mg, 32.56%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.75 (s, 4H), 4.04 (t, 1H), 3.57 (dd, 4H), 3.40 (dd, 2H), 2.13 (dd, 1H), 1.90 – 0.75 (m, 27H), 0.73 (s, 3H).

实施例 19 化合物 KH021 的合成

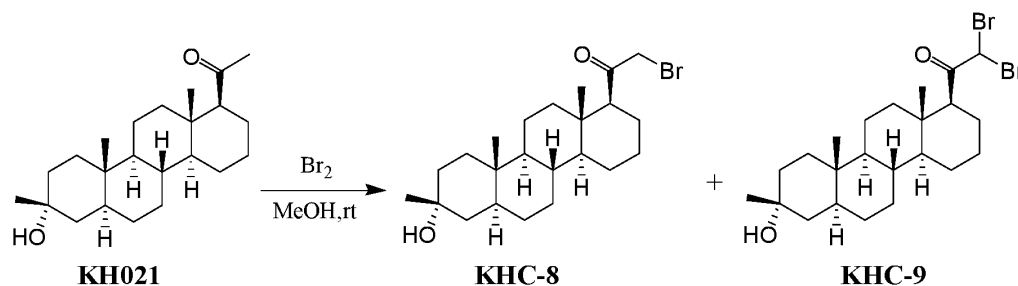


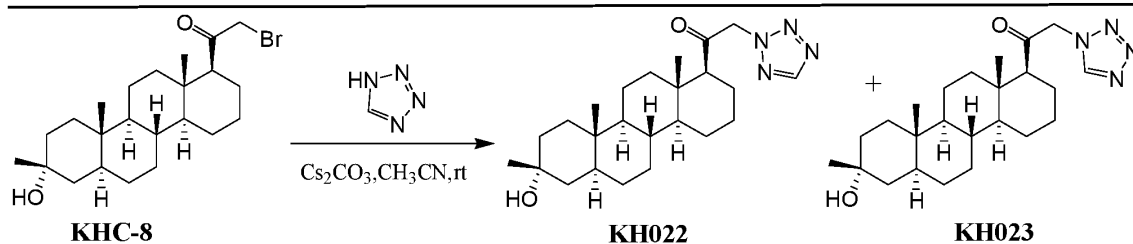
化合物 KHC-7: 取化合物 KH001 (0.70 g, 2.11 mmol), 加入二氯甲烷 100 mL 溶解, 分批加入 DMP (1.78 g, 4.20 mmol)。N₂ 保护, 室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 40 mL, 用乙酸乙酯 (2*80 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (石油醚/丙酮=40:1→30:1 洗脱), 得白色固体 KHC-7 (0.62 g, 89.47%)。

化合物 KH021: 取 FeCl₃ (0.61 g, 3.75 mmol) 和 LiCl (0.34 g, 8.07 mmol) 至 100 mL 三口瓶中, N₂ 保护, 加入无水四氢呋喃 40 mL, 室温搅拌 5 分钟后, 转至 -45°C 条件下, 缓慢滴加 CH₃MgBr (15.20 mL, 15.20 mmol), 在 -40°C 左右条件下搅拌 15 分钟; 滴加化合物 KHC-7 (0.62 g, 1.88 mmol) 的无水四氢呋喃溶液, 滴加完成后升温至 -20°C 左右条件下搅拌反应 2 小时, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入饱和 NH₄Cl 约 40 mL 淬灭, 用乙酸乙酯 (2*80 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (石油醚/丙酮=40:1→35:1 洗脱), 得白色固体 KH021 (0.52 g, 78.50%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 2.29 (dd, 1H), 2.13 (s, 3H), 1.88 – 1.25 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.88 – 0.78 (m, 3H), 0.70 (s, 3H).

实施例 20 化合物 KH022 和 KH023 的合成





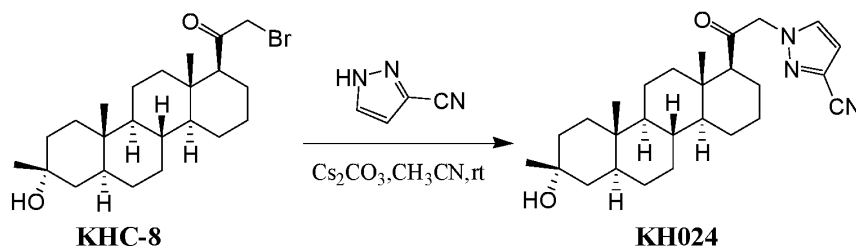
化合物 KHC-8 和 KHC-9: 取化合物 KH021 (1.25 g, 3.60 mmol), 加入甲醇 40 mL 溶解澄清, 然后滴加入溴 (0.86 g, 5.40 mmol)。室温反应 4 小时, 反应液橙色变成淡黄色, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 30 mL, 用乙酸乙酯 (2*65 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得淡黄色固体粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (二氯甲烷洗脱), 得白色固体 KHC-8 (0.93 g, 60.78%) 和白色固体 KHC-9 (0.36 g, 19.89%)。

化合物 KH022 和 KH023: 化合物 KHC-8 (100 mg, 0.24 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (234 mg, 0.72 mmol) 和 1H-四氮唑 (50 mg, 0.72 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=30:1 展开), 分别得白色固体 KH022 (20 mg, 20.08%) 和白色固体 KH023 (47 mg, 47.19%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.56 (s, 1H), 5.54 – 5.45 (m, 2H), 2.35 (dd, 1H), 1.89 – 1.25 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.88 – 0.80 (m, 3H), 0.72 (s, 3H).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.71 (s, 1H), 5.30 (dd, 2H), 2.35 (dd, 1H), 1.83 – 1.23 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.87 – 0.78 (m, 3H), 0.72 (s, 3H).

实施例 21 化合物 KH024 的合成

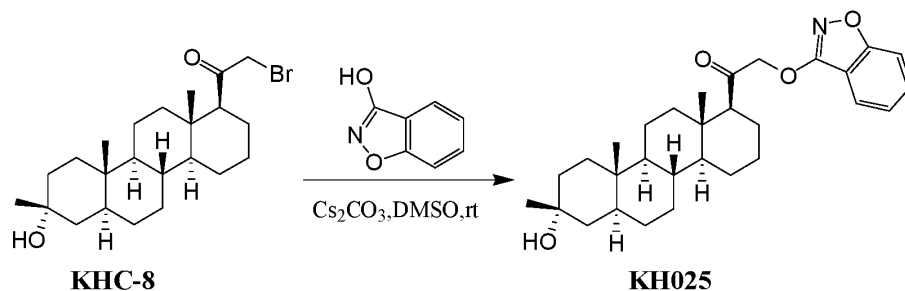


化合物 KH024: 取化合物 KHC-8 (60 mg, 0.14 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (91 mg, 0.28 mmol) 和 3-氰基吡唑 (26 mg, 0.28 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化

钠水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化（二氯甲烷/甲醇=40:1 展开），得白色固体（16 mg, 26.09%）。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 7.45 (d, 1H), 6.73 (d, 1H), 5.06 (q, 2H), 2.30 (dd, 1H), 1.86 – 1.23 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.87 – 0.77 (m, 3H), 0.72 (s, 3H).

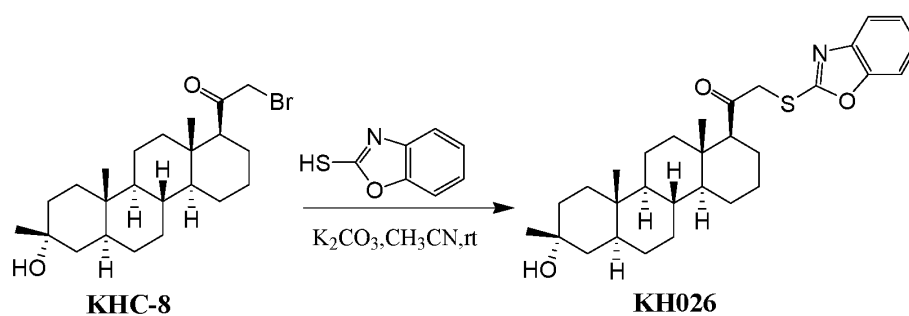
实施例 22 化合物 KH025 的合成



化合物 KH025: 取化合物 KHC-8（100 mg, 0.24 mmol），加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清，加入 Cs_2CO_3 （235 mg, 0.72 mmol）和 3-羟基苯并噁唑（97 mg, 0.72 mmol）。室温反应过夜，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20 mL）萃取，合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化（石油醚/丙酮=5:1 展开），得白色固体（70 mg, 60.76%）。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.72 (d, 1H), 7.58 – 7.49 (m, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.29 (d, 1H), 5.11 – 4.95 (m, 2H), 2.35 (dd, 1H), 1.87 – 1.22 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.99 (s, 3H), 0.87 – 0.80 (m, 3H), 0.72 (s, 3H).

实施例 23 化合物 KH026 的合成

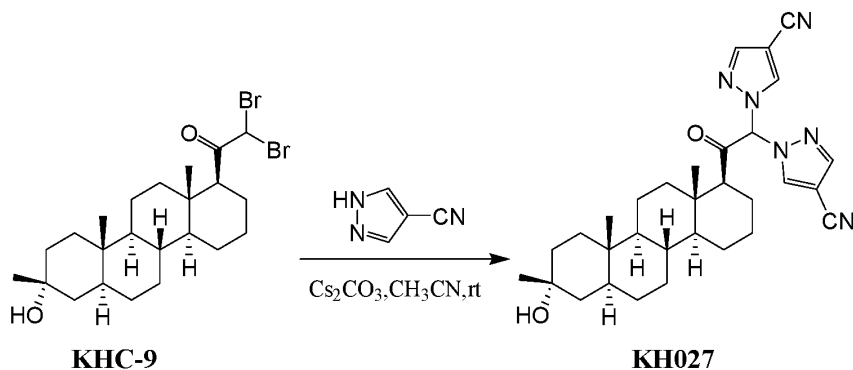


化合物 KH026: 取化合物 KHC-8（53 mg, 0.12 mmol），加入乙腈 5 mL 溶解澄清，加入 K_2CO_3 （100 mg, 0.72 mmol）和 2-巯基苯并噁唑（24 mg, 0.16 mmol）。室温反应过夜，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20 mL）萃取，合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化（石

油醚/丙酮=6:1 展开)，得白色固体（30 mg，50.40%）。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.55 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.34 - 7.24 (m, 2H), 4.33 (m, 2H), 2.54 (dd, 1H), 1.83 - 1.23 (m, 21H), 1.18 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.85 - 0.78 (m, 3H), 0.70 (s, 3H).

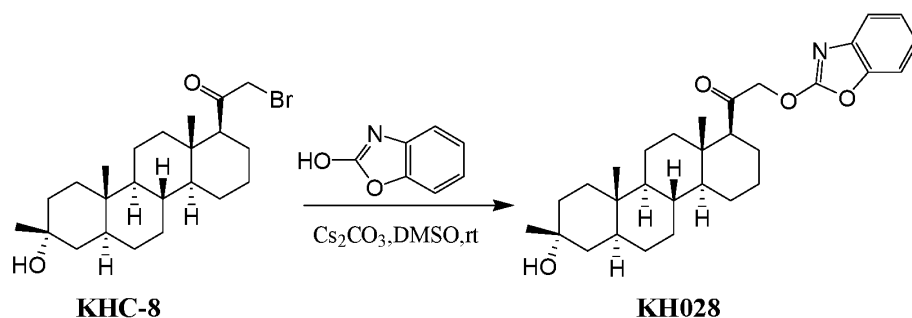
实施例 24 化合物 KH027 的合成



化合物 KH027: 取化合物 KHC-9（110 mg，0.22 mmol），加入乙腈 10 mL 溶解澄清，加入 Cs_2CO_3 （215 mg，0.66 mmol）和 4-氰基吡唑（61 mg，0.66 mmol）。室温反应过夜，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20 mL）萃取，合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化（二氯甲烷/甲醇=70:1 展开），得白色固体（76 mg，65.30%）。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.23 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 2.11 (dd, 1H), 1.83 - 1.23 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.91 (s, 3H), 0.82 - 0.75 (m, 3H), 0.70 (s, 3H).

实施例 25 化合物 KH028 的合成

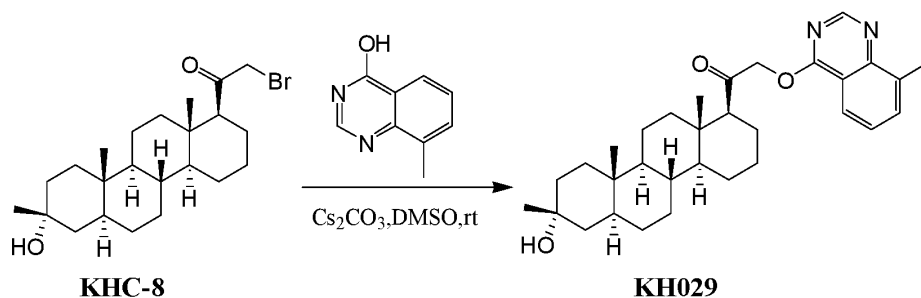


化合物 KH028: 取化合物 KHC-8（70 mg，0.16 mmol），加入二甲基亚砜 8 mL 溶解澄清，加入 Cs_2CO_3 （160 mg，0.49 mmol）和 2-羟基苯并三唑（66 mg，0.49 mmol）。室温反应过夜，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20 mL）萃取，合并有

机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化（二氯甲烷/甲醇=60:1 展开），得白色固体（55 mg，71.61%）。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.24 – 7.18 (m, 1H), 7.17 – 7.06 (m, 2H), 6.75 – 6.64 (m, 1H), 4.58 (dd, 2H), 2.38 (dd, 1H), 1.92 – 1.22 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.89 - 0.78 (m, 3H), 0.72 (s, 3H).

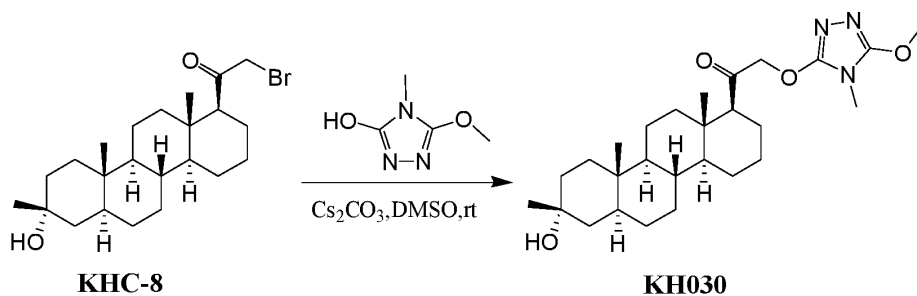
实施例 26 化合物 KH029 的合成



化合物 KH029: 取化合物 KHC-8（60 mg，0.14 mmol），加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清，加入 Cs_2CO_3 （138 mg，0.42 mmol）和 8-甲基-4-羟基喹啉（68 mg，0.42 mmol）。室温反应过夜，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20 mL）萃取，合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化（二氯甲烷/甲醇=60:1 展开），得白色固体（50 mg，70.72%）。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.13 (d, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.39 (t, 1H), 4.81 (s, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.43 (dd, 1H), 1.88 – 1.22 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.90 – 0.81 (m, 3H), 0.72 (s, 3H).

实施例 27 化合物 KH030 的合成

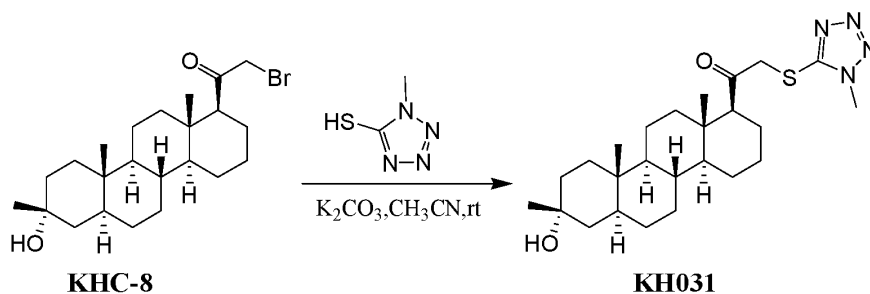


化合物 KH030: 取化合物 KHC-8（50 mg，0.12 mmol），加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清，加入 Cs_2CO_3 （78 mg，0.24 mmol）和 3-羟基-4-甲基-5-甲氧基-4H-1,2,4-三氮唑（31 mg，0.24 mmol）。室温反应过夜，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL，用乙酸乙酯（2*20

mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=4:1 展开), 得白色固体 (20 mg, 35.16%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.47 (q, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.12 (s, 3H), 2.28 (dd, 1H), 1.86 – 1.22 (m, 21H), 1.19 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.85 – 0.78 (m, 3H), 0.70 (s, 3H).

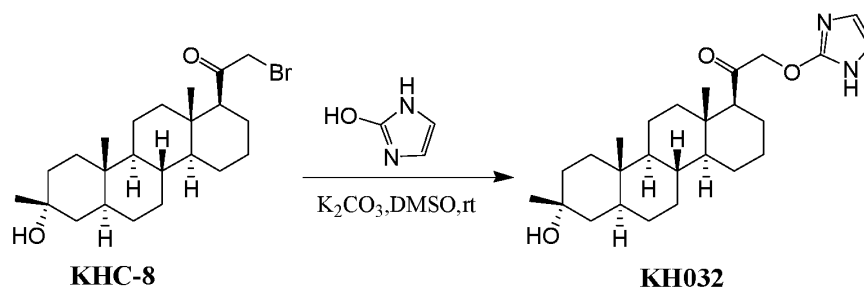
实施例 28 化合物 KH031 的合成



化合物 KH031: 取化合物 KHC-8 (60 mg, 0.14 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 K_2CO_3 (58 mg, 0.42 mmol) 和 1-甲基-5-巯基-1H-四氮唑 (68 mg, 0.42 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=4:1 展开), 得白色固体 (50 mg, 77.47%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 4.40 (dd, 2H), 3.97 (s, 3H), 2.47 (dd, 1H), 1.88 – 1.22 (m, 21H), 1.19 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.87 – 0.79 (m, 3H), 0.71 (s, 3H).

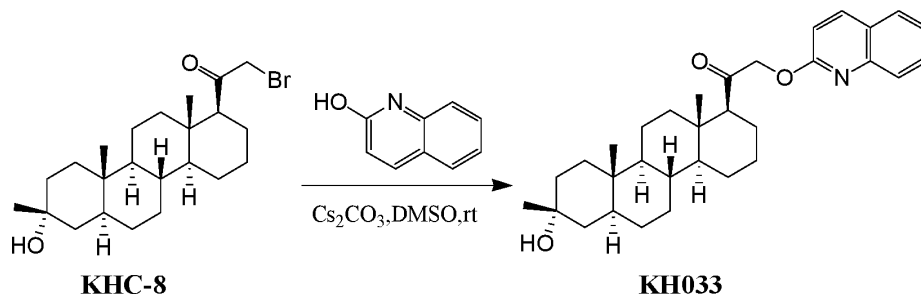
实施例 29 化合物 KH032 的合成



化合物 KH032: 取化合物 KHC-8 (50 mg, 0.12 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 K_2CO_3 (50 mg, 0.36 mmol) 和 2-羟基-1H-咪唑 (30 mg, 0.36 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=2:1 展开), 得白色固体 (11 mg, 21.37%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.26 (s, 1H), 6.32 (s, 1H), 6.17 (s, 1H), 4.53 – 4.32 (m, 2H), 2.31 (dd, 1H), 1.86 – 1.25 (m, 21H), 1.21 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.88 – 0.78 (m, 3H), 0.71 (s, 3H).

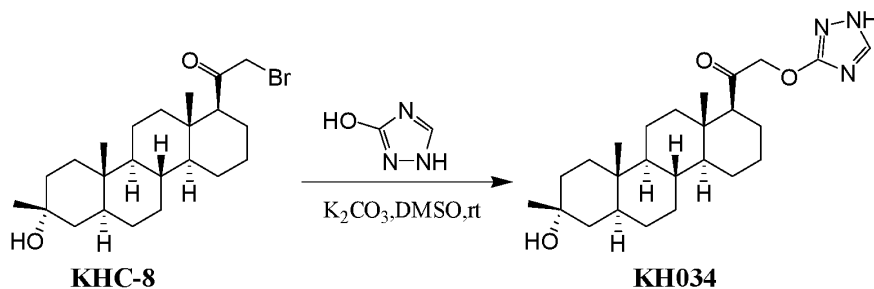
实施例 30 化合物 KH033 的合成



化合物 KH033: 取化合物 KHC-8 (60 mg, 0.14 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (138 mg, 0.42 mmol) 和 2-羟基喹啉 (61 mg, 0.42 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=4:1 展开), 得白色固体 (15 mg, 21.87%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (d, 1H), 7.75 (dd, 2H), 7.61 (t, 1H), 7.39 (t, 1H), 7.05 (d, 1H), 5.15 (s, 2H), 2.43 (dd, 1H), 1.98 – 1.23 (m, 21H), 1.21 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.91 – 0.78 (m, 3H), 0.74 (s, 3H).

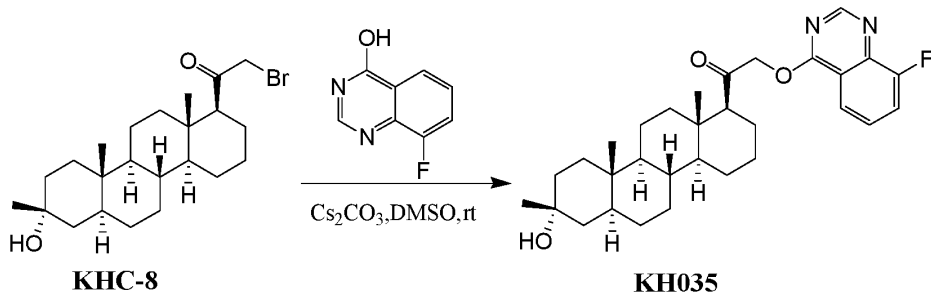
实施例 31 化合物 KH034 的合成



化合物 KH034: 取化合物 KHC-8 (60 mg, 0.14 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 K_2CO_3 (58 mg, 0.42 mmol) 和 3-羟基-1H-1,2,4-三氮唑 (36 mg, 0.42 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=40:1 展开), 得白色固体 (40 mg, 66.45%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.30 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 4.47 (q, 2H), 2.33 (dd, 1H), 1.87 – 1.25 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.87 – 0.79 (m, 3H), 0.71 (s, 3H).

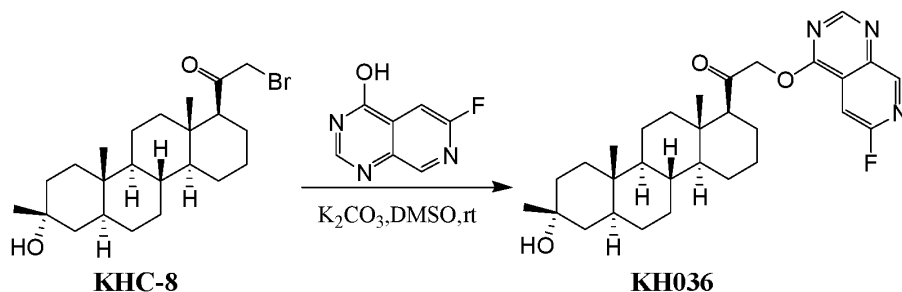
实施例 32 化合物 KH035 的合成



化合物 KH035: 取化合物 KHC-8 (80 mg, 0.19 mmol), 加入二甲基亚砜 6 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (184 mg, 0.56 mmol) 和 8-氟-4-羟基喹啉 (92 mg, 0.56 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=2:1 展开), 得白色固体 (65 mg, 67.21%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.06 (d, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.55 – 7.40 (m, 2H), 4.79 (m, 2H), 2.43 (dd, 1H), 1.88 – 1.22 (m, 21H), 1.21 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.90 – 0.81 (m, 3H), 0.72 (s, 3H).

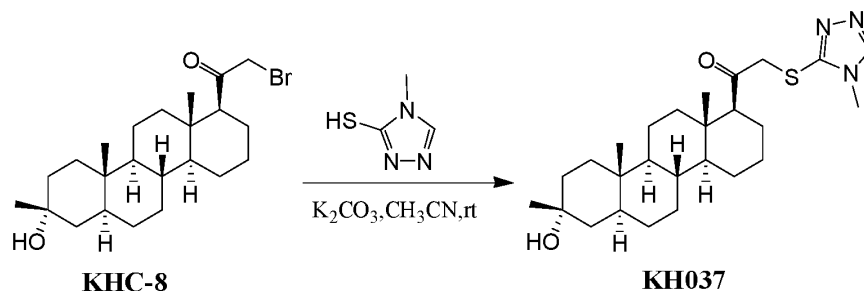
实施例 33 化合物 KH036 的合成



化合物 KH036: 取化合物 KHC-8 (60 mg, 0.14 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 K_2CO_3 (58 mg, 0.42 mmol) 和 6-氟吡啶[3,4-d]嘧啶-4-酮 (69 mg, 0.42 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=40:1 展开), 得白色固体 (40 mg, 56.02%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.82 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.66 (d, 1H), 4.80 (q, 2H), 2.43 (dd, 1H), 1.89 – 1.23 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.90 – 0.80 (m, 3H), 0.71 (s, 3H).

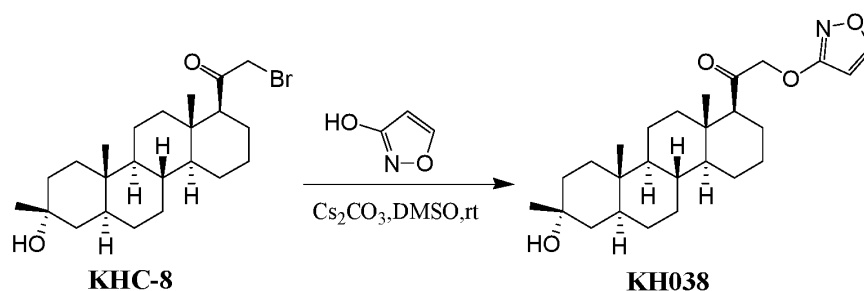
实施例 34 化合物 KH037 的合成



化合物 KH037: 取化合物 KHC-8 (60 mg, 0.14 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 K_2CO_3 (58 mg, 0.42 mmol) 和 4-甲基-4H-3-巯基-1,2,4-三氮唑 (49 mg, 0.42 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=3:2 展开), 得白色固体 (53 mg, 82.30%)。

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.16 (s, 1H), 4.34 (dd, 2H), 3.65 (s, 3H), 2.45 (dd, 1H), 1.88 – 1.22 (m, 21H), 1.19 (s, 3H), 0.91 (s, 3H), 0.87 – 0.79 (m, 3H), 0.70 (s, 3H).

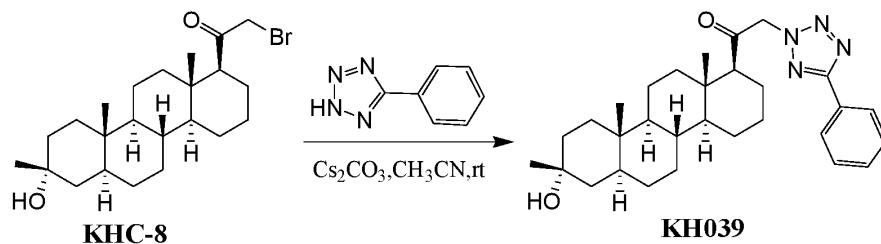
实施例 35 化合物 KH038 的合成



化合物 KH038: 取化合物 KHC-8 (60 mg, 0.14 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (138 mg, 0.42 mmol) 和 3-羟基异噁唑 (36 mg, 0.42 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (石油醚/丙酮=15:1 洗脱), 得白色固体 (39 mg, 65.00%)。

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.12 (d, 1H), 6.06 (d, 1H), 4.87 (s, 2H), 2.29 (dd, 1H), 1.90 – 1.22 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.90 – 0.74 (m, 3H), 0.71 (s, 3H).

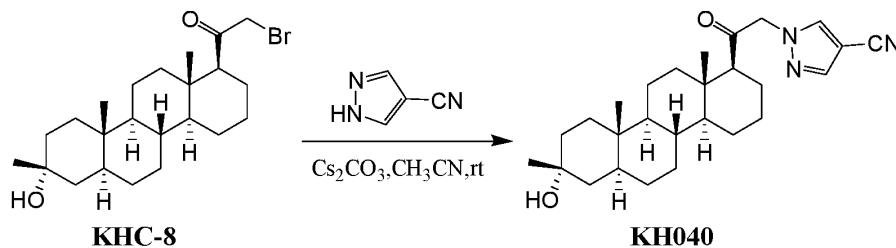
实施例 36 化合物 KH039 的合成



化合物 KH039: 取化合物 KHC-8 (75 mg, 0.18 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (171 mg, 0.53 mmol) 和 5-苯基四氮唑 (77 mg, 0.53 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=3:1 展开), 得白色固体 (79 mg, 89.39%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.19 – 8.07 (m, 2H), 7.55 – 7.42 (m, 3H), 5.54 – 5.40 (m, 2H), 2.37 (dd, 1H), 1.92 – 1.23 (m, 21H), 1.21 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.90 – 0.78 (m, 3H), 0.73 (s, 3H).

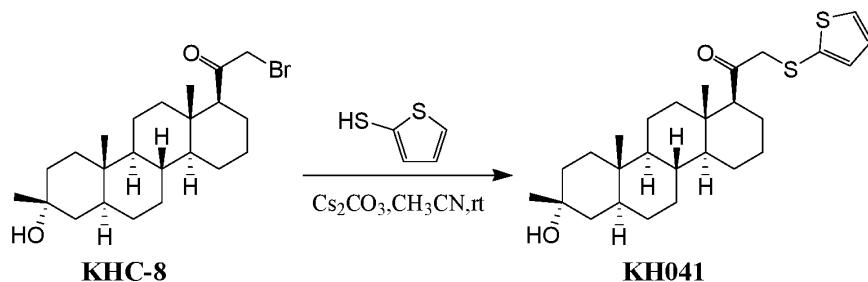
实施例 37 化合物 KH040 的合成



化合物 KH040: 取化合物 KHC-8 (60 mg, 0.14 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (91 mg, 0.28 mmol) 和 4-氰基吡唑 (26 mg, 0.28 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=40:1 展开), 得白色固体 (16 mg, 26.09%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.82 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 5.00 (q, 2H), 2.32 (dd, 1H), 1.88 – 1.22 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.87 – 0.79 (m, 3H), 0.71 (s, 3H).

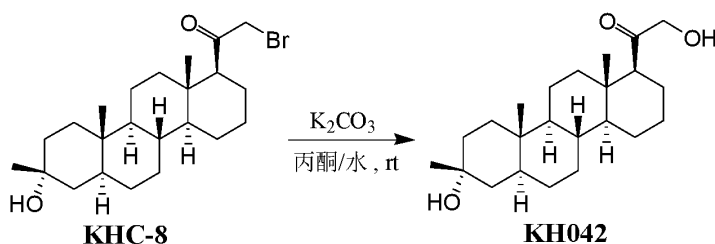
实施例 38 化合物 KH041 的合成



化合物 KH041: 取化合物 KHC-8 (70 mg, 0.16 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (160 mg, 0.49 mmol) 和 2-巯基噻吩 (57 mg, 0.49 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (二氯甲烷/石油醚=1:1 洗脱), 得灰白色固体 (27 mg, 35.53%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.35 (dd, 1H), 7.14 (dd, 1H), 6.95 (dd, 1H), 3.62 (dd, 2H), 1.90 – 1.21 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.84 – 0.74 (m, 3H), 0.70 (s, 3H)。

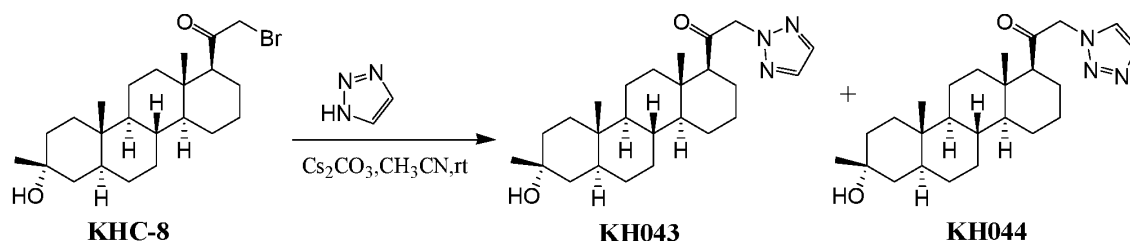
实施例 39 化合物 KH042 的合成



化合物 KH042: 取化合物 KHC-8 (150 mg, 0.35 mmol), 加入丙酮 30 mL、水 15 mL 和 K_2CO_3 (49 mg, 0.35 mmol), 溶解澄清。70℃回流反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*30 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=50:1 展开), 得白色固体 (21 mg, 16.54%)。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 4.92 (t, 1H), 4.06 – 4.04 (m, 2H), 3.85 (t, 1H), 2.27 (dd, 1H), 1.82 – 1.10 (m, 21H), 1.05 (s, 3H), 0.87 (s, 3H), 0.85 – 0.70 (m, 3H), 0.65 (s, 3H)。

实施例 39 化合物 KH043 和 KH044 的合成



化合物 KH043 和 KH044: 取化合物 KHC-8 (60 mg, 0.14 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (91 mg, 0.28 mmol) 和 1H-三氮唑 (15 mg, 0.21 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=40:1 展开), 分别得白色固体 KH6070100-1 (12 mg, 20.70%) 和白色固体 KH6070100-2 (27 mg, 46.58%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.68 (s, 2H), 5.34 – 5.20 (m, 2H), 2.25 (dd, 1H), 1.88 – 1.23 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.89 – 0.79 (m, 3H), 0.71 (s, 3H).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.76 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 5.25 (dd, 2H), 2.37 (dd, 1H), 1.86 – 1.22 (m, 21H), 1.20 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.86 – 0.76 (m, 3H), 0.71 (s, 3H).

实施例 40 化合物 KH045 的合成

化合物 KHC-11: 取化合物 KHC-10 (150.0 g, 183.8 mmol), 加入四氢呋喃 500 mL 溶解, 加入 10% Pd/C (6.0 g), 反应液 H_2 置换 3 次进行氢化反应, 室温搅拌 24 小时。反应液过滤, 滤液减压蒸除溶剂, 得粗品。用石油醚: 丙酮=1:1 溶液打浆, 得到化合物 KHC-11 (150.0 g, 99.26%)。

化合物 KHC-12: 取化合物 KHC-11 (150.0 g, 547.4 mmol), 加入甲醇 1000 mL 溶解, 加入 I_2 (14.0 g, 54.8 mmol), 加热 60°C 搅拌 12 小时, 反应液浓缩, 层析柱纯化 (PE: EA=10:1), 得到白色固体化合物 KHC-12 (130.0 g, 74.20%)。

化合物 KHC-13: 取化合物 KHC-12 (130.0 g, 406.2 mmol), 加入 N,N-二甲基甲酰胺 1000 mL 溶解, 加入 t-BuOK (91.0 g, 812.4 mmol) 和三甲基碘化碘 (165.8 g, 812.7 mmol), 反应液室温搅拌, N_2 保护过夜反应。反应液加入食盐水, 用乙酸乙酯萃取 (1.0 L×3), 合并有机相后干燥, 去除溶剂, 得白色固体化合物 KHC-13 (120.0 g, 88.50%)。

化合物 KHC-14: 取化合物 KHC-13 (120.0 g, 359.4 mmol), 加入乙醇 800 mL 和水 160 mL 溶解, 加入叠氮钠 (70.2 mg, 1077.9 mmol) 和氯化铵 (67.2 g, 1257.9 mmol), 加热 90°C 搅

拌过夜。反应液加入食盐水，用乙酸乙酯萃取（1.0 L×3），合并有机相后干燥，去除溶剂，层析柱纯化（PE: EA=10: 1），得白色固体化合物 KHC-14（130.0 g, 95.59%）。

化合物 KHC-15: 取化合物 KHC-14（125.6 g, 332.4 mmol），加入乙腈 1000 mL 溶解，加入碘化钠（249.3 g, 1662.0 mmol）室温搅拌 0.5 小时，滴加 TMSCl（144.9 g, 1329.6 mmol），反应液室温反应 4 小时。反应液加入食盐水，用乙酸乙酯萃取（1000 mL×3），合并有机相后干燥，去除溶剂，层析柱纯化（PE: EA=10: 1），得白色固体化合物 KHC-15（72.0 g, 75.20%）。

化合物 KHC-16: 取化合物 KHC-15（72.0 g, 250.0 mmol），加入甲醇 1000 mL 溶解，加入 I₂（19.0 g, 75.0 mmol），加热 60℃ 搅拌 12 小时，反应液浓缩，层析柱纯化（PE: EA=10: 1），得到白色固体化合物 KHC-16（53.0 g, 63.50%）。

化合物 KHC-17: 取三甲基硅基乙炔（77.8 g, 793.0 mmol），加入四氢呋喃 1000 mL，在 -78℃ 条件下加入正丁基锂溶液（1.6 M, 329.0 mmol, 205.6 ml），搅拌 2 小时。取化合物 KHC-16（53.0 g, 158.6 mmol）溶于 400 mL 四氢呋喃加入至反应液中，在 -78℃ 搅拌 2 小时。反应液逐渐升温至 0℃ 倒入饱和氯化铵溶液中，用乙酸乙酯萃取（800 mL×3）。反应液浓缩，层析柱纯化（PE: EA=10: 1），得到白色固体化合物 KHC-17（56.0 g, 81.55%）。

化合物 KHC-18: 取化合物 KHC-17（56.0 g, 129.3 mmol），加入四氢呋喃 800 mL 溶解，在 0℃ 条件下滴加 1.0 M TBAF 溶液（129.3 mL, 129.3 mmol）搅拌反应 1 小时。反应液加入食盐水，用乙酸乙酯萃取（1000 mL×3），合并有机相后干燥，去除溶剂，层析柱纯化（PE: EA=5: 1），得白色固体化合物 KHC-18（43.0 g, 92.30%）。

化合物 KHC-19: 取化合物 KHC-18（38.0 g, 105.6 mmol）溶于 800 mL 四氢呋喃，加入 1N HCl 溶液调酸至 pH=3，室温搅拌 12 小时。反应液加入食盐水（1.0 L），用乙酸乙酯萃取（1000 mL×3），合并有机相后干燥，去除溶剂，层析柱纯化（PE: EA=5: 1），得白色固体化合物 KHC-19（32.0 g, 96.50%）。

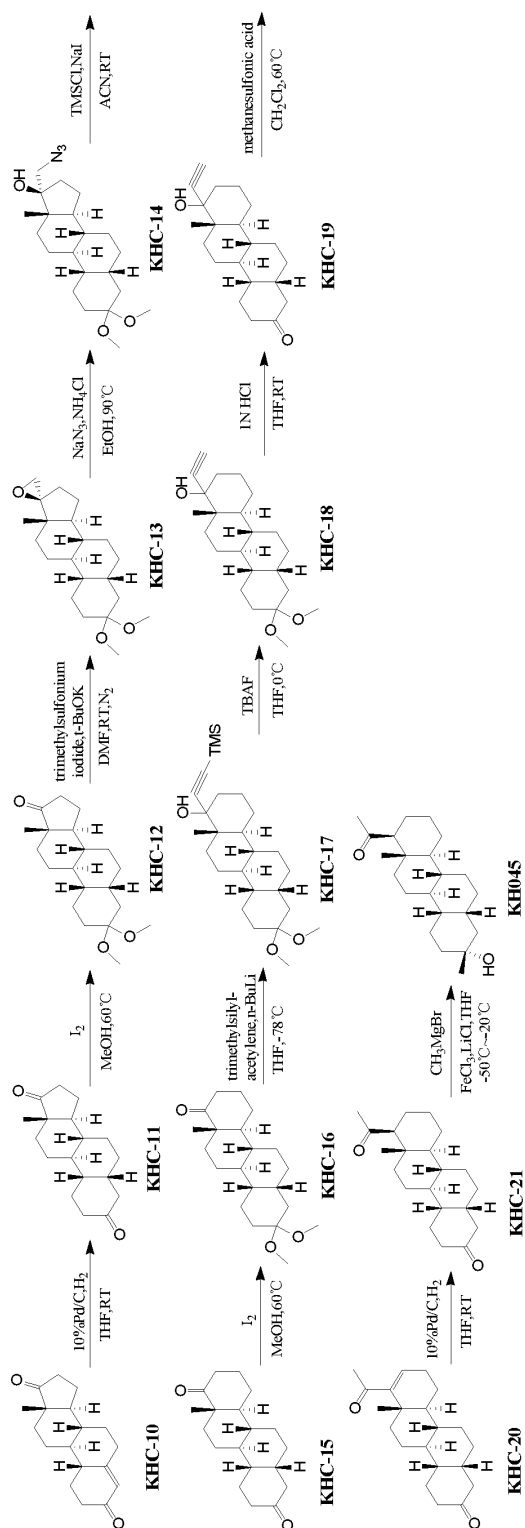
化合物 KHC-20: 取甲磺酸（148.0 g, 1541.6 mmol）至 1000 mL 二氯甲烷中，取化合物 KHC-19（32.0 g, 101.9 mmol）溶于 1000 mL 二氯甲烷滴加至反应液中，加热 60℃ 搅拌反应 2 小时。反应液冷却至室温，加入食盐水（1.0 L），用二氯甲烷（1000 mL×3），合并有机相后干燥，去除溶剂，层析柱纯化（PE: EA=10: 1），得白色固体化合物 KHC-20（20.0 g, 62.50%）。

化合物 KHC-21: 取化合物 KHC-20（20.0 g, 63.7 mmol），加入四氢呋喃 500 mL 溶解，加入 10% Pd/C（3.0 g），反应液 H₂ 置换 3 次进行氢化反应，室温搅拌 2 天。反应液过滤，滤液减压蒸除溶剂，得粗品。层析柱纯化（PE: EA=15: 1），得白色固体化合物 KHC-21（17.0 g, 84.40%）。

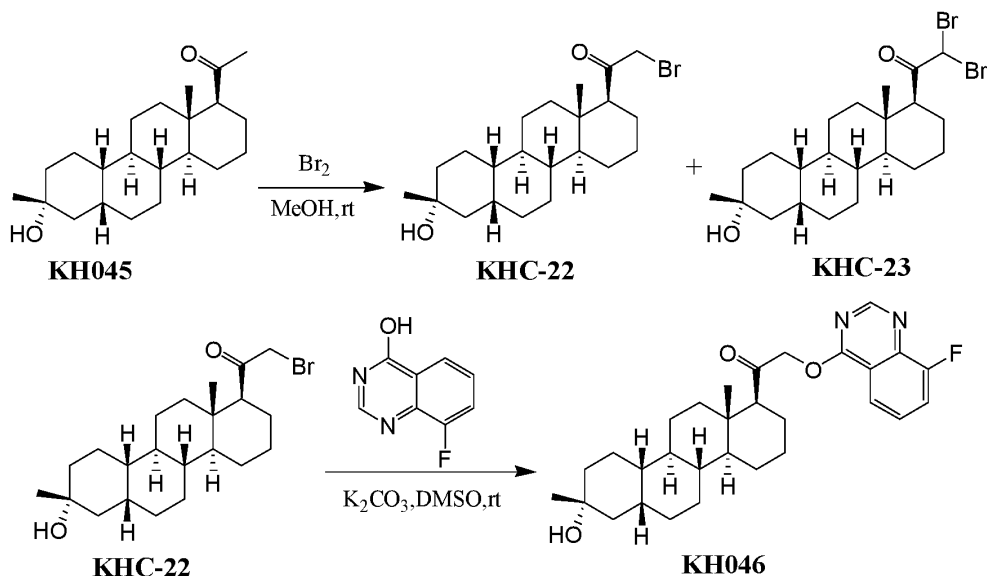
化合物 KHC045: 取 FeCl₃（23.0 g, 142.0 mmol）和 LiCl（13.5 g, 321.4 mmol）至 2000 mL

三口瓶中，N₂ 保护，加入无水四氢呋喃 800 mL，室温搅拌 20 分钟后，转至-40℃条件下，缓慢滴加 CH₃MgBr (3M, 190 mL, 570.0 mmol)，在-40℃左右条件下搅拌 30 分钟；滴加化合物 KHC-21 (17.0 g, 53.8 mmol) 的无水四氢呋喃 (200 mL) 溶液，滴加完成后升温至-20℃左右条件下搅拌反应 4 小时，TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入饱和 NH₄Cl 约 40 mL 淬灭，用乙酸乙酯 (1.0 L×3) 萃取，合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，得粗品。层析柱纯化 (PE: EA=15: 1)，得白色固体化合物 KH045 (10.2 g, 57.10%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.34 – 2.25 (m, 1H), 2.14 (s, 3H), 2.00 (t, *J* = 11.4 Hz, 1H), 1.87 – 1.78 (m, 1H), 1.75 – 1.54 (m, 9H), 1.51 – 1.43 (m, 2H), 1.39 – 1.30 (m, 4H), 1.27 – 1.13 (m, 7H), 1.09 – 0.84 (m, 8H).



实施例 41 化合物 KH046 的合成

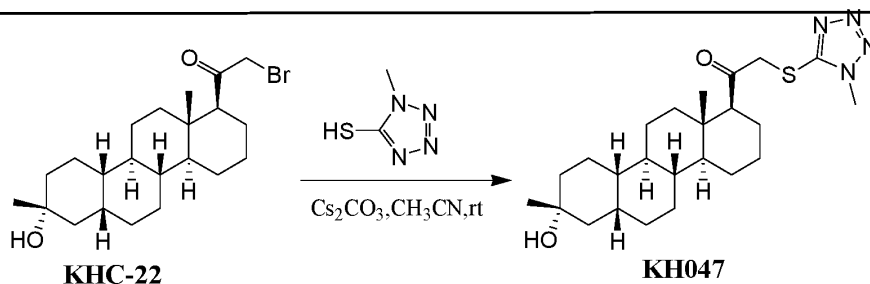


化合物 KHC-22 和 KHC-23: 取化合物 KH045 (1.50 g, 4.50 mmol), 加入甲醇 40 mL 溶解澄清, 然后滴加入溴 (1.08 g, 6.75 mmol)。室温反应 4 小时, 反应液橙色变成淡黄色, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 30 mL, 用乙酸乙酯 (2*65 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得淡黄色固体粗品。用硅胶柱快速色谱纯化 (二氯甲烷洗脱), 得白色固体 KHC-22 (1.19 g, 64.34%) 和白色固体 KHC-23 (0.33 g, 17.84%)。

化合物 KHC046: 取化合物 KHC-22 (50 mg, 0.12 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 K_2CO_3 (21 mg, 0.15 mmol) 和 8-氟-4-羟基喹啉 (25 mg, 0.15 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=4:1 展开), 得白色固体 (33 mg, 55.56%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.06 (d, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.55 – 7.40 (m, 2H), 4.80 (q, 2H), 2.44 (dd, 1H), 2.04 – 2.01 (m, 1H), 1.91 – 1.88 (m, 1H), 1.84 – 1.16 (m, 21H), 1.15 – 0.80 (m, 8H).

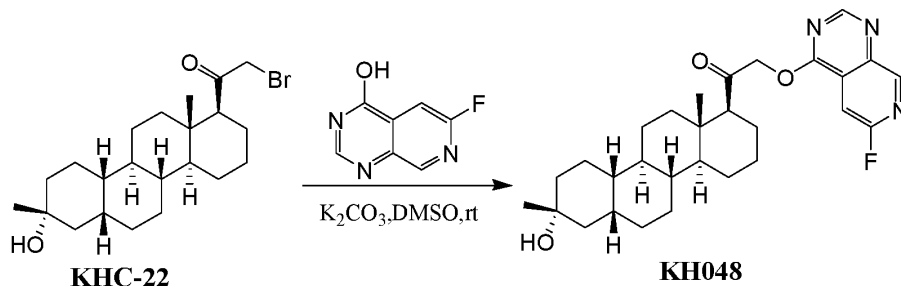
实施例 42 化合物 KH047 的合成



化合物 KH047: 取化合物 KHC-22 (50 mg, 0.12 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (49 mg, 0.15 mmol) 和 5-巯基-1-甲基-1H-四氮唑 (17 mg, 0.15 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=4:1 展开), 得白色固体 (51 mg, 50.12%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 4.40 (dd, 2H), 3.97 (s, 3H), 2.48 (dd, 1H), 2.05 - 1.99 (m, 1H), 1.93 - 1.82 (m, 1H), 1.83 - 1.14 (m, 21H), 1.13 - 0.70 (m, 8H).

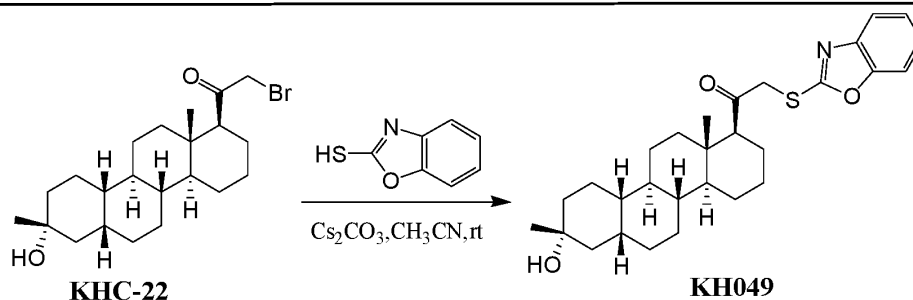
实施例 43 化合物 KH048 的合成



化合物 KH048: 取化合物 KHC-22 (60 mg, 0.14 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 K_2CO_3 (58 mg, 0.42 mmol) 和 6-氟吡啶[3,4-d]嘧啶-4-酮 (69 mg, 0.42 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=40:1 展开), 得白色固体 (37 mg, 53.28%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.82 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.66 (d, 1H), 4.80 (dd, 2H), 2.44 (dd, 1H), 2.05 - 1.99 (m, 1H), 1.93 - 1.82 (m, 1H), 1.83 - 1.14 (m, 21H), 1.13 - 0.70 (m, 8H).

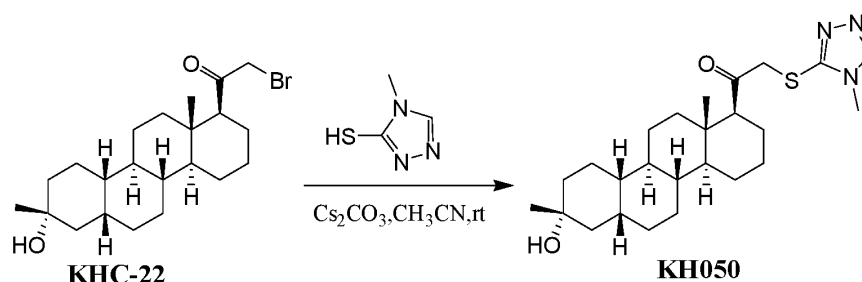
实施例 44 化合物 KH049 的合成



化合物 KH049: 化合物 KHC-22 (60 mg, 0.15 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (62 mg, 0.19 mmol) 和 2-巯基苯并噁唑 (29 mg, 0.19 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=4:1 展开), 得白色固体 (42 mg, 42.92%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.55 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.34 - 7.24 (m, 2H), 4.33 (dd, 2H), 2.57 (dd, 1H), 2.05 - 1.99 (m, 1H), 1.93 - 1.82 (m, 1H), 1.83 - 1.14 (m, 21H), 1.13 - 0.70 (m, 8H).

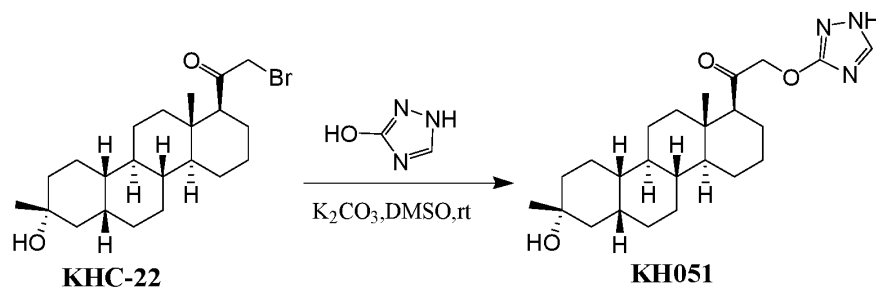
实施例 45 化合物 KH050 的合成



化合物 KH050: 化合物 KHC-22 (60 mg, 0.15 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (62 mg, 0.19 mmol) 和 3-巯基-4-甲基-4H-1,2,4-三氮唑 (22 mg, 0.19 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=70:1 展开), 得白色固体 (17 mg, 25.41%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.22 (s, 1H), 4.37 (dd, 2H), 3.68 (s, 3H), 2.50 (dd, 1H), 2.10 - 1.97 (m, 1H), 2.06 - 2.02 (m, 1H), 1.79 - 1.14 (m, 21H), 1.12 - 0.79 (m, 8H).

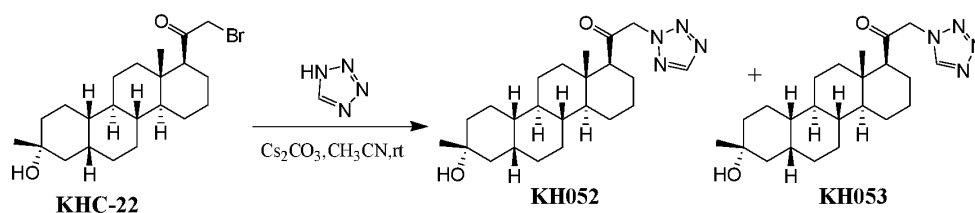
实施例 46 化合物 KH051 的合成



化合物 KH051: 取化合物 KHC-22 (60 mg, 0.14 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 K_2CO_3 (58 mg, 0.42 mmol) 和 3-羟基-1H-1,2,4-三氮唑 (36 mg, 0.42 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=40:1 展开), 得白色固体 (27 mg, 46.36%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.57 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 4.46 (q, 2H), 2.34 (dd, 1H), 2.07 – 1.96 (m, 1H), 1.88 – 1.82 (m, 1H), 1.79 (s, 21H), 1.11 – 0.81 (m, 8H).

实施例 47 化合物 KH052 和 KH053 的合成

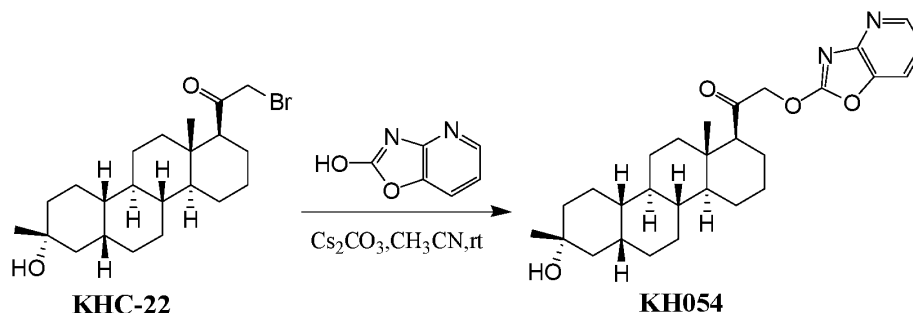


化合物 KH052 和 KH053: 化合物 KHC-22 (100 mg, 0.24 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (234 mg, 0.72 mmol) 和 1H-四氮唑 (50 mg, 0.72 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=30:1 展开), 分别得白色固体 KH6070069-1 (19 mg, 19.74%) 和白色固体 KH6070069-2 (44 mg, 45.72%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.57 (s, 1H), 5.49 (s, 2H), 2.33 (dd, 1H), 2.05 – 2.01 (m, 1H), 1.94 – 1.84 (m, 1H), 1.83 – 1.15 (m, 21H), 1.14 – 0.82 (m, 8H).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.72 (s, 1H), 5.29 (dd, 2H), 2.41 (dd, 1H), 2.06 – 2.01 (m, 1H), 1.95 – 1.85 (m, 1H), 1.85 – 1.15 (m, 21H), 1.14 – 0.82 (m, 8H).

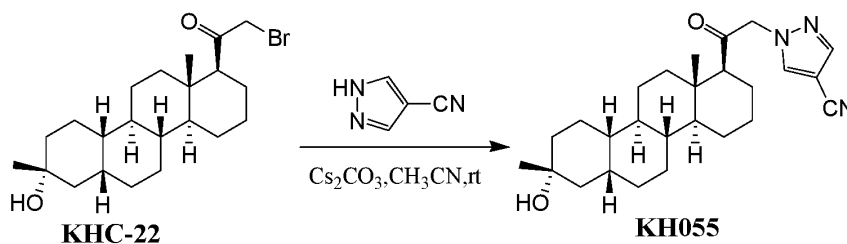
实施例 48 化合物 KH054 的合成



化合物 KH054: 化合物 KHC-22 (60 mg, 0.15 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (62 mg, 0.19 mmol) 和 2-羟基嘧啶[4,5-b]吡啶 (26 mg, 0.19 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=70:1 展开), 得白色固体 (17 mg, 42.92%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.25 (d, 1H), 7.01 (d, 1H), 6.69 (t, 1H), 5.11 (q, 2H), 2.40 (dd, 1H), 2.08 – 1.98 (m, 1H), 1.93 – 1.83 (m, 1H), 1.82 – 1.14 (m, 21H), 1.15 – 0.81 (m, 8H).

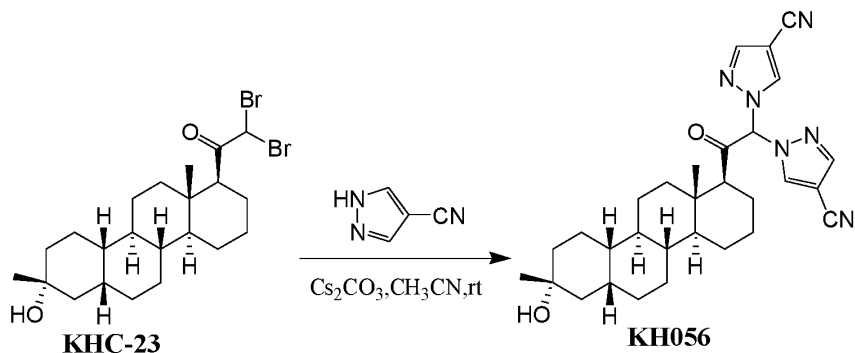
实施例 49 化合物 KH055 的合成



化合物 KH055: 化合物 KHC-22 (100 mg, 0.24 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (156 mg, 0.48 mmol) 和 4-氰基吡唑 (45 mg, 0.48 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=30:1 展开), 得白色固体 (51 mg, 50.12%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.83 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 4.99 (q, 2H), 2.32 (dd, 1H), 2.05 – 2.01 (m, 1H), 1.92 – 1.83 (m, 1H), 1.82 – 1.15 (m, 21H), 1.14 – 0.81 (m, 8H).

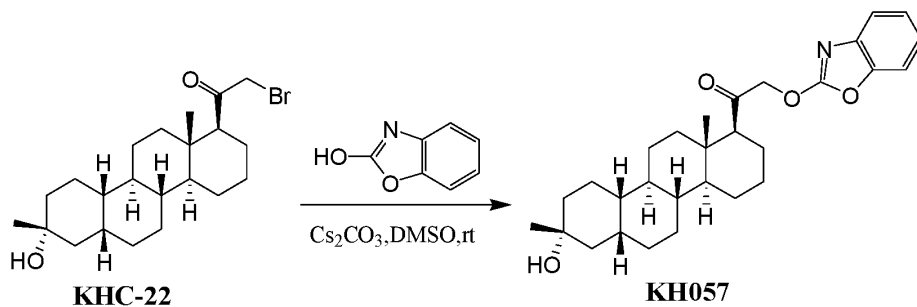
实施例 50 化合物 KH056 的合成



化合物 KH056: 化合物 KHC-23 (40 mg, 0.10 mmol), 加入乙腈 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (98 mg, 0.30 mmol) 和 4-氰基吡唑 (28 mg, 0.30 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (二氯甲烷/甲醇=30:1 展开), 得白色固体 (12 mg, 23.30%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.22 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 2.10 (dd, 1H), 2.05 - 2.00 (m, 1H), 1.87 - 1.78 (m, 1H), 1.78 - 1.14 (m, 21H), 1.12 - 0.79 (m, 8H).

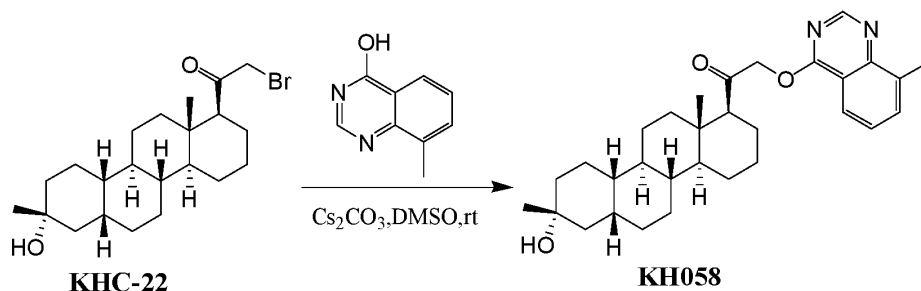
实施例 51 化合物 KH057 的合成



化合物 KH057: 化合物 KHC-22 (60 mg, 0.15 mmol), 加入二甲亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (143 mg, 0.44 mmol) 和 2-羟基苯并噁唑 (59 mg, 0.44 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=3:1 展开), 得白色固体 (30 mg, 42.92%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.24 – 7.19 (m, 1H), 7.17 – 7.07 (m, 2H), 6.75 – 6.65 (m, 1H), 4.58 (s, 2H), 2.40 (dd, 1H), 2.08 – 1.98 (m, 1H), 1.93 – 1.83 (m, 1H), 1.82 – 1.14 (m, 21H), 1.15 – 0.81 (m, 8H).

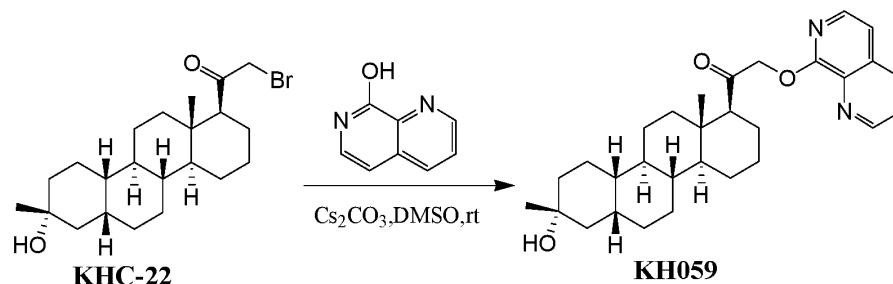
实施例 52 化合物 KH058 的合成



化合物 KH058: 取化合物 KHC-22 (80 mg, 0.19 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (190 mg, 0.58 mmol) 和 8-甲基-4-喹唑啉酮 (93 mg, 0.58 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=3:1 展开), 得白色固体 (28 mg, 30.01%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.13 (d, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.39 (t, 1H), 4.80 (dd, 2H), 3.49 (s, 3H), 2.45 (dd, 1H), 2.03 - 2.01 (m, 1H), 1.92 – 1.84 (m, 1H), 1.83 – 1.16 (m, 21H), 1.14 – 0.80 (m, 8H).

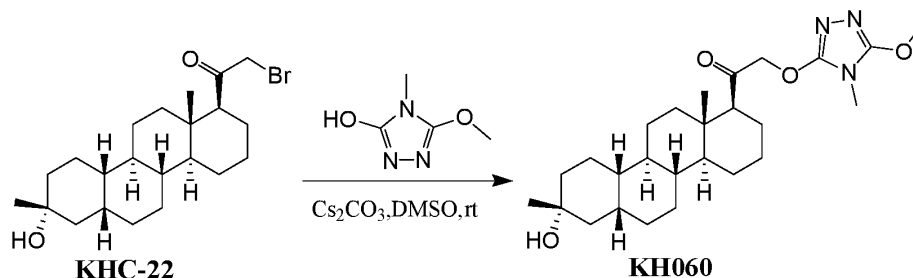
实施例 53 化合物 KH059 的合成



化合物 KH059: 取化合物 KHC-22 (80 mg, 0.19 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (190 mg, 0.58 mmol) 和 8-羟基-1,7-萘啶 (85 mg, 0.58 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=3:1 展开), 得白色固体 (28 mg, 30.89%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.86 (d, 1H), 7.88 (d, 1H), 7.54 (dd, 1H), 6.96 (d, 1H), 6.45 (d, 1H), 4.86 (s, 2H), 2.45 (dd, 1H), 2.09 – 1.95 (m, 1H), 1.87 – 1.83 (m, 1H), 1.80 – 1.15 (m, 21H), 1.12 – 0.76 (m, 8H).

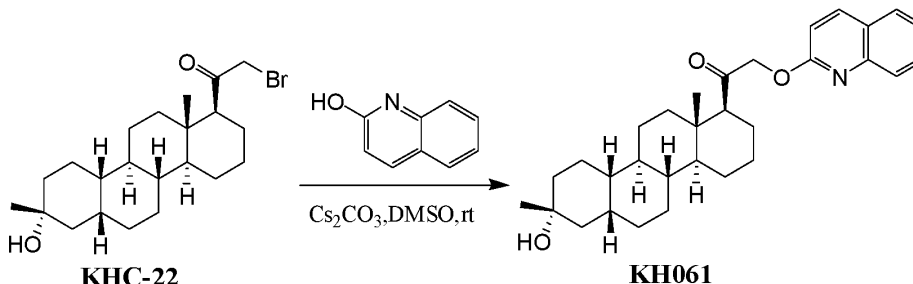
实施例 54 化合物 KH060 的合成



化合物 KH060: 取化合物 KHC-22 (100 mg, 0.24 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (156 mg, 0.48 mmol) 和 3-羟基-4-甲基-5-甲氧基-4H-1,2,4-三氮唑 (62 mg, 0.48 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=4:1 展开), 得白色固体 (56 mg, 50.72%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.54 – 4.40 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.12 (s, 3H), 2.29 (dd, 1H), 2.03 – 1.99 (m, 1H), 1.85 – 1.82 (m, 1H), 1.77 – 1.13 (m, 21H), 1.10 – 0.81 (m, 8H).

实施例 55 化合物 KH061 的合成

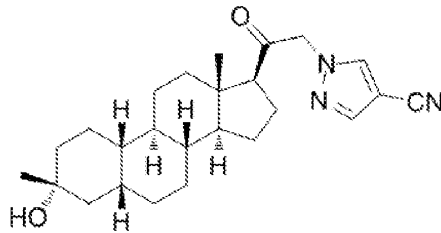


化合物 KH061: 取化合物 KHC-22 (80 mg, 0.19 mmol), 加入二甲基亚砜 5 mL 溶解澄清, 加入 Cs_2CO_3 (190 mg, 0.58 mmol) 和 2-羟基喹啉 (84 mg, 0.58 mmol)。室温反应过夜, TLC 监测反应显示反应完全。反应液加入水 10 mL, 用乙酸乙酯 (2*20 mL) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠水洗、无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 得粗品。用薄层层析硅胶厚制备板纯化 (石油醚/丙酮=4:1 展开), 得白色固体 (45 mg, 49.76%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (d, 1H), 7.75 (dd, 2H), 7.61 (t, 1H), 7.39 (t, 1H), 7.05 (d, 1H), 5.15 (s, 2H), 2.43 (dd, 1H), 2.04 - 2.00 (m, 1H), 1.86 - 1.83 (m, 1H), 1.78 - 1.12 (m, 21H), 1.10 - 0.80 (m, 8H).

实施例 56 体外细胞活性测定

本发明所用的对比化合物结构如下：



其具体合成工艺参照 CN105339381B 制备。

本发明使用了重组 GABA_A 受体的 α₁β₂γ₂ 和 α₄β₃δ 两种亚型的膜片钳电生理学方法来评测化合物的体外活性。

56.1 电生理检测溶液

细胞内外液成分：

细胞外液：140 mM NaCl, 5 mM CsCl, 2 mM CaCl₂•2H₂O, 1 mM MgCl₂•6H₂O, 5 mM HEPES, 10 mM D-Glucose, pH=7.4 (NaOH)。

细胞内液：130 mM CsCl, 0.1 mM CaCl₂•2H₂O, 2 mM MgCl₂•6H₂O, 1.1 mM EGTA, 5 mM Na₂-ATP, 10 mM HEPES, pH=7.2 (CsOH)。

所用细胞内液配好后分装为每管 1 mL, 冻存于 -20°C 冰箱, 每天实验使用新融化的电极内液, 所有细胞内液在三个月内用完。

56.2 离子通道稳定表达的细胞系：

检测离子通道	表达基因	基因信息	载体细胞
GABA _{A1} (α ₁ β ₂ γ ₂)	GABRA1	NM_000806	HEK293
	GABRB2	NM_021911	
	GABRG2	NM_198904	
GABA _{A4} (α ₄ β ₃ δ)	GABRA4	NM_000809	HEK293
	GABRB3	NM_000814	
	GABRD	NM_000815	

56.3 细胞培养

56.3.1 GABA_A(α₁β₂γ₂)细胞培养

稳定表达 GABA_A($\alpha 1\beta 2\gamma 2$)受体的 HEK293 细胞系在含有 10%胎牛血清以及 800 $\mu\text{g/mL}$ G418、200 $\mu\text{g/mL}$ Hygromycin B、100 $\mu\text{g/mL}$ Zeocin 的 DMEM 培养基中培养,培养温度为 37°C,二氧化碳浓度为 5%。

细胞传代: 除去旧培养基并用 PBS 洗一次, 然后加入 1 mL 0.25%-Trypsin-EDTA 溶液, 37°C 孵育 0.5 min。当细胞从皿底脱离, 加入 5 mL 37°C 预热的完全培养基。将细胞悬液用吸管轻轻吹打使聚集的细胞分离。将细胞悬液转移至无菌的离心管中, 1000 rpm 离心 5 min 收集细胞。扩增或维持培养, 将细胞接种于 6 cm 细胞培养皿, 每个细胞培养皿, 接种细胞量为 2.5×10^5 cells (最终体积: 5 mL)。

为维持细胞的电生理活性, 细胞密度必须不能超过 80%。

实验之前细胞用 0.25%-Trypsin-EDTA 分离, 将 8×10^3 细胞铺到盖玻片上, 在 24 孔板中培养 (最终体积: 500 μL), 18 h 后, 进行实验膜片钳检测。

56.3.2 GABA_A($\alpha 4\beta 3\delta$)细胞培养

HEK293 细胞在含有 10%胎牛血清的 DMEM 培养基中培养, 培养温度为 37°C, 二氧化碳浓度为 5%。

细胞传代: 除去旧培养基并用 PBS 洗一次, 然后加入 1 mL 0.25%-Trypsin-EDTA 溶液, 37°C 孵育 0.5 min。当细胞从皿底脱离, 加入 5 mL 37°C 预热的完全培养基。将细胞悬液用吸管轻轻吹打使聚集的细胞分离。将细胞悬液转移至无菌的离心管中, 1000 rpm 离心 5 min 收集细胞。扩增或维持培养, 将细胞接种于 6 厘米细胞培养皿中, 每皿接种细胞量为 2.5×10^5 (最终体积: 5 mL)。用于转染及膜片钳检测的细胞接种于预先放好盖玻片的 24 孔板中, 每孔 8×10^3 个细胞。

转染: 第二天转染 GABA_{A4} ($\alpha 4$ 、 $\beta 3$ 、 δ 三个质粒比为 1:1:1), 使用 X-tremeGENE HP DAN Transfection Reagent 转染试剂, 质粒与转染试剂比例为 1 μg : 2 μL 。24 孔板每孔质粒用量为 0.5 μg , 转染试剂用量为 1 μL 。以下为转 12 个孔的具体步骤: 无菌离心管中加入 600 μL Opti-MEM, 加 6 μg 质粒, 混匀; 再加入 12 μL 转染试剂, 混匀, 室温孵育 15 min。然后将转染复合物滴加到细胞中, 每孔 50 μL , 轻晃混匀。

第三天换液, 第四天进行膜片钳检测。

56.4 膜片钳检测

用微电极拉制仪 (P97, Sutter Instruments) 将毛细玻璃管 (BF150-86-10, Sutter Instruments) 拉制成记录电极。在倒置显微镜 (IX71, Olympus) 下操纵微电极操纵仪 (MP285, Sutter Instruments) 将记录电极接触到细胞上, 给予负压抽吸, 形成 G Ω 封接。形成 G Ω 封接后进行快速电容补偿, 然后继续给予负压, 吸破细胞膜, 形成全细胞记录模式。然后进行慢速电容的

补偿并记录膜电容及串联电阻。不给予漏电补偿。

将铺有细胞的盖玻片置于倒置显微镜中的记录浴槽中，供试品工作液以及不含化合物的外液利用重力灌流的方法从低浓度到高浓度依次流经记录浴槽从而作用于细胞，在记录中利用真空泵进行液体交换。每个浓度重复检测多例数据。所有电生理试验在室温下进行。

全细胞膜片钳记录GABA_{A1}受体电流的电压刺激方案如下：当形成全细胞封接后细胞膜电压钳制于-70 mV。在Gap-free模式下进行记录GABA_{A1}电流。当细胞稳定后开始给与3μM GABA激动，在被检测浓度孵育30s后依次给与3μM GABA与不同浓度化合物的混合液，最后给与100μM GABA，每次给药时间间隔为2min，试验数据由EPC-10放大器（HEKA）进行采集并储存于PatchMaster（HEKA）软件中。

全细胞膜片钳记录GABA_{A4}受体电流的电压刺激方案如下：当形成全细胞封接后细胞膜电压钳制于-70 mV。在Gap-free模式下进行记录GABA_{A4}电流，当细胞稳定后开始给与10nM GABA激动，在被检测浓度孵育30s后依次给与10nM GABA与不同浓度化合物的混合液，最后给与10μM GABA，每次给药时间间隔为2min，试验数据由EPC-10放大器（HEKA）进行采集并储存于PatchMaster（HEKA）软件中。

56.5 数据质量标准

以下标准用来判断数据是否可以接受：

- (1) 电极电阻 < 5 MΩ;
- (2) 封接电阻 > 1 GΩ;
- (3) 接入电阻起始 < 15 MΩ;
- (4) 接入电阻结束 < 15 MΩ;
- (5) 电流没有明显的自发性衰减;
- (6) 在膜电位为-70mV下无明显的漏电流;

56.6 数据分析

在检测GABA_{A1}时，分别将3μM GABA和配制不同药物浓度的混合液的电流与100μM GABA电流标准化 $\frac{Peak\ current\ compound}{Peak\ current\ vehicle}$ ，然后计算每一个药物浓度对应的激动率。

在检测GABA_{A4}时，分别将10nM GABA和配制不同药物浓度的混合液的电流与10μM GABA电流标准化 $\frac{Peak\ current\ compound}{Peak\ current\ vehicle}$ ，然后计算每一个药物浓度对应的激动率。对每一个浓度计算平均数和标准误。并用以下的方程计算每种化合物的半激活浓度：

$$Y = Bottom + Bottom / (1 + 10^{((LogEC_{50} - X) \times HillSlope)})$$

用以上方程对剂量依赖效应进行非线性拟合，其中EC₅₀为半激活浓度，Hillslope代表希尔

系数。曲线拟合以及EC₅₀的计算利用Graphpad5.0软件完成。

56.7 体外活性结果

表 1: 不同化合物对 GABA_{A1} 通道激动作用的电生理学评价

化合物	0.1μM	1μM
KH001	D	B
KH002	E	B
KH003	D	B
KH004	D	A
KH005	D	B
KH006	D	C
KH007	E	C
KH008	D	A
KH009	D	A
KH010	E	D
KH011	D	B
KH012	E	B
KH013	E	E
KH014	E	C
KH015	E	E
KH016	E	C
KH017	E	E
KH018	E	D
KH019	E	E
KH020	E	E
KH021	E	E
KH022	E	C
KH023	E	E
KH024	E	C
KH025	E	B
KH026	E	C
KH027	E	E
KH028	E	E
KH029	E	E
KH030	E	E
KH031	E	C
KH032	E	D
KH033	E	D
KH034	E	E
KH035	E	D
KH036	E	E

KH037	E	E
KH038	E	C
KH039	E	B
KH040	E	D
KH041	E	B
KH042	E	C
KH043	E	D
KH045	E	D
KH047	E	E
KH048	E	E
KH051	E	E
KH052	E	E
对比化合物	E	D

A: >80%, B: 60%-80%(含 60%), C: 40%-60%(含 40%), D: 20%-40% (含 20%), E: 0-20%

表 1 为受试样品在 0.1 μM 及 1 μM 浓度下的效能, 即受试样品分别在这两个浓度下与 3 μmol GABA 共同作用于 GABA_{A1} 受体时产生的峰值电流与 100 μmol 的 GABA 单独存在时产生的峰值电流的比值乘以 100%。

表 2: 不同化合物对 GABA_{A1} 通道激动作用的电生理学评价

化合物	$\text{EC}_{50}(\text{nmol})$	E_{max}
KH002	463.9	74.6%
KH003	478.1	72.8%
KH004	403.7	106.1%
KH022	821.1	93.1%
KH025	619.9	93.7%
对比化合物	1261	84.2%

E_{max} 定义为受试样品与 3 μmol GABA 共同存在下产生的峰值电流与 100 μmol 的 GABA 单独存在时产生的峰值电流的比值乘以 100%。

表 3：不同化合物对 GABA_{A4} 通道激动作用的电生理学评价

化合物	EC ₅₀ (nmol) (无 GABA)	E _{max} (无 GABA)	EC ₅₀ (nmol) (含 10 nM GABA)	E _{max} (含 10 nM GABA)
KH001	172.8	103.2%	132.2	91.7%
KH004	171.6	158.4%	134.6	171.6%
KH022	N/A	45.8%	385.5	88.6%
KH025	947.1	84.6%	571.9	92.5%
KH039	>4000	120.8%	>4000	124.6%
对比化合物	N/A	113.9%	218.7	148.7%

N/A 表示电流响应不随浓度变化。

E_{max} 定义为受试样品单独存在和与 10 nmol GABA 共同存在下产生的峰值电流与 10 μmol 的 GABA 单独存在时产生的峰值电流的比值乘以 100%。

实施例 57 给药后脑和血浆中的药代动力学

1、试验方案

1.1 试验药品

本申请的 KH022 化合物和对照品化合物（同实施例 56 所述的对照品化合物）。

1.2 试验动物

试验动物为 CD-1 小鼠。

1.3 给药

采用溶媒为 30% SBECD in water 作为灌胃给药制剂的配制。实验第一天，第 1 组动物通过腹腔注射 KH022 和对照品化合物的溶液，给药体积为 5 mL/kg；在给药前称量动物体重，根据体重计算给药体积。通过隐静脉穿刺方式在规定的时间采集（或其他合适的采血位点）全血样品（每组的 0.03mL），血样采集后，4℃，3200g 离心 10 分钟吸取上清血浆，迅速至于干冰中，保持-20℃ 或更低温度，用于 LC-MS/MS 分析。每个时间点动物通过 CO₂ 安乐死后取脑组织，用生理盐水漂洗擦干后使用 4 倍脑重量（g）体积的 15mM PBS(pH7.4):MeOH=2:1 的匀浆液进行匀浆。匀浆后转移样品到贴标签的离心管中并迅速至于干冰中，保持-20℃ 或更低温度，用于 LC-MS/MS 分析。

2、数据分析

采用 HPLC-UV 法测定给药制剂的浓度，校正曲线至少包含 6 个浓度水平，且 R²≥0.999。测试化合物在血浆中的浓度由高效液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）进行测定。化合物和内

标的保留时间、色谱图采集和色谱图的积分采用软件 Analyst (Applied Biosystems) 进行处理, 数据的统计采用软件 Watson LIMS (Thermo Fisher Scientific) 或 Analyst (Applied Biosystems) 进行处理。样品中分析物浓度单位为 ng/mL, 保留 3 位有效数字, 所有以百分数表示的数值 (如: %偏差和 %变异系数等) 均保留到小数点后一位。采用 WinNonlin™ Version 6.3 (Pharsight, Mountain View, CA) 药动学软件的非房室模型处理血浆浓度, 使用线性对数梯形法方法计算药动学参数。

3、试验结果

如附图 1 和附图 2 所示, 同等给药剂量下, 相比对照品 (8h 时脑内已经检测不到该物质), 化合物 KH022 在小鼠脑内清除速度更慢, 在 2h 时小鼠大脑中的含量是对照品的 2.5 倍。

57.3 小鼠抗焦虑试验

57.3.1 明暗箱穿梭实验: 小鼠明暗穿梭箱实验是根据小鼠喜欢在暗箱活动, 但动物的探究习性又促使其试图探究明箱而设计, 明箱的亮光刺激又抑制动物探究活动从而使动物表现出焦虑、避暗等类似神经症的状态。抗焦虑作用可增加实验动物在明箱的滞留时间, 可评估动物的活动活性, 从而反映药物的抗焦虑药效作用。入组实验动物根据体重随机分为 5 组, 包括阴性对照组、受试化合物 (KH004 或者 KH022) 的两个不同剂量组 (1、3mg/kg), 每组设置 10 只动物, 全部雄性。动物均提前给予相应剂量供试品干预, 连续 5 天, 于末次给药 30 min 后进行行为学检测, 选择明箱滞留时间作为评估 KH004 和 KH022 抗焦虑作用的主要指标。

试验结果如表 4 所示:

表 4: KH004 和 KH022 对实验动物明箱滞留时间的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数量 (只)	明箱滞留时间 (%)
阴性对照组	0	10	26.69±8.38
KH022	1.0	10	50.00±4.59****
	3.0	10	56.66±7.96****
KH004	1.0	10	50.30±6.89****
	3.0	10	53.91±9.37****

注: 表中数据均以均值±标准差 (Mean ± SD) 表示, 各试验组均采用 10 只动物进行统计分析, **P*<0.05, ***P*<0.01, ****P*<0.001, *****P*<0.0001 表示不同试验组与阴性对照组动物的统计分析结果。

57.3.2 高架十字迷宫实验: 高架十字迷宫实验是利用动物对新环境探究特性及对高悬敞开臂恐惧形成的矛盾冲突状态, 实验动物置于迷宫后会主动探究开臂, 但同时又惧怕开臂中高悬

敞开环境，从而形成焦虑样症状，抗焦虑剂可以解除动物在该实验体系内焦虑冲突状态。入组实验动物根据体重随机分为 4 组，包括阴性对照组、受试化合物（KH004 或者 KH022）的两不同剂量组（1mg/kg、3mg/kg），每组设置 10 只动物，全部雄性。动物均提前给予相应剂量供试品干预，连续 5 天，于末次给药 30 min 后进行行为学检测，采用动物进入开臂次数潜伏期（Latency）百分比作为主要指标评估 KH004 和 KH022 的抗焦虑作用。实验结果如表 5 所示。

表 5：KH004 和 KH022 不同剂量对小鼠开臂滞留时间的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数量 (只)	开臂滞留时间 (%)
阴性对照组	0	10	10.79±6.24
KH022	1	10	31.40±16.41**
	3	10	39.46±11.82****
KH004	1	10	27.21±11.15***
	3	10	36.44±13.28****

注：表中数据均以均值±标准差（Mean ± SD）表示，各试验组均采用 10 只动物进行统计分析，***P*<0.01，****P*<0.001，*****P*<0.0001 表示不同试验组与阴性对照组动物的统计分析结果。试验结论：KH004 及 KH022 显著增加动物开臂滞留时间百分比，显示抗焦虑药效。

57.3.3 给药期间动物副作用实验

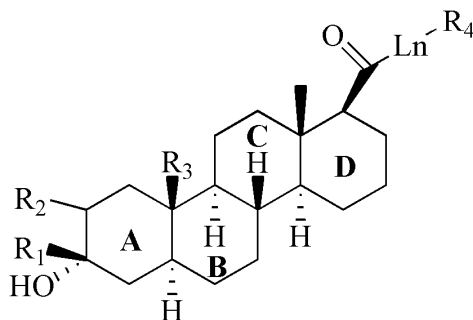
由于作用于 GABA（A）的药物会产生类似麻醉（副作用）的行为学表现，因此在高架十字迷宫实验的过程中，观察给药期间动物副作用状态。每组 10 只小鼠，观察其三种行为学表现：步态、活动能力及俯卧行为。“+”代表严重程度，三个“+”代表最严重，恢复正常行动时间>60 分钟。阳性药为如实施例 56 所述的对照化合物，实验结果如下表 6 所示。由表 6 可以看出，相比于阳性药，本申请的 KH004 和 KH022 化合物的副作用明显较小。

表6 给药期间动物副作用状态观察统计表

给药 3mg/kg	第一天						第二天						第三天						第四天					
	步态不稳			活动减退			侧卧			步态不稳			活动减退			侧卧			步态不稳			活动减退		
	数量	程度		数量	程度		数量	程度		数量	程度		数量	程度		数量	程度		数量	程度		数量	程度	
阳性药	7	++	3	+++	2	+	6	++	0	0	0	8	+	4	++	0	0	9	+	5	+	0	0	
KBD04	0		0		0		0		0	0	0	1	+	0		0	0	0		0		0	0	
KBD22	3	+	1	++	0		2	+	0	0	0	1	+	0		0	0	3	+	1	+	0	0	

权 利 要 求 书

1. 一种式 I 化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于如式 I 化合物所示：



式 I

其中 R1 是氢，取代或未取代的 C1-6 烷基、取代或未取代的 C1-6 烷氧基、取代或未取代的 C2-6 链烯基，取代或未取代的 C2-6 炔基，或取代或未取代的 C3-6 碳环基；

R2 是氢、卤素、取代或未取代的 C1-6 烷基、取代或未取代的 C1-6 烷氧基、取代或未取代的 C2-6 烯基、取代或未取代的 C2-6 炔基、取代或未取代的 C3-6 碳环基；

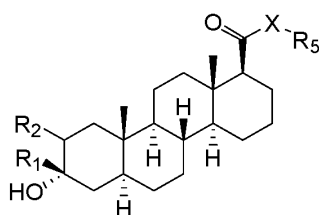
R3 是氢，未取代的 C1-6 烷基或 $-\text{CH}_2\text{OR}^a$ ，其中 R^a 是氢，取代或未取代的 C1-6 烷基，取代或未取代的 C1-6 烷氧基、取代或未取代的 C2-6 烯基、取代或未取代的 C2-6 炔基、取代或未取代的 C3-6 碳环基；

L 为 $-\text{C}(\text{Rb})(\text{Rb})-$ ，每个 Rb 独立地是氢或 C1-C6 烷基，n 为 0-3 的整数；

R4 是卤素或取代或未取代的杂芳基或杂环基。

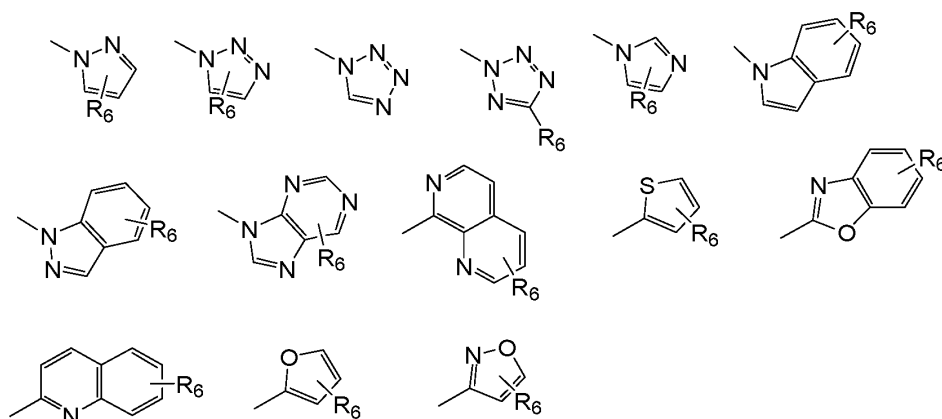
2. 根据权利要求 1 所述 I 化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述 R1 是氢，取代或未取代的 C1-6 烷基；R2 是氢，取代或未取代的 C1-6 烷基；R3 是氢，未取代的 C1-6 烷基；Rb 为氢，n 为 1-2 的整数；R4 是杂芳基，且被氰基、硝基、羟基、卤基、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 卤代烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{Rd}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{Re})(\text{Rf})$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{Rd})$ 、 $-\text{N}(\text{Re})(\text{Rf})$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{Re})(\text{Rf})$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{O}(\text{Rd})$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{Rd}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{Rd}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{ORd}$ 或 $-\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{N}(\text{Re})(\text{Rf})$ 任意取代；每个 Rd 是氢或 C1-C6 烷基；每个 Re 和 Rf 独立地是氢、C1-C6 烷基、碳环基、杂环基、芳基、杂芳基。
3. 根据权利要求 1 所述 I 化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于 R1 是氢或甲基；R2 是氢；R3 是氢；L 为 $-\text{CH}_2-$ ；R4 是单环或双环杂芳基或杂环基，其中杂原子是氧或氮或硫，所述双环选自螺环或稠环，且所述杂芳基或杂环基被氰基、硝基、羟基、卤基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 卤代烷基、 $-\text{S}$ -或 $-\text{O}$ -任意取代。
4. 根据权利要求 3 所述 I 化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述 R4 为包含 0-4 个氮原子的 5 元或 6 元杂芳基，且被氰基、硝基、羟基、卤基、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 卤代烷基任意取代。

5. 根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于如式 II 化合物所示：



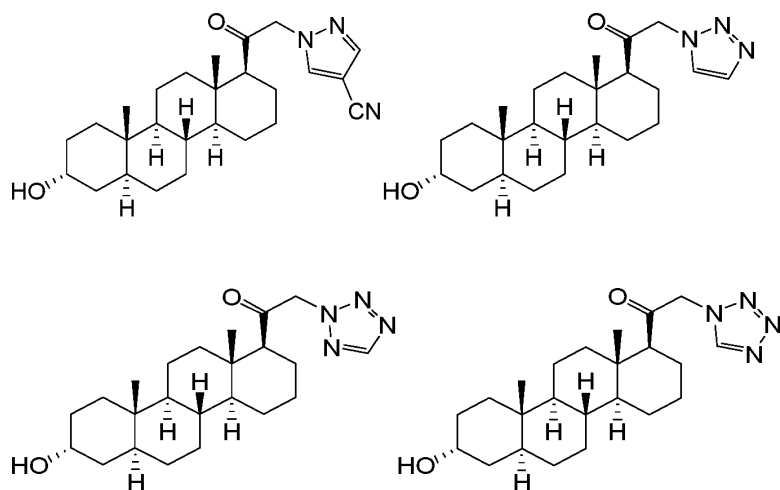
式 II

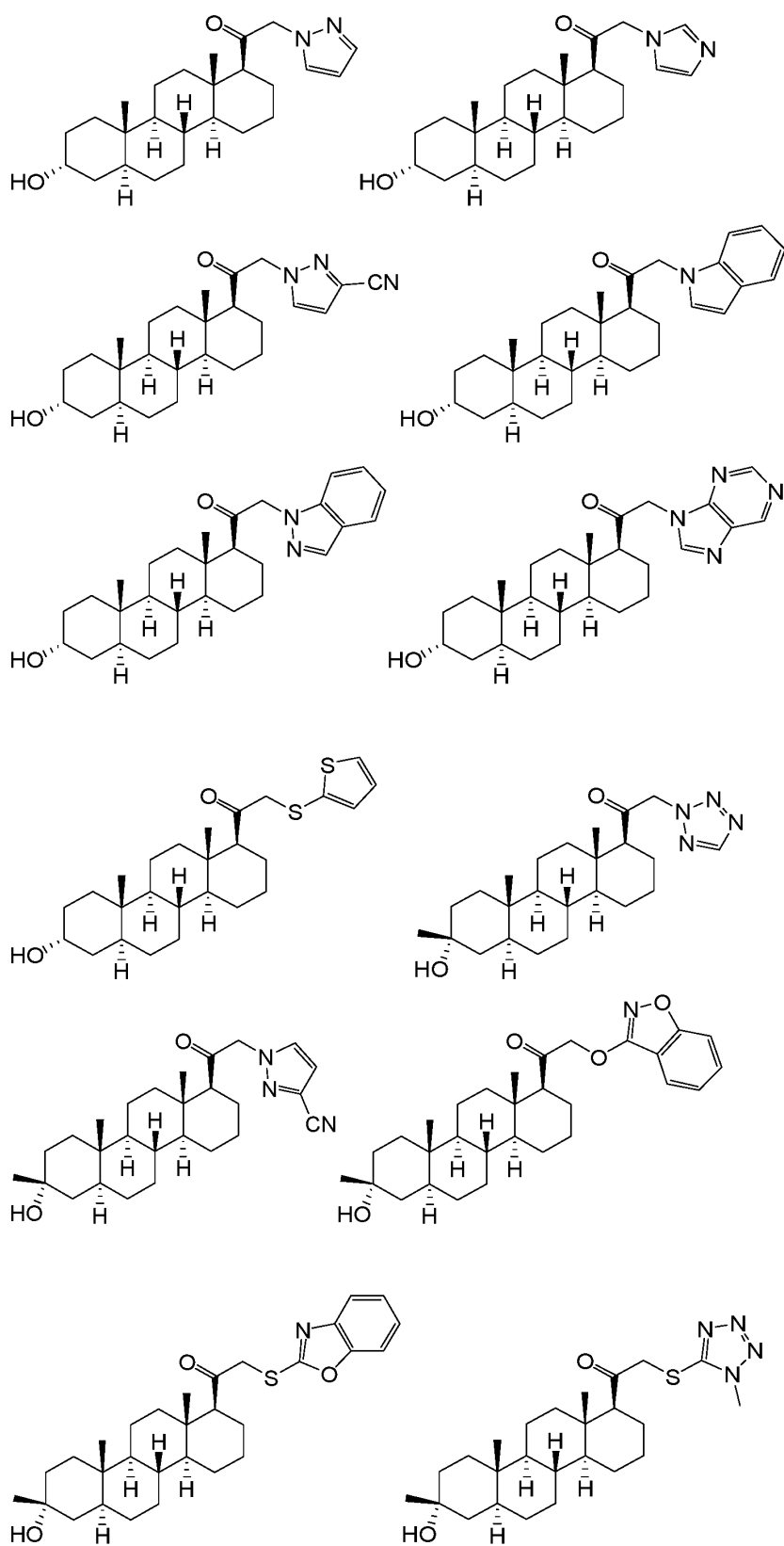
其中，R1 是氢，被卤素取代或未取代的 C1-3 烷基；R2 是氢、卤素、被卤素取代或未取代的 C1-6 烷基或 C1-6 烷氧基；X 是 CH₂、N、O 或 S；R5 选自如下基团：

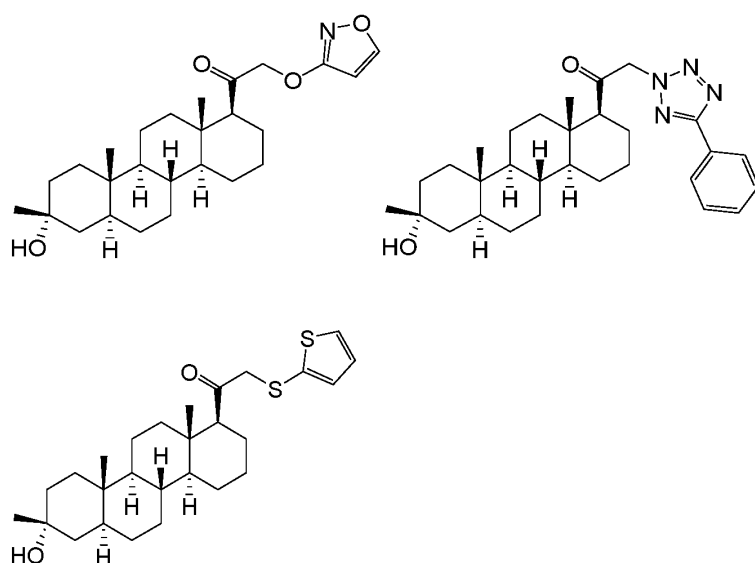


其中 R6 为 H、卤素、CN、CF₃、NO₂、或被卤素取代或未取代的 C1-6 的烷基或 C1-6 的烷氧基。

6. 根据权利要求 1 所述 I 化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述化合物选自：







7. 一种药物组合物，其包括权利要求 1-6 中任一项的化合物或其可药用盐，以及药学上可用的赋形剂。
8. 权利要求 1-6 任一项中所述化合物及其可药用盐以及权利要求 7 中的药物组合物在用于制备预防或治疗神经系统疾病药物中的用途。
9. 根据权利要求 8 所述的用途，其特征在于所述神经系统疾病选自：睡眠障碍、心境障碍、精神分裂症谱系障碍、痉挛性障碍、记忆障碍和/或认知障碍、运动障碍、人格障碍、自闭症谱系障碍、疼痛、外伤性脑损伤、血管疾病、物质滥用障碍和/或截断综合症或耳鸣。
10. 根据权利要求 9 所述的用途，其特征在于所述心境障碍为抑郁症；其中抑郁症为破坏性心境失调障碍、重性抑郁障碍、持续性抑郁障碍、经前期烦躁障碍、物质或药物所致的障碍、由其它躯体疾病所致的障碍、其它特定的抑郁障碍和未特定的抑郁障碍。
11. 根据权利要求 9 所述的用途，其特征在于所述神经系统疾病选自轻度抑郁、中度抑郁、重度抑郁或产后抑郁。
12. 根据权利要求 7 所述药物组合物，其特征在于能通过口服、皮下、静脉或肌肉内给药所述药物组合物。