

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 1 月 9 日 (09.01.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/007273 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07D 231/12 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/415 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2019/094301
- (22) 国际申请日: 2019 年 7 月 2 日 (02.07.2019)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201810708632.1 2018年7月2日 (02.07.2018) CN
- (71) 申请人: 四川大学(SICHUAN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。
- (72) 发明人: 余江(YU, Jiang); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 陈元伟(CHEN, Yuanwei); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。
- (74) 代理人: 成都高远知识产权代理事务所(普通合伙)(GAOYUNG INTELLECTUAL PROPERTY

AGENCY (GENERAL PARTNERSHIP)); 中国四川省成都市高新区衣冠庙邮局 A-42 号信箱, Sichuan 610041 (CN)。

- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,

(54) Title: NOVEL ANDROGEN RECEPTOR INHIBITOR AND SYNTHESIS METHOD AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 新型雄激素受体抑制剂及其合成方法和应用

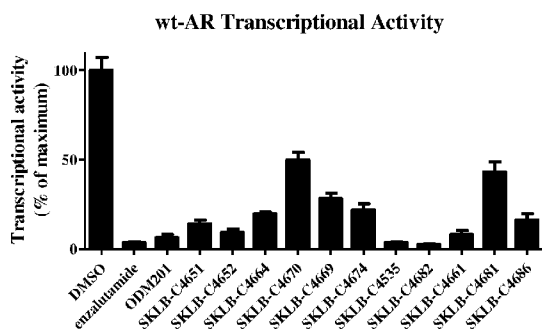
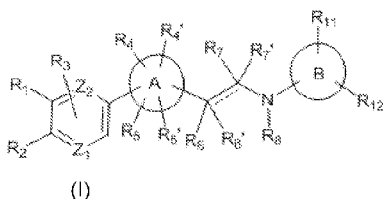


图 1

(57) Abstract: Disclosed is a compound represented by formula (I) or a stereoisomer, pharmaceutically acceptable salt, hydrate, or solvate thereof. Also disclosed are a preparation method and use of the compound. The compound represented by formula (I) of the present invention is a good AR inhibitor, provides a new option for clinical screening and/or preparation of a drug for treating prostate cancer, and has good application prospects.

(57) 摘要: 本发明公开了式(I)所示的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。本发明还公开了前述化合物的制备方法和用途。本发明式(I)所示的化合物是优良的AR抑制剂, 为临床上筛选和/或制备治疗前列腺癌的药物提供了一种新的选择, 具有良好的应用前景。



RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

新型雄激素受体抑制剂及其合成方法和应用

技术领域

本发明涉及医药领域，具体地，本发明涉及种新型的雄激素受体抑制剂的合成。

背景技术

前列腺癌是男性泌尿生殖系统较为普遍的恶性肿瘤之一。在西方国家是男性最常见的恶性肿瘤，是第三大癌症导致死亡的病因。2012 年我国肿瘤登记地区的前列腺癌发病率为 9.92/10 万，在男性恶性肿瘤中居第 6 位。2015 年我国前列腺癌新发病例约 60300 例，死亡病例约 26600 例，已成为威胁我国老年男性健康的重要原因之一。根据 2014 版的中国泌尿外科诊疗指南指出，晚期前列腺癌的标准治疗方案为雄激素剥夺治疗(androgen deprivation therapy, ADT)。在雄激素剥夺治疗的早期，症状能得到一定程度的缓解，但约 40% 的患者会发展成为去势抵抗型前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC)。究其原因，与雄激素受体信号通路再激活有关，包括肾上腺分泌的雄激素、肿瘤内分泌的雄激素、雄激素受体的突变、甾醇类激素相关信号通路的效应等。CRPC 患者的中位生存期仅为 12~18 个月。

雄激素受体(androgen receptor, AR)属于核受体超家族,包含 918 个氨基酸，与其他核受体具有相似的结构和功能。它由三个重要的结构域组成，分别是 DNA 结合域(DNA binding domain, DBD)、配体结合域(ligand binding domain, LBD)和氮端结合域(N-terminal domain, NTD)，DBD 和 LBD 之间通过一个铰链区(Hinge)相连。存在于 AR 碳端的 LBD 是 AR 与配体结合的位点，决定了配体与 AR 结合的特异性，配体与 LBD 结合从而激活 AR。男性的睾酮主要由睾丸分泌，此外肾上腺也能分泌少量。在前列腺组织中，90% 的睾酮被 5 α -还原酶催化生成二氢睾酮(DHT)，其生物活性比睾酮更强，对前列腺的生长和发育起着重要的作用。在正常情况下，雄激素受体存在于胞质中并与热休克蛋白(Hsp90)等结合形成稳定的适合于雄激素结合的三级结构。当内源性雄激素出现时 Hsp90 被释放，AR 的 LBD 与雄激素结合后发生构象的改变，并伴随着 AR 的二聚化和磷酸化，导致 AR 被激活。由此形成的 AR-雄激素复合物进入细胞核识别相应的雄激素响应元件，募集其他共调控蛋白，形成有活性的转录复合物，

启动 AR 靶基因的转录。拮抗剂与内源性的雄激素竞争性地结合 AR，但不会引起相关基因的转录以及后续的生物效应。

雄激素受体(androgen receptor,AR)在前列腺癌的发生、发展中起着非常重要作用，研究表明去势抵抗型前列腺癌仍然依赖 AR 的作用。因此，靶向 AR 信号通路仍然有重要意义。

根据化学结构的不同，可将 AR 抑制剂分为甾体类 AR 拮抗剂和非甾体类 AR 拮抗剂。醋酸环丙孕酮是甾体类 AR 拮抗剂的代表，由于该类药物的口服生物利用度和选择性较差，易产生交叉作用引起不良反应，从而限制了其临床应用。而非甾体 AR 抑制剂的口服生物利用度相对较高，并且对 AR 有较高的选择性，因此成为研究开发抗雄激素的主要方向。

目前，在治疗前列腺癌的药物中已上市的 AR 抑制剂有第一代的氟他胺(flutamide)、比卡鲁胺(R-bicalutamide)和尼鲁米特(nilutamide)和第二代的恩杂鲁胺(enzalutamide)，均作用于 AR 的 LDB。处于临床研究阶段的还有与恩杂鲁胺结构极其相似的 ARN509 以及 ORION 公司研发的 ODM-201 等小分子抑制剂。

第一代抗雄激素对 AR 的亲合力低于内源性配体 DHT，长期服用会出现拮抗作用转化为激动作用的现象，从而导致病情加重。这种现象可能是由 AR 的某些位点突变引起的，如已经报道的 T877A 和 W741C 突变导致 AR 与拮抗剂作用之后转变为激活的构象。部分前列腺癌患者初期使用抗雄激素疗法有效，但若转变为去势抵抗型前列腺癌，传统的 AR 拮抗剂也无法继续使用，这与 AR 过表达、AR 突变以及瘤内雄激素的生物合成增加等因素有关。

2012 年，第二代 AR 抑制剂恩杂鲁胺(图 1)被 FDA 批准上市，它对 AR 的亲合力是比卡鲁胺的 8 倍，其 IC₅₀ 值为 36nmol/L，较比卡鲁胺提高了 3~5 倍，该化合物能抑制 AR 从胞质向细胞核的转移，阻止 AR 与 DNA 的结合。但是，临床研究结果显示恩杂鲁胺有诱发癫痫的可能，发病率约 0.6%。同时，目前已经发现 AR-F876L 突变对恩杂鲁胺产生耐药性。研究表明由 mRNA 剪切产生的一类缺少配体结合区的 AR 突变体，例如临床上发现的 AR-V7 亚型，在 CRPC 患者中表达增加，对 CRPC 的发生发展起着重要作用。恩杂鲁胺以及处于临床 III 期的 AR 抑制剂 ODM201 主要作用于 AR 配体结合区，对这种缺少配体结合

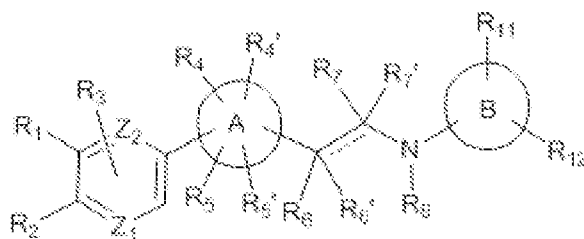
区的突变型 AR 无效。

因此，研发新的有效药物显得十分必要和迫切。

发明内容

为了解决上述问题，本发明提供一种通式 (I) 所示的化合物，对 AR 的亲合力远高于第一代雄激素受体抑制剂，对第一代 AR 抑制剂羟基氟他胺所产生的 T877A 突变以及第二代 AR 抑制剂恩杂鲁胺产生的 F876L 突变有效。同时此类化合物与 ODM201 有着相似的化学结构，几乎不能通过血脑屏障，降低化合物致癫痫的副作用。本发明提供的化合物不仅可以与天然雄激素竞争性结合 AR 还能下调 AR 及其剪切突变体的表达，从而更好的抑制雄激素信号通路的异常激活。

本发明首先提供了式 I 所示的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物：



I

Z_1 、 Z_2 各自独立的为 C 或者 N；

环 A 为 $C_5 \sim C_{12}$ 碳环、杂环、咪唑二酮、芳环、芳杂环、苯并碳环、苯并杂环，其中苯环上的碳可被一个或多个杂原子取代；

环 B 为 $C_5 \sim C_{12}$ 碳环、杂环、并环、桥环、螺环、芳环、芳杂环或苯并芳环、苯并芳杂环、苯并碳环或苯并杂环，其中苯环上的碳可被一个或多个杂原子取代；

R_1 和 R_2 相互独立地为氢、卤素、 CHF_2 、 CF_3 、氰基、硝基、氨基、羟胺基、羟基、巯基、磺酸基、 $C_1 \sim C_6$ 的烷基、烯烷基、炔烷基、烷氧基、环烷基、杂环基或芳基、杂芳基以及 $-R_9C(O)R_{10}$ 、 $-R_9CO(O)R_{10}$ 、 $-R_9(O)COR_{10}$ 、 $-R_9NHC(O)R_{10}$ 或者 $-R_9C(O)NHR_{10}$ ，其中的羟基、巯基、氨基、烷基、烯烷基、炔烷基、烷氧基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基可进一步被一个或多个卤素、氰基、氨基、羟胺基、巯基、羟基、烷基、烷氧基、羰基、醛基、羧基、酯基、酰胺键、芳基、芳杂基取代；

R_3 为氢、卤素、氰基、硝基、氨基、羟基、羟胺基、巯基、磺酸基、羧基、醛基、羰基、酯基、酰胺键或 $C_1\sim C_6$ 的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、芳杂基，其中的烷基、烯炔基、炔炔基、烷氧基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基进一步被一个或多个卤素、氰基、氨基、羟胺基、巯基、羟基、烷基、烷氧基、羰基、醛基、羧基、酯基、酰胺键、芳基、芳杂基取代；

R_1 和 R_2 和 R_3 可以相互以单键、双键或三键连接成环；

R_4 、 R_4' 、 R_5 和 R_5' 各自独立地表示氢、羟基、卤素、氨基、羟胺基、氰基、硝基、烯基、炔基、 $C_1\sim C_6$ 烷基、环烷基、烷氧基、羰基、硫羰基、醛基、羧基、酯基、酰胺基，其中所述 $C_1\sim C_6$ 的烷基、烷氧基、烯基、炔基、酯基、酰胺基可以各自独立地进一步被一个或者多个选自卤素、羟基、氰基、硝基、羟胺基、氨基、羟胺基、烷氧基、环烷基的基团所取代；

R_5 、 R_5' 、 R_4 、 R_4' 可以相互连接成键；

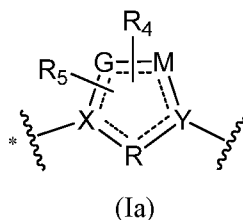
R_7 、 R_7' 、 R_6 、 R_6' 、 R_8 各自独立地表示氢、羟基、羟胺基、氨基、硝基、氰基、卤素、 $C_1\sim C_6$ 的烷基、烷氧基、烷氧基取代的烷基、环烷基、羰基、醛基、羧基、酯基、酰胺基；

R_7 、 R_7' 、 R_6 、 R_6' 可以相互连接成键；

R_{11} 、 R_{12} 各自独立地表示氢、羟基、氨基、羟胺基、硝基、磺酸基、氰基、卤素、 $C_1\sim C_6$ 的烷基、烷氧基、环烷基、芳基；其中所述 $C_1\sim C_6$ 烷基、烷氧基、环烷基、氨基、芳基各自独立的任选进一步被一个或者多个选自卤素、羟基、氰基、硝基、烷基、环烷基、烷氧基、芳基的基团所取代；

R_9 、 R_{10} 各自独立地表示为氢、 $C_1\sim C_6$ 直链或者支链烷基、烷氧基、氨基，其中的烷基、烷氧基可进一步被一个或者多个卤素、氰基、羟基、硝基、氨基取代。

优选地，所述化合物的环 A 具有如 Ia 所示结构：



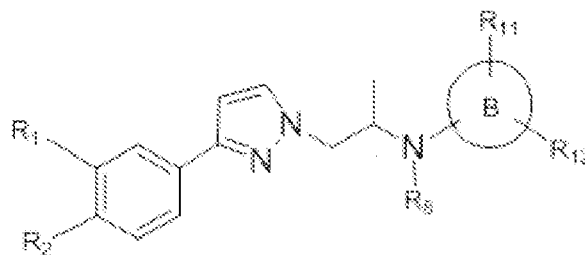
其中, R 为 O , N , $C=O$ 或者 $C=S$;

X 为 C 或 N; Y 为 C 或 N; G 为 CH, C=O 或者 C=S;

M 为 CH 或者 O; 虚线表示可选择的双键; 星号表示与环连接的位置;

R₄ 和 R₅ 定义同上述结构 I。

优选地, 所述化合物具有式 II 所示结构:



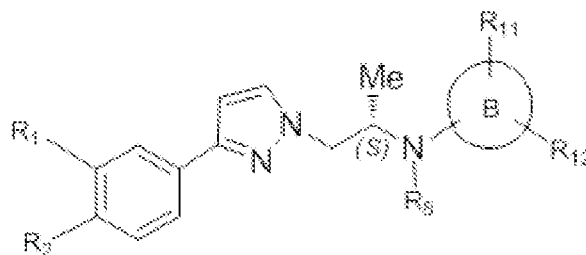
II

其中, R₁ 和 R₂ 相互独立地为氢、卤素、CHF₂、CF₃、氰基、硝基、氨基、羟胺基、羟基、巯基、磺酸基、C₁~C₆ 的烷基、烯烃基、炔烃基、烷氧基、环烷基、杂环基或芳基、杂芳基; 其中的羟基、巯基、氨基、烷基、烯烃基、炔烃基、烷氧基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基可进一步被一个或多个卤素、氰基、氨基、羟胺基、巯基、羟基、烷基、烷氧基、羰基、醛基、羧基、酯基、酰胺键、芳基、芳杂基取代;

其中, 环 B 为 C5~C12 碳环、杂环、芳环、芳杂环或苯并芳环、苯并杂环、苯并芳杂环, 其中苯环上的碳可被一个或多个杂原子取代;

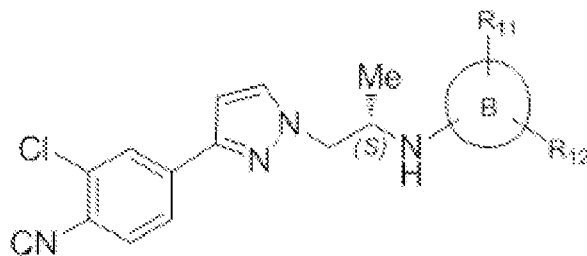
R₁₁、R₁₂ 各自独立地表示氢、羟基、氨基、羟胺基、硝基、磺酸基、氰基、卤素、C₁~C₆ 的烷基、烷氧基、环烷基、芳基; 其中所述 C₁~C₆ 烷基、烷氧基、环烷基、氨基、芳基各自独立的任选进一步被一个或者多个选自卤素、羟基、氰基、硝基、烷基、环烷基、烷氧基、芳基的基团所取代。

优选地, 所述化合物具有式 III 所示结构:



III

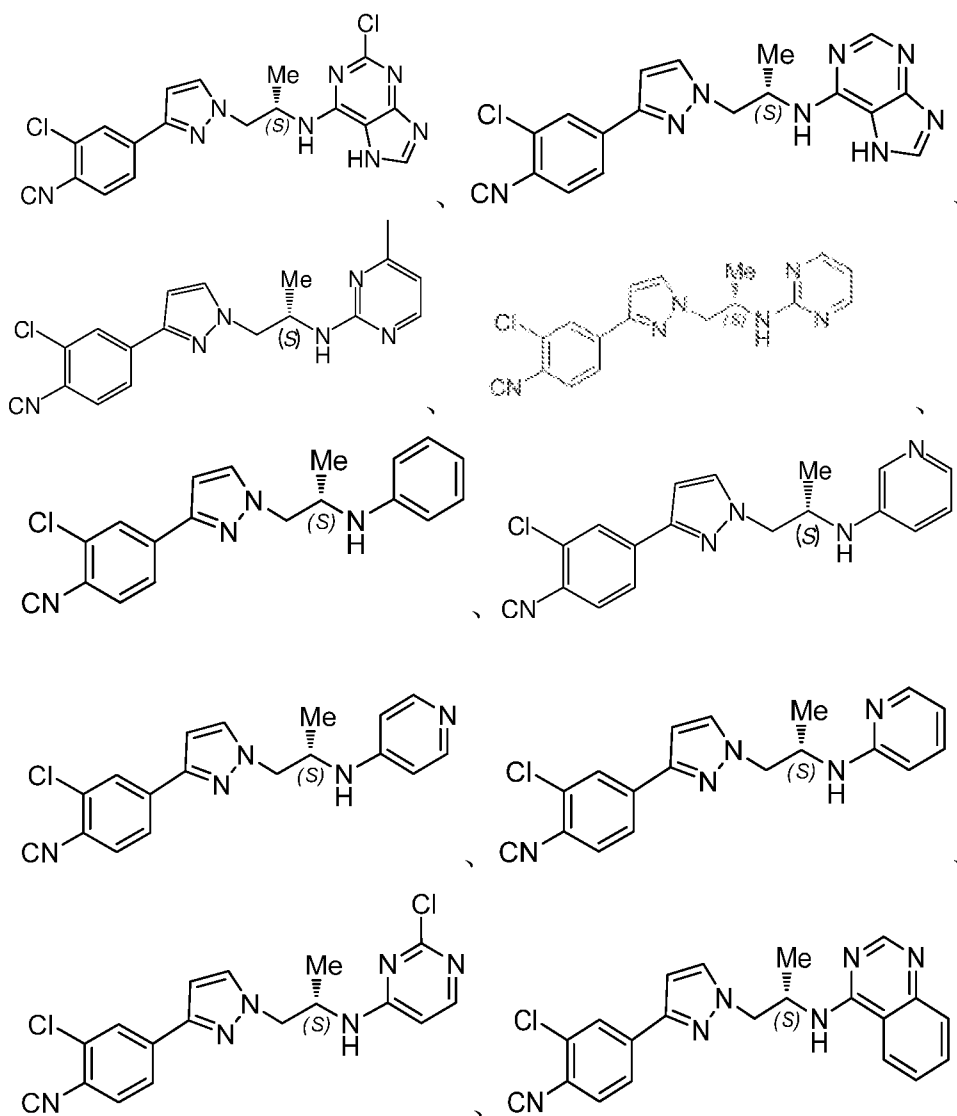
优选地，所述化合物具有式IV所示结构：

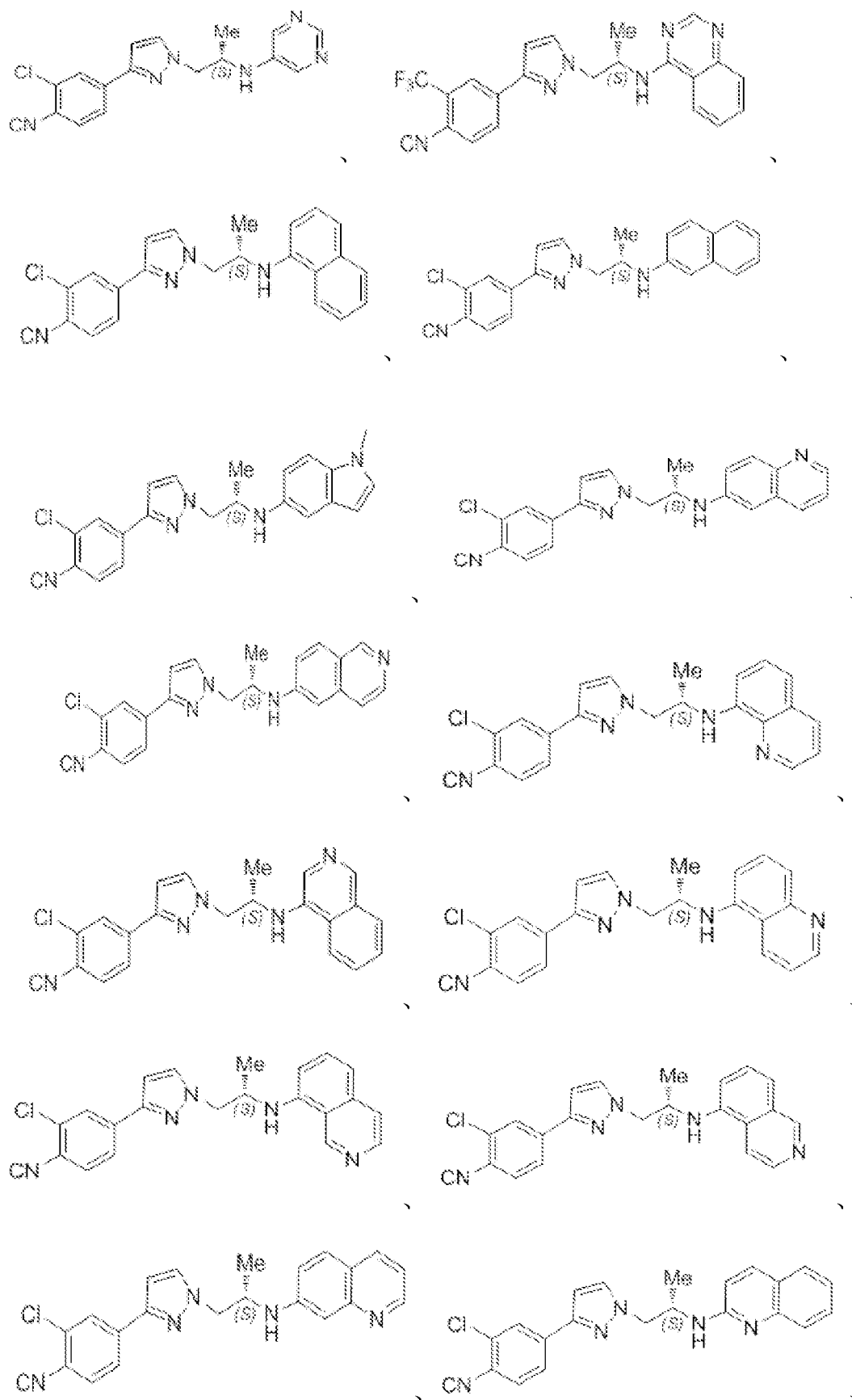


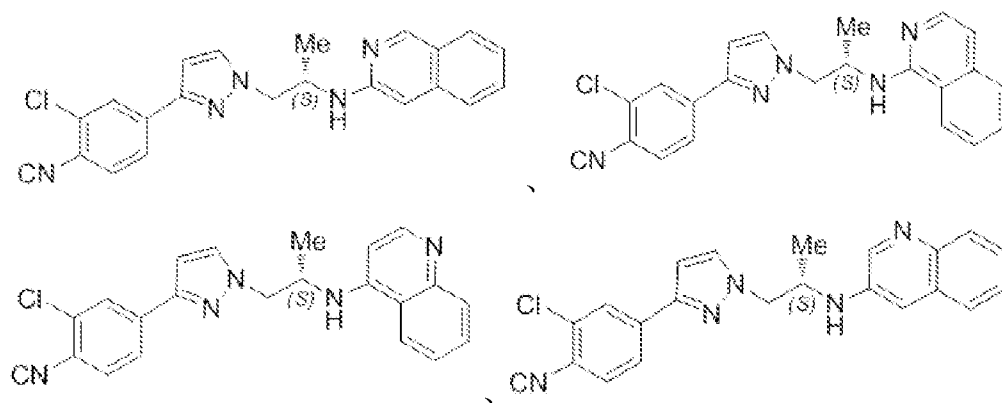
IV

优选地，所述环B为含N并环、含N芳杂环、苯并含N杂环、苯并含N芳杂环或者嘌呤。

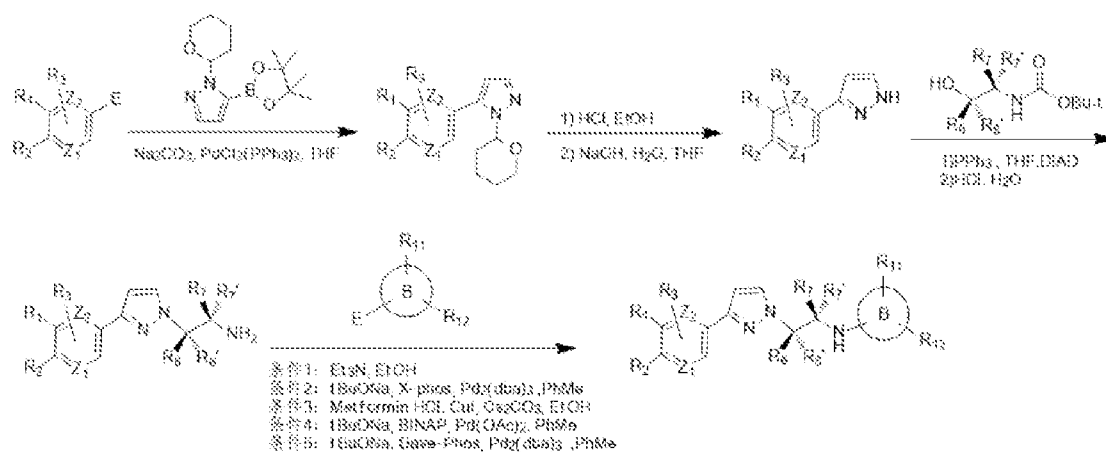
最优选地，所述化合物为如下化合物之一：





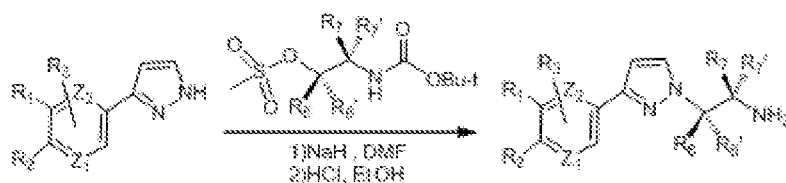


本发明还提供了前述化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物方法，其反应路线如下所示：

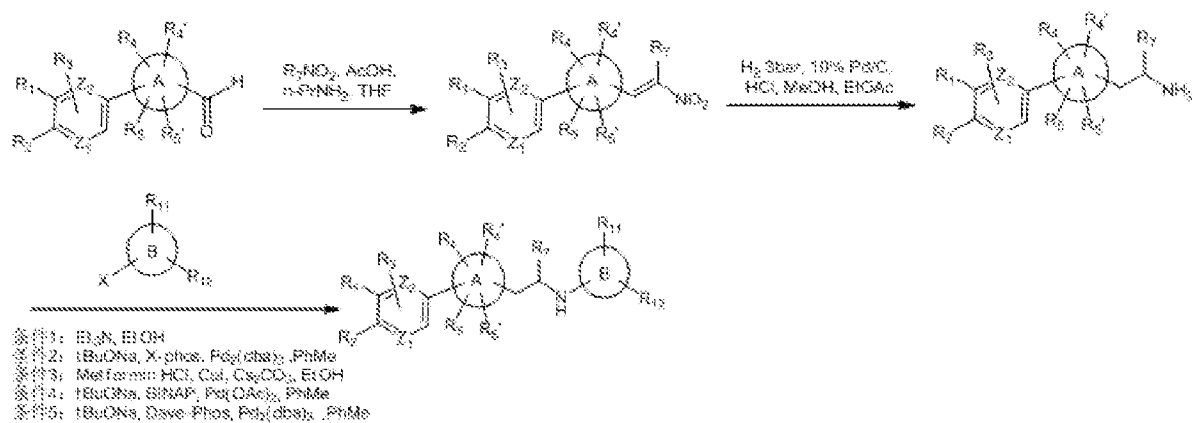


E 为卤素 Cl、Br、I；

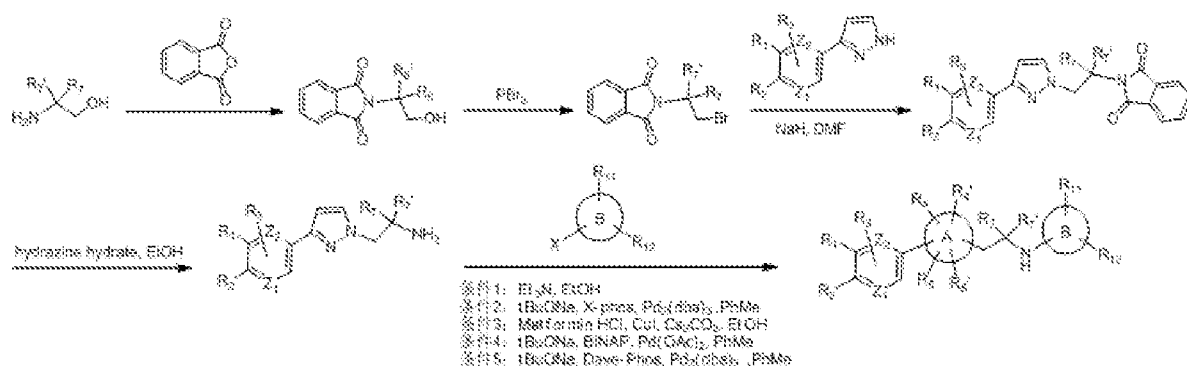
或者，



或者，



或者,



。

本发明还提供了前述化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物在制备雄激素受体抑制剂中的用途。

其中,所述雄激素受体包括雄激素受体的突变体。

其中,所述雄激素受体的突变体 T877A 突变体、W741C 突变体和/或 AR-F876L 突变体。请对这三个突变进行具体解释,指出其突变的位置以及如何突变。

其中,所述抑制剂是抑制雄激素受体表达和/或雄激素受体通路的抑制剂。

其中,所述抑制雄激素受体通路是抑制雄激素受体下游基因 PSA 和 FKBP5 的转录。

本发明还提供了前述化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物在制备雄激素受体相关疾病的药物中的用途。

其中,所述药物是治疗雄激素受体表达阳性的前列腺癌、前列腺增生、多毛症、脱发、精神性厌食症、乳腺癌、痤疮、男性功能障碍或艾滋病的药物。

本发明还提供了一种新型的雄激素受体抑制剂,它是以前述化合物或其立体

异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物为活性成分，再加上药学上可接受的辅料制备而成的制剂。

活性成分

如本文所用，术语“本发明化合物”指式 I 所示的化合物。该术语还包括及式 I 化合物的立体异构体、互变异构体、同位素替代形式、混合物形式和药学上可接受的盐以及其代谢产物和代谢前体或前药。

如本文所用，术语“药学上可接受的盐”指本发明化合物与酸或碱所形成的适合用作药物的盐。药学上可接受的盐包括无机盐和有机盐。

药学上可接受的辅料

所述药学上可接受的辅料，它具有一定生理活性，但该成分的加入不会改变上述药物组合物在疾病治疗过程中的主导地位，而仅仅发挥辅助功效，这些辅助功效仅仅是对该成分已知活性的利用，是医药领域惯用的辅助治疗方式。若将上述辅助性成分与本发明药物组合物配合使用，仍然应属于本发明保护的范围。

关于本发明的使用术语的定义：除非另有说明，本文中基团或者术语提供的初始定义适用于整篇说明书的该基团或者术语；对于本文没有具体定义的术语，应该根据公开内容和上下文，给出本领域技术人员能够给予它们的含义。

术语“立体异构体”包括立体中心(例如带有 4 个不同取代基的碳)、轴不对称例如有关键、平面不对称及其混合物的存在。

“取代”是指分子中的氢原子被其它不同的原子或分子所替换。

本发明中，“烷基”是烷烃分子中少掉一个氢原子而成的烃基，C1~C6 的烷基是指 C1、C2、C3、C4、C5、C6 的烷基，即具有 1~6 个碳原子的直链或支链的烷基，例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基、己基等等。

“炔基”是指具有至少一个碳-碳三键的脂肪族碳氢基团。所述的炔基可以是直链或支链的。当炔基前具有碳原子数限定(如 C₂₋₈炔基)时，例如，术语“C₂₋₈炔基”指具有 2-8 个碳原子的直链或支链炔基。

“烯基”是指具有至少一个碳-碳双键的脂肪族碳氢基团。所述的烯基可以是直链或支链的。当烯基前具有碳原子数限定(如 C₂₋₈烯基)时，例如，术语“C₂₋₈烯基”指具有 2-8 个碳原子的直链或支链烯基。

卤素为氟、氯、溴或碘。

“芳基”指具有共轭的 π 电子体系的全碳单环或稠合多环(也就是共享毗邻碳原子对的环)基团,例如苯基和萘基。所述芳基环可以稠合于其它环状基团(包括饱和和不饱和环),但不能含有杂原子如氮,氧,或硫,同时连接母体的点必须在具有共轭的 π 电子体系的环上的碳原子上。芳基可以是取代的或未取代的。

“杂芳基”指包含一个到多个杂原子的杂芳族基团。这里所指的杂原子包括氧、硫和氮。例如呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡唑基、吡咯基、N-烷基吡咯基、咪唑基、吡嗪基、咪唑基、四唑基等。所述杂芳基环可以稠合于芳基、杂环基或环烷基环上,其中与母体结构连接在一起的环为杂芳基环。杂芳基可以是任选取代的或未取代的。

“环烷基”指饱和或不饱和的环状烃取代基;环状烃可以是单环也可以是多环。例如,“C₃₋₈ 环烷基”指碳原子数为 3~8 的环烷基。

“杂环基”指饱和或不饱和的环状烃取代基;环状烃可以是单环也可以是多环,且携带至少一个选自 O、S 或取代的氮原子的环烷基,其余环原子为碳,例如,“C₃₋₈ 杂环基”指碳原子数和杂原子数共为 3~8 的杂环基。

本发明化合物可以有效抑制 AR,具体地,不仅能够通过下调 AR 及其突变体的 mRNA 来抑制其蛋白表达,还能抑制 AR 及其突变体下游基因 PSA 和 FKBP5 的转录,同时对蒽杂鲁胺耐药的 AR-F876L 仍然有抑制作用,说明本发明化合物能够有效抑制 AR 信号通路。在细胞水平,本发明化合物能有效抑制 AR 阳性的前列腺癌细胞的增殖,且具有良好的细胞选择性,为临床上筛选和/或制备治疗前列腺癌的药物提供了一种新的选择,具有良好的应用前景。

显然,根据本发明的上述内容,按照本领域的普通技术知识和惯用手段,在不脱离本发明上述基本技术思想前提下,还可以做出其它多种形式的修改、替换或变更。

以下通过实施例形式的具体实施方式,对本发明的上述内容再作进一步的详细说明。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实例。凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的范围。

附图说明

图 1.化合物对野生型 AR 转录活性的影响

图 2.化合物对 LNCap 细胞中 AR 蛋白水平的影响

图 3.化合物对 VCap 细胞中 AR 及其突变体蛋白水平的影响

图 4.化合物对 22RV1 细胞中 AR 及其突变体蛋白水平影响

图 5.化合物对 LNCap 细胞中 PSA 和 FKBP5 基因 mRNA 的影响

图 6.化合物对 VCap 细胞中 PSA 和 FKBP5 基因 mRNA 的影响

图 7.化合物对 22RV1 细胞中 FKBP5 基因 mRNA 的影响

图 8.化合物对 LNCap 细胞中 AR 和 AR-V7 基因 mRNA 的影响

图 9.化合物对 AR-F876L 突变体转录活性的影响

图 10.化合物的体内抗肿瘤活性。

具体实施方式

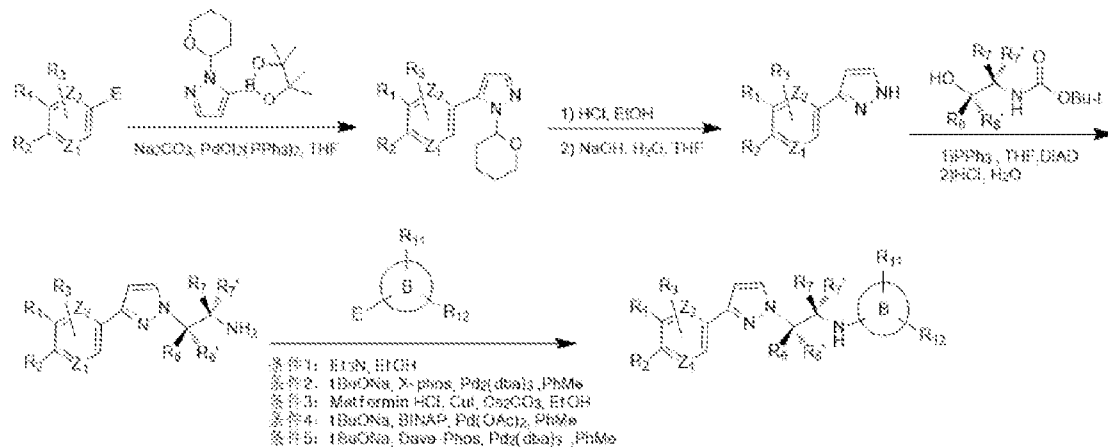
本发明化合物与其编号见表 1。

表 1.本发明化合物编号

编号	化合物	编号	化合物
SKLB-C4534		SKLB-C4535	
SKLB-C4537		SKLB-C4538	
SKLB-C4651		SKLB-C4652	
SKLB-C4660		SKLB-C4659	
SKLB-C4662		SKLB-C4661	
SKLB-C4664		SKLB-C4667	
SKLB-C4669		SKLB-C4670	
SKLB-C4671		SKLB-C4673	

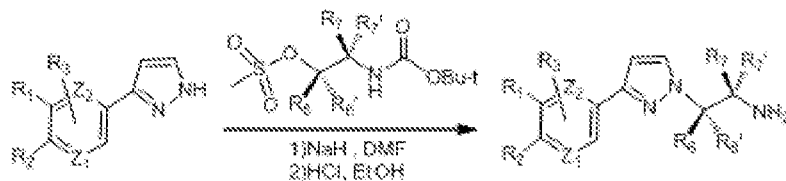
SKLB-C4674		SKLB-C4678	
SKLB-C4679		SKLB-C4682	
SKLB-C4676		SKLB-C4677	
SKLB-C4675		SKLB-C4684	
SKLB-C4685		SKLB-C4686	
SKLB-C4681		SKLB-C4683	

通用合成路线一:

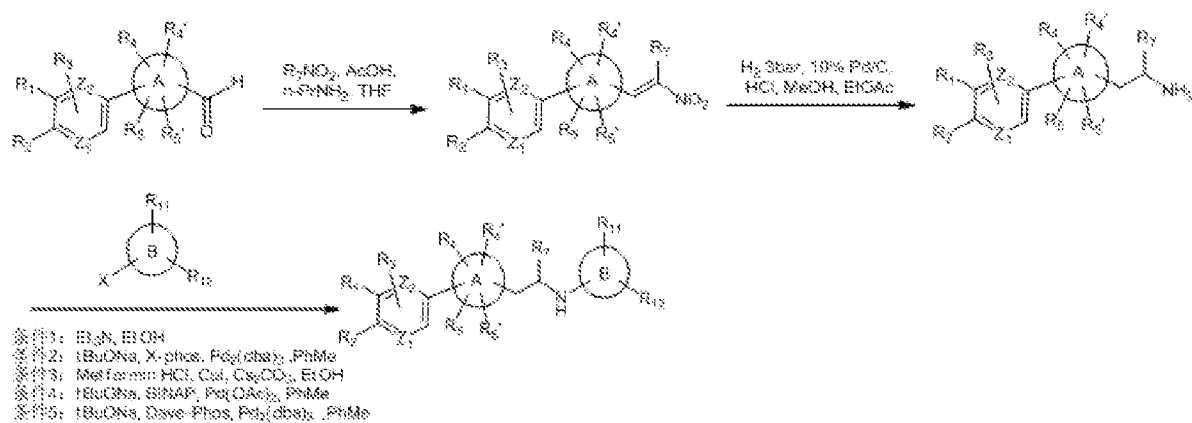


E 为卤素 Cl、Br、I

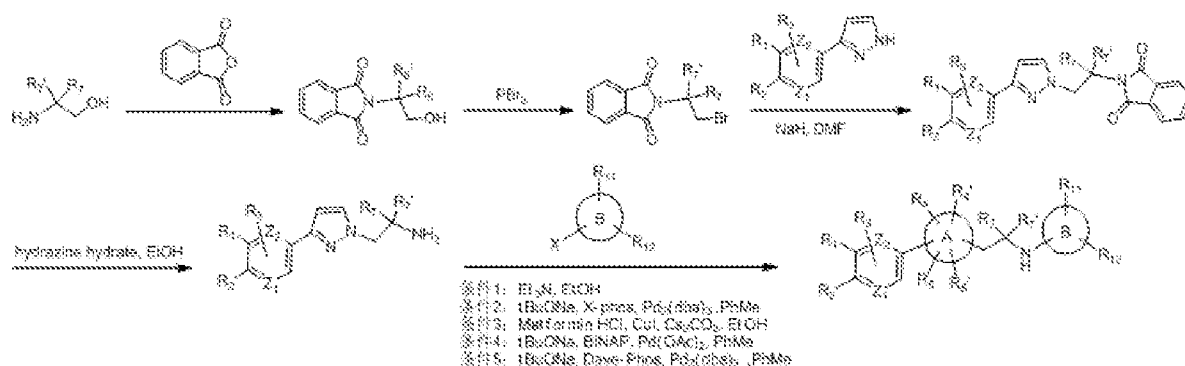
通用合成路线二:



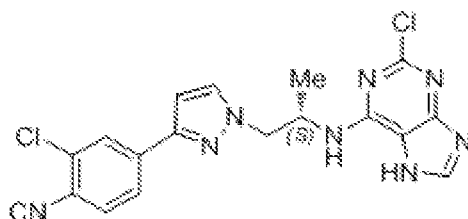
通用合成路线三:



通用合成路线四:



实施例 1 本发明中化合物 SKLB-C4534 的合成



a) 合成 2-氯-4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-5-基)苯腈

将 4-溴-2-氯苯腈 (2g, 8mmol) 和 1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-5-硼酸频那酯 (4.45g, 16mmol) 溶于 THF (22ml)。加入二(三苯基膦)二氯化钯 (II) (281mg, 0.4mmol)、碳酸钠 (2g, 19.2mmol) 和水 (6ml)，抽换 N₂ 三次。混合物加热至 45℃，搅拌过夜。

蒸发溶剂，硅藻土过滤除去不溶物，加水稀释并用乙酸乙酯萃取 2 次，无水硫酸钠干燥后浓缩，硅胶柱纯化 (PE:EA=5:1) 得淡黄色固体 2.4g。

b) 合成 2-氯-4-(1H-吡唑-5-基)苯腈

将 2-氯-4-(1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-吡唑-5-基)苯腈 (8.3mmol, 2.4g) 和 10% HCl/EtOH (80ml) 加入烧瓶中，回流搅拌过夜。

停止加热，冷至室温，蒸发溶剂，用氢氧化钠和饱和碳酸氢钠调 pH 至 8。加二氯甲烷萃取 3 次，无水硫酸钠干燥后浓缩，硅胶柱纯化（PE:EA=2:1），得 1.7g 白色固体。

c) 合成(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈

将三苯基膦(8.4g, 30mmol)加入圆底烧瓶中，抽换 N₂，加入干燥 THF(25ml)。用冰浴搅拌至三苯基膦完全溶解，缓慢加入 DIAD(6.4g, 30mmol)，加毕混合物析出白色固体。将(S)-叔-丁基(1-羟基丙-2-基)氨基甲酸酯(5.6g, 30mmol)溶于干燥 THF(20ml)，缓慢加入反应混合物中。加毕，将 2-氯-4-(1H-吡唑-5-基)苯腈(3.3g, 15mmol)溶于干燥 THF(30ml)，缓慢加入反应混合物中。加毕，将混合物移至室温并搅拌 4h。

将水(25ml)和浓盐酸(10ml)加入混合物中，室温搅拌 2 天期间补浓盐酸 5ml。至原料基本反应完全，蒸发有机溶剂，加入 DCM 萃取 2 次，有机相合并用 1M 盐酸水溶液洗两次，水相合并，用 50%NaOH 调 pH 至 12。加二氯甲烷萃取 3 次，有机层合并，无水硫酸钠干燥后浓缩，得 2.8g 白色固体。

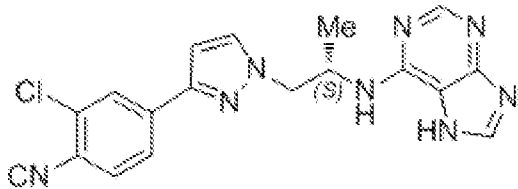
d) 合成 SKLB-C4534

2,6-二氯嘌呤(110mg, 0.52mmol)溶于正丁醇(3ml)，加入(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈(98mg, 0.52mmol)和三乙胺(72mg, 0.79mmol)，加热至 110℃搅拌过夜。

停止加热，冷至室温，呈白色浑浊，沉淀过滤，用水、乙酸乙酯、二氯甲烷和甲醇洗涤，得白色固体 30mg 白色固体，即 SKLB-C4534。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.01 (s, 1H), 8.14 (s, 2H), 8.03 – 7.90 (m, 2H), 7.90 – 7.78 (m, 2H), 6.87 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.37 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 1.24 (d, J = 6.4 Hz, 3H). MS(ESI) : 413.07[M+H⁺]

实施例 2 本发明中化合物 SKLB-C4535 的合成



中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法合成。

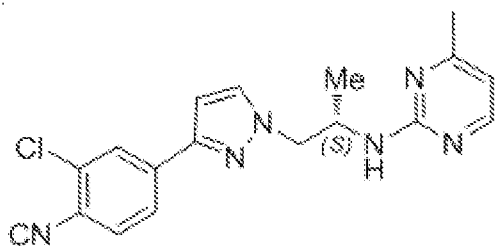
6-氯嘌呤(160mg, 0.92mmol)溶于乙醇(5ml), 加入(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈(240mg, 0.92mmol)和三乙胺(72mg, 0.79mmol), 加热至 90℃搅拌 48h。

停止加热, 冷至室温, 呈白色浑浊。加水稀释后用 DCM 萃取 2 次, 有机层合并, 浓缩。干法上样, 硅胶柱纯化, 先用 3%MeOH/DCM 洗脱约 3 个柱体积, 再换纯 EA 洗脱, 得白色固体 30mg, 即 SKLB-C4535。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.86 (s, 1H), 8.12 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 8.04 (s, 1H), 7.96 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 6.89 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.64 – 4.19 (m, 2H), 1.22 (d, $J = 4.2$ Hz, 4H). MS (ESI): 401.1 $[\text{M}+\text{Na}^+]$

实施例 3 本发明中化合物 SKLB-C4535 的合成

.....



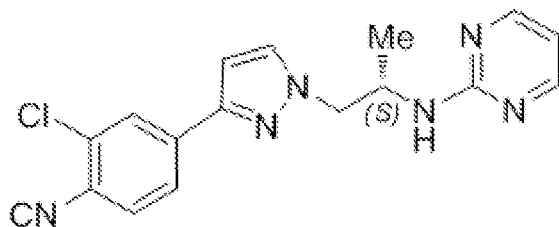
中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法合成。

2-氯-4 甲基嘧啶(51.4mg, 0.4mmol)和(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈(86mg, 0.31mmol)至于微波管中, 加入三乙胺(47.1mg, 0.465mmol)和乙醇(0.5ml)。微波加热至 130℃, 反应 60min。

冷至室温, 用厚硅胶板分离纯化, 以 PE:EA=1:1 为展开剂, 刮板后直接干法上样, 硅胶柱纯化得白色固体 20mg, 即 SKLB-C4537。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.13 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.44 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 5.16 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 4.51 (m, 1H), 4.35 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 1.24 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H). MS (ESI): 353.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

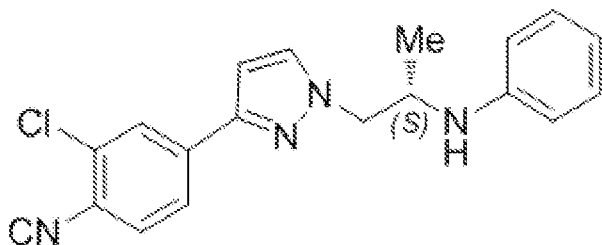
实施例 4 本发明中化合物 SKLB-C4538 的合成



该标题化合物利用实施例 3 所述方法用 2-氯嘧啶（50mg，0.4mmol）和 (S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈(86mg, 0.31mmol)作为原料制备，得 25mg 白色固体，即 SKLB-C4538。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.28 (s, 2H), 7.95 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 6.58 (s, 2H), 4.51 (s, 1H), 4.36 (s, 2H), 1.26 (s, 3H). MS (ESI): 339.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

实施例 5 本发明中化合物 SKLB-C4651 的合成



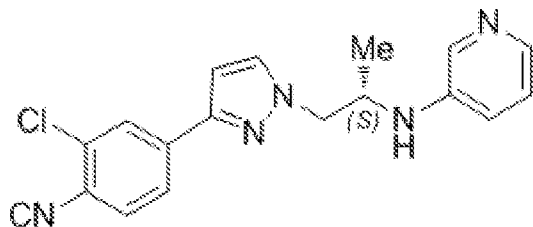
中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法合成。

碘苯（100mg，0.48mmol）、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈（104.4mg，0.4mmol）、碳酸铯（260.6mg，0.8mmol）、盐酸二甲双胍（13.2mg，0.08mmol）和乙醇（2ml）加入反应管中，抽换氮气 3 次，加热至 80℃ 搅拌过夜。

冷至室温，呈棕色浑浊。加乙酸乙酯稀释，水洗、饱和氯化钠洗，25%乙酸乙酯/石油醚过柱纯化，得 90mg 黄色粘稠状物，即 SKLB-C4651。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.96 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.18 (s, 2H), 6.72 (s, 1H), 6.70 – 6.32 (m, 3H), 4.25 (s, 2H), 4.00 (s, 1H), 3.80 (s, 1H), 1.23 (d, $J = 5.2$ Hz, 3H). MS (ESI): 337.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

实施例 6 本发明中化合物 SKLB-C4652 的合成



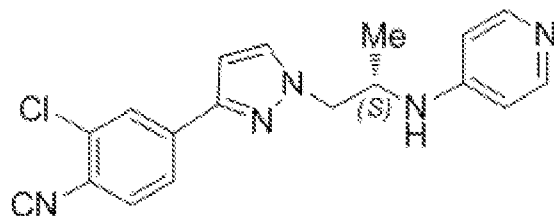
中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法合成。

3-溴吡啶 (182mg, 1.16mmol)、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (200mg, 0.76mmol)、碳酸铯 (496mg, 1.52mmol)、盐酸二甲双胍 (25.2mg, 0.152mmol) 和乙醇 (2ml) 加入反应管中, 抽换氮气 3 次, 加热至 85℃ 反应 48 小时。

冷至室温, 硅胶柱纯化, 纯 EA 洗脱得 90mg 淡黄色固体。再用反相制备柱以甲醇/水体系梯度洗脱, 得 60mg 白色固体即 SKLB-C4652。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.02 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 8.01 – 7.88 (m, 2H), 7.77 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 8.3, 4.7$ Hz, 1H), 6.84 (dd, $J = 8.3, 1.6$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 4.29 (dd, $J = 13.8, 4.9$ Hz, 1H), 4.21 (dd, $J = 13.8, 5.4$ Hz, 1H), 4.07 – 3.96 (m, 1H), 3.95 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 1.26 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H). MS (ESI): 338.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

实施例 7 本发明中化合物 SKLB-C4660 的合成



中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法合成。

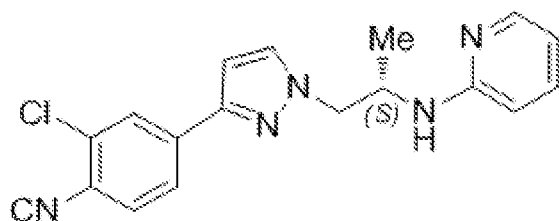
3-碘吡啶 (108mg, 0.52mmol)、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (104mg, 0.4mmol)、叔丁醇钠 (48mg, 0.52mmol)、BINAP (17.2mg, 0.028mmol)、醋酸钯 (6mg, 0.028mmol) 和甲苯 (2.5ml) 加入反应管中, 抽换氮气 3 次, 加热至 115℃ 反应 48 小时。

冷至室温, 硅藻土过滤后加硅胶拌样, 干法上样用硅胶柱纯化, 以

DCM:EA=1:1 加 5%三乙胺为展开剂, 纯化得白色固体 30mg, 即 SKLB-C4660。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.14 (d, $J = 4.2$ Hz, 2H), 7.95 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.43 (d, $J = 4.4$ Hz, 2H), 4.80 (s, 1H), 4.31 (dd, $J = 14.5, 3.5$ Hz, 1H), 4.23 (dd, $J = 12.8, 4.0$ Hz, 1H), 4.08 (m, 1H), 1.27 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H). MS (ESI): 338.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

实施例 8 本发明中化合物 SKLB-C4659 的合成

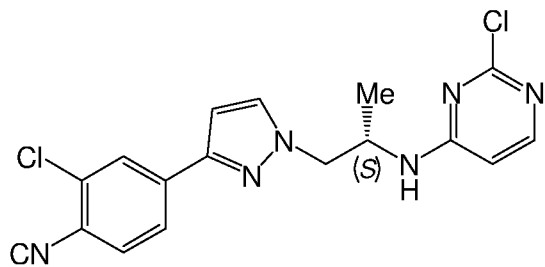


该标题化合物利用实施例 5 所述方法用 2-溴吡啶 (95mg, 0.6mmol) 和 (S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (100mg, 0.38mmol) 作为原料制备, 得 30mg 淡黄色固体, 即 SKLB-C4539。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.09 (dd, $J = 5.0, 1.1$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.77 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.38 (m, 1H), 6.64 – 6.51 (m, 2H), 6.35 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.57 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.49 – 4.21 (m, 3H), 1.25 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H).

MS (ESI): 338.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

实施例 9 本发明中化合物 SKLB-C4662 的合成



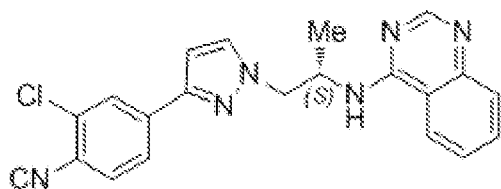
中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法合成。

2, 6-二氯嘧啶 (68.5mg, 0.46mmol) 和(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (100mg, 0.38mmol) 溶于乙醇 (1ml), 加入 DIPEA (59mg, 0.46mmol), 加热至 80°C, 搅拌过夜。

冷至室温，乙醇浓缩后，硅胶柱纯化，用 60%EA+30%PE 洗脱，得 60mg 白色固体，即 SKLB-C4662。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.96 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.75 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 6.18 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.55 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.53 (s, 1H), 4.41 (dd, $J = 14.0, 4.1$ Hz, 1H), 4.21 (dd, $J = 13.9, 5.5$ Hz, 1H), 1.27 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H). MS (ESI): 395.0 $[\text{M}+\text{Na}^+]$

实施例 10 本发明中化合物 SKLB-C4661 的合成



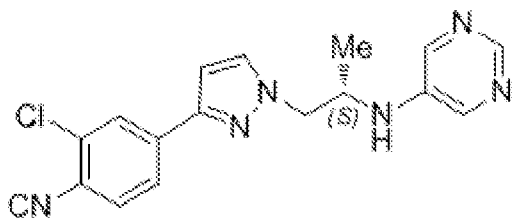
中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法合成。

4-氯喹唑啉 (75mg, 0.46mmol)、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (100mg, 0.38mmol) 和三乙胺 (46.5mg, 0.46mmol) 溶于乙腈 (2ml)，加热至 90℃，搅拌过夜。

冷至室温，浓缩溶剂，加 5%DCM/MeOH 溶解，湿法上样，用硅胶柱纯化，先用纯 EA 洗脱分离出杂质再换 2%DCM/MeOH 洗脱，得 20mg 白色固体，即 SKLB-C4661。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.66 (s, 1H), 8.04 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.74 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 4.99 – 4.81 (m, 1H), 4.59 (dd, $J = 14.0, 3.7$ Hz, 1H), 4.35 (dd, $J = 14.0, 4.6$ Hz, 1H), 1.31 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H). MS (ESI): 389.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

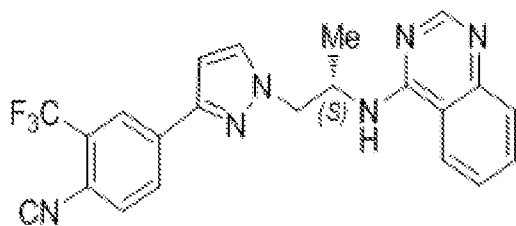
实施例 11 本发明中化合物 SKLB-C4664 的合成



该标题化合物利用实施例 5 所述方法用 5-溴嘧啶 (95mg, 0.6mmol) 和 (S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (100mg, 0.38mmol) 作为原料, 85°C 反应 48 小时制备得 28mg 淡黄色固体, 即 SKLB-C4664。

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.30 (s, 1H), 8.08 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.07 (s, 2H), 7.98 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.92 (dd, J = 8.2, 1.4 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.05 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.26 (dd, J = 13.7, 5.7 Hz, 1H), 4.19 (dd, J = 13.7, 6.7 Hz, 1H), 4.12 – 3.96 (m, 1H), 1.16 (d, J = 6.5 Hz, 3H). MS (ESI): 361.1 $[\text{M}+\text{Na}^+]$

实施例 12 本发明中化合物 SKLB-C4667 的合成

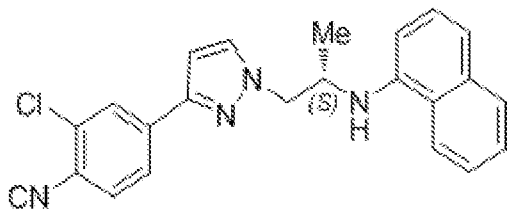


中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-三氟甲基苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法用 2-三氟甲基-4 溴苯腈为原料制备。

该标题化合物利用实施例 10 所述方法制备, 得 80mg 无色粘稠, 即 SKLB-C4667。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.65 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.02 (dd, J = 8.1, 1.1 Hz, 1H), 7.94 – 7.80 (m, 2H), 7.80 – 7.67 (m, 2H), 7.55 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.51 – 7.39 (m, 1H), 6.93 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 5.02 – 4.84 (m, 1H), 4.60 (dd, J = 14.0, 3.6 Hz, 1H), 4.37 (dd, J = 14.0, 4.7 Hz, 1H), 1.31 (d, J = 6.7 Hz, 3H). MS (ESI): 423.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

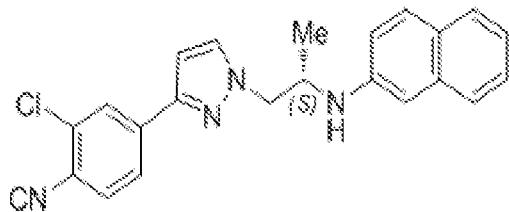
实施例 13 本发明中化合物 SKLB-C4669 的合成



该标题化合物利用实施例 5 所述方法用 1-溴萘（118mg，0.57mmol）和 (S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈（100mg，0.38mmol）作为原料，加热至 90℃ 反应 48h，所得棕红色混合物加 EA 稀释，水洗、饱和氯化钠洗、无水硫酸钠干燥后浓缩，用硅胶柱纯化，PE:EA=4:1 洗脱，得 40mg 淡黄色固体，即 SKLB-C4669。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.02 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.91 – 7.73 (m, 3H), 7.68 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.57 – 7.38 (m, 3H), 7.34 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 6.65 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 5.10 (s, 1H), 4.46 (dd, $J = 13.8, 4.5$ Hz, 1H), 4.36 (dd, $J = 13.8, 5.2$ Hz, 1H), 4.26 – 4.09 (m, 1H), 1.33 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H). MS (ESI): 387.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

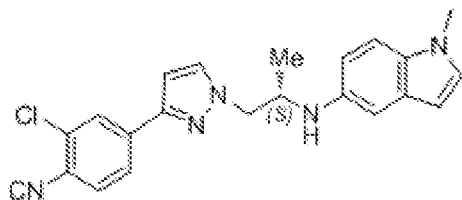
实施例 14 本发明中化合物 SKLB-C4670 的合成



该标题化合物利用实施例 5 所述方法 2-溴萘（118mg，0.57mmol）和 (S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈（100mg，0.38mmol）作为原料制备，得 48mg 纯白色固体，即 SKLB-C4670。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.97 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.74 – 7.58 (m, 3H), 7.55 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.35 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.20 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.84 (dd, $J = 8.7, 2.1$ Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.55 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 4.36 (dd, $J = 13.8, 5.0$ Hz, 1H), 4.29 (dd, $J = 13.8, 5.1$ Hz, 1H), 4.21 – 4.06 (m, 1H), 3.98 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 1.30 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H). MS (ESI): 387.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

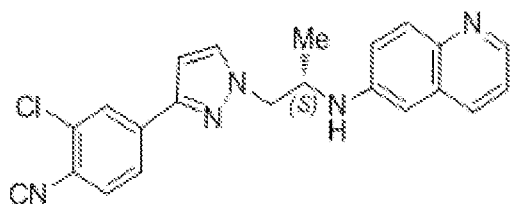
实施例 15 本发明中化合物 SKLB-C4671 的合成



该标题化合物利用实施例 5 述方法用 5-溴-1 甲基-1H-吡唑(115mg, 0.57mmol) 和(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈(100mg, 0.38mmol) 作为原料制备, 得 40mg 淡黄色固体, 即 SKLB-C4671。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.98 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.79 (dd, $J = 8.1, 1.4$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.63 (dd, $J = 8.7, 2.1$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 6.30 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 4.35 – 4.20 (m, 2H), 4.05 – 3.95 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 1.27 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H). MS (ESI): 390.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

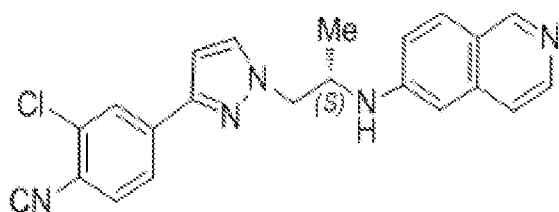
实施例 16 本发明中化合物 SKLB-C4673 的合成



该标题化合物利用实施例 5 所述方法用 6-溴喹啉(118.6mg, 0.57mmol) 和(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈(100mg, 0.38mmol) 作为原料制备, 得 45mg 淡绿色固体, 即 SKLB-C4673。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.62 (dd, $J = 4.2, 1.3$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.77 (dd, $J = 8.1, 1.3$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.26 – 7.20 (m, 1H), 7.04 (dt, $J = 17.2, 8.6$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 4.37 (dd, $J = 13.7, 4.1$ Hz, 1H), 4.28 (dd, $J = 13.8, 4.7$ Hz, 1H), 4.15 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 1.32 (s, 3H). MS (ESI): 388.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

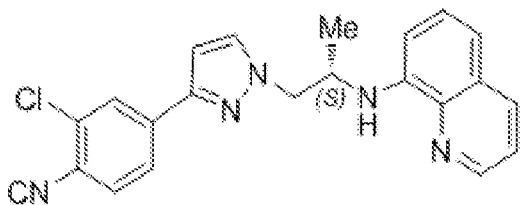
实施例 17 本发明中化合物 SKLB-C4674 的合成



该标题化合物利用实施例 5 所述方法用 6-溴异喹啉（118.6mg，0.57mmol）和(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈（100mg，0.38mmol）作为原料制备，得 80mg 淡黄色固体，即 SKLB-C4674。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.93 (s, 1H), 8.29 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J = 17.9, 11.4$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.55 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 4.49 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.38 (dd, $J = 13.7, 4.7$ Hz, 1H), 4.28 (dd, $J = 13.8, 5.3$ Hz, 1H), 4.18 (m, 1H), 1.32 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H). MS (ESI): 388.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

实施例 18 本发明中化合物 SKLB-C4678 的合成



中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法合成。

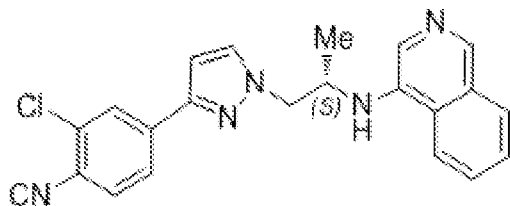
8-溴喹啉（125mg，0.6mmol）、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈（104mg，0.4mmol）、叔丁醇钠（96mg，1mmol）、三（二亚苄基丙酮）钼（II）（24mg，0.028mmol）和 davephos（11.2mg，0.028mmol）加入微波中，再加入 1, 4-二氧六环（2ml），氮气吹 3 次。微波加热至 150℃ 反应 30 分钟。

冷至室温，硅藻土过滤，加硅胶拌样，用硅胶柱纯化，以 15%EA/PE 洗脱，得 41mg 淡黄色固体，即 SKLB-C4678。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.75 (dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 1H), 8.06 (dd, $J = 8.3, 1.6$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.79 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.39 (dd, $J = 8.3, 4.2$ Hz, 1H), 7.33 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 8.2, 0.8$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.52 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H),

6.48 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.47 – 4.29 (m, 2H), 4.21 (tq, $J = 12.1, 6.2$ Hz, 1H), 1.36 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H). MS (ESI): 388.1[M+H⁺]

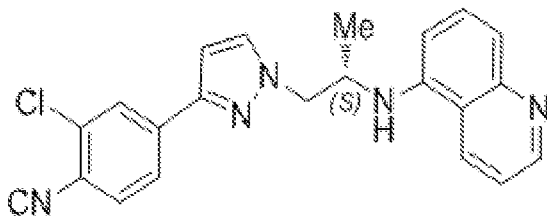
实施例 19 本发明中化合物 SKLB-C4679 的合成



该标题化合物利用实施例 5 所述方法用 4-溴异喹啉 (118.6mg, 0.57mmol) 和(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (100mg, 0.38mmol) 作为原料制备, 得 15mg 淡黄色固体, 即 SKLB-C4679。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.68 (s, 1H), 8.01 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.76 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1H), 7.72 – 7.64 (m, 2H), 7.61 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 6.62 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 5.24 (s, 1H), 4.52 (dd, $J = 13.9, 4.1$ Hz, 1H), 4.36 (dd, $J = 13.9, 5.3$ Hz, 1H), 4.21 (s, 1H), 1.34 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H). MS (ESI): 388.1[M+H⁺]

实施例 20 本发明中化合物 SKLB-C4682 的合成



中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法合成。

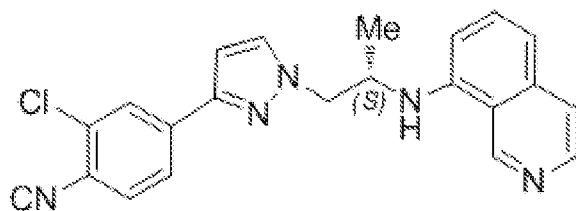
5-溴喹啉 (125mg, 0.6mmol)、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (104mg, 0.4mmol)、叔丁醇钠 (96mg, 1mmol)、三(二亚苄基丙酮)钯(II) (24mg, 0.028mmol) 和 x-phos (13.3mg, 0.028mmol) 加入反应管中, 再加入甲苯 (3ml), 抽换氮气 3 次。加热至 100℃ 反应过夜。

冷至室温, 硅藻土过滤, 浓缩溶剂后用厚硅胶板分离纯化, 以 PE:EA=2:1 为展开剂, 得 48g 橘红色固体。再用 C18 键合硅胶柱纯化, 以甲醇/水体系梯度洗脱得 30mg 淡黄色固体, 即 SKLB-C4682。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.88 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 8.20 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H),

8.01 (s, 1H), 7.75 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.66 – 7.35 (m, 3H), 7.33 (dd, J = 8.2, 3.9 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 5.25 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 4.48 (dd, J = 13.7, 3.7 Hz, 1H), 4.34 (dd, J = 13.8, 4.9 Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 1.32 (d, J = 6.2 Hz, 3H). MS (ESI): 388.1[M+H⁺]

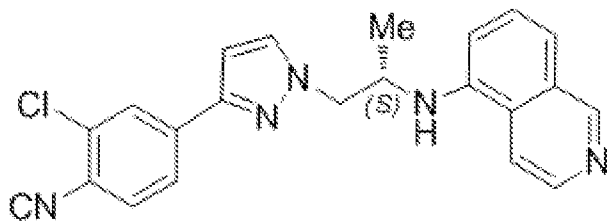
实施例 21 本发明中化合物 SKLB-C4676 的合成



该标题化合物利用实施例 20 所述方法用 8-溴异喹啉 (118.6mg, 0.57mmol) 和(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (100mg, 0.38mmol) 作为原料制备, 得 35mg 淡黄色固体, 即 SKLB-C4676。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.29 (s, 1H), 8.48 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.81 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.66 – 7.33 (m, 3H), 7.14 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.70 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.59 (s, 1H), 5.26 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 4.44 (dd, J = 13.8, 4.6 Hz, 1H), 4.37 (dd, J = 13.9, 5.0 Hz, 1H), 4.23 (m, 1H), 1.37 (d, J = 6.3 Hz, 3H). MS (ESI): 388.1[M+H⁺]

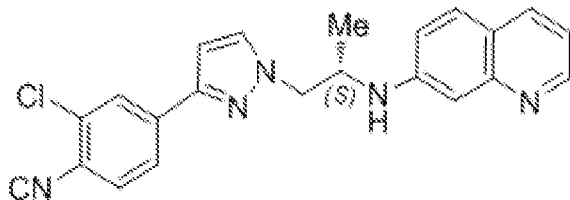
实施例 22 本发明中化合物 SKLB-C4677 的合成



该标题化合物利用实施例 20 所述方法用 5-溴异喹啉 (118.6mg, 0.57mmol) 和(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (100mg, 0.38mmol) 作为原料制备, 得 40mg 白色固体, 即 SKLB-C4677。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.16 (s, 1H), 8.48 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.76 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 9.5 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 5.18 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 4.46 (dd, J = 13.7, 3.8 Hz, 1H), 4.35 (dd, J = 13.9, 4.9 Hz, 1H), 4.18 (s, 1H), 1.33 (d, J = 6.2 Hz, 3H). MS (ESI): 388.1[M+H⁺]

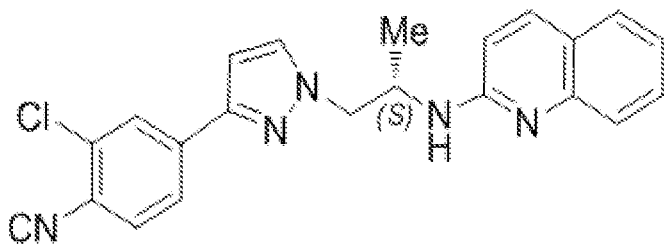
实施例 23 本发明中化合物 SKLB-C4675 的合成



该标题化合物利用实施例 20 所述方法用 7-溴喹啉（118.6mg，0.57mmol）和(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈（100mg，0.38mmol）作为原料制备，得 30mg 白色固体，即 SKLB-C4675。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.72 (s, 1H), 7.94 (s, 2H), 7.76 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.10 (s, 2H), 6.87 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.56 (s, 1H), 4.35 (m, 3H), 4.16 (s, 1H), 1.29 (d, $J = 4.1$ Hz, 3H). MS (ESI): 388.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$

实施例 24 本发明中化合物 SKLB-C4684 的合成



中间体(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈利用实施例 1 (c) 所述的方法合成。

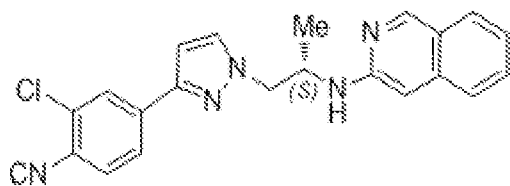
2-溴喹啉（108mg，0.52mmol）、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈（104mg，0.4mmol）、叔丁醇钠（48mg，0.52mmol）、BINAP（17.2mg，0.028mmol）、三（二亚苄基丙酮）二钯（25.6mg，0.028mmol）和甲苯（2.5ml）加入反应管中，抽换氮气 3 次，加热至 110℃ 反应 20 小时。

冷至室温，硅藻土过滤后加硅胶拌样，干法上样用硅胶柱纯化，以 PE :EA=1:1 洗脱，得淡黄色固体 70mg，即 SKLB-C4684。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.94 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.75 (dd, $J = 8.1, 1.4$ Hz, 1H), 7.68 (t, $J = 9.1$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.57 – 7.50 (m, 1H), 7.46 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.25 – 7.18 (m, 1H), 6.56 (s, 2H), 4.85 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 4.79 – 4.58 (m, 1H), 4.51 (dd, $J = 13.7, 5.0$ Hz, 1H), 4.40 (dd, $J = 13.7,$

4.9 Hz, 1H), 1.33 (d, J = 6.7 Hz, 3H). MS (ESI): 388.1[M+H⁺]

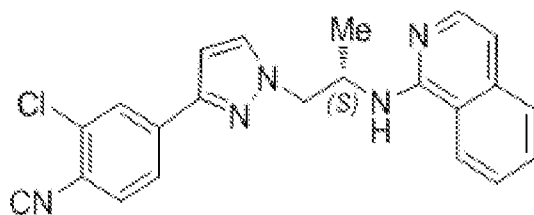
实施例 25 本发明中化合物 SKLB-C4685 的合成



该标题化合物利用实施例 7 所述方法用 3-溴异喹啉 (108mg, 0.52mmol)、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (104mg, 0.4mmol) 作为原料制备, 的 45mg 淡绿色固体, 即 SKLB-C4685。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.82 (s, 1H), 7.95 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.80 – 7.69 (m, 2H), 7.67 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.51 – 7.34 (m, 3H), 7.21 (ddd, J = 8.0, 6.3, 1.5 Hz, 1H), 6.50 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.46 (s, 1H), 4.65 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 4.44 – 4.22 (m, 3H), 1.33 (d, J = 6.3 Hz, 3H). MS (ESI): 388.1[M+H⁺]

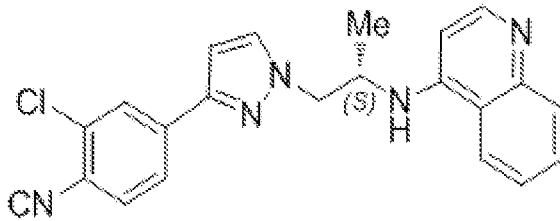
实施例 26 本发明中化合物 SKLB-C4686 的合成



该标题化合物利用实施例 7 所述方法用 1-溴异喹啉 (108mg, 0.52mmol)、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈 (104mg, 0.4mmol) 作为原料制备, 的 75mg 淡绿色固体, 即 SKLB-C4686。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.01 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.75 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 7.71 – 7.64 (m, 2H), 7.64 – 7.56 (m, 1H), 7.55 – 7.42 (m, 2H), 6.95 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 6.61 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.10 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.88 – 4.76 (m, 1H), 4.58 (dd, J = 13.8, 4.1 Hz, 1H), 4.46 – 4.32 (m, 1H), 1.31 (d, J = 6.7 Hz, 3H). MS (ESI): 388.1[M+H⁺]

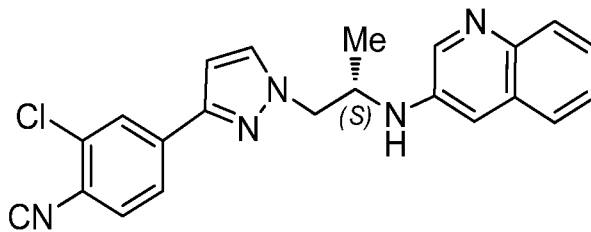
实施例 27 本发明中化合物 SKLB-C4681 的合成



该标题化合物利用实施例 7 所述方法用 1-溴异喹啉（108mg，0.52mmol）、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈（104mg，0.4mmol）作为原料制备，的 25mg 淡黄色固体，即 SKLB-C4681。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.50 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.75 – 7.60 (m, 2H), 7.58 – 7.39 (m, 2H), 6.62 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 6.44 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.55 (dd, $J = 13.9, 3.8$ Hz, 1H), 4.38 (dd, $J = 14.0, 5.2$ Hz, 1H), 4.25 (m, 1H), 1.34 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H). MS (ESI): 388.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$ 。

实施例 28 本发明中化合物 SKLB-C4683 的合成



该标题化合物利用实施例 7 所述方法用 1-溴异喹啉（108mg，0.52mmol）、(S)-4-(1-(2-氨基丙基)-1H-吡唑-3-基)-2-氯苯腈（104mg，0.4mmol）作为原料制备，的 61mg 淡黄色固体，即 SKLB-C4683。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.39 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 8.02 – 7.85 (m, 2H), 7.75 (dd, $J = 8.1, 1.4$ Hz, 1H), 7.72 – 7.63 (m, 1H), 7.54 – 7.45 (m, 1H), 7.46 – 7.33 (m, 3H), 6.96 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 6.52 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 4.38 (dd, $J = 13.8, 4.6$ Hz, 1H), 4.25 (dd, $J = 13.8, 5.8$ Hz, 1H), 4.18 – 4.07 (m, 1H), 1.33 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H). MS (ESI): 388.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$ 。

以下用试验例的方式来验证本发明的有益效果：

试验例 1 对 LNCap/AR、VCap、22RV1 和 PC-3 细胞的增殖抑制活性评价

1、材料及仪器：

RIPM 1640 培养基 (Hyclone, SH30809.01)、DMEM 高糖培养基 (Hyclone,

SH30243.01)、胎牛血清、FBS(BI, 04-001-1ACS)、青-链霉素(Hyclone, SV30010)。

细胞完全培养液: RPMI 1640 培养基/DMEM 高糖培养基, 10%FBS, 1%青-链霉素。

胰酶 (Millipore, SM-2001-C)、LNCap/AR 细胞 (高表达 AR 的 LNCap 细胞, 通过逆转录病毒转染方法构建, 由四川康城生物科技有限公司赠予)、VCap 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, TCHu220)、22RV1 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, TCHu100)、LNCap 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, TCHu173)、PC-3 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, SCSP-532)、细胞计数试剂 CCK-8 (SAB, CP002)、ThermoMultiskan MK3 酶标仪。

2、方法:

将 LNCap/AR, 22RV1, PC-3 培养于 1640 完全培养基中, VCap 培养于 DMEM 高糖完全培养基中, 置于 5%二氧化碳的 37℃培养箱中培养。将细胞接种于 96 孔板中, 2 个副孔, 每孔 100 微升, 接种细胞数分别为 LNCap/AR 2000/孔、22RV1 3000/孔、VCap 20000/孔、PC-3 1000/孔。

药物用 DMSO (二甲亚砜)配置成 30mM 的储备液, 铺板后第二天用完全培养基稀释成 600μM, 再用完全培养基稀释 10 倍, 从 60μM 开始 3 倍梯度稀释, 共 9 个浓度。取 100 μL 稀释后的化合物加入细胞培养孔中, 空白对照组加 100μL 培养基, 即药物作用浓度最高 30μM。

药物作用 6 天后, 吸走 90μL 含药培养基, 每孔加入 10μL CCK-8, 37℃避光孵育 1-2h 后, 在酶标仪上, 450nm, 测定各孔的 OD 值。按照 CCK-8 试剂盒说明书计算 IC₅₀ (见表 2)。

表 2.

化合物	LNCap/AR	VCap	22RV1	LNCap	PC-3
	Viability IC ₅₀ (μM)				
SKLB-C4534	1.66	2.7	2.27	4.57	>30
SKLB-C4535	0.51	0.65	1.22	0.86	9.88
SKLB-C4537	0.93	0.59	3.52	2.37	>30

SKLB-C4538	0.73	0.41	14.5	2.01	>30
SKLB-C4651	0.45	>30	>30		
SKLB-C4652	0.14	>30	13.9	0.57	>30
SKLB-C4659	0.81		>30		
SKLB-C4660	2.56	9.91	11.5		
SKLB-C4661	0.44	0.83	2.18	0.68	>30
SKLB-C4664	2.07	>30	>30		>30
SKLB-C4667	0.86	1.8	4.22	1.81	14.6
SKLB-C4669	1.58	28.1	>30		
SKLB-C4670	7.7	4.61	20.9		
SKLB-C4671	0.49	2.13	12.9		
SKLB-C4673	13.04	>30	12.7		
SKLB-C4674	0.51	2.24	2.98		
SKLB-C4678	0.79	>30	>30		
SKLB-C4679	2.28	>30	12.4		
SKLB-C4682	1.08	0.56	1.34	1.3	8.1
SKLB-C4676	3.09	4.02	4.72		5.13
SKLB-C4677	0.87	>30	21.1		
SKLB-C4675	2.66	3.22	5.82		11.1
SKLB-C4684	2.30	8.2	7.9		>30
SKLB-C4685	1.91	1.47	11.9		

SKLB-C4686	2.10	1.91	3.13		>30
SKLB-C4681	4.81	1.85	4.29		
SKLB-C4683	1.87	1.51	6.03		
enzalutamide	0.071	6.02	>30	0.44	>30
ODM201	0.75		>30	3.18	14.4

上述实验数据表明，本发明化合物对 AR 阳性的前列腺癌细胞 LNCap/AR, 22RV1, LNCap(含 T877A 突变)和 VCap 有较好的抑制作用，尤其是对含 AR-V7 突变的前列腺癌细胞 22RV1 和 VCap 抑制活性优于上市药物萘杂鲁胺和临床 III 期药物 ODM201。而对 AR 阴性的前列腺癌细胞 PC-3 抑制作用差，间接说明本发明化合物抑制 AR 信号通路，且具有良好的细胞选择性，安全性好。

试验例 2、抑制野生型 AR 转录活性的生物活性评价

1、材料仪器

DMEM 培养基(Gibco, 31053028)、去除雄激素的胎牛血清(Biological Industries, 04-011-1A)、HEK293 细胞(由药明康德新药开发有限公司提供)、转染试剂(Promega, E2311)、wt-AR 表达质粒(Origene, RC235415)、报告基因质粒(Promega, E1360)、Steady-Glo 检测试剂(Promega, E2550)

2、方法

用含 89%DMEM 培养基、1%GlutaMax 和 10%经透析去除雄激素的胎牛血清的完全培养基将 HEK293 细胞接种在 96 孔板中，同时根据说明书使用转染试剂将 5 ng wt-AR 质粒和 100 ng 报道基因质粒共转染入细胞。24 小时后，加入化合物或 DMSO 以及 2 nM 睾酮处理细胞。孵育 24 小时后，使用 Steady-Glo 试剂在 Envision 仪上测量发光信号。该实验由上海药明康德新药开发有限公司完成。

由图 1 所示，测试结果表示为平均值±SD (n = 3)。该结果说明本发明化合物 SKLB-C4651、SKLB-C4652、SKLB-C4664、SKLB-C4670、SKLB-C4669、SKLB-C4674、SKLB-C4682、SKLB-C4535、SKLB-C4661、SKLB-C4686 能抑制雄激素激活的野生型 AR 的转录，且化合物的活性与细胞增殖抑制活性基本一致。

上述实验表明，本发明化合物可以有效抑制野生型 AR 的转录活性，从而阻

断前列腺中异常激活的 AR 信号。

试验例 3 下调 LNCap、VCap 和 22RV1 细胞中 AR 表达的生物活性评价

1、材料仪器

RIPM 1640 培养基 (Hyclone, SH30809.01)、胎牛血清、FBS (BI, 04-001-1ACS)、青-链霉素 (Hyclone, SV30010)。

细胞完全培养液: RIPM 1640 培养基, 10%FBS, 1%青-链霉素。

胰酶 (Millipore, SM-2001-C)、VCap 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, TCHu220)、22RV1 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, TCHu100)、LNCap 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, TCHu173)、RIPA 裂解液 (Beyotime, P0013B)、BCA 蛋白定量试剂盒 (Beyotime, P0012)、5X loading buffer (Beyotime, P0015)、10%聚丙烯酰胺凝胶试剂盒 (佰和, PG112)、PVDF 膜 (Immobilon-PSQ, ISEQ00010)、Tublin Antibody (Zen BioScience, 200608)、Androgen Receptor Antibody (CST, 3202S)、PSA/KLK3 (D11E1) XP® Rabbit mAb (CST, D11E1)、敏 ECL 化学发光液 (四正柏, 4AW011-50)、学发光仪 (上海勤翔, Serial NO.810060)。

2、方法

将 LNCap, 22RV1 培养于 1640 完全培养基中, VCap 培养于 DMEM 高糖完全培养基中, 置于 5%二氧化碳的 37℃培养箱中培养。第一天将细胞接种于 6 孔板中, LNCap 和 22RV1 铺板数为 70 万/孔, VCap 为 100 万/孔。

第三天加药, 药物用 DMSO (二甲亚砜) 配置成 30mM 的储备液, 用完全培养基稀释, 空白组加含等量浓度 DMSO 的完全培养基。

药物作用 24h 后, 吸弃培养基, 用预冷的 PBS 洗一次, 吸干, 每孔 60μl RIPA 裂解液, 冰上裂解 5min, 用细胞刮收集并转移至离心管中。4℃离心 10min, 13000rpm。将上清液转移至新的离心管中, 用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量, 然后加入 1/4 体积的 5X loading buffer, 沸水煮 5min 后放冰上降温, 再转移至 -20℃保存。

用 10%的聚丙烯酰胺凝胶试剂盒制胶, 蛋白上样 30μg, 体积用 1X loading buffer 补齐, 用 80V 跑浓缩胶, 100V 跑分离胶。湿法转膜, 300mA, 1h, 然后用 5%脱脂牛奶室温封闭 2h 一抗 Tublin 按 1:5000 稀释, AR 和 PSA 分别按 1:2000 和 1:1000 稀释, 4℃摇床孵育过夜。

TBS/T 洗膜 10min*3 次, 二抗按 1:5000 稀释, 室温孵育 2h, TBS/T 洗膜 10min*3 次, 加超敏 TCL 化学发光液曝光。

由图 2 结果表明, 10μM 的本发明化合物 4682 (SKLB-C4682) 和 20μM 的本发明化合物 4535 (SKLB-C4535) 均能明显抑制 LNCap 细胞中 AR 的蛋白水平, 同时具有明显的浓度依赖性。但已上市药物葱杂鲁胺和临床 III 期药物 ODM201 在 20μM 的浓度下均不能下调 AR 的蛋白水平。

由图 3 结果表明, 20μM 的本发明化合物 4535 (SKLB-C4535) 和 4682 (SKLB-C4682) 均能明显抑制 VCap 细胞中 AR 及其突变体的蛋白水平, 同时具有明显的浓度依赖性, 且活性优于已报道化合物 galaterone。但已上市药物葱

杂鲁胺和临床 III 期药物 ODM201 在 20 μ M 的浓度下均不能下调 AR 的蛋白水平。

由图 4 结果表明, 20 μ M 的本发明化合物 4682 (SKLB-C4682) 和 30 μ M 的本发明化合物 4682 均能显著抑制 22RV1 细胞中 AR 及其剪切突变体 AR-V7 的蛋白水平, 且具有明显的浓度依赖性。但已上市药物恩杂鲁胺和临床 III 期药物 ODM201 在 30 μ M 的浓度下均不能下调 AR 的蛋白水平。

上述实验结果表明, 本发明化合物 SKLB-C4682、SKLB-C4535 能够下调前列腺癌细胞中 AR 及其突变体的表达, 由于癌细胞中 AR 过表达是导致前列腺癌患者产生耐药性的原因之一, 因此抑制 AR 活性的同时下调 AR 的蛋白水平能更好的抑制雄激素信号通路, 因此, 本发明能够很好地抑制雄激素信号通路的异常激活。

试验例 4 降低前列腺癌细胞中 PSA、FKBP5 和 AR 的 mRNA 生物活性评价

1、材料仪器

RIPM 1640 培养基(Hyclone, SH30809.01)、DMEM 高糖培养基 (Hyclone, SH30243.01)、牛血清、FBS(BI, 04-001-1ACS)、去雄激素的胎牛血清、CSS-FBS (由四川康城生物科技有限公司赠予)、青-链霉素 (Hyclone, SV30010)。

细胞完全培养液: RIPM 1640 培养基/DMEM 高糖培养基, 10%FBS 或者 5% CSS, 1%青-链霉素。

胰酶 (Millipore, SM-2001-C)、VCap 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, TCHu220)、22RV1 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, TCHu100)、LNCap 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, TCHu173)、人工合成雄激素 R1881(南京康满林化工实业有限公司, CAS:965-93-5)、Trizol (ambion, 15596026)、氯仿 (CAS: 67-66-3)、异丙醇 (天津市致远化学试剂有限公司, CAS: 67-63-0)、无水乙醇(川东化工)、RNase-free water(biosharp, BL510A)、测 RNA 浓度的仪器 (Thermo, NANODROP 2000)、逆转录试剂盒 (abm, G492)、逆转录仪 (LongGene, 型号: Mini1620; 规格: DC 20V 160W; 序号: 022-00001)、QPCR 试剂盒 (abm, MaterMix-S)、QPCR 仪 (BIO-RAD, CFX96TMOptics Module)、PSA 引物 (GeneCopoeia, HQP009633)、FKBP5 引物 (GeneCopoeia, HQP057374)、AR-full 引物序列 (f-ACCCTGCAAATGCTCTTCTTGTCAC; r-CTTTAGGCTTTGCCGCTGAAG)、AR-V7 引物序列 (f-TGACTCAGGCGGATGCAGTGAAG; r-ACAGTTGCTTCTTGTCCAAGGTGAC)。

2、方法

将 LNCap, 22RV1 培养于 1640 完全培养基中, VCap 培养于 DMEM 高糖完全培养基中, 置于 5%二氧化碳的 37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养。第一天用含 5%CSS 和 1%双抗的培养基将细胞接种于 6 孔板中, LNCap 和 22RV1 铺板数为 70 万/孔, VCap 为 120 万/孔。

第三天加药, 药物用 DMSO (二甲亚砜) 配置成 30mM 的储备液, R1881 用 DMSO 配成 5 μ M 的储备液, 用 5%CSS 完全培养基稀释, 空白组加含等量浓度 DMSO 的完全培养基。

药物作用 24h 后, 吸弃培养基, 加 500 μ l Trizol, 用力摇晃 15 秒, 室温放置 3 分钟。然后 4 $^{\circ}$ C, 12000g 离心 15 分钟。吸取上层水相至新离心管中, 加 250 μ l 异丙醇颠倒混匀, 室温放置 10 分钟后 4 $^{\circ}$ C, 12000g 离心 10 分钟。弃上清, 加 500 μ l 75%乙醇洗涤, 温和振荡。然后 4 $^{\circ}$ C, 7500g 离心 5 分钟, 弃尽上清, 室温晾干 5-10min。用 30 μ l RNase-free 水溶解 RNA 后, 放置冰上测 RNA 浓度。按照逆转录试剂盒说明书操作进行逆转录 (25 $^{\circ}$ C 10min, 42 $^{\circ}$ C 15min, 85 $^{\circ}$ C 5min) 得到 cDNA, -20 $^{\circ}$ C 储存, RNA 放置 -80 $^{\circ}$ C 冰箱储存。

由图 5 结果表明, 本发明化合物 SKLB-C4682、SKLB-C4535 能够抑制 LNCap 细胞中由雄激素 R1881 激活的 AR 下游基因 PSA 和 FKBP5 的转录, 活性与阳性化合物 ODM201 相当, 且抑制作用具有浓度依赖性。

由图 6 结果表明, 本发明化合物 SKLB-C4682、SKLB-C4535 能够抑制 VCap 细胞中由雄激素 R1881 激活的 AR 下游基因 PSA 和 FKBP5 的转录, 且抑制作用具有浓度依赖性, 抑制活性与阳性化合物 ODM201 和蒽杂鲁胺相当。

由图 7 结果表明, 本发明化合物 SKLB-C4682、SKLB-C4535 能够抑制 22RV1 细胞中由雄激素 R1881 激活的 AR 下游基因 FKBP5 的转录, 且活性优于阳性化合物 ODM201 和蒽杂鲁胺。

由图 8 结果表明, 本发明化合物 SKLB-C4682、SKLB-C4535 能抑制 LNCap 细胞中 AR 及其剪切突变体 AR-V7 的 mRNA, 说明导致 AR 蛋白减少的原因是化合物减少了雄激素受体的 mRNA。

上述实验结果表明, 本发明化合物 SKLB-C4682、SKLB-C4535 通过减少雄激素受体 mRNA 来下调 AR 的蛋白表达量。同时本发明化合物能抑制 AR 下游基因 PSA 和 FKBP5 的转录, 尤其是对 22RV1 细胞中 FKBP5 的抑制作用明显优于蒽杂鲁胺和 ODM201, 说明本发明化合物能够有效抑制前列腺癌细胞中的 AR 信号通路。

试验例 5 抑制 AR-F876L 转录活性的生物活性评价

1、材料仪器

DME/F12 培养基 (Hyclone, SH30023.01)、胎牛血清, FBS (BI, 04-001-1ACS)、去雄激素的胎牛血清, CSS-FBS (由四川康城生物科技有限公司赠予)、青-链霉素 (Hyclone, SV30010)。

细胞完全培养液: DME/F12 培养基, 10%FBS 或者 5% CSS, 1%青-链霉素 胰酶 (Millipore, SM-2001-C)。

PC-3 细胞 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, SCSP-532)、转染试剂 EndoFectinTM-Max (GeneCopoeia, EF003)、AR-F876L 质粒 (由生工生物

工程上海股份有限公司构建)、Signal Androgen Receptor Reporter (luc) Kit (QIAGEN, CCS-1019L)、人工合成雄激素 R1881(南京康满林化工实业有限公司, CAS:965-93-5)、双荧光素酶检测试剂盒 (promega, E1910)、多功能酶标仪 (BioTek, Synergy H1)。

2、方法

将 PC-3 细胞培养于 DME/F12 完全培养基中, 置于 5% 二氧化碳的 37℃ 培养箱中培养。第一天用含 5% CSS 且不含双抗的培养基将细胞接种于 96 孔板中, 铺板数为 1 万/孔。

24 小时内按转染试剂说明书将 50ng AR-F876L 和 50ng AR-reporter 一并转染进细胞。第三天加药, 药物用 DMSO (二甲亚砜) 配置成 30mM 的储备液, R1881 用 DMSO 配成 3μM 的储备液, 用 5% CSS 完全培养基稀释, 阳性对照组合阴性对照组加含等量浓度的 DMSO 和 R1881。

药物作用 24h 后, 吸弃培养基, 按双荧光素酶检测试剂盒说明书操作, 用多功能酶标仪检测发光信号。

由图 9 结果表明, 本发明化合物 SKLB-C4682、SKLB-C4535 能抑制由 1nM 人工合成雄激素 R1881 所激活的 AR-F876L 的转录活性, 且具有明显的浓度依赖性。相反, 随着恩杂鲁胺浓度的增加, AR-F876L 的转录活性增强, 表现出抗性。

上述实验表明, 本发明化合物可以很好的抑制 AR-F876L 的转录活性, 而 AR-F876L 是临床上发现对恩杂鲁胺产生耐药性的一种 AR 突变体, 说明本发明化合物对恩杂鲁胺耐药的 AR-F876L 仍然有效。

试验例 6、体内抗肿瘤活性测试

1、材料

雄性 Balb/c 裸鼠(北京华阜康生物科技股份有限公司)、基质胶(BD, 354234)

2、方法

1×10⁷ 个 VCaP 细胞经皮下接种到 5-6 周龄的雄性 Balb/c 上, 待肿瘤长至 150 mm³ 左右则在异戊巴比妥麻醉的条件下实施睾丸切除术即物理去势并保留一组未切除睾丸的假手术对照组。术后肿瘤体积有缩小的迹象然后缓慢生长, 待肿瘤重新生长至 200-350 mm³ 则随机分组, 即完成了 CRPC 肿瘤模型的建立。然后开始一天一次口服给药或空白溶剂(10%DMA+90%PEG200), 每两天测量肿瘤体积和裸鼠体重。由于假手术组的肿瘤生长明显更快, 仅口服等体积的空白溶剂 15 天就单独处死并分离出肿瘤组织, 其他实验组均给药 40 天后腹腔注射多聚甲醛处死, 然后分离肿瘤组织并称重。所有动物实验均经中国四川大学动物保护与治疗专业委员会批准(IACUC 编号:20100318)。

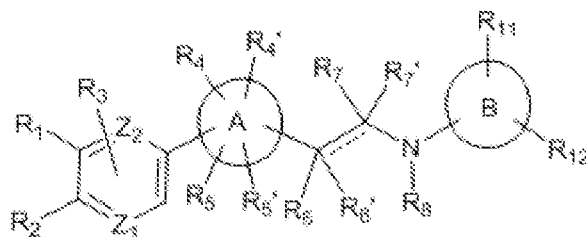
如图 10 结果显示在去势抵抗的 VCaP 前列腺癌模型中, 30mg/kg 和 60mg/kg 化合物 SKBL-C4535(图中简写为 4535)能够显著抑制肿瘤的生长, 抑制率分别为 64.7% (30 mg/kg) 和 77.8% (60 mg/kg), 活性优于已上市药物恩杂鲁胺(图中用 Enza 表示)。

上述实验表明, 本发明化合物可以有效抑制去势抵抗型前列腺肿瘤的生长。

综上,本发明化合物不仅能够通过下调 AR 及其突变体的 mRNA 来抑制其蛋白表达,还能抑制 AR 及其突变体下游基因 PSA 和 FKBP5 的转录,同时对蒽杂鲁胺耐药的 AR-F876L 仍然有抑制作用,说明本发明化合物能够有效抑制 AR 信号通路。在细胞水平,本发明化合物能有效抑制 AR 阳性的前列腺癌细胞的增殖,且具有良好的细胞选择性,为临床上筛选和/或制备治疗前列腺癌的药物提供了一种新的选择,具有良好的应用前景。

权利要求书

1、式 I 所示的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物：



I

Z_1 、 Z_2 各自独立的为 C 或者 N；

环 A 为 $C_5 \sim C_{12}$ 碳环、杂环、咪唑二酮、芳环、芳杂环、苯并碳环、苯并杂环，其中苯环上的碳可被一个或多个杂原子取代；

环 B 为 $C_5 \sim C_{12}$ 碳环、杂环、并环、桥环、螺环、芳环、芳杂环或苯并芳环、苯并芳杂环、苯并碳环或苯并杂环，其中苯环上的碳可被一个或多个杂原子取代；

R_1 和 R_2 相互独立地为氢、卤素、 CHF_2 、 CF_3 、氰基、硝基、氨基、羟胺基、羟基、巯基、磺酸基、 $C_1 \sim C_6$ 的烷基、烯烃基、炔烃基、烷氧基、环烷基、杂环基或芳基、杂芳基以及 $-R_9C(O)R_{10}-$ 、 $-R_9CO(O)R_{10}-$ 、 $-R_9(O)COR_{10}-$ 、 $-R_9NHC(O)R_{10}-$ 或者 $-R_9C(O)NHR_{10}-$ ，其中的羟基、巯基、氨基、烷基、烯烃基、炔烃基、烷氧基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基可进一步被一个或多个卤素、氰基、氨基、羟胺基、巯基、羟基、烷基、烷氧基、羰基、醛基、羧基、酯基、酰胺键、芳基、芳杂基取代；

R_3 为氢、卤素、氰基、硝基、氨基、羟基、羟胺基、巯基、磺酸基、羧基、醛基、羰基、酯基、酰胺键或 $C_1 \sim C_6$ 的烷基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、芳杂基，其中的烷基、烯烃基、炔烃基、烷氧基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基进一步被一个或多个卤素、氰基、氨基、羟胺基、巯基、羟基、烷基、烷氧基、羰基、醛基、羧基、酯基、酰胺键、芳基、芳杂基取代；

R_1 和 R_2 和 R_3 可以相互以单键、双键或三键连接成环；

R_4 、 R_4' 、 R_5 和 R_5' 各自独立地表示氢、羟基、卤素、氨基、羟胺基、氰基、硝基、烯基、炔基、 $C_1 \sim C_6$ 烷基、环烷基、烷氧基、羰基、硫羰基、醛基、羧基、酯基、酰胺基，其中所述 $C_1 \sim C_6$ 的烷基、烷氧基、烯基、炔基、酯基、酰胺基可

以各自独立地进一步被一个或者多个选自卤素、羟基、氰基、硝基、羟胺基、氨基、羟胺基、烷氧基、环烷基的基团所取代；

R_5 、 R_5' 、 R_4 、 R_4' 可以相互连接成键；

R_7 、 R_7' 、 R_6 、 R_6' 、 R_8 各自独立地表示氢、羟基、羟胺基、氨基、硝基、氰基、卤素、 $C_1\sim C_6$ 的烷基、烷氧基、烷氧基取代的烷基、环烷基、羰基、醛基、羧基、酯基、酰胺基；

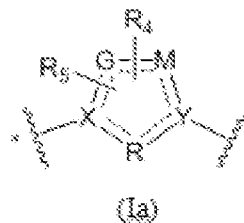
R_7 、 R_7' 、 R_6 、 R_6' 可以相互连接成键；

R_{11} 、 R_{12} 各自独立地表示氢、羟基、氨基、羟胺基、硝基、磺酸基、氰基、卤素、 $C_1\sim C_6$ 的烷基、烷氧基、环烷基、芳基；其中所述 $C_1\sim C_6$ 烷基、烷氧基、环烷基、氨基、芳基各自独立的任选进一步被一个或者多个选自卤素、羟基、氰基、硝基、烷基、环烷基、烷氧基、芳基的基团所取代；

R_9 、 R_{10} 各自独立地表示为氢、 $C_1\sim C_6$ 直链或者支链烷基、烷氧基、氨基，其中的烷基、烷氧基可进一步被一个或者多个卤素、氰基、羟基、硝基、氨基取代；

R_8 可与 R_7 、 R_7' 、 R_6 、 R_6' 以及 R_{11} 、 R_{12} 相互连接成键。

2、根据权利要求 1 所述的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物，其特征在于：所述化合物的环 A 具有如 Ia 所示结构：



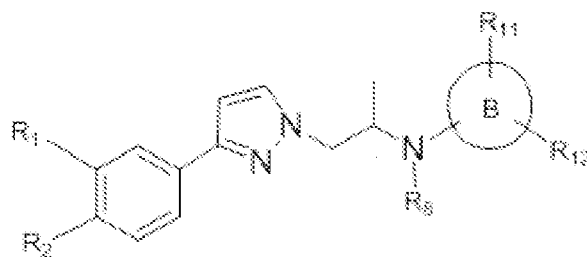
其中, R 为 O, N, $C=O$ 或者 $C=S$ ；

X 为 C 或 N； Y 为 C 或 N； G 为 CH, $C=O$ 或者 $C=S$ ；

M 为 CH 或者 O；虚线表示可选择的双键；星号表示与环连接的位置；

R_4 和 R_5 定义同上述结构 I。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物，其特征在于：所述化合物具有式 II 所示结构：



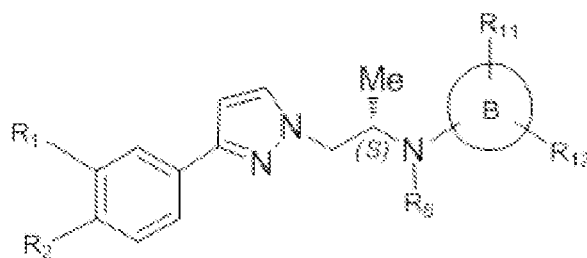
II

其中， R_1 和 R_2 相互独立地为氢、卤素、 CHF_2 、 CF_3 、氰基、硝基、氨基、羟胺基、羟基、巯基、磺酸基、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ 的烷基、烯烃基、炔烃基、烷氧基、环烷基、杂环基或芳基、杂芳基；其中的羟基、巯基、氨基、烷基、烯烃基、炔烃基、烷氧基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基可进一步被一个或多个卤素、氰基、氨基、羟胺基、巯基、羟基、烷基、烷氧基、羰基、醛基、羧基、酯基、酰胺键、芳基、芳杂基取代；

其中，环 B 为 $\text{C}_5\sim\text{C}_{12}$ 碳环、杂环、芳环、芳杂环或苯并芳环、苯并杂环、苯并芳杂环，其中苯环上的碳可被一个或多个杂原子取代；

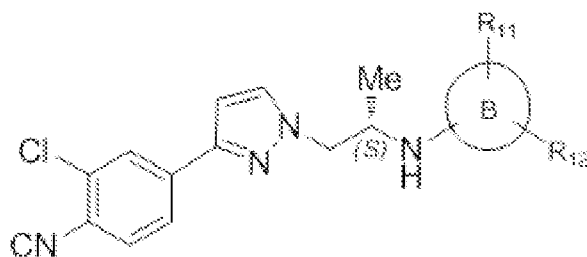
R_{11} 、 R_{12} 各自独立地表示氢、羟基、氨基、羟胺基、硝基、磺酸基、氰基、卤素、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ 的烷基、烷氧基、环烷基、芳基；其中所述 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ 烷基、烷氧基、环烷基、氨基、芳基各自独立的任选进一步被一个或者多个选自卤素、羟基、氰基、硝基、烷基、环烷基、烷氧基、芳基的基团所取代。

4、根据权利要求 3 所述的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物，其特征在于：所述化合物具有式 III 所示结构：



III

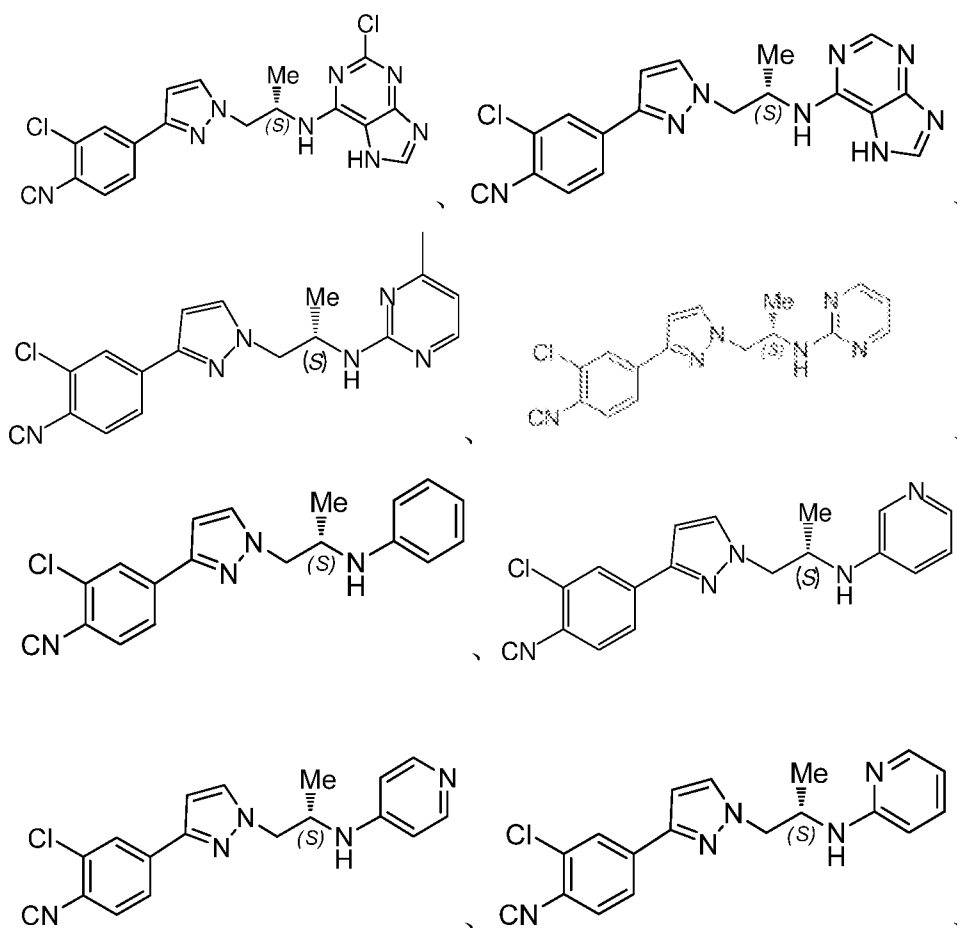
5、根据权利要求 4 所述的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物，其特征在于：所述化合物具有式 IV 所示结构：

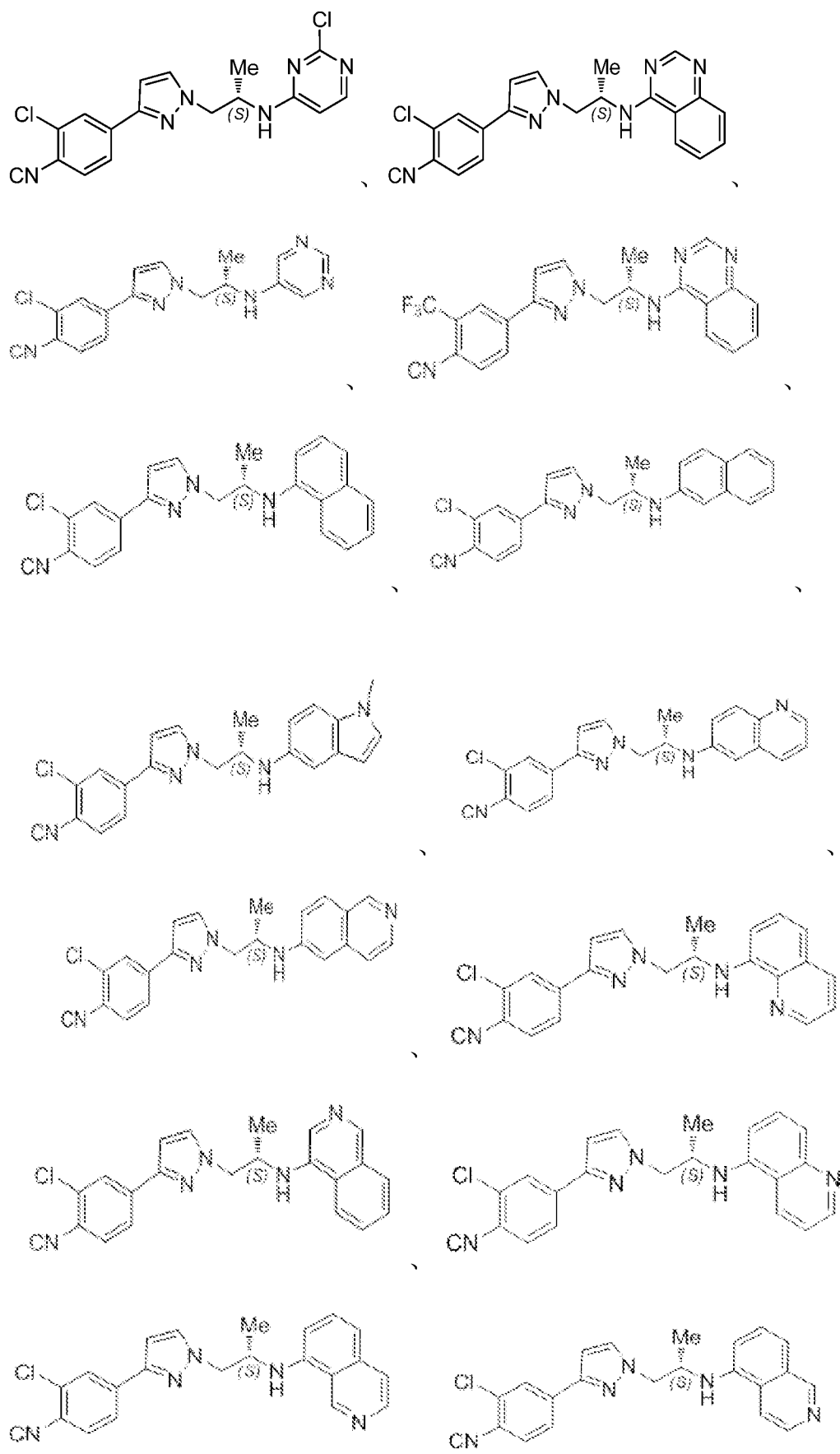


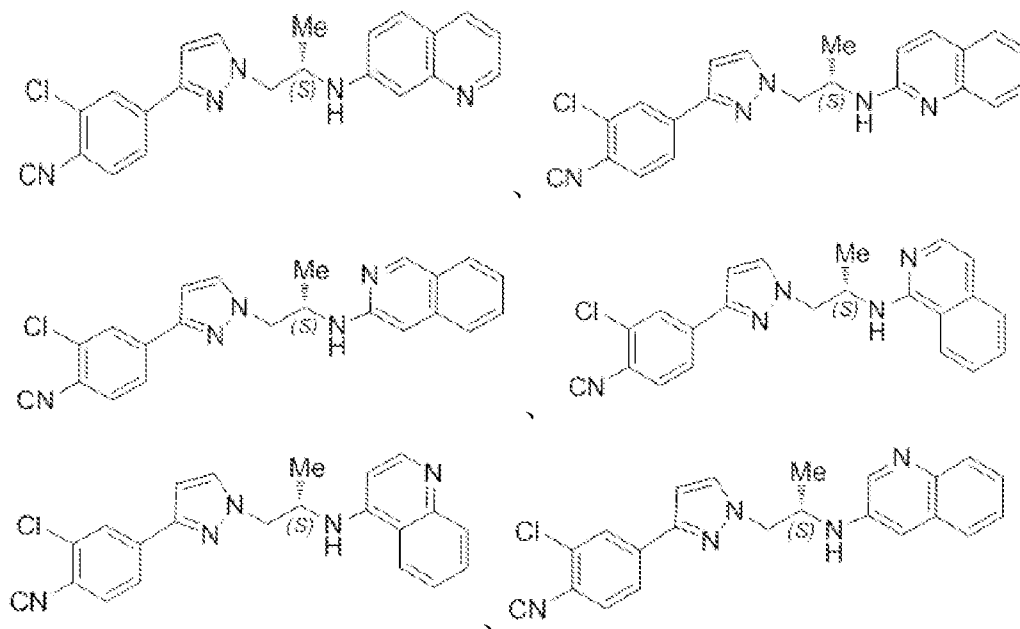
IV

6、根据权利要求 3~5 任意一项所述的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物，其特征在于：所述环 B 为含 N 并环、含 N 芳杂环、苯并含 N 杂环、苯并含 N 芳杂环或者嘌呤。

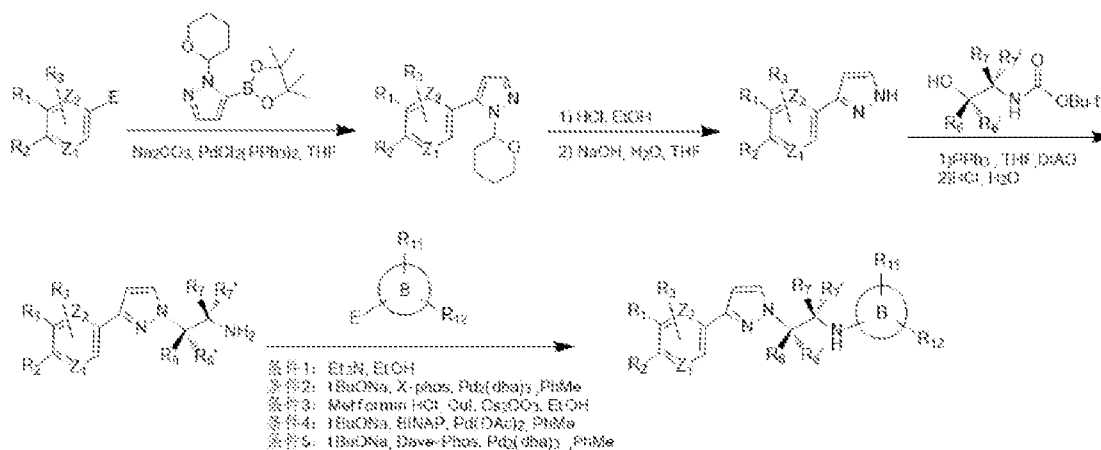
7、根据权利要求 6 所述的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物，其特征在于：所述化合物为如下化合物之一：





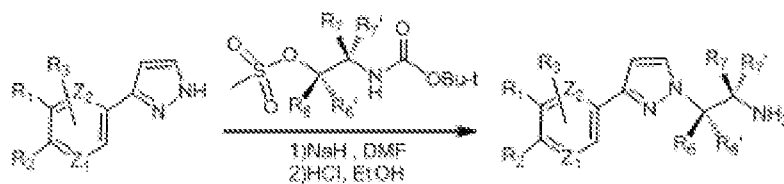


8、一种制备权利要求 1~7 任意一项所述的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物方法，其特征在于：其反应路线如下所示：

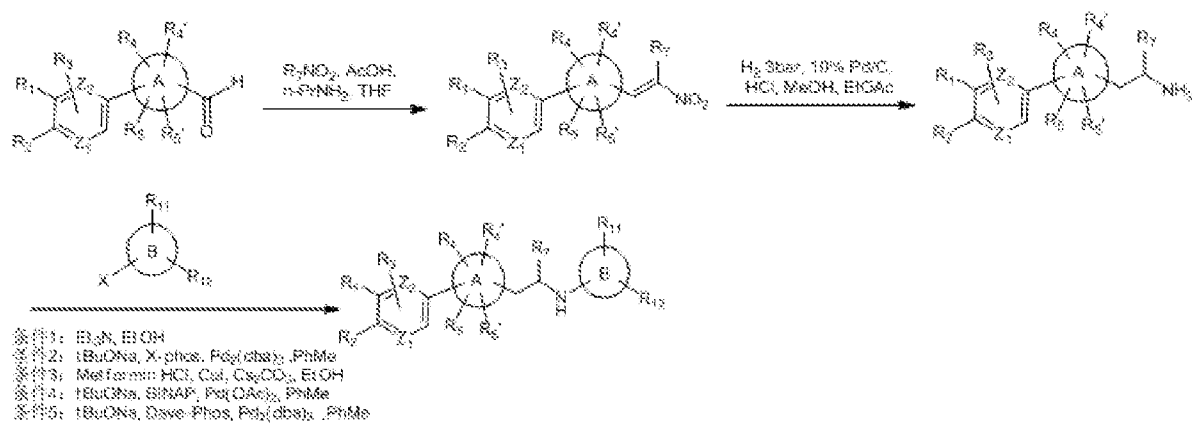


E 为卤素 Cl、Br、I；

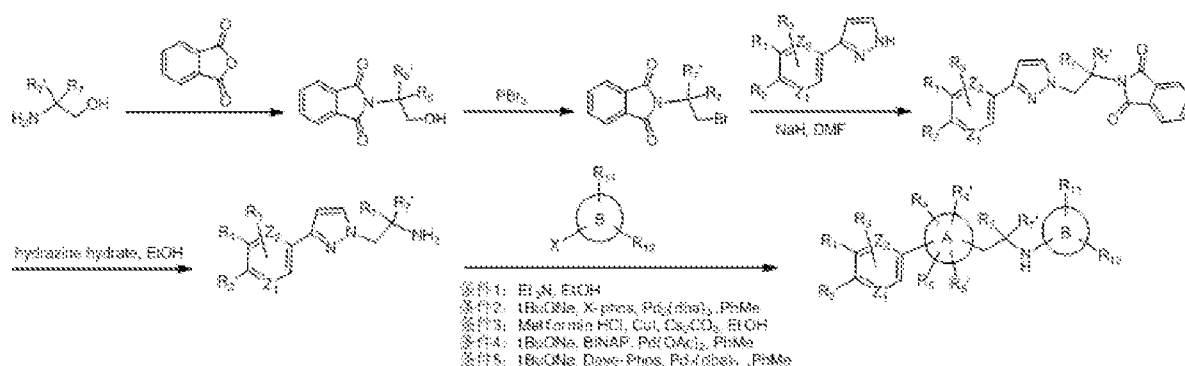
或者，



或者，



或者,



。

9、权利要求 1~7 任一项所述的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物在制备雄激素受体抑制剂中的用途。

10、根据权利要求 9 所述的用途，其特征在于：所述雄激素受体包括雄激素受体的突变体。

11、根据权利要求 10 所述的用途，其特征在于：所述雄激素受体的突变体 T877A 突变体、W741C 突变体和/或 AR-F876L 突变体。

12、根据权利要求 9~11 任意一项所述的用途，其特征在于：所述抑制剂是抑制雄激素受体表达和/或雄激素受体通路的抑制剂。

13、根据权利要求 12 所述的用途，其特征在于：所述抑制雄激素受体通路是抑制雄激素受体下游基因 PSA 和 FKBP5 的转录。

14、权利要求 1~7 任一项所述的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物在制备雄激素受体相关疾病的药物中的用途。

15、根据权利要求 14 所述的用途，其特征在于：所述药物是治疗雄激素受

体表达阳性的前列腺癌、前列腺增生、多毛症、脱发、精神性厌食症、乳腺癌、痤疮、男性性功能障碍或艾滋病的药物。

16、一种新型的雄激素受体抑制剂，其特征在于：它是以权利要求 1~7 任一项所述的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物为活性成分，再加上药学上可接受的辅料制备而成的制剂。

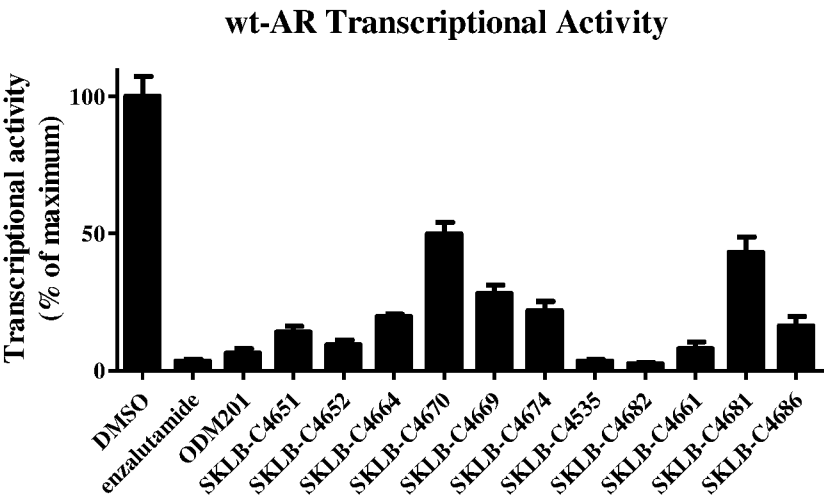


图 1

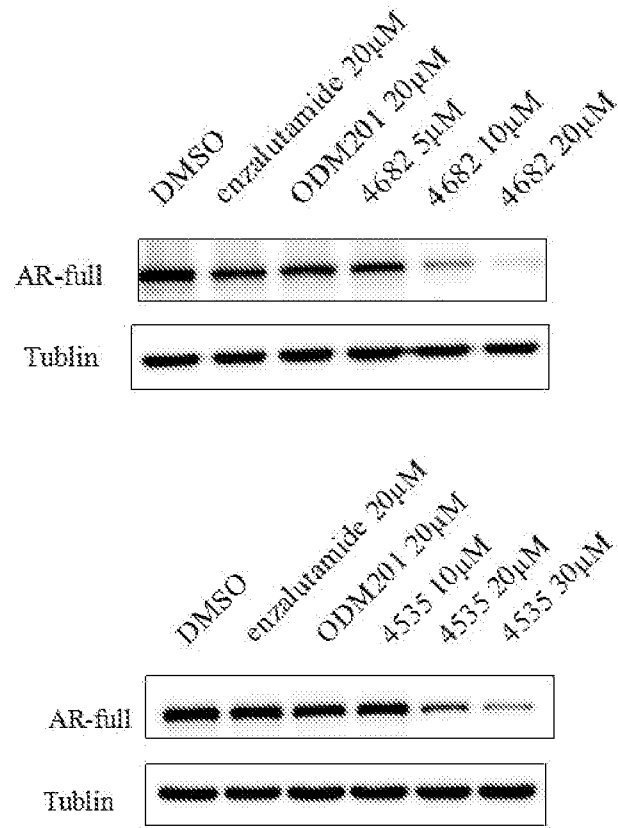


图 2

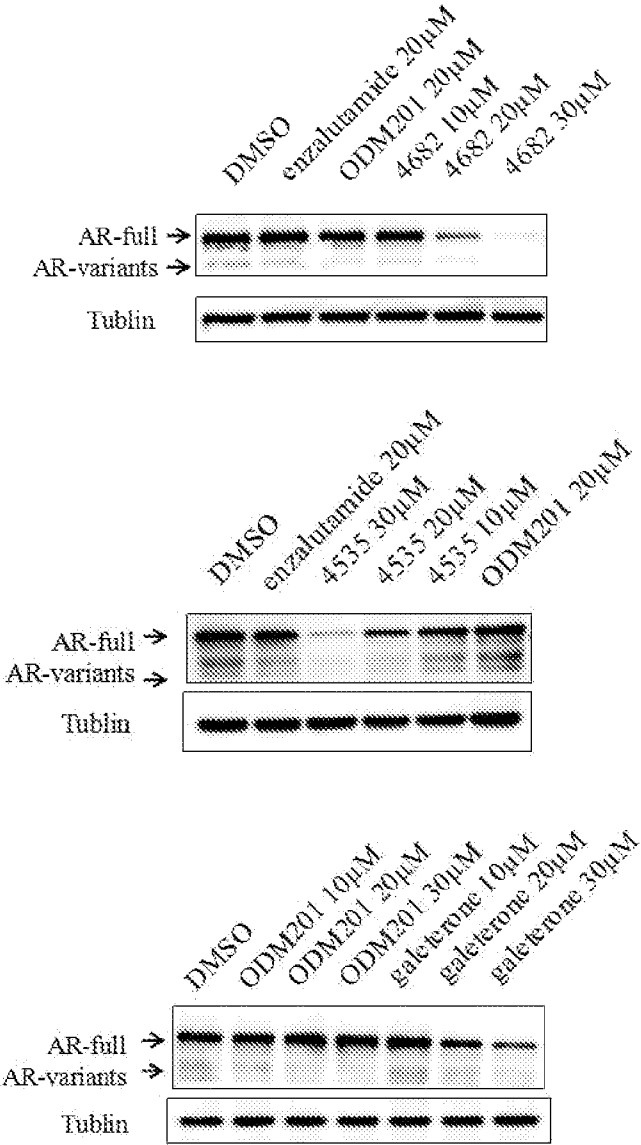
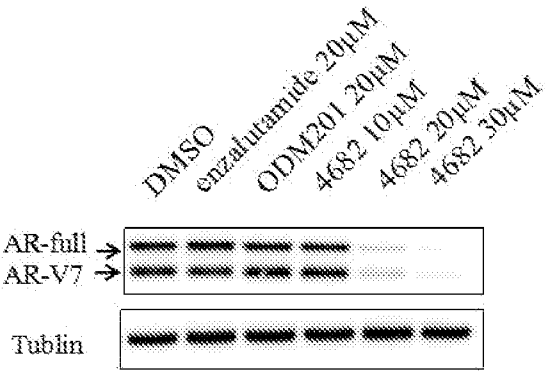


图 3



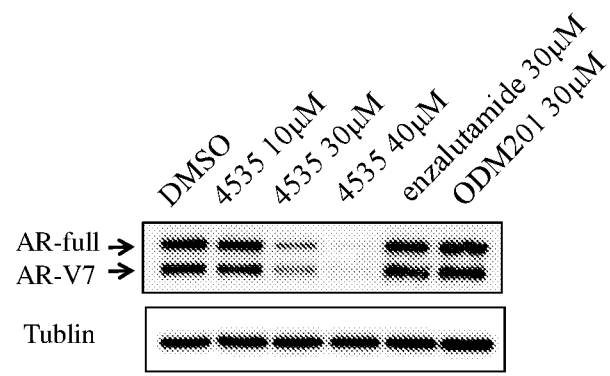
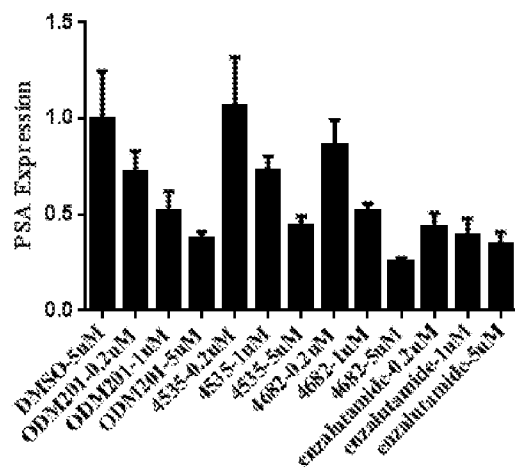


图 4

LNCap 5% CSS+0.2nMR1881



LNCap 5% CSS+0.2nMR1881

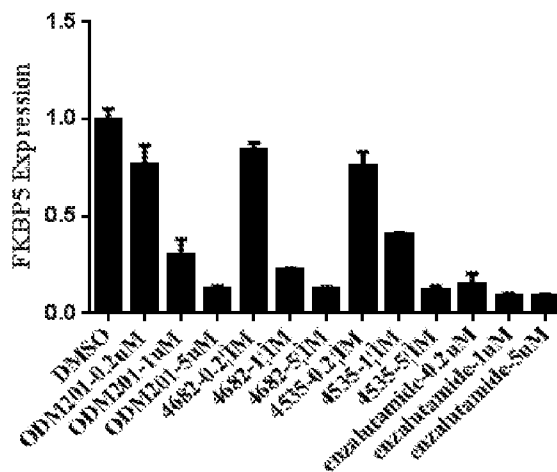


图 5

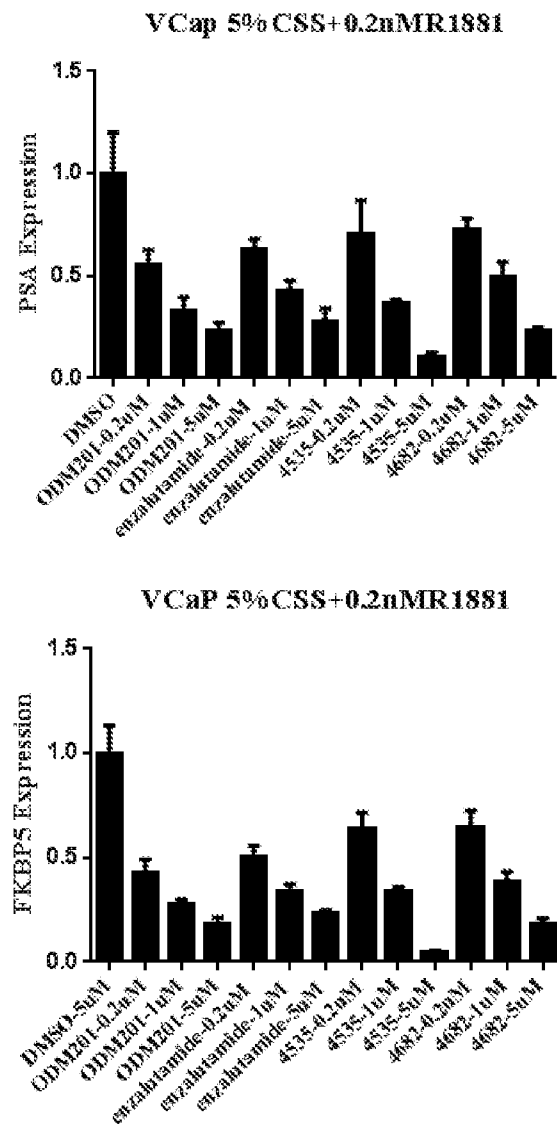


图 6

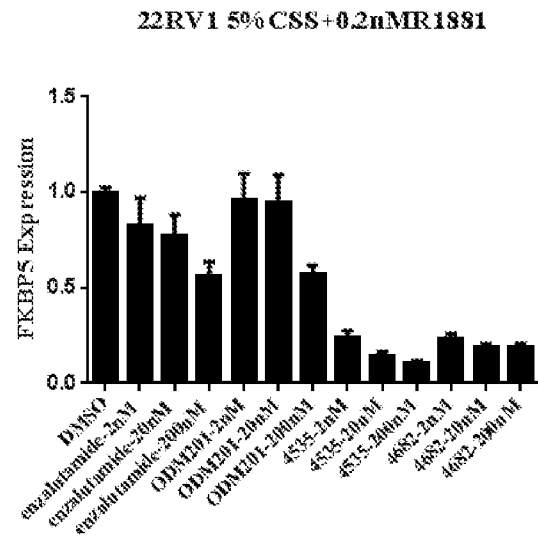


图 7

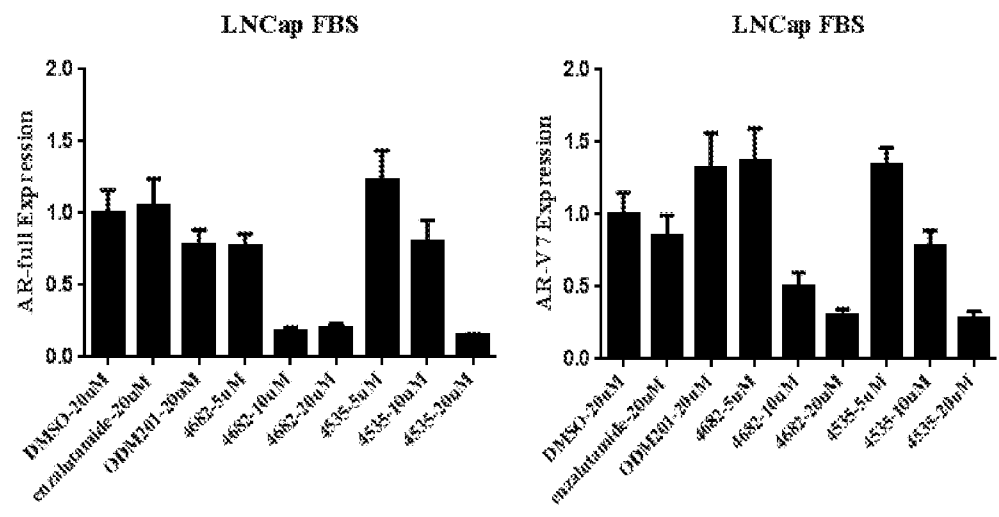


图 8

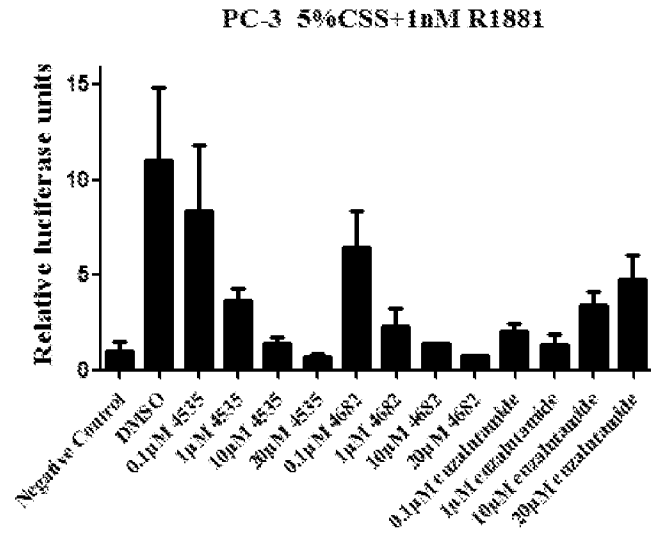


图 9

Growth inhibition of VCaP cells *in vivo*

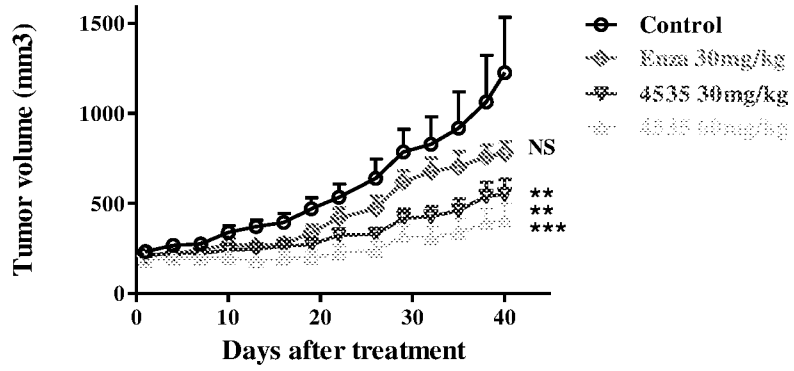


图 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/094301

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 231/12(2006.01)i; A61K 31/415(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D, A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNTXT, VEN, USTXT, EPTXT, WOTXT, CNKI, 万方, WANFANG, Web of Science, 百度学术, BAIDU SCHOLAR, Registry, Caplus, 四川大学, 余江, 陈元伟, 雄激素, 前列腺癌, androgen, prostate.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	WO 2019023315 A2 (GENEYUS LLC ET AL.) 31 January 2019 (2019-01-31) description, paragraphs 1-23 and 473	1-7, 9-16
X	WO 2017167150 A1 (SUZHOU YUNXUAN PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 05 October 2017 (2017-10-05) description, p. 3, line 5 to p. 5, line 30, p. 13, B2, and p. 15, lines 5-11, and embodiment 2	1-7, 9-16
Y	WO 2017167150 A1 (SUZHOU YUNXUAN PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 05 October 2017 (2017-10-05) description, p. 3, line 5 to p. 5, line 30, p. 13, B2, and p. 15, lines 5-11, and embodiment 2	8
X	US 2003092909 A1 (TROVA, M. P.) 15 May 2003 (2003-05-15) description, paragraphs 14-128, 1035, 1420, 1421, and 1524, embodiment 10, and table 6	1-7, 9-16
Y	US 2003092909 A1 (TROVA, M. P.) 15 May 2003 (2003-05-15) description, paragraphs 14-128, 1035, 1420, 1421, and 1524, embodiment 10, and table 6	8
Y	CN 103443094 A (TAISHO PHARMA CO., LTD.) 11 December 2013 (2013-12-11) embodiments 1-4	8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 September 2019

Date of mailing of the international search report

09 October 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/094301

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2019023315	A2	31 January 2019	WO	2019023315	A3	07 March 2019
				US	2019031647	A1	31 January 2019
WO	2017167150	A1	05 October 2017	None			
US	2003092909	A1	15 May 2003	WO	03022805	A2	20 March 2003
				WO	03022805	A3	22 January 2004
				US	6812232	B2	02 November 2004
				AU	2002335728	A1	24 March 2003
CN	103443094	A	11 December 2013	RU	2013132930	A	27 January 2015
				EP	2653469	A1	23 October 2013
				CA	2821893	A1	21 June 2012
				BR	112013013695	A2	13 September 2016
				JP	WO2012081692	A1	22 May 2014
				MX	2013006715	A	26 August 2013
				SG	191103	A1	30 August 2013
				NZ	611865	A	28 November 2014
				KR	20140000703	A	03 January 2014
				US	2013281465	A1	24 October 2013
				AU	2011342049	A1	04 July 2013
				TW	201307320	A	16 February 2013
				WO	2012081692	A1	21 June 2012
				EP	2653469	A4	07 May 2014
				VN	35468	A	25 October 2013
				ID	201403002	A	28 August 2014
				IL	226960	A	31 July 2013
				PH	12013501206	B1	17 February 2015
				IN	201305366	P1	06 May 2016
				HK	1188447	A0	02 May 2014
				ZA	201304282	A	27 August 2014
				PH	12013501206	A1	29 July 2013
				MX	324724	B	22 October 2014

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/094301

A. 主题的分类 C07D 231/12(2006.01)i; A61K 31/415(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类																							
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07D, A61K, A61P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS, CNTXT, VEN, USTXT, EPTXT, WOTXT, CNKI, 万方, Web of Science, 百度学术, Registry, Caplus, 四川大学, 余江, 陈元伟, 雄激素, 前列腺癌, androgen, prostate.																							
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>WO 2019023315 A2 (GENEYUS LLC等) 2019年 1月 31日 (2019 - 01 - 31) 说明书第1-23段, 第473段</td> <td>1-7, 9-16</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2017167150 A1 (苏州云轩医药科技有限公司) 2017年 10月 5日 (2017 - 10 - 05) 说明书第3页第5行-第5页第30行, 第13页B2, 第15页第5-11行, 实施例2</td> <td>1-7, 9-16</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2017167150 A1 (苏州云轩医药科技有限公司) 2017年 10月 5日 (2017 - 10 - 05) 说明书第3页第5行-第5页第30行, 第13页B2, 第15页第5-11行, 实施例2</td> <td>8</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>US 2003092909 A1 (MICHAEL PETER TROVA) 2003年 5月 15日 (2003 - 05 - 15) 说明书第14-128, 1035, 1420-1421, 1524段, 实施例10, 表6</td> <td>1-7, 9-16</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2003092909 A1 (MICHAEL PETER TROVA) 2003年 5月 15日 (2003 - 05 - 15) 说明书第14-128, 1035, 1420-1421, 1524段, 实施例10, 表6</td> <td>8</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 103443094 A (大正制药株式会社) 2013年 12月 11日 (2013 - 12 - 11) 实施例1-4</td> <td>8</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	WO 2019023315 A2 (GENEYUS LLC等) 2019年 1月 31日 (2019 - 01 - 31) 说明书第1-23段, 第473段	1-7, 9-16	X	WO 2017167150 A1 (苏州云轩医药科技有限公司) 2017年 10月 5日 (2017 - 10 - 05) 说明书第3页第5行-第5页第30行, 第13页B2, 第15页第5-11行, 实施例2	1-7, 9-16	Y	WO 2017167150 A1 (苏州云轩医药科技有限公司) 2017年 10月 5日 (2017 - 10 - 05) 说明书第3页第5行-第5页第30行, 第13页B2, 第15页第5-11行, 实施例2	8	X	US 2003092909 A1 (MICHAEL PETER TROVA) 2003年 5月 15日 (2003 - 05 - 15) 说明书第14-128, 1035, 1420-1421, 1524段, 实施例10, 表6	1-7, 9-16	Y	US 2003092909 A1 (MICHAEL PETER TROVA) 2003年 5月 15日 (2003 - 05 - 15) 说明书第14-128, 1035, 1420-1421, 1524段, 实施例10, 表6	8	Y	CN 103443094 A (大正制药株式会社) 2013年 12月 11日 (2013 - 12 - 11) 实施例1-4	8
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
PX	WO 2019023315 A2 (GENEYUS LLC等) 2019年 1月 31日 (2019 - 01 - 31) 说明书第1-23段, 第473段	1-7, 9-16																					
X	WO 2017167150 A1 (苏州云轩医药科技有限公司) 2017年 10月 5日 (2017 - 10 - 05) 说明书第3页第5行-第5页第30行, 第13页B2, 第15页第5-11行, 实施例2	1-7, 9-16																					
Y	WO 2017167150 A1 (苏州云轩医药科技有限公司) 2017年 10月 5日 (2017 - 10 - 05) 说明书第3页第5行-第5页第30行, 第13页B2, 第15页第5-11行, 实施例2	8																					
X	US 2003092909 A1 (MICHAEL PETER TROVA) 2003年 5月 15日 (2003 - 05 - 15) 说明书第14-128, 1035, 1420-1421, 1524段, 实施例10, 表6	1-7, 9-16																					
Y	US 2003092909 A1 (MICHAEL PETER TROVA) 2003年 5月 15日 (2003 - 05 - 15) 说明书第14-128, 1035, 1420-1421, 1524段, 实施例10, 表6	8																					
Y	CN 103443094 A (大正制药株式会社) 2013年 12月 11日 (2013 - 12 - 11) 实施例1-4	8																					
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																							
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件																							
国际检索实际完成的日期 2019年 9月 17日		国际检索报告邮寄日期 2019年 10月 9日																					
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 吴昊 电话号码 86-(20)-28950523																					

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/094301

检索报告引用的专利文件				公布日 (年/月/日)		同族专利		公布日 (年/月/日)	
WO	2019023315	A2	2019年 1月 31日	WO	2019023315	A3	2019年 3月 7日		
				US	2019031647	A1	2019年 1月 31日		
WO	2017167150	A1	2017年 10月 5日	无					
US	2003092909	A1	2003年 5月 15日	WO	03022805	A2	2003年 3月 20日		
				WO	03022805	A3	2004年 1月 22日		
				US	6812232	B2	2004年 11月 2日		
				AU	2002335728	A1	2003年 3月 24日		
CN	103443094	A	2013年 12月 11日	RU	2013132930	A	2015年 1月 27日		
				EP	2653469	A1	2013年 10月 23日		
				CA	2821893	A1	2012年 6月 21日		
				BR	112013013695	A2	2016年 9月 13日		
				JP	W02012081692	A1	2014年 5月 22日		
				MX	2013006715	A	2013年 8月 26日		
				SG	191103	A1	2013年 8月 30日		
				NZ	611865	A	2014年 11月 28日		
				KR	20140000703	A	2014年 1月 3日		
				US	2013281465	A1	2013年 10月 24日		
				AU	2011342049	A1	2013年 7月 4日		
				TW	201307320	A	2013年 2月 16日		
				WO	2012081692	A1	2012年 6月 21日		
				EP	2653469	A4	2014年 5月 7日		
				VN	35468	A	2013年 10月 25日		
				ID	201403002	A	2014年 8月 28日		
				IL	226960	A	2013年 7月 31日		
				PH	12013501206	B1	2015年 2月 17日		
				IN	201305366	P1	2016年 5月 6日		
				HK	1188447	A0	2014年 5月 2日		
				ZA	201304282	A	2014年 8月 27日		
				PH	12013501206	A1	2013年 7月 29日		
				MX	324724	B	2014年 10月 22日		

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2015年1月)