(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 113453753 B
(45)授权公告日 2024.07.23

(21)申请号 202080012895.4
(22)申请日 2020.02.06
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113453753 A
(43)申请公布日 2021.09.28
(30)优先权数据
201911004690 2019.02.06 IN
201911049986 2019.12.04 IN
1950463-8 2019.04.12 SE
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.08.05
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2020/052940 2020.02.06
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/161216 EN 2020.08.13
(73)专利权人 阿尔比里奥公司
地址 瑞典哥德堡
(72)发明人 P-G.吉尔伯格 J.马特森
I.斯塔克 S.S.库尔卡尼
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
专利代理师 秦剑
(51)Int.Cl.
C07D 281/10(2006.01)
A61P 3/06(2006.01)
A61P 3/08(2006.01)
A61P 9/00(2006.01)
A61P 1/16(2006.01)
A61K 31/554(2006.01)
(56)对比文件
WO 0166533 A1,2001.09.13
WO 0250051 A1,2002.06.27
审查员 屈兴翠

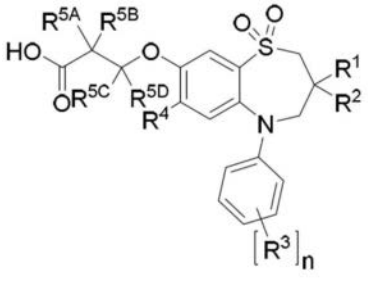
权利要求书6页 说明书161页
序列表（电子公布）

(54)发明名称

苯并硫氮杂环庚三烯化合物及其用作胆汁酸调节剂的用途

(57)摘要

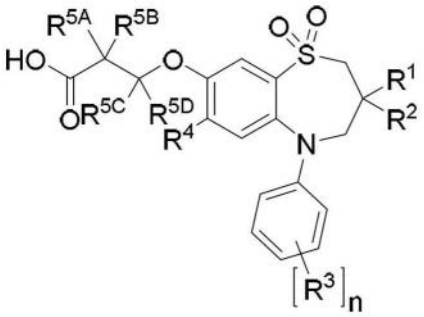
本发明涉及式(I)的1,5-苯并硫氮杂环庚三烯衍生物。这些化合物为具有顶端钠依赖性胆汁酸转运蛋白(ASBT)及/或肝脏胆汁酸运输(LBAT)抑制活性的胆汁酸调节剂。本发明亦关于包含这些化合物的药物组合物,及这些化合物在治疗心血管疾病、脂肪酸代谢及葡萄糖利用病症、胃肠道疾病及肝病中的用途。



(I)

CN 113453753 B

1.一种式(I)化合物



(I)

其中

R^1及R^2各自独立地为C_{1-4}烷基;

R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、C_{1-4}烷基、C_{1-4}卤代烷基、C_{1-4}烷氧基、C_{1-4}卤代烷氧基、氰基、硝基、氨基、N-(C_{1-4}烷基)氨基、N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基及N-(芳基-C_{1-4}烷基)氨基;其中"芳基"表示由6个碳原子构成的芳族单环或由10个碳原子构成的芳族双环系统;

n为整数1、2或3;

R^4选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氰基、C_{1-4}烷基、C_{3-6}环烷基、C_{1-4}烷氧基、C_{3-6}环烷基氧基、C_{1-4}烷硫基、C_{3-6}环烷基硫基、氨基、N-(C_{1-4}烷基)氨基及N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基;且

R^{5A}、R^{5B}、R^{5C}及R^{5D}各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基、C_{1-4}烷基及C_{1-4}烷氧基;

或其药学上可接受的盐;

其限制条件为该化合物不为外消旋3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸。

2.如权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^1为正丁基。

3.如权利要求1或2的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^2为正丁基。

4.如权利要求1或2的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^2为乙基。

5.如权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C_{1-4}卤代烷基、C_{1-4}烷氧基及C_{1-4}卤代烷氧基。

6.如权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^4选自由以下组成的组:卤素、羟基、氰基、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基、C_{1-4}烷硫基、氨基、N-(C_{1-4}烷基)氨基及N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基。

7.如权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^{5A}及R^{5B}各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基、甲基和甲氧基。

8.如权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物选自由以下组成的组:

(S)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(R)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

3-((7-溴-3,3-二丁基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

(S)-3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

(R)-3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

3-((3,3-二丁基-7-氯-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

(S)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

(R)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

(S)-3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

(R)-3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

(S)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

(R)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸；

(S)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸；

(R)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸；

3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

(S)-3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯

并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(R)-3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

3-((3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

3-((3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

3-((3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)丝氨酸;

3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-甲基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(S)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-甲基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(R)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-甲基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸;

(S)-3-(((R)-3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸;

(R)-3-(((R)-3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸;

(S)-3-(((S)-3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸;

(R)-3-(((S)-3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸;

3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(S)-3-(((R)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(R)-3-(((R)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(S)-3-(((S)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(R)-3-(((S)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

(S)-3-(((R)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

(R)-3-(((R)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

(S)-3-(((S)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

(R)-3-(((S)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸;

(S)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸;

(R)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸;

(S)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸;

(R)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸;

O-((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-D-丝氨酸;

O-((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-D-丝氨酸;

3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(S)-3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(R)-3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(S)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(R)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(S)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(R)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-

苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(S)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(R)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(S)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(R)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

3-((3-丁基-3-乙基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(S)-3-((3-丁基-3-乙基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(R)-3-((3-丁基-3-乙基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

3-((3,3-二丁基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸;

(R)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸;

(S)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸;

3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

(S)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

(R)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

(S)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

(R)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(S)-3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(R)-3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(S)-3-(((R)-3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(R)-3-(((R)-3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(S)-3-(((S)-3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

(R)-3-(((S)-3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基氨基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

(S)-3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基氨基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;及

(R)-3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基氨基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸。

9.一种药物组合物,其包含治疗有效量的如权利要求1至8中任一项的化合物作为活性成分,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

苯并硫氮杂环庚三烯化合物及其用作胆汁酸调节剂的用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年2月6日提交的印度申请号201911004690;2019年4月12日提交的瑞典申请号1950463-8;及2019年12月4日提交的印度申请号201911049986的优先权,其公开内容全部引入本文作为参考。

技术领域

[0003] 本发明涉及式(I)的1,5-苯并硫氮杂环庚三烯衍生物。这些化合物为具有顶端钠依赖性胆汁酸转运蛋白(ASBT)及/或肝脏胆汁酸转运(LBAT)抑制活性的胆汁酸调节剂。本发明还涉及包含这些化合物的药物组合物,以及这些化合物在治疗心血管疾病、脂肪酸代谢及葡萄糖利用病症、胃肠道疾病及肝病中的用途。

背景技术

[0004] 胆汁酸为生理清洁剂,其在肠道吸收及脂质、营养物及维生素的运输中起重要作用。其也是信号传导分子,活化核受体及调节脂质、葡萄糖及能量代谢的细胞信号传导路径。胆汁酸为类固醇酸,其由肝脏中的胆固醇合成且以混合微胞形式储存于胆囊中。在消化期间,十二指肠触发引起胆囊收缩的激素的释放,从而在小肠中释放胆汁酸,其使得能够在小肠中吸收脂溶性维生素及胆固醇。当其到达回肠时,胆汁酸自肠道再吸收且分泌至门静脉血液中,通过门静脉循环返回肝脏。因此,超过90%的胆汁酸再循环且返回肝脏。这些胆汁酸随后转运穿过肝细胞的窦状隙膜且穿过小管膜再分泌至胆汁中。在此第一遍中,75-90%的胆汁酸由肝细胞吸收,完成一轮肠肝循环。逃脱肝脏清除的胆汁酸部分进入全身循环,其中游离胆汁酸由肾小球过滤,在近端小管中有效回收且输出回到全身循环。有趣的是,大多数穿过小管膜分泌至胆汁中的胆汁酸来源于再循环池,而少于10%来自新的重新肝脏合成。在回肠中未被再吸收的小部分胆汁酸到达结肠。在肠腔内,主要通过类固醇核的单或双脱羟基反应,初级胆汁酸在肠道细菌的作用下转化成次级胆汁酸。逃脱肠道吸收的胆汁酸此后排泄至粪便中。

[0005] 总体而言,有效的转运系统有助于维持恒定的胆汁酸池,确保肠道中足够高水平的结合胆汁酸,以促进脂质吸收以及减少小肠细菌负荷。该系统也通过消除潜在的细胞毒性清洁剂而使粪便及尿胆汁酸损失降至最低且保护肠道及肝胆室(如由Kosters及Karpen(Xenobiotica 2008,第38卷,第1043-1071页);Chiang(J.Lipid Res.2009,第50卷,第1955-1966页);及Dawson(Handb.Exp.Pharmacol.2011,第201卷,第169-203页)所综述)。

[0006] 已发现胆汁酸池大小的调节通过从胆固醇到胆汁酸的肝脏转化而在胆固醇内稳定中起关键作用,其代表从体内消除胆固醇的主要途径。肝脏在从体内移除内源性及外来生物化合物的过程中起至关重要的作用。为了从体内消除内源性化合物诸如胆固醇及胆红素及其代谢物,从而维持脂质及胆汁酸内稳定,正常的肝胆分泌及肠肝循环是必需的。(Kosters及Karpen,Xenobiotica 2008,第38卷,第1043-1071页)。

[0007] 回肠中胆汁酸的再吸收可通过顶端钠依赖性胆汁酸转运蛋白(ASBT)抑制剂化合

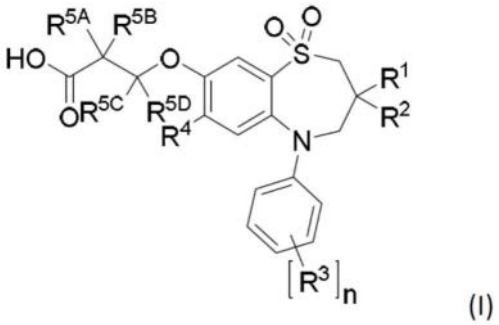
物来抑制。已报导抑制胆汁酸再吸收可用于治疗多种疾病,包括血脂异常、糖尿病、肥胖症、便秘、胆汁淤积性肝病、非酒精性脂肪性肝炎及其他肝病。在过去的数十年中已揭示许多ASBT抑制剂化合物,参见例如WO 93/16055、WO 94/18183、WO 94/18184、WO 96/05188、WO 96/08484、WO 96/16051、WO 97/33882、WO 98/03818、WO 98/07449、WO 98/40375、WO 99/35135、WO 99/64409、WO 99/64410、WO 00/47568、WO 00/61568、WO 00/38725、WO 00/38726、WO 00/38727、WO 00/38728、WO 00/38729、WO 01/66533、WO 01/68096、WO 02/32428、WO 02/50051、WO 03/020710、WO 03/022286、WO 03/022825、WO 03/022830、WO 03/061663、WO 03/091232、WO 03/106482、WO 2004/006899、WO 2004/076430、WO 2007/009655、WO 2007/009656、WO 2011/137135、DE 19825804、EP 864582、EP 489423、EP 549967、EP 573848、EP 624593、EP 624594、EP 624595、EP 624596、EP 0864582、EP 1173205及EP 1535913。

[0008] 尽管先前已报导许多ASBT抑制剂化合物,但仍需要在效力、选择性及生物利用度方面具有优化特征的额外的胆汁酸调节化合物。

[0009] 发明详述

[0010] 已发现某些1,2,5-苯并硫氮杂环庚三烯衍生物为顶端钠依赖性胆汁酸转运蛋白(ASBT)和/或肝脏胆汁酸转运蛋白(LBAT)的强效抑制剂,且可适用于治疗其中需要抑制胆汁酸循环的疾病。

[0011] 在第一方面,本发明涉及式(I)化合物

[0012] 

(I)

[0013] 其中

[0014] R^1及R^2各自独立地为C_{1-4}烷基;

[0015] R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、C_{1-4}烷基、C_{1-4}卤代烷基、C_{1-4}烷氧基、C_{1-4}卤代烷氧基、氰基、硝基、氨基、N-(C_{1-4}烷基)氨基、N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基及N-(芳基-C_{1-4}烷基)氨基;

[0016] n为整数1、2或3;

[0017] R^4选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氰基、C_{1-4}烷基、C_{3-6}环烷基、C_{1-4}烷氧基、C_{3-6}环烷基氧基、C_{1-4}烷硫基、C_{3-6}环烷基硫基、氨基、N-(C_{1-4}烷基)氨基及N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基;且

[0018] R^{5A}、R^{5B}、R^{5C}及R^{5D}各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基、C_{1-4}烷基及C_{1-4}烷氧基;

[0019] 或其药学上可接受的盐;

[0020] 其限制条件为该化合物不为外消旋3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸。

[0021] 在一些实施方案中,R^1为正丁基。

[0022] 在一些实施方案中,R^2为C_{2-4}烷基。在一个优选实施方案中,R^2为甲基。在另一优选实施方案中,R^2为乙基。在另一优选实施方案中,R^2为正丙基。在另一优选实施方案中,R^2为正丁基。

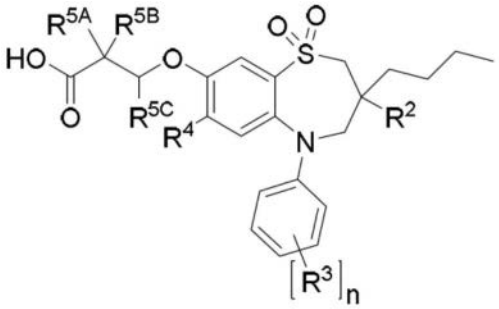
[0023] 在一些实施方案中,R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C_{1-4}卤代烷基、C_{1-4}烷氧基及C_{1-4}卤代烷氧基。在另一实施方案中,R^3为氢。在一个优选实施方案中,R^3独立地选自由以下组成的组:氢、氟、氯、溴、羟基、氰基、三氟甲基、甲氧基及三氟甲氧基。

[0024] 在一个优选实施方案中,n为1,亦即苯基环经仅一个取代基R^3取代。在另一优选实施方案中,R^3在对位。

[0025] 在一些实施方案中,R^4选自由以下组成的组:卤素、羟基、氰基、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基、C_{1-4}烷硫基、氨基、N-(C_{1-4}烷基)氨基及N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基。在一个优选实施方案中,R^4选自由以下组成的组:氟、氯、溴、羟基、氰基、甲基、甲氧基、乙氧基、甲基硫基、乙基硫基、氨基、甲基氨基及二甲基氨基。在另一实施方案中,R^4选自由以下组成的组:氟、氯、溴、甲氧基、乙氧基、甲基硫基、乙基硫基及二甲基氨基。在另一实施方案中,R^4选自由以下组成的组:氯、溴、甲基硫基及二甲基氨基。

[0026] 在一些实施方案中,R^{5A}、R^{5B}、R^{5C}及R^{5D}各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基及C_{1-4}烷基。在一些实施方案中,R^{5A}及R^{5B}各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基、甲基及甲氧基。在一些实施方案中,R^{5A}及R^{5B}各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基及甲基。在一些实施方案中,R^{5C}及R^{5D}各自独立地为氢或甲基。在另一实施方案中,R^{5C}为氢或甲基且R^{5D}为氢。

[0027] 在一个优选实施方案中,式(I)化合物为式(I-a)化合物:

[0028] 

(I-a)

[0029] 其中

[0030] R^2为C_{1-4}烷基;

[0031] R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氰基、C_{1-4}卤代烷基、C_{1-4}烷氧基及C_{1-4}卤代烷氧基;

[0032] n为整数1或2;

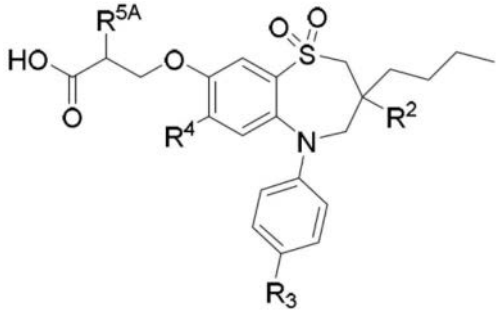
[0033] R^4选自由以下组成的组:卤素、羟基、氰基、C_{1-4}烷基、C_{1-4}烷氧基、C_{1-4}烷硫基、氨基、N-(C_{1-4}烷基)氨基及N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基;

[0034] R^{5A}及R^{5B}各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基及C_{1-4}烷基;

[0035] R^{5C}为氢或C_{1-4}烷基;

[0036] 或其药学上可接受的盐。

[0037] 在另一优选实施方案中,式(I)化合物为式(I-b)化合物:

[0038] 

(I-b)

[0039] 其中

[0040] R^2为甲基、乙基、正丙基或正丁基;

[0041] R^3选自由以下组成的组:氢、氟、氯、溴、羟基、氰基、三氟甲基、甲氧基及三氟甲氧基;

[0042] R^4选自由以下组成的组:氟、氯、溴、羟基、氰基、甲氧基、乙氧基、甲基硫基、乙基硫基及二甲基氨基;且

[0043] R^{5A}选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基及甲基;

[0044] 或其药学上可接受的盐。

[0045] 在另一优选实施方案中,式(I)化合物为如上文所定义的式(I-b)化合物,而其中

[0046] R^3选自由以下组成的组:氢、氟、氯、溴、羟基及甲氧基;且

[0047] R^4选自由以下组成的组:氟、氯、溴、甲氧基、乙氧基、甲基硫基、乙基硫基及二甲基氨基。

[0048] 本发明的优选化合物为如上文所定义的式(I-b)化合物,其中R^2至R^{5A}如下表1中所指定,或其药学上可接受的盐:

[0049] 表1

[0050]

R^2	R^3	R^4	R^{5A}
CH_3	H	SCH_3	H
CH_3	F	SCH_3	H
CH_3	OCH_3	SCH_3	H
CH_3	OH	SCH_3	H
CH_3	Cl	SCH_3	H

[0051]

R^2	R^3	R^4	R^{5A}
CH_3	H	SCH_3	OH
CH_3	F	SCH_3	OH
CH_3	OCH_3	SCH_3	OH
CH_3	OH	SCH_3	OH
CH_3	Cl	SCH_3	OH
CH_3	H	$N(CH_3)_2$	H
CH_3	F	$N(CH_3)_2$	H
CH_3	OCH_3	$N(CH_3)_2$	H
CH_3	OH	$N(CH_3)_2$	H
CH_3	Cl	$N(CH_3)_2$	H
CH_3	H	$N(CH_3)_2$	OH
CH_3	F	$N(CH_3)_2$	OH
CH_3	OCH_3	$N(CH_3)_2$	OH
CH_3	OH	$N(CH_3)_2$	OH
CH_3	Cl	$N(CH_3)_2$	OH
CH_2CH_3	H	SCH_3	H
CH_2CH_3	F	SCH_3	H
CH_2CH_3	OCH_3	SCH_3	H
CH_2CH_3	OH	SCH_3	H
CH_2CH_3	Cl	SCH_3	H
CH_2CH_3	H	SCH_3	OH
CH_2CH_3	F	SCH_3	OH
CH_2CH_3	OCH_3	SCH_3	OH
CH_2CH_3	OH	SCH_3	OH
CH_2CH_3	Cl	SCH_3	OH
CH_2CH_3	H	$N(CH_3)_2$	H
CH_2CH_3	F	$N(CH_3)_2$	H
CH_2CH_3	OCH_3	$N(CH_3)_2$	H
CH_2CH_3	OH	$N(CH_3)_2$	H
CH_2CH_3	Cl	$N(CH_3)_2$	H
CH_2CH_3	H	$N(CH_3)_2$	OH
CH_2CH_3	F	$N(CH_3)_2$	OH
CH_2CH_3	OCH_3	$N(CH_3)_2$	OH
CH_2CH_3	OH	$N(CH_3)_2$	OH
CH_2CH_3	Cl	$N(CH_3)_2$	OH
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	H	SCH_3	H
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	F	SCH_3	H
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	OCH_3	SCH_3	H
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	OH	SCH_3	H
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	Cl	SCH_3	H
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	H	SCH_3	OH
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	F	SCH_3	OH

[0052]

R^2	R^3	R^4	R^{5A}
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	OCH_3	SCH_3	OH
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	OH	SCH_3	OH
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	Cl	SCH_3	OH
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	H	$N(CH_3)_2$	H
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	F	$N(CH_3)_2$	H
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	OCH_3	$N(CH_3)_2$	H
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	OH	$N(CH_3)_2$	H
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	Cl	$N(CH_3)_2$	H
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	H	$N(CH_3)_2$	OH
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	F	$N(CH_3)_2$	OH
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	OCH_3	$N(CH_3)_2$	OH
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	OH	$N(CH_3)_2$	OH
$CH_2CH_2CH_2CH_3$	Cl	$N(CH_3)_2$	OH

[0053] 在一个具体实施方案中,式(I)化合物选自由以下组成的组:

[0054] (S)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0055] (R)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0056] 3-((7-溴-3,3-二丁基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0057] 3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0058] (S)-3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0059] (R)-3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0060] 3-((3,3-二丁基-7-氯-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0061] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0062] (S)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0063] (R)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0064] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0065] (S)-3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0066] (R)-3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0067] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0068] 3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0069] (S)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0070] (R)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0071] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸；

[0072] (S)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸；

[0073] (R)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸；

[0074] 3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0075] (S)-3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0076] (R)-3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0077] 3-((3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0078] 3-((3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0079] 3-((3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0080] O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)丝氨酸；

[0081] 3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-甲基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0082] (S)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-甲基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0083] (R)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-甲基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0084] 3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸；

[0085] (S)-3-(((R)-3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯

并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸;

[0086] (R)-3-(((R)-3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸;

[0087] (S)-3-(((S)-3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸;

[0088] (R)-3-(((S)-3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸;

[0089] 3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0090] (S)-3-(((R)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0091] (R)-3-(((R)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0092] (S)-3-(((S)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0093] (R)-3-(((S)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0094] 3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

[0095] (S)-3-(((R)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

[0096] (R)-3-(((R)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

[0097] (S)-3-(((S)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

[0098] (R)-3-(((S)-3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

[0099] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸;

[0100] (S)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸;

[0101] (R)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸;

[0102] (S)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸;

[0103] (R)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸;

[0104] O-((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-D-丝氨酸;

[0105] O-((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-D-丝氨酸；

[0106] 3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0107] (S)-3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0108] (R)-3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0109] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

[0110] (S)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

[0111] (R)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

[0112] (S)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

[0113] (R)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

[0114] 3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

[0115] (S)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

[0116] (R)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

[0117] (S)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

[0118] (R)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸；

[0119] 3-((3-丁基-3-乙基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0120] (S)-3-((3-丁基-3-乙基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0121] (R)-3-((3-丁基-3-乙基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0122] 3-((3,3-二丁基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸；

[0123] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸；

[0124] (R)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯

并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸;

[0125] (S)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸;

[0126] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

[0127] (S)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

[0128] (R)-3-(((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

[0129] (S)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

[0130] (R)-3-(((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸;

[0131] 3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0132] (S)-3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0133] (R)-3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0134] 3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0135] (S)-3-(((R)-3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0136] (R)-3-(((R)-3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0137] (S)-3-(((S)-3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0138] (R)-3-(((S)-3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸;

[0139] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基氨基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0140] (S)-3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基氨基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;及

[0141] (R)-3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基氨基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸;

[0142] 或其药学上可接受的盐。

[0143] 在一些实施方案中,本发明涉及如上文所定义的式(I)化合物,其限制条件为该化合物不为外消旋3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸或其任何对映异构体。

[0144] 如本文所用,术语“卤代”是指氟代、氯代、溴代及碘代。

[0145] 如本文所用,术语“C_{1-6}烷基”是指具有1至6个碳原子的直链或支链烷基,且术语“C_{1-4}烷基”是指具有1至4个碳原子的直链或支链烷基。C_{1-4}烷基的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基及叔丁基。

[0146] 如本文所用,术语“C_{1-4}卤代烷基”是指如本文所定义的直链或支链C_{1-4}烷基,其中一或多个氢原子已经卤素取代。C_{1-4}卤代烷基的实例包括氯甲基、氟乙基及三氟甲基。

[0147] 如本文所用,术语“C_{1-4}烷氧基”及“C_{1-4}烷硫基”是指分别通过氧或硫原子与分子的其余部分连接的直链或支链C_{1-4}烷基。

[0148] 如本文所用,术语“C_{3-6}环烷基”是指具有3至6个碳原子的单环饱和烃环。C_{3-6}环烷基的实例包括环丙基、环丁基、环戊基及环己基。

[0149] 术语“芳基”表示由6个碳原子构成的芳族单环或由10个碳原子构成的芳族双环系统。芳基的实例包括苯基、萘基及蒽基。

[0150] 术语“氨基”是指-NH_2基团。如本文所用,术语“N-(C_{1-4}烷基)氨基”及“N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基”是指一个或两个氢原子分别经直链或支链C_{1-4}烷基取代的氨基。N-(C_{1-4}烷基)氨基的实例包括甲基氨基、乙氨基及叔丁氨基,且N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基的实例包括二甲基氨基及二乙氨基。

[0151] 如本文所用,术语“N-(芳基-C_{1-4}烷基)氨基”是指氢原子经芳基-C_{1-4}烷基替代的氨基。N-(芳基-C_{1-4}烷基)氨基的实例包括苄基氨基及苯乙基氨基。

[0152] 如本文所用,术语“药学上可接受”是指适用于人类医药用途且一般为安全、无毒、在生物学上和其他方面都不是不希望的那些化合物、物质、组合物及/或剂型。

[0153] 如本文所用,术语“约”是指本文中的值或参数,包括(并描述)针对该值或参数本身的实施方案。例如,提及“约20”的描述包括“20”的描述。数值范围包括定义该范围的数值。一般而言,术语“约”是指变量的指定值及变量在指定值的实验误差内(例如,在平均值的95%置信区间内)或与指定值相差10%内的所有值,以较大者为准。

[0154] 式(I)的1,5-苯并硫氮杂环庚三烯化合物或其药学上可接受的盐为以下的抑制剂:顶端钠依赖性胆汁酸转运蛋白(ASBT抑制剂)、肝脏胆汁酸转运蛋白(LBAT抑制剂)或顶端钠依赖性胆汁酸及肝脏胆汁酸转运蛋白两者(双重ASBT/LBAT抑制剂)。因此,其适用于治疗或预防需要抑制胆汁酸循环的病况、病症及疾病,诸如心血管疾病、脂肪酸代谢及葡萄糖利用病症、胃肠道疾病及肝病。

[0155] 心血管疾病以及脂肪酸代谢及葡萄糖利用病症包括但不限于高胆固醇血症;脂肪酸代谢病症;1型及2型糖尿病;糖尿病的并发症,包括白内障、微血管疾病及大血管疾病、视网膜病变、神经病变、肾病变及伤口愈合延迟、组织缺血、糖尿病足、动脉硬化、心肌梗塞、急性冠状动脉综合征、不稳定型心绞痛、稳定型心绞痛、中风、周围动脉阻塞疾病、心肌病、心脏衰竭、心律紊乱及血管再狭窄;糖尿病相关疾病,诸如胰岛素抗性(糖稳态受损)、高血糖症、高胰岛素血症、脂肪酸或甘油的血液水平升高、肥胖症、血脂异常、包括高甘油三酸酯血症的高脂血症、代谢综合征(X综合征)、动脉粥样硬化及高血压;及用于提高高密度脂蛋白水平。

[0156] 胃肠道疾病及病症包括便秘(包括慢性便秘、功能性便秘、慢性特发性便秘(CIC)、间歇性/偶发性便秘、继发于糖尿病的便秘、继发于中风的便秘、继发于慢性肾病的便秘、继

发于多发性硬化症的便秘、继发于帕金森氏病(Parkinson's disease)的便秘、继发于全身性硬化症的便秘、药物诱发的便秘、伴有便秘的肠易激综合征(IBS-C)、混合型肠易激综合征(IBS-M)、小儿功能性便秘及阿片样物质诱发的便秘);克罗恩氏病(Crohn's disease);原发性胆汁酸吸收障碍;肠易激综合征(IBS);发炎性肠病(IBD);回肠炎症;及逆流性疾病及其并发症,诸如巴瑞特氏食道(Barrett's esophagus)、胆汁逆流性食道炎及胆汁逆流性胃炎。

[0157] 如本文所定义的肝病为肝脏及与其连接的器官(诸如胰脏、门静脉、肝实质、肝内胆管树、肝外胆管树及胆囊)中的任何疾病。在一些情况下,肝病为胆汁酸依赖性肝病。肝脏疾病及病症包括但不限于遗传性肝脏代谢病症;胆汁酸合成的先天性错误;先天性胆管异常;胆道闭锁;葛西术后胆道闭锁(post-Kasai biliary atresia);肝移植术后胆道闭锁;新生儿肝炎;新生儿胆汁郁积;遗传性形式胆汁郁积;脑腱性黄瘤病;BA合成的继发性缺陷;齐威格氏综合征(Zellweger's syndrome);囊肿性纤维化相关肝病;α1-抗胰蛋白酶缺乏症;阿拉杰里综合征(Alagilles syndrome,ALGS);拜勒综合征(Byler syndrome);胆汁酸(BA)合成的原发性缺陷;进行性家族性肝内胆汁郁积(PFIC),包括PFIC-1、PFIC-2、PFIC-3及未指明的PFIC、胆汁分流术后PFIC及肝移植术后PFIC;良性复发性肝内胆汁郁积(BRIC),包括BRIC1、BRIC2及未指明的BRIC、胆汁分流术后BRIC及肝移植术后BRIC;自体免疫肝炎;原发性胆汁性肝硬化(PBC);肝纤维化;非酒精性脂肪肝病(NAFLD);非酒精性脂肪性肝炎(NASH);门静脉高血压;胆汁郁积;唐氏综合征胆汁郁积(Down syndrome cholestasis);药物诱发性胆汁郁积;妊娠肝内胆汁郁积(妊娠期黄疸);肝内胆汁郁积;肝外胆汁郁积;非经肠营养相关胆汁郁积(PNAC);低磷脂相关胆汁郁积;淋巴水肿胆汁郁积综合征1(LSC1);原发性硬化性胆管炎(PSC);免疫球蛋白G4相关胆管炎;原发性胆汁性胆管炎;胆石症(胆结石);胆道结石;总胆管结石病;胆石性胰腺炎;卡罗利病(Caroli disease);胆管恶性病;导致胆管树梗阻的恶性肿瘤;胆道狭窄;AIDS胆管病;缺血性胆管病;胆汁郁积或黄疸引起的搔痒病;胰腺炎;导致进行性胆汁郁积的慢性自体免疫肝病;肝脏脂肪变性;酒精性肝炎;急性脂肪肝;妊娠脂肪肝;药物诱发性肝炎;铁过载病症;第1型先天性胆汁酸合成缺陷(第1型BAS);药物诱发性肝损伤(DILI);肝纤维化;先天性肝纤维化;肝硬化;朗格汉斯细胞组织细胞增多症(Langerhans cell histiocytosis,LCH);新生儿鱼鳞癣硬化性胆管炎(NISCH);红细胞生成性原卟啉症(EPP);特发性成人期胆管缺失症(IAD);特发性新生儿肝炎(INH);小叶间胆管非综合征性缺乏(NS PILBD);北美印第安儿童期肝硬化(NAIC);肝脏类肉瘤病;淀粉样变性;坏死性小肠结肠炎;血清胆汁酸引起的毒性,包括异常血清胆汁酸分布情况中的心节律紊乱(例如心房颤动)、与肝硬化相关的心肌病("胆心病(cholecardia)")及与胆汁郁积性肝病相关的骨骼肌消耗;病毒性肝炎(包括甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎和戊型肝炎);肝细胞癌(肝癌);胆管癌;胆汁酸相关的胃肠道癌症;及由肝脏、胆道及胰腺肿瘤及赘生物引起的胆汁郁积。式(I)化合物或其药学上可接受的盐亦适用于在肝病情况下增强皮质类固醇疗法。

[0158] 可由式(I)化合物或其药学上可接受的盐治疗或预防的其他疾病包括超吸收综合征(包括无β脂蛋白血症、家族性低β脂蛋白血症(FHBL)、乳糜微粒滞留病(CRD)及谷固醇血症);维生素过多症及骨质石化病;高血压;肾小球高滤过;肾衰竭的搔痒病;化合物亦适用于防止肝脏或代谢疾病相关肾损伤。

[0159] 人体内胆汁酸的运输受SLC10溶质载体蛋白家族成员的作用控制,尤其Na^+-牛磺胆酸盐共转运多肽(NTCP,亦称为肝脏胆汁酸转运蛋白(LBAT);基因符号SLC10A1),其在肝细胞的窦状隙膜中表现;及顶端钠依赖性胆汁酸转运蛋白(ASBT,亦称为回肠胆汁酸转运蛋白(IBAT)、ISBT、ABAT或NTCP2;基因符号SLC10A2),其在回肠上皮细胞、近端肾小管细胞、胆道上皮细胞、大胆管细胞及胆囊上皮细胞的顶端膜中表现。在肝脏中,胆汁酸通过肝脏胆汁酸转运蛋白(LBAT)自门静脉血中有效提取,且通过胆盐输出泵(BSEP;基因符号ABCB11)再分泌穿过小管膜。回肠中胆汁酸的再吸收由顶端钠依赖性胆汁酸转运蛋白(ASBT)处理,在回肠中该转运蛋白通常称为回肠胆汁酸转运蛋白(IBAT)。LBAT及ASBT均充当起电钠-溶质共转运蛋白,每分子溶质移动两个或更多个Na^+离子。

[0160] 外生物及内生物,包括胆汁酸,系由肝脏自门静脉血吸收并通过具有独特底物特异性的不同转运蛋白分泌于胆汁中。甘胺酸结合的胆汁酸及牛磺酸结合的胆汁酸以阴离子形式存在且不能通过扩散穿过膜,因此完全依赖于膜转运蛋白进入或离开肝细胞(Kosters及Karpen,Xenobiotica 2008,第38卷,第1043-1071页)。ASBT及LBAT偏好甘胺酸结合的胆汁盐及牛磺酸结合的胆汁盐超过其未结合的对应物,且表现出对二羟基胆汁盐的亲和力高于对三羟基胆汁盐的亲和力。虽然尚未鉴定确定ASBT的非胆汁酸底物,然而,LBAT也被发现转运多种类固醇硫酸盐、激素及外生物。

[0161] 就药物抑制要求而言,LBAT没有像ASBT那样被彻底表征。Dong等人已鉴定确定了FDA批准的抑制人类LBAT的药物,且比较了LBAT和ASBT的抑制要求。使用FDA批准的药物,配合迭代计算模型,一系列LBAT抑制研究被执行。筛选研究鉴定确定了27种药物作为新颖的LBAT抑制剂,包括依贝沙坦(irbesartan,Ki=11.9μM)及依泽替米贝(ezetimibe,Ki=25.0μM)。共同特征药效团表明两个疏水物及一个氢键受体对于抑制LBAT是重要的。从体外筛选的72种药物中,共有31种药物抑制LBAT,而51种药物(即超过一半)抑制ASBT。因此,虽然存在抑制剂重叠,但ASBT出乎意料地比LBAT更适合药物抑制,这可能与LBAT具有较少的药效团特征相关(Dong等人,Mol.Pharm.2013,第10卷,第1008-1019页)。

[0162] Vaz等人将LBAT缺乏症的鉴定描述为具有相对轻微临床表型的新的先天性代谢错误。该LBAT缺乏症的鉴定证实,此转运蛋白为结合胆汁盐进入肝脏的主要输入系统,也表明辅助转运蛋白能够在其不存在时维持肠肝循环(Vaz等人,Hepatology 2015,第61卷,第260-267页)。这些发现支持了LBAT抑制为安全作用机制的假设,因为肝细胞仍有可能吸收必需量的胆汁酸。

[0163] Liu等人描述了与SLC10A1(LBAT)中p.Ser267Phe突变的纯合性相关的新型高胆烷血症的鉴定。基因SLC10A1中此突变的等位基因频率在不同群体中有所不同,其中最高的发病率出现在中国南方(中国汉族及傣族分别为8%及12%)及越南(11%)。此"隐藏的"高胆烷血症被认为影响了南方汉族的0.64%、中国傣族人口的1.44%及越南人口的1.21%。纯合个体中结合及未结合的血清BA水平的增加也被观察到。Liu等人提出,此发现最可能归因于从门静脉循环至肝细胞中的BA转运减少。这支持了肠肝循环的生理功能不仅使胆汁酸再循环,而且从该循环中清除胆汁酸以达成内稳定的假设(Karpen及Dawson,Hepatology 2015,第61卷,第24-27页)。或者,肝脏可合成增加水平的胆汁酸以补偿纯合载体中减少的肠肝再循环。由于LBAT也转运未结合的胆汁酸,因此在此研究中未结合的胆汁酸增加并不出人意料(Liu等人,Scientific Reports 2017,7:9214,第1-7页)。

[0164] 已发现LBAT在数种形式的胆汁淤积性肝损伤及胆汁淤积中被下调,而ASBT被发现在多种胃肠道障碍(如克罗恩氏病、原发性胆汁酸吸收障碍、炎性肠病及回肠发炎)中被下调,但在胆汁淤积中被上调。LBAT还作为乙型肝炎病毒(HBV)及丁型肝炎病毒(HDV)的病毒进入的细胞受体,而乙型肝炎病毒及丁型肝炎病毒又是肝病及肝细胞癌的主要原因。

[0165] ASBT抑制已被研究用于降低血浆胆固醇水平及改良胰岛素抗性,以及减轻胆汁淤积性肝病中的肝胆汁酸负荷。另外,ASBT抑制已被发现恢复胰岛素水平及血糖浓度正常,从而确立ASBT抑制为有前景的2型糖尿病的治疗方案。ASBT抑制剂也被用于治疗功能性便秘。

[0166] 由于ASBT主要在回肠中表达(在此其通常称为IBAT),因此ASBT抑制剂不必全身可用。另一方面,ASBT也在肾脏的近端小管细胞中表达。因此,全身可用的ASBT抑制剂也可抑制肾脏中胆汁酸的再吸收。这被认为将导致尿液中胆汁酸水平增加,并通过尿液增加从体内移除胆汁酸。因此,预期不仅在回肠中而且在肾脏中发挥作用的全身可用的ASBT抑制剂比仅在回肠中发挥作用的非全身可用的ASBT抑制剂导致更大的胆汁酸水平降低。

[0167] 具有高ASBT抑制效力的化合物特别适用于治疗引起胆汁淤积的肝病,诸如进行性家族性肝内胆汁淤积(PFIC)、阿拉杰里综合征(Alagilles syndrome)、胆道闭锁及非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0168] 胆道闭锁为一种罕见的小儿肝病,其涉及大胆管的部分或完全阻塞(或甚至缺失)。此阻塞或缺失造成胆汁淤积,导致胆汁酸积聚,从而损害肝脏。在一些实施方案中,胆汁酸的积聚发生在肝外胆道中。在一些实施方案中,胆汁酸的积聚发生在肝内胆道中。目前的护理标准为葛西手术(Kasai procedure),其为移除阻塞的胆管并将小肠的一部分直接连接至肝脏的手术。目前没有针对此病症的批准的药物疗法。

[0169] 本文提供用于在有需要的受试者中治疗胆道闭锁的方法,这些方法包含给药治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,受试者在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前已进行葛西手术。在一些实施方案中,在进行葛西手术之前,向受试者给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,胆道闭锁的治疗降低受试者的血清胆汁酸水平。在一些实施方案中,血清胆汁酸水平通过例如ELISA酶测定或测量总胆汁酸的测定来确定,如Danese等人,PLoS One.2017,第12(6)卷:e0179200中所述,其以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,血清胆汁酸水平可降低例如在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前的血清胆汁酸水平的10%至40%、20%至50%、30%至60%、40%至70%、50%至80%或大于90%。在一些实施方案中,胆道闭锁的治疗包括搔痒病的治疗。

[0170] PFIC为一种罕见的遗传病症,据估计影响全球出生的每50,000至100,000名儿童中的一名且造成进行性、危及生命的肝病。

[0171] PFIC的一种表现形式为搔痒病,其通常导致生活质量严重下降。在一些情况下,PFIC导致肝硬化及肝功能衰竭。目前的疗法包括部分胆汁外分流(PEBD)及肝移植,然而,这些选项可能带来相当大的手术后并发症风险,以及心理及社会问题。

[0172] 已确认三种可选基因缺陷,其与称为1型、2型及3型的三种单独的PFIC亚型相关。

[0173] PFIC 1型,其有时称为“拜勒病”,是由因ATP8B1基因突变所致的胆汁分泌受损引起,该基因编码的蛋白质有助于维持称为磷脂的脂肪在胆管细胞膜中的适当平衡。这些磷脂的不平衡与胆汁淤积及肝脏中的胆汁酸升高相关联。受PFIC 1型影响的受试者通常在出

生后的前几个月发生胆汁淤积,且在没有手术治疗的情况下,在生命的第一个十年结束之前进展为肝硬化及末期肝病。

[0174] PFIC 2型,其有时称为“拜勒综合征”,是由因ABCB11基因突变所致的胆汁盐分泌受损引起,该基因编码一种称为胆汁盐输出泵的蛋白质,其将胆汁酸从肝脏移出。患有PFIC 2型的受试者通常在出生后的前几年内发生肝功能衰竭,且发生一类称为肝细胞癌的肝癌的风险增加。

[0175] PFIC 3型,其通常在儿童期的最初几年出现进行性胆汁淤积,由ABCB4基因突变引起,该基因编码将磷脂移动穿过细胞膜的转运蛋白。

[0176] 另外,已提出TJP2基因、NR1H4基因或Myo5b基因突变是PFIC的原因。另外,一些患有PFIC的受试者在ATP8B1、ABCB11、ABCB4、TJP2、NR1H4或Myo5b基因中的任一者中均没有突变。在这些情况下,病况的原因为未知的。

[0177] ATP8B1基因或所得蛋白质的示例性突变列于表1及2中,其中编号基于人类野生型ATP8B1蛋白(例如SEQ ID NO:1)或基因(例如SEQ ID NO:2)。ABCB11基因或所得蛋白质的示例性突变列于表4及5中,其中编号基于人类野生型ABCB11蛋白(例如SEQ ID NO:3)或基因(例如SEQ ID NO:4)。

[0178] 如本领域技术人员可了解,参考蛋白质序列中对应于SEQ ID NO:1或3的特定氨基酸位置的氨基酸位置可通过将参考蛋白质序列与SEQ ID NO:1或3比对来确定(例如,使用软件程序,诸如ClustalW2)。这些残基的变化(在本文中称为“突变”)可包括单个或多个氨基酸取代、序列内或侧翼的插入以及序列内或侧翼的缺失。如本领域技术人员可了解,参考基因序列中对应于SEQ ID NO:2或4的特定核苷酸位置的核苷酸位置可通过将参考基因序列与SEQ ID NO:2或4比对来确定(例如,使用软件程序,诸如ClustalW2)。这些残基的变化(在本文中称为“突变”)可包括单个或多个核苷酸取代、序列内或侧翼的插入以及序列内或侧翼的缺失。亦参见Kooistra等人,“KLIFS:A structural kinase-ligand interaction database,”Nucleic Acids Res.2016,第44卷,第D1期,第D365-D371页,其以全文引用的方式并入本文中。

[0179] ATP8B1的典型蛋白质序列(SEQ ID NO:1)-Uniprot ID 043520

MSTERDSETT FDEDSQPNDE VVPYSDDETE DELDDQGSAV EPEQNRVNRE AEENREPFRK
ECTWQVKAND RKYHEQPHFM NTKFLCIKES KYANNAIKTY KYNAFTFIPM NLFEQFKRAA
NLYFLALLIL QAVPQISTLA WYTTLVPLLV VLGVTAIKDL VDDVARHKMD KEINNRTCEV
IKDGRFKVAK WKEIQVGDVI RLKKNDFVPA DILLLSSSEP NSLCYVETAE LDGETNLKFK
MSLEITDQYL QREDTLATFD GFIECEEPNN RLDKFTGTLF WRNTSFPLDA DKILLRGCVI
RNTDFCHGLV IFAGADTKIM KNSGKTRFKR TKIDYLMNYM VYTIFVVLIL LSAGLAIGHA
YWEAQVGNSS WYLYDGEDDT PSYRGFLIFW GYIIVLNTMV PISLYVSVEV IRLGQSHFIN
WDLQMYYAEK DTPAKARTTT LNEQLGQIHY IFSDKTGTLT QNIMTFKKCC INGQIYGDHR
DASQHNHNKI EQVDFSWNTY ADGKLAFYDH YLIEQIQSGK EPEVRQFFFL LAVCHTVMVD
RTDGQLNYQA ASPDEGALVN AARNFGFAFL ARTQNTITIS ELGTERTYNV LAILDFNSDR

[0180] KRMSIIVRTP EGNIKLYCKG ADTVIYERLH RMNPTKQETQ DALDIFANET LRTLCLCYKE
IEEKEFTEWN KKFMAASVAS TNRDEALDKV YEEIEKDLIL LGATAIEDKL QDGVPETISK
LAKADIKIWV LTGDKKETAE NIGFACELLT EDTTICYGED INSLLHARME NQRNRGGVYA
KFAPPVQESF FPPGGNRALI ITGSWLNEIL LEKKTKRNKI LKLKFPRTEE ERRMRTQSKR
RLEAKKEQRQ KNFVDLACEC SAVICCRVTP KQKAMVVDLV KRYKKAITLA IGDGANDVNM
IKTAHIGVGI SGQEGMQAVM SSDYSFAQFR YLQRLLLVHG RWSYIRMCKF LRYFFYKNFA
FTLVHFWYSF FNGYSAQTAY EDWFITLYNV LYTSLPVLLM GLLDQDVSDK LSLRFPGLYI
VGQRDLLFNY KRFFVSLLHG VLTSMILFFI PLGAYLQTVG QDGEAPSDYQ SFAVTIASAL
VITVNFQIGL DTSYWTFVNA FSIFGSIALY FGIMFDFHSA GIHVLFPSAF QFTGTASNAL
RQPYIWLTII LAVAVCLLPV VAIRFLSMTI WPSESDKIQK HRKRLKAEEQ WQRRQQVFRR
GVSTRRSAYA FSHQRGYADL ISSGRSIRKK RSPLDAIVAD GTAEYRRTGD S

[0181] ATP8B1的典型DNA序列(SEQ ID NO:2)

ATG AGT ACA GAA AGA GAC TCA GAA ACG ACA TTT GAC GAG GAT TCT CAG CCT
AAT GAC GAA GTG GTT CCC TAC AGT GAT GAT GAA ACA GAA GAT GAA CTT GAT
GAC CAG GGG TCT GCT GTT GAA CCA GAA CAA AAC CGA GTC AAC AGG GAA GCA
GAG GAG AAC CGG GAG CCA TTC AGA AAA GAA TGT ACA TGG CAA GTC AAA GCA
AAC GAT CGC AAG TAC CAC GAA CAA CCT CAC TTT ATG AAC ACA AAA TTC TTG
TGT ATT AAG GAG AGT AAA TAT GCG AAT AAT GCA ATT AAA ACA TAC AAG TAC
AAC GCA TTT ACC TTT ATA CCA ATG AAT CTG TTT GAG CAG TTT AAG AGA GCA
GCC AAT TTA TAT TTC CTG GCT CTT CTT ATC TTA CAG GCA GTT CCT CAA ATC
TCT ACC CTG GCT TGG TAC ACC ACA CTA GTG CCC CTG CTT GTG GTG CTG GGC
GTC ACT GCA ATC AAA GAC CTG GTG GAC GAT GTG GCT CGC CAT AAA ATG GAT
AAG GAA ATC AAC AAT AGG ACG TGT GAA GTC ATT AAG GAT GGC AGG TTC AAA
GTT GCT AAG TGG AAA GAA ATT CAA GTT GGA GAC GTC ATT CGT CTG AAA AAA

[0182] AAT GAT TTT GTT CCA GCT GAC ATT CTC CTG CTG TCT AGC TCT GAG CCT AAC
AGC CTC TGC TAT GTG GAA ACA GCA GAA CTG GAT GGA GAA ACC AAT TTA AAA
TTT AAG ATG TCA CTT GAA ATC ACA GAC CAG TAC CTC CAA AGA GAA GAT ACA
TTG GCT ACA TTT GAT GGT TTT ATT GAA TGT GAA GAA CCC AAT AAC AGA CTA
GAT AAG TTT ACA GGA ACA CTA TTT TGG AGA AAC ACA AGT TTT CCT TTG GAT
GCT GAT AAA ATT TTG TTA CGT GGC TGT GTA ATT AGG AAC ACC GAT TTC TGC
CAC GGC TTA GTC ATT TTT GCA GGT GCT GAC ACT AAA ATA ATG AAG AAT AGT
GGG AAA ACC AGA TTT AAA AGA ACT AAA ATT GAT TAC TTG ATG AAC TAC ATG
GTT TAC ACG ATC TTT GTT GTT CTT ATT CTG CTT TCT GCT GGT CTT GCC ATC
GGC CAT GCT TAT TGG GAA GCA CAG GTG GGC AAT TCC TCT TGG TAC CTC TAT
GAT GGA GAA GAC GAT ACA CCC TCC TAC CGT GGA TTC CTC ATT TTC TGG GGC
TAT ATC ATT GTT CTC AAC ACC ATG GTA CCC ATC TCT CTC TAT GTC AGC GTG
GAA GTG ATT CGT CTT GGA CAG AGT CAC TTC ATC AAC TGG GAC CTG CAA ATG

TAC TAT GCT GAG AAG GAC ACA CCC GCA AAA GCT AGA ACC ACC ACA CTC AAT
GAA CAG CTC GGG CAG ATC CAT TAT ATC TTC TCT GAT AAG ACG GGG ACA CTC
ACA CAA AAT ATC ATG ACC TTT AAA AAG TGC TGT ATC AAC GGG CAG ATA TAT
GGG GAC CAT CGG GAT GCC TCT CAA CAC AAC CAC AAC AAA ATA GAG CAA GTT
GAT TTT AGC TGG AAT ACA TAT GCT GAT GGG AAG CTT GCA TTT TAT GAC CAC
TAT CTT ATT GAG CAA ATC CAG TCA GGG AAA GAG CCA GAA GTA CGA CAG TTC
TTC TTC TTG CTC GCA GTT TGC CAC ACA GTC ATG GTG GAT AGG ACT GAT GGT
CAG CTC AAC TAC CAG GCA GCC TCT CCC GAT GAA GGT GCC CTG GTA AAC GCT
GCC AGG AAC TTT GGC TTT GCC TTC CTC GCC AGG ACC CAG AAC ACC ATC ACC
ATC AGT GAA CTG GGC ACT GAA AGG ACT TAC AAT GTT CTT GCC ATT TTG GAC
TTC AAC AGT GAC CGG AAG CGA ATG TCT ATC ATT GTA AGA ACC CCA GAA GGC
AAT ATC AAG CTT TAC TGT AAA GGT GCT GAC ACT GTT ATT TAT GAA CGG TTA
CAT CGA ATG AAT CCT ACT AAG CAA GAA ACA CAG GAT GCC CTG GAT ATC TTT
GCA AAT GAA ACT CTT AGA ACC CTA TGC CTT TGC TAC AAG GAA ATT GAA GAA
AAA GAA TTT ACA GAA TGG AAT AAA AAG TTT ATG GCT GCC AGT GTG GCC TCC
ACC AAC CGG GAC GAA GCT CTG GAT AAA GTA TAT GAG GAG ATT GAA AAA GAC
TTA ATT CTC CTG GGA GCT ACA GCT ATT GAA GAC AAG CTA CAG GAT GGA GTT
CCA GAA ACC ATT TCA AAA CTT GCA AAA GCT GAC ATT AAG ATC TGG GTG CTT
ACT GGA GAC AAA AAG GAA ACT GCT GAA AAT ATA GGA TTT GCT TGT GAA CTT
CTG ACT GAA GAC ACC ACC ATC TGC TAT GGG GAG GAT ATT AAT TCT CTT CTT
CAT GCA AGG ATG GAA AAC CAG AGG AAT AGA GGT GGC GTC TAC GCA AAG TTT
GCA CCT CCT GTG CAG GAA TCT TTT TTT CCA CCC GGT GGA AAC CGT GCC TTA
ATC ATC ACT GGT TCT TGG TTG AAT GAA ATT CTT CTC GAG AAA AAG ACC AAG
AGA AAT AAG ATT CTG AAG CTG AAG TTC CCA AGA ACA GAA GAA GAA AGA CGG

[0183] ATG CGG ACC CAA AGT AAA AGG AGG CTA GAA GCT AAG AAA GAG CAG CGG CAG
AAA AAC TTT GTG GAC CTG GCC TGC GAG TGC AGC GCA GTC ATC TGC TGC CGC
GTC ACC CCC AAG CAG AAG GCC ATG GTG GTG GAC CTG GTG AAG AGG TAC AAG
AAA GCC ATC ACG CTG GCC ATC GGA GAT GGG GCC AAT GAC GTG AAC ATG ATC
AAA ACT GCC CAC ATT GGC GTT GGA ATA AGT GGA CAA GAA GGA ATG CAA GCT
GTC ATG TCG AGT GAC TAT TCC TTT GCT CAG TTC CGA TAT CTG CAG AGG CTA
CTG CTG GTG CAT GGC CGA TGG TCT TAC ATA AGG ATG TGC AAG TTC CTA CGA
TAC TTC TTT TAC AAA AAC TTT GCC TTT ACT TTG GTT CAT TTC TGG TAC TCC
TTC TTC AAT GGC TAC TCT GCG CAG ACT GCA TAC GAG GAT TGG TTC ATC ACC
CTC TAC AAC GTG CTG TAC ACC AGC CTG CCC GTG CTC CTC ATG GGG CTG CTC
GAC CAG GAT GTG AGT GAC AAA CTG AGC CTC CGA TTC CCT GGG TTA TAC ATA
GTG GGA CAA AGA GAC TTA CTA TTC AAC TAT AAG AGA TTC TTT GTA AGC TTG
TTG CAT GGG GTC CTA ACA TCG ATG ATC CTC TTC TTC ATA CCT CTT GGA GCT
TAT CTG CAA ACC GTA GGG CAG GAT GGA GAG GCA CCT TCC GAC TAC CAG TCT
TTT GCC GTC ACC ATT GCC TCT GCT CTT GTA ATA ACA GTC AAT TTC CAG ATT
GGC TTG GAT ACT TCT TAT TGG ACT TTT GTG AAT GCT TTT TCA ATT TTT GGA
AGC ATT GCA CTT TAT TTT GGC ATC ATG TTT GAC TTT CAT AGT GCT GGA ATA
CAT GTT CTC TTT CCA TCT GCA TTT CAA TTT ACA GGC ACA GCT TCA AAC GCT
CTG AGA CAG CCA TAC ATT TGG TTA ACT ATC ATC CTG GCT GTT GCT GTG TGC
TTA CTA CCC GTC GTT GCC ATT CGA TTC CTG TCA ATG ACC ATC TGG CCA TCA
GAA AGT GAT AAG ATC CAG AAG CAT CGC AAG CGG TTG AAG GCG GAG GAG CAG
TGG CAG CGA CGG CAG CAG GTG TTC CGC CGG GGC GTG TCA ACG CGG CGC TCG
GCC TAC GCC TTC TCG CAC CAG CGG GGC TAC GCG GAC CTC ATC TCC TCC GGG
CGC AGC ATC CGC AAG AAG CGC TCG CCG CTT GAT GCC ATC GTG GCG GAT GGC
ACC GCG GAG TAC AGG CGC ACC GGG GAC AGC TGA

[0184] 表2.示例性ATP8B1突变

[0185]

氨基酸位置3 (例如T3K)[27]

[0186]

氨基酸位置23 (例如P23L)[5]
氨基酸位置45 (例如N45T)[5,8,9]
氨基酸位置46 (例如R46X)[A,25]
氨基酸位置62 (例如C62R)[28]
氨基酸位置63 (例如T63T)[41]
氨基酸位置70 (例如D70N)[1,6]
氨基酸位置71 (例如R71H)[43]
氨基酸位置78 (例如H78Q)[19]
氨基酸位置82 (例如T82T)[41]
氨基酸位置92 (例如Y92Y)[41]
氨基酸位置93 (例如A93A)[6]
氨基酸位置96 (例如A96G)[27]
氨基酸位置114 (例如E114Q)[8]
氨基酸位置127 (例如L127P[6]、L127V[36])
氨基酸位置177 (例如T177T)[6]
氨基酸位置179 (例如E179X)[29]
Δ氨基酸位置185-282[44]
氨基酸位置197 (例如G197Lfs*10)[22]
氨基酸位置201 (例如R201S[27]、R201H[35])
氨基酸位置203 (例如K203E[5,8]、K203R[9]、K203fs[25])
氨基酸位置205 (例如N205fs[6]、N205Kfs*2[35])
氨基酸位置209 (例如P209T)[4]
氨基酸位置217 (例如S217N)[43]
氨基酸位置232 (例如D232D)[30]
氨基酸位置233 (例如G233R)[38]
氨基酸位置243 (例如L243fs*28)[33]
氨基酸位置265 (例如C265R)[25]
氨基酸位置271 (例如R271X[13]、R271R[30])
氨基酸位置288 (例如L288S)[6]
氨基酸位置294 (例如L294S)[43]
氨基酸位置296 (例如R296C)[11]
氨基酸位置305 (例如F305I)[28]
氨基酸位置306 (例如C306R)[23]
氨基酸位置307 (例如H307L)[35]
氨基酸位置308 (例如G308V[1]、G308D[6]、G308S[35])
氨基酸位置314 (例如G314S)[13]
氨基酸位置320 (例如M320Vfs*13)[11]
氨基酸位置337 (例如M337R)[18]

[0187]

氨基酸位置338 (例如N338K)[18]
氨基酸位置340 (例如M340V)[18]
氨基酸位置344 (例如I344F)[6,20]
氨基酸位置349 (例如I349T)[41]
氨基酸位置358 (例如G358R)[28]
氨基酸位置367 (例如G367G)[41]
氨基酸位置368 (例如N368D)[41]
氨基酸位置393 (例如I393V)[27]
氨基酸位置403 (例如S403Y)[6]
氨基酸位置407 (例如S407N)[40]
氨基酸位置412 (例如R412P)[6]
氨基酸位置415 (例如Q415R)[27]
氨基酸位置422 (例如D422H)[35]
氨基酸位置429 (例如E429A)[6]
氨基酸位置446 (例如G446R)[4,11]
氨基酸位置453 (例如S453Y)[6]
氨基酸位置454 (例如D454G)[6]
氨基酸位置455 (例如K455N)[43]
氨基酸位置456 (例如T456M[3,6]、T456K[35])
氨基酸位置457 (例如G457G[6]、G457fs*6[33])
氨基酸位置469 (例如C469G)[41]
氨基酸位置478 (例如H478H)[41]
氨基酸位置500 (例如Y500H)[6]
氨基酸位置525 (例如R525X)[4]
Δ氨基酸位置529[6]
氨基酸位置535 (例如H535L[6]、H535N[41])
氨基酸位置553 (例如P553P)[43]
氨基酸位置554 (例如D554N[1,6]、D554A[35])
Δ氨基酸位置556-628[44]
Δ氨基酸位置559-563[35]
氨基酸位置570 (例如L570L)[41]
氨基酸位置577 (例如I577V)[19]
氨基酸位置581 (例如E581K)[35]
氨基酸位置554及581 (例如D554A+E581K)[35]
氨基酸位置585 (例如E585X)[21]
氨基酸位置600 (例如R600W[2,4], R600Q[6])
氨基酸位置602 (例如R602X)[3,6]
氨基酸位置628 (例如R628W)[6]

[0188]

氨基酸位置631 (例如R631Q)[28]
Δ氨基酸位置645-699[4]
氨基酸位置661 (例如I661T)[1,4,6]
氨基酸位置665 (例如E665X)[4,6]
氨基酸位置672 (例如K672fs[6]、K672Vfs*1[35])
氨基酸位置674 (例如M674T)[19]
氨基酸位置78及674 (例如H78Q/M674T)[19]
氨基酸位置684 (例如D684D)[41]
氨基酸位置688 (例如D688G)[6]
氨基酸位置694 (例如I694T[6]、I694N[17])
氨基酸位置695 (例如E695K)[27]
氨基酸位置709 (例如K709fs[6]、K709Qfs*41[13])
氨基酸位置717 (例如T717N)[4]
氨基酸位置733 (例如G733R)[6]
氨基酸位置757 (例如Y757X)[4]
氨基酸位置749 (例如L749P)[21]
氨基酸位置792 (例如P792fs)[6]
Δ氨基酸位置795-797[6]
氨基酸位置809 (例如I809L)[27]
氨基酸位置814 (例如K814N)[28]
氨基酸位置833 (例如R833Q[27]、R833W[41])
氨基酸位置835 (例如K835Rfs*36)[35]
氨基酸位置845 (例如K845fs)[25]
氨基酸位置849 (例如R849Q)[24]
氨基酸位置853 (例如F853S、F853fs)[6]
氨基酸位置867 (例如R867C[1]、R867fs[6]、R867H[23])
氨基酸位置885 (例如K885T)[41]
氨基酸位置888 (例如T888T)[41]
氨基酸位置892 (例如G892R)[6]
氨基酸位置912 (例如G912R)[35]
氨基酸位置921 (例如S921S)[41]
氨基酸位置924 (例如Y924C)[28]
氨基酸位置930 (例如R930X[6]、R930Q[28])
氨基酸位置941 (例如R941X)[35]
氨基酸位置946 (例如R946T)[41]
氨基酸位置952 (例如R952Q[5,9,15]、R952X[6])
氨基酸位置958 (例如N958fs)[6]
氨基酸位置960 (例如A960A)[41]

[0189]

Δ 氨基酸位置971[43]
氨基酸位置976 (例如A976E[41]、A976A[43])
氨基酸位置981 (例如E981K)[20]
氨基酸位置994 (例如S994R)[4]
氨基酸位置1011 (例如L1011fs*18)[33]
氨基酸位置1012 (例如S1012I)[10]
氨基酸位置1014 (例如R1014X)[6,11]
氨基酸位置1015 (例如F1015L)[27]
氨基酸位置1023 (例如Q1023fs)[6]
氨基酸位置1040 (例如G1040R)[1,6]
氨基酸位置1044 (例如S0144L)[34]
氨基酸位置1047 (例如L1047fs)[6]
氨基酸位置1050 (例如I1050K)[31]
氨基酸位置1052 (例如L1052R)[28]
氨基酸位置1095 (例如W1095X)[11]
氨基酸位置1098 (例如V1098X)[35]
氨基酸位置1131 (例如Q1131X)[44]
氨基酸位置1142 (例如A1142Tfs*35)[43]
氨基酸位置1144 (例如Y1144Y)[43]
氨基酸位置1150 (例如I1150T)[41]
氨基酸位置1152 (例如A1152T)[30]
氨基酸位置1159 (例如P1159P)[25,43]
氨基酸位置1164 (例如R1164X)[6]
氨基酸位置1193 (例如R1193fs*39)[33]
氨基酸位置1197 (例如V1197L)[41]
氨基酸位置1208 (例如A1208fs)[6]
氨基酸位置1209 (例如Y1209Lfs*28)[4]
氨基酸位置1211 (例如F1211L)[27]
氨基酸位置1219 (例如D1219H[5]、D1219G[27])
氨基酸位置1223 (例如S1223S)[41]
氨基酸位置1233 (例如P1233P)[41]
氨基酸位置1241 (例如G1241fs)[6]
氨基酸位置1248 (例如T1248T)[43]
剪接位点突变IVS3+1_+3delGTG[6]
剪接位点突变IVS3-2A>G[6]
IVS6+5T>G[17,25]
剪接位点突变IVS8+1G>T[6]
IVS9-G>A[26]

[0190]

IVS12+1G>A[25]
剪接位点突变IVS17-1G>A[6]
剪接位点突变IVS18+2T>C[6]
剪接位点突变IVS20-4CT>AA
剪接位点突变IVS21+5G>A[6]
剪接位点突变IVS23-3C>A[6]
剪接位点突变IVS26+2T>A[6]
g.24774-42062del[4]
c.-4C>G[41]
c.145C>T[12]
c.181-72G>A[9]
c.182-5T>A[41]
c.182-72G>A[41]
c.246A>G[9]
c.239G>A[39]
c.279+1_279+3delGTG[46]
c.280-2A>G[46]
c.625_62715delinsACAGTAAT[46]
c.554+122C>T[9]
c.555-3T>C[27]
c.625+5 G>T[4]
氨基酸位置209 (例如P209T)及c.625+5 G>T[4]
c.628-30G>A[41]
c.628-31C>T[41]
c.698+1G>T[46]
c.698+20C>T[41]
c.782-1G>A[46]
c.782-34G>A[41]
Δ795-797[14]
c.782 -1G>A[4]
c.852A>C[27]
c.941-1G>A[46]
c.1014C>T[9]
c.1029+35G>A[9]
c.1221-8C.G[41]
1226delA[16]
c.1429+1G>A[46]
c.1429+2T>G[13]

[0191]

c.1429+49G>A[41]
c.1430-42A>G[41]
c.1493T>C[12]
c.1587_1589delCTT[46]
c.1630+2T>G[27]
c.1631-10T>A[41]
c.1637-37T>C[41]
1660 G>A[14]
1798 C>T[14]
1799 G>A[14]
c.1819-39_41delAA[9]
c.1819+1G>A[31]
c.1820-27G>A[41]
c.1918+8C>T[27]
c.1933-1G>AK46
c.2097+2T>C[32]
c.2097+60T>G[41]
c.2097+89T>C[41]
c.2097+97T>G[41]
c.2210-114T>C[9]
2210delA[16]
c.2210-45_50dupATAAAA[9]
c.2285+29C.T[41]
c.2285+32A>G[41]
c.2286-4_2286-3delinsAA[46]
c.2418+5G>A[46]
c.2707+3G>C[27]
c.2707+9T>G[41]
c.2707+43A>G[41]
c.2709-59T>C[41]
c.2931+9A>G[41]
c.2931+59T>A[41]
c.2932-3C>A[46]
c.2932+59T>A[9]
c.2937A>C[27]
c.3016-9C>A[31]
c.3033-3034del[19]
3122delTCCTA/

[0192]

insACATCGATGTTGATGTTAGG[45]
3318 G>A[14]
c.3400+2T>A[46]
c.3401-175C>T[9]
c.3401-167C>T[9]
c.3401-108C>T[9]
c.3531+8G>T[9,15]
c.3532-15C>T[9]
Δ Phe ex 15[4]
Ex1_Ex13del[6]
Ex2_Ex6del[33]
Ex12_Ex14del[27]
跳过外显子24[45]
del5'UTR-ex18[11]
c.*11C>T[41]
c.*1101 + 366G > A[7]
g.92918del565[31]
在外显子16之前的GC (例如引起4 bp缺失)[42]
自外显子16的5'端读框移位[42]
5' 1.4 kb缺失[46]

[0193] 表3.与PFIC-1相关的所选ATP8B1突变

[0194]

氨基酸位置23 (例如P23L)[5]
氨基酸位置78 (例如H78Q)[19]
氨基酸位置93 (例如A93A)[6]
氨基酸位置96 (例如A96G)[27]
氨基酸位置127 (例如L127P)[6]
氨基酸位置197 (例如G197Lfs*10)[22]
氨基酸位置205 (例如N205fs)[6]
氨基酸位置209 (例如P209T)[4]
氨基酸位置233 (例如G233R)[38]
氨基酸位置243 (例如L243fs*28)[33]
氨基酸位置288 (例如L288S)[6]
氨基酸位置296 (例如R296C)[11]
氨基酸位置308 (例如G308V[1,6])
氨基酸位置320 (例如M320Vfs*13)[11]
氨基酸位置403 (例如S403Y)[6]
氨基酸位置407 (例如S407N)[40]
氨基酸位置412 (例如R412P)[6]

[0195]

氨基酸位置415 (例如Q415R)[27]
氨基酸位置429 (例如E429A)[6]
氨基酸位置446 (例如G446R)[4]
氨基酸位置456 (例如T456M)[3,6]
氨基酸位置457 (例如G457G[6]、G457fs*6[33])
氨基酸位置500 (例如Y500H)[6]
氨基酸位置525 (例如R525X)[4]
Δ氨基酸位置529[6]
氨基酸位置535 (例如H535L)[6]
氨基酸位置554 (例如D554N)[1,6]
氨基酸位置577 (例如I577V)[19]
氨基酸位置585 (例如E585X)[21]
氨基酸位置600 (例如R600W)[4]
氨基酸位置602 (例如R602X)[3,6]
氨基酸位置661 (例如I661T)[4,6]
氨基酸位置665 (例如E665X)[4,6]
Δ氨基酸位置645-699[4]
氨基酸位置672 (例如K672fs)[6]
氨基酸位置674 (例如M674T)[19]
氨基酸位置78及674 (例如H78Q/M674T)[19]
氨基酸位置688 (例如D688G)[6]
氨基酸位置694 (例如I694N)[17]
氨基酸位置695 (例如E695K)[27]
氨基酸位置709 (例如K709fs)[6]
氨基酸位置717 (例如T717N)[4]
氨基酸位置733 (例如G733R)[6]
氨基酸位置749 (例如L749P)[21]
氨基酸位置757 (例如Y757X)[4]
氨基酸位置792 (例如P792fs)[6]
氨基酸位置809 (例如I809L)[27]
氨基酸位置853 (例如F853S、F853fs)[6]
氨基酸位置867 (例如R867fs)[6]
氨基酸位置892 (例如G892R)[6]
氨基酸位置930 (例如R930X[6]、R952Q[15])
氨基酸位置952 (例如R952X)[6]
氨基酸位置958 (例如N958fs)[6]
氨基酸位置981 (例如E981K)[20]
氨基酸位置994 (例如S994R)[4]

[0196]

氨基酸位置1014 (例如R1014X)[6,11]
氨基酸位置1015 (例如F1015L)[27]
氨基酸位置1023 (例如Q1023fs)[6]
氨基酸位置1040 (例如G1040R)[1,6]
氨基酸位置1047 (例如L1047fs)[6]
氨基酸位置1095 (例如W1095X)[11]
氨基酸位置1208 (例如A1208fs)[6]
氨基酸位置1209 (例如Y1209Lfs*28)[4]
氨基酸位置1211 (例如F1211L)[27]
氨基酸位置1219 (例如D1219H[5]、D1219G[27])
剪接位点突变IVS3+1_+3delGTG[6]
剪接位点突变IVS3-2A>G[6]
IVS6+5T>G[17]
剪接位点突变IVS8+1G>T[6]
IVS9-G>A[26]
剪接位点突变IVS17-1G>A[6]
剪接位点突变IVS18+2T>C[6]
剪接位点突变IVS21+5G>A[6]
g.24774-42062del[4]
c.145C>T[12]
c.239G>A[39]
c.625+5 G>T[4]
氨基酸位置209 (例如P209T)及c.625+5 G>T[4]
c.782 -1G>A[4]
c.1493T>C[12]
c.1630+2T>G[27]
1660 G>A[14]
c.2707+3G>C[27]
c.2097+2T>C[32]
c.3033-3034del[19]
3318 G>A[14]
c.3158+8G>T[15]
Δ Phe ex 15[4]
Ex1_Ex13del[6]
Ex2_Ex6del[33]
Ex12_Ex14del[27]
del5'UTR-ex18[11]
c.*1101 + 366G > A[7]

[0197]

在外显子16之前的GC (例如引起4 bp缺失)[42]
自外显子16的5'端读框移位[42]

[0198] [A]突变为“X”表示早期终止密码子

[0199] 表2及表3的参考文献

[0200] [1]Folmer等人,Hepatology.2009,第50(5)卷,第1597-1605页.

[0201] [2]Hsu等人,Hepatol Res.2009,第39(6)卷,第625-631页.

[0202] [3]Alvarez等人,Hum Mol Genet.2004,第13(20)卷,第2451-2460页.

[0203] [4]Davit-Spraul等人,Hepatology 2010,第51(5)卷,第1645-1655页.

[0204] [5]Vitale等人,J Gastroenterol.2018,第53(8)卷,第945-958页.

[0205] [6]Klomp等人,Hepatology 2004,第40(1)卷,第27-38页.

[0206] [7]Zarenezhad等人,Hepatitis Monthly:2017,第17(2)卷;e43500.

[0207] [8]Dixon等人,Scientific Reports 2017,第7卷,11823.

[0208] [9]Painter等人,Eur J Hum Genet.2005,第13(4)卷,第435-439页.

[0209] [10]Deng等人,World J Gastroenterol.2012,第18(44)卷,第6504-6509页.

[0210] [11]Giovannoni等人,PLoS One.2015,第10(12)卷:e0145021.

[0211] [12]Li等人,Hepatology International 2017,第11卷,第1期,增刊增刊1,第S180页.摘要编号:OP284.

[0212] [13]Togawa等人,Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2018,第67卷,增刊增刊1,第S363页.摘要编号:615.

[0213] [14]Miloh等人,Gastroenterology 2006,第130卷,第4期,增刊2,第A759-A760页.会议资讯:Digestive Disease Week Meeting/107th Annual Meeting of the American-Gastroenterological-Association.Los Angeles,CA,USA.5月19日.

[0214] [15]Dröge等人,Zeitschrift fur Gastroenterologie 2015,第53卷,第12期.摘要编号:A3-27.会议资讯:32.Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber.Dusseldorf,Germany.2016年1月22日-2016年1月23日

[0215] [16]Mizuochi等人,Clin Chim Acta.2012,第413(15-16)卷,第1301-1304页.

[0216] [17]Liu等人,Hepatology International 2009,第3卷,第1期,第184-185页.摘要编号:PE405.会议资讯:19th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver.Hong Kong,China.2009年2月13日-2009年2月16日

[0217] [18]McKay等人,第2版.F1000Res.2013;2:32.DOI:10.12688/f1000research.2-32.v2

[0218] [19]Hasegawa等人,Orphanet J Rare Dis.2014,第9:89卷.

[0219] [20]Stone等人,J Biol Chem.2012,第287(49)卷,第41139-51页.

[0220] [21]Kang等人,J Pathol Transl Med.2019年5月16日.doi:10.4132/jptm.2019.05.03.[印刷之前的电子版]

[0221] [22]Sharma等人,BMC Gastroenterol.2018,第18(1)卷,第107页.

[0222] [23]Uegaki等人,Intern Med.2008,第47(7)卷,第599-602页.

[0223] [24]Goldschmidt等人,Hepatol Res.2016,第46(4)卷,第306-311页.

[0224] [25]Liu等人,J Pediatr Gastroenterol Nutr.2010,第50(2)卷,第179-183页.

[0225] [26]Jung等人,J Pediatr Gastroenterol Nutr.2007,第44(4)卷,第453-458页.

[0226] [27]Bounford.University of Birmingham.Dissertation Abstracts International,(2016)第75卷,第1C期.序列编号:AAI10588329.ProQuest Dissertations&Theses.

[0227] [28]Stolz等人,Aliment Pharmacol Ther.2019,第49(9)卷,第1195-1204页.

[0228] [29]Ivashkin等人,Hepatology International 2016,第10卷,第1期,增刊增刊1,第S461页.摘要编号:LBO-38.会议资讯:25th Annual Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver,APASL 2016.Tokyo,Japan.2016年2月20日-2016年2月24日

[0229] [30]Blackmore等人,J Clin Exp Hepatol.2013,第3(2)卷,第159-161页.

[0230] [31]Matte等人,J Pediatr Gastroenterol Nutr.2010,第51(4)卷,第488-493页.

[0231] [32]Squires等人,J Pediatr Gastroenterol Nutr.2017,第64(3)卷,第425-430页.

[0232] [33]Hayshi等人,EBioMedicine.2018,第27卷,第187-199页.

[0233] [34]Nagasaka等人,J Pediatr Gastroenterol Nutr.2007,第45(1)卷,第96-105页.

[0234] [35]Wang等人,PLoS One.2016;第11(4)卷:e0153114.

[0235] [36]Narchi等人,Saudi J Gastroenterol.2017,第23(5)卷,第303-305页.

[0236] [37]Alashkar等人,Blood 2015,第126卷,第23期.会议资讯:57th Annual Meeting of the American-Society-of-Hematology.Orlando,FL,USA.2015年12月5日-8日.Amer Soc Hematol.

[0237] [38]Ferreira等人,Pediatric Transplantation 2013,第17卷,增刊增刊1,第99页.摘要编号:239.会议资讯:IPTA 7th Congress on Pediatric Transplantation.Warsaw,Poland.2013年7月13日-2013年7月16日.

[0238] [39]Pauli-Magnus等人,J Hepatol.2005,第43(2)卷,第342-357页.

[0239] [40]Jericho等人,Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2015,第60(3)卷,第368-374页.

[0240] [41]van der Woerd等人,PLoS One.2013,第8(11)卷:e80553.

[0241] [42]Copeland等人,J Gastroenterol Hepatol.2013,第28(3)卷,第560-564页.

[0242] [43]Dröge等人,J Hepatol.2017,第67(6)卷,第1253-1264页.

[0243] [44]Chen等人,Journal of Pediatrics 2002,第140(1)卷,第119-124页.

[0244] [45]Jirsa等人,Hepatol Res.2004,第30(1)卷,第1-3页.

[0245] [46]van der Woerd等人,Hepatology 2015,第61(4)卷,第1382-1391页。

[0246] 在一些实施方案中,ATP8B1中的突变选自L127P、G308V、T456M、D554N、F529del、I661T、E665X、R930X、R952X、R1014X及G1040R。

[0247] ABCB11的典型蛋白质序列(SEQ ID NO:3)-Uniprot ID O95342

[0248]

MSDSVILRSI KKFGEENDGF ESDKSYNNDK KSRLQDEKKG DGVRVGFFQL FRFSSSTDIW
LMFVGSLCAF LHGIAQPGVL LIFGTMTDVF IDYDVELQEL QIPGKACVNN TIVWTNSSLN
QNMTNGTRCG LLNIESEMIK FASYYAGIAV AVLITGYIQI CFWVIAAARQ IQKMRKFYFR
RIMRMEIGWF DCNSVGELNT RFSDDINKIN DAIADQMALF IQRMTSTICG FLLGFFRGWK
LTLVIISVSP LIGIGAATIG LSVSKFTDYE LKAYAKAGVV ADEVISSMRT VAAFGGEKRE
VERYEKNLVF AQRWGIRKGI VMGFFTGFVW CLIFLCYALA FWYGSTLVLD EGEYTPGTLV
QIFLSVIVGA LNLGNASPCL EAFATGRAAA TSIFETIDRK PIIDCMSEDG YKLDRIKGEI
EFHNVTFHYP SRPEVKILND LNMVIKPGEM TALVGPSGAG KSTALQLIQR FYDPCEGMVT
VDGHDIRSLN IQWLRDQIGI VEQEPVLFST TIAENIRYGR EDATMEDIVQ AAKEANAYNF
IMDLPQQFDT LVGEGGGQMS GGQKQRVAIA RALIRNPKIL LLDMATSALD NESEAMVQEV
LSKIQHGHTI ISVAHRLSTV RAADTIIGFE HGTAVERGTH EELLERKGVY FTLVTLQSQG
NQALNEEDIK DATEDDMLAR TFSRGSYQDS LRASIRQRSK SQLSYLVHEP PLAVVDHKST
YEEDRKDKDI PVQEEVEPAP VRRILKFSAP EWPYMLVGSV GAAVNGTVTP LYAFLFSQIL
GTFSIPDKEE QRSQINGVCL LFVAMGCVSL FTQFLQGYAF AKSGELLTKR LRKFGFRAML
GQDIAWFDDL RNSPGALTTR LATDASQVQG AAGSQIGMIV NSFTNVTVAM IIAFSFSWKL
SLVILCFFPF LALSGATQTR MLTGFASRDK QALEMVGQIT NEALSNIRTV AGIGKERRFI
EALETELEKP FKTAIQKANI YGFCFAFAQC IMFIANSASY RYGGYLISNE GLHFSYVFRV
ISAVVLSATA LGRAFSYTPS YAKAKISAAR FFQLLDRQPP ISVYNTAGEK WDNFQGKIDF
VDCKFTYPSR PDSQVLNGLS VSISPGQTLA FVGSSGCGKS TSIQLLERFY DPDQGKVMID
GHDSKKVNVQ FLRSNIGIVS QEPVLFACSI MDNIKYGDNT KEIPMERVIA AAKQAQLHDF
VMSLPEKYET NVGSQGSQLS RGEKQRIAIA RAIVRDPKIL LLDEATSALD TESEKTVQVA
LDKAREGRTC IVIAHRLSTI QNADIIAVMA QGVVIEKGTH EELMAQKGAY YKLVTTGSPI S

[0249] ABCB11的典型DNA序列(SEQ ID NO:4)

[0250]

ATG TCT GAC TCA GTA ATT CTT CGA AGT ATA AAG AAA TTT GGA GAG GAG AAT
GAT GGT TTT GAG TCA GAT AAA TCA TAT AAT AAT GAT AAG AAA TCA AGG TTA
CAA GAT GAG AAG AAA GGT GAT GGC GTT AGA GTT GGC TTC TTT CAA TTG TTT
CGG TTT TCT TCA TCA ACT GAC ATT TGG CTG ATG TTT GTG GGA AGT TTG TGT
GCA TTT CTC CAT GGA ATA GCC CAG CCA GGC GTG CTA CTC ATT TTT GGC ACA
ATG ACA GAT GTT TTT ATT GAC TAC GAC GTT GAG TTA CAA GAA CTC CAG ATT
CCA GGA AAA GCA TGT GTG AAT AAC ACC ATT GTA TGG ACT AAC AGT TCC CTC
AAC CAG AAC ATG ACA AAT GGA ACA CGT TGT GGG TTG CTG AAC ATC GAG AGC
GAA ATG ATC AAA TTT GCC AGT TAC TAT GCT GGA ATT GCT GTC GCA GTA CTT
ATC ACA GGA TAT ATT CAA ATA TGC TTT TGG GTC ATT GCC GCA GCT CGT CAG
ATA CAG AAA ATG AGA AAA TTT TAC TTT AGG AGA ATA ATG AGA ATG GAA ATA
GGG TGG TTT GAC TGC AAT TCA GTG GGG GAG CTG AAT ACA AGA TTC TCT GAT
GAT ATT AAT AAA ATC AAT GAT GCC ATA GCT GAC CAA ATG GCC CTT TTC ATT
CAG CGC ATG ACC TCG ACC ATC TGT GGT TTC CTG TTG GGA TTT TTC AGG GGT
TGG AAA CTG ACC TTG GTT ATT ATT TCT GTC AGC CCT CTC ATT GGG ATT GGA
GCA GCC ACC ATT GGT CTG AGT GTG TCC AAG TTT ACG GAC TAT GAG CTG AAG
GCC TAT GCC AAA GCA GGG GTG GTG GCT GAT GAA GTC ATT TCA TCA ATG AGA
ACA GTG GCT GCT TTT GGT GGT GAG AAA AGA GAG GTT GAA AGG TAT GAG AAA
AAT CTT GTG TTC GCC CAG CGT TGG GGA ATT AGA AAA GGA ATA GTG ATG GGA
TTC TTT ACT GGA TTC GTG TGG TGT CTC ATC TTT TTG TGT TAT GCA CTG GCC
TTC TGG TAC GGC TCC ACA CTT GTC CTG GAT GAA GGA GAA TAT ACA CCA GGA
ACC CTT GTC CAG ATT TTC CTC AGT GTC ATA GTA GGA GCT TTA AAT CTT GGC
AAT GCC TCT CCT TGT TTG GAA GCC TTT GCA ACT GGA CGT GCA GCA GCC ACC
AGC ATT TTT GAG ACA ATA GAC AGG AAA CCC ATC ATT GAC TGC ATG TCA GAA
GAT GGT TAC AAG TTG GAT CGA ATC AAG GGT GAA ATT GAA TTC CAT AAT GTG
ACC TTC CAT TAT CCT TCC AGA CCA GAG GTG AAG ATT CTA AAT GAC CTC AAC
ATG GTC ATT AAA CCA GGG GAA ATG ACA GCT CTG GTA GGA CCC AGT GGA GCT
GGA AAA AGT ACA GCA CTG CAA CTC ATT CAG CGA TTC TAT GAC CCC TGT GAA
GGA ATG GTG ACC GTG GAT GGC CAT GAC ATT CGC TCT CTT AAC ATT CAG TGG
CTT AGA GAT CAG ATT GGG ATA GTG GAG CAA GAG CCA GTT CTG TTC TCT ACC
ACC ATT GCA GAA AAT ATT CGC TAT GGC AGA GAA GAT GCA ACA ATG GAA GAC
ATA GTC CAA GCT GCC AAG GAG GCC AAT GCC TAC AAC TTC ATC ATG GAC CTG
CCA CAG CAA TTT GAC ACC CTT GTT GGA GAA GGA GGA GGC CAG ATG AGT GGT
GGC CAG AAA CAA AGG GTA GCT ATC GCC AGA GCC CTC ATC CGA AAT CCC AAG
ATT CTG CTT TTG GAC ATG GCC ACC TCA GCT CTG GAC AAT GAG AGT GAA GCC
ATG GTG CAA GAA GTG CTG AGT AAG ATT CAG CAT GGG CAC ACA ATC ATT TCA
GTT GCT CAT CGC TTG TCT ACG GTC AGA GCT GCA GAT ACC ATC ATT GGT TTT
GAA CAT GGC ACT GCA GTG GAA AGA GGG ACC CAT GAA GAA TTA CTG GAA AGG
AAA GGT GTT TAC TTC ACT CTA GTG ACT TTG CAA AGC CAG GGA AAT CAA GCT
CTT AAT GAA GAG GAC ATA AAG GAT GCA ACT GAA GAT GAC ATG CTT GCG AGG
ACC TTT AGC AGA GGG AGC TAC CAG GAT AGT TTA AGG GCT TCC ATC CGG CAA
CGC TCC AAG TCT CAG CTT TCT TAC CTG GTG CAC GAA CCT CCA TTA GCT GTT
GTA GAT CAT AAG TCT ACC TAT GAA GAA GAT AGA AAG GAC AAG GAC ATT CCT
GTG CAG GAA GAA GTT GAA CCT GCC CCA GTT AGG AGG ATT CTG AAA TTC AGT
GCT CCA GAA TGG CCC TAC ATG CTG GTA GGG TCT GTG GGT GCA GCT GTG AAC
GGG ACA GTC ACA CCC TTG TAT GCC TTT TTA TTC AGC CAG ATT CTT GGG ACT
TTT TCA ATT CCT GAT AAA GAG GAA CAA AGG TCA CAG ATC AAT GGT GTG TGC
CTA CTT TTT GTA GCA ATG GGC TGT GTA TCT CTT TTC ACC CAA TTT CTA CAG
GGA TAT GCC TTT GCT AAA TCT GGG GAG CTC CTA ACA AAA AGG CTA CGT AAA
TTT GGT TTC AGG GCA ATG CTG GGG CAA GAT ATT GCC TGG TTT GAT GAC CTC

[0251]

```
AGA AAT AGC CCT GGA GCA TTG ACA ACA AGA CTT GCT ACA GAT GCT TCC CAA
GTT CAA GGG GCT GCC GGC TCT CAG ATC GGG ATG ATA GTC AAT TCC TTC ACT
AAC GTC ACT GTG GCC ATG ATC ATT GCC TTC TCC TTT AGC TGG AAG CTG AGC
CTG GTC ATC TTG TGC TTC TTC CCC TTC TTG GCT TTA TCA GGA GCC ACA CAG
ACC AGG ATG TTG ACA GGA TTT GCC TCT CGA GAT AAG CAG GCC CTG GAG ATG
GTG GGA CAG ATT ACA AAT GAA GCC CTC AGT AAC ATC CGC ACT GTT GCT GGA
ATT GGA AAG GAG AGG CGG TTC ATT GAA GCA CTT GAG ACT GAG CTG GAG AAG
CCC TTC AAG ACA GCC ATT CAG AAA GCC AAT ATT TAC GGA TTC TGC TTT GCC
TTT GCC CAG TGC ATC ATG TTT ATT GCG AAT TCT GCT TCC TAC AGA TAT GGA
GGT TAC TTA ATC TCC AAT GAG GGG CTC CAT TTC AGC TAT GTG TTC AGG GTG
ATC TCT GCA GTT GTA CTG AGT GCA ACA GCT CTT GGA AGA GCC TTC TCT TAC
ACC CCA AGT TAT GCA AAA GCT AAA ATA TCA GCT GCA CGC TTT TTT CAA CTG
CTG GAC CGA CAA CCC CCA ATC AGT GTA TAC AAT ACT GCA GGT GAA AAA TGG
GAC AAC TTC CAG GGG AAG ATT GAT TTT GTT GAT TGT AAA TTT ACA TAT CCT
TCT CGA CCT GAC TCG CAA GTT CTG AAT GGT CTC TCA GTG TCG ATT AGT CCA
GGG CAG ACA CTG GCG TTT GTT GGG AGC AGT GGA TGT GGC AAA AGC ACT AGC
ATT CAG CTG TTG GAA CGT TTC TAT GAT CCT GAT CAA GGG AAG GTG ATG ATA
GAT GGT CAT GAC AGC AAA AAA GTA AAT GTC CAG TTC CTC CGC TCA AAC ATT
GGA ATT GTT TCC CAG GAA CCA GTG TTG TTT GCC TGT AGC ATA ATG GAC AAT
ATC AAG TAT GGA GAC AAC ACC AAA GAA ATT CCC ATG GAA AGA GTC ATA GCA
GCT GCA AAA CAG GCT CAG CTG CAT GAT TTT GTC ATG TCA CTC CCA GAG AAA
TAT GAA ACT AAC GTT GGG TCC CAG GGG TCT CAA CTC TCT AGA GGG GAG AAA
CAA CGC ATT GCT ATT GCT CGG GCC ATT GTA CGA GAT CCT AAA ATC TTG CTA
CTA GAT GAA GCC ACT TCT GCC TTA GAC ACA GAA AGT GAA AAG ACG GTG CAG
GTT GCT CTA GAC AAA GCC AGA GAG GGT CGG ACC TGC ATT GTC ATT GCC CAT
CGC TTG TCC ACC ATC CAG AAC GCG GAT ATC ATT GCT GTC ATG GCA CAG GGG
GTG GTG ATT GAA AAG GGG ACC CAT GAA GAA CTG ATG GCC CAA AAA GGA GCC
TAC TAC AAA CTA GTC ACC ACT GGA TCC CCC ATC AGT TGA
```

[0252] 表4.示例性ABCB11突变

[0253]

氨基酸位置1 (例如M1V)[9]
氨基酸位置4 (例如S4X)[A,64]
氨基酸位置8 (例如R8X)[88]
氨基酸位置19 (例如G19R)[56]
氨基酸位置24 (例如K24X)[35]
氨基酸位置25 (例如S25X)[5,14]
氨基酸位置26 (例如Y26Ifs*7)[38]
氨基酸位置36 (例如D36D)[27]
氨基酸位置38 (例如K38Rfs*24)[73]
氨基酸位置43 (例如V43I)[57]
氨基酸位置49 (例如Q49X)[73]
氨基酸位置50 (例如L50S, L50W)[57]
氨基酸位置52 (例如R52W[26]、R52R[28])
氨基酸位置56 (例如S56L)[58]
氨基酸位置58 (例如D58N)[62]
氨基酸位置62 (例如M62K)[9]

[0254]

氨基酸位置66 (例如S66N)[17]
氨基酸位置68 (例如C68Y)[41]
氨基酸位置50 (例如L50S)[5,7]
氨基酸位置71 (例如L71H)[73]
氨基酸位置74 (例如I74R)[71]
氨基酸位置77 (例如P77A)[73]
氨基酸位置87 (例如T87R)[67]
氨基酸位置90 (例如F90F)[7,27]
氨基酸位置93 (例如Y93S[13]、Y93X[88])
氨基酸位置96 (例如E96X)[88]
氨基酸位置97 (例如L97X)[39]
氨基酸位置101 (例如Q101Dfs*8)[9]
氨基酸位置107 (例如C107R)[36]
氨基酸位置112 (例如I112T)[9]
氨基酸位置114 (例如W114R)[2,9]
氨基酸位置123 (例如M123T)[67]
氨基酸位置127 (例如T127Hfs*6)[5]
氨基酸位置129 (例如C129Y)[25]
氨基酸位置130 (例如G130G)[77]
氨基酸位置134 (例如I134I)[28]
氨基酸位置135 (例如E135K[7,13]、E135L[17])
氨基酸位置137 (例如E137K)[7]
氨基酸位置157 (例如Y157C)[5]
氨基酸位置161 (例如C161X)[39]
氨基酸位置164 (例如V164Gfs*7[30]、V164I[85])
氨基酸位置167 (例如A167S[4]、A167V[7]、A167T[9,17])
氨基酸位置181 (例如R181I)[35]
氨基酸位置182 (例如I182K)[9]
氨基酸位置183 (例如M183V[8]、M183T[9])
氨基酸位置185 (例如M185I)[73]
氨基酸位置186 (例如E186G)[2,7,22]
氨基酸位置188 (例如G188W)[73]
氨基酸位置194 (例如S194P)[7]
氨基酸位置198 (例如L198P)[7]
氨基酸位置199 (例如N199Ifs*15X)[88]
氨基酸位置206 (例如I206V)[28]
氨基酸位置212 (例如A212T)[73]
氨基酸位置217 (例如M217R)[88]

[0255]

氨基酸位置225 (例如T225P)[57]
氨基酸位置226 (例如S226L)[9]
氨基酸位置232 (例如L232Cfs*9)[9]
氨基酸位置233 (例如L233S)[86]
氨基酸位置238 (例如G238V)[2,7]
氨基酸位置242 (例如T242I)[5,7]
氨基酸位置245 (例如I245Tfs*26)[57]
氨基酸位置256 (例如A256G)[9]
氨基酸位置260 (例如G260D)[7]
氨基酸位置269 (例如Y269Y)[27]
氨基酸位置277 (例如A277E)[77]
氨基酸位置283 (例如E283D)[73]
氨基酸位置212及283 (例如A212T+E283D)[73]
氨基酸位置284 (例如V284L[7,39]、V284A[7]、V284D[23])
氨基酸位置297 (例如E297G[1,2,5,7], E297K[7])
氨基酸位置299 (例如R299K)[28]
氨基酸位置303 (例如R303K[8]、R303M[63] R303fsX321[83])
氨基酸位置304 (例如Y304X)[26]
氨基酸位置312 (例如Q312H)[7]
氨基酸位置313 (例如R313S)[5,7]
氨基酸位置314 (例如W314X)[57]
氨基酸位置318 (例如K318Rfs*26)[29]
氨基酸位置319 (例如G319G)[7]
氨基酸位置327 (例如G327E)[5,7]
氨基酸位置330 (例如W330X)[24]
氨基酸位置336 (例如C336S)[2,7]
氨基酸位置337 (例如Y337H)[21,27]
氨基酸位置342 (例如W342G)[50]
氨基酸位置354 (例如R354X)[9]
氨基酸位置361 (例如Q361X[57]、Q361R[74])
氨基酸位置366 (例如V366V[28]、V366D[57])
氨基酸位置368 (例如V368Rfs*27)[5]
氨基酸位置374 (例如G374S)[3]
氨基酸位置380 (例如L380Wfs*18)[5]
氨基酸位置382 (例如A382G)[88]
Δ氨基酸位置382-388[5]
Δ氨基酸位置383-389[57]
氨基酸位置387 (例如R387H)[9]

[0256]

氨基酸位置390 (例如A390P)[5,7]
氨基酸位置395 (例如E395E)[28]
氨基酸位置404 (例如D404G)[9]
氨基酸位置410 (例如G410D)[5,7]
氨基酸位置413 (例如L413W)[5,7]
氨基酸位置415 (例如R415X)[42]
氨基酸位置416 (例如I416I)[27]
氨基酸位置420 (例如I420T)[9]
氨基酸位置423 (例如H423R)[13]
氨基酸位置432 (例如R432T)[1,2,7]
氨基酸位置436 (例如K436N)[40]
氨基酸位置440 (例如D440E)[88]
氨基酸位置444 (例如V444A)[2]
氨基酸位置454 (例如V454X)[49]
氨基酸位置455 (例如G455E)[9]
氨基酸位置457 (例如S457Vfs*23)[88]
氨基酸位置461 (例如K461E)[2,7]
氨基酸位置462 (例如S462R)[88]
氨基酸位置463 (例如T463I)[5,7]
氨基酸位置466 (例如Q466K)[5,7]
氨基酸位置470 (例如R470Q[5,7]、R470X[9])
氨基酸位置471 (例如Y472X)[5]
氨基酸位置472 (例如Y472C[5,27]、Y472X[14])
氨基酸位置473 (例如D473Q[35]、D473V[88])
氨基酸位置475 (例如C475X)[29]
氨基酸位置481 (例如V481E)[5,7]
氨基酸位置482 (例如D482G)[2,5,7]
氨基酸位置484 (例如H484Rfs*5)[9]
氨基酸位置487 (例如R487H[2]、R487P[5])
氨基酸位置490 (例如N490D)[5,7]
氨基酸位置493 (例如W493X)[8]
氨基酸位置496 (例如D496V)[88]
氨基酸位置498 (例如I498T)[2,7]
氨基酸位置499 (例如G499E)[73]
氨基酸位置501 (例如V501G)[68]
氨基酸位置504 (例如E504K)[79]
氨基酸位置510 (例如T510T)[7]
氨基酸位置512 (例如I512T)[5,7]

[0257]

氨基酸位置515 (例如N515T[5,7]、N515D[64])
氨基酸位置516 (例如I516M)[17]
氨基酸位置517 (例如R517H)[5,7]
氨基酸位置520 (例如R520X)[5]
氨基酸位置523 (例如A523G)[13]
氨基酸位置528 (例如I528Sfs*21[5]、I528X[9]、I528T[73])
氨基酸位置535 (例如A535A[7], A535X[89])
氨基酸位置540 (例如F540L)[46]
氨基酸位置541 (例如I541L[5,7]、I541T[5,17])
氨基酸位置546 (例如Q546K[39]、Q546H[73])
氨基酸位置548 (例如F548Y)[5,7]
氨基酸位置549 (例如D549V)[9]
氨基酸位置554 (例如E554K)[21]
氨基酸位置556 (例如G556R)[67]
氨基酸位置558 (例如Q558H)[23]
氨基酸位置559 (例如M559T)[57]
氨基酸位置562 (例如G562D[5,7]、G562S[73])
氨基酸位置570 (例如A570T[2,5,7]、A570V[26])
氨基酸位置575 (例如R575X[2,5]、R575Q[21])
氨基酸位置580 (例如L580P)[57]
氨基酸位置586 (例如T586I)[7]
氨基酸位置587 (例如S587X)[73]
氨基酸位置588 (例如A588V[5,7]、A588P[73])
氨基酸位置591 (例如N591S)[2,7]
氨基酸位置593 (例如S593R)[2,7]
氨基酸位置597 (例如V597V[9]、V597L[13])
氨基酸位置603 (例如K603K)[55]
氨基酸位置609 (例如H609Hfs*46)[26]
氨基酸位置610 (例如I610Gfs*45[9]、I610T[57])[9]
氨基酸位置615 (例如H615R)[26]
氨基酸位置616 (例如R616G[28]、R616H[73])
氨基酸位置619 (例如T619A)[28]
氨基酸位置623 (例如A623A)[28]
氨基酸位置625 (例如T625Nfs*5)[26]
氨基酸位置627 (例如I627T)[7]
氨基酸位置628 (例如G628Wfs*3)[70]
氨基酸位置636 (例如E636G)[2]
氨基酸位置648 (例如G648Vfs*6[5]、G648V[50])

[0258]

氨基酸位置655 (例如T655I)[7]
氨基酸位置669 (例如I669V)[26]
氨基酸位置676 (例如D676Y)[11]
氨基酸位置677 (例如M677V)[7,13]
氨基酸位置679 (例如A679V)[58]
氨基酸位置685 (例如G685W)[60]
氨基酸位置696 (例如R696W[27]、R696Q[58])
氨基酸位置698 (例如R698H[7,9]、R698K[61]、R698C[88])
氨基酸位置699 (例如S699P)[9]
氨基酸位置701 (例如S701P)[58]
氨基酸位置702 (例如Q702X)[89]
氨基酸位置709 (例如E709K)[7]
氨基酸位置710 (例如P710P)[7]
氨基酸位置712 (例如L712L)[28]
氨基酸位置721 (例如Y721C)[88]
氨基酸位置729 (例如D724N)[39]
氨基酸位置731 (例如P731S)[23]
氨基酸位置740 (例如P740Qfs*6)[73]
氨基酸位置758 (例如G758R)[5]
氨基酸位置766 (例如G766R)[5,24]
氨基酸位置772 (例如Y772X)[5]
氨基酸位置804 (例如A804A)[7]
氨基酸位置806 (例如G806D[44]、G806G[55])
氨基酸位置809 (例如S809F)[81]
氨基酸位置817 (例如G817G)[88]
氨基酸位置818 (例如Y818F)[7]
氨基酸位置824 (例如G824E)[42]
氨基酸位置825 (例如G825G)[73]
氨基酸位置830 (例如R830Gfs*28)[73]
氨基酸位置832 (例如R832C[7,26]、R832H[41])
氨基酸位置842 (例如D842G)[2]
氨基酸位置848 (例如D848N)[73]
氨基酸位置855 (例如G855R)[11]
氨基酸位置859 (例如T859R)[5,7]
氨基酸位置865 (例如A865V)[27]
氨基酸位置866 (例如S866A)[57]
氨基酸位置868 (例如V868D)[73]
氨基酸位置869 (例如Q869P)[73]

[0259]

氨基酸位置875 (例如Q875X)[73]
氨基酸位置877 (例如G877R)[56]
氨基酸位置879 (例如I879R)[88]
氨基酸位置893 (例如A893V)[57]
氨基酸位置901 (例如S901R[17]、S901I[73])
氨基酸位置903 (例如V903G)[57]
Δ氨基酸位置919[12]
氨基酸位置923 (例如T923P)[2,7]
氨基酸位置926 (例如A926P)[2,7]
氨基酸位置928 (例如R928X[15]、R928Q[40])
氨基酸位置930 (例如K930X[5]、K930Efs*79[5,10]、K930Efs*49[26])
氨基酸位置931 (例如Q931P)[27]
氨基酸位置945 (例如S945N)[57]
氨基酸位置948 (例如R948C)[5,7,26]
氨基酸位置958 (例如R958Q)[28]
氨基酸位置969 (例如K969K)[88]
Δ氨基酸位置969-972[5]
氨基酸位置973 (例如T973I)[57]
氨基酸位置976 (例如Q976R[58]、Q976X[88])
氨基酸位置979 (例如N979D)[5,7]
氨基酸位置981 (例如Y981Y)[28]
氨基酸位置982 (例如G982R)[2,5,7]
氨基酸位置444及982 (例如V444A+G982R)[38]
氨基酸位置995 (例如A995A)[28]
氨基酸位置1001 (例如R1001R)[9]
氨基酸位置1003 (例如G1003R)[24]
氨基酸位置1004 (例如G1004D)[2,7]
氨基酸位置1027 (例如S1027R)[26]
氨基酸位置1028 (例如A1028A[7,10,88]、A1028E[88])
氨基酸位置1029 (例如T1029K)[5]
氨基酸位置1032 (例如G1032R)[12]
氨基酸位置1041 (例如Y1041X)[9]
氨基酸位置1044 (例如A1044P)[88]
氨基酸位置1050 (例如R1050C)[2,7,57]
氨基酸位置1053 (例如Q1053X)[57]
氨基酸位置1055 (例如L1055P)[36]
氨基酸位置1057 (例如R1057X[2]、R1057Q[58])

[0260]

氨基酸位置1058 (例如Q1058Hfs*38[9]、Q1058fs*38[17]、Q1058X[73])
氨基酸位置1061 (例如I1061Vfs*34)[9]
氨基酸位置1083 (例如C1083Y)[47]
氨基酸位置1086 (例如T1086T)[28]
氨基酸位置1090 (例如R1090X)[2,5]
氨基酸位置1099 (例如L1099Lfs*38)[26]
氨基酸位置1100 (例如S1100Qfs*38)[13]
氨基酸位置1110 (例如A1110E)[5,7]
氨基酸位置1112 (例如V1112F)[70]
氨基酸位置1116 (例如G1116R[7]、G1116F[9,17]、G1116E[36])
氨基酸位置1120 (例如S1120N)[88]
氨基酸位置1128 (例如R1128H[2,7]、R1128C[5,7,13])
氨基酸位置1131 (例如D1131V)[27]
氨基酸位置1144 (例如S1144R)[7]
氨基酸位置1147 (例如V1147X)[5]
氨基酸位置1153 (例如R1153C[2,5,7]、R1153H[5])
氨基酸位置1154 (例如S1154P)[5,7]
氨基酸位置1162 (例如E1162X)[39]
Δ氨基酸位置1165[88]
氨基酸位置1164 (例如V1164Gfs*7)
氨基酸位置1173 (例如N1173D)[57]
氨基酸位置1175 (例如K1175T)[58]
氨基酸位置1186 (例如E1186K)[7]
氨基酸位置1192 (例如A1192Efs*50)[9]
氨基酸位置1196 (例如Q1196X)[88]
氨基酸位置1197 (例如L1197G)[7]
氨基酸位置1198 (例如H1198R)[27]
氨基酸位置1204 (例如L1204P)[88]
氨基酸位置1208 (例如Y1208C)[73]
氨基酸位置1210 (例如T1210P[5,7]、T1210F[57])
氨基酸位置1211 (例如N1211D)[7]
氨基酸位置1212 (例如V1212F)[36]
氨基酸位置1215 (例如Q1215X)[5]
氨基酸位置1221 (例如R1221K)[53]
氨基酸位置1223 (例如E1223D)[7]
氨基酸位置1226 (例如R1226P)[73]
氨基酸位置1228 (例如A1228V)[7]

[0261]

氨基酸位置1231 (例如R1231W[5,7]、R1231Q[5,7])
氨基酸位置1232 (例如A1232D)[17]
氨基酸位置1235 (例如R1235X)[5,12]
氨基酸位置1242 (例如L1242I)[5,7]
氨基酸位置1243 (例如D1243G)[67]
氨基酸位置1249 (例如L1249X)[73]
氨基酸位置1256 (例如T1256fs*1296)[83]
氨基酸位置1268 (例如R1268Q)[2,7]
氨基酸位置1276 (例如R1276H)[30]
氨基酸位置1283 (例如A1283A[28]、A1283V[88])
氨基酸位置1292 (例如G1292V)[73]
氨基酸位置1298 (例如G1298R)[5]
氨基酸位置1302 (例如E1302X)[5]
氨基酸位置1311 (例如Y1311X)[57]
氨基酸位置1316 (例如T1316Lfs*64)[15]
氨基酸位置1321 (例如S1321N)[57]
内含子4 ((+3)A>C)[1]
IVS4-74A>T[89]
剪接位点突变3'内含子5 c.3901G>A[5]
剪接位点突变5; 内含子7 c.6111G>A[5]
剪接位点突变IVS7+1G>A[14]
IVS7+5G>A[40]
IVS8+1G>C[76]
剪接位点突变5'内含子9 c.9081delG[5]
剪接位点突变5'内含子9 c.9081G>T[5]
剪接位点突变5'内含子9 c.9081G>A[5]
剪接位点突变IVS9+1G>T[14]
剪接位点突变3'内含子13 c.143513_1435-8del[5]
剪接位点突变IVS13del-13^-8[14]
剪接位点突变3'内含子16 c.20128T>G[5]
剪接位点突变IVS16-8T>G[14]
剪接位点突变5'内含子18 c.21781G>T[5]
剪接位点突变5'内含子18 c.21781G>A[5]
剪接位点突变5'内含子18 c.21781G>C[5]
剪接位点突变3'内含子18 c.21792A>G[5]
剪接位点突变IVS18+1G>A[14]
剪接位点突变5'内含子19 c.2343+1G>T[5]
剪接位点突变5'内含子19 c.2343+2T>C[5]

[0262]

剪接位点突变IVS19+2T>C[14]
剪接位点突变IVS19+1G>A[22]
剪接位点突变3'内含子21 c.26112A>T[5]
IVS22+3A>G[89]
IVS 23-8 G-A[36]
IVS24+5G>A[51]
剪接位点突变5'内含子24 c.32131delG[5]
IVS35-6C>G[89]
推定剪接突变1198-1G>C[17]
推定剪接突变1810-3C>G[17]
推定剪接突变2178+1G>A[17]
推定剪接突变2344-1G>T[17]
推定剪接突变c.2611-2A>T[39]
推定剪接突变3213+1_3213+2delinsA[17]
c.-24C>A[44,78]
c.76 13 G>T[9]
c.77-19T>A[52]
c.90_93delGAAA[18]
c.124G>A[69]
c.150 +3 A>C[10]
174C>T[54]
c.245T>C[87]
c.249_250insT[18]
270T>C[54]
402C>T[54]
585G>C[54]
c.611+1G>A[70]
c.611+4A>G[36]
c.612-15_-6del10bp[55]
c.625A>C[31]
c.627+5G>T[31]
c.625A>C/ c.627+5G>T[31]
696G>T[54]
c. 784+1G>C[49]
807T>C[54]
c.886C>T[31]
c.890A>G[59]
c.908+1G>A[57]

[0263]

c.908+5G>A[55]
c.908delG[59]
c.909-15A>G[66]
957A>G[54]
c.1084-2A>G[57]
1145 1bp缺失[90]
1281C>T[54,57]
c.1309-165C > T[19]
c.1434 + 174G > A[19]
c.1434 + 70C > T[19]
c.1530C>A[57]
c.1587-1589delCTT[31]
c.1621A>C[33,59]
c.1638+32T>C[66]
c.1638+80C>T[66]
1671C>T[54]
1791G>T[54]
1939delA[14]
c.2075+3A>G[53]
c.2081T>A[31]
c.2093G>A[65]
2098delA[16]
c.2138-8T>G[67]
2142A>G[54]
c.2178+1G>T[36,39]
c.2179-17C>A[66]
c.2344-157T>G[66]
c.2344-17T>C[66]
c.2417G>A[78]
c.2541delG[87]
c.2620C>T[32,33]
c.2815-8A>G[55]
c.3003A>G[37]
c.3084A>G[48,54]
c.3213 +4 A>G[9,37]
c.3213 +5 G>A[9]
c.3268C>T[75]
3285A>G[54]
c.3382C>T[75]
3435A>G[54]
c.3491delT[72]
c.3589C>T[57]
c.3765(+1 +5)del5[42]

[0264]

c.3766-34A>G[66]
c.3767-3768insC[6]
c.3770delA[67]
c.3826C>T[72]
c.3846C>T[57]
c.3929delG[67]
c.*236A>G[66]
1145delC[8]
Ex13_Ex17del[82]

[0265] 表5.与PFIC-2相关的所选ABCB11突变

[0266]

氨基酸位置1 (例如M1V)[9]
氨基酸位置4 (例如S4X)[64]
氨基酸位置19 (例如G19R)[56]
氨基酸位置25 (例如S25X)[14]
氨基酸位置26 (例如Y26Ifs*7)[38]
氨基酸位置50 (例如L50S)[7,57]
氨基酸位置52 (例如R52W)[26]
氨基酸位置58 (例如D58N)[62]
氨基酸位置62 (例如M62K)[9]
氨基酸位置66 (例如S66N)[17]
氨基酸位置68 (例如C68Y)[41]
氨基酸位置93 (例如Y93S)[13]
氨基酸位置101 (例如Q101Dfs*8)[9]
氨基酸位置107 (例如C107R)[36]
氨基酸位置112 (例如I112T)[9]
氨基酸位置114 (例如W114R)[2,9]
氨基酸位置129 (例如C129Y)[25]
氨基酸位置135 (例如E135K[13]、E135L[17])
氨基酸位置167 (例如A167V[7]、A167T[9,17])
氨基酸位置182 (例如I182K)[9]
氨基酸位置183 (例如M183V[8]、M183T[9])
氨基酸位置225 (例如T225P)[57]
氨基酸位置226 (例如S226L)[9]
氨基酸位置232 (例如L232Cfs*9)[9]
氨基酸位置233 (例如L233S)[86]
氨基酸位置238 (例如G238V)[2,7]
氨基酸位置242 (例如T242I)[7]
氨基酸位置245 (例如I245Tfs*26)[57]
氨基酸位置256 (例如A256G)[9]

[0267]

氨基酸位置260 (例如G260D)[57]
氨基酸位置284 (例如V284L)[7]
氨基酸位置297 (例如E297G)[2,7]
氨基酸位置303 (例如R303K[8]、R303M[63]、R303fsX321[83])
氨基酸位置304 (例如Y304X)[26]
氨基酸位置312 (例如Q312H)[7]
氨基酸位置313 (例如R313S)[7]
氨基酸位置314 (例如W314X)[57]
氨基酸位置318 (例如K318Rfs*26)[29]
氨基酸位置327 (例如G327E)[7]
氨基酸位置330 (例如V330X)[24]
氨基酸位置336 (例如C336S)[2,7]
氨基酸位置337 (例如Y337H)[21]
氨基酸位置342 (例如W342G)[50]
氨基酸位置354 (例如R354X)[9]
氨基酸位置361 (例如Q361X)[57]
氨基酸位置366 (例如V366D)[57]
氨基酸位置386 (例如G386X)[34]
Δ氨基酸位置383-389[57]
氨基酸位置387 (例如R387H)[9]
氨基酸位置390 (例如A390P)[7]
氨基酸位置410 (例如G410D)[7]
氨基酸位置413 (例如L413W)[7]
氨基酸位置415 (例如R415X)[42]
氨基酸位置420 (例如I420T)[9]
氨基酸位置454 (例如V454X)[49]
氨基酸位置455 (例如G455E)[9]
氨基酸位置461 (例如K461E)[2,7]
氨基酸位置463 (例如T463I)[7]
氨基酸位置466 (例如Q466K)[7]
氨基酸位置470 (例如R470Q[7]、R470X[9])
氨基酸位置472 (例如Y472X[14]、Y472C[27])
氨基酸位置475 (例如C475X)[29]
氨基酸位置481 (例如V481E)[7]
氨基酸位置482 (例如D482G)[2,7]
氨基酸位置484 (例如H484Rfs*5)[9]
氨基酸位置487 (例如R487H[2]、R487P[84])
氨基酸位置490 (例如N490D)[7]

[0268]

氨基酸位置493 (例如W493X)[8]
氨基酸位置498 (例如I498T)[7]
氨基酸位置501 (例如V501G)[68]
氨基酸位置512 (例如I512T)[7]
氨基酸位置515 (例如N515T[7]、N515D[64])
氨基酸位置516 (例如I516M)[17]
氨基酸位置517 (例如R517H)[7]
氨基酸位置520 (例如R520X)[57]
氨基酸位置523 (例如A523G)[13]
氨基酸位置528 (例如I528X)[9]
氨基酸位置540 (例如F540L)[46]
氨基酸位置541 (例如I541L[7]、I541T[17])
氨基酸位置548 (例如F548Y)[7]
氨基酸位置549 (例如D549V)[9]
氨基酸位置554 (例如E554K)[21]
氨基酸位置559 (例如M559T)[57]
氨基酸位置562 (例如G562D)[7]
氨基酸位置570 (例如A570T[7]、A570V[26])
氨基酸位置575 (例如R575X[2]、R575Q[21])
氨基酸位置588 (例如A588V)[7]
氨基酸位置591 (例如N591S)[9,17]
氨基酸位置593 (例如S593R)[2,7]
氨基酸位置597 (例如V597V[9]、V597L[13])
氨基酸位置591及597 (例如N591S+V597V)[9]
氨基酸位置603 (例如K603K)[55]
氨基酸位置609 (例如H609Hfs*46)[26]
氨基酸位置610 (例如I610Gfs*45)[9]
氨基酸位置615 (例如H615R)[26]
氨基酸位置625 (例如T625Nfs*5)[26]
氨基酸位置627 (例如I627T)[7]
氨基酸位置636 (例如E636G)[2]
氨基酸位置669 (例如I669V)[26]
氨基酸位置698 (例如R609H)[9]
氨基酸位置112及698 (例如I112T+R698H)[9]
氨基酸位置699 (例如S699P)[9]
氨基酸位置766 (例如G766R)[24]
氨基酸位置806 (例如G806G)[55]
氨基酸位置824 (例如G824E)[42]

[0269]

氨基酸位置832 (例如R832C[7,26]、R832H[41])
氨基酸位置842 (例如D842G)[2]
氨基酸位置859 (例如T859R)[7]
氨基酸位置865 (例如A865V)[45]
氨基酸位置877 (例如G877R)[56]
氨基酸位置893 (例如A893V)[57]
氨基酸位置901 (例如S901R)[17]
氨基酸位置903 (例如V903G)[57]
Δ氨基酸位置919[12]
氨基酸位置928 (例如R928X)[15,21]
氨基酸位置930 (例如K930Efs*79[10]、K930Efs*49[26])
氨基酸位置948 (例如R948C)[7,26]
氨基酸位置979 (例如N979D)[7]
氨基酸位置982 (例如G982R)[2,7]
氨基酸位置444及982 (例如V444A+G982R)[38]
氨基酸位置1001 (例如R1001R)[9]
氨基酸位置1003 (例如G1003R)[24]
氨基酸位置1004 (例如G1004D)[2,7]
氨基酸位置1027 (例如S1027R)[26]
氨基酸位置1028 (例如A1028A)[10]
氨基酸位置1032 (例如G1032R)[12]
氨基酸位置1041 (例如Y1041X)[9]
氨基酸位置1050 (例如R1050C)[57]
氨基酸位置1053 (例如Q1053X)[57]
氨基酸位置1055 (例如L1055P)[36]
氨基酸位置1057 (例如R1057X)[2]
氨基酸位置1058 (例如Q1058Hfs*38[9]、Q1058fs*38[17])
氨基酸位置1061 (例如I1061Vfs*34)[9]
氨基酸位置1083 (例如C1083Y)[47]
氨基酸位置1090 (例如R1090X)[2]
氨基酸位置1099 (例如L1099Lfs*38)[26]
氨基酸位置1100 (例如S1100Qfs*38)[13]
氨基酸位置1110 (例如A1110E)[7]
氨基酸位置1116 (例如G1116R[7]、G1116F[9,17]、G1116E[36])
氨基酸位置1128 (例如R1128C)[7,13]
氨基酸位置1131 (例如D1131V)[27]
氨基酸位置1144 (例如S1144R)[7]
氨基酸位置1153 (例如R1153C[2,7]、R1153H[7,26])

[0270]

氨基酸位置1154 (例如S1154P)[7]
氨基酸位置1173 (例如N1173D)[57]
氨基酸位置1192 (例如A1192Efs*50)[9]
氨基酸位置1198 (例如H1198R)[27]
氨基酸位置1210 (例如T1210P[7]、T1210F[57])
氨基酸位置1211 (例如N1211D)[7]
氨基酸位置1212 (例如V1212F)[36]
氨基酸位置1231 (例如R1231W[7]、R1223Q[7])
氨基酸位置1232 (例如A1232D)[17]
氨基酸位置1235 (例如R1235X)[12]
氨基酸位置1242 (例如L1242I)[7]
氨基酸位置1256 (例如T1256fs*1296)[83]
氨基酸位置1268 (例如R1268Q)[2,7]
氨基酸位置1302 (例如E1302X)[57]
氨基酸位置1311 (例如Y1311X)[57]
氨基酸位置1316 (例如T1316Lfs*64)[15]
内含子4 ((+3)A>C)[1]
剪接位点突变IVS7+1G>A[14]
IVS8+1G>C[76]
剪接位点突变IVS9+1G>T[14]
剪接位点突变IVS13del-13^-8[14]
剪接位点突变IVS16-8T>G[14]
剪接位点突变IVS18+1G>A[14]
剪接位点突变IVS19+2T>C[14]
IVS 23-8 G-A[36]
IVS24+5G>A[51]
推定剪接突变1198-1G>C[17]
推定剪接突变1810-3C>G[17]
推定剪接突变2178+1G>A[17]
推定剪接突变2344-1G>T[17]
推定剪接突变3213+1_3213+2delinsA[17]
c.-24C>A[78]
c.76 13 G>T[9]
c.77-19T>A[52]
c.90_93delGAAA[18]
c.124G>A[69]
c.150 +3 A>C[10]
c.249_250insT[18]
c.611+1G>A[84]

[0271]

c.611+4A>G[36]
c.612-15_-6del10bp[55]
c.625A>C[31]
c.627+5G>T[31]
c.625A>C/ c.627+5G>T[31]
c.886C>T[31]
c.890A>G[59]
c.908+1G>A[57]
c.908+5G>A[55]
c.908delG[59]
1273 1bp缺失[91]
c.1084-2A>G[57]
c.1445A>G[59]
c.1587-1589delCTT[31]
c.1621A>C[59]
1939delA[14]
c.2081T>A[31]
2098delA[16]
c.2343+1 G>T[80]
c.2178+1G>T[36]
c.2417G>A[78]
c.2620C>T[32]
c.2815-8A>G[55]
c.3003A>G[37]
c.3213 +4 A>G[9,37]
c.3213 +5 G>A[9]
c.3268C>T[75]
c.3382C>T[75]
c.3765(+1 +5)del5[42]
c.3767-3768insC[6]
1145delC[8]
Ex13_Ex17del[82]

[0272] [A]突变为“X”表示早期终止密码子

[0273] 表4及表5的参考文献

[0274] [1]Noe等人,J Hepatol.2005,第43(3)卷,第536-543页.

[0275] [2]Lam等人,Am J Physiol Cell Physiol.2007,第293(5)卷,第C1709-16页.

[0276] [3]Stindt等人,Liver Int.2013,第33(10)卷,第1527-1735页.

[0277] [4]Gao等人,Shandong Yiyao 2012,第52(10)卷,第14-16页.

[0278] [5]Strautnieks等人,Gastroenterology.2008,第134(4)卷,第1203-1214页.

[0279] [6]Kagawa等人,Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.2008,第294(1)卷,第G58-67页.

[0280] [7]Byrne等人,Hepatology.2009,第49(2)卷,第553-567页.

[0281] [8]Chen等人,J Pediatr.2008,第153(6)卷,第825-832页.

[0282] [9]Davit-Spraul等人,Hepatology 2010,第51(5)卷,第1645-1655页.

[0283] [10]Dröge等人,Sci Rep.2016,第6卷:24827.

[0284] [11]Lang等人,Pharmacogenet Genomics.2007,第17(1)卷,第47-60页.

[0285] [12]Ellinger等人,World J Gastroenterol.2017,第23(29)卷,第5295-5303页.

[0286] [13]Vitale等人,J Gastroenterol.2018,第53(8)卷,第945-958页.

[0287] [14]Knisely等人,Hepatology.2006,第44(2)卷,第478-86页.

[0288] [15]Ellis等人,Hepatology.2018,第67(4)卷,第1531-1545页.

[0289] [16]Lam等人,J Hepatol.2006,第44(1)卷,第240-242页.

[0290] [17]Varma等人,Hepatology 2015,第62(1)卷,第198-206页.

[0291] [18]Treepongkaruna等人,World J Gastroenterol.2009,第15(34)卷,第4339-4342页.

[0292] [19]Zarenezhad等人,Hepatitis Monthly:2017,第17(2)卷;e43500.

[0293] [20]Hayashi等人,Hepatol Res.2016,第46(2)卷,第192-200页.

[0294] [21]Guorui等人,Linchuang Erke Zazhi 2013,第31(10)卷,905-909.

[0295] [22]van Mil等人,Gastroenterology.2004,第127(2)卷,第379-384页.

[0296] [23]Anzivino等人,Dig Liver Dis.2013,第45(3)卷,第226-232页.

[0297] [24]Park等人,World J Gastroenterol.2016,第22(20)卷,第4901-4907页.

[0298] [25]Imagawa等人,J Hum Genet.2018,第63(5)卷,第569-577页.

[0299] [26]Giovannoni等人,PLoS One.2015,第10(12)卷:e0145021.

[0300] [27]Hu等人,Mol Med Rep.2014,第10(3)卷,第1264-1274页.

[0301] [28]Lang等人,Drug Metab Dispos.2006,第34(9)卷,第1582-1599页.

[0302] [29]Masahata等人,Transplant Proc.2016,第48(9)卷,第3156-3162页.

[0303] [30]Holz等人,Hepatol Commun.2018,第2(2)卷,第152-154页.

[0304] [31]Li等人,Hepatology International 2017,第11卷,第1期,增刊增刊1,第S180页.摘要编号:OP284.

[0305] [32]Francalanci等人,Laboratory Investigation 2011,第91卷,增刊增刊1,第360A页.摘要编号:1526.

[0306] [33]Francalanci等人,Digestive and Liver Disease 2010,第42卷,增刊增刊1,第S16页.摘要编号:T.N.5.

[0307] [34]Shah等人,J Pediatr Genet.2017,第6(2)卷,第126-127页.

[0308] [35]Gao等人,Hepatitis Monthly 2017,第17(10)卷,e55087/1-e55087/6.

[0309] [36]Evason等人,Am J Surg Pathol.2011,第35(5)卷,第687-696页.

[0310] [37]Davit-Spraul等人,Mol Genet Metab.2014,第113(3)卷,第225-229页.

[0311] [38]Maggiore等人,J Hepatol.2010,第53(5)卷,第981-6页.

[0312] [39]McKay等人,第2版.F1000Res.2013;2:32.DOI:10.12688/f1000research.2-32.v2

[0313] [40]Liu等人,Pediatr Int.2013,第55(2)卷,第138-144页.

[0314] [41]Waisbourd-Zinman等人,Ann Hepatol.2017,第16(3)卷,第465-468页.

[0315] [42]Griffin,等人,Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology 2016,第2016卷.摘要编号:A200.会议资讯:2016Canadian Digestive Diseases Week,CDDW 2016.Montreal,QC,United States.2016年2月26日-2016年2月29日

[0316] [43]Qiu等人,Hepatology 2017,第65(5)卷,第1655-1669页.

[0317] [44]Imagawa等人,Sci Rep.2017,7:41806.

[0318] [45]Kang等人,J Pathol Transl Med.2019年5月16日.doi:10.4132/jptm.2019.05.03.[印刷之前的电子版]

[0319] [46]Takahashi等人,Eur J Gastroenterol Hepatol.2007,第19(11)卷,第942-6页.

[0320] [47]Shimizu等人,Am J Transplant.2011,第11(2)卷,第394-398页.

[0321] [48]Krawczyk等人,Ann Hepatol.2012,第11(5)卷,第710-744页.

[0322] [49]Sharma等人,BMC Gastroenterol.2018,第18(1)卷,第107页.

[0323] [50]Sattler等人,Journal of Hepatology 2017,第66卷,第1期,增刊S,第S177页.会议资讯:International Liver Congress/52nd Annual Meeting of the European-Association-for-the-Study-of-the-Liver.Amsterdam,NETHERLANDS.2017年4月19-23日.European Assoc Study Liver.

[0324] [51]Jung等人,J Pediatr Gastroenterol Nutr.2007,第44(4)卷,第453-458页.

[0325] [52]Sciveres.Digestive and Liver Disease 2010,第42卷,增刊增刊5,第S329页.摘要编号:C018.会议资讯:17th National Congress SIGENP.Pescara,Italy.2010年10月7日-2010年10月9日

[0326] [53]Sohn等人,Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.2019,第22(2)卷,第201-206页.

[0327] [54]Ho等人,Pharmacogenet Genomics.2010,第20(1)卷,第45-57页.

[0328] [55]Wang等人,Hepatol Res.2018,第48(7)卷,第574-584页.

[0329] [56]Shaprio等人,J Hum Genet.2010,第55(5)卷,第308-313页.

[0330] [57]Bounford.University of Birmingham.Dissertation Abstracts International,(2016)第75卷,第1C期.序列编号:AAI10588329.ProQuest Dissertations&Theses.

[0331] [58]Stolz等人,Aliment Pharmacol Ther.2019,第49(9)卷,第1195-1204页.

[0332] [59]Jankowska等人,J Pediatr Gastroenterol Nutr.2014,第58(1)卷,第92-95页.

[0333] [60]Kim.Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2016,第62卷,增刊增刊1,第620页.摘要编号:H-P-045.会议资讯:49th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Gastroenterology,Hepatology and Nutrition,ESPGHAN 2016.Athens,Greece.2016年5月25日-2016年5月28日.

[0334] [61]Pauli-Magnus等人,Hepatology 2003,第38卷,第4期增刊1,第518A页.印刷版.会议资讯:54th Annual Meeting of the American Association for the Study of

Liver Diseases.Boston,MA,USA.2003年10月24-28日.American Association for the Study of Liver Diseases.

[0335] [62]Li等人,Hepatology International 2017,第11卷,第1期,增刊增刊1,第S362页.摘要编号:PP0347.会议资讯:26th Annual Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver,APASL 2017.Shanghai,China.2017年2月15日-2017年2月19日.

[0336] [63]Rumbo等人,Transplantation 2018,第102卷,第7期,增刊增刊1,第S848页.摘要编号:P.752.会议资讯:27th International Congress of The Transplantation Society,TTS 2018.Madrid,Spain.2018年6月30日-2018年7月5日.

[0337] [64]Lee等人,Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.2017,第20(2)卷,第114-123页.

[0338] [65]Sherrif等人,Liver international:official journal of the International Association for the Study of the Liver 2013,第33卷,第8期,第1266-1270页.

[0339] [66]Blackmore等人,J Clin Exp Hepatol.2013,第3(2)卷,第159-161页.

[0340] [67]Matte等人,J Pediatr Gastroenterol Nutr.2010,第51(4)卷,第488-493页.

[0341] [68]Lin等人,Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.2018,第20(9)卷,第758-764页.

[0342] [69]Harmanci等人,Experimental and Clinical Transplantation 2015,第13卷,增刊增刊2,第76页.摘要编号:P62.会议资讯:1st Congress of the Turkic World Transplantation Society.Astana,Kazakhstan.2015年5月20日-2015年5月22日.

[0343] [70]Herbst等人,Mol Cell Probes.2015,第29(5)卷,第291-298页.

[0344] [71]Moghadamrad等人,Hepatology.2013,第57(6)卷,第2539-2541页.

[0345] [72]Holz等人,Zeitschrift fur Gastroenterologie 2016,第54卷,第8期.摘要编号:KV275.会议资讯:Viszeralmedizin 2016,71.Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft fur Gastroenterologie,Verdauungs-und Stoffwechselkrankheiten mit Sektion Endoskopie-10.Herbsttagung der Deutschen Gesellschaft fur Allgemein-und Viszeralchirurgie.Hamburg,Germany.2016年9月21日-2016年9月24日.

[0346] [73]Wang等人,PLoS One.2016;第11(4)卷:e0153114.

[0347] [74]Hao等人,International Journal of Clinical and Experimental Pathology2017,第10(3)卷,第3480-3487页.

[0348] [75]Arnell等人,J Pediatr Gastroenterol Nutr.2010,第51(4)卷,第494-499页.

[0349] [76]Sharma等人,Indian Journal of Gastroenterology 2017,第36卷,第1期,增刊增刊1,第A99页.摘要编号:M-20.会议资讯:58th Annual Conference of the Indian Society of Gastroenterology,ISGCON 2017.Bhubaneswar,India.2017年12月14日-2017年12月17日.

[0350] [77]Beausé jour等人,Can J Gastroenterol.2011,第25(6)卷,第311-314页.

[0351] [78]Imagawa等人,Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2016,第63卷,增刊增刊2,第S51页.摘要编号:166.会议资讯:World Congress of Pediatric Gastroenterology,Hepatology and Nutrition 2016.Montreal,QC,

Canada.2016年10月5日-2016年10月8日.

[0352] [79]Peng等人,Zhonghua er ke za zhi(Chinese journal of pediatrics)2018,第56卷,第6期,第440-444页.

[0353] [80]Tibesar等人,Case Rep Pediatr.2014,第2014卷:185923.

[0354] [81]Ng等人,Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2018,第66卷,增刊增刊2,第860页.摘要编号:H-P-127.会议资讯:51st Annual Meeting European Society for Paediatric Gastroenterology,Hepatology and Nutrition,ESPGHAN 2018.Geneva,Switzerland.2018年5月9日-2018年5月12日.

[0355] [82]Wong等人,Clin Chem.2008,第54(7)卷,第1141-1148页.

[0356] [83]Pauli-Magnus等人,J Hepatol.2005,第43(2)卷,第342-357页.

[0357] [84]Jericho等人,Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.60,第3卷,第368-374页.

[0358] [85]Scheimann等人,Gastroenterology 2007,第132卷,第4期,增刊2,第A452页.会议资讯:Digestive Disease Week Meeting/108th Annual Meeting of the American-Gastroenterological-Association.Washington,DC,USA.2007年5月19-24日.Amer Gastroenterol Assoc;Amer Assoc Study Liver Dis;Amer Soc Gastrointestinal Endoscopy;Soc Surg Alimentary Tract.

[0359] [86]Jaquotot-Haerranz等人,Rev Esp Enferm Dig.2013,第105(1)卷,第52-54页.

[0360] [87]Khosla等人,American Journal of Gastroenterology 2015,第110卷,增刊第1期,第S397页.会议资讯:80th Annual Scientific Meeting of the American-College-of-Gastroenterology.Honolulu,HI,USA.2015年10月16-21日.

[0361] [88]Dröge等人,J Hepatol.2017,第67(6)卷,第1253-1264页.

[0362] [89]Liu等人,Liver International 2010,第30(6)卷,第809-815页.

[0363] [90]Chen等人,Journal of Pediatrics 2002,第140(1)卷,第119-124页.

[0364] [91]美国专利第9,295,677号

[0365] 在一些实施方案中,ABCB11中的突变选自A167T、G238V、V284L、E297G、R470Q、R470X、D482G、R487H、A570T、N591S、A865V、G982R、R1153C及R1268Q。

[0366] 提供治疗受试者的PFIC(例如PFIC-1及PFIC-2)的方法,其包括对从受试者获得的样品进行分析以确定受试者是否具有与PFIC相关的突变(例如ATP8B1、ABCB11、ABCB4、TJP2、NR1H4或Myo5b突变),及向确定具有与PFIC相关的突变的受试者给药(例如特异性或选择性给药)治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,突变为ATP8B1或ABCB11突变。例如,表1-4中的任一者所提供的突变。在一些实施方案中,ATP8B1中的突变选自L127P、G308V、T456M、D554N、F529del、I661T、E665X、R930X、R952X、R1014X及G1040R。在一些实施方案中,ABCB11中的突变选自A167T、G238V、V284L、E297G、R470Q、R470X、D482G、R487H、A570T、N591S、A865V、G982R、R1153C及R1268Q。

[0367] 还提供治疗有需要的受试者的PFIC(例如PFIC-1及PFIC-2)的方法,该方法包含:(a)检测受试者的与PFIC相关的突变(例如ATP8B1、ABCB11、ABCB4、TJP2、NR1H4或Myo5b突变);及(b)向受试者给药治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,用于治疗PFIC的方法可包括向具有与PFIC相关的突变(例如ATP8B1、ABCB11、ABCB4、

TJP2、NR1H4或Myo5b突变)的受试者给药治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,突变为ATP8B1或ABCB11突变。例如,表1-4中的任一者所提供的突变。在一些实施方案中,ATP8B1中的突变选自L127P、G308V、T456M、D554N、F529del、I661T、E665X、R930X、R952X、R1014X及G1040R。在一些实施方案中,ABCB11中的突变选自A167T、G238V、V284L、E297G、R470Q、R470X、D482G、R487H、A570T、N591S、A865V、G982R、R1153C及R1268Q。

[0368] 在一些实施方案中,通过使用任何本领域公认的测试,包括下一代测序(NGS),在受试者体内或来自受试者的活组织检查样品中确定受试者具有与PFIC相关的突变。在一些实施方案中,使用管理机构核准(例如FDA核准)的用于鉴定受试者或来自受试者的活组织检查样品中与PFIC相关的突变的测试或分析,或通过进行本文所述分析的非限制性实例中的任一者来确定受试者具有与PFIC相关的突变。诊断PFIC的额外方法描述于Gunaydin,M.等人,Hepat Med.2018,第10卷,第95-104页中,其以全文引用的方式并入本文中。

[0369] 在一些实施方案中,PFIC(例如PFIC-1或PFIC-2)的治疗降低受试者的血清胆汁酸水平。在一些实施方案中,血清胆汁酸水平是通过例如ELISA酶测定或测量总胆汁酸的测定来确定,如Danese等人,PLoS One.2017,第12(6)卷:e0179200中所述,其以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,血清胆汁酸水平可降低例如在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前的血清胆汁酸水平的10%至40%、20%至50%、30%至60%、40%至70%、50%至80%或大于90%。在一些实施方案中,PFIC的治疗包括搔痒病的治疗。

[0370] 由于LBAT在肝细胞上表现,故LBAT及双重ASBT/LBAT抑制剂物质需要在血液中具有至少一些生物利用度及游离部分。因为LBAT抑制剂化合物仅需要从肠道存活至肝脏,所以预期此类化合物的相对低的全身暴露将是足够的,从而使身体其余部分中任何副作用的潜在风险降至最低。预期LBAT及ASBT的抑制将至少在降低肝内胆汁酸浓度方面具有累加效应。还预期双重ASBT/LBAT抑制剂可能能够降低胆汁酸水平而不诱发腹泻,如有时在ASBT抑制剂下观察到的那样。

[0371] 预期具有高LBAT抑制效力及足够生物利用度的化合物特别适用于治疗肝炎。预期具有双重ASBT/LBAT抑制效力及足够生物利用度的化合物特别适用于治疗非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0372] NASH为一种常见且严重的慢性肝病,类似于酒精性肝病,但发生在少喝酒或不喝酒的人中。在NASH患者中,肝脏中的脂肪堆积,称为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)或脂肪变性,及诸如高LDL胆固醇及胰岛素抗性的其他因素诱发肝脏中的慢性发炎,且可能导致组织进行性瘢痕形成,称为纤维化及肝硬化,最终导致肝功能衰竭及死亡。已发现NASH患者在空腹条件(NASH增加2.2至2.4倍)及所有餐后时间点(NASH增加1.7至2.2倍)下的总血清胆汁酸浓度显著高于健康受试者。这些是通过牛磺酸结合及甘胺酸结合的初级及次级胆汁酸增加驱动的。NASH患者在其空腹及餐后胆汁酸概况中表现出较大的可变性。这些结果表明,NASH患者在空腹及餐后更高地暴露于胆汁酸,包括更多疏水性及细胞毒性次级物种。增加的胆汁酸暴露可能涉及肝损伤以及NAFLD及NASH的发病机制(Ferslew等人,Dig Dis Sci.2015,第60卷,第3318-3328页)。因此,ASBT及/或LBAT抑制可能有益于NASH的治疗。

[0373] NAFLD的特征在于肝脏脂肪变性而没有肝脏脂肪变性的继发性原因,包括过量饮酒、其他已知肝病或长期使用致脂药物(Chalasani等人,Hepatology 2018,第67(1)卷,第

328-357页)。NAFLD可分类为非酒精性脂肪肝(NAFL)及非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。根据Chalasani等人,NAFL定义为存在≥5%肝脏脂肪变性而没有呈肝细胞膨胀形式的肝细胞损伤的证据。NASH定义为存在≥5%肝脏脂肪变性及肝细胞损伤(例如膨胀)的发炎,伴有或不伴有任何肝纤维化。NASH通常还与肝脏发炎及肝纤维化相关,其可进展为肝硬化、末期肝病及肝细胞癌。虽然肝纤维化并非总是存在于NASH中,但纤维化(当存在时)的严重程度可能与长期结果有关。

[0374] 存在许多方法用于评定及评估受试者是否患有NAFLD,若患有,则评定及评估疾病的严重程度,包括区分NAFLD为NAFL或NASH。在一些实施方案中,可使用NAS评定NAFLD的严重程度。在一些实施方案中,可使用NAS评定NAFLD的治疗。在一些实施方案中,可如Kleiner等人,Hepatology.2005,41(6):1313-1321中所述确定NAS,其以全文引用的方式并入本文中。关于改编自Kleiner的简化NAS方案,参见例如表6。

[0375] 表6.具有纤维化分期的NAFLD活动评分(NAS)的实例

[0376]

特征	程度	评分
脂肪变性	<5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
小叶炎症	无病灶	0
	<2个病灶/200×	1
	2-4个病灶/200×	2
	>4个病灶/200×	3
膨胀变性	无	0
	很少	1
	许多细胞/显著膨胀	2
纤维化	无	0
	窦周或门脉周	1
	窦周及门脉/门脉周	2
	桥接纤维化	3

[0377]

	肝硬化	4

[0378] 在一些实施方案中,NAS为非侵入性地确定的,例如,如美国申请公开号2018/0140219中所述,其以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前,确定来自受试者的样品的NAS。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间或之后确定NAS。在一些实施方案中,与给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前相比,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的

盐的时间段期间或之后的NAS评分较低指示NAFLD(例如NASH)的治疗。例如,NAS降低1、2、3、4、5、6或7指示NAFLD(例如NASH)的治疗。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐后,NAS为7或更小。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间,NAS为5或更小、4或更小、3或更小或2或更小。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间,NAS为7或更小。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间,NAS为5或更小、4或更小、3或更小或2或更小。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段之后,NAS为7或更小。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段之后,NAS为5或更小、4或更小、3或更小或2或更小。

[0379] 评定及评估受试者的NASH的其他方法包括确定肝脏脂肪变性(例如肝脏中的脂肪堆积);肝脏发炎;指示肝损伤、肝脏发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的生物标志物(例如血清标志物及组)中的一种或多种。NASH的生理指针的其他实例可包括肝脏形态、肝脏硬度及受试者肝脏的大小或重量。

[0380] 在一些实施方案中,受试者的NASH是通过肝脏脂肪的堆积及指示肝损伤的生物标志物的检测来证明。例如,升高的血清铁蛋白及低效价的血清自体抗体可为NASH的常见特性。

[0381] 在一些实施方案中,评定NASH的方法包括磁共振成像、通过光谱分析或通过质子密度脂肪分数(MRI-PDFF)来量化脂肪变性、瞬时弹性成像(FIBROSCAN®)、肝静脉压力梯度(HPVG)、使用MRE的肝脏硬度测量诊断显著肝纤维化及/或肝硬化,以及评定肝脏活组织检查的组织学特征。在一些实施方案中,磁共振成像用于检测脂肪性肝炎(NASH-MRI)、肝纤维化(Fibro-MRI)及脂肪变性中的一种或多种。参见例如美国申请公开号2016/146715及2005/0215882,其各自以全文引用的方式并入本文中。

[0382] 在一些实施方案中,NASH的治疗可包括在给药一或多次剂量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐后,受试者的与NASH相关的一或多个症状减少;肝脏脂肪变性的量减少;NAS降低;肝脏发炎减少;指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一或多种的生物标志物水平降低;及纤维化及/或肝硬化减少、纤维化及/或肝硬化没有进一步进展或纤维化及/或肝硬化进展减缓。

[0383] 在一些实施方案中,NASH的治疗包含受试者的与NASH相关的一或多个症状减少。示例性症状可包括肝脏扩大、疲劳、右上腹疼痛、腹部肿胀、皮肤表面正下方血管扩大、男性乳房增大、脾脏肿大、红掌、黄疸及搔痒病中的一种或多种。在一些实施方案中,受试者无症状。在一些实施方案中,受试者的总体重不增加。在一些实施方案中,受试者的总体重降低。在一些实施方案中,受试者的身体质量指数(BMI)不增加。在一些实施方案中,受试者的身体质量指数(BMI)降低。在一些实施方案中,受试者的腰臀(WTH)比不增加。在一些实施方案中,受试者的腰臀(WTH)比降低。

[0384] 在一些实施方案中,NASH的治疗可通过测量肝脏脂肪变性来评定。在一些实施方案中,NASH的治疗包含在给药如本文所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐后肝脏脂肪变性减少。在一些实施方案中,肝脏脂肪变性是通过选自由以下组成的组的一种或多种方法来确定:超声检查术、计算机断层扫描(CT)、磁共振成像、磁共振光谱分析(MRS)、磁共振弹性成像(MRE)、瞬时弹性成像(TE)(例如FIBROSCAN®)、测量肝脏大小或重量或通

过肝脏活组织检查(参见例如Di Lascio等人,Ultrasound Med Biol.2018,第44(8)卷,第1585-1596页;Lv等人,J Clin Transl Hepatol.2018,第6(2)卷,第217-221页;Reeder等人,J Magn Reson Imaging.2011,第34(4)卷,spcone;及de Lédinghen V等人,J Gastroenterol Hepatol.2016,第31(4)卷,第848-855页,其各自以全文引用的方式并入本文中)。经诊断患有NASH的受试者可具有大于约5%肝脏脂肪变性,例如大于约5%至约25%、约25%至约45%、约45%至约65%或大于约65%肝脏脂肪变性。在一些实施方案中,具有大于约5%至约33%肝脏脂肪变性的受试者具有1期肝脏脂肪变性,具有约33%至约66%肝脏脂肪变性的受试者具有2期肝脏脂肪变性,且具有大于约66%肝脏脂肪变性的受试者具有3期肝脏脂肪变性。

[0385] 在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前测定肝脏脂肪变性的量。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间或之后测定肝脏脂肪变性的量。在一些实施方案中,与在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前相比,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间或之后,肝脏脂肪变性的量减少指示NASH的治疗。例如,肝脏脂肪变性的量减少约1%至约50%、约25%至约75%或约50%至约100%指示NASH的治疗。在一些实施方案中,肝脏脂肪变性的量减少约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%指示NASH的治疗。

[0386] 在一些实施方案中,肝脏发炎的存在是通过选自由以下组成的组的一种或多种方法来确定:指示肝脏发炎的生物标志物及来自受试者的肝脏活组织检查样品。在一些实施方案中,肝脏发炎的严重程度系由来自受试者的肝脏活组织检查样品来确定。例如,肝脏活组织检查样品中的肝脏发炎可如Kleiner等人,Hepatology 2005,第41(6)卷,第1313-1321页及Brunt等人,Am J Gastroenterol 1999,第94卷,第2467-2474页中所述来评定,其各自特此以全文引用的方式并入。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前确定肝脏发炎的严重程度。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间或之后确定肝脏发炎的严重程度。在一些实施方案中,与在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前相比,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间或之后,肝脏发炎的严重程度降低指示NASH的治疗。例如,肝脏发炎的严重程度降低约1%至约50%、约25%至约75%或约50%至约100%指示NASH的治疗。在一些实施方案中,肝脏发炎的严重程度降低约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%指示NASH的治疗。

[0387] 在一些实施方案中,NASH的治疗包含纤维化及/或肝硬化的治疗,例如纤维化的严重程度降低、纤维化及/或肝硬化没有进一步进展或纤维化及/或肝硬化的进展减缓。在一些实施方案中,纤维化及/或肝硬化的存在是通过选自由以下组成的组的一种或多种方法来确定:瞬时弹性成像(例如FIBROSCAN®)、肝脏纤维化的非侵入性标志物及肝脏活组织检查的组织学特征。在一些实施方案中,纤维化的严重程度(例如分期)是通过选自由以下组成的组的一种或多种方法来确定:瞬时弹性成像(例如FIBROSCAN®)、纤维化评分系统、肝脏纤维化的生物标志物(例如非侵入性生物标志物)及肝静脉压力梯度(HVPG)。纤维化评分系统的非限制性实例包括NAFLD纤维化评分系统(参见例如Angulo等人,

Hepatology 2007,第45(4)卷,第846-54页)、Brunt等人,Am.J.Gastroenterol.1999,第94卷,第2467-2474页中的纤维化评分系统、Kleiner等人,Hepatology 2005,第41(6)卷,第1313-1321页中的纤维化评分系统及ISHAK纤维化评分系统(参见Ishak等人,J.Hepatol.1995,第22卷,第696-699页),其各自的内容以全文引用的方式并入本文中。

[0388] 在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前确定纤维化的严重程度。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间或之后确定纤维化的严重程度。在一些实施方案中,与在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前相比,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间或之后,纤维化的严重程度降低指示NASH的治疗。在一些实施方案中,纤维化的严重程度降低、纤维化及/或肝硬化没有进一步进展或纤维化及/或肝硬化的进展减缓指示NASH的治疗。在一些实施方案中,使用评分系统,诸如本文所述的纤维化评分系统中的任一者来确定纤维化的严重程度,例如,评分可指示纤维化的分期,例如0期(无纤维化)、1期、2期、3期及4期(肝硬化)(参见例如Kleiner等人)。在一些实施方案中,纤维化分期的降低为纤维化严重程度的降低。例如,1、2、3或4期的降低为纤维化严重程度的降低。在一些实施方案中,分期的降低,例如自4期至3期、自4期至2期、自4期至1期、自4期至0期、自3期至2期、自3期至1期、自3期至0期、自2期至1期、自2期至0期或自1期至0期指示NASH的治疗。在一些实施方案中,与在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前相比,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐后,纤维化的分期自4期至3期、自4期至2期、自4期至1期、自4期至0期、自3期至2期、自3期至1期、自3期至0期、自2期至1期、自2期至0期或自1期至0期降低。在一些实施方案中,与在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前相比,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间,纤维化的分期自4期至3期、自4期至2期、自4期至1期、自4期至0期、自3期至2期、自3期至1期、自3期至0期、自2期至1期、自2期至0期或自1期至0期降低。在一些实施方案中,与在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前相比,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段之后,纤维化的分期自4期至3期、自4期至2期、自4期至1期、自4期至0期、自3期至2期、自3期至1期、自3期至0期、自2期至1期、自2期至0期或自1期至0期降低。

[0389] 在一些实施方案中,NASH的存在是通过指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一或多种的一种或多种生物标志物或其评分系统来确定。在一些实施方案中,NASH的严重程度是通过指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一或多种的一种或多种生物标志物或其评分系统来确定。生物标志物的水平可通过例如测量、定量及监测编码生物标志物的基因或mRNA的表达量及/或生物标志物的肽或蛋白质来确定。指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一或多种的生物标志物及/或其评分系统的非限制性实例包括天冬氨酸转氨酶(AST)与血小板比率指数(APRI);天冬氨酸转氨酶(AST)与丙氨酸转氨酶(ALT)比率(AAR);FIB-4评分,其基于APRI、丙氨酸转氨酶(ALT)水平及受试者年龄(参见例如McPherson等人,Gut 2010,第59(9)卷,第1265-9页,其以全文引用的方式并入本文中);透明质酸;促炎细胞因子;与受试者的年龄及性别相结合的一组由α2-巨球蛋白、结合球蛋白、载脂蛋白A1、胆红素、γ谷氨酰基转肽酶(GGT)组成的生物标志物,以测定肝脏中的纤维化和坏死性炎症活性(例如FIBROTEST®、FIBROSURE®),与受试者的年龄及性别相结合的一组由胆红素、γ-谷氨酰基转移酶、透明质酸、α2-巨球蛋白组成的生物标志物(例

如HEPASCORE®;参见例如Adams等人,Clin.Chem.2005,第51(10)卷,第1867-1873页),及一组由金属蛋白酶-1的组织抑制剂、透明质酸及α2-巨球蛋白组成的生物标志物(例如FIBROSPECT®);一组由金属蛋白酶1的组织抑制剂(TIMP-1)、III型前胶原的氨基末端前肽(PIIINP)及透明质酸(HA)组成的生物标志物(例如增强型肝纤维化(ELF)评分,参见例如Lichtinghagen R等人,J Hepatol.2013年8月;59(2):236-42,其以全文引用的方式并入本文中)。在一些实施方案中,纤维化的存在是通过FIB-4评分,与受试者的年龄及性别相结合的一组由α2-巨球蛋白、结合球蛋白、载脂蛋白A1、胆红素、γ谷氨酰基转肽酶(GGT)组成的生物标志物,以测定肝脏中的纤维化和坏死性炎症活性(例如FIBROTEST®、FIBROSURE®),与受试者的年龄及性别相结合的一组由胆红素、γ-谷氨酰基转移酶、透明质酸、α2-巨球蛋白组成的生物标志物(例如HEPASCORE®;参见例如Adams等人,Clin.Chem.2005,第51(10)卷,第1867-1873页),及一组由金属蛋白酶-1的组织抑制剂、透明质酸及α2-巨球蛋白组成的生物标志物(例如FIBROSPECT®);及一组由金属蛋白酶1的组织抑制剂(TIMP-1)、III型前胶原的氨基末端前肽(PIIINP)及透明质酸(HA)组成的生物标志物(例如增强型肝纤维化(ELF)评分)中的一或多种来确定。

[0390] 在一些实施方案中,天冬氨酸转氨酶(AST)的水平不升高。在一些实施方案中,天冬氨酸转氨酶(AST)的水平降低。在一些实施方案中,丙氨酸转氨酶(ALT)的水平不升高。在一些实施方案中,丙氨酸转氨酶(ALT)的水平降低。在一些实施方案中,酶的"水平"是指酶的浓度,例如在血液中。例如,AST或ALT的水平可表示为单元/L。

[0391] 在一些实施方案中,纤维化的严重程度是通过FIB-4评分,与受试者的年龄及性别相结合的一组由α2-巨球蛋白、结合球蛋白、载脂蛋白A1、胆红素、γ谷氨酰基转肽酶(GGT)组成的生物标志物,以测定肝脏中的纤维化和坏死性炎症活性(例如FIBROTEST®、FIBROSURE®),与受试者的年龄及性别相结合的一组由胆红素、γ-谷氨酰基转移酶、透明质酸、α2-巨球蛋白组成的生物标志物(例如HEPASCORE®;参见例如Adams等人,Clin.Chem.2005,第51(10)卷,第1867-1873页,其以全文引用的方式并入本文中),及一组由金属蛋白酶-1的组织抑制剂、透明质酸及α2-巨球蛋白组成的生物标志物(例如FIBROSPECT®);及一组由金属蛋白酶1的组织抑制剂(TIMP-1)、III型前胶原的氨基末端前肽(PIIINP)及透明质酸(HA)组成的生物标志物(例如增强型肝纤维化(ELF)评分)中的一种或多种来确定。

[0392] 在一些实施方案中,肝脏发炎是通过肝脏发炎生物标志物(例如促炎细胞因子)的水平来确定。指示肝脏发炎的生物标志物的非限制性实例包括白介素-(IL)6、白介素-(IL)1β、肿瘤坏死因子(TNF)-α、转化生长因子(TGF)-β、单核球趋化蛋白(MCP)-1、C反应蛋白(CRP)、PAI-1及胶原蛋白同功异型物诸如Col1a1、Col1a2及Col4a1(参见例如Neuman等人,Can.J.Gastroenterol.Hepatol.2014,第28(11)卷,第607-618页及美国专利第9,872,844号,其各自以全文引用的方式并入本文中)。肝脏发炎也可通过巨噬细胞浸润的变化,例如测量CD68表达水平的变化来评定。在一些实施方案中,肝脏发炎可通过测量或监测白介素-(IL)6、白介素-(IL)1β、肿瘤坏死因子(TNF)-α、转化生长因子(TGF)-β、单核球趋化蛋白(MCP)-1及C反应蛋白(CRP)中的一或多种的血清水平或循环水平来确定。

[0393] 在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前,测定来自受

试者的样品的指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一种或多种的一种或多种生物标志物的水平。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间或之后,测定指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一种或多种的一种或多种生物标志物的水平。在一些实施方案中,与在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前相比,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间或之后,指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一种或多种的一种或多种生物标志物的水平降低指示NASH的治疗。例如,指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一种或多种的一种或多种生物标志物的水平降低至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约99%指示NASH的治疗。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐后,指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一种或多种的一种或多种生物标志物的水平降低至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约99%。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段期间,指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一种或多种的一种或多种生物标志物的水平降低至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约99%。在一些实施方案中,在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐的时间段之后,指示肝损伤、发炎、肝纤维化及/或肝硬化中的一种或多种的一种或多种生物标志物的水平降低至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约99%。

[0394] 在一些实施方案中,NASH的治疗降低受试者的血清胆汁酸水平。在一些实施方案中,血清胆汁酸水平是通过例如ELISA酶测定或测量总胆汁酸的测定来确定,如Danese等人,PLoS One.2017,第12(6)卷:e0179200中所述,其以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,血清胆汁酸水平可降低例如在给药式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前的血清胆汁酸水平的10%至40%、20%至50%、30%至60%、40%至70%、50%至80%或大于90%。在一些实施方案中,NASH为伴随胆汁淤积的NASH。在胆汁淤积中,胆汁(包括胆汁酸)从肝脏的释放被阻塞。胆汁酸会导致肝细胞损伤(参见例如Perez MJ,Briz O.World J.Gastroenterol.2009,第15(14)卷,第1677-1689页),从而可能导致或增加纤维化(例如肝硬化)的进展及增加肝细胞癌的风险(参见例如Sorrentino P等人,Dig.Dis.Sci.2005,第50(6)卷,第1130-1135页及Satapathy SK及Sanyal AJ.Semin.Liver Dis.2015,第35(3)卷,第221-235页,其各自以全文引用的方式并入本文中)。在一些实施方案中,NASH的治疗包括搔痒病的治疗。在一些实施方案中,伴随胆汁淤积的NASH的治疗包括搔痒病的治疗。在一些实施方案中,患有伴随胆汁淤积的NASH的受试者患有搔痒病。

[0395] NASH的示例性生物标志物提供于表7中。

[0396] 表7.示例性NASH生物标志物

[0397] 肝纤维化生物标志物

[0398] 天冬氨酸转氨酶(AST)与血小板比率指数(APRI)

[0399] 天冬氨酸转氨酶(AST)与丙氨酸转氨酶(ALT)比率(AAR)

[0400] FIB-4评分[1]

[0401] 透明质酸

[0402] 促炎性细胞因子

[0403] 与受试者的年龄及性别相结合的一组包括α2-巨球蛋白、结合球蛋白、载脂蛋白A1、胆红素、γ谷氨酰基转肽酶(GGT),以测定肝脏中的纤维化和坏死性炎症活性(例如FIBROTEST®、FIBROSURE®)

[0404] 与个体的年龄及性别相结合的包括胆红素、γ-谷氨酰基转移酶、透明质酸、α2-巨球蛋白的组(例如HEPASCORE®[2])

[0405] 包括金属蛋白酶-1的组织抑制剂、透明质酸及α2-巨球蛋白的组(例如FIBROSPECT®)

[0406] 包括金属蛋白酶1的组织抑制剂(TIMP-1)、第III型原胶原的氨基端前肽(PIIINP)及透明质酸(HA)的组(例如增强型肝纤维化(ELF)评分[3])

[0407] 肝脏炎症生物标志物[4,5]

[0408] 介白素-(IL)6

[0409] 介白素-(IL)1β

[0410] 肿瘤坏死因子(TNF)-α

[0411] 转化生长因子(TGF)-β

[0412] 单核球趋化蛋白(MCP)-1

[0413] C反应蛋白(CRP)

[0414] PAI-1

[0415] 胶原蛋白亚型(例如Col1a1、Col1a2及Col4a1)

[0416] 巨噬细胞浸润的变化(例如CD68表达水平的变化)

[0417] 表7的参考文献

[0418] [1]McPherson等人,Gut.2010,第59(9)卷,第1265-1269页.

[0419] [2]Adams等人,Clin Chem.2005,第51(10)卷,第1867-1873页.

[0420] [3]Lichtinghagen等人,J Hepatol.2013,第59(2)卷,第236-242页.

[0421] [4]Neuman等人,Can J Gastroenterol Hepatol.2014,第28(11)卷,第607-618页.

[0422] [5]美国专利第9,872,844号

[0423] 一些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可在血浆中显示较高游离部分。在一些实施方案中,游离部分大于约0.2%,诸如大于约0.4%,诸如大于约0.6%,诸如大于约0.8%,诸如大于约1.0%,诸如大于约1.25%,诸如大于约1.5%,诸如大于约1.75%,诸如大于约2.0%,诸如大于约2.5%,诸如大于约3%,诸如大于约4%,诸如大于约5%,诸如大于约7.5%,诸如大于约10%或诸如大于约20%。

[0424] 一些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可在尿液中排泄。在一些实施方案中,在尿液中排泄的化合物部分大于约0.2%,诸如大于约0.4%,诸如大于约0.6%,诸如大于约

0.8％,诸如大于约1.0％,诸如大于约2％,诸如大于约3％,诸如大于约5％,诸如大于约7.5％,诸如大于约10％,诸如大于约15％,诸如大于约20％,诸如大于约30％或诸如大于约50％。

[0425] 在自肠道吸收之后,一些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可经由肠肝循环来循环。在一些实施方案中,经由肠肝循环来循环的化合物部分大于约0.1％,诸如大于约0.2％,诸如大于约0.3％,诸如大于约0.5％,诸如大于约1.0％,诸如大于约1.5％,诸如大于约2％,诸如大于约3％,诸如大于约5％,诸如大于约7％,诸如大于约10％,诸如大于约15％,诸如大于约20％,诸如大于约30％或诸如大于约50％。

[0426] 一些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可引起肾脏排泄胆盐。在一些实施方案中,由肾脏途径排泄的循环胆汁酸部分大于约1％,诸如大于约2％,诸如大于约5％,诸如大于约7％,诸如大于约10％,诸如大于约15％,诸如大于约20％或诸如大于约25％。

[0427] 一些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可显示改良或最佳渗透率。渗透率可在Caco2细胞中测量,且值按以cm/s为单位的Papp(表观渗透率)值给出。在一些实施方案中,渗透率大于至少约0.1×10^{-6}cm/s,诸如大于约0.2×10^{-6}cm/s,诸如大于约0.4×10^{-6}cm/s,诸如大于约0.7×10^{-6}cm/s,诸如大于约1.0×10^{-6}cm/s,诸如大于约2×10^{-6}cm/s,诸如大于约3×10^{-6}cm/s,诸如大于约5×10^{-6}cm/s,诸如大于约7×10^{-6}cm/s,诸如大于约10×10^{-6}cm/s,诸如大于约15×10^{-6}cm/s。

[0428] 一些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可显示改良或最佳生物利用度。在一些实施方案中,经口生物利用度大于约5％,诸如大于约7％,诸如大于约10％,诸如大于约15％,诸如大于约20％,诸如大于约30％,诸如大于约40％,诸如大于约50％,诸如大于约60％,诸如大于约70％或诸如大于约80％。在其它实施方案中,经口生物利用度在约10％与约90％之间,诸如在约20％与约80％之间,诸如在约30％与约70％之间或诸如在约40％与约60％之间。

[0429] 一些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可为肾脏中相关转运体的底物。

[0430] 一些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可产生不引起不良胃肠道效应的肠道、肝脏及血清中的胆汁酸浓度。

[0431] 一些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可降低肝脏中的胆汁酸浓度,而不导致胃肠道病症,诸如腹泻。

[0432] 如本文所用,术语“治疗(treatment/treat/treating)”是指逆转、缓解如本文所述的疾病或障碍或其一种或多种症状,延迟其发作或抑制其进展。在一些实施方案中,可在已出现一种或多种症状之后给药治疗。在其他实施方案中,可在不存在症状的情况下给药治疗。例如,可在症状发作之前向易感个体给药治疗(例如,根据症状病史及/或根据遗传性或其他易感性因素)。也可在症状已消退之后继续治疗,例如以预防或延迟其复发。

[0433] 本发明化合物的适合的药学上可接受的盐为例如本发明化合物的碱加成盐,其具有足够的酸性,诸如碱金属盐(例如钠或钾盐)、碱土金属盐(例如钙或镁盐)、铵盐或与提供生理学上可接受的阳离子的有机碱的盐,例如与甲胺、二甲胺、三甲胺、哌啶、吗啉或三-(2-羟乙基)胺的盐。

[0434] 一些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可具有手性中心及/或几何异构中心(E-及Z-异构体)。应理解,本发明涵盖具有ASBT及/或LBAT抑制活性的所有此类光学异构体、非

对映异构体及几何异构体。本发明亦涵盖具有ASBT及/或LBAT抑制活性的式(I)化合物或其药学上可接受的盐的任何及所有互变异构形式。某些式(I)化合物或其药学上可接受的盐可以非溶剂化以及溶剂化形式存在,诸如水合形式。应理解,本发明涵盖具有ASBT及/或LBAT抑制活性的所有此类溶剂化形式。

[0435] 在另一方面,本发明涉及一种药物组合物,其包含治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐及一种或多种药学上可接受的赋形剂。所述赋形剂可例如包括填充剂、黏合剂、崩解剂、助流剂及润滑剂。一般而言,药物组合物可使用常规赋形剂以常规方式制备。

[0436] 适合的填充剂的实例包括但不限于二水合磷酸二钙、硫酸钙、乳糖(诸如单水合乳糖)、蔗糖、甘露糖醇、山梨糖醇、纤维素、微晶纤维素、干淀粉、水解淀粉及预胶凝化淀粉。在某些实施方案中,填充剂为甘露糖醇及/或微晶纤维素。

[0437] 适合的黏合剂的实例包括但不限于淀粉、预胶凝化淀粉、明胶、糖(诸如蔗糖、葡萄糖、右旋糖、乳糖及山梨糖醇)、聚乙二醇、蜡、天然及合成胶(诸如阿拉伯胶及黄蓍胶)、海藻酸钠、纤维素衍生物(诸如羟丙基甲基纤维素(或羟丙甲纤维素)、羟丙基纤维素及乙基纤维素)及合成聚合物(诸如丙烯酸及甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸甲酯共聚物、甲基丙烯酸氨基烷基酯共聚物、聚丙烯酸/聚甲基丙烯酸共聚物及聚乙烯吡咯烷酮(聚维酮))。在某些实施方案中,黏合剂为羟丙基甲基纤维素(羟丙甲纤维素)。

[0438] 适合的崩解剂的实例包括但不限于干淀粉、变性淀粉(诸如(部分)预胶凝化淀粉、羟基乙酸淀粉钠及羧甲基淀粉钠)、海藻酸、纤维素衍生物(诸如羧甲基纤维素钠、羟丙基纤维素及低取代的羟丙基纤维素(L-HPC))及交联聚合物(诸如羧甲基纤维素、交联羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素钙及交联PVP(交联聚维酮))。在某些实施方案中,崩解剂为交联羧甲基纤维素钠。

[0439] 适合的助流剂及润滑剂的实例包括但不限于滑石、硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸、山嵛酸甘油酯、胶态二氧化硅、水性二氧化硅、合成硅酸镁、细粒氧化硅、淀粉、月桂基硫酸钠、硼酸、氧化镁、蜡(诸如巴西棕榈蜡)、氢化油、聚乙二醇、苯甲酸钠、聚乙二醇及矿物油。在某些实施方案中,助流剂或润滑剂为硬脂酸镁或胶态二氧化硅。

[0440] 药物组合物可常规地包覆有一或多个包衣层。亦涵盖用于延迟或靶向释放式(I)化合物或其药学上可接受的盐的肠溶包衣层或包衣层。包衣层可包含一种或多种包衣剂,且可视情况包含增塑剂及/或色素(或着色剂)。

[0441] 适合的包衣剂的实例包括但不限于基于纤维素的聚合物(诸如乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素(或羟丙甲纤维素)、羟丙基纤维素、邻苯二甲酸乙酸纤维素、丁二酸乙酸纤维素、丁二酸乙酸羟丙基甲基纤维素及邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素)、基于乙烯基的聚合物(诸如聚乙烯醇)及基于丙烯酸及其衍生物的聚合物(诸如丙烯酸及甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸甲酯共聚物、甲基丙烯酸氨基烷基酯共聚物、聚丙烯酸/聚甲基丙烯酸共聚物)。在某些实施方案中,包衣剂为羟丙基甲基纤维素。在其他实施方案中,包衣剂为聚乙烯醇。

[0442] 适合的增塑剂的实例包括但不限于柠檬酸三乙酯、三乙酸甘油酯、柠檬酸三丁酯、邻苯二甲酸二乙酯、柠檬酸乙酰基三丁酯、邻苯二甲酸二丁酯、癸二酸二丁酯及聚乙二醇。在某些实施方案中,增塑剂为聚乙二醇。

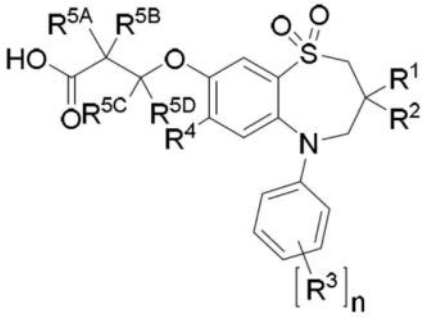
[0443] 适合的色素的实例包括但不限于二氧化钛、氧化铁(诸如黄色、棕色、红色或黑色氧化铁)及硫酸钡。

[0444] 药物组合物可呈适用于口服给药、非经肠注射(包括静脉内、皮下、肌肉内及血管内注射)、局部给药或直肠给药的形式。在一优选实施方案中,药物组合物呈适用于口服给药的形式,诸如锭剂或胶囊。

[0445] 治疗性或预防性治疗所需的剂量将取决于给药途径、疾病的严重程度、患者的年龄及体重以及当确定适于具体患者的方案及剂量水平时主治医师通常考虑的其他因素。

[0446] 待给药的化合物的量对于所治疗的患者是不同的,且可在每天每公斤体重约1μg至约50mg之间变化。诸如锭剂或胶囊的单位剂型将通常含有约1至约250mg活性成分,诸如约1至约100mg,或诸如约1至约50mg,或诸如约1至约20mg,例如约2.5mg,或约5mg,或约10mg,或约15mg。日剂量可以单次剂量形式给药或分成一个、两个、三个或更多个单位剂量。口服给药的胆汁酸调节剂的日剂量优选在约0.1至约250mg内,更优选在约1至约100mg内,诸如在约1至约5mg内,诸如在约1至约10mg内,诸如在约1至约15mg内,或诸如在约1至约20mg内。

[0447] 在另一方面,本发明涉及式(I)化合物

[0448] 

(I)

[0449] 其中

[0450] R^1及R^2各自独立地为C_{1-4}烷基;

[0451] R^3独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、C_{1-4}烷基、C_{1-4}卤代烷基、C_{1-4}烷氧基、C_{1-4}卤代烷氧基、氰基、硝基、氨基、N-(C_{1-4}烷基)氨基、N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基及N-(芳基-C_{1-4}烷基)氨基;

[0452] n为整数1、2或3;

[0453] R^4选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氰基、C_{1-4}烷基、C_{3-6}环烷基、C_{1-4}烷氧基、C_{3-6}环烷基氧基、C_{1-4}烷硫基、C_{3-6}环烷基硫基、氨基、N-(C_{1-4}烷基)氨基及N,N-二(C_{1-4}烷基)氨基;且

[0454] R^{5A}、R^{5B}、R^{5C}及R^{5D}各自独立地选自由以下组成的组:氢、卤素、羟基、氨基、C_{1-4}烷基及C_{1-4}烷氧基;

[0455] 或其药学上可接受的盐,其用作药物。

[0456] 在另一方面,本发明涉及式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗或预防本文中所列举的任何疾病。本发明还涉及式(I)化合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗或预防本文中所列举的任何疾病的药物中的用途。本发明还涉及治疗或预防受试者(诸如人类)的本文中所列举的任何疾病的方法,其包含向需要此类治疗或预防的受试者给药治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0457] 组合疗法

[0458] 在本发明的一个方面,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与至少一种其他治疗活性剂,诸如与一种、两种、三种或更多种其他治疗活性剂组合给药。式(I)化合物或其药学上可接受的盐及至少一种其他治疗活性剂可同时、依次或分开给药。适合与式(I)化合物组合的治疗活性剂包括但不限于可用于治疗任何前述病症、障碍及疾病的已知活性剂。

[0459] 在一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与另一种ASBT抑制剂组合给药。适合的ASBT抑制剂揭示于WO 93/16055、WO 94/18183、WO 94/18184、WO 96/05188、WO 96/08484、WO 96/16051、WO 97/33882、WO 98/03818、WO 98/07449、WO 98/40375、WO 99/35135、WO 99/64409、WO 99/64410、WO 00/47568、WO 00/61568、WO 00/38725、WO 00/38726、WO 00/38727、WO 00/38728、WO 00/38729、WO 01/66533、WO 01/68096、WO 02/32428、WO 02/50051、WO 03/020710、WO 03/022286、WO 03/022825、WO 03/022830、WO 03/061663、WO 03/091232、WO 03/106482、WO 2004/006899、WO 2004/076430、WO 2007/009655、WO 2007/009656、WO 2011/137135、DE 19825804、EP 864582、EP 489423、EP 549967、EP 573848、EP 624593、EP 624594、EP 624595、EP 624596、EP 0864582、EP 1173205及EP1535913中,其均以全文引用的方式并入本文中。

[0460] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与胆汁酸结合剂(亦称为胆汁酸螯合剂或树脂),诸如考来维仑(colesevelam)、消胆胺(cholestyramine)或降胆宁(cholestipol)组合给药。在此类组合的一优选实施方案中,胆汁酸结合剂经配制用于结肠释放。此类制剂的实例揭示于例如WO 2017/138877、WO 2017/138878、WO 2019/032026及WO 2019/032027中,其均以全文引用的方式并入本文中。

[0461] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与DPP-IV抑制剂,包括列汀类(gliptins),诸如西他列汀(sitagliptin)、维格列汀(vildagliptin)、沙格列汀(saxagliptin)、利格列汀(linagliptin)、吉格列汀(gemigliptin)、阿拉格列汀(anagliptin)、替格列汀(teneligliptin)、阿格列汀(alogliptin)、曲格列汀(trelagliptin)、奥格列汀(omarigliptin)、依格列汀(evogliptin)、戈塞列汀(gosogliptin)及多格列汀(dutogliptin)或其药学上可接受的盐组合给药。

[0462] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与HMG CoA还原酶抑制剂,诸如氟伐他汀(fluvastatin)、洛伐他汀(lovastatin)、普伐他汀(pravastatin)、辛伐他汀(simvastatin)、阿托伐他汀(atorvastatin)、匹伐他汀(pitavastatin)、西立伐他汀(cerivastatin)、美伐他汀(mevastatin)、罗素他汀(rosuvastatin)、贝伐他汀(bervastatin)或达伐他汀(dalvastatin)或其药学上可接受的盐组合给药。

[0463] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与胆固醇吸收抑制剂,诸如依泽替米贝(ezetimibe)或其药学上可接受的盐组合给药。

[0464] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与PPARα激动剂,包括贝特类(fibrates),诸如氯贝特(clofibrate)、苯扎贝特(bezafibrate)、环丙贝特(ciprofibrate)、可琳贝特(clinofribrate)、氯贝胺(clofibride)、非诺贝特(fenofibrate)、吉非罗齐(gemfibrozil)、氯烟贝特(ronifibrate)及双贝特(simfribrate)或其药学上可接受的盐组合给药。

[0465] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与PPARγ激动剂,包括

噻唑烷二酮类(thiazolidinediones),诸如吡格列酮(pioglitazone)、罗格列酮(rosiglitazone)及洛贝格列酮(lobeglitazone)或其药学上可接受的盐组合给药。

[0466] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与双重PPARα/γ激动剂,包括格列扎类(glitazars),诸如沙格列扎(saroglitazar)、阿格列扎(aleglitazar)、莫格列扎(muraglitazar)或替格列扎(tesaglitazar)或其药学上可接受的盐组合给药。

[0467] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与双重PPARα/δ激动剂诸如埃拉贝诺(elafibranor)组合给药。

[0468] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与泛PPAR激动剂(即对以下所有亚型具有活性的PPAR激动剂:α、γ及δ),诸如IVA337组合给药。

[0469] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与法尼醇X受体(FXR)调节剂,包括FXR激动剂,诸如咖啡醇(cafestol)、鹅脱氧胆酸、6α-乙基-鹅脱氧胆酸(奥贝胆酸(obeticholic acid;INT-747)、非色拉明(fexaramine)、曲匹氟索(tropifexor)、希罗氟索(cilofexor)及MET409组合给药。

[0470] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与TGR5受体调节剂,包括TGR5激动剂,诸如6α-乙基-23(S)-甲基胆酸(INT-777)组合给药。

[0471] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与双重FXR/TGR5激动剂诸如INT-767组合给药。

[0472] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与熊脱氧胆酸(UDCA)组合给药。在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与去甲熊脱氧胆酸(nor-UDCA)组合给药。

[0473] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与FGF19调节剂,诸如NGM282组合给药。

[0474] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与FGF21激动剂,诸如BMS-986036组合给药。

[0475] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与整合素抑制剂,诸如PLN-74809及PLN-1474组合给药。

[0476] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与CCR2/CCR5抑制剂,诸如森尼韦若(cenicriviroc)组合给药。

[0477] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与凋亡蛋白酶抑制剂,诸如恩利卡生(emricasan)组合给药。

[0478] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与半乳糖凝集素-3抑制剂,诸如GR-MD-02组合给药。

[0479] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与硬脂酰基-CoA去饱和酶(SCD)抑制剂,诸如阿雷美罗(aramchol)(二十烷基酰氨基胆酸)组合给药。

[0480] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与细胞凋亡信号调节激酶1(ASK1)抑制剂,诸如司隆色替(selonsertib)组合给药。

[0481] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与LOXL2抑制剂,诸如辛图珠单抗(simtuzumab)组合给药。

[0482] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与ACC抑制剂,诸如GS-

0976组合给药。

[0483] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与甲状腺激素受体-β激动剂,诸如MGL3196组合给药。

[0484] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与GLP-1激动剂诸如利拉鲁肽(liraglutide)组合给药。

[0485] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与双重类胰高血糖素肽及胰高血糖素受体激动剂,诸如SAR425899组合给药。

[0486] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与线粒体丙酮酸载体抑制剂,诸如MSDC-0602K组合给药。

[0487] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与抗氧化剂,诸如维生素E组合给药。

[0488] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与SGLT1抑制剂、SGLT2抑制剂或双重SGLT1及SGLT2抑制剂组合给药。此类化合物的实例为达格列净(dapagliflozin)、索格列净(sotagliflozin)、卡格列净(canagliflozin)、依帕列净(empagliflozin)、LIK066及SGL5213。

[0489] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与二酰基甘油O-酰基转移酶2(DGAT2)抑制剂,诸如DGAT2RX及PF-06865571组合给药。

[0490] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与脂肪酸合成酶(FASN)抑制剂,诸如TVB-2640组合给药。

[0491] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与AMP活化蛋白激酶(AMPK)活化剂,诸如PXL-770组合给药。

[0492] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与糖皮质激素受体拮抗剂(GR)、盐皮质激素受体拮抗剂(MR)或双重GR/MR拮抗剂组合给药。此类化合物的实例为MT-3995及CORT-118335。

[0493] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与大麻素受体1(CB1)拮抗剂,诸如IM102组合给药。

[0494] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与Klothoβ(KLB)及纤维母细胞生长因子受体(FGFR)活化剂,诸如MK-3655(先前称为NGM-313)组合给药。

[0495] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与趋化因子(c-c基序)配体24(CCL24)抑制剂,诸如CM101组合给药。

[0496] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与A3拮抗剂,诸如PBF-1650组合给药。

[0497] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与P2x7受体拮抗剂,诸如SGM 1019组合给药。

[0498] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与P2Y13受体激动剂,诸如CER-209组合给药。

[0499] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与硫酸氧甾醇,诸如Dur-928组合给药。

[0500] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与白三烯D4(LTD4)受

体拮抗剂,诸如MN-001组合给药。

[0501] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与1型自然杀伤T细胞(NKT1)抑制剂,诸如GRI-0621组合给药。

[0502] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与抗脂多糖(LPS)化合物,诸如IMM-124E组合给药。

[0503] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与VAP1抑制剂,诸如BI1467335组合给药。

[0504] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与A3腺苷受体激动剂,诸如CF-102组合给药。

[0505] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与SIRT-1活化剂,诸如NS-20组合给药。

[0506] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与烟酸受体1激动剂,诸如ARI-3037MO组合给药。

[0507] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与TLR4拮抗剂,诸如JKB-121组合给药。

[0508] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与己酮糖激酶抑制剂,诸如PF-06835919组合给药。

[0509] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与脂联素受体激动剂,诸如ADP-335组合给药。

[0510] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与自毒素(autotaxin)抑制剂,诸如PAT-505及PF8380组合给药。

[0511] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与趋化因子(c-c基序)受体3(CCR3)拮抗剂,诸如柏替木单抗(bertilimumab)组合给药。

[0512] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与氯通道刺激剂,诸如考前列酮(cobiprostone)及鲁比前列酮(lubiprostone)组合给药。

[0513] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与热休克蛋白47(HSP47)抑制剂,诸如ND-L02-s0201组合给药。

[0514] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与固醇调节元件结合蛋白(SREBP)转录因子抑制剂,诸如CAT-2003及MDV-4463组合给药。

[0515] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与双胍,诸如二甲双胍(metformin)组合给药。

[0516] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与胰岛素组合给药。

[0517] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与糖原磷酸化酶抑制剂及/或葡萄糖-6-磷酸酶抑制剂组合给药。

[0518] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与磺酰脲,诸如格列吡嗪(glipizid)、格列本脲(glibenklamid)及格列美脲(glimepirid)组合给药。

[0519] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与美格替耐(meglitinide),诸如瑞格列奈(repaglinide)、那格列奈(nateglinide)及奥格替耐(ormiglitinide)组合给药。

[0520] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与葡糖苷酶抑制剂,诸如阿卡波糖(acarbose)或米格列醇(miglitol)组合给药。

[0521] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与角鲨烯合成酶抑制剂,诸如TAK-475组合给药。

[0522] 在另一个实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐与PTPB1抑制剂,诸如特罗杜明(trodusquemine)、埃替他非(ertiprotafib)、JTT-551及克拉若明(claramine)组合给药。

[0523] 化合物的制备

[0524] 本发明的化合物可通过下文所述的方法制备为游离酸或其药学上可接受的盐。在整个以下对此类方法的描述中,应理解,在适当的情况下,将以熟习有机合成技术者容易理解的方式将适合的保护基添加至各种反应物及中间体中,且随后自各种反应物及中间体移除。使用此类保护基的常规程序以及适合的保护基的实例例如描述于P.G.M Wutz及T.W.Greene的Greene's Protective Groups in Organic Synthesis,第4版,John Wiley& Sons,Hoboken,2006中。

[0525] 通用方法

[0526] 所用的所有溶剂均为分析级。常规使用市售无水溶剂进行反应。起始物质可购自商业来源或根据文献程序制备。7-溴-3,3-二丁基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及3,3-二丁基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物可如WO 02/50051(方法26)中所述制备。7-溴-3-丁基-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物可如WO 96/16051(实施例21)中所述制备。3-丁基-3-乙基-8-甲氧基-7-(甲基氨基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物可如WO 2019/234077(中间体154)中所述制备。室温是指20-25℃。溶剂混合物组成以体积百分比或体积比给出。

[0527] LCMS:

[0528] 仪器名称:Agilent 1290infinity II。

[0529] 方法A:流动相:A:0.1%HCOOH/H_2O:ACN(95:5),B:ACN;流动速率:1.5mL/min;管柱:ZORBAX XDB C-18(50×4.6mm)3.5μM。

[0530] 方法B:流动相:A:10mM NH_4HCO_3水溶液,B:ACN;流动速率:1.2mL/min;管柱:XBridge C8(50×4.6mm),3.5μM。

[0531] 方法C:流动相:A:0.1%HCOOH水溶液:ACN(95:5),B:ACN;流动速率:1.5mL/min;管柱:ATLANTIS dC18(50×4.6mm),5μM。

[0532] 方法D:流动相:A:10mM NH_4OAc水溶液,B:ACN;流动速率:1.2mL/min;管柱:Zorbax Extend C18(50×4.6mm)5μM。

[0533] 方法E:流动相:A:0.1%TFA水溶液:ACN(95:5),B:0.1%TFA/ACN;流动速率:1.5mL/min;管柱:XBridge C8(50×4.6mm),3.5μM。

[0534] 方法F:流动相:A:0.1%TFA水溶液,B:0.1%TFA/ACN;流动速率:0.8mL/min;管柱:ZORBAX ECLIPSE PLUS C18(50×2.1mm),1.8μM。

[0535] 方法G:流动相:A:0.1%TFA水溶液,B:0.1%TFA/ACN;流动速率:0.8mL/min;管柱:Acquity UPLC BEH C18(2.1×50mm),1.7μm。

[0536] UPLC:

[0537] 仪器名称:waters Acquity I Class

[0538] 方法A:流动相:A:0.1％HCOOH水溶液,B:0.1％HCOOH/ACN;流动速率:0.8mL/min;管柱:Acquity UPLC HSS T3(2.1×50)mm;1.8μm。

[0539] HPLC:

[0540] 仪器名称:Agilent 1260Infinity II系列仪器,如下用UV检测使用％(紫外最大吸收作图法(maxplot))。

[0541] 方法A:流动相:A:10mM NH_4HCO_3水溶液,B:ACN;流动速率:1.0mL/min;管柱:XBridge C8(50×4.6mm,3.5μm)。

[0542] 方法B:流动相:A:0.1％TFA水溶液,B:0.1％TFA/ACN;流动速率:2.0mL/min;管柱:XBridge C8(50×4.6mm,3.5μm)。

[0543] 方法C:流动相:A:10mM NH_4OAc的milli-q水溶液,B:ACN;流动速率:1.0mL/min;管柱:Phenomenex Gemini C18(150×4.6mm,3.0μm)。

[0544] 方法D:流动相:A:10mM NH_4HCO_3的milli-q水溶液,B:ACN;流动速率:1.0mL/min;管柱:X-Bridge C8(50×4.6mm,3.5μm)。

[0545] 手性SFC:

[0546] 仪器名称:PIC SFC 10(分析型)(分析型)

[0547] CO_2与共溶剂之间的比率介于60:40与80:20之间

[0548] 方法A:流动相:0.5％异丙胺/IPA;流动速率:3mL/min;管柱:YMC Amylose-SA(250×4.6mm,5μm)。

[0549] 方法B:流动相:0.5％异丙胺/IPA;流动速率:3mL/min;管柱:Chiralpak AD-H(250×4.6mm,5μm)。

[0550] 方法C:流动相:20mM氨/甲醇;流动速率:3mL/min;管柱:YMC Cellulose-SC(250×4.6mm,5μm)。

[0551] 方法D:流动相:甲醇;流动速率:3mL/min;管柱:Lux A1(250×4.6mm,5μm)。

[0552] 方法E:流动相:0.5％异丙胺/甲醇;流动速率:5mL/min;管柱:Lux C4。

[0553] 方法F:流动相:0.5％异丙胺/甲醇;流动速率:3mL/min;管柱:YMC Cellulose-SC。

[0554] 方法G:流动相:0.5％异丙胺/甲醇;流动速率:3mL/min;管柱:Lux A1。

[0555] 方法H:流动相:0.5％异丙胺/IPA;流动速率:3mL/min;管柱:Lux A1(250×4.6mm,5μm)。

[0556] 方法I:流动相:0.5％异丙胺/甲醇;流动速率:3mL/min;管柱:手性CCS(250×4.6mm,5μm)。

[0557] 方法J:流动相:0.5％异丙胺/IPA;流动速率:5mL/min;管柱:YMC Cellulose-SC AD-H(250×4.6mm,5μm)。

[0558] 方法K:流动相:0.5％异丙胺/甲醇;流动速率:4mL/min;管柱:(R,R)-Whelk-01(250×4.6mm,5μm)。

[0559] 方法L:流动相:0.5％异丙胺/IPA;流动速率:3mL/min;管柱:Chiralcel OX-H(250×4.6mm,5μm)。

[0560] 方法M:流动相:0.5％异丙胺/IPA;流动速率:5mL/min;管柱:YMC Cellulose-SC

(250×4.6mm,5μm)。

[0561] 方法N:流动相:甲醇,流动速率:5mL/min;管柱:Chiralcel OX-H(250×4.6mm,5μm)。

[0562] 制备型HPLC:

[0563] 仪器名称:Agilent 1290Infinity II

[0564] 方法A:流动相:A:0.1%TFA水溶液;流动相:B:0.1%TFA/ACN;流动速率:2.0mL/min;管柱:X-Bridge C8(50×4.6mm,3.5μM)。

[0565] 方法B:流动相:A:10mM NH_4OAc水溶液;B:ACN;流动速率:35mL/min;管柱:X select C18(30×150mm,5μm)。

[0566] 方法C:流动相:A:10mM NH_4HCO_3水溶液;B:ACN;流动速率:1.0mL/min;管柱:XBridge C8(50×4.6mm,3.5μm)。

[0567] 方法D:流动相:A:0.1%HCOOH水溶液;B:ACN;流动速率:1.0mL/min;管柱:X-select C18(30×150mm,5μm)。

[0568] 手性制备型SFC:

[0569] 仪器名称:PIC SFC 100及PSC SFC 400

[0570] CO_2与共溶剂之间的比率介于60:40与80:20之间

[0571] 方法A:流动相:0.5%异丙胺/IPA;流动速率:3mL/min;管柱:YMC Amylose-SA(250×30mm,5μm)。

[0572] 方法B:流动相:0.5%异丙胺/IPA;流动速率:3mL/min;管柱:Chiralpak AD-H(250×30mm,5μm)。

[0573] 方法C:流动相:20mM氨/甲醇;流动速率:3mL/min;管柱:YMC Cellulose-SC(250×30mm,5μm)。

[0574] 方法D:流动相:甲醇;流动速率:3mL/min;管柱:手性CCS(250×30mm,5μm)。

[0575] 方法E:流动相:甲醇;流动速率:3mL/min;管柱:Lux A1(250×30mm,5μm)。

[0576] 方法F:流动相:0.5%异丙胺/IPA;流动速率:3mL/min;管柱:Lux A1(250×30mm,5μm)。

[0577] 方法G:流动相:0.5%异丙胺/甲醇;流动速率:3mL/min;管柱:手性CCS(250×30mm,5μm)。

[0578] 方法H:流动相:0.5%异丙胺/IPA;流动速率:5mL/min;管柱:YMC Amylose-SC(250×30mm,5μm)。

[0579] 方法J:流动相:0.5%异丙胺/IPA;流动速率:3mL/min;管柱:Chiralcel OX-H(250×30mm,5μm)。

[0580] 方法K:流动相:0.5%异丙胺/甲醇;流动速率:5mL/min;管柱:YMC Cellulose-SC(250×30mm,5μm)。

[0581] 方法L:流动相:甲醇;流动速率:5mL/min;管柱:Chiralcel OX-H(250×30mm,5μm)。

[0582] 手性制备型HPLC:

[0583] 仪器名称:Agilent 1260Infinity II

[0584] 方法A:流动相:A:0.1%TFA/正己烷;B:乙醇;流动速率:15mL/min;管柱:

Chiralpak IA(250×19mm,5.0μm)。

[0585] 缩写

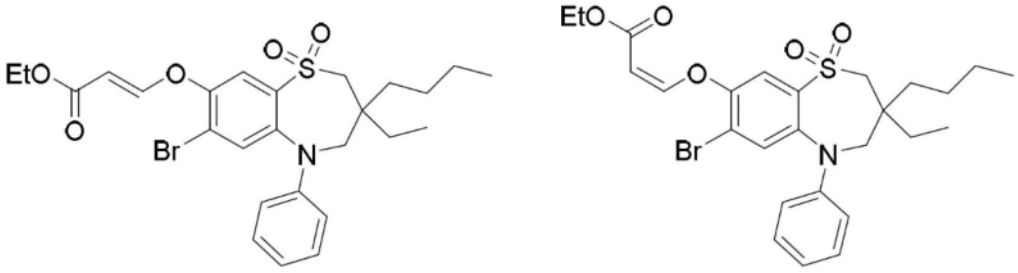
[0586]	ACN	乙腈
[0587]	DCM	二氯甲烷
[0588]	DMAP	4-二甲基氨基吡啶
[0589]	DMF	二甲基甲酰胺
[0590]	IPA	异丙醇
[0591]	LCMS	液相层析-质谱法
[0592]	HPLC	高效液相层析
[0593]	PE	石油醚
[0594]	SFC	超临界流体层析
[0595]	TFA	三氟乙酸
[0596]	THF	四氢呋喃
[0597]	TLC	薄层层析
[0598]	UPLC	超高效液相层析

[0599] 现将通过以下实施例描述本发明,这些实施例不在任何方面限制本发明。所有引用的文献以引用的方式并入。

实施例

[0600] 中间体1

[0601] (E)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙烯酸乙酯及(Z)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙烯酸乙酯

[0602] 

[0603] 在室温下,向7-溴-3-丁基-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(0.5g,1.1mmol)于无水DMF(20mL)中的搅拌溶液中添加(E)-3-溴丙烯酸乙酯(0.59g,3.3mmol)、碳酸钠(0.35g,3.3mmol)及四丁基溴化铵(0.035g,0.1mmol),且将反应混合物在85-90℃下加热5小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物倒入冰冷水中且用EtOAc(3×15mL)萃取。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩,得到呈(E)-及(Z)-异构体(1:1比率)的混合物形式的粗标题化合物。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8-9%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化混合物,得到对应于(E)-异构体的第一洗脱级分及对应于(Z)-异构体的第二洗脱级分。

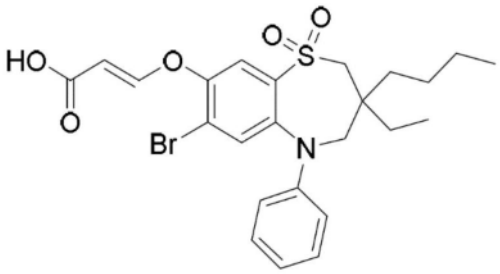
[0604] (E)-异构体:产率:32%(0.28g,灰白色固体)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.80(d,J=12.2Hz,1H),7.66(s,1H),7.38-7.25(m,4H),7.10-7.04(m,2H),5.47(d,J=12.3Hz,

1H),4.13(q,J＝7.1Hz,2H),3.81-3.78(m,2H),3.46(s,2H),1.54-1.50(m,1H),1.43-1.30(m,3H),1.21(t,J＝7.08Hz,3H),1.12-0.98(m,4H),0.74-0.71(m,6H)。LCMS:(方法A)552.1(M+2),Rt.3.33min,97.8%(最大)。

[0605] (Z)-异构体:产率:41%(0.23g,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.60(s,1H),7.37-7.31(m,2H),7.21-7.19(m,3H),7.07-7.03(m,2H),5.32(d,J＝6.9Hz,1H),4.11(q,J＝6.9Hz,2H),3.78-3.74(m,2H),3.42-3.38(m,2H),1.51-1.29(m,4H),1.22(t,J＝7.2Hz,3H),1.08-1.01(m,4H),0.73-0.71(m,6H)。LCMS:(方法A)552.1(M+2),Rt.3.18min,98.2%(最大)。

[0606] 中间体2

[0607] (E)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙烯酸

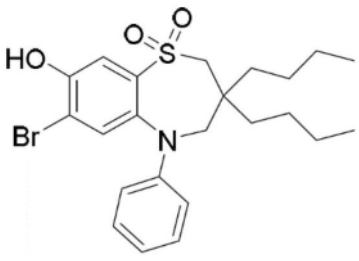
[0608] 

[0609] 向(E)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙烯酸乙酯(中间体1;0.28g,0.48mmol)于1,4-二噁烷及水的混合物(3mL;5:1)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂(0.04g,0.96mmol),且将所得混合物在室温下搅拌12小时。反应完成后(通过TLC监测),真空浓缩反应混合物。将所获得的残余物用稀HCl(1.5N,2mL)酸化,且用EtOAc(2×15mL)萃取水性部分。将合并的有机层用水(15mL)、盐水(15mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真空浓缩有机部分且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:2-3%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化粗物质,得到标题化合物。产率:60%(150mg,灰白色固体)。

[0610] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.29(s,1H),7.73(d,J＝12.0Hz,1H),7.65-7.64(m,1H),7.37-7.34(m,2H),7.28-7.25(m,2H),7.09-7.05(m,2H),5.39(d,J＝12.0Hz,1H),3.88-3.73(m,2H),3.46(s,2H),1.52-1.34(m,4H),1.08-0.98(m,4H),0.72-0.69(m,6H)。LCMS:(方法A)296.0(M+H),Rt.2.86min,95.59%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.03min,97.02%(最大)。

[0611] 中间体3

[0612] 7-溴-3,3-二丁基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

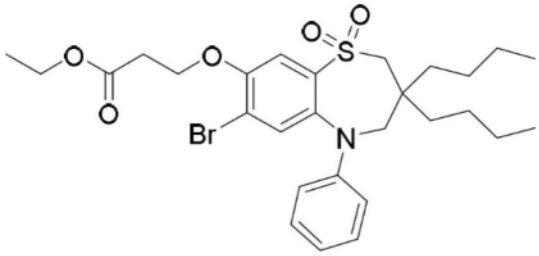
[0613] 

[0614] 在-10℃下,向7-溴-3,3-二丁基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(2.0g,4.04mmol)于DCM(20mL)中的搅拌溶液中添加BBr_3(1M DCM溶液,8.0ml,8.09mmol),且将所得混合物在室温下搅拌3小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用甲醇(5mL)淬灭且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10-15% EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:83%(1.6g,灰白色固体)。

[0615] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.84(s,1H),7.47(s,1H),7.24(t,J=4.0Hz,2H),7.08(s,1H),7.01(d,J=7.9Hz,2H),6.89(t,J=7.4Hz,1H),3.68(bs,2H),3.42(s,2H),1.36-1.30(m,4H),1.14-1.11(m,8H),0.75(t,J=8.00Hz,6H)。LCMS:(方法C)482.0(M^++2),Rt.3.15min,91.28%(最大)。

[0616] 中间体4

[0617] 3-((3,3-二丁基-7-溴-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸乙酯

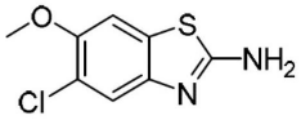
[0618] 

[0619] 在室温下,向7-溴-3,3-二丁基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体3;1.5g,3.12mmol)于丙烯酸乙酯(10mL)中的搅拌悬浮液中添加DMAP(0.04g 0.31mmol)。于密封管中在100℃下加热反应混合物24小时。通过TLC监测反应进程,TLC指示起始物质的不完全转化(约20%)。随后蒸发且真空干燥反应混合物,得到粗标题化合物,其不经任何进一步纯化即转移至下一步骤。产量:1.5g(粗物质,棕色胶状物)。

[0620] LCMS:(方法C)583.2(M^++2),Rt.3.59min,17.45%(最大)。

[0621] 中间体5

[0622] 5-氯-6-甲氧基苯并[d]噻唑-2-胺

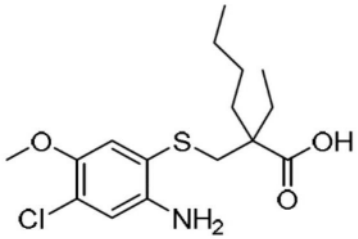
[0623] 

[0624] 在室温下,向3-氯-4-甲氧基苯胺(10g,63.4mmol)于乙酸(100mL)中的搅拌溶液中添加硫氰酸铵(5.3g,69.8mmol),且随后将混合物搅拌30分钟。在15℃下,将溶解于乙酸(20mL)中的溴(3.2mL,63.4mmol)逐滴添加至反应混合物,且将所得混合物在室温下搅拌3小时。反应完成后,将所获得的固体滤出,用乙酸(20mL)洗涤且随后真空干燥。随后将固体悬浮于水(20mL)中且用10%NaOH溶液碱化至约pH 10。将固体滤出,用水(3×25mL)洗涤且随后真空干燥,得到标题化合物。产率:80%(11g,灰白色固体)。

[0625] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.53(s,1H),7.41(bs,2H),7.36(s,1H),3.82(s,3H)。LCMS:(方法A)215.0(M^++H),Rt.1.39min,97.22%(最大)。

[0626] 中间体6

[0627] 2-(((2-氨基-4-氯-5-甲氧基苯基)硫基)甲基)-2-乙基己酸

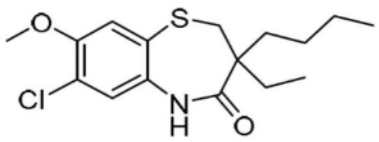
[0628] 

[0629] 向5-氯-6-甲氧基苯并[d]噻唑-2-胺(中间体5;8g,0.037mol)于水(120mL)中的搅拌溶液中添加KOH(34g,0.596mol),且将反应混合物在120℃下搅拌16小时。反应完成后(通过LCMS监测),使反应混合物冷却至室温。逐滴添加2-(溴甲基)-2-乙基己酸(13.29g,0.0558mol;溶解于40mL THF中),且随后将混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过LCMS监测),使反应混合物冷却至0℃且用浓HCl(pH约2)酸化。用EtOAc(2×25mL)萃取反应混合物。随后将合并的有机层用水(30mL)及盐水(30mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩,得到粗物质。所获得的粗物质不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产量:21g(粗物质,棕色胶状物)。

[0630] UPLC:(方法A)345.8(M^++H),Rt.1.58min,90.21%(最大)。

[0631] 中间体7

[0632] 3-丁基-7-氯-3-乙基-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

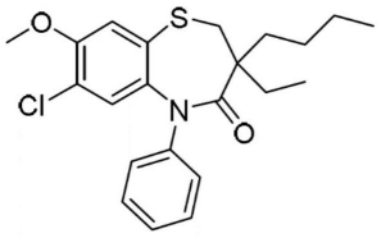
[0633] 

[0634] 在0℃下,向2-(((2-氨基-4-氯-5-甲氧基苯基)硫基)甲基)-2-乙基己酸(中间体6;21g,0.0607mol)于EtOAc(130mL)中的搅拌溶液中逐滴添加三乙胺(12.26g,0.1214mol)及1-丙烷膦酸酐溶液(50%EtOAc;23.16g,0.073mol),且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过UPLC监测),添加水(25mL)至反应混合物且用EtOAc(2×25mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(25mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10-12%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化粗物质,得到标题化合物。产率:55%(11g,灰白色固体)。

[0635] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ9.61(s,1H),7.16(d,J=14.8Hz,2H),3.82(s,3H),2.98(s,2H),1.51-1.53(m,4H),1.32-1.26(m,4H),0.92-0.91(m,6H)。LCMS:(方法A)328.1(M^++H),Rt.2.60min,95.79%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.51min,97.62%(最大)。

[0636] 中间体8

[0637] 3-丁基-7-氯-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

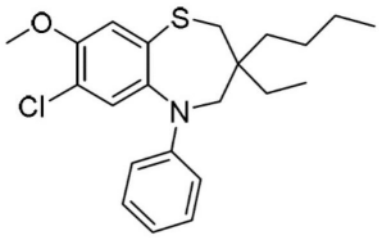
[0638] 

[0639] 向3-丁基-7-氯-3-乙基-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体7;11g,0.034mol)于碘苯(110mL)中的搅拌溶液中添加碘化铜(I)(0.640g,0.0034mol)及K_2CO_3(9.25g,0.067mol),且将溶液用氮气净化20分钟以脱气。随后在氮气氛围下添加三[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]胺(2.16g,0.0067mol),且将所得反应混合物加热40小时至135℃。反应完成后(通过UPLC监测),经由硅藻土过滤反应混合物且用EtOAc(25mL)洗涤硅藻土垫。真空浓缩滤液,得到粗物质,通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:3-5%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)将其纯化,得到标题化合物。产率:86%(11.7g,浅棕色固体)。

[0640] ^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6):δ7.40-7.39(m,3H),7.29(d,J=7.2Hz,1H),7.09(d,J=6.9Hz,2H),6.96(s,1H),3.91(s,3H),3.16(s,2H),1.57-1.55(m,4H),1.19(d,J=6.9Hz,5H),0.79(t,J=6.3Hz,7H)。LCMS:(方法A)404.1(M^++H),Rt.3.19min,98.20%(最大)。

[0641] 中间体9

[0642] 3-丁基-7-氯-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯

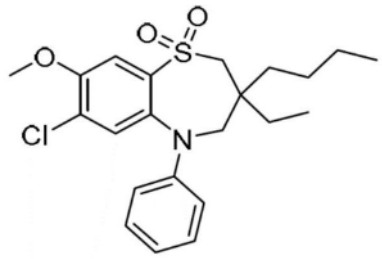
[0643] 

[0644] 在0℃下,向3-丁基-7-氯-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体8;11.7g,0.029mol)于THF(110mL)中的搅拌溶液中逐滴添加硼烷二甲基硫醚(2M THF溶液;73mL,0.144mol),且使反应混合物在75℃下回流40小时。反应完成后(通过UPLC监测),使反应混合物冷却至0℃且用甲醇(50mL)淬灭。将所得溶液加热2小时至65℃,随后冷却至RT且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8-10%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所获得的粗物质,得到标题化合物。产率:90%(10.2g,无色液体)。

[0645] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.19(t,J=7.2Hz,2H),7.08(s,1H),6.93(s,2H),6.79(d,J=4.0Hz,2H),3.82(s,3H),2.76(s,2H),1.26-1.24(m,9H),0.76-0.71(m,6H)。LCMS:(方法A)390.2(M^++H),Rt.3.01min,99.61%(最大)。

[0646] 中间体10

[0647] 3-丁基-7-氯-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

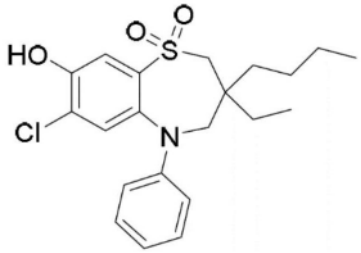
[0648] 

[0649] 在室温下,向3-丁基-7-氯-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯(中间体9;10.2g,0.0261mol)于1,4-二噁烷(100mL)中的搅拌溶液中添加水(100mL)及单过硫酸氢钾(oxone)(81g,0.2615mol),且将反应混合物在室温下搅拌24小时。反应完成后(通过TLC监测),经由布赫纳漏斗(Büchner funnel)滤出反应混合物且用EtOAc(2×25mL)萃取滤液。将合并的有机层用水(25mL)及盐水(25mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10-12%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化粗物质,得到标题化合物。产率:56%(6.2g,淡黄色固体)。

[0650] ^1H NMR(300MHz,DMSO-d_6):δ7.50(s,1H),7.27(t,J=7.8Hz,2H),7.07-7.04(m,4H),3.94(s,3H),3.69(s,2H),3.33(s,2H),1.52-1.37(m,8H),0.77-0.74(m,6H)。LCMS:(方法A)422.1(M^++H),Rt.3.18min,98.51%(最大)。

[0651] 中间体11

[0652] 3-丁基-7-氯-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

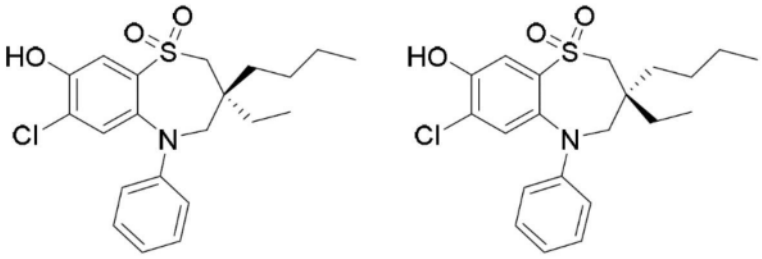
[0653] 

[0654] 在0℃下,向3-丁基-7-氯-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体10;1.1g,2.60mmol)于DCM(11mL)中的搅拌溶液中添加BBr_3(1M DCM溶液,13.03mL,13.03mmol),且将溶液在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),在0℃下逐滴添加甲醇直至停止发泡。将反应混合物用DCM(20mL)稀释且用水(2×20mL)及盐水(20mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:30-32%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:94%(1.0g,灰白色固体)。

[0655] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.83(s,1H),7.50(s,1H),7.23(t,J=8.0Hz,2H),6.99(d,J=7.6Hz,2H),6.97(s,1H),6.88(t,J=7.2Hz,1H),3.64(s,2H),3.28(s,2H),1.51-1.34(m,4H),1.12-1.02(m,4H),0.77-0.72(m,6H)。LCMS:(方法A)408.2(M^++H),Rt.2.87min,93.25%(最大)。

[0656] 对映异构体的分离:

[0657] (S)-3-丁基-7-氯-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及(R)-3-丁基-7-氯-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[0658] 

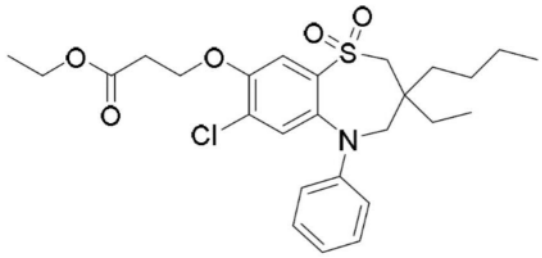
[0659] 通过手性SFC(方法F)分离外消旋3-丁基-7-氯-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(2.0g,4.9mmol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

[0660] 对映异构体1:产率:45％(900mg,白色固体)。LCMS:(方法A)408.1(M^++H),Rt.2.86min,94.09％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.93min,96.49％(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.3.32min,95.52％(最大)。(AR号:B601758)

[0661] 对映异构体2:产率:45％(900mg,白色固体)。LCMS:(方法A)408.2(M^++H),Rt.2.88min,94.34％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.93min,94.42％(最大)。手性纯度(方法H)Rt.4.32min,100％(最大)。

[0662] 中间体12

[0663] 3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸乙酯

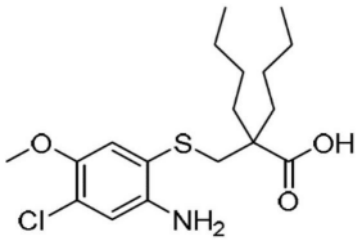
[0664] 

[0665] 在室温下,向3-丁基-7-氯-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体11;2.0g,4.91mmol)于丙烯酸乙酯(10mL)中的搅拌悬浮液中添加DMAP(0.06g 0.49mmol)。于密封管中在100℃下加热反应混合物24小时。通过TLC监测反应进程,TLC指示起始物质的不完全转化(约25％)。随后蒸发且真空干燥反应混合物,得到粗标题化合物,其不经任何进一步纯化即转移至下一步骤。产率:3.0g(粗物质,棕色胶状物)。

[0666] LCMS:(方法C)510.1(M^++2),Rt.3.23min,10％(最大)。

[0667] 中间体13

[0668] 2-(((2-氨基-4-氯-5-甲氧基苯基)硫基)甲基)-2-丁基己酸

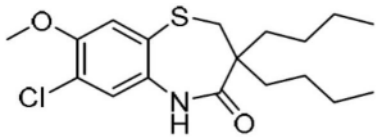
[0669] 

[0670] 向5-氯-6-甲氧基苯并[d]噻唑-2-胺(中间体5;10g,0.046mol)于水(150mL)中的搅拌溶液中添加KOH(40g,0.74mol),且将反应混合物在120℃下搅拌16小时。反应完成后(通过LCMS监测),使反应混合物冷却至室温。随后逐滴添加2-(溴甲基)-2-丁基己酸(12.33g,0.046mol;溶解于50mL THF中),且将混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过LCMS监测),使反应混合物冷却至0℃且用浓HCl(pH约2)酸化。用EtOAc(2×50mL)萃取反应混合物。随后将合并的有机层用水(50mL)及盐水(50mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩,得到粗物质。所获得的粗物质不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产量:18.1g(粗物质,棕色胶状物)。

[0671] UPLC:(方法A)374.9(M^++H),Rt.1.74min,44.37%(最大)。

[0672] 中间体14

[0673] 3,3-二丁基-7-氯-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

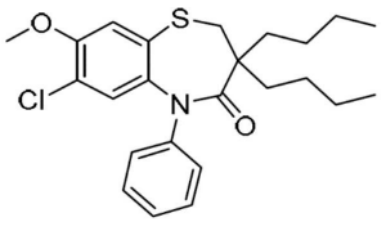
[0674] 

[0675] 在0℃下,向2-(((2-氨基-4-氯-5-甲氧基苯基)硫基)甲基)-2-丁基己酸(中间体13;18.1g,0.048mol)于EtOAc(110mL)中的搅拌溶液中逐滴添加三乙胺(9.77g,0.096mol)及1-丙烷膦酸酐溶液(50%EtOAc)(18.47g,0.058mol),且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过UPLC监测),添加水(25mL)至反应混合物且用EtOAc(2×25mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(25mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10-12%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:28%(4.78g,灰白色固体)。

[0676] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ9.60(s,1H),7.16(t,J=11.6Hz,1H),6.90(s,1H),3.83(s,3H),3.00(s,2H),1.59-1.43(m,4H),1.24-1.17(m,8H),0.76(t,J=4.0Hz,6H)。LCMS:(方法A)358.1(M^++2),Rt.3.10min,92.74%(最大)。

[0677] 中间体15

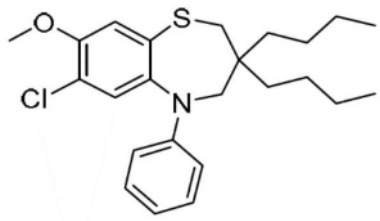
[0678] 3,3-二丁基-7-氯-8-甲氧基-5-苯基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

[0679] 向3,3-二丁基-7-氯-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体14;4.78g,0.013mol)于碘苯(40mL)中的搅拌溶液中添加碘化铜(I)(0.25g,0.0013mol)及K_2CO_3(3.7g,0.026mol),且将溶液用氮气净化20分钟以脱气。随后在氮气氛围下添加三[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]胺(0.86g,0.0026mol),且将所得反应混合物加热40小时至135℃。反应完成后(通过UPLC监测),经由硅藻土过滤反应混合物且用EtOAc(15mL)洗涤硅藻土垫。真空浓缩滤液,得到粗物质,通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:3-5%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)将其纯化,得到标题化合物。产率:70.6%(4.1g,浅棕色固体)。

[0680] LCMS:(方法C)434.1(M^++2),Rt.3.55min,96.03%(最大)。

[0681] 中间体16

[0682] 3,3-二丁基-7-氯-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯

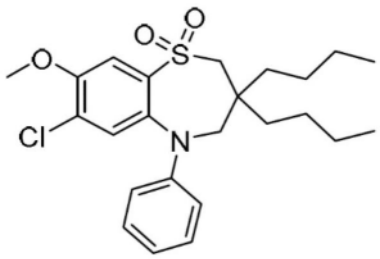
[0683] 

[0684] 在0℃下,向3,3-二丁基-7-氯-8-甲氧基-5-苯基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体15;4.1g,0.009mol)于THF(40mL)中的搅拌溶液中逐滴添加硼烷二甲基硫醚(1M THF溶液;47mL,0.047mol),且使反应混合物在75℃下回流40小时。反应完成后(通过UPLC监测),使反应混合物冷却至0℃且用甲醇(50mL)淬灭。将所得溶液加热2小时至65℃,随后冷却至室温且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8-10%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所获得的粗物质,得到标题化合物。产率:84%(3.3g,无色液体)。

[0685] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.21(t,J=9.6Hz,2H),7.06(s,1H),6.95(d,J=10.4Hz,2H),6.83(t,J=9.2Hz,2H),6.77(s,1H),3.82(s,3H),3.57(s,2H),3.32(s,2H),1.30-1.20(m,4H),1.10-1.00(m,8H),0.76(t,J=4.00Hz,6H)。

[0686] 中间体17

[0687] 3,3-二丁基-7-氯-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[0688] 

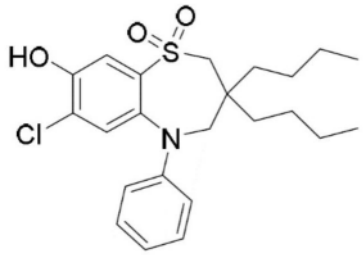
[0689] 在室温下,向3,3-二丁基-7-氯-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯(中间体16;3.3g,0.008mol)于1,4-二噁烷(42mL)中的搅拌溶液中添加水(16mL)及单过硫酸氢钾(24.26g,0.08mol),且将反应混合物在室温下搅拌24小时。反应完成后(通过TLC监测),经由布赫纳漏斗滤出反应混合物且用EtOAc(2×15mL)萃取滤液。将合并的有机层用水(25mL)及盐水(25mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10-12%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化粗物质,得到标题化合物。产率:68.7%(2.4g,淡黄色固体)。

[0690] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.49(s,1H),7.27(t,J=8.1Hz,2H),7.08(d,J=7.5Hz,2H),6.98(s,1H),6.95(t,J=7.3Hz,1H),3.93(s,3H),3.70(bs,2H),3.35(s,2H),1.36-1.24(m,4H),1.17-1.00(m,8H),0.75(t,J=4.00Hz,6H)。LCMS:(方法C)452.3(M^++2),Rt.3.53min,96.85%(最大)。

[0691] 中间体18

[0692] 3,3-二丁基-7-氯-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-

二氧化物

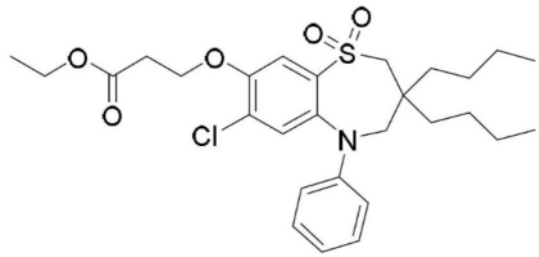
[0693] 

[0694] 在-10℃下,向3,3-二丁基-7-氯-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体17;1.5g,3.33mmol)于DCM(10mL)中的搅拌溶液中添加BBr_3(1M DCM溶液,6.6ml,6.66mmol),且将所得混合物在室温下搅拌3小时。反应完成后(通过TLC监测),用甲醇(5mL)淬灭反应混合物且真空浓缩反应混合物。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10-15%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:83%(1.2g,灰白色固体)。

[0695] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.79(s,1H),7.50(s,1H),7.24(t,J=8.2Hz,2H),7.01(d,J=7.8Hz,2H),6.91(t,J=9.0Hz,2H),3.65(bs,2H),3.29(s,2H),1.40-1.30(m,5H),1.20-1.12(m,7H),0.74(t,J=4.0Hz,6H)。LCMS:(方法C)438.1(M^++2),Rt.3.1min,96.07%(最大)。

[0696] 中间体19

[0697] 3-((3,3-二丁基-7-氯-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸乙酯

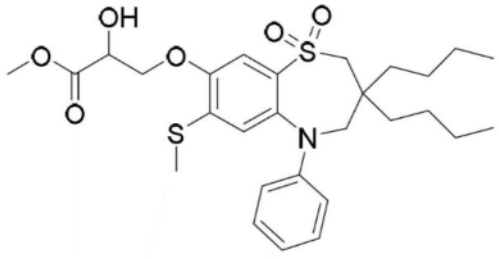
[0698] 

[0699] 在室温下,向3,3-二丁基-7-氯-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体18;1.2g,2.75mmol)于丙烯酸乙酯(5mL)中的搅拌悬浮液中添加DMAP(30mg,0.27mmol)。于密封管中在100℃下加热反应混合物24小时。通过TLC监测反应进程,TLC指示起始物质的不完全转化(约20%)。随后真空浓缩反应混合物,得到粗标题化合物,其不经任何进一步纯化即转移至下一步骤。产量:1g(粗物质,棕色胶状物)。

[0700] LCMS:(方法C)537.3(M^++H),Rt.3.55min,12.14%(最大)。

[0701] 中间体20

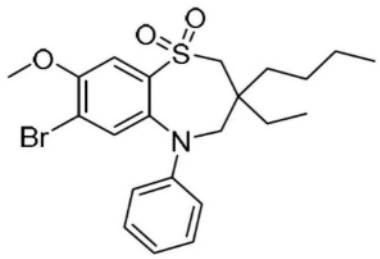
[0702] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯

[0703]  在室温下,向3,3-二丁基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(0.5g,0.001mmol)于DMF(4mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(0.73g,0.002mmol)及环氧乙烷-2-甲酸甲酯(0.170g,0.002mmol),且随后将反应混合物在70℃下搅拌16小时。通过TLC监测反应进程,TLC指示起始物质的不完全转化及消除产物的形成。真空浓缩反应混合物,得到粗物质,通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:25%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)将其纯化,得到标题化合物。产率:8%(50mg,棕色胶状物)。

[0704] LCMS:(方法E)550.2(M^++H),Rt.2.79min及532.2(M^++H),Rt.2.96min,88.39%(最大)。

[0705] 中间体21

[0706] 7-溴-3-丁基-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

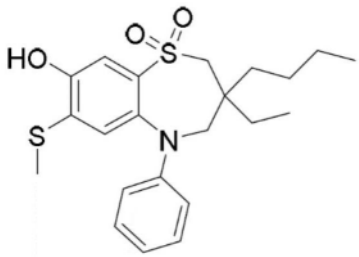
[0707] 

[0708] 在0℃下,向7-溴-3-丁基-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(1.0g,2mmol)于无水DMF(15mL)中的搅拌溶液中添加氢化钠(60%于矿物油中)(0.09mg,2.40mmol),且将反应混合物搅拌10分钟。随后,将碘代甲烷(0.4mL,6mmol)添加至反应混合物中且在室温下搅拌混合物30分钟。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷却的水(2mL)淬灭且用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(15mL)、盐水(15mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。所得粗物质不经任何进一步纯化即转移至下一步骤。产率:96%(900mg,粗物质,棕色胶状固体)。

[0709] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.45(s,1H),7.26(t,J=8.0Hz,2H),7.18-7.16(m,1H),7.06-7.04(m,2H),6.93(t,J=7.2Hz,1H),3.93(s,3H),3.70-3.61(m,2H),3.10(s,2H),1.51-0.90(m,8H),0.80-0.72(m,6H)。LCMS:(方法A)468.1(M+2),Rt.3.21min,96.82%(最大)。

[0710] 中间体22

[0711] 3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

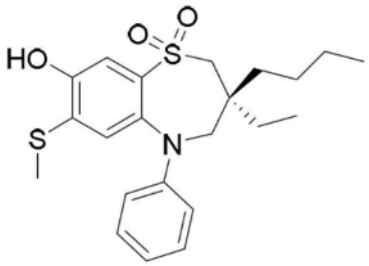
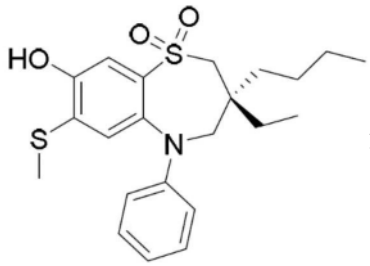
[0712] 

[0713] 在室温下,向7-溴-3-丁基-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体21;0.9g,1.90mmol)于无水DMF(15mL)中的搅拌溶液中添加甲硫醇钠(687mg,9.5mmol),且将反应混合物在60℃下搅拌16小时。反应完成后(通过LCMS监测),将反应混合物用冰冷水(2mL)淬灭且用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(15mL)、盐水(15mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10-15%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:93%(750mg,浅棕色固体)。

[0714] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.16-7.12(m,3H),6.85-6.83(m,2H),6.71(t,J=7.2Hz,1H),6.60(s,1H),3.74-3.61(m,2H),3.12(s,2H),2.13(s,3H),1.70-1.08(m,8H),0.80-0.74(m,6H)。UPLC:(方法A)420.5(M+H),Rt.1.86min,91.84%(最大)。

[0715] 中间体23

[0716] (S)-3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及(R)-3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[0717]   通过手性SFC(方法F)分离外消旋3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体22)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

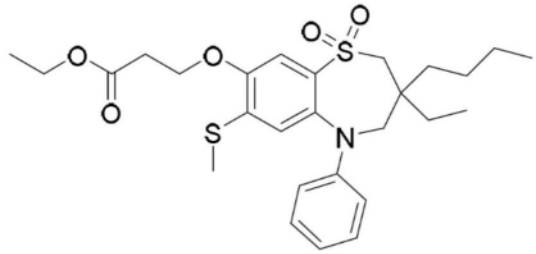
[0718] 对映异构体1:产率:44%(3.1g,浅棕色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.54(s,1H),7.30(s,1H),7.21-7.17(m,2H),6.91(d,J=7.6Hz,2H),6.80(t,J=7.2Hz,1H),6.69(s,1H),3.65(bs,2H),3.20(s,2H),2.18(s,3H),1.60-1.50(m,1H),1.50-1.40(m,1H),1.40-1.25(m,2H),1.20-1.00(m,4H),0.80-0.74(m,6H)。LCMS:(方法E)419.9(M^++H),Rt.3.04min,95.84%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.93min,96.07%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.3.58min,99.19%(最大)。

[0719] 对映异构体2:产率:42%(3.0g,浅棕色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.52(s,1H),7.29(s,1H),7.18(t,J=11.2Hz,2H),6.90(d,J=10.4Hz,2H),6.78(t,J=9.6Hz,1H),6.67(s,1H),3.64(bs,2H),3.19(s,2H),2.16(s,3H),1.51-1.49(m,1H),1.50-1.20(m,

3H),1.20-0.95(m,4H),0.85-0.65(m,6H)。LCMS:(方法E)419.9(M^++H),Rt.3.04min,97.11%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.93min,98.25%(最大)。手性纯度:(方法H)Rt.5.03min,98.68%(最大)。

[0720] 中间体24

[0721] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸乙酯

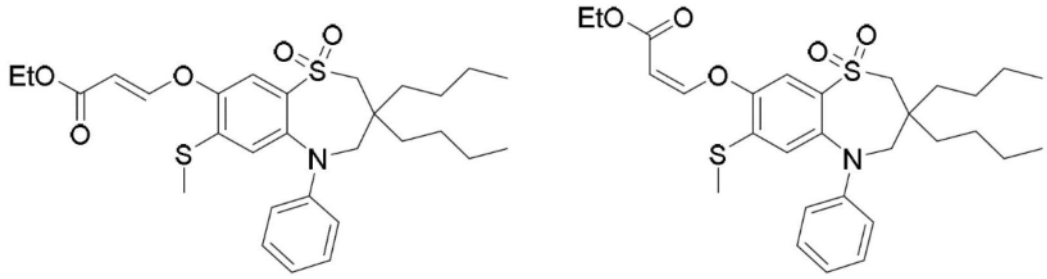
[0722] 

[0723] 在室温下,向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体22;1.0g,2.38mmol)于丙烯酸乙酯(5mL)中的搅拌悬浮液中添加DMAP(30mg,0.23mmol)。于密封管中在100℃下加热反应混合物24小时。通过TLC监测反应进程,TLC指示起始物质的不完全转化(约30%)。随后蒸发且真空干燥反应混合物,得到粗标题化合物,其不经任何进一步纯化即转移至下一步骤。产量:1.3g(粗物质,棕色胶状物)。

[0724] LCMS:(方法E)520.2(M^++H),Rt.6.18min,29.31%(最大)。

[0725] 中间体25

[0726] (E)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙烯酸乙酯及(Z)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙烯酸乙酯

[0727] 

[0728] 在室温下,向3,3-二丁基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(4g,8.93mmol)于无水DMF(50mL)中的搅拌溶液中添加(E)-3-溴丙烯酸乙酯(2.4g,13.4mmol)、碳酸钾(2.46g,17.87mmol)及四丁基溴化铵(0.287g,0.89mmol),且将反应混合物在90℃下加热12小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物倒入冰冷水中且用EtOAc(3×25mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩,得到呈(E)-及(Z)-异构体(1.7:1比率)的混合物形式的标题化合物。此混合物通过制备型HPLC(方法A)分离,得到对应于(Z)-异构体的第一洗脱级分及对应于(E)-异构体的第二洗脱级分,总产率为73%。

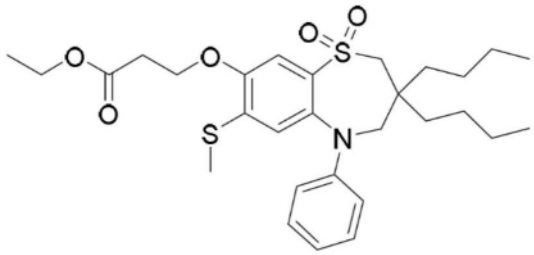
[0729] (E)-异构体:产率:39%(1.9g,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.72(d,J=16.0Hz,1H),7.48(s,1H),7.32-7.27(m,2H),7.19-7.16(m,2H),7.02-6.97(m,1H),6.63(s,

1H),5.48(d,J＝16.0Hz,1H),4.14-4.07(m,2H),3.75(bs,2H),3.36(s,2H),2.14(s,3H),1.40-1.31(m,4H),1.27-1.08(m,11H),0.75-0.73(m,6H)。LCMS:(方法C)546.1(M+H),Rt.3.47min,97.89%(最大)。

[0730] (Z)-异构体:产率:34%(1.65g,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.47(s,1H),7.32-7.28(m,2H),7.20-7.19(m,2H),7.16-7.14(m,1H),7.01-6.97(m,1H),6.66(s,1H),5.26(d,J＝8.0Hz,1H),4.13-4.08(m,2H),3.75(bs,2H),3.33(s,2H),2.18(s,3H),1.43-1.36(m,2H),1.33-1.30(m,2H),1.22(m,3H),1.10-0.98(m,8H),0.76-0.73(m,6H)。LCMS:(方法C)546.1(M+H),Rt.3.34min,98.32%(最大)。

[0731] 中间体26

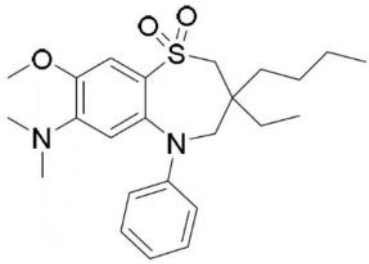
[0732] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸乙酯

[0733] 

[0734] 在氮气氛围下,向(E)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙烯酸乙酯及(Z)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙烯酸乙酯的混合物(中间体25;2.8g,0.51mmol)于EtOAc(15mL)中的搅拌溶液中添加Pd/C(0.56g,52.6mmol)及AcOH(0.1mL),且将混合物在微型压力反应釜(tinyclave)(在2.5-3.0kg压力下)中在氢气氛围下在室温下搅拌12小时。反应完成后(通过LCMS监测),经由硅藻土过滤反应混合物且用EtOAc(2×15mL)洗涤硅藻土垫。真空浓缩合并的滤液,得到标题化合物。产率:64%(1.8g,灰白色固体)。

[0735] 中间体27

[0736] 3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[0737] 

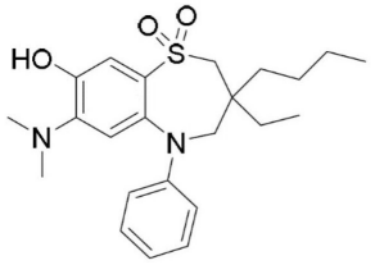
向7-溴-3-丁基-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体21,3g,6.43mmol)于甲苯(10mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(5.2g,16.1mmol),且将反应混合物用N_2脱气10分钟。随后添加二甲胺(2M THF溶液,6.4mL,12.8mmol)、$Pd(OAc)_2$(0.04g,0.16mmol),接着添加X-Phos(0.08g,0.16mmol),且将反应混合物在90℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),经由硅藻土过滤反应混合物且用EtOAc(100mL)洗涤硅藻土垫。真空浓缩合并的有机部分且通过

Isolera柱色谱层析(洗脱液:13-15%EtOAc/PE,硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:26%(0.7g,黄色胶状物)。

[0738] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.28(s,1H),7.22-7.18(m,2H),6.97(d,J=8.0Hz,2H),6.83(t,J=7.2Hz,1H),6.34(s,1H),3.85(s,3H),3.70(bs,2H),3.29(s,2H),2.66(s,6H),1.54-1.41(m,2H),1.35-1.24(m,2H),1.20-1.12(m,4H),0.85-0.75(m,6H)。LCMS:(方法A)431.2(M^++H),Rt.3.19min,83.34%(最大)。

[0739] 中间体28

[0740] 3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

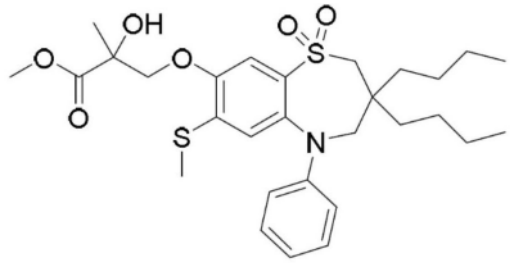
[0741] 

[0742] 在室温下,向3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体27;1.9g,4.41mmol)于DMF(15mL)中的搅拌溶液中添加甲硫醇钠(1.54g,22.06mmol),且将反应混合物在80℃下搅拌12小时。反应完成后(通过TLC监测),使反应混合物冷却至室温且用水(15mL)淬灭。用EtOAc(2×15mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(20mL)及盐水(20mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真空浓缩有机部分,得到粗化合物,其不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产量:1.8g(粗物质,棕色胶状物)。

[0743] LCMS:(方法E)417.2(M^++H),Rt.2.11min,55.04%(最大)。

[0744] 中间体29

[0745] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯

[0746] 

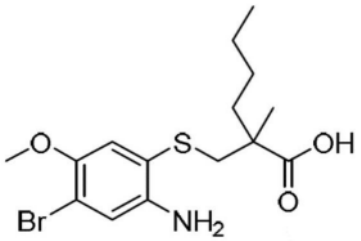
[0747] 向3,3-二丁基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(500mg,1.11mmol)于N-甲基-2-吡咯烷酮(5mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(723mg,2.23mmol)及2-甲基缩水甘油酸甲酯(260mg,2.23mmol),且将反应混合物在80℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,5mL)淬灭且用水(5mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:40%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:40%(250mg,白色胶

状物)。

[0748] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.29(s,1H),7.21(t,J=7.6Hz,2H),7.00(d,J=7.2Hz,2H),6.86(t,J=7.2Hz,1H),6.65(s,1H),4.16-4.01(m,2H),3.67-3.59(m,5H),3.26(s,2H),2.13(s,3H),1.42-1.35(m,5H),1.34-1.25(m,2H),1.24-1.05(m,8H),0.77-0.74(m,6H)。LCMS:(方法A)564.1(M^++H),Rt.3.15min,99.13%(最大)。

[0749] 中间体30

[0750] 2-(((2-氨基-4-溴-5-甲氧基苯基)硫基)甲基)-2-甲基己酸

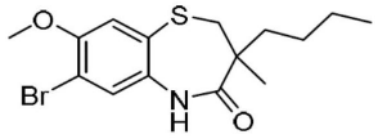
[0751] 

向5-溴-6-甲氧基苯并[d]噻唑-2-胺(63g,0.243mol)于水(630mL)中的搅拌溶液中添加KOH(218.2g,3.89mol),且将反应混合物在120℃下搅拌16小时。反应完成后(通过LCMS监测),使反应混合物冷却至室温。随后逐滴添加2-(溴甲基)-2-甲基己酸(70.5g,6.31mol)于THF(210mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过LCMS监测),使反应混合物冷却至0℃且用浓HCl(pH约2)酸化。用EtOAc(2×350mL)萃取反应混合物,且将合并的有机层用水(150mL)及盐水(150mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。所得粗物质不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产量:75g(粗物质,棕色胶状物)。

[0752] LCMS:(方法A)376.1(M^+),378.0(M^++2),Rt.2.44min,92.97%(最大)。

[0753] 中间体31

[0754] 7-溴-3-丁基-8-甲氧基-3-甲基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

[0755] 

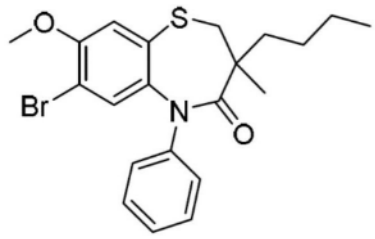
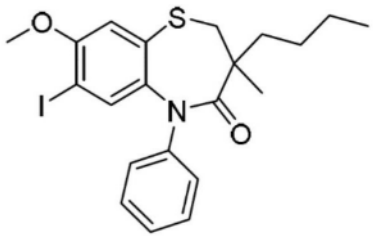
[0756] 在0℃下,向2-(((2-氨基-4-溴-5-甲氧基苯基)硫基)甲基)-2-甲基己酸(中间体30;75.0g,0.199mol)于EtOAc(750mL)中的搅拌溶液中逐滴添加三乙胺(60.4g,0.59mol)及1-丙烷膦酸酐溶液(50%EtOAc溶液,95.1g,0.29mol)。将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过UPLC监测),将反应混合物用水(150mL)淬灭且用EtOAc(2×200mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(150mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真空浓缩有机部分且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10-12%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:63%(45g,灰白色固体)。

[0757] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ9.62(s,1H),7.33(s,1H),7.13(s,1H),3.83(s,3H),3.17(s,2H),1.46-1.44(m,2H),1.22(s,3H),1.17-1.14(m,4H),0.79(t,J=6.8Hz,3H)。LCMS:(方法A)360.0(M^++2),Rt.2.64min,97.14%(最大)。

[0758] 中间体32

[0759] 7-溴-3-丁基-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮及3-丁基-7-碘-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4

(5H)-酮

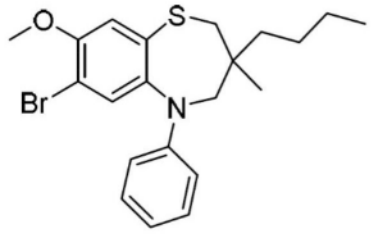
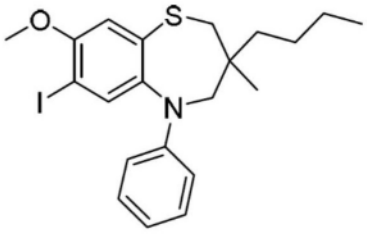
[0760]  

[0761] 向7-溴-3-丁基-8-甲氧基-3-甲基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体31;45g,0.12mol)于碘苯(225mL)中的搅拌溶液中添加碘化铜(I)(2.4g,0.012mol)及K_2CO_3(34.6g,0.251mol),且将混合物用氮气净化20分钟以脱气。随后在氮气氛围下添加三[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]胺(8.11g,0.025mol),且将所得反应混合物在135℃下加热40小时。反应完成后(通过UPLC监测),经由硅藻土过滤反应混合物且用EtOAc(200mL)洗涤硅藻土垫。真空浓缩滤液且通过用MeOH再结晶纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:88%(47.5g,灰白色固体)。

[0762] LCMS:(方法E)对于经7-溴取代的化合物为434.1(M^+)且对于经7-碘取代的化合物为482.1(M^++H),Rt.3.23min,99.31%(对于经溴取代的化合物与经碘取代的化合物的组合值)(最大)。

[0763] 中间体33

[0764] 7-溴-3-丁基-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯及3-丁基-7-碘-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯

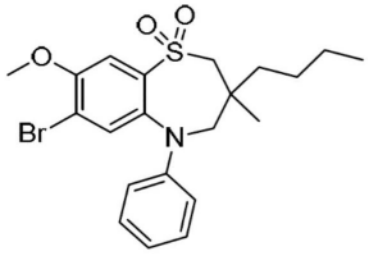
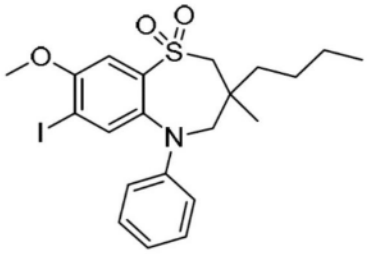
[0765]  

[0766] 在0℃下,向7-溴-3-丁基-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮及3-丁基-7-碘-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮的混合物(中间体32;47.5g,0.109mol)于THF(475mL)中的搅拌溶液中逐滴添加硼烷二甲基硫醚(1M THF溶液,82mL,0.16mol),且使反应混合物在75℃下回流40小时。反应完成后(通过UPLC监测),使反应混合物冷却至0℃且用甲醇(475mL)淬灭。将所得溶液在65℃下加热2小时,且随后冷却至室温且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8-10%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:46g(粗物质,无色液体)。

[0767] LCMS:(方法E)421.8(M^++2H),467.8(M^++H)Rt.3.62min,54.71%(最大)。

[0768] 中间体34

[0769] 7-溴-3-丁基-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及3-丁基-7-碘-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

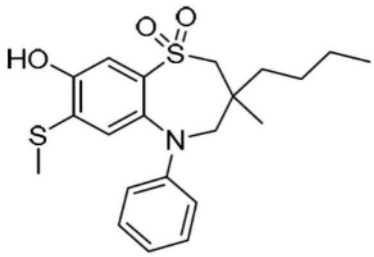
[0770]  

[0771] 向7-溴-3-丁基-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯及3-丁基-7-碘-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯的混合物(中间体33;23g,0.05mol)于乙酸(230mL)中的搅拌溶液中添加钨酸钠(2.3g,10%wt/wt)及H_2O_2(30%水溶液,18.6mL,0.16mol),且将反应混合物在室温下搅拌5小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用水(200mL)淬灭且用EtOAc(2×200mL)萃取水层。将合并的有机层用水(150mL)及盐水(150mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10-12%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:72%(18g,淡黄色固体)。

[0772] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.47(s,1H),7.34(s,1H),7.27-7.20(m,2H),6.99-6.94(m,2H),6.89-6.85(m,1H),3.94(s,3H),3.40-3.33(m,2H),2.53(s,2H),1.46-1.30(m,2H),1.27-1.20(m,4H),1.10-1.06(m,3H),0.78(t,J=6.80Hz,3H)。LCMS:(方法E)对于经7-溴取代的化合物为454.1(M^++2H)且对于经7-碘取代的化合物为500.1(M^++H),Rt.3.25min,92.56%(最大)。

[0773] 中间体35

[0774] 3-丁基-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

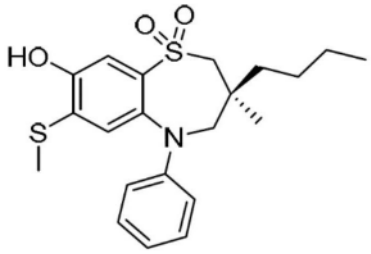
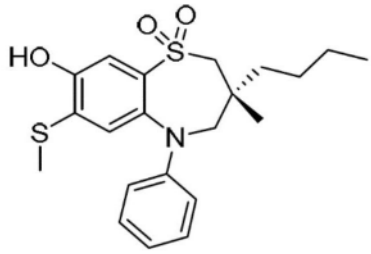
[0775] 

[0776] 在室温下,向7-溴-3-丁基-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及3-丁基-7-碘-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的混合物(中间体34;31g,0.07mol)于DMF(310mL)中的搅拌溶液中添加甲硫醇钠(24.01g 0.34mol),且将所得混合物搅拌在65℃下过夜。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用水(150mL)淬灭且用EtOAc(2×300mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(150mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过用MeOH再结晶纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:83%(23g,灰白色固体)。

[0777] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.60(s,1H),7.32(s,1H),7.18-7.14(m,2H),6.86(d,J=7.6Hz,2H),6.77(s,1H),6.76-6.73(m,1H),3.27-3.15(m,2H),2.54(s,2H),2.26(s,3H),1.47-1.29(m,2H),1.27-1.20(m,4H),1.18-1.12(m,3H),0.81(t,J=7.2Hz,3H)。LCMS:(方法E)406.2(M^++H),Rt.2.98min,95.07%(最大)。

[0778] 对映异构体的分离：

[0779] (S)-3-丁基-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及(R)-3-丁基-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

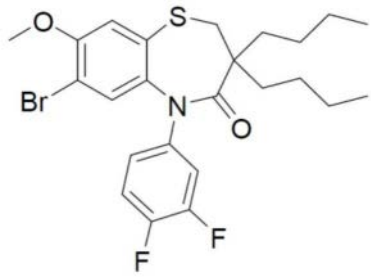
[0780]   通过手性SFC(方法M)分离外消旋3-丁基-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(2.9g,0.01mol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

[0781] 对映异构体1:产率:41％(1.2g,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.51(s,1H),7.31(s,1H),7.18-7.14(m,2H),6.85(d,J＝8.0Hz,2H),6.77-6.73(m,2H),3.27-3.15(m,2H),2.53(s,2H),2.21(s,3H),1.46-1.31(m,2H),1.29-1.12(m,4H),1.06-1.01(m,3H),0.81(t,J＝7.2Hz,3H)。LCMS:(方法A)406.1(M^++H),Rt.2.72min,97.0％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.61min,97.78％(最大)。手性SFC:(方法M)Rt.2.36min,98.75％(最大)。

[0782] 对映异构体2:产率:38％(1.1g,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.57(s,1H),7.31(s,1H),7.18-7.14(m,2H),6.85(d,J＝7.6Hz,2H),6.77-6.73(m,2H),3.27-3.15(m,2H),2.53(s,2H),2.21(s,3H),1.48-1.31(m,2H),1.29-1.18(m,4H),1.12-1.01(m,3H),0.81(t,J＝7.2Hz,3H)。LCMS:(方法A)406.2(M^++H),Rt.2.85min,99.57％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.61min,99.83％(最大)。手性SFC:(方法M)Rt.3.58min,100％(最大)。

[0783] 中间体36

[0784] 7-溴-3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

[0785] 

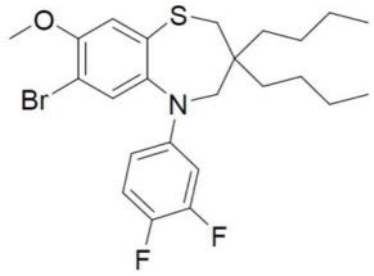
[0786] 向7-溴-3,3-二丁基-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(3.0g,0.007mol)于4-溴-1,2-二氟苯(5mL)中的搅拌溶液中添加碘化铜(I)(0.286mg,0.0015mol)及K_2CO_3(2.07g,0.015mol),且将反应混合物用氮气净化20分钟以脱气。随后在氮气氛围下添加三[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]胺(0.242mL,0.00075mol),且将所得反应混合物在130℃下加热16小时。反应完成后(通过UPLC监测),经由硅藻土过滤反应混合物且用EtOAc(50mL)洗涤硅藻土垫。将滤液用水(50mL)及盐水(50mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真

空浓缩有机部分且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8-10%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:74%(2.8g,浅棕色固体)。

[0787] LCMS:(方法E)512.1(M^+),Rt.3.07min,85%(最大)。

[0788] 中间体37

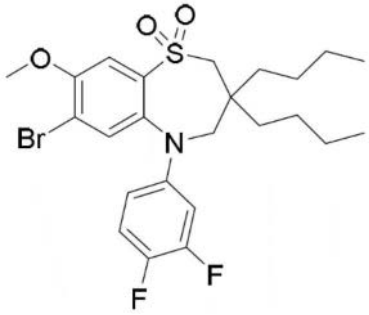
[0789] 7-溴-3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯

[0790] 

[0791] 在0℃下,向7-溴-3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体36;2.8g,0.0054mmol)于THF(15mL)中的搅拌溶液中逐滴添加硼烷二甲基硫醚(2M THF溶液;8mL,0.016mmol),且使反应混合物在60℃下回流3小时。反应完成后(通过UPLC监测),使反应混合物冷却至0℃,用甲醇(10mL)淬灭且随后加热2小时至60℃。随后使所得反应混合物冷却至室温且真空浓缩,得到粗物质。所得粗物质不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产量:1.49g(粗物质,无色液体)。

[0792] 中间体38

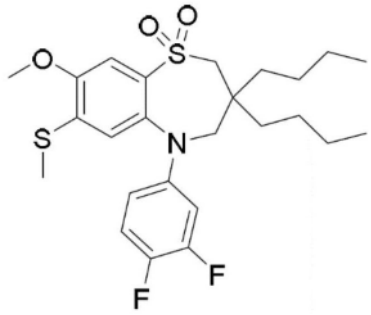
[0793] 7-溴-3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[0794] 在室温下,向7-溴-3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯(中间体37;1.49g,0.01mmol)于THF(75mL)及水(7.5mL)中的搅拌溶液中添加单过硫酸氢钾(38.3g,0.13mmol),且随后将反应混合物在该温度下搅拌24小时。反应完成后(通过TLC监测),经由布赫纳漏斗滤出反应混合物且用EtOAc(2×25mL)萃取滤液。将合并的有机层用水(25mL)及盐水(25mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真空浓缩有机部分且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10-12%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:62%(1g,灰白色固体)。

[0795] LCMS:(方法A)532.0(M^++2),Rt.3.31min,93.84%(最大)。

[0796] 中间体39

[0797] 3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-8-甲氧基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

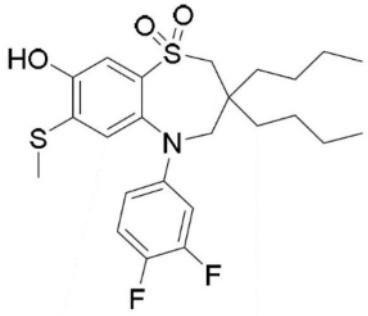
[0798] 

[0799] 向7-溴-3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体38;500mg,0.9757mmol)于DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加甲硫醇钠(102mg,1.46mmol),且将所得反应混合物在60℃下加热2小时。反应完成后(通过TLC监测),添加水(10mL)至反应混合物且用EtOAc(2×20mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:18-20%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:82%(0.45g,灰白色固体)。

[0800] LCMS:(方法E)498.2(M^++H),Rt.3.57min,90.72%(最大)。

[0801] 中间体40

[0802] 3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[0803] 

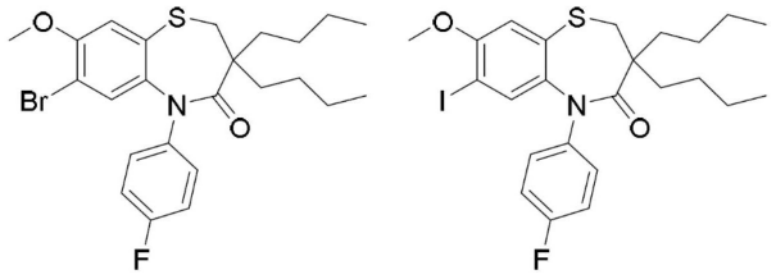
[0804] 在0℃下,向3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-8-甲氧基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体39;450mg,0.9042mmol)于DCM(5mL)中的搅拌溶液中添加BBr_3(1M DCM溶液;3mL,2.712mmol),且将反应混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),在0℃下逐滴添加甲醇(10mL)直至停止发泡。随后将反应混合物用DCM(10mL)稀释,且将DCM层用水(2×10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:100%EtOAc;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:91%(0.4g,灰白色固体)。

[0805] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.63(s,1H),7.29(s,1H),7.28-7.19(m,1H),7.03-6.98(m,1H),6.72(s,1H),6.64-6.59(m,1H),3.62(bs,2H),3.22(s,2H),2.22(s,3H),1.40-1.34(m,4H),1.15-1.05(m,8H),0.79(t,J=6.80Hz,6H)。LCMS:(方法A)484.2(M^++H),Rt.2.97min,94%(最大)。

[0806] 中间体41

[0807] 7-溴-3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮及3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环

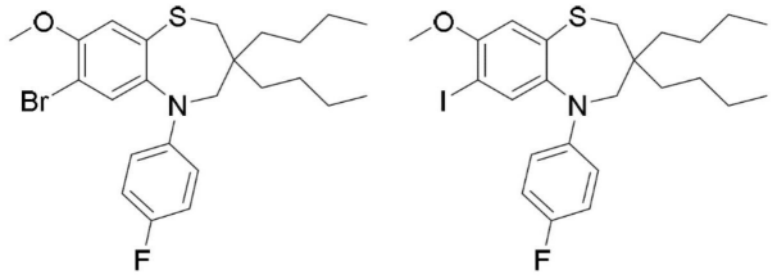
庚三烯-4(5H)-酮

[0808]  向7-溴-3,3-二丁基-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(3g,7.49mmol)于4-氟碘苯(30mL)中的搅拌溶液中添加碘化铜(I)(0.14g,0.74mmol)及K_2CO_3(2.07g,14.9mmol),且将反应混合物用氮气净化20分钟以脱气。随后在氮气氛围下添加三[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]胺(0.49g,1.49mmol),且将所得反应混合物在135℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),经由硅藻土过滤反应混合物且用EtOAc(25mL)洗涤硅藻土垫。将滤液用水(15mL)及盐水(15mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:20%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:95%(3.5g,浅黄色固体)。

[0809] LCMS:(方法E)对于经7-溴取代的化合物为494.0(M^+)且对于经7-碘取代的化合物为541.9(M^++H),Rt.3.50min,96.61%(最大)。

[0810] 中间体42

[0811] 7-溴-3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯及3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯

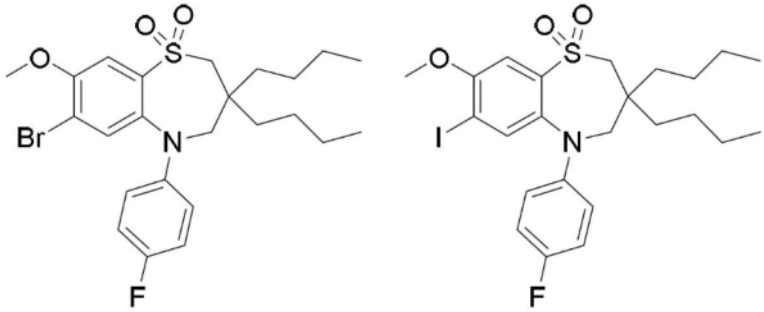
[0812] 

[0813] 在0℃下,向7-溴-3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮及3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮的混合物(中间体41;3.5g,7.07mmol)于THF(35mL)中的搅拌溶液中逐滴添加硼烷二甲基硫醚(2M THF溶液;5.3mL,10.61mmol),且使反应混合物在65℃下回流16小时。反应完成后(通过TLC监测),使反应混合物冷却至0℃,用甲醇(10mL)淬灭且在65℃下加热2小时。随后使所得反应混合物冷却至室温,真空浓缩且使残余物分配于水(50mL)与EtOAc(50mL)之间。用DCM(2×50mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(25mL)及盐水(25mL)洗涤。有机层部分无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩,得到粗物质。所得粗物质不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产量:3.6g(粗物质,浅黄色胶状物)。

[0814] LCMS:(方法E)对于经7-溴取代的化合物为482.0(M^++2H)且对于经7-碘取代的化合物为527.9(M^++H),Rt.3.86min,81.04%(对于经溴取代的化合物与经碘取代的化合物的组合值)(最大)。

[0815] 中间体43

[0816] 7-溴-3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

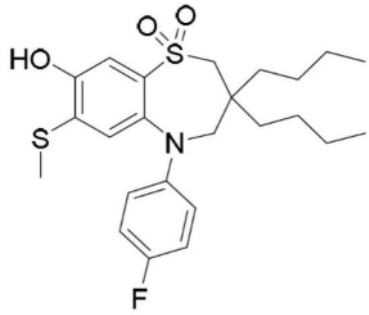
[0817] 

[0818] 在0℃下,向7-溴-3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯及3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯的混合物(中间体42;3.6g,7.49mmol)于乙酸(36mL)中的搅拌溶液中添加钨酸钠(360mg,0.01mmol)及过氧化氢(30%H_2O溶液;2.6mL,22.47mmol),且将所得反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),经由布赫纳漏斗滤出反应混合物且用EtOAc(2×50mL)萃取滤液。将合并的有机层用水(25mL)及盐水(25mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真空浓缩有机部分且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:12%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:79%(3.4g,灰白色固体)。

[0819] LCMS:(方法A)对于经7-溴取代的化合物为512.2(M^++H)且对于经7-碘取代的化合物为560.2(M^++H);Rt.3.40min,70.63%(最大)。

[0820] 中间体44

[0821] 3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[0822] 

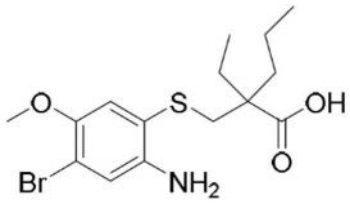
[0823] 在室温下,向7-溴-3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的混合物(中间体43;1.6g,3.12mmol)于DMF(16mL)中的搅拌溶液中添加甲硫醇钠(1.09g,15.6mmol),且将反应混合物在65℃下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),使反应混合物冷却至室温且用水(15mL)淬灭。用EtOAc(2×25mL)萃取水层且用盐水(10mL)洗涤合并的有机层。有机部分经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:30%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:90%(1.3g,灰白色固体)。

[0824] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.48(s,1H),7.28(d,J=4.4Hz,1H),7.08-7.01(m,

4H),6.59(s,1H),3.80-3.67(m,2H),3.22(s,2H),2.16(s,3H),1.36-1.33(m,4H),1.12-1.03(m,8H),0.79-0.77(m,6H)。LCMS:(方法E)466.0(M^++H),Rt.3.23min,88.86%(最大)。

[0825] 中间体45

[0826] 2-(((2-氨基-4-溴-5-甲氧基苯基)硫基)甲基)-2-乙基戊酸

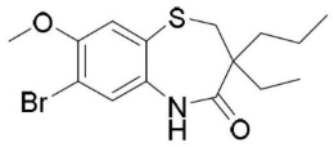
[0827] 

[0828] 向5-溴-6-甲氧基苯并[d]噻唑-2-胺(20g,77.2mmol)于水(200mL)中的溶液中添加KOH(69.1g,123mmol)及Na_2SO_3(9.7g,77.2mmol),且将反应混合物在120℃下加热16小时。随后使反应混合物冷却至10℃。逐滴添加2-(溴甲基)-2-乙基戊酸(26g,115mmol)于THF(30mL)中的溶液,且将反应混合物在60℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用浓HCl淬灭,酸化且随后用EtOAc(2×150mL)萃取。将合并的有机层用冰冷水(150mL)及盐水(150mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且浓缩有机部分,得到标题化合物。产量:30g(粗物质,紫色液体)。

[0829] LCMS:(方法E)377.8(M^++2),Rt.2.60min,77.37%(最大)。

[0830] 中间体46

[0831] 7-溴-3-乙基-8-甲氧基-3-丙基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

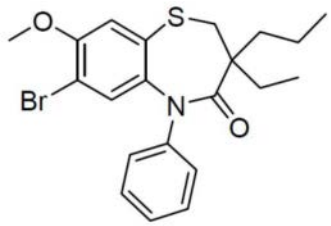
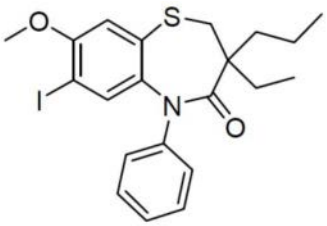
[0832] 

[0833] 向2-(((2-氨基-4-溴-5-甲氧基苯基)硫基)甲基)-2-乙基戊酸(中间体45;30g,80mmol)于DCM(200mL)中的溶液中添加三乙胺(21.5mL,159mmol),且使反应混合物冷却至0℃。逐滴添加1-丙烷膦酸酐溶液(50%EtOAc溶液;50.8g,159mmol)且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(25mL)淬灭且用EtOAc(2×100mL)萃取水层。将合并的有机层用冰冷水(100mL)及盐水(100mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。滤出有机部分,真空浓缩且将所获得的残余物用冷甲醇研磨。将沉淀固体滤出且真空干燥,得到标题化合物。产率:32%(9g,灰色固体)。

[0834] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ9.63(s,1H),7.34(s,1H),7.11(s,1H),3.83(s,3H),2.99(s,2H),1.73-1.40(m,4H),1.24-1.16(m,2H),0.84-0.76(m,6H)。LCMS:(方法E)357.8(M^+),Rt.2.83min,99.18%(最大)。

[0835] 中间体47

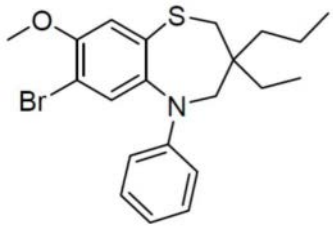
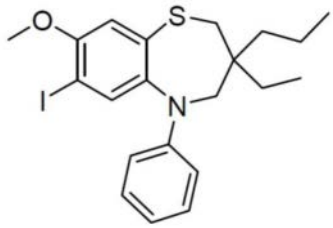
[0836] 7-溴-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮及3-乙基-7-碘-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

[0837]   向7-溴-3-乙基-8-甲氧基-3-丙基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体46;9g,25.1mmol)于碘苯(90mL)中的溶液中添加K_2CO_3(3.81g,27.62mmol)、三[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]胺(1.62g,5.02mmol)及CuI(0.48g,2.51mmol),且将反应混合物在135℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(25mL)淬灭且用EtOAc(2×100mL)萃取水层。将合并的有机层用冰冷水(100mL)及盐水(100mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分滤出且真空浓缩。用石油醚研磨所得粗物质,得到标题化合物。产率:64%(7g,浅黄色固体)。

[0838] LCMS:(方法B)对于经7-溴取代的化合物为434.0(M^++H),Rt.14.82min,37.52%(最大),且对于经7-碘取代的化合物为482.0(M^++H),Rt.15.04min,57.75%(最大)。

[0839] 中间体48

[0840] 7-溴-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯及3-乙基-7-碘-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯

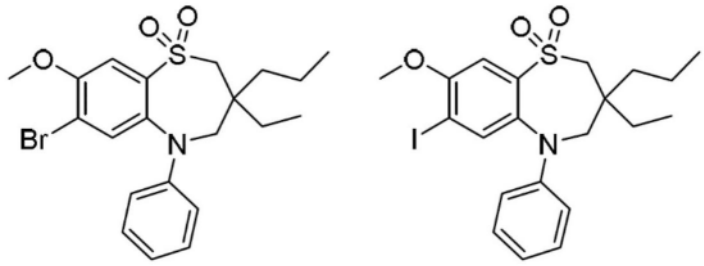
[0841]  

[0842] 在0℃下,向7-溴-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮及3-乙基-7-碘-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮的混合物(中间体47;7.0g,16.12mmol)于THF(70mL)中的搅拌溶液中添加硼烷二甲基硫醚(1M THF溶液;48.38mL,48.38mmol),且将反应混合物在70℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),使反应混合物冷却至0℃,添加甲醇(150mL)且将混合物在60℃下加热2小时。随后使反应混合物冷却至室温且真空浓缩。使所获得的残余物分配于水(50mL)与EtOAc(50mL)之间,且用EtOAc(2×100mL)萃取水层。将合并的有机层用冰冷水(100mL)及盐水(100mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。所得粗物质不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产量:7.5g(粗物质,浅棕色胶状物)。

[0843] LCMS:(方法E)对于经7-溴取代的化合物为419.8(M^++H)且对于经7-碘取代的化合物为467.8(M^++H);Rt.3.77min,80.10%(最大)。

[0844] 中间体49

[0845] 7-溴-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及3-乙基-7-碘-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

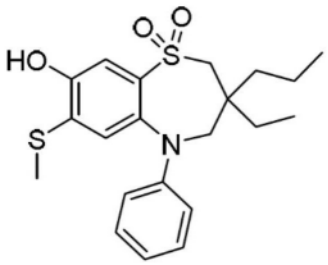
[0846] 

[0847] 向7-溴-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯及3-乙基-7-碘-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯的混合物(中间体48;7.5g,17.83mmol)于THF(60mL)及水(30mL)中的溶液中添加单过硫酸氢钾(27.4g,89.19mmol),且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),用EtOAc(2×100mL)萃取水层。将合并的有机层用冰冷水(100mL)及盐水(100mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:13%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:62%(5g,浅棕色固体)。

[0848] LCMS:(方法E)对于经7-溴取代的化合物为452.9(M^++H)且对于经7-碘取代的化合物为499.7(M^++H),Rt.3.24min,96.49%(最大)。

[0849] 中间体50

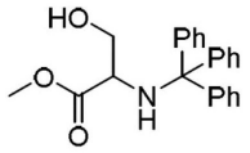
[0850] 3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[0851]  向7-溴-3-乙基-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及3-乙基-7-碘-8-甲氧基-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的混合物(中间体49;1g,2.00mmol)于DMF(5mL)中的溶液中添加甲硫醇钠(0.78g,1.0mmol),且将反应混合物在100℃下搅拌12小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(25mL)淬灭且随后用EtOAc(2×20mL)萃取。将合并的有机层用冰冷水(10mL)洗涤且随后用盐水(10mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:30%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:61%(0.49g,灰白色固体)。

[0852] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.54(s,1H),7.31(s,1H),7.19(t,J=8.0Hz,2H),6.91(d,J=7.6Hz,2H),6.80(t,J=7.6Hz,1H),6.69(s,1H),3.64(bs,2H),3.21(s,2H),2.18(s,3H),1.57-1.55(m,1H),1.45-1.33(m,3H),1.31-1.18(m,2H),0.78-0.74(m,6H)。LCMS:(方法E)406.2(M^++H),Rt.2.93min,95.46%(最大)。

[0853] 中间体51

[0854] 三苯甲基丝氨酸甲酯

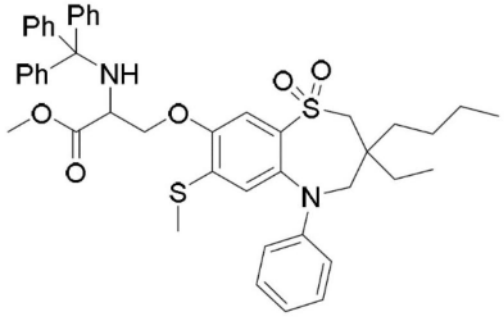
[0855] 

[0856] 向丝氨酸甲酯盐酸盐(0.65g,0.5mmol)于DCM(10mL)中的搅拌溶液中添加三乙胺(2mL,1.50mmol),且使反应混合物冷却至0℃。随后添加三苯甲基氯(1.67g,0.6mmol)且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用水(10mL)淬灭且用DCM(2×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:7%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:33%(0.7g,白色固体)。

[0857] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.54-7.50(m,6H),7.32-7.27(m,6H),7.24-7.20(m,3H),3.74-3.72(m,1H),3.62-3.51(m,2H),3.33(s,3H),3.00(bs,1H),2.33(bs,1H)。

[0858] 中间体52

[0859] O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-N-三苯甲基丝氨酸甲酯

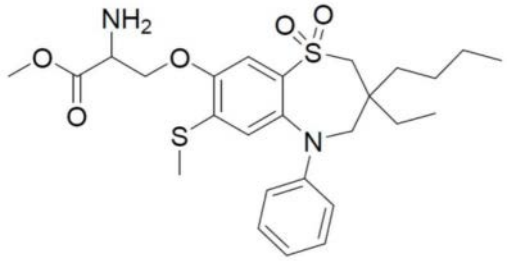
[0860] 

[0861] 在0℃下,向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体22;470mg,1.12mmol)于甲苯(10mL)中的搅拌溶液中添加三苯基膦(653mg,2.24mmol)及三苯甲基丝氨酸甲酯(中间体51;504mg,2.24mmol),且将反应混合物搅拌5分钟。随后逐滴添加偶氮二甲酸二异丙酯(452mg,2.24mmol)且将反应混合物在90℃下加热4小时。反应完成后(通过TLC监测),真空浓缩反应混合物且将所获得的残余物用水(10mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤有机部分,真空浓缩且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:41%(350mg,浅黄色固体)。

[0862] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.48-7.45(m,6H),7.33-7.29(m,7H),7.23-7.20(m,5H),6.98(d,J=8.0Hz,2H),6.86(t,J=7.2Hz,1H),6.69(s,1H),4.26-4.22(m,1H),4.09-4.05(m,1H),3.81-3.55(m,3H),3.27(s,2H),3.21(s,3H),2.14(s,3H),1.62-1.53(m,1H),1.52-1.41(m,1H),1.41-1.36(m,2H),1.23-0.95(m,4H),0.84-0.73(m,6H)。

[0863] 中间体53

[0864] O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)丝氨酸甲酯

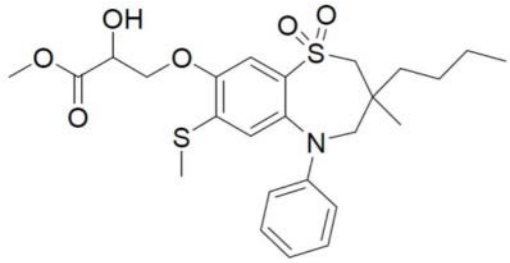
[0865] 

[0866] 在0℃下,向O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-N-三苯甲基丝氨酸甲酯(中间体52;340mg,0.44mmol)于DCM(10mL)中的搅拌溶液中添加TFA(152mg,1.33mmol),且将反应混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物倒入冰冷水(10mL)中且用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分,得到标题化合物。所得粗物质不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产量:170mg(粗物质,灰白色固体)。

[0867] LCMS:(方法E)521.2(M^++H),Rt.2.40min,37.79%(最大)。

[0868] 中间体54

[0869] 3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯

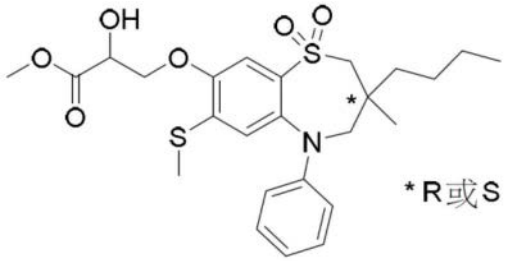
[0870] 

[0871] 向3-丁基-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体35;300mg,0.74mmol)于DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(482mg,1.47mmol)及2-甲基缩水甘油酸甲酯(227mg,2.21mmol),且将反应混合物在室温下搅拌72小时。约70%的起始物质转化之后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,5mL)淬灭且用水(5mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:40%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:45%(170mg,浅黄色胶状物)。

[0872] LCMS:(方法E)508.0(M^++H),Rt.2.91min,97.36%(最大)。

[0873] 中间体55

[0874] 3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯

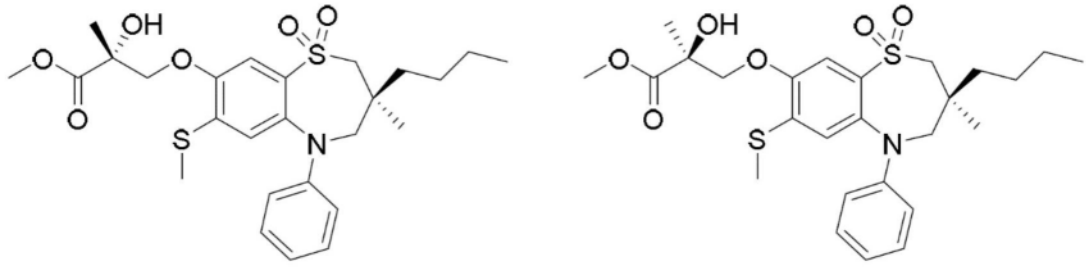
[0875] 

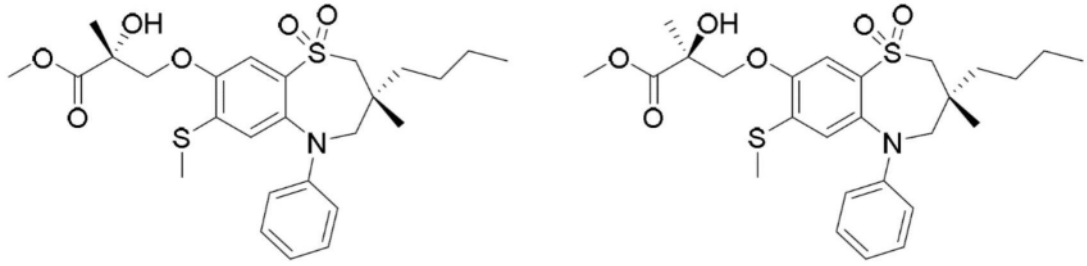
[0876] 向3-丁基-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体1(中间体35;300mg,0.74mmol)于DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(482mg,1.47mmol)及2-甲基缩水甘油酸甲酯(227mg,2.21mmol),且将反应混合物在室温下搅拌48小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,5mL)淬灭且用水(5mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:40%EtOAc PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物的非对映异构体1及2的混合物。产率:53%(200mg,浅黄色胶状物)。

[0877] LCMS:(方法E)508.2(M^++H),Rt.2.92min,97.98%(最大)。

[0878] 中间体56

[0879] 3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯(单独的非对映异构体)

[0880] 



[0881] 非对映异构体1及2

[0882] 向3-丁基-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体1(中间体35;230mg,0.56mmol)于DMF(2.5mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(0.37g,1.13mmol),且将反应混合物在室温下搅拌15分钟。随后添加2-甲基环氧乙烷-2-甲酸甲酯(0.19g,1.70mmol),且将反应混合物在室温下搅拌48小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,10mL)淬灭且用水(10mL)稀释。用EtOAc(2×15mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(15mL)及盐水(15mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:25%EtOAc/PE;硅胶:

230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:84%(250mg,粉红色胶状物)。

[0883] LCMS:(方法E)522.2(M^++H),Rt.2.6min,95.83%(最大)。

[0884] 非对映异构体3及4

[0885] 向3-丁基-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体2(中间体35;250mg,0.61mmol)于DMF(2.5mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(0.4g,1.23mmol),且将反应混合物在室温下搅拌15分钟。随后添加2-甲基环氧乙烷-2-甲酸甲酯(0.21g,1.84mmol)且将反应混合物在室温下搅拌48小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,10mL)淬灭且用水(10mL)稀释。用EtOAc(2×15mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(15mL)及盐水(15mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:25%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:62%(200mg,粉红色胶状物)。

[0886] LCMS:(方法E)522.2(M^++H),Rt.3.39min,97.06%(最大)。

[0887] 通过手性SFC(方法F)分离标题化合物(200mg,0.38mmol)的非对映异构体3及4。第一洗脱级分对应于非对映异构体1且第二洗脱级分对应于非对映异构体2。随后分别处理两个洗脱级分中的各者以便进一步纯化。将所获得的残余物用稀HCl(1.5N,pH约4)酸化,且用EtOAc(3×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤且在40℃下真空浓缩,得到标题化合物的纯化非对映异构体。

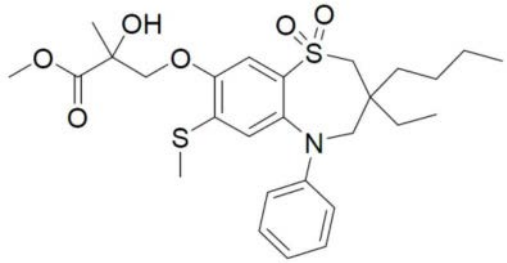
[0888] 非对映异构体3:产率:25%(50mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.33(s,1H),7.19(t,J=8.4Hz,2H),6.92(d,J=7.6Hz,2H),6.80(t,J=7.2Hz,2H),5.72(s,1H),4.16-4.11(m,2H),3.68(s,3H),3.33-3.31(m,4H),2.19(s,3H),1.43(s,3H),1.24-1.12(m,6H),1.01(s,3H),0.80(t,J=7.20Hz,3H)。LCMS:(方法E)522.2(M^++H),Rt.2.61min,98.51%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.3.27min,100%(最大)。

[0889] 非对映异构体4:产率:30%(60mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.32(s,1H),7.19(t,J=8.4Hz,2H),6.92(d,J=7.6Hz,2H),6.80(t,J=7.2Hz,2H),5.73(s,1H),4.20-4.17(m,1H),4.12-4.10(m,1H),3.68(s,3H),3.34-3.26(m,4H),2.19(s,3H),1.43(s,3H),1.31-1.24(m,6H),1.01(s,3H),0.80(t,J=7.20Hz,3H)。LCMS:(方法E)522.2(M^++H),Rt.2.61min,96.58%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.5.59min,100%(最大)。

[0890] 四种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[0891] 中间体57

[0892] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯

[0893] 

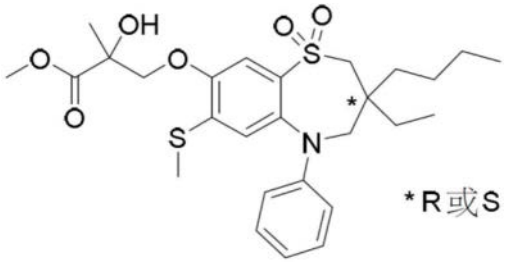
[0894] 向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体22;500mg,1.19mmol)于DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加

Cs_2CO_3(0.77g,2.38mmol),且将反应混合物在室温下搅拌15分钟。随后添加2-甲基缩水甘油酸甲酯(0.41g,3.57mmol)且将反应混合物在室温下搅拌72小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(15mL)淬灭且用水(10mL)稀释。用EtOAc(2×15mL)萃取水层,且将合并的EtOAc层用水(15mL)及盐水(15mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:24%(150mg,无色胶状物)。

[0895] LCMS:(方法E)536.2(M^++H),Rt.2.93min,83.35%(最大)。

[0896] 中间体58

[0897] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯

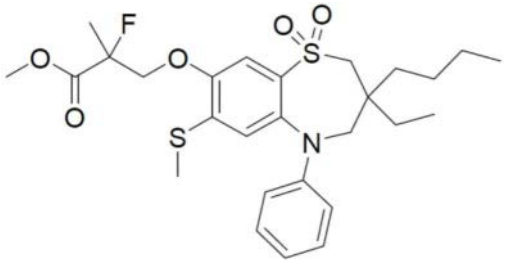
[0898] 

[0899] 向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体2(中间体23;780mg,1.85mmol)于DMF(5mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(0.1.21g,3.71mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后添加2-甲基缩水甘油酸甲酯(647mg,5.57mmol)且将反应混合物在室温下搅拌72小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,15mL)淬灭且用水(10mL)稀释。用EtOAc(2×20mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(25mL)及盐水(25mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:40-50%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:65%(650mg,无色胶状物)。

[0900] LCMS:(方法E)536.1(M^++H),Rt.3.07min,94.03%(最大)。

[0901] 中间体59

[0902] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸甲酯

[0903] 

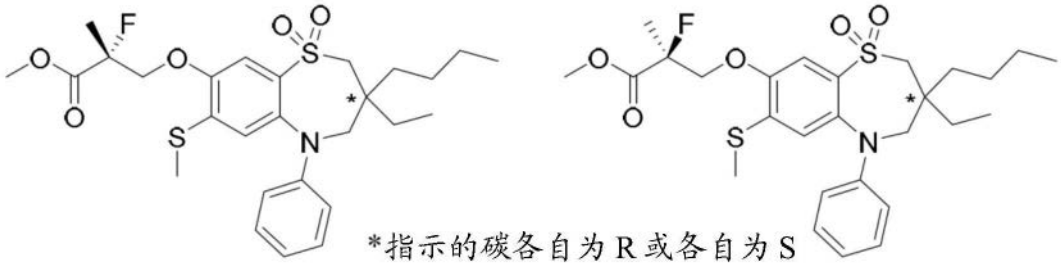
[0904] 在-10℃下,向3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯(中间体57;130mg,0.24mmol)于DCM(5mL)中的搅拌溶液中添加三氟化二乙基氨基硫(0.08g,0.48mmol),且将反应混合物搅拌2小时。随后添加2-甲基缩水甘油酸甲酯(0.41g,3.57mmol)且将反应混合物在室温下搅拌2小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用水(5mL)淬灭且用

EtOAc(2×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:20%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:30%(40mg,无色胶状物)。

[0905] LCMS:(方法E)538.2(M^++H),Rt.3.10min,74.80%(最大)。

[0906] 中间体60

[0907] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸甲酯(单独的非对映异构体)

[0908] 

[0909] 在-10℃下,向3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯(中间体58;650mg,1.21mmol)于DCM(15mL)中的搅拌溶液中添加三氟化二乙基氨基硫(235mg,1.45mmol),且将反应混合物在0℃至15℃下搅拌2小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物在0℃下用冰冷水(5mL)淬灭且用EtOAc(2×20mL)萃取水层。将合并的有机层用水(20mL)及盐水(20mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:20%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:40%(160mg,白色胶状物)。

[0910] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.35(s,1H),7.23(t,J=7.2Hz,2H),7.00(d,J=8.0Hz,2H),6.88(t,J=7.2Hz,1H),6.69(s,1H),4.50-4.39(m,2H),3.74(bs,3H),3.69(s,2H),3.28(s,2H),2.18(s,3H),1.71-1.62(m,1H),1.51-1.49(m,3H),1.48-1.41(m,1H),1.39-1.25(m,2H),1.24-0.92(m,4H),0.85-0.71(m,6H)。LCMS:(方法E)537.9(M^++H),Rt.3.24min,99.74%(最大),HPLC:(方法B)Rt.6.27min,98.45%(最大)。

[0911] 通过SFC(方法F)分离标题化合物(160mg,0.29mmol)的非对映异构体1及2。第一洗脱级分对应于非对映异构体1且第二洗脱级分对应于非对映异构体2。在40℃下真空浓缩物质。随后分别处理两个洗脱级分中的各者以便进一步纯化。将所获得的残余物用稀HCl(1.5N,pH约4)酸化,且用EtOAc(3×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤且在40℃下真空浓缩,得到标题化合物的纯化非对映异构体。

[0912] 非对映异构体1:产率:63%(51mg,浅黄色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.35(s,1H),7.23(t,J=7.2Hz,2H),7.00(d,J=7.6Hz,2H),6.87(t,J=7.2Hz,1H),6.69(s,1H),4.53-4.39(m,2H),3.76(bs,3H),3.69(s,2H),3.28(s,2H),2.15(s,3H),1.69-1.57(m,3H),1.56-1.51(m,1H),1.50-1.39(m,1H),1.37-1.25(m,2H),1.21-0.98(m,4H),0.78-0.69(m,6H)。LCMS:(方法E)538.2(M^++H),Rt.3.21min,99.68%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.2.21min,99.40%(最大)。

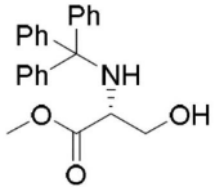
[0913] 非对映异构体2:产率:68%(55mg,浅黄色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.35

(s,1H),7.23(t,J＝7.2Hz,2H),7.00(d,J＝7.6Hz,2H),6.87(t,J＝7.2Hz,1H),6.69(s,1H),4.53-4.39(m,2H),3.76(bs,3H),3.69(s,2H),3.28(s,2H),2.15(s,3H),1.69-1.57(m,3H),1.56-1.51(m,1H),1.50-1.39(m,1H),1.37-1.25(m,2H),1.21-0.98(m,4H),0.78-0.69(m,6H)。LCMS:(方法E)537.8(M^++H),Rt.3.24min,99.72％(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.2.78min,99.44％(最大)。

[0914] 两种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[0915] 中间体61

[0916] 三苯甲基-D-丝氨酸甲酯

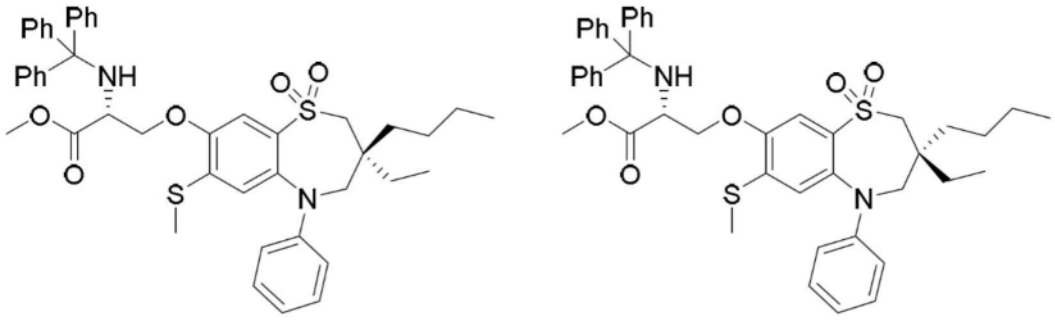
[0917] 

[0918] 在0℃下,向D-丝氨酸甲酯盐酸盐(2g,12.8mmol)于DCM(10mL)中的搅拌溶液中添加三乙胺(6.1mL,45.9mmol)。随后添加三苯甲基氯(4.26g,15.3mmol)且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用水(20mL)淬灭且用DCM(2×30mL)萃取水层。将合并的有机层用水(30mL)及盐水(30mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:27％EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:95％(2.5g,白色固体)。

[0919] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.43(d,J＝8.0Hz,6H),7.29(t,J＝8.0Hz,6H),7.20(t,J＝7.2Hz,3H),4.95-4.92(m,1H),3.63-3.51(m,1H),3.46-3.40(m,1H),3.24-3.18(m,1H),3.13(s,3H),2.82-2.71(m,1H)。

[0920] 中间体62

[0921] O-((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-N-三苯甲基-D-丝氨酸甲酯及O-((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-N-三苯甲基-D-丝氨酸甲酯

[0922] 

[0923] 非对映异构体1

[0924] 在0℃下,向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体1(中间体23;400mg,0.95mmol)于甲苯(10mL)中的搅拌溶液中添加三苯基膦(533mg,1.90mmol)及三苯甲基-D-丝氨酸甲酯(中间体61;460mg,1.14mmol),且将反应混合物搅拌5分钟。随后添加DIAD(320mg,1.42mmol)且将反应混合物在90℃下加热4小时。反应完成后(通过TLC监测),真空浓缩反应混合物且将所

获得的残余物用水(10mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:20%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:98%(740mg,灰白色固体)。

[0925] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):7.47-7.42(m,6H),7.33-7.27(m,7H),7.24-7.20(m,6H),6.98(d,J=8.0Hz,2H),6.86(t,J=7.2Hz,1H),6.69(s,1H),4.33-4.19(m,1H),4.01-4.07(m,1H),3.74(bs,2H),3.69-3.59(m,1H),3.23(s,2H),3.21(s,3H),2.14(s,3H),1.65-1.51(m,1H),1.52-1.41(m,1H),1.41-1.36(m,2H),1.23-0.95(m,4H),0.84-0.73(m,6H)。

[0926] 非对映异构体2

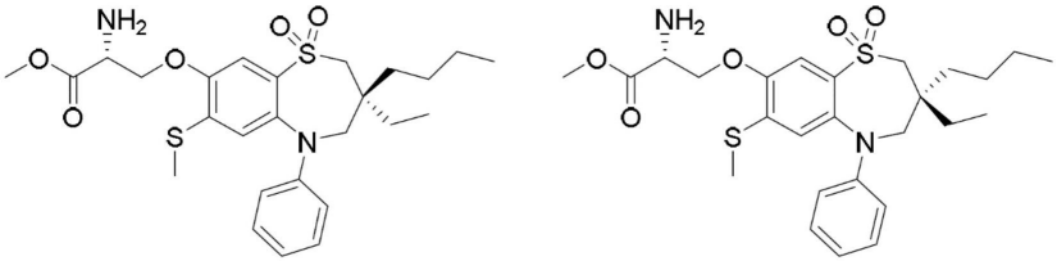
[0927] 在0℃下,向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体2(中间体23;400mg,0.95mmol)于甲苯(10mL)中的搅拌溶液中添加三苯基膦(533mg,1.90mmol)及三苯甲基-D-丝氨酸甲酯(中间体61;460mg,1.14mmol),且将反应混合物搅拌5分钟。随后逐滴添加DIAD(320mg,1.42mmol)且将反应混合物在90℃下加热4小时。反应完成后(通过TLC监测),真空浓缩反应混合物且使所获得的残余物分配于水(10mL)与EtOAc(10mL)之间。用EtOAc(2×10mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:20%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:82%(600mg,灰白色固体)。

[0928] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):7.47-7.42(m,6H),7.33-7.27(m,7H),7.24-7.20(m,6H),6.98(d,J=8.0Hz,2H),6.86(t,J=7.2Hz,1H),6.69(s,1H),4.33-4.19(m,1H),4.01-4.07(m,1H),3.74(bs,2H),3.69-3.59(m,1H),3.23(s,2H),3.21(s,3H),2.14(s,3H),1.65-1.51(m,1H),1.52-1.41(m,1H),1.41-1.36(m,2H),1.23-0.95(m,4H),0.84-0.73(m,6H)。

[0929] 两种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[0930] 中间体63

[0931] O-((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-D-丝氨酸甲酯及O-((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-D-丝氨酸甲酯

[0932] 

[0933] 非对映异构体1

[0934] 在0℃下,向O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-N-三苯甲基-D-丝氨酸甲酯的非对映异构体1(中间体62;740mg,0.98mmol)于DCM(10mL)中的搅拌溶液中添加TFA(1mL),且将反应混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物倒入冰冷水(10mL)中且用EtOAc(2×15mL)萃取水层。将合并的有机层用水(15mL)及盐水(15mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过

滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:5-10%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:79%(400mg,灰白色固体)。

[0935] LCMS:(方法F)521.2(M^++H),Rt.0.21min,58.92%(最大)。

[0936] 非对映异构体2

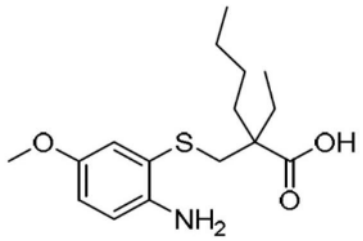
[0937] 在0℃下,向O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-N-三苯甲基-D-丝氨酸甲酯的非对映异构体2(中间体62;600mg,0.78mmol)于DCM(6mL)中的搅拌溶液中添加TFA(1mL),且将反应混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物倒入冰冷水(10mL)中且用EtOAc(2×15mL)萃取水层。将合并的有机层用水(15mL)及盐水(15mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:5-10%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:90%(370mg,灰白色固体)。

[0938] LCMS:(方法E)521.2(M^++H),Rt.2.57min,59.57%(最大)。

[0939] 两种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[0940] 中间体64

[0941] 2-(((2-氨基-5-甲氧基苯基)硫基)甲基)-2-乙基己酸

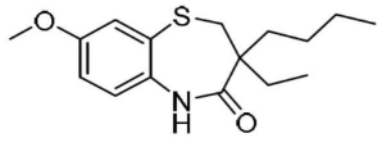
[0942] 

[0943] 向6-甲氧基苯并[d]噻唑-2-胺(270g,1.498mol)于水(2700mL)中的搅拌溶液中添加KOH(1345g,23.96mol),且将反应混合物在120℃下搅拌16小时。反应完成后(通过LCMS监测),使反应混合物冷却至室温。随后逐滴添加2-(溴甲基)-2-乙基己酸(533g,2.25mol)于THF(1000mL)中的溶液,且将所得反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过LCMS监测),使反应混合物冷却至0℃且用浓HCl(pH约2)酸化。用EtOAc(2×4000mL)萃取反应混合物,且将合并的有机层用水(1000mL)及盐水(1000mL)洗涤。有机部分随后经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩,得到粗物质,其不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产量:590g(粗物质,棕色胶状物)。

[0944] LCMS:(方法A)312.1(M^++H),Rt.2.24min,97.34%(最大)。

[0945] 中间体65

[0946] 3-丁基-3-乙基-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

[0947] 

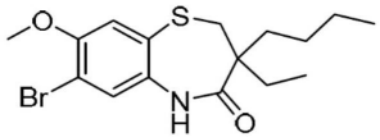
[0948] 在0℃下,向2-(((2-氨基-5-甲氧基苯基)硫基)甲基)-2-乙基己酸(中间体64;590g,1.89mol)于EtOAc(2500mL)中的搅拌溶液中逐滴添加三乙胺(530mL,3.78mol)及1-丙烷膦酸酐溶液(50%EtOAc溶液;785g,2.46mol),且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过LCMS监测),添加水(2000mL)至反应混合物且用EtOAc(2×2000mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(800mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过用甲醇洗涤纯

化粗物质,得到标题化合物。产率:48%(265g,灰白色固体)。

[0949] ^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6):δ9.53(s,1H),7.04-7.01(m,2H),6.87-6.86(m,1H),3.72(s,3H),2.50(s,2H),1.68-1.66(m,4H),1.50-1.48(m,4H),0.79-0.72(m,6H)。LCMS:(方法A)294.3(M^++H),Rt.2.68min,99.47%(最大)。

[0950] 中间体66

[0951] 7-溴-3-丁基-3-乙基-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

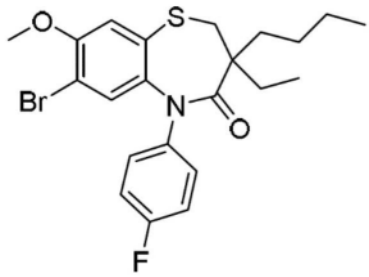
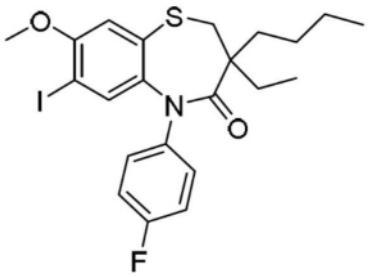
[0952] 

[0953] 向3-丁基-3-乙基-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体65;265g,0.903mol)于DCM及乙腈的1:1混合物(2650mL)中的搅拌溶液中逐份添加N-溴代琥珀酰亚胺(209g,1.17mol),且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),浓缩反应混合物。将所获得的粗物质用冷乙腈处理且搅拌30分钟。将所获得的沉淀物滤出且用冷乙腈(2×100mL)洗涤并真空干燥,得到标题化合物。产率:179g(79%,粗物质,棕色固体)。

[0954] ^{1}H NMR(300MHz,DMSO-d_6):δ9.61(s,1H),7.33(s,1H),7.10(s,1H),3.82(s,3H),2.98(s,2H),1.70-1.68(m,4H),1.48-1.45(m,4H),0.84-0.82(m,6H)。LCMS:(方法A)372.0(M^++H),Rt.2.83min,99.20%(最大)。

[0955] 中间体67

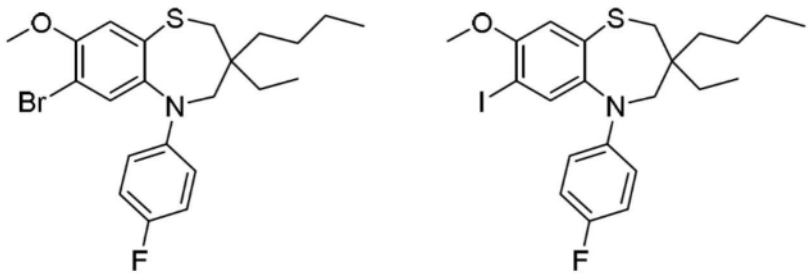
[0956] 7-溴-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮及3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

[0957]   向7-溴-3-丁基-3-乙基-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体66;15g,40.2mmol)于1-氟-4-碘苯(50mL)中的搅拌溶液中添加碘化铜(I)(1.58g,0.8mmol)及K_2CO_3(11g,80.5mmol),且将反应混合物用氮气净化20分钟以脱气。随后在氮气氛围下添加三[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]胺(1.3mL,4.0mmol),且将所得反应混合物在135℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),经由硅藻土过滤反应混合物且用EtOAc(200mL)洗涤硅藻土垫。将滤液用水(100mL)及盐水(75mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:5%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:64%(12.2g,灰白色固体)。

[0958] LCMS:(方法E)对于经7-溴取代的化合物为467.1(M^++2),且对于经7-碘取代的化合物为514.1(M^++H)),Rt.3.33min,92.83%(最大)。

[0959] 中间体68

[0960] 7-溴-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯及3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯

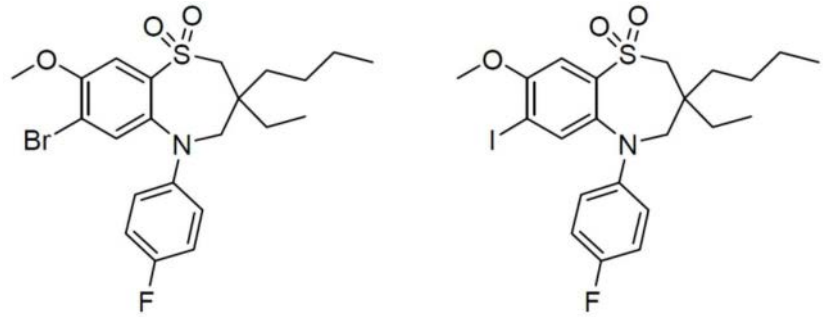
[0961] 

[0962] 在0℃下,向7-溴-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮及3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮的混合物(中间体67;12g,25.7mmol)于THF(100mL)中的搅拌溶液中逐滴添加硼烷二甲基硫醚(2M THF溶液;38mL,77mmol),且使反应混合物在65℃下回流16小时。反应完成后(通过TLC监测),使反应混合物冷却至0℃,用甲醇(20mL)淬灭且在65℃下加热2小时。随后使所得反应混合物冷却至室温且真空浓缩。用水(100mL)稀释残余物且用DCM(2×100mL)萃取水层。随后将合并的有机层用水(50mL)及盐水(50mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真空浓缩有机部分,且所得粗物质不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产量:10g(粗物质,黑色胶状物)。

[0963] LCMS:(方法E)对于经7-溴取代的化合物为451.8(M^++H),且对于经7-碘取代的化合物为499.7(M^++H),Rt.3.78min,75.13%(最大)。

[0964] 中间体69

[0965] 7-溴-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

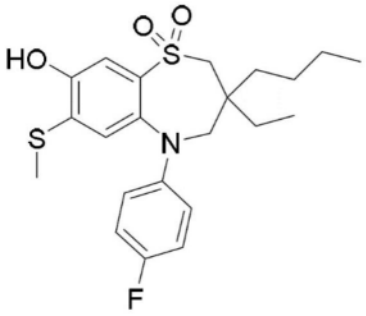
[0966] 

[0967] 在0℃下,向7-溴-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯及3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯的混合物(中间体68;10g,26.6mmol)于THF(100mL)及水(60mL)中的搅拌溶液中添加单过硫酸氢钾(81g,26.6mmol)。将所得反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),经由布赫纳漏斗滤出反应混合物且用EtOAc(2×200mL)萃取滤液,将合并的有机层用水(100mL)及盐水(100mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:15%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:54%(7g,白色固体)。

[0968] LCMS:(方法E)对于经7-溴取代的化合物为486.0(M^++2),且对于经7-碘取代的化合物为532.0(M^++H),Rt.2.87min,91.53%(最大)。

[0969] 中间体70

[0970] 3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

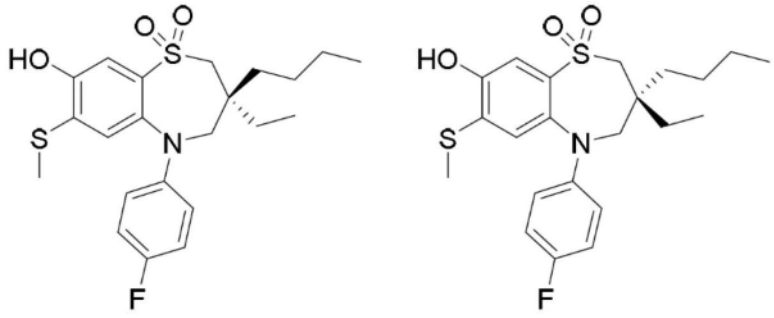
[0971] 

在室温下,向7-溴-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-碘-8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的混合物(中间体69;3g,6.2mmol)于DMF(16mL)中的搅拌溶液中添加甲硫醇钠(2.1g,31mmol),且将反应混合物在65℃下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),使反应混合物冷却至室温且用水(25mL)淬灭。用EtOAc(2×50mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(20mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:10%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:77%(2.13g,棕色固体)。

[0972] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.49(s,1H),7.28(s,1H),7.06-6.96(m,4H),6.61(s,1H),3.62(bs,2H),3.21(s,2H),2.17(s,3H),1.61-1.25(m,4H),1.20-1.01(m,4H),0.81-0.74(m,6H)。LCMS:(方法A)438.1(M^++H),Rt.2.78min,87.79%(最大)。

[0973] 对映异构体的分离:

[0974] (S)-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢苯并-1,5-硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物及(R)-3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢苯并-1,5-硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[0975] 

[0976] 通过手性SFC(方法H)分离外消旋3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(2.8g,0.01mol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

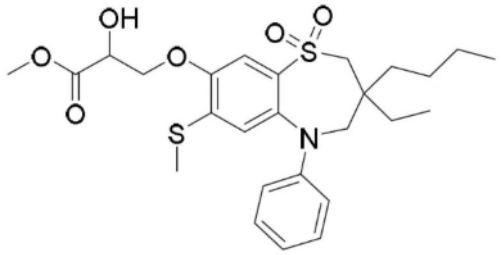
[0977] 对映异构体1:产率:35.7%(1.0g,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.49(s,1H),7.28(s,1H),7.07-6.98(m,4H),6.61(s,1H),3.62(s,2H),3.21(s,2H),2.17(s,

3H),1.50-1.34(m,4H),1.29-1.11(m,4H),0.76-0.74(m,6H)。LCMS:(方法E)438.1(M^++H),Rt.3.01min,96.38%。HPLC:(方法B)Rt.5.80min,98.35%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.2.46min,100%(最大)。

[0978] 对映异构体2:产率:39.2%(1.1g,白色固体)。LCMS:(方法E)438.1(M^++H),Rt.3.04min,96.52%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.3.17min,99.68%(最大)。

[0979] 中间体71

[0980] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯

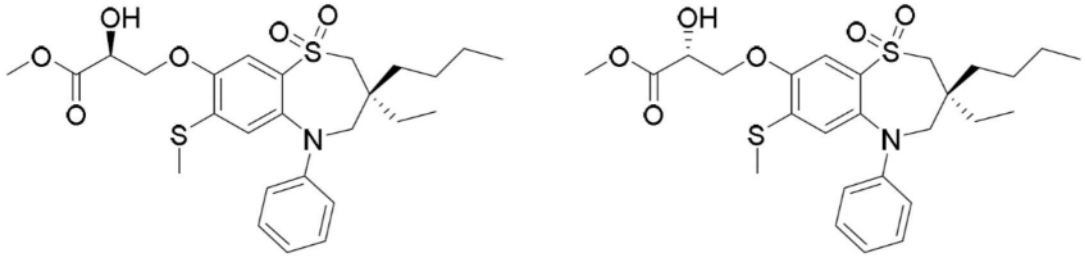
[0981] 

[0982] 向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体22;400mg,0.95mmol)于DMF(4mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(621mg,1.90mmol)及甲基-环氧乙烷-2-甲酸酯(291mg,2.85mmol)。将反应混合物在室温下搅拌16小时。起始物质70-80%转化之后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(5mL)淬灭且用水(5mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:30%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:60%(300mg,黄色胶状物)。

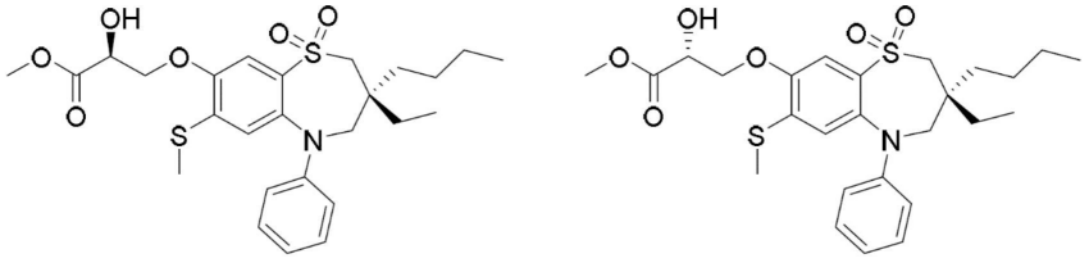
[0983] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.34(s,1H),7.22(t,J=10.0Hz,2H),6.98(d,J=10.0Hz,2H),6.86(t,J=9.6Hz,1H),6.69(s,1H),5.89(d,J=8.0Hz,1H),4.47(t,J=6.0Hz,1H),4.27(d,J=5.2Hz,2H),3.68(s,3H),3.60-3.55(m,2H),3.27(s,2H),2.15(s,3H),1.81-1.70(m,1H),1.60-1.25(m,3H),1.22-0.95(m,4H),0.85-0.65(m,6H)。LCMS:(方法F)522.3(M^++H),Rt.2.76min,98.34%(最大)。

[0984] 中间体72

[0985] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯(单独的非对映异构体)



[0986]



[0987] 非对映异构体1及2

[0988] 向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体1(中间体23;400mg,0.95mmol)于DMF(4mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(621mg,1.90mmol)及甲基-环氧乙烷-2-甲酸酯(291mg,2.85mmol)。将反应混合物在室温下搅拌48小时。反应70-80%完成之后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(5mL)淬灭且用水(5mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层,随后将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:30%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:60%(300mg,棕色胶状物)。LCMS:(方法E)522.1(M^++H),Rt.3.03min,98.51%(最大)。

[0989] 通过手性SFC仪器(方法N)分离两种非对映异构体(290mg,0.55mmol)。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于非对映异构体1且第二洗脱级分对应于非对映异构体2。

[0990] 非对映异构体3及4

[0991] 遵循相同程序,以400mg的中间体23的对映异构体2起始,获得标题化合物的非对映异构体3及4的混合物。产率:49%(280mg,棕色胶状物)。

[0992] LCMS:(方法F)522.2(M^++H),Rt.2.759min,99.04%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.681min,98.07%(最大)。

[0993] 通过手性SFC仪器(方法G)分离两种非对映异构体(270mg,0.52mmol)。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于非对映异构体3且第二洗脱级分对应于非对映异构体4。

[0994] 非对映异构体1:产率:37%(110mg,淡棕色胶状物)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ 7.34(s,1H),7.22(t,J=8.4Hz,2H),6.98(d,J=7.6Hz,2H),6.86(t,J=7.2Hz,1H),6.69(s,1H),5.90(d,J=6.0Hz,1H),4.50-4.47(m,1H),4.27(t,J=2.4Hz,2H),3.69(s,5H),3.27(s,2H),2.15(s,3H),1.65-1.40(m,2H),1.36-1.31(m,2H),1.13-1.08(m,4H),0.79-0.74(m,6H)。LCMS:(方法E)522.1(M^++H),Rt.3.03min,96.69%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.604min,97.44%(最大)。手性SFC:(方法N)Rt.2.93min,99.72%(最大)。

[0995] 非对映异构体2:产率:37%(110mg,淡棕色胶状物)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ 7.34(s,1H),7.22(t,J=10.4Hz,2H),6.98(d,J=10.4Hz,2H),6.87(d,J=10.0Hz,1H),

6.69(s,1H),5.89(d,J＝8.0Hz,1H),4.49-4.47(m,1H),4.27-4.26(m,2H),3.69(s,5H),3.27(s,2H),2.15(s,3H),1.62-1.50(m,1H),1.50-1.28(m,3H),1.20-0.90(m,4H),0.82-0.70(m,6H)。LCMS:(方法E)522.1(M^++H),Rt.3.039min,97.48%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.604min,99.06%(最大)。手性SFC:(方法N)Rt.3.76min,98.78%(最大)。

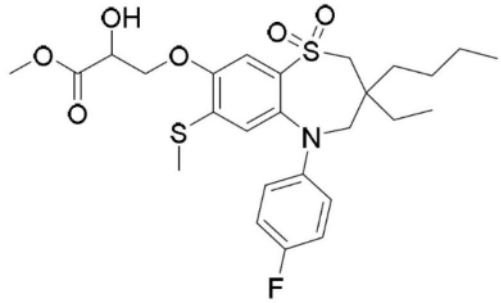
[0996] 非对映异构体3:产率:37%(100mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.34(s,1H),7.22(t,J＝10.0Hz,2H),6.98(d,J＝10.8Hz,2H),6.86(t,J＝9.2Hz,1H),6.69(s,1H),5.89(d,J＝7.6Hz,1H),4.55-4.45(m,1H),4.30-4.20(m,2H),3.68(s,5H),3.29-3.27(m,2H),2.15(s,3H),1.60-1.50(m,2H),1.50-1.30(m,2H),1.20-0.95(m,4H),0.80-0.70(m,6H)。LCMS:(方法E)522.0(M^++H),Rt.3.05min,95.91%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.74min,99.94%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.3.09min,99.20%(最大)。

[0997] 非对映异构体4:产率:37%(100mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.34(s,1H),7.22(t,J＝9.6Hz,2H),6.99(d,J＝9.6Hz,2H),6.87(s,1H),6.69(s,1H),5.90(d,J＝7.2Hz,1H),4.48(d,J＝6.8Hz,1H),4.27(s,2H),3.69-3.67(m,5H),3.27(s,2H),2.15(s,3H),1.60-1.50(m,2H),1.45-1.30(m,2H),1.20-1.00(m,4H),0.79-0.73(m,6H)。LCMS:(方法E)522.0(M^++H),Rt.3.06min,95.26%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.74min,93.32%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.5.13min,99.07%(最大)。

[0998] 四种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[0999] 中间体73

[1000] 3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯

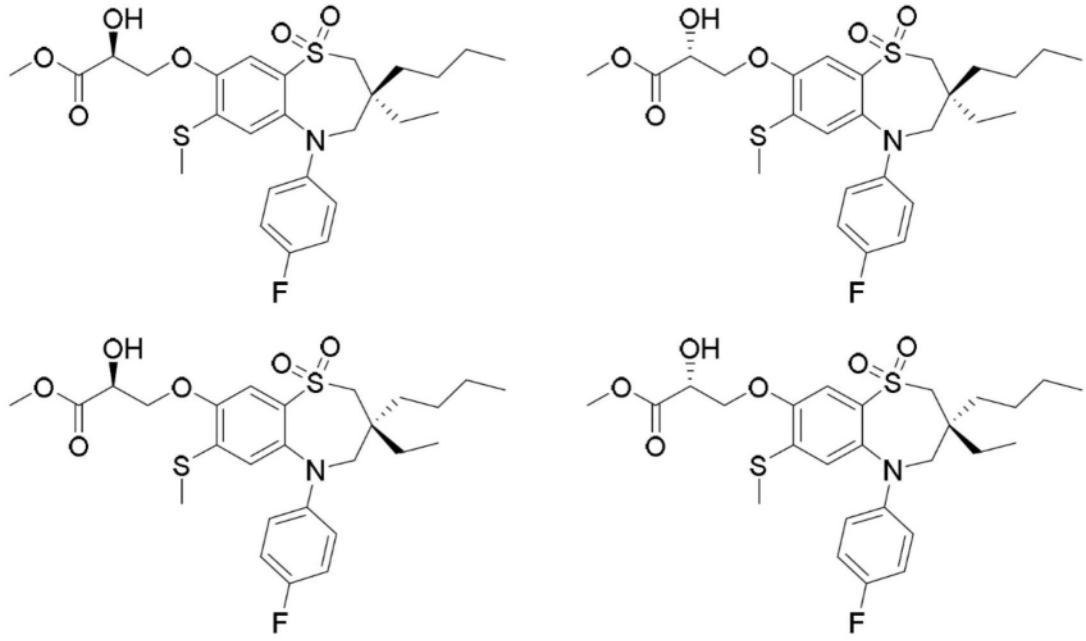
[1001] 

[1002] 向3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体70;100mg,0.22mmol)于DMF(3mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(148mg,4.40mmol)及甲基-环氧乙烷-2-甲酸酯(26mg,0.26mmol)。随后将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应约70%完成之后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,5mL)淬灭且进一步用水(5mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:45%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:82%(60mg,棕色固体)。

[1003] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.33(s,1H),7.11-7.07(m,4H),6.61(s,1H),5.87-5.84(m,1H),4.48(d,J＝5.6Hz,1H),4.25(t,J＝2.8Hz,2H),3.76(s,3H),3.69-3.68(m,2H),3.33-3.29(m,2H),2.15(s,3H),1.52-1.51(m,2H),1.38-1.33(m,2H),1.18-1.10(m,4H),0.78-0.76(m,6H)。LCMS:(方法E)540.0(M^++H),Rt.3.03min,76.03%(最大)。

[1004] 中间体74

[1005] 3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯(单独的非对映异构体)

[1006] 

[1007] 非对映异构体1及2

[1008] 向3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体1(中间体70;160mg,0.36mmol)于DMF(3mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(230mg,0.73mmol)及甲基-环氧乙烷-2-甲酸酯(44mg,0.43mmol)。随后将反应混合物在室温下搅拌48小时。反应70-80%完成之后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,5mL)淬灭且用水(5mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤,有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:30-40%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:40%(80mg,棕色胶状物)。

[1009] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.41(s,1H),7.08-7.04(m,2H),7.03-7.06(m,2H),6.55(s,1H),4.57-4.56(m,1H),4.46(t,J=5.6Hz,2H),3.87(s,3H),3.75-3.65(m,2H),3.19-3.17(m,2H),2.17(s,3H),1.79-1.61(m,2H),1.49-1.42(m,2H),1.28-1.20(m,2H),1.18-1.10(m,2H),0.85-0.79(m,6H)。LCMS:(方法E)540.1(M^++H),Rt.3.03min,95.30%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.70min,93.00%(最大)。

[1010] 通过手性SFC仪器(方法G)分离两种非对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于非对映异构体1且第二洗脱级分对应于非对映异构体2。

[1011] 非对映异构体3及4

[1012] 遵循相同程序,以160mg的中间体70的对映异构体2起始,获得标题化合物的非对映异构体3及4的混合物。产率:40%(80mg,棕色胶状物)。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.41(s,1H),7.29-6.97(m,4H),6.55(s,1H),4.57-4.55(m,1H),4.39-4.38(m,2H),3.80(s,3H),3.78-3.60(m,2H),3.19-3.15(m,2H),2.17(s,3H),1.49-1.40(m,4H),1.27-1.20(m,2H),1.18-1.10(m,2H),0.80-0.78(m,6H)。LCMS:(方法E)540.0(M^++H),Rt.3.04min,95.89%(最

大)。HPLC:(方法B)Rt.5.75min,93.07%(最大)。

[1013] 通过手性SFC仪器(方法G)分离两种非对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于非对映异构体3且第二洗脱级分对应于非对映异构体4。

[1014] 非对映异构体1:产率:37%(30mg,棕色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.33(s,1H),7.09-7.07(m,4H),6.61(s,1H),5.89(d,J=6.0Hz,1H),4.48-4.48(m,1H),4.28-4.26(m,2H),3.68-3.51(m,5H),3.37-3.35(m,2H),2.15(s,3H),1.61-1.52(m,1H),1.38-1.31(m,3H),1.24-1.01(m,4H),0.78-0.72(m,6H)。LCMS:(方法E)540.0(M^++H),Rt.3.05min,99.79%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.75min,99.24%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.1.4min,99.58%(最大)。

[1015] 非对映异构体2:产率:37%(30mg,棕色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):7.33(s,1H),7.09-7.07(m,4H),6.61(s,1H),5.89(d,J=6.0Hz,1H),4.49-4.48(m,1H),4.26-4.26(m,2H),3.68-3.51(m,5H),3.37-3.35(m,2H),2.15(s,3H),1.50-1.41(m,1H),1.38-1.31(m,3H),1.24-1.01(m,4H),0.78-0.75(m,6H)。LCMS:(方法E)540.0(M^++H),Rt.3.05min,99.10%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.76min,97.56%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.2.16min,99.40%(最大)。

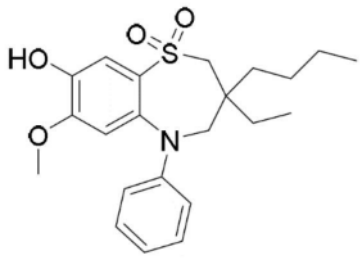
[1016] 非对映异构体3:产率:12%(10mg,棕色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.33(s,1H),7.09-7.07(m,4H),6.61(s,1H),5.88(d,J=6.0Hz,1H),4.48-4.47(m,1H),4.26-4.24(m,2H),3.69-3.68(m,5H),3.33-3.21(m,2H),2.15(s,3H),1.68-1.50(m,1H),1.42-1.38(m,3H),1.35-1.01(m,4H),0.76-0.72(m,6H)。LCMS:(方法E)540.0(M^++H),Rt.2.39min,99.79%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.72min,99.52%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.2.01min,98.91%(最大)。

[1017] 非对映异构体4:产率:12%(10mg,棕色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.33(s,1H),7.09-7.07(m,4H),6.61(s,1H),5.88(d,J=5.2Hz,1H),4.49-4.45(m,1H),4.27-4.24(m,2H),3.69-3.68(m,5H),3.33-3.21(m,2H),2.15(s,3H),1.68-1.50(m,1H),1.42-1.38(m,3H),1.34-1.01(m,4H),0.78-0.74(m,6H)。LCMS:(方法E)540.0(M+H),Rt.3.04min,99.30%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.72min,98.98%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.3.78min,98.58%(最大)。

[1018] 四种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[1019] 中间体75

[1020] 3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[1021] 

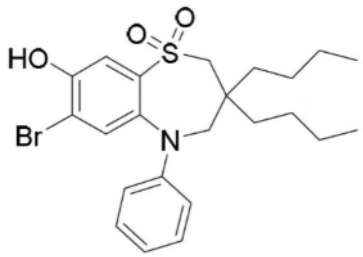
[1022] 在室温下,向7-溴-3-丁基-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(1g,2.21mmol)于甲醇钠(21%,4.42mL,4.42mmol)中的搅拌溶液

中添加CuBr(0.1g,0.31mmol),且将所得混合物在85℃下加热6小时。反应完成后(通过TLC监测),真空浓缩反应混合物且使所得粗物质分配于EtOAc(25mL)与水(25mL)之间。用EtOAc(2×25mL)萃取水层,且随后将合并的有机层用盐水(25mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真空浓缩有机部分且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:5%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:41%(0.36g,浅粉红色固体)。

[1023] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ9.71(s,1H),7.29(s,1H),7.19(t,J=7.6Hz,2H),6.92(d,J=8.0Hz,2H),6.80(t,J=7.6Hz,1H),6.54(s,1H),3.63(s,3H),3.16(s,2H),2.45(s,2H),1.62-1.51(m,2H),1.40-1.31(m,2H),1.28-1.18(m,4H),0.78-0.74(m,6H)。LCMS:(方法A)404.2(M+H),Rt.2.64min,94.56%(最大)。

[1024] 中间体76

[1025] 7-溴-3,3-二丁基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

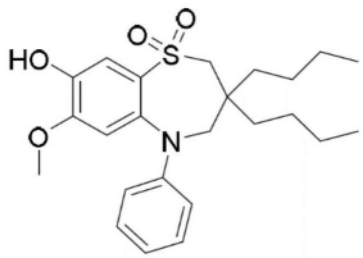
[1026] 

[1027] 在0℃下,向7-溴-3,3-二丁基-8-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(0.8g,1.62mmol)于DCM(20mL)中的搅拌溶液中逐滴添加BBr_3(0.78mL,8.1mmol),且将反应混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),使反应混合物冷却至0℃。逐滴添加EtOAc(10mL)及冰冷水(5mL)且在室温下搅拌混合物1小时。随后使反应混合物分配于水(15mL)与DCM(15mL)之间,且用DCM(3×15mL)萃取水层。将合并的有机部分用盐水(15mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。所得粗物质不经任何进一步纯化即原样转移至下一步骤。产率:90%(700mg,粗物质,灰白色固体)。

[1028] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.83(s,1H),7.46(s,1H),7.23(t,J=8.0Hz,2H),7.07(s,1H),6.99(d,J=7.6Hz,2H),6.88(t,J=7.2Hz,1H),3.80-3.72(m,2H),3.27(s,2H),1.34-1.31(m,4H),1.13-0.99(m,8H),0.75-0.72(m,6H)。LCMS:(方法A)480.1(M^+),Rt.3.19min,89.95%(最大)。

[1029] 中间体77

[1030] 3,3-二丁基-8-羟基-7-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[1031] 

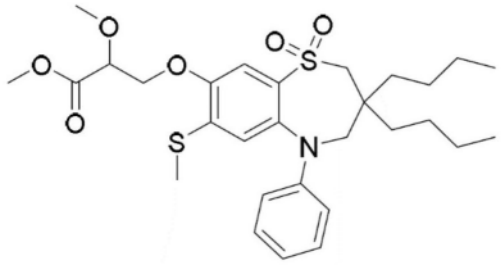
[1032] 在室温下,向7-溴-3,3-二丁基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体76;0.9g,1.87mmol)于甲醇钠(21%,10mL,10.2mmol)中的

搅拌溶液中添加CuBr(0.15g,1.05mmol),且将所得混合物在85℃下加热6小时。反应完成后(通过TLC监测),真空浓缩反应混合物且使所得粗物质分配于EtOAc(25mL)与水(25mL)之间。用EtOAc(2×25mL)萃取水层,且将合并的有机层用盐水(25mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真空浓缩有机部分且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:5%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:78%(0.63g,淡粉红色胶状物)。

[1033] UPLC:(方法A)432.5(M+H),Rt.1.93min,90.07%(最大)。

[1034] 中间体78

[1035] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸甲酯

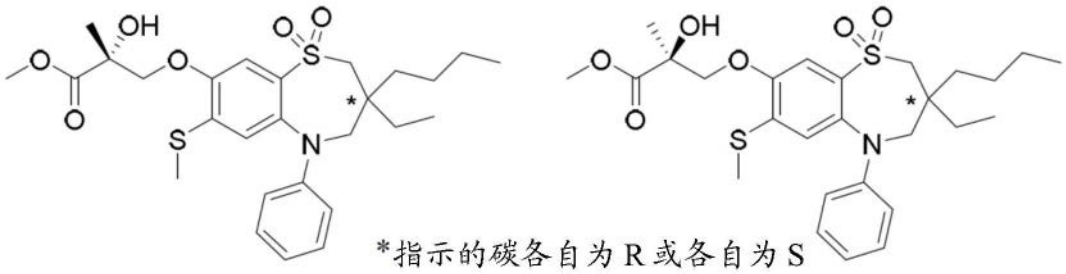
[1036] 

[1037] 在0℃下,向氢化钠(60%,7.2mg,0.18mmol)于DMF(1mL)中的悬浮液中添加3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯(中间体20;200mg,0.36mmol)于DMF(3mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌15分钟。随后逐滴添加碘代甲烷(0.12mL,2.3mmol)于DMF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,1mL)淬灭且进一步用水(1mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:20-30%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:48%(100mg,棕色固体)。

[1038] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.32(s,1H),7.25-7.20(m,2H),7.01(d,J=8.0Hz,2H),6.88(t,J=9.6Hz,1H),6.65(s,1H),4.39-4.26(m,2H),4.04-4.01(m,1H),3.77(s,3H),3.47-3.45(m,5H),3.33-3.20(m,2H),2.13(s,3H),1.40-1.26(m,4H),1.20-1.03(m,8H),0.78-0.76(m,6H)。LCMS:(方法E)564.1(M+H),Rt.3.35min,95.11%(最大)。

[1039] 中间体79

[1040] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯(单独的非对映异构体)

[1041] 

[1042] 向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体2(中间体23,250mg,0.59mmol)于DMF(5mL)中的搅

拌溶液中添加Cs_2CO_3(0.38g,1.19mmol),且将反应混合物在室温下搅拌15分钟。随后添加2-甲基缩水甘油酸甲酯(0.2g,1.78mmol)且将反应混合物在室温下搅拌72小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,5mL)淬灭且用水(5mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:15%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:60%(150mg,无色胶状物)。

[1043] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.31(s,1H),7.21-7.19(m,2H),6.99-6.96(m,3H),6.68(s,1H),4.15-4.12(m,3H),3.89-3.59(m,4H),3.26(s,2H),2.14(s,3H),1.55-1.33(m,5H),1.28-1.15(m,6H),0.85-0.71(m,6H)。LCMS:(方法E)536.2(M^++H),Rt.3.05min,99.11%(最大)。

[1044] 通过SFC(方法H)分离两种非对映异构体(150mg,0.28mmol)。第一洗脱级分对应于非对映异构体1且第二洗脱级分对应于非对映异构体2。在40℃下真空浓缩物质。随后分别处理两个洗脱级分中的各者以便进一步纯化。将所获得的残余物用稀HCl(1.5N,pH约4)酸化,且用EtOAc(3×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤且在40℃下真空浓缩,得到标题化合物的纯化非对映异构体。

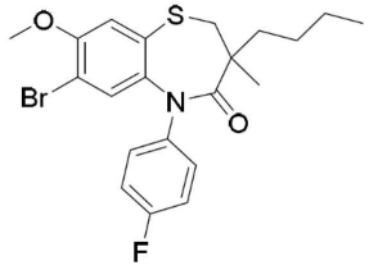
[1045] 非对映异构体1:产率:33%(50mg,灰白色固体)。LCMS:(方法E)535.8(M^++H),Rt.2.69min,97.06%(最大)。手性SFC:(方法F)Rt.1.94min,100%(最大)。

[1046] 非对映异构体2:产率:33%(50mg,灰白色固体)。LCMS:(方法E)535.8(M^++H),Rt.2.69min,96.50%(最大)。手性SFC:(方法F)Rt.3.20min,100%(最大)。

[1047] 两种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[1048] 中间体80

[1049] 7-溴-3-丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-3-甲基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮

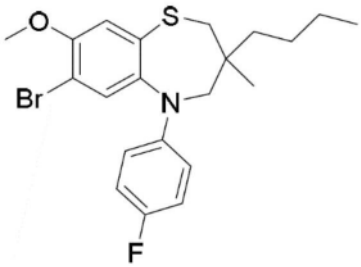
[1050] 

[1051] 向7-溴-3-丁基-8-甲氧基-3-甲基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体31;5g,14mmol)于1-溴-4-氟苯(50mL)中的溶液中添加干燥K_2CO_3(3.9g,28mmol)、CuI(0.26g,1.4mmol)及三[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]胺(0.9g,2.8mmol),且将反应混合物在135℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),真空浓缩反应混合物。随后使所获得的残余物分配于水(25mL)与EtOAc(25mL)之间。用EtOAc(2×100mL)萃取水性部分,且将合并的有机层用冰冷水(100mL)及盐水(100mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。将所获得的残余物用石油醚研磨。随后将所得固体滤出且干燥,得到标题化合物。产率:85%(5.5g,浅棕色固体)。

[1052] LCMS:(方法E)451.9(M^++H),Rt.3.26min,81.86%(最大)。

[1053] 中间体81

[1054] 7-溴-3-丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-3-甲基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯

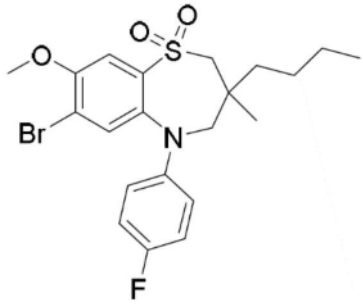
[1055] 

[1056] 在0℃下,向7-溴-3-丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-3-甲基-2,3-二氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-4(5H)-酮(中间体80;5.2g,11.5mmol)于THF(50mL)中的溶液中添加硼烷二甲基硫醚(1M THF溶液,58mL,58mmol),且将反应混合物在75℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),使反应混合物冷却至0℃,添加甲醇(60mL)且将反应混合物在60℃下加热2小时。随后使反应混合物冷却至室温,真空浓缩且使所获得的残余物分配于水(50mL)与EtOAc(50mL)之间。用EtOAc(2×100mL)萃取水层,且将合并的有机层用冰冷水(100mL)及盐水(100mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩,得到标题化合物。产量:5.3g(粗物质,无色胶状物)。

[1057] LCMS:(方法E)439.9(M^++H),Rt.3.55min,87.61%(最大)。

[1058] 中间体82

[1059] 7-溴-3-丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-3-甲基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

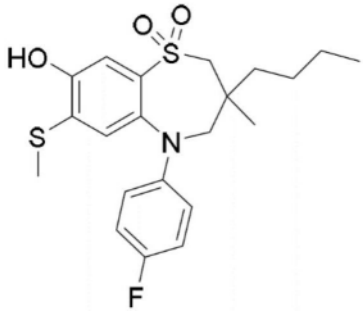
[1060] 

[1061] 向7-溴-3-丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-3-甲基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯(中间体81;5.3g,12.1mmol)于THF及水的混合物(8:2,55mL)中的溶液中添加单过硫酸氢钾(37.16g,120.8mmol),且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),用EtOAc(2×100mL)萃取水层,且将合并的有机层用冰冷水(100mL)及盐水(100mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:15%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:75%(4.3g,白色固体)。

[1062] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.45(s,1H),7.21(s,1H),7.12-7.05(m,4H),3.93(s,3H),3.85-3.61(m,2H),3.29(s,2H),1.52-1.39(m,1H),1.37-1.26(m,1H),1.25-1.03(m,4H),0.98(s,3H),0.81-0.74(m,3H)。LCMS:(方法E)470.1(M^+),Rt.3.21min,98.04%(最大)。

[1063] 中间体83

[1064] 3-丁基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

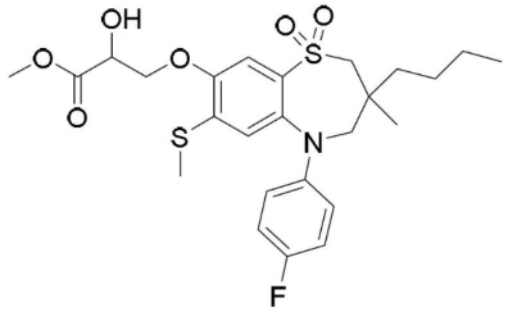
[1065] 

[1066] 向7-溴-3-丁基-5-(4-氟苯基)-8-甲氧基-3-甲基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体82;4.3g,9.14mmol)于DMF(43mL)中的溶液中添加甲硫醇钠(3.2g,45.7mmol),且将反应混合物在80℃下搅拌12小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(25mL)淬灭且用EtOAc(2×50mL)萃取水层。将合并的有机层用冰冷水(50mL)及盐水(50mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真空浓缩有机部分且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:30%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:90%(3.5g,灰白色固体)。

[1067] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ10.57(s,1H),7.31(s,1H),7.04-6.98(m,2H),6.92-6.88(m,2H),6.71(s,1H),3.81-3.65(m,2H),3.34-3.20(m,2H),2.20(s,3H),1.55-1.39(m,1H),1.38-1.05(m,5H),0.99(s,3H),0.81-0.77(m,3H)。LCMS:(方法E)424.2(M^++H),Rt.2.78min,98.08%(最大)。

[1068] 中间体84

[1069] 3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯

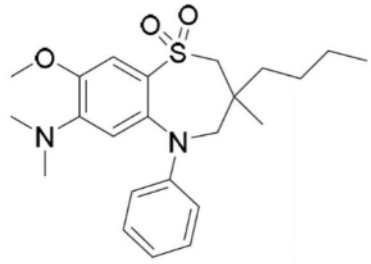
[1070] 

[1071] 向3-丁基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体83;200mg,0.47mmol)于DMF(3mL)中的搅拌溶液中添加Cs_2CO_3(300mg,0.94mmol),且将反应混合物在0℃下搅拌15分钟。随后添加β-丙内酯(144mg,1.41mmol)且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,2mL)淬灭且用水(2mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:25-30%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质。产率:64%(160mg,棕色胶状物)。

[1072] LCMS:(方法E)526.0(M^++H),Rt.2.94min,99.11%(最大)。

[1073] 中间体85

[1074] 3-丁基-7-(二甲基氨基)-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

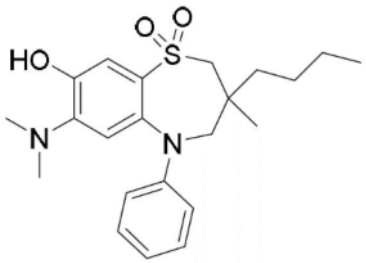
[1075] 

[1076] 向高压釜中7-溴-3-丁基-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体34;1g,2.2mmol)于1,4-二噁烷(8mL)中的脱气溶液中添加叔丁醇钠(570mg,4.4mmol)、xantphos(127mg,0.22mmol)及二甲胺(2M THF溶液,10mL,10体积),且将反应混合物进一步脱气另外15分钟。随后添加$pd_2(dba)_3$(101mg,0.11mmol)且将反应混合物在100℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),经由硅藻土过滤反应混合物且用EtOAc(25mL)洗涤硅藻土垫。真空浓缩滤液部分且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:0-24%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:76%(0.7g,棕色固体)。

[1077] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.29(s,1H),7.17(t,J=8.0Hz,2H),6.91(d,J=8.0Hz,2H),6.77(s,1H),6.43(s,1H),3.86(s,3H),3.81-3.72(m,2H),3.25-3.14(m,2H),2.69(s,6H),1.55-1.43(m,1H),1.33-1.11(m,5H),1.00(s,3H),0.82-0.78(m,3H)。LCMS:(方法E)417.2(M^++H),Rt.2.21min,97.88%(最大)。

[1078] 中间体86

[1079] 3-丁基-7-(二甲基氨基)-8-羟基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物

[1080] 

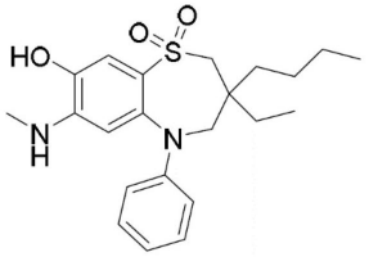
[1081] 向3-丁基-7-(二甲基氨基)-8-甲氧基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体85;0.7g,1.68mmol)于DMF(7mL)中的溶液中添加甲硫醇钠(0.65g,8.40mmol),且将反应混合物在100℃下搅拌12小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(15mL)淬灭且用EtOAc(2×15mL)萃取水层。将合并的有机层用冰冷水(15mL)及盐水(15mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。真空浓缩有机部分,得到标题化合物。产量:600mg(粗物质,棕色胶状物)。

[1082] LCMS:(方法E)403.2(M^++H),Rt.2.01min,96.67%(最大)。

[1083] 中间体87

[1084] 3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基氨基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂

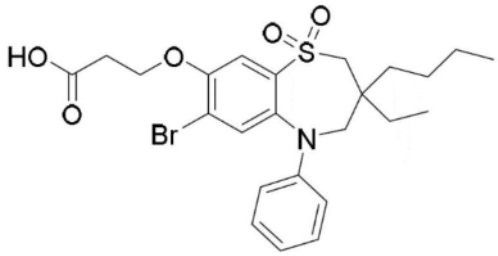
环庚三烯1,1-二氧化物

[1085]  向3-丁基-3-乙基-8-甲氧基-7-(甲基氨基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(200mg,0.48mmol)于DMF(6mL)中的搅拌溶液中添加甲硫醇钠(52mg,0.96mmol),且将反应混合物在90℃下加热12小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用水(10mL)淬灭且用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(2×10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分,得到标题化合物。产率:95%(180mg,粉红色固体)。

[1086] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ9.88(s,1H),7.17-7.13(m,3H),6.89(d,J=7.6Hz,2H),6.74(t,J=7.6Hz,1H),5.96(s,1H),5.71-5.68(m,1H),3.65(s,2H),3.06(s,2H),2.54(s,3H),1.63-1.49(m,2H),1.47-1.28(m,2H),1.17-1.01(m,4H),0.80-0.71(m,6H)。LCMS:(方法A)403.0(M^++H),Rt.3.00min,99.35%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.47min,97.83%(最大)。

[1087] 实施例1

[1088] 3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1089] 

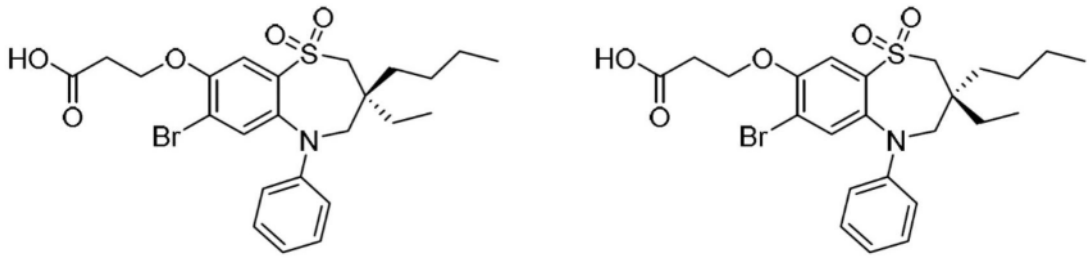
[1090] 在氮气氛围下,向(E)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙烯酸(中间体2;0.5g,0.95mmol)于乙醇(8mL)中的搅拌溶液中添加PtO_2(0.021g,0.095mmol),且将反应混合物在微型压力反应釜(在2kg压力下)中在氢气氛围下在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过LCMS监测),经由硅藻土过滤反应混合物且用EtOAc(2×15mL)洗涤硅藻土垫。真空浓缩合并的滤液,得到粗物质,通过制备型HPLC(方法A)将其纯化,得到标题化合物。产率:16%(80mg,灰白色固体)。

[1091] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.46(bs,1H),7.45(s,1H),7.26(t,J=7.6Hz,2H),7.13(s,1H),7.05(d,J=7.6Hz,2H),6.93(t,J=7.2Hz,1H),4.29(t,J=5.6Hz,2H),3.75(bs,2H),3.47(s,2H),2.75(t,J=6.0Hz,2H),1.37-1.30(m,4H),1.17-1.12(m,4H),0.73(t,J=6.40Hz,6H)。LCMS:(方法D)525.2(M^++H),Rt.2.76min,99.55%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.10.41min,99.39%(最大)。

[1092] 实施例2及实施例3

[1093] (S)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸及(R)-3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,

3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1094] 

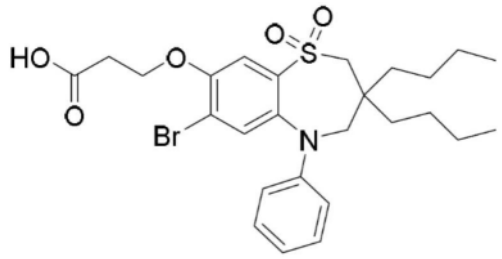
[1095] 外消旋3-((7-溴-3-丁基-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸(实施例1;80mg,0.15mmol)的两种对映异构体通过以下分离:手性制备型SFC(方法E);流动相:CO_2:MeOH(60:40);波长:210nm;循环时间:4分钟;反压:100巴。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

[1096] 对映异构体1:产率:29%(23mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.45(bs,1H),δ7.45(s,1H),7.26(t,J=8.0Hz,2H),7.14(s,1H),7.05(d,J=7.6Hz,2H),6.92(t,J=7.2Hz,2H),4.29(t,J=6.0Hz,2H),3.69(bs,2H),3.34(s,2H),2.72(t,J=6.0Hz,2H),1.51-1.32(m,4H),1.16-1.12(m,4H),0.74(t,J=8.00Hz,6H)。LCMS:(方法C)525.1(M^++H),Rt.2.82min,99.36%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.91min,99.39%(最大)。手性SFC:(方法D)Rt.2.46min,100%(最大)。

[1097] 对映异构体2:产率:37%(30mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.45(bs,1H),7.45(s,1H),7.26(t,J=8.0Hz,2H),7.14(s,1H),7.05(d,J=8.0Hz,2H),6.92(t,J=7.2Hz,1H),4.28(t,J=6.0Hz,2H),3.69(bs,2H),3.34(s,2H),2.68(t,J=6.4Hz,2H),1.50-1.32(m,4H),1.23-0.99(m,4H),0.74(t,J=4.00Hz,6H)。LCMS:(方法C)526.1(M^++2),Rt.2.61min,97.99%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.91min,99.31%(最大)。手性SFC:(方法D)Rt.3.89min,99.04%(最大)。

[1098] 实施例4

[1099] 3-((7-溴-3,3-二丁基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

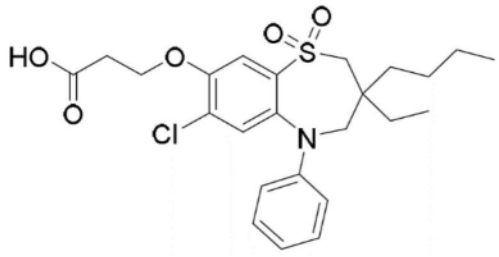
[1100] 

[1101] 在RT下,向3-((3,3-二丁基-7-溴-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸乙酯(中间体4;1.5g,2.58mmol)于1,4-二噁烷(5mL)中的搅拌溶液中逐滴添加HCl(6N,20mL),且将反应混合物在100℃下加热16小时。反应完成后(通过LCMS证实),将反应混合物用冰冷水(10mL)稀释且用EtOAc(2×20mL)萃取水层。有机部分经无水Na_2SO_4干燥且真空蒸发。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:35-40%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化粗物质,得到标题化合物。产率:59%(150mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.45(s,1H),7.27(t,J=7.6Hz,2H),7.11(s,1H),7.08(d,J=8.0Hz,

2H),6.95(t,J＝7.2Hz,1H),4.29(t,J＝5.6Hz,2H),3.70(bs,2H),3.36(s,2H),2.74(t,J＝5.6Hz,2H),1.36-1.30(m,4H),1.16-1.00(m,8H),0.75(t,J＝6.40Hz,6H)。LCMS:(方法C)554.2(M^++2),Rt.3.08min,94.37％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.43min,95.0％(最大)。

[1102] 实施例5

[1103] 3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

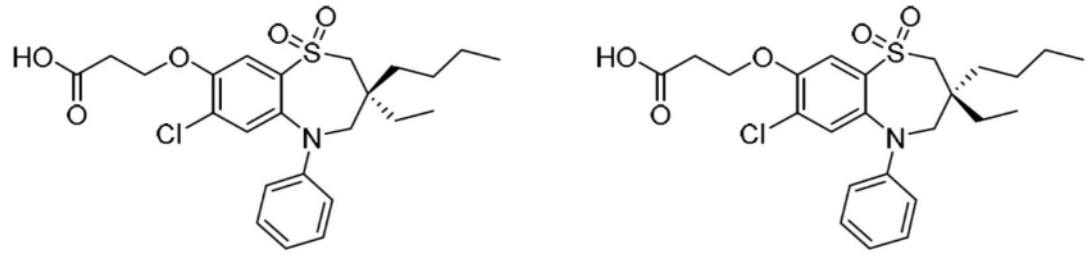
[1104] 

在室温下,向3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸乙酯(中间体12;3.0g 5.9mmol)于1,4-二噁烷(200mL)中的搅拌溶液中逐滴添加HCl(6N,30mL),且将反应混合物在100℃下加热16小时。反应完成后(通过LCMS监测),将反应混合物用冰冷水(30mL)稀释且用EtOAc(2×50mL)萃取水层。有机部分经无水Na_2SO_4干燥且真空蒸发。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:5-10％MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化粗物质,得到标题化合物。产率:73％(205mg,灰白色固体)。

[1105] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.46(bs,1H),7.50(d,J＝2.0Hz,1H),7.26(t,J＝8.4Hz,2H),7.06(d,J＝7.2Hz,2H),7.00(s,1H),6.94(t,J＝6.8Hz,1H),4.31(t,J＝5.6Hz,2H),3.67(bs,2H),3.36(s,2H),2.75(t,J＝6.0Hz,2H),1.51-1.32(m,4H),1.24-0.99(m,4H),0.75(t,J＝6.80Hz,6H)。LCMS:(方法C)482.2(M^++2),Rt.2.78min,96.49％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.83min,97.44％(最大)。

[1106] 实施例6及实施例7

[1107] (S)-3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸及(R)-3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1108] 

[1109] 外消旋3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸(实施例5;100mg,0.20mmol)的两种对映异构体通过以下分离:手性制备型SFC(方法E);流动相:CO_2:MeOH(60:40);波长:210nm;循环时间:5分钟;反压:100巴。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

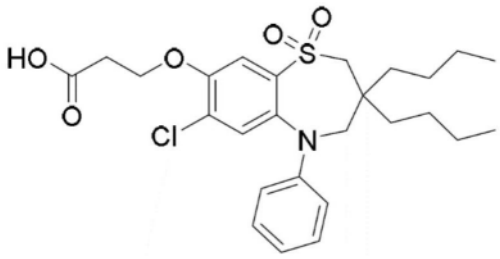
[1110] 对映异构体1:产率:25％(25mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.49(s,1H),7.50(s,1H),7.26(t,J＝8.0Hz,2H),7.05(d,J＝7.6Hz,2H),6.99(s,1H),6.93(t,J＝

7.2Hz,1H),4.30(t,J=5.6Hz,2H),3.70(s,2H),3.40(s,2H),2.74(t,J=5.6Hz,2H),1.50-1.33(m,4H),1.15-0.98(m,4H),0.74(t,J=4.40Hz,6H)。LCMS:(方法C)482.1(M^++2),Rt.2.81min,95.89%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.87min,98.01%(最大)。手性SFC:(方法D)Rt.2.71min,98.45%(最大)。

[1111] 对映异构体2:产率:15%(15mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.37(bs,1H),7.50(s,1H),7.26(t,J=8.0Hz,2H),7.05(d,J=8.0Hz,2H),6.99(s,1H),6.93(t,J=7.2Hz,1H),4.30(t,J=5.6Hz,2H),3.70b(s,2H),3.41(s,2H),2.73(t,J=5.6Hz,2H),1.50-1.30(m,4H),1.15-0.99(m,4H),0.74(t,J=4.40Hz,6H)。LCMS:(方法C)482.1(M^++2),Rt.2.81min,96.76%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.87min,99.5%(最大)。手性SFC:(方法D)Rt.4.33min,100%(最大)。

[1112] 实施例8

[1113] 3-((3,3-二丁基-7-氯-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

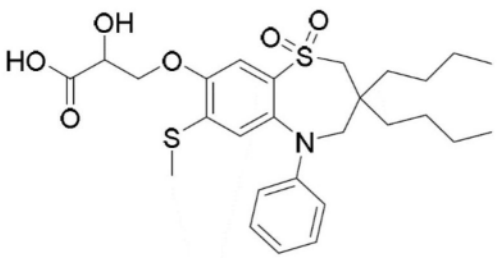
[1114] 

[1115] 在室温下,向3-((3,3-二丁基-7-氯-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸乙酯(中间体19;1.0g,1.86mmol)于1,4-二噁烷(2mL)中的搅拌溶液中逐滴添加HCl(6N,10mL),且将反应混合物在100℃下加热12小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(10mL)稀释且用EtOAc(2×20mL)萃取水层。有机部分经无水Na_2SO_4干燥且真空蒸发。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:35-40%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:89%(100mg,灰白色固体)。

[1116] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.49(s,1H),7.26(t,J=8.0Hz,2H),7.08(d,J=7.6Hz,2H),6.94(t,J=4.8Hz,2H),4.29(t,J=5.6Hz,2H),3.70(bs,2H),3.32(s,2H),2.71(t,J=4.4Hz,2H),1.40-1.29(m,5H),1.13-0.99(m,7H),0.75(t,J=4.40Hz,6H)。LCMS:(方法E)509.1(M^++H),Rt.2.80min,91.44%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.36min,96.12%(最大)。

[1117] 实施例9

[1118] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸

[1119] 

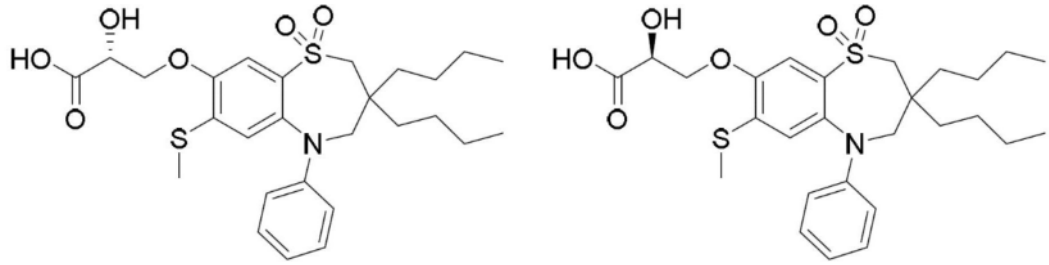
[1120] 在室温下,向3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四

氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯(中间体20;50mg,0.00009mmol)于1,4-二噁烷(2mL)中的搅拌溶液中逐滴添加HCl(6N,1mL),且将反应混合物在80℃下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(5mL)稀释且用EtOAc(2×20mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(10mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过制备型HPLC(方法A)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:23%(11mg,白色固体)。

[1121] ^{1}H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.33(s,1H),7.21(t,J=8.0Hz,2H),6.99(d,J=7.6Hz,2H),6.86(t,J=7.2Hz,1H),6.67(s,1H),4.31(d,J=5.6Hz,1H),4.06(s,2H),3.50(bs,2H),3.26(s,2H),2.15(s,3H),1.51-1.29(m,4H),1.23-1.02(m,8H),0.85-0.75(m,6H)。LCMS:(方法A)536.2(M^++H),Rt.2.84min,97.46%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.94min,98.00%(最大)。

[1122] 实施例10及实施例11

[1123] (S)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸及(R)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸

[1124] 

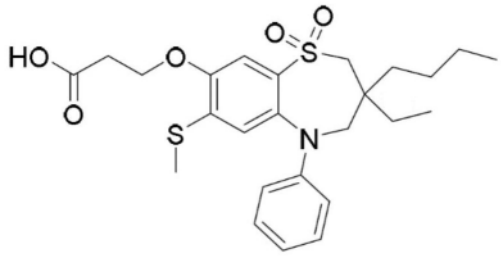
通过手性SFC(方法G)分离外消旋3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸(实施例9;2.9g,5.41mmol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

[1125] 对映异构体1:产率:7.8%(7.3mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.35(s,1H),7.22(t,J=7.6Hz,2H),7.01(d,J=7.6Hz,2H),6.87(t,J=7.2Hz,1H),6.67(s,1H),4.33-4.15(m,3H),3.78(s,2H),3.27(s,2H),2.15(s,3H),1.51-1.25(m,4H),1.24-0.93(m,8H),0.77(t,J=6.4Hz,6H)。LCMS:(方法A)536.3(M^++H),Rt.2.82min,95.59%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.77min,99.06%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.2.47min,99.16%(最大)。

[1126] 对映异构体2:产率:8%(7.7mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.34(s,1H),7.22(t,J=7.6Hz,2H),7.01(d,J=7.2Hz,2H),6.87(t,J=7.2Hz,1H),6.67(s,1H),4.33-4.15(m,3H),3.78(s,2H),3.27(s,2H),2.15(s,3H),1.49-1.25(m,4H),1.24-0.93(m,8H),0.77(t,J=6.4Hz,6H)。LCMS:(方法A)536.2(M^++H),Rt.2.82min,94.18%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.78min,96.55%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.3.24min,91.11%(最大)。

[1127] 实施例12

[1128] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

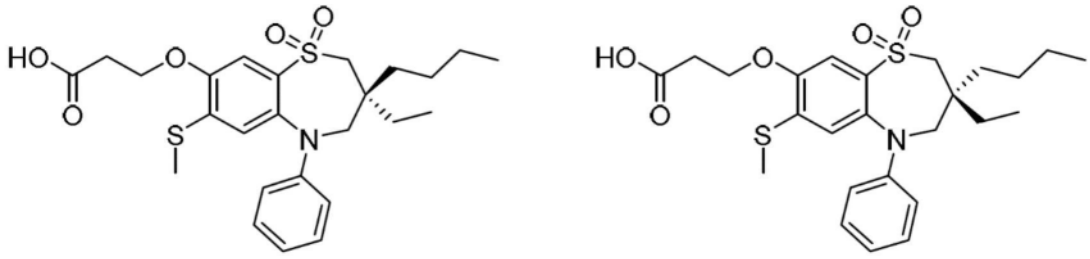
[1129] 

[1130] 在室温下,向3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸乙酯(中间体24;1.3g 2.5mmol)于1,4-二噁烷(3mL)中的搅拌溶液中逐滴添加HCl(6N,13mL),且将反应混合物在100℃下加热12小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(10mL)稀释且用EtOAc(2×20mL)萃取水层。有机部分经无水Na_2SO_4干燥且真空浓缩。通过制备型HPLC(方法A)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:83%(235mg,灰白色固体)。

[1131] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.32(s,1H),7.22(t,J=8.0Hz,2H),6.98(d,J=7.6Hz,2H),6.85(t,J=7.6Hz,1H),6.70(s,1H),4.27(t,J=6.0Hz,2H),3.68(bs,2H),3.27(s,2H),2.68(t,J=6.0Hz,2H),2.15(s,3H),1.56-1.31(m,4H),1.20-1.10(m,4H),0.76(t,J=5.20Hz,6H)。LCMS:(方法C)492.1(M^++H),Rt.2.82min,98.71%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.76min,99.16%(最大)。

[1132] 实施例13及实施例14

[1133] (S)-3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸及(R)-3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1134] 

[1135] 外消旋3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸(实施例10;140mg,0.28mmol)的两种对映异构体通过以下分离:手性制备型SFC(方法D);流动相:CO_2:MeOH(60:40);波长:210nm;循环时间:3分钟;反压:100巴。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

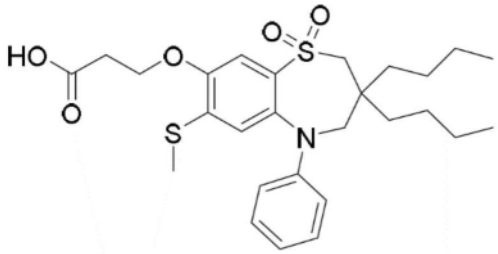
[1136] 对映异构体1:产率:38%(53mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.31(s,1H),7.21(t,J=7.6Hz,2H),6.97(d,J=7.6Hz,2H),6.84(t,J=7.2Hz,1H),6.70(s,1H),4.24(t,J=6.4Hz,2H),3.65(bs,2H),3.17(s,2H),2.58(t,J=5.6Hz,2H),2.15(s,3H),1.54-1.31(m,4H),1.14-1.04(m,4H),0.77(t,J=6.40Hz,6H)。LCMS:(方法C)492.1(M^++H),Rt.2.74min,98.94%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.76min,97.76%(最大)。手性SFC:(方法B)Rt.2.34min,100%(最大)。

[1137] 对映异构体2:产率:10%(14mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.31(s,1H),7.21(t,J=7.6Hz,2H),6.97(d,J=6.8Hz,2H),6.84(t,J=6.8Hz,1H),6.70(s,1H),

4.24(t,J＝5.6Hz,2H),3.67(bs,2H),3.17(s,2H),2.55(t,J＝5.6Hz,2H),2.15(s,3H),1.37-1.31(m,2H),1.24-1.10(m,2H),1.09-1.04(m,4H),0.77(t,J＝6.40Hz,6H)。LCMS:(方法C)492.1(M^++H),Rt.2.74min,99.69%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.87min,99.5%(最大)。手性SFC:(方法B)Rt.2.78min,99.24%(最大)。

[1138] 实施例15

[1139] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

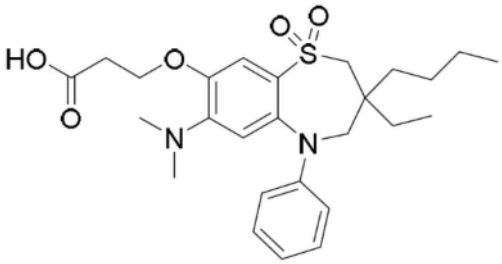
[1140] 

[1141] 在室温下,向3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸乙酯(中间体26;200mg,0.37mmol)于1,4-二噁烷(20mL)中的搅拌溶液中逐滴添加HCl(10%,20mL),且将反应混合物在80℃下加热12小时。反应完成后(通过TLC监测),真空浓缩反应混合物,得到粗物质。用EtOAc(2×500mL)萃取粗物质。有机部分经无水Na_2SO_4干燥且真空蒸发。通过快速柱色谱纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:22%(0.04g,无色液体)。

[1142] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.46(bs,1H),7.31(s,1H),7.22(t,J＝7.6Hz,2H),7.01(d,J＝7.6Hz,2H),6.87(t,J＝7.2Hz,1H),6.68(s,1H),4.27(t,J＝6.0Hz,2H),3.67(bs,2H),3.36(s,2H),2.73(t,J＝5.6Hz,2H),2.14(s,3H),1.43-1.30(m,4H),1.18-1.02(m,8H),0.77(t,J＝8.00Hz,6H)。LCMS:(方法E)520.2(M^++H),Rt.3.00min,92.89%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.24min,92.03%(最大)。

[1143] 实施例16

[1144] 3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1145] 

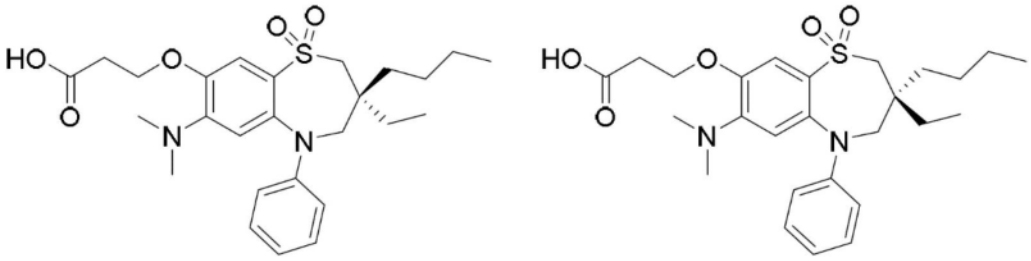
[1146] 在0℃下,向3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体28;100mg,0.24mmol)于THF(3mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(27mg,0.24mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加于THF(1mL)中的β-丙内酯(19mg,0.26mmol),且将反应混合物在室温下搅拌3小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(2mL)淬灭且用水(2mL)稀释。用EtOAc(2×5mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且

真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:3%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:15%(18mg,白色固体)。

[1147] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.45(s,1H),7.27(s,1H),7.20(t,J=7.6Hz,2H),6.97(d,J=8.0Hz,2H),6.83(t,J=7.6Hz,1H),6.33(s,1H),4.20(t,J=5.6Hz,2H),3.78(s,2H),3.20(s,2H),2.75(t,J=5.6Hz,2H),2.65(s,6H),1.55-1.39(m,2H),1.38-1.27(m,2H),1.25-0.95(m,4H),0.85-0.67(m,6H)。LCMS:(方法A)489.3(M^++H),Rt.2.70min,97.55%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.4.65min,97.46%(最大)。

[1148] 实施例17及实施例18

[1149] (S)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸及(R)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1150] 

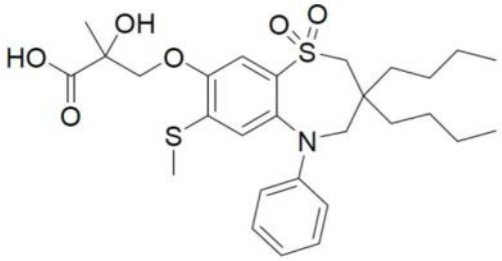
通过手性SFC(方法H)分离外消旋3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸(实施例16;86mg,0.17mmol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

[1151] 对映异构体1:产率:25%(22mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.41(s,1H),7.27(s,1H),7.20(t,J=8.0Hz,2H),6.97(d,J=7.6Hz,2H),6.82(t,J=7.2Hz,1H),6.32(s,1H),4.19(t,J=5.6Hz,2H),3.78(s,2H),3.20(s,2H),2.76-2.73(m,2H),2.65(s,6H),1.60-1.18(m,4H),1.19-0.92(m,4H),0.78-0.73(m,6H)。LCMS:(方法A)489.1(M^++H),Rt.2.75min,98.71%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.4.63min,98.12%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.2.37min,100%(最大)。

[1152] 对映异构体2:产率:21%(18.5mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.41(s,1H),7.26(s,1H),7.20(t,J=7.6Hz,2H),6.96(d,J=7.6Hz,2H),6.82(t,J=7.2Hz,1H),6.32(s,1H),4.19(t,J=5.6Hz,2H),3.65(s,2H),3.19(s,2H),2.76-2.73(m,2H),2.65(s,6H),1.65-0.92(m,8H),0.78-0.73(m,6H)。LCMS:(方法A)489.2(M^++H),Rt.2.74min,99.41%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.4.64min,98.06%(最大)。手性HPLC:(方法H)Rt.3.06min,99.50%(最大)。

[1153] 实施例19

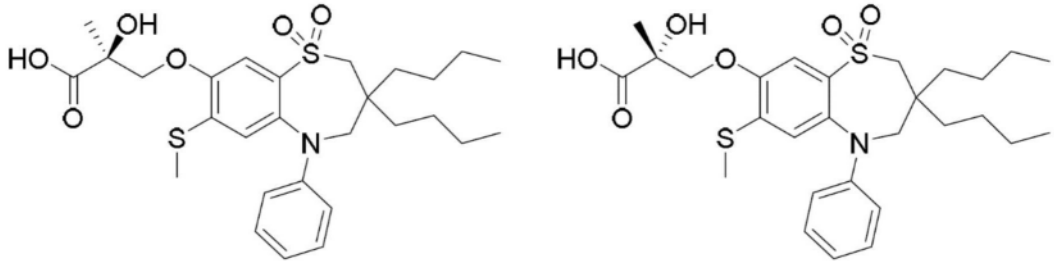
[1154] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸

[1155]  向(3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯(中间体29;150mg,0.26mmol)于1,4-二噁烷及水的混合物(4:1,5mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂(33mg,0.76mmol),且将反应混合物在室温下搅拌2小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,pH约4)酸化,且随后用冰冷水(2mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:70%(100mg,白色固体)。

[1156] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):7.31(s,1H),7.22(t,J=7.2Hz,2H),7.00(d,J=7.6Hz,2H),6.87(t,J=7.2Hz,1H),6.67(s,1H),4.11(s,2H),3.69(s,2H),3.27(s,2H),2.15(s,3H),1.44-1.27(m,7H),1.20-1.02(m,8H),0.77(t,J=6.8Hz,6H)。LCMS:(方法E)550.0(M^++H),Rt.3.11min,98.54%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.10min,99.14%(最大)。

[1157] 实施例20及实施例21

[1158] (S)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸及(R)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸

[1159] 

[1160] 通过手性SFC(方法H)分离外消旋3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸(实施例19;75mg,0.13mmol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

[1161] 随后分别处理两个洗脱级分中的各者以便进一步纯化。将所获得的残余物用稀HCl(1.5N,pH约4)酸化,且用EtOAc(3×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤且在40℃下真空浓缩,得到标题化合物的纯化对映异构体。

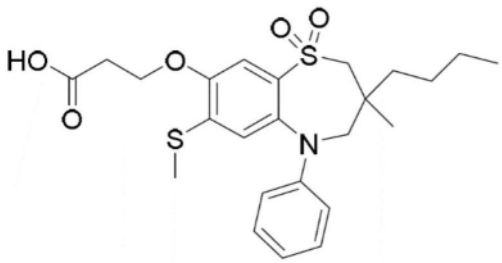
[1162] 对映异构体1:产率:26%(10mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.71(s,1H),7.31(s,1H),7.23(t,J=7.6Hz,2H),7.01(d,J=7.6Hz,2H),6.87(t,J=7.6Hz,1H),6.67(s,1H),4.11(s,2H),3.69(s,2H),3.27(s,2H),2.15(s,3H),1.51-1.25(m,8H),

1.24-0.95(m,8H),0.77(t,J＝6.4Hz,6H)。LCMS:(方法E)550.1(M^++H),Rt.3.15min,92.15%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.05min,96.01%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.2.61min,95.05%(最大)。

[1163] 对映异构体2:产率:26%(10mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.66(s,1H),7.31(s,1H),7.23(t,J＝7.6Hz,2H),7.01(d,J＝7.6Hz,2H),6.87(t,J＝7.2Hz,1H),6.67(s,1H),4.11(s,2H),3.69(s,2H),3.27(s,2H),2.15(s,3H),1.51-1.27(m,8H),1.24-0.95(m,8H),0.77(t,J＝6.4Hz,6H)。LCMS:(方法E)550.0(M^++H),Rt.3.15min,94.83%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.05min,96.40%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.4.62min,97.50%(最大)。

[1164] 实施例22

[1165] 3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

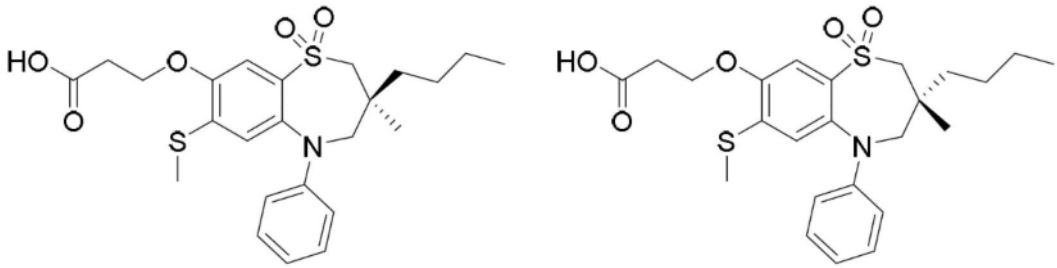
[1166] 

[1167] 在0℃下,向3-丁基-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体35;300mg,0.74mmol)于THF(3mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(91mg,0.81mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加β-丙内酯(58.6mg,0.81mmol)于THF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,3mL)淬灭且用水(2mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:3%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:17%(60mg,灰白色固体)。

[1168] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.44(s,1H),7.33(s,1H),7.18(t,J＝7.6Hz,2H),6.91(d,J＝7.6Hz,2H),6.81-6.77(m,2H),4.29(t,J＝6.0Hz,2H),3.78(m,2H),3.30-3.26(m,2H),2.74(t,J＝6.0Hz,2H),2.19(s,3H),1.58-1.45(m,1H),1.35-1.10(m,5H),1.01(s,3H),0.80(t,J＝7.2Hz,3H)。LCMS:(方法E)478.0(M^++H),Rt.2.88min,97.42%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.50min,97.96%(最大)。

[1169] 实施例23及实施例24

[1170] (S)-3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸及(R)-3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1171] 

[1172] 通过手性SFC(方法H)分离外消旋3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸(实施例22;60mg,0.12mmol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

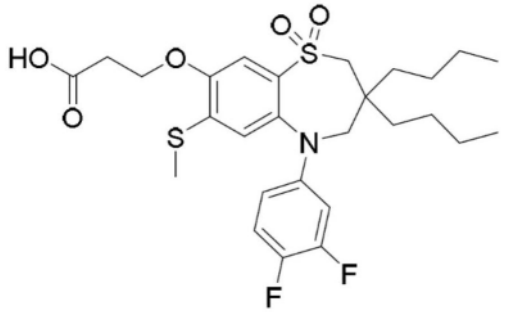
[1173] 随后分别处理两个洗脱级分中的各者以便进一步纯化。将所获得的残余物用稀HCl(1.5N,pH约4)酸化,且用EtOAc(3×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤且在40℃下真空浓缩,得到标题化合物的纯化对映异构体。

[1174] 对映异构体1:产率:30%(18mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.33(s,1H),7.18(t,J=7.6Hz,2H),6.91(d,J=7.6Hz,2H),6.81-6.77(m,2H),4.28(t,J=6.0Hz,2H),3.78-3.74(m,1H),3.29-3.21(m,1H),2.75-2.65(m,2H),2.57-2.45(m,2H),2.19(s,3H),1.58-1.42(m,1H),1.33-1.12(m,5H),1.01(s,3H),0.80(t,J=6.8Hz,3H)。LCMS:(方法E)478.2(M^++H),Rt.2.89min,98.93%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.50min,98.36%(最大)。手性SFC:(方法K)Rt.8.44min,99.61%(最大)。

[1175] 对映异构体2:产率:13%(8.2mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.33(s,1H),7.18(t,J=7.6Hz,2H),6.91(d,J=7.6Hz,2H),6.81-6.77(m,2H),4.28(t,J=6.0Hz,2H),3.75-3.78(m,1H),3.29-3.21(m,1H),2.75-2.65(m,2H),2.57-2.45(m,2H),2.19(s,3H),1.58-1.42(m,1H),1.33-1.12(m,5H),1.01(s,3H),0.80(t,J=6.8Hz,3H)。LCMS:(方法E)478.2(M^++H),Rt.2.89min,97.83%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.50min,96.14%(最大)。手性SFC:(方法K)Rt.9.49min,98.42%(最大)。

[1176] 实施例25

[1177] 3-((3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1178] 

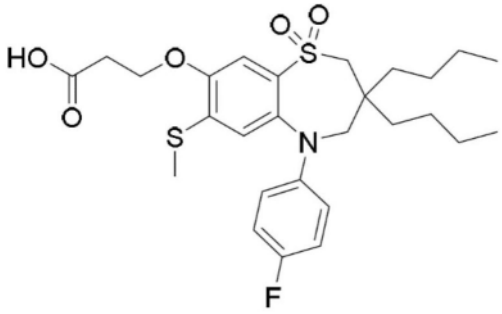
[1179] 在0℃下,向3,3-二丁基-5-(3,4-二氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体40;100mg,0.21mmol)于THF(1mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(26mg,0.23mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加β-

丙内酯(15mg,0.21mmol)于THF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌2小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,3mL)淬灭且用水(2mL)稀释。用EtOAc(2×4mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过制备型HPLC(方法A)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:17%(19.5mg,灰白色固体)。

[1180] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.47(s,1H),7.31(s,1H),7.27-7.20(m,1H),7.77-7.05(m,1H),6.76(s,1H),6.71-6.64(m,1H),4.28(t,J=6.0Hz,2H),3.69(bs,2H),3.29(s,2H),2.72-2.68(m,2H),2.22(s,3H),1.45-1.25(m,4H),1.20-1.05(m,8H),0.86-0.81(m,6H)。LCMS:(方法E)556.0(M^++H),Rt.3.19min,97.95%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.25min,97.84%(最大)。

[1181] 实施例26

[1182] 3-((3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

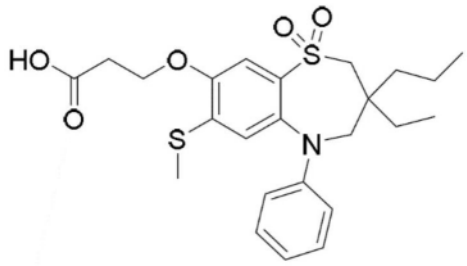
[1183] 

[1184] 在0℃下,向3,3-二丁基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体44;100mg,0.21mmol)于THF(1mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(26mg,0.23mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加β-丙内酯(17mg,0.23mmol)于THF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,3mL)淬灭且用水(2mL)稀释。用EtOAc(2×4mL)萃取水层且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:40%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:60%(70mg,灰白色固体)。

[1185] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.41(s,1H),7.30(s,1H),7.09(d,J=6.4Hz,4H),6.60(s,1H),4.26(t,J=5.6Hz,2H),3.78(s,2H),3.30(s,2H),2.71(t,J=6.0Hz,2H),2.14(s,3H),1.49-1.37(m,4H),1.20-0.97(m,8H),0.78-0.75(m,6H)。LCMS:(方法E)537.8(M^++H),Rt.3.19min,95.96%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.22min,95.82%(最大)。

[1186] 实施例27

[1187] 3-((3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

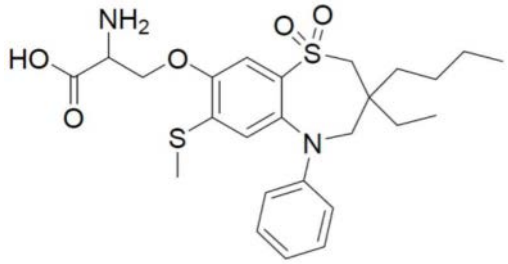
[1188] 

[1189] 在0℃下,向3-乙基-8-羟基-7-(甲基硫基)-5-苯基-3-丙基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体50;300mg,0.74mmol)于THF(5mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(92mg,0.81mmol),且将反应混合物搅拌5分钟。随后逐滴添加β-丙内酯(53mg,0.74mmol)于THF(2mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌4小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,3mL)淬灭且用水(5mL)稀释。用EtOAc(2×10mL)萃取水层且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:6%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:5%(12mg,浅棕色固体)。

[1190] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.47(s,1H),7.32(s,1H),7.22(t,J=7.6Hz,2H),6.97(d,J=7.6Hz,2H),6.85(t,J=7.2Hz,1H),6.71(s,1H),4.28(t,J=6.0Hz,2H),3.69(s,2H),3.28(s,2H),2.72(t,J=6.0Hz,2H),2.16(s,3H),1.65-1.50(m,1H),1.43-1.30(m,3H),1.24-1.19(m,2H),0.81-0.55(m,6H)。LCMS:(方法E)478.2(M^++H),Rt.2.88min,94.89%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.37min,95.20%(最大)。

[1191] 实施例28

[1192] O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)丝氨酸

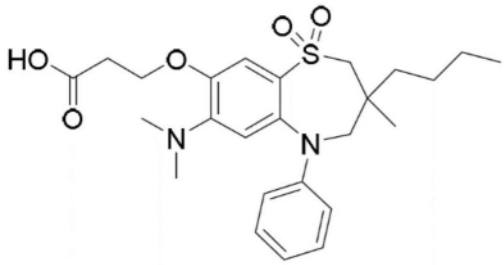
[1193]  向O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)丝氨酸甲酯(中间体53;170mg,0.33mmol)于1,4-二噁烷(2mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂(28mg,0.65mmol),且将反应混合物在室温下搅拌2小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用水(2mL)稀释且用EtOAc(2×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤,真空浓缩且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:24%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质。通过制备型HPLC(方法A)再纯化所获得的残余物,得到标题化合物。产率:58%(95mg,白色固体)。

[1194] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):7.91-7.61(m,2H),7.39(s,1H),7.23(t,J=7.6Hz,2H),7.01(d,J=8.0Hz,2H),6.88(t,J=7.2Hz,1H),6.70(s,1H),4.43-4.40(m,1H),4.27-4.22(m,1H),3.69(s,2H),3.59-3.57(m,1H),2.68(s,2H),2.17(s,3H),1.61-1.41(m,2H),1.38-1.29(m,2H),1.29-0.97(m,4H),0.81-0.71(m,6H)。LCMS:(方法E)507.2(M^++H),

Rt.2.26min,99.37％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.4.46min,99.16％(最大)。

[1195] 实施例29

[1196] 3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-甲基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

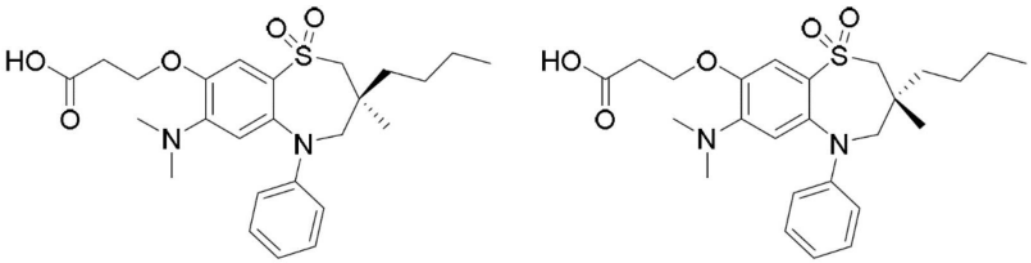
[1197] 

[1198] 在0℃下,向3-丁基-7-(二甲基氨基)-8-羟基-3-甲基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体86;600mg,1.40mmol)于THF(3mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(167mg,1.4mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加β-丙内酯(118mg,1.6mmol)于THF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌4小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,5mL)淬灭且用水(5mL)稀释。用EtOAc(2×15mL)萃取水层且将合并的有机层用水(15mL)及盐水(15mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:3％MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,且同样通过制备型HPLC(方法A)再纯化,得到标题化合物。

[1199] LCMS:(方法E)474.8(M^++H),Rt.2.12min,98.47％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.4.43min,99.05％(最大)。

[1200] 对映异构体的分离:

[1201] (S)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-甲基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸及(R)-3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-甲基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1202] 

[1203] 通过手性SFC(方法F)分离外消旋3-((3-丁基-7-(二甲基氨基)-3-甲基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸(140mg,0.29mmol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

[1204] 随后分别处理两个洗脱级分中的各者以便进一步纯化。将所获得的残余物用稀HCl(1.5N,pH约4)酸化,且用EtOAc(3×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤且在40℃下真空浓缩,得到标题化合物的纯化对映异构体。

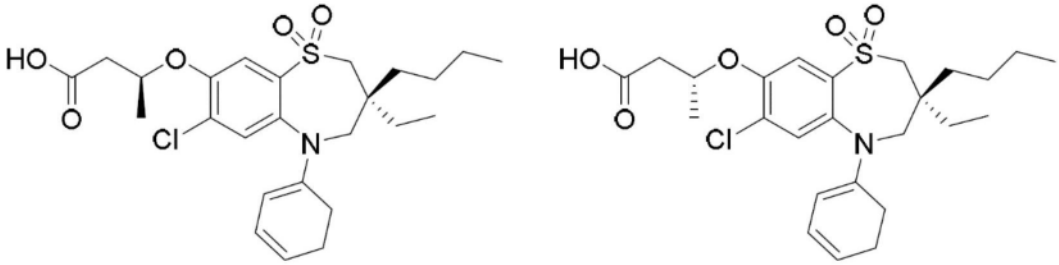
[1205] 对映异构体1:产率:30％(42mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.42

(s,1H),7.29(s,1H),7.17(t,J=7.6Hz,2H),6.91(d,J=7.6Hz,2H),6.77(t,J=7.2Hz,1H),6.42(s,1H),4.21(t,J=6.0Hz,2H),3.91-3.32(m,2H),3.26-3.15(m,2H),2.77(t,J=5.6Hz,2H),2.68(s,6H),1.58-1.48(m,1H),1.47-1.18(m,3H),1.17-1.05(m,2H),1.00(s,3H),0.85-0.78(m,3H)。LCMS:(方法E)475.1(M^++H),Rt.2.08min,99.82%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.4.44min,99.39%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.2.2min,100%(最大)。

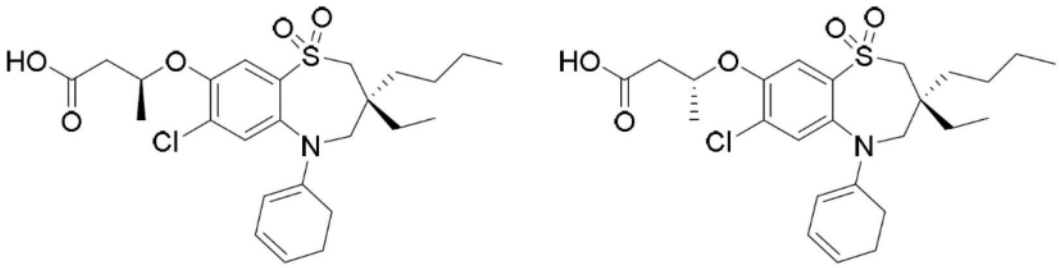
[1206] 对映异构体2:产率:35%(50mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.41(s,1H),7.29(s,1H),7.17(t,J=7.6Hz,2H),6.91(d,J=7.6Hz,2H),6.77(t,J=7.2Hz,1H),6.42(s,1H),4.21(t,J=6.0Hz,2H),3.89-3.31(m,2H),3.26-3.15(m,2H),2.77(t,J=5.6Hz,2H),2.68(s,6H),1.55-1.44(m,1H),1.47-1.18(m,3H),1.17-1.05(m,2H),1.02(s,3H),0.85-0.78(m,3H)。LCMS:(方法A)475.2(M^++H),Rt.2.60min,98.32%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.4.43min,99.79%(最大)。手性HPLC:(方法H)Rt.2.82min,93.27%(最大)。

[1207] 实施例30

[1208] 3-((3-丁基-7-氯-3-乙基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丁酸(单独的非对映异构体)



[1209]



[1210] 非对映异构体1及2

[1211] 在0℃下,向3-丁基-7-氯-3-乙基-8-羟基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体2(中间体11;0.22g,0.52mmol)于无水THF(5mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(0.06g,0.52mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后在0℃下,将4-甲基氧杂环丁-2-酮(0.05g,0.58mmol)于THF(1mL)中的溶液缓慢添加至反应混合物中,且将反应混合物在60℃下搅拌12小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,1mL)淬灭且用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥且在50℃下真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:30-40%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物的非对映异构体1及2的混合物。

[1212] 非对映异构体1及2:产率:27%(0.07g,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.55(s,1H),7.26(t,J=8.0Hz,2H),7.07(d,J=7.6Hz,2H),6.94(t,J=7.6Hz,2H),4.81

(q,J＝6.4Hz,1H),3.71(bs,2H),3.36-3.33(m,2H),2.67-2.62(m,2H),1.51-1.48(m,1H),1.37-1.31(m,6H),1.23-1.09(m,4H),0.72(t,J＝5.6Hz,6H)。LCMS:(方法E)494.1(M^++H),Rt.2.73min,98.62%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.06min,98.06%(最大)。

[1213] 通过SFC(方法J)分离两种非对映异构体(60mg,0.12mmol)。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于非对映异构体1且第二洗脱级分对应于非对映异构体2。

[1214] 非对映异构体1:产率:23%(14mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.55(s,1H),7.26(t,J＝8.0Hz,2H),7.07(d,J＝7.6Hz,2H),6.93(t,J＝8.0Hz,2H),4.81(q,J＝6.0Hz,1H),3.72(bs,2H),3.31(s,2H),2.61-2.59(m,2H),1.49-1.35(m,1H),1.33-1.23(m,6H),1.09-1.06(m,4H),0.73(t,J＝7.20Hz,6H)。LCMS:(方法E)494.1(M^++H),Rt.2.74min,99.57%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.06min,99.49%(最大)。手性SFC:(方法L)Rt.2.37min,99.7%(最大)。

[1215] 非对映异构体2:产率:24%(14.5mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.55(s,1H),7.26(t,J＝8.0Hz,2H),7.07(d,J＝7.2Hz,2H),6.93(t,J＝8.4Hz,2H),4.82-4.80(m,1H),3.72(bs,2H),3.32(s,2H),2.62-2.60(m,2H),1.51-1.36(m,1H),1.32-1.26(m,6H),1.10-1.02(m,4H),0.72(t,J＝7.2Hz,6H)。LCMS:(方法E)494.1(M^++H),Rt.2.73min,98.95%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.05min,99.36%(最大)。手性SFC:(方法L)Rt.2.97min,98.74%(最大)。

[1216] 非对映异构体3及4

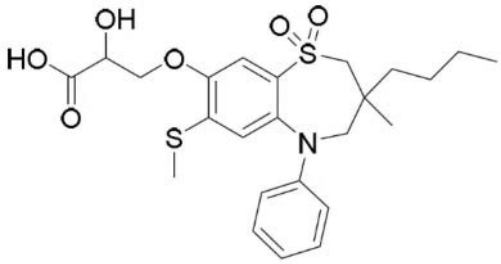
[1217] 遵循与上文相同的程序,以0.20g的中间体11的对映异构体1起始,获得标题化合物的非对映异构体3及4的混合物。通过Isolera柱色谱层析纯化之后,通过制备型HPLC(方法A)再纯化所获得的残余物,得到标题化合物。不进一步分离两种非对映异构体。

[1218] 非对映异构体3及4:产率:29%(0.07g,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.45(s,1H),7.56(s,1H),7.27(t,J＝8.3Hz,2H),7.08(d,J＝7.8Hz,2H),6.95(t,J＝6.6Hz,2H),4.83(q,J＝6.2Hz,1H),3.85(bs,2H),3.31(s,2H),2.72-2.70(m,2H),1.51-1.47(m,1H),1.48-1.32(m,6H),1.18-0.98(m,4H),0.76-0.70(m,6H)。LCMS:(方法E)493.1(M^+)Rt.2.72min,99.30%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.05min,97.83%(最大)。

[1219] 四种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[1220] 实施例31

[1221] 3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸

[1222] 

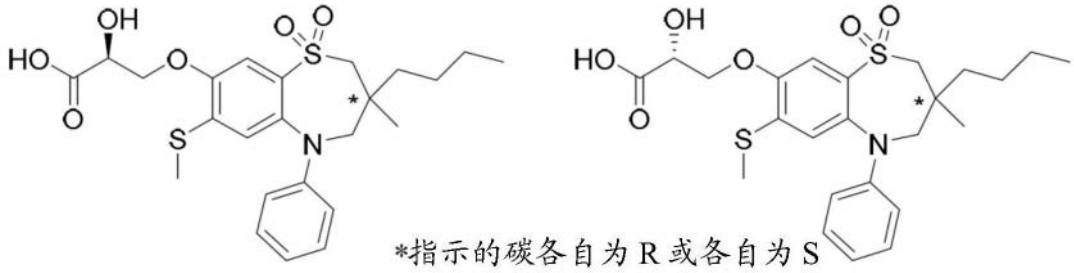
[1223] 向3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯(中间体54;170mg,0.33mmol)于1,4-二噁烷(2mL)中的搅拌溶液中添加稀HCl(7N,1.7mL),且将反应混合物在65℃下加热3小时。反

应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(2mL)淬灭且用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:61%(80mg,灰白色固体)。

[1224] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):7.47(s,1H),7.27-7.24(m,2H),7.02(d,J=4.8Hz,2H),6.96-6.92(m,1H),6.74-6.72(m,1H),4.61-4.59(m,1H),4.48-4.45(m,2H),3.95-3.75(m,1H),3.74-3.41(m,1H),3.18-3.13(m,2H),2.20(s,3H),1.55-1.48(m,1H),(1.35-1.22(m,5H),1.14-1.13(m,3H),0.86-0.84(m,3H)。LCMS:(方法E)494.0(M^++H),Rt.2.72min,98.87%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.12min,99.06%(最大)。

[1225] 实施例32

[1226] 3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸(单独的非对映异构体)

[1227] 

*指示的碳各自为R或各自为S

[1228] 向3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯(中间体55;200mg,0.39mmol)于1,4-二噁烷(2mL)中的搅拌溶液中添加稀HCl(7N,1mL),且将反应混合物在65℃下加热3小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(2mL)稀释且用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的EtOAc层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:61%(120mg,灰白色固体)。

[1229] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):7.37(s,1H),7.18(t,J=7.6Hz,2H),6.91(d,J=7.2Hz,2H),6.81-6.77(m,2H),4.37-4.34(m,1H),4.06-4.01(m,2H),3.79-3.74(m,1H),3.61-3.45(m,1H),3.30-3.22(m,2H),2.20(s,3H),1.52-1.46(m,1H),1.36-1.11(m,5H),1.01(s,3H),0.80(t,J=7.2Hz,3H)。LCMS:(方法E)493.9(M^++H),Rt.2.40min,93.95%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.08min,93.40%(最大)。

[1230] 通过SFC(方法H)分离两种非对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于非对映异构体1且第二洗脱级分对应于非对映异构体2。随后分别处理两个洗脱级分中的各者以便进一步纯化。将所获得的残余物用稀HCl(1.5N,pH约4)酸化,且用EtOAc(3×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤且在40℃下真空浓缩,得到标题化合物的纯化非对映异构体。

[1231] 非对映异构体1:产率:36%(22mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.37(s,1H),7.18(t,J=7.6Hz,2H),6.91(d,J=8.0Hz,2H),6.81-6.77(m,2H),4.38-4.36(m,1H),4.11-4.08(m,2H),3.79-3.74(m,1H),3.61-3.45(m,1H),3.30-3.19(m,2H),2.21(s,3H),1.56-1.39(m,1H),1.36-1.11(m,5H),1.01(s,3H),0.80(t,J=7.2Hz,3H)。LCMS:(方法

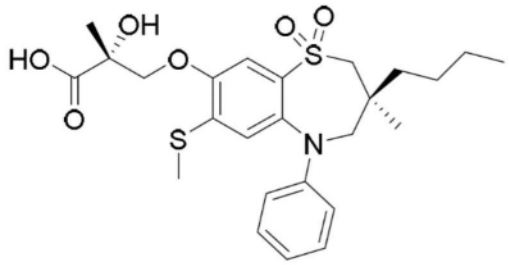
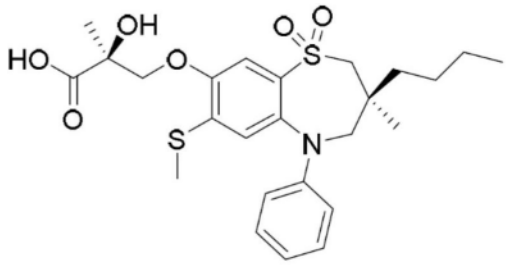
E)493.9(M^++H),Rt.2.39min,98.39%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.11min,99.74%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.3.36min,100%(最大)。

[1232] 非对映异构体2:产率:41%(25mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.37(s,1H),7.18(t,J=7.6Hz,2H),6.91(d,J=6.4Hz,2H),6.81-6.77(m,2H),4.37-4.35(m,1H),4.11-4.08(m,2H),3.79-3.74(m,1H),3.61-3.45(m,1H),3.30-3.19(m,2H),2.21(s,3H),1.56-1.39(m,1H),1.36-1.11(m,5H),1.01(s,3H),0.80(t,J=7.2Hz,3H)。LCMS:(方法E)493.9(M^++H),Rt.2.39min,97.50%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.08min,98.48%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.4.39min,98.97%(最大)。

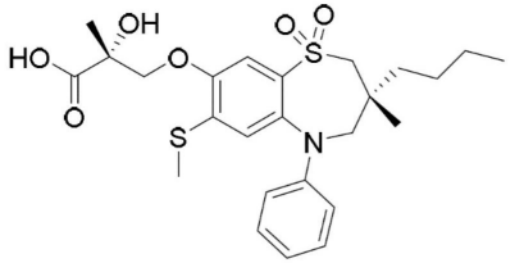
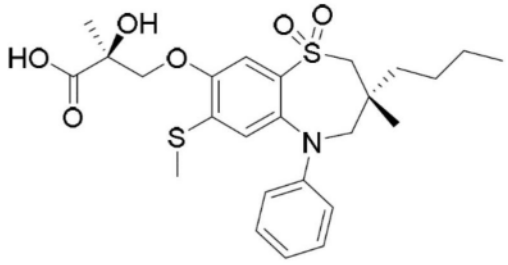
[1233] 两种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[1234] 实施例33

[1235] 3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸(单独的非对映异构体)

[1236]

[1237] 非对映异构体1及2

[1238] 向3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯的非对映异构体1及2(中间体56;250mg,0.48mmol)于1,4-二噁烷(2mL)中的搅拌溶液中添加稀HCl(6N,5mL),且将反应混合物在80℃下搅拌4小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(5mL)稀释且用EtOAc(2×20mL)萃取水层。将合并的有机层用水(15mL)及盐水(15mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤,真空浓缩且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:50-60%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质。通过制备型HPLC(方法A)再纯化所获得的残余物,得到标题化合物。产率:25%(60mg,白色固体)。

[1239] LCMS:(方法E)507.8(M^++H),Rt.1.44min,99.07%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.18min,99.82%(最大)。

[1240] 通过手性SFC(方法F)分离两种非对映异构体(60mg,0.11mmol)。第一洗脱级分对应于非对映异构体1且第二洗脱级分对应于非对映异构体2。随后分别处理两个洗脱级分中的各者以便进一步纯化。将所获得的残余物用稀HCl(1.5N,pH约4)酸化,且用EtOAc(3×

5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤且在40℃下真空浓缩,得到标题化合物的纯化非对映异构体。

[1241] 非对映异构体1:产率:27%(16mg,灰白色固体)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.75(s,1H),7.33(s,1H),7.18(t,J=7.6Hz,2H),6.91(d,J=7.2Hz,2H),6.79(s,2H),5.65-5.11(m,1H),4.12(s,2H),3.78(bs,2H),3.29-3.24(m,2H),2.20(s,3H),1.40(s,3H),1.39-1.15(m,6H),1.01(s,3H),0.81-0.78(m,3H)。LCMS:(方法E)508.1(M^++H),Rt.2.44min,98.51%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.23min,97.95%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.3.12min,100%(最大)。

[1242] 非对映异构体2:产率:27%(16mg,灰白色固体)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.77(s,1H),7.33(s,1H),7.19(t,J=8.0Hz,2H),6.92(d,J=6.4Hz,2H),6.79(s,2H),5.65-5.11(m,1H),4.13(s,2H),3.78(bs,2H),3.29-3.24(m,2H),2.20(s,3H),1.40(s,3H),1.39-1.15(m,6H),1.01(s,3H),0.87-0.80(m,3H)。LCMS:(方法E)508.1(M^++H),Rt.2.45min,98.38%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.24min,98.70%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.3.99min,98.85%(最大)。

[1243] 非对映异构体3

[1244] 向3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯的非对映异构体3(中间体56;50mg,0.09mmol)于1,4-二噁烷(2mL)中的搅拌溶液中添加稀HCl(6N,3mL),且将反应混合物在80℃下搅拌4小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(5mL)稀释,且用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:50-60%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:54%(26mg,白色固体)。

[1245] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.77(s,1H),7.34(s,1H),7.19(t,J=8.0Hz,2H),6.91(d,J=7.6Hz,2H),6.80(t,J=8.0Hz,2H),5.40(s,1H),4.13(s,2H),3.37(bs,2H),3.33-3.21(m,2H),2.20(s,3H),1.48(s,3H),1.40-1.20(m,6H),1.01(s,3H),0.85-0.75(m,3H)。LCMS:(方法A)508.1(M^++H),Rt.2.50min,96.08%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.19min,97.64%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.1.69min,100%(最大)。

[1246] 非对映异构体4

[1247] 向3-((3-丁基-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯的非对映异构体4(中间体56;60mg,0.11mmol)于1,4-二噁烷(2mL)中的搅拌溶液中添加稀HCl(6N,3mL),且将反应混合物在80℃下搅拌4小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(5mL)稀释且用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:50-60%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:33%(25mg,白色固体)。

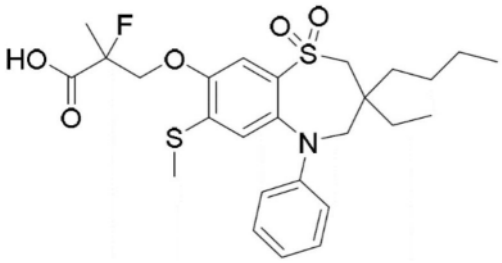
[1248] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.80(s,1H),7.34(s,1H),7.19(t,J=7.6Hz,2H),6.92(d,J=7.6Hz,2H),6.80(t,J=7.6Hz,2H),5.40(s,1H),4.16-4.11(m,2H),3.79(bs,2H),3.34-3.18(m,2H),2.20(s,3H),1.48(s,3H),1.43-1.25(m,6H),1.01(s,3H),0.86-0.82(m,3H)。LCMS:(方法A)508.1(M^++H),Rt.2.49min,94.27%(最大)。HPLC:(方法B)

Rt.5.18min,96.78%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.2.75min,97.3%(最大)。

[1249] 四种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[1250] 实施例34

[1251] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸

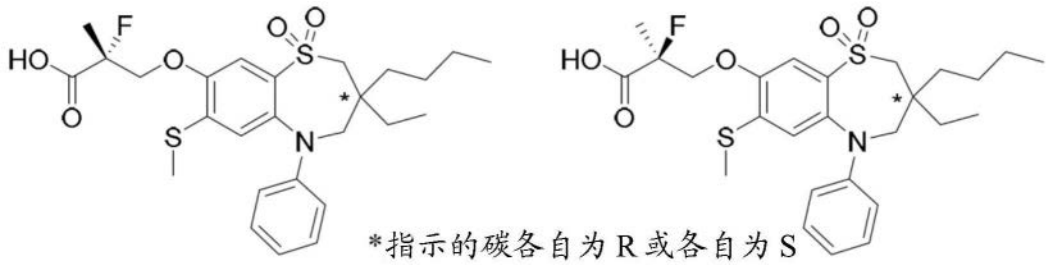
[1252] 

[1253] 向3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸甲酯(中间体59;40mg,0.07mmol)于1,4-二噁烷及水的混合物(7:3,10mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂(6.5mg,0.14mmol),且将反应混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,pH约4)酸化且用冰冷水(2mL)稀释。用EtOAc(2×5mL)萃取水层且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:9%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,且通过制备型HPLC(方法A)再纯化所获得的残余物,得到标题化合物。产率:13%(5mg,白色固体)。

[1254] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):7.35(s,1H),7.22(t,J=8.4Hz,2H),6.99(d,J=7.2Hz,2H),6.86(t,J=7.6Hz,1H),6.70(s,1H),4.48-4.37(m,2H),3.70(s,2H),3.27(s,2H),2.16(s,3H),1.65-1.54(m,3H),1.50-1.35(m,2H),1.34-1.29(m,2H),1.27-0.98(m,4H),0.81-0.71(m,6H)。LCMS:(方法E)524.2(M^++H),Rt.2.85min,97.85%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.77min,98.44%(最大)。

[1255] 实施例35

[1256] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸(单独的非对映异构体)

[1257] 

[1258] 非对映异构体1

[1259] 向3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸甲酯的非对映异构体1(中间体60;50mg,0.09mmol)于1,4-二噁烷及水的混合物(7:3,10mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂(7.8mg,0.18mmol),且将反应混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,1mL)淬灭且用水(2mL)稀释。用EtOAc(2×4mL)萃取水层且将合并

的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩,得到标题化合物。产率:68%(33mg,灰白色固体)。

[1260] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ13.51(bs,1H),7.39(s,1H),7.23(t,J=7.6Hz,2H),6.99(d,J=7.6Hz,2H),6.87(t,J=7.2Hz,1H),6.70(s,1H),4.49-4.37(m,2H),3.69(bs,2H),3.27(s,2H),2.16(s,3H),1.61-1.54(m,4H),1.48-1.41(m,1H),1.39-1.28(m,2H),1.23-0.97(m,4H),0.81-0.71(m,6H)。LCMS:(方法E)523.8(M^++H),Rt.3.02min,99.25%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.80min,99.45%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.4.84min,99.18%(最大)。

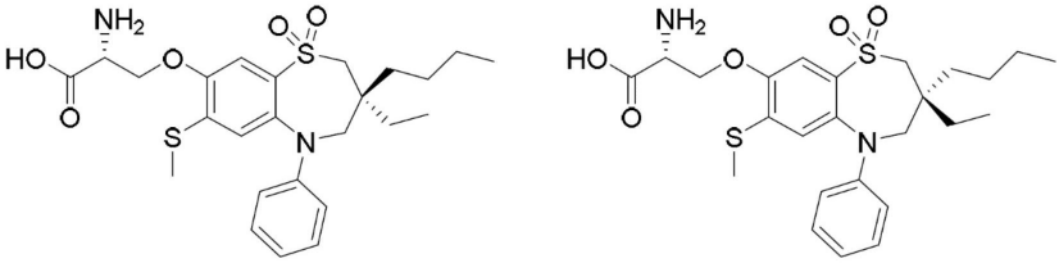
[1261] 非对映异构体2

[1262] 向3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-氟-2-甲基丙酸甲酯的非对映异构体2(中间体60;55mg,0.10mmol)于1,4-二噁烷及水的混合物(7:3,10mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂(8.6mg,0.18mmol),且将反应混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,1mL)淬灭且用水(2mL)稀释。用EtOAc(2×4mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分,得到标题化合物。产率:62%(33mg,灰白色固体)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ13.52(s,1H),7.35(s,1H),7.22(t,J=8.0Hz,2H),6.99(d,J=7.6Hz,2H),6.88(t,J=7.2Hz,1H),6.70(s,1H),4.48-4.34(m,2H),3.71(bs,2H),3.27(s,2H),2.16(s,3H),1.62-1.57(m,4H),1.37-1.24(m,3H),1.18-0.95(m,4H),0.79-0.72(m,6H)。LCMS:(方法E)523.8(M^++H),Rt.3.02min,99.47%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.80min,99.60%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.5.52min,98.89%(最大)。

[1263] 两种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[1264] 实施例36

[1265] O-((S)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-D-丝氨酸及O-((R)-3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-D-丝氨酸

[1266] 

[1267] 非对映异构体1

[1268] 向O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-D-丝氨酸甲酯的非对映异构体1(中间体63;400mg,0.77mmol)于1,4-二噁烷及水的混合物(7:3,10mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂(64mg,1.53mmol),且将反应混合物在室温下搅拌2小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用水(5mL)稀释且用DCM(2×15mL)萃取水层。将合并的有机层用水(15mL)及盐水(15mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:24%MeOH/DCM;硅

胶:230-400目)纯化所得粗物质。通过制备型HPLC使用(方法A)再纯化所获得的残余物,得到标题化合物。产率:10%(38mg,白色固体)。

[1269] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):7.89-7.77(m,2H),7.36(s,1H),7.23(t,J=7.2Hz,2H),7.00(d,J=7.2Hz,2H),6.87(t,J=7.2Hz,1H),6.70(s,1H),4.44-4.41(m,1H),4.27-4.22(m,1H),3.76(s,2H),3.61-3.51(m,1H),3.28(s,2H),2.17(s,3H),1.64-1.31(m,4H),1.21-0.95(m,4H),0.88-0.68(m,6H)。LCMS:(方法F)507.1(M^++H),Rt.2.60min,93.95%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.4.55min,96.16%(最大)。

[1270] 非对映异构体2

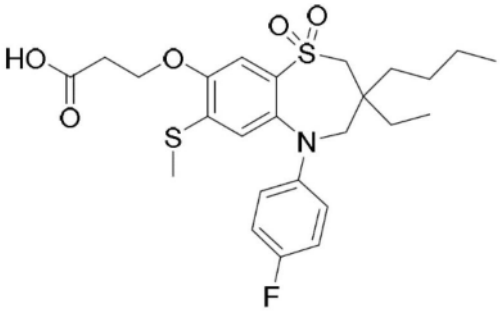
[1271] 向O-(3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)-D-丝氨酸甲酯的非对映异构体2(中间体63;370mg,0.71mmol)于1,4-二噁烷及水的混合物(7:3,10mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂(59mg,1.42mmol),且将反应混合物在室温下搅拌2小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用水(5mL)稀释且用DCM(2×15mL)萃取水层。将合并的有机层用水(15mL)及盐水(15mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:24%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:14%(53mg,白色固体)。

[1272] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):7.35(s,1H),7.22(t,J=7.6Hz,2H),7.00(d,J=7.6Hz,2H),6.87(t,J=7.2Hz,1H),6.71(s,1H),4.44-4.41(m,1H),4.27-4.22(m,1H),3.75(s,2H),3.61-3.48(m,1H),3.28(s,2H),2.17(s,3H),1.64-1.31(m,4H),1.21-0.95(m,4H),0.88-0.68(m,6H)。LCMS:(方法F)507.2(M^++H),Rt.2.34min,96.63%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.4.55min,94.35%(最大)。

[1273] 两种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[1274] 实施例37

[1275] 3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1276] 

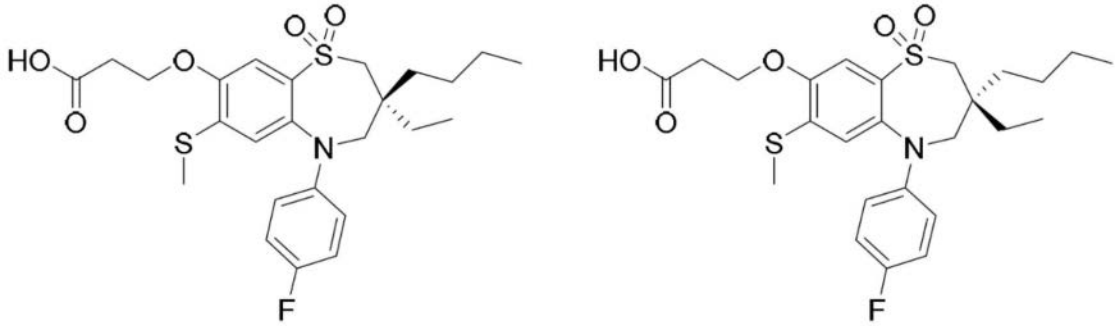
[1277] 在0℃下,向3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体70;100mg,0.22mmol)于THF(3mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(25mg,0.22mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加β-丙内酯(15mg,0.22mmol)于THF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,1mL)淬灭且用水(1mL)稀释。用EtOAc(2×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤,真空浓缩且通过制备型HPLC(方法A)纯化所得粗物质。真空浓缩纯化洗脱级分且将所获得的残余物溶解于EtOAc(10mL)中。将EtOAc层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无

水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分,得到标题化合物。产率:22%(25mg,白色固体)。

[1278] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.42(s,1H),7.30(s,1H),7.08-7.05(m,4H),6.62(s,1H),4.26(t,J=5.6Hz,2H),3.73-3.62(m,2H),3.30-3.26(m,2H),2.73-2.60(m,2H),2.15(s,3H),1.38-1.37(m,2H),1.35-1.33(m,2H),1.24-1.12(m,4H),0.78-0.72(m,6H)。LCMS:(方法E)510.0(M^++H),Rt.3.00min,98.19%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.66min,98.97%(最大)。

[1279] 实施例38

[1280] (S)-3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸及(R)-3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1281] 

[1282] 对映异构体1

[1283] 在0℃下,向3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体1(中间体70;100mg,0.22mmol)于THF(3mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(25mg,0.22mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加β-丙内酯(15mg,0.22mmol)于THF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,1mL)淬灭且用水(1mL)稀释。用EtOAc(2×5mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:40%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:26%(30mg,灰白色固体)。

[1284] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.45(s,1H),7.31(s,1H),7.08-7.06(m,4H),6.62(s,1H),4.27(t,J=6.0Hz,2H),3.82-3.67(m,2H),3.26-3.29(m,2H),2.72(t,J=6.0Hz,2H),2.15(s,3H),1.60-1.50(m,2H),1.38-1.31(m,2H),1.16-1.16(m,4H),0.78-0.76(m,6H)。LCMS:(方法E)510.0(M^++H),Rt.3.01min,95.68%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.02min,97.25%(最大)。手性HPLC:(方法H)Rt.2.98min,99.49%(最大)。

[1285] 对映异构体2

[1286] 在0℃下,向3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物的对映异构体2(中间体70;100mg,0.22mmol)于THF(3mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(25mg,0.22mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加β-丙内酯(15mg,0.22mmol)于THF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,1mL)淬灭且用水(1mL)稀释。用EtOAc(2×5mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:40%EtOAc/PE;硅

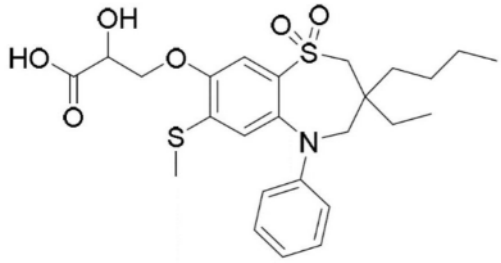
胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:9%(10mg,灰白色固体)。

[1287] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.45(s,1H),7.30(s,1H),7.08-7.06(m,4H),6.62(s,1H),4.26(t,J=5.6Hz,2H),3.82-3.67(m,2H),3.26-3.29(m,2H),2.72(t,J=7.6Hz,2H),2.15(s,3H),1.52-1.51(m,2H),1.38-1.31(m,2H),1.24-1.11(m,4H),0.78-0.76(m,6H)。LCMS:(方法E)510.0(M^++H),Rt.3.01min,91.43%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.02min,93.54%(最大)。手性HPLC:(方法H)Rt.3.32min,98.84%(最大)。

[1288] 两种对映异构体的绝对构型为未知的。

[1289] 实施例39

[1290] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸

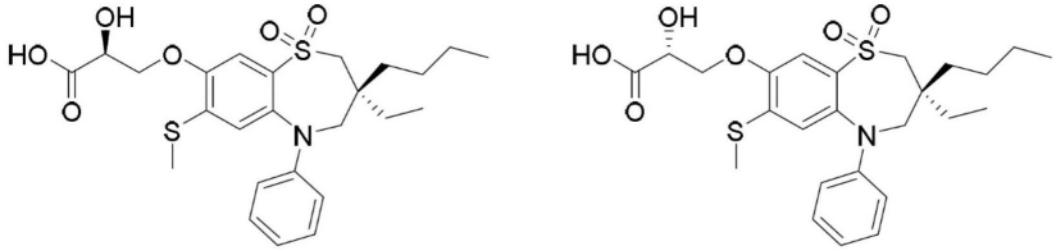
[1291] 

[1292] 向3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯(中间体71;300mg,0.57mmol)于1,4-二噁烷(5mL)中的溶液中逐滴添加稀HCl(6N,9mL),且将反应混合物在80℃下加热4小时。反应完成后(通过TLC监测),用EtOAc(2×10mL)萃取反应混合物且将合并的有机层用水(10mL)及盐水(10mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8-10%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,且通过制备型HPLC(方法A)再纯化所获得的物质。真空浓缩纯化洗脱级分且将所获得的残余物溶解于EtOAc(10mL)中。将有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分,得到标题化合物。产率:37%(110mg,白色固体)。

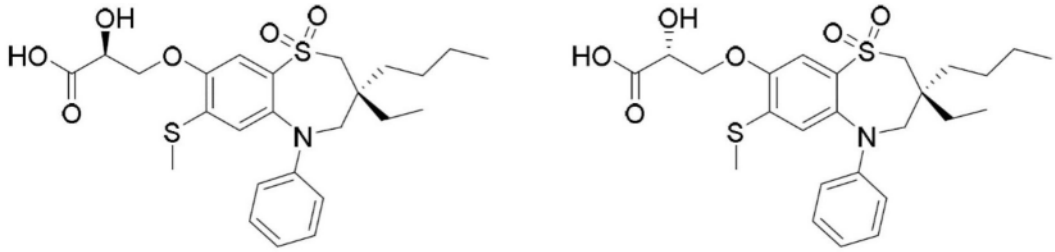
[1293] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.35(s,1H),7.21(t,J=8.0Hz,2H),6.97(d,J=7.2Hz,2H),6.85(t,J=7.2Hz,1H),6.70(s,1H),4.31(s,1H),4.12(s,2H),3.95-3.55(m,2H),3.26(s,2H),2.16(s,3H),1.65-1.45(m,1H),1.50-1.35(m,1H),1.40-1.30(m,2H),1.22-1.03(m,4H),0.79-0.74(m,6H)。LCMS:(方法F)508.2(M^++H),Rt.2.57min,98.77%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.28min,98.17%(最大)。

[1294] 实施例40

[1295] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸(单独的非对映异构体)



[1296]



非对映异构体1

[1297] 向3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯的非对映异构体1(中间体72;100mg,0.19mmol)于1,4-二噁烷(1mL)中的溶液中逐滴添加稀HCl(6N,2mL),且将反应混合物在80℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用水(2mL)稀释且用EtOAc(2×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:5-10%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。

[1298] 遵循相同程序,分别以100mg的中间体72的对映异构体2、3及4起始,获得标题化合物的非对映异构体2、3及4。

[1299] 非对映异构体1:产率:56%(55mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.36(s,1H),7.22(t,J=8.4Hz,2H),6.98(d,J=8.0Hz,2H),6.85(t,J=7.2Hz,1H),6.70(s,1H),4.31(t,J=7.6Hz,1H),4.22-4.14(m,2H),3.68(s,2H),3.26(s,2H),2.16(s,3H),1.62-1.50(m,2H),1.40-1.25(m,2H),1.18-1.03(m,4H),0.85-0.65(m,6H)。LCMS:(方法E)508.0(M^++H),Rt.2.89min,97.46%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.34min,99.12%(最大)。手性SFC:(方法I)Rt.1.67min,97.58%(最大)。

[1300] 非对映异构体2:产率:61%(60mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.35(s,1H),7.22(t,J=8.0Hz,2H),6.98(d,J=8.0Hz,2H),6.86(t,J=7.2Hz,1H),6.70(s,1H),4.33(d,J=8.0Hz,1H),4.20-4.10(m,2H),3.70(s,2H),3.26(s,2H),2.16(s,3H),1.65-1.40(m,2H),1.40-1.28(m,2H),1.20-0.97(m,4H),0.80-0.65(m,6H)。LCMS:(方法E)508.0(M^++H),Rt.2.89min,97.42%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.34min,99.94%(最大)。手性SFC:(方法I)Rt.2.49min,99.18%(最大)。

[1301] 非对映异构体3:产率:56%(55mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.36(s,1H),7.22(t,J=8.4Hz,2H),6.98(d,J=7.6Hz,2H),6.85(t,J=7.2Hz,1H),6.70(s,1H),4.31(t,J=7.6Hz,1H),4.21-4.13(m,2H),3.68(s,2H),3.27(s,2H),2.16(s,3H),1.65-1.40(m,2H),1.39-1.28(m,2H),1.20-1.03(m,4H),0.79-0.74(m,6H)。LCMS:(方法E)508.1(M^++H),Rt.2.88min,99.97%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.34min,98.37%(最大)。手性SFC:

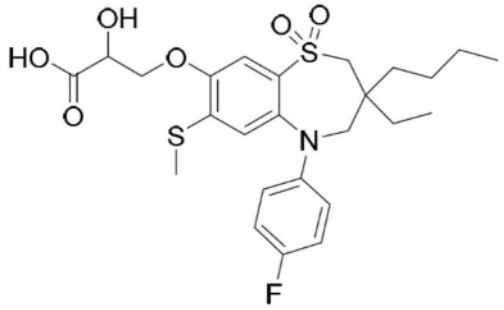
(方法H)Rt.2.05min,99.25％(最大)。

[1302] 非对映异构体4:产率:56％(55mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.36(s,1H),7.22(t,J＝8.0Hz,2H),6.98(d,J＝8.0Hz,2H),6.86(t,J＝7.2Hz,1H),6.70(s,1H),4.31(q,J＝2.4Hz,1H),4.24-4.14(m,2H),3.70(s,2H),3.27(s,2H),2.16(s,3H),1.62-1.40(m,2H),1.40-1.28(m,2H),1.20-0.95(m,4H),0.79-0.74(m,6H)。LCMS:(方法E)508.0(M^++H),Rt.2.87min,96.68％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.29min,98.11％(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.3.10min,99.51％(最大)。

[1303] 四种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[1304] 实施例41

[1305] 3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸

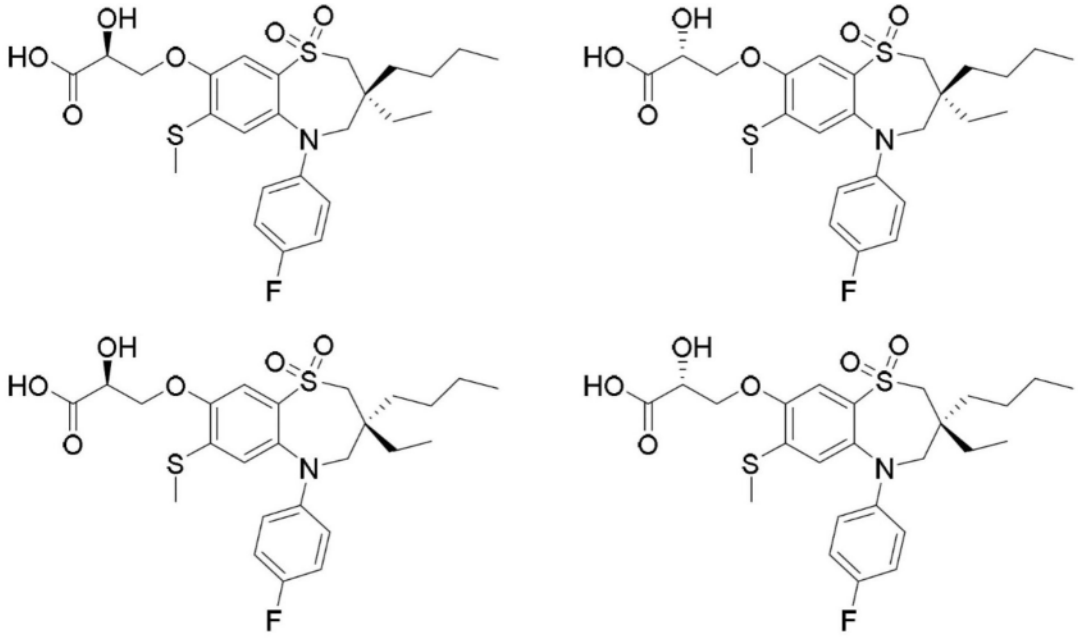
[1306] 

[1307] 向3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯(中间体73;60mg,0.11mmol)于1,4-二噁烷(1mL)中的溶液中添加稀HCl(6N,2mL),且将反应混合物在80℃下加热2小时。反应完成后(通过TLC监测),用EtOAc(2×4mL)萃取反应混合物且将合并的有机层用水(4mL)及盐水(4mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。将所得粗物质用己烷研磨,得到标题化合物。产率:86％(30mg,棕色固体)。

[1308] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.87(s,1H),7.34(s,1H),7.08-7.06(m,4H),5.60(s,1H),4.36-4.27(m,1H),4.24(t,J＝3.6Hz,2H),3.75-3.68(m,2H),3.33-3.29(m,2H),2.16(s,3H),1.58-1.51(m,2H),1.36-1.35(m,2H),1.10-1.08(m,4H),0.78-0.76(m,6H)。LCMS:(方法E)526.0(M^++H),Rt.2.88min,94.37％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.31min,92.62％(最大)。

[1309] 实施例42

[1310] 3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸(单独的非对映异构体)

[1311] 

[1312] 向3-((3-丁基-3-乙基-5-(4-氟苯基)-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯的非对映异构体1(中间体74;30mg,0.05mmol)于1,4-二噁烷(1mL)中的溶液中添加稀HCl(6N,2mL),且将反应混合物在60℃下加热2小时。反应完成后(通过TLC监测),用EtOAc(2×4mL)萃取反应混合物。将合并的有机层用水(4mL)及盐水(4mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。将所得粗物质用已烷研磨,过滤且真空干燥,得到标题化合物。

[1313] 遵循相同程序,分别以30、10及10mg的中间体74的非对映异构体2、3及4起始,获得标题化合物的非对映异构体2、3及4。

[1314] 非对映异构体1:产率:10%(3mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.45(s,1H),7.30-7.27(m,4H),6.55(s,1H),4.69-4.58(m,1H),4.51-4.40(m,2H),3.70-3.65(m,2H),3.21-3.17(m,2H),2.17(s,3H),1.61-1.44(m,4H),1.36-1.31(m,2H),1.30-1.21(m,2H),0.85-0.79(m,6H)。LCMS:(方法E)526.0(M^++H),Rt.2.88min,92.83%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.37min,96.85%(最大),手性SFC:(方法G)Rt.11.85min,100%(最大)。

[1315] 非对映异构体2:产率:17%(5mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.34(s,1H),7.08-7.06(m,4H),6.62(s,1H),4.28-4.27(m,3H),3.68-3.50(m,2H),3.33-3.28(m,2H),2.15(s,3H),1.50-1.38(m,2H),1.36-1.31(m,2H),1.23-1.02(m,4H),0.77-0.74(m,6H)。LCMS:(方法E)526.0(M^++H),Rt.2.87min,88.49%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.37min,90.21%(最大),手性SFC:(方法G)Rt.14.73min,93.17%(最大)。

[1316] 非对映异构体3:产率:42%(4mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.44(s,1H),7.08-6.98(m,4H),6.55(s,1H),4.62-4.60(m,1H),4.46-4.43(m,2H),3.78-3.68(m,2H),3.18-3.10(m,2H),2.17(s,3H),1.88-1.61(m,2H),1.50-1.42(m,2H),1.22-1.11(m,4H),0.84-0.83(m,6H)。LCMS:(方法E)526.0(M^++H),Rt.2.88min,95.50%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.29min,93.24%(最大)。手性SFC:(方法G)Rt.4.02min,76.11%(最大)。

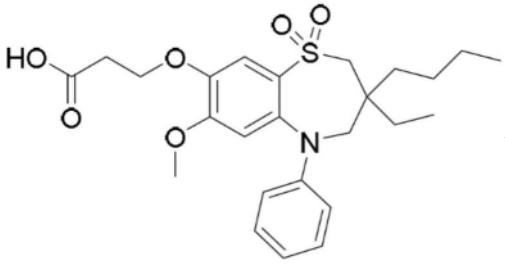
[1317] 非对映异构体4:产率:40%(5mg,白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.34(s,1H),7.08-7.06(m,4H),6.62(s,1H),4.34-4.30(m,1H),4.28-4.21(m,2H),3.68-3.50(m,

2H),3.33-3.31(m,2H),2.15(s,3H),1.60-1.51(m,2H),1.38-1.32(m,2H),1.14-1.01(m,4H),0.77-0.72(m,6H)。LCMS:(方法E)526.2(M^++H),Rt.5.05min,90.29%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.37min,91.88%(最大),手性SFC:(方法G)Rt.5.31min,94.4%(最大)。

[1318] 四种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[1319] 实施例43

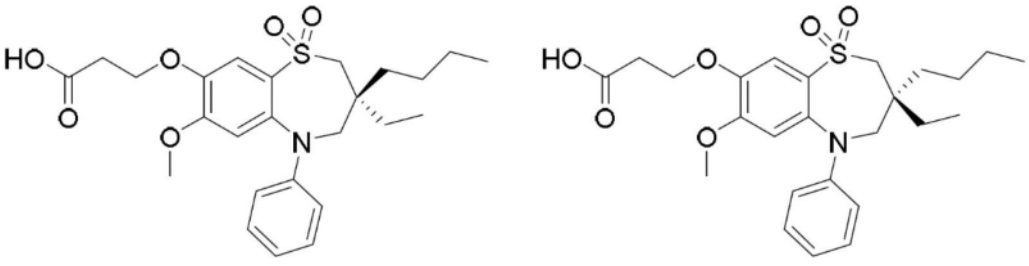
[1320] 3-((3-丁基-3-乙基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1321]  在0℃下,向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体75;200mg,0.49mmol)于THF(3mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(62mg,0.54mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加β-丙内酯(35mg,0.49mmol)于THF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,1mL)淬灭且用水(1mL)稀释。用EtOAc(2×5mL)萃取水层且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:70%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:8%(12mg,灰白色固体)。

[1322] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.33(s,1H),7.21(t,J=8.4Hz,2H),6.98(d,J=7.6Hz,2H),6.84(t,J=7.2Hz,1H),6.54(s,1H),4.17(t,J=6.4Hz,2H),3.72-3.61(m,5H),3.23(s,2H),2.60(s,2H),1.54-1.30(m,4H),1.24-1.14(m,4H),1.10-1.03(m,6H)。LCMS:(方法E)476.0(M^++H),Rt.2.91min,95.24%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.32min,94.80%(最大)。

[1323] 实施例44

[1324] (S)-3-((3-丁基-3-乙基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸及(R)-3-((3-丁基-3-乙基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1325] 

[1326] 通过手性SFC仪器(方法I)分离外消旋3-((3-丁基-3-乙基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸(实施例43;75mg,0.55mmol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1

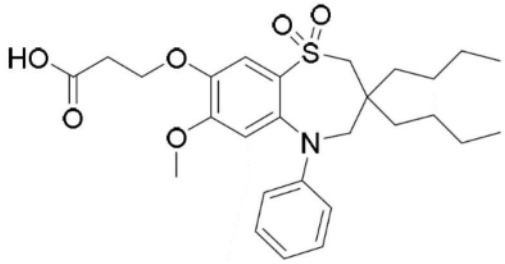
且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

[1327] 对映异构体1:产率:6％(4mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.34(s,1H),7.22(t,J＝8.4Hz,2H),6.99(d,J＝8.0Hz,2H),6.85(t,J＝7.2Hz,1H),6.54(s,1H),4.28-4.20(m,2H),3.89-3.58(m,5H),3.22(s,2H),2.52-2.51(m,2H),1.55-1.41(m,3H),1.36-1.24(m,2H),1.15-1.14(m,3H),0.79-0.74(m,6H)。LCMS:(方法E)476.0(M^++H),Rt.2.89min,97.91％(最大)。HPLC:(方法D)Rt.5.15min,98.48％(最大)。手性SFC:(方法I)Rt.3.85min,96.61％(最大)。

[1328] 对映异构体2:产率:4％(3mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.34(s,1H),7.21(t,J＝8.0Hz,2H),6.98(d,J＝7.2Hz,2H),6.84(t,J＝7.6Hz,1H),6.54(s,1H),4.13-4.16(m,2H),3.84-3.61(m,5H),3.23(s,2H),2.61-2.59(m,2H),1.54-1.42(m,3H),1.36-1.31(m,2H),1.14-1.01(m,3H),0.79-0.74(m,6H)。LCMS:(方法E)476.1(M^++H),Rt.2.89min,93.86％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.33min,99.15％(最大)。手性SFC:(方法I)Rt.4.64min,92.11％(最大)。

[1329] 实施例45

[1330] 3-((3,3-二丁基-7-甲氧基-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

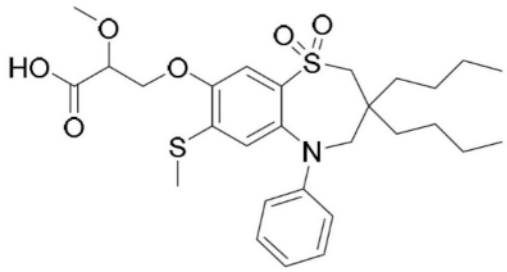
[1331] 

[1332] 在0℃下,向3,3-二丁基-8-羟基-7-甲氧基-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体77;230mg,0.53mmol)于THF(3mL)中的搅拌溶液中添加叔丁醇钾(65mg,0.58mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加β-丙内酯(38mg,0.53mmol)于THF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌16小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,1mL)淬灭且随后用水(1mL)稀释。用EtOAc(2×5mL)萃取水层且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:40％EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:2％(5mg,灰白色固体)。

[1333] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.34(s,1H),7.23(t,J＝8.4Hz,2H),7.01(d,J＝7.6Hz,2H),6.87(t,J＝7.6Hz,1H),6.52(s,1H),4.20(t,J＝6.0Hz,2H),3.81-3.60(m,5H),3.24(s,2H),2.72(t,J＝5.6Hz,2H),1.42-1.30(m,4H),1.14-1.03(m,8H),0.79-0.75(m,6H)。LCMS:(方法E)504.3(M^++H),Rt.2.92min,96.63％(最大)。HPLC:(方法D)Rt.5.66min,96.82％(最大)。

[1334] 实施例46

[1335] 3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸

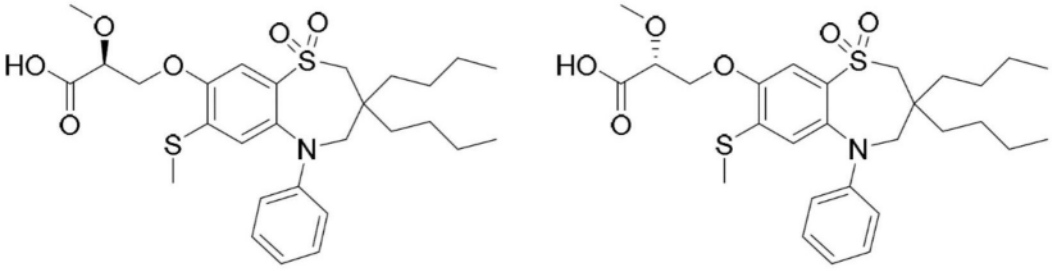
[1336] 

[1337] 向3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸甲酯(中间体78;30mg,0.053mmol)于1,4-二噁烷及水的混合物(1:1,2mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂(3mg,0.08mmol),且将反应混合物在室温下搅拌1小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,1mL)淬灭且用水(1mL)稀释。用EtOAc(2×5mL)萃取水层,且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机层随后经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩,得到标题化合物。产率:69%(20mg,白色固体)。

[1338] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.90(s,1H),7.34-7.29(m,1H),7.23(t,J=8.0Hz,2H),7.01(d,J=8.0Hz,2H),6.88(t,J=7.2Hz,1H),6.67(s,1H),4.37-4.35(m,1H),4.30-4.26(m,1H),4.18-4.16(m,1H),3.78-3.60(m,2H),3.41(s,3H),3.33-3.27(m,2H),2.15(s,3H),1.50-1.43(m,2H),1.35-1.32(m,2H),1.17-1.02(m,8H),0.78-0.75(m,6H)。LCMS:(方法E)550.1(M^++H),Rt.3.17min,91.21%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.13min,92.03%(最大)。

[1339] 实施例47

[1340] (R)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸及(S)-3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸

[1341] 

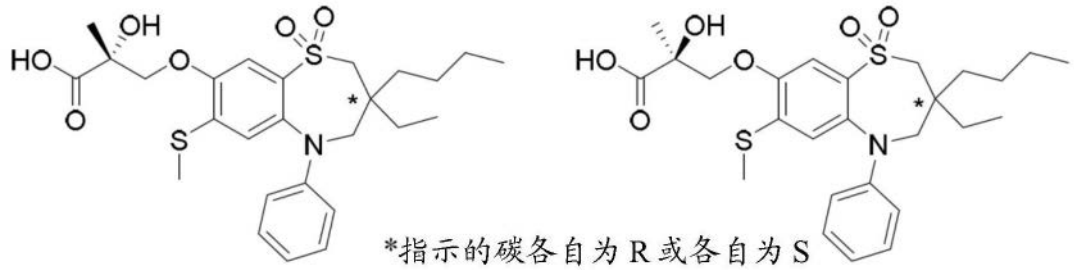
[1342] 通过手性SFC(方法H)分离外消旋3-((3,3-二丁基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-甲氧基丙酸(实施例46;40mg,0.072mmol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

[1343] 对映异构体1:产率:7.5%(3mg,灰色固体)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.54(s,1H),7.41(s,1H),7.28(s,1H),7.07-6.98(m,3H),6.63(s,1H),4.53(d,J=8.0Hz,1H),4.38(s,1H),4.26(s,1H),3.68(s,1H),3.61(s,3H),3.59(s,1H),3.18(s,2H),2.16(s,3H),1.54-1.40(m,4H),1.35-1.30(m,2H),1.27-1.15(m,4H),1.12-1.11(m,2H),0.83-0.81(m,6H)。LCMS:(方法G)550.3(M^++H),Rt.2.55min,96.05%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.21min,93.44%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.4.0min,98.66%(最大)。

[1344] 对映异构体2:产率:20％(8mg,淡棕色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.33(s,1H),7.22(t,J＝8.4Hz,2H),7.01(d,J＝8.0Hz,2H),6.87(t,J＝7.2Hz,1H),6.67(s,1H),4.35(s,1H),4.17(d,J＝6.4Hz,1H),3.94(s,1H),3.67-3.64(m,2H),3.45-3.41(m,2H),3.29-3.25(m,3H),2.19-2.13(m,3H),1.42-1.30(m,4H),1.14-1.04(m,8H),0.79-0.75(m,6H)。LCMS:(方法E)550.3(M^++H),Rt.3.21min,93.47％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.6.21min,93.11％(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.4.95min,98.08％(最大)。

[1345] 实施例48

[1346] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸(单独的非对映异构体)

[1347] 

*指示的碳各自为R或各自为S

[1348] 向3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基-2-甲基丙酸甲酯的非对映异构体1(中间体79;50mg,0.09mmol)于1,4-二噁烷(3mL)中的溶液中添加稀HCl(6N,3mL),且将反应混合物在80℃下加热3小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用冰冷水(2mL)稀释且用EtOAc(2×5mL)萃取水层。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。将有机部分过滤,真空浓缩且通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8％MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质。通过制备型HPLC(方法A)再纯化所获得的物质,得到标题化合物。

[1349] 遵循相同程序,以50mg的中间体79的非对映异构体2起始,获得标题化合物的非对映异构体2。

[1350] 非对映异构体1:产率:30％(15mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ7.32(s,1H),7.22(t,J＝8.0Hz,2H),6.98(d,J＝7.6Hz,2H),6.86(t,J＝7.6Hz,1H),6.70(s,1H),4.12(s,2H),3.78(s,2H),3.27(s,2H),2.16(s,3H),1.62-1.54(m,1H),1.42-1.38(m,3H),1.35-1.32(m,3H),1.16-0.93(m,4H),0.81-0.71(m,6H)。LCMS:(方法E)522.2(M^++H),Rt.2.84min,99.07％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.45min,99.39％(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.2.08min,100％(最大)。

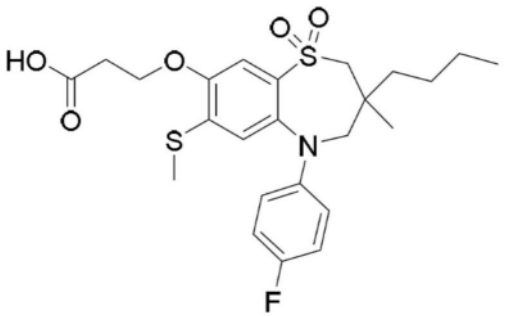
[1351] 非对映异构体2:产率:30％(13mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.70(bs,1H),7.32(s,1H),7.22(t,J＝8.0Hz,2H),6.98(d,J＝7.6Hz,2H),6.86(t,J＝7.6Hz,1H),6.70(s,1H),5.39(bs,1H),4.12(s,2H),3.78(bs,2H),3.27(s,2H),2.16(s,3H),1.62-1.54(m,1H),1.39(s,3H),1.36-1.31(m,3H),1.18-1.03(m,4H),0.81-0.71(m,6H)。LCMS:(方法E)522.2(M^++H),Rt.2.84min,99.52％(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.45min,99.03％(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.3.47min,99.81％(最大)。

[1352] 两种非对映异构体的绝对构型为未知的。

[1353] 实施例49

[1354] 3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-

1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

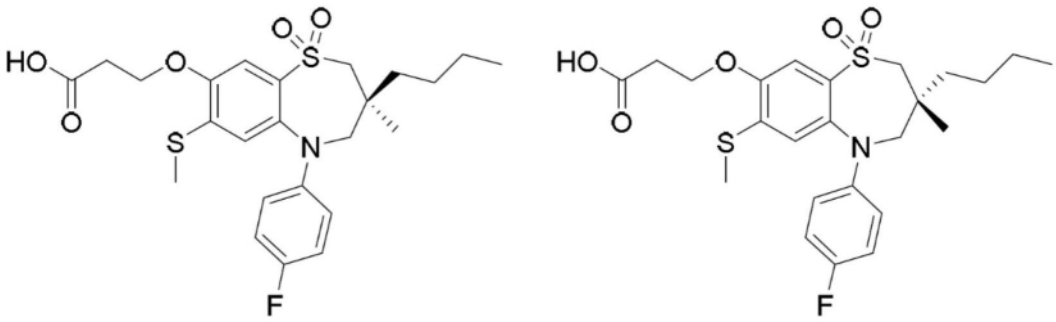
[1355] 

[1356] 向3-丁基-5-(4-氟苯基)-8-羟基-3-甲基-7-(甲基硫基)-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体83;150mg,0.35mmol)于乙腈(5mL)中的搅拌溶液中添加K_2CO_3(219mg,1.5mmol)、3-氯丙酸(80mg,0.74mmol)及碘化钾(23mg,0.14mmol)。将反应混合物在80℃下加热16小时,且通过TLC监测反应进程。反应完成后,将反应混合物用稀HCl(1.5N,2mL)淬灭且用水(2mL)稀释。用EtOAc(2×5mL)萃取水层且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:100%EtOAc/PE;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质。通过制备型HPLC(方法B)纯化所获得的化合物,得到标题化合物。产率:51%(90mg,白色固体)。

[1357] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.45(s,1H),7.00-6.97(m,4H),6.65(s,1H),4.40(t,J=6.0Hz,2H),3.75-3.72(m,1H),3.55-3.51(m,1H),3.18-3.09(m,2H),2.94(s,2H),2.20(s,3H),1.59-1.47(m,1H),1.35-1.28(m,5H),1.12(s,3H),0.86(t,J=6.8Hz,3H)。LCMS:(方法E)496.2(M^++H),Rt.2.74min,98.94%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.48min,99.70%(最大)。

[1358] 实施例50

[1359] (S)-3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸及(R)-3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1360] 

[1361] 通过手性SFC(方法H)分离外消旋3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸(实施例49;78mg,0.15mmol)的两种对映异构体。在40℃下真空浓缩物质。第一洗脱级分对应于对映异构体1且第二洗脱级分对应于对映异构体2。两种对映异构体的绝对构型为未知的。

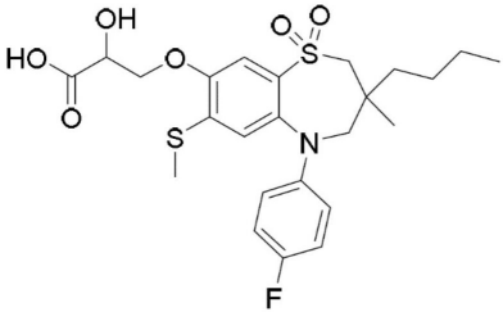
[1362] 对映异构体1:产率:25%(20mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.45(s,1H),6.99-6.97(m,4H),6.65(s,1H),4.40(t,J=6.4Hz,2H),3.81-3.69(m,1H),3.55-3.51(m,1H),3.18-3.09(m,2H),2.93(t,J=6.0Hz,2H),2.20(s,3H),1.60-1.45(m,1H),1.36-1.22(m,5H),1.12(s,3H),0.9-0.84(m,3H)。LCMS:(方法G)496.2(M^++H),Rt.2.30min,

99.12%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.45min,97.07%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.4.85min,99.04%(最大)。

[1363] 对映异构体2:产率:25%(20mg,灰白色固体)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.45(s,1H),7.03-6.95(m,4H),6.65(s,1H),4.40(t,J=6.0Hz,2H),3.81-3.68(m,1H),3.59-3.53(m,1H),3.22-3.05(m,2H),2.93(t,J=6.4Hz,2H),2.20(s,3H),1.60-1.45(m,1H),1.33-1.20(m,5H),1.12(s,3H),0.87-0.84(m,3H)。LCMS:(方法G)496.2(M^++H),Rt.2.30min,96.29%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.44min,93.92%(最大)。手性SFC:(方法H)Rt.6.01min,98.11%(最大)。

[1364] 实施例51

[1365] 3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸

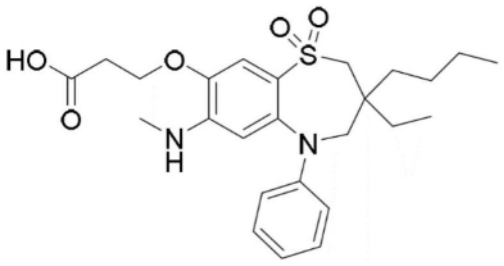
[1366] 

向3-((3-丁基-5-(4-氟苯基)-3-甲基-7-(甲基硫基)-1,1-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)-2-羟基丙酸甲酯(中间体84;160mg,0.3mmol)于1,4-二噁烷(1mL)中的溶液中添加HCl水溶液(6N,2mL),且将反应混合物在80℃下加热16小时。反应完成后(通过TLC监测),用EtOAc(2×5mL)萃取反应混合物。将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤且经无水Na_2SO_4干燥。过滤且真空浓缩有机部分。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:4%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,得到标题化合物。产率:32%(50mg,白色固体)。

[1367] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$):δ7.46(s,1H),7.00-6.96(m,4H),6.63(s,1H),4.63(s,1H),4.46(s,2H),3.76-3.73(m,1H),3.60-3.41(m,1H),3.16(s,2H),2.19(s,3H),1.61-1.45(m,1H),1.35-1.25(m,5H),1.11(s,3H),0.88-0.82(m,3H)。LCMS:(方法E)512.0(M^++H),Rt.2.80min,95.41%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.09min,95.85%(最大)。

[1368] 实施例52

[1369] 3-((3-丁基-3-乙基-7-(甲基氨基)-1,1-二氧代-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯-8-基)氧基)丙酸

[1370] 

[1371] 在0℃下,向3-丁基-3-乙基-8-羟基-7-(甲基氨基)-5-苯基-2,3,4,5-四氢-1,5-苯并硫氮杂环庚三烯1,1-二氧化物(中间体87;100mg,0.24mmol)于THF(3mL)中的搅拌溶液

中添加叔丁醇钾(22.3mg,0.19mmol),且将反应混合物搅拌15分钟。随后逐滴添加β-丙内酯(10.6mg,0.15mmol)于THF(1mL)中的溶液,且将反应混合物在室温下搅拌8小时。反应完成后(通过TLC监测),将反应混合物用稀HCl(1.5N,2mL)淬灭且用水(2mL)稀释。用EtOAc(2×5mL)萃取水层且将合并的有机层用水(5mL)及盐水(5mL)洗涤。有机部分经无水Na_2SO_4干燥,过滤且真空浓缩。通过Isolera柱色谱层析(洗脱液:8-15%MeOH/DCM;硅胶:230-400目)纯化所得粗物质,且通过制备型HPLC(方法A)再纯化所获得的物质,得到标题化合物。产率:5%(6mg,浅棕色固体)。

[1372] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ12.43(s,1H),7.20-7.16(m,3H),6.95(d,J=8.0Hz,2H),6.79(t,J=7.2Hz,1H),5.98(s,1H),5.86(q,J=5.2Hz,1H),4.18(t,J=6.0Hz,2H),3.75(bs,2H),3.13(s,2H),2.77(t,J=6.0Hz,2H),2.55(s,3H),1.62-1.49(m,2H),1.48-1.26(m,2H),1.25-0.95(m,4H),0.79-0.73(m,6H)。LCMS:(方法A)475.0(M^++H),Rt.2.95min,98.63%(最大)。HPLC:(方法B)Rt.5.47min,97.83%(最大)。

[1373] 生物测定

[1374] IBAT(h/m)测定方案

[1375] 将10,000个细胞(人类或小鼠IBAT过度表达细胞)接种于96孔培养板(Corning CLS3809)中的200μL MEM-α培养基(Gibco 12571-063)中,该培养基补充有含有嘌呤霉素(Gibco A1113803)(10μg/mL)的10%FBS(Gibco 10438026),且在37℃下5%CO_2中培育48小时。培育后,自孔中倾析出培养基且用300μL基础MEM-α培养基(不含FBS)洗涤细胞两次。每次倾析基础MEM-α培养基后,将培养板对着纸巾轻拍以确保最大程度地移除残余培养基。

[1376] 将在DMSO(Sigma D2650)中制备的测试抑制剂稀释液(最高测试浓度为10μM,3倍连续稀释,10个点)添加于含有0.25μM 3H-牛磺胆酸(ARC ART-1368)及5μM冷牛磺胆酸(Sigma T4009)的培育混合物中(维持0.2%最终DMSO浓度)。随后将50μL含有测试抑制剂的培育混合物添加至孔中(一式两份),且将培养板在CO_2培育箱中在37℃下培育20分钟。培育后,通过将培养板保持在冰水混合物上2-3分钟来停止反应,且随后自孔中完全吸出培育混合物。用溶解于HEPES(Gibco 15630080)缓冲的(10mM)HBSS(Gibco 14175079)(pH7.4)中的250μL冷却的未经标记的1mM牛磺胆酸洗涤孔两次。每次洗涤后,将培养板对着纸巾轻拍以确保最大程度地移除阻断缓冲液。

[1377] 将100μL MicroScint-20(PerkinElmer 6013621)添加至孔中且在室温下保持过夜,随后在来自PerkinElmer的TopCount NXT™微量培养板闪烁及发光计数器中根据3H测试方案(设定为每孔120秒读取时间)读取培养板。

[1378] LBAT(h/m)测定方案

[1379] 将20,000个细胞(人类或小鼠LBAT过度表达细胞)接种于96孔培养板(Corning CLS3809)中的100μL MEM-α培养基(Gibco 12571-063)中,该培养基补充有含有遗传霉素(Gibco 10131-027)(1mg/mL)的10%FBS(Gibco10438026)中,且在37℃下5%CO_2中培育24小时。培育后,自孔中倾析出培养基且用300μL基础MEM-α培养基(不含FBS)洗涤细胞两次。每次倾析基础MEM-α培养基后,将培养板对着纸巾轻拍以确保最大程度地移除残余培养基。

[1380] 对于人类LBAT,通过将测试抑制剂稀释液(在DMSO(Sigma D2650)中的3倍连续稀释液,10个点)添加于含有0.3μM 3H-牛磺胆酸(ARC ART-1368)及7.5μM冷牛磺胆酸(Sigma T4009)的MEM-α(无FBS)中来制备培育混合物(维持0.2%最终DMSO浓度)。对于小鼠LBAT,通

过将测试抑制剂稀释液(在DMSO中的3倍连续稀释液,10个点)添加于含有0.3μM 3H-牛磺胆酸及25μM冷牛磺胆酸的MEM-α(无FBS)中来制备培育混合物,维持0.2%最终DMSO浓度。

[1381] 随后将50μL含有测试抑制剂的培育混合物添加至孔中(一式两份),且将培养板在CO_2培育箱中在37℃下培育20分钟。培育后,通过将培养板保持在冰水混合物上2-3分钟来停止反应,且随后自孔中完全吸出培育混合物。用溶解于HEPES(Gibco 15630080)缓冲的(10mM)HBSS(Gibco 14175079)(pH 7.4)中的250μL冷却的未经标记的1mM牛磺胆酸洗涤孔两次。每次洗涤后,将培养板对着纸巾轻拍以确保最大程度地移除阻断缓冲液。

[1382] 将100μL MicroScint-20(PerkinElmer 6013621)添加至孔中且在室温下保持过夜,随后在来自PerkinElmer的TopCount NXT™微量培养板闪烁及发光计数器中根据3H测试方案(设定为每孔120秒读取时间,正常培养板方向)读取培养板。

[1383] 双向渗透性测定(Caco-2细胞)

[1384] 将Caco-2细胞(Evotec)以70,000个细胞/孔的密度接种于Millicell®24孔细胞培养插入培养板中且在培育箱(37℃,5%CO_2,95%RH)中维持21天,隔日更换培养基。

[1385] 在二甲基亚砜(DMSO)中制备测试化合物、阿替洛尔(atenolol)(低渗透性标记物)、普萘洛尔(propranolol)(高渗透性标记物)及地高辛(digoxin)(P-gp转运途径的底物)的储备溶液(10mM)。通过用90μL纯DMSO稀释10μL的10mM主储备溶液制备中间储备溶液(1mM)。通过用4950μL FaSSIF缓冲液稀释50μL的1mM制备工作储备溶液(10μM)。将化合物添加至FaSSIF中后,使样品经历超声处理2小时,且在37℃下在4000RPM下离心30分钟。4mL所得上清液直接用于分析。运输实验中的最终DMSO浓度为1%。

[1386] 在分析当天,将Caco-2单层用运输缓冲液(HBSS,pH 7.4)洗涤两次且在培育箱中预培育30分钟(37℃,5%CO_2,95%RH)。用Millicell®-ERS系统测量单层的电阻。选择跨上皮电阻(TEER)值大于350ohm.cm^2的单层用于分析。

[1387] 以吸收方向(A2B)及分泌(B2A)方向进行分析。通过将由化合物组成的运输分析缓冲液(在HBSS中制备的FaSSIF缓冲液)添加至两重(n=2)孔中的供体隔室(顶端腔室A-B;底外侧腔室B-A)中开始运输实验。将含有1%牛血清白蛋白(BSA)的不含药物的HBSS缓冲剂(pH 7.4)引入至接收者(A-B-底外侧;B-A-顶端)隔室中。顶端隔室及底外侧隔室的容积分别为0.4mL及0.8mL。添加给药溶液之后,将培养板在培育箱中在37℃下培育120分钟。120分钟之后,收集供体及接收者样品且与相反缓冲液基质匹配(1:1,30μL研究样品+30μL空白缓冲液)。给药样品与相反缓冲液基质匹配(1:1,30μL研究样品+30μL空白缓冲液)。通过添加含内标的乙腈(60μL研究样品+200μL乙腈,含内标-甲苯磺丁脲(Tolbutamide),500ng/mL)处理样品。使样品涡动,且在4000rpm下离心10min。将所获得的上清液(100μL)用100μL水稀释且转移至新鲜96孔培养板。在适当时,使用发现级生物分析方法,通过液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)法分析样品中化合物的浓度。

[1388] 测试化合物、阿替洛尔、普萘洛尔及地高辛的均值表观渗透率(P_{app},$\times 10^{-6}$厘米/秒)计算如下:

[1389] $$Papp = \frac{dq}{dt} \times \frac{1}{Co} \times \frac{1}{A}$$

[1390] 其中dq/dt=运输速率(接收者隔室中化合物的运输速率),C_0=供体隔室中的初始浓度,A=有效滤膜的表面积。

[1391] 基于HepaRG的测试方案

[1392] 按照Biopredic International提供的方案,在补充有200mM Glutamax(Gibco 35050061)的HepaRG解冻/接种/通用培养基(Biopredic International ADD670C)中解冻冷冻保存的分化HepaRG细胞(Biopredic International HPR116080)的小瓶。将每孔70,000个细胞接种于96孔培养板(Corning CLS3809)中的100μL补充有200mM Glutamax的HepaRG解冻/接种/通用培养基中,且在37℃下5%CO_2中培育24小时。培育后,将接种培养基替换为HepaRG维持/代谢培养基(Biopredic International ADD620C)且培育6天,每48小时补充新鲜的HepaRG维持/代谢培养基。接种后培育7天后,自孔中倾析出培育培养基,且用250μL威廉斯氏E基础培养基(William's E Basal Media)(Gibco 12551032)洗涤细胞两次。每次倾析威廉姆氏E基础培养基后,将培养板对着纸巾轻拍以确保最大程度地移除残余培养基。

[1393] 培育混合物通过将测试抑制剂稀释液(在DMSO(Sigma D2650)中的3倍连续稀释液)添加于含有0.3μM 3H-牛磺胆酸(ARC ART-1368)及7.5μM冷牛磺胆酸(Sigma T4009)的威廉斯氏E培养基(基础)中(维持0.2%最终DMSO浓度)来制备。随后将50μl含有测试抑制剂的培育混合物添加至孔中(一式两份),且将培养板在5%CO_2培育箱中在37℃下培育30分钟。培育后,通过将培养板保持在冰水混合物上2-3分钟来停止反应,且随后自孔中完全吸出培育混合物。用溶解于HEPES(Gibco 15630080)缓冲的(10mM)HBSS(Gibco 14175079)(pH 7.4)中的250μL冷却的未经标记的1mM牛磺胆酸洗涤孔两次。每次洗涤后,将培养板对着纸巾轻拍以确保最大程度地移除阻断缓冲液。

[1394] 将100μL MicroScint-20(PerkinElmer 6013621)添加至孔中且在室温下保持过夜,随后在来自PerkinElmer的TopCount NXT™微量培养板闪烁及发光计数器中根据3H测试方案(设定为每孔120秒读取时间,正常培养板方向)读取培养板。

[1395] 测试化合物稀释液的制备

[1396] 所有测试化合物在室温下以粉末形式提供。制备测试化合物的10mM DMSO储备液,等分且储存于-20℃下。由化合物的10mM DMSO储备液制备在DMSO中的3倍连续稀释液,得到总共10个测试化合物稀释液。将0.5μL此DMSO中的稀释液添加至含有3H-牛磺胆酸及冷牛磺胆酸的250μL不含FBS的基础培养基中以制备培育混合物。

[1397] 生物利用度研究

[1398] 使用8-9周龄的雄性小鼠(C57BL/6或CD1)威斯塔大鼠(Wistar rat)。对于每种测试化合物,使用两组,每组3只动物。一组经由尾部静脉给药1mg/kg(媒剂100%DMSO)的单次静脉内剂量,且另一组经由管饲针给药10mg/kg的单次口服剂量。给药口服剂量的组禁食过夜。静脉内给药后0.083、0.25、0.5、1、2、4、6、8及24小时后以及口服给药后0.25、0.5、1、2、4、6、8及24小时后收集血液样品。血液样品取自于隐静脉。使用0.2%EDTA作为抗凝血剂。通过开发用于估计血浆中的测试化合物的发现级生物分析方法,使用LC-MS/MS系统分析样品。

[1399] 结果

[1400] 实施例化合物的生物学数据显示于下表8中。

[1401] 表8

[1402]

实施例	hLBAT IC_{50} (nM)	hIBAT IC_{50} (nM)	渗透率(Caco-2)		生物利用度 (%)
			P_{app} A2B ($\times10^{-6}$厘米/秒)	ER	
1	2174	18	13.4	0.9	
2	375	6	3.4	3.8	104 (C57BL/6)
3	837	241			
4	375	26	2.2	2.3	
5	791	35			
6	410	17	13.6	1.4	
7	969	418			
8	376	74			

[1403]

实施例	hLBAT IC_{50} (nM)	hIBAT IC_{50} (nM)	渗透率(Caco-2)		生物利用度 (%)
			P_{app} A2B ($\times10^{-6}$厘米/秒)	ER	
9	396	3	1.6	2.8	
10	379	1	2.1	1.6	13 (C57BL/6)
11	613	4	1.5	1.4	
12	669	4			
13	489	4	10.3	2.0	102 (CD1)
14	764	58			
15	1929	32	9.7	0.9	
16		3	17.6	1.0	
17		2	16.5	0.6	
18		52			
19	601	39			
20	1395	42			
21	608	19			
22	543	10			
23	182	334			
24	596	7	22.5	0.6	
25	922	18			
26	1541	10			
27		62			
28		45	0.0		
29，*对映异构体1*	2587	5	20.5	0.7	

[1404]

实施例	hLBAT IC_{50} (nM)	hIBAT IC_{50} (nM)	渗透率(Caco-2)		生物利用度 (%)
			P_{app} A2B ($\times10^{-6}$厘米/秒)	ER	
29，*对映异构体2*	3308	57			
30，*非对映异构体1及2*	247	36			
30，*非对映异构体3及4*	818	263			
30，*非对映异构体1*	283	22	9.0	0.7	
30，*非对映异构体2*	322	52			
31	359	10			
32	2258	8			
32，*非对映异构体1*	2948	3	3.3	2.0	
32，*非对映异构体2*	4084	35			
33，*非对映异构体1*	5936	123			
33，*非对映异构体2*	1412	45			
33，*非对映异构体3*					
33，*非对映异构体4*	575				
34	28	12	5.4	0.9	
35，*非对映异构体1*	48	4	4.0	2.0	8 (CD1)
35，*非对映异构体2*	138	13			
36，*非对映异构体1*		76			
36，*非对映异构体2*		5	0.0	28.0	
37	297	3			

[1405]

实施例	hLBAT IC_{50} (nM)	hIBAT IC_{50} (nM)	渗透率(Caco-2)		生物利用度 (%)
			P_{app} A2B ($\times10^{-6}$厘米/秒)	ER	
38，*对映异构体1*	289	24			
38，*对映异构体2*	439	0.8			
39	613	4			
40，*非对映异构体1*	1372	241			
40，*非对映异构体2*	513	24			
40，*非对映异构体3*	665	2			
40，*非对映异构体4*	389	10			
41	495	3			
42，*非对映异构体1*	1288	19			
42，*非对映异构体2*	2313	36			
42，*非对映异构体3*	892	0.5			
42，*非对映异构体4*	689	1			
43	>20000	44			
44，*对映异构体1*	>20000	46			
44，*对映异构体2*	>23000	392			
45	>6666	11			
46	1484	26			
48，*非对映异构体1*	1188	56			
48，*非对映异构体2*	155	16	3.2	2.5	
49		10			
51		5			

[1406] PD模型:测试化合物对雄性C57BL/6小鼠的总胆汁酸水平的评估。

[1407] 使用8-9周龄的C57BL/6N Tac小鼠来研究胆汁酸调节剂对胆汁酸水平的影响。在检疫及适应期结束后,将动物基于体重随机分成x个实验组:(i)媒剂对照,及(ii)每日口服给药y mg/kg测试化合物一次。用测试化合物处理动物7天。在研究的第5天,将动物单独圈

养于新笼中。在第7天,自各笼收集粪便,随后经由眼眶后途径自各动物抽取血液。对动物实施安乐死以自各动物收集肝脏及末端回肠用于进一步分析。每周两次测量体重及食物消耗。在第7天的血清样品中分析血清脂质概况。在第7天的血清样品中测量血清中的总胆汁酸。在第7天的粪便样品中测量粪便胆汁排泄。在第7天的肝脏样品中量化CYP7A1及SHP的肝脏表达。在第7天的肝脏样品中分析肝脏甘油三酸酯及总胆固醇。

[1408] 尿胆汁酸模型:测试化合物对雄性C57BL/6小鼠的尿胆汁酸水平的评估。

[1409] 使用8-9周龄的C57BL/6N Tac小鼠来研究胆汁酸调节剂对胆汁酸水平的影响。在检疫及适应期结束后,将动物基于体重随机分成x个实验组:(i)媒剂对照,及(ii)每日口服给药y mg/kg测试化合物一次。用测试化合物处理动物7天。在研究的第6天,将动物转移至代谢笼中。在第7天,自各代谢笼收集粪便及尿液,随后经由眼眶后途径自各动物抽取血液。对动物实施安乐死以自各动物收集肾脏用于进一步分析。每周两次测量体重。在第7天的血清样品中测量血清中的总胆汁酸。在第7天的粪便样品中测量粪便胆汁酸排泄。在第7天的样品中测量胆汁酸的尿排泄。在第7天的样品中量化ASBT、OSTa、OSTAb及MRP2的肾脏表达。