

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C07D 405/06 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200480027826.1

[43] 公开日 2008年2月20日

[11] 公开号 CN 101128457A

[22] 申请日 2004.9.23

[21] 申请号 200480027826.1

[30] 优先权

[32] 2003.9.25 [33] US [31] 10/671,216

[86] 国际申请 PCT/US2004/031495 2004.9.23

[87] 国际公布 WO2005/030712 英 2005.4.7

[85] 进入国家阶段日期 2006.3.24

[71] 申请人 先灵公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 S·契卡拉曼尼尔 M·V·契利亚
夏 研

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 刘维升 王景朝

权利要求书6页 说明书78页

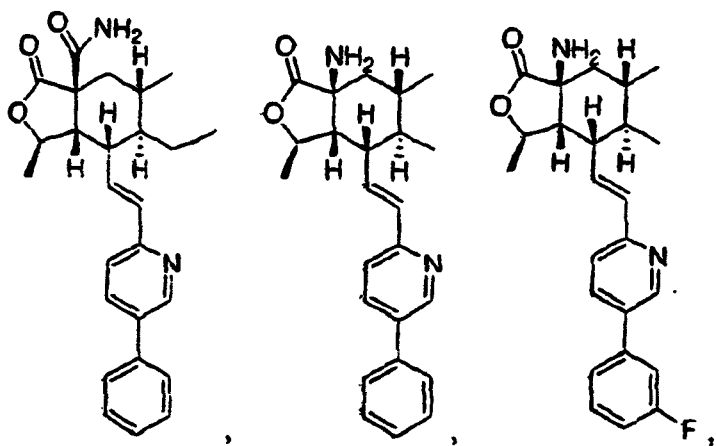
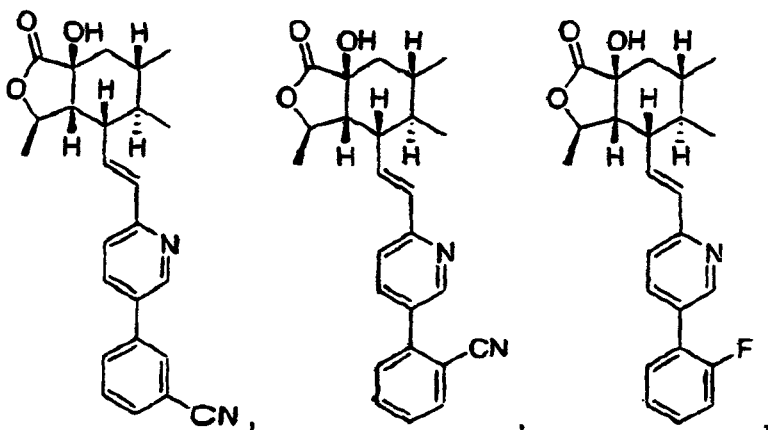
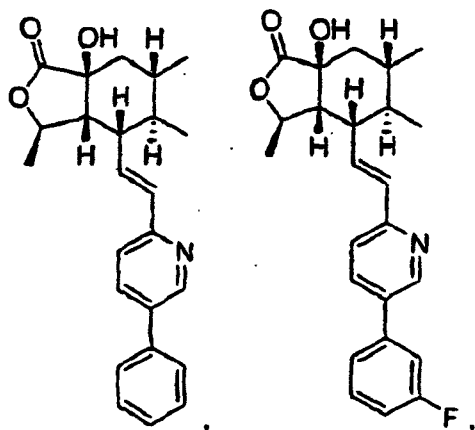
[54] 发明名称

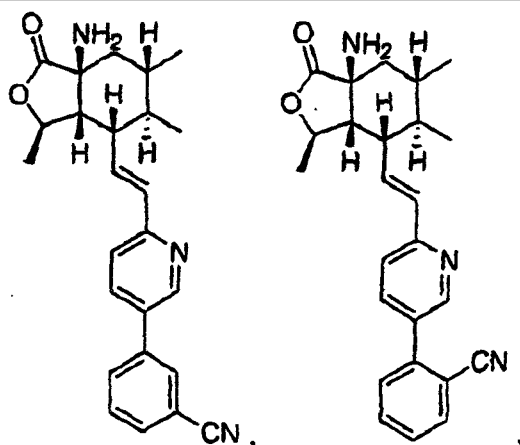
凝血酶受体拮抗剂

[57] 摘要

本发明公开了由文中结构式表示的化合物,或其可药用异构体、盐、溶剂化物和多晶型物。还公开了含有所述化合物的药物组合物,以及它们用作凝血酶受体拮抗剂和大麻素受体结合剂的应用。

1. 由下式的任一种表示的化合物:





或其可药用异构体、盐、溶剂化物或多晶型物。

2. 包括有效量的权利要求 1 的至少一种化合物和至少一种可药用载体的药物组合物。

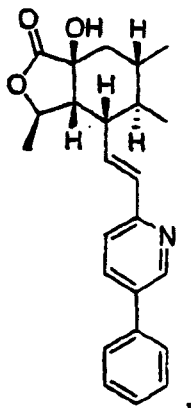
3. 抑制凝血酶受体的方法，包括对需要这种治疗的哺乳动物给药有效量的权利要求 1 的至少一种化合物。

4. 抑制大麻素受体的方法，包括对需要这种治疗的哺乳动物给药有效量的权利要求 1 的至少一种化合物。

5. 治疗血栓症、血小板凝集、凝结、癌症、炎症性疾病或呼吸系统疾病的方法，包括对需要这种治疗的哺乳动物给药有效量的权利要求 1 的至少一种化合物。

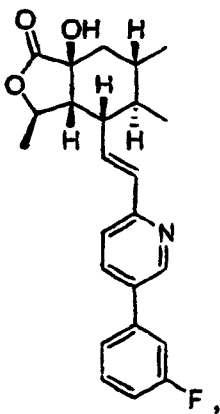
6. 治疗动脉粥样硬化、再狭窄、高血压、心绞痛、心律不齐、心力衰竭、心肌梗塞、肾小球肾炎、血栓性中风、血栓栓塞性中风、外周血管疾病、脑缺血、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化、糖尿病、骨质疏松症、肾缺血、脑中风、脑缺血、肾炎、肺和胃肠道的炎症性疾病、可逆性气道阻塞、慢性哮喘和支气管炎的方法，包括对需要这种治疗的哺乳动物给药有效量的权利要求 1 的至少一种化合物。

7. 由以下结构式表示的化合物：



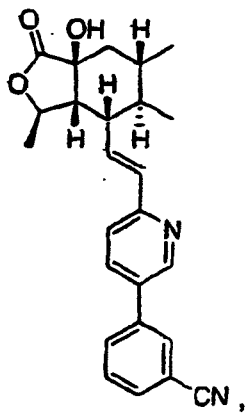
或其可药用异构体、盐或溶剂化物。

8. 由以下结构式表示的化合物：



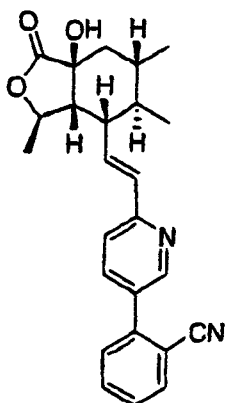
或其可药用异构体、盐或溶剂化物。

9. 由以下结构式表示的化合物：



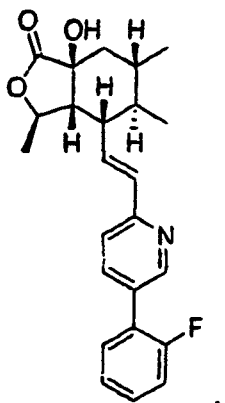
或其可药用异构体、盐或溶剂化物。

10. 由以下结构式表示的化合物:



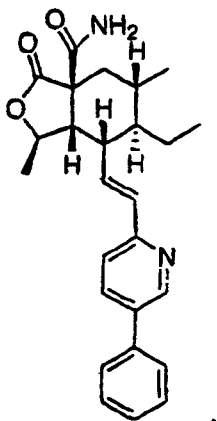
或其可药用异构体、盐或溶剂化物。

11. 由以下结构式表示的化合物:



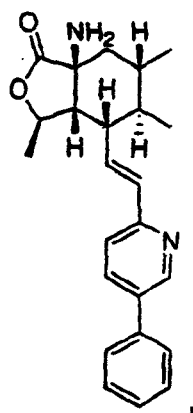
或其可药用异构体、盐或溶剂化物。

12. 由以下结构式表示的化合物:



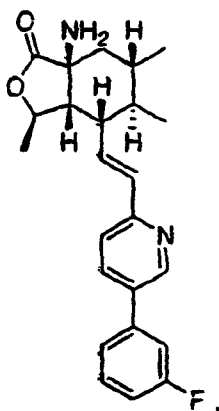
或其可药用异构体、盐或溶剂化物。

13. 由以下结构式表示的化合物：



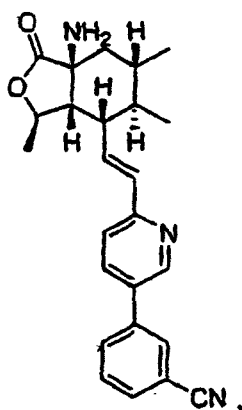
或其可药用异构体、盐或溶剂化物。

14. 由以下结构式表示的化合物：



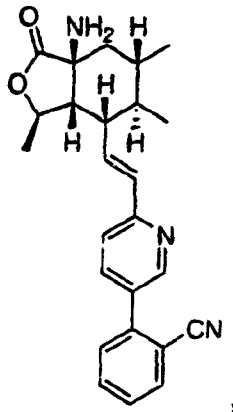
或其可药用异构体、盐或溶剂化物。

15. 由以下结构式表示的化合物：



或其可药用异构体、盐或溶剂化物。

16. 由以下结构式表示的化合物：



或其可药用异构体、盐或溶剂化物。

凝血酶受体拮抗剂

发明背景

本发明涉及可在与血栓、动脉粥样硬化、再狭窄、高血压、心绞痛、心律不齐、心力衰竭、脑缺血、中风、神经变性疾病和癌症有关的疾病的治疗中用作凝血酶受体拮抗剂的外-断 (nor-seco) 喜巴辛 (himbacine) 衍生物。凝血酶受体拮抗剂又名蛋白酶活化受体 (PAR) 拮抗剂。本发明的化合物还结合于大麻素 (cannabinoid) (CB2) 受体并且可用于类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化、糖尿病、骨质疏松症、肾缺血、脑中风、脑缺血、肾炎、肺和胃肠道的炎性疾病、和呼吸道疾病如可逆性气道阻塞、慢性哮喘和支气管炎的治疗中。本发明还涉及包含所述化合物的药学组合物。

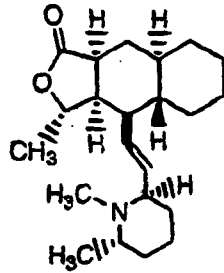
已知凝血酶在不同的细胞类型中有各种活性并且已知凝血酶受体存在于细胞类型如人类的血小板、血管平滑肌细胞、内皮细胞和成纤维细胞中。因此，期望凝血酶受体拮抗剂可用于治疗血栓性的、炎性的、动脉粥样硬化的和纤维增生性的疾病，以及其中凝血酶及其受体发挥病理学作用的其它疾病。

根据涉及置换凝血酶受体上的氨基酸的结构-活性研究已经识别了凝血酶受体拮抗剂肽。在 Bernatowicz 等人, J. Med. Chem., 39 (1996), 第 4879-4887 页中, 公开了四肽和五肽作为有效的凝血酶受体拮抗剂, 例如, N-反式-肉桂酰基-p-氟 Phe-p-胍基 Phe-Leu-Arg-NH₂ 和 N-反式-肉桂酰基-p-氟 Phe-p-胍基 Phe-Leu-Arg-Arg-NH₂。肽凝血酶受体拮抗剂在 1994 年 2 月 17 日公布的 WO 94/03479 中也有公开。

大麻素受体属于 G 蛋白偶联受体的超家族。它们分为主要分布于神经元的 (predominantly neuronal) CB1 受体和主要分布于外周的 (predominantly peripheral) CB2 受体。这些受体通过调节腺苷酸环化酶 (adenylate cyclase) 和 Ca²⁺ 和 K⁺ 流动发挥其生物学作用。CB1 受体的作用主要与中枢神经系统有关, CB2 受体被认为具有与支气管收缩、免疫调节和炎症有关的外周作用。因而, 据推测, 选择性的 CB2 受体结合剂应该在控制与类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化、糖尿病、骨质疏松症、肾缺血、脑中风、脑缺血、肾炎、肺和

胃肠道的炎症疾病、和呼吸道疾病如可逆性气道阻塞、慢性哮喘和支气管炎有关的疾病中有治疗应用 (R. G. Pertwee, *Curr. Med. Chem.* 6 (8), (1999), 635).

已经鉴定了下式的哌啶生物碱喜巴辛,

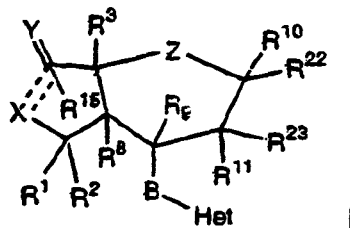


为毒蕈碱性受体拮抗剂。(+) -喜巴辛的全合成在 Chackalamannil 等人, *J. Am. Chem Soc.*, 118 (1996), p9812-9813 中公开。

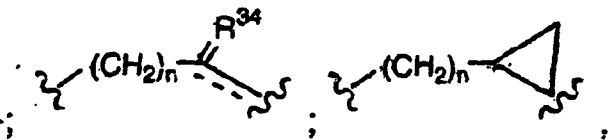
已经在 US 6,063,847 中公开了三环的喜巴辛相关化合物作为凝血酶受体拮抗剂。

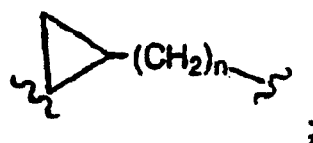
发明内容

本发明涉及式 I 表示的凝血酶受体拮抗剂:



或其可药用异构体、盐、溶剂化物或多晶型物, 其中:

当 R^{10} 不存在时, Z 为 $-(CH_2)_n-$; 

或当 R^3 不存在时, Z 为 ;

单虚线表示任意的双键;

双虚线表示任意的单键;

n 为 0-2;

R^1 和 R^2 独立地选自: H、 C_1-C_6 烷基、氟代(C_1-C_6)烷基、二氟(C_1-C_6)烷基、三氟-(C_1-C_6)烷基、 C_3-C_7 环烷基、 C_2-C_6 烯基、芳基(C_1-C_6)烷基、芳基(C_2-C_6)烯基、杂芳基($C-C_6$)烷基、杂芳基(C_2-C_6)烯基、羟基-(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)烷氧基(C_1-C_6)烷基、氨基-(C_1-C_6)烷基、芳基和硫代(C_1-C_6)烷基, 或 R^1 和 R^2 一起形成=O 基团;

R^3 为 H、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、 $-NR^{18}R^{19}$ 、 $-SOR^{16}$ 、 $-SO_2R^{17}$ 、 $-C(O)OR^{17}$ 、 $-C(O)NR^{18}R^{19}$ 、 C_1-C_6 烷基、卤素、氟代(C_1-C_6)烷基、二氟(C_1-C_6)烷基、三氟(C_1-C_6)烷基、 C_3-C_7 环烷基、 C_2-C_6 烯基、芳基(C_1-C_6)烷基、芳基(C_2-C_6)烯基、杂芳基(C_1-C_6)烷基、杂芳基(C_2-C_6)烯基、羟基(C_1-C_6)烷基、氨基(C_1-C_6)烷基、芳基、硫代(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)烷氧基(C_1-C_6)烷基或(C_1-C_6)烷基氨基(C_1-C_6)烷基;

当任选的双键不存在时, R^{34} 为(H, R^3)、(H, R^{43})、=O 或=NOR¹⁷;
当双键存在时, R^{34} 为 R^{44} ;

Het 为具有 5-14 个原子的单-、双-或三环的杂芳香基团, 其包括 1-13 个碳原子和 1-4 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子, 其中环氮可形成 N-氧化物或与 C_1-C_4 烷基形成四价基团, 其中 Het 通过环碳原子连接于 B, 并且其中 Het 基团被 1-4 个取代基 W 取代, 取代基 W 独立地选自: H; C_1-C_6 烷基; 氟代(C_1-C_6)烷基; 二氟(C_1-C_6)烷基; 三氟-(C_1-C_6)-烷基; C_3-C_7 环烷基; 杂环烷基; 被 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、OH-(C_1-C_6)烷基、或=O 取代的杂环烷基; C_2-C_6 烯基; R^{21} -芳基(C_1-C_6)烷基; R^{21} -芳基-(C_2-C_6)-烯基; R^{21} -芳基氧基; R^{21} -芳基-NH-; 杂芳基(C_1-C_6)烷基; 杂芳基(C_2-C_6)-烯基; 杂芳基氧基; 杂芳基-NH-; 羟基(C_1-C_6)烷基; 二羟基(C_1-C_6)烷基; 氨基(C_1-C_6)烷基; (C_1-C_6)烷基氨基-(C_1-C_6)烷基; 二-((C_1-C_6)烷基)-氨基(C_1-C_6)烷基; 硫代(C_1-C_6)烷基; C_1-C_6 烷氧基; C_2-C_6 烯基氧基; 卤素; $-NR^4R^5$; $-CN$; $-OH$; $-COOR^{17}$; $-COR^{16}$; $-OSO_2CF_3$; $-CH_2OCH_2CF_3$; (C_1-C_6)烷硫基; $-C(O)NR^4R^5$; $-OCHR^6$ -苯基; 苯氧基-(C_1-C_6)烷基; $-NHCOR^{16}$; $-NHSO_2R^{16}$; 联苯基; $-OC(R^6)_2COOR^7$; $-OC(R^6)_2C(O)NR^4R^5$; (C_1-C_6)烷氧基; $-C(=NOR^{17})R^{18}$; 被(C_1-C_6)烷基、氨基、 $-OH$ 、 $COOR^{17}$ 、 $-NHCOOR^{17}$ 、 $-CONR^4R^5$ 、芳基、被 1-3 个独立地选自卤素、 $-CF_3$ 、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基和 $-COOR^{17}$ 的取代基取代的芳基、其中相邻的碳与亚甲基二氧基形成环的芳基、 $-C(O)NR^4R^5$ 或杂芳基取代的 C_1-C_6 烷氧基;

R^{21} -芳基；其中相邻的碳与亚甲基二氧基形成环的芳基；

R^{41} -杂芳基；和其中相邻的碳原子与 C_3 - C_5 亚烷基或亚甲基二氧基形成环的杂芳基；

R^4 和 R^5 独立地选自 H、 C_1 - C_6 烷基、苯基、苄基和 C_3 - C_7 环烷基，或者 R^4 和 R^5 一起为 $-(CH_2)_4-$ 、 $-(CH_2)_5-$ 或 $-(CH_2)_2NR^7-(CH_2)_2-$ 并与它们连接的氮原子形成环；

R^6 独立地选自 H、 C_1 - C_6 烷基、苯基、 $(C_3$ - $C_7)$ 环烷基、 $(C_3$ - $C_7)$ 环烷基(C_1 - C_6)烷基、 $(C_1$ - C_6)烷氧基(C_1 - C_6)烷基、羟基(C_1 - C_6)烷基和氨基(C_1 - C_6)烷基；

R^7 为 H 或 $(C_1$ - C_6)烷基；

R^8 、 R^{10} 和 R^{11} 独立地选自 R^1 和 $-OR^1$ ，条件是当任选的双键存在时， R^{10} 不存在；

R^9 为 H、OH、 C_1 - C_6 烷氧基、卤素或卤代(C_1 - C_6)烷基；

B 为 $-(CH_2)_{n3}-$ 、 $-CH_2-O-$ 、 $-CH_2S-$ 、 $-CH_2-NR^6-$ 、 $-C(O)NR^6-$ 、 $-NR^6C(O)-$ 、 \triangle 、顺式或反式的 $-(CH_2)_{n4}CR^{12}=CR^{12a}(CH_2)_{n5}$ 或 $-(CH_2)_{n4}CR^{12}\equiv C(CH_2)_{n5}-$ ，其中 $n3$ 为 0-5， $n4$ 和 $n5$ 独立地为 0-2，并且 R^{12} 和 R^{12a} 独立地选自 H、 C_1 - C_6 烷基和卤素；

当双虚线表示单键时，X 为 $-O-$ 或 $-NR^6-$ ；或者当键不存在时，X 为 H、 $-OH$ 或 $-NHR^{20}$ ；

当双虚线表示单键时，Y 为 $=O$ 、 $=S$ 、(H, H)、(H, OH) 或 (H, C_1 - C_6 烷氧基)，或者当键不存在时，Y 为 $=O$ 、 $=NOR^{17}$ 、(H, H)、(H, OH)、(H, SH)、(H, C_1 - C_6 烷氧基) 或 (H, $-NHR^{45}$)；

当双虚线表示单键时， R^{15} 不存在；当键不存在时， R^{15} 为 H、

C_1 - C_6 烷基、 $-NR^{18}R^{19}$ 或 $-OR^{17}$ ；或 Y 为 $\begin{matrix} \diagup \\ O \\ \diagdown \end{matrix} \bigg)_{1-2}$ 或 $\begin{matrix} \diagup \\ S \\ \diagdown \end{matrix} \bigg)_{1-2}$ ，并且 R^{15} 为 H 或 C_1 - C_6 烷基；

R^{16} 为 C_1 - C_6 低级烷基、苯基或苄基；

R^{17} 、 R^{18} 和 R^{19} 独立地选自 H、 C_1 - C_6 烷基、苯基、苄基；

R^{20} 为 H、 C_1 - C_6 烷基、苯基、苄基、 $-C(O)R^6$ 或 $-SO_2R^6$ ；

R^{21} 为 1-3 个独立地选自氢、CN、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、卤素、 $-NO_2$ 、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 $(C_1$ - C_6)烷基氨基、二- $((C_1$ - C_6)烷基)氨基、氨基(C_1 - C_6)烷基、 $(C_1$ - C_6)-烷基氨基(C_1 - C_6)烷基、二- $((C_1$ - C_6)烷基)-氨基(C_1 - C_6)烷

基、羟基-(C₁-C₆)烷基、-COOR¹⁷、-COR¹⁷、-NHCOR¹⁶、-NHSO₂R¹⁶、-NHSO₂CH₂CF₃、杂芳基或-C(=NOR¹⁷)R¹⁸的取代基；

R²²和R²³独立地选自氢、R²⁴-(C₁-C₁₀)烷基、R²⁴-(C₂-C₁₀)烯基、R²⁴-(C₂-C₁₀)炔基、R²⁷-杂-环烷基、R²⁵-芳基、R²⁵-芳基(C₁-C₆)烷基、R²⁹-(C₃-C₇)环烷基、R²⁹-(C₃-C₇)环烯基、-OH、-OC(O)R³⁰、-C(O)OR³⁰、-C(O)R³⁰、-C(O)NR³⁰R³¹、-NR³⁰R³¹、-NR³⁰C(O)R³¹、-NR³⁰C(O)NR³¹R³²、-NHSO₂R³⁰、-OC(O)NR³⁰R³¹、R²⁴-(C₁-C₁₀)烷氧基、R²⁴-(C₂-C₁₀)-烯基氧基、R²⁴-(C₂-C₁₀)炔基氧基、R²⁷-杂环烷基氧基、R²⁹-(C₃-C₇)环烷基氧基、R²⁹-(C₃-C₇)环-烯基氧基、R²⁹-(C₃-C₇)环烷基-NH-、-NHSO₂NHR¹⁶和-CH(=NOR¹⁷)；

或R²²和R¹⁰与它们连接的碳一起、或R²³和R¹¹与它们连接的碳一起独立地形成R⁴²-取代的3-10元碳环、或R⁴²-取代的4-10元碳环，其中1-3个环原子独立地选自-O-、-NH-和-SO_{0.2}-，条件是，当R²²和R¹⁰形成环时，任选的双键不存在；

R²⁴为1、2或3个独立地选自氢、卤素、-OH、(C₁-C₆)烷氧基、R³⁵-芳基、(C₁-C₁₀)-烷基-C(O)-、(C₂-C₁₀)-烯基-C(O)-、(C₂-C₁₀)炔基-C(O)-、杂环烷基、R²⁶-(C₃-C₇)环烷基、R²⁶-(C₃-C₇)环烯基、-OC(O)R³⁰、-C(O)OR³⁰、-C(O)R³⁰、-C(O)NR³⁰R³¹、-NR³⁰R³¹、-NR³⁰C(O)R³¹、-NR³⁰C(O)NR³¹R³²、-NHSO₂R³⁰、-OC(O)NR³⁰R³¹、R²⁴-(C₂-C₁₀)-烯基氧基、R²⁴-(C₂-C₁₀)炔基氧基、R²⁷-杂环烷基氧基、R²⁹-(C₃-C₇)-环烷基氧基、R²⁹-(C₃-C₇)环-烯基氧基、R²⁹-(C₃-C₇)环烷基-NH-、-NHSO₂NHR¹⁶和-CH(=NOR¹⁷)的取代基；

R²⁵为1、2或3个独立地选自氢、杂环烷基、卤素、-COOR³⁶、-CN、-C(O)NR³⁷R³⁸、-NR³⁹C(O)R⁴⁰、-OR³⁶、(C₃-C₇)环烷基、(C₃-C₇)环烷基-(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷基(C₃-C₇)环烷基-(C₁-C₆)烷基、卤代(C₁-C₆)烷基(C₃-C₇)环烷基(C₁-C₆)烷基、羟基(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基、和R⁴¹-杂芳基的取代基；或相邻的环碳上的两个R²⁵基团形成稠和的亚甲基二氧基；

R²⁶为1、2、或3个独立地选自氢、卤素和(C₁-C₆)烷氧基的取代基；

R²⁷为1、2或3个独立地选自氢、R²⁸-(C₁-C₁₀)烷基、R²⁸-(C₂-C₁₀)烯基、R²⁸-(C₂-C₁₀)炔基的取代基；

R^{28} 为氢、-OH 或 (C_1-C_6) 烷氧基;

R^{29} 为 1、2 或 3 个独立地选自氢、 (C_1-C_6) 烷基、-OH、 (C_1-C_6) 烷氧基和卤素的取代基;

R^{30} 、 R^{31} 和 R^{32} 独立地选自氢、 (C_1-C_{10}) -烷基、 (C_1-C_6) 烷氧基 (C_1-C_{10}) -烷基、 R^{25} -芳基 (C_1-C_6) -烷基、 R^{33} - (C_3-C_7) 环烷基、 R^{34} - (C_3-C_7) 环烷基 (C_1-C_6) 烷基、 R^{25} -芳基、杂环烷基、杂芳基、杂环烷基 (C_1-C_6) 烷基和杂芳基 (C_1-C_6) 烷基;

R^{33} 为氢、 (C_1-C_6) 烷基、OH- (C_1-C_6) 烷基或 (C_1-C_6) 烷氧基;

R^{35} 为 1-4 个独立地选自氢、 (C_1-C_6) 烷基、-OH、卤素、-CN、 (C_1-C_6) 烷氧基、三卤代 (C_1-C_6) 烷氧基、 (C_1-C_6) 烷基氨基、二 $((C_1-C_6)$ 烷基) 氨基、-OCF₃、OH- (C_1-C_6) 烷基、-CHO、-C(O) (C_1-C_6) -烷基氨基、-C(O)二 $((C_1-C_6)$ 烷基) 氨基、-NH₂、-NHC(O) (C_1-C_6) 烷基和 -N $((C_1-C_6)$ 烷基)C(O) (C_1-C_6) 烷基的取代基;

R^{36} 为氢、 (C_1-C_6) 烷基、卤代 (C_1-C_6) 烷基、二卤代 (C_1-C_6) 烷基或三氟 (C_1-C_6) 烷基的取代基;

R^{37} 和 R^{38} 独立地选自氢、 (C_1-C_6) 烷基、芳基 (C_1-C_6) 烷基、苯基和 (C_3-C_{15}) 环烷基，或 R^{37} 和 R^{38} 一起为 $-(CH_2)_4-$ 、 $-(CH_2)_5-$ 或 $-(CH_2)_2-NR^{39}-(CH_2)_2-$ 并与它们连接的氮原子形成环;

R^{39} 和 R^{40} 独立地选自氢、 (C_1-C_6) 烷基、芳基 (C_1-C_6) 烷基、苯基和 (C_3-C_{15}) -环烷基，或基团 $-NR^{39}C(O)R^{40}$ 中的 R^{39} 和 R^{40} 与它们连接的碳和氮原子一起形成 5-8 元的环状内酰胺;

R^{41} 为 1-4 个独立地选自氢、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_1-C_6) 烷氧基、 (C_1-C_6) 烷基氨基、二 $((C_1-C_6)$ 烷基) 氨基、-OCF₃、OH- (C_1-C_6) 烷基、-CHO 和苯基的取代基;

R^{42} 为 1-3 个独立地选自氢、-OH、 (C_1-C_6) 烷基和 (C_1-C_6) 烷氧基的取代基;

R^{43} 为 $-NR^{30}R^{31}$ 、 $-NR^{30}C(O)R^{31}$ 、 $-NR^{30}C(O)NR^{31}R^{32}$ 、 $-NHSO_2R^{30}$ 或 $-NHCOOR^{17}$;

R^{44} 为 H、 C_1-C_6 烷氧基、-SOR¹⁶、-SO₂R¹⁷、-C(O)OR¹⁷、-C(O)NR¹⁸R¹⁹、 C_1-C_6 烷基、卤素、氟代 (C_1-C_6) 烷基、二氟 (C_1-C_6) 烷基、三氟 (C_1-C_6) 烷基、 C_3-C_7 环烷基、 C_2-C_6 烯基、芳基 (C_1-C_6) 烷基、芳基 (C_2-C_6) 烯基、杂芳基 (C_1-C_6) 烷基、杂芳基 (C_2-C_6) 烯基、羟基 (C_1-C_6) 烷

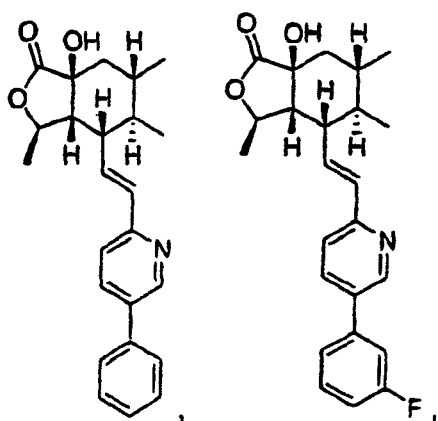
基、氨基(C₁-C₆)烷基、芳基、硫代(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基或(C₁-C₆)烷基氨基(C₁-C₆)烷基；和

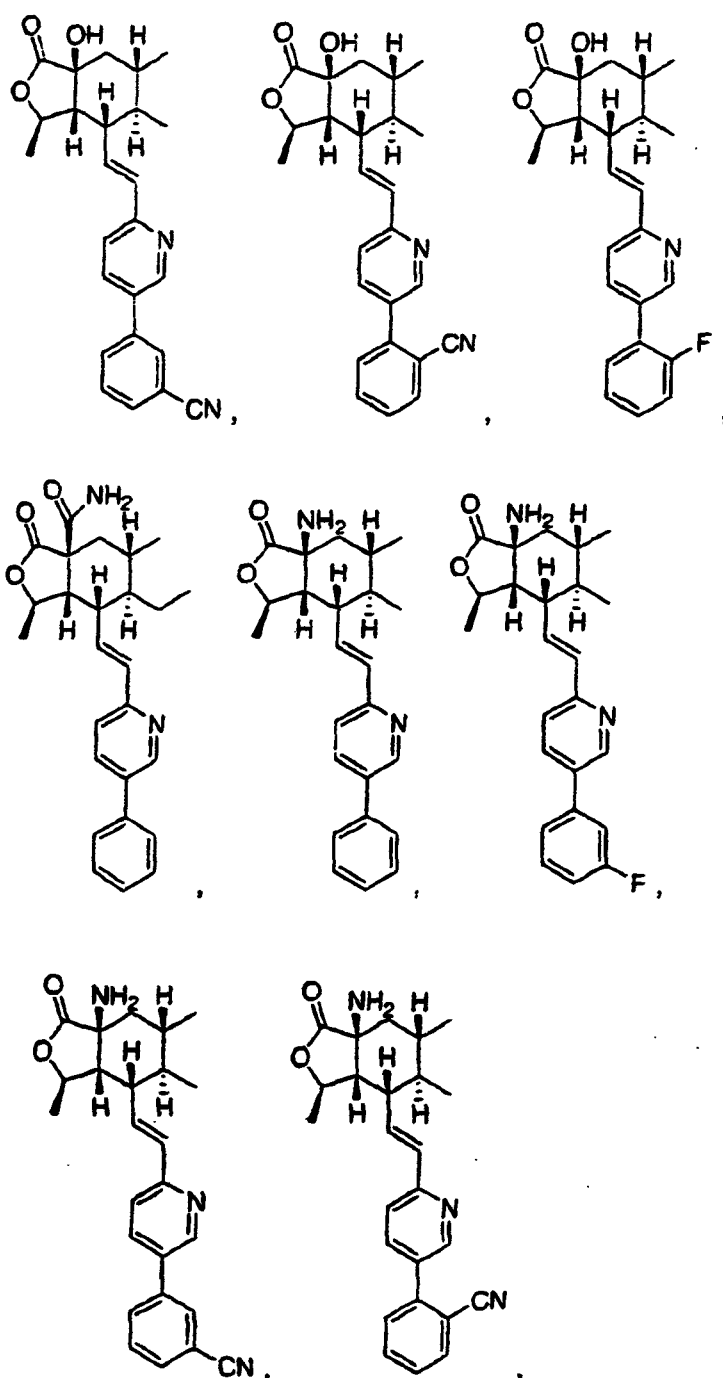
R⁴⁵ 为 H、C₁-C₆ 烷基、-COOR¹⁶ 或-SO₂。

R²、R⁸、R¹⁰ 和 R¹¹ 各自优选为氢。R³ 优选为氢、OH、C₁-C₆ 烷氧基、-NHR¹⁸ 或 C₁-C₆ 烷基。变量 n 优选为 0。R⁹ 优选为 H、OH 或烷氧基。R¹ 优选为 C₁-C₆ 烷基，更优选为甲基。双虚线优选表示单键；X 优选为-O-，Y 优选为=O 或(H, -OH)。优选 B 为反式-CH=CH-。Het 优选为吡啶基、取代的吡啶基、喹啉基或取代的喹啉基。Het 上的优选取代基(W)为 R²¹-芳基、R⁴¹-杂芳基或烷基。更优选的化合物是其中 Het 为在 5-位被 R²¹-芳基或 R⁴¹-杂芳基或烷基取代的 2-吡啶基、或在 6-位被烷基取代的 2-吡啶基的化合物。R³⁴ 优选为(H, H)或(H, OH)。

R²² 和 R²³ 优选选自 OH、(C₁-C₁₀)烷基、(C₂-C₁₀)烯基、(C₂-C₁₀)炔基、三氟(C₁-C₁₀)烷基、三氟(C₂-C₁₀)-烯基、三氟(C₂-C₁₀)炔基、(C₃-C₇)-环烷基、R²⁵-芳基、R²⁵-芳基(C₁-C₆)烷基、R²⁵-芳基羧基(C₁-C₆)烷基、R²⁵-芳基-烷氧基-(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₇)环烷基-(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₁₀)烷氧基、(C₃-C₇)环烷基氧基、(C₁-C₆)烷氧基(C₁-C₆)烷基、OH-(C₁-C₆)烷基、三氟(C₁-C₁₀)烷氧基和 R²⁷-杂环-烷基(C₁-C₆)烷基。更优选的化合物是其中 R²² 和 R²³ 独立地选自(C₁-C₁₀)烷基和 OH-(C₁-C₆)烷基的化合物。

更优选地，本发明涉及由以下结构式中任一个表示的凝血酶受体拮抗剂：





或其可药用异构体、盐、溶剂化物或多晶型物。

本发明的凝血酶受体拮抗剂可具有抗血栓形成、抗血小板凝集、抗动脉粥样硬化、抗再狭窄、和抗凝血的活性。由本发明的化合物治疗的血栓形成相关疾病为血栓症、动脉粥样硬化、再狭窄、高血压、心绞痛、心律不齐、心力衰竭、心肌梗塞、肾小球肾炎、血栓性中风 (thrombotic stroke) 和血栓栓塞性(thromboembolytic stroke)中风、

外周血管疾病、其它心血管疾病、脑缺血、炎症性疾病和癌症、以及其中凝血酶及其受体发挥病理学作用的其它疾病。

结合于大麻素(CB2)受体的本发明的化合物可用于类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化、糖尿病、骨质疏松症、肾缺血、脑中风、脑缺血、肾炎、肺和胃肠道的炎症性疾病、和呼吸道疾病如可逆性气道阻塞、慢性哮喘和支气管炎的治疗中。

本发明还涉及使用至少一种式 I 所示化合物治疗血栓症、血小板凝集、凝结、癌症、炎症性疾病或呼吸系统疾病的方法，包括对需要这种治疗的哺乳动物给药式 I 的化合物。具体地，本发明涉及使用至少一种式 I 所示化合物治疗血栓症、动脉粥样硬化、再狭窄、高血压、心绞痛、心律不齐、心力衰竭、心肌梗塞、肾小球肾炎、血栓性中风、血栓栓塞性中风、外周血管疾病、脑缺血、癌症、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化、糖尿病、骨质疏松症、肾缺血、脑中风、脑缺血、肾炎、肺和胃肠道的炎症性疾病、可逆性气道阻塞、慢性哮喘或支气管炎的方法。还考虑了本发明的化合物可用于治疗超过一种的所列疾病。

另一方面，本发明涉及包括在至少一种可药用载体中的治疗有效量的至少一种式 I 所示化合物的药学组合物。

详细说明

除非另外定义，术语“烷基”或“低级烷基”是指具有 1-6 个碳原子的直链或支链烷基链，“烷氧基”类似地指具有 1-6 个碳原子的烷氧基。

氟代烷基、二氟烷基和三氟烷基是指其中末端碳原子被 1、2、或 3 个氟原子取代的烷基链如， $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CHF}_2$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$ 。卤代烷基是指被 1-3 个卤原子取代的烷基链。

“烯基”是指在链中具有一个或多个共轭或非共轭的双键的直链或支链的碳原子碳链。类似地，“炔基”是指在链中具有一个或多个三键的直链或支链的碳原子碳链。在烷基、烯基或炔基链结合于两个其它变量并因此变为二价时，使用术语亚烷基、亚烯基、和亚炔基。除非另外定义，烯基和炔基链包括 1-6 个碳原子。

烷基、烯基、和炔基链上的取代取决于链的长度、和取代基的大小和性质。本领域技术人员应该理解，虽然较长的链可以容纳多个取

代基，较短的烷基链如甲基或乙基可被卤素多次取代，但是在别的情况下可能只有一个或两个不同于氢的取代基。较短的不饱和链如，乙烯基或乙炔基根据可利用的碳键数通常未被取代或仅被一个或两个基团取代。

“环烷基”是指具有 3-7 个碳原子的饱和碳环，而“亚环烷基”是指相应的二价环，其中与其它基团连接的点包括所有的位置和立体异构体。“环烯基”是指具有一个或多个不饱和键但不具有芳香性的 3-7 元碳环

“杂环烷基”是指由 4-5 个碳原子和 1 或 2 个通过碳原子与分子其余部分结合的选自 -O-、-S- 和 -NR⁷- 的杂原子组成的 5 元或 6 元饱和环。杂环烷基的例子为 2-吡咯烷基、四氢噻吩-2-基、四氢-2-咪唑基、4-哌啶基、2-哌嗪基、四氢-4-吡喃基、2-吗啉基和 2-硫代吗啉基。

“卤素”是指氟、氯、溴、或碘基团。

当 R⁴ 和 R⁵ 与它们所连接的氮结合形成环时，形成的环为 1-吡咯烷基、1-哌啶基和 1-哌嗪基，其中哌嗪基环也可在 4-位氮上被基团 R⁷ 取代。

“二羟基(C₁-C₆)烷基”是指在两个不同的碳原子上被两个羟基取代的烷基链。

“芳基”是指苯基、萘基、茚基、四氢萘基或茚满基。

“杂芳基”是指由 2-9 个碳原子和 1-4 个独立地选自 N、O 和 S 的杂原子组成的 5-10 元的单环或苯并稠和的杂芳香基团，条件是所述环不包括相邻的氧和/或硫原子。还包括环氮的 N-氧化物，以及其中环氮被 C₁-C₄ 烷基取代形成季胺的化合物。单环杂芳基的例子为吡啶基、咪唑基、异咪唑基、噁二唑基、咪唑基、吡咯基、噻吩基、咪唑基、吡唑基、四唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、吡嗪基、噻啶基、哒嗪基、和三唑基。苯并稠和的杂芳基的例子为喹啉基、喹啉基、异喹啉基、2,3-二氮杂萘基、苯并噻吩基(即，硫茚基)、苯并咪唑基、苯并咪唑基、苯并咪唑基和苯并咪唑基。考虑了所有的位置异构体，如 2-吡啶基、3-吡啶基和 4-吡啶基。W-取代的杂芳基是指其中可取代的环碳原子具有如上定义的取代基的基团、或者其中相邻的碳原子与亚烷基或亚甲基二氧基形成环的基团、或其中 Het 环中的氮可被如 W 中定义的 R²¹-芳基取代或任选被取代的烷基取代基取代的基团。

术语“Het”的例子为单环、被(可为相同或不同的)另一个环取代的环、上述刚刚定义的苯并稠和的杂芳基、以及三环基团如苯并喹啉基(如, 1,4 或 7,8)或菲咯啉基(如, 1,7; 1,10; 或 4,7)。Het 基团通过环碳与基团 B 连接, 例如, Het 为 2-吡啶基、3-吡啶基、或 2-喹啉基。

其中相邻的碳原子与亚烷基形成环的杂芳基的例子为 2,3-环戊烯基并吡啶、2,3-环己烯基并吡啶和 2,3-环庚烯基并吡啶。

术语“任选的双键”是指在式 1 所示结构中的中间环中由单虚线表示的键。术语“任选的单键”是指式 1 所示结构中由 X 和连接 Y 和 R¹⁵ 的碳之间的双虚线表示的键。

其中例如所述的 R⁴ 和 R⁵ 独立地选自取代基构成组的上述语句是指 R⁴ 和 R⁵ 是独立选择的, 并且其中 R⁴ 或 R⁵ 变量在分子中出现不止一次, 这些出现是独立选择的。本领域技术人员应该理解, 取代基的大小和性质将影响可存在的取代基数。

还应该指出的是, 在本文中的说明书和/或权利要求中用不饱和的化学价说明的任何式、化合物、部分或化学品假定为具有足够的氢原子以满足化学价。

本发明的化合物具有至少一个不对称的碳原子, 因此所有的异构体, 包括非对映异构体和旋转异构体都认为是本发明的一部分。本发明包括纯形式的和混合形式的(+)-和(-)-异构体, 包括外消旋混合物。可通过常规方法制备异构体, 通过用光学纯的或光学富集的起始原料进行反应、或通过分离式 I 所示化合物的异构体。

“多晶型物”是指一种物质的晶型, 其具有相同的化学式但是其晶型不同于另一种晶型。

本文中還考虑了本发明的化合物的前药和溶剂化物。如本文中使用的, 术语“前药”表示作为药物前体的化合物, 在对主体给药时, 其通过新陈代谢或化学过程转化为式 I 的化合物或其盐和/或溶剂化物(如, 被递送到生理学 pH 或通过酶作用的前药转化为所需的药物形式)。对前药的讨论在 T. Higuchi 和 V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems (1987), Volume 14 of the A. C. S. Symposium Series, 和在 Bioreversible Carriers in Drug Design, (1987) Edward B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press 中提供, 所述文献都被并入本文作为参考。。

“溶剂化物”是指本发明的化合物与一个或多个溶剂分子的物理结合 (association)。这种物理结合涉及不同程度的离子键和共价键，包括氢键。在某些情况中，溶剂化物能够分离，例如当一个或多个溶剂分子被结合到结晶固体的晶格中时。“溶剂化物”包括溶液相和可分离的溶剂化物。适当的溶剂化物的非限制性例子包括乙醇化物、甲醇化物等等。“水合物”为其中溶剂分子为 H_2O 的溶剂化物。

本发明的具有羧酸基团的化合物可与醇形成可药用酯。适当的醇的例子包括甲醇和乙醇。

在制备例、图解和实施例中使用的缩写包括以下：

DBAD: 二叔丁基偶氮二羧酸酯

DBU: 1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯

DCC: 二环己基碳二亚胺

DCM: 二氯甲烷

DIBAL: 二异丁基氯化铝

DMAP: 4-二甲氨基吡啶

DMF: N,N-二甲基甲酰胺

DMSO: 二甲基亚砷

EDCI: 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐

HMPA: 六甲基磷酰胺

HOBt: 羟基苯并三唑

LAH: 氯化锂铝

LHMDS: 双(三甲基甲硅烷基)氨基锂

NMO: 4-甲基吗啉 N-氧化物

TBAF: 四丁基氟化铵

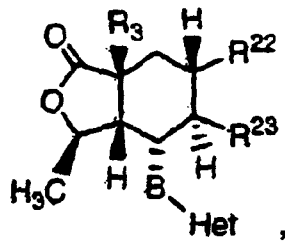
TFA: 三氟乙酸

THF: 四氢呋喃

TMSI: 三甲基碘硅烷

TPAP: 过钨酸四丙基铵

本发明的典型的优选化合物具有以下立体化学：



更优选具有绝对立体化学的化合物。

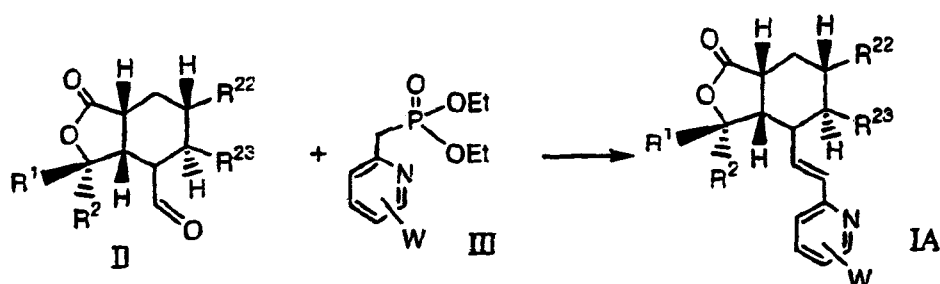
本领域技术人员应该理解，对于式 I 的一些化合物，一种异构体的药理学活性大于其它异构体。

具有碱性基团的本发明的化合物可与有机酸和无机酸形成可药用盐。用于成盐的适当的酸的例子为盐酸、硫酸、磷酸、乙酸、柠檬酸、草酸、丙二酸、水杨酸、苹果酸、富马酸、琥珀酸、抗坏血酸、马来酸、甲烷磺酸、和本领域中已知的其它无机酸和羧酸。盐通过使游离碱形式与足够量的所需酸接触以产生盐制备而成。可通过用适当的稀碱水溶液如稀碳酸氢钠水溶液处理盐再生游离碱形式。游离碱形式在某些物理性质上不同于其各自的盐形式，如在极性溶剂中的溶解度，但是出于本发明的目的考虑，盐在其它方面等同于其各自的游离碱形式。

本发明的某些化合物为酸性的(如，具有羧基的那些化合物)。这些化合物与无机碱和有机碱形成可药用盐。这种盐的例子为钠、钾、钙、铝、锂、金、和银的盐。还包括与可药用胺如氨、烷基胺、羧基烷基胺、N-甲基葡萄糖胺等等形成的盐。本发明化合物的硫酸氢盐是优选实施方案。

本发明的化合物通常通过本领域公知的方法制备，例如通过下述方法制备。

其中 n 为 1，任选的双键不存在，在 X 和连接 Y 的碳之间的单键存在，X 为 $-O-$ ，Y 为 $=O$ ，B 为 $-\text{CH}=\text{CH}-$ ，Het 为 W-取代的吡啶基， R^3 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 和 R^{11} 各自为氢，并且 R^1 和 R^2 如上定义的式 IA 的化合物可通过将其中各个变量如上所述的式 II 的醛与其中 W 如上定义的式 III 的膦酸酯缩合制备：

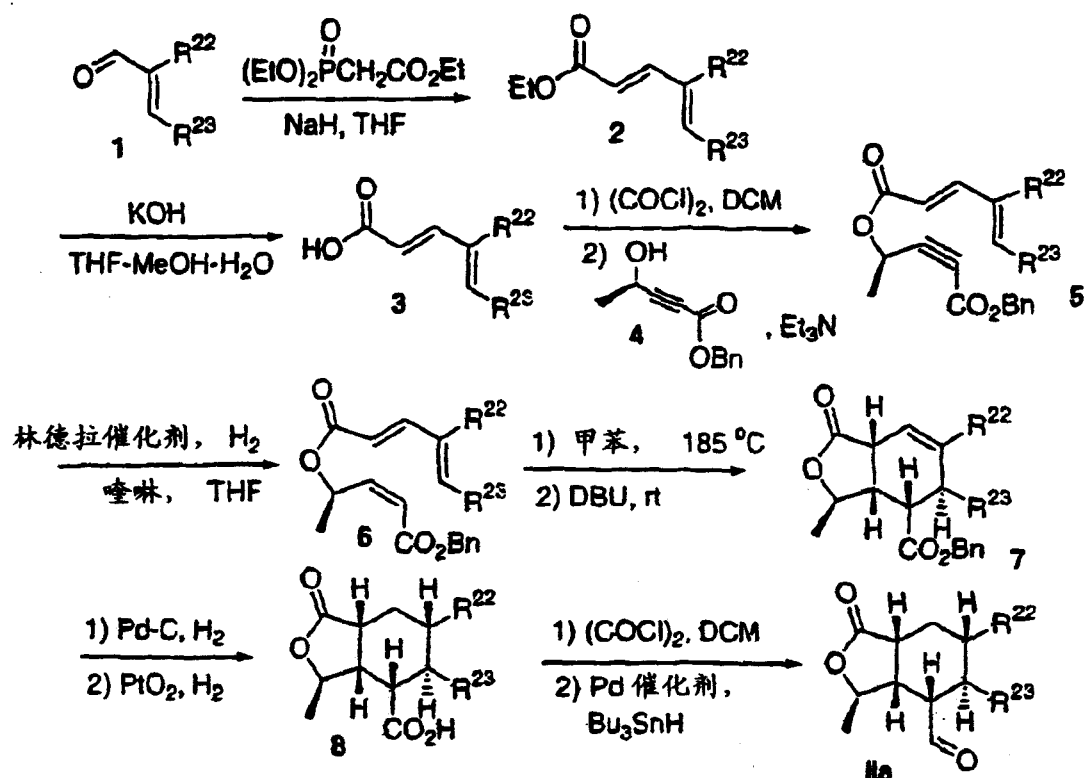


同样的方法可用于制备包括其它任选被取代的 Het 基团的化合物。本领域技术人员还应该认识到，该方法同样适用于制备光学活性的化合物或外消旋化合物。

可通过用 Davis 试剂((1S)-(+)-(10-樟脑磺酰基)-氧杂氮丙啶(oxaziridine))和 LHMDS (双(三甲基甲硅烷基)氨基锂)处理，将式 IA 的化合物转化为其中 R³ 为 OH 的相应化合物。

式 II 的醛可以从二烯酸制备，例如，其中 R¹ 为甲基、R² 为 H 的式 IIa 的化合物可以根据以下反应图解制备。

图解 1:

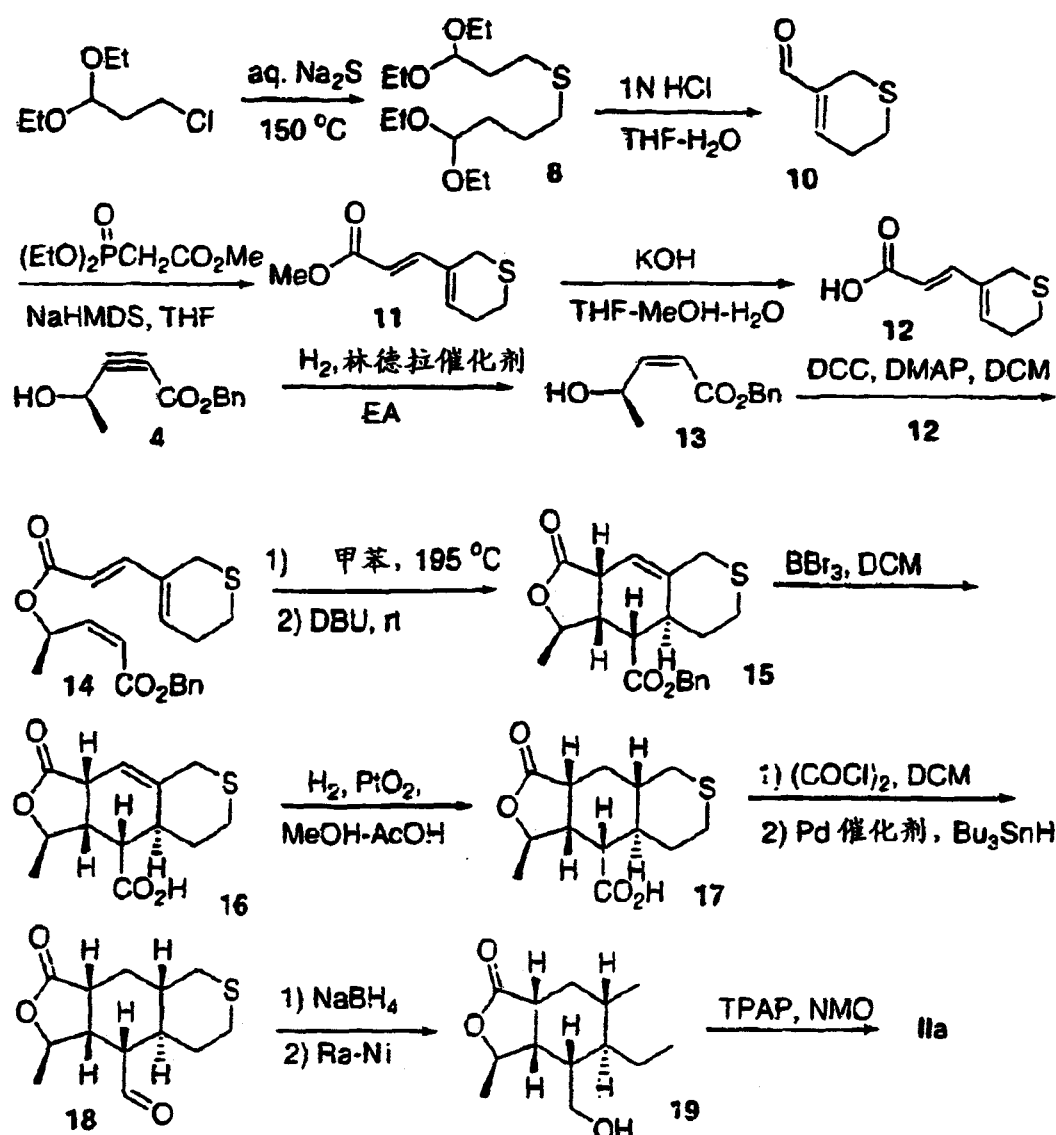


使用标准条件，根据已知方法制备的式 4 的炔与式 3 的二烯酸进行酯化，得到酯 5。在氢气下使用林德拉(Lindlar)催化剂对 5 的三键进行选择性还原，得到中间体 6，中间体 6 在约 185°C 下进行热环化，随后用碱处理，得到中间体 7。酯 7 在氧化铂的存在下经过氧化，生成中间体饱和羧酸，将其用草酰氯处理得到相应的酰基氯，然后通过钨催化剂的存在下使用三丁基氢化锡还原，将酰基氯转化为醛 IIa。

式 3 的二烯酸为市售的或可容易地制备。

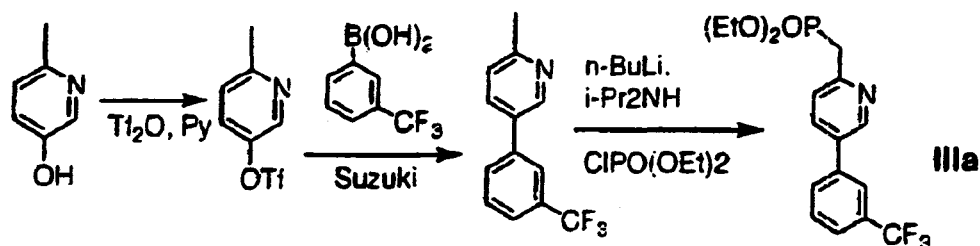
式 II 的醛也可通过噻喃开环制备而成，例如，定义如上的式 IIa 的化合物可以根据以下反应图解制备。

图解 2:



在氢气下使用林德拉催化剂将式 4 的炔还原为烯 13。在标准条件下烯 13 与式 12 的二烯酸进行酯化，得到酯 14。酯 14 在约 185°C 下进行热环化，随后碱处理，得到中间体 15。将酯 15 转化为中间体羧酸，并通过在铂催化剂存在下的氢化将双键还原。然后将酸用草酰氯处理，得到相应的酰基氯，通过在钨催化剂存在下使用三丁基氢化锡进行还原，将酰基氯转化为醛 18。用还原剂如 NaBH₄ 处理 18 上的醛部分，然后通过用试剂如兰尼镍 (Raney Nickel) 使含硫的环开环得到醇 19。然后在 4-甲基吗啉 N-氧化物(NMO)的存在下使用过钌酸四丙基铵(TPAP)将醇氧化为醛 IIa。

其中 W 为芳基或 R²¹-芳基的式 III 的磷酸酯可以通过类似于以下即将描述的用于制备三氟甲基苯基取代的化合物 IIIa 的方法制备。



使用三氟甲磺酸酐将市售的羟基吡啶衍生物转化为相应的三氟甲磺酸酯，然后在 Pd(0)的存在下在 Suzuki 条件下使其与市售的硼酸偶联。通过用正丁基锂处理、随后用氯代磷酸二乙酯淬灭将得到的产物转化为磷酸酯。

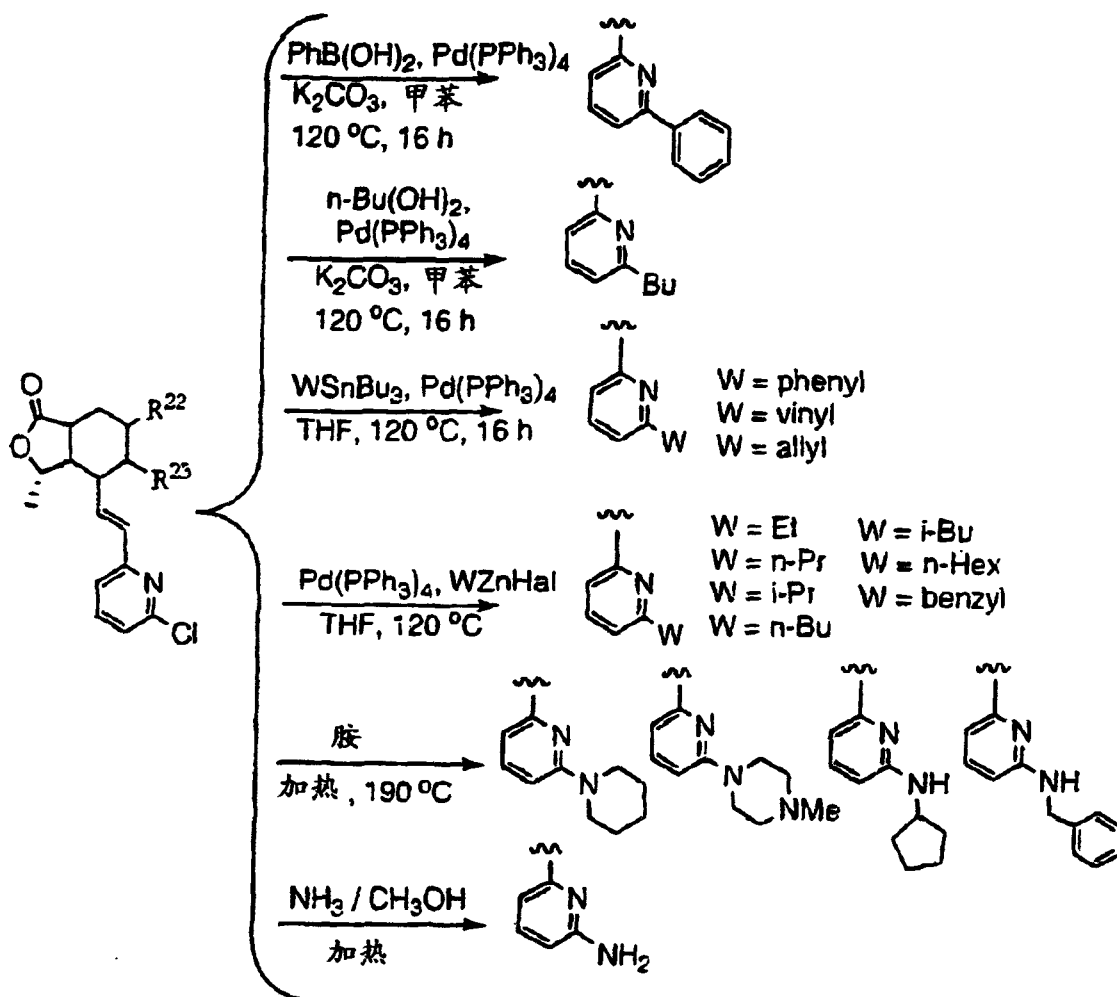
或者，可使用三氟甲磺酸酯中间体，从其中 W 为 -OH 的式 I 化合物制备其中 W 为任选被取代的芳基的式 I 化合物。例如，用三异丙基氯硅烷处理 3-羟基-6-甲基吡啶，并且如上用于制备中间体 IIIa 所述，将得到的羟基-保护的化合物转化为磷酸酯。然后使三异丙基甲硅烷基保护的中间体与中间体 II 反应并在标准条件下除去保护基。然后将得到的其中 W 为 OH 的式 I 化合物在室温下在溶剂如 CH₂Cl₂ 中用三氟甲磺酸酐处理；然后使三氟甲磺酸酯与任选被取代的芳基硼酸如任选被取代的苯基硼酸在溶剂如甲苯中在 Pd(PPh₃)₄ 和碱如 K₂CO₃ 的存在下在高温和惰性气氛下反应。

可以通过在碱如 K₂CO₃ 的存在下在适当的溶剂如丙酮中与卤素取代的化合物如任选被取代的苄基溴回流，从其中 W 为羟基的式 I 化合

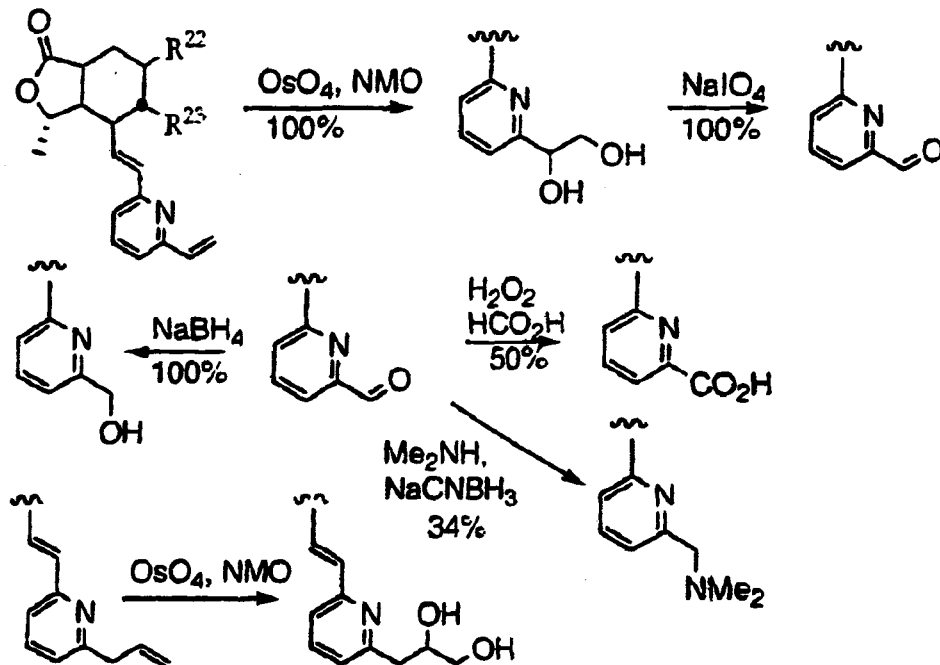
物制备其中 W 为被取代的羟基(如, 苄基氧基)的式 I 化合物。

其中 Het 为 W 通过碳原子(如, 其中 W 为烷基、烯基、或芳基烷基)或氮原子(即, $-NR^4R^5$)取代的式 I 的化合物可以如图解 3 所示, 使用其中 W 为氯代烷基的式 I 化合物作为中间体制备而成。其中 W 为极性基团如羟基烷基、二羟基烷基、 $-COOH$ 、二甲氨基和 $-COH$ 的式 I 的化合物可以如图解 4 所示制备, 其中起始原料为其中 W 为烯基的式 I 的化合物。以下图解 3 和 4 表示公知的用于制备不同的 W-取代的化合物的反应条件, 其中 X 为 $-O-$, Y 为 $=O$, R^{15} 为不存在, R^1 为甲基, R^2 、 R^3 、 R^9 、 R^{10} 和 R^{11} 各自为 H, B 为 $-CH=CH-$, 并且 Het 为 2-吡啶基。

图解 3



图解 4



本领域技术人员应该理解，可对其它的式 I 的化合物进行与上述图解所述相似的反应，只要存在的取代基对所述的反应条件不敏感。

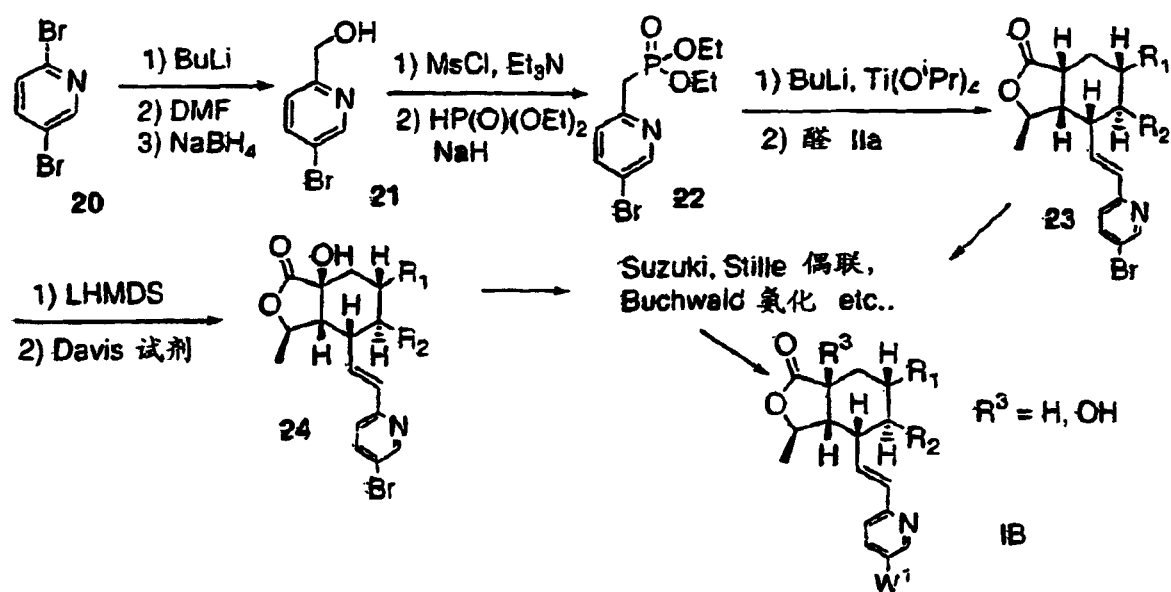
其中任选的单键(由双虚线表示的)不存在、X 为 OH、Y 为 OH、 R^{15} 为 H、和其余变量如上定义的式 I 的化合物可以通过用还原剂如 LAH 处理其中任选的单键存在、X 为 -O-、Y 为 =O、和 R^{15} 为不存在的相应化合物制备而成。

其中任选的单键存在、X 为 -O-、Y 为 (H, OH)、 R^5 为不存在、和其余变量如上定义的式 I 的化合物可以通过用试剂如 DIBAL 处理其中任选的单键存在、X 为 -O-、Y 为 =O、和 R^{15} 为不存在的相应化合物制备而成。通过使羟基化合物与适当的链烷醇在试剂如 $BF_3 \cdot OEt_2$ 的存在下反应将得到的其中 Y 为 (H, OH) 的化合物转化为相应的其中 Y 为 (H, 烷氧基) 的化合物。其中 Y 为 (H, OH) 的化合物也可通过在惰性溶剂如 CH_2Cl_2 中使羟基化合物在低温下用 $BF_3 \cdot OEt_2$ 和 Et_3SiH 处理转化为相应的其中 Y 为 (H, H) 的化合物。

可通过将其中 R^9 为氢的式 I 化合物与氧化剂如 SeO_2 加热，使其转化为相应的其中 R^9 为羟基的化合物。

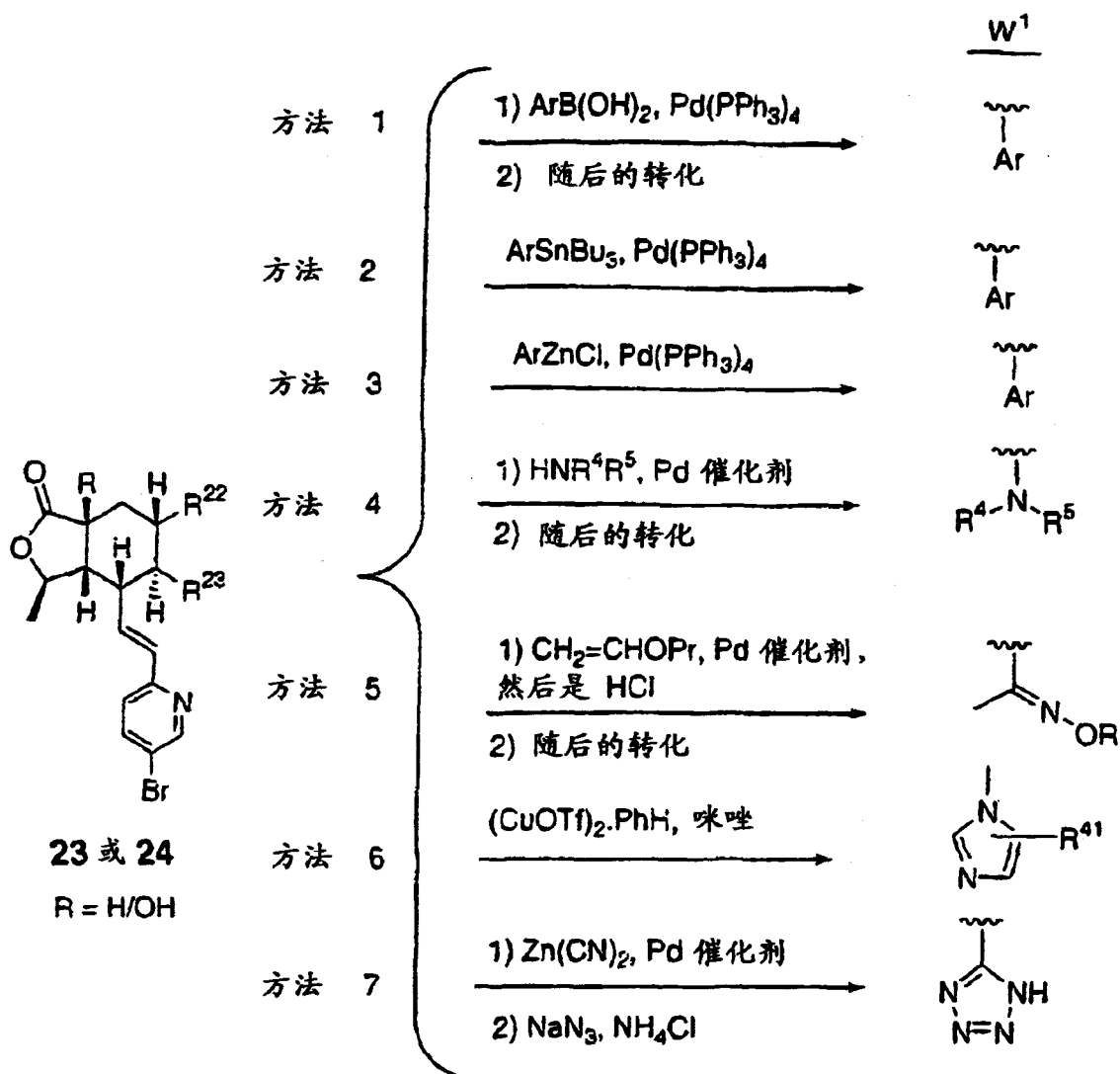
使用多种标准的化学转换如 Suzuki 反应、Stille 偶联和 Buchwald 氨基化，从其中 W 为 5-溴的式 1A 的化合物(式 23 或 24 的化合物)制备其中 R² 为 H、R³ 为 H 或 OH、W¹ 为 R²¹-芳基、R⁴¹-杂芳基、氨基或羟基氨基衍生物的式 IB 的化合物。反应图解 5 表示从 2,5-二溴吡啶制备的方法：

图解 5:



膦酸酯 22 从已知的醇 21 通过两步转换制备：醇用 CH₃SO₂Cl 处理得到甲磺酸酯，然后用二乙基亚磷酸钠置换得到 22。也可使用 Davis 试剂将中间体 23 进行 α-羟基化得到醇 24。23 和 24 都可以如图解 6 所示转化为多种类似物：

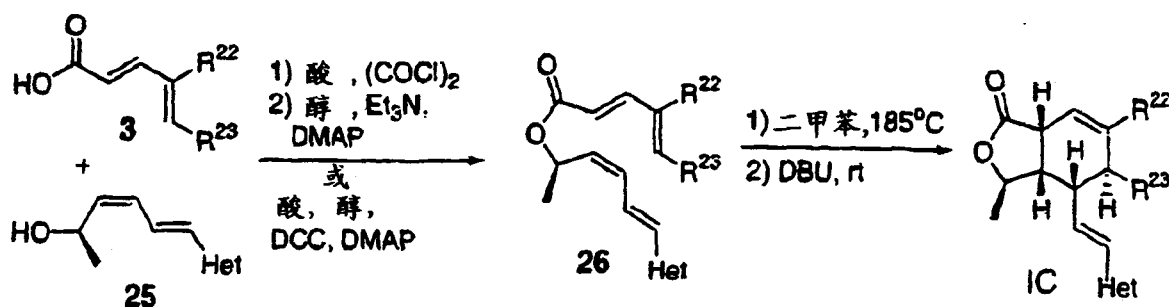
图解 6:



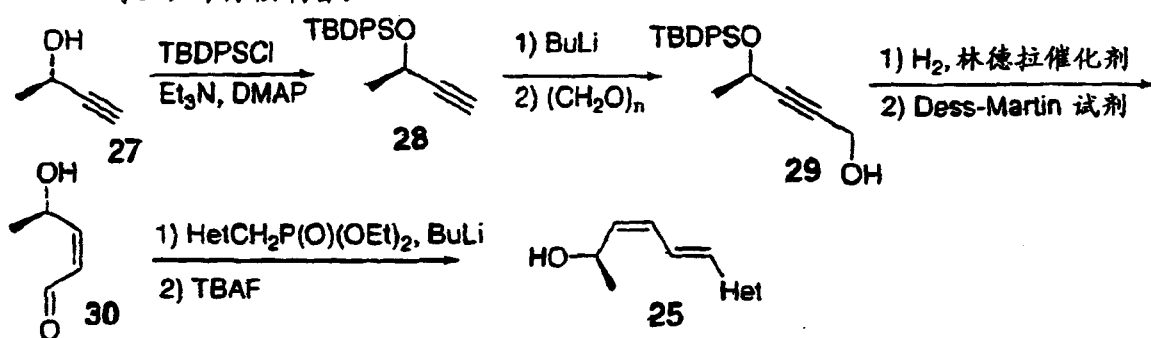
如图解 6 所示, 溴化物(23 或 24)可在钯催化条件下与硼酸偶合(方法 1)。如果硼酸具有官能团, 则随后可将其转换。类似地, 可以偶合芳基-锡化合物(方法 2)、芳基-锌化合物(方法 3)和胺(方法 4)。具有乙烯基醚的 Heck 反应可以引入酮基团, 其可以随后被官能化(方法 5)。可使用三氟甲磺酸铜(I)作为催化剂使咪唑偶合(方法 6)。溴化物也可转化为氰化物, 其可以随后转换为例如四唑(方法 7)。

如图解 7 所示使用第尔斯-阿尔德法 (Diels-Alder Strategy), 多种二烯酸 3 可与醇 25 偶联, 并且酯 26 可以经过热环化, 得到第尔斯-阿尔德产品 IC:

图解 7:



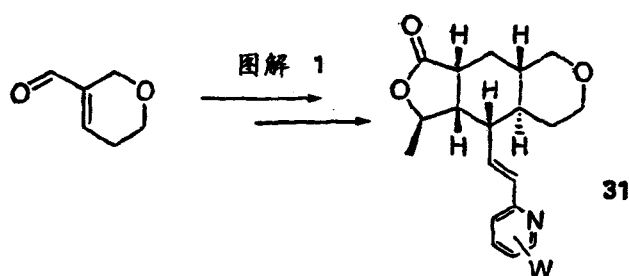
醇25如下方法制备:

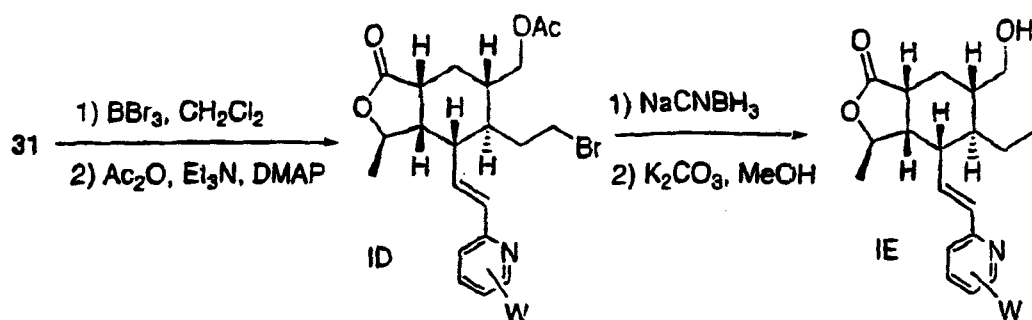


从容易得到的(R)-(+)-3-丁炔-2-醇 27 制备醇 25。醇被保护作为其 TBDPS 醚，将炔脱质子化并用多聚甲醛淬灭得到醇 29。在喹啉的存在下使用林德拉催化剂将炔还原成顺式烯，烯丙基式醇氧化，得到醛 30，将其转化为醇 25。

其中 R^{22} 为 $-\text{CH}_2\text{O}(\text{O})\text{CCH}_3$ 或其衍生物、 R^{23} 为乙基、 R^2 为 H、和其余变量如以上对于 IA 中的定义的式 ID 的化合物可以从相应的四氢吡喃类似物通过开环制备。式 ID 的化合物可以通过公知的方法转化为其它的式 I 化合物，如其中 R^{22} 为 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 的式 IE 的化合物。该反应如图解 8 中所示:

图解 8:



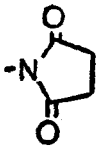


四氢吡喃类似物 31 可以从 3-甲酰基-5,6-二氢-2H-吡喃(已知化合物)开始并使用类似于图解 1 中的方法制备。环可以使用 BBr_3 进行区域选择性开环并且可以将醇保护, 以得到乙酸酯 ID。将溴化物用 NaCNBH_3 还原, 随后通过乙酸酯脱保护, 得到醇 IE。

上述方法中的起始原料或者是市售的、或者本领域中已知的, 或者是通过本领域中公知的方法制备。

上述方法中未涉及的活性基团可以在反应过程中用常规的保护基保护, 可以在反应之后通过标准方法除去保护基。以下表 A 中表示了一些典型的保护基:

表 A

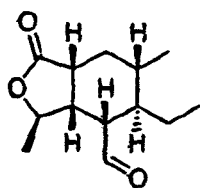
被保护的基团	被保护的基团和保护基
$-\text{COOH}$	$-\text{COO}$ 烷基, $-\text{COO}$ 苄基, $-\text{COO}$ 苯基
>NH	>NCO 烷基, >NCO 苄基, >NCO 苯基, $\text{>NCH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ $\text{>NC(O)OC}(\text{CH}_3)_3$, >N-苄基 , $\text{>NSi}(\text{CH}_3)_3$, $\text{>NSi-C}(\text{CH}_3)_3$
$-\text{NH}_2$	
$-\text{OH}$	$-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$, $-\text{OSi}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{OSi-C}(\text{CH}_3)_3$ 或 $-\text{OCH}_2$ 苯基

本发明还涉及包括本发明的式 I 化合物和可药用载体的药学组合物。式 I 化合物可以任何常规的口服剂型给药，如胶囊、片剂、粉末、扁囊剂、悬浮液或溶液。制剂和药学组合物可以使用常规的可药用赋形剂和添加剂和常规的方法制备。这种可药用赋形剂和添加剂包括无毒的相容性填料、粘合剂、崩解剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂、润滑剂、调味剂、增稠剂、着色剂、乳化剂等等。

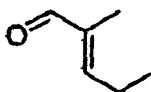
式 I 化合物的用于治疗上述疾病或病症的日剂量为每千克体重每天约 0.001 到约 100 mg，优选为约 0.001 到约 10 mg/kg。因此，对于 70 kg 的平均体重，剂量为每天约 0.1 到约 700 mg 的药物，以单剂量给药或以 2-4 个分剂量给药。然而，具体的剂量可由在场的临床医师确定并且取决于给予的化合物的效价、患者的年龄、体重、状况、和反应。

以下为制备起始原料和式 I 化合物的实施例。在以下方法中，使用以下缩写：室温(rt)、四氢呋喃(THF)、乙醚(Et₂O)、甲基(Me)、乙基(Et)、乙酸乙酯(EtOAc)、二甲基甲酰胺(DMF)、4-二甲氨基吡啶(DMAP)、1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(DBU)、1,3-二环己基碳二亚胺。

制备例 1

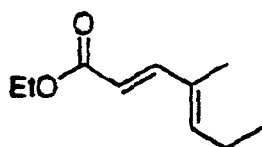


步骤 1:



参见 J. Org. Chem., 59(17)(1994), p. 4789.

步骤 2:



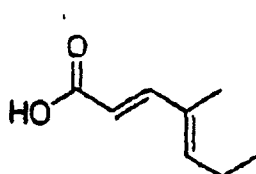
向 0°C 的 60% NaH(7.42 g, 185.5 mmol, 1.3 eq)在 300 ml THF 中的悬浮液中滴加二乙氧基膦酰基乙酸乙酯(triethylphosphonoacetate)(37 ml, 186.5 mmol, 1.3 eq), 混合物在 0°C 搅拌 30 分钟。加入步骤 1 的产物(14.0 g, 142.7 mmol), 混合物在 0°C 搅拌 30 分钟。通过加入 NH₄Cl 水溶液(500 ml)将反应淬灭, 蒸发 THF, 水相用 3x200 ml 的 Et₂O 提取, 将合并的有机层用盐水(300 ml)洗, MgSO₄ 干燥, 过滤并蒸发, 得到粗品混合物, 其经过色谱分离(5% Et₂O-己烷)得到 18.38 g(77%收率)的液体。

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)7.29(d, 1 H, J = 15.4), 5.86(t, 1 H, J = 7.4), 5.76(d, 1 H, J = 15.4), 4.18(q, 2H, J = 7.2), 2.22-2.15(m, 2H), 1.74(d, 3H, J = 0.7), 1.27(t, 3H, J = 7.2), 1.00(t, 3H, J = 7.7).

¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃)167.29, 149.38, 143.45, 132.04, 115.39, 60.08, 22.14, 14.42, 13.58, 12.05.

MS: 169(MH⁺).

步骤 3:

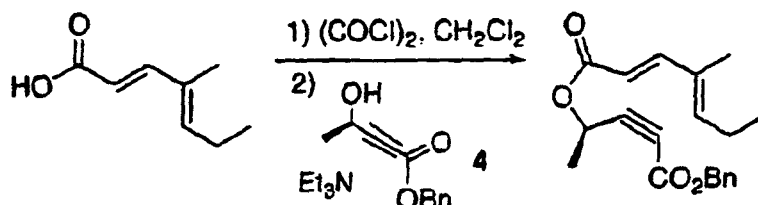


向步骤 2 的产物(6.4 g, 38 mmol)在 THF 和 MeOH(各为 40 ml)中的溶液中加入 KOH(6.4 g, 114 mmol, 3 eq)的 H₂O(40 ml)溶液。将混合物在室温搅拌 2 小时, 冷却到 0°C 并加入 H₂O(100 ml)和 1 N HCl(150 ml)。混合物用 EtOAc(3x100 ml)提取, 合并的有机层用 H₂O(150 ml)和盐水(150 ml)洗, MgSO₄ 干燥, 过滤并蒸发, 得到 5.26 g(99%收率)的结晶固体。

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)7.40(d, 1H, J = 16), 5.95(t, 1H, J =

7.2), 5.79(d, 1H, J = 16), 2.26-2.19(m, 2H), 1.78(s, 3H), 1.04(t, 3H, J = 7.6).

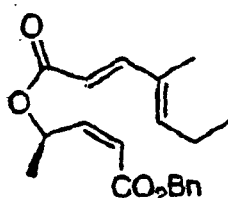
步骤 4:



向步骤 3 的产物(2.0 g, 14.3 mmol)的 CH_2Cl_2 (70 ml)溶液中加入草酰氯(2.5 ml, 28.7 mmol, 2 eq.), 随后加入 DMF(33 μl , 3 mol%). 将混合物在室温搅拌 1 小时, 然后蒸发溶剂, 得到粗品酰基氯, 将其溶于 CH_2Cl_2 (70 ml)中并冷却到 0°C . 向其中加入 DMAP(175 mg, 1.43 mmol, 0.1 eq.)和醇 4(2.62 g, 12.8 mmol, 0.9 eq.)的 CH_2Cl_2 (5 ml)溶液, 随后加入 Et_3N (4 ml, 28.7 mmol, 2 eq.). 将混合物在 0°C 搅拌 2 小时, 用 Et_2O (200 ml)稀释, 用 NaHCO_3 水溶液和盐水(各 200 ml)洗, 并且 MgSO_4 干燥. 将溶液过滤, 浓缩, 得到的残余物用 5% EtOAc -己烷进行色谱分离, 得到 3.56 g(85%)的浅黄色树脂状物质.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)7.38-7.33(m, 6H), 5.93(t, 1H, J = 7.4), 5.77(d, 1H, J = 15.6), 5.62(q, 1H, J = 6.2), 5.20(s, 2H), 2.25-2.18(m, 2H), 1.76(d, 3H, J = 0.4), 1.58(d, 3H, J = 6.2), 1.03(t, 3H, J = 7.4).

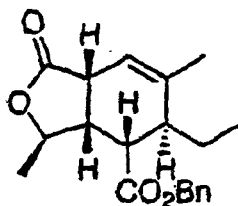
步骤 5:



向步骤 4 的产物(3.19 g, 9.8 mmol)的 THF(50 ml)溶液中加入林德拉催化剂(320 mg, 10 重量%)和喹啉(230 μl , 2.0 mmol, 0.2 eq.). 将悬浮液在 1 大气压 H_2 下搅拌直到起始原料耗尽. 将溶液通过 celiteTM

过滤并蒸发。将树脂状物质溶于 EtOAc(250 ml)中并用 1 N HCl(3x100 ml)和盐水(100 ml)洗。将溶液用 MgSO₄干燥, 过滤并蒸发, 得到 3.17 g 的粗品烯, 其直接用于下面步骤。

步骤 6:



将步骤 5 的产物(3.15 g, 9.6 mmol)的间二甲苯(100 ml)溶液在 185°C 加热 10 小时。将溶液冷却到室温并与 DBU(290 μl, 1.94 mmol, 0.2 eq)搅拌 1 小时。蒸发溶剂, 粗产物用 10% EtOAc-己烷进行色谱分离, 得到 1.1 g(35%)的外环产物(exo product)。

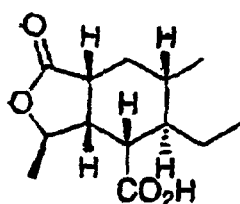
¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)7.38-7.34(m, 5H), 5.45(br s, 1H), 5.14(ABq, J = 12.0, 22.8, 2H), 4.52(dq, J = 6.1, 8.1, 1 H), 3.26-3.23(m, 1 H), 2.87(dd, J = 9.4, 4.6, 1 H), 2.62(dt, J = 8.1, 4.5, 1 H), 2.54(br s, 1 H), 1.71(t, J = 1.2, 3H), 1.69-1.60(m, 1 H), 1.50-1.44(m, 1 H), 1.20(d, J = 6.4, 3H), 0.77(t, J = 7.4, 3H)。

¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃)175.25, 173.04, 137.86, 135.00, 128.38, 128.34, 128.30, 116.54, 76.64, 66.70, 42.85, 42.14, 41.40, 37.27, 22.52, 21.65, 20.44, 8.98

$[\alpha]_D^{22} = -64.4$ (c 1, CH₂Cl₂)。

HRMS: 329.1754, 计算值 329.1753。

步骤 7:



向步骤 6 的产物(1.35 g, 4.1 mmol)的 EtOAc(30 ml)溶液中加入 10% Pd-C(140 mg, 10 重量%), 悬浮液在 H₂ 气球下搅拌 5 小时。将混合物通过 celiteTM 过滤并浓缩。将粗产物溶于甲醇(30 ml)中, 加入 PtO₂(100 mg), 混合物在 Parr 容器中在 50 Psi 的 H₂ 下振摇 2 天。将混合物通过 celiteTM 过滤并蒸发, 得到 980 mg(99%)的酸, 为泡沫。

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)4.73-4.66(m, 1 H), 2.71(dd, J = 11.8, 5.4, 1 H), 2.68-2.62(m, 1H), 2.53(dt, J = 10.0, 6.4, 1H), 1.92, ddd, J = 13.4, 6.0, 2.6, 1H), 1.63-1.57(m, 1 H), 1.52-1.20(未解析的 m, 3H), 1.30(d, J = 5.9, 3H), 0.96(d, J = 6.6, 3H), 0.93-0.89(m, 1 H), 0.80(t, J = 7.5, 3H).

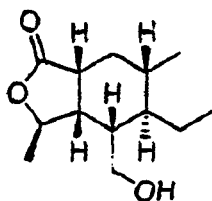
MS: 319.1(MH⁺.DMSO).

步骤 8:

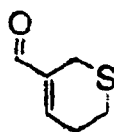
向步骤 7 的产物(490 mg, 2.04 mmol)的 CH₂Cl₂(20 ml)溶液中加入草酰氯(360μl, 4.13 mmol, 2 eq.), 随后加入 1 滴 DMF。溶液在室温搅拌 1 小时并除去溶剂, 得到粗品酰基氯, 将其溶于甲苯(20 ml)中并冷却到 0°C。向其中加入 Pd(PPh₃)₄(236 mg, 0.20 mmol, 0.1 eq.), 随后加入 Bu₃SnH(825μl, 3.07 mmol, 1.5 eq.)。混合物在 0°C 下搅拌 3 小时, 浓缩并用 25% EtOAc-己烷进行色谱分离, 得到标题化合物 220 mg(48%), 为树脂状物质。

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)9.72(d, J = 3.6, 1 H), 4.70(dq, J = 5.7, 9.5, 1 H), 2.71-2.64(m, 2H), 2.56-2.51(m, 1H), 1.98(ddd, J = 13.5, 6.1, 2.9, 1H), 1.68-1.59(m, 3H), 1.52-1.37(m, 1 H), 1.36(d, J = 5.9, 3H), 1.32-1.20(m, 1 H), 1.00(d, J = 6.2, 3H), 0.80(d, J = 7.3, 3H).

制备例 2

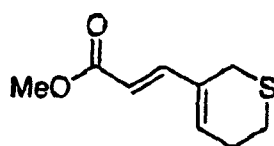


步骤 1:



根据 McGinnis 和 Robinson, *J. Chem. Soc.*, 404(1941), 407 的方法制备噻喃烯醛。

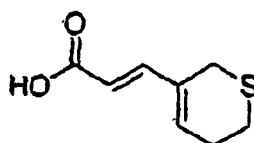
步骤 2:



在 0°C 下向 60% NaH(6.3 g, 158 mmol, 1.3 eq.)在 THF(200 ml) 中的悬浮液中加入二乙氧基磷酰酯基乙酸甲酯(29 ml, 158 mmol, 1.3 eq.), 混合物在 0°C 搅拌 30 分钟. 然后将溶液转移到步骤 1 的产物(15.6 g, 122 mmol)的 THF(100 ml)溶液中并在 0°C 搅拌 1 小时. 通过加入 NH₄Cl 水溶液(500 ml)将反应淬灭并蒸发 THF. 水相用 Et₂O(3x200 ml) 提取, 合并的有机层用 H₂O 和盐水(各 200 ml)洗. 将溶液用 MgSO₄ 干燥, 浓缩, 得到的残余物用 5% EtOAc-己烷进行色谱分离, 得到 13.0 g(58%)的油状物.

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)7.26(d, J = 15.9 Hz, 1H), 6.26(t, J = 4.4 Hz, 1H), 5.78(dd, J = 15.9, 0.6 Hz, 1H), 3.75(s, 3H), 3.25-3.23(m, 2H), 2.71(t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.57-2.53(m, 2H).

步骤 3:

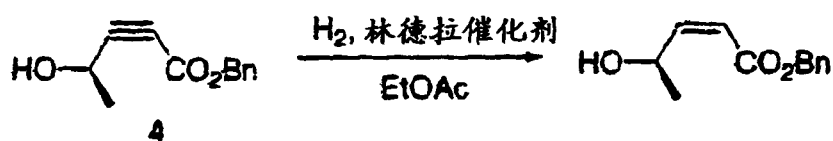


向步骤 2 的产物(13.0 g, 70.6 mmol)的 THF 和 MeOH(各 50 ml) 溶液中加入 KOH(11.9 g, 212 mmol, 3.0 eq.)的 H₂O(50 ml)溶液. 混

合物在室温搅拌 1 小时，用 H₂O(100 ml)稀释并用 1 N HCl 酸化。水相用 EtOAc(3x200 ml)提取，合并的有机层用 H₂O 和盐水(各 300 ml)洗。将溶液用 MgSO₄干燥，过滤并蒸发，得到 11.66 g(97%)的浅黄色固体。

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)7.34(d, J = 15.6 Hz, 1 H), 6.32(t, J = 4.4 Hz, 1 H), 5.78(d, J = 15.6 Hz, 1 H), 3.26(d, J = 1.6 Hz, 2H), 2.72(t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.59-2.55(m, 2H).

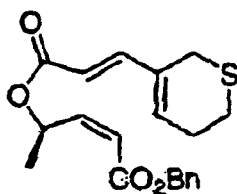
步骤 4:



向 4(5.2 g)的 EtOAc(120 ml)溶液中加入林德拉催化剂(520 mg)，悬浮液在 1 大气压 H₂ 下搅拌。在 45 分钟之后加入另一份催化剂(500 mg)，混合物另外搅拌 30 分钟。混合物通过 celite™ 垫过滤并蒸发，得到 5.2 g(99%)的所需的烯。

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)7.38-7.26(m, 5H), 6.32(dd, J = 11.9, 6.6 Hz, 1H), 5.86(d, J = 12.0 Hz, 1H), 5.18(s, 2H), 5.12-5.07(m, 1H), 3.20(brs, 1H), 1.34(d, J = 6.6 Hz, 3H).

步骤 5:

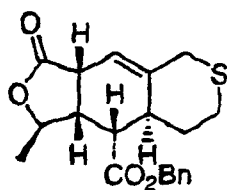


在 0°C 下向步骤 3 的产物(2.45 g, 14.39 mmol)的 CH₂Cl₂(60 ml)溶液中加入 DCC(3.27 g, 15.85 mmol, 1.1 eq.)，随后加入 DMAP(352 mg, 2.88 mmol, 0.2 eq.)，混合物在 0°C 搅拌 30 分钟。向其中加入 3.27 g(15.85 mmol, 1.1 eq.)的步骤 4 的醇在 10 ml 的 CH₂Cl₂ 中的溶液，混合物在 0°C 搅拌 5 小时，在室温下搅拌 1 小时。将溶液用 350ml 的

Et₂O 稀释并用 2x200 ml 的柠檬酸水溶液、200 ml 的 NaHCO₃ 水溶液和 200 ml 的盐水洗。将溶液用 MgSO₄ 干燥，过滤，浓缩，得到的残余物用 6% EtOAc-己烷进行色谱分离，得到 2.1 g(41%)的树脂状物质。

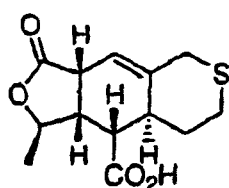
¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)7.38-7.32(m, 5H), 7.45(d, J = 16.0 Hz, 1 H), 6.38-6.34(m, 1 H), 6.26(t, J = 4.6 Hz, 1 H), 6.21(d, J = 11.6 Hz, 1 H), 6.19(d, J = 11.2 Hz, 1H), 5.85(dd, J = 11.6, 1.2 Hz, 1H), 5.76(d, J = 16.0 Hz, 1H), 5.18(d, J = 1.2 Hz, 2H), 3.24(d, J = 2.0 Hz, 2H), 2.71(t, 2H, J = 5.6 Hz, 2H), 2.56-2.52(m, 2H), 1.41(d, J = 6.4 Hz, 3H).

步骤 6:



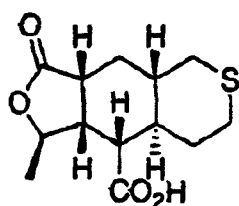
在密封管中在 200°C 将步骤 5 的产物(2.1 g, 5.85 mmol)的二甲苯(50 ml)溶液加热 6 小时。将溶液冷却到室温并与 DBU(178μl, 1.19 mmol, 0.2 eq.)搅拌 1 小时，浓缩并用 15% EtOAc-己烷进行色谱分离，得到 1.44 g(69%)的所需的外环产物。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)7.39-7.35(m, 5H), 5.46(br s, 1 H), 5.16(ABq, J = 21.6, 12.0 Hz, 2H), 4.42(dq, J = 9.2, 6.0 Hz, 1 H), 3.36-3.33(m 2H), 3.08(dd, J = 14.4, 2.4 Hz, 1H), 2.85(ddd, J = 13.9, 12.4, 2.5 Hz, 1H), 2.72-2.57(m, 4H), 2.27-2.21(m, 1H), 1.47-1.25(m, 1H), 1.12(d, J = 6.4 Hz, 3H).

步骤 7:



在 -78°C 下向步骤6的产物(750 mg, 2.09 mmol)的 CH_2Cl_2 (10 ml)溶液中加入在 CH_2Cl_2 中的 BBr_3 (4.2 ml的1 M溶液)。溶液在 -78°C 下搅拌30分钟,在 0°C 搅拌30分钟,然后倾入到 K_2CO_3 水溶液(100 ml)中。水相用 Et_2O (2x50 ml)洗,有机层用 K_2CO_3 水溶液(50 ml)反提取。将合并的水相用1N HCl酸化并用 EtOAc (3x50 ml)提取。 EtOAc 层用盐水(50 ml)洗,用 MgSO_4 干燥,过滤并蒸发,得到500 mg(89%)的酸。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)5.50(br s, 1 H), 4.47(dq, $J = 9.6, 6.0$ Hz, 1 H), 3.43-3.39(m, 1 H), 3.36(d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 3.10(dd, $J = 14.0, 2.4$ Hz, 1H), 2.91-2.84(m, 1H), 2.82-2.77(m, 1 H), 2.70(dd, $J = 10.6, 4.2$ Hz, 1 H), 2.69-2.63(m, 1 H), 2.57-2.52(m, 1 H), 2.34-2.29(m, 1 H), 1.53-1.42(m, 1 H), 1.34(d, $J = 6.0$ Hz, 3H)。

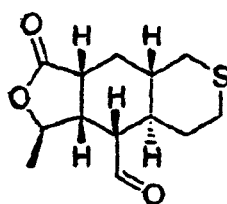
步骤 8:



向步骤7的产物(500 mg, 1.86 mmol)的 MeOH (30 ml)溶液中加入 AcOH (3 ml)和 PtO_2 (250 mg),悬浮液在Parr容器中以40 Psi的 H_2 下振摇1.5天。用Celite™垫滤掉催化剂,将溶液浓缩,得到的残余物溶于 $\text{AcOH-MeOH-CH}_2\text{Cl}_2$ 混合物(0.5:2:97.5 v/v/v)中,并通过 SiO_2 短柱过滤,得到400 mg(79%)的还原产物,为树脂状物质,其在静置时固化。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)4.68(dq, $J = 9.4, 5.9$ Hz, 1H), 2.76-2.69(m, 2H), 2.60-2.55(m, 3H), 2.49(d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 2.10(brs, 1H), 1.93(ddd, $J = 13.5, 6.0, 2.7$ Hz, 1 H), 1.60-1.48(m, 2H), 1.45-1.19(m, 3H), 1.33(d, $J = 5.6$ Hz, 3H)。

步骤 9:



向步骤 8 的产物(97 mg, 0.36 mmol)的 CH_2Cl_2 (4 ml)溶液中加入草酰氯(94 μl), 随后加入 1 滴 DMF。溶液在室温搅拌 1 小时并浓缩, 得到粗品酰基氯, 将其溶于甲苯(3 ml)中并冷却到 0°C 。加入 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (42 mg, 0.04 mmol, 0.1 eq.), 随后加入 Bu_3SnH (94 μl)。混合物在 0°C 搅拌 3 小时, 浓缩并用 25% EtOAc-己烷进行色谱分离, 得到 73 mg(80%)的醛, 为白色固体。 ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3)9.75(d, $J = 2.8$ Hz, 1 H), 4.62(dq, $J = 9.7, 6.0$ Hz, 1 H), 2.8-2.70(m, 2H), 2.65-2.55(m, 3H), 2.50(d, $J = 7.2$ Hz), 2.10(ddd, $J = 13.2, 6.4, 3.0$ Hz, 1H), 1.94(ddd, $J = 13.6, 6.0, 3.0$, 1H), 1.69(dq, $J = 10.9$ Hz, 3.00 Hz, 1 H), 1.58-1.48(m, 1 H), 1.42-1.20(m, 3H), 1.33(d, $J = 6.4$ Hz, 3H)。

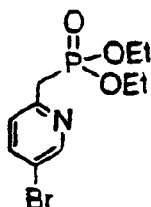
步骤 10:

向步骤 9 的产物(90 mg, 0.35 mmol)的 MeOH(10 ml)溶液(4:1 v/v)中加入过量的 NaBH_4 , 混合物在 0°C 搅拌 15 分钟。反应用 NH_4Cl 水溶液(50 ml)淬灭并用 EtOAc(3x20 ml)提取。合并的有机层用盐水(50 ml)洗, 用 MgSO_4 干燥并浓缩, 得到粗品醇。将醇在 MeOH-THF(6 ml, 1:1 v/v)中的溶液加入到包含用二氧杂环己烷和 THF 洗过的过量兰尼镍的烧瓶中。将悬浮液加热回流 3 小时, 冷却, 过滤, 浓缩并用 25% EtOAc-己烷进行色谱分离, 得到 54 mg(67%)的标题化合物, 为树脂状物质。

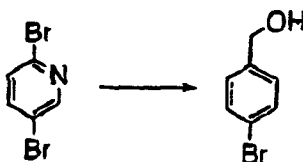
^1H NMR(400 MHz, CDCl_3)4.70(dq, $J = 9.7, 5.9$ Hz, 1 H), 3.73(dd, $J = 10.5, 3.4$ Hz, 1 H), 3.62(dd, $J = 10.5, 7.6$ Hz, 1 H), 2.60-2.53(m, 1 H), 2.46(ddd, $J = 9.6, 7.2, 5.2$ Hz, 1 H), 1.90(ddd, $J = 13.5, 6.1, 3.1$ Hz, 1 H), 1.87-1.81(m, 1 H), 1.77(br s, 1 H), 1.66-1.59(m, 1 H), 1.50(d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 1.48-1.36(m, 2H), 1.25-1.14(m, 2H), 0.93(d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.78(d, $J = 7.5$ Hz, 3H)

^{13}C NMR(100 MHz, CDCl_3)178.58, 77.63, 61.79, 45.10, 42.49, 39.37, 38.65, 33.44, 31.96, 21.39, 19.91, 19.74, 7.26

制备例 3



步骤 1



根据 Wang 等人, Tet. Lett, 41, (2000), p. 4335-4338 中所述的方法制备。

步骤 2:

向保持在 $\sim -30^\circ\text{C}$ 的步骤 1 的产物(20 g, 106 mmol)和 Et_3N (17.8 ml, 128 mmol, 1.2 eq.)的 CH_2Cl_2 (300 ml)溶液中缓慢加入 $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ (9.1 ml, 118 mmol, 1.1 eq.)。将淤浆搅拌 1 小时,同时使其回温到 0°C 。反应混合物用 NaHCO_3 水溶液(500 ml)稀释并分离有机层。水层用 Et_2O (2x200 ml)提取,合并的有机层用 NaHCO_3 水溶液(2x300 ml)和盐水(300 ml)洗。溶液用 MgSO_4 干燥,过滤并蒸发,得到粗品甲磺酸酯,其直接用于以下步骤。

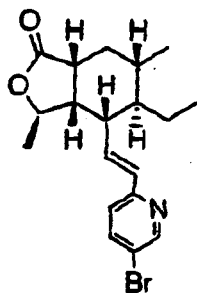
^1H NMR: 8.67(d, $J = 2.0$ Hz, 1 H), 7.89(dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, 1 H), 7.33(d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 5.28(s, 2H), 3.10(s, 3H)。

步骤 3: 在室温下向 60% NaH (8.5 g, 212 mmol 2.0 eq.)的 THF(500 ml)的悬浮液中逐滴加入二乙基亚磷酸酯(27.4 ml, 213 mmol, 2 eq.), 混合物搅拌 1 小时。向该混浊溶液中加入步骤 2 的产物的 THF(125 ml)

溶液，混合物在室温下搅拌 1 小时。通过加入 H_2O (500 ml) 将反应淬灭，蒸发 THF，水层用 EtOAc (4x150 ml) 提取。合并的有机层用 K_2CO_3 水溶液 (2x300 ml)、盐水 (300 ml) 洗，用 MgSO_4 干燥，过滤，蒸发，粗产物用 5:95 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 进行色谱分离，得到 31.7 g (97%) 的油状物。

$^1\text{H NMR}$: 8.59(d, $J = 2.0$ Hz, 1 H), 7.76(dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, 1 H), 7.29(dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, 1 H), 4.12-4.05(m, 4 H), 3.36(d, $J = 22.0$ Hz, 2H), 1.27(t, $J = 7.0$ Hz, 6H).

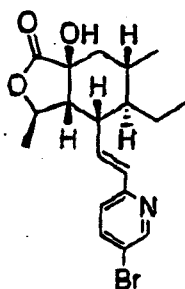
制备例 4



向 0°C 的制备例 3 的产物 (15 g, 49 mmol, 1.5 eq.) 的 THF (100 ml) 溶液中加入在 THF 中的 1 M LHMDS (49 ml, 49 mmol, 1.5 eq.)，溶液搅拌 30 分钟。向其中加入 $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$ (14.4 ml, 49 mmol, 1.5 eq.)，随后加入制备例 1 的产物 (7.3 g, 32 mmol) 的 THF (30 ml) 溶液，混合物在室温搅拌 45 分钟。溶液用酒石酸钠钾水溶液 (300 ml) 稀释并蒸发 THF。将淤浆用 EtOAc (4x100 ml) 提取，合并的有机层用盐水 (100 ml) 洗，用 MgSO_4 干燥，过滤，浓缩，得到的粗产物用 15:85 EtOAc-己烷进行色谱分离，得到 11.8 g (96%) 的泡沫。

$^1\text{H NMR}$: 8.58(d, $J = 2.4$ Hz, 1 H), 7.74(dd, $J = 8.4, 2.8$ Hz, 1 H), 7.09(d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.55(dd, $J = 15.6, 10.0$ Hz, 1H), 6.45(d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 4.75-4.68(m, 1H), 2.69-2.56(m, 2H), 2.32(dt, $J = 10.1, 6.5$ Hz, 1H), 1.98(ddd, $J = 13.4, 6.6, 2.8$ Hz, 1 H), 1.67-1.59(m, 1 H), 1.47-1.39(m, 2H), 1.37(d, $J = 5.9$ Hz, 3H), 1.31-1.20(m, 2H), 0.98(d, $J = 6.2$ Hz, 3H), 0.73(t, $J = 7.5$ Hz, 3H).

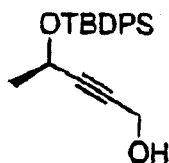
制备例 5



向 -78°C 的制备例4的产物(7.2 g, 19 mmol)的THF(100 ml)溶液中加入在THF中的1 M LHMDS(23 ml, 23 mmol, 1.2 eq.)。将溶液在 -78°C 搅拌30分钟,在 0°C 搅拌30分钟并冷却回到 -78°C 。向其中加入(1S)-(+)-(10-樟脑磺酰基)氧杂氮丙啶(6.0 g, 26 mmol, 1.4 eq.)的THF(50 ml)溶液,混合物在 -78°C 搅拌1小时,在 0°C 搅拌1.5小时。向溶液中加入 NH_4Cl 水溶液(300 ml),蒸发THF,水层用EtOAc(4x100 ml)提取。将合并的有机层用盐水(100 ml)洗,用 MgSO_4 干燥,过滤,浓缩,粗产物用15:20:65 EtOAc- CH_2Cl_2 -己烷进行色谱分离,得到6.4 g(85%)的泡沫。

$^1\text{H NMR}$: 8.56(d, $J = 2.0$ Hz, 1 H), 7.72(dd, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 7.07(d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 6.56(dd, $J = 15.6, 9.8$ Hz, 1 H), 6.48(d, $J = 15.6$ Hz, 1 H), 4.62-4.55(m, 1 H), 3.72(br s, 1 H), 2.80-2.74(m, 1 H), 2.28(dd, $J = 9.6, 5.6$ Hz, 1 H), 1.81-1.78(m, 2H), 1.63-1.58(m, 1 H), 1.44-1.27(m, 3H), 1.37(d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 0.94(d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.73(t, $J = 7.5$ Hz, 3H)。

制备例 6



步骤 1:

在室温下向(R)-(+)-3-丁炔-2-醇(5ml, 64 mmol)的 CH_2Cl_2 (100 ml)溶液中加入 DMAP(780 mg, 6.4 mmol, 0.1 eq.)、叔丁基二苯基氯硅

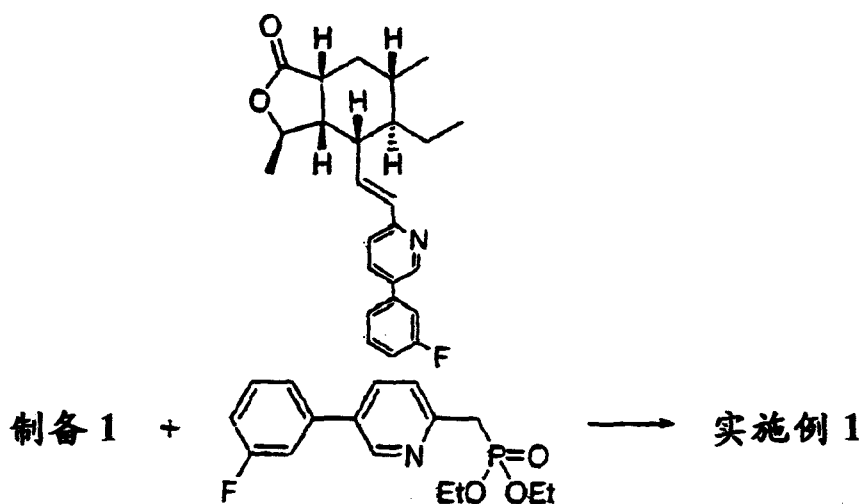
烷(17.4 ml, 67 mmol, 1.05 eq.)和 Et_3N (9.8 ml, 70 mmol, 1.1 eq.)。混合物搅拌过夜,用 Et_2O (400 ml)稀释,用 1 N HCl (2x200 ml)、 NaHCO_3 水溶液(200 ml)、盐水(200 ml)洗,用 MgSO_4 干燥,过滤并蒸发,得到 ~20 g 的油状物,其直接用于下面步骤。

步骤 2:

向 -78°C 的步骤 1 的产物的 THF(200 ml)溶液中加入在己烷中的 2.5M BuLi (30.4 ml, 76 mmol, 1.1 eq.), 将溶液搅拌 1 小时并加入固体多聚甲醛(4.15 g, 138 mmol, 2.0 eq.)。混合物在 -78°C 搅拌 15 分钟,在室温搅拌 1 小时,然后通过加入 NH_4Cl 水溶液(500 ml)淬灭。蒸发 THF 层,水层用 EtOAc (3x200 mL)提取。合并的有机层用 H_2O (2x300 ml)和盐水(300 ml)洗,用 MgSO_4 干燥,过滤,蒸发,粗产物用 10% EtOAc -己烷进行色谱分离,得到 16.5 g(71%)的树脂状物质。

^1H NMR: 7.77-7.74(m, 2H), 7.71-7.68(m, 2H), 7.46-7.36(m, 6H), 4.53(tq, $J = 1.8, 6.5$ Hz, 1 H), 4.08(dd, $J = 6.2, 1.8$ Hz), 2.82(d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.07(s, 9H)。

实施例 1



在 0°C 下向磷酸酯(650 mg, 2.01 mmol, 2 eq.)的 THF(8 ml)溶液中加入在己烷中的 BuLi (790 μl 的 2.5M 溶液, 2.0 mmol, 2 eq.), 混合物搅拌 10 分钟,然后加入 $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$ (590 μl , 2.0 mmol, 2 eq.), 溶液

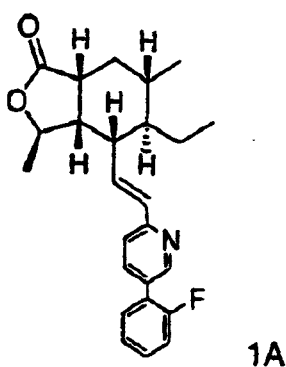
在室温搅拌 10 分钟。向其中加入制备例 1 的产物(220 mg, 0.98 mmol) 的 THF(3 ml)溶液, 混合物在室温搅拌 1.5 小时。向溶液中加入 Rochelles's 盐的水溶液(100 ml)并蒸发 THF。水相用 EtOAc(3x30 ml) 提取, 合并的有机层用盐水(50 ml)洗。溶液用 $MgSO_4$ 干燥, 浓缩, 得到的残余物用 20% EtOAc-己烷进行色谱分离, 得到标题化合物(240 mg, 62%), 为树脂状物质。

1H NMR(400MHz, $CDCl_3$)8.78(d, $J = 2.0$, 1 H), 7.82(dd, $J = 2.4$, 8.0, 1 H), 7.44(dt, $J = 5.7$, 8.1, 1 H), 7.36(dt, $J = 1.2$, 7.7, 1 H), 7.30-7.25(m, 2H), 7.09(ddt, $J = 2.5$, 1.0, 8.4, 1H), 6.61(dd, $J = 15.3$, 8.6, 1H), 6.56(d, $J = 15.3$, 1H), 4.78-4.71(m, 1H), 2.71-2.61(m, 2H), 2.36(dt, $J = 10.0$, 6.4, 1 H), 1.99(ddd, $J = 13.5$, 6.1, 2.9, 1H), 1.68-1.61(m, 1 H), 1.51-1.44(m, 2H), 1.42(d, $J = 5.9$, 3H), 1.39-1.22(m, 2H), 0.99(d, $J = 6.6$, 3H), 0.76(t, $J = 7.5$, 3H)。

FAB HRMS: 394.2184, 计算值 394.2182。

元素分析: $C_{25}H_{28}FNO_2 \cdot HCl$, 计算值: C, 69.84; H, 6.80; N, 3.26; 实测值: C, 71.00, H, 6.96; N, 3.19。

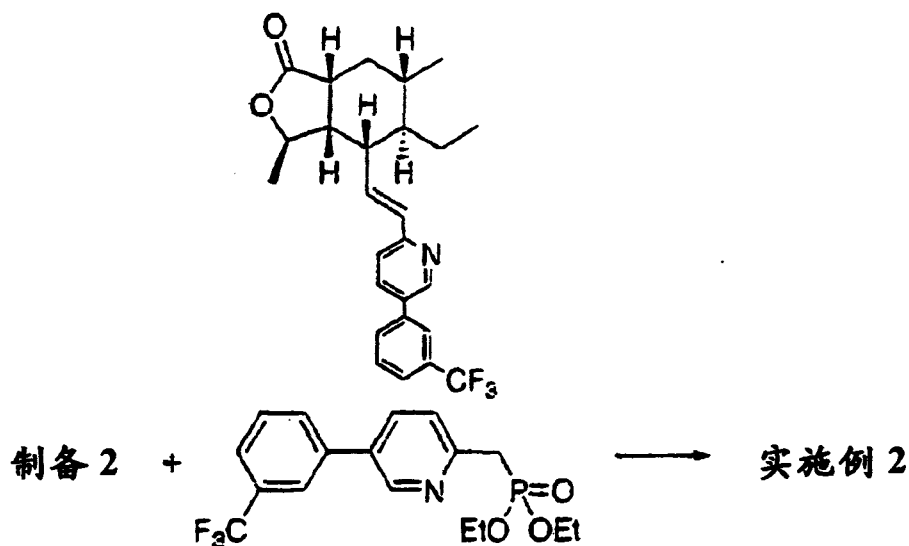
使用适当的磷酸酯通过类似的方法制备以下化合物 1 A:



1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$)8.73(bs, 1 H), 7.84(dt, $J = 2.0$, 8.0, 1 H), 7.44(dt, $J = 1.7$, 7.7, 1 H), 7.40-7.34(m, 1 H), 7.30(d, $J = 8.0$, 1H), 7.25(dt, $J = 7.6$, 1.1, 1H), 7.18(ddd, $J = 10.6$, 8.4, 1.2, 1H), 6.62(dd, $J = 15.1$, 8.6, 1 H), 6.56(d, $J = 15.1$, 1H), 4.79-4.72(m, 1H), 2.71-2.61(m, 2H), 2.36(dt, $J = 10.0$, 6.5, 1H), 1.99(ddd, $J = 13.5$, 6.1, 2.9, 1 H), 1.70-1.57(m, 1 H), 1.51-1.44(m, 2H), 1.42(d, $J = 5.9$, 3H), 1.39-1.22(m, 2H), 0.99(d, $J = 6.6$, 3H), 0.76(t, $J = 7.3$, 3H)。

FAB HRMS: 394.2184, 计算值: 394.2182.

实施例 2



向制备例 2 的产物(50 mg, 0.22 mmol)的 CH_2Cl_2 (3 ml)溶液中加入 NMO(78 mg, 0.67 mmol, 3 eq.)和 4Å 分子筛(约 50 mg)。搅拌 10 分钟之后, 加入 TPAP(8 mg, 0.02 mmol, 0.1 eq.)并继续另外搅拌 40 分钟。混合物用 Et_2O (20 ml)稀释, 通过 celite™ 过滤并浓缩, 得到残余物。残余物通过 SiO_2 短柱过滤, 用 30% EtOAc-己烷洗脱, 得到 38 mg 的醛。

在 0°C 向包含在 THF(1.5 ml)中的磷酸酯(210 mg, 0.56 mmol, 3.3 eq.)的另一个烧瓶中加入 2 M 的 BuLi 的己烷溶液(224 μl, 0.56 mmol, 3.3 eq.), 混合物搅拌 20 分钟。加入上述醛在 1.5 ml THF 中的溶液, 混合物在 0°C 搅拌 1 小时。溶液用 EtOAc(20 ml)稀释, 用 H_2O (2x20 ml)和盐水(20 ml)洗, 用 MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩并通过制备 TLC 使用 25% EtOAc-己烷洗脱纯化, 得到 9 mg 的标题化合物。

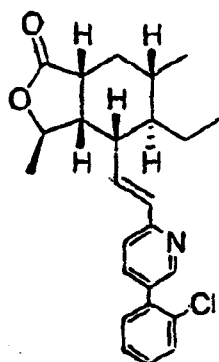
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.79(d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.85(dd, $J = 8.4, 2.6$ Hz, 1H), 7.81 br s, 1H), 7.76(d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.67-7.58(m, 2H), 7.31(d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.63(dd, $J = 15.6, 9.2$ Hz, 1H), 6.57(d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 4.79-4.72(m, 1H), 2.71-2.61(m, 2H), 2.37(dt, $J = 10.0, 6.4$ Hz, 1H), 2.00(ddd, $J = 13.5, 6.3, 2.7$ Hz, 1H), 1.64-1.56(m, 1H), 1.51-1.23(m 4H), 1.42(d, $J = 6.2$ Hz, 3H), 1.00(d, $J = 6.6$ Hz,

3H), 0.77(t, J = 7.5 Hz, 3H)

FABHRMS: 446.2306(MH⁺), 计算值 446.2280.

使用类似的方法, 还制备了以下化合物:

实施例 3

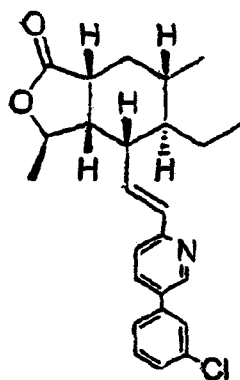


¹H NMR(400 MHz, CDCl₃)8.62(d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.76(dd, J = 8.0, 2.4 Hz, 1H), 7.51-7.48(m, 1 H), 7.37-7.26(m, 4H), 6.65-6.55(m, 2H), 4.78-4.71(m, 1 H), 2.71-2.61(m, 2H), 2.36(dt, J = 10.0, 6.4 Hz, 1H), 1.99(ddd, J = 13.7, 6.3, 2.9 Hz, 1H), 1.68-1.61(m, 1 H), 1.50-1.45(m, 2H), 1.43(d, J = 5.6 Hz, 3H), 1.33-1.25(m, 2H), 0.99(d, J = 6.4 Hz, 3H), 0.76(t, J = 7.4 Hz, 3H).

[α]²⁰_D = +13.2°(c 0.5, MeOH).

FAB HRMS: 410.1891(MH⁺), 计算值 410.1887.

实施例 4

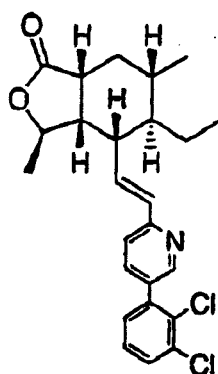


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)8.75(d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.80(dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 7.54 br s, 1H), 7.46-7.34(m, 3H), 7.29(d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.61(dd, $J = 15.3, 9.0$ Hz, 1H), 6.56(d, $J = 15.3$ Hz, 1H), 4.78-4.71(m, 1H), 2.70-2.60(m, 2H), 2.31(dt, $J = 10.1, 6.5$ Hz, 1H), 1.98(ddd, $J = 13.5, 6.4, 2.9$ Hz, 1H), 1.71-1.64(m, 1H), 1.49-1.43(m, 2H), 1.40(d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 1.33-1.21(m, 2H), 0.99(d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.75(t, $J = 7.4$ Hz, 3H)<76504-097-A-H in 2A>

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} = +23.1^\circ$ (c 0.5, MeOH).

FAB HRMS: 410.1887(MH^+), 计算值 410.1887.

实施例 5

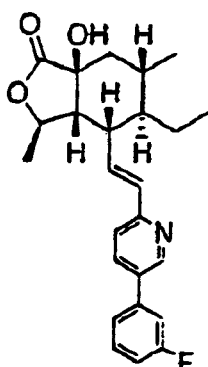


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)8.58(d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.72(dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, 1H), 7.50(dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.31-7.21(m, 3H), 6.63(dd, $J = 15.5, 8.8$ Hz, 1H), 6.57(d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 4.78-4.71(m, 1H), 2.71-2.61(m, 2H), 2.36(dt, $J = 10.0, 6.4$ Hz, 1H), 1.99(ddd, $J = 13.6, 6.4, 2.8$ Hz, 1H), 1.68-1.61(m, 1H), 1.50-1.45(m, 2H), 1.43(d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 1.35-1.22(m, 2H), 0.99(d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.76(t, $J = 7.4$ Hz, 3H)

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} = +5.8^\circ$ (c 0.4, MeOH).

FAB HRMS: 444.1491(MH^+), 计算值 444.1497.

实施例 6



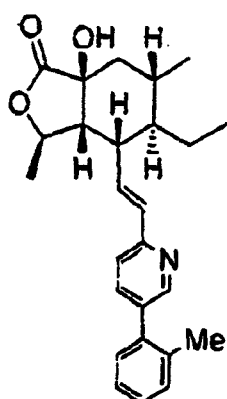
在 -78°C 向实施例1的产物(540 mg, 1.37 mmol)在THF(8 ml)中的溶液中加入 LHMDS 在 THF(1.65 ml, 1.65 mmol, 1.2 eq.)中的 1 M 溶液, 溶液在 -78°C 搅拌 15 分钟, 在 0°C 搅拌 30 分钟, 冷却回到 -78°C , 加入(1S)-(+)-(10-樟脑磺酰基)氧杂氮丙啶(475 mg, 2.10 mmol, 1.5 eq.) 在 THF(4 ml)中的溶液, 混合物在 -78°C 搅拌 15 分钟, 然后慢慢回温到室温, 向混合物中加入 NH_4Cl 水溶液(100 ml), 然后用 EtOAc 提取 (3x30 ml), 合并的有机层用 30 ml 盐水洗, MgSO_4 干燥, 浓缩并用 15 : 20 : 65 的 EtOAc- CH_2Cl_2 -己烷进行色谱分离, 得到 390 mg(69%)树脂状物质。

$^1\text{H NMR}$: 8.78(d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.82(dd, $J = 8.2, 2.6$ Hz, 1 H), 7.44(dt, $J = 6.0, 8.0$ Hz, 1 H), 7.37-7.35(m, 1 H), 7.29-7.25(m, 2H), 7.09(ddt, $J = 1.0, 2.4, 8.3$ Hz, 1 H), 6.67-6.58(m, 2H), 4.67-4.60(m, 1 H), 2.85-2.79(m, 2H), 2.32(dq, $J = 1.5, 5.7$ Hz, 1 H), 1.89-1.82(m, 1 H), 1.79-1.75(m, 1 H), 1.70-1.61(m, 2H), 1.54-1.46(m, 1 H), 1.45(d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 1.43-1.32(m, 1 H), 0.99(d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.78(t, $J = 7.5$ Hz, 3H).

Suzuki 偶联过程示例如下, 在 100°C 加热制备例 4 或 5 的溴化物与硼酸(1.0 到 2.0 eq.)、 K_2CO_3 (4 eq.)和 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (5-10 mol%) 在 甲苯 : EtOH : H_2O (4 : 2 : 1, v/v/v)中的溶液, 直到反应完成, 反应混合物用 H_2O 稀释, 用 EtOAc 提取, 有机层用盐水洗, MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩并通过色谱分离, 得到所需化合物。

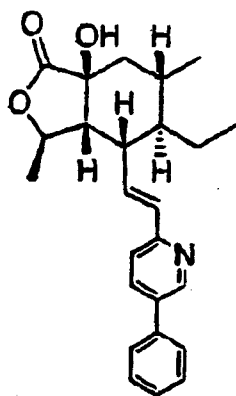
使用上述 Suzuki 偶联过程, 制备以下化合物:

实施例 7



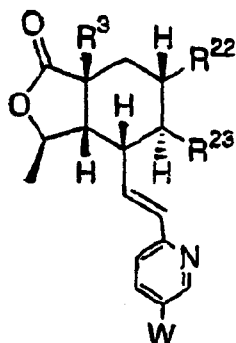
$^1\text{H NMR}$: 8.54(dd, $J = 2.2, 0.6$ Hz, 1 H), 7.62(dd, $J = 8.0, 2.2$ Hz, 1 H), 7.31-7.25(m, 4H), 7.22-7.20(m, 1 H), 6.65-6.56(m, 1 H), 4.67-4.60(m, 1 H), 3.20(br s, 1 H), 2.89-2.80(m, 1 H), 2.34(ddd, $J = 10.1, 5.7, 1.5$ Hz, 1 H), 2.30(s, 3H), 1.91-1.77(m, 2H), 1.70-1.64(m, 1 H), 1.55-1.43(m, 2H), 1.45(d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 1.39-1.25(m, 1 H), 0.98(d, $J = 6.50$, 3H), 0.79(t, $J = 7.5$ Hz, 3H).

实施例 8



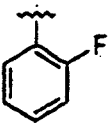
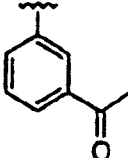
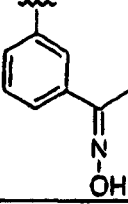
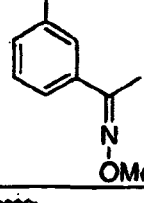
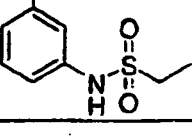
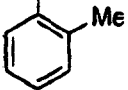
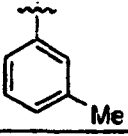
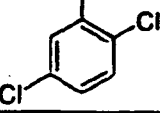
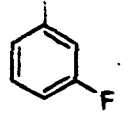
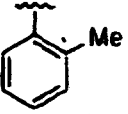
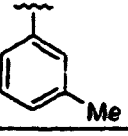
$^1\text{H NMR}$: 8.80(d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.84(dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, 1H), 7.58(d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.47(t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.39(t, $J = 7.2$ Hz, 1 H), 7.29(d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 6.65-6.55(m, 2H), 4.67-4.60(m, 1 H), 3.56(br s, 1 H), 2.87-2.81(m, 1 H), 2.34(dd, $J = 9.6, 5.6$ Hz, 1 H), 1.87-1.80(m, 2H), 1.70-1.63(m, 1H), 1.53-1.33(m, 3H), 1.44(d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 0.98(d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.79(t, $J = 7.4$ Hz, 3H).

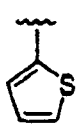
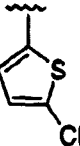
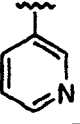
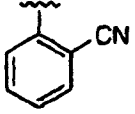
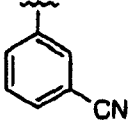
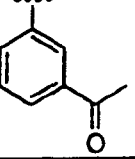
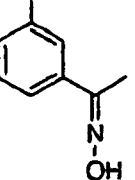
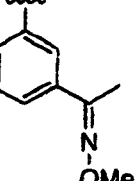
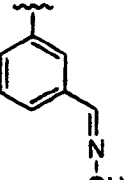
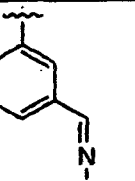
还使用 Suzuki 偶联过程, 使用适当的反应物, 制备具有以下结构的化合物:

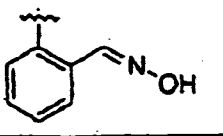
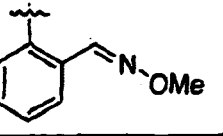
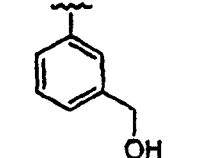
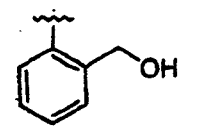
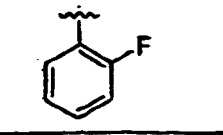
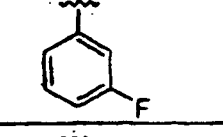
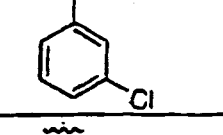
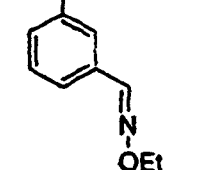
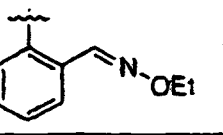
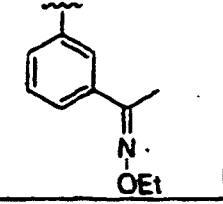
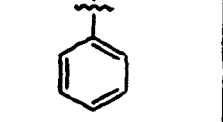


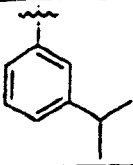
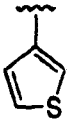
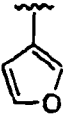
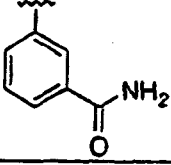
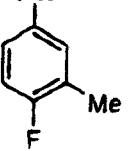
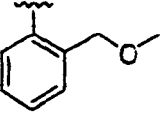
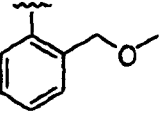
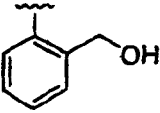
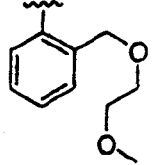
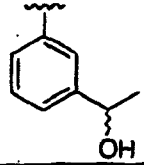
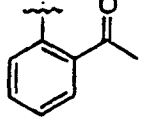
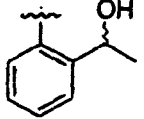
其中 R^3 、 R^{22} 、 R^{23} 和 W 的定义如下表所示(Me 为甲基, Et 为乙基, Ph 为苯基):

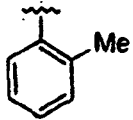
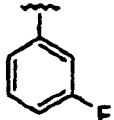
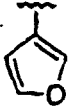

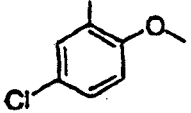
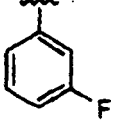
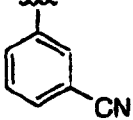
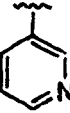
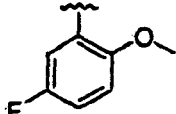
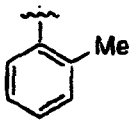
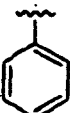
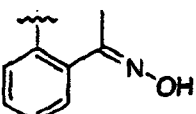
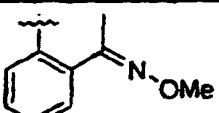
实施例	R^3	R^{22}	R^{23}	W	分析数据
8A	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 444.2165
8B	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 394.2184
8C	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 394.2184
8D	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 410.1891
8E	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 410.1887
8F	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 444.1491
8G	H	H	Ph		HRMS (MH ⁺) 428.2026

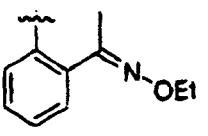
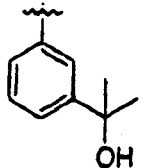
8H	H	H	Ph		HRMS (MH ⁺) 428.2027
8I	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 418.2381
8J	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 433.2490
8K	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 447.2648
8L	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 483.2319
8M	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 390.2441
8N	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 390.2437
8O	H	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 444.1490
8P	Me	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 408.2346
8Q	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 406.2380
8R	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 406.2376

8S	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 398.1788
8T	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 432.1392
8U	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 393.2181
8V	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 417.2178
8W	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 417.2178
8X	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 434.2330
8Y	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 449.2440
8ZA	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 463.2599
8AA	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 435.2275
8AB	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 449.2446

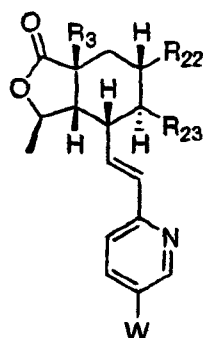
8AC	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 435.2279
8AD	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 449.2442
8AE	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 422.2332
8AF	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 422.2332
8AG	H	H	Et		HRMS (MH ⁺) 380.2028
8AH	H	Ph	Me		MS (MH ⁺) 442.1
8AI	H	Ph	Me		MS (MH ⁺) 458.1
8AJ	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 463.2589
8AK	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 463.2593
8AL	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 477.2750
8AM	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 392.2227

8AN	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 434.2695
8AO	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 398.1788
8AP	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 382.2020
8AQ	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 435.2282
8AR	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 424.0945
8AS	OMe	Me	Et		MS (MH ⁺) 450.1
8AT	OH	Me	Et		MS (MH ⁺) 436.1
8AU	OMe	Me	Et		MS (MH ⁺) 436.1
8AV	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 480.2752
8AW	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 436.2489
8AX	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 434.2325
8AY	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 436.2489

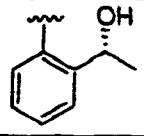
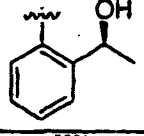
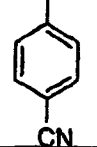
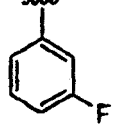
8AZ	OH	H	Et		MS (MH ⁺) 392.2
8BA	OH	H	Et		MS (MH ⁺) 396.3
8BB	OH	H	Et		MS (MH ⁺) 368.4
8BC	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 408.2169
8BD	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 456.1941
8BE	OH	H	Me		HRMS (MH ⁺) 382.1813
8BF	OH	H	Me		HRMS (MH ⁺) 389.1863
8BG	OH	H	Me		HRMS (MH ⁺) 365.1871
8BH	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 440.2243
8BI	OH	H	Me		HRMS (MH ⁺) 378.2064
8BJ	OH	H	Me		HRMS (MH ⁺) 364.1919
8BK	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 449.2435
8BL	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 463.2604

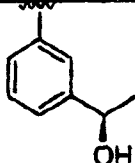
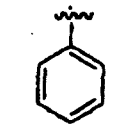
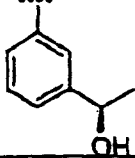
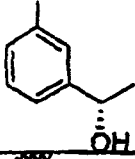
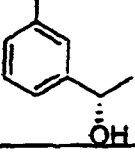
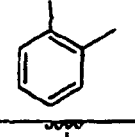
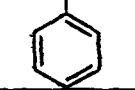
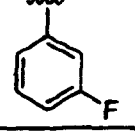
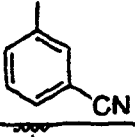
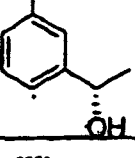
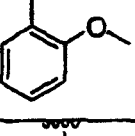
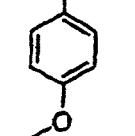
8BM	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 477.2751
8BN	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 450.2640

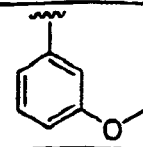
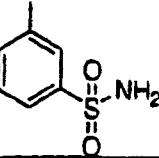
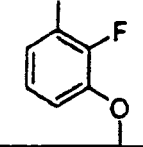
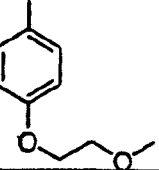
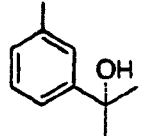
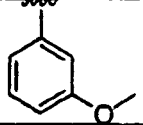
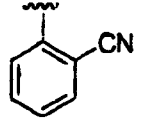
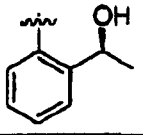
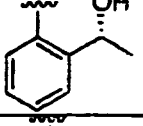
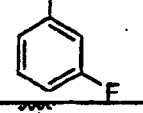
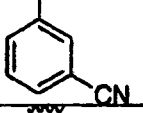
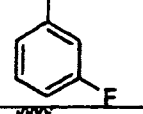
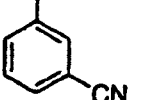
实施例 8 的更多化合物

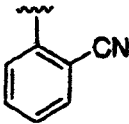
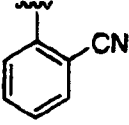
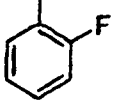


使用 Suzuki 型的偶联反应，通过使用适当的反应物制备以下化合物。

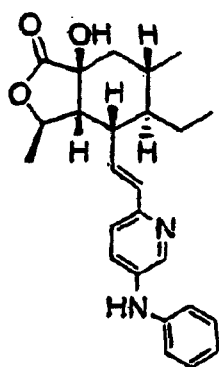
实施例	R ₃	R ₂₂	R ₂₃	W	分析数据
8BP	OH	H	Me		HRMS (MH ⁺) 408.2181
8BQ	OH	H	Me		HRMS (MH ⁺) 408.2181
8BR	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 417.2182
8BS	OH	H	Me		HRMS (MH ⁺) 366.1867

8BT	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 436.2493
8BU	OH	Me	Me		HRMS (MH ⁺) 378.2075
8BV	OH	H	Me		HRMS (MH ⁺) 408.2173
8BW	OH	H	Me		HRMS (MH ⁺) 408.2169
8BX	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 436.2492
8BY	OH	Me	Me		HRMS (MH ⁺) 392.2231
8BZ	H	Me	Et		MS (MH ⁺) 376.1
8CA	OH	Me	Me		HRMS (MH ⁺) 396.1969
8CB	OH	Me	Me		MS (MH ⁺) 403.1
8CC	OH	Me	Me		HRMS (MH ⁺) 422.2337
8CD	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 422.2336
8CE	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 422.2331

8CF	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 422.2336
8CG	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 471.1961
8CH	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 440.2234
8CI	OH	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 466.2600
8CJ	OH	Me	Me		MS(MH ⁺) 436.1
8CK	OH	Me	Me		MS (MH ⁺) 409.1
8CL	OH	Me	Me		HRMS (MH ⁺) 403.2027
8CM	OH	Me	Me		HRMS (MH ⁺) 422.2336
8CN	OH	Me	Me		MS (MH ⁺) 422.1
8CO	H	Et	Et		MS (MH ⁺) 408.1
8CP	H	Me	Et		MS (MH ⁺) 401.1
8CQ	OH	Et	Et		MS (MH ⁺) 424.1
8CR	H	Me	Me		MS (MH ⁺) 387.1

8CS	H	Me	Me		MS (MH ⁺) 387.1
8CT	H	Et	Et		MS (MH ⁺) 415.1
BCU	OH	Me	Me		MS(MH ⁺) 396.2

实施例 9

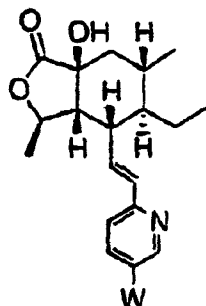


向在无水甲苯(5 ml)中的制备例 5 的产物(0.127 mmol)中加入苯胺(0.254 mmol, 2 eq.)、磷酸钾(0.380 mmol, 3 eq.)、乙酸钼(6.5 mol%)和 2-(二环己基磷基)联苯(13 mol%)。混合物鼓泡通入 N₂ 持续 2 分钟, 然后在密封管中加热到 120°C, 16 小时后, 将反应冷却到室温, 倾入到水中, 用 Et₂O 提取(3x), 合并的提取物用盐水洗, MgSO₄ 干燥, 过滤并蒸发至干, 通过闪色谱分离(2-5% CH₃OH 在 CH₂Cl₂ 中), 得到所需产物, 66%收率。

¹H NMR: 8.31(d, J = 2.8 Hz, 1 H), 7.40(dd, J = 2.8, 8.5 Hz, 1 H), 7.30-7.26(m, 2H), 7.15(d, J = 8.5 Hz, 1 H), 7.07(dd, J = 0.9, 8.5 Hz, 1 H), 6.97(t, J = 7.4 Hz, 1 H), 6.50(d, J = 15.6 Hz, 1H), 6.25(dd, J = 10.4, 15.6 Hz, 1H), 6.14(s, 1H), 4.60-4.56(m, 1H), 4.43(br s, 1 H), 2.79-2.76(m, 1 H), 2.31(dd, J = 5.6, 9.2 Hz, 1 H), 1.91-1.79(m, 2H), 1.65-1.58(m, 1 H), 1.41-1.35(m, 2H), 1.39(d, J = 6.0 Hz, 3H), 1.31-1.25(m, 1 H), 0.95(d, J = 6.4 Hz, 3H), 0.77(t,

J = 7.4 Hz, 3H).

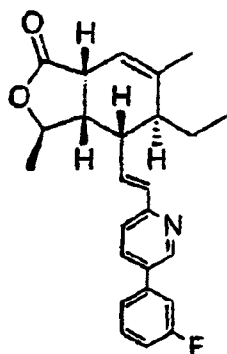
使用类似方法，制备下式的化合物，



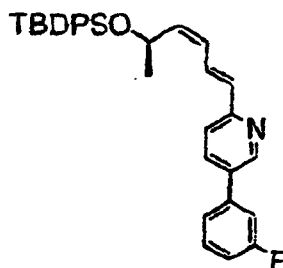
其中 W 的定义如下表所示：

实施例	W	分析数据
9A		HRMS (MH ⁺) 385.2490
9B		HRMS (MH ⁺) 415.2601
9C		HRMS (MH ⁺) 414.2593
9D		HRMS (MH ⁺) 399.2278

实施例 10

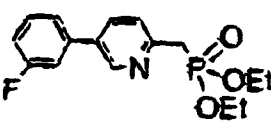


步骤 1-3



步骤 1: 制备例 6 的炔(3.1 g, 9.2 mmol)、喹啉(215 μ l, 1.8 mmol, 0.2 eq.)和林德拉催化剂(310 mg, 10 重量%)在 EtOAc(50 ml)中的悬液在 1 大气压 H_2 (气球)中搅拌, 通过 NMR 监控反应, 反应完成后, 通过 celite™ 垫过滤, 用 1 N HCl 和盐水洗, $MgSO_4$ 干燥, 过滤并蒸发, 得到 ~3.4 g 树脂状物质, 其直接用于下面的步骤。

步骤 2: 在室温下向步骤 1 的产物和 $NaHCO_3$ (1.54 g, 18.3 mmol, 2 eq.)在 CH_2Cl_2 (30 ml)中的混合物中加入 Dess-Martin 试剂(4.28 g, 10.1 mmol, 1.1 eq.), 搅拌 1 小时, 混合物用 Et_2O (60 ml)和 $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ (4.55 g, 18.3 mmol, 2 eq.)和 $NaHCO_3$ (1.54 g, 18.3 mmol, 2 eq.)在 H_2O (100 ml)中的溶液稀释, 剧烈搅拌, 直到两层变澄清, 分离有机层, 水层用 Et_2O (2x50 ml)提取, 合并的有机层用 $Na_2S_2O_3/NaHCO_3$ 溶液(100 ml)、盐水(100 ml)水溶液, $MgSO_4$ 干燥, 过滤并蒸发, 得到 ~3.5 g 醛, 其可直接用于下面的步骤。

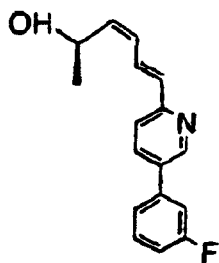
步骤 3: 在 $0^\circ C$ 向式  所示的磷酸酯(3.9 g, 12.1 mmol, 1.3 eq.)在 THF(30 ml)中的溶液中加入 60%在矿物油中的

NaH (480 mg, 12.0 mmol, 1.3 eq.), 混合物搅拌 20 分钟, 向其中加入步骤 2 的产物在 THF(15 ml)中的溶液, 在 $0^\circ C$ 搅拌 1 小时后, 用 NH_4Cl 水溶液(200 ml)稀释, 蒸发 THF, 水层用 EtOAc(3x75 ml)提取, 合并的有机层用盐水(100 ml)洗, $MgSO_4$ 干燥, 过滤, 蒸发, 残余物用 5% EtOAc-己烷进行色谱分离, 得到 4.0 g(87%)树脂状物质。

1H NMR: 8.75(d, $J = 2.0$ Hz, 1 H), 7.76(dd, $J = 8.0, 2.4$ Hz, 1 H), 7.73-7.66(m, 4H), 7.47-7.26(m, 9H), 7.19(d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.09(ddt, $J = 1.1, 2.5, 8.4$ Hz, 1H), 7.00(ddd, $J = 15.3, 11.5, 1.1$ Hz,

1H), 6.52(d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 6.05-5.99(m, 1H), 5.74-5.69(m, 1H), 4.93-4.86(m, 1H), 1.28(d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.06(s, 3H).

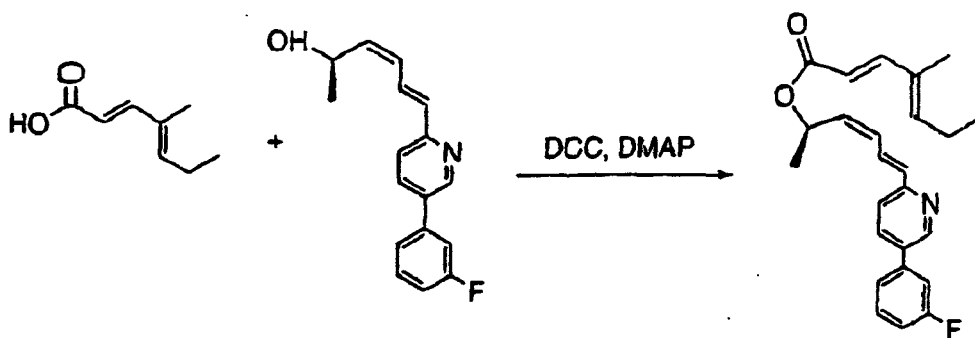
步骤 4:



在 0°C 向甲硅烷基醚(4.0 g, 7.88 mmol)在 THF(30 ml)中的溶液中加入在 THF 中的 1 M TBAF(11.8 ml, 11.8 mmol, 1.5 eq.)，混合物在室温下搅拌 6 小时，用 NH_4Cl (150 ml)水溶液，蒸发 THF，水层用 EtOAc(3x60 ml)提取，合并的有机层用 H_2O (50 ml)，盐水(50 ml)洗， MgSO_4 干燥，过滤，蒸发，残余物用 30% EtOAc-己烷进行色谱分离，得到 2.0 g(94%)树脂状物质。

^1H NMR: 8.80(d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.81(dd, $J = 8.0, 2.4$ Hz, 1H), 7.64(ddd, $J = 15.1, 11.5, 1.1$ Hz, 1H), 7.44(dt, $J = 5.6, 7.9$ Hz, 1H), 7.38-7.33(m, 2H), 7.30-7.26(m, 1H), 7.09(ddd, $J = 1.0, 2.5, 8.3$ Hz, 1H), 6.67(d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.24(t, $J = 11.2$ Hz, 1H), 5.70-5.65(m, 1H), 5.07-5.00(m, 1H), 1.35(d, $J = 6.4$ Hz, 3H).

步骤 5:



向步骤 4 的醇(110 mg, 0.41 mmol)和酸(85 mg, 0.61 mmol, 1.5 eq.)在 CH_2Cl_2 (2 ml)中的溶液中加入 DCC(130 mg, 0.63 mmol, 1.5 eq.)和

DMAP(10 mg, 0.08 mmol, 0.2 eq.), 在 0°C 搅拌直到反应完成, 混合物用 Et₂O(50 ml)稀释, 用 NaHCO₃ 水溶液(2x20 ml)和盐水(20 ml)洗, MgSO₄干燥, 过滤, 浓缩, 残余物用 10% EtOAc-己烷进行色谱分离, 得到 135 mg(84%)树脂状物质。

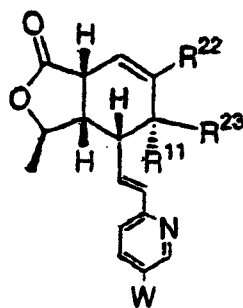
¹H NMR: 8.79(d, J = 2.4 Hz, 1 H), 7.81(dd, J = 8.0, 2.4 Hz, 1H), 7.67(ddd, J = 15.3, 11.5, 1.2 Hz, 1 H), 7.47-7.27(m, 5H), 7.15(ddt, J = 2.0, 1.0, 8.3 Hz, 1H), 6.71(d, J = 15.6 Hz, 1H), 6.29(dt, J = 0.8, 11.4 Hz, 1H), 6.11-6.00(m, 1H), 5.88(t, J = 7.6 Hz, 1 H), 5.63(t, J = 10.0 Hz, 1 H), 2.24-2.16(m, 2H), 7.76(d, J = 0.8 Hz, 3H), 1.43(d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.00(t, J = 7.6 Hz, 3H).

步骤 6:

在密封管中在 185°C 下将步骤 5 的四烯(130 mg)在甲苯(10 ml)中的溶液搅拌 7 小时, 冷却到室温, 与 10 μl DBU 搅拌 3 小时, 浓缩溶液, 通过制备色谱分离, 得到 63 mg(49%)树脂状物质。

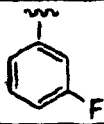
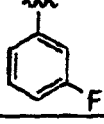
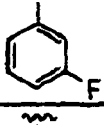
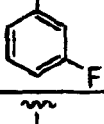
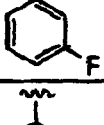
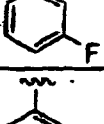
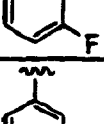
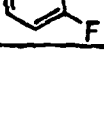
¹H NMR: 8.72(d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.77(dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 7.41(dt, J = 6.0, 8.0 Hz, 1 H), 7.36-7.31(m, 2H), 7.26-7.22(m, 1 H), 7.06(ddt, J = 1.0, 2.7, 8.3 Hz, 1 H), 6.66(d, J = 16.0 Hz, 1H), 6.47(dd, J = 15.8, 9.8 Hz, 1H), 5.62-5.61(m, 1H), 4.55(dq, J = 4.0, 6.4 Hz, 1 H), 3.27-3.24(m, 1 H), 2.80-2.75(m, 1 H), 2.56-2.52(m, 1 H), 2.02-1.97(m, 1 H), 1.78(d, J = 1.5 Hz, 3H), 1.69-1.59(m, 1 H), 1.50-1.45(m, 1 H), 1.41(d, J = 6.4 Hz, 3H), 0.92(t, J = 7.4 Hz, 3H).

使用类似的方法, 制备具有以下结构的化合物:

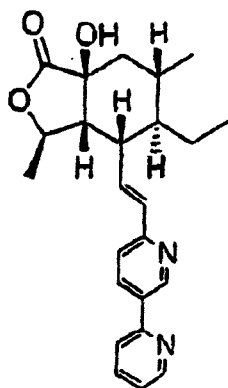


其中 R¹¹、R²²、R²³ 和 W 的定义如下表所示(Me 为甲基, Et 为乙

基, Bn 为苄基):

实施例	R ²²	R ²³	R ¹¹	W	HRMS (MH ⁺)
10A	H	H	H		350.1565
10B	Me	-CH ₂ OBn	H		484.2299
10C	Me	H	-CH ₂ OBn		484.2294
10D	Me	H	Et		392.2021
10E	Me	Me	H		378.1870
10F	Me	H	Me		378.1870
10G	Me	H	H		364.1714
10H	Me	-CH ₂ OH	H		394.1821

实施例 11

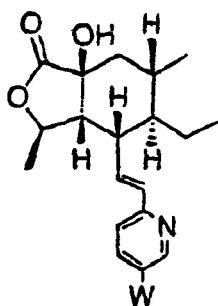


在密封管中向制备例 4(100 mg)、2-(三正丁基甲锡烷基)吡啶(292

mg)和 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (31 mg)在甲苯(5 ml)中的溶液中鼓泡通入 N_2 并在 120°C 加热过夜,混合物用 NH_4Cl 水溶液稀释,用 EtOAc 提取, MgSO_4 干燥,过滤,浓缩,残余物用 2% $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 进行色谱分离,得到 83 mg 树脂状物质。

将树脂状物质溶解在 THF(5ml)中,冷却到 -78°C ,加入 LHMDS 在 THF(290 μl)中的 1M 溶液,在 0°C 搅拌 1 小时,然后冷却到 -78°C ,向其中加入(1S)-(+)-(10-樟脑磺酰基)氧杂氮丙啶(76 mg)在 THF 中的溶液.搅拌约 1.5 小时后,通过加入 NH_4Cl 水溶液使反应淬灭,用 EtOAc 提取,有机层用盐水洗, MgSO_4 干燥,过滤,浓缩,残余物通过制备 TLC 纯化,得到 20 mg 标题化合物。HRMS: 393.2185(MH^+), 计算值 393.2178。

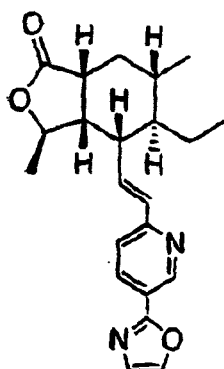
使用类似方法,还制备了以下的化合物:



其中 W 的定义如下表所示:

实施例	W	HRMS (MH^+)
11A		394.2127
11B		399.1750

实施例 12

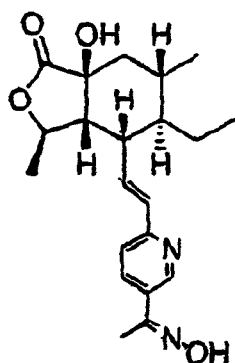


步骤 1: 在 -78°C 向噁唑(75 μl , 1.1 mmol)在 THF(2 ml)中的溶液中加入 2.5 M BuLi 在己烷中的溶液(465 μl , 1.2 mmol, 2.2 eq.), 混合物搅拌 30 分钟, 向其中加入在 Et_2O 中的 0.5 M ZnCl_2 (4.3 ml, 2.2 mmol, 4 eq.), 混合物在 -78°C 搅拌 30 分钟, 在 0°C 搅拌 30 分钟。

步骤 2: 分别地, 在 0°C 向 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (37 mg, 0.05 mmol)在 THF 中的悬浮液中加入在己烷中的 2.5 M BuLi(43 μl , 0.11 mmol), 悬浮液搅拌 20 分钟, 向该溶液中加入步骤 1 的锌酸盐, 然后加入制备例 4 的产物(200 mg, 0.5 mmol), 混合物回流过夜。使其冷却, 用 NH_4Cl 水溶液(60 ml)稀释, 用 EtOAc (3x20 ml)提取。合并的有机层用盐水(20 ml)洗, MgSO_4 干燥, 过滤, 蒸发, 通过制备 TLC 纯化, 得到 29 mg 树脂状物质。

HRMS: 367.2025(MH^+), 计算值 367.2022.

实施例 13

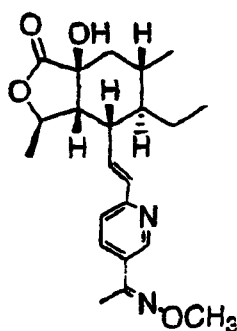


步骤 1: 在密封管中将制备例 5(60 mg, 0.15 mmol)、 Et_3N (26 μl , 0.19 mmol, 1.2 eq.)、二(二苯基膦)丙烷(3 mg, 7 μmol , 5 mol%)、

$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1.7 mg, 7.6 μmol , 5 mol%) 和乙烯基正丙基醚 (85 μl , 0.76 mmol, 5 eq.) 在 DMF (1.5 ml) 中的溶液在 100°C 加热 2 小时, 冷却到室温, 与 2N HCl (2 ml) 搅拌 2 小时, 混合物用 NaHCO_3 水溶液稀释, 用 EtOAc 提取, MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩, 残余物通过制备 TLC 纯化, 得到 25 mg 的酮。

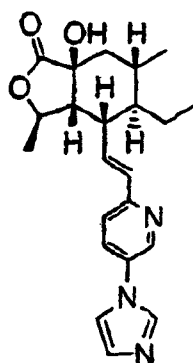
步骤 2: 将步骤 1 的产物 (13 mg, 36 μmol) 和盐酸羟胺 (8 mg, 0.12 mmol) 在吡啶 (0.5 ml) 中的溶液在室温下搅拌, 混合物用 NH_4Cl (30 ml) 水溶液稀释, 用 EtOAc (2x10 ml) 提取, 合并的有机层用盐水 (10 ml) 洗, MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩, 残余物通过制备 TLC 纯化, 得到 13 mg 标题化合物, 为树脂状物质。HRMS: 373.2113 (MH^+), 计算值 373.2127。

使用类似的方法, 制备以下化合物:



实施例 13-2: HRMS:387.2300 (MH^+)

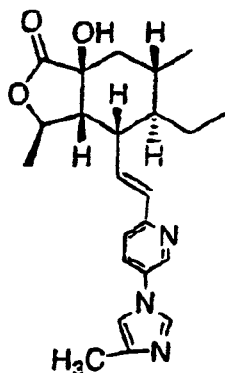
实施例 14



在密封管中向制备例 5 (100 mg, 0.25 mmol)、咪唑 (35 mg, 0.51

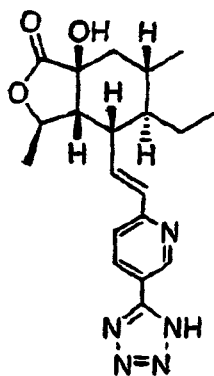
mmol, 2.0 eq.)、三氟甲烷磺酸铜(I)苯络合物(13 mg, 0.026 mmol, 0.1 eq.)、1,10-菲咯啉(46 mg, 0.26 mmol, 1 eq.)、二苄叉基丙酮(6 mg, 0.026 mmol, 0.1 eq.)和 Cs_2CO_3 (125 mg, 0.38 mmol, 1.5 eq.)在间二甲苯(3ml)的溶液中鼓泡通入氩气, 在 130°C 加热过夜, 混合物冷却到室温, 用 NH_4Cl (40 ml)水溶液稀释, 用 CH_2Cl_2 (3x10 ml)提取。合并的有机层用盐水(10 ml)洗, MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩, 残余物通过制备 TLC 纯化, 得到 43 mg(44%)标题化合物。HRMS: 382.2133(MH^+), 计算值 382.2131.

使用类似的方法, 制备以下化合物:



实施例 14-2: HRMS: 396.2286(MH^+)

实施例 15

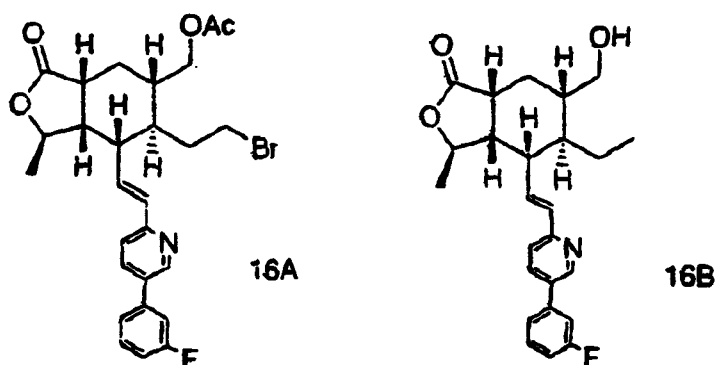


在密封管中向制备例 5(1.0 g, 2.54 mmol)、 $\text{Zn}(\text{CN})_2$ (300 mg, 2.56 mmol, 1 eq.)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (116 mg, 0.13 mmol, 5 mol%)和二苯基膦基

二茂铁(ferrocene)(170 mg, 0.31 mmol, 12 mol%)在 DMF(10 ml)和 H₂O(100 μl, 1 vol%)中的溶液中鼓泡通入氩气, 在 120°C 加热 5 小时, 混合物冷却到室温, 用 EtOAc(150 ml)稀释, 用 H₂O(3x50 ml), 盐水(50 ml)洗, MgSO₄ 干燥, 过滤, 蒸发, 粗产物用 30% EtOAc-己烷进行色谱分离, 得到 800 mg(93%)芳基氰化物。

在密封管中将芳基氰化物(100 mg, 0.29 mmol)、NaN₃(115 mg, 1.77 mmol, 6 eq.)和 NH₄Cl(95 mg, 1.78 mmol, 6 eq.)在 DMF(2 ml)的混合物在 120°C 加热过夜, 冷却到室温, 用 H₂O(10 ml)稀释, 用 CH₂Cl₂ 提取, 浓缩, 粗产物通过制备 TLC 纯化, 得到 50 mg 标题化合物, 为固体。HRMS: 384.2033(MH⁺), 计算值 384.2036。

实施例 16



步骤 1:

向化合物 31a(其中 W 为 3-氟苯基)(480 mg, 1.2 mmol)在 CH₂Cl₂ 中的溶液中加入 BBr₃ 在 CH₂Cl₂ 中的 1M 的溶液(11.7 ml, 11.7 mmol, 10 eq.), 混合物回流 2.5 小时, 然后用 NaHCO₃ 水溶液(100 ml)稀释, 搅拌 30 分钟后, 分离有机层, 有机层用 CH₂Cl₂(2x40 ml)提取, 合并的有机层用 NaHCO₃ 水溶液(100 ml)、盐水(100 ml)洗, MgSO₄ 干燥。过滤, 蒸发, 得到粗品醇。

将粗品醇溶解在 CH₂Cl₂(12 ml)中, 冷却到 0°C, 加入 Ac₂O(225 μL, 2.4 mmol, 2 eq.), 然后加入 DMAP(27 mg, 0.24 mmol, 0.2 eq.) 和 Et₃N(0.5 ml, 3.6 mmol, 3 eq.), 搅拌约 2 小时后, 混合物用 EtOAc(80 ml)稀释, 用 NaHCO₃ 水溶液(2x50 ml)和盐水洗, 溶液用 MgSO₄ 干燥, 过滤, 蒸发, 残余物用 40% EtOAc-己烷进行色谱分离, 得到 350

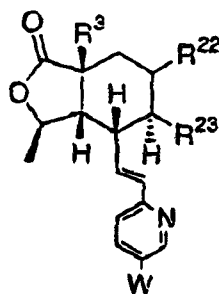
mg(56%)实施例 16-A, 为白色泡沫。

HRMS: 530.1336, 计算值 530.1342.

步骤 2:



将实施例 16-A(53 mg, 0.1 eq.)、 NaCNBH_3 (32 mg, 0.5 mmol, 5 eq.) 在 HMPA(1 ml)中的混合物在 80°C 搅拌 4 小时, 冷却到室温后, 用 H_2O (30 ml)稀释, 用 EtOAc(3x15 ml)提取, 合并的有机层用盐水(20 ml)洗, MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩并通过制备 TLC 纯化, 得到 27 mg 树脂状物质, 向其中加入在 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$ 混合物(2 ml, 9 : 1 v/v)中的 K_2CO_3 (32 mg), 溶液在室温下搅拌 1 小时, 混合物用 H_2O (30 ml)稀释, 用 EtOAc(3x10 ml)提取, 合并的有机层用盐水(10 ml)洗, MgSO_4 干燥, 过滤, 浓缩并通过 SiO_2 短柱过滤, 得到 17 mg(72%)实施例 16-B, 为树脂状物质。HRMS: 410.2126, 计算值 410.2131.

使用类似的方法, 制备具有以下结构的化合物,

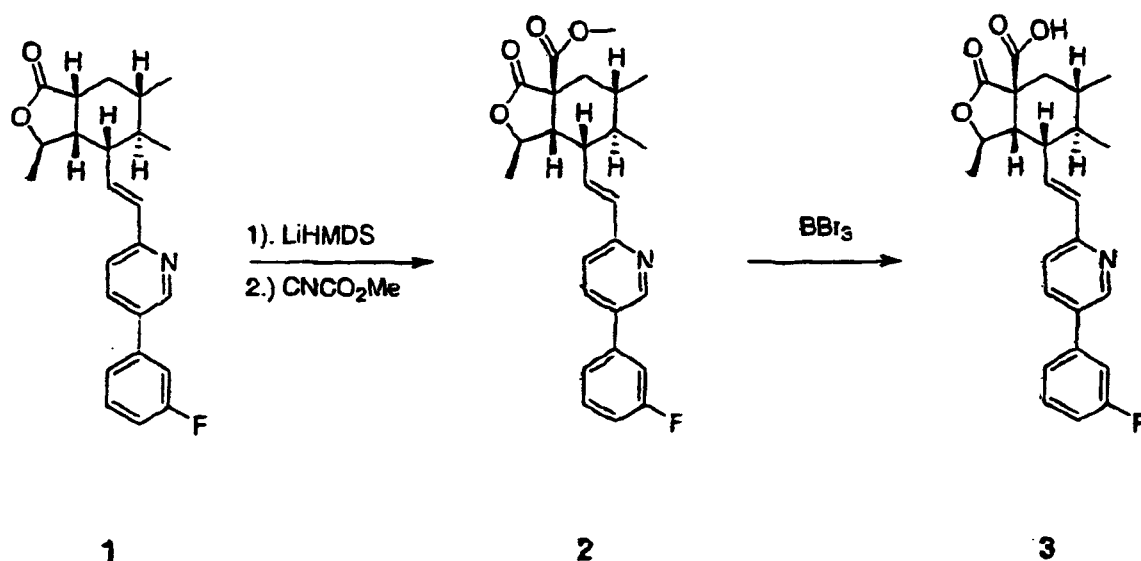


其中 R^3 、 R^{22} 、 R^{23} 和 W 的定义如下表所示(Me 为甲基, Et 为乙基):

实施例	R^3	R^{22}	R^{23}	W	HRMS (MH^+)
16C	H	$-\text{CH}_2\text{OH}$	Et		410.2138
16D	H	$-\text{CH}=\text{N}-\text{OH}$	Et		423.2090
16E	H	$-\text{CH}=\text{N}-\text{OMe}$	Et		437.2235

16F	H	-CH=N-OEt	Et		451.2396
16G	OH	-CH ₂ OH	Et		426.2075

实施例 17: 7a-羧酸和酰胺

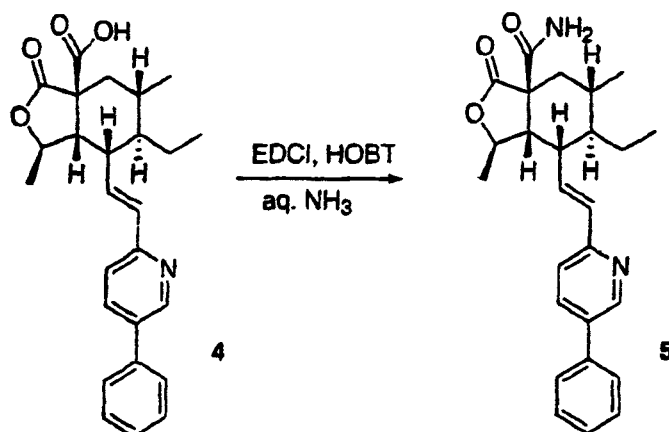


在氩气下在 0°C 向搅拌的 2.5 g 化合物 1 (6.59 mmol) 在 50 ml 无水 THF 中的溶液中加入 LHMDS (9.88 mmol, 9.9 ml 在 THF 中的 1.0 M 的溶液), 混合物搅拌 30 分钟, 将温度降到 -78°C, 加入 785 μ l (9.88 mmol) 的氰基甲酸甲酯, 2 小时后, 加入约 75 mL 六水合硫酸铵(II)的水溶液 (10% w/v), 然后混合物用乙酸乙酯提取三次, 合并的有机提取物用盐水洗, 硫酸镁干燥, 过滤, 蒸发至干, 通过闪色谱分离, 使用 15% 乙酸乙酯在己烷中进行洗脱, 得到 2.47 g 化合物 2.

MS(ESI) m/z 424(MH⁺).

在 N₂ 下在 0°C 向搅拌的 2.47 g 的化合物 2 (5.65 mmol) 在 50 mL 无水 THF 中的溶液中加入三溴化硼 (11.3 mmol), 混合物搅拌约 30 分钟, 反应混合物用约 50 mL 二氯甲烷稀释, 用碳酸氢钠水溶液调节 pH, 到约 pH=4, 混合物用二氯甲烷提取三次, 合并的有机提取物用盐水洗, 硫酸镁干燥, 过滤, 蒸发, 得到 2.32 g 化合物 3.

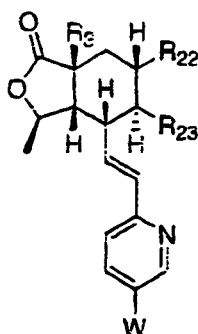
MS(ESI) m/z 424.1(MH⁺).



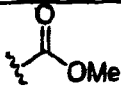
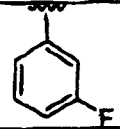
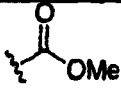
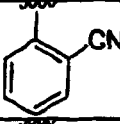
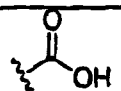
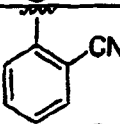
实施例 17H A

4(68 mg)、EDCI(2 eq.)、HOBT(2 eq.)和 NH_3 水溶液(3 eq.)在 2 mL DMF 中的混合物在室温搅拌 16 小时。用 EtOAc 稀释,用 NaHCO_3 水溶液洗, MgSO_4 干燥,过滤,浓缩并通过制备 TLC 纯化,得到 18 mg 的 5, Ex. 17H. MS: 419.1(MH^+).

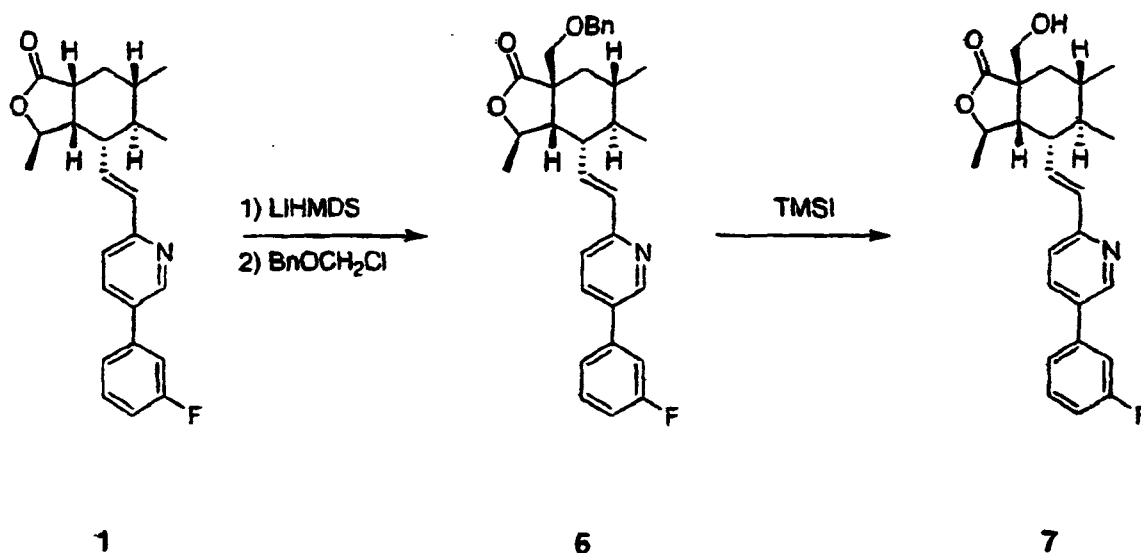
使用类似的方法,制备以下化合物:



实施例	R ₃	R ₂₂	R ₂₃	W	分析数据
17A		H	Et		MS (MH^+) 420.3
17B		H	Et		MS (MH^+) 406.1
17C		Me	Et		MS (MH^+) 420.1
17D		Me	Me		MS (MH^+) 424.1

17E		Me	Me		MS (MH ⁺) 438.1
17F		Me	Me		MS (MH ⁺) 445.1
17G		Me	Me		MS (MH ⁺) 431.1

实施例 18: 7a 羟基甲基



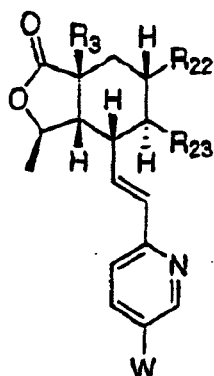
在氩气下在 -10°C 向在无水 THF 中的 0.65g(1.71 mmol)的化合物 1 中加入 LHMDS(2.06 mmol), 混合物搅拌 30 分钟。然后加入苄基氯甲基醚(2.57 mmol), 60 分钟后, 将混合物倾入到氯化铵水溶液中, 用乙醚提取三次, 合并的有机提取物用盐水洗, 硫酸镁干燥, 过滤, 蒸发至干, 通过闪色谱分离, 得到 0.69g 的化合物 6。

MS(ESI) m/z 500(MH⁺).

向在无水二氯甲烷中的 2.19 g(4.38 mmol)的化合物 6 中加入三甲基碘硅烷(87.6 mmol), 混合物在氩气球下加热回流 2.5 小时, 反应混合物冷却到室温, 倾入到碳酸氢钠水溶液上, 用二氯甲烷提取三次, 合并的有机提取物用亚硫酸钠水溶液洗, 硫酸镁干燥, 过滤, 蒸发至

干, 通过闪色谱分离, 得到化合物 7.

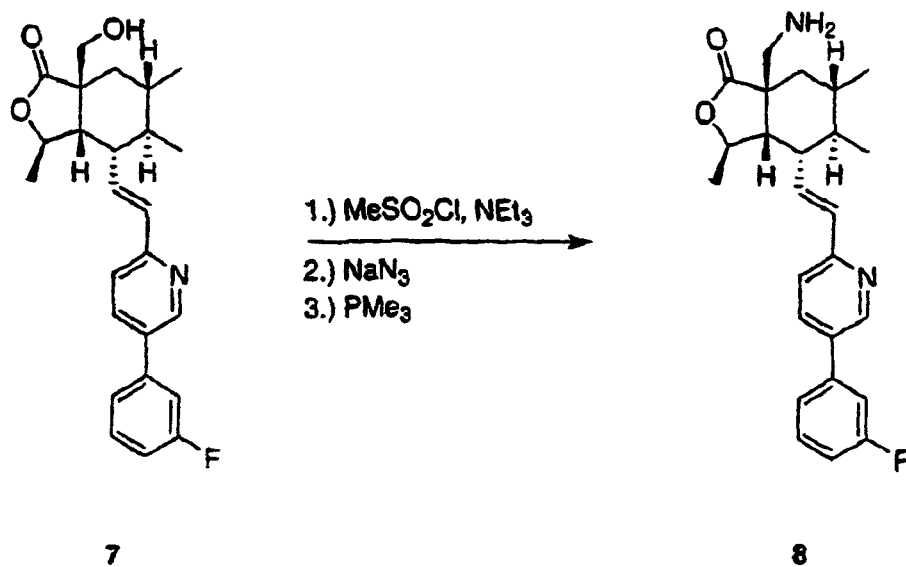
MS(ESI) m/z 410.1(MH^+).



使用类似的方法, 制备以下化合物:

实施例	R ₃	R ₂₂	R ₂₃	W	分析数据
18A	CH ₂ OH	H	Et		MS (MH^+) 392.2
18B	CH ₂ OH	Me	Et		MS (MH^+) 406.1
18C	CH ₂ OH	Me	Me		MS (MH^+) 392.1
18D	CH ₂ OH	Me	Me		HRMS (MH^+) 410.2126
18E	CH ₂ OH	Me	Me		HRMS (MH^+) 417.2174

实施例 19: 7a-羟基甲基到 7a-氨基甲基



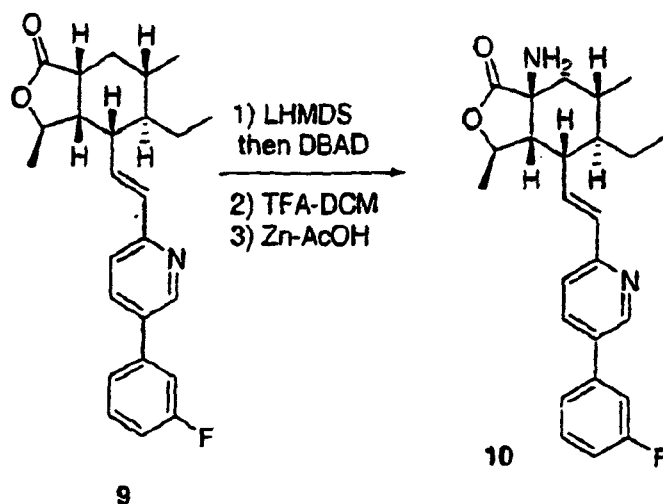
在 0°C 向在 10 mL 无水二氯甲烷中的 0.15 g 化合物 7 中加入 77 μL 三乙胺(1.5 eq.)和 34 μL 的甲烷磺酰氯(1.2 eq.)，混合物在 N₂ 下搅拌 1 小时，用二氯甲烷稀释，用 NaHCO₃ 水溶液洗两次，用盐水洗一次，有机相用 MgSO₄ 干燥，过滤，蒸发至干，得到 0.145g 甲磺酸酯。

向在 10 mL 的 DMSO 中的该产物中加入 0.290 g 叠氮化钠(15 eq.)，混合物加热到 65°C 并同时在 N₂ 下搅拌 3 天，将反应混合物倾入到 H₂O 上，用乙酸乙酯提取三次，合并的提取物用盐水洗，MgSO₄ 干燥，过滤，蒸发至干，得到 65 mg 的叠氮化物。

在 0°C 向该叠氮化物在 5 mL 乙酸乙酯和 50 μL H₂O 中的溶液中加入 300 μl 的 1 M 三甲基磷(2 eq.)的 THF 溶液，使混合物回温到室温同时在氩气下搅拌，24 小时后，反应蒸发至干，通过闪色谱分离，得到 0.053 g 的胺 8。

MS(ESI) m/z 409(MH⁺).

实施例 20: 7a-氨基化化学

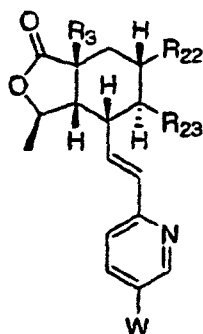


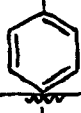

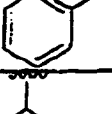
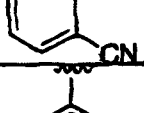

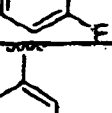
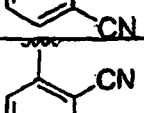
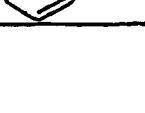
在 0°C 向 9(1.01 g, 2.57 mmol)在 20 ml THF 中的溶液中加入 LHMDS 在 THF(3.34 ml)中的 1M 溶液, 搅拌 20 分钟, 将其冷却到 -78°C, 加入在 2.5 ml THF 中的二叔丁基偶氮二羧酸酯(890 mg, 3.87 mmol), 在 -78°C 搅拌 2 小时, 在 0°C 搅拌 1 小时, 通过加入 NH₄Cl 水溶液使反应淬灭, 水层用 EtOAc 提取, MgSO₄干燥并浓缩。

将粗产物与 5 ml DCM 和 10 ml 三氟乙酸在 0°C 搅拌 1 小时, 浓缩并悬浮在 100 ml K₂CO₃ 水溶液中, 水层用 DCM 提取, 得到粗品酰胺。

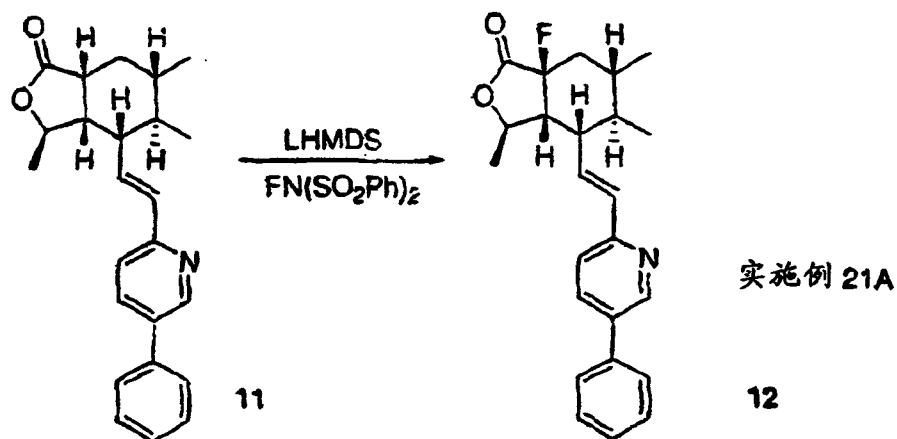
将粗物质融解在 10 ml 冰醋酸和 2 ml 丙酮中, 向其中分批加入 2 g Zn 粉, 悬浮液剧烈搅拌 2 小时, 通过 celite™ 垫过滤, 用大量 DCM 洗, DCM 层用水洗, 然后用 NaHCO₃ 水溶液和盐水洗, MgSO₄干燥, 浓缩并通过色谱分离, 得到 500 mg 的 10. MS: 409.2(MH⁺).

使用类似的方法, 制备以下的化合物:



实施例	R ₃	R ₂₂	R ₂₃	W	分析数据
20A	NH ₂	H	Et		MS (MH ⁺) 377.1
20B	NH ₂	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 391.2384
20C	NH ₂	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 409.2297
20D	NH ₂	Me	Et		HRMS (MH ⁺) 416.2345
20E	NH ₂	Me	Me		HRMS (MH ⁺) 377.2227
20F	NH ₂	Me	Me		HRMS (MH ⁺) 395.1296
20G	NH ₂	Me	Me		HRMS (MH ⁺) 402.2186
20H	NH ₂	Me	Me		HRMS (MH ⁺) 402.2186

实施例 21: 7a-氟代类似物

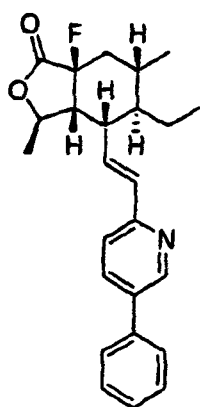


在 0°C 向 11(300 mg, 0.83 mmol) 在 5 ml THF 和 2 ml DMF 中的

溶液中加入 LHMDS 在 THF 中的 1M 溶液(1.1 ml, 1.3 eq.), 溶液在 0°C 搅拌 20 分钟, 冷却到 -78°C, 加入在 THF 中的 N-氟代苯磺酰胺(400 mg, 1.27 mmol, 1.5 eq.), 混合物搅拌过夜, 并回温到室温, 用 EtOAc 稀释, 用 K₂CO₃ 水溶液洗两次, 用 H₂O 和盐水洗两次, MgSO₄ 干燥, 过滤, 浓缩并用 20% EtOAc 在己烷中进行色谱分离, 得到 260 mg 的 12.

HRMS: 380.2032(MH⁺), 计算值 380.2026.

使用类似的方法, 制备以下的化合物:



实施例 21B

HRMS: 394.2188(MH⁺), 计算值 394.218.

本发明另外的实施方案包括将本发明的式 I 化合物与至少一种另外的心血管药物一起给药。所考虑的另外的心血管药物为在原子构成或排列上不同于式 I 化合物的那些药物。可与本发明的新的化合物组合使用的另外的心血管药物包括具有抗血栓形成、抗血小板凝集、抗动脉粥样硬化、抗再狭窄和/或抗凝血活性的药物。这种药物可用于治疗血栓形成相关疾病, 包括血栓症、动脉粥样硬化、再狭窄、高血压、心绞痛、心律不齐、心力衰竭、心肌梗塞、肾小球肾炎、血栓性中风和血栓栓塞性中风、外周血管疾病、其它心血管疾病、脑缺血、炎症疾病和癌症、以及其中凝血酶及其受体发挥病理学作用的其它疾病。适当的心血管药物选自凝血酶 A2 生物合成抑制剂如阿司匹林; 凝血酶拮抗剂如塞曲司特、吡考他胺和雷马曲班; 腺苷二磷酸(ADP) 抑制剂如氯吡格雷; 环氧化酶抑制剂如阿司匹林、美洛昔康、罗非昔布和塞来昔布; 血管紧张素拮抗剂如缬沙坦、替米沙坦、坎地沙坦

(candesartan)、厄倍沙坦 (irbesartan)、氯沙坦和依普罗沙坦；内皮素拮抗剂如替唑生坦 (tezosentan)；磷酸二酯酶抑制剂如 milrinone 和依诺昔酮；血管紧张素转化酶抑制剂如卡托普利、依那普利、enalaprilat、螺普利、喹那普利、培哌普利、雷米普利、福辛普利、群多普利、赖诺普利、莫昔普利、和苯扎普利；中性肽链内切酶抑制剂如坎沙曲尔和依卡曲尔；抗凝血剂如希美加曲 (ximelagatran)、fondaparin 和依诺肝素 (enoxaparin)；利尿药如氯噻嗪、氢氯噻嗪、依他尼酸、呋喃苯胺酸和阿米洛利；血小板聚集抑制剂如阿昔单抗和埃替非巴肽 (eptifibatid)；和 GP IIb/IIIa 拮抗剂。

用于与本发明的新的化合物组合使用的优选药物类型为凝血噁烷 A2 生物合成抑制剂、环氧化酶抑制剂和 ADP 拮抗剂。特别优选用于组合使用的是阿司匹林和氯吡格雷硫酸盐。

当本发明包括式 I 化合物和另一种心血管药物的组合时，两种活性组分可同时或顺序地共同给药，或者可以给予在可药用载体中包括式 I 化合物和另一种心血管药物的单一的药学组合物。组合的组分可以以任何常规剂型如胶囊、片剂、粉末、扁囊剂、悬浮液、溶液、栓剂、鼻喷雾剂等形式分别地给药或一起给药。可以从公开资料中确定心血管药物的剂量，其可为每剂量 1 到 1000 mg。

在本说明书中，术语“至少一种式 I 化合物”是指可将一种到三种不同的式 I 化合物用于药学组合物或治疗方法中。优选使用一种式 I 化合物。类似地，术语“一种或多种另外的心血管药物”是指可将一种到三种另外的药物与式 I 化合物组合给药；优选将一种另外的化合物与式 I 化合物组合给药。另外的心血管药物可以与式 I 化合物顺序地或同时地给药。

当将分离的式 I 化合物和其它心血管药物作为分离的组合物给药时，它们可以在包括单个包装的药包中提供，一个容器包括在可药用载体中的式 I 化合物，与之分开的单独容器包含在可药用载体中的另一种心血管药物，并且式 I 化合物和其它心血管药物的含量为使得其组合具有治疗有效性。药包对于组合给药是有利的，例如，当组分必须以不同的时间间隔给药时或当它们为不同的剂型时。

以下制剂示例性地说明本发明的一些剂型。在每个剂型中，“活性物质”是指式 I 化合物。

实施例 A-片剂

编号	组分	mg/片	mg/片
1	活性物质	100	500
2	乳糖 USP	122	113
3	玉米淀粉, 食品级, 为纯净水中的 10%糊剂	30	40
4	玉米淀粉, 食品级	45	40
5	硬脂酸镁	3	7
	总计	300	700

生产方法

在适当的混合器中将项目编号 1 和 2 混合 10-15 分钟。混合物与项目编号 3 进行制粒。如有必要, 研磨湿颗粒使其通过大孔筛(如, 1/4", 0.63 cm)。将湿颗粒干燥。如有必要, 将干颗粒过筛并与项目编号 4 混合, 混合进行 10-15 分钟。加入项目编号 5 并混合 1-3 分钟。在适当的压片机上将混合物压缩到适当的尺寸和重量。

实施例 B-胶囊

编号	组分	mg/片	mg/片
1	活性物质	100	500
2	乳糖 USP	106	123
3	玉米淀粉, 食品级	40	70
4	硬脂酸镁 NF	4	7
	总计	250	700

生产方法

将项目编号 1、2、和 3 在适当的搅拌器中混合 10-15 分钟。加入项目编号 4 并混合 1-3 分钟。在适当的装囊机上将混合物填充到适合的对开式(two-piece)硬胶囊中。

式 I 的化合物的活性可以通过以下方法测定。

凝血酶受体拮抗剂的体外试验方法:

[³H]haTRAP 的制备

将 A(pF-F)R(ChA)(hR)(I₂-Y)-NH₂(1.03mg) 和 10%Pd/C(5.07mg) 悬浮在 DMF(250μl)和二异丙基乙胺(10μl)中。将容器与氚气管线连接,在液氮中冷冻并排气。然后向烧瓶中加入氚气(342 mCi),将其在室温下搅拌 2 小时。在反应完成后,除去过量的氚气,并将反应后的肽溶液用 DMF(0.5 ml)稀释,并过滤以除去催化剂。将收集的粗肽的 DMF 溶液用水稀释并进行冷冻干燥以除去不稳定的氚。将固体肽再溶解在水中并重复冷冻干燥过程。将氚化的肽([³H] haTRAP)溶解于 0.5 ml 的 0.1 %TFA 水溶液并通过使用以下条件的 HPLC 纯化:柱, Vydac™ C18, 25 cm x 9.4 mm I. D.; 流动相, (A) 0.1% TFA 在水中, (B) 0.1% TFA 在 CH₃CN 中;梯度, (A/B)在 30 分钟内从 100/0 到 40/60;流速, 5 ml/min; 检测器, UV, 在 215 nm. 通过 HPLC 分析 [³H]haTRAP 的放射化学纯度为 99%。得到了比放射性为 18.4 Ci/mmol 的 14.9 mCi 物料。

血小板膜的制备

用 Natarajan 等人(Natarajan 等人, *Int. J. Peptide Protein Res.* 45: 145-151 (1995))的方法的改进方法,使用得自 the North Jersey Blood Center(East Orange, NJ)的 20 单位的血小板浓缩物在收集 48 小时内制备血小板膜。所有步骤都在 4°C 下在经过批准的生物危险安全条件下进行。将血小板在 4°C 下以 100 x g 离心 20 分钟以除去红细胞。倾析上清液并以 3000 x g 离心 15 分钟以使血小板变为小球。将血小板再次悬浮在 10 mM 的 Tris-HCl(pH 7.5)、150 mM NaCl、5 mM EDTA 中到总容积为 200 ml 并以 4400 x g 离心 10 分钟。再另外重复这一步骤两次。将血小板再次悬浮在 5 mM Tris-HCl (pH 7.5)、5 mM EDTA 中到最终容积为约 30 ml,并在 Dounce™均化器中均化 20 次。以 41,000 x g 使膜变成小球,再次悬浮在 40-50 ml 的 20 mM Tris-HCl(pH 7.5)、1 mM EDTA、0.1 mM 二硫苏糖醇中,并将 10 ml 小份样品在液氮中冷冻并在 -80°C 下储存。为了完成膜制备,将小份样品

解冻,集中,并在 Dounce 匀浆器中均化 5 次.使膜变成小球并在 10 mM 三乙醇胺-HCl(pH 7.4)、5 mM EDTA 中洗涤 3 次,并再次悬浮在 20-25 ml 的 50 mM Tris-HCl(pH 7.5)、10 mM MgCl₂、1 mM EGTA、和 1% DMSO 中。将小份的膜样品在液氮中冷冻并在-80°C 下储存。将膜稳定至少 3 个月。20 单位的血小板浓缩物通常得到 250 mg 的膜蛋白。蛋白质浓度通过 Lowry 试验(Lowry 等人, J. Biol. Chem., 193: 265-275 (1951))测定。

高通量凝血酶受体放射性配体结合试验

使用 Ahn 等人(Ahn 等人, Mol. Pharmacol., 51: 350-356 (1997))的凝血酶受体放射性配体结合试验的改进方法筛选凝血酶受体拮抗剂。试验在 96 孔 Nunc 板(商品目录编号 269620)中以 200μl 的最终试验容积为条件进行。将血小板膜和 [³H]haTRAP 分别在结合缓冲液(50 mM Tris-HCl (pH 7.5)、10 mM MgCl₂、1 mM EGTA、0.1% BSA)中稀释到 0.4 mg/ml 和 22.2 nM。将试验化合物的原液(10 mM, 在 100% DMSO 中)在 100% DMSO 中进一步稀释。除非另外说明,将 10μl 稀释后的化合物溶液和 90μl 放射性配体(最终浓度为 10 nM, 在 5% DMSO 中)加入到各个孔中,通过加入 100μl 的膜(40μg 蛋白质/孔)引发反应。结合没有被 5% DMSO 显著地抑制。化合物在三个浓度(0.1、1 和 10μM)下进行试验。将板覆盖并在室温下在 Lab-Line™ Titer Plate Shaker 上进行温和的涡流混合 1 小时。将 Packard UniFilter™ GF/C 滤板在 0.1% 聚乙烯亚胺中浸渍至少 1 小时。使用 Packard FilterMate™ Universal Harvester 收获经过培养的膜并用 300μl 的经冰冷却的 50 mM Tris-HCl(pH7.5)、10 mM MgCl₂、1 mM EGTA 迅速地洗涤四次。向各个孔中加入 MicroScint™ 20 闪烁鸡尾酒 (scintillation cocktail) (25μl)并将板在 Packard TopCount™ Microplate Scintillation Counter 中计数。特异性结合定义为总结合数减去在过量(50μM)的未标记 haTRAP 的存在下时观察到的非特异性结合。从以下关系式计算化合物对 [³H]haTRAP 与凝血酶受体结合的抑制率%:

$$\text{抑制率}\% = \frac{\text{总结合数} - \text{在试验化合物存在下的结合数}}{\text{总结合数} - \text{非特异性结合数}} \times 100$$

材料

由 AnaSpec Inc.(San Jose, CA)定制合成 A(pF-F)R(ChA)(hR)Y-NH₂ 和 A(pF-F)R(ChA)(hR)(I₂-Y)-NH₂。这些肽的纯度>95%。氘气(97%)购自 EG&G Mound, Miamisburg, Ohio。随后将气体装载并储存在 IN/US Systems Inc. Trisorber 上。MicroScint™ 20 闪烁鸡尾酒得自 Packard Instrument Co.。

猕猴 (Cynomolgus) 全血中间接体内 (Ex vivo) 血小板凝集方案

给药和血液收集:

将有意识的固定在托架上的猕猴平衡 30 分钟。将针导管插入到臂静脉中用于注入试验药物。将另一个针导管插入到其它臂或隐静脉 (saphenous) 的静脉中并用于采血。在其中口服供应化合物的那些试验中只使用一个导管。在包含凝血抑制因子 CVS 2139 (100µg/0.1 ml 盐水) 作为抗凝血剂的收集管 (vacutainer tube) 中收集基线血样 (1-2 ml)。然后在 30 分钟的时间内静脉注入药物。在药物注入过程中的 5、10、20、30 分钟和药物注入结束后的 30、60、90 分钟收集血样 (1 ml)。在 PO 实验中, 使用管饲法插管对动物剂量给药。在剂量给药之后的 0、30、60、90、120、180、240、300、360 分钟收集血样。将 0.5 ml 的血液用于全血凝集, 另外的 0.5 ml 用于测定药物或其代谢物的血浆浓度。在收集血样之后立即进行如下所述的凝集。

全血凝集:

将 0.5 ml 的血样加入到 0.5 ml 的盐水中并在 Chronolog 全血凝集计中升温到 37°C。同时, 将阻抗电极在盐水中升温到 37°C。将具有搅拌棒的血样置于加热块的孔中, 将阻抗电极置于血样中并开动收集软件。运行软件直到基线稳定, 然后进行 20 Ω 的校验 (calibration check)。20 Ω 等于计算机软件产生的图上的 4 个块。通过可调节的刻度吸管 (5-25µl) 加入激动剂 (haTRAP) 并记录聚积曲线 10 分钟。供应激动剂之后 6 分钟的最大聚积为记录值。

体外血小板凝集方法:

根据 Bednar 等人 (Bednar, B., Condra, C., Gould, R. J., 和 Connolly, T. M., *Throm. Res.*, 77:453-463(1995)) 的方法运行血小板凝集研究。通过使用 ACD 作为抗凝血剂的静脉穿刺从未使用阿司匹林至少 7 天的健康的人类主体获得血液。通过在 15°C 以 100xg 离心 15 分钟制备血小板富集的血浆。以 3000xg 离心使血小板成小球, 并在包含 1 mM EGTA 和 20 μ g/ml 三磷酸腺苷双磷酸酶的缓冲盐水中洗涤两次以抑制聚集。在室温下在补充有 0.2 mg/ml 人纤维蛋白酶原的缓冲盐水中进行聚集。将试验化合物和血小板在 96 孔平底板中预培养 60 分钟。通过加入 0.3 μ M haTRAP 或 0.1U/ml 凝血酶并用 Lab Line™ Titer Plate Shaker (速度 7) 使混合物迅速地涡流而开始聚集。随着 Spectromax™ Plate Reader 中在 405 nm 下透光率的增加监控聚集%。

体内抗癌程序:

根据 S. Even-Ram 等人, *Nature Medicine*, 4, 8 (1988), p. 909-914 中报告的方法进行在裸鼠中的人乳癌模型中的试验。

大麻素 CB₂ 受体结合试验

使用 Showalter 等人 (1996, *J. Pharmacol Exp Ther.* 278 (3), 989-99) 的方法 (稍有改进) 进行与人大麻素 CB₂ 受体的结合试验。所有的试验都在 100 μ l 的最终容积中进行。将试验化合物再次悬浮在 DMSO 中到 10 mM, 然后在 50 mM Tris pH 7.1、3 mM MgCl₂、1 mM EDTA、50% DMSO 中连续地稀释。然后将各稀释后样品的小份样品 (10 μ l) 转移到 96 孔微量滴定板的各个孔中。将得自人 CB₂ 的转染 CHO/Ki 细胞 (Receptor Biology, Inc) 的膜再次悬浮在结合缓冲液 (50 mM Tris (pH 7.1)、3 mM MgCl₂、1 mM EDTA、0.1 % 不含脂肪酸的牛血清白蛋白) 中, 然后加到结合反应中 (每个试验中, 为 ~15 μ l 在 50 μ l 中)。通过加入在结合缓冲液 (比放射性 = 180 Ci/mmol; New England Nuclear, Boston, Mass.) 中稀释的 [³H]CP-55,940 引发反应。在结合反应中最终的配体浓度为 0.48 nM。在室温下培养 2 小时之后, 使用 TomTec™ Mach 3U 96 孔细胞收集器 (Hamden, Ct)

通过经过预先处理 (0.5% 聚乙烯亚胺; Sigma P-3143) 的 GF-C 滤板 (Unifilter-96, Packard) 过滤收获膜。将板在 100 μ l 结合缓冲液中洗涤 10 次, 并使膜经过空气干燥。在加入 Packard Omniscint™ 20 闪烁流体之后使用 TopCount™ NXT Microplate Scintillation 和荧光计数器 (Luminescence Counter) (Packard, Meriden, Ct) 测定膜上的放射性。使用 Prism™ 20b (GraphPad Software, San Diego, Ca) 进行非线性回归分析。

使用上述试验方法, 发现代表性的 I 化合物的凝血酶受体 IC₅₀ 值 (即, 观察到的凝血酶受体 50% 抑制时的浓度) 为 1 到 1000 nM, 优选 1-100 nM, 更优选 1-20 nM。CB₂ Ki 值为 1 到 1000 nM, 优选 1-200 nM, 更优选 1-100 nM。例如, 实施例 8BU、8CA、8CB、8CL、17H、20E、20F、20G 和 20H 的 IC₅₀ 值为 1-100 nM。