

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680004374.4

[51] Int. Cl.

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 5 月 28 日

[11] 公开号 CN 101189223A

[22] 申请日 2006.2.7

[21] 申请号 200680004374.4

[30] 优先权

[32] 2005. 2. 8 [33] US [31] 60/650,798

[86] 国际申请 PCT/US2006/004278 2006.2.7

[87] 国际公布 WO2006/086381 英 2006.8.17

[85] 进入国家阶段日期 2007.8.8

[71] 申请人 布里斯托尔 - 迈尔斯斯奎布公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 N·辛 A·古德 B·韦纳布尔斯

P·斯科拉 N·米恩威尔

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 段晓玲 李连涛

权利要求书 4 页 说明书 147 页

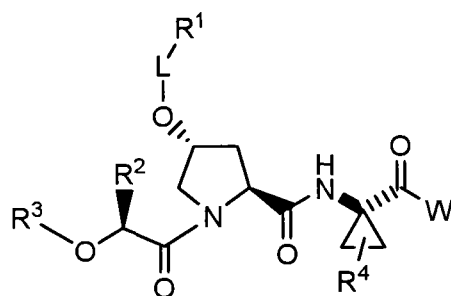
[54] 发明名称

丙型肝炎病毒抑制剂

[57] 摘要

本发明总的说来涉及抗病毒化合物,更具体的说,涉及这样的化合物,所述化合物抑制由丙型肝炎病毒(HCV)编码的 NS3 蛋白酶(在本文中还称为“丝氨酸蛋白酶”)的功能,本发明还涉及含上述化合物的组合物,以及抑制 NS3 蛋白酶的功能的方法。

1. 通式(I)的化合物或者其药学可接受的盐,



(I),

其中

L 不存在或者是 -C(O)-;

R^1 是杂芳基或杂环基, 其中所述杂芳基和杂环基任选地被一个、两个、三个、四个、五个或六个独立地选自以下的取代基取代: 烷氧基、烷氧羰基、烷氧基羰氧基、烷基、烷基硫烷基、芳基、芳基烷氧基、羧基、氰基、环烷基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基、杂芳氧基、杂芳基、杂芳基羰基、杂环基、羟基、巯基、-NR^aR^b、(NR^aR^b)烷基和(NR^cR^d)羰基;

R^2 选自氢、链烯基、烷氧基烷基、烷氧基羰基烷基、烷基、烷基氨基烷基、氨基烷基、芳基、芳基烷基、环烷基、(环烷基)烷基、二烷基氨基烷基、卤代烷氧基烷基、卤代烷基、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基和杂环基烷基;

R^3 选自氢和 R⁵-NH-C(O)-;

R^4 选自氢、链烯基、烷基、环烷基、卤代链烯基和卤代烷基;

R^5 选自烷基、芳基、芳基烷基、羧烷基、环烷基、(环烷基)烷基、卤代烷氧基烷基、卤代烷基、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基和杂环基烷基;

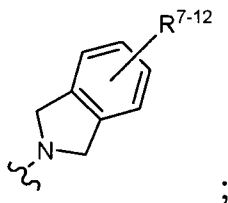
R^a 和 R^b 之一选自氢、烷氧羰基、烷基、烷基羰基、烷基磺酰基、芳基烷基、芳基羰基、芳基磺酰基、环烷基、甲酰基和(NR^cR^d)羰基, 而另一个选自氢、烷基和环烷基;

R^c 和 R^d 各自独立地选自氢和烷基;

和

W 选自羟基和-NH-SO_n-R⁶, 其中 n 是 1 或 2 并且 R⁶ 选自烷基、芳基、环烷基、(环烷基)烷基、杂芳基、杂环基和-NR^aR^b。

2. 权利要求1的化合物, 其中 R^3 是氢。
3. 权利要求1的化合物, 其中 R^3 是 $R^5\text{-NH-C(O)-}$ 。
4. 权利要求3的化合物, 其中 W 是 $\text{-NH-SO}_n\text{-R}^6$ 。
5. 权利要求4的化合物, 其中 L 是 -C(O)- 。
6. 权利要求5的化合物, 其中 R^1 是



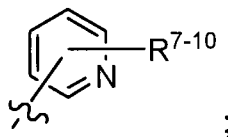
其中

R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 独立地选自氢、烷氧基、烷氧羰基、烷氧基羰氧基、烷基、烷基硫烷基、芳基、芳基烷氧基、羧基、氰基、环烷基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基、杂芳氧基、杂芳基、杂芳基羰基、杂环基、羟基、巯基、 $\text{-NR}^a\text{R}^b$ 、 (NR^aR^b) 烷基和 (NR^cR^d) 羰基。

7. 权利要求6的化合物, 其中 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 中的一个为卤素, 而其余的是氢。

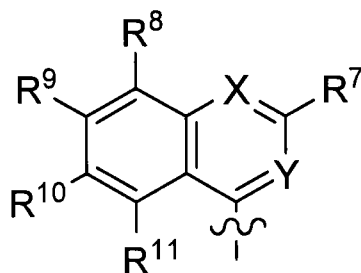
8. 权利要求4的化合物, 其中 L 是不存在的。

9. 权利要求8的化合物, 其中 R^1 是



其中 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 独立地选自氢、烷氧基、烷氧羰基、烷氧基羰氧基、烷基、烷基硫烷基、芳基、芳基烷氧基、羧基、氰基、环烷基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基、杂芳氧基、杂芳基、杂芳基羰基、杂环基、羟基、巯基、 $\text{-NR}^a\text{R}^b$ 、 (NR^aR^b) 烷基和 (NR^cR^d) 羰基。

10. 权利要求8的化合物, 其中 R^1 是



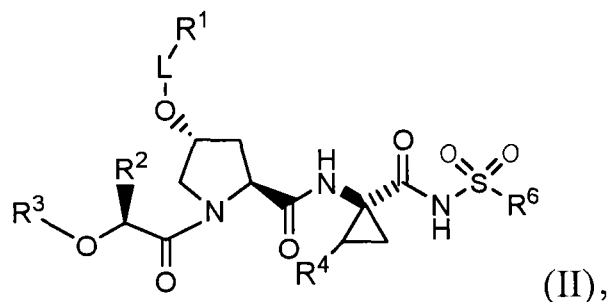
其中

X 选自 N 和 CR^{12} ;

Y 选自 N 和 CH; 和

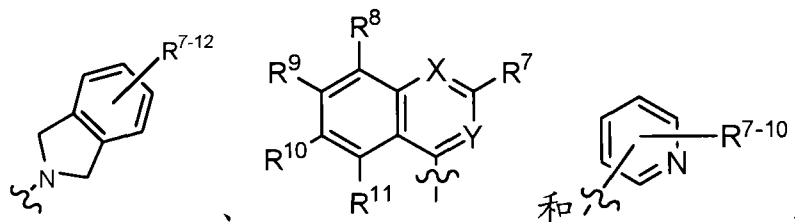
R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 独立地选自氢、烷氧基、烷氧羰基、烷氧基羰氧基、烷基、烷基硫烷基、芳基、芳基烷氧基、羧基、氰基、环烷基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基、杂芳氧基、杂芳基、杂芳基羰基、杂环基、羟基、巯基、 $-NR^aR^b$ 、 (NR^aR^b) 烷基和 (NR^cR^d) 羰基。

11. 通式(II)的化合物或者其药学可接受的盐,



其中

R^1 选自



L 不存在或者是 $-C(O)-$;

X 选自 N 和 CR^{12} ;

Y 选自 N 和 CH; 和

R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 各自独立地选自氢、烷氧基、芳基、卤素和杂芳基;

R^2 选自烷氧基烷基、烷基、芳基、环烷基、(环烷基)烷基和杂芳基烷基;

R^3 选自氢和 $R^5-NH-C(O)-$;

R^4 是链烯基或烷基;

R^5 选自链烯基、烷基、芳基、环烷基和杂芳基烷基;

R^6 选自芳基、环烷基、杂芳基和 $-NR^aR^b$; 和

R^a 和 R^b 是烷基。

12. 权利要求 11 的化合物, 其中 R^3 是氢。

13. 权利要求 11 的化合物, 其中 R^3 是 $R^5-NH-C(O)-$ 。

14. 一种组合物, 其包含权利要求 1 的化合物和药学可接受的载

体。

15. 权利要求 14 的组合物, 还包括干扰素和三氮唑核苷。

16. 权利要求 14 的组合物, 还包括具有抗 HCV 活性的第二化合物。

17. 权利要求 16 的组合物, 其中具有抗 HCV 活性的第二化合物是干扰素。

18. 权利要求 17 的组合物, 其中干扰素选自干扰素 α -2B、聚乙二醇修饰的干扰素 α 、组合干扰素、干扰素 α -2A 和淋巴细胞样干扰素 τ 。

19. 权利要求 16 的组合物, 其中具有抗 HCV 活性的第二化合物选自白介素 2、白介素 6、白介素 12、强化 1 型辅助性 T 细胞响应形成的化合物、干扰 RNA、反义 RNA、咪喹莫特、三氮唑核苷、次黄嘌呤核苷 5'-单磷酸盐脱氢酶抑制剂、金刚烷胺和金刚烷乙胺。

20. 抑制 HCV 丝氨酸蛋白酶的功能的方法, 包括使 HCV 丝氨酸蛋白酶与权利要求 1 的化合物接触。

21. 处理在患者体内 HCV 感染的方法, 包括将治疗有效量的权利要求 1 的化合物给予患者。

22. 权利要求 21 的方法, 其中所述化合物有效地抑制 HCV 丝氨酸蛋白酶的功能。

23. 权利要求 22 的方法, 还包括在给予权利要求 1 的化合物之前、之后或者同时, 给予具有抗 HCV 活性的第二化合物。

24. 权利要求 23 的方法, 其中具有抗 HCV 活性的第二化合物是干扰素。

25. 权利要求 24 的方法, 其中干扰素选自干扰素 α -2B、聚乙二醇修饰的干扰素 α 、组合干扰素、干扰素 α -2A 和淋巴细胞样干扰素 τ 。

26. 权利要求 23 的方法, 其中具有抗 HCV 活性的第二化合物选自白介素 2、白介素 6、白介素 12、强化 1 型辅助性 T 细胞响应形成的化合物、干扰 RNA、反义 RNA、咪喹莫特、三氮唑核苷、次黄嘌呤核苷 5'-单磷酸盐脱氢酶抑制剂、金刚烷胺和金刚烷乙胺。

丙型肝炎病毒抑制剂

本公开内容总的说来涉及抗病毒化合物, 更具体的说, 涉及这样的化合物, 所述化合物抑制由丙型肝炎病毒(HCV)编码的 NS3 蛋白酶(在本文中还可称为“丝氨酸蛋白酶”)的功能, 含上述化合物的组合物, 以及抑制 NS3 蛋白酶的功能方法。

HCV 是一种主要的人类病原体, 其估计感染了全世界 1.7 亿人, 约为人类免疫缺陷性病毒 I 型所感染的数目的 5 倍。这些 HCV 感染的个体中的绝大部分形成了严重的渐进性肝病, 包括肝硬化和肝细胞癌。(Lauer, G. M.; Walker, B. D. N. Engl. J. Med. 2001, 345, 41-52)。

不久, 最有效的 HCV 疗法使用了 α -干扰素和三氮唑核苷的结合, 这在 40% 的病人中获得了持续的疗效(Poynard, T.等 Lancet 1998, 352, 1426-1432)。最近的临床结果显示了聚乙二醇 α -干扰素优于未改性的 α -干扰素作为单一疗法(Zeuzem, S.等 N. Engl. J. Med. 2000, 343, 1666-1672)。然而, 即使凭借包含聚乙二醇修饰的 (pegylated) α -干扰素和三氮唑核苷的结合的实验性治疗方案, 绝大部分病人没有持续减少病毒负载量。因而, 存在着明确的且未得到满足的开发有效的用于治疗 HCV 传染的治疗方法的需要。

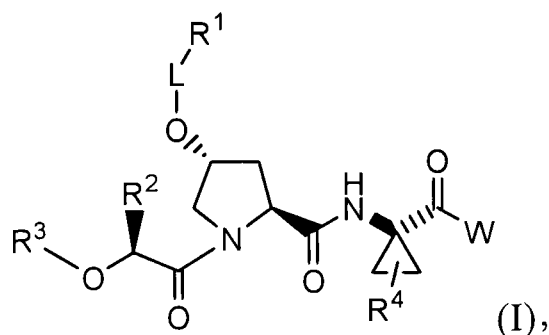
HCV 是一种正链 RNA 病毒。基于推断的氨基酸序列和 5' 非翻译区中广泛的相似性的比较, 已经将 HCV 分类为黄病毒科中单独的种。全部黄病毒科的成员都已封装了病毒体, 这些病毒体包含正链 RNA 基因组, 其通过单个连续的可译框架的翻译编码了全部已知的病毒特定的蛋白质。

在 HCV 基因组中, 在核苷酸和所编码的氨基酸序列内存在着显著的异质性。已经表征了六种主要的基因型, 并且描述了 50 种以上的亚型。在全世界, HCV 的主要基因型在其分布方面不同, 并且尽管大量研究了基因型对发病机理和治疗方法的可能的作用, 但是 HCV 的遗传异质性的临床意义仍然难以捉摸。

单链 HCV RNA 基因组在长度上约为 9500 个核苷酸, 并且具有编码约 3000 个氨基酸的单个大型多蛋白的单个可译框架(ORF)。在受感染细胞中, 这种多蛋白在多个位点被细胞蛋白酶和病毒蛋白酶裂解从而产生

结构性和非结构性(NS)蛋白质。就 HCV 来说,成熟的非结构性蛋白质(NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A 和 NS5B)的产生受到两种病毒蛋白酶的影响。第一种蛋白酶在 NS2-NS3 连接点处裂解;第二种蛋白酶是含于 NS3 的 N-末端范围内的丝氨酸蛋白酶,并且介导 NS3 下游的全部随后的裂解,在 NS3-NS4A 裂解位点处为顺式,对于其余的 NS4A-NS4B、NS4B-NS5A、NS5A-NS5B 位点,为反式。NS4A 蛋白质似乎起到多种功能,作为 NS3 蛋白酶的辅助因子并且可能有助于 NS3 和其它病毒复制酶组分的膜定位。NS3 蛋白质与 NS4A 的络合形成对于有效的多蛋白加工来说是必需的,强化了在所有位点处的溶蛋白性裂解。NS3 蛋白质还显示出核苷三磷酸酶和 RNA 解旋酶活性。NS5B 是一种依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶,其涉及 HCV 的复制。

本公开内容的第一方面提供通式(I)的化合物



或者其药学可接受的盐,其中

L 不存在或者是 -C(O)-;

R^1 是杂芳基或杂环基,其中杂芳基和杂环基任选地被一个、两个、三个、四个、五个或六个独立地选自以下的取代基取代:烷氧基、烷氧羰基、烷氧基羰氧基、烷基、烷基硫烷基(alkylsulfanyl)、芳基、芳基烷氧基、羧基、氰基、环烷基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基,杂芳氧基、杂芳基、杂芳基羰基、杂环基、羟基、巯基、-NR^aR^b、(NR^aR^b)烷基和(NR^cR^d)羰基;

R^2 选自氢、链烯基、烷氧基烷基、烷氧基羰基烷基、烷基、烷基氨基烷基、氨基烷基、芳基、芳基烷基、环烷基、(环烷基)烷基、二烷基氨基烷基、卤代烷氧基烷基、卤代烷基、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基和杂环基烷基;

R^3 选自氢和 R⁵-NH-C(O)-;

R^4 选自氢、链烯基、烷基、环烷基、卤代链烯基和卤代烷基；

R^5 选自烷基、芳基、芳基烷基、羧基烷基、环烷基、(环烷基)烷基、卤代烷氧基烷基、卤代烷基、杂芳基、杂芳基烷基、杂环基和杂环基烷基；

R^a 和 R^b 之一选自氢、烷氧羰基、烷基、烷基羰基、烷基磺酰基、芳基烷基、芳基羰基、芳基磺酰基、环烷基、甲酰基和 (NR^cR^d) 羰基，而另一个选自氢、烷基和环烷基；

R^c 和 R^d 各自独立地选自氢和烷基；

和

W 选自羟基和 $-NH-SO_n-R^6$ ，其中 n 是 1 或 2 并且 R^6 选自烷基、芳基、环烷基、(环烷基)烷基、杂芳基、杂环基和 $-NR^aR^b$ 。

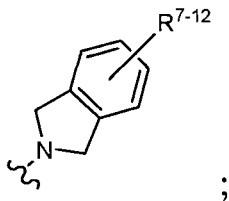
在第一方面的一个实施方案中，本公开内容提供了通式(I)的化合物，其中 R^3 是氢。

在第一方面的另一实施方案中，本公开内容提供了通式(I)的化合物，其中 R^3 是 $R^5-NH-C(O)-$ 。

在第一方面的另一实施方案中，本公开内容提供了通式(I)的化合物，其中 R^3 是 $R^5-NH-C(O)-$ ；和 W 是 $-NH-SO_n-R^6$ 。

在第一方面的另一实施方案中，本公开内容提供了通式(I)的化合物，其中 R^3 是 $R^5-NH-C(O)-$ ；W 是 $-NH-SO_n-R^6$ 和 L 是 $-C(O)-$ 。

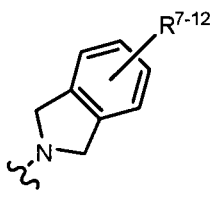
在第一方面的另一实施方案中，本公开内容提供了通式(I)的化合物，其中 R^3 是 $R^5-NH-C(O)-$ ；W 是 $-NH-SO_n-R^6$ ；L 是 $-C(O)-$ ；和 R^1 是



其中

R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 独立地选自氢、烷氧基、烷氧羰基、烷氧基羰氧基、烷基、烷基硫烷基、芳基、芳基烷氧基、羧基、氰基、环烷基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基、杂芳氧基、杂芳基、杂芳基羰基、杂环基、羟基、巯基、 $-NR^aR^b$ 、 (NR^aR^b) 烷基和 (NR^cR^d) 羰基。

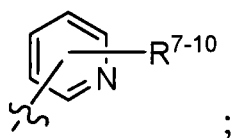
在第一方面的另一实施方案中，本公开内容提供了通式(I)的化合物，其中 R^3 是 $R^5-NH-C(O)-$ ；W 是 $-NH-SO_n-R^6$ ；L 是 $-C(O)-$ ；和 R^1 是



其中 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 之一是卤素并且其余的是氢。

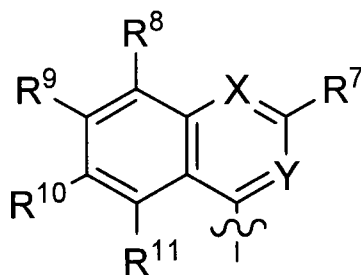
在第一方面的另一实施方案中，本公开内容提供了通式(I)的化合物，其中 R^3 是 R^5 -NH-C(O)-；W 是 -NH-SO_n-R⁶；并且 L 不存在。

在第一方面的另一实施方案中，本公开内容提供了通式(I)的化合物，其中 R^3 是 R^5 -NH-C(O)-；W 是 -NH-SO_n-R⁶；L 不存在；和 R^1 是



其中 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 独立地选自氢、烷氧基、烷氧羰基、烷氧基羰氧基、烷基、烷基硫烷基、芳基、芳基烷氧基、羧基、氰基、环烷基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基、杂芳氧基、杂芳基、杂芳基羰基、杂环基、羟基、巯基、-NR^aR^b、(NR^aR^b)烷基和(NR^cR^d)羰基。

在第一方面的另一实施方案中，本公开内容提供了通式(I)的化合物，其中 R^3 是 R^5 -NH-C(O)-；W 是 -NH-SO_n-R⁶；L 不存在；和 R^1 是



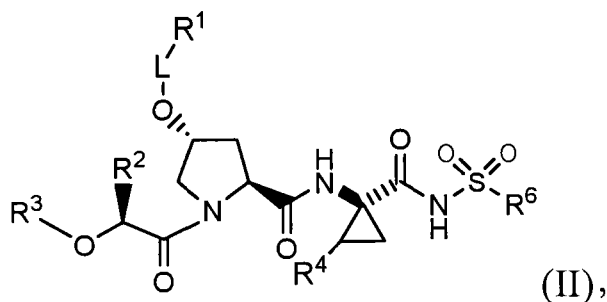
其中

X 选自 N 和 CR¹²；

Y 选自 N 和 CH；和

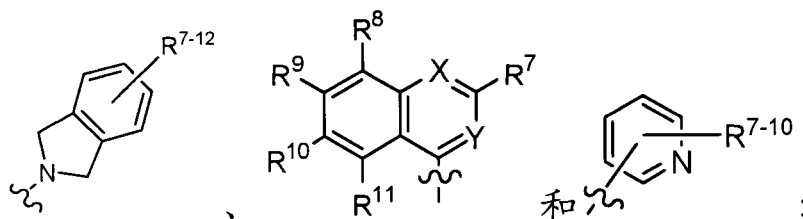
R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 独立地选自氢、烷氧基、烷氧羰基、烷氧基羰氧基、烷基、烷基硫烷基、芳基、芳基烷氧基、羧基、氰基、环烷基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基、杂芳氧基、杂芳基、杂芳基羰基、杂环基、羟基、巯基、-NR^aR^b、(NR^aR^b)烷基和(NR^cR^d)羰基。

本公开内容的第二方面提供了通式(II)的化合物



或者其药学可接受的盐，其中

R^1 选自



L 不存在或者是 $-C(O)-$;

X 选自 N 和 CR^{12} ;

Y 选自 N 和 CH; 和

R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 各自独立地选自氢、烷氧基、芳基、卤素和杂芳基;

R^2 选自烷氧基烷基、烷基、芳基、环烷基、(环烷基)烷基和杂芳基烷基;

R^3 选自氢和 $R^5-NH-C(O)-$;

R^4 是链烯基或烷基;

R^5 选自链烯基、烷基、芳基、环烷基和杂芳基烷基;

R^6 选自芳基、环烷基、杂芳基和 $-NR^aR^b$; 和

R^a 和 R^b 是烷基。

在第二方面的一个实施方案中，本公开内容提供了通式(II)的化合物，其中 R^3 是氢。

在第二方面的另一实施方案中，本公开内容提供了通式(II)的化合物，其中 R^3 是 $R^5-NH-C(O)-$ 。

在第三方面中，本公开内容提供了一种组合物，其包括通式(I)的化合物或者其药学可接受的盐和药学可接受的载体。

在第三方面的另一实施方案中，本公开内容提供了一种组合物，其包括通式(I)的化合物或者其药学可接受的盐、药学可接受的载体、干扰

素和三氮唑核苷。

在第三方面的另一实施方案中，本公开内容提供了一种组合物，其包括通式(I)的化合物或者其药学可接受的盐、药学可接受的载体和具有抗 HCV 活性的第二化合物。

在第三方面的另一实施方案中，具有抗 HCV 活性的第二化合物是干扰素。

在第三方面的另一实施方案中，所述干扰素选自干扰素 α -2B、聚乙二醇修饰的干扰素 α 、组合干扰素、干扰素 α -2A 和淋巴细胞样干扰素 τ 。

在第三方面的另一实施方案中，具有抗 HCV 活性的第二化合物选自白介素 2、白介素 6、白介素 12、强化 I 型辅助性 T 细胞响应的形成的化合物、干扰 RNA、反义 RNA、咪喹莫特(Imiquimod)、三氮唑核苷、次黄嘌呤核苷 5'-单磷酸盐(monophosphate)脱氢酶抑制剂、金刚烷胺和金刚烷乙胺。

在第四方面中，本公开内容提供了一种抑制 HCV 丝氨酸蛋白酶的功能的方法，其包括使 HCV 丝氨酸蛋白酶与通式(I)的化合物或者其药学可接受的盐接触。

在第五方面中，本公开内容提供了一种治疗在患者体内 HCV 感染的方法，其包括将治疗有效量的通式(I)的化合物或者其药学可接受的盐给予患者。

在第五方面的一个实施方案中，所述化合物有效抑制 HCV 丝氨酸蛋白酶的功能。

在第五方面的另一实施方案中，所述方法还包括在通式(I)的化合物或者其治疗可接受的盐之前、之后或者和其同时给予具有抗 HCV 活性的第二化合物。

在第六方面的另一实施方案中，具有抗 HCV 活性的第二化合物是干扰素。

在第六方面的另一实施方案中，所述干扰素选自干扰素 α -2B、聚乙二醇修饰的干扰素 α 、组合干扰素、干扰素 α -2A 和淋巴细胞样干扰素 τ 。

在第六方面的另一实施方案中，所述方法还包括在通式(I)的化合物或者其治疗可接受的盐之前、之后或者和其同时给予具有抗 HCV 活性的第二化合物，其中具有抗 HCV 活性的第二化合物选自白介素 2、白介素 6、白介素 12、强化 I 型辅助性 T 细胞响应形成的化合物、干扰 RNA、

反义 RNA、咪喹莫特(Imiquimod)、三氮唑核苷、次黄嘌呤核苷 5'-单磷酸盐(monophosphate)脱氢酶抑制剂、金刚烷胺和金刚烷乙胺。

在第七方面中,本公开内容提供了通式(I)的化合物或者其药学可接受的盐在制造用于治疗患者体内 HCV 感染的药物中的用途。

在第八方面中,本公开内容提供了含通式(I)的化合物或者其药学可接受的盐和药学可接受的载体的组合物在制造用于治疗患者体内 HCV 感染的药物中的用途。

除非在本文中另外具体指出的,以下所述的术语将具有如下定义。

如本文中所用,单数形式“一个”、“一种”和“该”等包括复数对象,除非上下文明确要求以外。

术语“链烯基”,如本文中所用,是指含至少一个碳-碳双键的 2-8 个碳原子的直链或支链基团。

术语“烷氧基”,如本文中所用,是指通过氧原子连接于母体分子部分的烷基。

术语“烷氧基烷基”,如本文中所用,是指被一个、两个或三个烷氧基取代的烷基。

术语“烷氧羰基”,如本文中所用,是指通过羰基连接于母体分子部分的烷氧基。

术语“烷氧基羰基烷基”,如本文中所用,是指被一个、两个或三个烷氧羰基取代的烷基。

术语“烷氧基羰氧基”,如本文中所用,是指通过氧原子连接于母体分子部分的烷氧羰基。

术语“烷基”,如本文中所用,是指衍生自含 1-8 个碳原子的直链或支链饱和烃的基团。

术语“烷基氨基”,如本文中所用,是指- NR_xR_y , 其中 R_x 和 R_y 之一是氢和另一个是烷基。

术语“烷基氨基烷基”,如本文中所用,是指被一个、两个或三个烷基氨基取代的烷基。

术语“烷基羰基”,如本文中所用,是指通过羰基连接于母体分子部分的烷基。

术语“烷基硫烷基”,如本文中所用,是指通过硫原子连接于母体分子部分的烷基。

术语“烷基磺酰基”，如本文中所用，是指通过磺酰基连接于母体分子部分的烷基。

术语“氨基”，如本文中所用，是指-NH₂。

术语“氨基烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个或三个氨基取代的烷基。

术语“芳基”，如本文中所用，是指苯基或者双环稠环系统，其中环中的一个或两个是苯基。双环稠环系统包括稠合到四-六元的芳族或者非芳族碳环的苯基。本公开内容的芳基可以通过基团中任何可取代的碳原子连接于母体分子部分。芳基典型的实例包括但不限于茚满基、茚基、萘基、苯基和四氢萘基。本公开内容的芳基可以任选地被一个、两个、三个、四个或者五个独立地选自以下的取代基取代：烷氧基、烷基、第二芳基、羧基、羧基烷氧基、羧基烷基、氰基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基、杂芳基、杂环基、羟基、羟烷基、硝基、-NR^aR^b、(NR^aR^b)烷氧基、(NR^aR^b)烷基、(NR^cR^d)羰基和氧代；其中第二芳基、杂芳基和杂环基可以进一步任选地被一个、两个、三个、四个或者五个独立地选自以下的取代基取代：烷氧基、烷基、氰基、卤素、卤烷氧基和硝基。

术语“芳基烷氧基”，如本文中所用，是指通过氧原子连接于母体分子部分的芳基烷基。

术语“芳基烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个或三个芳基取代的烷基。

术语“芳基羰基”，如本文中所用，是指通过羰基连接于母体分子部分的芳基。

术语“芳基磺酰基”，如本文中所用，是指通过磺酰基连接于母体分子部分的芳基。

术语“羰基”，如本文中所用，是指-C(O)-。

术语“羧基”，如本文中所用，是指-CO₂H。

术语“羧基烷氧基”，如本文中所用，是指通过氧原子连接于母体分子部分的羧基烷基。

术语“羧基烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个或三个羧基取代的烷基。

术语“氰基”，如本文中所用，是指-CN。

术语“环烷基”，如本文中所用，是指具有 3-7 个碳原子和 0 个杂原

子的饱和单环、双环或三环烃环系统。环烷基的典型实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基和二环[3.1.1]庚基。本公开内容的环烷基可以任选地被一个或两个未被取代的(环烷基)烷基或者卤代烷基取代。

术语“(环烷基)烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个或三个环烷基取代的烷基。

术语“二烷基氨基”，如本文中所用，是指 $-NR^xR^y$ ，其中 R^x 和 R^y 是相同或者不同的烷基。

术语“二烷基氨基烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个或三个二烷基氨基取代的烷基。

术语“甲酰基”，如本文中所用，是指 $-C(O)H$ 。

术语“卤”或“卤素”，如本文中所用，是指 F、Cl、Br 或 I。

术语“卤代链烯基”，如本文中所用，是指被一个、两个、三个或四个卤素原子取代的链烯基。

术语“卤烷氧基”，如本文中所用，是指通过氧原子连接于母体分子部分的卤代烷基。

术语“卤代烷氧基烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个或三个卤烷氧基取代的烷基。

术语“卤代烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个、三个或四个卤素原子取代的烷基。

术语“杂芳基”，如本文中所用，是指芳族五元或六元环，其中至少一个原子选自 N、O 和 S，其余原子是碳。术语“杂芳基”还包括双环系统，其中杂芳基环稠合到四至六元芳族或者非芳族环，其含有 0、1 或 2 个附加的选自 N、O 和 S 的杂原子。杂芳基通过基团中任何可取代的碳或氮原子连接于母体分子部分。杂芳基的典型实例包括但不限于苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、呋喃基、咪唑基、吡啶基、异喹啉基、异噻唑基、异噁唑基、萘啶基、噁二唑基、噁唑基、吡嗪基、吡唑基、哒嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、喹啉基、噻唑基、噻吩基和三唑基。除非另作说明，本公开内容的杂芳基可以任选地被一个、两个、三个、四个或者五个独立地选自以下的取代基取代：烷氧基、烷氧羰基、烷基、烷基羰基、芳基、氰基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基、第二杂芳基、杂环基、硝基、 $-NR^aR^b$ 和氧代；其中芳基、第二杂芳基和杂环基可

以进一步任选地被一个、两个、三个、四个或者五个独立地选自以下的取代基取代：烷氧基、烷基、氰基、卤素、卤代烷基、卤烷氧基和硝基。

术语“杂芳基烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个或三个杂芳基取代的烷基。

术语“杂芳基羰基”，如本文中所用，是指通过羰基连接于母体分子部分的杂芳基。

术语“杂芳氧基”，如本文中所用，是指通过氧原子连接于母体分子部分的杂芳基。

术语“杂环基”，如本文中所用，是指环状、非芳族、饱和或者部分不饱和的三、四、五、六或七元环，其中至少一个原子选自氧、氮和硫。术语“杂环基”还包括双环系统，其中杂环基环稠合到四至六元芳族或者非芳族碳环或者四至六元非芳族的含有1或2个选自氮、氧和硫的杂原子的环。本公开内容的杂环基通过基团中任何可取代的碳或氮原子连接于母体分子基团。杂环基的典型实例包括但不限于氮杂环丁基、苯并间二氧杂环戊烯基、苯并噻唑基、二氮杂萘基、二氢苯并二氧杂环己烯基、二氢苯并呋喃基、二氢吲哚基、二氢吡啶基、1,3-二氧杂环己烷基、1,4-二氧杂环己烷基、吗啉基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基、四氢吡啶基、四氢异喹啉基和硫代吗啉基。除非另作说明本公开内容的杂环基可以任选地被一个、两个、三个、四个或者五个独立地选自以下的取代基取代：烷氧基、烷基、芳基、芳基烷氧基、氰基、环烷基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基、杂芳基、第二杂环基、羟基、硝基、 $-NR^aR^b$ 和氧代；其中芳基、芳基烷氧基的芳基部分、杂芳基和第二杂环基可以进一步任选地被一个、两个、三个、四个或者五个独立地选自以下的取代基取代：烷氧基、烷基、氰基、卤素、卤烷氧基、卤代烷基和硝基。

术语“杂环基烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个或三个杂环基取代的烷基。

术语“羟基”，如本文中所用，是指-OH。

术语“羟烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个或三个羟基取代的烷基。

术语“巯基”，如本文中所用，是指-SH。

术语“硝基”，如本文中所用，是指-NO₂。

术语“ $-NR^aR^b$ ”，如本文中所用，是指通过氮原子连接于母体分子部

分的两个基团 R^a 和 R^b 。 R^a 和 R^b 独立地选自氢、烷氧羰基、烷基、烷基羰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、环烷基、甲酰基和 (NR^cR^d) 羰基。

术语“ (NR^aR^b) 烷氧基”，如本文中所用，是指通过氧原子连接于母体分子部分的 (NR^aR^b) 烷基。

术语“ (NR^aR^b) 烷基”，如本文中所用，是指被一个、两个或三个 $-NR^aR^b$ 基团取代的烷基。

术语“ $-NR^cR^d$ ”，如本文中所用，是指通过氮原子连接于母体分子部分的两个基团 R^c 和 R^d 。 R^c 和 R^d 各自独立地选自氢和烷基。

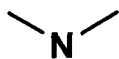
术语“ (NR^cR^d) 羰基”，如本文中所用，是指通过羰基连接于母体分子部分的 $-NR^cR^d$ 基团。

术语“氧代”，如本文中所用，是指 $(=O)$ 。

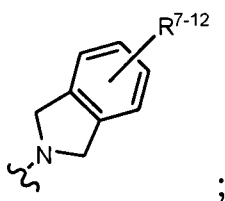
术语“磺酰基”，如本文中所用，是指 $-SO_2-$ 。

在本文中所述公开内容的描述应当与化学键合的定律和法则相一致进行解释。例如，可能需要去除氢原子以便在任何给定位置容纳取代基。

另外，对于所有的原子，在本公开内容中所述的结构被理解为表达了适当的化合价。例如，以下结构，虽然没有显示氢原子，但被理解为描述了化合物二甲胺：



同样，在以如下方式描述结构时：



应当理解的是，取代基，即 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 和 R^{12} 可以连接于双环系统的任何一个环中的任何可取代的原子。

还应当理解的是，除非另作说明，否则一个取代基可以在该取代基上的任何并且全部合适的连接点处被连接。

还应当理解的是，本公开内容所涵盖的化合物是化学稳定的那些。

本公开内容的化合物可以以药学可接受的盐存在。术语“药学可接受的盐”，如本文中所用，是指本公开内容的化合物的盐或者两性离子形式(其是水或油可溶的或者可分散的)，其在合理的医疗诊断范围内，

适用于与患者的组织接触而没有过度的毒性、刺激性、变态反应或者其它问题或并发症，与合理的受益/风险比例相称，并且有效用于其目的用途。所述盐可以在化合物的最终分离和提纯期间或者单独地通过使合适的氮原子与合适的酸反应来制备。典型的酸加成盐包括乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、柠檬酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、二葡萄糖甙、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、甲酸盐、富马酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙烷磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、均三甲基苯磺酸盐、甲烷磺酸盐、萘磺酸盐(naphthylenesulfonate)、烟酸盐、2-萘磺酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、果胶酸盐(pectinate)、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、三氯乙酸盐、三氟醋酸盐、磷酸盐、谷氨酸盐、碳酸氢盐、对甲苯磺酸盐和十一酸盐。可被使用以形成药学可接受的加成盐的酸的实例包括无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸和磷酸，以及有机酸如草酸、马来酸、琥珀酸和柠檬酸。

可以在化合物的最终分离和纯化期间通过使羧基与合适的碱如金属阳离子的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐或者与氨或者有机伯胺、仲胺或叔胺反应来制备碱加成盐。药学可接受的盐的阳离子包括锂、钠、钾、钙、镁和铝，以及无毒的季胺阳离子如铵、四甲铵、四乙铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、二乙胺、乙胺、三丁胺、吡啶、N,N-二甲苯胺、N-甲基哌啶、N-甲基吗啉、二环己胺、普鲁卡因、二苄胺、N,N-二苄基苯乙基胺和 N,N'-二苄基乙二胺。用于形成碱加成盐的其它典型的有机胺包括乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌啶和哌嗪。

如本文中所用，术语“抗 HCV 活性”是指化合物是一种核苷类似物和/或能够有效抑制一种或多种选自如下目标物的功能：HCV 金属蛋白酶、HCV 丝氨酸蛋白酶、HCV 聚合酶、HCV 解旋酶、HCV NS4B 蛋白质、HCV 输入、HCV 组装、HCV 输出、HCV NS5A 蛋白质和 IMPDH。

术语“本公开内容的化合物”和等价表述是指包含通式(I)的化合物和其药学可接受的对映异构体、非对映异构体和盐。同样地，所提及的中间体，是指包含其中上下文允许的它们的盐。

术语“患者”包括人和其它哺乳动物。

术语“药物组合物”是指一种组合物，其包括本公开内容的化合物以及与之组合的至少一种额外的药物载体，即，助剂、赋形剂或载体如稀

释剂、防腐剂、填料、流动调节剂、崩解剂、湿润剂、乳化剂、悬浮剂、甜味剂、增香剂、芳香剂、抗细菌剂、抗真菌剂、润滑剂和分配剂，这取决于给药方式和剂型的性质。例如可以使用 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 18 版 Mack Publishing Company, Easton, PA (1999)中所列的成分。

在本文中所用的短语“药学可接受的”是指那些属于合理的医疗诊断范围内的化合物、材料、组合物和/或剂型，它们适合于接触患者的组织而没有过度的毒性、刺激性、变态反应或者其它问题或者并发症，并且它们相称于合理的风险/效益比。

术语“治疗”是指(i)防止在可能易感染于某种疾病、病症和/或状况但还未被诊断为患病的患者中防止所述疾病、病症或状况的发生；(ii)抑制疾病、病症或状况，即阻止其发展；和/或(iii)减轻疾病、病症或状况，即引起疾病、病症和/或状况衰退。

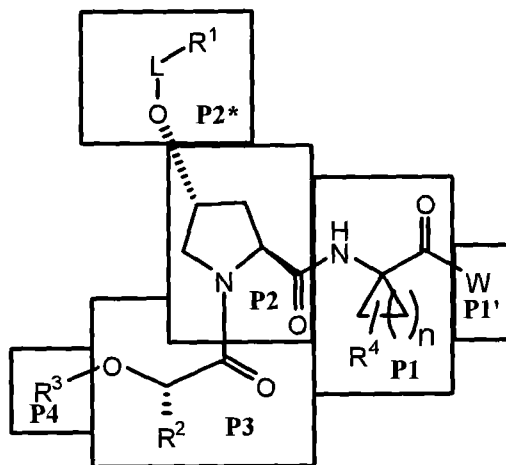
在谈及氨基酸或氨基酸衍生物时，所述的术语“残基”是指通过消去羧基的羟基和 α -氨基酸基团的一个氢而从相应的 α -氨基酸衍生的基团。例如，术语 Gln、Ala、Gly、Ile、Arg、Asp、Phe、Ser、Leu、Cys、Asn、Sar 和 Tyr 分别是指 L-谷氨酰胺、L-丙氨酸、甘氨酸、L-异亮氨酸、L-精氨酸、L-天冬氨酸、L-苯丙氨酸、L-丝氨酸、L-亮氨酸、L-半胱氨酸、L-天冬酰胺、肌氨酸和 L-酪氨酸的“残基”。

在谈及氨基酸或氨基酸残基时，所述的术语“侧链”是指连接于 α -氨基酸的 α -碳原子的基团。例如，R-基团侧链对于甘氨酸来说是氢，对于丙氨酸来说是甲基，对于缬氨酸来说是异丙基。对于 α -氨基酸的特定的 R-基团或侧链，参考 A.L. Lehninger 的《生物化学》中的内容(参见第 4 章)。

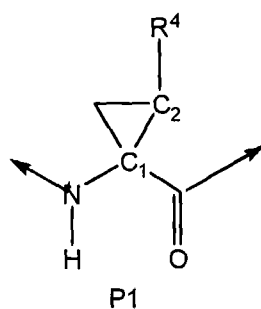
在命名本发明的化合物中所用的情况下，标识 P1'、P1、P2、P2*、P3 和 P4，如本文中所用，映射了相对于天然肽裂解底物的结合而结合的蛋白酶抑制剂的氨基酸残基的相对位置。在天然底物中在 P1 和 P1' 之间发生裂解，其中非主要位置表示从肽天然裂解位点的 C-末端开始向 N-末端延伸的氨基酸；然而，主要位置从裂解位点标识的 N-末端开始并且向 C-末端延伸。例如，P1'是指远离裂解位点的 C-末端的右手端的第一位置(即，N-末端第一位置)；然而，P1 从 C-末端裂解位点的左手边开始计数，P2: C-末端的第二位置，等)。(参见 Berger A. & Schechter I,

Transactiibs of the Royal Society London series (1970), B257, 249-264].

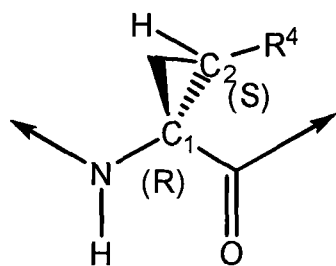
下图显示了用于本发明化合物的标识。



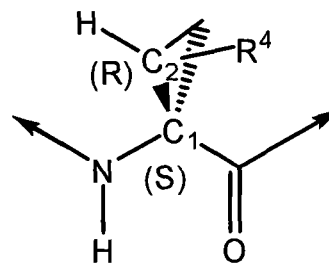
不对称中心存在于本发明的化合物中。例如，该化合物可以包括以下通式的 P1 环丙基单元



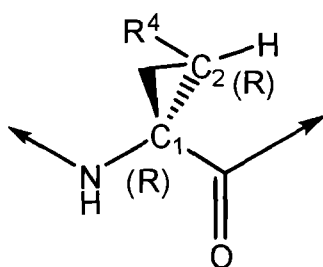
其中 C_1 和 C_2 各自表示环丙基环的位置 1 和 2 处的不对称碳原子。由于在化合物的其它部分未承受其它可能的不对称中心，这两个不对称中心的存在意味着化合物可以以非对映异构体的外消旋混合物的形式存在，例如如下的非对映异构体，其中 R^4 的构型或者相对于酰胺为顺式或者相对于羰基为顺式，如下图所述。



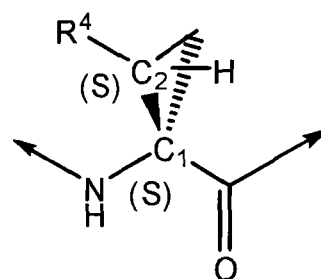
(1R, 2S)

 R^4 相对于羰基为顺式

(1S, 2R)

 R^4 相对于羰基为顺式

(1R, 2R)

 R^4 相对于酰胺为顺式

(1S, 2S)

 R^4 相对于酰胺为顺式

应当理解的是本公开内容包括全部立体化学异构形式，或其混合物，它们具有抑制 HCV 蛋白酶的能力。化合物的单独的立体异构体可以从市售可得的原料合成制备，所述原料含有手性中心，或者通过下述方法来制备：制备对映异构体产物的混合物，随后分离，如转化为非对映异构体的混合物，随后分离或重结晶，色层技术，或者在手性色谱柱上直接分离对映异构体。特定的立体化学的原料化合物是市售可得的或者可通过本领域已知的技术来制备和拆分。

本公开内容的某些化合物也可以以不同的稳定的构型形式存在，这些形式是可分离的。由于围绕非对称单键的阻旋作用造成的扭转不对称性，例如因为位阻或者环的阻力，可以允许不同的构象异构体的分离。本公开内容包括这些化合物中的每种构象异构体和其混合物。

本公开内容的某些化合物可以以两性离子的形式存在，并且本公开内容包括这些化合物中的每种两性离子形式和其混合物。

当有可能，对用于治疗而言，治疗有效量的通式(I)的化合物，以及其药学可接受的盐，可以以粗制化学品的形式给药时，可能的是活性成

分表现为药物组合物。因此，本公开内容进一步地提供药物组合物，其包括治疗有效量的通式(I)的化合物或者其药学可接受的盐，和一种或多种药学可接受的载体、稀释剂或者赋形剂。术语“治疗有效量”，如本文中所示，是指每种活性组份的总量足以显示出有意义的对患者的益处，例如持续减少病毒量。当应用于单独给药的单独的活性成分时，这一术语是指单独的成分。当应用于结合物时，这一术语是指产生治疗效果的活性成分的总量，无论是联合给药、连续给药还是同时给药。通式(I)的化合物和其药学可接受的盐是如上所述的。一种或多种载体、一种或多种稀释剂或者一种或多种赋形剂必须与制剂的其它成分相容并且对其受体无害的意义上是可接受的。根据本公开内容的另一方面，还提供一种用于制备药物制剂的方法，包括混合通式(I)的化合物或者其药学可接受的盐和一种或多种药学可接受的载体、稀释剂或者赋形剂。

药物制剂可以表示为单位剂量形式，其每单位剂量包含预定量的活性成分。在用于预防和治疗 HCV 介导的疾病的单一疗法中，如下剂量水平的本公开内容的化合物是典型的：约 0.01-约 250 毫克/公斤(“mg/kg”)体重/天，优选为约 0.05-约 100mg/kg 体重/天。典型地，本公开内容的药物组合物将以约 1-约 5 次/日，或者以连续输注的形式给药。上述给药方式可用于慢性或急性治疗。可以与载体材料相结合以生产出单一剂型的活性成分的数量将会变化，这取决于所治疗的状况、状况的严重程度、给药次数、给药途径、所用化合物的代谢速率、治疗时间以及患者的年龄、性别、体重和状况。优选的单位剂量制剂含有日剂量或者子剂量，如上文所述的，或者其合适的分数的活性成分的那些。通常，治疗始于明显小于化合物最佳剂量的小剂量。其后，剂量以小的增量增加，直到在这种情况下达到最佳效果。通常，所述化合物最令人期望地以如下的浓度水平给药，即所述浓度水平将通常提供有效的抗病毒结果而没有引起任何不良的或者有害的副作用。

当本公开内容的组合物包括本公开内容的化合物和一种或多种额外的治疗药剂或者预防药剂的结合时，所述化合物和额外的药剂通常以单一疗法范围中通常给予的剂量的约 10-150%，更优选约 10-80%的剂量水平存在。

药物制剂可以适应于通过任何合适的途径给药，例如口服(包括经颊或舌下)途径、直肠途径、经鼻途径、局部(包括经颊、舌下或经皮)途径、

阴道途径或者肠胃外(包括皮下、皮内、肌内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、病灶内、静脉内、或者皮内注射或输注)途径。上述制剂可以通过药学领域中任何已知的方法制备,例如通过使活性成分与一种或多种载体或者赋形剂结合。

适于口服给药的药物制剂可以以离散单元的形式呈现,如胶囊或片剂;粉末或颗粒;在水或非水液体中的溶液或悬浮液;可食用的泡沫或甜食(whip);或者水包油液体乳液或油包水乳液。

例如,对于以片剂或胶囊形式的口服给药来说,活性药物组分可以与口服无毒的药学可接受的惰性载体如乙醇、丙三醇、水等结合。粉末是这样制备的:将化合物粉碎至合适的细度并且与同样粉碎的药物载体如可食用的碳水化合物如淀粉或甘露糖醇混合。香料、防腐剂、分散剂和着色剂也可以存在。

胶囊是这样制备的:制备如上所述的粉末混合物并且填充形成的明胶壳。可以将助流剂和润滑剂如胶态氧化硅、滑石、硬脂酸镁、硬脂酸钙或固体聚乙二醇添加到粉末混合物,然后进行充填操作。还可以添加崩解剂或增溶剂如琼脂、碳酸钙或碳酸钠以在摄取胶囊时改善药物的可用性。

此外,当期望或者需要的时候,合适的粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂也可以被加入到混合物中。合适的粘合剂包括淀粉、明胶、天然的糖如葡萄糖或 β -乳糖、玉米甜味剂、天然和合成树胶如阿拉伯胶、黄蓍胶或海藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙二醇等。用于这些剂型的润滑剂包括油酸钠、氯化钠等。崩解剂包括但不局限于淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土(bentonite)、黄原胶等。片剂是这样配制的,例如,制备粉末混合物、粒化或预压片、添加润滑剂和崩解剂、以及压成片剂。粉末混合物是这样制备的,将化合物(适当粉碎的)与下列物质混合:如上所述的稀释剂或碱,以及任选地粘合剂如羧甲基纤维素、藻酸盐、胶凝剂(gelating)、或聚乙烷基吡咯烷酮、溶液延缓剂如石蜡、再吸收促进剂如季盐和/或吸收剂如膨润土(bentonite)、高岭土或磷酸二钙。通过用粘合剂如糖浆、淀粉糊、阿拉伯胶浆(acacia mucilage)或者纤维素或聚合材料的溶液润湿并且强制通过筛网,粉末混合物可以被粒化。作为粒化的备选方案,可以使粉末混合物通过压片机,结果是侵入颗粒中的有缺陷形式的预压片(slug)。通过添加硬脂酸、硬脂酸盐、滑石或矿物油可以

使颗粒润滑，从而防止粘到压片模具上。经润滑的混合物然后被压成片剂。本公开内容的化合物还可以与自由流动的惰性载体结合并且直接压成片剂而无需经过粒化或预压片的步骤。可以提供透明或不透明的防护涂层，其包括虫胶的密封涂层、糖或聚合物材料的涂层、和蜡的抛光涂层。可以将染料添加到这些涂层中以区别不同的单位剂量。

口服液如溶液、糖浆和酏剂可以以剂量单位形式制备，以便给定的数量含有预定量的化合物。糖浆可以通过将化合物溶解在适当调味的水溶液中而制备，而酏剂通过使用无毒载体来制备。还可以添加增溶剂和乳化剂如乙氧基异硬脂醇和聚氧化乙烯山梨糖醇醚、防腐剂、调味添加剂如薄荷油或天然甜味料、或糖精或其他的人工甜味料等。

在合适的情况下，可以将用于口服的剂量单位制剂进行微囊密封。还可以制备制剂以延长或持续释放，例如通过将颗粒材料涂敷或嵌入在聚合物、蜡等中。

通式(I)的化合物和其药学可接受的盐还可以以脂质体输送系统如小单层泡囊、大单层泡囊和多层泡囊的形式给予。脂质体可以由多种磷脂(phospholipids)如胆固醇、十八胺或磷酸卵磷脂(phosphatidylcholines)形成。

通式(I)的化合物和其药学可接受的盐也可通过利用单克隆抗体作为单独的载体来输送，所述化合物分子结合到上述单克隆抗体上。所述化合物也可与作为可靶定药物载体的可溶性聚合物结合。上述聚合物可以包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、多羟基丙基甲基丙烯酰胺苯酚、多羟基乙基天冬酰胺苯酚、或被棕榈酰(palitoyl)残基取代的聚环氧乙烷聚赖氨酸。此外，所述化合物可以与一类可用于实现药物受控释放的可生物降解的聚合物结合，例如，聚乳酸、聚 ϵ -己内酯、多羟基丁酸、聚原酯(polyorthoesters)、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚腈基丙烯酸酯和水凝胶的交联或两性的嵌段共聚物。

适于经皮给药的药物制剂可以以不连续的贴片的形式呈现，所述贴片意图与受体的表皮保持接触达较长时间。例如，活性成分可以从贴片中通过离子电渗法释放，其一般性地描述于 Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986)。

适于局部给药的药物制剂可以配制成软膏、乳剂、悬浮液、洗液、粉末、溶液、糊剂、凝胶剂、喷雾剂、气溶胶或油剂。

对于治疗眼睛或其它外部组织例如口和皮肤来说，制剂优选以局部软膏或乳剂的形式施加。当配制成软膏时，活性成分可以与石蜡族软膏基质或者水可混溶的软膏基质一起使用。或者，活性成分可以与水包油乳剂基质或者油包水基质一起配制在乳剂中。

适于眼部局部给药的药物制剂包括滴眼剂，其中活性成分溶解或者悬浮在合适的载体，特别是水性溶剂中。

适于在口腔中局部给药的药物制剂包括锭剂、软锭剂和含漱剂。

适于直肠给药的药物制剂可以以栓剂或者灌肠剂的形式呈现。

适于经鼻给药的药物制剂，其中载体是固体，包括粒径例如为 20 - 500 微米的粗 (course) 粉末，其以其中采取鼻吸的方式进行给药，即通过从靠近鼻子的粉末容器中快速通过鼻部通道吸入。用于以鼻喷雾剂或滴鼻剂的形式给药的其中载体是液体的合适的制剂包括活性成分的水性溶液或者油溶液。

适于通过吸入给药的药物制剂包括细颗粒粉尘或烟雾，其可以借助于各种型式的计量的、剂量增压的气溶胶、喷雾器或吹入器形成。

适于阴道给药的药物制剂可以以阴道环、棉球、乳剂、凝胶剂、糊剂、泡沫或喷雾剂制剂的形式呈现。

适于肠胃外给药的药物制剂包括含水和无水的无菌的注射液，其可以包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和 soutes，其可以使制剂与所意图的受体的血液等渗透压；和含水和无水的无菌的悬浮液，其可以包括悬浮剂和增稠剂。所述制剂可以存在于单位计量或多计量容器中，例如密封的安瓿或小瓶中，并且可以存储在冷冻干燥(冻干)条件下，仅仅需要添加无菌的液体载体，例如注射用水，然后再即刻使用。即刻注射溶液和悬浮液可以由无菌粉末、颗粒和片剂制备。

应当理解的是，除了上述特别提及的成分之外，所述制剂还可以包括本领域常规的其它药剂，注意的是所讨论的制剂的种类，例如适于口服的那些可以包括增香剂。

本申请中所使用的缩写，特别是以下所述的方案和实施例中包括的，是本领域技术人员众所周知的。一些所用的缩写如下：

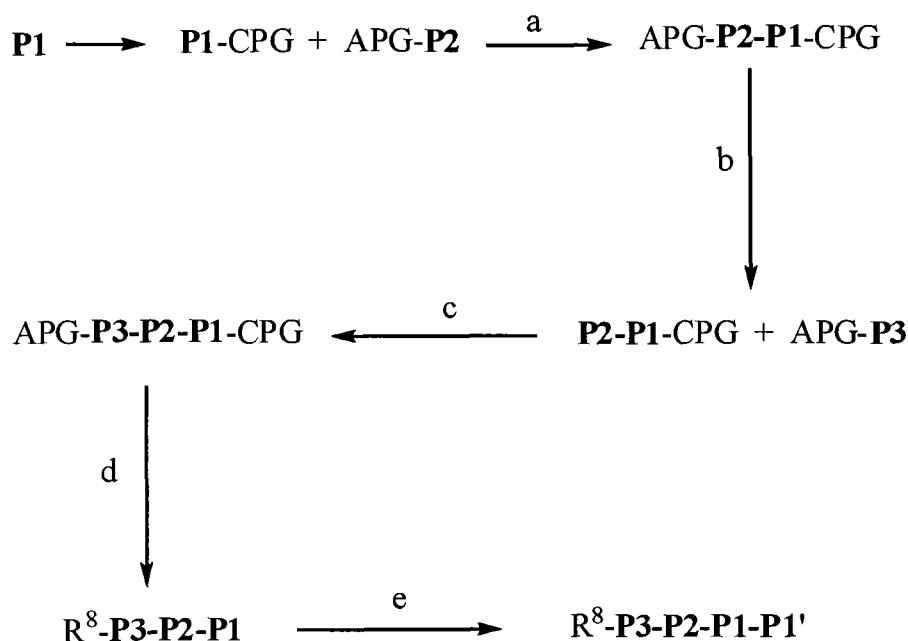
Acca	1-氨基环丙基羧酸;
BINAP	2,2'-双(二苯基膦基)-1,1'-联萘;
Boc、BOC 或 boc	叔丁氧羰基;
BOC-HYP-OH	反式-N-(叔丁氧羰基)-4-羟基-L-脯氨酸;
CDI	1,1'-羰二咪唑;
dba	二亚苄基丙酮;
DBU	1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯;
DCE	1,2-二氯乙烷;
DCM	二氯甲烷;
DEAD	偶氮二羧酸二乙酯;
DIEA	二异丙基乙胺;
DMAP	4-二甲基氨基吡啶;
DMF	N,N-二甲基甲酰胺;
DMSO	二甲基亚砷;
Fmoc	9-芴甲氧羰基;
DPPA	二苯基磷酰基叠氮;
Et	乙基;
EtOAc	乙酸乙酯;
Et ₃ N	三乙胺;
Et ₂ O	二乙醚;
HATU	O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐;
HBTU	O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐;
HOAt	1-羟基-7-氮杂苯并三唑;
HOBT 或 HOBt	1-羟基苯并三唑水合物;
LiHMDS	六甲基二硅叠氮化锂;
Me	甲基;
MeOH	甲醇;
NMM	N-甲基吗啉;
OAc	乙酸根;

Ph	苯基;
Ph ₃ PO	三苯基氧化膦;
PoPd 或 POPd	(叔丁基) ₂ P(OH) ₂ ·PdCl ₂ ;
PyBOP	苯并三唑-1-基氧基三吡咯烷磷六氟磷酸盐;
PyBrop	溴代三吡咯烷磷六氟磷酸盐;
TBAF	氟化四丁铵;
TBME 或 MTBE	叔丁基甲醚;
tBu	叔丁基;
TFA	三氟乙酸; 和
THF	四氢呋喃。

本公开内容的化合物可以通过本领域技术人员已知的方法制造, 参见, 例如美国专利 No. 6,323,180 和美国专利申请 20020111313 A1。提供下文所述的如下方法是为了说明性的目的, 并且不意欲限制权利要求的范围。应该认识到, 制备如下化合物可能是优选的或者必需的, 即对于所述化合物, 其中使用常规保护基来保护某些官能团, 然后去除保护基以提供本公开内容的化合物。根据本公开内容有关保护基的使用的细节是本领域技术人员已知的。

本公开内容的化合物可以例如根据如方案 I 中所举例说明的一般性方法来合成(其中 CPG 是羧基保护基和 APG 是氨基保护基)

方案 I



简而言之, P1、P2 和 P3 可以通过众所周知的肽耦联技术连接。P1、P2 和 P3 基团可以以任何顺序连接在一起, 只要最终的化合物相应于本公开内容的肽。例如, P3 可以连接到 P2-P1; 或者 P1 连接到 P3-P2。

通常肽是这样延长的, 去保护 N-末端残基的 α -氨基并且使用所述方法通过肽键耦合下一个适当的 N-受保护的氨基酸的未保护的羧基。重复这种去保护和耦合方法, 直到获得所期望的序列。这种耦合可以使用组分氨基酸以逐步方式进行, 如方案 I 中所描述的。

使用标准耦合方法如叠氮方法、混合碳酸-羧酸酐(氯甲酸异丁酯)方法、碳二亚胺(二环己基碳二亚胺、二异丙基碳二亚胺、或者水溶性的碳二亚胺)方法、活性酯(对硝基苯基酯、N-羟基丁二酸亚氨基酯)方法、伍德瓦德化学试剂 K-方法、羰二咪唑方法、磷化学试剂或者氧化还原法, 可以在两个氨基酸之间、在氨基酸和肽之间或者在两个肽片段之间进行耦合。这些方法中的一些(特别是碳二亚胺方法)可以通过添加 1-羟基苯并三唑或者 4-DMAP 来强化。这些耦合反应可以在溶液(液相)中或者在固相中进行。

更明确地, 耦合步骤涉及在耦合剂存在下, 一种反应物的自由羧基与其它反应物自由氨基的脱水耦合以形成连接酰胺键。上述耦合剂的描述见于有关肽化学的普通教科书中, 例如, M. Bodanszky, "Peptide Chemistry", 2nd rev ed., Springer-Verlag, Berlin, Germany, (1993)。合适的耦合剂的实例是 N,N'-二环己基碳二亚胺、在 N,N'-二环己基碳二亚胺存在下的 1-羟基苯并三唑或者 N-乙基-N'-[(3-二甲基氨基)丙基]碳二亚胺。实用的并且有用的耦合剂是市售可得的(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐, 其以本身形式或者在 1-羟基苯并三唑或者 4-DMAP 存在下。另一实用的并且有用的耦合剂是市售可得的 2-(1H-苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓四氟化碳。又一实用的并且有用的耦合剂是市售可得的 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐。

耦合反应在惰性溶剂, 例如二氯甲烷、乙腈或者二甲基甲酰胺中进行。添加过量的叔胺, 例如二异丙基乙胺、N-甲基吗啉、N-甲基吡咯烷或者 4-DMAP 以保持反应混合物的 pH 值为约 8。反应温度通常为 0°C - 50°C, 反应时间通常为 15 分钟-24 小时。

在耦合反应期间, 组分氨基酸的官能团通常必须受到保护, 以便避

免形成不需要的键。可以使用的保护基例如列于以下文献中：Greene, "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley & Sons, New York (1981) 和 "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology", Vol. 3, Academic Press, New York (1981).

待耦合到增长肽链上的每个氨基酸的 α -氨基必须进行保护(APG)。可以使用在本领域中已知的任何保护基。上述基团的实例包括：1)酰基如甲酰基、三氟乙酰基、邻苯二甲酰基、和对甲苯磺酰基；2)芳族氨基甲酸酯基团如苄氧基羰基(Cbz 或者 Z)和被取代的苄氧基羰基、和 9-芴基甲氧羰基(Fmoc)；3)脂族氨基甲酸酯基团如叔丁氧羰基(Boc)、乙酯基、二异丙基甲氧基羰基、和烯丙氧基羰基；4)环状氨基甲酸烷基酯基团如环戊氧基羰基和金刚烷基氧基羰基；5)烷基如三苯甲基和苄基；6)三烷基甲硅烷基如三甲基甲硅烷；和 7)含硫羰基团如苯基硫羰基羰基和二硫代丁二酰基。在某些实施方案中， α -氨基保护基是 Boc 或者 Fmoc。适当地保护肽合成的许多氨基酸衍生物是市售可得的。

在下一个氨基酸耦合之前，新添加的氨基酸残基的 α -氨基保护基被裂解。当使用 Boc 基团时，所选的方法是纯的或者二氯甲烷中的三氟乙酸，或者在二氧杂环己环或者乙酸乙酯中的 HCl。然后，在耦合之前或者在原位，使用碱性溶液如含水缓冲剂或者叔胺/二氯甲烷或者乙腈或者二甲基甲酰胺来中和所得的铵盐。当使用 Fmoc 基团时，所选的化学试剂是哌啶或者被取代的哌啶/二甲基甲酰胺，但是可以使用任何的仲胺。在 0°C-室温(rt 或者 RT，通常为 20 - 22°C)的温度下进行去保护。

在使用任何以上所述的基团制备肽的期间，具有侧链官能性的任何氨基酸必须受到保护。本领域技术人员将理解对于这些侧链官能性的合适的保护基的选择和使用取决于氨基酸以及在肽中其它保护基的存在。上述保护基的选择对于下述方面来说是重要的：该基团不许在去保护和 α -氨基耦合期间被去除。

例如，当 Boc 被用作 α -氨基保护基时，以下侧链保护基是合适的：对甲苯磺酰基(也称作 tosyl)部分可用于保护氨基酸如 Lys 和 Arg 的氨基侧链；乙酰胺基甲基、苄基(Bn)、或者叔丁基磺酰基部分可用于保护半胱氨酸的含硫醚的侧链；苄基(Bn)醚可用于保护丝氨酸、苏氨酸或者羟脯氨酸的含羟基的侧链；和苄基酯可用于保护天冬氨酸和谷氨酸的含羧基的侧链。

当 Fmoc 被选择用于 α -胺保护时, 通常基于叔丁基的保护基是可接受的。例如, Boc 可用于赖氨酸和精氨酸, 叔丁基醚可用于丝氨酸、苏氨酸和羟脯氨酸, 叔丁基酯可用于天冬氨酸和谷氨酸。三苯甲基(也称作 Trityl)部分可用于保护半胱氨酸的含硫醚的侧链。

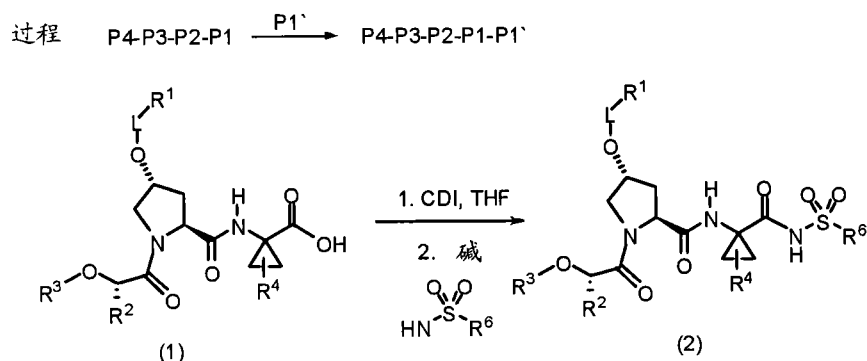
一旦肽的延长完成, 去除全部保护基。当使用液相合成时, 以选择保护基所要求的任何方式去除保护基。这些方法对于本领域技术人员来说是众所周知的。

C-末端残基的 α -羧基通常以酯的形式进行保护(CPG), 该酯可被裂解以获得羧酸。可以使用的保护基包括: 1) 烷基酯如甲基、三甲基甲硅烷基乙基和叔丁基的, 2) 芳基烷基酯如苄基和被取代的苄基的, 或者 3) 可通过温和碱性处理或者温和还原方式裂解的酯如三氯乙基和苯甲酰甲基酯。在肽耦合剂存在下, 所得的 α -羧酸与 $R^6SO_2NH_2$ 耦合。

本公开内容的化合物可以通过许多方法制备, 包括以下实施例中所描述和美国专利 No. 6,323,180 和公开的美国专利申请 US 2002 0111313 A1 所描述的那些。

方案 II 进一步地显示了一般性过程, 其中通式(I)的化合物(2)是通过三肽羧酸中间体(1)与 $P1'$ 磺酰胺的耦合形成的。所述耦合反应需要羧酸(1)与耦合化学试剂如羰基二咪唑在溶剂如 THF 中进行处理, 所述溶剂可被加热至回流, 然后在溶剂如 THF 或者二氯甲烷中, 在碱如 DBU 存在下, 将(1)所形成的衍生物添加到 $P1'$ 磺酰胺中。

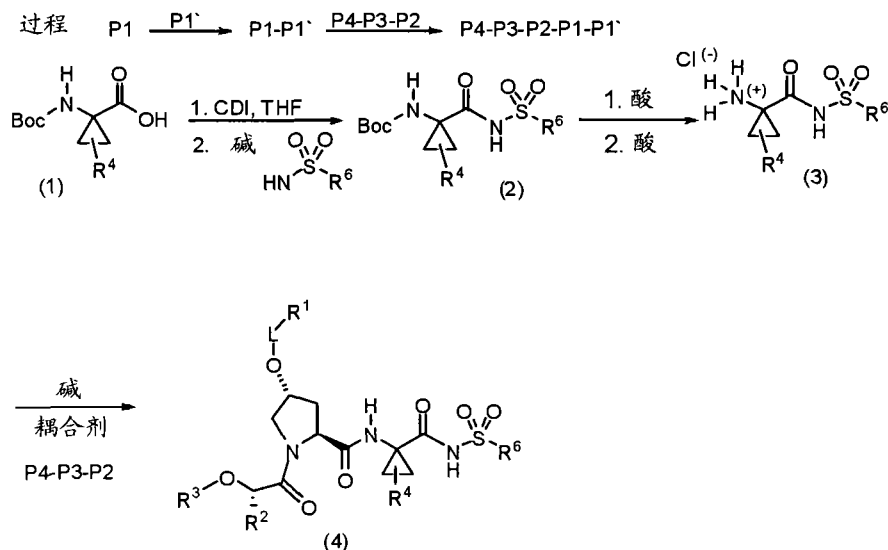
方案 II



形成通式(I)的化合物的另一过程示于方案 III 中。其中, 使用方案 I 中所用的过程, $P1'$ 磺酰胺单元耦合到 $P1$ 单元。所得的 $P1-P1'$ 部分然后能够在其氨基末端去保护。在这种一般性的实例中, 使用了 Boc 保护基, 但是本领域技术人员将认识到许多合适的氨基保护基可以用于这种过程。使用酸如三氟乙酸, 在溶剂如二氯乙烷中可以去除所述 Boc 保护基,

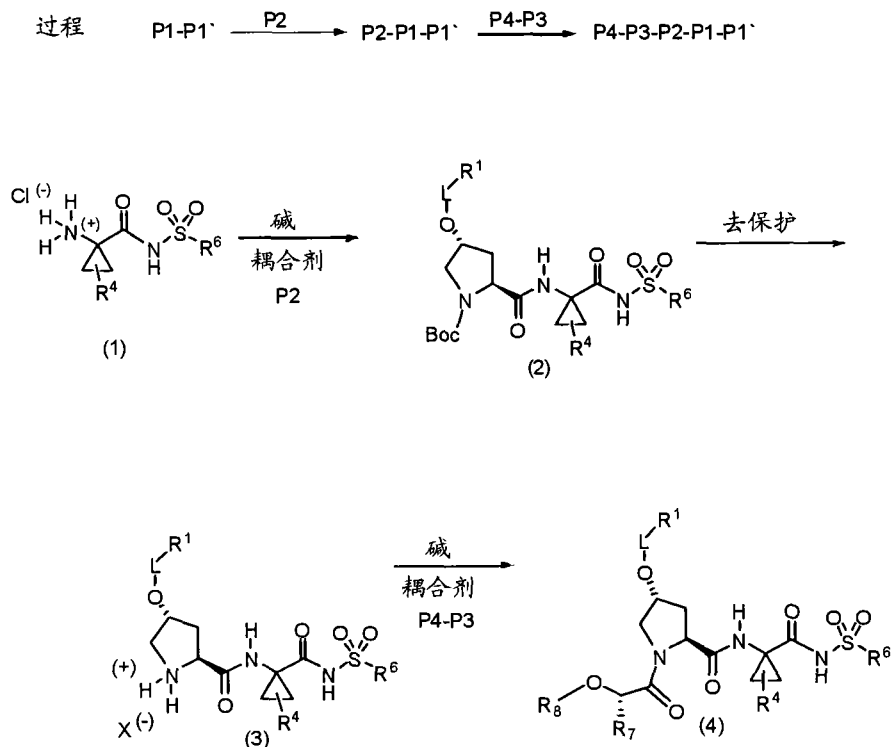
以便提供去保护的胺，形式为 TFA 盐。所述 TFA 胺盐可以直接用于随后的耦合反应或者作为备选方案，所述 TFA 胺盐可以首先被转化为 HCl 胺盐，这种 HCl 胺盐用于如方案 III 所示的所述耦合反应中。使用耦合化学试剂如 HATU，在溶剂如二氯甲烷中，可以实现所述 HCl 胺盐(3)与羧基末端，P4-P3-P2 中间体进行耦合，从而提供通式(4)的化合物。

方案 III



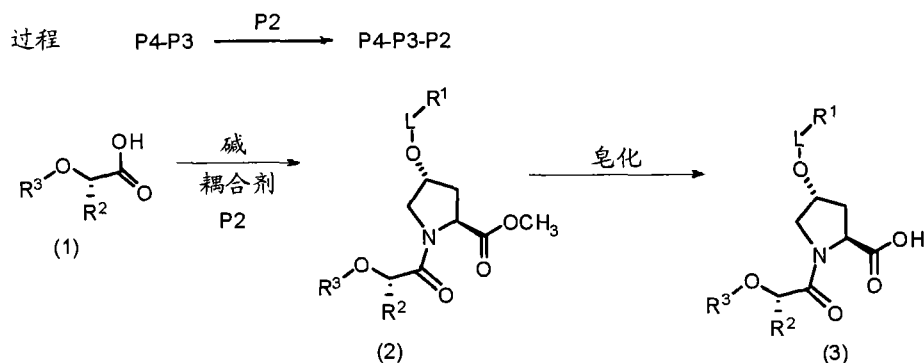
形成通式(I)的化合物的另一过程示于方案 IV 中。在此，使用耦合剂如 PyBOP，在碱如二异丙胺存在下，并且在溶剂如二氯甲烷中，P1-P1' 末端胺(1)的盐酸盐被耦合到 P2 单元的自由羧基。在两步过程中，所得的 P2-P1-P1' 中间体可以转化为通式(I)的化合物(4)，其中第一步是，使用酸如 TFA，在溶剂如二氯甲烷中，P2 胺末端去保护。使用标准耦合剂如 PyBOP，在碱如二异丙胺存在下并且使用溶剂如二氯甲烷，所得的三氟乙酸盐可以与 P4-P3 单元的羧基末端耦合，从而获得通式(4)的化合物。

方案 IV



上述方案中使用的 P4-P3-P2 中间体可以，借助一般性方案 V 中所示的这种过程的进一步描述，如前所述地形成。其中，P4-P3 中间体(1)的自由羧基末端可以被耦合到 P2 单元的氨基末端，从而获得 P4-P3-P2 二肽(2)。通过酯基的皂化可以使 P4-P3-P2 中间体的羧基末端去保护，从而获得 P4-P3-P2，形式为自由羧酸(3)。使用本文中所述的方法，中间体，如(3)，可以转化为通式(I)的化合物。

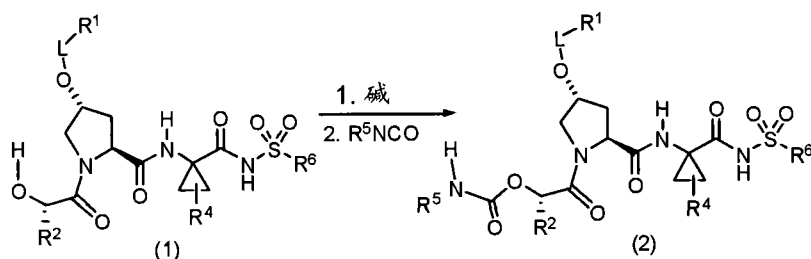
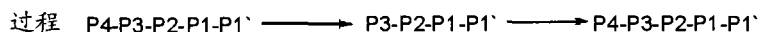
方案 V



通式(I)的化合物还可以被转化为如本文所述的其它的通式(I)的化合物。这种过程的实例示于方案 VI 中，其中通式(1)的化合物，其在 P4 位置带有羟基，被转化为通式(2)的化合物，其中所述化合物在 P4 位置带有氨基甲酸根基团。(1)至(2)的转化可以这样进行：在溶剂如 THF 中

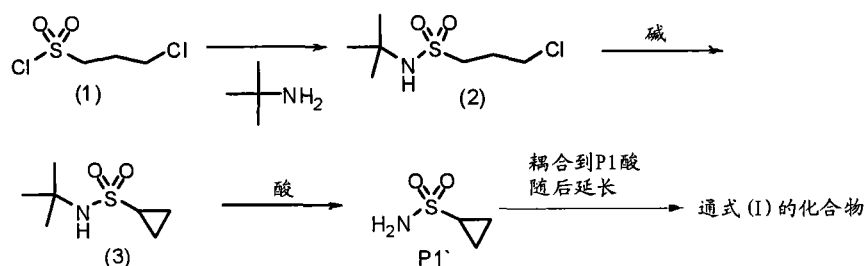
由碱如氢氧化钠处理(1)，然后添加异氰酸酯化学试剂从而提供(2)。如前所述，本领域技术人员将认识到中间体(1)可被用作用于制备其它的通式(I)的化合物的原料。

方案 VI



使用一种上文中概述的并且在下文中更详细描述的一般性过程，在通式(I)化合物的形成中，P1'末端被结合到分子中。在一些实例中，P1'单元，其是环烷基或者烷基磺酰胺，是市售可得的或者可以从相应的烷基或者环烷基磺酰氯通过与氨处理所述磺酰氯来制备。或者，使用方案 VII 中概述的一般性过程可以合成这些磺酰胺。其中，例如通过用叔丁胺处理，市售可得的 3-氯丙基磺酰氯(1)被转化为合适的受保护的磺酰胺。然后，在低温下，在溶剂如 THF 中，通过用 2 当量的碱如丁基锂进行处理，将所得的磺酰胺(2)转化为相应的环烷基磺酰胺。通过用酸处理，可以使所得的环烷基磺酰胺去保护，从而提供所期望的未保护的环烷基磺酰胺。

方案 VII

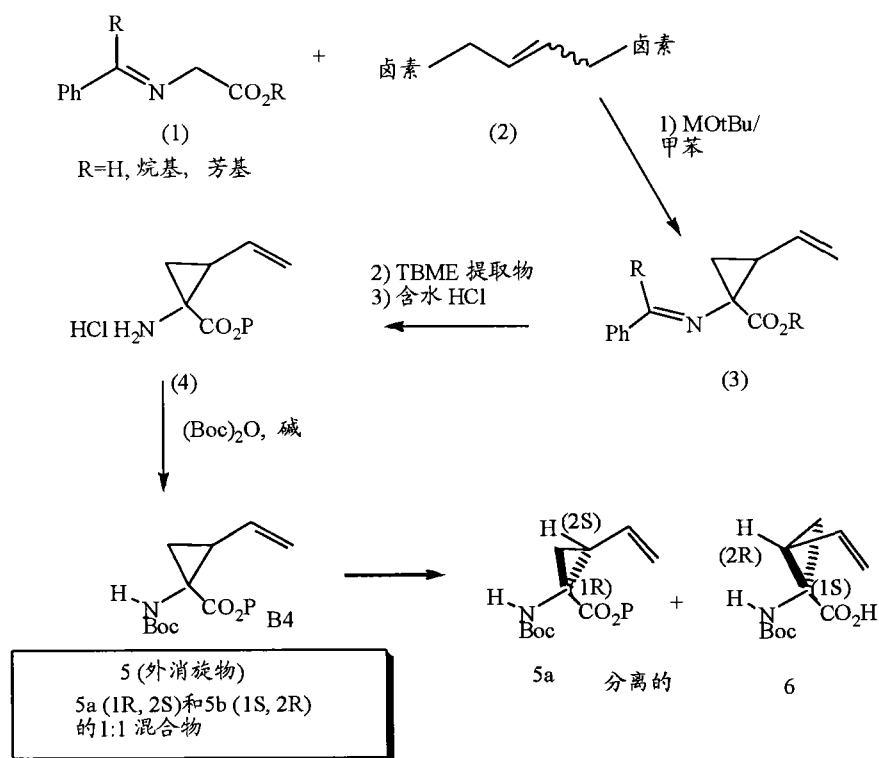


在一些情况中，形成通式(I)的化合物中所用的 P1 单元是市售可得的，否则使用本文中所述的方法来合成，并且随后使用本文中所描述的方法来结合到通式(I)的化合物中。按照方案 VIII 中概述的一般性过程，可以合成被取代的 P1 环丙基氨基酸。

在碱存在下，用 1,4-二卤代丁烯(2)处理市售可得的或者易于合成的

亚胺(1)提供了所得的亚胺(3)。(3)的酸水解然后提供了(4)，其具有相对于羧基为顺式的烯丙基取代基，作为主要产物。(4)的胺部分可使用 Boc 基团受到保护，从而提供了全部受保护的氨基酸(5)。这种中间体是一种外消旋体，其可以通过酶促过程进行拆分，其中(5)的酯部分由蛋白酶裂解从而提供了相应的羧酸。无意拘泥于任何特定理论，据信这种反应是有选择性的，其中一种对映异构体以比其镜像快很多的速率进行反应，这提供了中间外消旋体的动态拆分。在本文中所述的实施例，对于结合到通式(I)的化合物的更优选的立体异构体是(5a)，其具有(1R, 2S)立体化学构型。在酶存在下，这种对映异构体没有经受酯裂解并由此这种对映异构体(5a)从反应混合物中回收。然而，不太优选的对映异构体(5b)，其具有(1S, 2R)立体化学构型，经受了酯的裂解，即水解，从而提供游离酸(6)。当该反应完成后，通过常规方法，如水性溶液萃取方法或者色谱方法(chromatography)，酯(5a)可以与酸产物(6)分离。

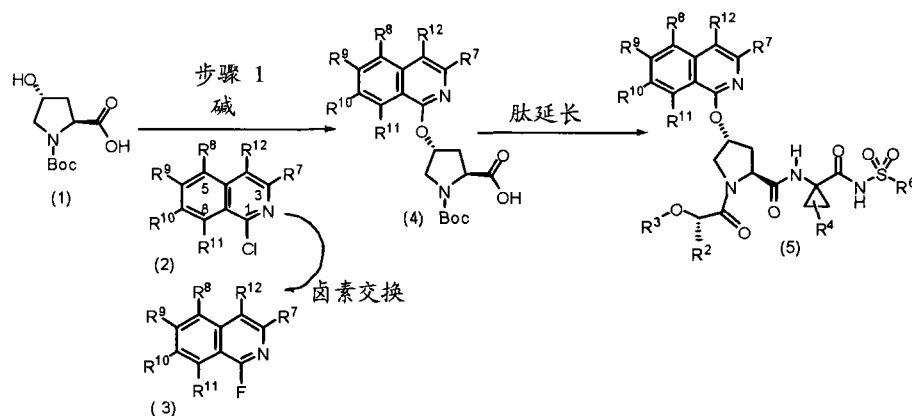
方案 VIII



制备 P2 中间体和通式(I)的化合物的方法示于以下方案中。应当注意到在很多情况下反应描述的是仅仅中间体的一个位置。然而，应将理解的是上述反应可用于在该中间体内将变体提供给其它位置。此外，在特定实施例给出的所述中间体、反应条件和方法广泛适用于具有其它取代型式的化合物。本文中的实施例遵循于下面所概述的一般性方案。

一般性和具体性的实(施)例是非限制性的, 例如异喹啉核显示作为一般性方案(方案 IX)的一部分, 然而, 该途径表示一种可行的形成备选作为异喹啉单元的替换品(如喹啉或者喹唑啉)的杂环取代基的过程。

方案 IX

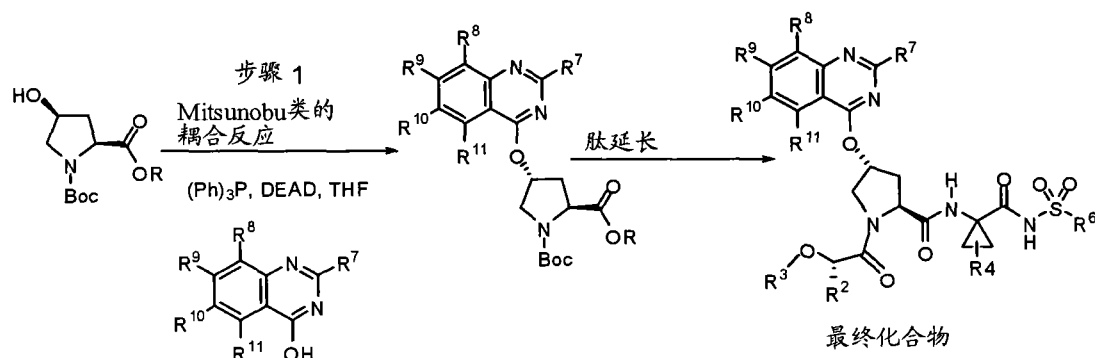


方案 IX 显示了 N-受保护的 C4-羧脯氨酸部分与杂环的耦合而形成中间体(4)以及通过如本文所述的肽延长过程使所述中间体(4)随后变体为通式(I)的化合物(5)。应当注意到, 在第一步骤, C4-羧脯氨酸基团与杂芳基单元的耦合中, 使用了碱。本领域技术人员将认识到这种耦合可以通过使用碱如叔丁醇钾或者氢化钠在溶剂如 DMF 或者 DMSO 或者 THF 中来完成。这种耦合到异喹啉环系统出现在 C1 位置(异喹啉环系统的编号示于方案 IX 的中间体 2 中)并且被在该过程中被替换的氯基团所指。应当注意到, 可以在这一位置使用备选的离去基团, 如中间体(3)中所示的氟离子离去基团。使用本文中所述的文献方法, 从相应的氯代化合物可以获得所述氟代中间体(3)。

还应该注意的是, 方案 IX 的中间体如(2)中的一个或多个环杂原子的位置也是可变的, 正如本文中所述的术语“杂环”所限定的。

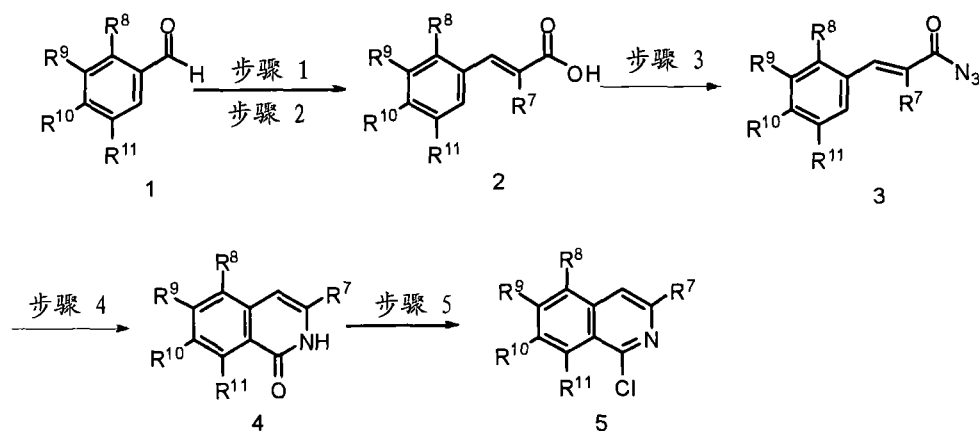
在如方案 X 的步骤 1 中所述的 Mitsunobu 反应中提供了如上所述对于 C4-羧脯氨酸耦合到芳族和杂芳族化合物的方法的备选方案。在该一般性反应方案中, C4-羧脯氨酸衍生物被耦合到喹唑啉环系统。该反应使用了在质子惰性溶剂如 THF 或者二氧环己环中的化学试剂如三苯基磷和 DEAD(二乙基偶氮二羧酸酯)并且可用于形成芳基和杂芳基醚。要注意, 在该耦合反应的过程中, C4-羧脯氨酸衍生物中的 C4 手性中心的立体化学构型被反转, 由此必需使用在 C4 位置具有(S)立体化学构型的 C4-羧脯氨酸衍生物作为原料。应当注意到, Mitsunobu 反应的许多变体和改进已经描述于文献中。

方案 X



在本文中的实施例的子集中，异喹啉被结合到最终的化合物中并且特定地结合到所述化合物的 P2 区域中。本领域技术人员将认识到许多一般性方法可用于合成异喹啉。此外，使用本文中所述的过程，通过这些方法形成的所述异喹啉可以容易地结合进通式(I)的最终化合物中。一种用于合成异喹啉的一般性方法示于方案 XI 中，其中在 4 个步骤的过程中，以如结构(2)的一般性形式显示的肉桂酸衍生物被转化为 1-氯代异喹啉。所述氯代异喹啉可随后用于耦合反应以获得如本文所述的 C4-羧脯氨酸衍生物。肉桂酸转化为氯喹啉始于在碱存在下用烷基氯代甲酸酯处理肉桂酸。所得的酸酐然后用叠氮化钠处理，这导致形成该方案中所示的酰叠氮(3)。备选方法可用于从羧酸形成酰叠氮，例如，所述羧酸可以在碱存在下，在非质子溶剂如二氯甲烷中用二苯基磷酰基叠氮(DPPA)处理。在反应序列的下一步骤中，酰叠氮(3)被转化为相应的如该方案中所示的异喹诺酮(4)。在高沸点溶剂如二苯甲烷中，酰叠氮被加热至大约 190°C 的温度。该反应是一般性的并且提供了中等至优良的从相应的肉桂酸衍生物获得被取代的异喹诺酮的收率。应当注意的是所述肉桂酸衍生物是可以市购的或者可以由相应的苯甲醛(1)衍生物通过与丙二酸或者其衍生物的直接缩合以及通过使用 Wittig 反应而获得。方案 XI 的中间体异喹诺酮(4)可以通过用氯氧化磷处理而转化为相应的 1-氯代异喹啉。该反应是一般性的并且可被用于如本文中所示的异喹诺酮、喹诺酮或者其它杂环中的任一种，从而将羟基取代基转化为相应的氯代化合物，当所述羟基与所述杂环环系统中的氮原子共轭的时候。

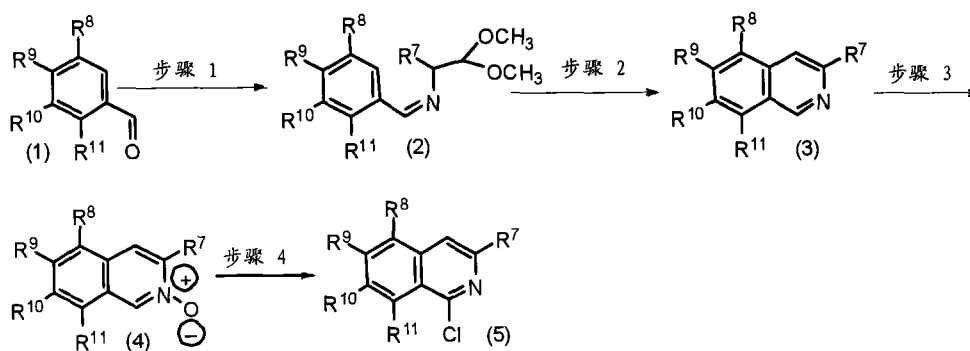
方案 XI



参考文献: N. Briet 等人, *Tetrahedron*, 2002, 5761

合成异喹啉环系统的另一方法是 Pomeranz-Fritsch 方法。这种一般性方法概述于方案 XII 中。该过程始于苯甲醛衍生物(1)转化为官能化的亚胺(2)。然后,在升温下,通过由酸处理,将所述亚胺转化为异喹啉环系统。方案 XII 的这种异喹啉合成是一般性的,并且应当注意到该过程特别适用于获得在 C8 位置被取代的异喹啉中间体。在如所示的两步过程中,中间体异喹啉(3)可以转化为相应的 1-氯喹啉(5)。该序列中的第一步是在非质子溶剂如二氯甲烷中通过用间-氯代过苯甲酸处理异喹啉(3)来形成异喹啉 N-氧化物(4)。通过回流在氯仿中用三氯化磷处理,可以将中间体(4)转化为相应的 1-氯喹啉。要注意的是,该两步过程是一般性的并且可被用于分别从相应的异喹啉和喹啉获得氯代异喹啉和氯喹啉。

方案 XII



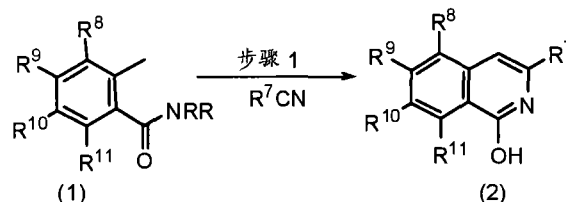
Pomeranz-Fritsch 合成

K. Hirao, R. Tsuchiya, Y. Yano, H. Tsue, *Heterocycles* 42(1) 1996, 415-422

合成异喹啉环系统的另一方法示于方案 XIII 中。在该过程中,用强碱如叔丁基锂在溶剂如 THF 中在低温下处理邻-烷基苯甲酰胺衍生物

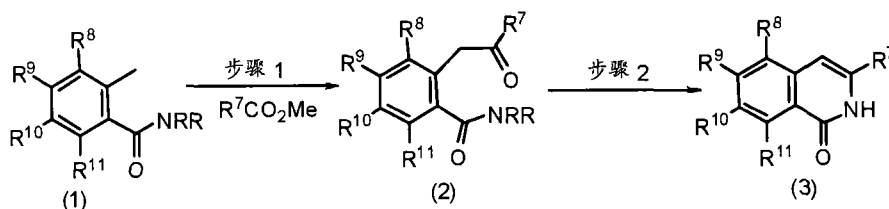
(1)。然后，向该反应混合物中添加腈衍生物，其经受与衍生自(1)的去质子化的阴离子的加成反应，结果形成(2)。该反应是一般性的并且可用于形成被取代的异喹啉。通过本文中所述的方法，方案 XIII 的中间体(2)可被转化为相应的 1-氯喹啉。

方案 XIII



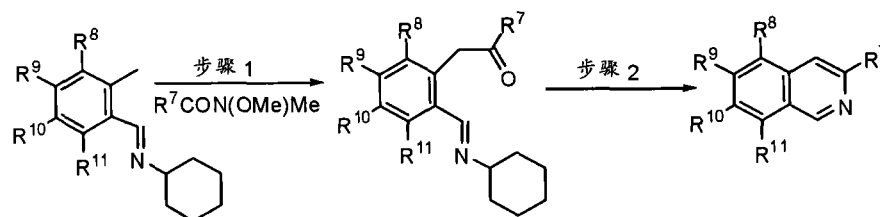
合成异喹啉的另一方法示于方案 XIV 中。如上所述，使用叔丁基锂进行中间体(1)的去质子化。然而，在本方法中，所述中间体阴离子是由酯捕获的，结果形成如以下所示的中间体(2)。在随后的反应中，酮(2)与乙酸铵在升温下缩合，结果形成了喹诺酮(3)。该反应是一般性的，并且可用于形成被取代的异喹诺酮，其然后可被转化为相应的如本文所述的 1-氯代异喹啉。

方案 XIV



形成异喹啉的又一方法示于方案 XV 中。在该过程的第一步骤中，邻-烷基芳基亚胺衍生物如(1)经受去质子化条件(仲-丁基锂, THF)并且通过添加活化的羧酸衍生物如 Weinreb 酰胺来淬灭所得的阴离子。在升温下通过与乙酸铵的缩合，所得的酮亚胺(2)可转化为相应的异喹啉。该方法是一般性的并且可用于合成被取代的异喹啉。通过本文中所述的方法，所述异喹啉可被转化为相应的 1-氯喹啉。

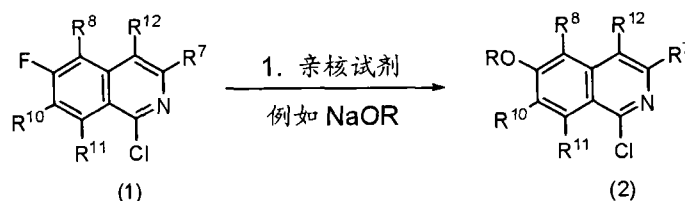
方案 XV



L. Flippin, J. Muchowski, JOC, 1993, 2631-2632

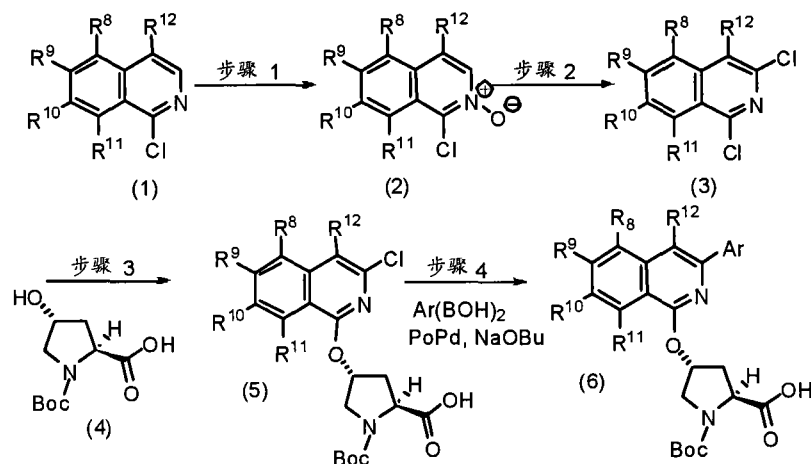
本文中所述的并且被结合到通式(I)的化合物中的杂环可以被进一步官能化。对于本领域技术人员来说很明显的是，所述杂环的额外的官能化可以在这些官能性结合到通式(I)的化合物中之前或之后进行。以下方案举例说明了这一点。例如，方案 XVI 显示了在醇溶剂中，通过用醇钠或醇钾物质处理(1)（其中所述醇盐在室温下衍生自所述醇溶剂），使 1-氯-6-氟异喹啉转化为相应的 1-氯-6-烷氧基-异喹啉物质。有时可能需要对反应加热以促使其完成。使用本文中所述的技术，可以将所述氯喹啉结合到通式(I)的化合物中。

方案 XVI



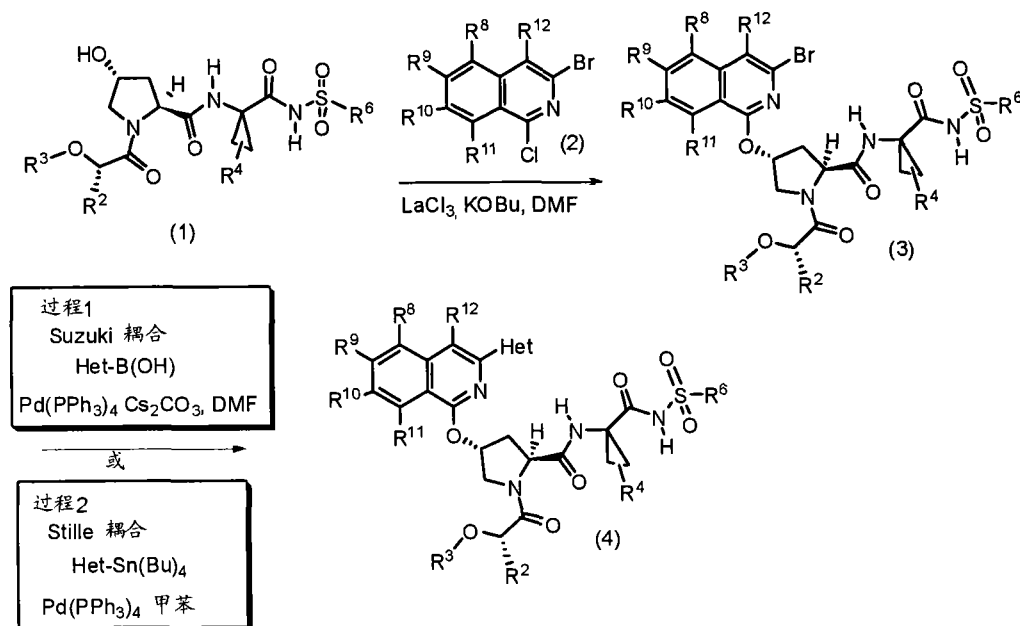
方案 XVII 提供了通过使用钯介导的耦合反应来改性如本文中限定的杂环的一般性实例。可以使用所述耦合以便在环系统的每个位置处使杂环官能化，这使得所述环适当地被活化或者官能化，例如通过氯化物，如该方案中所示。该序列始于 1-氯代异喹啉(1)，其通过用间-氯代过苯甲酸的处理，可以转化为相应的 N-氧化物(2)。在回流的氯仿中通过用氯化氧化磷处理，所述中间体(2)可以转化为相应的 1,3-二氯异喹啉(3)。通过本文中所述的方法，中间体(3)可以与 N-Boc-4-羟脯氨酸耦合，从而提供中间体(5)，如该方案中所示。在钯化学试剂和碱存在下，在溶剂如 THF 或者甲苯或者 DMF 中，中间体(5)可以经受与芳基硼酸的 Suzuki 耦合，从而提供 C3-芳基异喹啉中间体(6)。还可以将杂芳基硼酸用于该 Pd 介导的耦合过程以提供 C3-杂芳基异喹啉。通过本文中所述的方法，中间体(6)可以转化为最终的通式(I)的化合物。

方案 XVII



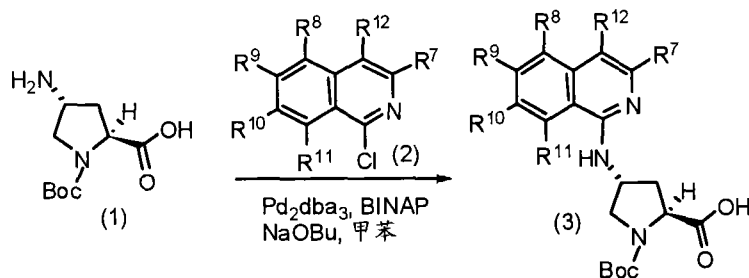
还可以在稍后的形成通式(I)的化合物的合成阶段使用钯介导的杂芳基系统与芳基或者杂芳基单元的耦合, 如方案 XVIII 所示。其中, 使用前述过程的杂芳基卤代部分的醇盐置换, 三肽酰基磺酰胺中间体(1)被耦合到 1-氯-3-溴异喹啉(2), 从而提供中间体(3)。如本文所述, (1)和(2)的耦合在催化剂如氯化镧存在下是最有效率的。中间体(3)的异喹啉环系统可以进一步地通过以下方法官能化: 使用 Suzuki 耦合(过程 1: 在钯催化剂如四(三苯基膦)钯和碱如碳酸铯存在下, 在溶剂如 DMF 中, 使(3)受作用于杂芳基或者芳基硼酸)或者 Stille 耦合(过程 2: 在溶剂如甲苯中, 在钯催化剂如四(三苯基膦)钯存在下, 使(3)受作用于杂芳基或者芳基锡衍生物)。

方案 XVIII



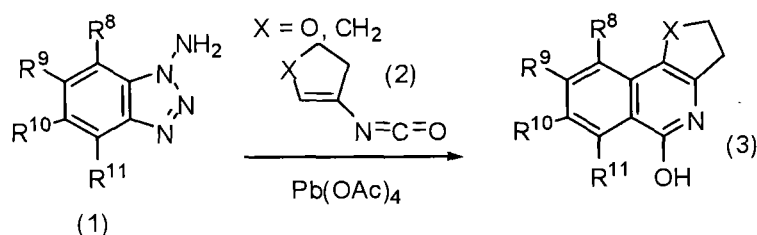
还可以使用钯反应以使 C4-氨基脯氨酸单元与官能化的杂环耦合。方案 XX 显示了在钯催化剂和碱存在下,在溶剂如甲苯中,中间体(1)与官能化的异喹啉耦合。使用本文中所述的方法,中间体,如(3),可以转化为通式(I)的化合物。

方案 XIX



使用[4+2]环化加成反应还可能形成官能化的异喹啉环系统。例如,如方案 XX 所示,在环化加成反应中使用异氰酸乙烯酯(1)和通式(2)的化合物提供了官能化的异喹诺酮(3)。使用本文中所述的方法,所述异喹啉可以结合到通式(I)的化合物。

方案 XX



实施例

本公开内容现将结合某些实施方案来描述,所述实施方案不意欲限制其范围。相反地,本公开内容覆盖全部如能够被包括在权利要求范围内的备选方案、变体和等价物。因而,以下实施例将举例说明本公开内容的一种实践,应理解的是这些实施例的目的是举例说明某些实施方案并且它们的呈现是为了提供被认为是其方法和概念性方面的最有用和最易于理解的描述的内容。

溶液百分比表示了重量-体积关系,溶液比表示了体积-体积关系,除非另有说明。核磁共振(NMR)光谱是在 Bruker300、400 或者 500MHz 光谱仪上记录的;化学位移(δ)是以 ppm 报道的。通过本领域技术人员众所周知的方法在硅胶(SiO_2)上进行快速色谱法(参见 *J. Org. Chem.* 1978, 43, 2923)。

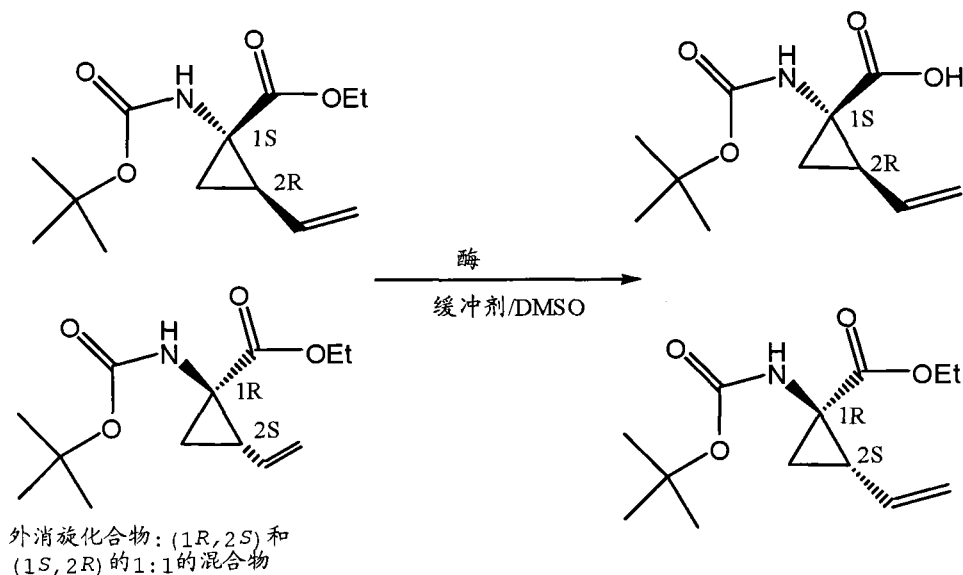
以下实施例中描述的本发明的化合物和化学中间体是根据以下方

法制备的。在本申请的整个实施例部分中，实施例编号和化合物编号不是连续的。

部分 A:

I. 制备 P1 中间体:

2. 拆分 N-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯

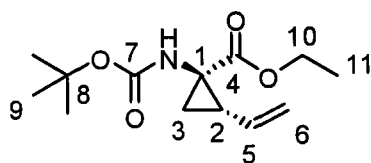


拆分 A

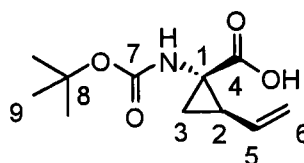
向设置在 12 升带塞反应器中的磷酸钠缓冲剂的水溶液(0.1M, 4.25L, pH 值为 8)中(其被维持在 39°C 并且在 300rpm 下搅拌), 添加 511 克的 Alcalase 2.4L(约 425mL)(Novozymes North America Inc.)。当混合物的温度达到 39°C 时, pH 值调节为 8.0, 通过添加 50%NaOH 水溶液来实现。850mL 的 DMSO 中的外消旋的 N-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯的溶液然后在 40 分钟内被添加。反应温度然后被维持在 40°C 达 24.5 小时, 其间, 使用 50%NaOH 水溶液在 1.5 小时和 19.5 小时的时间点处将混合物的 pH 值调节为 8.0。24.5 小时后, 测量酯的对映体过量为 97.2%, 将反应冷却至室温(26°C)并且搅拌过夜(16 小时), 其后测量酯的对映体过量为 100%。然后用 50%NaOH 调节反应混合物的 pH 值至 8.5, 所得混合物用 MTBE 萃取(2×2L)。然后将合并的 MTBE 萃取物用 5%NaHCO₃(3×100mL)、水(3×100mL)洗涤并且真空浓缩, 获得对映体纯的 N-Boc-(1R,2S)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯, 为浅黄色固体(42.55g; 纯度: 97%@ 210nm, 不含酸; 100%对映异构体过量("ee"))。

从萃取过程获得的水层然后用 50%H₂SO₄ 酸化至 pH 值为 2, 并且用

MTBE(2×2L)萃取。然后将 MTBE 萃取物用水(3×100mL)洗涤并且浓缩, 获得酸, 为浅黄色固体(42.74g; 纯度: 99%@ 210nm, 不含酯)。



1R, 2S-酯



1S, 2R-酸

	酯		酸	
高分 分辨率 质谱	(+) ESI, C ₁₃ H ₂₂ NO ₄ , [M+H] ⁺ , 计算 值 256.1549, 实测值 256.1542		(-) ESI, C ₁₁ H ₁₆ NO ₄ , [M-H] ⁻ , 计算 值 226.1079, 实测值 226.1089	
NMR 观察的化学位移				
溶剂: CDCl ₃ (质子 δ 7.24, C-13 δ 77.0)				
Bruker DRX-500C: 质子 500.032 MHz, 碳 125.746 MHz				
位置	质子 (谱) ppm	C-13 ppm	质子 (谱) ppm	C-13 ppm
1	----	40.9	----	40.7
2	2.10 (q, J= 9.0 Hz)	34.1	2.17 (q, J=9.0 Hz)	35.0
3a	1.76 (br)	23.2	1.79 (br)	23.4
3b	1.46 (br)		1.51, (br)	
4	----	170.8	----	175.8
5	5.74 (ddd, J = 9.0, 10.0, 17.0 Hz)	133.7	5.75 (m)	133.4
6a	5.25 (d, J = 17.0 Hz)	117.6	5.28 (d, J = 17.0 Hz)	118.1
6b	5.08 (dd, J=10.0, 1.5 Hz)		5.12 (d, J = 10.5 Hz)	
7	----	155.8	----	156.2
8	----	80.0	----	80.6
9	1.43 (s)	28.3	1.43 (s)	28.3
10	4.16 (m)	61.3	----	----
11	1.23 (t, J = 7.5 Hz)	14.2	----	----

拆分 B

向 24 孔板的孔(容量: 10mL/孔)中的 0.5mL 100mM Heps·Na 缓冲剂

(pH 值 8.5)添加 0.1mL 的 Savinase 16.0 L(来自 *Bacillus clausii* 的蛋白酶)(Novozymes North America Inc.)和在 0.1mL 的 DMSO 中的外消旋 N-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯(10mg)的溶液。将该板密封并且在 250rpm 下在 40°C 下进行培养。18 小时后,如下测量酯的对映体过量为 44.3%: 去除 0.1mL 的反应混合物并且与 1mL 乙醇充分混合;离心后,用手性 HPLC 分析 10 微升(“ μL ”)的上层清液。向剩余的反应混合物中添加 0.1mL 的 DMSO,在 40°C 在 250rpm 下再培养该板 3 天,然后向孔中添加 4mL 的乙醇。离心后,用手性 HPLC 分析 10 μL 的上层清液并且测量酯的对映体过量为 100%。

拆分 C

向 24 孔板的孔(容量: 10mL/孔)中的 0.5mL 100mM Heps·Na 缓冲剂(pH 值 8.5)中添加 0.1mL 的 Esperase 8.0L(来自 *Bacillus halodurans* 的蛋白酶)(Novozymes North America Inc.)和在 0.1mL 的 DMSO 中的外消旋 N-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯(10mg)的溶液。将该板密封并且在 250rpm 下在 40°C 下进行培养。18 小时后,如下测量酯的对映体过量为 39.6%: 去除 0.1mL 的反应混合物并且与 1mL 乙醇充分混合;离心后,用手性 HPLC 分析 10 μL 的上层清液。向剩余的反应混合物中添加 0.1mL 的 DMSO,在 40°C 在 250rpm 下再培养该板 3 天,然后向孔中添加 4mL 的乙醇。离心后,用手性 HPLC 分析 10 μL 的上层清液并且测量酯的对映体过量为 100%。

以如下方式进行样品分析:

1)样品制备: 约 0.5mL 的反应混合物与 10 体积的乙醇充分混合。离心后,将 10 μL 的上层清液注射到 HPLC 柱上。

2)转化率测量:

柱: YMC ODS A, 4.6 $\times$ 50mm, S-5 μm

溶剂: A, 1mM HCl 水溶液; B, 乙腈;

梯度: 30%B, 1 分钟; 30%-45%B, 0.5 分钟; 45%B, 1.5 分钟; 45%-30% 的 B, 0.5 分钟。

流速: 2mL/分钟

UV 检测: 210nm

停留时间: 酸, 1.2 分钟; 酯, 2.8 分钟。

3)酯的对映体过量测量:

柱: CHIRACEL OD-RH, 4.6×150mm, S-5 μ m

流动相: 乙腈/50mM 的 HClO₄ 水溶液(67/33)

流速: 0.75mL/分钟。

UV 检测: 210nm。

停留时间: (1S,2R)-1-氨基-2-乙基环丙烷羧酸, 5.2 分钟; 外消旋体(1R,2S)/(1S,2R)-1-氨基-2-乙基环丙烷羧酸乙酯, 18.5 分钟和 20.0 分钟; (1R,2S)-1-氨基-2-乙基环丙烷羧酸乙酯, 18.5 分钟。

拆分 D

5L 的 0.3M 磷酸钠缓冲剂(pH 值为 8)在 38°C 被维持在 20L 的带塞的反应器中, 在 130rpm 下搅拌。4 升的 Alcalase 2.4L(Novozymes North America Inc.)和 1 升的去离子水被添加到反应器中。当混合物的温度接近于 38°C 时, 使用 10N NaOH 将 pH 值调节至 7.8。在 1 小时内经由加料漏斗, 将 5 升 DMSO 中的外消旋 N-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-氨基-2-乙基环丙烷羧酸乙酯的溶液(500 克)添加到反应器中。然后调节反应温度到 48°C。21 小时后, 酯的对映体过量为 99.3%。在 24 小时, 停止加热, 使反应缓慢冷却至室温(约 25°C)并且搅拌过夜。然后用 10N NaOH 调节反应混合物的 pH 值至 8.5, 混合物用 MTBE 萃取(2×4L)。将合并的 MTBE 萃取物用 5%NaHCO₃(3×400mL)、水(3×400mL)洗涤并且浓缩, 获得对映体纯的 N-Boc-(1R,2S)-1-氨基-2-乙基环丙烷羧酸乙酯, 为浅黄色晶体(259g; 纯度: 96.9%@ 210nm, 不含酸; 100%ee)。

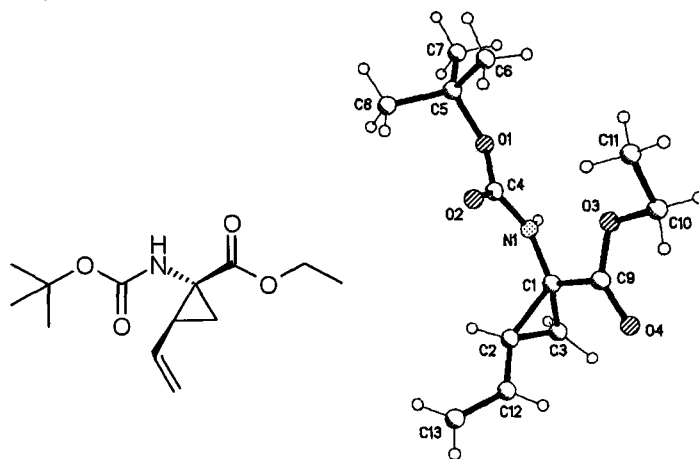
拆分 E

10L 的 0.1M 磷酸钠缓冲剂(pH 值为 8)在 40°C 被维持在 20L 的带塞反应器中, 在 360rpm 下搅拌。1.5L 的 Alcalase 2.4 L(Novozymes North America Inc.)被添加到反应器。当混合物的温度接近于 38°C 时, 使用 10N NaOH 将 pH 值调节至 8.0。在 1 小时内经由加料漏斗, 将 2L DMSO 中的外消旋的 N-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-氨基-2-乙基环丙烷羧酸乙酯的溶液(200 克)添加到反应器中。然后调节反应温度到 40°C。3 小时后, 用 10N NaOH 调节 pH 值至 8.0。21 小时后, 反应被冷却至 25°C。然后用 10N NaOH 调节反应混合物的 pH 值至 8.5, 混合物用 MTBE 萃取(2×5L)。合并的 MTBE 萃取物用 5%NaHCO₃(3×500mL)和水(3×200mL)洗涤, 浓缩而获得 110g 的黄色油。在室温下将所述油放置在清洁真空(house vacuum)中并且获得对映体纯的 N-Boc-(1R,2S)-1-氨基-2-乙基

环丙烷羧酸乙酯，为无色长棒状晶体(101g; 纯度: 97.9% @ 210nm, 不含酸; 100%ee)。

对映体纯的 N-Boc-(1R,2S)/-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯的晶体结构已经由单晶分析表征(X 射线 NB# : 52795-093, 参考代码: 634592N1)。因缺乏已知的手性中心或者较大的原子, 没有测定绝对构型。沿结晶 α -轴的链结构在酰胺基和羧基氧原子之间经由分子间氢键形成(N...O 3.159 Å)。

N-Boc-(1R,2S)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯的结构:



晶体数据

分子式: $C_{13}H_{21}N_1O_4$

晶系: 正交晶

间隔基: $P2_12_12_1$

$a=5.2902(1)$ Å $\alpha=90^\circ$

$b=13.8946(2)$ Å $\beta=90^\circ$

$c=19.9768(3)$ Å $\gamma=90^\circ$

$V=1468.40(4)$ Å³

$Z=4$ $d_x=1.155$ gcm⁻³

对于晶胞参数的反射数: 6817

对于晶胞参数的 θ 范围 (°): 2.2-65.2

吸收系数(mm⁻¹): 0.700

实验部分:

结晶

结晶源: MTBE

晶体描述: 无色棒状

晶体尺寸(mm): 0.12×0.26×0.30

数据采集

温度(K): 293

$\theta_{\text{最大}}(^{\circ})$: 65.2(Cu K α)

所测量的反射数: 7518

独立的反射数: 2390 ($R_{\text{int}}=0.0776$)

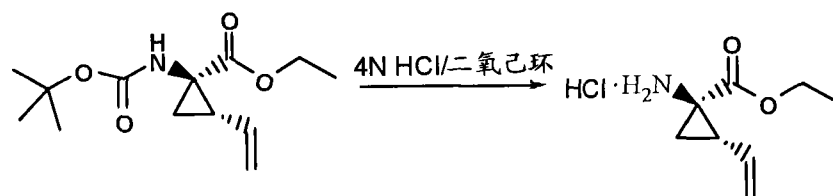
所观察的反射数($I \geq 2\sigma$): 2284

吸收修正($T_{\text{最小}}-T_{\text{最大}}$): 0.688-1.000

拆分 F

5L 的 0.2M 硼酸钠缓冲剂(pH 值为 9)在 45°C 被维持在 20L 的带塞的反应器中并且在 400rpm 下搅拌。将 3L 的去离子水和 4L 的 Savinase 16L, EX 型(Novozymes North America Inc.)添加到反应器中。当混合物的温度接近于 45°C 时,使用 10N NaOH 将 pH 值调节至 8.5。在 40 分钟内经由加料漏斗,将 2L DMSO 中的外消旋 N-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯的溶液(200 克)添加到反应器中。然后调节反应温度到 48°C。2 小时后,用 10N NaOH 调节 pH 值至 9.0。在 18 小时,酯的对映体过量到达 72%, pH 值用 10N NaOH 调节至 9.0。在 24 小时,温度降低至 35°C。在 42 小时,温度上升至 48°C, pH 值用 10N NaOH 调节至 9.0。在 48 小时,停止加热,使反应缓慢冷却至室温(约 25°C)并且搅拌过夜。在 66 小时,反应混合物的 pH 值是 8.6。用 MTBE(2×4L)萃取混合物。将合并的 MTBE 萃取物用 5%NaHCO₃(6X300mL)、水(3X300mL)洗涤并且浓缩,获得对映体纯的 N-Boc-(1R,2S)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯,为浅黄色晶体(101A g; 纯度: 95.9%@ 210nm, 不含酸; 98.6%ee)。

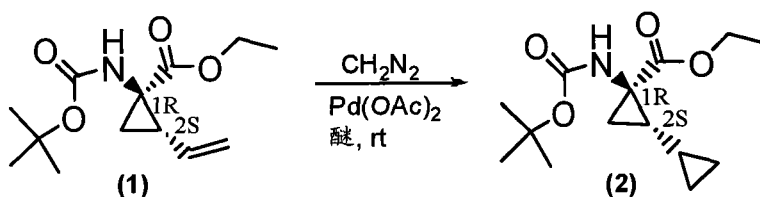
3. 制备手性(1R,2S)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯盐酸盐



在室温下,在 N₂ 气氛下,借助 200mL 的 4N HCl/二氧己环(Aldrich),搅拌 N-Boc-(1R,2S)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯(8.5g, 33.3mmol)达 3 小时。在减压下除去溶剂,保持温度低于 40°C。这产出了 6.57g(约 100%)的(1R,2S)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯盐酸盐,为淡黄色固体。

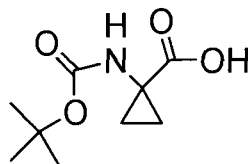
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 1.31 (t, *J*=7.0 Hz, 3H), 1.69-1.82 (m, 2H), 2.38 (q, *J*=8.8 Hz, 1H), 4.29 (q, *J*=7.0 Hz, 2H), 5.22 (d, *J*=10.3 Hz, 1H), 5.40 (d, *J*=17.2 Hz, 1H), 5.69-5.81 (m, 1H). MS *m/z* 156 (M⁺+1).

4. 制备 N-Boc-(1R,2S)-1-氨基-2-环丙基环丙烷羧酸乙酯

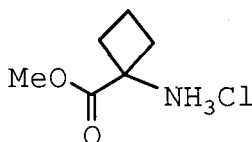


用乙酸钯(5mg, 0.022mmol)处理醚(10ml)中的 N-Boc-(1R,2S)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸(255mg, 1.0mmol)的溶液。将该橙/红色溶液放置在 N_2 气氛下。在 1 小时内, 滴加过量的醚中的重氮甲烷。在室温搅拌所得溶液 18 小时。使用氮气流, 去除过量的重氮甲烷。通过旋转蒸发浓缩所得的溶液, 得到粗产物。快速色谱法(10%乙酸乙酯/己烷)提供了 210mg(78%)的 N-Boc-(1R,2S)-1-氨基-2-环丙基环丙烷羧酸乙酯, 为无色油。LC-MS(停留时间: 2.13, 类似于方法 A, 差别在于梯度时间 3 分钟, Xterra MS C18 S7 3.0 $\times$ 50mm 柱), MS m/e 270 ($M^+ + 1$)。

5. 1-叔丁氧基羰基氨基-环丙烷羧酸是市售可得的



6. 制备 1-氨基环丁烷羧酸甲酯·盐酸盐



将 1-氨基环丁烷羧酸(100mg, 0.869mmol)(Tocris)溶解在 10mL 的甲醇中。鼓入 HCl 气体 2 小时。搅拌反应混合物 18 小时, 然后真空浓缩, 获得 144mg 的黄色油。用 10mL 的二乙醚研磨, 得到 100mg 的标题产物, 白色固体。

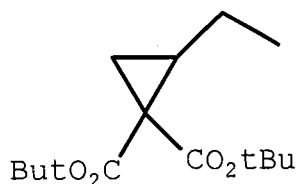
^1H NMR ($CDCl_3$) δ 2.10-2.25 (m, 1H), 2.28-2.42 (m, 1H), 2.64-2.82 (m, 4H), 3.87 (s, 3H), 9.21 (br s, 3H)。

7. 制备外消旋的(1R,2R)/(1S,2S)-1-氨基-2-乙基环丙烷羧酸叔丁基酯



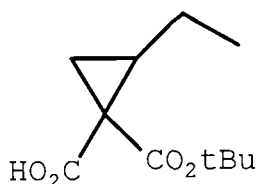
对于羧基来说乙基为顺式

步骤 1: 制备 2-乙基环丙烷-1,1-二羧酸二叔丁基酯, 如下所示



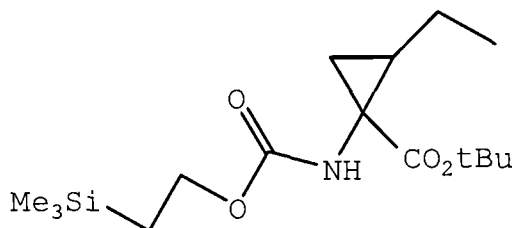
向 50%NaOH 水溶液(92.4g, 在 185mL H₂O 中)中的苄基三乙基氯化铵(21.0g, 92.2mmol)的悬浮液添加 1,2-二溴丁烷(30.0g, 138.9mmol)和二叔丁基丙二酸酯(20.0g, 92.5mmol)。在室温下强力搅拌反应混合物 18 小时, 然后添加冰和水的混合物。粗产物用二氯甲烷(3x)萃取, 顺序地用水(3x)、盐水洗涤, 并且合并有机萃取物。干燥(MgSO₄)有机层, 过滤和真空浓缩。所得剩余物进行快速色谱分析(100g SiO₂, 3%二乙醚/己烷), 得到标题产物(18.3g, 67.8mmol, 73%收率), 在下一个反应中其被直接使用。

步骤 2: 制备外消旋的 2-乙基环丙烷-1,1-二羧酸叔丁基酯, 如下所示



在 0°C, 将步骤 1 的产物(18.3g, 67.8mmol)添加到干醚(500ml)中的叔丁醇钾(33.55g, 299.0mmol)的悬浮液中, 然后是 H₂O (1.35mL, 75.0mmol)并且在室温下强力搅拌过夜。将反应混合物倒入冰和水的混合物中并且用二乙醚(3x)洗涤。在 0°C 用 10%柠檬酸水溶液酸化水层并且用乙酸乙酯(3x)萃取。合并的有机层用水(2 ×)、盐水洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤, 真空浓缩, 得到标题产物, 为浅黄色油(10g, 46.8mmol, 69%收率)。

步骤 3: 制备(1R,2R)/(1S,2S)-2-乙基-1-(2-三甲基硅烷基乙氧基羰基氨基)环丙烷羧酸叔丁基酯, 如下所示



向步骤 2 的产物(10g, 46.8mmol)和 3g 的新近活化的 4Å 分子筛/干燥苯(160mL)的悬浮液中, 添加三乙胺(7.50mL, 53.8mmol)和

DPPA(11mL, 10.21mmol)。使反应混合物回流 3.5 小时, 然后添加 2-三甲基甲硅烷-乙醇(13.5mL, 94.2mmol), 使反应混合物回流过夜。过滤反应混合物, 用二乙醚稀释, 用 10% 柠檬酸水溶液、水、饱和 NaHCO_3 水溶液、水(2×)、盐水(2×)洗涤, 干燥(MgSO_4), 过滤和真空浓缩。将残余物由 10g 的 Aldrich 聚异氰酸酯清除剂树脂悬浮在 120mL 的二氯甲烷中, 在室温下搅拌过夜并且过滤, 得到标题产物(8g, 24.3mmol; 52%), 浅黄色油:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.03 (s, 9H), 0.97 (m, 5H), 1.20 (br m, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.40-1.70 (m, 4H), 4.16 (m, 2H), 5.30 (br s, 1H)。

步骤 4: 制备外消旋的(1R,2R)/(1S,2S)1-氨基-2-乙基环丙烷羧酸叔丁基酯, 如下所示



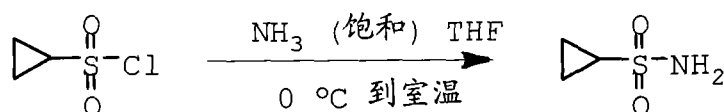
乙基相对于羧基是顺式的

向步骤 3 的产物(3g, 9mmol)添加 THF(9.3mL, 9.3mmol)中的 1.0M TBAF 溶液, 混合物被加热回流 1.5 小时, 冷却至室温, 然后用 500mL 的乙酸乙酯稀释。连续地用水(2x100mL)、盐水(2x100mL)洗涤溶液, 干燥(MgSO_4), 过滤, 真空浓缩, 得到标题中间体。

II. 制备 P1' 中间体

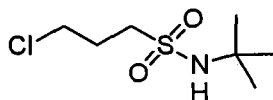
1. 制备环丙基磺酰胺

方法 1(两种方法之一):



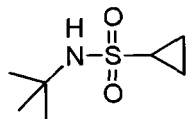
向冷却至 0°C 的 100ml 的 THF 的溶液中鼓入气态氨, 直到达到饱和。向该溶液中添加 5g(28.45mmol)的环丙基磺酰氯(购自 Array Biopharma)的 50mLTHF 溶液, 将该溶液升温至室温过夜, 并且再搅拌 1 天。浓缩混合物直到 1-2ml 的溶剂剩余, 施加到 30g 的 SiO_2 填料(用 30%-60%乙酸乙酯/己烷洗脱), 得到 3.45g(100%)的环丙基磺酰胺, 白色固体。

^1H NMR (甲醇- d_4) δ 0.94-1.07 (m, 4H), 2.52-2.60 (m, 1H); ^{13}C NMR (甲醇- d_4) δ 5.92, 33.01。

方法 2(两种方法之二):步骤 1: 制备 N-叔丁基-(3-氯代)丙基磺酰胺

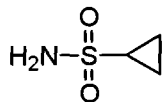
将叔丁胺(3.0mol, 315.3mL)溶解在 THF(2.5L)中。该溶液冷却至-20°C。慢慢地添加 3-氯丙烷磺酰氯(1.5mol, 182.4mL)。使反应混合物升温至室温并且搅拌 24 小时。过滤混合物, 在真空中浓缩该滤液。将残余物溶解在二氯甲烷(2.0L)中。所得溶液用 1N HCl(1.0L)、水(1.0L)、盐水(1.0L)洗涤并且用 Na₂SO₄ 干燥。将其过滤并且真空浓缩, 得到浅黄色固体, 其从己烷中结晶, 获得产物, 白色固体(316.0g, 99%)。

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.38 (s, 9H), 2.30-2.27 (m, 2H), 3.22 (t, J = 7.35 Hz, 2H), 3.68 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 4.35 (br, 1H)。

步骤 2: 制备环丙烷磺酸叔丁基酰胺

在 -78°C, 向 N-叔丁基-(3-氯代)丙基磺酰胺 (2.14g, 10.0mmol)/THF(100ml)的溶液中添加正丁基锂(2.5M 在己烷中, 8.0mL, 20.0mmol)。在 1 小时内使反应混合物升温至室温。在真空中除去挥发物。剩余物在乙酸乙酯和水(200mL, 200mL)之间分配。分离的有机相用盐水洗涤, 用 Na₂SO₄ 干燥, 过滤和真空浓缩。残余物从己烷中再结晶而得到期望产物, 白色固体(1.0g, 56%)。

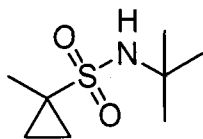
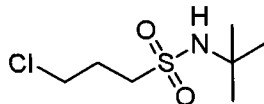
¹H NMR (CDCl₃) δ 0.98-1.00 (m, 2H), 1.18-1.19 (m, 2H), 1.39 (s, 9H), 2.48-2.51 (m, 1H), 4.19 (br, 1H)。

步骤 3: 制备环丙基磺酰胺

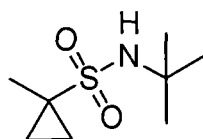
在室温搅拌环丙烷磺酸叔丁基酰胺(110.0g, 0.62mol)/TFA(500ml)的溶液 16 小时。在真空中除去挥发物。残余物从乙酸乙酯/己烷(60mL/240mL)中再结晶而得到期望产物, 白色固体(68.5g, 91%)。

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 0.84-0.88 (m, 2H), 0.95-0.98 (m, 2H), 2.41-2.58 (m, 1H), 6.56 (br, 2H)。

2. 制备 C1 取代的环丙基磺酰胺

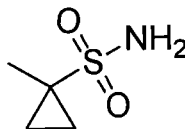
2a. 制备 N-叔丁基-(1-甲基)环丙基-磺酰胺步骤 1: 制备 N-叔丁基-(3-氯代)丙基磺酰胺。

如上所述进行制备。

步骤 2: 制备 N-叔丁基-(1-甲基)环丙基-磺酰胺。

将 N-叔丁基-(3-氯代)丙基磺酰胺(4.3g, 20mmol)溶液溶解在干 THF(100ml)中并且冷却至 -78°C 。慢慢地向该溶液中添加正丁基锂(17.6mL, 44mmol, 2.5M, 在己烷中)。移走干冰浴, 在 1.5 小时内使反应混合物升温至室温。然后将该混合物冷却至 -78°C , 添加正丁基锂的溶液(20mmol, 8mL, 2.5M, 在己烷中)。反应混合物升温至室温, 在 2 小时内再冷却至 -78°C , 并且添加甲基碘的纯溶液(5.68g, 40mmol)。使反应混合物升温至室温过夜, 然后在室温下用饱和 NH_4Cl (100ml)猝灭。用乙酸乙酯(100ml)萃取。有机相用盐水(100ml)洗涤, 干燥(MgSO_4), 过滤, 真空浓缩, 得到黄色油, 其从己烷中结晶而得到产物, 为浅黄色固体(3.1g, 81%):

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.79 (m, 2H), 1.36 (s, 9H), 1.52 (m, 2H), 1.62 (s, 3H), 4.10 (br s, 1H)。

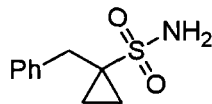
步骤 3: 制备 1-甲基环丙基磺酰胺

将 N-叔丁基-(1-甲基)环丙基磺酰胺(1.91g, 10mmol)溶液溶解在 TFA(30ml)中, 在室温下搅拌反应混合物 16 小时。在真空中除去溶剂, 得到黄色油, 其从乙酸乙酯/己烷(1:4, 40mL)中结晶, 而得到实施例 3, 1-甲基环丙基磺酰胺, 白色固体(1.25g, 96%):

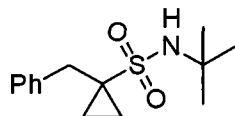
^1H NMR (CDCl_3) δ 0.84 (m, 2H), 1.41 (m, 2H), 1.58 (s, 3H), 4.65 (br s, 2H)。

$C_4H_9NO_2S$ 的分析计算值: C, 35.54; H, 6.71; N, 10.36。实测值: C, 35.67; H, 6.80; N, 10.40。

2b. 制备 1-苄基环丙基磺酰胺



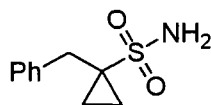
步骤 1: 制备 N-叔丁基-(1-苄基)环丙基-磺酰胺。



使用 N-叔丁基-(1-甲基)环丙基磺酰胺的合成中所述的方法获得所述化合物, 收率为 60%, 不同之处在于使用 1.05 当量的溴化苄, 然后用 10% 乙酸乙酯/己烷进行研磨:

^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.92 (m, 2H), 1.36 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 3.25 (s, 2H), 4.62 (br s, 1H), 7.29-7.36 (m, 5H)。

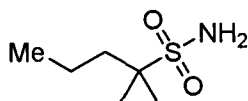
步骤 2: 制备 1-苄基环丙基磺酰胺



使用 1-甲基环丙基磺酰胺的合成中所述的方法, 由 N-叔丁基(1-苄基)环丙基磺酰胺获得所述化合物, 收率为 66%, 随后由最低量的 10% 乙酸乙酯/己烷来重结晶:

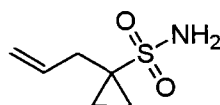
^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.90 (m, 2H), 1.42 (m, 2H), 3.25 (s, 2H), 4.05 (s, 2H), 7.29 (m, 3H), 7.34 (m, 2H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 11.1, 36.8, 41.9, 127.4, 128.8, 129.9, 136.5。

2c. 制备 1-丙基环丙基磺酰胺

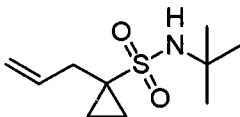


使用所述制备 1-甲基环丙基磺酰胺的过程来制备所述化合物, 不同之处在于在该过程的第二步中使用丙基卤化物替甲基碘。

2d. 制备 1-烯丙基环丙基磺酰胺



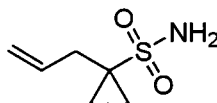
步骤 1: 制备 N-叔丁基-(1-烯丙基)环丙基磺酰胺



根据 N-叔丁基-(1-甲基)环丙基磺酰胺的合成中所述的方法获得所述化合物, 收率为 97%, 不同之处在于 1.25 当量的烯丙基溴被用作亲电试剂。该化合物直接用于下一反应而无需提纯:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.83 (m, 2H), 1.34 (s, 9H), 1.37 (m, 2H), 2.64 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 4.25 (br s, 1H), 5.07-5.10 (m, 2H), 6.70-6.85 (m, 1H)。

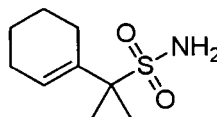
步骤 2: 制备 1-烯丙基环丙基磺酰胺



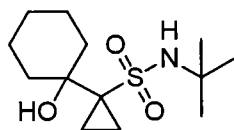
根据 1-甲基环丙基磺酰胺的合成中所述的方法, 从 N-叔丁基-(1-烯丙基)环丙基磺酰胺获得该化合物 1-烯丙基环丙基磺酰胺, 收率为 40%。使用 2% 甲醇/二氯甲烷作为洗脱液在 SiO_2 上通过柱色谱法提纯化合物:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.88 (m, 2H), 1.37 (m, 2H), 2.66 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 4.80 (s, 2H), 5.16 (m, 2H), 5.82 (m, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 11.2, 35.6, 40.7, 119.0, 133.6。

2e. 制备 1-(1-环己烯基)环丙基-磺酰胺



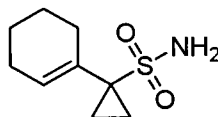
步骤 1: 制备 N-叔丁基-[1-(1-羟基)环己基]-环丙基磺酰胺



使用 N-叔丁基-(1-甲基)环丙基磺酰胺的合成所述的方法获得该化合物, 收率为 84%, 不同之处在于, 使用 1.30 当量的环己酮, 然后由最低量的 20% 乙酸乙酯/己烷来重结晶:

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.05 (m, 4H), 1.26 (m, 2H), 1.37 (s, 9H), 1.57-1.59 (m, 6H), 1.97 (m, 2H), 2.87 (br s, 1H), 4.55 (br s, 1H)。

步骤 2: 制备 1-(1-环己烯基)环丙基-磺酰胺

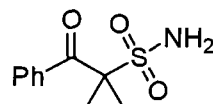


使用 1-甲基环丙基磺酰胺的合成所述的方法, 由 N-叔丁基-[1-(1-羟基

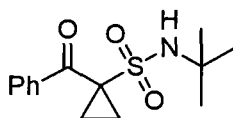
基)环己基]-环丙基磺酰胺获得该化合物 1-(1-环己烯基)-环丙基磺酰胺, 收率为 85%, 随后由最低量的乙酸乙酯和己烷来重结晶:

^1H NMR (DMSO-d_6) δ 0.82 (m, 2H), 1.28 (m, 2H), 1.51 (m, 2H), 1.55 (m, 2H), 2.01 (s, 2H), 2.16 (s, 2H), 5.89 (s, 1H), 6.46 (s, 2H); ^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ 11.6, 21.5, 22.3, 25.0, 27.2, 46.9, 131.6, 132.2; LR-MS (ESI): 200 (M^+-1).

2f. 制备 1-苯甲酰环-丙基磺酰胺



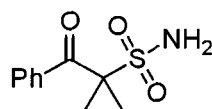
步骤 1: 制备 N-叔丁基-(1-苯甲酰基)环丙基-磺酰胺



使用 N-叔丁基-(1-甲基)环丙基磺酰胺的合成所述的方法获得该化合物, 收率为 66%, 不同之处在于 1.2 当量的苯甲酸甲酯被用作亲电试剂。使用 30%-100%二氯甲烷/己烷在 SiO_2 上通过柱色谱法提纯化合物:

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.31 (s, 9H), 1.52 (m, 2H), 1.81 (m, 2H), 4.16 (br s, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 8.05 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H).

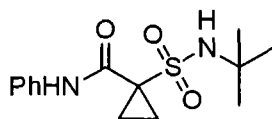
步骤 2: 制备 1-苯甲酰环-丙基磺酰胺



使用 1-甲基环丙基磺酰胺的合成所述的方法, 由 N-叔丁基(1-苯甲酰基)环丙基磺酰胺获得该化合物, 收率为 87%, 随后由最低量的乙酸乙酯/己烷来重结晶:

^1H NMR (DMSO-d_6) δ 1.39 (m, 2H), 1.61 (m, 2H), 7.22 (s, 2H), 7.53 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.65 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ 12.3, 48.4, 128.1, 130.0, 133.4, 135.3, 192.0.

2g. 制备 N-叔丁基-(1-苯基氨基羧基)-环丙基磺酰胺

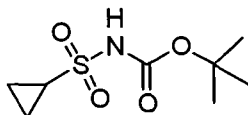


使用 N-叔丁基-(1-甲基)环丙基磺酰胺的合成所述的方法, 使用 1 当量的苯基异氰酸酯, 获得该化合物, 收率为 42%, 随后由最低量的乙酸乙酯/己烷来重结晶

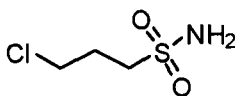
^1H NMR (CDCl_3) δ 1.38 (s, 9H), 1.67-1.71 (m, 4H), 4.30 (br s, 1H), 7.10 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.53 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H)。

3. 制备 C1 取代的环丙烷磺酰胺 N-Boc 保护基的使用

3a. 制备环丙基磺酰胺叔丁基氨基甲酸酯, 在制备 C1 取代的环丙基磺酰胺中的关键中间体

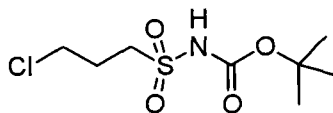


步骤 1: 制备 3-氯丙基氨磺酰



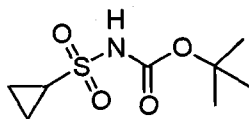
将 3-氯丙烷磺酰氯溶液(55g, 310.7mmol)溶解在 THF(200ml)中并且在 30 分钟内滴加到被冷却到 0°C 的 NH_4OH (200ml)溶液中。将反应混合物升温至室温, 搅拌 1 小时, 用二氯甲烷(4X500mL)将水层分配数次。将合并的二氯甲烷层用 1N HCl(150ml)、水(150ml)洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤, 真空浓缩。从最低量的己烷中的二氯甲烷中再结晶出粗制固体, 得到 3-氯丙基氨磺酰, 白色固体(45.3g, 93%)。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.34 (m, 2H), 3.32 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 3.70 (t, $J=6.2$ Hz, 2H), 4.83 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 27.10, 42.63, 52.57。

步骤 2: 制备 3-氯丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯



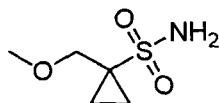
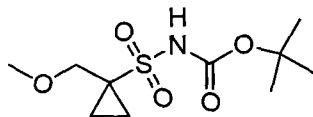
在 30 分钟内, 向冷却至 0°C 的二氯甲烷(350mL)中的 3-氯丙基氨磺酰(30.2g, 191.5mmol)、三乙胺(30.2mL, 217.0mmol)和 4-DMAP(2.40g, 19.6mmol)溶液中缓慢地滴加二氯甲烷(250ml)中的二叔丁基二碳酸酯(47.2g, 216.9mmol)的溶液。使反应混合物升温至室温, 搅拌额外的 3 小时, 用 1N HCl(300mL)、水(300mL)、盐水(300mL)分配, 用 MgSO_4 干燥, 过滤, 真空浓缩, 得到粗产物。用 70mL 的己烷中的 5%二氯甲烷研磨该材料, 得到 3-氯丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯, 为灰白色固体(47.2g, 96%):

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.51 (s, 9H), 2.33 (m, 2H), 3.60 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 3.68 (t, $J=6.21$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 26.50, 27.95, 42.37, 50.40, 84.76, 149.53。

步骤 3: 制备环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯

在氩气气氛下, 将正丁基锂溶液(74.7mL, 119.5mmol, 1.6M, 在己烷中)溶解在干 THF(105mL)中并且冷却至-78°C。在 20-30 分钟内, 向该溶液中逐滴添加干 THF(105mL)中的 3-氯丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯(14g, 54.3mmol)溶液。移走干冰浴, 在 2 小时内使反应混合物升温至室温。用冰醋酸(3.4mL)冷浸反应混合物, 真空浓缩, 在二氯甲烷(100ml)和水(100ml)之间分配。用盐水(100ml)洗涤有机相, 干燥(MgSO₄), 过滤, 真空浓缩, 得到环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯, 为蜡状的灰白色固体(12.08g, 100%):

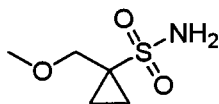
¹H NMR (CDCl₃) δ 1.10 (m, 2H), 1.34 (m, 2H), 1.50 (s, 9H), 2.88 (m, 1H), 7.43 (s, 1H). ¹³C NMR (CDCl₃) δ 6.21, 28.00, 31.13, 84.07, 149.82.

3b. 制备 1-甲氧基-甲基环丙基-磺酰胺步骤 1: 制备 1-甲氧基甲基环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯

向冷却至-78°C 的溶于 THF(30ml)的环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯(1.0g, 4.5mmol)溶液中, 添加正丁基锂(6.4mL, 10.2mmol, 1.6M, 在己烷中), 并且搅拌反应混合物 1 小时。向该溶液中添加氯甲基甲醚(0.40mL, 5.24mmol)的纯溶液, 在一整夜使该混合物缓慢升温至室温。使用 1N HCl 水溶液, 将溶液 pH 值调节至 3, 然后用乙酸乙酯(4x50mL 部份)进行萃取。将合并的萃取物干燥(MgSO₄), 过滤, 浓缩, 得到 1-甲氧基甲基环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯, 为蜡状的固体(1.20g, 100%), 其直接用于下一反应而无需进一步提纯:

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.03 (m, 2H), 1.52 (s, 9H), 1.66 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.68 (s, 2H), 7.54 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 11.37, 28.29, 40.38, 58.94, 73.43, 83.61, 149.57.

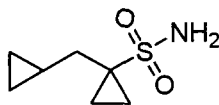
步骤 2: 制备 1-甲氧基甲基环丙基磺酰胺



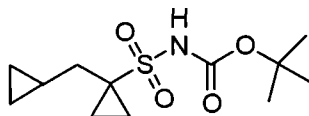
将 1-甲氧基甲基环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯(1.14g, 4.30mmol)溶液溶解在 50%TFA/二氯甲烷(30ml)溶液中, 在室温下搅拌 16 小时。在真空中除去溶剂, 在 80g 的 SiO_2 上, 对残余物进行色谱分析(用 0%-60%乙酸乙酯/己烷洗脱), 得到 1-甲氧基甲基环丙基磺酰胺, 白色固体(0.55g, 77%, 两个步骤的总计):

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.95 (m, 2H), 1.44 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 3.65 (s, 2H), 4.85 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 11.17, 40.87, 59.23, 74.80; LRMS m/z 183 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$).

3c. 制备 1-环丙基甲基环丙基磺酰胺



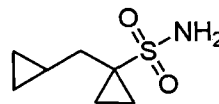
步骤 1: 制备 1-环丙基甲基环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯



根据描述于 1-甲氧基甲基环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯的合成中的方法, 获得 1-环丙基甲基环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯, 收率为 92%, 不同之处在于 1.10 当量的环丙基甲基溴被用作亲电试剂。该化合物直接用于下一反应而无需提纯:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.10 (m, 2H), 0.51 (m, 2H), 0.67 (m, 1H), 1.10 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.62 (m, 2H), 1.87 (d, $J=7.0$ Hz, 2H).

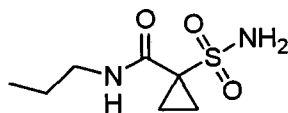
步骤 2: 制备 1-环丙基甲基-环丙基磺酰胺



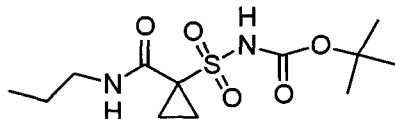
根据 1-甲氧基甲基环丙基磺酰胺的合成所述的方法, 从 1-环丙基甲基环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯获得该化合物, 收率为 65%。使用 0%-60%乙酸乙酯/己烷作为洗脱液在 SiO_2 上通过柱色谱法提纯化合物:

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.15 (m, 2H), 0.51 (m, 2H), 1.01 (m, 2H), 1.34 (m, 3H), 1.86 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 4.83 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 4.65, 7.74, 11.26, 35.62, 41.21; LRMS m/z 193 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$).

3d. 制备 1-丙基氨基甲酰基环丙烷-磺酰胺



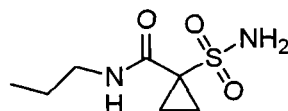
步骤 1: 制备 1-丙基氨甲酰基环丙烷磺酰胺叔丁基氨基甲酸酯



根据 1-甲氧基甲基环丙基磺酰基胺叔丁基-氨基甲酸酯的合成所述的方法, 获得了该化合物, 粗产物收率为 100%, 不同之处在于 1.10 当量的异氰酸正丙酯被用作亲电试剂。该化合物直接用于下一反应而无需提纯:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.10 (m, 2H), 0.51 (m, 2H), 0.67 (m, 1H), 1.10 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.62 (m, 2H), 1.87 (d, $J=7.0$ Hz, 2H)。

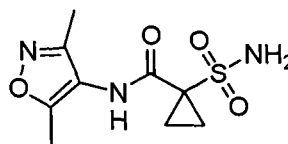
步骤 2: 制备 1-丙基氨甲酰基环丙烷-磺酰胺



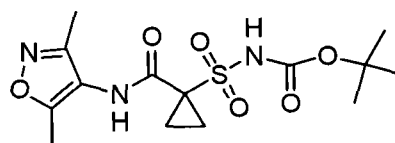
根据 1-甲氧基甲基环丙基磺酰胺的合成所述的方法, 从 1-丙基氨甲酰基环丙烷磺酰胺叔丁基氨基甲酸酯获得该化合物, 优化的收率为 50%, 不同之处在于因为从最低量的二氯甲烷/己烷中再结晶出该材料, 所以没有使用色谱法:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.15 (m, 2H), 0.51 (m, 2H), 1.01 (m, 2H), 1.34 (m, 3H), 1.86 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 4.83 (s, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 4.65, 7.74, 11.26, 35.62, 41.21; LRMS m/z 193 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$)。

3e. 制备 1-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)氨甲酰基环丙烷磺酰胺



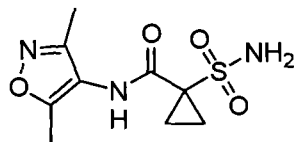
步骤 1: 制备 1-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)氨甲酰基环丙烷磺酰胺叔丁基氨基甲酸酯



根据 1-甲氧基甲基环丙基磺酰基胺叔丁基氨基甲酸酯的合成所述的方法, 获得了该化合物, 粗产物收率为 100%, 不同之处在于 1.20 当

量的 3,5-二甲基异噁唑-4-异氰酸酯被用作亲电试剂。该化合物直接用于下一反应而无需提纯。

步骤 2: 制备 1-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)氨甲酰基环丙烷磺酰胺

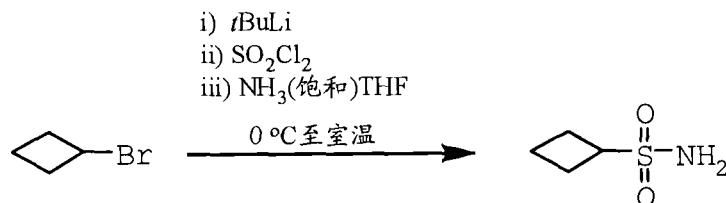


使用 30mL(120mmol)的 4N HCl/二氧己环从 1.62g(4.52mmol)的 1-(3,5-二甲基异噁唑-4-基)氨甲酰基环-丙烷磺酰胺叔丁基氨基甲酸酯获得该化合物, 收率为 50%(580mg), 搅拌过夜, 浓缩, 在 Biotage 40M 柱上进行色谱提纯(用 0%-5% 甲醇/二氯甲烷洗脱):

^1H NMR (甲醇- d_4) δ 1.57 (m, 2H), 1.61 (m 2H), 2.15 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 4.84 (s, 3H); ^{13}C NMR (甲醇- d_4) δ 9.65, 10.94, 15.01, 46.11, 114.82, 159.45, 165.55, 168.15; LRMS m/z 260 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

4. 从环烷基溴制备环烷基磺酰胺

4a. 从环丁基溴制备环丁基磺酰胺

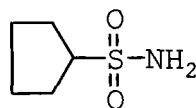


向冷却至 -78°C 的 30mL 的无水二乙醚(二乙醚)中的 5.0g(37.0mmol) 的环丁基溴溶液中添加 44mL(74.8mmol)的 1.7M 叔丁基锂/戊烷, 在 1.5 小时内将溶液缓慢升温至 -35°C 。将该混合物缓慢经导管添加到冷却至 -40°C 的 100ml 己烷中的 5.0g(37.0mmol)的最新蒸馏的磺酰氯溶液中, 在 1 小时内升温至 0°C 并且小心地进行真空浓缩。将该混合物再溶解在二乙醚中, 用一些冰冷水洗涤一次, 干燥(MgSO_4), 过滤, 小心地进行浓缩。将该混合物再溶解在 20mL 的 THF 中, 滴加到 500mL 的 THF 中的饱和 NH_3 , 并且使其搅拌过夜。在真空中将该混合物浓缩成粗制黄色固体, 用 1-2 滴甲醇将其从最低量的二氯甲烷/己烷中再结晶, 而得到 1.90g(38%)的环丁基磺酰胺, 白色固体。

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.95-2.06 (m, 2H), 2.30-2.54 (m, 4H), 3.86 (p, $J=8\text{Hz}$, 1H), 4.75(brs, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 16.43, 23.93, 56.29.

$\text{C}_4\text{H}_8\text{NSO}_2$ 的 HRMS $m/z(\text{M}-\text{H})^-$ 的计算值为 134.0276, 实测值为 134.0282。

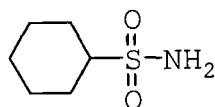
4b. 制备环戊基磺酰胺



将醚中的 18.5mL(37.0mmol)的 2M 环戊基氯化镁溶液滴加到冷却至 -78°C 的 100ml 己烷中的 3.0mL(37.0mmol)最新蒸馏的磺酰氯(获自 Aldrich)溶液中。在 1 小时内将混合物升温至 0°C ，然后小心地进行真空浓缩。将该混合物再溶解在二乙醚(200ml)中，用一些冰冷水(200ml)洗涤一次，干燥(MgSO_4)，过滤，小心地进行浓缩。将该混合物再溶解在 35mL 的 THF 中，滴加到 500mL 的 THF 中的饱和 NH_3 ，并且使其搅拌过夜。在真空中浓缩该混合物至粗制的黄色固体，使用 70%乙酸乙酯-己烷作为洗脱液，将残余物滤过 50g 的硅胶，然后浓缩该溶液。用 1-2 滴甲醇将残余物从最低量的二氯甲烷/己烷中再结晶，而得到 2.49g(41%)的环戊基磺酰胺，白色固体。

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.58-1.72 (m, 2H), 1.74-1.88 (m, 2H), 1.94-2.14 (m, 4H), 3.48-3.59 (m, 1H), 4.80 (br s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 25.90, 28.33, 63.54; MS m/e 148 ($\text{M}-\text{H}$) $^-$ 。

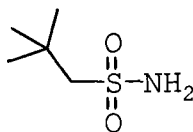
4c. 制备环己基磺酰胺



将二乙醚中的 18.5mL(37.0mmol)的 2M 环己基氯化镁(TCI Americas)溶液滴加到冷却至 -78°C 的 100ml 己烷中的 3.0mL(37.0mmol)最新蒸馏的磺酰氯溶液中。在 1 小时内将混合物升温至 0°C ，然后小心地进行真空浓缩。将该混合物再溶解在二乙醚(200ml)中，用一些冰冷水(200ml)洗涤一次，干燥(MgSO_4)，过滤，小心地进行浓缩。将该混合物再溶解在 35mL 的 THF 中，滴加到 500mL 的 THF 中的饱和 NH_3 ，并且使其搅拌过夜。在真空中浓缩该混合物至粗制的黄色固体，使用 70%乙酸乙酯-己烷作为洗脱液，将残余物滤过 50g 的硅胶，然后进行浓缩。用 1-2 滴甲醇将残余物从最低量的二氯甲烷/己烷中再结晶，而得到 1.66g(30%)的环己基-磺酰胺，白色固体。

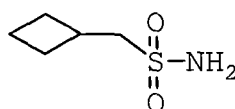
^1H NMR (CDCl_3) δ 1.11-1.37 (m, 3H), 1.43-1.56 (m, 2H), 1.67-1.76 (m, 1H), 1.86-1.96 (m, 2H), 2.18-2.28 (m, 2H), 2.91 (tt, $J=12$, 3.5 Hz, 1H), 4.70 (br s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 25.04, 25.04, 26.56, 62.74; MS m/e 162 ($\text{M}-$

1)。

4d. 制备新戊基磺酰胺

遵循制备环己基磺酰胺的方法，将 49mL(37mmol)的二乙醚中的 0.75M 新戊基氯化镁(Alfa)转化为 1.52g(27%)的新戊基磺酰胺，白色固体。

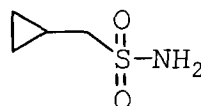
^1H NMR (CDCl_3) δ 1.17 (s, 9H), 3.12 (s, 2H), 4.74 (brs, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 29.46, 31.51, 67.38; MS m/e 150 (M-1)。

4e. 制备环丁基甲基磺酰胺

使 12.3g(83mmol)的环丁基甲基溴化物(Aldrich)和 13.7g(91mmol)的碘化钠/150mL 的丙酮溶液回流过夜，然后冷却至室温。滤出无机固体，在环境条件下和在 150 托在 80°C 分别蒸馏出丙酮和环丙基甲基碘(8.41g, 46%)。

冷却至-78°C 的 4.0g(21.98mmol)的环丁基甲基碘/30mL 的无水二乙醚(二乙醚)溶液经导管添加到 17mL(21.98mmol)的 1.3M 仲-丁基锂/环己烷溶液中并且搅拌该溶液 5 分钟。向该混合物中，经导管添加冷却至-78°C 的 3.0g(21.98mmol)最新蒸馏的磺酰氯/110mL 的己烷溶液，在 1 小时内混合物升温至室温，然后小心地进行真空浓缩。将该混合物再溶解在二乙醚中，用一些冰冷水洗涤一次，干燥(MgSO_4)，过滤，小心地进行浓缩。将该混合物再溶解在 30mL 的 THF 中，滴加到 500mL 的 THF 中的饱和 NH_3 ，并且使其搅拌过夜。在真空中将该混合物浓缩成粗制黄色固体，用 1-2 滴甲醇将其从最低量的二氯甲烷/己烷中再结晶，而得到 1.39g(42%)的环丁基甲基磺酰胺，白色固体。

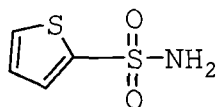
^1H NMR (CDCl_3) δ 1.81-2.03 (m, 4H), 2.14-2.28 (m, 2H), 2.81-2.92 (m, 1H), 3.22 (d, $J=7$ Hz, 2H), 4.74 (brs, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 19.10, 28.21, 30.64, 60.93; MS m/e 148 (M-1)。时间: 1.73, 方法 B), 818 ($\text{M}^+\text{+H}$)

4f. 制备环丙基甲基磺酰胺

使用用于制备环丁基甲基磺酰胺的方法, 由环丙基甲基溴(Aldrich)制备环丙基甲基磺酰胺(参见 JACS 1981, p.442-445)。

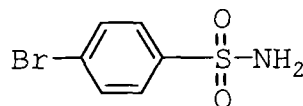
^1H NMR (CDCl_3) δ 0.39-0.44 (m, 2H), 0.67-0.76 (m, 2H), 1.13-1.27 (m, 1H), 3.03 (d, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 4.74 (brs, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 4.33, 5.61, 59.93; MSm/ e134 (M-1)。

4g. 制备 2-噻吩磺酰胺



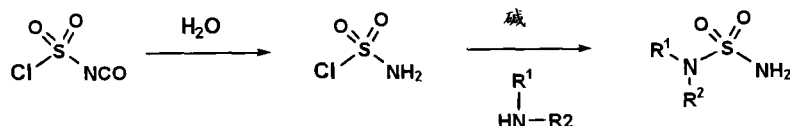
使用下述文献的方法由 2-噻吩磺酰氯(购自 Aldrich)来制备: *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 501, 1933, p.174-182。

4h. 制备 4-溴苯磺酰胺



通过用 THF 中的饱和氨处理市售可得的 4-溴基磺酰氯来制备 4-溴苯基磺酰胺。

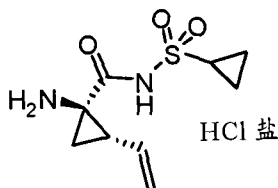
5. 制备磺酰胺的一般性方法



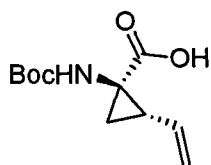
通过将水(1 当量)/THF 添加至冷的(-20°C)搅拌的氯代异氰酸磺酰酯(1 当量)/THF 溶液并且使所得溶液升温至 0°C 来制备中间体氨磺酰氯。向该溶液中添加无水三乙胺(1 当量), 随后添加必需的仲胺(1 当量)。将反应混合物升温至室温, 然后过滤, 将滤液浓缩, 获得所期望的磺酰胺。

III. 制备 P1'-P1 中间体

1a. 制备环丙烷磺酸(1-(R)-氨基-2-(S)-乙烯基环丙烷羧基)酰胺 HCl 盐



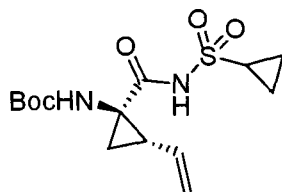
步骤 1: 制备 1(R)-叔丁氧基羧基氨基-2(S)-乙烯基环丙烷羧酸



向 1(R)-叔丁氧基羰基氨基-2(S)-乙烯基环丙烷羧酸乙酯(3.28g, 13.2mmol)/THF(7mL)和甲醇(7mL)溶液中添加 LiOH (1.27g, 53.0mmol)/水(14mL)的悬浮液。在室温下搅拌该混合物过夜,并且用 1N NaOH(15mL)和水(20ml)淬灭。所得混合物用乙酸乙酯(20ml)洗涤,有机相用 20mL 0.5N NaOH 萃取。将合并的水相用 1N HCl 酸化,直到 pH 值为 4,并且用乙酸乙酯(3×40ml)萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤,干燥(MgSO₄),过滤,浓缩,得到标题化合物,白色固体(2.62g, 87%)。

¹H NMR: (DMSO-d₆) δ 1.22-1.26 (m, 1H), 1.37 (s, 9H), 1.50-1.52 (m, 1H), 2.05 (q, *J*=9 Hz, 1H), 5.04 (d, *J*=10 Hz, 1H), 5.22 (d, *J*=17 Hz, 1H), 5.64-5.71 (m, 1H), 7.18, 7.53 (s, NH (旋转异构体), 12.4 (br s, 1H)); LC-MS (停留时间: 1.67 分钟, 方法 B), MS *m/z* 228 (M⁺+H)。

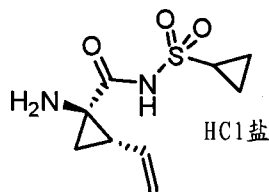
步骤 2: 制备环丙烷磺酸(1-(R)-叔丁氧基羰基氨基-2-(S)-乙烯基环丙烷羰基)-酰胺



在氮气下将步骤 1 的产物(2.62g, 11.5mmol)和 CDI(2.43g, 15.0mmol)/THF(40ml)溶液加热回流 50 分钟。冷却溶液至室温并且通过套管转移到环丙基磺酰胺(1.82g, 15.0mmol)/THF(10ml)溶液中。向所得溶液添加 DBU(2.40mL, 16.1mmol)并且继续搅拌 20 小时。混合物用 1N HCl 淬灭至 pH 值为 1 并且 THF 真空浓缩。悬浮液用乙酸乙酯(2X50mL)萃取并且合并的有机萃取物被干燥(Na₂SO₄), 过滤和浓缩。由己烷-乙酸乙酯(1:1)的再结晶进行纯化, 获得标题化合物(2.4g), 白色固体。母液通过 Biotage 40S 柱提纯(洗脱, 9%丙酮/二氯甲烷), 获得第二批标题化合物(1.1g)。将两批合并(总收率 92%)。

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 0.96-1.10 (m, 4H), 1.22 (dd, *J*=5.5, 9.5 Hz, 1H), 1.39 (s, 9H), 1.70 (t, *J*=5.5 Hz, 1H), 2.19-2.24 (m, 1H), 2.90 (m, 1H), 5.08 (d, *J*=10 Hz, 1H), 5.23 (d, *J*=17 Hz, 1H), 5.45 (m, 1H), 6.85, 7.22 (s, NH (旋转异构体)); LC-MS (停留时间: 1.70 分钟, 方法 B), MS *m/z* 331 (M⁺+H)。

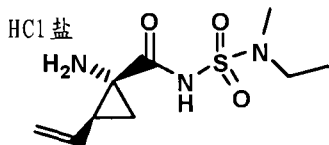
步骤 3: 制备环丙烷磺酸(1-(R)-氨基-2-(S)-乙基环丙烷羧基)酰胺 HCl 盐



在室温搅拌步骤 2 的产物(3.5g, 10.6mmol)/二氯甲烷(35mL)和 TFA(32mL)溶液 1.5 小时。在真空中除去挥发物并且将残余物悬浮在 1N HCl/二乙醚(20ml)中, 真空浓缩。重复该过程一次。由戊烷研磨所得混合物并且过滤, 得到标题化合物, 为吸湿性灰白色固体(2.60g, 92%)。

^1H NMR: (DMSO- d_6) δ 1.01-1.15 (m, 4H), 1.69-1.73 (m, 1H), 1.99-2.02 (m, 1H), 2.38 (q, $J=9$ Hz, 1H), 2.92-2.97 (m, 1H), 5.20 (d, $J=11$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J=17$ Hz, 1H), 5.52-5.59 (m, 1H), 9.17 (br s, 3H); LC-MS (停留时间: 0.24 分钟, 方法 B), MS m/z 231 ($M^+ + H$)。

1b. 制备 P1-P1'磺酰胺衍生物

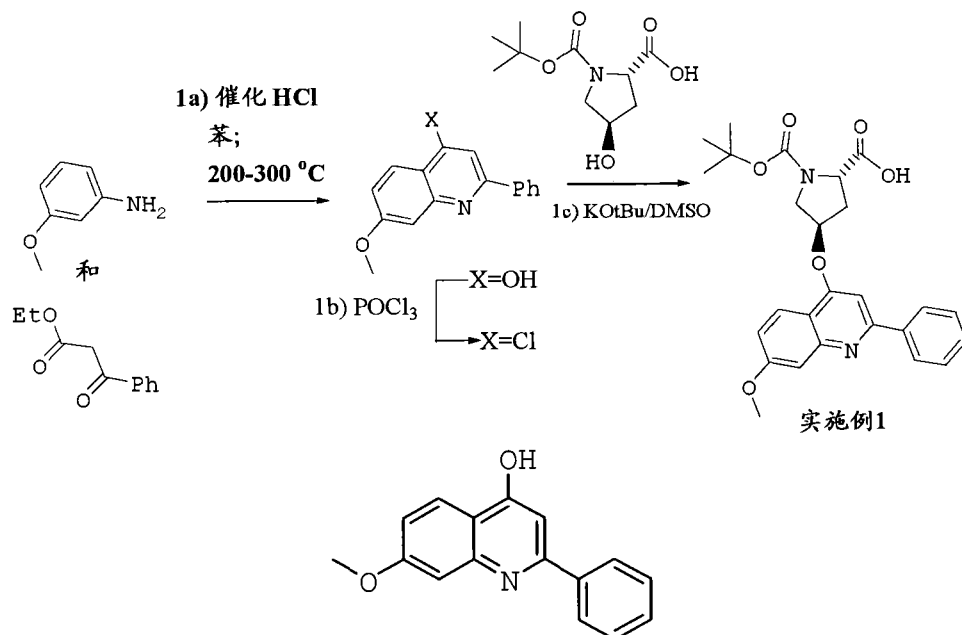


向(1R, 2S)-1-叔丁氧基羧基氨基-2-乙基环丙烷羧酸(217mg, 1.194mmol)/THF(5ml)溶液添加 CDI(290mg, 1.791 mmol), 并且反应混合物在回流条件下加热 45 分钟。在另一圆底烧瓶中, LiHMDS (1.0M 溶液, 在己烷中, 2.4mL, 2.4mmol)被添加到 N-乙基甲基磺酰胺(330mg, 2.388mmol) /THF(5ml)溶液并且在室温搅拌反应混合物 1 小时。将两种反应混合物添加在一起并且在室温下搅拌 2 小时。添加水以淬灭反应并且用乙酸乙酯萃取反应溶液。分离有机层并且用 MgSO_4 干燥。过滤和浓缩该溶剂, 获得粗产物, 其由制备性 HPLC 提纯以获得所期望的 N-Boc 受保护的 N-酰基磺酰胺。然后, 在将化合物溶解在 4N HCl/二氧己环(2ml)溶液中并且在室温下搅拌 4 小时的时候, 去除了 Boc 保护基。将溶液蒸发, 以 HCl 盐的形式获得淡褐色的油。(112mg, 33%收率)。

^1H NMR (400Mz, CD_3OD) δ 1.16 (t, $J=7.21$ Hz, 3H), 1.68 (dd, $J=10.03, 7.83$ Hz, 1H), 2.15 (m, 1H), 2.37 (m, 1H), 2.89 (s, 3H), 3.30 (m, 2H), 5.31 (d, $J=10.27$ Hz, 1H), 5.42 (d, $J=17.12$ Hz, 3H), 5.68 (m, 1H). LC-MS (停留时间: 0.883 分钟), MS m/z 270 ($M + \text{Na}^+$)。

部分 B:制备通式 I 的化合物和实施例

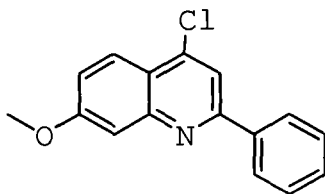
实施例 1



步骤 1a

向间甲氧基苯胺(300g, 2.44mol)和苯酰乙酸乙酯(234.2g, 1.22mol)/甲苯(2.0L)溶液添加 HCl(4.0N/二氧己环, 12.2mL, 48.8mmol)。使用 Dean-Stark 装置使所得溶液回流 6.5 小时(收集到约 56mL 的水溶液)。将混合物冷却至室温, 用 HCl 水溶液(10%, 3×500ml)、NaOH 水溶液(1.0N, 2×200ml)、水(3×200mL)分配多次, 干燥(MgSO₄)有机层, 过滤, 真空浓缩, 获得油状的残余物(329.5g)。使用 Dean-Stark 装置(收集到约 85mL 液体), 在油浴(280°C)中加热粗产物 80 分钟。将反应混合物冷却至室温, 用 CH₂Cl₂(400mL)研磨固体残余物, 过滤所得悬浮液, 用更多 CH₂Cl₂(2×150mL)洗涤滤饼。在真空中干燥所得固体(50°C; 1 托; 1 天), 获得了分析纯产物, 为浅棕色固体(60.7g, 20%, 总计)。

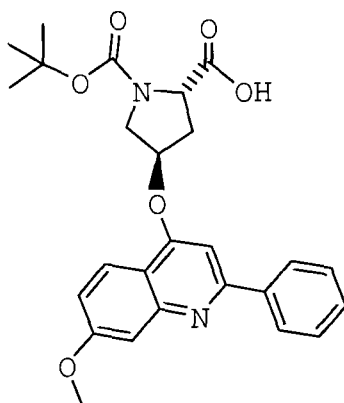
¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3.86 (s, 3H), 6.26 (s, 1H), 6.94 (dd, *J*=9.0, 2.4 Hz, 1H), 7.21 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 7.55-7.62 (m, 3H), 7.80-7.84 (m, 2H), 8.00 (d, *J*=9.0 Hz, 1H), 11.54 (s, 1H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 55.38, 99.69, 107.07, 113.18, 119.22, 126.52, 127.17, 128.97, 130.34, 134.17, 142.27, 149.53, 161.92, 176.48. LC-MS (MS *m/z* 252 (M⁺+1))。



步骤 1b

将步骤 1a 的产物(21.7g, 86.4mmol)悬浮在 POCl_3 (240mL)中。将悬浮液回流 2 小时。在真空中去除 POCl_3 后,在乙酸乙酯(1L)和冷的 NaOH 水溶液(由 1.0N 200mL NaOH 和 20mL 10.0N NaOH 形成)之间分配残余物并且搅拌 15 分钟。用水(2X200ml)、盐水(200ml)洗涤有机层,干燥 (MgSO_4),真空浓缩,获得期望产物(21.0g, 90%),为浅棕色固体。

^1H NMR (DMSO-d_6) δ 3.97 (s, 3H), 7.36 (dd, $J=9.2, 2.6$ Hz, 1H), 7.49-7.59 (m, 4H), 8.08 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.26-8.30 (m, 2H); ^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ 55.72, 108.00, 116.51, 119.52, 120.48, 124.74, 127.26, 128.81, 130.00, 137.58, 141.98, 150.20, 156.65, 161.30. LC-MS (MS m/z 270 (M^++1)).



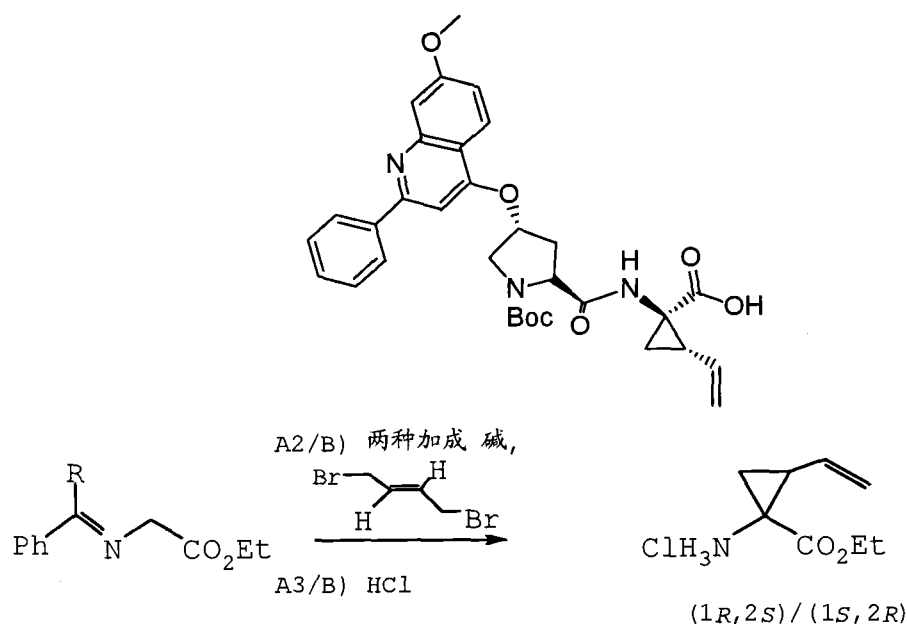
步骤 1c

在 0°C 向 Boc-4R-羧脯氨酸(16.44g, 71.1mmol)/DMSO (250ml)悬浮液中添加 t-BuOK(19.93g, 177.6mmol)。搅拌所形成的混合物 1.5 小时,然后分为 3 份在 1 小时内添加步骤 1b 的产物(21.02g, 77.9mmol)。搅拌反应 1 天,倒入冷水(1.5L)中并且用二乙醚(4X200ml)洗涤。酸化该水溶液至 pH 值 4.6,过滤,获得白色固体,在真空中干燥而获得产物(32.5g, 98%)。

^1H NMR (DMSO-d_6) δ 1.32, 1.35 (二 s (旋转异构体) 9H), 2.30-2.42 (m, 1H), 2.62-2.73 (m, 1H), 3.76 (m, 2H), 3.91 (s, 3H), 4.33-4.40 (m, 1H), 5.55 (m, 1H), 7.15 (dd, $J=9.2, 2.6$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 7.42-7.56 (m, 4H), 7.94-7.99 (m, 1H), 8.25, 8.28 (2s, 2H), 12.53 (brs, 1H); LC-

MS, MS m/z 465 ($M^+ + 1$).

实施例 2



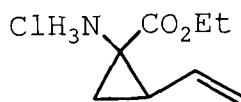
方法 A: R = H(来自步骤 A1)

步骤 2a(总的制备)

方法 B: R = Ph(Aldrich)

来自方法 A(步骤 A1-A3)或

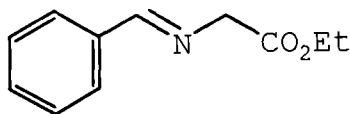
方法 B(一步法)



步骤 2a

通过各种以下方法来制备期望产物:

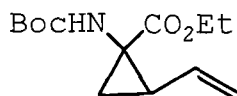
方法 A



步骤 A1

将甘氨酸乙酯盐酸盐(303.8g, 2.16mol)悬浮在叔丁基甲基醚(1.6L)中。添加苯甲醛(231g, 2.16mol)和无水硫酸钠(154.6g, 1.09mol)并且使用冰-水浴冷却混合物至 0°C。在 30 分钟内滴加三乙胺(455mL, 3.26mol)并且在室温下搅拌混合物 48 小时。通过添加冰冷水(1L)淬灭反应并且分离有机层。用叔丁基甲基醚(0.5L)萃取水相并且用饱和 NaHCO_3 水溶液(1L)和盐水(1L)的混合物洗涤合并的有机相。溶液用 MgSO_4 干燥, 过滤, 真空浓缩, 获得 392.4g 的期望产物, 为浓黄色油, 其被直接用于下一步中。

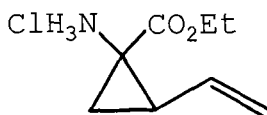
^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1.32 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 4.24 (q, $J=7.1$ Hz, 2H), 4.41 (d, $J=1.1$ Hz, 2H), 7.39-7.47 (m, 3H), 7.78-7.81 (m, 2H), 8.31 (s, 1H).



步骤 A2

在 60 分钟内, 向叔丁醇锂(84.06g, 1.05mol)/干燥甲苯(1.2L)的悬浮液中滴加步骤 A1 的产物(100.4g, 0.526mol)和反-1,4-二溴-2-丁烯(107.0g, 0.500mol)/干燥甲苯(0.6L)的混合物。添加完成后, 通过添加水(1L)和叔丁基甲基醚(TBME, 1L)淬灭深红色混合物。分离水相并且用 TBME(1L)再次萃取。合并有机相, 添加 1N HCl(1L), 在室温下搅拌混合物 2 小时。分离有机相并且用水(0.8L)萃取。然后合并水相, 用盐(700g)饱和, 添加 TBME(1L), 将混合物冷却至 0°C 。然后通过滴加 10N NaOH 使搅拌的混合物碱化至 pH 值 14, 分离有机层, 用 TBME($2 \times 500\text{mL}$)萃取水相。将合并的有机萃取物干燥(MgSO_4), 过滤, 浓缩, 至体积为 1L。向该溶液中添加二叔丁基二碳酸酯(131.0g, 0.6mol)并且在室温下搅拌混合物 4 天。将额外的二叔丁基二碳酸酯(50g, 0.23mol)添加到反应中, 使混合物回流 3 小时, 然后使其冷却至室温过夜。反应混合物用 MgSO_4 干燥, 过滤, 真空浓缩, 获得 80g 的原料。通过快速色谱法提纯该残余物(2.5Kg 的 SiO_2 , 用 1%-2% $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 洗脱), 获得 57g(53%)的外消旋产物, 为黄色油, 其放置在冰箱中时固化。

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1.26 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.43-1.49 (m, 1H), 1.76-1.82 (br m, 1H), 2.14 (q, $J=8.6$ Hz, 1H), 4.18 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 5.12 (dd, $J=10.3, 1.7$ Hz, 1H), 5.25 (br s, 1H), 5.29 (dd, $J=17.6, 1.7$ Hz, 1H), 5.77 (ddd, $J=17.6, 10.3, 8.9$ Hz, 1H); MS m/z 254.16 (M^+-1).



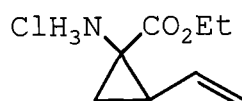
步骤 A3

将步骤 A2 的产物(9.39g, 36.8mmol)溶解在 4N HCl/二氧己环(90ml, 360mmol)中并且在室温下搅拌 2 小时。浓缩反应混合物, 以定量的收率获得期望产物(7g, 100%)。

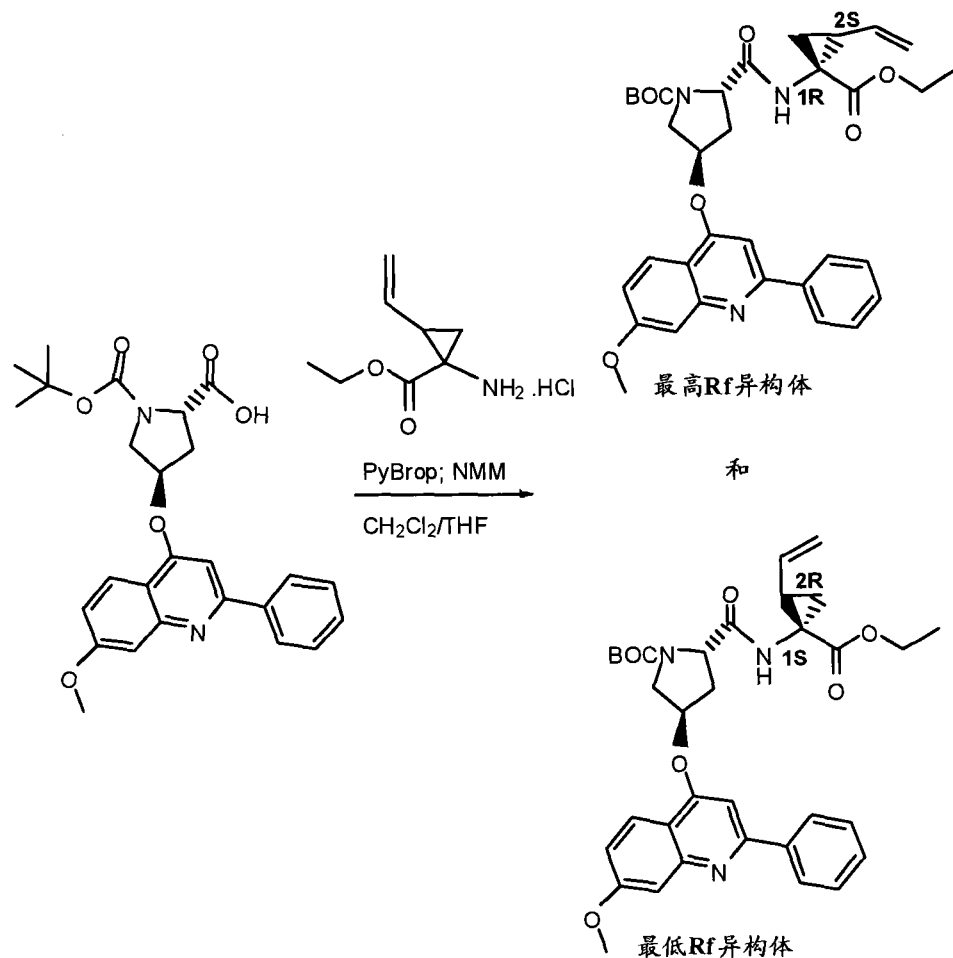
^1H NMR (CD_3OD) δ 1.32 (t, $J=7.1$, 3H), 1.72 (dd, $J=10.2, 6.6$ Hz, 1H),

1.81 (dd, $J=8.3, 6.6$ Hz, 1H), 2.38 (q, $J=8.3$ Hz, 1H), 4.26-4.34 (m, 2H), 5.24 (dd, 10.3, 1.3 Hz, 1H) 5.40 (d, $J=17.2$, 1H), 5.69-5.81 (m, 1H)。

方法 B



在 -78°C 向叔丁醇钾(11.55g, 102.9mmol)/THF(450mL)溶液添加市售可得的甘氨酸乙酯的 N,N-二苄基亚胺(25.0g, 93.53mmol)/THF(112mL)。反应混合物升温至 0°C , 搅拌 40 分钟, 然后冷却至 -78°C 。向该溶液中添加反-1,4-二溴-2-丁烯(20.0g, 93.50mmol)。在 0°C 搅拌该混合物 1 小时, 冷却至 -78°C 。添加叔丁醇钾(11.55g, 102.9mmol), 混合物立即升温至 0°C , 真空浓缩前再搅拌 1 小时。将粗产物溶解在二乙醚(530mL), 中, 。添加 1N HCl 水溶液(106mL, 106mmol), 在室温下搅拌所得的两相混合物 3.5 小时。分离各层并且用二乙醚(2 $\times$)洗涤水层并且用饱和 NaHCO_3 水溶液碱化。用二乙醚(3x)萃取水溶液并且用盐水洗涤合并的有机萃取物, 干燥(MgSO_4), 过滤, 真空浓缩, 获得游离胺。用 4N HCl 溶液/二氧己环(100ml, 400mmol)处理该材料, 浓缩而得到期望产物, 为褐色半固体(5.3g, 34%收率), 与获自方法 A 的物料相同, 区别在于存在少量的未经确认的芳族杂质(8%)。



步骤 2b

在 0°C 在 10 分钟内分 3 个部分向步骤 1c 的产物(11.0g, 23.7mmol)、步骤 2a 的产物(5.40g, 28.2mmol)和 NMM (20.8mL; 18.9mmol) /500mL 的 50%CH₂Cl₂/THF 溶液添加耦合化学试剂溴代三吡咯烷磷六氟磷酸盐(Pybrop)(16.0g, 34.3mmol)。在室温搅拌该溶液 1 天, 然后用 pH 值 4.0 的缓冲剂(4X50mL)洗涤。用饱和 NaHCO₃ 水溶液(100ml)洗涤有机层, 水冲洗物用乙酸乙酯(150ml)萃取, 用 pH 值 4.0 缓冲剂(50ml)和饱和 NaHCO₃ 水溶液(50ml)反洗有机层。干燥(MgSO₄)有机溶液, 过滤, 浓缩, 使用 Biotage 65M 柱提纯(用 50%乙酸乙酯/己烷洗脱), 获得了超过 7.5g 的期望产物的(1R,2S)和(1S,2R)P1 异构体的 1:1 混合物(50%总计), 或者在 Biotage 65M 柱上洗脱, 使用慢的 15%-60%乙酸乙酯/己烷梯度, 获得 3.54g(25%)的高 Rf 洗脱(1R,2S)P1 异构体和 3.54g(25%)的低 Rf 洗脱(1S,2R)P1 异构体。

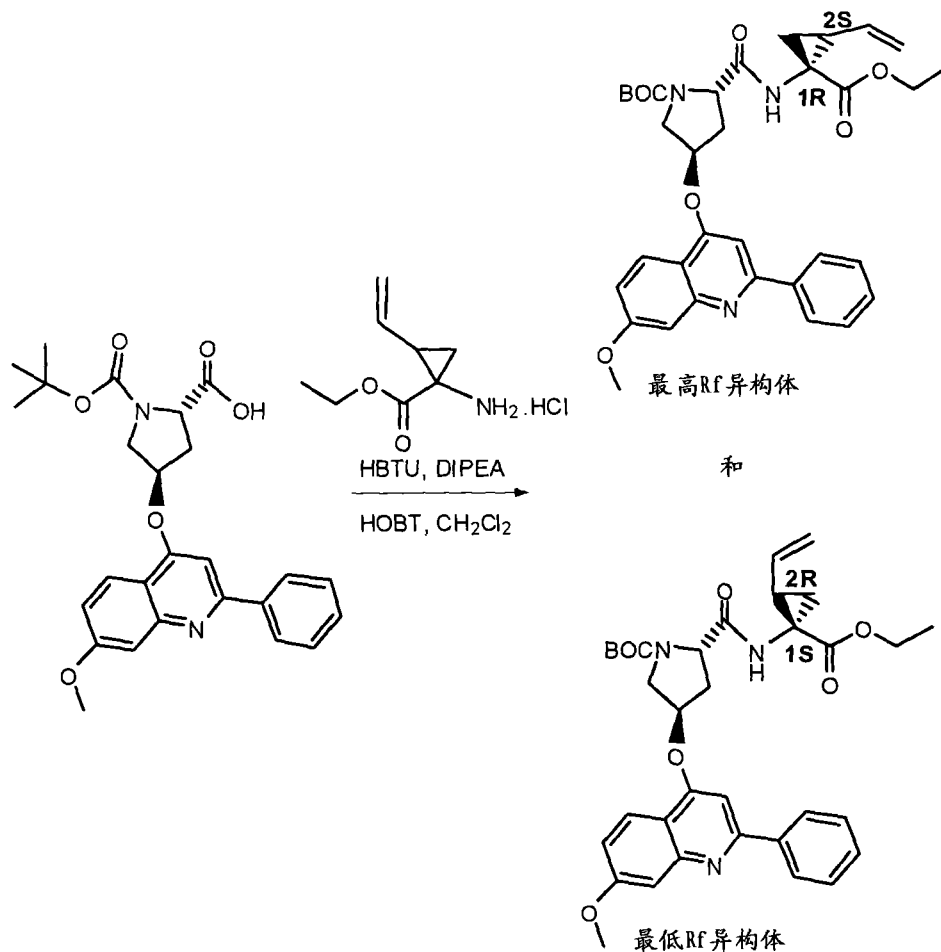
(1R,2S)P1 异构体的数据:

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.21 (t, J=7 Hz, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.47-1.57 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 2.05-2.19 (m, 1H), 2.39 (m, 1H), 2.88 (m, 1H), 3.71-3.98

(m, 2H), 3.93 (s, 3H), 4.04-4.24 (m, 2H), 4.55 (m, 1H), 5.13 (d, $J=10$ Hz, 1H), 5.22-5.40 (m, 1H), 5.29 (d, $J=17$ Hz, 1H), 5.69-5.81 (m, 1H), 7.02 (brs, 1H), 7.09 (dd, $J=9$, 2 Hz, 1H), 7.41-7.52 (m, 4H), 7.95 (d, $J=9$ Hz, 1H), 8.03, 8.05 (2s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 14.22, 22.83, 28.25, 33.14, 33.58, 39.92, 51.84, 55.47, 58.32, 61.30, 75.86, 81.27, 98.14, 107.42, 115.00, 117.84, 118.27, 122.63, 123.03, 127.50, 128.72, 129.26, 133.39, 140.06, 151.23, 159.16, 160.34, 161.35, 169.78, 171.68. LC-MS (MS m/z 602 (M^++1)).

(1S,2R)P1 异构体的数据:

^1H NMR δ 1.25 (t, $J=7$ Hz, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.46-1.52 (m, 1H), 1.84 (m, 1H), 2.12-2.21 (m, 1H), 2.39 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 3.82 (m, 2H), 3.97 (s, 3H), 4.05-4.17 (m, 2H), 4.58 (m, 1H), 5.15 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J=17$ Hz, 1H), 5.30-5.43 (m, 1H), 5.72-5.85 (m, 1H), 7.05 (s, 1H), 7.13 (dd, $J=9$, 2 Hz, 1H), 7.46-7.60 (m, 4H), 7.98 (d, $J=9$, 1H), 8.06-8.10 (m, 2H). LC-MS MS m/z 602 (M^++1).



备选方案步骤 2b

步骤 2a 的产物(7.5g, 39.1mmol)与二异丙基乙胺(32.5mL, 186mmol)/二氯甲烷(150ml)合并。向所得混合物添加 HOBT 水合物(6.85g, 44.7mmol)

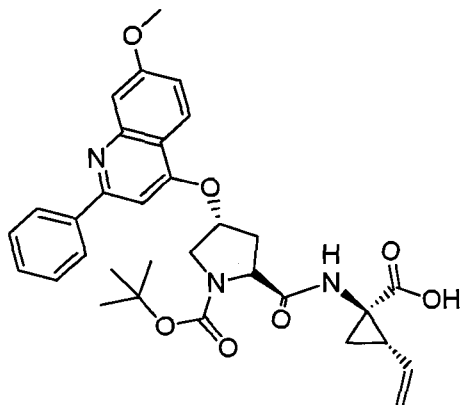
和步骤 1c 的产物(17.3g, 37.3mmol), 随后是 HBTU(16.96g, 44.7mmol)。立即出现了轻微的放热, 在室温下搅拌该混合物过夜。然后真空浓缩混合物并且再溶解在乙酸乙酯(600mL)中。用水(2X200mL)、然后用 10% 碳酸氢钠水溶液(2X200mL)、然后用水(150ml)并且最后用盐水(150ml)洗涤该溶液。有机物用无水硫酸镁干燥并且过滤, 在真空中浓缩该滤液, 获得米黄色玻璃状固体。在 Biotage Flash 75M 筒(66%己烷/乙酸乙酯)上通过快速色谱法在大批(7g, 每批)中进行纯化, 获得(1R,2S)P1 异构体, 作为最初的洗脱异构体(总计 9.86g, 44.0%收率), 随后洗脱(1S,2R)P1 异构体作为第二洗脱异构体(总计 10.43g, 46.5%收率)。总共回收了 1.97g 的混合级分, 两种非对映异构体的总转化率为 99.3%。

(1R,2S)P1 异构体的数据:

^1H NMR (甲醇- d_4) δ 1.23 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.4 (s, 4H), 1.45 (s, 6H), 1.73 (dd, $J = 7.9, 1.5$ Hz, 0.4H), 1.79 (dd, $J = 7.8, 2.4$ Hz, 0.6H), 2.21 (q, $J = 8.2$ Hz, 1H), 2.44-2.49 (m, 1H), 2.66-2.72 (m, 0.4H), 2.73-2.78 (m, 0.6H), 3.93-3.95 (m, 2H), 3.96 (s, 3H), 4.10-4.17 (m, 2H), 4.44 (q, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.13 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 5.31 (d, $J = 17.7$ Hz, 0.4H), 5.32 (d, $J = 17.4$ Hz, 0.6H), 5.49 (bs, 1H), 5.66-5.82 (m, 1H), 7.16 (dd, $J = 9.2, 2.5$ Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.42 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.48-7.55 (m, 3H), 8.02-8.05 (m, 3H); LC-MS (MS m/z 602 ($\text{M}^+ + 1$));

(1S,2R)P1 异构体的数据:

^1H NMR (甲醇- d_4) δ 1.23 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.40 (s, 3.5H), 1.43 (s, 6.5H), 1.8 (dd, $J = 7.2, 5.3$ Hz, 0.4H), 1.87 (dd, $J = 7.8, 5.7$ Hz, 0.6H), 2.16 (q, $J = 8.9$ Hz, 0.6H), 2.23 (q, $J = 8.85$ Hz, 0.4H), 2.42-2.50 (m, 1H), 2.67-2.82 (m, 1H), 3.87-3.95 (m, 2H), 3.96 (s, 3H), 4.07-4.19 (m, 3H), 4.41-4.47 (m, 1H), 5.09-5.13 (m, 1H), 5.30 (dd, $J = 17.09, 0.92$ Hz, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.70-5.77 (m, 1H), 7.15 (dd, $J = 9.16, 2.44$ Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 2.14$ Hz, 1H), 7.48-7.55 (m, 3H), 8.02-8.05 (m, 3H); LC-MS (MS m/z 602 ($\text{M}^+ + 1$)).

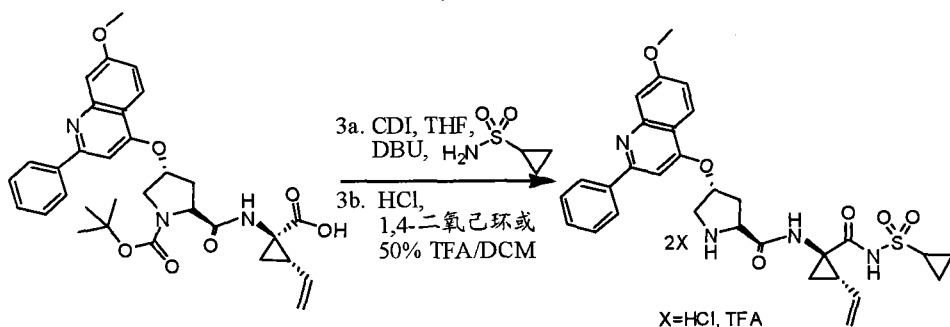


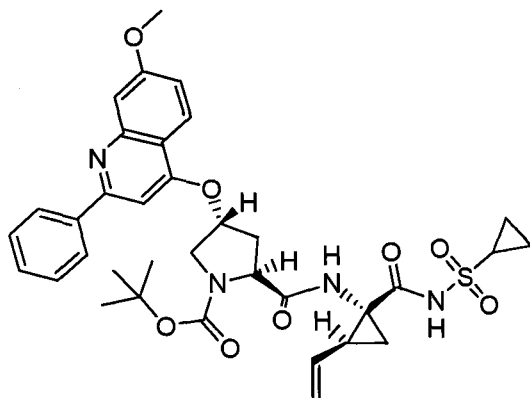
步骤 2c

用 1N NaOH(50mL, 50mmol)/THF(150ml)和甲醇(80ml)的混合物处理步骤 2b 的(1R,2S)P1 异构体(9.86g, 16.4mmol)12 小时。在真空中浓缩该混合物直到仅仅水相剩余。添加水(100ml)并且慢慢地添加 1N HCl 直到 pH 值为 3。然后用乙酸乙酯(3X200mL)萃取混合物, 并且用盐水洗涤合并的有机萃取物, 用无水硫酸钠干燥, 并且过滤。在真空中浓缩该滤液, 获得期望产物, 为白色粉末(9.2g, 98%收率)。

^1H NMR (CD_3OD) δ 1.41 (s, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.77 (dd, $J = 7.9, 5.5$ Hz, 1H), 2.16-2.21 (m, 1H), 2.44-2.51 (m, 1H), 2.74-2.79 (m, 1H), 3.93-3.96 (m, 2H), 3.98 (s, 3H), 4.44 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 5.11 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 5.30 (d, $J = 17.1$ Hz, 1H), 5.52 (s, 1H), 5.79-5.86 (m, 1H), 7.22 (dd, $J = 9.16, 2.14$ Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.43 (d, $J = 2.14$ Hz, 1H), 7.54-7.60 (m, 3H), 8.04 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 2H), 8.08 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H); LC-MS (MS m/z 574 ($\text{M}^+ + 1$)).

实施例 3

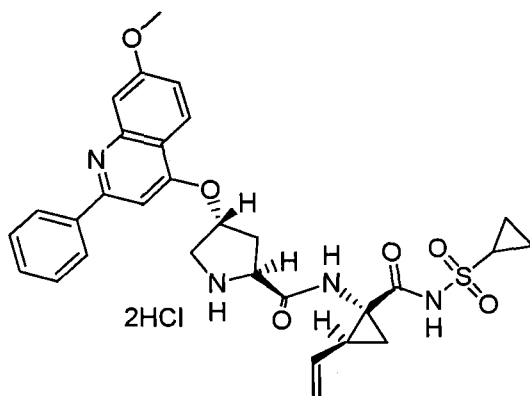




步骤 3a

步骤 2c 的产物(7.54g, 13.14mmol)与 CDI(3.19g, 19.7mmol)和 DMAP(2.41g, 19.7mmol)/无水 THF 结合, 所得混合物加热回流 45 分钟。使略不透明的混合物冷却至室温, 向其添加环丙基磺酰胺(1.91g, 15.8g)。添加 DBU(5.9mL, 39.4mmol)后, 混合物变澄清。搅拌褐色溶液过夜。然后真空浓缩混合物成油, 并且将其再溶解于乙酸乙酯(500ml)中。用 pH 值 4 的缓冲剂(3X200mL)洗涤溶液, 合并的缓冲剂冲洗物用乙酸乙酯(200ml)反萃取。合并的有机物用盐水(150ml)洗涤, 用无水硫酸钠干燥并且过滤。在真空中浓缩滤液, 获得米黄色固体。通过快速色谱法在 Biotage Flash 75M 筒(25%己烷/乙酸乙酯)上提纯粗产物, 获得期望产物(5.85g, 66%收率)。

^1H NMR (CD_3OD) δ 1.03-1.09 (m, 2H), 1.15-1.28 (m, 2H), 1.40-1.44 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.87 (dd, $J = 8.1, 5.6$ Hz, 1H), 2.21-2.27 (m, 1H), 2.36-2.42 (m, 1H), 2.65 (dd, $J = 13.7, 6.7$ Hz, 1H), 2.93-2.97 (m, 1H), 3.90-3.96 (m, 2H), 4.00 (s, 3H), 4.40 (dd, $J = 9.5, 7.0$ Hz, 1H), 5.12 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 5.31 (d, $J = 17.4$ Hz, 1H), 5.64 (s, 1H), 5.73-5.80 (m, 1H), 7.30 (dd, $J = 9.2, 2.1$ Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.61-7.63 (m, 3H), 8.04-8.05 (m, 2H), 8.15 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H); LC-MS (MS m/z 677 ($\text{M}^+ + 1$))。

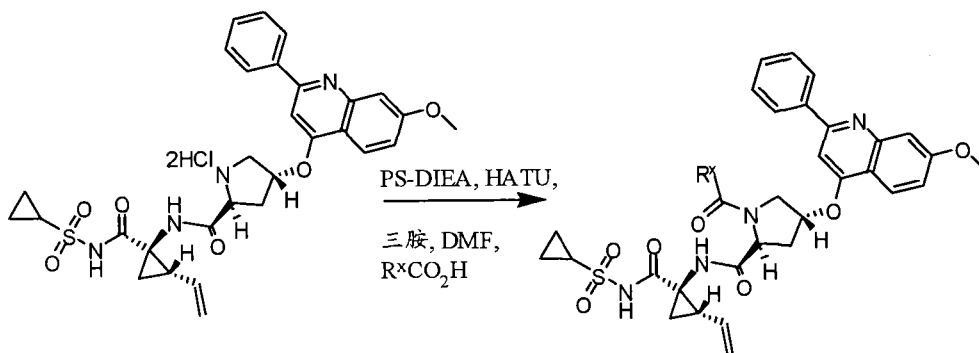


步骤 3b

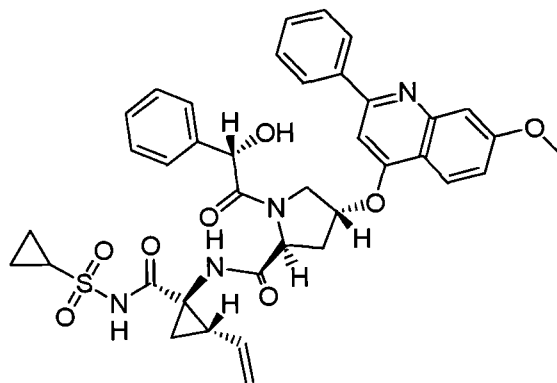
用 4.0M HCl/1,4-二氧己环(50mL, 200mmol)处理步骤 3a 的产物(5.78g, 8.54mmol)过夜。在真空中浓缩反应混合物并且在 50°C 将其置于真空干燥炉中数天。获得了期望产物, 为米黄色粉末(5.85g, 定量)。

^1H NMR (甲醇- d_4) δ 1.03-1.18 (m, 3H), 1.26-1.30 (m, 1H), 1.36-1.40 (m, 2H), 1.95 (dd, $J = 8.2, 5.8$ Hz, 1H), 2.37 (q, $J = 8.9$ Hz, 1H), 2.51-2.57 (m, 1H), 2.94-2.98 (m, 1H), 3.09 (dd, $J = 14.6, 7.3$ Hz, 1H), 3.98 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 3.99 (s, 1H), 4.08 (s, 3H), 4.80 (dd, $J = 10.7, 7.6$ Hz, 1H), 5.15 (dd, $J = 10.2, 1.4$ Hz, 1H), 5.32 (dd, $J = 17.1, 1.2$ Hz, 1H), 5.61-5.69 (m, 1H), 5.99 (t, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.51 (dd, $J = 9.3, 2.3$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.72-7.79 (m, 3H), 8.09 (dd, $J = 7.0, 1.5$ Hz, 2H), 8.53 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H); LC-MS (MS m/z 577 ($\text{M}^+ + 1$))。

实施例 4



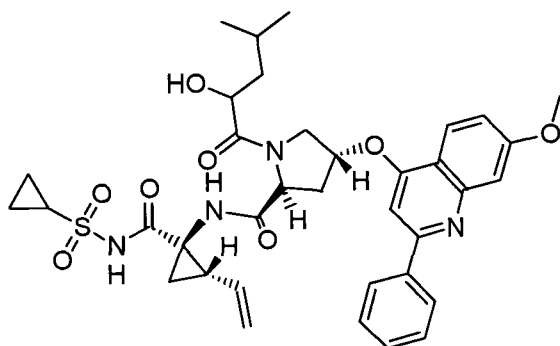
向含 PS-DIEA 树脂(Argonaut Technologies, 0.047g, 0.175mmol)的反应容器添加适当地被取代的羧酸(如下所述)(0.044mmol)/DMF(0.25mL)溶液, 随后添加步骤 3b 的产物(0.020g, 0.029mmol)/DMF(0.50mL)溶液, 随后添加 HATU (0.017g, 0.044mmol)/DMF(0.25mL)溶液。在室温下摇晃混合物 3 天。向反应中添加 PS-三胺(trisamine)树脂(Argonaut Technologies, 0.025g, 0.086mmol), 在室温下摇晃混合物 18 小时。过滤反应混合物, 在真空中浓缩该滤液, 获得粗产物, 其是由制备性 HPLC 提纯的, 从而获得期望产物, 形式为三氟乙酸盐。



实施例 4, 化合物 1

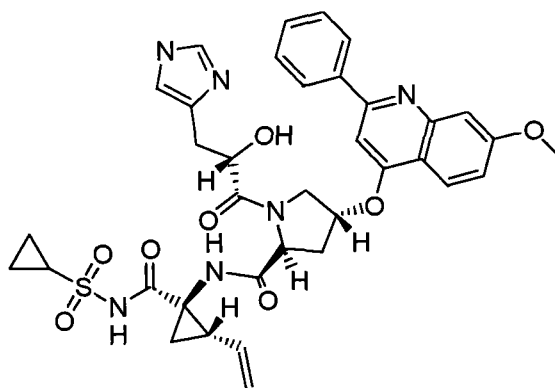
由制备性 HPLC 提纯, 并且以单三氟乙酸盐的形式分离:

^1H NMR (CD_3OD) δ 1.06-1.14 (m, 2H), 1.18-1.23 (m, 1H), 1.26-1.32 (m, 1H), 1.46 (dd, $J = 9.5, 5.2$ Hz, 1H), 1.96 (dd, $J = 7.9, 5.2$ Hz, 1H), 2.33 (q, $J = 8.5$ Hz, 1H), 2.40-2.46 (m, 1H), 2.69 (s, 1H), 2.69-2.72 (m, 1H), 3.86 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 3.93 (dd, $J = 12.5, 2.1$ Hz, 1H), 4.09 (s, 3H), 4.69 (dd, $J = 9.5, 7.6$ Hz, 1H), 5.17-5.19 (m, 2H), 5.35-5.39 (dd, $J = 17.1, 0.9$ Hz, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.74-5.81 (m, 1H), 6.73-6.81 (m, 3H), 7.18 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.51 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.72-7.77 (m, 3H), 7.84 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.98-7.99 (m, 3H); LC-MS (MS m/z 711 ($\text{M}^+ + 1$)).



实施例 4, 化合物 2

由制备性 HPLC 提纯, 并且作为两种异构体的混合物以单三氟乙酸盐的形式分离。LC-MS (MS m/z 691 ($\text{M}^+ + 1$)).

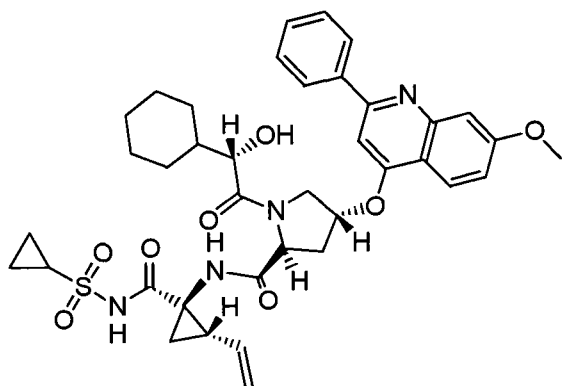


实施例 4, 化合物 3

由制备性 HPLC 提纯, 并且以双三氟乙酸盐的形式分离。

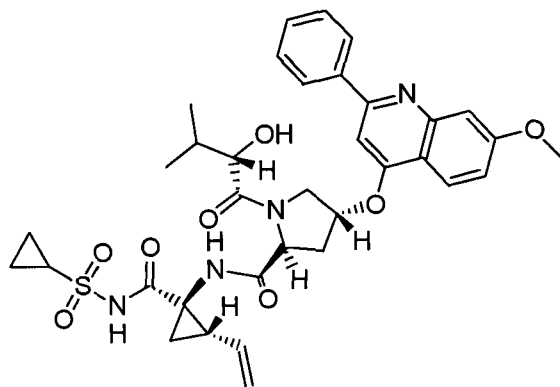
^1H NMR (CD_3OD) δ 1.04-1.19 (m, 4H), 1.24-1.29 (m, 2H), 1.42 (dd, $J = 9.3, 5.3$ Hz, 1H), 1.92 (dd, $J = 8.1, 5.3$ Hz, 1H), 2.27 (q, $J = 8.7$ Hz, 1H), 2.44-2.50 (m, 1H), 2.70 (s, 1H), 2.74-2.79 (m, 1H), 2.93-2.98 (m, 1H), 3.12-3.24 (m, 3H), 4.05 (s, 3H), 4.21 (dd, $J = 3.5, 12.3$ Hz, 1H), 4.48 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 4.61-4.70 (m, 2H), 5.15 (dd, $J = 1.5, 10.4$ Hz, 1H), 5.33 (dd, $J =$

17.4, 1.5 Hz, 1H), 5.71-5.79 (m, 1H), 5.84-5.91 (m, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.39-7.43 (m, 1H), 7.53 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.67-7.75 (m, 4H); LC-MS (MS m/z 715 ($M^+ + 1$)).



实施例 4, 化合物 4

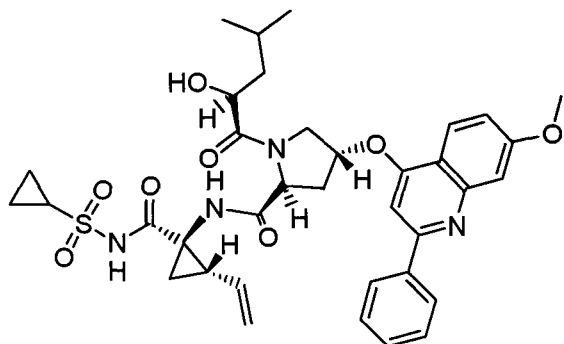
由制备性 HPLC 提纯并且以单三氟乙酸盐的形式分离。LC-MS (MS m/z 717 ($M^+ + 1$)).



实施例 4, 化合物 5

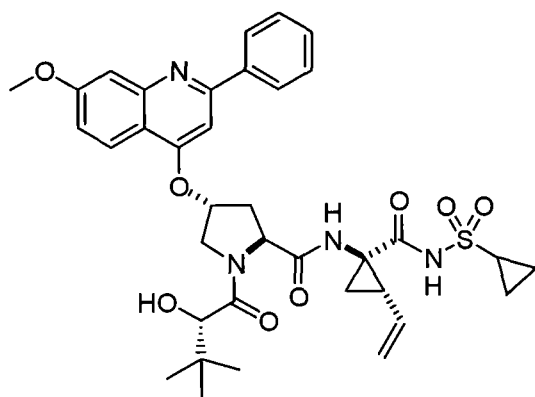
由制备性 HPLC 提纯, 并且以单三氟乙酸盐的形式分离:

^1H NMR (CD_3OD) δ 0.91 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.98 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 1.02-1.05 (m, 1H), 1.06-1.10 (m, 2H), 1.15-1.18 (m, 1H), 1.20-1.30 (m, 2H), 1.43 (dd, $J = 9.3, 5.3$ Hz, 1H), 1.91 (dd, $J = 8.1, 5.3$ Hz, 1H), 2.05-2.10 (m, 1H), 2.25 (q, $J = 8.9$ Hz, 1H), 2.41-2.48 (m, 1H), 2.70 (s, 1H), 2.70-2.75 (m, 1H), 2.92-2.98 (m, 1H), 4.06 (s, 3H), 4.14 (dd, $J = 12.5, 3.1$ Hz, 1H), 4.36 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 4.63 (dd, $J = 10.2, 6.9$ Hz, 1H), 5.14 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 5.32 (d, $J = 17.1$, 1H), 5.73-5.81 (m, 1H), 5.85-5.88 (m, 1H), 7.44 (dd, $J = 9.2, 2.1$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.70-7.77 (m, 3H), 8.05-8.09 (m, 2H), 8.27 (dd, $J = 9.2, 2.8$ Hz, 1H); LC-MS (MS m/z 677 ($M^+ + 1$)).



实施例 4, 化合物 6

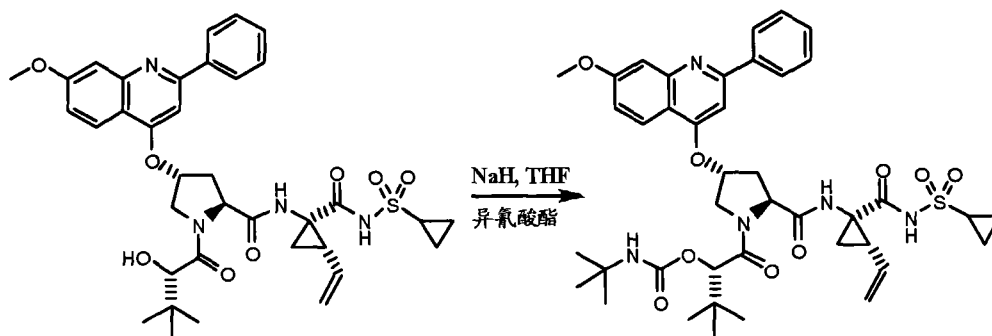
由制备性 HPLC 提纯, 并且以单三氟乙酸盐的形式分离: LC-MS (MS m/z 691 ($M^+ + 1$)).



实施例 4, 化合物 7

向实施例 3b 的双三氟乙酸(根据实施例 3a 中所示的方案制备, 51.0mg, 0.063mmol)/二氯甲烷(2ml)溶液添加 DIEA(66 μ L, 0.378mmol)、HATU(36mg, 0.126mmol)、HOAt(13.0mg, 0.126mmol)、和(S)-(-)-2-羟基-3,3-二甲基丁酸(13.0mg, 0.126mmol)。在室温下搅拌 16 小时后, 浓缩溶剂并且通过反相制备性 HPLC 提纯所得的褐色粘性油, 获得期望产物(单三氟乙酸盐), 白色固体(45.5mg, 89%收率)。

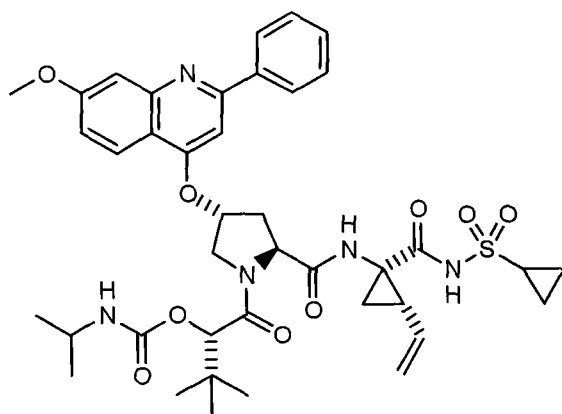
^1H NMR (CD_3OD) δ 0.99 (s, 9H), 1.06-1.09 (m, 2H), 1.22-1.25 (m, 2H), 1.43 (dd, $J = 9.8, 5.5$ Hz, 1H), 1.90 (dd, $J = 8.2, 5.5$ Hz, 1H), 2.24 (q, $J = 8.7$ Hz, 1H), 2.39-2.44 (m, 1H), 2.72 (dd, $J = 13.7, 7.6$ Hz, 1H), 2.91-2.96 (m, 1), 4.04 (s, 1H), 4.07 (s, 3H), 4.16 (dd, $J = 13.1, 3.4$ Hz, 1H), 4.48 (dd, $J = 13.1, 1.2$ Hz, 1H), 4.64 (dd, $J = 10.2, 6.9$ Hz, 1H), 5.14 (dd, $J = 10.4, 1.5$ Hz, 1H), 5.31 (dd, $J = 17.2, 1.2$ Hz, 1H), 5.71-5.78 (m, 1H), 5.86 (bs, 1H), 7.48 (dd, $J = 9.3, 2.3$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.72-7.79 (m, 3H), 8.07 (dd, $J = 8.2, 1.2$ Hz, 1H), 8.28 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H); LC/MS (MH^+ , 691)



实施例 5, 化合物 1

向实施例 4 的化合物 7 单三氟乙酸盐(50.0mg, 0.062mmol)/THF(1ml) 溶液添加 NaH(11.5mg, 0.279mmol), 随后叔丁基异氰酸酯(24.6mg, 0.248mmol)。在室温下搅拌 14 小时后, 反应用乙酸乙酯(5ml)稀释并且用饱和 NH_4Cl (2ml)洗涤。用 $2 \times 3\text{mL}$ 乙酸乙酯萃取水层。将合并的有机层用 MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩至留下约 1mL 的溶剂。添加己烷(15mL), 产生白色沉淀, 其被过滤并且用冷的己烷洗涤, 获得白色固态产物(45.2mg, 92%收率)。

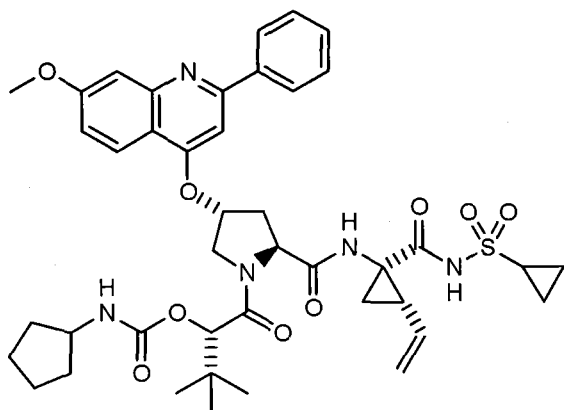
^1H NMR (CD_3OD) δ 1.06 (s, 9H), 1.09 (s, 9H), 1.19-1.25 (m, 3H), 1.31-1.42 (m, 2H), 1.88 (t, $J=6.7$ Hz, 1H), 2.20-2.27 (m, 1H), 2.40-2.45 (m, 1H), 2.72-2.76 (m, 1), 2.94 (br s, 1H), 4.06 (s, 4H), 4.64 (br s, 2H), 5.13 (d, $J=9.8$ Hz, 1H), 5.30 (t, $J=1.7$ Hz, 1H), 5.65-5.72 (m, 1H), 5.84 (br s, 1H), 7.37 (d, $J=9.8$ Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.72-7.78 (m, 3H), 8.06 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 8.51 (d, $J=9.5$ Hz, 1H); LC/MS (MH^+ , (790)。



实施例 5, 化合物 2

通过使异丙基异氰酸酯替代实施例 5, 化合物 1 的方法中的叔丁基异氰酸酯, 制备期望产物。

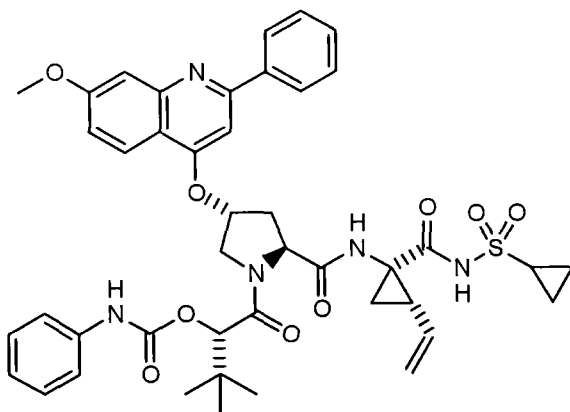
LC/MS (MH^+ , 776)。



实施例 5, 化合物 3

通过使环戊基异氰酸酯替代实施例 5, 化合物 1 的方法中的叔丁基异氰酸酯, 制备期望产物。

^1H NMR (CD_3OD) δ 1.05 (br s, 1H), 1.07 (s, 9H), 1.1-1.16 (m, 2H), 1.23-1.24 (m, 2H), 1.28-1.37 (m, 2H), 1.41 (dd, $J=9.5, 5.5$ Hz, 1H), 1.50 (br s, 5H), 1.89 (dd, $J=8.2, 5.8$ Hz, 1H), 2.23 (t, $J=8.9$ Hz, 1H), 2.40-2.45 (m, 1H), 2.76 (dd, $J=12.8, 6.4$ Hz, 1H), 2.92-2.97 (m, 1H), 4.82 (s, 4H), 5.14 (dd, $J=10.4, 1.5$ Hz, 1H), 5.29 (d, $J=17.1$ Hz, 1H), 5.65-5.73 (m, 1H), 5.85 (br s, 1H), 7.38 (dd, $J=9.2, 1.8$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.72-7.79 (m, 4H), 8.07 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 8.50 (d, $J=9.2$ Hz, 1H). LC/MS (MH^+), (802).

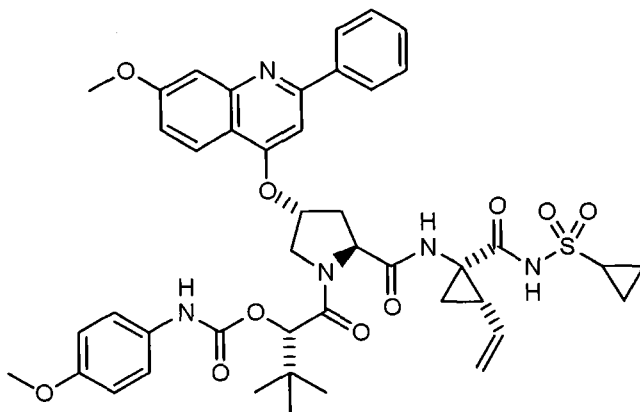


实施例 5, 化合物 4

通过使异氰酸苯酯替代实施例 5, 化合物 1 的方法中的叔丁基异氰酸酯, 制备期望产物。

^1H NMR (CD_3OD) δ 1.13-1.18 (m, 1H), 1.24 (s, 9H), 1.32-1.38 (m, 3H), 1.51 (dd, $J=9.8, 5.8$ Hz, 1H), 1.95-2.00 (m, 1H), 2.30-2.61 (m, 1H), 2.89 (dd, $J=13.1, 1.8$ Hz, 1H), 3.03-3.08 (m, 1H), 4.17 (s, 4H), 4.77 (dd, $J=10.4, 7.0$ Hz, 1H), 4.87 (t, $J=5.9$ Hz, 1H), 4.89 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.99 (d, $J=5.2$ Hz,

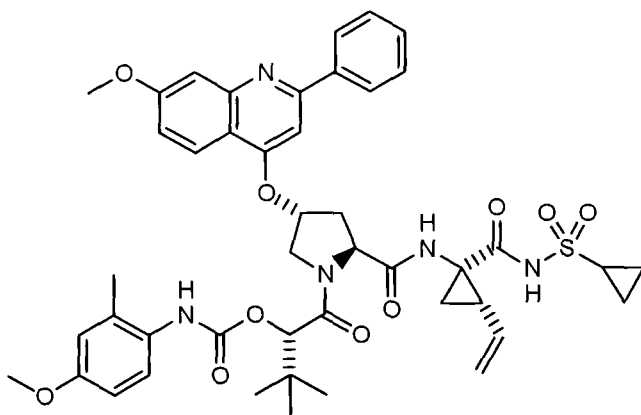
1H), 5.24 (dd, $J=10.4, 1.8$ Hz, 1H), 5.39 (d, $J=17.4$ Hz, 1H), 5.75-5.83 (m, 1H), 5.98 (br s, 1H), 7.10 (m, 1H), 7.27 (s, 4H), 7.40 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.82-7.89 (m, 4H), 8.18 (d, $J=9.5$ Hz, 2H), 8.60 (d, $J=9.2$ Hz). LC/MS (MH^+ , 810)。



实施例 5, 化合物 5

通过使 4-甲氧基苯基异氰酸酯替代实施例 5, 化合物 1 的方法中的叔丁基异氰酸酯, 制备期望产物。

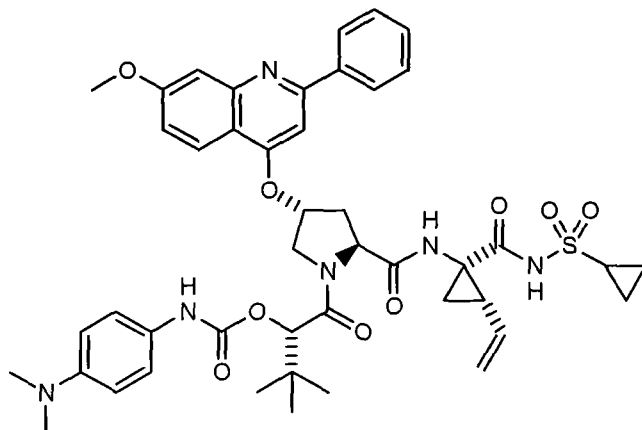
LC/MS (MH^+ , 840)。



实施例 5, 化合物 6

通过使 4-甲氧基-2-甲基苯基异氰酸酯替代实施例 5, 化合物 1 的方法中的叔丁基异氰酸酯, 制备期望产物。

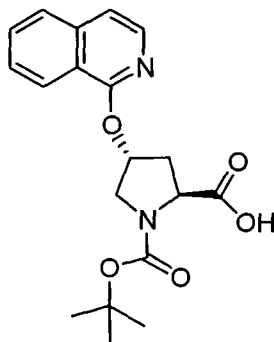
LC/MS (MH^+ , 854)。



实施例 5, 化合物 7

通过使 4-N,N-二甲基氨基苯基异氰酸酯替代实施例 5, 化合物 1 的方法中的叔丁基异氰酸酯, 制备期望产物。

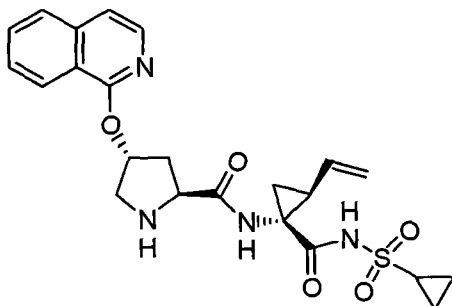
LC/MS (MH^+ , 854)。



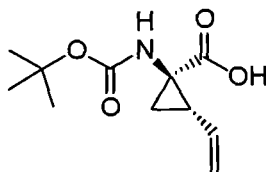
实施例 6

向 Boc-HYP-OH(231mg, 1.0mmol)/DMSO(10ml)溶液添加叔丁醇钾(336mg, 3.0mmol)。在环境温度搅拌所形成的溶液 1 小时, 然后添加 2-氯代异喹啉(180mg, 1.1mmol)。在环境温度搅拌最终溶液 12 小时, 用冰水淬灭, 用 1M HCl 酸化至 pH 值 4, 用乙酸乙酯(2×50mL)萃取。用盐水洗涤有机层, 用 $MgSO_4$ 干燥, 过滤, 浓缩。通过制备性 HPLC 提纯残余物, 获得 272mg(76%)的期望产物, 为灰白色泡沫。

^1H NMR (CD_3OD) δ 1.42, 1.44 (旋转异构体, 1:2, 9H), 2.39-2.44 (m, 1H), 2.68-2.72 (m, 1H), 3.80-3.90 (m, 2H), 4.44-4.52 (m, 1H), 5.78 (b, 1H), 7.31-7.33 (m, 1H), 7.58 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.71 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 8.19 (d, $J=8.0$ Hz, 1H); LC/MS (MH^+ , 359)。



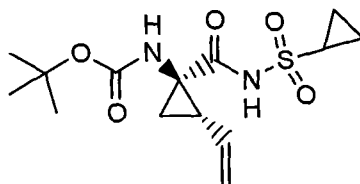
实施例 7



步骤 7a

向 1(R)-叔丁氧基羰基氨基-2(S)-乙烯基环丙烷羧酸乙酯(通过描述于 WO 03/099274 中所述的方法制备, 3.28g, 13.2mmol)/THF(7mL)和甲醇(7mL)溶液中添加 LiOH(1.27g, 53.0mmol)/水(14mL)的悬浮液。在室温下搅拌该混合物过夜, 并且用 1N NaOH(15mL)和水(20ml)淬灭。所得混合物用乙酸乙酯(20ml)洗涤, 有机相用 20mL 0.5N NaOH 萃取。将合并的水相用 1N HCl 酸化至 pH 值为 4, 并且用乙酸乙酯(3×40ml)萃取。将合并的有机萃取物用盐水洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤, 浓缩, 得到所期望的化合物, 白色固体(2.62g, 87%)。

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1.22-1.26 (m, 1H), 1.37 (s, 9H), 1.50-1.52 (m, 1H), 2.05 (q, *J*=9 Hz, 1H), 5.04 (d, *J*=10 Hz, 1H), 5.22 (d, *J*=17 Hz, 1H), 5.64-5.71 (m, 1H), 7.18, 7.53 (s, NH (旋转异构体)), 12.4 (br s, 1H); LC/MS (MH⁺, 228)。

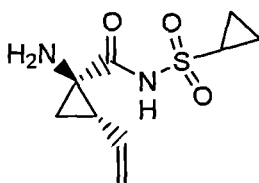


步骤 7b

在氮气下将步骤 7a 的产物(2.62g, 11.5mmol)和 CDI(2.43g, 15.0mmol)/THF(40ml)溶液加热回流 50 分钟。冷却溶液至室温并且通过套管转移到环丙烷磺酸酰胺(1.82g, 15.0mmol)/THF(10ml)溶液中。向所得溶液添加 DBU(2.40mL, 16.1mmol)并且继续搅拌 20 小时。混合物用 1N HCl 淬灭至 pH 值为 1 并且在真空中蒸发 THF。悬浮液用乙酸乙酯

(2×50mL)萃取并且合并的有机萃取物被干燥(Na_2SO_4), 过滤和浓缩。由己烷-乙酸乙酯(1:1)的再结晶进行纯化, 获得所期望的化合物(2.4g), 白色固体。母液通过 Biotage 40S 柱提纯(洗脱, 9%丙酮/二氯甲烷), 获得第二批所期望的化合物(1.1g)。将两批合并(总收率 92%)。

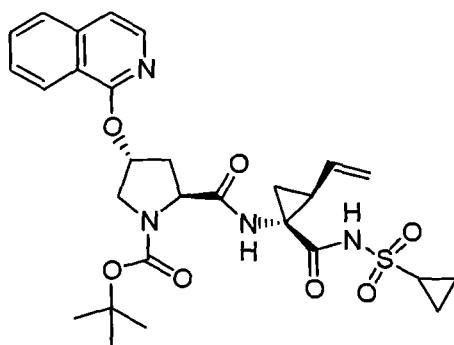
^1H NMR (DMSO-d_6) δ 0.96-1.10 (m, 4H), 1.22 (dd, $J=5.5, 9.5$ Hz, 1H), 1.39 (s, 9H), 1.70 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 2.19-2.24 (m, 1H), 2.90 (m, 1H), 5.08 (d, $J=10$ Hz, 1H), 5.23 (d, $J=17$ Hz, 1H), 5.45 (m, 1H), 6.85, 7.22 (s, NH (旋转异构体)); LC/MS (MH^+ , 331)。



步骤 7c

在室温搅拌步骤 7b 的产物(3.5g, 10.6mmol)/二氯甲烷(35mL)和 TFA(32mL)溶液 1.5 小时。在真空中除去挥发物并且将残余物悬浮在 1N HCl/二乙醚(20ml)中, 真空浓缩。重复该方法一次。由戊烷研磨所得混合物并且过滤, 得到期望产物, 为吸湿性灰白色固体(2.60g, 92%)。

^1H NMR (DMSO-d_6) δ 1.01-1.15 (m, 4H), 1.69-1.73 (m, 1H), 1.99-2.02 (m, 1H), 2.38 (q, $J=9$ Hz, 1H), 2.92-2.97 (m, 1H), 5.20 (d, $J=11$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J=17$ Hz, 1H), 5.52-5.59 (m, 1H), 9.17 (br s, 3H); LC/MS (MH^+ , (231)。

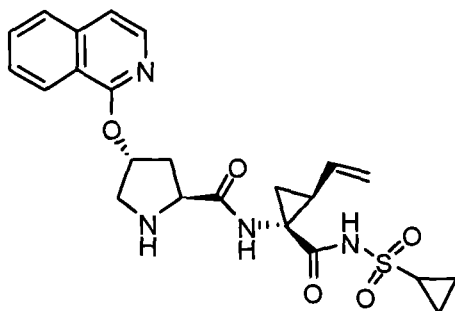


步骤 7d

向步骤 6 的产物(358mg, 1.0mmol)、步骤 7c 的产物(293mg, 1.1mmol)和 HATU(570mg, 1.5mmol)/DCM(10ml)的冰冷混合物中添加二异丙基乙胺(387mg, 3.0mmol)。使所形成的溶液升温至环境温度达 12 小时, 用乙酸乙酯(200ml)稀释, 用 5%柠檬酸(2X50mL)和盐水洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤和浓缩。用甲醇(10ml)研磨残余物, 获得了 470mg(82%)的期

望产物。

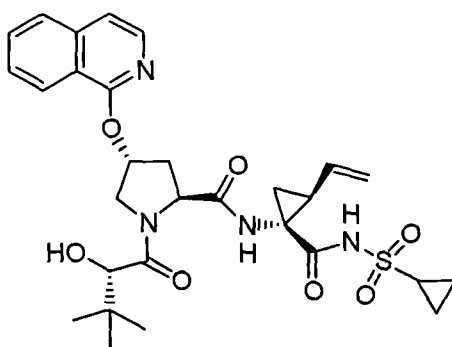
^1H NMR (DMSO- d_6) δ 1.00-1.09 (m, 4H), 1.35-1.38 (m, 10H), 1.69-1.84 (m, 1H), 2.11-2.66 (m, 3H), 2.89-2.93 (m, 1H), 3.62-3.89 (m, 2H), 4.31 (t, $J=8.1$ Hz, 1H), 5.12 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 5.27 (d, $J=16.8$ Hz, 1H), 5.58-5.70 (m, 1H), 5.76 (b, 1H), 7.43 (d, $J=5.7$ Hz, 1H), 7.66 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.79 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J=10$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 9.02 (s, 1H); LC/MS (MH^+ , 571)。



步骤 7e

向步骤 7d 的产物(435mg, 0.76mmol)/二氯甲烷(5ml)的冰冷溶液中添加 TFA(5ml)。使所形成的溶液升温至环境温度 2 小时,并且在真空中除去溶剂。用 1M HCl/二乙醚研磨残余物,通过过滤收集,用二乙醚洗涤,获得了 400mg(97%)的期望产物,为白色固体。

LC/MS (MH^+ , 471)。

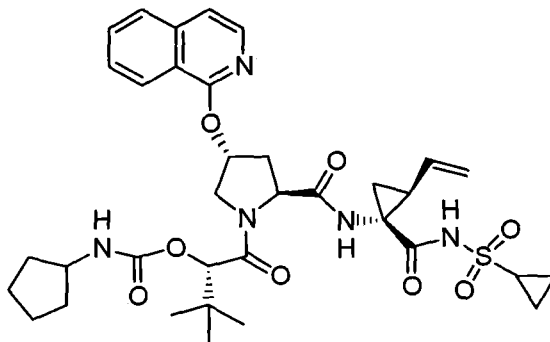


实施例 8

通过使实施例 7e 和(S)-(-)-2-羟基-3,3-二甲基丁酸在步骤 7b 方法中分别取代步骤 7c 的产物和步骤 6 的产物来制备期望产物。

^1H NMR (CD_3OD) δ 0.98 (s, 9H), 1.05-1.09 (m, 2H), 1.21-1.27 (m, 2H), 1.39-1.44 (m, 1H), 1.87-1.91 (m, 1H), 2.20-2.31 (m, 2H), 2.53-2.62 (m, 1H), 2.90-2.99 (m, 1H), 4.02-4.08 (m, 2H), 4.31 (d, $J=12$ Hz, 1H), 4.60-4.66 (m, 1H), 5.11-5.15 (m, 1H), 5.29 (d, $J=17$ Hz, 1H), 5.66-5.79 (m, 1H), 5.88 (b, 1H), 7.34 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.58 (t, $J=8.9$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J=8.7$ Hz, 1H),

7.82 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J=5.7$ Hz, 1H), 8.17 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 9.24 (s, 1H); LC/MS (MH^+ , 585)。

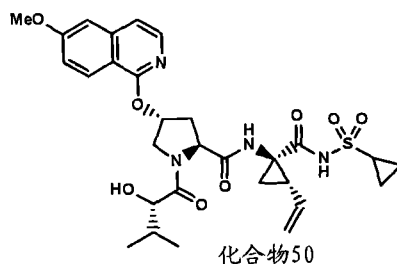


实施例 9

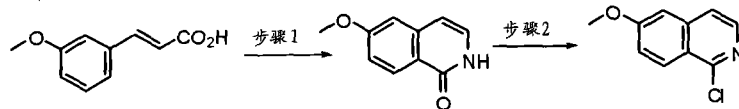
向实施例 8 的产物(12mg, 0.02mmol)/THF(1ml)的冰冷溶液中添加 NaH(60%, 24mg, 0.08mmol)。在这一温度搅拌该混合物 1 小时, 然后添加环戊基异氰酸酯(9mg, 0.08mmol)。在 0°C 再搅拌该最终溶液 1 小时, 然后用 5%柠檬酸淬灭并且用乙酸乙酯(10ml)萃取。用 5%柠檬酸和盐水洗涤有机层, 用 MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩。通过制备性 HPLC 提纯残余物, 获得 5mg(36%)的期望产物, 为白色固体。

^1H NMR (CD_3OD) δ 1.06 (s, 9H), 1.23-1.89 (m, 10H), 2.21-2.30 (m, 2H), 2.60-2.69 (m, 1H), 2.92-2.99 (m, 1H), 3.66-3.70 (m, 1H), 3.99-4.03 (m, 1H), 4.51-4.60 (m, 2H), 4.76 (s, 1H), 5.12 (d, $J=10$ Hz, 1H), 5.28 (d, $J=17.5$ Hz, 1H), 5.65-5.75 (m, 1H), 5.87 (b, 1H), 7.33 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.54 (t, $J=8.9$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J=5.7$ Hz, 1H), 8.34 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.99 (s, 1H); LC/MS (MH^+ , 696)。

实施例 50: 制备化合物 50。



方案 1



步骤 1:

在 0°C 向 3-甲氧基肉桂酸(11.04g, 62mmol)和三乙胺(12.52g, 124mmol)/丙酮(80ml)滴加氯甲酸乙酯(大约 1.5 当量)。在这一温度搅拌 1

小时后, 滴加 NaN_3 水溶液(6.40g, 100mmol/35mL H_2O)并且在环境温度搅拌反应混合物 16 小时。将水(100ml)添加到混合物中, 并且在真空中除去挥发物。所得的浆液用甲苯(3x50mL)萃取, 合并的有机层用 MgSO_4 干燥, 过滤和浓缩。在 190°C 将干燥溶液滴加至加热的二苯甲烷(50ml)和三丁胺(30ml)的溶液中。添加期间蒸馏出甲苯。在完成添加后, 将反应温度升高到 210°C 达 2 小时。冷却后, 通过过滤收集沉淀产物, 用己烷(2x50mL)洗涤, 干燥而得到期望产物, 为白色固体(5.53g, 51%)(Nicolas Briet 等, *Tetrahedron*, 2002, 5761-5766)。

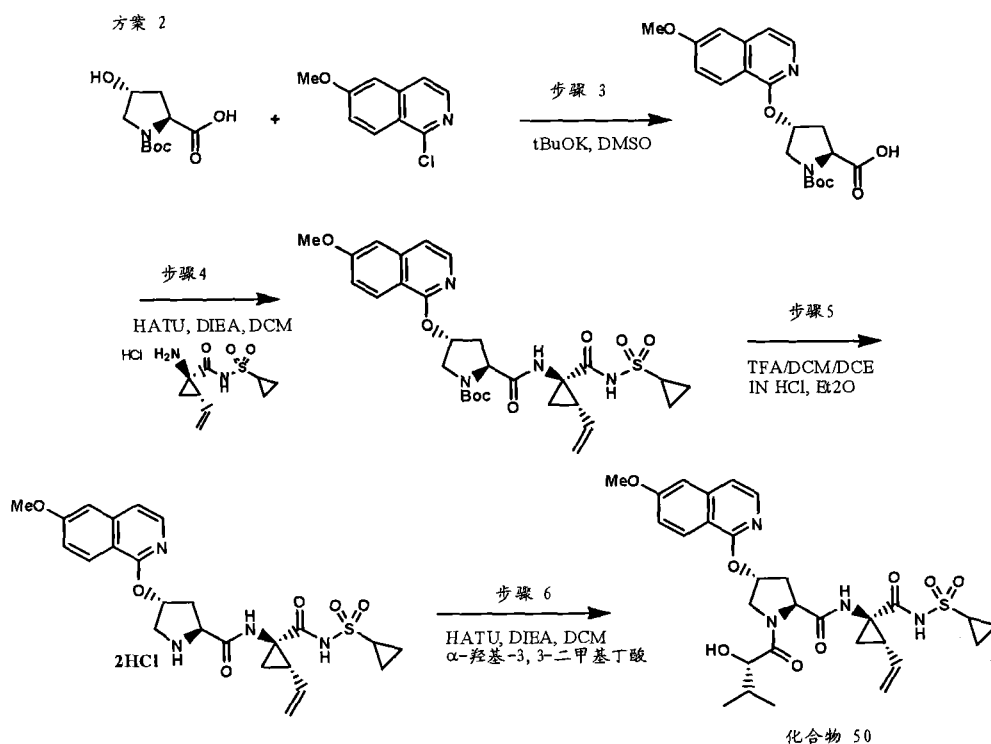
LC-MS, MS m/z 176 ($\text{M}^+ + \text{H}$)。

步骤 2:

6-甲氧基-2H-异喹啉-1-酮(5.0g, 28.4mmol)/ POCl_3 (10ml)被加热以温和地回流 3 小时, 然后使混合物真空浓缩(Nicolas Briet 等, *Tetrahedron*, 2002, 5761-5766)。将残余物倾倒入冰水(20ml)中并且通过添加 10M NaOH 使得 pH 值为 10。用 CHCl_3 萃取所得混合物。用盐水洗涤有机层, 用 MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩。通过快速色谱法(1:1 己烷-EtOAc)提纯残余物, 从而提供 4.41g(80%)的期望产物, 为白色固体。

^1H NMR (CD_3OD) δ ppm 3.98 (s, 3H), 7.34-7.38 (m, 2 H), 7.69 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 8.23 (d, $J=9.5$ Hz, 1H);

LC-MS, MS m/z 194 ($\text{M}^+ + \text{H}$)。



步骤 3:

在环境温度向 N-BOC-3-(R)-羟基-L-脯氨酸(892mg, 3.89mmol)/DMSO(40ml)溶液中以单份的方式添加固体叔丁醇钾(1.34g, 12.0mmol)。在室温搅拌该悬浮液 30 分钟, 然后冷却至 10°C。以单份的方式添加固体形式的 1-氯-6-甲氧基-异喹啉(实施例 50 步骤 2 的产物)(785mg, 4.05mmol), 并且在环境温度搅拌所得混合物 12 小时。用冰冷的 5%柠檬酸(水溶液)淬灭混合物, 然后用 EtOAc(100ml)萃取。用 EtOAc 再一次萃取水相。用 5%柠檬酸(水溶液)和盐水分别洗涤合并的有机层, 用 MgSO_4 干燥并且过滤。在真空中浓缩该滤液至干燥而得到 1.49g(99%)的期望产物, 为灰白色泡沫。这种粗制物质用于下一个反应步骤而无需进一步提纯。

^1H NMR (CD_3OD) δ 1.42, 1.44 (旋转异构体, 9H), 2.38-2.43 (m, 1H), 2.66-2.72 (m, 1H), 3.80-3.87 (m, 2H), 3.92 (s, 3H), 4.44-4.52 (m, 1H), 5.73 (b, 1H), 7.16-7.18 (m, 2H), 7.24-7.25 (m, 1H), 7.87-7.88 (m, 1H), 8.07 (d, $J=8.5$ Hz, 1H);

LC-MS, MS m/z 389 (M^+H)。

步骤 4:

在 0°C 向实施例 50, 步骤 3 的产物(1.49g, 3.84mmol)、HATU(2.19g, 5.76mmol)和环丙烷磺酸(1-(R)-氨基-2-(S)-乙烯基环丙烷羰基)-酰胺 HCl 盐, 实施例 7 步骤 7c 的产物(1.12g, 4.22mmol)/ CH_2Cl_2 (50ml)的混合物中添加 DIPEA(1.29g, 11.5mmol)。在环境温度搅拌 12 小时后, 所得溶液用 CH_2Cl_2 (50ml)稀释并且用冰 5%柠檬酸(水溶液)洗涤。用 5%柠檬酸(水溶液)和盐水分别洗涤有机层, 用 MgSO_4 干燥并且过滤。在真空中浓缩该滤液至干燥。残余物从甲醇中再结晶而得到 1.60g(70%)的期望产物, 为白色固体。

^1H NMR (CD_3OD) δ 1.05-1.08 (m, 2H), 1.16-1.20 (m, 1H), 1.24-1.27 (m, 1H), 1.42-1.45 (m, 10H), 1.88 (dd, $J=8.09$, 5.34 Hz, 1H), 2.24-2.30 (m, 2H), 2.53-2.57 (m, 1H), 2.94-2.98 (m, 1H), 3.80 (d, $J=12.5$ Hz, 1H), 3.86-3.89 (m, 1H), 3.93 (s, 3H), 4.40-4.42 (m, 1H), 5.13 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 5.32 (d, $J=18.0$ Hz, 1H), 5.72-5.81 (m, 2H), 7.17-7.20 (m, 2H), 7.26 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 8.07 (d, $J=9.0$ Hz, 1H); LC-MS, MS m/z 601 (M^+H)。

步骤 5:

向冰冷的实施例 50、步骤 4 的产物(1.50g, 2.50mmol) /CH₂Cl₂(10ml) 的溶液添加 TFA(10ml)。使所得溶液升温至环境温度, 并且搅拌 2 小时。在真空中除去溶剂。用 1M HCl/醚研磨残余物, 过滤, 用醚洗涤, 而得到 1.43g(99.8%)的期望产物, 为吸湿性的白色固体。

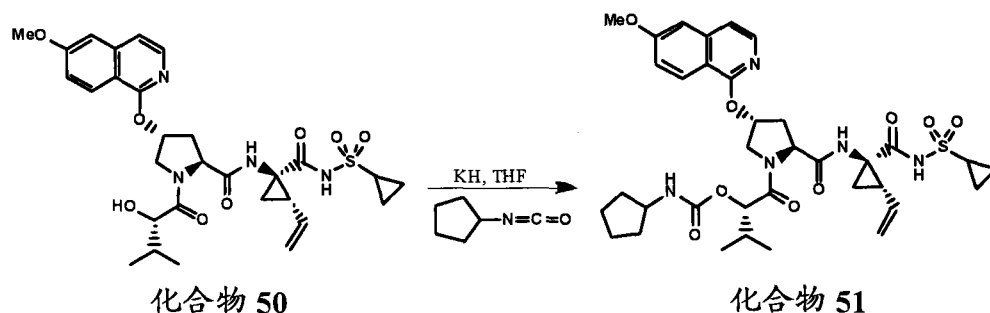
¹H NMR (CD₃OD) δ ppm 1.03-1.208 (m, 4H), 1.26-1.31 (m, 1H), 1.37-1.40 (m, 1H), 1.95-1.97 (m, 1H), 2.32-2.37 (m, 1H), 2.42-2.48 (m, 1H), 2.95-2.99 (m, 1H), 3.88 (d, $J=12.5$ Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 4.40-4.42 (m, 1H), 5.16 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J=18.0$ Hz, 1H), 5.62-5.69 (m, 1H), 5.97 (b, 1H), 7.30-7.34 (m, 2H), 7.47 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=6.5$ Hz, 1H), 8.34 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 9.14 (b, 1H); LC-MS, MS m/z 501 ($M^+ + H$)。

步骤 6:

向实施例 50、步骤 5 的产物(0.50g, 0.872mmol)、DIPEA(1.29g, 11.5mmol)和(S)-(+)- α -羟基-3-甲基丁酸(0.156g, 1.13mmol)/CH₂Cl₂(9mL) 的混合物中, 添加 HATU (0.597g, 1.57mmol)。在环境温度搅拌 16 小时后, 通过真空过滤去除白色沉淀副产物 HOAT 并且用 EtOAc(25mL)洗涤。浓缩液体滤液, 将所得剩余物再溶解在 EtOAc(75ml)中并且用 2 $\times$ 10mL 0.1HCl 水溶液洗涤。合并水层, 并且用 EtOAc(50ml)萃取。用 10%Na₂CO₃(水溶液)和盐水洗涤有机层, 用 MgSO₄干燥并且过滤。在真空中浓缩该滤液至干燥。通过快速柱色谱法(SiO₂, 97:3, DCM:MeOH)提纯残余物而得到 0.436g(88%)的化合物 50, 为白色泡沫状固体。

¹H NMR (CD₃OD) δ ppm 0.93 (d, $J=6.72$ Hz, 3H), 1.00 (d, $J=6.72$ Hz, 3H), 1.10 (dd, $J=7.9, 2.4$ Hz, 2H), 1.23-1.30 (m, 2H), 1.45 (dd, $J=9.3, 5.4$ Hz, 1H), 1.93 (dd, $J=9.3, 5.4$ Hz, 1H), 2.06-2.12 (m, 1H), 2.28 (q, $J=8.9$ Hz, 1H), 2.37-2.43 (m, 1H), 2.69 (dd, $J=13.7, 6.4$ Hz, 1H), 2.94-2.99 (m, 1H), 4.08 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.11 (dd, $J=12.5, 3.5$ Hz, 1H), 4.32 (d, $J=12.5$ Hz, 1H), 4.65 (dd, $J=10.1, 7.0$ Hz, 1H), 5.16 (dd, $J=10.4, 1.5$ Hz, 1H), 5.34 (dd, $J=17.2, 1.4$ Hz, 1H), 5.76-5.83 (m, 1H), 5.91 (br s, 1H), 7.33 (dd, $J=9.2, 2.4$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J=6.1$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J=9.2$ Hz, 1H); LC-MS, MS m/z 601 ($M^+ + H$)。

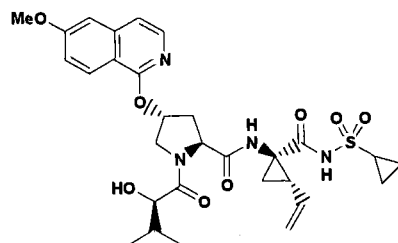
实施例 51: 制备化合物 51。



向 0°C 的化合物 50(0.249g, 0.415mmol)/THF(5ml)溶液中, 添加 KH(用己烷预先洗涤, 在真空中干燥, 58.2mg, 1.45mmol)。搅拌 5 分钟后, 添加环戊基异氰酸酯(142.6mg, 1.25mmol)。在环境温度在 5 小时内搅拌所得混合物, 在这段时间, 反应用 EtOAc(40ml)稀释并且用 1N HCl 水溶液(3ml)洗涤。用 EtOAc(15mL)萃取水层。用 10%Na₂CO₃ 水溶液(5ml)和盐水洗涤合并的有机层, 用 MgSO₄ 干燥, 过滤并且浓缩。通过反相 HPLC 提纯粗制的混合物, 得到黄色固体(95.6mg, 31%, 收率)。

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.01 (dd, *J*=12.67, 6.56 Hz, 6 H) 1.07 - 1.11 (m, 2 H) 1.19 - 1.36 (m, 4 H) 1.42 (dd, *J*=9.46, 5.49 Hz, 1 H) 1.46 - 1.54 (m, 2 H) 1.58 - 1.78 (m, 4 H) 1.92 (dd, *J*=8.24, 5.49 Hz, 1 H) 2.19 - 2.33 (m, 2 H) 2.37 - 2.47 (m, 1 H) 2.72 (dd, *J*=13.58, 6.56 Hz, 1 H) 2.98 (ddd, *J*=12.82, 8.09, 4.73 Hz, 1 H) 3.38 - 3.44 (m, 1 H) 4.01 (s, 3 H) 4.02 - 4.08 (m, 1 H) 4.58 - 4.66 (m, 2 H) 4.70 (d, *J*=12.21 Hz, 1 H) 5.16 (dd, *J*=10.38, 1.53 Hz, 1 H) 5.33 (dd, *J*=17.09, 1.22 Hz, 1 H) 5.76 (ddd, *J*=17.24, 10.22, 9.16 Hz, 1 H) 5.88 (s, 1 H) 7.28 (dd, *J*=9.16, 2.44 Hz, 1 H) 7.37 (s, 1 H) 7.50 (d, *J*=6.41 Hz, 1 H) 7.91 (d, *J*=6.41 Hz, 1 H) 8.35 (d, *J*=9.16 Hz, 1 H); LC-MS, MS *m/z* 712 (M⁺+H)。

实施例 52: 制备化合物 52。



化合物 52

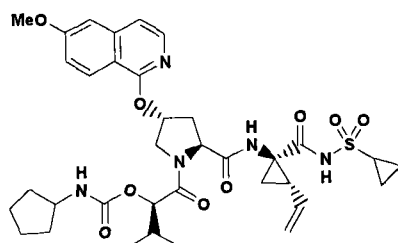
通过与实施例 50、步骤 6 中所述的相同方法制备化合物 52, 收率为 67%, 不同之处在于使用 D-α-羟基戊酸代替(S)-(+)-α-羟基-3-甲基丁酸。

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 0.90 (d, *J*=6.71 Hz, 6 H) 1.04 - 1.16

(m, 3 H) 1.18 - 1.24 (m, 1 H) 1.26 - 1.33 (m, 2 H) 1.43 (dd, $J=9.31, 5.34$ Hz, 1 H) 1.85 - 1.96 (m, 2 H) 2.30 (q, $J=8.85$ Hz, 1 H) 2.45 (ddd, $J=13.81, 9.23, 4.12$ Hz, 1 H) 2.70 (dd, $J=13.89, 7.17$ Hz, 1 H) 2.98 (ddd, $J=12.74, 8.01, 4.58$ Hz, 1 H) 4.01 (s, 3 H) 4.06 (d, $J=5.80$ Hz, 1 H) 4.14 (dd, $J=12.36, 3.20$ Hz, 1 H) 4.33 (d, $J=12.51$ Hz, 1 H) 4.62 (t, $J=8.24$ Hz, 1 H) 5.16 (dd, $J=10.38, 1.22$ Hz, 1 H) 5.35 (dd, $J=17.09, 1.22$ Hz, 1 H) 5.73 - 5.84 (m, 1 H) 5.93 (s, 1 H) 7.33 (dd, $J=9.16, 2.14$ Hz, 1 H) 7.38 (d, $J=2.14$ Hz, 1 H) 7.51 (d, $J=6.41$ Hz, 1 H) 7.92 (d, $J=6.41$ Hz, 1 H) 8.16 (d, $J=9.16$ Hz, 1 H)。

LC-MS, MS m/z 601 ($M^+ + H$)。

实施例 53: 制备化合物 53。

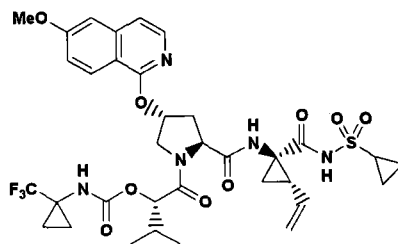


化合物 53

通过与制备化合物 51 所述的相同方法由化合物 52 制备化合物 53, 收率为 25%。

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 0.81 (d, $J=6.71$ Hz, 3 H) 0.98 (d, $J=6.41$ Hz, 3 H) 1.05 - 1.15 (m, 2 H) 1.21 - 1.33 (m, 2 H) 1.35 - 1.44 (m, 2 H) 1.47 (dd, $J=12.51, 5.80$ Hz, 1 H) 1.51 - 1.61 (m, 2 H) 1.63 - 1.75 (m, 2 H) 1.77 - 1.87 (m, 2 H) 1.87 - 1.95 (m, 1 H) 1.99 - 2.09 (m, 1 H) 2.37 (q, $J=8.85$ Hz, 1 H) 2.45 (ddd, $J=13.89, 9.16, 4.73$ Hz, 1 H) 2.76 (dd, $J=13.89, 7.78$ Hz, 1 H) 2.95 (ddd, $J=12.67, 8.09, 4.88$ Hz, 1 H) 3.80 - 3.90 (m, 1 H) 3.97 (s, 3 H) 4.20 - 4.30 (m, 2 H) 4.62 - 4.70 (m, 2 H) 5.17 (d, $J=11.29$ Hz, 1 H) 5.33 (d, $J=17.09$ Hz, 1 H) 5.75 (ddd, $J=17.24, 10.07, 8.70$ Hz, 1 H) 5.89 (s, 1 H) 7.25 (dd, $J=9.16, 2.14$ Hz, 1 H) 7.29 (d, $J=2.14$ Hz, 1 H) 7.39 (d, $J=6.10$ Hz, 1 H) 7.92 (d, $J=6.10$ Hz, 1 H) 8.10 (d, $J=8.85$ Hz, 1 H); LC-MS, MS m/z 712 ($M^+ + H$)。

实施例 54: 制备化合物 54。

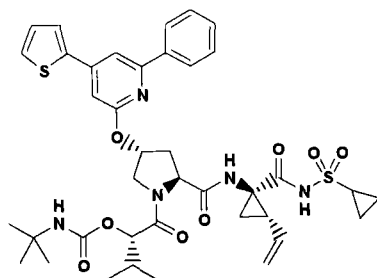


化合物 54

通过与制备化合物 51 所述相同的方法由化合物 50 制备化合物 54, 收率为 70%, 不同之处在于使用 NaH 和三氟甲基环丙基异氰酸酯(由三氟甲基环丙基羧酸经由 Curtius 重排制备, T. Shioiri 等人 JACS, 1972, 94, 6203)分别代替 KH 和环戊基异氰酸酯。

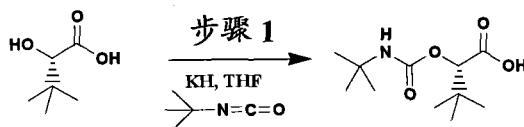
^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 0.92 - 1.16 (m, 12 H) 1.18 - 1.35 (m, 3 H) 1.91 (dd, $J=7.93, 5.19$ Hz, 1 H) 2.25 (q, $J=8.75$ Hz, 2 H) 2.37 (ddd, $J=13.81, 10.45, 3.20$ Hz, 1 H) 2.67 (dd, $J=14.50, 7.17$ Hz, 1 H) 2.98 (ddd, $J=12.74, 8.16, 5.04$ Hz, 1 H) 3.98 (s, 3 H) 4.04 (dd, $J=12.21, 3.36$ Hz, 1 H) 4.55 - 4.63 (m, 1 H) 4.69 (d, $J=8.55$ Hz, 1 H) 5.15 (dd, $J=10.38, 1.22$ Hz, 1 H) 5.32 (dd, $J=17.09, 0.92$ Hz, 1 H) 5.75 (ddd, $J=17.09, 9.92, 9.31$ Hz, 1 H) 5.87 (s, 1 H) 7.22 (d, $J=9.16$ Hz, 1 H) 7.30 (s, 1 H) 7.41 (d, $J=6.10$ Hz, 1 H) 7.90 (d, $J=6.10$ Hz, 1 H) 8.07 (s, 0.5 H) 8.33 (d, $J=9.16$ Hz, 1 H) 9.25 (s, 0.5 H); LC-MS, MS m/z 752 ($\text{M}^+ + \text{H}$)。

实施例 55: 制备化合物 55。



化合物 55

方案 1.



步骤 1

向 0°C 的 KH(0.640g, 16.0mmol)和 THF(32mL)的浆液中添加(S)-(-)-a-羟基-3,3-二甲基丁酸(1.10g, 7.98mmol)。移走冰浴并且在环境温度搅拌 20 分钟后, 再将反应冷却到 0°C 并且逐滴用叔丁基异氰酸酯

(2.03g, 23.94mmol)处理。在室温下搅拌 14 小时后, 用 EtOAc(50ml)稀释反应, 慢慢地用 1N NaOH(25mL)淬灭, 分离各层。用 3×25mL H₂O 萃取有机层并且除去。用浓 HCl 将合并的水层酸化至 pH 值约为 5, 然后用 3×50mL EtOAc 萃取。合并的有机层用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 浓缩, 得到黄色固体(1.8g, 98%, 收率), 其无需进一步提纯便使用。

¹H NMR (CD₃OD) δ ppm 1.05 (s, 9H), 1.33 (s, 9H), 4.60 (s, 1H), 4.84 (s, 1H), 10.50 (br s, 1H); LC-MS, MS *m/z* 232 (M⁺+Na)。

方案 2.



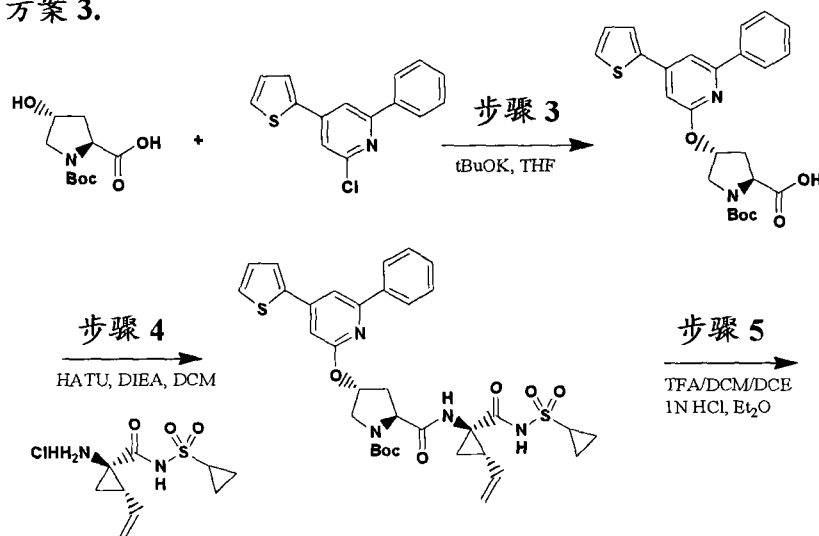
S. Wang 等, *Synthesis* 4, 487-490, 2003

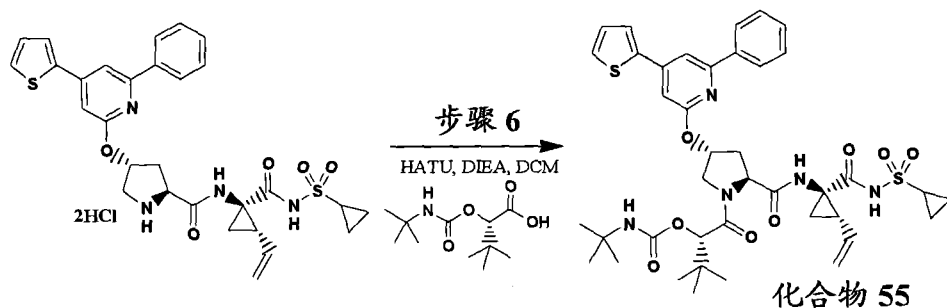
步骤 2

6-苯基-4-(噻吩-2-基)吡啶-2(1H)-酮(1.07mg, 4.23mmol)(根据 S. Wang 等, *Synthesis* 4, 487-490, 2003)/磷酸氯(15mL)溶液被加热回流 3 天。在真空中除去过量磷酸氯, 用冰-水研磨残余物。用 NaOH 水溶液使研磨物变为碱性并且将产物萃取到 DCM 中。有机层用盐水洗涤, 干燥, 滤过硅藻土(Celite®), 并且浓缩。通过快速柱色谱法提纯粗产物, 得到白色固体产物(624mg, 54%收率)。

¹H NMR (CDCl₃) δ ppm 7.16 (dd, *J*=5.13, 3.7 Hz, 1H), 7.44-7.52 (m, 5H), 7.55 (dd, *J*=3.7, 1.1 Hz, 1H), 7.79 (d, *J*=1.5 Hz, 1H), 8.02 (dd, *J*=8.1, 1.5 Hz, 2H); LC-MS, MS *m/z* 272 (M⁺+H)。

方案 3.





步骤 3

向 Boc-Hyp-OH(254mg, 1.1mmol)/DMSO(5ml)溶液添加叔丁醇钾(295mg, 2.5mmol)。在室温下搅拌 1 小时后, 添加实施例 55、步骤 2 的氯吡啶产物, 并且在室温下搅拌所得混合物过夜。在 EtOAc 和柠檬酸水溶液之间分配反应混合物。用 H₂O 和盐水洗涤有机相, 然后用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 真空浓缩。粗制混合物的 LC/MS 显示了 2.5:1 的产物: 氯吡啶原料的混合物。通过快速柱色谱法(SiO₂, 90:10, DCM:MeOH)提纯粗制的混合物, 获得固体产物(270mg, 58%收率)。

¹H NMR (CD₃OD) δ 1.45 (s, 9H), 2.37-2.42 (m, 1H), 2.63 (q, *J*=13.9 Hz, 1H), 3.79 (d, *J*=11.9 Hz, 1H), 3.88 (d, *J*=12.2 Hz, 1H), 4.41-4.46 (m, 1H), 5.70 (br s, 1H), 6.92 (br s, 1H), 7.15 (d, *J*=3.4 Hz, 1H), 7.40 (t, *J*=6.1 Hz, 1H), 7.45 (q, *J*=6.7 Hz, 2H), 7.51 (d, *J*=4.0 Hz, 1H), 7.65 (br s, 2H), 8.05 (d, *J*=7.0 Hz, 2H); LC-MS, MS *m/z* 467 (M⁺+H)。

步骤 4

将实施例 55、步骤 3 的产物(260mg, 0.56mmol)与 N-甲基吗啉(284mg, 2.79mmol)、环丙烷磺酸(1-(R)-氨基-2-(S)-乙烯基环丙烷羰基)-酰胺 HCl 盐, 实施例 7、步骤 7c 的产物(202mg, 0.61mmol)和 HATU(276mg, 0.73mmol)/DCM(5ml)结合。在室温下搅拌 2 小时后, 将反应混合物倒入柠檬酸水溶液并且用 EtOAc 萃取产物。用碳酸氢盐溶液和盐水洗涤有机层, 然后用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 真空浓缩。粗制混合物通过快速柱色谱法(SiO₂, 1.5%MeOH/DCM)提纯, 获得白色固体产物(250mg, 66%收率)。NMR (CD₃OD) δ 1.07 (q, *J*=7.1 Hz, 2H), 1.18 (dd, *J*=9.5, 4.3 Hz, 1H), 1.23-1.29 (m, 1H), 1.43 (q, *J*=6.1 Hz, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.88 (q, *J*=5.5 Hz, 1H), 2.25 (q, *J*=8.5 Hz, 1H), 2.30 (dd, *J*=9.5, 4.6 Hz, 1H), 2.51 (dd, *J*=13.5 Hz, 1H), 2.93-2.97 (m, 1H), 3.77 (d, *J*=11.9 Hz, 1H), 3.89 (dd, *J*=11.6, 4.1 Hz, 1H), 4.32 (t, *J*=8.3 Hz, 1H), 5.12 (d, *J*=10.4 Hz, 1H), 5.31 (d, *J*=17.1 Hz, 1H), 5.76 (br s, 1H), 6.93 (s, 1H), 7.16 (t, *J*=4.3 Hz, 1H),

7.41 (t, $J=6.9$ Hz, 1H), 7.46 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J=4.9$ Hz, 1H), 7.68 (br s, 2H), 8.06 (d, $J=7.6$ Hz, 2H); LC-MS, MS m/z 678 ($M^+ + H$).

步骤 5

向实施例 55、步骤 4 的产物(0.707g, 1.04mmol) /1:1 DCM:DCE(20ml) 溶液中, 添加 TFA(10ml)。在室温下搅拌 0.5 小时后, 将反应物真空浓缩。将所得剩余物再溶解在 DCE(20ml)中并且再浓缩。然后将所得的褐色粘性油溶于 DCM(3ml)中, 并且将其滴加到快速搅拌的 1N HCl/Et₂O(100ml)溶液中。所得的沉淀物, 灰白色固体(0.666g, 98%收率)是通过真空过滤获得的并且用 Et₂O 洗涤。

LC-MS, MS m/z 579 ($M^+ + H$)。

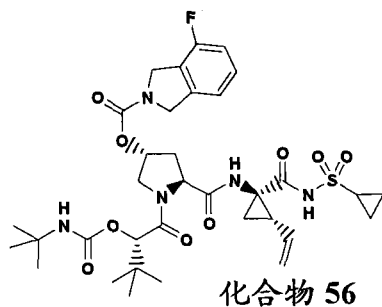
步骤 6

向实施例 55、步骤 5 的产物(0.200g, 0.307mmol)和 DIEA (0.139g, 1.07mmol)/DCM(3ml)的混合物中, 添加实施例 55、步骤 1 的产物, 随后添加 HATU(0.140g, 0.368mmol)。在室温下搅拌 8 小时后, 去除溶剂并且用 EtOAc(30ml)再溶解残余物, 随后用 2×3mL 1N HCl 水溶液洗涤。用 EtOAc(30ml)萃取水层。用 10%Na₂CO₃ 水溶液和盐水洗涤合并的有机层, 然后用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 浓缩。通过快速柱色谱法(SiO₂, 97:3 和 95:5 DCM:MeOH)提纯所得的褐色粘性油, 获得化合物 55, 为白色固体(0.170g, 70%收率)。

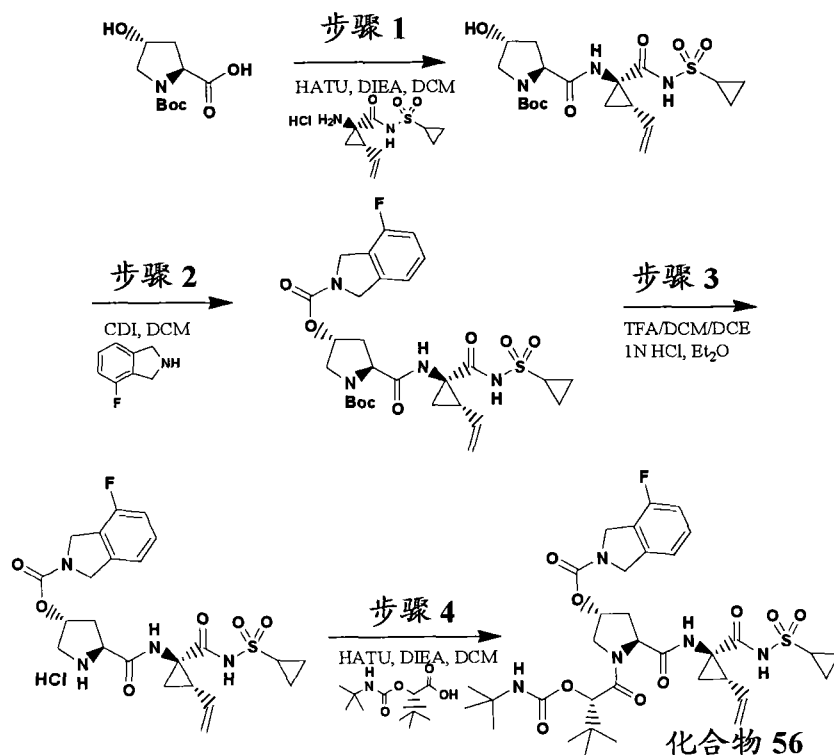
¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.08 (s, 11 H) 1.22 (s, 9 H) 1.24 - 1.29 (m, 2 H) 1.42 (dd, $J=9.46, 5.49$ Hz, 1 H) 1.90 (dd, $J=8.24, 5.49$ Hz, 1 H) 2.25 - 2.37 (m, 2 H) 2.58 (dd, $J=13.58, 7.48$ Hz, 1 H) 2.98 (ddd, $J=12.82, 8.09, 4.73$ Hz, 1 H) 4.09 (dd, $J=11.75, 3.81$ Hz, 1 H) 4.41 (d, $J=11.60$ Hz, 1 H) 4.62 (t, $J=8.39$ Hz, 1 H) 4.74 (s, 1 H) 5.15 (dd, $J=10.38, 1.22$ Hz, 1 H) 5.32 (dd, $J=17.24, 1.07$ Hz, 1 H) 5.68 - 5.79 (m, 1 H) 5.91 (s, 1 H) 6.97 (s, 1 H) 7.20 (dd, $J=4.88, 3.66$ Hz, 1 H) 7.45 (t, $J=7.32$ Hz, 1 H) 7.51 (t, $J=7.32$ Hz, 2 H) 7.57 (d, $J=5.19$ Hz, 1 H) 7.71 (d, $J=3.05$ Hz, 1 H) 7.74 (d, $J=1.22$ Hz, 1 H) 8.12 (d, $J=7.32$ Hz, 2 H);

LC-MS, MS m/z 792 ($M^+ + H$)。

实施例 56: 制备化合物 56。



方案 2.



步骤 1

实施例 56 步骤 1 的产物，是通过与实施例 50、步骤 4 的产物相同的方法制备的，从代替实施例 50、步骤 3 产物的 Boc-HYP-OH 开始。

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.09 (d, $J=7.63$ Hz, 2 H) 1.16 - 1.22 (m, 1 H) 1.25 - 1.32 (m, 1 H) 1.42 (dd, $J=9.46, 5.49$ Hz, 1 H) 1.47 (s, 1.7 H) 1.50 (s, 7.3 H) 1.88 (dd, $J=8.09, 5.34$ Hz, 1 H) 1.94 - 2.03 (m, 1 H) 2.13 (dd, $J=12.97, 6.87$ Hz, 1 H) 2.26 (q, $J=8.85$ Hz, 1 H) 2.97 (ddd, $J=12.51, 8.09, 4.73$ Hz, 1 H) 3.47 (d, $J=11.60$ Hz, 1 H) 3.56 - 3.62 (m, 1 H) 4.25 (dd, $J=9.61, 6.87$ Hz, 1 H) 4.42 (s, 1 H) 5.15 (d, $J=10.38$ Hz, 1 H) 5.34 (d, $J=17.09$ Hz, 1 H) 5.74 - 5.85 (m, 1 H); LCMS, MS $m/z = 442$ (M-H) $^-$.

步骤 2

向实施例 56、步骤 1 的产物 (1.0g, 2.25mmol)/DCM (20ml) 溶液中添加 1,1'-羰基二咪唑 (439mg, 2.71mmol)。在室温下搅拌 3 小时后，添加 4-氟

代异吲哚啉(根据以下文献中所述的方法制备: L. M. Blatt等的PCT国际申请(2005), 244 pp, WO 2005037214)(617mg, 4.50mmol), 并且在室温下搅拌所得混合物过夜。反应混合物用EtOAc(100ml)稀释并且用2x10mL 1N HCl水溶液洗涤。用2x50ml EtOAc萃取水层。用盐水洗涤合并的有机层, 用MgSO₄干燥, 过滤, 浓缩得到暗褐色粘性油。粗制混合物通过快速柱色谱法(SiO₂, 97:3和95:5 DCM:MeOH)提纯, 获得灰色泡沫状的固体(1.3g, 95%收率)。

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.29 - 1.37 (m, 2 H) 1.38 - 1.45 (m, 2 H) 1.47 (s, 9 H) 1.95 - 2.00 (m, 1 H) 2.07 - 2.14 (m, 1 H) 2.28 - 2.35 (m, 1 H) 2.37 - 2.46 (m, 1 H) 2.90 - 2.97 (m, 1 H) 3.65 (d, J =12.80 Hz, 1 H) 3.72 (d, J =12.50 Hz, 1 H) 4.26 (t, J =7.02 Hz, 1 H) 4.68 (d, J =9.46 Hz, 2 H) 4.77 (d, J =9.16 Hz, 2 H) 5.15 (d, J =10.38 Hz, 1 H) 5.29 (d, J =17.10 Hz, 1 H) 5.33 (s, 1 H) 5.73 - 5.84 (m, 1 H) 6.97 (t, J =8.70 Hz, 1 H) 7.01 (d, J =7.63 Hz, 1 H) 7.28 (dd, J =8.09, 2.90 Hz, 1 H) 10.00 (s, 1 H); LC-MS, MS m/z 629 (M⁺+Na)。

步骤 3

由实施例 56 步骤 2 的产物, 通过与制备实施例 55 步骤 5 的产物所述的相同方法制备实施例 56 步骤 3 的产物, 收率为 94%。

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.05 - 1.11 (m, 1 H) 1.11 - 1.17 (m, 1 H) 1.18 - 1.23 (m, 1 H) 1.27 - 1.34 (m, 1 H) 1.40 (dd, J =9.61, 5.65 Hz, 1 H) 1.98 (dd, J =7.93, 5.80 Hz, 1 H) 2.27 - 2.33 (m, 1 H) 2.36 (q, J =8.80 Hz, 1 H) 2.75 (dd, J =14.34, 7.32 Hz, 1 H) 2.96 - 3.03 (m, 1 H) 3.65 - 3.75 (m, 2 H) 4.61 - 4.67 (m, 1 H) 4.78 (s, 2 H) 5.19 (d, J =10.38 Hz, 1 H) 5.36 (d, J =17.09 Hz, 1 H) 5.48 (s, 1 H) 5.64 - 5.73 (m, 1 H) 7.06 (t, J =8.70 Hz, 1 H) 7.17 (dd, J =16.17, 7.63 Hz, 1 H) 7.37 (q, J =7.63 Hz, 1 H); LC-MS, MS m/z 507 (M⁺+H)。

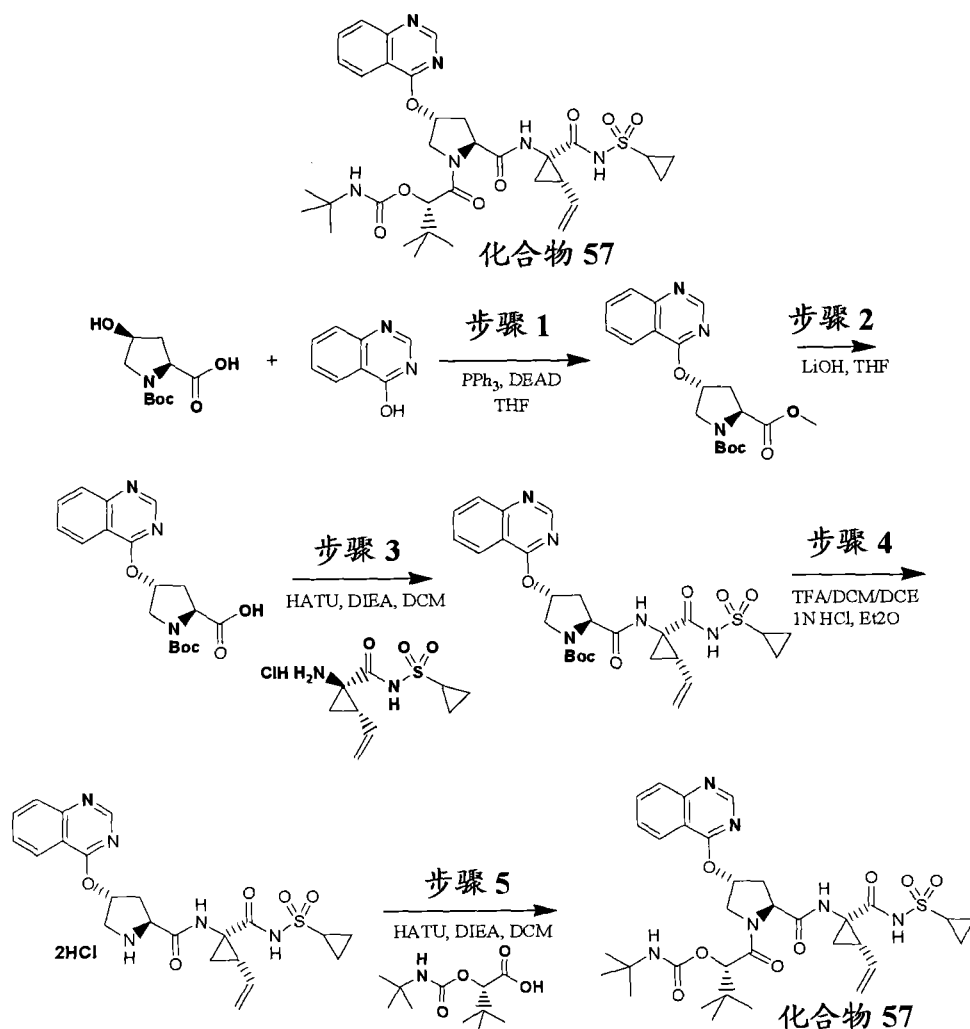
步骤 4

由实施例 56 步骤 3 的产物, 通过与制备实施例 55 步骤 6 的产物所述的相同方法, 制备实施例 56、化合物 56, 收率为 55%。

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.02 (s, 5 H) 1.05 - 1.14 (m, 16 H) 1.22 - 1.28 (m, 2 H) 1.42 (dd, J =9.46, 5.49 Hz, 1 H) 1.87 - 1.92 (m, 1 H) 2.15 - 2.22 (m, 1 H) 2.26 (q, J =8.85 Hz, 1 H) 2.44 - 2.52 (m, 1 H) 2.97 (ddd, J =12.82, 8.09, 4.73 Hz, 1 H) 3.82 (d, J =11.60 Hz, 1 H) 4.42 (d, J =11.29 Hz, 1 H) 4.53 - 4.64 (m, 2 H) 4.71 - 4.79 (m, 3 H) 5.15 (dd, J =10.38, 1.22 Hz, 1

H) 5.32 (dd, $J=17.09$, 1.22 Hz, 1 H) 5.35 (s, 1 H) 5.67 - 5.77 (m, 1 H) 6.51 (d, $J=23.19$ Hz, 1 H) 6.99 - 7.08 (m, 1.4 H) 7.16 (d, $J=7.63$ Hz, 0.6 H) 7.31 - 7.38 (m, 1 H); LC-MS, MS m/z 720 ($M^+ + H$).

实施例 57: 制备化合物 57。



步骤 1

向顺式 Boc-HYP-OH(4.95g, 20.2mmol) 和 PPh_3 (10.6g, 40.4mmol)/THF(100ml)溶液中, 逐滴添加二乙基偶氮二羧酸酯(7.4g, 42.4mmol)。在室温下搅拌 15 分钟后, 添加 4-羟基喹啉(3.7g, 25.3mmol)。在含水整理 (aqueous work up) 后, 产物被用作粗产物, 其中对于下一步来说, 仍然存在一些三苯基氧化膦副产物污染。

步骤 2

向实施例 57、步骤 1 的粗产物(假定为 20.2mmol)/THF 中, 添加 LiOH(2.54g, 60.54mmol)/ H_2O (18mL)溶液。在室温搅拌该混合物 2 小时。然后用 Et_2O 萃取反应混合物并且随后用 H_2O (50ml)洗涤有机层。将合并的水层用 DCM(50ml)稀释并且酸化至 pH 值为 4。摇晃混合物并且分离

各层。用 3×50ml DCM 萃取水层。用盐水洗涤合并的 DCM 层，用 MgSO_4 干燥，过滤和浓缩，获得淡橙色固体(5.8g, 80%收率)。

LC-MS, MS m/z 360 (M^+H)。

步骤 3

由实施例 57、步骤 2 的产物，通过与制备实施例 55 步骤 4 的产物所述的相同方法制备实施例 57 步骤 3 的产物，收率为 76%。

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 0.81 - 0.98 (m, 2 H) 1.07 (s, 2 H) 1.23 - 1.31 (m, 1 H) 1.39 (d, $J=6.41$ Hz, 4 H) 1.46 (s, 9 H) 1.87 (d, $J=2.75$ Hz, 1 H) 2.06 - 2.20 (m, 1 H) 2.63 - 2.80 (m, 2 H) 3.96 (d, $J=13.73$ Hz, 1 H) 4.04 (d, $J=11.90$ Hz, 1 H) 4.43 (q, $J=7.60$ Hz, 1 H) 5.05 (d, $J=9.16$ Hz, 1 H) 5.26 (d, $J=17.09$ Hz, 1 H) 5.94 (s, 1 H) 5.96 - 6.05 (m, 1 H) 7.70 (t, $J=7.63$ Hz, 1 H) 7.90 - 8.00 (m, 2 H) 8.20 (d, $J=8.24$ Hz, 1 H) 8.79 (s, 1 H); LC-MS, MS m/z 572 (M^+H)

步骤 4

由实施例 57、步骤 3 的产物，通过与制备实施例 55 步骤 5 的产物所述的相同方法制备实施例 57 步骤 4 的产物，收率为 83%。

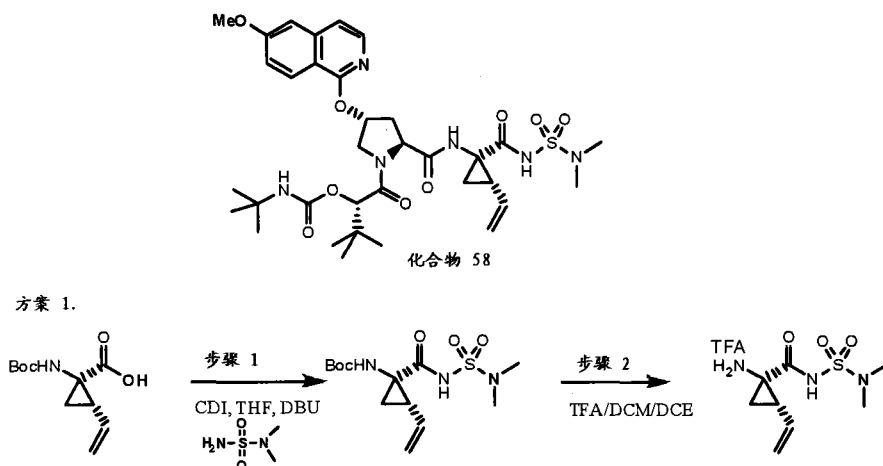
^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.03 - 1.10 (m, 1 H) 1.10 - 1.17 (m, 1 H) 1.17 - 1.24 (m, 1 H) 1.27 - 1.35 (m, 1 H) 1.37 - 1.45 (m, 2 H) 1.99 (dd, $J=7.78, 5.65$ Hz, 1 H) 2.40 (q, $J=8.75$ Hz, 1 H) 2.52 - 2.61 (m, 1 H) 2.95 - 3.03 (m, 1 H) 3.10 (dd, $J=14.80, 7.48$ Hz, 1 H) 3.99 (s, 2 H) 5.19 (d, $J=10.38$ Hz, 1 H) 5.37 (d, $J=17.09$ Hz, 1 H) 5.63 - 5.74 (m, 1 H) 6.29 (s, 1 H) 8.00 (t, $J=7.63$ Hz, 1 H) 8.10 (d, $J=8.24$ Hz, 1 H) 8.28 (t, $J=7.93$ Hz, 1 H) 8.61 (d, $J=8.24$ Hz, 1 H) 9.28 (s, 1 H); LC-MS, MS m/z 472 (M^+H)。

步骤 5

由实施例 57、步骤 4 的产物，通过与制备实施例 55 步骤 6 的产物所述的相同方法制备实施例 57 的化合物 57，收率为 78%。

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.02 - 1.08 (m, 3 H) 1.09 (s, 9 H) 1.07 - 1.14 (m, 9 H) 1.22 - 1.28 (m, 3 H) 1.30 - 1.34 (m, 1 H) 1.90 (dd, $J=7.78, 5.65$ Hz, 1 H) 2.25 (q, $J=8.65$ Hz, 1 H) 2.36 (t, $J=12.36$ Hz, 1 H) 2.72 (dd, $J=13.73, 6.41$ Hz, 1 H) 2.93 - 3.00 (m, 1 H) 4.02 (dd, $J=11.90, 2.14$ Hz, 1 H) 4.60 - 4.77 (m, 1 H) 5.15 (d, $J=10.38$ Hz, 1 H) 5.31 (d, $J=17.70$ Hz, 1 H) 5.67 - 5.77 (m, 1 H) 5.98 (s, 1 H) 7.64 (t, $J=7.02$ Hz, 1 H) 7.90 - 7.99 (m, 2 H) 8.38 (d, $J=7.93$ Hz, 1 H) 8.80 (s, 1 H); LC-MS, MS m/z 685 (M^+H)。

实施例 58: 制备化合物 58。



步骤 1

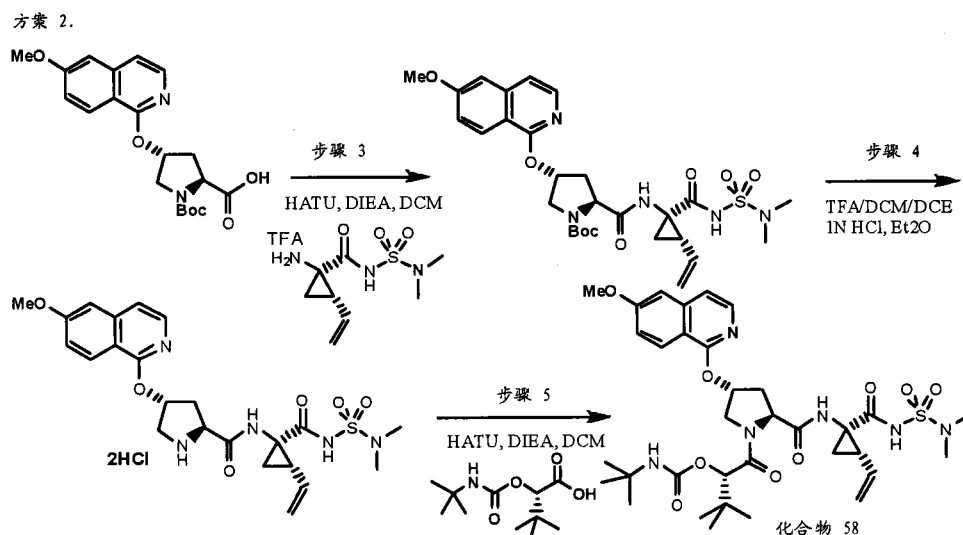
向 N-Boc-乙基环丙烷羧酸，实施例 7 步骤 7a 的产物(1.83g, 8.05mmol)和 THF(32mL)的溶液中，添加 1,1'-羰基二咪唑(1.44g, 8.86mmol)。在室温下搅拌 3 小时后，反应混合物用 N,N-二甲基磺酰胺(1.0g、8.05mmol)随后 DBU(2.45g, 16.1mmol)处理，并且再在室温搅拌 15 小时。然后反应混合物用 EtOAc(50ml)稀释并且用 2×25mL 1N HCl 水溶液洗涤。用 2×50ml EtOAc 萃取水层。用 H₂O(25mL)和盐水洗涤合并的有机部份，用 MgSO₄ 干燥，过滤，浓缩至浅黄色固体(2.6g, 97%收率)，其无需进一步提纯即使用。

LC-MS, MS m/z 356 ($\text{M}^+ + \text{Na}$)。

步骤 2

向实施例 58、步骤 2 的产物(1.42g, 4.26mmol)/1:1 DCM:DCE (20ml) 溶液中，添加 TFA(10ml)。在室温下搅拌 0.5 小时后，去除溶剂和过量的 TFA，将残余物再溶解在 DCE(20ml)中，再次浓缩，得到黄色固体(1.46g, 99%收率)。

LC-MS, MS m/z 234 ($\text{M}^+ + \text{H}$)。



步骤 3

由实施例 58、步骤 2 的产物，通过与制备实施例 55 步骤 4 的产物所述的相同方法制备实施例 58 步骤 3 的产物，收率为 91%。

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.38 (dd, *J*=7.78, 4.43 Hz, 1 H) 1.46 (s, 9 H) 1.95 (dd, *J*=8.09, 5.65 Hz, 1 H) 2.08 (q, *J*=8.65 Hz, 1 H) 2.49 - 2.55 (m, 2 H) 2.91 (s, 6 H) 3.77 - 3.87 (m, 2 H) 3.93 (s, 3 H) 4.38 (t, *J*=6.87 Hz, 1 H) 5.16 (d, *J*=10.38 Hz, 1 H) 5.29 (d, *J*=17.40 Hz, 1 H) 5.71 - 5.79 (m, 1 H) 5.80 (s, 1 H) 7.02 (d, *J*=2.44 Hz, 1 H) 7.13 - 7.16 (m, *J*=5.50 Hz, 1 H) 7.90 (d, *J*=5.80 Hz, 1 H) 8.02 (d, *J*=9.16 Hz, 1 H) 9.83 (s, 1 H); LC-MS, MS *m/z* 604 (M⁺+H)

步骤 4

由实施例 58、步骤 3 的产物，通过与制备实施例 55 步骤 5 的产物所述的相同方法制备实施例 58 步骤 4 的产物，收率为 95%。

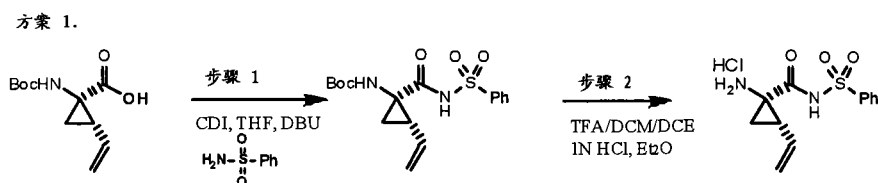
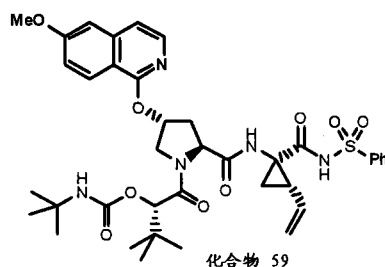
LC-MS, MS *m/z* 504 (M⁺+H)。

步骤 5

由实施例 58、步骤 4 的产物，通过与制备实施例 55 步骤 6 的产物所述的相同方法制备化合物 58(实施例 58)，收率为 83%。

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.08 (s, 9 H) 1.24 (s, 9 H) 1.32 - 1.39 (m, 1 H) 1.81 - 1.89 (m, 1 H) 2.17 - 2.30 (m, 2 H) 2.65 (dd, *J*=13.12, 6.41 Hz, 1 H) 2.87 - 2.92 (m, 6 H) 3.91 - 3.96 (m, 3 H) 3.96 - 4.03 (m, 1 H) 4.53 - 4.63 (m, 2 H) 4.74 (s, 1 H) 5.15 (dd, *J*=10.38, 1.83 Hz, 1 H) 5.29 (d, *J*=17.09 Hz, 1 H) 5.62 - 5.74 (m, 1 H) 5.82 (d, *J*=2.75 Hz, 1 H) 6.61 (s, 1 H) 7.11 (d, *J*=8.85 Hz, 1 H) 7.20 (d, *J*=2.44 Hz, 1 H) 7.23 - 7.29 (m, 1 H) 7.86 - 7.92 (m, 1 H) 8.29 (d, *J*=8.85 Hz, 1 H); LC-MS, MS *m/z* 717 (M⁺+H)。

实施例 59: 制备化合物 59。



步骤 1

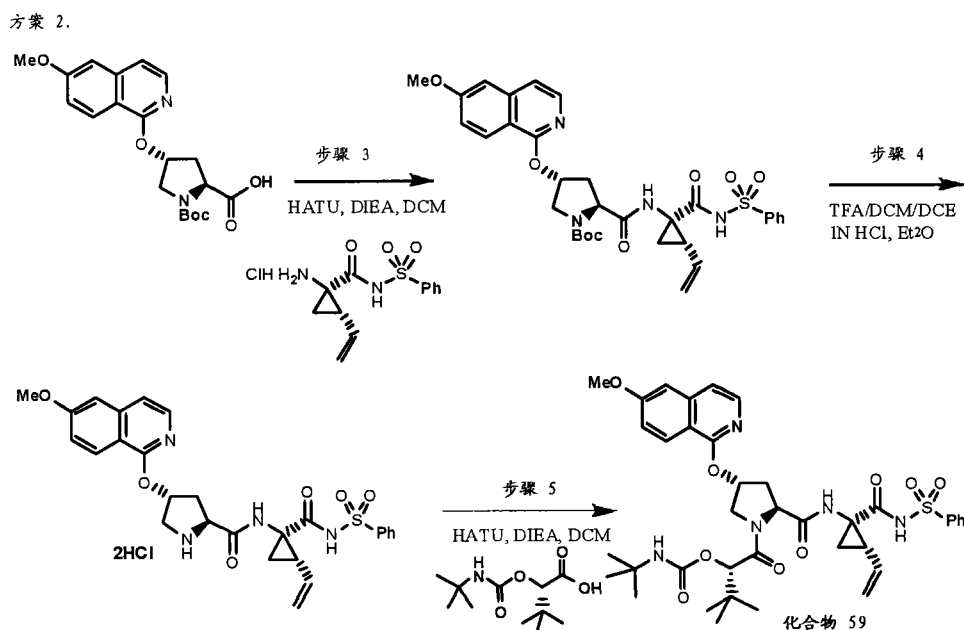
由 N-Boc-乙基基环丙烷羧酸、实施例 7 步骤 7a 的产物和苯磺酰胺，通过与制备实施例 58 步骤 1 的产物所述的相同方法，制备实施例 59 步骤 1 的产物，收率为 92%。

LC-MS , MS m/z 389 ($M^+ + Na$).

步骤 2

由实施例 59 步骤 1 的产物，通过与制备步骤、实施例 58 步骤 2 的产物所述的相同方法制备实施例 59 步骤 2 的产物，收率为 86%。

LC-MS , MS m/z 267 ($M^+ + H$).



步骤 3

由实施例 59、步骤 2 的产物，通过与制备实施例 55 步骤 4 的产物所述的相同方法制备实施例 59 步骤 3 的产物，收率为 75%。

LC-MS, MS m/z 637 ($M^+ + H$)

步骤 4

由实施例 59 步骤 3 的产物, 通过与制备实施例 55 步骤 5 的产物所述的相同方法制备实施例 59 步骤 4 的产物, 收率为 87%。

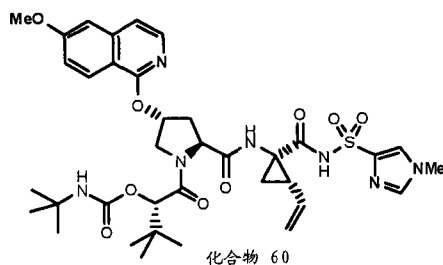
^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.32 (dd, $J=9.46, 5.49$ Hz, 1 H) 1.82 (dd, $J=7.78, 5.65$ Hz, 1 H) 2.28 (q, $J=8.44$ Hz, 1 H) 2.44 - 2.52 (m, 1 H) 3.00 (dd, $J=14.34, 7.32$ Hz, 1 H) 3.92 (s, 2 H) 4.01 (s, 3 H) 4.80 (dd, $J=10.38, 7.63$ Hz, 1 H) 4.89 (dd, $J=11.60, 1.83$ Hz, 1 H) 5.18 (dd, $J=17.10, 2.14$ Hz, 1 H) 5.21 - 5.30 (m, 1 H) 6.00 (s, 2 H) 7.35 (d, $J=2.14$ Hz, 0.5 H) 7.37 (d, $J=2.13$ Hz, 0.5 H) 7.37 - 7.40 (m, 1 H) 7.52 (d, $J=6.41$ Hz, 1 H) 7.58 (t, $J=7.78$ Hz, 2 H) 7.70 (t, $J=7.48$ Hz, 1 H) 7.93 (d, $J=6.41$ Hz, 1 H) 8.01 (d, $J=8.24$ Hz, 2 H) 8.41 (d, $J=8.85$ Hz, 1 H); LC-MS, MS m/z 537 ($M^+ + H$)。

步骤 5

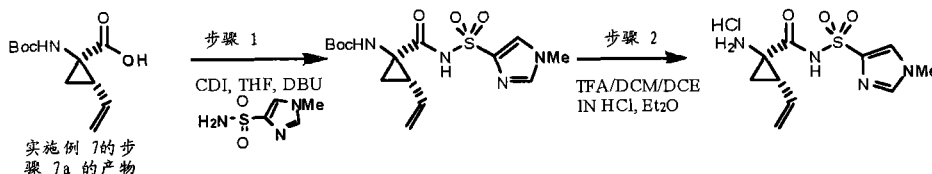
由实施例 59、步骤 4 的产物, 通过与制备实施例 55 步骤 6 的产物所述的相同方法制备步骤化合物 59(实施例 59), 收率为 85%。

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.11 (s, 9 H) 1.26 (s, 9 H) 1.31 (dd, $J=9.61, 5.34$ Hz, 1 H) 1.72 (dd, $J=7.93, 5.49$ Hz, 1 H) 2.18 (q, $J=8.55$ Hz, 1 H) 2.22 - 2.31 (m, 1 H) 2.65 (dd, $J=13.73, 7.32$ Hz, 1 H) 3.95 (s, 3 H) 4.00 (dd, $J=10.99, 2.44$ Hz, 1 H) 4.55 - 4.64 (m, 2 H) 4.78 (s, 1 H) 4.94 (d, $J=11.60$ Hz, 1 H) 5.18 (d, $J=17.09$ Hz, 1 H) 5.33 - 5.45 (m, 1 H) 5.84 (s, 1 H) 7.12 (d, $J=8.85$ Hz, 1 H) 7.20 (d, $J=2.44$ Hz, 1 H) 7.27 (d, $J=5.80$ Hz, 1 H) 7.57 (t, $J=7.63$ Hz, 2 H) 7.68 (t, $J=7.48$ Hz, 1 H) 7.90 (d, $J=5.80$ Hz, 1 H) 8.01 (d, $J=8.24$ Hz, 2 H) 8.29 (d, $J=8.85$ Hz, 1 H); LC-MS, MS m/z 750 ($M^+ + H$)。

实施例 60: 制备化合物 60。



方案 1.



步骤 1

由 N-Boc-乙烯基环丙烷羧酸、实施例 7 步骤 7a 的产物和 1-甲基咪唑-4-磺酰亚胺, 通过与制备实施例 58 步骤 1 的产物所述的不同方法, 制备实施例 60 步骤 1 的产物, 收率为 79%。

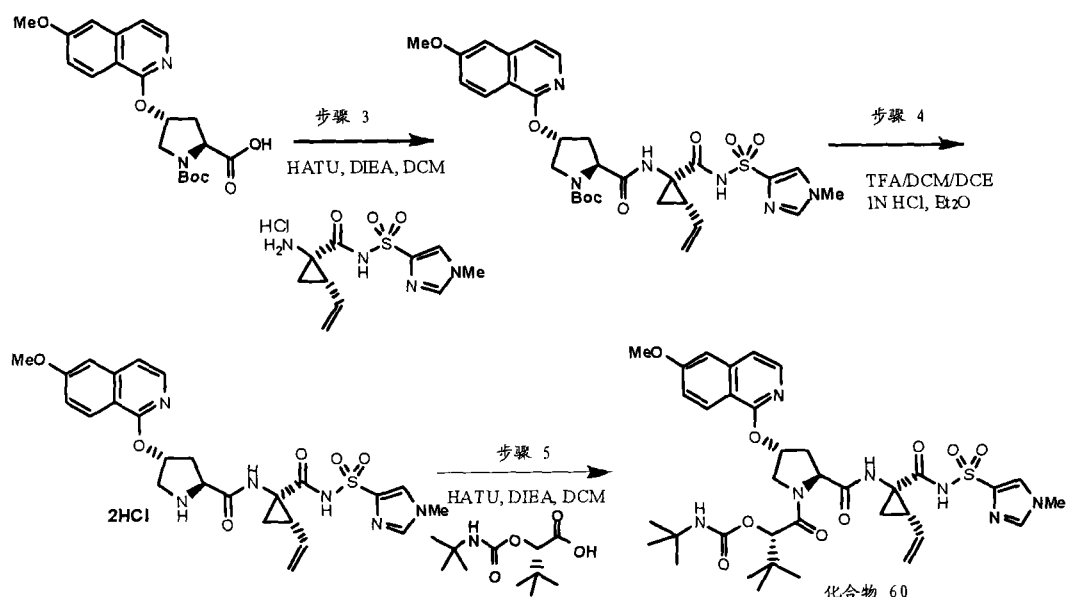
LC-MS, MS m/z 371 ($M^+ + Na$)。

步骤 2

由实施例 60、步骤 1 的产物, 通过与制备实施例 58、步骤 2 的产物所述的不同方法制备实施例 60 步骤 2 的产物, 收率为 83%。

LC-MS, MS m/z 271 ($M^+ + H$)。

方案 2.



步骤 3

由实施例 60、步骤 2 的产物, 通过与制备实施例 55 步骤 4 的产物所述的不同方法制备实施例 60 步骤 3 的产物, 收率为 76%。

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.26 (q, 1 H) 1.33 - 1.38 (m, 1 H) 1.44 (s, 9 H) 1.76 - 1.87 (m, 1 H) 2.03 - 2.11 (m, 1 H) 2.51 - 2.70 (m, 2 H) 3.25 (q, $J=7.53$ Hz, 2 H) 3.71 - 3.79 (m, 4 H) 3.95 (s, 3 H) 4.33 - 4.47 (m, 1 H) 4.91 (d, $J=11.30$ Hz, 1 H) 5.15 (d, $J=17.09$ Hz, 1 H) 5.70 (s, 1 H) 5.72 - 5.82 (m, 1 H) 7.18 (d, $J=9.16$ Hz, 1 H) 7.21 (s, 1 H) 7.26 (s, 1 H) 7.68 (s, 1 H) 7.91 (d, $J=5.80$ Hz, 1 H) 8.06 (d, $J=8.85$ Hz, 1 H); LC-MS, MS m/z 641 ($M^+ + H$)。

步骤 4

由实施例 60、步骤 3 的产物, 通过与制备实施例 55、步骤 5 的产

物所述的相同方法制备实施例 60 步骤 4 的产物, 收率为 85%。

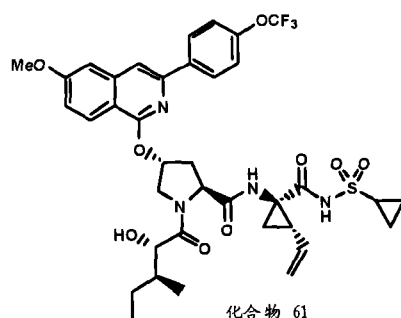
^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.20 (t, $J=7.02$ Hz, 1 H) 1.35 (dd, $J=9.46, 5.80$ Hz, 1 H) 1.38 - 1.42 (m, 4 H) 1.86 (dd, $J=7.78, 5.65$ Hz, 1 H) 2.31 (q, $J=8.55$ Hz, 1 H) 2.40 - 2.49 (m, 1 H) 2.92 (dd, $J=14.19, 7.78$ Hz, 1 H) 3.21 - 3.28 (m, 1 H) 3.71 - 3.79 (m, 1 H) 3.88 (s, 3 H) 3.99 (s, 3 H) 4.73 (dd, $J=9.92, 7.78$ Hz, 1 H) 5.07 (d, $J=10.38$ Hz, 1 H) 5.27 (d, $J=16.79$ Hz, 1 H) 5.42 - 5.52 (m, 1 H) 5.97 (s, 1 H) 7.41 (d, $J=6.10$ Hz, 1 H) 7.93 (d, $J=6.10$ Hz, 1 H) 8.03 (s, 1 H) 8.18 (s, 1 H) 8.29 (d, $J=8.85$ Hz, 1 H); LC-MS, MS m/z 541 (M^++H)。

步骤 5

由实施例 60、步骤 4 的产物, 通过与制备实施例 55 步骤 6 的产物所述的相同方法制备步骤化合物 60(实施例 60), 收率为 91%。

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 0.93 (s, 9 H) 1.11 (s, 9 H) 1.17 - 1.24 (m, 2 H) 1.63 (t, $J=6.20$ Hz, 1 H) 2.02 (d, $J=7.30$ Hz, 1 H) 2.20 - 2.35 (m, 1 H) 2.52 (dd, $J=13.43, 7.63$ Hz, 1 H) 3.64 (s, 3 H) 3.82 (s, 3 H) 3.84 - 3.92 (m, 1 H) 4.43 (d, $J=11.60$ Hz, 1 H) 4.48 (dd, $J=9.77, 7.93$ Hz, 1 H) 4.56 (s, 1 H) 4.81 (d, $J=7.02$ Hz, 1 H) 5.02 (d, $J=16.79$ Hz, 1 H) 5.69 (s, 1 H) 6.98 (dd, $J=9.16, 1.83$ Hz, 1 H) 7.07 (d, $J=2.44$ Hz, 1 H) 7.13 (d, $J=6.10$ Hz, 1 H) 7.57 (s, 1 H) 7.78 (d, $J=6.10$ Hz, 1 H) 8.14 (d, $J=8.85$ Hz, 1 H); LC-MS, MS m/z 754 (M^++H)。

实施例 61: 制备化合物 61。

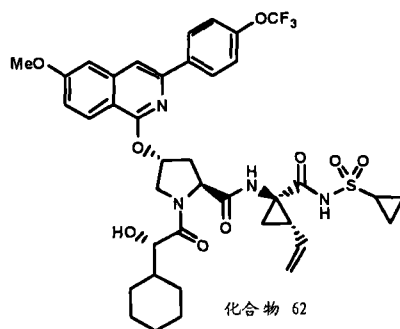


化合物 61(实施例 61)的制备类似于化合物 50。

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 0.87 (t, $J=7.32$ Hz, 3 H) 0.95 (d, $J=7.02$ Hz, 3 H) 1.07 - 1.13 (m, 2 H) 1.13 - 1.19 (m, 1 H) 1.20 - 1.26 (m, 1 H) 1.28 - 1.35 (m, 1 H) 1.45 (dd, $J=9.46, 5.19$ Hz, 1 H) 1.56 - 1.65 (m, 1 H) 1.78 - 1.87 (m, 1 H) 1.93 (dd, $J=7.93, 5.49$ Hz, 1 H) 2.28 (q, $J=8.75$ Hz, 1 H) 2.37 - 2.46 (m, 1 H) 2.69 (dd, $J=13.73, 7.32$ Hz, 1 H) 2.94 - 3.02 (m, 1 H) 3.98 (s, 3 H) 4.09 (d, $J=6.41$ Hz, 1 H) 4.16 (dd, $J=12.21, 3.66$ Hz, 1 H) 4.31

(d, $J=12.51$ Hz, 1 H) 4.65 (dd, $J=10.07$, 7.32 Hz, 1 H) 5.15 (d, $J=10.38$ Hz, 1 H) 5.34 (d, $J=17.09$ Hz, 1 H) 5.74 - 5.85 (m, 1 H) 6.10 (s, 1 H) 7.19 (dd, $J=9.16$, 2.44 Hz, 1 H) 7.32 (d, $J=2.14$ Hz, 1 H) 7.40 (d, $J=8.24$ Hz, 2 H) 7.86 (s, 1 H) 8.10 (d, $J=9.16$ Hz, 1 H) 8.28 (d, $J=8.85$ Hz, 2 H); LC-MS, MS m/z 775 ($M^+ + H$).

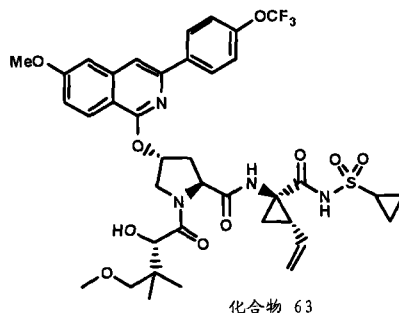
实施例 62: 制备化合物 62。



化合物 62(实施例 62)的制备类似于化合物 50。

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 1.05 - 1.12 (m, 3 H) 1.18 (dd, $J=13.12$, 10.07 Hz, 4 H) 1.22 - 1.27 (m, 1 H) 1.28 - 1.34 (m, 1 H) 1.45 (dd, $J=9.46$, 5.19 Hz, 1 H) 1.59 - 1.72 (m, 4 H) 1.76 (d, $J=14.04$ Hz, 2 H) 1.92 (dd, $J=8.09$, 5.34 Hz, 1 H) 2.27 (q, $J=8.65$ Hz, 1 H) 2.38 - 2.46 (m, 1 H) 2.69 (dd, $J=13.73$, 7.32 Hz, 1 H) 2.93 - 3.02 (m, 1 H) 3.98 (s, 3 H) 4.07 (d, $J=6.10$ Hz, 1 H) 4.14 (dd, $J=12.21$, 3.97 Hz, 1 H) 4.31 (d, $J=12.21$ Hz, 1 H) 4.65 (dd, $J=10.07$, 7.32 Hz, 1 H) 5.15 (d, $J=10.38$ Hz, 1 H) 5.33 (d, $J=17.09$ Hz, 1 H) 5.75 - 5.85 (m, 1 H) 6.09 (s, 1 H) 7.18 (dd, $J=9.00$, 2.59 Hz, 1 H) 7.31 (d, $J=2.44$ Hz, 1 H) 7.40 (d, $J=8.24$ Hz, 2 H) 7.85 (s, 1 H) 8.09 (d, $J=9.16$ Hz, 1 H) 8.27 (d, $J=8.85$ Hz, 2 H); LC-MS, MS m/z 801 ($M^+ + H$).

实施例 63: 制备化合物 63。



化合物 63(实施例 63)的制备类似于化合物 50。

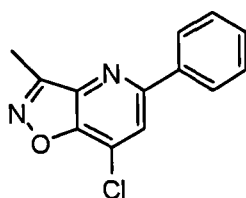
^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ ppm 0.98 (s, 3 H) 1.06 (s, 3 H) 1.08 - 1.13 (m, 2 H) 1.24 - 1.30 (m, 2 H) 1.45 (dd, $J=9.46$, 5.49 Hz, 1 H) 1.92 (dd, $J=7.93$, 5.49 Hz, 1 H) 2.28 (q, $J=8.55$ Hz, 1 H) 2.35 - 2.43 (m, 1 H) 2.68 (dd,

$J=13.73, 7.32$ Hz, 1 H) 2.94 - 3.01 (m, 1 H) 3.17 (d, $J=8.85$ Hz, 1 H) 3.31 (s, 3 H) 3.98 (s, 3 H) 4.21 (dd, $J=12.36, 3.81$ Hz, 1 H) 4.31 (d, $J=11.90$ Hz, 1 H) 4.34 (s, 1 H) 4.65 (dd, $J=9.46, 7.32$ Hz, 1 H) 5.15 (d, $J=10.38$ Hz, 1 H) 5.33 (d, $J=18.62$ Hz, 1 H) 5.72 - 5.82 (m, 1 H) 6.06 (s, 1 H) 7.18 (dd, $J=9.16, 2.44$ Hz, 1 H) 7.31 (d, $J=2.14$ Hz, 1 H) 7.39 (d, $J=8.24$ Hz, 2 H) 7.85 (s, 1 H) 8.10 (d, $J=9.16$ Hz, 1 H) 8.27 (d, $J=8.55$ Hz, 2 H); LC-MS, MS m/z 805 ($M^+ + H$).

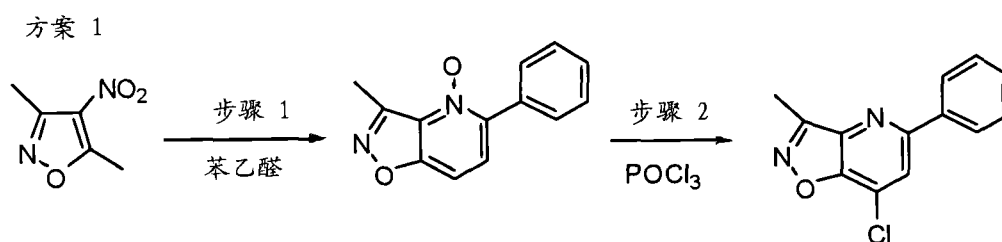
以下实施例进一步描述 P2 中间体的制备。通过使用本文件中所述的或者参考的教导, 这些中间体可用于制备通式 I 的化合物。

实施例 70

制备中间体 70;



中间体 70



步骤 1:

将 3,5-二甲基-4-硝基-异噁唑(1.42g, 10.0mmol)、苯乙醛(1.32g, 11.0mmol)/吡啶(1ml)和乙醇(10ml)的混合物加热回流 16 小时。冷却至环境温度后, 通过过滤收集沉淀出的产物。用冷的乙醇充分地洗涤滤饼, 获得 1.20g(53%)的期望产物, 为白色固体。

^1H NMR (CDCl_3) δ 2.87 (s, 3H), 7.46-7.50 (m, 3H), 7.56 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.7-7.80 (m, 2H); MS m/z 227 ($M^+ + H$).

步骤 2:

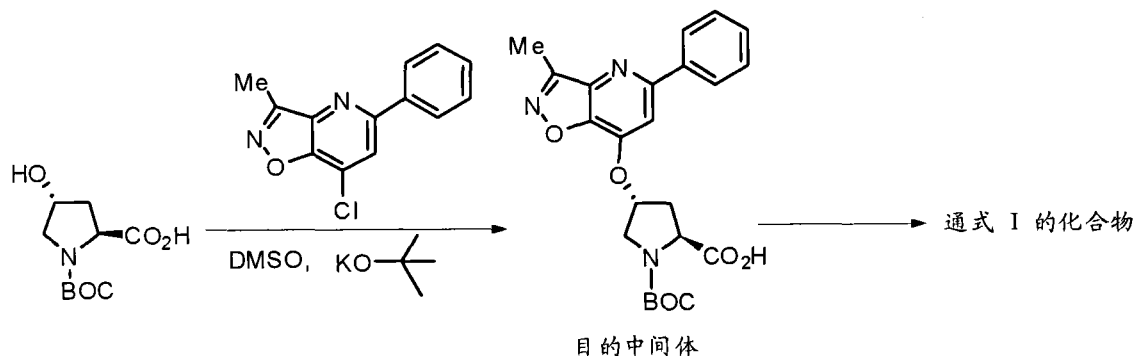
将 3-甲基-5-苯基-异噁唑[4,5-b]吡啶 4-氧化物(1.00g, 4.40mmol)和 POCl_3 (2.71g, 17.7mmol)/氯仿(10ml)的溶液加热回流 1 小时。冷却至环境温度后, 最终溶液用氯仿(50ml)稀释并且用 NaHCO_3 (水溶液)(两个 50ml 的部分)和盐水洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 过滤和浓缩。通过快速色谱法(4:1 己烷-EtOAc)提纯残余物, 从而获得 790mg(73%)的期望产物, 为

白色固体。

^1H NMR (CDCl_3) δ 2.72 (s, 3H), 7.46-7.54 (m, 3H), 7.91 (s, 1H), 8.00-8.03 (m, 2H);

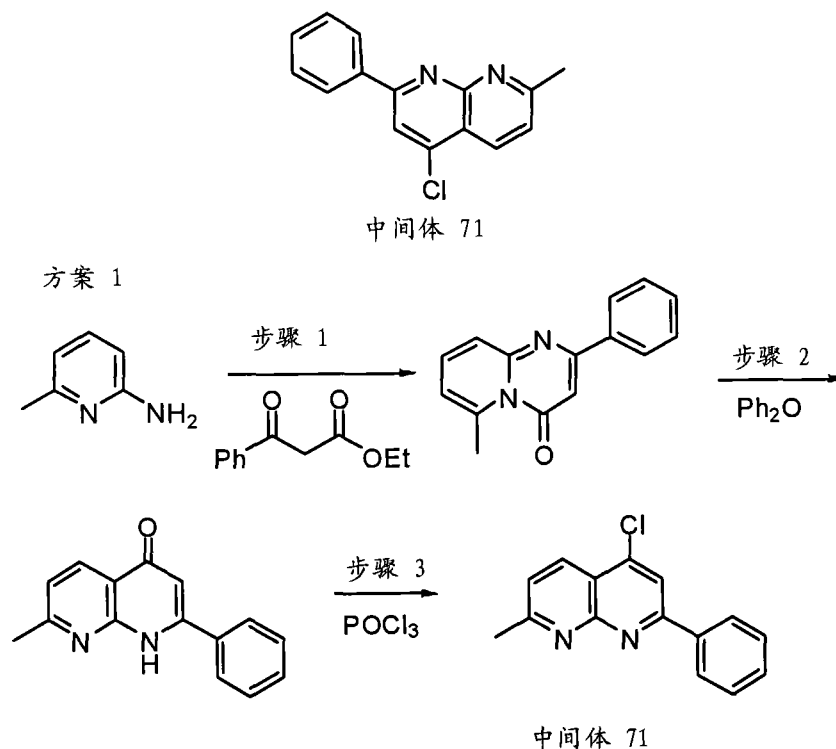
MS m/z 245, 247 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

中间体 70 可用于制备通式 I 的化合物, 如下:



实施例 71

制备中间体 71



步骤 1:

将 2-氨基-6-甲基吡啶(1.08g, 10.0mmol)、苯酰乙酸乙酯(2.30g, 12.0mmol)和多磷酸(6.00g, 61.2mmol)的混合物加热至 110°C 达 5 小时。冷却至环境温度后, 将混合物倒入冰水(20ml)并且用 10M NaOH 中和至 pH 值为 7。用 CHCl_3 萃取。用盐水洗涤有机层, 用 MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩。通过快速色谱法(1:1 己烷-EtOAc)提纯残余物, 从而获得

510mg(22%)的期望产物, 为浅黄色固体。

^1H NMR (CDCl_3) δ 3.08 (s, 3H), 6.64 (d, $J=7.0$ Hz, 1H), 6.71 (s, 1H), 7.42-7.52 (m, 5H), 8.04-8.06 (m, 2H); MS m/z 237 (M^++H)。

步骤 2:

将 6-甲基-2-苯基-吡啶[1,2a]嘧啶-4-酮(489mg, 2.07mmol)/熔融的二苯醚(5ml)溶液加热从而温和地回流 5 小时。冷却至环境温度后, 用二乙醚(10ml)稀释所形成的悬浮液, 过滤。用二乙醚充分地洗涤滤饼, 从而获得 450mg(92%)的期望产物, 为淡褐色固体。

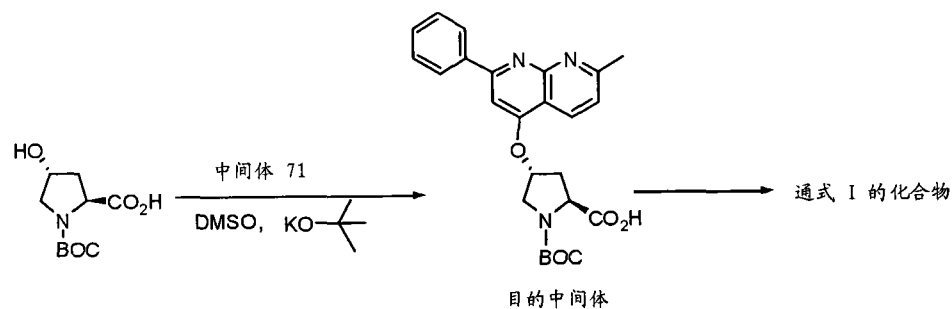
MS m/z 237 (M^++H)。

步骤 3:

将 7-甲基-2-苯基-1H-[1,8]萘啶-4-酮(450mg, 1.91mmol) / POCl_3 (10ml) 的悬浮液加热从而温和地回流 3 小时, 然后真空浓缩。将残余物倒入冰水(20ml)并且用 10M NaOH 中和至 pH 值为 10。然后用 CHCl_3 萃取混合物, 用盐水洗涤有机层, 用 MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩。通过快速色谱法(2:1 己烷-EtOAc)提纯残余物, 从而获得 450mg(92%)的期望产物, 为粉红色固体。

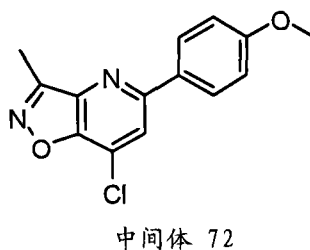
^1H NMR (CD_3OD) δ 2.80 (s, 3H), 7.54-7.56 (m, 3H), 7.61 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.25-8.30 (m, 3H), 8.58 (d, $J=8.4$ Hz, 1H); MS m/z 255, 257 (M^++H)。

中间体 71 可用于制备通式 I 的化合物, 如下:

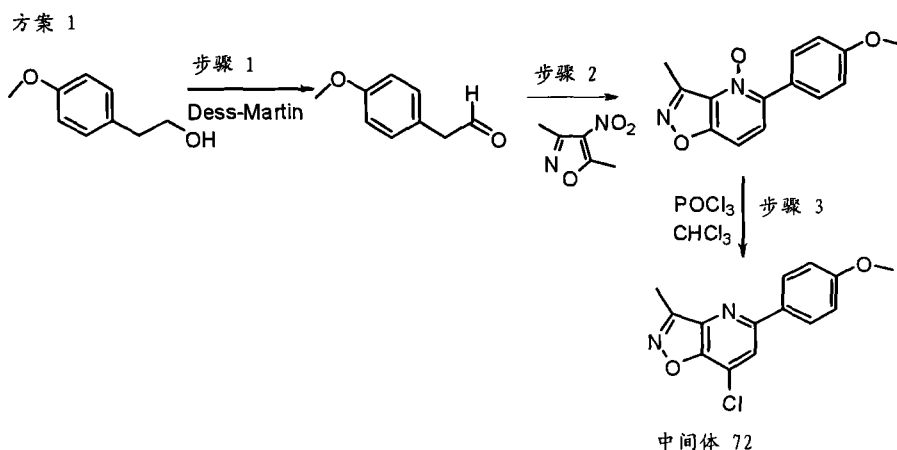


实施例 72

制备中间体 72



中间体 72



步骤 1:

在 0°C 向 4-甲氧基苯乙醇(1.52g, 10.0mmol)/CH₂Cl₂(50ml)溶液中, 以单份的方式添加 Dess-Martin 化学试剂(4.45g, 10.5mmol)。使所形成的混合物升温至环境温度达 1 小时。分别用饱和 Na₂S₂O₃(水溶液)和 1M NaOH、盐水洗涤。用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 真空浓缩, 得到 1.50g(100%) 的所期望的醛, 为粘性油。这种产物被用作粗产物, 无需更进一步的提纯。

步骤 2:

将 3,5-二甲基-4-硝基-异噁唑(142mg, 1.0mmol)、4-甲氧基-苯乙醛(实施例 3, 步骤 1)(180mg, 1.1mmol)/哌啶(0.1mL)和乙醇(2ml)的溶液加热回流 12 小时。冷却至环境温度后, 通过过滤收集沉淀出的产物。用冷的乙醇充分地洗涤滤饼, 获得 130mg(51%)的期望产物, 为微带灰色的固体。

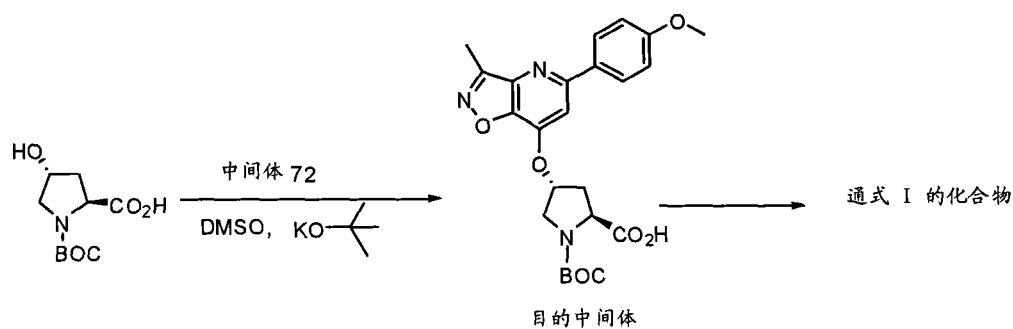
¹H NMR (CDCl₃) δ 2.88 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 7.02 (d, J=8.5 Hz, 2H), 7.50 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.57 (d, J=9.0 Hz, 1H), 7.81 (d, J=8.5 Hz, 2H); MS m/z 257 (M⁺+H)。

步骤 3:

该产物通过与实施例 70、步骤 2 中所述的相同方法制备。

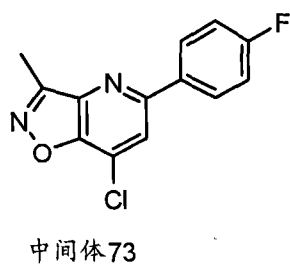
¹H NMR (CDCl₃) δ 2.70 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 7.00-7.03 (m, 2H), 7.84 (s, 1H), 7.96-7.98 (m, 2H); MS m/z 275, 277 (M⁺+H)。

中间体 72 可用于制备通式 I 的化合物, 如下:

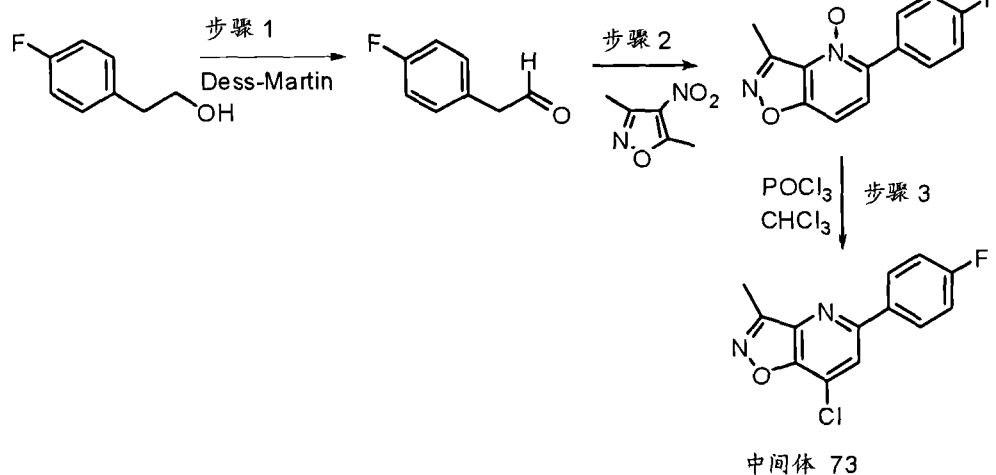


实施例 73

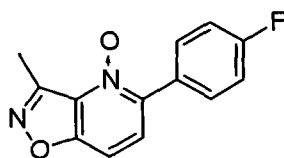
制备中间体 73



方案 1



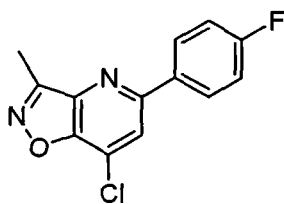
步骤 1 和 2:



该产物通过如实施例 72、步骤 1 和 2 所述的相同方法制备，不同之处在于替代使用 4-氟代苯乙醇。

MS m/z 245 ($M^+ + H$)。

步骤 3:

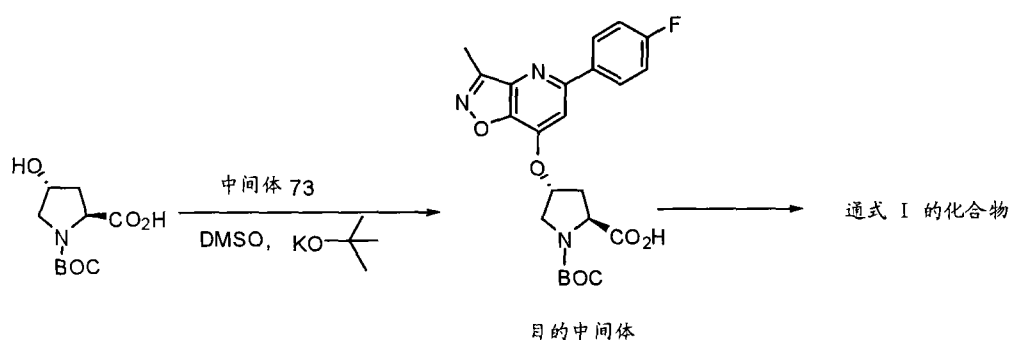


该产物通过与实施例 70 的步骤 2 中所述的相同方法制备。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.71 (s, 3H), 7.17-7.20 (m, 2H), 7.86 (s, 1H), 8.00-8.02 (m, 2H);

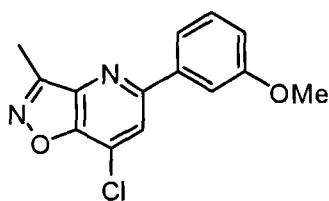
MS m/z 263, 265 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

中间体 73 可用于制备通式 I 的化合物, 如下:



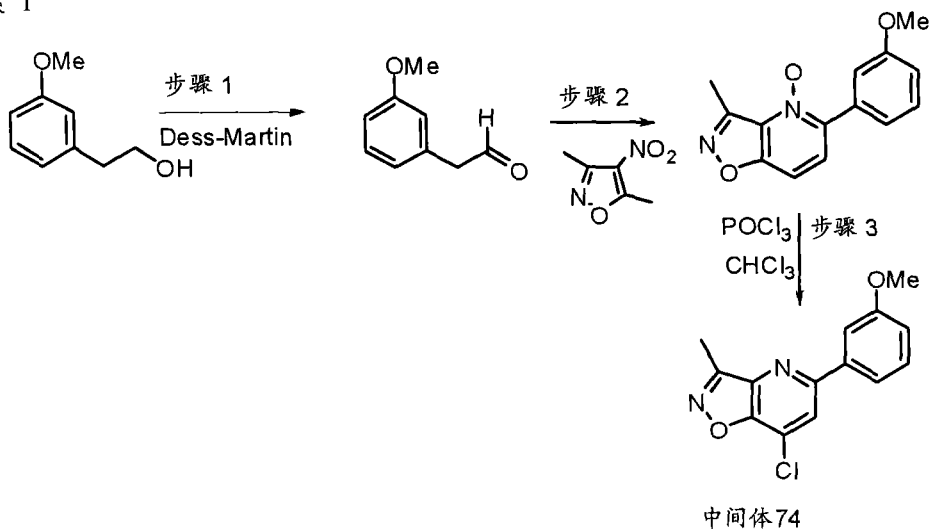
实施例 74

制备中间体 74

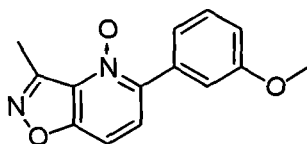


中间体 74

方案 1



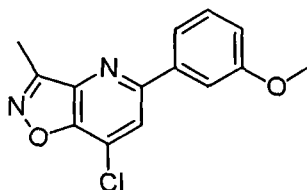
步骤 1 和 2:



该产物通过如实施例 72、步骤 1 和 2 所述的相同方法制备，不同之处在于使用 3-甲氧基-苯乙醇作为原料。

MS m/z 257 ($M^+ + H$)。

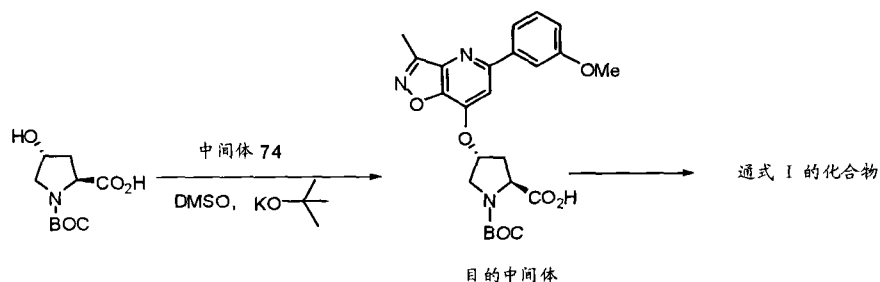
步骤 3:



该产物通过与实施例 70 的步骤 2 中所述的相同方法制备。

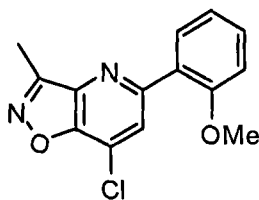
^1H NMR (CDCl_3) δ 2.72 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 7.00-7.02 (m, 1H), 7.41 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.89 (s, 1H); MS m/z 275, 277 ($M^+ + H$)。

中间体 74 可用于制备通式 I 的化合物，如下：



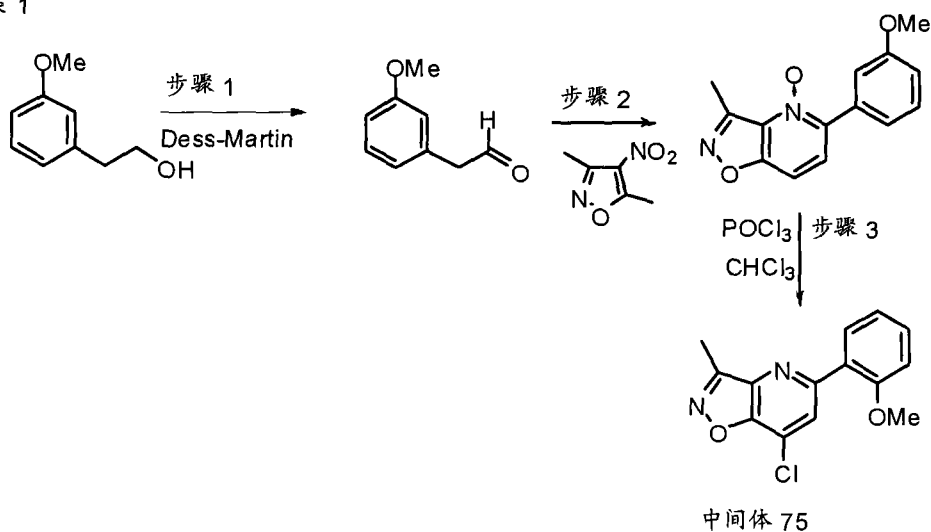
实施例 75

制备中间体 75

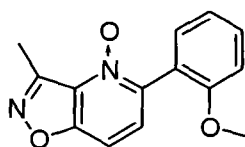


中间体 75

方案 1



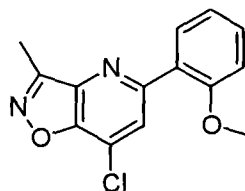
步骤 1 和 2:



该产物通过如实施例 72、步骤 1 和 2 所述的相同方法制备，不同之处在于使用 2-甲氧基-苯乙醇作为原料。

MS m/z 257 ($M^+ + H$).

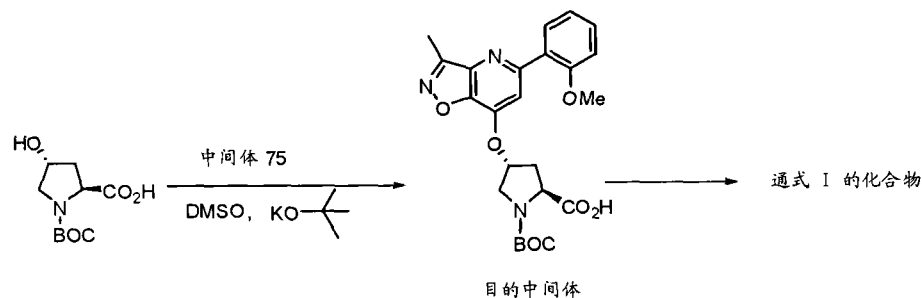
步骤 3:



该产物通过与实施例 70、步骤 2 中所述的相同方法制备。

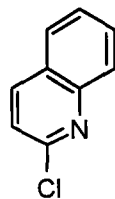
¹H NMR (CDCl₃) δ 2.721 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 7.03 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.11 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.41-7.44 (m, 1H), 7.79-7.81 (m, 1H), 8.04 (s, 1H); MS m/z 275, 277 ($M^+ + H$).

中间体 75 可用于制备通式 I 的化合物，如下：



实施例 76

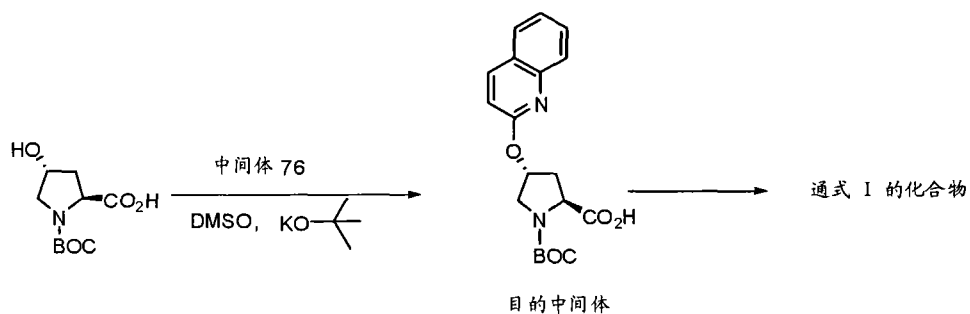
制备中间体 76



中间体 76

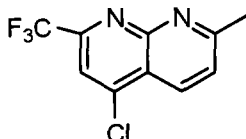
中间体 76 是市售可得的

中间体 76 可用于制备通式 I 的化合物，如下：



实施例 77

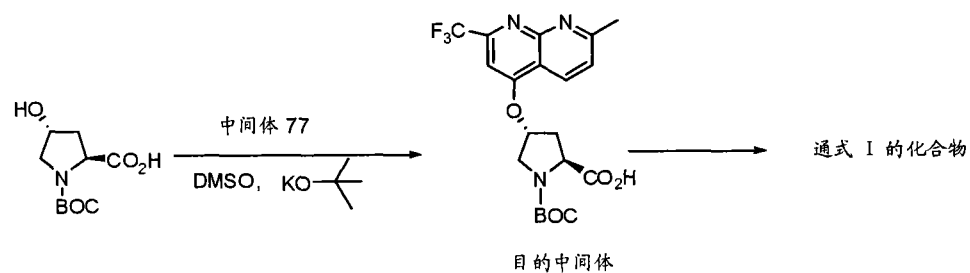
制备中间体 77



中间体 77

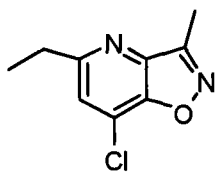
按照 P. Ferrarini 等在 J Heterocyclic Chem, 1983, p1053 中的描述，制备中间体 77。

中间体 77 可用于制备通式 I 的化合物，如下：



实施例 78

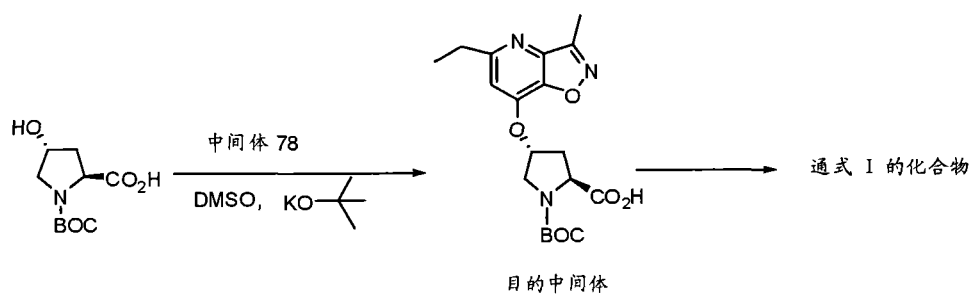
制备中间体 78



中间体 78

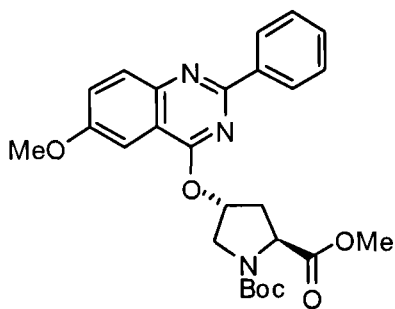
按照 R. Nesi 等在 Synth Comm. 1992, 22(16), 2349 中所述的, 制备中间体 78。

中间体 78 可用于制备通式 I 的化合物, 如下:



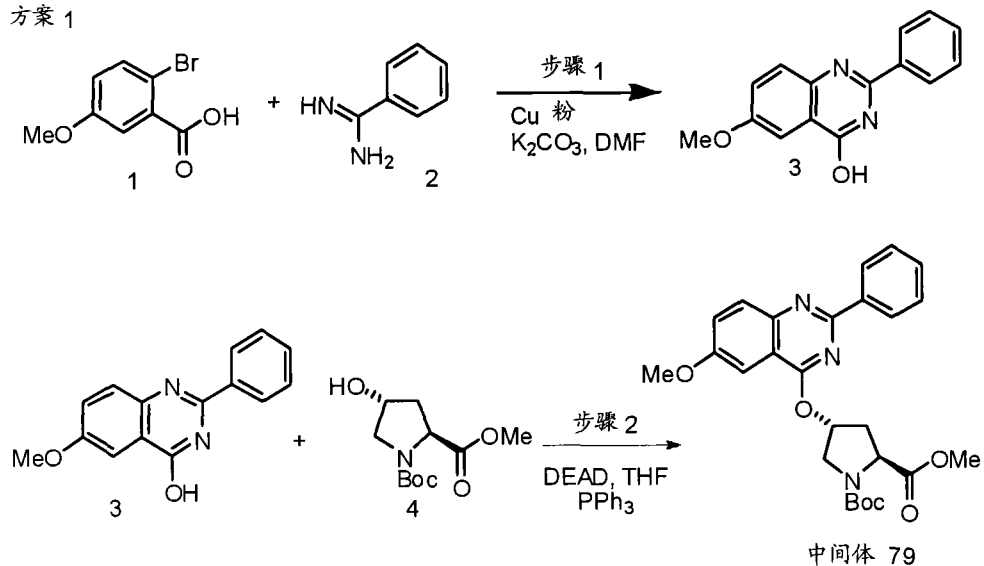
实施例 79

制备中间体 79



中间体 79

方案 1



步骤 1:

向中压烧瓶 (Chemglass) 中的 2-溴-5-甲氧基苯酸 (1.68g, 7.27mmol)/DMF(50ml) 的溶液中, 添加 苺脒 (1.25g, 8.00mmol)、 K_2CO_3 (6.0g, 43.6mmol) 和铜粉 (336mg, 1.45mmol)。将反应混合物加热至 180°C 达 1 小时。通过真空过滤去除铜和过量的 K_2CO_3 , 并且用 MeOH 洗涤。浓缩滤液并且将所得的粗产物通过快速柱色谱法 (SiO_2 , 5%MeOH/DCM) 提纯, 获得淡绿色固体 (1.55g, 84% 收率):

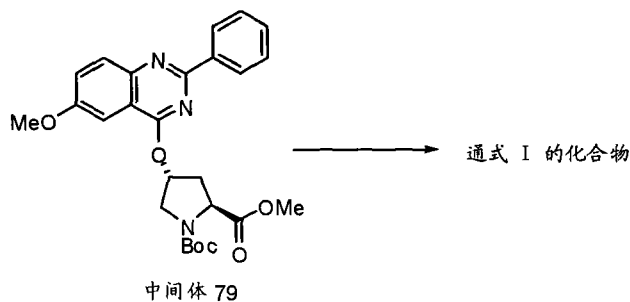
^1H NMR (DMSO- d_6) δ 3.84 (s, 3H), 7.26 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.46 (br s, 5H), 7.57 (s, 1H), 8.38 (br s, 1H); MS m/z (MH^+) 253。

步骤 2:

向 0°C 的 Boc-顺式羟脯氨酸-Ome (2.0g, 8.15mmol) 和 3 (2.26g, 8.97mmol) /THF(82ml) 的浆液中, 添加 Ph_3P 和二异丙基偶氮羧酸酯 (1.98g, 8.97mmol)。在室温下搅拌 17 小时后, 用 EtOAc(100ml) 稀释反应混合物并且用 H_2O (50ml) 洗涤。分离水层并且用 EtOAc(2×50ml) 反萃。用盐水洗涤合并的有机层, 用 $MgSO_4$ 干燥, 过滤, 浓缩, 得到粘性油, 其被再溶解在最小量的 EtOAc 中, 并且添加己烷, 将大部分的 Ph_3PO 副产物进行沉淀。通过真空过滤去除 Ph_3PO , 并且浓缩液体滤液。所得的粘性油通过快速柱色谱法 (SiO_2 , 4:1 hex:EtOAc) 提纯, 获得白色固体产物 (1.76g, 45% 收率):

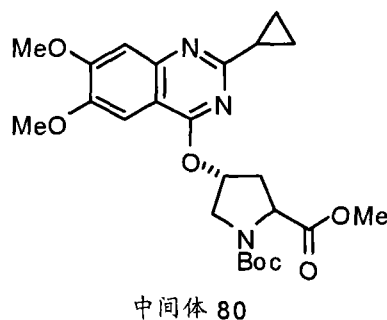
^1H NMR (60/40 旋转异构体, $CDCl_3$) δ 1.47 (s, 9H), 2.49-2.55 (m, 1H), 2.73-2.83 (m, 1H), 3.80 (s, 1.8H), 3.81 (s, 1.2H), 3.96 (s, 3H), 4.03-4.09 (m, 1H), 4.54 (t, $J = 8.0$ Hz, 0.6H), 4.66 (t, $J = 7.8$ Hz), 4.96-5.06 (m, 1H), 5.97 (br s, 0.6H), 6.04 (br s, 0.4H), 7.33 (dd, $J = 6.1, 2.7$ Hz, 1H), 7.46-7.51 (m, 4H), 7.91 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 8.49 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (旋转异构体, $CDCl_3$) δ 21.7, 22.0, 28.3, 28.4, 35.8, 36.8, 52.3, 52.4, 52.6, 55.8, 55.9, 57.9, 58.3, 74.5, 74.9, 80.6, 101.2, 101.3, 115.7, 125.8, 126.0, 128.1, 128.5, 129.7, 130.2, 137.9, 147.8, 153.8, 157.7, 158.0, 158.0, 164.8, 173.1, 173.3; MS m/z (MH^+) 480。

中间体 79 可用于制备通式 I 的化合物, 如下:



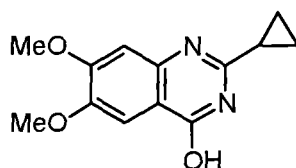
实施例 80

制备中间体 80。



步骤 1:

如实施例 79 所述

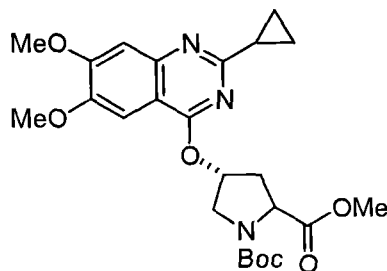


数据:

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 0.97-1.01 (m, 2H), 1.03-1.06 (m, 2H), 1.90-1.94 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 6.93 (s, 1H), 7.37 (s, 3H), 12.28 (s, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ 9.03, 13.17, 55.47, 55.73, 104.81, 107.27, 113.26, 145.16, 147.48, 154.44, 157.21, 160.89; MS m/z (MH^+) 247.

步骤 2:

如实施例 79 所述

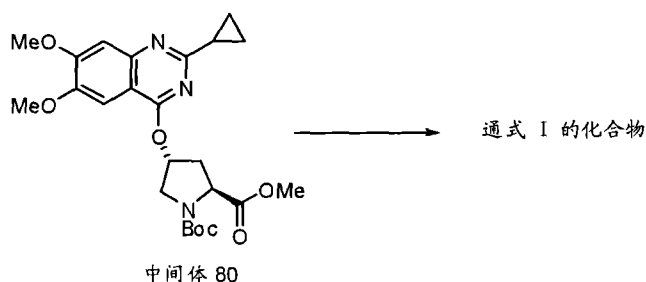


数据:

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.00-1.04 (m, 2H), 1.07-1.11 (m, 2H), 1.43 (s,

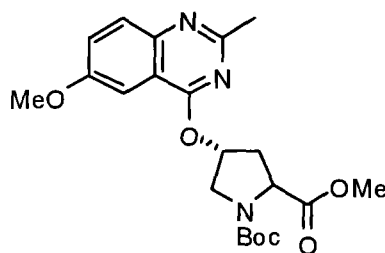
5.4H), 1.46 (s, 3.6H), 2.17-2.21 (m, 1H), 2.37-2.43 (m, 1H), 2.62-2.69 (m, 1H), 3.75 (s, 1.8H), 3.78 (s, 1.2H), 3.92 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.00 (s, 3.6H), 4.01 (s, 2.4H), 4.48 (t, $J = 8.0$ Hz, 0.6H), 4.59 (t, $J = 7.6$ Hz, 0.4H), 5.7 (br s, 0.6H), 5.74 (br s, 0.4H), 7.18 (s, 1H), 7.20 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 9.6, 9.7, 18.1, 28.3, 28.4, 35.8, 36.7, 52.2, 52.4, 56.3, 57.8, 58.2, 74.0, 74.5, 80.5, 80.6, 101.0, 101.1, 106.3, 108.6, 148.8, 149.1, 153.8, 155.4, 164.4, 165.9, 172.9, 173.2; LC-MS m/z (MH^+) 474.

中间体 80 可用于制备通式 I 的化合物, 如下:



实施例 80

制备中间体 81。

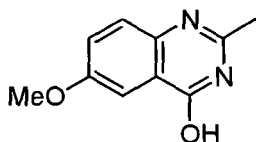


中间体 81

步骤 1:

如实施例 79 所述, 其中盐酸乙腈和 2-溴-5-甲氧基苯酸被用作原料。

产物:

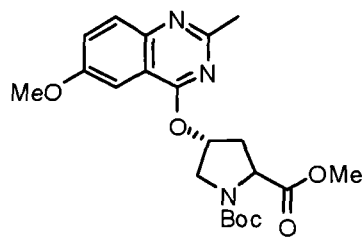


数据:

^1H NMR (DMSO) δ 2.31 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 7.36 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.51 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 12.15 (s, 1H); ^{13}C NMR (DMSO) δ 21.11, 55.41, 105.57, 121.22, 123.59, 128.12, 143.34, 151.68, 157.00, 161.45; LC-MS m/e (MH^+) 191.

步骤 2:

如实施例 79 所述。

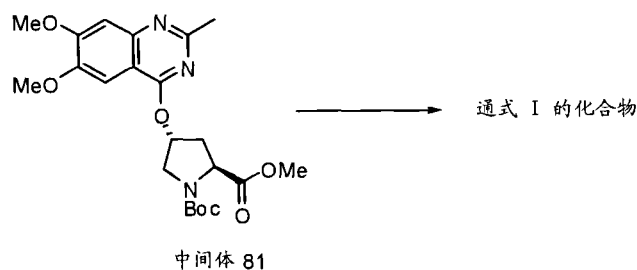


中间体 81

数据:

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.43 (s, 5.4H), 1.45 (s, 3.6H), 2.38-2.45 (m, 1H), 2.62-2.71 (m, 1H), 2.66 (s, 1.8H), 2.68 (s, 1.2H), 3.77 (1.8H), 3.79 (s, 1.2H), 3.92 (s, 3H), 3.93-3.98 (m, 2H), 4.49 (t, $J = 8.0$ Hz, 0.6H), 4.61 (t, $J = 7.8$ Hz, 0.4H), 5.82 (t, $J = 2.1$ Hz, 0.6H), 5.89 (t, $J = 2.3$ Hz, 0.4H), 7.26 (dd, $J = 4.7, 3.2$ Hz, 1H), 7.42 (dd, $J = 6.3, 2.8$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 9.15$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 26.1, 28.3, 28.4, 35.8, 36.7, 52.2, 52.2, 52.4, 52.5, 55.755.8, 57.9, 58.2, 74.1, 74.7, 80.6, 101.0, 101.2, 114.9, 125.6, 125.9, 128.6, 147.3, 153.8, 154.5, 157.6, 157.6, 161.2, 164.6, 173.0, 173.3; LC-MS m/e (MH^+) 418.

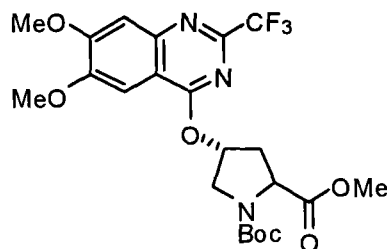
中间体 81 可用于制备通式 I 的化合物, 如下:



中间体 81

实施例 82

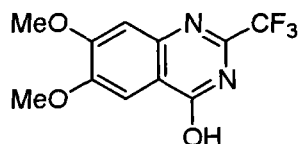
制备中间体 82



中间体 82

步骤 1:

如实施例 79 所述进行制备, 并且使用 2-溴-4,5-二甲氧基苯甲酸和三氟脒作为原料。



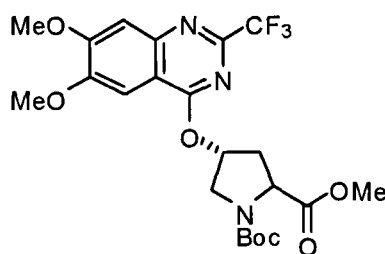
数据:

^1H NMR (DMSO) δ 3.92 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 7.33 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 13.40 (br s, 1H); ^{13}C NMR (DMSO) δ 55.8, 56.1, 104.9, 108.7, 150.2, 155.0; LC-MS m/e (MH^+) 275.

步骤 2:

如实施例 79 所述

产物:

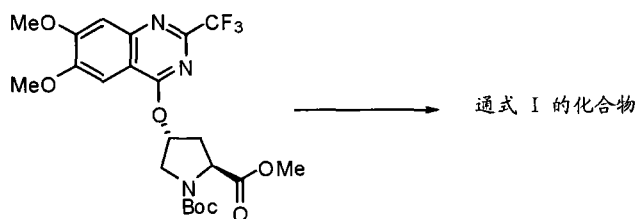


中间体 82

数据:

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.42 (s, 3.6H), 1.44 (s, 5.4H), 2.42-2.49 (m, 1H), 2.67-2.73 (m, 1H), 3.37 (s, 1.2H), 3.78 (s, 1.8H), 3.97 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 4.02 (s, 2.4H), 4.04 (s, 3.6H), 4.48 (t, $J = 7.9$ Hz, 0.6H), 4.60 (t, $J = 7.7$ Hz, 0.4H), 5.86 (br s, 0.6H), 5.90 (br s, 0.4H), 7.27-7.29 (m, 1H), 7.38-7.44 (m, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 8.2, 28.3, 35.7, 36.7, 52.1, 52.2, 52.4, 56.5, 57.8, 58.2, 75.5, 76.0, 80.7, 100.8, 107.6, 111.0, 119.7, 148.2, 150.2, 151.4, 153.8, 154.5, 156.4, 165.1, 172.7, 173.0; LC-MS m/e (MH^+) 502.

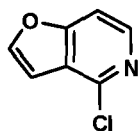
中间体 82 可用于制备通式 I 的化合物, 如下:



中间体 82

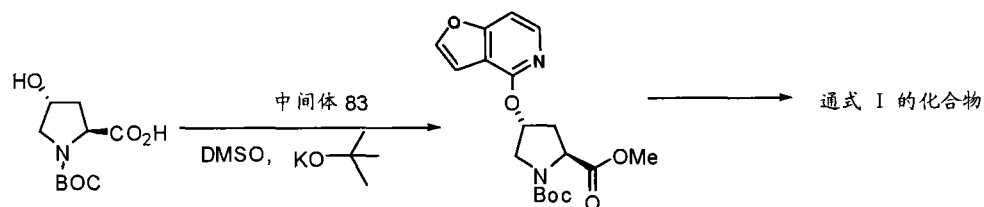
实施例 83

制备中间体 83



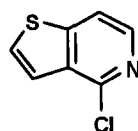
中间体 83

中间体 83 是市售可得的，并且可用于制备通式 I 的化合物。



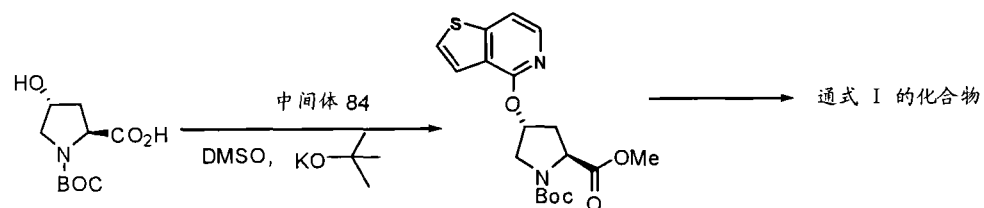
实施例 84

制备中间体 84



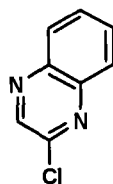
中间体 84

中间体 84 是市售可得的，并且可用于制备通式 I 的化合物。



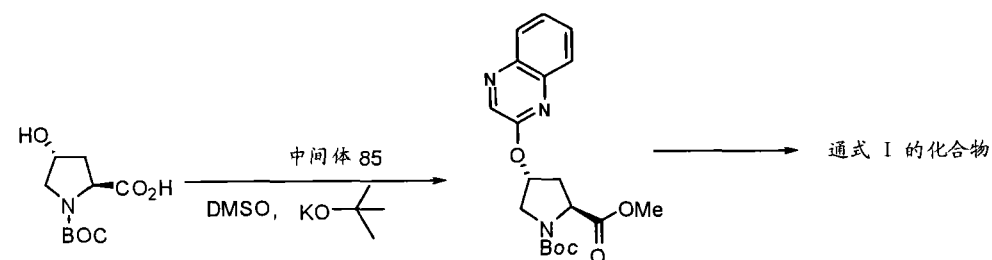
实施例 85

制备中间体 85



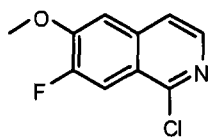
中间体 85

中间体 85 是市售可得的，并且可用于制备通式 I 的化合物。



实施例 86

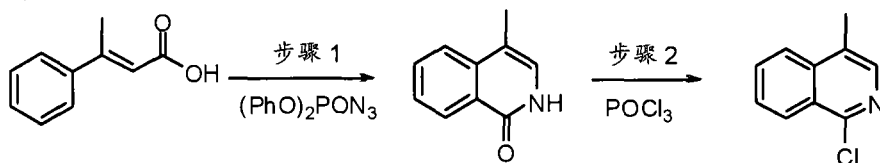
制备中间体 86



中间体 86

制备中间体 86 的参考方案

方案 1



步骤 1:

搅拌 3-苯基-丁-2-烯酸(16.2g)、二苯基磷酰叠氮化物(27.5g)和三乙胺(10.1g)/苯(100ml)的溶液 1 小时。通过硅胶填料过滤后,用苯洗涤并且浓缩,将残余物溶解在二苯甲烷(80ml)中并且回流 3 小时。冷却至室温后,通过填料收集固体,同时用苯洗涤并且干燥,得到 10g(63%)的期望产物,为固体形式。

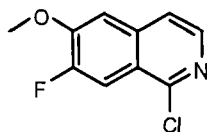
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.30 (s, 3 H), 7.00 (s, 1 H), 7.54 (m, 1 H), 7.77 (m, 2 H), 8.33 (d, $J=7.34$ Hz, 1 H)。

步骤 2

将 4-甲基-2H-异喹啉-1-酮(4.8g)/ POCl_3 (50ml)溶液回流 3 小时。冷却和浓缩后,用 5N NaOH 使残余物碱化并且用 CH_2Cl_2 萃取。用盐水洗涤有机层并且用 MgSO_4 干燥。过滤和浓缩后,使用 5% 乙酸乙酯/己烷通过 Biotage 的快速色谱法进行提纯,得到 4.8g(90%)的期望产物,为固体形式。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2.59 (s, 3 H), 7.68 (t, $J=7.70$ Hz, 1 H), 7.78 (m, 1 H), 7.94 (d, $J=8.31$ Hz, 1 H), 8.11 (s, 1 H), 8.35 (d, $J=8.31$ Hz, 1 H)。

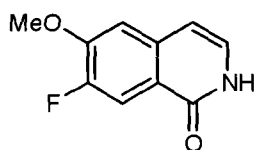
制备中间体 86 的化学方法。



中间体 86

步骤 1:

制备 7-氟-6-甲氧基-2H-异喹啉-1-酮。如本实施例的步骤 1 所示, 使用 19.6g 的 4-氟-3-甲氧基肉桂酸作为原料。获得 9.5g 产物(48%收率)。

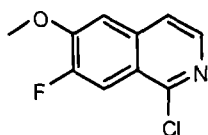


数据:

^1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ ppm 4.00 (s, 1 H), 6.49 (d, $J=7.34$ Hz, 1 H), 7.19 (d, $J=7.09$ Hz, 1 H), 7.29 (d, $J=8.07$ Hz, 1 H), 7.86 (d, $J=11.74$ Hz, 1 H)。

步骤 2:

制备 1-氯-7-氟-6-甲氧基异喹啉: 如本实施例的步骤 2 中所示, 使用 7-氟-6-甲氧基-2H-异喹啉-1-酮(9g)作为原料。获得了 7g 的期望产物(70%收率)。

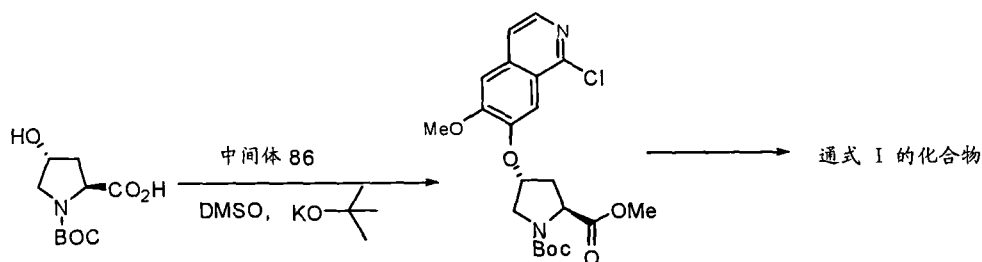


中间体 86

数据:

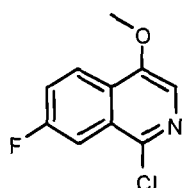
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 4.04 (s, 3 H), 7.17 (d, $J=8.07$ Hz, 1 H), 7.48 (d, $J=5.62$ Hz, 1 H), 7.94 (d, $J=11.49$ Hz, 1 H), 8.20 (d, $J=5.62$ Hz, 1 H)。

中间体 86 可用于制备通式 I 的化合物。



实施例 87

制备中间体 87。

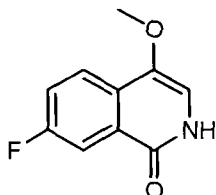


中间体 87

步骤 1:

如实施例 86 步骤 1 中的那些, 但是使用 3.82g 的 3-(4-氟-苯基)-3-甲氧基-丙烯酸作为原料。获得 198mg 产物(5%收率)。

产物:

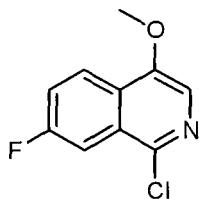


数据: MS: $(M+H)^+$ 194。

步骤 2:

如实施例 86 步骤 1 中所述的, 但是使用 193mg 的 7-氟-4-甲氧基-2H-异喹啉-1-酮作为原料。获得 199mg 产物(94%收率)。

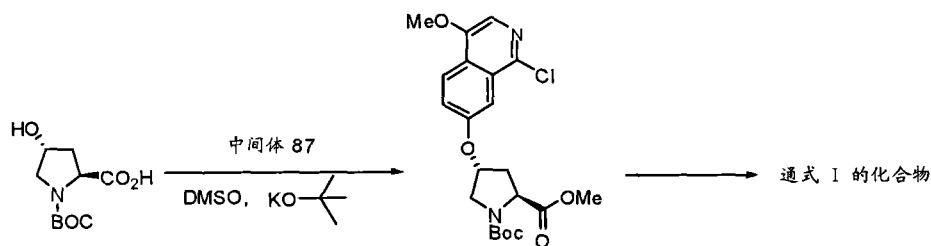
产物:



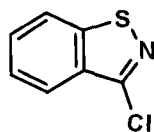
数据:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 4.05 (s, 3 H), 7.49 (m, 1 H), 7.78 (s, 1 H), 7.86 (dd, $J=9.66, 2.57$ Hz, 1 H), 8.23 (dd, $J=9.29, 5.38$ Hz, 1 H); MS: $(M+H)^+$ 212。

中间体 87 可用于制备通式 I 的化合物。

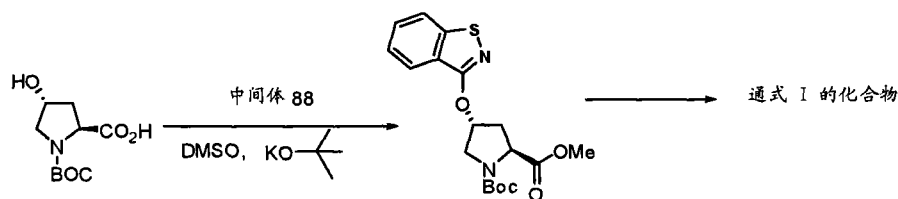
**实施例 88**

制备中间体 88



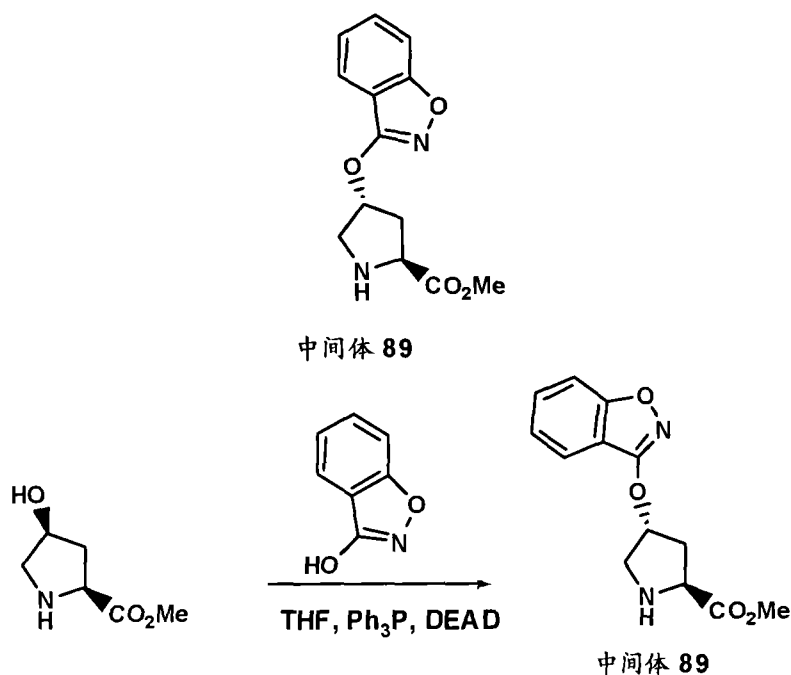
中间体 88

中间体 88 可用于制备通式 I 的化合物。



实施例 89

制备中间体 89

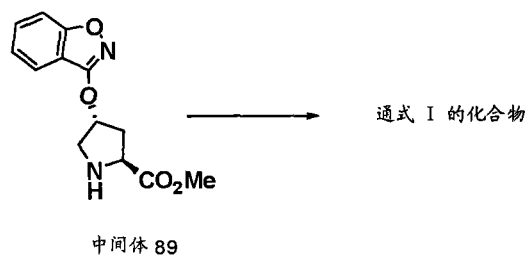


在 0℃ 向 Boc-顺式 HYP-OMe(122.6mg, 0.5mmol)/THF (15mL) 的溶液中, 添加三苯基膦(196.7mg, 0.75mmol)和苯并[d]异噁唑-3-醇(81mg, 0.6mmol)。然后添加 DEAD(0.118mL, 0.75mmol)。将反应混合物升温至室温, 并且搅拌 3 小时。然后浓缩溶剂并且通过制备性 HPLC 提纯残余物, 得到无色稠油。(117mg, 54%收率)

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.41 (m, 9 H), 2.38 (m, 1 H), 2.75 (m, 1 H), 3.75 (m, 3 H), 3.81 (m, 1 H), 3.90 (m, 1 H), 4.47 (m, 1 H), 5.44 (m, 1 H), 7.31 (t, $J=7.46$ Hz, 1 H), 7.47 (d, $J=8.56$ Hz, 1 H), 7.59 (t, $J=7.83$ Hz, 1 H), 7.66 (d, $J=8.07$ Hz, 1 H)。

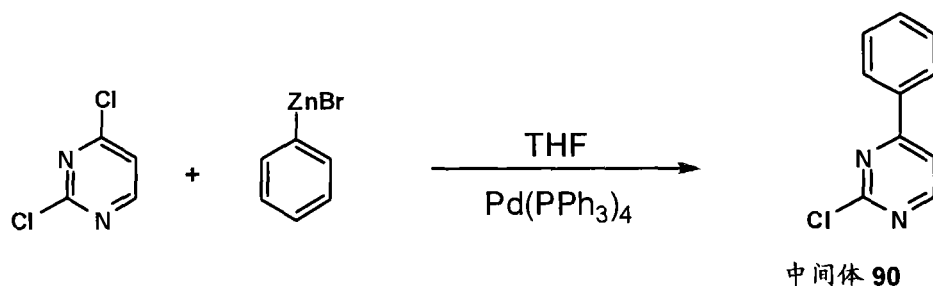
LC-MS (停留时间, 2.65 分钟), MS m/z 363(MH^+)。

中间体 89 可用于制备通式 I 的化合物。



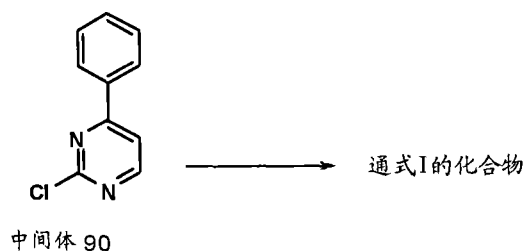
实施例 90

制备中间体 90



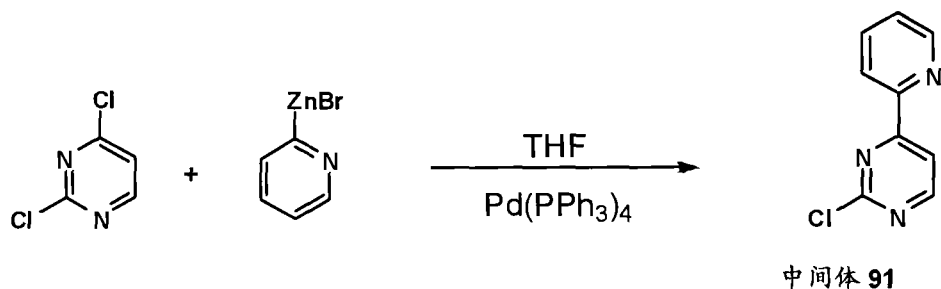
向 2,4-二氯嘧啶(149mg, 1mmol)/THF(5ml)的溶液中, 添加四(三苯基膦)钯(23mg, 2mol%)和 0.5M 的苯基溴化锌(2.1mL, 1.05mmol)/THF 的溶液。在 50°C 搅拌反应混合物过夜。然后将其添加到饱和的氯化铵溶液中并且用 EtOAc 萃取两次。合并有机层, 用水洗涤并且干燥 (MgSO₄)。过滤, 并且浓缩溶剂, 得到黄色残余物, 其通过制备性 HPLC 来提纯, 得到浅黄色油, 为 2-氯-4-苯基-嘧啶。

中间体 90 可用于制备通式 I 的化合物。



实施例 91

制备中间体 91

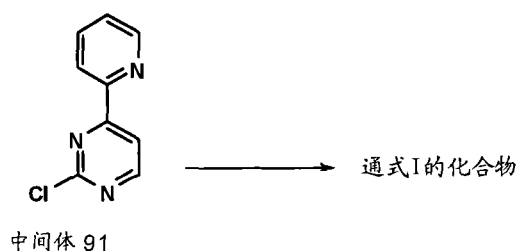


向 2,4-二氯嘧啶(149mg, 1mmol)/THF(5ml)的溶液中, 添加四(三苯基膦)钯(58mg, 5mol%)和 0.5M 的 2-吡啶基溴化锌(2.4mL, 1.2mmol)/THF

的溶液。在 50°C 搅拌反应混合物过夜。然后将其添加到饱和的氯化铵溶液中并且用 EtOAc 萃取两次。合并有机层，用水洗涤并且干燥 (MgSO₄)。过滤，随后浓缩溶剂，得到黄色残余物，其通过制备 HPLC 来提纯，得到浅黄色油作为产物。(中间体 60, 11mg, 3.6%收率)

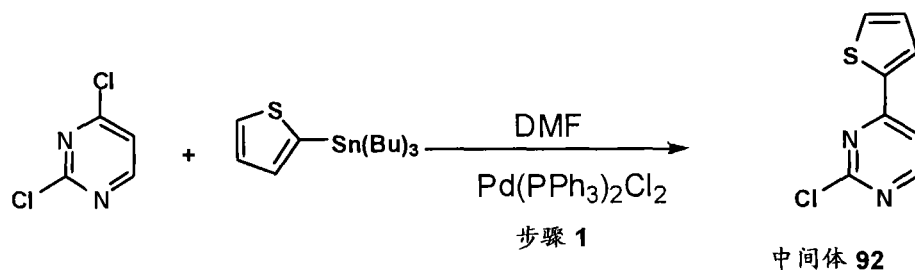
¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.61 (m, 1 H), 8.07 (m, 1 H), 8.36 (d, *J*=5.19 Hz, 1 H), 8.50 (d, *J*=7.94 Hz, 1 H), 8.75 (d, *J*=3.97 Hz, 1 H), 8.82 (d, *J*=5.19 Hz, 1 H). MS *m/z* 192 (MH⁺).

中间体 91 可用于制备通式 I 的化合物。



实施例 92

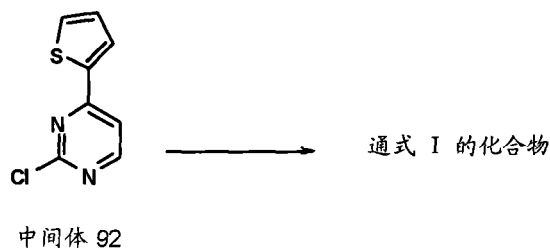
制备中间体 92



向 2,4-二氯嘧啶(149mg, 1mmol)/DMF(5ml)的溶液中，添加二氯双(三苯基膦)钯(II)(35mg, 5mol%)和 2-(三丁基甲锡烷基)噻吩(0.38mL, 1.2mmol)。在 70°C 加热反应混合物 3 小时。然后向其中添加饱和的 KF/甲醇(20ml)溶液，并且在室温下搅拌 4 小时。用少量硅胶浓缩反应混合物，使残余物滤过滤纸并且用 EtOAc 洗涤。然后浓缩滤液，通过制备性 HPLC 提纯残余物，得到灰白色固体作为产物。(110mg, 35%收率)

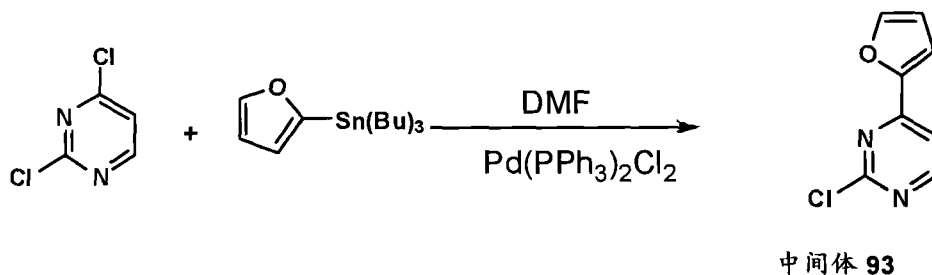
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.20 (dd, *J*=5.01, 3.79 Hz, 1 H), 7.74 (dd, *J*=5.01, 1.10 Hz, 1 H), 7.77 (d, *J*=5.38 Hz, 1 H), 7.98 (dd, *J*=3.79, 1.10 Hz, 1 H), 8.55 (d, *J*=5.38 Hz, 1 H). MS *m/z* 197 (MH⁺).

中间体 92 可用于制备通式 I 的化合物。



实施例 93

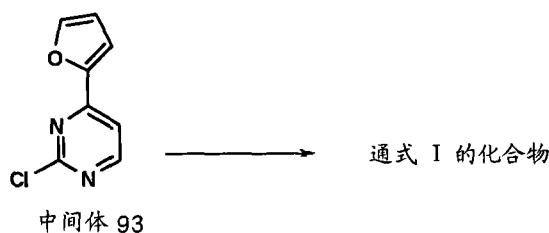
制备中间体 93



向 2,4-二氯嘧啶(149mg, 1mmol)/DMF(5ml)的溶液中, 添加二氯双(三苯膦)钯(II)(35mg, 5mol%)和 2-(三丁基甲锡烷基)呋喃(0.35mL, 1.1mmol)。在 70°C 加热反应混合物 3 小时。然后向其中添加饱和的 KF/甲醇(20ml)溶液, 并且在室温下搅拌 4 小时。用少量硅胶浓缩反应混合物, 使残余物滤过滤纸并且用 EtOAc 洗涤。然后浓缩滤液, 通过制备性 HPLC 提纯残余物, 得到淡褐色固体作为产物。(80mg, 27%收率)

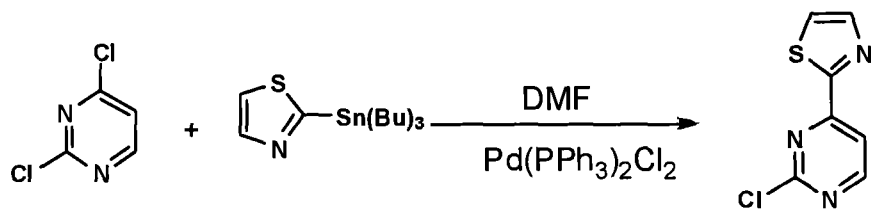
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.68 (dd, $J=3.67, 1.71$ Hz, 1 H), 7.42 (d, $J=3.67$ Hz, 1 H), 7.67 (d, $J=5.13$ Hz, 1 H), 7.30 (d, $J=1.71$ Hz, 1 H), 8.62 (d, $J=5.14$ Hz, 1 H). MS m/z 181 (MH^+)。

中间体 62 可用于制备通式 I 的化合物。



实施例 94

制备中间体 94

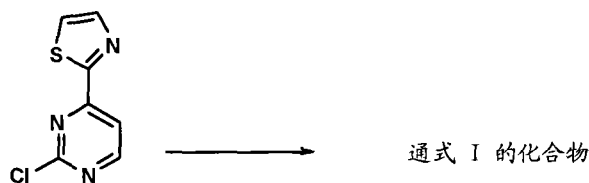


中间体 94

向 2,4-二氯嘧啶(149mg, 1mmol)/DMF(5ml)的溶液中, 添加二氯双(三苯基膦)钯(II)(35mg, 5mol%)和 2-(三丁基甲锡烷基)噻唑(412mg, 1.1mmol)。在 80°C 加热反应混合物 3 小时。然后向其中添加饱和的 KF/甲醇(20ml)溶液, 并且在室温下搅拌 4 小时。用少量硅胶浓缩反应混合物, 使残余物过滤纸并且用 EtOAc 洗涤。然后浓缩滤液, 通过制备性 HPLC 提纯残余物, 得到淡褐色固体作为产物。(9mg, 3%收率)。

MS m/z 198 (MH^+)。

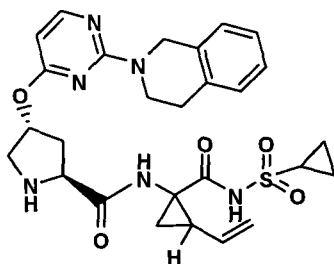
中间体 63 可用于制备通式 I 的化合物。



中间体 94

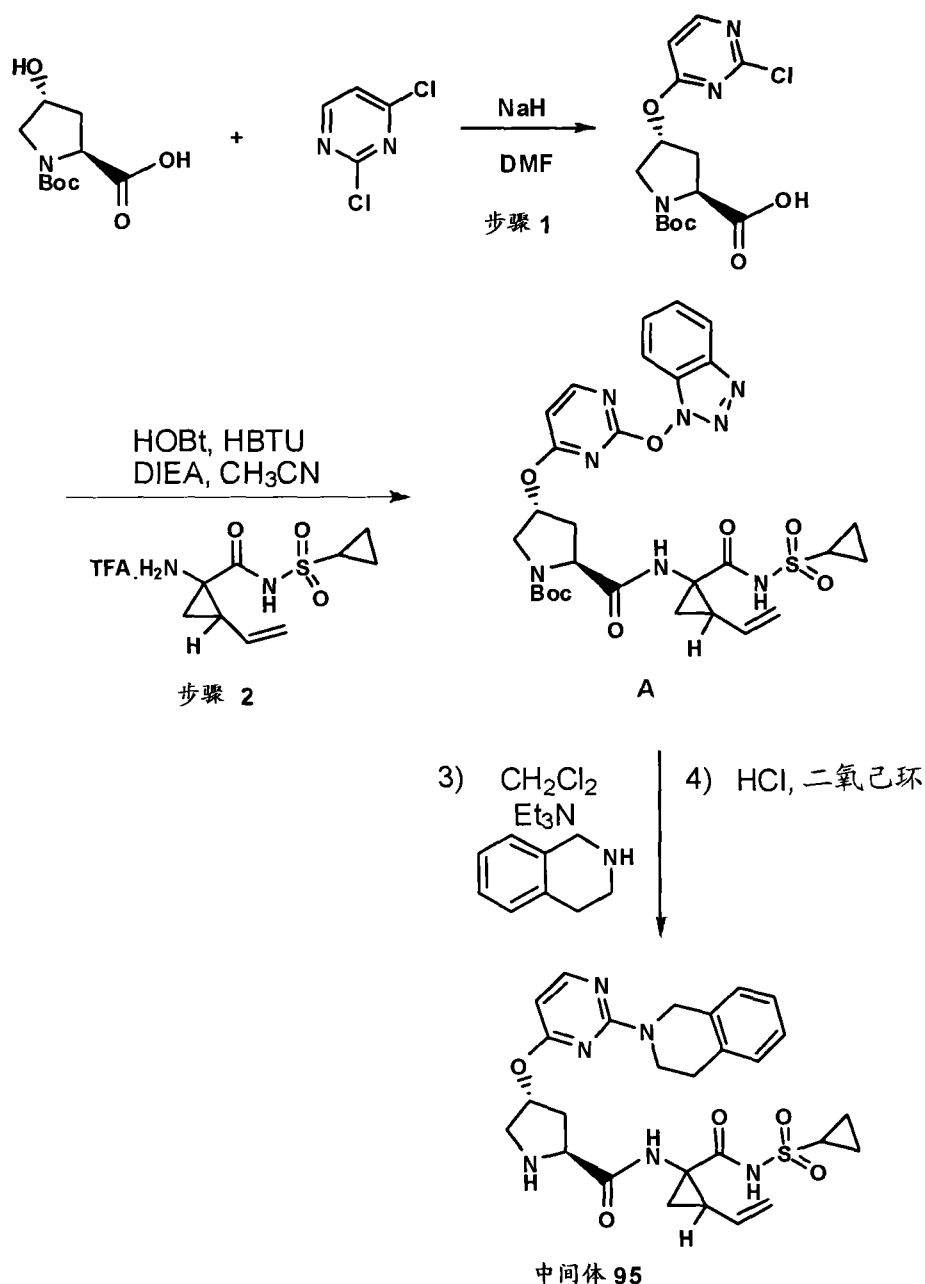
实施例 95

制备中间体 95



中间体 95

方案 1



步骤 1:

在 0°C , 向 Boc-HYP-OH(1.0g, 4.324mmol)/DMF(20ml)溶液中, 添加 NaH(0.38g 的在矿物油中的 60%的分散体, 9.513mmol)。搅拌反应混合物 1 小时。然后添加 2,4-二氯嘧啶(0.709g, 0.0289mmol)。将反应混合物升温至室温并且搅拌过夜。然后将其用 1N HCl 溶液淬灭并且用 EtOAc 萃取。分离有机层, 用盐水洗涤和干燥(MgSO_4)。过滤, 随后浓缩溶剂, 得到粗产物, 其然后通过制备性 HPLC 来提纯, 得到无色油作为产物。(0.4g, 27%收率)

^1H NMR(CD_3OD , 300 MHz) δ 1.13 (m, 9 H), 2.37 (m, 1 H), 2.62 (m,

1 H), 3.70-3.84 (m, 2 H), 4.38 (m, 1 H), 5.65 (m, 1 H), 6.88 (d, $J=5.86$ Hz, 1 H), 8.37 (d, $J=5.86$ Hz, 1 H). MS m/z 344(MH^+).

步骤 2:

向(2S,4R)4-(2-氯-嘧啶-4-基氧基)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-叔丁基酯(0.34g, 0.99mmol)/CH₃CN(20ml)溶液中, 添加(1R,2S)/(1S, 2R)(1-环丙烷磺酰基-氨基羰基-2-乙烯基-环丙基)-氨基甲酸(0.511g, 1.48mmol)、DIEA(0.86mL, 4.95mmol)和耦合化学试剂 HOBt(0.226g, 1.48mmol)和 HBTU(0.561g, 1.48mmol)。在室温搅拌该溶液过夜。然后将其浓缩, 用水洗涤并且用乙酸乙酯萃取两次。用盐水洗涤合并的有机层, 用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 浓缩。然后通过制备性 HPLC 柱提纯它, 得到黄色固体(A)。(0.33g, 41%收率)。

MS m/z 655 (MH^+).

步骤 3

向中间体 4(50mg, 0.061mmol)/CH₂Cl₂(2.5ml)的溶液中, 添加 1,2,3,4-四氢异喹啉(0.011mL, 0.0915mmol)和 Et₃N(0.021mL, 0.153mmol)。在室温搅拌反应混合物过夜并且在 40°C 搅拌 1 天。除去溶剂, 通过制备性 HPLC 提纯残余物, 得到无色油。然后将其溶于 4N HCl/二氧己环(1ml)中并且搅拌过夜。蒸发溶剂, 得到无色油, 形式为盐酸盐。(20mg, 52%收率)。

MS m/z 553 (MH^+).

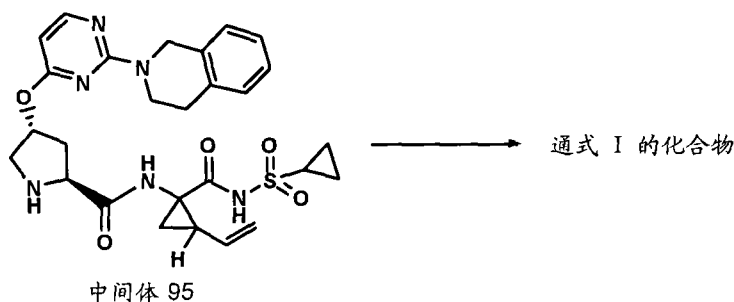
步骤 4

向 4-[2-(3,4-二氢-1H-异喹啉-2-基)-嘧啶-4-基氧基]-吡咯烷-2-羧酸(1-环丙烷磺酰基氨基羰基-2-乙烯基环丙基)-酰胺盐酸盐(20mg, 0.032mmol)/CH₃CN(5ml)的溶液中, 添加 2-甲氧基羰基氨基-3,3-二甲基-丁酸(9.1mg, 0.048mmol)、DIEA(0.028mL, 0.16mmol)和耦合化学试剂 HOBt(7.3mg, 0.048mmol)和 HBTU(18.2mg, 0.048mmol)。在室温搅拌该溶液过夜。然后将其浓缩, 用水洗涤并且用乙酸乙酯萃取两次。用盐水洗涤合并的有机层, 用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 浓缩, 得到浅黄色油。然后通过制备性 HPLC 柱提纯它, 得到作为 TFA 盐的无色油(中间体 64)。(16mg, 60%收率)

¹H NMR(CD₃OD, 500 MHz) δ . . . 0.98-1.06 (m, 13 H), 1.13 (m, 1 H), 1.22-1.32 (m, 1 H), 1.35-1.44 (m, 1 H), 1.82 (dd, $J=8.24, 5.19$ Hz, 0.5 H),

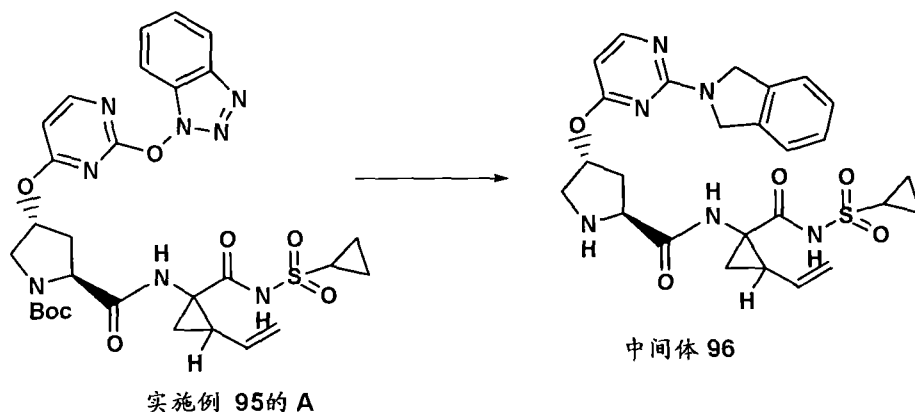
1.90 (dd, $J=8.24, 5.49$ Hz, 0.5 H), 2.26 (m, 1 H), 2.32-2.43 (m, 1 H), 2.56 (m, 1 H), 2.96 (m, 1 H), 3.11 (m, br, 2 H), 3.56 (s, 3 H), 4.14 (m, 1 H), 4.21 (m, 1 H), 4.38 (m, 1 H), 4.47 (m, 1 H), 5.15 (m, 1 H), 5.31 (m, 1 H), 5.75 (m, 1 H), 5.94 (s, 1 H), 6.47 (d, $J=7.02$ Hz, 1 H), 7.29 (s, 4 H), 7.49 (m, 1 H), 7.56 (m, 1 H), 7.74 (d, $J=8.24$ Hz, 1 H), 7.88 (d, $J=8.24$ Hz, 1 H), 8.11 (d, $J=7.02$ Hz, 1 H). MS m/z 724 (MH^+).

中间体 95 可用于制备通式 I 的化合物。



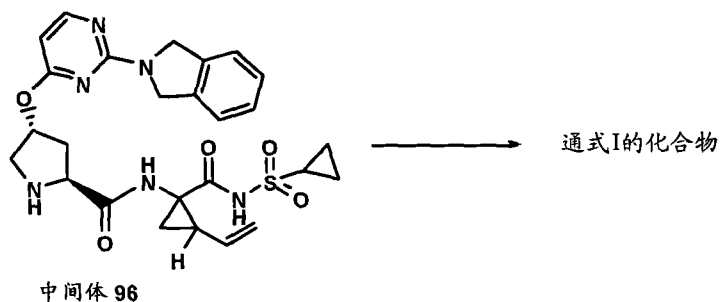
实施例 96

制备中间体 96



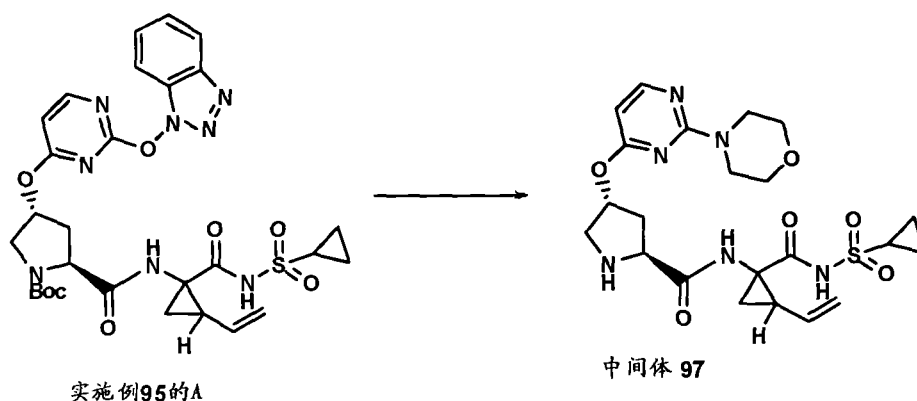
向 A(50mg, 0.061mmol)/CH₂Cl₂(2.5ml)的溶液中, 添加异吲哚啉(0.013mL, 0.115mmol)和 Et₃N(0.026mL, 0.19mmol)。在室温搅拌反应混合物 2 天。除去溶剂, 通过制备性 HPLC 提纯残余物, 得到无色油。然后将其溶于 4N HCl/二氧己环(1ml)中并且搅拌过夜。蒸发溶剂, 得到粗产物, 其再次通过制备性 HPLC 来提纯, 得到作为 TFA 盐的浅黄色固体。(8.5mg, 14%收率)。MS m/z 539 (MH^+)。

中间体 65 可用于制备通式 I 的化合物。



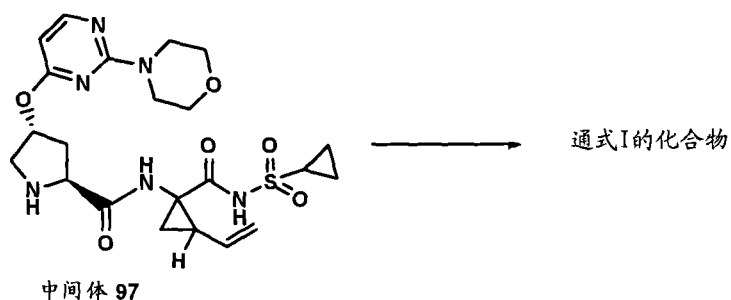
实施例 97

制备中间体 97



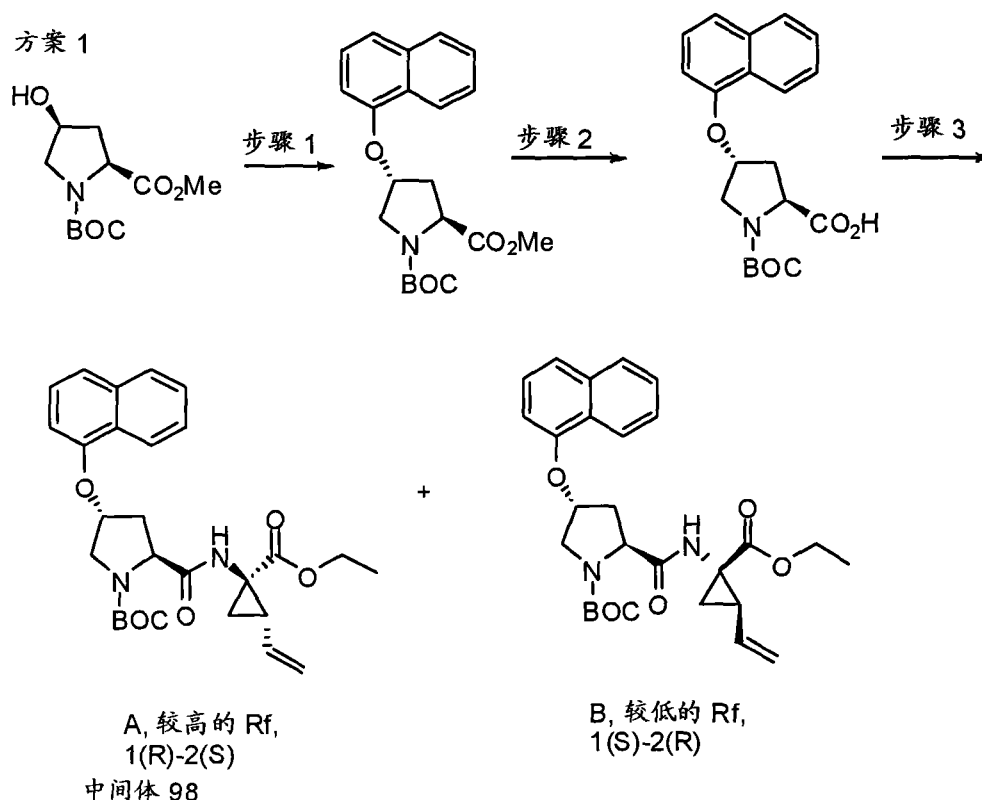
向实施例 95 的 A(50mg, 0.061mmol)/CH₂Cl₂(2.5ml)的溶液中, 添加吗啉(0.008mL, 0.0915mmol)和 Et₃N(0.021mL, 0.153mmol)。在室温搅拌反应混合物过夜并且在 40°C 搅拌 1 天。除去溶剂, 通过制备性 HPLC 提纯残余物, 得到无色油。然后将其溶于 4N HCl/二氧己环(1ml)中并且搅拌过夜。蒸发溶剂, 得到无色油, 形式为盐酸盐。(12.6mg, 36%收率); MS m/z 507 (MH⁺)。

中间体 66 可用于制备通式 I 的化合物。



实施例 98

制备中间体 98



步骤 1:

在 10 分钟内, 向市售可得的 N-Boc-(4s)-(顺式)-羟脯氨酸-OMe(200mg, 0.82 毫摩尔)、三苯基膦(320mg, 1.22 毫摩尔)和 1-萘酚(176mg, 1.22 毫摩尔)/2.5mL 四氢呋喃的溶液中, 滴加二乙基重氮二羧酸酯(190 μ l, 1.22 毫摩尔)/1.0mL THF 的溶液。搅拌 5.5 天后, 将反应物真空浓缩。在 20X40cm 制备性 TLC 板上对粗制的黄色油进行色谱分析 (Analtech SiO₂), 用 6-1 己烷-乙酸乙酯洗脱, 得到期望产物, 浅黄色油 (150mg, 33%)。

¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ 1.44 (s, 9H) 2.33 (1H, m), 2.72 (1H, m), 3.77 and 3.38 (2s, 3H, 旋转异构体), 3.88 (dd, 1H, J= 4.3, 12.4 Hz), 3.97 (bd, 1H), 4.53 and 4.62 (2t, 1H, J=7.8Hz, 旋转异构体), 5.10 (bd, 1H), 6.76 (t, 1H, J=9.5 Hz), 7.37 (m, 1H), 7.46 (m, 3H), 7.80 (d, 1H, J=7.7 Hz), 8.18 (m, 1H); MS m/z 394 (M+Na)⁺

步骤 2:

向搅拌的 Boc-(4R)-萘亚甲基-1-氧代)-Pro-OEt(150mg, 0.40 毫摩尔)/1.5mL THF 和 0.5mL 水的溶液中, 添加氢氧化锂(10mg)。在室温下搅拌溶液 21 小时, 然后用 0.5N NaHCO₃ 进行稀释。用乙酸乙酯萃取该碱性溶液, 然后酸化水层至 pH 值为 2, 这是通过滴加浓 HCl 实现的。然后再用乙酸乙酯萃取该酸化层。用硫酸镁干燥该第二乙酸乙酯层, 过

滤，然后真空浓缩，得到 Boc-(4R)-萘亚甲基-1-氧代)-Pro-OH，为淡粉红色晶体(147mg, 100%)。

^1H NMR (CDCl_3 , 500MHz) δ 1.47 and 1.48 (2s, 9H, rotamers), 2.40 and 2.52 (2m, 1H), 2.68 and 2.78 (2m, 1H), 3.78-4.07 (m, 2H), 4.57 and 4.69 (2t, 1H, $J=7.6$ and 8.0 Hz, rotamers), 5.12 (bd, 1H), 6.77 (dd, 1H, $J=7.6$, 21.2 Hz), 7.37 (m, 1H), 7.46 (m, 3H), 7.81 (t, 1H, $J=5.8$ Hz), 8.19 (m, 1H); MS m/z 358 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

步骤 3:

向 Boc-((4R)-萘亚甲基-1-氧代)-Pro-OH(147mg, 0.41 毫摩尔)和外消旋(1R/2S)/(1S/2R)-1-氨基-2-乙烯基环丙烷羧酸乙酯盐酸盐(79mg, 0.41 毫摩尔)/2.8ml 二氯甲烷的溶液中，添加 DIPEA(250 μl , 1.44 毫摩尔)和 TBTU(158mg, 0.49 毫摩尔)。在氮气下，搅拌所得溶液 20 小时，然后用 40ml 二氯甲烷稀释。有机层用水、1N NaHCO_3 、1N HCl 、水和盐水洗涤。然后使用硫酸钠和真空浓缩来干燥该溶液。通过制备性 TLC 来提纯，得到两种分离的非对映异构体，较高 R_f 的非对映异构体 A(P2[Boc(4R)-萘亚甲基-1-氧代)脯氨酸]-P1(1R,2S 乙烯基 Acca)-OEt, 78mg, 38%)和较低 R_f 的非对映异构体 B(P2[Boc(4R)-萘亚甲基-1-氧代)脯氨酸]-P1(1S,2R 乙烯基 Acca)-OEt, 91mg, 45%)，为灰白色固体：

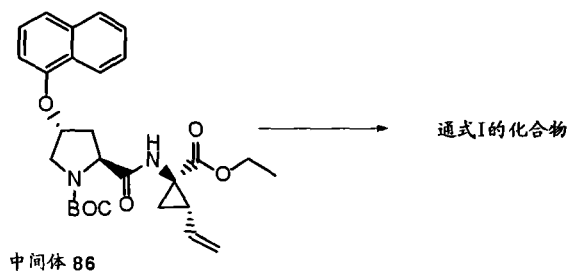
非对映异构体 A: P2[Boc(4R)-萘亚甲基-1-氧代)脯氨酸]-P1(1R,2S 乙烯基 Acca)-OEt: ^1H NMR (CDCl_3 , 500MHz) δ 1.24 (t, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.52 (m, 1H), 1.84 (m, 1H), 2.02 (m, 1H), 2.14 (m, 1H), 2.81 (m, 1H), 3.88 (m, 2H), 4.11 (q, 1H, $J=7.15$), 4.19 (m, 1H), 4.54 (m, 1H), 5.15 (m, 1H), 5.31 (dd, 1H, $J=17$, 0.8 Hz), 5.77 (m, 1H), 6.83 (m, 1H), 7.36 (t, 1H, $J=7.8$ Hz), 7.46 (m, 3H), 7.78 (d, 1H, $J=7.6$ Hz), 8.14 (d, 1H, $J=8.15\text{Hz}$);

MS m/z 495 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

非对映异构体 B，实施例 10B: P2[Boc(4R)-萘亚甲基-1-氧代)脯氨酸]-P1(1S,2R 乙烯基 Acca)-OEt: ^1H NMR (d1-CHCl_3 , 500MHz) δ 1.24 (t, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.85 (m, 1H), 2.15 (q, 1H, $J=8.9\text{Hz}$), 2.40 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 3.78 (m, 1H), 4.12 (m, 2H), 4.52 (m, 1H), 5.15 (m, 1H), 5.31 (m, 1H), 5.79 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 7.35 (t, 1H, $J=7.6$ Hz), 7.46 (m, 3H), 7.78 (d, 1H, $J=7.6$ Hz), 8.14 (d, 1H, $J=8.10$ Hz)。

MS m/z 495 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

中间体 98 可用于制备通式 I 的化合物。



生物学研究

在本公开内容中, 使用了 HCV NS3/4A 蛋白酶复合物酶分析和细胞型 HCV 复制子分析, 并且其制备、处理和确认如下:

重组体 HCV NS3/4A 蛋白酶复合物的产生

形成了 HCV NS3 蛋白酶复合物, 其衍生自 BMS 菌株、H77 菌株或者 J4L6S 菌株, 如下所述。形成了这些提纯的重组体蛋白质, 以供均质分析之用(见下文), 从而提供了本公开内容的化合物在抑制 HCV NS3 蛋白水解活性的有效性如何的指标。

来自 HCV 感染患者的血清获自 Dr. T. Wright, San Francisco Hospital。HCV 基因组(BMS 菌株)的设计的全长 cDNA(互补脱氧核糖核酸)模板是由 DNA 片段构造的, 所述 DNA 片段是通过血清 RNA(核糖核酸)的反转录-PCR(RT-PCR)并且使用根据其它基因型 1a 菌株之间的同源性选择的引子 (primer) 获得的。由整个基因组序列的测量结果, 基因型 1a 被分配给 HCV 离析物, 根据 Simmonds 等的分类法(参见 P Simmonds, KA Rose, S Graham, SW Chan, F McOmish, BC Dow, EA Follett, PL Yap and hours Marsden, J. Clin. Microbiol., 31(6), 1493-1503 (1993))。非结构区域 NS2-5B 的氨基酸序列显示出与 HCV 基因型 1a(H77)的相同度大于 97%, 并且与基因型 1b(J4L6S)的相同度为 87%。传染性克隆, H77(1a 基因型)和 J4L6S(1b 基因型)获自 R. Purcell (NIH), 并且该序列公开在 Genbank 中(AAB67036, 参见 Yanagi, M., Purcell, R.H., Emerson, S.U. and Bukh, J. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94(16), 8738-8743 (1997); AF054247, 参见 Yanagi, M., St Claire, M., Shapiro, M., Emerson, S.U., Purcell, R.H. and Bukh, J. Virology 244 (1), 161-172. (1998))。

H77 和 J4L6S 菌株用于生产重组体 NS3/4A 蛋白酶复合物。操控 DNA 编码这些菌株的重组体 HCV NS3/4A 蛋白酶复合物(氨基酸 1027-1711), 如 P. Gallinari 等所描述的(参见 Gallinari P, Paolini C, Brennan D, Nardi C, Steinkuhler C, De Francesco R. Biochemistry. 38(17): 5620-32,

(1999))。简而言之,在 NS4A 编码区的 3'-端,添加了三种赖氨酸增溶尾(solubilizing tail)。NS4A-NS4B 裂解位点的 P1 位置中的半胱氨酸(氨基酸 1711)被转变为甘氨酸,以避免赖氨酸标记的溶蛋白性裂解。此外,在氨基酸位置 1454 处,通过 PCR 而引入半胱氨酸至丝氨酸突变,从而防止 NS3 解旋酶域中的自溶性裂解。变体 DNA 片段在 pET21b 细菌表达载体中进行克隆(Novagen)并且 NS3/4A 复合物用大肠杆菌菌株 BL21(DE3)表达(Invitrogen),这遵循 P. Gallinari 等所述的实验设计(参见 Gallinari P, Brennan D, Nardi C, Brunetti M, Tomei L, Steinkuhler C, De Francesco R., J Virol. 72(8): 6758-69 (1998))以及适当修改。简而言之,NS3/4A 蛋白酶复合物表达在 20°C 用 0.5 毫摩(mM)异丙基 β -D-1-硫代半乳糖吡喃糖苷(IPTG)诱发 22 小时(h)。典型的发酵(1 升(L))获得大约 10 克(g)的湿细胞糊剂。这些细胞被再悬浮在溶胞缓冲剂(10mL/g)中,该缓冲剂包括 25mM N-(2-羟乙基)哌嗪-N'-(2-乙烷磺酸)(HEPES), pH 值 7.5, 20%丙三醇, 500mM 氯化钠(NaCl), 0.5% Triton X-100, 1 微克/毫升("µg/mL")溶菌酶, 5mM 氯化镁(MgCl₂), 1µg/mL DnaseI, 5mM β -巯基乙醇(β ME), 蛋白酶抑制剂-不含乙二胺四乙酸(EDTA)(Roche), 使其均化并且在 4°C 培养 20 分钟(min)。匀浆物进行声处理,通过超离心在 235000g 在 4°C 澄清 1 小时。将咪唑添加到上层清液中,使得最终浓度为 15mM,并且 pH 值被调节至 8.0。将粗制蛋白质萃取物加载到用缓冲剂 B(25mM HEPES, pH 值 8.0, 20%丙三醇, 500mM NaCl, 0.5% Triton X-100, 15mM 咪唑, 5mM β ME)预平衡过的镍-次氨基三乙酸(Ni-NTA)柱上。样品加载的流速为 1mL/min。柱用 15 柱体积的缓冲剂 C(与缓冲剂 B 相同,区别在于 0.2% Triton X-100)洗涤。蛋白质用 5 柱体积的缓冲剂 D(与缓冲剂 C 相同,区别在于用 200mM 咪唑)洗脱。

将含 NS3/4A 蛋白酶复合物的级分集中,并且加载到用缓冲剂 D(25mM HEPES, pH 值 7.5, 20%丙三醇, 300mM NaCl, 0.2% Triton X-100, 10mM β ME)预平衡过的脱盐柱 Superdex-S200 上。样品加载的流速为 1mL/min。将含 NS3/4A 蛋白酶复合物的级分集中并且浓缩至大约 0.5mg/ml。衍生自 BMS、H77 和 J4L6S 菌株的 NS3/4A 蛋白酶复合物的纯度,通过 SDS-PAGE 和质谱分析被判断为大于 90%。酶在 -80°C 存储,在冰上融解并且在使用前在分析缓冲剂中稀释。

FRET 肽分析以监控 HCV NS3/4A 蛋白质分解活性

这种体外分析的目的在于测量本公开内容的化合物对如上所述衍生自 BMS 菌株、H77 菌株或者 J4L6S 菌株的 HCV NS3 蛋白酶复合物的抑制作用。这种分析提供了一种本公开内容的化合物在抑制 HCV NS3 蛋白质分解活性方面效果如何的指标。

为了监控 HCV NS3/4A 蛋白酶活性，使用 NS3/4A 肽底物。该底物是 RET S1(Resonance Energy Transfer Depsipeptide Substrate; AnaSpec, Inc. cat # 22991) (FRET 肽)，其在 Anal. Biochem. 240(2): 60-67(1996)中由 Taliani 等人进行了描述。这种肽的序列大概基于 HCV NS3 蛋白酶的 NS4A/NS4B 天然裂解位点，不同之处在于在裂解位点处是酯键而不是酰胺键。该肽还包含荧光供体，EDANS，其靠近肽的一端，和受体，DABCYL，其靠近另一端。通过供体和受体之间的分子间共振能量传递 (RET) 来淬灭肽的荧光，但是当 NS3 蛋白酶使肽裂解时，产物从 RET 淬灭中释放并且供体的荧光变得明显。

在本公开内容化合物的不存在或存在的情况下，用三个重组体 NS3/4A 蛋白酶复合物中的一个培养肽底物。使用 Cytofluor Series 4000，通过实时监控荧光反应产物的形成来测定化合物的抑制效果。

化学试剂如下：HEPES 和丙三醇(超纯)，获自 GIBCO-BRL。二甲亚砜(DMSO)，获自 Sigma。 β -巯基乙醇，获自 Bio Rad。

分析缓冲剂：50mM HEPES，pH 值 7.5；0.15M NaCl；0.1% Triton；15%丙三醇；10mM β ME。底物：2 μ M 最终浓度(获自在-20 $^{\circ}$ C 存储的 DMSO 中的 2mM 储备溶液)。HCV NS3/4A 蛋白酶类型 1a(1b)，2-3nM 最终浓度(获自 25mM HEPES 中的 5 μ M 储备溶液，pH 值 7.5，20%丙三醇，300 mM NaCl，0.2% Triton-x100，10mM β ME)。对于具有接近分析极限的潜能的化合物来说，通过将 50 μ g/mL 牛血清清蛋白(Sigma)添加到分析缓冲剂中并且将末端蛋白酶浓度降低到 300pM，使得分析更加敏感。

分析在 96 孔的聚苯乙烯黑色板(获自 Falcon)中进行。各个孔含有 25 μ L NS3/4A 蛋白酶复合物/分析缓冲剂、50 μ L 的本公开内容的化合物/10% DMSO/分析缓冲剂和 25 μ L 底物/分析缓冲剂。在相同的分析板上，还制备了对照物(不含化合物)。将酶复合物与化合物或者对照物溶液混合达 1 分钟，然后通过添加底物开始酶促反应。使用 Cytofluor Series 4000(Perspective Biosystems)，即刻读取分析板。对装置进行设置，以在 25 $^{\circ}$ C，读取 340nm 的发射和 490nm 的激发。反应通常进行大约 15 分钟。

用以下公式计算抑制百分比:

$$100 - [(\delta F_{\text{inh}} / \delta F_{\text{con}}) \times 100]$$

其中 δF 是在曲线的线性范围内荧光的变化。对抑制-浓度数据应用非线性曲线拟合, 通过利用 Excel XLfit 软件, 使用以下公式来计算 50% 有效浓度(IC_{50}):

$$y = A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D)))$$

发现所检测的全部化合物, 借助 $8\mu\text{M}$ 或以下的 IC_{50} 's, 抑制了 NS3/4A 蛋白酶复合物的活性。进一步地发现, 本公开内容的化合物, 其相对于一类以上的 NS3/4A 复合物进行检测, 具有类似的抑制性能, 但这些化合物显示出更大的对抗 1b 菌株的潜能, 相比于对抗 1a 菌株而言。

特异性分析

进行特异性分析以便显示, 相比于其它丝氨酸或者半胱氨酸蛋白酶而言, 本公开内容的化合物在抑制 HCV NS3/4A 蛋白酶复合物的体外选择性。

测定了本公开内容的化合物对抗各种丝氨酸蛋白酶的特异性: 人嗜中性弹性酶(HNE)、猪胰腺弹性酶(PPE)和人胰腺糜蛋白酶和一种巯基蛋白酶: 人肝脏组织蛋白酶 B。在全部情况中, 使用了 96 孔板形式的实验设计, 对于每一酶使用特定的比色对硝基苯胺(pNA)底物或者荧光氨基-甲基-香豆素(AMC)底物, 如现有技术(PCT 专利申请, 公开号 WO 00/09543)以及一些变体所述。全部酶购自 Sigma 或者 EMDbiosciences, 而底物获自 Bachem。

各个 pNA 分析包括: 在室温下 2 小时酶-抑制剂预培养, 随后添加底物, 水解至约 15% 的转化, 如在 Spectramax Pro 微板读取器上测量的。在室温下, 通过将底物添加到 10 分钟酶-抑制剂预培养物中来启动组织蛋白酶 B 的分析, 并且使用 Cytofluor Series 4000 即刻测量分析板。化合物浓度从 100 到 $0.4\mu\text{M}$ 变化, 这取决于它们的潜能。

各个分析的最终条件如下:

50mM 三(羟基甲基)氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)pH 值为 8, 0.5M 硫酸钠(Na_2SO_4), 50mM NaCl, 0.1mM EDTA, 3% DMSO, 0.01% 吐温 20, 和:

133 μM succ-AAA-pNA 和 20nM HNE 或 8nM PPE; 100 μM succ-AAPF-pNA 和 250pM 糜蛋白酶。

100mM NaHPO₄(磷酸氢钠)pH 值 5.5, 3% DMSO, 1mM TCEP(三(2-羧乙基)膦盐酸盐), 5nM 组织蛋白酶 B(酶原料在含 20mMTCEP 的缓冲剂中进行活化, 然后使用), 和 2μM Z-FR-AMC(稀释于 H₂O 中)。

使用以下公式计算抑制百分比:

$$[1 - ((UV_{inh} - UV_{空白}) / (UV_{ctl} - UV_{空白}))] \times 100$$

对抑制-浓度数据应用非线性曲线拟合, 通过利用 Excel XLfit 软件来计算 50%有效浓度(IC₅₀)。

HCV 复制子的形成

如 Lohmann V, Korner F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R., Science 285(5424): 110-3 (1999)所述, 建立了 HCV 复制子的全细胞系统。该系统使得我们可以评估我们的 HCV 蛋白酶化合物对 HCV RNA 复制的作用。简而言之, 使用 HCV 菌株 1b 序列, 其描述于 Lohmann 论文(登记号: AJ238799)中, 由 Operon Technologies, Inc. (Alameda, CA)合成 HCV cDNA, 然后使用标准分子生物学技术在质粒 pGem9zf(+) (Promega, Madison, WI)中组装全长复制子。复制子包括 (i)HCV 5' UTR, 其融合到衣壳蛋白质的前 12 个氨基酸, (ii)新霉素磷酸转移酶基因(neo), (iii)来自脑心肌炎病毒(EMCV)的 IRES, 和(iv)HCV NS3-NS5B 基因和 HCV 3' UTR。借助 ScaI 使质粒 DNA 线性化并且使用 T7 MegaScript 转录工具(Ambion, Austin, TX), 根据制造商的指导说明, 在体外合成 RNA 转录产物。cDNA 的体外转录产物被转入到人肝癌细胞系, HUH-7。在选择性标记——新霉素(G418)存在下, 实现了基本上表达 HCV 复制子的细胞的选择。所得的细胞系表征了随时间的正链和负链 RNA 生产和蛋白质生产。

HCV 复制子 FRET 分析

进行了 HCV 复制子 FRET 分析以便监控本公开内容中描述的化合物对 HCV 病毒复制的抑制效果。HUH-7 细胞, 基本表达 HCV 复制子, 生长于 Dulbecco 改进的 Eagle 培养基(DMEM)(Gibco-BRL)中, 该培养基包含 10%胎牛血清(FCS)(Sigma)和 1mg/ml G418(Gibco-BRL)。在 96 孔组织培养无菌板中, 天黑前进行细胞接种(1.5×10^4 细胞/孔)。在 DMEM 中制备化合物和不含化合物的对照物, 所述 DMEM 包含 4%FCS、1:100 青霉素/链霉素(Gibco-BRL)、1:100L-谷氨酰胺和 5% DMSO/稀释板(在分析中 DMSO 最终浓度为 0.5%)。化合物/DMSO 混合物被添加到细胞并且

在 37°C 培养 4 天。4 天后, 首先使用 alamar Blue (Trek Diagnostic Systems) 进行 CC_{50} 读数, 以评估细胞的细胞毒性。通过将 1/10 体积的 alamar Blue 添加到培养细胞的介质中, 确定化合物的毒性 (CC_{50})。4 小时后, 借助 530nm 处的激发波长和 580nm 的发射波长, 使用 Cytofluor Series 4000 (Perspective Biosystems), 读取各个孔的荧光信号。然后, 用磷酸缓冲盐水 (PBS) 充分地洗涤板 (3 次 $\times$ 150 μ l)。用 25 μ L 的溶胞分析化学试剂使细胞溶胞, 所述溶胞分析化学试剂包含 HCV 蛋白酶底物 (5 $\times$ 细胞荧光素酶细胞培养溶胞化学试剂) (Promega # E153A), 其用蒸馏水稀释 1 $\times$, 加入 NaCl 至最终 150mM, FRET 肽底物 (如上述酶分析所述的) 在 100% DMSO 中从原料的 2mM 稀释到最终的 10 μ M。然后将板置于 Cytofluor 4000 装置中, 后者已被设置为 340nm 激发/490nm 发射, 自动模式, 21 次循环, 以动力学方式对板读数。如 IC_{50} 测量所述, 进行 EC_{50} 测量。

HCV 复制子荧光素酶指针分析

作为辅助的分析, 在复制子荧光素酶指针分析中证实了来自复制子 FRET 分析的 EC_{50} 测量结果。Krieger 等首先描述了复制子荧光素酶指针分析的应用 (Krieger N, Lohmann V, and Bartenschlager R, J. Virol. 75(10): 4614-4624 (2001))。对于我们的 FRET 分析所描述的复制子结构是通过如下方式改变的: 插入 cDNA, 其编码了人化形式的 Renilla 荧光素酶基因, 和联结子序列, 其直接融合到荧光素酶基因的 3'-末端。使用位于核心中的 AscI 限制性位点将这种插入物引入到复制子结构中, 直接位于新霉素标记基因的上游。还引入了位置 1179 处的适应性突变 (丝氨酸至异亮氨酸) (Blight KJ, Kolykhalov, AA, Rice, CM, Science 290(5498): 1972-1974)。如上所述, 形成基本上表达这种 HCV 复制子结构的稳定的细胞系。借助以下变体, 如就 HCV 复制子 FRET 分析所述的, 建立了荧光素酶指针分析。在 37°C/5% CO_2 培养箱中 4 天后, 使用 Promega Dual-Glo 荧光素酶分析系统, 分析细胞的 Renilla 荧光素酶活性。从含细胞的各个孔中去除介质 (100 μ l)。向剩余 50 μ L 的介质中, 添加 50 μ L 的 Dual-Glo 荧光素酶化学试剂, 在室温下将各板摇晃 10 分钟-2 小时。然后将 Dual-Glo Stop&Glo 化学试剂 (50 μ l) 添加到各个孔中, 在室温下再次摇晃各板另外的 10 分钟至 2 小时。使用发光程序, 在 Packard TopCount NXT 上对各个板读数。

使用以下公式计算抑制百分比:

$$\% \text{对照物} = \frac{\text{实验孔中的平均萤光素酶信号(+化合物)}}{\text{DMSO 对照孔中的平均萤光素酶信号(-化合物)}}$$

将各值绘制成曲线，使用 XLfit 分析，从而获得 EC₅₀ 值。

在 HCV 酶分析、HCV 复制子细胞分析和/或在多个概述的特异性分析中，评估本公开内容的代表性化合物。例如，在酶分析中，发现化合物 56 对抗 NS3/4A BMS 菌株的 IC₅₀ 为 99 纳摩尔(nM)。借助公开的 H77(17nM 的 IC₅₀)和 J4L6S(9.8nM 的 IC₅₀)菌株，获得了类似的潜能值。在复制子 FRET 分析中，EC₅₀ 值是 742nM，在复制子萤光素酶分析中，EC₅₀ 值是 247nM。

在特异性分析中，发现相同的化合物具有以下活性：HLE>100μM；PPE>100μM；糜蛋白酶>100μM；组织蛋白酶 B>100μM。这些结果表明，该类化合物对于 NS3 蛋白酶是高度特异性的并且这些要素中的许多抑制了 HCV 复制子的复制。

检测了本公开内容的化合物并发现具有如下范围内的活性：

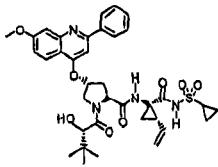
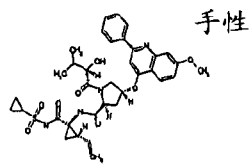
IC₅₀ 活性范围(对于所检测的化合物)：A>1μM；B 为 0.1-1μM；C<0.1

EC₅₀ 活性范围(NS3/4A BMS 菌株)：A>5μM；B 为 0.5-5μM；C<0.5μM

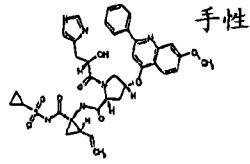
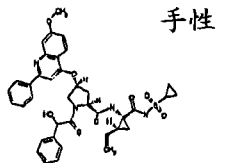
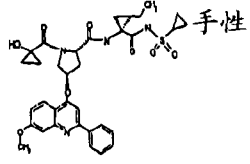
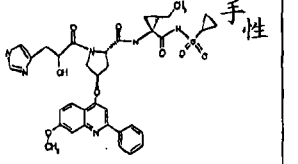
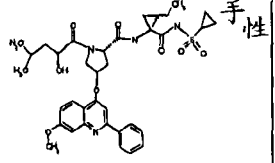
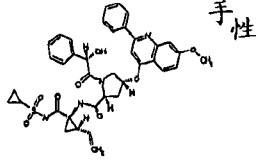
根据本公开内容的一种实施方案，所述化合物的生物活性(EC₅₀)为 5μM 或以下，而在另一实施方案中，为 0.5μM 或以下。

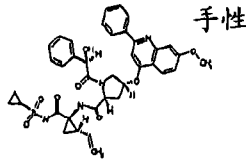
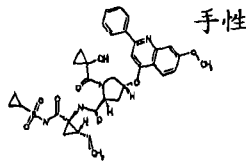
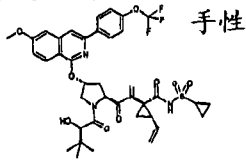
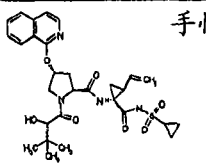
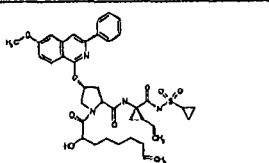
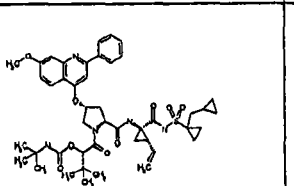
表 1 显示了典型的化合物的 IC₅₀ 和 EC₅₀ 值。可以通过遵循实施例和方案中所述的方法，替换合适的原料来制备未包含在前述实施例中的那些实施例。

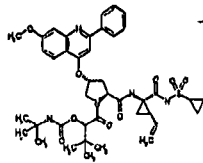
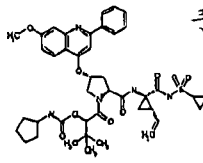
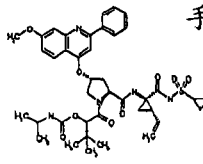
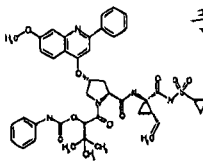
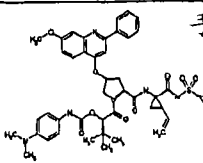
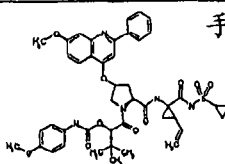
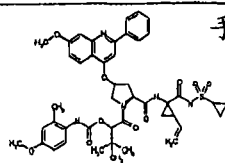
表 1：典型的化合物的生物学数据

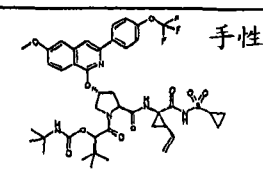
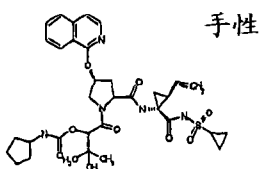
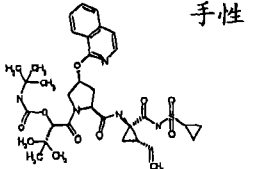
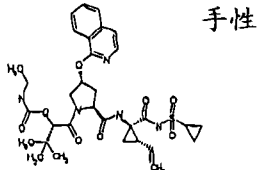
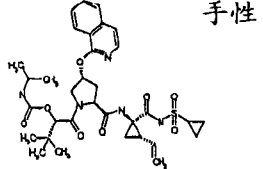
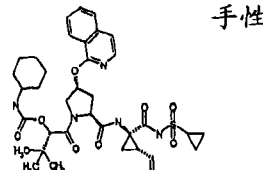
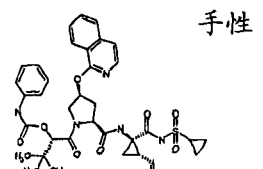
实施例	结构	IC ₅₀ 范围	EC ₅₀ 范围
实施例 4, 化合物 8		C	B
实施例 4, 化合物 5		C	B

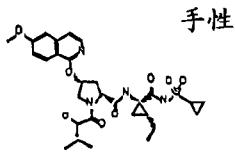
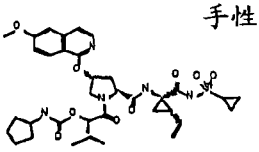
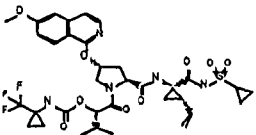
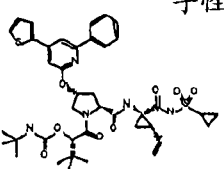
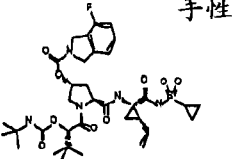
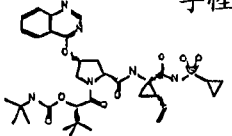
实施例	结构	IC ₅₀ 范围	EC ₅₀ 范围
实施例 10	 手性	C	B
实施例 11	 手性	C	B
实施例 12	 手性	C	B
实施例 4, 化合物 4	 手性	C	B
实施例 4, 化合物 6	 手性	C	B
实施例 13	 手性	C	B
实施例 4, 化合物 2	 手性	B	B

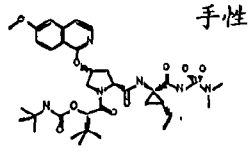
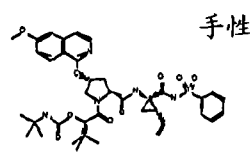
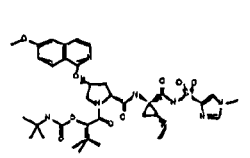
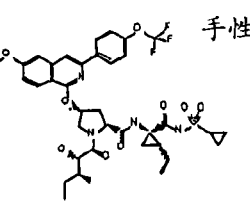
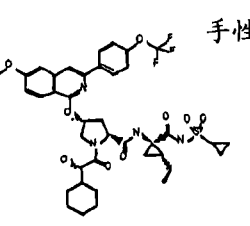
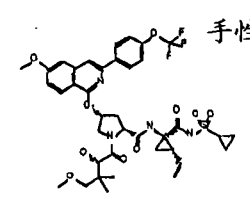
实施例	结构	IC50 范围	EC50 范围
实施例 4, 化合物 3		B	A
实施例 14		B	A
实施例 15		B	B
实施例 16		B	A
实施例 17		B	B
实施例 4, 化合物 1		B	A

实施例	结构	IC50 范围	EC50 范围
实施例 18		B	A
实施例 19		B	--
实施例 20		C	B
实施例 8		B	B
实施例 21		B	--
实施例 22		C	B

实施例	结构	IC50 范围	EC50 范围
实施例 5, 化合物 1	 手性	C	C
实施例 5, 化合物 3	 手性	C	C
实施例 5, 化合物 2	 手性	C	C
实施例 5, 化合物 4	 手性	C	C
实施例 5, 化合物 7	 手性	B	B
实施例 5, 化合物 5	 手性	B	B
实施例 5, 化合物 6	 手性	B	B

实施例	结构	IC50 范围	EC50 范围
实施例 23	 手性	C	B
实施例 9	 手性	B	B
实施例 24	 手性	B	B
实施例 25	 手性	B	B
实施例 26	 手性	B	B
实施例 27	 手性	C	B
实施例 28	 手性	B	B

实施例	结构	IC50 范围	EC50 范围
实施例 52 化合物 52	 手性	B	A
实施例 53 化合物 53	 手性	A	A
实施例 54 化合物 54		B	B
实施例 55 化合物 55	 手性	C	B
实施例 56 化合物 56	 手性	C	B
实施例 57 化合物 57	 手性	B	B

实施例	结构	IC50 范围	EC50 范围
实施例 58 化合物 58		C	B
实施例 59 化合物 59		B	B
实施例 60 化合物 60		A	A
实施例 61 化合物 61		B	B
实施例 62 化合物 62		B	B
实施例 63 化合物 63		C	B

对于本领域技术人员显而易见的是，本公开内容不局限于上述示意性实施例，在不背离其本质性质的情况下，它可以以其它特定的形式表

现。因此期望的是全面地考虑各个实施例，如对所附权利要求而非上述实施例进行说明性的而非限制性的参考，并且落入权利要求等价物的涵义和范围内的全部变化因此旨在包含于其中。