(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 114728974 B
(45)授权公告日 2023.09.19

(21)申请号 202080078768.4
(22)申请日 2020.11.13
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114728974 A
(43)申请公布日 2022.07.08
(66)本国优先权数据
201911109773.2 2019.11.13 CN
201911288492.8 2019.12.13 CN
202010096582.3 2020.02.17 CN
202010711270.9 2020.07.22 CN
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.05.12
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2020/128597 2020.11.13
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/093839 ZH 2021.05.20

(73)专利权人 浙江龙传生物医药科技有限公司
地址 310018 浙江省杭州市钱塘新区下沙街道福城路291号和达药谷中心1-1203室
(72)发明人 张杨 伍文韬 耿开骏 李秋 黎健 陈曙辉

(51)Int.Cl.
C07D 487/04(2006.01)
A61K 31/519(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)
A61P 37/02(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)
(56)对比文件
CN 109890821 A,2019.06.14
WO 2017111787 A1,2017.06.29
CN 101594871 A,2009.12.02
EP 3042903 A1,2016.07.13
IN 914DEN2015 A,2015.06.12
审查员 苏敬雷

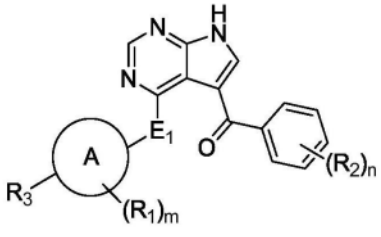
权利要求书1页 说明书43页 附图3页

(54)发明名称

作为BTK抑制剂的吡咯并嘧啶类化合物及其应用

(57)摘要

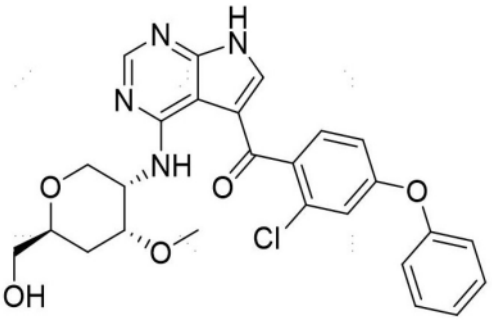
本发明公开了一种吡咯并嘧啶类化合物，及其在制备BTK蛋白激酶抑制剂相关疾病的药物中的应用。具体公开了式(III)所示化合物及其药学上可接受的盐。



(III)

CN 114728974 B

1.下式化合物或其药学上可接受的盐：



。

2.根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备BTK蛋白激酶抑制剂相关药物上的应用。

3.根据权利要求2所述的应用，其特征在于，所述BTK蛋白激酶抑制剂相关药物是用于血液瘤药物。

作为BTK抑制剂的吡咯并嘧啶类化合物及其应用

[0001] 本申请主张如下优先权

[0002] CN201911109773.2,申请日:2019-11-13;

[0003] CN201911288492.8,申请日:2019-12-13;

[0004] CN202010096582.3,申请日:2020-02-17;

[0005] CN202010711270.9,申请日:2020-07-22。

技术领域

[0006] 本发明涉及一种吡咯并嘧啶类化合物,及其在制备治疗BTK蛋白激酶相关疾病的药物中的应用。

背景技术

[0007] 本发明的吡咯并嘧啶类化合物是一类新的蛋白激酶抑制剂,具有多种治疗应用,可以用于治疗由蛋白激酶引起的增殖、炎症及自身免疫等相关的紊乱。

[0008] 激酶是一类控制磷酸基团从磷酸供体(如ATP)转移到特定底物的酶。蛋白激酶是激酶的一个大子集,在调节多种细胞信号和过程中发挥着核心作用,BTK就是其中之一。

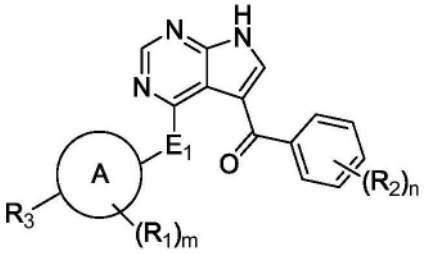
[0009] BTK属于TEC胞质酪氨酸激酶家族(TEC family kinases,TFKs)的一员。该家族共有5个成员,除了BTK,还有ITK、TEC、BMX和TXK。TFKs的进化史超过6亿年,属于非常古老的激酶家族,主要在造血系统起作用。

[0010] BTK主要负责B淋巴细胞中的各种细胞内外信号的传导与放大,是B细胞成熟所必需的。在XLA患者中BTK功能失活,会导致外周B细胞和免疫球蛋白的缺乏。BTK上游的信号受体包括生长因子和细胞因子受体、G蛋白偶联受体如趋化因子受体、抗原受体(尤其是B细胞受体[BCR])和整联蛋白等。BTK反过来激活许多主要的下游信号通路,包括磷酸肌醇-3激酶(PI3K)-AKT通路、磷脂酶-C(PLC)、蛋白激酶C和核因子κB(NF-κB)等等。BTK在BCR信号传导和细胞迁移中的作用已得到很好的证实,而这些功能似乎也是BTK抑制剂的主要靶点。在B细胞慢性淋巴细胞白血病(CLL)和套细胞淋巴瘤(MCL)等血癌细胞中均检测到BTK活性的增加。BTK功能异常活跃经常会导致B细胞恶性肿瘤或自体免疫疾病,使其成为一个热门的研发靶点。

[0011] 目前FDA已批准上市的BTK抑制剂有依鲁替尼和阿卡替尼,这两个不可逆共价抑制剂能够与蛋白C481形成共价结合,从而很好的抑制BTK的活性。临床研究发现,患者在服用依鲁替尼和阿卡替尼后会出现耐药突变,包括C481S,C481Y,C481R,C481F。针对由蛋白半胱氨酸C481突变引起的耐药,我们设计合成了一系列吡咯并嘧啶类不可逆BTK抑制剂。

发明内容

[0012] 本发明提供了式(III)所示化合物或其药学上可接受的盐,

[0013] 

（III）

[0014] 其中，

[0015] R_1选自卤素和C_{1-3}烷氧基，所述C_{1-3}烷氧基任选被1、2或3个R_a取代；

[0016] 或者，2个R_1可以和它们相连的键共同构成环丙基；

[0017] 各R_a选自D、卤素和OH；

[0018] R_2选自卤素、甲基、苯氧基和吡啶氧基，所述苯氧基和吡啶氧基任选被1、2或3个卤素取代；

[0019] R_3选自-CH_2OH，m选自1和2；

[0020] 或者R_3选自CN和CH_2CN，m选自0、1和2；

[0021] n选自1、2和3；

[0022] E_1选自O、S和NH；

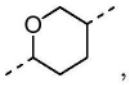
[0023] 环A选自四氢吡喃基。

[0024] 在本发明的一些方案中，上述各R_a选自D、F和OH，其它变量如本发明所定义。

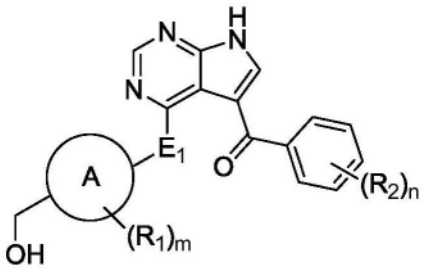
[0025] 在本发明的一些方案中，上述R_1选自F、OCH_3、OCD_3和OCH_2CH_2OH，其它变量如本发明所定义。

[0026] 在本发明的一些方案中，上述R_2选自F、Cl、甲基、苯氧基、2-氟苯氧基和2-吡啶氧基，其它变量如本发明所定义。

[0027] 在本发明的一些方案中，上述E_1选自NH，其它变量如本发明所定义。

[0028] 在本发明的一些方案中，上述环A选自 ，其它变量如本发明所定义。

[0029] 本发明提供了式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐，

[0030] 

（I）

[0031] R_1选自卤素；

[0032] 或者，2个R_1可以和它们相连的键共同构成环丙基；

[0033] R_2选自卤素和苯氧基；

[0034] m、n分别独立地选自1、2和3；

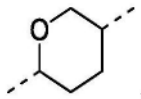
[0035] E_1选自O、S和NH；

[0036] 环A选自四氢吡喃环。

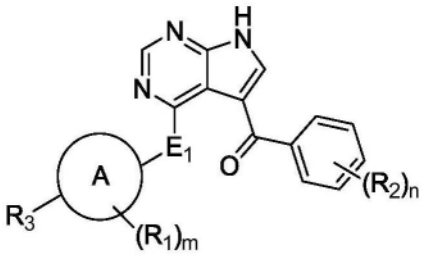
[0037] 在本发明的一些方案中，上述R_1选自F；或者，2个R_1可以和它们相连的键共同构成环丙基，其它变量如本发明所定义。

[0038] 在本发明的一些方案中，上述R_2选自Cl和苯氧基，其它变量如本发明所定义。

[0039] 在本发明的一些方案中，上述E_1选自NH，其它变量如本发明所定义。

[0040] 在本发明的一些方案中，上述环A选自，其它变量如本发明所定义。

[0041] 本发明提供了式(III)所示化合物或其药学上可接受的盐，

[0042] 

（III）

[0043] 其中，

[0044] R_1选自卤素和C_{1-3}烷氧基，所述C_{1-3}烷氧基任选被1、2或3个卤素取代；

[0045] 或者，2个R_1可以和它们相连的键共同构成环丙基；

[0046] R_2选自卤素和苯氧基；

[0047] R_3选自-CH_2OH，m选自1和2；

[0048] 或者R_3选自CN，m选自0、1和2；

[0049] n选自1、2和3；

[0050] E_1选自O、S和NH；

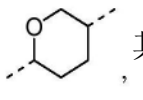
[0051] 环A选自四氢吡喃基。

[0052] 在本发明的一些方案中，上述R_1选自H、F和OCH_3，所述OCH_3任选被1、2或3个卤素取代，其它变量如本发明所定义。

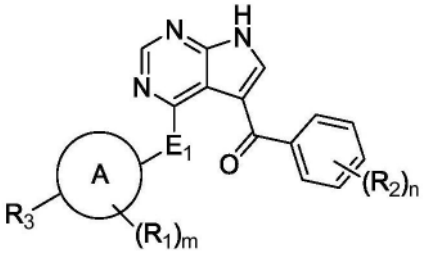
[0053] 在本发明的一些方案中，上述R_1选自H、F和OCH_3，其它变量如本发明所定义。

[0054] 在本发明的一些方案中，上述R_2选自Cl和苯氧基，其它变量如本发明所定义。

[0055] 在本发明的一些方案中，上述E_1选自NH，其它变量如本发明所定义。

[0056] 在本发明的一些方案中，上述环A选自，其它变量如本发明所定义。

[0057] 本发明提供了式(III)所示化合物或其药学上可接受的盐，

[0058] 

（III）

[0059] 其中，

[0060] R_1选自卤素和C_{1-3}烷氧基，所述C_{1-3}烷氧基任选被1、2或3个R_a取代；

[0061] 或者，2个R_1可以和它们相连的键共同构成环丙基；

[0062] 各R_a选自卤素和OH；

[0063] R_2选自卤素、甲基、苯氧基和吡啶氧基，所述苯氧基和吡啶氧基任选被1、2或3个卤素取代；

[0064] R_3选自-CH_2OH，m选自1和2；

[0065] 或者R_3选自CN和CH_2CN，m选自0、1和2；

[0066] n选自1、2和3；

[0067] E_1选自O、S和NH；

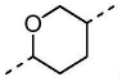
[0068] 环A选自四氢吡喃基。

[0069] 在本发明的一些方案中，上述各R_a选自F和OH，其它变量如本发明所定义。

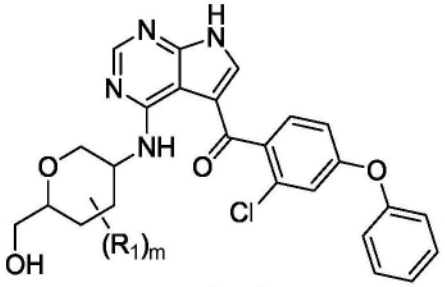
[0070] 在本发明的一些方案中，上述R_1选自F、OCH_3、OCD_3和OCH_2CH_2OH，其它变量如本发明所定义。

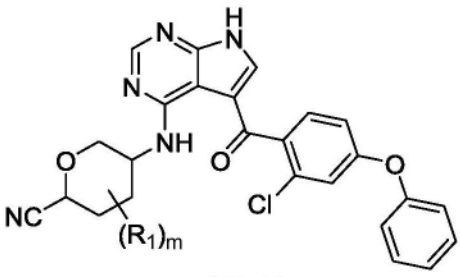
[0071] 在本发明的一些方案中，上述R_2选自F、Cl、甲基、苯氧基、2-氟苯氧基和2-吡啶氧基，其它变量如本发明所定义。

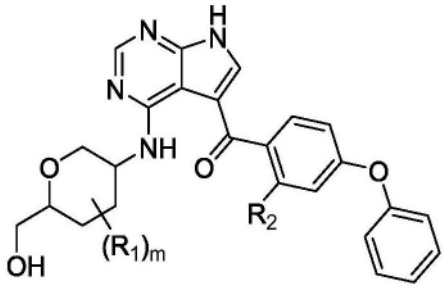
[0072] 在本发明的一些方案中，上述E_1选自NH，其它变量如本发明所定义。

[0073] 在本发明的一些方案中，上述环A选自  ，其它变量如本发明所定义。

[0074] 在本发明的一些方案中，上述化合物或其药学上可接受的盐，其选自

[0075] 
（I-1）

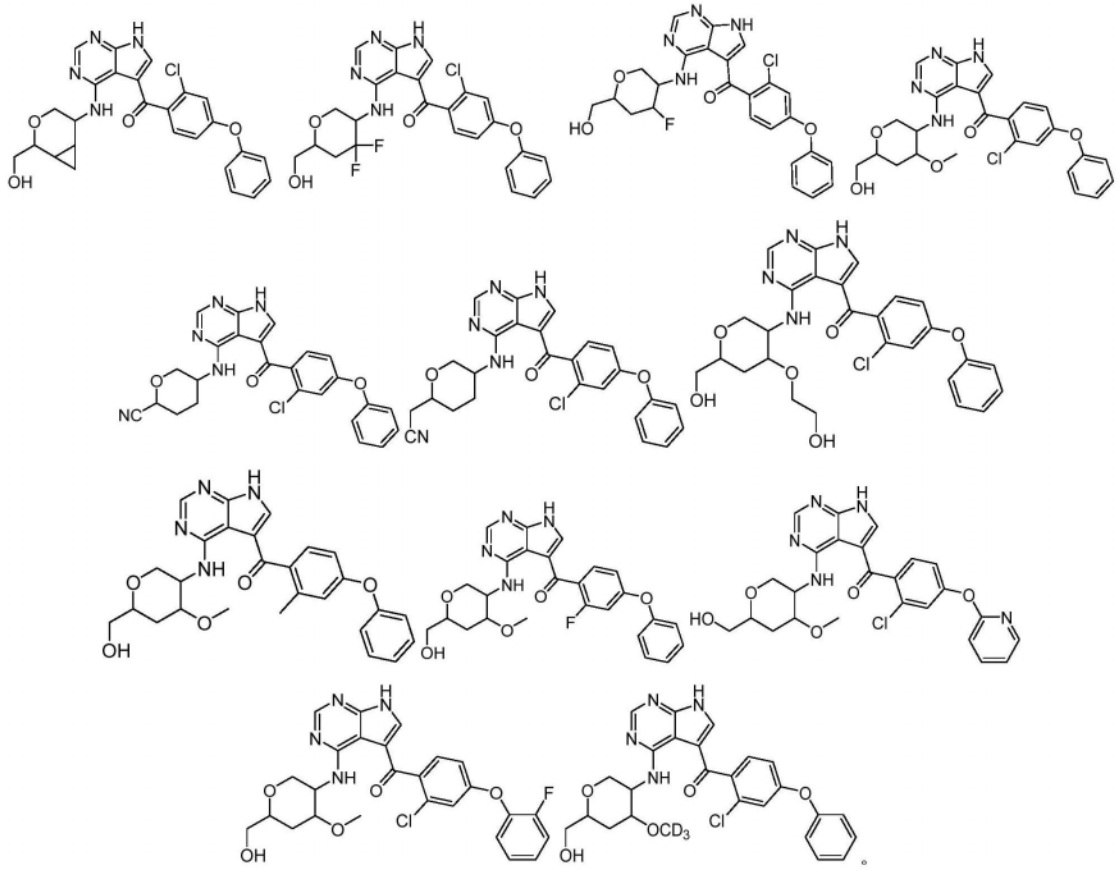

（III-1）

[0076] 
（IV-1），

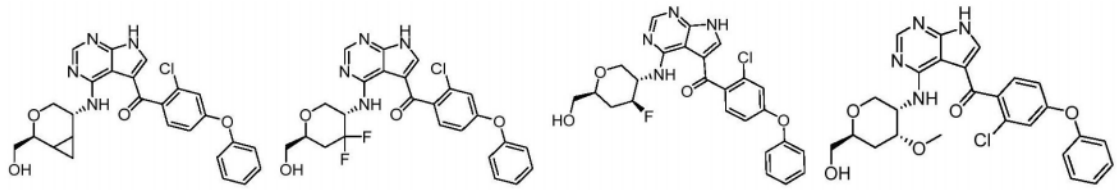
[0077] 其中，R_1、R_2和m如本发明所定义。

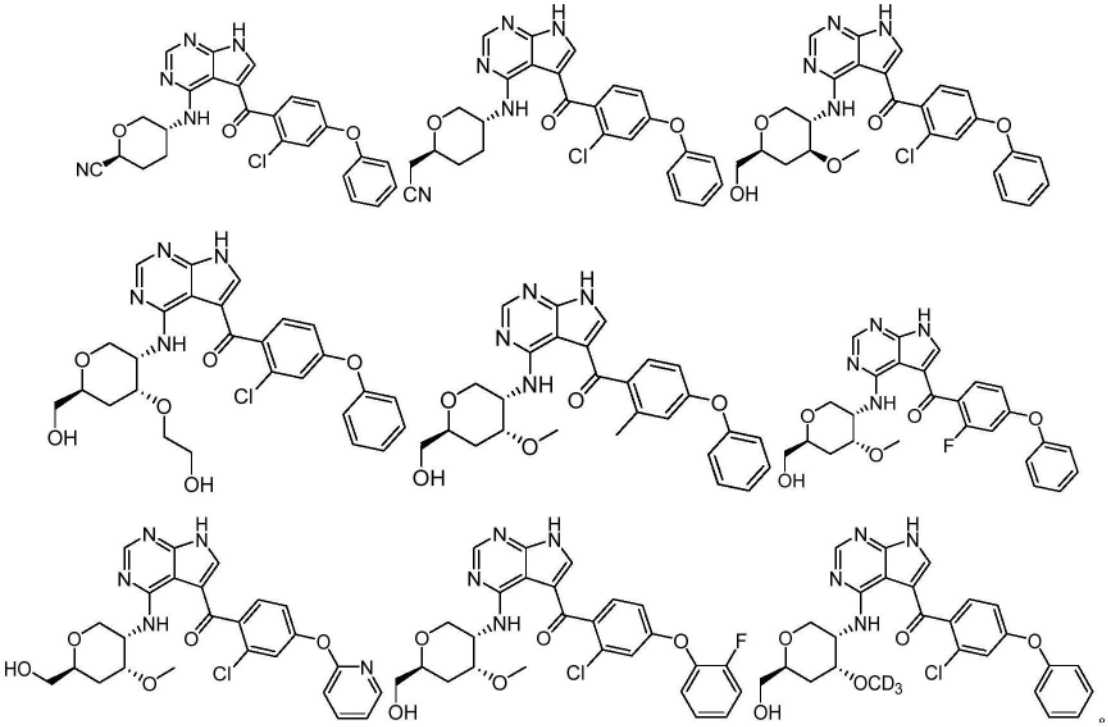
[0078] 本发明还有一些方案是由上述各变量任意组合而来。

[0079] 本发明还提供下述化合物或其药学上可接受的盐，其选自：

[0080] 

[0081] 本发明还提供下述化合物或其药学上可接受的盐,其选自:

[0082] 

[0083] 

[0084] 在本发明还提供了上述的化合物或其药学上可接受的盐在制备BTK蛋白激酶抑制剂相关药物上的应用。

[0085] 在本发明的一些方案中，上述的应用，其特征在于，所述BTK蛋白激酶抑制剂相关药物是用于血液瘤的药物。

[0086] 技术效果

[0087] 本发明化合物对BTK^{C481S}突变具有很强的抑制作用，对TMD8细胞具有很好的抑制作用，本发明化合物4在小鼠和大鼠血浆中游离药物浓度均高于参考例1，对肿瘤的抑制效果要明显优于参考例1。

[0088] 定义和说明

[0089] 除非另有说明，本文所用的下列术语和短语旨在具有下列含义。一个特定的术语或短语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的，而应该按照普通的含义去理解。当本文中出现商品名时，意在指代其对应的商品或其活性成分。

[0090] 这里所采用的术语“药学上可接受的”，是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言，它们在可靠的医学判断的范围之内，适用于与人类和动物的组织接触使用，而没有过多的毒性、刺激性、过敏性反应或其它问题或并发症，与合理的利益/风险比相称。

[0091] 术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的盐，由本发明发现的具有特定取代基的化合物与相对无毒的酸或碱制备。当本发明的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱与这类化合物的中性形式接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括钠、钾、钙、铵、有机胺或镁盐或类似的盐。当本发明的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物的中性形式接触的方式获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括无机酸盐，所述无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸，碳酸氢根，磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硫酸、硫酸氢根、氢碘酸、亚磷酸等；以及有机酸盐，所述有机酸包括

如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸和甲磺酸等类似的1酸;还包括氨基酸(如精氨酸等)的盐,以及如葡糖醛酸等有机酸的盐。本发明的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团,从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

[0092] 本发明的药学上可接受的盐可由含有酸根或碱基的母体化合物通过常规化学方法合成。一般情况下,这样的盐的制备方法是:在水或有机溶剂或两者的混合物中,经由游离酸或碱形式的这些化合物与化学计量的适当的碱或酸反应来制备。

[0093] 除非另有说明,术语“异构体”意在包括几何异构体、顺反异构体、立体异构体、对映异构体、旋光异构体、非对映异构体和互变异构体。

[0094] 本发明的化合物可以存在特定的几何或立体异构体形式。本发明设想所有的这类化合物,包括顺式和反式异构体、(-)-和(+)-对映体、(R)-和(S)-对映体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体,及其外消旋混合物和其他混合物,例如对映异构体或非对映体富集的混合物,所有这些混合物都属于本发明的范围之内。烷基等取代基中可存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及它们的混合物,均包括在本发明的范围之内。

[0095] 除非另有说明,术语“对映异构体”或者“旋光异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。

[0096] 除非另有说明,术语“顺反异构体”或者“几何异构体”系由因双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而引起。

[0097] 除非另有说明,术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心,并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。

[0098] 除非另有说明,“(+)”表示右旋,“(-)”表示左旋,“(±)”表示外消旋。

[0099] 除非另有说明,用楔形实线键( )和楔形虚线键( )表示一个立体中心的绝对构型,用直形实线键( )和直形虚线键( )表示立体中心的相对构型,用波浪线( )表示楔形实线键( )或楔形虚线键( ),或用波浪线( )表示直形实线键( )和直形虚线键( )。

[0100] 本发明的化合物可以存在特定的。除非另有说明,术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指在室温下,不同官能团异构体处于动态平衡,并能很快的相互转化。若互变异构体是可能的(如在溶液中),则可以达到互变异构体的化学平衡。例如,质子互变异构体(proton tautomer)(也称质子转移互变异构体(prototropic tautomer))包括通过质子迁移来进行的互相转化,如酮-烯醇异构化和亚胺-烯胺异构化。价键异构体(valence tautomer)包括一些成键电子的重组来进行的相互转化。其中酮-烯醇互变异构化的具体实例是戊烷-2,4-二酮与4-羟基戊-3-烯-2-酮两个互变异构体之间的互变。

[0101] 除非另有说明,术语“富含一种异构体”、“异构体富集”、“富含一种对映体”或者“对映体富集”指其中一种异构体或对映体的含量小于100%,并且,该异构体或对映体的含量大于等于60%,或者大于等于70%,或者大于等于80%,或者大于等于90%,或者大于等于95%,或者大于等于96%,或者大于等于97%,或者大于等于98%,或者大于等于99%,或者大于等于99.5%,或者大于等于99.6%,或者大于等于99.7%,或者大于等于99.8%,或者大于等于99.9%。

[0102] 除非另有说明，术语“异构体过量”或“对映体过量”指两种异构体或两种对映体相对百分数之间的差值。例如，其中一种异构体或对映体的含量为90％，另一种异构体或对映体的含量为10％，则异构体或对映体过量(ee值)为80％。

[0103] 可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的(R)-和(S)-异构体以及D和L异构体。如果想得到本发明某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱性官能团(如氨基)或酸性官能团(如羧基)时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的常规方法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合(例如由胺生成氨基甲酸盐)。

[0104] 本发明的化合物可以在一个或多个构成该化合物的原子上包含非天然比例的原子同位素。例如，可用放射性同位素标记化合物，比如氚(^{3}H)，碘-125(^{125}I)或C-14(^{14}C)。又例如，可用重氢取代氢形成氘代药物，氘与碳构成的键比普通氢与碳构成的键更坚固，相比于未氘化药物，氘代药物有降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本发明的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本发明的范围之内。

[0105] 除非另有规定，术语“C_{1-3}烷氧基”表示通过一个氧原子连接到分子的其余部分的那些包含1至3个碳原子的烷基基团。所述C_{1-3}烷氧基包括C_{1-2}、C_{2-3}、C_3和C_2烷氧基等。C_{1-3}烷氧基的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基(包括正丙氧基和异丙氧基)等。

[0106] 除非另有规定，术语“卤代素”或“卤素”本身或作为另一取代基的一部分表示氟、氯、溴或碘原子。

[0107] 术语“任选”或“任选地”指的是随后描述的事件或状况可能但不是必需出现的，并且该描述包括其中所述事件或状况发生的情况以及所述事件或状况不发生的情况。

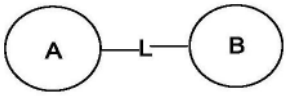
[0108] 术语“被取代的”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代，可以包括重氢和氢的变体，只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为氧(即=O)时，意味着两个氢原子被取代。氧取代不会发生在芳香基上。术语“任选被取代的”是指可以被取代，也可以不被取代，除非另有规定，取代基的种类和数目在化学上可以实现的基础上可以是任意的。

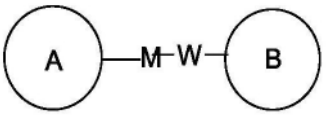
[0109] 当任何变量(例如R)在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立的。因此，例如，如果一个基团被0-2个R所取代，则所述基团可以任选地至多被两个R所取代，并且每种情况下的R都有独立的选项。此外，取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

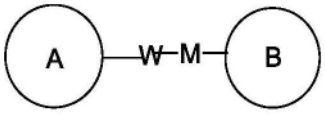
[0110] 当一个连接基团的数量为0时，比如-$(CRR)_0$-，表示该连接基团为单键。

[0111] 当其中一个变量选自单键时，表示其连接的两个基团直接相连，比如A-L-Z中L代表单键时表示该结构实际上是A-Z。

[0112] 当一个取代基为空缺时，表示该取代基是不存在的，比如A-X中X为空缺时表示该结构实际上是A。当所列举的连接基团没有指明其连接方向，其连接方向是任意的，例如，



中连接基团L为-M-W-，此时-M-W-既可以按与从左往右的读取顺序相同的方向连接环A和环B构成

，也可以按照与从左往右的读取顺序相反的方向连接环A和环B构成

。所述连接基团、取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

[0113] 本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的多种合成方法来制备，包括下面列举的具体实施方式、其与其他化学合成方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术上人员所熟知的等同替换方式，优选的实施方式包括但不限于本发明的实施例。

[0114] 本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的常规方法来确认结构，如果本发明涉及化合物的绝对构型，则该绝对构型可以通过本领域常规技术手段予以确证。例如单晶X射线衍射法(SXRD)，把培养出的单晶用Bruker D8 venture衍射仪收集衍射强度数据，光源为CuKα辐射，扫描方式：φ/ω扫描，收集相关数据后，进一步采用直接法(Shelxs97)解析晶体结构，便可以确证绝对构型。

[0115] 本发明所使用的溶剂可经市售获得。本发明采用下述缩略词：aq代表水；eq代表当量、等量；M代表mol/L；DCM代表二氯甲烷；PE代表石油醚；DMF代表N,N-二甲基甲酰胺；NMP代表N-甲基吡咯烷酮；DMSO代表二甲亚砜；EtOAc代表乙酸乙酯；EtOH代表乙醇；MeOH代表甲醇；CBz代表苄氧羰基，是一种胺保护基团；Boc代表叔丁氧羰基是一种胺保护基团；r.t.代表室温；O/N代表过夜；THF代表四氢呋喃；Boc_2O代表二叔丁基二碳酸酯；三氟乙酸代表三氟乙酸；DIPEA代表二异丙基乙基胺；$SOCl_2$代表氯化亚砜；mp代表熔点。

[0116] 化合物依据本领域常规命名原则或者使用ChemDraw®软件命名，市售化合物采用供应商目录名称。

[0117] 技术效果

[0118] 本发明化合物对BTK^{C481S}突变具有很强的抑制作用，对TMD8细胞具有很好的抑制作用，本发明化合物4在小鼠和大鼠血浆中游离药物浓度均高于参考例1，对肿瘤的抑制效果要明显优于参考例1。

附图说明

[0119] 图1：双分子立体结构椭球图；

[0120] 图2：单分子立体结构椭球图；

[0121] 图3：沿a轴方向的晶胞堆积图；

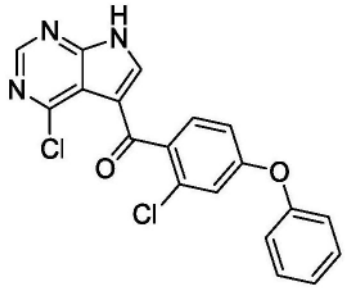
[0122] 图4：化合物的绝对构型图；

[0123] 图5：受试物对人弥漫大B淋巴瘤TMD8小鼠异种移植瘤肿瘤体积的影响(Day14)(Mean±SEM)。

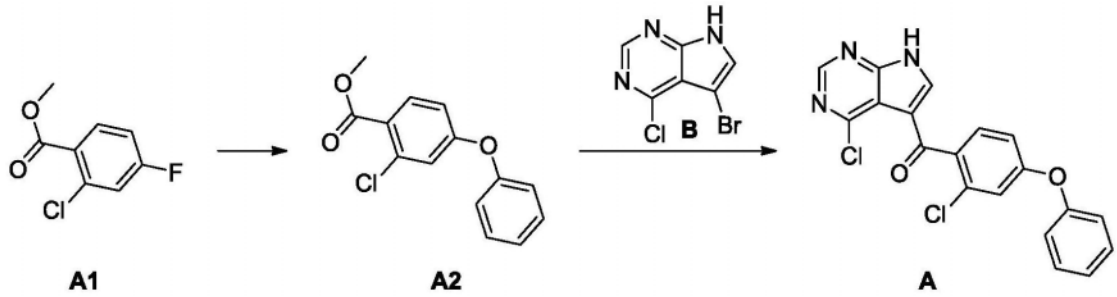
具体实施方式

[0124] 下面通过实施例对本发明进行详细描述，但并不意味着对本发明任何不利限制。本文已经详细地描述了本发明，其中也公开了其具体实施例方式，对本领域的技术人员而言，在不脱离本发明精神和范围的情况下针对本发明具体实施方式进行各种变化和改进将是显而易见的。

[0125] 中间体A

[0126] 

[0127] 合成路线：

[0128] 

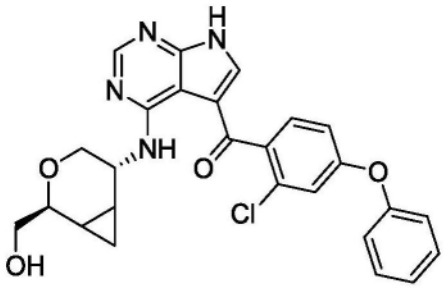
[0129] 步骤1：化合物A2的合成

[0130] 将苯酚(7.49g,79.54mmol,7.00mL,1.5eq)，化合物A1(10g,53.03mmol,1eq)，碳酸铯(25.92g,79.54mmol,1.5eq)溶于N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中，80℃反应3小时。反应结束后，将反应液过滤，加水，用乙酸乙酯萃取(100mL×3)，合并有机相，无水硫酸钠干燥，旋干溶剂，经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯＝10:1)，得到化合物A2。LCMS:(ESI)m/z:263.1[M+1]。

[0131] 步骤2：化合物A的合成

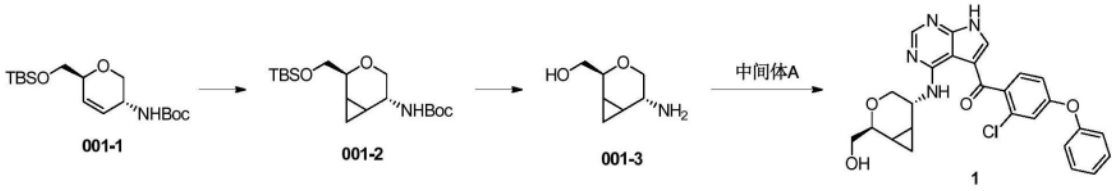
[0132] 将化合物B(6g,25.81mmol,1eq)加入到四氢呋喃(180mL)中，降温至-78℃(悬浮液，部分溶解)，然后滴加正丁基锂(2.5M,21.68mL,2.1eq)，滴毕，-78℃搅拌反应1小时，再向其中滴加化合物A2(7.12g,27.10mmol,1.05eq)的四氢呋喃(10mL)溶液，继续搅拌反应1小时。反应完后用饱和氯化铵淬灭反应并搅拌5分钟，分出有机相，水相用乙酸乙酯萃取(100mL×3)。合并有机相，浓缩得到粗品中间体A。LCMS:(ESI)m/z:384.2[M+1]。

[0133] 实施例1

[0134] 

1

[0135] 合成路线：

[0136] 

001-1 001-2 001-3 中间体A 1

[0137] 化合物001-1是按照已有文献Eur.J.Org.Chem.2003,2418-2427中化合物21的合成得到的。

[0138] 步骤1:化合物001-2的合成

[0139] 将二氯碘甲烷(779.65mg,2.91mmol,234.83μL,2eq)溶于二氯甲烷(10mL)中,0℃加入二乙基锌(1M,2.91mL,2eq),搅拌0.5小时后,加入三氟乙酸(331.91mg,2.91mmol,215.53μL,2eq),继续搅拌0.5小时,加入化合物001-1,加完后,20℃反应1小时。反应结束后,在反应液中加入饱和氯化铵淬灭反应,用乙酸乙酯萃取(10mL×3),有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,真空浓缩得到化合物001-2。LCMS:(ESI)m/z:380.2[M+Na]。

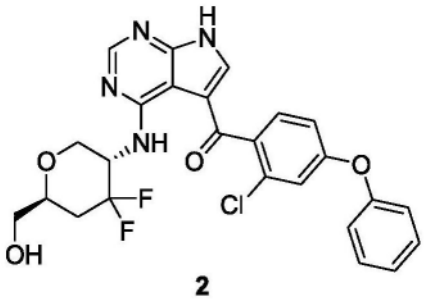
[0140] 步骤2:化合物001-3的合成

[0141] 将化合物001-2(0.05g,139.84μmol,1eq)溶于1,4-二氧六环(1mL)中,加入盐酸/二氧六环(4M,349.59μL,10eq),加完后,20℃反应1小时。反应结束后,将反应液减压浓缩,得到化合物001-3,该化合物没有经过进一步纯化直接用于下一步反应。LCMS:(ESI)m/z:144.2[M+1]。

[0142] 步骤3:化合物1的合成

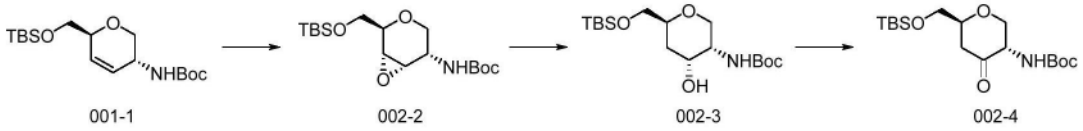
[0143] 将化合物001-3(20.02mg,139.84μmol,1eq)溶于异丙醇(5mL)中,加入中间体A(53.73mg,139.84μmol,1eq)和N,N-二异丙基乙胺(45.18mg,349.60μmol,60.89μL,2.5eq),加完后,130℃下微波反应2小时。反应结束后,真空浓缩得到粗产品。对粗品进行制备分离纯化(色谱柱:Welch Xtimate C18150mm*25mm*5μm;流动相:[水(0.225%FA)-ACN];B(乙腈)%:35%-65%,8min),得到化合物1。LCMS:(ESI)m/z:491.1[M+1]。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.87(br d,J=7.78Hz,1H),8.27(s,1H),7.33-7.40(m,3H),7.28(s,1H),7.16(s,1H),7.00-7.05(m,3H),6.90(dd,J=2.13,8.41Hz,1H),4.80-4.95(m,1H),4.09(dd,J=6.53,11.54Hz,1H),3.65-3.80(m,2H),3.54-3.63(m,1H),2.79(t,J=10.92Hz,1H),1.04-1.31(m,2H),0.87-0.98(m,1H),0.74-0.85(m,1H)。

[0144] 实施例2

[0145] 

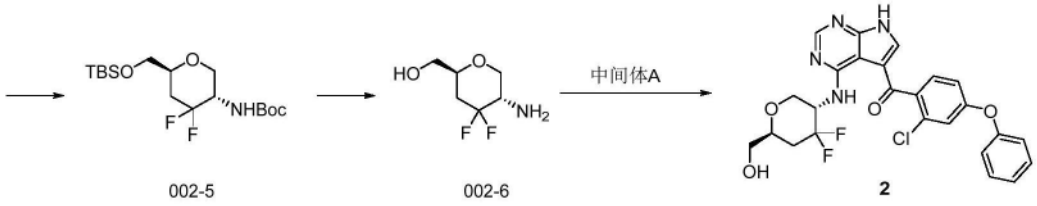
2

[0146] 合成路线：



001-1 002-2 002-3 002-4

[0147]



002-5 002-6 2

[0148] 步骤1：化合物002-2的合成

[0149] 将化合物001-1(10g,29.11mmol,1eq)溶于二氯甲烷(100mL)中，0℃下加入间氯过氧化苯甲酸(7.53g,43.66mmol,1.5eq)，然后20℃反应15小时。在反应液中加入饱和亚硫酸钠溶液淬灭反应，然后用乙酸乙酯萃取(50mL×3)，饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩得到粗产品。粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯＝10:1)得到化合物002-2。LCMS:(ESI)m/z:304.2[M-^{t}Bu+1]。

[0150] 步骤2：化合物002-3的合成

[0151] 将化合物002-2(5g,13.91mmol,1eq)溶于四氢呋喃(10mL)中，-20℃加入四氢铝锂(2.5M,8.34mL,1.5eq)，加完后20℃反应3小时。反应结束后在反应液中加入氢氧化钠溶液淬灭反应，过滤，滤饼用乙酸乙酯洗涤，合并滤液，浓缩得到粗产品。粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯＝3:1)得到化合物002-3。LCMS:(ESI)m/z:306.1[M-^{t}Bu+1]。

[0152] 步骤3：化合物002-4的合成

[0153] 将化合物002-3(1.7g,4.70mmol,1eq)溶于二氯甲烷(3mL)中，0℃加入戴斯-马丁试剂(2.99g,7.05mmol,2.18mL,1.5eq)，加完后20℃反应3小时。将反应液过滤，滤液旋干，得到粗产品。粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯＝10:1)，得到化合物002-4。LCMS:(ESI)m/z:382.1[M+Na]。

[0154] 步骤4：化合物002-5的合成

[0155] 将化合物002-4(0.21g,584.09μmol,1eq)溶于二氯乙烷(10mL)中，-78℃加入二乙胺基三氟化硫(282.45mg,1.75mmol,231.51μL,3eq)，加完后20℃反应2小时。反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液淬灭反应，然后用乙酸乙酯萃取(10mL×3)，有机相用饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到粗产品。粗产品经柱层析纯化(PE:EA＝10:1)，得到化合物002-5。LCMS:(ESI)m/z:326.1[M-^{t}Bu+1]。

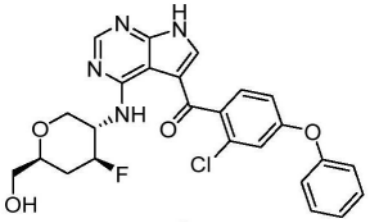
[0156] 步骤5：化合物002-6的合成

[0157] 将化合物002-5(222.85mg,584.09μmol,1eq)溶于乙酸乙酯(4mL)中,加入盐酸/乙酸乙酯(584.09μmol,1eq),加完后20℃反应1小时,反应液旋干得到粗品化合物002-6,直接用于下一步。LCMS:(ESI)m/z:168.1[M+1]。

[0158] 步骤6:化合物2的合成

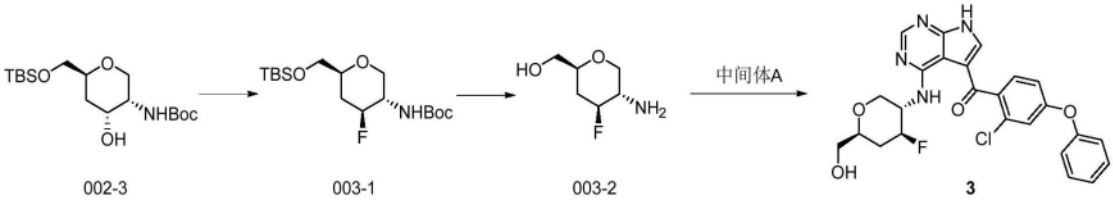
[0159] 将化合物002-6(97.63mg,584.09μmol,1eq),中间体A(179.53mg,467.27μmol,0.8eq)溶于异丙醇(5mL)中,加入N,N-二异丙基乙胺(188.72mg,1.46mmol,254.34μL,2.5eq),130℃下微波反应2小时。反应液旋干后得到粗产品。对粗品进行制备分离纯化(色谱柱:Welch Xtimate C18 150mm*25mm*5μm;流动相:[水(0.225%甲酸)-乙腈];B(乙腈)%:40%-70%,8.5min),得到化合物2。LCMS:(ESI)m/z:515.0[M+1]。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ9.39(br d,J=8.4Hz,1H),8.38(br s,1H),7.39-7.53(m,4H),7.21-7.27(m,1H),7.12(br d,J=8.8Hz,3H),6.99(br d,J=8.3Hz,1H),5.03(br s,1H),4.23-4.40(m,1H),3.83(br d,J=10.1Hz,2H),3.54-3.73(m,2H),2.06-2.24ppm(m,2H)。

[0160] 实施例3

[0161] 

3

[0162] 合成路线:

[0163] 

002-3 003-1 003-2 3

[0164] 步骤1:化合物003-1的合成

[0165] 将二乙胺基三氟化硫(249.66mg,1.55mmol,204.64μL,1.4eq)溶于二氯甲烷(5mL)中,0℃加入化合物002-3(0.4g,1.11mmol,1eq),加完后0℃反应1小时。反应液中加入饱和氯化铵溶液,然后用乙酸乙酯萃取(10mL×3),合并有机相,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,得到粗产品。粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=10:1)得到化合物003-1。LCMS:(ESI)m/z:386.2[M+Na]。

[0166] 步骤2:化合物003-2的合成

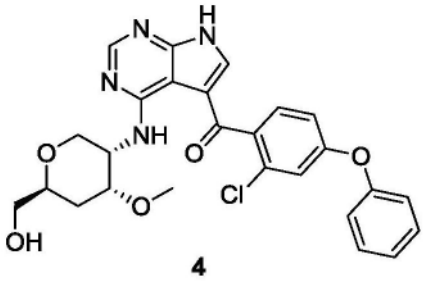
[0167] 将化合物003-1(0.12g,330.09μmol,1eq)溶于乙酸乙酯(2mL)中,氮气保护下加入盐酸/乙酸乙酯(4M,2.40mL,29.08eq),20℃反应1小时。反应液旋干,得到化合物003-2。化合物003-2未经纯化,直接投下一步。LCMS:(ESI)m/z:149.9[M+H]。

[0168] 步骤3:化合物3的合成

[0169] 将化合物003-2(52.28mg,136.07μmol,0.8eq),中间体A(25.37mg,170.09μmol,1eq)溶于异丙醇(5mL)中,加入N,N-二甲基甲酰胺(54.96mg,425.23μmol,74.06μL,2.5eq),加完后130℃下微波反应2小时。反应液旋干后得到粗产品。对粗品进行制备分离纯化(色谱柱:Welch Xtimate C18 150mm*25mm*5μm;流动相:[水(0.225%甲酸)-乙腈];B(乙腈)%:

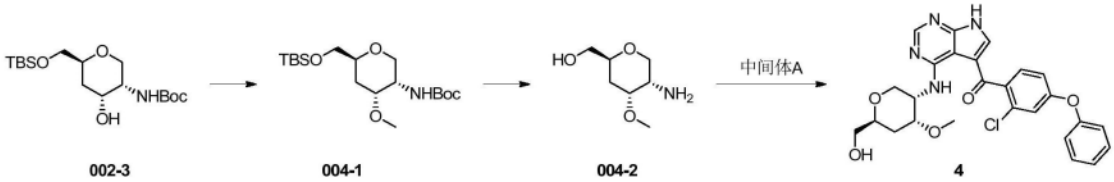
40%-70%,8.5min),得到化合物3。LCMS:(ESI)m/z:497.1[M+H]。^{1}HNMR(400MHz,$CDCl_3$)δ 9.14(br d,J=7.78Hz,1H),8.38(br s,1H),7.39-7.50(m,4H),7.23-7.27(m,1H),7.13(br d,J=8.28Hz,3H),6.99(br d,J=8.28Hz,1H),4.76-5.00(m,1H),4.65(br s,1H),4.33-4.50(m,1H),3.73-3.84(m,1H),3.64-3.73(m,2H),3.37(br t,J=11.04Hz,1H),2.23-2.30(m,1H),1.89(br d,J=11.29Hz,1H)。

[0170] 实施例4

[0171] 

4

[0172] 合成路线:

[0173] 

[0174] 步骤1:化合物004-1的合成

[0175] 将化合物002-3(0.117g,323.61μmol,1eq)溶于乙腈(2mL)中。氮气保护下,20℃依次加入氧化银(224.97mg,970.83μmol,3eq)和碘甲烷(459.33mg,3.24mmol,201.46μL,10eq)。然后加热至80℃反应12小时。冷却后,反应液过滤,滤液旋干得到化合物004-1。化合物004-1未经纯化直接投下一步。LCMS:(ESI)m/z:319.85[M-^{t}Bu+H]。

[0176] 步骤2:化合物004-2的合成

[0177] 将化合物004-1(121.54mg,323.61μmol,1eq)溶于二氯甲烷(2mL)中,加入三氟乙酸(30.80mg,270.12μmol,0.02mL,0.84eq),加完后20℃下反应1小时。反应液直接旋干得到化合物004-2。化合物004-2未经纯化,直接投下一步反应。LCMS:(ESI)m/z:276.20[M+H]。

[0178] 步骤3:化合物4的合成

[0179] 将化合物中间体A(99.47mg,258.89μmol,0.8eq)和化合物004-2(89.14mg,323.61μmol,1eq)溶于异丙醇(2mL)中,再加入N,N-二异丙基乙胺(104.56mg,809.03μmol,140.91μL,2.5eq)。然后在130℃下微波反应1小时。反应液旋干后得到粗产品。对粗品进行制备分离纯化(色谱柱:Phenomenex Gemini-NX80mm*40mm*3μm;流动相:[水(0.05%NH_3H_2O+10mM NH_4HCO_3)-乙腈];B(乙腈)%:37%-57%,8min)。LCMS:(ESI)m/z:508.9[M]。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ9.25(d,J=8.3Hz,1H),8.35(s,1H),7.50-7.39(m,3H),7.39-7.32(m,1H),7.28-7.22(m,1H),7.14-7.08(m,3H),6.98(dd,J=2.3,8.3Hz,1H),4.57(br d,J=5.5Hz,1H),4.08(dd,J=5.4,10.2Hz,1H),3.93-3.82(m,2H),3.81-3.69(m,2H),3.64-3.53(m,4H),2.03(br d,J=13.1Hz,1H),1.70(br s,1H)。

[0180] 化合物4的单晶X射线衍射检测分析

[0181] 仪器型号:Bruker D8 Venture Photon II

[0182] 测试方法:在丙酮件下,使用溶剂挥发法,室温经过5天培养获得,衍射用晶体尺寸

为0.07×0.15×0.34mm，晶体属于三斜晶系，空间群为P1，晶胞参数：a＝9.3283(6)，b＝12.0149(7)，c=12.7260(8)Å，α＝98.952(3)，β＝106.257(2)°，γ＝92.178(3)°，晶胞体积V=1347.59(15)Å^3，晶胞内不对称单位数Z＝1。

[0183] 仪器参数：

[0184] 用Bruker D8 Venture Photon II衍射仪收集衍射强度数据，光源为CuK_α辐射，扫描方式：φ/ω扫描，收集总衍射点数为31231个，独立衍射点数为8390个，可观察点数(I/sigma≥2)为8135个。

[0185] 采用直接法(Shelxs97)解析晶体结构，获得全部76个非氢原子位置，使用最小二乘法修正结构参数和判别原子种类，使用几何计算法和差值Fourier法获得全部氢原子位置，精修后R_1＝0.0501，wR_2＝0.1454(w＝1/σ|F|^2)，S＝1.046。最终确定化学计量式为$(C_{26}H_{25}ClN_4O_5)_2 \cdot C_3H_6O$，计算分子量为1075.97，计算晶体密度为1.326g/cm^3。

[0186] 单晶结果表明：晶态下分子排列属第一类空间群，化合物应具有旋光活性，Flack系数0.049(4)，可确定晶体中化合物的绝对构型。晶态下分子间存在氢键联系，分子间以氢键和范德华力维系其在空间的稳定排列。

[0187] 化合物4的立体结构椭球图、沿a轴方向的晶胞堆积图以及化合物的绝对构型图见附图1、2、3和4。化合物4晶体结构数据和参数见表1、2、3、4和5。

[0188] 表1.化合物4的晶体数据

[0189]

Empirical formula	$C_{55}H_{56}Cl_2N_8O_{11}$
Formula weight	1075.97
Temperature	160(2)K
Wavelength	1.54178 A
Crystal system, space group	Triclinic, P1
Unit cell dimensions	a = 9.3283(6)A alpha = 98.952(3)deg. b = 12.0149(7)A beta = 106.257(2)deg. c = 12.7260(8)A gamma = 92.178(3)deg.
Volume	1347.59(15)A^3
Z, Calculated density	1, 1.326 Mg/m^3
Absorption coefficient	1.647 mm^-1
F(000)	564
Crystal size	0.340 x 0.150 x 0.070 mm
Theta range for data collection	3.673 to 65.174 deg.
Limiting indices	10<=h<=10, -14<=k<=14, -13<=l<=14
Reflections collected / unique	31231 / 8390 [R(int)= 0.0321]
Completeness to theta = 65.174	98.8 %
Absorption correction	None
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2
Data / restraints / parameters	8390 / 3 / 686
Goodness-of-fit on F^2	1.046

[0190]

Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0501, wR2 = 0.1410
R indices (all data)	R1 = 0.0534, wR2 = 0.1454
Absolute structure parameter	0.049(4)
Extinction coefficient	0.0051(10)
Largest diff. peak and hole	0.757 and -0.384 e.A^-3

[0191] 表2化合物4晶体的原子坐标(×10^4)和等价各向同性移位参数(Å^2×10^3)

[0192]

	x	y	z	U(eq)
Cl(1)	11051(1)	4517(1)	3711(1)	49(1)
Cl(2)	-1088(2)	6045(2)	5683(1)	76(1)
O(1)	8170(4)	4316(3)	1068(3)	37(1)
O(1')	4841(11)	8377(6)	5379(7)	129(3)
O(2)	11724(4)	374(3)	3135(3)	47(1)
O(3)	6405(3)	9105(2)	303(2)	35(1)
O(4)	7619(4)	6483(3)	-619(3)	39(1)
O(5)	4674(5)	10032(3)	-1511(3)	55(1)
O(6)	1746(5)	5922(4)	8522(3)	61(1)
O(7)	-1555(8)	10136(5)	7106(10)	164(5)
O(8)	4995(3)	1933(3)	10182(3)	38(1)
O(9)	2682(4)	4088(3)	10320(3)	45(1)
O(10)	3846(5)	-29(3)	10801(4)	59(1)
N(1)	6035(4)	4348(3)	3919(3)	35(1)
N(2)	4912(4)	6869(3)	2168(3)	38(1)
N(3)	4648(4)	5990(3)	3673(3)	37(1)
N(4)	6338(4)	6222(3)	1019(3)	32(1)
N(5)	3766(4)	5890(3)	5615(3)	31(1)
N(6)	4345(5)	3101(3)	7062(3)	40(1)
N(7)	4824(4)	4092(3)	5671(3)	35(1)
N(8)	3141(4)	3868(3)	8323(3)	37(1)
C(1)	6982(5)	3795(4)	3439(4)	31(1)
C(1')	3850(17)	10099(9)	5806(9)	129(4)
C(2)	7153(4)	4297(3)	2563(3)	28(1)
C(2')	4700(11)	9331(8)	5226(7)	89(2)
C(3)	6233(4)	5236(3)	2522(4)	28(1)
C(3')	5371(12)	9809(10)	4521(10)	114(3)
C(4)	5833(5)	6108(3)	1886(4)	31(1)
C(5)	4393(5)	6763(4)	3027(4)	39(1)
C(6)	5580(5)	5240(4)	3386(4)	31(1)
C(7)	8103(4)	3907(3)	1888(3)	28(1)

[0193]

C(8)	9046(5)	2952(3)	2205(4)	28(1)
C(9)	10407(5)	3149(3)	3020(4)	30(1)
C(10)	11309(5)	2282(4)	3312(4)	35(1)
C(11)	10784(5)	1188(4)	2779(4)	33(1)
C(12)	9427(5)	956(4)	1970(4)	36(1)
C(13)	8582(5)	1841(4)	1681(4)	33(1)
C(14)	11201(5)	-768(4)	2774(4)	40(1)
C(15)	11412(5)	-1317(4)	1809(4)	41(1)
C(16)	10932(5)	-2466(4)	1468(5)	45(1)
C(17)	10295(5)	-3037(4)	2099(5)	45(1)
C(18)	10140(7)	-2469(5)	3094(5)	54(1)
C(19)	10584(7)	-1321(5)	3432(5)	52(1)
C(20)	5919(5)	7117(4)	372(4)	31(1)
C(21)	6109(5)	6769(4)	-777(4)	33(1)
C(22)	5777(5)	7757(4)	-1415(4)	38(1)
C(23)	6658(5)	8847(4)	-770(4)	37(1)
C(24)	6844(5)	8235(4)	953(4)	33(1)
C(25)	7822(8)	5723(6)	-1521(6)	65(2)
C(26)	6199(7)	9852(5)	-1352(5)	51(1)
C(27)	2878(5)	6482(4)	6141(4)	34(1)
C(28)	2599(5)	5914(4)	6943(4)	32(1)
C(29)	3381(5)	4897(4)	6885(3)	30(1)
C(30)	3612(5)	3961(4)	7441(4)	34(1)
C(31)	4879(5)	3228(4)	6205(4)	40(1)
C(32)	4045(4)	4919(4)	6047(4)	31(1)
C(33)	1739(5)	6328(4)	7700(4)	40(1)
C(34)	868(5)	7334(4)	7473(5)	44(1)
C(35)	-412(6)	7302(4)	6594(5)	47(1)
C(36)	-1241(8)	8220(6)	6436(7)	70(2)
C(37)	-732(10)	9211(6)	7196(11)	103(4)
C(38)	522(11)	9273(6)	8098(13)	136(6)
C(39)	1318(8)	8320(6)	8236(10)	106(4)
C(40)	-1015(8)	11069(5)	6800(7)	73(2)
C(41)	-1621(7)	12036(5)	7069(5)	57(1)
C(42)	-1188(8)	13009(5)	6724(7)	78(2)
C(43)	-131(8)	12960(7)	6131(7)	74(2)
C(44)	529(10)	11983(8)	5948(7)	84(2)
C(45)	110(10)	11041(6)	6299(9)	95(3)

[0194]

C(46)	3285(5)	2902(4)	8880(4)	33(1)
C(47)	2258(5)	3014(4)	9634(4)	38(1)
C(48)	2453(5)	2051(4)	10313(4)	40(1)
C(49)	4087(5)	2011(4)	10941(4)	35(1)
C(50)	4885(5)	2874(4)	9600(4)	37(1)
C(51)	1633(10)	4504(7)	10855(8)	85(2)
C(52)	4362(6)	1010(5)	11533(5)	50(1)
H(5A)	4599	10591	-1048	82
H(10A)	4528	-259	10531	88
H(1A)	5754	4169	4481	41
H(4A)	6945	5736	832	39
H(5B)	4104	6096	5088	37
H(8A)	2708	4441	8586	44
H(1B)	7464	3154	3667	38
H(1'A)	3863	10837	5570	193
H(1'B)	2811	9775	5622	193
H(1'C)	4313	10193	6611	193
H(3'A)	5116	10592	4513	171
H(3'B)	6461	9797	4792	171
H(3'C)	5003	9372	3767	171
H(5C)	3755	7318	3196	47
H(10B)	12255	2438	3860	42
H(12A)	9076	200	1616	43
H(13A)	7658	1686	1109	39
H(15A)	11875	-925	1380	49
H(16A)	11048	-2855	791	54
H(17A)	9962	-3816	1858	54
H(18A)	9727	-2867	3545	65
H(19A)	10465	-927	4106	62
H(20A)	4838	7228	288	37
H(21A)	5400	6095	-1185	39
H(22A)	6019	7569	-2127	46
H(22B)	4693	7863	-1587	46
H(23A)	7749	8770	-669	45
H(24A)	6693	8458	1694	40
H(24B)	7922	8138	1060	40
H(25A)	8876	5563	-1360	98
H(25B)	7192	5017	-1635	98

[0195]

H(25C)	7536	6061	-2195	98
H(26A)	6821	10541	-905	61
H(26B)	6398	9720	-2084	61
H(27A)	2504	7181	5983	41
H(31A)	5365	2607	5947	48
H(36A)	-2124	8176	5831	84
H(38A)	840	9956	8618	163
H(39A)	2174	8351	8859	127
H(41A)	-2325	12054	7484	68
H(42A)	-1608	13699	6890	94
H(43A)	128	13607	5855	89
H(44A)	1282	11959	5575	101
H(45A)	595	10368	6198	114
H(46A)	2975	2190	8321	40
H(47A)	1191	2981	9172	46
H(48A)	1855	2164	10846	48
H(48B)	2076	1321	9808	48
H(49A)	4429	2722	11501	42
H(50A)	5569	2809	9127	44
H(50B)	5193	3588	10143	44
H(51A)	2022	5248	11308	128
H(51B)	689	4574	10297	128
H(51C)	1455	3980	11333	128
H(52A)	5450	1013	11897	60
H(52B)	3848	1081	12120	60

[0196] 表3化合物4的键长(Å)和键角(°)

[0197]

Cl(1)-C(9)	1.736(4)	C(5)-H(5C)	0.9500
Cl(2)-C(35)	1.731(6)	C(7)-C(8)	1.508(6)
O(1)-C(7)	1.237(5)	C(8)-C(9)	1.382(6)
O(1')-C(2')	1.198(11)	C(8)-C(13)	1.389(6)
O(2)-C(11)	1.383(5)	C(9)-C(10)	1.393(6)
O(2)-C(14)	1.399(6)	C(10)-C(11)	1.384(6)
O(3)-C(24)	1.435(5)	C(10)-H(10B)	0.9500
O(3)-C(23)	1.438(6)	C(11)-C(12)	1.377(6)
O(4)-C(25)	1.414(6)	C(12)-C(13)	1.382(6)
O(4)-C(21)	1.429(5)	C(12)-H(12A)	0.9500
O(5)-C(26)	1.409(7)	C(13)-H(13A)	0.9500
O(5)-H(5A)	0.8400	C(14)-C(15)	1.370(7)
O(6)-C(33)	1.220(7)	C(14)-C(19)	1.374(8)
O(7)-C(40)	1.365(8)	C(15)-C(16)	1.398(7)
O(7)-C(37)	1.376(8)	C(15)-H(15A)	0.9500
O(8)-C(50)	1.436(5)	C(16)-C(17)	1.369(8)
O(8)-C(49)	1.448(5)	C(16)-H(16A)	0.9500
O(9)-C(51)	1.406(7)	C(17)-C(18)	1.390(9)
O(9)-C(47)	1.415(6)	C(17)-H(17A)	0.9500
O(10)-C(52)	1.414(8)	C(18)-C(19)	1.390(8)
O(10)-H(10A)	0.8400	C(18)-H(18A)	0.9500
N(1)-C(1)	1.348(6)	C(19)-H(19A)	0.9500
N(1)-C(6)	1.373(6)	C(20)-C(21)	1.518(6)
N(1)-H(1A)	0.8800	C(20)-C(24)	1.530(6)
N(2)-C(5)	1.335(6)	C(20)-H(20A)	1.0000
N(2)-C(4)	1.353(6)	C(21)-C(22)	1.533(6)
N(3)-C(5)	1.320(6)	C(21)-H(21A)	1.0000
N(3)-C(6)	1.355(6)	C(22)-C(23)	1.506(7)
N(4)-C(4)	1.339(6)	C(22)-H(22A)	0.9900
N(4)-C(20)	1.454(5)	C(22)-H(22B)	0.9900
N(4)-H(4A)	0.8800	C(23)-C(26)	1.526(7)
N(5)-C(27)	1.358(6)	C(23)-H(23A)	1.0000
N(5)-C(32)	1.369(6)	C(24)-H(24A)	0.9900
N(5)-H(5B)	0.8800	C(24)-H(24B)	0.9900
N(6)-C(31)	1.346(6)	C(25)-H(25A)	0.9800
N(6)-C(30)	1.360(6)	C(25)-H(25B)	0.9800
N(7)-C(31)	1.321(6)	C(25)-H(25C)	0.9800
N(7)-C(32)	1.360(6)	C(26)-H(26A)	0.9900
N(8)-C(30)	1.334(6)	C(26)-H(26B)	0.9900
N(8)-C(46)	1.443(6)	C(27)-C(28)	1.389(7)
N(8)-H(8A)	0.8800	C(27)-H(27A)	0.9500
C(1)-C(2)	1.390(6)	C(28)-C(29)	1.449(6)
C(1)-H(1B)	0.9500	C(28)-C(33)	1.460(6)
C(1')-C(2')	1.483(15)	C(29)-C(32)	1.378(6)
C(1')-H(1'A)	0.9800	C(29)-C(30)	1.411(6)
C(1')-H(1'B)	0.9800	C(31)-H(31A)	0.9500
C(1')-H(1'C)	0.9800	C(33)-C(34)	1.503(7)
C(2)-C(7)	1.441(6)	C(34)-C(39)	1.378(8)
C(2)-C(3)	1.442(6)	C(34)-C(35)	1.384(8)
C(2')-C(3')	1.405(13)	C(35)-C(36)	1.379(8)
C(3)-C(6)	1.397(6)	C(36)-C(37)	1.385(13)
C(3)-C(4)	1.421(6)	C(36)-H(36A)	0.9500
C(3')-H(3'A)	0.9800	C(37)-C(38)	1.381(17)
C(3')-H(3'B)	0.9800	C(38)-C(39)	1.395(13)
C(3')-H(3'C)	0.9800	C(38)-H(38A)	0.9500

C(39)-H(39A)	0.9500		C(47)-C(48)	1.534(6)	
C(40)-C(41)	1.350(8)		C(47)-H(47A)	1.0000	
C(40)-C(45)	1.371(10)		C(48)-C(49)	1.516(6)	
C(41)-C(42)	1.395(10)		C(48)-H(48A)	0.9900	
C(41)-H(41A)	0.9500		C(48)-H(48B)	0.9900	
C(42)-C(43)	1.397(12)		C(49)-C(52)	1.509(7)	
C(42)-H(42A)	0.9500		C(49)-H(49A)	1.0000	
C(43)-C(44)	1.365(12)		C(50)-H(50A)	0.9900	
C(43)-H(43A)	0.9500		C(50)-H(50B)	0.9900	
C(44)-C(45)	1.362(12)		C(51)-H(51A)	0.9800	
C(44)-H(44A)	0.9500		C(51)-H(51B)	0.9800	
C(45)-H(45A)	0.9500		C(51)-H(51C)	0.9800	
C(46)-C(50)	1.521(6)		C(52)-H(52A)	0.9900	
C(46)-C(47)	1.531(6)		C(52)-H(52B)	0.9900	
C(46)-H(46A)	1.0000				

C(11)-O(2)-C(14)	118.9(3)		C(4)-C(3)-C(2)	139.0(4)	
C(24)-O(3)-C(23)	112.1(3)		C(2')-C(3')-H(3'A)	109.5	
C(25)-O(4)-C(21)	113.6(4)		C(2')-C(3')-H(3'B)	109.5	
C(26)-O(5)-H(5A)	109.5		H(3'A)-C(3')-H(3'B)	109.5	
C(40)-O(7)-C(37)	119.9(5)		C(2')-C(3')-H(3'C)	109.5	
C(50)-O(8)-C(49)	112.4(3)		H(3'A)-C(3')-H(3'C)	109.5	
C(51)-O(9)-C(47)	115.3(5)		H(3'B)-C(3')-H(3'C)	109.5	
C(52)-O(10)-H(10A)	109.5		N(4)-C(4)-N(2)	118.0(4)	
C(1)-N(1)-C(6)	108.6(4)		N(4)-C(4)-C(3)	122.9(4)	
C(1)-N(1)-H(1A)	125.7		N(2)-C(4)-C(3)	119.1(4)	
C(6)-N(1)-H(1A)	125.7		N(3)-C(5)-N(2)	128.6(4)	
C(5)-N(2)-C(4)	118.7(4)		N(3)-C(5)-H(5C)	115.7	
[0198] C(5)-N(3)-C(6)	112.0(4)		N(2)-C(5)-H(5C)	115.7	
C(4)-N(4)-C(20)	122.4(3)		N(3)-C(6)-N(1)	124.2(4)	
C(4)-N(4)-H(4A)	118.8		N(3)-C(6)-C(3)	126.7(4)	
C(20)-N(4)-H(4A)	118.8		N(1)-C(6)-C(3)	109.0(4)	
C(27)-N(5)-C(32)	108.2(4)		O(1)-C(7)-C(2)	123.0(4)	
C(27)-N(5)-H(5B)	125.9		O(1)-C(7)-C(8)	119.3(4)	
C(32)-N(5)-H(5B)	125.9		C(2)-C(7)-C(8)	117.8(4)	
C(31)-N(6)-C(30)	117.2(4)		C(9)-C(8)-C(13)	117.5(4)	
C(31)-N(7)-C(32)	111.9(4)		C(9)-C(8)-C(7)	121.3(4)	
C(30)-N(8)-C(46)	125.1(4)		C(13)-C(8)-C(7)	121.2(4)	
C(30)-N(8)-H(8A)	117.4		C(8)-C(9)-C(10)	122.2(4)	
C(46)-N(8)-H(8A)	117.4		C(8)-C(9)-Cl(1)	119.9(3)	
N(1)-C(1)-C(2)	110.3(4)		C(10)-C(9)-Cl(1)	117.9(3)	
N(1)-C(1)-H(1B)	124.8		C(11)-C(10)-C(9)	118.0(4)	
C(2)-C(1)-H(1B)	124.8		C(11)-C(10)-H(10B)	121.0	
C(2')-C(1')-H(1'A)	109.5		C(9)-C(10)-H(10B)	121.0	
C(2')-C(1')-H(1'B)	109.5		C(12)-C(11)-O(2)	124.0(4)	
H(1'A)-C(1')-H(1'B)	109.5		C(12)-C(11)-C(10)	121.4(4)	
C(2')-C(1')-H(1'C)	109.5		O(2)-C(11)-C(10)	114.5(4)	
H(1'A)-C(1')-H(1'C)	109.5		C(11)-C(12)-C(13)	118.9(4)	
H(1'B)-C(1')-H(1'C)	109.5		C(11)-C(12)-H(12A)	120.5	
C(1)-C(2)-C(7)	123.8(4)		C(13)-C(12)-H(12A)	120.5	
C(1)-C(2)-C(3)	105.9(4)		C(12)-C(13)-C(8)	121.8(4)	
C(7)-C(2)-C(3)	130.3(4)		C(12)-C(13)-H(13A)	119.1	
O(1')-C(2')-C(3')	122.5(10)		C(8)-C(13)-H(13A)	119.1	
O(1')-C(2')-C(1')	121.8(10)		C(15)-C(14)-C(19)	122.0(5)	
C(3')-C(2')-C(1')	115.6(10)		C(15)-C(14)-O(2)	118.6(4)	
C(6)-C(3)-C(4)	114.9(4)		C(19)-C(14)-O(2)	119.2(5)	
C(6)-C(3)-C(2)	106.1(4)		C(14)-C(15)-C(16)	118.6(4)	

[0199]

C(14)-C(15)-H(15A)	120.7	N(5)-C(27)-H(27A)	125.0
C(16)-C(15)-H(15A)	120.7	C(28)-C(27)-H(27A)	125.0
C(17)-C(16)-C(15)	120.7(5)	C(27)-C(28)-C(29)	105.8(4)
C(17)-C(16)-H(16A)	119.7	C(27)-C(28)-C(33)	124.9(4)
C(15)-C(16)-H(16A)	119.7	C(29)-C(28)-C(33)	129.3(4)
C(16)-C(17)-C(18)	119.6(5)	C(32)-C(29)-C(30)	116.6(4)
C(16)-C(17)-H(17A)	120.2	C(32)-C(29)-C(28)	106.1(4)
C(18)-C(17)-H(17A)	120.2	C(30)-C(29)-C(28)	137.3(4)
C(19)-C(18)-C(17)	120.4(5)	N(8)-C(30)-N(6)	117.7(4)
C(19)-C(18)-H(18A)	119.8	N(8)-C(30)-C(29)	123.3(4)
C(17)-C(18)-H(18A)	119.8	N(6)-C(30)-C(29)	119.0(4)
C(14)-C(19)-C(18)	118.7(5)	N(7)-C(31)-N(6)	129.3(4)
C(14)-C(19)-H(19A)	120.7	N(7)-C(31)-H(31A)	115.4
C(18)-C(19)-H(19A)	120.7	N(6)-C(31)-H(31A)	115.4
N(4)-C(20)-C(21)	109.6(3)	N(7)-C(32)-N(5)	124.3(4)
N(4)-C(20)-C(24)	111.4(3)	N(7)-C(32)-C(29)	125.7(4)
C(21)-C(20)-C(24)	110.5(4)	N(5)-C(32)-C(29)	109.9(4)
N(4)-C(20)-H(20A)	108.4	O(6)-C(33)-C(28)	123.0(5)
C(21)-C(20)-H(20A)	108.4	O(6)-C(33)-C(34)	119.1(4)
C(24)-C(20)-H(20A)	108.4	C(28)-C(33)-C(34)	117.8(4)
O(4)-C(21)-C(20)	106.7(3)	C(39)-C(34)-C(35)	118.5(6)
O(4)-C(21)-C(22)	111.9(4)	C(39)-C(34)-C(33)	117.4(6)
C(20)-C(21)-C(22)	108.9(3)	C(35)-C(34)-C(33)	123.9(4)
O(4)-C(21)-H(21A)	109.7	C(36)-C(35)-C(34)	122.9(6)
C(20)-C(21)-H(21A)	109.7	C(36)-C(35)-Cl(2)	117.4(5)
C(22)-C(21)-H(21A)	109.7	C(34)-C(35)-Cl(2)	119.6(4)
C(23)-C(22)-C(21)	112.5(4)	C(35)-C(36)-C(37)	117.2(8)
C(23)-C(22)-H(22A)	109.1	C(35)-C(36)-H(36A)	121.4
C(21)-C(22)-H(22A)	109.1	C(37)-C(36)-H(36A)	121.4
C(23)-C(22)-H(22B)	109.1	O(7)-C(37)-C(38)	118.5(9)
C(21)-C(22)-H(22B)	109.1	O(7)-C(37)-C(36)	119.5(10)
H(22A)-C(22)-H(22B)	107.8	C(38)-C(37)-C(36)	121.8(6)
O(3)-C(23)-C(22)	110.4(3)	C(37)-C(38)-C(39)	119.2(7)
O(3)-C(23)-C(26)	106.6(4)	C(37)-C(38)-H(38A)	120.4
C(22)-C(23)-C(26)	112.2(4)	C(39)-C(38)-H(38A)	120.4
O(3)-C(23)-H(23A)	109.2	C(34)-C(39)-C(38)	120.4(9)
C(22)-C(23)-H(23A)	109.2	C(34)-C(39)-H(39A)	119.8
C(26)-C(23)-H(23A)	109.2	C(38)-C(39)-H(39A)	119.8
O(3)-C(24)-C(20)	110.3(3)	C(41)-C(40)-O(7)	115.3(6)
O(3)-C(24)-H(24A)	109.6	C(41)-C(40)-C(45)	122.1(6)
C(20)-C(24)-H(24A)	109.6	O(7)-C(40)-C(45)	122.6(6)
O(3)-C(24)-H(24B)	109.6	C(40)-C(41)-C(42)	118.4(6)
C(20)-C(24)-H(24B)	109.6	C(40)-C(41)-H(41A)	120.8
H(24A)-C(24)-H(24B)	108.1	C(42)-C(41)-H(41A)	120.8
O(4)-C(25)-H(25A)	109.5	C(41)-C(42)-C(43)	119.5(6)
O(4)-C(25)-H(25B)	109.5	C(41)-C(42)-H(42A)	120.3
H(25A)-C(25)-H(25B)	109.5	C(43)-C(42)-H(42A)	120.3
O(4)-C(25)-H(25C)	109.5	C(44)-C(43)-C(42)	119.9(6)
H(25A)-C(25)-H(25C)	109.5	C(44)-C(43)-H(43A)	120.1
H(25B)-C(25)-H(25C)	109.5	C(42)-C(43)-H(43A)	120.1
O(5)-C(26)-C(23)	112.8(4)	C(45)-C(44)-C(43)	120.1(7)
O(5)-C(26)-H(26A)	109.0	C(45)-C(44)-H(44A)	120.0
C(23)-C(26)-H(26A)	109.0	C(43)-C(44)-H(44A)	120.0
O(5)-C(26)-H(26B)	109.0	C(44)-C(45)-C(40)	119.6(7)
C(23)-C(26)-H(26B)	109.0	C(44)-C(45)-H(45A)	120.2
H(26A)-C(26)-H(26B)	107.8	C(40)-C(45)-H(45A)	120.2
N(5)-C(27)-C(28)	109.9(4)	N(8)-C(46)-C(50)	111.2(4)

[0200]

N(8)-C(46)-C(47)	107.5(4)
C(50)-C(46)-C(47)	108.4(4)
N(8)-C(46)-H(46A)	109.9
C(50)-C(46)-H(46A)	109.9
C(47)-C(46)-H(46A)	109.9
O(9)-C(47)-C(46)	105.9(3)
O(9)-C(47)-C(48)	112.1(4)
C(46)-C(47)-C(48)	109.8(4)
O(9)-C(47)-H(47A)	109.7
C(46)-C(47)-H(47A)	109.7
C(48)-C(47)-H(47A)	109.7
C(49)-C(48)-C(47)	110.9(4)
C(49)-C(48)-H(48A)	109.4
C(47)-C(48)-H(48A)	109.4
C(49)-C(48)-H(48B)	109.4
C(47)-C(48)-H(48B)	109.4
H(48A)-C(48)-H(48B)	108.0
O(8)-C(49)-C(52)	106.9(4)
O(8)-C(49)-C(48)	110.2(4)
C(52)-C(49)-C(48)	113.1(4)
O(8)-C(49)-H(49A)	108.8
C(52)-C(49)-H(49A)	108.8
C(48)-C(49)-H(49A)	108.8
O(8)-C(50)-C(46)	110.5(4)
O(8)-C(50)-H(50A)	109.6
C(46)-C(50)-H(50A)	109.6
O(8)-C(50)-H(50B)	109.6
C(46)-C(50)-H(50B)	109.6
H(50A)-C(50)-H(50B)	108.1
O(9)-C(51)-H(51A)	109.5
O(9)-C(51)-H(51B)	109.5
H(51A)-C(51)-H(51B)	109.5
O(9)-C(51)-H(51C)	109.5
H(51A)-C(51)-H(51C)	109.5
H(51B)-C(51)-H(51C)	109.5
O(10)-C(52)-C(49)	112.2(4)
O(10)-C(52)-H(52A)	109.2
C(49)-C(52)-H(52A)	109.2
O(10)-C(52)-H(52B)	109.2
C(49)-C(52)-H(52B)	109.2
H(52A)-C(52)-H(52B)	107.9

表 4. 化合物 4 的扭转角度(°)

	C(6)-N(1)-C(1)-C(2)	-1.1(5)
	N(1)-C(1)-C(2)-C(7)	179.5(4)
	N(1)-C(1)-C(2)-C(3)	0.4(5)
	C(1)-C(2)-C(3)-C(6)	0.5(4)
	C(7)-C(2)-C(3)-C(6)	-178.6(4)
	C(1)-C(2)-C(3)-C(4)	-179.7(5)
	C(7)-C(2)-C(3)-C(4)	1.2(8)
	C(20)-N(4)-C(4)-N(2)	-0.6(6)
	C(20)-N(4)-C(4)-C(3)	179.9(4)
	C(5)-N(2)-C(4)-N(4)	179.6(4)
	C(5)-N(2)-C(4)-C(3)	-0.9(6)
	C(6)-C(3)-C(4)-N(4)	-179.0(4)
	C(2)-C(3)-C(4)-N(4)	1.2(8)
	C(6)-C(3)-C(4)-N(2)	1.5(6)
	C(2)-C(3)-C(4)-N(2)	-178.3(5)
	C(6)-N(3)-C(5)-N(2)	0.7(7)
	C(4)-N(2)-C(5)-N(3)	-0.3(8)
[0201]	C(5)-N(3)-C(6)-N(1)	179.9(4)
	C(5)-N(3)-C(6)-C(3)	0.1(7)
	C(1)-N(1)-C(6)-N(3)	-178.5(4)
	C(1)-N(1)-C(6)-C(3)	1.4(5)
	C(4)-C(3)-C(6)-N(3)	-1.1(6)
	C(2)-C(3)-C(6)-N(3)	178.7(4)
	C(4)-C(3)-C(6)-N(1)	179.0(3)
	C(2)-C(3)-C(6)-N(1)	-1.2(5)
	C(1)-C(2)-C(7)-O(1)	175.2(4)
	C(3)-C(2)-C(7)-O(1)	-5.8(7)
	C(1)-C(2)-C(7)-C(8)	-4.5(6)
	C(3)-C(2)-C(7)-C(8)	174.5(4)
	O(1)-C(7)-C(8)-C(9)	97.5(5)
	C(2)-C(7)-C(8)-C(9)	-82.8(5)
	O(1)-C(7)-C(8)-C(13)	-82.0(5)
	C(2)-C(7)-C(8)-C(13)	97.7(5)
	C(13)-C(8)-C(9)-C(10)	0.7(6)
	C(7)-C(8)-C(9)-C(10)	-178.8(4)
	C(13)-C(8)-C(9)-Cl(1)	-179.8(3)
	C(7)-C(8)-C(9)-Cl(1)	0.7(6)

[0202]

C(8)-C(9)-C(10)-C(11)	-1.8(7)
Cl(1)-C(9)-C(10)-C(11)	178.7(3)
C(14)-O(2)-C(11)-C(12)	-9.1(7)
C(14)-O(2)-C(11)-C(10)	170.4(4)
C(9)-C(10)-C(11)-C(12)	1.2(7)
C(9)-C(10)-C(11)-O(2)	-178.4(4)
O(2)-C(11)-C(12)-C(13)	-179.9(4)
C(10)-C(11)-C(12)-C(13)	0.6(7)
C(11)-C(12)-C(13)-C(8)	-1.7(7)
C(9)-C(8)-C(13)-C(12)	1.1(6)
C(7)-C(8)-C(13)-C(12)	-179.4(4)
C(11)-O(2)-C(14)-C(15)	89.6(5)
C(11)-O(2)-C(14)-C(19)	-94.7(6)
C(19)-C(14)-C(15)-C(16)	2.4(7)
O(2)-C(14)-C(15)-C(16)	178.0(4)
C(14)-C(15)-C(16)-C(17)	-1.5(7)
C(15)-C(16)-C(17)-C(18)	-0.6(8)
C(16)-C(17)-C(18)-C(19)	1.9(8)
C(15)-C(14)-C(19)-C(18)	-1.1(8)
O(2)-C(14)-C(19)-C(18)	-176.7(5)
C(17)-C(18)-C(19)-C(14)	-1.1(8)
C(4)-N(4)-C(20)-C(21)	-157.1(4)
C(4)-N(4)-C(20)-C(24)	80.3(5)
C(25)-O(4)-C(21)-C(20)	155.1(5)
C(25)-O(4)-C(21)-C(22)	-85.8(5)
N(4)-C(20)-C(21)-O(4)	-54.8(4)
C(24)-C(20)-C(21)-O(4)	68.4(4)
N(4)-C(20)-C(21)-C(22)	-175.8(3)
C(24)-C(20)-C(21)-C(22)	-52.6(4)
O(4)-C(21)-C(22)-C(23)	-65.9(5)
C(20)-C(21)-C(22)-C(23)	51.9(5)
C(24)-O(3)-C(23)-C(22)	59.8(5)
C(24)-O(3)-C(23)-C(26)	-178.1(4)
C(21)-C(22)-C(23)-O(3)	-55.0(5)
C(21)-C(22)-C(23)-C(26)	-173.8(4)
C(23)-O(3)-C(24)-C(20)	-61.6(4)
N(4)-C(20)-C(24)-O(3)	-179.7(3)
C(21)-C(20)-C(24)-O(3)	58.1(5)
O(3)-C(23)-C(26)-O(5)	-61.2(5)
C(22)-C(23)-C(26)-O(5)	59.8(6)

[0203]

C(32)-N(5)-C(27)-C(28)	1.5(5)
N(5)-C(27)-C(28)-C(29)	-0.3(5)
N(5)-C(27)-C(28)-C(33)	177.2(4)
C(27)-C(28)-C(29)-C(32)	-1.0(5)
C(33)-C(28)-C(29)-C(32)	-178.4(4)
C(27)-C(28)-C(29)-C(30)	178.8(5)
C(33)-C(28)-C(29)-C(30)	1.4(8)
C(46)-N(8)-C(30)-N(6)	-3.0(6)
C(46)-N(8)-C(30)-C(29)	176.6(4)
C(31)-N(6)-C(30)-N(8)	-176.9(4)
C(31)-N(6)-C(30)-C(29)	3.5(6)
C(32)-C(29)-C(30)-N(8)	174.5(4)
C(28)-C(29)-C(30)-N(8)	-5.2(8)
C(32)-C(29)-C(30)-N(6)	-5.8(6)
C(28)-C(29)-C(30)-N(6)	174.4(5)
C(32)-N(7)-C(31)-N(6)	-3.2(7)
C(30)-N(6)-C(31)-N(7)	1.4(8)
C(31)-N(7)-C(32)-N(5)	-177.5(4)
C(31)-N(7)-C(32)-C(29)	0.3(6)
C(27)-N(5)-C(32)-N(7)	175.9(4)
C(27)-N(5)-C(32)-C(29)	-2.2(5)
C(30)-C(29)-C(32)-N(7)	4.1(6)
C(28)-C(29)-C(32)-N(7)	-176.1(4)
C(30)-C(29)-C(32)-N(5)	-177.9(4)
C(28)-C(29)-C(32)-N(5)	1.9(5)
C(27)-C(28)-C(33)-O(6)	-165.9(5)
C(29)-C(28)-C(33)-O(6)	11.0(8)
C(27)-C(28)-C(33)-C(34)	11.2(7)
C(29)-C(28)-C(33)-C(34)	-171.8(4)
O(6)-C(33)-C(34)-C(39)	63.5(8)
C(28)-C(33)-C(34)-C(39)	-113.7(7)
O(6)-C(33)-C(34)-C(35)	-111.6(6)
C(28)-C(33)-C(34)-C(35)	71.1(6)
C(39)-C(34)-C(35)-C(36)	1.2(9)
C(33)-C(34)-C(35)-C(36)	176.3(5)
C(39)-C(34)-C(35)-Cl(2)	-175.0(6)
C(33)-C(34)-C(35)-Cl(2)	0.1(7)
C(34)-C(35)-C(36)-C(37)	0.9(9)
Cl(2)-C(35)-C(36)-C(37)	177.1(5)
C(40)-O(7)-C(37)-C(38)	74.0(15)

C(40)-O(7)-C(37)-C(36)	-110.9(10)
C(35)-C(36)-C(37)-O(7)	-177.1(7)
C(35)-C(36)-C(37)-C(38)	-2.1(12)
O(7)-C(37)-C(38)-C(39)	176.3(9)
C(36)-C(37)-C(38)-C(39)	1.3(15)
C(35)-C(34)-C(39)-C(38)	-2.1(12)
C(33)-C(34)-C(39)-C(38)	-177.5(8)
C(37)-C(38)-C(39)-C(34)	0.9(16)
C(37)-O(7)-C(40)-C(41)	-159.7(11)
C(37)-O(7)-C(40)-C(45)	17.5(17)
O(7)-C(40)-C(41)-C(42)	-176.2(8)
C(45)-C(40)-C(41)-C(42)	6.5(13)
C(40)-C(41)-C(42)-C(43)	-1.0(11)
C(41)-C(42)-C(43)-C(44)	-3.6(11)
C(42)-C(43)-C(44)-C(45)	2.9(13)
C(43)-C(44)-C(45)-C(40)	2.4(15)
C(41)-C(40)-C(45)-C(44)	-7.3(15)
O(7)-C(40)-C(45)-C(44)	175.6(10)
C(30)-N(8)-C(46)-C(50)	76.0(5)
C(30)-N(8)-C(46)-C(47)	-165.5(4)
C(51)-O(9)-C(47)-C(46)	162.8(5)
C(51)-O(9)-C(47)-C(48)	-77.6(6)
N(8)-C(46)-C(47)-O(9)	-54.8(4)
C(50)-C(46)-C(47)-O(9)	65.5(4)
N(8)-C(46)-C(47)-C(48)	-175.9(4)
C(50)-C(46)-C(47)-C(48)	-55.6(5)
O(9)-C(47)-C(48)-C(49)	-63.1(5)
C(46)-C(47)-C(48)-C(49)	54.2(5)
C(50)-O(8)-C(49)-C(52)	-177.3(4)
C(50)-O(8)-C(49)-C(48)	59.4(5)
C(47)-C(48)-C(49)-O(8)	-54.7(5)
C(47)-C(48)-C(49)-C(52)	-174.3(4)
C(49)-O(8)-C(50)-C(46)	-62.6(5)
N(8)-C(46)-C(50)-O(8)	177.7(3)
C(47)-C(46)-C(50)-O(8)	59.7(5)
O(8)-C(49)-C(52)-O(10)	-65.2(5)
C(48)-C(49)-C(52)-O(10)	56.3(5)

[0204]

[0205] 表5化合物4的氢键[Å和°].

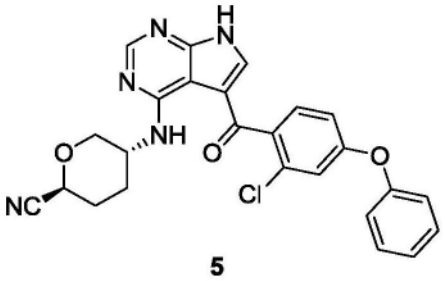
[0206]

[0207]

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(5)-H(5A)...O(8)#1	0.84	2.01	2.829(5)	165.3
O(10)-H(10A)...O(3)#2	0.84	2.01	2.832(5)	164.4
N(1)-H(1A)...N(7)	0.88	1.96	2.817(5)	165.5
N(4)-H(4A)...O(1)	0.88	2.10	2.907(5)	151.5
N(5)-H(5B)...N(3)	0.88	1.99	2.832(5)	159.8
N(8)-H(8A)...O(6)	0.88	2.03	2.843(6)	154.0

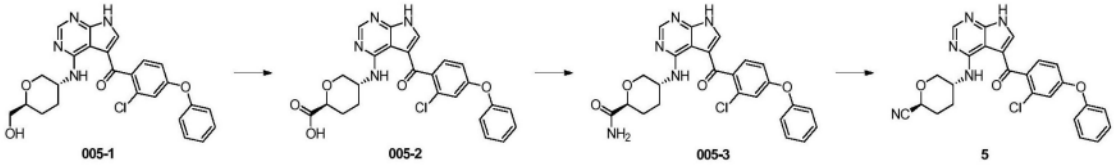
[0208] 用来产生等效原子的对称变换:#1x,y+1,z-1#2x,y-1,z+1

[0209] 实施例5

[0210] 

5

[0211] 合成路线:

[0212] 

005-1 005-2 005-3 5

[0213] 化合物005-1(即为参考例1)根据专利WO2017111787 Compound(I)描述的方法制备得到。

[0214] 步骤1:化合物005-2的合成

[0215] 将化合物005-1(0.4g,835.20μmol,1eq)溶于乙腈(5mL)中,氮气保护下加入二醋酸碘苯(941.55mg,2.92mmol,3.5eq),2,2,6,6-四甲基哌啶N-氧化物(26.27mg,167.04μmol,0.2eq),然后加入水(5mL)。加完后在30℃下反应12小时。将反应液旋干,得到化合物005-2,化合物005-2未经纯化直接投下一步反应。LCMS:(ESI)m/z:493.2[M+H]。

[0216] 步骤2:化合物005-3的合成

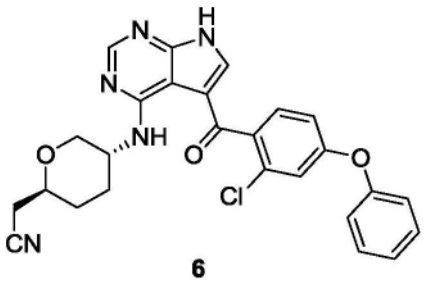
[0217] 将化合物005-2(205.54mg,417μmol,1eq)溶于二氯甲烷(5mL)中。20℃下,氮气保护下加入N,N'-羰基二咪唑(101.42mg,625.50μmol,1.5eq)。搅拌1小时后,往反应液中滴加氨水(146.14mg,4.17mmol,160.59μL,10eq),加完后剧烈搅拌0.5小时。将反应液旋干,得到化合物005-3,未经纯化直接投下一步。LCMS:(ESI)m/z:491.9[M+H]。

[0218] 步骤3:化合物5的合成

[0219] 将化合物005-3(0.1g,203.28μmol,1eq)溶于N.N-二甲基甲酰胺(1mL)中,加入三聚氯氰(56.23mg,304.92μmol,1.5eq)。加完后在20℃下反应1小时。将反应液旋干,得到粗产品。粗产品经制备分离纯化(色谱柱:Phenomenex Gemini-NX 80mm*40mm*3μm;流动相:[水(0.05%NH_3H_2O+10mM NH_4HCO_3)-乙腈];B(乙腈)%:47%-77%,8.5min)得到化合物5。LCMS:(ESI)m/z:473.9[M+H]。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ9.32(br d,J=7.4Hz,1H),8.28(s,

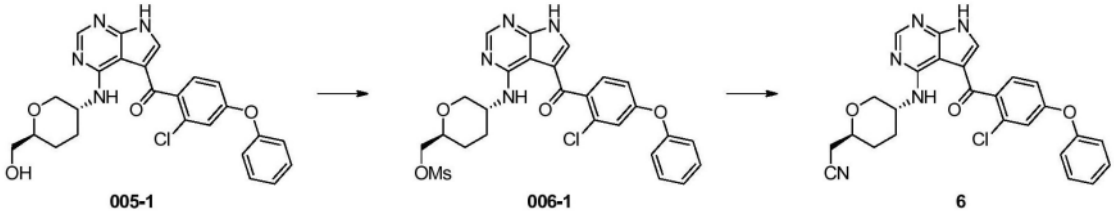
1H),7.41-7.34(m,2H),7.22-7.10(m,2H),7.07-6.98(m,3H),6.91(br d,J=8.3Hz,1H),4.71(br s,1H),4.43(br s,1H),4.15(br d,J=11.8Hz,1H),3.84(br d,J=11.6Hz,1H),2.36(br d,J=13.9Hz,1H),2.29-2.14(m,1H),1.98(br d,J=9.4Hz,1H),1.93-1.73(m,1H)。

[0220] 实施例6

[0221] 

6

[0222] 合成路线:

[0223] 

005-1 006-1 6

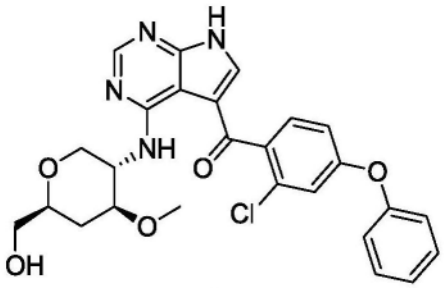
[0224] 步骤1:化合物006-1的合成

[0225] 将化合物005-1(0.35g,730.80μmol,1eq)溶于二氯甲烷(5mL)中,0℃下三乙胺(73.95mg,730.80μmol,1eq)和甲磺酰氯(117.20mg,1.02mmol,1.4eq),反应6小时。反应完后加水,用二氯甲烷萃取3次,每次20ml,合并有机相,无水硫酸钠干燥,旋干溶剂,粗产品经柱层析纯化(二氯甲烷:甲醇=50:1-20:1)得到化合物006-1。LCMS:(ESI)m/z:557.0[M+H]。

[0226] 步骤2:化合物6的合成

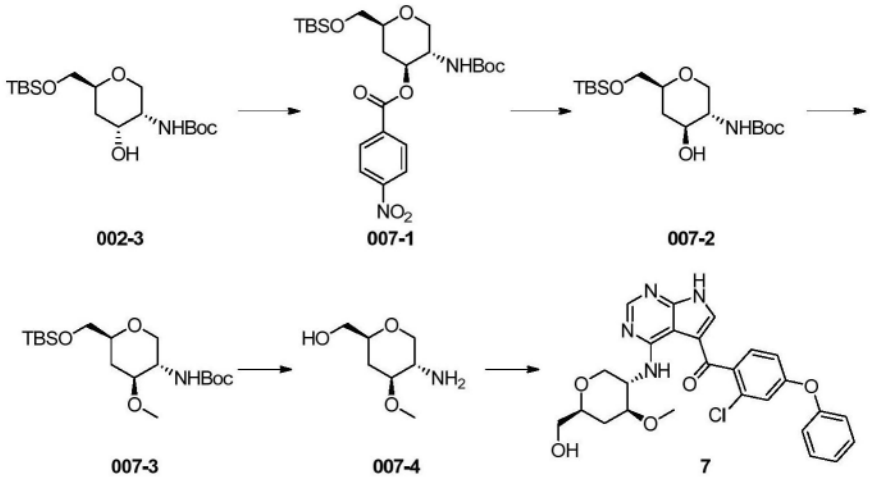
[0227] 将化合物006-1(100mg,179.53μmol,1eq)溶于N,N-二甲基甲酰胺(2mL),再加入氰化钠(130mg,2.65mmol,14.77eq),70℃反应8hr。反应完后加水,用乙酸乙酯萃取2次,每次15ml,合并有机相,无水硫酸钠干燥,旋干溶剂,粗产品经制备分离纯化(色谱柱:Phenomenex Gemini-NX 80mm*30mm*3μm;流动相:[水(10mM NH_4HCO_3)-乙腈];B(乙腈)%:44%-74%,9.5min)得到化合物6。LCMS:(ESI)m/z:488.0[M+H]。1HNMR($CDCl_3$,400MHz):δ 13.28(br s,1H),8.79(br d,J=7.5Hz,1H),8.28(s,1H),7.31-7.40(m,4H),7.14-7.18(m,1H),7.00-7.08(m,3H),6.90(dd,J=8.4,2.1Hz,1H),4.31(br d,J=9.5Hz,2H),3.55-3.65(m,1H),3.20-3.29(m,1H),2.53(d,J=5.8Hz,2H),2.29(br s,1H),1.90(br d,J=10.0Hz,1H),1.60-1.72ppm(m,2H)

[0228] 实施例7

[0229] 

7

[0230] 合成路线：

[0231] 

002-3 007-1 007-2

007-3 007-4 7

[0232] 步骤1：化合物007-1的合成

[0233] 将化合物002-3(830mg,2.30mmol,1eq)，对硝基苯甲酸(613.84mg,3.67mmol,1.6eq)，三苯基磷(2.41g,9.18mmol,4eq)溶于甲苯(14mL)，再加入偶氮二甲酸二乙酯(1.60g,9.18mmol,1.67mL,4eq)，65℃反应12小时，反应完后加水，用乙酸乙酯萃取3次，每次20mL，合并有机相，无水硫酸钠干燥，旋干溶剂，粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯＝50:1-20:1)得到化合物007-1。

[0234] 步骤2：化合物007-2的合成

[0235] 将化合物007-1(650mg,1.27mmol,1eq)，碳酸钾(439.81mg,3.18mmol,2.5eq)溶于无水四氢呋喃(5mL)和甲醇(5mL)，20℃反应12小时，反应完后过滤，旋干溶剂，粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯＝50:1-10:1)得到化合物007-2。LCMS:(ESI)m/z:306.1[M-^{t}Bu+H]。

[0236] 步骤3：化合物007-3的合成

[0237] 将化合物007-2(340mg,940.40μmol,1eq)溶于乙腈(5mL)中。氮气保护下，再加入氧化银(653.79mg,2.82mmol,3eq)和碘甲烷(1.33g,9.40mmol,10eq)。80℃封管反应40小时。反应结束后过滤，旋干，粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯＝50:1-20:1)得到化合物007-3。

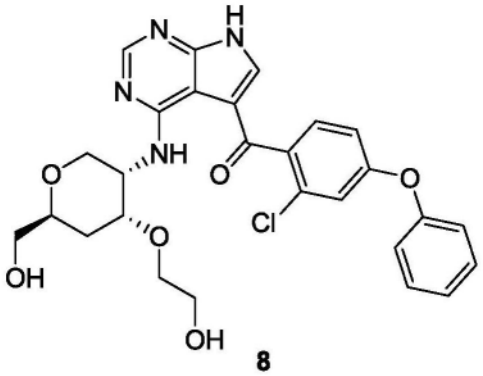
[0238] 步骤4：化合物007-4的合成

[0239] 将化合物007-3(240mg,639.02μmol,1eq)溶于1,4-二氧六环(4mL)，再加入HCl/dioxane(4M,4.79mL,30eq)，20℃反应3小时，反应完后直接旋干得到007-4，粗品直接投下一步。LCMS:(ESI)m/z:161.8[M+H]。

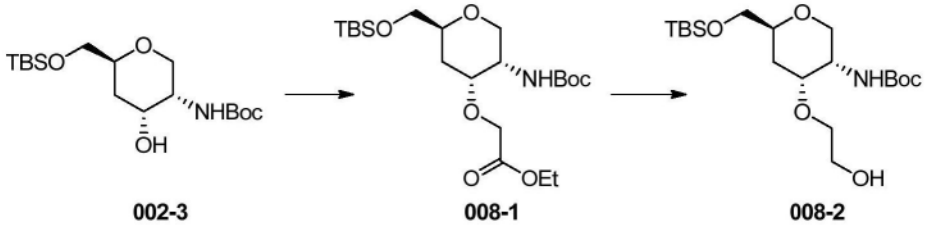
[0240] 步骤4：化合物7的合成

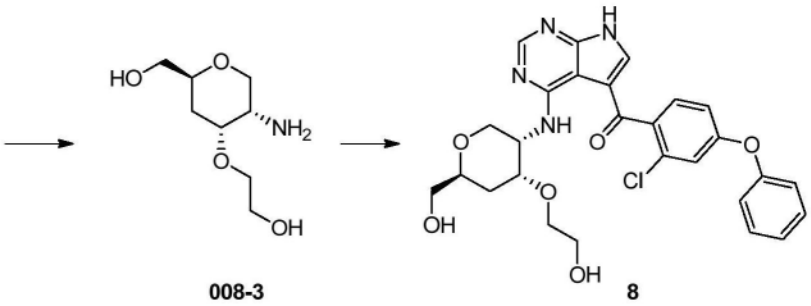
[0241] 将化合物007-4(100mg,620.35μmol,1eq),化合物A(143.01mg,372.21μmol,0.6eq)溶于异丙醇(2mL),再加入二异丙基乙胺(240.52mg,1.86mmol,3eq),130℃微波反应1小时,旋干溶剂,粗产品经制备分离纯化(色谱柱:Phenomenex Gemini-NX 75mm*30mm*3μm;流动相:[水(0.225%甲酸)-乙腈];B(乙腈)%:35%-55%,7min)得到化合物7。LCMS:(ESI)m/z:509.1[M+H]。^{1}H NMR($CDCl_3$,400MHz):δ=9.10(br d,J=7.0Hz,1H),8.34(s,1H),7.37-7.49(m,4H),7.21-7.28(m,1H),7.07-7.16(m,3H),6.99(dd,J=8.3,2.3Hz,1H),4.30-4.52(m,2H),3.55-3.85(m,4H),3.50(s,3H),3.31(br t,J=10.8Hz,1H),2.22(br dd,J=12.7,3.6Hz,1H),1.54ppm(q,J=11.5Hz,1H)。

[0242] 实施例8

[0243] 

[0244] 合成路线:



[0245] 

[0246] 步骤1:化合物008-1的合成

[0247] 将化合物002-3(1g,2.77mmol,1eq)溶于1,2-二氯乙烷(10mL),再加入二聚醋酸铑(12.22mg,27.66μmol,0.01eq),80℃滴加重氮乙酸乙酯(315.59mg,2.77mmol,1eq),反应8小时,反应完后,加水,用乙酸乙酯萃取3次,每次30mL,合并有机相,无水硫酸钠干燥,旋干溶剂,粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=50:1-20:1)得到化合物008-1。LCMS:(ESI)m/z:348.2[M-^{t}Bu+H]。

[0248] 步骤2:化合物008-2的合成

[0249] 将化合物008-1(1.6g,3.57mmol,1eq)溶于无水乙醇(15mL),冰浴下加入硼氢化钠

(405.68mg,10.72mmol,3eq),缓慢恢复到室温反应12小时,反应完后,加饱和氯化铵30mL,用乙酸乙酯萃取3次,每次30mL,合并有机相,无水硫酸钠干燥,旋干溶剂,粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=40:1-15:1)得到化合物008-2。LCMS:(ESI)m/z:306.2[M-Boc+H]。

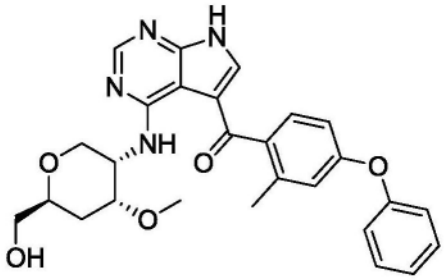
[0250] 步骤3:化合物008-3的合成

[0251] 将化合物008-2(330.00mg,813.61μmol,1eq)溶于1,4-二氧六环(4mL),再加入HCl/dioxane(4M,6.10mL,30eq),20℃反应12小时,有固体析出,过滤,得到产物008-3。LCMS:(ESI)m/z:190.2[M+H]。

[0252] 步骤4:化合物8的合成

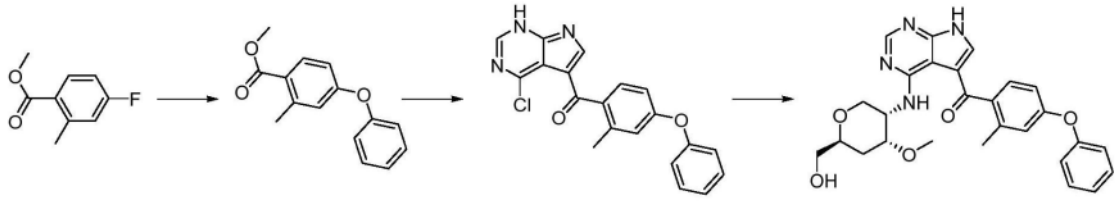
[0253] 将化合物008-3(40mg,175.68μmol,1eq),化合物A(67.50mg,175.68μmol,1eq溶于异丙醇(1.5mL),再加入二异丙基乙胺(68.12mg,527.04μmol,3eq),130℃微波反应1小时,旋干溶剂,粗产品经制备分离纯化(色谱柱:Phenomenex Gemini-NX 75mm*30mm*3μm;流动相:[水(0.225%甲酸)-乙腈];B(乙腈)%:30%-50%,7min)得到化合物8。LCMS:(ESI)m/z:539.1[M+H]。1H NMR($CDCl_3$,400MHz):δ=9.46(d,J=8.3Hz,1H),8.33(s,1H),7.41-7.48(m,4H),7.23-7.28(m,1H),7.13(d,J=7.8Hz,2H),7.08(d,J=2.3Hz,1H),6.96(dd,J=8.5,2.3Hz,1H),4.54-4.67(m,1H),3.96-4.14(m,3H),3.83-3.92(m,2H),3.69-3.82(m,3H),3.49-3.64(m,2H),2.09(br d,J=14.6Hz,1H),1.71ppm(br t,J=12.2Hz,1H)。

[0254] 实施例9

[0255] 

9

[0256] 合成路线:

[0257] 

009-1 009-2 009-3 9

[0258] 步骤1:化合物009-2合成

[0259] 将化合物009-1(4.5g,26.76mmol,1eq),苯酚(2.52g,26.76mmol,1eq)加入到N,N-二甲基甲酰胺(50mL)中,加入碳酸铯(8.72g,26.76mmol,1eq),120℃反应5小时。将反应液过滤,加入水,用乙酸乙酯萃取3次,每次50mL,合并有机相,旋干得到粗产品。粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=50:1)得到化合物009-2。LCMS:(ESI)m/z:242.80[M+H]。

[0260] 步骤2:化合物009-3合成

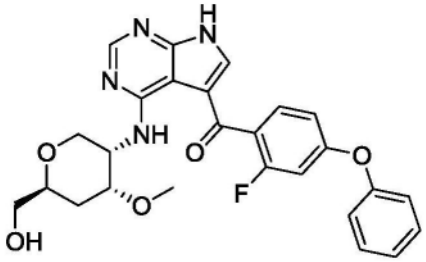
[0261] 将化合物B(913.84mg,3.93mmol,1eq),加入到四氢呋喃(10mL)中,-78℃加入正丁基锂(2.5M,3.30mL,2.1eq),反应1.5小时。然后在-78℃下再向其中滴加化合物009-2(1g,4.13mmol,1.05eq)的四氢呋喃(5mL)溶液,滴毕搅拌反应6小时。用2mL水淬灭反应,分出有

机相，水相用乙酸乙酯萃取2次，每次30ml，合并有机相，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液旋干得到粗产品，粗产品经柱层析纯化(二氯甲烷:甲醇＝10:1)得到化合物009-3。LCMS:(ESI)m/z:387.20[M+Na]。

[0262] 步骤3:化合物9的合成

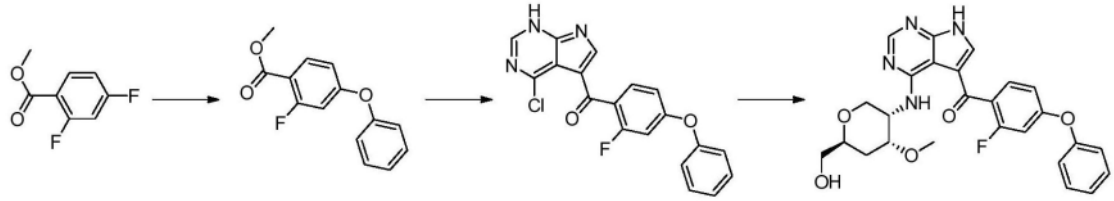
[0263] 将化合物004-2(159.52mg,989.57μmol,1.2eq)，化合物009-3(0.3g,824.64μmol,1eq)溶于异丙醇(5mL)，加N,N-二异丙基乙胺(266.44mg,2.06mmol,2.5eq)，130℃微波反应2小时。粗产品经制备分离(色谱柱:Phenomenex Gemini-NX 150mm*40mm*5μm;流动相:[水(0.225%甲酸)-乙腈];B(乙腈)%:37%-57%,8min)纯化，得到化合物9。LCMS:(ESI)m/z:489.15[M+H]。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ＝9.37(d,J＝8.3Hz,1H)，8.25-8.15(m,1H)，7.39-7.26(m,4H)，7.14-7.06(m,1H)，7.00(dd,J＝1.0,8.5Hz,2H)，6.87-6.74(m,2H)，4.54-4.38(m,1H)，3.98(dd,J＝5.3,10.5Hz,1H)，3.85-3.73(m,2H)，3.71-3.62(m,2H)，3.54-3.44(m,4H)，2.30(s,3H)，2.01-1.89(m,1H)，1.69-1.56(m,1H)

[0264] 实施例10

[0265] 

10

[0266] 合成路线：

[0267] 

010-1 010-2 010-3 10

[0268] 步骤1:化合物010-2合成

[0269] 将化合物010-1(5g,29.05mmol,1eq)，苯酚(2.73g,29.05mmol,1eq)溶于N,N-二甲基甲酰胺(50mL)中，加入碳酸铯(9.46g,29.05mmol,1eq)，然后85℃反应12小时，将反应液过滤，加入水，用乙酸乙酯萃取3次，每次50mL，合并有机相，旋干得到粗产品。粗产品经制备分离纯化(色谱柱:Welch Xtimate C18100*40mm*3μm;流动相:[水(0.075%甲酸)-乙腈];乙腈%:40%-70%,8min)得到化合物010-2。LCMS:(ESI)m/z:246.80[M+H]。1H NMR(400MHz,CDCl3)δ＝7.84(t,J＝8.6Hz,1H)，7.38-7.27(m,2H)，7.22-7.10(m,1H)，7.05-6.95(m,2H)，6.70(dd,J＝2.3,8.8Hz,1H)，6.59(dd,J＝2.4,12.1Hz,1H)，3.88-3.81(m,3H)。

[0270] 步骤2:化合物010-3合成

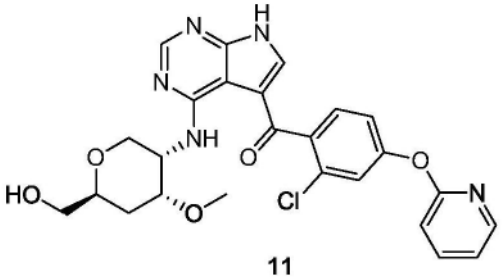
[0271] 将化合物B(858.26mg,3.69mmol,1eq)加入到四氢呋喃(10mL)中，-78℃加入正丁基锂(2.5M,3.10mL,2.1eq)，反应1.5小时，，然后仍然在-78℃下再向其中滴加化合物010-2(1g,4.06mmol,1.1eq)的四氢呋喃(10mL)溶液，滴毕搅拌反应6小时。用2mL水淬灭反应，分

出有机相，水相用乙酸乙酯30mL×2萃取，合并有机相，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液旋干得到粗产品。粗产品经柱层析纯化(二氯甲烷:甲醇＝10:1)得到化合物010-3。LCMS:(ESI)m/z:367.80[M+H]。

[0272] 步骤3:化合物10的合成

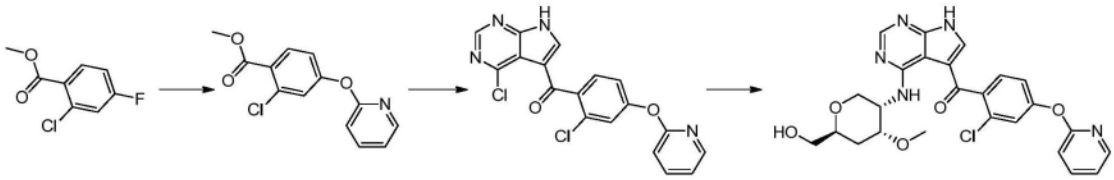
[0273] 将化合物004-2(146.11mg,906.39μmol,1eq),化合物010-3(0.3g,815.75μmol,0.9eq)溶于异丙醇(5mL),加N,N-二异丙基乙胺(292.85mg,2.27mmol,2.5eq),130℃微波反应2小时。粗产品经制备分离(色谱柱:Phenomenex Gemini-NX 150mm*40mm*5μm;流动相:[水(0.225%甲酸)-乙腈];B(乙腈)%:37%-57%,8min)纯化，得到化合物10。LCMS:(ESI)m/z:493.20[M+H]。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ＝9.20(d,J＝8.3Hz,1H),8.35(s,1H),7.62-7.42(m,4H),7.28-7.23(m,1H),7.14(d,J＝7.5Hz,2H),6.88(dd,J＝2.3,8.5Hz,1H),6.78(dd,J＝2.3,11.0Hz,1H),4.62-4.49(m,1H),4.06(dd,J＝5.1,10.9Hz,1H),3.85(br s,2H),3.81-3.71(m,2H),3.64-3.52(m,4H),2.03(br d,J＝13.8Hz,1H),1.70(br s,1H)

[0274] 实施例11

[0275] 

11

[0276] 合成路线：

[0277] 

A1 011-1 011-2 11

[0278] 步骤1:化合物011-1合成

[0279] 将化合物A1(4g,21.21mmol,1eq)和2-羟基吡啶(2.02g,21.21mmol,1eq)溶于N,N二甲基甲酰胺(15mL)中，再加入碳酸钾(3.52g,25.45mmol,1.2eq)，70℃反应16小时。加入25mL水，乙酸乙酯萃取2次，每次50mL，合并有机相，20ml饱和氯化钠溶液洗一次，无水硫酸钠干燥，旋干溶剂，15mL乙酸乙酯室温打浆，过滤，得到化合物011-1。LCMS:(ESI)m/z:263.9[M+H]。1H NMR(400MHz,CDCl3-d)δ＝7.99(d,J＝8.0Hz,1H),7.57(d,1H),7.48-7.40(m,2H),7.32(d,1H),6.69(d,1H),6.30(t,1H),4.06-3.92(m,3H)。

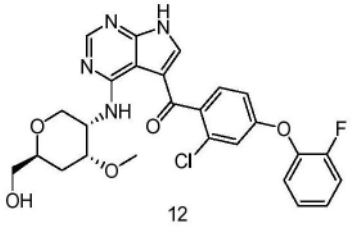
[0280] 步骤2:化合物011-2合成

[0281] 将化合物B(839.65mg,3.61mmol,1eq)溶于四氢呋喃溶液(10mL)中，氮气保护下冷却到-78℃，然后向其中滴加正丁基锂(2.5M,2.89mL,2eq)，反应1.5小时后，再加入化合物011-1(1.00g,3.79mmol,1.05eq)，反应3小时。加入15mL水淬灭反应，乙酸乙酯萃取2次，每次30ml，合并有机相，无水硫酸钠干燥，旋干溶剂。柱层析纯化(二氯甲烷:甲醇＝20:1-10:1)，得到化合物011-2。LCMS:(ESI)m/z:385.0[M+H]。

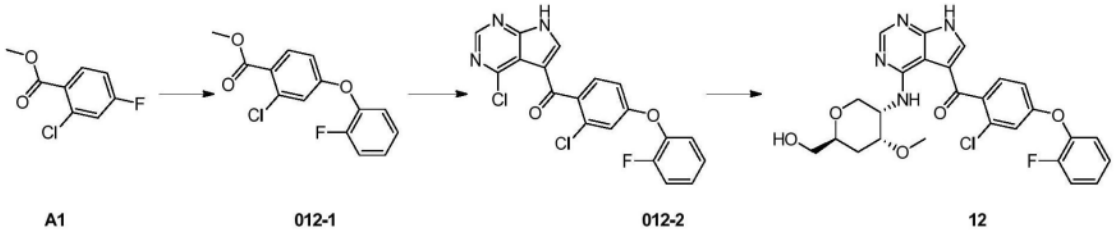
[0282] 步骤3:化合物11合成

[0283] 将化合物004-2(35.15mg,218.07μmol,1.2eq)和化合物011-2(70mg,181.72μmol,1eq)投入异丙醇(3mL)中,再加入N,N-二异丙基乙胺(58.72mg,454.31μmol,2.5eq),微波125℃反应1.5小时,减压蒸发除去溶剂。粗产品经制备分离(色谱柱:Phenomenex Gemini-NX 75mm*30mm*5μm;流动相:[水(0.225%甲酸)-乙腈];B(乙腈)%:15%-35%,7min)纯化,得到化合物11。LCMS:(ESI)m/z:510.1[M+H]。1H NMR(400MHz,CD_3OD)δ=9.26(d,J=8.0Hz,1H),8.25(s,1H),7.76-7.66(m,4H),7.60(s,1H),7.53(d,1H),6.71(d,1H),6.57(t,1H),4.49(s,1H),4.02(m,1H),3.89-3.75(m,2H),3.68(t,1H),2.16(d,1H),1.67-1.54(m,1H)。

[0284] 实施例12

[0285] 

[0286] 合成路线:

[0287] 

[0288] 步骤1:化合物012-1合成

[0289] 将化合物A1(5g,26.51mmol,1eq)和2-氟苯酚(3.57g,31.82mmol,1.2eq)溶于N,N二甲基甲酰胺(25mL)中,再加入碳酸铯(10.37g,31.82mmol,1.2eq),70℃反应3小时。加入25mL水,乙酸乙酯萃取2次,每次50mL,合并有机相,无水硫酸钠干燥,旋干溶剂,硅胶柱纯化(石油醚:乙酸乙酯=50:1-30:1)得到化合物012-1。LCMS:(ESI)m/z:280.9[M+H]。

[0290] 步骤2:化合物012-2合成

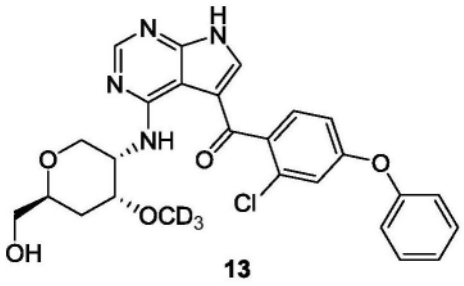
[0291] 将化合物B(720mg,3.10mmol,1eq)溶于四氢呋喃溶液(6mL)中,氮气保护下冷却到-78℃,然后向其中滴加正丁基锂(2.5M,2.60mL,2.1eq),反应1小时后,再加入化合物012-1(724.44mg,2.58mmol,1eq)的四氢呋喃溶液(4mL),反应4小时。加入15mL水淬灭反应,乙酸乙酯萃取2次,每次30mL,合并有机相,无水硫酸钠干燥,旋干溶剂。柱层析分(二氯甲烷:甲醇=50:1-30:1),得到化合物012-2。LCMS:(ESI)m/z:402.0[M+H]。

[0292] 步骤3:化合物12合成

[0293] 将化合物004-2(60mg,372.21μmol,1eq)和化合物012-2(119.76mg,297.77μmol,0.8eq)投入异丙醇(2mL)中,再加入N,N-二异丙基乙胺(144.31mg,1.12mmol,3eq),微波130℃反应1.5小时,减压蒸发除去溶剂。粗产品经制备分离(色谱柱:Phenomenex Gemini-NX 75mm*30mm*5μm;流动相:[水(0.225%甲酸)-乙腈];B(乙腈)%:35%-65%,7min)纯化,得到化合物12。LCMS:(ESI)m/z:527.1[M+H]。1H NMR($CDCl_3$,400MHz):δ=12.60-13.25(m,1H),9.28(br d,J=7.3Hz,1H),8.33(s,1H),7.43(br d,J=8.3Hz,1H),7.32-7.39(m,1H),7.16-7.27(m,4H),7.07(s,1H),6.96(br d,J=8.0Hz,1H),4.56(br s,1H),4.07(br d,J=5.0Hz,1H),3.84(br s,2H),3.74(br d,J=15.3Hz,2H),3.58(s,4H),2.03(br d,J=

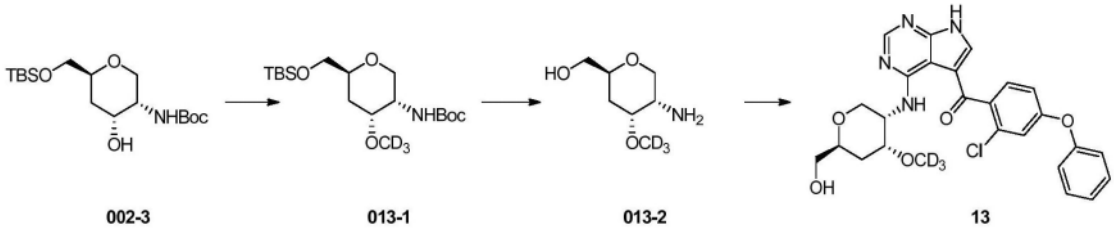
12.0Hz,1H),1.62-1.75ppm(m,1H)。

[0294] 实施例13

[0295] 

13

[0296] 合成路线:

[0297] 

002-3 013-1 013-2 13

[0298] 步骤1:化合物013-1的合成

[0299] 将化合物002-3(500mg,1.38mmol,1eq)溶于乙腈(5mL)中。氮气保护下,再加入氧化银(961.45mg,4.15mmol,3eq)和氘代碘甲烷(2.00g,13.83mmol,10eq)。80℃封管反应48小时。反应结束后过滤,旋干,粗产品经柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=50:1-20:1)得到化合物013-1。LCMS:(ESI)m/z:279.1[M+H]。

[0300] 步骤2:化合物013-2的合成

[0301] 将化合物013-1(140mg,369.79μmol,1eq)溶于1,4-二氧六环(2mL),再加入盐酸/1,4-二氧六环(4M,2.77mL,30eq),20℃反应3小时,反应完后直接旋干得到013-2,粗品直接投下一步。

[0302] 步骤3:化合物13的合成

[0303] 将化合物013-2(60mg,365.37μmol,1eq),化合物A(140.38mg,365.37μmol,1eq)溶于异丙醇(1mL),再加入二异丙基乙胺(141.66mg,1.10mmol,190.92μL,3eq),130℃微波反应4小时,旋干溶剂,粗产品经制备分离纯化(色谱柱:Phenomenex Gemini-NX 75mm*30mm*3μm;流动相:[水(0.225%甲酸)-乙腈];B(乙腈)%:35%-55%,7min)得到化合物13。LCMS:(ESI)m/z:512.1[M+H]。1H NMR($CDCl_3$,400MHz):δ=9.30(br d,J=7.3Hz,1H),8.32(br s,1H),7.35-7.49(m,4H),7.25(br d,J=7.5Hz,1H),7.11(br d,J=8.0Hz,3H),6.98(br d,J=7.5Hz,1H),4.56(br s,1H),4.07(br s,1H),3.69-3.94(m,4H),3.59(br d,J=6.5Hz,1H),2.02(br d,J=13.6Hz,1H),1.70ppm(br t,J=12.3Hz,1H)。

[0304] 生物测试数据:

[0305] 试验例1:BTK酶活性测试

[0306] BTK酶活测试的具体实验过程如下:

[0307] 缓冲液:20mM羟乙基哌嗪乙硫磺酸(Hepes)(pH 7.5),10mM氯化镁,1mM乙二醇双氨乙基醚四乙酸(EGTA),0.02%聚氧乙烯十二烷醚(Brij35),0.02mg/mL BSA,0.1mM钒酸钠(Na_3VO_4),2mM二硫苏糖醇(DTT),1%DMSO,200μM三磷酸腺苷(ATP)。

[0308] 1.在新制备的反应缓冲液中配置底物;

[0309] 2.将所需要的辅因子加入到上述的底物溶液中；

[0310] 3.将激酶BTK^{C481S}加入到上述底物溶液中并混合均匀；

[0311] 4.将溶解于DMSO中的化合物通过Echo550(Acoustic technology;nanoliter range)加入到激酶反应混合物中，室温下孵育20分钟；

[0312] 5.将^{33}P-ATP(放射性比活度为10μCi/μL)加入至反应混合物中引发反应；

[0313] 6.室温孵育2小时；

[0314] 7.用过滤-结合法检测放射性；

[0315] 8.激酶活性数据表示测试样品中剩余激酶活性与溶媒(二甲基亚砜)反应相比的百分比。使用Prism(GraphPad软件)得到IC_{50}值和拟合曲线，结果如表6所示。

[0316] 表6 BTK体外活性测试结果

[0317]

化合物编号	BTK^{C481S} IC_{50}(nM)	化合物编号	BTK^{C481S} IC_{50}(nM)
1	1.7	7	43.6
2	12.5	8	8.9
3	6.7	9	15.2
4	7.3	10	14.9
5	10.7	12	39.8
6	6.5	13	15.1

[0318] 结论：本发明化合物对BTK^{C481S}突变具有很强的抑制作用。

[0319] 试验例2：BTK细胞活性测试

[0320] 1.细胞培养及传代

[0321] 将细胞传代过程中用到的培养基、胰酶以及1×PBS放到37℃水浴锅中预热。吸去上清。

[0322] 加入1mL胰酶润洗，并吸去润洗液。各加入1mL胰酶，于37℃消化至细胞脱落。加入10mL培养液混匀。1000rpm离心5min，用10mL培养液重悬细胞。吸取0.7mL细胞悬液加入计数杯，在ViCell XR上计数，得到细胞密度分别为：0.327百万/mL，分别取细胞悬液1.17mL、培养基将细胞悬液稀释。按照下面的微孔板布局图，向384微孔板的外围孔中加入100μL磷酸盐缓冲液，分别向其它孔中加40μL的细胞悬液，然后将细胞板放到培养箱中培养。

[0323] 2.加药

[0324] (1)化合物准备：

[0325] 将待测化合物取9μL稀释液加到Pod用浅孔板(Labcyte,#LP-0200)中。2500rpm离心浅孔板30s。

[0326] (2)从培养箱中取出细胞板。

[0327] (3)按照下面的微孔板布局图，用Pod对化合物进行3倍梯度稀释，将其稀释10个浓度梯度并分别加100nL到细胞板中，然后将细胞板放回到培养箱中培养。

[0328] 3.加好DMSO的Day0板加入20μL CellTiter Glo，避光震荡10分钟。用Envision读板。

[0329] 4.第五天：加CTG并读板

[0330] (1)培养72h后，向细胞板中加入20μL Cell Titer Glo，避光震荡10分钟。

[0331] (2)在Envision上读板

[0332] 实验结果

[0333] 1.计算各组0%抑制(DMSO孔,MAX)和100%抑制(day0,DMSO)的平均值和标准差;

[0334] 2.抑制率(%)＝(1-(样品值-100%抑制的平均值)/(0%抑制的平均值-100%抑制的平均值))*100;

[0335] 3.曲线由GraphPad 5.0软件拟合,结果如表7所示。

[0336] 表7 BTK体外活性测试结果

[0337]

化合物编号	relative IC_{50}(nM)
2	269.0
3	217.2
4	260.9

[0338] 结论:本发明化合物对TMD8细胞具有很好的抑制作用。

[0339] 实验例3:动力学溶解度的测定

[0340] 将受试化合物溶解在DMSO中,以制备10mmol/L的原液。用移液管(Eppendorf Research公司)将980μL溶出介质加入到2mL的螺旋盖的玻璃管形瓶中。将20μL各受试化合物的原液以及QC样品添加到相当于pH 7.4的动力学检测溶液的缓冲溶液中。受试化合物和DMSO溶液的终浓度分别是为200μM和2%。药瓶压盖。最大浓度的理论值为200μM。室温下以每分钟880转的速度旋转摇动该混合物24小时。将小瓶离心30分钟,每分钟13000转。用数字移液管将200μL上清液加入到96-孔板中。用高效液相色谱法光谱测定的受试化合物的溶解度,结果如表8所示。

[0341] 表8动力学溶解度测试结果

[0342]

化合物	溶解度(μM)pH 6.5
4	1.1
参考例1(化合物005-1)	2.7

[0343] 结论:本发明化合物4的溶解度要优于参考例1。

[0344] 试验例4:血浆蛋白结合实验(PPB)实验

[0345] 实验操作:取各种属的空白血浆995μL,加入5μL受试化合物工作溶液(400μM)或华法林工作溶液(400μM),使血浆样品中受试化合物与华法林终浓度均为2μM。将样品充分混合。有机相DMSO的终浓度为0.5%;移取50μL受试化合物和华法林血浆样品到样品接收板中(三个平行),立即加入相应体积的对应空白血浆或缓冲液,使得每个样品孔的终体积为100μL,血浆:透析缓冲液的体积比为1:1,然后向这些样品中加入500μL终止液,此样品将作为T_0样品用于回收率及稳定性测定。将T_0样品存储于2-8℃,等待与其它透析完的样品一起进行后续处理;将150μL受试化合物和华法林血浆样品加入到每个透析孔的给药端,在透析孔对应的接收端中加入150μL空白透析缓冲液。然后将透析板置于湿润的、5%CO_2的培养箱中,在37℃下、约100rpm振荡孵育4-hr。透析结束后,移取50μL透析后的缓冲液样品和透析后的血浆样品到新的样品接收板。在样品中加入相应体积的对应空白血浆或缓冲液,使得每个样品孔的终体积为100μL,血浆:透析缓冲液的体积比为1:1。所有样品经过蛋白沉淀后进行LC/MS/MS分析,并通过公式:%Unbound＝100*F/T,%Bound＝100-%Unbound,%Recovery＝100*(F+T)/T_0计算蛋白结合率以及回收率(其中F是透析4h后透析液中化合物的峰面积比值;T是透析4h后血浆中化合物的峰面积比值;T_0是零时刻血浆样品中化合物的

峰面积比值)。实验结果如表9所示：

[0346] 表9 PPB测试结果

[0347]

化合物编号	Unbound PPB H/D/C/R/M
4	0.4%/0.1%/0.1%/0.2%/0.4%
参考例1(化合物005-1)	0.3%/NA/NA/NA/0.2%

[0348] 结论：本发明化合物4与血浆蛋白的结合弱于参考例1。

[0349] 试验例5：大鼠体内血浆蛋白结合实验(PPB)实验

[0350] 1.实验流程

[0351] 1.1透析膜和基质的准备

[0352] 在实验当天，将冻存的血浆在流动的冷自来水中解冻，待血浆完全解冻后，以3220×g离心5min并去除其中的悬浮物和沉淀物。

[0353] 将双层透析膜在超纯水中浸泡约1h，取出后一分为二，再置于乙醇-水(20:80,v:v)溶液中浸泡20min或放置于2-8℃，有效期为1个月。在实验开始之前，将透析膜用超纯水漂洗两次，并继续在超纯水中浸泡20min备用。

[0354] 1.2化合物样品混合步骤和对照化合物的稀释流程

[0355] 1.2.1化合物样品混合步骤

[0356] 取适量的原始样品转移至混合样品收集管，将混合样品收集管内的样品充分混匀。

[0357] 1.2.2对照化合物的稀释流程

[0358] 用二甲基亚砜溶解对照化合物得到10mM的储备液。用二甲基亚砜稀释得到400μM的工作液。血浆样品的配制过程：取995μL的空白血浆，加入5μL华法林的工作溶液并充分混合，得到浓度为2μM的血浆样品。有机相DMSO的浓度为0.5%。

[0359] 1.3实验步骤

[0360] T0样品的配制过程：移取30μL华法林的血浆样品到样品接收板中(n＝3)，立即加入30μL空白缓冲液，使得每个样品孔的终体积为60μL，血浆与透析缓冲液的体积比为1:1。然后向待测化合物和华法林的T0样品中加入300μL终止液，并存储于2-8℃，等待与其它透析完的样品一起进行后续处理。

[0361] 血浆样品的透析过程：将50μL含化合物的血浆样品(来自混合后的样品管)和50μL含对照化合物的血浆样品加入到每个透析孔的给药端(n＝3)，在透析孔对应的接收端中加入50μL空白透析缓冲液。将透析板置于5%CO_2的培养箱中，在37℃下、约100rpm振荡孵育4h。

[0362] 透析结束后，移取30μL透析后的缓冲液样品(透析液)和透析后的血浆样品到新的96孔板中(样品接收板)。在样品中加入相应体积的对应空白血浆或缓冲液，使得每个样品孔的终体积为60μL，血浆与透析缓冲液的体积比为1:1。在所有样品中加入300μL终止液，充分摇匀。摇匀后的样品以4000rpm的条件离心20分钟。经过蛋白沉淀后，取100μL上清进行LC-MS/MS分析，结果如表10所示。

[0363] 表10 PPB测试结果

[0364]

化合物编号	Unbound PPB
4	0.2%[a]

参考例1(化合物005-1)	0.1%[b]

[0365] 注:a:3次结果平均值,b:4次结果平均值

[0366] 结论:本发明化合物4与大鼠血浆蛋白的结合弱于参考例1。

[0367] 实验例6:化合物在小鼠中药代动力学评价

[0368] 实验目的:测试化合物在CD-1小鼠体内药代动力学(静脉)

[0369] CD-1小鼠口服及静脉注射化合物4和参考例1(化合物005-1)的药代动力学研究

[0370] 化合物4和参考例1与溶媒0.10mg/mL in 10%NMP/60%PEG400/30%H_2O混合,涡旋并超声,制备得到0.1mg/mL澄清溶液。选取7至10周龄的CD-1雄性小鼠,静脉注射给予候选化合物溶液,剂量为0.21mg/kg。收集一定时间的全血,制备得到血浆,以LC-MS/MS方法分析药物浓度,并用Phoenix WinNonlin软件(美国Pharsight公司)计算药代参数,结果如表11所示。

[0371] 表11静脉(IV)PK数据

[0372]

供试品(各实施例所制得的化合物)	参考例1 (化合物005-1)	4
给药剂量(mg/kg)	0.21	0.21
C_0 (nM)	1038	562
$T_{1/2}$ (h)	4.34	4.65
Vd (L/kg)	0.70	0.85
Cl (mL/Kg/min)	2.01	2.12
AUC_{0-inf} (nM.h)	3493	3107
AUC_u(nM.h)	7.0	12.4

[0373] 注:AUC_u=AUC_{0-inf}*Unbound PPB(Mouse)

[0374] 结论:本发明化合物4在小鼠血浆中游离药物浓度高于参考例1。

[0375] 实验例6-1:化合物在小鼠中药代动力学评价

[0376] 实验目的:测试化合物在CD-1小鼠体内药代动力学(口服)

[0377] CD-1小鼠口服及静脉注射化合物4和参考例1(化合物005-1)的药代动力学研究

[0378] 化合物4和参考例1(化合物005-1)与溶媒10%NMP/60%PEG400/30%H_2O混合,涡旋并超声,制备得到0.6mg/mL澄清溶液。选取7至10周龄的CD-1雄性小鼠,经口灌胃给予候选化合物溶液,剂量为3.1mg/kg。

[0379] 收集一定时间的全血,制备得到血浆,以LC-MS/MS方法分析药物浓度,并用Phoenix WinNonlin软件(美国Pharsight公司)计算药代参数,结果如表12所示。

[0380] 表12口服(PO)PK数据

[0381]

供试品	参考例1 (化合物005-1)	4

[0382]

给药剂量(mg/kg)	3.1	3.1
C_{max} (nM)	3835	2975
Tmax	8.0	6
$T_{1/2}$ (h)	3.75	3.73
AUC_{0-inf} (nM.h)	44124	33246
AUC_u(nM.h)	88.2	133.0
F%	83.8	71.7

[0383] 注:AUC_u=AUC_{0-inf}*Unbound PPB(Mouse)

[0384] 结论:本发明化合物4在小鼠血浆中游离药物浓度高于参考例1。

[0385] 实验例7:化合物在大鼠中药代动力学评价

[0386] 实验目的:测试化合物在SD大鼠体内药代动力学(静脉)

[0387] SD大小鼠口服及静脉注射化合物4和参考例1的药代动力学研究

[0388] 化合物4和参考例1与溶媒0.10mg/mL in 10%NMP/60%PEG400/30%H_2O混合,涡旋并超声,制备得到0.5mg/mL澄清溶液。选取7至10周龄的SD大鼠,静脉注射给予候选化合物溶液,剂量为0.5mg/kg。收集一定时间的全血,制备得到血浆,以LC-MS/MS方法分析药物浓度,并用Phoenix WinNonlin软件(美国Pharsight公司)计算药代参数,结果如表13所示。

[0389] 表13静脉(IV)PK数据

[0390]

供试品	参考例1(化合物005-1)	4
给药剂量(mg/kg)	0.51	0.49
C_0 (nM)	800	852
$T_{1/2}$ (h)	2.02	1.82
Vd (L/kg)	1.57	1.42
Cl (mL/Kg/min)	9.08	9.80
AUC_{0-inf} (nM.h)	1922	1695
AUC_u (nM.h)	1.9	3.4

[0391] 注:AUC_u=AUC_{0-inf}*Unbound PPB(Rat体内测试PPB)

[0392] 结论:本发明化合物4在大鼠血浆中游离药物浓度高于参考例1。

[0393] 实验例7-1:化合物在SD大鼠中药代动力学评价

[0394] 实验目的:测试化合物在SD大鼠体内药代动力学(口服)

[0395] SD大鼠口服及静脉注射化合物4和参考例1的药代动力学研究

[0396] 化合物4和参考例1与溶媒10%NMP/60%PEG400/30%H_2O混合,涡旋并超声,制备得到2mg/mL澄清溶液。选取7至10周龄的SD大鼠,经口灌胃给予候选化合物溶液,剂量为2mg/kg。

[0397] 收集一定时间的全血,制备得到血浆,以LC-MS/MS方法分析药物浓度,并用

Phoenix WinNonlin软件(美国Pharsight公司)计算药代参数,结果如表14所示。

[0398] 表14口服(PO)PK数据

[0399]

供试品	参考例1(化合物005-1)	4
给药剂量(mg/kg)	1.9	1.8
C_{max}(nM)	607	587
Tmax	2.00	2.00
$T_{1/2}$(h)	2.41	2.33
AUC_{0-inf}(nM.h)	5033	3887
AUC_u(nM.h)	5.0	7.8
F%	65.5	57.3

[0400] 注:AUC_u=AUC_{0-inf}*Unbound PPB(Rat体内测试PPB)

[0401] 结论:本发明化合物4在大鼠血浆中游离药物浓度高于参考例1。

[0402] 实验例8:体内研究

[0403] TMD8 SCID小鼠异种移植瘤模型:

[0404] 实验方法:建立人弥漫大B淋巴瘤小鼠皮下移植瘤模型,收集对数生长期的肿瘤细胞,计数后重悬于RPMI1640,调整细胞悬液浓度至4×10^7/mL,1:1Matrigel混匀,用1mL注射器(4号针头)在小鼠右侧背部皮下接种肿瘤细胞,4×10^6cell/鼠。在动物肿瘤达到100-300mm^3左右时根据肿瘤体积大小采用随制备分离组法将荷瘤鼠分为6组,每组6只。实验当天动物按组别给予相对应的药物。第一组G1设阴性对照组,单独灌胃给予10%NMP/60%PEG400/30%H_2O,第二组G2给予给予参考例1(化合物005-1)做阳性对照组,给药剂量为30mg/kg,第三组G3给予化合物4,给药剂量为30mg/kg,每天一次,共给药15天。

[0405] 表15.受试物对人弥漫大B淋巴瘤TMD8小鼠移植瘤的药效研究

[0406]

组别	动物数量	受试物	剂量 (mg/kg)	给药浓度 (mg/mL)	给药体积 (mL/kg)	给药途径和给药频率
G1	6	阴性对照物	(N/A)	(N/A)	(N/A)	PO,QD*15
G2	6	参考例 1	30	10	3	PO,QD*15
G3	6	化合物 4	30	10	3	PO,QD*15

[0407] 注:PO表示口服,QD表示每日一次。

[0408] 实验期间每周测定3次动物的体重和肿瘤的大小,同时每天观察并记录动物的临床症状,每次给药均参考最近一次称量的动物体重。

[0409] 肿瘤的测量用数显游标卡尺来测定长(a)和宽(b),肿瘤体积(Tumor volume,TV)的计算公式为:$TV=a\times b^2/2$。

[0410] 实验结果:

[0411] 各受试物对人弥漫大B淋巴瘤TMD8小鼠肿瘤体积的影响

[0412] 参考例1和化合物4对人弥漫大B淋巴瘤TMD8小鼠异种移植瘤均有一定抑制作用:

[0413] 参考例1对人弥漫大B淋巴瘤小鼠异种移植瘤抑制作用在第10天时出现显著性差异,相对肿瘤增值率T/C为48.05%(P<0.01,双尾t-检验),在第14天时,相对肿瘤增值率为37.28%(P<0.001,双尾t-检验),肿瘤体积抑制率TGI(%)为61.70%。

[0414] 化合物4对人弥漫大B淋巴瘤小鼠异种移植瘤抑制作用在第5天时出现显著性差异，相对肿瘤增值率T/C为66.33％(P<0.05，双尾t-检验)，在第14天时，相对肿瘤增值率为21.53％(P<0.001，双尾t-检验)，肿瘤体积抑制率TGI(％)为79.04％。详细结果见说明书附图5和表16。

[0415] 表16受试物在人弥漫大B淋巴瘤TMD8小鼠异种移植瘤模型中对动物肿瘤大小的影响

[0416]

组别	动物数	受试物	给药频率	剂量 mg/kg	相对肿瘤增殖率 T/C (%)	肿瘤体积抑制率 TGI (%)
1	6	阴性对照物	QD x 15	NA	N/A	N/A
2	6	参考例 1	QD x 15	30	37.28 %	61.70%
3	6	化合物 4	QD x 15	30	21.53%	79.04%

[0417] 注:N/A表示未检测。

[0418] 实验结论:在体内药效方面，本发明化合物4对肿瘤的抑制效果要明显优于参考例1。

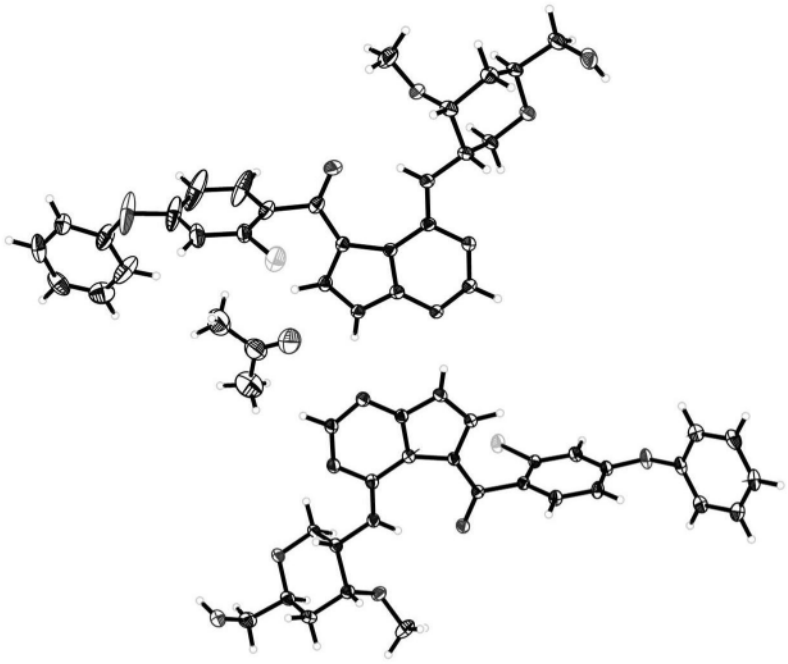


图1

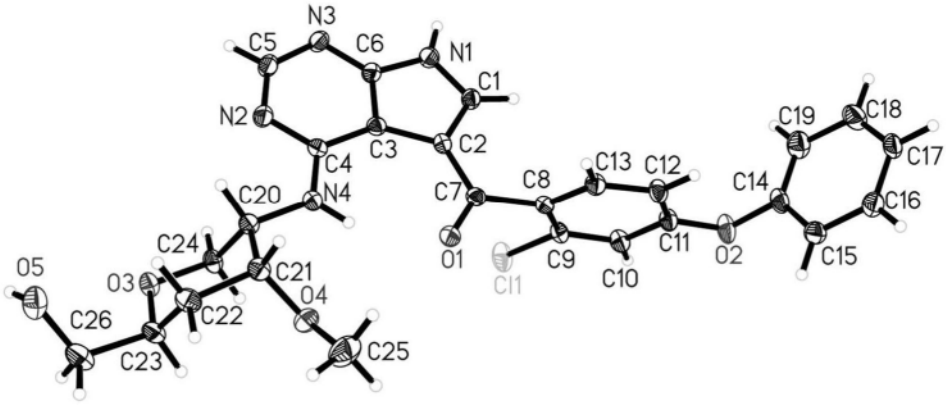

N3
C5
C6
N1
C1
N2
C3
C2
C4
C20
N4
C7
C8
C13
C12
C14
C19
C18
C17
C16
C15
O1
Cl1
C9
C10
C11
O2
C24
C21
O5
O3
O4
C22
C26
C23
C25

图2

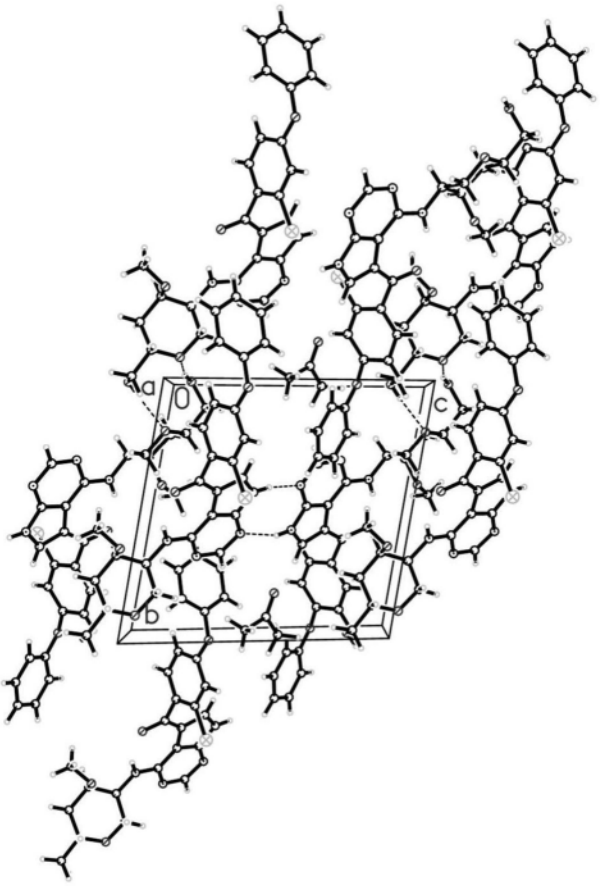


图3

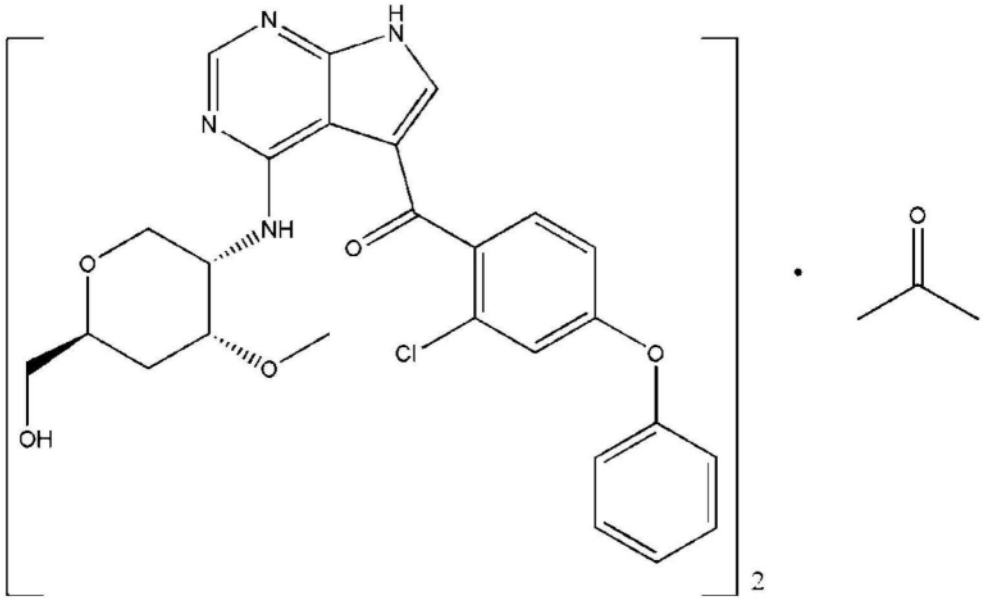


图4

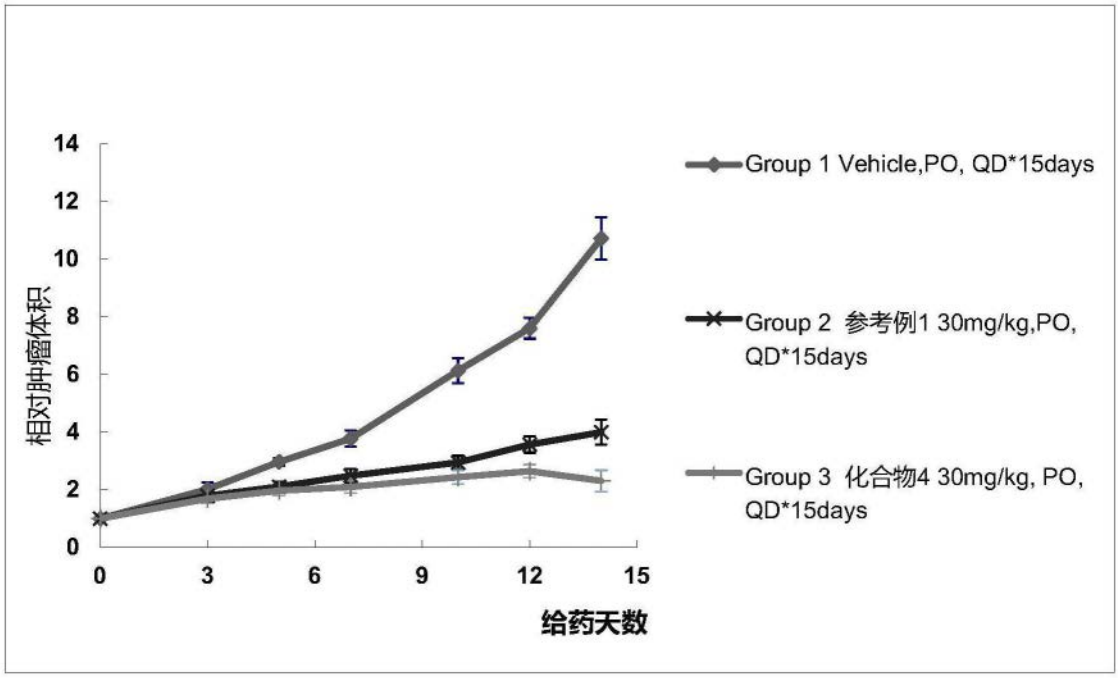

14
12
10
8
6
4
2
0
相对肿瘤体积
0
3
6
9
12
15
给药天数
Group 1 Vehicle,PO, QD*15days
Group 2 参考例1 30mg/kg,PO, QD*15days
Group 3 化合物4 30mg/kg, PO, QD*15days

图5