

桥环嘧啶酮类化合物、其制备方法、其组合物和用途

技术领域

本发明属于医药领域，具体涉及一种桥环嘧啶酮类化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、其制备方法、其组合物、
5 以及其在医药上的用途。特别地，本公开涉及通式(I)所示的桥环嘧啶酮类衍生物、其制备方法及含有该衍生物的药物组合物，以及其作为 LpPLA2 抑制剂治疗阿尔茨海默病、青光眼、年龄相关性黄斑变性（AMD）等神经退行性疾病或动脉粥样硬化、糖尿病性黄斑水肿的用途。

10 背景技术

脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)是磷脂酶 A2 超家族的成员(Dennis EA, Cao J, Hsu YH, Magrioti V, Kokotos G. *Chem Rev.* 2011, 111, 6130-6185)。它主要由单核细胞，巨噬细胞，T 淋巴细胞和主细胞分泌(Stafforini DM, Elstad MR, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. *J Biol Chem.* 1990, 265: 9682-9687; Nakajima K, Murakami M, Yanoshita R, Samejima Y, Karasawa K, Setaka M, Nojima S Kudo I. *J Biol Chem.* 1997, 272, 19708-19713)。
15 磷脂酰胆碱 sn-2 酯是在低密度脂蛋白（LDL）氧化过程中产生的，Lp-PLA2 负责水解氧化修饰的磷脂酰胆碱 sn-2 酯，然后产生氧化脂肪酸和溶血磷脂酰胆碱（LysoPC）(Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, Holmes SD, Chamberlain P, Macphee CH. *Atherosclerosis.* 2000, 150, 413-419; MacPhee CH, Moores KE, Boyd HF, Dhanak D, Ife RJ, Leach CA, Leake DS, Milliner KJ, Patterson RA, Suckling KE, Tew DG, Hickey DM. *Biochem J.* 1999, 338, 479-487)。氧化脂肪酸和 LysoPC 都在活化巨噬细胞、增加氧化应激、影响 T 淋巴细胞功能和诱导炎症反应中发挥作用(Quinn MT, Parthasarathy S, Steinberg D. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988, 85, 2805-2809)。据报道，LysoPC 诱导多种细胞毒性炎症细胞因子释放(Shi, et al, *Atherosclerosis*, 2007, 191, 54-62)。此外，LysoPC 还涉及白细胞活化，细胞凋亡的诱导
20 和内皮功能障碍的介导(Wilensky et al, *Current Opinion in Lipidology*, 2009, 20, 415-420)。

有文献报道，血浆的 Lp-PLA2 水平与心血管疾病 (Fitzpatrick AL, Irizarry MC, Cushman M, Jenny NS, Chi GC, Koro C. *Atherosclerosis.* 2014, 235, 384-391)，糖尿病性黄斑水肿（DME）(Staurengi G, Ye L, Magee MH, Danis RP, Wurzelmann J, Adamson P, McLaughlin MM, Darapladib DMESG. *Ophthalmology.* 2015, 122, 990-996)，前列腺癌

(Bertilsson H, Tessem MB, Flatberg A, Viset T, Gribbestad I, Angelsen A, Halgunset J. *Clin Cancer Res.* 2012, 18, 3261-3269)相关。

阿尔茨海默病(AD)是一种慢性神经退行性疾病,它会导致认知能力下降,情绪波动,不可逆转的记忆丧失,方向障碍,语言障碍和失去自我保护能力(Hardy J, et al. *Science* 2002, 297, 353-356.)。阿尔茨海默病通常随着时间的推移开始缓慢并逐渐恶化,这是 60% 至 70% 的痴呆病例的原因,并影响 65 岁以上人口的约 6%。AD 患者将逐渐退出家庭和社会,越来越依赖帮助,最终进展至死亡。AD 是发达国家中代价最高的疾病之一,在其他国家的成本也很高。特别是随着老龄化成为一个重要的社会问题,这些成本将急剧增加。毋庸置疑,AD 是一种复杂的涉及多种因素的疾病。尽管 AD 的病因尚未完全阐明,但很明显,有几个因素参与疾病的发生和发展,包括聚集的 tau 蛋白和 A β 肽,氧化应激和神经炎症(Echeverria V, Yarkov A, Aliev G. *Prog Neurobiol.* 2016, 144, 142-157)。目前的 AD 药物研发主要集中在 A β 淀粉样变性和 tau 的靶点上(Chiang K, Koo EH. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2014, 54, 381-405; Awasthi M, Singh S, Pandey VP, Dwivedi UN. *J Neurol Sci.* 2016, 361, 256-271)。然而,尽管临床前数据很强,但后期临床试验的结果迄今未能证明临床疗效。这些令人失望的结果预示,针对 AD 治疗可能必须探索其他神经病理学机制,例如氧化应激和神经炎症。

血浆中 Lp-PLA2 水平的升高增加了患痴呆症的风险,包括 AD(Van Oijen, et al. *Annals of Neurology*, 2006, 59,139),AD 患者中发现了血管性痴呆和混合性痴呆,以及高氧化 LDL 水平(Maher-Edwards G, De'Ath J, Barnett C, Lavrov A, Lockhart A, *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions.* 2015, 1, 131-140; Kassner et al. *Current Alzheimer Research*, 2008, 5, 358-366; Dildar, et al., *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 24, April-June (2010); Sinem, et al. *Current Alzheimer Research*, 2010, 7, 463-469)。在 AD 患者中也发现了神经炎症和上调的多种炎性细胞因子(Colangelo, et al., *Journal of Neuroscience Research*, 2002, 70, 462-473; Wyss-Coray, *Nature Medicine*, 2006, 12, Sept.)。

基于所有这些发现,Lp-PLA2 是治疗 AD 的潜在靶点,而 Lp-PLA2 抑制剂 Rilapladib 针对 AD 患者的临床结果进一步证实了这一点(Maher-Edwards G, De'Ath J, Barnett C, Lavrov A, Lockhart A, *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions.* 2015, 1, 131-140)。

青光眼和年龄相关性黄斑变性(AMD)属于视网膜神经退行性疾病。Buschini 等报道炎症包括 TNF- α 信号,可能在青光眼和 AMD 的发病机制中起重要作用(Buschini et al,

Progress in Neurobiology, 2011, 95, 14-25; Tezel, Progress in Brain Research, vol. 173, ISSN0079-6123, Chapter 28)。另外, Shi 等人证实 Lp-PLA2 抑制剂可以阻断炎症细胞因子的释放(Shi, et al, Atherosclerosis, 2007, 191, 54-62)。Lp-PLA2 的抑制是青光眼和 AMD 的潜在治疗方法。

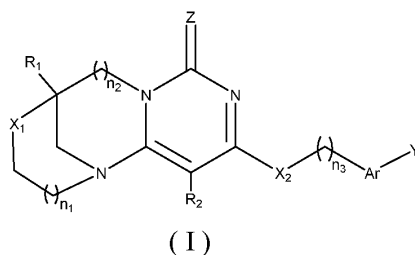
- 5 已经报道了许多 Lp-PLA2 抑制剂, 包括 β -内酰胺(Tew DG, Boyd HF, Ashman S, Theobald C, Leach CA. Biochemistry. 1998, 37, 10087-10093), 脲 (Jeong TS, Kim MJ, Yu H, Kim HS, Choi JK, Kim SS, Lee WS. Bioorg Med Chem Lett. 2005, 15, 1525-1527; Jeong HJ, Park YD, Park HY, Jeong IY, Jeong TS, Lee WS. Bioorg Med Chem Lett. 2006, 16, 5576-5579), 黄尿酸的酰胺(Lin EC, Hu Y, Amantea CM, Pham LM, Cajica J, Okerberg E, Brown HE, Fraser A, Du L, Kohno Y, Ishiyama J, Kozarich JW, Shreder KR. Bioorg Med Chem Lett. 2012, 22, 868-871; Hu Y, Lin EC, Pham LM, Cajica J, Amantea CM, Okerberg E, Brown HE, Fraser A, Du L, Kohno Y, Ishiyama J, Kozarich JW, Shreder KR. Bioorg Med Chem Lett. 2013, 23, 1553-1556.), 和氨基甲酸酯(Nagano JM, Hsu KL, Whitby LR, Niphakis MJ, Speers AE, Brown SJ, Spicer T, Fernandez-Vega V, Ferguson J, Hodder P, Srinivasan P, Gonzalez TD, Rosen H, Bahnson BJ, Cravatt BF. Bioorg Med Chem Lett. 2013, 23, 839-843)。

据报道 Lp-PLA2 抑制剂 Darapladib 是一种抗动脉粥样硬化和 DME 的潜在治疗方法 (Magrioti V, Kokotos G. *Expert Opin Ther Pat.* 2013; 23: 333-344)。

发明内容

- 20 本发明人发现, Lp-PLA2 抑制剂在治疗神经退行性相关疾病, 如阿尔茨海默病 (AD)、青光眼和年龄相关的黄斑变性 (AMD), 或者包括动脉粥样硬化等的心血管疾病方面有着重要的作用。为此, 本发明人致力于开发出一种全新的 Lp-PLA2 抑制剂, 桥环嘧啶酮类化合物。

该桥环嘧啶酮类化合物为具有式(I)所示结构的化合物或其药学上可接受的盐,



其中,

n_1 、 n_2 、 n_3 各自独立地为 0、1 或 2；

R_1 、 R_2 各自独立地选自：-H、羟基、氰基、卤素、烷基、氘代烷基、氘代烷氧基、羟烷基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、烷氧基、亚芳基或亚杂芳基；

X_1 、 X_2 各自独立地选自：亚烷基、-O-、-S-或-NR'-，

5 R'选自：-H、烷基、氘代烷基或环烷基；

Ar 为亚芳基或亚杂芳基；所述亚芳基或亚杂芳基中的氢原子任选被一个或多个取代基取代，所述取代基各自独立地选自：卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、烷氧基、氘代烷氧基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、单烷基或二烷基取代的氨基、硝基、羧基、醛基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基；

10 Y 为-H、卤素、烷基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、烷氧基、氘代烷基、氘代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、亚芳基、亚杂芳基、-OAr'、-SAr'、-NR''-Ar'、-N R''R''或 -R'''-Ar'；

Ar'选自芳基或杂芳基；所述芳基或杂芳基中的氢原子任选被一个或多个取代基取代，所述取代基各自独立地选自：卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟基、羟烷基、卤代烷氧基、氘代烷基、氘代烷氧基、氰基、氨基、硝基、羧基、醛基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基；

15 R''为 H、烷基或环烷基；

R'''为亚烷基；

Z 为 O 或 S。

20 可选地，所述“卤素”、“卤代烷基”、“卤代烷氧基”中所具有的卤原子各自独立地选自 F、Cl、Br 或 I；

可选地，所述“烷基”、“氘代烷基”、“氘代烷氧基”、“羟烷基”、“卤代烷基”、“卤代烷氧基”、“烷氧基”、“单烷基或二烷基取代的氨基”中所具有的烷基各自独立地为 C_1 - C_{10} 直链或支链烷基；可选地，为 C_1 - C_7 直链或支链烷基；可选地，为 C_1 - C_4 直链或支链烷基；可选地，选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、异戊基、1-乙基丙基、新戊基、正己基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、异己基、1,1-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、3,3-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、3-乙基戊基或 2,2,3-三甲基丁基；

30

可选地，所述“亚烷基”各自独立地为 C_1-C_{10} 的直链或支链的亚烷基；可选地，为 C_1-C_7 直链或支链亚烷基；可选地，为 C_1-C_5 直链或支链亚烷基；可选地，选自亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚叔丁基、亚仲丁基、亚正戊基、1-甲基亚丁基、2-甲基亚丁基、3-甲基亚丁基、亚异戊基、1-乙基亚丙基、亚新戊基、亚正己基、1-甲基亚戊基、2-甲基亚戊基、3-甲基亚戊基、亚异己基、1,1-二甲基亚丁基、2,2-二甲基亚丁基、3,3-二甲基亚丁基、1,2-二甲基亚丁基、1,3-二甲基亚丁基、2,3-二甲基亚丁基、2-乙基亚丁基、亚正庚基、2-甲基亚己基、3-甲基亚己基、2,2-二甲基亚戊基、3,3-二甲基亚戊基、2,3-二甲基亚戊基、2,4-二甲基亚戊基、3-乙基亚戊基或 2,2,3-三甲基亚丁基；

10 可选地，所述“环烷基”为 C_3-C_{10} 单环或双环环烷基，可选地，为 C_3-C_7 单环环烷基，可选地，为环丙基、环丁基、环戊基、环己基或环庚基；

可选地，所述“杂环基”为环上含有 1 个、2 个或 3 个选自 N、O、S 的杂原子的 3-10 元非芳香杂环，可选地，所述杂环为环上含有 1 个或 2 个选自 N、O 的杂原子的 3-10 元非芳香环；可选地，所述杂环为环上含有 1 个或 2 个选自 N、O 的杂原子的 3-6 元非芳香环；
15 可选地，所述杂环为环上含有 1 个或 2 个选自 N、S 的杂原子的 3-10 元非芳香环；可选地，所述杂环为环上含有 1 个或 2 个选自 N、S 的杂原子的 3-6 元非芳香环；

可选地，所述“芳基”为 6-10 元芳基；可选为苯基或萘基，可选为苯基、1-萘基、或 2-萘基；

可选地，所述“亚芳基”为 6-10 元亚芳基；可选为亚苯基或亚萘基；

20 可选地，所述“杂芳基”为环上含有 1-3 个选自 N、O 和 S 中的杂原子的 5-10 元杂芳环；可选地，为环上含有 1-2 个选自 N、O 和 S 中的杂原子的 5-10 元杂芳环；可选地，所述杂芳环选自吡啶环、吡咯环、吡唑环、噻吩环、吡嗪环、哒嗪环、噻吩环、呋喃环；可选地，所述杂芳基选自吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、哒嗪-3-基、哒嗪-4-基、噻吩-2-基、噻吩-4-基、噻吩-5-基、吡嗪-2-基、吡嗪-3-基、吡唑基、异吡唑基、吡唑基、
25 吡唑基、嘌呤基、喹啉基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、茶啉基、喹啉基、喹啉基、噻吩并[2,3-b]呋喃基、呋喃并[3,2-b]-吡喃基、吡啶并[2,3-d]噻吩基、吡啶并[4,3-d]噻吩基、咪唑并[4,5-d]噻吩基、吡嗪并[2,3-d]哒嗪基、咪唑并[2,1-b]噻吩基、咪唑并[1,2-b][1,2,4]三嗪基、苯并噻吩基、苯并噻吩基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、苯并噻吩基、苯并噻吩基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、苯并三唑基、吡咯并[2,3-b]吡啶基、吡咯并[3,2-c]吡啶基、
30 吡咯并[3,2-b]吡啶基、咪唑并[4,5-b]吡啶基、咪唑并[4,5-c]吡啶基、吡啶并[4,3-d]吡啶基、

吡唑并[4,3-c]吡啶基、吡唑并[3,4-c]吡啶基、吡唑并[3,4-d]吡啶基、吡唑并[3,4-b]吡啶基、
 咪唑并[1,2-a]吡啶基、吡唑并[1,5-a]吡啶基、吡咯并[1,2-b]哒嗪基、咪唑并[1,2-c]嘧啶基、
 吡啶并[3,2-d]嘧啶基、吡啶并[4,3-d]嘧啶基、吡啶并[3,4-d]嘧啶基、吡啶并[2,3-d]嘧啶基、
 吡啶并[2,3-b]吡嗪基、吡啶并[3,4-b]吡嗪基、嘧啶并[5,4-d]嘧啶基、吡唑并[2,3-b]吡嗪基、
 5 或嘧啶并[4,5-d]嘧啶基，可选为吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、嘧啶-2-基、嘧啶-4-
 基或嘧啶-5-基；

可选地，所述“亚杂芳基”为环上含有 1-3 个选自 N、O 和 S 中的杂原子的 5-10 元
 亚杂芳环；可选地，为环上含有 1-2 个选自 N、O 和 S 中的杂原子的 5-10 元亚杂芳环；
 可选地，所述亚杂芳环选自亚吡啶环、亚吡咯环、亚吡唑环、亚嘧啶环、亚吡嗪环、亚
 10 哒嗪环、亚噻吩环、或亚呋喃环。

可选地，所述式(I)所示的化合物为其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构
 体、非对映异构体、或这些异构体混合物形式。

可选地， n_1 、 n_2 、 n_3 各自独立地为 0、1 或 2。

可选地， n_1 为 1。

15 可选地， n_2 为 1。

可选地， n_3 为 1。

可选地， R_1 、 R_2 各自独立地选自：-H、氟、氯、溴、碘、羟基、羟烷基、氰基、 C_1 - C_7
 烷基(如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1-
 甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、异戊基、1-乙基丙基、新戊基、正己基、1-甲基戊
 20 基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、异己基、1,1-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、3,3-二甲基丁
 基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、正庚基、2-甲基己
 基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、
 3-乙基戊基或 2,2,3-三甲基丁基)、 C_1 - C_3 氘代烷基(如- CD_3 、- C_2D_5 、或- C_3D_7)、 C_1 - C_3 氘代
 烷氧基(如- OCD_3 、- OC_2D_5 、或- OC_3D_7)、 C_1 - C_3 卤代烷基(如- CF_3 、- CHF_2 、- CH_2F 、- C_2F_5 、
 25 - C_3F_7)、 C_1 - C_7 卤代烷氧基、 C_1 - C_7 烷氧基、环丙烷基、环丁烷基、环戊烷基、或环己烷基；
 可选地， R_1 为-H；可选地， R_2 为-H；

可选地， X_1 、 X_2 各自独立地选自： C_1 - C_7 亚烷基、-O-、-S-或-NR¹-；可选地， X_1 为
 C_1 - C_7 亚烷基（可选为，-CH₂-，亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基或亚异丁基）、
 -O-、或-S-；可选地， X_1 为 C_1 - C_7 亚烷基或-O-；可选地， X_1 为-CH₂-或-O-；可选地， X_2
 30 为-O-或-S-；可选地， X_2 为-O-；

可选地, R'选自-H、C₁-C₇烷基(如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、异戊基、1-乙基丙基、新戊基、正己基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、异己基、1,1-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、3,3-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、3-乙基戊基或2,2,3-三甲基丁基)、氘代烷基(可选为-CD₃、-C₂D₅、或-C₃D₇)或C₃-C₆环烷基(如环丙烷基、环丁烷基、环戊烷基、或环己烷基);

可选地, Ar为亚苯基或吡啶基, 所述亚苯基或吡啶基中的氢原子任选被1、2或3个取代基取代, 所述取代基各自独立地选自: F、Cl、Br、I、-CN、-Me、-CF₃、-CHF₂、-C₂H₅、-C₃H₇、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、-CD₃、-OCD₃、-OMe、-OCF₃、或-OCHF₂;

可选地, Ar为亚芳基; 可选地, Ar为亚苯基, 所述亚苯基中的氢原子任选被1个或2个取代基取代, 所述取代基为卤素; 可选地, 所述取代基为F;

可选地, Y为-H、-F、-Cl、-Br、-I、甲基、乙基、正丙基、异丙基、-CD₃、-OCD₃、-CF₃、-CHF₂、-CH₂F、-CH₂CF₃、-OCF₃、-OCHF₂、-OCH₂F、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、-OCH₃、-OC₂H₅、-OC₃H₇、或-OAr';

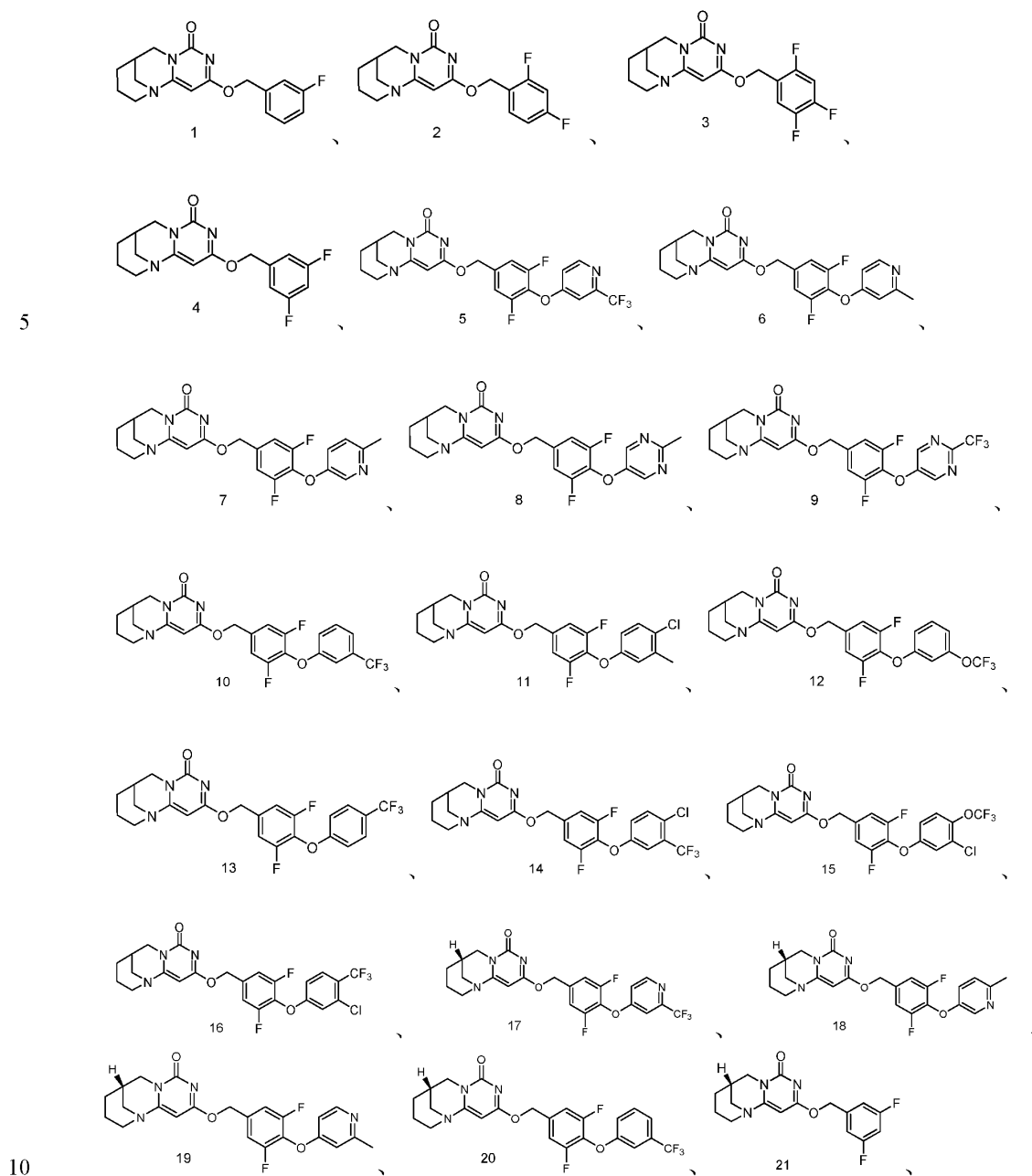
可选地, Y为H、卤素、或-OAr'; 可选地, Y为H、-F、或-OAr';

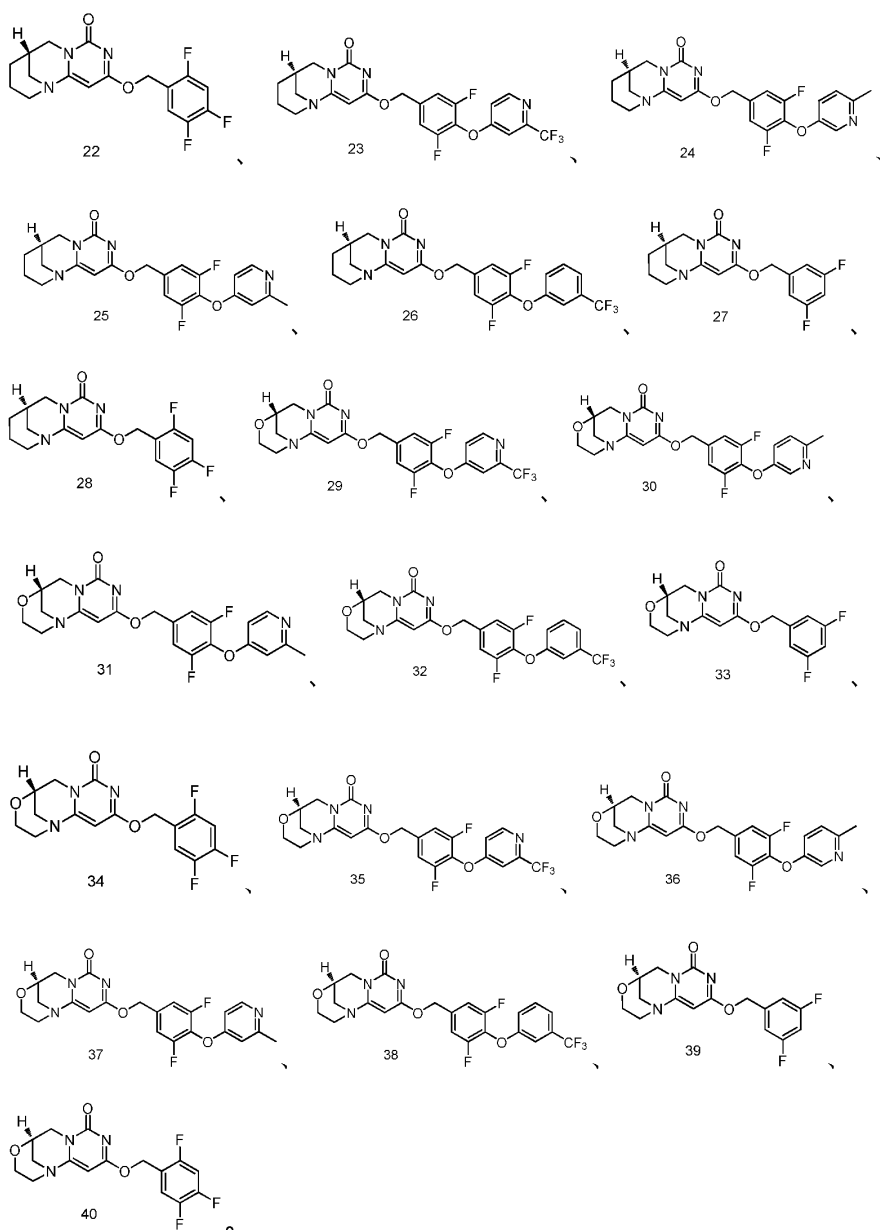
可选地, Ar'选自苯基、吡啶基、嘧啶基、噻吩基、吡咯基、吡唑基、或喹啉基, 所述苯基、吡啶基、嘧啶基、噻吩基、吡咯基、吡唑基、或喹啉基环中的氢原子各自独立地任选被1、2或3个取代基取代, 所述取代基各自独立地选自: F、Cl、Br、-CN、C₁-C₇烷基(可选为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、异戊基、1-乙基丙基、新戊基、正己基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、异己基、1,1-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、3,3-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、3-乙基戊基或2,2,3-三甲基丁基)、-CD₃、-OCD₃、C₁-C₆卤代烷基、-OCH₃、-OC₂H₅、-OC₃H₇、C₁-C₆卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、或C₃-C₆环烷基(可选为环丙烷基、环丁烷基、环戊烷基、环己烷基);

可选地, Ar'选自苯基、吡啶-3-基、吡啶-4-基或嘧啶-5-基, 可选地, 所述Ar'被1个或2个取代基取代, 所述取代基选自卤素、烷基、卤代烷基或卤代烷氧基; 可选地, 所述取代基选自F、Cl、-CH₃、-CF₃或-OCF₃;

可选地, Z 为 O 或 S; 可选地, Z 为 O。

可选地, 所述式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐中, 所述式(I) 化合物选自下列化合物:





5

可选地，所述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述药学上可接受的盐包括式 (I) 化合物的阴离子盐或阳离子盐；

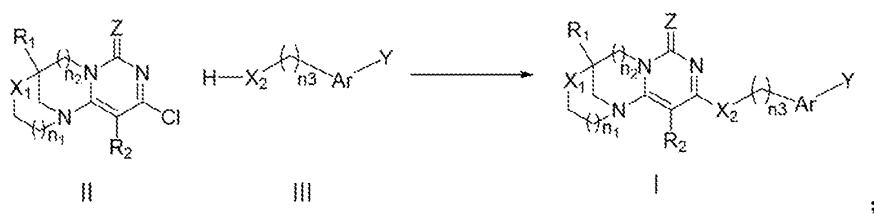
- 10 可选地，所述药学上可接受的盐包括式 I 化合物的碱金属的盐、碱土金属的盐、或铵盐；可选地，所述碱金属包括钠、钾、锂、或铯，所述碱土金属包括镁、钙、或锶；
可选地，所述药学上可接受的盐包括式 I 化合物与有机碱形成的盐；

可选地,所述有机碱包括三烷基胺、吡啶、喹啉、哌啶、咪唑、甲基吡啶、二甲氨基吡啶、二甲基苯胺、N-烷基吗啉、1,5-二氮杂双环[4.3.0]壬烯-5、1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳烯-7、1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷;可选地,所述三烷基胺包括三甲胺、三乙胺、或N-乙基二异丙胺;可选地,所述N-烷基吗啉包括N-甲基吗啉;

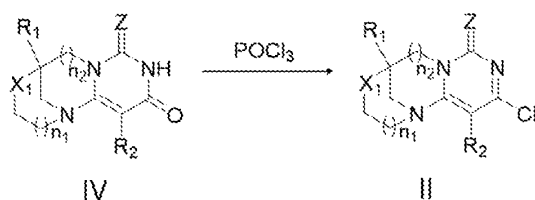
5 可选地,所述药学上可接受的盐包括式I化合物与酸形成的盐;

可选地,所述酸包括无机酸、或有机酸;可选地,所述无机酸包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、磷酸、或碳酸;可选地,所述有机酸包括甲酸、乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、柠檬酸、枸橼酸、酒石酸、碳酸、苦味酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、谷氨酸、或双羟萘酸。

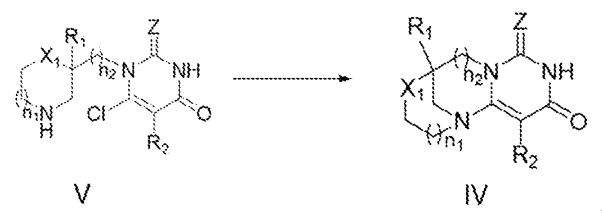
10 另一方面,提供一种式(I)化合物或其药学上可接受的盐的制备方法,其特征在于,包括:使式(II)化合物与式(III)化合物反应,生成式(I)化合物的步骤:



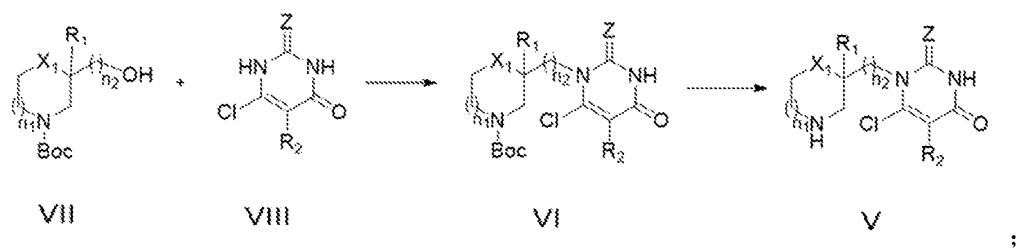
可选地,所述制备方法包括使式(IV)化合物与三氯氧磷反应生成式(II)化合物的步骤:



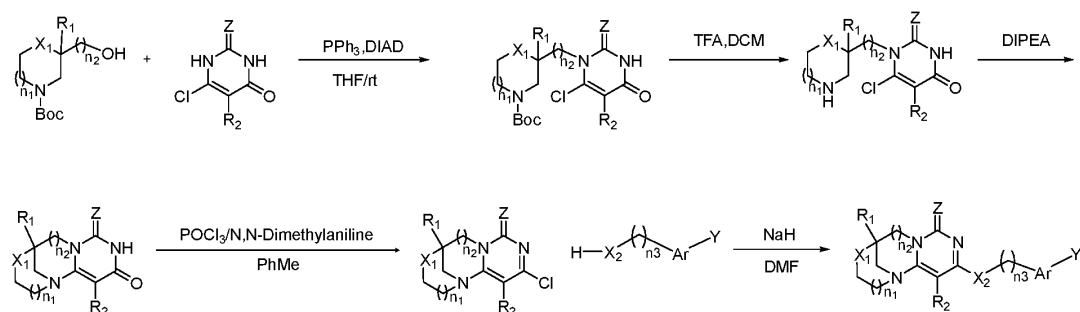
15 可选地,所述制备方法包括使式(V)化合物进行环化反应生成式(IV)化合物的步骤:



可选地,所述制备方法包括使式(VII)化合物与式(VIII)化合物进行反应生成式(VI)化合物,并进一步由式(VI)化合物脱保护基团生成式(V)化合物的步骤:



5 可选地,所述制备方法包括以下反应路线:



上述制备方法中的各式中, n_1 、 n_2 、 n_3 、 R_1 、 R_2 、 X_1 、 X_2 、 Z 、 Ar 和 Y 的定义如上所述。

对上述各反应的具体反应条件并没有特别的限制,可以采用现有的常规反应条件或步骤。

另一方面,提供一种药物组合物,其包含治疗有效量的上述式(I)化合物或其药学上可接受的盐中的一种或多种以及任选存在的药学上可接受的辅料。

15 可选地,所述药物组合物的剂型包括口服制剂、直肠给药制剂、或胃肠外给药制剂;

可选地,所述口服制剂包括固体制剂、或液体制剂;

可选地,所述固体制剂包括片剂、粉剂、粒剂、或胶囊;

可选地,所述液体制剂包括水或油悬浮剂、或糖浆;

可选地，所述胃肠外给药制剂包括注射用的溶液、或者水或油性悬浮剂。

另一方面，提供上述式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐，或者上述药物组合物在制备Lp-PLA2抑制剂中的用途。

5 另一方面，提供上述式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐，或者上述药物组合物在制备治疗神经退行性相关疾病的药物中的用途；

可选地，所述神经退行性相关疾病包括阿尔茨海默病 (AD)、青光眼、年龄相关性黄斑变性 (AMD)。

另一方面，提供上述的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐，或者上述药物组合物在制备治疗心血管疾病、糖尿病性黄斑水肿 (DME) 或前列腺疾病的药物中的用途；

10 可选地，所述心血管疾病包括动脉粥样硬化。

有益效果：

式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐是一种桥环嘧啶酮类化合物，是全新的Lp-PLA2抑制剂。可用于治疗神经退行性相关疾病，如阿尔茨海默病 (AD)、青光眼和年龄相关的黄斑变性 (AMD)，或者包括动脉粥样硬化等的心血管疾病、糖尿病性黄斑水肿 (DME) 15 或前列腺疾病等。

具体实施方式

通过以下实施例对本发明进行进一步说明。应当理解的是，此处实施例仅用于示例性对本发明进行说明，并不以任何方式限制本发明的范围。

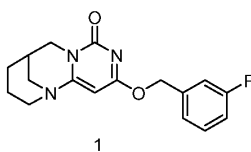
20 本发明的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成，也可购买自 ABCR GmbH & Co. KG, Acros Organics, Aldrich Chemical Company, 韶远化学科技(Accela ChemBio Inc)、达瑞化学品等公司。

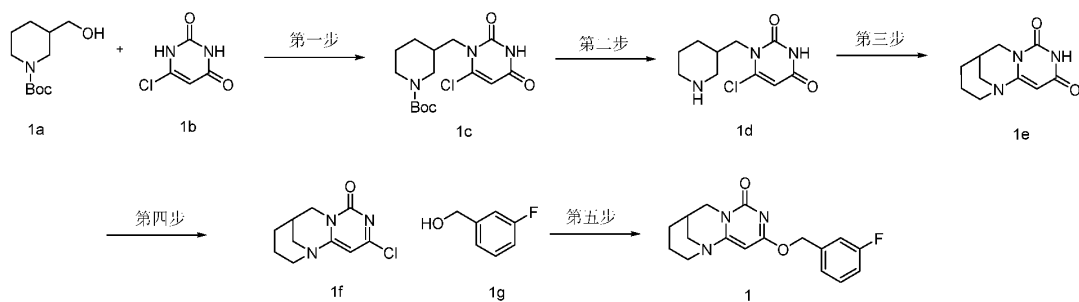
实施例中无特殊说明，溶液是指水溶液。

实施例中无特殊说明，反应的温度为室温，例如 20℃~30℃。

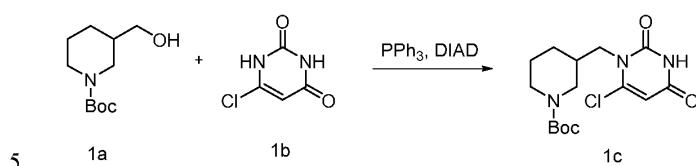
25

实施例 1 化合物 1 的制备



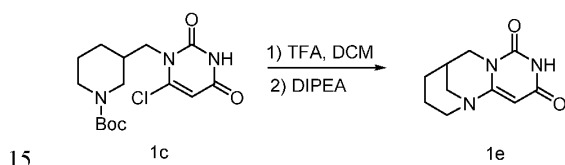


第一步：化合物 **1c** 的制备



室温下将 6-氯尿嘧啶 **1b** (8.5 g, 58.0 mmol)、3-(羟甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 **1a** (15 g, 69.6 mmol) 和三苯基膦 (22.8 g, 86.9 mmol) 溶于 250 mL 的无水四氢呋喃和 25 mL 的无水 N,N -二甲基甲酰胺混合溶剂中, 氮气保护和 0°C 下滴加偶氮二甲酸二异丙酯 (23 mL, 115.8 mmol), 在 0°C 下搅拌反应 2 小时后, 升温到室温反应过夜, 过滤反应液, 用乙酸乙酯萃取 (50 mL $\times$ 3), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (二氯甲烷/甲醇=20/1) 纯化, 得到无色油状产物 **1c** (8.34 g, 产率: 41.8%)。

第二、三步：化合物 **1e** 的制备



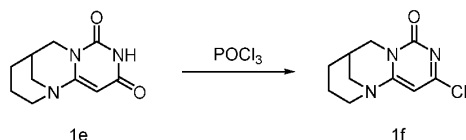
室温下将化合物 3-(((6-氯-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 **1c** (8.34 g, 24.3 mmol) 溶于 80 mL 的二氯甲烷中, 0°C 下加入 20 mL 的三氟乙酸, 室温下搅拌反应 2 小时, 将反应液减压浓缩, 直接进行下一步反应。将上一步的粗品溶于 100 mL 乙腈中, 室温下加入二异丙基乙胺 (9.3 g, 72.9 mmol), 搅拌反应 4 小时, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (二氯甲烷/甲醇=20/1) 纯化,

得到白色固体产物 **1e** (4.7 g, 93.3 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.01 (s, 1H), 5.09 (s, 1H), 3.84 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 1.89 – 1.68 (m, 2H), 1.61 – 1.46 (m, 1H), 1.36 (m, 1H).

5

第四步：化合物 **1f** 的制备



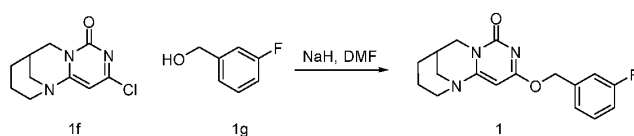
室温下将化合物 **1e** (2.0 g, 9.7 mmol) 和二甲基苯胺 (2.34 g, 19.3 mmol) 溶于甲苯中，滴加三氯氧磷 (1.48 g, 9.7 mmol)，加热回流 4 小时后，用冰水淬灭反应，减压浓缩，用乙酸乙酯萃取(60 mL×3)，合并有机相，用饱和氯化钠水溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥剂，滤液减压浓缩，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化，得到白色固体产物 **1f** (0.89 g, 40.7 %).

10

15

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.06 (s, 1H), 4.06 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.52 (m, 1H), 3.29 (m, 1H), 3.22 – 3.15 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 2.52 (m, 1H), 2.01 – 1.85 (m, 2H), 1.62 – 1.44 (m, 2H).

第五步：化合物 **1** 的制备

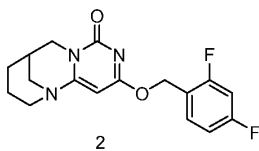


将(3-氟苯基)甲醇 **1g** (30 mg, 0.24 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中，0⁰C 下加入氢化钠 (矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后，加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后，加入少量水淬灭反应，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化，得到白色固体产物 **1** (8 mg, 11.5%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.32 (m, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.04 – 6.97 (m, 1H), 5.60 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.06 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.44 (m, 1H), 3.29 – 3.19 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 2.00 – 1.82 (m, 2H), 1.58 – 1.45 (m, 2H).

25

实施例 2 化合物 2 的制备



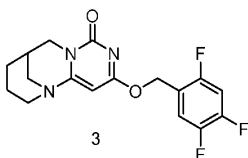
5

将(2,4-二氟苯基)甲醇 (35mg, 0.24 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0°C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **2** (10 mg, 13.6%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.49 (m, 1H), 6.94 – 6.80 (m, 2H), 5.58 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 4.09 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 3.29 – 3.20 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 2.02 – 1.83 (m, 2H), 1.57 – 1.47 (m, 2H).

实施例 3 化合物 3 的制备

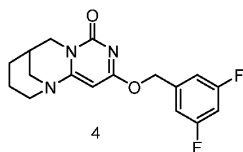
15



将(2,4,5-三氟苯基)甲醇 (39 mg, 0.24 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0°C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **3** (12 mg, 15.5%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.32 (m, 1H), 6.93 (m, 1H), 5.57 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.06 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 3.28 – 3.21 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 1.93 (m, 2H), 1.50 (m, 2H). MS (ESI): *m/z* 352.1 [M+H]⁺。

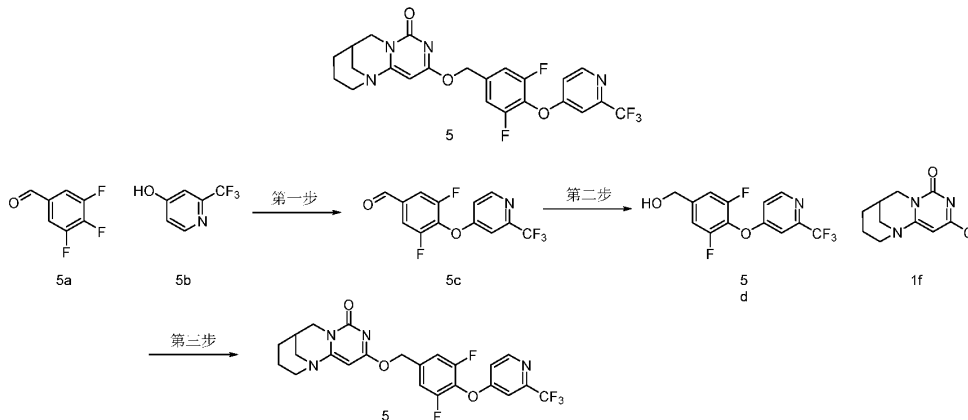
实施例 4 化合物 4 的制备



将(3,5-二氟苯基)甲醇 (35 mg, 0.24 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 5
 0⁰ C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **4** (6 mg, 8.2%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.99 – 6.93 (m, 2H), 6.81 – 6.72 (m, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.09 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.53 – 3.43 (m, 1H), 3.33 – 3.20 (m, 1H), 3.17 (m, 10
 1H), 3.06 (m, 1H), 2.45 (m, 1H), 1.96 (m, 2H), 1.54 (m, 2H).

实施例 5 化合物 5 的制备



15

第一步: 化合物 5c 的制备

室温下将 2-(三氟甲基)吡啶-4-醇 **5b** (0.85 g, 5.2 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (1 g, 6.2 mmol) 和碳酸钾 (0.93 g, 6.76 mmol) 溶于 30 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90 °C 搅拌反应 1 小时, 冷却到室温后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50 mL × 3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 5/1)纯化得到黄色固体产物 **5c** (1.47g, 产率: 20

93.2%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.97 (s, 1H), 8.65 (m, 1H), 7.63 (m, 2H), 7.27 (m, 1H), 7.01 (m, 1H)。

第二步：化合物 **5d** 的制备

5 室温下将 3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)氧基)苯甲醛 **5c** (1.47 g, 4.85 mmol) 溶于 50 mL 乙醇中，在 0 °C 加入 NaBH_4 (184 mg, 4.85 mmol)，室温搅拌反应 0.5 小时，减压浓缩，加入水，用乙酸乙酯萃取(100 mL $\times$ 2)，合并有机相，用饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥剂，滤液减压浓缩，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 2/1) 纯化得到白色固体产物 **5d** (1.04 g, 产率：70.3%)。

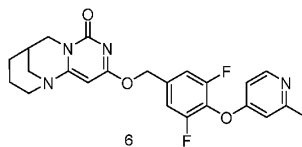
10 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.59 (m, 1H), 7.24 (m, 1H), 7.11 (m, 2H), 6.99 (m, 1H), 4.75 (m, 2H), 2.19 (m, 1H)。

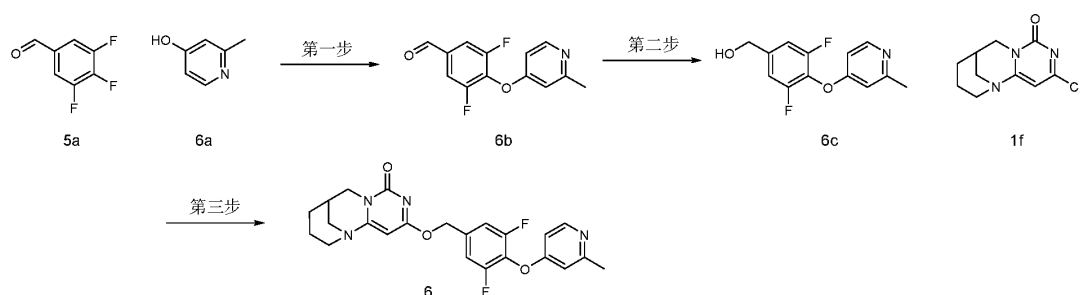
第三步：化合物 **5** 的制备

将(3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇 **5d** (67 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中，0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量，18 mg, 0.44 mmol)，室温下搅拌反应 5 分钟后，加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22mmol)，搅拌反应 1 小时后，加入少量水淬灭反应，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化，得到白色固体产物 **5** (13 mg, 12 %)。

20 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.60 (m, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.15 (m, 2H), 6.99 (m, 1H), 5.64 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 4.08 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.27 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 1.91 (m, 2H), 1.53 (m, 2H) . MS (ESI): m/z 494.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 6 化合物 **6** 的制备





第一步：化合物 **6b** 的制备

室温下将 2-甲基吡啶-4-醇 **6a** (0.5 g, 4.6 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (0.88 g, 5.5 mmol) 和碳酸钾 (0.823 g, 5.95 mmol) 溶于 30 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90 °C 搅拌反应 2 小时, 冷却到室温后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯 = 10/1) 纯化得到黄色固体产物 **6b** (0.4 g, 产率: 34.9 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.94 (s, 1H), 8.39 (m, 1H), 7.62 – 7.56 (m, 2H), 6.70 – 6.66 (m, 2H), 2.52 (s, 3H).

第二步：化合物 **6c** 的制备

室温下将 3,5-二氟-4-((2-甲基吡啶-4-基)氧基)苯甲醛 **6b** (0.4 g, 1.6 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中, 在 0 °C 加入 NaBH₄ (71 mg, 1.86 mmol), 室温搅拌反应 0.5 小时, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100 mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯 = 4/1) 纯化得到无色油状产物 **6c** (0.40 g, 产率: 99 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.29 (m, 1H), 7.07 (m, 2H), 6.70 – 6.64 (m, 2H), 4.73 (s, 2H), 3.20 (m, 1H), 2.50 (s, 3H).

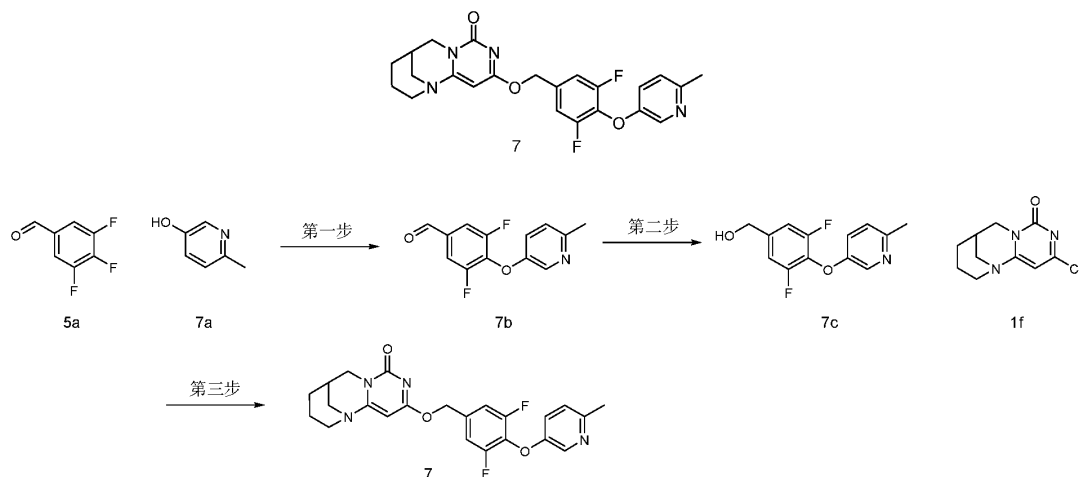
第三步：化合物 **6** 的制备

将 3,5-二氟-4-((2-甲基)吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇 **6c** (55 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠 (矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 **6** (8 mg, 8.2%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.36 (m, 1H), 7.10 (m, 2H), 6.70 – 6.66 (m, 2H), 5.63 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.08 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.30 – 3.22 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.44 (m, 1H), 1.91 (m, 2H), 1.53 (m, 2H). MS (ESI): m/z 441.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5

实施例 7 化合物 7 的制备



第一步：化合物 7b 的制备

10 室温下将 6-甲基吡啶-3-醇 **7a** (0.57 g, 5.2 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (1 g, 6.2 mmol) 和碳酸钾 (0.93 g, 6.76 mmol) 溶于 30 mL N,N -二甲基甲酰胺中, 在 90 °C 搅拌反应 1 小时, 冷却到室温后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50 mL $\times$ 3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯 = 10/1) 纯化得到黄色固体产物 **7b** (0.91 g, 产率: 69.2%)。

15 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.92 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.62 – 7.49 (m, 2H), 7.18 – 7.10 (m, 2H), 2.54 (s, 3H)。

第二步：化合物 7c 的制备

室温下将 3,5-二氟-4-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)苯甲醛 **7b** (0.91 g, 3.6 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中, 在 0 °C 加入 NaBH_4 (161 mg, 4.3 mmol), 室温搅拌反应 0.5 小时, 减压
20 浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100 mL $\times$ 2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油

醚/乙酸乙酯 = 4/1)纯化得到无色油状产物 **7c** (0.89 g, 产率: 98.4 %)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.20 (m, 1H), 7.16 – 6.98 (m, 4H), 4.69 (m, 2H), 2.88 (m, 1H), 2.50 (s, 3H)。

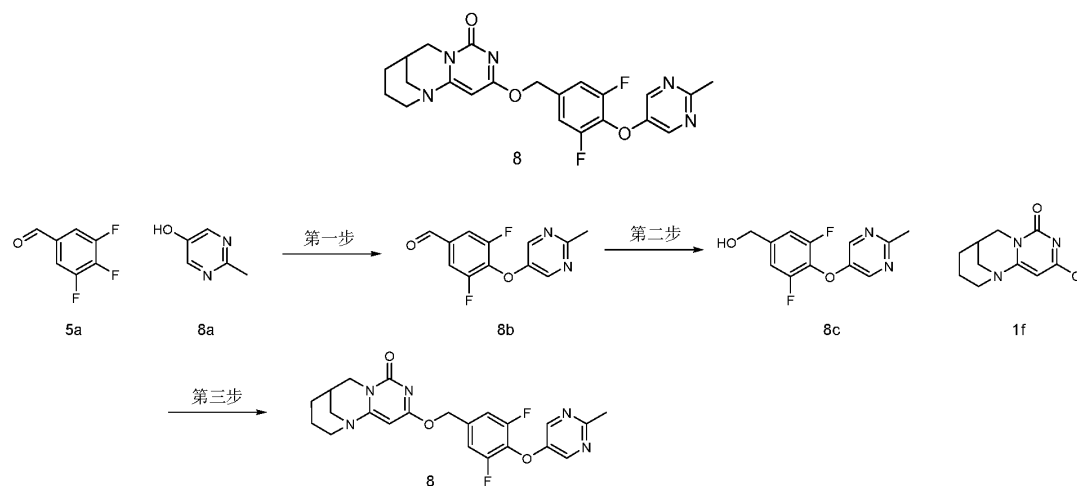
第三步: 化合物 **7** 的制备

5 将(3,5-二氟-4-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)苯基)甲醇 **7c** (56 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 $^\circ\text{C}$ 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 18 mg, 0.44mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **7** (17 mg, 17.5 %)。

10 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.27 (m, 1H), 7.10 (m, 4H), 5.62 (s, 1H), 5.39 (s, 2H), 4.07 (m, 7.3 Hz, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.29 – 3.21 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.50 (s, 3H), 2.43 (m, 1H), 1.97 – 1.86 (m, 2H), 1.51 (m, 2H). MS (ESI): m/z 441.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 8 化合物 **8** 的制备

15



第一步: 化合物 **8b** 的制备

20 室温下将 2-甲基嘧啶-5-醇 **8a** (0.25 g, 2.3 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (0.44 g, 2.8 mmol)和碳酸钾(0.41 g, 2.9 mmol) 溶于 30 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90 $^\circ\text{C}$ 搅拌反应 2 小时, 冷却下来后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取(50 mL $\times$ 3), 合并有机相, 用饱和

氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥剂，滤液减压浓缩，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 10/1)纯化得到黄色固体产物 **8b** (0.24 g, 产率: 41.7%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.93 (s, 1H), 8.39 (s, 2H), 7.64 – 7.54 (m, 2H), 2.72 (s, 3H)。

第二步：化合物 **8c** 的制备

5 室温下将 3,5-二氟-4-((2-甲基嘧啶-5-基)氧基)苯甲醛 **8b** (0.24 g, 0.96 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中，在 0 °C 加入 NaBH_4 (30 mg, 0.79 mmol)，室温搅拌反应 0.5 小时，减压浓缩，加入水，用乙酸乙酯萃取(100 mL $\times$ 2)，合并有机相，用氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥剂，滤液减压浓缩，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 4/1)纯化得到无色油状产物 **8c** (0.17 g, 产率: 70.2%)。

10 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.33 (s, 2H), 7.04 (m, 2H), 4.71 (m, 2H), 2.70 (s, 3H)。

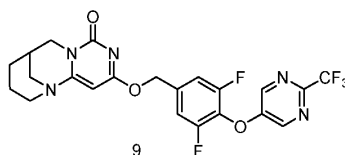
第三步：化合物 **8** 的制备

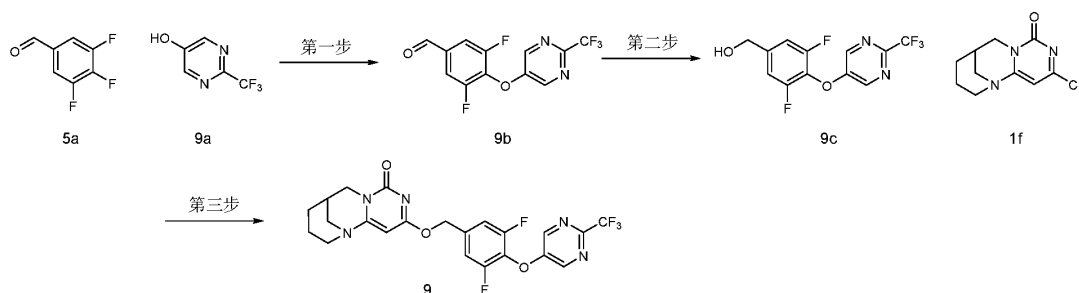
将(3,5-二氟-4-((2-甲基嘧啶-5-基)氧基)苯基)甲醇 **8c** (56 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中，0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.44 mmol)，室温下搅拌反应 5 分钟后，加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol)，搅拌反应 1 小时后，加入
15 少量水淬灭反应，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化，得到白色固体产物 **8** (10 mg, 10.3%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.35 (s, 2H), 7.11 (m, 2H), 5.62 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.06 (s, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.25 (s, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.71 (s, 3H), 2.44 (m, 1H), 1.91 (m, 2H), 1.52 (m, 2H) . MS (ESI): m/z 442.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

20

实施例 9 化合物 **9** 的制备





第一步：化合物 **9b** 的制备

室温下将 2-(三氟甲基)嘧啶-5-醇 **9a** (0.25 g, 1.52 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (0.29 g, 1.81 mmol) 和碳酸钾 (0.27 g, 1.98 mmol) 溶于 20 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90 °C 搅拌反应 2 小时, 冷却下来后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 10/1)纯化得到黄色固体产物 **9b** (0.24 g, 产率: 51.9%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.97 (s, 1H), 8.59 (s, 2H), 7.69 – 7.54 (m, 2H)。

第二步：化合物 **9c** 的制备

室温下将 3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)嘧啶-5-基)氧基)苯甲醛 **9b** (0.24 g, 0.79 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中, 在 0 °C 加入 NaBH_4 (30 mg, 0.79 mmol), 室温搅拌反应 0.5 h, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取(100 mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 4/1)纯化得到无色油状产物 **9c** (0.12 g, 产率: 49.6%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.54 (s, 2H), 7.12 (m, 2H), 4.74 (m, 2H), 2.23 (m, 1H)。

第三步：化合物 **9** 的制备

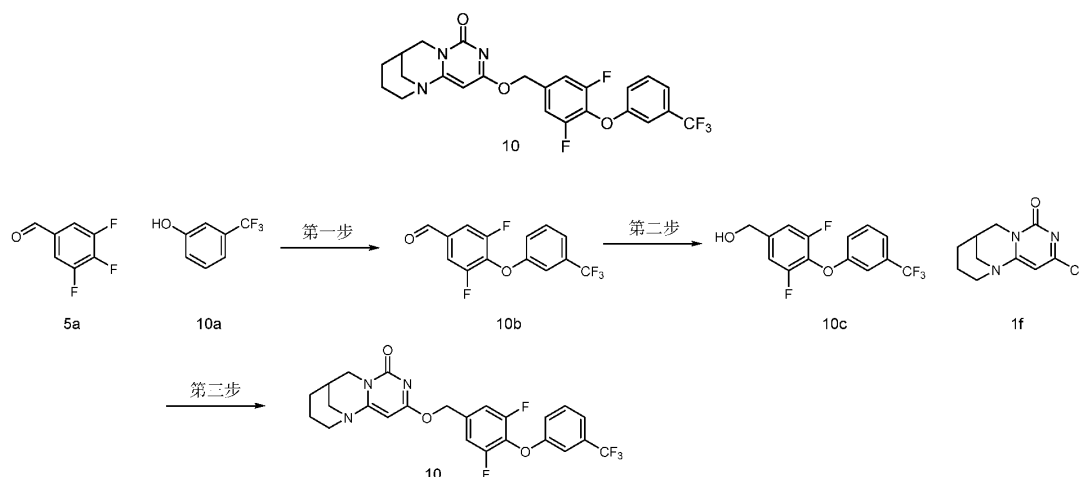
将 3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)嘧啶-5-基)氧基)苯基)甲醇 **9c** (73 mg, 0.24 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **9** (8 mg, 7.3%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.58 (s, 2H), 7.19 (m, 2H), 5.66 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 4.10

(m, 7.4 Hz, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.49 (m, 1H), 3.34 – 3.23 (m, 1H), 3.18 (m, 1H), 3.07 (m, 1H), 2.47 (m, 1H), 1.97 (m, 2H), 1.60 – 1.50 (m, 2H). MS (ESI): m/z 496.1 $[M+H]^+$.

实施例 10 化合物 10 的制备

5



第一步：化合物 10b 的制备

10 室温下将 3-(三氟甲基)苯酚 **10a** (1 g, 6.2 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **4a** (1.09 g, 6.8 mmol) 和碳酸钾 (1.1 g, 8.02 mmol) 溶于 30 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90 °C 搅拌反应 2 小时, 冷却下来后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯 = 10/1) 纯化得到黄色固体产物 **10b** (1.7 g, 产率: 90.7%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.94 (s, 1H), 7.63 – 7.55 (m, 2H), 7.46 (m, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.13 (m, 1H)。

第二步：化合物 10c 的制备

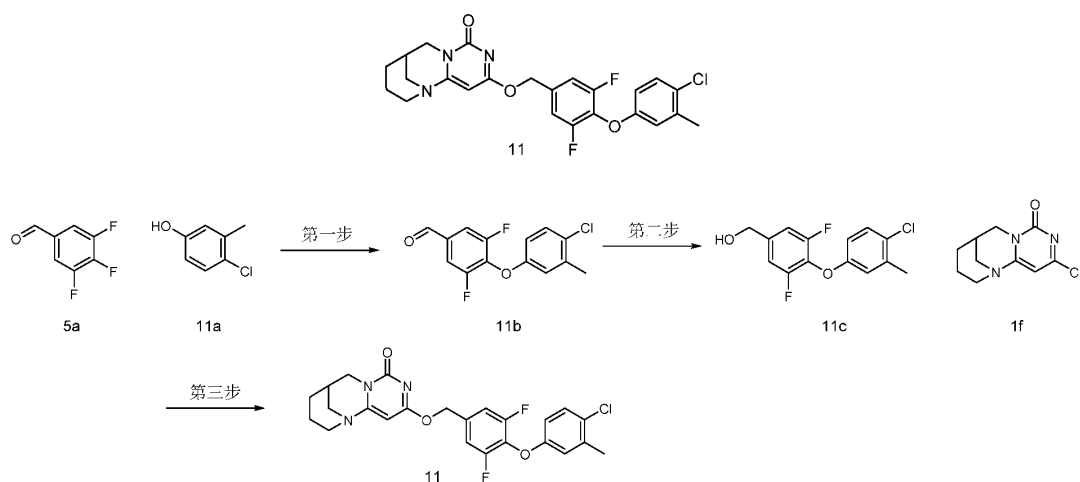
20 室温下将 3,5-二氟-4-(3-(三氟甲基)苯氧基)苯甲醛 **10b** (1.7 g, 5.6 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中, 在 0 °C 加入 NaBH_4 (213 mg, 5.6 mmol), 室温搅拌反应 0.5 小时, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100 mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯 = 4/1) 纯化得到无色油状产物 **10c** (1.27 g, 产率: 74.5%)。

第三步：化合物 **10** 的制备

将(3,5-二氟-4-(3-(三氟甲基)苯氧基)苯基)甲醇 **10c** (73 mg, 0.24 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **10** (6 mg, 5.5%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.42 (m, 1H), 7.33 (m, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.10 (m, 3H), 5.63 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.11 – 4.02 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.43 (m, 1H), 2.00 – 1.85 (m, 2H), 1.55 – 1.48 (m, 2H). MS (ESI): m/z 494.0 [M+H]⁺。

实施例 11 化合物 **11** 的制备



第一步：化合物 **11b** 的制备

室温下将 4-氯-3-甲基苯酚 **11a** (1 g, 7.0 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (1.2 g, 7.5 mmol) 和碳酸钾(1.3 g, 9.1 mmol) 溶于 30 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90 °C 搅拌反应 2 小时, 冷却下来后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 10/1)纯化得到黄色固体产物 **11b** (1.2 g, 产率: 60.6%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.92 (s, 1H), 7.61 – 7.51 (m, 2H), 7.30 – 7.23 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.73 (m, 1H), 2.34 (s, 3H)。

第二步：化合物 **11c** 的制备

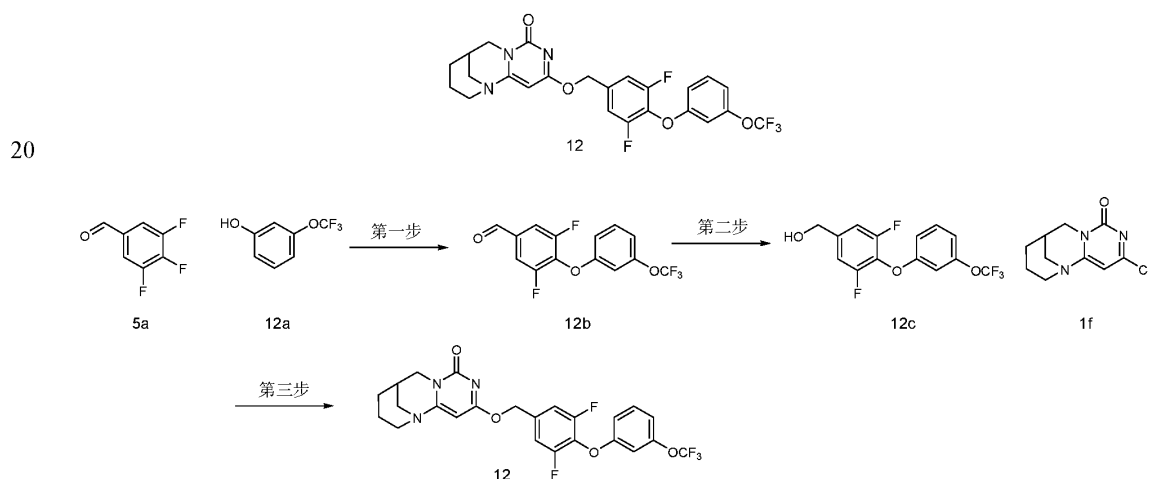
室温下将 4-(4-氯-3-甲基苯氧基)-3,5-二氟苯甲醛 **11b** (1.2 g, 4.2 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中，在 0 °C 加入 NaBH_4 (161 mg, 4.2 mmol)，室温搅拌反应 0.5 小时，减压浓缩，加入水，用乙酸乙酯萃取(100 mL $\times$ 2)，合并有机相，用饱和氯化钠水溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥剂，滤液减压浓缩，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 4/1)纯化得到无色油状产物 **11c** (0.89 g, 产率：74.4%)。

第三步：化合物 **11** 的制备

将 4-(4-氯-3-甲基苯氧基)-3,5-二氟苯甲醇 **11c** (77 mg, 0.27 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中，0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.42 mmol)，室温下搅拌反应 5 分钟后，加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol)，搅拌反应 1 小时后，加入少量水淬灭反应，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化，得到白色固体产物 **11** (9 mg, 8.6%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.27 (m, 1H), 7.12 (m, 2H), 6.86 (m, 1H), 6.74 (m, 1H), 5.66 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 4.11 (m, 1H), 3.84 (m, 1H), 3.50 (m, 1H), 3.34 – 3.25 (m, 1H), 3.19 (m, 1H), 3.08 (m, 1H), 2.47 (m, 1H), 2.36 (s, 3H), 1.98 (m, 2H), 1.61 – 1.51 (m, 2H)。

实施例 12 化合物 **12** 的制备



第一步：化合物 **12b** 的制备

室温下将 3-(三氟甲氧基)苯酚 **12a** (0.50 g, 2.8 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (0.5 g, 3.1 mmol)和碳酸钾(0.5 g, 3.64 mmol) 溶于 30 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90 °C 搅拌反应 2 小时, 冷却下来后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 10/1)纯化得到黄色固体产物 **12b** (0.73 g, 产率: 91.8 %)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.94 (s, 1H), 7.64 – 7.54 (m, 2H), 7.34 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 6.87 (m, 2H)。

10 第二步：化合物 **12c** 的制备

室温下将 4-(3-(三氟甲氧基)苯氧基)-3,5-二氟苯甲醛 **12b** (0.73 g, 2.3 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中, 在 0 °C 加入 NaBH_4 (86 mg, 2.28 mmol), 室温搅拌反应 0.5 小时, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取(100 mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 4/1)纯化得到无色油状产物 **12c** (0.57g, 产率: 77.4%)。

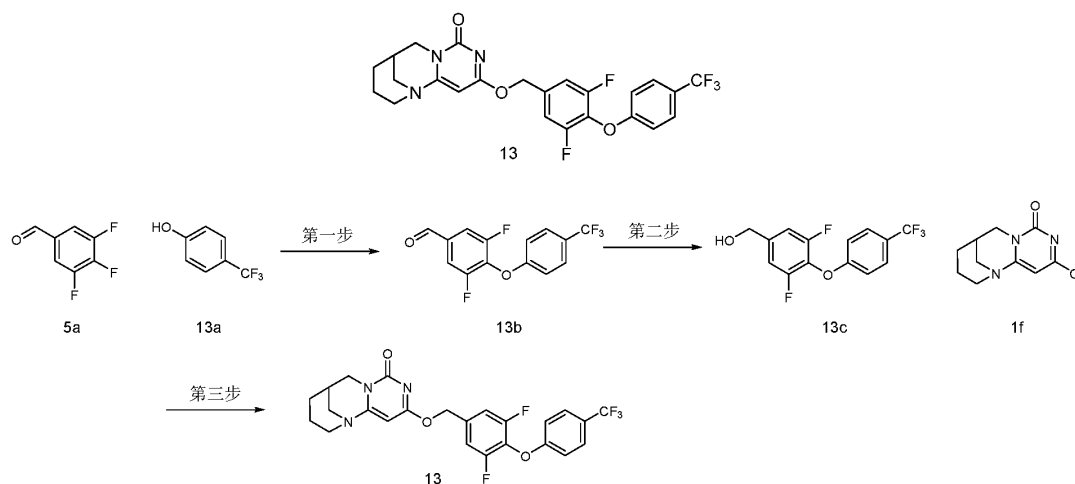
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.30 (m, 1H), 7.06 (m, 2H), 6.94 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.72 (m, 2H), 1.94 (m, 1H)。

第三步：化合物 **12** 的制备

将 4-(3-(三氟甲氧基)苯氧基)-3,5-二氟苯基) 甲醇 **12c** (70 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0°C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **12**(6 mg, 5.4%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.29 (m, 1H), 7.08 (m, 2H), 6.93 (m, 1H), 6.88 – 6.77 (m, 2H), 5.62 (s, 1H), 5.39 (s, 2H), 4.06 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.31 – 3.20 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.43 (m, 1H), 1.89 (m, 2H), 1.51 (m, 2H). MS (ESI): m/z 510.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

实施例 13 化合物 13 的制备



5

第一步：化合物 13b 的制备

室温下将 4-(三氟甲基)苯酚 **13a** (0.84 g, 5.2 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (1 g, 6.2 mmol) 和碳酸钾 (0.93 g, 6.76 mmol) 溶于 30 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90℃ 搅拌反应 1 小时, 冷却到室温倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯 = 5/1) 纯化得到黄色固体产物 **13b** (1.33 g, 产率: 84.6%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.94 (m, 1H), 7.59 (m, 4H), 7.04 (m, 2H)。

第二步：化合物 13c 的制备

15 室温下将 3,5-二氟-4-(4-(三氟甲基)苯氧基)苯甲醛 **13b** (1.33 g, 4.4 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中, 在 0℃ 加入 NaBH_4 (166 mg, 4.4 mmol), 室温搅拌反应 0.5 小时, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100 mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯 = 2/1) 纯化得到无色油状产物 **13c** (0.85g, 产率: 63.5%)。

20 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.57 (m, 2H), 7.09 – 7.00 (m, 4H), 4.72 (m, 2H), 2.03 (m, 1H)。

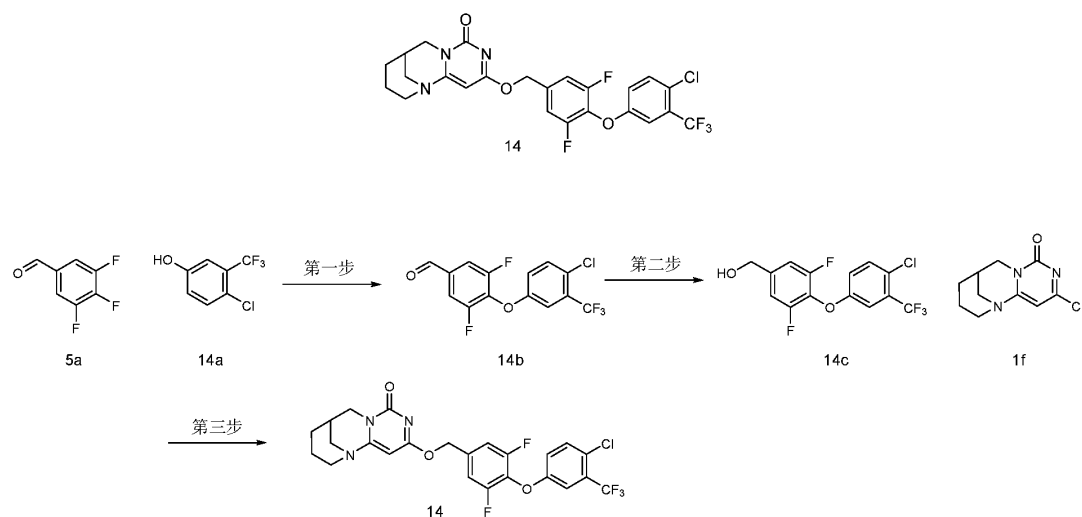
第三步：化合物 13 的制备

将 3,5-二氟-4-(4-(三氟甲基)苯氧基)苯基)甲醇 **13c** (67 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **13** (11 mg, 10.1%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.57 (m, 2H), 7.10 (m, 2H), 7.01 (m, 2H), 5.63 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.11 – 4.04 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.30 – 3.21 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 1.99 – 1.85 (m, 2H), 1.57 – 1.48 (m, 2H). MS (ESI): m/z 494.0 [M+H]⁺。

10

实施例 14 化合物 14 的制备



15

第一步: 化合物 14b 的制备

室温下将 4-氯-3-(三氟甲基)苯酚 **14a** (0.5 g, 2.5 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (0.45 g, 2.8 mmol)和碳酸钾(0.46 g, 3.3 mmol) 溶于 30 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90 °C 搅拌反应 2 小时, 冷却下来后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 10/1)纯化得到黄色固体产物 **14b** (0.6 g, 产率: 71.3%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.94 (s, 1H), 7.64 – 7.55 (m, 2H), 7.45 (m, 1H), 7.31 (m,

1H), 7.05 (m, 1H)。

第二步：化合物 **14c** 的制备

室温下将 4-(4-氯-3-(三氟甲基)苯氧基)-3,5-二氟苯甲醛 **14b** (0.6 g, 1.78 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中，在 0 °C 加入 NaBH₄ (67 mg, 1.78 mmol)，室温搅拌反应 0.5 小时，减压浓缩，加入水，用乙酸乙酯萃取(100 mL×2)，合并有机相，用饱和氯化钠水溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥剂，滤液减压浓缩，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 4/1)纯化得到白色固体状产物 **14c** (0.28 g, 产率：46.4%)。

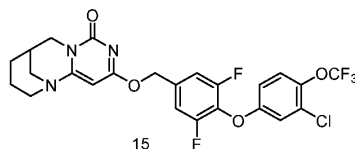
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.41 (m, 1H), 7.28 (m, 1H), 7.08 – 7.00 (m, 3H), 4.73 (m, 2H), 1.94 (m, 1H)。

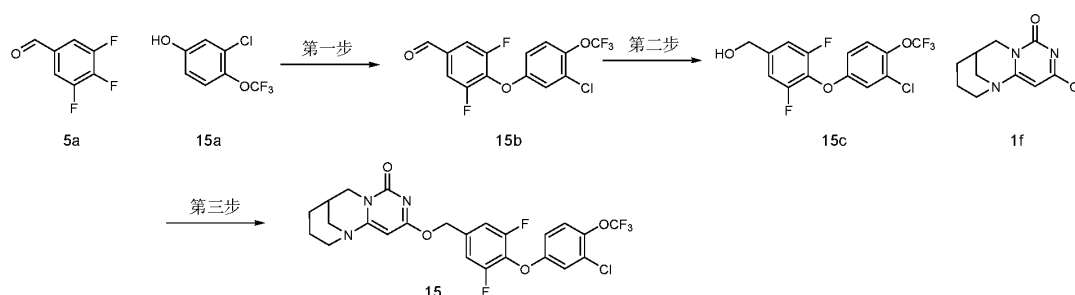
第三步：化合物 **14** 的制备

将 (4-(4-氯-3-(三氟甲基)苯氧基)-3,5-二氟苯基) 甲醇 **14c** (74 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中，0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.44 mmol)，室温下搅拌反应 5 分钟后，加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol)，搅拌反应 1 小时后，加入少量水淬灭反应，用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化，得到白色固体产物 **14** (22 mg, 18.9%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.41 (m, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.11 (m, 2H), 7.01 (m, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.07 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.30 – 3.21 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 1.95 (m, 2H), 1.57 – 1.47 (m, 2H)。

实施例 15 化合物 **15** 的制备





第一步：化合物 **15b** 的制备

室温下将 3-氯-4-(三氟甲氧基)苯酚 **15a** (0.50 g, 2.4 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (0.41 g, 2.6 mmol) 和碳酸钾 (0.42 g, 3.04 mmol) 溶于 20 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90 °C 搅拌反应 2 小时, 冷却下来后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 10/1)纯化得到黄色固体产物 **15b** (0.62 g, 产率: 73.2%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.94 (s, 1H), 7.63 – 7.54 (m, 2H), 7.29 (m, 1H), 7.07 (m, 1H), 6.90 (m, 1H)。

第二步：化合物 **15c** 的制备

室温下将 4-(3-氯-4-(三氟甲氧基)苯氧基)-3,5-二氟苯甲醛 **15b** (0.62 g, 1.8 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中, 在 0 °C 加入 NaBH₄ (62 mg, 1.94 mmol), 室温搅拌反应 0.5 小时, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取(100 mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 4/1)纯化得到无色油状产物 **15c** (0.53 g, 产率: 83.0 %)。

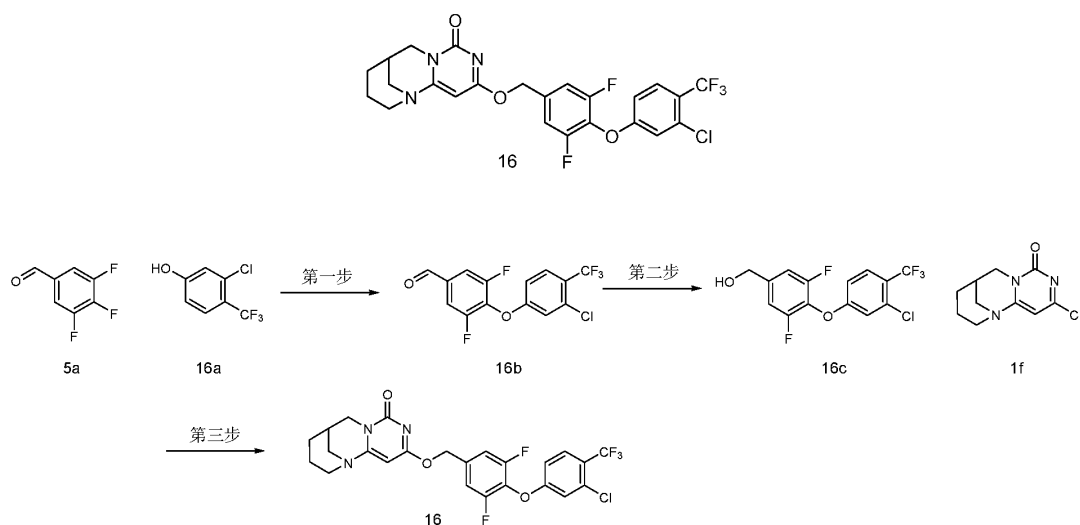
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.25 (m, 1H), 7.06 (m, 2H), 7.01 (m, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.72 (s, 2H), 2.04 (m, 1H)。

第三步：化合物 **15** 的制备

将 4-(3-氯-4-(三氟甲氧基)苯氧基)-3,5-二氟苯基) 甲醇 **15c** (79 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **15** (7 mg, 5.8%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.24 (m, 1H), 7.10 (m, 2H), 7.03 (m, 1H), 6.87 (m, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.10 – 4.03 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.30 – 3.21 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 1.95 (m, 2H), 1.56 – 1.49 (m, 2H).

5 实施例 16 化合物 16 的制备



10 第一步：化合物 16b 的制备

室温下将 3-氯-4-(三氟甲基)苯酚 **16a** (0.25 g, 1.23 mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛 **5a** (0.22 g, 1.4 mmol) 和碳酸钾 (0.23 g, 1.65 mmol) 溶于 20 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 在 90 °C 搅拌反应 2 小时, 冷却下来后倒入 100 mL 冰水, 用乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 10/1)纯化得到黄色固体产物 **16b** (0.32 g, 产率: 77.3%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.95 (s, 1H), 7.69 – 7.56 (m, 3H), 7.10 (m, 1H), 6.92 (m, 1H)。

第二步：化合物 16c 的制备

室温下将 4-(3-氯-4-(三氟甲基)苯氧基)-3,5-二氟苯甲醛 **16b** (0.32 g, 0.95 mmol) 溶于 50 mL 甲醇中, 在 0 °C 加入 NaBH_4 (36 mg, 0.94 mmol), 室温搅拌反应 0.5 小时, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取(100 mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤,

无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯 = 4/1)纯化得到白色固体状产物 **16c** (0.15 g, 产率: 46.6%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 (m, 1H), 7.13 – 7.00 (m, 3H), 6.90 (m, 1H), 4.74 (m, 2H), 1.88 (m, 1H)。

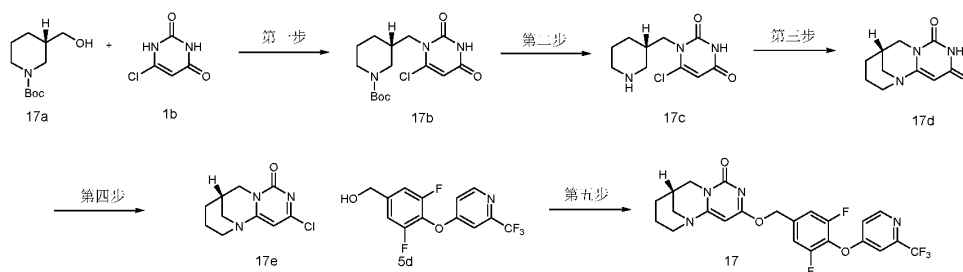
5 第三步: 化合物 **16** 的制备

将(4-(3-氯-4-(三氟甲基)苯氧基)-3,5-二氟苯基)甲醇(74.5 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0°C 下加入氢氧化钠(矿物油中 60%含量, 18 mg, 0.44 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **1f** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色

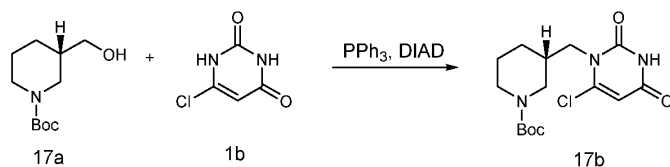
10 固体产物 **16** (13 mg, 11.2%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 (m, 1H), 7.12 (m, 2H), 7.07 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.12 – 4.03 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 3.32 – 3.21 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 1.91 (m, 2H), 1.56 – 1.49 (m, 2H)。

15 实施例 17 化合物 **17** 的制备



第一步: 化合物 **17b** 的制备



20

室温下将 6-氯尿嘧啶(8.2 g, 55.9 mmol)、(S)-3-(羟甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 **17a** (12 g, 55.7 mmol)和三苯基膦 (20 g, 76.2 mmol) 溶于 250 mL 的无水四氢呋喃和 50 mL 的无水 *N,N*-二甲基甲酰胺混合溶剂中, 氮气保护和 0°C 下滴加偶氮二甲酸二异丙酯(20 ml,

111.6 mmol), 在 0℃下搅拌反应 2 小时后, 升温到室温反应过夜, 过滤反应液, 用乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 合并有机相, 饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到无色油状产物 **17b** (7.8 g, 产率: 40.6%)。

5

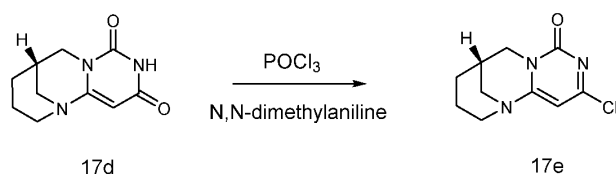
第二、三步: 化合物 **17d** 的制备



室温下将化合物 (S)-3-(((6-氯-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 **17b** (7.8 g, 22.7 mmol) 溶于 80 mL 的二氯甲烷中, 0℃下加入 10mL 的三氟乙酸, 室温下搅拌反应 2 小时, 将反应液减压浓缩, 直接进行下一步反应。将上一步的粗品溶于 80 mL 乙腈中, 室温下加入二异丙基乙胺 (8.8 g, 68.1 mmol), 搅拌反应 4 小时, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物 **17d** (1.5 g, 31.9%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.51 (s, 1H), 5.35 (s, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.78 – 3.64 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 3.24 (m, 1H), 3.18 – 2.96 (m, 2H), 2.37 (m, 1H), 2.00 – 1.83 (m, 2H), 1.72 – 1.49 (m, 2H).

第四步: 化合物 **17e** 的制备



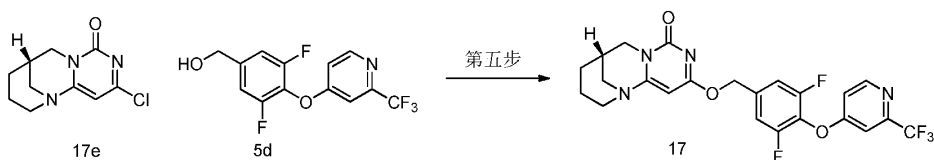
20

室温下将化合物 **17d** (0.51 g, 2.46 mmol) 和二甲基苯胺 (0.3 g, 2.47 mmol) 溶于甲苯中, 滴加三氯氧磷 (0.76 g, 4.96 mmol), 加热回流 4 小时后, 用冰水淬灭反应, 减压浓缩, 用乙酸乙酯萃取(60 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物 **17e** (0.24 g, 43.2%)。

25

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.05 (s, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.20 – 3.14 (m, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.51 (m, 1H), 1.92 (m, 2H), 1.59 – 1.41 (m, 2H).

5 第五步：化合物 **17** 的制备

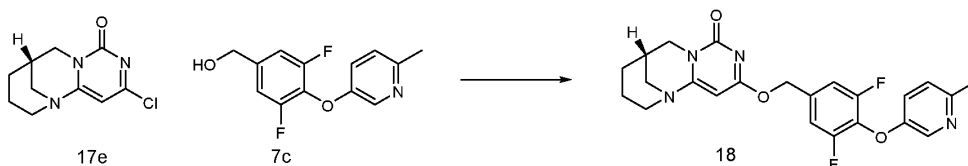


将(3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇 **5d** (67 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0°C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 18 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **17e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **17** (28 mg, 25.7%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.59 (m, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.15 (m, 2H), 6.98 (m, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.07 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.27 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 1.90 (m, 2H), 1.52 (m, 2H). MS (ESI): m/z 495.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15

实施例 18 化合物 **18** 的制备

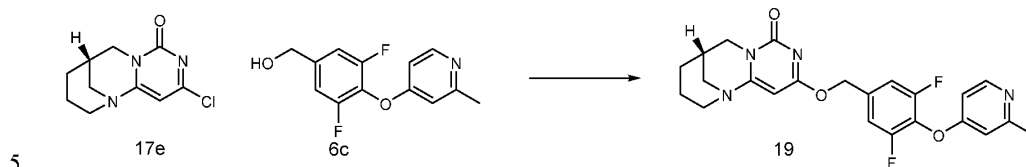


将(3,5-二氟-4-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)苯基)甲醇 **7c** (56 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0°C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **17e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **18** (22 mg, 22.7%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.27 (m, 1H), 7.10 (m, 4H), 5.62 (s, 1H), 5.39 (s, 2H), 4.07

(m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.29 – 3.21 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.44 (m, 1H), 1.99 – 1.84 (m, 2H), 1.51 (m, 2H). MS (ESI): m/z 441.2 $[M+H]^+$.

实施例 19 化合物 19 的制备



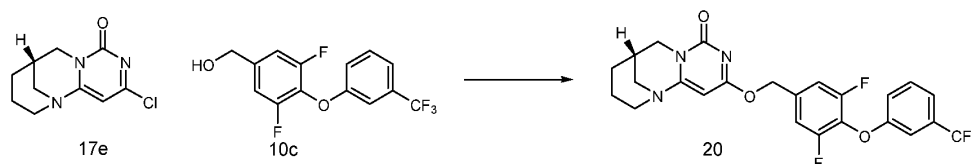
将(3,5-二氟-4-((2-甲基)吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇 6c (56 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 17e (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 19 (58 mg, 59.8%)。

10

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.35 (m, 1H), 7.10 (m, 2H), 6.67 (m, 2H), 5.62 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.07 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.30 – 3.18 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.50 (s, 3H), 2.43 (m, 1H), 1.91 (m, 2H), 1.55 – 1.46 (m, 2H). MS (ESI): m/z 441.2 $[M+H]^+$.

15

实施例 20 化合物 20 的制备



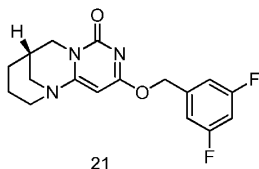
将(3,5-二氟-4-(3-(三氟甲基)苯氧基)苯基)甲醇 10c (67 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 17e (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 20 (46 mg, 42.4%)。

20

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.41 (m, 1H), 7.32 (m, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.09 (m, 3H),

5.62 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.06 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.30 – 3.19 (m, 1H), 3.14 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.43 (m, 1H), 1.98 – 1.84 (m, 2H), 1.57 – 1.46 (m, 2H). MS (ESI): m/z 494.1 $[M+H]^+$.

5 实施例 21 化合物 21 的制备

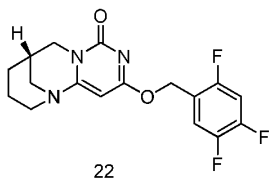


将 3,5-二氟苯甲醇 (32 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 17e (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 21 (17mg, 23.2%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.96 – 6.87 (m, 2H), 6.74 (m, 1H), 5.60 (s, 1H), 5.37 (s, 2H), 4.06 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 3.23 (m, 1H), 3.14 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 1.99 – 1.83 (m, 2H), 1.57 – 1.46 (m, 2H). MS (ESI): m/z 334.1 $[M+H]^+$.

15

实施例 22 化合物 22 的制备

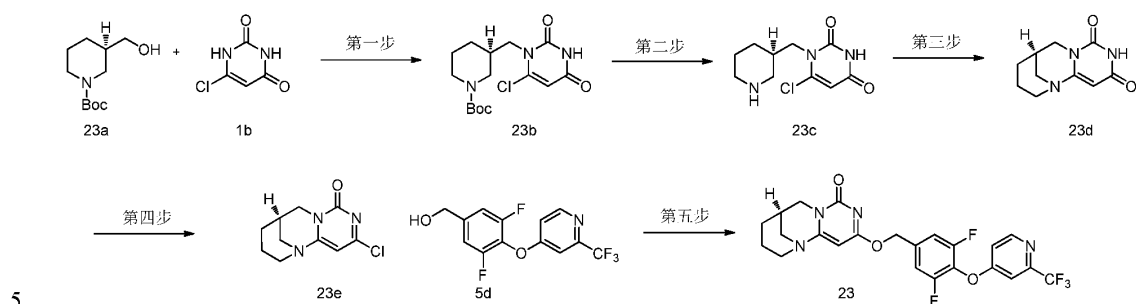


将 2,4,5-三氟苯甲醇 (36 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 17e (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 22 (36 mg, 46.6%)。

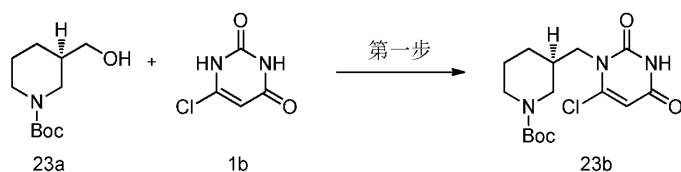
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.32 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 5.57 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.06 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.44 (m, 1H), 3.29 – 3.17 (m, 1H), 3.14 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.42 (m,

1H), 1.99 – 1.83 (m, 2H), 1.55 – 1.45 (m, 2H). MS (ESI): m/z 352.1 $[M+H]^+$.

实施例 23 化合物 23 的制备

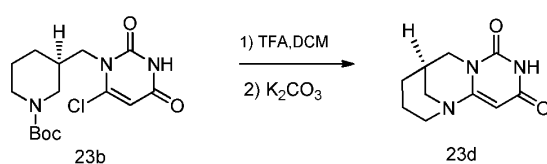


第一步：化合物 23b 的制备



- 10 室温下将 6-氯尿嘧啶(6.1 g, 41.6 mmol)、(R)-3-(羟甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 **23a** (9 g, 41.8 mmol)和三苯基膦 (16.3 g, 62.1 mmol) 溶于 250 mL 的无水四氢呋喃和 50 mL 的无水 N,N-二甲基甲酰胺混合溶剂中, 氮气保护和 0℃下滴加偶氮二甲酸二异丙酯(16 ml, 83 mmol), 在 0℃下搅拌反应 2 小时后, 升温到室温反应过夜, 过滤反应液, 用乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 合并有机相, 饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥
- 15 剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到无色油状产物 **23b** (8.3 g, 产率: 58.0%)。

第二、三步：化合物 23d 的制备

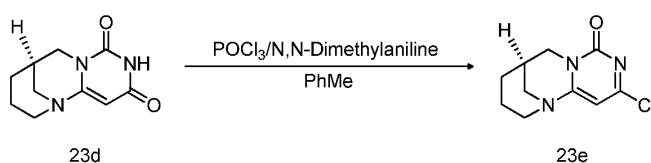


20

室温下将化合物 (R) -3-(((6-氯-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基)哌啶-1-甲酸叔丁酯 **23b** (8.3 g, 24.1 mmol) 溶于 80 mL 的二氯甲烷中, 0℃下加入 10mL 的三氟乙酸, 室温下搅拌反应 2 小时, 将反应液减压浓缩, 直接进行下一步反应。将上一步的粗品溶于 80 mL 乙腈中, 室温下加入碳酸钾 (7.0 g, 50.9 mmol), 加热回流反应过夜, 过滤, 滤饼分别用乙腈和甲醇冲洗, 将滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (二氯甲烷/甲醇=20/1) 纯化, 得到白色固体产物 **23d** (1.5 g, 29.9%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.85 (s, 1H), 5.33 (s, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 3.23 (m, 1H), 3.11 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.35 (m, 1H), 1.99 – 1.82 (m, 2H), 1.67 – 1.47 (m, 2H).

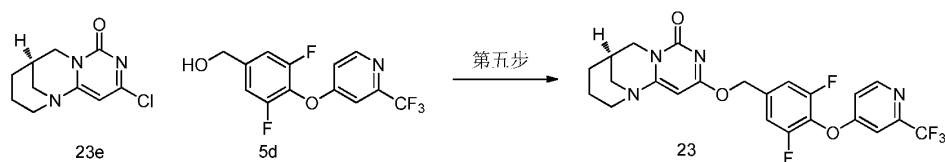
10 第四步: 化合物 **23e** 的制备



室温下将化合物 **23d** (0.5 g, 2.4 mmol) 和二甲基苯胺 (0.29 g, 2.4 mmol) 溶于甲苯中, 滴加三氯氧磷 (0.74 g, 4.8 mmol), 加热回流 4 小时后, 用冰水淬灭反应, 减压浓缩, 用乙酸乙酯萃取 (60 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (二氯甲烷/甲醇=20/1) 纯化, 得到白色固体产物 **23e** (0.31 g, 57.2%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.05 (s, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.22 – 3.13 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 2.52 (m, 1H), 2.01 – 1.82 (m, 2H), 1.61 – 1.39 (m, 2H).

第五步: 化合物 **23** 的制备

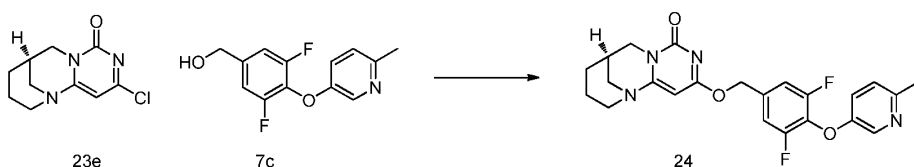


将(3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇 **5d** (67 mg, 0.22 mmol)溶于

5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **23e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **23** (25 mg, 23.0 %).

- 5 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.59 (m, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.14 (m, 2H), 6.98 (m, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.42(s, 2H), 4.07 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 2.00 – 1.84 (m, 2H), 1.56 – 1.46 (m, 2H) . MS (ESI): m/z 495.1 [M+H]⁺.

10 实施例 24 化合物 24 的制备

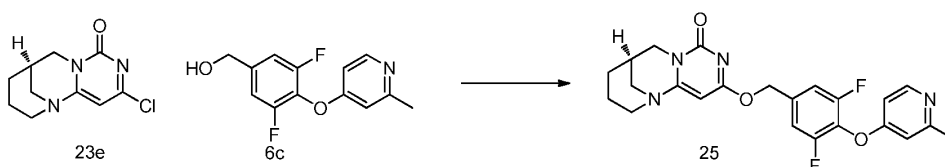


- 将(3,5-二氟-4-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)苯基)甲醇 **7c** (56 mg , 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **23e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入
15 少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **24** (52 mg, 53.7 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.27 (m, 1H), 7.09 (m, 4H), 5.61 (s, 1H), 5.38 (s, 2H), 4.06 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.28 – 3.20 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.43 (m, 1H), 1.92 (m, 2H), 1.57 – 1.45 (m, 2H). MS (ESI): m/z 441.2 [M+H]⁺.

20

实施例 25 化合物 25 的制备

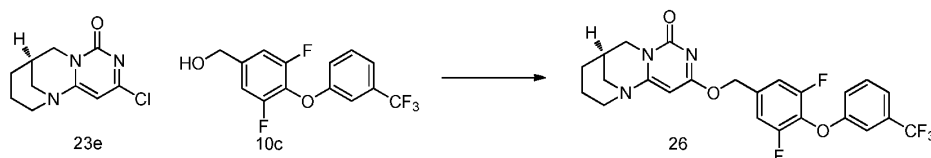


将(3,5-二氟-4-((2-甲基)吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇 **6c** (56 mg , 0.22 mmol) 溶于 5

mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **23e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 **25** (38 mg, 39.2%)。

- 5 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.36 (m, 1H), 7.11 (m, 2H), 6.67 (m, 2H), 5.63 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.07 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.32 – 3.21 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.44 (m, 1H), 2.00 – 1.83 (m, 2H), 1.59 – 1.46 (m, 2H) . MS (ESI): m/z 441.2 [M+H]⁺。

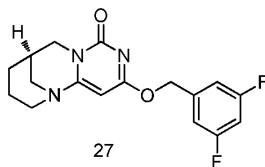
10 实施例 26 化合物 26 的制备



- 将(3,5-二氟-4-(3-(三氟甲基)苯氧基)苯基)甲醇 **10c** (67 mg , 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **23e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少
 15 量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **26** (58 mg, 53.4%)。

- ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.42 (m, 1H), 7.33 (m, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.11 (m, 3H), 5.63 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.07 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.30 – 3.20 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.43 (m, 1H), 1.98 – 1.84 (m, 2H), 1.56 – 1.48 (m, 2H). MS (ESI): m/z
 20 494.1 [M+H]⁺。

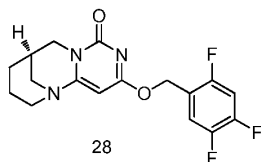
实施例 27 化合物 27 的制备



将 3,5-二氟苯甲醇 (32 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **23e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 **27** (19 mg, 25.9%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.96 – 6.87 (m, 2H), 6.73 (m, 1H), 5.58 (s, 1H), 5.37 (s, 2H), 4.05 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 3.29 – 3.19 (m, 1H), 3.14 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 1.98 – 1.82 (m, 2H), 1.55 – 1.46 (m, 2H). MS (ESI): m/z 334.1 [M+H]⁺。

10 实施例 28 化合物 28 的制备

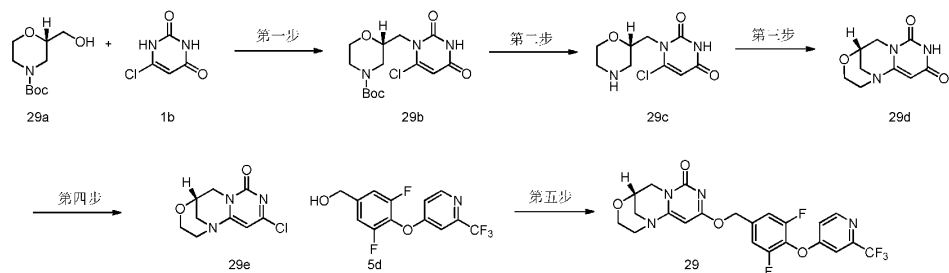


将 2,4,5-三氟苯甲醇 (36 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **23e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 **28** (18 mg, 23.3%)。

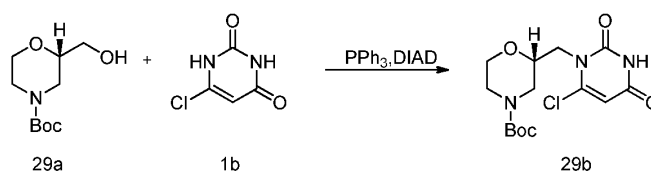
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.32 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 5.58 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.06 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.44 (m, 1H), 3.29 – 3.19 (m, 1H), 3.14 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.43 (m, 1H), 1.93 (m, 2H), 1.55 – 1.46 (m, 2H). MS (ESI): m/z 352.1 [M+H]⁺。

20

实施例 29 化合物 29 的制备

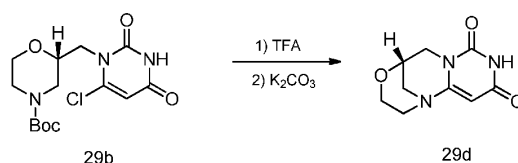


第一步: 化合物 **29b** 的制备



室温下将 6-氯尿嘧啶(10 g, 69 mmol)、(S)-2-((羟基甲基)吗啉-4-羧酸叔丁酯 **29a** (15 g, 69 mmol)和三苯基膦 (27 g, 102.9 mmol) 溶于 250 mL 的无水四氢呋喃和 50 mL 的无水 N,N-二甲基甲酰胺混合溶剂中, 氮气保护和 0℃下滴加偶氮二甲酸二异丙酯(27 ml, 138 mmol), 在 0℃下搅拌反应 2 小时后, 升温到室温反应过夜, 过滤反应液, 用乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 合并有机相, 饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 加入 100ml PE/EA=3/1, 有大量白色固体析出, 过滤, 将反应液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到无色油状产物 **29b** (11.5 g, 产率: 48.2%)。

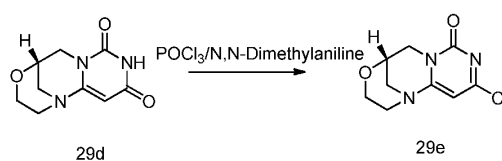
10 第二、三步: 化合物 **29d** 的制备



室温下将化合物 (S)-2-(((6-氯-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基)吗啉-4-羧酸叔丁酯 **29b** (11.5 g, 33.2 mmol) 溶于 80 mL 的二氯甲烷中, 0℃下加入 10mL 的三氟乙酸, 室温下搅拌反应 2 小时, 将反应液减压浓缩, 直接进行下一步反应。将上一步的粗品溶于 80 mL 乙腈中, 室温下加入碳酸钾 (9.2 g, 67 mmol), 加热回流反应过夜, 过滤, 滤饼分别用乙腈和甲醇冲洗, 将滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物 **29d** (1.9 g, 27.4%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.39 (s, 1H), 5.41 (s, 1H), 4.36 – 4.28 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.95 (m, 1H), 3.78 (m, 1H), 3.69 – 3.55 (m, 2H), 3.44 – 3.37(m, 1H), 3.24 (m, 1H), 2.96 (m, 1H).

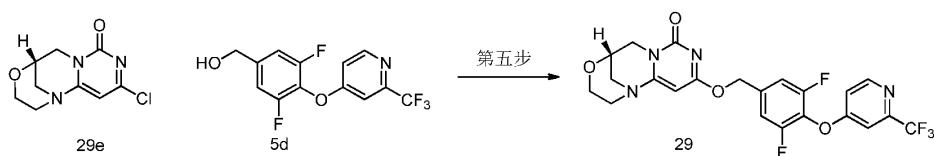
第四步: 化合物 **29e** 的制备



室温下将化合物 **29d** (0.5 g, 2.4 mmol) 和二甲基苯胺 (0.29 g, 2.4 mmol) 溶于甲苯中, 滴加三氯氧磷 (0.73 g, 4.8 mmol), 加热回流 4 小时后, 用冰水淬灭反应, 减压浓缩, 用乙酸乙酯萃取(60 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物 **29e** (0.3 g, 54.9%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.12 (s, 1H), 4.49 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.72 – 3.61 (m, 3H), 3.48 (m, 1H), 3.37 (m, 1H), 2.96 (m, 1H).

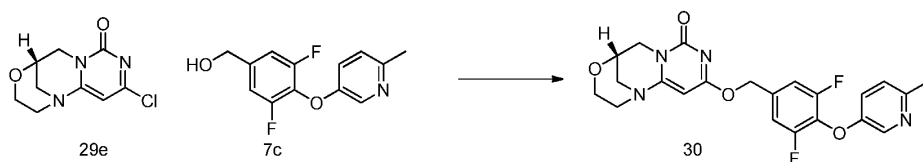
10 第五步: 化合物 **29** 的制备



将(3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇 **5d** (67 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **29e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **29** (31 mg, 28.4%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.59 (m, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.14 (m, 2H), 6.98 (m, 1H), 5.69 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 4.40 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.70 – 3.57 (m, 3H), 3.44 (m, 1H), 3.27 (m, 1H), 2.95 (m, 1H). MS (ESI): m/z 497.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

实施例 30 化合物 **30** 的制备

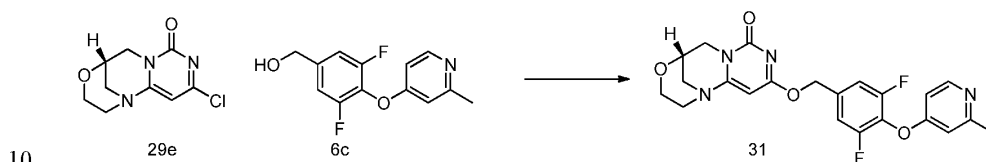


将(3,5-二氟-4-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)苯基)甲醇(56 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干

干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **29e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **30** (49 mg, 50.3 %).

- 5 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.26 (m, 1H), 7.16 – 7.05 (m, 4H), 5.69 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.40 (m, 1H), 4.13 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.70 – 3.58 (m, 3H), 3.45 (m, 1H), 3.27 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.52 (s, 3H). MS (ESI): m/z 443.1 [M+H]⁺.

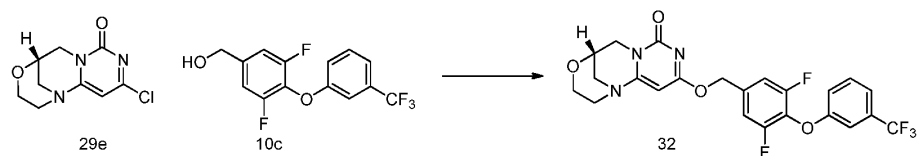
实施例 31 化合物 31 的制备



- 将(3,5-二氟-4-((2-甲基)吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇 **6c** (56 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **29e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 15 得到白色固体目标产物 **31** (38 mg, 39.0%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.35 (m, 1H), 7.11 (m, 2H), 6.72 – 6.63 (m, 2H), 5.70 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.39 (m, 1H), 4.17 – 4.08 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.71 – 3.57 (m, 3H), 3.50 – 3.40 (m, 1H), 3.27 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 2.50 (s, 3H). MS (ESI): m/z 443.1 [M+H]⁺.

20 实施例 32 化合物 32 的制备

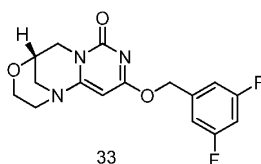


将(3,5-二氟-4-(3-(三氟甲基)苯氧基)苯基)甲醇 **10c** (67 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室

温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **29e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体产物 **32** (31 mg, 28.4%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.10 (m, 3H),
5 5.70 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.40 (m, 1H), 4.17 – 4.00 (m, 2H), 3.71 – 3.57 (m, 3H), 3.45 (m, 1H),
3.28 (m, 1H), 2.96 (m, 1H). MS (ESI): m/z 496.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

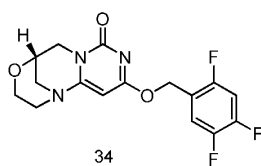
实施例 33 化合物 33 的制备



10 将 3,5-二氟苯甲醇 (32 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 $^{\circ}\text{C}$ 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **29e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 **33** (21 mg, 28.5%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.98 – 6.91 (m, 2H), 6.77 (m, 1H), 5.70 (s, 1H), 5.40 (s,
15 2H), 4.41 (m, 1H), 4.14 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.72 – 3.58 (m, 3H), 3.46 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 2.97 (m, 1H). MS (ESI): m/z 336.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

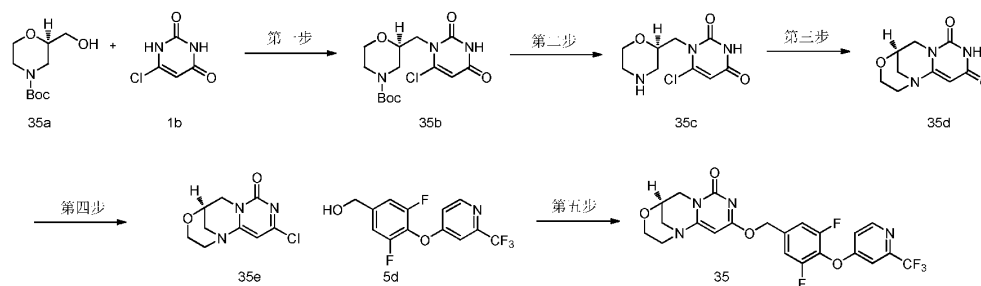
实施例 34 化合物 34 的制备



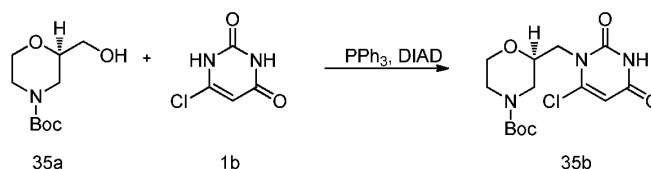
20 将 2,4,5-三氟苯甲醇 (36 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 $^{\circ}\text{C}$ 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **29e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 **34** (29 mg, 37.3%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36 – 7.27 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 5.64 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.42 – 4.35 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.73 – 3.55 (m, 3H), 3.43 (m, 1H), 3.24 (m, 1H), 2.95 (m, 1H). MS (ESI): m/z 354.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5 实施例 35 化合物 35 的制备

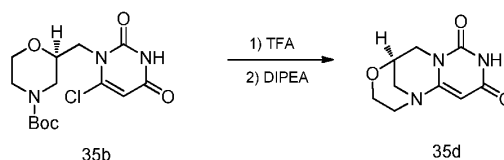


第一步：化合物 35b 的制备



- 10 室温下将 6-氯尿嘧啶(10 g, 68.2 mmol)、(R)-2-(羟甲基)吗啉-4-羧酸叔丁酯 **35a** (15 g, 69 mmol)和三苯基膦 (27 g, 102.9 mmol) 溶于 250 mL 的无水四氢呋喃和 50 mL 的无水 N,N-二甲基甲酰胺混合溶剂中, 氮气保护和 0°C 下滴加偶氮二甲酸二异丙酯(27 ml, 138 mmol), 在 0°C 下搅拌反应 2 小时后, 升温到室温反应过夜, 过滤反应液, 用乙酸乙酯萃取(50 mL $\times$ 3), 合并有机相, 饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩,
- 15 加入 100ml PE/EA=3/1, 有大量白色固体析出, 过滤, 将滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到无色油状产物 **35b** (7.2 g, 产率: 30.5%)。

第二、三步：化合物 35d 的制备

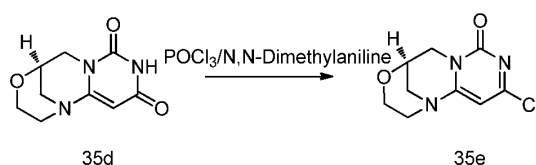


- 20 室温下将化合物 (R)-2-(((6-氯-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)甲基)吗啉-4-羧酸叔丁酯 **35b** (7.2 g, 20.8 mmol) 溶于 80 mL 的二氯甲烷中, 0°C 下加入 10mL 的三氟乙酸, 室温下搅拌反应 2 小时, 将反应液减压浓缩, 直接进行下一步反应。将上

一步的粗品溶于 80 mL 乙腈中, 室温下加入二异丙基乙胺 (8.1 g, 62.7 mmol), 室温下搅拌反应 4 小时, 将反应液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物 **35d** (2.5 g, 57.4%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.32 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 4.35 – 4.29 (m, 1H), 4.07 (m, 1H), 3.96 (m, 1H), 3.78 (m, 1H), 3.70 – 3.55 (m, 2H), 3.45 – 3.36 (m, 1H), 3.24 (m, 1H), 2.96 (m, 1H).

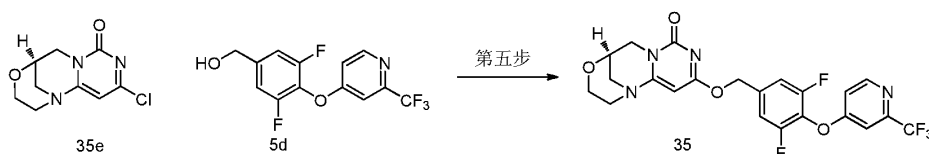
第四步: 化合物 **35e** 的制备



室温下将化合物 **35d** (0.1 g, 0.48 mmol) 和二甲基苯胺 (0.058 g, 0.48 mmol) 溶于甲苯中, 滴加三氯氧磷 (0.73 g, 4.8 mmol), 加热回流 4 小时后, 用冰水淬灭反应, 减压浓缩, 用乙酸乙酯萃取(60 mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物 **35e** (0.04 g, 36.4%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.12 (s, 1H), 4.48 (m, 1H), 4.06 (m, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.73 – 3.61 (m, 3H), 3.47 (m, 1H), 3.42 – 3.32 (m, 1H), 2.96 (m, 1H).

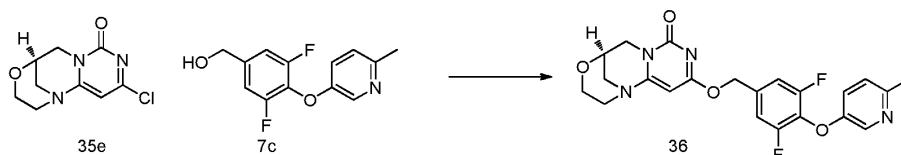
第五步: 化合物 **35** 的制备



将(3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇 **5d** (67 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 °C 下加入氢化钠(矿物油中 60% 含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **35e** (50 mg, 0.22 mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 **35** (41 mg, 37.5%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.60 (m, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.15 (m, 2H), 6.99 (m, 1H), 5.70 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 4.40 (m, 1H), 4.13 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.70 – 3.58 (m, 3H), 3.44 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 2.96 (m, 1H). MS (ESI): m/z 497.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5 实施例 36 化合物 36 的制备

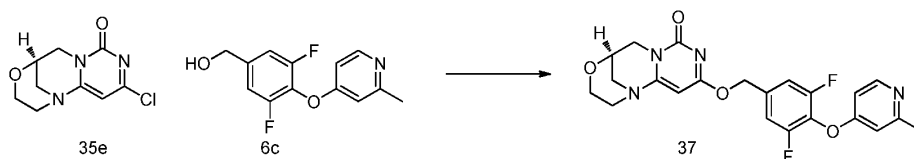


将(3,5-二氟-4-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)苯基)甲醇 7c (56 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 N,N -二甲基甲酰胺中, $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 35e (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入
10 少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 36 (42 mg, 43.2 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.21 (m, 1H), 7.06 (m, 4H), 5.65 (s, 1H), 5.37 (s, 2H), 4.36 (m, 1H), 4.13 – 4.03 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 3.66 – 3.53 (m, 3H), 3.40 (m, 1H), 3.23 (m, 1H), 2.93 (m, 1H), 2.47 (s, 3H). MS (ESI): m/z 443.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15

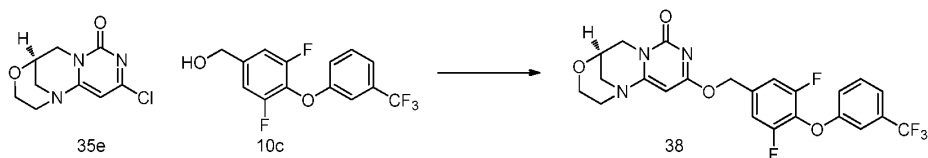
实施例 37 化合物 37 的制备



将(3,5-二氟-4-((2-甲基)吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇 6c (56 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 N,N -二甲基甲酰胺中, $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26
20 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 35e (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 37 (18 mg, 18.5%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.36 (m, 1H), 7.09 (m, 2H), 6.70 – 6.65 (m, 2H), 5.70 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 4.41 (m, 1H), 4.13 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.72 – 3.58 (m, 3H), 3.46 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.51 (s, 3H). MS (ESI): m/z 443.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5 实施例 38 化合物 38 的制备

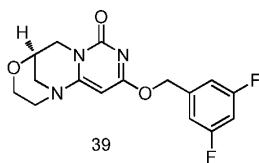


将(3,5-二氟-4-(3-(三氟甲基)苯氧基)苯基)甲醇 10c (67 mg, 0.22 mmol)溶于 5 mL 干燥的 N,N -二甲基甲酰胺中, 0°C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 35e (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1)纯化, 得到白色固体产物 38 (55 mg, 50.5%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.41 (m, 1H), 7.33 (m, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.10 (m, 3H), 5.70 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.40 (m, 1H), 4.15 – 4.07 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.70 – 3.55 (m, 3H), 3.45 (m, 1H), 3.27 (m, 1H), 2.96 (m, 1H). MS (ESI): m/z 496.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15

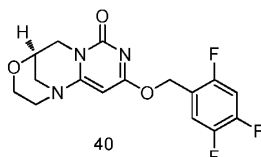
实施例 39 化合物 39 的制备



将 3,5-二氟苯甲醇 (32 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 N,N -二甲基甲酰胺中, 0°C 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 35e (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 39 (37 mg, 50.2%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.96 – 6.89 (m, 2H), 6.75 (m, 1H), 5.68 (s, 1H), 5.39 (s, 2H), 4.40 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.70 – 3.55 (m, 3H), 3.44 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 2.95 (m, 1H). MS (ESI): m/z 336.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5 实施例 40 化合物 40 的制备



将 2,4,5-三氟苯甲醇 (36 mg, 0.22 mmol) 溶于 5 mL 干燥的 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 0 $^{\circ}\text{C}$ 下加入氢化钠(矿物油中 60%含量, 11 mg, 0.26 mmol), 室温下搅拌反应 5 分钟后, 加入化合物 **35e** (50 mg, 0.22mmol), 搅拌反应 1 小时后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇 = 20/1) 纯化, 得到白色固体目标产物 **40** (39 mg, 50.2%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36 – 7.28 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 5.65 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.42 – 4.35 (m, 1H), 4.17 – 4.08 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.71 – 3.55 (m, 3H), 3.44 (m, 1H), 3.25 (m, 1H), 2.95 (m, 1H). MS (ESI): m/z 354.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15

生物学评价

化合物的生物活性可通过使用用于测定作为 LpPLA2 抑制剂的化合物活性的任何适当测定方法及组织和体内模型来测定。

(1) 重组人 Lp-PLA2 测定 (rhLp-PLA2), 也叫 PED6 的测定

PED6 是一种荧光标记的磷脂, 可从 Invitogene 或 Molecular Probes 直接购买。其 Sn3 位上有荧光猝灭的对硝基苯基团, sn2 位上有 Bodipy 荧光素(FL)基团, 一旦被 Lp-PLA2 酶断裂, 释放出 FL 基团, 导致荧光增强。但是 Lp-PLA2 抑制剂可以阻止这种断裂的产生, 从而不会观察到荧光增强。

测定方法: 将待测化合物(如表 1 所示)与 DMSO 溶液按照体积比 1:3 混合, 经过稀释制成 384 孔微量板的源板。然后用 ECHO 液体分配器从源板上转移 0.01 微升化合物到 384 孔 Greiner784076 板, 将 5 微升由 50 mM HEPES, pH7.4, 150 mM NaCl, 1mM CHAPS 构成的缓冲液(该缓冲溶液中含有浓度为 4 nM 或 110 pM 的重组人 Lp-PLA2 酶)加到

板上的各孔中。板以 500 rpm 离心 10 秒钟, 经过 30 分钟预温育后, 将 5 微升上述缓冲液加到 384 孔 Greiner784076 板, 板以 500 rpm 离心 10 秒钟, 避光室温下温育 20 分钟后, 用 ViewLux 微量板成像仪在 ex 480/ em 540 读取荧光强度, 使用 Excel 的 XL 拟合模型进行曲线和 QC 分析, 计算 pIC₅₀, 结果列于表 1。

5

表 1

化合物编号	rhLp-PLA2 (pIC ₅₀)
1	8.7
2	8.6
3	7.5
4	8.5
5	10.5
6	10.2
7	10.1
8	9.5
9	10.0
10	9.9
11	10.1
12	9.5
13	10.2
14	10.4
15	9.7
16	10.1
18	10.1
20	10.5
21	8.5
22	7.5
24	10.0
26	10.4
27	8.5
28	7.4
30	9.8
33	8.4
34	7.2
36	9.9
39	8.4
40	7.3
阳性化合物 Rilapladib	8.9

(2) 人血浆 Lp-PLA2 测定(又叫 Thio-PAF 测定)

人血浆测定利用 PAF(磷脂酰胆碱)的硫脂类似物, 它水解产生含自由巯基的磷脂, 与

CPM 迈克尔加成生成增强荧光的马来酰亚胺, 通过对荧光强度检测, 可以对硫醇进行连续定量分析。该方法可以检测 Lp-PLA2 抑制剂对人血浆中 Lp-PLA2 酶的抑制活性。

测定方法: 将待测化合物 (如表 2 所示) 与 DMSO 溶液按照体积比(1:3), 经过稀释制成 384 孔的微量板的源板。用 ECHO 液体分配器从源板上转移 0.01 微升化合物到 384 孔 Greiner784076 低容积板, 然后加入预先等分并冷冻的 8 微升混合人血浆。板以 500 rpm 离心 10 秒钟, 经过 30 分钟预温育后, 用 BRAVO 液体处理站将 2 微升的底物溶液, 含 2.5 mM 的 2-硫代 PAF (乙醇溶液), 32 μ M CPM(DMSO 溶液)和 3.2 mM N-乙基马来酰亚胺 (NEM) 的缓冲液 (50 mM HEPES, pH7.4, 150 mM NaCl, 1mM CHAPS 构成的缓冲溶液) 加到 384 孔 Greiner784076 低容积板, 2 分钟后, 用 5 微升 5%的三氟乙酸猝灭反应, 避光室温下温育 40 分钟后, 用 Envision 微量读板仪在 ex 380/ em 485 读取荧光强度, 使用 Excel 的 XL 拟合模型进行曲线和 QC 分析, 计算 pIC₅₀, 结果列于表 2。

表 2

化合物编号	Thio-PAF (pIC ₅₀)
1	7.5
2	7.5
3	6.5
4	7.4
5	8.5
6	8.2
7	8.1
8	7.8
9	8.0
10	8.0
11	8.1
12	7.8
13	8.1
14	8.2
15	7.9
16	8.1
18	8.1
20	8.5
21	7.4
22	6.5
24	8.1
26	8.4
27	7.3
28	6.5
30	8.0

33	7.1
34	6.3
36	7.9
39	7.0
40	6.3
阳 性 化 合 物 Rilapladib	7.8