

7-位取代吡咯并三嗪类化合物或其药学上可用的盐，及其制备方法和用途

技术领域

本发明涉及药物化学领域，特别是涉及 7-位取代吡咯并三嗪类化合物或其药学上可用的盐，及其制备方法和用途。

背景技术

PI3K-Akt-mTOR 信号通路是传递来自于受体酪氨酸激酶和 G 蛋白偶联受体信号的主要通路之一，在多种细胞功能中扮演着重要的角色。近年来的研究发现，在多种人类肿瘤中，PI3K-Akt-mTOR 信号通路中的多个关键节点蛋白因编码基因存在突变或扩增而过度激活[Vivancod 等人, Nat Rev Cancer 2 (2002), 第 489-501 页]。其中 PI3K 作为联系细胞外信号与细胞应答效应的桥梁分子，是调节细胞生长、代谢和存活的关键因子，其过度激活与人类多种肿瘤的发生密切相关[Sabbah 等人, Curr Med Chem 18 (2011), 第 5528-5544 页]。

PI3K 属于细胞内的磷脂酰肌醇激酶，具有磷脂酰肌醇激酶活性以及丝/苏氨酸激酶活性。根据基因系列同源性、底物特异性及功能不同，PI3K 超家族主要分为三类：I 型、II 型、III 型[Engelman 等人, Nat Rev Genet 7 (2006), 第 606-619 页]。I 型 PI3K 是到目前为止研究最为广泛的一类，该类 PI3K 又可分为 PI3K α ，PI3K β ，PI3K δ ，PI3K γ 四个亚型。I 型 PI3K 是由一个 110kDa 的催化亚基和一个 85kDa 的调节亚基构成的异二聚体酶。由于调节亚基和激活机理的不同，这四个亚型又可以归为两类：Class IA，Class IB。其中 PI3K α ，PI3K β ，PI3K δ 属于 Class IA，由受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase, RTKs) 激活；而 PI3K γ 属于 Class IB，由 G-蛋白偶联受体激活。I 型 PI3K 可以将磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸酯 (phosphatidylinositol-4,5-phosphate, PIP2) 的 3 位磷酸化，生成磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸酯 (phosphatidylinositol-3,4,5-phosphate, PIP3)。PIP3 作为重要的第二信使，可以结合并激活多种细胞内的靶蛋白 (如 AKT 和 PDK1)，形成一个信号级联复合物，最终调节细胞的增殖、分化、存活和迁移等。II、III 型 PI3K 与 I 型

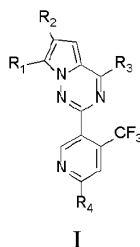
PI3K 的激酶区具有高度的同源性并且拥有相似的磷酸化功能，但其具体的生理作用知之甚少。II 型 PI3K 为单体结构，缺少调节亚基，分为 PI3K $C2\alpha$ ，PI3K $C2\beta$ ，PI3K $C2\gamma$ 三个亚型；主要参与细胞内物质的运输，细胞存活和膜受体蛋白的内化过程。III 型 PI3K，只有一种亚型即 Vps34 (vacuole protein sorting defective 34)，其关于胞吞作用和高尔基体的囊泡的运输功能已经广为人知[Backer, Biochem J 410 (2008), 第 1-17 页]。近年的研究表明 Vps34 在细胞自噬过程中扮演了重要角色[Ma 等人, Cell Res 24 (2014), 第 912-924 页]。

目前，已经有数十个 PI3K 抑制剂处于临床研究阶段，它们大致可分为三类：非选择性 PI3K 抑制剂，I 型 PI3K 选择性抑制剂和亚型选择性 I 型 PI3K 抑制剂。从现有的临床数据分析来看，虽然非选择性的 PI3K 抑制剂最早进入临床研究，但由于剂量限制性和毒性进展较慢。亚型选择性 PI3K 抑制剂进展最快，尤其是 PI3K δ 抑制剂，其中首个上市的 PI3K 抑制剂 Idelalisib 就是 PI3K δ 抑制剂，另一个 γ/δ 选择性抑制剂 Duvelisib 已经处于 III 期临床[Winkler 等人, Chem Biol 20 (2013), 第 1362-1372 页]。在 Class IA 的催化亚基中，PI3K δ 的催化亚基 p110 δ 不同于广泛表达于全身各组织的 P110 α 和 P110 β ，主要在免疫系统选择性高表达，如 B 细胞、T 细胞等，与血液恶性肿瘤和炎症、免疫等疾病密切相关[Fruman 等人, N Engl J Med 370 (2014), 第 1061-1062 页]。Idelalisib 正是作为治疗复发的慢性淋巴细胞白血病 (CLL)、复发性滤泡 B 细胞非霍奇金淋巴瘤 (FL) 和复发性小淋巴细胞淋巴瘤三种血液瘤的药物被美国的 FDA 批准上市。这彰显了 PI3K δ 抑制剂在血液恶性肿瘤治疗中的重大意义。

日前针对 PI3K δ 的抑制剂的骨架大都集中在 Idelalisib 母核类似物上，例如 US20140121224A1。而相比之下，以三嗪为母核的化合物就已有的数据来看，较 Idelalisib 毒性明显降低。另一类研究较多的结构是噻吩并嘧啶母核，其代表化合物是 PI3K 泛抑制剂 GDC-0941[Folkes 等人, J Med Chem 51 (2008), 第 5522-5532 页]。这类化合物虽然也有 PI3K δ 选择性的报道[Murray 等人, J Med Chem 55 (2012), 第 7686-7695 页]，但是其母核与吡咯并三嗪性质差异很大。而基于吡咯并三嗪为母核的 PI3K 抑制剂报到目前只有少数几例，例如 CN102675323A，并且至今未有关于 PI3K δ 抑制活性的报道。

发明内容

基于此，本发明的目的是提供一种通式 I 表示的 7-位取代吡咯[2,1-f][1,2,4]并三嗪类化合物或其药学上可用的盐：



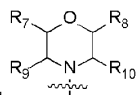
其中，

R_1 为卤素，或未取代或被至少一个取代基取代的 C_{1-6} 烷基或 C_{3-8} 环烷基，所述取代基为卤素；

- R_2 为 $-C(OH)R_5R_6$ 、 $-COC_{1-6}$ 烷基、 $-CN$ 、未取代或被至少一个取代基取代的如下基团： C_{1-6} 烷基、 $-CH_2NH-C_{1-6}$ 烷基、 $-CH_2N(C_{1-6} \text{ 烷基})(C_{1-6} \text{ 烷基})$ 、 $-CH_2-$ (含 1-2 杂原子及 3-6 碳原子的饱和杂环基)、 $-CH_2-$ (含 1-2 杂原子及 3-6 碳原子的饱和杂环基)-(含 1-2 杂原子及 3-6 碳原子的饱和杂环基)、 $-CH_2-$ (含 1-2 杂原子及 4-12 碳原子的饱和螺环基)、 $-CH_2-$ (含 1-2 杂原子及 3-12 碳原子的饱和桥环基)-(含 1-2 杂原子及 3-6 碳原子的饱和杂环基)，或 $-CH_2-$ (含 1-2 杂原子及 3-12 碳原子的饱和桥环基)，所述取代基为卤素、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})(C_{1-4} \text{ 烷基})$ 、 $-O-C_{1-4}$ 烷基、 $-CN$ 、 $-COOH$ 、 $-CHO$ 、 $-NHS(O)_2-C_{1-4}$ 烷基、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})C(C_{1-4} \text{ 烷基})(C_{1-4} \text{ 烷基})-CONH_2$ 、 $=O$ 、 $-OH$ 、 $-S(O)_2N(C_{1-4} \text{ 烷基})(C_{1-4} \text{ 烷基})$ 、 $-S-C_{1-4}$ 烷基、 $-S(O)_2-C_{1-4}$ 烷基、 $-CO-C_{3-6}$ 环烷基、氧杂环丁烷基、吗啉基、 C_{3-6} 环烷基、 $-C_{1-4}$ 烷基- $N(C_{1-4} \text{ 烷基})(C_{1-4} \text{ 烷基})$ 、未取代或被至少一个甲基取代的 C_{1-4} 烷基- $O-C_{1-4}$ 烷基、未取代或被至少一个甲基取代的 $-CONH_2$ 、未取代或被至少一个甲基取代的 C_{1-4} 烷基- $CONH_2$ 、未取代或被至少一个甲基取代的 $-COO-C_{1-4}$ 烷基、未取代或被至少一个甲基取代的 $-NH_2$ 、未取代或被至少一个甲基取代的 $-NHCO-C_{1-4}$ 烷基、未取代或被至少一个取代基 A 取代的 $-CO-C_{1-4}$ 烷基，所述取代基 A 为羟基或甲基，或者未取代或被至少一个取代基 B 取代的 C_{1-4} 烷基，所述取代基 B 为 $-NH_2$ 、 $-OCH_3$ 、 $-CONH_2$ 、 $-OH$ 或 $-CF_3$ 。

所述 R_2 中，所述杂原子选自 N、O 和 S 中的至少一种，

所述 R_5 和 R_6 各自独立地为氢或 C_{1-6} 烷基；



R_3 为 $\sim$ ，其中 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 各自独立地为氢或未取代或被至少一个取代基取代的 C_{1-6} 烷基，所述取代基为卤素或羟基；

- R_4 为 $-NH_2$ 、 $-NHCONHR_{11}$ 或 $-NHCO_2R_{12}$ ，其中 R_{11} 和 R_{12} 各自独立地为未取代或被至少一个取代基取代的 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基或苯基，所述取代基选自卤素和 $-C(O)OR_{13}$ 中的至少一种，其中 R_{13} 为未取代或被至少一个取代基取代的 C_{1-6} 烷基，所述 R_{13} 中的所述取代基为卤素。

在其中的一个实施例中，所述 R_1 为卤素，或未取代或被至少一个取代基取代的 C_{1-4} 烷基或 C_{3-6} 环烷基。

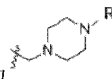
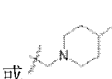
在其中的一个实施例中，所述 R_1 为 $-Cl$ 、 $-F$ 、甲基、三氟甲基或二氟甲基。

- 在其中的一个实施例中，所述 R_2 为 $-C(OH)R_5R_6$ 、 $-COC_{1-4}$ 烷基、 $-CN$ 、未取代或被至少一个取代基取代的如下基团： C_{1-4} 烷基、 $-CH_2NH-C_{1-4}$ 烷基、 $-CH_2N(C_{1-4} \text{ 烷基})(C_{1-4} \text{ 烷基})$ 、 $-X-$ (含 1-2 杂原子的饱和四至六元杂环基)、 $-X-$ (含 1-2 杂原子的饱和四至六元杂环基)-(含 1-2 杂原子的饱和四至六元杂环基)、 $-X-$ (含 1-2 杂原子及 4-8 碳原子的饱和二环螺环基)、 $-X-$ (含 1-2 杂原子及 3-8 碳原子的饱和二环桥环基)-(含 1-2 杂原子的饱和四至六元杂环基)，或 $-X-$ (含 1-2 杂原子及 3-8 碳原子的饱和二环桥环基)，其中 X 为 CH_2 ，所述杂环基、螺环基和桥环基以 N 原子与 X 相连，所述 R_5 和 R_6 各自独立地为氢或 C_{1-4} 烷基。

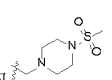
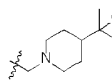
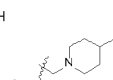
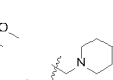
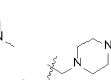
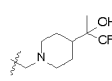
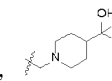
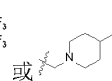
在其中的一个实施例中，所述 R_5 和 R_6 各自独立地为氢，甲基或乙基。

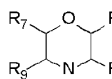
- 在其中的一个实施例中，所述 R_2 中的所述取代基为 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2N(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH_2NH_2$ 、 $-CH_2CH_2N(CH_3)_2$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-C(CH_3)_2OH$ 、 $-C(CH_3)(CF_3)OH$ 、 $-C(CF_3)_2OH$ 、 $-C(CH_3)_2OCH_3$ 、 $-C(CH_3)_2NH_2$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2OH$ 、 $-CH(OH)CH(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2OH$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2OCH_3$ 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CHO$ 、 $-COCH_3$ 、 $-CO_2CH_3$ 、 $-CO_2C(CH_3)_3$ 、 $-COCH_2OH$ 、 $-COC(OH)(CH_3)_2$ 、 $-COCH(OH)CH_3$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHCH_3$ 、 $-CON(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CON(CH_3)_2$ 、

-C(CH₃)₂CONH₂、-NH₂、-NHCH₃、-N(CH₃)₂、-NHCOCH₃、-N(CH₃)COCH₃、-NHS(O)₂CH₃、-N(CH₃)C(CH₃)₂CONH₂、=O、-OH、-OCH₃、-S(O)₂N(CH₃)₂、-SCH₃、-S(O)₂CH₃、-C(O)-环丙基、环丙基、环丁基、氧杂环丁烷基或吗啉基取代。

在其中的一个实施例中，所述 R₂ 为  或 ，R_x 和 R_y 分别为-N(CH₃)₂、-S(O)₂CH₃

5 或未取代或被至少一个取代基取代的 C₁₋₄ 烷基，所述取代基为卤素、羟基、-CONH₂、-CF₃、氨基或-OCH₃。

在其中的一个实施例中，所述 R₂ 为 ，，，，，，或 。

在其中的一个实施例中，所述 R₃ 为 ，其中 R₇，R₈，R₉，R₁₀ 各自独立地为氢或 C₁₋₄ 烷基。

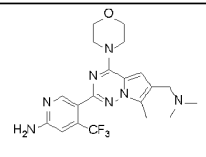
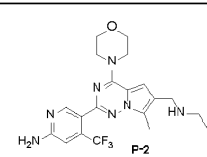
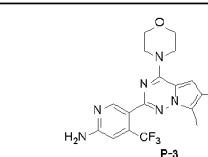
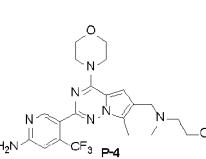
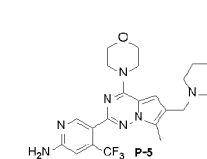
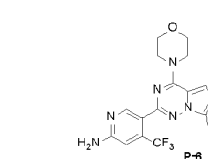
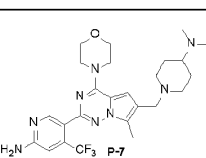
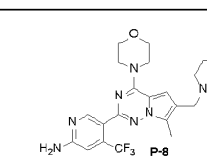
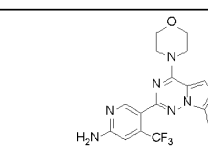
在其中的一个实施例中，所述 R₇，R₈，R₉，R₁₀ 各自独立地为 H 或甲基。

10 在其中的一个实施例中，所述 R₃ 为吗啉基或(S)-3-甲基吗啉基。

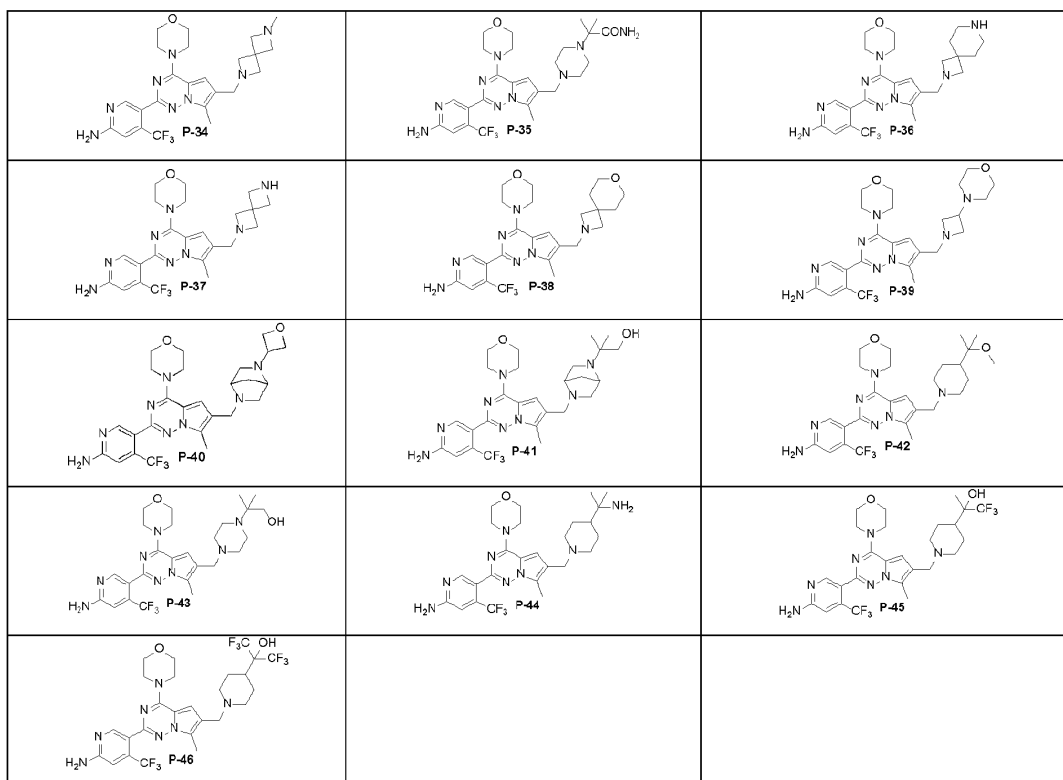
在其中的一个实施例中，所述 R₄ 为-NH₂、-NHCONHR₁₁ 或-NHCO₂R₁₂，其中 R₁₁ 和 R₁₂ 各自独立地为未取代或被至少一个取代基取代的 C₁₋₄ 烷基、C₃₋₆ 环烷基或苯基，所述取代基选自氟、氯、溴和-C(O)OR₁₃ 中的至少一种，其中 R₁₃ 为 C₁₋₄ 烷基。

在其中的一个实施例中，所述 R₁₁ 和 R₁₂ 各自独立地为甲基、乙基、异丙基、环丙基、苯基、-Ph-CO₂Et-p 或 4-氟苯基。

15 所述的通式 I 表示的 7-位取代吡咯[2,1-f][1,2,4]并三嗪类化合物或其药学上可用的盐，例如具有如下述通式中的一种表示的结构：

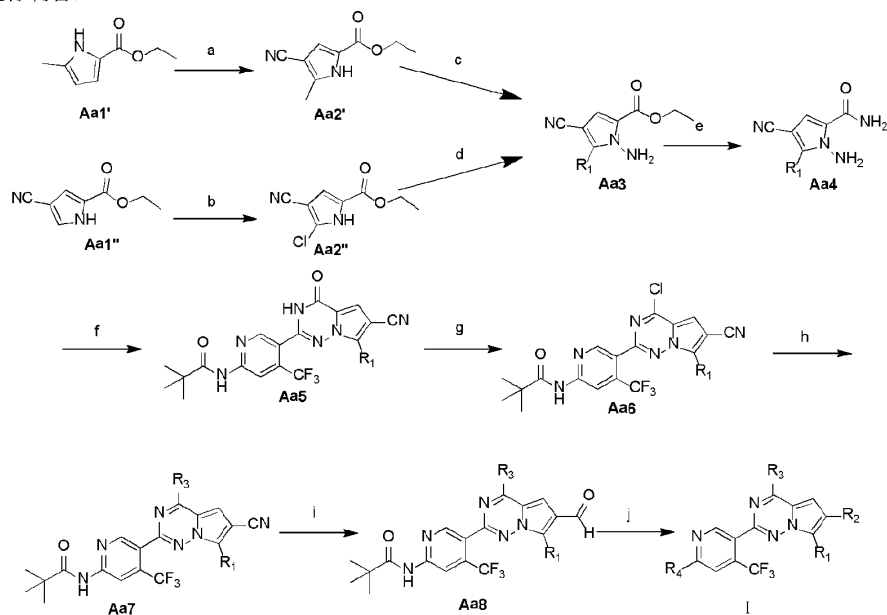
 P-1	 P-2	 P-3
 P-4	 P-5	 P-6
 P-7	 P-8	 P-9

 P-10	 P-11	 P-12
 P-13	 P-14	 P-15
 P-16	 P-17	 P-18
 P-19	 P-20	 P-21
 P-22	 P-23 R=p-F-Ph	 P-24 R=p-OCO-Ph
 P-25	 P-26	 P-27
 P-28	 P-29	 P-30
 P-31	 P-32	 P-33



所述药学可接受的盐包括有机酸盐和无机酸盐，包括但不限于马来酸盐、琥珀酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、富马酸盐、乙酸盐、甲磺酸盐、盐酸盐、磷酸盐、硝酸盐或硫酸盐。

本发明的另一目的是提供通式 I 表示的 7-位取代吡咯[2,1-f][1,2,4]并三嗪类化合物的制备方法，通过以下路线进行制备：



进一步来讲，各步骤所需试剂和条件包括：

步骤 a: 向化合物 **Aa1'**、二甲基甲酰胺 (DMF) 的无水乙腈溶液中, 滴加氯磺酰异氰酸酯, 反应得到化合物 **Aa2'**, 或者步骤 b: 将化合物 **Aa1''** 溶解于氯仿中, 加入 *N*-氯代丁二酰亚胺进行反应, 得到化合物 **Aa2''**;

步骤 c: 向化合物 **Aa2'**、 K_2CO_3 、 NH_4Cl 、浓氨水、甲基辛基氯化铵的甲基叔丁基醚溶液中, 滴加 5% 质量百分比的次氯酸钠溶液, 反应得到化合物 **Aa3**, 或者步骤 d: 将化合物 **Aa2''** 溶解于无水二甲基甲酰胺中, 加入 NaH, 搅拌后加入 *O*-(2,4-二硝基苯基)-羟胺, 反应得到化合物 **Aa3**;

步骤 e: 将化合物 **Aa3** 溶于饱和氨甲醇溶液或氨的甲醇溶液中, 反应得到化合物 **Aa4**;

步骤 f: 将化合物 **Aa4** 与醛、无水氯化铜、二甲亚砜混合, 反应得到化合物 **Aa5**;

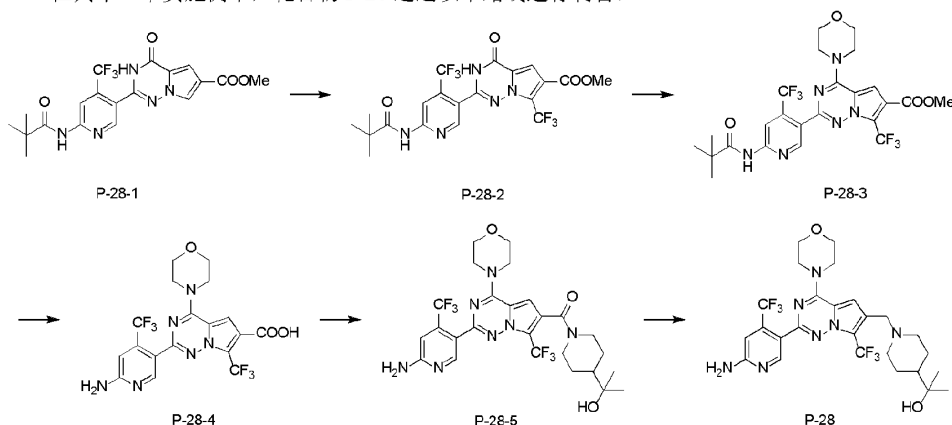
步骤 g: 向化合物 **Aa5** 和 *N,N*-二甲基氨基吡啶或二甲基氨基吡啶的混合物中加入三氯氧磷, 反应得到化合物 **Aa6**;

步骤 h: 向化合物 **Aa6** 中, 加入无水四氢呋喃和吗啉, 反应得到化合物 **Aa7**;

步骤 i: 向化合物 **Aa7** 和一水次亚磷酸钠的醋酸/水/吡啶悬浮液中, 加入雷尼镍, 反应得到化合物 **Aa8**; 和

步骤 j: 将化合物 **Aa8**、氰基硼氢化钠和胺悬浮于甲醇中, 加入醋酸, 反应得到产物; 或者步骤 j: 向化合物 **Aa8** 的无水四氢呋喃溶液中加入甲基溴化镁, 反应得到产物; 或者步骤 j: 向化合物 **Aa8** 的无水二氯甲烷溶液中加入二乙胺基三氟化硫 (DAST), 反应得到产物。

在其中一个实施例中, 化合物 **P-28** 通过以下路线进行制备:



具体包括以下步骤:

步骤 1: 将化合物 **P-28-1** 溶于二氯甲烷与水的混合液中, 随后加入三氟甲基亚磺酸钠, 冷却上述体系并缓慢滴加 70% 过氧叔丁醇水溶液, 随后加入二甲亚砜, 升温反应得到化合物 **P-28-2**;

步骤 2: 将化合物 **P-28-2** 和三氯氧磷加入到甲苯中, 随后加入 *N,N*-二甲基苯胺, 于回流状态下反应得到氯代物粗品, 将氯代物粗品溶于无水四氢呋喃中, $0^{\circ}C$ 下加入吗啉, 于室温下搅拌直到原料反应完全, 浓缩得粗品直接下一步反应;

步骤 3: 将步骤 2 所得粗品加入甲醇溶解, 随后加入水和氢氧化钠, 于回流下反应直到原料完全消失, 浓缩, 加入水, 调 pH 值析出固体, 干燥, 直接下一步反应;

步骤 4: 将步骤 3 的粗品、苯并三氮唑-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸盐 (HBTU)、三乙胺和 2-(4-哌啶基)-2-丙醇加入 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 反应得到化合物 **P-28-5**; 和

步骤 5: 将 **P-28-5** 溶于无水四氢呋喃中, 随后缓慢滴加甲硼烷/四氢呋喃 (BH_3/THF), 滴加完毕, 升温反应体系进行反应, 随后冷却反应体系并缓慢滴加浓盐酸, 滴加完毕, 升温反应得到化合物 **P-28**。

本发明的另一个目的是提供通式 I 表示的 7-位取代吡咯[2,1-*f*][1,2,4]并三嗪类化合物或其药学上可用的盐在制备 PI3K 活性抑制剂中的用途。

在其中一个实施例中, 所述 PI3K 活性抑制剂对 PI3K δ 具有选择性抑制作用。

在其中一个实施例中, 所述 PI3K 活性抑制剂用于治疗与 PI3K 通道相关的疾病的药物中。

优选的, 所述与 PI3K 通道相关的疾病包括肿瘤、白血病和自身免疫性疾病。

另外, 本发明提供了一种药物组合物, 其包含治疗有效量的通式 I 表示的 7-位取代吡咯[2,1-*f*][1,2,4]并三

噻类化合物或其药学上可用的盐，所述药物组合物用于治疗与 PI3K 通道相关的疾病。

本发明的发明人通过合理设计，综合考虑化合物的药代动力学因素，得到了一类新型的 7-位取代吡咯 [2,1-f][1,2,4] 并三噻类化合物。该类化合物显示较好的 PI3K 抑制活性，能有效地抑制 PI3K 激酶活性，并且由于 7-位基团的引入，生物利用度等药代动力学性质有较大提高和改善；此外，本发明中的化合物表现了对 PI3K δ 不可预期的高选择性和强抑制活性，因此这些化合物能用来治疗与 PI3K 通道相关的疾病，尤其是用来抗癌或者治疗肿瘤、白血病及自身免疫性疾病。经过进一步的优化和筛选后，有望研发成为新型的抗肿瘤药物。

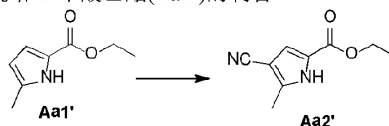
具体实施方式

本文中所述的“烷基”指的是直链烷基或支链烷基。

本文中所述的“取代”指的是取代一个或多个氢原子。本文中的卤素可以选自 F, Cl, Br 和 I 中的至少一种，优选为 F 和 Cl 中的至少一种。

下面结合实施例对本发明作进一步阐述，但这些实施例绝对不是对本发明的任何限制。所有实施例中， ^1H NMR 由 Bruker AM-400 型和 GEMINI-300 型核磁共振仪记录，化学位移以 δ (ppm) 表示；质谱由 MAT-95 型质谱仪记录；分离用硅胶为 200-300 目。

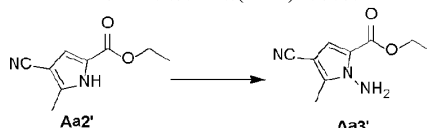
步骤 a: 4-氰基-5-甲基-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯(Aa2')的制备



冰浴下，向化合物 Aa1' (1.0 g, 6.5 mmol)、DMF (1.3 mL) 的无水乙腈 (20 mL) 溶液中，滴加氯磺酰异氰酸酯 (0.7 mL, 8.0 mmol)，移至室温，反应过夜。用饱和碳酸钠溶液 (20 mL) 淬灭，加水稀释，乙酸乙酯 (50 mL) 萃取两次，合并有机层，饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得到粗产品，色谱柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯: 3/1)，得白色化合物 (980mg, 84%)。

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10.07 (br s, 1H), 7.03 (d, $J = 2.53$ Hz, 1H), 4.34 (q, $J = 7.13$ Hz, 2H), 2.47 (s, 3H), 1.37 (t, $J = 7.13$ Hz, 3H)。

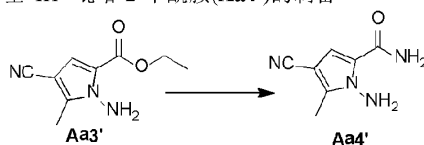
步骤 c: 1-氨基-4-氰基-5-甲基-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯(Aa3')的制备



冰盐浴下，向化合物 Aa2' (200 mg, 1.1 mmol)， K_2CO_3 (840 mg, 6.0 mmol)， NH_4Cl (385 mg, 7.2 mmol)，浓氨水 (1.2 mL)，甲基三辛基氯化铵 (0.010 mL) 的甲基叔丁基醚 (50 mL) 溶液中，经恒压滴液漏斗滴加 5% (质量百分比) 的次氯酸钠溶液 (12 mL)，移至室温反应 4 小时。饱和硫代硫酸钠淬灭，分出甲基叔丁基醚层，水层用乙酸乙酯 (50 mL) 萃取一次，合并有机层，水洗三次，无水硫酸钠干燥，减压浓缩得到粗产品，色谱柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯: 4/1)，得无色液体 (183 mg, 86%)，放置后固化。

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.01 (s, 1H), 5.46 (s, 2H), 4.30 (q, $J = 7.13$ Hz, 2H), 2.42 (s, 3H), 1.35 (t, $J = 7.13$ Hz, 3H)。

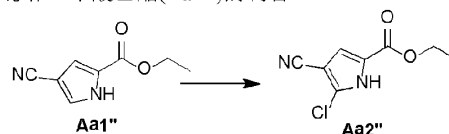
步骤 e: 1-氨基-4-氰基-5-甲基-1*H*-吡咯-2-甲酰胺(Aa4')的制备



将化合物 Aa3' (800 mg, 4.1 mmol) 溶于 100 mL 饱和的氨甲醇溶液或氨的甲醇溶液，80 $^\circ\text{C}$ 封管反应 2 天，冷却至室温，浓缩得黄色固体 (680 mg, 100%)。

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.01 (br s, 1H), 7.39 br (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.70 (br s, 2H), 2.27 (s, 3H)。

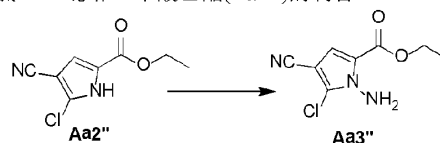
步骤 b: 4-氰基-5-氯-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯(**Aa2''**)的制备



将化合物 **Aa1''** (2.0g, 12.2 mmol) 溶解于氯仿中, 加入 *N*-氯代丁二酰亚胺 (2.0g, 15.0 mmol), 室温搅拌过夜; 加水 (100 mL) 稀释, 分出有机层, 水层用氯仿 (100 mL) 萃取两次, 合并有机相, 饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到粗产品, 色谱柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯: 20/1) 得白色固体 (510 mg, 22%)。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.68 (s, 1H), 7.09 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 4.39 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.39 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H)。

步骤 d: 1-氨基-4-氰基-5-氯-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯(**Aa3''**)的制备



10

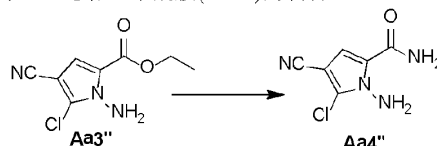
将化合物 **Aa2''** (300 mg, 1.5 mmol) 溶解于无水 DMF (10 mL) 中, 冰浴下, 加入 NaH (60%, 分散于矿物油中, 75 mg, 1.9 mmol), 继续搅拌 30 分钟, 加入 *O*-(2,4-二硝基苯基)-羟胺 (360 mg, 1.8 mmol), 室温下搅拌 6 小时, 将反应液倒入水 (50 mL) 中, 用乙酸乙酯 (50 mL) 萃取两次, 合并有机层, 饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (石油醚/乙酸乙酯: 10/1) 得到白色固体 (305 mg,

15

95%)。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.09 (s, 1H), 5.80 (s, 2H), 4.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.37 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。

步骤 e: 1-氨基-4-氰基-5-氯-1*H*-吡咯-2-甲酰胺(**Aa4''**)的制备

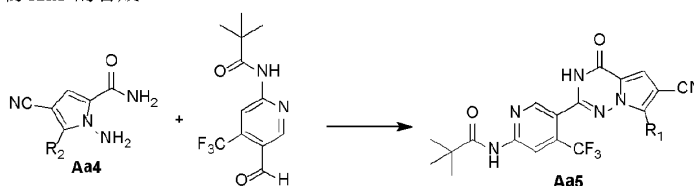


以化合物 **Aa3''** (350 mg, 1.6 mmol) 为原料, 参照化合物 **Aa4'** 的制备过程得黄色固体 (290 mg, 100%)。

20

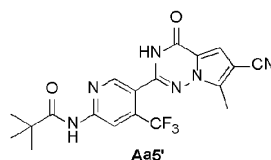
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.12 (br s, 1H), 7.63 (br s, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.86 (br s, 2H)。

步骤 f: 化合物 **Aa5** 的合成



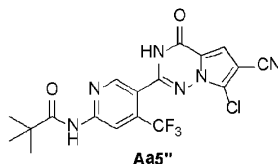
化合物 **Aa4** (1.0 equiv.), *N*-(5-甲酰基-4-(三氟甲基)吡啶基-2-基)特戊酰胺 (1.2 equiv., 课题组制备), 无水氯化铜 (1.0 equiv.) 的二甲亚砜溶液, 升温至 100℃ 反应。反应完毕后, 冷却, 倒入水中, 乙酸乙酯萃取三次, 合并有机层, 饱和食盐水洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 50/1) 纯化得黄色固体。

25



化合物 **Aa4'** (600 mg, 3.7 mmol), 对应的醛 (1.2 g, 4.4 mmol), 无水氯化铜 (490 mg, 3.7 mmol), 二甲亚砜 (25 mL); 得黄色固体 (1.3 g, 85%)。

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.82 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.43 (br s, 1H), 7.27 (s, 1H), 2.60 (s, 3H), 1.38 (s, 9H)。

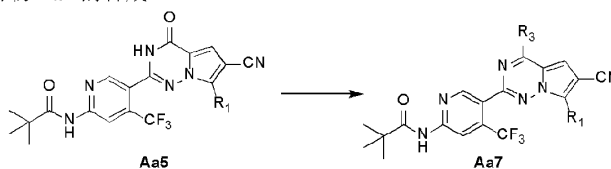


5

化合物 **Aa4''** (200 mg, 1.1 mmol), 对应的醛 (362 mg, 1.3 mmol), 无水氯化铜 (150 mg, 1.1 mmol), 二甲亚砜 (15 mL); 得黄色固体 (408 mg, 85%)。

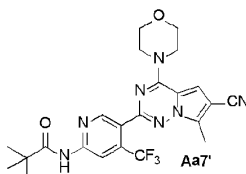
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.80 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 1.38 (s, 9H)。

步骤 g 和 h: 化合物 **Aa7** 的合成



10

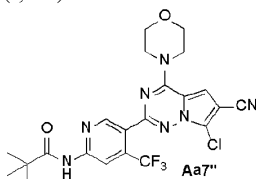
向化合物 **Aa5** (1.0 equiv.), 4-二甲氨基吡啶 (2.0 equiv.) 的混合物中加入三氯氧磷, 回流 10 小时。冷却后, 减压除掉三氯氧磷, 依次加入无水四氢呋喃, 吗啉, 回流 2 小时。减压蒸掉四氢呋喃, 加水, 乙酸乙酯萃取, 依次用饱和食盐水、水洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (石油醚/乙酸乙酯: 4/1) 纯化得白色固体。



15

化合物 **Aa5'** (1.0 g, 2.4 mmol), 4-二甲氨基吡啶 (583 mg, 4.8 mmol), 三氯氧磷 (20 mL), 四氢呋喃 (100 mL), 吗啉 (5 mL); 得白色固体 (980 mg, 84%)。

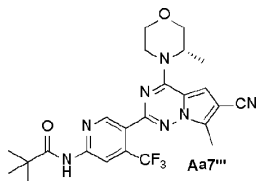
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.76 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.24 (br s, 1H), 6.99 (s, 1H), 4.06 (t, $J = 4.77$ Hz, 4H), 3.84 (t, $J = 4.73$ Hz, 4H), 2.65 (s, 3H), 1.36 (s, 9H)。



20

化合物 **Aa5''** (360 mg, 0.8 mmol), 4-二甲氨基吡啶 (200 mg, 1.6 mmol), 三氯氧磷 (5 mL), 四氢呋喃 (50 mL), 吗啉 (2 mL); 得白色固体 (370 mg, 88%)。

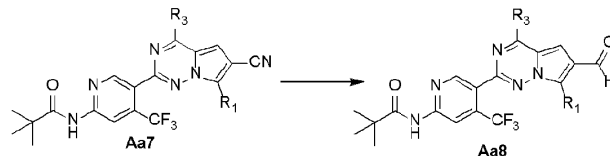
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.75 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 4.07 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.86 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 1.36 (s, 9H)。



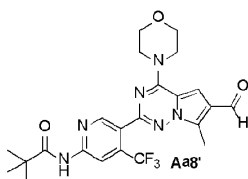
25

化合物 **Aa5'** (800 mg, 1.9 mmol), 4-二甲氨基吡啶 (466 mg, 3.8 mmol), 三氯氧磷 (15 mL), 四氢呋喃 (100 mL), (*S*)-3-甲基吗啉 (5 mL); 得黄色固体 (720 mg, 76%)。

步骤 i: 化合物 **Aa8** 的合成

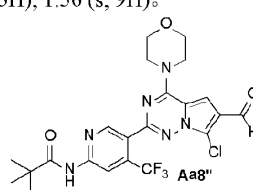


- 5 往化合物 **Aa7** (1.0 equiv.), 一水次亚磷酸钠 (6.7 equiv.) 的醋酸/水/吡啶 (v/v/v: 1/1/2) 悬浮液中, 加入雷尼镍, 升温至 60°C 反应。冷却至室温, 过滤, 乙酸乙酯萃取, 3N 盐酸洗涤 3 次, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 50/1) 纯化得黄色固体。

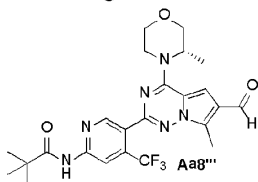


- 10 化合物 **Aa7'** (1.0 g, 1.0 mmol), 一水次亚磷酸钠 (710 mg, 6.7 mmol), 醋酸/水/吡啶 (v/v/v: 1/1/2) (50 mL), 雷尼镍 (750 mg), 得黄色固体 (232 mg, 47%)。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.15 (s, 1H), 8.78 (br s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 4.10 (t, *J* = 4.8 Hz, 8H), 3.84 (t, *J* = 4.8 Hz, 8H), 2.79 (s, 3H), 1.36 (s, 9H)。

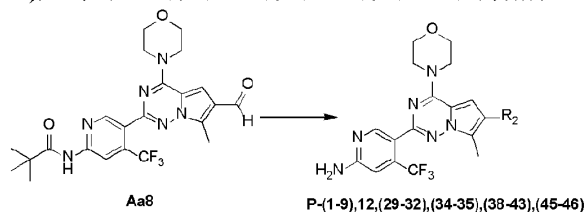


- 15 化合物 **Aa7''** (300 mg, 0.6 mmol), 一水次亚磷酸钠 (426 mg, 4.0 mmol), 醋酸/水/吡啶 (v/v/v: 1/1/2) (25 mL), 雷尼镍 (450 mg), 得黄色固体 (130 mg, 42%)。



化合物 **Aa7'''** (600 mg, 1.2 mmol), 一水次亚磷酸钠 (852 mg, 8.0 mmol), 醋酸/水/吡啶 (v/v/v: 1/1/2) (50 mL), 雷尼镍 (900 mg), 得黄色色固体 (420 mg, 83%)。

步骤 j: 化合物 **P-(1-9), 12, (29-32), (34-35), (38-43), (45-46)** 的合成

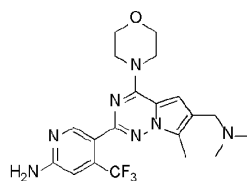


20

化合物 **Aa8** (0.2 mmol), 氨基硼氢化钠 (0.4 mmol) 和对应的胺 (0.24 mmol) 悬浮于甲醇 (20 mL) 中, 加入醋酸 (0.05 mL), 室温搅拌。反应完毕后, 加水 (50 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (100 mL) 萃取两次, 合并有机层, 饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 40/1) 得产物。

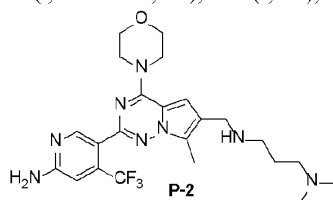
将所得产物溶解于甲醇 (15 mL) 中, 加入 10 个当量的 1M 氢氧化钾溶液, 回流反应。反应完毕后, 浓

缩，柱层析（二氯甲烷/甲醇：40/1）纯化。



P-1

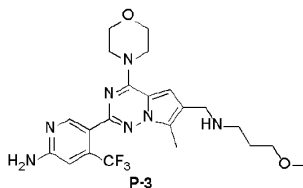
黄色固体（38 mg，两步总收率：44%）。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 4.90 (br s, 2H), 4.03 (t, *J* = 4.5 Hz, 4H), 3.81 (t, *J* = 4.5 Hz, 4H), 3.50 (s, 2H), 2.48 (s, 3H), 2.28 (s, 6H)。



P-2

5

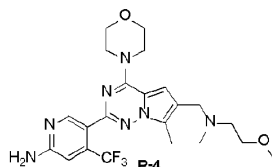
黄色固体（44 mg，两步总收率：45%）。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.63 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 4.89 (br s, 2H), 4.04 (br s, 4H), 3.87 (s, 2H), 3.82 (br s, 4H), 2.77 (t, *J* = 3.3 Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.35 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 2.23 (s, 6H), 1.80 – 1.64 (m, 2H)。



P-3

10

黄色固体（49 mg，两步总收率：52%）。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 4.88 (br s, 2H), 4.04 (t, *J* = 3.9 Hz, 4H), 3.91 – 3.73 (m, 6H), 3.46 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.77 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 1.89 – 1.72 (m, 2H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 158.83, 153.94, 151.95, 151.83, 138.11 (q, *J* = 32.4 Hz), 126.24, 122.95 (q, *J* = 274.3 Hz), 122.44, 121.65, 111.79, 105.21 (q, *J* = 5.5 Hz), 103.35, 71.40, 66.81, 58.71, 47.06, 45.94, 45.66, 29.90, 9.24。



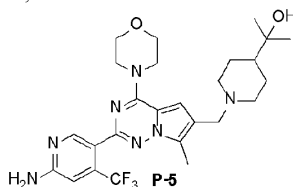
P-4

15

黄色固体（38 mg，两步总收率：38%）。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.63 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.76 (s, 1H), 4.84 (br s, 2H), 4.03 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.82 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.63 (s, 2H), 3.53 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.35 (s, 3H), 2.63 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 2.48 (s, 3H), 2.33 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 158.77, 153.94, 151.95, 151.77, 138.13 (q, *J* = 32.8 Hz), 127.07, 122.28 (q, *J* = 275.7 Hz), 121.72, 120.25, 111.93, 105.22 (q, *J* = 5.6 Hz), 104.45,

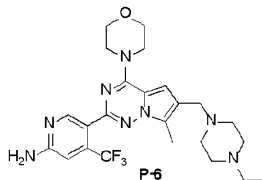
20

70.60, 66.81, 58.92, 56.06, 54.13, 45.91, 42.68, 9.36。

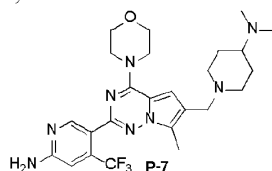


P-5

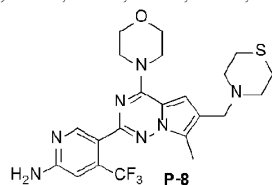
黄色固体 (68 mg, 两步总收率: 64%)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.65 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 4.94 – 4.88 (m, 2H), 4.06 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H), 3.84 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.59 (s, 2H), 3.06 (d, *J* = 10.7 Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 1.97 (t, *J* = 11.3 Hz, 2H), 1.81 – 1.67 (m, 2H), 1.35 – 1.25 (m, 3H), 1.19 (s, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 158.79, 153.93, 151.95, 151.77, 138.12 (q, *J* = 32.3 Hz), 127.33, 122.95 (q, *J* = 274.5 Hz), 121.68, 120.06, 111.82, 105.23 (q, *J* = 6.2 Hz), 104.54, 72.47, 66.81, 54.58, 54.06, 47.40, 45.93, 27.00, 26.84, 9.48。



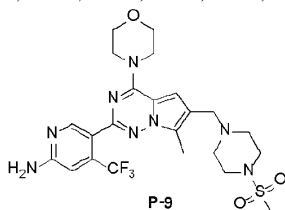
黄色固体 (58 mg, 两步总收率: 58%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.69 (s, 1H), 4.84 (br s, 2H), 4.03 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.82 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.57 (s, 2H), 2.68 – 2.45 (m, 8H), 2.41 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.07 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 158.78, 153.94, 151.93, 151.79, 138.15 (q, *J* = 32.5 Hz, CF₃C), 127.42, 122.94 (q, *J* = 274.4 Hz, CF₃), 121.71, 119.89, 111.77, 105.23 (q, *J* = 5.5 Hz, CF₃CCH), 104.57, 66.81, 54.42, 52.97, 52.83, 52.28, 45.94, 12.01, 9.45。



黄色固体 (55 mg, 两步总收率: 53%)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.64 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 4.99 (br s, 2H), 4.04 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.83 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.56 (s, 2H), 3.09 – 2.86 (m, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.29 (s, 6H), 2.21 – 2.07 (m, 1H), 2.05 – 1.93 (m, 2H), 1.87 – 1.75 (m, 2H), 1.65 – 1.44 (m, 2H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 158.88, 153.92, 151.93, 151.77, 138.07 (q, *J* = 32.5 Hz), 127.26, 122.95 (q, *J* = 274.6 Hz), 121.58, 120.29, 111.78, 105.21 (q, *J* = 5.7 Hz), 104.45, 66.80, 62.32, 54.34, 52.93, 45.92, 41.72, 28.29, 9.45。

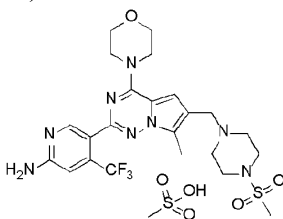


黄色固体 (46 mg, 两步总收率: 47%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (s, 1H), 6.81 (s, 2H), 4.87 (br s, 2H), 4.05 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.83 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.70 (s, 2H), 2.85 (s, 4H), 2.78 (s, 4H), 2.49 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 158.82, 153.96, 152.08, 151.89, 138.16 (q, *J* = 32.3 Hz), 127.58, 122.93 (q, *J* = 274.6 Hz), 121.55, 112.14, 105.29 (q, *J* = 5.4 Hz), 105.03, 66.80, 54.99, 54.49, 45.96, 27.36, 9.47。



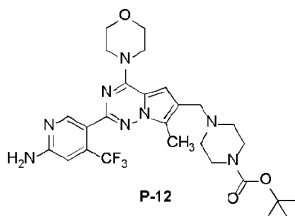
黄色固体 (79 mg, 两步总收率: 72%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.64 (s, 1H), 4.84 (br s, 2H), 4.03 (t, *J* = 4.5 Hz, 4H), 3.82 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.60 (s, 2H), 3.24 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 2.77 (s, 3H), 2.58 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 2.49 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 158.83, 153.95, 151.99, 151.95, 138.12 (q, *J* = 32.4 Hz, CF₃C), 127.42, 122.95 (q, *J* = 274.4 Hz, CF₃), 121.57, 119.23, 111.90, 105.25 (q, *J* = 5.5 Hz, CF₃CCH),

104.48, 66.79, 54.26, 52.19, 45.95, 45.84, 34.28, 9.44。



往化合物 **P-9** (160 mg, 0.3 mmol) 的氯仿 (10 mL) 溶液中, 加入甲烷磺酸 (370 μ L, 0.3 mmol), 室温反应 2 小时后, 加入无水乙醚 (50 mL) 稀释, 过滤, 干燥, 得黄色化合物 **P-9 甲烷磺酸盐** (145 mg, 77%)。

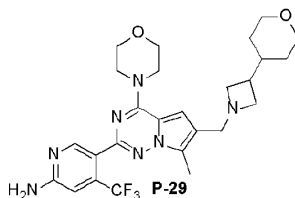
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.89 (br s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 4.47 (br s, 2H), 4.02 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 3.76 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.73 (s, 2H), 3.57 – 3.47 (m, 2H), 3.30 – 3.09 (m, 4H), 3.01 (s, 3H), 2.52 (br s, 2H), 2.43 (br s, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.47, 153.93, 151.45, 145.46, 138.57 (q, *J* = 33.3 Hz), 129.45, 122.77 (q, *J* = 275.06 Hz), 118.65, 112.36, 111.92, 110.13, 107.64, 66.42, 51.32, 50.27, 46.01, 42.96, 40.23, 35.51, 9.65。



10

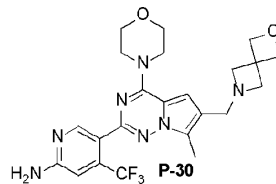
黄色固体 (63 mg, 两步总收率: 53%)。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.63 (s, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 4.99 (br s, 2H), 4.24 – 3.98 (m, 4H), 3.96 – 3.78 (m, 4H), 3.60 (s, 2H), 3.46 (br s, 4H), 2.51 (s, 3H), 2.44 (br s, 4H), 1.47 (s, 9H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 158.91, 154.77, 153.94, 151.85, 151.72, 138.18 (q, *J* = 32.6 Hz), 127.40, 122.93 (q, *J* = 274.1 Hz), 121.50, 119.51, 111.85, 105.39 (q, *J* = 5.6 Hz), 104.52, 79.65, 66.79, 54.45, 52.74, 45.93, 28.43, 9.45。

15

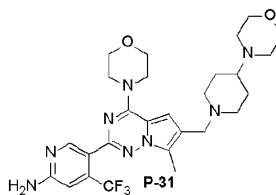


黄色固体 (45 mg 两步总收率: 43%)。 ¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.62 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 4.84 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 4.06 – 4.00 (m, 4H), 3.95 (d, *J* = 11.4 Hz, 2H), 3.83 – 3.80 (m, 4H), 3.65 (s, 2H), 3.47 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.36 (t, *J* = 11.7 Hz, 2H), 2.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.32 – 2.16 (m, 2H), 1.71 – 1.57 (m, 2H), 1.52 (ddd, *J* = 13.2, 3.8, 1.9 Hz, 2H)。

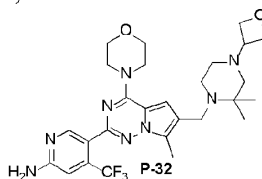
20



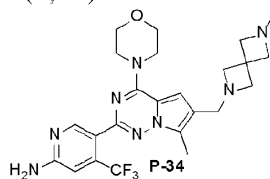
黄色固体 (40 mg 两步总收率: 41%)。 ¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.62 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.65 (s, 1H), 4.85 (d, *J* = 5.3 Hz, 2H), 4.75 (s, 4H), 4.05 – 4.00 (m, 4H), 3.82 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.61 (s, 2H), 3.42 (s, 3H), 2.48 (s, 4H)。



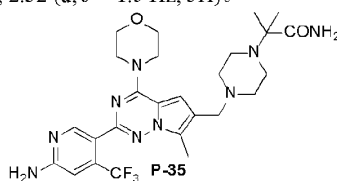
黄色固体 (36 mg 两步总收率: 32%)。¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.61 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 4.90 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 4.02 (t, $J = 4.7$ Hz, 4H), 3.81 (t, $J = 4.8$ Hz, 5H), 3.73 – 3.68 (m, 4H), 3.57 (s, 2H), 3.00 (d, $J = 11.1$ Hz, 2H), 2.58 – 2.46 (m, 8H), 2.18 (dq, $J = 11.2, 5.9, 4.2$ Hz, 1H), 2.01 (t, $J = 11.1$ Hz, 2H), 1.82 (d, $J = 13.4$ Hz, 2H), 1.58 (td, $J = 12.1, 3.6$ Hz, 2H)。



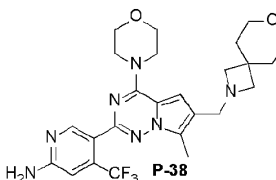
对应的胺的合成参考 WO2010138589(A1), 黄色固体 (20 mg 两步总收率: 18%)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.61 (s, 1H), 7.74 – 7.50 (m, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.84 (s, 2H), 4.67 – 4.60 (m, 2H), 4.59 – 4.51 (m, 2H), 4.32 – 4.13 (m, 2H), 4.10 – 3.98 (m, 4H), 3.83 (t, $J = 4.9$ Hz, 4H), 2.92 – 2.74 (m, 1H), 2.50 (s, 3H), 2.21 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 2.06 – 1.97 (m, 4H), 1.00 – 0.84 (m, 6H)。



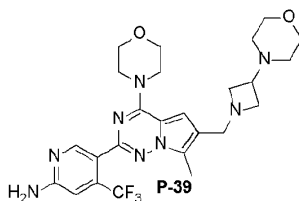
黄色固体 (52 mg 两步总收率: 52%)。¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.62 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.67 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 4.84 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 4.08 – 3.98 (m, 4H), 3.81 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.62 (s, 2H), 3.37 (dd, $J = 4.3, 1.5$ Hz, 8H), 2.47 (d, $J = 1.5$ Hz, 3H), 2.32 (d, $J = 1.5$ Hz, 3H)。



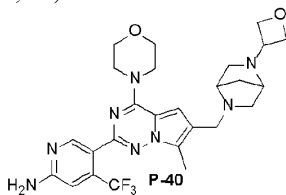
对应的胺的合成参考 WO2010138589(A1), 黄色固体 (75 mg 两步总收率: 67%)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.61 (s, 1H), 7.14 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 5.54 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.03 (dd, $J = 5.7, 4.0$ Hz, 4H), 3.82 (dd, $J = 5.7, 4.0$ Hz, 4H), 3.58 (s, 2H), 2.59 – 2.52 (m, 6H), 2.49 (s, 3H), 1.20 (s, 8H)。



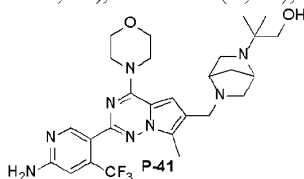
黄色固体 (49 mg 两步总收率: 47%)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.61 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.04 (t, $J = 4.9$ Hz, 4H), 3.82 (q, $J = 4.8, 3.6$ Hz, 8H), 3.58 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H), 3.28 – 3.25 (m, 2H), 2.51 (s, 3H), 1.81 (t, $J = 5.6$ Hz, 4H)。



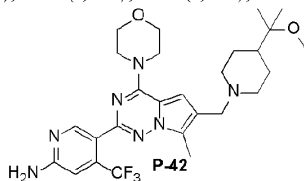
对应的胺的合成参考 WO2010138589(A1), 黄色固体 (47 mg 两步总收率: 44%)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.61 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 4.88 (s, 2H), 4.03 (dd, J = 5.7, 4.1 Hz, 4H), 3.82 (dd, J = 5.6, 4.0 Hz, 4H), 3.75 (d, J = 1.5 Hz, 2H), 3.47 (s, 2H), 3.42 (d, J = 12.1 Hz, 2H), 3.32 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 3.20 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.01 (s, 1H), 2.78 (dd, J = 9.2, 2.4 Hz, 1H), 2.66 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.24 – 2.14 (m, 1H), 1.75 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 1.51 (d, J = 9.7 Hz, 1H)。



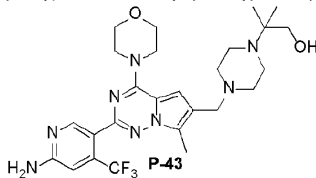
黄色固体 (56 mg 两步总收率: 51%)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.59 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.74 (t, J = 6.3 Hz, 1H), 4.67 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 4.55 – 4.44 (m, 2H), 4.26 – 4.14 (m, 2H), 4.07 (dd, J = 5.7, 4.0 Hz, 4H), 4.03 – 3.87 (m, 2H), 3.86 – 3.80 (m, 4H), 3.49 (s, 1H), 3.35 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 2.82 – 2.62 (m, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.21 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 2.04 – 1.97 (m, 2H), 0.90 – 0.82 (m, 1H)。



对应的胺的合成参考 WO2010138589(A1), 黄色固体 (53 mg 两步总收率: 47%)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.62 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 4.81 (s, 2H), 4.03 (dd, J = 5.7, 4.1 Hz, 4H), 3.83 – 3.81 (m, 4H), 3.72 (d, J = 4.7 Hz, 4H), 3.60 (s, 2H), 3.04 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.32 (d, J = 5.3 Hz, 4H), 1.70 (s, 6H)。



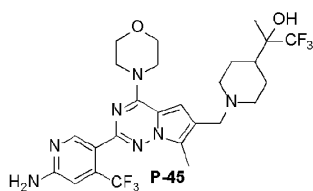
对应的胺的合成参考 WO2010138589(A1), 黄色固体 (52 mg 两步总收率: 48%)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.61 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 4.88 (s, 2H), 4.03 (dq, J = 6.3, 2.8, 2.3 Hz, 4H), 3.85 – 3.79 (m, 4H), 3.59 (s, 2H), 3.34 (s, 2H), 2.67 – 2.42 (m, 15H), 1.04 (s, 6H)。



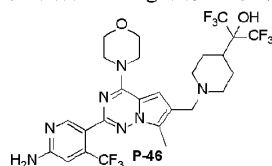
20

对应的胺的合成参考 WO2010138589(A1), 黄色固体 (52 mg 两步总收率: 48%)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.62 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.04 (dd, J = 5.7, 4.1 Hz, 4H), 3.84 – 3.79 (m, 4H), 3.62 (s, 2H), 3.16 (d, J = 1.4 Hz, 2H), 3.09 – 3.04 (m, 2H), 2.48 (d, J = 1.5 Hz, 3H), 2.02 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 1.67 (d, J =

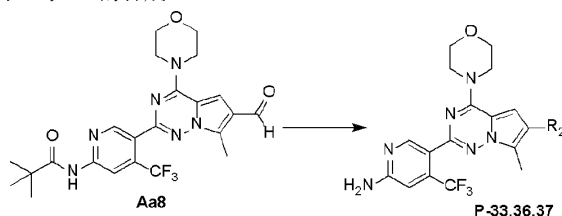
8.8 Hz, 2H), 1.45 (s, 2H), 1.08 (s, 6H)。



对应的胺合成参考 WO2013134226, 黄色固体 (50 mg 两步总收率: 43%)。LC-MS m/z: $[M+H]^+=588.0$ 。



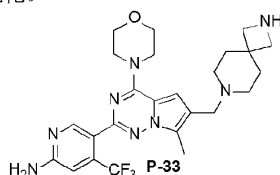
- 5 对应的胺合成参考 WO2013134226, 黄色固体 (61 mg 两步总收率: 48%)。LC-MS m/z: $[M+H]^+=641.9$ 。
步骤 j: 化合物 **P-33**, **36**, **37** 的合成



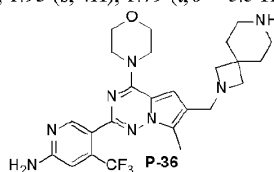
- 化合物 **Aa8** (0.2 mmol)、氰基硼氢化钠 (0.4 mmol) 和对应的 Boc 保护的胺 (0.24 mmol) 悬浮于甲醇 (20 mL) 中, 加入醋酸 (0.05 mL), 室温搅拌。反应完毕后, 加水 (50 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (100 mL) 萃取两次, 合并有机层, 饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 40/1) 得产物。

产物溶于二氯甲烷 (10 mL) 中, 加入 10 倍当量的三氟乙酸, 室温搅拌 2 天。反应结束后直接旋干。

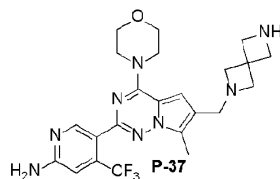
将所得产物溶解于甲醇 (15 mL) 中, 加入 10 个当量的 1M 氢氧化钾溶液, 回流反应。反应完毕后, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 40/1) 纯化。



- 15 黄色固体 (52 mg 两步总收率: 50%)。 ^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.62 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.68 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.03 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.82 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H), 3.49 (d, $J = 3.3$ Hz, 2H), 3.36 (s, 2H), 2.47 (d, $J = 3.4$ Hz, 3H), 2.34 (s, 2H), 1.93 (s, 4H), 1.79 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H)。

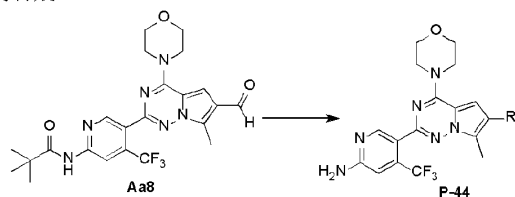


- 20 黄色固体 (50 mg 两步总收率: 48%)。 ^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.60 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 4.90 (s, 2H), 4.02 (dd, $J = 5.7, 4.1$ Hz, 4H), 3.84 – 3.77 (m, 4H), 3.67 (s, 2H), 3.05 (s, 4H), 2.77 (dd, $J = 6.6, 4.0$ Hz, 4H), 2.49 (s, 3H), 1.76 – 1.69 (m, 4H)。



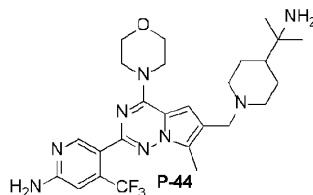
黄色固体 (45 mg 两步总收率: 46%)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.62 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.65 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 4.80 (s, 2H), 4.03 (q, $J = 4.1, 3.2$ Hz, 4H), 3.82 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.74 (s, 2H), 3.60 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H), 3.35 (s, 3H), 3.30 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 2.51 – 2.46 (m, 4H)。

5 步骤 j: 化合物 P-44 的合成



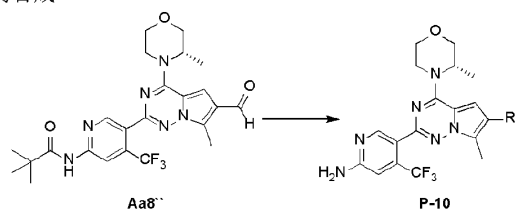
化合物 Aa8 (0.2 mmol)、氰基硼氢化钠 (0.4 mmol) 和 N-乙酰基-2-(4-哌啶基)-2-丙胺 (0.24 mmol) 悬浮于甲醇 (20 mL) 中, 加入醋酸 (0.05 mL), 室温搅拌。反应完毕后, 加水 (50 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (100 mL) 萃取两次, 合并有机层, 饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 40/1) 得产物。

将所得产物溶解于浓盐酸 (10 mL) 中, 回流反应 7 天。反应完毕后, 中和, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 10/1) 纯化。



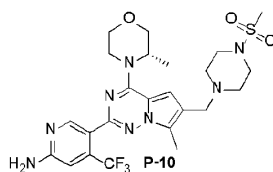
N-乙酰基-2-(4-哌啶基)-2-丙胺的合成参考 WO2014043068, 黄色固体 (12 mg, 两步总产率 11%)。LC-MS
15 m/z: $[M+H]^+ = 533.0$ 。

步骤 j: 化合物 P-10 的合成



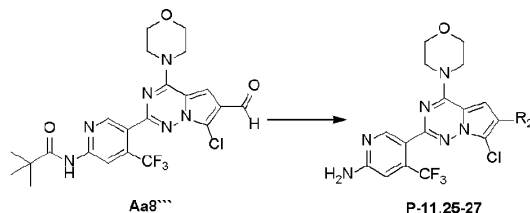
化合物 Aa8 (0.2 mmol)、氰基硼氢化钠 (0.4 mmol) 和对应的胺 (0.24 mmol) 悬浮于甲醇 (20 mL) 中, 加入醋酸 (0.05 mL), 室温搅拌。反应完毕后, 加水 (50 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (100 mL) 萃取两次, 合并有机层, 饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 40/1) 得产物。

将所得产物溶解于甲醇 (15 mL) 中, 加入 10 个当量的 1M 氢氧化钾溶液, 回流反应。反应完毕后, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 40/1) 纯化。



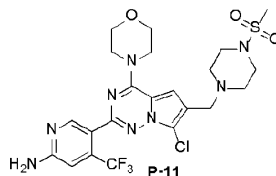
黄色固体 (55 mg, 两步总收率: 48%)。¹H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 8.63 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 4.93 (br s, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.56 (d, J = 11.3 Hz, 1H), 4.09 – 3.97 (m, 1H), 3.89 – 3.74 (m, 2H), 3.72 – 3.53 (m, 4H), 3.26 (s, 4H), 2.78 (s, 3H), 2.60 (s, 4H), 2.49 (s, 3H), 1.45 (d, J = 6.8 Hz, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-d) δ 158.81, 153.66, 152.06, 151.91, 138.12 (q, J = 32.3 Hz), 127.41, 122.94 (d, J = 274.5 Hz), 121.65, 111.92, 105.26 (d, J = 6.7 Hz), 104.58, 71.03, 66.98, 54.26, 52.16, 45.83, 34.28, 15.27, 9.49。

步骤 j: 化合物 P-11, (25-27) 的合成

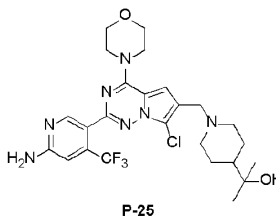


化合物 Aa8''' (0.2 mmol)、氰基硼氢化钠 (0.4 mmol) 和对应的胺 (0.24 mmol) 悬浮于甲醇 (20 mL) 中, 加入醋酸 (0.05 mL), 室温搅拌。反应完毕后, 加水 (50 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (100 mL) 萃取两次, 合并有机层, 饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 40/1) 得产物。

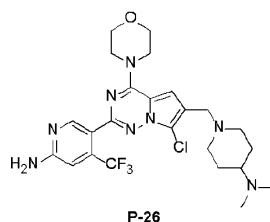
将所得产物溶解于甲醇 (15 mL) 中, 加入 10 个当量的 1M 氢氧化钾溶液, 回流反应。反应完毕后, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 40/1) 纯化。



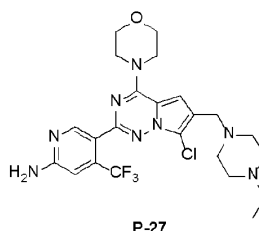
黄色固体 (34 mg, 两步总收率: 30%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.59 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 4.87 (br s, 2H), 4.04 (t, J = 4.6 Hz, 4H), 3.83 (t, J = 4.7 Hz, 4H), 3.67 (s, 2H), 3.27 (t, J = 4.9 Hz, 4H), 2.78 (s, 2H), 2.64 (t, J = 5.1 Hz, 4H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 159.02, 153.50, 153.30, 151.82, 138.25 (q, J = 32.8 Hz), 122.85 (q, J = 274.3 Hz), 120.96, 118.53, 115.86, 112.74, 105.24 (q, J = 6.1 Hz), 104.61, 66.69, 53.04, 52.06, 46.00, 45.79, 34.38。



白色固体 (35 mg, 收率: 45%)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.31 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 3.97 (m, 4H), 3.72 (m, 4H), 3.68 (s, 2H), 3.23 (s, 2H), 3.06 (d, 2H), 2.16 (t, 2H), 1.72 (d, 2H), 1.33 (m, 4H), 1.05 (s, 6H)。



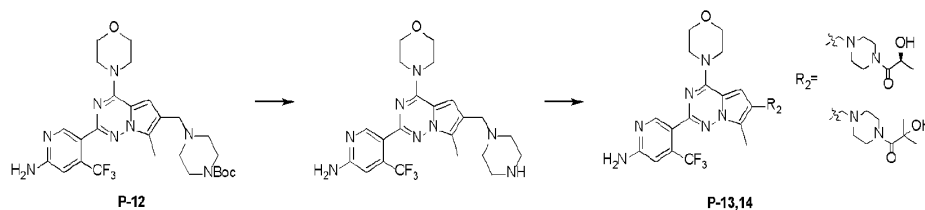
白色固体 (30mg, 收率: 40%)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.32(s, 1H), 6.94(s, 1H), 6.83(s, 1H), 3.97(m, 4H), 3.72(m, 4H), 3.55(br, s, 1H), 3.22(d, 2H), 2.92(d, 2H), 2.23(s, 6H), 2.03(d, 2H), 1.78(d, 2H), 1.47(d, 2H), 1.18(d, 2H)。



5

白色固体 (38mg, 收率: 42%)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.30(s, 1H), 6.97(s, 1H), 6.83(s, 1H), 4.00(m, 4H), 3.73(m, 4H), 3.65(s, 2H), 3.23(d, 2H), 2.66(m, 4H), 1.16(t, 3H)。

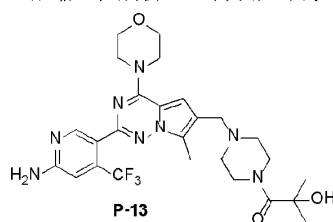
化合物 **P-13**, **14** 的合成



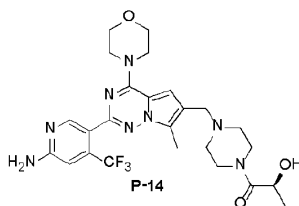
10 将化合物 **P-12** (500 mg,) 溶解于 40 mL 二氯甲烷中, 加入 2.5 mL 三氟乙酸, 室温搅拌 2 小时。反应完毕后, 减压除掉溶剂, 得油状物, 加 10 mL 甲醇溶解, 加入乙醚 (80 mL) 有固体析出, 过滤得脱 Boc 产物的三氟乙酸盐 420 mg。

将上述所得盐 (按含一分子三氟乙酸计算, 114 mg, 0.2 mmol), 对应的酸 (1.5 equiv.), 1-乙基-3-(二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC·HCl) (1.5 equiv.), 1-羟基苯并三唑(HOBT) (1.5 equiv.), *N,N*-二异丙基乙胺 (DIPEA) (3 equiv.) 悬浊于 DMF 中, 室温下反应。反应完毕后, 加入水稀释, 乙酸乙酯萃取三次, 合并有机层, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 20/1) 纯化得产品。

15

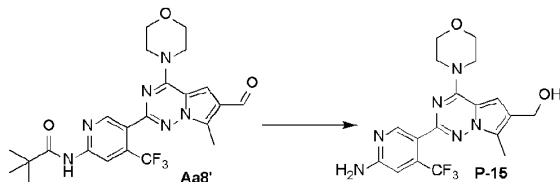


20 黄色固体 (67 mg, 60%)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.65 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 4.91 (s, 2H), 4.53 (br s, 1H), 4.06 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.85 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.79 – 3.65 (m, 4H), 3.60 (s, 2H), 2.51 (s, 7H), 1.50 (s, 6H)。¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 174.93, 158.85, 153.94, 151.94, 151.92, 138.12 (q, *J* = 32.6 Hz), 127.36, 122.90 (q, *J* = 274.06 Hz), 121.55, 119.38, 111.87, 105.27 (q, *J* = 6.3 Hz), 104.42, 71.53, 66.79, 54.40, 52.96, 45.94, 27.83, 9.44。



黄色固体 (55mg, 50%)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.66 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 4.87 (s, 2H), 4.47 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 4.07 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.90 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 3.86 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.82 – 3.71 (m, 1H), 3.69 – 3.62 (m, 1H), 3.61 (s, 1H), 3.43 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 2.58 – 2.35 (m, 7H), 1.34 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 173.50, 158.83, 153.95, 151.97, 138.26, 138.13 (d, *J* = 32.8 Hz), 127.37, 122.95 (q, *J* = 274.6 Hz), 121.59, 119.28, 111.89, 105.27, 104.41, 66.79, 64.02, 54.42, 52.70, 52.56, 45.94, 44.87, 42.53, 21.50, 9.44。

化合物 **P-15** 的合成

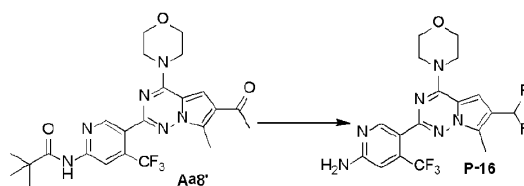


10 氮气保护、冰浴下，往化合物 **Aa8'** (600 mg, 1.2 mmol) 的无水四氢呋喃 (40mL) 溶液中、加入 1M 甲基溴化镁 (4.8 mL, 4.8 mmol)，移至室温下反应。待反应完毕后，加水 50 mL 稀释，用乙酸乙酯 (100 mL) 萃取两次，合并有机层，饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次，无水硫酸钠干燥，浓缩，柱层析 (二氯甲烷/甲醇 = 40/1) 得黄色化合物 (520 mg, 86%)。

15 将上述所得产物 (400 mg, 0.8mmol) 溶解于 15 mL 甲醇中，加入 10 个当量的 1M 氢氧化钾溶液 (8 mL)，回流反应。反应完毕后，浓缩，柱层析 (二氯甲烷/甲醇=40/1) 纯化得黄色化合物 (270 mg, 80%)。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.59 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 5.14 (q, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.04 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.82 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 2.53 (s, 3H), 1.99 (br s, 1H), 1.58 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 158.78, 154.14, 152.05, 151.93, 128.13, 125.24, 111.85, 105.25 (q, *J* = 5.5 Hz), 100.27, 66.80, 63.82, 45.97, 24.52, 9.38。

20 化合物 **P-16** 的合成

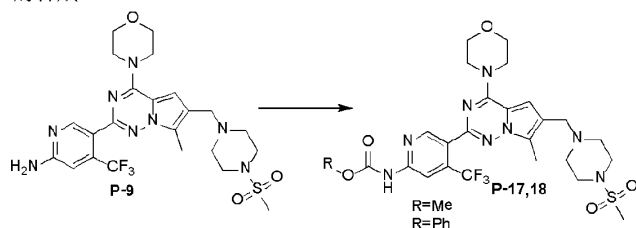


25 氮气保护、冰浴下，往化合物 **Aa8'** (100 mg, 0.2 mmol) 的无水二氯甲烷 (20mL) 溶液中、加入 1 mL 二乙胺基三氟化硫 (DAST)，移至室温下反应。待反应完毕后，缓慢加冰水 10 mL 淬灭，加水 (50 mL) 稀释，用二氯甲烷 (50 mL) 萃取两次，合并有机层，饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次，无水硫酸钠干燥，浓缩，直接用于下一步反应。

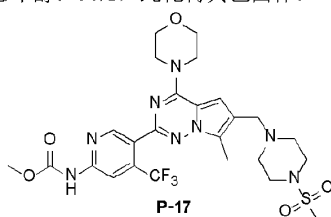
将上述所得产物溶解于 15 mL 甲醇中，加入 10 个当量的 1M 氢氧化钾溶液 (2 mL)，回流反应。反应完毕后，浓缩，柱层析 (二氯甲烷/甲醇=40/1) 纯化得黄色化合物 (38 mg, 两步总收率: 44%)。

30 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.63 (s, 1H), 6.86 (t, *J* = 56.4 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 4.85 (br s, 2H), 4.06 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.84 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 2.58 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 158.98, 154.52, 152.94, 151.96, 138.17 (q, *J* = 32.6 Hz), 127.09 (t, *J* = 6.3 Hz), 122.88 (q, *J* = 274.3 Hz), 121.13, 117.39 (t, *J* = 25.8 Hz), 112.40 (t, *J* = 233.7 Hz), 112.24, 105.29 (q, *J* = 6.1 Hz), 101.21 (t, *J* = 5.0 Hz), 66.71, 45.96, 9.46。

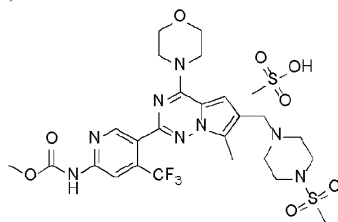
化合物 **P-17**, **18** 的合成



-30℃下, 向化合物 **P-9** (110 mg, 0.2 mmol) 的无水氯仿 (10 mL) 溶液中, 加入无水三乙胺 (30 μ L, 0.25 mmol), 滴加对应的氯甲酸酯 (0.6 mmol) 的氯仿 (5 mL) 溶液, 维持在该温度下反应。待反应完毕后, 缓慢加冰水 10 mL 淬灭, 加二氯甲烷 (40 mL) 稀释, 分出有机层, 饱和食盐水 (50 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 50/1) 纯化得黄色固体。

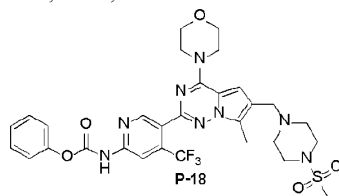


黄色固体 (55 mg, 45%)。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.18 (br s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 4.05 (t, $J = 4.5$ Hz, 4H), 3.86 (s, 3H), 3.84 – 3.78 (m, 4H), 3.62 (s, 2H), 3.25 (s, 4H), 2.78 (s, 3H), 2.59 (s, 4H), 2.50 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 153.87, 153.54, 152.67, 151.39, 150.80, 138.69 (q, $J = 32.9$ Hz, CF_3), 127.50, 126.60, 122.72 (q, $J = 275.83$ Hz, CF_3), 119.55, 111.79, 109.21 (q, $J = 5.2$ Hz, CF_3CCH), 104.69, 66.70, 54.19, 52.72, 52.18, 45.89, 45.84, 34.22, 9.40。

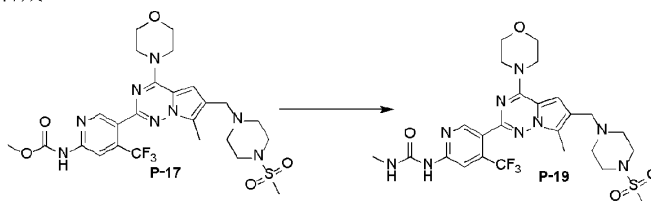


参照化合物 **P-9** 的甲烷磺酸盐的制备方法。以化合物 **P-17** (200 mg, 0.3 mmol) 为原料, 得黄色化合物 **P-17** 甲烷磺酸盐 (190 mg, 81%)。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.91 (s, 1H), 9.83 (br s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 4.46 (s, 2H), 4.01 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.82 – 3.68 (m, 7H), 3.62 – 3.41 (m, 4H), 3.28 – 3.04 (m, 4H), 3.00 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.38 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 154.58, 154.11, 153.99, 152.04, 151.38, 136.87 (q, $J = 31.6$ Hz, CF_3), 129.53, 125.47, 123.08 (q, $J = 274.9$ Hz, CF_3), 112.40, 112.00, 108.63 (q, $J = 6.9$ Hz, CF_3CCH), 107.63, 66.41, 52.76, 51.36, 50.31, 46.02, 42.98, 40.23, 35.54, 9.69。

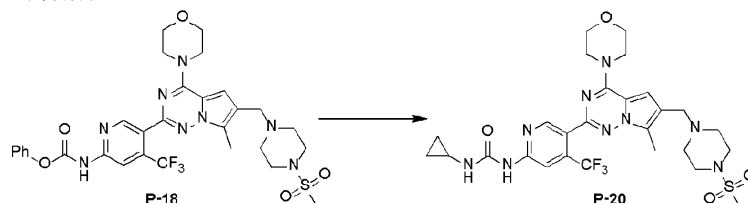


黄色固体 (55 mg, 74%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.69 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.41 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.36 – 7.19 (m, 3H), 6.67 (s, 1H), 4.13 – 3.91 (m, 4H), 3.79 (s, 4H), 3.61 (s, 2H), 3.25 (s, 4H), 2.78 (s, 3H), 2.58 (s, 4H), 2.41 (s, 3H)。

化合物 **P-19** 的合成

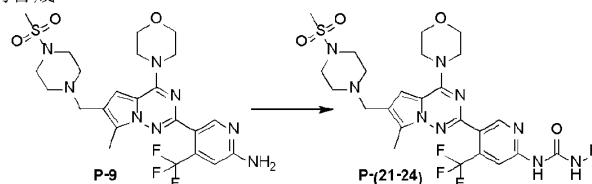
10 mL 微波反应管中, 加入化合物 **P-17** (122 mg, 0.2 mmol), 无水氯化钙 (10 mg, mmol), 甲胺醇溶液 (2 mL), 微波 100°C 反应 30 分钟, 浓缩, 薄层层析 (二氯甲烷/甲醇: 20/1) 纯化得白色固体 (30mg, 33%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.37 (s, 1H), 9.06 (br s, 1H), 8.74 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.68 (s, 1H), 4.05 (t, J = 4.6 Hz, 4H), 3.84 (t, J = 4.9 Hz, 4H), 3.61 (s, 2H), 3.25 (br s, 4H), 3.01 (d, J = 4.6 Hz, 3H), 2.78 (s, 3H), 2.59 (br s, 4H), 2.50 (s, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 156.42, 153.99 (q, J = 13.5 Hz), 151.34, 149.71, 138.66, 138.39, 127.59, 124.36, 122.56 (q, J = 274.93 Hz), 119.56, 111.84, 109.33 (q, J = 5.4 Hz), 104.70, 66.78, 54.26, 52.23, 45.95, 45.90, 34.27, 26.54, 9.45.

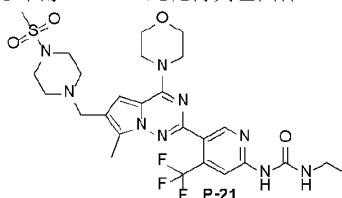
化合物 **P-20** 的合成

往化合物 **P-18** (75 mg, 0.1 mmol) 的 DMF (3 mL) 溶液中, 加入环丙胺 (1 mL), 升温至 60°C 反应。反应完毕, 加水 (30 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (50 mL) 萃取两次, 合并有机层, 饱和食盐水 (100 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 薄层层析 (二氯甲烷/甲醇: 40/1) 得黄色化合物 (26 mg, 40%)。

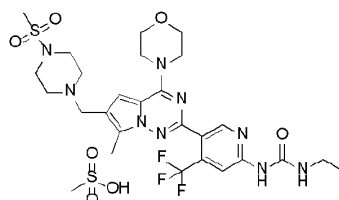
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.47 (br s, 1H), 9.09 (br s, 1H), 8.73 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 4.05 (t, J = 4.7 Hz, 4H), 3.84 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 3.61 (s, 2H), 3.25 (t, J = 4.7 Hz, 4H), 2.78 (br s, 4H), 2.59 (s, 4H), 2.49 (s, 3H), 0.95 – 0.78 (m, 2H), 0.71 – 0.61 (m, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 156.70, 153.93, 153.85, 151.32, 149.81, 138.53 (q, J = 33.2 Hz), 127.59, 124.65, 122.57 (q, J = 274.7 Hz), 119.57, 111.83, 109.48 (q, J = 6.6 Hz), 104.69, 66.77, 54.26, 52.23, 45.95, 45.90, 34.27, 22.58, 9.45, 6.80.

化合物 **P-(21-24)** 的合成

往化合物 **P-9** (1 equiv.) 和 1, 8-二氮环[5.4.0]十一-7-烯 (DBU, 6 equiv) 的二氯甲烷溶液中加入对应的异氰酸酯 (6 equiv), 室温下反应。反应完毕, 加水稀释, 二氯甲烷萃取一次, 饱和食盐水洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇: 50/1) 纯化得黄色固体。

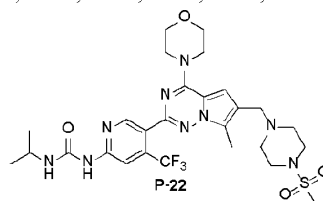


以化合物 **P-9** (160 mg, 0.3 mmol) 为起始原料, 得黄色固体 (54 mg, 29%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.62 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.45 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 3.96 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.73 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.56 (s, 2H), 3.18 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.08 (s, 4H), 2.85 (s, 3H), 2.48 (s, 4H), 2.42 (s, 3H), 1.09 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 154.81, 154.58, 153.78, 151.31, 150.88, 136.71 (q, *J* = 31.8 Hz), 127.20, 124.08, 123.23 (q, *J* = 274.81 Hz), 120.27, 111.34, 108.29 (q, *J* = 6.2 Hz), 106.21, 66.46, 53.80, 52.14, 45.94, 34.44, 34.06, 15.69, 9.67。



参照化合物 **P-9** 的甲烷磺酸盐的制备方法。以化合物 **P-21** (75 mg, 0.31 mmol) 为原料, 得黄色化合物 **P-21** 甲烷磺酸盐 (70 mg, 81%)。

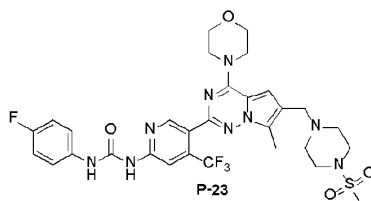
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.80 (br s, 1H), 9.65 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.44 (br s, 1H), 7.20 (s, 1H), 4.45 (s, 2H), 4.13 (s, 2H), 4.01 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.75 (s, 6H), 3.49 (s, 2H), 3.27 – 3.03 (m, 7H), 3.00 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 1.09 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H)。¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 155.00, 154.56, 153.98, 152.13, 150.91, 136.74 (q, *J* = 31.4 Hz), 129.46, 123.69, 123.29 (q, *J* = 274.3 Hz), 112.39, 111.93, 108.36 (q, *J* = 6.4 Hz), 107.53, 66.41, 51.36, 40.24, 50.30, 46.00, 42.99, 35.51, 34.45, 15.68, 9.69。



15

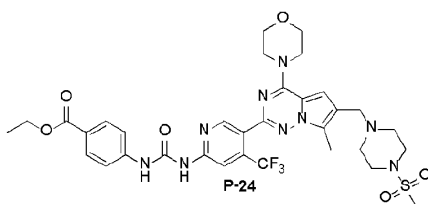
以化合物 **P-9** (160 mg, 0.3 mmol) 为起始原料, 得黄色固体 (128 mg, 67%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.45 (s, 1H), 8.93 (br s, 1H), 8.74 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 4.10-4.16 (m, 1H), 4.05 (t, *J* = 4.4 Hz, 4H), 3.84 (t, *J* = 4.3 Hz, 4H), 3.61 (s, 2H), 3.25 (t, *J* = 4.5 Hz, 4H), 2.78 (s, 3H), 2.59 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H), 2.50 (s, 3H), 1.30 (d, *J* = 6.4 Hz, 6H)。¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 155.16, 154.33, 153.93, 151.41, 149.67, 138.39 (q, *J* = 32.9 Hz), 127.55, 124.19, 122.61 (q, *J* = 274.4 Hz), 119.53, 111.83, 109.53 (q, *J* = 5.6 Hz), 104.66, 66.78, 54.26, 52.23, 45.95, 45.91, 42.21, 34.25, 23.08, 9.45。

20



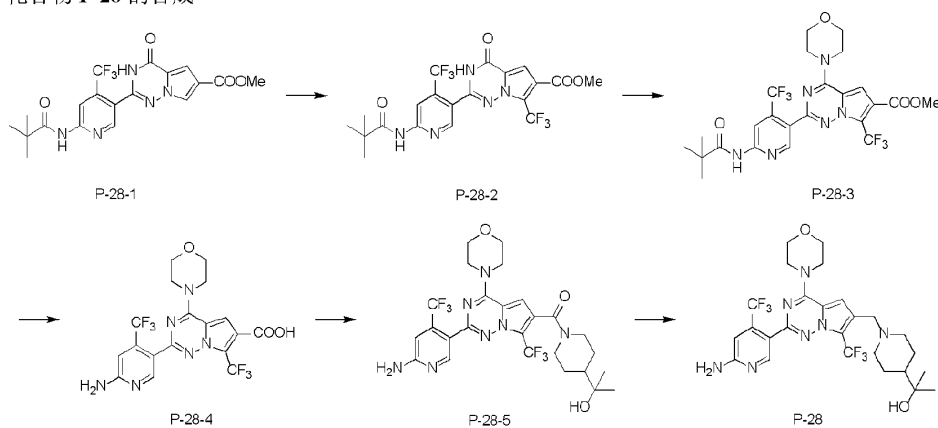
以化合物 **P-9** (110 mg, 0.2 mmol) 为起始原料, 得黄色固体 (40 mg, 29%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 11.45 (s, 1H), 9.44 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.60 (dd, *J* = 8.9, 4.7 Hz, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.07 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.69 (s, 1H), 4.07 (br s, 4H), 3.86 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H), 3.63 (s, 2H), 3.26 (s, 4H), 2.79 (s, 3H), 2.60 (s, 4H), 2.52 (s, 3H)。¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 159.29 (d, *J* = 242.9 Hz), 153.74 (d, *J* = 54.9 Hz), 153.50, 151.09, 149.67, 138.93 (q, *J* = 32.9 Hz), 133.94 (q, *J* = 2.9 Hz), 127.67, 125.13, 122.05 (q, *J* = 7.8 Hz), 119.69, 115.66 (q, *J* = 22.6 Hz), 111.82, 109.78, 104.83, 66.78, 54.27, 52.25, 45.96, 45.91, 34.28, 9.47。

25



以化合物 **P-9** (110 mg, 0.2 mmol) 为起始原料, 得黄色固体 (46 mg, 31%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.04 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.65 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.94 (s, 1H), 4.27 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.97 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.82 – 3.66 (m, 4H), 3.57 (s, 2H), 3.08 (s, 4H), 2.85 (s, 3H), 2.48–2.43 (m, 7H), 1.30 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H)。¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.79, 153.90, 153.79, 152.07, 151.17, 143.65, 136.95 (q, *J* = 32.2 Hz), 130.89, 127.27, 125.30, 123.23 (q, *J* = 274.93 Hz), 124.16, 120.35, 118.45, 111.35, 108.74, 106.31, 66.47, 60.89, 53.80, 52.14, 45.94, 34.07, 14.71, 9.68。

化合物 **P-28** 的合成



步骤 1: 将 **P-28-1** (437.0 mg, 1.0 mmol, 其制备方法参见 CN201210177980.3) 溶于二氯甲烷:水(10 : 1, 20 mL)的混合液中, 随后加入三氟甲基磺酸钠(936.0 mg, 6 mmol), 将上述体系冷却到 0 °C 并缓慢滴加 70% 过氧叔丁醇水溶液(1.4 mL, 10.0 mmol), 滴加完毕, 继续搅拌 30 min; 随后加入二甲基亚砜(4.0 mL)并升温到 40 °C 反应过夜, LC-MS 检测分析反应结束。加入二氯甲烷和水搅拌, 静止, 分液的有机相, 干燥, 浓缩得到粗品。用石油醚: 乙酸乙酯(10 : 1~4 : 1)过柱得到 **P-28-2** (300 mg)。LC-MS: 506.2(M+1)。

步骤 2: 将 **P-28-2** (300 mg, 0.6 mmol) 和三氯氧磷(1.85 g, 11.9 mmol)加入到甲苯(20 mL)中, 随后加入 *N,N*-二甲基苯胺(215.6 mg, 18.0 mmol)于回流状态下反应过夜。TCL 分析反应完全, 将反应体系浓缩, 随后加入乙酸乙酯和冰水进行搅拌, 分液得到乙酸乙酯相, 对乙酸乙酯相进行干燥, 浓缩得到氯代物粗品。将氯代物粗品溶于无水四氢呋喃(10 mL)中, 0 °C 下加入吗啉 (155.0 mg, 1.8 mmol) 于室温下搅拌直到原料反应完全, 浓缩得粗品直接下一步反应。

步骤 3: 将步骤 2 所得粗品加入甲醇(20 mL)溶解, 随后加入水(1 mL)和氢氧化钠(237.6 mg)与回流下反应直到原料完全消失, 浓缩, 加入水, 调 PH 到 5-6 析出固体, 干燥, 直接下一步。LC-MS: 477.2 (M+H)⁺。

步骤 4: 将步骤 3 的粗品、HBTU(455.0 mg, 1.2 mmol)、三乙胺(121 mg, 1.2 mmol)和 2-(4-哌啶基)-2-丙醇(Aa9', 93.2 mg, 0.65 mmol)加入 DMF(10 mL)中于室温下反应过夜, LC-MS 分析反应结束。将反应体系倒入到冰水中用乙酸乙酯萃取, 有机相干燥, 浓缩, 过柱(DCM : MeOH = 100 : 1~40 : 1)得到浅色固体 **P-28-5** (140 mg)。

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8.48 (s, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.34~7.42 (brs, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 5.26 (s, 1H), 4.76 (d, 1H), 4.02 (s, 4H), 3.80 (s, 4H), 1.82~1.95 (m, 2H), 1.47~1.69 (m, 2H), 1.24 (s, 6H)。LC-MS: 602.3 (M+1)。

步骤 5: N₂ 保护下将 **P-28-5** (100 mg, 0.17 mmol) 溶于无水四氢呋喃(10 mL)中冷却到 -20 °C, 随后缓慢滴加 BH₃/THF(1N, 1.7 mL, 1.7 mmol), 滴加完毕, 将反应体系升温到 60 °C 反应 1 h, 随后将反应体系冷却到 -20 °C 缓慢滴加浓盐酸(0.8 mL), 滴加完毕, 随后升温到 60 °C 反应, LC-MS 检测中间体全部转化为目标化合物。冷

却，加入乙酸乙酯和水进行分液的水。水相用氢氧化钠调 pH 到 10 左右，用 DCM 进行萃取，干燥浓缩，快速过柱(DCM : MeOH=100 : 1~40 : 1)得到 **P-28**(20 mg)。

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ: 8.36 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 4.05 (t, 4H), 3.99 (s, 2H), 3.77 (t, 4H), 3.50 (brs, 1H), 2.39 (t, 2H), 1.80 (t, 2H), 1.36~1.52 (m, 4H), 1.08 (s, 6H), LC-MS: 588.2(M+1)。

5

活性测试实验

初筛浓度设定：待测化合物用 DMSO（二甲基亚砜）溶解至 100 μM 或 10 μM 作为储存液，各取 2 μL 加入 48 μL 1 倍反应缓冲液(1× Reaction Buffer)中，得到 1 μM 或 100 nM 含 4% DMSO 的化合物溶液，混匀后用 4% DMSO 在 1 倍反应缓冲液中（in 1× Reaction Buffer）稀释得到 100 nM 或 20 nM 化合物溶液。每个稀

10

IC₅₀ 测定浓度设定：针对不同酶，起始浓度选择 10 μM 和 100 μM。用 DMSO 溶解至 1 mM 或 10 mM 作为工作液，各取 1 μL 加入 24 μL 1 倍激酶缓冲液 A(1× Kinase Buffer A)中，得到 40 μM 或 400 μM 含 4% DMSO 的化合物溶液，依次 4 倍倍比梯度稀释，10 个稀释浓度，每个稀释溶液各取 2.5 μL 加入 384 孔板中，这样

15

实验步骤：室温下，PI3K 激酶反应 30 分钟后终止，向各孔加入检测液，充分混合，室温孵育 2 小时，多功能酶标仪（2104 EnVision® Multilabel Reader (Cat: 2104-0010, PerkinElmer)）检测，记录测试结果。

实验结果：

计算各孔的激发光比值（Emission Ratio）

20

Emission Ratio (ER)= 665 nm Emission signal/ 620 nm Emission signal

100%抑制对照的平均 Emission Ratio 记为：ER_{100%}

0%抑制对照的平均 Emission Ratio 记为：ER_{0%}

计算抑制率

抑制率用以下公式计算：

25

抑制率= (ER_{sample}- ER_{0%})/ (ER_{100%}- ER_{0%})×100%

如表 1 和表 2 所示，表中化合物均显示出了对 PI3K 激酶较好的抑制作用，尤其是化合物 **P-5/6/7** 显示出了对 PI3Kδ 选择性的抑制作用。

表 1 部分化合物在指定浓度下对 PI3K 激酶各个亚型的抑制作用

化合物	IH (%) @ 20 nM		IH (%) @100 nM	
	α	δ	β	γ
P-2	18.72	46.02	4.74	0.62
P-3	6.72	39.81	-0.12	2.94
P-5	-0.60	53.19	14.87	-2.33
P-6	69.72	41.43	11.78	-4.80
P-7	3.60	53.59	3.43	-7.96
P-9	68.90	51.20	12.81	31.41
P-10	80.49	39.74	7.84	32.10
P-11	72.76	50.28	15.82	19.40
P-13	30.49	41.24	2.34	2.16
P-14	24.80	63.28	3.44	6.83
P-17	60.73	64.14	15.98	47.01
P-20	101.92	83.13	57.35	68.29
P-21	89.32	107.21	46.28	74.08
P-22	50.00	46.54	15.08	30.34
P-23	77.87	77.08	32.63	66.96
GDC0941	41.74	56.31	21.13	2.00

表 2 部分化合物对 PI3K 激酶各个亚型的抑制作用

化合物	IC ₅₀ (nM)			
	α	δ	β	γ
P-2	321.2	36.60	2135	37640
P-5	424.3	19.60	1365	4832
P-6	624.0	35.29	4574	9875
P-7	438.8	27.58	3459	15300
P-9	26.41	23.69	1186	282.8
P-10	104.1	79.66	1769	201.6
P-11	21.29	28.08	1443	247.5
P-14	77.46	85.57	2649	1946
P-17	76.24	75.20	912.5	290.2
P-20	10.79	3.733	124.3	36.55
P-21	21.84	6.224	139.2	37.45
P-22	122.2	29.49	1536	311.2
P-23	18.68	10.09	108.7	47.10
GDC0941	35.42	9.036	324.5	746.1

从表中可以看出，化合物 P-5，P-6，P-7等对 PI3K δ 有很好的选择性。GDC0941为阳性化合物,化学名称为 2-(1H- 吡 唑 -4- 基)-6-[[4-(甲 基 磺 酰 基)-1- 哌 嗪 基] 甲 基]-4-(4- 吗 啉 基) 噻 吩 并 [3,2-D] 嘧 啶 (4-[2-(1H-indazol-4-yl)-6- [(4-methylsulfonylpiperazin-1-yl)methyl]thieno[3,2-d]pyrimidin-4-yl]morpholine)。

初步药代动力学测试实验

1. 取健康 SD 大鼠14只，雄性，体重200-220 g，随机分成4组，每组3-4只，分别灌胃(10mg/kg)和静脉注射(5mg/kg)给予被试化合物 P-17和化合物 CYH33 （与化合物 P-17相比，缺失一个7-位甲基），具体安排见下表3：

组别	动物数	化合物	给药途径	给药剂量 (mg/kg)	给药体积 (mL/kg)
1	4	CYH33	灌胃	10	10
2	4	CYH33	静脉	5	5
3	4	P-17	灌胃	10	10
4	3	P-17	静脉	5	5

10 试验前禁食12 h，自由饮水。给药后2 h 统一进食。

2. 采血时间点及样品处理

灌胃给药：给药后0.25 h，0.5 h，1.0 h，2.0 h，3.0 h，4.0 h，6.0 h，8.0 h 和24 h。

静脉给药：给药后5 min，0.25 h，0.5 h，1.0 h，2.0 h，4.0 h，6.0 h，8.0 h 和24 h。

在以上设定时间点经大鼠眼球后静脉丛取静脉血0.3 ml，置肝素化试管中，11000 rpm 离心5 min，分离血浆，于-20℃ 冰箱中冷冻。

15 3. 样品测试和数据分析

采用 LC/MS/MS 法测定大鼠血浆中化合物的浓度。

采用 Phoenix 1.3软件（美国 Pharsight 公司）的非房室模型计算给药后的药代动力学参数。

表 4 大鼠静脉注射 5 mg/kg 不同化合物后的药动学数据

处理物	ID	AUC 0-t (h*ng/ml)	AUC 0- ∞ (h*ng/ml)	MRT (h)	T1/2 (h)	Cl (l/h/kg)	Vss (l/kg)
CYH33	5	2847	2850	1.1	0.83	1.75	1.93
	6	3645	3655	1.26	0.95	1.37	1.72

P-17	7	4142	4172	1.57	1.16	1.2	1.88
	Mean	3545	3559	1.308	0.982	1.44	1.843
	SD	653	666	0.239	0.168	0.285	0.11
	CV%	18.4	18.7	18.3	17.1	19.8	5.9
	5	3698	4188	3.53	2.61	1.19	4.21
	6	2564	2672	2.13	1.88	1.87	3.98
	7	2711	2845	2.46	1.82	1.76	4.33
	Mean	2991	3235	2.706	2.104	1.607	4.175
	SD	617	830	0.729	0.44	0.363	0.176
	CV%	20.6	25.6	26.9	20.9	22.6	4.2

表 5 大鼠静脉注射 10 mg/kg 不同化合物后的药动学数据								
处理物	ID	Tmax (h)	Cmax (ng/ml)	AUC0-t (h*ng/ml)	AUC0-∞ (h*ng/ml)	MRT (h)	T1/2 (h)	F (%)
CYH33	1	1	770	1968	2027	2.41	1.62	36.9
	2	1	1743	5959	6360	3.31	1.83	
	3	0.5	441	1199	1250	2.64	1.7	
	4	1	372	1351	1360	2.66	0.82	
	Mean	0.875	831.5	2619	2749	2.76	1.49	
	SD	0.25	632	2251	2432	0.39	0.46	
	CV%	28.6	76	86	88.4	14	30.4	
P-17	1	4	678	7245	7286	5.82	3.08	95.8
	2	2	875	8176	8198	5.55	2.68	
	3	1	679	3389	4014	4.65	2.6	
	4	2	833	4122	4993	4.94	2.71	
	Mean	2.25	766.3	5733	6123	5.24	2.767	
	SD	1.258	102.8	2334	1948	0.539	0.215	
	CV%	55.9	13.4	40.7	31.8	10.3	7.8	

(ID 为动物编号，Tmax 为达峰时间，Cmax 为血药峰浓度，AUC 为药时曲线下面积，MRT 为平均驻留时间，T1/2，Cl 为药物清除率，Vss 为稳态分布容积，F 为绝对生物利用度)

从上表中可以看出，P-17 尽管和 CYH33 相差一个甲基，其稳态分布容积 Vss、平均驻留时间 MRT、半衰期 T1/2、绝对生物利用度 F 都有所改善，尤其是绝对生物利用度有大幅度提高（测试化合物为 CYH33 和 P17 的单甲磺酸盐，化合物结构如下）。

