

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021年4月1日 (01.04.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/058024 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 491/107 (2006.01) A61K 31/435 (2006.01)
C07D 205/04 (2006.01) A61K 31/13 (2006.01)
C07C 217/74 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07D 207/14 (2006.01)

LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/118824

(22) 国际申请日: 2020年9月29日 (29.09.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201910935182.4 2019年9月29日 (29.09.2019) CN
202010838523.9 2020年8月19日 (19.08.2020) CN

(71) 申请人: 南京明德新药研发有限公司(MEDSHINE DISCOVERY INC.) [CN/CN]; 中国江苏省南京市江北新区高新路9号商务办公楼218室, Jiangsu 210032 (CN)。

(72) 发明人: 吴凌云(WU, Lingyun); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。 展震(ZHAN, Zhen); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。 钱蕙(QIAN, Yi); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。 王君为(WANG, Junwei); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。 陈曙辉(CHEN, Shuhui); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。

(74) 代理人: 上海弼兴律师事务所 (SHANGHAI BESHINING LAW OFFICE); 中国上海市小木桥路681号外经大厦21楼, Shanghai 200032 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK,

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

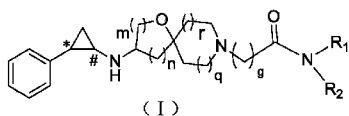
- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: LSD1 INHIBITOR

(54) 发明名称: LSD1抑制剂



(I)

(57) Abstract: Provided are a class of heterospirocyclic compound which act as a lysine-specific demethylase 1 (LSD1) inhibitor, and a use thereof in the preparation of a drug for treating diseases associated with LSD1. The heterospirocyclic compounds are compounds as shown in formula (I), and an isomer and pharmaceutically acceptable salt thereof.

(57) 摘要: 一类作为赖氨酸特异性去甲基化酶1(LSD1)抑制剂的杂螺环化合物, 及其在制备治疗与LSD1相关疾病的药物中的应用。所述杂螺环化合物是式(I)所示化合物、其异构体及其药学上可接受的盐。



WO 2021/058024 A1

LSD1 抑制剂

本申请主张如下优先权：

CN201910935182.4, 申请日：2019.09.29;

CN202010838523.9, 申请日：2020.08.19。

技术领域

本发明涉及一类作为赖氨酸特异性去甲基化酶 1 (LSD1) 抑制剂的杂螺环化合物, 及其在制备治疗与 LSD1 相关疾病的药物中的应用。具体涉及式 (I) 所示化合物、其异构体及其药学上可接受的盐。

背景技术

组蛋白翻译后修饰包括甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等过程, 是表观遗传学的重要调控手段, 通过改变染色质结构影响基因表达[Xueshun Wang, Boshi Huang, Takayoshi Suzuki et al., *Epigenomics*, 2015, 1379-1396;]。尽管这些修饰并不改变 DNA 的基础序列, 但这种表观遗传的变化可能通过细胞分裂在整个细胞生命周期或者细胞迭代过程持续存在 [Adrian Bird, *Nature*, 2007, 396-398]。因此表观遗传学功能异常与各种疾病的病理过程密切相关[James T Lynch, William J Harris & Tim C P Somervaille, *Expert Opin. Ther. Targets*, 2012, 1239-1249], 比如各种实体瘤, 血液瘤, 病毒感染, 神经系统异常等疾病。因此, 表观遗传学现在成为药物研发领域的研究热点。组蛋白的甲基化状态由组蛋白甲基转移酶和组蛋白去甲基化酶共同调控。赖氨酸特异性去甲基化酶 (Lysine specific demethylase 1, LSD1, 又名 KDM1A) 是第一个被报道的组蛋白赖氨酸去甲基化酶, 通过调控组蛋白赖氨酸的甲基化状态, 广泛参与转录调控, 影响细胞增殖和分化、胚胎干细胞多能性等诸多生理过程。[Yujiang Shi, Fei Lan, Caitlin Matson et al., *Cell*, 2004, 941-953] [Daniel P. Mould, Alison E. McGonagle, Daniel H. Wiseman et al., *Medicinal Research Reviews*, 2015, 586-618]。LSD1 结构包括三个主要部分: N-末端的 SWIRM 结构域, C-末端的氨基氧化酶结构域 (AOL) 和中央的 Tower 域。[Ruchi Anand, Ronen Marmorstein, *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 35425-35429]。C-末端的氨基氧化酶结构域包括两个活性口袋, 一个是 FAD 结合的位点, 另一个是用于识别并与底物结合的位点[Pete Stavropoulos, Günter Blobel, André Hoelz, *Nature Structural & Molecular Biology*, 2006, 626-632]。SWIRM 结构域的功能还没有明确的结论, 它不直接参与 FAD 或者底物的结合, 但是这个区域的突变或者是去除都会降低 LSD1 的活性, 因此推测该区域可能是通过调整构象, 影响活性区域的作用。[Yong Chen, Yuting Yang, Feng Wang et al., *Biochemistry*, 2006, 13956-13961]。Tower 结构域是 LSD1 与其他蛋白因子的结合域。LSD1 与不同蛋白因子相结合后, 作用于不同底物, 从而对组蛋白以及基因表达起到不同的调控作用。比如 LSD1 与 CoREST 相结合后, 会优先作用于组蛋白 H3K4, 通过去甲基化, 去除激活相关的组蛋白标记, 抑制基因转录; 而与雄激素受体蛋白结合后, 重组的 LSD1 会优先作用于 H3K9, 通过去甲基化激活雄激素受体相关的基因转录 [Ruchi Anand, Ronen Marmorstein, *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 35425-35429; Eric Metzger,

Melanie Wissmann, Na Yin et al., Nature, 2005, 436-439.]. 此外, LSD1 还调控部分非组蛋白底物的甲基化状态, 包括抑癌基因 p53 和 DNA 甲基转移酶 1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1) 等[Yi Chao Zheng, Jinlian Ma, Zhiru Wang, Medicinal Research Reviews, 2015, 1032-1071].

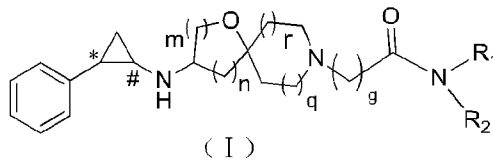
LSD1 是 FAD 依赖的氨基氧化酶, 其中质子转移被认为是其最可能的氧化机理[Zheng Y C, Yu B, Chen Z S, et al. Epigenomics, 2016, 8, 651-666.]. 首先通过质子转移, 将底物的 N-CH₃ 键转化成亚胺键, 这个亚胺离子中间体发生水解反应, 一边生成去甲基的胺, 另一边生成甲醛。在这个催化循环过程中, FAD 被还原成 FADH₂, 随后又被一分子的氧气氧化回到 FAD, 同时生成一分子 H₂O₂ [Yujiang Shi, Fei Lan, Caitlin Matson, Cell, 2004, 941-953].

LSD1 在多种不同类型的肿瘤中异常表达。LSD1 在急性髓性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 亚型中高表达, 是维持白血病干细胞 (leukemia stem cell, LSC) 潜能的重要因素。LSD1 在多种实体瘤如肺癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌和胰腺癌中高表达, 与肿瘤的预后不良密切相关。LSD1 抑制钙粘蛋白的表达, 与肿瘤的侵袭和上皮-间质转移 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 密切相关[Hosseini A, Minucci S. Epigenomics, 2017, 9, 1123-1142.].

LSD1 抑制剂目前没有药物获批上市, 已有 8 个药物处于临床研究阶段, 主要用于血液肿瘤、小细胞肺癌和尤文氏肉瘤等疾病的治疗。然而, 面对巨大的未满足市场, 该领域仍然需要活性更好, 药代动力学参数更优的候选化合物推进临床试验, 以满足治疗需求。

发明内容

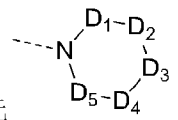
本发明提供了式 (I) 化合物、其异构体或其药学上可接受的盐,



其中,

R₁ 为 C₁₋₃ 烷基、C₃₋₇ 环烷基、4-7 元杂环烷基、苯基、-C₁₋₃ 烷基-C₃₋₇ 环烷基、-C₁₋₃ 烷基-4-7 元杂环烷基、-C₁₋₃ 烷基-苯基或-C₁₋₃ 烷基-5-6 元杂芳基, 其中所述 C₁₋₃ 烷基、C₃₋₇ 环烷基、4-7 元杂环烷基、苯基、-C₁₋₃ 烷基-C₃₋₇ 环烷基、-C₁₋₃ 烷基-苯基或-C₁₋₃ 烷基-5-6 元杂芳基任选被 1、2 或 3 个 R_a 取代;

R₂ 为 H 或 C₁₋₃ 烷基;



或者, R₁ 和 R₂ 与其所连接的 N 原子连接一起形成结构单元

D₁ 为单键、O、N(R_{d11})或 C(R_{d12})₂;

D₂ 为 O、N(R_{d21})或 C(R_{d22})₂;


D₃ 为 O、S(=O)₂、N(R_{d31})或 C(R_{d32})₂;

D₄ 为 O、N(R_{d41})或 C(R_{d42})₂;

D₅ 为单键、O、N(R_{d51})或 C(R_{d52})₂;

R_{d11}、R_{d21}、R_{d31}、R_{d41} 和 R_{d51} 分别独立地为 H 或 C₁₋₃ 烷基;

R_{d12}、R_{d22}、R_{d32}、R_{d42} 和 R_{d52} 分别独立地为 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、COOH 或 C₁₋₃ 烷基;

R_a 为 F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、COOH、 或 C₁₋₃ 烷基, 其中所述 C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代;

R 选自 F、Cl、Br、I、OH 和 NH₂;

m 为 0、1 或 2;

n 为 0、1 或 2, 且 m 和 n 不能同时为 0;

r 为 0 或 1;

q 为 0 或 1;

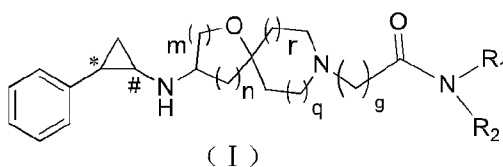
g 为 1、2 或 3;

所述 5-6 元杂芳基包含 1、2、3 或 4 个独立选自-NH-、-O-、-S-和 N 的杂原子或杂原子团;

带“*”碳原子为手性碳原子, 以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在;

带“#”碳原子为手性碳原子, 以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在。

本发明还提供了式 (I) 化合物、其异构体或其药学上可接受的盐,

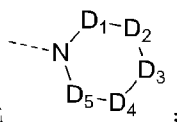


其中,

R₁ 为 C₁₋₃ 烷基、C₃₋₇ 环烷基、4-7 元杂环烷基、苯基、-C₁₋₃ 烷基-C₃₋₇ 环烷基、-C₁₋₃ 烷基-4-7 元杂环烷基、-C₁₋₃ 烷基-苯基或-C₁₋₃ 烷基-5-6 元杂芳基, 其中所述 C₁₋₃ 烷基、C₃₋₇ 环烷基、4-7 元杂环烷基、苯基、-C₁₋₃ 烷基-C₃₋₇ 环烷基、-C₁₋₃ 烷基-苯基或-C₁₋₃ 烷基-5-6 元杂芳基任选被 1、2 或 3 个 R_a 取代;

R₂ 为 H 或 C₁₋₃ 烷基;

或者, R₁ 和 R₂ 与其所连接的 N 原子连接一起形成结构单元



D₁ 为单键、O、N(R_{d11})或 C(R_{d12})₂;

D₂ 为 O、N(R_{d21})或 C(R_{d22})₂;


D₃ 为 O、N(R_{d31})或 C(R_{d32})₂;

D₄ 为 O、N(R_{d41})或 C(R_{d42})₂;

D₅ 为单键、O、N(R_{d51})或 C(R_{d52})₂;

R_{d11}、R_{d21}、R_{d31}、R_{d41} 和 R_{d51} 分别独立地为 H 或 C₁₋₃ 烷基;

R_{d12}、R_{d22}、R_{d32}、R_{d42} 和 R_{d52} 分别独立地为 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、COOH 或 C₁₋₃ 烷基;

R_a 为 F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、COOH、 或 C₁₋₃ 烷基, 其中所述 C₁₋₃ 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代;

R 选自 F、Cl、Br、I、OH 和 NH₂;

m 为 0、1 或 2;

n 为 0、1 或 2, 且 m 和 n 不能同时为 0;

r 为 0 或 1;


q 为 0 或 1;


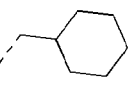

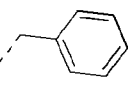
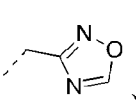
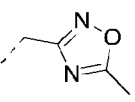
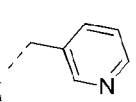

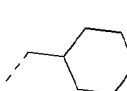

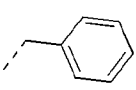
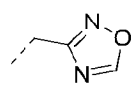
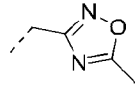
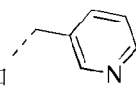
g 为 1、2 或 3;



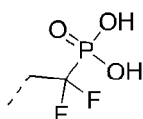

所述 5-6 元杂芳基和 4-7 元杂环烷基分别包含 1、2、3 或 4 个独立选自 -NH-、-O-、-S-和 N 的杂原子或杂原子团;

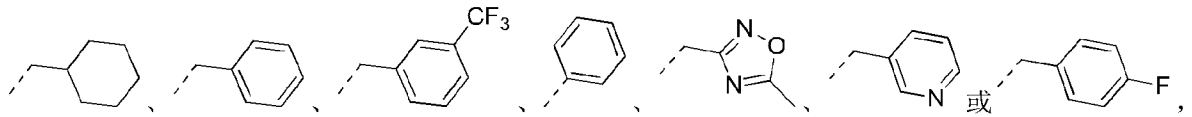
带“*”碳原子为手性碳原子, 以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在;

带“#”碳原子为手性碳原子, 以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在。

本发明的一些方案中, 上述 R_a 为 F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、COOH、、CH₃ 或 CF₃, 其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中, 上述 R₁ 为 CH₃、-CH₂-CH₃、、、、、、 或 , 其中所述 CH₃、-CH₂-CH₃、、、、、、 和  任选被 1、2 或 3 个 R_a 取代, 其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中, 上述 R₁ 为 CH₃、-CH₂-COOH、、、、、

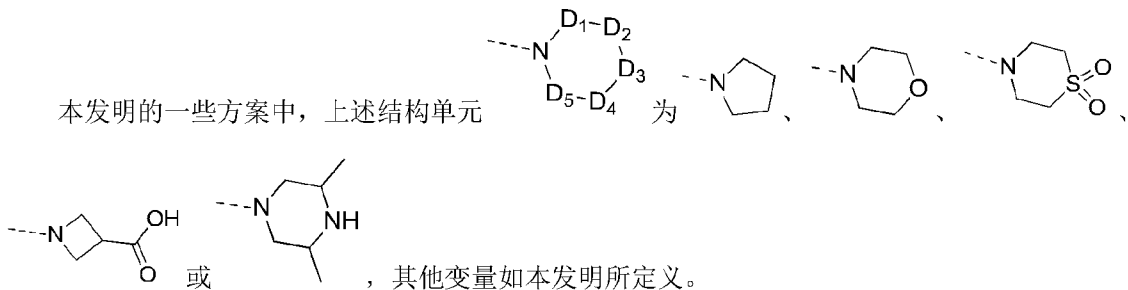
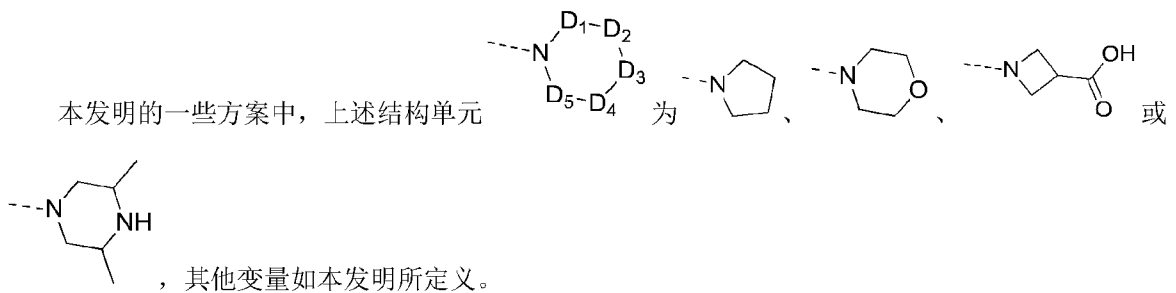
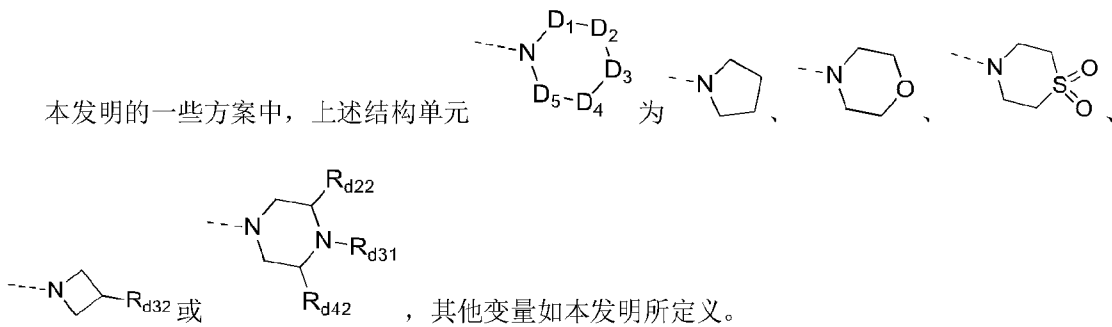
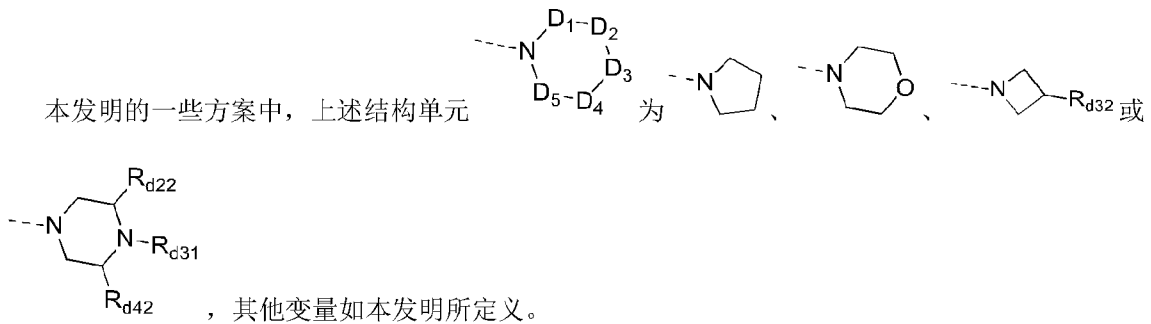


其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述 R₂ 为 H 或 CH₃，其他变量如本发明所定义。

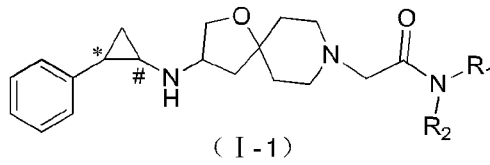
本发明的一些方案中，上述 R_{d11}、R_{d21}、R_{d31}、R_{d41} 和 R_{d51} 分别独立地为 H 或 CH₃，其他变量如本发明所定义。

本发明的一些方案中，上述 R_{d12}、R_{d22}、R_{d32}、R_{d42} 和 R_{d52} 分别独立地为 H、F、Cl、Br、I、OH、NH₂、CN、COOH 或 CH₃，其他变量如本发明所定义。



本发明还有一些方案是由上述各变量任意组合而来。

本发明的一些方案中，上述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自

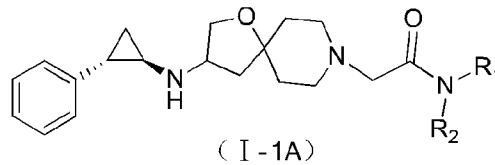


其中，R₁ 和 R₂ 如本发明所定义；

带“*”碳原子为手性碳原子，以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在；

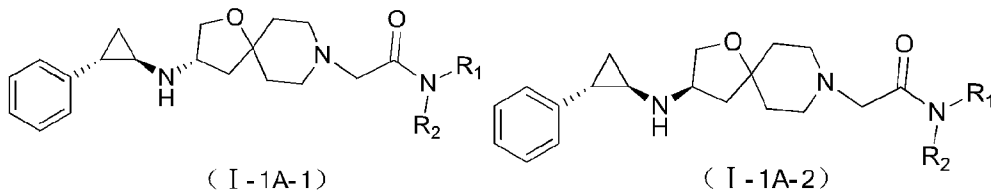
带“#”碳原子为手性碳原子，以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在。

本发明的一些方案中，上述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自



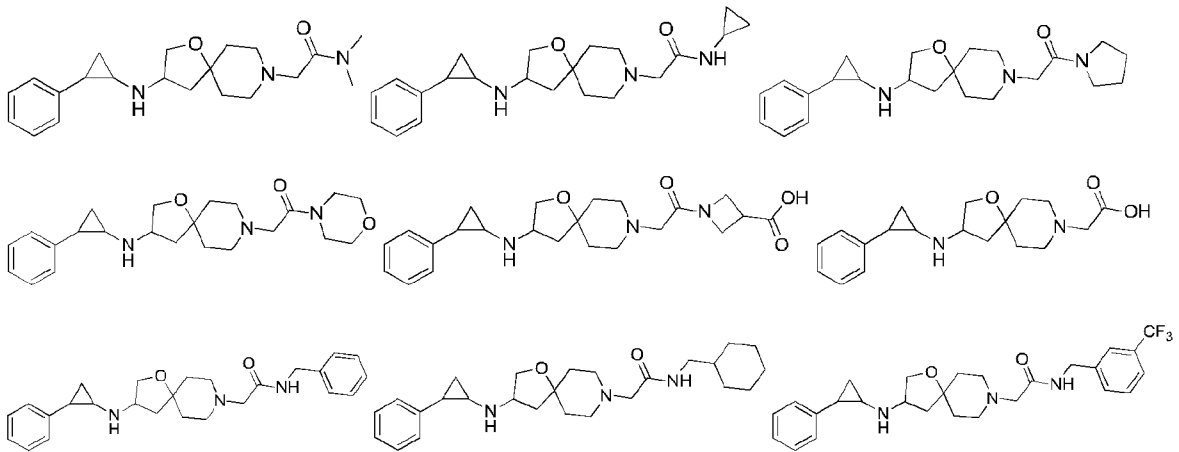
其中，R₁ 和 R₂ 如本发明所定义。

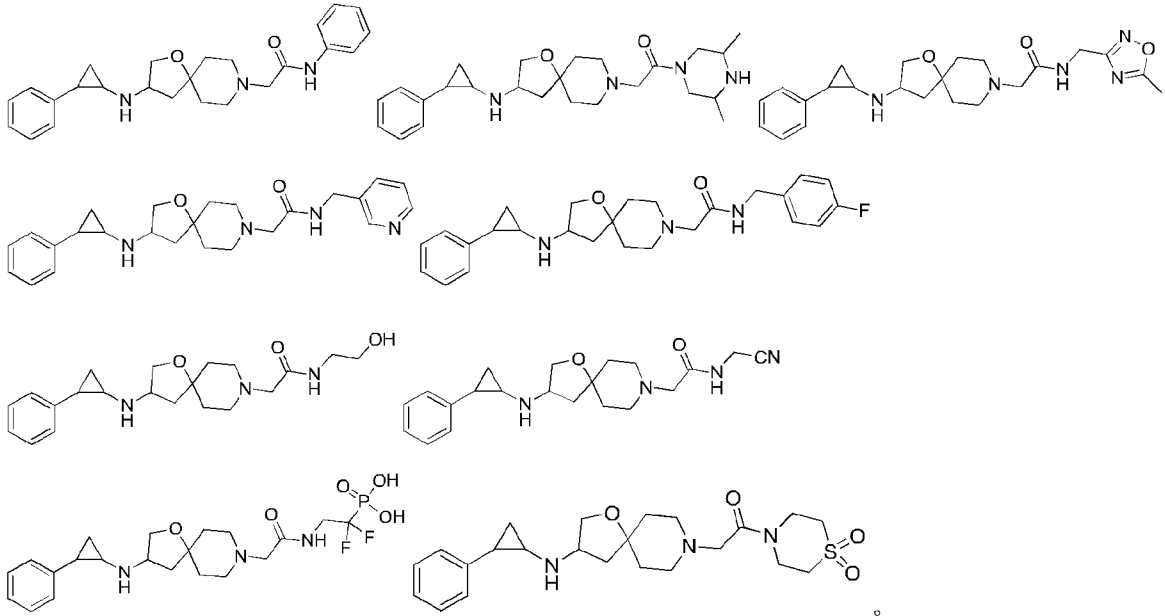
本发明的一些方案中，上述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自



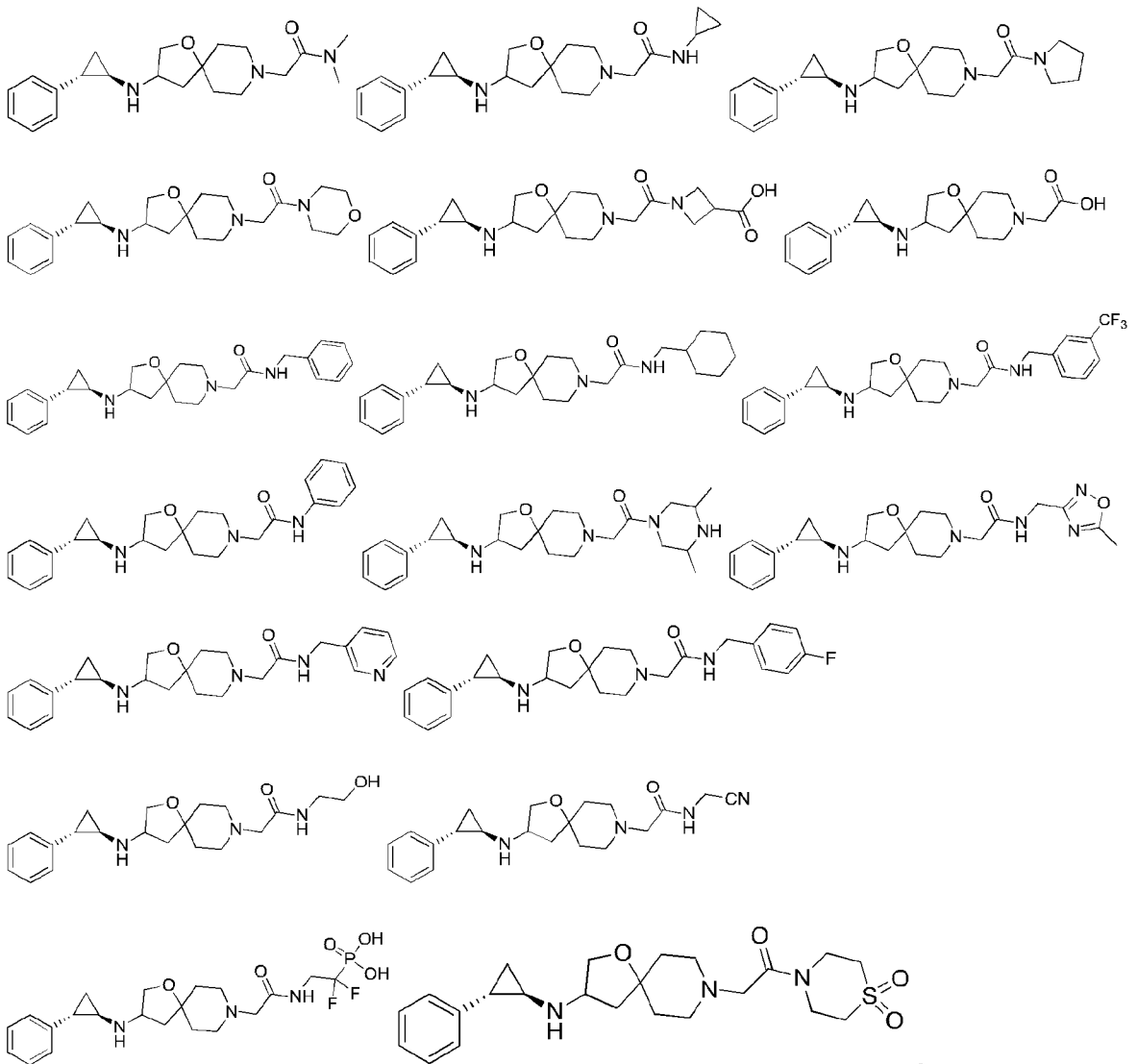
其中，R₁ 和 R₂ 如本发明所定义。

本发明还提供了下式化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，

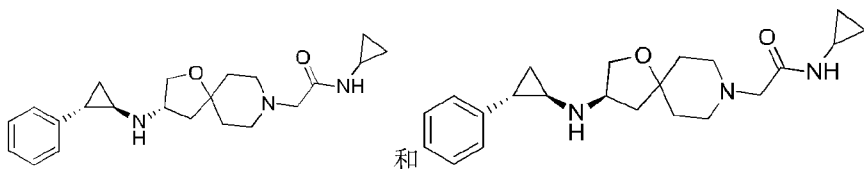




本发明的一些方案中，上述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自



本发明的一些方案中，上述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自



本发明的一些方案中，上述药学上可接受的盐为盐酸盐。

本发明还提供了上述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐在制备治疗 LSD1 相关病症的药物上的应用。

技术效果

作为新型的 LSD1 抑制剂，本发明的化合物对 LSD1 具有显著的抑制活性；并且对 NCI-H1417 细胞、HL60 细胞以及 MV-4-11 细胞增殖抑制活性明显；另外，本发明化合物具有良好的药代动力学性质，包括良好的口服生物利用度，口服暴露量，半衰期和清除率等。

定义和说明

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

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

术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的盐，由本发明发现的具有特定取代基的化合物与相对无毒的酸或碱制备。当本发明的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱与这类化合物的中性形式接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括钠、钾、钙、铵、有机胺或镁盐或类似的盐。当本发明的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物的中性形式接触的方式获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括无机酸盐，所述无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸，碳酸氢根，磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硫酸、硫酸氢根、氢碘酸、亚磷酸等；以及有机酸盐，所述有机酸包括如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸和甲磺酸等类似的酸；还包括氨基酸（如精氨酸等）的盐，以及如葡糖醛酸等有机酸的盐。本发明的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团，从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

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

化学计量的适当的碱或酸反应来制备。











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


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

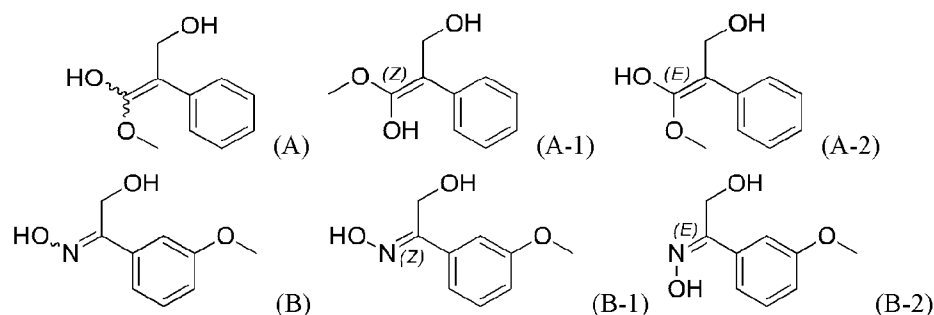
除非另有说明，术语“顺反异构体”或者“几何异构体”系由因双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而引起。

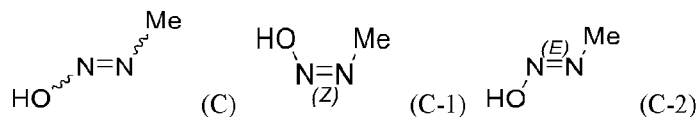
除非另有说明，术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。

除非另有说明，“(D)”或者“(+)”表示右旋，“(L)”或者“(-)”表示左旋，“(DL)”或者“(±)”表示外消旋。

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

除非另有说明，当化合物中存在双键结构，如碳碳双键、碳氮双键和氮氮双键，且双键上的各个原子均连接有两个不同的取代基时(包含氮原子的双键中，氮原子上的一对孤对电子视为其连接的一个取代基)，如果该化合物中双键上的原子与其取代基之间用波浪线()连接，则表示该化合物的(Z)型异构体、(E)型异构体或两种异构体的混合物。例如下式(A)表示该化合物以式(A-1)或式(A-2)的单一异构体形式存在或以式(A-1)和式(A-2)两种异构体的混合物形式存在；下式(B)表示该化合物以式(B-1)或式(B-2)的单一异构体形式存在或以式(B-1)和式(B-2)两种异构体的混合物形式存在。下式(C)表示该化合物以式(C-1)或式(C-2)的单一异构体形式存在或以式(C-1)和式(C-2)两种异构体的混合物形式存在。





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

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

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

可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的(R)-和(S)-异构体以及 D 和 L 异构体。如果想得到本发明某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱性官能团（如氨基）或酸性官能团（如羧基）时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的常规方法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合（例如由胺生成氨基甲酸盐）。本发明的化合物可以在一个或多个构成该化合物的原子上包含非天然比例的原子同位素。例如，可用放射性同位素标记化合物，比如氚（³H），碘-125（¹²⁵I）或 C-14（¹⁴C）。又例如，可用重氢取代氢形成氘代药物，氘与碳构成的键比普通氢与碳构成的键更坚固，相比于未氘化药物，氘代药物有降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本发明的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本发明的范围之内。“任选”或“任选地”指的是随后描述的事件或状况可能但不是必需出现的，并且该描述包括其中所述事件或状况发生的情况以及所述事件或状况不发生的情况。

术语“被取代的”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代，可以包括重氢和氢的变体，只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为氧（即=O）时，意味着

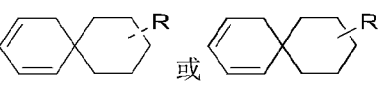
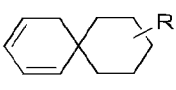
两个氢原子被取代。氧取代不会发生在芳香基上。术语“任选被取代的”是指可以被取代，也可以不被取代，除非另有规定，取代基的种类和数目在化学上可以实现的基础上可以是任意的。

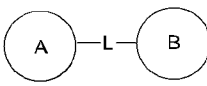
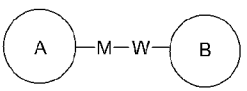
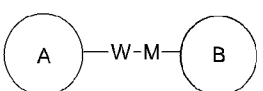
当任何变量（例如 R）在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立的。因此，例如，如果一个基团被 0-2 个 R 所取代，则所述基团可以任选地至多被两个 R 所取代，并且每种情况下的 R 都有独立的选项。此外，取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

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

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

当一个取代基为空缺时，表示该取代基是不存在的，比如 A-X 中 X 为空缺时表示该结构实际上是 A。当一个取代基的键可以交叉连接到一个环上的两个以上原子时，这种取代基可以与这个环上的任

意原子相键合，例如，结构单元  或  表示其取代基 R 可在环己基或者环己二烯上的任意一个位置发生取代。当所列举的取代基中没有指明其通过哪一个原子连接到被取代的基团上时，这种取代基可以通过其任何原子相键合，例如，吡啶基作为取代基可以通过吡啶环上任意一个碳原子连接到被取代的基团上。

当所列举的连接基团没有指明其连接方向，其连接方向是任意的，例如， 中连接基团 L 为 -M-W-，此时 -M-W- 既可以按与从左往右的读取顺序相同的方向连接环 A 和环 B 构成 ，也可以按照与从左往右的读取顺序相反的方向连接环 A 和环 B 构成 。所述连接基团、取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

除非另有规定，环上原子的数目通常被定义为环的元数，例如，“5-7 元环”是指环绕排列 5-7 个原子的“环”。

除非另有规定，“3-12 元环”表示由 3 至 12 个环原子组成的环烷基、杂环烷基、环烯基或杂环烯基。所述的环包括单环，也包括螺环、并环和桥环等双环或多环体系。除非另有规定，该环任选地包含 1、2 或 3 个独立选自 O、S 和 N 的杂原子。所述 3-12 元环包括 3-10 元、3-9 元、3-8 元、3-7 元、3-6 元、3-5 元、4-10 元、4-9 元、4-8 元、4-7 元、4-6 元、4-5 元、5-10 元、5-9 元、5-8 元、5-7 元、5-6 元、6-10 元、6-9 元、6-8 元和 6-7 元环等。术语“5-7 元杂环烷基”包括哌啶基等，但不包括苯基。术语“环”还包

括含有至少一个环的环系，其中的每一个“环”均独立地符合上述定义。

除非另有规定，术语“C₁₋₆烷基”用于表示直链或支链的由1至6个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述C₁₋₆烷基包括C₁₋₅、C₁₋₄、C₁₋₃、C₁₋₂、C₂₋₆、C₂₋₄、C₆和C₅烷基等；其可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基）。C₁₋₆烷基的实例包括但不限于甲基（Me）、乙基（Et）、丙基（包括*n*-丙基和异丙基）、丁基（包括*n*-丁基，异丁基，*s*-丁基和*t*-丁基）、戊基（包括*n*-戊基，异戊基和新戊基）、己基等。

除非另有规定，术语“C₁₋₄烷基”用于表示直链或支链的由1至4个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述C₁₋₄烷基包括C₁₋₂、C₁₋₃和C₂₋₃烷基等；其可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基）。C₁₋₄烷基的实例包括但不限于甲基（Me）、乙基（Et）、丙基（包括*n*-丙基和异丙基）、丁基（包括*n*-丁基，异丁基，*s*-丁基和*t*-丁基）等。

除非另有规定，术语“C₁₋₃烷基”用于表示直链或支链的由1至3个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述C₁₋₃烷基包括C₁₋₂和C₂₋₃烷基等；其可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基）。C₁₋₃烷基的实例包括但不限于甲基（Me）、乙基（Et）、丙基（包括*n*-丙基和异丙基）等。

除非另有规定，术语“C₁₋₆烷氧基”表示通过一个氧原子连接到分子的其余部分的那些包含1至6个碳原子的烷基基团。所述C₁₋₆烷氧基包括C₁₋₄、C₁₋₃、C₁₋₂、C₂₋₆、C₂₋₄、C₆、C₅、C₄和C₃烷氧基等。C₁₋₆烷氧基的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基（包括正丙氧基和异丙氧基）、丁氧基（包括*n*-丁氧基、异丁氧基、*s*-丁氧基和*t*-丁氧基）、戊氧基（包括*n*-戊氧基、异戊氧基和新戊氧基）、己氧基等。

除非另有规定，术语“C₁₋₃烷氧基”表示通过一个氧原子连接到分子的其余部分的那些包含1至3个碳原子的烷基基团。所述C₁₋₃烷氧基包括C₁₋₂、C₂₋₃、C₃和C₂烷氧基等。C₁₋₃烷氧基的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基（包括正丙氧基和异丙氧基）等。

除非另有规定，“C₃₋₇环烷基”表示由3至7个碳原子组成的饱和环状碳氢基团，其包括单环和双环体系，其中双环体系包括螺环、并环和桥环。所述C₃₋₇环烷基包括C₃₋₆、C₃₋₅、C₄₋₇、C₄₋₆、C₄₋₅、C₅₋₇或C₅₋₆环烷基等；其可以是一价、二价或者多价。C₃₋₈环烷基的实例包括，但不限于，环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、降冰片烷基、[2.2.2]二环辛烷等。

除非另有规定，术语“3-6元杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由3至6个环原子组成的饱和环状基团，其1、2、3或4个环原子为独立选自O、S和N的杂原子，其余为碳原子，其中氮原子任选地被季铵化，氮和硫杂原子可任选被氧化（即NO和S(O)_p，p是1或2）。其包括单环和双环体系，其中双环体系包括螺环、并环和桥环。此外，就该“3-6元杂环烷基”而言，杂原子可以占据杂环烷基与分子其余部分的连接位置。所述3-6元杂环烷基包括4-6元、5-6元、4元、5元和6元杂环烷基等。3-6元杂环烷基的实例包括但不限于氮杂环丁基、氧杂环丁基、硫杂环丁基、吡咯烷基、吡啶烷基、咪唑烷基、四氢噻吩基（包括四氢噻吩-2-基和四氢噻吩-3-基等）、四氢呋喃基（包括四氢呋喃-2-基等）、四氢吡

喃基、哌啶基 (包括 1-哌啶基、2-哌啶基和 3-哌啶基等)、哌嗪基 (包括 1-哌嗪基和 2-哌嗪基等)、吗啉基 (包括 3-吗啉基和 4-吗啉基等)、二噁烷基、二噻烷基、异噁唑烷基、异噻唑烷基、1,2-噁嗪基、1,2-噻嗪基、六氢哒嗪基、高哌嗪基或高哌啶基等。

除非另有规定，术语“4-7 元杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由 4 至 7 个环原子组成的饱和环状基团，其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S 和 N 的杂原子，其余为碳原子，其中氮原子任选地被季铵化，氮和硫杂原子可任选被氧化 (即 NO 和 S(O)_p，p 是 1 或 2)。其包括单环和双环体系，其中双环体系包括螺环、并环和桥环。此外，就该“4-7 元杂环烷基”而言，杂原子可以占据杂环烷基与分子其余部分的连接位置。所述 4-7 元杂环烷基包括 5-6 元、4 元、5 元、6 元和 7 元杂环烷基等。4-7 元杂环烷基的实例包括但不限于氮杂环丁基、氧杂环丁基、硫杂环丁基、吡咯烷基、吡唑烷基、咪唑烷基、四氢噻吩基 (包括四氢噻吩-2-基和四氢噻吩-3-基等)、四氢呋喃基 (包括四氢呋喃-2-基等)、四氢吡喃基、哌啶基 (包括 1-哌啶基、2-哌啶基和 3-哌啶基等)、哌嗪基 (包括 1-哌嗪基和 2-哌嗪基等)、吗啉基 (包括 3-吗啉基和 4-吗啉基等)、二噁烷基、二噻烷基、异噁唑烷基、异噻唑烷基、1,2-噁嗪基、1,2-噻嗪基、六氢哒嗪基、高哌嗪基或高哌啶基等。

除非另有规定，本发明术语“C₆₋₁₀ 芳环”和“C₆₋₁₀ 芳基”可以互换使用，术语“C₆₋₁₀ 芳环”或“C₆₋₁₀ 芳基”表示由 6 至 10 个碳原子组成的具有共轭 π 电子体系的环状碳氢基团，它可以是单环、稠合双环或稠合三环体系，其中各个环均为芳香性的。其可以是一价、二价或者多价，C₆₋₁₀ 芳基包括 C₆₋₉、C₉、C₁₀ 和 C₆ 芳基等。C₆₋₁₀ 芳基的实例包括但不限于苯基、萘基 (包括 1-萘基和 2-萘基等)。

除非另有规定，本发明术语“5-6 元杂芳环”和“5-6 元杂芳基”可以互换使用，术语“5-6 元杂芳基”表示由 5 至 6 个环原子组成的具有共轭 π 电子体系的单环基团，其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S 和 N 的杂原子，其余为碳原子。其中氮原子任选地被季铵化，氮和硫杂原子可任选被氧化 (即 NO 和 S(O)_p，p 是 1 或 2)。5-6 元杂芳基可通过杂原子或碳原子连接到分子的其余部分。所述 5-6 元杂芳基包括 5 元和 6 元杂芳基。所述 5-6 元杂芳基的实例包括但不限于吡咯基 (包括 N-吡咯基、2-吡咯基和 3-吡咯基等)、吡唑基 (包括 2-吡唑基和 3-吡唑基等)、咪唑基 (包括 N-咪唑基、2-咪唑基、4-咪唑基和 5-咪唑基等)、噁唑基 (包括 2-噁唑基、4-噁唑基和 5-噁唑基等)、三唑基 (1H-1,2,3-三唑基、2H-1,2,3-三唑基、1H-1,2,4-三唑基和 4H-1,2,4-三唑基等)、四唑基、异噁唑基 (3-异噁唑基、4-异噁唑基和 5-异噁唑基等)、噻唑基 (包括 2-噻唑基、4-噻唑基和 5-噻唑基等)、呋喃基 (包括 2-呋喃基和 3-呋喃基等)、噻吩基 (包括 2-噻吩基和 3-噻吩基等)、吡啶基 (包括 2-吡啶基、3-吡啶基和 4-吡啶基等)、吡嗪基或嘧啶基 (包括 2-嘧啶基和 4-嘧啶基等)。

除非另有规定，C_{n-n+m} 或 C_n-C_{n+m} 包括 n 至 n+m 个碳的任何一种具体情况，例如 C₁₋₁₂ 包括 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁、和 C₁₂，也包括 n 至 n+m 中的任何一个范围，例如 C₁₋₁₂ 包括 C₁₋₃、C₁₋₆、C₁₋₉、C₃₋₆、C₃₋₉、C₃₋₁₂、C₆₋₉、C₆₋₁₂、和 C₉₋₁₂ 等；同理，n 元至 n+m 元表示环上原子数为 n

至 $n+m$ 个，例如 3-12 元环包括 3 元环、4 元环、5 元环、6 元环、7 元环、8 元环、9 元环、10 元环、11 元环、和 12 元环，也包括 n 至 $n+m$ 中的任何一个范围，例如 3-12 元环包括 3-6 元环、3-9 元环、5-6 元环、5-7 元环、6-7 元环、6-8 元环、和 6-10 元环等。

术语“离去基团”是指可以被另一种官能团或原子通过取代反应（例如亲和取代反应）所取代的官能团或原子。例如，代表性的离去基团包括三氟甲磺酸酯；氯、溴、碘；磺酸酯基，如甲磺酸酯、甲苯磺酸酯、对溴苯磺酸酯、对甲苯磺酸酯等；酰氧基，如乙酰氧基、三氟乙酰氧基等等。

术语“保护基”包括但不限于“氨基保护基”、“羟基保护基”或“巯基保护基”。术语“氨基保护基”是指适合用于阻止氨基氮位上副反应的保护基团。代表性的氨基保护基包括但不限于：甲酰基；酰基，例如链烷酰基（如乙酰基、三氯乙酰基或三氟乙酰基）；烷氧基羰基，如叔丁氧基羰基(Boc)；芳基甲氧羰基，如苄氧羰基(Cbz)和 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)；芳基甲基，如苄基 (Bn)、三苯甲基(Tr)、1,1-二-(4'-甲氧基苯基)甲基；甲硅烷基，如三甲基甲硅烷基 (TMS) 和叔丁基二甲基甲硅烷基 (TBS) 等等。术语“羟基保护基”是指适合用于阻止羟基副反应的保护基。代表性羟基保护基包括但不限于：烷基，如甲基、乙基和叔丁基；酰基，例如链烷酰基（如乙酰基）；芳基甲基，如苄基 (Bn)，对甲氧基苄基 (PMB)、9-苄基甲基(Fm)和二苯基甲基 (二苯甲基, DPM)；甲硅烷基，如三甲基甲硅烷基 (TMS) 和叔丁基二甲基甲硅烷基 (TBS) 等等。

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

本发明所使用的溶剂可经市售获得。本发明采用下述缩略词：aq 代表水；HATU 代表 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐；EDC 代表 N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐；m-CPBA 代表 3-氯过氧苯甲酸；eq 代表当量、等量；CDI 代表羰基二咪唑；Pd(PPh₃)₄ 代表四三苯基膦钯；DCM 代表二氯甲烷；PE 代表石油醚；DIAD 代表偶氮二羧酸二异丙酯；DMF 代表 N,N-二甲基甲酰胺；DMSO 代表二甲亚砜；EtOAc 代表乙酸乙酯；EtOH 代表乙醇；MeOH 代表甲醇；CBz 代表苄氧羰基，是一种胺保护基团；BOC 代表叔丁氧羰基是一种胺保护基团；HOAc 代表乙酸；NaCNBH₃ 代表氰基硼氢化钠；rt.代表室温；O/ N 代表过夜；THF 代表四氢呋喃；Boc₂O 代表二-叔丁基碳酸酯；TFA 代表三氟乙酸；DIPEA 代表二异丙基乙基胺；本发明化合物的盐酸盐，加入饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 到中性，经过高效液相色谱法分离（中性，碳酸氢铵体系）得到化合物的游离碱。

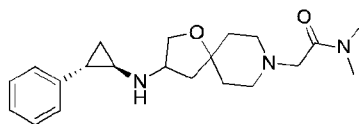
化合物依据本领域常规命名原则或者使用 ChemDraw®软件命名，市售化合物采用供应商目录名称。

具体实施方式

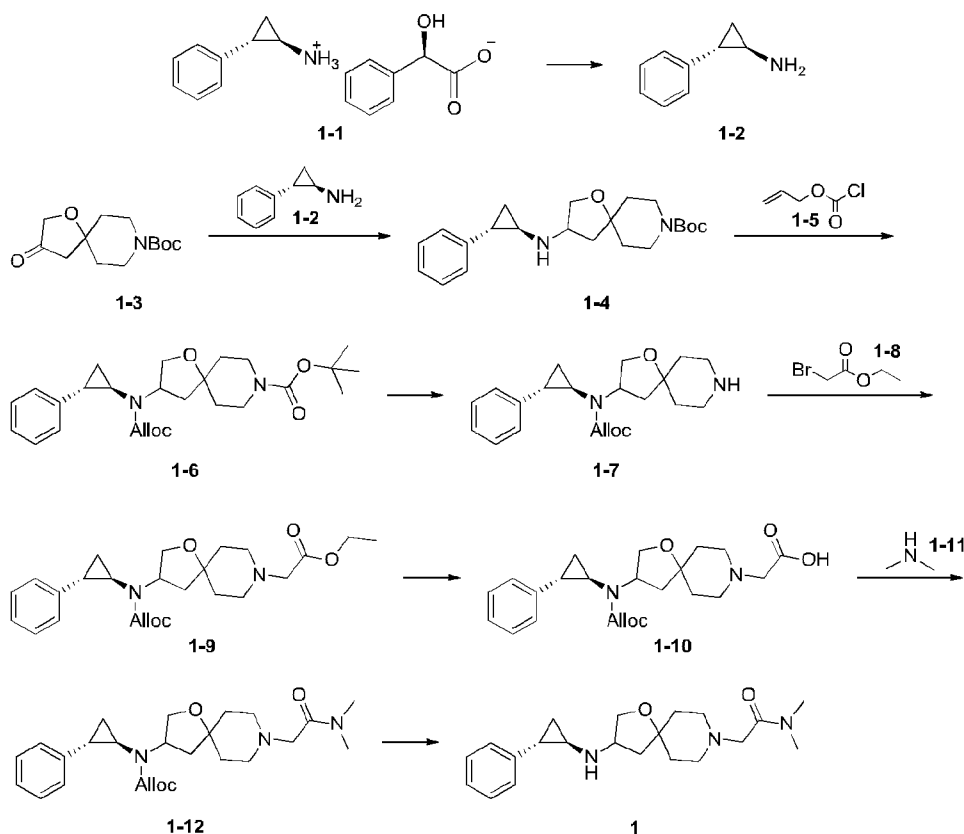
下面通过实施例对本发明进行详细描述，但并不意味着对本发明任何不利限制。本文已经详细地描述了本发明，其中也公开了其具体实施方式，对本领域的技术人员而言，在不脱离本发明精神和范围

的情况下针对本发明具体实施方式进行各种变化和改进行将是显而易见的。

实施例 1



合成路线:



第一步

将化合物 1-1 (20.0 g, 70.1 mmol) 溶于水 (200 mL) 中, 用冰水浴将反应液降温至 0°C, 向反应液中加入氢氧化钠溶液 (1 mol/L, 280 mL), 反应液在 25°C 下搅拌反应 0.5 小时。反应液用乙酸乙酯 (300 mL x 2) 萃取。合并有机相用水 (300 mL x 1) 洗涤, 饱和食盐水 (300 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩除去溶剂后得到化合物 1-2。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.29-7.25 (m, 2H), 7.18-7.15 (m, 1H), 7.05-7.04 (m, 2H), 2.59-2.55 (m, 1H), 1.91-1.87 (m, 1H), 1.08-0.99 (m, 2H)。

第二步

将化合物 1-3 (19.2 g, 75.2 mmol) 和化合物 1-2 (9.11 g, 68.4 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (200 mL) 中, 向反应液中加入醋酸硼氢化钠 (36.2 g, 171 mmol), 反应液在 25°C 下继续搅拌 12 小时。反应液用二氯甲烷 (100 mL) 稀释后依次用饱和碳酸氢钠水溶液 (200 mL x 2), 饱和食盐水 (200 mL x 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到化合物 1-4。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.18-7.16 (m, 2H), 7.11-7.17 (m,

1H), 6.96-6.94 (m, 2H), 3.92-3.89 (m, 1H), 3.61-3.55 (m, 1H), 3.52-3.48 (m, 3H), 3.27-3.23 (m, 2H), 2.24-2.21 (m, 1H), 1.99-1.94 (m, 1H), 1.85-1.79 (m, 1H), 1.55-1.47 (m, 6H), 1.38 (s, 9H), 1.01- 0.90 (m, 2H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 373, 实测值 373。

第三步

将化合物1-4 (3.80 g, 10.2 mmol) 溶于二氯甲烷 (40 mL) 中, 在0℃下向反应液中加入*N,N*-二异丙基乙胺 (2.64g, 20.4 mmol) 和化合物1-5 (1.48 g, 12.2 mmol)。反应液在15℃下搅拌1小时。加水 (100 mL), 用二氯甲烷 (100 mL x 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (100 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (1: 1 石油醚/乙酸乙酯, Rf=0.44) 得到化合物1-6。MS-ESI 计算值[M+H-100]⁺ 357, [M+H-56]⁺ 401, 实测值357, 401。

第四步

将化合物1-6 (4.03 g, 8.83 mmol) 溶于乙酸乙酯 (20 mL) 中, 向反应液中加入盐酸乙酸乙酯 (4 mol/L, 22.1mL)。反应液在10℃下搅拌0.5小时。将反应液直接浓缩, 得到粗产物化合物1-7。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 357, 实测值357。

第五步

将化合物1-7 (3.15 g, 8.84 mmol) 溶于乙腈 (30 mL) 中, 向反应液中加入三乙胺 (2.24 g, 22.1 mmol) 和化合物1-8 (2.21 g, 13.3 mmol)。反应液在50℃下搅拌12小时。加水 (100 mL), 用乙酸乙酯 (100 mL x 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (100 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。得到粗产品化合物1-9。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 443, 实测值443。

第六步

将化合物1-9 (3.73 g, 8.43 mmol) 溶于四氢呋喃 (30 mL) 和水 (30 mL) 中, 向反应液中加入氢氧化钠 (674 mg, 16.9 mmol)。反应液在50℃下搅拌12小时。将反应液直接浓缩, 加水 (80 mL) 并用乙酸乙酯 (80 mL x 3) 萃取, 水相用盐酸 (1mol/L) 调节pH至5, 再用乙酸乙酯 (100 mL x 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (50 mL x 2) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。得到粗产品化合物1-10。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 415, 实测值415。

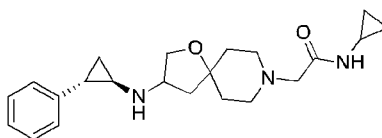
第七步

将化合物1-10 (200 mg, 0.483 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (275 mg, 0.724 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (125 mg, 0.965 mmol) 和化合物1-11 (26.1 mg, 0.579 mmol)。反应液在25℃下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (20 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (10: 1 二氯甲烷/甲醇, Rf=0.20) 得到化合物1-12。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 442, 实测值442。

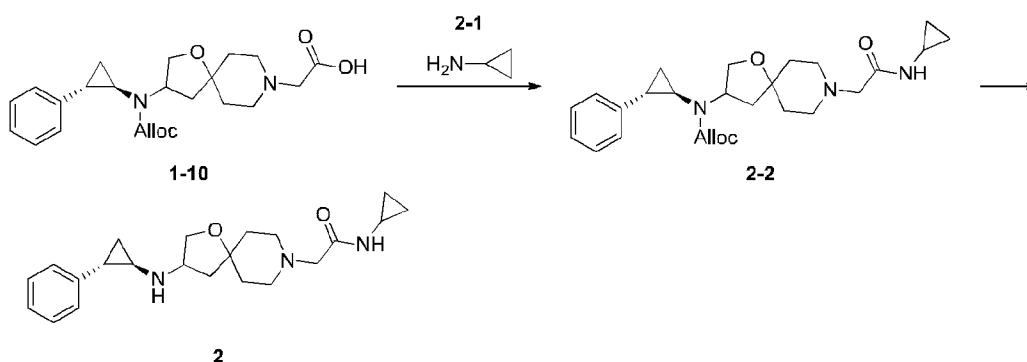
第八步

将化合物 **1-12** (147 mg, 0.314 mmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL) 中, 向反应液中加 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (36.3 mg, 31.4 μmol) 和二乙胺 (230 mg, 3.14 mmol)。反应液在 80°C 下搅拌反应 3 小时, 减压浓缩除去溶剂。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 **1** 的盐酸盐。 ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7.35-7.31 (m, 2H), 7.25-7.22 (m, 3H), 4.39-4.30 (m, 2H), 4.25-4.18 (m, 3H), 3.60-3.54 (m, 2H), 3.39-3.30 (m, 2H), 3.08-3.00 (m, 7H), 2.70-2.66 (m, 1H), 2.49-2.43 (m, 1H), 2.24-2.10 (m, 4H), 2.04-2.00 (m, 1H), 1.70-1.65 (m, 1H), 1.43-1.42 (m, 1H)。MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 358, 实测值 358。

实施例 2



合成路线:



第一步

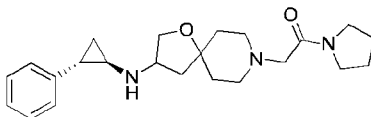
将化合物 **1-10** (200 mg, 0.483 mmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 向反应液中加入 *O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (275 mg, 0.724 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (125 mg, 0.965 mmol) 和化合物 **2-1** (33.1 mg, 0.579 mmol)。反应液在 25°C 下搅拌 12 小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (20 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (10: 1 二氯甲烷/甲醇, $R_f=0.26$) 得到化合物 **2-2**。MS-ESI 计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 454, 实测值 454。

第二步

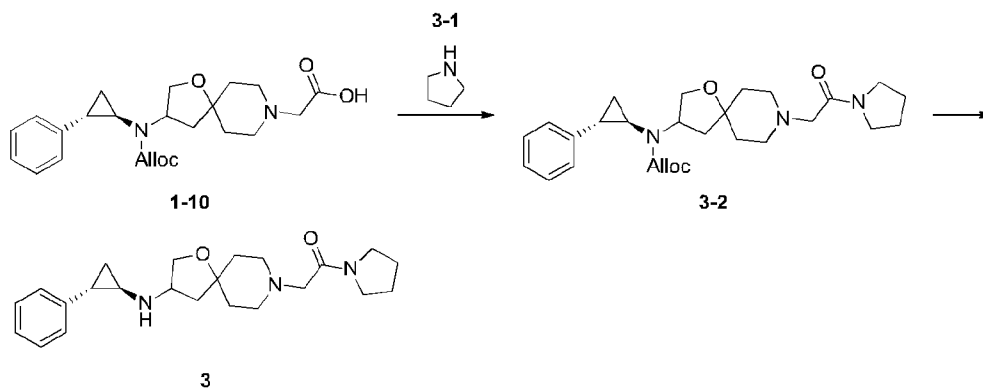
将化合物 **2-2** (150 mg, 0.262 mmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL) 中, 向反应液中加 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30.3 mg, 26.3 μmol) 和二乙胺 (192 mg, 2.62 mmol)。反应液在 80°C 下搅拌反应 3 小时, 减压浓缩除去溶剂。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 **2** 的盐酸盐。 ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7.35-7.31 (m, 2H), 7.26-7.21 (m, 3H), 4.26-4.16 (m, 3H), 4.05-3.93 (m, 2H), 3.57-3.50 (m, 2H), 3.42-3.58 (m, 2H), 3.06-3.03 (m, 1H), 2.77-2.73 (m, 1H), 2.70-2.66 (m, 1H), 2.49-2.42 (m, 1H), 2.27-2.09 (m, 4H), 2.03-1.99 (m,

1H), 1.70-1.65 (m, 1H), 1.45-1.39 (m, 1H), 0.80-0.75 (m, 2H), 0.60-0.57 (m, 2H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 370, 实测值 370。

实施例 3



合成路线:



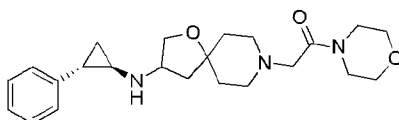
第一步

将化合物1-10 (200 mg, 0.483 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脒六氟磷酸盐 (275 mg, 0.724 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (125 mg, 0.965 mmol) 和化合物3-1 (41.2 mg, 0.579 mmol)。反应液在25℃下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (20 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (10: 1 二氯甲烷/甲醇, R_f=0.28) 得到化合物3-2。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 468, 实测值468。

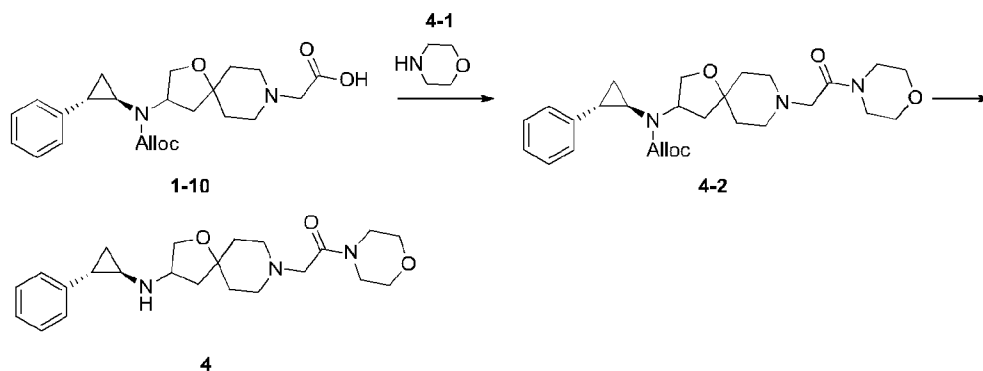
第二步

将化合物 3-2 (164 mg, 0.343 mmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL) 中, 向反应液中加 Pd(PPh₃)₄ (39.7 mg, 34.3 μmol) 和二乙胺 (251 mg, 3.43 mmol)。反应液在 80℃下搅拌反应 3 小时, 减压浓缩除去溶剂。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 3 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.35-7.31 (m, 2H), 7.26-7.21 (m, 3H), 4.29-4.20 (m, 5H), 3.75-3.59 (m, 2H), 3.51-3.48 (m, 4H), 3.41-3.32 (m, 2H), 3.06-3.03 (m, 1H), 2.68-2.67 (m, 1H), 2.49-2.38 (m, 1H), 2.25-2.10 (m, 4H), 2.03-2.02 (m, 3H), 1.95-1.91 (m, 2H), 1.67-1.66 (m, 1H), 1.44-1.42 (m, 1H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 384, 实测值 384。

实施例 4



合成路线:



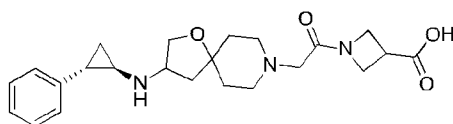
第一步

将化合物1-10 (200 mg, 0.483 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氯杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (275 mg, 0.724 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (125 mg, 0.965 mmol) 和化合物4-1 (50.4 mg, 0.579 mmol)。反应液在25℃下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (20 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (10: 1 二氯甲烷/甲醇, $R_f=0.26$) 得到化合物4-2。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 484, 实测值484。

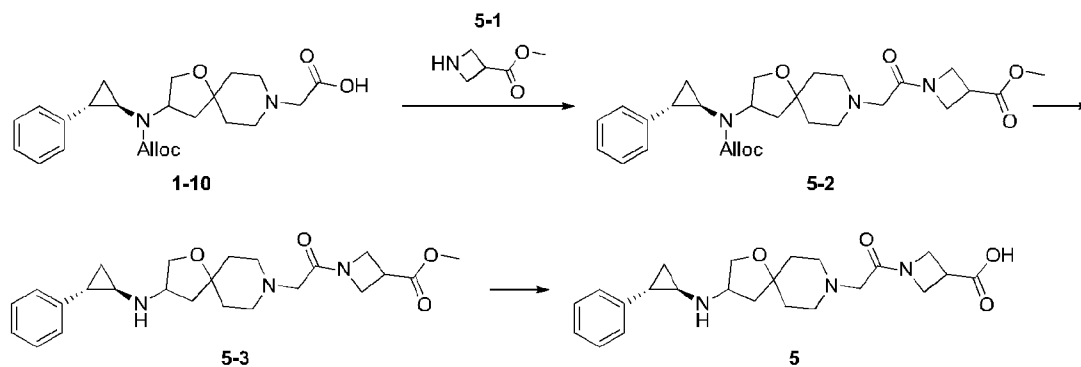
第二步

将化合物 4-2 (156 mg, 0.311 mmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL) 中, 向反应液中加 $Pd(PPh_3)_4$ (35.9 mg, 31.1 μmol) 和二乙胺 (227 mg, 3.11 mmol)。反应液在 80℃下搅拌反应 3 小时, 减压浓缩除去溶剂。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 4 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7.35-7.31 (m, 2H), 7.26-7.21 (m, 3H), 4.50-4.34 (m, 2H), 4.25-4.18 (m, 3H), 3.73-3.68 (m, 4H), 3.63-3.44 (m, 6H), 3.34-3.32 (m, 2H), 3.06-3.03 (m, 1H), 2.70-2.66 (m, 1H), 2.46-2.44 (m, 1H), 2.26-2.10 (m, 4H), 2.01-1.97 (m, 1H), 1.69-1.66 (m, 1H), 1.45-1.42 (m, 1H)。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 400, 实测值 400。

实施例 5



合成路线:



第一步

将化合物**1-10** (200 mg, 0.483 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (275 mg, 0.724 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (125 mg, 0.965 mmol) 和化合物**5-1** (87.8 mg, 0.579 mmol)。反应液在25℃下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (20 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (20: 1 二氯甲烷/甲醇, $R_f=0.27$) 得到化合物**5-2**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 512, 实测值512。

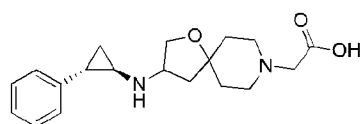
第二步

将化合物**5-2** (204 mg, 0.387 mmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL) 中, 在氮气保护下向反应液中加入四三苯基磷钼 (44.7 mg, 38.7 μmol) 和二乙基胺 (283 mg, 3.87 mmol)。反应液在80℃下搅拌3小时。将反应液直接浓缩, 得到粗产品化合物**5-3**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 428, 实测值428。

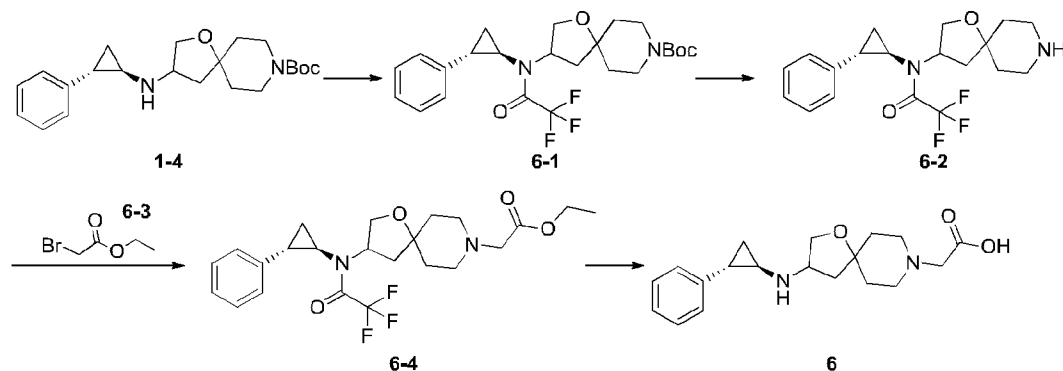
第三步

将化合物 **5-3** (165 mg, 0.386 mmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL) 和水 (2 mL) 中, 向反应液中加氢氧化钠 (15.4 mg, 0.386 mmol)。反应液在 50℃下搅拌反应 1 小时, 减压浓缩除去溶剂, 加盐酸 (1 mol/L) 调节 pH 至 5。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 **5** 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.35-7.31 (m, 2H), 7.26-7.21 (m, 3H), 4.51-4.43 (m, 1H), 4.40-4.36 (m, 1H), 4.28-4.16 (m, 5H), 4.05 (s, 2H), 4.64-4.52 (m, 3H), 3.39-3.29 (m, 2H), 3.06-3.02 (m, 1H), 2.67-2.66 (m, 1H), 2.45-2.43 (m, 1H), 2.22-2.12 (m, 4H), 2.02-1.95 (m, 1H), 1.68-1.63 (m, 1H), 1.45-1.42 (m, 1H)。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 414, 实测值 414。

实施例 6



合成路线:



第一步

将化合物1-4 (1.10 g, 2.95 mmol) 溶于无水二氯甲烷中 (20 mL), 加入三乙胺 (448 mg, 4.43 mmol) 和三氟乙酸酐 (930 mg, 4.43 mmol)。反应液在15℃下搅拌反应12小时。向反应液中加入二氯甲烷 (50 mL), 有机相用盐酸 (1M, 50 mL x 1) 和饱和食盐水 (50 mL x 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 母液浓缩, 粗产物经过硅胶柱层析法分离 (5/1 二氯甲烷/甲醇, Rf=0.38) 得到化合物6-1。MS-ESI 计算值[M-56+H]⁺ 413, [M-Boc+H]⁺ 369, 实测值413, 369。

第二步

将化合物 6-1 (600 mg, 1.28 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (6 mL) 中, 在 20℃下加入三氟乙酸 (4.62 g, 40.5 mmol)。反应液在 20℃下搅拌反应 2 小时, 减压浓缩除去溶剂, 剩余物溶于二氯甲烷 (6 mL) 中, 再向其中加入三乙胺 (250 μL) 后在室温下搅拌半小时, 减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 6-2。MS-ESI 计算值 [M+H]⁺ 369, 实测值 369。

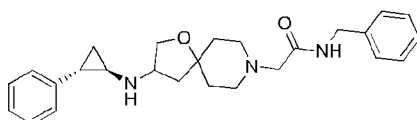
第三步

将化合物6-2 (200 mg, 0.543 mmol) 和化合物6-3 (136 mg, 0.814 mmol) 溶于乙腈 (4 mL) 中, 向反应液中加入三乙胺 (137 mg, 1.36 mmol)。反应液在50℃下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10mL x 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (20mL x 1) 洗涤, 再用无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗产物经过薄层层析法分离 (1: 1 石油醚/乙酸乙酯, Rf=0.35) 得到化合物6-4。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 455, 实测值455。

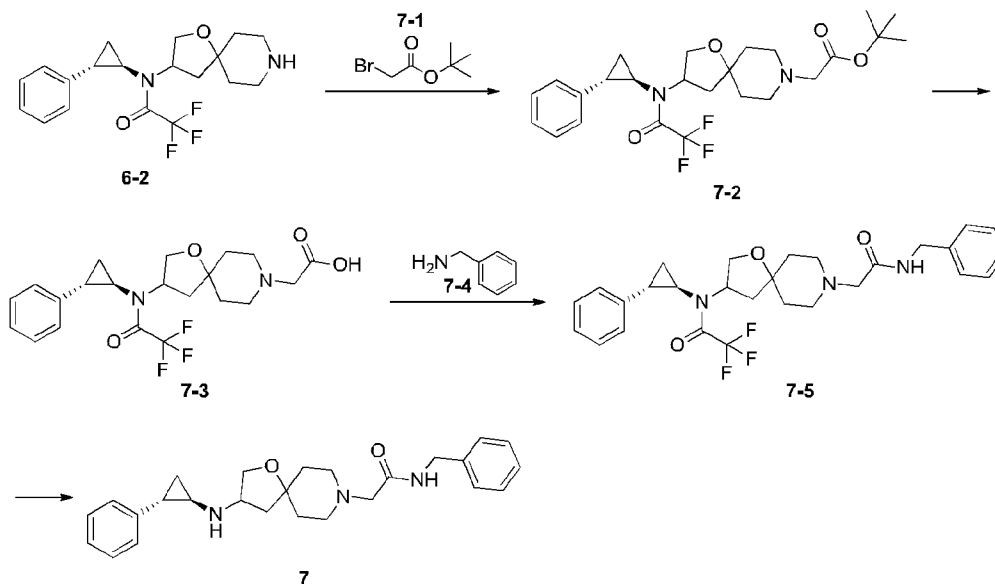
第四步

将化合物 6-4 (150 mg, 0.328 mmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL) 和水 (2 mL) 中, 向反应液中加氢氧化钠 (19.7 mg, 0.492 mmol)。反应液在 50℃下搅拌反应 12 小时, 减压浓缩, 并用盐酸水溶液 (1 mol/L) 调节 PH 至 5。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 6 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.35-7.31 (m, 2H), 7.25-7.21 (m, 3H), 4.24-4.13 (m, 5H), 3.65-3.60 (m, 2H), 3.37-3.36 (m, 1H), 3.33-3.32 (m, 1H), 3.06-3.05 (m, 1H), 2.66-2.65 (m, 1H), 2.48-2.47 (m, 1H), 2.19-2.17 (m, 4H), 2.14-2.11 (m, 1H), 1.67-1.65 (m, 1H), 1.44-1.42 (m, 1H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 331, 实测值 331。

实施例 7



合成路线:



第一步

将化合物**6-2** (2.50 g, 6.79 mmol) 和化合物**7-1** (1.59 g, 8.15 mmol) 溶于乙腈 (25 mL) 中, 向反应液中加入三乙胺 (1.37 g, 13.6 mmol)。反应液在50°C下搅拌12小时。加水 (100 mL), 用乙酸乙酯 (100 mL x 2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (100 mL x 1) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过硅胶柱层析法分离 (2: 1 石油醚/乙酸乙酯, Rf=0.27) 得到化合物**7-2**。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.26-7.22 (m, 2H), 7.18-7.15 (m, 1H), 7.00-6.99 (m, 2H), 4.57-4.56 (m, 1H), 4.03-4.02 (m, 1H), 3.88-3.84 (m, 1H), 3.04-3.02 (m, 2H), 2.55-2.50 (m, 4H), 2.47-2.46 (m, 1H), 2.12-2.11 (m, 1H), 1.98-1.97 (m, 1H), 1.74-1.72 (m, 1H), 1.70-1.69 (m, 2H), 1.68-1.67 (m, 2H), 1.40-1.39 (m, 9H), 1.22-1.16 (m, 2H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 483, 实测值483。

第二步

将化合物 **7-2** (2.80 g, 5.80 mmol) 溶于乙酸乙酯 (28 mL) 中, 向反应液中加盐酸乙酸乙酯 (14.5 mL, 4M)。反应液在 25°C下搅拌反应3小时, 减压浓缩除去溶剂, 得到化合物**7-3**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 427, 实测值 427。

第三步

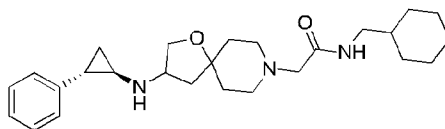
将化合物**7-3** (200 mg, 0.469 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (214 mg, 0.563 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺(90.9 mg, 0.704 mmol)。反应液在25°C下搅拌1小时。再向反应液中加入化合物**7-4** (55.3 mg, 0.516 mmol), 反应液在25°C

下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 3) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (10 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (1:1 石油醚/乙酸乙酯, Rf=0.31) 得到化合物7-5。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 516, 实测值516。

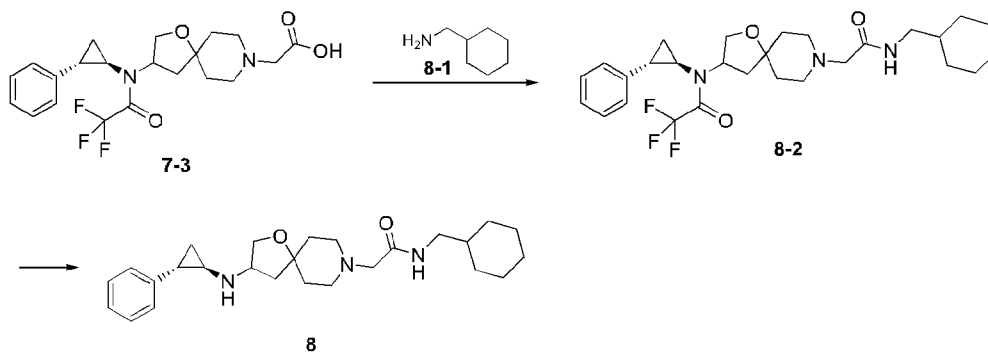
第四步

将化合物 7-5 (80.0 mg, 0.155 mmol) 溶于四氢呋喃 (1 mL) 和水 (1 mL) 中, 向反应液中加氢氧化钠 (12.4 mg, 0.310 mmol)。反应液在 60°C 下搅拌反应 12 小时, 减压浓缩除去溶剂, 加盐酸 (1 mol/L) 调节 pH 至 5。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 7 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.35-7.30 (m, 5H), 7.27-7.26 (m, 2H), 7.22-7.20 (m, 3H), 4.45 (s, 2H), 4.23-4.22(m, 1H), 4.16-4.14(m, 2H), 4.01-4.00 (m, 2H), 3.55-3.50(m, 2H), 3.37-3.35 (m, 1H), 3.04-3.03 (m, 1H), 2.62-2.61(m, 1H), 2.50-2.48 (m, 1H), 2.17-2.11 (m, 5H), 2.10-1.96 (m, 1H), 1.64-1.62 (m, 1H), 1.45-1.43 (m, 1H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 420, 实测值 420。

实施例 8



合成路线:



第一步

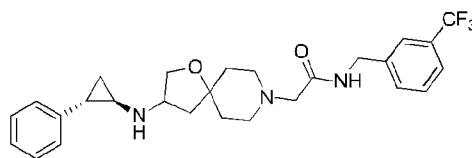
将化合物7-3 (200 mg, 0.469 μmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (214 mg, 563 μmol), *N,N*-二异丙基乙胺(90.9 mg, 0.704 mmol)。反应液在25°C下搅拌1小时。再向反应液中加入化合物8-1 (58.4 mg, 0.516 mmol), 反应液在25°C下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 3) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (10 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (1:1 石油醚/乙酸乙酯, Rf=0.37) 得到化合物8-2。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 522, 实测值522。

第二步

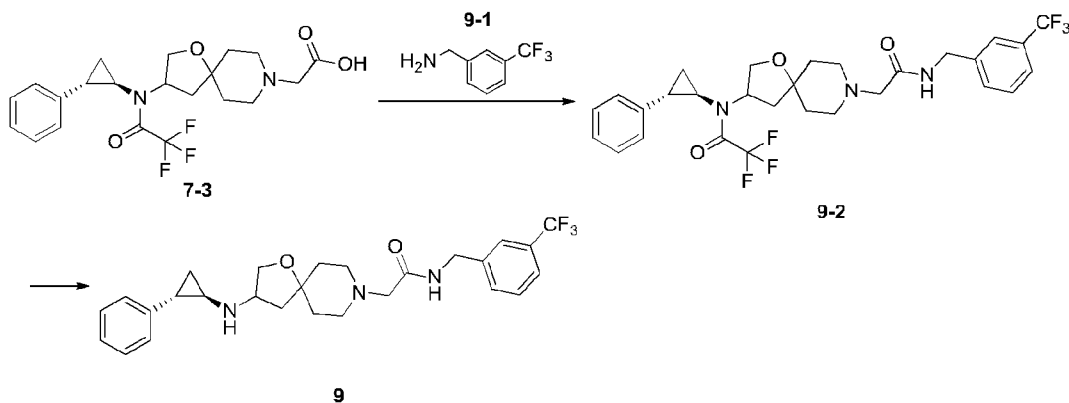
将化合物 8-2 (80.0 mg, 0.153 mmol) 溶于四氢呋喃 (1 mL)和水 (1 mL) 中, 向反应液中加氢氧化钠

(12.3 mg, 0.307 mmol)。反应液在 60℃ 下搅拌反应 12 小时，减压浓缩除去溶剂，加盐酸 (1 mol/L) 调节 pH 至 5。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 **8** 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.34-7.30 (m, 2H), 7.24-7.21 (m, 1H), 7.20-7.19 (m, 2H), 4.17-4.13 (m, 3H), 3.91(s, 2H), 3.78-3.77(m, 1H), 3.37-3.30 (m, 2H), 3.12-3.10(m, 2H), 3.07-3.04 (m, 1H), 2.96-2.95 (m, 1H), 2.54-2.51(m, 1H), 2.50-2.47 (m, 1H), 2.13-2.08 (m, 4H), 2.03-1.96 (m, 1H), 1.77-1.75 (m, 4H), 1.74-1.73 (m, 1H), 1.60-1.50 (m, 2H), 1.45-1.40 (m, 1H), 1.39-1.24 (m, 3H), 0.99-0.96 (m, 2H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 426, 实测值 426。

实施例 9



合成路线:



第一步

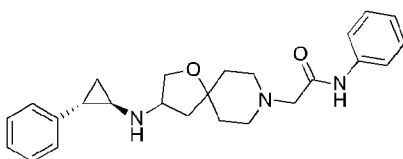
将化合物 **7-3** (300 mg, 0.704 mmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 向反应液中加入 *O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (401 mg, 1.06 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (182 mg, 1.41 mmol)。反应液在 25℃ 下搅拌 1 小时。再向反应液中加入化合物 **9-1** (136 mg, 0.774 mmol), 反应液在 25℃ 下搅拌 12 小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 3) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (10 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (1:1 石油醚/乙酸乙酯, R_f=0.41) 得到化合物 **9-2**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 584, 实测值 584。

第二步

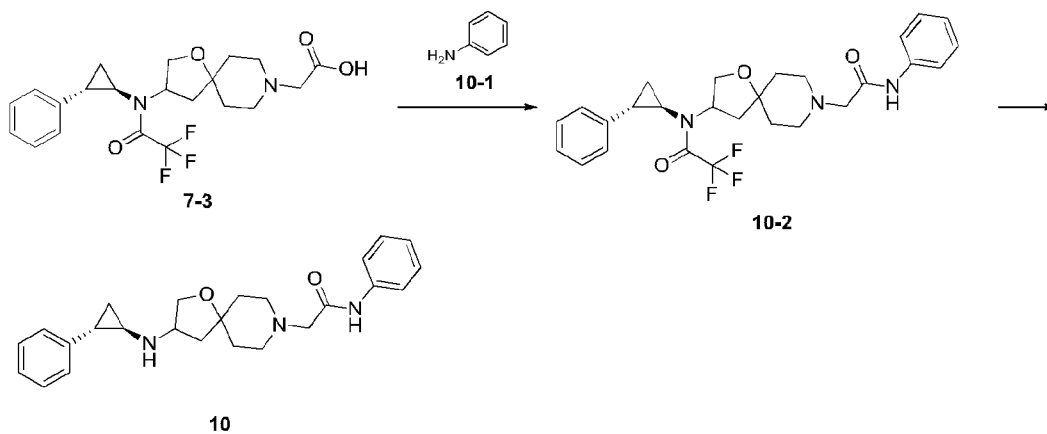
将化合物 **9-2** (30.0 mg, 51.4 μmol) 溶于四氢呋喃 (1 mL) 和水 (1 mL) 中, 向反应液中加入氢氧化钠 (4.11 mg, 0.103 mmol)。反应液在 50℃ 下搅拌反应 2 小时, 减压浓缩除去溶剂, 加盐酸 (1 mol/L) 调节 pH 至 5。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 **9** 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.65-7.64 (m, 1H), 7.61-7.59 (m, 2H), 7.58-7.57 (m, 1H), 7.35-7.31 (m, 2H), 7.25-7.24 (m, 1H),

7.22-7.20 (m, 2H), 4.54(s, 2H), 4.24-4.22 (m, 1H), 4.20-4.04 (m, 4H), 3.54-3.51 (m, 2H), 3.37-3.36 (m, 2H), 3.04-3.02 (m, 1H), 2.64-2.61 (m, 1H), 2.55-2.50 (m, 1H), 2.19-1.96 (m, 5H), 1.65-1.60 (m, 1H), 1.45-1.43 (m, 1H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 488, 实测值 488。

实施例 10



合成路线:



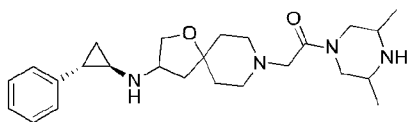
第一步

将化合物**7-3** (300 mg, 0.704 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (401 mg, 1.06 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺(182 mg, 1.41 mmol)。反应液在25℃下搅拌1小时。再向反应液中加入化合物**10-1** (72.1 mg, 0.774 mmol), 反应液在25℃下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 3) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (10 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (1: 1 石油醚/乙酸乙酯, R_f=0.43) 得到化合物**10-2**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 502, 实测值502。

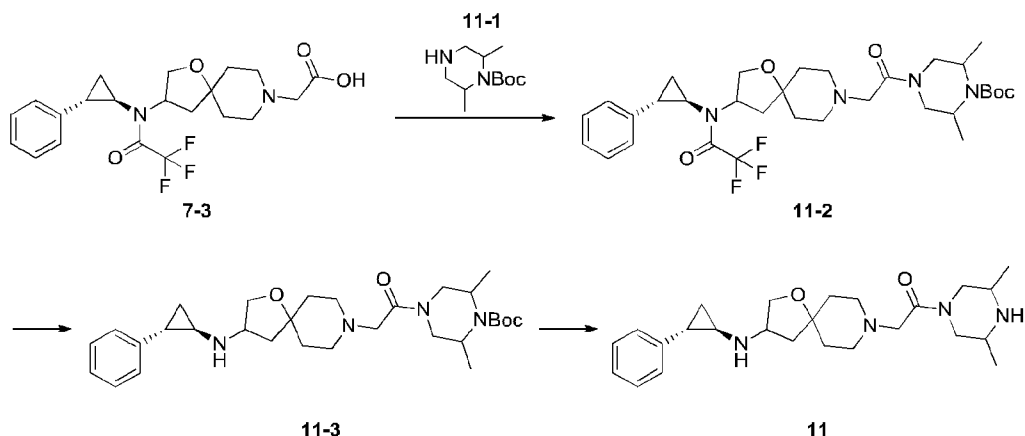
第二步

将化合物 **10-2** (35.0 mg, 69.8 μmol) 溶于四氢呋喃 (1 mL) 和水(1 mL) 中, 向反应液中加氢氧化钠 (5.58 mg, 0.140 mmol)。反应液在 50℃下搅拌反应 2 小时, 减压浓缩除去溶剂, 加盐酸 (1 mol/L) 调节 pH 至 5。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 **10** 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.62-7.60 (m, 2H), 7.38-7.36 (m, 4H), 7.34-7.32 (m, 1H), 7.26-7.21 (m, 2H), 7.17-7.16 (m, 1H), 4.25-4.15 (m, 5H), 3.62-3.57 (m, 2H), 3.42-3.39 (m, 2H), 3.06-3.04 (m, 1H), 2.60-2.59 (m, 1H), 2.50-2.47 (m, 1H), 2.28-2.24 (m, 1H), 2.16-2.11 (m, 3H), 1.96-1.95 (m, 1H), 1.62-1.61 (m, 1H), 1.47-1.43 (m, 1H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 406, 实测值 406。

实施例 11



合成路线:



第一步

将化合物**7-3** (300 mg, 0.704 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (401 mg, 1.06 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺(182 mg, 1.41 mmol)。反应液在25℃下搅拌1小时。再向反应液中加入化合物**11-1** (166 mg, 774 μmol), 反应液在25℃下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 3) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (10 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (1:1 石油醚/乙酸乙酯, $R_f=0.33$) 得到化合物**11-2**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 623, 实测值623。

第二步

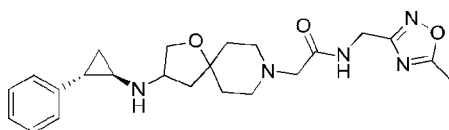
将化合物 **11-2** (40.0 mg, 64.2 μmol) 溶于四氢呋喃 (1 mL) 和水 (1 mL) 中, 向反应液中加氢氧化钠 (5.14 mg, 0.128 mmol)。反应液在 50℃下搅拌反应 3 小时, 减压浓缩除去溶剂得到化合物 **11-3**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 527, 实测值 527。

第三步

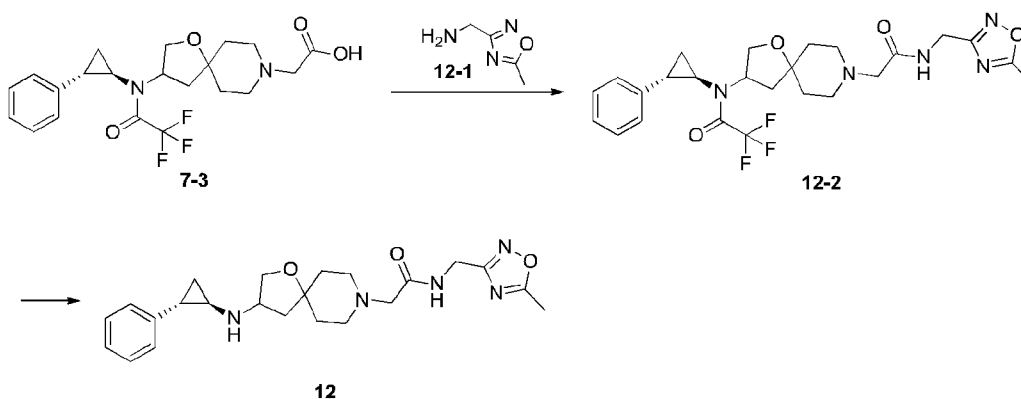
将化合物 **11-3** (30.0 mg, 57.0 μmol) 溶于甲醇 (1 mL) 中, 向反应液中加盐酸甲醇 (142 μL, 4 mol/L)。反应液在 25℃下搅拌反应 2 小时, 减压浓缩除去溶剂。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 **11** 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.36-7.32 (m, 2H), 7.27-7.26 (m, 1H), 7.23-7.21 (m, 2H), 4.71-4.68 (m, 1H), 4.53-4.50 (m, 1H), 4.34-4.32 (m, 1H), 4.24-4.17 (m, 3H), 4.02-3.99 (m, 1H), 3.61-3.57 (m, 3H), 3.40-3.36 (m, 3H), 3.34-3.33 (m, 1H), 3.04-3.01 (m, 1H), 2.80-2.77 (m, 1H), 2.62-2.61 (m, 1H), 2.51-2.48 (m, 1H), 2.15-2.11 (m, 4H), 2.01-1.99 (m, 1H), 1.60-1.58 (m, 1H), 1.45-1.40 (m, 7H)。MS-ESI 计

算值[M+H]⁺ 427, 实测值 427。

实施例 12



合成路线:



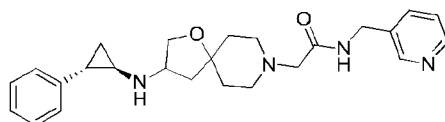
第一步

将化合物**7-3** (200 mg, 0.469 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (268 mg, 0.704 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (182 mg, 1.41 mmol)。反应液在27℃下搅拌1小时。再向反应液中加入化合物**12-1** (64.0 mg, 0.563 mmol), 反应液在27℃下搅拌12小时。加水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (20 mL x 2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (50 mL x 1) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过硅胶柱层析法分离 (1: 2 石油醚/乙酸乙酯, R_f=0.09) 得到化合物**12-2**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 522, 实测值522。

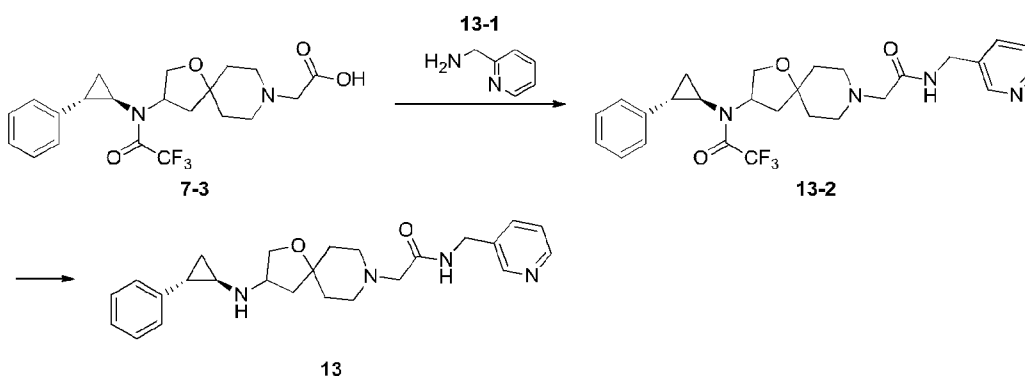
第二步

将化合物 **12-2** (85.0 mg, 0.163 mmol) 溶于四氢呋喃 (1 mL), 乙醇 (0.5 mL) 和水 (1 mL) 中, 向反应液中加入氢氧化钠 (13.0 mg, 0.326 mmol)。反应液在 50℃下搅拌反应 3 小时, 减压浓缩除去溶剂, 加盐酸 (1 mol/L) 调节 pH 至 7。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 **12** 的盐酸盐。¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 7.36-7.31 (m, 2H), 7.27-7.20 (m, 3H), 4.56 (s, 2H), 4.23-4.14 (m, 4H), 4.03 (s, 2H), 3.71-3.56 (m, 2H), 3.51-3.35 (m, 1H), 3.05-3.03 (m, 1H), 2.62-2.59 (m, 4H), 2.55-2.45 (m, 1H), 2.17-2.10 (m, 4H), 2.01-1.92 (m, 1H), 1.62-1.61 (m, 1H), 1.46-1.44 (m, 1H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 426, 实测值 426。

实施例 13



合成路线:



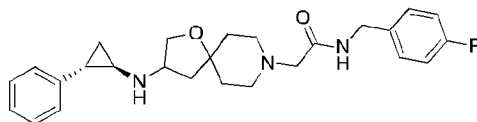
第一步

将化合物7-3 (200 mg, 0.469 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (268 mg, 0.703 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺(182 mg, 1.41 mmol)。反应液在27°C下搅拌1小时。再向反应液中加入化合物13-1 (61.0 mg, 0.563 mmol), 反应液在27°C下搅拌12小时。加水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (20 mL x 2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (50 mL x 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (1:2 石油醚/乙酸乙酯, $R_f=0.2$) 得到化合物13-2。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 517, 实测值517。

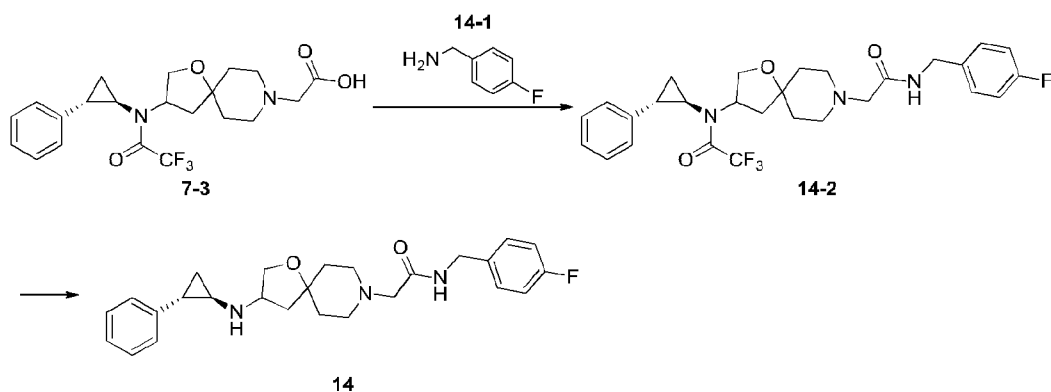
第二步

将化合物 13-2 (145 mg, 0.281 mmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL), 乙醇 (1 mL) 和水 (2 mL) 中, 向反应液中加入氢氧化钠 (22.0 mg, 0.561 mmol)。反应液在 50°C下搅拌反应 3 小时, 减压浓缩除去溶剂, 加盐酸 (1 mol/L) 调节 pH 至 7。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 13 的盐酸盐。¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 8.82-8.62 (m, 1H), 8.60-8.58 (m, 1H), 8.09-8.07 (m, 1H), 8.02-7.99 (m, 1H), 7.36-7.31 (m, 2H), 7.26-7.20 (m, 3H), 4.22-4.15 (m, 6H), 3.72-3.45 (m, 4H), 3.05-3.03 (m, 1H), 2.75-2.58 (m, 2H), 2.15-2.07 (m, 6H), 1.61-1.45 (m, 1H), 1.12-1.19 (m, 1H)。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 421, 实测值 421。

实施例 14



合成路线



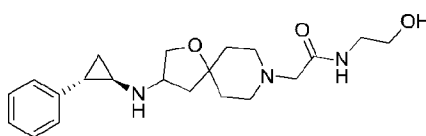
第一步

将化合物7-3 (200 mg, 0.469 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (0.232 mg, 0.610 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (121 mg, 0.938 mmol)。反应液在27°C下搅拌1小时。再向反应液中加入化合物14-1 (70.0 mg, 0.563 mmol), 反应液在27°C下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (10 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (1:2 石油醚/乙酸乙酯, $R_f=0.16$) 得到化合物14-2。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 534, 实测值534。

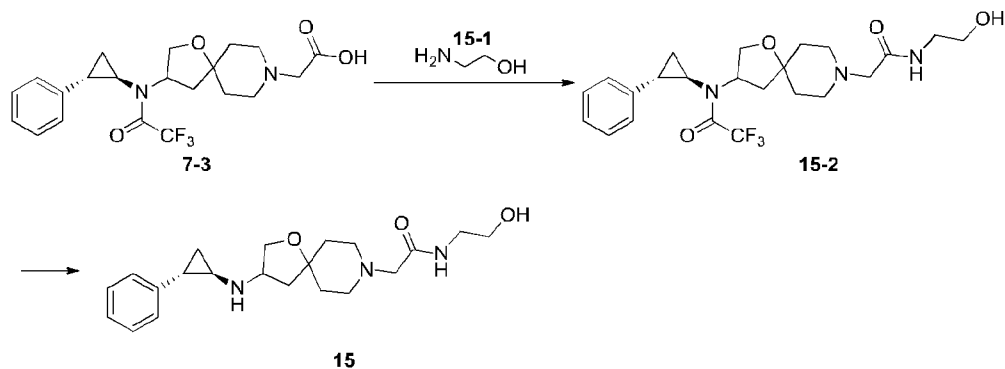
第二步

将化合物 14-2 (50.0 mg, 94.0 μmol) 溶于四氢呋喃 (1 mL), 乙醇 (0.5 mL) 和水 (1 mL) 中, 向反应液中加入氢氧化钠 (7.50 mg, 0.187 mmol)。反应液在 50°C 下搅拌反应 3 小时, 减压浓缩除去溶剂, 加盐酸 (1 mol/L) 调节 pH 至 7。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 14 的盐酸盐。¹H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ 7.35-7.33 (m, 4H), 7.32-7.30 (m, 1H), 7.19-7.17 (m, 2H), 7.08-7.04 (m, 2H), 4.42 (s, 2H), 4.8-4.25 (m, 1H), 4.15-4.11 (m, 2H), 3.97-3.96 (m, 2H), 3.48-3.47 (m, 2H), 3.27-3.26 (m, 1H), 3.03-3.01 (m, 1H), 2.60-2.55 (m, 2H), 2.11-1.93 (m, 6H), 1.57-1.56 (m, 1H), 1.45-1.43 (m, 1H)。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 438, 实测值 438。

实施例 15



合成路线:



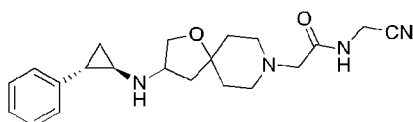
第一步

将化合物7-3 (200 mg, 0.469 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 向反应液中加入*O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (0.232 g, 0.601 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺(121 mg, 0.938 mmol)。反应液在27°C下搅拌1小时。再向反应液中加入化合物15-1 (34.0 mg, 0.563 mmol), 反应液在27°C下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL x 2) 萃取, 合并有机相用饱和氯化钠 (10 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物经过薄层层析法分离 (1:2 石油醚/乙酸乙酯, $R_f=0.13$) 得到化合物15-2。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 470, 实测值470。

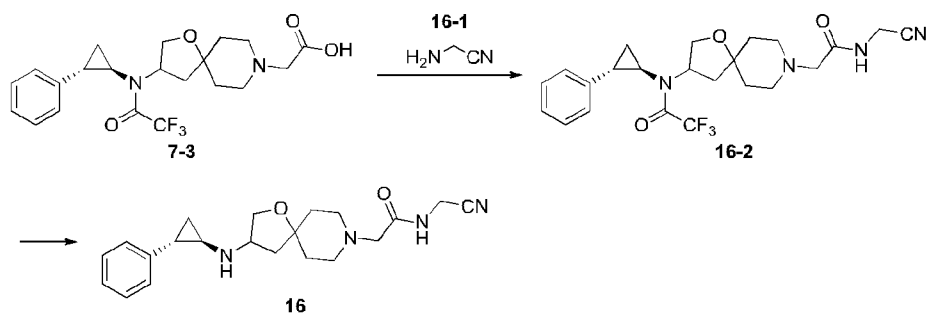
第二步

将化合物 15-2 (30.0 mg, 59.0 μmol) 溶于四氢呋喃 (1 mL), 乙醇 (0.5 mL) 和水 (1 mL) 中, 向反应液中加入氢氧化钠 (5.00 mg, 0.119 mmol)。反应液在 50°C下搅拌反应 3 小时, 减压浓缩除去溶剂, 加盐酸 (1 mol/L) 调节 pH 至 4。用高效液相色谱法 (酸性, 盐酸体系) 制备得到化合物 15 的盐酸盐。¹H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ 7.34-7.30 (m, 2H), 7.26-7.24 (m, 1H), 7.22-7.18 (m, 2H), 4.22-4.14 (m, 3H), 3.93 (s, 2H), 3.63-3.61 (m, 4H), 3.39-3.37 (m, 2H), 3.31-3.30 (m, 2H), 3.03-3.01 (m, 1H), 2.58-2.56 (m, 1H), 2.54-2.42 (m, 1H), 2.30-2.20 (m, 5H), 1.60-1.58 (m, 1H), 1.44-1.42 (m, 1H)。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 374, 实测值 374。

实施例 16



合成路线:



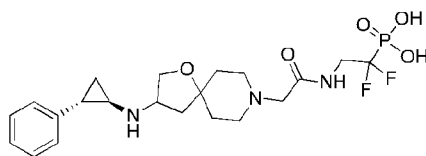
第一步

将化合物 7-3 (50.0 mg, 117 μ mol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中, 向反应液中加入三正丙基磷酸酐 (50% 乙酸乙酯溶液, 56.0 mg, 176 μ mol), *N,N*-二异丙基乙胺 (30.3 mg, 235 μ mol) 反应液在 25 $^{\circ}$ C 下搅拌 1 小时。再向其中加入化合物 16-1 (9.86 mg, 176 μ mol)。反应液在 25 $^{\circ}$ C 下搅拌 12 小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL \times 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (10 mL \times 1) 洗, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到化合物 16-2。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 465, 实测值 465。

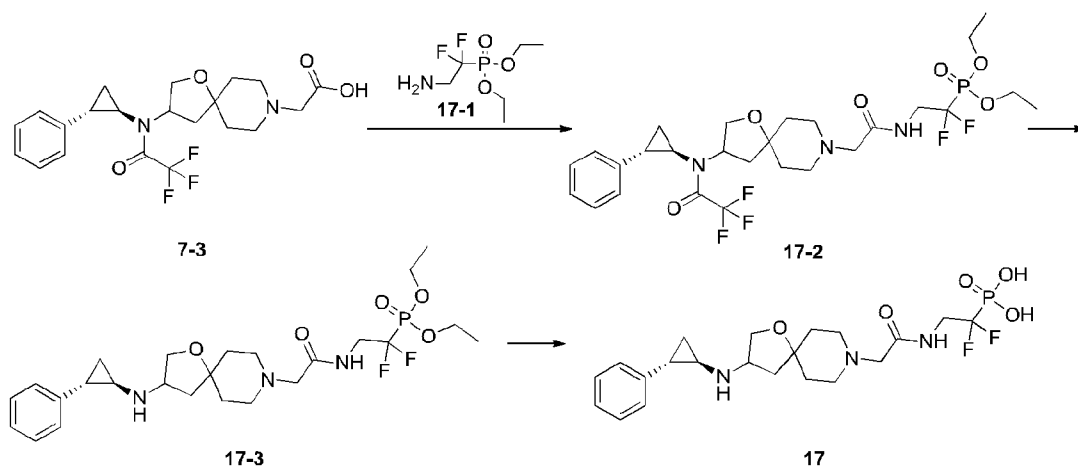
第二步

将化合物 16-2 (54.0 mg, 116 μ mol) 溶于四氢呋喃 (1 mL) 和水 (1 mL) 中, 向反应液中加入一水合氢氧化钾 (9.76 mg, 233 μ mol)。反应液在 55 $^{\circ}$ C 下搅拌反应 12 小时, 减压浓缩除去溶剂。用高效液相色谱法 (中性体系) 分离纯化, 向得到的馏分中加浓盐酸 (20 μ L) 后处理得到化合物 16 的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.33-7.31 (m, 2H), 7.26-7.21 (m, 3H), 4.28 (s, 2H), 4.20-4.16 (m, 3H), 4.01-4.00 (m, 2H), 3.41-3.37 (m, 3H), 3.28-3.24 (m, 1H), 3.03-3.00 (m, 1H), 2.65-2.64 (m, 1H), 2.48-2.47 (m, 1H), 2.17-2.04 (m, 5H), 1.66-1.65 (m, 1H), 1.42-1.40 (m, 1H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 369, 实测值 369。

实施例 17



合成路线:



第一步

将化合物7-3 (150 mg, 352 μmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (3 mL) 中, 向反应液中加入三正丙基磷酸酐 (50% 乙酸乙酯溶液, 168 mg, 528 μmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (90.9 mg, 704 μmol), 再向其中加入化合物17-1 (153 mg, 704 μmol)。反应液在25 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌12小时。加水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (20 mL x 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠 (10 mL x 1) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到化合物17-2。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 626, 实测值626。

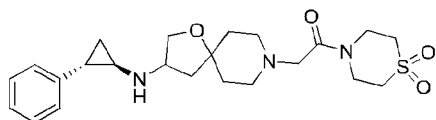
第二步

将化合物17-2 (120 mg, 192 μmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL) 和水 (1 mL) 中, 向反应液中加入一水合氢氧化锂 (16.1 mg, 384 μmol)。反应液在55 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应12小时, 用盐酸 (1 mol/L) 调节pH至7, 减压浓缩除去溶剂, 得到粗产物化合物17-3。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 530, 实测值530。

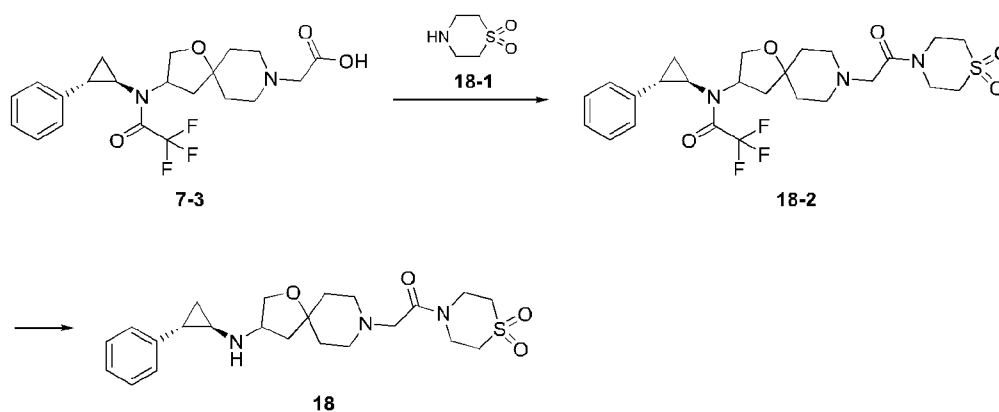
第三步

将化合物17-3 (50.0 mg, 94.4 μmol) 溶于二氯甲烷 (2 mL) 中, 0 $^{\circ}\text{C}$ 下向反应液中加入三甲基溴硅烷 (145 mg, 944 μmol)。反应液在25 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌12小时。将反应液减压浓缩。用高效液相色谱法 (中性体系) 分离纯化, 向得到的馏分中加浓盐酸 (20 μL) 后处理得到化合物17的盐酸盐。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.55-7.54 (m, 1H), 7.43-7.40 (m, 1H), 7.35-7.31 (m, 2H), 7.26-7.25 (m, 1H), 7.23-7.21 (m, 2H), 4.23-4.21 (m, 3H), 4.18-4.16 (m, 2H), 4.03-3.92 (m, 2H), 3.56-3.55 (m, 2H), 3.47-3.45 (m, 2H), 3.05-3.04 (m, 1H), 2.67-2.66 (m, 1H), 2.49-2.48 (m, 1H), 2.19-2.07 (m, 5H), 1.67-1.66 (m, 1H), 1.43-1.41 (m, 1H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 474, 实测值474。

实施例 18



合成路线:



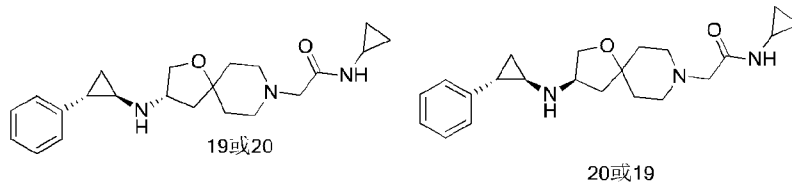
第一步

将化合物 **7-3** (300 mg, 0.648 mmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL), 加入 *O*-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N,N*-四甲基脲六氟磷酸盐 (370 mg, 0.972 mmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (251 mg, 1.94 mmol), 反应液在 30°C 下搅拌 1 小时, 再向反应液中加入化合物 **18-1** (133 mg, 0.778 mmol), 反应液在 30°C 搅拌 12 小时。向反应液中加入水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL × 3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (10 mL × 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 粗产物经过薄层层析法 (10: 1 二氯甲烷/甲醇, $R_f=0.31$) 分离纯化得到化合物 **18-2**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 544, 实测值 544。

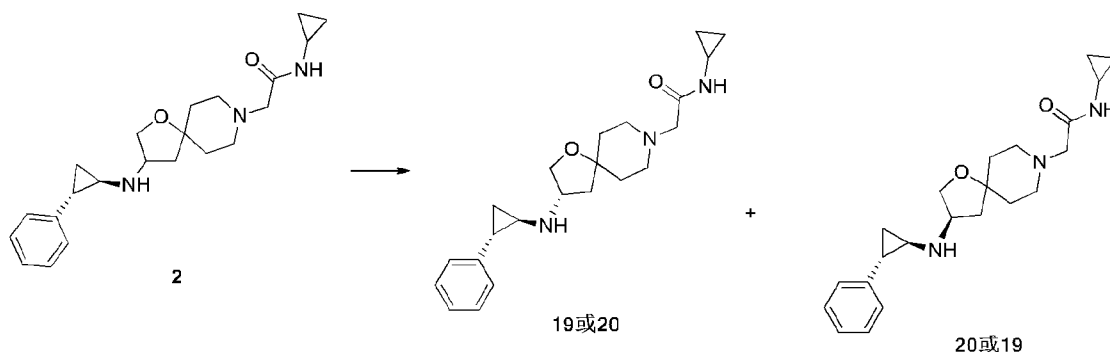
第二步

将化合物**18-2** (140 mg, 0.258 mmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL), 乙醇 (1 mL) 和 H_2O (1 mL) 的混合溶液, 向溶液中加入氢氧化钠 (20.6 mg, 0.515 mmol), 反应液在 50°C 下搅拌 3 小时, 反应液减压浓缩, 加入 H_2O (2 mL) 稀释, 用稀盐酸 (1 mol/L) 调节反应液 pH 至 4, 用乙酸乙酯 (5 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 依次用水 (20 mL × 3) 和饱和食盐水 (30 mL × 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 剩余物经过制备高效液相色谱法分离纯化得到化合物**18**的盐酸盐。 1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7.34-7.30 (m, 2H), 7.25-7.24 (m, 1H), 7.21-7.19 (m, 2H), 4.42 (s, 2H), 4.24-4.09 (m, 5H), 3.93-3.87 (m, 2H), 3.66-3.54 (m, 2H), 3.30-3.25 (m, 4H), 3.20-3.19 (m, 2H), 3.04-3.01 (m, 1H), 2.64-2.60 (m, 1H), 2.47-2.42 (m, 1H), 2.23-1.95 (m, 5H), 1.64-1.59 (m, 1H), 1.45-1.39 (m, 1H)。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 448, 实测值 448。

实施例 19, 20



合成路线:



将化合物 **2** (203 mg, 0.549 mmol) 经超临界流体萃取法 (柱: Chiralcel OD-3 50×4.6mm I.D., 3 μ m; 流动相: A: 二氧化碳 B: 甲醇 (0.05% 二乙胺); 梯度: B 在 A 中从 5% 到 40%; 流量: 3 mL/min; 柱温: 35°C; 柱压: 100 Bar) 分离纯化得到化合物 **19** (保留时间: 1.610 分钟)。 1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7.24-7.20 (m, 2H), 7.14-7.10 (m, 1H), 7.05-7.03 (m, 2H), 3.98-3.94 (m, 1H), 3.62-3.54 (m, 2H), 2.98-2.96 (m, 2H), 2.67-2.64 (m, 1H), 2.66-2.46 (m, 4H), 2.30-2.26 (m, 1H), 2.12-2.07 (m, 1H), 1.94-1.90 (m, 1H), 1.79-1.76 (m,

2H), 1.70-1.60 (m, 3H), 1.07-0.99 (m, 2H), 0.76-0.71 (m, 2H), 0.53-0.49 (m, 2H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 370, 实测值 370。

化合物**20** (保留时间: 1.973分钟)。¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.24-7.20 (m, 2H), 7.14-7.10 (m, 1H), 7.05-7.03 (m, 2H), 3.98-3.94 (m, 1H), 3.66-3.54 (m, 2H), 2.97-2.96 (m, 2H), 2.67-2.64 (m, 1H), 2.60-2.44 (m, 4H), 2.30-2.26 (m, 1H), 2.12-2.07 (m, 1H), 1.90-1.86 (m, 1H), 1.78-1.75 (m, 2H), 1.70-1.56 (m, 3H), 1.08-1.01 (m, 2H), 0.76-0.71 (m, 2H), 0.53-0.49 (m, 2H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 370, 实测值370。

生物化学检测:

实验例1: 酶活性评价

本试验目的是检测化合物对 LSD1 的体外抑制活性。本试验采用的酶为人源 LSD1, 标准底物为组蛋白 H3K4me 肽 (20μM), 采用酶荧光偶联法, 通过辣根过氧化酶 (HPR) 和荧光试剂 Amplex Red 联合检测 LSD1 反应后生成的 H₂O₂ 的方法测定化合物的活性。从 10μM 开始 3 倍稀释, 检测化合物的 10 个浓度下 IC₅₀ 值。化合物在加入底物开始反应前, 酶和底物共孵化 30 分钟。荧光检测器: EnVision, 激发波长: Ex/Em=530/590 nm。

测试化合物对LSD1抑制活性, 结果如表1所示。

表 1: 本发明化合物体外酶活性筛选试验结果

化合物编号	IC ₅₀ (nM)	化合物编号	IC ₅₀ (nM)
化合物 1 的盐酸盐	17.74	化合物 6 的盐酸盐	120.7
化合物 2 的盐酸盐	19.99	化合物 10 的盐酸盐	37.35
化合物 3 的盐酸盐	33.86	化合物 11 的盐酸盐	13.14
化合物 4 的盐酸盐	18.13	化合物 13 的盐酸盐	36.32
化合物 5 的盐酸盐	100.6	化合物 18 的盐酸盐	112.3

结论: 本发明化合物对 LSD1 抑制活性明显。

实验例2: 对NCI-H1417细胞增殖抑制活性评价:

实验目的: 检测待测化合物对NCI-H1417细胞增殖抑制活性。

实验材料: RPMI 1640培养基, 胎牛血清, Promega CellTiter-Glo试剂。NCI-H1417细胞系购自ATCC。Envision多标记分析仪 (PerkinElmer)。

实验方法: 将化合物溶解到10mM,在化合物板里用DMSO 5倍稀释化合物, 化合物起始为2mM, 用Bravo进行三倍稀释, 10个浓度, 用Echo转板250 nL到空白的384细胞板的上下双复孔, 往转了250 nL DMSO/化合物里面加入每孔/1000个细胞/50 μL的细胞悬液, 化合物稀释了200倍, 即起始作用浓度是10μM。细胞板置于二氧化碳培养箱中培养10天。向细胞板中加入每孔25 μL的Promega CellTiter-Glo试剂, 室温振荡10分钟使发光信号稳定。采用PerkinElmer Envision多标记分析仪读数。

数据分析: 利用方程式(Max-Ratio)/(Max-Min)*100%将原始数据换算成抑制率, IC₅₀的值即可通过四参

数进行曲线拟合得出。(XLFIT5中205模式得出, iDBS)。

测试化合物对NCI-H1417细胞增殖抑制活性, 结果如表2所示。

表 2: 本发明化合物对 NCI-H1417 细胞增殖抑制试验结果

化合物编号	IC ₅₀ (nM)	化合物编号	IC ₅₀ (nM)
化合物 1 的盐酸盐	4.51	化合物 5 的盐酸盐	33.10
化合物 2 的盐酸盐	3.22	化合物 6 的盐酸盐	28.18
化合物 4 的盐酸盐	4.76	--	--

结论: 本发明化合物对NCI-H1417细胞增殖抑制活性明显。

实验例3: 对HL60细胞增殖抑制活性评价:

实验目的: 检测待测化合物对HL60细胞增殖抑制活性。

实验材料: RPMI-1640培养基, 胎牛血清, 盘尼西林/链霉素抗生素购自维森特。CellTiter-Glo (细胞活率化学发光检测试剂) 试剂购自Promega。HL60细胞系购自南京科佰生命科技有限公司。Nivo多标记分析仪 (PerkinElmer)。

实验方法: 将 HL60 细胞种于白色 384 孔板中, 40 μ L 细胞悬液每孔, 其中包含 600 个 HL60 细胞。细胞板置于二氧化碳培养箱中过夜培养。将待测化合物用排枪进行 5 倍稀释至第 10 个浓度, 即从 2 mM 稀释至 1.024 nM, 设置双复孔实验。向中间板中加入 78 μ L 培养基, 再按照对应位置, 转移 2 μ L 每孔的梯度稀释化合物至中间板, 混匀后转移 10 μ L 每孔到细胞板中。细胞板置于二氧化碳培养箱中培养 6 天。另准备一块细胞板, 在加药当天读取信号值作为最大值 (下面方程式中 Max 值) 参与数据分析。向此细胞板每孔加入 20 μ L 细胞活率化学发光检测试剂, 室温孵育 10 分钟使发光信号稳定。采用多标记分析仪读数。

数据分析: 利用方程式 $(\text{Sample}-\text{Min})/(\text{Max}-\text{Min}) \times 100\%$ 将原始数据换算成抑制率, IC₅₀ 的值即可通过四参数进行曲线拟合得出 (GraphPad Prism 中 "log(inhibitor) vs. response -- Variable slope" 模式得出)。

测试化合物对HL60细胞增殖抑制活性, 结果如表3所示。

表 3: 本发明化合物对 HL60 细胞增殖抑制试验结果

化合物编号	IC ₅₀ (nM)	化合物编号	IC ₅₀ (nM)
化合物 1 的盐酸盐	1.73	化合物 5 的盐酸盐	4.51
化合物 2 的盐酸盐	2.34	化合物 6 的盐酸盐	2.34
化合物 4 的盐酸盐	2.35	--	--

结论: 本发明化合物对HL60细胞增殖抑制活性明显。

实验例4: 对MV-4-11细胞增殖抑制活性评价:

实验目的: 检测待测化合物对MV-4-11细胞增殖抑制活性。

实验材料: IMDM 培养基, 胎牛血清, 盘尼西林/链霉素抗生素购自维森特。CellTiter-Glo (细胞活率化学发光检测试剂) 试剂购自 Promega。MV-4-11 细胞系购自南京科佰生物科技有限公司。Nivo 多标记分析仪(PerkinElmer)。

实验方法: 将 MV-4-11 细胞种于白色 96 孔板中, 80 μL 细胞悬液每孔, 其中包含 6000 个 MV-4-11 细胞。细胞板置于二氧化碳培养箱中过夜培养。

将待测化合物用排枪进行 5 倍稀释至第 8 个浓度, 即从 2 mM 稀释至 25.6 nM, 设置双复孔实验。向中间板中加入 78 μL 培养基, 再按照对应位置, 转移 2 μL 每孔的梯度稀释化合物至中间板, 混匀后转移 20 μL 每孔到细胞板中。细胞板置于二氧化碳培养箱中培养 6 天。另准备一块细胞板, 在加药当天读取信号值作为最大值 (下面方程式中 Max 值) 参与数据分析。向此细胞板每孔加入 25 μL 细胞活率化学发光检测试剂, 室温孵育 10 分钟使发光信号稳定。采用多标记分析仪读数。

数据分析: 利用方程式 $(\text{Sample}-\text{Min})/(\text{Max}-\text{Min}) \times 100\%$ 将原始数据换算成抑制率, IC_{50} 的值即可通过四参数进行曲线拟合得出 (GraphPad Prism 中 "log(inhibitor) vs. response -- Variable slope" 模式得出)。

测试化合物对 MV-4-11 细胞增殖抑制活性, 结果如表 4 所示。

表 4: 本发明化合物对 MV-4-11 细胞增殖抑制试验结果

化合物编号	IC_{50} (nM)	化合物编号	IC_{50} (nM)
化合物 1 的盐酸盐	2.1	化合物 5 的盐酸盐	6.93
化合物 2 的盐酸盐	0.91	化合物 6 的盐酸盐	34.7
化合物 4 的盐酸盐	1.38	--	--

结论: 本发明化合物对 MV-4-11 细胞增殖抑制活性明显。

实验例 5: 化合物药代动力学评价

实验目的: 测试化合物在 CD-1 小鼠体内的药代动力学

实验材料:

CD-1 小鼠 (雄性, 7~9 周龄, 上海斯莱克)

实验操作:

以标准方案测试化合物静脉注射及口服给药后的啮齿类动物药代特征, 实验中候选化合物配成澄清溶液, 给予小鼠单次静脉注射及口服给药。静注及口服溶媒为 10% 二甲基亚砜与 90% 的 10% 的羟丙基 β 环糊精配成的混合溶媒。该项目使用四只雄性 CD-1 小鼠, 两只小鼠进行静脉注射给药, 给药剂量为 1 mg/kg, 收集 0 h (给药前) 和给药后 0.0833, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24 h 的血浆样品, 另外两只小鼠口服灌胃给药, 给药剂量为 2 mg/kg, 收集 0 h (给药前) 和给药后 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24 h 的血浆样品, 收集 24 小时内的全血样品, 3000g 离心 15 分钟, 分离上清得血浆样品, 加入 4 倍体积含内标的乙腈溶液沉淀蛋白, 离心取上清液加入等倍体积的水再离心取上清进样, 以 LC-MS/MS 分析方法定量分析血药浓度, 并计算药代参

数, 如达峰浓度(C_{max}), 清除率(CL), 半衰期($T_{1/2}$), 组织分布(V_{dss}), 药时曲线下面积(AUC_{0-last}), 生物利用度(F)等。

实验结果如表5所示:

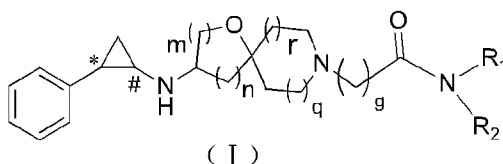
表5 本发明化合物药代动力学测试结果

化合物	达峰浓度 C_{max} (nM)	清除率 CL (mL/min/kg)	组织分布 V_{dss} (L/kg)	半衰期 $T_{1/2}$ (IV, h)	药时曲线下面积 AUC _{0-last} PO (nM·hr)	生物利用度 F (%)
化合物 1 的盐酸盐	114	44.9	19.6	6.78	945	48.4
化合物 2 的盐酸盐	227	41.8	6.62	2.3	708	36.1
化合物 4 的盐酸盐	103	45.2	15.1	6.14	605	34
化合物 5 的盐酸盐	361	41.3	0.595	0.459	380	19.3
化合物 18 的盐酸盐	80	61.5	22	6.27	542	47

结论: 本发明化合物具有良好的药代动力学性质, 包括良好的口服生物利用度, 口服暴露量, 半衰期和清除率等。

权利要求

1. 式 (I) 化合物、其异构体或其药学上可接受的盐,

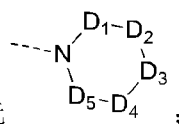


其中,

R_1 为 C_{1-3} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、4-7 元杂环烷基、苯基、 $-C_{1-3}$ 烷基- C_{3-7} 环烷基、 $-C_{1-3}$ 烷基-4-7 元杂环烷基、 $-C_{1-3}$ 烷基-苯基或 $-C_{1-3}$ 烷基-5-6 元杂芳基, 其中所述 C_{1-3} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、4-7 元杂环烷基、苯基、 $-C_{1-3}$ 烷基- C_{3-7} 环烷基、 $-C_{1-3}$ 烷基-苯基或 $-C_{1-3}$ 烷基-5-6 元杂芳基任选被 1、2 或 3 个 R_a 取代;

R_2 为 H 或 C_{1-3} 烷基;

或者, R_1 和 R_2 与其所连接的 N 原子连接一起形成结构单元



D_1 为单键、O、 $N(R_{d11})$ 或 $C(R_{d12})_2$;

D_2 为 O、 $N(R_{d21})$ 或 $C(R_{d22})_2$;


D_3 为 O、 $S(=O)_2$ 、 $N(R_{d31})$ 或 $C(R_{d32})_2$;

D_4 为 O、 $N(R_{d41})$ 或 $C(R_{d42})_2$;

D_5 为单键、O、 $N(R_{d51})$ 或 $C(R_{d52})_2$;

R_{d11} 、 R_{d21} 、 R_{d31} 、 R_{d41} 和 R_{d51} 分别独立地为 H 或 C_{1-3} 烷基;

R_{d12} 、 R_{d22} 、 R_{d32} 、 R_{d42} 和 R_{d52} 分别独立地为 H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、COOH 或 C_{1-3} 烷基;

R_a 为 F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、CN、COOH、 或 C_{1-3} 烷基, 其中所述 C_{1-3} 烷基任选被 1、2 或 3 个 R 取代;

R 选自 F、Cl、Br、I、OH 和 NH_2 ;

m 为 0、1 或 2;

n 为 0、1 或 2, 且 m 和 n 不能同时为 0;

r 为 0 或 1;

q 为 0 或 1;

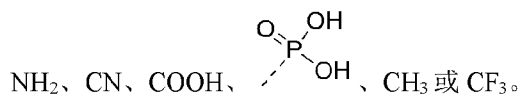
g 为 1、2 或 3;

所述 5-6 元杂芳基和 4-7 元杂环烷基分别包含 1、2、3 或 4 个独立选自 -NH-、-O-、-S- 和 N 的杂原子或杂原子团;

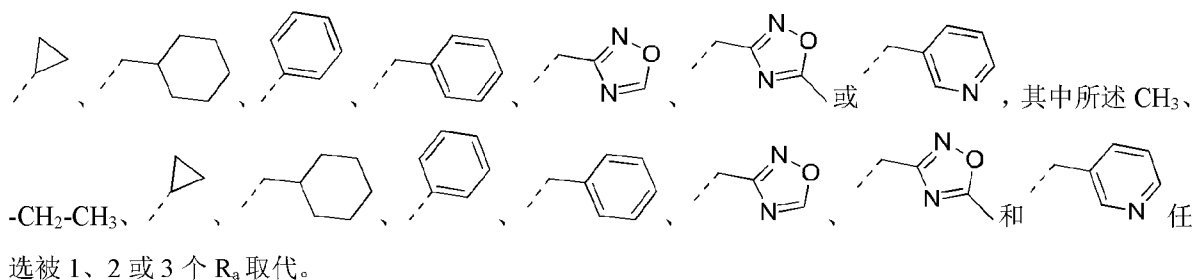
带“*”碳原子为手性碳原子，以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在；

带“#”碳原子为手性碳原子，以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在。

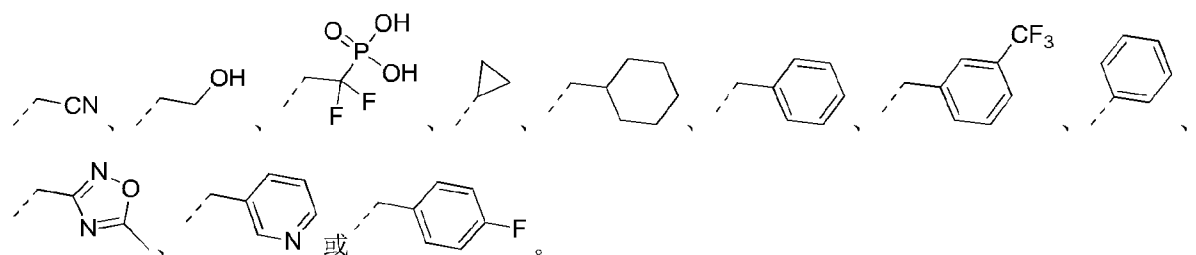
2. 根据权利要求 1 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其中， R_a 为 F、Cl、Br、I、OH、



3. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其中， R_1 为 CH_3 、 $-CH_2-CH_3$ 、



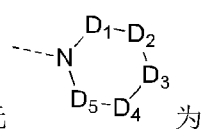
4. 根据权利要求 3 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其中， R_1 为 CH_3 、 $-CH_2-COOH$ 、

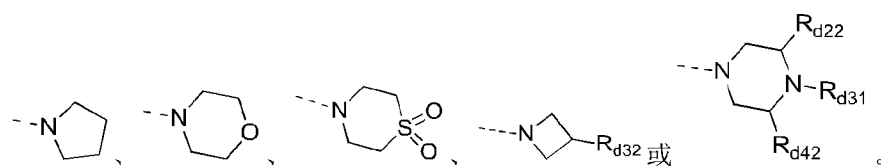


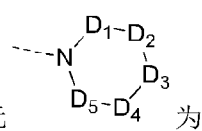
5. 根据权利要求 1 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其中， R_2 为 H 或 CH_3 。

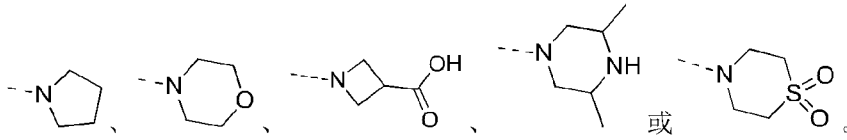
6. 根据权利要求 1 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其中， R_{d11} 、 R_{d21} 、 R_{d31} 、 R_{d41} 和 R_{d51} 分别独立地为 H 或 CH_3 。

7. 根据权利要求 1 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其中， R_{d12} 、 R_{d22} 、 R_{d32} 、 R_{d42} 和 R_{d52} 分别独立地为 H、F、Cl、Br、I、OH、 NH_2 、 CN 、 $COOH$ 或 CH_3 。

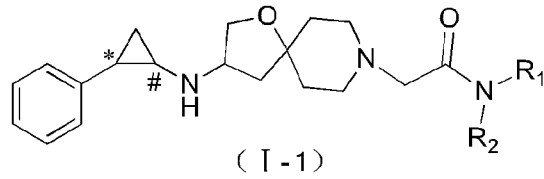
8. 根据权利要求 1 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其中，结构单元  为



9. 根据权利要求 1 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其中，结构单元  为



10. 根据权利要求 1 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自

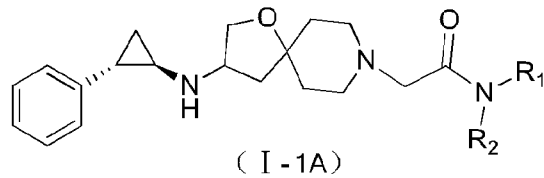


其中，R₁ 和 R₂ 如权利要求 1 所定义，

带“*”碳原子为手性碳原子，以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在；

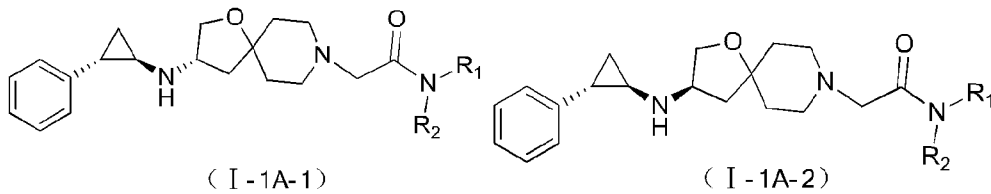
带“#”碳原子为手性碳原子，以 (R) 或 (S) 单一对映体形式或富含一种对映体形式存在。

11. 根据权利要求 1 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自



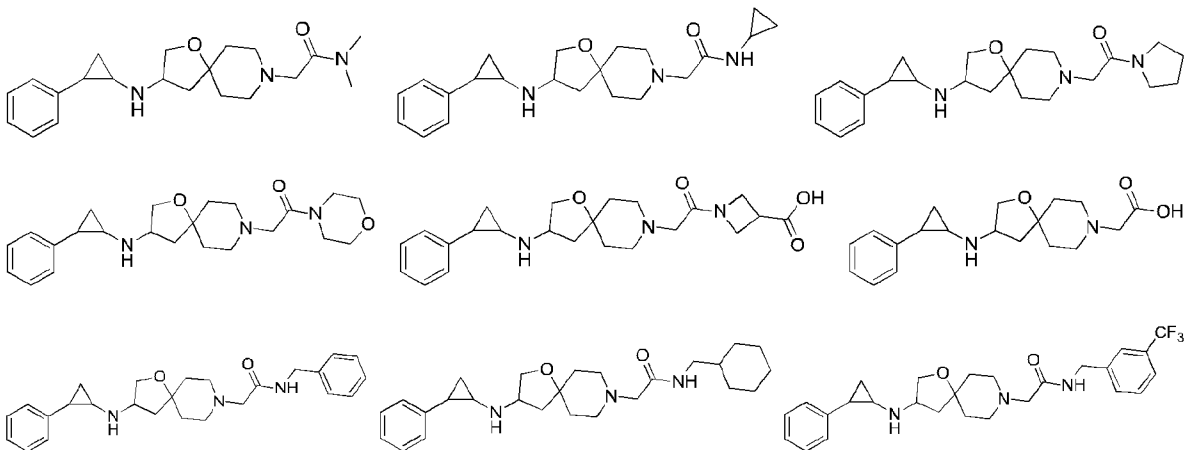
其中，R₁ 和 R₂ 如权利要求 1 所定义。

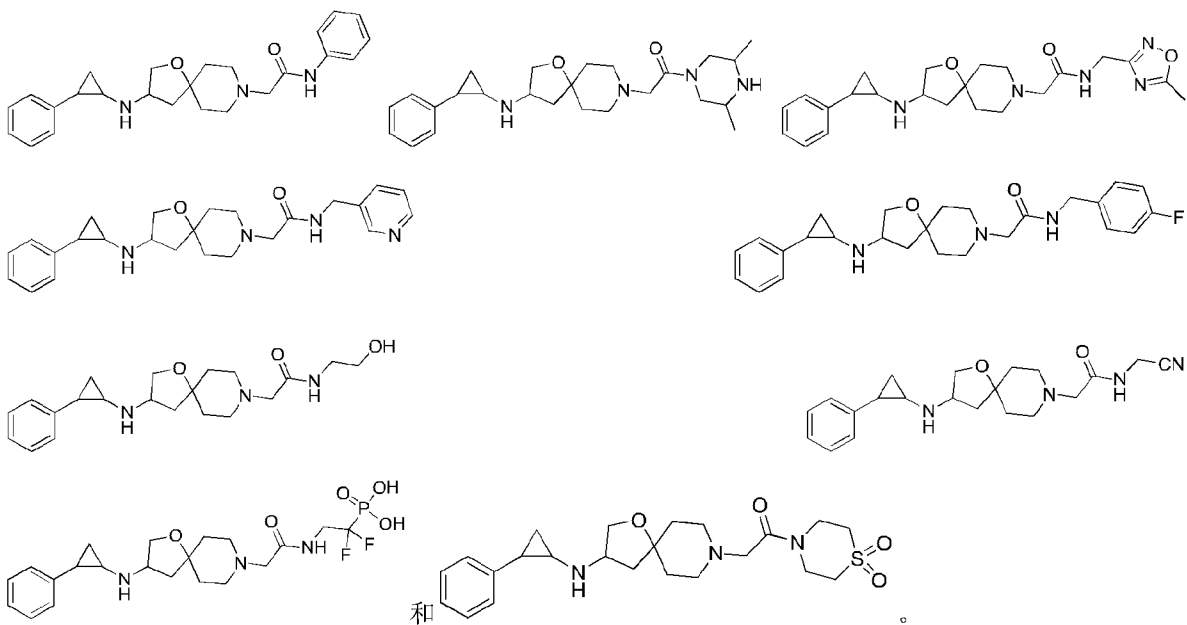
12. 根据权利要求 11 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自



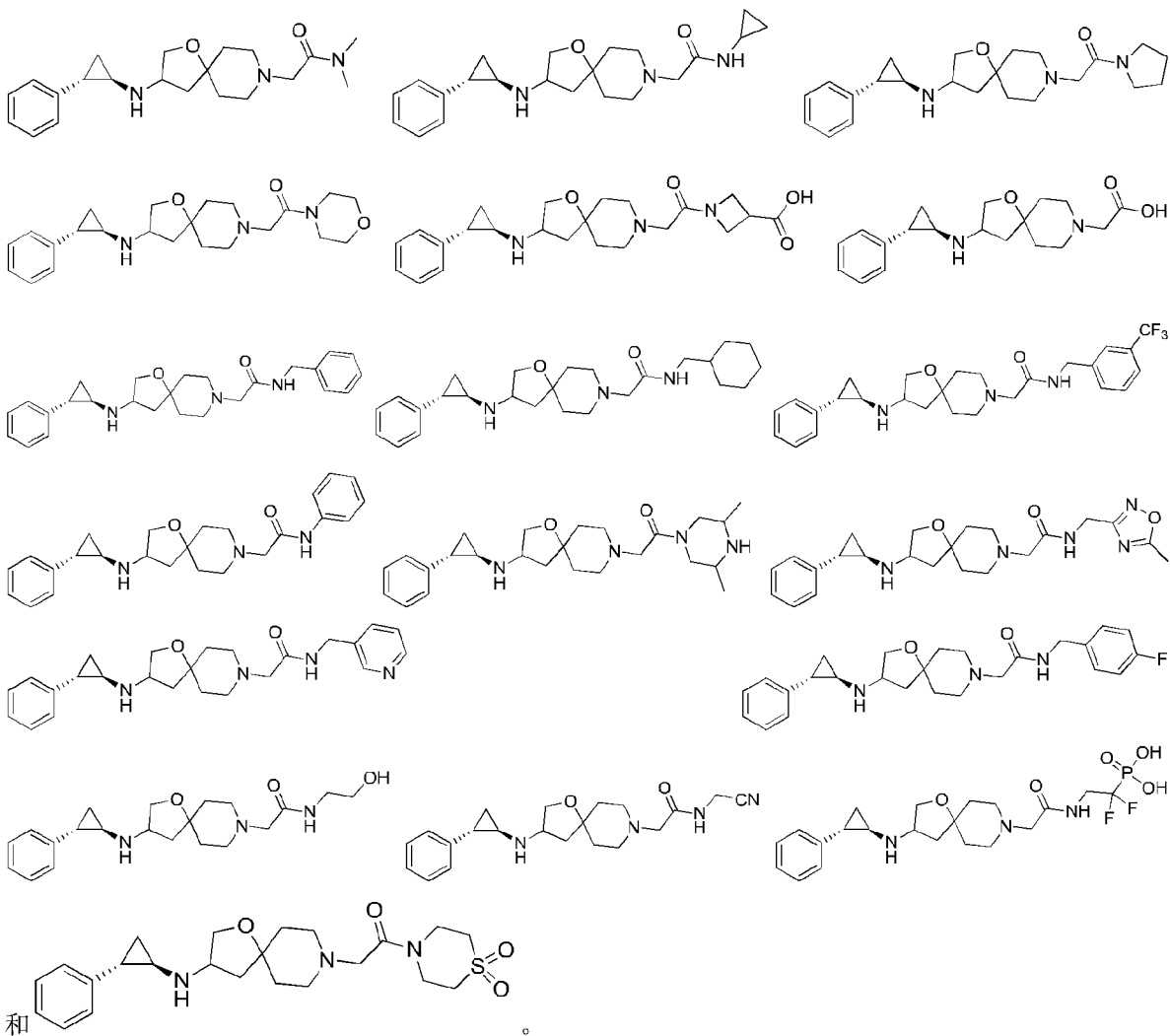
其中，R₁ 和 R₂ 如权利要求 11 所定义。

13. 下式化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，

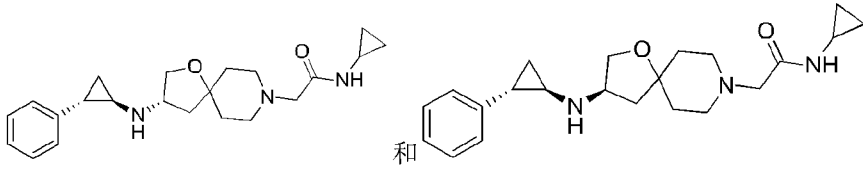




14. 根据权利要求 13 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自



15. 根据权利要求 14 所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其选自



16. 根据权利要求 1-15 任意一项所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，其中所述药学上可接受的盐为盐酸盐。

17. 根据权利要求 1-16 任意一项所述的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐在制备治疗 LSD1 相关病症的药物上的应用。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/118824

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07D 491/107(2006.01)i; C07D 205/04(2006.01)i; C07C 217/74(2006.01)i; C07D 207/14(2006.01)i; C07D 207/14(2006.01)i; A61K 31/435(2006.01)i; A61K 31/13(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D; A61K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, CNTXT, WPI, EPODOC, USTXT, EPTXT, WOTXT, CAPLUS(STN), REGISTRY(STN), CNKI: 南京明德新药, 药明康德, 吴凌云, 展震, 钱慧, 王君为, 陈曙辉, structural formula search, 环丙, 环丙胺, 环丙烷, 杂环, 螺环, 杂螺环, 赖氨酸特异性, 去甲基化酶, 组蛋白, 抑制剂, 癌症, 肿瘤, cyclopropyl, cyclopropylamin+, toroid, heteroaryl, aryl, spiro, LSD1, lysinespecificdemethylase, KDM1A, inhibit+, tumour, tumor, cancer		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 109153636 A (JUBILANT BIOSYS LTD.) 04 January 2019 (2019-01-04) description, paragraphs [0013]-[0034], [0026]-[0028], [0033]-[0034], [0059]-[0060], [1215]-[1218], embodiment 46	1-17
A	CN 103857393 A (GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY (NO. 2) LIMITED) 11 June 2014 (2014-06-11) entire document	1-17
A	CN 104203914 A (ORYZON GENOMICS S.A.) 10 December 2014 (2014-12-10) entire document	1-17
A	WO 2015123408 A1 (INCYTE CORPORATION) 20 August 2015 (2015-08-20) entire document	1-17
A	WO 2019025588 A1 (ORYZON GENOMICS, S.A.) 07 February 2019 (2019-02-07) entire document	1-17
A	US 2019211014 A1 (INCYTE CORPORATION) 11 July 2019 (2019-07-11) entire document	1-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 08 December 2020		Date of mailing of the international search report 31 December 2020
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/118824

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	109153636	A	04 January 2019	WO	2017195216	A4	22 February 2018
				EP	3455204	A1	20 March 2019
				KR	20190005838	A	16 January 2019
				ZA	201808100	B	26 February 2020
				CA	3022561	A1	16 November 2017
				IL	262538	D0	31 December 2018
				AU	2017263361	A1	04 October 2018
				JP	2019521082	A	25 July 2019
				WO	2017195216	A1	16 November 2017
				-----	-----	-----	-----
CN	103857393	A	11 June 2014	NZ	616918	A	26 June 2015
				IL	228248	A	29 September 2016
				SG	193241	A1	30 October 2013
				US	8853408	B2	07 October 2014
				PE	20141322	A1	05 October 2014
				WO	2012135113	A2	04 October 2012
				MY	165620	A	18 April 2018
				WO	2012135113	A3	01 May 2014
				EP	2688568	A2	29 January 2014
				JP	2014515013	A	26 June 2014
				DO	P2013000211	A	31 January 2014
				MX	347913	B	17 May 2017
				EP	2688568	A4	06 May 2015
				CO	6771447	A2	15 October 2013
				US	2016220547	A1	04 August 2016
				AU	2012236868	A1	18 April 2013
				KR	101884493	B1	01 August 2018
				JP	5813855	B2	17 November 2015
				CA	2831143	A1	04 October 2012
				KR	20140036163	A	25 March 2014
				US	9346840	B2	24 May 2016
				US	2014371176	A1	18 December 2014
				CR	20130550	A	24 March 2014
				ZA	201306580	B	28 May 2014
				MA	35096	B1	02 May 2014
				EP	2688568	B1	19 June 2019
				MX	2013010969	A	27 March 2014
				US	2018000805	A1	04 January 2018
				AU	2012236868	B2	17 September 2015
				ES	2742805	T3	17 February 2020
				US	10064854	B2	04 September 2018
				EA	023143	B1	29 April 2016
				EA	201391390	A1	30 January 2014
CL	2013002737	A1	28 March 2014				
CN	103857393	B	17 August 2016				
BR	112013024502	A2	27 December 2016				
CA	2831143	C	21 May 2019				
US	2014018393	A1	16 January 2014				
US	9795597	B2	24 October 2017				
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CN	104203914	A	10 December 2014	JP	2014532619	A	08 December 2014
				AU	2017254889	B2	16 May 2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/118824

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		US 2018354902 A1	13 December 2018
		US 2015025054 A1	22 January 2015
		MX 356344 B	23 May 2018
		WO 2013057320 A1	25 April 2013
		AU 2012324803 A1	05 June 2014
		JP 6382403 B2	29 August 2018
		KR 20140081884 A	01 July 2014
		CA 2852355 C	31 December 2019
		CN 104203914 B	11 July 2017
		HK 1205110 A1	11 December 2015
		JP 2017226671 A	28 December 2017
		AU 2017254889 A1	23 November 2017
		IL 232102 A	31 December 2017
		AU 2012324803 B9	24 August 2017
		KR 102139537 B1	31 July 2020
		EP 2768805 B1	25 March 2020
		US 9487512 B2	08 November 2016
		US 2017008844 A1	12 January 2017
		US 10329256 B2	25 June 2019
		MX 2014004429 A	10 February 2015
		US 9944601 B2	17 April 2018
		RU 2681211 C2	05 March 2019
		IL 232102 D0	28 May 2014
		AU 2012324803 A8	14 August 2014
		JP 6215212 B2	18 October 2017
		AU 2012324803 B2	03 August 2017
		RU 2014120210 A	27 November 2015
		CA 2852355 A1	25 April 2013
		CN 107266345 A	20 October 2017
		BR 112014009306 A2	11 April 2017
		EP 2768805 A1	27 August 2014
WO 2015123408 A1	20 August 2015	US 9493442 B2	15 November 2016
		TW 201613860 A	16 April 2016
		EP 3105219 B1	11 April 2018
		US 2017112816 A1	27 April 2017
		EP 3105219 A1	21 December 2016
		US 2015225379 A1	13 August 2015
		ES 2672797 T3	18 June 2018
		EP 3392244 A1	24 October 2018
		US 10300051 B2	28 May 2019
		EP 3105219 B9	03 October 2018
WO 2019025588 A1	07 February 2019	EP 3661510 A1	10 June 2020
		KR 20200036920 A	07 April 2020
		SG 11202000077 R A	27 February 2020
		CN 110996949 A	10 April 2020
		CA 3071804 A1	07 February 2019
		BR 112020000827 A2	21 July 2020
		AU 2018309372 A1	30 January 2020
US 2019211014 A1	11 July 2019	JP 6602778 B2	06 November 2019
		US 10174030 B2	08 January 2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/118824

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		US 2015225401 A1	13 August 2015
		PH 12016501601 A1	03 October 2016
		CR 20200199 A	19 June 2020
		US 9670210 B2	06 June 2017
		LT 3105218 T	10 December 2019
		EP 3105218 B1	25 September 2019
		US 2017342070 A1	30 November 2017
		AU 2015217073 B2	22 August 2019
		KR 20160132409 A	18 November 2016
		CL 2016002027 A1	20 January 2017
		IL 247134 D0	29 September 2016
		PE 20161573 A1	19 January 2017
		SG 10201908028 S A	30 October 2019
		SG 11201606689V A	29 September 2016
		RS 59559 B1	31 December 2019
		WO 2015123465 A1	20 August 2015
		SG 10201806849 W A	27 September 2018
		PT 3105218 T	05 December 2019
		HU E046273 T2	28 February 2020
		AU 2015217073 A1	15 September 2016
		JP 2020019812 A	06 February 2020
		US 10717737 B2	21 July 2020
		HR P20192167 T1	21 February 2020
		EP 3105218 A1	21 December 2016
		CN 111454188 A	28 July 2020
		PL 3105218 T3	31 March 2020
		CN 106164066 A	23 November 2016
		TW 201623231 A	01 July 2016
		TW 1685483 B	21 February 2020
		MX 2016010395 A	28 February 2017
		EP 3626713 A1	25 March 2020
		AU 2019210624 A1	22 August 2019
		CN 106164066 B	17 January 2020
		BR 112016018544 A2	02 June 2020
		DK 3105218 T3	04 November 2019
		SI 3105218 T1	29 November 2019
		JP 2017510554 A	13 April 2017
		EA 201691620 A1	30 November 2016
		CR 20160396 A	20 December 2016
		CA 2939082 A1	20 August 2015
		ES 2760261 T3	13 May 2020

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07D 491/107(2006.01)i; C07D 205/04(2006.01)i; C07C 217/74(2006.01)i; C07D 207/14(2006.01)i; C07D 207/14(2006.01)i; A61K 31/435(2006.01)i; A61K 31/13(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																							
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07D; A61K; A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS, CNTXT, WPI, EPODOC, USTXT, EPTXT, WOTXT, CAPLUS(STN), REGISTRY(STN), CNKI: 南京明德新药, 药明康德, 吴凌云, 展震, 钱慧, 王君为, 陈曙辉, 结构式检索, 环丙, 环丙胺, 环丙烷, 杂环, 螺环, 杂螺环, 赖氨酸特异性, 去甲基化酶, 组蛋白, 抑制剂, 癌症, 肿瘤, cyclopropyl, cyclopropylamin+, toroid, heteroaryl, aryl, spiro, LSD1, lysinespecificdemethylase, KDM1A, inhibit+, tumour, tumor, cancer</p>																							
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 109153636 A (朱比连特比利斯有限公司) 2019年 1月 4日 (2019 - 01 - 04) 说明书第[0013]-[0034]、[0026]-[0028]、[0033]-[0034]、[0059]-[0060]、[1215]-[1218]段, 实施例46</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103857393 A (葛兰素史密斯克莱知识产权第2号有限公司) 2014年 6月 11日 (2014 - 06 - 11) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104203914 A (奥瑞泽恩基因组学股份有限公司) 2014年 12月 10日 (2014 - 12 - 10) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2015123408 A1 (INCYTE CORPORATION) 2015年 8月 20日 (2015 - 08 - 20) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2019025588 A1 (ORYZON GENOMICS, S.A.) 2019年 2月 7日 (2019 - 02 - 07) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2019211014 A1 (INCYTE CORPORATION) 2019年 7月 11日 (2019 - 07 - 11) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 109153636 A (朱比连特比利斯有限公司) 2019年 1月 4日 (2019 - 01 - 04) 说明书第[0013]-[0034]、[0026]-[0028]、[0033]-[0034]、[0059]-[0060]、[1215]-[1218]段, 实施例46	1-17	A	CN 103857393 A (葛兰素史密斯克莱知识产权第2号有限公司) 2014年 6月 11日 (2014 - 06 - 11) 全文	1-17	A	CN 104203914 A (奥瑞泽恩基因组学股份有限公司) 2014年 12月 10日 (2014 - 12 - 10) 全文	1-17	A	WO 2015123408 A1 (INCYTE CORPORATION) 2015年 8月 20日 (2015 - 08 - 20) 全文	1-17	A	WO 2019025588 A1 (ORYZON GENOMICS, S.A.) 2019年 2月 7日 (2019 - 02 - 07) 全文	1-17	A	US 2019211014 A1 (INCYTE CORPORATION) 2019年 7月 11日 (2019 - 07 - 11) 全文	1-17
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
X	CN 109153636 A (朱比连特比利斯有限公司) 2019年 1月 4日 (2019 - 01 - 04) 说明书第[0013]-[0034]、[0026]-[0028]、[0033]-[0034]、[0059]-[0060]、[1215]-[1218]段, 实施例46	1-17																					
A	CN 103857393 A (葛兰素史密斯克莱知识产权第2号有限公司) 2014年 6月 11日 (2014 - 06 - 11) 全文	1-17																					
A	CN 104203914 A (奥瑞泽恩基因组学股份有限公司) 2014年 12月 10日 (2014 - 12 - 10) 全文	1-17																					
A	WO 2015123408 A1 (INCYTE CORPORATION) 2015年 8月 20日 (2015 - 08 - 20) 全文	1-17																					
A	WO 2019025588 A1 (ORYZON GENOMICS, S.A.) 2019年 2月 7日 (2019 - 02 - 07) 全文	1-17																					
A	US 2019211014 A1 (INCYTE CORPORATION) 2019年 7月 11日 (2019 - 07 - 11) 全文	1-17																					
国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期																						
2020年 12月 8日	2020年 12月 31日																						
ISA/CN的名称和邮寄地址	授权官员																						
中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	刘艳芳 电话号码 (86-10) 53961913																						

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/118824

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	109153636	A	2019年 1月 4日	WO	2017195216	A4	2018年 2月 22日
				EP	3455204	A1	2019年 3月 20日
				KR	20190005838	A	2019年 1月 16日
				ZA	201808100	B	2020年 2月 26日
				CA	3022561	A1	2017年 11月 16日
				IL	262538	D0	2018年 12月 31日
				AU	2017263361	A1	2018年 10月 4日
				JP	2019521082	A	2019年 7月 25日
				WO	2017195216	A1	2017年 11月 16日
				CN	103857393	A	2014年 6月 11日
IL	228248	A	2016年 9月 29日				
SG	193241	A1	2013年 10月 30日				
US	8853408	B2	2014年 10月 7日				
PE	20141322	A1	2014年 10月 5日				
WO	2012135113	A2	2012年 10月 4日				
MY	165620	A	2018年 4月 18日				
WO	2012135113	A3	2014年 5月 1日				
EP	2688568	A2	2014年 1月 29日				
JP	2014515013	A	2014年 6月 26日				
DO	P2013000211	A	2014年 1月 31日				
MX	347913	B	2017年 5月 17日				
EP	2688568	A4	2015年 5月 6日				
CO	6771447	A2	2013年 10月 15日				
US	2016220547	A1	2016年 8月 4日				
AU	2012236868	A1	2013年 4月 18日				
KR	101884493	B1	2018年 8月 1日				
JP	5813855	B2	2015年 11月 17日				
CA	2831143	A1	2012年 10月 4日				
KR	20140036163	A	2014年 3月 25日				
US	9346840	B2	2016年 5月 24日				
US	2014371176	A1	2014年 12月 18日				
CR	20130550	A	2014年 3月 24日				
ZA	201306580	B	2014年 5月 28日				
MA	35096	B1	2014年 5月 2日				
EP	2688568	B1	2019年 6月 19日				
MX	2013010969	A	2014年 3月 27日				
US	2018000805	A1	2018年 1月 4日				
AU	2012236868	B2	2015年 9月 17日				
ES	2742805	T3	2020年 2月 17日				
US	10064854	B2	2018年 9月 4日				
EA	023143	B1	2016年 4月 29日				
EA	201391390	A1	2014年 1月 30日				
CL	2013002737	A1	2014年 3月 28日				
CN	103857393	B	2016年 8月 17日				
BR	112013024502	A2	2016年 12月 27日				
CA	2831143	C	2019年 5月 21日				
US	2014018393	A1	2014年 1月 16日				
US	9795597	B2	2017年 10月 24日				
CN	104203914	A	2014年 12月 10日	JP	2014532619	A	2014年 12月 8日
				AU	2017254889	B2	2019年 5月 16日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/118824

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		US 2018354902 A1	2018年 12月 13日
		US 2015025054 A1	2015年 1月 22日
		MX 356344 B	2018年 5月 23日
		WO 2013057320 A1	2013年 4月 25日
		AU 2012324803 A1	2014年 6月 5日
		JP 6382403 B2	2018年 8月 29日
		KR 20140081884 A	2014年 7月 1日
		CA 2852355 C	2019年 12月 31日
		CN 104203914 B	2017年 7月 11日
		HK 1205110 A1	2015年 12月 11日
		JP 2017226671 A	2017年 12月 28日
		AU 2017254889 A1	2017年 11月 23日
		IL 232102 A	2017年 12月 31日
		AU 2012324803 B9	2017年 8月 24日
		KR 102139537 B1	2020年 7月 31日
		EP 2768805 B1	2020年 3月 25日
		US 9487512 B2	2016年 11月 8日
		US 2017008844 A1	2017年 1月 12日
		US 10329256 B2	2019年 6月 25日
		MX 2014004429 A	2015年 2月 10日
		US 9944601 B2	2018年 4月 17日
		RU 2681211 C2	2019年 3月 5日
		IL 232102 D0	2014年 5月 28日
		AU 2012324803 A8	2014年 8月 14日
		JP 6215212 B2	2017年 10月 18日
		AU 2012324803 B2	2017年 8月 3日
		RU 2014120210 A	2015年 11月 27日
		CA 2852355 A1	2013年 4月 25日
		CN 107266345 A	2017年 10月 20日
		BR 112014009306 A2	2017年 4月 11日
		EP 2768805 A1	2014年 8月 27日
WO 2015123408 A1	2015年 8月 20日	US 9493442 B2	2016年 11月 15日
		TW 201613860 A	2016年 4月 16日
		EP 3105219 B1	2018年 4月 11日
		US 2017112816 A1	2017年 4月 27日
		EP 3105219 A1	2016年 12月 21日
		US 2015225379 A1	2015年 8月 13日
		ES 2672797 T3	2018年 6月 18日
		EP 3392244 A1	2018年 10月 24日
		US 10300051 B2	2019年 5月 28日
		EP 3105219 B9	2018年 10月 3日
WO 2019025588 A1	2019年 2月 7日	EP 3661510 A1	2020年 6月 10日
		KR 20200036920 A	2020年 4月 7日
		SG 11202000077R A	2020年 2月 27日
		CN 110996949 A	2020年 4月 10日
		CA 3071804 A1	2019年 2月 7日
		BR 112020000827 A2	2020年 7月 21日
		AU 2018309372 A1	2020年 1月 30日
US 2019211014 A1	2019年 7月 11日	JP 6602778 B2	2019年 11月 6日
		US 10174030 B2	2019年 1月 8日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/118824

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		US 2015225401 A1	2015年 8月 13日
		PH 12016501601 A1	2016年 10月 3日
		CR 20200199 A	2020年 6月 19日
		US 9670210 B2	2017年 6月 6日
		LT 3105218 T	2019年 12月 10日
		EP 3105218 B1	2019年 9月 25日
		US 2017342070 A1	2017年 11月 30日
		AU 2015217073 B2	2019年 8月 22日
		KR 20160132409 A	2016年 11月 18日
		CL 2016002027 A1	2017年 1月 20日
		IL 247134 D0	2016年 9月 29日
		PE 20161573 A1	2017年 1月 19日
		SG 10201908028S A	2019年 10月 30日
		SG 11201606689V A	2016年 9月 29日
		RS 59559 B1	2019年 12月 31日
		WO 2015123465 A1	2015年 8月 20日
		SG 10201806849W A	2018年 9月 27日
		PT 3105218 T	2019年 12月 5日
		HU E046273 T2	2020年 2月 28日
		AU 2015217073 A1	2016年 9月 15日
		JP 2020019812 A	2020年 2月 6日
		US 10717737 B2	2020年 7月 21日
		HR P20192167 T1	2020年 2月 21日
		EP 3105218 A1	2016年 12月 21日
		CN 111454188 A	2020年 7月 28日
		PL 3105218 T3	2020年 3月 31日
		CN 106164066 A	2016年 11月 23日
		TW 201623231 A	2016年 7月 1日
		TW 1685483 B	2020年 2月 21日
		MX 2016010395 A	2017年 2月 28日
		EP 3626713 A1	2020年 3月 25日
		AU 2019210624 A1	2019年 8月 22日
		CN 106164066 B	2020年 1月 17日
		BR 112016018544 A2	2020年 6月 2日
		DK 3105218 T3	2019年 11月 4日
		SI 3105218 T1	2019年 11月 29日
		JP 2017510554 A	2017年 4月 13日
		EA 201691620 A1	2016年 11月 30日
		CR 20160396 A	2016年 12月 20日
		CA 2939082 A1	2015年 8月 20日
		ES 2760261 T3	2020年 5月 13日