

作为钾通道调节剂的四氢异喹啉类化合物及其制备和应用

技术领域

本发明涉及生物医药领域，具体地涉及作为钾通道调节剂的四氢异喹啉类化合物及其制备和应用。

背景技术

Kv7 钾通道是一类电压依赖性钾离子通道，具有低阈值激活、慢激活和非失活的特点。Kv7 钾通道具有五个家族成员(Kv7.1-Kv7.5)，所有的 Kv7 钾通道成员具有相似的拓扑学结构，即由四个亚基组成一个功能性通道，每个亚基包含六个跨膜片段(S1-S6)。其中 S4 是电压感受区，在感受膜电位变化和控制构象改变等方面具有重要作用；SS-S6 是通道孔区的主要组成部分，是钾通道开放剂的主要组合和作用区域。KV7.1 钾通道是一种非神经元通路，分布于外周组织，在心脏中表达，以介导心肌 I_{ks}，其突变可导致 Long Q-T 综合征。Kv7.2-Kv7.5 钾通道是神经元 M 电流的基础，广泛分布于神经系统中，具有多种生理活性。Kv7.2 和 Kv7.3 钾通道基因突变可导致多种不同的癫痫表型，如良性家族性新生儿惊厥(Benign familial neonatal convulsions, BFNC)，这些充分说明了 M 电流在调节神经元兴奋性中的作用。Kv7.4 钾通道高度表达于耳蜗和脑干听觉核的外毛细胞，其突变可能导致遗传性耳聋。Kv7.5 钾通道在骨骼肌和脑中高度表达，其突变可能导致视网膜病变。许多疾病如癫痫、焦虑、耳聋等，它们的共同特征是膜高度兴奋性，而 Kv7 钾通道作为 M 电流的分子基础，可通过感受膜电位的变化而开放，使抑制性钾电流上调，从而控制膜兴奋性，使得 Kv7 钾通道在以神经高度兴奋性为代表的疼痛和精神疾病中具有重要意义。

瑞替加滨(Retigabine)是治疗癫痫的药物，目前已经在英国、德国、丹麦获准上市。研究证实，瑞替加滨的作用与电压门控型钾离子通道(KCNQs)有关，其中作用于 KCNQ2/3 通道调节 M 型钾电流是其主要的作用机制。

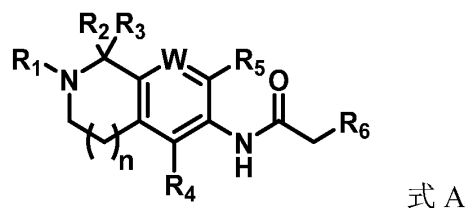
瑞替加滨(RTG)是在 2011 年上市的首个用于辅助治疗成人部分发作性癫痫的 Kv7 钾通道开放剂。除具有抗癫痫作用外，RTG 还可用于治疗焦虑症、神经痛、神经退行性疾病等。RTG 在多种癫痫模型中均能有效地减少或阻止癫痫发作。RTG 对最大电休克(MES)模型导致的强直性发作和 PTZ 诱发的阵挛性发作均表现出有效的抗癫痫作用。此外，RTG 还可阻止 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)、青霉素、印防己毒素、海人酸(Kainic acid, KA)等所致的癫痫发作。点燃模型适用于多种抗癫痫药物的筛选，RTG 对该模型的效果要强于其它模型。由于 RTG 对所有的 Kv7 钾通道成员和其它通道的广泛作用，选择性较差，使得它具有潜在的不良作用。大量文献报道了 RTG 与中枢神经系统相关的不良事件发生

率较高，可导致头晕、疲劳、失语、言语障碍、平衡障碍等其它不良反应包括肾结石、尿潴留等肾脏和泌尿系统疾病，心脏骤停、短暂的非持续性室性心动过速等心脏相关疾病，还可导致视网膜变色、皮肤、指甲等蓝/紫色色素沉着等。

发明内容

本发明的目的在于提供一种式 A 所示化合物及其制备方法和其作为钾通道调节剂的用途。

本发明的第一方面，提供了一种式 A 所示的化合物或其药学上可接受的盐，



其中，

R_1 选自取代或未取代的下组基团： C_{6-10} 芳基、含 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子的 4-7 元杂芳基，所述取代指被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 环烷基氧基、卤代 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{3-6} 环烷基、卤代 C_{1-6} 烷氧基、卤代 C_{3-6} 环烷基氧基、 $-NR_8R_9$ 、乙炔基；

R_2 和 R_3 分别独立地选自下组：氢、氘、卤素、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基；

或 R_2 和 R_3 及其各自连接的 C 形成 C_{3-10} 环烷基，所述环烷基任选被 1-3 个选自下组的取代基取代：氢、卤素、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基；

R_4 和 R_5 分别独立地选自下组：氢、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤代 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷氧基；

R_6 选自取代或未取代的下组基团： C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-6} 环烷基氧基，所述取代指被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、硝基、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤代 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基；

n 选自下组：1、2、3；

W 为 C- R_7 或 N；

R_7 选自下组：氢、氘、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤代 C_{1-6} 烷氧基；

R₈ 和 R₉ 分别独立地选自下组：氢、C₁₋₆ 烷基、卤代 C₁₋₆ 烷基；

或 R₈ 和 R₉ 及其各自连接的 N 形成 3-10 元氮杂环烷基。

在另一优选例中，

R₁ 为取代或未取代的苯基，所述取代指被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、氰基、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₃₋₆ 环烷基氧基、卤代 C₁₋₆ 烷基、卤代 C₃₋₆ 环烷基、卤代 C₁₋₆ 烷氧基、卤代 C₃₋₆ 环烷基氧基、-NR₈R₉、乙炔基；

R₂ 和 R₃ 分别独立地选自下组：氢、氘；

R₄ 和 R₅ 为甲基；

R₆ 选自取代或未取代的下组基团：C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基，所述取代指被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基；

n 为 1；

W 为 C-R₇；

R₇ 选自下组：氢、卤素；

R₈ 和 R₉ 分别独立地为 C₁₋₆ 烷基。

在另一优选例中，

R₁ 为取代或未取代的苯基，所述取代指被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、氰基、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₃₋₆ 环烷基氧基、卤代 C₁₋₆ 烷基、卤代 C₃₋₆ 环烷基、卤代 C₁₋₆ 烷氧基、卤代 C₃₋₆ 环烷基氧基、-NR₈R₉、乙炔基；

R₂ 和 R₃ 分别独立地选自下组：氢、氘；

R₄ 和 R₅ 为甲基；

R₆ 选自取代或未取代的下组基团：C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基，所述取代指被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、C₁₋₆ 烷基；

n 为 1；

W 为 C-R₇；

R₇ 选自下组：氢、卤素；

R₈ 和 R₉ 分别独立地为 C₁₋₆ 烷基。

在另一优选例中，

R₁ 为取代或未取代的苯基，所述取代指被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、氰基、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₃₋₆ 环烷基氧基、卤代 C₁₋₆ 烷基、卤

代 C₃₋₆ 环烷基、卤代 C₁₋₆ 烷氧基、卤代 C₃₋₆ 环烷基氧基、-NR₈R₉、乙炔基；

R₂ 和 R₃ 分别独立地选自下组：氢、氘；

R₄ 和 R₅ 为甲基；

R₆ 选自下组：；

n 为 1；

W 为 C-R₇；

R₇ 选自下组：氢、卤素；

R₈ 和 R₉ 分别独立地为 C₁₋₆ 烷基。

在另一优选例中，

R₁ 为取代或未取代的苯基，所述取代指被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、氰基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、卤代 C₁₋₆ 烷基、-NR₈R₉、乙炔基；

R₂ 和 R₃ 分别独立地选自下组：氢、氘；

R₄ 和 R₅ 为甲基；

R₆ 选自下组：；

n 为 1；

W 为 C-R₇；

R₇ 选自下组：氢、卤素；

R₈ 和 R₉ 分别独立地为 C₁₋₆ 烷基。

在另一优选例中，R₁ 为取代或未取代的苯基，所述取代指被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、氰基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、卤代 C₁₋₆ 烷基、-NR₈R₉、乙炔基；

R₂ 和 R₃ 分别独立地选自下组：氢、氘；

R₄ 和 R₅ 为甲基；

R₆ 为 ；

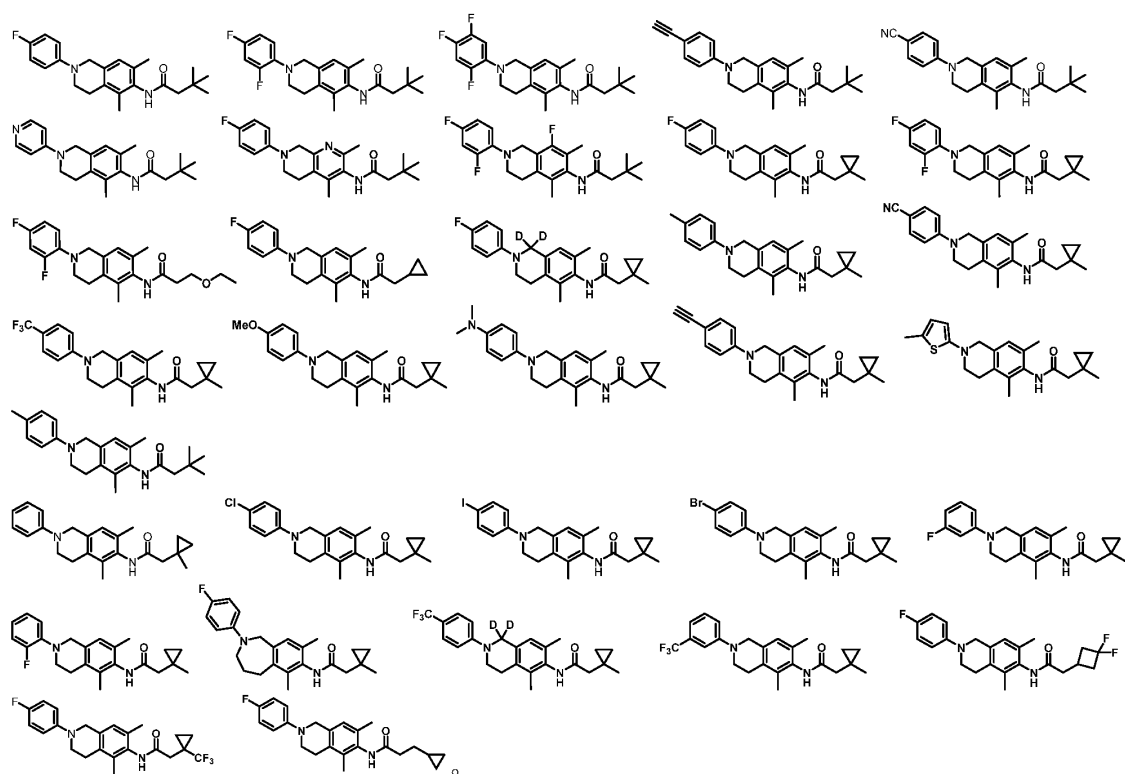
n 为 1；

W 为 C-R₇；

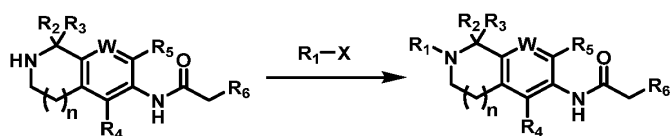
R₇ 选自下组：氢、卤素；

R₈ 和 R₉ 分别独立地为 C₁₋₆ 烷基。

在另一优选例中，所述化合物选自下组：



本发明的第二方面，提供了一种本发明第一方面所述的化合物或其药学上可接受的盐的制备方法，包括步骤：



其中：

X 选自下组：卤素、 $-B(OH)_2$ 、 $-OTf$ ；

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 n 、 W 如本发明第一方面所定义。

本发明的第三方面，提供了一种药物组合物，包含一种或多种药学上可接受的载体和治疗有效量的一种或多种本发明第一方面所述的化合物或其药学上可接受的盐。

本发明的第四方面，提供了一种本发明第一方面所述的化合物或其药学上可接受的盐的用途，用于制备用于预防和/或治疗对钾离子通道敏感的疾病药物。

在另一优选例中，所述对钾离子通道敏感的疾病为中枢神经系统疾病。

在另一优选例中，所述中枢神经系统疾病选自下组：癫痫、惊厥、炎症性疼痛、神经性疼痛、偏头痛、抑郁、焦虑障碍、脑卒中、阿尔茨海默症、神经变性疾病、可卡因滥用、尼古丁戒断、酒精戒断、耳鸣。

应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

具体实施方式

本发明人经过长期而深入的研究，通过结构优化，意外地制备了一种具有优异的钾通道开放活性、药代动力学（如脑血比性能等）、体内药效和安全性且结构新颖的式 A 所示化合物。在此基础上，发明人完成了本发明。

术语

在本发明中，除非特别指出，所用术语具有本领域技术人员公知的一般含义。

在本发明中，术语“卤素”指 F、Cl、Br 或 I。

在本发明中，“C1-C6 烷基”是指包括 1-6 个碳原子的直链或支链的烷基，例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、新戊基、特戊基、或类似基团。

在本发明中，术语“C2-C6 烯基”是指具有 2-6 个碳原子的含有一个双键的直链或支链烯基，非限制性地包括乙烯基、丙烯基、丁烯基、异丁烯基、戊烯基和己烯基等。

在本发明中，术语“C2-C6 炔基”是指具有 2-6 个碳原子的含有一个三键的直链或支链炔基，非限制性地包括乙炔基、丙炔基、丁炔基、异丁炔基、戊炔基和己炔基等。

在本发明中，术语“C3-C8 环烷基”是指在环上具有 3-8 个碳原子的环状烷基，非限制性地包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基等。术语“C3-C6 环烷基”和“C3-C10 环烷基”具有类似含义。

在本发明中，术语“C1-C6 烷氧基”是指具有 1-6 个碳原子的直链或支链烷氧基，非限制性地包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基和丁氧基等。优选为 C1-C4 烷氧基。

在本发明中，术语“芳环”或“芳基”具有相同的含义，优选为“C6-C10 芳基”。术语“C6-C10 芳基”是指在环上不含杂原子的具有 6-10 个碳原子的芳香族环基，如苯基、萘基等。术语“C₆₋₁₀ 芳基”和“C6-C10 芳基”含义相同，其他类似术语

也具有类似相同性。

在本发明中，术语“芳香杂环”或“杂芳基”具有相同的含义，指包含一个到多个杂原子的杂芳族基团。例如“C3-C10 杂芳基”是指含有 1~4 个选自氧、硫和氮中的杂原子以及 3-10 个碳原子的芳香杂环。非限制性例子包括：呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡唑基、吡咯基、N-烷基吡咯基、嘧啶基、吡嗪基、咪唑基、四唑基等。所述杂芳基环可以稠合于芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂芳基环。杂芳基可以是任选取代的或未取代的。

在本发明中，术语“卤代”是指被卤素取代。

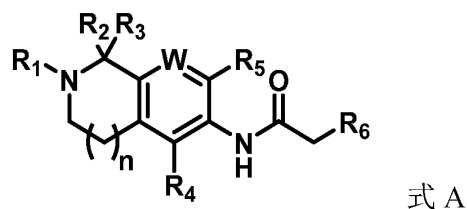
在本发明中，术语“取代”指特定的基团上的一个或多个氢原子被特定的取代基所取代。特定的取代基为在前文中相应描述的取代基，或各实施例中所出现的取代基。除非特别说明，某个取代的基团可以在该基团的任何可取代的位点上具有一个选自特定组的取代基，所述的取代基在各个位置上可以是相同或不同的。本领域技术人员应理解，本发明所预期的取代基的组合是那些稳定的或化学上可实现的组合。所述取代基例如(但不限于)：卤素、羟基、羧基(-COOH)、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C3-C8 环烷基、3-至 12 元杂环基、芳基、杂芳基、C1-C8 醛基、C2-C10 酰基、C2-C10 酯基、氨基、C1-C6 烷氧基、C1-C10 磺酰基等。

在本发明中，术语“多个”独立地指 2、3、4、5 或 6 个。

在本发明中，术语 1-6 个指 1、2、3、4、5 或 6 个。其他类似术语具有类似含义。

化合物

本发明提供了一种式 A 所示的化合物或其药学上可接受的盐，



R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、n、W 如上文所定义。

在另一优选例中，所述的化合物中，R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、n、W 中任一个分别为所述具体化合物中所对应的基团。

如本文所用，术语“药学上可接受的盐”指本发明化合物与酸或碱所形成的适合

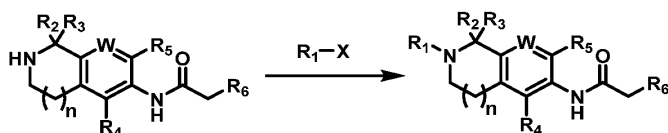
用作药物的盐。药学上可接受的盐包括无机盐和有机盐。一类优选的盐是本发明化合物与酸形成的盐。适合形成盐的酸包括但不限于：盐酸、氢溴酸、氢氟酸、硫酸、硝酸、磷酸等无机酸；甲酸、乙酸、三氟乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、苦味酸、苯甲酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、苯磺酸、萘磺酸等有机酸；以及脯氨酸、苯丙氨酸、天冬氨酸、谷氨酸等氨基酸。

另一类优选的盐是本发明化合物与碱形成的盐，例如碱金属盐（例如钠盐或钾盐）、碱土金属盐（例如镁盐或钙盐）、铵盐（如低级的烷醇铵盐以及其它药学上可接受的胺盐），例如甲胺盐、乙胺盐、丙胺盐、二甲基胺盐、三甲基胺盐、二乙基胺盐、三乙基胺盐、叔丁基胺盐、乙二胺盐、羟乙胺盐、二羟乙胺盐、三羟乙胺盐，以及分别由吗啉、哌嗪、赖氨酸形成的胺盐。

制备方法

下面更具体地描述本发明式 A 结构化合物的制备方法，但这些具体方法不对本发明构成任何限制。本发明化合物还可以任选将在本说明书中描述的或本领域已知的各种合成方法组合起来而方便地制得，这样的组合可由本发明所属领域的技术人员容易地进行。

典型地，本发明化合物的制备工艺流程如下，其中所用原料和试剂如无特殊说明，均可通过商业途径购买。



其中：

X 选自下组：卤素、 $-B(OH)_2$ 、 $-OTf$ ；

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 n 、 W 如上文所定义。

药物组合物和施用方法

本发明的药物组合物包含安全有效量范围内的本发明化合物或其药理上可接受的盐及药理上可以接受的赋形剂或载体。其中“安全有效量”指的是：化合物的量足以明显改善病情，而不至于产生严重的副作用。通常，药物组合物含有

1-2000mg 本发明化合物/剂，更佳地，含有 5-1000mg 本发明化合物/剂。更佳地，所述的“一剂”为一个胶囊或药片。

“药学上可以接受的载体”指的是：一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质，它们适合于人使用，而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此指的是组合物中各组份能和本发明的化合物以及它们之间相互掺和，而不明显降低化合物的药效。药学上可以接受的载体部分例子有纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等)、明胶、滑石、固体润滑剂(如硬脂酸、硬脂酸镁)、硫酸钙、植物油(如豆油、芝麻油、花生油、橄榄油等)、多元醇(如丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇等)、乳化剂(如吐温®)、润湿剂(如十二烷基硫酸钠)、着色剂、调味剂、稳定剂、抗氧化剂、防腐剂、无热原水等。

所述的药物组合物为注射剂、囊剂、片剂、丸剂、散剂或颗粒剂。

本发明化合物或药物组合物的施用方式没有特别限制，代表性的施用方式包括(但并不限于)：口服、瘤内、直肠、肠胃外(静脉内、肌肉内或皮下)、和局部给药。

用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中，活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂(或载体)混合，如柠檬酸钠或磷酸二钙，或与下述成分混合：(a) 填料或增容剂，例如，淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸；(b) 粘合剂，例如，羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶；(c) 保湿剂，例如，甘油；(d) 崩解剂，例如，琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠；(e) 缓溶剂，例如石蜡；(f) 吸收加速剂，例如，季胺化合物；(g) 润湿剂，例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯；(h) 吸附剂，例如，高岭土；和(i) 润滑剂，例如，滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠，或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中，剂型也可包含缓冲剂。

固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备，如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂，并且，这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时，活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。除了活性化合物外，液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂，如水

或其它溶剂，增溶剂和乳化剂，例知，乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油，特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物等。

除了这些惰性稀释剂外，组合物也可包含助剂，如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料。

除了活性化合物外，悬浮液可包含悬浮剂，例如，乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物等。

用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液，和用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水和非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

用于局部给药的本发明化合物的剂型包括软膏剂、散剂、贴剂、喷射剂和吸入剂。活性成分在无菌条件下与生理上可接受的载体及任何防腐剂、缓冲剂，或必要时可能需要的推进剂一起混合。

本发明化合物可以单独给药，或者与其他药学上可接受的其他化合物联合给药。

本发明治疗方法可以单独施用，或者与其它治疗手段或者治疗药物联用。

使用药物组合物时，是将安全有效量的本发明化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人)，其中施用剂量为药学上认为的有效给药剂量，对于 60kg 体重的人而言，日给药剂量通常为 1~2000mg，优选 5~1000mg。当然，具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素，这些都是熟练医师技能范围内的。

与现有技术相比，本发明具有以下主要优点：

(1) 所述化合物具有更优的药代动力学性能，如更优的脑血比、半衰期、暴露量、代谢稳定性等性能；

(2) 所述化合物具有更好的钾离子通道开放活性、更优的离子通道选择性、更优的体内药效以及更好的安全性；

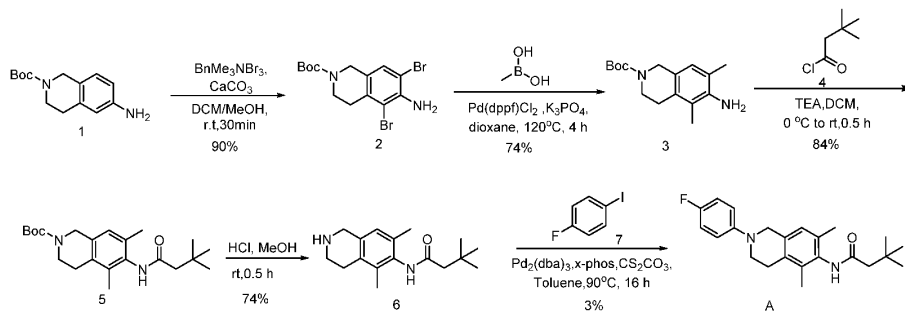
(3) 所述化合物有望用于治疗 and/或预防受钾离子通道的活性影响的疾病和病症。

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件如 Sambrook 等人，分子克隆：实验室手册(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)中所述的条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数按重量计算。

除非另行定义，文中所使用的所有专业与科学用语与本领域熟练人员所熟悉的意义相同。此外，任何与所记载内容相似或均等的方法及材料皆可应用于本发明方法中。文中所述的较佳实施方法与材料仅作示范之用。

以下实施例中所用的实验材料和试剂如无特别说明均可从市售渠道获得。

实施例 1 化合物 A 的制备



步骤一、化合物 2

将化合物 1 (2 g, 8.05 mmol, 1.0 eq) 溶于二氯甲烷(100 mL) 和甲醇(10 mL) 的混合溶剂中，然后加入 $\text{BnMe}_3\text{NBr}_3$ (6.28 g, 16.1 mmol, 2.0 eq) 和碳酸钙 (2.01 g, 20.1 mmol, 2.5 eq)，反应液在室温搅拌 0.5 小时。将反应液过滤，滤液浓缩后得到的残留物通过中性氧化铝柱层析纯化（石油醚：乙酸乙酯=15：1）得到化合物 2 (2.9 g, 收率 90%) 为白色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 406.9$.

步骤二、化合物 3

将化合物 2 (1 g, 2.46 mmol, 1.0 eq) 溶于 1,4-二氧六环 (50 mL)，然后加入甲基硼酸(589 mg, 9.84 mmol, 4.0 eq)，磷酸钾 (2.089 g, 9.84 mmol, 4.0 eq) 和 Pd(dppf)Cl_2 (0.1 g, 0.14 mmol, 0.06 eq)，反应液在氮气保护下升温至 120°C 并搅拌 4h。冷却至室温后将反应液过滤，滤液用水稀释，然后用乙酸乙酯 (3×40 mL) 萃取，有机相用饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩后得到

的残留物通过硅胶柱层析纯化（石油醚：乙酸乙酯=10:1）得到化合物 3（504 mg, 收率 74%）为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 277.2$.

步骤三、化合物 5

将化合物 3（600 mg, 2.17 mmol, 1.0 eq）溶于二氯甲烷（15 mL），冷却至 0 °C 后加入三乙胺（0.78 mL, 5.43 mmol, 2.5 eq）和化合物 4（438 mg, 3.26 mmol, 1.5 eq），反应液升至室温并搅拌 0.5 小时。反应液用水稀释，然后用二氯甲烷（3×10 mL）萃取，有机相用饱和氯化钠溶液洗，无水硫酸钠干燥并浓缩，残留物用混合溶剂（石油醚/乙酸乙酯=30 mL/3 mL）打浆纯化半小时后过滤，得到的固体干燥后得到化合物 5（680 mg, 收率 84%）为白色固体。

步骤四、化合物 6

向单口瓶中加入化合物 5（680 mg, 1.82 mmol, 1.0 eq）和盐酸甲醇溶液（4M, 13 mL），室温搅拌 0.5 小时。将反应液浓缩后加入乙酸乙酯（10 mL）稀释，然后用碳酸钠水溶液（0.5 M, 20 mL）洗涤，分出的水相用乙酸乙酯（3×10 mL）萃取。合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，将有机层浓缩后残留物用四氢呋喃溶解，无水硫酸钠干燥，浓缩后得到化合物 6（370 mg, 收率 74%）为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 275.2$

步骤五、化合物 A

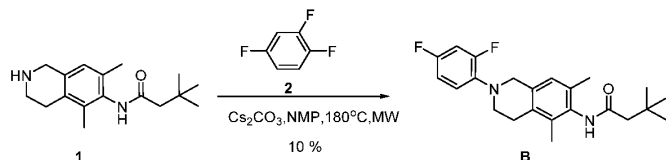
将化合物 6（150 mg, 0.547 mmol, 1.5 eq）溶于甲苯（50 mL）中，然后依次加入碳酸铯（237 mg, 0.728 mmol, 2.0 eq），X-Phos（35 mg, 0.0728 mmol, 0.2 eq），化合物 7（81 mg, 0.364 mmol, 1.0 eq）和 $Pd_2(dba)_3$ （34 mg, 0.0364 mmol, 0.1 eq），在氮气保护下将反应液在 90 °C 搅拌 16 小时。反应液冷却至室温后过滤，滤液用水稀释，然后用乙酸乙酯（3×20 mL）萃取，有机相用饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩后得到的残留物通过硅胶柱层析纯化（石油醚：乙酸乙酯=2:1）得到化合物 A（6.0 mg, 3%）为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 369.2$

1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.10 (s, 1H), 7.08–7.02 (m, 4H), 6.90 (s, 1H), 4.26 (s, 2H), 3.49 (s, 2H), 2.74–2.71 (m, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.11 (s, 3H),

2.01 (s, 3H), 1.06 (s, 9H).

实施例 2 化合物 B 的制备



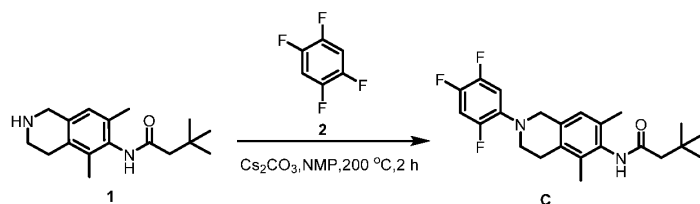
步骤一、化合物 B

将化合物 1 (600 mg, 2.19 mmol, 1.0 eq)、化合物 2 (3.6 g, 27.3 mmol, 12.4 eq) 和碳酸铯 (7.14 g, 21.9 mmol, 10 eq) 加入到 N-甲基吡咯烷酮 (60 mL) 中, 将反应液在微波反应仪中加热至 180 °C 并搅拌 4 小时。反应液冷却至室温后用乙酸乙酯 (150 mL) 稀释, 然后用饱和氯化钠溶液 (80 mL x 4) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=10/1) 纯化后得到化合物 B (83.9 mg, 收率 10 %) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 387.1$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.11 (s, 1H), 7.21–7.15 (m, 1H), 6.94–6.84 (m, 2H), 6.80–6.69 (m, 1H), 4.19 (s, 2H), 3.44–3.36 (m, 2H), 2.76–2.71 (m, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.05 (s, 9H).

实施例 3 化合物 C 的制备



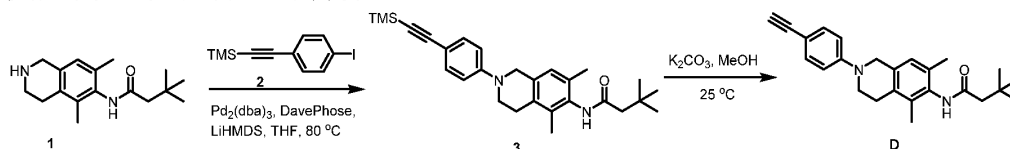
步骤一、化合物 C

将化合物 1 (100 mg, 0.36 mmol, 1.0 eq) 溶于 N-甲基吡咯烷酮 (5 mL) 中, 然后加入碳酸铯 (1.0 g, 3.1 mmol, 8.6 eq) 和化合物 2 (1.0 g, 6.67 mmol, 18.5 eq)。将反应液在微波反应仪中加热至 200 °C 并搅拌 2 小时, 冷却至室温后过滤, 固体用乙酸乙酯 (3 x 5 mL) 洗涤, 滤液用饱和氯化钠溶液 (3 x 10 mL) 洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 得到的残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=2/1) 纯化后得到化合物 C (15.5 mg, 收率 10%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 405.1$

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.13 (s, 1H), 7.58–7.46 (m, 1H), 7.23–7.16 (m, 1H), 6.86 (s, 1H), 4.15 (s, 2H), 3.37–3.33 (m, 2H), 2.79–2.72 (m, 2H), 2.22 (s, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.07 (s, 9H).

实施例 4 化合物 D 的制备



步骤一、化合物 3

将化合物 1 (50 mg, 0.182 mmol, 1.0 eq) 溶于四氢呋喃 (5 mL) 中, 然后依次加入化合物 2 (164 mg, 0.547 mmol, 3.0 eq), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (17 mg, 0.018 mmol, 0.1 eq), Dave-Phos (14 mg, 0.036 mmol, 0.2 eq) 和 LiHMDS (1 M, 1.8 mL, 1.8 mmol, 10 eq)。反应液在氮气保护下 80°C 搅拌 2 小时, 冷却至室温后用乙酸乙酯 (150 mL) 稀释, 然后用饱和氯化钠溶液 (80 mL x 4) 洗涤, 所得有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=3/1) 纯化得到化合物 3 (46 mg, 收率 28 %) 为黄色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 447.2$

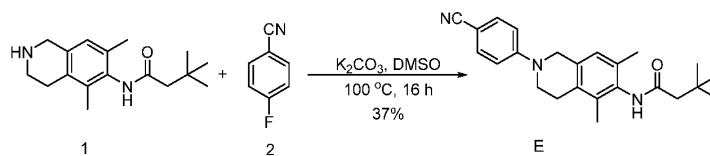
步骤二、化合物 D

将化合物 3 (20 mg, 0.045 mmol, 1.0 eq) 和碳酸钾 (62 mg, 0.447 mmol, 10 eq) 加入到甲醇 (3 mL) 中, 反应液在 25°C 下搅拌 2 小时。将反应液浓缩, 将得到的残留物溶于乙酸乙酯 (20 mL) 中, 然后用饱和氯化钠溶液 (10 mL x 2) 洗涤, 得到的有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 残留物用 pre-HPLC (0.1% 甲酸/乙腈/水) 纯化后得到化合物 D (4.2 mg, 收率 7 %) 为淡红色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 375.2$

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.11 (s, 1H), 7.31 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.03–6.88 (m, 3H), 4.38 (s, 2H), 3.90 (s, 1H), 3.61 (s, 2H), 2.75–2.72 (m, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.06 (s, 9H).

实施例 5 化合物 E 的制备



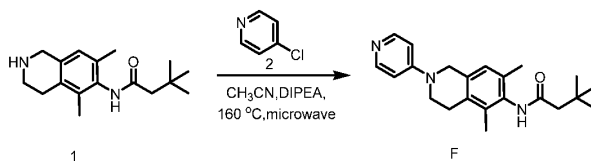
步骤一、化合物 E

将化合物 1 (100 mg, 0.36 mmol, 1.0 eq) 溶于二甲基亚砜 (2 mL) 中, 然后依次加入化合物 2 (66 mg, 0.55 mmol, 1.5 eq), 碳酸钾 (151 mg, 1.09 mmol, 3.0 eq), 反应液在 100°C 搅拌 16 小时。冷却至室温后, 向反应液中加入水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (3 x 20 mL) 萃取。合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥。浓缩后的残留物用硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇=50/1) 纯化得到化合物 E (50.3 mg, 收率 37%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 376.2$

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.13 (s, 1H), 7.60–7.57 (m, 2H), 7.08–7.05 (m, 2H), 6.94 (s, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.69 (s, 2H), 2.77 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.06 (s, 9H).

实施例 6 化合物 F 的制备

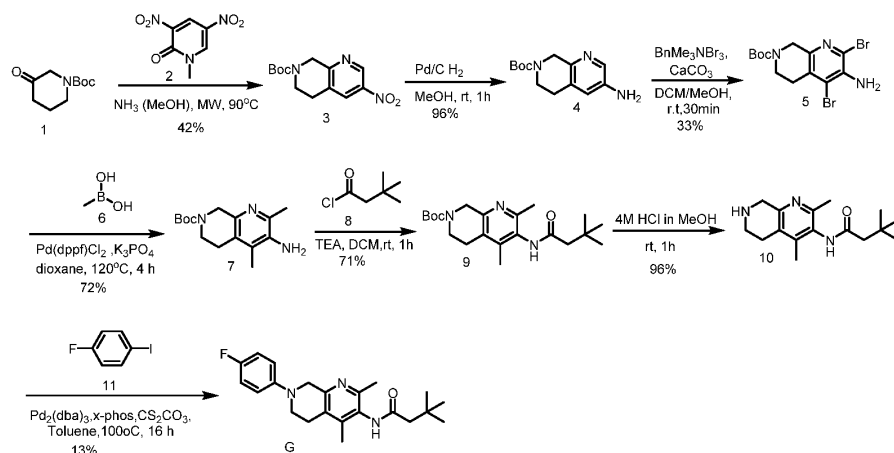


步骤一、化合物 F

将化合物 1 (120 mg, 0.44 mmol, 1.0 eq) 溶于乙腈 (20 mL) 中, 加入化合物 2 (148 mg, 1.31 mmol, 3.0 eq) 和二异丙基乙基胺 (339 mg, 2.63 mmol, 6.0 eq), 在微波反应仪中加热至 160°C 反应 1 小时。反应液降至室温后浓缩, 加水稀释, 然后用二氯甲烷 (3 x 100 mL) 萃取, 合并后的有机相用饱和氯化钠溶液 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后的残留物通过硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇=10/1) 纯化得到化合物 F (40 mg, 收率 26%) 为黄色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 352.2$

实施例 7 化合物 G 的制备



步骤一、化合物 3

将化合物 1 (600 mg, 3.0 mmol, 1.0 eq)和化合物 2 (780 mg, 3.9 mmol, 1.3 eq)溶于氨气甲醇溶液中(1M, 10.5 mL)中, 将反应液在微波反应仪中加热至 90℃ 反应半小时。反应也冷却至室温后浓缩, 用乙酸乙酯(50 mL x 3)和饱和碳酸氢钠水溶液萃取, 有机相合并后用无水硫酸钠干燥, 浓缩后的残余物用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=100/15)纯化得到化合物 3(350 mg, 收率 42%)为白色固体。

步骤二、化合物 4

将化合物 3 (350 mg, 1.25 mmol, 1.0 eq) 和钯碳 (10%, 100 mg) 溶于甲醇 (30 mL), 在 1 个大气压的氢气气氛下室温搅拌 1 小时。过滤反应液, 滤液浓缩得到化合物 4 (300 mg, 收率 96%) 为无色油状物。

LCMS: $[M+H]^+ = 250.1$.

步骤三、化合物 5

将化合物 4 (300 mg, 1.2 mmol, 1.0 eq)、苄基三甲基三溴化铵 (936 mg, 2.4 mmol, 2.0 eq) 和碳酸钙 (300 mg, 3.0 mmol, 2.5 eq) 溶于二氯甲烷/甲醇 (10/1, 40mL/4mL) 的混合溶剂中, 室温搅拌半小时。过滤反应液, 滤液浓缩后用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=10/1) 纯化得到化合物 5 (160 mg, 收率 33%) 为白色固体。

LCMS: $[M+Na]^+ = 429.9$.

步骤四、化合物 7

将化合物 5 (160 mg, 0.4 mmol, 1.0 eq) 溶于 1, 4-二氧六环 (15 mL), 加入甲基硼酸 (96 mg, 1.6 mmol, 4.0 eq)、Pd(dppf)Cl₂ (58 mg, 0.08 mmol, 0.2

eq)和磷酸钾 (339 mg, 1.6 mmol, 4.0 eq)。反应液在氮气气氛下加热至 120°C 反应 4 小时。反应液冷却至室温后过滤, 滤液浓缩后得到的残余物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=65/35) 纯化得到化合物 7 (80 mg, 收率 72%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 278.1$

步骤五、化合物 9

将化合物 7 (80 mg, 0.3 mmol, 1.0 eq) 和三乙胺 (116 mg, 0.9 mmol, 3.0 eq) 溶于二氯甲烷 (15 mL), 氮气气氛下缓慢加入化合物 8 (60 mg, 0.45 mmol, 1.5 eq), 室温搅拌 1 小时。反应液用乙酸乙酯 (50 mL x 3) 和饱和碳酸氢钠水溶液萃取, 合并后的有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=65/35) 纯化得到化合物 9 (80 mg, 71%) 为淡黄色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 376.3$

步骤六、化合物 10

将化合物 9 (80 mg, 0.21 mmol, 1.0 eq) 溶于氯化氢的甲醇溶液 (4M, 4 mL) 中, 室温搅拌 1 小时。反应液浓缩后得到化合物 10 (70 mg, 收率 96%) 为淡黄色油状物。

LCMS: $[M+H]^+ = 276.2$

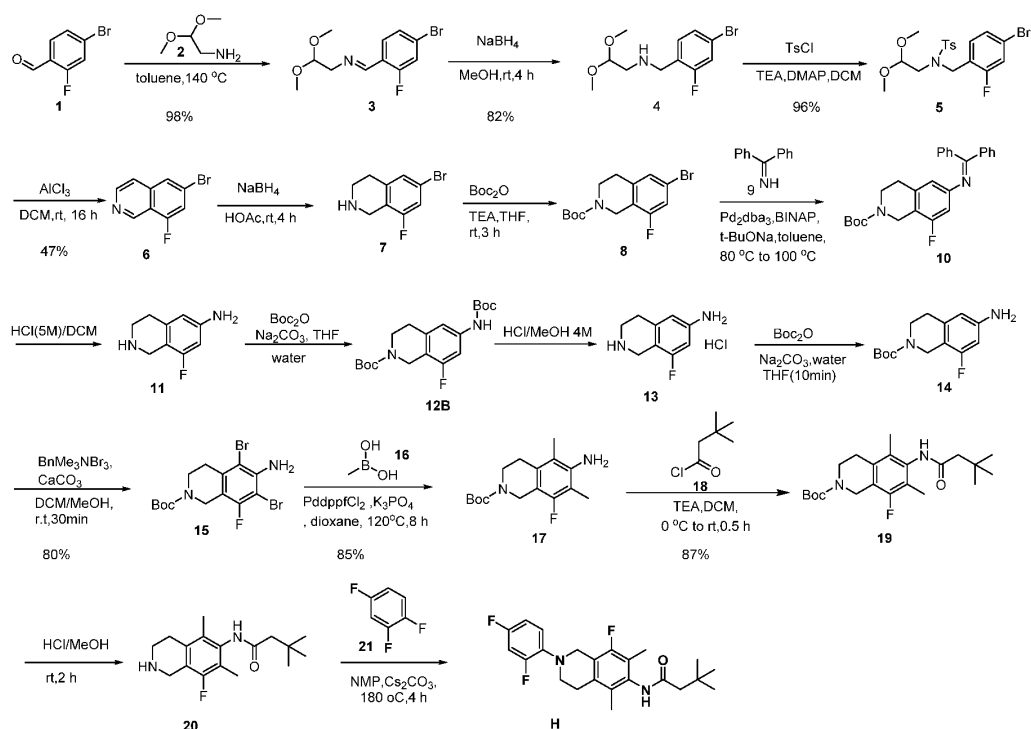
步骤七、化合物 G

将化合物 10 (30 mg, 0.11 mmol, 1.0 eq) 和化合物 11 (38 mg, 0.17 mmol, 1.5 eq) 溶于甲苯 (10 mL), 然后依次加入 $Pd_2(dba)_3$ (20 mg, 0.022 mmol, 0.2 eq), X-Phos (10 mg, 0.022 mmol, 0.2 eq) 和碳酸铯 (90 mg, 0.275 mmol, 2.5 eq), 在氮气气氛下加热至 100°C 反应 16 小时。反应液冷却至室温后浓缩, 将得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=1/1) 纯化得到化合物 G (5.3 mg, 收率 13%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 370.1$

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.02-6.94 (m, 4H), 6.80 (s, 1H), 4.35 (s, 2H), 3.50 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.84 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.48 (s, 3H), 2.33 (s, 2H), 2.15 (s, 3H), 1.16 (s, 9H).

实施例 8 化合物 H 的制备



步骤一、化合物 3

将化合物 1 (5.0 g, 24.63 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (100 mL), 加入化合物 2 (3.88 g, 36.945 mmol, 1.5 eq), 反应液加热至 140 °C 搅拌 16 小时。冷却至室温后将反应液浓缩, 得到化合物 3 (7 g, 收率 98%) 为棕色油状物, 无需纯化直接用于下一步反应。

步骤二、化合物 4

将化合物 3 (3 g, 10.344 mmol, 1.0 eq) 溶于甲醇 (30 mL), 冷却至 0 °C 后加入硼氢化钠 (0.27 g, 7.241 mmol, 0.7 eq), 升至室温搅拌 2 小时。向反应液中加入冰水, 浓缩除去甲醇, 加入乙酸乙酯 (3 x 30 mL) 萃取。合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=4/1) 纯化得到化合物 4 (2.5 g, 收率 82%) 为白色固体。

LCMS: [M+H]⁺ = 292.0

步骤三、化合物 5

将化合物 4 (7.45 g, 25.5 mmol, 1.0 eq) 溶于二氯甲烷 (200 mL), 依次加入 4-二甲氨基吡啶 (156 mg, 1.28 mmol, 0.05 eq) 和三乙胺 (5.16 g, 51.0 mmol, 2.0 eq), 在氮气保护的条件下将反应液降温至 0 °C, 加入对甲基苯磺酰氯 (5.10 g, 26.8 mmol, 1.05 eq)。反应液升至室温搅拌 16 小时后用冰水 (200 mL) 淬灭, 水相用

二氯甲烷(200 mL)萃取。分出的有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩，得到的残留物通过硅胶柱层析纯化(石油醚: 乙酸乙酯=10: 1)得到化合物 5 (11.0 g, 收率 96%)。

LCMS: $[M+Na]^+ = 469.9$

步骤四、化合物 6

将二氯甲烷 (300 mL)加入到装有三氯化铝 (22.0 g, 165 mmol, 6.7 eq) 的反应瓶中，在氮气保护的条件下降温至 0°C，加入化合物 5 (11.0 g, 24.65 mmol, 1.0 eq) 的二氯甲烷 (100mL) 溶液。反应液升至室温搅拌 16 小时后用冰水 (100 mL) 淬灭，用氨水调节溶液的 pH 值为 10，水相用二氯甲烷 (200 mL) 萃取。合并的有机相用无水硫酸钠干燥，浓缩后得到的残留物通过硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=4/1)得到化合物 6 (2.6 g, 收率 47%)。

LCMS: $[M+H]^+ = 225.9$

步骤五、化合物 7

将化合物 6 (2.6 g, 11.5 mmol, 1.0 eq) 溶于乙酸 (40 mL)，在氮气保护的条件下降温至 0°C 后加入硼氢化钠 (1.3 g, 34.5 mmol, 3.0 eq)。反应液升至室温搅拌 2 小时，加水 (200mL) 稀释，降温至 0°C，用碳酸钠调节溶液 pH 值为 10，再用乙酸乙酯 (3 x 200 mL) 萃取。合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩得到粗品化合物 7 (3.0 g)，无需纯化直接用于下一步反应。

LCMS: $[M+H]^+ = 230.0$

步骤六、化合物 8

将化合物 7 (3.0 g, 11.5 mmol, 1.0 eq) 溶于四氢呋喃 (40 mL)，加入二异丙基乙基胺 (743 mg, 5.75 mmol, 0.5 eq) 和 Boc_2O (3.0 g, 13.8 mmol, 1.2 eq)。反应液在室温搅拌 16 小时后浓缩，得到的残留物通过硅胶柱层析纯化(石油醚: 乙酸乙酯=10: 1) 得到化合物 8 (3.0 g, 两步收率 79%)。

LCMS: $[M+Na]^+ = 352.0$

步骤七、化合物 10

将化合物 8 (3.0 g, 9.09 mmol, 1.0 eq) 和化合物 9 (3.3 g, 18.7 mmol, 2.0 eq) 溶于甲苯 (100 mL)，然后在氮气保护的条件下加入碳酸铯 (8.88 g, 27.26 mmol, 3.0 eq)、BINAP (1.13 g, 1.82 mmol, 0.2eq) 和 $Pd_2(dba)_3$ (832 mg, 0.09 mmol,

0.1 eq), 反应液升温至 80 °C 搅拌 20 小时, 再升温至 100 °C 搅拌 2 小时。冷却至室温后过滤反应液, 乙酸乙酯 (200 mL) 洗涤固体, 合并的滤液用水洗涤、饱和氯化钠溶液洗涤, 之后用无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品化合物 10 (6.0 g), 无需纯化直接用于下一步反应。

LCMS: $[M+H]^+ = 431.1$

步骤八、化合物 11

将化合物 10 (粗品, 6.0 g, 9.09 mmol, 1.0 eq) 溶于二氯甲烷 (200 mL), 加入盐酸水溶液 (4M, 100 mL), 室温搅拌 2 小时。将反应液分液, 有机相用盐酸水溶液 (4M, 3 x 30 mL) 洗涤, 合并后的水相用碳酸钠调节 pH 值为 8 得到化合物 11 的水溶液 (约 200 mL)。

LCMS: $[M+H]^+ = 167.1$

步骤九、化合物 12

化合物 11 的水溶液 (约 200 mL) 中加入 Boc_2O (4.0 g, 18 mmol, 2.0 eq) 的四氢呋喃 (100 mL) 溶液, 室温搅拌 4 小时。反应液用乙酸乙酯 (3 x 50 mL) 萃取, 合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物通过硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯=5/1) 得到化合物 12 (3.0 g, 三步收率 90%)。

LCMS: $[M+\text{Na}]^+ = 389.1$

步骤十、化合物 13

将化合物 12 (2.8 g, 7.65 mmol, 1.0 eq) 溶于氯化氢的甲醇溶液 (4M, 40 mL), 室温搅拌 2 小时。反应液浓缩后得到化合物 13 (2.0 g) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 167.1$

步骤十一、化合物 14

将化合物 13 (2.0 g) 溶于四氢呋喃 (50 mL), 用碳酸钠水溶液调节 pH 值为 8, 加入 Boc_2O (1.5 g, 6.88 mmol, 0.9 eq)。反应液在室温搅拌 10 分钟后用乙酸乙酯 (3 x 60 mL) 萃取, 合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物通过硅胶柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=3: 1) 得到化合物 14 (0.85 g, 两步收率 42%)。

LCMS: $[M+H]^+ = 267.1$

步骤十二、化合物 15

将化合物 14 (0.8 g, 3.0 mmol, 1.0 eq) 溶于二氯甲烷 (100 mL) 和甲醇 (10 mL) 的混合溶剂中, 加入碳酸钙 (2.1 g, 21.03 mmol, 7.0 eq), 在氮气保护的条件下降温至 0°C, 向反应液中分批缓慢加入 $\text{BnMe}_3\text{NBr}_3$ (4.5 g, 11.5 mmol, 4.0 eq), 反应液升至室温搅拌半小时。将反应液过滤, 固体用二氯甲烷 (100 mL) 洗涤。合并的滤液用碳酸氢钠和亚硫酸钠的混合水溶液洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 残留物通过硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯=5/1) 得到化合物 15 (1.1 g, 收率 80%) 为白色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 446.8$

步骤十三、化合物 17

将化合物 17 (1.0 g, 2.36 mmol, 1.0 eq) 溶于 1,4-二氧六环 (100 mL), 加入甲基硼酸 (1.13 g, 18.86 mmol, 4.0 eq), 磷酸钾 (2.5 g, 11.79 mmol, 5.0 eq) 和 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (289 mg, 0.35 mmol, 0.15 eq), 在氮气保护的条件下升温至 120°C 搅拌 8 小时。反应液冷却至室温后过滤, 滤液浓缩后用水和乙酸乙酯溶解并分液, 水相用乙酸乙酯萃取。合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后的残留物通过硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯=6/1) 得到化合物 17 (650 mg, 收率 85%) 为白色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 295.1$

步骤十四、化合物 19

将化合物 17 (600 mg, 2.04 mmol, 1.0 eq) 溶于二氯甲烷 (20 mL), 冷却至 0°C 后加入三乙胺 (515 mg, 5.10 mmol, 2.5 eq) 和化合物 18 (411 mg, 3.06 mmol, 1.5 eq)。将反应液升至室温搅拌 0.5 小时, 用水稀释反应液, 然后用二氯甲烷 (3×50 mL) 萃取。合并后的有机相用水洗, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后的残留物用混合溶剂 (石油醚/乙酸乙酯=40/1) 打浆半小时, 将过滤后得到的固体干燥, 得到化合物 19 (700 mg, 收率 87%) 为白色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 415.2$

步骤十五、化合物 20

向单口瓶中加入化合物 19 (700 mg, 1.78 mmol, 1.0 eq) 和氯化氢的甲醇溶液 (4M, 15 mL), 室温搅拌 0.5 小时。将反应液旋干后加入乙酸乙酯稀释, 然后

用碳酸钠水溶液调节 pH 值为 8，水相用乙酸乙酯萃取。合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩后得到化合物 20 (400 mg, 77%)。

LCMS: $[M+H]^+ = 293.2$

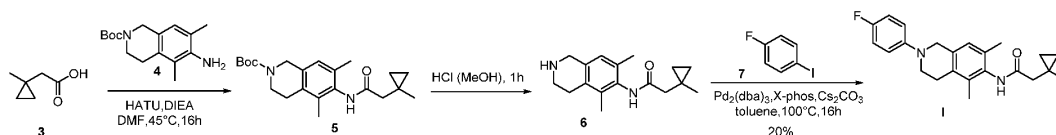
步骤十六、化合物 H

将化合物 20 (180 mg, 0.61 mmol, 1.0 eq)、化合物 21 (1.08 g, 8.18 mmol, 13.0 eq) 和碳酸铯 (2.0 g, 6.1 mmol, 10 eq) 加入 N-甲基吡咯烷酮 (10 mL)，在氮气的条件下用微波反应仪加热至 180 °C 反应 4 小时。将反应液冷却至室温后用乙酸乙酯 (150 mL) 稀释，然后用饱和氯化钠溶液 (80 mL x 4) 洗，合并后的有机相用无水硫酸钠干燥，浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 30/1 到 2/1) 纯化得到化合物 H (4.2 mg, 收率 17 %) 为白色固体。

LCMS: $[M+Na]^+ = 405.1$

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.30 (s, 1H), 7.21–7.18 (m, 1H), 7.00–6.96 (m, 1H), 6.82–6.77 (m, 1H), 4.23 (s, 2H), 3.44–3.36 (m, 2H), 2.82–2.73 (m, 2H), 2.24 (s, 2H), 2.04 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.07 (s, 9H)。

实施例 9 化合物 I 的制备



步骤一、化合物 5

将化合物 3 (1.2 g, 10.8 mmol, 1.5 eq) 溶于无水二甲基甲酰胺 (5 mL)，依次加入化合物 4 (2.0 g, 7.2 mmol, 1.0 eq)、HATU (6.84 g, 18 mmol, 2.5 eq) 和二异丙基乙胺 (6 mL, 36 mmol, 5.0 eq)，将反应液加热至 45 °C 搅拌 16 小时。反应液冷却至室温后用水稀释并用乙酸乙酯 (3 × 10 mL) 萃取，合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，将浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 2/1) 纯化，得到化合物 5 (2.5 g, 收率 62%) 为白色固体。

LCMS: $[M+Na]^+ = 395.2$ 。

步骤二、化合物 6

向单口瓶中依次加入化合物 5 (2.5 g, 6.7 mmol, 1.0 eq) 和氯化氢的甲醇溶液 (4M, 55 mL)，室温搅拌 1 小时。将反应液浓缩，得到的残留物用二氯甲烷/甲醇

(10/1) 的混合溶剂溶解, 然后用碳酸钠水溶液 (0.5M, 50 mL) 洗涤, 水相用二氯甲烷/甲醇 (10/1, 3×20 mL) 的混合溶剂萃取。合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤、无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到化合物 6 (1.6 g, 收率 85%) 为灰色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 273.2$

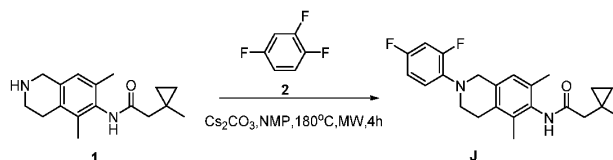
步骤三、化合物 I

将化合物 6 (1.4 g, 5.1 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (200 mL), 依次加入碳酸铯 (3.3 g, 10.2 mmol, 2.0 eq)、化合物 7 (1.7 g, 7.7 mmol, 1.5 eq), X-Phos (486 mg, 1.02 mmol, 0.2 eq) 和 $Pd_2(dba)_3$ (467 mg, 0.51 mmol, 0.1 eq), 在氮气保护的条件下升温至 100°C 搅拌 16 小时。将反应液冷却至室温后过滤, 滤液用水稀释并用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取, 合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后的残留物通过中性氧化铝柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=5/1) 纯化得到化合物 I, 粗品化合物 I 用 Pre-HPLC (0.1% 甲酸/乙腈/水) 进一步纯化得到化合物 I (377.0 mg, 20%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 367.2$

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 9.02 (s, 1H), 7.06–7.03 (m, 4H), 6.91 (s, 1H), 4.26 (s, 2H), 3.50 (s, 2H), 2.74–2.72 (m, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 0.56–0.53 (m, 2H), 0.33–0.31 (m, 2H).

实施例 10 化合物 J 的制备



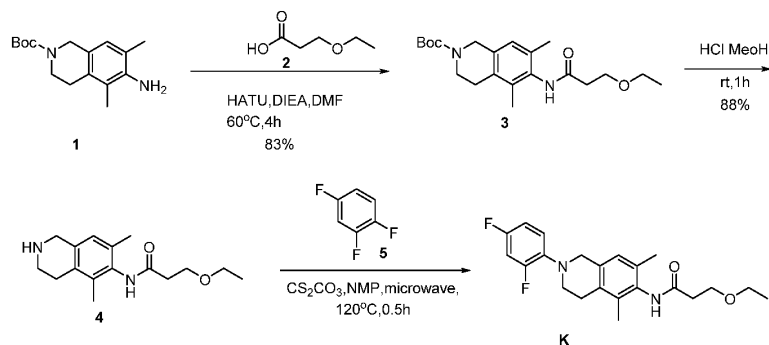
步骤一、化合物 J

将化合物 1 (600 mg, 2.20 mmol, 1.0 eq)、化合物 2 (3.6 g, 27.3 mmol, 12.4 eq) 和碳酸铯 (7.19 g, 22.0 mmol, 10 eq) 加入到 N-甲基吡咯烷酮 (60 mL) 中, 反应混合物在微波反应器中加热至 180°C 搅拌 4 小时。冷却至室温后反应液用乙酸乙酯 (100 mL) 稀释, 然后用饱和氯化钠溶液 (80 mL x 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=10/1) 纯化, 得到化合物 J (56.0 mg, 0.146 mmol, 收率 7%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 385.1$

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.01 (s, 1H), 7.19–7.12 (m, 1H), 6.92–6.82 (m, 2H), 6.75–6.67 (m, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.37 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.71 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.18 (s, 2H), 2.07 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.11 (s, 3H), 0.52–0.50 (m, 2H), 0.29–0.27 (m, 2H).

实施例 11 化合物 K 的制备



步骤一、化合物 3

将化合物 1 (200 mg, 0.724 mmol, 1.0 eq) 溶于二甲基甲酰胺 (5 ml), 加入化合物 2 (128 mg, 1.086 mmol, 1.5 eq)、HATU (412 mg, 1.086 mmol, 1.5 eq) 和二异丙基乙基胺 (280 mg, 2.172 mmol, 3.0 eq), 升温至 60 °C 搅拌 4 小时。反应液冷却至室温后用水 (20 mL) 稀释, 水相用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物通过硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯 = 1/1) 纯化得到化合物 3 (220 mg, 收率 83%) 为黄色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 377.2$

步骤二、化合物 4

将化合物 3 (280 mg, 0.745 mmol, 1.0 eq) 溶于氯化氢的甲醇溶液 (4 M, 10 mL), 室温搅拌 1 小时。浓缩后向残留物中加入饱和碳酸钠水溶液调节 PH 值至 8-9, 用乙酸乙酯 (3 × 30 mL) 萃取, 合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到化合物 4 (180 mg, 收率 88%) 为黄色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 277.2$

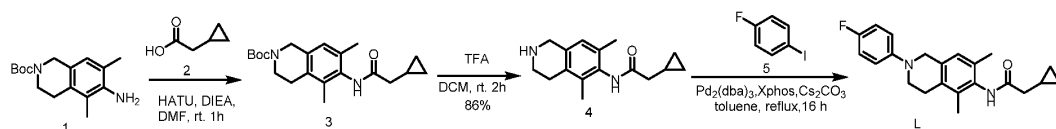
步骤三、化合物 K

将化合物 4 (10 mg, 0.036 mmol, 1.0 eq) 溶于 N-甲基吡咯烷酮 (1 mL), 加入碳酸铯 (117 mg, 0.36 mmol, 10.0 eq) 和化合物 5 (58 mg, 0.446 mmol, 12.4 eq), 用微波反应仪加热至 120°C 反应 0.5 h, 反应液冷却至室温后浓缩, 残余物用 prep-HPLC 纯化得到

化合物 K。

LCMS: $[M+H]^+ = 389.1$

实施例 12 化合物 L 的制备



步骤一、化合物 3

将化合物 1 (100 mg, 0.54 mmol, 1.0 eq) 溶于二甲基甲酰胺 (3 mL), 依次加入化合物 2 (81 mg, 0.81 mmol, 1.5 eq)、HATU (314 mg, 0.81 mmol, 1.5 eq) 和二异丙基乙基胺 (209 mg, 1.62 mmol, 3.0 eq), 室温反应 1 小时。反应液用乙酸乙酯 (50 mL x 3) 和饱和氯化钠溶液萃取, 合并后的有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=3/2) 纯化得到化合物 3 (130 mg, 收率 67%) 为白色固体。

LCMS: $[M+Na]^+ = 381.1$ 。

步骤二、化合物 4

将化合物 3 (130 mg, 0.36 mmol, 1.0 eq) 溶于二氯甲烷 (10 mL), 加入三氟乙酸 (2 mL), 在室温搅拌 2 小时。将反应液浓缩, 用乙酸乙酯与饱和碳酸氢钠水溶液萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩得到化合物 4 (80 mg, 收率 86%) 为淡黄色油状物。

LCMS: $[M+H]^+ = 259.1$

步骤三、化合物 L

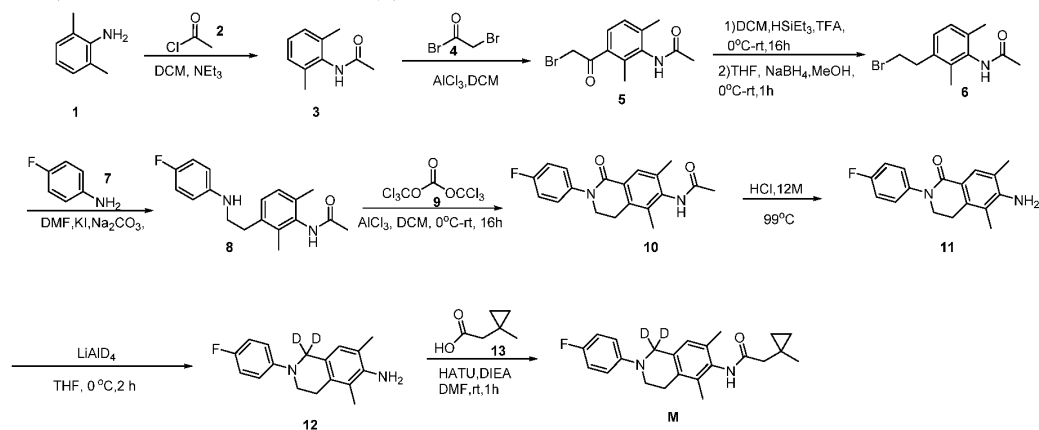
将化合物 4 (80 mg, 0.31 mmol, 1.0 eq) 和化合物 5 (103 mg, 0.47 mmol, 1.5 eq) 溶于甲苯 (10 mL), 加入 $Pd_2(dba)_3$ (57 mg, 0.062 mmol, 0.2 eq)、x-Phos (30 mg, 0.062 mmol, 0.2 eq) 和碳酸铯 (253 mg, 0.78 mmol, 2.5 eq), 反应液在氮气保护的条件下升温至 100°C 反应 18 小时。将反应液冷却至室温后浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=1/1) 纯化得到化合物 L (8.8 mg, 收率 8%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 353.1$

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.23 (s, 1H), 7.02–6.93 (m, 4H), 6.90 (s, 1H),

4.27 (s, 2H), 3.50-3.47 (m, 2H), 2.84-2.82 (m, 2H), 2.39 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 1.19-1.11 (m, 1H), 0.77-0.67 (m, 2H), 0.36-0.33 (m, 2H).

实施例 13 化合物 M 的制备



步骤一、化合物 3

将化合物 1 (6.0 g, 49.5 mmol, 1.0 eq) 和二异丙基乙基胺 (12.8 g, 99.0 mmol, 2.0 eq) 加入二氯甲烷 (100 mL), 在氮气保护的条件下将以上溶液降温至 0°C, 将化合物 2 (5.83 g, 74.3 mmol, 1.5 eq) 慢慢滴加到反应液中, 反应液在氮气保护的条件下室温反应 2 小时。将反应液浓缩, 得到残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=1:1) 纯化得到白色固体物 3 (6.0 g, 收率 74%)。

LCMS: $[M+H]^+ = 164.1$ 。

步骤二、化合物 5

将三氯化铝 (9.6 g, 72.0 mmol, 3.0 eq) 加入二氯甲烷 (100 mL), 反应混合物在氮气保护的条件下降温至 0°C, 慢慢加入化合物 3 (4.0 g, 24.0 mmol, 1.0 eq) 和化合物 4 (7.4 g, 36.6 mmol, 1.5 eq) 的二氯甲烷 (50 mL) 溶液。将反应液缓慢升至室温搅拌 16 小时, 用二氯甲烷 (100 mL) 稀释, 然后用冰水 (5 x 200 mL) 洗涤。分出的有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到粗品化合物 5 (6.0 g)。粗品化合物 5 用二氯甲烷/石油醚 (20 mL / 40 mL) 的混合溶剂打浆、过滤后得到化合物 5 (4.0 g, 收率 58%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 284.0$

步骤三、化合物 6

将化合物 5 (2.0 g, 7.0 mmol, 1.0 eq) 溶于二氯甲烷 (10 mL), 加入 HSiEt₃ (10 mL),

在氮气保护的条件下将反应液降温至 0°C，缓慢加入三氟乙酸（10 mL），缓慢升至室温并搅拌 16 小时。将以上反应液浓缩，得到的残留物用四氢呋喃（30 mL）溶解，然后在氮气保护的条件下降温至 0°C，慢慢加入硼氢化钠（532 mg，14 mmol，2.0 eq），升至室温并搅拌 0.5 小时。将以上反应液在氮气保护的条件下降温至 0°C，慢慢滴加甲醇（10 mL），将反应液浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析（石油醚:乙酸乙酯=2:1）纯化，得到化合物 6（2.0 g，收率 100%）为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 270.0$ 。

步骤四、化合物 8

在氮气保护的条件下将化合物 6（2.0g，7.0 mmol, 1.0 eq）、化合物 7（1.65 g，14.8 mmol, 2.1 eq）、碘化钾（1.23 g，7.0 mmol, 1.0 eq）和碳酸钾（2.35 g，22 mmol, 3.0 eq）加入二甲基甲酰胺（10 mL），将反应液升温至 90°C 搅拌 16 小时。冷却至室温后用乙酸乙酯（200 mL）稀释反应液并过滤，滤液用饱和氯化钠溶液洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥，浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析（石油醚:乙酸乙酯=2:1）纯化得到化合物 8（1.0 g，收率 45%）为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 301.1$

步骤五、化合物 10

将化合物 8（600 mg, 2.0 mmol, 1.0 eq）溶于二氯甲烷（20 mL），加入化合物 9（296 mg, 1.0 mmol，0.5 eq），在氮气保护的条件下室温搅拌 1 小时。将反应液降温至 0°C，加入三氯化铝（800 mg，6.0 mmol, 3.0 eq），缓慢升至室温并搅拌 16 小时。用二氯甲烷（100 mL）稀释反应液，用冰水洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥，浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析（石油醚/乙酸乙酯=2/1）纯化，得到化合物 10（200 mg，收率 30%）为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 327.1$

步骤六、化合物 11

将化合物 10（190 mg，0.6 mmol）溶于浓盐酸（12M，15 mL），在氮气保护的条件下升温至 99°C 搅拌 64 小时。冷却至室温后将反应液浓缩，得到的残留物用甲苯和乙醇共沸除水，得到粗品化合物 11（200 mg）为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 285.2$

步骤七、化合物 12

将化合物 11（200 mg，0.6 mmol）溶于四氢呋喃（50 mL），冷却至 0°C，缓慢加入 $LiAlD_4$ （252 mg，6.0 mmol, 10.0 eq）后升至室温并搅拌 16 小时。反应液用四氢呋喃（250 mL）稀释并降温至 0°C，加入十水合硫酸钠（10 g）搅拌 0.5 小时，将反应液过滤、浓缩

后得到的残留物用硅胶柱层析（石油醚/乙酸乙酯 = 2/1）纯化，得到化合物 12（25 mg，两步收率 15%）为黄色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 273.1$

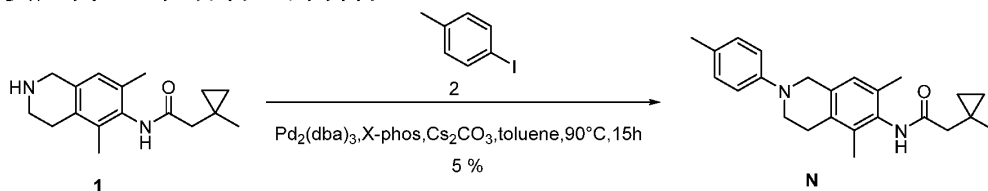
步骤八、化合物 M

将化合物 13（21 mg, 0.183 mmol, 2.0 eq）、HATU（70 mg, 0.183 mmol, 2.0 eq）和二异丙基乙基胺（36 mg, 0.275 mmol, 3.0 eq）溶于二甲基甲酰胺（5 mL），在氮气保护的条件下室温搅拌 0.5 小时。将化合物 12（25 mg, 0.092 mmol, 1.0eq）加入以上反应液，升温至 45°C 搅拌 16 小时。反应液用乙酸乙酯（50 mL）稀释，饱和氯化钠溶液洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥，浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析（石油醚/乙酸乙酯 = 2/1）纯化得到化合物 M（2.3 mg, 收率 6.8%）为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 369.2$

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.18 (s, 1H), 7.01-6.86 (m, 5H), 3.47 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.81 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.38 (s, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 1.28 (s, 3H), 0.60-0.50 (m, 4H)。

实施例 14 化合物 N 的制备



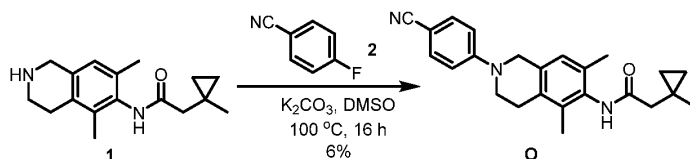
步骤一、化合物 N

将化合物 1（30 mg, 0.11 mmol, 1.0 eq）溶于甲苯（13 mL），依次加入碳酸铯（384 mg, 0.33 mmol, 3.0 eq）、化合物 2（37 mg, 0.17 mmol, 1.5 eq）、x-Phos（11 mg, 0.02 mmol, 0.2 eq）和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ （11 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq），在氮气保护的条件下升温至 90 °C 搅拌 15 小时。反应液冷却至室温后用水稀释，用乙酸乙酯（3 × 20 mL）萃取，合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤、无水硫酸钠干燥，浓缩后的残留物用 Pre-HPLC（0.1% 甲酸/乙腈/水）纯化，得到化合物 N（2 mg, 收率 5%）为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 363.2$

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.02 (s, 1H), 7.04-7.02 (m, 2H), 6.93-6.91 (m, 3H), 4.25 (s, 2H), 3.49 (s, 2H), 2.51-2.49 (m, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 0.56-0.53 (m, 2H), 0.33-0.31 (m, 2H).

实施例 15 化合物 O 的制备



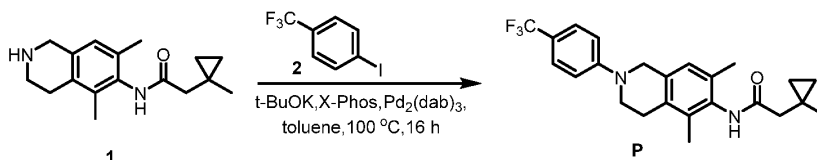
步骤一、化合物 O

将化合物 1 (50 mg, 0.183 mmol, 1.0 eq) 溶于二甲基亚砜(5 mL), 加入化合物 2 (33 mg, 0.275 mmol, 1.5 eq) 和碳酸钾 (76 mg, 0.275 mmol, 1.5 eq), 升温至 100°C 搅拌 16 小时。冷却至室温后用水稀释, 用乙酸乙酯 (3 x 20 mL) 萃取, 合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤、无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用 pre-HPLC (0.1% 氨水/乙腈/水) 纯化, 得到化合物 O (4.2 mg, 收率 6%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 374.1$

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.02 (s, 1H), 7.56 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.04 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 6.92 (s, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.66 (s, 2H), 2.74 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.18 (s, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 0.51 (q, *J* = 4.2 Hz, 2H), 0.29 (q, *J* = 4.1 Hz, 2H).

实施例 16 化合物 P 的制备



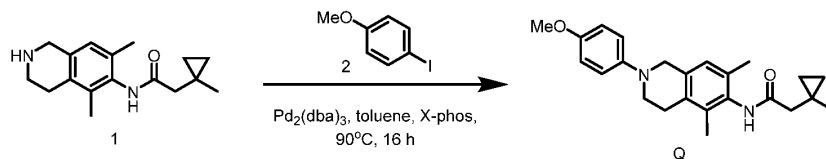
步骤一、化合物 P

将化合物 1 (30 mg, 0.110 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (5 mL), 加入化合物 2 (45 mg, 0.165 mmol, 1.5 eq)、叔丁醇钾 (37 mg, 0.330 mmol, 3.0 eq)、X-Phos (11 mg, 0.022 mmol, 0.2 eq) 和 Pd₂(dba)₃ (10 mg, 0.011 mmol, 0.1 eq), 在氮气保护的条件下升温至 100 °C 搅拌 16 小时。冷却至室温后将反应液用乙酸乙酯 (30 mL) 稀释, 然后依次用水和饱和氯化钠溶液洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用 Pre-HPLC (0.1% 甲酸/乙腈/水) 纯化, 得到化合物 P (6.3 mg, 收率 13%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 417.1$

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.05 (s, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.12 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.96 (s, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.68 (s, 2H), 2.77 (s, 2H), 2.22 (s, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 0.55 (s, 2H), 0.33-0.31 (m, 2H).

实施例 17 化合物 Q 的制备



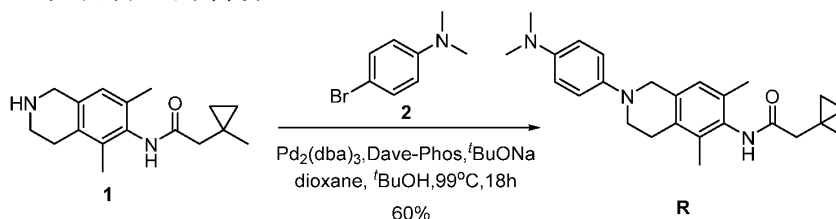
步骤一、化合物 Q

将化合物 1 (40 mg, 0.15 mmol, 1.0 eq) 和化合物 2 (51.6 mg, 0.22 mmol, 1.5 eq) 溶于甲苯 (5 mL), 加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (14 mg, 0.015 mmol, 0.1 eq)、Xant-Phos (14 mg, 0.03 mmol, 0.2 eq) 和碳酸铯 (143 mg, 0.45 mmol, 3.0 eq), 在氮气保护的条件下升温至 90°C 反应 16 小时。冷却至室温后将反应液浓缩, 得到的残留物用 Pre-HPLC (0.1% 甲酸/乙腈/水) 纯化, 得到化合物 Q (9.7 mg, 收率 18%) 为白色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 379.2$

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.18 (s, 1H), 6.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.92 – 6.83 (m, 3H), 4.23 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.44 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.83 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.40 (s, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 0.61 – 0.54 (m, 4H).

实施例 18 化合物 R 的制备



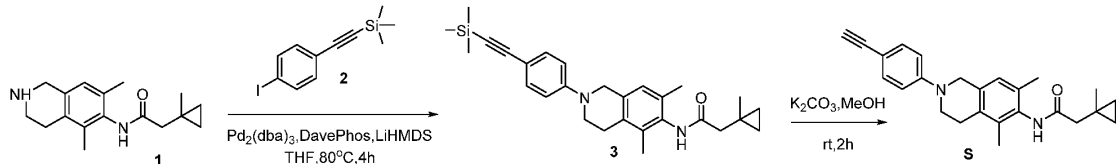
步骤一、化合物 R

将化合物 1 (30 mg, 0.11 mmol, 1.0 eq)、化合物 2 (33 mg, 0.17 mmol, 1.5 eq)、叔丁醇钠 (32 mg, 0.33 mmol, 3.0 eq)、Dave-Phos (17 mg, 0.044 mmol, 0.4 eq) 和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (20 mg, 0.022 mmol, 0.2 eq) 溶于 1, 4-二氧六环 (4 mL) 和叔丁醇 (2 mL), 在氮气保护的条件下升温至 99°C 反应 18 小时。冷却至室温后反应液用乙酸乙酯和饱和氯化钠溶液萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=3/1) 纯化, 得到化合物 R (26 mg, 收率 60%) 为黄色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 392.2$

^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.15 (s, 1H), 7.01 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 4.50 (s, 2H), 2.93-2.90 (m, 2H), 2.85 – 2.83 (m, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.80 (s, 3H), 2.23 (s, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 0.53-0.50 (m, 2H), 0.33-0.31

(m, 2H).

实施例 19 化合物 S 的制备**步骤一、化合物 3**

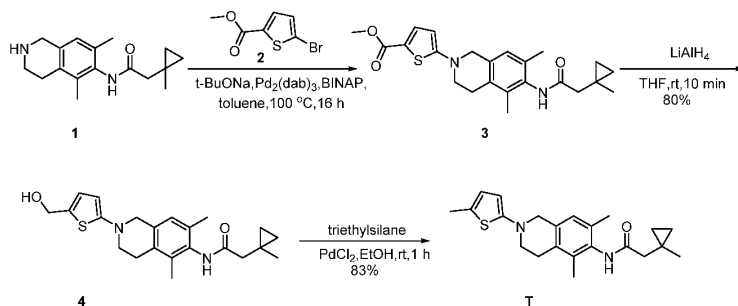
将化合物 1 (50 mg, 0.18 mmol, 1.0 eq) 溶于四氢呋喃 (15 mL), 加入化合物 2 (83 mg, 0.26 mmol, 1.5 eq)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (17 mg, 0.018 mmol, 0.1 eq), Dave-Phos (14 mg, 0.036 mmol, 0.2 eq) 和 LiHMDS (1 M, 1.8 mL, 1.8 mmol, 10 eq), 在氮气保护的条件下升温至 80°C 搅拌 4 小时。反应液冷却至室温后用乙酸乙酯和饱和氯化钠溶液萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=5/1) 纯化, 得到化合物 3 (4 mg, 收率 5%) 为黄色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 445.2$

步骤二、化合物 S

将化合物 3 (4 mg, 0.009 mmol, 1.0 eq) 和碳酸钾 (4 mg, 0.027 mmol, 3.0 eq) 加入甲醇 (5 mL), 室温搅拌 2 小时。过滤反应液, 将得到的溶液浓缩后得到化合物 S (3 mg, 收率 90%) 为黄色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 373.2$

实施例 20 化合物 T 的制备**步骤一、化合物 3**

将化合物 1 (80 mg, 0.293 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (5 mL), 加入化合物 2 (129 mg, 0.587 mmol, 2.0 eq)、叔丁醇钠 (56 mg, 0.587 mmol, 2.0 eq)、BINAP (37 mg, 0.0587 mmol, 0.2 eq) 和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (27 mg, 0.0293 mmol, 0.1 eq), 在氮气保护的条件下升温至 100 °C 搅拌 16 小

时。冷却至室温后将反应液用乙酸乙酯 (30 mL) 稀释, 然后依次用水和饱和氯化钠溶液洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩后的残留物用硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=2/1)纯化, 得到化合物 3 (30 mg, 收率 25%) 为棕色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 413.1$

步骤二、化合物 4

将化合物 3 (20 mg, 0.0484 mmol, 1.0 eq) 溶于四氢呋喃 (3 mL), 加入四氢铝锂 (9 mg, 0.2424 mmol, 5.0 eq), 在氮气保护的条件下室温搅拌 10 分钟, 加入四氢呋喃 (5 mL) 稀释并将反应液冷却至 0 °C, 加入十水合硫酸钠 (0.3 g) 并在 0 °C 搅拌 15 分钟。将反应液过滤并浓缩得到化合物 4 (15 mg, 收率 80%) 为棕色固体。

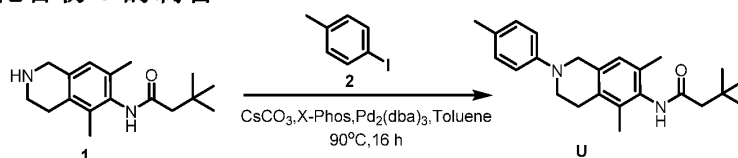
LCMS: $[M+H]^+ = 385.1$

步骤二、化合物 T

将化合物 4 (10 mg, 0.026 mmol, 1.0 eq) 溶于无水乙醇 (1 mL), 加入三乙基硅烷 (3 mg, 0.026 mmol, 1.0 eq) 和氯化铯 (2 mg, 0.013 mmol, 0.5 eq), 在氮气保护的条件下室温搅拌 1 小时。将反应液过滤并浓缩后得到化合物 T (8 mg, 83%) 为棕色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 369.1$

实施例 21 化合物 U 的制备



步骤一、化合物 U

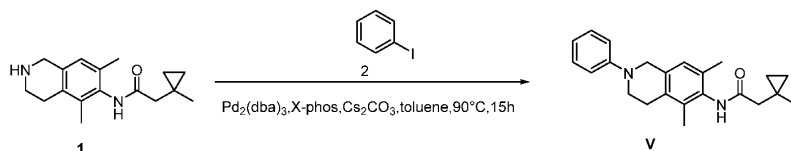
将化合物 1 (120 mg, 0.4 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (40 mL), 加入化合物 2 (143 mg, 0.6 mmol, 1.5 eq)、碳酸铯 (428.1 mg, 1.31 mmol, 3.0 eq) 和 X-Phos (41.7 mg, 0.08 mmol, 0.2 eq) 和 $Pd_2(dba)_3$ (40.1 mg, 0.04 mmol, 0.1 eq), 在氮气保护的条件下升温至 90 °C 搅拌 16 小时。冷却至室温后过滤反应液, 滤液用水 (30 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (3 x 50 mL) 萃取, 合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用中性氧化铝硅胶柱层析(石油醚/乙酸乙酯=5/1)纯化, 得到化合物 U (42.3 mg, 收率 26%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 365.2$

1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.09 (s, 1H), 7.03 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.93–6.90

(m, 3H), 4.24 (s, 2H), 3.50-3.47 (m, 2H), 2.72-2.66 (m, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.06 (s, 9H).

实施例 22 化合物 V 的制备

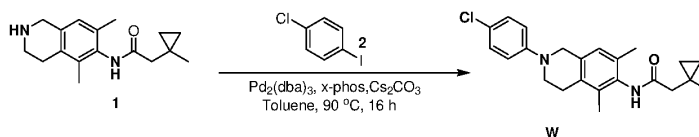


参考化合物 N 的合成方法，得到化合物 V（收率 15%）。

LCMS: $[M+H]^+ = 349.2$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.02 (s, 1H), 7.24-7.20 (m, 2H), 7.02-7.00 (m, 2H), 6.93 (s, 1H), 6.78-6.73 (m, 1H), 4.31 (s, 2H), 3.55 (s, 2H), 2.75-2.72 (m, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 0.56-0.53 (m, 2H), 0.33-0.31 (m, 2H).

实施例 23 化合物 W 的制备



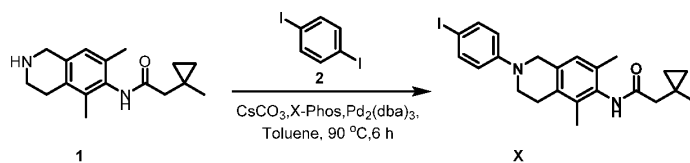
步骤一、化合物 W

在氮气保护下将化合物 **1** (50 mg, 0.183 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (5 mL)，依次加入化合物 **2** (44 mg, 0.183 mmol, 1.0 eq)， $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (17 mg, 0.0183 mmol, 0.1 eq)，X-phos (17 mg, 0.0366 mmol, 0.2 eq) 及 Cs_2CO_3 (119 mg, 0.366 mmol, 2.0 eq)，反应液升温至 90°C 搅拌 16 小时。冷却至 25°C 后将反应液用乙酸乙酯 (50 mL) 稀释，然后依次用水、饱和氯化钠溶液洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩，得到的残留物用 pre-HPLC (0.1% 甲酸/乙腈/水) 纯化后得到化合物 **W** (3.2 mg, 5%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 383.1$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.03 (s, 1H), 7.25 – 7.21 (m, 2H), 7.04 – 6.99 (m, 2H), 6.92 (s, 1H), 4.32 (s, 2H), 3.55 (s, 2H), 2.73-2.71 (m, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 0.56-0.53 (m, 2H), 0.33-0.31 (m, 2H).

实施例 24 化合物 X 的制备



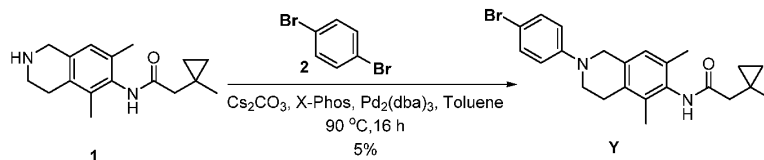
步骤一、化合物 X

将化合物**1** (300 mg, 1.101 mmol, 1.0 eq)溶于甲苯 (15 mL), 依次加入化合物**2** (727 mg, 2.202 mmol, 2.0 eq), 碳酸铯 (1.07 g, 3.304 mmol, 3.0 eq), X-PHOS (105 mg, 0.2202 mmol, 0.2 eq)和Pd₂(dba)₃ (101 mg, 0.1101 mmol, 0.1 eq), 反应液在氮气保护下升温至90 °C并搅拌6小时。冷却至25 °C后将反应液用乙酸乙酯 (30 mL) 稀释, 然后依次用水、饱和氯化钠溶液洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=5/1)纯化后得到化合物**X** (6.3 mg, 1%)为固体。

LCMS: [M+H]⁺ = 475.0

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.02 (s, 1H), 7.49-7.46 (m, 2H), 6.92 (s, 1H), 6.86-6.84 (m, 2H), 4.31 (s, 2H), 3.55 (s, 2H), 2.72 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.14 (s, 3H), 0.55-0.53 (m, 2H), 0.33-0.30 (m, 2H).

实施例 25 化合物 Y 的制备



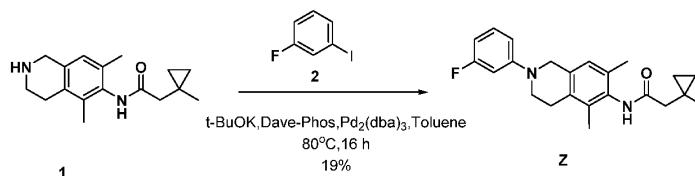
步骤一、化合物 Y

将化合物**1** (50 mg, 0.183 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (5 mL), 加入化合物**2** (87 mg, 0.367 mmol, 2.0 eq), 碳酸铯 (179 mg, 0.551 mmol, 3.0 eq), Pd₂(dba)₃ (17 mg, 0.018 mmol, 0.1 eq)和 X-PHOS (17 mg, 0.036 mmol, 0.2 eq)。反应液升温至 90 °C 搅拌 16 小时, 冷却至 25 °C 后加入水 (20 mL) 稀释, 然后用乙酸乙酯 (3 x 20 mL) 萃取。合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤并用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用 pre-HPLC (0.1% 甲酸/乙腈/水) 纯化, 得到化合物**Y** (4.1 mg, 5%) 为白色固体。

LCMS: [M+H]⁺ = 427.1

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.35 – 7.33 (m, 2H), 7.18 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.84 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 4.31 (s, 2H), 3.53 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.83 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.39 (s, 2H), 2.24 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 0.61 – 0.59 (m, 2H), 0.56 – 0.54 (m, 2H).

实施例 26 化合物 Z 的制备



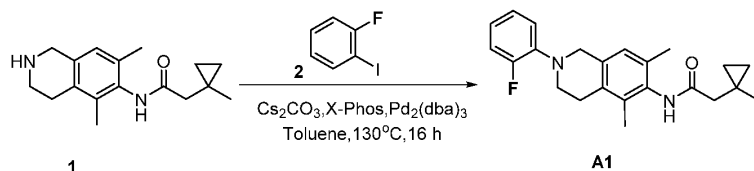
步骤一、化合物 Z

将化合物 1 (20 mg, 0.074 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (5 mL), 依次加入化合物 2 (24.5 mg, 0.11 mmol, 1.5 eq), 叔丁醇钾 (25 mg, 0.220 mmol, 3.0 eq), Dave-phos (6 mg, 0.015 mmol, 0.2 eq) 和 Pd₂(dba)₃ (7 mg, 0.0074 mmol, 0.1 eq), 在氮气保护下升温至 80 °C 搅拌 16 小时。冷却至 25 °C 后反应液用乙酸乙酯 (30 mL) 稀释, 然后依次用水、饱和氯化钠溶液洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=2/1) 纯化, 得到化合物 Z (5.0 mg, 19%) 为白色固体。

LCMS: [M+H]⁺ = 367.2

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.23 – 7.17 (m, 2H), 6.93 (s, 1H), 6.72 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 12.8 Hz, 1H), 6.49 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 4.35 (s, 2H), 3.56 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.84 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.40 (s, 2H), 2.24 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 0.62 – 0.54 (m, 4H).

实施例 27 化合物 A1 的制备



步骤一、化合物 A1

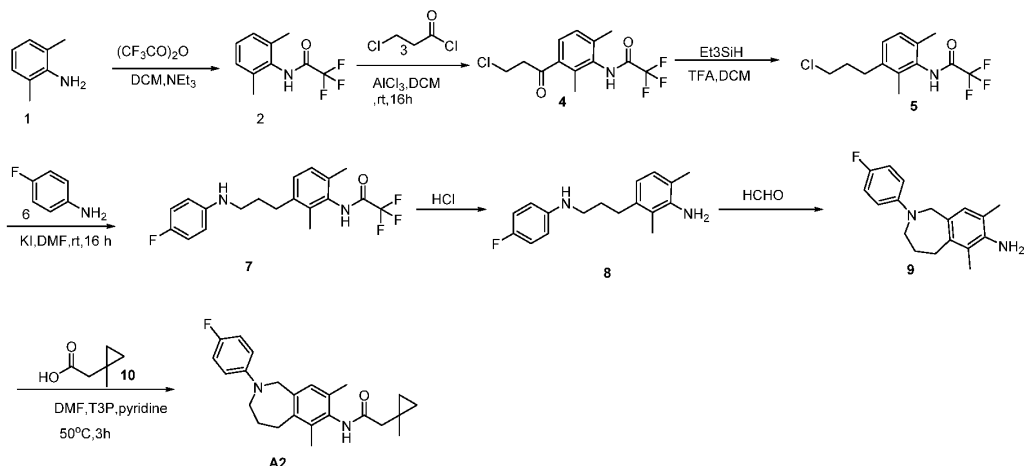
将化合物 1 (200 mg, 0.734 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (50 mL), 依次加入化合物 2 (1.63 g, 7.34 mmol, 10.0 eq), 碳酸铯 (1.2 g, 3.67 mmol, 5.0 eq), X-Phos (140 mg, 0.294 mmol, 0.4 eq) 和 Pd₂(dba)₃ (134 mg, 0.147 mmol, 0.2 eq)。反应液在氮气保护下升温至 130 °C 并搅拌 2 小时。反应液冷却至 25 °C, 用乙酸乙酯 (20 mL) 稀释, 然后依次用水、饱和氯化钠溶液洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 残留物用硅胶柱层析 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 3/1) 纯化得到化合物 A1 (24.3 mg, 9%) 为白色固体。

LCMS: [M+H]⁺ = 367.2

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.04 (s, 1H), 7.19-7.06 (m, 3H), 7.01 – 6.94 (m, 1H),

6.88 (s, 1H), 4.17 (s, 2H), 3.44-3.35 (m, 2H), 2.79-2.70 (m, 2H), 2.22 (s, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 0.56-0.54 (m, 2H), 0.34-0.31 (m, 2H).

实施例 28 化合物 A2 的制备



步骤一、化合物 2

将化合物 1 (10.0 g, 82.5 mmol, 1.0 eq) 溶于二氯甲烷 (100 mL), 加入三氟乙酸酐 (26 g, 123.75 mmol, 1.5 eq), 反应液升温至 50°C 并搅拌 1.5 小时。冷却至 25 °C 后将反应液浓缩, 残留物用乙酸乙酯 (300 mL) 溶解, 然后用饱和碳酸氢钠水溶液调节 pH 值至 8-9。分出的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤、无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到化合物 2 (16 g, 89%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 218.1$

步骤二、化合物 4

将三氯化铝 (12.9 g, 96.69 mmol, 3.0 eq) 溶于二氯甲烷 (100 mL) 并冷却至 0°C, 加入化合物 2 (7.0 g, 32.23 mmol, 1.0 eq) 和化合物 3 (6.14 g, 48.34 mmol, 1.5 eq) 的二氯甲烷 (20 mL) 混合溶液, 反应液在氮气保护下恢复至 25 °C 并搅拌 16 小时。加入二氯甲烷 (1 L) 稀释反应液, 然后将反应液倒入冰水中 (1.0 L)。分出有机相, 水相用乙酸乙酯 (5 x 300 mL) 萃取。合并后的有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=10/1) 纯化得化合物 4 (3.2 g, 32%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 308.1$

步骤三、化合物 5

将化合物 4 (3.0 g, 9.75 mmol) 溶于三氟乙酸 (25 mL), 慢慢滴加三乙基硅氢 (25

mL), 滴加完毕后反应液升温至 40°C 并搅拌过夜。将反应液浓缩, 残留物用乙酸乙酯 (300 mL) 溶解, 然后依次用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和氯化钠溶液洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=10/1) 纯化得化合物 5 (0.8 g, 28%)。

LCMS: $[M+H]^+ = 294.1$

步骤四、化合物 7

将化合物 5 (800 mg, 2.72 mmol, 1.0 eq) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL), 加入碘化钾 (452 mg, 2.72 mmol, 1.0 eq) 和化合物 6 (600 mg, 5.45 mmol, 2.0 eq), 于 25 °C 搅拌 0.5 小时后加入碳酸钠 (1.15 g, 10.89 mmol, 4.0 eq), 继续搅拌 16 个小时。将反应液用乙酸乙酯 (300 mL) 稀释, 然后依次用水、饱和氯化钠溶液洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=10/1) 纯化得化合物 7 (900 mg, 90%)。

LCMS: $[M+H]^+ = 369.1$

步骤五、化合物 8

将化合物 7 (800 mg, 1.09 mmol, 1.0 eq) 溶于浓盐酸 (12 M, 25 mL) 中, 然后在 99 °C (油浴温度) 下搅拌过夜。将反应液冷却至室温后直接用于下一步反应。

LCMS: $[M+H]^+ = 273.2$

步骤六、化合物 9

在 25 °C 将上一步化合物 8 加入甲醛水溶液 (37%, 88 mg, 2.66 mmol, 2.4 eq), 升温至 60 °C 搅拌 1 小时。将以上溶液在 55 °C 下直接浓缩, 然后加入甲苯/乙醇 (1: 1, 200 mL) 的混合溶剂减浓缩, 重复操作两次, 得到粗品化合物 9 (400 mg) 为黄色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 285.2$

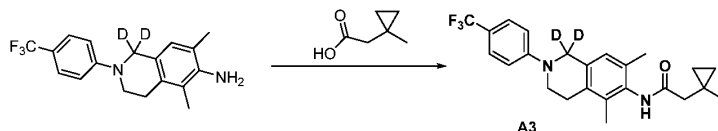
步骤七、化合物 A2

将化合物 9 (粗品, 200 mg, 0.7 mmol, 1 eq) 和化合物 10 (241 mg, 2.11 mmol, 3.0 eq) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 在氮气保护下加入吡啶 (1.11 g, 14.07 mmol, 20.0 eq) 和 1-丙基磷酸酐的乙酸乙酯溶液 (50%, 4.48 g, 7.03 mmol, 10.0 eq), 反应液在氮气保护下升温至 50 °C 并搅拌 3 小时。将反应液用乙酸乙酯 (300 mL) 稀释, 然后用饱和氯化钠溶液 (3 x 200 mL) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 得到的残留物用硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯=4/1 到 2/1) 纯化得到化合物 A2 (23.2 mg, 三步收率 4.5%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 381.2$

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.93 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.93-6.85 (m, 2H), 6.78-6.74 (m, 2H), 4.53 (s, 2H), 3.75-3.56 (m, 2H), 2.92-2.90 (m, 2H), 2.18 (s, 2H), 2.07 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.82-1.66 (m, 2H), 1.13 (s, 3H), 0.59 – 0.47 (m, 2H), 0.34-0.27 (m, 2H).

实施例 29 化合物 A3 的制备

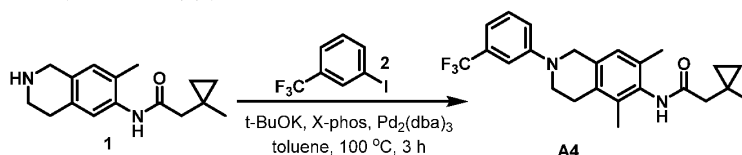


合成方法参考化合物 M，得到化合物 A3 为白色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 419.3$

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.07 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.99 (s, 1H), 3.70-3.67 (m, 2H), 2.87-2.84 (m, 2H), 2.32 (s, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 0.62-0.60 (m, 2H), 0.43-0.40 (m, 2H).

实施例 30 化合物 A4 的制备



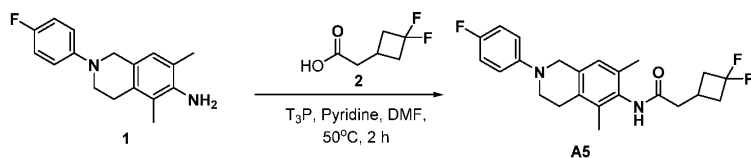
步骤一、化合物 A4

将化合物 **1** (150 mg, 0.55 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (3 mL)，依次加入化合物 **2** (224 mg, 0.826 mmol, 1.5 eq)，叔丁醇钾 (185 mg, 1.65 mmol, 3.0 eq)，X-phos (52 mg, 0.11 mmol, 0.2 eq) 和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (50 mg, 0.05 mmol, 0.1 eq)，反应液在氮气氛围下升温至 100 °C 搅拌 3 小时。将反应液冷却至 25 °C，用乙酸乙酯 (50 mL) 稀释，依次用水、饱和氯化钠溶液洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩，残留物用 pre-HPLC (0.1% 甲酸/乙腈/水) 纯化后得到化合物 **A4** (36.5 mg, 16 %) 为白色固体。

LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 417.2$

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.03 (s, 1H), 7.42 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.30 – 7.27 (m, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.02 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 4.41 (s, 2H), 3.63 (s, 2H), 2.77 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 0.56 – 0.53 (m, 2H), 0.33 – 0.31 (m, 2H).

实施例 31 化合物 A5 的制备



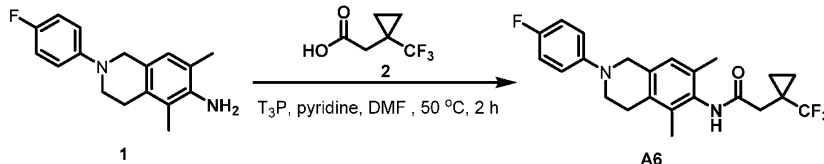
步骤一、化合物 A5

将化合物 **1** (100 mg, 0.368 mmol, 1.0 eq) 溶于 DMF (6 mL), 依次加入化合物 **2** (66 mg, 0.44 mmol, 1.2 eq)、1-丙基磷酸酐 (50%, 1.17 g, 1.84 mmol, 5.0 eq) 和吡啶 (582 mg, 7.36 mmol, 20.0 eq), 反应液在氮气氛围下升温至 50 °C 搅拌 2 小时。将反应液冷却至 25 °C, 然后用乙酸乙酯 (50 mL) 稀释, 所得的溶液依次用水、饱和氯化钠溶液洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥后浓缩, 得到的残留物用 pre-HPLC (0.1% 甲酸/乙腈/水) 纯化后得到化合物 **A5** (84.2 mg, 58 %) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 403.1$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.25 (s, 1H), 7.08–7.00 (m, 4H), 6.91 (s, 1H), 4.26 (s, 2H), 3.49 (s, 2H), 2.77–2.72 (m, 4H), 2.68–2.67 (m, 1H), 2.46–2.44 (m, 1H), 2.40–2.36 (m, 2H), 2.33–2.30 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 1.98 (s, 3H).

实施例 32 化合物 A6 的制备



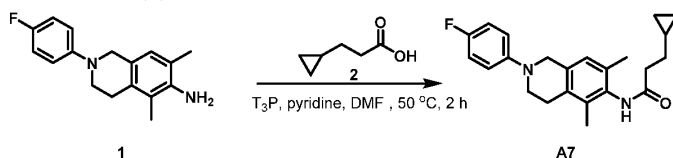
步骤一、化合物 A6

将化合物 **1** (50 mg, 0.185 mmol, 1.0 eq) 溶于 DMF (3 mL), 依次加入化合物 **2** (37 mg, 0.222 mmol, 1.2 eq)、1-丙基磷酸酐 (50%, 2.4 g, 3.700 mmol, 20.0 eq) 和吡啶 (146 mg, 1.850 mmol, 10.0 eq), 反应液升温至 50 °C 并搅拌 2 小时。冷却至 25 °C 后将反应液用水 (10 mL) 稀释, 然后用乙酸乙酯 (20 x 3) 萃取, 合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤、无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用 pre-HPLC (0.1% 甲酸/乙腈/水) 纯化得到化合物 **A6** (8.9 mg, 11%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 421.2$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.31 (s, 1H), 7.08–7.00 (m, 4H), 6.91 (s, 1H), 4.26 (s, 2H), 3.49 (s, 2H), 2.72 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 2.67 (s, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.01 (s, 2H), 0.98 (s, 2H).

实施例 33 化合物 A7 的制备



步骤一、化合物 A7

将化合物 **1** (50 mg, 0.18 mmol, 1.0 eq) 溶于 DMF (2 mL), 依次加入化合物 **2** (21 mg, 0.18 mmol, 1.0 eq), 1-丙基磷酸酐 (50%, 1.15 g, 1.8 mmol, 10.0 eq) 和吡啶 (284 mg, 1.8 mmol, 10.0 eq), 升温至 50 °C 并搅拌 2 小时。冷却至 25 °C 后将反应液用水 (10 mL) 稀释, 然后用乙酸乙酯 (3 x 20 mL) 萃取, 合并后的有机相用饱和氯化钠溶液洗涤、无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到的残留物用 pre-HPLC (0.1% 甲酸/乙腈/水) 纯化得到化合物 **A7** (4.9 mg, 7%) 为白色固体。

LCMS: $[M+H]^+ = 367.1$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.18 (s, 1H), 7.09 – 6.98 (m, 4H), 6.90 (s, 1H), 4.25 (s, 2H), 3.49 (s, 2H), 2.72 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.39 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.54 – 1.48 (m, 2H), 0.78 – 0.71 (m, 1H), 0.45 – 0.37 (m, 2H), 0.11 – 0.04 (m, 2H).

实施例 34 钾离子通道开放剂活性测试 (FDSS/ μ CELL 检测)

1. 实验方法:

1.1 实验流程

细胞准备: CHO-KCNQ2 细胞培养于 175 cm^2 培养瓶中, 待细胞密度生长到 60~80%, 移走培养液, 用 7 mL PBS (Phosphate Buffered Saline, 磷酸盐缓冲液) 洗一遍, 然后加入 3 mL 0.25% Trypsin 消化。待消化完全后加入 7 mL 培养液 (90% DMEM/F12 + 10% FBS + 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ G418) 中和, 800 rpm 离心 3 分钟, 吸走上清液, 再加入 5 mL 培养液重悬, 细胞计数。

细胞铺板: 根据细胞计数结果, 调整密度至 3×10^4 个/孔, 室温静置 30 分钟后, 放置于 37 °C CO_2 培养箱培养过夜, 培养 16–18 小时, 细胞密度达到约 80%。

荧光染料孵育: 弃去细胞培养液, 加入 80 μL /孔的上样缓冲液, 室温避光孵育 60 分钟。

化合物孵育: 弃去上样缓冲液, 加入配制好的化合物溶液 80 μL /孔, 室温避光孵育 20 分钟。

荧光数据采集：采用 FDSS/ μ CELL 仪器进行实时荧光信号记录，激发波长 480 nm、发射波长 540 nm，每秒记录 1 次，记录 10 秒基线后开始加入 20 μ L/孔的刺激缓冲液，再持续记录至 180 秒结束。

1.2 溶液配制

上样缓冲液：10mL/板，配制方式如下：

成分	体积
PowerLoad™ 浓缩物，100X（成分 C）	100 μ L
FluxOR™ 试剂，在 DMSO 中重建（步骤 1.2）	10 μ L
去离子水	8.8 mL
FluxOR™ 测试缓冲液，10X（成分 B）	1 mL
丙磺舒，在去离子水中重建（步骤 1.1）	100 μ L
总体积	10mL

测试缓冲液：100mL/板，配制方式如下：

成分	体积
去离子水	8.9 mL
FluxOR™ 测试缓冲液，10X（成分 B）	1 mL
丙磺舒，在去离子水中重建（步骤 1.1）	100 μ L
总体积	10 mL

刺激缓冲液：5mL/板，配制方式如下：

成分	体积	
	+ K ⁺	- K ⁺
去离子水	2.5 mL	3.5 mL
FluxOR™ 不含氯缓冲液，5X（成分 E）	1 mL	1 mL
K ₂ SO ₄ 浓缩物（125mM 的 K ₂ SO ₄ 浓溶液，成分 F）	1 mL	/
Tl ₂ SO ₄ 浓缩物（50mM 的 Tl ₂ SO ₄ 浓溶液，成分 G）	0.5 mL	0.5 mL
总体积	5 mL	5 mL

上述缓冲液来源于市售的试剂盒，试剂盒名称为 FluxOR potassium ion channel assay。

1.3 化合物准备

配制 20 mM 的 DMSO 化合物母液，取 10 μ L 20 mM 的化合物母液至 20 μ L DMSO 溶液中，3 倍连续稀释成 8 个中间浓度；再分别取中间浓度的化合物至测试缓冲液中，200 倍稀释得到需要测试的最终浓度，取 80 μ L 加入至检测板中。

最高测试浓度为 100 μ M，依次分别为 100, 33.33, 11.11, 3.70, 1.23, 0.41, 0.137, 0.045 μ M 共 8 个浓度。每个浓度 3 复孔。

最终测试浓度中的 DMSO 含量不超过 0.5%，此浓度的 DMSO 对 KCNQ2 钾通道没有影响。

1.4 数据分析

实验数据由 Excel 2007、GraphPad Prism 5.0 软件进行分析，统计 180 秒的比值计算激动效应。化合物激动效应由如下公式计算：

$$\text{激动百分比} = \frac{\text{加入化合物的荧光信号比值} - \text{未加化合物的荧光信号比值}}{\text{未加化合物的荧光信号比值}} \times 100\%$$

1.5 质量控制

环境：温度 $\sim$ 25°C

试剂：FluxORTM 检测试剂盒 (Invitrogen, Cat #F0017)

报告中的实验数据必须满足以下标准：Z' Factor > 0.5

2. 测定结果：详见表1，其中EC₅₀越小，表示相应化合物的活性越高。

表 1. 本发明所述的部分化合物测试结果

化合物	最大激动率 (%)	EC ₅₀ (μ M)
A	37.97	0.44
B	37.5	0.16
D	29.51	0.45
I	38.3	0.44
U	52.3	0.33
O	29.43	0.78
P	38.22	0.034
V	45.76	0.34
W	33.2	0.18
X	28.94	0.072
Y	37.96	0.20
Z	48.65	0.094
A1	35.84	0.73
A2	44.53	0.13
A3	36.16	0.21

A4	48.11	0.27
A5	34.41	0.049
A6	17.08	0.29
A7	35.92	0.40

上述测试方法的参考文献:

Zhaobing Gao 等人. Journal of Biological Chemistry. 2010, 285(36): 28322-28332.

实施例 35 小鼠药代动力学研究

1) 研究目的: 为了获得待测化合物在雄性 ICR 小鼠体内的药代动力学特征及血脑屏障情况

2) 实验内容

分别取健康雄性 ICR 小鼠 (体重范围为 18-22 克) 6 只, 分 2 组, 3 只鼠/组, 禁食过夜 (仅口服给药组) 后给予待测化合物静脉 0.5 mg/kg, 口服 10 mg/kg, 于时间点 0.083 (仅 IV) 0.25、0.5、1、2、4、6 (仅 PO)、8 和 24 h 经颈静脉穿刺采血, 采集至少 0.3 mL 全血至 EDTA-K₂ 抗凝管, 半小时内, 离心取血浆 (6000 转, 8 分钟, 4℃), -20℃冻存备用。

脑血比研究: 取健康雄性 ICR 小鼠 (体重范围为 18-22 克) 6 只, 分成 2 组, 3 只鼠/组, 禁食过夜后分别口服给予待测化合物 (10mg/kg), 于时间点 2 和 4h 经心脏穿刺采血, 采集至少 0.5 mL 全血至 EDTA-K₂ 抗凝管, 半小时内, 离心取血浆 (6000 转, 8 分钟, 4℃), -20℃冻存备用。同时采集脑组织, 经生理盐水冲洗干净后用吸水纸吸干, 称重, -20℃冻存备用。

实验结果: 根据所得血药浓度数据, 采用 WinNonlin® 7.0 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 2 雄性 ICR 小鼠单次给药 PK 参数

化合物	参数	单位	静脉 0.5 mg/kg	灌胃 10 mg/kg
			血浆	血浆
A	T _{1/2}	h	0.99	2.61
	T _{max}	h	0.08	0.67
	C _{max}	ng/mL	269.87	141.71

	AUC _{last}	hr*ng/mL	117.19	792.00
	AUC _{Inf}	hr*ng/mL	118.46	793.07
	F	%	/	33.79
B*	T _{1/2}	h	0.94	2.64
	T _{max}	h	0.08	0.25
	C _{max}	ng/mL	404.71	776.04
	AUC _{last}	hr*ng/mL	157.89	1398.20
	AUC _{Inf}	hr*ng/mL	160.65	1430.71
	F	%	/	88.56
I	T _{1/2}	h	0.86	3.86
	T _{max}	h	0.08	0.33
	C _{max}	ng/mL	299.07	192.09
	AUC _{last}	hr*ng/mL	107.32	528.01
	AUC _{Inf}	hr*ng/mL	108.23	539.24
	F	%	/	24.6
J*	T _{1/2}	h	0.88	1.81
	T _{max}	h	0.08	0.25
	C _{max}	ng/mL	941.95	373.91
	AUC _{last}	hr*ng/mL	361.45	693.07
	AUC _{Inf}	hr*ng/mL	366.13	702.68
	F	%	/	19.18
P	T _{1/2}	h	2.67	84.34
	T _{max}	h	0.08	8.67
	C _{max}	ng/mL	382.4	315.04
	AUC _{last}	hr*ng/mL	357.47	5989.31
	AUC _{Inf}	hr*ng/mL	382.98	30939.26
	F	%	/	83.77

*静脉注射（IV）剂量为 1 mg/kg

表 3 雄性 ICR 小鼠单次口服给药后各时间点的脑血比

化合物	时间点	脑血比
A	2h	2.3
	4h	2.8
B	2h	0.99
	4h	0.72
I	2h	6.0
	4h	5.8
J	2h	4.1
	4h	3.2
P	2h	6.4
	4h	5.96

脑血比对神经类药物至关重要，从表 3 可知：本发明化合物均具有优异的脑血比，将带来更好的药效和优异的安全性。通过对比化合物 A 与化合物 I 以及化合物 B 与化合物 J 的脑血比可以看出，将化合物 A 或化合物 B 的叔丁基改为  后，小鼠的脑血比均有大幅度的提高（大于 2 倍）。

实施例 36 大鼠药代动力学研究

1) 研究目的：为了获得待测化合物在雄性 SD 大鼠体内的药代动力学特征。

2) 实验内容

药代动力学研究：取健康雄性 SD 大鼠（SPF 级）6 只，分成 2 组，3 只鼠/组，禁食过夜（仅口服给药组）后给予化合物 A 静脉 0.3 mg/kg，口服 5 mg/kg，于时间点 0.083（仅 IV）0.25、0.5、1、2、4、6（仅 PO）、8 和 24 h 经颈静脉穿刺采血，采集至少 0.3 mL 全血至 EDTA-K₂ 抗凝管，半小时内，离心取血浆（6000 转，8 分钟，4℃），-20℃冻存储备用。

实验结果：根据所得血药浓度数据，采用 WinNonlin® 7.0 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 雄性 SD 大鼠单次给药 PK 参数

化合物	参数	单位	静脉 0.3 mg/kg	灌胃 5 mg/kg
			血浆	血浆

A	$T_{1/2}$	h	0.99	3.07
	T_{max}	h	0.08	1.50
	C_{max}	ng/mL	332.50	153.65
	AUC_{last}	hr*ng/mL	140.04	908.56
	AUC_{Inf}	hr*ng/mL	143.95	1275.85
	F	%	/	38.93
B	$T_{1/2}$	h	2.00	3.47
	T_{max}	h	0.08	4.00
	C_{max}	ng/mL	352.07	128.07
	AUC_{last}	hr*ng/mL	146.52	1065.52
	AUC_{Inf}	hr*ng/mL	149.20	1075.06
	F	%	/	43.63
I	$T_{1/2}$	h	1.74	6.25
	T_{max}	h	0.08	0.50
	C_{max}	ng/mL	344.52	220.63
	AUC_{last}	hr*ng/mL	163.75	821.65
	AUC_{Inf}	hr*ng/mL	165.96	854.61
	F	%	/	30.11

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。