



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 110691773 B

(45) 授权公告日 2023. 06. 23

(21) 申请号 201880033697.9  
(22) 申请日 2018.05.18  
(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 110691773 A

(43) 申请公布日 2020.01.14

(30) 优先权数据  
17172237.4 2017.05.22 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2019.11.21

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2018/063028 2018.05.18

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02018/215315 EN 2018.11.29

(73) 专利权人 杨森制药公司  
地址 美国新泽西州  
专利权人 鲁汶天主教大学

(72) 发明人 J-F.邦凡蒂 B.R.R.凯斯特莱恩  
D.A.M-E.巴迪奥 A.D.M.马尔尚  
E.科塞曼斯 J.M.C.福尔坦  
G.J.M.梅塞 P.J-M.B.拉布瓦松

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001  
专利代理师 初明明 彭昶

(51) Int.Cl.  
C07D 209/08 (2006.01)  
A61K 31/403 (2006.01)  
A61P 31/12 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 104024223 A, 2014.09.03  
W0 2016050841 A1, 2016.04.07  
审查员 刘健颖

权利要求书7页 说明书108页  
序列表2页

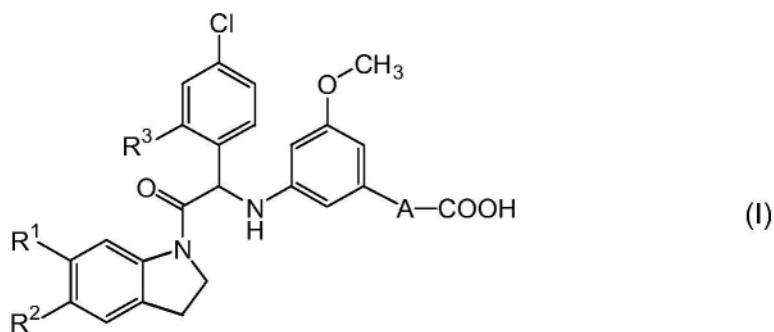
(54) 发明名称

作为登革热病毒复制抑制剂的经取代的吡  
啶啉衍生物

(57) 摘要

本发明涉及经取代的吡啶啉衍生物,通过使用  
所述化合物预防或治疗登革热病毒感染的方  
法,并且还涉及所述化合物用作药物、更优选地  
用作治疗或预防登革热病毒感染的药物。此外,  
本发明涉及这些化合物的药物组合物或组合配  
制品,涉及用作药物、更优选地用于预防或治疗  
登革热病毒感染的组合物或配制品。本发明还涉  
及用于制备这些化合物的方法。

1. 一种具有式(I)的化合物,包括其任何立体化学异构形式,



其中

$R^1$ 是三氟甲基、三氟甲氧基、或氯;

$R^2$ 是氢、氟、或甲氧基;

$R^3$ 是氢、或甲氧基;

A表示 $-(CH_2)_n-$ ,其中n是3或4;

$-O-(CH_2)_n-$ ,其中n是2或4;

$-O-(CH_2)_n-$ ,其中n是3并且一个或两个 $CH_2$ 被一个或两个 $CH_3$ 取代;

$-O-CH_2-CH_2-\underset{\text{H}_2\text{C}-\text{CH}_2}{\overset{\text{C}}{|}}-$  或  $-O-CH_2-\underset{\text{H}_2\text{C}-\text{CH}_2}{\overset{\text{C}}{|}}-CH_2-$

$-CH_2-O-(CH_2)_n-$ ,其中n是2;或

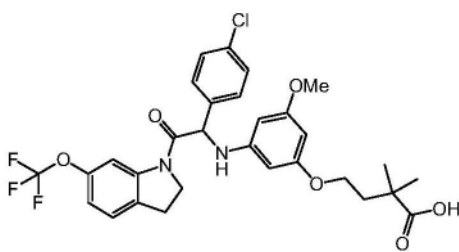
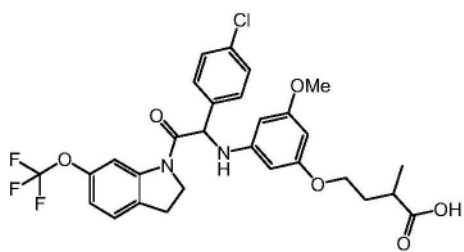
$-X-Y-$ ,其中X是 $-O-$ 、 $-OCH_2-$ 或 $-NH-$ ;以及

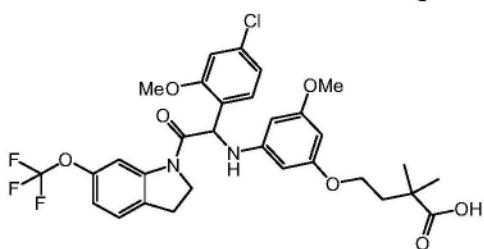
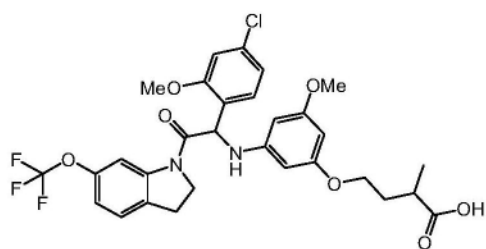
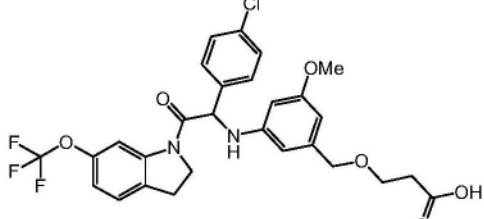
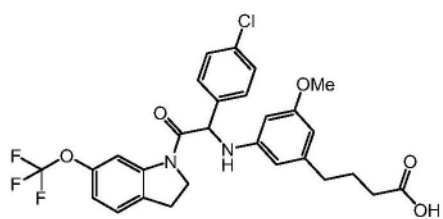
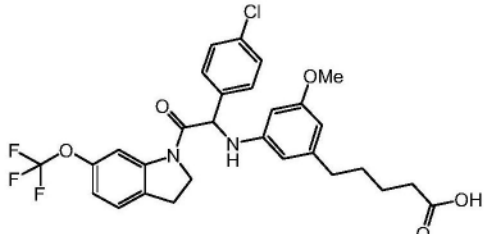
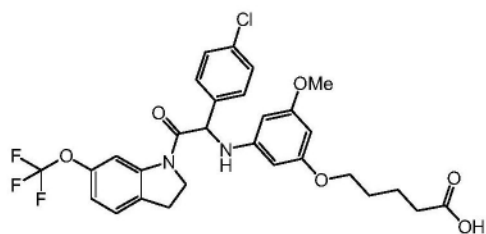
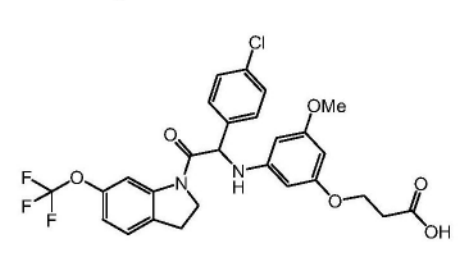
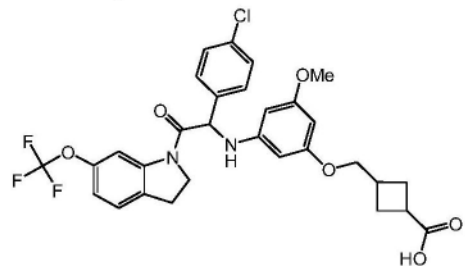
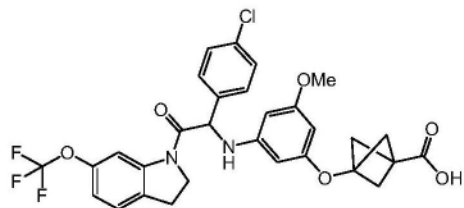
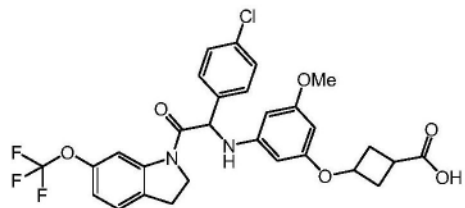
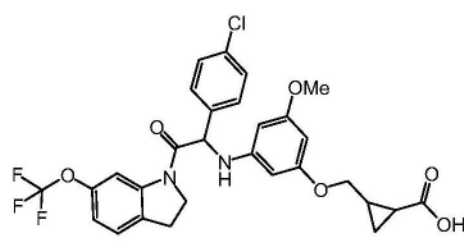
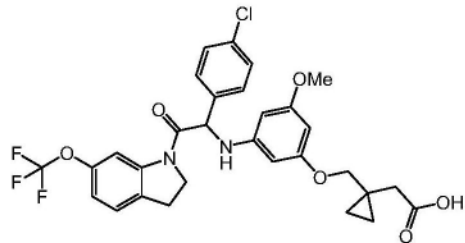
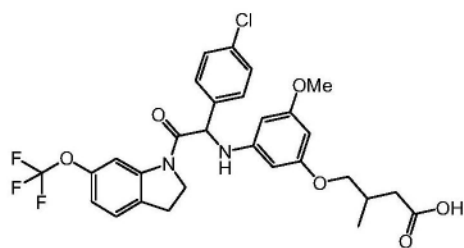
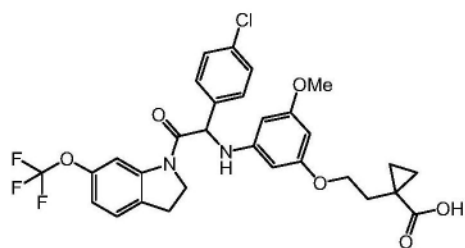
Y是任选地被氟取代的 $C_{3-4}$ 环烷基,或

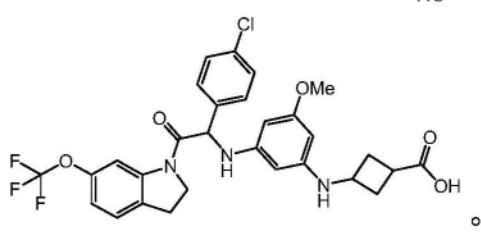
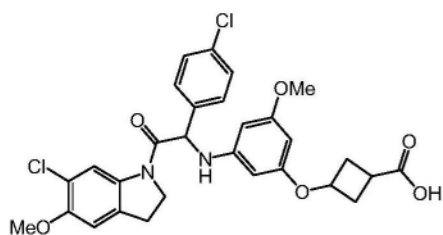
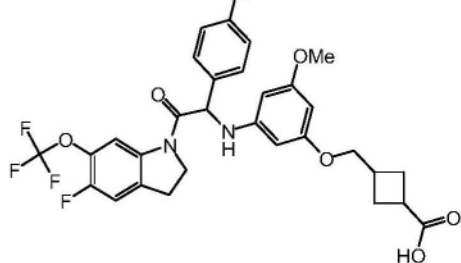
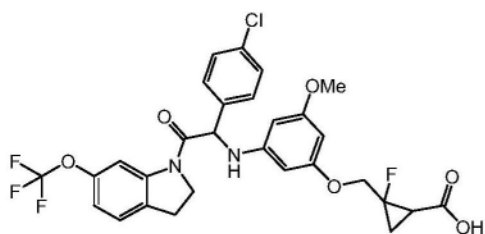
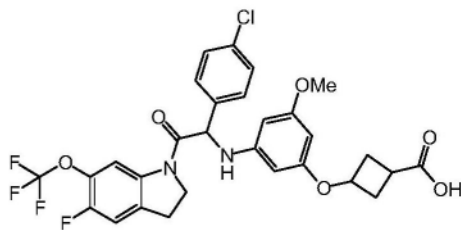
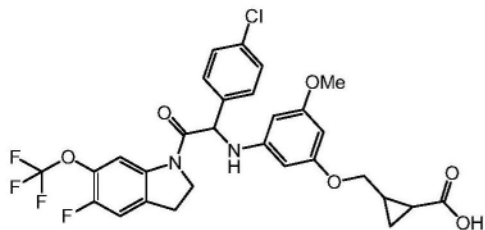
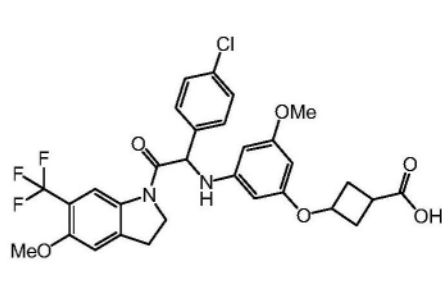
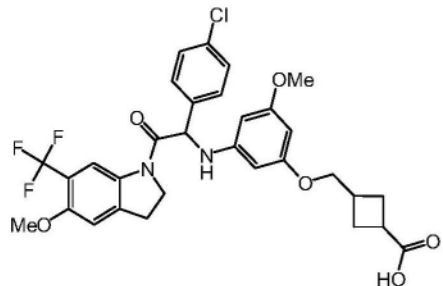
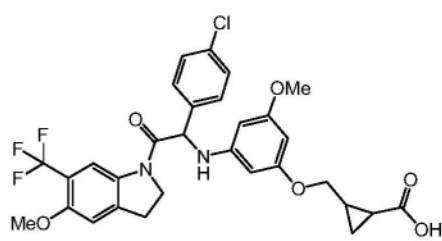
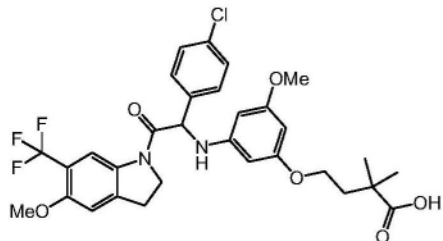
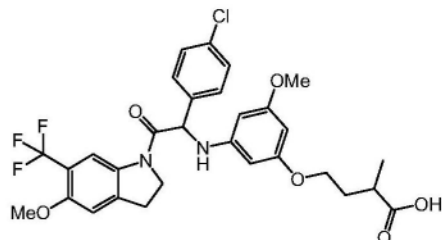
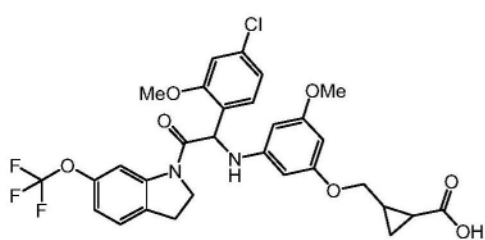
Y是二环[1.1.1]戊基;

或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物选自

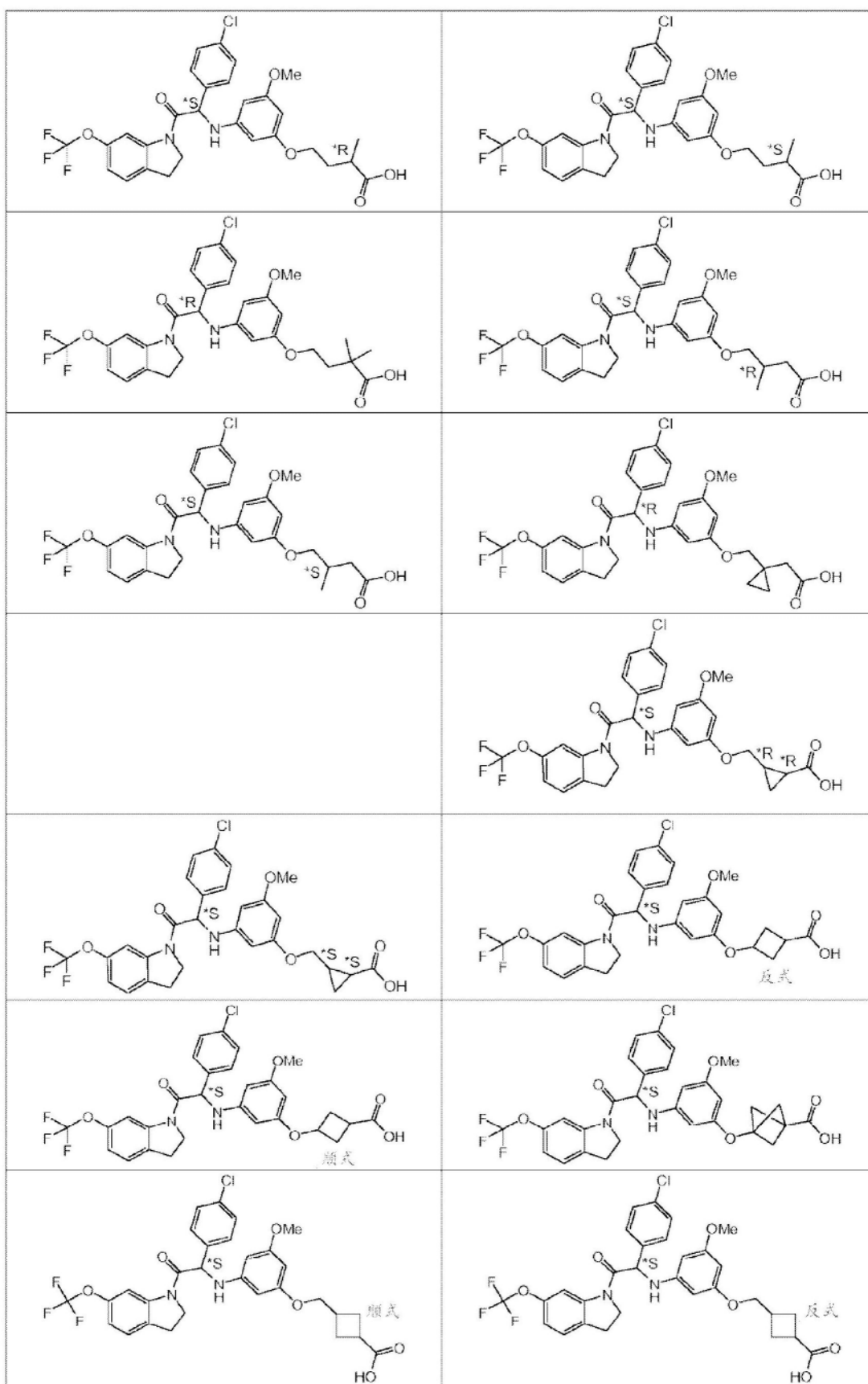


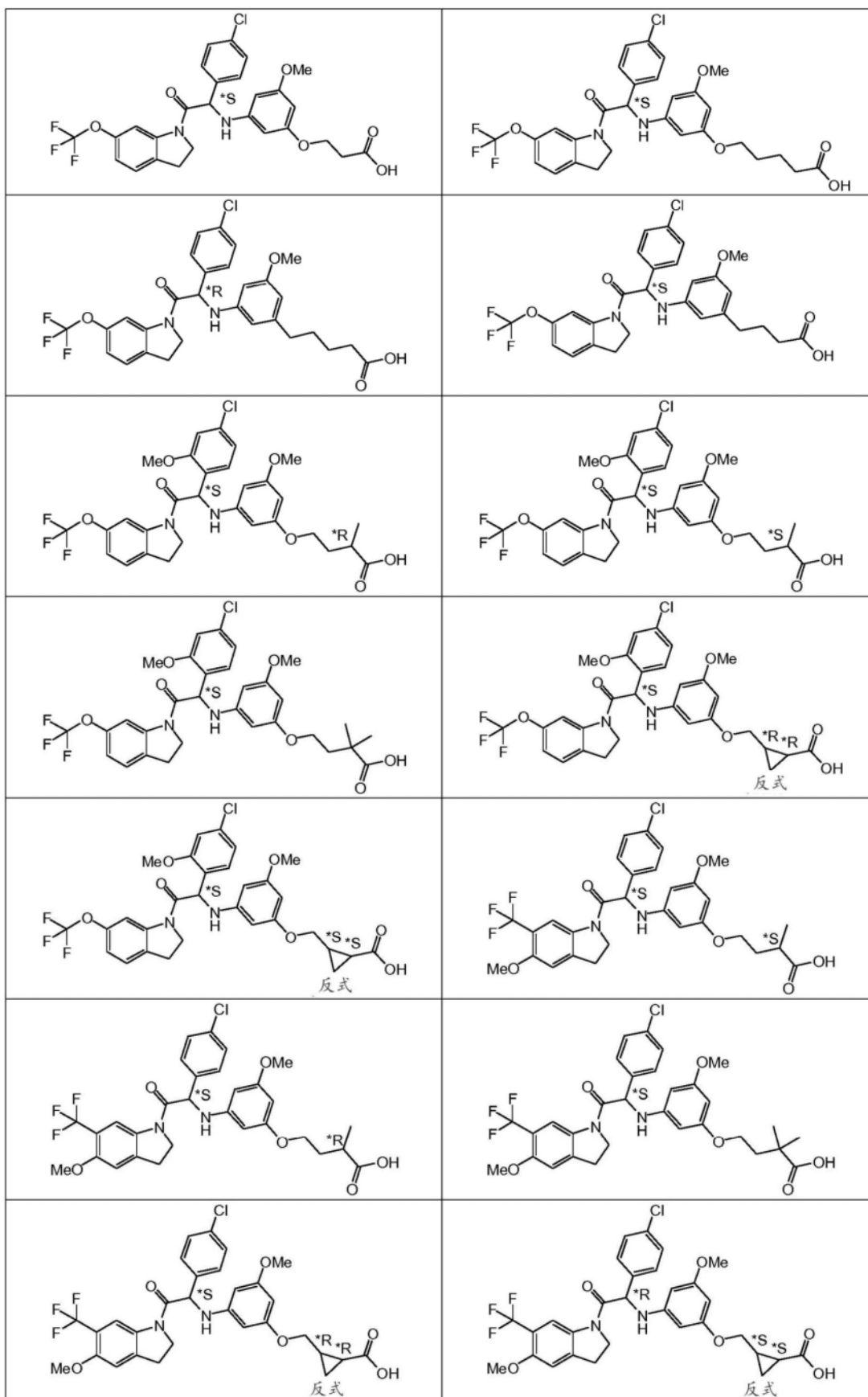


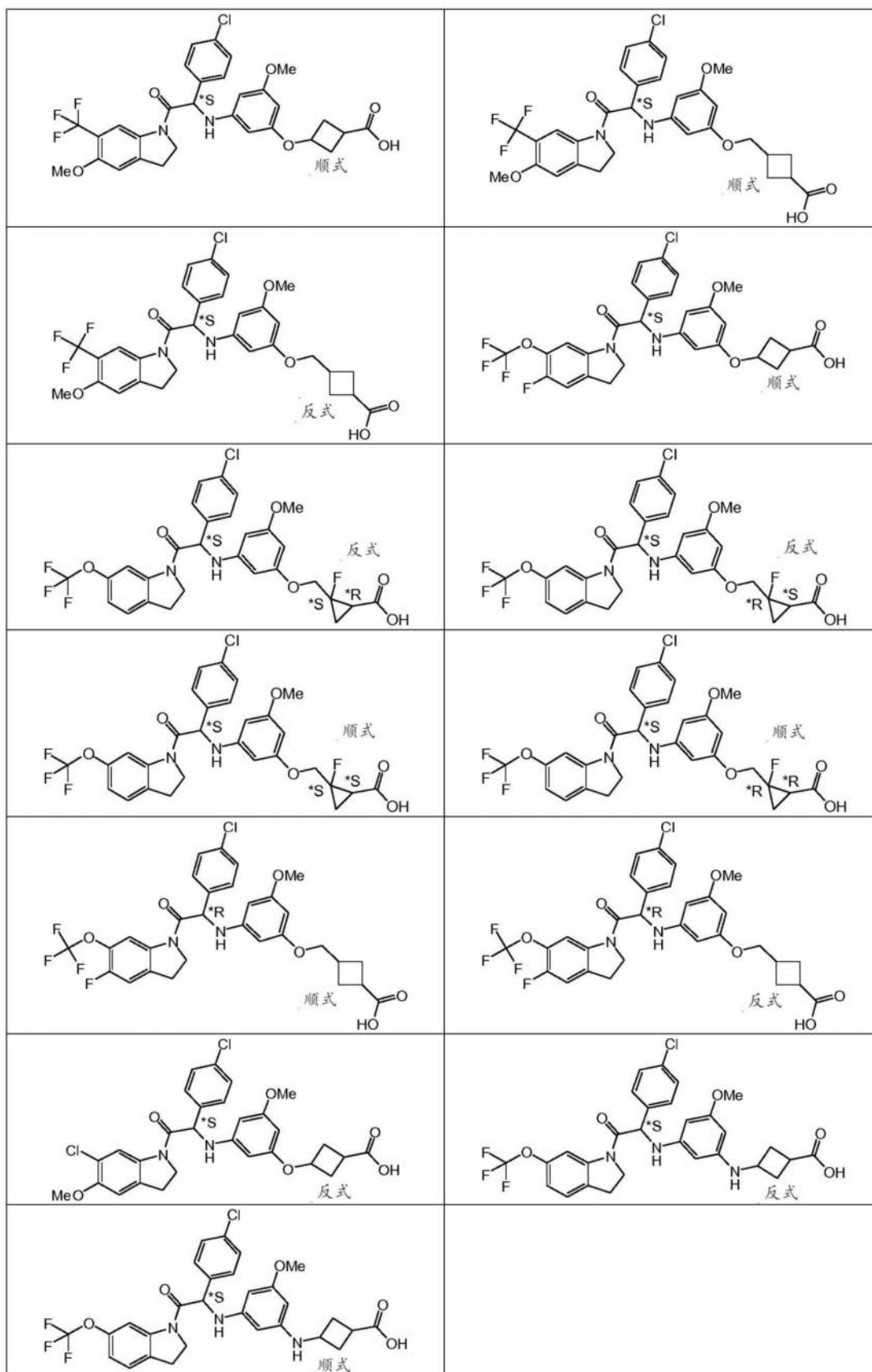


3. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物具有在作为溶剂的DMF中在20℃下使用589nm的波长测量的(+)比旋光度。

4. 根据权利要求3所述的化合物,其中所述化合物选自:







5. 如权利要求1所述的化合物, 其中 $R^1$ 是三氟甲氧基,  $R^2$ 是氢, 并且 $R^3$ 是氢。

6. 如权利要求1所述的化合物, 其中A表示 $-(CH_2)_n-$ , 其中n是3或4。

7. 如权利要求1所述的化合物,其中A表示 $-O-(CH_2)_n-$ ,其中n是2或4。

8. 如权利要求1所述的化合物,其中A表示 $-O-(CH_2)_n-$ ,其中n是3并且一个或两个 $CH_2$ 被一个或两个 $CH_3$ 取代;或A表示

$$\begin{array}{c} -O-CH_2-CH_2-C- \\ | \quad \quad | \\ H_2C \quad CH_2 \end{array} \quad \text{或} \quad \begin{array}{c} -O-CH_2-C-CH_2- \\ | \quad \quad | \\ H_2C \quad CH_2 \end{array} .$$

9. 如权利要求1所述的化合物,其中A表示 $-X-Y-$ ,其中X是 $-O-$ 、 $-OCH_2-$ 或 $-NH-$ ;并且Y是任选地被氟取代的 $C_{3-4}$ 环烷基。

10. 一种药物组合物,该药物组合物包含根据权利要求1至9中任一项所述的化合物连同一种或多种药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体。

11. 根据权利要求10所述的药物组合物,该药物组合物包含第二或另外的活性成分,其中该第二或另外的活性成分是抗病毒剂。

12. 根据权利要求1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物在制备药物中的用途。

13. 根据权利要求1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物在制备用于治疗登革热感染并用于预防或治疗与登革热感染有关的疾病的药物中的用途。

14. 根据权利要求13所述的用途,其中该登革热感染是通过DENV-1、DENV-2、DENV-3或DENV-4病毒株的病毒感染的。

## 作为登革热病毒复制抑制剂的经取代的吡啶生物

[0001] 本发明涉及经取代的吡啶生物,通过使用所述化合物预防或治疗登革热病毒感染的方法,并且还涉及所述化合物用作药物、更优选地用作治疗或预防登革热病毒感染的药物。此外,本发明涉及这些化合物的药物组合物或组合配制品,涉及用作药物、更优选地用于预防或治疗登革热病毒感染的组合物或配制品。本发明还涉及用于制备这些化合物的方法。

### 背景技术

[0002] 通过蚊子或蜱传播的黄病毒在人中引起危及生命的感染,如脑炎和出血热。已知黄病毒登革热的四种不同的但密切相关的血清型,所谓的DENV-1、-2、-3和-4。登革热是在全世界大多数热带和亚热带地区地方性的,主要在城市和半城市地区。根据世界卫生组织(WHO),25亿人(其中10亿儿童)处于DENV感染的风险(WHO,2002)。估计每年在世界范围内发生5000万至1亿登革热[DF]病例、50万严重登革热疾病(即登革出血热[DHF]和登革休克综合征[DSS])病例以及超过20,000例死亡。DHF已经成为流行地区中儿童之中住院和死亡的一个主要原因。总而言之,登革热代表虫媒病毒(arboviral)疾病的最常见原因。由于在位于拉丁美洲、东南亚和西太平洋的国家(包括巴西、波多黎各、委内瑞拉、柬埔寨、印度尼西亚、越南、泰国)中的最近大暴发,登革热病例的数量已经在过去几年急剧上升。随着疾病传播至新的区域,不仅登革热病例的数量在增加,而且暴发倾向于更严重。

[0003] 在感染另一种血清型之后,预先存在的异源抗体与新感染的登革病毒血清型形成复合物,但是不中和病原体。相反,据信促进病毒进入细胞,从而导致不受控制的病毒复制和更高的峰病毒滴度。在原发感染和继发感染两者中,更高的病毒滴度与更严重的登革热疾病相关。因为母体抗体能够容易地通过母乳喂养传递至婴儿,所以这可能是儿童比成年人更多受严重登革热疾病影响的原因之一。

[0004] 在具有两种或更多种血清型同时流通的区域(还被称为超流行地区),严重登革热疾病的风险显著更高,这是由于经历继发性、更严重感染的风险增加。此外,在超流行性的情况下,更强毒株出现的概率增加,这进而增加登革出血热(DHF)或登革休克综合征的概率。

[0005] 携带登革热的蚊子,包括埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)和白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)(虎斑蚊(tiger mosquito))在地球上向北方移动。根据美国(US)疾病控制与预防中心(CDC),两种蚊子当前在得克萨斯州南部普遍存在。携带登革热的蚊子向北传播不限于美国,而且也已在欧洲观察到。

[0006] 在墨西哥首次批准了由赛诺菲巴斯德公司(Sanofi Pasteur)生产的登革热疫苗(Dengvaxia<sup>®</sup>),并在同时获得更多国家的批准。尽管如此,由于功效有限,尤其是针对DENV-1和DENV-2,在黄病毒初次感染受试者中的功效低和漫长的给药方案,该疫苗留下了相当大的改进余地。

[0007] 尽管存在这些缺点,该疫苗是流行地区的规则改变者,因为它将为大部分人群提供保护,但是可能不能保护非常小的婴儿,这些婴儿承载着登革热的最大负担。此外,给药

方案和在黄病毒初次感染受试者中的功效非常有限使它对于从非流行地区到登革热流行地区的游客而言是不合适的并且可能是不值得的/成本有效的。登革热疫苗的上述缺点是为何需要预暴露预防性登革热抗病毒剂的原因。

[0008] 此外,当前不可获得用于治疗或预防登革热病毒感染的特异性抗病毒药物。显然,对于用于预防或治疗动物中(更具体地人中)的病毒感染并且尤其是针对由黄病毒(更具体地登革病毒)引起的病毒感染的治疗剂仍然存在巨大未满足的医学需求。高度需要具有良好抗病毒效力、无副作用或低水平的副作用、针对多种登革热病毒血清型的广谱活性、低毒性和/或良好药代动力学或药效动力学特性的化合物。

[0009] W0-2010/021878披露了2-苯基吡咯烷和吲哚啉衍生物作为冷薄荷醇受体拮抗剂用于治疗炎症疾病和中央疾病(central disease)。W0-2013/045516披露了吲哚和吲哚啉衍生物用于治疗登革热病毒感染。

[0010] 本发明现在提供化合物、经取代的吲哚啉衍生物,这些化合物显示针对所有四种(4)登革热病毒血清型的高效活性。

## 发明内容

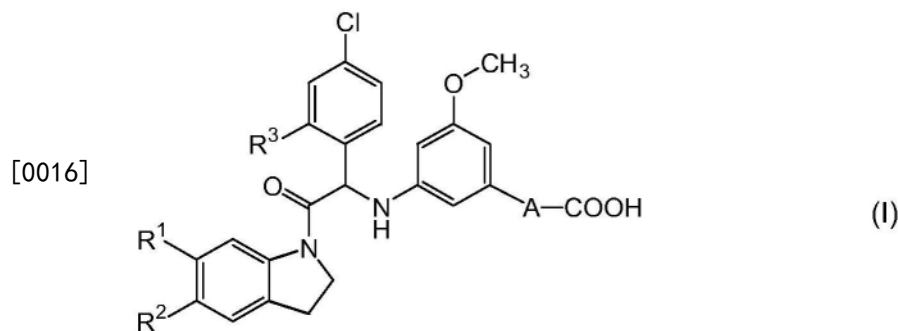
[0011] 本发明是基于上文提到的问题中的至少一个可以通过本发明的当前化合物来解决的出人意料的发现。

[0012] 本发明提供化合物,这些化合物已显示具有针对当前已知的所有四种(4)血清型的有效抗病毒活性。此外,本发明证明这些化合物有效地抑制登革热病毒(DENV)的增殖。因此,这些化合物构成可用于治疗和/或预防动物、哺乳动物和人中的病毒感染,更具体地用于治疗 and/或预防登革热病毒感染的一类有用的有效化合物。

[0013] 此外,本发明涉及这类化合物作为药物的用途,并且涉及其用于制造用以治疗和/或预防动物或哺乳动物(更具体地人)中的病毒感染,特别是属于登革热病毒家族的病毒感染的药剂的用途。本发明还涉及用于制备所有这类化合物的方法,并且涉及包含有效量的这些化合物的药物组合物。

[0014] 本发明还涉及一种通过向有需要的患者给予有效量的一种或多种这类化合物或其药学上可接受的盐任选地与一种或多种其他药物(像另一种抗病毒剂)的组合来治疗或预防人中的登革热病毒感染的方法。

[0015] 本发明的一个方面提供具有式(I)的化合物,该化合物包括其任何立体化学异构形式:

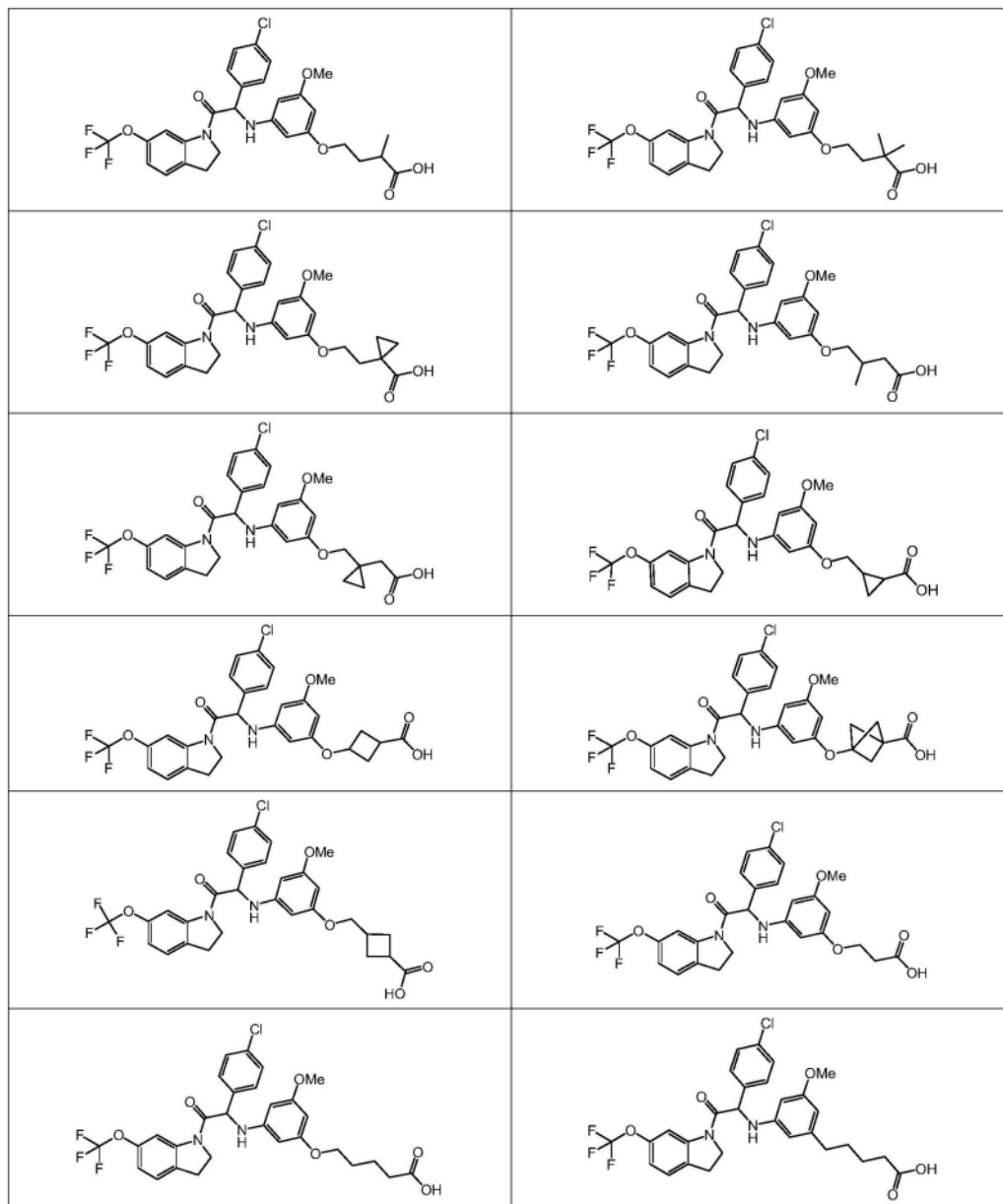


[0017] 其中

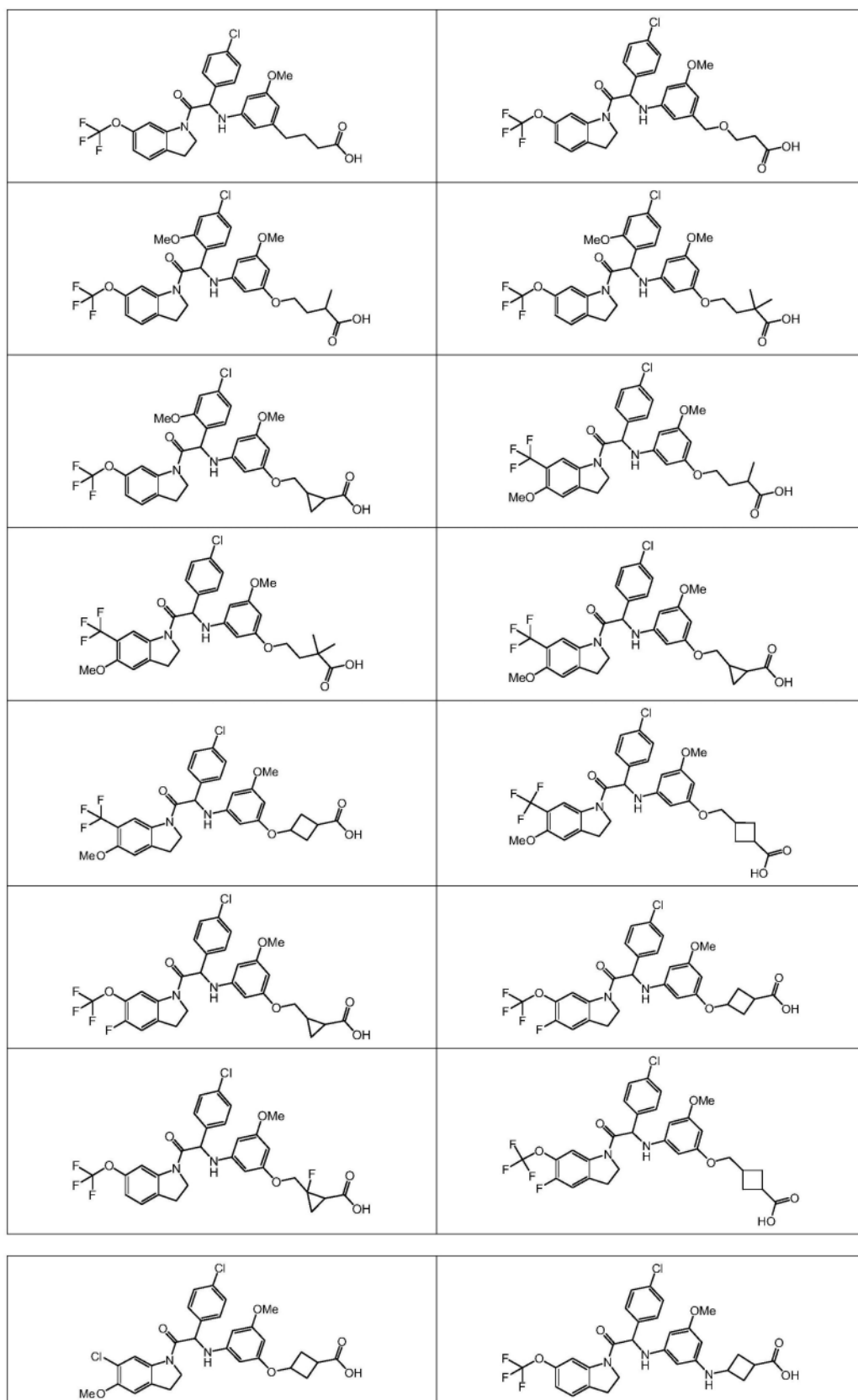
[0018]  $R^1$ 是三氟甲基、三氟甲氧基、或氯;

- [0019]  $R^2$ 是氢、氟、或甲氧基；  
 [0020]  $R^3$ 是氢、或甲氧基；  
 [0021] A表示 $-(CH_2)_n-$ ，其中n是3或4；  
 [0022]  $-O-(CH_2)_n-$ ，其中n是2或4；  
 [0023]  $-O-(CH_2)_n-$ ，其中n是3并且一个或两个 $CH_2$ 被一个或两个 $CH_3$ 取代；  
 [0024] 
$$\begin{array}{c} -O-CH_2-CH_2-C- \\ | \quad | \\ H_2C-CH_2 \end{array} \quad \text{或} \quad \begin{array}{c} -O-CH_2-C-CH_2- \\ | \quad | \\ H_2C-CH_2 \end{array}$$
  
 [0025]  $-CH_2-O-(CH_2)_n-$ ，其中n是2；或  
 [0026]  $-X-Y-$ ，其中X是 $-O-$ 、 $-OCH_2-$ 或 $-NH-$ ；以及  
 [0027] Y是任选地被氟取代的 $C_{3-4}$ 环烷基，或  
 [0028] Y是二环[1.1.1]戊基；  
 [0029] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物。  
 [0030] 具体地，上述化合物选自下组，该组由以下组成：

[0031]



[0032]



[0033]

[0034] 第一组的化合物是具有式(I)的化合物,其中A表示

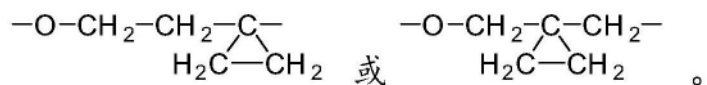
[0035]  $-(CH_2)_n-$ ,其中n是3或4。

[0036] 第二组的化合物是具有式(I)的化合物,其中A表示

[0037]  $-O-(CH_2)_n-$ , 其中n是2或4。

[0038] 第三组的化合物是具有式(I)的化合物, 其中A表示

[0039]  $-O-(CH_2)_n-$ , 其中n是3并且一个或两个 $CH_2$ 被一个或两个 $CH_3$ 取代; 或A表示



[0040] 第四组的化合物是具有式(I)的化合物, 其中A表示

[0041]  $-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$ , 其中n是2。

[0042] 第五组的化合物是具有式(I)的化合物, 其中A表示

[0043]  $-\text{X}-\text{Y}-$ , 其中X是 $-\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2-$ 或 $-\text{NH}-$ ; 并且Y是任选地被氟取代的 $\text{C}_{3-4}$ 环烷基。

[0044] 第六组的化合物是具有式(I)的化合物, 其中A表示

[0045]  $-\text{X}-\text{Y}-$ , 其中X是 $-\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2-$ 或 $-\text{NH}-$ ; 并且Y是二环[1.1.1]戊基。

[0046] 第七组的化合物是具有式(I)的化合物, 其中 $\text{R}^1$ 是三氟甲氧基,  $\text{R}^2$ 是氢, 并且 $\text{R}^3$ 是氢。

[0047] 第八组的化合物是具有式(I)的化合物, 其中 $\text{R}^1$ 是三氟甲氧基,  $\text{R}^2$ 是氢, 并且 $\text{R}^3$ 是甲氧基。

[0048] 第九组的化合物是具有式(I)的化合物, 其中 $\text{R}^1$ 是三氟甲基,  $\text{R}^2$ 是甲氧基, 并且 $\text{R}^3$ 是氢。

[0049] 第十组的化合物是具有式(I)的化合物, 其中 $\text{R}^1$ 是三氟甲氧基,  $\text{R}^2$ 是氟, 并且 $\text{R}^3$ 是氢。

[0050] 第十一组的化合物是具有式(I)的化合物, 其中 $\text{R}^1$ 是氯,  $\text{R}^2$ 是甲氧基, 并且 $\text{R}^3$ 是氢。

[0051] 本发明的一部分还是药物组合物, 该药物组合物包含以上提及的化合物或其立体异构形式、药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物, 连同一种或多种药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体。

[0052] 所述化合物的药学上可接受的盐包括其酸加成盐和碱盐。合适的酸加成盐是从形成无毒盐的酸形成的。合适的碱盐是从形成无毒盐的碱形成的。

[0053] 如上文所提及的药学上可接受的酸加成盐意指包含具有式(I)的化合物所能形成的治疗活性的无毒酸加成盐形式。这些药学上可接受的酸加成盐可以方便地通过用这种适当的酸来处理碱形式来获得。适当的酸包括例如无机酸, 诸如氢卤酸(例如盐酸或氢溴酸)、硫酸、硝酸、磷酸及类似酸; 或有机酸, 诸如如乙酸、丙酸、羟基乙酸、乳酸、丙酮酸、草酸(即乙二酸)、丙二酸、琥珀酸(即丁二酸)、马来酸、反丁烯二酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、甲烷磺酸(甲磺酸)、乙烷磺酸(乙磺酸)、苯磺酸、对甲苯磺酸、环拉酸、水杨酸、对氨基水杨酸、双羟萘酸及类似酸。

[0054] 本发明的化合物还可以按非溶剂化的和溶剂化的形式存在。术语“溶剂化物”在此用以描述包含本发明的化合物以及一种或多种药学上可接受的溶剂分子(例如, 乙醇)的分子复合物。

[0055] 术语“多晶型物”是指本发明的化合物能够以一种以上的形式或晶体结构存在。

[0056] 可以将本发明的化合物以晶态的或非晶态的产品给予。它们可通过诸如沉淀、结晶、冷冻干燥、喷雾干燥或蒸发干燥等方法以例如固体填料、粉末或膜形式获得。它们可以单独给予或与一种或多种本发明的其他化合物组合给予或与一种或多种其他药物组合给

予。通常，它们将作为与一种或多种药学上可接受的赋形剂相结合的配制品给予。术语“赋形剂”在本文中用于描述除本发明化合物外的任何成分。赋形剂的选择主要取决于诸如以下等要素：具体投与模式、赋形剂对溶解度和稳定性的影响以及剂型的性质。

[0057] 出于投与目的，本发明化合物或其任一亚组可调配成多种药物形式。可引用通常用于全身性投与药物的所有组合物作为适宜组合物。为制备本发明的药物组合物，将有效量的任选地呈加成盐形式的具体化合物作为活性成分与药学上可接受的载剂组合于紧密混合物中，该载剂可采用众多种形式，这取决于给予所希望的制剂形式。令人希望地，这些药物组合物处于适合于例如口服或经直肠给予的单位剂型。例如，在呈口服剂型的组合物的制备中，可采用任一常用药物介质，在口服液体剂型（例如悬浮液、糖浆、酏剂、乳液和溶液）的情形下采用例如像水、二醇、油、醇等；或在粉剂、丸剂、胶囊剂和片剂的情形下采用固体载剂，例如淀粉、糖、高岭土、稀释剂、润滑剂、黏合剂、崩解剂等。因为其容易给予，片剂和胶囊剂代表最有利的口服单位剂型，在该情形下显然采用固体药物载体。还包括在使用之前不久可以被转变为液体形式的固体形式剂型。

[0058] 为了便于给予和剂量的均一性，将上述药物组合物配制成单位剂型是特别有利的。如在此使用的单位剂型指的是适合作为单位剂量的物理离散单位，各单位包含预定量的活性成分，该预定量的活性成分经计算与所需药物载体相结合而产生所希望的治疗效果。此类单位剂型的实例是片剂（包括刻痕或包衣的片剂）、胶囊剂、丸剂、粉末包（powderpacket）、糯米纸囊剂（wafer）、栓剂、可注射溶液或悬浮液等，及其分离的多个。

[0059] 在感染性疾病治疗领域中的普通技术人员将能够从下文所呈现的测试结果来确定有效量。通常，预期每日有效量将为从0.01mg/kg至50mg/kg体重，更优选从0.1mg/kg至10mg/kg体重。可以适当地将所需剂量在全天中以适当的时间间隔作为两个、三个、四个或更多个子剂量给予。所述子剂量可配制成单位剂型，例如每单位剂型包含1mg至1000mg，且具体来说5mg至200mg活性成分。

[0060] 如本领域的普通技术人员所熟知的，给予的精确剂量和频率取决于本发明所使用的具体化合物、正在被治疗的具体病状、正在被治疗的病状的严重性、具体患者的年龄、体重和总体身体状况以及个体可能服用的其他药物。此外，显而易见的是可根据所治疗受试者的反应和/或根据用本发明的化合物开处方的医师的评估来降低或增加有效量。因此，上文所述的有效量范围仅为指导且并不打算在任何程度上限制本发明的范围或使用。

[0061] 本披露还旨在包括存在于本发明的化合物中的原子的任何同位素。例如，氢的同位素包括氘和氚，并且碳的同位素包括C-13和C-14。

[0062] 如在此使用的，任何具有仅仅显示为实线并且不显示为实楔形键或虚楔形键的键的化学式，或者另外表示为围绕一个或多个原子具有特殊构型（例如R,S）的化学式，考虑每个可能的立体异构体，或者两个或更多个立体异构体的混合物。

[0063] 在上文和下文中，术语“具有式(I)的化合物”和“式(I)的合成的中间体”意指包括其立体异构体和其互变异构形式。

[0064] 在上文或下文中，术语“立体异构体”、“立体异构形式”或“立体化学异构形式”可互换使用。

[0065] 本发明包括本发明的化合物呈纯立体异构体形式或呈两种或更多种立体异构体的混合物形式的所有立体异构体。对映异构体是作为彼此的不可重叠镜像的立体异构体。

对映异构体对的1:1混合物是外消旋体或外消旋混合物。非对映异构体(Diastereomer)(或非对映异构体(diastereoisomer))为不是对映异构体的立体异构体,即它们不以镜像形式相关。在二价环(部分地)饱和的基团上的取代基可以具有顺式-(cis-)或反式-(tran-)构型,例如,如果化合物包含双取代的环烷基,则取代基可以处于顺式或反式构型。

[0066] 术语“立体异构体”还包括任何旋转异构体,也称作构象异构体,具有化学式的化合物(I)可以形成。

[0067] 因此,只要化学上可能,本发明包括对映体、非对映体、外消旋体、E异构体、Z异构体、顺式异构体、反式异构体、旋转异构体及其任何混合物。

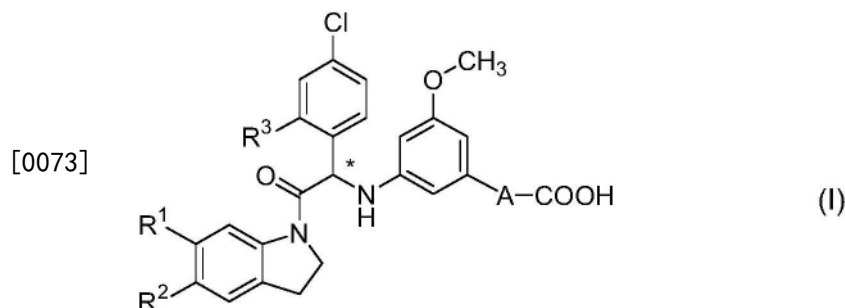
[0068] 所有那些术语的含义,即,对映体、非对映体、外消旋体、顺式异构体、反式异构体及其混合物对于本领域普通技术人员是已知的。

[0069] 绝对构型是根据卡恩-英戈尔德-普雷洛格(Cahn-Ingold-Prelog)系统指定的。不对称原子处的构型由R或S规定。绝对构型未知的经过拆分的立体异构体可以根据它们旋转平面偏振光的方向而由(+)或(-)指定。例如,绝对构型未知的已拆分的对映异构体可以根据它们旋转平面偏振光的方向而由(+)或(-)指定。

[0070] 当鉴别特定立体异构体时,这意指所述立体异构体实质上不含其他立体异构体,即与少于50%、优选地少于20%、更优选地少于10%、甚至更优选地少于5%、具体地少于2%并且最优选地少于1%的其他立体异构体相关。因此,当具有式(I)的化合物例如被指定为(R)时,这意味着该化合物基本上无(S)异构体;当具有式(I)的化合物例如被指定为E时,这意味着该化合物基本上无Z异构体;当具有式(I)的化合物例如被指定为顺式时,这意味着该化合物基本上无反式异构体。

[0071] 一些根据化学具有式(I)的化合物还能以它们的互变异构形式存在。尽管在以上化学式(I)中未明确指示,但是此类形式在它们可能存在的情况下旨在包括在本发明的范围内。

[0072] 本发明的具有式(I)的化合物均具有至少一个如下所示的用\*标记的碳原子表示的不对称的碳原子:



[0074] 由于所述手性中心的存在,“具有式(I)的化合物”可以是(R)-对映异构体、(S)-对映异构体、外消旋体形式、或两种单独的对映异构体以任何比例的任何可能的组合。当不对称碳原子的绝对构型未知时,使用相对立体化学描述符:\*R或\*S(或R\*和S\*)以指示手性中心的纯的但未知的立体化学。

[0075] 由于基团A允许取代基引入另外的不对称碳原子,所以具有式(I)的化合物可以具有多于一个不对称碳原子。当多于一个不对称碳原子的绝对立体化学未被确定时,相对立体化学使用相对立体化学描述符\*R和\*S表示,并且当基团A包含环部分时可能与顺式和反

式结合。

[0076] 在本发明的一方面中涉及第一组具有式(I)的化合物,其中该具有式(I)的化合物具有(-)比旋光度。

[0077] 在本发明的另一方面中涉及第二组具有式(I)的化合物,其中该具有式(I)的化合物具有(+)比旋光度。

[0078] 在一个实施例中,本发明涉及具有(+)比旋光度的具有式(I)的化合物,其中所述化合物选自下组,该组由以下组成:化合物(1C)、(1D)、(2A)、(4C)、(4D)、(5A)、(6AB)、(6BB)、(7B)、(8B)、(9B)、(10B)、(11B)、(12B)、(13B)、(14A)、(15B)、(17C)、(17D)、(18B)、(19AB)、(19BB)、(20C)、(20D)、(21B)、(22AB)、(22BB)、(23B)、(24B)、(25B)、(27B)、(28AB)、(28BB)、(29AB)、(29BB)、(30A)、(31A)、(32B)、(33C)、和(33D)。

[0079] 实例

[0080] LC/MS方法

[0081] 使用LC泵、二极管阵列(DAD)或UV检测器以及如在对应的方法中所指定的柱进行高效液相色谱法(HPLC)测量。如果必要的话,包括其他检测器(参见下文的方法表格)。

[0082] 将来自柱的流带至配置有大气压离子源的质谱仪(MS)。设置调谐参数(例如扫描范围、停留时间)以便获得允许鉴别化合物的标称单一同位素分子量(MW)的离子是在技术人员知识内。利用适宜软件进行数据采集。

[0083] 通过其实验保留时间( $R_t$ )和离子描述化合物。如果未在数据表中不同地指定,那么报道的分子离子对应于 $[M+H]^+$ (质子化的分子)和/或 $[M-H]^-$ (去质子的分子)。在该化合物不是直接可电离的情况下,指定加合物类型(即 $[M+NH_4]^+$ 、 $[M+HCOO]^-$ 等)。对于具有多种同位素模式的分子(Br、Cl)来说,报道的值是针对最低同位素质量获得的值。获得的所有结果具有通常与所使用的方法相关的实验不确定性。

[0084] 下文中,“SQD”意指单四极检测器,“MSD”质量选择性检测器,“RT”室温,“BEH”桥连乙基硅氧烷/二氧化硅杂化体,“DAD”二极管阵列检测器,“HSS”高强度二氧化硅。

[0085] LC-MS方法代码(以mL/min表示流量;以℃表示柱温度(T);以分钟表示运行时间)。

[0086]

方法代码	仪器	柱	流动相	梯度	流量 ----- 柱温	运行时间 (min)
LC-A	沃特斯 (Waters): Acquity <sup>®</sup> UPLC <sup>®</sup> -DAD-SQD	沃特斯 (Waters): BEH C18 (1.7 μm, 2.1x50mm)	A: 10 mM CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 于 95% H <sub>2</sub> O + 5% CH <sub>3</sub> CN 中 B: CH <sub>3</sub> CN	从 95% A 开始, 1.3 min 后至 5% A, 保持 0.7min。	0.8 mL/min ----- 55°C	2
LC-B	沃特斯 (Waters): Acquity <sup>®</sup> UPLC <sup>®</sup> -DAD-SQD	沃特斯 (Waters): HSS T3 (1.8 μm, 2.1x100 mm)	A: 10 mM CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 于 95% H <sub>2</sub> O + 5% CH <sub>3</sub> CN 中 B: CH <sub>3</sub> CN	从 100% A 开始, 2.10 min 后至 5% A, 0.90 min 后至 0% A, 0.5 min 后至 5% A	0.7 mL/min ----- 55°C	3.5
LC-C	沃特斯 (Waters):	沃特斯 (Waters):	A: CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 7mM 95%/	84.2% A 持续 0.49 min, 在 2.18	0.343 mL/min -----	6.2

[0087]

	Acquity <sup>®</sup> UPLC <sup>®</sup> - DAD-Quattro Micro <sup>™</sup>	BEH C18 (1.7 μm, 2.1x100 mm)	CH <sub>3</sub> CN 5%, B: CH <sub>3</sub> CN	min 内至 10.5% A, 保持 1.94 min, 在 0.73 min 内回到 84.2% A, 保持 0.73 min。	40°C	
LC-D	沃特斯: Acquity <sup>®</sup> H-Class - DAD 和 SQD2TM	沃特斯 BEH <sup>®</sup> C18 (1.7 μm, 2.1x100 mm)	A: CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 7mM 95%/ CH <sub>3</sub> CN 5%, B: CH <sub>3</sub> CN	在 2.18 min 内 84.2% A/15.8% B 至 10.5% A, 保持 1.96 min, 在 0.73 min 内回 到 84.2% A/15.8% B, 保持 0.49 min。	0.343 mL/min ----- 40°C	6.1

[0088] SFC-MS方法

[0089] 使用分析型超临界流体层析 (SFC) 系统来进行SFC测量,该系统由以下构成:用于递送二氧化碳(CO<sub>2</sub>)和改性剂的二元泵、自动进样器、柱烘箱、配备有经得起400巴的高压流动池的二极管阵列检测器。如果配置有质谱仪(MS),来自该柱的流被引至该(MS)。设置调谐参数(例如扫描范围、停留时间)以便获得允许鉴别化合物的标称单一同位素分子量(MW)的离子是在技术人员知识内。利用适宜软件进行数据采集。

[0090] 分析型SFC-MS方法(以mL/min表示流量;以°C表示柱温度(T);以分钟表示运行时间,以巴表示背压(BPR))。

[0091]

方法代码	柱	流动相	梯度	流量 ----- 柱温	运行时间 ----- BPR
SFC-A	大赛璐 Chiralpak <sup>®</sup> OD3 柱 (3.0 μm, 150 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: EtOH (+0.2% iPrNH <sub>2</sub> )	25% B 保持 6 min, 1 min 后到 50%, 保持 2.5 min	2.5 ----- 40	9.5 ----- 110
SFC-B	大赛璐 Chiralpak <sup>®</sup> AD3 柱 (3.0 μm, 150 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: EtOH (+0.2% iPrNH <sub>2</sub> +3%H <sub>2</sub> O)	6 min 后到 10%-50% B, 保持 3.5 min	2.5 ----- 40	9.5 ----- 110
SFC-C	大赛璐 Chiralpak <sup>®</sup> AD3 柱 (3.0 μm, 150 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: iPrOH (+0.2% iPrNH <sub>2</sub> )	6 min 后到 10%-50% B, 保持 3.5 min	2.5 ----- 40	9.5 ----- 110
SFC-D	大赛璐 Chiralpak <sup>®</sup> OD3 柱 (3.0 μm, 150 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: EtOH (+0.2% iPrNH <sub>2</sub> )	6 min 后到 10%-50% B, 保持 3.5 min	2.5 ----- 40	9.5 ----- 110
SFC-E	大赛璐 Chiralpak <sup>®</sup> AD3 柱 (3.0 μm, 150 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: EtOH (+0.2% iPrNH <sub>2</sub> )	6 min 后到 10%-50% B, 保持 3.5 min	2.5 ----- 40	9.5 ----- 110
SFC-F	大赛璐 Chiralcel <sup>®</sup>	A: CO <sub>2</sub>	30% B 保持 7	3	7

[0092]

	OJ-H 柱 ( 5 $\mu$ m, 150 x 4.6 mm)	B: MeOH	min,	----- 35	----- 100
SFC-G	大赛璐 Chiralcel® OD-3 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: iPrOH	40% B 保持 3 min,	3.5 ----- 35	3 ----- 103
SFC-H	大赛璐 Chiralcel® OD-3 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: MeOH	40% B 保持 3 min,	3.5 ----- 35	3 ----- 103
SFC-I	大赛璐 Chiralcel® OD-3 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: EtOH	40% B 保持 3 至 6 分钟,	3.5 ----- 35	3 至 6 ----- 103
SFC-J	Regis Whelk O1, S,S 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: MeOH	40% B 保持 3 min,	3.5 ----- 35	3 ----- 103
SFC-K	大赛璐 Chiralcel® OD-H 柱 ( 5 $\mu$ m, 150 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: iPrOH (+0.3% iPrNH <sub>2</sub> )	35% B 保持 7 min,	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-L	大赛璐 Chiralcel® AD-3 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: EtOH	45% B 保持 3 min,	3.5 ----- 35	3 ----- 103
SFC-M	大赛璐 Chiralcel® OD-H 柱 (5 $\mu$ m, 150 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: MeOH	40% B 保持 7 min,	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-N	大赛璐 Chiralpak® AD-3 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: EtOH (+0.3% iPrNH <sub>2</sub> )	15% B 保持 10 min,	3.5 ----- 35	10 ----- 103
SFC-O	Phenomenex Luxcellulose-2 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: MeOH	25% B 保持 3 min,	3.5 ----- 35	3 ----- 103
SFC-P	大赛璐 Chiralcel® OD-3 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: MeOH	30% B 保持 3 min,	3.5 ----- 35	3 ----- 103
SFC-Q	大赛璐 Chiralcel® AD-3 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: iPrOH (+0.3% iPrNH <sub>2</sub> )	60% B 保持 3 min,	3.5 ----- 35	3 ----- 103
SFC-R	大赛璐 Chiralcel® OD-3 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: EtOH	50% B 保持 3 至 6 分钟,	3.5 ----- 35	3 至 6 ----- 103

[0093]	SFC-S	大赛璐 Chiralcel® OD-H 柱 (5 $\mu$ m, 150 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: EtOH (+0.3% iPrNH <sub>2</sub> )	50% B 保持 7 min,	$\frac{3}{35}$	$\frac{7}{100}$
	SFC-T	Regis Wolk O1, S,S 柱 (3 $\mu$ m, 100 x 4.6 mm)	A: CO <sub>2</sub> B: MeOH	50% B 保持 3 min,	$\frac{3.5}{35}$	$\frac{3}{103}$

[0094] 熔点

[0095] 值是峰值亦或熔融范围,并且所获得的值具有通常与这种分析方法相关的实验不确定性。

[0096] DSC823e (指示为DSC)

[0097] 对于多种化合物,熔点是用DSC823e (梅特勒-托利多 (Mettler-Toledo)) 来确定的。使用10°C/分钟的温度梯度来测量熔点。最高温度是300°C。

[0098] 旋光度:

[0099] 在铂金埃尔默 (Perkin-Elmer) 341旋光计上用钠灯测量旋光度并且记录如下:

$[\alpha]^\circ (\lambda, c \text{ g}/100\text{ml}, \text{溶剂}, T^\circ\text{C})$ 。

[0100]  $[\alpha]_\lambda^T = (100\alpha) / (l \times c)$ : 其中 $l$ 是以dm计的路径长度并且 $c$ 是针对在温度 $T$ (°C)和波长 $\lambda$ (以nm计)下的样品的以g/100ml计的浓度。如果使用的光波长是589nm (钠D线),那么可以改为使用符号D。始终应给出旋转符号(+或-)。当使用这一等式时,常常在旋转后的括号中提供浓度和溶剂。使用度报道旋转并且浓度不带单位的给出(将其假定为g/100ml)。

[0101] 立体化学注释:在下面的实例中,立体化学指示符\*R和\*S是指手性中心的纯但未知的立体化学。

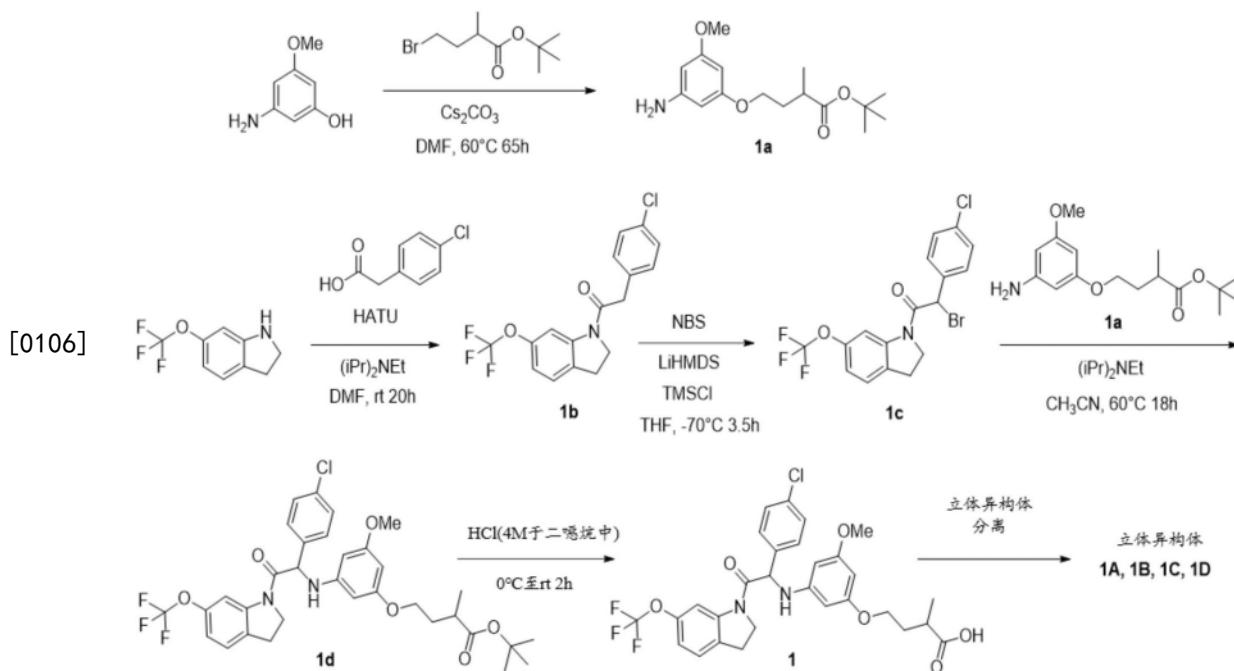
[0102] 实验部分使用的缩写

[0103]	(M+H) <sup>+</sup> MH <sup>+</sup>	质子化的分子离子	iPrNH <sub>2</sub>	异丙胺
	aq.	水性	iPrOH	2-丙醇
	Boc	叔丁氧基羰基	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	碳酸钾
	Boc <sub>2</sub> O	二碳酸二叔丁酯	KNO <sub>3</sub>	硝酸钾
	br	宽峰	LiAlH <sub>4</sub>	氢化铝锂
	CH <sub>3</sub> CN	乙腈	m/z	质/荷比
	CHCl <sub>3</sub>	氯仿	Me	甲基

[0104]

CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	二氯甲烷	MeOH	甲醇
CH <sub>3</sub> OH	甲醇	MgSO <sub>4</sub>	硫酸镁
CO <sub>2</sub>	二氧化碳	min	分钟
CsCO <sub>3</sub>	碳酸铯	MTBE	甲基-叔丁基醚
d	二重峰	N <sub>2</sub>	氮
DCM	二氯甲烷	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	碳酸钠
DIEA	二异丙基乙胺	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	硫酸钠
DIPE	二异丙醚	NaBH <sub>4</sub>	硼氢化钠
DMA	二甲基乙酰胺	NaCl	氯化钠
DMAP	4-二甲基氨基吡啶	NaHCO <sub>3</sub>	碳酸氢钠
DME	1,2-甲氧基乙烷	NaOH	氢氧化钠
DMF	二甲基甲酰胺	NH <sub>4</sub> Cl	氯化铵
DMSO	二甲基亚砷	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	碳酸氢铵
EDCI	1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺	NMP	N-甲基吡咯烷酮
eq.	当量	q	四重峰
Et <sub>2</sub> O	二乙醚	rt或RT	室温
Et <sub>3</sub> N	三乙胺	SEMCl	2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基氯
EtOAc	乙酸乙酯	s	单峰
EtOH	乙醇	t	三重峰
H <sub>2</sub>	氢	tBuOK	叔丁醇钾
HNO <sub>3</sub>	硝酸	TEA	三乙胺
H <sub>2</sub> O	水	TFA	三氟乙酸
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	硫酸	THF	四氢呋喃
HATU	O-(7-氮杂-1H-苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基-六氟磷酸脒鎓-CAS [148893-10-1]	2-Me-THF	2-甲基四氢呋喃
HCl	盐酸	TMSCl	三甲基氯硅烷
HPLC	高效液相色谱	TMSCF <sub>3</sub>	三氟甲基三甲基硅烷

[0105] 实例1: 4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸(化合物1)的合成以及分离为立体异构体1A、1B、1C和1D



[0107] 中间体1a的合成:

[0108] 向叔丁基4-溴-2-甲基丁酸酯[CAS 1210410-44-8] (1.0g, 4.22mmol) 于DMF (15mL) 中的搅拌溶液中添加3-氨基-5-甲氧基苯酚[CAS 162155-27-3] (587mg, 4.22mmol) 和Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.75g, 8.43mmol)。将该反应物在60°C下搅拌65h并且允许其达到室温。将该混合物倾倒入H<sub>2</sub>O (100mL) 中。将该产物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>进行萃取(两次)。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下蒸发溶剂。将残余物通过使用庚烷/EtOAc从100/0至50/50的梯度在硅胶上快速层析(50g)进行纯化。将所希望的级分合并, 在减压下蒸发并与CH<sub>3</sub>CN共蒸发, 产生叔丁基4-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸酯1a(440mg)。

[0109] 中间体1b的合成:

[0110] 将6-(三氟甲氧基)吲哚啉[CAS 959235-95-1] (5g, 24.6mmol)、2-(4-氯苯基)乙酸[CAS 1878-66-6] (4.2g, 24.6mmol)、HATU (14.3g, 36.9mmol) 和二异丙基乙胺(12.2mL, 73.8mmol) 于DMF (60mL) 中的混合物在室温下搅拌20h。将该混合物缓慢倾倒进搅拌的H<sub>2</sub>O (275mL) 中并将所得悬浮液搅拌50分钟。将固体滤出并用H<sub>2</sub>O洗涤(4x)。将该固体残余物吸收在甲苯(125mL) 中, 经纸滤器过滤, 并将滤液在减压下蒸发。将该固体残余物在Et<sub>2</sub>O/庚烷2/1 (30mL) 中搅拌, 过滤出, 用Et<sub>2</sub>O/庚烷1/1洗涤(3x), 并在真空下在50°C干燥以提供2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙酮1b(7.33g)。

[0111] 中间体1c的合成:

[0112] 在-70°C, 在氮气流下, 将于THF (41.2mL, 41.2mmol) 中的LiHMDS 1M逐滴添加至2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙酮1b(7.33g, 20.6mmol) 于2-Me-THF (300mL) 的溶液。将该混合物在-70°C搅拌50min并缓慢添加三甲基氯硅烷(4.21mL, 33.0mmol) 继续在-70°C搅拌35min并溶液逐滴添加N-溴代丁二酰亚胺(4.03g, 22.7mmol) 于THF (40mL) 的溶液和2-Me-THF (60mL)。在-70°C搅拌3.5h后, 将该反应用NH<sub>4</sub>Cl的饱和溶液(300mL) 淬灭。允许该混合物达到室温。添加水(50mL) 和盐水(50mL)。将该混合物用二异丙醚(150mL) 萃取。将有机层分离, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 将溶剂在减压下蒸发并与CH<sub>3</sub>CN共蒸发

以给出2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(7.87g)。

[0113] 中间体1d的合成:

[0114] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(850mg, 1.96mmol)、叔丁基4-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸酯1a(620mg, 2.10mmol)和二异丙基乙胺(506 $\mu$ L, 2.93mmol)于CH<sub>3</sub>CN(30mL)中的混合物在60℃搅拌18h。允许该混合物达到室温,并倾倒入水(125mL)中。将产物用Et<sub>2</sub>O萃取(2x)。将合并的有机层用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤出,并在减压下蒸发。将残余物通过在硅胶上快速层析(12g),使用庚烷/EtOAc/EtOH 100/0/0至40/45/15的梯度进行纯化。将所希望的级分合并,并且在减压下蒸发,并与二噁烷共蒸发以提供叔丁基4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸酯1d(1.27g)。

[0115] 化合物1的合成以及分离为立体异构体1A、1B、1C和1D:

[0116] 将叔丁基4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸酯1d(1.27g, 1.96mmol)于4M HCl于二噁烷(9mL)中的冷却(冰浴)溶液在0℃搅拌20min并在室温下搅拌2h。将沉淀物过滤出,用二噁烷洗涤(3x)并将固体空气干燥以提供呈HCl盐的4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸(化合物1, 900mg)。

[0117] 将化合物1的4种立体异构体(900mg)经由制备型手性SFC(固定相: Chiralpak<sup>®</sup> Diacel AD 20x250mm, 流动相: CO<sub>2</sub>、iPrOH+0.4% iPrNH<sub>2</sub>)进行分离。将产物级分合并,并在减压下蒸发。前两个洗脱峰的产物级分中的立体异构体没有完全分离并且需要经由制备型手性SFC(固定相: Chiralpak<sup>®</sup> Diacel AD 20x250mm, 流动相: CO<sub>2</sub>、EtOH+0.4% iPrNH<sub>2</sub>)进一步分离。将产物级分合并,并在减压下蒸发。

[0118] 将第一洗脱立体异构体通过在硅胶上快速层析(12g),使用庚烷/EtOAc/EtOH/HOAc梯度100/0/0/0至40/45/14.7/0.3进行纯化。将所希望的级分合并,并且在减压下蒸发,并与CH<sub>3</sub>CN共蒸发。将产物从CH<sub>3</sub>CN(2mL)和H<sub>2</sub>O(1.2mL)的溶剂混合物中冻干以提供立体异构体1A(63mg)。

[0119] 将第二洗脱立体异构体通过在硅胶上快速层析(12g),使用庚烷/EtOAc/EtOH/HOAc梯度100/0/0/0至40/45/14.7/0.3进行纯化。将所希望的级分合并,并且蒸发,并与CH<sub>3</sub>CN共蒸发。将产物从CH<sub>3</sub>CN(2mL)和H<sub>2</sub>O(1.2mL)的溶剂混合物中冻干以提供立体异构体1B(79mg)。

[0120] 将第三洗脱立体异构体经由制备型HPLC(固定相: RP XBridge<sup>®</sup> 制备型C18 OBD-10  $\mu$ m, 30x150mm, 流动相: 0.25% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>水溶液, CH<sub>3</sub>CN)进行纯化。将所希望的级分合并,并且将有机挥发物在减压下蒸发。将该残余物与EtOAc(25mL)和1N HCl(0.5mL)混合。搅拌10min后,分离各层。将有机层分离,用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,在减压下蒸发,并与共CH<sub>3</sub>CN蒸发。将该残余物从CH<sub>3</sub>CN(1.5mL)和H<sub>2</sub>O(0.75mL)的溶剂混合物中冻干以提供立体异构体1C(62mg)。

[0121] 将第四洗脱立体异构体通过在硅胶上快速层析(12g),使用庚烷/EtOAc/EtOH/HOAc梯度100/0/0/0至40/45/14.7/0.3进行纯化。将所希望的级分合并,并且在减压下蒸发,并与CH<sub>3</sub>CN共蒸发。将产物从CH<sub>3</sub>CN(2mL)和H<sub>2</sub>O(1.2mL)的溶剂混合物中冻干以提供立体

异构体1D(105mg)

[0122] 化合物1:

[0123]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  1.10 (dd,  $J=7.0, 1.3\text{Hz}$ , 3H) 1.69 (dq,  $J=13.6, 6.7\text{Hz}$ , 1H) 1.91-2.01 (m, 1H) 2.43-2.48 (m, 1H) 3.07-3.26 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.85 (br t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H) 4.04 (td,  $J=10.3, 7.2\text{Hz}$ , 1H) 4.52 (td,  $J=10.2, 6.4\text{Hz}$ , 1H) 5.56 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.75 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H) 5.89-5.98 (m, 2H) 6.43 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=8.3, 1.4\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) 7.40-7.47 (m, 2H) 7.51-7.58 (m, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.16 (br s, 1H)

[0124] LC/MS (方法LC-A):  $R_t$  1.14min,  $\text{MH}^+593$

[0125] 立体异构体1A:

[0126]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  1.10 (d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H) 1.69 (dq,  $J=13.5, 6.6\text{Hz}$ , 1H) 1.91-2.01 (m, 1H) 2.46-2.48 (m, 1H) 3.08-3.27 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.85 (t,  $J=6.6\text{Hz}$ , 2H) 4.04 (td,  $J=10.3, 6.9\text{Hz}$ , 1H) 4.45-4.57 (m, 1H) 5.55 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.75 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H) 5.92-5.96 (m, 2H) 6.43 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=8.3, 1.7\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) 7.40-7.46 (m, 2H) 7.55 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H) 8.03 (s, 1H) 12.16 (br s, 1H)

[0127] LC/MS (方法LC-A):  $R_t$  1.15min,  $\text{MH}^+593$

[0128]  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-37.6^\circ$  (c 0.415, DMF)

[0129] 手性SFC (方法SFC-A):  $R_t$  3.52min,  $\text{MH}^+593$  手性纯度100%。

[0130] 立体异构体1B:

[0131]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  1.09 (d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H) 1.69 (dq,  $J=13.6, 6.6\text{Hz}$ , 1H) 1.91-2.01 (m, 1H) 2.44-2.48 (m, 1H) 3.08-3.27 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.79-3.90 (m, 2H) 4.04 (td,  $J=10.4, 7.2\text{Hz}$ , 1H) 4.52 (td,  $J=10.2, 6.6\text{Hz}$ , 1H) 5.55 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.75 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H) 5.92-5.97 (m, 2H) 6.43 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=8.1, 1.5\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H) 8.03 (s, 1H) 12.16 (br s, 1H)

[0132] LC/MS (方法LC-A):  $R_t$  1.15min,  $\text{MH}^+593$

[0133]  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-65.3^\circ$  (c 0.455, DMF)

[0134] 手性SFC (方法SFC-A):  $R_t$  4.15 min,  $\text{MH}^+593$  手性纯度97.1%。

[0135] 立体异构体1C:

[0136]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  1.11 (d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H) 1.70 (dq,  $J=13.5, 6.5\text{Hz}$ , 1H) 1.90-2.03 (m, 1H) 2.44-2.49 (m, 1H) 3.07-3.25 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.86 (t,  $J=6.6\text{Hz}$ , 2H) 3.98-4.11 (m, 1H) 4.46-4.57 (m, 1H) 5.56 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H) 5.76 (t,  $J=2.1\text{Hz}$ , 1H) 5.90-5.99 (m, 2H) 6.44 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=7.9, 1.8\text{Hz}$ , 1H) 7.34 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H) 8.04 (s, 1H) 12.18 (br s, 1H)

[0137] LC/MS (方法LC-A):  $R_t$  1.15min,  $\text{MH}^+593$

[0138]  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+35.2^\circ$  (c 0.455, DMF)

[0139] 手性SFC (方法SFC-A):  $R_t$  2.84min,  $\text{MH}^+593$  手性纯度99.3%。

[0140] 立体异构体1D:

[0141]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  1.10 (d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H) 1.70 (dq,  $J=13.5, 6.6\text{Hz}$ , 1H) 1.92-2.02 (m, 1H) 2.46-2.49 (m, 1H) 3.09-3.29 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.80-3.92 (m, 2H) 4.05 (td,  $J=10.5, 7.0\text{Hz}$ , 1H) 4.53 (td,  $J=10.4, 6.5\text{Hz}$ , 1H) 5.56 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.76 (t,  $J=$

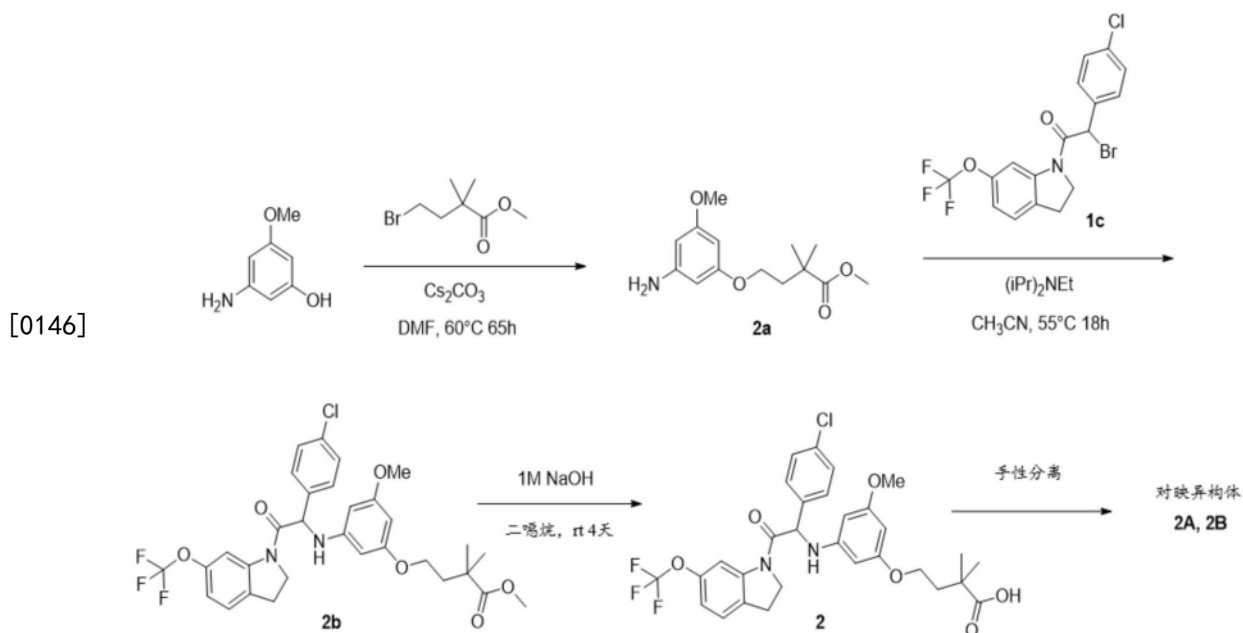
2.0Hz, 1H) 5.93-5.97 (m, 2H) 6.44 (d, J=8.6Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.1, 1.5Hz, 1H) 7.34 (d, J=8.1Hz, 1H) 7.40-7.47 (m, 2H) 7.56 (d, J=8.4Hz, 2H) 8.04 (s, 1H) 12.17 (br s, 1H)

[0142] LC/MS (方法LC-A):  $R_t$  1.15min,  $MH^+$  593

[0143]  $[\alpha]_D^{20}$ : +64.3° (c 0.42, DMF)

[0144] 手性SFC (方法SFC-A):  $R_t$  2.65min,  $MH^+$  593 手性纯度 98.1%。

[0145] 实例2: 4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸 (化合物2) 的合成以及手性分离为对映异构体2A和2B



[0147] 中间体2a的合成:

[0148] 向甲基4-溴-2,2-二甲基丁酸酯 [CAS 4833-99-2] (2.5g, 12mmol) 于DMF (35mL) 中的搅拌溶液添加3-氨基-5-甲氧基苯酚 [CAS 162155-27-3] (1.66g, 12mmol) 和  $CS_2CO_3$  (7.79g, 23.9mmol)。将该反应物在60°C下搅拌65h并且允许其达到室温。将该混合物倾倒入  $H_2O$  (150mL) 中。将该产物用  $CH_2Cl_2$  进行萃取。将有机层经  $MgSO_4$  干燥, 过滤并在减压下蒸发溶剂。将该残余物通过在硅胶上快速层析 (25g), 使用梯度为庚烷/ $CH_2Cl_2$ /MeOH 100/0/0至0/100/0至0/99/1进行纯化。将所希望的级分合并, 在减压下蒸发并与甲苯共蒸发。将固体在真空下在50°C干燥以提供甲基4-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸酯2a (440mg)。

[0149] 中间体2b的合成:

[0150] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙酮1c (1.57g, 3.61mmol)、甲基4-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸酯2a (970mg, 3.63mmol) 和二异丙基乙胺 (961μL, 5.58mmol) 于  $CH_3CN$  (25mL) 中的混合物在55°C搅拌18h。允许该混合物达到室温, 并倾倒入水 (125mL) 中。将产物用  $Et_2O$  萃取 (2x)。将合并的有机层经  $MgSO_4$  干燥, 过滤, 并在减压下蒸发。将残余物通过在硅胶上快速层析 (40g), 使用庚烷/ $EtOAc$ / $EtOH$  100/0/0至40/45/15的梯度进行纯化。将所希望的级分合并, 并且在减压下蒸发, 并与二噁烷共蒸发以提供甲基4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸 (化合物2)。

基)-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸酯2b (2.24g)。

[0151] 化合物2的合成以及分离为对映异构体2A和2B:

[0152] 将于水 (9mL, 9mmol) 中的1M NaOH添加至甲基4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸酯2b (2.24g, 3.61mmol) 于二噁烷 (15mL) 中的搅拌溶液。将反应混合物在室温下搅拌4天。缓慢添加1N HCl (10mL)。搅拌20min后, 将产物用Et<sub>2</sub>O萃取。将有机层分离, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并在减压下蒸发。将该残余物 (2.9g) 通过在硅胶上快速层析 (80g), 使用庚烷/EtOAc/EtOH/HOAc梯度 100/0/0/0至40/45/14.7/0.3进行纯化。将所希望的级分合并, 在减压下蒸发, 并与二异丙醚共蒸发。将该残余物 (1.6g) 经由制备型HPLC (固定相: RP XBridge<sup>®</sup> 制备型C18 OBD-10μm, 50x150mm, 流动相: 0.5% NH<sub>4</sub>Ac水溶液+10% CH<sub>3</sub>CN/MeOH) 进一步纯化。将产物级分合并, 并将有机挥发物在减压下蒸发。将该残余物在2-Me-THF (300mL) 和盐水之间分配。将有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下蒸发。将该残余物通过在硅胶上快速层析 (12g), 使用庚烷/EtOAc/EtOH/HOAc梯度 100/0/0/0至0/75/24.5/0.5至40/45/14.7/0.3进一步纯化。将产物级分合并, 并在减压下蒸发。将泡沫固体在真空下在45℃干燥以提供呈外消旋混合物的4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸 (化合物2, 0.97g)。

[0153] 化合物2的对映异构体 (800mg) 经由制备型手性SFC (固定相: Chiralpak<sup>®</sup> Diacel AD 20x250mm, 流动相: CO<sub>2</sub>/EtOH+0.4% iPrNH<sub>2</sub>) 进行分离。将产物级分合并, 并在减压下蒸发。将第一洗脱产物与EtOAc (15mL)、水 (5mL) 和1N HCl (1mL) 混合。搅拌15分钟后, 分离各层。将有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 在减压下蒸发并与MeOH共蒸发。将该残余物用水 (4mL) 和MeOH (1.5mL) 研磨, 同时在冰浴上冷却。将固体滤出, 用H<sub>2</sub>O/MeOH 4/1洗涤 (4x), 并在真空下在45℃干燥以提供对映异构体2A (292mg)。将第二洗脱产物与EtOAc (15mL)、水 (5mL) 和1N HCl (1mL) 混合。搅拌30分钟后, 分离各层。将有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 在减压下蒸发并与MeOH共蒸发。将该残余物用水 (4mL) 和MeOH (1.5mL) 研磨, 同时在冰浴上冷却。将固体滤出, 用H<sub>2</sub>O/MeOH 2/1洗涤 (4x), 并在真空下在45℃干燥以提供对映异构体2B (342mg)。

[0154] 化合物2:

[0155] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ<sub>ppm</sub> 1.13 (d, J=2.6Hz, 6H) 1.87 (t, J=7.2Hz, 2H) 3.08-3.27 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.85 (t, J=7.2Hz, 2H) 4.04 (td, J=10.4, 7.2Hz, 1H) 4.52 (td, J=10.2, 6.2Hz, 1H) 5.54 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.74 (t, J=2.0Hz, 1H) 5.90-5.96 (m, 2H) 6.43 (d, J=8.6Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.3, 1.4Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.1Hz, 1H) 7.39-7.48 (m, 2H) 7.50-7.60 (m, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.19 (br s, 1H)

[0156] LC/MS (方法LC-A): R<sub>t</sub> 1.22min, MH<sup>+</sup> 607

[0157] 对映异构体2A:

[0158] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ<sub>ppm</sub> 1.13 (d, J=2.6Hz, 6H) 1.87 (t, J=7.3Hz, 2H) 3.08-3.27 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.85 (t, J=7.2Hz, 2H) 3.97-4.12 (m, 1H) 4.52 (td, J=10.3, 6.5Hz, 1H) 5.54 (d, J=8.6Hz, 1H) 5.74 (t, J=2.1Hz, 1H) 5.90-5.96 (m, 2H) 6.43 (d, J=8.6Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.1, 1.5Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.1Hz, 1H) 7.39-7.49 (m, 2H) 7.55 (d, J=8.6Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.20 (br s, 1H)

[0159] LC/MS(方法LC-A): $R_t$  1.23min, $MH^+$ 607

[0160]  $[\alpha]_D^{20}$ : +49.6° (c 0.56, DMF)

[0161] 手性SFC(方法SFC-B): $R_t$  6.47min, $MH^+$ 607手性纯度100%。

[0162] 对映异构体2B:

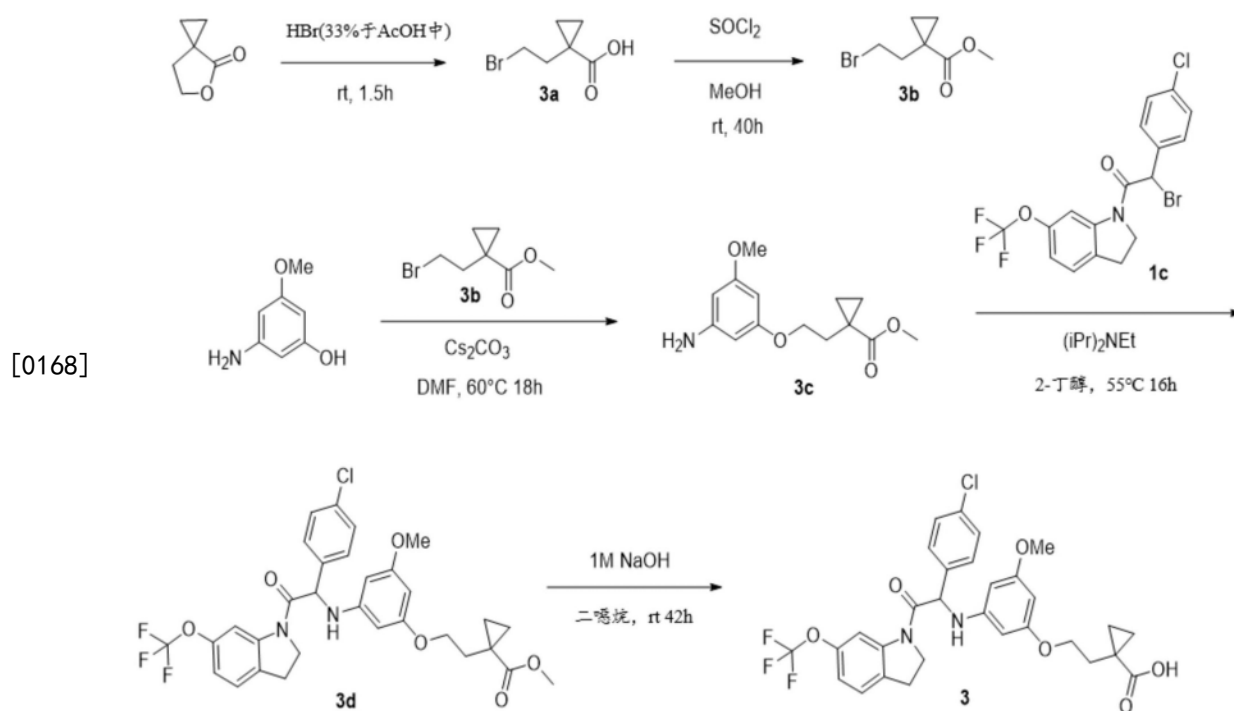
[0163]  $^1H$  NMR (400MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ ppm 1.13 (d,  $J=2.6$ Hz, 6H) 1.87 (t,  $J=7.2$ Hz, 2H) 3.08-3.28 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.85 (t,  $J=7.2$ Hz, 2H) 4.04 (td,  $J=10.3, 7.3$ Hz, 1H) 4.52 (td,  $J=10.3, 6.5$ Hz, 1H) 5.54 (d,  $J=8.8$ Hz, 1H) 5.74 (t,  $J=2.0$ Hz, 1H) 5.90-5.96 (m, 2H) 6.43 (d,  $J=8.6$ Hz, 1H) 7.01 (dd,  $J=8.1, 1.5$ Hz, 1H) 7.33 (d,  $J=8.1$ Hz, 1H) 7.41-7.46 (m, 2H) 7.55 (m,  $J=8.6$ Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.20 (br s, 1H)

[0164] LC/MS(方法LC-A): $R_t$  1.23min, $MH^+$ 607

[0165]  $[\alpha]_D^{20}$ : -49.2° (c 0.445, DMF)

[0166] 手性SFC(方法SFC-B): $R_t$  7.18min, $MH^+$ 607手性纯度98.8%。

[0167] 实例3: 4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸(化合物3)的合成



[0169] 中间体3a的合成:

[0170] 5-氧杂螺[2.4]庚-4-酮(930mg, 8.29mmol)与33% HBr于AcOH(8mL)中的溶液混合。将反应混合物在室温下搅拌1.5h,并倾倒进冰-水(50mL)中。搅拌10min后,将产物过滤出,用水洗涤(5x)并在真空中在45°C干燥以提供1-(2-溴乙基)环丙烷-1-甲酸3a(753mg)。

[0171] 中间体3b的合成:

[0172] 将1-(2-溴乙基)环丙烷-1-甲酸3a(540mg, 2.8mmol)于MeOH(11mL)的溶液在 $N_2$ -气氛下搅拌,同时在冰浴上冷却。逐滴添加亚硫酰氯(304 $\mu$ L, 4.2mmol)。将反应混合物在室温下搅拌40h。将溶剂在减压下蒸发,并与 $CH_3CN$ 共蒸发以提供甲基1-(2-溴乙基)环丙烷-1-甲酸酯3b(380mg)。

[0173] 中间体3c的合成:

[0174] 向甲基1-(2-溴乙基)环丙烷-1-甲酸酯3b(380mg, 1.84mmol)于DMF(10mL)中的搅拌溶液添加3-氨基-5-甲氧基苯酚[CAS 162155-27-3](250mg, 1.80mmol)和 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (1.17g, 3.59mmol)。将该反应物在60℃下搅拌18h并且允许其达到室温。将该混合物倾倒入 $\text{H}_2\text{O}$ (60mL)中。将产物用 $\text{Et}_2\text{O}$ 萃取(2x)。将合并的有机层用盐水洗涤,经 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤,并将溶剂在减压下蒸发并与甲苯共蒸发。将该残余物通过在硅胶上快速层析(12g),使用梯度为庚烷/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH 100/0/0至0/100/0至0/99/1进行纯化。将产物级分合并,在减压下蒸发并与 $\text{CH}_3\text{CN}$ 共蒸发以提供甲基1-(2-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)乙基)环丙烷-1-甲酸酯3c(220mg)。

[0175] 中间体3d的合成:

[0176] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(320mg, 0.736mmol)、甲基1-(2-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)乙基)环丙烷-1-甲酸酯3c(220mg, 0.829mmol)和二异丙基乙胺(254 $\mu\text{L}$ , 1.47mmol)于2-丁醇(7.5mL)中的混合物在55℃搅拌16h。允许该混合物达到室温,并倾倒入水(25mL)中。将产物用 $\text{Et}_2\text{O}$ 萃取(2x)。将合并的有机层用盐水洗涤,经 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下蒸发。将残余物通过在硅胶上快速层析(12g),使用庚烷/ $\text{EtOAc}$ / $\text{EtOH}$  100/0/0至60/30/10的梯度进行纯化。将产物级分合并,并且在减压下蒸发,并与二噁烷共蒸发以提供甲基1-(2-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)乙基)环丙烷-1-甲酸酯3d(456mg)。

[0177] 化合物3的合成:

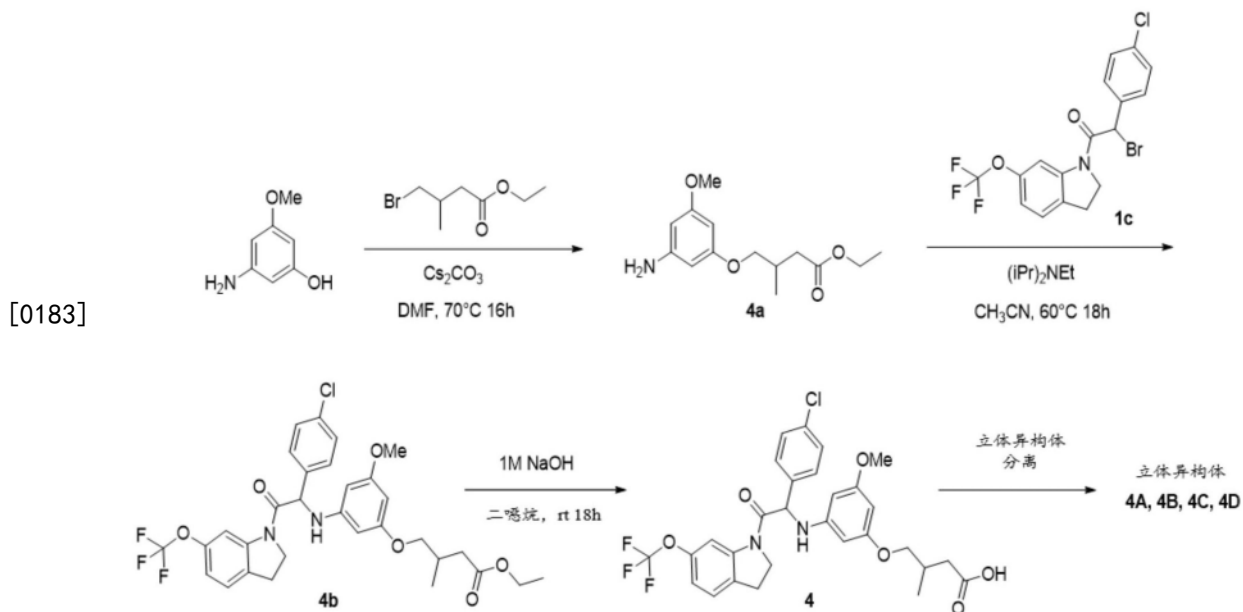
[0178] 将于水(1.84mL, 1.84mmol)中的1M NaOH添加至甲基1-(2-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)乙基)环丙烷-1-甲酸酯3d(0.456mg, 0.737mmol)于二噁烷(3mL)中的搅拌溶液中。将反应混合物在室温下在 $\text{N}_2$ -气氛下搅拌42h。添加水(15mL)和1N HCl(2mL)。搅拌10min后,将产物过滤出,用水洗涤(3x)并在真空下在45℃干燥。该残余物经由制备型HPLC(固定相:RPXBridge<sup>®</sup>制备型C180BD-10 $\mu\text{m}$ , 30x150mm, 流动相:0.25% $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ 水溶液,  $\text{CH}_3\text{CN}$ )进行纯化。将产物级分合并,并且将有机溶剂蒸发。将剩余水溶液用 $\text{Et}_2\text{O}$ 萃取(2x)。将合并的有机层用盐水洗涤,经 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤,在减压下蒸发,并与MeOH共蒸发。将所得泡沫在 $\text{H}_2\text{O}$ /MeOH 3/1(4mL)中搅拌,过滤出,用 $\text{H}_2\text{O}$ /MeOH 3/1洗涤(3x),并在真空下在45℃干燥以提供呈外消旋混合物的1-(2-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)乙基)环丙烷-1-甲酸(化合物3, 255mg)。

[0179] 化合物3:

[0180]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ ppm 0.73-0.84(m, 2H) 1.00-1.11(m, 2H) 1.81-1.91(m, 2H) 3.07-3.26(m, 2H) 3.62(s, 3H) 3.97(t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H) 4.05(td,  $J=10.3, 7.3\text{Hz}$ , 1H) 4.52(td,  $J=10.2, 6.6\text{Hz}$ , 1H) 5.55(d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H) 5.77(t,  $J=2.1\text{Hz}$ , 1H) 5.90-5.98(m, 2H) 6.42(d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H) 7.00(dd,  $J=8.1, 1.5\text{Hz}$ , 1H) 7.33(d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H) 7.39-7.49(m, 2H) 7.55(d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H) 8.03(s, 1H) 12.19(br s, 1H)

[0181] LC/MS(方法LC-B):  $R_t$  2.19min,  $\text{MH}^+$  605

[0182] 实例4: 4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-3-甲基丁酸(化合物4)的合成以及分离为立体异构体4A、4B、4C和4D



[0184] 中间体4a的合成:

[0185] 向乙基4-溴-3-甲基丁酸酯[CAS 56703-10-7] (1.0g, 4.78mmol) 于DMF (15mL) 中的搅拌溶液添加3-氨基-5-甲氧基苯酚[CAS 162155-27-3] (666mg, 4.78mmol) 和Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.12g, 9.57mmol)。将该反应物在70°C下搅拌16h并且允许其达到室温。将该混合物倾倒入H<sub>2</sub>O (75mL) 中。将产物用Et<sub>2</sub>O萃取 (2x)。将合并的有机层用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并将溶剂在减压下蒸发。将残余物通过使用庚烷/EtOAc从100/0至50/50的梯度在硅胶上快速层析 (25g) 进行纯化。将产物级分合并, 在减压下蒸发并与CH<sub>3</sub>CN共蒸发, 产生乙基4- (3-氨基-5-甲氧基苯氧基) -3-甲基丁酸酯4a (430mg)。

[0186] 中间体4b的合成:

[0187] 将2-溴-2- (4-氯苯基) -1- (6- (三氟甲氧基) 吡啶-1-基) 乙酮1c (430mg, 1.15mmol)、乙基4- (3-氨基-5-甲氧基苯氧基) -3-甲基丁酸酯4a (430mg, 1.61mmol) 和二异丙基乙胺 (396μL, 2.30mmol) 于CH<sub>3</sub>CN (15mL) 中的混合物在60°C在N<sub>2</sub>气氛下搅拌18h。允许该混合物达到室温, 并倾倒入水 (75mL) 中。将产物用Et<sub>2</sub>O萃取 (2x)。将合并的有机层用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下蒸发。将残余物通过在硅胶上快速层析 (12g), 使用庚烷/EtOAc/EtOH 100/0/0至40/45/15的梯度进行纯化。将产物级分合并, 并且在减压下蒸发, 并与EtOH共蒸发以提供乙基4- (3- ((1- (4-氯苯基) -2-氧代-2- (6- (三氟甲氧基) 吡啶-1-基) 乙基) 氨基) -5-甲氧基苯氧基) -3-甲基丁酸酯4b (714mg)。

[0188] 化合物4的合成以及分离为立体异构体4A、4B、4C和4D:

[0189] 将于水 (2.9mL, 2.9mmol) 中的1M NaOH添加至乙基4- (3- ((1- (4-氯苯基) -2-氧代-2- (6- (三氟甲氧基) 吡啶-1-基) 乙基) 氨基) -5-甲氧基苯氧基) -3-甲基丁酸酯4b (714mg, 1.15mmol) 于二噁烷 (5mL) 和EtOH (2mL) 溶剂混合物中的搅拌溶液。将反应混合物在室温下搅拌18h。缓慢添加1N HCl (3mL)。搅拌2min后, 将产物用Et<sub>2</sub>O萃取 (2x)。将合并的有机层分离, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并在减压下蒸发。将该残余物通过在硅胶上快速层析 (40g), 使用梯度为庚烷/EtOAc/EtOH/HOAc 100/0/0/0至40/45/14.7/0.3进行纯化。将产物级分合并, 并在减压下蒸发。将该残余物在Et<sub>2</sub>O (5mL) 中搅拌。将固体滤出, 用Et<sub>2</sub>O洗涤 (3x), 并在真空下在50°C干燥以提供呈外消旋混合物的4- (3- ((1- (4-氯苯基) -2-氧代-2- (6- (三氟甲氧基)

吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-3-甲基丁酸(化合物4,290mg)。

[0190] 化合物4的4种立体异构体(274mg)经由制备型手性SFC(固定相: **Chiralpak**<sup>®</sup> Diacel AD 20x250mm,流动相:CO<sub>2</sub>、iPrOH+0.4% iPrNH<sub>2</sub>)进行分离。将产物级分合并,并在减压下蒸发。第二和第三洗脱峰的产物级分中的立体异构体没有完全分离并且需要经由制备型手性SFC(固定相: **Chiralpak**<sup>®</sup> Diacel AD 20x250mm,流动相:CO<sub>2</sub>、EtOH+0.4% iPrNH<sub>2</sub>)进一步分离。将产物级分合并,并在减压下蒸发。将4种立体异构体从CH<sub>3</sub>CN和水的溶剂混合物通过冻干固化以提供立体异构体4A(72mg)、4B(35mg)、4C(35mg)和4D(67mg)。

[0191] 化合物4:

[0192] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.96(d,J=6.6Hz,3H)2.05-2.15(m,1H)2.16-2.28(m,1H)2.39(dd,J=15.4,5.5Hz,1H)3.08-3.27(m,2H)3.62(s,3H)3.65-3.75(m,2H)4.05(td,J=10.4,7.2Hz,1H)4.43-4.59(m,1H)5.56(d,J=8.8Hz,1H)5.76(t,J=2.0Hz,1H)5.93(t,J=1.8Hz,1H)5.97(s,1H)6.43(d,J=8.8Hz,1H)7.01(dd,J=8.1,1.5Hz,1H)7.33(d,J=8.1Hz,1H)7.43(d,J=7.8Hz,2H)7.55(d,J=8.4Hz,2H)8.03(br s,1H)12.10(br s,1H)

[0193] LC/MS(方法LC-B):R<sub>t</sub> 2.07min,MH<sup>+</sup>593

[0194] 立体异构体4A:

[0195] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.96(d,J=6.8Hz,3H)2.05-2.13(m,1H)2.22(dq,J=13.1,6.6Hz,1H)2.33-2.40(m,1H)3.06-3.21(m,2H)3.62(s,3H)3.65-3.76(m,2H)4.05(td,J=10.4,7.2Hz,1H)4.52(td,J=10.1,6.4Hz,1H)5.56(d,J=8.8Hz,1H)5.76(t,J=2.0Hz,1H)5.93(t,J=1.9Hz,1H)5.97(t,J=1.7Hz,1H)6.43(d,J=8.6Hz,1H)7.00(dd,J=8.1,1.5Hz,1H)7.33(d,J=8.1Hz,1H)7.43(m,J=8.6Hz,2H)7.55(m,J=8.6Hz,2H)8.03(br s,1H)11.51(br s,1H)

[0196] LC/MS(方法LC-B):R<sub>t</sub> 2.04min,MH<sup>+</sup>593

[0197] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -59.6°(c 0.245,DMF)

[0198] 手性SFC(方法SFC-C):R<sub>t</sub> 5.84min,MH<sup>+</sup>593手性纯度100%。

[0199] 立体异构体4B:

[0200] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.96(d,J=6.6Hz,3H)2.07-2.14(m,1H)2.22(dq,J=13.2,6.5Hz,1H)2.38(dd,J=15.2,5.5Hz,1H)3.02-3.23(m,2H)3.62(s,3H)3.65-3.76(m,2H)4.04(td,J=10.3,7.3Hz,1H)4.52(td,J=10.5,6.2Hz,1H)5.56(d,J=8.8Hz,1H)5.76(t,J=2.0Hz,1H)5.93(t,J=1.8Hz,1H)5.97(t,J=1.7Hz,1H)6.43(d,J=8.6Hz,1H)7.00(dd,J=8.0,1.4Hz,1H)7.33(d,J=8.1Hz,1H)7.41-7.46(m,2H)7.55(m,J=8.4Hz,2H)8.03(br s,1H)12.00(br s,1H)

[0201] LC/MS(方法LC-B):R<sub>t</sub> 2.04min,MH<sup>+</sup>593

[0202] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -47.5°(c 0.255,DMF)

[0203] 手性SFC(方法SFC-C):R<sub>t</sub> 6.34min,MH<sup>+</sup>593手性纯度98.0%。

[0204] 立体异构体4C:

[0205] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.96(d,J=6.6Hz,3H)2.06-2.14(m,1H)2.22(dq,J=13.3,6.4Hz,1H)2.37(dd,J=15.3,5.6Hz,1H)3.08-3.22(m,2H)3.62(s,3H)3.66-3.74

(m, 2H) 4.04 (td,  $J=10.5, 7.0\text{Hz}$ , 1H) 4.52 (td,  $J=10.2, 6.6\text{Hz}$ , 1H) 5.56 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.76 (t,  $J=2.1\text{Hz}$ , 1H) 5.93 (t,  $J=1.7\text{Hz}$ , 1H) 5.97 (t,  $J=1.8\text{Hz}$ , 1H) 6.44 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=8.1, 1.5\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (m,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (m,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H) 8.03 (br s, 1H) 10.85-12.62 (m, 1H)

[0206] LC/MS (方法LC-B):  $R_t$  2.04min,  $\text{MH}^+$  593

[0207]  $[\alpha]_D^{20}$ : +47.7° (c 0.26, DMF)

[0208] 手性SFC (方法SFC-C):  $R_t$  6.31min,  $\text{MH}^+$  593 手性纯度100%。

[0209] 立体异构体4D:

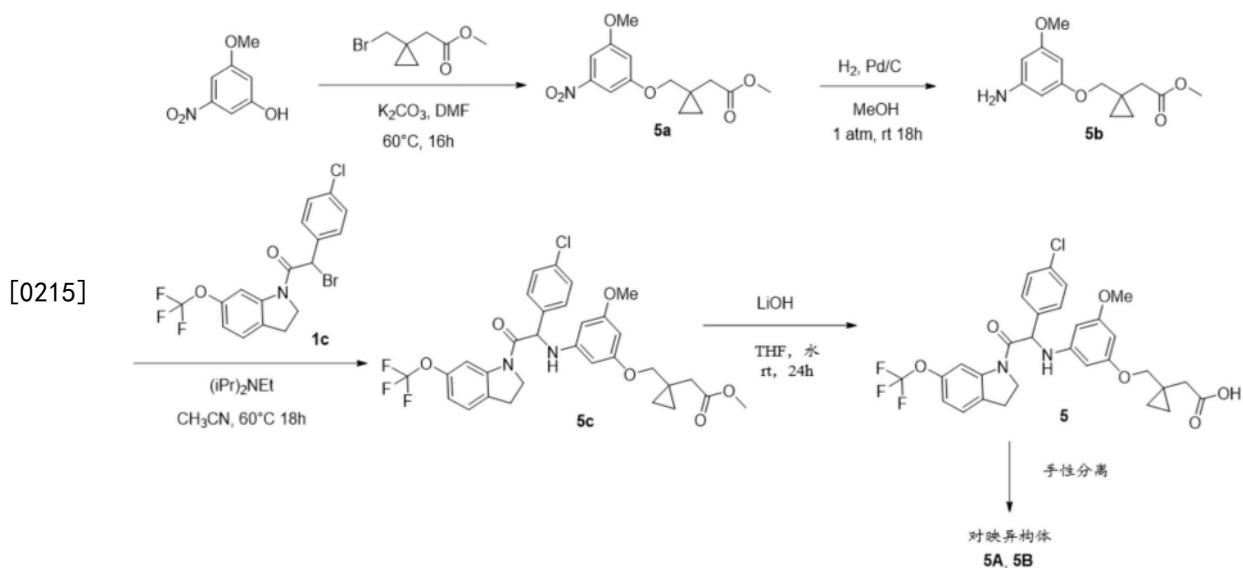
[0210]  $^1\text{H}$  NMR (360MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ ppm 0.96 (d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H) 2.06-2.15 (m, 1H) 2.17-2.28 (m, 1H) 2.38 (dd,  $J=15.4, 5.5\text{Hz}$ , 1H) 3.07-3.26 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.65-3.76 (m, 2H) 4.05 (td,  $J=10.2, 7.3\text{Hz}$ , 1H) 4.52 (td,  $J=10.3, 6.4\text{Hz}$ , 1H) 5.57 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.76 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H) 5.93 (t,  $J=1.5\text{Hz}$ , 1H) 5.97 (t,  $J=1.5\text{Hz}$ , 1H) 6.46 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=8.2, 1.6\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (m,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (m,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H) 8.03 (br s, 1H) 11.95 (br s, 1H)

[0211] LC/MS (方法LC-B):  $R_t$  2.04min,  $\text{MH}^+$  593

[0212]  $[\alpha]_D^{20}$ : +60.7° (c 0.285, DMF)

[0213] 手性SFC (方法SFC-C):  $R_t$  7.58min,  $\text{MH}^+$  593 手性纯度100%。

[0214] 实例5: 2-(1-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟-甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸 (化合物5) 的合成以及手性分离为对映异构体5A和5B



[0216] 中间体5a的合成:

[0217] 将甲基2-(1-(溴甲基)环丙基)乙酸酯[855473-50-6] (306mg, 1.478mmol) 逐滴添加至3-甲氧基-5-硝基苯酚[7145-49-5] (250mg, 1.478mmol) 和 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (306mg, 2.217mmol) 于DMF (2.5mL) 中的溶液。将该混合物在 $60^\circ\text{C}$ 搅拌16h。将该反应冷却至 $0^\circ\text{C}$ , 并用水和冰稀释。将该混合物用EtOAc进行萃取。将有机层用水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并将溶剂在减压下浓缩以给出甲基2-(1-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸酯5a。该产率被认为是定量的。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0218] 中间体5b的合成:

[0219] 将包含催化量的10%Pd/C(300mg,0.282mmol)的甲基2-(1-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸酯5a(520mg,1.761mmol)于MeOH(8mL)中的溶液在室温下在大气压力的H<sub>2</sub>下氢化18h。将催化剂通过经Celite®的短垫过滤去除,并且将滤饼用EtOAc冲洗若干次。将合并的滤液蒸发以给出甲基2-(1-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸酯5b(390mg),其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0220] 中间体5c的合成:

[0221] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(250mg,0.575mmol)、甲基2-(1-((3-氨基-5-甲氧基-苯氧基)甲基)环丙基)乙酸酯5b(184mg,0.575mmol)和二异丙基乙胺(200μL,1.15mmol)于CH<sub>3</sub>CN(7.5mL)中的混合物在60℃搅拌18h。在减压下浓缩溶剂。添加冰/水并将该混合物用EtOAc萃取。将有机层用水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩。将该残余物通过硅胶柱层析(30μm,24g,庚烷/EtOAc 75/25)进行纯化。将产物级分合并,并在减压下蒸发。将该残余物从CH<sub>3</sub>CN/二异丙醚中结晶并干燥以给出甲基2-(1-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟-甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸酯5c(206mg)。

[0222] 化合物5的合成以及分离为对映异构体5A和5B:

[0223] 将于水(1.63mL)中的LiOH一水合物(63mg,1.502mmol)逐滴添加至甲基2-(1-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)-吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸酯5c(186mg,0.3mmol)于THF(3.7mL)中的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌24h。添加3N HCl以酸化该反应混合物,并将水溶液用EtOAc萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩。将该残余物从CH<sub>3</sub>CN/二异丙醚中结晶并干燥以给出2-(1-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸(化合物5,115mg)。

[0224] 化合物5的对映异构体(71mg)经由制备型手性SFC(固定相:Chiralpak®Diacel AD 20x250mm,流动相:CO<sub>2</sub>、EtOH+0.4% iPrNH<sub>2</sub>)进行分离。对于全部两种对映异构体,合并产物级分并在减压下蒸发。将该残余物在水和Et<sub>2</sub>O之间分配。将该混合物通过添加1N HCl酸化至pH 1-2并分离各层。将水层用Et<sub>2</sub>O再次萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下蒸发。将该残余物在真空下在50℃干燥以提供呈灰白色粉末的对映异构体5A(22mg)和对映异构体5B(23mg)。

[0225] 化合物5:

[0226] <sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.49-0.55(m,4H) 2.33(s,2H) 2.99-3.25(m,2H) 3.62(s,3H) 3.73(s,2H) 4.05(td,J=10.40,7.25Hz,1H) 4.52(td,J=10.25,6.31Hz,1H) 5.57(d,J=9.14Hz,1H) 5.74(s,1H) 5.92(s,1H) 5.95(s,1H) 6.45(d,J=9.14Hz,1H) 7.02(br d,J=9.14Hz,1H) 7.34(d,J=8.20Hz,1H) 7.44(d,J=8.20Hz,2H) 7.55(d,J=8.51Hz,3H) 8.03(s,1H) 12.01(br s,1H)

[0227] LC/MS(方法LC-C):R<sub>t</sub> 3.18min,MH<sup>+</sup>605

[0228] MP=111℃。

[0229] 对映异构体5A:

[0230]  $^1\text{H}$  NMR (360MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 0.46-0.58 (m, 4H) 2.33 (s, 2H) 3.04-3.27 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.72 (s, 2H) 4.05 (td,  $J=10.2, 7.3\text{Hz}$ , 1H) 4.52 (td,  $J=10.2, 6.6\text{Hz}$ , 1H) 5.57 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H) 5.74 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H) 5.92 (t,  $J=1.6\text{Hz}$ , 1H) 5.94-5.97 (m, 1H) 6.45 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=8.1, 1.5\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H) 7.51-7.59 (m, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.12 (br s, 1H)

[0231] LC/MS (方法LC-A):  $R_t$  1.15min,  $\text{MH}^+$  605

[0232]  $[\alpha]_D^{20}$ : +37.0° (c 0.135, DMF)

[0233] 手性SFC (方法SFC-E):  $R_t$  5.84min,  $\text{MH}^+$  605 手性纯度100%。

[0234] 对映异构体5B:

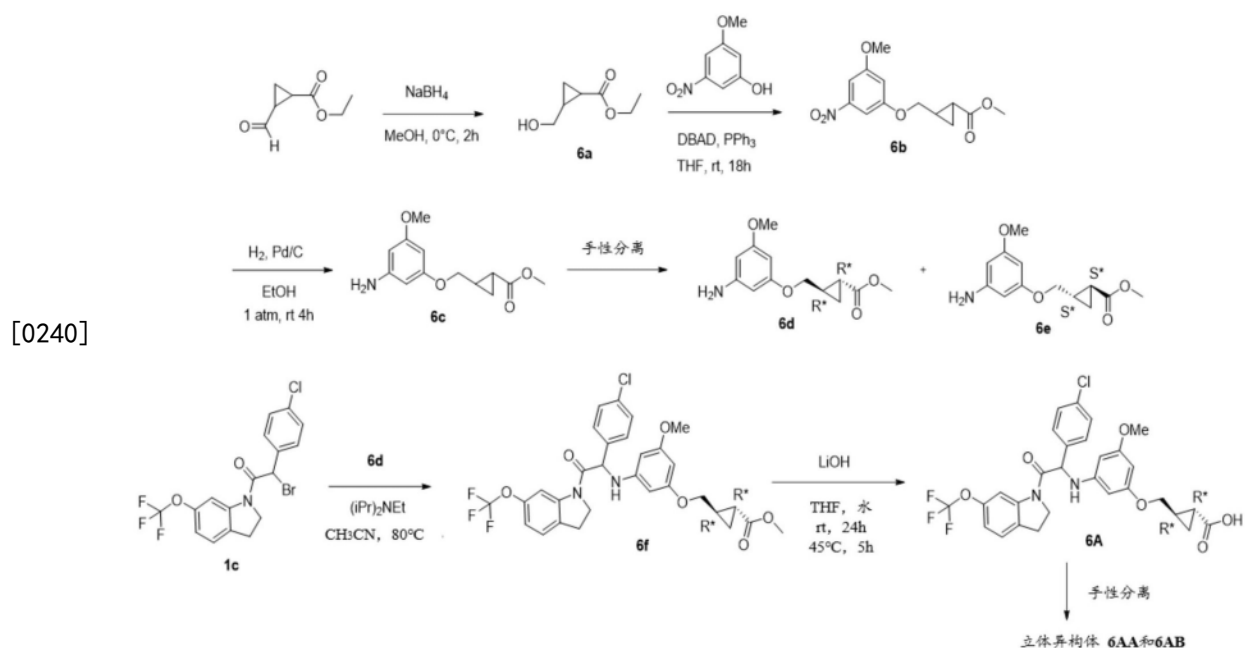
[0235]  $^1\text{H}$  NMR (360MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 0.46-0.57 (m, 4H) 2.33 (s, 2H) 3.05-3.26 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.72 (s, 2H) 4.05 (td,  $J=10.4, 7.3\text{Hz}$ , 1H) 4.52 (td,  $J=10.3, 6.4\text{Hz}$ , 1H) 5.57 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.74 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H) 5.92 (t,  $J=1.8\text{Hz}$ , 1H) 5.94-5.97 (m, 1H) 6.45 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=8.2, 1.6\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H) 7.50-7.61 (m, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.11 (br s, 1H)

[0236] LC/MS (方法LC-A):  $R_t$  1.15min,  $\text{MH}^+$  605

[0237]  $[\alpha]_D^{20}$ : -48.8° (c 0.16, DMF)

[0238] 手性SFC (方法SFC-E):  $R_t$  6.53min,  $\text{MH}^+$  605 手性纯度100%。

[0239] 实例6A: (1R\*, 2R\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸(化合物6A)的合成以及分离为立体异构体6AA和6AB



[0241] 中间体6a的合成:

[0242] 向乙基2-甲酰基环丙基甲酸酯[20417-61-2] (9mL, 67.996mmol) 于MeOH (200mL) 的溶液在0°C分批添加 $\text{NaBH}_4$  (5.15g, 133.993mmol) 并将该混合物在0°C搅拌2h。添加 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  和水。分离各层;将水层用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  萃取并将合并的有机层经 $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并在减压下浓缩以给出乙基2-(羟基甲基)环丙基甲酸酯6a (9.15g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0243] 中间体6b的合成:

[0244] 将二-叔丁基偶氮羧酸酯(4.8g, 20.809mmol)分批添加至3-甲氧基-5-硝基苯酚[7145-49-5](3.2g, 18.917mmol)、乙基2-(羟基甲基)环丙基甲酸酯6a(3g, 20.809mmol)和PPh<sub>3</sub>(5.46g, 20.809mmol)于THF(150mL)中的溶液。将该反应在室温下在N<sub>2</sub>中搅拌18h。将溶液在减压下浓缩。将粗残余物通过制备型LC(不规则SiOH 20-45μm, 220g, 庚烷/EtOAc从85/15至75/25)进行纯化。将纯级分合并, 并且在减压下浓缩以给出甲基2-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)环丙基甲酸酯6b(1.4g)。

[0245] 中间体6c的合成以及手性分离为对映异构体6d和6e:

[0246] 将包含催化量的10%Pd/C(750mg, 0.704mmol)的甲基2-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)环丙基甲酸酯6b(1.3g, 4.402mmol)于EtOH(65mL)中的溶液在室温下在大气压力的H<sub>2</sub>下氢化4h。将催化剂通过经Celite®的短垫过滤去除, 并且将滤饼用EtOAc冲洗若干次。将合并的滤液蒸发。将粗残余物通过制备型LC(不规则SiOH 20-45μm, 40g, 庚烷/EtOAc 80/20)进行纯化。将纯级分合并, 并且将溶剂蒸发至干燥以给出甲基2-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基甲酸酯6c(780mg)。将对映异构体经由手性SFC(固定相:Chiralpak® AD-H 5μm 250x30mm, 流动相:80%CO<sub>2</sub>、20%EtOH)进行分离以给出第一洗脱对映异构体6d(反式R\*, R\*, 344mg,  $[\alpha]_D^{20}$ : -78.6°(c 0.257, DMF))和第二洗脱对映异构体6e(反式S\*, S\*, 371mg,  $[\alpha]_D^{20}$ : +74.5°(c 0.251, DMF))。

[0247] 中间体6f的合成:

[0248] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(376mg, 0.864mmol)、(1R\*, 2R\*)-甲基2-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基甲酸酯甲氧基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸酯6d(344mg, 1.297mmol)和二异丙基乙胺(298μL, 1.729mmol)于CH<sub>3</sub>CN(12mL)中的混合物在80℃搅拌5天。在减压下浓缩溶剂。添加冰/水并将该混合物用EtOAc萃取。将有机层用水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将该残余物通过硅胶柱层析(25-30μm, 40g, 庚烷/EtOAc 80/20)进行纯化。将产物级分合并, 并且在减压下蒸发以给出(1R\*, 2R\*)-甲基2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸酯6f(500mg)。

[0249] 化合物6A的合成以及手性分离为立体异构体6AA和6AB:

[0250] 将于水(10mL)中的LiOH一水合物(169mg, 4.039mmol)逐滴添加至(1R\*, 2R\*)-甲基2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基甲酸酯6f(500mg, 0.808mmol)于THF(10mL)中的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌18h并在45℃搅拌5h。添加3N HCl以酸化溶液并将该混合物用EtOAc萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将该残余物通过硅胶柱层析(20-45μm, 40g, 庚烷/EtOAc 80/20)进行纯化。将产物级分合并, 并且在减压下蒸发以给出(1R\*, 2R\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基甲酸(化合物6A, 780mg)。将两种立体异构体经由手性SFC(固定相:Chiralcel® OD-H 5μm 250x30mm, 流动相:55%CO<sub>2</sub>、45% iPrOH)进行分离以在从庚烷/二异丙醚固化后给出第一洗脱立体异构体6AA(123mg)和第二洗脱立体异构体6AB(125mg)。

[0251] 立体异构体6AA:

[0252]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 0.75-0.96 (m, 1H) 1.00-1.07 (m, 1H) 1.44-1.57 (m, 1H) 1.57-1.70 (m, 1H) 3.09-3.27 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.69 (br dd,  $J=10.25, 7.72\text{Hz}$ , 1H) 3.80-3.95 (m, 1H) 4.00-4.09 (m, 1H) 4.39-4.65 (m, 1H) 5.57 (br d,  $J=8.51\text{Hz}$ , 1H) 5.76 (s, 1H) 5.95 (s, 1H) 5.97 (s, 1H) 6.46 (br d,  $J=8.83\text{Hz}$ , 1H) 7.02 (br d,  $J=8.20\text{Hz}$ , 1H) 7.34 (d,  $J=8.20\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.51\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (br d,  $J=8.20\text{Hz}$ , 2H) 8.04 (br s, 1H) 12.02 (br s, 1H)

[0253] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.95min,  $\text{MH}^+$  591

[0254]  $[\alpha]_D^{20}$ : -78.0° (c 0.282, DMF)

[0255] 手性SFC (方法SFC-G):  $R_t$  1.08min,  $\text{MH}^+$  591 手性纯度99.82%。

[0256] 立体异构体6AB:

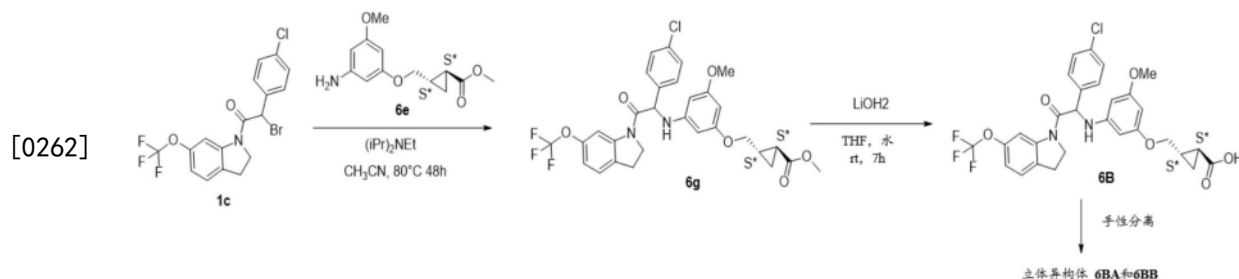
[0257]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 0.79-0.90 (m, 1H) 1.00-1.08 (m, 1H) 1.43-1.57 (m, 1H) 1.57-1.72 (m, 1H) 2.95-3.27 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.63-3.78 (m, 1H) 3.78-3.98 (m, 1H) 4.00-4.09 (m, 1H) 4.29-4.65 (m, 1H) 5.57 (br d,  $J=8.83\text{Hz}$ , 1H) 5.76 (br s, 1H) 5.95 (s, 1H) 5.96 (s, 1H) 6.46 (br d,  $J=8.51\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (br d,  $J=7.57\text{Hz}$ , 1H) 7.34 (br d,  $J=7.88\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (br d,  $J=7.88\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (br d,  $J=7.88\text{Hz}$ , 2H) 8.04 (br s, 1H) 11.88 (br s, 1H)

[0258] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.95min,  $\text{MH}^+$  591

[0259]  $[\alpha]_D^{20}$ : +12.9° (c 0.272, DMF)

[0260] 手性SFC (方法SFC-G):  $R_t$  1.87min,  $\text{MH}^+$  591 手性纯度99.55%。

[0261] 实例6B: ((1S\*, 2S\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸 (化合物6B) 的合成以及分离为立体异构体6BA和6BB



[0263] 中间体6g的合成:

[0264] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c (405mg, 0.932mmol)、(1S\*, 2S\*)-甲基2-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基甲酸酯甲氧基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸酯6e (371mg, 1.398mmol) 和二异丙基乙胺 (321 $\mu$ L, 1.864mmol) 于  $\text{CH}_3\text{CN}$  (12mL) 中的混合物在80°C搅拌48h。在减压下浓缩溶剂。添加冰/水并将该混合物用  $\text{EtOAc}$  萃取。将有机层用水洗涤, 经  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将该残余物通过硅胶柱层析 (25-30 $\mu$ m, 40g, 庚烷/ $\text{EtOAc}$  80/20) 进行纯化。将产物级分合并, 并且在减压下蒸发以给出 (1S\*, 2S\*)-甲基2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸酯6g (580mg)。

[0265] 化合物6B的合成以及手性分离为立体异构体6BA和6BB:

[0266] 将于水 (10mL) 中的  $\text{LiOH}$ -一水合物 (203mg, 4.846mmol) 逐滴添加至 (1S\*, 2S\*)-甲基2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基

苯氧基)甲基)环丙基甲酸酯6g (600mg, 0.969mmol) 于THF (10mL) 中的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌7h。添加3N HCl以酸化溶液并将该混合物用EtOAc萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将该残余物通过硅胶柱层析(20-45 $\mu$ m, 40g, 庚烷/EtOAc 80/20) 进行纯化。将产物级分合并, 并且在减压下蒸发以给出(1S\*, 2S\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基甲酸(化合物6B, 348mg)。将两种立体异构体经由手性SFC(固定相: Chiralcel<sup>®</sup> OD-H 5 $\mu$ m 250x30mm, 流动相: 55%CO<sub>2</sub>、45% iPrOH) 进行分离以在从庚烷/二异丙醚固化后给出第一洗脱立体异构体6BA(109mg) 和第二洗脱立体异构体6BB(102mg)。

[0267] 立体异构体6BA:

[0268] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 0.73-0.98 (m, 1H) 0.98-1.08 (m, 1H) 1.49-1.58 (m, 1H) 1.58-1.71 (m, 1H) 3.00-3.27 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.68 (dd, J=10.40, 7.57Hz, 1H) 3.84 (dd, J=10.56, 6.15Hz, 1H) 4.00-4.08 (m, 1H) 4.50-4.57 (m, 1H) 5.57 (d, J=8.83Hz, 1H) 5.75 (s, 1H) 5.95 (s, 1H) 5.96 (s, 1H) 6.46 (br d, J=8.83Hz, 1H) 7.01 (br d, J=7.25Hz, 1H) 7.33 (d, J=7.88Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.51Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.51Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.26 (br s, 1H)

[0269] LC/MS(方法LC-D): R<sub>t</sub> 2.82min, MH<sup>+</sup>591

[0270] [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -12.5° (c 0.28, DMF)

[0271] 手性SFC(方法SFC-G): R<sub>t</sub> 1.10min, 无MH<sup>+</sup>, 手性纯度100%。

[0272] 立体异构体6BB:

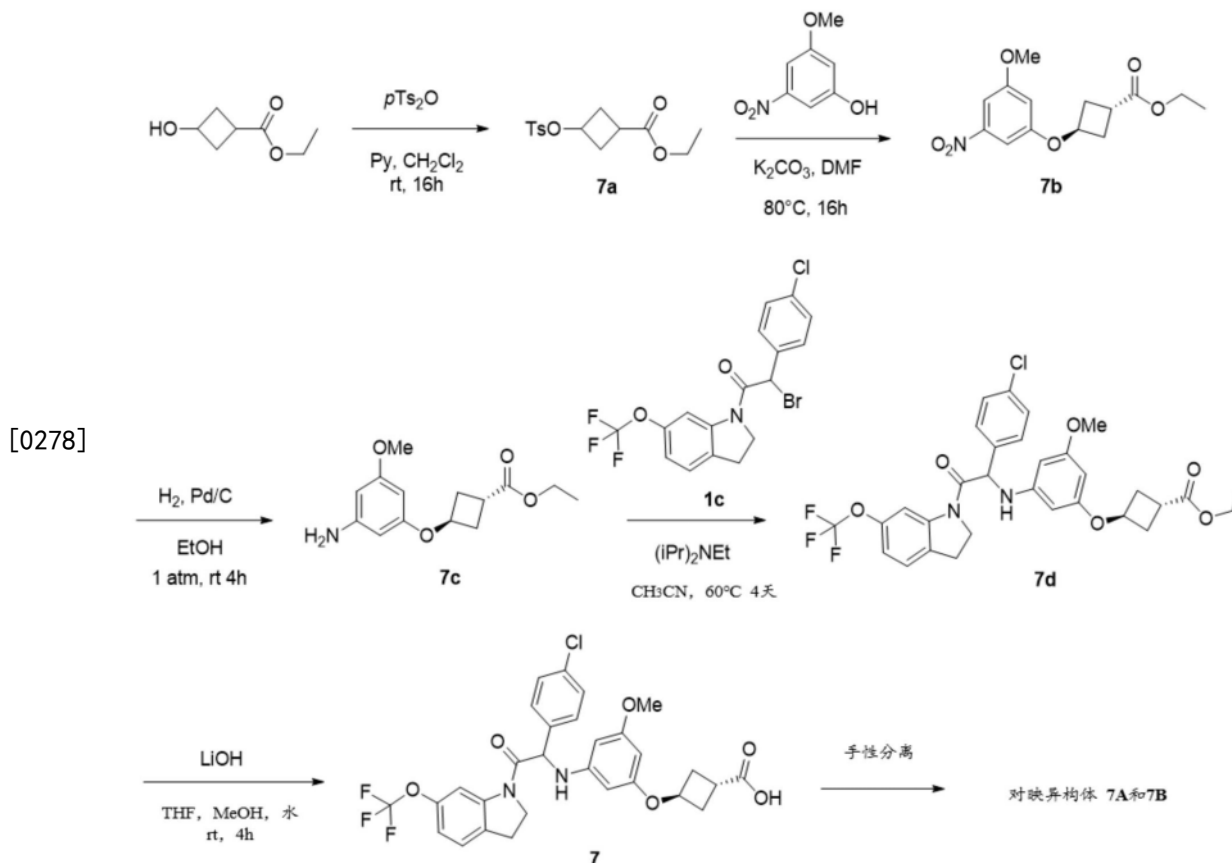
[0273] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 0.78-0.95 (m, 1H) 1.00-1.08 (m, 1H) 1.48-1.59 (m, 1H) 1.59-1.68 (m, 1H) 2.91-3.25 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.68 (br dd, J=10.40, 7.57Hz, 1H) 3.84 (dd, J=10.56, 6.15Hz, 1H) 4.00-4.09 (m, 1H) 4.30-4.58 (m, 1H) 5.57 (d, J=8.83Hz, 1H) 5.75 (s, 1H) 5.95 (s, 1H) 5.96 (s, 1H) 6.45 (br d, J=8.83Hz, 1H) 7.01 (br d, J=7.88Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.20Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.20Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.20Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.11 (br s, 1H)

[0274] LC/MS(方法LC-D): R<sub>t</sub> 2.81min, MH<sup>+</sup>591

[0275] [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +81.4° (c 0.28, DMF)

[0276] 手性SFC(方法SFC-G): R<sub>t</sub> 1.87min, 无MH<sup>+</sup>, 手性纯度99.02%。

[0277] 实例7: (1r, 3r)-3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)环丁烯-甲酸(化合物7)的合成以及分离为对映异构体7A和7B



[0279] 中间体7a的合成:

[0280] 在 $\text{N}_2$ 流下,向乙基3-羟基环丁基甲酸酯[17205-02-6] (1g, 6.936mmol) 于 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30mL) 中的溶液添加吡啶 (0.838mL) 和对甲苯磺酰酐 (2.49g, 7.63mmol)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将该混合物在真空下浓缩, 悬浮于乙醚 (200mL) 中并用0.5M盐酸 ( $2 \times 60\text{mL}$ )、碳酸氢钠的饱和溶液 ( $2 \times 60\text{mL}$ )、水 (60mL) 和盐水 (50mL) 洗涤。将溶液经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩以产生乙基3-(4-甲氧基苯氧基)环丁基甲酸酯7a (2.0g)。

[0281] 中间体7b的合成:

[0282] 将乙基3-(4-甲氧基苯氧基)环丁基甲酸酯7a (1.94g, 6.504mmol) 逐滴添加至3-甲氧基-5-硝基苯酚[7145-49-5] (1.0g, 5.912mmol) 和 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (981mg, 7.095mmol) 于 $\text{DMF}$  (10mL) 中的混合物中。将该混合物在 $80^\circ\text{C}$ 搅拌16h。将该混合物用水稀释并用 $\text{EtOAc}$ 萃取。将有机层用水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并将该溶剂在减压下蒸发。通过在硅胶上快速层析 (15-40 $\mu\text{m}$ , 80g, 庚烷/ $\text{EtOAc}$  95/5至85/15) 进行纯化。将纯级分合并, 并且蒸发至干燥以给出(1r, 3r)-乙基3-(3-甲氧基-5-硝基苯氧基)环丁基甲酸酯7b (1.1g)。

[0283] 中间体7c的合成:

[0284] 将包含催化量的10% $\text{Pd/C}$  (396mg, 0.373mmol) 的(1r, 3r)-乙基3-(3-甲氧基-5-硝基苯氧基)环丁基甲酸酯7b (1.1g, 3.725mmol) 于 $\text{EtOH}$  (20mL) 中的溶液在室温下在大气压力的 $\text{H}_2$ 下氢化4h。将催化剂通过经 $\text{Celite}^{\text{®}}$ 的短垫过滤去除, 并且将滤饼用 $\text{MeOH}$ 冲洗若干次。将合并的滤液在减压下蒸发以给出(1r, 3r)-乙基3-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)环丁基甲酸酯7c (920mg)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0285] 中间体7d的合成:

[0286] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c (1.072g, 2.467mmol)、(1r,3r)-乙基3-(3-氨基-5-甲氧基-苯氧基)环丁基甲酸酯7c (720mg, 2.714mmol)和二异丙基乙胺(850 $\mu$ L,4.934mmol)于CH<sub>3</sub>CN (32mL)中的混合物在60℃搅拌4天。将该混合物用水稀释并用EtOAc萃取。将有机层用1N HCl和盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并将溶剂在真空中蒸发以给出(1r,3r)-乙基3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)环丁基甲酸酯7d (1.6g),将其按原样用于下一步骤。

[0287] 化合物7的合成以及手性分离为对映异构体7A和7B:

[0288] 在0℃,将LiOH一水合物(325mg,7.75mmol)分批添加至(1r,3r)-乙基3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)-吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)环丁基甲酸酯7d (1.6g,2.585mmol)于THF/水/MeOH(1/1/1) (30mL)的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌4h。将该混合物用水稀释并添加3N HCl以酸化溶液。将该混合物用EtOAc进行萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩。该残余物通过硅胶柱层析(15-40 $\mu$ m,80g,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100/0至98/2)进行纯化。将产物级分合并,并且在减压下蒸发以给出(1r,3r)-3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)环丁基-甲酸(化合物7,1.16g)。将两种对映异构体经由手性SFC(固定相:Chiralcel® OD-H 5 $\mu$ m 250x30mm,流动相:55%CO<sub>2</sub>、45%MeOH)进行分离以在从庚烷/二异丙醚固化后给出第一洗脱对映异构体7A(358mg)和第二洗脱对映异构体7B(388mg)。

[0289] 化合物7:

[0290] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.19-2.30 (m, 2H) 2.57 (qd, J=6.8, 3.6Hz, 2H) 2.95-3.05 (m, 1H) 3.08-3.27 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 4.03 (td, J=10.4, 7.3Hz, 1H) 4.53 (td, J=10.4, 6.3Hz, 1H) 4.68 (quin, J=6.7Hz, 1H) 5.54 (d, J=8.5Hz, 1H) 5.62 (s, 1H) 5.85 (s, 1H) 5.92 (s, 1H) 6.53 (d, J=8.5Hz, 1H) 7.01 (br d, J=7.9Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.2Hz, 1H) 7.45 (d, J=8.2Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.04 (s, 1H) 12.34 (br s, 1H)

[0291] LC/MS(方法LC-C):R<sub>t</sub> 2.95min, MH<sup>+</sup>591

[0292] 对映异构体7A:

[0293] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.20-2.28 (m, 2H) 2.53-2.60 (m, 2H) 2.95-3.04 (m, 1H) 3.07-3.26 (m, 2H) 3.60 (s, 3H) 4.03 (td, J=10.4, 7.3Hz, 1H) 4.52 (td, J=10.2, 6.3Hz, 1H) 4.67 (t, J=6.8Hz, 1H) 5.53 (d, J=8.5Hz, 1H) 5.61 (t, J=2.0Hz, 1H) 5.84 (s, 1H) 5.91 (s, 1H) 6.52 (d, J=8.5Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.2, 1.6Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.2Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.24-12.40 (m, 1H)

[0294] LC/MS(方法LC-C):R<sub>t</sub> 2.96min, MH<sup>+</sup>591

[0295]  $[\alpha]_D^{20}$ : -41.6° (c 0.298, DMF)

[0296] 手性SFC(方法SFC-H):R<sub>t</sub> 1.25min, MH<sup>+</sup>591, 手性纯度100%。

[0297] 对映异构体7B:

[0298] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.19-2.28 (m, 2H) 2.57 (qd, J=6.8, 3.9Hz, 2H) 2.95-3.04 (m, 1H) 3.08-3.25 (m, 2H) 3.60 (s, 3H) 4.03 (td, J=10.5, 7.1Hz, 1H) 4.53 (td, J=10.4, 6.3Hz, 1H) 4.67 (quin, J=6.7Hz, 1H) 5.53 (d, J=8.5Hz, 1H) 5.61 (t, J=2.0Hz, 1H) 5.84 (s, 1H) 5.91 (s, 1H) 6.52 (d, J=8.5Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.0, 1.4Hz, 1H) 7.33 (d, J=

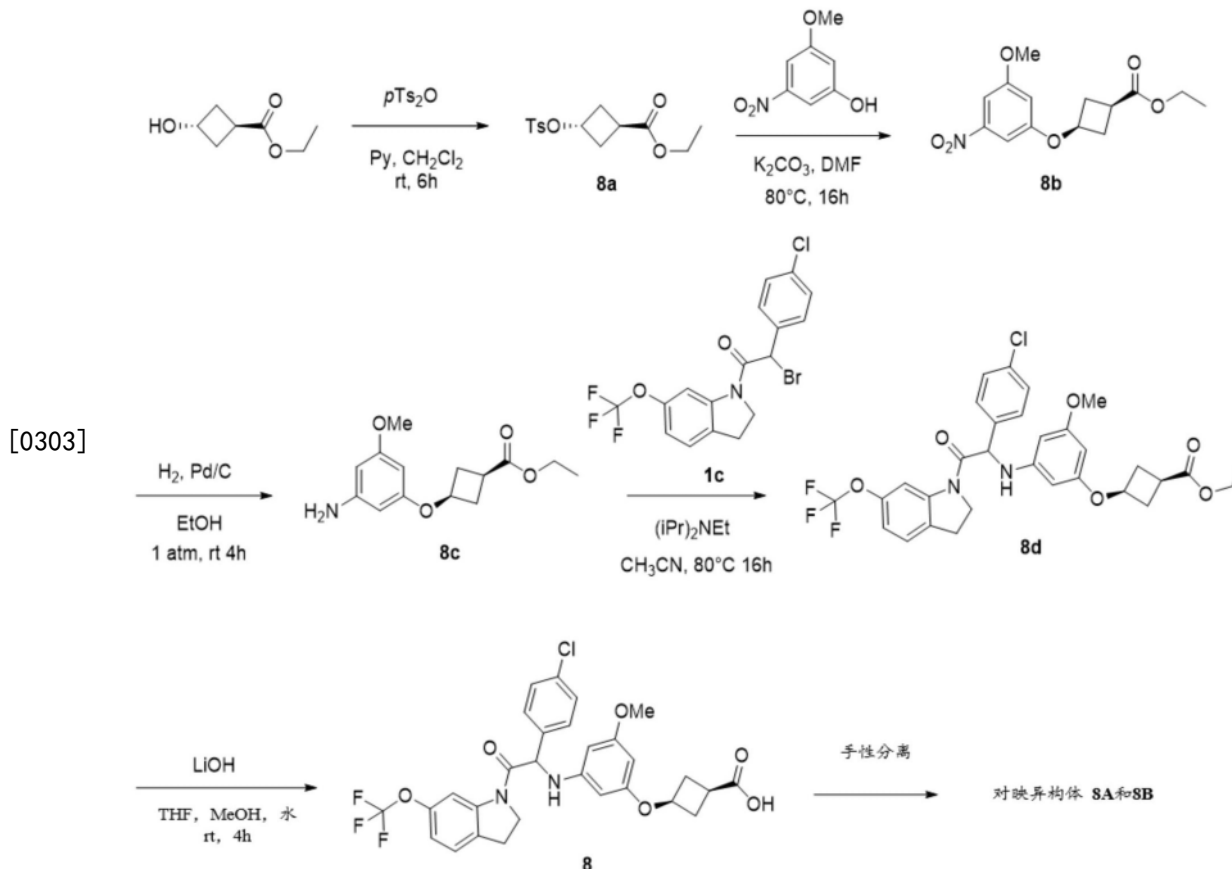
8.2Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.32 (br s, 1H)

[0299] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.95min,  $MH^+$  591

[0300]  $[\alpha]_D^{20}$ : +43.7° (c 0.332, DMF)

[0301] 手性SFC (方法SFC-H):  $R_t$  2.05min,  $MH^+$  591, 手性纯度100%。

[0302] 实例8: (1s, 3s)-3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)环丁烯-甲酸(化合物8)的合成以及分离为对映异构体8A和8B



[0304] 中间体8a的合成:

[0305] 在 $N_2$ 流下,向(1r, 3r)-乙基3-羟基环丁基甲酸酯[160351-88-2] (1.86g, 12.901mmol)于 $CH_2Cl_2$  (50mL)的溶液中添加吡啶 (1.56mL) 和对甲苯磺酐 (4.63g, 14.192mmol)。将该混合物在室温下搅拌6h。将该混合物在真空下浓缩,悬浮于乙醚 (200mL) 中并用0.5M盐酸 ( $2 \times 60mL$ )、碳酸氢钠饱和溶液 ( $2 \times 60mL$ )、水 (60mL) 和盐水 (50mL) 洗涤,然后经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩以产生(1r, 3r)-乙基3-(甲苯磺酰氧基)环丁基甲酸酯8a (3.97g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0306] 中间体8b的合成:

[0307] 逐滴添加(1r, 3r)-乙基3-(甲苯磺酰氧基)环丁基甲酸酯8a (3.85g, 12.904mmol) 至3-甲氧基-5-硝基苯酚[7145-49-5] (1.98g, 11.73mmol) 和 $K_2CO_3$  (1.95g, 14.07mmol) 于DMF (20mL) 的混合物中。将该混合物在 $80^\circ C$ 搅拌16h。将该混合物用水稀释并用EtOAc萃取。将有机层用水洗涤,经 $MgSO_4$ 干燥,过滤并将该溶剂在减压下蒸发。通过在硅胶上快速层析 (15-40 $\mu m$ , 120g, 庚烷/EtOAc 95/5至85/15) 进行纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出

(1s,3s)-乙基3-(3-甲氧基-5-硝基苯氧基)环丁基甲酸酯8b(2.04g)。

[0308] 中间体8c的合成:

[0309] 将包含催化量的10%Pd/C(735mg,0.691mmol)的(1s,3s)-乙基3-(3-甲氧基-5-硝基苯氧基)环丁基甲酸酯8b(2.04g,6.908mmol)于EtOH(50mL)中的溶液在室温下在大气压力的H<sub>2</sub>下氢化4h。将催化剂通过经Celite®的短垫过滤去除,并且将滤饼用EtOH冲洗若干次。将合并的滤液在减压下蒸发以给出(1s,3s)-乙基3-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)环丁基甲酸酯8c(1.8g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0310] 中间体8d的合成:

[0311] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(1.5g,3.462mmol)、(1s,3s)-乙基3-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)环丁基甲酸酯8c(870mg,3.462mmol)和二异丙基乙胺(1.19mL,6.924mmol)于CH<sub>3</sub>CN(30mL)中的混合物在80℃搅拌16h。将该混合物用水稀释并用EtOAc萃取。将有机层用1N HCl和盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并将溶剂在真空下蒸发。将化合物从CH<sub>3</sub>CN/Et<sub>2</sub>O中结晶以给出中间体8(级分1,820mg)。将滤液在减压下浓缩以给出另一批次的粗中间体8(级分2,1g)。

[0312] 从692mg(1.592mmol)的1c重复该反应(使用如在上文描述的相同反应条件)。将该反应产物从Et<sub>2</sub>O中结晶以给出中间体8(级分3,400mg)。将滤液在减压下浓缩以给出另一批次中间体8(级分4,600mg)。合并级分2和4并通过在硅胶上快速层析(15-40μm,80g,庚烷/EtOAc 90/10至70/30)纯化。合并纯级分并蒸发至干燥以给出级分5(250mg)。合并级分1、3和5并干燥以给出(1s,3s)-乙基3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)环丁基甲酸酯8d(1.53g)。

[0313] 化合物8的合成以及手性分离为对映异构体8A和8B:

[0314] 在0℃,分批添加LiOH一水合物(318mg,7.58mmol)至(1s,3s)-乙基3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)-吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)环丁基甲酸酯8d(1.53g,2.529mmol)于THF/水/MeOH(1/1/1)(30mL)的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌4h。将该混合物用水稀释并添加3N HCl以酸化溶液。将该混合物用EtOAc进行萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩。将该残余物通过硅胶柱层析(15-40μm,40g,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100/0至98.5/1.5)进行纯化。将纯级分合并,并且在减压下蒸发以给出(1s,3s)-3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)环丁基甲酸(化合物8,1.26g)。将两种对映异构体经由手性SFC(固定相:Chiralcel® OD-H 5μm 250x20mm,流动相:55%CO<sub>2</sub>、45%EtOH)进行分离以在从乙醚/二异丙醚固化后给出第一洗脱对映异构体8A(442mg)和第二洗脱对映异构体8B(433mg)。

[0315] 化合物8:

[0316] <sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 2.03-2.13(m,2H) 2.57-2.66(m,2H) 2.66-2.76(m,1H) 3.08-3.26(m,2H) 3.61(s,3H) 4.04(td,J=10.2,7.3Hz,1H) 4.44-4.58(m,2H) 5.54(d,J=8.5Hz,1H) 5.66(s,1H) 5.87(s,1H) 5.94(s,1H) 6.49(d,J=8.5Hz,1H) 7.02(br d,J=8.2Hz,1H) 7.34(d,J=8.2Hz,1H) 7.45(d,J=8.2Hz,2H) 7.55(d,J=8.2Hz,2H) 8.04(s,1H) 12.27(br s,1H)

[0317] LC/MS(方法LC-C):R<sub>t</sub> 2.90min,MH<sup>+</sup>591

[0318] 对映异构体8A:

[0319]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  2.01-2.14 (m, 2H) 2.55-2.72 (m, 3H) 3.08-3.24 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 4.04 (td,  $J=10.4, 7.3\text{Hz}$ , 1H) 4.41-4.57 (m, 2H) 5.54 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.66 (s, 1H) 5.86 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 6.48 (br d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (br d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 2H) 8.03 (s, 1H)

[0320] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.90min,  $\text{MH}^+$  591

[0321]  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-47.1^\circ$  (c 0.274, DMF)

[0322] 手性SFC (方法SFC-I):  $R_t$  1.18min,  $\text{MH}^+$  591, 手性纯度100%。

[0323] 对映异构体8B:

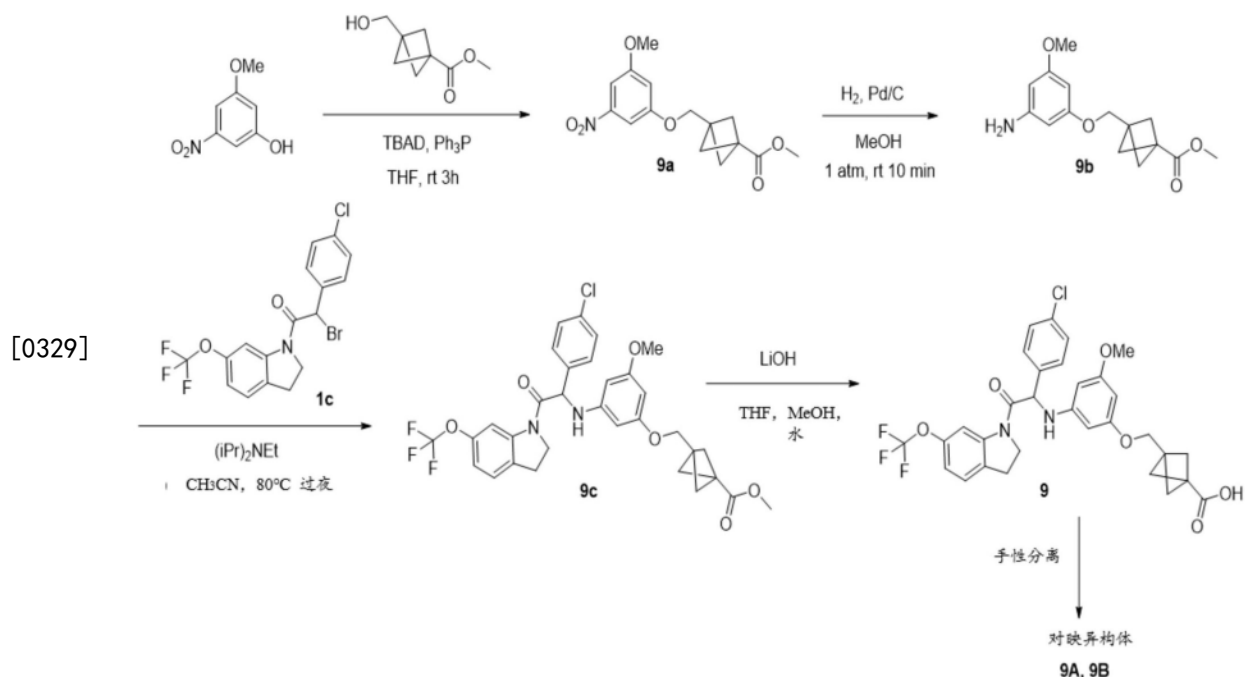
[0324]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  2.02-2.13 (m, 2H) 2.55-2.70 (m, 3H) 3.06-3.25 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 4.04 (td,  $J=10.2, 7.3\text{Hz}$ , 1H) 4.39-4.57 (m, 2H) 5.54 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.66 (s, 1H) 5.86 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 6.48 (br d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (br d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H) 8.03 (s, 1H)

[0325] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.91min,  $\text{MH}^+$  591

[0326]  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+40.0^\circ$  (c 0.25, DMF)

[0327] 手性SFC (方法SFC-I):  $R_t$  2.16min,  $\text{MH}^+$  591, 手性纯度100%。

[0328] 实例9:3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)-吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)二环[1.1.1]戊烷-1-甲酸(化合物9)的合成以及手性分离为对映异构体9A和9B



[0330] 中间体9a的合成:

[0331] 将3-甲氧基-5-硝基苯酚[7145-49-5] (1.1g, 6.4mmol)、二-叔丁基偶氮羧酸酯 (TBAD, 1.65g, 7.04mmol) 和三苯基膦 (2.35g, 8.96mmol) 在室温下在 $\text{N}_2$ 气氛下溶解于干燥 THF (25mL) 中。逐滴添加甲基3-(羟基1甲基)二环[1.1.1]戊烷-1-甲酸酯[180464-87-3] (1.0g, 6.4mmol) 于无水THF (5mL) 中的溶液(放热)。将该反应混合物在室温下搅拌3h。将溶

剂在减压下蒸发并将残余黄色油通过硅胶柱层析(100g)使用梯度为EtOAc:EtOH(3:1)/庚烷0/100至50/50进行纯化。将产物级分合并,并在减压下蒸发。该残余物用少量的Et<sub>2</sub>O研磨。将固体滤出并用少量的Et<sub>2</sub>O洗涤并在真空下在50℃干燥以给出甲基3-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)二环[1.1.1]戊烷-1-甲酸酯9a(1.06g)。

[0332] 中间体9b的合成:

[0333] 将包含催化量的10%Pd/C(366mg,0.34mmol)的甲基3-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)二环[1.1.1]戊烷-1-甲酸酯9a(1.06g,3.44mmol)于MeOH(150mL)中的溶液在室温下在大气压力的H<sub>2</sub>下氢化10min。将催化剂在N<sub>2</sub>-气氛下通过经Celite®的短垫过滤去除,并且将滤饼用MeOH冲洗若干次。将合并的滤液蒸发以给出呈黑色油的甲基3-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)二环[1.1.1]戊烷-1-甲酸酯9b(961mg),其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0334] 中间体9c的合成:

[0335] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(1.16g,2.67mmol)、甲基3-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)二环[1.1.1]戊烷-1-甲酸酯9b(961mg,3.47mmol)和二异丙基乙胺(689μL,4.0mmol)于CH<sub>3</sub>CN(50mL)中的混合物在80℃搅拌过夜。将溶剂在减压下蒸发并将该残余物溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中。将有机溶液用1N HCl和水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下蒸发。将该残余物通过硅胶柱层析(100g),使用梯度为EtOAc:EtOH(3:1)/庚烷0/100至50/50进行纯化。将产物级分合并,并在减压下蒸发。将该残余物悬浮于少量的庚烷/EtOAc 10/1中并将固体滤出并用少量的庚烷洗涤。将固体在真空下在50℃干燥以给出呈白色粉末的甲基3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)二环[1.1.1]戊烷-1-甲酸酯9c(1.21g)。

[0336] 化合物9的合成以及分离为对映异构体9A和9B:

[0337] 将LiOH(92mg,3.84mmol)添加至甲基3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)二环[1.1.1]戊烷-1-甲酸酯9c(1.21g,1.92mmol)于MeOH(20mL)、THF(40mL)和水(20mL)的溶剂混合物中的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌4h。添加1NHCl(1mL)并将有机挥发物在减压下蒸发。将残余含水混合物用水稀释,用1N HCl酸化至pH 2,并用Et<sub>2</sub>O萃取两次。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下蒸发。将该残余物在真空下在50℃干燥以给出呈淡黄色固体的3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟-甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)二环[1.1.1]戊烷-1-甲酸(化合物9,1.06g)。

[0338] 将化合物9的对映异构体(994mg)通过制备型手性SFC(固定相:Chiralcel® Diacel OD 20x250mm,流动相:CO<sub>2</sub>、EtOH+0.4% iPrNH<sub>2</sub>)进行分离。将产物级分合并,并在减压下蒸发。将第一洗脱产物在EtOAc和水之间分配。添加1N HCl并分离各层。将水层用EtOAc再次萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,在减压下蒸发并在真空下在50℃干燥以给出对映异构体9A(353mg)。将第二洗脱产物在EtOAc和水之间分配。添加1N HCl并分离各层。将水层用EtOAc再次萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,在减压下蒸发并在真空下在50℃干燥以给出对映异构体9B(193mg)。

[0339] 化合物9:

[0340]  $^1\text{H}$  NMR (360MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  1.92 (s, 6H) 3.06-3.27 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.87 (s, 2H) 4.06 (td,  $J=10.3, 7.1\text{Hz}$ , 1H) 4.52 (td,  $J=10.2, 6.6\text{Hz}$ , 1H) 5.58 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.75 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H) 5.92-5.97 (m, 2H) 6.46 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=8.2, 1.6\text{Hz}$ , 1H) 7.34 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H) 7.41-7.47 (m, 2H) 7.51-7.58 (m, 2H) 8.03 (br s, 1H) 12.37 (br s, 1H)

[0341] LC/MS (方法LC-A):  $R_t$  1.09min,  $\text{MH}^+617$

[0342] 对映异构体9A:

[0343]  $^1\text{H}$  NMR (360MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  1.92 (s, 6H) 3.07-3.25 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.87 (s, 2H) 3.98-4.11 (m, 1H) 4.51 (td,  $J=10.2, 6.4\text{Hz}$ , 1H) 5.57 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.75 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H) 5.92-5.96 (m, 2H) 6.46 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=8.1, 1.5\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H) 7.50-7.59 (m, 2H) 8.03 (br s, 1H) 12.37 (br s, 1H)

[0344] LC/MS (方法LC-B):  $R_t$  1.91min,  $\text{MH}^+617$

[0345]  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-43.6^\circ$  (c 0.5, DMF)

[0346] 手性SFC (方法SFC-D):  $R_t$  5.26min,  $\text{MH}^+617$  手性纯度98.6%。

[0347] 对映异构体9B:

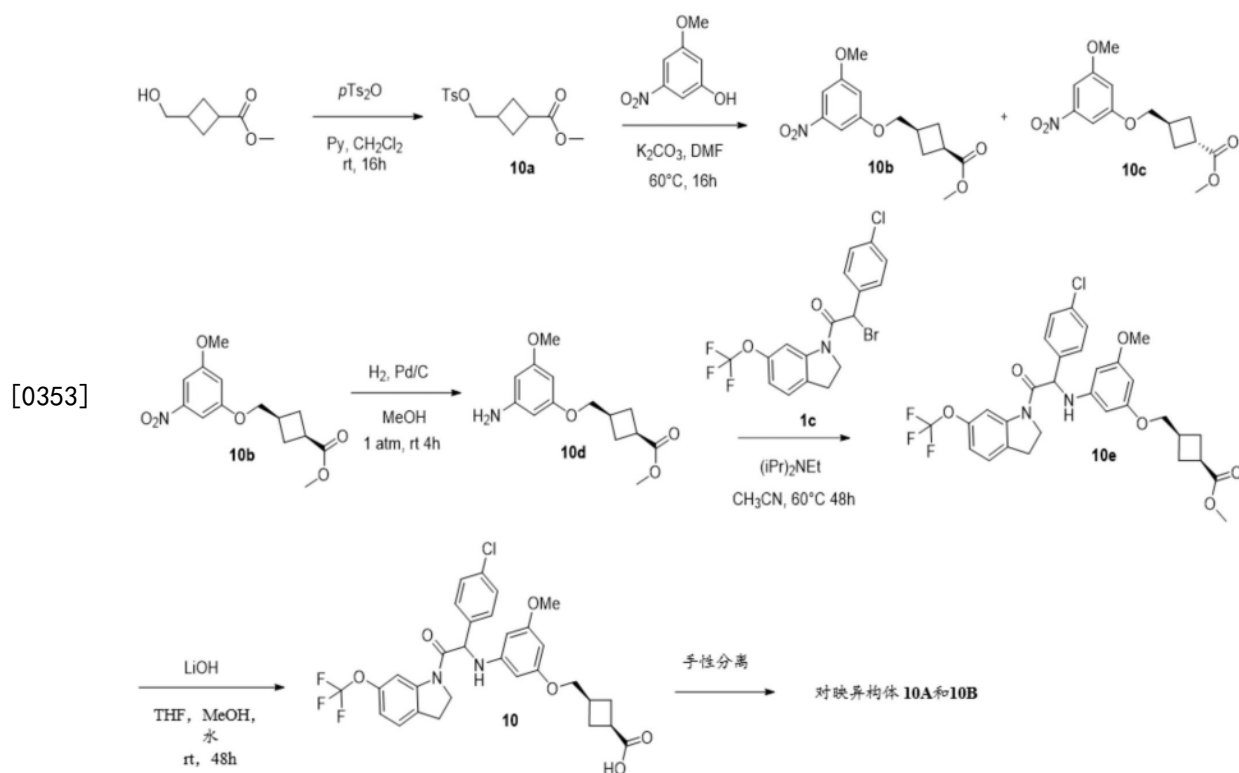
[0348]  $^1\text{H}$  NMR (360MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  1.93 (s, 6H) 3.08-3.25 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.88 (s, 2H) 4.00-4.11 (m, 1H) 4.52 (td,  $J=10.2, 6.6\text{Hz}$ , 1H) 5.58 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.76 (t,  $J=1.8\text{Hz}$ , 1H) 5.92-5.98 (m, 2H) 6.47 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 7.01 (dd,  $J=8.1, 1.5\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H) 7.51-7.60 (m, 2H) 8.04 (br s, 1H) 12.38 (br s, 1H)

[0349] LC/MS (方法LC-B):  $R_t$  1.91min,  $\text{MH}^+617$

[0350]  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+42.2^\circ$  (c 0.41, DMF)

[0351] 手性SFC (方法SFC-D):  $R_t$  6.47min,  $\text{MH}^+617$  手性纯度99.5%。

[0352] 实例10: (1s, 3s)-3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟-甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁烯羧酸(化合物10)的合成以及手性分离为对映异构体10A和10B



[0354] 中间体10a的合成:

[0355] 在 $N_2$ 流下,向甲基3-(羟基甲基)环丁基甲酸酯[89941-55-9] (1.4g, 9.71mmol) 于 $CH_2Cl_2$  (20mL) 的溶液中添加吡啶 (1.17mL) 和对甲苯磺酐 (3.49g, 10.682mmol)。将该混合物在室温下搅拌16h。将该混合物在真空下浓缩,悬浮于乙醚 (200mL) 中并用0.5M盐酸 ( $2 \times 50mL$ )、碳酸氢钠饱和溶液 ( $2 \times 50mL$ )、和盐水 (50mL) 洗涤。将该混合物经硫酸钠干燥,过滤并在减压下浓缩以产生甲基3-((甲苯磺酰氧基)甲基)环丁基甲酸酯10a (2.15g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0356] 中间体10b和10c的合成:

[0357] 将3-((甲苯磺酰氧基)甲基)环丁基甲酸酯10a (2.15g, 7.206mmol) 逐滴添加至3-甲氧基-5-硝基苯酚[7145-49-5] (1.22g, 7.206mmol) 和 $K_2CO_3$  (1.5g, 10.809mmol) 于DMF (14mL) 的混合物中。将该混合物在 $60^\circ C$ 搅拌16h。将该混合物用水稀释并用EtOAc萃取。将有机层用水洗涤,经 $MgSO_4$ 干燥,过滤并将该溶剂在减压下蒸发。通过在硅胶上快速层析 (15-40 $\mu m$ , 80g, 庚烷/EtOAc 85/15至80/20) 进行纯化。将纯的级分合并,并且蒸发至干燥。该立体异构体经由手性SFC (固定相: **Chiralpack**<sup>®</sup> AD-H 5 $\mu m$  250x30mm, 流动相: 55%  $CO_2$ 、45% MeOH) 以给出 (1s, 3s) - 甲基3-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)环丁基甲酸酯10b (541mg) 和 (1r, 3r) - 甲基3-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)环丁基甲酸酯10c (428mg)。

[0358] 中间体10d的合成:

[0359] 将包含催化量的10% Pd/C (191mg, 0.179mmol) 的 (1s, 3s) - 甲基3-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)环丁基甲酸酯10b (530mg, 1.795mmol) 于MeOH (10mL) 中的溶液在室温下在大气压力的 $H_2$ 下氢化4h。将催化剂通过经 **Celite**<sup>®</sup> 的短垫过滤去除,并且将滤饼用MeOH冲洗若干次。将合并的滤液在减压下蒸发以给出 (1s, 3s) - 甲基3-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基甲酸酯10d (480mg)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0360] 中间体10e的合成:

[0361] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c (580mg, 1.334mmol)、(1s,3s)-甲基3-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基甲酸酯10d (460mg, 1.734mmol)和二异丙基乙胺 (460 $\mu$ L, 2.667mmol)于CH<sub>3</sub>CN (10mL)中的混合物在60℃搅拌48h。将该混合物在减压下浓缩并用EtOAc吸收。将有机层用1N HCl和水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并将溶剂在真空下蒸发以在从Et<sub>2</sub>O/二异丙醚结晶后给出(1s,3s)-甲基3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基-甲酸酯10e (625mg)。

[0362] 化合物10的合成以及手性分离成对映异构体10A和10B:

[0363] 在0℃,将LiOH一水合物(127mg, 3.029mmol)分批添加至(1s,3s)-甲基3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基甲酸酯10e (625mg, 1.01mmol)于THF/水/MeOH (1/1/1) (15mL)中的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌48h。将该混合物冷却至0℃并用水稀释。添加3N HCl以酸化溶液并将该混合物用EtOAc萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩。将该残余物从Et<sub>2</sub>O/二异丙醚中结晶以给出(1s,3s)-3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基-甲酸(化合物10, 440mg)。将两种对映异构体经由手性SFC(固定相: **Whelk**<sup>®</sup> 01 (S,S) 5 $\mu$ m 250x21.1mm, 流动相: 58%CO<sub>2</sub>、42%MeOH)进行分离以在从庚烷/二异丙醚/乙醚固化后给出第一洗脱对映异构体10A (116mg)和第二洗脱对映异构体10B (119mg)。

[0364] 化合物10:

[0365] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 1.87-1.99 (m, 2H) 2.18-2.30 (m, 2H) 2.53-2.61 (m, 1H) 2.97 (quin, J=8.9Hz, 1H) 3.08-3.27 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.78 (br d, J=6.3Hz, 2H) 4.05 (td, J=10.4, 7.2Hz, 1H) 4.52 (td, J=10.3, 6.5Hz, 1H) 5.57 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.72-5.78 (m, 1H) 5.94 (s, 2H) 6.45 (br d, J=8.8Hz, 1H) 6.95-7.06 (m, 1H) 7.34 (d, J=8.2Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.2Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.04 (s, 1H) 12.08 (br s, 1H)

[0366] LC/MS (方法LC-D): R<sub>t</sub> 2.94min, MH<sup>+</sup>605

[0367] MP=128℃。

[0368] 对映异构体10A:

[0369] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 1.84-1.97 (m, 2H) 2.15-2.30 (m, 2H) 2.53-2.61 (m, 1H) 2.94 (quin, J=8.9Hz, 1H) 3.07-3.25 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.77 (br d, J=6.3Hz, 2H) 4.05 (td, J=10.4, 6.9Hz, 1H) 4.52 (td, J=10.3, 6.1Hz, 1H) 5.57 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.74 (t, J=1.9Hz, 1H) 5.93 (s, 2H) 6.44 (d, J=8.8Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.0, 1.4Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.2Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.2Hz, 2H) 8.03 (s, 1H)

[0370] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 3.08min, MH<sup>+</sup>605

[0371]  $[\alpha]_D^{20}$ : -44.0 (c 0.314, DMF)

[0372] 手性SFC (方法SFC-J): R<sub>t</sub> 1.63min, MH<sup>+</sup>605, 手性纯度100%。

[0373] 对映异构体10B:

[0374] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 1.85-1.97 (m, 2H) 2.17-2.28 (m, 2H) 2.53-2.58 (m, 1H) 2.94 (quint, J=8.8Hz, 1H) 3.07-3.24 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.72-3.82 (m, 2H) 4.05 (td, J=

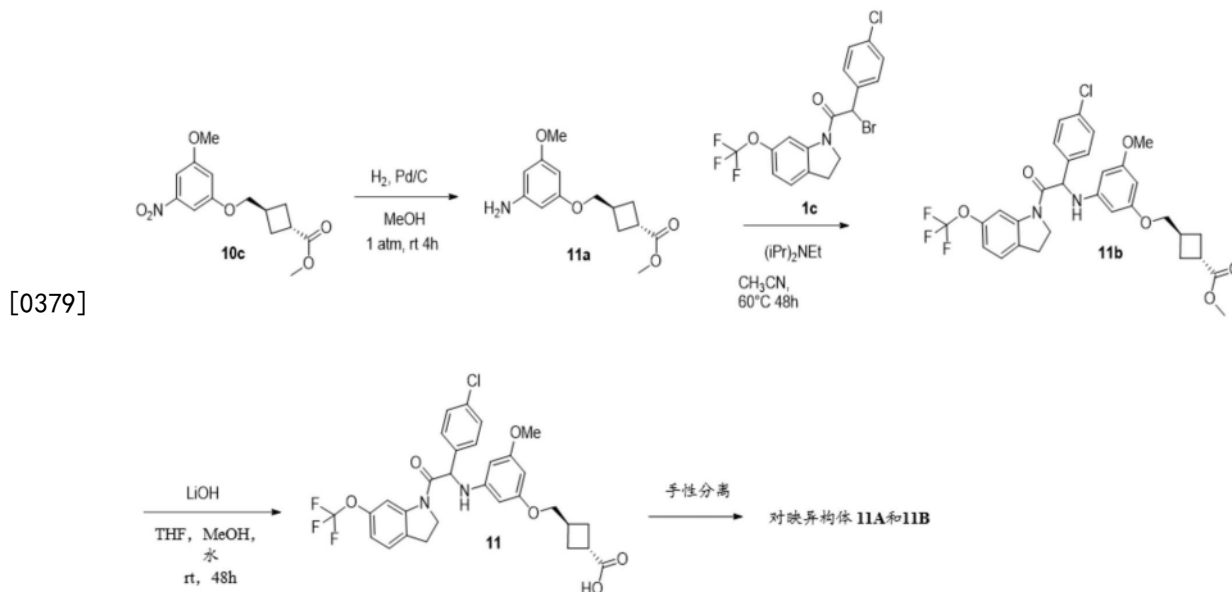
10.4, 7.3Hz, 1H) 4.52 (td, J=10.4, 6.9Hz, 1H) 5.57 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.72-5.77 (m, 1H) 5.93 (s, 2H) 6.44 (d, J=8.8Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.0, 1.4Hz, 1H) 7.33 (d, J=7.9Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.03 (s, 1H)

[0375] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  3.08min,  $MH^+$  605

[0376]  $[\alpha]_D^{20}$ : +45.5° (c 0.308, DMF)

[0377] 手性SFC (方法SFC-J):  $R_t$  2.14min,  $MH^+$  605, 手性纯度99.57%。

[0378] 实例11: (1r, 3r) -3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁烯-甲酸(化合物11)的合成以及手性分离为对映异构体11A和11B



[0380] 中间体11a的合成:

[0381] 将包含催化量的10%Pd/C (148mg, 0.139mmol) 的(1r, 3r) -甲基3-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)环丁烯-甲酸酯10c (410mg, 1.388mmol) 于MeOH (10mL) 的溶液在室温下在大气压力的 $H_2$ 下氢化4h。将催化剂通过经Celite®的短垫过滤去除, 并且将滤饼用MeOH冲洗若干次。将合并的滤液在减压下蒸发以给出(1r, 3r) -甲基3-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基甲酸酯11a (370mg)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0382] 中间体11b的合成:

[0383] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶啉-1-基)乙酮1c (460mg, 1.058mmol)、(1r, 3r) -甲基3-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基甲酸酯11a (365mg, 1.376mmol) 和二异丙基乙胺 (365μL, 2.117mmol) 于 $CH_3CN$  (8mL) 中的混合物在60°C搅拌48h。将该混合物在减压下浓缩并用EtOAc吸收。将有机层用1N HCl和水洗涤, 经 $MgSO_4$ 干燥, 过滤并将溶剂在真空下蒸发以在从 $Et_2O$ /二异丙醚结晶后给出(1r, 3r) -甲基3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基甲酸酯11b (515mg)。

[0384] 化合物11的合成以及手性分离成对映异构体11A和11B:

[0385] 在0°C, 将LiOH一水合物 (105mg, 2.496mmol) 分批添加至((1r, 3r) -甲基3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基甲酸酯11)的溶液中, 搅拌48h。将反应混合物在减压下浓缩并用EtOAc吸收。将有机层用1N HCl和水洗涤, 经 $MgSO_4$ 干燥, 过滤并将溶剂在真空下蒸发以在从 $Et_2O$ /二异丙醚结晶后给出对映异构体11A和11B。

基)甲基)环丁基甲酸酯11b(515mg,0.832mmol)于THF/水/MeOH(1/1/1)(15mL)的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌48h。将该混合物冷却至0℃并用水稀释。添加3N HCl以酸化溶液并将该混合物用EtOAc萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩。将该残余物通过在硅胶上快速层析(15-40μm,24g,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 100/0至98/2)进行纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出(1r,3r)-3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基甲酸(化合物11,460mg)。将两种对映异构体经由手性SFC(固定相: **Whelk**<sup>®</sup> 01 (S,S) 5μm 250x21.1mm,流动相:58%CO<sub>2</sub>、42%MeOH)进行分离以在从乙醚/二异丙醚结晶后给出第一洗脱对映异构体11A(121mg)和第二洗脱对映异构体11B(120mg)。

[0386] 化合物11:

[0387] <sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.92-2.04(m,2H)2.21-2.31(m,2H)2.57-2.62(m,1H)3.04-3.26(m,3H)3.63(s,3H)3.88(br d,J=6.9Hz,2H)4.00-4.11(m,1H)4.47-4.58(m,1H)5.57(d,J=8.8Hz,1H)5.78(s,1H)5.96(br d,J=9.7Hz,2H)6.45(br d,J=8.8Hz,1H)7.02(br d,J=8.2Hz,1H)7.34(d,J=8.2Hz,1H)7.45(d,J=8.2Hz,2H)7.55(d,J=8.5Hz,2H)8.04(s,1H)12.12(br s,1H)

[0388] LC/MS(方法LC-D):R<sub>t</sub> 2.95min,MH<sup>+</sup>605

[0389] 对映异构体11A:

[0390] <sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.94-2.03(m,2H)2.21-2.31(m,2H)2.55-2.62(m,1H)3.04-3.25(m,3H)3.62(s,3H)3.87(d,J=7.3Hz,2H)4.04(td,J=10.4,6.9Hz,1H)4.52(td,J=10.2,6.3Hz,1H)5.57(d,J=8.8Hz,1H)5.78(t,J=1.9Hz,1H)5.94(s,1H)5.96(s,1H)6.45(d,J=8.5Hz,1H)7.01(dd,J=8.2,1.6Hz,1H)7.33(d,J=8.2Hz,1H)7.44(d,J=8.5Hz,2H)7.55(d,J=8.5Hz,2H)8.03(s,1H)12.12(br s,1H)

[0391] LC/MS(方法LC-C):R<sub>t</sub> 3.08min,MH<sup>+</sup>605

[0392] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -43.3°(c 0.319,DMF)

[0393] 手性SFC(方法SFC-J):R<sub>t</sub> 1.73min,MH<sup>+</sup>605,手性纯度100%。

[0394] 对映异构体11B:

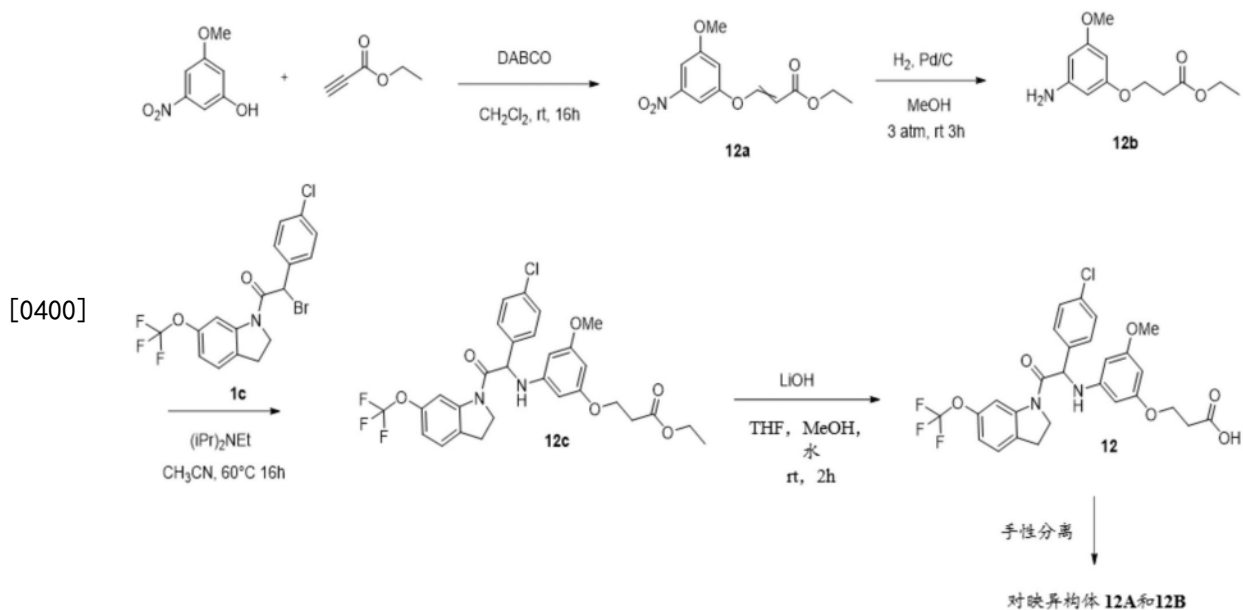
[0395] <sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.92-2.02(m,2H)2.21-2.32(m,2H)2.55-2.62(m,1H)3.04-3.25(m,3H)3.62(s,3H)3.87(d,J=6.9Hz,2H)4.05(td,J=10.3,7.1Hz,1H)4.52(td,J=10.3,6.5Hz,1H)5.57(d,J=8.8Hz,1H)5.78(t,J=1.9Hz,1H)5.94(s,1H)5.96(s,1H)6.45(br d,J=8.8Hz,1H)7.01(br d,J=8.2Hz,1H)7.33(d,J=8.2Hz,1H)7.44(d,J=8.5Hz,2H)7.55(d,J=8.5Hz,2H)8.03(s,1H)12.16(br s,1H)

[0396] LC/MS(方法LC-C):R<sub>t</sub> 3.08min,MH<sup>+</sup>605

[0397] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +45.5°(c 0.323,DMF)

[0398] 手性SFC(方法SFC-J):R<sub>t</sub> 2.36min,MH<sup>+</sup>605,手性纯度99.61%。

[0399] 实例12:3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)丙酸(化合物12)的合成以及手性分离为对映异构体12A和12B



[0401] 中间体12a的合成:

[0402] 将1,4-二氮杂二环[2.2.2]辛烷(66mg,0.591mmol)添加至3-甲氧基-5-硝基苯酚[7145-49-5](2.0g,11.825mmol)、乙基乙炔羧酸酯(1.2mL,11.825mmol)于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(20mL)的溶液。将该混合物在室温下搅拌16h。将该混合物倾倒入水中并倾析各层。将有机层用水、盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并将溶剂在减压下蒸发以给出乙基3-(3-甲氧基-5-硝基苯氧基)丙烯酸酯12a(3.22g,E/Z混合物)。

[0403] 中间体12b的合成:

[0404] 将乙基3-(3-甲氧基-5-硝基苯氧基)丙烯酸酯12a(3.2g,11.97mmol)和Pd/C(10%)(2.5g,2.395mmol)于CH<sub>3</sub>OH(100mL)中的混合物在3巴压力下氢化3h。将催化剂通过经Celite®垫过滤去除。将滤饼用CH<sub>3</sub>OH冲洗并将合并的滤液在减压下浓缩。通过在硅胶上快速层析(15-40μm,80g,庚烷/EtOAc75/25)进行纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出乙基3-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)丙酸酯12b(1.8g)。

[0405] 中间体12c的合成:

[0406] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(1.0g,2.301mmol)、乙基3-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)丙酸酯12b(716mg,2.991mmol)和二异丙基乙胺(793μL,4.602mmol)于CH<sub>3</sub>CN(29mL)中的混合物在60°C搅拌16h。将该混合物在减压下浓缩并用EtOAc吸收。将有机层用1N HCl和水洗涤,经干燥MgSO<sub>4</sub>,过滤并将溶剂在真空下蒸发。通过在硅胶上快速层析(15-40μm,80g,庚烷/EtOAc 75/25)进行纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)丙酸12c(660mg)。

[0407] 化合物12的合成以及手性分离成对映异构体12A和12B:

[0408] 在0°C,将LiOH一水合物(79mg,1.889mmol)分批添加至3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)丙酸12c(560mg,0.944mmol)于THF/水/MeOH(1/1/1)(15mL)的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌2h。将该混合物冷却至0°C并用水稀释。添加3N HCl以酸化溶液。将该混合物用EtOAc进行萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩。该残余物经由反相(固定相:YMC-

DispoPack AT ODS-25:120g, 流动相: 梯度从75%  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  0.2%、25%  $\text{CH}_3\text{CN}$  至35%  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  0.2%、65%  $\text{CH}_3\text{CN}$  进行纯化。将纯级分合并, 并且蒸发至干燥以给出3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)丙酸(化合物12, 126mg)。将两种对映异构体在70mg的批次经由手性SFC(固定相: **Chiralcel**<sup>®</sup> OD-H 5  $\mu\text{m}$  250x20mm, 流动相: 65%  $\text{CO}_2$ 、35%  $\text{iPrOH}$  (+0.3%  $\text{iPrNH}_2$ ) 进行分离以在 $\text{CH}_3\text{CN}$  (2mL) / 水 (8mL) 的混合物中冻干后给出第一洗脱对映异构体12A (30mg) 和第二洗脱对映异构体12B (35mg)。

[0409] 化合物12:

[0410]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  2.56 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H) 3.04-3.26 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.95-4.11 (m, 3H) 4.43-4.61 (m, 1H) 5.56 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H) 5.74 (s, 1H) 5.94 (br d,  $J=7.1\text{Hz}$ , 2H) 6.46 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H) 7.00 (br d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H) 7.43 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H) 8.03 (s, 1H)

[0411] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.84min,  $\text{MH}^+$  565

[0412] 对映异构体12A:

[0413]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  2.62 (br t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 2H) 3.09-3.24 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 4.00-4.10 (m, 3H) 4.47-4.57 (m, 1H) 5.58 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.75 (s, 1H) 5.95 (br d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 2H) 6.49 (br d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 7.02 (br d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H) 7.34 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H) 8.04 (s, 1H) 12.04-12.63 (m, 1H)

[0414] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.83min,  $\text{MH}^+$  565

[0415]  $[\alpha]_D^{20}$ : -47.3° (c 0.275, DMF)

[0416] 手性SFC (方法SFC-K):  $R_t$  2.50min,  $\text{MH}^+$  565, 手性纯度100%。

[0417] 对映异构体12B:

[0418]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  2.58-2.67 (m, 2H) 3.08-3.25 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.99-4.12 (m, 3H) 4.52 (td,  $J=10.3, 6.1\text{Hz}$ , 1H) 5.58 (s, 1H) 5.75 (s, 1H) 5.95 (br d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 2H) 6.50 (br s, 1H) 7.02 (br d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H) 7.34 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H) 8.04 (s, 1H) 12.35 (br s, 1H)

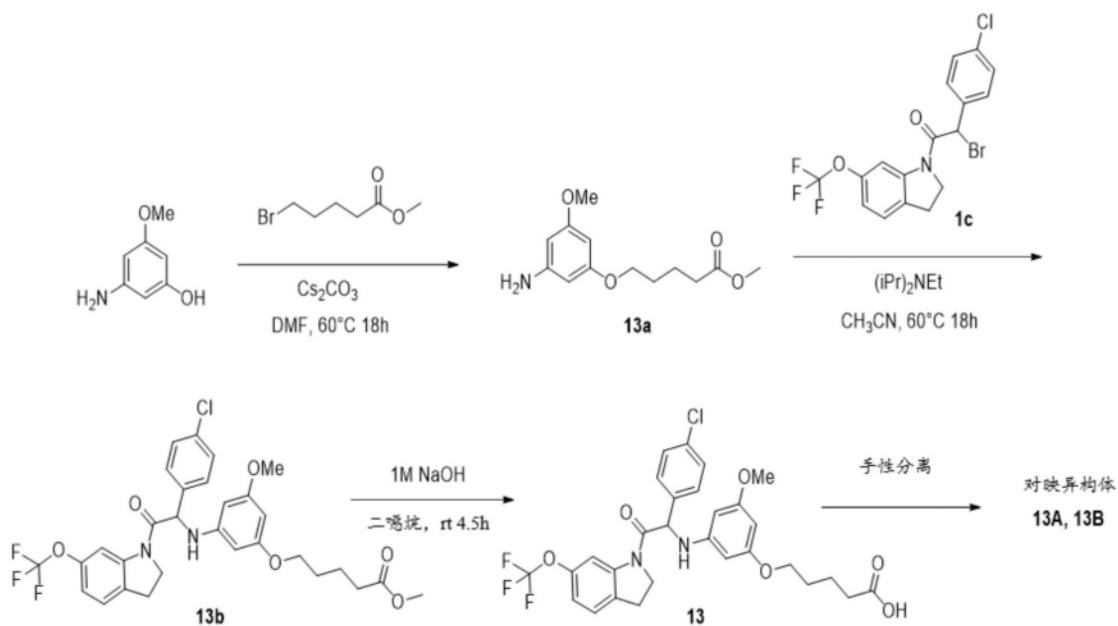
[0419] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.83min,  $\text{MH}^+$  565

[0420]  $[\alpha]_D^{20}$ : +41.8° (c 0.297, DMF)

[0421] 手性SFC (方法SFC-K):  $R_t$  4.34 min,  $\text{MH}^+$  565, 手性纯度99.1%。

[0422] 实例13: 5-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)-吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)戊酸(化合物13)的合成以及手性分离为对映异构体13A和13B

[0423]



[0424] 中间体13a的合成:

[0425] 向搅拌的甲基5-溴-戊酸酯[CAS 5454-83-1] (1.06mL, 7.19mmol) 于DMF (25mL) 的溶液中添加3-氨基-5-甲氧基苯酚[CAS 162155-27-3] (1.0g, 7.19mmol) 和 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (4.68g, 14.4mmol)。将该反应物在 $60^\circ\text{C}$ 下搅拌18h并且允许其达到室温。将该混合物倾倒入 $\text{H}_2\text{O}$  (125mL) 中。将产物用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 萃取(2x)。将合并的有机层经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并且在减压下蒸发溶剂。将残余物通过使用庚烷/EtOAc 100/0至50/50的梯度在硅胶上快速层析(25g)进行纯化。将产物级分合并, 在减压下蒸发并与 $\text{CH}_3\text{CN}$ 共蒸发。将产物在 $45^\circ\text{C}$ 在真空下干燥以提供甲基5-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)戊酸酯13a (200mg)。

[0426] 中间体13b的合成:

[0427] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙酮1c (340mg, 0.78mmol)、甲基5-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)戊酸酯13a (198mg, 0.78mmol) 和二异丙基乙胺(270 $\mu\text{L}$ , 1.56mmol) 于 $\text{CH}_3\text{CN}$  (30mL) 中的混合物在 $60^\circ\text{C}$ 搅拌18h。允许该混合物达到室温, 并倾倒入水(150mL)中。将产物用 $\text{Et}_2\text{O}$ 萃取(2x)。将合并的有机层用盐水洗涤, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并且在减压下蒸发。将残余物通过在硅胶上快速层析(40g), 使用庚烷/EtOAc/EtOH 100/0/0至40/45/15的梯度进行纯化。将产物级分合并, 并且在减压下蒸发, 并与二噁烷共蒸发以提供甲基5-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)戊酸酯13b (475mg)。

[0428] 化合物13的合成以及分离为对映异构体13A和13B:

[0429] 将1M NaOH于水(1.96mL, 1.96mmol)中的溶液添加至搅拌的甲基5-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)戊酸酯13b (475mg, 0.78mmol) 于二噁烷(5mL)中的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌4.5h。将该反应混合物用水(20mL) 1N HCl (2.1mL) 稀释。搅拌10min后, 将产物用2-Me-THF萃取。将有机层分离, 经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤, 并在减压下蒸发。将该残余物通过在硅胶上快速层析(40g), 使用梯度为庚烷/EtOAc/EtOH/HOAc 100/0/0/0至40/45/14.7/0.3进行纯化。将产物级分合并, 并且在减压下蒸发至残余体积为约7.5mL, 允许该反应产物沉淀。将固体过滤出, 用EtOAc/庚烷1/3洗涤(3x)并在真空下在 $45^\circ\text{C}$ 干燥以提供呈外消旋混合物的5-(3-((1-(4-氯苯基)-2-

氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)戊酸(化合物13, 139mg)。

[0430] 化合物13的对映异构体(112mg)经由制备型手性SFC(固定相:Chiralpak® Diacel OD 20x250mm,流动相:CO<sub>2</sub>、EtOH+0.4% iPrNH<sub>2</sub>)进行分离。将包含第一洗脱产物的级分合并,在减压下蒸发,并与CH<sub>3</sub>CN共蒸发。将该残余物从CH<sub>3</sub>CN(1.5mL)和水(1mL)的溶剂混合物中冻干以提供对映异构体13A(39mg)。将包含第二洗脱产物的级分合并,在减压下蒸发,并与CH<sub>3</sub>CN蒸发。将该残余物从CH<sub>3</sub>CN(1.75mL)和水(1.25mL)中冻干以提供对映异构体13B(33mg)。

[0431] 化合物13

[0432] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.55-1.69(m, 4H) 2.25(t, J=7.0Hz, 2H) 3.07-3.26(m, 2H) 3.62(s, 3H) 3.83(t, J=5.9Hz, 2H) 4.05(td, J=10.4, 7.2Hz, 1H) 4.52(td, J=10.3, 6.4Hz, 1H) 5.56(d, J=8.8Hz, 1H) 5.75(t, J=2.0Hz, 1H) 5.91-5.97(m, 2H) 6.42(d, J=8.8Hz, 1H) 7.01(dd, J=8.3, 1.7Hz, 1H) 7.33(d, J=8.1Hz, 1H) 7.38-7.48(m, 2H) 7.55(d, J=8.6Hz, 2H) 8.03(br s, 1H) 12.01(s, 1H)

[0433] LC/MS(方法LC-A):R<sub>t</sub> 1.13min, MH<sup>+</sup>593

[0434] 对映异构体13A:

[0435] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.55-1.69(m, 4H) 2.24(t, J=7.0Hz, 2H) 3.07-3.26(m, 2H) 3.62(s, 3H) 3.83(t, J=5.9Hz, 2H) 4.05(td, J=10.5, 7.3Hz, 1H) 4.52(td, J=10.3, 6.4Hz, 1H) 5.56(d, J=8.8Hz, 1H) 5.75(t, J=2.1Hz, 1H) 5.92-5.96(m, 2H) 6.42(d, J=8.6Hz, 1H) 7.01(dd, J=8.1, 1.5Hz, 1H) 7.33(d, J=8.1Hz, 1H) 7.39-7.48(m, 2H) 7.55(d, J=8.6Hz, 2H) 8.03(br s, 1H) 12.02(br s, 1H)

[0436] LC/MS(方法LC-B):R<sub>t</sub> 2.08min, MH<sup>+</sup>593

[0437] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -48.6° (c 0.43, DMF)

[0438] 手性SFC(方法SFC-D):R<sub>t</sub> 5.27min, MH<sup>+</sup>593手性纯度100%。

[0439] 对映异构体13B:

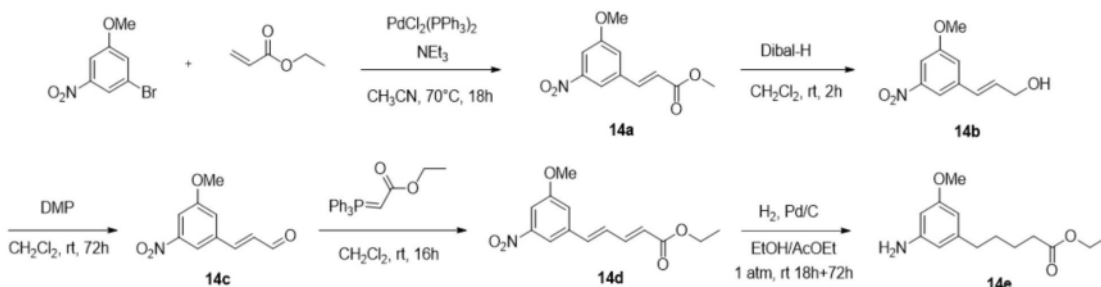
[0440] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.55-1.69(m, 4H) 2.24(t, J=7.2Hz, 2H) 3.04-3.25(m, 2H) 3.62(s, 3H) 3.83(t, J=5.9Hz, 2H) 4.05(td, J=10.4, 7.2Hz, 1H) 4.52(td, J=10.3, 6.2Hz, 1H) 5.56(d, J=8.8Hz, 1H) 5.75(t, J=2.0Hz, 1H) 5.92-5.96(m, 2H) 6.42(d, J=8.8Hz, 1H) 7.01(dd, J=8.1, 1.5Hz, 1H) 7.33(d, J=8.1Hz, 1H) 7.42-7.46(m, 2H) 7.55(d, J=8.6Hz, 2H) 8.03(br s, 1H) 12.00(br s, 1H)

[0441] LC/MS(方法LC-B):R<sub>t</sub> 2.08min, MH<sup>+</sup>593

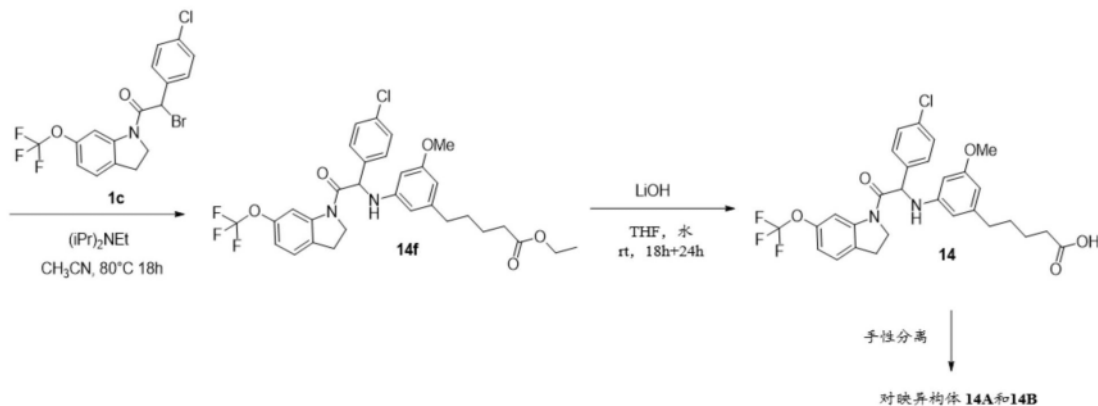
[0442] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +48.3° (c 0.42, DMF)

[0443] 手性SFC(方法SFC-D):R<sub>t</sub> 6.94min, MH<sup>+</sup>593手性纯度100%。

[0444] 实例14:5-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟-甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)戊酸(化合物14)的合成以及手性分离为对映异构体14A和14B



[0445]



[0446] 中间体14a的合成:

[0447] 在 $N_2$ 气氛下在一个密封管中,将 $PdCl_2(PPh_3)_2$  (1.5g, 2.2mmol)添加至1-溴-3-甲氧基-5-硝基苯[CAS 16618-67-0] (5.0g, 22mmol)、甲基丙烯酸酯 (6.0mL, 67mmol) 于 $CH_3CN$  (45mL) 和三乙胺 (12mL) 的脱气溶液。将该反应在 $70^\circ C$ 搅拌18h。将该混合物在减压下浓缩。将该残余物通过在硅胶上快速层析 (30 $\mu m$ , 120g, 庚烷/EtOAc梯度从90/10至75/25) 进行纯化以给出(E)-甲基3-(3-甲氧基-5-硝基苯基)丙烯酸酯14a (2.0g)。

[0448] 中间体14b的合成:

[0449] 在 $N_2$ 下在 $0^\circ C$ ,将二异丁基氢化铝 (1M于 $CH_2Cl_2$ ) (20mL, 20mmol) 逐滴添加至(E)-甲基3-(3-甲氧基-5-硝基苯基)丙烯酸酯14a (2.4g, 10.12mmol) 于 $CH_2Cl_2$  (65mL) 中的溶液。将该反应物缓慢升温至室温并搅拌2h。将该混合物用HCl (3N) 淬灭并用 $CH_2Cl_2$ 萃取。将有机层经 $MgSO_4$ 干燥,过滤并在减压下浓缩以给出(E)-3-(3-甲氧基-5-硝基苯基)丙-2-烯-1-醇14b (2.1g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0450] 中间体14c的合成:

[0451] 在 $N_2$ 下在 $0^\circ C$ ,将戴斯马丁氧化剂 (24mL, 11.04mmol) 缓慢添加至(E)-3-(3-甲氧基-5-硝基苯基)丙-2-烯-1-醇14b (2.1g, 10.04mmol) 于 $CH_2Cl_2$  (64mL) 的溶液并将该混合物在室温下搅拌72h。添加水并将该混合物过滤。将滤液用 $CH_2Cl_2$ 萃取,经 $MgSO_4$ 干燥并蒸发至干燥以给出(E)-3-(3-甲氧基-5-硝基苯基)丙烯醛14c (2.5g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0452] 中间体14d的合成:

[0453] 在 $N_2$ 下,将(羧基亚甲基)三苯基磷 (5.0g, 14.48mmol) 一次性添加至(E)-3-(3-甲氧基-5-硝基苯基)丙烯醛14c (2.5g, 9.65mmol, 纯度80%) 于 $CH_2Cl_2$  (62mL) 中的混合物中并在室温下搅拌16h。将该混合物在减压下浓缩。将该残余物通过在硅胶上快速层析 (30 $\mu m$ , 80g, 庚烷/EtOAc梯度从85/15至60/30) 进行纯化以给出(2E, 4E)-乙基5-(3-甲氧基-5-硝基

苯基)五-2,4-二烯酸乙酯14d (2.1g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0454] 中间体14e的合成:

[0455] 使用Pd/C(10%) (0.73g, 0.69mmol) 作为催化剂, 将(2E, 4E)-乙基5-(3-甲氧基-5-硝基苯基)五-2,4-二烯酸乙酯14d (1.9g, 6.85mmol) 于EtOH(40mL) 和EtOAc (6.7mL) 中的混合物在大气压力的H<sub>2</sub>下氢化18h。将催化剂通过经Celite®垫过滤去除。将Celite®用EtOAc洗涤并将合并的滤液在真空下浓缩。使用Pd/C(10%) (0.73g, 0.69mmol) 作为催化剂, 将该残余物在EtOH(40mL) 和EtOAc (6.7mL) 在大气压力的H<sub>2</sub>下再次氢化72h。将催化剂通过经Celite®垫过滤去除。将Celite®用EtOAc洗涤并将合并的滤液在真空下浓缩以给出乙基5-(3-氨基-5-甲氧基苯基)戊酸酯14e (1.4g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0456] 中间体14f的合成:

[0457] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c (1.6g, 3.71mmol)、乙基5-(3-氨基-5-甲氧基苯基)戊酸酯14e (1.4g, 5.57mmol) 和二异丙基乙胺 (1.3mL, 7.43mmol) 于CH<sub>3</sub>CN(19mL) 中的混合物在80℃搅拌18h。将该混合物用EtOAc吸收, 并用0.5N HCl(两次) 和水洗涤。将有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并将溶剂在真空下蒸发。通过在硅胶上快速层析(30μm, 40g, 庚烷/EtOAc从85/15至75/25) 进行纯化以给出乙基5-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)戊酸酯14f (1.8g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0458] 化合物14的合成以及手性分离成对映异构体14A和14B:

[0459] 将LiOH一水合物(0.62g, 15mmol) 于水(16mL) 中的溶液添加至乙基5-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)戊酸酯14f (1.8g, 2.98mmol) 于THF(36mL) 的溶液。将该混合物在室温下搅拌18h。再次添加LiOH一水合物(0.62g, 15mmol) 并将该混合物在室温下搅拌24h。将溶液用HCl(3N) 酸化并用EtOAc萃取。将有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。该残余物通过在硅胶上快速层析(30μm, 40g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100/0至98/2) 进行纯化以给出5-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)戊酸(化合物14, 920mg)。将对映异构体经由手性SFC(固定相: Chiralpak® AD-H 5μm 250x30mm, 流动相: 55%CO<sub>2</sub>、45%EtOH) 以在从戊烷/Et<sub>2</sub>O固化后给出第一洗脱对映异构体14A (248mg) 和第二洗脱对映异构体14B (263mg)。

[0460] 化合物14:

[0461] <sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.47(br s, 4H) 2.15-2.22(m, 2H) 2.34-2.43(m, 2H) 3.07-3.26(m, 2H) 3.62(s, 3H) 3.92-4.14(m, 1H) 4.40-4.64(m, 1H) 5.56(br d, J=8.83Hz, 1H) 6.00(s, 1H) 6.13(br s, 1H) 6.20(s, 1H) 6.37(br d, J=8.51Hz, 1H) 7.01(br d, J=7.88Hz, 1H) 7.33(br d, J=7.88Hz, 1H) 7.44(br d, J=8.20Hz, 2H) 7.56(br d, J=8.20Hz, 2H) 8.04(br s, 1H) 12.01(br s, 1H)

[0462] LC/MS(方法LC-C): R<sub>t</sub> 3.18min, MH<sup>+</sup>577

[0463] 对映异构体14A:

[0464] <sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.40-1.61(m, 4H) 2.14-2.24(m, 2H) 2.33-2.42(m, 2H) 3.06-3.23(m, 2H) 3.62(s, 3H) 3.92-4.18(m, 1H) 4.40-4.59(m, 1H) 5.40-5.69(m, 1H) 6.00

(s, 1H) 6.13 (s, 1H) 6.20 (s, 1H) 6.30-6.47 (m, 1H) 6.91-7.12 (m, 1H) 7.28-7.38 (m, 1H) 7.44 (d, J=8.20Hz, 2H) 7.56 (d, J=8.51Hz, 2H) 7.95-8.29 (m, 1H) 11.99 (br s, 1H)

[0465] LC/MS(方法LC-C):  $R_t$  3.21min,  $MH^+$  577

[0466]  $[\alpha]_D^{20}$ : +55.8° (c 0.312, DMF)

[0467] 手性SFC(方法SFC-L):  $R_t$  1.32min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0468] 对映异构体14B:

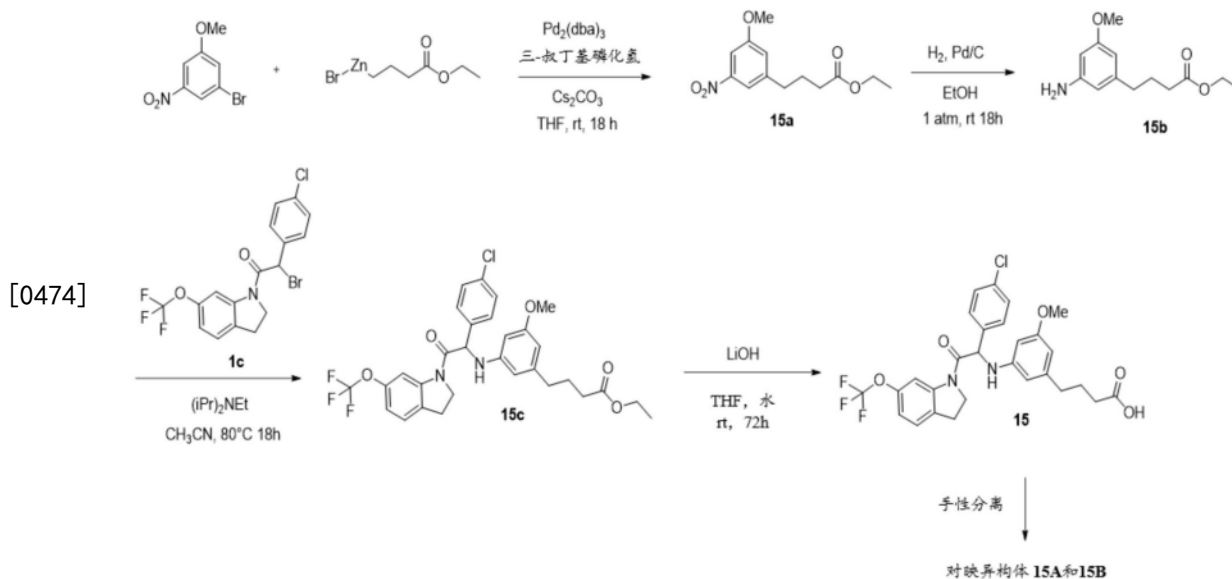
[0469]  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.40-1.53 (m, 4H) 2.15-2.25 (m, 2H) 2.32-2.44 (m, 2H) 3.00-3.27 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.95-4.18 (m, 1H) 4.44-4.79 (m, 1H) 5.57 (d, J=8.83Hz, 1H) 6.00 (s, 1H) 6.13 (s, 1H) 6.20 (s, 1H) 6.37 (br d, J=8.83Hz, 1H) 7.02 (br d, J=7.25Hz, 1H) 7.34 (d, J=8.20Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.20Hz, 2H) 7.56 (d, J=8.51Hz, 2H) 8.04 (s, 1H) 12.00 (m, 1H)

[0470] LC/MS(方法LC-C):  $R_t$  3.20min,  $MH^+$  577

[0471]  $[\alpha]_D^{20}$ : -53.7° (c 0.326, DMF)

[0472] 手性SFC(方法SFC-L):  $R_t$  1.74min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0473] 实例15: 4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)丁酸(化合物15)的合成以及手性分离为对映异构体15A和15B



[0475] 中间体15a的合成:

[0476] 将4-乙氧基-4-氧代丙基锌溴(5.2mL, 2.6mmol)和 $Pd_2(dba)_3$ (0.20g, 0.22mmol)添加至1-溴-3-甲氧基-5-硝基苯[CAS 16618-67-0](0.5g, 2.2mmol)、三-叔丁基磷化氢(87mg, 0.43mmol)和 $Cs_2CO_3$ (1.4g, 4.3mmol)于THF(8.8mL)的脱气溶液。将该反应物在室温下在 $N_2$ 气氛下搅拌18h。将该混合物在减压下浓缩。将该残余物通过在硅胶上快速层析(30 $\mu$ m, 80g, 庚烷/EtOAc从95/5至80/20)进行纯化以给出乙基4-(3-甲氧基-5-硝基苯基)丁酸酯15a(370mg)。

[0477] 中间体15b的合成:

[0478] 使用Pd/C(10%)(0.15g, 0.14mmol)作为催化剂, 将乙基4-(3-甲氧基-5-硝基苯基)丁酸酯15a(0.37g, 1.38mmol)于EtOH(8.1mL)中的混合物在大气压力的 $H_2$ 下氢化18h。将

催化剂通过经 Celite® 垫过滤去除。将 Celite® 用 EtOAc 洗涤并将滤液在真空下浓缩以给出乙基 4-(3-氨基-5-甲氧基苯基)丁酸酯 15b (350mg)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0479] 中间体 15c 的合成:

[0480] 将 2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮 1c (0.43g, 0.98mmol)、乙基 4-(3-氨基-5-甲氧基苯基)丁酸酯 15b (0.35g, 1.48mmol) 和二异丙基乙胺 (0.34mL, 2.0mmol) 于 CH<sub>3</sub>CN (5.1mL) 中的混合物在 80℃ 搅拌 18h。将该混合物用 EtOAc 吸收, 并用 0.5N HCl (两次) 和水洗涤。将有机层经 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并将溶剂在真空下蒸发。通过在硅胶上快速层析 (30μm, 40g, 庚烷/EtOAc 从 85/15 至 75/25) 进行纯化以给出乙基 4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)丁酸酯 15c (340mg)。

[0481] 化合物 15 的合成以及手性分离成对映异构体 15A 和 15B:

[0482] 在 N<sub>2</sub> 下, 将水 (3.1mL) 中的 LiOH·H<sub>2</sub>O (0.12g, 2.9mmol) 添加至乙基 4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)丁酸酯 15c (0.34g, 0.58mmol) 于 THF (7mL) 中的溶液。将该混合物在室温下搅拌 72h。将溶液用 HCl (3N) 酸化并用 EtOAc 萃取。将有机层经 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在减压下浓缩。将该残余物通过在硅胶上快速层析 (30μm, 24g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100/0 至 98/2) 进行纯化以在从 Et<sub>2</sub>O 固化后给出 4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)丁酸 (化合物 15, 285mg)。将对映异构体经由手性 SFC (固定相: Chiralcel® OD-H 5μm 250x30mm, 流动相: 65% CO<sub>2</sub>、35% MeOH) 进行分离以在从 Et<sub>2</sub>O 固化后给出第一洗脱对映异构体 15A (75mg) 和第二洗脱对映异构体 15B (85mg)。

[0483] 化合物 15:

[0484] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.66-1.86 (m, 2H) 2.11-2.26 (m, 2H) 2.32-2.44 (m, 2H) 3.03-3.26 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 4.04 (td, J=10.32, 7.09Hz, 1H) 4.52 (td, J=10.32, 6.15Hz, 1H) 5.56 (d, J=8.83Hz, 1H) 6.00 (s, 1H) 6.14 (s, 1H) 6.21 (s, 1H) 6.38 (d, J=8.83Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.20, 1.26Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.20Hz, 1H) 7.38-7.50 (m, 2H) 7.56 (d, J=8.20Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.01 (s, 1H)

[0485] LC/MS (方法 LC-D): R<sub>t</sub> 2.96min, MH<sup>+</sup> 563

[0486] 对映异构体 15A:

[0487] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.56-1.87 (m, 2H) 2.11-2.21 (m, 2H) 2.35-2.42 (m, 2H) 3.02-3.22 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.97-4.18 (m, 1H) 4.39-4.61 (m, 1H) 5.56 (d, J=8.59Hz, 1H) 5.99 (s, 1H) 6.13 (s, 1H) 6.20 (s, 1H) 6.37 (br d, J=9.09Hz, 1H) 7.00 (br d, J=8.59Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.08Hz, 1H) 7.43 (d, J=8.59Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.59Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 11.99 (br s, 1H)

[0488] LC/MS (方法 LC-C): R<sub>t</sub> 3.08min, MH<sup>+</sup> 563

[0489] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -59.0° (c 0.293, DMF)

[0490] 手性 SFC (方法 SFC-M): R<sub>t</sub> 2.19min, 无 MH<sup>+</sup>, 手性纯度 99.31%。

[0491] 对映异构体 15B:

[0492] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.60-1.86 (m, 2H) 2.10-2.21 (m, 2H) 2.35-2.42 (m,

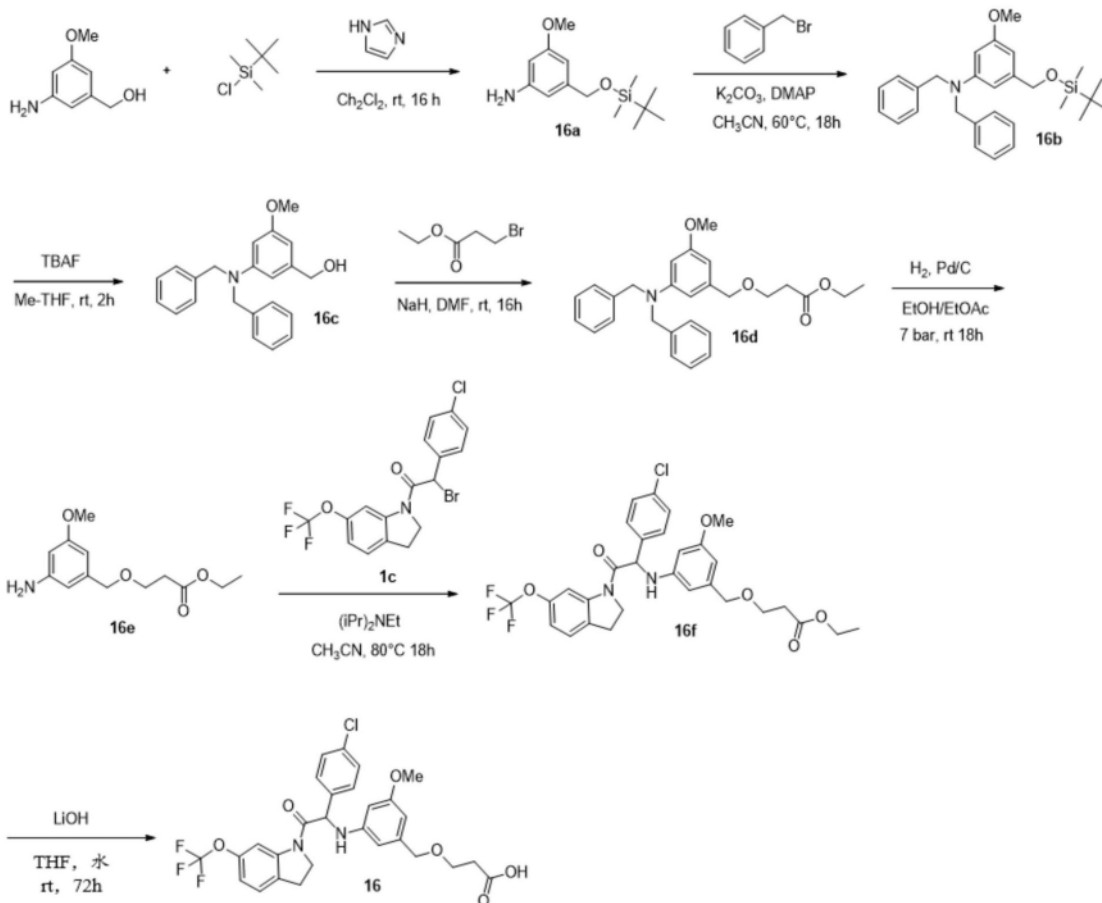
2H) 3.02-3.23 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.82-4.26 (m, 1H) 4.36-4.71 (m, 1H) 5.56 (d,  $J=9.09\text{Hz}$ , 1H) 5.99 (s, 1H) 6.13 (s, 1H) 6.20 (s, 1H) 6.37 (d,  $J=9.09\text{Hz}$ , 1H) 7.00 (br d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.08\text{Hz}$ , 1H) 7.43 (d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 2H) 8.03 (s, 1H) 11.97 (br s, 1H)

[0493] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  3.08min,  $\text{MH}^+$  563

[0494]  $[\alpha]_D^{20}$ : +48.0° (c 0.225, DMF)

[0495] 手性SFC (方法SFC-M):  $R_t$  3.73min, 无 $\text{MH}^+$ , 手性纯度99.61%。

[0496] 实例16: 3-(((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)-吡啶啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苄基)氧基)丙酸(化合物16)的合成



[0498] 中间体16a的合成:

[0499] 在室温下,将叔丁基二甲基甲硅烷基氯化物(6.1g, 40.48mmol)添加至(3-氨基-5-甲氧基苄基)甲醇[1261566-52-2](3.1g, 20.24mmol)和咪唑(4.13g, 60.71mmol)于 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (130mL)的溶液。将该反应在室温下搅拌16h,用水淬灭并用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 萃取。将有机层分离,用水和盐水洗涤,经 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并蒸发至干燥。将该残余物通过在硅胶上快速层析(30 $\mu\text{m}$ , 120g, 庚烷/EtOAc从85/15至65/35)进行纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出3-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-甲氧基苄胺16a(3.4g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0500] 中间体16b的合成:

[0501] 将溴化苄(3.8mL, 31.8mmol)、3-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-甲基)-5-甲氧基苄胺16a(3.4g, 12.71mmol)、 $\text{K}_2\text{CO}_3$ (5.27g, 38.14mmol)和DMAP(155mg, 1.27mmol)于 $\text{CH}_3\text{CN}$

(66mL)中的混合物在60℃搅拌18h。将该混合物进行过滤,并且将滤液在减压下浓缩。将该残余物通过在硅胶上快速层析(30 $\mu$ m,120g,庚烷/EtOAc从100/0至90/10)进行纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出N,N-二苄基-3-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-甲氧基苯胺16b(6g)。

[0502] 中间体16c的合成:

[0503] 将TBAF(1M于THF)(15.3mL,15.3mmol)添加至N,N-二苄基-3-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-甲氧基苯胺16b(5.69g,12.71mmol)于Me-THF(64mL)的溶液。将该混合物在室温下搅拌2h。并该混合物用EtOAc稀释,用盐水和NaHCO<sub>3</sub>的饱和水溶液洗涤3次,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。将该残余物通过在硅胶上快速层析(30 $\mu$ m,120g,庚烷/EtOAc从85/15至75/25)进行纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出(3-(二苄基氨基)-5-甲氧基苄基)甲醇16c(4.1g)。

[0504] 中间体16d的合成:

[0505] 将乙基3-溴丙酸酯(0.126mL,0.99mmol)逐滴添加至(3-(二苄基氨基)-5-甲氧基苄基)甲醇16c(300mg,0.90mmol)、NaH(在矿物油中的60%分散体)(40mg,0.99mmol)于DMF(7.0mL)的溶液。将该反应在室温下搅拌16h。用EtOAc稀释后,将该粗材料用盐水洗涤(5x)。将有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥并蒸发至干燥。通过在硅胶上快速层析(30 $\mu$ m,24g,庚烷/EtOAc从85/15至75/25)进行纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出乙基3-((3-(二苄基氨基)-5-甲氧基苄基)氧基)丙酸酯16d(97mg)。

[0506] 中间体16e的合成:

[0507] 使用Pd/C(10%)(24mg,0.022mmol)作为催化剂,将乙基3-((3-(二苄基氨基)-5-甲氧基苄基)氧基)丙酸酯16d(97mg,0.22mmol)于EtOH(1.3mL)和EtOAc(0.66mL)中的混合物在室温下在7巴H<sub>2</sub>压力下氢化18h。将催化剂通过经Celite<sup>®</sup>垫过滤去除。将Celite<sup>®</sup>用EtOAc洗涤并将滤液在减压下浓缩以给出乙基3-((3-氨基-5-甲氧基苄基)氧基)-丙酸酯16e(52mg)。

[0508] 中间体16f的合成:

[0509] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(74mg,0.17mmol)、乙基3-((3-氨基-5-甲氧基苄基)氧基)-丙酸酯16e(52mg,0.21mmol)和二异丙基乙胺(59 $\mu$ L,0.34mmol)于CH<sub>3</sub>CN(0.89mL)中的混合物在80℃搅拌18h。将该混合物在减压下浓缩。通过在硅胶上快速层析(30 $\mu$ m,12g,庚烷/EtOAc从85/15至75/25)进行纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出乙基3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苄基)氧基)丙酸酯16f(48mg)。

[0510] 化合物16的合成:

[0511] 将LiOH一水合物(33mg,0.79mmol)于水(0.43mL)中的溶液添加至乙基3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)-吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苄基)氧基)丙酸酯16f(48mg,0.079mmol)于THF(0.97mL)中的溶液。将该混合物在室温下搅拌72h。将溶液用HCl(3N)酸化并用EtOAc萃取。将有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩。将该残余物通过在硅胶上快速层析(30 $\mu$ m,12g,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100/0至98/2)进行纯化。经由反相色谱(固定相:YMC-actus Triart-C1810 $\mu$ m 30x150mm,流动相:梯度从65%NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>0.2%、35%CH<sub>3</sub>CN至25%NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>0.2%、75%CH<sub>3</sub>CN)进行第二纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以在

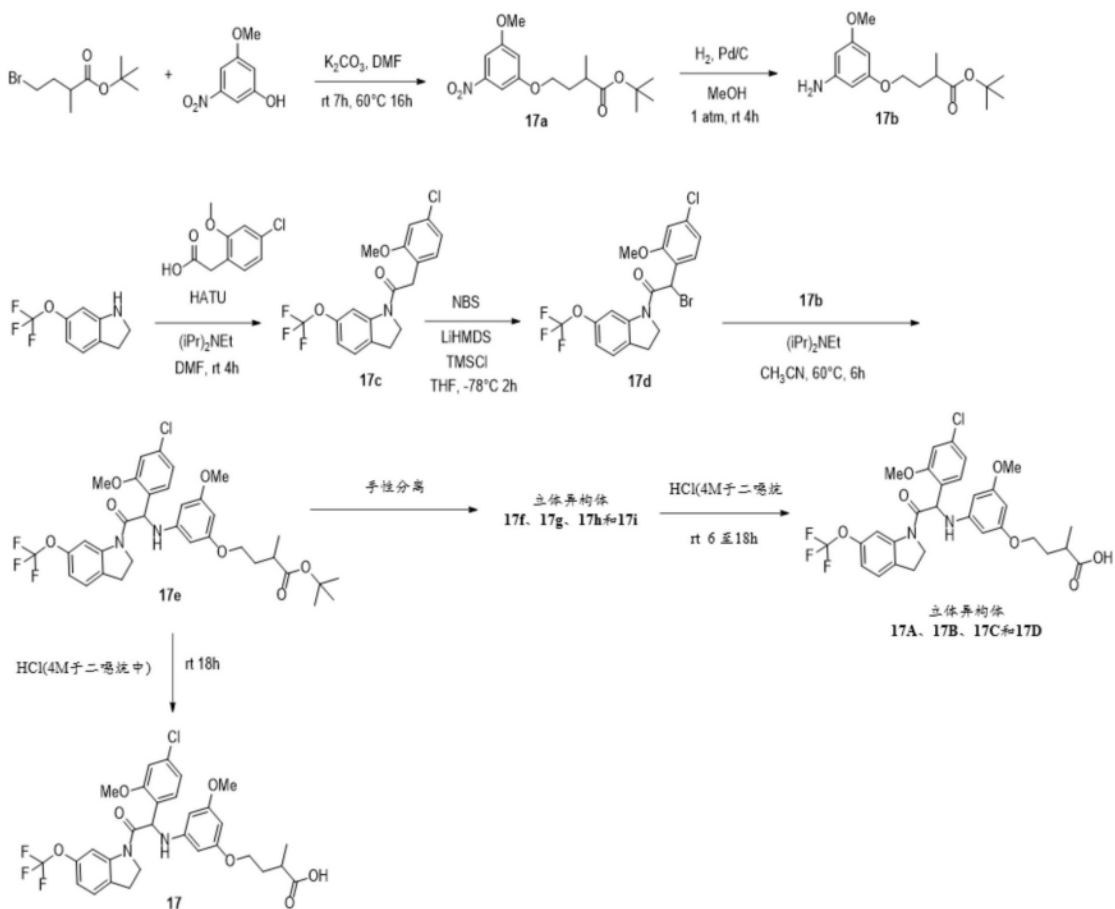
CH<sub>3</sub>CN/水冻干后给出3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苄基)氧基)丙酸(化合物16,5mg)。

[0512] 化合物16:

[0513] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 2.34-2.42 (m, 2H) 3.03-3.23 (m, 2H) 3.49-3.59 (m, 2H) 3.63 (s, 3H) 3.97-4.21 (m, 2H) 4.27 (s, 2H) 4.49-4.57 (m, 1H) 5.58 (d, J=8.59Hz, 1H) 6.11 (s, 1H) 6.21 (s, 1H) 6.33 (s, 1H) 6.48 (br d, J=8.59Hz, 1H) 7.00 (br d, J=8.59Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.08Hz, 1H) 7.43 (d, J=8.59Hz, 2H) 7.56 (d, J=8.59Hz, 2H) 8.03 (s, 1H)

[0514] LC/MS(方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.84min, MH<sup>+</sup>579

[0515] 实例17: 4-(3-((1-(4-氯-2-甲氧基苄基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苄基)-2-甲基丁酸(化合物17)的合成以及分离为立体异构体17A、17B、17C和17D。



[0516]

[0517] 中间体17a的合成:

[0518] 将叔丁基4-溴-2-甲基丁酸酯[CAS 1210410-44-8(3.9g, 16.446mmol)]逐滴添加至3-甲氧基-5-硝基苯酚[7145-49-5](2.78g, 16.446mmol)和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3.409g, 24.669mmol)于DMF(25mL)的混合物中。将该混合物在室温下搅拌7h并在60℃搅拌16h。冷却至0℃后,将该混合物用水和冰稀释并用EtOAc萃取。将有机层用水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并将溶剂蒸发至干燥。将粗残余物通过在硅胶上快速层析(20-45μm, 80g, 流动相:庚烷/EtOAc 75/25)进行纯化。将纯级分合并,并且将溶剂在减压下蒸发以给出叔丁基4-(3-甲氧基-5-硝基苯氧基)-2-甲基丁酸酯17a(2.59g)。

[0519] 中间体17b的合成:

[0520] 使用Pd/C (10%) (1.52g, 1.426mmol) 作为催化剂, 将叔丁基4-(3-甲氧基-5-硝基苯氧基)-2-甲基丁酸酯17a (2.9g, 8.913mmol) 于MeOH (50mL) 中的混合物在大气压力的H<sub>2</sub>下氢化4h。将催化剂通过经Celite® 垫过滤去除。将Celite® 用EtOAc洗涤并将滤液在减压下浓缩。将该混合物通过在硅胶上快速层析 (20-45μm, 40g, 流动相: 庚烷/EtOAc 85/15) 进行纯化。将纯级分合并, 并且将溶剂蒸发至干燥以给出叔丁基4-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸酯17b (2.29g)。

[0521] 中间体17c的合成:

[0522] 将6-(三氟甲氧基)吡啶[CAS 959235-95-1] (2.5g, 12.3mmol)、2-(4-氯-2-甲氧基苯基)乙酸[CAS 170737-95-8] (2.47g, 12.3mmol)、HATU (7g, 18.5mmol) 和二异丙基乙胺 (6.1mL, 36.9mmol) 于DMF (40mL) 中的混合物在室温下搅拌4h。添加水和EtOAc。将有机层分离, 用水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并将溶剂在减压下蒸发。该残余物通过在硅胶上层析 (15-40μm, 80g, 庚烷/EtOAc 85/15) 进行纯化。将纯级分合并, 并且将溶剂在减压下浓缩以在从CH<sub>3</sub>CN/庚烷结晶后给出2-(4-氯-2-甲氧基苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮17c (4.3g)。

[0523] 中间体17d的合成:

[0524] 在-78℃, 在N<sub>2</sub>流下, 将LiHMDS 1M于THF (19.7mL, 19.7mmol) 逐滴添加至2-(4-氯-2-甲氧基苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮17c (3.8g, 9.8mmol) 于THF (50mL) 的混合物中。逐滴添加TMSCl (1.5mL, 11.8mmol)。将该混合物在-78℃搅拌15min并逐滴添加N-溴代丁二酰亚胺 (1.9g, 10.8mmol) 于THF (35mL) 中的溶液。在-78℃搅拌2h后, 将该反应用NH<sub>4</sub>Cl饱和溶液淬灭。将该混合物用EtOAc进行萃取。将有机层分离, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并将溶剂在减压下蒸发以给出2-溴-2-(4-氯-2-甲氧基苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮17d (4.5g)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0525] 中间体17e的合成以及分离为立体异构体17f、17g、17h和17i:

[0526] 将2-溴-2-(4-氯-2-甲氧基苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮17d (2g, 4.304mmol)、叔丁基4-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸酯17b (763mg, 2.583mmol) 和二异丙基乙胺 (1.5mL, 8.608mmol) 于CH<sub>3</sub>CN (70mL) 中的混合物在60℃搅拌6h。将该混合物冷却至0℃, 用水和冰稀释, 并用EtOAc萃取。将有机层用水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并将该溶剂在减压下蒸发。通过在硅胶上快速层析 (25-30μm, 40g, 庚烷/EtOAc 80/20) 进行纯化。通过在硅胶上快速层析 (25-30μm, 40g, 庚烷/EtOAc 85/15) 进行第二纯化。将纯级分合并, 并且蒸发至干燥以给出叔丁基4-(3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸酯17e (787mg)。该立体异构体经由手性SFC (固定相: Chiralpak® AD-H 5μm 250x30mm, 流动相: 83%CO<sub>2</sub>、17%EtOH) 进行分离以给出17f和17g (348mg) 和纯17h (164mg)、17i (184mg) 的混合物。17f和17g经由手性SFC (固定相: Chiralpak® AD-H 5μm 250x30mm, 流动相: 88%CO<sub>2</sub>、12%EtOH) 进一步分离以给出17f (145mg) 和17g (140mg)。

[0527] 化合物17的合成:

[0528] 将叔丁基4-(3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸酯17e (180mg, 0.265mmol) 于HCl (4M于二

噁烷) (3mL) 中的混合物在室温下搅拌18h。将该混合物在减压下浓缩。添加5mL的三乙胺并将溶液在真空下蒸发。通过在硅胶上快速层析(30 $\mu$ m, 12g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH从99/1至96/4)进行纯化。将纯级分合并, 并且蒸发至干燥(m=115mg)。将该残余物在戊烷/二异丙醚和若干滴CH<sub>3</sub>CN中固化以给出4-(3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸(化合物17, 75mg)。

[0529] 立体异构体17A的合成:

[0530] 将17f (145mg, 0.214mmol) 于HCl (4M于二噁烷中) (5mL) 中的混合物在室温下搅拌6h。将该混合物在减压下浓缩。添加5mL的Et<sub>3</sub>N并将溶液在真空下蒸发。通过在硅胶上快速层析(15-40 $\mu$ m, 12g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH从99.5/0.5至95/5)进行纯化。将纯级分合并, 并且蒸发至干燥(m=93mg)。将该残余物从戊烷/二异丙醚和若干滴CH<sub>3</sub>CN中固化以给出立体异构体17A (64mg)。

[0531] 立体异构体17B的合成:

[0532] 将17g (135mg, 0.199mmol) 于HCl (4M于二噁烷中) (5mL) 中的混合物在室温下搅拌18h。将该混合物在减压下浓缩。添加5mL的Et<sub>3</sub>N并将溶液在真空下蒸发。通过在硅胶上快速层析(15-40 $\mu$ m, 12g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH从99.5/0.5至95/5)进行纯化。将纯级分合并, 并且蒸发至干燥(m=65mg)。该残余物从戊烷/二异丙醚和若干滴CH<sub>3</sub>CN中固化以给出立体异构体17B (38mg)。

[0533] 立体异构体17C的合成:

[0534] 将17h (162mg, 0.239mmol) 于HCl (4M于二噁烷中) (5mL) 中的混合物在室温下搅拌6h。将该混合物在减压下浓缩。添加5mL的Et<sub>3</sub>N并将溶液在真空下蒸发。通过在硅胶上快速层析(15-40 $\mu$ m, 12g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH从99.5/0.5至95/5)进行纯化。将纯级分合并, 并且蒸发至干燥(m=85mg)。该残余物从戊烷/二异丙醚和若干滴CH<sub>3</sub>CN中固化以给出立体异构体17C (68mg)。

[0535] 立体异构体17D的合成:

[0536] 将17i (179mg, 0.264mmol) 于HCl (4M于二噁烷中) (5mL) 中的混合物在室温下搅拌6h。将该混合物在减压下浓缩。添加5mL的Et<sub>3</sub>N并将溶液在真空下蒸发。通过在硅胶上快速层析(15-40 $\mu$ m, 24g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH从99.5/0.5至95/5)进行纯化。将纯级分合并, 并且蒸发至干燥(m=98mg)。将该残余物从戊烷/二异丙醚中固化并若干滴CH<sub>3</sub>CN以给出立体异构体17D (54mg)。

[0537] 化合物17:

[0538] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 1.11 (br d, J=6.62Hz, 3H) 1.54-1.82 (m, 1H) 1.82-2.07 (m, 1H) 3.10-3.22 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.77-3.87 (m, 2H) 3.91 (s, 3H) 3.96-4.18 (m, 1H) 4.30-4.43 (m, 1H) 5.60 (br d, J=8.20Hz, 1H) 5.76 (br s, 1H) 5.87 (s, 1H) 5.88 (s, 1H) 6.46 (br d, J=8.51Hz, 1H) 6.98-7.6 (m, 2H) 7.15 (br s, 1H) 7.28-7.44 (m, 2H) 8.03 (br s, 1H) 12.20 (br s, 1H) (DMSO下, 1H缺失的CH CO<sub>2</sub>H)

[0539] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 3.16min, MH<sup>+</sup>623

[0540] 立体异构体17A:

[0541] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 1.10 (br d, J=7.07Hz, 3H) 1.59-1.82 (m, 1H) 1.82-2.04 (m, 1H) 3.04-3.24 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.71-3.87 (m, 2H) 3.90 (s, 3H) 3.96-4.21 (m, 1H)

4.32-4.56 (m, 1H) 5.59 (br d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 1H) 5.75 (s, 1H) 5.85 (s, 1H) 5.87 (s, 1H) 6.44 (br d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 1H) 6.98-7.05 (m, 2H) 7.14 (s, 1H) 7.22-7.53 (m, 2H) 8.02 (br s, 1H) 12.19 (br s, 1H) (DMSO下, 1H缺失的CH CO<sub>2</sub>H)

[0542] LC/MS (方法LC-D) :  $R_t$  3.07min,  $MH^+623$

[0543]  $[\alpha]_D^{20}$  :  $-18.4^\circ$  (c 0.305, DMF)

[0544] 手性SFC (方法SFC-N) :  $R_t$  4.75 min,  $MH^+623$ , 手性纯度99.3%。

[0545] 立体异构体17B:

[0546] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{ppm}}$  1.09 (br d,  $J=6.57\text{Hz}$ , 3H) 1.64-1.83 (m, 1H) 1.83-2.09 (m, 1H) 3.00-3.23 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.68-3.86 (m, 2H) 3.90 (m, 3H) 3.96-4.21 (m, 1H) 4.26-4.56 (m, 1H) 5.59 (br d,  $J=8.08\text{Hz}$ , 1H) 5.75 (br s, 1H) 5.86 (s, 1H) 5.87 (s, 1H) 6.44 (br d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 1H) 6.97-7.06 (m, 2H) 7.14 (s, 1H) 7.26-7.34 (m, 2H) 8.02 (br s, 1H) 12.20 (br s, 1H) (DMSO下, 1H缺失的CH CO<sub>2</sub>H)

[0547] LC/MS (方法LC-D) :  $R_t$  3.03min,  $MH^+623$

[0548]  $[\alpha]_D^{20}$  :  $-51.0^\circ$  (c 0.298, DMF)

[0549] 手性SFC (方法SFC-N) :  $R_t$  5.90min,  $MH^+623$ , 手性纯度97.94%。

[0550] 立体异构体17C:

[0551] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{ppm}}$  1.09 (d,  $J=6.57\text{Hz}$ , 3H) 1.61-1.84 (m, 1H) 1.88-2.02 (m, 1H) 3.07-3.26 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.76-3.88 (m, 2H) 3.90 (s, 3H) 3.97-4.18 (m, 1H) 4.27-4.45 (m, 1H) 5.59 (br d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 1H) 5.75 (s, 1H) 5.86 (br s, 1H) 5.87 (br s, 1H) 6.39-6.49 (m, 1H) 6.97-7.02 (m, 1H) 7.02-7.05 (m, 1H) 7.14 (d,  $J=2.02\text{Hz}$ , 1H) 7.29-7.32 (m, 1H) 7.32-7.37 (m, 1H) 8.02 (s, 1H) 12.19 (br s, 1H) (DMSO下, 1H缺失的CH CO<sub>2</sub>H)

[0552] LC/MS (方法LC-C) :  $R_t$  3.16min,  $MH^+623$

[0553]  $[\alpha]_D^{20}$  :  $+41.6^\circ$  (c 0.257, DMF)

[0554] 手性SFC (方法SFC-N) :  $R_t$  6.86min,  $MH^+623$ , 手性纯度98.89%。

[0555] 立体异构体17D:

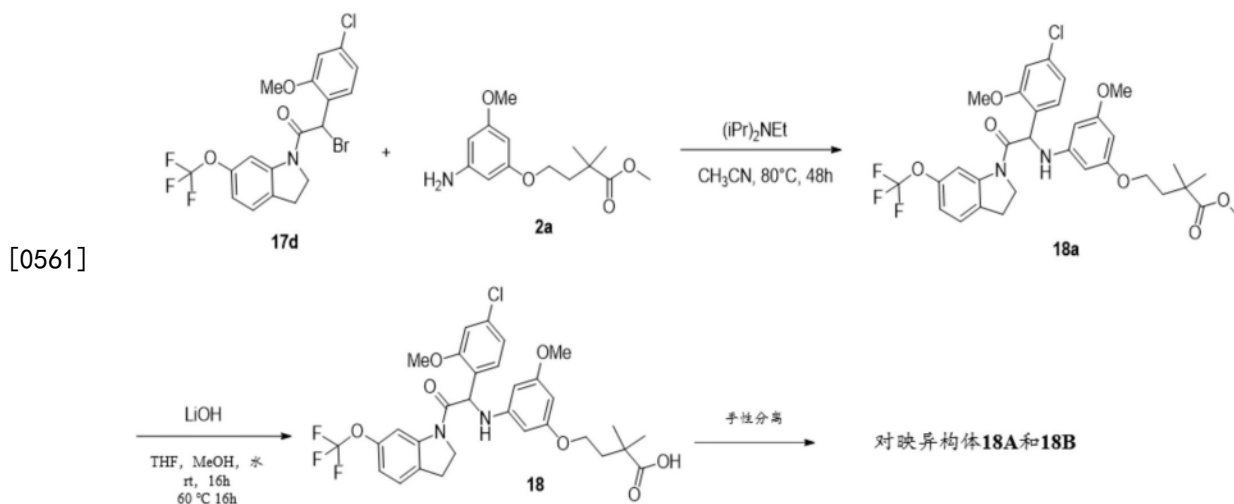
[0556] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{ppm}}$  1.11 (d,  $J=6.94\text{Hz}$ , 3H) 1.70 (dq,  $J=13.44$ , 6.55Hz, 1H) 1.97 (dq,  $J=13.64$ , 6.80Hz, 1H) 3.09-3.26 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.85 (br t,  $J=6.31\text{Hz}$ , 2H) 3.91 (s, 3H) 3.97-4.09 (m, 1H) 4.31-4.47 (m, 1H) 5.60 (br d,  $J=8.51\text{Hz}$ , 1H) 5.76 (s, 1H) 5.86 (br s, 1H) 5.88 (br s, 1H) 6.45 (br d,  $J=8.51\text{Hz}$ , 1H) 7.00-7.08 (m, 2H) 7.15 (d,  $J=1.26\text{Hz}$ , 1H) 7.32 (d,  $J=8.20\text{Hz}$ , 1H) 7.34 (br d,  $J=8.20\text{Hz}$ , 1H) 8.03 (br s, 1H) 12.18 (br s, 1H) (DMSO下, 1H缺失的CH CO<sub>2</sub>H)

[0557] LC/MS (方法LC-C) :  $R_t$  3.15min,  $MH^+623$

[0558]  $[\alpha]_D^{20}$  :  $+15.8^\circ$  (c 0.297, DMF)

[0559] 手性SFC (方法SFC-N) :  $R_t$  8.14min,  $MH^+623$ , 手性纯度98.6%。

[0560] 实例18: 4- (3- ((1- (4-氯-2-甲氧基苯基) -2-氧代-2- (6- (三氟甲氧基) 吡啶-1-基) 乙基) 氨基) -5-甲氧基苯氧基) -2,2-二甲基-丁酸 (化合物18) 的合成以及手性分离为对映异构体18A和18B。



[0562] 中间体18a的合成:

[0563] 将2-溴-2-(4-氯-2-甲氧基苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙酮17d (800mg, 1.291mmol)、甲基4-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸酯2a (518mg, 1.937mmol) 和二异丙基乙胺 (445 $\mu\text{L}$ , 2.583mmol) 于 $\text{CH}_3\text{CN}$  (6mL) 中的混合物在 $80^\circ\text{C}$ 搅拌48h。将该混合物浓缩至干燥。将该残余物用EtOAc吸收, 用1N HCl (两次) 和用水洗涤。将有机层经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并将溶剂在真空下蒸发以给出甲基4-(3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸酯18a (950mg)。将该化合物原样用于下个步骤中。

[0564] 化合物18的合成以及手性分离为对映异构体18A和18B:

[0565] 在 $0^\circ\text{C}$ , 将LiOH一水合物 (184mg, 4.38mmol) 分批添加至甲基4-(3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸酯18a (950mg, 1.459mmol) 于THF/MeOH/水 (1/1/1) (30mL) 的溶液。将该混合物在室温下搅拌16h, 并然后在 $60^\circ\text{C}$ 搅拌16h。将该混合物用水稀释并用EtOAc萃取。将水层用3N HCl缓慢酸化至pH 5-6并用EtOAc萃取。将合并的有机层经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并将溶剂在真空下蒸发。通过在硅胶上快速层析 (15-40 $\mu\text{m}$ , 40g,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  从100/0至99/1) 进行纯化。将纯级分合并, 并且蒸发至干燥 ( $m=350\text{mg}$ )。将小部分的该残余物从 $\text{Et}_2\text{O}$ /二异丙醚中结晶。将沉淀物过滤出并干燥以给出4-(3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸 (化合物18, 25mg)。将剩余量 (290mg) 用于手性分离。将该对映异构体经由手性SFC (固定相: Chiralcel<sup>®</sup> OD-H 5  $\mu\text{m}$  250x30mm, 流动相: 75%  $\text{CO}_2$ 、25% MeOH) 进行分离以在从庚烷/二异丙醚固化后给出第一洗脱对映异构体18A (68mg) 和第二洗脱对映异构体18B (70mg)。

[0566] 化合物18:

[0567]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ ppm 1.14 (d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 6H) 1.87 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 2H) 3.09-3.26 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.80-3.88 (m, 2H) 3.90 (s, 3H) 3.98-4.07 (m, 1H) 4.33-4.42 (m, 1H) 5.60 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H) 5.74 (s, 1H) 5.85 (s, 1H) 5.87 (s, 1H) 6.44 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H) 6.98-7.06 (m, 2H) 7.15 (d,  $J=1.6\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (dd,  $J=11.7, 8.2\text{Hz}$ , 2H) 8.03 (s, 1H) 12.23 (br s, 1H)

[0568] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  3.40min,  $\text{MH}^+$  637

[0569]  $\text{MP}=138^\circ\text{C}$ 。

[0570] 对映异构体18A:

[0571]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ ppm 1.14 (d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 6H) 1.87 (brt,  $J=7.1\text{Hz}$ , 2H) 3.09-3.25 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.81-3.87 (m, 2H) 3.90 (s, 3H) 3.98-4.07 (m, 1H) 4.33-4.42 (m, 1H) 5.59 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H) 5.74 (s, 1H) 5.84 (s, 1H) 5.87 (s, 1H) 6.44 (br d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H) 6.98-7.06 (m, 2H) 7.14 (d,  $J=1.9\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (dd,  $J=10.7, 8.5\text{Hz}$ , 2H) 8.02 (s, 1H) 11.94-12.35 (m, 1H)

[0572] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  3.40min,  $\text{MH}^+$  637

[0573]  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-30.2^\circ$  (c 0.315, DMF)

[0574] 手性SFC (方法SFC-O):  $R_t$  1.31min, 无 $\text{MH}^+$ , 手性纯度100%。

[0575] 对映异构体18B:

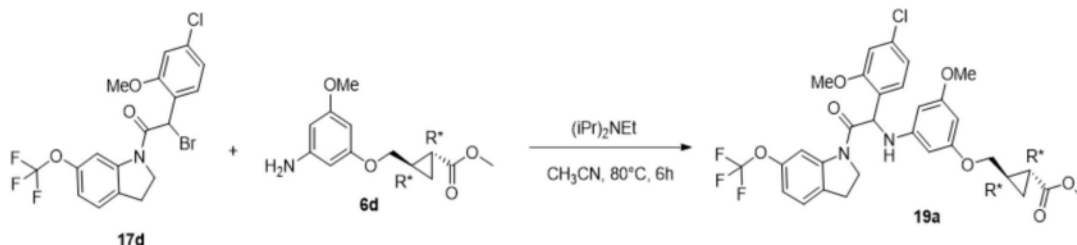
[0576]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ ppm 1.13 (d,  $J=2.5\text{Hz}$ , 6H) 1.87 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H) 3.10-3.25 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.80-3.87 (m, 2H) 3.90 (s, 3H) 4.02 (td,  $J=10.2, 7.1\text{Hz}$ , 1H) 4.33-4.41 (m, 1H) 5.59 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H) 5.73-5.76 (m, 1H) 5.84 (s, 1H) 5.87 (s, 1H) 6.44 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H) 6.97-7.08 (m, 2H) 7.14 (d,  $J=1.9\text{Hz}$ , 1H) 7.33 (dd,  $J=11.2, 8.4\text{Hz}$ , 2H) 8.02 (s, 1H) 11.92-12.44 (m, 1H)

[0577] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  3.40min,  $\text{MH}^+$  637

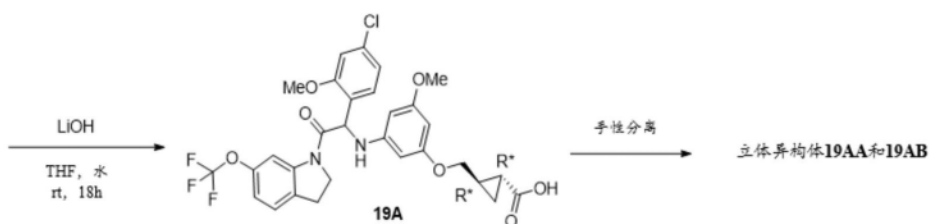
[0578]  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+28.0^\circ$  (c 0.354, DMF)

[0579] 手性SFC (方法SFC-O):  $R_t$  1.60min, 无 $\text{MH}^+$ , 手性纯度99.45%。

[0580] 实例19A: (1R\*, 2R\*)-2-((3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸(化合物19A)的合成以及分离为立体异构体19AA和19AB。



[0581]



[0582] 中间体19a的合成:

[0583] 将2-溴-2-(4-氯-2-甲氧基苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙酮17d (0.37g, 0.796mmol)、(1R\*, 2R\*)-甲基2-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基甲酸酯甲氧基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸酯6d (0.317g, 1.194mmol)和二异丙基乙胺(0.274mL, 1.593mmol)于 $\text{CH}_3\text{CN}$  (10mL)中的混合物在80℃搅拌6h。将该反应冷却至0℃并用水和冰稀释。将该混合物用EtOAc进行萃取。将有机层用水洗涤,经 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并将溶剂蒸发至干燥。将化合物通过在硅胶上快速层析(25-30 $\mu\text{m}$ , 24g, 庚烷/EtOAc 80/20)进行纯化。将纯

级分合并,并且将溶剂在减压下去除以给出(1R\*,2R\*)-甲基2-((3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸酯19a(306mg)。

[0584] 化合物19A的合成以及分离为立体异构体19AA和19AB:

[0585] 将LiOH一水合物(77mg,1.826mmol)于水(5mL)中的溶液添加至(1R\*,2R\*)-甲基2-((3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸酯19a(237mg,0.365mmol)于THF(5mL)中的溶液。将该混合物在室温下搅拌18h并在真空下浓缩。将化合物通过在硅胶上快速层析(20-45 $\mu$ m,24g,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99.5/0.5至98/2)进行纯化。将纯级分合并,并且在减压下浓缩以给出(1R\*,2R\*)-2-((3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基甲酸(化合物19A,170mg)。将立体异构体经由手性SFC(固定相:Chiralcel® OD-H 5 $\mu$ m 250x30mm,流动相:65%CO<sub>2</sub>、35%MeOH)进行分离以在从CH<sub>3</sub>CN/二异丙醚/庚烷中固化后给出第一洗脱立体异构体19AA(67mg)和第二洗脱立体异构体19AB(59mg)。

[0586] 立体异构体19AA:

[0587] <sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 0.85-0.95(m,1H) 0.99-1.08(m,1H) 1.55(dt,J=8.12,4.30Hz,1H) 1.57-1.67(m,1H) 3.10-3.25(m,2H) 3.61(s,3H) 3.64-3.73(m,1H) 3.83(br dd,J=10.40,6.31Hz,1H) 3.90(s,3H) 3.98-4.08(m,1H) 4.29-4.44(m,1H) 5.60(br d,J=8.51Hz,1H) 5.76(s,1H) 5.87(s,2H) 6.45(br d,J=8.83Hz,1H) 6.96-7.07(m,2H) 7.14(d,J=1.26Hz,1H) 7.31(d,J=8.51Hz,1H) 7.32-7.38(m,1H) 8.02(br s,1H) 12.23(br s,1H)

[0588] LC/MS(方法LC-D):R<sub>t</sub> 2.84min,MH<sup>+</sup>621

[0589]  $[\alpha]_D^{20}$ : -65.6°(c 0.25,DMF)

[0590] 手性SFC(方法SFC-P):R<sub>t</sub> 1.44min,无MH<sup>+</sup>,手性纯度100%。

[0591] 立体异构体19AB:

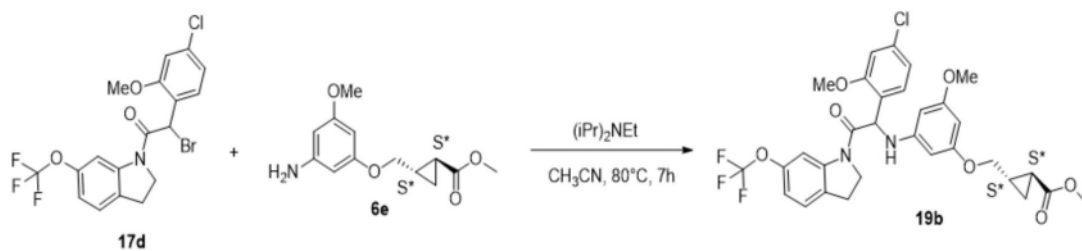
[0592] <sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 0.87-0.95(m,1H) 0.99-1.07(m,1H) 1.50-1.57(m,1H) 1.59-1.70(m,1H) 3.09-3.24(m,2H) 3.61(s,3H) 3.63-3.72(m,1H) 3.85(br dd,J=10.40,6.31Hz,1H) 3.90(s,3H) 3.99-4.09(m,1H) 4.30-4.44(m,1H) 5.60(br d,J=8.51Hz,1H) 5.76(s,1H) 5.87(s,2H) 6.45(br d,J=8.51Hz,1H) 7.00-7.09(m,2H) 7.14(d,J=1.26Hz,1H) 7.30(d,J=8.51Hz,1H) 7.34(br d,J=8.20Hz,1H) 8.02(br s,1H) 12.26(br s,1H)

[0593] LC/MS(方法LC-D):R<sub>t</sub> 2.85min,MH<sup>+</sup>621

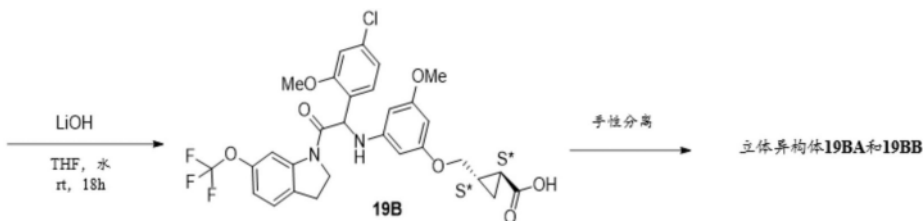
[0594]  $[\alpha]_D^{20}$ : +37.1°(c 0.28,DMF)

[0595] 手性SFC(方法SFC-P):R<sub>t</sub> 2.20min,无MH<sup>+</sup>,手性纯度99.84%。

[0596] 实例19B: (1S\*,2S\*)-2-((3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸(化合物19B)的合成以及分离为立体异构体19BA和19BB。



[0597]



[0598] 中间体19b的合成:

[0599] 将2-溴-2-(4-氯-2-甲氧基苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙酮17d (0.39g, 0.839mmol)、(1S\*, 2S\*)-甲基2-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丙基甲酸酯甲氧基苯氧基)甲基)环丙基)乙酸酯6e (0.334g, 1.259mmol) 和二异丙基乙胺 (0.289mL, 1.679mmol) 于CH<sub>3</sub>CN (10mL) 中的混合物在80℃搅拌7h。将该反应冷却至0℃并用水和冰稀释。将该混合物用EtOAc进行萃取。将有机层用水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并将溶剂蒸发至干燥。将化合物通过在硅胶上快速层析 (25-30μm, 24g, 庚烷/EtOAc 80/20) 进行纯化。将纯级分合并, 并且将溶剂在减压下去除以给出 (1S\*, 2S\*)-甲基2-((3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸酯19b (308mg)。

[0600] 化合物19B的合成以及分离为立体异构体19BA和19BB:

[0601] 将LiOH一水合物 (98mg, 2.334mmol) 于水 (5mL) 中的溶液添加至 (1S\*, 2S\*)-甲基2-((3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸酯19b (303mg, 0.467mmol) 于THF (5mL) 的溶液。将该混合物在室温下搅拌18h并然后在真空下浓缩。将化合物通过在硅胶上快速层析 (20-45μm, 24g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100/0至98/2) 进行纯化。将纯级分合并, 并且在减压下浓缩以给出 (1S\*, 2S\*)-2-((3-((1-(4-氯-2-甲氧基苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸 (化合物19B, 250mg)。将立体异构体经由手性SFC (固定相: Chiralcel<sup>®</sup> OD-H 5μm 250x30mm, 流动相: 65% CO<sub>2</sub>/35% MeOH) 进行分离以在从CH<sub>3</sub>CN/二异丙醚/庚烷中固化后给出第一洗脱立体异构体19BA (97mg) 和第二洗脱立体异构体19BB (103mg)。

[0602] 立体异构体19BA:

[0603] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.85-0.95 (m, 1H) 0.95-1.09 (m, 1H) 1.54 (dt, J=8.34, 4.42Hz, 1H) 1.55-1.66 (m, 1H) 3.09-3.25 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.66 (dd, J=10.36, 7.33Hz, 1H) 3.85 (dd, J=10.61, 6.06Hz, 1H) 3.89 (s, 3H) 3.96-4.12 (m, 1H) 4.26-4.43 (m, 1H) 5.59 (d, J=8.59Hz, 1H) 5.76 (s, 1H) 5.87 (s, 1H) 5.88 (s, 1H) 6.44 (d, J=9.09Hz, 1H) 6.93-7.06 (m, 2H) 7.14 (d, J=2.02Hz, 1H) 7.30 (d, J=8.08Hz, 1H) 7.34 (d, J=8.08Hz, 1H) 8.02 (s, 1H) 12.20 (br s, 1H)

[0604] LC/MS(方法LC-D):  $R_t$  2.84min,  $MH^+$  621

[0605]  $[\alpha]_D^{20}$ : -47.6° (c 0.271, DMF)

[0606] 手性SFC(方法SFC-P):  $R_t$  1.48min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0607] 立体异构体19BB:

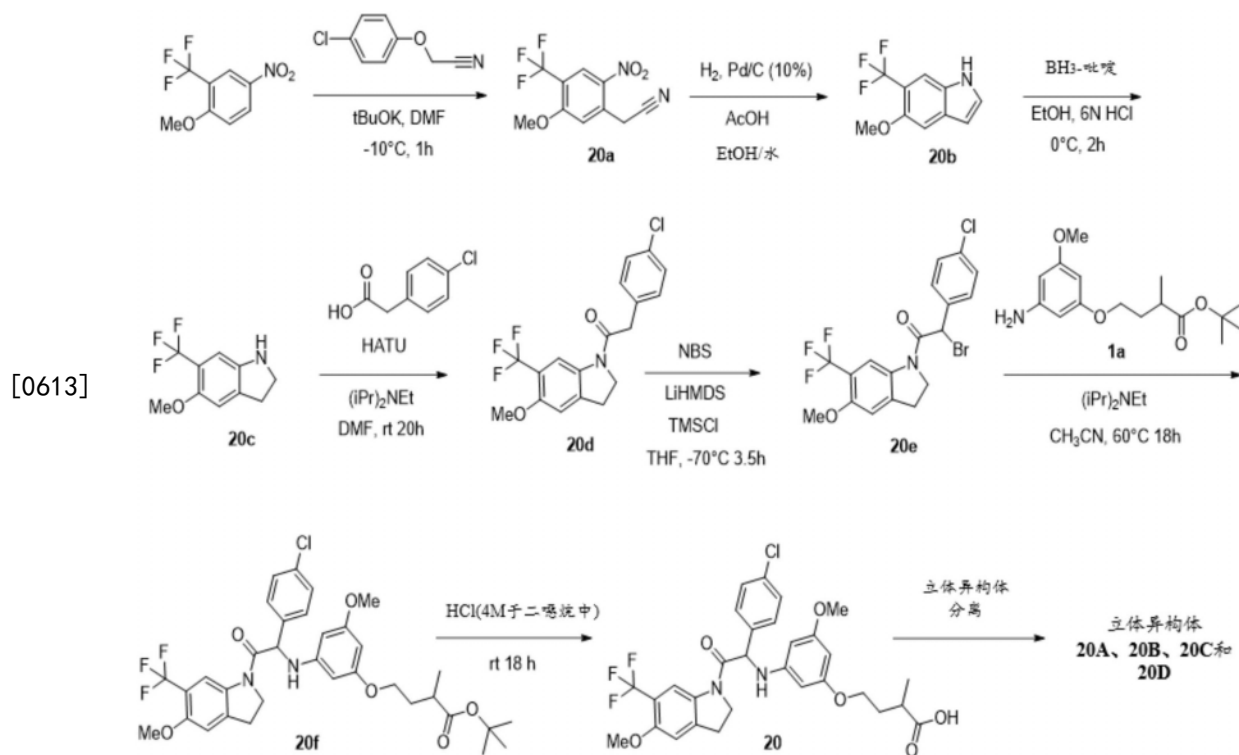
[0608]  $^1H$  NMR (400MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ ppm 0.85-0.97 (m, 1H) 0.98-1.07 (m, 1H) 1.51-1.58 (m, 1H) 1.55-1.67 (m, 1H) 3.07-3.25 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.65-3.74 (m, 1H) 3.83 (br dd,  $J=10.36, 5.81$ Hz, 1H) 3.90 (s, 3H) 3.97-4.14 (m, 1H) 4.30-4.42 (m, 1H) 5.60 (br d,  $J=8.59$ Hz, 1H) 5.76 (s, 1H) 5.87 (s, 2H) 6.44 (br d,  $J=8.59$ Hz, 1H) 6.98-7.07 (m, 2H) 7.14 (d,  $J=1.52$ Hz, 1H) 7.30 (d,  $J=8.08$ Hz, 1H) 7.33 (br d,  $J=8.08$ Hz, 1H) 8.02 (s, 1H) 12.24 (br s, 1H)

[0609] LC/MS(方法LC-D):  $R_t$  2.84min,  $MH^+$  621

[0610]  $[\alpha]_D^{20}$ : +56.8° (c 0.264, DMF)

[0611] 手性SFC(方法SFC-P):  $R_t$  2.12min, 无 $MH^+$ , 手性纯度99.59%。

[0612] 实例20: 4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-甲氧基-6-(三氟-甲基)吡啶-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2-甲基丁酸(化合物20)的合成以及分离为立体异构体20A、20B、20C和20D



[0614] 中间体20a的合成:

[0615] 将1-甲氧基-4-硝基-2-(三氟甲基)苯[CAS 654-76-2] (24.5g, 110.8mmol) 和4-氯苯氧基乙腈[CAS 3598-13-8] (20.4g, 121.9mmol) 于DMF (100mL) 中的混合物在 $-10^\circ C$ 逐滴添加超过30min至搅拌的 $tBuOK$  (27.35g, 243.7mmol) 于DMF (100mL) 中的溶液。添加后, 将紫色溶液维持在 $-10^\circ C$  1h。添加500mL的冰-水和500mL的6N  $HCl$  并将沉淀物过滤出, 用水洗涤并在减压下干燥以提供40.4g的2-(5-甲氧基-2-硝基-4-(三氟甲基)-苯基)乙腈20a (原样用于下个步骤中)。

[0616] 中间体20b的合成:

[0617] 使用10%Pd/C (15.3g)作为催化剂,将2-(5-甲氧基-2-硝基-4-(三氟甲基)苯基)乙腈20a (26g, 99.9mmol)于乙醇/水(9/1) (500mL)和AcOH(5.2mL)中的溶液在3.5巴压力下氢化1h。该反应混合物通过经**Celite**<sup>®</sup>垫过滤并将滤饼用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>和CH<sub>3</sub>OH的溶剂混合物洗涤。将合并的滤液在减压下浓缩。将残余物使用庚烷/EtOAc 80/20作为洗脱液,通过用二氧化硅60μm-200μm填充的玻璃过滤器过滤。将包含所期望的化合物的级分合并,并且将溶剂在减压下浓缩以给出5-甲氧基-6-(三氟甲基)-1H-吡啶20b (15.6g)。

[0618] 中间体20c的合成:

[0619] 在0℃,将BH<sub>3</sub>-吡啶(23.5mL, 232.4mmol)逐滴添加至5-甲氧基-6-(三氟甲基)-1H-吡啶20b (10g, 46.5mmol)于EtOH(60mL)的溶液。缓慢添加6N HCl (140mL)同时维持温度低于10℃。将该混合物在0℃搅拌2h。添加水(200mL)并将该混合物用浓NaOH水性溶液碱化至pH 8-9(保持反应温度低于20℃)。将沉淀物过滤出,用水洗涤(两次)并在减压下与甲苯共蒸发以给出5-甲氧基-6-(三氟甲基)吡啶20c (9g)。

[0620] 化合物20的合成以及分离为立体异构体20A、20B、20C和20D:

[0621] 从中间体20c开始,遵循化合物1合成所述的程序获得化合物20 (330mg)。获得4种立体异构体20A (50mg)、20B (18mg)、20C (68mg)和20D (32mg),以该洗脱顺序,经由两次随后的手性SFC分离:(固定相:**Chiralpak**<sup>®</sup> AD-H5μm 250x30mm,流动相:40%CO<sub>2</sub>、60% iPrOH)和(固定相:**Chiralcel**<sup>®</sup> OJ-H5μm 250x20mm,流动相:60%CO<sub>2</sub>、40%MeOH);接着通过在硅胶上快速层析(15-40μm, 12g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99.5/0.5至90/10)单独纯化并且随后从CH<sub>3</sub>CN/二异丙醚/庚烷固化。

[0622] 立体异构体20A:

[0623] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ<sub>ppm</sub> 1.10 (d, J=7.07Hz, 3H) 1.60-1.72 (m, 1H) 1.90-2.01 (m, 1H) 3.20-3.32 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.79-3.90 (m, 5H) 3.93-4.09 (m, 1H) 4.42-4.53 (m, 1H) 5.53 (br d, J=8.59Hz, 1H) 5.74 (s, 1H) 5.93 (br s, 1H) 5.95 (br s, 1H) 6.38 (br d, J=9.09Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (br d, J=8.08Hz, 2H) 7.55 (br d, J=8.08Hz, 2H) 8.33 (s, 1H) 12.16 (br s, 1H) (DMSO下, 1H缺失的CH CO<sub>2</sub>H)

[0624] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.95min, MH<sup>+</sup>607

[0625] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -40.9° (c 0.257, DMF)

[0626] 手性SFC (方法SFC-Q): R<sub>t</sub> 1.07min, MH<sup>+</sup>607, 手性纯度100%。

[0627] 立体异构体20B:

[0628] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ<sub>ppm</sub> 1.09 (d, J=6.94Hz, 3H) 1.69 (dq, J=13.52, 6.53Hz, 1H) 1.88-2.11 (m, 1H) 3.08-3.28 (m, 2H) 3.53-3.66 (m, 3H) 3.79-3.90 (m, 5H) 3.92-4.11 (m, 1H) 3.92-4.11 (m, 1H) 4.32-4.67 (m, 1H) 5.54 (d, J=8.51Hz, 1H) 5.75 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 5.95 (s, 1H) 6.30-6.45 (m, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d, J=8.20Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.20Hz, 2H) 8.33 (s, 1H) 12.05 (br s, 1H) (DMSO下, 1H缺失的CH CO<sub>2</sub>H)

[0629] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.95min, MH<sup>+</sup>607

[0630] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -50.0° (c 0.266, DMF)

[0631] 手性SFC (方法SFC-Q): R<sub>t</sub> 1.07min, MH<sup>+</sup>607, 手性纯度100%。

[0632] 立体异构体20C:

[0633]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.09 (br d,  $J=6.94\text{Hz}$ , 3H) 1.52-1.83 (m, 1H) 1.86-2.06 (m, 1H) 3.07-3.28 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.73-3.91 (m, 5H) 3.94-4.04 (m, 1H) 4.37-4.58 (m, 1H) 5.54 (br d,  $J=8.51\text{Hz}$ , 1H) 5.75 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 5.95 (s, 1H) 6.39 (br d,  $J=8.51\text{Hz}$ , 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (br d,  $J=8.20\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (br d,  $J=8.20\text{Hz}$ , 2H) 8.33 (s, 1H) 12.13 (br s, 1H) (DMSO下, 1H缺失的CH  $\text{CO}_2\text{H}$ )

[0634] LC/MS (方法LC-C) :  $R_t$  2.95min,  $\text{MH}^+$  607

[0635]  $[\alpha]_D^{20}$  : +26.0° (c 0.288, DMF)

[0636] 手性SFC (方法SFC-Q) :  $R_t$  1.56min,  $\text{MH}^+$  607, 手性纯度99.68%。

[0637] 立体异构体20D:

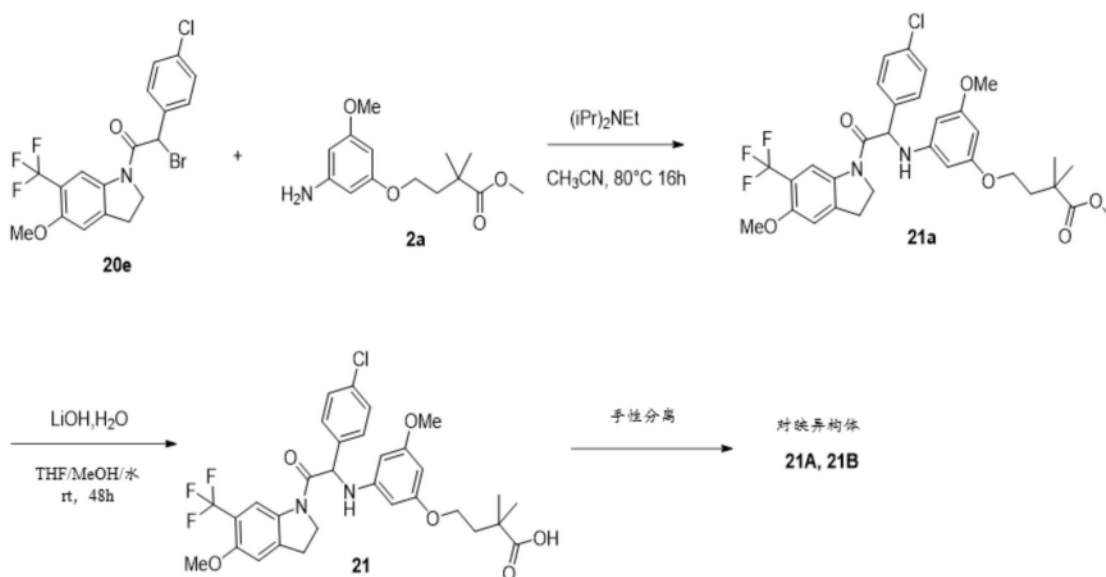
[0638]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.09 (d,  $J=7.07\text{Hz}$ , 3H) 1.60-1.75 (m, 1H) 1.85-1.99 (m, 1H) 3.11-3.27 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.77-3.91 (m, 5H) 3.93-4.05 (m, 1H) 4.44-4.56 (m, 1H) 5.54 (br d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 1H) 5.74 (s, 1H) 5.93 (br s, 1H) 5.95 (br s, 1H) 6.38 (br d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (br d,  $J=8.08\text{Hz}$ , 2H) 8.33 (s, 1H) 12.22 (br s, 1H) (DMSO下, 1H缺失的CH  $\text{CO}_2\text{H}$ )

[0639] LC/MS (方法LC-C) :  $R_t$  2.96min,  $\text{MH}^+$  607

[0640]  $[\alpha]_D^{20}$  : +57.4° (c 0.27, DMF)

[0641] 手性SFC (方法SFC-Q) :  $R_t$  2.19min,  $\text{MH}^+$  607, 手性纯度100%。

[0642] 实例21: 4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-甲氧基-6-(三氟-甲基)吡啶-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸(化合物21)的合成以及手性分离为对映异构体21A和21B



[0644] 中间体21a的合成:

[0645] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(5-甲氧基-6-(三氟甲基)吡啶-1-基)乙酮20e (904mg, 2.014mmol)、甲基4-(3-氨基-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸酯2a (700mg, 2.619mmol) 和二异丙基乙胺 (694 $\mu\text{L}$ , 4.029mmol) 于 $\text{CH}_3\text{CN}$  (10mL) 中的混合物在 $80^\circ\text{C}$ 搅拌16h。将该混合物在减压下浓缩。将残余物用 $\text{EtOAc}$ 吸收。将有机层经 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并将溶剂蒸发以给出甲基4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-甲氧基-6-(三氟甲基)吡啶-1-基)-2-氧

代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸酯21a (1.58g), 其可原样用于下个步骤中。

[0646] 化合物21的合成以及手性分离为对映异构体21A和21B:

[0647] 在0℃, 将LiOH一水合物(254mg, 6.046mmol)添加至甲基4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-甲氧基-6-(三氟甲基)吡啶-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸酯21a (1.28g, 2.015mmol) 于THF/MeOH/水(15mL)的溶液。将该混合物加温至室温并搅拌48h。将该混合物冷却至0℃并添加水。将该混合物用3N HCl酸化至pH 4-5并用EtOAc萃取。将合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并蒸发溶剂。通过在硅胶上快速层析(15-40μm, 40g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH: 100/0至98/2)进行纯化。将包含所期望的化合物的级分合并, 并且蒸发至干燥。经由反相色谱(固定相: YMC-actus Triart-C18 10μm 30x150mm, 流动相: 梯度从70%水溶液NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0.2%、30%CH<sub>3</sub>CN至0%水溶液NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0.2%、100%CH<sub>3</sub>CN)进行第二纯化。将纯级分合并, 并且在真空下浓缩以给出4-(3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-甲氧基-6-(三氟甲基)吡啶-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)-2,2-二甲基丁酸(化合物21, 455mg)。将对映异构体经由手性SFC(固定相: Chiralcel® OD-H 5μm 250x30mm, 流动相: 55% CO<sub>2</sub>、45% MeOH)以在从庚烷/二异丙醚固化后给出第一洗脱对映异构体21A (106mg) 和第二洗脱对映异构体21B (103mg)。

[0648] 化合物21:

[0649] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.13 (d, J=3.8Hz, 6H) 1.87 (t, J=7.3Hz, 2H) 3.14-3.30 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.84 (m, 5H) 3.98 (td, J=10.4, 7.3Hz, 1H) 4.51 (td, J=10.3, 6.1Hz, 1H) 5.52 (d, J=8.5Hz, 1H) 5.73 (t, J=1.9Hz, 1H) 5.92 (s, 1H) 5.94 (s, 1H) 6.39 (d, J=8.5Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.33 (s, 1H) 12.23 (br s, 1H)

[0650] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 3.19min, MH<sup>+</sup>621

[0651] 对映异构体21A:

[0652] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.08-1.15 (m, 6H) 1.85 (t, J=7.3Hz, 2H) 3.13-3.30 (m, 2H) 3.55-3.65 (m, 3H) 3.80-3.89 (m, 5H) 3.98 (td, J=10.4, 7.3Hz, 1H) 4.52 (td, J=10.4, 6.3Hz, 1H) 5.54 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.73 (t, J=1.9Hz, 1H) 5.92 (s, 1H) 5.95 (s, 1H) 6.38 (d, J=8.5Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.56 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.34 (s, 1H)

[0653] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 3.21min, MH<sup>+</sup>621

[0654] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -41.7° (c 0.254, DMF)

[0655] 手性SFC (方法SFC-H): R<sub>t</sub> 1.23min, MH<sup>+</sup>621, 手性纯度100%。

[0656] 对映异构体21B:

[0657] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.08-1.16 (m, 6H) 1.86 (t, J=7.1Hz, 2H) 3.15-3.29 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.80-3.90 (m, 5H) 3.98 (td, J=10.2, 7.3Hz, 1H) 4.52 (td, J=10.4, 6.3Hz, 1H) 5.53 (d, J=8.5Hz, 1H) 5.70-5.75 (m, 1H) 5.92 (s, 1H) 5.95 (s, 1H) 6.38 (d, J=8.5Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.56 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.34 (s, 1H)

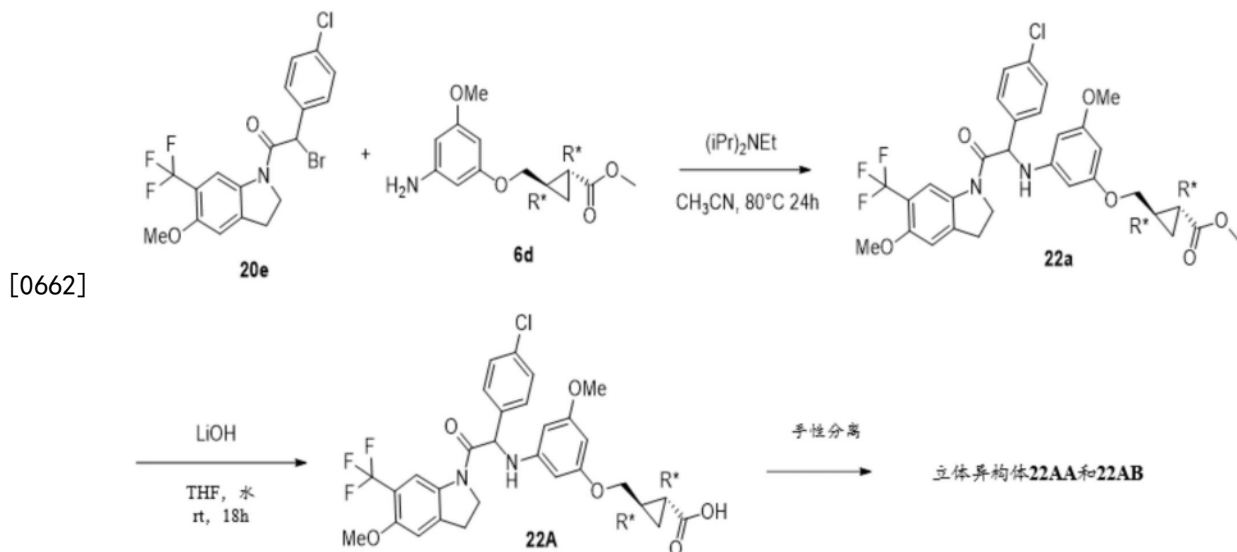
[0658] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 3.21min, MH<sup>+</sup>621

[0659] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +44.0° (c 0.275, DMF)

[0660] 手性SFC (方法SFC-H): R<sub>t</sub> 2.38min, MH<sup>+</sup>621, 手性纯度100%。

[0661] 实例22A: (1R\*, 2R\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-甲氧基-6-(三氟甲基)吡啶

啉-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸(化合物22A)的合成以及分离为立体异构体22AA和22AB



[0663] 化合物22A的合成以及分离为立体异构体22AA和22AB:

[0664] 从中间体20e合成化合物22A(284mg),使用化合物6A合成所述的程序。将两种立体异构体经由手性SFC(固定相: **Chiralcel**<sup>®</sup> OD-H 5 $\mu$ m 250x30mm,流动相:50%CO<sub>2</sub>、50%EtOH)进行分离以在从戊烷/二异丙醚固化后给出第一洗脱立体异构体22AA(79mg)和第二洗脱立体异构体22AB(74mg)。

[0665] 立体异构体22AA:

[0666] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 0.85-0.93 (m, 1H) 1.00-1.08 (m, 1H) 1.54 (dt, J=8.12, 4.30Hz, 1H) 1.60-1.68 (m, 1H) 3.12-3.26 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.68 (dd, J=10.40, 7.57Hz, 1H) 3.79-3.90 (m, 4H) 3.93-4.05 (m, 1H) 4.50 (td, J=10.40, 6.31Hz, 1H) 5.55 (d, J=8.51Hz, 1H) 5.75 (s, 1H) 5.94 (s, 1H) 5.96 (s, 1H) 6.39 (d, J=8.83Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d, J=8.51Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.51Hz, 2H) 8.33 (s, 1H) 12.23 (br s, 1H)

[0667] LC/MS(方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.80min, MH<sup>+</sup>605

[0668] [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -75.0° (c 0.3, DMF)

[0669] 手性SFC(方法SFC-R): R<sub>t</sub> 0.86min, 无MH<sup>+</sup>, 手性纯度100%。

[0670] 立体异构体22AB:

[0671] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 0.88 (br t, J=9.30Hz, 1H) 1.02 (dt, J=8.43, 4.45Hz, 1H) 1.47-1.58 (m, 1H) 1.59-1.68 (m, 1H) 3.13-3.28 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.64-3.72 (m, 1H) 3.84 (s, 4H) 3.92-4.06 (m, 1H) 4.50 (td, J=10.32, 6.15Hz, 1H) 5.55 (d, J=8.83Hz, 1H) 5.75 (s, 1H) 5.95 (s, 1H) 5.96 (s, 1H) 6.39 (d, J=8.83Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d, J=8.51Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.51Hz, 2H) 8.33 (s, 1H) 12.08 (br s, 1H)

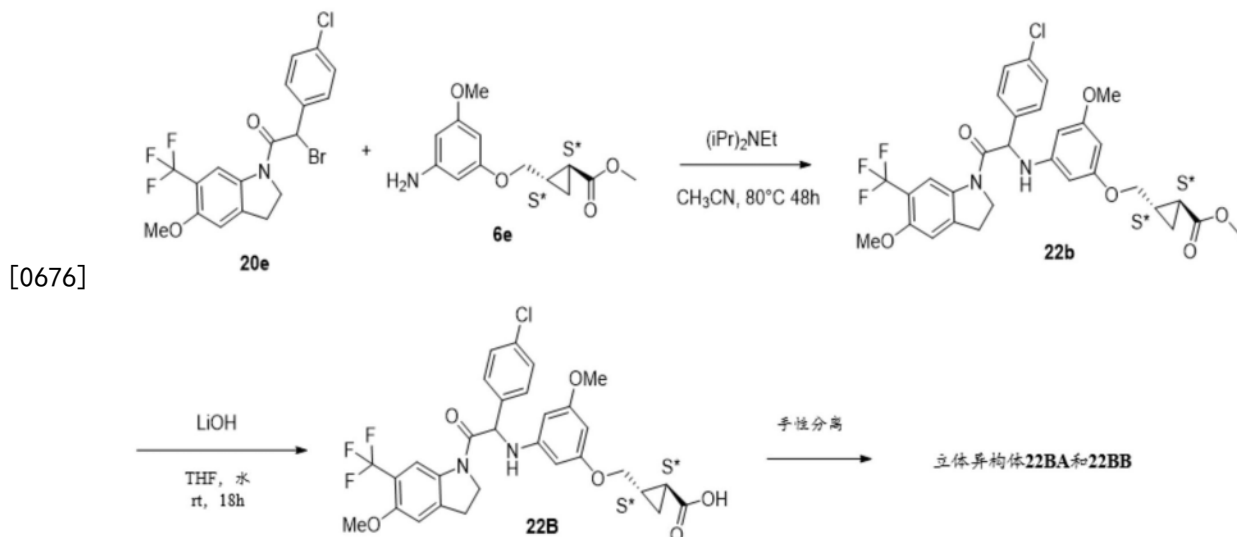
[0672] LC/MS(方法LC-D): R<sub>t</sub> 2.69min, MH<sup>+</sup>605

[0673] [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +10.0° (c 0.281, DMF)

[0674] 手性SFC(方法SFC-R): R<sub>t</sub> 1.84min, 无MH<sup>+</sup>, 手性纯度100%。

[0675] 实例22B: (1S\*, 2S\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-甲氧基-6-(三氟甲基)吡啶啉-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸(化合物22B)的合成以

及分离为立体异构体22BA和22BB



[0677] 化合物22B的合成以及分离为立体异构体22BA和22BB:

[0678] 从中间体20e合成化合物22B(257mg),使用化合物6B合成所述的程序。将两种立体异构体经由手性SFC(固定相: **Chiralcel**<sup>®</sup> OD-H 5 $\mu$ m 250x30mm,流动相:50%CO<sub>2</sub>、50%EtOH)以在从戊烷/二异丙醚固化后给出第一洗脱立体异构体22BA(49mg) 和第二洗脱立体异构体22BB(61mg)。

[0679] 立体异构体22BA:

[0680] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 0.83-1.00 (m, 1H) 0.98-1.09 (m, 1H) 1.54 (dt, J=8.35, 4.33Hz, 1H) 1.58-1.70 (m, 1H) 3.13-3.28 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.68 (dd, J=10.09, 7.57Hz, 1H) 3.78-3.89 (m, 4H) 3.95-4.05 (m, 1H) 4.50 (td, J=10.25, 6.31Hz, 1H) 5.55 (d, J=8.83Hz, 1H) 5.75 (s, 1H) 5.95 (br s, 1H) 5.96 (br s, 1H) 6.39 (br d, J=8.83Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d, J=8.51Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.51Hz, 2H) 8.33 (s, 1H) 12.24 (br s, 1H)

[0681] LC/MS(方法LC-D): R<sub>t</sub> 2.68min, MH<sup>+</sup>605

[0682] [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -9.3° (c 0.291, DMF)

[0683] 手性SFC(方法SFC-S): R<sub>t</sub> 1.48min, MH<sup>+</sup>605, 手性纯度100%。

[0684] 立体异构体22BB:

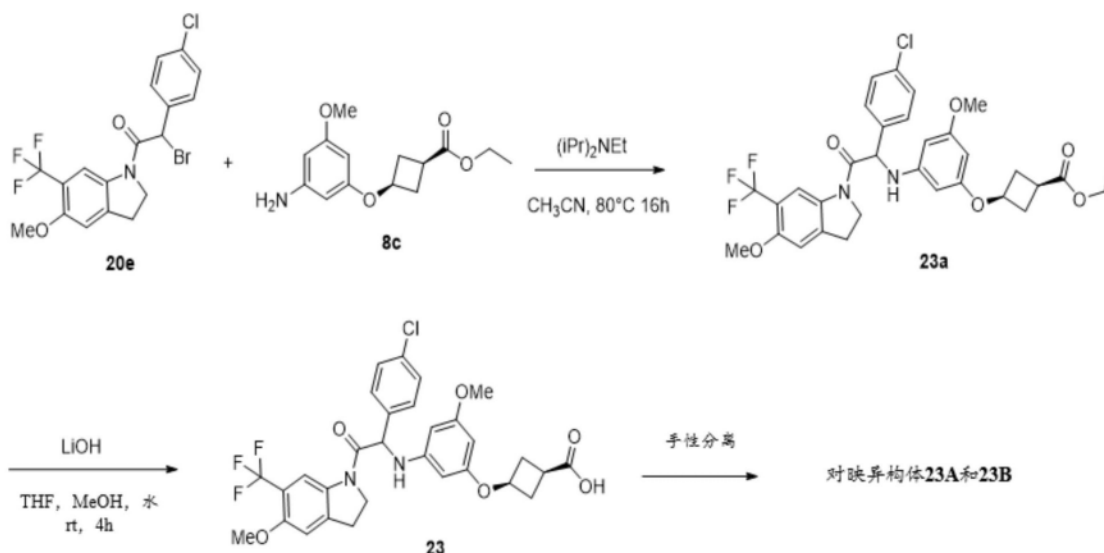
[0685] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 0.82-0.95 (m, 1H) 1.04-1.06 (m, 1H) 1.55 (dt, J=8.28, 4.22Hz, 1H) 1.58-1.68 (m, 1H) 3.13-3.28 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.68 (dd, J=10.40, 7.25Hz, 1H) 3.81-3.88 (m, 4H) 3.95-4.02 (m, 1H) 4.46-4.55 (m, 1H) 5.54 (d, J=8.83Hz, 1H) 5.75 (s, 1H) 5.94 (s, 1H) 5.96 (s, 1H) 6.39 (d, J=9.14Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d, J=8.51Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.51Hz, 2H) 8.33 (s, 1H) 12.20 (br s, 1H)

[0686] LC/MS(方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.80min, MH<sup>+</sup>605

[0687] [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +80.0° (c 0.275, DMF)

[0688] 手性SFC(方法SFC-S): R<sub>t</sub> 3.12min, MH<sup>+</sup>605, 手性纯度99.55%。

[0689] 实例23: (1s, 3s)-3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-甲氧基-6-(三氟甲基)吡啶-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)环丁烯-甲酸(化合物23)的合成以及手性分离为对映异构体23A和23B



[0690]

[0691] 化合物23的合成以及手性分离为对映异构体23A和23B:

[0692] 从中间体20e合成化合物23A (280mg), 使用化合物8合成所述的程序。将两种对映异构体经由手性SFC(固定相:**Chiralcel**<sup>®</sup> OD-H 5 $\mu$ m 250x30mm, 流动相:45%CO<sub>2</sub>、55%EtOH)分离以在从庚烷/二异丙醚固化后给出第一洗脱对映异构体23A (60mg) 和第二洗脱对映异构体23B (71mg)。

[0693] 化合物23:

[0694] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.02-2.15 (m, 2H) 2.58-2.65 (m, 2H) 2.66-2.75 (m, 1H) 3.14-3.29 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.84 (s, 3H) 3.98 (td, J=10.4, 7.3Hz, 1H) 4.42-4.57 (m, 2H) 5.51 (d, J=8.5Hz, 1H) 5.65 (t, J=1.9Hz, 1H) 5.86 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 6.42 (d, J=8.5Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.34 (s, 1H) 12.11-12.40 (m, 1H)

[0695] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.76min, MH<sup>+</sup>605

[0696] 对映异构体23A:

[0697] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.02-2.15 (m, 2H) 2.57-2.65 (m, 2H) 2.66-2.75 (m, 1H) 3.14-3.28 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.84 (s, 3H) 3.98 (td, J=10.3, 7.1Hz, 1H) 4.42-4.56 (m, 2H) 5.51 (d, J=8.5Hz, 1H) 5.65 (t, J=2.0Hz, 1H) 5.86 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 6.42 (d, J=8.5Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.34 (s, 1H) 12.02-12.49 (m, 1H)

[0698] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.75min, MH<sup>+</sup>605[0699] [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -38.1° (c 0.307, DMF)[0700] 手性SFC (方法SFC-R): R<sub>t</sub> 0.84min, MH<sup>+</sup>605, 手性纯度100%。

[0701] 对映异构体23B:

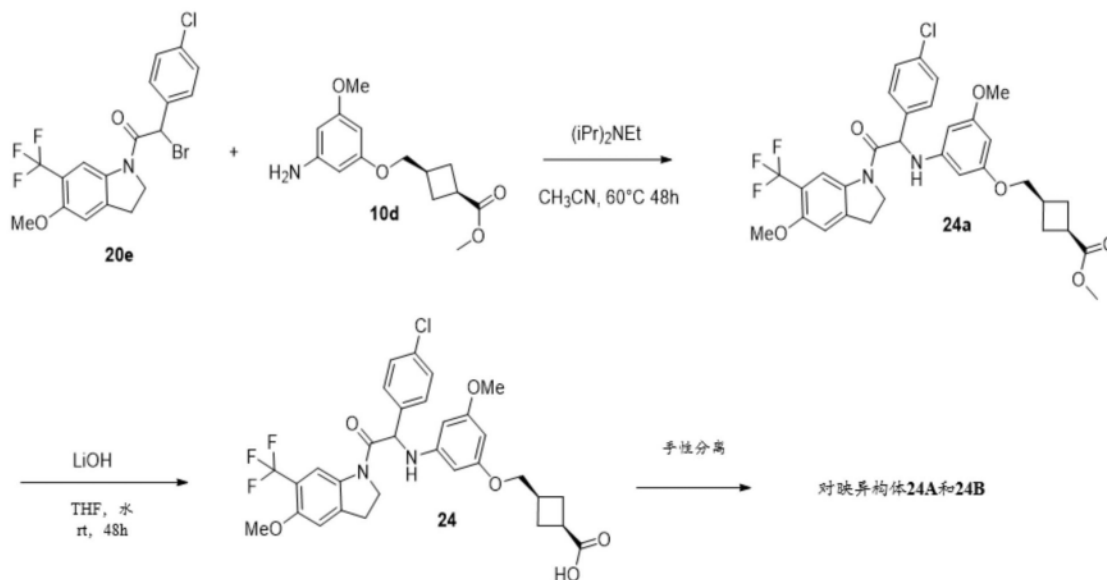
[0702] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.02-2.15 (m, 2H) 2.56-2.75 (m, 3H) 3.14-3.27 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.84 (s, 3H) 3.93-4.04 (m, 1H) 4.43-4.57 (m, 2H) 5.51 (br d, J=8.5Hz, 1H) 5.65 (s, 1H) 5.86 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 6.42 (br d, J=8.5Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.44 (br d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (br d, J=8.5Hz, 2H) 8.34 (s, 1H) 12.07-12.47 (m, 1H)

[0703] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.76min, MH<sup>+</sup>605

[0704]  $[\alpha]_D^{20}$ : +36.9° (c 0.309, DMF)

[0705] 手性SFC(方法SFC-R):  $R_t$  1.86min,  $MH^+$  605, 手性纯度100%。

[0706] **实例24**: (1s, 3s) -3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-甲氧基-6-(三氟甲基)吡啶-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丁基甲酸(化合物24)的合成以及手性分离为对映异构体24A和24B



[0707]

[0708] 化合物24的合成以及手性分离为对映异构体24A和24B:

[0709] 从中间体20e合成化合物24 (550mg), 使用化合物10合成所述的程序。将两种对映异构体经由手性SFC(固定相: **Whelk**<sup>®</sup> 01 (S, S)  $5\mu m$  250x21.1mm, 流动相: 50%  $CO_2$ 、50% MeOH) 分离以在从  $Et_2O$  固化后给出第一洗脱对映异构体24A (190mg) 和第二洗脱对映异构体24B (177mg)。

[0710] 化合物24:

[0711]  $^1H$  NMR (500MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ ppm 1.93 (br q,  $J=9.77Hz$ , 2H) 2.11-2.32 (m, 2H) 2.53-2.60 (m, 1H) 2.97 (quin,  $J=8.91Hz$ , 1H) 3.16-3.30 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.74-3.82 (m, 2H) 3.85 (s, 3H) 3.96-4.06 (m, 1H) 4.51 (td,  $J=10.25, 5.99Hz$ , 1H) 5.55 (d,  $J=8.83Hz$ , 1H) 5.74 (s, 1H) 5.94 (br s, 2H) 6.39 (d,  $J=8.51Hz$ , 1H) 7.23 (s, 1H) 7.44 (d,  $J=8.51Hz$ , 2H) 7.55 (d,  $J=8.51Hz$ , 2H) 8.34 (s, 1H) 12.07 (br s, 1H)

[0712] LC/MS(方法LC-C):  $R_t$  2.91min,  $MH^+$  619

[0713] 对映异构体24A:

[0714]  $^1H$  NMR (500MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ ppm 1.87-2.02 (m, 2H) 2.15-2.30 (m, 2H) 2.52-2.59 (m, 1H) 2.95 (qt  $J=8.83Hz$ , 1H) 3.07-3.29 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.77 (br d,  $J=6.31Hz$ , 2H) 3.84 (s, 3H) 3.95-4.07 (m, 1H) 4.42-4.56 (m, 1H) 5.54 (d,  $J=8.83Hz$ , 1H) 5.74 (t,  $J=2.05Hz$ , 1H) 5.81-6.01 (m, 2H) 6.38 (d,  $J=8.83Hz$ , 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d,  $J=8.51Hz$ , 2H) 7.55 (d,  $J=8.51Hz$ , 2H) 8.33 (s, 1H) 12.11 (br s, 1H)

[0715] LC/MS(方法LC-C):  $R_t$  2.89min,  $MH^+$  619

[0716]  $[\alpha]_D^{20}$ : -41.5° (c 0.224, DMF)

[0717] 手性SFC(方法SFC-T):  $R_t$  1.81min, 无  $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0718] 对映异构体24B:

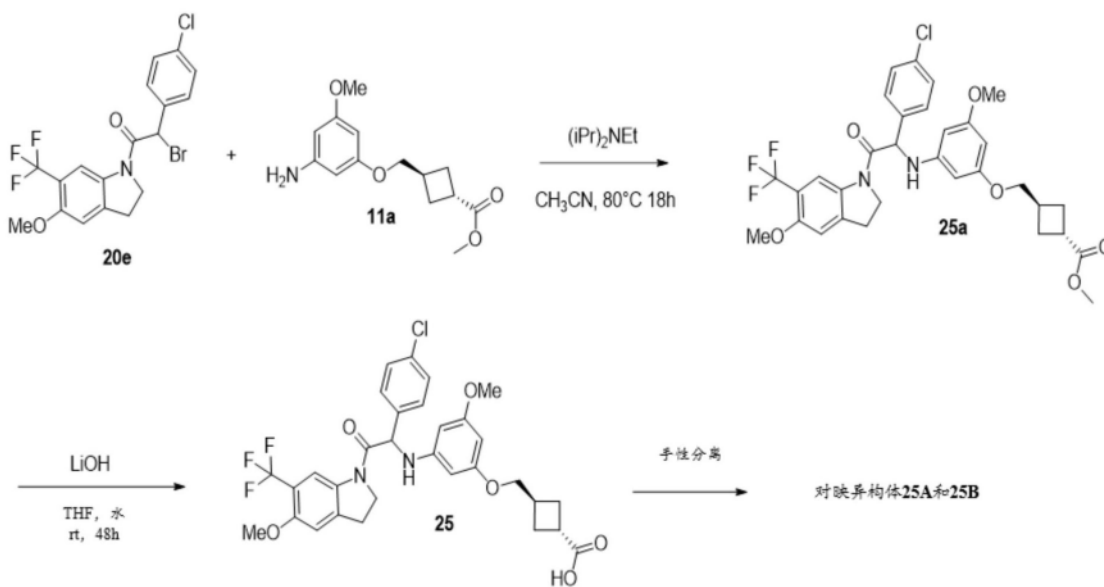
[0719]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.91 (q,  $J=9.35\text{Hz}$ , 2H) 2.17-2.26 (m, 2H) 2.53-2.61 (m, 1H) 2.94 (quin,  $J=8.91\text{Hz}$ , 1H) 3.13-3.27 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.72-3.79 (m, 2H) 3.84 (s, 3H) 3.90-4.06 (m, 1H) 4.50 (td,  $J=10.32, 6.46\text{Hz}$ , 1H) 5.54 (d,  $J=8.83\text{Hz}$ , 1H) 5.72-5.75 (m, 1H) 5.91-5.95 (m, 2H) 6.38 (d,  $J=8.83\text{Hz}$ , 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d,  $J=8.51\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (d,  $J=8.20\text{Hz}$ , 2H) 8.33 (s, 1H) 12.07 (br s, 1H)

[0720] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.89min,  $\text{MH}^+$  619

[0721]  $[\alpha]_D^{20}$ : +36.6° (c 0.232, DMF)

[0722] 手性SFC (方法SFC-T):  $R_t$  2.26min, 无 $\text{MH}^+$ , 手性纯度98.71%。

[0723] 实例25: (1r, 3r)-3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-甲氧基-6-(三氟甲基)吲哚啉-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丁基甲酸(化合物25)的合成以及手性分离为对映异构体25A和25B



[0725] 化合物25的合成以及手性分离为对映异构体25A和25B:

[0726] 从中间体20e合成化合物25 (310mg), 使用化合物11合成所述的程序。将两种对映异构体经由手性SFC (固定相: **Whelk**<sup>®</sup> 01 (S, S)  $5\mu\text{m}$  250x21.1mm, 流动相: 50%  $\text{CO}_2$ 、50% MeOH) 分离以在从 $\text{Et}_2\text{O}$ /戊烷固化后给出第一洗脱对映异构体25A (94mg) 和第二洗脱对映异构体25B (105mg)。

[0727] 化合物25:

[0728]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.80-2.04 (m, 2H) 2.22-2.31 (m, 2H) 2.56-2.64 (m, 1H) 3.09 (br qt,  $J=7.33\text{Hz}$ , 1H) 3.14-3.28 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.84 (s, 3H) 3.87 (d,  $J=6.57\text{Hz}$ , 2H) 3.93-4.06 (m, 1H) 4.45-4.56 (m, 1H) 5.54 (d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 1H) 5.77 (s, 1H) 5.94 (s, 1H) 5.96 (s, 1H) 6.38 (d,  $J=9.09\text{Hz}$ , 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 2H) 7.55 (d,  $J=8.59\text{Hz}$ , 2H) 8.33 (s, 1H) 12.10 (br s, 1H)

[0729] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.87min,  $\text{MH}^+$  619

[0730] 对映异构体25A:

[0731]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.91-2.03 (m, 2H) 2.18-2.29 (m, 2H) 2.55-2.62 (m,

<sup>1</sup>H) 3.01-3.11 (m, 1H) 3.14-3.28 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.84 (s, 3H) 3.86 (d, J=7.07Hz, 2H) 3.93-4.05 (m, 1H) 4.42-4.58 (m, 1H) 5.54 (d, J=8.59Hz, 1H) 5.77 (s, 1H) 5.92-5.95 (m, 1H) 5.95-5.98 (m, 1H) 6.38 (d, J=8.59Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d, J=8.08Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.08Hz, 2H) 8.33 (s, 1H)

[0732] LC/MS(方法LC-C):  $R_t$  2.90min,  $MH^+$  619

[0733]  $[\alpha]_D^{20}$ : -41.1° (c 0.28, DMF)

[0734] 手性SFC(方法SFC-T):  $R_t$  1.91min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0735] 对映异构体25B:

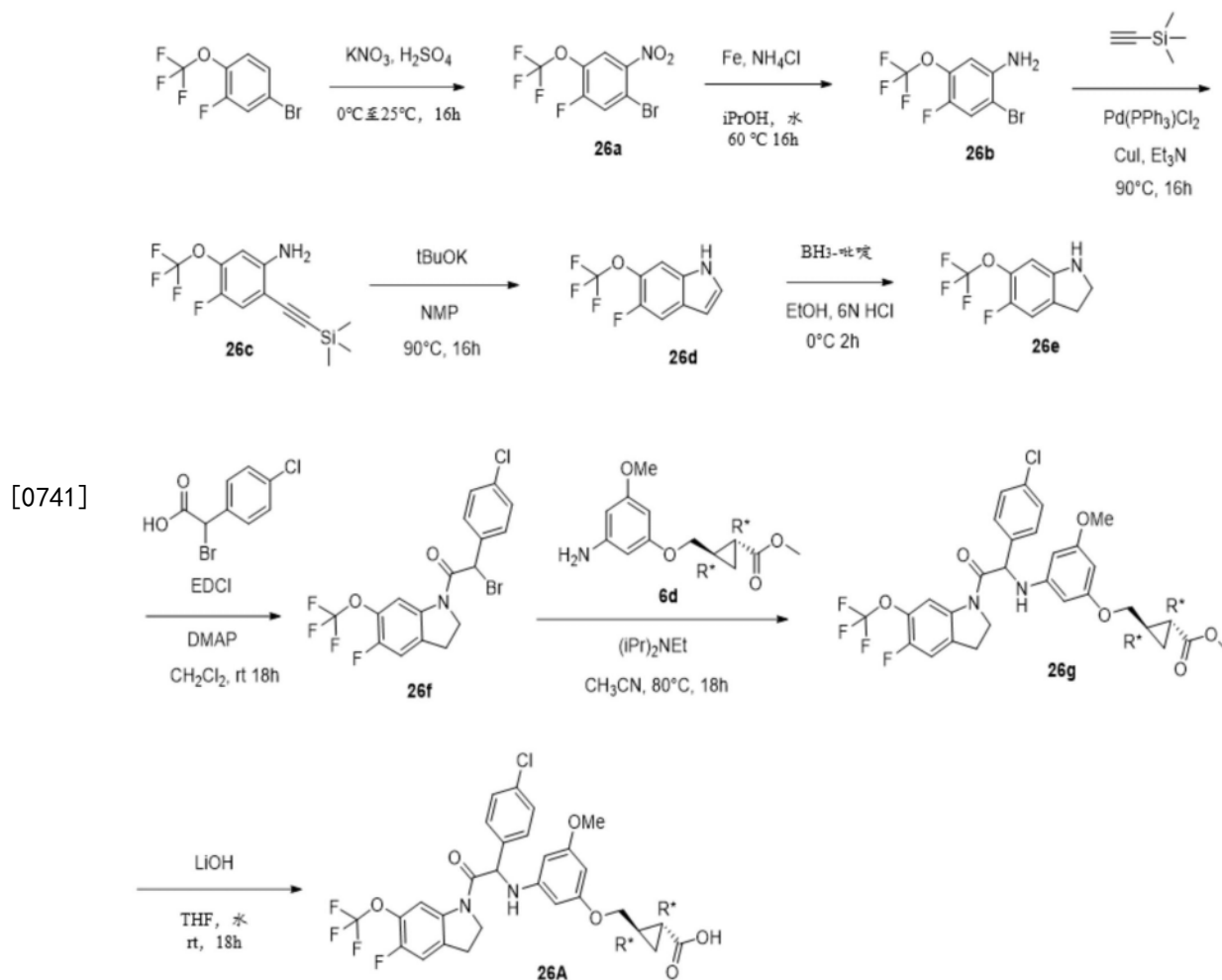
[0736] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.90-2.04 (m, 2H) 2.19-2.29 (m, 2H) 2.55-2.60 (m, 1H) 3.00-3.30 (m, 3H) 3.62 (s, 3H) 3.84 (s, 3H) 3.86 (br d, J=7.07Hz, 2H) 3.94-4.04 (m, 1H) 4.45-4.55 (m, 1H) 5.54 (d, J=8.59Hz, 1H) 5.77 (s, 1H) 5.88-5.95 (m, 1H) 5.95-5.98 (m, 1H) 6.38 (br d, J=8.59Hz, 1H) 7.23 (s, 1H) 7.43 (d, J=8.59Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.08Hz, 2H) 8.33 (s, 1H)

[0737] LC/MS(方法LC-C):  $R_t$  2.90min,  $MH^+$  619

[0738]  $[\alpha]_D^{20}$ : +40.6° (c 0.32, DMF)

[0739] 手性SFC(方法SFC-T):  $R_t$  2.48min, 无 $MH^+$ , 手性纯度98.68%。

[0740] 实例26A: (1R\*, 2R\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-氟-6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸(化合物26A)的合成



[0742] 中间体26a的合成:

[0743] 用冰浴将4-溴-2-氟-1-(三氟甲氧基)苯[CAS 105529-58-6] (98.7g, 381.1mmol) 于浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%, 200mL) 中的溶液冷却至0℃。将KNO<sub>3</sub> (43.0g, 425.3mmol) 分部分添加。在添加之后, 去除冰浴并将混合物在室温搅拌16h。伴随搅拌将该反应混合物倾倒入冰水 (2L) 中。将该混合物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x500mL) 萃取。将合并的有机层用NaHCO<sub>3</sub>的饱和水溶液、盐水 (500mL) 洗涤 (2x500mL), 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩以提供1-溴-5-氟-2-硝基-4-(三氟甲氧基) 苯26a (117.2g), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0744] 中间体26b的合成:

[0745] 在N<sub>2</sub>-气氛下, 向1-溴-5-氟-2-硝基-4-(三氟甲氧基) 苯26a (70.0g, 230mmol) 和NH<sub>4</sub>Cl (123.2g, 2.30mol) 于iPrOH (1L) 以及水 (330mL) 中的搅拌悬浮液添加还原铁粉末 (64.3g, 1.15mol)。将该反应混合物在60℃搅拌16h。将该反应混合物用EtOAc (1L) 稀释并经Celite<sup>®</sup>过滤。将滤液在减压下浓缩。将残余物在EtOAc (1L) 与水 (800mL) 之间分配。将各层分离并将有机相用盐水 (1L) 洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物通过在减压下蒸馏进行纯化 (油泵, b.p. 60℃至64℃)。获得呈黄色油的2-溴-4-氟-5-(三氟甲氧基) 苯胺26b (47.3g)。

[0746] 中间体26c的合成:

[0747] 向2-溴-4-氟-5-(三氟甲氧基) 苯胺26b (18.4g, 67.2mmol) 和乙炔基(三甲基) 硅烷 (19.9g, 202.4mmol, 28.00mL) 于Et<sub>3</sub>N (300mL) 中的混合物中添加CuI (1.28g, 6.72mmol) 和Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.40g, 3.42mmol)。将该反应混合物在N<sub>2</sub>-气氛下在90℃加热16h。在冷却至室温之后, 将该混合物用MTBE (300mL) 稀释并通过Celite<sup>®</sup>过滤。将滤液在减压下浓缩。将残余物通过在硅胶上快速层析 (ISCO<sup>®</sup>, 220g SepaFlash<sup>®</sup> 二氧化硅快速柱, 洗脱液: 在石油醚中0至5% EtOAc的梯度, 100mL/min) 进行纯化。获得呈棕色油的4-氟-5-(三氟甲氧基)-2-((三甲基甲硅烷基) 乙炔基) 苯胺26c (16.1g, 90%纯度)。

[0748] 中间体26d的合成:

[0749] 在N<sub>2</sub>-气氛下, 将4-氟-5-(三氟甲氧基)-2-((三甲基甲硅烷基) 乙炔基) 苯胺26c (16.1g, 55.3mmol) 和tBuOK (18.6g, 165.8mmol) 于NMP (220.00mL) 中的混合物在90℃加热16h。在冷却至室温之后, 将反应混合物倾倒入冰水 (1L) 中并用MTBE (3x300mL) 萃取。将合并的有机相用水 (2x200mL)、盐水 (300mL) 洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩。将残余物通过在硅胶上快速层析 (ISCO<sup>®</sup>, 120g SepaFlash<sup>®</sup> 二氧化硅快速柱, 洗脱液: 在石油醚中0至5% EtOAc的梯度, 流速=85mL/min) 进行纯化以得到呈深绿色油的5-氟-6-(三氟甲氧基)-1H-吡啶26d (11g) 产物。将残余物与另一个级分合并 (总量=17.2g) 并通过在减压下蒸馏 (油泵, b.p. 60℃至64℃) 进一步纯化以提供呈无色油的5-氟-6-(三氟甲氧基)-1H-吡啶26d (14.7g, 95%纯度)。

[0750] 中间体26e的合成:

[0751] 在0℃, 将BH<sub>3</sub>-吡啶 (1.2mL, 11mmol) 缓慢添加至5-氟-6-(三氟甲氧基)-1H-吡啶26d (500mg, 2.3mmol) 于EtOH (3.2mL) 中的溶液。缓慢添加6N HCl (7.6mL) 同时维持温度低于10℃。将该混合物在0℃搅拌2h。添加水 (100mL) 并将该混合物用浓NaOH碱化至pH 14 (温度保持低于20℃)。添加CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>。将有机层分离, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并将溶剂在减压下蒸发以给

出5-氟-6-(三氟甲氧基)吡啶26e (550mg)。将该化合物用于下一步骤中而无需进一步纯化。

[0752] 中间体26f的合成:

[0753] 向2-溴-2-(4-氯苯基)乙酸[CAS 3381-73-5] (0.61g, 2.4mmol)、5-氟-6-(三氟甲氧基)吡啶26e (0.55g, 2.2mmol, 纯度89%) 和DMAP (0.027g, 0.22mmol) 于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (14mL) 中的混合物添加EDCI (0.51g, 2.7mmol)。将该混合物在室温下搅拌18h。将该混合物用10% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液稀释。倾析各层。将有机层用水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并将溶剂在减压下浓缩以给出2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(5-氟-6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基) 乙酮26f (1.1g, 紫色油)。将该化合物用于下一步骤中而无需进一步纯化。

[0754] 化合物26A的合成:

[0755] 从中间体26f合成化合物26A (135mg), 使用化合物6A合成所述的程序。

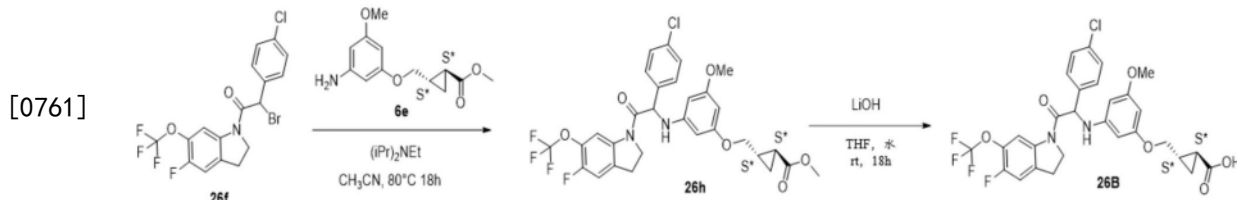
[0756] 化合物26A:

[0757] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.87-0.94 (m, 1H) 1.01-1.07 (m, 1H) 1.55 (dq, J=8.55, 4.40Hz, 1H) 1.60-1.68 (m, 1H) 3.12-3.30 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.68 (dd, J=10.40, 7.57Hz, 1H) 3.85 (dd, J=10.40, 6.31Hz, 1H) 4.01-4.08 (m, 1H) 4.48-4.55 (m, 1H) 5.57 (d, J=8.83Hz, 1H) 5.75 (s, 1H) 5.94 (br s, 1H) 5.95 (br s, 1H) 6.46 (br d, J=8.83Hz, 1H) 7.40-7.48 (m, 3H) 7.54 (d, J=8.51Hz, 2H) 8.16 (br d, J=6.94Hz, 1H) 12.22 (br s, 1H)

[0758] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.97min, MH<sup>+</sup>609

[0759] MP=120°C。

[0760] 实例26B: (1S\*, 2S\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-氟-6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸(化合物26B)的合成



[0762] 化合物26B的合成:

[0763] 从中间体26f合成化合物26B (150mg), 使用化合物6B合成所述的程序。

[0764] 化合物26B:

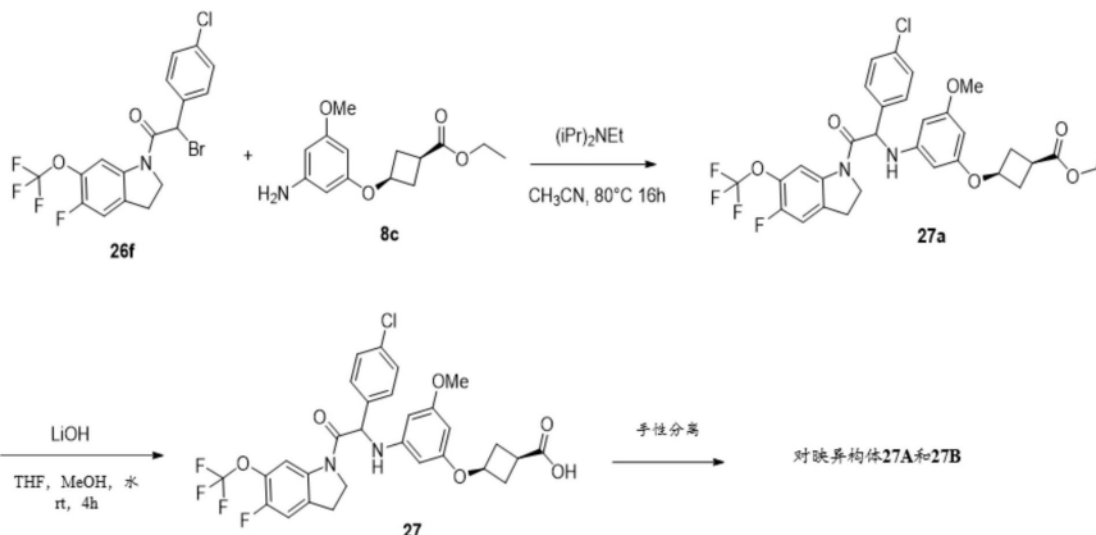
[0765] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.86-0.94 (m, 1H) 1.04 (dq, J=8.20, 4.31Hz, 1H) 1.55 (dq, J=8.43, 4.33Hz, 1H) 1.58-1.67 (m, 1H) 3.12-3.30 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.68 (dd, J=10.40, 7.57Hz, 1H) 3.85 (dd, J=10.25, 6.15Hz, 1H) 4.04 (q, J=8.72Hz, 1H) 4.47-4.55 (m, 1H) 5.57 (d, J=8.83Hz, 1H) 5.75 (s, 1H) 5.94 (br s, 1H) 5.95 (br s, 1H) 6.46 (br d, J=8.51Hz, 1H) 7.40-7.48 (m, 3H) 7.54 (d, J=8.51Hz, 2H) 8.16 (brd, J=6.94Hz, 1H) 12.21 (br s, 1H)

[0766] LC/MS (方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.97min, MH<sup>+</sup>609

[0767] MP=126°C。

[0768] 实例27: ((1s, 3s)-3-(3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-氟-6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)环丁烯-甲酸(化合物27)的合成以及分离为对映

异构体27A和27B



[0769]

[0770] 化合物27的合成以及手性分离为对映异构体27A和27B:

[0771] 从中间体26f合成化合物27(175mg),使用化合物8合成所述的程序。将两种对映异构体经由手性SFC(固定相: **Chiralcel**<sup>®</sup> OD-H 5 $\mu$ m 250x20mm,流动相:55%CO<sub>2</sub>、45%EtOH)分离以在庚烷/二异丙醚从固化后给出第一洗脱对映异构体27A(33mg)和第二洗脱对映异构体27B(35mg)。

[0772] 化合物27:

[0773] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.01-2.17 (m, 2H) 2.57-2.65 (m, 2H) 2.66-2.77 (m, 1H) 3.08-3.28 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.99-4.10 (m, 1H) 4.43-4.57 (m, 2H) 5.54 (d, J=8.5Hz, 1H) 5.66 (s, 1H) 5.86 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 6.49 (br d, J=8.5Hz, 1H) 7.45 (d, J=8.5Hz, 3H) 7.55 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.16 (br d, J=6.9Hz, 1H) 12.06-12.47 (m, 1H)

[0774] LC/MS(方法LC-C):R<sub>t</sub> 2.88min, MH<sup>+</sup>609

[0775] 对映异构体27A:

[0776] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.00-2.12 (m, 2H) 2.57-2.65 (m, 3H) 3.11-3.25 (m, 2H) 3.60 (s, 3H) 4.04 (br d, J=7.3Hz, 1H) 4.40-4.48 (m, 1H) 4.48-4.57 (m, 1H) 5.53 (br d, J=8.5Hz, 1H) 5.65 (s, 1H) 5.85 (s, 1H) 5.92 (s, 1H) 6.48 (br d, J=8.5Hz, 1H) 7.44 (br d, J=8.5Hz, 3H) 7.54 (br d, J=8.5Hz, 2H) 8.16 (br d, J=6.9Hz, 1H)

[0777] LC/MS(方法LC-D):R<sub>t</sub> 2.79min, MH<sup>+</sup>609

[0778] [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -40.5° (c 0.252, DMF)

[0779] 手性SFC(方法SFC-I):R<sub>t</sub> 1.18min, 无MH<sup>+</sup>, 手性纯度100%。

[0780] 对映异构体27B:

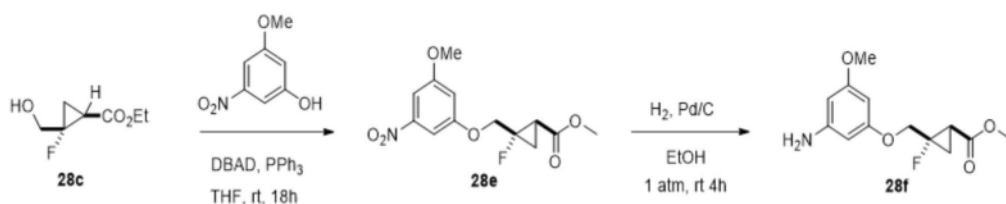
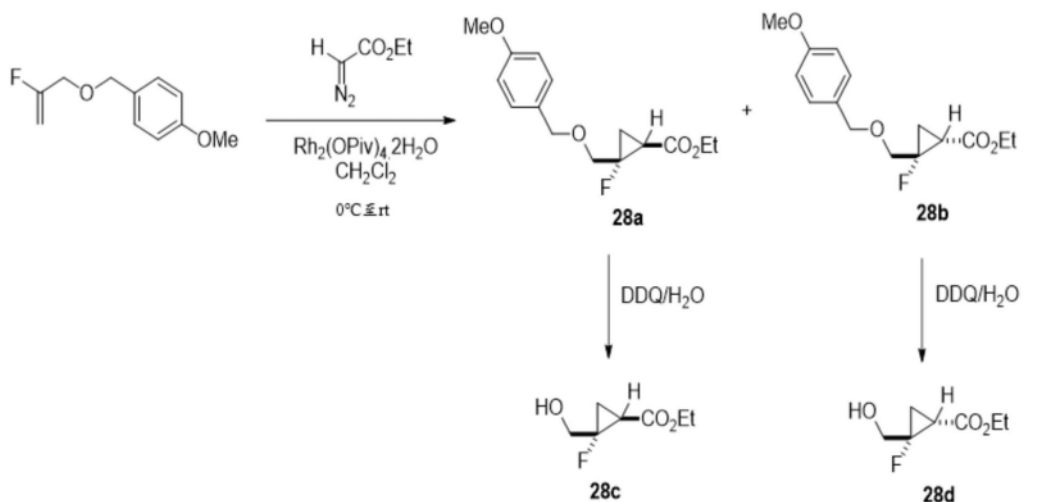
[0781] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.00-2.13 (m, 2H) 2.54-2.67 (m, 3H) 3.10-3.27 (m, 2H) 3.60 (s, 3H) 3.99-4.10 (m, 1H) 4.40-4.48 (m, 1H) 4.48-4.56 (m, 1H) 5.54 (br d, J=8.5Hz, 1H) 5.66 (s, 1H) 5.86 (s, 1H) 5.92 (s, 1H) 6.48 (br d, J=8.5Hz, 1H) 7.44 (br d, J=8.5Hz, 3H) 7.54 (br d, J=8.5Hz, 2H) 8.16 (br d, J=6.9Hz, 1H)

[0782] LC/MS(方法LC-D):R<sub>t</sub> 2.79min, MH<sup>+</sup>609

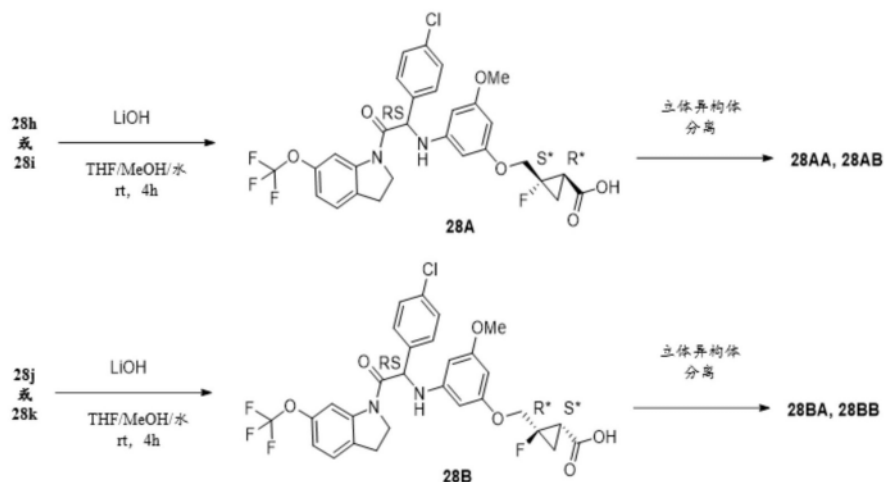
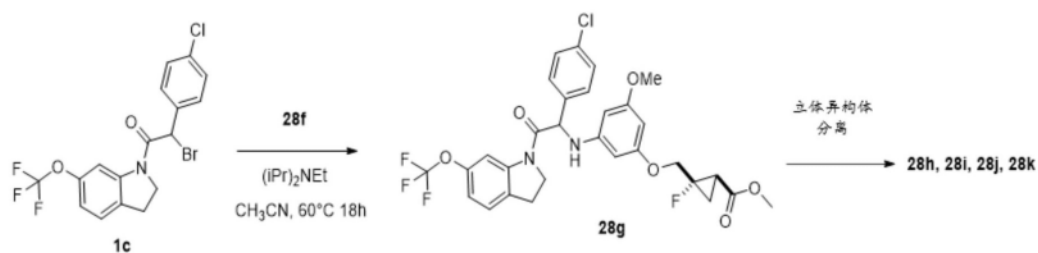
[0783] [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +37.5° (c 0.333, DMF)

[0784] 手性SFC(方法SFC-I):  $R_t$  2.56min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0785] 实例28: (1R\*,2S\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-2-氟环丙基甲酸(化合物28A)的合成以及分离为立体异构体28AA和28AB以及(1S\*,2R\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-2-氟环丙基甲酸(化合物28B)的合成以及分离为立体异构体28BA和28BB



[0786]



[0787] 中间体28a和28b的合成:

[0788] 将 $\text{Rh}_2(\text{OPiv})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (2mol%, 0.599mmol, 387mg) 添加至1-(((2-氟烯丙基)氧基)甲基)-4-甲氧基苯[CAS 1673563-84-2] (29.9mmol) 于无水 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (86mL) 的溶液中, 该溶液于配备有气泡室的三颈圆底烧瓶中。冷却溶液至0℃后, 使用微型泵缓慢添加可商购的重氮乙酰乙酸酯83%于二氯甲烷 (3当量, 89.85mmol) 于 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (86mL) 中的溶液, 流速为24mL/h。将该混合物在室温下搅拌直至该反应完成 (TLC和 $^{19}\text{F}$  NMR分析所示) 并在减压下浓缩。将粗残余物通过硅胶柱层析 (石油醚/EtOAc, 9/1至7/3) 进行纯化以给出产率60%的非对映异构体的混合物 (dr 53:47)。将非对映异构体通过硅胶柱层析 (石油醚/EtOAc, 从100/0至80/20) 分离以给出反式-乙基2-氟-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)甲基)环丙基甲酸酯28a和顺式-乙基2-氟-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)甲基)环丙基甲酸酯28b。

[0789] 中间体28c的合成:

[0790] 在0℃, 将DDQ (1.5当量, 27.9mmol, 6.33g) 添加至反式-乙基2-氟-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)甲基)环丙基甲酸酯28a (1当量, 18.6mmol, 5.25g) 于二氯甲烷 (340mL) 和水 (30mL) 中的溶液。将该混合物搅拌20h。添加 $\text{NaHCO}_3$ 饱和水溶液并将该混合物搅拌30分钟。将水层用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 萃取三次。将合并的有机层用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 溶液和盐水洗涤。将有机层在减压下蒸发并将粗残余物通过在硅胶上层析 (石油醚/EtOAc, 9/1至6/4) 进行纯化, 以给出反式-乙基2-氟-2-(羟基甲基)-环丙基甲酸酯28c (876mg)。

[0791] 中间体28d的合成:

[0792] 在0℃, 将DDQ (1.5当量, 15.8mmol, 3.6g) 添加至顺式-乙基2-氟-2-(((4-甲氧基苄基)氧基)甲基)环丙基甲酸酯28b (1当量, 10.6mmol, 2.98g) 于二氯甲烷 (193mL) 和水 (17mL) 中的溶液。将该混合物搅拌20h。添加 $\text{NaHCO}_3$ 饱和水溶液并将该混合物搅拌30分钟。将水层用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 萃取三次。将合并的有机层用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 溶液和盐水洗涤。将有机层在减压下蒸发并将粗残余物通过在硅胶上层析 (石油醚/EtOAc, 9/1至6/4) 进行纯化以给出顺式-乙基2-氟-2-(羟基甲基)环丙烷-甲酸酯 (876mg)。

[0793] 中间体28e的合成:

[0794] 在 $\text{N}_2$ 流下, 在10℃, 将二-叔丁基偶氮羧酸酯 (948mg, 4.118mmol) 分批添加至3-甲氧基-5-硝基苯酚 [7145-49-5] (633mg, 3.743mmol)、反式-乙基2-氟-2-(羟基甲基)环丙基甲酸酯28c (607mg, 3.743mmol) 和 $\text{PPh}_3$  (1.08g, 4.118mmol) 于THF (30mL) 的溶液。将该反应在室温下在 $\text{N}_2$ 中搅拌18h。将溶液在减压下浓缩。将粗残余物通过硅胶柱层析 (15-40 $\mu\text{m}$ , 80g, 庚烷/EtOAc从95/5至80/20) 进行纯化。将纯级分合并, 并且在减压下浓缩以给出反式-甲基2-氟-2-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)环丙烷-甲酸酯28e (930mg)。

[0795] 中间体28f的合成:

[0796] 将包含催化量的10%Pd/C (275mg, 0.259mmol) 的反式-甲基2-氟-2-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸酯28e (810mg, 2.586mmol) 于EtOH (20mL) 和THF (10mL) 中的溶液在室温下在 $\text{H}_2$ 大气压力下氢化4h。将催化剂通过经 Celite® 的短垫过滤去除, 并且将滤饼用EtOH冲洗若干次。将合并的滤液在减压下蒸发以给出反式-甲基2-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)-甲基)-2-氟环丙基甲酸酯28f (710mg), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0797] 中间体28g的合成以及分离为立体异构体28h、28i、28j和28k:

[0798] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c (927mg,

2.133mmol)、反式-甲基2-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)-2-氟环丙基甲酸酯28f (725mg, 2.559mmol) 和二异丙基乙胺(735 $\mu$ L, 4.265mmol) 于CH<sub>3</sub>CN(4mL) 中的混合物在80℃ 搅拌12h。在减压下浓缩溶剂。将残余物用EtOAc吸收。将有机层用1N HCl、水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将该残余物通过硅胶柱层析(15-40 $\mu$ m, 40g, 庚烷/EtOAc从95/5至80/20) 进行纯化。将纯级分合并, 并且在减压下蒸发以给出甲基2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基) 吡啶啉-1-基) 乙基) 氨基)-5-甲氧基苯氧基) 甲基)-反式-2-氟环丙基甲酸酯28g (550mg)。将四种立体异构体经由手性SFC(固定相: Chiralcel® OD-H 5 $\mu$ m 250x20mm, 流动相: 70%CO<sub>2</sub>、30%EtOH) 以给出28h (118mg)、28i (114mg)、28j (158mg) 和28k (165mg)。

[0799] 化合物28A的合成以及分离为立体异构体28AA和28AB:

[0800] 将LiOH一水合物(23.3mg, 0.556mmol) 逐滴添加至立体异构体28h (118mg, 0.185mmol) 于THF/MeOH/水(1/1/1) (2mL) 的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌4h。将该混合物用水和冰稀释, 用1N HCl缓慢酸化并用EtOAc萃取。将合并的有机层用水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤, 并在减压下浓缩以在从庚烷/二异丙醚结晶后给出(1R\*, 2S\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基) 吡啶啉-1-基) 乙基) 氨基)-5-甲氧基苯氧基) 甲基)-2-氟环丙基甲酸28A (110mg) (该反应期间, 中央手性中心发生完整外消旋)。

[0801] 从立体异构体28i开始类似地获得第二批次的化合物28A (100mg)。将两个批次合并。将两种立体异构体经由手性SFC(固定相: Chiralcel® OD-H 5 $\mu$ m 250x20mm, 流动相: 65% CO<sub>2</sub>、35%EtOH) 分离以给出第一洗脱立体异构体 (94mg) 和第二洗脱立体异构体 (80mg)。从二异丙醚固化第一洗脱立体异构体以给出立体异构体28AA (47mg)。从庚烷固化第二洗脱立体异构体以给出立体异构体28AB (37mg)。

[0802] 化合物28B的合成以及分离为立体异构体28BA和28BB:

[0803] 将LiOH一水合物(31.2mg, 0.744mmol) 逐滴添加至立体异构体28j (158mg, 0.248mmol) 于THF/MeOH/水(1/1/1) (2mL) 的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌4h。将该混合物用水和冰稀释, 用1N HCl缓慢酸化并用EtOAc萃取。将合并的有机层用水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤, 并在减压下浓缩以在从MeOH/水结晶后给出(1S\*, 2R\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)-吡啶啉-1-基) 乙基) 氨基)-5-甲氧基苯氧基) 甲基)-2-氟环丙烷-甲酸28B (100mg) (该反应期间, 中央手性中心发生完整外消旋)。

[0804] 从立体异构体28k开始类似地获得第二批次的28A (105mg)。

[0805] 将两种立体异构体经由手性SFC(固定相: Chiralcel® OD-H 5 $\mu$ m 250x30mm, 流动相: 60%CO<sub>2</sub>、30%MeOH) 分离以给出第一洗脱立体异构体 (88mg) 和第二洗脱立体异构体 (78mg)。从庚烷/二异丙醚固化第一洗脱立体异构体以给出立体异构体28BA (54mg)。从庚烷/二异丙醚固化第二洗脱立体异构体以给出立体异构体28BB (60mg)。

[0806] 立体异构体28AA:

[0807] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 1.37 (dt, J=11.7, 7.1Hz, 1H) 1.62-1.76 (m, 1H) 2.18-2.31 (m, 1H) 3.07-3.23 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.98-4.10 (m, 1H) 4.15-4.29 (m, 1H) 4.43 (dd, J=18.9, 12.0Hz, 1H) 4.48-4.57 (m, 1H) 5.58 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.78 (s, 1H) 5.97 (s, 1H) 5.99 (s, 1H) 6.49 (br d, J=8.8Hz, 1H) 7.01 (br d, J=7.9Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.2Hz, 1H) 7.44

(d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.2Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.71 (br s, 1H)

[0808] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.83min,  $MH^+$  609

[0809]  $[\alpha]_D^{20}$ : -43.3° (c 0.3, DMF)

[0810] 手性SFC (方法SFC-F):  $R_t$  1.98min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0811] 立体异构体28AB:

[0812]  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.32-1.42 (m, 1H) 1.62-1.75 (m, 1H) 2.24 (dt, J=18.5, 9.2Hz, 1H) 3.08-3.25 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.99-4.08 (m, 1H) 4.13-4.26 (m, 1H) 4.39-4.57 (m, 2H) 5.58 (br d, J=8.8Hz, 1H) 5.78 (s, 1H) 5.96 (br s, 1H) 5.99 (br s, 1H) 6.49 (br d, J=8.8Hz, 1H) 7.01 (br d, J=7.6Hz, 1H) 7.33 (br d, J=8.2Hz, 1H) 7.44 (br d, J=8.2Hz, 2H) 7.55 (br d, J=8.2Hz, 2H) 8.03 (br s, 1H) 12.71 (br s, 1H)

[0813] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  2.84min,  $MH^+$  609

[0814]  $[\alpha]_D^{20}$ : +52.5° (c 0.301, DMF)

[0815] 手性SFC (方法SFC-F):  $R_t$  3.29min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0816] 立体异构体28BA:

[0817]  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.32-1.42 (m, 1H) 1.62-1.72 (m, 1H) 2.18-2.29 (m, 1H) 3.08-3.23 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 4.04 (td, J=10.4, 7.3Hz, 1H) 4.15-4.26 (m, 1H) 4.45 (dd, J=18.8, 11.8Hz, 1H) 4.52 (td, J=10.5, 6.1Hz, 1H) 5.58 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.78 (t, J=2.0Hz, 1H) 5.96 (s, 1H) 5.99 (s, 1H) 6.49 (d, J=9.1Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.2, 1.6Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.2Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.76 (br s, 1H)

[0818] LC/MS (方法LC-D):  $R_t$  2.71min,  $MH^+$  609

[0819]  $[\alpha]_D^{20}$ : -57.1° (c 0.31, DMF)

[0820] 手性SFC (方法SFC-F):  $R_t$  2.26min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0821] 立体异构体28BB:

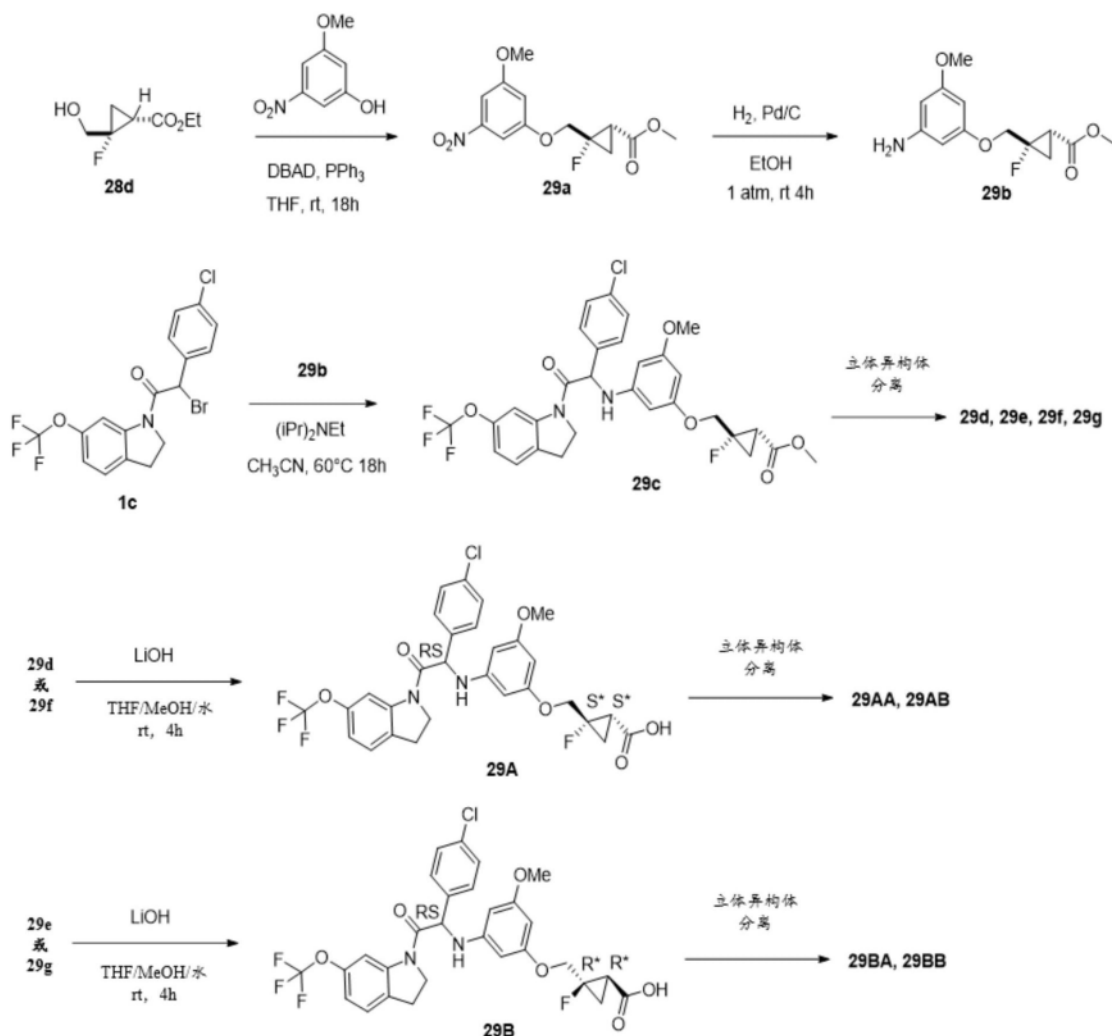
[0822]  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.35 (dt, J=11.7, 7.1Hz, 1H) 1.59-1.71 (m, 1H) 2.17-2.28 (m, 1H) 3.08-3.25 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 4.04 (td, J=10.5, 7.1Hz, 1H) 4.17-4.29 (m, 1H) 4.43 (dd, J=19.5, 11.7Hz, 1H) 4.52 (td, J=10.4, 6.3Hz, 1H) 5.59 (d, J=9.1Hz, 1H) 5.78 (t, J=1.9Hz, 1H) 5.96 (s, 1H) 5.99 (s, 1H) 6.49 (d, J=8.8Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.0, 1.4Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.2Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.2Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.79 (br s, 1H)

[0823] LC/MS (方法LC-D):  $R_t$  2.70min,  $MH^+$  609

[0824]  $[\alpha]_D^{20}$ : +38.1° (c 0.289, DMF)

[0825] 手性SFC (方法SFC-F):  $R_t$  3.68min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0826] 实例29: (1S\*, 2S\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-2-氟环丙基甲酸 (化合物29A) 的合成以及分离为立体异构体29AA和29AB以及 (1R\*, 2R\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-2-氟环丙基甲酸 (化合物29B) 的合成以及分离为立体异构体29BA和29BB



[0827]

[0828] 中间体29a的合成:

[0829] 在N<sub>2</sub>流下,在10℃,将二-叔丁基偶氮羧酸酯(750mg,3.256mmol)分批添加至3-甲氧基-5-硝基苯酚[7145-49-5](501mg,2.96mmol)、顺式-乙基2-氟-2-(羟基甲基)环丙基甲酸酯28d(480mg,2.96mmol)和PPh<sub>3</sub>(854mg,3.256mmol)于THF(23mL)的溶液。将该反应在室温下在N<sub>2</sub>中搅拌18h。将溶液在减压下浓缩。将粗残余物通过硅胶柱层析(15-40μm,80g,庚烷/EtOAc70/30)进行纯化。将纯级分合并,并且在减压下浓缩以给出顺式-甲基2-氟-2-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)环丙基甲酸酯29a(660mg)。

[0830] 中间体29b的合成:

[0831] 将包含催化量的10%Pd/C(207mg,0.195mmol)的顺式-甲基2-氟-2-((3-甲氧基-5-硝基苯氧基)甲基)-环丙基甲酸酯29a(610mg,1.947mmol)于EtOH(15mL)和THF(7.5mL)中的溶液在室温下在H<sub>2</sub>大气压力下氢化4h。将催化剂通过经Celite®的短垫过滤去除,并且将滤饼用EtOH冲洗若干次。将合并的滤液蒸发以给出顺式-甲基2-((3-氨基-5-甲氧基苯氧基)甲基)-2-氟环丙烷-甲酸酯29b(560mg),其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0832] 中间体29c的合成以及分离为立体异构体29d、29e、29f和29g:

[0833] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(716mg,1.647mmol)、顺式-甲基2-((3-氨基-5-甲氧基-苯氧基)甲基)-2-氟环丙基甲酸酯29b(560mg,1.977mmol)和二异丙基乙胺(568μL,3.295mmol)于CH<sub>3</sub>CN(3.5mL)中的混合物在80

℃搅拌12h。在减压下浓缩溶剂。将残余物用EtOAc吸收。将有机层用1N HCl、水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩。将该残余物通过硅胶柱层析(15-40μm,40g,庚烷/EtOAc从95/5至80/20)进行纯化。将纯级分合并,并且在减压下蒸发以给出甲基2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-顺式-2-氟环丙基甲酸酯29c(500mg)。将四种立体异构体经由手性SFC(固定相:Chiralpak<sup>®</sup> AD-H 5μm 250x30mm,流动相:65%CO<sub>2</sub>、35%EtOH)分离以给出29d+29e(250mg)、29f(125mg)、和29g(114mg)的混合物。将29d+29e的混合物经由手性SFC(固定相:Chiralpak<sup>®</sup> AD-H 5μm 250x30mm,流动相:75%CO<sub>2</sub>、25%EtOH)进一步分离以给出29d(88mg)和29e(66mg)。化合物29A的合成以及分离为立体异构体29AA和29AB:

[0834] 将LiOH一水合物(17.4mg,0.414mmol)逐滴添加至立体异构体29d(88mg,0.138mmol)于THF/MeOH/水(1/1/1)(1mL)中的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌4h。将该混合物用水和冰稀释,用1N HCl缓慢酸化并用EtOAc萃取。将合并的有机层用水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩以给出(1S\*,2S\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-2-氟环丙基甲酸29A(80mg)(该反应期间,中央手性中心发生完整外消旋)。

[0835] 从立体异构体29f开始类似地获得第二批次的29A(90mg)。将两个批次合并。将两种立体异构体经由手性SFC(固定相:Chiralcel<sup>®</sup> OD-H 5μm 250x20mm,流动相:65%CO<sub>2</sub>、35%MeOH)分离并通过在硅胶上快速层析(15-40μm,4g,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99/1)进一步纯化以给出第一洗脱立体异构体(43mg)和第二洗脱立体异构体(40mg)。将第一洗脱立体异构体在庚烷/二异丙醚中固化以给出立体异构体29AA(29mg)。将第二洗脱立体异构体在庚烷/二异丙醚中固化以给出立体异构体29AB(27mg)。

[0836] 化合物29B的合成以及分离为立体异构体29BA和29BB:

[0837] 将LiOH一水合物(13mg,0.311mmol)逐滴添加至立体异构体29e(66mg,0.104mmol)于THF/MeOH/水(1/1/1)(1mL)的溶液。将该反应混合物在室温下搅拌4h。将该混合物用水和冰稀释,用1N HCl缓慢酸化并用EtOAc萃取。将合并的有机层用水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩以在从MeOH/水结晶后给出(1R\*,2R\*)-2-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-2-氟环丙烷-甲酸29B(60mg)(该反应期间,中央手性中心发生完整外消旋)。

[0838] 从立体异构体29g开始类似地获得第二批次的29A(100mg)。将两个批次合并。将两种立体异构体经由手性SFC(固定相:Chiralcel<sup>®</sup> OD-H 5μm 250x20mm,流动相:70%CO<sub>2</sub>、30%MeOH)分离并通过在硅胶上快速层析(15-40μm,4g,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99/1)进一步纯化以给出第一洗脱立体异构体(38mg)和第二洗脱立体异构体(31mg)。将第一洗脱立体异构体在庚烷/二异丙醚中固化以给出立体异构体29BA(24mg)。将第二洗脱立体异构体在庚烷/二异丙醚中固化以给出立体异构体29BB(20mg)。

[0839] 立体异构体29AA:

[0840] <sup>1</sup>H NMR(500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.30-1.37(m,1H) 1.69(dt,J=19.7,6.9Hz,1H) 1.98-2.06(m,1H) 3.08-3.24(m,2H) 3.63(s,3H) 4.01-4.09(m,1H) 4.10-4.23(m,2H) 4.48-4.57(m,1H) 5.59(d,J=8.8Hz,1H) 5.81(s,1H) 5.99(br d,J=5.7Hz,2H) 6.49(br d,J=

8.8Hz, 1H) 7.01 (br d, J=7.9Hz, 1H) 7.33 (d, J=7.9Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.2Hz, 2H) 8.03 (br s, 1H) 12.58 (br s, 1H)

[0841] LC/MS (方法LC-D):  $R_t$  2.67min,  $MH^+$  609

[0842]  $[\alpha]_D^{20}$ : -15.7° (c 0.242, DMF)

[0843] 手性SFC (方法SFC-P):  $R_t$  2.53min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0844] 立体异构体29AB:

[0845]  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.29-1.38 (m, 1H) 1.69 (dt, J=19.5, 6.5Hz, 1H) 1.97-2.10 (m, 1H) 3.08-3.25 (m, 2H) 3.63 (s, 3H) 4.00-4.10 (m, 1H) 4.10-4.23 (m, 2H) 4.52 (br d, J=6.0Hz, 1H) 5.60 (br d, J=8.8Hz, 1H) 5.82 (br s, 1H) 6.00 (br d, J=6.6Hz, 2H) 6.50 (br d, J=8.5Hz, 1H) 7.01 (br d, J=7.6Hz, 1H) 7.34 (br d, J=7.9Hz, 1H) 7.44 (br d, J=8.2Hz, 2H) 7.55 (br d, J=8.2Hz, 2H) 8.04 (br s, 1H) 12.58 (br s, 1H)

[0846] LC/MS (方法LC-D):  $R_t$  2.67min,  $MH^+$  609

[0847]  $[\alpha]_D^{20}$ : +77.4° (c 0.323, DMF)

[0848] 手性SFC (方法SFC-P):  $R_t$  4.47 min, 无 $MH^+$ , 手性纯度99.20%。

[0849] 立体异构体29BA:

[0850]  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.33 (td, J=9.8, 6.6Hz, 1H) 1.69 (dt, J=19.9, 6.9Hz, 1H) 2.03 (ddd, J=9.5, 7.1, 3.0Hz, 1H) 3.08-3.25 (m, 2H) 3.63 (s, 3H) 4.05 (td, J=10.3, 7.1Hz, 1H) 4.10-4.23 (m, 2H) 4.52 (td, J=10.2, 6.3Hz, 1H) 5.59 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.80-5.84 (m, 1H) 6.00 (br d, J=7.6Hz, 2H) 6.49 (br d, J=8.8Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.0, 1.4Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.2Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.2Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.58 (br s, 1H)

[0851] LC/MS (方法LC-D):  $R_t$  2.67min,  $MH^+$  609

[0852]  $[\alpha]_D^{20}$ : -74.2° (c 0.302, DMF)

[0853] 手性SFC (方法SFC-P):  $R_t$  2.37min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0854] 立体异构体29BB:

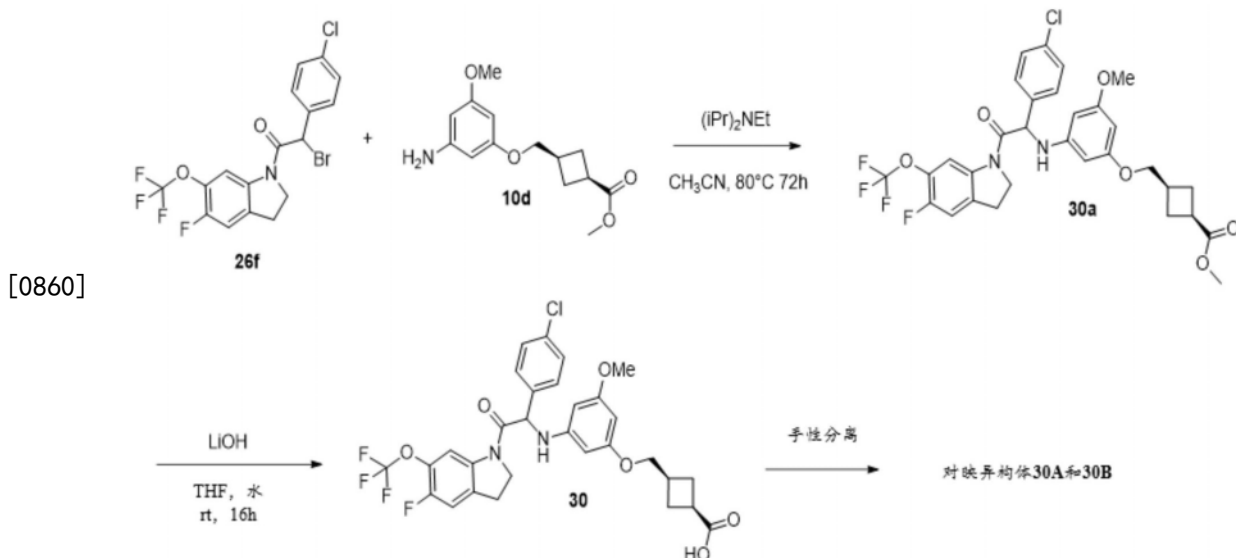
[0855]  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 1.34 (td, J=9.8, 6.6Hz, 1H) 1.69 (dt, J=19.9, 6.9Hz, 1H) 2.02 (ddd, J=9.5, 7.1, 3.0Hz, 1H) 3.09-3.25 (m, 2H) 3.63 (s, 3H) 4.05 (td, J=10.4, 7.3Hz, 1H) 4.10-4.22 (m, 2H) 4.52 (td, J=10.3, 6.5Hz, 1H) 5.59 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.81 (t, J=2.0Hz, 1H) 5.96-6.03 (m, 2H) 6.49 (d, J=8.8Hz, 1H) 7.01 (dd, J=8.2, 1.6Hz, 1H) 7.33 (d, J=8.2Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.55 (d, J=8.2Hz, 2H) 8.03 (s, 1H) 12.58 (br s, 1H)

[0856] LC/MS (方法LC-D):  $R_t$  2.70min,  $MH^+$  609

[0857]  $[\alpha]_D^{20}$ : +12.0° (c 0.3, DMF)

[0858] 手性SFC (方法SFC-P):  $R_t$  3.73min, 无 $MH^+$ , 手性纯度99.14%。

[0859] **实例30:** (1s, 3s) -3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-氟-6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)-环丁基甲酸 (化合物30) 的合成以及手性分离为对映异构体30A和30B



[0861] 化合物30的合成以及手性分离为对映异构体30A和30B:

[0862] 从中间体26f合成化合物30 (105mg), 使用化合物10合成所述的程序。将两种对映异构体经由手性SFC(固定相: **Chiralcel**<sup>®</sup> OJ-H  $5\mu m$  250x20mm, 流动相: 70%  $CO_2$ 、30% MeOH) 分离以在  $CH_3CN$ /水中冻干后给出第一洗脱对映异构体30A (43mg) 和第二洗脱对映异构体30B (47mg)。

[0863] 对映异构体30A:

[0864]  $^1H$  NMR (500MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ ppm 1.85-1.98 (m, 2H) 2.17-2.28 (m, 2H) 2.53-2.59 (m, 1H) 2.96 (quin,  $J=8.9Hz$ , 1H) 3.09-3.23 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.72-3.81 (m, 2H) 4.05 (td,  $J=10.3, 7.4Hz$ , 1H) 4.51 (td,  $J=10.2, 6.5Hz$ , 1H) 5.56 (d,  $J=8.8Hz$ , 1H) 5.74 (s, 1H) 5.93 (s, 2H) 6.45 (br d,  $J=8.5Hz$ , 1H) 7.44 (d,  $J=8.5Hz$ , 3H) 7.54 (d,  $J=8.5Hz$ , 2H) 8.16 (br d,  $J=6.9Hz$ , 1H) 11.24-13.06 (m, 1H)

[0865] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  3.08min,  $MH^+$  623

[0866]  $[\alpha]_D^{20}$ : +42.6° (c 0.298, DMF)

[0867] 手性SFC (方法SFC-F):  $R_t$  2.91min, 无  $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0868] 对映异构体30B:

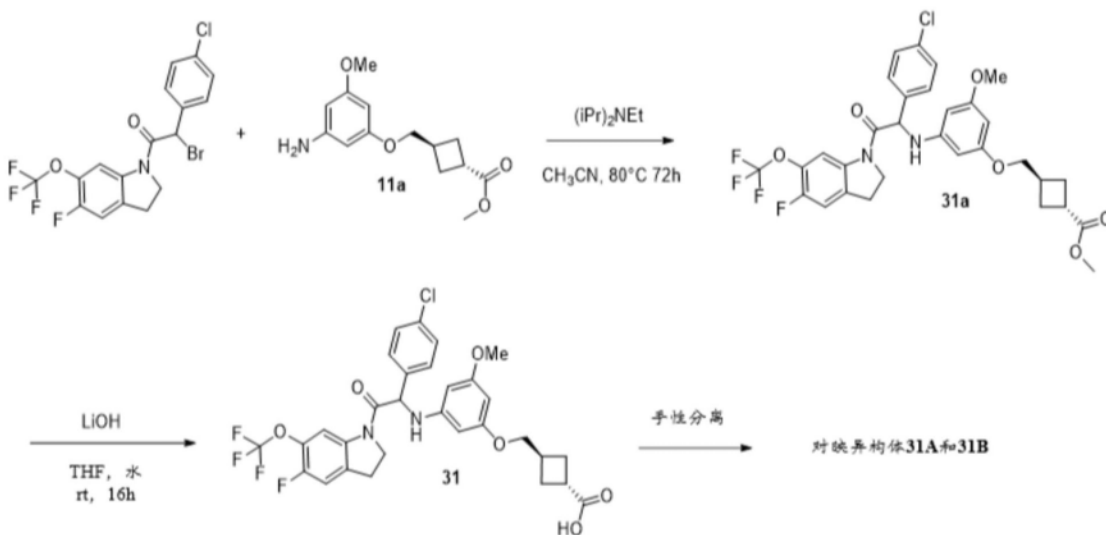
[0869]  $^1H$  NMR (500MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ ppm 1.87-1.99 (m, 2H) 2.16-2.29 (m, 2H) 2.53-2.59 (m, 1H) 2.96 (brt,  $J=8.8Hz$ , 1H) 3.11-3.23 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.77 (br d,  $J=6.0Hz$ , 2H) 4.05 (td,  $J=10.2, 7.3Hz$ , 1H) 4.51 (td,  $J=10.3, 6.5Hz$ , 1H) 5.56 (d,  $J=8.8Hz$ , 1H) 5.74 (s, 1H) 5.93 (s, 2H) 6.45 (br d,  $J=8.8Hz$ , 1H) 7.44 (br d,  $J=8.2Hz$ , 3H) 7.54 (d,  $J=8.5Hz$ , 2H) 8.16 (br d,  $J=6.9Hz$ , 1H) 11.43-12.72 (m, 1H)

[0870] LC/MS (方法LC-C):  $R_t$  3.07min,  $MH^+$  623

[0871]  $[\alpha]_D^{20}$ : -44.2° (c 0.217, DMF)

[0872] 手性SFC (方法SFC-F):  $R_t$  4.10 min, 无  $MH^+$ , 手性纯度99.09%。

[0873] **实例31**: (1r, 3r)-3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-(5-氟-6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)-2-氧代乙基)氨基)-5-甲氧基苯氧基)甲基)环丁基甲酸(化合物31)的合成以及手性分离为对映异构体31A和31B



[0874]

[0875] 化合物31的合成以及手性分离为对映异构体31A和31B:

[0876] 从中间体26f合成化合物31 (75mg), 使用化合物11合成所述的程序。将两种对映异构体经由手性SFC(固定相: **Chiralcel**<sup>®</sup> OJ-H 5 $\mu$ m 250x20mm, 流动相: 70%CO<sub>2</sub>、30%MeOH) 分离以在CH<sub>3</sub>CN/水中冻干后给出第一洗脱对映异构体31A (23mg) 和第二洗脱对映异构体31B (24mg)。

[0877] 对映异构体31A:

[0878] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 1.90-2.03 (m, 2H) 2.20-2.30 (m, 2H) 2.55-2.62 (m, 1H) 3.07 (brt, J=7.7Hz, 1H) 3.12-3.24 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.87 (br d, J=6.9Hz, 2H) 4.05 (td, J=10.3, 7.1Hz, 1H) 4.51 (td, J=10.4, 6.6Hz, 1H) 5.57 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.78 (s, 1H) 5.94 (s, 1H) 5.96 (s, 1H) 6.45 (d, J=8.8Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 3H) 7.54 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.16 (br d, J=6.9Hz, 1H)

[0879] LC/MS(方法LC-C): R<sub>t</sub> 3.07min, MH<sup>+</sup>623

[0880]  $[\alpha]_D^{20}$ : +43.1° (c 0.255, DMF)

[0881] 手性SFC(方法SFC-F): R<sub>t</sub> 3.25min, 无MH<sup>+</sup>, 手性纯度100%。

[0882] 对映异构体31B:

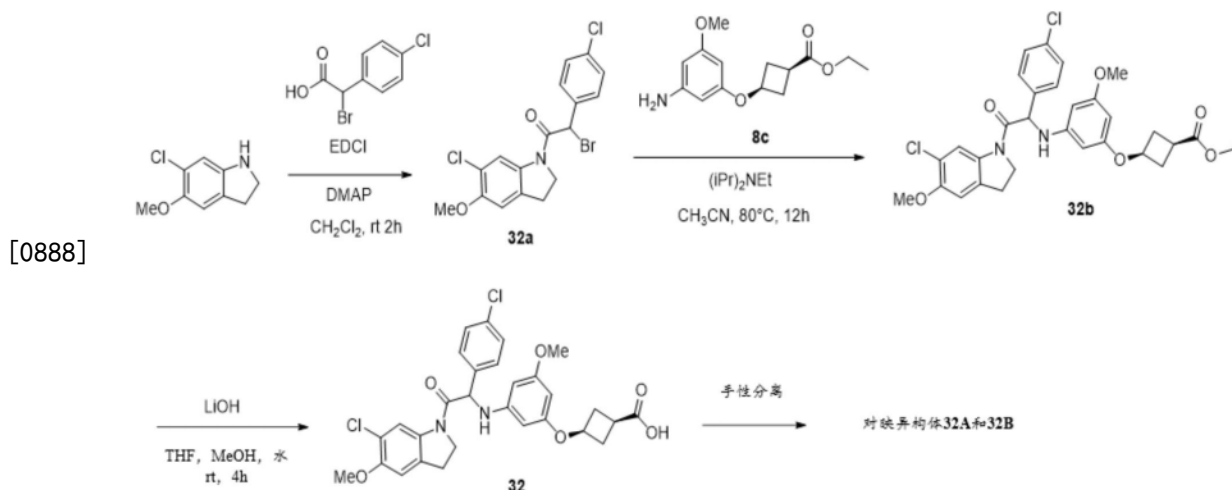
[0883] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 1.90-2.03 (m, 2H) 2.19-2.31 (m, 2H) 2.55-2.62 (m, 1H) 3.01-3.10 (m, 1H) 3.12-3.23 (m, 2H) 3.62 (s, 3H) 3.86 (br d, J=6.9Hz, 2H) 4.05 (td, J=10.2, 7.3Hz, 1H) 4.51 (td, J=10.3, 6.5Hz, 1H) 5.57 (d, J=8.8Hz, 1H) 5.78 (s, 1H) 5.94 (s, 1H) 5.95 (s, 1H) 6.45 (br d, J=8.8Hz, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 3H) 7.54 (d, J=8.2Hz, 2H) 8.15 (br d, J=6.6Hz, 1H)

[0884] LC/MS(方法LC-C): R<sub>t</sub> 3.07min, MH<sup>+</sup>623

[0885]  $[\alpha]_D^{20}$ : -43.4° (c 0.244, DMF)

[0886] 手性SFC(方法SFC-F): R<sub>t</sub> 4.85 min, 无MH<sup>+</sup>, 手性纯度99.09%。

[0887] **实例32**: (1s, 3s) -3- ((2- (6-氯-5-甲氧基吡啶-1-基) -1- (4-氯苯基) -2-氧代乙基) 氨基) -5-甲氧基苯氧基) 环丁基甲酸(化合物32)的合成以及手性分离为对映异构体32A和32B。



[0889] 中间体32a的合成:

[0890] 从6-氯-5-甲氧基吲哚啉[CAS 1369041-89-3]合成中间体32a (3.58g),使用中间体26f合成所述的程序。

[0891] 中间体32b的合成:

[0892] 从中间体32a合成中间体32b (210mg),使用中间体8d合成所述的程序。

[0893] 化合物32的合成以及手性分离为对映异构体32A和32B:

[0894] 从中间体32b合成化合物32 (165mg),使用化合物8合成所述的程序。将两种对映异构体经由手性SFC(固定相: **Chiralcel**<sup>®</sup> OD-H 5 $\mu$ m 250x30mm,流动相:50%CO<sub>2</sub>、50%EtOH)分离以在纯化和固化后给出第一洗脱对映异构体32A (26mg) 和第二洗脱对映异构体32B (31mg),该纯化经由在硅胶上快速层析(15-40 $\mu$ m,4g,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 97/3)进行,该固化从庚烷/二异丙醚中进行。

[0895] 化合物32:

[0896] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.03-2.15 (m, 2H) 2.57-2.66 (m, 2H) 2.66-2.75 (m, 1H) 3.06-3.23 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.80 (s, 3H) 3.95 (td, J=10.4, 7.3Hz, 1H) 4.43-4.52 (m, 2H) 5.50 (d, J=8.5Hz, 1H) 5.65 (t, J=1.9Hz, 1H) 5.86 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 6.40 (d, J=8.5Hz, 1H) 7.10 (s, 1H) 7.44 (d, J=8.5Hz, 2H) 7.54 (d, J=8.5Hz, 2H) 8.11 (s, 1H) 12.26 (br s, 1H)

[0897] LC/MS(方法LC-C): R<sub>t</sub> 2.66min, MH<sup>+</sup>569

[0898] 对映异构体32A:

[0899] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.03-2.15 (m, 2H) 2.57-2.66 (m, 2H) 2.66-2.76 (m, 1H) 3.04-3.24 (m, 2H) 3.57-3.64 (m, 3H) 3.80 (s, 3H) 3.89-4.00 (m, 1H) 4.42-4.54 (m, 2H) 5.50 (br d, J=8.8Hz, 1H) 5.65 (s, 1H) 5.86 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 6.40 (br d, J=8.5Hz, 1H) 7.10 (s, 1H) 7.44 (d, J=8.2Hz, 2H) 7.54 (br d, J=8.2Hz, 2H) 8.11 (s, 1H) 12.26 (br s, 1H)

[0900] LC/MS(方法LC-D): R<sub>t</sub> 2.56min, MH<sup>+</sup>569

[0901] [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -55.4° (c 0.332, DMF)

[0902] 手性SFC(方法SFC-R): R<sub>t</sub> 1.73min, 无MH<sup>+</sup>, 手性纯度100%。

[0903] 对映异构体32B:

[0904] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 2.02-2.14 (m, 2H) 2.58-2.65 (m, 2H) 2.66-2.74 (m, 1H) 3.04-3.24 (m, 2H) 3.61 (s, 3H) 3.80 (s, 3H) 3.95 (td, J=10.4, 7.3Hz, 1H) 4.42-4.53 (m,

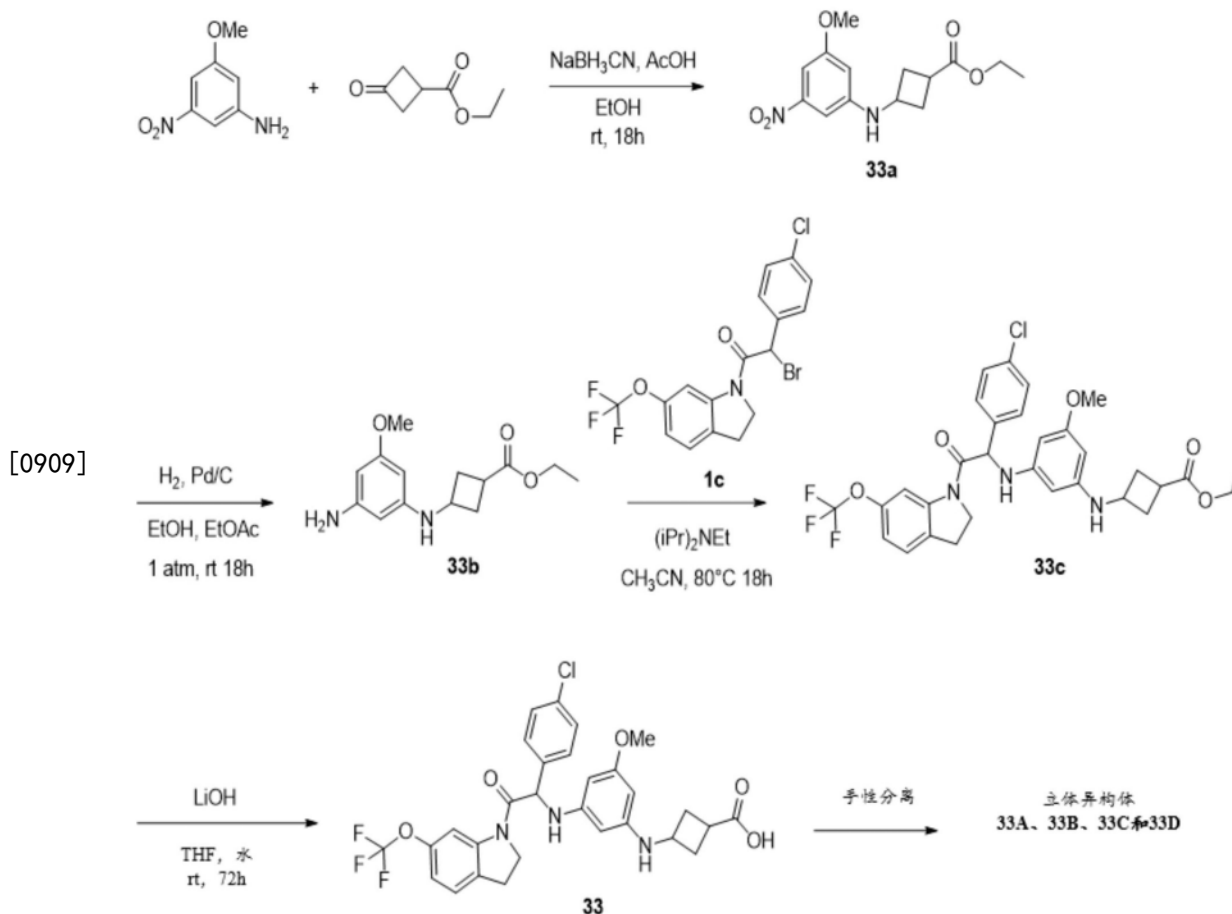
2H) 5.50 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H) 5.65 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H) 5.86 (s, 1H) 5.93 (s, 1H) 6.40 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H) 7.10 (s, 1H) 7.44 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H) 7.54 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H) 8.11 (s, 1H) 12.26 (br s, 1H)

[0905] LC/MS (方法LC-D):  $R_t$  2.56min,  $MH^+$  569

[0906]  $[\alpha]_D^{20}$ : +53.4° (c 0.35, DMF)

[0907] 手性SFC (方法SFC-R):  $R_t$  3.16min, 无 $MH^+$ , 手性纯度99.59%。

[0908] 实例33: 3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吲哚啉-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)氨基)-环丁基甲酸 (化合物33) 的合成以及手性分离为立体异构体33A、33B、33C和33D。



[0910] 中间体33a的合成:

[0911] 在氮气下,将3-甲氧基-5-硝基苯胺[CAS 586-10-7] (0.50g, 2.973mmol)、乙基3-氧代环丁基甲酸酯[CAS 87121-89-9] (1.27g, 8.92mmol) 和乙酸 (0.34mL, 5.947mmol) 于无水EtOH (26mL) 在室温下搅拌30min。添加 $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (0.374g, 5.947mmol) 并将该混合物在室温下搅拌18h。添加盐水并将该混合物用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 萃取两次。将合并的机层经 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩。该残余物通过在硅胶上快速层析 (30 $\mu\text{m}$ , 24g, 庚烷/EtOAc从85/15至75/25) 进行纯化。将纯级分合并,并且在减压下浓缩以给出乙基3-((3-甲氧基-5-硝基苯基)氨基)环丁烷-甲酸酯33a (820mg)。将该化合物用于下一步骤中而无需进一步纯化。

[0912] 中间体33b的合成:

[0913] 将包含催化量的10%Pd/C (300mg, 0.28mmol) 的乙基3-((3-甲氧基-5-硝基苯基)氨基)环丁基甲酸酯33a (820mg, 2.8mmol) 于EtOH (16mL) 和EtOAc (14mL) 中的溶液在室温下

在H<sub>2</sub>大气压力下氢化18h。将催化剂通过经**Celite®**的短垫过滤去除,并且将滤饼用EtOAc冲洗若干次。将合并的滤液在减压下蒸发以给出乙基3-((3-氨基-5-甲氧基苯基)氨基)环丁基甲酸酯33b(800mg),其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0914] 中间体33c的合成:

[0915] 将2-溴-2-(4-氯苯基)-1-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙酮1c(0.936g, 2.154mmol)、乙基3-((3-氨基-5-甲氧基苯基)氨基)环丁基甲酸酯33b(0.74g, 2.8mmol)和二异丙基乙胺(0.742mL, 4.307mmol)于CH<sub>3</sub>CN(11mL)中的混合物在80℃搅拌18h。将该混合物在减压下浓缩。通过在硅胶上快速层析(30μm, 40g, 庚烷/EtOAc从85/15至70/30)进行纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出乙基3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)氨基)环丁基甲酸酯33c(600mg)。

[0916] 化合物33的合成以及手性分离为立体异构体33A、33B、33C和33D:

[0917] 将LiOH·H<sub>2</sub>O(0.407g, 9.71mmol)于水(5.3mL)中的溶液添加至乙基3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)氨基)环丁基甲酸酯33c(600mg, 0.971mmol)于THF(12mL)的溶液。将该混合物在室温下搅拌72h,用AcOH酸化,在减压下浓缩,并于甲苯共蒸发两次。通过在硅胶上快速层析(30μm, 24g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH从99/1至96/4)进行纯化。将纯的级分合并,并且蒸发至干燥。经由反相层析(固定相:YMC-actus Triart-C18 10μm 30x150mm,流动相:梯度从65%NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>水溶液0.2%, 35%CH<sub>3</sub>CN至25%NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>水溶液0.2%, 75%CH<sub>3</sub>CN)进行第二纯化。将纯级分合并,并且蒸发至干燥以给出3-((3-((1-(4-氯苯基)-2-氧代-2-(6-(三氟甲氧基)吡啶-1-基)乙基)氨基)-5-甲氧基苯基)氨基)环丁基甲酸(化合物33, 80mg)。将立体异构体经由手性SFC(固定相:Chiralcel® OD-H 5μm 250x20mm,流动相:60%CO<sub>2</sub>、40%EtOH)以给出4种级分,其从CH<sub>3</sub>CN/水冷冻干燥以给出立体异构体33A(19mg)、立体异构体33B(24mg)、立体异构体33C(19mg)和立体异构体33D(26mg)。

[0918] 立体异构体33A:

[0919] <sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.94-2.02(m, 2H) 2.43(ddd, J=11.8, 7.7, 4.1Hz, 2H) 2.91(dt, J=9.5, 4.7Hz, 1H) 3.07-3.21(m, 2H) 3.56(s, 3H) 3.78-3.88(m, 1H) 4.05(td, J=10.4, 7.3Hz, 1H) 4.50(td, J=10.3, 6.8Hz, 1H) 5.38(d, J=1.9Hz, 1H) 5.43(d, J=8.5Hz, 1H) 5.46(s, 1H) 5.60(s, 1H) 5.63(d, J=6.3Hz, 1H) 6.19(d, J=8.5Hz, 1H) 7.00(dd, J=8.2, 1.6Hz, 1H) 7.33(d, J=8.2Hz, 1H) 7.43(d, J=8.5Hz, 2H) 7.54(d, J=8.5Hz, 2H) 8.03(s, 1H)

[0920] LC/MS(方法LC-C):R<sub>t</sub> 2.86min, MH<sup>+</sup>590

[0921] [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -26.2°(c 0.248, DMF)

[0922] 手性SFC(方法SFC-I):R<sub>t</sub> 1.48min, 无MH<sup>+</sup>, 手性纯度100%。

[0923] 立体异构体33B:

[0924] <sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.82-1.95(m, 2H) 2.41-2.47(m, 2H) 2.68(br t, J=8.5Hz, 1H) 3.08-3.21(m, 2H) 3.56(s, 3H) 3.62(br dd, J=15.4, 8.2Hz, 1H) 4.06(td, J=10.3, 7.1Hz, 1H) 4.46-4.56(m, 1H) 5.41(s, 1H) 5.43(br d, J=8.5Hz, 1H) 5.50(s, 1H) 5.60(s, 2H) 6.14(br d, J=8.8Hz, 1H) 7.01(br d, J=8.2Hz, 1H) 7.33(d, J=8.2Hz, 1H) 7.43(d, J=8.5Hz, 2H) 7.54(d, J=8.5Hz, 2H) 8.03(s, 1H)

[0925] LC/MS(方法LC-C):R<sub>t</sub> 2.84min, MH<sup>+</sup>590

[0926]  $[\alpha]_D^{20}$ : -27.9° (c 0.248, DMF)

[0927] 手性SFC(方法SFC-I):  $R_t$  2.20min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0928] 立体异构体33C:

[0929]  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{ppm}$  1.93-2.03 (m, 2H) 2.41-2.46 (m, 2H) 2.82-2.95 (m, 1H) 3.07-3.21 (m, 2H) 3.56 (s, 3H) 3.78-3.88 (m, 1H) 4.00-4.11 (m, 1H) 4.45-4.56 (m, 1H) 5.37 (s, 1H) 5.40-5.49 (m, 2H) 5.58-5.66 (m, 2H) 6.19 (br d,  $J=8.5Hz$ , 1H) 7.00 (br d,  $J=6.6Hz$ , 1H) 7.32 (br d,  $J=8.2Hz$ , 1H) 7.43 (d,  $J=8.5Hz$ , 2H) 7.54 (d,  $J=8.2Hz$ , 2H) 8.02 (br s, 1H)

[0930] LC/MS(方法LC-C):  $R_t$  2.86min,  $MH^+$ 590

[0931]  $[\alpha]_D^{20}$ : +26.7° (c 0.221, DMF)

[0932] 手性SFC(方法SFC-I):  $R_t$  2.91min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0933] 立体异构体33D:

[0934]  $^1H$  NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{ppm}$  1.78-1.96 (m, 2H) 2.40-2.47 (m, 2H) 2.65-2.71 (m, 1H) 3.08-3.21 (m, 2H) 3.56 (s, 3H) 3.58-3.67 (m, 1H) 4.06 (td,  $J=10.2, 7.3Hz$ , 1H) 4.44-4.56 (m, 1H) 5.38-5.46 (m, 2H) 5.50 (s, 1H) 5.60 (s, 2H) 6.14 (br d,  $J=8.8Hz$ , 1H) 7.00 (br d,  $J=6.9Hz$ , 1H) 7.33 (d,  $J=8.2Hz$ , 1H) 7.43 (d,  $J=8.5Hz$ , 2H) 7.54 (d,  $J=8.5Hz$ , 2H) 8.03 (s, 1H)

[0935] LC/MS(方法LC-C):  $R_t$  2.84min,  $MH^+$ 590

[0936]  $[\alpha]_D^{20}$ : +23.4° (c 0.295, DMF)

[0937] 手性SFC(方法SFC-I):  $R_t$  5.35min, 无 $MH^+$ , 手性纯度100%。

[0938] 表: 如上文描述的制备化合物

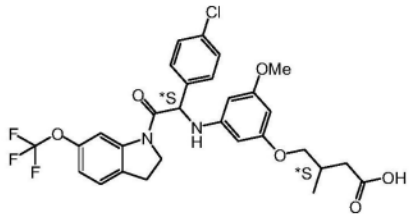
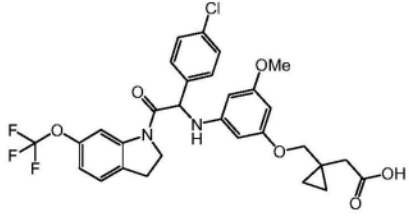
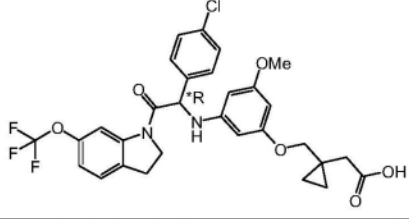
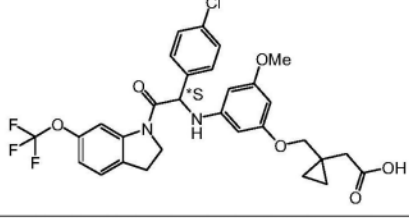
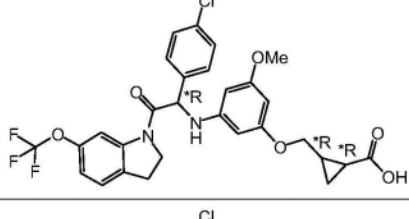
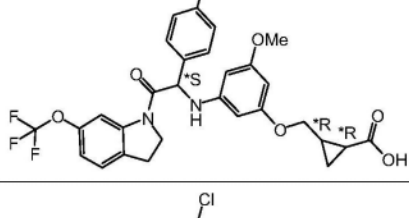
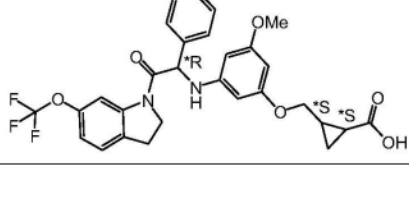
[0939]

化合物	结构	旋光度
1		外消旋体
1A		$[\alpha]_D^{20} = -37.6^\circ$
1B		$[\alpha]_D^{20} = -65.3^\circ$
1C		$[\alpha]_D^{20} = +35.2^\circ$
1D		$[\alpha]_D^{20} = +64.3^\circ$
2		外消旋体

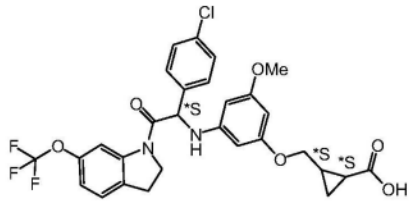
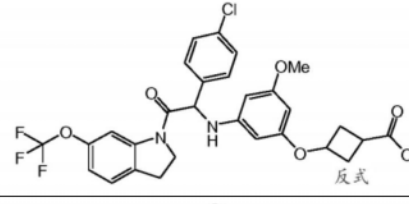
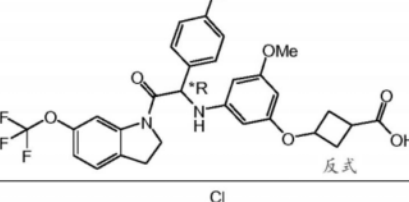
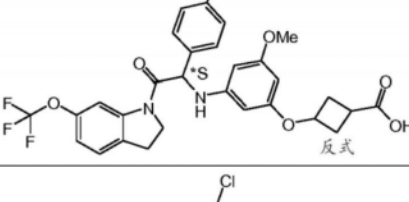
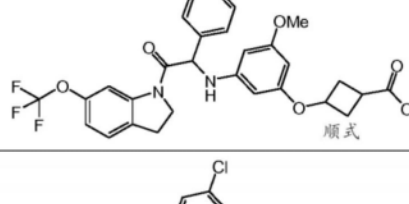
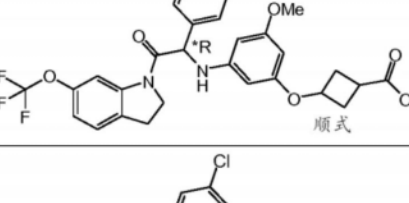
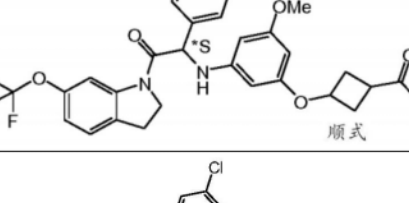
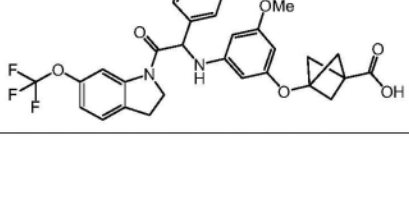
[0940]

2A		$[\alpha]_D^{20} = +49.6^\circ$
2B		$[\alpha]_D^{20} = -49.2^\circ$
3		外消旋体
4		外消旋体
4A		$[\alpha]_D^{20} = -59.6^\circ$
4B		$[\alpha]_D^{20} = -47.5^\circ$
4C		$[\alpha]_D^{20} = +47.7^\circ$

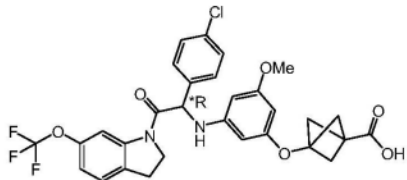
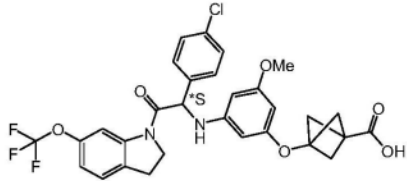
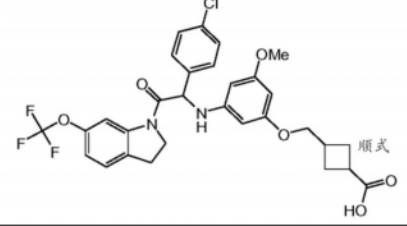
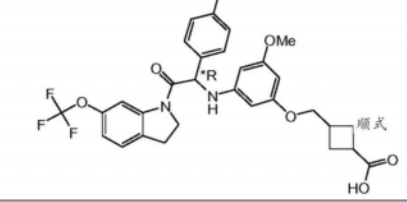
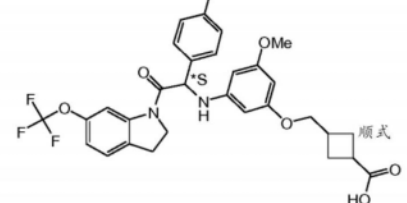
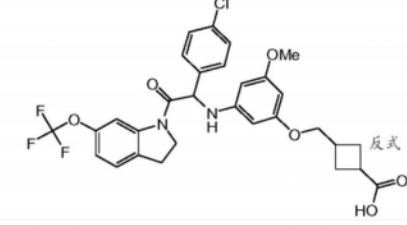
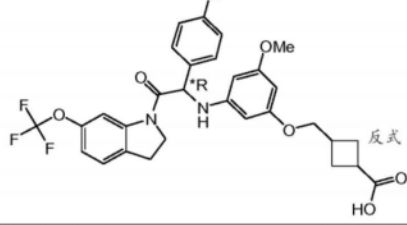
[0941]

4D		$[\alpha]_D^{20} = +60.7^\circ$
5		外消旋体
5A		$[\alpha]_D^{20} = +37.0^\circ$
5B		$[\alpha]_D^{20} = -48.8^\circ$
6AA		$[\alpha]_D^{20} = -78.0^\circ$
6AB		$[\alpha]_D^{20} = +12.9^\circ$
6BA		$[\alpha]_D^{20} = -12.5^\circ$

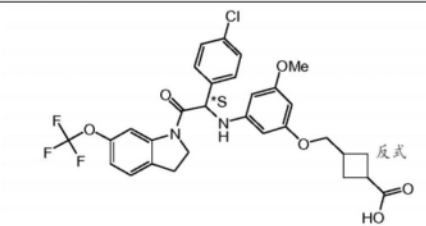
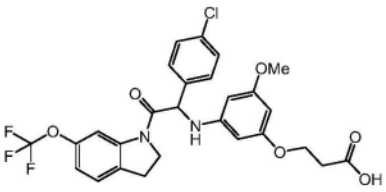
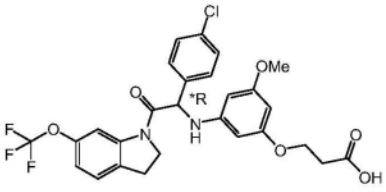
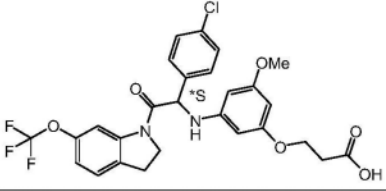
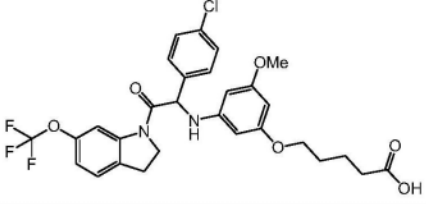
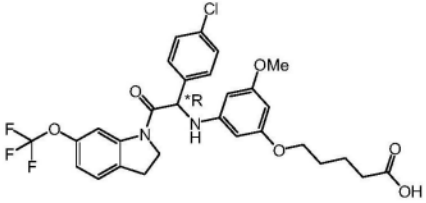
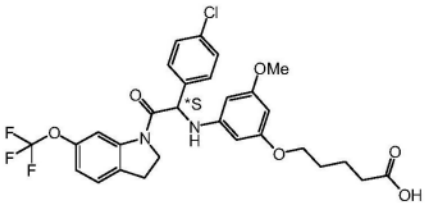
[0942]

6BB		$[\alpha]_D^{20} = +81.4^\circ$
7		-
7A		$[\alpha]_D^{20} = -41.6^\circ$
7B		$[\alpha]_D^{20} = +43.7^\circ$
8		-
8A		$[\alpha]_D^{20} = -47.1^\circ$
8B		$[\alpha]_D^{20} = +40.0^\circ$
9		外消旋体

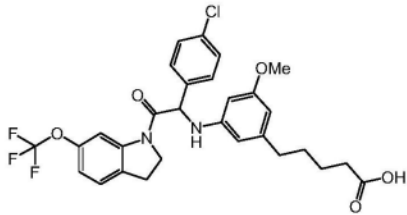
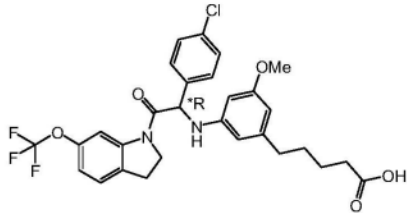
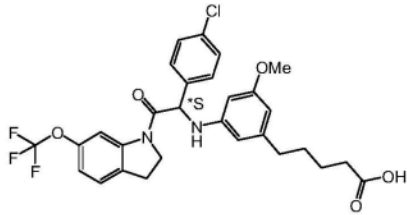
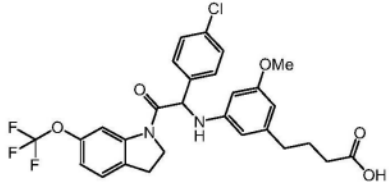
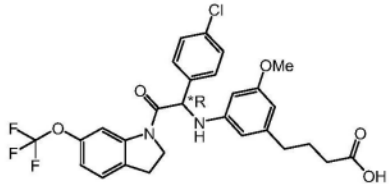
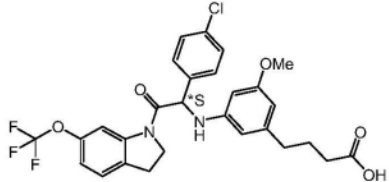
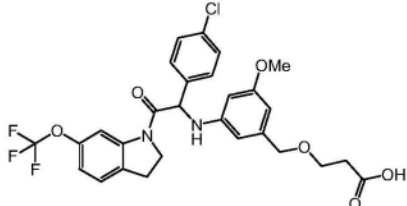
[0943]

9A		$[\alpha]_D^{20} = -43.6^\circ$
9B		$[\alpha]_D^{20} = +42.2^\circ$
10		-
10A		$[\alpha]_D^{20} = -44.0^\circ$
10B		$[\alpha]_D^{20} = +45.5^\circ$
11		-
11A		$[\alpha]_D^{20} = -43.3^\circ$

[0944]

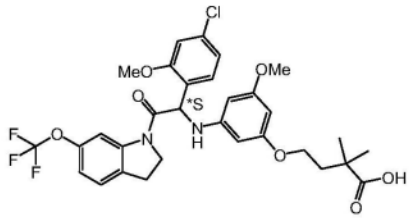
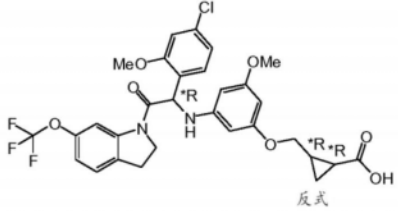
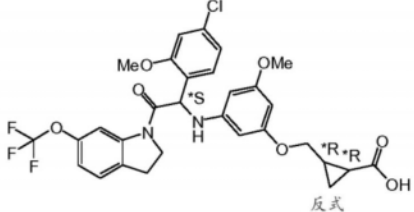
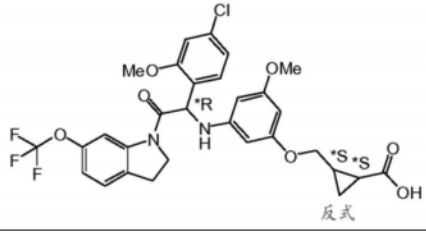
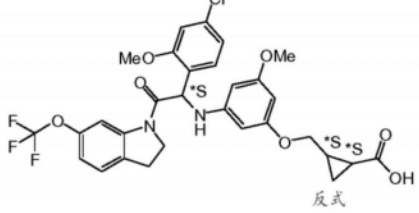
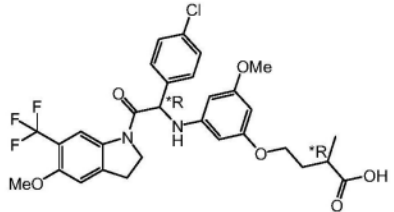
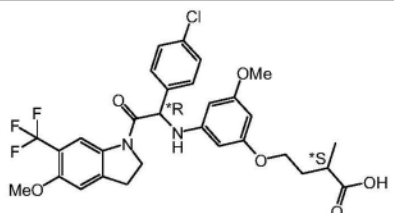
11B		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +45.5^{\circ}$
12		外消旋体
12A		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -47.3^{\circ}$
12B		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +41.8^{\circ}$
13		外消旋体
13A		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -48.6^{\circ}$
13B		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +48.3^{\circ}$

[0945]

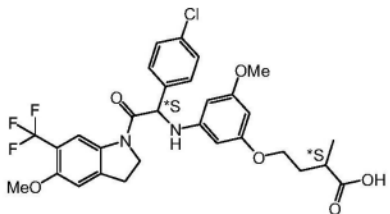
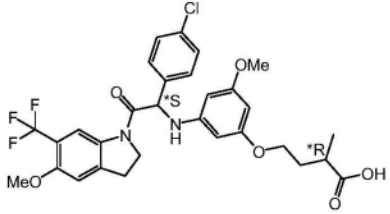
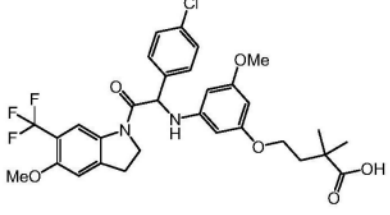
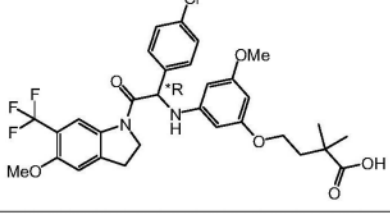
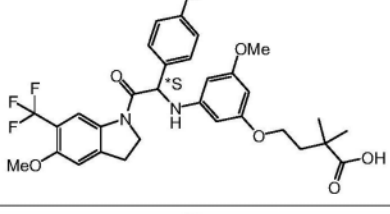
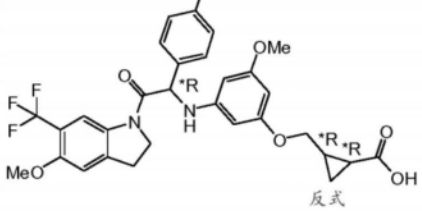
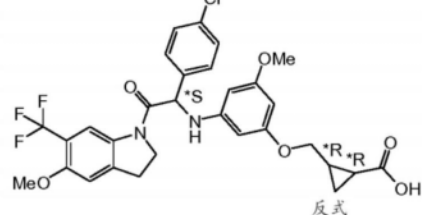
14		外消旋体
14A		$[\alpha]_D^{20} = +55.8^\circ$
14B		$[\alpha]_D^{20} = -53.7^\circ$
15		外消旋体
15A		$[\alpha]_D^{20} = -59.0^\circ$
15B		$[\alpha]_D^{20} = +48.0^\circ$
16		外消旋体



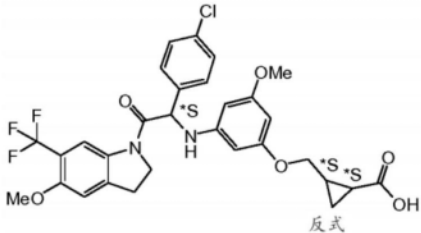
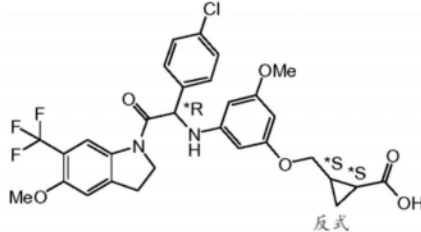
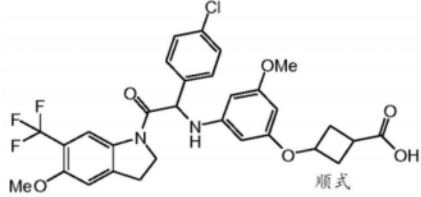
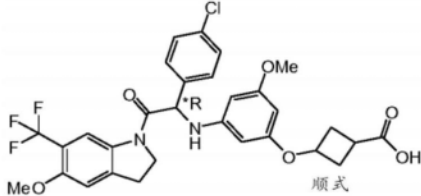
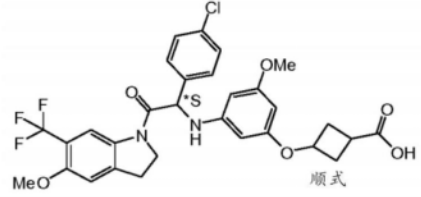
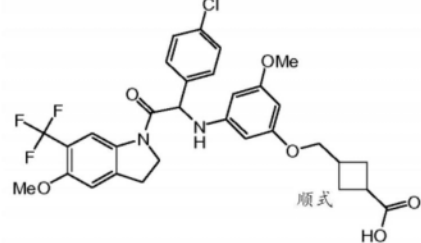
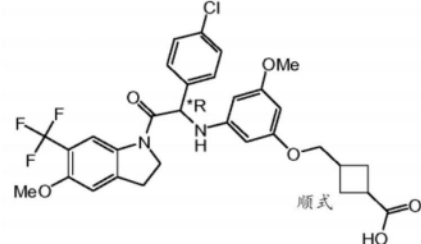
[0947]

18B		$[\alpha]_D^{20} = +28.0^\circ$
19AA		$[\alpha]_D^{20} = -65.6^\circ$
19AB		$[\alpha]_D^{20} = +37.1^\circ$
19BA		$[\alpha]_D^{20} = -47.6^\circ$
19BB		$[\alpha]_D^{20} = +56.8^\circ$
20A		$[\alpha]_D^{20} = -40.9^\circ$
20B		$[\alpha]_D^{20} = -50.0^\circ$

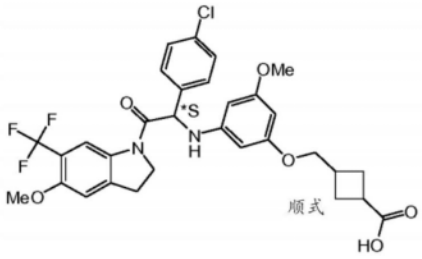
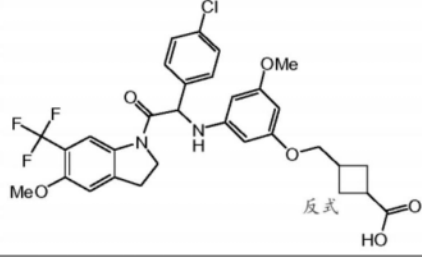
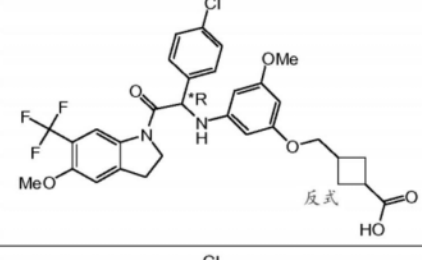
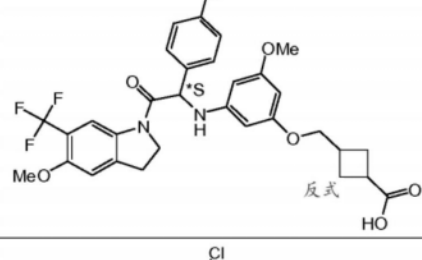
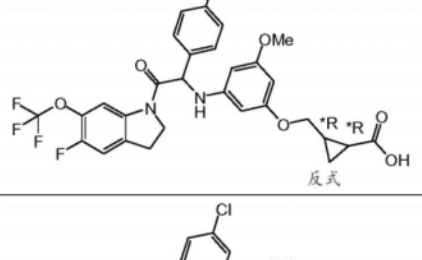
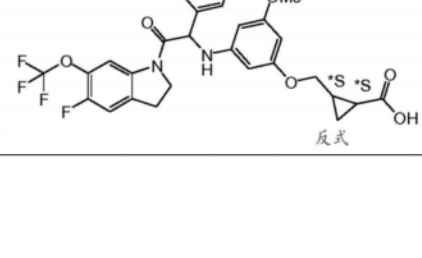
[0948]

20C		$[\alpha]_D^{20} = +26.0^\circ$
20D		$[\alpha]_D^{20} = +57.4^\circ$
21		外消旋体
21A		$[\alpha]_D^{20} = -41.7^\circ$
21B		$[\alpha]_D^{20} = +44.0^\circ$
22AA		$[\alpha]_D^{20} = -75.0^\circ$
22AB		$[\alpha]_D^{20} = +10.0^\circ$

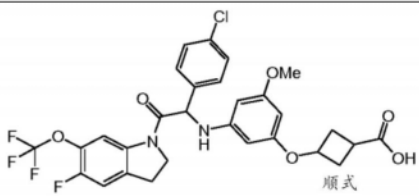
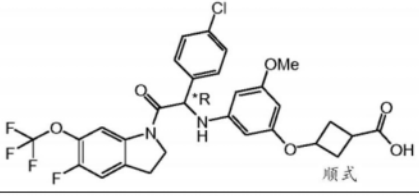
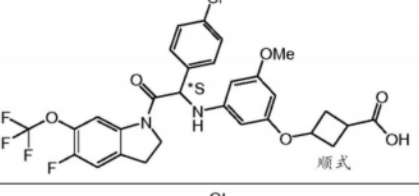
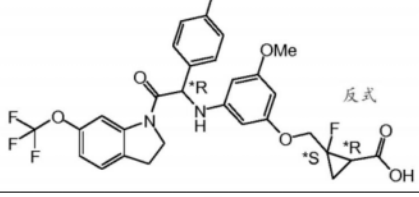
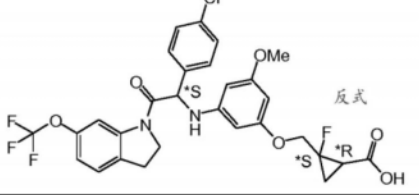
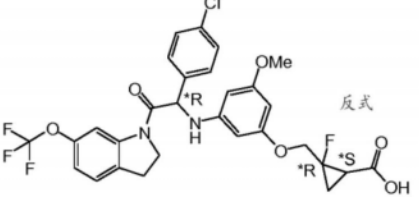
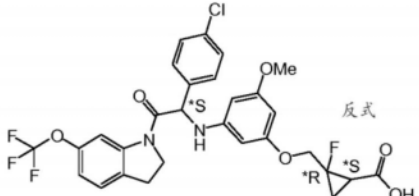
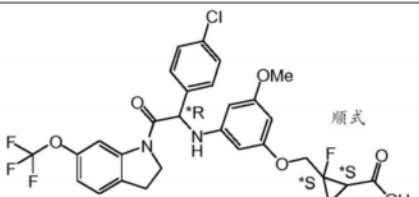
[0949]

22BA	 反式	$[\alpha]_D^{20} = -9.3^\circ$
22BB	 反式	$[\alpha]_D^{20} = +80.0^\circ$
23	 顺式	-
23A	 顺式	$[\alpha]_D^{20} = -38.1^\circ$
23B	 顺式	$[\alpha]_D^{20} = +36.9^\circ$
24	 顺式	-
24A	 顺式	$[\alpha]_D^{20} = -41.5^\circ$

[0950]

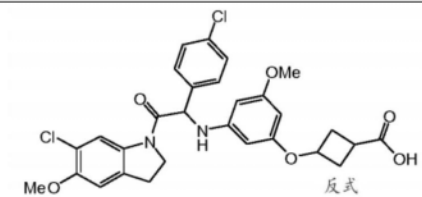
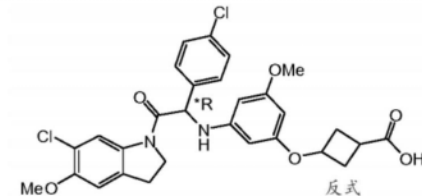
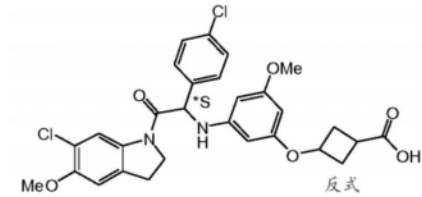
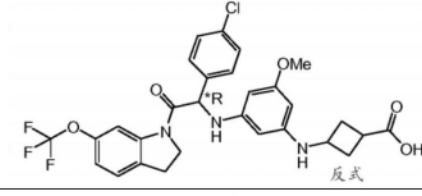
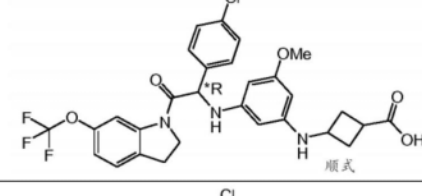
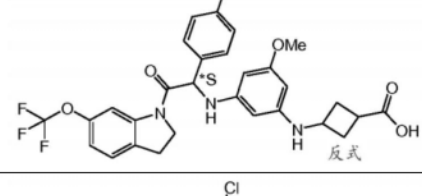
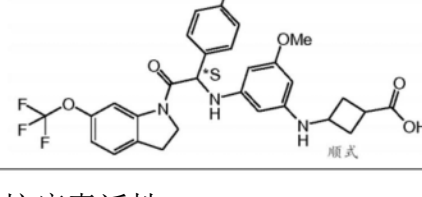
24B		$[\alpha]_D^{20} = +36.6^\circ$
25		-
25A		$[\alpha]_D^{20} = -41.1^\circ$
25B		$[\alpha]_D^{20} = +40.6^\circ$
26A		-
26B		-

[0951]

27		-
27A		$[\alpha]_D^{20} = -40.5^\circ$
27B		$[\alpha]_D^{20} = +37.5^\circ$
28AA		$[\alpha]_D^{20} = -43.3^\circ$
28AB		$[\alpha]_D^{20} = +52.5^\circ$
28BA		$[\alpha]_D^{20} = -57.1^\circ$
28BB		$[\alpha]_D^{20} = +38.1^\circ$
29AA		$[\alpha]_D^{20} = -15.7^\circ$

[0952]

29AB		$[\alpha]_D^{20} = +77.4^\circ$
29BA		$[\alpha]_D^{20} = -74.2^\circ$
29BB		$[\alpha]_D^{20} = +12.0^\circ$
30A		$[\alpha]_D^{20} = +42.6^\circ$
30B		$[\alpha]_D^{20} = -44.2^\circ$
31A		$[\alpha]_D^{20} = +43.1^\circ$
31B		$[\alpha]_D^{20} = -43.4^\circ$

[0953]	32		-
	32A		$[\alpha]_D^{20} = -55.4^\circ$
	32B		$[\alpha]_D^{20} = +53.4^\circ$
	33A		$[\alpha]_D^{20} = -26.2^\circ$
	33B		$[\alpha]_D^{20} = -27.9^\circ$
	33C		$[\alpha]_D^{20} = +26.7^\circ$
	33D		$[\alpha]_D^{20} = +23.4^\circ$

[0954] 本发明的化合物的抗病毒活性

[0955] DENV-2抗病毒测定

[0956] 本发明的所有化合物的抗病毒活性针对DENV-216681株进行测试,该菌株用增强型绿色荧光蛋白标记(eGFP)。培养基由补充有2%热灭活的胎牛血清、0.04%庆大霉素(50mg/mL)以及2mM L谷氨酰胺的最低必需培养基组成。将获自ECACC的Vero细胞悬浮于培养基中,并且将25μL添加至384孔板(2500个细胞/孔),这些板已经包含抗病毒化合物。通常,这些板包含测试化合物的9个稀释步骤的5倍连续稀释液,在于100%DMSO(200nL)中的最终浓度的200倍下。此外,一式四份地测试每一化合物浓度(对于多数活性化合物而言,最终浓度范围:25μM-0.000064μM或2.5μM-0.0000064μM)。最后,每个板包含被指定为病毒对

照(在不存在化合物的情况下包含细胞和病毒)、细胞对照(在不存在病毒和化合物的情况下包含细胞)和培养基对照(在不存在细胞、病毒和化合物的情况下包含培养基)的孔。向被指定为培养基对照的这些孔添加25 $\mu$ L的培养基而不是Vero细胞。一旦细胞被添加到这些板,就将这些板在室温下孵育30分钟以便允许这些细胞在这些孔内均匀地分布。接着,将这些板在一个完全润湿的孵育箱(37 $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub>)中孵育直到第二天。然后,以0.5的感染复数(MOI)添加用eGFP标记的DENV-2株16681。因此,将15 $\mu$ L的病毒悬浮液添加至所有包含测试化合物的孔中并且添加至被指定为病毒对照的孔中。并行地,将15 $\mu$ L的培养基添加至培养基对照和细胞对照。接着,将这些板在一个完全润湿的孵育箱(37 $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub>)中孵育3天。在读出当天,使用一个自动化荧光显微镜在488nm(蓝色激光)下测量eGFP荧光。使用一种内部LIMS系统,计算每种化合物的抑制剂量反应曲线并且测定半最大有效浓度(EC<sub>50</sub>)。因此,使用以下公式来计算每一测试浓度的抑制百分比(I): $I = 100 * (S_T - S_{CC}) / (S_{VC} - S_{CC})$ ; S<sub>T</sub>、S<sub>CC</sub>和S<sub>VC</sub>分别是测试化合物孔、细胞对照孔和病毒对照孔中的eGFP信号的量。EC<sub>50</sub>表示如通过相较于病毒对照的eGFP荧光强度的50%降低所测量,病毒复制被抑制50%的化合物的浓度。使用线性内插法计算EC<sub>50</sub>(表1)。

[0957] 并行地,在相同板上评定这些化合物的毒性。一旦进行eGFP信号的读出,就将40 $\mu$ L的ATPLite(一种细胞存活力染色剂)添加至384孔板的所有孔。ATP存在于所有代谢活性细胞中,并且当细胞经历坏死或凋亡时,浓度下降非常迅速。ATPLite测定系统是基于通过ATP与添加的荧光素酶和萤虫素反应引起的光的产生。将这些板在室温下孵育10分钟。接着,在ViewLux上测量这些板。还测定了半最大细胞毒性浓度(CC<sub>50</sub>),其被定义为使发光信号相较于细胞对照孔的发光信号降低50%所需的浓度。最后,测定这些化合物的选择性指数(SI),该指数如下计算:SI=CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>。

[0958] 表1:在DENV-2抗病毒测定中本发明的化合物的EC<sub>50</sub>、CC<sub>50</sub>和SI

[0959]

化合物#	EC <sub>50</sub> (μM)	N	CC <sub>50</sub> (μM)	N	SI	N
1	0.00050	3	11	3	24400	3
1A	0.018	3	9.6	3	523	3
1B	0.018	4	10	4	579	4
1C	0.000094	3	12	3	131193	3
1D	0.00023	3	12	3	57700	3
2	0.00062	3	12	3	19200	3
2A	0.00038	3	13	3	34500	3
2B	0.019	3	11	4	565	3
3	0.00050	3	10	3	17700	3
4	0.00014	3	10	3	73900	3
4A	0.0029	3	9.0	3	3090	3
4B	0.011	3	10	3	935	3
4C	0.00011	4	13	4	121878	4
4D	0.00017	3	13	3	81200	3
5	0.00092	3	9.7	3	11300	3
5A	0.00051	3	12	3	26300	3
5B	0.011	3	10	3	921	3
6AA	0.00074	3	8.3	3	8870	3
6AB	0.000016	6	12	7	> 199223	6
6BA	0.012	3	8.7	3	703	3
6BB	0.00018	3	12	3	83800	3
7	0.00049	3	12	3	14600	3
7A	0.0091	3	10	3	1130	3
7B	0.00012	3	13	3	121027	3
8	0.000048	5	13	5	> 126733	5
8A	0.00086	3	12	3	11600	3
8B	0.000023	10	14	10	> 102836	10
9	0.00070	3	9.8	3	14700	3
9A	0.090	3	11	3	125	3
9B	0.00039	3	12	4	32500	3
10	0.00027	3	12	3	44900	3
10A	0.0027	3	10	3	3790	3
10B	0.00011	3	11	3	109987	3
11	0.00013	4	12	4	97100	4
11A	0.0038	3	10	3	2710	3
11B	0.00011	4	11	4	118692	4

[0960]

12	0.0011	3	11	3	9440	3
12A	0.038	3	10	3	267	3
12B	0.00069	3	14	3	21500	3
13	0.00025	3	12	4	38100	3
13A	0.0014	6	9.1	7	5720	6
13B	0.00013	4	12	4	88200	4
14	0.00023	3	9.6	3	50200	3
14A	0.00011	3	16	3	151558	3
14B	0.060	3	9.3	3	156	3
15	0.00042	3	8.3	3	25500	3
15A	0.049	3	8.4	3	171	3
15B	0.00045	3	12	5	24900	3
16	0.00033	4	16	5	56100	4
17	0.00018	3	13	3	100043	3
17A	0.076	3	11	3	147	3
17B	0.18	3	11	3	59	3
17C	0.00023	3	12	3	39300	3
17D	0.00012	4	14	4	> 9720	4
18	0.00049	3	11	3	26100	3
18A	0.0099	3	12	4	1160	3
18B	0.00028	3	12	3	62700	3
19AA	0.010	3	11	4	1030	3
19AB	0.000012	8	12	9	> 390600	8
19BA	0.016	3	11	3	707	3
19BB	0.000038	5	8.8	5	> 148612	5
20A	0.44	3	12	3	27	3
20B	0.18	3	12	3	69	3
20C	0.00017	3	12	3	59500	3
20D	0.00023	3	13	3	53400	3
21	0.0011	3	15	3	11000	3
21A	0.016	3	11	3	687	3
21B	0.00032	3	12	3	45200	3
22AA	0.016	4	13	4	798	4
22AB	0.000034	6	12	7	> 196427	6
22BA	0.015	3	12	3	786	3
22BB	0.00046	3	14	3	27600	3
23	0.000093	4	12	4	116424	4
23A	0.034	3	11	3	321	3
23B	0.000062	7	12	8	> 88755	7
24	0.00064	4	12	4	18300	4
24A	0.024	3	11	3	469	3

[0961]

24B	0.00034	3	12	3	43100	3
25	0.00045	4	12	4	26800	4
25A	0.0071	3	12	3	1640	3
25B	0.00028	3	13	3	52900	3
26A	0.00010	4	14	4	> 12200	4
26B	0.00094	4	12	4	10600	4
27	0.000067	4	13	4	149640	4
27A	0.00041	3	11	3	14300	3
27B	0.000022	6	13	7	> 205482	6
28AA	0.33	3	11	3	34	3
28AB	0.00068	3	13	3	19000	3
28BA	0.017	3	10.0	3	574	3
28BB	0.00020	3	12	3	70600	3
29AA	0.061	3	9.2	3	151	3
29AB	0.00053	3	12	3	22300	3
29BA	0.0034	3	9.8	3	2890	3
29BB	0.000069	3	12	4	124722	3
30A	0.00024	3	13	4	47400	3
30B	0.0059	3	11	3	1800	3
31A	0.00020	3	12	3	70300	3
31B	0.0026	3	12	3	4400	3
32	0.00013	3	15	3	130935	3
32A	0.063	3	13	3	205	3
32B	0.000081	5	14	5	> 230623	5
33A	0.013	3	17	4	1110	3
33B	0.0079	3	14	3	1760	3
33C	0.0032	3	19	3	5930	3
33D	0.00052	3	18	3	39000	3

[0962] N=对这些化合物进行测试的独立实验的数目。

[0963] 四价逆转录酶定量-PCR(RT-qPCR)测定

[0964] 在RT-qPCR测定中测试本发明的化合物针对DENV-1菌株TC974#666(NCPV)、DENV-2菌株16681、DENV-3菌株H87(NCPV)和DENV-4菌株H241(NCPV)的抗病毒活性。因此,在存在或不存在测试化合物的情况下用DENV-1抑或-2抑或-3抑或-4感染Vero细胞。在感染后第3天,将细胞溶解并且细胞溶解产物用于制备一种病毒靶标(DENV的3' UTR;表2)和一种细胞参考基因( $\beta$ -肌动蛋白,表2)两者的cDNA。随后,在Lightcycler480仪上进行双重实时PCR。所生成的C<sub>p</sub>值与这些靶标的RNA表达的量成反比。通过一种测试化合物抑制DENV复制导致3' UTR基因的C<sub>p</sub>的移位。另一方面,如果测试化合物对这些细胞来说是具有毒性的,那么将观察到对 $\beta$ -肌动蛋白表达的类似作用。对比  $\Delta \Delta C_p$ 方法用于计算EC<sub>50</sub>,该方法是基于用细胞管家基因( $\beta$ -肌动蛋白)标准化的靶基因(3' UTR)的相对基因表达。此外,CC<sub>50</sub>值是基于针对管家基因 $\beta$ -肌动蛋白获取的C<sub>p</sub>值。

[0965] 表2:用于实时定量RT-PCR的引物和探针。

[0966]

引物/探针	靶标	序列 <sup>a, b</sup>
F3utr258	DENV 3'-UTR	5'-CGGTTAGAGGAGACCCCTC-3'
R3utr425	DENV 3'-UTR	5'-GAGACAGCAGGATCTCTGGTC-3'
P3utr343	DENV 3'-UTR	<b>FAM-5'-AAGGACTAG-ZEN-AGGTTAGAGGAGACCCCCC-3'-IABkFQ</b>
Factin743	β-肌动蛋白	5'-GGCCAGGTCATCACCATT-3'
Ractin876	β-肌动蛋白	5'-ATGTCCACGTCACACTTCATG-3'
Pactin773	β-肌动蛋白	<b>HEX-5'-TTCCGCTGC-ZEN-CCTGAGGCTCTC-3'-IABkFQ</b>

[0967] <sup>a</sup>报道染料 (FAM, HEX) 和淬灭剂 (ZEN和IABkFQ) 元素以粗体和斜体指示。

[0968] <sup>b</sup>这些引物和探针的核苷酸序列选自登革热病毒基因组的3' UTR区中的保守区,其是基于保藏在Genbank的四种登革热血清型的300个核苷酸序列的比对 (Gong等人, 2013, Methods Mol Biol[分子生物学方法], 第16章)。

[0969] 培养基由补充有2%热灭活的胎牛血清、0.04%庆大霉素 (50mg/mL) 以及2mM L-谷氨酰胺的最低必需培养基组成。将获自ECACC的Vero细胞悬浮于培养基中, 并且将75μL/孔添加在96孔板 (10000个细胞/孔) 中, 这些板已经包含抗病毒化合物。通常, 这些板包含测试化合物的9个稀释步骤的5倍连续稀释液, 在于100% DMSO (500nL; 对于多数活性化合物而言, 最终浓度范围: 25μM-0.000064μM或2.5μM-0.0000064μM) 中的最终浓度的200倍下。此外, 每个板包含被指定为病毒对照 (在不存在化合物的情况下包含细胞和病毒) 和细胞对照 (在不存在病毒和化合物的情况下包含细胞) 的孔。一旦将这些细胞添加在这些板中, 就将这些板在一个完全润湿的孵育箱 (37℃, 5%CO<sub>2</sub>) 中孵育直到第二天。稀释登革热病毒血清型1、2、3和4, 以便在测定中获得约22-24的Cp。因此, 将25μL的病毒悬浮液添加至所有包含测试化合物的孔中并且添加至被指定为病毒对照的孔中。并行地, 将25μL的培养基添加至细胞对照。接着, 将这些板在一个完全润湿的孵育箱 (37℃, 5%CO<sub>2</sub>) 中孵育3天。在3天之后, 将上清液从这些孔中去除并且将这些孔用冰冷PBS (约100μL) 洗涤两次。将这些96孔板内的细胞沉淀储存在-80℃下持续至少1天。接着, 根据制造商的指导 (Life Technologies[生命技术公司]) 使用Cells-to-CT™溶解试剂盒提取RNA。这些细胞溶解产物可以储存在-80℃下或立即用于逆转录步骤中。

[0970] 在逆转录步骤的准备中, 制备混合物A (表3的A) 并且将7.57μL/孔分配在一个96孔

板中。在添加5 $\mu$ L的细胞溶解产物之后,进行在75℃下的五分钟变性步骤(表3的B)。之后,添加7.43 $\mu$ L的混合物B(表3的C)并且起始逆转录步骤(表3的D)以产生cDNA。

[0971] 最后,制备RT-qPCR混合物,混合物C(表4的A),并且将该混合物(22.02 $\mu$ L/孔)分配在96孔LightCycler qPCR板中,向这些板添加3 $\mu$ L的cDNA,并且根据表4的B部分中的条件在LightCycler480上进行qPCR。

[0972] 使用LightCycler软件和一种内部LIMS系统,计算每种化合物的剂量反应曲线,并且测定半最大有效浓度(EC<sub>50</sub>)和半最大细胞毒性浓度(CC<sub>50</sub>)(表5-8)。

[0973] 表3:使用混合物A、变性、混合物B和逆转录进行cDNA合成。

[0974] A 混合物A

[0975]	A	板	8			反应体积 (μl)	20
		样品	828				
		混合物项目	浓度			体积 (μl)	
			单位	储备液	最终	1 个样品	x 个样品
		Milli-Q H <sub>2</sub> O				7.27	6019.56
		R3utr425	μM	20	0.27	0.15	124.20
		Ractin876	μM	20	0.27	0.15	124.20
[0976]				混合物体积/孔 (μl)		7.57	
				细胞溶解产物		5.00	

[0977] B变性步骤:

[0978]	步骤	温度	时间
	变性	75℃	5'
	保持	4℃	保持

[0979] C混合物B

[0980]	样品	864				
	混合物项目	浓度			体积 ( $\mu$ l)	
		单位	储备液	最终	1 个样品	x 个样品
	Expand HIFI 缓冲液 2	X	10.00	1.00	2.00	1728.0
	MgCl <sub>2</sub>	mM	25.00	3.50	2.80	2419.2
	dNTPs	mM	10.00	1.00	2.00	1728.0
	RNA 酶抑制剂	U/ $\mu$ l	40.00	1.00	0.50	432.0
	Expand RT	U/ $\mu$ l	50.00	0.33	0.13	112.3
[0981]	混合物总体积 ( $\mu$ l)				7.43	

[0981] D方案cDNA合成

[0982]	步骤	温度	时间
	逆转录	42℃	30'

变性	99℃	5'
保持	4℃	保持

[0983] 表4:qPCR混合物和方案。

[0984] A混合物C

样品	833			反应体积 ( $\mu$ l)	25
混合物项目	浓度			体积 ( $\mu$ l)	
	单位	储备液	最终	1 个样品	x 个样品
H <sub>2</sub> O PCR 级罗氏公司 (Roche)				7.74	6447.42
罗氏 2xMM 混合物	X	2	1	12.50	10412.50
F3utr258	$\mu$ M	20	0.3	0.38	316.54
R3utr425	$\mu$ M	20	0.3	0.38	316.54
P3utr343	$\mu$ M	20	0.1	0.13	108.29

[0985]

Factin743	$\mu$ M	20	0.3	0.38	316.54
Ractin876	$\mu$ M	20	0.3	0.38	316.54
Pactin773	$\mu$ M	20	0.1	0.13	108.29
混合物体积/管 ( $\mu$ l)				22.02	
cDNA				3.00	

[0986]

[0987] B方案qPCR3

步骤	温度	时间	斜升速率	40 次循环
预孵育/变性	95℃	10 min	4.4	
变性	95℃	10 秒	4.4	
退火	58℃	1 min	2.2	
延伸	72℃	1 秒	4.4	
冷却	40℃	10 秒	1.5	

[0988]

[0989] 表5:在RT-qPCR测定中化合物针对血清型1的EC<sub>50</sub>、CC<sub>50</sub>和SI

[0990]

化合物#	RT-qPCR 血清型 1 TC974#666					
	EC <sub>50</sub> (μM)	N	CC <sub>50</sub> (μM)	N	SI	N
1C	0.00023	3	> 2.5	3	> 11000	3
1D	0.00027	3	> 2.5	3	> 11400	3
2A	0.00057	3	> 2.5	3	> 7920	3
4C	0.000066	4	> 1.0	4	> 61000	4
4D	0.00023	4	> 1.0	4	> 7140	4
5A	0.00058	3	> 1.0	3	> 1930	3
6AB	0.000022	3	> 2.5	3	> 133413	3
6BB	0.00013	3	> 2.5	2	> 24100	2
7B	0.00015	3	> 2.5	3	> 23200	3
8B	0.000032	3	> 1.0	3	> 38900	3
9B	0.00081	3	> 1.0	3	> 2080	3
10B	0.00027	3	> 2.5	3	> 18700	3
11B	0.00020	4	> 2.5	4	> 11800	4
12B	0.00047	3	> 2.5	3	> 8660	3
13B	0.00019	3	> 2.5	3	> 10400	3
14A	0.00026	3	> 1.0	3	> 6140	3
15B	0.00024	3	> 1.0	2	> 6280	2
17C	0.00019	3	> 1.0	3	> 8230	3
17D	0.00021	3	> 1.0	3	> 15400	3
18B	0.00055	3	> 1.0	3	> 2220	3
19AB	0.000021	3	> 1.0	3	> 56300	3
19BB	0.000091	3	> 1.0	3	> 13300	3
20C	0.00030	4	> 1.0	4	> 4540	4
20D	0.00089	4	> 1.0	4	> 1820	4
21B	0.0010	3	> 2.5	3	> 1950	3
22AB	0.000091	3	> 1.0	3	> 15700	3
22BB	0.0015	3	> 2.5	1	> 1740	1
23B	0.000092	5	> 1.0	5	> 18200	5

[0991]

24B	0.0022	4	> 1.0	4	> 898	4
25B	0.0013	4	> 1.0	4	> 1210	4
27B	0.000013	4	> 1.0	4	> 114234	4
28AB	0.00041	4	> 1.0	4	> 4260	4
28BB	0.00011	4	> 1.0	4	> 29800	4
29AB	0.00023	4	> 1.0	4	> 5680	4
29BB	0.000048	4	> 1.0	4	> 30400	4
30A	0.000094	5	> 1.0	5	> 54900	5
31A	0.00019	3	> 1.0	3	> 6090	3
32B	0.00011	4	> 1.0	4	> 10300	4
33C	0.00097	4	> 1.0	4	> 3500	4
33D	0.00048	4	> 1.0	4	> 7130	4

[0992] N=对这些化合物进行测试的独立实验的数目。

[0993] 表6: 在RT-qPCR测定中化合物针对血清型2的EC<sub>50</sub>、CC<sub>50</sub>和SI

[0994]

化合物#	RT-qPCR 血清型 2 16681					
	EC <sub>50</sub> (μM)	N	CC <sub>50</sub> (μM)	N	SI	N
1C	0.00018	3	> 2.5	3	> 15300	3
1D	0.00023	3	> 2.5	3	> 9200	3
2A	0.00048	3	> 2.5	3	> 6500	3
4C	0.000060	4	> 1.0	4	> 51900	4
4D	0.00013	4	> 1.0	4	> 15600	4
5A	0.00042	3	> 1.0	3	> 3220	3
6AB	0.000017	3	> 2.5	3	> 187753	3
6BB	0.00012	3	> 2.5	3	> 23700	3
7B	0.00012	3	> 2.5	3	> 30600	3
8B	0.000025	3	> 1.0	3	> 54100	3
9B	0.00050	3	> 1.0	3	> 2680	3
10B	0.00011	3	> 2.5	3	> 27400	3
11B	0.00010	3	> 2.5	3	> 22400	3
12B	0.00053	3	> 2.5	3	> 8920	3
13B	0.00012	3	> 2.5	3	> 23900	3
14A	0.00020	3	> 1.0	3	> 5890	3
15B	0.00023	4	> 1.0	3	> 4310	3
17C	0.00011	3	> 1.0	3	> 13700	3
17D	0.00010	3	> 1.0	3	> 24100	3
18B	0.00034	4	> 1.0	3	> 4590	3
19AB	0.000014	3	> 1.0	3	> 92300	3
19BB	0.000078	3	> 1.0	3	> 14100	3
20C	0.000071	4	> 1.0	4	> 19200	4
20D	0.00019	4	> 1.0	4	> 7660	4
21B	0.00016	3	> 2.5	3	> 12700	3
22AB	0.000029	4	> 1.0	3	> 46400	3
22BB	0.00033	3	> 2.5	2	> 9450	2
23B	0.000034	5	> 1.0	4	> 51700	4
24B	0.00026	4	> 1.0	4	> 11300	4
25B	0.00027	4	> 1.0	3	> 6080	3

[0995]

27B	0.000014	4	> 1.0	4	> 92800	4
28AB	0.00031	4	> 1.0	4	> 5530	4
28BB	0.00010	4	> 1.0	4	> 19900	4
29AB	0.00025	3	> 1.0	3	> 5180	3
29BB	0.000025	4	> 1.0	4	> 60200	4
30A	0.000076	4	> 1.0	4	> 65700	4
31A	0.00011	3	> 1.0	3	> 11600	3
32B	0.000033	4	> 1.0	3	> 35800	3
33C	0.0010	4	> 1.0	4	> 4630	4
33D	0.00066	4	> 1.0	4	> 6620	4

[0996] N=对这些化合物进行测试的独立实验的数目。

[0997] 表7:在RT-qPCR测定中化合物针对血清型3的EC<sub>50</sub>、CC<sub>50</sub>和SI

[0998]

化合物#	RT-qPCR 血清型 3 H87					
	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	N	CC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	N	SI	N
1C	0.0024	4	> 2.5	4	> 1300	4
1D	0.0034	4	> 2.5	4	> 949	4
2A	0.0061	4	> 2.5	4	> 390	4
4C	0.00077	4	> 1.0	3	> 1660	3
4D	0.0023	4	> 1.0	4	> 727	4
5A	0.0081	3	> 1.0	3	> 170	3
6AB	0.00013	3	> 2.5	3	> 15300	3
6BB	0.0016	3	> 2.5	3	> 1320	3
7B	0.0018	3	> 2.5	3	> 1810	3
8B	0.00016	3	> 1.0	3	> 7020	3
9B	0.0080	3	> 1.0	3	> 203	3
10B	0.0029	3	> 2.5	3	> 1370	3
11B	0.0018	3	> 2.5	3	> 1650	3
12B	0.0047	4	> 2.5	4	> 401	4
13B	0.0019	4	> 2.5	4	> 1350	4
14A	0.0028	3	> 1.0	3	> 584	3
15B	0.0028	3	> 1.0	2	> 525	2
17C	0.0036	3	> 1.0	3	> 401	3
17D	0.0027	3	> 1.0	3	> 541	3
18B	0.0043	3	> 1.0	3	> 281	3
19AB	0.00014	3	> 1.0	3	> 8790	3
19BB	0.00085	5	> 1.0	5	> 1910	5
20C	0.0034	4	> 1.0	3	> 249	3
20D	0.0089	4	> 1.0	4	> 178	4
21B	0.0065	3	> 2.5	3	> 357	3
22AB	0.00049	3	> 1.0	3	> 4430	3
22BB	0.0090	3	> 2.5	3	> 245	3
23B	0.00033	5	> 1.0	5	> 6770	5
24B	0.014	5	> 1.0	5	> 123	5
25B	0.0063	5	> 1.0	5	> 190	5
27B	0.000091	4	> 1.0	4	> 22600	4
28AB	0.0053	3	> 1.0	3	> 277	3

[0999]

28BB	0.0012	3	> 1.0	3	> 1680	3
29AB	0.0046	4	> 1.0	4	> 264	4
29BB	0.00039	3	> 1.0	3	> 3050	3
30A	0.0019	3	> 1.0	3	> 840	3
31A	0.0015	4	> 1.0	4	> 791	4
32B	0.00057	3	> 1.0	3	> 2870	3
33C	0.011	4	> 1.0	4	> 185	4
33D	0.0023	4	> 1.0	4	> 732	4

[1000] N=对这些化合物进行测试的独立实验的数目。

[1001] 表8:在RT-qPCR测定中化合物针对血清型4的EC<sub>50</sub>、CC<sub>50</sub>和SI

[1002]

化合物#	RT-qPCR 血清型 4 H241					
	EC <sub>50</sub> (μM)	N	CC <sub>50</sub> (μM)	N	SI	N
1C	0.016	3	8.7	3	427	3
1D	0.024	3	7.3	3	280	3
2A	0.027	3	2.2	3	125	3
4C	0.015	3	> 1.0	2	> 73	2
4D	0.026	3	3.2	3	73	3
5A	0.058	3	8.0	3	206	3
6AB	0.0029	3	> 1.0	2	> 425	2
6BB	0.020	3	5.4	3	205	3
7B	0.013	3	8.8	2	582	2
8B	0.0013	3	8.7	2	8240	2
9B	0.036	3	6.7	3	372	3
10B	0.022	3	> 1.0	2	> 57	2
11B	0.017	3	5.7	3	273	3
12B	0.039	3	9.2	2	318	2
13B	0.015	3	3.7	2	323	2
14A	0.015	3	8.9	3	510	3
15B	0.035	3	10.0	3	456	3
17C	0.016	3	1.7	2	95	2
17D	0.015	3	2.9	3	168	3
18B	0.033	3	3.0	2	148	2
19AB	0.00069	3	6.4	3	8200	3
19BB	0.0068	3	5.2	3	905	3
20C	0.020	3	> 1.0	2	> 60	2
20D	0.055	3	> 1.0	1	> 21	1
21B	0.048	3	9.0	3	115	3
22AB	0.0033	3	9.1	2	2890	2
22BB	0.071	3	8.2	3	126	3
23B	0.0027	3	6.0	2	2230	2
24B	0.066	3	7.8	3	115	3
25B	0.055	3	9.9	3	202	3
27B	0.00081	3	8.3	3	9330	3
28AB	0.069	3	9.0	3	158	3
28BB	0.018	3	> 1.0	2	> 58	2

[1003]

29AB	0.035	3	8.0	2	118	2
29BB	0.0028	3	8.3	3	2790	3
30A	0.018	3	7.3	3	399	3
31A	0.017	4	7.3	4	445	4
32B	0.010	3	4.3	3	295	3
33C	0.34	3	4.2	3	9.8	3
33D	0.022	3	5.4	3	256	3

[1004] N=对这些化合物进行测试的独立实验的数目。

## 序列表

	<110> Janssen Pharmaceuticals, Inc. Katholieke Universiteit Leuven	
	<120> 作为登革热病毒复制抑制剂的经取代的吡啶啉衍生物	
	<130> TIP 373-PCT	
	<150> EP17172237.4	
	<151> 2017-05-22	
	<160> 14	
	<170> BiSSAP 1.3.6	
	<210> 1	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 1	
	cggtagagg agaccctc	19
	<210> 2	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 2	
	gagacagcag gatctctggt c	21
	<210> 3	
	<211> 28	
[0001]	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 3	
	aaggactaga ggtagagga gaccccc	28
	<210> 4	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 4	
	ggccaggtca tcaccatt	18
	<210> 5	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 5	
	atgtccacgt cacacttcat g	21
	<210> 6	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 6	
	ttccgtgcc ctgaggtct c	21
	<210> 7	
	<211> 20	

[0002]	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 7	
	tcggagccgg agtttacaaa	20
	<210> 8	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 8	
	tcttaacgtc cgcccatgat	20
	<210> 9	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 9	
	attccacaca atgtggcat	19
	<210> 10	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 10	
	ggatagacca gagatcctgc tgt	23
	<210> 11	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 11	
	cattccattt tctggcggtc	20
	<210> 12	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 12	
	caatccatct tgcggcgctc	20
	<210> 13	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 13	
	cagcatcatt ccaggcacag	20
	<210> 14	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 登革病毒	
	<400> 14	
	caacatcaat ccaggcacag	20