

一种取代的苯丙酸衍生物及其用途

技术领域

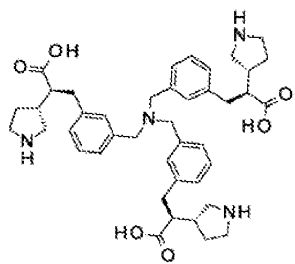
本公开属于医药领域，涉及一种取代的苯丙酸衍生物及其用途。

背景技术

脂蛋白（a）[Lp(a)]是一种类低密度脂蛋白的血脂颗粒，主要由富含胆固醇酯的内核和特有的载脂蛋白（a）[Apo(a)]组成，具有基因多态性和长期稳定的特点，在人群中呈偏态分布。有研究发现 Lp（a）升高与罹患心血管事件风险增加及相关血运重建有关。

现已有多种针对 LDL-c 升高、HDL-c 降低和甘油三酸酯升高的治疗方案，而对于 Lp(a)浓度升高的患者还没有批准的治疗药物。

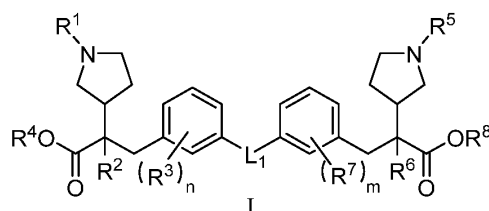
WO2020247429 报道了一类吡咯烷酮类脂蛋白抑制剂，该类化合物与人 Apo(a) 蛋白结合。通过与 Apo(a)蛋白质结合来抑制 LDL 颗粒与 apo(a)的结合，达到降低血浆中 Lp(a)水平，



本公开的化合物并没有在任何文献中公开，且该类化合物展现特异性与人 Apo(a)蛋白结合，进而达到降低血浆中 Lp(a)水平。

发明内容

本公开（The disclosure）提供了式 I 所示化合物或其可药用盐，



其中 R^1 、 R^5 独立地选自氢或 C_{1-6} 烷基，所述烷基任选被一个或多个 R^{1A} 所取代， R^{1A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基；

R^2 、 R^6 独立地选自氢、氘、卤素或 C_{1-6} 烷基，所述烷基任选被一个或多个 R^{2A} 所取代， R^{2A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基；

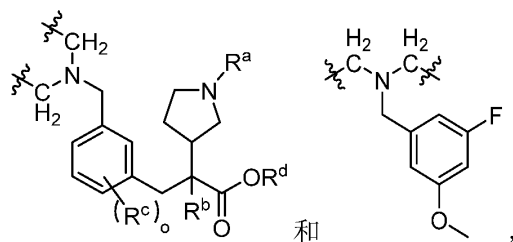
R^3 、 R^7 独立地选自氢、氘、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基，所述烷基或

烷氧基任选被一个或多个 R^{3A} 所取代, R^{3A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基;

且, R^2 、 R^3 、 R^6 、 R^7 不同时为氢或甲基;

R^4 、 R^8 独立地选自氢或 C_{1-6} 烷基;

L_1 选自 $-CH_2NHCH_2-$ 、 $-CH_2NH-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-O-$ 、 $-OCH_2-$ 、 $-OCH_2CH_2O-$ 、 $-NHSO_2NH-$ 、



R^a 选自氢或 C_{1-6} 烷基, 所述烷基任选被一个或多个 R^{4A} 所取代, R^{4A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基;

R^b 选自氢、氘、卤素或 C_{1-6} 烷基, 所述烷基任选被一个或多个 R^{5A} 所取代, R^{5A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基;

R^c 独立地选自氢、氘、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基, 所述烷基或烷氧基任选被一个或多个 R^{6A} 所取代, R^{6A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基;

R^d 选自氢或 C_{1-6} 烷基;

n 、 m 、 o 各自独立选自 0~4 之间整数。

在一些实施方案中, 式 I 化合物或其可药用盐中 R^2 、 R^6 独立地选自氘。

在一些实施方案中, 式 I 化合物或其可药用盐中 R^2 、 R^6 独立地选自卤素, 例如氟或氯。

在一些实施方案中, 式 I 化合物或其可药用盐中 R^2 、 R^6 独立地选自 C_{1-6} 烷基, 所述烷基任选被一个或多个 R^{2A} 所取代, R^{2A} 如前述所定义。在一些实施方案中, 式 I 化合物或其可药用盐中 R^2 、 R^6 独立地选自甲基、乙基或丙基。

在一些实施方案中, 式 I 化合物或其可药用盐中 R^1 、 R^5 独立地选自氢。

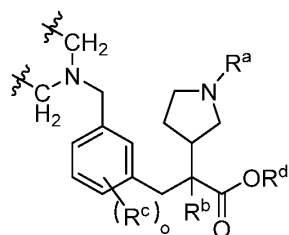
在一些实施方案中, 式 I 化合物或其可药用盐中 R^3 、 R^7 独立地选自氘或 C_{1-6} 烷氧基, 所述烷氧基任选被一个或多个 R^{3A} 所取代, R^{3A} 如前述所定义。

在一些实施方案中, 式 I 化合物或其可药用盐中 R^3 、 R^7 独立地选自卤素, 例如氟或氯。

在一些实施方案中, 式 I 化合物或其可药用盐中 R^3 、 R^7 独立地选自 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基, 所述烷基或烷氧基任选被一个或多个 R^{3A} 所取代, R^{3A} 如前述所定义。

进一步地, 在某一些实施方案中, 式 I 化合物或其可药用盐中 L_1 选自 $-CH_2NHCH_2-$ 、 $-CH_2NH-$ 、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-OCH_2-$ 、 $-OCH_2CH_2O-$ 、 $-NHSO_2NH-$, 优选 $-CH_2NHCH_2-$ 、 $-CH_2NH-$ 、 $-NH-$ 、 $-OCH_2CH_2O-$ 。

在另一些实施方案中，式 I 化合物或其可药用盐中 L_1 选自



，其中 o 、 R^a 、 R^b 、 R^c 如前述所定义。

在另一些实施方案中，式 I 化合物或其可药用盐中 R^b 选自氘。

在另一些实施方案中，式 I 化合物或其可药用盐中 R^b 选自卤素，例如氟或氯。

在另一些实施方案中，式 I 化合物或其可药用盐中 R^b 选自 C_{1-6} 烷基，所述烷基任选被一个或多个 R^{5A} 所取代， R^{5A} 如前述所定义。在一些实施方案中，式 I 化合物或其可药用盐中 R^b 独立地选自甲基、乙基或丙基。

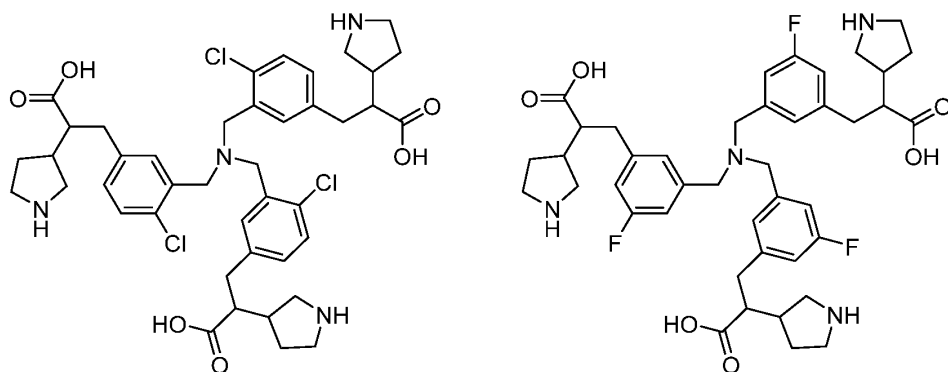
在一些实施方案中，式 I 化合物或其可药用盐中 R^a 选自氢。

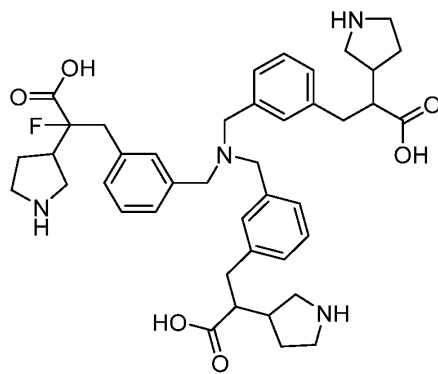
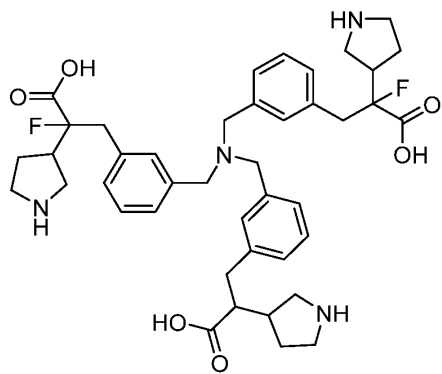
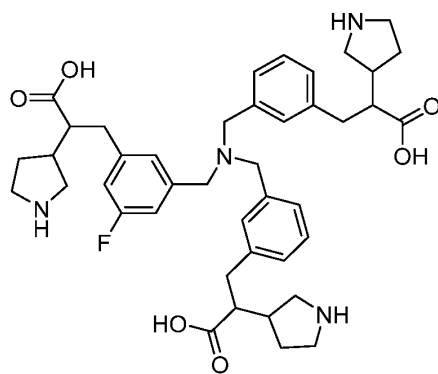
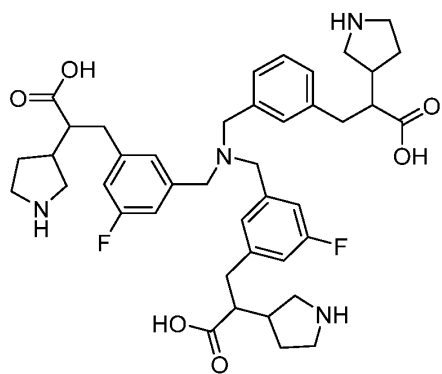
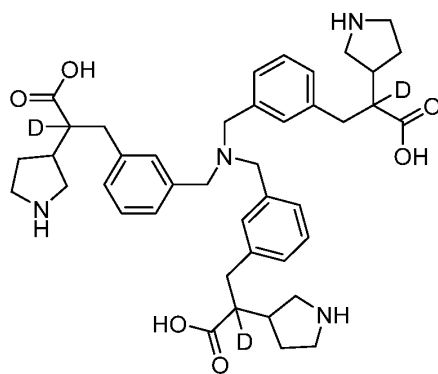
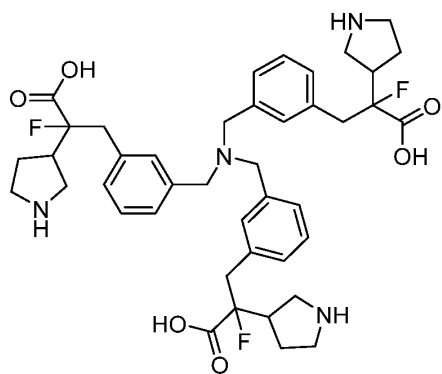
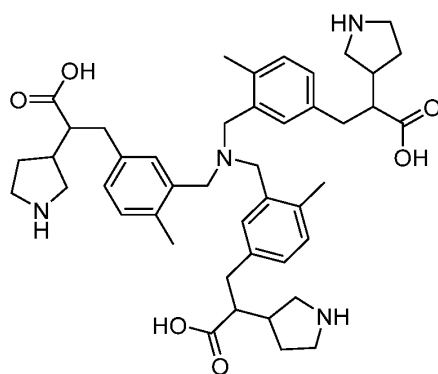
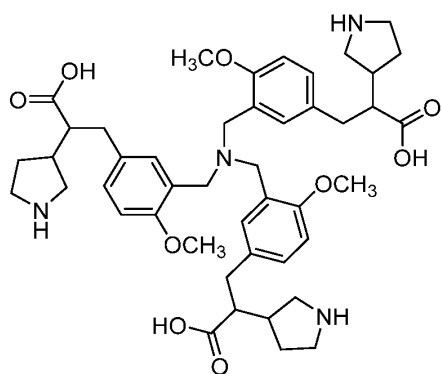
在一些实施方案中，式 I 化合物或其可药用盐中 R^c 独立地选自氢或 C_{1-6} 烷氧基，所述烷氧基任选被一个或多个 R^{6A} 所取代， R^{6A} 如前述所定义。

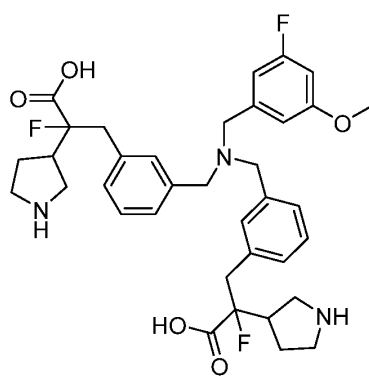
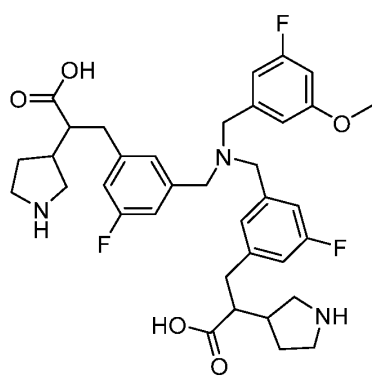
在一些实施方案中，式 I 化合物或其可药用盐中 R^c 独立地选自卤素，例如氟或氯。

在一些实施方案中，式 I 化合物或其可药用盐中 R^c 独立地选自 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基，所述烷基或烷氧基任选被一个或多个 R^{6A} 所取代， R^{6A} 如前述所定义。

本公开中式 I 化合物或其可药用盐包括但不限于：

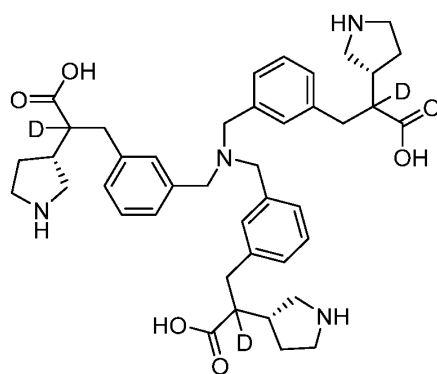
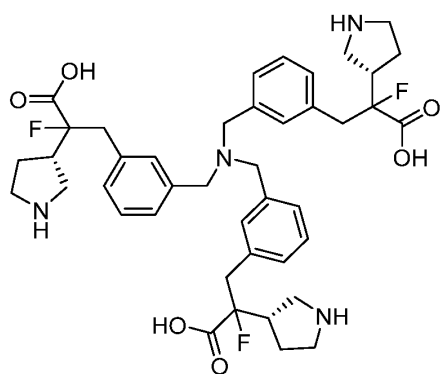
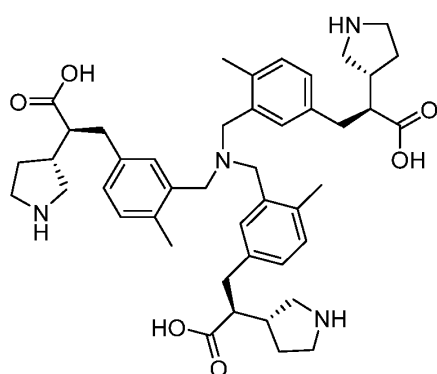
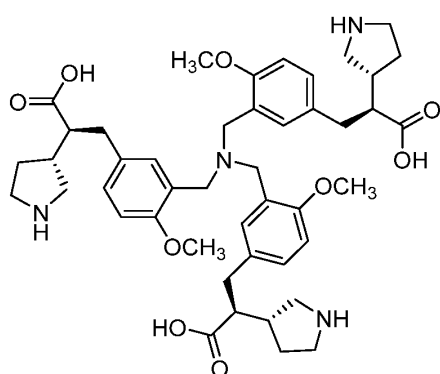
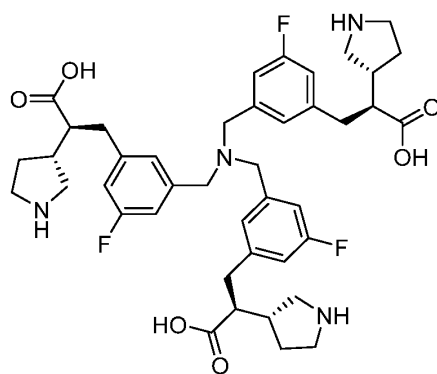
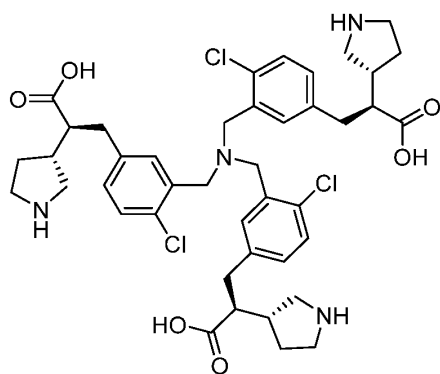


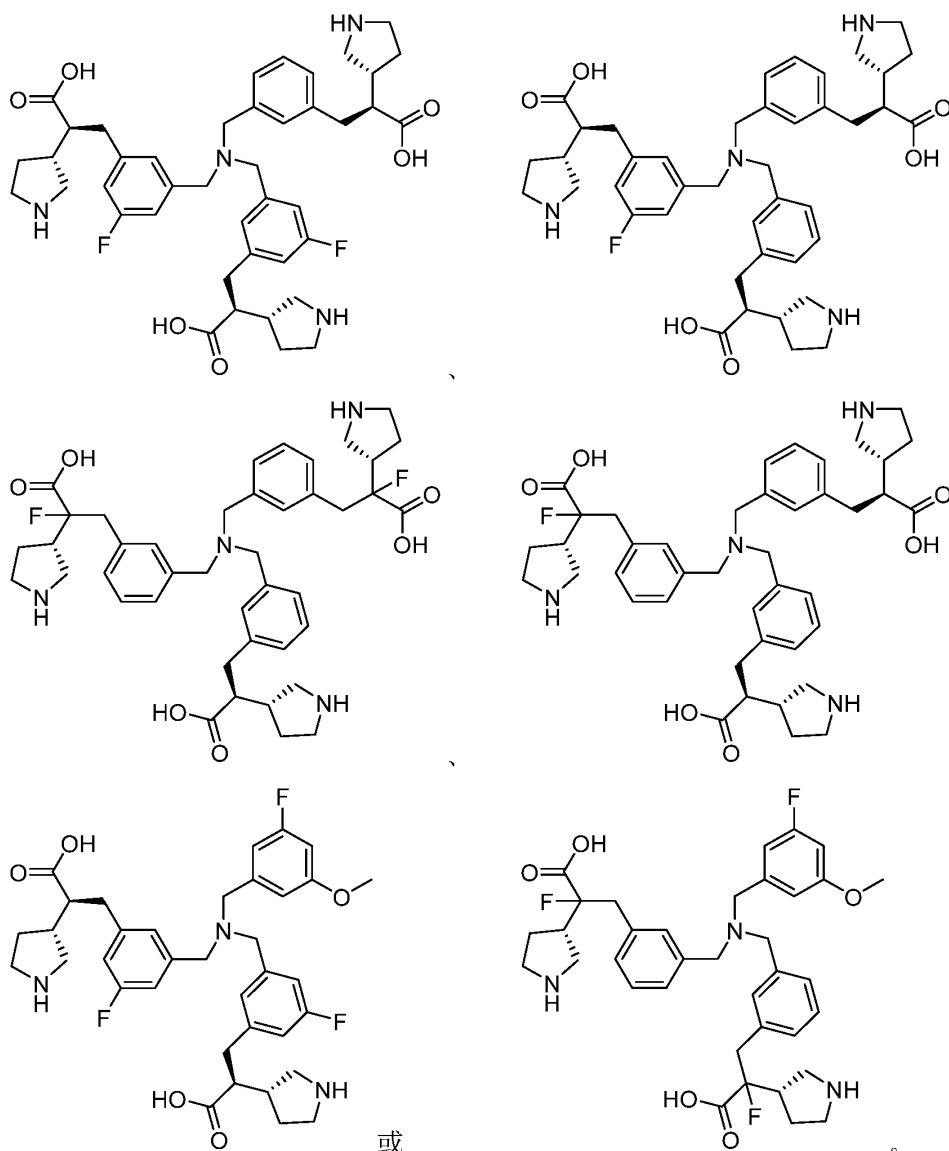




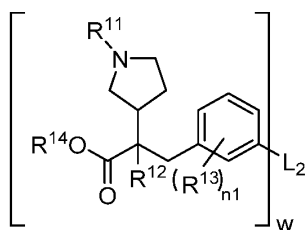
或

在一些实施方案中，式I化合物或其可药用盐选自：





本公开另一方面还提供了式 II 所示化合物或其可药用盐，



II

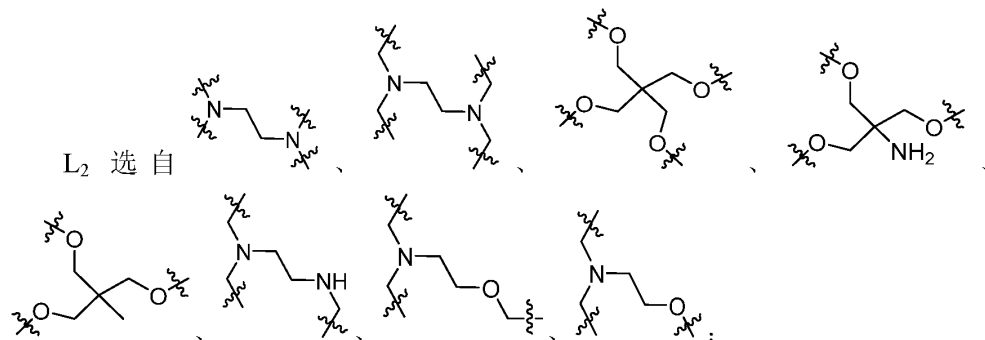
其中 R^{11} 独立地选自氢或 C_{1-6} 烷基，所述烷基任选被一个或多个 R^{11A} 所取代， R^{11A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基；

R^{12} 独立地选自氢、氧、卤素或 C_{1-6} 烷基，所述烷基任选被一个或多个 R^{12A} 所取代， R^{12A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基；

R^{13} 独立地选自氢、氘、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基, 所述烷基或烷氧基任选被一个或多个 R^{13A} 所取代, R^{13A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基;

R^{14} 独立地选自氢或 C_{1-6} 烷基;

W 选自 3 或 4;



n_1 选自 0-4 之间整数。

在一些实施方案中, 式 II 化合物或其可药用盐中 R^{12} 独立地选自氢或氘。

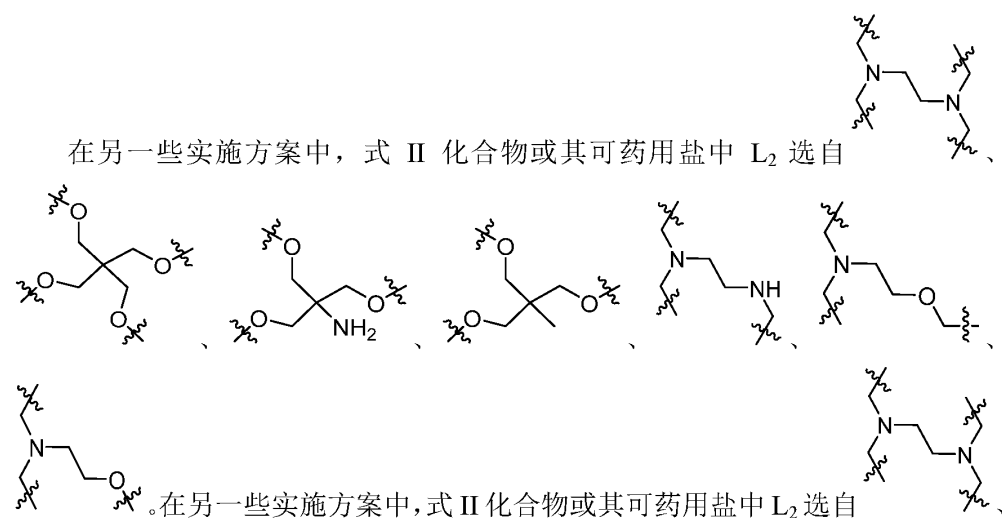
在一些实施方案中, 式 II 化合物或其可药用盐中 R^{12} 独立地选自卤素, 例如氟或氯。

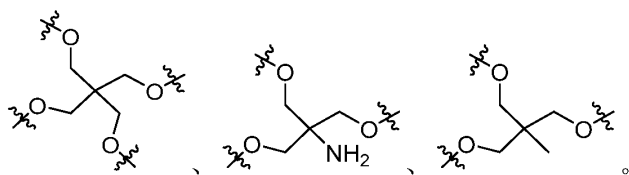
在一些实施方案中, 式 II 化合物或其可药用盐中 R^{12} 独立地选自 C_{1-6} 烷基, 所述烷基任选被一个或多个 R^{12A} 所取代, R^{12A} 如前述定义。在另一些实施方案中, 式 II 化合物或其可药用盐中 R^2 、 R^6 独立地选自甲基、乙基或丙基。

在一些实施方案中, 式 II 化合物或其可药用盐中 R^{11} 独立地选自氢。

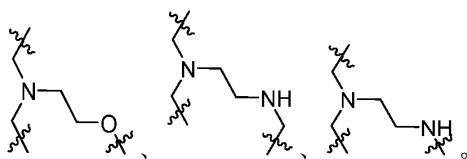
在一些实施方案中, 式 II 化合物或其可药用盐中 R^{13} 独立地选自氘或 C_{1-6} 烷氧基, 所述烷氧基任选被一个或多个 R^{13A} 所取代, R^{13A} 如前述定义。

在一些实施方案中, 式 II 化合物或其可药用盐中 R^{13} 独立地选自卤素, 例如氟或氯。

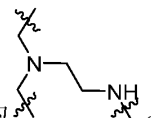




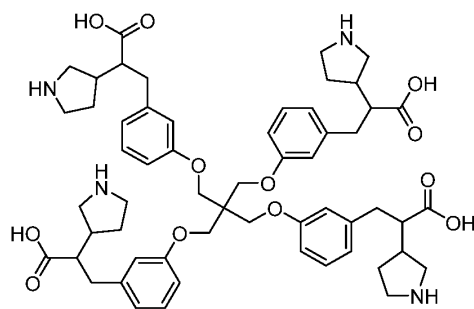
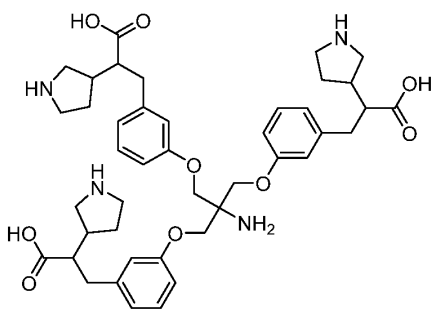
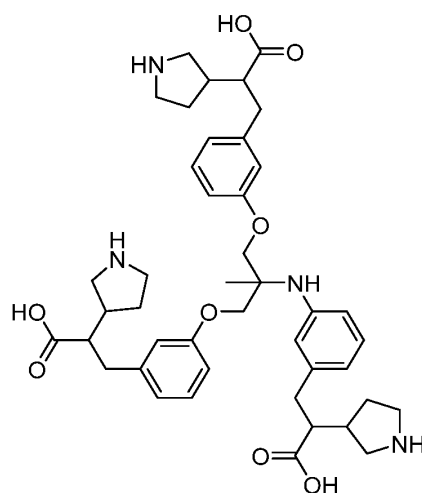
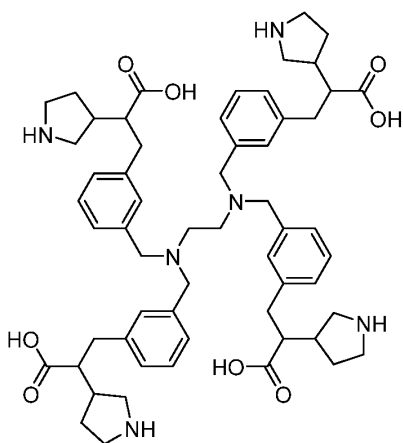
在另一些实施方案中，式 II 化合物或其可药用盐中 L_2 选自

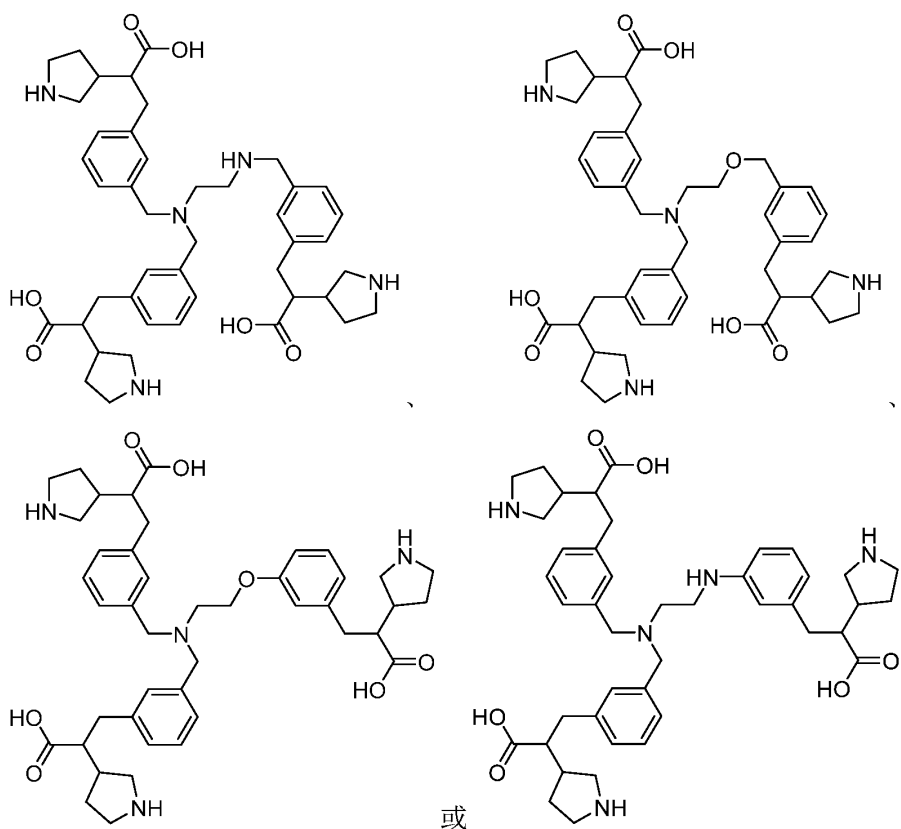


在另一些实施方案中，式 II 化合物或其可药用盐中 L_2 为

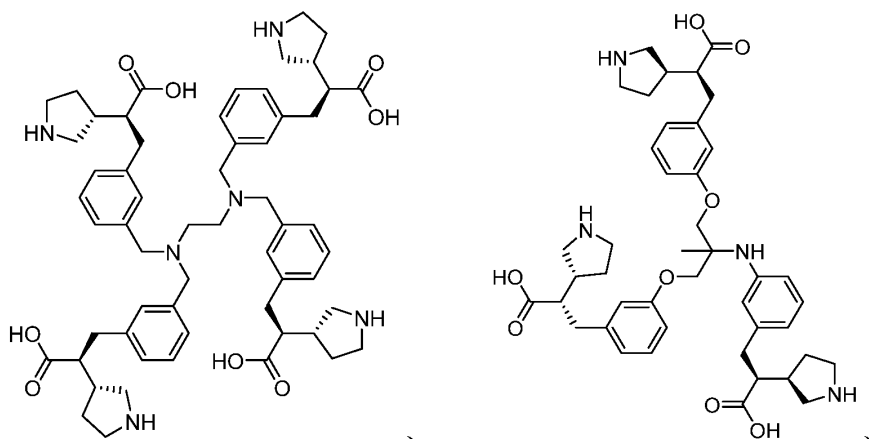


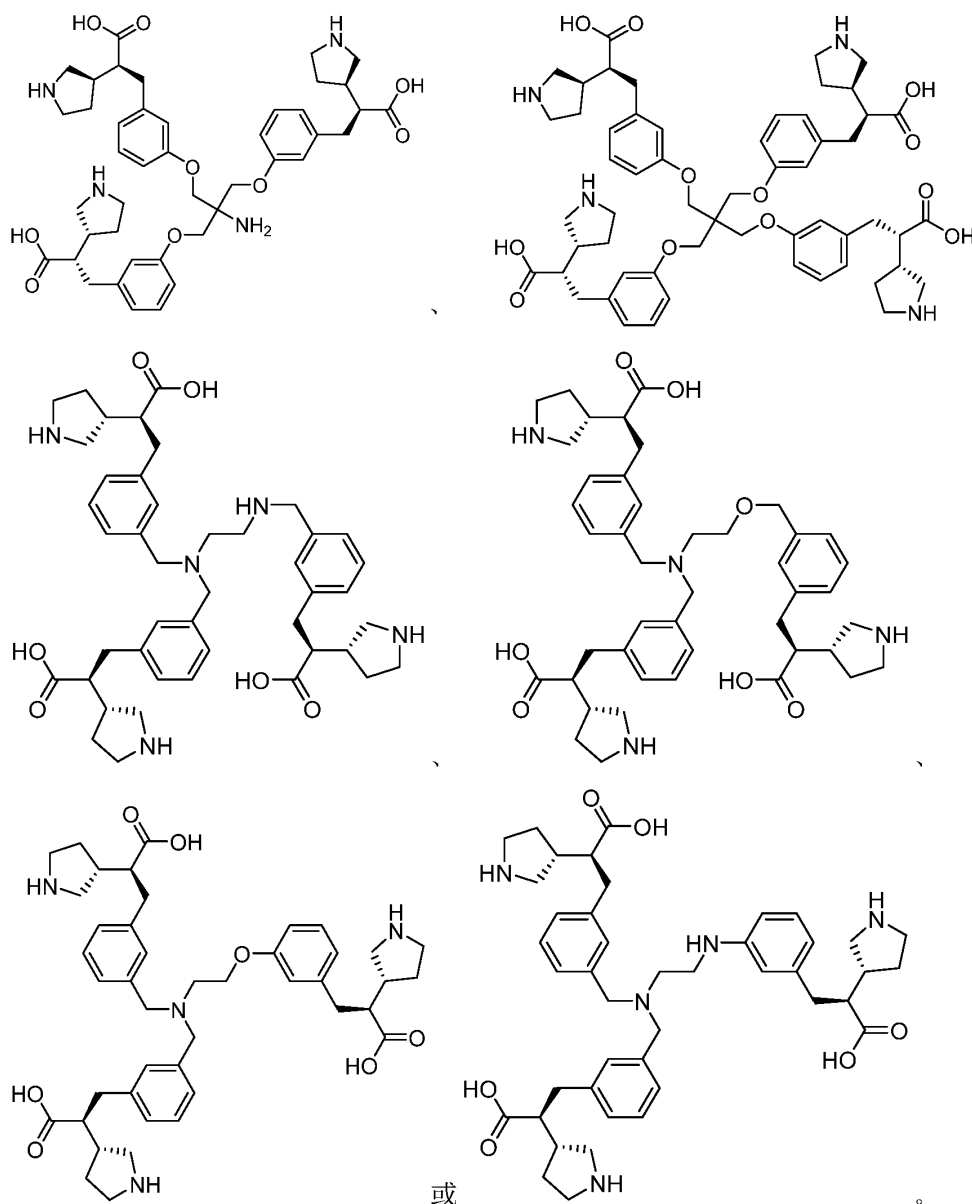
本公开中式 II 化合物或其可药用盐包括但不限于：



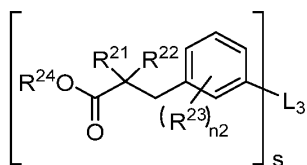


在一些实施方案中，式 II 所示化合物或其可药用盐选自：





本公开另一方面还提供了式 III 所示化合物或其可药用盐，



III

其中， R^{21} 、 R^{22} 独立地选自氢、氘、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、四元杂环烷基、六元杂环烷基，所述烷基、烷氧基、四元杂环烷基或六元杂环烷基任选被一个或多个 R^{21A} 所取代， R^{21A} 各自独立地选自氢、氘、卤素或 C_{1-6} 烷基，

或者， R^{21} 、 R^{22} 与相邻碳原子形成 3-6 元杂环烷基，所述杂环烷基任选被一个

或多个 R^{22A} 所取代, R^{22A} 各自独立地选自氖、卤素、 C_{1-6} 烷基;

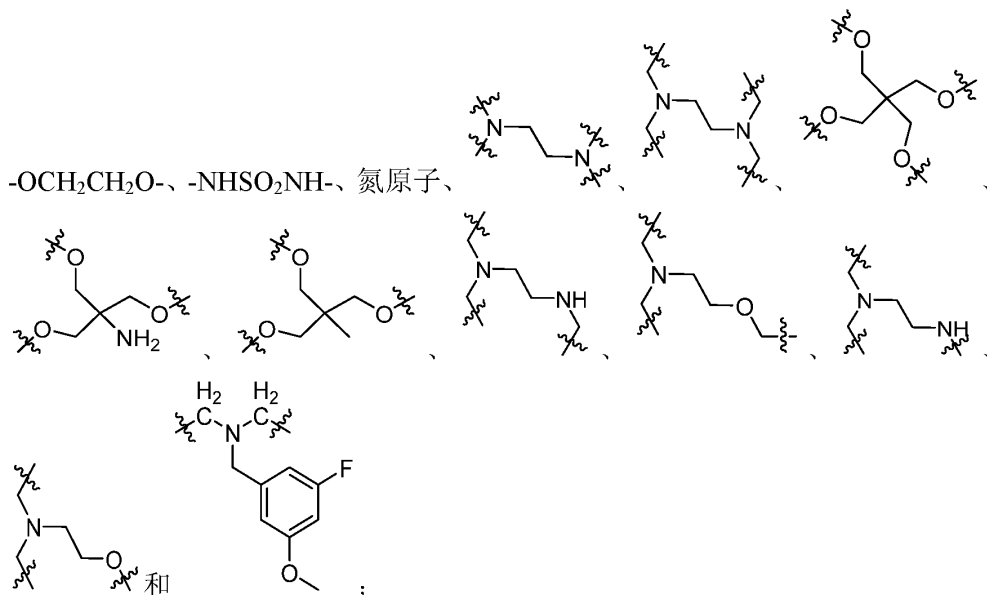
R^{23} 独立地选自氢、氘、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基，所述烷基或烷氧基任选被一个或多个 R^{23A} 所取代， R^{23A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基；

R²⁴ 独立地选自氢或 C₁₋₆ 烷基;

S 选自 2-4 之间整数;

L₃ 选自 -CH₂NHCH₂-, -CH₂NH-, -NH-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -O-, -OCH₂-、

-OCH₂CH₂O-, -NHSO₂NH-, 氮原子、



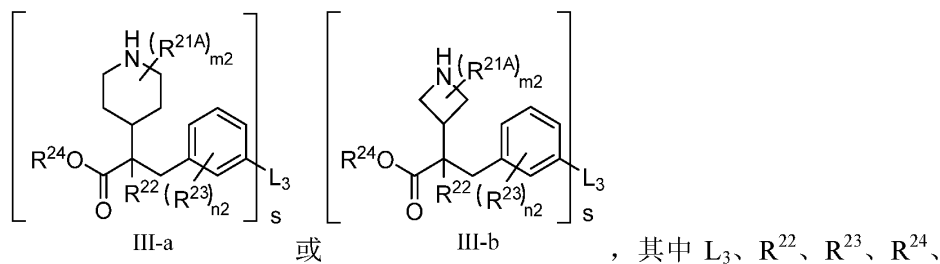
n1 选自 0-4 之间整数。

在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐中 R^{21} 独立地选自四元杂环烷基或六元杂环烷基， R^{22} 独立地选自氢、氘、卤素、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基，所述烷基、烷氧基、四元杂环烷基或六元杂环烷基任选被一个或多个 R^{21A} 所取代， R^{21A} 各自独立地选自氢、氘、卤素、 C_{1-6} 烷基。

在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐中 R^{23} 独立地选自氘或 C_{1-6} 烷氧基，所述烷氧基任选被一个或多个 R^{23A} 所取代， R^{23A} 如前述所定义。

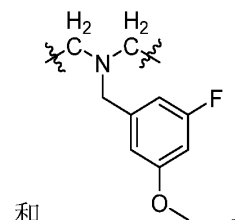
在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐中 R^{23} 独立地选自卤素，例如氟或氯。

在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐为

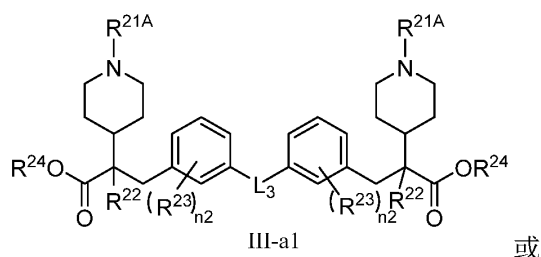


R^{21A} 、 n_2 、 m_2 如前述定义。

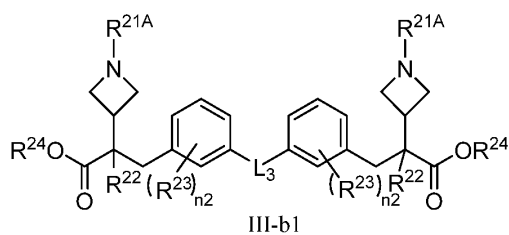
在另一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐中 L_3 选自 $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$



在另一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐为



或

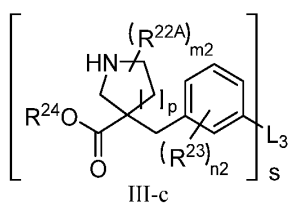


，其中 L_3 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{21A} 、 n_2

如前述定义。

在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐中 R^{21} 、 R^{22} 与相邻碳原子形成 5 或 6 元杂环烷基，所述杂环烷基任选被一个或多个 R^{22A} 所取代， R^{22A} 各自独立地选自氘、卤素、 C_{1-6} 烷基。

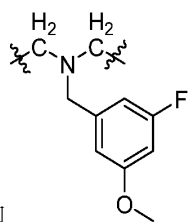
在另一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐为



，其中 L_3 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{22A} 、 n_2 如前述定义； p

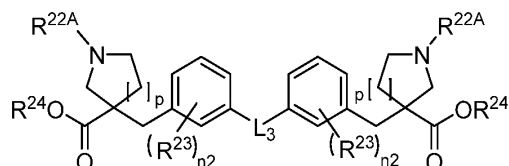
独立地选自 0-2 之间整数。

在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐中 L_3 选自 $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$



和

在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐为



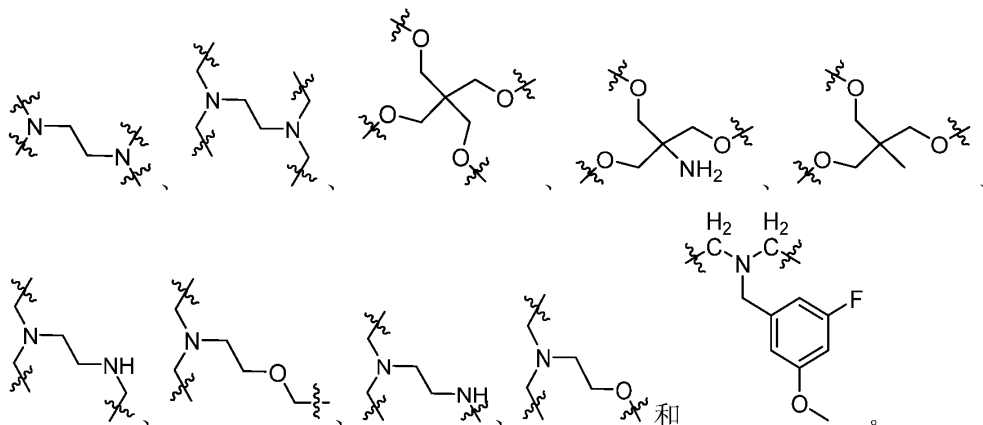
III-c1

，其中 L_3 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{21A} 、 n_2

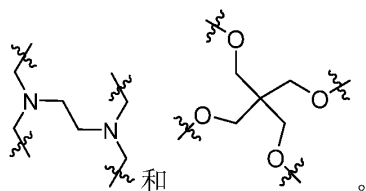
如前述定义。

在一些实施方案中，式 III-c 或式 III-c1 化合物或其可药用盐中 p 独立地选自 1 或 2。

在一些实施方案中，式 III-c 或式 III-c1 化合物或其可药用盐中 L_3 选自氮原子、



在一些实施方案中，式 III-c 或式 III-c1 化合物或其可药用盐中 L_3 选自氮原子、



在一些实施方案中，式 III 或式 III-c 或式 III-c1 化合物或其可药用盐中 R^{24} 选自氢。

在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐中 R^{23} 选自氢或 C_{1-6} 烷氧基，所述烷氧基任选被一个或多个 R^{23A} 所取代， R^{23A} 如前述定义。

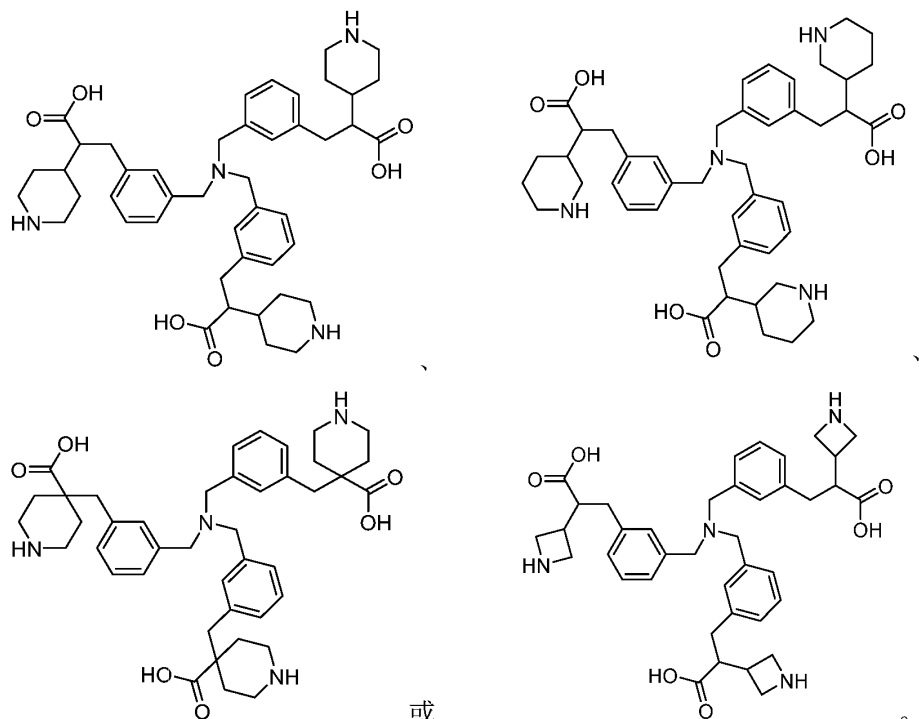
在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐中 R^{23} 选自卤素，例如氟或氯。

在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐中 R^{23} 选自 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷

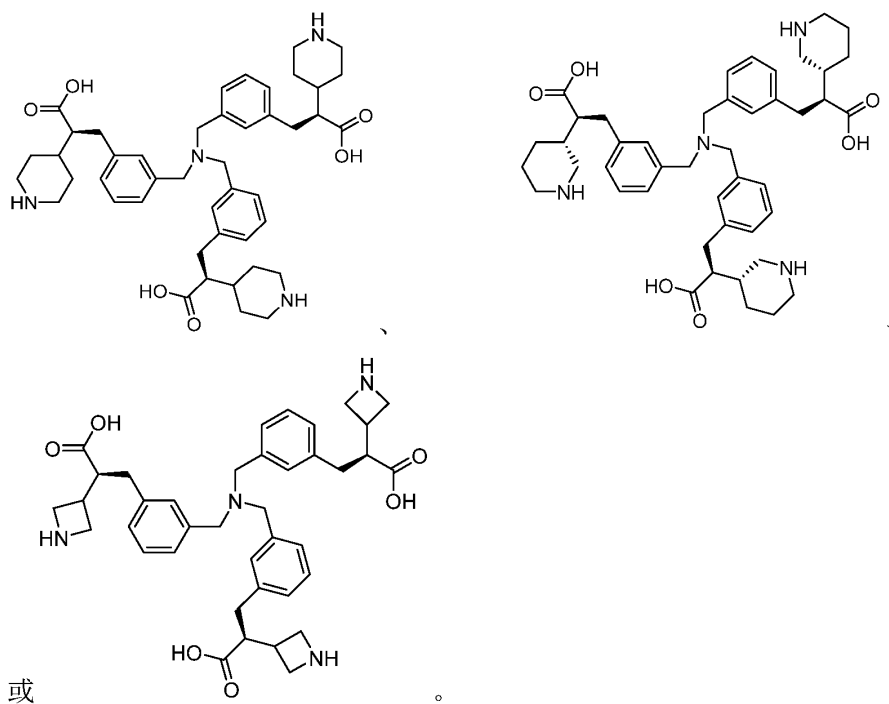
氧基，所述烷基或烷氧基任选被一个或多个 R^{23A} 所取代， R^{23A} 如前述定义。

在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐中 R^{21A} 选自氢。

本公开中式 III 所示化合物或其可药用盐包括但不限于：



在一些实施方案中，式 III 化合物或其可药用盐选自：



本公开还提供前述化合物或其可药用盐的同位素取代物。在一些实施方案中，所述同位素取代物为氘代物。

在竞争结合试验中，测试化合物与预期目标人类载脂蛋白(a)的体外结合亲和力。本公开化合物与载脂蛋白(a)结合具有较好的结合力。在一些实施方案中，本公开化合物与载脂蛋白(a)结合的 IC₅₀ 值在 0.01 至 500nM。在一些实施方案中，本公开化合物与载脂蛋白(a)结合的 IC₅₀ 值在 0.01 至 100nM。在一些实施方案中，本公开化合物与载脂蛋白(a)结合的 IC₅₀ 值在 0.01 至 20nM。在一些实施方案中，本公开化合物与载脂蛋白(a)结合的 IC₅₀ 值在 0.01 至 20nM。在 0.1 至 30nM。在一些实施方案中，本公开化合物与载脂蛋白(a)结合的 IC₅₀ 值<50nM。

本公开中还提供了一种药物组合物，包括至少一种治疗有效量的前述式 I 或 II 或 III 所示化合物或其可药用盐、或其同位素取代物以及药学上可接受的赋形剂。

在一些实施方案中，所述的药物组合物的单位剂量为 0.001mg-1000mg。

在某些实施方案中，基于组合物的总重量，所述的药物组合物含有 0.01-99.99% 的前述化合物或其可药用盐或其同位素取代物。在某些实施方案中，所述的药物组合物含有 0.1-99.9% 的前述化合物或其可药用盐或其同位素取代物。在某些实施方案中，所述的药物组合物含有 0.5%-99.5% 的前述化合物或其可药用盐或其同位素取代物。在某些实施方案中，所述的药物组合物含有 1%-99% 的前述化合物或其可药用盐或其同位素取代物。在某些实施方案中，所述的药物组合物含有 2%-98% 的前述化合物或其可药用盐或其同位素取代物。

在某些实施方案中，基于组合物的总重量，所述的药物组合物含有 0.01%-99.99% 的药学上可接受的赋形剂。在某些实施方案中，所述的药物组合物含有 0.1%-99.9% 的药学上可接受的赋形剂。在某些实施方案中，所述的药物组合物含有 0.5%-99.5% 的药学上可接受的赋形剂。在某些实施方案中，所述的药物组合物含有 1%-99% 的药学上可接受的赋形剂。在某些实施方案中，所述的药物组合物含有 2%-98% 的药学上可接受的赋形剂。

本公开还提供一种预防和/或治疗与 LP(a)血浆水平升高相关的疾病或病症的方法，其通过向所述患者施用治疗有效量的如前述式 I 或 II 或 III 所示化合物或其可药用盐或其同位素取代物，或前述药物组合物。

在一些实施方案中，与 LP(a)血浆水平升高相关的疾病或病症选自心血管疾病，包括但不限于中风、高血压性心脏病、冠性病。

本公开还提供一种预防和/或治疗患有心血管疾病患者的方法，其包括向所述患者施用治疗有效量的如前述式 I 或式 II 或式 III 所示化合物或其可药用盐或其同位素取代物、或前述药物组合物。

本公开还提供了如前述式 I 或式 II 或式 III 所示化合物或其可药用盐或前述药物组合物在制备用于预防和/或治疗与 LP(a)血浆水平升高相关的疾病或病症的药物中的用途。在一些实施方案中，与 LP(a)血浆水平升高相关的疾病或病症选自心

血管疾病，包括但不限于中风、高血压性心脏病、冠性病。

本公开还提供了如前述式 I 或式 II 或式 III 所示化合物或其可药用盐或前述药物组合物在制备用于预防和/或治疗心血管疾病的药物中的用途。

本公开中所述化合物可药用盐可选自无机盐或有机盐。

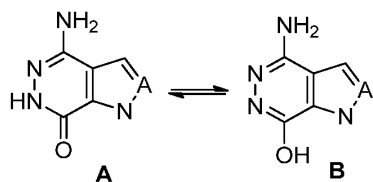
本公开化合物可以存在特定的几何或立体异构体形式。本公开设想所有的这类化合物，包括顺式和反式异构体、(-)-和(+)-对映体、(R)-和(S)-对映体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体，及其外消旋混合物和其他混合物，例如对映异构体或非对映体富集的混合物，所有这些混合物都属于本公开的范围之内。烷基等取代基中可存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及它们的混合物，均包括在本公开的范围之内。本公开的含有不对称碳原子的化合物可以以光学活性纯的形式或外消旋形式被分离出来。光学活性纯的形式可以从外消旋混合物拆分，或通过使用手性原料或手性试剂合成。

可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的(R)-和(S)-异构体以及 D 和 L 异构体。如果想得到本公开某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱性官能团(如氨基)或酸性官能团(如羧基)时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的常规方法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合(例如由胺生成氨基甲酸盐)。

本公开所述化合物的化学结构中，键“/”表示未指定构型，即如果化学结构中存在手性异构体，键“/”可以为“/”或“\”，或者同时包含“/”和“\”两种构型。

本公开所述化合物的化学结构中，键“=”并未指定构型，即可以为 Z 构型或 E 构型，或者同时包含两种构型。

本公开的化合物和中间体还可以以不同的互变异构体形式存在，并且所有这样的形式包含于本公开的范围之内。术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指可由低能垒互变的不同能量的结构异构体。例如，质子互变异构体(也称为质子转移互变异构体)包括经由质子迁移的互变，如酮-烯醇及亚胺-烯胺、内酰胺-内酰亚胺异构化。内酰胺-内酰亚胺平衡实例是在如下所示的 A 和 B 之间。



本公开中的所有化合物可以被画成 A 型或 B 型。所有的互变异构形式在本公开的范围。化合物的命名不排除任何互变异构体。

本公开还包括一些与本文中记载的那些相同的，但一个或多个原子被原子量或质量数不同于自然中通常发现的原子量或质量数的原子置换的同位素标记的本公开化合物。可结合到本公开化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、碘和氯的同位素，诸如分别为 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{13}N 、 ^{15}N 、 ^{15}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、 ^{123}I 、 ^{125}I 和 ^{36}Cl 等。

除另有说明，当一个位置被特别地指定为氘 (D) 时，该位置应理解为具有大于氘的天然丰度 (其为 0.015%) 至少 1000 倍的丰度的氘 (即，至少 10% 的氘掺入)。示例中化合物的具有大于氘的天然丰度可以是至少 1000 倍的丰度的氘、至少 2000 倍的丰度的氘、至少 3000 倍的丰度的氘、至少 4000 倍的丰度的氘、至少 5000 倍的丰度的氘、至少 6000 倍的丰度的氘或更高丰度的氘。本公开还包括各种氘化形式的式 (I) 化合物。与碳原子连接的各个可用的氢原子可独立地被氘原子替换。本领域技术人员能够参考相关文献合成氘化形式的式 (I) 化合物。在制备氘代形式的式 (I) 化合物时可使用市售的氘代起始物质，或它们可使用常规技术采用氘代试剂合成，氘代试剂包括但不限于氘代硼烷、三氘代硼烷四氢呋喃溶液、氘代氢化锂铝、氘代碘乙烷和氘代碘甲烷等。

“任选地”或“任选”是指意味着随后所描述的事件或环境可以但不必发生，该说明包括该事件或环境发生或不发生的场合。例如“任选的被卤素或者氰基取代的 C_{1-6} 烷基”是指卤素或者氰基可以但不必须存在，该说明包括烷基被卤素或者氰基取代的情形和烷基不被卤素和氰基取代的情形。

术语解释：

“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上可药用盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

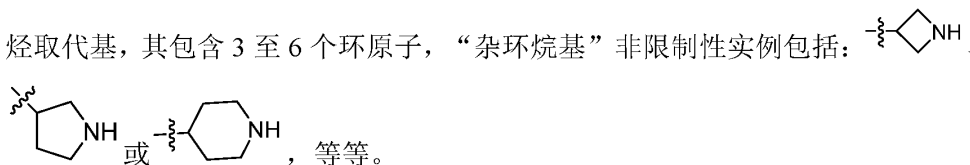
“可药用赋形剂”包括但不限于任何已经被药物管理局批准对于人类或家畜动物使用可接受的任何助剂、载体、赋形剂、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、增香剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、助悬剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂。

本公开中所述“有效量”或“治疗有效量”包含足以改善或预防医学病症的症状或病症的量。有效量还意指足以允许或促进诊断的量。用于特定患者或兽医受试者的有效量可依据以下因素而变化：如待治疗的病症、患者的总体健康情况、给药的方法途径和剂量以及副作用严重性。有效量可以是避免显著副作用或毒性作用的最大剂量或给药方案。

“烷基”指饱和的脂族烃基团，包括 1 至 6 个碳原子的直链和支链基团。非

限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基及其各种支链异构体等。烷基可以是取代的或未取代的，当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，优选一个或多个以下基团，独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基。

术语“杂环烷基 (Heterocycloalkyl)”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基，其包含 3 至 6 个环原子，“杂环烷基”非限制性实例包括：



杂环烷基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自氢、氘、卤素或 C₁₋₆ 烷基。

术语“烷氧基”指-O-(烷基)，其中烷基的定义如上所述。烷氧基的非限制性实例包括：甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环己氧基。烷氧基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基。

术语“杂环”指构成环的原子除碳原子外还有其他原子，其包括杂环烷基和杂芳环。

术语“羟基”指-OH 基团。

术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

术语“氰基”指-CN。

术语“氨基”指-NH₂。

术语“氧代”指=O 取代基。

“取代的”指基团中的一个或多个氢原子，优选为最多 5 个，更优选为 1~3 个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定(通过实验或理论)可能或不可能的取代。

具体实施方式

以下结合实施例进一步描述本公开中，但这些实施例并非限制本公开中的范围。

本公开中实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照原料或商品制造厂商所建议的条件。未注明具体来源的试剂，为市场购买的常规试剂。

化合物的结构是通过核磁共振(NMR)或/和质谱(MS)来确定的。NMR 位移(δ)以 10⁻⁶ (ppm)的单位给出。NMR 的测定是用 Bruker AVANCE-400 核磁仪，测定溶

剂为氘代二甲基亚砷(DMSO- d_6), 氘代氯仿($CDCl_3$), 氘代甲醇(CD_3OD), 内标为四甲基硅烷(TMS)。化合物的光学异构体(异构体)空间构型可进一步通过测量单晶参数的方式确认。

HPLC 的测定使用 Waters ACQUITY ultra high performance LC、Shimadzu LC-20A systems、Shimadzu LC-2010HT series 或安捷伦 Agilent 1200 LC 高压液相色谱仪(ACQUITY UPLC BEH C18 1.7UM 2.1X50MM 色谱柱、Ultimate XB-C18 3.0*150mm 色谱柱或 Xtimate C18 2.1*30mm 色谱柱)。

MS 的测定用 Waters SQD2 质谱仪, 以正/负离子模式扫描, 质量扫描范围为 100~1200 。

手性 HPLC 分析测定使用 Chiralpak IC-3 100×4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralpak AD-3 150×4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralpak AD-3 50×4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralpak AS-3 150×4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralpak AS-3 100×4.6mm I.D., 3 μ m、ChiralCel OD-3 150×4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralcel OD-3 100×4.6mm I.D., 3 μ m、ChiralCel OJ-H 150×4.6mm I.D., 5 μ m、Chiralcel OJ-3 150×4.6mm I.D., 3 μ m 色谱柱;

薄层层析硅胶板使用烟台黄海 HSGF254 或青岛 GF254 硅胶板, 薄层色谱法(TLC)使用的硅胶板采用的规格是 0.15mm~0.2mm, 薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4 mm~0.5 mm。

快速柱纯化系统使用 Combiflash Rf150 (TELEDYNE ISCO)或者 Isolara one (Biotage)。

正向柱层析一般使用烟台黄海硅胶 100~200 目、200~300 目或 300~400 目硅胶为载体, 或者使用常州三泰预填预填超纯正相硅胶柱(40-63 μ m, 60, 12g, 25g, 40g, 80g 或其他规格)。

反相柱层析一般使用常州三泰预填超纯 C18 硅胶柱(20-45 μ m, 100 Å, 40g, 80g, 120g, 220g 或其他规格)。

高压柱纯化系统使用 Waters AutoP, 配合使用 Waters XBridge BEH C18 OBD Prep Column, 130Å, 5 μ m, 19 mm X 150 mm 或者 Atlantis T3 OBD Prep Column, 100Å, 5 μ m, 19 mm X 150 mm。

手性制备柱使用 DAICEL CHIRALPAK IC (250mm*30mm,10 μ m) 或 Phenomenex-Amylose-1 (250mm*30mm,5 μ m)。

本公开中的已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成, 或可购买自上海泰坦科技, 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, 反应能够均在氩气氛或氮气氛下进行。

氩气氛或氮气氛是指反应瓶连接一个约 1L 容积的氩气或氮气气球。

氢气气氛是指反应瓶连接一个约 1L 容积的氢气气球。

加压氢化反应使用 Parr 3916EKX 型氢化仪和清蓝 QL-500 型氢气发生器或

HC2-SS 型氢化仪。

氢化反应通常抽真空，充入氢气，反复操作 3 次。

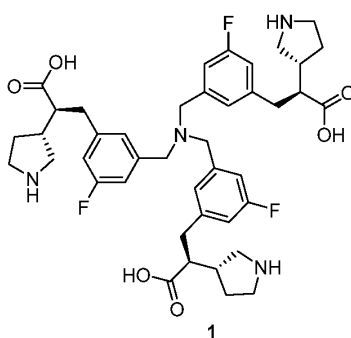
微波反应使用 CEM Discover-S 908860 型微波反应器。

实施例中没有特殊说明，溶液是指水溶液。

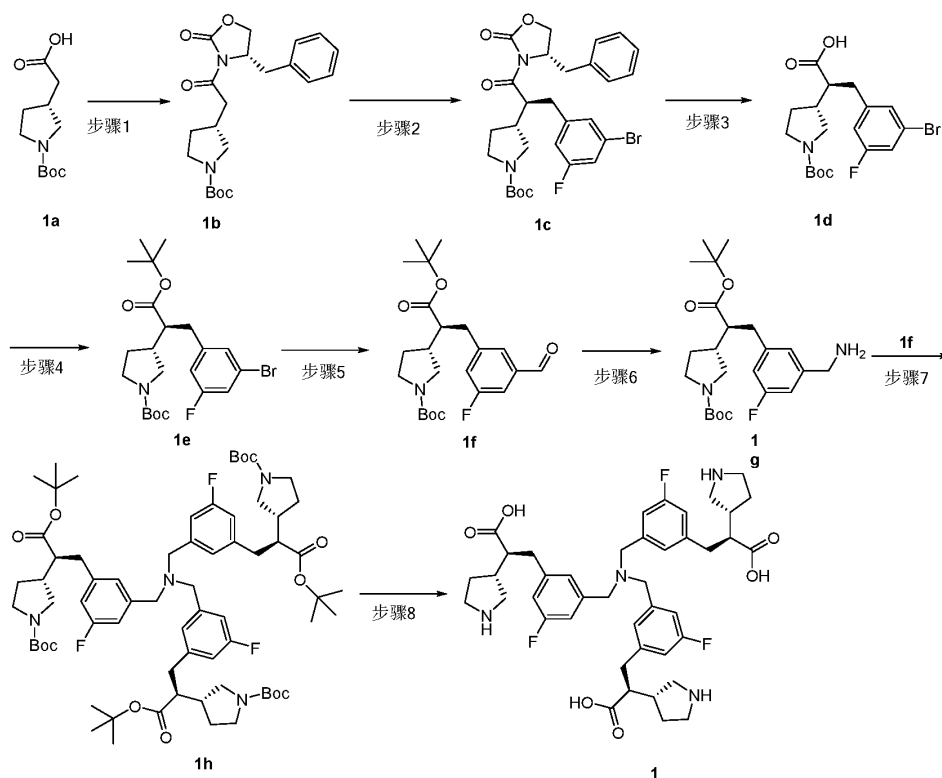
实施例中没有特殊说明，反应的温度为室温，为 20℃~30℃。

实施例中的反应进程的监测采用薄层色谱法(TLC)，反应所使用的展开剂，纯化化合物采用的柱层析的洗脱剂的体系和薄层色谱法的展开剂体系，溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节，也可以加入少量的三乙胺和醋酸等碱性或酸性试剂进行调节。

实施例 1



(2S)-3-(3-([双({3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]-5-氟苯基}甲基)氨基]甲基)-5-氟苯基)-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸 (化合物 1)



步骤 1: (R)-3-(2-((S)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-2-氧代乙基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**1b**) 的制备

将原料(R)-N-叔丁氧羰基-3-四氢吡咯乙酸(化合物 **1a**, 9 g, 39 mmol) 溶于无水四氢呋喃(100 mL), 冷却至 0 °C, 加入三乙胺(13.6 mL, 98 mmol), 0 °C 下搅拌反应 5 分钟。加入新戊酰氯(5.8 g, 47.1 mmol), 加入过程中温度不超过 10 °C, 搅拌反应 15 分钟后, 加入氯化锂(1.9 g, 47.1 mmol) 和溶有(S)-4-苄基-2-噁唑烷酮(6.9 g, 39 mmol) 的四氢呋喃溶液(100 mL)。反应液升至室温, 搅拌 24 小时。加入 2M 盐酸水溶液(500 mL), 分离得到有机相, 浓缩, 剩余物经硅胶快速柱层析(石油醚/乙酸乙酯)纯化得到油状液体化合物 **1b**(12.5 g, 收率 82 %)。

MS (ESI): $m/z = 411.1 [M+Na]^+$ 。

步骤 2: (R)-3-((S)-1-((S)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-3-(3-溴-5-氟苯基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**1c**) 的制备

将化合物 **1b** (3.5 g, 9 mmol) 溶于无水四氢呋喃(50 mL), 氮气保护, 冷却至 0 °C, 滴加 1M 双(三甲基硅基)酰胺锂四氢呋喃溶液(10 mL, 10 mmol), 反应 15 分钟后, 缓慢滴加溶有 3-氟-5-溴苄(2.8 g, 10.8 mmol) 的四氢呋喃溶液(25 mL), 反应过夜。LCMS 监测反应完成后, 加入饱和 NH_4Cl 溶液(10 mL)淬灭反应, 乙酸乙酯萃取, 有机相浓缩得到粗品, 粗品经反相快速柱层析(乙腈/水)纯化得化合物 **1c**(1.8 g, 收率 34.6 %)。

MS (ESI): $m/z = 597.4 [M+Na]^+$

步骤 3: (S)-3-(3-溴-5-氟苯基)-2-((R)-1-(叔丁氧羰基)吡咯烷-3-基)丙酸 (**1d**) 的制备

冰浴下, 将化合物 **1c** (2 g, 3.5 mol) 溶于四氢呋喃 (20 mL), 加入 1 M 双氧水 (5 mL) 后, 缓慢滴加 0.5 M 氢氧化锂水溶液 (10 mL), LCMS 监测反应。反应结束后, 滴加饱和亚硫酸钠 (10 mL) 淬灭反应, 搅拌 5-10 分钟。滴加 5 M 氢氧化钠水溶液, 调节 pH > 12, 加入水, 乙酸乙酯 (100 mL) 萃取, 收集水相, 用 2 M 盐酸水溶液调 pH 至 3 左右, 乙酸乙酯萃取 (100 mL×2), 分离得到有机相, 浓缩得到黄色油状液体化合物 **1d**, 无需纯化, 直接用于下一步。

MS (ESI): $m/z = 361.7 [M-C(CH_3)_3+H]^+$ 。

步骤 4: (R)-3-((S)-3-(3-溴-5-氟苯基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**1e**) 的制备

将化合物 **1d** (1.8 g, 4.3 mmol) 溶于 2-甲基四氢呋喃 (25 mL), 加入 O-叔丁基-N,N'-二异丙基异脲 (2.17 g, 10.8 mmol), 升温至 65°C 反应 3 小时后, 加入 O-叔丁基-N,N'-二异丙基异脲 (862 mg, 4.3 mmol), 搅拌反应过夜。LCMS 监测反应结束后, 过滤, 滤液浓缩, 剩余物经硅胶快速柱层析 (石油醚/乙酸乙酯) 得到化合物 **1e** (1.3 g, 收率 64%)。

MS (ESI) $m/z = 361.7 [M-2C(CH_3)_3+H]^+$ 。

步骤 5: (R)-3-((S)-1-(叔丁氧基)-3-(3-氟-5-甲酰基苯基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**1f**) 的制备

将化合物 **1e** (430 mg, 0.9 mmol), 醋酸钯 (40 mg, 0.2 mmol), 1,4-双(二苯基膦)丁烷 (83 mg, 0.2 mmol)、N-甲酰糖精 (442 mg, 2.1 mmol), 碳酸钠 (270 mg, 2.5 mmol) 和三乙基硅烷 (174 mg, 1.5 mmol) 加入到 20 mL 微波反应管中, 氮气保护, 加入无水 N,N-二甲基甲酰胺 (6 mL), 立即用塑料螺帽密封。室温下搅拌混合物 10 分钟, 随后将反应液加热至 75°C, 反应 16 小时。LCMS 监测反应结束后, 将反应液冷却至室温, 离心过滤, 滤液经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得到黄色油状化合物 **1f** (173 mg, 收率 50%)。

MS (ESI): $m/z = 444.4 [M+Na]^+$ 。

步骤 6: (R)-3-((S)-3-(3-(氨基甲基)-5-氟苯基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**1g**) 的制备

将化合物 **1f** (100 mg, 0.23 mmol) 溶于 7M 氨甲醇溶液 (2 mL), 滴加 1 滴乙酸并加入分子筛, 室温搅拌 15 分钟, 加入氰基硼氢化钠 (150 mg, 2.3 mmol), 封管微波 80°C 反应 1 小时。反应结束后, 冷却至室温, 离心过滤, 滤液经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得到黄色油状化合物 **1g** (60 mg, 收率 60%)。

MS (ESI): $m/z = 423.8 [M+H]^+$ 。

步骤 7: (3R)-3-[(2S)-3-(3-{[双({3-[(2S)-3-(叔丁氧基)-2-[(3R)-1-(叔丁氧基)羰

基]吡咯烷-3-基]-3-丙酰基]-5-氟苯基}甲基)氨基]甲基}-5-氟苯基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基]吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**1h**) 的制备

将化合物 **1g** (60 mg, 0.14 mmol) 溶于无水甲醇 (8 mL), 加入化合物 **1f** (180 mg, 0.412 mmol), 室温下滴加 1 滴乙酸并加入分子筛, 搅拌反应 15 分钟, 加入氰基硼氢化钠 (100 mg, 1.4 mmol), 升温至 75°C 反应 4 小时后, 室温反应过夜。LCMS 监测反应结束后, 加入少量 DMF 溶解, 离心过滤, 滤液经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得到白色固体化合物 **1h** (130 mg, 收率 74.2%)。

MS (ESI): $m/z = 1233.9 [M+H]^+$

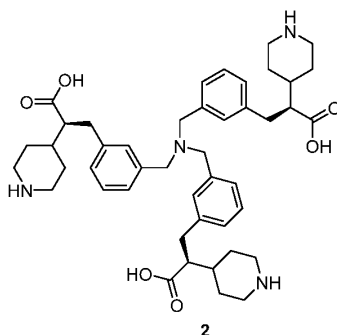
步骤 8: (2S)-3-(3-{[双({3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]-5-氟苯基}甲基)氨基]甲基}-5-氟苯基)-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸 (**1**) 的制备

将化合物 **1h** (130 mg, 0.105 mmol) 溶于无水二氧六环 (1 mL), 加入 4M 氯化氢二氧六环溶液 (3 mL), 室温反应。LCMS 监测反应完成后, 将反应液浓缩, 粗品经反相制备 (乙腈/水+1%甲酸) 得到标题化合物 **1** (45 mg, 收率 55.8%)。

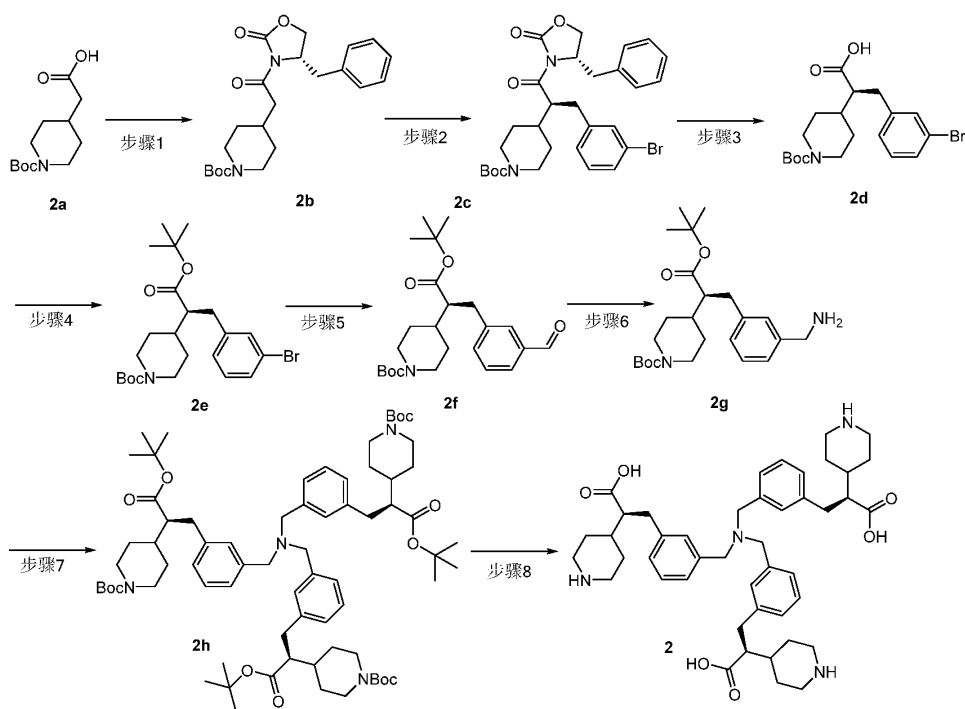
MS (ESI): $m/z = 765.3 [M+H]^+$ 。

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 8.45 (s, 1H), 7.10 (d, $J = 9.7$ Hz, 3H), 7.06 – 7.00 (m, 6H), 4.27 (s, 6H), 3.64 – 3.54 (m, 3H), 3.49 – 3.38 (m, 3H), 3.32 – 3.22 (m, 3H), 3.08 – 2.99 (m, 3H), 2.88 – 2.73 (m, 6H), 2.56 – 2.42 (m, 6H), 2.20 – 2.08 (m, 3H), 1.78 (d, $J = 9.6$ Hz, 3H)。

实施例 2



(2S)-3-(3-{[双({3-[(2S)-2-羧基-2-(哌啶-4-基)乙基]苯基}甲基)氨基]甲基}苯基)-2-(哌啶-4-基)丙酸 (**2**)



步骤 1: (S)-4-(2-(4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-2-氧代乙基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (**2b**) 的制备

将原料 1-叔丁氧羰基-4-哌啶乙酸 (化合物 **2a**, 5 g, 21 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (50 mL), 冷却至 0℃, 加入三乙胺 (7.5 mL, 51 mmol), 0℃下搅拌反应 5 分钟, 加入新戊酰氯 (3.0 g, 24 mmol)。加入过程中温度不超过 10℃, 搅拌 15 分钟后, 加入氯化锂 (1.0 g, 24 mmol) 和溶有(S)-4-苄基-2-噁唑烷酮 (3.6 g, 22 mmol) 的四氢呋喃溶液 (50 mL)。反应液升至室温, 搅拌 24 小时。加入 2M 盐酸水溶液 (250 mL), 分离得到有机相, 浓缩, 剩余物经硅胶快速柱层析 (石油醚/乙酸乙酯) 纯化得到油状液体化合物 **2b** (8 g, 收率 96.7%)。

MS (ESI): $m/z = 425.6 [M+Na]^+$ 。

步骤 2: 4-((S)-1-((S)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-3-(3-溴苄基)-1-氧代丙烷-2-基) 哌啶-1-羧酸叔丁酯 (**2c**) 的制备

将化合物 **2b** (5 g, 12 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (80 mL), 氮气保护, 冷却至 0℃,

滴加 1 M 双 (三甲基硅基) 酰胺锂四氢呋喃溶液 (15 mL, 15 mmol), 反应 15 分钟后, 缓慢滴加溶有 3-溴苄溴 (3 g, 12 mmol) 的四氢呋喃溶液 (15 mL), 反应过夜。LCMS 监测反应完成后, 加入饱和 NH_4Cl 溶液 (15 mL) 淬灭反应, 乙酸乙酯萃取, 有机相浓缩得到粗品, 粗品经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得化合物 **2c** (1.8 g, 收率 25.3%)。

MS (ESI): $m/z = 593.5 [M+Na]^+$ 。

步骤 3: (S)-3-(3-溴苯基)-2-(1-(叔丁氧羰基)哌啶-4-基)丙酸 (2d) 的制备

冰浴下, 将化合物 2c (1.5 g, 2.6 mol) 溶于四氢呋喃 (15 mL), 加入 1 M 双氧水 (3.5 mL) 后, 缓慢滴加 0.5 M 氢氧化锂水溶液 (7 mL), LCMS 监测反应。反应结束后, 滴加饱和亚硫酸钠 (8 mL) 淬灭反应, 搅拌 5-10 分钟。滴加 5 M 氢氧化钠水溶液, 调节 pH >12, 加入水, 乙酸乙酯 (80 mL) 萃取, 收集水相, 用 2 M 盐酸水溶液调 pH 至 3 左右, 乙酸乙酯萃取 (80 mL×2), 分离得到有机相, 浓缩得到黄色油状液体化合物 2d, 无需纯化, 直接用于下一步。

MS (ESI): $m/z = 358.7 [M-C(CH_3)_3+H]^+$ 。

步骤 4: (S)-4-(3-(3-溴苯)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (2e) 的制备

将化合物 2d (1.0 g, 2.4 mmol) 溶于 2-甲基四氢呋喃 (20 mL), 加入 O-叔丁基-N,N'-二异丙基异脲 (1.21 g, 6 mmol), 升温至 65°C 反应 3 小时后, 加入 O-叔丁基-N,N'-二异丙基异脲 (481 mg, 2.4 mmol), 搅拌反应过夜。LCMS 监测反应结束后, 过滤, 滤液浓缩, 剩余物经硅胶快速柱层析 (石油醚/乙酸乙酯) 得到化合物 2e (600 mg, 收率 52.8%)。

MS (ESI) $m/z = 358.7 [M-2C(CH_3)_3+H]^+$ 。

步骤 5: (S)-4-(1-(叔丁氧基)-3-(3-甲酰基苯基)-1-氧代丙烷-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (2f) 的制备

将化合物 2e (600mg, 1.2 mmol), 醋酸钯 (58 mg, 0.3 mmol), 1,4-双(二苯基膦)丁烷 (102 mg, 0.3 mmol)、N-甲酰糖精 (622 mg, 3.0 mmol), 碳酸钠 (380 mg, 3.6 mmol) 和三乙基硅烷 (256 mg, 2.2 mmol) 加入到 20 mL 微波反应管中, 氮气保护, 加入无水 N,N-二甲基甲酰胺 (10 ml), 立即用塑料螺帽密封。室温下搅拌混合物 10 分钟, 随后将反应液加热至 75°C, 反应 16 小时。LCMS 监测反应结束后, 将反应液冷却至室温, 离心过滤, 滤液经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得到黄色油状化合物 2f (180 mg, 收率 33.7%)。

MS (ESI): $m/z = 440.3 [M+Na]^+$ 。

步骤 6: (S)-4-(3-(3-(氨基甲基)苯基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯 (2g) 的制备

将化合物 2f (80 mg, 0.19 mmol) 溶于 7M 氨甲醇溶液 (2 mL), 滴加 1 滴乙酸, 室温搅拌 15 分钟, 加入氰基硼氢化钠 (150 mg, 2.3 mmol), 封管微波 80°C 反应 1 小时。反应结束后, 冷却至室温, 离心过滤, 滤液经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得到黄色油状化合物 2g (40 mg, 收率 50%)。

MS (ESI): $m/z = 419.4 [M+H]^+$ 。

步骤 7: 4-[(2S)-3-(3-{[双({3-[(2S)-3-(叔丁氧基)-2-{1-[(叔丁氧基)羰基]哌啶-4-基}-3-丙酰基]苯基}甲基)氨基]甲基}苯基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基]哌啶-1-羧酸叔丁酯 (2h) 的制备

将化合物 **2g** (50 mg, 0.14 mmol) 溶于无水甲醇 (8 mL), 加入 **2f** (120 mg, 0.412 mmol), 室温下滴加 1 滴乙酸并加入分子筛, 搅拌反应 15 分钟, 加入氰基硼氢化钠 (100 mg, 1.4 mmol), 升温至 75℃ 反应 4 小时后, 室温反应过夜。LCMS 监测反应结束后, 加入少量 DMF 溶解, 离心过滤, 滤液经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得到白色固体化合物 **2h** (100 mg, 收率 68.5%)。

MS (ESI): $m/z = 1221.9 [M+H]^+$ 。

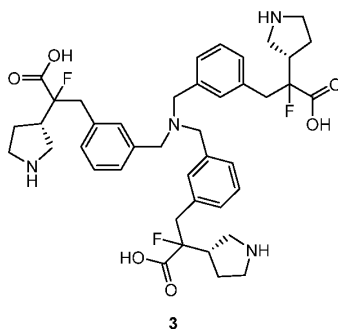
步骤 8: (2S)-3-(3-{[双({3-[(2S)-2-羧酸-2-(哌啶-4-基)乙基]苯基}甲基)氨基]甲基}苯基)-2-(哌啶-4-基)丙酸 (**2**) 的制备

将化合物 **2h** (100 mg, 0.08 mmol) 溶于无水二氧六环 (0.8 mL), 加入 4M 氯化氢二氧六环溶液 (2.5 mL), 室温反应。LCMS 监测反应完成后, 将反应液浓缩, 粗品经反相制备得到 (乙腈/水+1%甲酸) 标题化合物 **2** (30 mg, 收率 48.7%)。

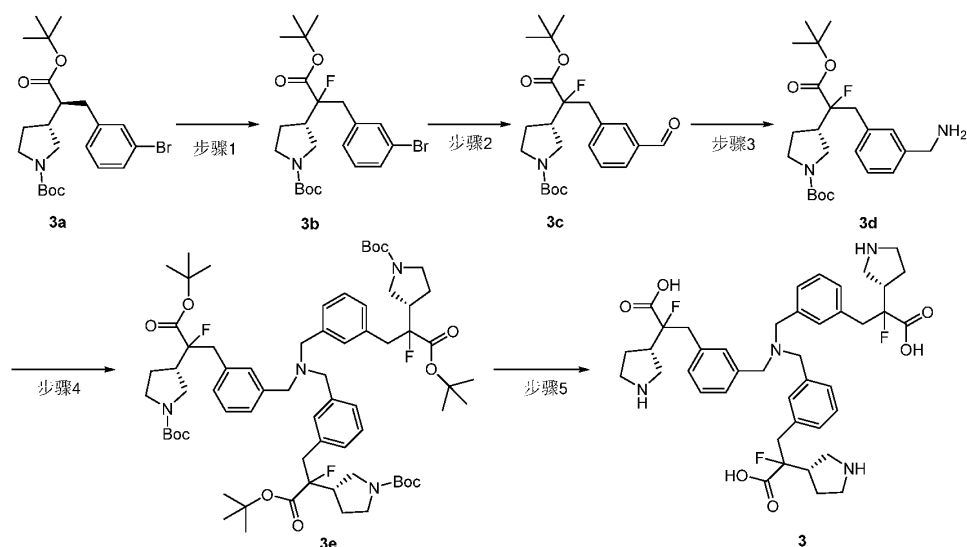
MS (ESI): $m/z = 753.9 [M+H]^+$ 。

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 8.46 (s, 1H), 7.45 – 7.32 (m, 6H), 7.27 – 7.18 (m, 6H), 4.30 (s, 6H), 3.55 – 3.38 (m, 6H), 3.06 – 2.91 (m, 9H), 2.77 – 2.67 (m, 3H), 2.43 – 2.32 (m, 3H), 2.23 – 2.13 (m, 3H), 1.96 – 1.76 (m, 6H), 1.63 – 1.45 (m, 6H)。

实施例 3



3-[3-({双[(3-{2-羧基-2-氟-2-[(3S)-吡咯烷-3-基]乙基}苯基)甲基]氨基}甲基)苯基)-2-氟-2-[(3S)-吡咯烷-3-基]丙酸 (**3**)



步骤 1: (3S)-3-(3-(3-(3-溴苯基)-1-(叔丁氧基)-2-氟-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**3b**) 的制备

将按照专利 WO2020247429 中方法制备的化合物 **3a** (2.4 g, 5.28 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (50 mL), 冷却至 -78°C , 加入 2 M 二异丙基氨基锂四氢呋喃溶液 (5.28 mL), 低温下反应 30 分钟, 接着加入 N-氟代双苯磺酰胺 (5.0 g, 15.85 mmol)。反应逐渐升温至室温, 反应 16 小时。LCMS 检测反应完成后, 向反应液加入饱和氯化铵溶液, 乙酸乙酯萃取 (20 mL $\times$ 2)。合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到粗品, 粗品经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得到化合物 **3b** (2 g, 收率 80%)。

MS (ESI) $m/z = 372.2 [M+H-100]^+$ 。

步骤 2: (3S)-3-(1-(叔丁氧基)-2-氟-3-(3-甲酰基苯基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**3c**) 的制备

将化合物 **3b** (1000 mg, 2.12 mmol), N-甲酰基糖精 (894 mg, 4.23 mmol), 醋酸钯 (48 mg, 0.21 mmol), 1,4-双(二苯基膦)丁烷 (181 mg, 0.42 mmol), 三乙基硅烷 (902 mg, 4.23 mmol) 加入微波反应管中, 然后加入 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL)。置换氮气后, 80°C 反应过夜。LCMS 检测反应完成后, 向反应液中加入饱和氯化铵溶液, 乙酸乙酯萃取 (20 mL $\times$ 2)。合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到粗品, 粗品经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得到化合物 **3c** (350 mg, 收率 39%)。

MS (ESI) $m/z = 444.3 [M+Na]^+$ 。

步骤 3: (3S)-3-(3-(3-(氨基甲基)苯基)-1-(叔丁氧基)-2-氟-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**3d**) 的制备

将化合物 **3c** (130 mg, 0.31 mmol) 加入微波管中, 用甲醇 (2 mL) 溶解, 后加入 7 M 氨甲醇溶液 (2 mL) 和 1 滴乙酸, 室温搅拌 30 分钟后, 再加入氨基硼

氢化钠 (92 mg, 1.54 mmol), 80 °C 微波反应 1 小时。LCMS 监测反应完成后, 减压浓缩得到粗产品, 粗品经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得到淡黄色油状物化合物 **3d** (50 mg, 收率 38%)。

MS (ESI) $m/z = 423.6 [M+H]^+$ 。

步骤 4: (3S)-3-[3-(3-{[双(3-[3-(叔丁氧基)-2-[(3S)-1-[(叔丁氧基)羰基]吡咯烷-3-基]-2-氟-3-丙酰基]苯基}甲基)氨基]甲基}苯基)-1-(叔丁氧基)-2-氟-1-氧代丙烷-2-基]吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**3e**) 的制备

将化合物 **3d** (50 mg, 0.12 mmol) 和 **3c** (100 mg, 0.24 mmol) 溶于甲醇 (20 mL), 加入 1 滴乙酸, 室温搅拌 30 分钟后, 加入氰基硼氢化钠 (92 mg, 1.54 mmol)。60 °C 反应 5 小时。LCMS 监测反应完成后, 减压浓缩得到粗产品, 粗品经反相快速柱层析 (乙腈/水) 纯化得到淡黄色油状物化合物 **3e** (80 mg, 收率 55%)。

MS (ESI) $m/z = 1233.9 [M+H]^+$ 。

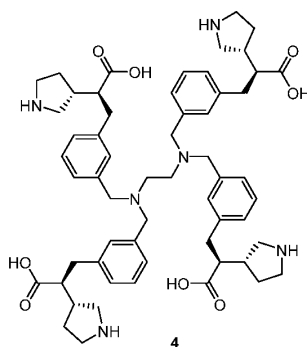
步骤 5: 3-[3-({双(3-[2-羧基-2-氟-2-[(3S)-吡咯烷-3-基]乙基}苯基)甲基)氨基}甲基)苯基]-2-氟-2-[(3S)-吡咯烷-3-基]丙酸 (**3**) 的制备

将化合物 **3e** (80 mg, 0.07 mmol) 溶于二氧六环 (2 mL), 加入 4M 氯化氢二氧六环溶液 (2 mL), 室温反应 2 小时。反应完成后, 减压浓缩得到粗产品, 粗品经反相制备 (乙腈/水+1%甲酸) 得到标题化合物 **3** (20 mg, 收率 40%)。

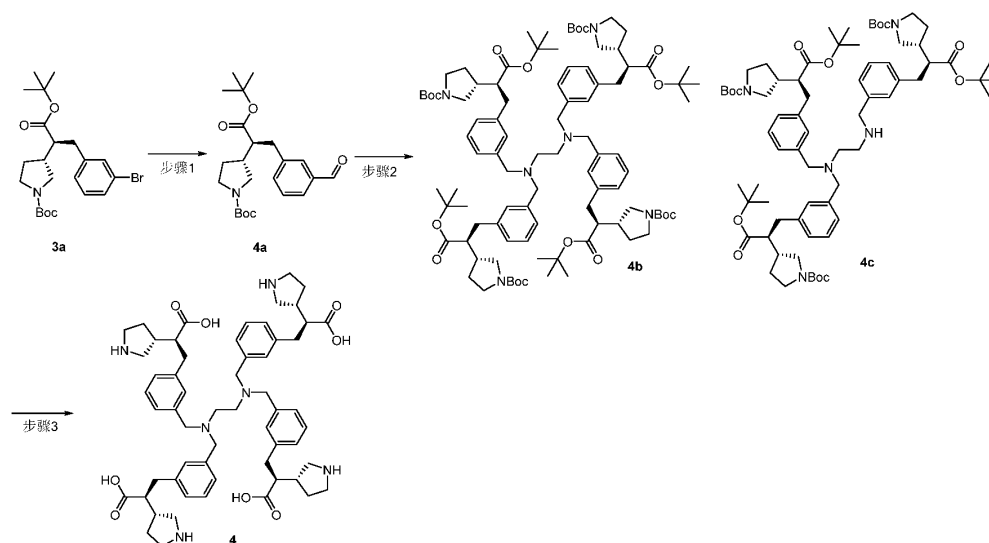
MS (ESI) $m/z = 765.6 [M+H]^+$ 。

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 8.45 (s, 1.5H), 7.41 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 7.34 (d, $J = 7.7$ Hz, 3H), 7.32 – 7.25 (m, 6H), 4.17 (s, 6H), 3.59 – 3.44 (m, 3H), 3.43 – 3.25 (m, 6H), 3.22 (s, 3H), 3.20 – 3.09 (m, 6H), 3.09 – 2.95 (m, 3H), 2.40 – 2.27 (m, 2H), 2.19 – 2.06 (m, 3H), 2.02 – 1.90 (m, 1H)。

实施例 4



(2S)-3-{3-[(2-{[双(3-[2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}甲基)氨基]乙基}({3-[2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}甲基)氨基)甲基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸 (**4**)



步骤 1: (R)-3-((S)-1-(叔丁氧基)-3-(3-甲酰基苯基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**4a**) 的制备

将化合物 **3a** (400 mg, 0.9 mmol), N-甲酰基糖精(428 mg, 2.0 mmol), 醋酸钼 (40 mg, 0.2 mmol), 1,4-双(二苯基膦)丁烷(83 mg, 0.2 mmol), 三乙基硅烷(0.24mL, 1.5 mmol)加入微波反应管中, 然后加入 N,N-二甲基甲酰胺 (6 mL)。置换氮气后, 75℃反应过夜。LCMS 监测反应完成后, 将反应液冷却至室温, 离心过滤, 滤液经反相快速柱层析(乙腈/水)纯化得到黄色油状化合物 **4a** (270 mg, 收率 76%)。

MS (ESI): $m/z = 404.5 [M+H]^+$ 。

步骤 2: (3R)-3-[(2S)-3-{3-[(2-[[3-[(2S)-3-(叔丁氧基)-2-[(3R)-1-[(叔丁氧基)羰基]吡咯烷-3-基]-3-丙酰基]苯基]甲基)氨基]乙基}{3-[(2S)-3-(叔丁氧基)-2-[(3R)-1-[(叔丁氧基)羰基]吡咯烷-3-基]-3-丙酰基]苯基]甲基)氨基]甲基}苯基]-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基]吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**4b**) 和 (3R)-3-[(2S)-1-(叔丁氧基)-3-{3-[(3-[(2S)-3-(叔丁氧基)-2-[(3R)-1-[(叔丁氧基)羰基]吡咯烷-3-基]-3-丙酰基]苯基]甲基){2-[(3-[(2S)-3-(叔丁氧基)-2-[(3R)-1-[(叔丁氧基)羰基]吡咯烷-3-基]-3-丙酰基]苯基]甲基)氨基]乙基}{氨基]甲基}苯基)-1-氧代丙烷-2-基]吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**4c**) 的制备

将乙二胺 (11 mg, 0.18 mmol), 化合物 **4a** (320 mg, 0.79 mmol) 溶于甲醇 (20 mL), 加入 1 滴乙酸, 室温搅拌 30 分钟后, 加入氰基硼氢化钠(60 mg, 0.99 mmol), 升温至 60 °C 反应 5 小时。LCMS 监测反应完成后, 减压浓缩得到粗产品, 粗品经反相快速柱层析(水/乙腈)纯化得到淡黄色油状物化合物 **4b** (50 mg, 收率 16%) 和化合物 **4c** (150 mg, 收率 62%)。

化合物 **4b**: MS (ESI) $m/z = 1610.2 [M+H]^+$ 。

化合物 **4c**: MS (ESI) $m/z = 1222.6 [M+H]^+$ 。

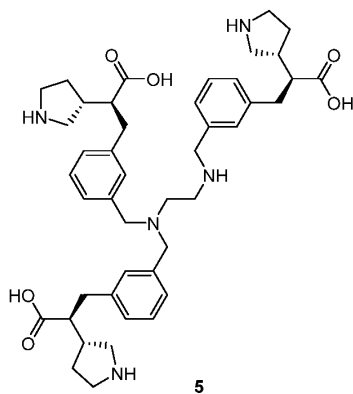
步骤 3: (2S)-3-{3-[(2-{2-[(3S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}甲基)氨基]乙基}{3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}甲基)氨基]甲基]苯基}-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸 (4) 的制备

将化合物 4b (50 mg, 0.07 mmol) 溶于二氧六环 (2 mL), 加入 4 M 氯化氢二氧六环溶液 (2 mL), 室温反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 减压浓缩得到粗产品, 粗品经反相制备 (乙腈/水+1%甲酸) 得到标题化合物 4 (10 mg, 收率 87%)。

MS (ESI) $m/z = 985.3 [M+H]^+$ 。

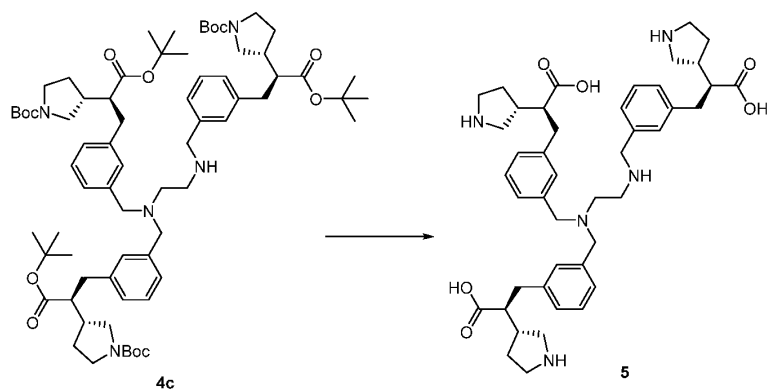
1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 8.44 (s, 3H), 7.39 – 7.32 (m, 4H), 7.31 – 7.26 (m, 4H), 7.18 – 7.06 (m, 8H), 3.88 (s, 8H), 3.55 – 3.47 (m, 4H), 3.44 – 3.36 (m, 4H), 3.31 – 3.17 (m, 4H), 3.05 – 2.87 (m, 8H), 2.84 – 2.71 (m, 8H), 2.55 – 2.37 (m, 8H), 2.21 – 2.03 (m, 4H), 1.84 – 1.62 (m, 4H)。

实施例 5



5

(2S)-3-{3-[(2-{2-[(3S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}甲基)氨基]乙基}{3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}甲基)氨基]甲基]苯基}-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸 (5)



4c

5

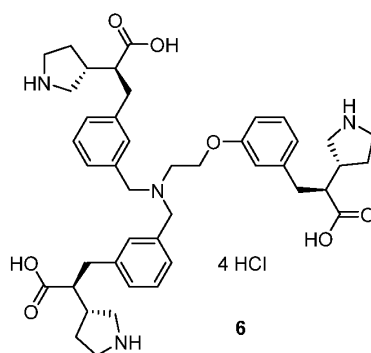
将化合物 4c (80 mg, 0.06 mmol) 溶于二氧六环 (2 mL), 加入 4 M 氯化氢二氧六环溶液 (2 mL), 室温反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 减压浓缩得到粗产

品，粗品经反相制备（乙腈/水+1%甲酸）得到标题化合物 **5** (20 mg, 收率 40%)。

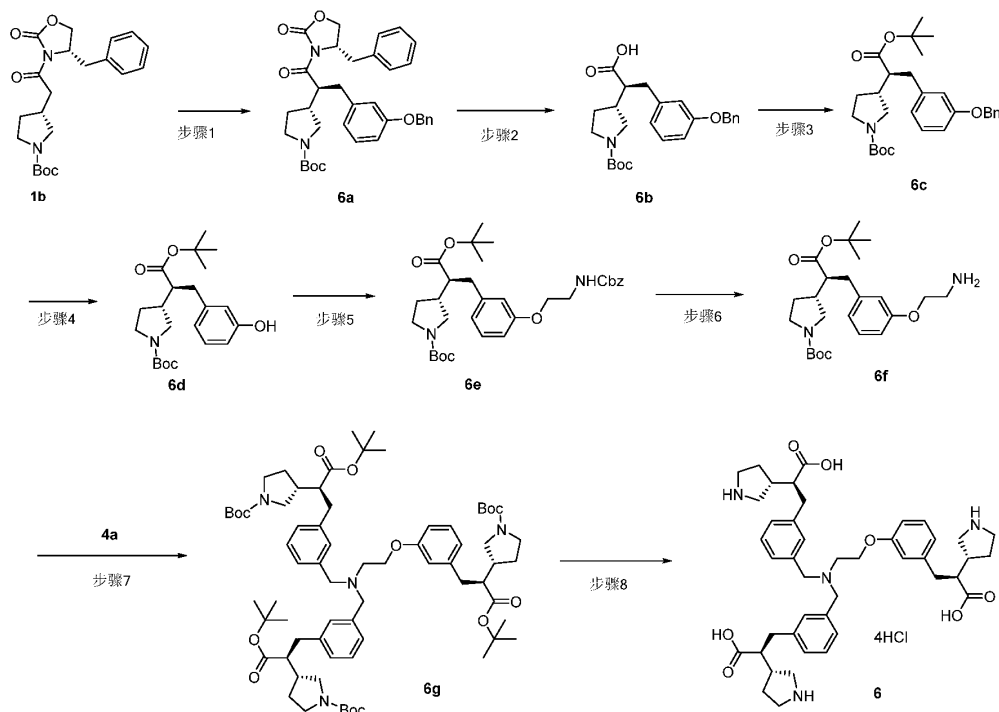
MS (ESI) $m/z = 754.5 [M+H]^+$ 。

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 8.43 (s, 3H), 7.44 – 7.31 (m, 6H), 7.30 – 7.24 (m, 4H), 7.23 – 7.17 (m, 2H), 4.28 – 4.03 (m, 6H), 3.66 – 3.53 (m, 3H), 3.48 – 3.39 (m, 3H), 3.33 – 2.97 (m, 10H), 2.91 – 2.73 (m, 6H), 2.57 – 2.40 (m, 6H), 2.24 – 2.05 (m, 3H), 1.83 – 1.66 (m, 3H)。

实施例 6



(2S)-3-(3-[(2-{3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯氧基}乙基){3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}甲基)氨基]甲基}苯基)-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸四盐酸盐 (**6**)



步骤 1: (R)-3-((S)-1-((S)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-3-(3-(苄氧基)苯基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**6a**) 的制备

氮气氛下, 将化合物 **1b** (10.0 g, 25.74 mmol) 溶于四氢呋喃 (10 mL), 降温至 -30℃, 滴加 1 M 双(三甲基硅基)酰胺锂四氢呋喃溶液 (31 mL, 31 mmol), 加完后反应 30 分钟; 滴加 3-苄氧基溴苄 (8.56 g, 30.89 mmol) 的四氢呋喃 (15 mL) 溶液, 反应 1 小时, 升温至 0℃-5℃ 反应过夜。加饱和氯化铵溶液 (50 mL), 甲基叔丁基醚萃取 (50 mL×2), 饱和氯化钠溶液洗涤 (70 mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 所得残余物柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=4:1), 得化合物 **6a** (7.08g, 产率: 47.0%)。

步骤 2: (S)-3-(3-(苄氧基)苯基)-2-((R)-1-(叔丁氧羰基)吡咯烷-3-基)丙酸 (**6b**) 的制备

将化合物 **6a** (7 g, 11.983 mmol) 溶于四氢呋喃 (70 mL), 水 (35 mL), 加双氧水 (30%) (4.07 g, 35.95 mmol), 氢氧化锂一水合物 (431 mg, 17.97 mmol), 室温反应过夜。2 M 氢氧化钠溶液调节 pH 至 >13, 甲基叔丁基醚萃取 (50 mL×2), 水相用 2 M 盐酸溶液调节 pH 至 <3, 甲基叔丁基醚萃取 (50 mL×2), 饱和氯化钠溶液洗涤 (70 mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩至干, 得化合物 **6b** 粗品 3.11 g, 产物不经纯化直接进行下一步反应。

步骤 3: (R)-3-((S)-3-(3-(苄氧基)苯基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**6c**) 的制备

将上步粗品化合物 **6b** (3.1 g, 7.29 mmol) 溶于 2-甲基四氢呋喃 (60 mL), 后加 2-叔丁基-1,3-二异丙基异脲 (5.84 g, 29.14 mmol), 升温至 65℃ 反应过夜。过滤, 滤液减压浓缩至干, 所得残余物柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1), 得化合物 **6c** (2.5 g, 两步产率: 43.3%)。

步骤 4: (R)-3-((S)-1-(叔丁氧基)-3-(3-羟基苯基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**6d**) 的制备

氢气氛下, 将化合物 **6c** (2.5 g, 5.19 mmol) 溶于 MeOH (40 mL), 加 Pd/C (0.80 g), 室温反应过夜, 过滤, 减压浓缩得化合物 **6d** (1.78 g, 产率: 87.6%)。

步骤 5: (R)-3-((S)-3-(3-(2-(((苄氧基)羰基)氨基)乙氧基)苯基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**6e**) 的制备

将化合物 **6d** (400 mg, 0.99 mmol), N-(2-溴乙基)氨基甲酸苄酯 (280 mg, 1.09 mmol), 碳酸铯 (803 mg, 2.47 mmol) 加入到 N, N-二甲基甲酰胺 (8 mL) 中, 升温至 80℃ 反应 3 小时。加水 (40 mL), 乙酸乙酯萃取 (30 mL×2), 饱和氯化钠溶液洗涤 (50 mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 加压浓缩得残余物, 柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=8:1), 得化合物 **6e** (300 mg, 产率 53.5%)。

步骤 6: (R)-3-((S)-3-(3-(2-氨基乙氧基)苯基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**6f**) 的制备

氢气氛围下,将化合物 **6e** (300 mg, 0.528 mmol)溶于 MeOH (5 mL),加 Pd/C (100 mg), 室温反应过夜。过滤,减压浓缩得到化合物 **6f** (150 mg, 产率 65.4%)。

步骤 7: (3R)-3-[(2S)-1-(叔丁氧基)-3-(3-[(2-{3-[(2S)-3-(叔丁氧基)-2-[(3R)-1-[(叔丁氧基)羰基]吡咯烷-3-基]-3-氧代丙基]苯氧基}乙基)(3-[(2S)-3-(叔丁氧基)-2-[(3R)-1-[(叔丁氧基)羰基]吡咯烷-3-基]-3-氧代丙基]苯基}甲基)氨基]甲基}苯基)-1-氧代丙烷-2-基]吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**6g**) 的制备

冰浴下,将化合物 **6f** (150 mg, 0.35 mmol)和化合物 **4a** (278.6 mg, 0.69 mmol)溶于异丙醇 (6 mL),加 1 滴冰醋酸,保温反应 30 分钟。加入三乙酰氧基硼氢化钠 (292.6 mg, 1.38 mmol),缓慢升至室温,反应过夜。饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 8-9,乙酸乙酯萃取 (40 mL×2),饱和氯化钠溶液洗涤 (60 mL),无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得粗品 480mg,制备液相纯化得到化合物 **6g** (250 mg, 产率 59.9%)。

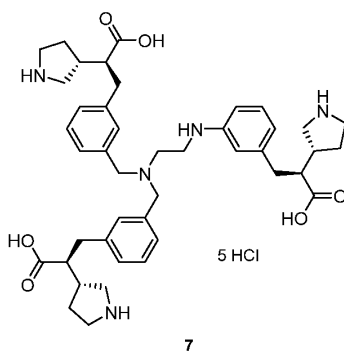
步骤 8: (2S)-3-(3-[(2-{3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯氧基}乙基)(3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}甲基)氨基]甲基}苯基)-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸四盐酸盐 (**6**) 的制备

将化合物 **6g** (100 mg, 0.083 mmol)加入到 4 M 盐酸二氧六环溶液(4 mL),室温搅拌过夜。倾出上清液,得固体,固体用乙酸乙酯洗涤,冻干,得化合物 **6** (50mg, 产率 68.5%)。

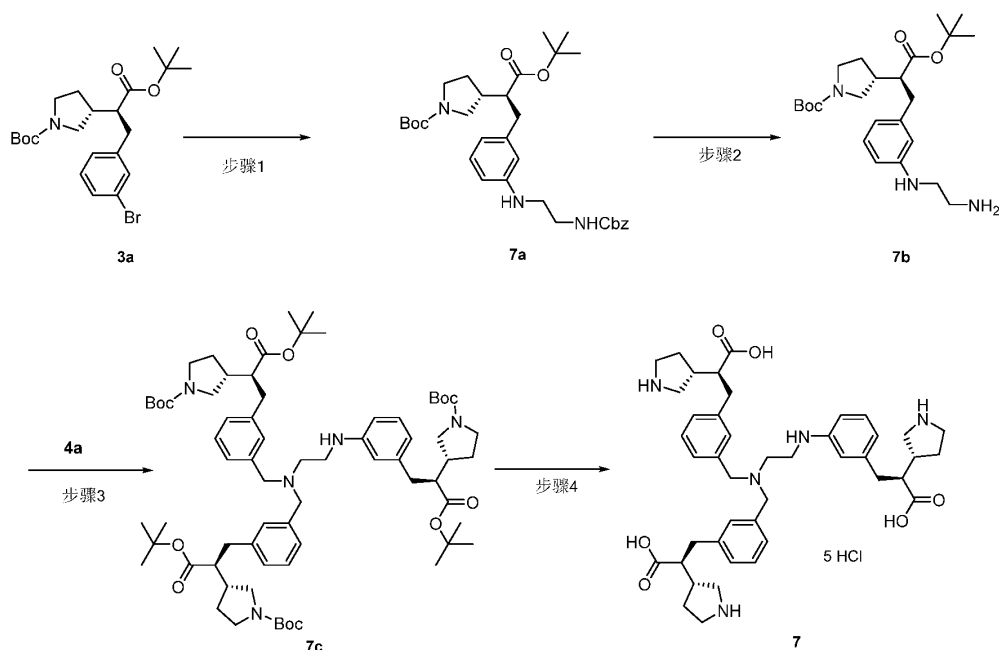
MS m/z (ESI): 741.3[M+H]⁺。

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 7.42-7.16 (m, 9H), 6.86 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.70 (dd, *J* = 8.3, 2.6 Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 4.43 (s, 4H), 4.14-3.97 (m, 2H), 3.62-3.45 (m, 5H), 3.45-3.30 (m, 3H), 3.29-3.14 (m, 3H), 3.07-2.98 (m, 3H), 2.93-2.63 (m, 9H), 2.61-2.39 (m, 3H), 2.24-2.02 (m, 3H), 1.78-1.64 (m, 3H)。

实施例 7



(2S)-3-[3-({2-({3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}氨基)乙基)(3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}甲基)氨基]甲基}苯基)-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸五盐酸盐 (**7**)



步骤 1: (R)-3-((S)-3-(3-((2-((苄氧基)羰基)氨基)乙基)氨基)苯基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**7a**) 的制备

称取化合物 **3a** (700 mg, 1.54 mmol), N-苄氧羰基乙二胺 (448.81 mg, 2.31 mmol), BrettPhos Pd G3 (49.9 mg, 0.06 mmol), 碳酸钾 (638.7 mg, 4.62 mmol) 和二氧六环 (10 mL) 于反应瓶中, 氮气置换三次, 100℃ 反应过夜。LCMS 检测生成产物, 向反应液中加入乙酸乙酯和水, 分液, 有机相经饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 将滤液浓缩进行柱层析, 得到化合物 **7a** (400 mg, 45.7%)

步骤 2: (R)-3-((S)-3-(3-((2-氨基)氨基)苯基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代丙烷-2-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**7b**) 的制备

称取化合物 **7a** (400 mg, 0.71 mmol), 10% Pd/C (100 mg) 于反应瓶中, 加入甲醇 (10 mL), 氮气置换三次, 氢气置换三次, 氢气球下反应过夜。LCMS 检测生成产物。过滤, 将滤液浓缩, 得粗品化合物 **7b** (200 mg, 65.5%)。

步骤 3: (3R)-3-[(2S)-1-(叔丁氧基)-3-[3-({[2-({3-[(2S)-3-(叔丁氧基)-2-[(3R)-1-[(叔丁氧基)羰基]吡咯烷-3-基]-3-氧代丙基]苯基}氨基)乙基]({3-[(2S)-3-(叔丁氧基)-2-[(3R)-1-[(叔丁氧基)羰基]吡咯烷-3-基]-3-氧代丙基]苯基}甲基)氨基)甲基]苯基]-1-氧代丙烷-2-基]吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (**7c**) 的制备

称取化合物 **7b** (150 mg, 0.35 mmol), **4a** (349 mg, 0.87 mmol) 于反应瓶中, 加入异丙醇 (10 mL), 加入一滴醋酸, 冰浴下搅拌 1 小时, 再加入醋酸硼氢化钠 (218.9 mg, 1.04 mmol), 反应过夜。向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液和乙酸乙酯, 分液, 有机相经饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 将滤液浓缩得粗品产物, 制备液相纯化得到化合物 **7c** (100 mg, 23.9%)

步骤 4: (2S)-3-[3-({[2-({3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}氨基)乙基]({3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基}甲基)氨基}甲基)苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸五盐酸盐 (7) 的制备

称取化合物 7c (100 mg, 8.3 mmol), 室温下加入 4M 盐酸二氧六环溶液 (10 mL), 搅拌过夜。将上清液倒掉, 得固体, 固体用乙酸乙酯洗涤, 加入水溶解, 冻干得化合物 7 (70 mg, 72.1%)。

MS m/z (ESI): 740.4 [M+1]⁺。

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 7.45-7.21 (m, 8H), 7.12 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.75 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.53-6.38 (m, 2H), 4.41 (s, 4H), 3.68-3.51 (m, 2H), 3.51-3.39 (m, 3H), 3.38-3.18 (m, 8H), 3.15-2.99 (m, 2H), 2.98-2.67 (m, 9H), 2.66-2.46 (m, 4H), 2.26-2.06 (m, 3H), 1.84-1.69 (m, 3H)。

生物学测试

测试例 1: 化合物抑制 Lp(a)的组装活性测试

本公开利用双抗体 ELISA 方法检测 Apo(a)与 ApoB 蛋白的组装效率, 抗体分别是 ApoB-Capture 抗体 (Mabtech) 和 Apo(a)-Detector 抗体 (Abcam); 检测样本分别是人转基因 hApo(a)和 hApoB 小鼠的血浆, 分别稀释 500 倍使用。

实验步骤: 分别将等量的 Apo(a)和 ApoB 血清与梯度浓度稀释 (最高浓度 100nM, 3 倍梯度稀释) 的待测化合物混合, 将混合液放在 37°C 培养箱里孵育 2 小时, 然后加入终浓度为 150mM 的 6-氨基己酸 (EACA, 购自 Sigma) 终止反应。将反应后溶液加入预先包被 ApoB-Capture 抗体的 ELISA 检测板中, 室温孵育 2 小时, 然后利用洗涤液洗板 4 次; 加入生物素标记的 Apo(a)-Detector 抗体, 室温孵育 1 小时后, 洗板并加入显色底物 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (TMB, 购自 Abcam) 溶液; 室温孵育 15 分钟后, 加入反应终止液, 混匀后即刻用酶标仪检测 450nm 处的吸光值。最后, 利用 GraphPad Prism 9 软件进行数据分析和 IC₅₀ 的计算。

Apo(a)与 ApoB 蛋白组装的 0%抑制率对应着化合物浓度为 0 (1%DMSO) 时的 OD 值; Apo(a)与 ApoB 蛋白组装的 100%抑制率对应着只加 ApoB 蛋白溶液 (hApoB 小鼠的血浆稀释液) 时的 OD 值。

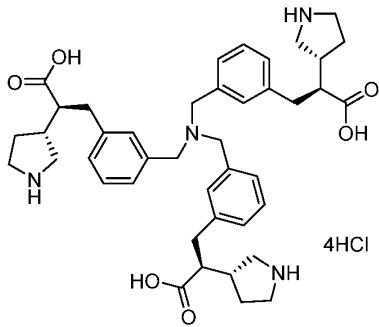
实验结果:

表 1 本公开化合物抑制 Lp(a)组装活性

化合物	Lp(a)组装, IC ₅₀ (nM)
1	0.75
2	1.7
3	1.4
4	0.85
5	0.78

6	0.41
7	0.76

结论：本公开化合物表现出对 Lp(a)组装明显的抑制作用。



(参照物 1，参照 CN114008021 中的实施例 1

方法制备)

测试例 2：比格犬体内药代动力学实验

以比格犬为受试动物，应用 LC/MS/MS 法测定比格犬灌胃给予本公开化合物后不同时刻血浆中的药物浓度。研究本公开化合物在比格犬体内的药代动力学行为，评价其药动学特征。

试验动物：每组健康 8~36 月雄性比格犬 2 条

药物配制：称取一定量药物，加生理盐水配成 2 mg/mL 的无色澄清溶液。

给药：比格犬禁食过夜后灌胃给药，参照物 1 和化合物 6 给药剂量均为 10 mg/kg。

操作：比格犬灌胃给药本公开化合物，给药后 0.25、0.5、1、2、4、6、8、24 小时由外周静脉穿刺采血约 0.6 mL，置于含 EDTA-K2 的试管中，4℃左右，2000 转每分钟离心 10 分钟分离得到血浆，于-75℃保存。

测定不同采血时间点比格犬血浆中待测化合物含量：取给药后各时刻采取的比格犬血浆 33 μL (30 μL 血浆和 3 μL 空白) 加入到 18 μL 浓度为 6%的高氯酸溶液，涡旋混合 30 秒，4℃温度下，3900 转每分钟离心 15 分钟，然后加入含内标地塞米松的碱化后 (氨水调 pH 为 10-11) 乙腈溶液 200 μL 沉淀蛋白，涡旋混合 30 秒，4℃、3900 转每分钟离心 15 分钟，血浆样品取上清液，加水稀释 3 倍，取 8 μL 进行 LC/MS/MS 分析。

药代动力学参数结果

LC/MS/MS 分析检测血药浓度后，采用 WinNonlin 6.1 软件，非房室模型法计算药动学参数。本公开化合物的比格犬药代动力学参数如下表 2。

表 2 本公开化合物的比格犬口服药代动力学参数

编号	剂量	最大血药浓度	曲线下面积	半衰期
----	----	--------	-------	-----

	mg/kg	Cmax (ng/mL)	AUC (ng/mL*h)	T _{1/2} (h)
参照物 1	10	1628	22950	20.7
化合物 6	10	2473	28594	18.3

结论：化合物 6 在比格犬体内口服吸收更优，血药暴露量更佳，半衰期长，具有优异的药代动力学特征，口服给药具有明显优势。

测试例 3：食蟹猴体内药代动力学实验

以食蟹猴为受试动物，应用 LC/MS/MS 法测定食蟹猴灌胃给予本公开化合物后不同时刻血浆中的药物浓度。研究本公开化合物在食蟹猴体内的药代动力学行为，评价其药动学特征。

试验动物：每组健康 24~36 月食蟹猴 2 只（一雄一雌）

药物配制：称取一定量药物，加生理盐水配成 10 mg/mL（参照物 1）和 3 mg/mL（化合物 6）的无色澄清溶液。

给药：食蟹猴禁食过夜后灌胃给药，参照物 1 给药剂量为 50 mg/kg，化合物 6 给药剂量为 15 mg/kg。

操作：食蟹猴灌胃给药本公开化合物，给药后 0.25、0.5、1、2、4、6、8、24 小时由外周静脉穿刺采血约 0.5 mL，置于含 EDTA-K2 的试管中，4℃左右，2000 转每分钟离心 10 分钟分离得到血浆，于-75℃保存。

测定不同采血时间点食蟹猴血浆中待测化合物含量：取给药后各时刻采取的食蟹猴血浆 33 μL（30 μL 血浆和 3 μL 空白）加入到 18 μL 浓度为 6%的高氯酸溶液，涡旋混合 30 秒，4℃温度下，3900 转每分钟离心 15 分钟，然后加入含内标地塞米松的碱化后（氨水调 pH 为 10-11）乙腈溶液 200 μL 沉淀蛋白，涡旋混合 30 秒，4℃、3900 转每分钟离心 15 分钟，血浆样品取上清液，加水稀释 3 倍，取 8 μL 进行 LC/MS/MS 分析。

药代动力学参数结果

LC/MS/MS 分析检测血药浓度后，采用 WinNonlin 6.1 软件，非房室模型法计算药动学参数。本公开化合物的食蟹猴药代动力学参数如下表 3。

表 3 本公开化合物的食蟹猴口服药代动力学参数

编号	剂量	最大血药 浓度	曲线下面积	单位剂量曲线 下面积	半衰期
	mg/kg	Cmax (ng/mL)	AUC (ng/mL*h)	AUC/D (mg/mL*h)	T _{1/2} (h)
参照物 1	50	2192	22153	443	17.7
化合物 6	15	2367	33067	2204	16.6

结论：化合物 6 在食蟹猴体内口服吸收更优，血药暴露量是参照物 1 的近 5

倍，显示本发明化合物的药代动力学性质显著优于参照物 1。

测试例 4：小鼠高剂量单次耐受性实验

以 C57/6J 小鼠为受试动物，口服灌胃高剂量本公开化合物，对小鼠进行临床观察，评价本公开化合物的安全性。

实验方法：取 8 只雄性 C57/6J 小鼠，分别编号为 1-8，称重。实验开始前禁食 4 小时，禁食结束后称重（0 h）。取体重较平均的 6 只入组，每组 3 只，分 2 组。

第一组（G1）给予参照物 1，第二组（G2）给予本公开化合物实施例 6。G1、G2 组化合物均口服灌胃给药，剂量为 1000mg/kg，溶媒均为生理盐水，给药后 15min、30min、1h、2h、4h、6h、24h 对实验组小鼠进行临床观察，给药 2h 后两组均给予食物。连续 7 天对小鼠体重进行监测，结果如下表 4。

表 4 本公开化合物小鼠高剂量单次耐受性实验

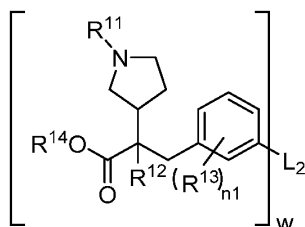
组别	小鼠体重（g） ^a			
	0 天	3 天	5 天	7 天
参照物 1	25.87	25.70	25.10	24.53
化合物 6	25.83	26.93	26.70	26.67

注 a 平均值

结论：高剂量（1000mg/kg）给药 7 天后，参照物 1 组小鼠体重有明显下降趋势，相应化合物 6 组小鼠体重维持不变，甚至增长。预期在更长给药期间内，本公开化合物能展现出更为优异的安全性。

权利要求书:

1. 一种式 II 所示化合物或其可药用盐,



II

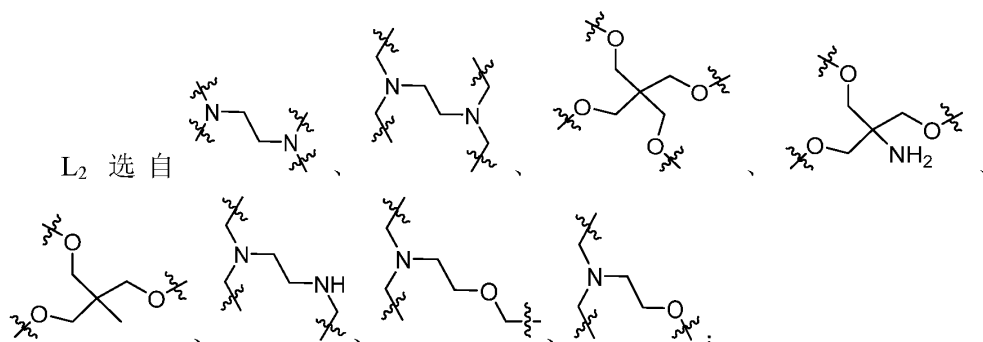
其中 R^{11} 独立地选自氢或 C_{1-6} 烷基, 所述烷基任选被一个或多个 R^{11A} 所取代, R^{11A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基;

R^{12} 独立地选自氢、氘、卤素或 C_{1-6} 烷基, 所述烷基任选被一个或多个 R^{12A} 所取代, R^{12A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基;

R^{13} 独立地选自氢、氘、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基, 所述烷基或烷氧基任选被一个或多个 R^{13A} 所取代, R^{13A} 各自独立地选自卤素、羟基、氰基或氨基;

R^{14} 独立地选自氢或 C_{1-6} 烷基;

W 选自 3 或 4;



n_1 选自 0-4 之间整数。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^{12} 独立地选自氢或氘。

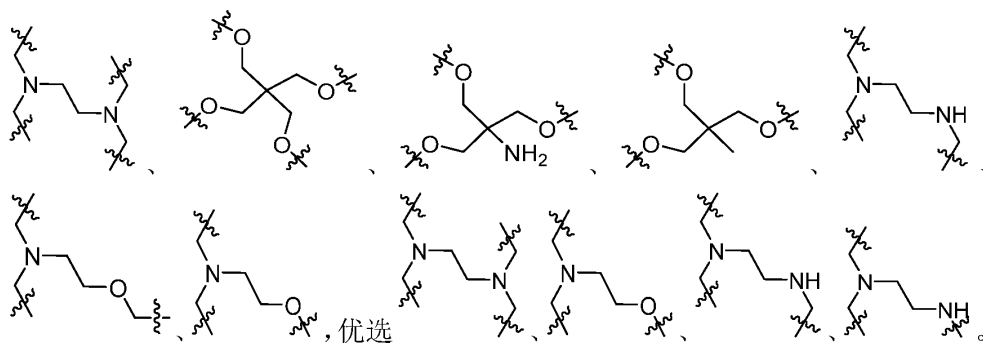
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^{12} 独立地选自卤素, 例如氟或氯; 或者 R^{12} 独立地选自 C_{1-6} 烷基, 所述烷基任选被一个或多个 R^{12A} 所取代, R^{12A} 如权利要求 1 中所定义。

4. 根据权利要求 1-3 任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^{11} 独立地选自氢。

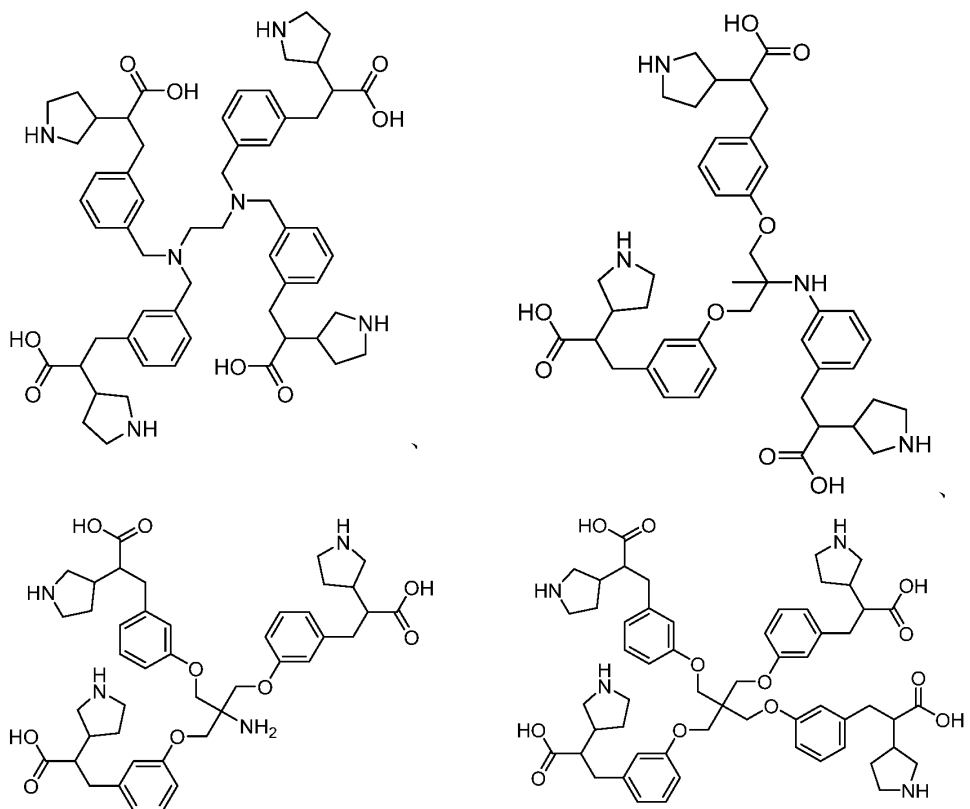
5. 根据权利要求 1-4 任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^{13} 独立地选自氢或氘。

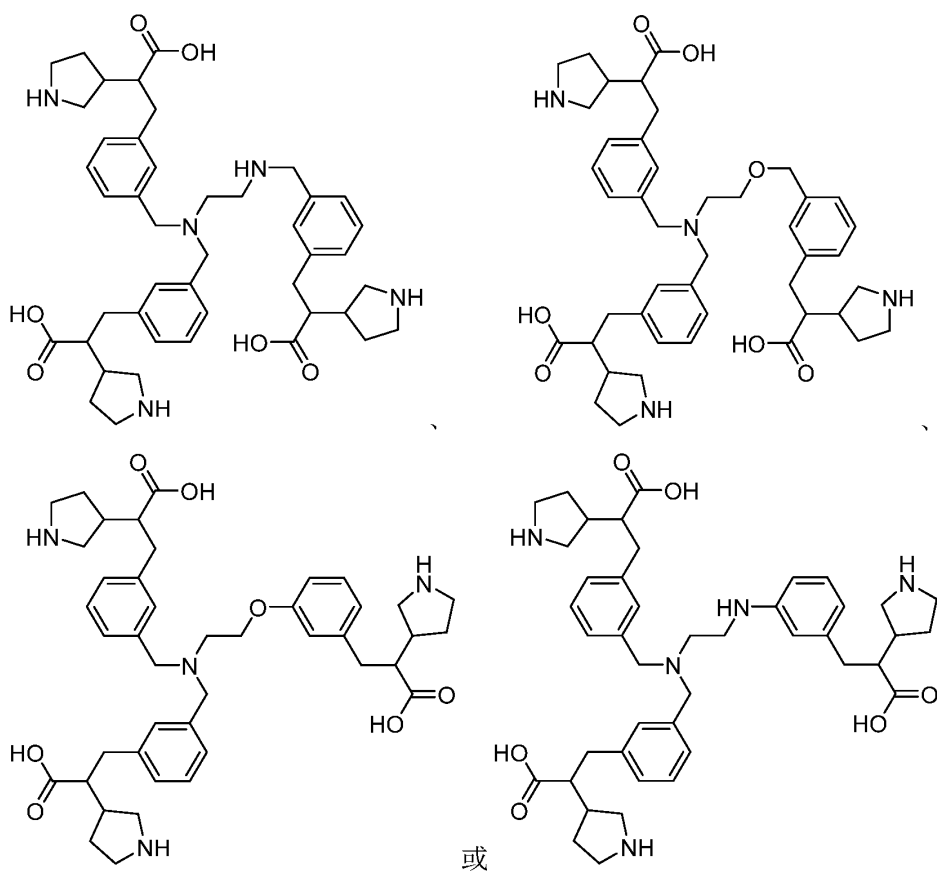
6. 根据权利要求 1-4 任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^{13} 独立地选自氘或 C_{1-6} 烷氧基, 所述烷氧基任选被一个或多个 R^{13A} 所取代, R^{13A} 如权利要求 1 中定义; 或 R^{13} 独立地选自卤素, 例如氟或氯。

7. 根据权利要求 1-6 任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中 L_2 选自

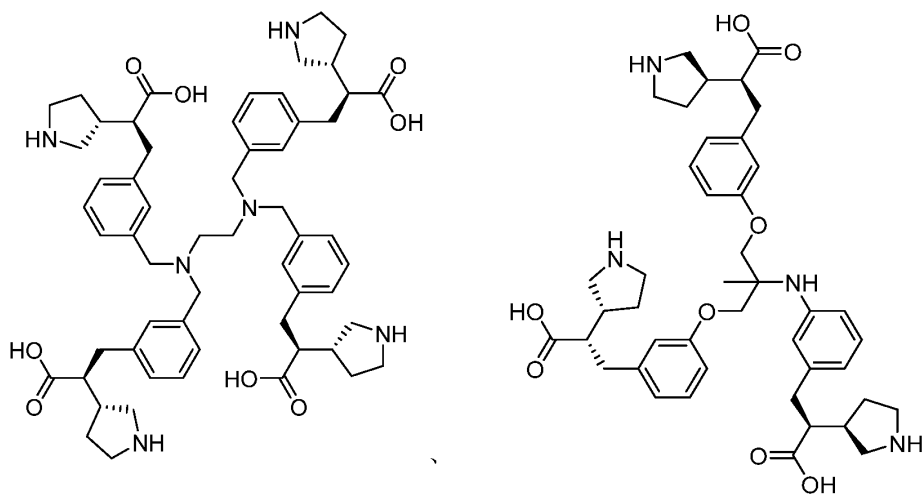


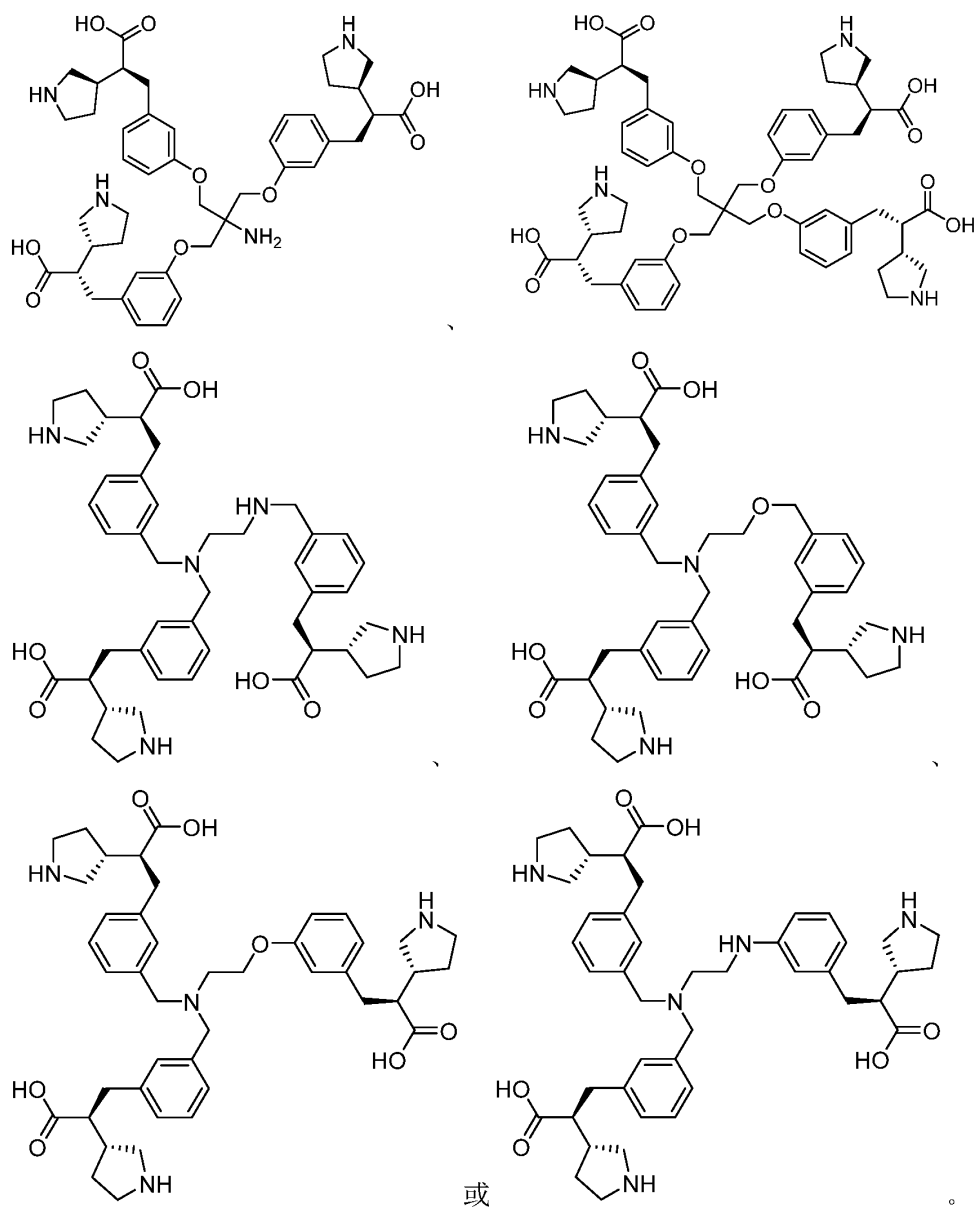
8. 根据权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐, 其选自:





9. 根据权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐，其选自：





10. 根据权利要求 1-9 任一项所述的化合物或其可药用盐的同位素取代物, 优选的, 所述同位素取代物为氘代物。

11. 一种药物组合物, 包括至少一种治疗有效量的如权利要求 1-9 任一项所述的化合物或其可药用盐、或权利要求 10 所述的同位素取代物, 以及药学上可接受的赋形剂。

12. 一种预防和/或治疗与 LP(a) 血浆水平升高相关的疾病或病症的方法, 其通

过向所述患者施用有效量治疗的如权利要求 1-9 任一项所述的化合物或其可药用盐、或权利要求 10 所述的同位素取代物、或权利要求 11 所述的药物组合物。

13. 一种预防和/或治疗心血管疾病患者的方法，其通过向所述患者施用治疗有效量的如权利要求 1-9 任一项所述的化合物或其可药用盐、或权利要求 10 所述的同位素取代物、或权利要求 11 所述的药物组合物。

14. 根据权利要求 1-9 任一项所述的化合物或其可药用盐、或权利要求 10 所述的同位素取代物、或权利要求 11 所述的药物组合物在制备用于预防和/或治疗与 LP(a)血浆水平升高相关的疾病或病症的药物中的用途。

15. 根据权利要求 1-9 任一项所述的化合物或其可药用盐、或权利要求 10 所述的同位素取代物、或权利要求 11 所述的药物组合物在制备用于预防和/或治疗心血管疾病的药物中的用途。