



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119948024 A

(43) 申请公布日 2025. 05. 06

(21) 申请号 202380066871.0

(22) 申请日 2023.09.18

(66) 本国优先权数据

202211168492.6 2022.09.19 CN

202310650187.9 2023.06.02 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2025.03.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2023/119468 2023.09.18

(87) PCT国际申请的公布数据

W02024/061172 ZH 2024.03.28

(71) 申请人 苏中药业集团股份有限公司

地址 225500 江苏省泰州市姜堰区苏中路1号

申请人 江苏苏中药业研究院有限公司

(72) 发明人 唐海涛 汤凡 葛海涛

(74) 专利代理机构 江苏圣典律师事务所 32237

专利代理师 黄天天 肖明芳

(51) Int. Cl.

C07D 471/04 (2006.01)

A61P 7/06 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61K 31/4375 (2006.01)

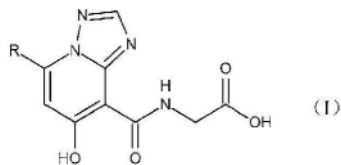
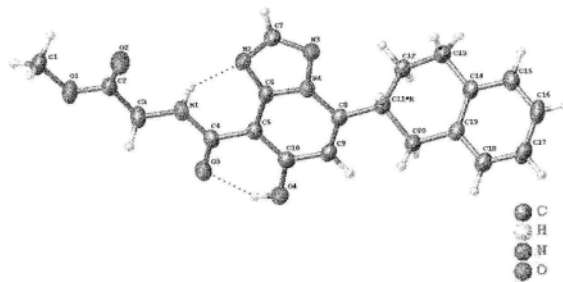
A61K 31/5377 (2006.01)

(54) 发明名称

一种脯氨酰羟化酶抑制剂及其用途

(57) 摘要

本发明公开了一种脯氨酰羟化酶抑制,属于医药技术领域。本发明提供了一种吡啶并三唑类化合物,结构如下式所示,具有较高的脯氨酰羟化酶抑制活性和EPO诱导活性,可以有效治疗和预防HIF相关和/或EPO相关的病症,为贫血、局部缺血和缺氧等病症提供新思路。



(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
2024年3月28日 (28.03.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/061172 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07D 471/04 (2006.01) *A61K 31/4375* (2006.01)
A61P 7/06 (2006.01) *A61K 31/5377* (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2023/119468
- (22) 国际申请日: 2023年9月18日 (18.09.2023)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
202211168492.6 2022年9月19日 (19.09.2022) CN
202310650187.9 2023年6月2日 (02.06.2023) CN
- (71) 申请人: 苏中药业集团股份有限公司 (SUZHONG PHARMACEUTICAL GROUP CO.,

LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省泰州市姜堰区苏中路1号, Jiangsu 225500 (CN)。江苏苏中药业研究院有限公司 (JIANGSU SUZHONG PHARMACEUTICAL RESEARCH INSTITUTE CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省南京市江北新区新锦湖路3-1号中丹生态生命科学产业园二期C栋7楼, Jiangsu 210061 (CN)。

(72) 发明人: 唐海涛 (TANG, Haitao); 中国江苏省泰州市姜堰区苏中路1号, Jiangsu 225500 (CN)。汤凡 (TANG, Fan); 中国江苏省泰州市姜堰区苏中路1号, Jiangsu 225500 (CN)。葛海涛 (GE, Haitao); 中国江苏省泰州市姜堰区苏中路1号, Jiangsu 225500 (CN)。

(74) 代理人: 北京精金石知识产权代理有限公司 (JJS INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY LTD.);

(54) Title: PROLYL HYDROXYLASE INHIBITOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种脯氨酰羟化酶抑制剂及其用途

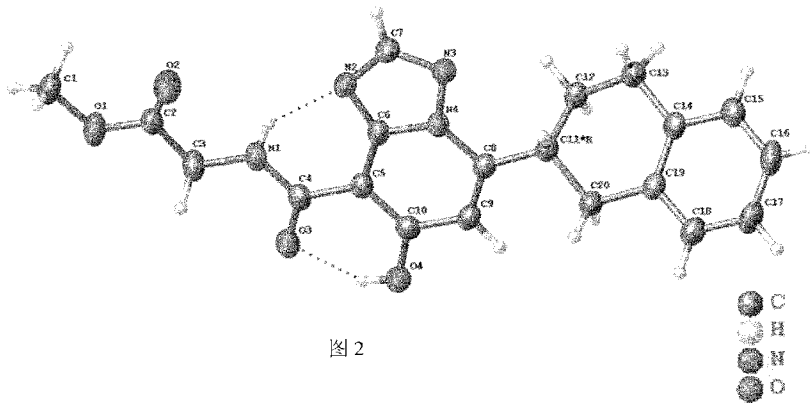
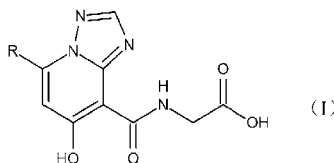


图 2



(57) Abstract: Disclosed is a prolyl hydroxylase inhibitor, which belongs to the technical field of medicines. The present invention provides a pyridino-triazole compound having a structure represented by the formula below. The pyridino-triazole compound has relatively high prolyl hydroxylase inhibitory activity and EPO induction activity, can effectively treat and prevent HIF-related and/or EPO-related diseases, and provides a new thought for dealing with diseases such as anemia, ischemia, and hypoxia.

(57) 摘要: 本发明公开了一种脯氨酰羟化酶抑制, 属于医药技术领域。本发明提供了一种吡啶并三唑类化合物, 结构如下式所示, 具有较高的脯氨酰羟化酶抑制活性和EPO诱导活性, 可以有效治疗和预防HIF相关和/或EPO相关的病症, 为贫血、局部缺血和缺氧等病症提供新思路。

WO 2024/061172 A1

中国北京市海淀区知春路1号学院国际大厦1510, Beijing 100191 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, 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))。

一种脯氨酰羟化酶抑制剂及其用途

技术领域

5 本发明属于医药技术领域，具体涉及一种具有脯氨酰羟化酶抑制作用的吡啶并三唑类化合物及其药物组合物，进一步涉及其制备方法及其制药用途。

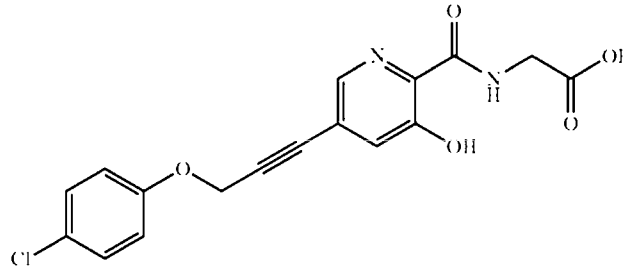
背景技术

在贫血、外伤、组织坏死及缺损等情况下，组织或细胞常处于低氧状态。低氧导致一系列转录诱导因子的表达，它们参与了血管形成，铁、糖代谢及细胞的生长和增殖。其中，缺氧诱导性因子(hypoxia inducible factor ,HIF)是体细胞在缺氧状态下启动的一种转录因子，在生物细胞内通过介导一系列基因调节来响应细胞缺氧状态。HIF 是含有氧调控的 α -亚单位(HIF α)和组成型表达的 β -亚单位(HIF β /ARNT)的杂二聚体。在含氧(含氧量正常的)细胞中，HIF α 亚单位通过逢希伯-林道肿瘤抑制因子(von Hippel-Lindau tumor suppressor, pVHL)E3 连接酶复合物泛素化(ubiquitination)的机制被快速降解。在缺氧条件下，HIF α 不被降解，且活性
10 HIF α / β 复合物在细胞核内积累，并活化各种基因的表达，包括糖酵解酶，葡萄糖转运蛋白，促红细胞生成素(EPO)和血管内皮生长因子(VEGF)。

促红细胞生成素(EPO)是随 HIF α 而产生的一种自然存在的激素，其刺激运载氧气贯穿全身的红细胞(红血球)的产生。EPO 通常由肾分泌，且内源性 EPO 在氧减少(缺氧)的条件下增加。所有类型贫血的特征在于血液运载氧的能力减少，并因而伴有类似体征与症状，包括皮肤及粘膜苍白、虚弱、头晕、易疲劳和嗜睡，导致生活质量的下降。贫血通常与红细胞中或
20 血红蛋白中血液缺乏的病况有关。贫血的普遍原因包括铁、维生素 B12 和叶酸缺乏，也会与慢性疾病并发，例如炎症性疾病，包括具有继发骨髓炎性抑制的疾病等。贫血也与肾功能障碍有关，经常透析的大多数肾衰竭患者患有慢性贫血。

脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylase domain ,PHD)是调节 HIF 的关键因子。在常氧状态下，
25 PHD 可以羟基化 HIF α 的两个关键脯氨酸残基 Pro402 和 Pro564,增加其与 pVHL 的亲合力，加速降解的过程。在缺氧及其他病理状态下，PHD 催化的 HIF 反应受阻，蛋白酶降解速度减慢，造成 HIF α 在细胞内积聚，进而引起细胞对低氧的一系列适应性反应。通过 PHD 抑制剂抑制 PHD，延长 HIF 的作用，进而增加 EPO 等基因的表达，可以有效治疗和预防 HIF 相关和/或 EPO 相关的病症，如贫血、局部缺血和缺氧的病症。

例如,美国专利申请 US16757333 公开了一种炔基吡啶类辅氨酰羟化酶抑制剂的晶型及其制备方法,所述炔基吡啶类辅氨酰羟化酶抑制剂结构式如下:



目前,已有辅氨酰羟化酶抑制剂上市销售,包括阿斯利康的 Roxadustat (罗沙司他) 及日本烟草产业株式会社的 Enarodustat (恩那司他)。

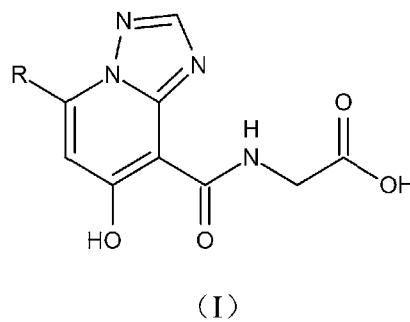
由于辅氨酰羟化酶抑制剂种类开发有限以及需求较高,因此,迫切需要研发此类化合物,进而治疗贫血、局部缺血和缺氧等病症。

发明内容

本发明的目的是提供一种作为 HIF-PHD 抑制剂吡啶并三唑类化合物及其药物组合物,可用于治疗各种 HIF 相关或 EPO 相关的疾病,如贫血等。

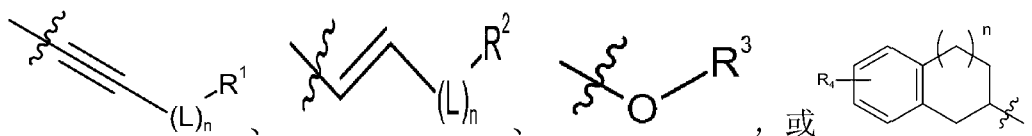
为实现上述发明目的,本发明技术方案如下:

一方面,本发明提供一种式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药;



其中,

R 选自以下原子或基团的单元:



L 为 -CH₂- 或 -CH₂O-;

n 的数值为 0-2 之间的整数;

R^1 、 R^2 、 R^3 各自独立的选自为取代或未取代的烷基、环烷基、芳基、杂环基。

优选地，所述芳基包括芳杂环。

在一些实施例中，

L 为 $-CH_2-$ 或 $-CH_2O-$ ；

5 n 的数值为 0 或 1；

R^1 为取代或未取代的 C_{1-4} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种；

10 R^2 为取代或未取代的 C_{1-4} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种；

R^3 为取代或未取代的 C_{1-10} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种。

15 R^4 选自为氢、取代或未取代的烷基、环烷基、烷氧基、芳基、杂环基中的至少一种。

在一些实施例中，

L 为 $-CH_2-$ 或 $-CH_2O-$ ；

n 的数值为 0 或 1；

20 R^1 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种；

R^2 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种；

25 R^3 为取代或未取代的 C_{1-10} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种。

R^4 为氢、取代或未取代的烷基、环烷基、烷氧基、芳基、杂环基中的至少一种。

或， R^4 为氢、取代或未取代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一
30 种。

或, R^4 为氢、取代或未取代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基, 所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种。

在一些实施例中,

5 n 的数值为 0 或 1;

R^1 为取代或未取代的苯基, 所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基; 优选地, 所述 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基为相对于母核结构对位取代, 卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代;

10 R^2 为取代或未取代的苯基, 所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基; 优选地, 所述 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代, 卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代;

15 R^3 为取代或未取代的 C_{1-5} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基, 所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基; 优选地, 所述 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环、或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代, 卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代。

20 R^4 为氢、取代或未取代的 C_{1-5} 烷基、 C_{1-5} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基, 所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基; 优选地, 所述 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环、或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代, 卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代。

在一些实施例中,

25 n 的数值为 0 或 1;

R^1 为取代或未取代的苯基, 所述取代基为 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基; 优选地, 所述 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基为相对于母核结构对位取代, 卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代;

30 R^2 为取代或未取代的苯基, 所述取代基为 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的

5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基为相对于母核结构对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

R³ 为取代或未取代的 C₁₋₅ 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代。

R⁴ 为氢、取代或未取代的 C₁₋₅ 烷基、C₁₋₅ 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代。

在一些实施例中，

n 的数值为 0 或 1；

R¹ 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C₁₋₂ 烷基、C₁₋₂ 烷氧基、F、Cl、Br、I、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C₁₋₂ 烷基、C₁₋₂ 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，F、Cl、Br、I 相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

R² 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C₁₋₂ 烷基、C₁₋₂ 烷氧基、F、Cl、Br、I、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C₁₋₂ 烷基、C₁₋₂ 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，F、Cl、Br、I 相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

R³ 为取代或未取代的 C₁₋₄ 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C₁₋₂ 烷基、C₁₋₂ 烷氧基、F、Cl、Br、I、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C₁₋₂ 烷基、C₁₋₂ 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代。

R⁴ 为氢、取代或未取代的 C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C₁₋₂ 烷基、C₁₋₂ 烷氧基、F、Cl、Br、I、含氧

和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C₁₋₂ 烷基、C₁₋₂ 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代。

在一些实施例中，

5 n 的数值为 0 或 1；

R¹ 为取代或未取代的苯基，所述取代基为甲基、甲氧基、F、Cl、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述甲基、甲氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代，F、Cl 相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

10 R² 为取代或未取代的苯基，所述取代基为甲基、甲氧基、F、Cl 或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、甲氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代，F、Cl 相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

15 R³ 为取代或未取代的 C₁₋₃ 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环，所述取代苯基的取代基为甲基、甲氧基、F、Cl 或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、甲氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代。

R⁴ 为氢、取代或未取代的 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环，所述取代苯基的取代基为甲基、甲氧基、F、Cl 或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、甲氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代。

20 在一些实施例中，

n 的数值为 0 或 1；

R¹ 为取代或未取代的苯基，所述取代基为甲基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代；

25 R² 为取代或未取代的苯基，所述取代基为甲基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代；

R³ 为取代或未取代的 C₁₋₃ 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环，所述取代基为甲基、甲氧基、F、Cl 或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、甲氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代。

30 R⁴ 为氢、取代或未取代的 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环，所述取代基为甲基、甲氧基、F、Cl 或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、甲

氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代, 卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代。

在一些实施例中,

n 的数值为 0 或 1;

5 R^1 为苯基;

R^2 为苯基;

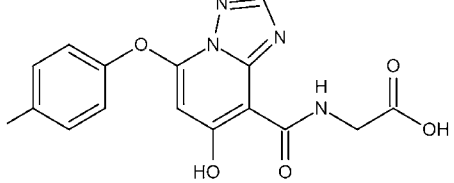
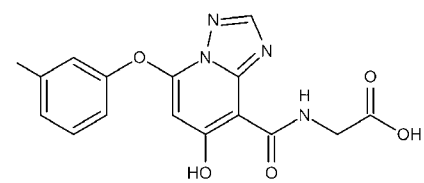
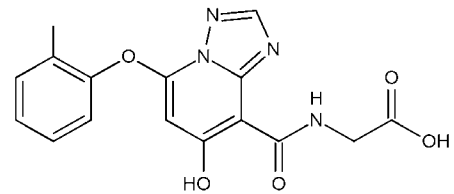
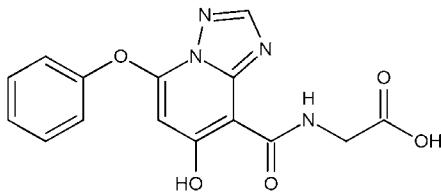
R^3 为取代或未取代的 C_{1-3} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环, 所述取代基为甲基、甲氧基、卤素或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环; 优选地, 所述甲基、甲氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代, 卤素相对于母核结构

10 为邻位、间位或对位取代。

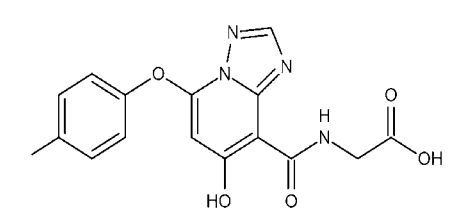
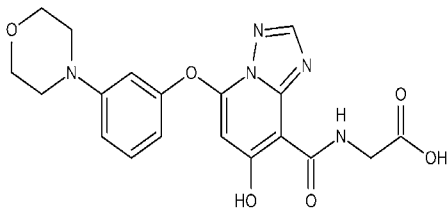
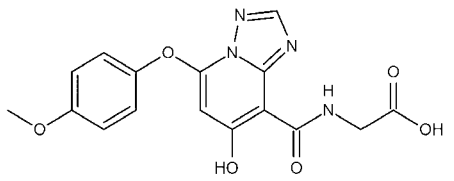
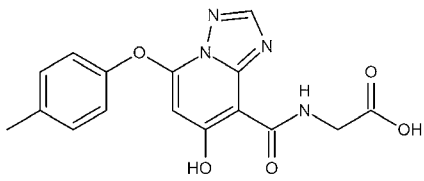
R^4 为氢。

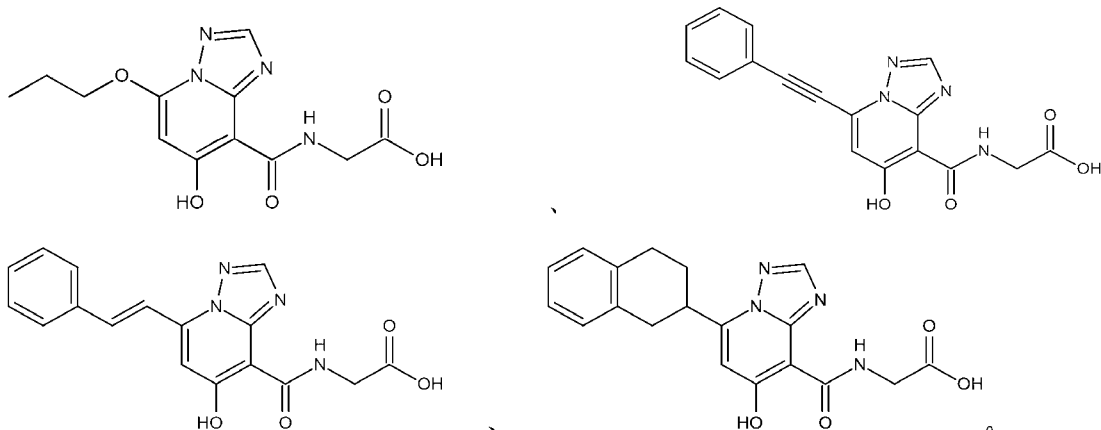
术语“母核结构”是指式 (I) 所示的化合物结构中除 R 基团以外的剩余主体结构。

在一些实施例中, 所述化合物选自以下结构:

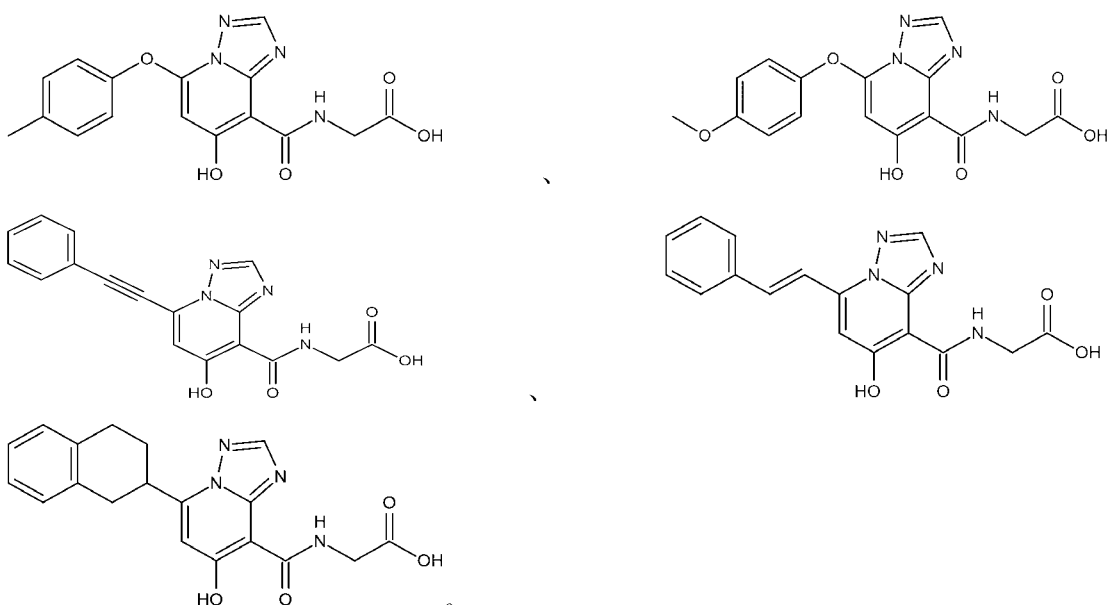


15



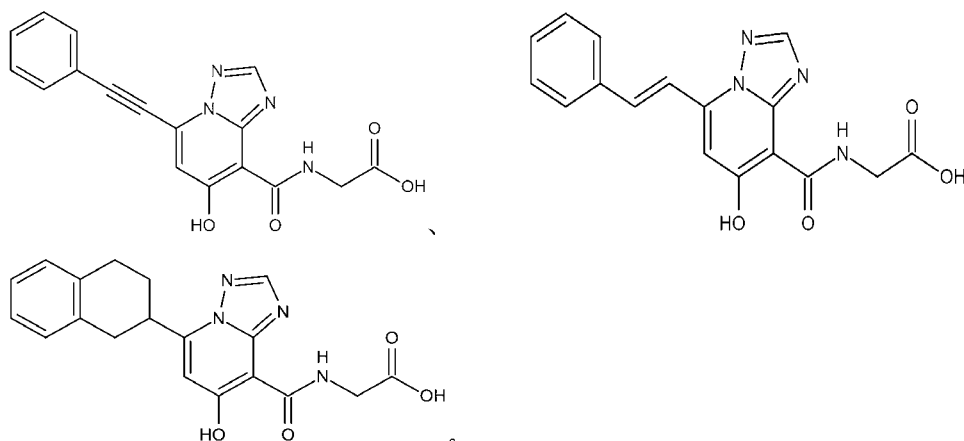


在一些实施例中，所述化合物选自以下结构：



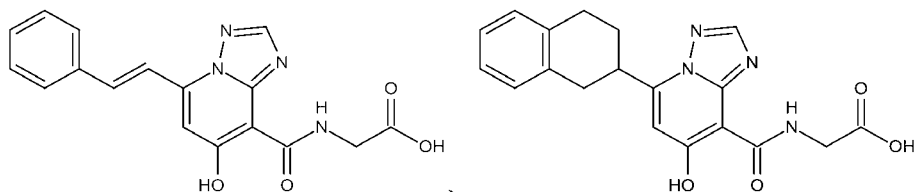
5

在一些实施例中，所述化合物选自以下结构：

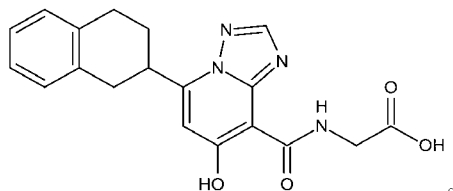


10

在一些实施例中，所述化合物选自以下结构：

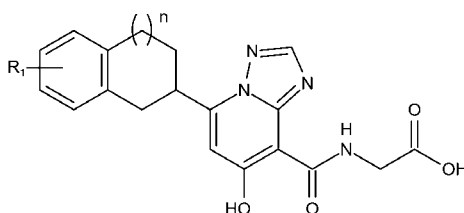


在一些实施例中，所述化合物选自以下结构：



在一些实施例中，本发明提供一种式（II）所示的化合物或其立体异构体、几何异构体、

5 互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药；



（II）

其中，

n 的数值为 0-3 之间的整数；

10 R_1 选自芳环上单取代或多取代的氢、卤素、取代或未取代的烷基、环烷基、烷氧基、芳基、杂环基。

在一些实施例中，式（II）化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药的芳基包括芳杂环。

15 在一些实施例中，式（II）化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药的 n 的数值为 0-2 之间的整数； R_1 选自氢、卤素、取代或未取代的烷基、环烷基、烷氧基、芳基、杂环基。

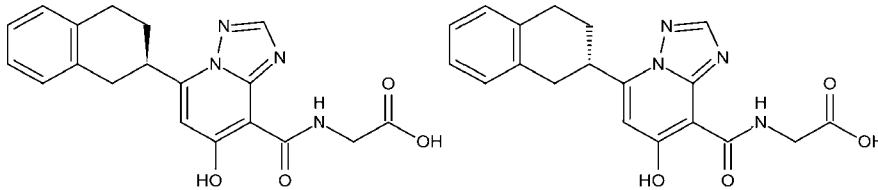
在一些实施例中，式（II）化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药的 n 的数值为 0 或 1； R_1 选自氢、卤素、取代或未取代的烷基、环烷基、烷氧基、芳基、杂环基。

20 在一些实施例中，式（II）化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药的 n 的数值为 0 或 1； R_1 为氢、取代或未取代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂

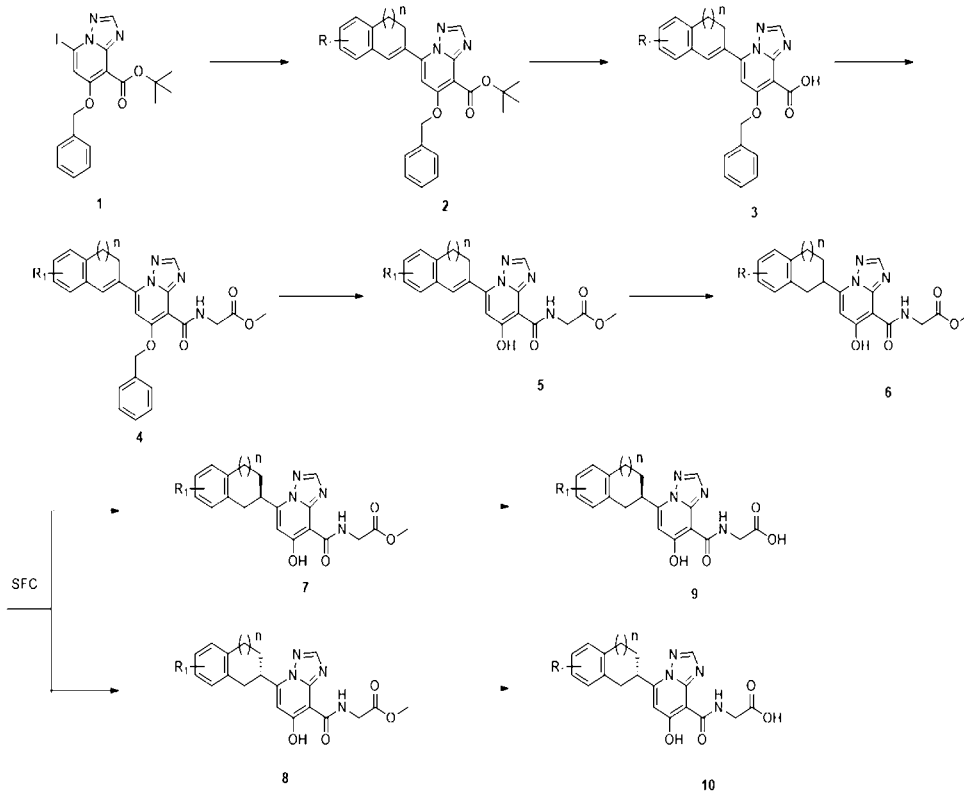
环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种。

在一些实施例中，式 (II) 化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药的 n 的数值为 1； R_1 为氢。

5 在一些实施例中，式 (II) 化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药选自以下结构：



在一些实施例中，式 (II) 化合物的制备方法，其特征在于，使用以下合成路线：



10 在一些实施例中，包括一种药物组合物，包含式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药，以及一种或多种可药用载体、稀释剂、赋形剂。

15 在一些实施例中，式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药，或者上述药物组合物在制备用于通过抑制辅氨酰羟化酶来治疗抑制辅氨酰羟化酶介导的疾病的药物中的用途。

在一些实施例中，所述抑制辅氨酰羟化酶介导的疾病为贫血、局部缺血、缺氧。

在一些实施例中，所述抑制辅氨酰羟化酶介导的疾病为肾性贫血。

本发明中 FG-4592 为罗沙司他。

5 [(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸，在持续慢性给药中，表现出优秀的药理学作用，数据具有显著性，能够显著增加 SD 大鼠血红蛋白水平和 EPO 水平，且整体效果显著优于阳性药 Enarodustat（恩那司他）。

优选地，本发明实施例中各步制备得到的中间体纯度可 95% 以上。

除非有说明，本文所用的术语“烷基”包括具有特定数目碳原子的支链和直链饱和的脂肪烃基团，包括所有异构体。烷基的常用缩写例如甲基可以用“Me”或 CH_3 表示，乙基可以用“Et”或 CH_2CH_3 表示，丙基可以用“Pr”或 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 表示，丁基可以用“Bu”或 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 表示等。例如“ C_{1-4} 烷基”（或“ $\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基”）是指具有特定数目碳原子的直链或支链烷基，包括所有异构体。 C_{1-4} 烷基包括正、异、仲和叔丁基、正和异丙基，乙基和甲基。术语“ C_{1-10} 烷基”等具有类似的含义。

术语“烷氧基”表示通过氧桥连接的标明数目碳原子的直链和支链烷基。

15 术语“卤素”（或“卤代”）是指氟、氯、溴和碘（或者称为氟代(F)、氯代(Cl)、溴代(Br)和碘代(I)）。

术语“芳基”是指芳香的单和多碳环系统，其中在多环系统中各个碳环是稠合的或通过单键相互连接。一般芳基包括苯基、萘基和亚联苯基。

20 术语“杂环”是指碳原子及非碳原子构成的环状结构，环中的非碳原子举例如氮、氧和硫等。一般杂环基包括吡啶、喹啉、托烷、吩噻嗪、苯并二氮杂卓、呋喃、吡唑酮和噻啉。

术语“芳杂环”是指 5 或 6 元单环芳香环或 7-12 元双环，其由碳原子和一个或多个选自 N、O 和 S 的杂原子构成。芳杂环举例包括吡啶基、吡咯基、吡嗪基、噻啉基、噻吩基、噻吩基(或噻吩基(thiophenyl))、噻唑基、呋喃基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、唑基、异唑基、二唑基、噻唑基、异噻唑基和噻二唑基、苯并三唑基、吲哚基、异吲哚基、吲唑基、二氢吲哚基、异二氢吲哚基、喹啉基、喹唑啉基、噌啉基、色满基、异色满基、四氢喹啉基、喹啉基、四氢异喹啉基、异喹啉基、2, 3-二氢苯并呋喃基、2, 3-二氢苯并-1, 4-二烯基、咪唑并(2, 1-b)(1, 3)噻唑和苯并-1, 3-间二氧杂环戊烯基。

30 术语“取代芳基”中的芳基如前定义，当未指定取代芳基的取代基时，取代基可选自下列基团，包括但不限于：卤素、 $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ 烷基、 CF_3 、 NH_2 、 $\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_6 \text{ 烷基})_2$ 、 NO_2 、氧代、CN、 N_3 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{O}(\text{C}_1\text{-C}_6 \text{ 烷基})$ 、 $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ 环烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基、 $(\text{C}_0\text{-C}_6 \text{ 烷基})\text{S}(\text{O})_{0-2}$ 、芳

基-S(O)₀₋₂-、(C₀-C₆ 烷基)S(O)₀₋₂(C₀-C₆ 烷基)-、(C₀-C₆ 烷基)C(O)NH-、H₂N-C(NH)-、-O(C₁-C₆ 烷基)CF₃、(C₀-C₆ 烷基)C(O)-、(C₀-C₆ 烷基)OC(O)-、(C₀-C₆ 烷基)₂NC(O)-(C₀-C₆ 烷基)O(C₁-C₆ 烷基)-、(C₀-C₆ 烷基)C(O)₁₋₂(C₀-C₆ 烷基)-、(C₀-C₆ 烷基)OC(O)NH-、芳基、芳烷基、杂芳基、杂环基烷基、卤素-芳基、卤素-芳烷基、卤素-杂环、卤素-杂环基烷基、氰基-芳基、氰基-芳烷基、氰基-杂环和氰基-杂环基烷基。术语“取代苯基”具有类似的定义。

除非明确说明，本文列出的所有范围是包含性的。例如，“n 的数值为 0-2 之间的整数”是指 n 可以是 0、1 或 2。

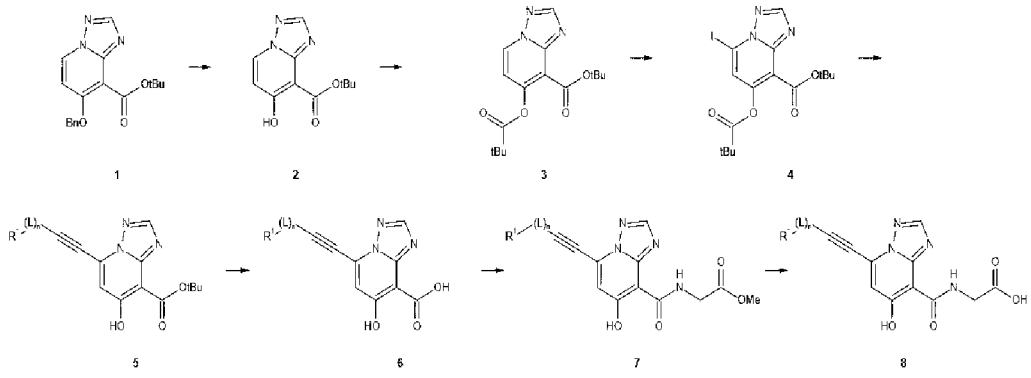
术语“药学上可接受的盐”是指由药学可接受的无毒碱或酸制备的盐。当本发明的化合物是酸性时，其相应的盐可以容易地由无机碱或有机碱制备。衍生自这种无机碱的盐包括铝、铵、钙、铜(铜和亚铜)、铁、亚铁、锂、镁、锰(锰和亚锰)、钾、钠、锌等盐。优选的为铵、钙、镁、钾和钠等盐。由有机碱制备的盐包括来源于天然和合成来源的伯胺、仲胺和叔胺。可以形成盐的药学可接受的有机无毒碱包括精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N, N'-二苄基亚乙基二胺、二乙基胺、2-二乙氨基乙醇、2-二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡萄糖胺、氨基葡萄糖、组氨酸、哈胺(hydrabamine)、异丙胺、二环己基胺、赖氨酸、甲基葡萄糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤类、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨丁三醇等。当本发明的化合物是碱性时，其相应的盐可以容易地由无机酸或有机酸制备。这种酸包括例如乙酸、苯磺酸、苯甲酸、樟脑磺酸、柠檬酸、乙磺酸、富马酸、葡糖酸、谷氨酸、氢溴酸、盐酸、羟乙基磺酸、乳酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、粘酸、硝酸、扑酸、泛酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸、对甲苯磺酸等。

术语“溶剂化物”是指由溶质(即式 (I) 化合物)或其药学可接受的盐和不妨碍溶质生物活性的溶剂形成的可变化学计量的复合物。溶剂的实例包括但不限于水、乙醇和乙酸。当溶剂是水时，该溶剂化物称为水合物。水合物包括但不限于半、一、一倍半、二和三水合物。

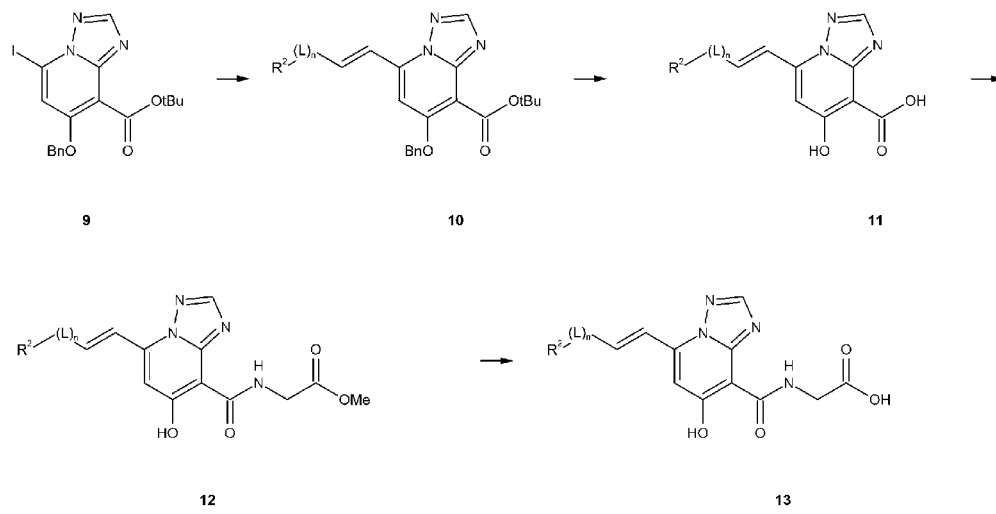
术语“前药”是本发明化合物的功能性衍生物，其在体内容易转化为需要的化合物。

另一方面，本发明提供上述化合物的制备方法，包括以下四种合成路线：

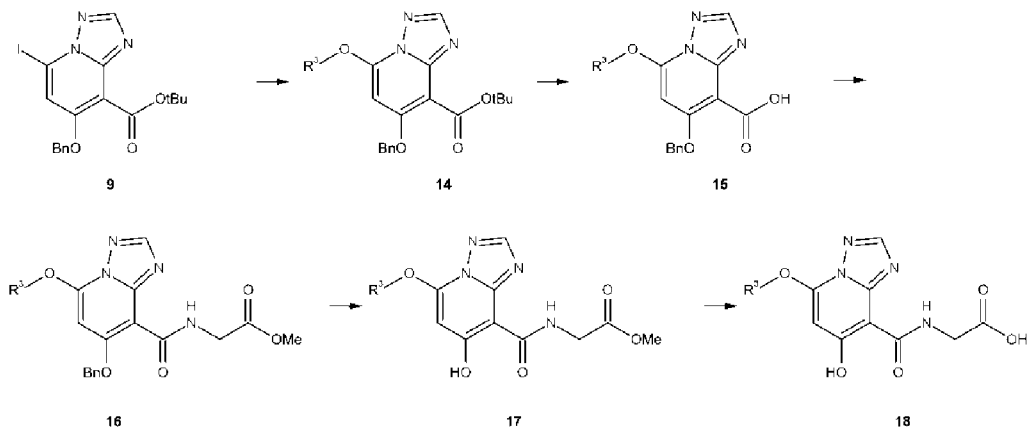
路线 1:



路线 2:

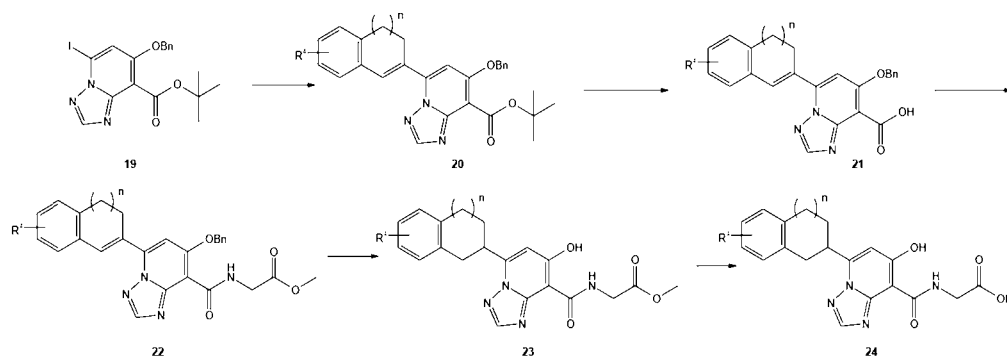


路线 3:



5

路线 4:



其中， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 具有与前述相同的定义。

再一方面，本发明提供一种药物组合物，包含式（I）所示的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药，以及一种或多种可药用载体、稀释剂、赋形剂。

在药物组合物中，术语“组合物”包括包含活性成分和组成载体的惰性成分(药学可接受的赋形剂)的产品，以及任何由两种或多种成分的组合、络合或者聚集、或一种或多种成分的分解、或由一种或多种成分的其他类型反应或相互作用直接或间接地得到的产品。因此，本发明的药物组合物包括任何通过混合式（I）和/或式（II）化合物、其它活性成分和药学可接受的赋形剂制备的组合物。

本发明的药物组合物包含作为活性成分的式（I）和/或式（II）所示的化合物(或其药学可接受的盐或溶剂化物)、药学可接受的载体和任选的其它治疗性成分或佐剂。药物组合物包括适合口服、直肠、局部和胃肠外(包括皮下、肌肉和静脉内)给药的组合物，虽然在任何特定的情况下最合适的途径取决于特定的主体、对其给予活性成分的病症的性质和严重程度。药物组合物可以通过药剂学领域公知的任何方法制备。

活性成分可以以固体剂型或液体剂型口服给药，所述固体剂型例如胶囊、片剂、锭剂、糖锭剂、颗粒和粉剂，所述液体剂型例如酞剂、糖浆剂、乳剂、分散体和混悬液。活性成分还可以以无菌液体剂型例如分散体、混悬液或溶液胃肠外给药。可以用于将活性成分进行给药的其它剂型还有用于局部给药的软膏、乳膏、滴剂、经皮贴剂或粉剂；用于眼睛给药的眼用溶液或混悬液形式，即滴眼液；用于吸入或鼻内给药的喷雾剂或粉末组合物，或用于直肠或阴道给药的乳膏、软膏、喷雾剂或栓剂。明胶胶囊包含活性成分和粉状载体，例如乳糖、淀粉、纤维素衍生物、硬脂酸镁、硬脂酸等。可以使用类似的稀释剂来制备压制片剂。片剂和胶囊都可以被制备成缓释产品以在数小时内提供药物的持续释放。压制片剂可以包糖衣或包膜衣以掩盖任何令人不愉快的味道和保护该片剂不受空气影响，或者可以包肠溶衣用于在胃肠道内选择性崩解。用于口服给药的液体剂型可包含着色剂和矫味剂以增加患者的接受性。

一般而言，水、合适的油、盐水、右旋糖(葡萄糖)水溶液、以及相关的糖溶液和二醇类如丙二醇或聚乙二醇是合适的胃肠外溶液的载体。用于胃肠外给药的溶液优选包含活性成分的水溶性盐、合适的稳定剂和根据需要使用的缓冲物质。抗氧化剂例如单独或组合的亚硫酸氢钠、亚硫酸钠或抗坏血酸是合适的稳定剂。还可以使用柠檬酸及其盐和 EDTA 钠。此外，胃肠外溶液还可以包含防腐剂，例如苯扎氯铵、尼泊金甲酯或尼泊金丙酯和氯丁醇。对于吸入给药而言，本发明的化合物可以方便地从加压包装或喷雾器中以喷雾剂形式递送。该化合物还可以以进行配制的粉末形式递送，该粉末组合物可以在吹入粉末吸入器装置的帮助下吸入。优选的用于吸入的递送系统是定量吸入(MDI)气雾剂，其可以配制成式 (I) 和/或式 (II) 的化合物在合适的推进剂中的混悬液或溶液，所述推进剂例如碳氟化合物或烃。对于眼睛给药而言，眼用制剂可以用式 (I) 和/或式 (II) 化合物在合适眼用载体中的合适重量百分比的溶液或混悬液进行配制，从而保持化合物与眼睛表面接触足够的时间以使化合物渗透到眼睛的角膜和内部区域。

用于给予本发明化合物的有用的药物剂型包括但不限于硬和软明胶胶囊、片剂、胃肠外注射液和口服混悬液。

当本发明的化合物逐步给药或与其它治疗剂结合给药时，可以使用和前述相同的剂型。当药物以物理组合给药时，剂型和给药途径应根据组合药物的相容性选择。本发明的化合物可以作为唯一活性成分或与第二活性成分组合给药，所述第二活性成分包括其已知可用于提高患者促红细胞生成素水平的活性成分。

再一方面，本发明提供式 (I)、式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药，或者上述药物组合物在制备用于通过抑制辅氨酰羟化酶来治疗抑制辅氨酰羟化酶介导的疾病的药物中的用途。

在一些实施例中，所述抑制辅氨酰羟化酶介导的疾病为贫血、局部缺血、缺氧。

在一些实施例中，所述贫血为肾性贫血。

本发明的有益效果为：

提出一种新的化合物，可以作为辅氨酰羟化酶抑制剂，具有较高的辅氨酰羟化酶抑制活性和 EPO 诱导活性，可以有效治疗和预防 HIF 相关和/或 EPO 相关的病症，为贫血、局部缺血和缺氧等病症提供新思路。

附图说明

图 1 为乙酸甲酯手性异构体 A 单晶样品的显微镜照片；

图 2 为乙酸甲酯手性异构体 A 晶体结构的不对称单元图；

图 3 为乙酸甲酯手性异构体 A 晶体结构的晶胞图；

图 4 为乙酸甲酯手性异构体 A 晶体结构的堆积图；

图 5 为乙酸甲酯手性异构体 A 单晶样品和计算所得的 XRPD 对比图；

图 6 为乙酸甲酯手性异构体 A 的化学结构图；

5 图 7 为乙酸甲酯手性异构体 B 单晶样品的显微镜照片；

图 8 为乙酸甲酯手性异构体 B 晶体结构的不对称单元；

图 9 为乙酸甲酯手性异构体 B 晶体结构的晶胞图；

图 10 为乙酸甲酯手性异构体 B 晶体结构的堆积图；

图 11 为乙酸甲酯手性异构体 B 单晶样品实际测定和计算所得的 XRPD 对比图；

10 图 12 为乙酸甲酯手性异构体 B 的化学结构图。

具体实施方式

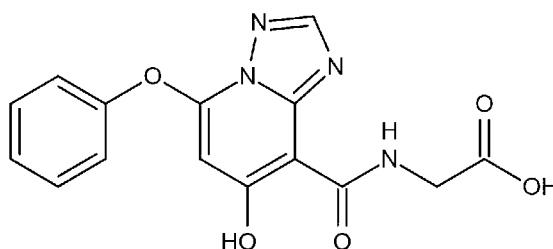
以下非限制性实施例可以使本领域的普通技术人员更全面的理解本发明，但不以任何方式限制本发明。下述内容仅仅是对本申请要求保护的范围的示例性说明，本领域技术人员可以根据所公开的内容对本申请的发明作出多种改变和修饰，而其也应当属于本申请要求保护的

15 的范围之中。

下面以具体实施例的方式对本发明作进一步的说明。本发明实施例中所使用的各种化学试剂如无特殊说明均通过常规商业途径获得。

实施例 1

(7-羟基-5-(苯氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧基)氨基乙酸的制备



20

步骤 1 制备 5-(苯氧基)-7-(苯氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯

将 5-碘-7-(苯氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (1.0 g)，苯酚 (310 mg)，2-吡啶甲酸 (55 mg)，碘化亚铜 (42 mg)，磷酸钾 (942 mg)，二甲亚砜 (5.0 mL) 依次加入反应瓶中，并置换氮气三次。升温至 65 °C，反应过夜，直至 TLC 监测原料反应完全。

25 待冷却至室温，乙酸乙酯萃取，饱和食盐水洗涤，分离有机相，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，柱层析得白色固体 450 mg。

MS m/z (ESI)[M+H]⁺: 418.30

步骤 2 制备 5-(苯氧基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-甲酸

将 5-(苯氧基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (450 mg) 溶于体积比为 1: 1 的甲苯和四氢呋喃的混合溶液中 (10 mL), 然后加入甲磺酸 (0.5 mL) 并搅拌, 保持
5 反应温度在 60-70 °C 之间。直至 TLC 监测原料反应完全, 停止反应。冷却至室温, 加入少量乙酸乙酯, 过滤, 得到白色固体 440 mg。

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 362.22

步骤 3 制备[(7-(苄氧基)-5-(苯氧基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯

将 5-(苯氧基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-甲酸 (440 mg), EDCI (280 mg),
10 HoBt (197 mg), N,N-二甲基甲酰胺 (5.0 mL), 三乙胺 (247 mg) 依次加入反应瓶中, 室温下搅拌 10 分钟, 然后将甘氨酸甲酯盐酸盐 (306 mg) 加入体系中, 并升温至 60 °C 反应 1.5 小时。停止反应, 冷却至室温, 加入饱和碳酸氢钠水溶液淬灭反应, 抽滤得到黄色固体 300 mg。

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 433.31

步骤 4 制备[(7-羟基-5-(苯氧基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯

将[(7-(苄氧基)-5-(苯氧基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯 (300 mg),
15 钯碳 (30 mg) 溶于体积比为 1:1 的甲醇和四氢呋喃混合溶剂 (4.0 mL), 在氢气环境下, 室温搅拌, 直至 TLC 监测原料反应完全, 停止反应。减压浓缩除去溶剂, 柱层析分离, 得到产物 170 mg。

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 343.22

20 步骤 5 制备[(7-羟基-5-(苯氧基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸

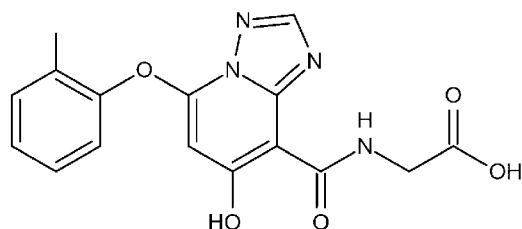
将[(7-羟基-5-(苯氧基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯 (170 mg) 溶于甲醇 (2.0 mL) 中, 随后加入 30%氢氧化钠水溶液 (1.0 mL), 室温搅拌, 直至 TLC 监测原料反应完全, 用稀盐酸调节 pH 至 1-2 之间, 过滤, 得到产物 150 mg。

¹H NMR (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.52 (s, 1H), 12.95 (brs, 1H), 9.71 (s, 1H), 8.59 (s, 1H),
25 7.59–7.53 (m, 2H), 7.44–7.41 (m, 3H), 5.83 (s, 1H), 4.20 (d, J = 5.6 Hz, 2H)

MS m/z (ESI): 329.09

实施例 2

(5-(2-氯苯氧基)-7-羟基-[1,2,4]三唑基[1,5-a]吡啶-8-羰基) 甘氨酸的制备



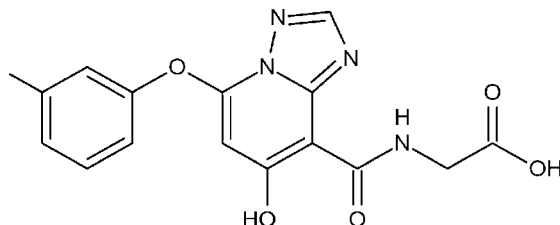
按实施例 1 的方法，用 428.1 mg 的 2-氯苯酚替换苯酚，得到产物 108.9 mg。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.58 (s, 1H), 12.97 (brs, 1H), 9.71 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.63 (s, 1H), 7.75 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.54 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.47 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 5.89 (s, 1H), 4.21 (d, J = 5.6 Hz, 2H)

MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 363.17

实施例 3

(5-(3-氯苯氧基)-7-羟基-[1,2,4]三唑基[1,5-a]吡啶-8-羰基) 甘氨酸的制备



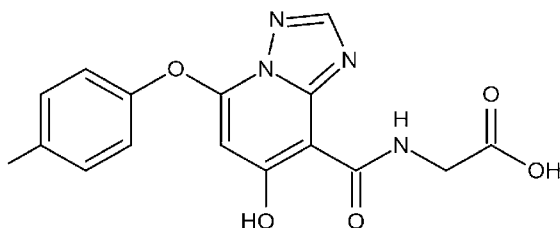
按实施例 1 的方法，用 428.1 mg 的 3-氯苯酚替换苯酚，得到产物 201.6 mg。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, d-DMSO) 14.54 (s, 1H), 12.97 (brs, 1H), 9.72 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.57 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.41 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 4.21 (d, J = 5.6 Hz, 2H)

MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 363.14

实施例 4

(5-(4-氯苯氧基)-7-羟基-[1,2,4]三唑基[1,5-a]吡啶-8-羰基) 甘氨酸的制备



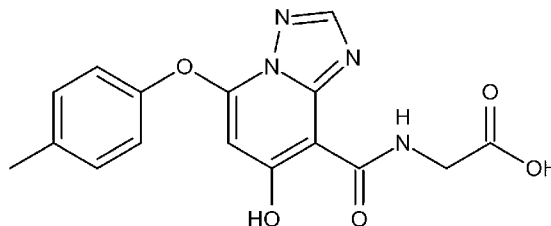
按实施例 1 的方法，用 428.1 mg 的 4-氯苯酚替换苯酚，得到产物 182.1 mg。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.54 (s, 1H), 12.96 (s, 1H), 9.72 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.62 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.48 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.02 (s, 1H), 4.21 (d, J = 5.6 Hz, 2H)

MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 363.14

实施例 5

(5-(对甲苯氧基)-7-羟基-[1,2,4]三唑基[1,5-a]吡啶-8-羧基) 甘氨酸的制备



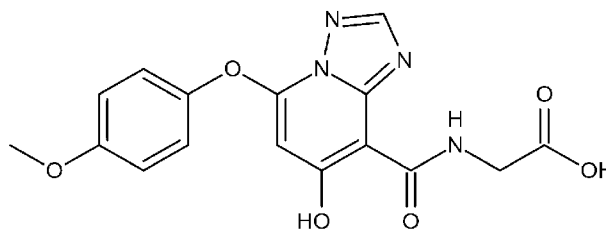
按实施例 1 的方法，用 356.9 mg 的 4-甲基苯酚替换苯酚，得到产物 87.7 mg。

5 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.51 (s, 1H), 12.95 (s, 1H), 9.69 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.37 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.77 (s, 1H), 4.20 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H)

MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 343.16

实施例 6

10 (5-(对甲氧基苯氧基)-7-羟基-[1,2,4]三唑基[1,5-a]吡啶-8-羧基) 甘氨酸的制备



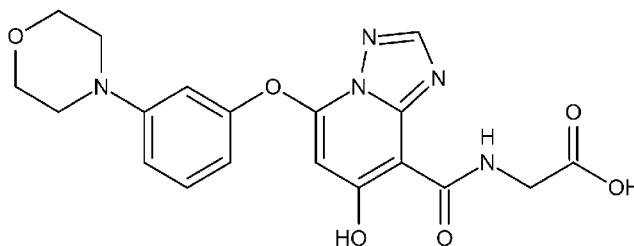
按实施例 1 的方法，用 (409.2 mg) 4-甲氧基苯酚替换苯酚，得到产物 223.7mg。

15 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.51 (s, 1H), 12.96 (s, 1H), 9.70 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.39 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.11(d, J = 8.8 Hz, 2H), 5.72 (s, 1H), 4.21 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H)

MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$:359.22

实施例 7

(5-(3-吗啉苯氧基)-7-羟基-[1,2,4]三唑基[1,5-a]吡啶-8-羧基) 甘氨酸的制备



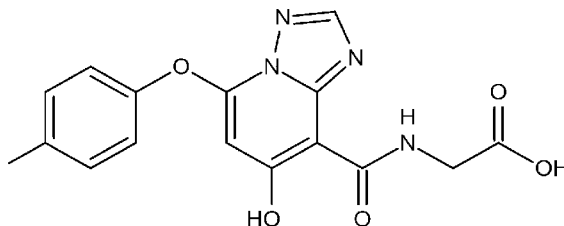
20 按实施例 1 的方法，用 (590 mg) 3-吗啉苯酚替换苯酚，得到产物 110.7 mg。

^1H NMR (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.51 (s, 1H), 12.95 (brs, 1H), 9.70 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.39 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.99 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 6.80 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 5.82 (s, 1H), 4.21 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.73 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 3.18 (t, J = 4.8 Hz, 4H)

MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 414.23

5 实施例 8

(5-(4-氟苯氧基)-7-羟基-[1,2,4]三唑基[1,5-a]吡啶-8-羰基) 甘氨酸的制备



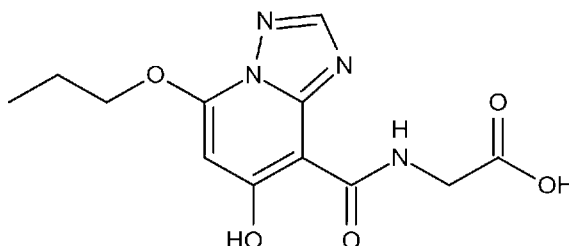
按实施例 1 的方法，用 (369.6 mg) 4-氟苯酚替换苯酚，得到产物 239.3 mg。

^1H NMR (400 MHz, d-DMSO) 14.53 (s, 1H), 12.98 (brs, 1H), 9.71 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.53–7.49 (m, 2H), 7.43–7.38 (m, 2H), 5.86 (s, 1H), 4.20 (d, J = 5.6 Hz, 2H)

MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 347.14

实施例 9

(5-(丙氧基)-7-羟基-[1,2,4]三唑基[1,5-a]吡啶-8-羰基) 甘氨酸的制备



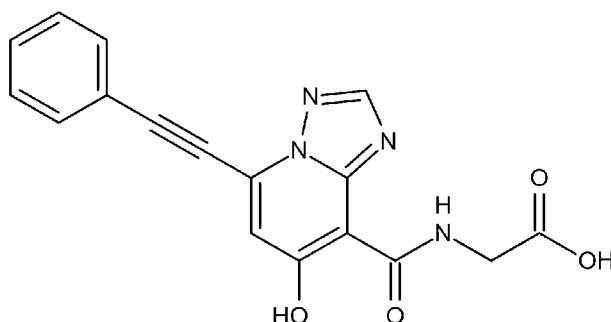
15 按实施例 1 的方法，用 (2 ml) 正丙醇替换苯酚，得到产物 20.1 mg。

^1H NMR (400 MHz, d-DMSO) 14.51 (s, 1H), 12.92 (brs, 1H), 9.65 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.47 (s, 1H), 6.44 (s, 1H), 4.39 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.18 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 1.91–1.82 (m, 2H), 1.03 (t, J = 7.2 Hz, 3H)

MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 295.12

20 实施例 10

[(7-羟基-5-(苯乙炔基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸的制备



步骤 1 制备 7-羟基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯

在反应瓶中，将 7-(苯氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (15 g) 溶于甲醇和四氢呋喃的混合溶液中 (25 mL/50 mL)，并在氢气的环境下室温搅拌，直至 TLC 监测原料反应完全，停止反应。过滤除去溶液中的钯碳，然后将滤液减压浓缩，得到粗产物 11.7 g。

MS m/z (ESI): [M+H]⁺:236.24

步骤 2 制备 7-(特戊酰氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯

将 7-羟基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (10.7 g) 置于反应瓶中并加入四氢呋喃 (65 mL)，然后依次加入三乙胺 (8.0 mL)，特戊酰氯 (9.1 g)。置换三次氮气并密封反应瓶。将反应混合物加热至 60 °C 并搅拌过夜。直至 TLC 监测原料反应完全，停止反应。待反应液冷却至室温后，反应液用乙酸乙酯萃取，饱和碳酸氢钠水溶液，饱和氯化铵水溶液，饱和食盐水依次冲洗，而后减压浓缩，得到黄色固体 12.0 g。

MS m/z (ESI): [M+H]⁺:320.36

步骤 3 制备 5-碘-7-(特戊酰氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯

将 7-(特戊酰氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (10.0 g) 溶于四氢呋喃 (50 mL) 溶液中，然后加入碘单质 (8.75 g)，并将反应温度保持在 -60 °C 之下。5 分钟后分批加入六甲基二硅基锂 (62.7 mL, 1.0 M)，并搅拌直至 TLC 监测原料反应完全。随后加入盐酸乙酸乙酯溶液淬灭反应，乙酸乙酯萃取，亚硫酸钠水溶液洗涤。分离有机相，并使用饱和氯化铵水溶液，饱和碳酸氢钠水溶液，饱和食盐水依次洗涤。分离有机相并减压浓缩，粗产物柱层析得产物 5.9 g。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.36 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.45 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 2.31 (s, 6H)

MS m/z (ESI): [M+H]⁺: 446.26

步骤 4 制备 5-(苯乙炔基)-7-羟基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯

将 5-碘-7-(特戊酰氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (5.9 g)，碘化亚铜 (70 mg)，

Pd(dppf)Cl₂ (285 mg), 四氢呋喃 (30 mL), 三乙胺 (6.6 g), 苯乙炔 (2.1g) 依次加入反应瓶中。置换氮气三次, 升温至 50 °C 反应, 直至 TLC 监测原料反应完全, 加入氨水猝灭反应。乙酸乙酯萃取, 分离有机相。氨水层用盐酸洗涤, 乙酸乙酯萃取, 随后合并有机相, 减压浓缩, 柱层析纯化, 得红色固体 1.9 g。

5 MS m/z (ESI): [M+H]⁺: 336.36

步骤 5 制备 5-(苯乙炔基)-7-羟基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-甲酸

将 5-(苯乙炔基)-7-羟基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (1.8 g) 溶于体积比为 2:1 的甲苯和乙酸乙酯的混合溶液中 (24 mL), 然后加入甲磺酸 (2.1 g) 并搅拌, 保持反应温度在 60-70 °C 之间。直至 TLC 监测原料反应完全, 停止反应。待反应液冷却至室温后, 加入
10 乙酸乙酯 (10 mL), 析出大量固体, 过滤得到绿色固体。随后将固体用少量 N,N-二甲基乙酰胺溶解, 并往体系中加入乙酸乙酯, 析出固体, 过滤得粗产物 1.0 g。

MS m/z (ESI): [M+H]⁺: 280.26

步骤 6 制备[(7-羟基-5-(苯乙炔基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧基)氨基]乙酸甲酯

在反应瓶 A 中, 将 5-(苯乙炔基)-7-羟基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-甲酸 (0.8 g) 溶于二
15 氯甲烷 (20 mL) 中, 滴加草酰氯 (0.76 g), 室温搅拌。在反应瓶 B 中, 将甘氨酸甲酯盐酸盐 (0.68 g), 二氯甲烷 (20 mL), 三乙胺 (3.0 mL) 依次加入, 并在 0 °C 下搅拌。TLC 监测反应瓶 A 中得原料反应完全, 停止反应瓶 A 中的搅拌, 并将反应瓶 A 中的物料加入反应瓶 B 中, 0 °C 下搅拌直至 TLC 监测原料反应完全, 用水淬灭反应。二氯甲烷萃取, 饱和氯化铵水溶液, 饱和碳酸氢钠水溶液依次洗涤有机相, 分离合并有机相, 减压浓缩后, 柱层析分
20 离, 得黄色固体 0.8 g。

MS m/z (ESI): [M+H]⁺: 351.33

步骤 7 制备[(7-羟基-5-(苯乙炔基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧基)氨基]乙酸

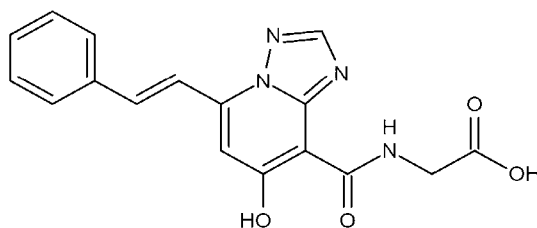
将[(7-羟基-5-苯乙炔基 [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧基)氨基]乙酸甲酯 (0.8 g) 溶于乙醇
(10 mL) 中, 随后加入氢氧化钠水溶液 (18 mL, 2.0 M), 室温搅拌, 直至 TLC 监测原料反
25 应完全, 用稀盐酸调节 pH 至 4-5, 过滤得淡黄色固体 0.42 g。

¹H NMR (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.33 (s, 1H), 13.04 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.74–7.72 (m, 2H), 7.61–7.53 (m, 3H), 7.37 (s, 1H), 4.24 (d, J = 5.6 Hz, 2H)

MS m/z (ESI): [M+H]⁺: 337.31

实施例 11

30 [(7-羟基-5-(苯乙炔基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧基)氨基]乙酸的制备



步骤 1 制备 5-(苯乙烯基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯

将 5-碘-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (500 mg), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (70.2 mg), 碳酸钠 (360 mg), 苯乙烯硼酸 (200 mg) 溶于体积比为 1:1 的乙二醇二甲醚和脱气水的混合溶剂 (30 mL) 中, 并置换氮气三次。随后在 80 °C 下搅拌, 直至 TLC 监测原料反应完全, 停止加热。待反应液冷却至室温后, 用乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗涤有机相。分离有机相, 减压浓缩, 柱层析分, 得到粗产物 340 mg。

步骤 2 制备 5-(苯乙烯基)-7-羟基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-甲酸

将 5-(苯乙烯基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (290 mg) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 溶液中, 并冷却至 -65 °C, 然后将三溴化硼二氯甲烷溶液 (3.4 mL, 1.0 M) 加入反应体系中并搅拌, 直至 TLC 监测原料反应完全。停止反应, 将溶液减压浓缩除去, 随后将残留物加入水 (10 mL) 和甲醇 (3.0 mL) 得混合溶剂中室温搅拌 1 小时, 过滤得到固体 250 mg。

MS m/z (ESI): [M+H]⁺: 282.04

步骤 3 制备[(7-羟基-5-(苯乙烯基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯

将 5-(苯乙烯基)-7-羟基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-甲酸 (143 mg), N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL), DIPEA (329 mg), PyBOP (395 mg), 甘氨酸甲酯盐酸盐 (178 mg) 依次加入反应瓶中, 室温搅拌过夜, 过滤出固体, 得到粗产物 50 mg。

MS m/z (ESI): [M+H]⁺: 353.28

步骤 4 制备[(7-羟基-5-(苯乙烯基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸

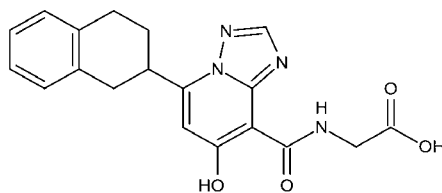
将[(7-羟基-5-(苯乙烯基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯 (50 mg) 溶于甲醇 (2.0 mL) 中, 随后加入 30% 氢氧化钠水溶液 (1.0 mL), 室温搅拌, 直至 TLC 监测原料反应完全, 用稀盐酸调节 pH 至 1-2 之间, 过滤, 得到产物 10 mg。

¹H NMR (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.26 (s, 1H), 12.98 (s, 1H), 9.90 (t, J = 16.4 Hz, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.22 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.76–7.71 (m, 3H), 7.50–7.40 (m, 4H), 4.23 (d, J = 5.6 Hz, 2H)

MS m/z (ESI): [M+H]⁺: 339.21

实施例 12

[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸的制备



步骤 1 制备 5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯

将 5-碘-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (5.40 g), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (800 mg), 碳酸钾 (4.20 g), 3,4-二氢萘基-2-硼酸片呐醇酯 (3.10 g) 溶于体积比为 2:1 的乙二醇二甲醚和脱气水的混合溶剂 (30 mL) 中, 并置换氮气三次。随后在 80 °C 下搅拌, 直至 TLC 监测原料反应完全, 停止加热。待反应液冷却至室温后, 用乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗涤有机相。分离有机相, 减压浓缩, 柱层析分, 得到粗产物 3.30 g。

步骤 2 制备 5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-甲酸

将 5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (3.30 g) 溶于体积比为 3:1 的甲苯与乙酸乙酯的混合溶液 (28 mL), 然后将甲磺酸 (2.80 g) 加入反应体系中并搅拌, 直至 TLC 监测原料反应完全, 向反应体系中加入乙酸乙酯 (20.0 mL) 搅拌析晶, 抽滤、收集固体。随后用 DMF/H₂O (20.0 mL /40.0 mL) 打浆, 搅拌析晶, 抽滤、收集固体, 得到淡青色固体 2.70 g。

步骤 3 制备 [5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基] 乙酸甲酯

将 5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯 (2.70 g), N,N-二甲基甲酰胺 (20.0 mL), HOBt (1.10 g), EDCI (1.40 g), 甘氨酸甲酯盐酸盐 (0.90 g), 三乙胺 (1.50 g) 依次加入反应瓶中, 室温搅拌, 直至 TLC 监测原料反应完全, 向反应体系中加入水 (30.0 mL) 搅拌析晶, 抽滤、收集固体、干燥得类白色固体 (2.2 g)。

步骤 4 制备 [(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯

将 [5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸 (1.0 g) 溶于四氢呋喃溶液 (8.0 mL) 中, 随后加入钯碳 (300 mg), 置换氢气, 室温搅拌, 直至 TLC 监测原料反应完全, 硅藻土过滤, 减压浓缩, 随后用异丙醚/正己烷 (1.5 mL/1.5 mL) 打浆, 过滤, 得类似白色固体约 500 mg。

步骤 5 制备 [(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸

将[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯(0.20 g)溶于乙醇溶液(2.0 mL)中,随后加入氢氧化钠水溶液(2.0 mL, 4.0M),室温搅拌,直至 TLC 监测原料反应完全,用稀盐酸调节 pH 至 6-7 之间,过滤,得到灰白色固体 200 mg。

¹H NMR (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.37 (brs, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.13 (s, 4H),
5 6.78 (s, 1H), 4.12 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 3.81–3.76 (m, 1H), 3.26–2.86 (m, 4H), 2.26–2.05 (m, 2H),
MS m/z (ESI): [M+H]⁺: 367.32

实施例 13 [(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸手性异构体 A 的制备

步骤 1 制备 5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯

10 将 5-碘-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯(5.40 g), Pd(PPh₃)₂Cl₂(800 mg), 碳酸钠(4.20 g), 3,4-二氢萘基-2-硼酸片呐醇酯(3.10 g)溶于体积比为 2:1 的乙二醇二甲醚和脱气水的混合溶剂(30 mL)中,并置换氮气三次。随后在 80 °C 下搅拌,直至 TLC 监测原料反应完全,停止加热。待反应液冷却至室温后,用乙酸乙酯萃取,饱和食盐水洗涤有机相。分离有机相,减压浓缩,柱层析分,得到粗产物 3.30 g。

15 步骤 2 制备 5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-甲酸

将 5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯(3.30 g)溶于体积比为 3:1 的甲苯与乙酸乙酯的混合溶液(28 mL),然后将甲磺酸(2.80 g)加入反应体系中并搅拌,直至 TLC 监测原料反应完全,向反应体系中加入乙酸乙酯(20.0 mL)搅拌析晶,抽滤、收集固体。随后用 DMF/H₂O(20.0 mL /40.0 mL)打浆,搅拌析晶,抽滤、收集
20 固体,得到淡青色固体 2.70 g。

步骤 3 制备[5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯

将 5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羧酸叔丁酯(2.70 g), N,N-二甲基甲酰胺(20.0 mL), HoBt(1.10 g), EDCI(1.40 g), 甘氨酸甲酯盐酸盐(0.90 g)依次加入反应瓶中,室温搅拌,直至 TLC 监测原料反应完全,向反应体系中加入水(30.0 mL)搅拌析晶,抽滤、收集固体、干燥得类白色固体(2.2 g)。

步骤 4 制备[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯

30 将[5-(3,4-二氢萘-2-基)-7-(苄氧基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸(1.0 g)溶于四氢呋喃溶液(8.0 mL)中,随后加入钯碳(300 mg),室温搅拌,直至 TLC 监测原料反

应完全，硅藻土过滤，减压浓缩，随后用异丙醚/正己烷（1.5 mL/1.5 mL）打浆，过滤，得类似白色固体约 500 mg。

步骤 5 制备[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基] 乙酸甲酯手性异构体 A（乙酸甲酯手性异构体 A）

5 将前一步合成得到的产物进行手性拆分，拆分 5g [(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基] 乙酸甲酯。拆分条件：（手性柱：(S,S)Whelk-O1, 5*25 厘米, 10 微米；流动相 A:CO₂, 流动相 B: ACN:IPA=1:1;流速：200 毫升/分钟；梯度：50%-50%；B 走 12 分钟；波长 220 纳米；出峰时间：8.50 分钟；样品溶液：甲醇：二氯甲烷=1:1；进样体积：2ML;进样针数：50）得到手性异构体 A:白色固体（2.060 克，收率 41.2%）

10 步骤 6 制备[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸手性异构体 A

将[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基] 乙酸甲酯手性异构体 A（0.20 g）溶于乙醇溶液（2.0 mL）中，随后加入氢氧化钠水溶液（1.0 mL, 4.0M），室温搅拌，直至 TLC 监测原料反应完全，用稀盐酸调节 pH 至 1-2 之间，过滤，得到灰白色
15 固体 200 mg。

¹H NMR (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.37 (brs, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.13 (s, 4H), 6.78 (s, 1H), 4.12 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 3.81–3.76 (m, 1H), 3.26–2.86 (m, 4H), 2.26–2.05 (m, 2H),

MS m/z (ESI): [M+H]⁺: 367.32

[α]_D²⁰ = +37.384 (c 1.01, DMF)。

20

实施例 14 [(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸手性异构体 B 的制备

步骤 1 制备[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基] 乙酸甲酯手性异构体 B

25 将合成得到的[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基] 乙酸甲酯进行手性拆分，拆分 5g。拆分条件：（手性柱：(S,S)Whelk-O1, 5*25 厘米, 10 微米；流动相 A:CO₂, 流动相 B: ACN:IPA=1:1;流速：200 毫升/分钟；梯度：50%-50%；B 走 12 分钟；波长 220 纳米；（OB 出峰时间）：10.09 分钟；样品溶液：甲醇：二氯甲烷=1:1；进样体积：2ML;进样针数：50）得到手性异构体 B（乙酸甲酯手性异构体 B）:白色固体（1.997
30 克，收率 39.94%）

步骤 2 制备[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸手性异构体 B

将[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基] 乙酸甲酯手性异构体 B (0.20 g) 溶于乙醇溶液 (2.0 mL) 中, 随后加入氢氧化钠水溶液 (1.0 mL, 4.0M), 5 室温搅拌, 直至 TLC 监测原料反应完全, 用稀盐酸调节 pH 至 1-2 之间, 过滤, 得到灰白色固体 200 mg。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, d-DMSO) δ : 14.37 (brs, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.13 (s, 4H), 6.78 (s, 1H), 4.12 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 3.81–3.76 (m, 1H), 3.26–2.86 (m, 4H), 2.26–2.05 (m, 2H),

MS m/z (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$: 367.32

10 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -36.601$ (c 1.01, DMF)。

实施例 15 生物学测试

1、PHD2 酶活抑制检测

1.1 试剂及耗材

15 PHD2 酶: 从 Active motif 处购买;

α -酮戊二酸钠盐: 从 Sigma 处购买;

FITC-HIF1 α : 从 GL 处购买;

多孔板 NuncTM 384: 从 Thermo Scientific 处购买。

1.2 试验方法

20 (1) 配制 1× Assay buffer (分析缓冲液);

(2) 化合物浓度梯度的配制: 受试化合物测试浓度为 10 μM 起始, 3 倍稀释, 10 个浓度, 复孔测试; 在 384 孔板中稀释成 100 倍终浓度的溶液, 然后用非接触式声波移液系统 Echo550 转移 100 nL 到 384 反应板中备用。阴性对照孔和阳性对照孔中分别加 100 nL 的 100%DMSO;

(3) 用 1× Assay buffer 配制 2 倍终浓度的酶溶液;

25 (4) 在化合物孔和阳性对照孔分别加 5 μL 的 2 倍终浓度的酶溶液;

(5) 在阴性对照孔中加 5 μL 的 1× Assay buffer;

(6) 1000 rpm 离心 30 秒, 振荡混匀后孵育 15 min;

(7) 用 1× Assay buffer 配制 2 倍终浓度的 tracer 溶液, 加入 5.0 μL 的 2 倍终浓度的 tracer 溶液, 起始反应;

30 (8) 将 384 孔板 1000 rpm 离心 30 秒, 振荡混匀 60 min, 从 Envision 多功能酶标仪 (Multimode

PlateReader, Perkin Elmer) 上读数得到 mP 值, 导出数据并进行处理, 得到待测化合物的抑制率, 化合物编号 1-12 分别对应实施例 1-12 制备的化合物, 结果如下表所示:

表 1

化合物编号	IC ₅₀ (nM)
FG-4592	89.2
Enarodustat	21.9
实施例 1 化合物	19.8
实施例 2 化合物	34.8
实施例 3 化合物	30.2
实施例 4 化合物	33.3
实施例 5 化合物	44.1
实施例 6 化合物	47.6
实施例 7 化合物	34.1
实施例 8 化合物	35.4
实施例 9 化合物	34.0
实施例 10 化合物	46.7
实施例 11 化合物	31.3
实施例 12 化合物	34.3

由上表可知, 本发明实施例化合物具有良好的 HIF-脯氨酰羟化酶抑制活性, 可见, 化合物 1-12 抑制活性好。

2、本发明化合物的体外促红细胞生成素(EPO)诱导活性实验

使用来自人肝癌的细胞株 Hep3B(ATCC), 对本发明实施例 10-12 的化合物的体外促红细胞生成素(EPO)诱导活性进行评价。将 Hep3B 细胞在 37 °C, 10%胎牛血清(FBS)的存在下, 在 EMEM 培养基(Eagle's Minimum Essential Medium)中培养。实验步骤如下:

- 10 (1)细胞准备: 在 96 孔板中接种细胞, 以每孔 2×10^4 , 每孔 100 μ L 的量进行铺板;
- (2)化合物浓度梯度的配制: 100 μ M, 20 μ M, 2 复孔检测。在 96 孔板中配置 200 倍终浓度的溶液, 使用细胞培养基再将化合物稀释 200/3 倍, 然后吸取 50 μ L 对细胞进行给药。阴性对照孔加 50 μ L 含 DMSO 的培养液使其终浓度含 5 % DMSO, 阳性对照孔加 50 μ L 的最高浓度阳性化合物, 37 °C 孵育 24 小时;

- (3)以每孔约 400 μ L 的 1X Wash Buffer 清洗反应板两次；
- (4)向适当的孔中加入 100 μ L 稀释好的的 standard（包括标准空白对照）；
- (5)向样品孔中加入 50 μ L 样品和 50 μ L Sample Diluent；
- (6)向所有孔中加入 50 μ L 1X Biotin Conjugated Antibody，室温孵育 1 小时；
- 5 (7)以每孔约 400 μ L 1X Wash Buffer 清洗 6 次反应板；
- (8)每孔加入 100 μ L 1X Streptavidin-HRP。室温孵育 15 分钟；
- (9)以每孔约 400 μ L 1X Wash Buffer 清洗 6 次反应板；
- (10)每孔加入 100 μ L TMB Substrate Solution。室温孵育 10 分钟；
- (11)每孔加入 100 μ L Stop Solution；
- 10 (12)用 EnSight 读取 OD450。

各化合物的 EPO 诱导活性表示为半数最大效应浓度(EC50)。实验结果如下表所示：

表 2

编号	EC ₅₀ (μ M)
FG-4592	13.79
Enarodustat	15.06
实施例 10 化合物	6.46
实施例 11 化合物	1.79
实施例 12 化合物	6.79
实施例 13 化合物	5.05
实施例 14 化合物	4.16

由上表可知，本发明的化合物具有较高的 EPO 诱导活性，可见，实施例 10-14 得到化合物的诱导活性好。

15 实施例 16 化合物药代动力学评价

1. 试验目的

测定 SD 大鼠静注或灌胃给予化合物后，采用 LC-MS/MS 方法检测血浆中相关化合物的浓度，初步评价实施例 13 及 14 制备得到的化合物在大鼠体内药动学及其绝对生物利用度。

2. 品系：Sprague Dawley 大鼠，性别：雄，体重：200-250 g

20 来源：浙江维通利华实验动物技术有限公司

3. 实验操作

以标准方案测试化合物静脉注射及口服给药后的啮齿类动物药代特征，实验中候选化合

物配成澄清溶液，给予大鼠单次静脉注射及灌胃给药。静注溶媒为一定比例的 N,N-二甲基乙酰胺（DMA）与 10% Solutol HS15 溶液，口服溶媒为一定比例的羧甲基纤维素钠（CMC）混悬液。动物给药后 5min、15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h、10 h 和 24 h 各采集血样至 K2EDTA 抗凝管中，于冰上暂存至离心。

5 实验结果：

供试品	半衰期 $T_{1/2}$ (h)	浓度积分 AUC (hr*ng/mL)	生物利用度 F (%)
Enarodustat	1.12	11440	30.1
实施例 13 化合物	2.02	19130	29.4
实施例 14 化合物	2.43	15740	31.3

由上表可知，本发明实施例 13 和 14 制备得到的化合物具有良好的 PK 性质，可见，实施例 13 和 14 制备得到的化合物半衰期明显更长，体内暴露量更高。

实施例 17 化合物药理学评价

1. 实验目的

10 本实验的目的是评价实施例 12、13、14 制备得到的化合物持续给药对 SD 大鼠 EPO（促红细胞生成素）的影响。

2. 动物

种属：大鼠

品系：SD（Sprague Dawley）

15 周龄及体重：8 周，体重 200-220g

性别：雄性

动物来源：北京维通利华实验动物技术有限公司

3. 受试化合物和阳性对照药信息

阳性药：Enarodustat

20 描述：日本批准上市的商品化药物

规格和含量：2mg JTZ-951（Enarodustat），140 粒/盒

4. 实验方案：

SD 大鼠经过适应性饲养一周后，随机分为 3 组，每组 6 只，分别为空白组、阳性药组（Enarodustat）和实施例 12 化合物组。Enarodustat 使用研钵碾碎药片后，定量加入 0.5% 的甲基纤维素，磁力搅拌混匀；实施例 12 制备得到的化合物称量后定量加入 0.5% 的甲基纤维

25

素，磁力搅拌混匀。所有化合物的终浓度均为 0.3 mg/mL，给药体积为 10 mL/kg。每日给药一次，连续 14 天，第 14 天给药后 4h 取血测 EPO 水平。

5. 结果及分析

结果显示，给药 14 天后阳性药 Enarodustat 和实施例 12、13、14 制备得到的化合物组大鼠血清中 EPO 的水平显著增加，且实施例 12、13、14 制备得到的化合物给药后血浆中的 EPO 水平显著高于阳性药 Enarodustat。

表 3 给药 14 天后 EPO 水平 (pg/mL)

	Vehicle	Enarodustat	实施例 12 化合物	实施例 13 化合物	实施例 14 化合物
1	36.7	452.8	2649.3	2904.6	2279.1
2	30.9	396.3	2904.6	2697.4	2095.6
3	31.8	483.2	2882.6	2904.6	1982.7
4	45.4	404.5	2904.6	2904.6	1943.6
5	49.6	418.4	2904.6	2658.5	2038.9
6	38.1	442.3	2904.6	2772.1	2137.6
平均值	38.8	432.9	2858.4	2807.0	2079.6

备注：2904.6 pg/mL 为测量上限。

综上所述，实施例 12、13、14 制备得到的化合物能够显著增加 SD 大鼠 EPO 水平，且整体效果显著优于阳性药 Enarodustat，表现出优秀的药理学作用。

实施例 18 实施例 13 的乙酸甲酯手性异构体 A 化合物手性构型测定

1、化合物制备

参照实施例 13 中，[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯手性异构体 A（步骤五）的制备方法，通过手性拆分的方法得到乙酸甲酯手性异构体 A，该异构体为实施例 13 中最终产物的前一步化合物（步骤五产物）。

2、单晶培养

称取约 3-7 mg 乙酸甲酯手性异构体 A 于小瓶中，在 50 °C 条件下，边搅拌边逐步加入乙腈，直至药液刚好澄清或接近澄清。趁热过滤，将滤液置于干净的小瓶中，通过 Crystal 16 仪器进行程序降温，先以 0.01 °C/min 的速率从 50 °C 降至 30 °C，然后在 30 °C 条件下保持约 2 天。

通过降温结晶的方法，从乙腈中得到了针状单晶，如图 1 所示，并将其用于 X 射线单晶衍射分析。

3、仪器和参数

乙酸甲酯手性异构体A的单晶数据是通过Rigaku XtaLAB Synergy DW衍射仪，在180 K条件下，使用Cu K α 射线 ($\lambda=1.54184 \text{ \AA}$) 收集得到的。衍射数据使用CrysAlisPro程序进行数据还原和吸收校正，并使用SHELXT程序通过对偶空间算法解析该结构。所有非氢原子从差值傅里叶图直接定位，氢原子被填充在母原子上。使用SHELXL程序，基于F2全矩阵最小二乘法来完成对最终结构的精修。

4、X 射线衍射分析

乙酸甲酯手性异构体A的单晶结构属于单斜晶系，P2₁空间群，单晶的分子式为C₂₀H₂₀N₄O₄。每个不对称单元中有一个乙酸甲酯手性异构体A分子，每个晶胞中包含两个不对称单元。手性碳的绝对构型为“R”。

精修的单晶结构如图2、图3和图4所示。晶体结构参数总结在表4中，原子坐标、各向异性位移参数、扭转角、氢键、键长和键角数据详见表5至表11。根据单晶结构计算得到的XRPD图与单晶样品的测试结果基本一致，但峰位置有一定偏移，这可能是由于单晶数据的收集是在180 K条件下进行的，而实验测定的XRPD图谱是在室温下得到的所致（图5）。

表 4. 乙酸甲酯手性异构体 A 的晶体结构参数

分子式	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₄
分子量	380.40
温度/K	180.00(10)
晶系	单斜晶系
空间群	P2 ₁
<i>a</i> /Å	13.2296(2)
<i>b</i> /Å	5.10250(10)
<i>c</i> /Å	13.7423(2)
α /°	90
β /°	104.357(2)
γ /°	90
晶胞体积/Å ³	898.69(3)
<i>Z</i>	2
ρ_{calc} /g/cm ³	1.406
μ /mm ⁻¹	0.828
<i>F</i> (000)	400.0
晶体尺寸/mm ³	0.48 × 0.04 × 0.02
衍射光源	Cu K α ($\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$)
数据收集的 2 θ 范围/°	6.64 to 145.488
衍射指数范围	$-16 \leq h \leq 15, -6 \leq k \leq 6, -16 \leq l \leq 16$

衍射点收集数	15082
独立衍射点数	3389 [$R_{\text{int}} = 0.0370$, $R_{\text{sigma}} = 0.0282$]
数据/限制/参数	3389/3/260
基于 F^2 的拟合优度	1.063
最终 R 值 [$I \geq 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0389$, $wR_2 = 0.1045$
最终 R 值 [全部数据]	$R_1 = 0.0407$, $wR_2 = 0.1067$
最大残余电子密度的峰/谷/ $e \text{ \AA}^{-3}$	0.53/-0.21
Flack 参数	0.04(9)

表 5. 乙酸甲酯手性异构体 A 的原子坐标 ($\times 10^4$) 和等效各向同性位移参数 ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)

原子	x	y	z	U(eq)
O1	3838.8(15)	12688(4)	-49.0(13)	46.2(5)
O2	3791.7(17)	9024(6)	837.1(17)	65.1(7)
O3	7203.8(14)	12162(4)	2559.3(12)	40.2(4)
O4	8666.9(13)	10360(4)	3967.4(13)	39.3(4)
N1	5615.5(16)	10253(5)	2171.4(14)	36.6(4)
N2	5282.0(14)	6067(4)	3404.3(14)	35.3(4)
N3	5897.1(15)	3302(4)	4724.3(14)	35.4(4)
N4	6661.4(14)	5018(4)	4612.7(14)	30.5(4)
C1	2834(2)	12039(7)	-710(2)	49.8(7)
C2	4200.2(19)	11068(6)	711.2(17)	39.1(5)
C3	5227(2)	12043(5)	1345.5(17)	39.9(5)
C4	6593.7(18)	10453(5)	2731.0(16)	32.7(5)
C5	6942.0(17)	8563(5)	3556.8(16)	30.8(4)
C6	6278.8(17)	6657(5)	3811.2(16)	31.0(5)
C7	5107.2(17)	4063(5)	3986.1(17)	36.7(5)
C8	7674.1(17)	5054(5)	5193.2(16)	30.9(4)
C9	8322.9(17)	6845(5)	4945.1(16)	32.4(5)
C10	7971.4(17)	8634(5)	4133.5(16)	31.7(5)
C11	7945.5(16)	3092(4)	6037.9(16)	30.5(5)
C12	7426.2(17)	3712(5)	6898.2(17)	35.4(5)
C13	7585.6(18)	1429(6)	7632.6(18)	39.6(5)
C14	8675.6(18)	307(5)	7883.5(16)	34.4(5)
C15	8965(2)	-1499(6)	8668.7(18)	43.1(6)
C16	9942(2)	-2652(6)	8904.0(19)	47.7(6)
C17	10655(2)	-2009(6)	8356(2)	46.1(6)
C18	10377.8(19)	-210(5)	7578.0(19)	40.6(5)
C19	9391.3(17)	938(5)	7326.8(16)	32.4(5)
C20	9122.4(17)	2870(5)	6468.3(17)	34.1(5)

表 6. 乙酸甲酯手性异构体 A 的各向异性位移参数 ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)

原子	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
O1	49.2(10)	48.8(11)	33.1(8)	8.3(8)	-4.2(7)	1.8(8)
O2	51.3(11)	77.9(16)	56.9(12)	25.9(12)	-4.4(9)	-19.0(11)

原子	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
O3	42.9(9)	43.1(9)	32.3(8)	6.1(7)	5.0(7)	-2.9(8)
O4	34.1(8)	43.9(10)	37.8(8)	6.8(8)	5.0(7)	-4.3(7)
N1	39.9(10)	41.0(11)	25.9(9)	6.4(8)	2.2(8)	-0.6(9)
N2	29.6(9)	46.1(11)	28.3(9)	1.7(8)	3.4(7)	1.2(8)
N3	31.5(9)	41.9(11)	31.2(9)	2.3(8)	4.9(7)	-3.8(8)
N4	29.5(9)	34.4(9)	26.2(8)	1.0(7)	4.5(7)	1.6(7)
C1	39.1(12)	69.3(18)	35.4(12)	6.1(13)	-1.4(10)	9.9(13)
C2	37.1(11)	51.1(14)	28.8(10)	7.9(10)	7.5(9)	2.3(11)
C3	45.6(13)	40.6(13)	29.1(10)	5.8(10)	0.9(9)	-0.2(10)
C4	38.6(11)	34.5(11)	25.3(9)	-0.5(9)	8.4(8)	1.5(9)
C5	33.0(10)	33.8(11)	25.1(9)	-1.6(8)	5.9(8)	4.0(9)
C6	31.1(10)	37.0(12)	24.1(9)	-0.3(9)	5.3(8)	5.6(8)
C7	30.0(10)	46.0(13)	32.0(10)	1.3(10)	3.9(9)	-3.5(10)
C8	29.4(10)	34.3(11)	28.0(10)	-2.7(9)	5.1(8)	3.3(9)
C9	29.1(10)	36.9(11)	28.9(10)	-1.7(9)	2.7(8)	3.2(9)
C10	31.8(10)	34.4(11)	29.8(10)	-1.0(9)	9.2(8)	1.1(9)
C11	29.1(10)	32.7(11)	27.8(10)	-0.5(8)	3.4(8)	2.7(8)
C12	32.8(10)	42.5(12)	29.5(10)	-1.0(9)	5.0(8)	6.6(10)
C13	33.1(11)	54.0(14)	32.0(11)	4.8(10)	8.3(9)	4.7(10)
C14	35.1(11)	40.1(12)	24.2(10)	-2.1(9)	0.1(8)	0.5(9)
C15	43.4(12)	54.1(15)	28.9(11)	2.3(10)	3.2(9)	-3.8(11)
C16	51.6(14)	49.7(15)	32.9(11)	7.9(11)	-6.1(10)	4.4(12)
C17	38.4(12)	49.8(14)	43.0(13)	6.4(11)	-3.3(10)	10.4(11)
C18	34.5(11)	46.1(13)	37.9(12)	1.6(10)	2.4(9)	3.7(10)
C19	31.0(10)	34.3(11)	28.3(10)	-2.4(8)	0.4(8)	0.1(9)
C20	29.3(10)	38.6(12)	32.5(11)	3.8(9)	4.0(8)	0.7(9)

表 7. 乙酸甲酯手性异构体 A 的键长

原子	原子	键长/Å	原子	原子	键长/Å
O1	C1	1.450(3)	C5	C10	1.396(3)
O1	C2	1.325(3)	C8	C9	1.354(3)
O2	C2	1.206(4)	C8	C11	1.507(3)
O3	C4	1.250(3)	C9	C10	1.427(3)
O4	C10	1.334(3)	C11	C12	1.540(3)
N1	C3	1.448(3)	C11	C20	1.526(3)
N1	C4	1.335(3)	C12	C13	1.521(3)
N2	C6	1.333(3)	C13	C14	1.510(3)
N2	C7	1.353(3)	C14	C15	1.398(4)
N3	N4	1.375(3)	C14	C19	1.395(3)
N3	C7	1.321(3)	C15	C16	1.383(4)
N4	C6	1.376(3)	C16	C17	1.385(4)
N4	C8	1.379(3)	C17	C18	1.387(4)

原子	原子	键长/Å		原子	原子	键长/Å
C2	C3	1.505(3)		C18	C19	1.394(3)
C4	C5	1.473(3)		C19	C20	1.511(3)
C5	C6	1.411(3)				

表 8. 乙酸甲酯手性异构体 A 的键角

原子	原子	原子	键角/°		原子	原子	原子	键角/°
C2	O1	C1	116.5(2)		C9	C8	N4	116.7(2)
C4	N1	C3	120.6(2)		C9	C8	C11	126.69(19)
C6	N2	C7	102.66(19)		C8	C9	C10	121.63(19)
C7	N3	N4	101.00(19)		O4	C10	C5	122.5(2)
N3	N4	C6	109.98(18)		O4	C10	C9	116.8(2)
N3	N4	C8	125.45(19)		C5	C10	C9	120.7(2)
C6	N4	C8	124.54(19)		C8	C11	C12	112.85(18)
O1	C2	C3	110.4(2)		C8	C11	C20	111.90(19)
O2	C2	O1	124.4(2)		C20	C11	C12	108.91(17)
O2	C2	C3	125.1(2)		C13	C12	C11	109.70(19)
N1	C3	C2	109.9(2)		C14	C13	C12	114.16(19)
O3	C4	N1	121.6(2)		C15	C14	C13	119.3(2)
O3	C4	C5	120.6(2)		C19	C14	C13	121.8(2)
N1	C4	C5	117.8(2)		C19	C14	C15	118.8(2)
C6	C5	C4	123.2(2)		C16	C15	C14	121.5(2)
C10	C5	C4	119.7(2)		C15	C16	C17	119.7(2)
C10	C5	C6	117.1(2)		C16	C17	C18	119.3(2)
N2	C6	N4	109.1(2)		C17	C18	C19	121.4(2)
N2	C6	C5	131.5(2)		C14	C19	C20	121.2(2)
N4	C6	C5	119.3(2)		C18	C19	C14	119.2(2)
N3	C7	N2	117.2(2)		C18	C19	C20	119.5(2)
N4	C8	C11	116.64(19)		C19	C20	C11	111.78(19)

表 9. 乙酸甲酯手性异构体 A 的扭转角

A	B	C	D	扭转角/°		A	B	C	D	扭转角/°
O1	C2	C3	N1	-179.8(2)		C7	N3	N4	C8	-178.7(2)
O2	C2	C3	N1	-4.0(4)		C8	N4	C6	N2	178.6(2)
O3	C4	C5	C6	177.5(2)		C8	N4	C6	C5	-1.3(3)
O3	C4	C5	C10	-1.9(3)		C8	C9	C10	O4	178.4(2)
N1	C4	C5	C6	-3.3(3)		C8	C9	C10	C5	-0.9(3)
N1	C4	C5	C10	177.3(2)		C8	C11	C12	C13	170.60(19)
N3	N4	C6	N2	0.6(2)		C8	C11	C20	C19	178.99(18)
N3	N4	C6	C5	-179.36(19)		C9	C8	C11	C12	110.1(2)
N3	N4	C8	C9	177.9(2)		C9	C8	C11	C20	-13.2(3)
N3	N4	C8	C11	-2.0(3)		C10	C5	C6	N2	-178.6(2)
N4	N3	C7	N2	0.6(3)		C10	C5	C6	N4	1.3(3)
N4	C8	C9	C10	1.0(3)		C11	C8	C9	C10	-179.1(2)

A	B	C	D	扭转角/°		A	B	C	D	扭转角/°
N4	C8	C11	C12	-70.0(3)		C11	C12	C13	C14	43.5(3)
N4	C8	C11	C20	166.74(19)		C12	C11	C20	C19	53.5(3)
C1	O1	C2	O2	6.0(4)		C12	C13	C14	C15	169.6(2)
C1	O1	C2	C3	-178.1(2)		C12	C13	C14	C19	-13.1(3)
C3	N1	C4	O3	-0.5(4)		C13	C14	C15	C16	177.7(3)
C3	N1	C4	C5	-179.7(2)		C13	C14	C19	C18	-178.4(2)
C4	N1	C3	C2	168.2(2)		C13	C14	C19	C20	2.5(3)
C4	C5	C6	N2	2.0(4)		C14	C15	C16	C17	0.2(4)
C4	C5	C6	N4	-178.12(19)		C14	C19	C20	C11	-23.4(3)
C4	C5	C10	O4	-0.1(3)		C15	C14	C19	C18	-1.1(3)
C4	C5	C10	C9	179.18(19)		C15	C14	C19	C20	179.9(2)
C6	N2	C7	N3	-0.3(3)		C15	C16	C17	C18	0.1(4)
C6	N4	C8	C9	0.1(3)		C16	C17	C18	C19	-0.9(4)
C6	N4	C8	C11	-179.77(19)		C17	C18	C19	C14	1.4(4)
C6	C5	C10	O4	-179.6(2)		C17	C18	C19	C20	-179.5(2)
C6	C5	C10	C9	-0.2(3)		C18	C19	C20	C11	157.6(2)
C7	N2	C6	N4	-0.2(2)		C19	C14	C15	C16	0.3(4)
C7	N2	C6	C5	179.7(2)		C20	C11	C12	C13	-64.5(2)
C7	N3	N4	C6	-0.7(2)						

表 10. 乙酸甲酯手性异构体 A 的氢键

D	H	A	d(D-H)/Å	d(H-A)/Å	d(D-A)/Å	D-H-A/°
O4	H4	O3	0.81(2)	1.83(3)	2.545(2)	146(3)
N1	H1	N2	0.88(2)	2.09(3)	2.828(3)	141(3)

表 1. 乙酸甲酯手性异构体 A 的原子坐标 ($\times 10^4$) 和各向同性位移参数 ($\text{Å}^2 \times 10^3$)

原子	x	y	z	U(eq)
H4	8390(20)	11350(60)	3510(20)	47
H1	5220(20)	9070(60)	2360(20)	44
H1A	2928	10715	-1197	75
H1B	2522	13618	-1067	75
H1C	2373	11346	-312	75
H3A	5738	12183	930	48
H3B	5133	13806	1611	48
H7	4444	3237	3869	44
H9	9030	6913	5321	39
H11	7686	1340	5757	37
H12A	7736	5322	7252	42
H12B	6671	4021	6621	42
H13A	7421	2023	8262	48
H13B	7086	21	7344	48

原子	x	y	z	U(eq)
H15	8480	-1944	9049	52
H16	10123	-3879	9439	57
H17	11328	-2792	8511	55
H18	10871	248	7209	49
H20A	9453	2305	5931	41
H20B	9407	4613	6708	41

5、分析方法

5.1 偏光显微镜 (PLM)

采用ECLIPSE LV100POL (Nikon, JPN) 偏光显微镜进行PLM分析。将少量的样品平铺至载玻片上，滴入香柏油将样品分散后，加上盖玻片。随后，将样品置于显微镜下用10倍物镜观察。

5.2 X 射线粉末衍射 (XRPD)

使用 X 射线衍射仪对固体样品进行检测。将样品平铺于零背景单晶硅样品盘上，将样品轻压铺平后，根据表 12 中的参数进行分析。

表 12. XRPD 测试参数

设备	布鲁克, D8 Advance
光源	Cu K α ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$)
检测器	LynxEye XE-T
扫描角度	3-40° (2 θ)
扫描步长	0.02° (2 θ)
扫描速度	0.1 s/步
光管电压/电流	40 KV/40 mA
发散狭缝	0.6 mm
旋转	30 rpm
样品盘	零背景样品盘

10

通过上述单晶结构解析可知，该乙酸甲酯手性异构体 A 的手性构型为“R”构型，如图 6 所示。由此可知，实施例 13 中，使用氢氧化钠水溶液脱除甲酯得到羧酸产物时，不改变已产生的手性构型，故推测可知，实施例 13 中产物[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸手性异构体 A 的手性构型为“R”构型。

实施例 19 实施例 14 的乙酸甲酯手性异构体 B 化合物手性构型测定

1、化合物制备

参照实施例 14 中, [(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸甲酯手性异构体 B (步骤一) 的制备方法, 通过手性拆分的方法得到乙酸甲酯手性异构体 B, 该异构体为实施例 14 中最终产物的前一步化合物。

2、单晶培养

称取适量的乙酸甲酯手性异构体 B 样品于小瓶中, 在室温条件下, 边搅拌边逐步加入二甲基亚砜, 直至药液刚好澄清或接近澄清。过滤, 将滤液置于干净的小瓶中, 加盖扎孔, 将小瓶静置于室温条件下缓慢挥发。

通过缓慢挥发的方法, 从二甲基亚砜中得到了针状单晶, 如图 7 所示, 并将其用于 X 射线单晶衍射分析。

3、仪器和参数

乙酸甲酯手性异构体 B 的单晶数据是通过 Rigaku XtaLAB Synergy DW 衍射仪, 在 180 K 条件下, 使用 Cu K α 射线 ($\lambda=1.54184 \text{ \AA}$) 收集得到的。衍射数据使用 CrysAlisPro 程序进行数据还原和吸收校正, 并使用 SHELXT 程序通过对偶空间算法解析该结构。所有非氢原子从差值傅里叶图直接定位, 氢原子被填充在母原子上。使用 SHELXL 程序, 基于 F2 全矩阵最小二乘法来完成对最终结构的精修。

4、X 射线衍射分析

乙酸甲酯手性异构体 B 的单晶结构属于单斜晶系, P21 空间群, 单晶的分子式为 C₂₀H₂₀N₄O₄。每个不对称单元中有一个乙酸甲酯手性异构体 B 分子, 每个晶胞中包含两个不对称单元。手性碳的绝对构型为 “S”。

精修的单晶结构如图 8、图 9 和图 10 所示。晶体结构参数总结在表 13 中, 原子坐标、各向异性位移参数、扭转角、氢键、键长和键角参数总结于表 14 至表 20。单晶样品实验测定所得的 XRPD 式样比计算所得的 XRPD 图谱多峰; 可能单晶测试后溶剂已接近挥干, 是溶剂挥发的过程中又有其他晶型析出所致 (图 11)。

表 13. 乙酸甲酯手性异构体 B 的晶体结构参数

分子式	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₄
分子量	380.40
温度/K	179.99(10)
晶系	单斜

空间群	$P2_1$
$a/\text{\AA}$	13.2287(2)
$b/\text{\AA}$	5.10690(10)
$c/\text{\AA}$	13.7391(2)
$\alpha/^\circ$	90
$\beta/^\circ$	104.3640(10)
$\gamma/^\circ$	90
晶胞体积/ \AA^3	899.17(3)
Z	2
$\rho_{\text{calc}}/\text{cm}^3$	1.405
μ/mm^{-1}	0.827
$F(000)$	400.0
晶体尺寸/ mm^3	$0.29 \times 0.03 \times 0.02$
衍射光源	Cu K α ($\lambda = 1.54184 \text{\AA}$)
数据收集的 2θ 范围/ $^\circ$	6.64 to 145.034
衍射指数范围	$-16 \leq h \leq 16, -6 \leq k \leq 6, -16 \leq l \leq 16$
衍射点收集数	15381
独立衍射点数	3395 [$R_{\text{int}} = 0.0243, R_{\text{sigma}} = 0.0168$]
数据/限制/参数	3395/1/255
基于 F^2 的拟合优度	1.067
最终 R 值 [$I \geq 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0320, wR_2 = 0.0881$
最终 R 值 [全部数据]	$R_1 = 0.0326, wR_2 = 0.0889$
最大残余电子密度的峰/谷/ $e \text{\AA}^{-3}$	0.47/-0.22
Flack 参数	-0.02(5)

表 14. 乙酸甲酯手性异构体 B 的原子坐标($\times 10^4$)和等效各向同性位移参数($\text{\AA}^2 \times 10^3$)

原子	x	y	z	U(eq)
O1	3838.3(13)	-2686(4)	-49.0(12)	45.2(4)
O2	3791.2(15)	970(5)	839.5(15)	65.5(6)
O3	7202.8(12)	-2163(3)	2559.1(11)	39.2(4)
O4	8666.7(11)	-359(3)	3967.6(11)	38.4(4)
N1	5615.2(14)	-252(4)	2170.6(12)	35.2(4)
N2	5282.3(12)	3932(4)	3404.3(12)	33.9(4)
N3	5896.3(12)	6691(4)	4724.6(13)	33.9(4)
N4	6661.4(12)	4979(3)	4613.1(12)	29.0(3)
C1	2832.0(18)	-2032(6)	-709.2(17)	48.1(6)
C2	4200.6(17)	-1071(5)	712.5(15)	37.8(5)
C3	5225.7(18)	-2041(5)	1345.7(15)	38.4(5)
C4	6592.5(16)	-444(4)	2732.7(15)	31.8(4)
C5	6943.4(15)	1429(4)	3557.1(14)	29.6(4)
C6	6280.4(15)	3347(4)	3813.0(14)	29.2(4)
C7	5108.6(15)	5935(5)	3986.9(15)	35.2(4)
C8	7676.4(15)	4946(4)	5195.7(14)	29.2(4)

C9	8322.4(15)	3151(4)	4943.3(15)	31.3(4)
C10	7968.9(15)	1369(4)	4133.4(14)	30.8(4)
C11	7944.4(14)	6904(4)	6038.2(14)	29.0(4)
C12	9122.1(15)	7132(4)	6468.9(15)	32.7(4)
C13	9390.5(15)	9063(4)	7327.3(14)	30.8(4)
C14	10381.0(16)	10213(5)	7578.5(17)	39.3(5)
C15	10653.4(18)	12001(5)	8353.9(18)	45.1(5)
C16	9942.0(19)	12652(5)	8904.1(17)	46.5(6)
C17	8963.3(18)	11500(5)	8666.0(16)	41.5(5)
C18	8675.7(15)	9699(4)	7885.1(14)	32.6(4)
C19	7585.8(16)	8562(5)	7634.9(16)	38.2(5)
C20	7425.0(15)	6285(4)	6897.7(15)	34.6(4)

表 15. 乙酸甲酯手性异构体 B 的各向异性位移参数($\text{\AA}^2 \times 10^3$)

原子	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
O1	47.6(9)	45.2(9)	35.6(7)	-8.7(7)	-3.4(7)	-1.2(7)
O2	48.8(9)	76.2(14)	62.7(11)	-29.4(11)	-2.9(8)	18.2(10)
O3	41.9(8)	38.5(8)	35.3(7)	-6.4(7)	6.0(6)	3.2(7)
O4	33.2(7)	40.1(8)	40.4(8)	-7.0(7)	6.4(6)	4.9(7)
N1	38.0(9)	36.3(9)	28.9(8)	-5.3(7)	3.6(7)	1.2(8)
N2	27.7(8)	41.3(10)	30.8(8)	-1.1(7)	3.7(6)	-0.7(7)
N3	28.7(8)	37.0(10)	35.0(8)	-2.1(7)	5.9(7)	4.4(7)
N4	26.7(7)	30.2(8)	29.4(8)	-1.2(7)	5.7(6)	-1.3(7)
C1	37.7(11)	63.6(16)	37.9(11)	-6.0(11)	-0.3(9)	-10.1(11)
C2	36.5(10)	45.6(12)	31.5(10)	-7.5(9)	8.7(8)	-2.2(9)
C3	44.5(11)	35.4(11)	31.6(9)	-5.4(9)	2.7(8)	-0.2(9)
C4	37.1(10)	30.8(10)	28.4(9)	1.6(8)	9.8(8)	-1.0(8)
C5	31.2(9)	29.5(9)	28.1(8)	3.0(8)	7.3(7)	-2.7(8)
C6	29.0(9)	32.4(10)	25.9(8)	0.7(8)	6.0(7)	-4.4(7)
C7	26.9(9)	41.6(11)	35.6(10)	-1.8(9)	5.0(8)	2.8(8)
C8	27.3(9)	29.6(9)	29.6(9)	3.0(8)	4.8(7)	-2.8(8)
C9	26.7(9)	32.6(10)	32.3(9)	2.0(8)	3.3(7)	-2.6(8)
C10	31.2(9)	29.2(10)	33.3(9)	2.5(8)	10.6(7)	-0.1(8)
C11	26.0(9)	28.5(10)	30.7(9)	0.2(8)	3.6(7)	-2.8(7)
C12	26.1(9)	34.6(10)	35.5(10)	-3.6(8)	4.0(7)	-1.4(8)
C13	28.5(9)	29.7(9)	30.6(9)	3.5(8)	0.6(7)	-0.2(8)
C14	32.1(10)	41.3(12)	41.3(11)	-0.9(9)	2.8(8)	-4.1(9)
C15	36.3(11)	46.4(13)	45.9(12)	-4.9(10)	-2.4(9)	-9.4(10)
C16	49.5(13)	45.6(13)	35.7(10)	-9.7(10)	-6.0(9)	-4.8(11)
C17	41.5(11)	49.2(13)	31.3(10)	-1.8(9)	4.4(8)	3.7(10)
C18	31.6(9)	35.2(10)	27.5(9)	3.3(8)	0.9(7)	-0.7(8)
C19	30.8(10)	49.7(13)	34.3(10)	-5.2(10)	8.6(8)	-5.1(9)
C20	30.4(9)	38.8(11)	33.1(9)	1.8(9)	5.3(7)	-7.1(9)

表 16. 乙酸甲酯手性异构体 B 的键长(Å)

原子	原子	键长/Å		原子	原子	键长/Å
O1	C1	1.452(3)		C5	C10	1.391(3)
O1	C2	1.325(3)		C8	C9	1.356(3)
O2	C2	1.207(3)		C8	C11	1.504(3)
O3	C4	1.255(3)		C9	C10	1.424(3)
O4	C10	1.337(3)		C11	C12	1.528(2)
N1	C3	1.447(3)		C11	C20	1.539(3)
N1	C4	1.335(3)		C12	C13	1.510(3)
N2	C6	1.334(3)		C13	C14	1.399(3)
N2	C7	1.353(3)		C13	C18	1.395(3)
N3	N4	1.375(2)		C14	C15	1.381(3)
N3	C7	1.318(3)		C15	C16	1.386(4)
N4	C6	1.372(3)		C16	C17	1.386(4)
N4	C8	1.382(2)		C17	C18	1.393(3)
C2	C3	1.502(3)		C18	C19	1.513(3)
C4	C5	1.467(3)		C19	C20	1.522(3)
C5	C6	1.416(3)				

表 17. 乙酸甲酯手性异构体 B 的键角

原子	原子	原子	键角/°		原子	原子	原子	键角/°
C2	O1	C1	116.49(19)		C9	C8	N4	116.31(17)
C4	N1	C3	120.83(18)		C9	C8	C11	127.11(16)
C6	N2	C7	102.46(16)		C8	C9	C10	121.77(17)
C7	N3	N4	101.04(17)		O4	C10	C5	122.32(19)
N3	N4	C8	125.41(16)		O4	C10	C9	116.64(17)
C6	N4	N3	109.96(16)		C5	C10	C9	121.04(18)
C6	N4	C8	124.60(17)		C8	C11	C12	111.84(16)
O1	C2	C3	110.47(19)		C8	C11	C20	112.89(16)
O2	C2	O1	124.4(2)		C12	C11	C20	108.96(15)
O2	C2	C3	125.0(2)		C13	C12	C11	111.83(16)
N1	C3	C2	109.90(19)		C14	C13	C12	119.42(18)
O3	C4	N1	121.17(19)		C18	C13	C12	121.38(17)
O3	C4	C5	120.50(18)		C18	C13	C14	119.19(19)
N1	C4	C5	118.33(18)		C15	C14	C13	121.1(2)
C6	C5	C4	123.08(17)		C14	C15	C16	119.8(2)
C10	C5	C4	120.14(18)		C17	C16	C15	119.4(2)
C10	C5	C6	116.78(18)		C16	C17	C18	121.5(2)
N2	C6	N4	109.27(17)		C13	C18	C19	121.57(18)
N2	C6	C5	131.26(18)		C17	C18	C13	118.95(19)
N4	C6	C5	119.47(17)		C17	C18	C19	119.43(19)
N3	C7	N2	117.27(18)		C18	C19	C20	114.36(17)

原子	原子	原子	键角/°		原子	原子	原子	键角/°
N4	C8	C11	116.58(17)		C19	C20	C11	109.77(17)

表 18. 乙酸甲酯手性异构体 B 的扭转角

A	B	C	D	扭转角/°		A	B	C	D	扭转角/°
O1	C2	C3	N1	179.68(18)		C7	N3	N4	C8	178.65(18)
O2	C2	C3	N1	3.8(3)		C8	N4	C6	N2	-178.64(18)
O3	C4	C5	C6	-177.55(18)		C8	N4	C6	C5	1.5(3)
O3	C4	C5	C10	2.2(3)		C8	C9	C10	O4	-178.39(19)
N1	C4	C5	C6	3.0(3)		C8	C9	C10	C5	0.9(3)
N1	C4	C5	C10	-177.25(18)		C8	C11	C12	C13	-178.98(16)
N3	N4	C6	N2	-0.6(2)		C8	C11	C20	C19	-170.86(17)
N3	N4	C6	C5	179.56(17)		C9	C8	C11	C12	13.2(3)
N3	N4	C8	C9	-177.93(18)		C9	C8	C11	C20	-110.1(2)
N3	N4	C8	C11	2.0(3)		C10	C5	C6	N2	178.7(2)
N4	N3	C7	N2	-0.5(2)		C10	C5	C6	N4	-1.5(3)
N4	C8	C9	C10	-1.0(3)		C11	C8	C9	C10	179.05(18)
N4	C8	C11	C12	-166.68(17)		C11	C12	C13	C14	-157.64(19)
N4	C8	C11	C20	70.0(2)		C11	C12	C13	C18	23.2(3)
C1	O1	C2	O2	-6.0(3)		C12	C11	C20	C19	64.2(2)
C1	O1	C2	C3	178.15(19)		C12	C13	C14	C15	179.6(2)
C3	N1	C4	O3	0.5(3)		C12	C13	C18	C17	-179.7(2)
C3	N1	C4	C5	179.86(18)		C12	C13	C18	C19	-2.2(3)
C4	N1	C3	C2	-168.23(19)		C13	C14	C15	C16	0.8(4)
C4	C5	C6	N2	-1.6(3)		C13	C18	C19	C20	12.6(3)
C4	C5	C6	N4	178.17(17)		C14	C13	C18	C17	1.1(3)
C4	C5	C10	O4	0.0(3)		C14	C13	C18	C19	178.7(2)
C4	C5	C10	C9	-179.34(17)		C14	C15	C16	C17	-0.1(4)
C6	N2	C7	N3	0.2(2)		C15	C16	C17	C18	0.0(4)
C6	N4	C8	C9	-0.2(3)		C16	C17	C18	C13	-0.5(3)
C6	N4	C8	C11	179.72(17)		C16	C17	C18	C19	-178.1(2)
C6	C5	C10	O4	179.68(18)		C17	C18	C19	C20	-169.87(19)
C6	C5	C10	C9	0.4(3)		C18	C13	C14	C15	-1.3(3)
C7	N2	C6	N4	0.3(2)		C18	C19	C20	C11	-43.1(2)
C7	N2	C6	C5	-179.9(2)		C20	C11	C12	C13	-53.5(2)
C7	N3	N4	C6	0.6(2)						

表 19. 乙酸甲酯手性异构体 B 的氢键

D	H	A	d(D-H)/Å	d(H-A)/Å	d(D-A)/Å	D-H-A/°
O4	H4	O3	0.84	1.80	2.546(2)	146.7
N1	H1	N2	0.88	2.12	2.829(3)	137.0

表 20. 乙酸甲酯手性异构体 B 的氢原子坐标($\times 10^4$)和各向同性位移参数($\text{Å}^2 \times 10^3$)

原子	x	y	z	U(eq)
----	---	---	---	-------

原子	x	y	z	U(eq)
H4	8383	-1329	3483	58
H1	5203	976	2303	42
H1A	2925	-694	-1191	72
H1B	2370	-1358	-309	72
H1C	2522	-3604	-1073	72
H3A	5133	-3802	1612	46
H3B	5736	-2182	929	46
H7	4446	6763	3869	42
H9	9030	3079	5317	38
H11	7683	8652	5757	35
H12A	9408	5392	6709	39
H12B	9452	7699	5931	39
H14	10875	9758	7209	47
H15	11326	12781	8510	54
H16	10124	13877	9440	56
H17	8477	11949	9044	50
H19A	7084	9966	7349	46
H19B	7425	7961	8265	46
H20A	6669	5980	6620	41
H20B	7734	4673	7250	41

5、分析方法

5.1 偏光显微镜 (PLM)

采用 ECLIPSE LV100POL(Nikon, JPN)偏光显微镜进行 PLM 分析。将少量的样品平铺至载玻片上，滴入香柏油将样品分散后，加上盖玻片。随后，将样品置于显微镜下用物镜观察。

5.2 X 射线粉末衍射 (XRPD)

使用 X 射线衍射仪对固体样品进行检测。将样品平铺于零背景单晶硅样品盘上，将样品轻压铺平后，根据表 21 中的参数进行分析。

表 21. XRPD 测试参数

设备	布鲁克, D8 Advance
光源	Cu K α ($\lambda = 1.5418$ \AA)
检测器	LynxEye XE-T
扫描角度	3-40° (2 θ)
扫描步长	0.02° (2 θ)
扫描速度	0.1 s/步
光管电压/ 电流	40 KV/40 mA

发散狭缝	0.6 mm
旋转	30 rpm
样品盘	零背景样品盘

通过上述单晶结构解析可知，该乙酸甲酯手性异构体 B 的手性构型为“S”构型，如图 12 所示。由此可知，实施例 14 中，使用氢氧化钠水溶液脱除甲酯得到羧酸产物时，不改变已产生的手性构型，故推测可知，实施例 14 中产物[(7-羟基-5-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-8-羰基)氨基]乙酸手性异构体 B 的手性构型为“S”构型。

5 实施例 20 实施例 13 及 14 化合物亚急性毒性试验

1. 实验材料

1.1 供试品

表 22 样品信息

化合物名称	实施例 13 化合物	实施例 14 化合物
-------	------------	------------

10 1.2 处方配制

用天平称取适量实施例 13 化合物、实施例 14 化合物分别置于合适的玻璃瓶中，然后在玻璃瓶中依次加入 DMSO、Solutol HS-15 和 0.9% 的生理盐水（比例为 v: v: v=5%: 10%: 85%），再进行涡旋、搅拌，在搅拌过程中持续关注药物溶解情况，直至完全溶解/混悬。最后配制成浓度为 0.67 mg/mL 的实施例 13 化合物实施例 14 化合物给药试液，现配现用。

15 2. 实验动物

实验动物来源及数量见表 23。动物房通风良好，装备空调，温度保持在 20~25° C，湿度保持在 40%~70%，明暗照明各 12 小时，动物自由进食和饮水。给药前至少适应性饲养 3 天，经兽医检验，体征状况良好的 SD 大鼠可入选本实验。

表 23 实验动物来源及数量

种属	品系，级别	周龄	入选数目
大鼠	SD 大鼠，SPF	160-200g	24（雌雄各半）

20 3. 实验方案

3.1 试验周期和剂量设置

该实验中对实验动物的任何操作均符合中华人民共和国科学技术部颁布的《实验动物管理条例》的要求。本试验设置溶媒对照组、实施例 13 化合物给药组、实施例 14 化合物给药组。实施例 13 化合物给药组、实施例 14 化合物给药组给药剂量为 (10 mg/kg)，每天 1 次，连续 14 天给药，空白对照组给予等量空白溶媒，给药体积均为 15mL/kg，每次给药后观察动物的毒性反应症状及程度。末次给药后恢复观察 7 天。实验过程中自由饮水。详见表 24。

表 24 试验剂量及分组设计

组 别	给药剂量 (mg/kg)	浓 度 (mg/mL)	给药频率	给药体积 (mL/kg)	动物数 (只)	
					♀	♂
空白对照组	/	/	1 次/天, 连续 14 天	15	4	4
实施例 13 化合物低剂量组	10	0.67	1 次/天, 连续 14 天	15	4	4
实施例 14 化合物低剂量组	10	0.67	1 次/天, 连续 14 天	15	4	4

称量体重后，按以下公式计算每只 SD 大鼠的理论给药体积。每只 SD 大鼠的实际给药量和样品采集时间需详细记录在相应表格中。

$$10 \quad \text{实际给药体积 (mL)} = \left(\frac{\text{剂量 (mg/kg)}}{\text{试液浓度 (mg/mL)}} \right) \times \text{动物体重 (kg)}$$

3.2 实验观察

在实验过程中，实验人员和兽医需对实验动物的体征和健康状况进行持续观察。动物的任何异常表现，例如疼痛、抑郁、活动减少等，需记录在实验原始记录中。如果实验动物的异常表现超过 IACUC 相关动物福利的文件规定，可经由兽医判断是否中止实验，并通报实验项目负责人。

3.3 笼边观察

实验期间所有动物每天至少进行 2 次笼边观察，且在给药结束后连续观察 2 小时，给药过程中，若动物出现严重毒副作用或动物死亡，都应将观察结果记录在相应的表格中。观察指标包括：动物外观、行为活动、分泌物、排泄物、饮食情况、死亡情况（死亡数量、死亡时间、濒死前反应）等。如出现临床症状，需增加观察次数，以便详细观察动物中毒反应的症

15 状，起始时间、严重程度、持续时间以及是否可逆。如发现动物死亡或濒死，应按照规定

及时对动物进行解剖观察。

3.4 体重

每日给药前需对动物进行体重称量，连续称重 14 天，并将体重记录在相应表格中。并将体重记录在相应表格中。并在试验期间检测试验动物的摄食量。

5 3.5 临床病理学

于首次给药前及末次给药结束后24小时采集约1.8~2.0 mL全血进行血液学及血液生化检查，此外于末次给药结束后24小时采集血样进行凝血检查，若给药期间动物状态出现异常，血液学、凝血及血液生化检查时间则提前。采血前禁食12小时以上。

大约500 μ L全血置于含有EDTA- K2的抗凝管用于血液学分析：

10 白细胞计数（WBC）

中性粒细胞分类计数（绝对计数，NEUT；百分比，%NEUT）

淋巴细胞分类计数（绝对计数，LYM；百分比，%LYM）

单核细胞分类计数（绝对计数，MONO；百分比，%MONO）

嗜酸性粒细胞分类计数（绝对计数，EOS；百分比，%EOS）

15 嗜碱性粒细胞分类计数（绝对计数，BASO；百分比，%BASO）

红细胞计数（RBC）

血红蛋白（HGB）

红细胞压积（HCT）

红细胞平均体积（MCV）

20 平均红细胞血红蛋白含量（MCH）

平均红细胞血红蛋白浓度（MCHC）

红细胞变异系数（RDW-CV）

红细胞分布宽度标准差（RDW-SD）

血小板计数（PLT）

25 血小板平均分布宽度（MPV）

血小板平均体积（PDW）

血小板压积（PCT）

大约1.5 mL全血置于分离胶采血管（无抗凝剂）用于血液生化学分析：

丙氨酸氨基转移酶（Alanine Aminotransferase，ALT）

30 天门冬氨酸氨基转移酶（Aspartate Aminotransferase，AST）

- 碱性磷酸酶 (Alkaline Phosphatase, ALP)
白蛋白 (Albumin, ALB)
总胆固醇 (Cholesterol, TC)
肌酐 (Creatinine, CRE)
5 尿素 (UREA)
肌酸激酶 (Creatine Phosphokinase, CK)
甘油三酯 (Triglyceride, TG)
总胆红素 (Total Bilirubin, TBIL)
总蛋白 (Total Protein, TP)
10 天门冬氨酸氨基转移酶/丙氨酸氨基转移酶 (AST/ALT)
球蛋白 (Glo II)
白蛋白/球蛋白 (A/G II)
电解质类 (K⁺/Na⁺/Cl⁻/Ca²⁺)

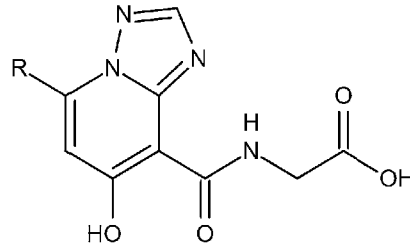
4.结论

- 15 本实验条件下, 实施例13及14化合物未见明显胃肠道坏死发、黑胃部有出血点或胀气, 该毒性低于恩那司他 (Enarodustat), 具有较好的安全性。

以上所述仅为本发明的较佳实施例而已, 并不用以限制本发明, 凡在本发明的精神和原则之内, 所作的任何修改、等同替换、改进等, 均应包含在本发明的保护范围之内。

权利要求书

1. 一种式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药:

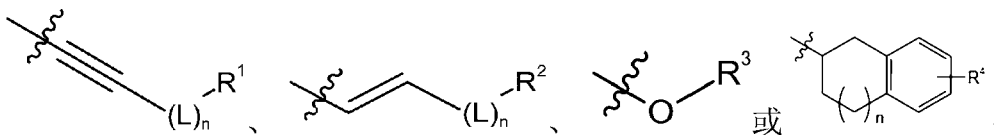


(I)

5

其中,

R 选自以下原子或基团的单元:



L 为-CH₂-或-CH₂O-;

10 n 的数值为 0-2 之间的整数;

R¹、R²、R³ 各自独立的选自为取代或未取代的烷基、环烷基、芳基、杂环基; R⁴ 选自为氢、取代或未取代的烷基、环烷基、烷氧基、芳基、杂环基。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药, 其特征在于, 所述芳基包括芳杂环。

15 3. 根据权利要求 1 所述的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药, 其特征在于,

L 为-CH₂-或-CH₂O-;

n 的数值为 0 或 1;

20 R¹ 为取代或未取代的 C₁₋₄ 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基, 所述取代基为 C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基、C₁₋₄ 卤代烷基、卤素、氰基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种;

R² 为取代或未取代的 C₁₋₄ 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基, 所述取代基为 C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基、C₁₋₄ 卤代烷基、卤素、氰基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种;

R^3 为取代或未取代的 C_{1-10} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种；

R^4 为氢、取代或未取代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种。

4. 根据权利要求 2 所述的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药，其特征在于，

L 为 $-CH_2-$ 或 $-CH_2O-$ ；

10 n 的数值为 0 或 1；

R^1 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种；

R^2 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤素、氰基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种；

15 R^3 为取代或未取代的 C_{1-10} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种；

R^4 为氢、取代或未取代的 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基、含氧和/或氮的 5-6 元杂环基中的至少一种。

20 5. 根据权利要求 3 所述的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药，其特征在于，

n 的数值为 0 或 1；

R^1 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基为相对于母核结构对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

R^2 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对

于母核结构为邻位、间位或对位取代；

R^3 为取代或未取代的 C_{1-5} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环、或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

R^4 为氢、取代或未取代的 C_{1-5} 烷基、 C_{1-5} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环、或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

优选地，

n 的数值为 0 或 1；

R^1 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基为相对于母核结构对位取代，卤素为邻位、间位或对位取代；

R^2 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基为相对于母核结构对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

R^3 为取代或未取代的 C_{1-5} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

R^4 为氢、取代或未取代的 C_{1-5} 烷基、 C_{1-5} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、卤素、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对

于母核结构为邻位、间位或对位取代。

6. 根据权利要求 5 所述的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药，其特征在于，
n 的数值为 0 或 1；

5 R^1 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C_{1-2} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基、F、Cl、Br、I、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-2} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，F、Cl、Br、I 相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

10 R^2 为取代或未取代的苯基，所述取代基为 C_{1-2} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基、F、Cl、Br、I、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-2} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，F、Cl、Br、I 相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

15 R^3 为取代或未取代的 C_{1-4} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-2} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基、F、Cl、Br、I、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-2} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

20 R^4 为氢、取代或未取代的 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基，所述取代基为 C_{1-2} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基、F、Cl、Br、I、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述 C_{1-2} 烷基、 C_{1-2} 烷氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

优选地，

n 的数值为 0 或 1；

25 R^1 为取代或未取代的苯基，所述取代基为甲基、甲氧基、F、Cl、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基；优选地，所述甲基、甲氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基相对于母核结构为对位取代，F、Cl 相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

30 R^2 为取代或未取代的苯基，所述取代基为甲基、甲氧基、F、Cl 或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基；优选地，所述甲基、甲氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基相对于母核结构为对位取代，F、Cl 相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

R^3 为取代或未取代的 C_{1-3} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环，所述取代苯基的取代基为甲基、甲氧基、F、Cl 或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、甲氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

5 R^4 为氢、取代或未取代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环，所述取代苯基的取代基为甲基、甲氧基、F、Cl 或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、甲氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

进一步优选地，

10 n 的数值为 0 或 1；

R^1 为取代或未取代的苯基，所述取代基为甲基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代；

R^2 为取代或未取代的苯基，所述取代基为甲基或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代；

15 R^3 为取代或未取代的 C_{1-3} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环，所述取代基为甲基、甲氧基、F、Cl 或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、甲氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

20 R^4 为氢、取代或未取代的 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环，所述取代基为甲基、甲氧基、F、Cl 或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、甲氧基和含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

更进一步优选地，

n 的数值为 0 或 1；

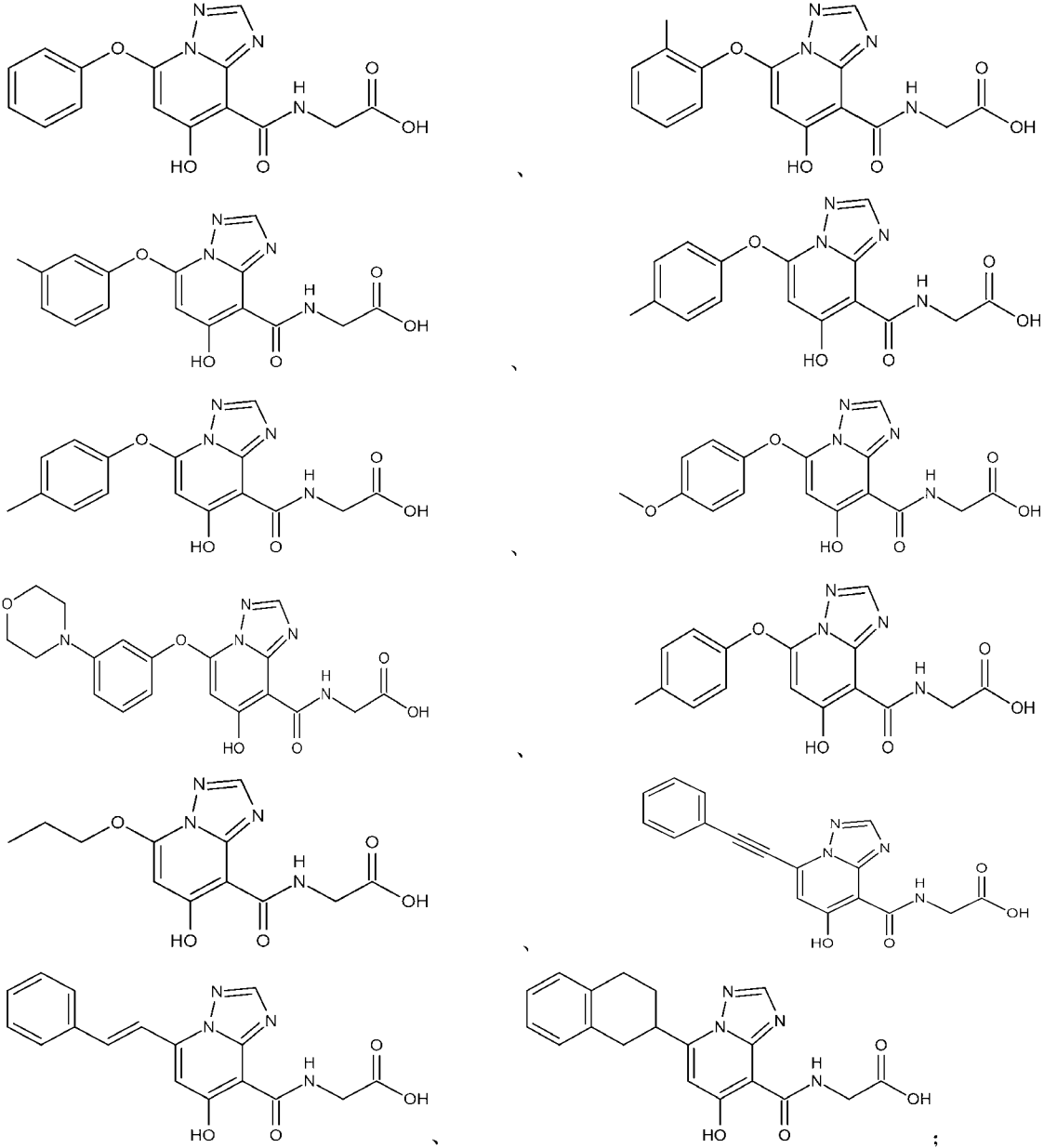
R^1 为苯基；

25 R^2 为苯基；

R^3 为取代或未取代的 C_{1-3} 烷基、苯基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环，所述取代基为甲基、甲氧基、卤素或含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环；优选地，所述甲基、甲氧基、含氧和/或氮的 5-6 元芳杂环基或含氧和/或氮的 5-6 元杂环基相对于母核结构为对位取代，卤素相对于母核结构为邻位、间位或对位取代；

30 R^4 为氢。

7. 根据权利要求 6 所述的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药，其特征在于，所述化合物选自以下结构：

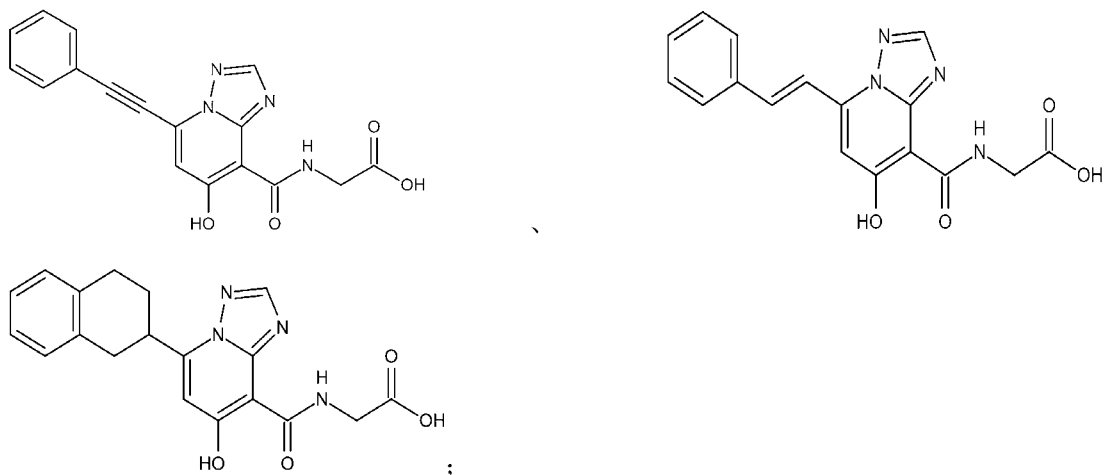


5

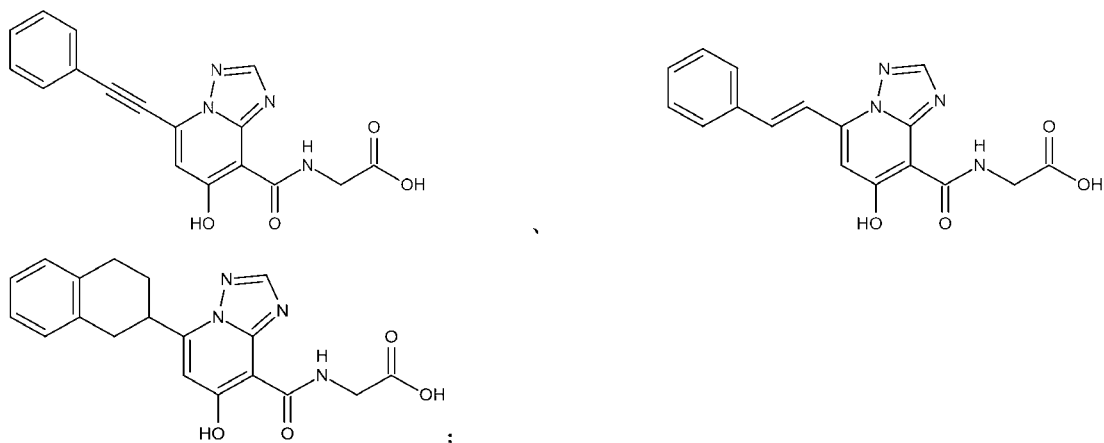
优选地，所述化合物选自以下结构：



10

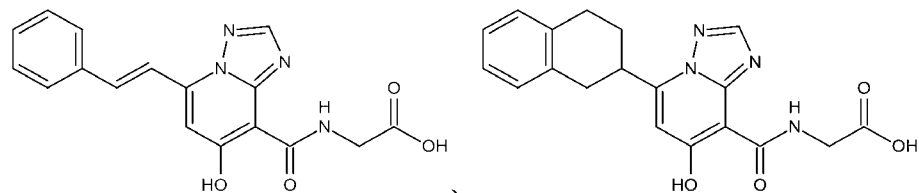


进一步优选地，所述化合物选自以下结构：



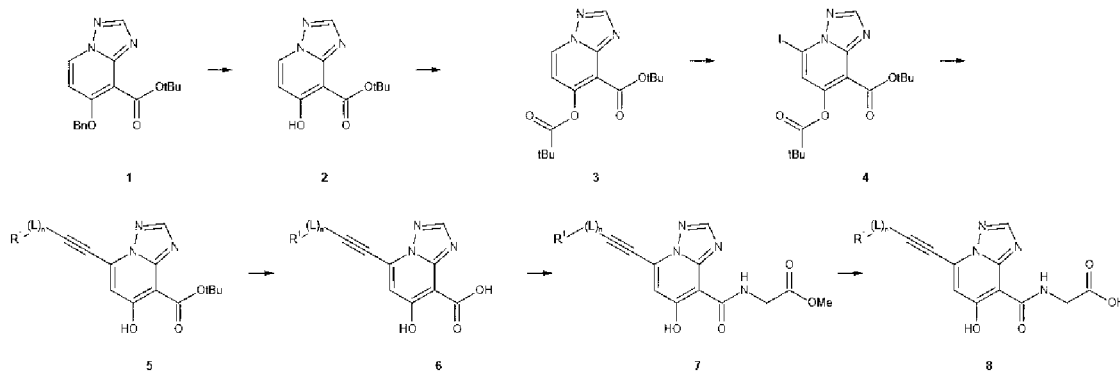
5

更进一步优选地，所述化合物选自以下结构：



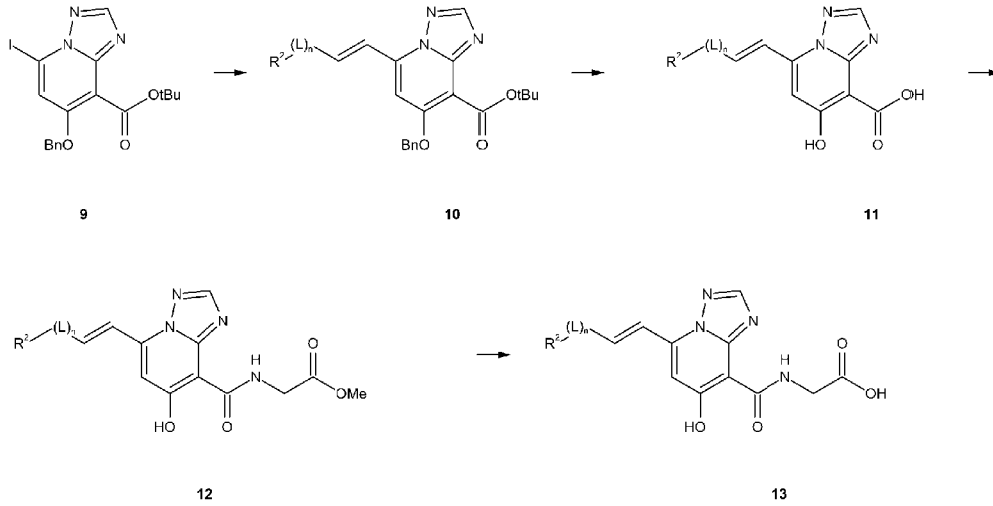
8. 权利要求 1-7 任一项所述化合物的制备方法，其特征在于，包括以下四种合成路线：

路线 1：

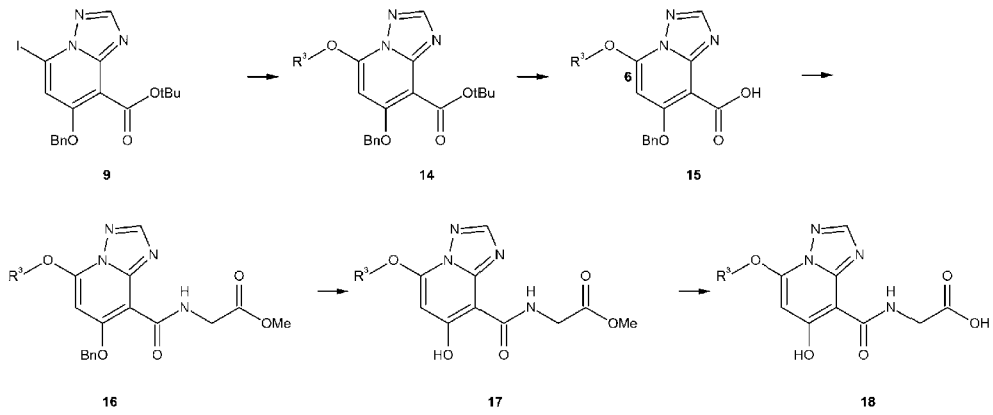


10

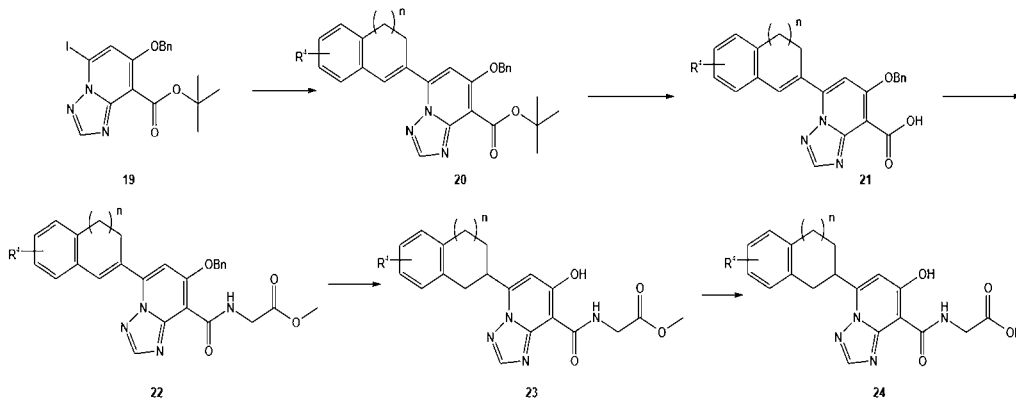
路线 2：



路线 3:



路线 4:



5

其中， R^1 、 R^2 、 R^3 具有与所引用权利要求相同的定义。

9. 一种药物组合物，其特征在于，包含式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药，以及一种或多种可药用载体、稀释剂、赋形剂。
10. 式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、氮氧化物、水合物、溶剂化物、药学上可接受的盐或前药，或者上述药物组合物在制备用于通过抑制辅氨酰

羟化酶来治疗抑制辅氨酰羟化酶介导的疾病的药物中的用途；优选地，所述抑制辅氨酰羟化酶介导的疾病为贫血、局部缺血、缺氧；进一步优选为肾性贫血。

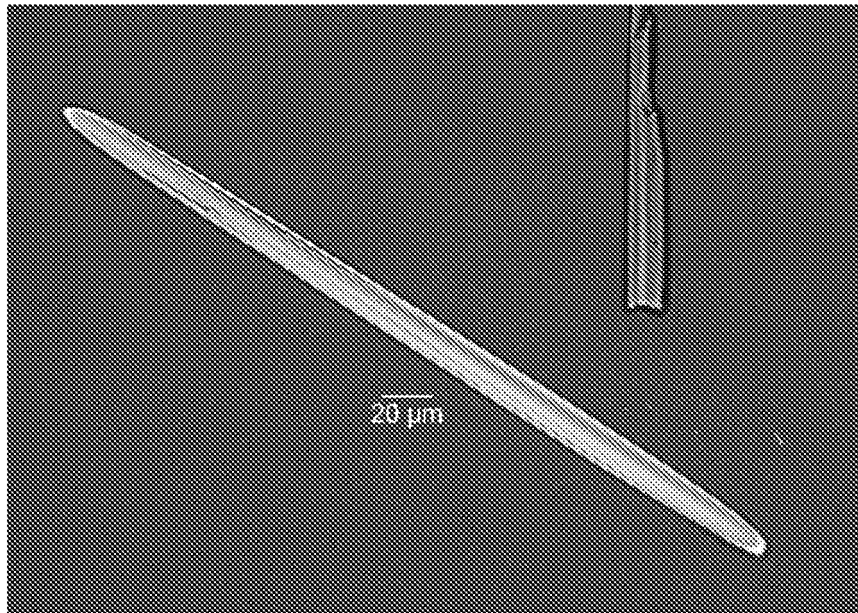


图 1

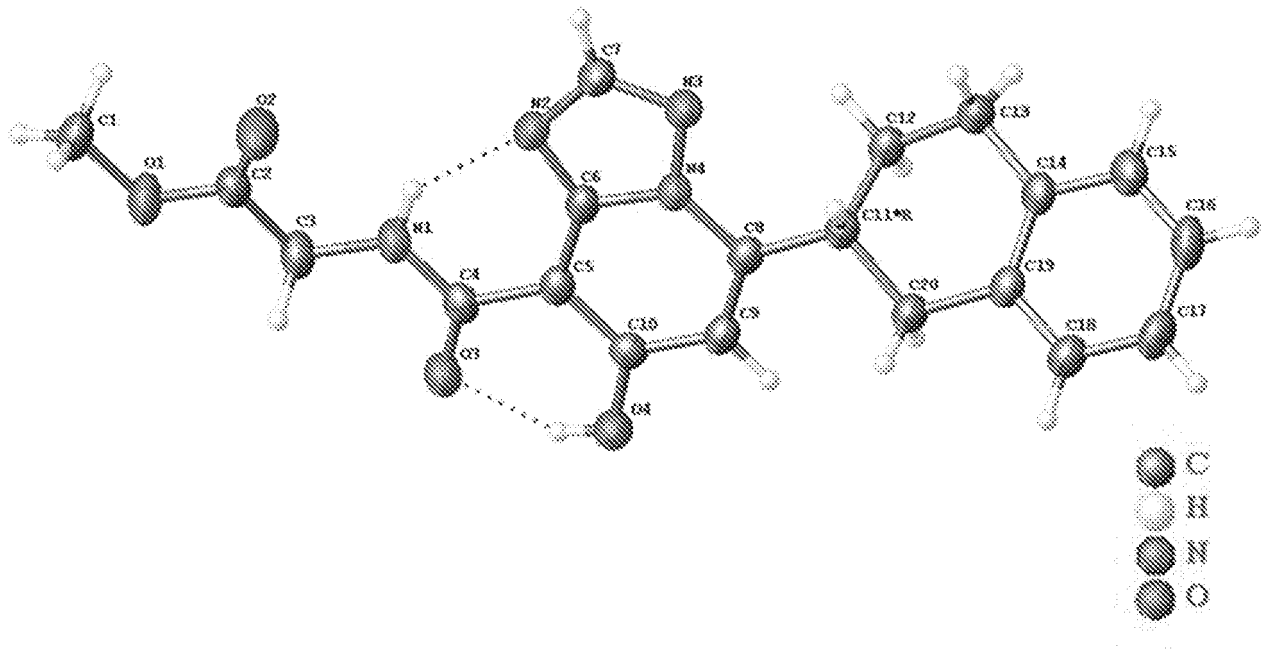


图 2

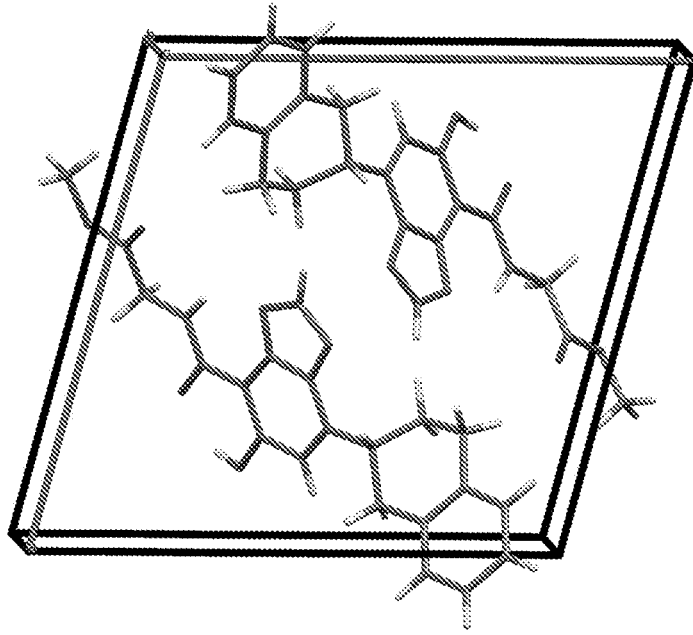


图 3

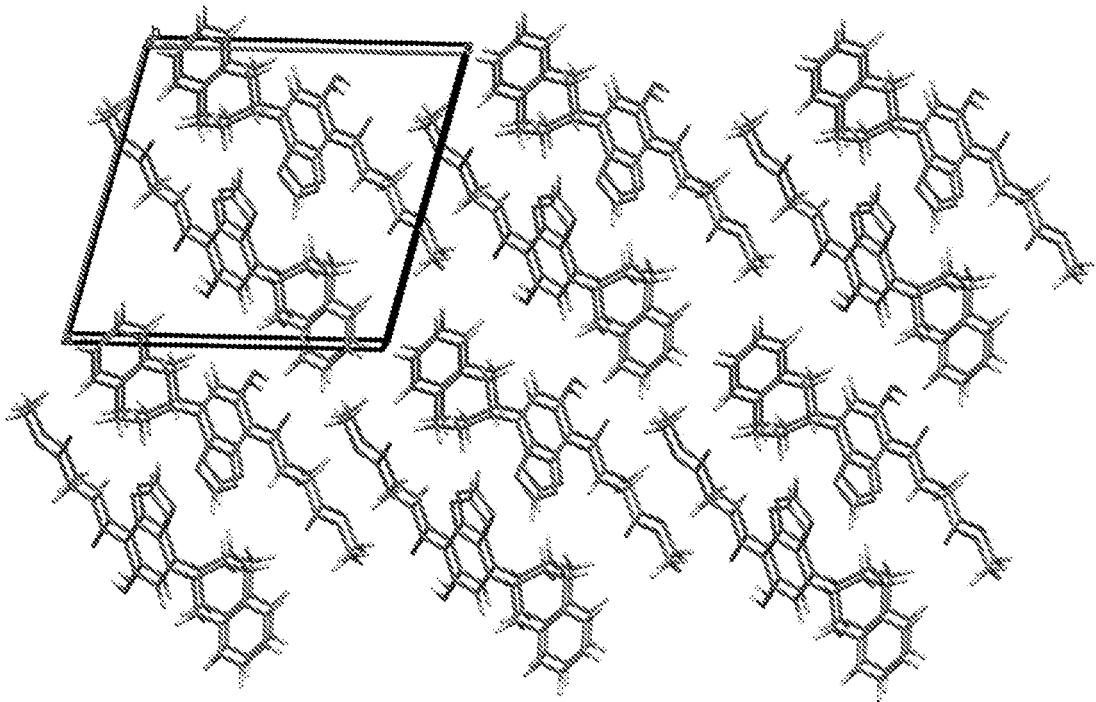


图 4

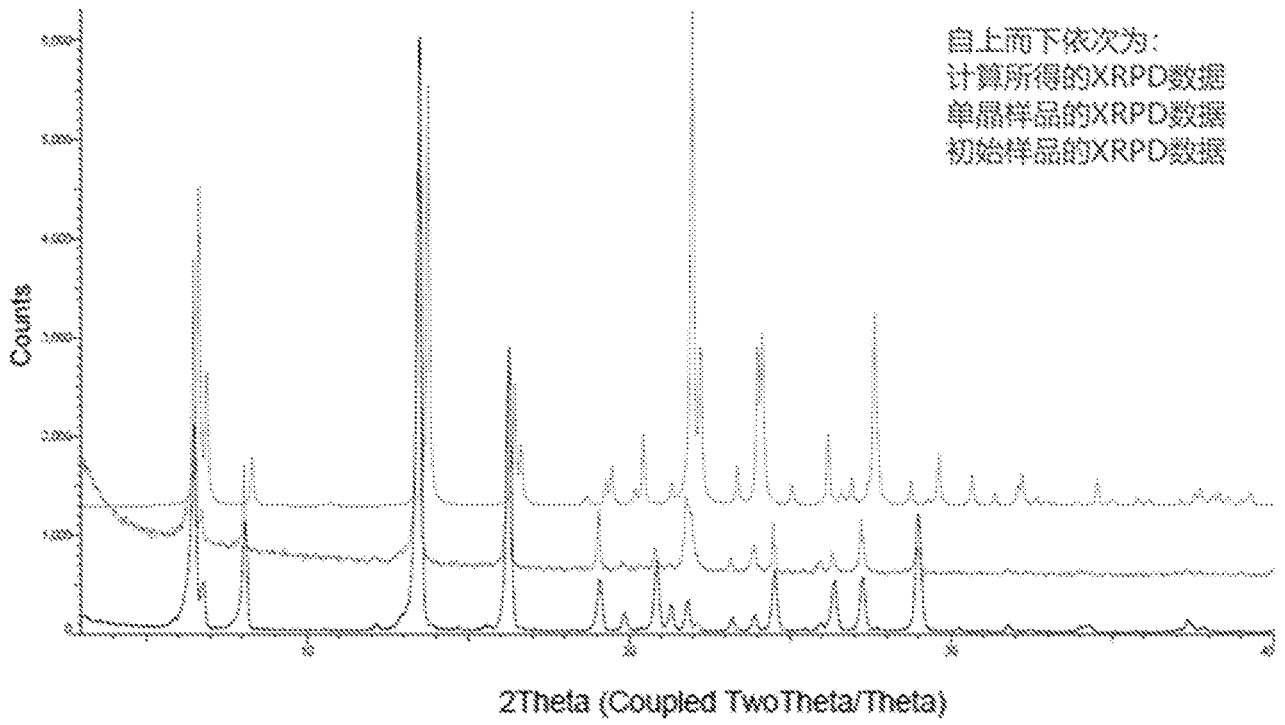
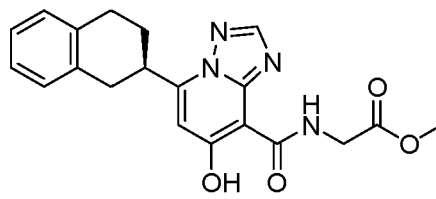


图 5



Chemical Formula: C₂₀H₂₀N₄O₄
 Molecular Weight: 380.40

图 6

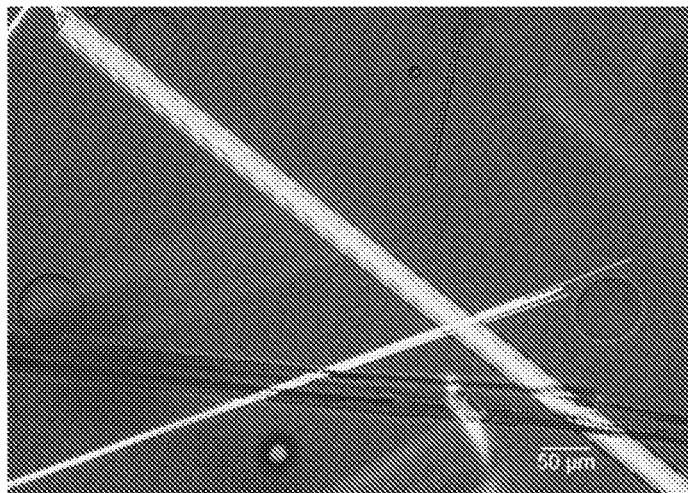


图 7

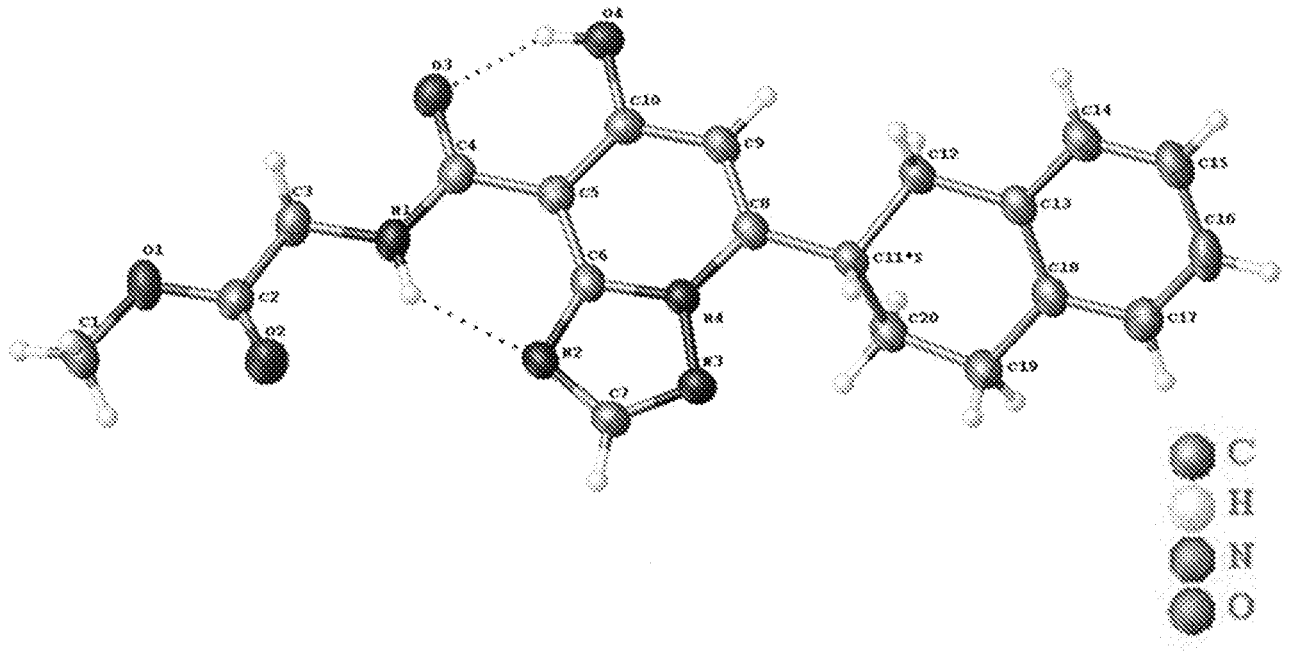


图 8

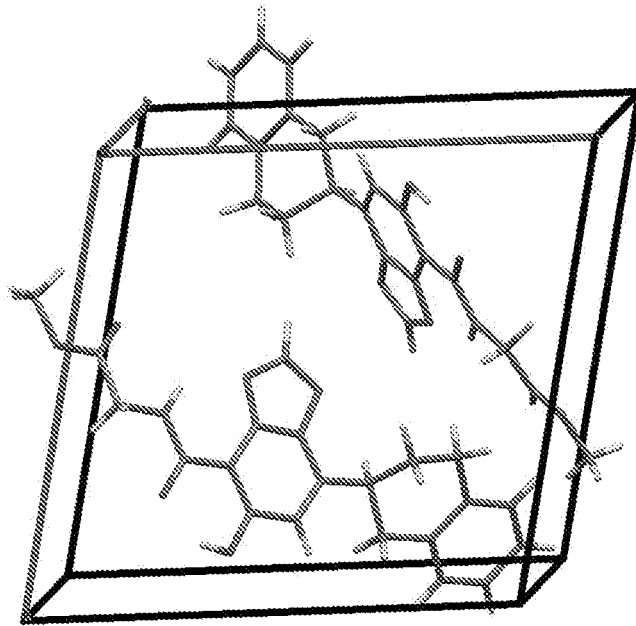


图 9

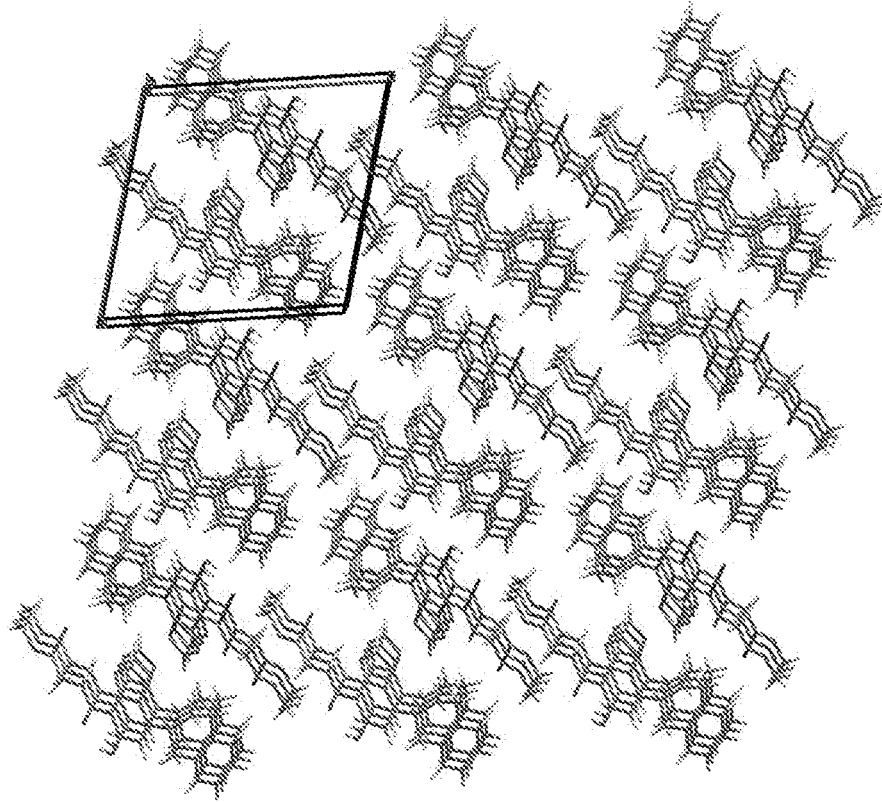


图 10

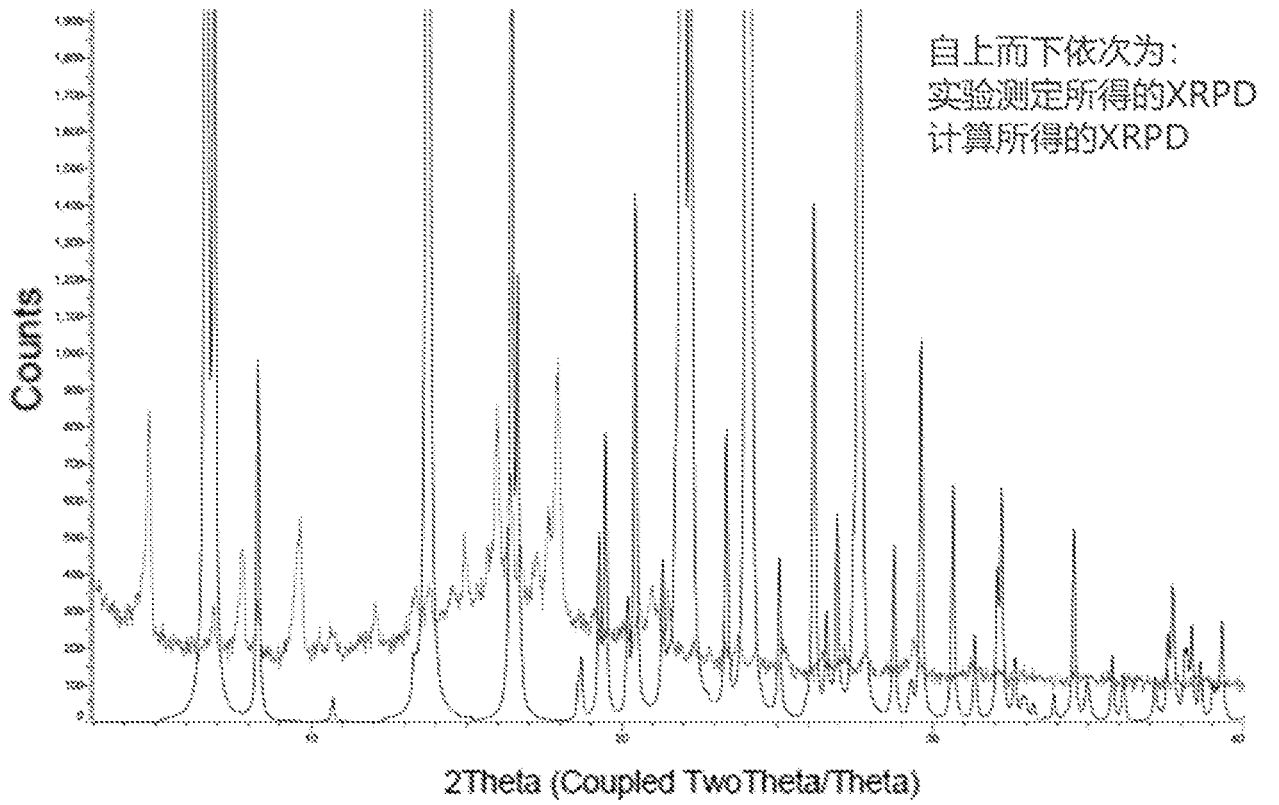
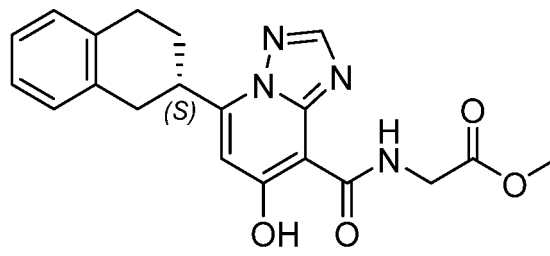


图 11



INI-B

Chemical Formula: C₂₀H₂₀N₄O₄

Molecular Weight: 380.40

图 12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/119468

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 471/04(2006.01)i; A61P 7/06(2006.01)i; A61P 9/10(2006.01)i; A61K 31/4375(2006.01)i; A61K 31/5377(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)

IPC: C07D A61P A61K

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, CNKI, 万方数据库, WANFANG DATABASE, 百度学术, BAIDU SCHOLAR, VEN, ENTXT, STN: 苏中药业, 吡啶并三唑, 甘氨酸, 脯氨酰羟化酶, 脯氨酸羟化酶, 缺氧诱导性因子, 促红细胞生成素; pyridino-triazole, glycin, prolyl hydroxylase domain, Proline Hydroxylase domain, hypoxia inducible factor, HIF, Erythropoietin, EPO.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 116496269 A (SZYY GROUP PHARMACEUTICAL LIMITED et al.) 28 July 2023 (2023-07-28) claims 1-10	1-10
X	WO 2016104451 A1 (FUJI YAKUHIN CO., LTD.) 30 June 2016 (2016-06-30) pages 5-7, 13-16, 82, 84-85, 87-95, and 112-116; examples 1 to 3, and embodiments 5, 20-25, 28, 41, 44, 50-55, 61-63, 68, 71-74, 76, 81-84, 86-90, and 201-227	1-10
X	刘思凡 等 (LIU, Sifan et al.). "三氮唑并吡啶类脯氨酸羟化酶抑制剂的设计合成研究 (Design and Synthesis of Proline Hydroxylase Domain Inhibitor)" <i>合成化学研究 (Non-official translation: Synthetic Chemistry Research)</i> , Vol. 6, No. 1, 06 February 2018 (2018-02-06), ISSN: 2332-7960, pages 1-7	1-10
X	"RN 2201926-56-7" <i>STN Registry</i> , 29 March 2018 (2018-03-29), page 1	1-2

 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

"D" document cited by the applicant in the international application

"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

07 December 2023

Date of mailing of the international search report

17 December 2023

Name and mailing address of the ISA/CN

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

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/119468

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 102471337 A (JAPAN TOBACCO INC.) 23 May 2012 (2012-05-23) entire document	1-10
A	WO 2022150623 A1 (AKEBIA THERAPEUTICS INC.) 14 July 2022 (2022-07-14) entire document	1-10
A	US 2010303928 A1 (FIBROGEN, INC.) 02 December 2010 (2010-12-02) entire document	1-10
A	CN 101460497 A (FIBROGEN, INC.) 17 June 2009 (2009-06-17) entire document	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/119468

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	116496269	A	28 July 2023	None			
WO	2016104451	A1	30 June 2016	TW	201625614	A	16 July 2016
				JP	2018039733	A	15 March 2018
				AR	103231	A1	26 April 2017
CN	102471337	A	23 May 2012	EP	2746282	A1	25 June 2014
				JP	2015003933	A	08 January 2015
				JP	2020111612	A	27 July 2020
				JP	2012144571	A	02 August 2012
				JP	2022126843	A	30 August 2022
				CO	6430426	A2	30 April 2012
				US	2011077267	A1	31 March 2011
				US	8283465	B2	09 October 2012
				KR	20170018105	A	15 February 2017
				KR	101850661	B1	19 April 2018
				US	2016145254	A1	26 May 2016
				JP	2019019144	A	07 February 2019
				HK	1168346	A1	28 December 2012
				EP	3594213	A1	15 January 2020
				ES	2477968	T3	18 July 2014
				ES	2477968	T9	13 November 2014
				JP	2016040321	A	24 March 2016
				TW	201105671	A	16 February 2011
				TWI	485150	B	21 May 2015
				RU	2012105467	A	27 August 2013
				RU	2538963	C2	10 January 2015
				WO	2011007856	A1	20 January 2011
				EP	2455381	A1	23 May 2012
				EP	2455381	B1	28 May 2014
				KR	20120051704	A	22 May 2012
				KR	101706803	B1	14 February 2017
				AU	2010271732	A1	08 March 2012
				AU	2010271732	B2	25 August 2016
				DK	2455381	T3	21 July 2014
				DK	2455381	T5	09 February 2015
				JP	2017214404	A	07 December 2017
				JP	6434575	B2	05 December 2018
				US	2013096155	A1	18 April 2013
				KR	20180042443	A	25 April 2018
				CA	2768505	A1	20 January 2011
				CA	2768505	C	12 June 2018
				JP	2011037841	A	24 February 2011
				JP	5021797	B2	12 September 2012
WO	2022150623	A1	14 July 2022	TW	202237112	A	01 October 2022
US	2010303928	A1	02 December 2010	HK	1148284	A1	02 September 2011
				WO	2009073669	A1	11 June 2009
				EP	2227475	A1	15 September 2010
				EP	2227475	B1	19 February 2014
				US	8269008	B2	18 September 2012
CN	101460497	A	17 June 2009	ZA	200808410	B	30 December 2009

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/119468

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		AU 2007234408 A1	11 October 2007
		AU 2007234408 B2	19 May 2011
		HK 1127046 A1	02 October 2009
		IL 194311 A	24 September 2015
		JP 2009532502 A	10 September 2009
		JP 5111491 B2	09 January 2013
		CA 2647596 A1	11 October 2007
		CA 2647596 C	12 June 2012
		RU 2008143564 A	10 May 2010
		RU 2461557 C2	20 September 2012
		EP 3124489 A1	01 February 2017
		EP 3124489 B1	15 July 2020
		KR 20080112350 A	24 December 2008
		KR 101084635 B1	18 November 2011
		BRPI 0710527 A2	05 June 2012
		BRPI 0710527 B1	03 September 2019
		NO 20084627 L	26 November 2008
		MX 2008012734 A	29 January 2009
		US 2008004309 A1	03 January 2008
		US 7696223 B2	13 April 2010
		WO 2007115315 A2	11 October 2007
		EP 2016078 A2	21 January 2009
		EP 2016078 B1	15 June 2016

A. 主题的分类 C07D 471/04(2006.01)i; A61P 7/06(2006.01)i; A61P 9/10(2006.01)i; A61K 31/4375(2006.01)i; A61K 31/5377(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) IPC: C07D A61P A61K 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, CNKI, 万方数据库, 百度学术, VEN, ENTXT, STN; 苏中药业, 吡啶并三唑, 甘氨酸, 脯氨酸羟化酶, 脯氨酸羟化酶, 缺氧诱导性因子, 促红细胞生成素; pyridino-triazole, glycin, prolyl hydroxylase domain, Proline Hydroxylase domain, hypoxia inducible factor, HIF, Erythropoietin, EPO.		
C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 116496269 A (苏中药业集团股份有限公司等) 2023年7月28日 (2023 - 07 - 28) 权利要求1-10	1-10
X	WO 2016104451 A1 (FUJIYAKUHIN CO LTD) 2016年6月30日 (2016 - 06 - 30) 第5-7,13-16,82,84-85,87-95,112-116页; 参考例1-参考例3, 实施例5, 20-25, 28, 41, 44, 50-55, 61-63, 68, 71-74, 76, 81-84, 86-90, 201-227	1-10
X	刘思凡等. "三氮唑并吡啶类脯氨酸羟化酶抑制剂的设计合成研究" 合成化学研究, 第6卷, 第1期, 2018年2月6日 (2018 - 02 - 06), ISSN: 2332-7960, 第1-7页	1-10
X	. "RN 2201926-56-7" STN Registry, 2018年3月29日 (2018 - 03 - 29), 第1页	1-2
A	CN 102471337 A (日本烟草产业株式会社) 2012年5月23日 (2012 - 05 - 23) 全文	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 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 "D" 申请人在国际申请中引证的文件 "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 2023年12月7日		国际检索报告邮寄日期 2023年12月17日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088		授权官员 陆涛 电话号码 (+86) 020-28958408

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	WO 2022150623 A1 (AKEBIA THERAPEUTICS INC) 2022年7月14日 (2022 - 07 - 14) 全文	1-10
A	US 2010303928 A1 (FIBROGEN INC) 2010年12月2日 (2010 - 12 - 02) 全文	1-10
A	CN 101460497 A (菲布罗根有限公司) 2009年6月17日 (2009 - 06 - 17) 全文	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/119468

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)
CN	116496269	A	2023年7月28日	无			
WO	2016104451	A1	2016年6月30日	TW	201625614	A	2016年7月16日
				JP	2018039733	A	2018年3月15日
				AR	103231	A1	2017年4月26日
CN	102471337	A	2012年5月23日	EP	2746282	A1	2014年6月25日
				JP	2015003933	A	2015年1月8日
				JP	2020111612	A	2020年7月27日
				JP	2012144571	A	2012年8月2日
				JP	2022126843	A	2022年8月30日
				CO	6430426	A2	2012年4月30日
				US	2011077267	A1	2011年3月31日
				US	8283465	B2	2012年10月9日
				KR	20170018105	A	2017年2月15日
				KR	101850661	B1	2018年4月19日
				US	2016145254	A1	2016年5月26日
				JP	2019019144	A	2019年2月7日
				HK	1168346	A1	2012年12月28日
				EP	3594213	A1	2020年1月15日
				ES	2477968	T3	2014年7月18日
				ES	2477968	T9	2014年11月13日
				JP	2016040321	A	2016年3月24日
				TW	201105671	A	2011年2月16日
				TWI	485150	B	2015年5月21日
				RU	2012105467	A	2013年8月27日
				RU	2538963	C2	2015年1月10日
				WO	2011007856	A1	2011年1月20日
				EP	2455381	A1	2012年5月23日
				EP	2455381	B1	2014年5月28日
				KR	20120051704	A	2012年5月22日
				KR	101706803	B1	2017年2月14日
				AU	2010271732	A1	2012年3月8日
				AU	2010271732	B2	2016年8月25日
				DK	2455381	T3	2014年7月21日
				DK	2455381	T5	2015年2月9日
				JP	2017214404	A	2017年12月7日
				JP	6434575	B2	2018年12月5日
				US	2013096155	A1	2013年4月18日
				KR	20180042443	A	2018年4月25日
				CA	2768505	A1	2011年1月20日
				CA	2768505	C	2018年6月12日
				JP	2011037841	A	2011年2月24日
				JP	5021797	B2	2012年9月12日
WO	2022150623	A1	2022年7月14日	TW	202237112	A	2022年10月1日
US	2010303928	A1	2010年12月2日	HK	1148284	A1	2011年9月2日
				WO	2009073669	A1	2009年6月11日
				EP	2227475	A1	2010年9月15日
				EP	2227475	B1	2014年2月19日
				US	8269008	B2	2012年9月18日
CN	101460497	A	2009年6月17日	ZA	200808410	B	2009年12月30日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/119468

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)
		AU 2007234408 A1	2007年10月11日
		AU 2007234408 B2	2011年5月19日
		HK 1127046 A1	2009年10月2日
		IL 194311 A	2015年9月24日
		JP 2009532502 A	2009年9月10日
		JP 5111491 B2	2013年1月9日
		CA 2647596 A1	2007年10月11日
		CA 2647596 C	2012年6月12日
		RU 2008143564 A	2010年5月10日
		RU 2461557 C2	2012年9月20日
		EP 3124489 A1	2017年2月1日
		EP 3124489 B1	2020年7月15日
		KR 20080112350 A	2008年12月24日
		KR 101084635 B1	2011年11月18日
		BR-PI 0710527 A2	2012年6月5日
		BR-PI 0710527 B1	2019年9月3日
		NO 20084627 L	2008年11月26日
		MX 2008012734 A	2009年1月29日
		US 2008004309 A1	2008年1月3日
		US 7696223 B2	2010年4月13日
		WO 2007115315 A2	2007年10月11日
		EP 2016078 A2	2009年1月21日
		EP 2016078 B1	2016年6月15日
