

# (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2022年8月11日 (11.08.2022)



(10) 国际公布号  
**WO 2022/166817 A1**

(51) 国际专利分类号:  
C07D 487/04 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)  
A61K 31/4985 (2006.01) A61P 13/12 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/074649

(22) 国际申请日: 2022年1月28日 (28.01.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
202110169176.X 2021年2月7日 (07.02.2021) CN  
202210062324.2 2022年1月19日 (19.01.2022) CN

(71) 申请人: 武汉朗来科技发展有限公司 (WUHAN LL SCIENCE AND TECHNOLOGY DEVELOPMENT CO., LTD.) [CN/CN]; 中国湖北省

武汉市东湖新技术开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地研发区C2-2, Hubei 430075 (CN)。

(72) 发明人: 李金平(LI, Jinping); 中国湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地研发区C2-2, Hubei 430075 (CN)。 娄军(LOU, Jun); 中国湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地研发区C2-2, Hubei 430075 (CN)。 汪展英(WANG, Zhanying); 中国湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地研发区C2-2, Hubei 430075 (CN)。 柳力(LIU, Li); 中国湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地研发区C2-2, Hubei 430075 (CN)。 郭晓丹(GUO, Xiaodan); 中国湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地研发区C2-2, Hubei 430075 (CN)。

(54) Title: HETEROCYCLIC COMPOUND, AND INTERMEDIATE THEREOF, PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种杂环化合物、其中间体、其制备方法及其应用

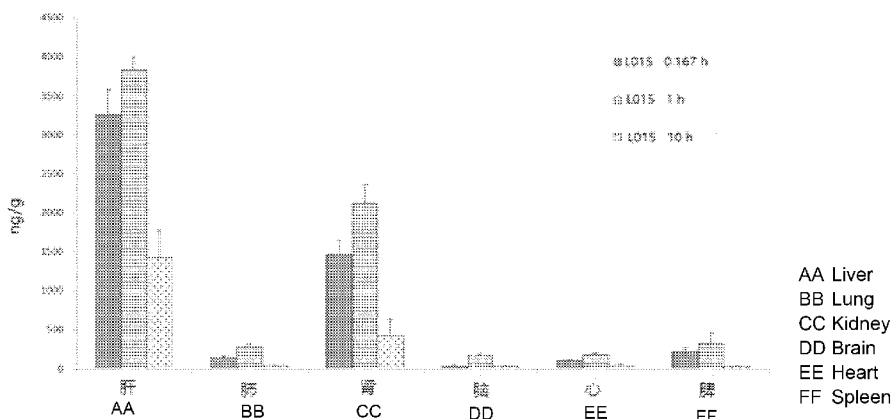
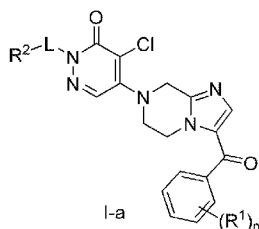


图 1

(57) Abstract: Disclosed are a heterocyclic compound, and an intermediate thereof, a preparation method therefor and the use thereof. Namely, provided are a heterocyclic compound as shown in formula I-a, and a tautomer and a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein the compound has a good water solubility and pharmacokinetic properties.

(57) 摘要: 公开一种杂环化合物、其中间体、其制备方法及其应用, 即提供了一种如式I-a所示的杂环化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐, 所述化合物具有更好的水溶性和药代动力学性质。

WO 2022/166817 A1

(CN)。周锋(ZHOU, Feng); 中国湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地研发区C2-2, Hubei 430075 (CN)。张轶涵(ZHANG, Yihan); 中国湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地研发区C2-2, Hubei 430075 (CN)。陈永凯(CHEN, Yongkai); 中国湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地研发区C2-2, Hubei 430075 (CN)。王朝东(WANG, Chaodong); 中国湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地研发区C2-2, Hubei 430075 (CN)。

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

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

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

根据细则4.17的声明:

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

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

## 一种杂环化合物、其中间体、其制备方法及其应用

本申请要求申请日为 2021/2/7 的中国专利申请 202110169176X 和申请日为 2022/1/19 的中国专利申请 2022100623242 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

### 技术领域

本发明涉及一种杂环化合物、其中间体、其制备方法及其应用。

### 背景技术

存在多种离子通道蛋白质以调节通过细胞膜的离子流。离子通道蛋白质的适当表达和功能对于细胞功能的维持以及细胞内交流是重要的。许多疾病是由于膜电位的调控异常或异常的钙处理导致。考虑到离子通道在调控膜电位和细胞中离子流的核心重要性，鉴定可促进或抑制特定离子通道的药剂作为研究工具以及作为可能的治疗剂是受到极大关注的。

TRPC(Transient Receptor Potential Canonical)是 TRP 超家族中最重要的亚家族之一，包括 TRPC1-7, 其中 TRPC2 在人类是假基因而不表达。根据氨基酸序列的同源性和结构特点, 可将 TRPCs 分成两个亚类: TRPC1, 4, 5 归为一亚类, TRPC3, 6, 7 归为一亚类。根据激活方式, 功能性 TRPC 又可分为钙库操控钙通道和受体操控钙通道。两种模式激活的 TRPC 通道均表现为非特异性阳离子通道, 可介导钠、钙内流, 钾外流。

阳离子通道(诸如瞬时型感受器电位(TRP)阳离子通道亚家族 C, 成员 5(TRPC5))调节钙和钠离子通过细胞膜的流动。钠和钙的内流导致细胞的去极化。这增加了电压门控离子通道会达到对于激活所需的阈值的可能性。因此, 非选择性阳离子通道的激活可增加电兴奋性, 并增加电压依赖性事件的频率。电压依赖性事件包括但不限于神经元的动作电位、心动作电位、平滑肌收缩、心肌收缩和骨骼肌收缩。

通过非选择性阳离子通道(诸如 TRPC5)的激活引起的钙内流还改变细胞内游离钙浓度。钙是细胞中普遍存在的第二信使分子, 细胞内钙水平的改变对信号传导和基因表达具有深远的影响。因此, 非选择性阳离子通道(诸如 TRPC5)的激活可导致基因表达和细胞表型的变化。基因表达事件包括但不限于编码细胞表面受体、离子通道和激酶的 mRNA 的产生。基因表达中的这些变化可导致该细胞中的超兴奋性。

同聚 TRPC5 离子通道是主要在神经元中表达的信号传导门控、Ca<sup>2+</sup>可通过通道。TRPC5 形成同聚多亚基结构(诸如四聚体(即 TRPC5 同源多聚体))和异聚多亚基结构(诸如四聚体(即 TRPC5-TRPC1 异源多聚体))。除非明确另外说明, 当在本文中使用时(例如当鉴定 TRPC5 的调节剂, 诸如 TRPC5 拮抗剂), 术语 TRPC5 是一般性地使用, 以包括 TRPC5 同源多聚体或异源多聚体(例如 TRPC5-TRPC1 或 TRPC5-TRPC4 异源多聚体)中之一或二者。文献中 TRPC5 的实例包括以下:

Nature.2008 年 1 月 3 日; 451(7174): 69-72; Mol Pharmacol.2008 年 1 月; 73(1): 42-9; J Biol Chem.2007 年 11 月 16 日; 282(46): 33868-78; Biochem Biophys Res Commun.2008 年 1 月 11 日; 365(2): 239-45; J Biol Chem.2006 年 11 月 3 日; 281(44): 33487-96; Eur J Pharmacol.2005 年 3 月 14 日; 510(3): 217-22; J Biol Chem.2006 年 2 月 24 日; 281(8): 4977-82; Biochem Soc Trans .2007 年 2 月; 35(Pt 1): 101-4; Handb Exp Pharmacol.2007; (179): 109-23; J Biol Chem.2005 年 3 月 25 日; 280(12): 10997-1006; J Physiol.2006 年 1 月 15 日; 570(Pt 2): 219-35; 和 Nat Neurosci.(2003)6 : 837-45。

调节 TRPC5 蛋白的功能提供调节钙稳态、钠稳态、膜极化和/或细胞内钙水平的方法, 并且可调节 TRPC5 功能的化合物可用于许多方面, 包括但不限于维持钙稳态、调节细胞内钙水平、调节膜极化, 以及治疗或预防与钙和/或钠稳态或生理紊乱(dyshomeostasis)相关的疾病、病症或病况。

抑制含有离子通道的 TRPC5 的化合物例如适用于通过调节可呈同源多聚体形式及与其他离子通道(诸如 TRPC1 或 TRPC3)呈异源多聚体形式(即, TRPC5-TRPC1 及 TRPC1-TRPC3-TRPC5)存在的瞬时型感受器电位阳离子通道亚家族 C, 成员 5(TRPC5)的活性以治疗病症。

局灶节段性肾小球硬化(FSGS)是一种临床病理综合征, 临床表现为大量蛋白尿或肾病综合征, 病理以局灶节段分布的肾小球硬化病变及足细胞变性所致足突融合或消失为特征。FSGS 约占我国成人肾病综合征的 5%~10%, 患者以青壮年男性多见。持续肾病综合征的患者, 5~10 年内 50%以上进展至终末期肾病。

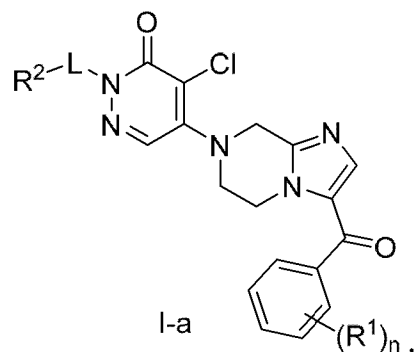
在健康肾小球中, TRPC5 被隔离在细胞质中, 维持正常过滤障碍, 当足细胞损伤后, 足细胞损伤激活 RAC1, 引起 TRPC5 从胞浆转移至细胞膜, 这促进了 AT1 受体诱导的通过 TRPC5 通道钙离子内流, 进一步促进 RAC1 活性, RAC1 激活诱导肌动蛋白重组和足细胞从肾小球上脱离; 足细胞的损失破坏了过滤屏障, 使得血清蛋白漏到尿液里面。

目前临床使用的 FSGS 治疗药物主要为激素、免疫抑制剂、CNIs 和烷化剂, 都存在严重毒副作用, 并且很多需要与其他药联合使用才有效, 容易复发。

## 发明内容

本发明要解决的是现有 TRPC5 抑制剂化合物溶解性差和生物利用度低的问题。为此, 本发明提供了一种杂环化合物、其中间体、其制备方法及其应用。本发明化合物具有更好的水溶性和药代动力学性质。

本发明提供了一种如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物;



其中,

n 为 0、1、2、3 或 4;

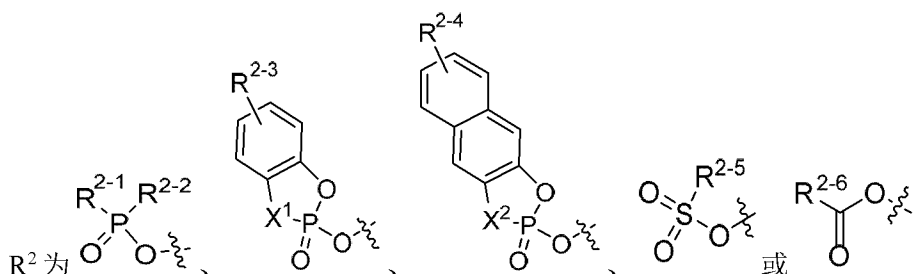
R<sup>1</sup> 独立地为 -CN、卤素、-OH、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub> 烷基或被 1、2、3 或 4 个 R<sup>1-1</sup> 取代的 C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub> 烷基;

R<sup>1-1</sup> 独立地为 -CN、卤素或 -OH;

L 为单键或 -CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-;

R<sup>a</sup> 为 H 或 C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> 烷基;

R<sup>b</sup> 为 H、卤素或 C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> 烷基;



X<sup>1</sup> 为 -O-、-S-、-NH-、-O-CH<sub>2</sub>-、-S-CH<sub>2</sub>-、-NH-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>- 或 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-;

X<sup>2</sup> 为 -O-、-S-、-NH-、-O-CH<sub>2</sub>-、-S-CH<sub>2</sub>-、-NH-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>- 或 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-;

R<sup>2-1</sup> 和 R<sup>2-2</sup> 独立地为 -OR<sup>2-1-1</sup>、-SR<sup>2-1-1</sup> 或 -NR<sup>2-1-2</sup>R<sup>2-1-3</sup>;

R<sup>2-1-1</sup> 独立地为 H、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>3</sub>~C<sub>6</sub> 环烷基、被 1、2、3 或 4 个 R<sup>2-1-1-1</sup> 取代的 C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub> 烷基或被 1、2、3 或 4 个 R<sup>2-1-1-1</sup> 取代的 C<sub>3</sub>~C<sub>6</sub> 环烷基;

R<sup>2-1-1-1</sup> 独立地为 -CN、F、Cl、Br、I、-OH、-NH<sub>2</sub>、-COOH 或 -NO<sub>2</sub>;

R<sup>2-1-2</sup> 和 R<sup>2-1-3</sup> 独立地为 H 或 C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub> 烷基;

R<sup>2-3</sup> 为 H、F、Cl、Br、I、-CN、-NO<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> 烷基或 C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> 烷氧基;

R<sup>2-4</sup> 为 H、F、Cl、Br、I、-CN、-NO<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> 烷基或 C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> 烷氧基;

R<sup>2-5</sup> 为 -OR<sup>2-5-1</sup>、-SR<sup>2-5-1</sup> 或 -NR<sup>2-5-2</sup>R<sup>2-5-3</sup>;

R<sup>2-5-1</sup> 独立地为 H、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>3</sub>~C<sub>6</sub> 环烷基、被 1、2、3 或 4 个 R<sup>2-5-1-1</sup> 取代的 C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub> 烷基或被 1、2、3 或 4 个 R<sup>2-5-1-1</sup> 取代的 C<sub>3</sub>~C<sub>6</sub> 环烷基;

R<sup>2-5-1-1</sup> 独立地为 -CN、F、Cl、Br、I、-OH、-NH<sub>2</sub>、-COOH 或 -NO<sub>2</sub>;

R<sup>2-5-2</sup> 和 R<sup>2-5-3</sup> 独立地为 H 或 C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub> 烷基;

$R^{2-6}$  为  $C_1\sim C_8$  烷基、 $C_3\sim C_6$  环烷基、 $-NR^{2-6-2}R^{2-6-3}$ 、被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基或被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_3\sim C_6$  环烷基；

$R^{2-6-1}$  独立地为  $-\text{CN}$ 、 $\text{F}$ 、 $\text{Cl}$ 、 $\text{Br}$ 、 $\text{I}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$  或  $-\text{NO}_2$ ；

$R^{2-6-2}$  和  $R^{2-6-3}$  独立地为  $\text{H}$  或  $C_1\sim C_6$  烷基。

在某一方案中，所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物的某些基团的定义如下所述，下述内容未涉及的基团的定义如上任一方案所述（以下简称为“在某一方案中”）： $n$  为 2。

在某一方案中， $R^1$  独立地为卤素或被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基，例如  $R^1$  独立地为氟或三氟甲基。

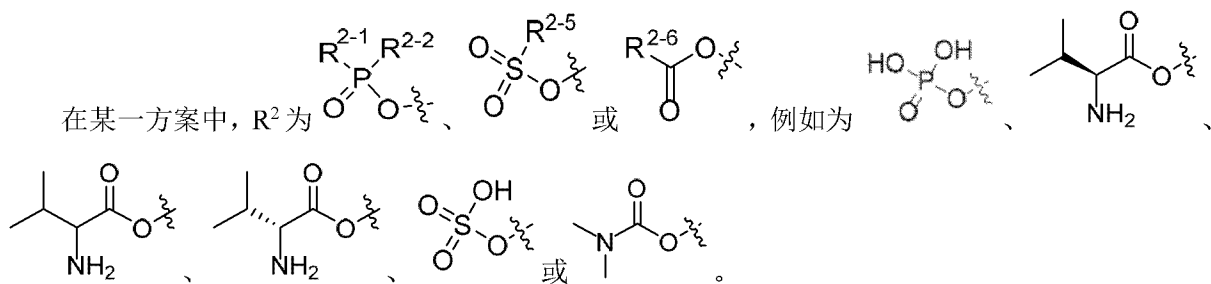
在某一方案中， $R^{1-1}$  独立地为卤素。

在某一方案中， $L$  为单键或  $-\text{CH}_2-$ 。

在某一方案中， $L$  为  $-\text{CR}^a\text{R}^b-$ ，例如为  $-\text{CH}_2-$ 。

在某一方案中， $R^a$  为  $\text{H}$ 。

在某一方案中， $R^b$  为  $\text{H}$ 。



在某一方案中， $R^{2-1}$  和  $R^{2-2}$  独立地为  $-\text{OR}^{2-1-1}$ 。

在某一方案中， $R^{2-1-1}$  为  $\text{H}$ 。

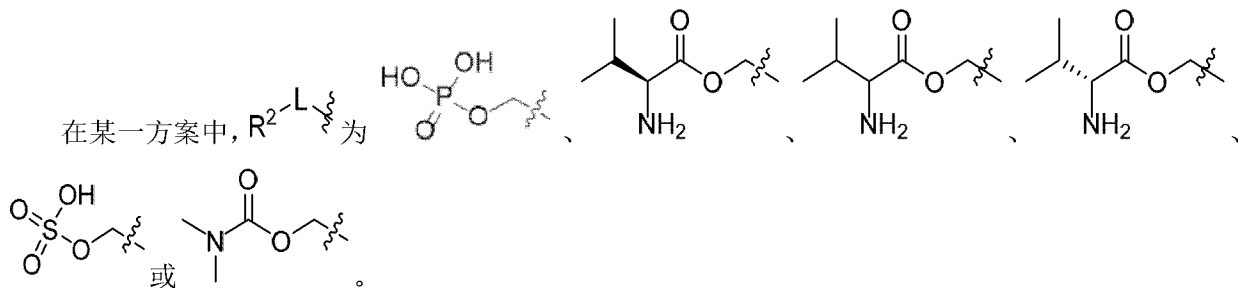
在某一方案中， $R^{2-5}$  为  $-\text{OR}^{2-5-1}$ 。

在某一方案中， $R^{2-5-1}$  为  $\text{H}$ 。

在某一方案中， $R^{2-6}$  为  $-\text{NR}^{2-6-2}R^{2-6-3}$  或被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_5$  烷基。

在某一方案中， $R^{2-6-1}$  为  $-\text{NH}_2$ 。

在某一方案中， $R^{2-6-2}$  和  $R^{2-6-3}$  独立地为甲基或乙基。



在某一方案中，

$n$  为 2；

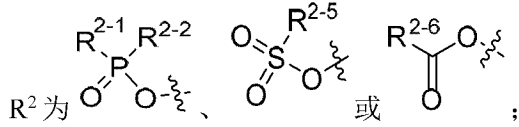
R<sup>1</sup> 独立地为卤素或被 1、2、3 或 4 个 R<sup>1-1</sup> 取代的 C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub> 烷基；

R<sup>1-1</sup> 独立地为卤素；

L 为 -CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-；

R<sup>a</sup> 为 H；

R<sup>b</sup> 为 H；



R<sup>2-1</sup> 和 R<sup>2-2</sup> 独立地为 -OR<sup>2-1-1</sup>；

R<sup>2-1-1</sup> 为 H；

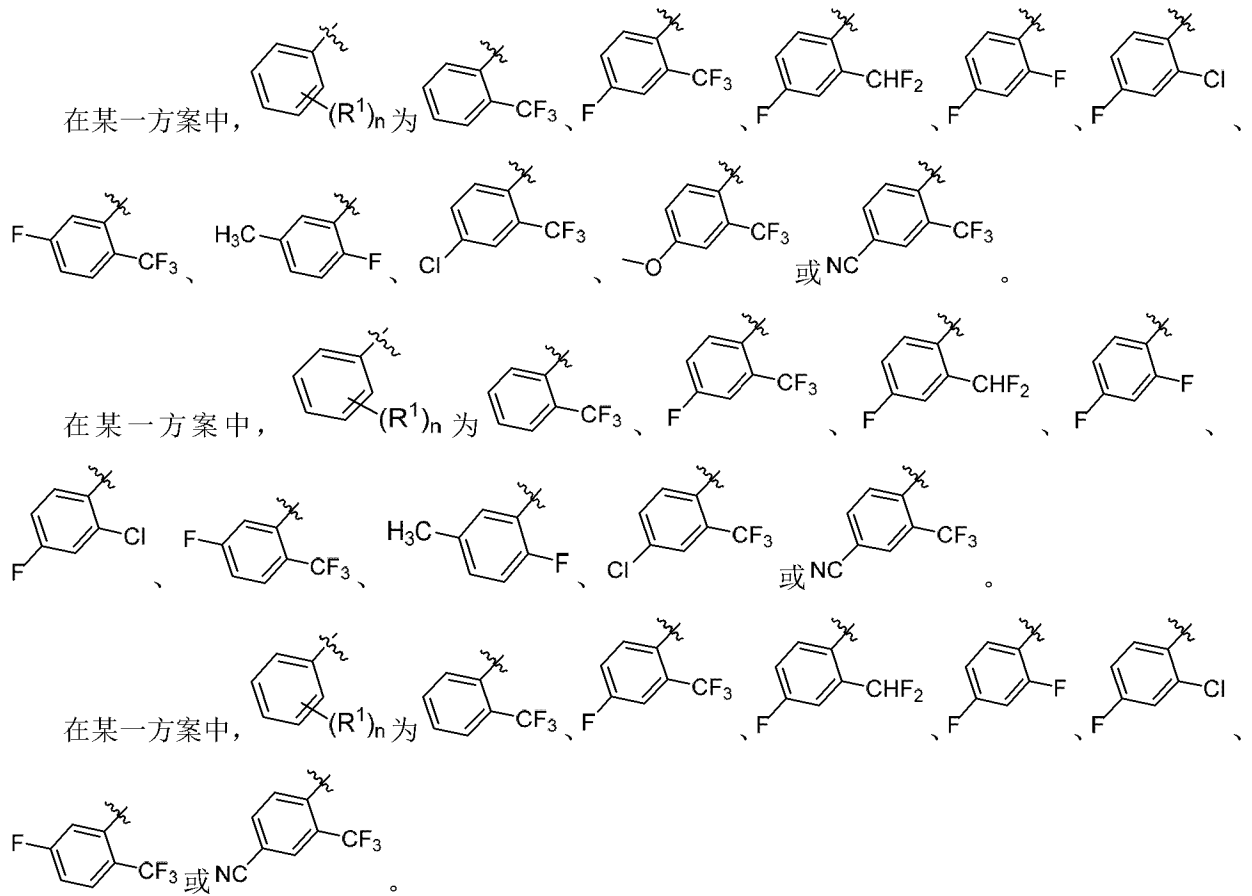
R<sup>2-5</sup> 为 -OR<sup>2-5-1</sup>；

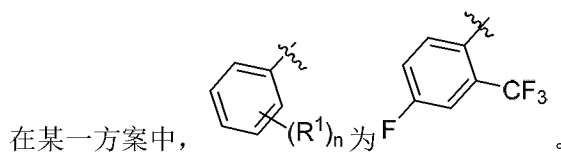
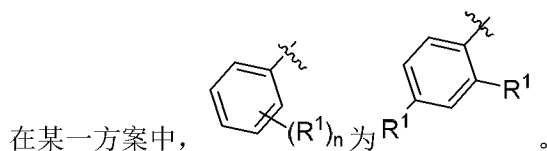
R<sup>2-5-1</sup> 为 H；

R<sup>2-6</sup> 为 -NR<sup>2-6-2</sup>R<sup>2-6-3</sup> 或被 1、2、3 或 4 个 R<sup>2-6-1</sup> 取代的 C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub> 烷基；

R<sup>2-6-1</sup> 为 -NH<sub>2</sub>；

R<sup>2-6-2</sup> 和 R<sup>2-6-3</sup> 独立地为甲基或乙基。





在某一方案中，当  $R^1$  独立地为卤素时，所述卤素为氟、氯或溴，例如为氟。

在某一方案中，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基，所述  $C_1\sim C_4$  烷基独立地为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基，例如为甲基。

在某一方案中，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基，所述  $R^{1-1}$  独立地为卤素，例如为氟。

在某一方案中，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基，所述的  $R^{1-1}$  的个数为 2 个或 3 个，例如为 3 个。

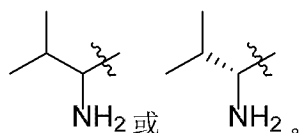
在某一方案中，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基时，所述被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基为二氟甲基或三氟甲基，例如为三氟甲基。

在某一方案中，当  $R^{2-6}$  为被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基时，所述  $C_1\sim C_8$  烷基为  $C_1\sim C_4$  烷基，例如为异丁基。

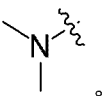
在某一方案中，当  $R^{2-6}$  为被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基时，所述  $R^{2-6-1}$  独立地为  $-NH_2$ 。

在某一方案中，当  $R^{2-6}$  为被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基时，所述  $R^{2-6-1}$  的个数为 1 个。

在某一方案中，当  $R^{2-6}$  为被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基时，所述  $R^{2-6}$  为 、

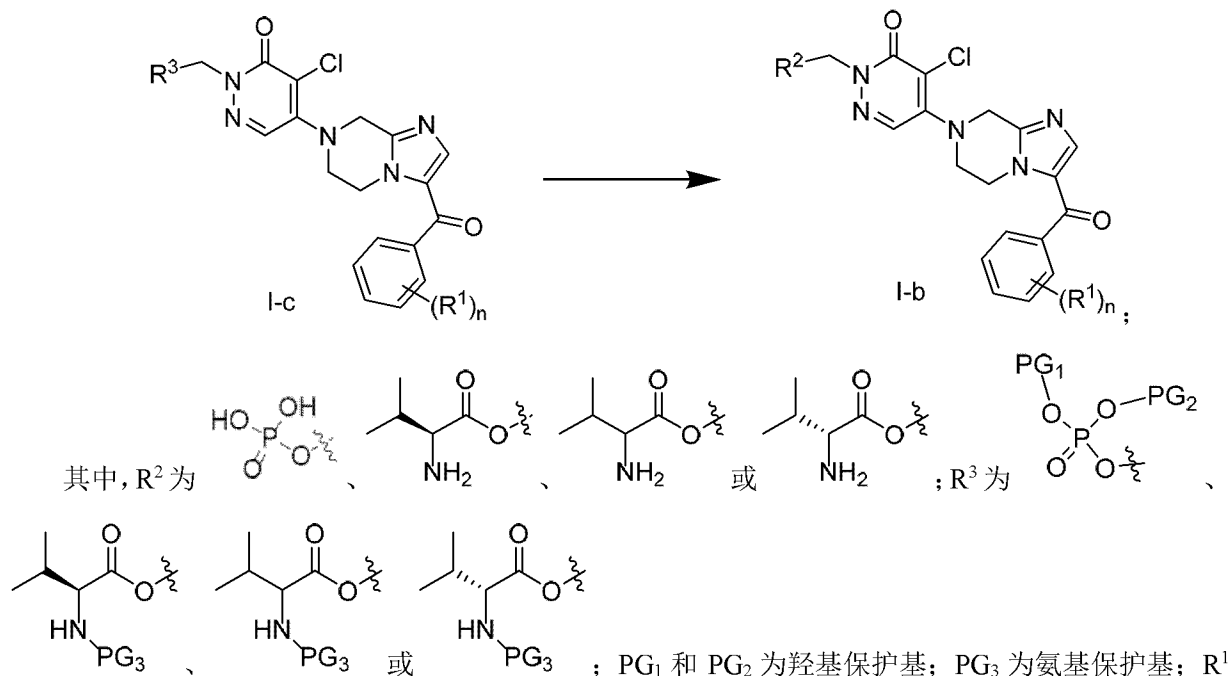


在某一方案中，当  $R^{2-6-2}$  和  $R^{2-6-3}$  独立地为  $C_1\sim C_6$  烷基时，所述  $C_1\sim C_6$  烷基为  $C_1\sim C_3$  烷基，例如均为甲基。

在某一方案中，当  $R^{2-6}$  为  $-NR^{2-6-2}R^{2-6-3}$  时，所述  $R^{2-6}$  为 。

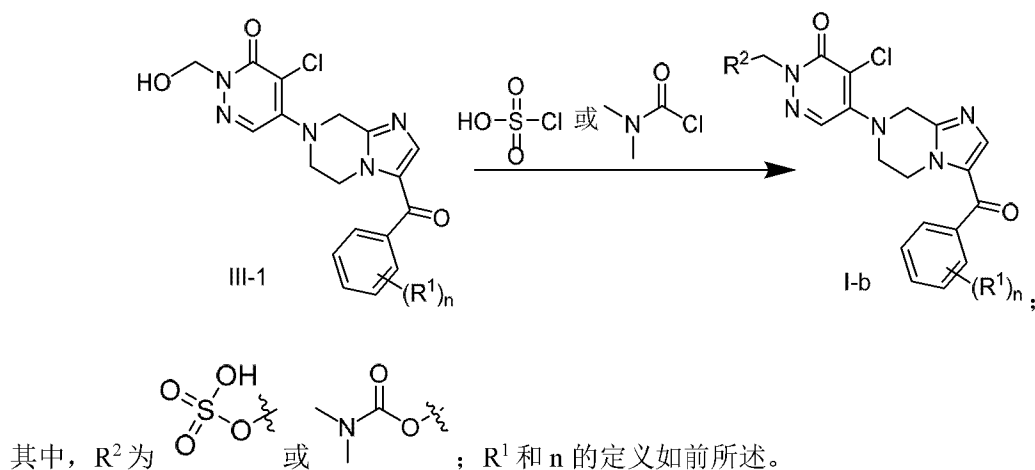
在某一方案中，所述如式 I-a 所示的化合物具有如式 I-b 所示的结构：





和  $n$  的定义如前所述;

所述方法 2 包括以下步骤: 在溶剂中, 所述化合物 III-1 与所述氯磺酸或二甲氨基甲酰氯发生取代反应, 得到所述如式 I-b 所示的化合物;



所述制备方法中, 方法 1 中, 较佳地,  $\text{PG}_1$  和  $\text{PG}_2$  相同, 更佳地,  $\text{PG}_1$  和  $\text{PG}_2$  均为 *t*-Bu。

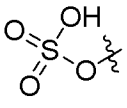
所述制备方法中, 方法 1 中, 较佳地,  $\text{PG}_3$  为 Boc。

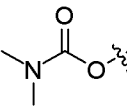
所述制备方法中, 方法 1 中, 所述酸可为本领域常规, 例如为三氟乙酸或氯化氢的 1,4-二氧六环溶液。

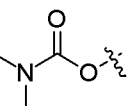
所述制备方法中, 方法 1 中, 所述溶剂可为本领域常规, 例如为二氯甲烷和/或乙酸乙酯。

所述制备方法中, 方法 2 中, 所述溶剂可为本领域常规, 例如为乙腈。

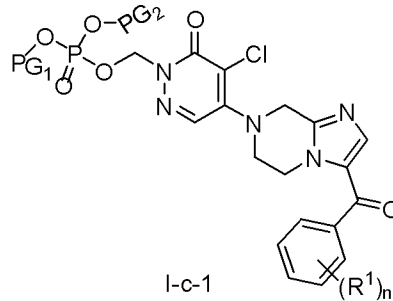
所述制备方法中, 方法 2 中, 当  $R^2$  为  $\text{HO}-\text{SO}_2$  时, 所述溶剂可为本领域常规, 例如为乙腈。

所述制备方法中，方法 2 中，当 R<sup>2</sup> 为  时，所述氯磺酸与所述化合物 III-1 的摩尔比可为本领域常规，例如为(3-6):1，再例如为 5:1。

所述制备方法中，方法 2 中，当 R<sup>2</sup> 为  时，所述溶剂可为本领域常规，例如为四氢呋喃。

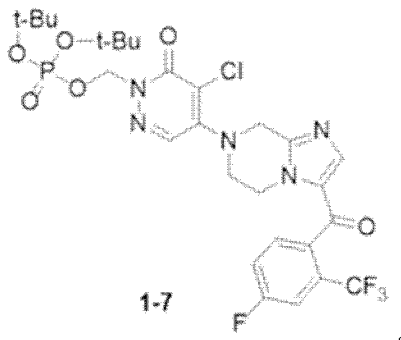
所述制备方法中，方法 2 中，当 R<sup>2</sup> 为  时，所述二甲氨基甲酰氯与所述化合物 III-1 的摩尔比可为本领域常规，例如为(1-2):1，再例如为 1:1。

本发明还提供了一种如式 I-c-1 所示的化合物：

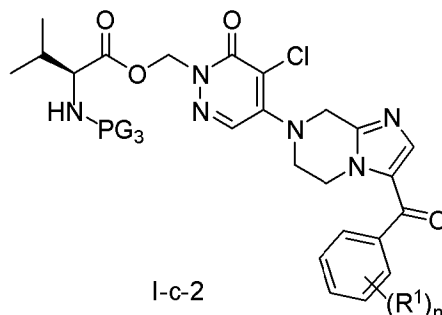


其中，R<sup>1</sup>、n、PG<sub>1</sub> 和 PG<sub>2</sub> 的定义如前所述；

优选地，如式 I-c-1 所示的化合物为以下化合物：

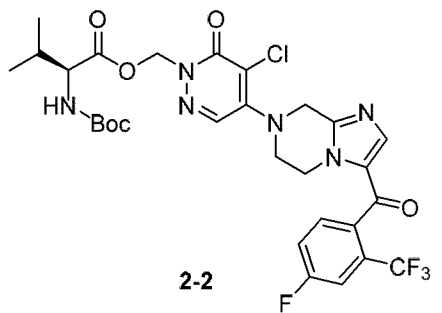


本发明还提供了一种如式 I-c-2 所示的化合物：

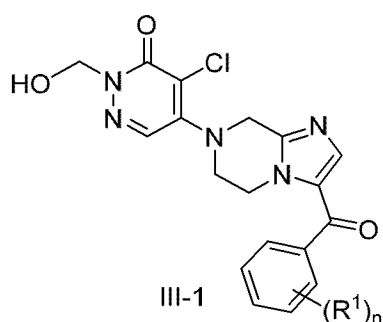


其中，R<sup>1</sup>、n 和 PG<sub>3</sub> 的定义如前所述；

优选地，如式 I-c-2 所示的化合物为以下化合物：

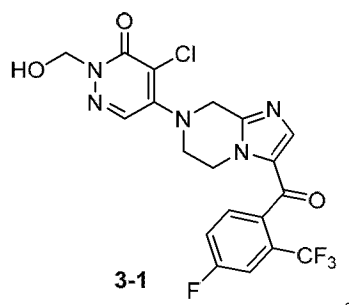


本发明还提供了一种如式 III-1 所示的化合物：



其中，R<sup>1</sup> 和 n 的定义如前所述；

优选地，如式 III-1 所示的化合物为以下化合物：



本发明还提供了一种药物组合物，其包含物质 X 和药用辅料，所述的物质 X 为上述的如式 I-a 所示的杂环化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物。

本发明还提供了一种物质 X 在制备 TRPC5 抑制剂中的应用，所述的物质 X 为上述的如式 I-a 所示的杂环化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，所述 TRPC5 抑制剂在体内使用。

本发明还提供了一种物质 X 在制备药物中的应用，所述的物质 X 为上述的如式 I-a 所示的杂环化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，所述的药物为用于治疗和/或预防 TRPC5 介导的疾病的药物。

在所述的应用中，所述的 TRPC5 介导的疾病可为精神病症、神经病症、神经退行性病症或肾病。

所述的精神病症、神经病症或神经退行性病症可选自：与失调的情绪处理相关的疾病（例如，边缘型人格障碍或抑郁症，诸如重性抑郁症、严重抑郁障碍、精神抑郁症、心境恶劣和产后抑郁症以及双相障碍）、与焦虑及恐惧相关的病症（例如，创伤后应激障碍、惊恐病、广场恐怖症、社交恐惧症、广泛性焦虑症、惊恐病、社交焦虑症、强迫症及分离焦虑）、记忆障碍（例如，阿尔茨海默病、遗忘症、失语症、脑损伤、脑肿瘤、慢性疲劳综合征、克雅氏病、解离性遗忘症、神游遗忘症、亨廷顿病、学习障碍、睡眠障碍、多重人格障碍、疼痛、创伤后应激障碍、精神分裂症、运动损伤、中风及韦-科二氏综合征）、与受损的冲动控制及成瘾相关的病症、阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化、癫痫、以及、由创伤或包括衰老的其他损伤引起的其他脑部病症。

所述的肾病可为局灶节段性肾小球硬化（FSGS）、微小病变肾病或糖尿病肾病。

本发明还提供了一种物质 X 在制备药物中的应用，所述的物质 X 为上述的如式 I-a 所示的杂环化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，所述的药物为用于治疗 and/或预防精神病症、神经病症、神经退行性病症或肾病的药物。

在所述的应用中，所述的精神病症、神经病症或神经退行性病症可选自：与失调的情绪处理相关的疾病（例如，边缘型人格障碍或抑郁症，诸如重性抑郁症、严重抑郁障碍、精神抑郁症、心境恶劣和产后抑郁症以及双相障碍）、与焦虑及恐惧相关的病症（例如，创伤后应激障碍、惊恐病、广场恐怖症、社交恐惧症、广泛性焦虑症、惊恐病、社交焦虑症、强迫症及分离焦虑）、记忆障碍（例如，阿尔茨海默病、遗忘症、失语症、脑损伤、脑肿瘤、慢性疲劳综合征、克雅氏病、解离性遗忘症、神游遗忘症、亨廷顿病、学习障碍、睡眠障碍、多重人格障碍、疼痛、创伤后应激障碍、精神分裂症、运动损伤、中风及韦-科二氏综合征）、与受损的冲动控制及成瘾相关的病症、阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化、癫痫、以及、由创伤或包括衰老的其他损伤引起的其他脑部病症。

在所述的应用中，所述的肾病可为局灶节段性肾小球硬化（FSGS）、微小病变肾病或糖尿病肾病。

除非另有说明，在本发明说明书和权利要求书中出现的以下术语具有下述含义：

术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物与相对无毒的、药学上可接受的酸或碱制备得到的盐。当本发明的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的药学上可接受的碱与这类化合物的原型接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括但不限于：锂盐、钠盐、钾盐、钙盐、铝盐、镁盐、锌盐、铋盐、铵盐、二乙醇胺盐。当本发明的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的药学上可接受的酸与这类化合物的原型接触的方式获得酸加成盐。所述的药学上可接受的酸包括无机酸，所述无机酸包括但不限于：盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、碳酸、磷酸、亚磷酸、硫酸等。所述的药学上可接受的酸包括有机酸，所述有机酸包括但不限于：乙酸、丙酸、草酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、水杨酸、酒石酸、甲磺酸、异烟酸、酸式柠檬酸、油酸、单宁酸、泛酸、酒石酸氢、抗坏血酸、龙胆酸、富马酸、葡糖酸、糖酸、甲酸、乙磺酸、双羟萘酸（即 4,4'-亚甲基-双(3-羟基-2-萘甲酸)）、氨基酸（例如

谷氨酸、精氨酸)等。当本发明的化合物中含有相对酸性和相对碱性的官能团时,可以被转换成碱加成盐或酸加成盐。具体可参见 Berge et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science 66: 1-19 (1977)、或、Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use (P. Heinrich Stahl and Camille G. Wermuth, ed., Wiley-VCH, 2002)。

术语“溶剂合物”是指本发明化合物与化学计量或非化学计量的溶剂结合形成的物质。溶剂合物中的溶剂分子可以有序或非有序排列的形式存在。所述的溶剂包括但不限于:水、甲醇、乙醇等。

术语“药学上可接受的盐的溶剂合物”中的“药学上可接受的盐”和“溶剂合物”如上所述,是指本发明化合物 1、与相对无毒的、药学上可接受的酸或碱制备得到的,且 2、与化学计量或非化学计量的溶剂结合形成的物质。所述的“药学上可接受的盐的溶剂合物”包括但不限于本发明化合物的盐酸一水合物。

当任意变量(例如  $R^1$ ) 在化合物的定义中多次出现时,该变量每一位置出现的定义与其余位置出现的定义无关,它们的含义互相独立、互不影响。因此,若某基团被 1 个、2 个或 3 个  $R^1$  基团取代,也就是说,该基团可能会被最多 3 个  $R^1$  取代,该位置  $R^1$  的定义与其余位置  $R^1$  的定义是互相独立的。另外,取代基及/或变量的组合只有在该组合产生稳定的化合物时才被允许。

术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

术语“烷基”是指具有一个到十个碳原子的饱和的直链或支链的一价烃基(例如  $C_1\sim C_8$  烷基,又例如  $C_1\sim C_6$  烷基、 $C_1\sim C_5$  烷基、 $C_1\sim C_4$  烷基、 $C_1\sim C_3$  烷基等)。烷基的实例包括但不限于:甲基、乙基、1-丙基、2-丙基、1-丁基、2-甲基-1-丁基、2-丁基、2-甲基-2-丙基、1-戊基、2-戊基、3-戊基、2-甲基-2-丁基、3-甲基-2-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-1-丁基、1-己基、2-己基、3-己基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、3-甲基-3-戊基、2-甲基-3-戊基、2,3-二甲基-2-丁基、3,3-二甲基-2-丁基、1-庚基和 1-辛基。

术语“环烷基”是指具有三到二十个碳原子的饱和的环烃原子团,优选包含 3 至 12 个碳原子,更优选包含 3 至 6 个碳原子。环烷基的实例包括但不限于:环丙基、环丁基、环戊基和环己基。

术语“烷氧基”是指基团  $R^X-O-$ , 其中,  $R^X$  为上文所定义的烷基。烷氧基的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基等。

术语“药用辅料”是指生产药品和调配处方时使用的赋形剂和附加剂,是除活性成分以外,包含在药物制剂中的所有物质。可参见中华人民共和国药典(2020 年版)四部、或、Handbook of Pharmaceutical Excipients (Raymond C Rowe, 2009 Sixth Edition)。

术语“治疗”指治疗性疗法。涉及具体病症时,治疗指:(1)缓解疾病或者病症的一种或多种生物学表现,(2)干扰(a)导致或引起病症的生物级联中的一个或多个点或(b)病症的一种或多种生物学表现,(3)改善与病症相关的一种或多种症状、影响或副作用,或者与病症或其治疗相关的一种或多种症状、影响或副作用,或(4)减缓病症或者病症的一种或多种生物学表现发展。

术语“预防”是指获得或发生疾病或障碍的风险降低。

术语“患者”是指根据本发明的实施例,即将或已经接受了该化合物或组合物给药的任何动物,哺

乳动物为优。术语“哺乳动物”包括任何哺乳动物。哺乳动物的实例包括但不限于牛、马、羊、猪、猫、狗、小鼠、大鼠、家兔、豚鼠、猴、人等，以人类为优。

术语“治疗有效量”是指在给予患者时，足以有效治疗本文所述的疾病或病症的化合物的量。“治疗有效量”将根据化合物、病症及其严重度、以及欲治疗患者的年龄而变化，可由本领域技术人员根据需要进行调整。

在不违背本领域常识的基础上，上述各优选条件，可任意组合，即得本发明各较佳实例。

本发明所用试剂和原料均市售可得。

本发明的积极进步效果在于：本发明化合物具有更好的水溶性和药代动力学性质。

## 附图说明

图 1 为单次灌胃给药化合物 L015 后 CD-1 小鼠组织中血药浓度分布图。

## 具体实施方式

下面通过实施例的方式进一步说明本发明，但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，按照常规方法和条件，或按照商品说明书选择。

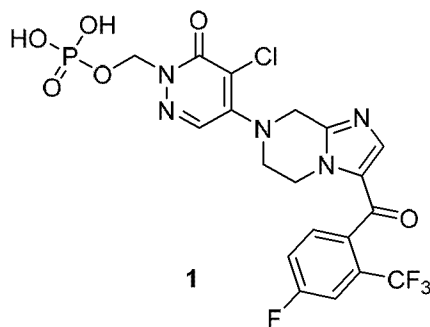
### 名词及代表试剂

在以下具体实验描述中使用的所述名词分别代表(除非另有说明)以下试剂：

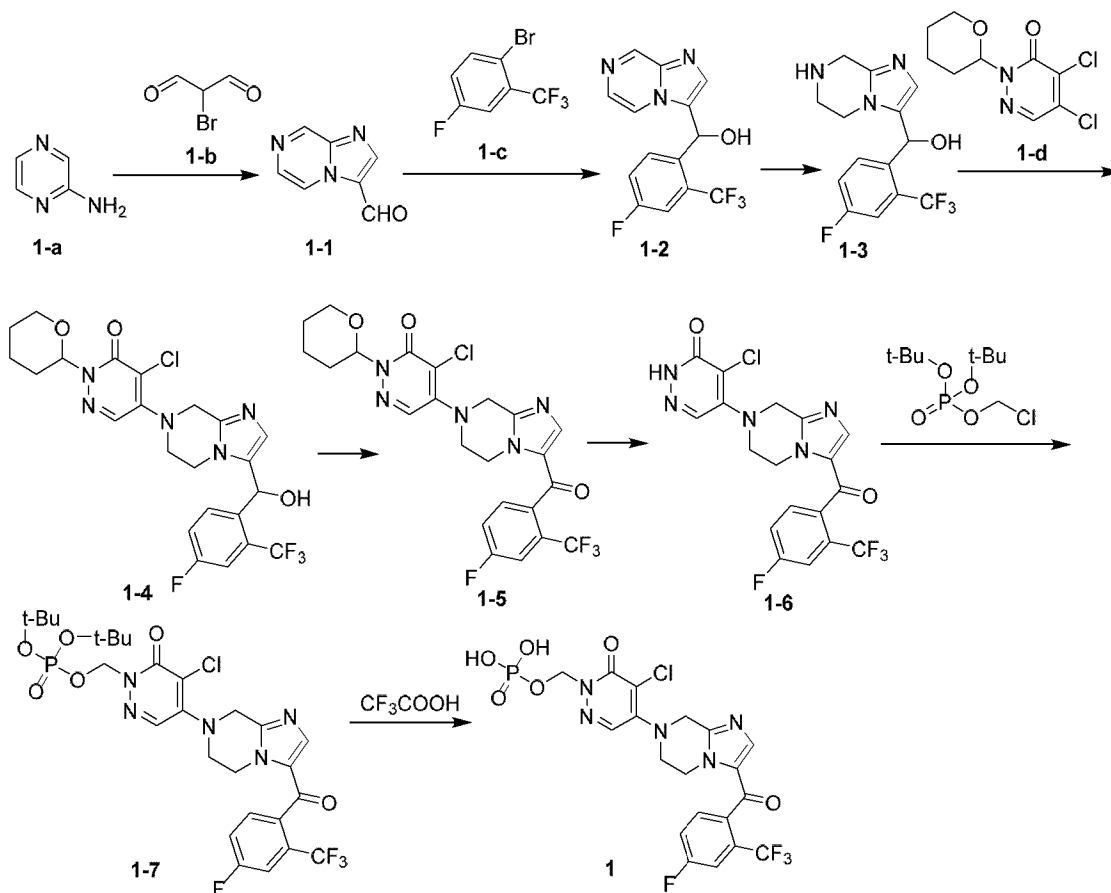
NBS: N-溴代丁二酰亚胺; DIEA: N,N-二异丙基乙胺; EA: 乙酸乙酯; DCM: 二氯甲烷; DMF: N,N-二甲基甲酰胺; THF: 四氢呋喃; i.v.: 静脉注射; PO: 口服。

### 一、本发明化合物的制备及其效果数据：

实施例 1 化合物(5-氯-4-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-6-氧代哒嗪-1(6H)-基)磷酸二氢甲酯 (化合物 1) 的制备



合成路线：



### 1.1 化合物 1-1 的制备

将化合物 1-a (10.0 g, 0.11 mol) 溶于无水乙醇 (100 mL) 中, 加入化合物 1-b (15.8 g, 0.11 mmol), 混合物在 90°C 下搅拌 2 小时。反应结束后, 冷却至室温, 旋干溶剂得到黑色粘稠状物, 加入 30 mL 氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4 mol/L), 25 °C 下搅拌 12 小时, 反应结束后, 加入 50 mL 水, 用碳酸钠溶液调节 pH 值约为 8, 乙酸乙酯 (50 mL\*4) 萃取, 饱和食盐水 (30 mL\*2) 洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩后的残留物用乙酸乙酯重结晶三次后, 得到化合物 1-1 (3.5 g)。LC-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+=148.0$ 。

### 1.2 化合物 1-2 的制备

将化合物 1-c (7.47 g, 30.6 mmol) 溶于四氢呋喃 (50 mL), 并取出 2 mL 溶液滴加到氮气保护下含有镁屑 (1.47 g, 61.2 mmol) 和碘 (50 mg, 2 mmol) 的四氢呋喃 (20 mL) 溶液中, 用吹风机加热至溶液澄清透明后, 将剩余化合物 1-c 的四氢呋喃溶液逐滴加入到反应体系。将混合物在 70°C 下搅拌 1 小时, 冷却至室温后。在 -70°C 氮气保护下, 将混合物再滴加到化合物 1-1 (3.00 g, 20.4 mmol) 的四氢呋喃溶液中。将混合体系在 -70°C 下搅拌 2 小时。反应结束后, 加入氯化铵溶液 (50 mL), 乙酸乙酯 (50 mL\*3) 萃取, 饱和食盐水 (30 mL\*2) 洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩后, 粗品硅胶柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=100/1 (v/v)), 得到化合物 1-2 (3.2 g)。

LC-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+=312.07$ 。

### 1.3 化合物 1-3 的制备

将化合物 **1-2** (1.10 g, 3.50 mmol) 溶于四氢呋喃 (25 mL) 中。加入湿 Pd/C (10%, 400 mg), 所得混合物在氢气气氛下室温搅拌 12 小时。反应结束后, 过滤, 滤液减压浓缩得到化合物 **1-3** (1.0 g)。

LC-MS  $[M+H]^+ = 316.2$ 。

#### 1.4 化合物 **1-4** 的制备

将化合物 **1-3** (200 mg, 0.63 mmol) 溶于无水丁醇 (1 mL) 中, 加入 **1-d** (189 mg, 0.76 mmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (245 mg, 1.90 mmol), 氮气保护下, 将混合物在 120°C 下搅拌 2 小时。反应液浓缩, 粗品经硅胶柱层析分离(二氯甲烷/甲醇=100/1 (v/v)), 得到化合物 **1-4** (160 mg)。

LC-MS  $[M+H]^+ = 528.2$ 。

#### 1.5 化合物 **1-5** 的制备

将化合物 **1-4** (200 mg, 0.297 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (20 mL) 中, 加入戴斯-马丁氧化剂 (630 mg, 1.485 mmol)。氮气保护下, 将混合物在 40°C 下搅拌 8 小时。反应结束后, 加入氢氧化钠溶液调节 pH 值约为 9, 二氯甲烷 (10 mL\*3) 萃取, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩。粗品经硅胶柱层析分离(二氯甲烷/甲醇=100/1 (v/v)), 得到化合物 **1-5** (150 mg)。LC-MS  $[M+H]^+ = 526.2$ 。

#### 1.6 化合物 **1-6** 的制备

将化合物 **1-5** (150 mg, 0.28 mmol) 溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (2 mL, 4 mol/L) 中, 将混合物在 25°C 下搅拌 1 小时。混合物减压浓缩后得到粗产品, 粗产品再经高效液相制备色谱纯化得到化合物 **1-6** (216 mg)。LC-MS  $[M+H]^+ = 441.8$ 。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  13.08 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.85 (dd, *J* = 9.3, 2.5 Hz, 1H), 7.79 (dd, *J* = 8.5, 5.5 Hz, 1H), 7.68 (td, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.52 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.91 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H)。

#### 1.7 化合物 **1-7** 的制备

向反应瓶中加入化合物 **1-6** (300 mg, 0.68 mmol), 碘化钠 (132 mg, 0.88 mmol), 四氢呋喃 (3 mL) 搅拌溶解, 冰浴降温至 0°C 左右, 向反应液中滴加叔丁醇锂 (1M 的四氢呋喃溶液, 0.82 mL, 0.82 mmol), 滴加完毕, 随后向反应液中加入氯甲基磷酸二叔丁酯 (230 mg, 0.83 mmol), 反应液升温至室温反应 12 小时。反应液加水淬灭, 乙酸乙酯 (5 mL\*3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液减压浓缩得到的化合物 **1-7** (300 mg), 无需进一步纯化直接于下一步反应。

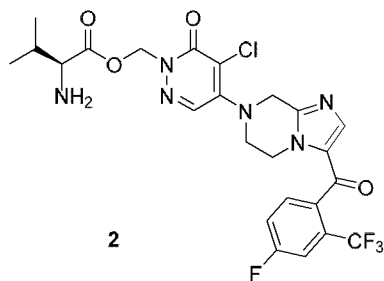
LC-MS  $[M+H]^+ = 664.2$ 。

#### 1.8 化合物(5-氯-4-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-*a*]吡嗪-7(8*H*)-基)-6-氧代哒嗪-1(6*H*)-基)磷酸二氢甲酯(化合物 **1**) 的制备

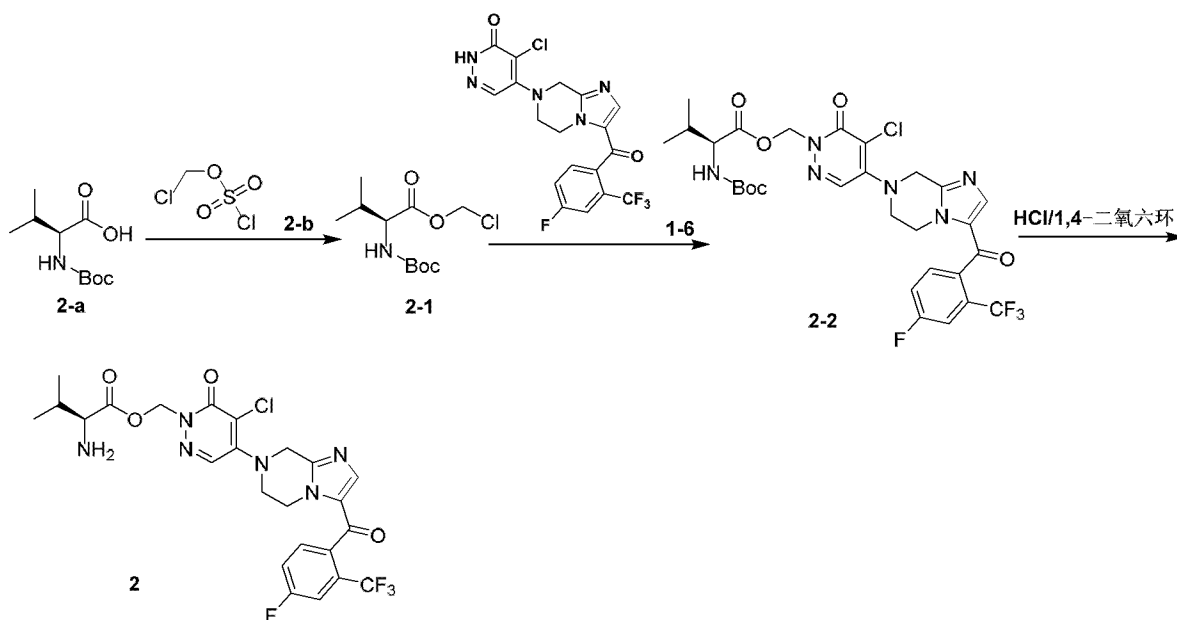
将化合物 **1-7** (300 mg, 0.45 mmol) 溶于二氯甲烷 (3 mL) 中, 搅拌下向反应液中滴加三氟乙酸 (0.6 mL), 混合物在 25°C 下搅拌 1 小时。反应完毕, 混合物减压浓缩后得到粗产品, 粗产品再经高效液相制备色谱纯化得到化合物 **1** (112.3 mg)。

LC-MS  $[M+H]^+ = 552.0$ ; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  8.14 (s, 1H), 7.84 (dd, *J* = 9.2, 2.8 Hz, 1H), 7.79 (dd, *J* = 8.4, 5.6 Hz, 1H), 7.68 (td, *J* = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 5.68 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 4.91 (s, 2H), 4.54 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.98 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H)。

实施例 2 (5-氯-4-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-6-氧代吡嗪-1(6H)-基) L-缬氨酸甲酯 (化合物 2) 的制备



合成路线:



### 2.1 化合物 2-1 的制备

将化合物 2-a (3 g, 13.81 mmol), 碳酸氢钠 (4.7 g, 55.23 mmol) 和四丁基硫酸氢铵 (468 mg, 1.38 mmol) 溶于二氯甲烷 (30 mL) 和水 (30 mL) 的混合溶剂中, 所得反应液在室温下搅拌 5 分钟后降至 0 °C, 将化合物 2-b (2.73 g, 16.57 mmol) 加入到反应液中, 然后升温至室温并搅拌 2 小时。反应完毕, 反应液缓慢倒入碳酸氢钠水溶液中, 用二氯甲烷 (50 mL\*3) 萃取, 合并的有机相用饱和食盐水清洗, 用无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩。粗品经硅胶层析柱分离纯化 (石油醚/乙酸乙酯 = 1/0 ~ 4/1 (v/v)) 纯化得到化合物 2-1 (3.6 g)。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  7.35 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 5.94 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 5.84 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 3.92-3.88 (m, 1H), 2.06-2.01 (m, 1H), 1.39-1.34 (m, 9H), 0.89 (dd,  $J_1 = 6.8$ ,  $J_2 = 1.6$  Hz, 6H)。

### 2.2 化合物 2-2 的制备

将化合物 1-6 (200 mg, 0.45 mmol) 和碘化钠 (88.22 mg, 0.59 mmol) 溶于四氢呋喃 (3 mL) 中, 向反应液中加入叔丁醇锂 (0.54 mL, 1M 的四氢呋喃溶液), 后将化合物 2-1 (145.4 mg, 0.55 mmol) 的四氢呋喃 (2 mL) 溶液加入到反应液中, 反应液升温至室温并搅拌过夜。反应完毕。将反应液和前

一批次合并后并减压浓缩。粗品经硅胶层析柱分离纯化（石油醚/乙酸乙酯 = 1/4~0/1 (v/v)）纯化得到化合物 **2-2** (400 mg)。

LC-MS [M-Boc+H]<sup>+</sup>=571.2。

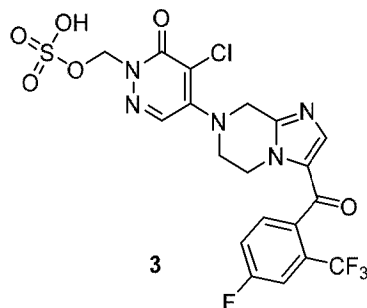
### 2.3 化合物 (5-氯-4-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-6-氧代哒嗪-1(6H)-基) L-缬氨酸甲酯 (化合物 **2**) 的制备

将化合物 **2-2** (350 mg, 0.35 mmol) 溶于乙酸乙酯 (10 mL) 中, 向反应中加入氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (10 mL, 4 M), 反应液在室温下搅拌 2 小时。反应完毕, 反应液缓慢倒入碳酸氢钠水溶液中, 用乙酸乙酯 (30 mL\*3) 萃取, 合并的有机相用饱和食盐水清洗, 用无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩。粗品经高效液相制备色谱纯化得到化合物 **2** (47.4 mg)。

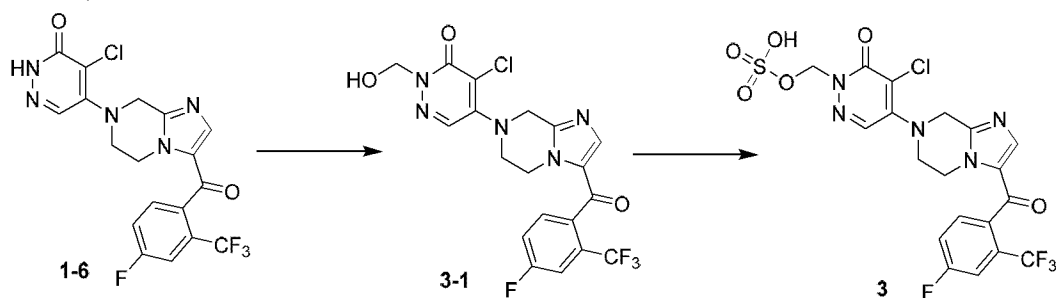
LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=571.1;

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.24 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.84 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8.4, *J*<sub>2</sub> = 2.4 Hz, 1H), 7.78 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8.8, *J*<sub>2</sub> = 5.6 Hz, 1H), 7.69 (dd, *J*<sub>1</sub> = 4.4, *J*<sub>2</sub> = 2.4 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 5.97 (dd, *J*<sub>1</sub> = 22.4, *J*<sub>2</sub> = 9.6 Hz, 2H), 4.91 (s, 2H), 4.53 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.98 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.14 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 1.83-1.78 (m, 1H), 0.86 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.81 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H)。

### 实施例 3 化合物(5-氯-4-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-6-氧代哒嗪-1(6H)-基)硫酸氢甲酯 (化合物 **3**) 的制备



合成路线:



#### 3.1 化合物 **3-1** 的制备

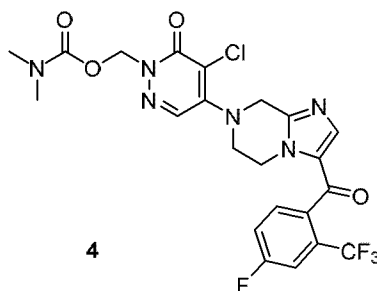
将化合物 **1-6** (400 mg, 0.90 mmol) 溶于乙醇 (4 mL) 和 10% 的甲醛水溶液 (4 mL) 中, 反应液在 80°C 反应 32 小时。反应完毕, 反应液减压浓缩得到粗品, 粗品经硅胶层析柱分离纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 10/1 (v/v)) 得到化合物 **3-1** (35 mg)。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=472.1。

#### 3.2 化合物(5-氯-4-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-6-氧代哒

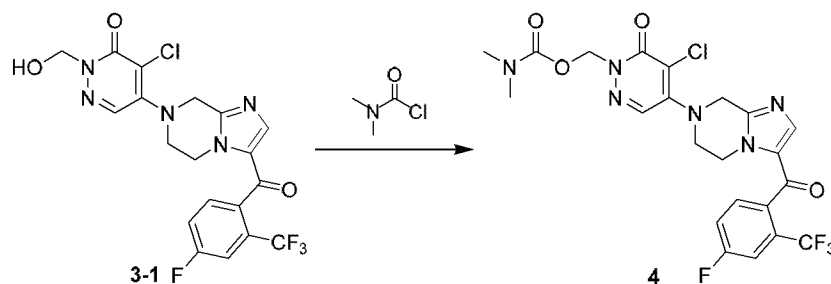
### 噻-1(6H)-基)硫酸甲酯 (化合物 3) 的制备

将化合物 **3-1** (35 mg, 0.07 mmol) 溶于乙腈 (10 mL) 中。再加入氯磺酸 (43 mg, 0.37 mmol), 反应在 0°C 下反应 2 小时, 反应完毕。用饱和碳酸氢钠水溶液调节 pH = 8, 反应液减压浓缩后得到粗产品, 粗产品再经高效液相制备色谱纯化得到化合物 **3** (5.8 mg)。LC-MS  $[M+H]^+ = 552.05$ ;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  12.91 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.86 – 7.82 (m, 2H), 7.67 (td,  $J_1 = 8.4$  Hz,  $J_2 = 2.4$  Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 5.55 – 5.53 (m, 1H), 4.66 – 4.63 (m, 1H), 4.30 – 3.98 (m, 6H)。

### 实施例 4 化合物 (5-氯-4-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-6-氧代噻-1(6H)-基)二甲基氨基甲酸甲酯 (化合物 4) 的制备



合成路线:



将化合物 **3-1** (50 mg, 0.11 mmol) 溶于四氢呋喃 (3 mL) 中后降至 0°C, 向反应液中加入氢化钠 (4 mg, 0.11 mmol, 60%纯度分散于矿物油中), 反应液升温至室温并搅拌半个小时后降至 0°C。将二甲基氨基甲酰氯 (11 mg, 0.11 mmol) 的四氢呋喃 (0.5 mL) 溶液加入到反应液中, 反应升温至室温并搅拌 3 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩, 残留物经高效液相制备色谱纯化得到化合物 **4** (1.2 mg)。

LCMS  $[M+H]^+ = 543.1$ ;

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.95 (s, 1H), 7.60-7.55 (m, 1H), 7.52 (dd,  $J_1 = 8.8$ ,  $J_2 = 2.4$  Hz, 1H), 7.36 (t,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 5.32 (s, 1H), 4.89 (d,  $J = 14.4$  Hz, 1H), 4.52-4.43 (m, 1H), 4.24-4.00 (m, 5H), 3.19 (s, 3H), 2.93 (s, 3H)。

### 效果实施例 1 生物学活性测试试验

TRPC5 是一类非选择性阳离子通道, 对钙离子具有通透性, 因此本实验选用 TRPC5 激动剂 Englerin A (EA)、TRPC5 抑制剂 Pico145 作为阳性对照, 使用 Fluo-4 AM 荧光染料检测化合物对 TRPC5-HEK 293 细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的方法来间接反映化合物对 TRPC5 通道的影响。

#### 1. 细胞培养

## 1.1 TRPC5-HEK 293 细胞复苏

复苏液：100%DMEM 高糖

选择培养基：DMEM 高糖+10%FBS+1%P/S+1%HEPES+稻瘟散(Blasticidin, 5 $\mu$ g/mL) + 潮霉素(Hygromycine, 50  $\mu$ g/mL)

诱导培养基：DMEM 高糖+10%FBS+1%P/S+1%HEPES+多西环素(Doxycycline, 1 $\mu$ g/mL)

复苏过程：液氮罐中取出，于冰盒中转移至水浴锅，划圈溶解至含一小块冰时转移冻存液至复苏液中，1000 rpm 离心 5 min，弃去上清，转移至选择培养基中，CO<sub>2</sub> 培养箱中 (5% CO<sub>2</sub>, 95% 湿度, 37°C) 扩培。

## 1.2 TRPC5-HEK 293 细胞接板

实时荧光实验前 14 h, 用 PBS 清洗细胞, 用含 EDTA 的胰蛋白酶 (TRYPsin-EDTA) 消化细胞, 诱导培养基稀释细胞至 20 万细胞/mL, 接至已包被多聚赖氨酸 (PDL, Poly-D-Lysine)(母液 10 mg/mL, 终浓度 10  $\mu$ g/mL) 的 96 孔黑壁底透板中, 100  $\mu$ L/孔即 2 万细胞/孔。

## 2. 缓冲液配制

500 mL TRPC5 钙信号检测用外液：4.0908 g NaCl, 0.1864 g KCl, 0.111 CaCl<sub>2</sub>, 0.0476 g MgCl<sub>2</sub>, 0.9 g Glucose (葡萄糖), 1.1915 g HEPES (4-羟乙基哌嗪乙磺酸)。

钙荧光染料：TRPC5 钙信号检测用外液含终浓度 4  $\mu$ M Fluo-4 (含 0.5%BSA)

## 3. 化合物的配制

激动剂：Englerin A (EA)

激动剂浓度：由于 EA 激活 TRPC5 的 EC<sub>50</sub> 大约在 0.35 nM, 使用 0.3 nM EA

阳性抑制剂：Pico145 (HC608)

阳性抑制剂浓度：100 nM

待测化合物：化合物 1-6 和化合物 1

待测化合物浓度：常规配制, 配制为 8 倍于检测终浓度的药液 (检测终浓度分别为: 1 nM、3 nM、10 nM、30 nM、100 nM、300 nM 和 1000 nM), 每个底板孔 60  $\mu$ L。

## 4. 数据处理

Fluor 测试荧光值减去未进行染色 (dye) 的细胞孔的值 (即本底荧光值), 采用 Graphpad Prism 6.0 软件进行统计和数据处理, 轨迹图采用去除基线 (remove baseline) 的方式进行归一化处理, 比值型显示, 量效图求取 AUC (钙流信号形成的曲线的曲线下面积) 收集数据与化合物浓度的 log 值, 采用 log[Inhibitor] vs. response—Variable slope 计算 IC<sub>50</sub> 值。

结果见表 1: 化合物 1 对 TRPC5 通道无抑制活性。

表 1

化合物编号	TRPC5 抑制活性, IC <sub>50</sub> (nM)
化合物 1-6	11.5
化合物 1	>10000

## 效果实施例 2 化合物单次灌胃（以 5% Solutol 为溶媒）给药雄性 SD 大鼠 PK 研究

### 1. 实验目的:

探索本发明化合物 1 (125 mg/kg) 及化合物 1-6 (100 mg/kg) 单次灌胃给药后雄性大鼠血浆中该化合物的时间-血药浓度曲线, 获得本发明化合物 1 及化合物 1-6 单次给药大鼠的 PK 参数 ( $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $AUC_{last}$ ,  $AUC_{inf}$ ,  $T_{1/2}$ 、MRT 等)。

### 2. 实验方案

#### 2.1 实验仪器

表 2

名称	型号/规格	厂家
电子分析天平	MS105Du	Mettler-Toledo
电子秤	YP2001	上海佑科仪器
高速冷冻离心机	STR16	Thermo Fisher Scientific

#### 2.2 实验准备

##### 2.2.1 本发明化合物（化合物 1）的实验准备

大鼠: SD 大鼠, SPF 级, 3 只雄性, 体重范围 180-200g (来源: 北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号: 110011201109106028);

饲养条件: 普通级动物房饲养, 自由饮食饮水, 3 只/笼饲养, 12/12 小时明/暗周期调节 (7:00am/7:00pm), 温度  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

配药: PO 组化合物精确称量后, 先加入所需体积的 5% solutol, 涡旋混匀 2min 后, 超声 30min, 搅拌 2h 后至肉眼无明显可见颗粒, 边搅拌边给药, 取中层药液用于给药。

给药前, 药液需留样分析, 混悬液准确取样上、中、下各 100  $\mu\text{L}$  2 份, 当天送分析检测, 备份样品保存在  $-75^\circ\text{C}$  冰箱备用。

##### 2.2.2 化合物 1-6 的实验准备

大鼠: SD 大鼠, SPF 级, 3 只雄性, 体重范围 220-300g (来源: 北京斯贝福生物技术有限公司, 合格证号: 110324200103216838);

饲养条件: 普通级动物房饲养, 自由饮食饮水, 3 只/笼饲养, 12/12 小时明/暗周期调节 (7:00am/7:00pm), 温度  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

配药: PO 组化合物 1-6 精确称量后, 先加入所需体积的 5% solutol, 涡旋混匀 2 min 后, 超声 30 min, 搅拌 3h 后至肉眼无明显可见颗粒后给药;

现配现用, 药液需留样分析, 混悬液取上、中、下各 100  $\mu\text{L}$  2 份, 当天送分析检测。

#### 2.3 给药方案

大鼠根据体重随机分成 3 组, 具体分组和给药情况如下:

表 3 本发明化合物分组给药信息

组别	受试物	数量 (雌/雄)	给药途径	溶媒	给药剂量 (mg/kg)	药物浓度 (mg/mL)	给药体积 (mL/kg)	血浆分析物
PO	化合物1 (混悬溶液)	0/3	PO	5%solutol	125	12.5	10	化合物1和1-6

1. PO 组动物给药前通宵禁食不禁水，给药后 4h 返还食物；
2. 取血时间点：PO 组取血时间点为 0.167、0.5、1、2、3、4、6、9、12 和 24h。

表 4 化合物 1-6 分组给药信息

组别	受试物	数量 (雌/雄)	给药途径	溶媒	给药剂量 (mg/kg)	药物浓度 (mg/mL)	给药体积 (mL/kg)	血浆分析物
1	化合物 1-6 (混悬溶液)	0/3	PO	5%solutol	100	10	10	化合物 1-6

1. PO 组动物给药前通宵禁食不禁水，给药后 4h 返还食物；
2. 取血时间点：PO 组取血时间点为 0.167、0.5、1、2、3、4、6、9、12 和 24h。

## 2.4 样品的采集和制备

大鼠给药后，根据采样时间点，从眼眶静脉丛收集血液，每个时间点采集约 0.2-0.3mL 血液于抗凝 EP 管中（内含 4  $\mu$ L EDTA-K<sub>2</sub>，375mg/mL），缓慢上下倒置 3 次，置于冰盒内保存（不超过 30 分钟），在 4°C 下使用 3500 $\times$ g 离心 10 分钟，移取上清液至标记的 EP 管中，观察血浆溶血情况并记录，送生物分析检测；如果无法当天检测，样本需储存在 -80°C 直到检测（注意勿进行多次冷冻/溶解的过程）。

## 2.5 样品分析

### 2.5.1 本发明化合物的样品分析

#### 2.5.1.1 实验仪器：

高效液相色谱泵 (Pump): Exion LC AD Pump, Sciex 公司

自动进样器(Auto sampler: Exion LC AD Autosampler, Sciex 公司

柱温箱(column Oven): Exion LC AD Column Oven, Sciex 公司

质谱仪(Mass spectrometer): AB Sciex Qtrap 3500

高速冷冻离心机(centrifuge): Thermo Fisher, ST16R, GG1206085-093

分析天平 (Electronic balance): Mettler Toledo, MS-105DU, GG1206363

微型涡旋仪(Vortex):上海沪西分析仪器厂, WH-2, GG1206487

实验材料: 大鼠血浆 (EDTA-K<sub>2</sub>)

分析物：化合物 1-6

内标：甲苯磺丁脲

分析方法：液质联用法

2.5.1.2 质谱条件：

质谱参数

离子源：Ion Electrospray (ESI)

离子化模式 (Ionization mode)：正离子模式 (Positive)

检测模式 (Mode)：多反应监测 (MRM)

电喷雾电压 (Ion Spray Voltage)：5500

离子喷雾温度 (Turbo Ion Spray Temp)：550°C

气帘气 (Curtain Gas)：35

碰撞池气体 (CAD Gas)：Medium

雾化气 (Nebulizing Gas, Gas 1)：55.00

辅助气 (Auxiliary Gas, Gas 2)：55.00

检测离子对：

表 5

化合物	分子离子 (m/z)	碎片离子 (m/z)	停留时间 (msec)	去簇电压 (DP)(V)	碰撞能量 (CE)(eV)
甲苯磺丁脲 (Tolbutamide)	271.1	155.0	25	60	26
化合物 1-6	442.2	406.2	40	97	36

2.5.1.3 液相方法：

色谱柱：poroshell 120 EC-C18 (2.1×50 mm, 2.7 μm)

流动相 A (Mobile Phase A)：0.1%甲酸的水溶液

流动相 B (Mobile Phase B)：0.1%甲酸的甲醇溶液

自动进样器清洗溶液 (Rinse Port Wash Solution)：甲醇：水：乙腈：异丙醇=1:1:1:1

柱温箱温度 (Column Temperature)：40°C

流速 (Flow Rate)：0.65 mL/min

自动进样器温度 (Sample Tray Temp)：15°C

进样体积 (Injection Volume)：8 μL

压脚提升量 (Needle Stroke)：49 mm

自动进样器清洗设置 (Rinse Pump Setting)：仅清洗进样口

自动进样器清洗模式 (Rinse Mode)：吸入前清洗

自动进样器洗针体积 (Rinse Volume)：500 μL

进样针清洗时浸泡时间 (Rinse Dip Time): 2 秒

洗脱梯度:

表 6

时间 (min)	模块 (Module)	运转 (Function)	比例 (Value) (%)
0.2	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	15
1.60	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	99
2.40	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	99
2.41	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	15
3	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	15

#### 2.5.1.4 前处理方法

样品前处理过程: 取 3  $\mu\text{L}$  工作液, 加入 57  $\mu\text{L}$  空白基质于 1.5 mL 离心管中, 加入 240  $\mu\text{L}$  含 200 ng/mL 甲苯磺丁脲和 0.1% FA 的乙腈沉淀蛋白, 涡旋混合 1 分钟, 样品于 4°C 的离心机中 13000 rpm 离心 15 分钟。取上清液 100  $\mu\text{L}$  于另一 96 深孔板中, 加入 100  $\mu\text{L}$  的含 0.1%FA 的甲醇: 水 (1: 3, v: v) 溶液, 振荡混合 1 分钟, 于 96 孔板离心机中 3500 rpm 离心 5 分钟后直接进样。

#### 2.5.2 化合物 1-6 的样品分析

##### 2.5.2.1 实验仪器:

高效液相色谱泵 (Pump): LC-30AD, Shimadzu 公司

自动进样器 (Auto sampler): SIL-30AC, Prominence, Shimadzu 公司

柱温箱 (Column Oven): CTO-30A, Shimadzu 公司

质谱仪 (Mass spectrometer): AB Sciex Qtrap 3500

高速冷冻离心机 (Centrifuge): Thermo Fisher, ST16R, GG1206085-093

分析天平 (Electronic balance): Mettler Toledo, MS-105D, GG1206363

微型涡旋仪 (Vortex): 上海沪西分析仪器厂, WH-2, GG1206487

实验材料: 大鼠血浆 (EDTA-K<sub>2</sub>)

分析物: 化合物 1-6

内标: 甲苯磺丁脲

分析方法: 液质联用法

##### 2.5.2.2 质谱条件:

## 质谱参数

离子源: Ion Electrospray (ESI)

离子化模式 (Ionization mode): 正离子模式 (Positive)

检测模式 (Mode): 多反应监测 (MRM)

电喷雾电压 (Ion Spray Voltage): 5500

离子喷雾温度 (Turbo Ion Spray Temp): 550°C

气帘气 (Curtain Gas): 35

碰撞池气体 (CAD Gas): Medium

雾化气 (Nebulizing Gas, Gas 1): 55.00

辅助气 (Auxiliary Gas, Gas 2): 55.00

检测离子对:

表 7

化合物	分子离子 (m/z)	碎片离子 (m/z)	停留时间 (msec)	去簇电压 (DP)(V)	碰撞能量 (CE)(eV)
甲苯磺丁脲 (Tolbutamide)	271.1	155.0	25	60	26
化合物 1-6	442.2	406.2	30	97	36

## 2.5.2.3 液相方法:

色谱柱: poroshell 120 EC-C18 (4.6×50 mm, 2.7µm)

流动相 A (Mobile Phase A): 0.1%甲酸的水溶液

流动相 B (Mobile Phase B): 0.1%甲酸的甲醇溶液

自动进样器清洗溶液 (Rinse Port Wash Solution): 甲醇: 乙腈: 水: 异丙醇=1:1:1:1

流速 (Flow Rate): 0.8 mL/min

自动进样器温度 (Sample Tray Temp): 15°C

进样体积 (Injection Volume): 15 µL

压脚提升量 (Needle Stroke): 49 mm

自动进样器清洗设置 (Rinse Pump Setting): 仅清洗进样口

自动进样器清洗模式 (Rinse Mode): 吸入前清洗

自动进样器洗针体积 (Rinse Volume): 500 µL

进样针清洗时浸泡时间 (Rinse Dip Time): 2 秒

洗脱梯度:

表 8

时间 (min)	模块 (Module)	运转 (Function)	比例 (Value) (%)
-------------	-------------	---------------	----------------

0.01	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	35
0.20	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	35
1.40	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	99
2.40	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	99
2.41	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	35
3.00	系统控制器 (System Controller)	停止	N/A

#### 2.5.1.4 前处理方法

样品前处理过程：取 30  $\mu\text{L}$  样品，加入 120  $\mu\text{L}$  含 0.1%FA 和 200  $\text{ng/mL}$  混标溶液的乙腈沉淀蛋白，涡旋混合均匀，样品于 4°C 的离心机中 13000  $\text{pm}$  离心 10 分钟。取上清液 100  $\mu\text{L}$  于另一 96 深孔板中，加入 100  $\mu\text{L}$  的甲醇：水 (1: 3, v: v) 溶液，振荡混合 10 分钟。

#### 2.6 数据分析

数据将使用 WinNonlin (version 5.2.1 Pharsight, Mountain View, CA) 通过非房室模型进行分析，得到 PK 参数 (根据不同给药途径选择  $C_{\text{max}}$ ,  $T_{\text{max}}$ ,  $AUC_{\text{last}}$ ,  $AUC_{\text{inf}}$ ,  $T_{1/2}$ , MRT 等参数)。具体结果见表 9，表中所列数据的分析物为化合物 1-6。

表 9

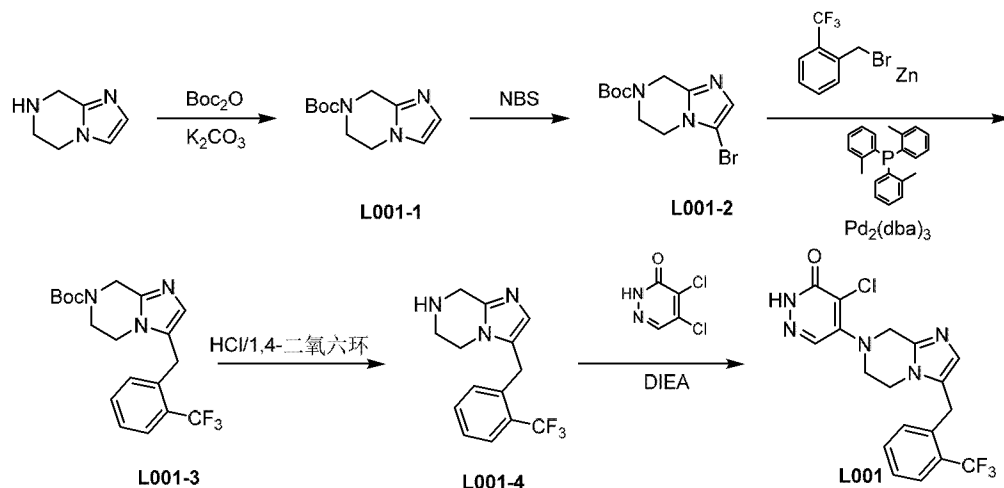
化合物及其给药剂量	动物组别	剂量 (mg/kg)	$C_{\text{max}}$ (ng/mL)	$T_{\text{max}}$ (hr)	$T_{1/2}$ (hr)	$AUC_{\text{last}}$ (ng/mL* hr)	$AUC_{\text{INF}}$ (ng/mL* hr)	$MRT_{\text{last}}$ (hr)
化合物 1 125 mg/kg	1	100*	8970	3.00	6.44	63796	71669	6.32
	2	100*	8240	1.00	9.77	70715	105256	8.81
	3	100*	11400	1.00	7.30	132990	144787	8.09
	均值	100	9537	1.67	7.30	89167	107237	7.74
化合物 1-6 100 mg/kg	4	100	1210	4.00	5.95	13471	14501	8.03
	5	100	1290	4.00	4.09	11214	11480	6.38
	6	100	1150	4.00	14.5	18235	27514	10.0
	均值	100	1217	4.00	5.02	14307	17832	8.15

100\*在此表示化合物 1 的 125mg/kg 相当于化合物 1-6 的 100mg/kg。

实验结论：本发明化合物与化合物 1-6 相比，具有更好的暴露量。

二、本发明化合物 1-6 (对应以下实施例 15 中的化合物 L015) 及其类似物的制备及其效果数据:

实施例 1 化合物 4-氯-5-(3-(2-(三氟甲基)苯基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)酮 (L001) 的制备



#### 1.1 化合物 5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L001-1) 的制备

将 5,6,7,8-四氢咪唑[1,2-a]吡嗪 (700 mg, 5.68 mmol) 和  $K_2CO_3$  (1.57 g, 11.37 mmol) 加入单口瓶中, 加入  $H_2O$  (8 mL) 和 THF (8 mL), 溶解完全后滴加  $(Boc)_2O$ , 加完后室温反应过夜。TLC (DCM/MeOH=10/1) 显示反应完全。向反应液加入 NaCl 使其饱和, EA 萃取, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得 L001-1 (1.2 g), 棕色固体。

#### 1.2 化合物 3-溴-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L001-2) 的制备

将 5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (1.2 g, 5.37 mmol) 加入单口瓶中, 加 DMF (10 mL), 溶解完全后缓慢加入 NBS (1.15 g, 6.45 mmol), 加完室温反应过夜。TLC (DCM/MeOH=10/1) 表明反应完全, 反应液制备分离 (MeCN,  $H_2O$ , 0.05% TFA) 得到 L001-2 (700 mg), 淡黄色固体。

1.3 化合物 3-(2-(三氟甲基)苯基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L001-3) 的制备

将 2-(三氟甲基)苄溴 (791.1 mg, 3.31 mmol) 和 Zn (8.27 mmol) 加入单口瓶中, 加入无水 THF (5 mL), 氮气保护下室温反应过夜, 将  $Pd_2(dba)_3$  (91.6 mg)、三(邻甲苯基)膦 (50.3 mg) 和 3-溴-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (500 mg, 1.65 mmol) 加入单口瓶中, 氮气保护下  $70^\circ C$  下反应 2 h, TLC (纯 EA) 表明反应完全, EA 萃取, 有机相用饱和食盐水洗, 浓缩, 残留物经硅胶柱层析纯化得 L001-3 (80 mg), 无色液体。

#### 1.4 化合物 3-(2-(三氟甲基)苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪 (L001-4) 的制备

将 3-(2-(三氟甲基)苄基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (60 mg, 157.3  $\mu mol$ ) 溶于 DCM (2 mL) 中, 溶解完全后边搅拌边加入 HCl 的 1,4-二氧六环溶液 (2 mL, 4 M), 加完室温反应 3 h。TLC (纯 EA 加 1 滴氨水) 表明反应完全。浓缩得 L001-4 (45 mg) 白色固体。

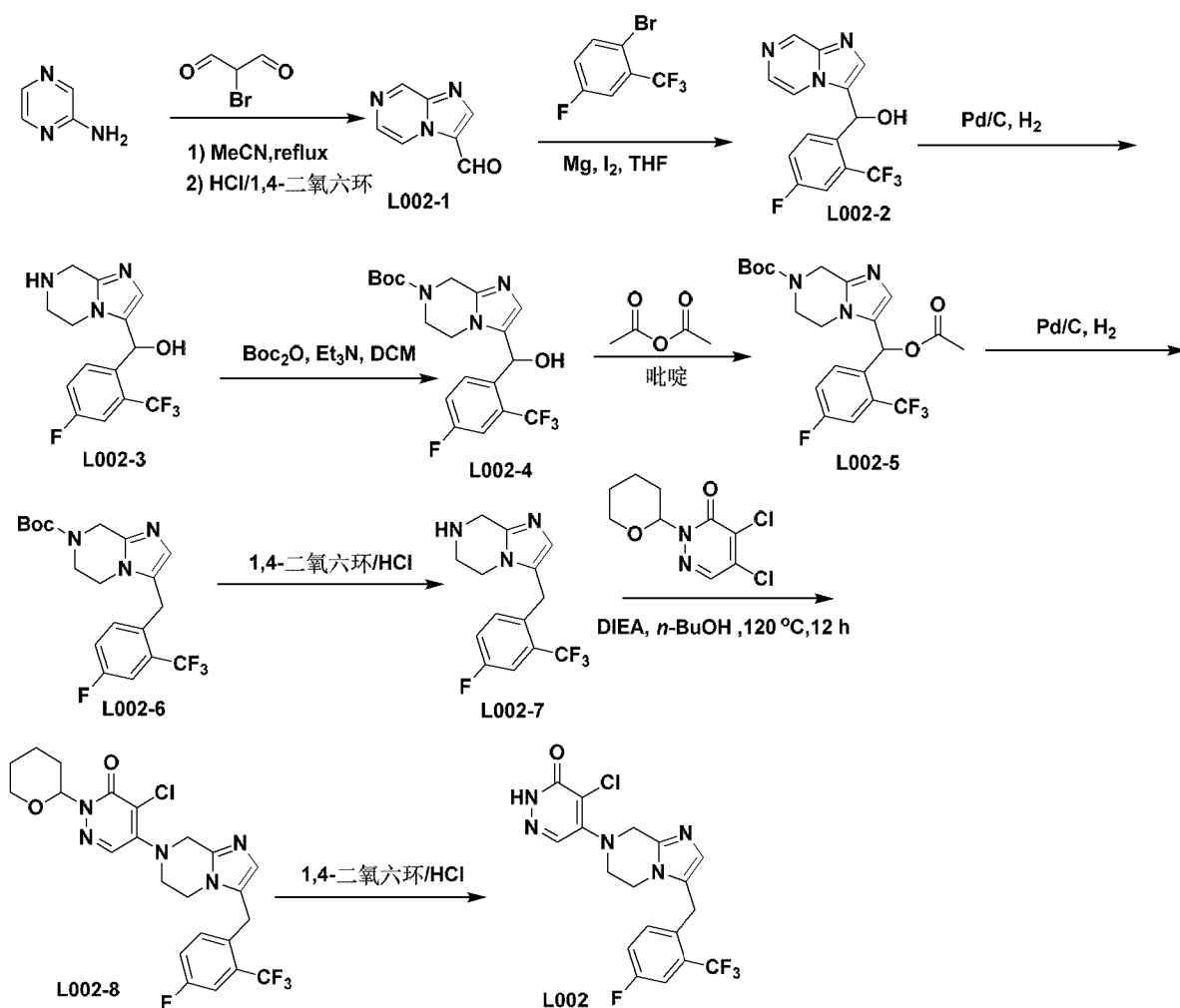
1.5 化合物 4-氯-5-(3-(2-(三氟甲基)苯基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-

### 3 (2H)-酮的制备

将 3-(2-(三氟甲基)苄基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪(43 mg, 152.9  $\mu\text{mol}$ )加入单口瓶中, 加入 4,5-二氯吡嗪-3(2H)-酮(211.1mg, 1.28 mmol)、DIEA (59.2 mg, 458.6  $\mu\text{mol}$ )和 DMF (2 mL), 氮气保护下 100 $^{\circ}\text{C}$ 反应过夜。TLC (DCM/MeOH=10/1) 显示反应完全。粗品经制备 HPLC ( $\text{H}_2\text{O}$ , MeCN, 0.05% TFA) 制备分离, 冻干后得到 L001 黄色固体 (6.1 mg, 纯度 97.71%)。

LC-MS:  $[\text{M}+\text{H}]^+=410.05$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.08 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.80 (d,  $J=7.9$  Hz, 1H), 7.65 (t,  $J=7.7$  Hz, 1H), 7.53 (t,  $J=7.6$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J=7.6$  Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.24 (s, 2H), 4.12 (d,  $J=4.9$  Hz, 2H), 3.93 (d,  $J=5.0$  Hz, 2H)。

实施例 2 化合物 4-氯-5-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苄基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)吡嗪-3(2H)-酮 (L002) 制备过程



#### 2.1 化合物咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-甲醛 (L002-1) 的制备

将氨基吡嗪 (10.0 g, 0.11 mol) 溶于无水乙醇 (100 mL) 中, 加入 2-溴丙二醛 (15.8 g, 0.11 mmol), 混合物在 90 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌 2 h。反应结束后, 冷却至室温, 旋干溶剂得到黑色粘稠状物体, 加入 30mL 氯

化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4 mol/L), 25℃下搅拌 12 h, 反应结束后, 加入 50 mL 水, 用碳酸钠溶液调节 pH 值约为 8, 乙酸乙酯 (50mL\*4) 萃取, 饱和食盐水(30mL\*2)洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 旋干溶剂后粗产品用乙酸乙酯重结晶三次后, 得到黄色固体 3.5 g, 收率 22%。LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=148.0。

## 2.2 化合物(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)(咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-基)甲醇 (L002-2) 的制备

将 2-溴-5-氟三氟甲苯 (7.47 g, 30.6mmol) 溶于四氢呋喃 (50mL), 并取出 2mL 溶液滴加到氮气保护下含有镁屑 (1.47 g, 61.2mmol) 和碘 (50 mg, 2 mmol) 的四氢呋喃 (20 mL) 溶液中, 用吹风机加热至溶液澄清透明后, 将剩余 2-溴-5-氟三氟甲苯的四氢呋喃溶液逐滴加入到反应体系。将混合物在 70℃下搅拌 1h, 冷却至室温后。在-70℃氮气保护下, 将混合物滴加到咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-甲醛 (3.00 g, 20.4mmol) 的四氢呋喃溶液中。将混合体系在-70℃下搅拌 2 小时。反应结束后, 加入氯化铵溶液 (50mL), 乙酸乙酯 (50mL\*3) 萃取, 饱和食盐水(30mL\*2)洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩后, 粗品经硅胶柱层析分离(DCM/MeOH=100/1), 得到黄色固体 3.20 g, 收率 41%。LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=312.07。

## 2.3 化合物(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)(5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-基)甲醇 (L002-3) 的制备

将(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)(咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-基)甲醇 (1.10 g, 3.50 mmol) 溶于四氢呋喃 (25 mL) 中。加入湿 Pd/C (10%, 400 mg), 在氢气气氛下室温搅拌 12h。反应结束后, 过滤, 滤液旋干溶剂得到白色固体 1.00 g, 收率 90%, LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=316.2。

## 2.4 化合物 3-((4-氟-2-(三氟甲基)苯基)(羟基)甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L002-4) 的制备

将(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)(5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-基)甲醇 (1.00g, 3.16mmol) 溶于四氢呋喃 (10 mL) /水 (5 mL) 中, 加入碳酸钠 (1.00g, 9.48mmol), 二碳酸二叔丁酯 (0.83g, 3.79mmol), 在 25℃下搅拌 2h。反应结束后, 加入水 (50mL), 乙酸乙酯 (20mL\*3) 萃取, 饱和食盐水(20mL\*2)洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 旋干溶剂得到黄色固体 1.00g, 收率 71%。LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=416.4。

## 2.5 化合物 3-(乙酰氧基(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L002-5) 的制备

将 3-((4-氟-2-(三氟甲基)苯基)(羟基)甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (1.00 g, 2.40mmol) 溶于吡啶 (10mL) 中, 并加入乙酸酐 (300mg, 2.89mmol), 在 25℃下搅拌 2 小时。反应结束后, 旋干溶剂, 得到浅黄色油状物体 1.10g (90%产物), LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=457.9。

## 2.6 化合物 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L002-6) 的制备

将 3-(乙酰氧基(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (1.10g, 2.40mmol) 溶于四氢呋喃 (10 mL) 中, 并加入湿钯/碳 (10%, 100 mg)。通入氢气, 25℃下搅拌 2 小时。反应结束后, 过滤钯/碳, 旋干溶剂得到白色固体 800mg, 收率 85%。

LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=400.1。

## 2.7 化合物 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪 (L002-7) 的制备

将 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (500mg, 1.25mmol) 溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4mol/L, 5mL) 溶液, 将混合物在 25°C 下搅拌 2 小时。反应结束后, 旋干溶剂, 得到浅黄色物体 450mg, 粗品。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=300.1。

### 2.8 化合物 4-氯-5-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L002-8) 的制备

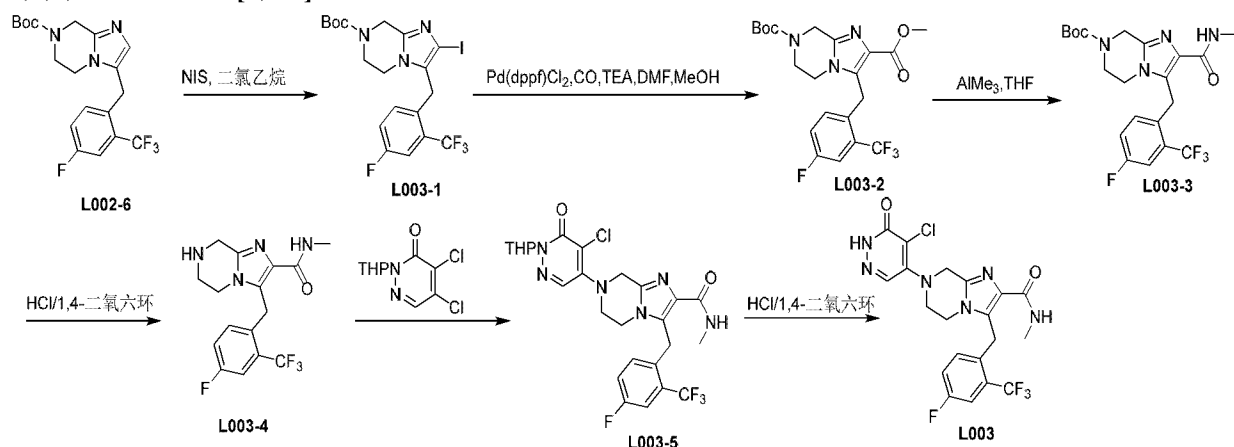
将 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪盐酸盐 (336mg, 1.0mmol) 溶于正丁醇 (1.5mL) 中, 并加入 4,5-二氯-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (374mg, 1.5mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (388 mg, 3.0mmol), 氮气保护下, 将混合物在 120°C 下搅拌 3 小时。反应结束后, 旋干正丁醇溶剂, 粗品经硅胶柱层析分离(DCM/MeOH=30/1), 得到黄色固体 200mg。收率为 71%, LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=512.1。

### 2.9 化合物 4-氯-5-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L002) 的制备

将 4-氯-5-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (200mg, 0.39mmol) 溶于氯化氢的 1,4-二氧六环 (2mL, 4mol/L) 溶液中, 25°C 下搅拌 1 小时。反应结束后, 旋干溶剂, 残留物溶于二氯甲烷 (40mL), 饱和碳酸氢钠溶液 (20mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 粗品制备色谱纯化得到白色固体 94.0mg, 收率 57%。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=427.9。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.13 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.73 (dd, *J* = 9.3, 2.7 Hz, 1H), 7.57 (td, *J* = 8.5, 2.7 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 8.6, 5.5 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.23 (s, 2H), 4.17 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H), 3.96 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H)。

### 实施例 3 化合物 7-(5-氯-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-4-基)-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-N-甲基-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-甲酰胺 (L003) 的制备



### 3.1 化合物 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-2-碘-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L003-1) 的制备

将 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L002-6, 0.50 g,

1.25 mmol) 溶于二氯乙烷 (6 mL) 中, 加入 N-碘代琥珀酰亚胺 (0.42 g, 1.87mmol)。氮气保护下, 将反应液在 90°C 下搅拌 1 小时。反应结束后, 冷却至室温, 加入硫代硫酸钠水溶液 (10mL) 搅拌五分钟后, 二氯甲烷 (10 mL\*3) 萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩后, 粗品经硅胶柱层析分离(二氯甲烷/甲醇=100/1), 得到黄色油状物体 200 mg, 收率 27%。LC-MS  $[M+H]^+=525.8$ 。

### 3.2 化合物 7-(叔丁氧羰基)-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2,7(8H)-2-羧酸甲酯 (L003-2) 的制备

将 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-2-碘-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (170mg, 0.32 mmol), 1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁二氯化钡 (24mg, 0.032mmol) 和三乙胺 (162 mg, 1.6 mmol) 溶于甲醇/N,N-二甲基甲酰胺 (3 mL/3 mL) 中, 氮气置换后, 通入一氧化碳气体, 70°C 下搅拌 16 小时。将反应液过滤, 滤液旋干。粗品经硅胶柱纯化 (二氯甲烷/甲醇=40/1), 得到黄色固体产品 126mg, 收率 85%。LC-MS  $[M+H]^+=458$ 。

### 3.3 化合物 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-2-(甲基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L003-3) 的制备

0°C 下将甲胺 (2 M 的 THF 溶液, 0.75 mL, 1.5 mmol) 加入到三甲基铝 (2 M 的己烷溶液, 0.75 mL, 1.5 mmol) 中, 反应 0.25 小时, 然后将 7-(叔丁氧羰基)-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2,7(8H)-2-羧酸甲酯 (126 mg, 0.28 mmol) 加到上述反应液中, 加毕, 升至 25°C, 搅拌 10 小时。加入盐酸 (1N) 淬灭, 旋干, 粗品经硅胶柱纯化 (二氯甲烷/甲醇=30/1), 得到黄色固体产品 80 mg, 收率 63%。

LC-MS  $[M+H]^+=457$ 。

### 3.4 化合物 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-N-甲基-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-甲酰胺盐酸盐 (L003-4) 的制备

将 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-2-(甲基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (80 mg, 0.175 mmol) 溶于二氯甲烷 (3 mL), 加入氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (3mL, 4M), 室温搅拌 1h。反应液减压浓缩, 得到黄色固体 70mg。LC-MS  $[M+H]^+=357$ 。

### 3.5 化合物 7-(5-氯-6-氧代-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1,6-二氢哒嗪-4-基)-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-N-甲基-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-甲酰胺 (L003-5) 的制备

将 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-N-甲基-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-甲酰胺盐酸盐 (70 mg, 0.175 mmol), 4,5-二氯-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (50 mg, 0.192 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (68 mg, 0.525 mmol) 溶于正丁醇 (1 mL) 中, 反应液在 120°C 下搅拌 4 小时, 反应完毕, 旋干, 粗品经硅胶薄层制备板纯化 (流动相为乙酸乙酯), 得到白色固体 60mg, 收率 59%。LC-MS  $[M+H]^+=569$ 。

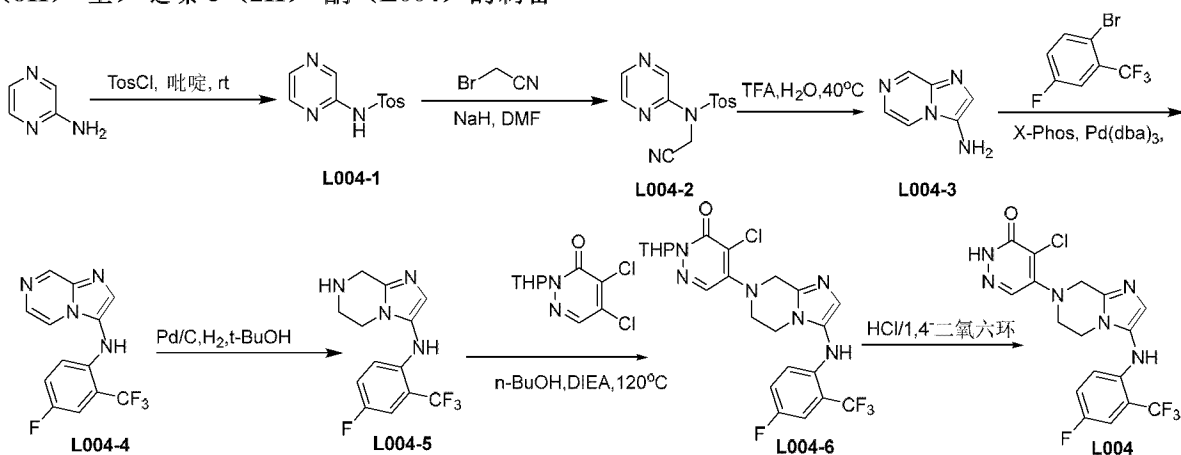
### 3.6 化合物 7-(5-氯-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-4-基)-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-N-甲基-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-甲酰胺 (L003) 的制备

将 7-(5-氯-6-氧代-1-(四氢-2H-吡喃-2-基)-1,6-二氢哒嗪-4-基)-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-N-甲基

-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-2-甲酰胺 (60 mg, 0.11 mmol) 溶于二氯甲烷 (2 mL), 加入氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (2mL, 4M), 室温搅拌 1h。将反应液旋干, 粗品重新溶于甲醇/二氯甲烷溶液 (10 mL, 1/15), 加固体碳酸氢钠, 搅拌 5 分钟, 过滤, 滤液减压浓缩, 粗品经制备板纯化 (甲醇/二氯甲烷=1/20), 得到白色固体 30mg, 收率 59%。

LC-MS  $[M+H]^+=485$ 。 $^1H$  NMR (400 MHz, MeOD):  $\delta$  7.94 (s, 1H), 7.51 (dd,  $J=9.1, 2.8$  Hz, 1H), 7.25 (t,  $J=8.5$  Hz, 1H), 6.96 (dd,  $J=8.6, 5.2$  Hz, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.67 (s, 2H), 3.87 (d,  $J=5.0$  Hz, 2H), 3.83 (d,  $J=5.0$  Hz, 2H), 2.87 (s, 3H)。

#### 实施例 4 化合物 4-氯-5-(3-((4-氟-2-(三氟甲基)苯基)氨基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L004) 的制备



##### 4.1 化合物 4-甲基-N-(吡嗪-2-基)苯磺酰胺 (L004-1) 的制备

室温下, 将吡嗪-2-胺 (6.4g, 67.30mmol) 加入吡啶 (100ml) 中, 加入对甲苯磺酰氯 (15.4g, 8.07mmol), 室温搅拌 18h。减压浓缩, 用甲醇 (30mL) 洗涤, 过滤, 得到 6.80g 灰色固体 4-甲基-N-(吡嗪-2-基) 苯磺酰胺, 收率 36%。LC-MS  $[M+H]^+=249.9$ 。

##### 4.2 化合物 N-(氰甲基)-4-甲基-N-(吡嗪-2-基) 苯磺酰胺 (L004-2) 的制备

将 4-甲基-N-(吡嗪-2-基) 苯磺酰胺 (6.8 g, 27.20 mmol) 加到 DMF (30 mL) 中, 加入氢化钠 (1.6 g, 40.80 mmol, 60%), 在室温下搅拌 30 分钟, 然后添加溴乙腈 (4.9g, 40.80 mmol) 继续搅拌 30 分钟后加热到 60°C, 反应 3h。待恢复到室温, 继续搅拌 14 小时。将反应液倒入到饱和氯化铵 (200mL), 用乙酸乙酯 (3\*50mL) 萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩。粗品经硅胶柱层析纯化 (乙酸乙酯), 得到棕色固体 N-(氰甲基)-4-甲基-N-(吡嗪-2-基) 苯磺酰胺 (3.5g, 收率 45%)。LC-MS  $[M+H]^+=288.9$ 。

##### 4.3 化合物咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-胺 (L004-3) 的制备

将 N-(氰甲基)-4-甲基-N-(吡嗪-2-基) 苯磺酰胺 (1.8g, 6.20 mmol) 加入到三氟乙酸 (9.0 mL) 和水 (1.0mL) 的混合溶剂中, 加热到 40°C, 反应 2.5 小时。减压浓缩, 将浓缩后的固体加入到饱和醋酸钠 (40 mL), 搅拌 1 小时, 乙酸乙酯 (30mL\*6) 萃取, 合并有机相, 减压旋干, 粗品经硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷: 甲醇=10: 1), 得到 0.5g 黄色固体咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-胺, 收率 60%。LC-MS  $[M+H]^+=315.1$ 。

#### 4.4 化合物 N-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-胺 (L004-4) 的制备

将咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-胺(400mg, 2.98mmol), 1-溴-4-氟-2-(三氟甲基)苯(1.45g, 5.96mmol), 2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(142mg, 0.30mmol)和 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.94g, 5.96mmol)加入到 1,4-二氧六环(20mL)中, 氮气保护下, 加入三(二亚苄基丙酮)二钯(273mg, 0.30mmol), 加热至 120°C, 搅拌 15 小时。降至室温, 加入 30 mL 水淬灭, 乙酸乙酯(20mL\*3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤(20mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 粗品经硅胶柱层析(乙酸乙酯)纯化, 得到 250mg 棕色固体 N-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-胺, 收率 23%。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>= 296.9。

#### 4.5 化合物 N-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-胺 (L004-5) 的制备

将 N-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-胺(150mg, 0.50mmol)溶于 *t*-BuOH(40 mL)中, 加入 Pd/C(10%, 50 mg), 在氢气氛围下搅拌 72h, 过滤, 浓缩滤液, 得到 150 mg 棕色固体 N-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-胺, 粗品。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>= 300.9

#### 4.6 化合物 4-氯-5-(3-((4-氟-2-(三氟甲基)苯基)氨基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L004-6) 的制备

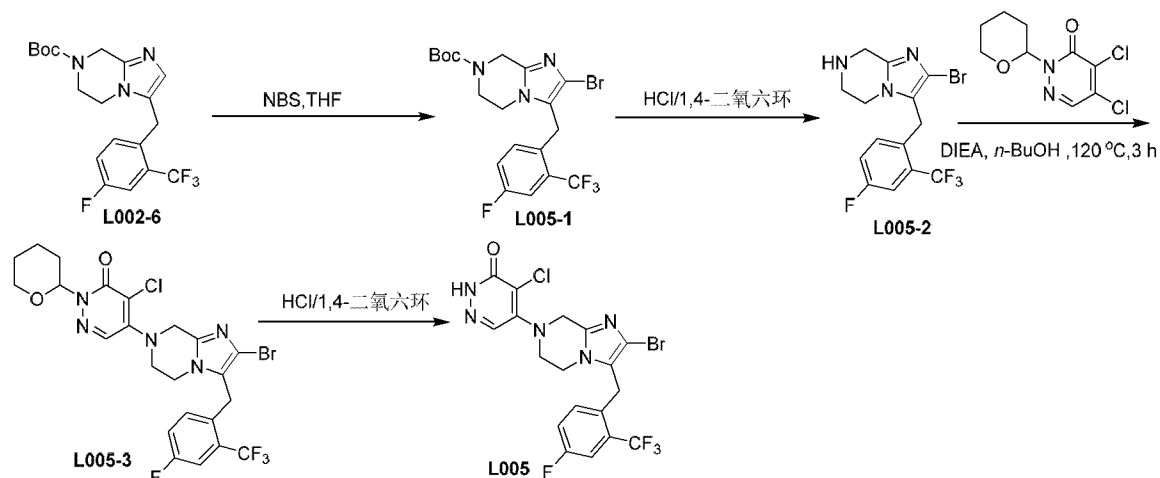
将 N-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-胺(140 mg, 0.46 mmol)和 4,5-二氯-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮(172 mg, 0.68 mmol)溶解在 *n*-BuOH(0.7 mL)中, 加入 DIEA(178 mg, 1.40 mmol), 加热至 120°C, 反应 3h。冷却到室温, 减压浓缩, 残留物通过硅胶薄层制备板纯化(乙酸乙酯), 得到 50mg 棕色固体 4-氯-5-(3-((4-氟-2-(三氟甲基)苯基)氨基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮, 收率 21%。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=512.8。

#### 4.7 化合物 4-氯-5-(3-((4-氟-2-(三氟甲基)苯基)氨基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L004) 的制备

在室温下, 将 4-氯-5-(3-((4-氟-2-(三氟甲基)苯基)氨基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮(50mg, 0.06mmol)加入到 DCM(3mL), 加入 HCl 的 1,4-二氧六环溶液(4M, 1N), 搅拌 3h。减压浓缩, 残留物溶于二氯甲烷(30mL), 用饱和碳酸氢钠(10mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩。粗品经制备色谱纯化, 得到 12.5mg 白色固体 4-氯-5-(3-((4-氟-2-(三氟甲基)苯基)氨基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮, 收率 47%。

LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=428.8。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 13.04 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.42 (dd, J = 8.9, 2.8 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 6.83 (s, 1H), 6.60 (dd, J = 9.1, 4.6 Hz, 1H), 4.65 (s, 2H), 3.78 (d, J = 5.4 Hz, 4H)。

#### 实施例 5 化合物 5-(2-溴-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-4-氯哒嗪-3(2H)-酮 (L005) 的制备



### 5.1 化合物 2-溴-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L005-1) 的制备

将 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (L002-6) (800mg, 1.92mmol) 溶于四氢呋喃(10mL)中, 氮气保护, 在-70℃分批加入 N-溴琥珀酰亚胺(513mg, 2.88mmol), 将混合物在-70℃下搅拌 1 小时。反应结束后, 加入水 (20mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (20mL\*4) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水(10mL\*2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩。粗品经硅胶柱层析分离(DCM/EA=8/1), 得到黄色固体 300mg。收率为 32%, LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=478.5。

### 5.2 化合物 2-溴-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪 (L005-2) 盐酸盐的制备

将 2-溴-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-羧酸叔丁酯 (300mg, 0.63mmol) 溶于 HCl 的 1,4-二氧六环溶液 (3mL, 4mol/L), 25℃下搅拌 2 小时。反应结束后, 减压浓缩, 得到浅黄色固体粗产品 260mg, 粗品。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=377.8。

### 5.3 化合物 5-(2-溴-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-4-氯-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L005-3) 的制备

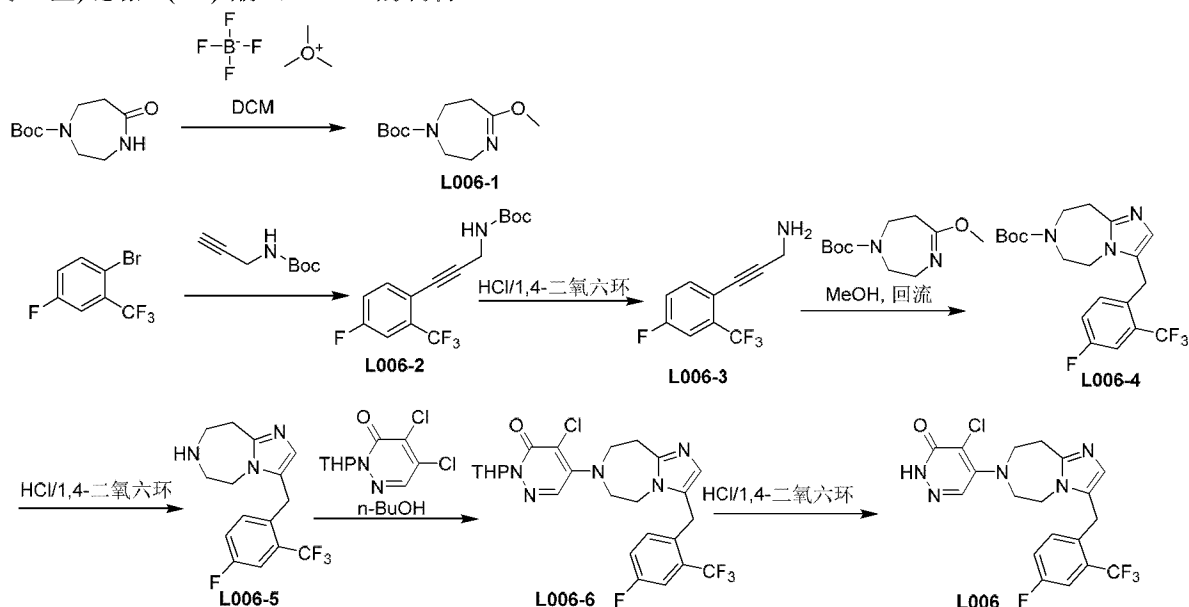
将 2-溴-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪盐酸盐 (207mg, 0.50mmol) 溶于正丁醇 (1mL) 中, 并加入 4,5-二氯-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (187mg, 0.70mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (256 mg, 2.00mmol), 氮气保护, 120℃下搅拌 3 小时。反应结束后, 减压浓缩。粗品经硅胶柱层析分离(DCM/MeOH=30/1), 得到黄色固体 200mg, 收率为 67%, LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=590.4。

### 5.4 化合物 5-(2-溴-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-4-氯哒嗪-3(2H)-酮 (L005) 的制备

将 5-(2-溴-3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)-4-氯-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (150mg, 0.25mmol) 溶于 HCl 的 1,4-二氧六环溶液 (2mL, 4mol/L), 25℃下搅拌 1 小时。减压浓缩后, 加入饱和碳酸氢钠溶液 (25mL), 乙酸乙酯 (20mL\*3) 萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩。粗品经乙酸乙酯重结晶 2 次, 得到白色固体 33.8mg, 收率 25%。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=505.7。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  13.05 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.68 (dd,  $J=9.2, 2.7$  Hz, 1H), 7.48 (td,  $J=8.4, 2.6$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J=8.7, 5.5$  Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 4.10 (s, 2H), 3.86–3.77 (m, 4H)。

实施例6 化合物 4-氯-5-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)丙-2-炔-1-基)氨基甲酸叔丁酯 (L006-1) 的制备



### 6.1 化合物 5-甲氧基-2,3,6,7-四氢-1H-1,4-二氮杂卓-1-羧酸叔丁酯 (L006-1) 的制备

将 1-Boc-1,4-二氮杂-5-环庚酮 (500 mg, 2.32 mmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL), 在  $0^\circ\text{C}$  下加入三氟甲氧基硼酸 (377 mg, 2.552 mmol), 在氮气氛围下, 将反应液在  $25^\circ\text{C}$  下搅拌 14 h。反应结束后, 加入饱和碳酸氢钠溶液 (15 mL), 乙酸乙酯 (20 mL $\times$ 2) 萃取, 合并有机相, 用水 (20 mL $\times$ 2) 洗涤有机相, 用无水硫酸钠干燥, 有机相过滤, 滤液浓缩后, 得到粗产品 400 mg, 收率 67.6%, 无需纯化, 直接用于下一步反应。

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.60 (s, 3H), 3.53-3.49 (m, 6H), 2.57 - 2.56 (m, 2H), 1.46 (s, 9H)。

### 6.2 化合物(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)丙-2-炔-1-基)氨基甲酸叔丁酯 (L006-2) 的制备

将 2-溴-5-氟三氟甲苯 (2.00 g, 8.2 mmol) 溶于 1,4-二氧六环 (20 mL), 加入 N-Boc-氨基丙炔 (4.66 g, 32.8 mmol)、碘化亚铜 (15 mg, 0.082 mmol)、二异丙胺 (960 mg, 9.51 mmol)、双(三苯基膦)氯化钯 (230 mg, 0.33 mmol) 和 10% 的三叔丁基膦的正己烷溶液 (960 mg, 0.48 mmol)。在氮气氛围下, 在  $45^\circ\text{C}$  下搅拌 15 h。反应结束后, 旋干溶剂, 粗品经硅胶柱层析分离 (PE/EA=10/1), 得到浅黄色固体 1.2 g, 含杂质 N-Boc-氨基丙炔 (可在下一步除去), 纯度约 30%, 收率 14.6%。LC-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+=261.9$ 。

### 6.3 化合物 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)丙-2-炔-1-胺 (L006-3) 的制备

将(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)丙-2-炔-1-基)氨基甲酸叔丁酯 (1.2 g, 1.1 mmol) 溶于二氯甲烷 (8 mL) 中, 在  $0^\circ\text{C}$  下加入 HCl 的 1,4-二氧六环溶液 (4M, 4.5 mL), 在氮气保护下,  $25^\circ\text{C}$  下搅拌 15 h。反应结束后, 旋干溶剂, 得到粗产品, 向粗产品中加入饱和碳酸氢钠溶液 (10 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 2) 萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 有机相过滤, 滤液浓缩后, 得到浅黄色液体 0.2 g, 收率 72.7%。LC-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+=218.0$ 。

#### 6.4 化合物 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6,8,9-四氢-7H-咪唑并[1,2-d][1,4]二氮杂卓-7-羧酸叔丁酯 (L006-4) 的制备

将 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)丙-2-炔-1-胺 (200mg, 0.92mmol) 溶于无水甲醇 (4mL), 加入 5-甲氧基-2,3,6,7-四氢-1H-1,4-二氮杂卓-1-羧酸叔丁酯 (316mg, 1.38mmol), 在氮气保护下, 将反应液在 66°C 下搅拌 5 h。反应结束后, 旋干溶剂, 粗品经硅胶柱层析分离 (DCM/MeOH=50/1), 得到浅黄色油状物 200 mg, 收率 44.5%。LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=414.0。

#### 6.5 化合物 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-6,7,8,9-四氢-5H-咪唑并[1,2-d][1,4]二氮杂卓 (L006-5) 的制备

将 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6,8,9-四氢-7H-咪唑并[1,2-d][1,4]二氮杂卓-7-羧酸叔丁酯 (200 mg, 0.48mmol) 溶于 DCM (3 mL), 在 0°C 下加入 HCl 的 1,4-二氧六环溶液 (4M, 2 mL), 在氮气保护下, 将混合物在 25°C 下搅拌 15 h。减压浓缩, 所得 200mg 粗品无需纯化, 直接用于下一步反应。

LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=314.0。

#### 6.6 化合物 4-氯-5-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6,8,9-四氢-7H-咪唑并[1,2-d][1,4]重氮基庚英-7-基)-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L006-6) 的制备

将粗品 3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-6,7,8,9-四氢-5H-咪唑并[1,2-d][1,4]二氮杂卓 (200mg, 0.48 mmol) 溶于正丁醇 (0.8 mL) 加入 4,5-二氯-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (142 mg, 0.57 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (186 mg, 1.44 mmol)。在氮气保护下, 将反应液在 120°C 下搅拌 6 h。反应结束后, 旋干溶剂, 粗品经制备 TLC 分离 (DCM/MeOH=20/1), 得到黄色油状物 75 mg, 收率 31.8%。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=525.8。

#### 6.7 化合物 4-氯-5-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6,8,9-四氢-7H-咪唑并[1,2-d][1,4]重氮基庚英-7-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L006) 的制备

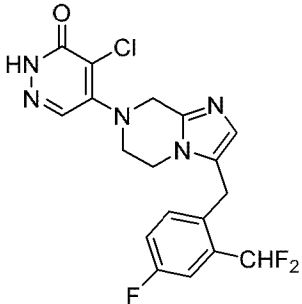
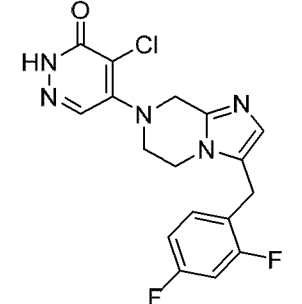
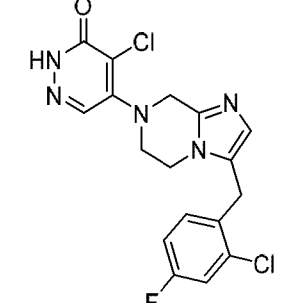
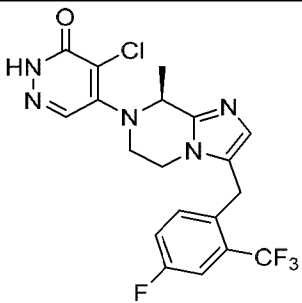
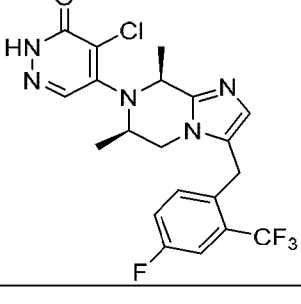
将 4-氯-5-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6,8,9-四氢-7H-咪唑并[1,2-d][1,4]重氮基庚英-7-基)-2-(四氢-2H-吡喃-2-基)哒嗪-3(2H)-酮 (75 mg, 0.15 mmol) 溶于二氯甲烷 (2mL), 在 0°C 下加入 HCl 的 1,4-二氧六环溶液 (4M, 1 mL), 在氮气保护下, 将混合物在 25°C 下搅拌 4 h。旋干溶剂, 用少量二氯甲烷和甲醇溶解粗品, 加入碳酸氢钠固体中和, 过滤, 滤液减压浓缩, 粗品经制备 TLC 分离 (DCM/MeOH=15/1), 得到浅黄色固体 25.5 mg, 收率 37.9%。LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=441.9。

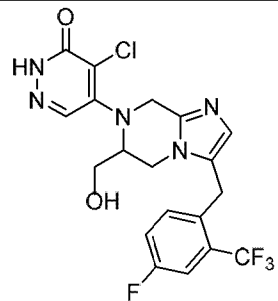
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.89 (s, 1H), 7.52 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 7.36 - 7.31 (m, 1H), 7.21 (dd, *J* = 8.8, 5.2 Hz, 1H), 6.53 (s, 1H), 4.16- 4.13 (m, 4H), 3.70- 3.65 (m, 4H), 3.28- 3.25 (m, 2H)。

#### 实施例 7~12

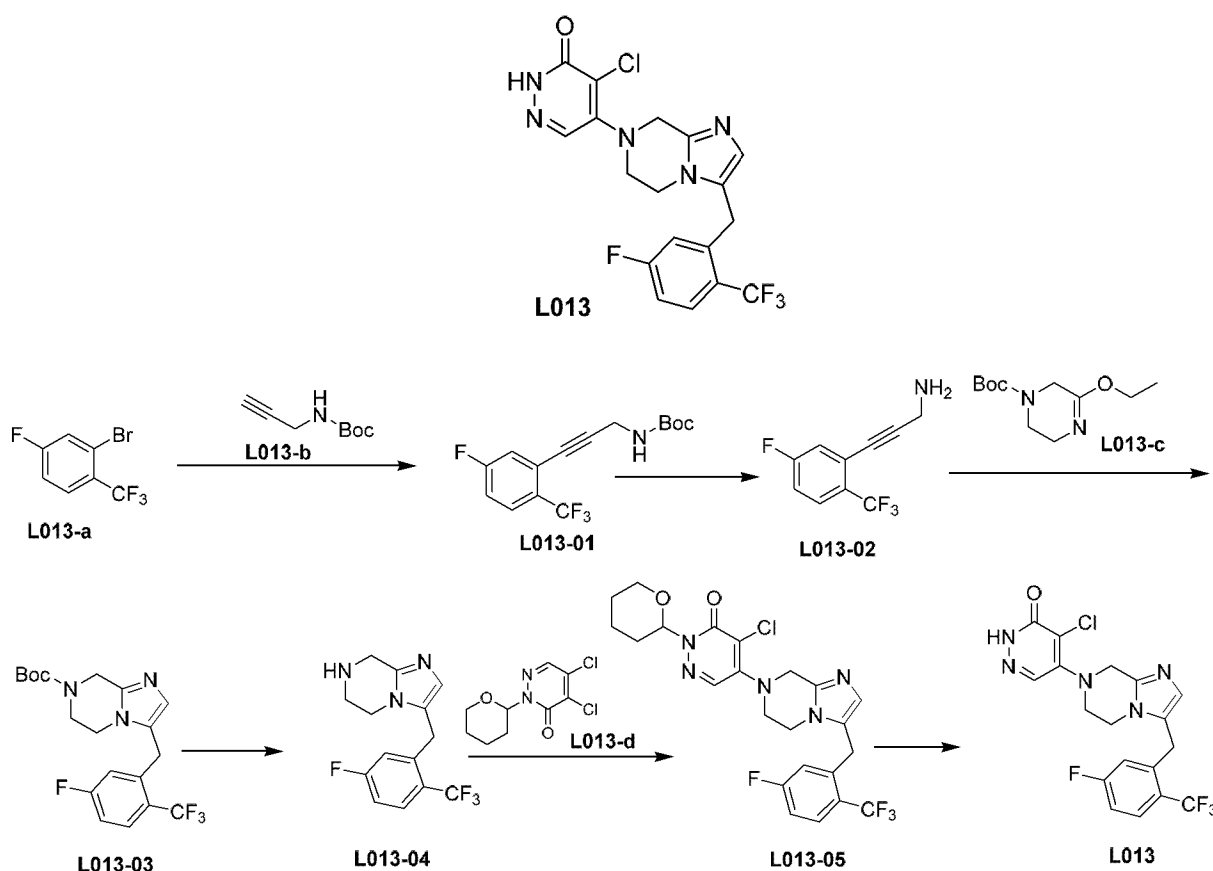
参照实施例 6 的制备方法, 制备下述化合物:

实施例编号	化合物编号	结构式	LC-MS
-------	-------	-----	-------

7	L007		410.1
8	L008		378.1
9	L009		394.2
10	L010		442.1
11	L011		456.2

12	L012		458.1
----	------	--	-------

实施例 13 化合物 4-氯-5-(3-(5-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮(L013)的制备



### 13.1 化合物 L013-01 的制备

将化合物 L013-a (2.5 g, 10.2 mmol)溶于 1,4-二氧六环(25 mL)中,加入化合物 L013-b(4.66 g, 32.8 mmol),二(三苯基膦)二氯化钯(230 mg, 0.328 mmol),碘化亚铜(15.6 mg, 0.082 mmol),三乙胺(962 mg, 9.512 mmol)和三叔丁基膦(10%, 1.20 g, 0.05 mmol)。将混合物在氮气保护下,45 °C下搅拌 12 小时,反应结束后,加入水(20 mL),乙酸乙酯(20 mL\*3)萃取,饱和食盐水(10 mL\*2)洗涤有机相,无水硫酸钠干燥,粗品经硅胶柱层析分离(石油醚/乙酸乙酯=10/1),得到 1.90 g 化合物 L013-01。LC-MS [M -55]<sup>+</sup> = 262.1。

### 13.2 化合物 L013-02 的制备

将化合物 L013-01 (1.90 g, 6.2 mmol)溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液中(10 mL, 4 mol/L)。将混

合物在 25 °C 下搅拌 1 小时。反应结束后，用碳酸钠水溶液(20 mL)调节 pH 约为 8，乙酸乙酯(20 mL\*3)萃取，饱和食盐水(10 mL\*2)洗涤有机相，无水硫酸钠干燥，浓缩，得到 450 mg 化合物 **L013-02**。LC-MS  $[M+H]^+ = 218.0$ 。

### 13.3 化合物 **L013-03** 的制备

将化合物 **L013-02** (450 mg, 2.06 mmol)溶于无水甲醇(4.5 mL)中，加入 **L013-c**(567 mg, 2.48 mmol)，将混合物氮气保护下，70 °C 搅拌 2 小时。反应结束后，浓缩，粗品经硅胶柱层析分离(二氯甲烷/甲醇=100/1)，得到 160 mg 化合物 **L013-03**。LC-MS  $[M+H]^+ = 399.8$ 。

### 13.4 化合物 **L013-04** 的制备

将化合物 **L013-03**(160 mg, 0.324 mmol)溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液(4 mol/L, 2 mL)。将混合物在 25 °C 下搅拌 1 h，反应结束后，用碳酸钠水溶液(10 mL)调节 pH 约为 8，乙酸乙酯(20 mL\*3)萃取，饱和食盐水(10 mL\*2)洗涤有机相，无水硫酸钠干燥，浓缩，得到化合物 **L013-04** 100 mg。LC-MS  $[M+H]^+ = 299.7$ 。

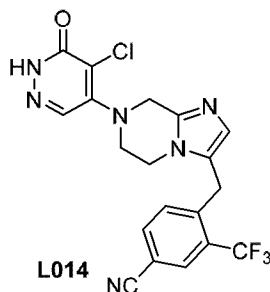
### 13.5 化合物 **L013-05** 的制备

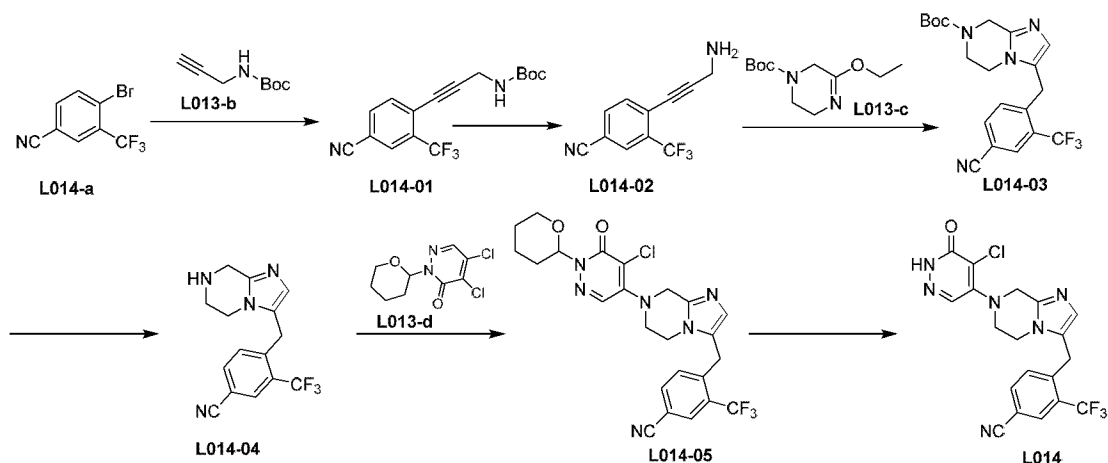
将化合物 **L013-04**(100mg, 0.33mmol)溶于正丁醇(0.5 mL)中，加入 N, N-二异丙基乙胺(129 mg, 0.1 mmol)和化合物 **L013-d** (100mg, 0.40 mmol)。将混合物在氮气保护下，120 °C 下搅拌 3 小时。反应结束后，浓缩，粗品经硅胶柱层析分离(二氯甲烷/甲醇 = 30/1)，得到 60 mg 的化合物 **L013-05**。LC-MS  $[M+H]^+ = 512.1$ 。

### 13.6 化合物 4-氯-5-(3-(5-氟-2-(三氟甲基)苯基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮(**L013**)的制备

将化合物 **L013-05** (40 mg, 0.078mmol)溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液(4 mmol/L, 1 mL)中。将混合物在 25 °C 下搅拌 1 小时。反应结束后，旋干溶剂，粗产品通过高效液相色谱法制备纯化(乙腈-水(0.1%甲酸))得到 15.8 mg 的化合物 **L013**。LC-MS  $[M+H]^+ = 427.7$ 。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.95 (s, 1H), 7.85 (dd, *J* = 8.8, 5.6 Hz, 1H), 7.34 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.05 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 4.64 (s, 2H), 4.12 (s, 2H), 3.91 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H), 3.83 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H)。

实施例 14 化合物 4-((7-(5-氯-6-羰基-1,6-二氢哒嗪-4-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯甲腈(**L014**)的制备





#### 14.1 化合物 L014-01 的制备

将化合物 L014-a (3.0 g, 12.0 mmol) 溶于 1,4-二氧六环 (30 mL) 中, 加入化合物 L013-b (6.82 g, 48 mmol), 二(三苯基膦)二氯化钯 (340 mg, 0.04 mmol)、碘化亚铜 (20 mg, 0.01 mmol)、三乙胺 (1.41 g, 13.9 mmol) 和三叔丁基膦 (10%) (1.40 g, 0.06 mmol)。将混合物在氮气保护下, 45 °C 下搅拌 12 小时, 反应结束后, 加入水 (20 mL), 乙酸乙酯 (20 mL\*3) 萃取, 饱和食盐水(10 mL\*2)洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 粗品经硅胶柱层析分离(石油醚/乙酸乙酯=10: 1), 得到 4.0 g 的化合物 L014-01。

LC-MS [M -55]<sup>+</sup> = 269。

#### 14.2 化合物 L014-02 的制备

将化合物 L014-01 (1.90 g, 6.2 mmol) 溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液中 (20 mL, 4 mol/L)。将混合物在 25 °C 下搅拌 1 小时。反应结束后, 用碳酸钠水溶液 (20 mL) 调节 pH 约为 8, 乙酸乙酯 (20 mL\*3) 萃取, 饱和食盐水(10 mL\*2)洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得 1.0 g 的化合物 L014-02。LC-MS [M +H]<sup>+</sup> = 225.0。

#### 14.3 化合物 L014-03 的制备

将化合物 L014-02 (1.0 g, 4.4 mmol) 溶于无水甲醇 (10 mL) 中, 加入化合物 L013-c (1.21 g, 5.28 mmol), 将混合物在氮气保护下, 70 °C 搅拌 2 小时。反应结束后, 浓缩, 粗品经硅胶柱层析分离(二氯甲烷/甲醇 = 100/1), 得到 500 mg 的化合物 L014-03。LC-MS [M+H]<sup>+</sup> = 407.2。

#### 14.4 化合物 L014-04 的制备

将化合物 L014-03 (300 mg, 0.735 mmol) 溶于盐酸的 1,4-二氧六环溶液 (4 mol/L, 3 mL)。将混合物在 25 °C 下搅拌 1 小时。反应结束后, 用碳酸钠水溶液 (20 mL) 调节 pH 约为 8, 乙酸乙酯 (30 mL\*3) 萃取, 饱和食盐水(10 mL\*2)洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得到 200 mg 的化合物 L014-04。LC-MS [M +H]<sup>+</sup> = 306.8。

#### 14.5 化合物 L014-05 的制备

将化合物 L014-04 (100 mg, 0.325 mmol) 溶于正丁醇 (0.5 mL) 中, 加入 N, N-二异丙基乙胺 (126 mg, 0.976 mmol) 和化合物 L13-d (97 mg, 0.390 mmol)。将混合物在氮气保护下, 120 °C 下搅拌 3 小

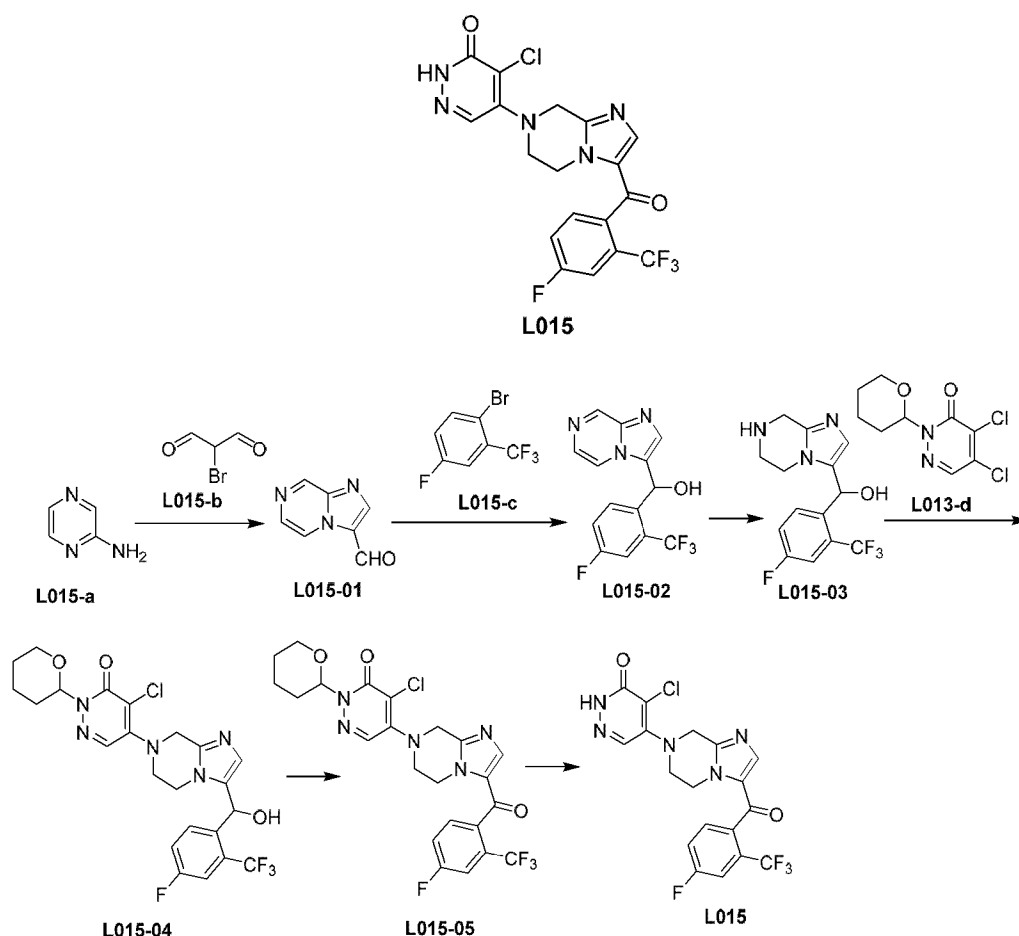
时。反应结束后，浓缩，粗品经硅胶柱层析分离(二氯甲烷/甲醇 = 30/1)，得到 50 mg 的化合物 **L014-05**。LC-MS  $[M+H]^+ = 519.2$ 。

#### 14.6 化合物 4-((7-(5-氯-6-羰基-1,6-二氢吡嗪-4-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-基)甲基)-3-(三氟甲基)苯甲腈(L014)的制备

将化合物 **L014-05** (50 mg, 0.10 mmol) 溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4 mol/L, 1 mL) 中。将混合物在 25 °C 下搅拌 1 小时。反应结束后，用碳酸钠水溶液 (10 mL) 调节 pH 约为 8，乙酸乙酯 (10 mL\*3) 萃取，饱和食盐水(10 mL\*2)洗涤有机相，无水硫酸钠干燥，浓缩后，用乙酸乙酯洗涤粗产品，过滤后得到 22 mg 的化合物 **L014**。LC-MS  $[M+H]^+ = 435.1$ 。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  7.95 (s, 1H), 7.48 (dd,  $J = 8.8, 2.6$  Hz, 1H), 7.27 (dd,  $J = 8.6, 6.3$  Hz, 1H), 7.20 (td,  $J = 8.5, 2.6$  Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 4.62 (s, 2H), 4.01 (s, 2H), 3.96 (t,  $J = 5.2$  Hz, 2H), 3.82 (t,  $J = 5.2$  Hz, 2H)。

#### 实施例 15 化合物 4-氯-5-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)吡嗪-3(2H)-酮(L015)的制备



#### 15.1 化合物 L015-01 的制备

将化合物 **L015-a** (10.0 g, 0.11 mol) 溶于无水乙醇 (100 mL) 中，加入化合物 **L015-b** (15.8 g, 0.11 mmol)，混合物在 90 °C 下搅拌 2 小时。反应结束后，冷却至室温，旋干溶剂得到黑色粘稠状物，

加入 30 mL 氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4 mol/L), 25 °C 下搅拌 12 h, 反应结束后, 加入 50 mL 水, 用碳酸钠溶液调节 pH 值约为 8, 乙酸乙酯 (50 mL\*4) 萃取, 饱和食盐水(30 mL\*2)洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 旋干溶剂后用乙酸乙酯重结晶三次后, 得到 3.5 g 的化合物 **L015-01**。LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=148.0。

### 15.2 化合物 **L015-02** 的制备

将化合物 **L015-c** (7.47 g, 30.6 mmol) 溶于四氢呋喃 (50 mL), 并取出 2 mL 溶液滴加到氮气保护下含有镁屑 (1.47 g, 61.2mmol) 和碘 (50 mg, 2 mmol) 的四氢呋喃 (20 mL) 溶液中, 用吹风机加热至溶液澄清透明后, 将剩余化合物 **L015-c** 的四氢呋喃溶液逐滴加入到反应体系。将混合物在 70 °C 下搅拌 1 小时, 冷却至室温后。在 -70°C 氮气保护下, 将混合物再滴加到化合物 **L015-01** (3.00 g, 20.4 mmol) 的四氢呋喃溶液中。将混合体系在 -70°C 下搅拌 2 小时。反应结束后, 加入氯化铵溶液 (50 mL), 乙酸乙酯 (50 mL\*3) 萃取, 饱和食盐水(30 mL\*2)洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩后, 粗品硅胶柱层析分离(二氯甲烷/甲醇=100/1), 得到 3.20 g 的化合物 **L015-02**。LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=312.07。

### 15.3 化合物 **L015-03** 的制备

将化合物 **L015-02** (1.10 g, 3.50 mmol) 溶于四氢呋喃 (25 mL) 中。加入湿 Pd/C (10%, 400 mg), 在氢气气氛下室温搅拌 12 小时。反应结束后, 过滤, 旋干溶剂得到 1.00 g 的化合物 **L015-03**。LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=316.2。

### 15.4 化合物 **L015-04** 的制备

将化合物 **L015-03** (200 mg, 0.63 mmol) 溶于无水丁醇 (1 mL) 中, 加入 **L013-d** (189 mg, 0.76 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (245 mg, 1.90 mmol), 氮气保护下, 将混合物在 120°C 下搅拌 2 小时。反应液浓缩, 粗品经硅胶柱层析分离(二氯甲烷/甲醇=100/1), 得到 160 mg 的化合物 **L015-04**。LC-MS [M +H]<sup>+</sup>= 528.2。

### 15.5 化合物 **L015-05** 的制备

将 **L015-04** (200 mg, 0.297 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (20 mL) 中, 加入戴斯-马丁氧化剂 (630 mg, 1.485 mmol)。氮气保护下, 将混合物在 40°C 下搅拌 8 小时。反应结束后, 加入氢氧化钠溶液调节 pH 值约为 9, 二氯甲烷 (10mL\*3) 萃取, 有机相经无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩。粗品经硅胶柱层析分离(二氯甲烷/甲醇=100/1), 得到 150 mg 的化合物 **L015-05**。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>=526.2。

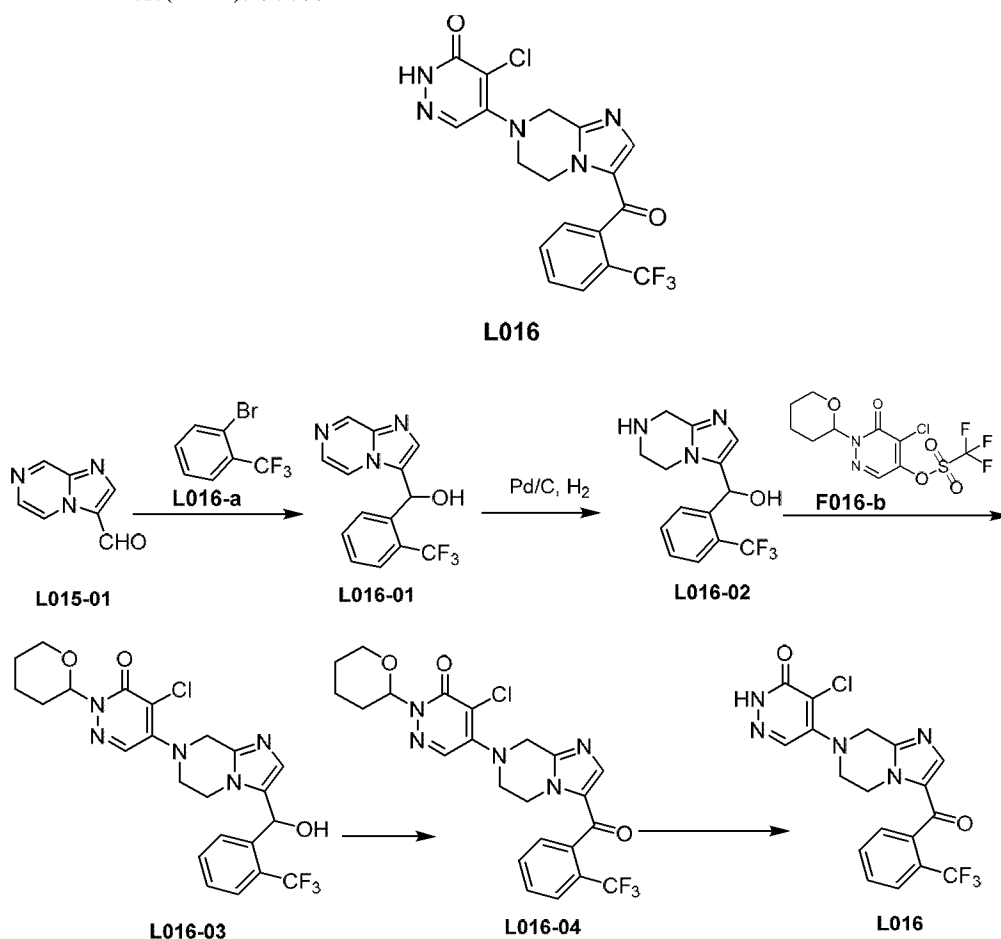
### 15.6 化合物 4-氯-5-(3-(4-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮(**L015**)的制备

将 **L015-05** (150 mg, 0.28 mmol) 溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (2 mL, 4 mol/L) 中, 将混合物在 25°C 下搅拌 1 小时。旋干溶剂后得到粗产品, 经高压液相制备色谱纯化得到 21.6 mg 的化合物 **L015**。LC-MS [M +H]<sup>+</sup>=441.8。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.08 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.85 (dd, *J* = 9.3, 2.5 Hz, 1H), 7.79 (dd, *J* = 8.5, 5.5 Hz, 1H), 7.68 (td, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.52 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.91 (t, *J*

= 5.3 Hz, 2H)。

实施例 16 化合物 4-氯-5-(3-(2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮(L016)的制备



### 16.1 化合物 L016-01 的制备

将 **L016-a**(2.55g, 11.3mmol)溶于无水四氢呋喃(40ml)中,氮气置换3次,室温下向反应加入异丙基溴化镁(2.8M, 8.09ml, 22.65mmol)反应2小时。再向反应加入 **L015-01**(2.0g, 13.6mmol)并升温60°C反应2小时,反应完毕,反应液加饱和氯化钠水溶液溶液(20 mL)淬灭,再用乙酸乙酯(30mL\*3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(50 mL)洗涤,再用无水硫酸钠干燥后,过滤,滤液减压浓缩,粗品经硅胶层析柱分离纯化(石油醚/乙酸乙酯 = 3/1),得到650 mg的化合物 **L016-01**。LC-MS  $[M+H]^+ = 294.0$ 。

### 16.2 化合物 L016-02 的制备

将化合物 **L016-01**(600mg, 2.05 mmol)溶于四氢呋喃(10mL)中。再加入钯/碳(10%, 60mg),氢气氛围下于40°C下反应12小时,反应完毕。反应液过滤,滤液浓缩,得540 mg的化合物 **L016-02**。LC-MS  $[M+H]^+ = 298.0$ 。

### 16.3 化合物 L016-03 的制备

将 **L016-02**(500mg, 1.68mmol), **L016-b**(915.05mg, 2.52mmol), N,N-二异丙基乙基胺(652mg, 5.05mol)

溶于二甲基亚砜 (10ml) 中, 升温 60℃ 反应 2 小时, 反应完毕。反应液加水 (20 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (30mL\*3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液减压浓缩, 粗品经硅胶层析柱 (石油醚/乙酸乙酯 = 3/1) 纯化, 得到 510 mg 的化合物 **L016-03**。LC-MS  $[M+H]^+ = 510.1$ 。

#### 16.4 化合物 **L016-04** 的制备

将 **L016-03** (500mg, 0.98 mmol), 溶于二氯甲烷 (10ml) 中。再分批加入戴斯马丁试剂 (831.8mg, 1.96mmol), 室温搅拌 1 小时。反应完毕, 反应液过滤, 滤液减压浓缩, 粗品经硅胶层析柱 (石油醚/乙酸乙酯 = 3/1) 纯化, 得到 210 mg 的化合物 **L016-04**。LC-MS  $[M+H]^+ = 508.0$ 。

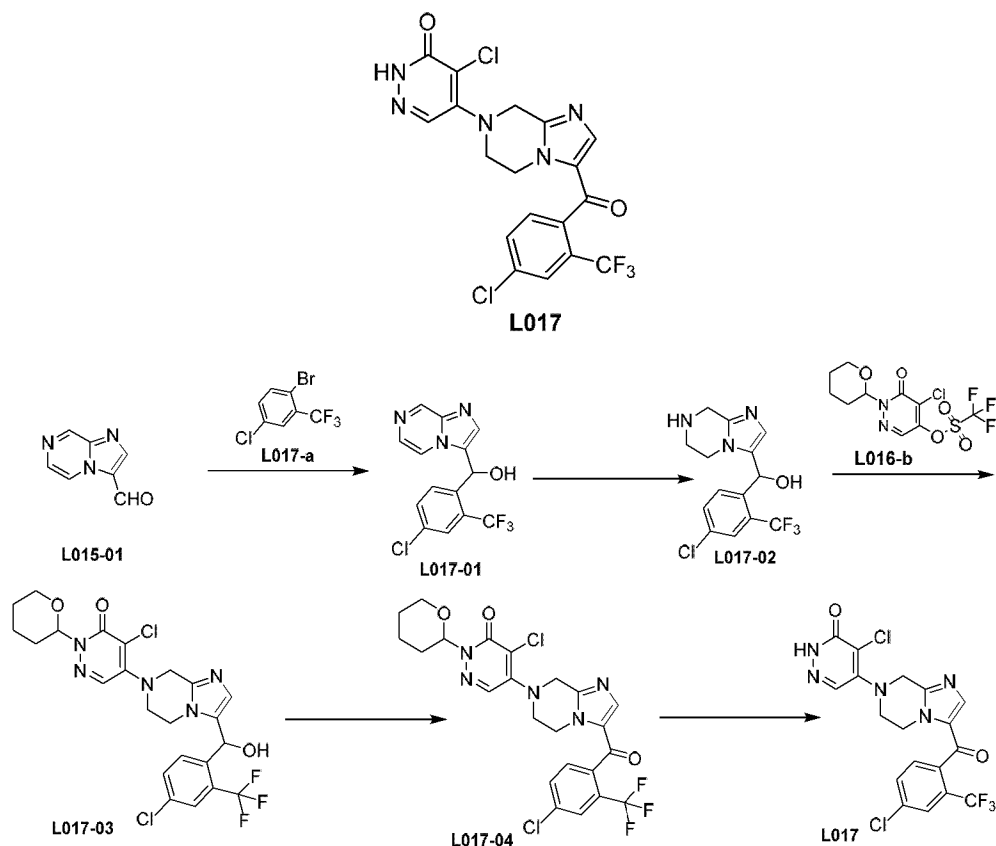
#### 16.5 化合物 4-氯-5-(3-(2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮 (**L016**) 的制备

将 **L016-04** (200mg, 0.39 mmol) 溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (2 mL, 4 mol/L) 中, 混合物在 25℃ 下搅拌 1 小时。反应完毕, 旋干溶剂后得到粗产品, 经高压液相制备色谱纯化得到 16.1 mg 的化合物 **L016**。

LC-MS  $[M+H]^+ = 424.0$ ;

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  13.05 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.90 – 7.86 (m, 1H), 7.82 – 7.74 (m, 2H), 7.67 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 4.81 (s, 2H), 4.51 (t,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 3.92 – 3.88 (m, 2H)。

#### 实施例 17 化合物 4-氯-5-(3-(4-氯-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮 (**L017**) 的制备



### 17.1 化合物 L017-01 的制备

称取化合物 L017-a (4.36 g, 16.80 mmol) 到无水四氢呋喃中 (80 mL), 置换氮气三次, 在室温的条件下缓慢加入异丙基溴化镁(2.8 M, 5 mL, 14.00 mmol), 滴加完毕在室温条件下反应 2 小时。再将 L015-01 (1.85 g, 12.60 mmol) 固体加入到反应体系中, 升温到 40°C, 并在该温度下反应 4 小时, 反应结束。向反应中缓慢加入饱和氯化铵水溶液 (100 mL) 淬灭反应, 用二氯甲烷(100 mL\*3)萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤(50 mL\*3), 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩后, 粗品硅胶柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=10/1) 纯化, 得到 2.5 g 的化合物 L017-01。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>= 328.0。

### 17.2 化合物 L017-02 的制备

称取化合物 L017-01 (2.4 g, 7.32 mmol) 溶于四氢呋喃 (30 mL), 再加入钨/碳 (10%, 1.0 g) 并置换氢气三次, 在 40°C 反应 16 小时。反应完毕, 反应液过滤, 滤液浓缩干, 粗品用硅胶柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=10/1) 纯化, 得到 1.0 g 的化合物 L017-02。LC-MS [M+H]<sup>+</sup>= 332.0。

### 17.3 化合物 L017-03 的制备

称取化合物 L017-02 (0.5 g, 1.06 mmol) 和化合物 L016-b (0.54 g, 1.48 mmol) 溶于二甲基亚砜 (5.0 mL), 再加入二异丙基乙胺 (0.41 g, 3.17 mmol), 80°C 搅拌反应 16 小时, 反应完毕。将反应液降至 30°C 后加入乙酸乙酯 (30 mL) 和水 (20 mL), 搅拌后分液, 水相用乙酸乙酯 (20 mL\*2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品用硅胶柱层析分离纯化 (二氯甲烷/甲醇=10/1), 得到 0.4 g 化合物 F017-03。

LC-MS [M+H]<sup>+</sup>= 544.0。

### 17.4 化合物 L017-04 的制备

称取化合物 L017-03 (0.4 g, 734.81 μmol) 溶于二氯甲烷 (8.0 mL) 中, 再加入戴斯-马丁试剂 (0.94 g, 2.2 mol), 室温搅拌 16 小时。反应完毕。反应液过滤, 滤液浓缩, 粗品用硅胶柱层析分离纯化 (二氯甲烷/甲醇=10/1)。得到 0.35 g 的化合物 L017-04。

LC-MS [M+H]<sup>+</sup>= 542.0。

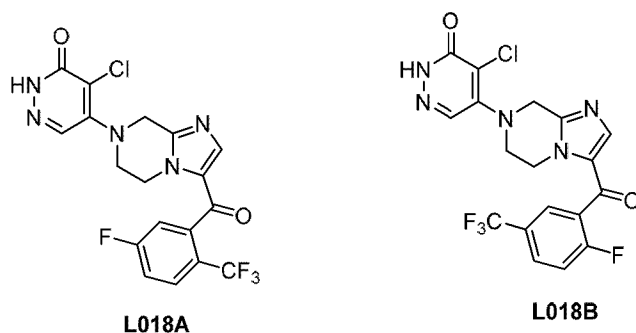
### 17.5 化合物 4-氯-5-(3-(4-氯-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L017) 的制备

称取 L017-04 (0.35 g, 645.35 μmol) 到反应瓶中, 加入氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4 M, 4 mL) 并在室温条件下反应 3 小时。反应完毕。反应液浓缩, 粗品经高压液相制备色谱纯化得到 42.8 mg 的化合物 L017。

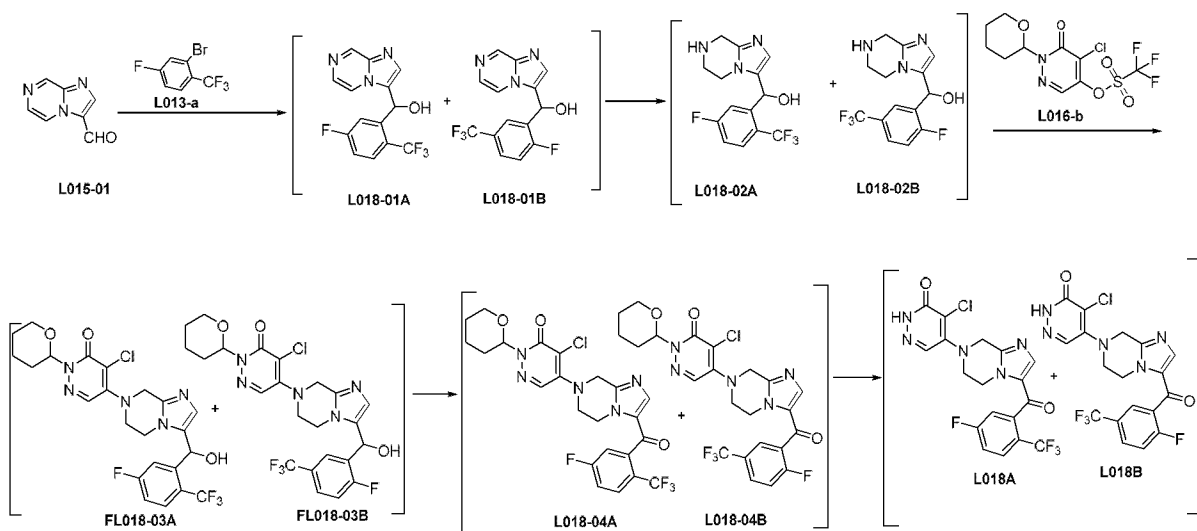
LC-MS [M+H]<sup>+</sup>= 458.0;

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.06 (s, 1H), 8.01 (d, J = 3.4 Hz, 2H), 7.90 (dd, J = 8.2, 1.8 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.51 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 3.91 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.07 (s, 1H)。

实施例 18 化合物 4-氯-5-(3-(5-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L018A) 和化合物 4-氯-5-(3-(2-氟-5-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)哒嗪-3(2H)-酮 (L018B) 的制备



合成路线:



### 18.1 化合物 L018-01A&L018-01B 的制备

将化合物 **L013-a** (1g, 4.11 mmol) 溶于四氢呋喃 (15 mL) 中, 氮气置换后, 降温至  $-78^{\circ}\text{C}$ , 加入 2.5M 正丁基锂的己烷溶液 (1.8 mL, 4.52 mmol),  $-78^{\circ}\text{C}$  反应一小时。往反应体系中加入化合物 **L015-01** (605mg, 4.11 mmol), 加完后自然升至室温反应过夜, 反应完毕后。将反应液慢慢加入水 (80 mL) 稀释后, 再用乙酸乙酯 (30 mL\*3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。经硅胶层析柱分离 (二氯甲烷/甲醇 = 50/1~15/1) 纯化, 得到化合物 **L018-01A&L018-01B** (600 mg)。LC-MS  $[M+H]^+ = 312.0$ 。

### 18.2 化合物 L018-02A&L018-02B 的制备

将化合物 **L018-01A&L018-01B** (270 mg, 0.87 mmol) 溶于甲醇 (20 ml), 加入无水钨/碳(10%), 氮气置换后, 反应在室温条件下搅拌 3 小时, 反应完毕。将反应液过滤, 再加甲醇 (3 mL) 冲洗三次, 滤液减压浓缩得到产品, 不需要纯化, 可直接进行下一步。得到化合物 **L018-02A&L018-02B** (230 mg)。LC-MS  $[M+H]^+ = 316.0$ 。

### 18.3 L018-03A&L018-03B 的制备

将 **L018-02A&L018-02B** (230 mg, 0.73mmol) 和 **L016-b** (291 mg, 0.80mmol) 溶于二甲基亚砜 (6 ml) 中, 再加入 N,N-二异丙基乙胺 (283 mg, 2.19mmol),  $60^{\circ}\text{C}$  反应过夜, 反应完毕。将反应液倒入水 (50 mL) 中, 再用乙酸乙酯 (20 mL\*3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫

酸钠干燥后, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。经硅胶层析柱分离 (DCM/MeOH = 50/1 ~ 20/1) 纯化, 得到 **L018-03A&L018-03B** (270 mg)。

LC-MS  $[M+H]^+ = 528.0$ 。

#### 18.4 化合物 **L018-04A&L018-04B** 的制备

将 **L018-03A&L018-03B** (270mg, 0.51mmol) 溶于二氯甲烷 (10 ml) 中, 0℃下分批加入戴斯-马丁氧化剂 (434mg, 1.02mmol), 升至室温反应 30 分钟。往反应液中加入饱和硫代硫酸钠水溶液 (30 mL), 再用二氯甲烷 (20 mL\*3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。经硅胶层析柱 (二氯甲烷/甲醇 = 50/1 ~ 20/1) 纯化, 得到 **L018-04A&L018-04B** (230 mg)。LC-MS  $[M+H]^+ = 526.0$ 。

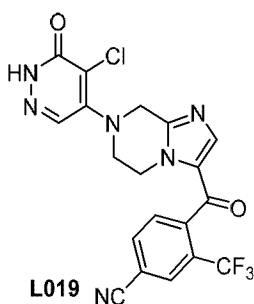
18.5 化合物 4-氯-5-(3-(5-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)咪唑-3(2H)-酮 (**L018A**) 和化合物 4-氯-5-(3-(2-氟-5-(三氟甲基)苯甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-7(8H)-基)咪唑-3(2H)-酮 (**L018B**) 的制备

将化合物 **L018-04A&L018-04B** (230 mg, 0.44mmol) 置于 25 mL 单口瓶中, 加入氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4M, 5mL), 室温条件下搅拌 30 分钟, 反应完毕。将反应液减压浓缩得到粗品, 粗品用水/乙腈体系经高压液相制备色谱层析柱分离纯化, 冻干后得到化合物 **L018A** (26.8mg) 和化合物 **L018B** (37.0mg)。

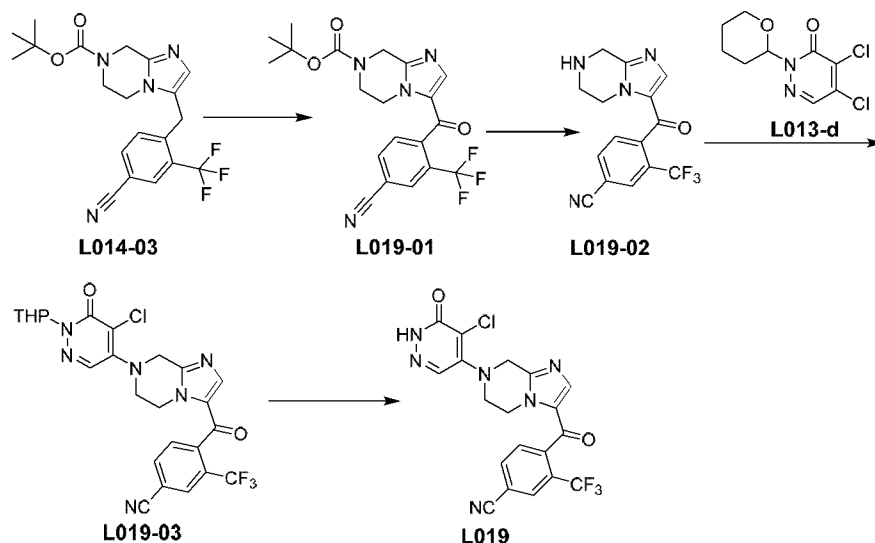
**L018A**: LC-MS  $[M+H]^+ = 442.0$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.07 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.62 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 7.41 (s, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.51 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 3.91 (t, J = 5.2 Hz, 2H)。

**L018B**: LC-MS  $[M+H]^+ = 442.0$   $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.07 (s, 1H), 8.10-7.90 (m, 3H), 7.64 (t, J = 9.2 Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.52 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.91 (t, J = 4.8 Hz, 2H)。

实施例 19 化合物 4-(7-(5-氯-6-氧代-1,6-二氢咪唑-4-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-羰基)-3-(三氟甲基)苯甲腈 (**L019**) 的制备



合成路线:



### 19.1 化合物 L019-01 的制备

将化合物 **L014-03** (2g, 4.92mmol)、醋酸(295.52mg, 4.92mmol) 和氯化亚铁四水合物(97.83mg, 0.492mmol) 溶于二甲基亚砜 (20 mL) 中, 氮气置换 3 次, 反应在 100°C 反应 24 小时, 反应完毕, 反应液加水 (20 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (30 mL\*3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液减压浓缩, 粗品经硅胶层析柱 (石油醚/乙酸乙酯 = 100/5) 纯化, 得到化合物 **L019-01** (600 mg)。

LC-MS = 421.10[M+H]<sup>+</sup>。

### 19.2 化合物 L019-02 的制备

将 **L019-01** (600 mg, 1.43 mmol)溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4 M, 10 mL) 中, 室温条件下反应 2 小时。反应完毕, 过滤, 得到滤饼为化合物 **L019-02** (500 mg)。LC-MS = 321.05 [M+1]<sup>+</sup>。

### 19.3 化合物 L019-03 的制备

将化合物 **L019-02** (250 mg, 0.78 mmol)、**L013-d** (233 mg, 0.94 mmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (504 mg, 3.9 mmol) 溶于二甲基亚砜 (3 mL) 中。反应在 80°C 反应 4 小时, 反应完毕。反应液加水 (20 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (30 mL\*3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤, 滤液减压浓缩, 粗品经硅胶层析柱 (二氯甲烷/甲醇 = 10/1) 纯化得到化合物 **L019-03** (200 mg)。

LC-MS = 533.10 [M+H]<sup>+</sup>。

### 19.4 化合物 4-(7-(5-氯-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-4-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-羰基)-3-(三氟甲基)苯甲腈 (**L019**) 的制备

将 **L019-03** (200 mg, 0.37 mmol) 溶于氯化氢的 1,4-二氧六环溶液 (4 M, 10 mL) 中, 室温条件下反应 2 小时, 反应完毕。旋干溶剂后得到粗产品, 再经高压液相制备色谱纯化得到化合物 **L019**。

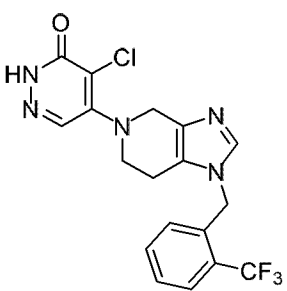
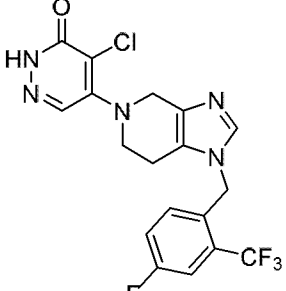
LC-MS = 449.00 [M+H]<sup>+</sup>;

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.06 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.31 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.52 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.92 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H)。

对比例

化合物 C001 和 C002 为专利 WO2019055966A2 中公开的作为 TRPC5 抑制剂的化合物。

表 10

化合物编号	化合物结构	化合物编号	化合物结构
C001		C002	

### 效果实施例 1 生物学活性测试试验

TRPC5 是一类非选择性阳离子通道，对钙离子具有通透性，因此本实验选用 TRPC5 激动剂 Englerin A (EA)、TRPC5 抑制剂 Pico145 作为阳性对照，使用 Fluo-4 AM 荧光染料检测化合物对 TRPC5-HEK 293 细胞内  $Ca^{2+}$  的方法来间接反映化合物对 TRPC5 通道的影响。

#### 1. 细胞培养

##### 1.1 TRPC5-HEK 293 细胞复苏

复苏液：100%DMEM 高糖

选择培养基：DMEM 高糖+10%FBS+1%P/S+1%HEPES+稻瘟散(Blasticidin, 5 $\mu$ g/mL) + 潮霉素 (Hygromycine, 50 $\mu$ g/mL)

诱导培养基：DMEM 高糖+10%FBS+1%P/S+1%HEPES+多西环素(Doxycycline, 1 $\mu$ g/mL)

复苏过程：液氮罐中取出，于冰盒中转移至水浴锅，划圈溶解至含一小块冰时转移冻存液至复苏液中，1000 rpm 离心 5 min，弃去上清，转移至选择培养基中，CO<sub>2</sub> 培养箱中(5% CO<sub>2</sub>，95% 湿度，37 $^{\circ}$ C)扩培。

##### 1.2 TRPC5-HEK 293 细胞接板

实时荧光实验前 14 h，用 PBS 清洗细胞，用含 EDTA 的胰蛋白酶 (TE, TRYPsin-EDTA) 消化细胞，诱导培养基稀释细胞至 20 万细胞/mL，接至已包被多聚赖氨酸 (PDL, Poly-D-Lysine) (母液 10 mg/mL，终浓度 10  $\mu$ g/mL) 的 96 孔黑壁底透板中，100  $\mu$ L/孔即 2 万细胞/孔。

#### 2. 缓冲液配制

500 mL TRPC5 钙信号检测用外液：4.0908 g NaCl, 0.1864 g KCl, 0.111 CaCl<sub>2</sub>, 0.0476 g MgCl<sub>2</sub>, 0.9 g Glucose (葡萄糖), 1.1915 g HEPES (4-羟乙基哌嗪乙磺酸)。

钙荧光染料：TRPC5 钙信号检测用外液含终浓度 4  $\mu$ M Fluo-4 (含 0.5%BSA)

#### 3. 化合物配制

激动剂：Englerin A (EA)

激动剂浓度：由于 EA 激活 TRPC5 的 EC<sub>50</sub> 大约在 0.35 nM，使用 0.3 nM EA

阳性抑制剂：Pico145 (HC608)

阳性抑制剂浓度：100 nM

待测化合物：化合物 1-6 和化合物 1

待测化合物浓度：常规配制，配制为 8 倍于检测终浓度的药液（检测终浓度分别为：1 nM、3 nM、10 nM、30 nM、100 nM、300 nM 和 1000 nM），每个底板孔 60  $\mu$ L。

#### 4. 数据处理

Flipr 测试荧光值减去未进行染色 (dye) 的细胞孔的值（即本底荧光值），采用 Graphpad Prism 6.0 软件进行统计和数据处理，轨迹图采用去除基线 (remove baseline) 的方式进行归一化处理，比值型显示，量效图求取 AUC (钙流信号形成的曲线的曲线下面积) 收集数据与化合物浓度的 log 值，采用 log[Inhibitor] vs. response—Variable slope 计算 IC<sub>50</sub> 值。

结果见表 11：

表 11

化合物编号	TRPC5 抑制活性, IC <sub>50</sub> (nM)
<b>L001</b>	10.75
<b>L002</b>	6.52
<b>L007</b>	7.37
<b>L009</b>	39.43
<b>L013</b>	14.56
<b>L014</b>	18.23
<b>L015</b>	11.5
<b>L019</b>	24

#### 效果实施例 2 肝微粒体半衰期试验

对本发明中化合物的体外代谢稳定性利用各种属肝微粒体温孵法进行测定。在肝微粒体反应体系中（1mg/mL 肝微粒体蛋白，25U/mL 6-磷酸葡萄糖脱氢酶，1mMNADP，6mM D-6-磷酸葡萄糖，5 mM MgCl<sub>2</sub>）加入适量供试化合物，放入 37°C 水浴锅温孵启动反应，于各时间点取 100 $\mu$ L 反应液加入至含 400 $\mu$ L 0°C 预冷的内标工作液（含 200ng/mL 地塞米松、双氯酚酸、甲苯磺丁脲、拉贝洛尔的乙腈溶液）离心管中，终止反应，4°C 离心机 10000g 离心 10min，取上清液进 LC-MS 进行分析检测，获得供试化合物在各种属肝微粒体中的体外代谢半衰期。

结果见表 12：

表 12

化合物编号	肝微粒体 T <sub>1/2</sub> (min)				
	人	大鼠	小鼠	比格犬	猴
<b>C001</b>	54	5	60	15	38
<b>C002</b>	90	34	115	102	15
<b>L002</b>	262	-	188	-	-

<b>L001</b>	173	20	154	-	-
<b>L013</b>	148	-	131	-	-
<b>L014</b>	7589	-	167	-	-
<b>L015</b>	531	174	78	-	247

表 12 中的数据显示本发明所述化合物 L001 和 L002 在肝微粒体中的代谢稳定性较对比化合物 C001 和 C002 有显著提高,说明本发明化合物在肝微粒体中的代谢稳定性较好,具有更好的临床药代动力学性质。

### 效果实施例 3 本发明化合物的小鼠体内药代动力学研究

SPF 级小鼠(北京斯贝福生物技术有限公司)在适应性驯养后禁食过夜(不禁水),分别通过灌胃和尾静脉推注的方式给予 3mg/kg 或 1mg/kg 本发明化合物。给药后特定时间点采集小鼠血浆,通过 LC-MS/MS (AB SCIEX Qtrap4500) 检测血浆中化合物浓度,统计分析、计算各化合物的 PK 参数 (WinNonlin V5.2, Pharsight),体现本发明化合物的小鼠体内药代动力学性质。

针对本发明实施例化合物进行上述实验,结果表明本发明的化合物均具有较好小鼠体内药代动力学性质,在较低剂量时即可获得较高的体内暴露量以及较高的口服生物利用度,一些化合物口服生物利用度 >30%,一些化合物的口服生物利用度 >50% 的化合物。下述表 13 为代表性化合物的实验数据。

表 13: 本发明化合物在小鼠体内的 PK 实验

化合物	给药剂量 mg/kg	给药方式	C <sub>max</sub> (ng/mL)	AUC <sub>last</sub> (ng/mL*hr)	口服生物利用度 (%)
<b>L001</b>	1	p.o.	84.30	84.30	80.6
		i.v.	225.00	225.00	
<b>L002</b>	1	p.o.	248	625	43.2
		i.v.	833	1447	
<b>L014</b>	1	p.o.	301	1066	161
		i.v.	762	663	
<b>L015</b>	1	p.o.	422	1245	66.8
		i.v.	1110	1864	

### 效果实施例 4 本发明化合物单次灌胃给药 CD-1 小鼠组织分布研究

实验方案:

#### 1.1 实验仪器

表 14

名称	型号/规格	厂家
电子分析天平	MS105DU	Mettler-Toledo

电子秤	YP2001	上海佑科仪器
高速冷冻离心机	STR16	Thermo Fisher Scientific
超细匀浆器	F6/10-8G	上海弗鲁克

### 1.2 实验准备

**小鼠：**CD-1 小鼠，SPF 级，9 只，雄性，体重 18-22g（来源：北京斯贝福生物技术有限公司，合格证号：110324200103036532）。

**饲养条件：**普通级动物房饲养，自由饮食饮水，3 只/笼饲养，12/12 小时明/暗周期调节（7:00 am/7:00 pm），温度 23±1℃。

**配药：**将化合物 L015 精确称量后，先加入所需体积的 20% solutol，超声 20 min 后搅拌 1.5 h 后至肉眼无明显可见颗粒，取中层药液用于给药；混悬液取上、中、下各 2 份，澄清溶液取中层 2 份，每份准确吸取 100 μL 至 1.5 mL 的 EP 管，在给药前取样，取样后置于-80℃冰箱保存，随血浆样品一起送样生物分析检测。

### 1.3 给药方案

动物随机分成 3 组，化合物 L015 在 3 个不同时间点，每组 3 只，雄性，所有小鼠均采用单次灌胃给药，给药体积均为 10 mL/kg，具体分组和给药情况如下：

表 15

组别	受试物	数量 (雌/雄)	时间点	溶媒	给药 剂量 (mg/kg)	药物 浓度 (mg/mL)	给药 体积 (mL/kg)	检测物
1	L015	0/3	0.167h	20% solutol	10	1.00	10	L015
2	L015	0/3	1 h		10	1.00	10	
3	L015	0/3	10 h		10	1.00	10	

备注：①动物合格证编号：110324200103036532，CD-1 小鼠，北京斯贝福生物技术有限公司；②三组大鼠给药前通宵禁食不禁水；给药 4 小时后返还食物；③取组织时间点参考之前的 1、3、10mpk 小鼠 PK 结果：L015，10 mg/kg 灌胃给药小鼠后，0.167h 为吸收相，受试物血药浓度在 1h 达峰；在 10h 左右位于消除相。

### 1.4 样本的采集和制备

每组动物在给药结束后，分别于各自时间点提前 5 分钟，腹腔注射 1%戊巴比妥钠麻醉（给药体积 0.06 mL/10 g），收集血液约 0.3 mL 血液于抗凝 EP 管中（内含 4 μL EDTA-K<sub>2</sub>，375 mg/mL，缓慢上下倒置 3 次，置于冰盒内保存（不超过 30 分钟），在 4℃下使用 3500×g 离心 10 分钟，移取上清液至标记的 EP 管中，送生物分析检测。如果无法当天检测，样本需储存在-80℃直到检测（注意勿进行多次冷冻/溶解的过程）。

取血后，迅速打开腹腔，剪开大鼠腹主动脉和静脉，放干血液后，分别取大鼠心、肝、脾、

肺、肾、大脑。组织取完后，立刻用生理盐水洗干净表面残血，用滤纸吸干，剔除结缔组织，称重。匀浆管置入冰水浴中，用高速匀浆机彻底匀浆制成组织样品匀浆液，送生物分析检测。如果无法当天检测，样本需储存在-80℃直到检测（注意勿进行多次解冻/冰冻的过程）。

### 1.5 样品分析方法

#### 1.5.1 实验仪器：

高效液相色谱泵 (Pump): Exion LC AD Pump, Sciex 公司

自动进样器(Auto sampler: Exion LC AD Autosampler, Sciex 公司

柱温箱(column Oven): Exion LC AD Column Oven, Sciex 公司

质谱仪(Mass spectrometer): AB Sciex Qtrap 4500

高速冷冻离心机(centrifuge): Thermo Fisher, ST16R, GG1206085-093

分析天平 (Electronic balance): Mettler Toledo, MS-105D, GG1206363

微型涡旋仪(Vortex):上海沪西分析仪器厂, WH-2, GG1206487

#### 1.5.2 实验材料：小鼠血浆和组织

#### 1.5.3 分析物：L015

#### 1.5.4 内标：拉贝洛尔 (Labetalol)

#### 1.5.5 分析方法：液质联用法

#### 1.5.6 质谱条件：

##### 1.5.6.1 质谱参数

离子源: Ion Electrospray (ESI)

离子化模式 (Ionization mode): 正离子模式 (Positive)

检测模式 (Mode): 多反应监测 (MRM)

电喷雾电压 (Ion Spray Voltage): 5500

离子喷雾温度 (Turbo Ion Spray Temp): 550℃

气帘气 (Curtain Gas): 35

碰撞池气体 (CAD Gas): Medium

雾化气 (Nebulizing Gas, Gas1): 55.00

辅助气 (Auxiliary Gas, Gas 2): 55.00

##### 1.5.6.2.检测离子对

表 16

化合物	分子离子 (m/z)	碎片离子 (m/z)	停留时间 (msec)	去簇电压 (DP)(V)	碰撞能量 (CE)(eV)
拉贝洛尔 (Labetalol)	329.2	294.3	15	80	27
L015	442.2	406.2	30	97	36

## 1.5.7 液相方法:

色谱柱: Agilent poroshell 120 EC-C18 (4.6×50mm, 2.7 μm)

流动相 A (Mobile Phase A): 0.1%甲酸的水溶液

流动相 B (Mobile Phase B): 0.1%甲酸的甲醇溶液

自动进样器清洗溶液(Rinse Port Wash Solution) 甲醇:水:乙腈:异丙醇=1:1:1:1

柱温箱温度 (Column Temperature): 40°C

流速 (Flow Rate): 0.8mL/min

自动进样器温度 (Sample Tray Temp): 15°C

进样体积 (Injection Volume): 10μL (L015)

压脚提升量 (Needle Stroke): 49 mm

自动进样器清洗设置 (Rinse Pump Setting): 仅清洗进样口

自动进样器清洗模式 (Rinse Mode): 吸入前清洗

自动进样器洗针体积 (Rinse Volume): 500 μL

进样针清洗时浸泡时间 (Rinse Dip Time): 2 秒

洗脱梯度:

表 17

时间(min)	模块 (Module)	运转 (Function)	比例 (Value) (%)
0.01	泵 Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	35
0.20	泵 Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	35
1.20	泵 Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	98
2.40	泵 Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	98
2.41	泵 (Pumps)	B 泵浓度 (Pump B Conc.)	35
3.00	系统控制器(System Controller)	停止 (Stop)	35

## 1.5.8 前处理方法:

样品前处理过程: 取 3 μL 工作液, 加入 57 μL 空白基质于 1.5 mL 离心管中, 加入 240 μL 含 200 ng/mL 甲苯磺丁脲、拉贝洛尔混标的 0.1%甲酸的乙腈沉淀蛋白, 涡旋混合 1 分钟, 样品于 4°C 的离心机中 13000 rpm 离心 15 分钟。取上清液 100 μL 于另一 96 深孔板中, 加入 100μL 的含 0.1%FA 的甲醇: 水 (1: 3, v: v) 溶液, 振荡混合 1 分钟, 于 96 孔板离心机中 3500 rpm 离心 5 分钟后直接进样。

## 1.6 数据分析

计算各时间点血浆和各组织中 L015 的浓度, 对数据进行分析。

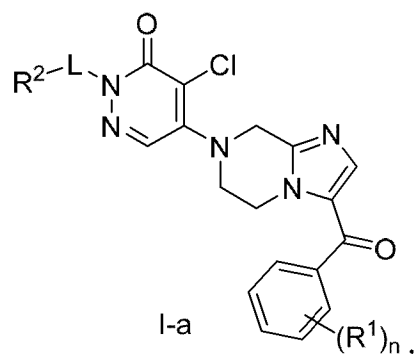
## 1.7 实验结论:

采用 20%solurol 作为溶媒, L015 10 mg/kg 单次灌胃给药雄性 CD-1 小鼠后: 灌胃给药后 0.167 h 时, L015 在肝脏 (3260 ng/g)、肾脏(1467 ng/g)有较大量的分布 (分别为血浆浓度的 5.55 倍、2.50 倍),

其中大脑药物浓度较少(706 ng/g, 为血药浓度的 0.05 倍); 给药后 1 h 和 10 h 时, L015 仍主要在肝脏、肾脏分布 (分别为血浆浓度的 4.53-5.05 倍、2.51-1.50 倍), 其中在大脑中 L015 浓度分别为 161 ng/g、25.9 ng/g (分别为血药浓度的 0.19-0.09 倍), 提示 L015 在 10 mg/kg 较少在脑中分布, 具体见图 1。说明本发明化合物主要在肝脏和靶器官 (肾脏) 分布。

## 权利要求

1. 一种如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物；



其中，

$n$  为 0、1、2、3 或 4；

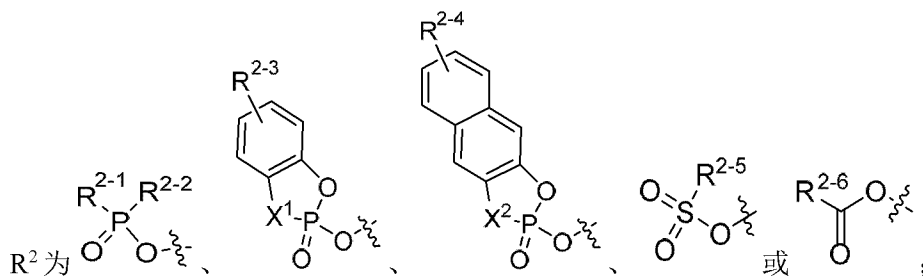
$R^1$  独立地为 -CN、卤素、-OH、 $C_1\sim C_4$  烷基或被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基；

$R^{1-1}$  独立地为 -CN、卤素或 -OH；

$L$  为单键或  $-CR^aR^b-$ ；

$R^a$  为 H 或  $C_1\sim C_3$  烷基；

$R^b$  为 H、卤素或  $C_1\sim C_3$  烷基；



$X^1$  为 -O-、-S-、-NH-、-O-CH<sub>2</sub>-、-S-CH<sub>2</sub>-、-NH-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-或 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-；

$X^2$  为 -O-、-S-、-NH-、-O-CH<sub>2</sub>-、-S-CH<sub>2</sub>-、-NH-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-或 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-；

$R^{2-1}$  和  $R^{2-2}$  独立地为 -OR<sup>2-1-1</sup>、-SR<sup>2-1-1</sup> 或 -NR<sup>2-1-2</sup>R<sup>2-1-3</sup>；

$R^{2-1-1}$  独立地为 H、 $C_1\sim C_6$  烷基、 $C_3\sim C_6$  环烷基、被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-1-1-1}$  取代的  $C_1\sim C_6$  烷基或被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-1-1-1}$  取代的  $C_3\sim C_6$  环烷基；

$R^{2-1-1-1}$  独立地为 -CN、F、Cl、Br、I、-OH、-NH<sub>2</sub>、-COOH 或 -NO<sub>2</sub>；

$R^{2-1-2}$  和  $R^{2-1-3}$  独立地为 H 或  $C_1\sim C_6$  烷基；

$R^{2-3}$  为 H、F、Cl、Br、I、-CN、-NO<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、 $C_1\sim C_3$  烷基或  $C_1\sim C_3$  烷氧基；

$R^{2-4}$  为 H、F、Cl、Br、I、-CN、-NO<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、 $C_1\sim C_3$  烷基或  $C_1\sim C_3$  烷氧基；

$R^{2-5}$  为  $-OR^{2-5-1}$ 、 $-SR^{2-5-1}$  或  $-NR^{2-5-2}R^{2-5-3}$ ;

$R^{2-5-1}$  独立地为 H、 $C_1\sim C_6$  烷基、 $C_3\sim C_6$  环烷基、被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-5-1-1}$  取代的  $C_1\sim C_6$  烷基或被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-5-1-1}$  取代的  $C_3\sim C_6$  环烷基;

$R^{2-5-1-1}$  独立地为  $-CN$ 、 $F$ 、 $Cl$ 、 $Br$ 、 $I$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$  或  $-NO_2$ ;

$R^{2-5-2}$  和  $R^{2-5-3}$  独立地为 H 或  $C_1\sim C_6$  烷基;

$R^{2-6}$  为  $C_1\sim C_8$  烷基、 $C_3\sim C_6$  环烷基、 $-NR^{2-6-2}R^{2-6-3}$ 、被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基或被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_3\sim C_6$  环烷基;

$R^{2-6-1}$  独立地为  $-CN$ 、 $F$ 、 $Cl$ 、 $Br$ 、 $I$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$  或  $-NO_2$ ;

$R^{2-6-2}$  和  $R^{2-6-3}$  独立地为 H 或  $C_1\sim C_6$  烷基。

2. 如权利要求 1 所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物, 其特征在于,  $n$  为 2;

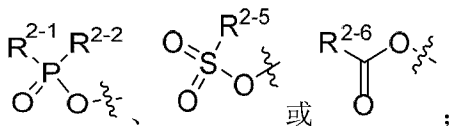
和/或,  $R^1$  独立地为卤素或被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基;

和/或,  $R^{1-1}$  独立地为卤素;

和/或,  $L$  为  $-CR^aR^b-$ ;

和/或,  $R^a$  为 H;

和/或,  $R^b$  为 H;

和/或,  $R^2$  为  ;

和/或,  $R^{2-1}$  和  $R^{2-2}$  独立地为  $-OR^{2-1-1}$ ;

和/或,  $R^{2-1-1}$  为 H;

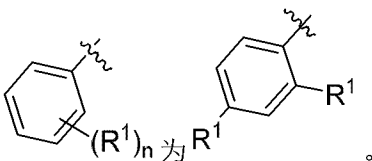
和/或,  $R^{2-5}$  为  $-OR^{2-5-1}$ ;

和/或,  $R^{2-5-1}$  为 H;

和/或,  $R^{2-6}$  为  $-NR^{2-6-2}R^{2-6-3}$  或被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_5$  烷基;

和/或,  $R^{2-6-1}$  为  $-NH_2$ ;

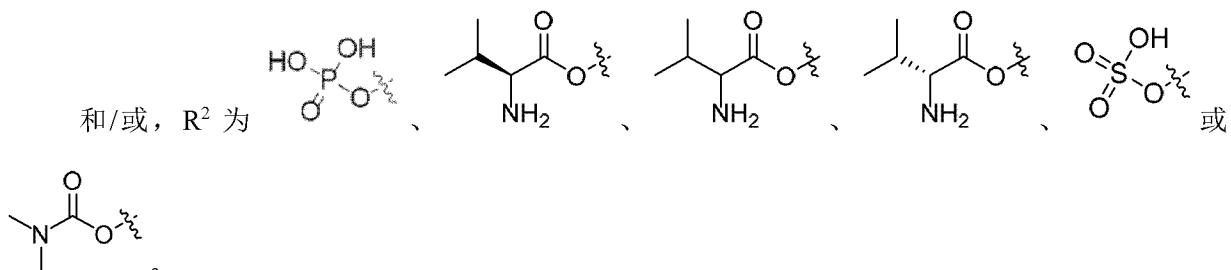
和/或,  $R^{2-6-2}$  和  $R^{2-6-3}$  独立地为甲基或乙基;

和/或,  。

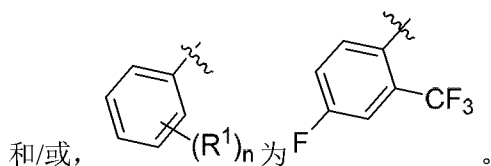
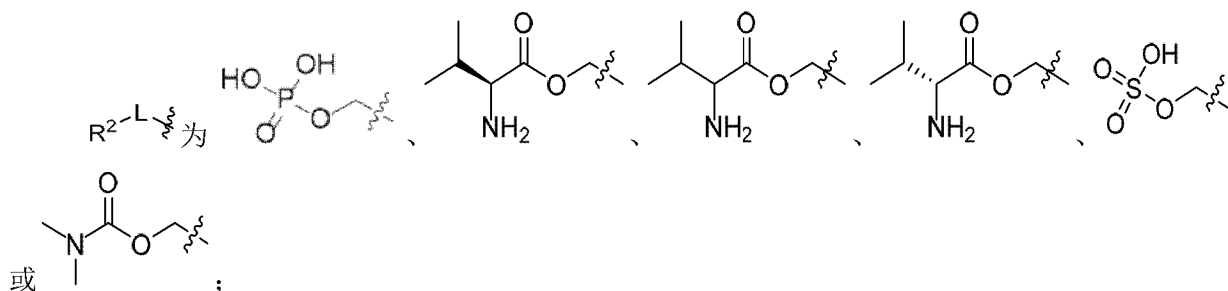
3. 如权利要求 2 所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物, 其特征在于,

$R^1$  独立地为氟或三氟甲基;

和/或,  $L$  为  $-CH_2-$ ;



4. 如权利要求 3 所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物, 其特征在于,



5. 如权利要求 1 所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物, 其特征在于,

n 为 2;

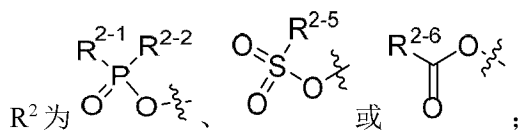
R<sup>1</sup> 独立地为卤素或被 1、2、3 或 4 个 R<sup>1-1</sup> 取代的 C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub> 烷基;

R<sup>1-1</sup> 独立地为卤素;

L 为 -CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-;

R<sup>a</sup> 为 H;

R<sup>b</sup> 为 H;



R<sup>2-1</sup> 和 R<sup>2-2</sup> 独立地为 -OR<sup>2-1-1</sup>;

R<sup>2-1-1</sup> 为 H;

R<sup>2-5</sup> 为 -OR<sup>2-5-1</sup>;

R<sup>2-5-1</sup> 为 H;

R<sup>2-6</sup> 为 -NR<sup>2-6-2</sup>R<sup>2-6-3</sup> 或被 1、2、3 或 4 个 R<sup>2-6-1</sup> 取代的 C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub> 烷基;

R<sup>2-6-1</sup> 为 -NH<sub>2</sub>;

$R^{2-6-2}$  和  $R^{2-6-3}$  独立地为甲基或乙基。

6. 如权利要求 1~5 中至少一项所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，其特征在于，

当  $R^1$  独立地为卤素时，所述卤素为氟、氯或溴；

和/或，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基，所述  $C_1\sim C_4$  烷基独立地为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基；

和/或，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基，所述  $R^{1-1}$  独立地为卤素；

和/或，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基，所述的  $R^{1-1}$  的个数为 2 个或 3 个；

和/或，当  $R^{2-6}$  为被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基时，所述  $C_1\sim C_8$  烷基为  $C_1\sim C_4$  烷基；

和/或，当  $R^{2-6}$  为被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基时，所述  $R^{2-6-1}$  独立地为  $-NH_2$ ；

和/或，当  $R^{2-6}$  为被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基时，所述  $R^{2-6-1}$  的个数为 1 个；

和/或，当  $R^{2-6-2}$  和  $R^{2-6-3}$  独立地为  $C_1\sim C_6$  烷基时，所述  $C_1\sim C_6$  烷基为  $C_1\sim C_3$  烷基。

7. 如权利要求 6 所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，其特征在于，

当  $R^1$  独立地为卤素时，所述卤素为氟；

和/或，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基，所述  $C_1\sim C_4$  烷基独立地为甲基；

和/或，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基，所述  $R^{1-1}$  独立地为氟；

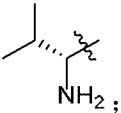
和/或，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基，所述的  $R^{1-1}$  的个数为 3 个；

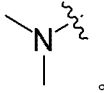
和/或，当  $R^{2-6}$  为被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基时，所述  $C_1\sim C_8$  烷基为异丁基；

和/或，当  $R^{2-6-2}$  和  $R^{2-6-3}$  独立地为  $C_1\sim C_6$  烷基时，所述  $C_1\sim C_6$  烷基为甲基。

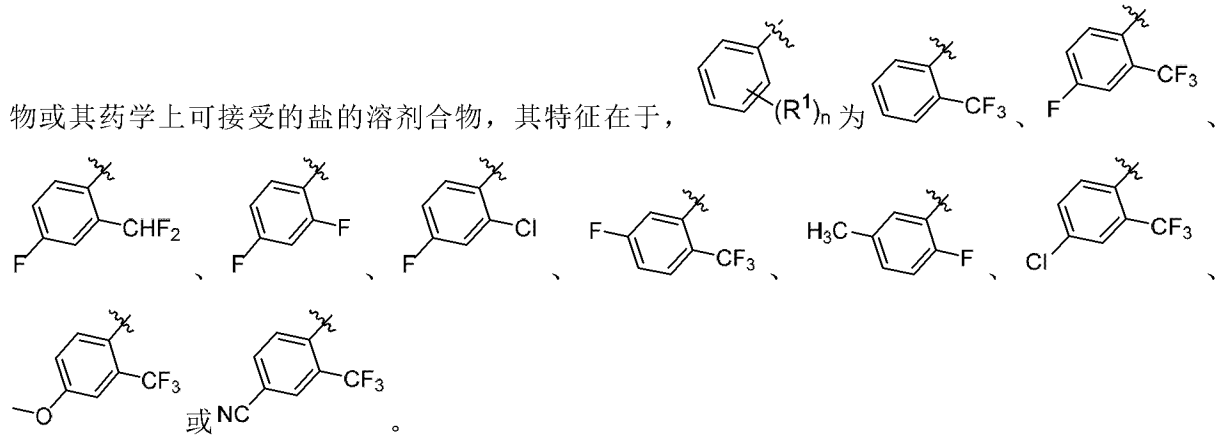
8. 如权利要求 7 所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，其特征在于，当  $R^1$  独立地为被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基时，所述被 1、2、3 或 4 个  $R^{1-1}$  取代的  $C_1\sim C_4$  烷基为二氟甲基或三氟甲基；

和/或，当  $R^{2-6}$  为被 1、2、3 或 4 个  $R^{2-6-1}$  取代的  $C_1\sim C_8$  烷基时，所述  $R^{2-6}$  为 

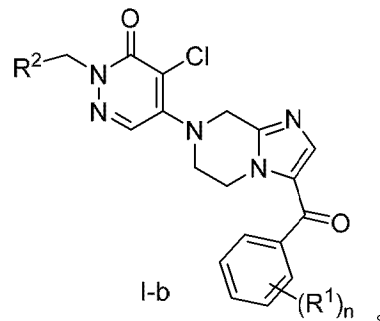
或 ；

和/或，当  $R^{2-6}$  为  $-NR^{2-6-2}R^{2-6-3}$  时，所述  $R^{2-6}$  为 。

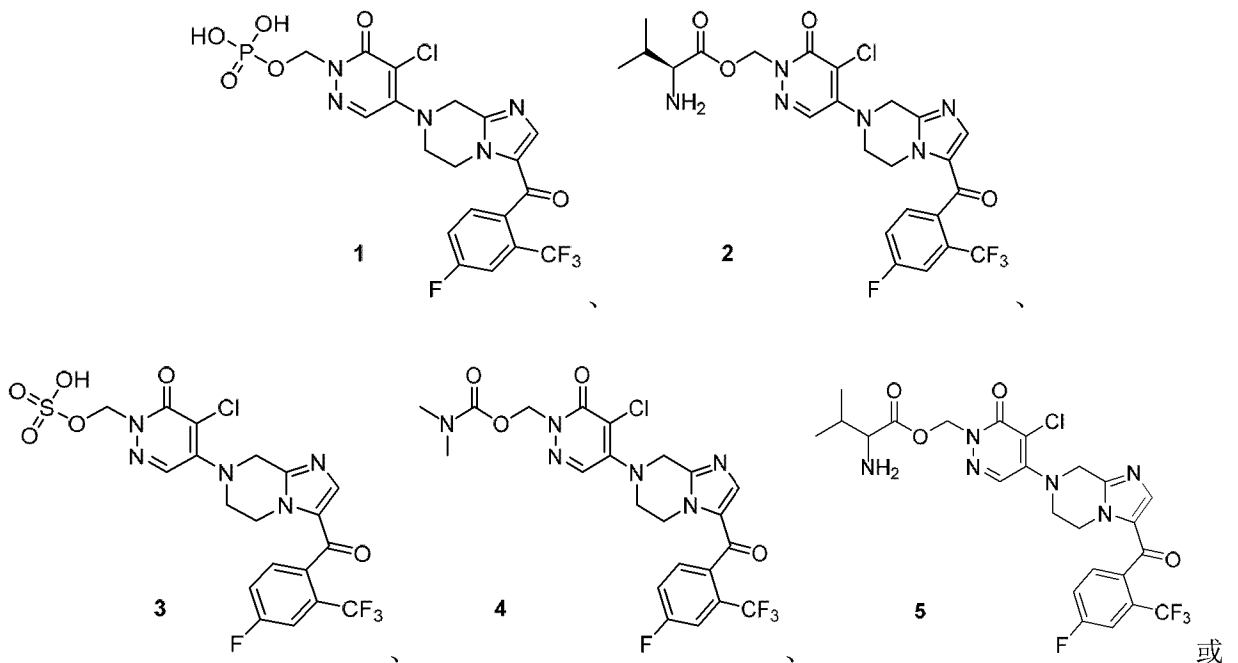
9. 如权利要求 1 所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合

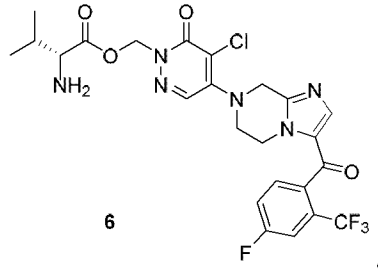


10. 如权利要求 1 所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，其特征在于，如式 I-a 所示的化合物具有如式 I-b 所示的结构：



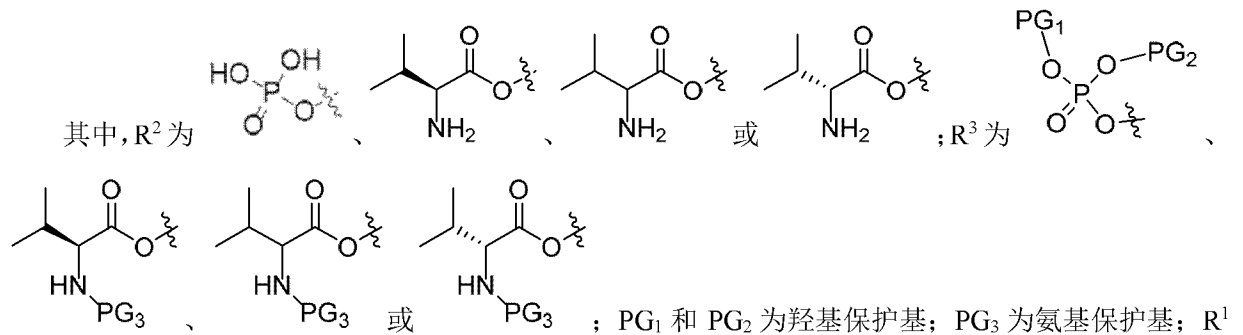
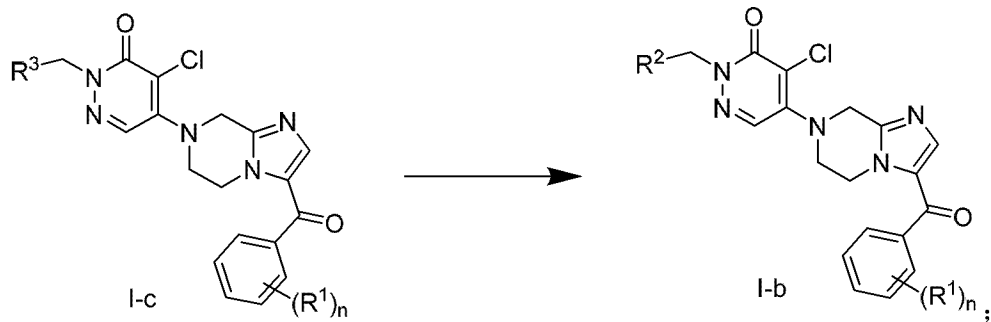
11. 如权利要求 1 所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，其特征在于，如式 I-a 所示的化合物选自以下化合物：





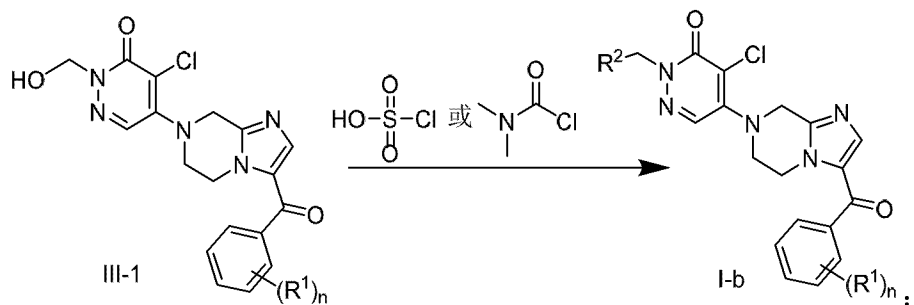
12. 一种如式 I-b 所示的化合物的制备方法, 其为方法 1 或方法 2:

所述的方法 1 包括以下步骤: 在溶剂中, 在酸的存在下, 所述化合物 I-c 进行脱保护反应, 得到所述的如式 I-b 所示的化合物;



和 n 的定义如权利要求 1-11 中至少一项所述;

所述的方法 2 包括以下步骤: 在溶剂中, 所述化合物 III-1 与所述氯磺酸或二甲氨基甲酰氯发生取代反应, 得到所述的如式 I-b 所示的化合物;



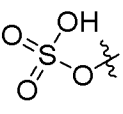
13. 如权利要求 12 所述的如式 I-b 所示的化合物的制备方法, 其特征在于,

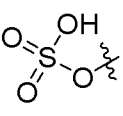
方法 1 中, PG<sub>1</sub> 和 PG<sub>2</sub> 相同, 例如 PG<sub>1</sub> 和 PG<sub>2</sub> 均为 *t*-Bu;

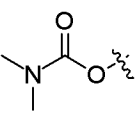
和/或, 方法 1 中, PG<sub>3</sub> 为 Boc;

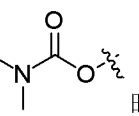
和/或, 方法 1 中, 所述酸为三氟乙酸或氯化氢的 1,4-二氧六环溶液;

和/或, 方法 1 中, 所述溶剂为二氯甲烷和/或乙酸乙酯;

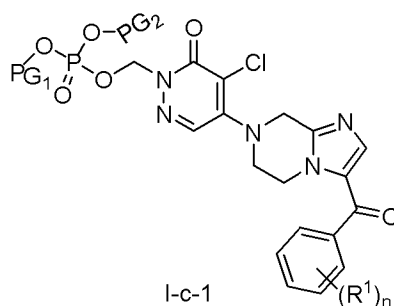
和/或, 方法 2 中, 当 R<sup>2</sup> 为  时, 所述溶剂为乙腈;

和/或, 方法 2 中, 当 R<sup>2</sup> 为  时, 所述氯磺酸与所述化合物 III-1 的摩尔比为(3-6):1;

和/或, 方法 2 中, 当 R<sup>2</sup> 为  时, 所述溶剂为四氢呋喃;

和/或, 方法 2 中, 当 R<sup>2</sup> 为  时, 所述二甲氨基甲酰氯与所述化合物 III-1 的摩尔比为(1-2):1。

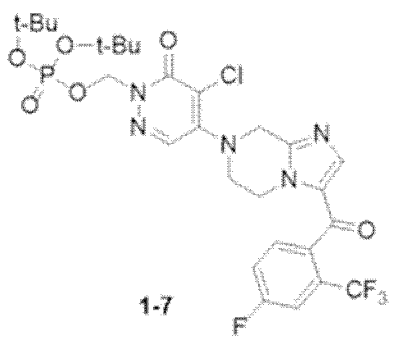
14. 一种如式 I-c-1 所示的化合物:



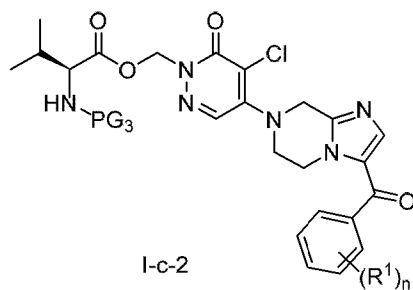
其中, R<sup>1</sup> 和 n 的定义如权利要求 1-11 中至少一项所述;

PG<sub>1</sub> 和 PG<sub>2</sub> 的定义如权利要求 12 或 13 所述;

优选地, 如式 I-c-1 所示的化合物为以下化合物:



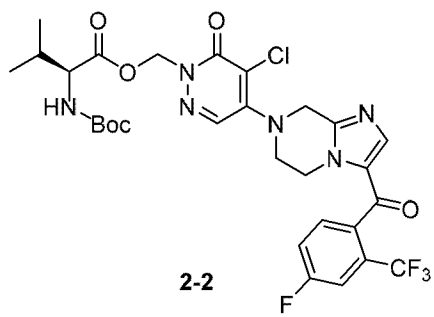
15. 一种如式 I-c-2 所示的化合物:



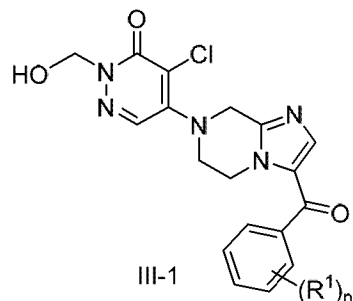
其中， $R^1$  和  $n$  的定义如权利要求 1-11 中至少一项所述；

$PG_3$  的定义如权利要求 12 或 13 所述；

优选地，如式 I-c-2 所示的化合物为以下化合物：

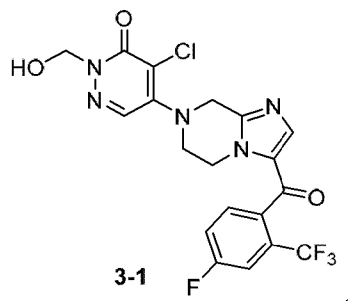


16. 一种如式 III-1 所示的化合物：



其中， $R^1$  和  $n$  的定义如权利要求 1-11 中至少一项所述；

优选地，如式 III-1 所示的化合物为以下化合物：



17. 一种药物组合物，其特征在于，其包含物质 **X** 和药用辅料，所述的物质 **X** 为如权利要求 1-11 中至少一项所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物。

18. 一种物质 **X** 在制备 TRPC5 抑制剂中的应用，其特征在于，所述的物质 **X** 为如权利要求 1-11

中至少一项所述的如式 1-a 所示的杂环化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，所述 TRPC5 抑制剂在体内使用。

19. 一种物质 X 在制备药物中的应用，其特征在于，所述的物质 X 为如权利要求 1-11 中至少一项所述的如式 1-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，所述的药物为用于治疗 and/or 预防 TRPC5 介导的疾病的药物。

20. 如权利要求 19 所述的应用，其特征在于，所述的 TRPC5 介导的疾病为精神病症、神经病症、神经退行性病症或肾病。

21. 如权利要求 20 所述的应用，其特征在于，所述的精神病症、神经病症或神经退行性病症选自：与失调的情绪处理相关的疾病（例如，边缘型人格障碍或抑郁症，诸如重性抑郁症、严重抑郁障碍、精神抑郁症、心境恶劣和产后抑郁症以及双相障碍）、与焦虑及恐惧相关的病症（例如，创伤后应激障碍、惊恐病、广场恐怖症、社交恐惧症、广泛性焦虑症、惊恐病、社交焦虑症、强迫症及分离焦虑）、记忆障碍（例如，阿尔茨海默病、遗忘症、失语症、脑损伤、脑肿瘤、慢性疲劳综合征、克雅氏病、解离性遗忘症、神游遗忘症、亨廷顿病、学习障碍、睡眠障碍、多重人格障碍、疼痛、创伤后应激障碍、精神分裂症、运动损伤、中风及韦-科二氏综合征）、与受损的冲动控制及成瘾相关的病症、阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化、癫痫、以及、由创伤或包括衰老的其他损伤引起的其他脑部病症；

所述的肾病为局灶节段性肾小球硬化、微小病变肾病或糖尿病肾病。

22. 一种物质 X 在制备药物中的应用，其特征在于，所述的物质 X 为如权利要求 1-11 中至少一项所述的如式 1-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物，所述的药物为用于治疗 and/or 预防精神病症、神经病症、神经退行性病症或肾病的药物。

23. 如权利要求 22 所述的应用，其特征在于，所述的精神病症、神经病症或神经退行性病症选自：与失调的情绪处理相关的疾病（例如，边缘型人格障碍或抑郁症，诸如重性抑郁症、严重抑郁障碍、精神抑郁症、心境恶劣和产后抑郁症以及双相障碍）、与焦虑及恐惧相关的病症（例如，创伤后应激障碍、惊恐病、广场恐怖症、社交恐惧症、广泛性焦虑症、惊恐病、社交焦虑症、强迫症及分离焦虑）、记忆障碍（例如，阿尔茨海默病、遗忘症、失语症、脑损伤、脑肿瘤、慢性疲劳综合征、克雅氏病、解离性遗忘症、神游遗忘症、亨廷顿病、学习障碍、睡眠障碍、多重人格障碍、疼痛、创伤后应激障碍、精神分裂症、运动损伤、中风及韦-科二氏综合征）、与受损的冲动控制及成瘾相关的病症、阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化、癫痫、以及、由创伤或包括衰老的其他损伤引起的其他脑部病症；

所述的肾病为局灶节段性肾小球硬化、微小病变肾病或糖尿病肾病。

24. 一种治疗和/or 预防 TRPC5 介导的疾病的方法，其特征在于，其包括向患者施用治疗有效量的物质 X；所述的物质 X 为如权利要求 1-11 中至少一项所述的如式 1-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物。

25. 如权利要求 24 所述的治疗和/或预防 TRPC5 介导的疾病的方法,其特征在于,所述的 TRPC5 介导的疾病为精神病症、神经病症、神经退行性病症或肾病。

26. 如权利要求 25 所述的治疗和/或预防 TRPC5 介导的疾病的方法,其特征在于,所述的精神病症、神经病症或神经退行性病症选自:与失调的情绪处理相关的疾病(例如,边缘型人格障碍或抑郁症,诸如重性抑郁症、严重抑郁障碍、精神抑郁症、心境恶劣和产后抑郁症以及双相障碍)、与焦虑及恐惧相关的病症(例如,创伤后应激障碍、惊恐病、广场恐怖症、社交恐惧症、广泛性焦虑症、惊恐病、社交焦虑症、强迫症及分离焦虑)、记忆障碍(例如,阿尔茨海默病、遗忘症、失语症、脑损伤、脑肿瘤、慢性疲劳综合征、克雅氏病、解离性遗忘症、神游遗忘症、亨廷顿病、学习障碍、睡眠障碍、多重人格障碍、疼痛、创伤后应激障碍、精神分裂症、运动损伤、中风及韦-科二氏综合征)、与受损的冲动控制及成瘾相关的病症、阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化、癫痫、以及、由创伤或包括衰老的其他损伤引起的其他脑部病症;

所述的肾病为局灶节段性肾小球硬化、微小病变肾病或糖尿病肾病。

27. 一种治疗和/或预防精神病症、神经病症、神经退行性病症或肾病的方法,其特征在于,其包括向患者施用治疗有效量的物质 X;所述的物质 X 为如权利要求 1-11 中至少一项所述的如式 I-a 所示的化合物、其互变异构体、其药学上可接受的盐、其溶剂合物或其药学上可接受的盐的溶剂合物。

28. 如权利要求 27 所述的治疗和/或预防精神病症、神经病症、神经退行性病症或肾病的方法,其特征在于,所述的精神病症、神经病症或神经退行性病症选自:与失调的情绪处理相关的疾病(例如,边缘型人格障碍或抑郁症,诸如重性抑郁症、严重抑郁障碍、精神抑郁症、心境恶劣和产后抑郁症以及双相障碍)、与焦虑及恐惧相关的病症(例如,创伤后应激障碍、惊恐病、广场恐怖症、社交恐惧症、广泛性焦虑症、惊恐病、社交焦虑症、强迫症及分离焦虑)、记忆障碍(例如,阿尔茨海默病、遗忘症、失语症、脑损伤、脑肿瘤、慢性疲劳综合征、克雅氏病、解离性遗忘症、神游遗忘症、亨廷顿病、学习障碍、睡眠障碍、多重人格障碍、疼痛、创伤后应激障碍、精神分裂症、运动损伤、中风及韦-科二氏综合征)、与受损的冲动控制及成瘾相关的病症、阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化、癫痫、以及、由创伤或包括衰老的其他损伤引起的其他脑部病症;

所述的肾病为局灶节段性肾小球硬化、微小病变肾病或糖尿病肾病。

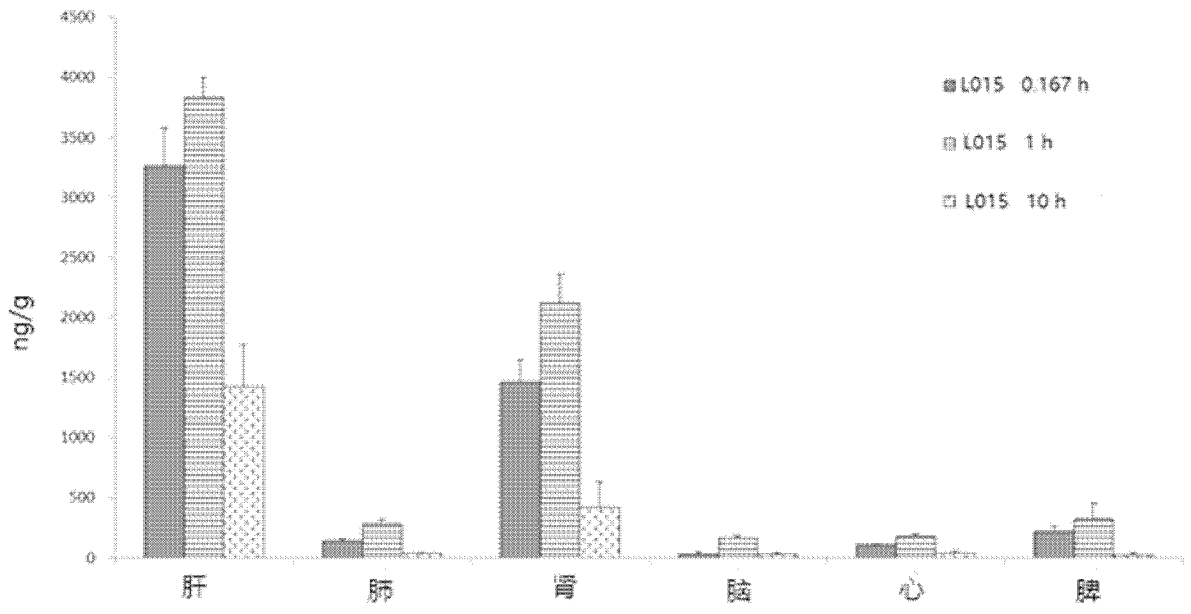


图 1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/074649

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
C07D 487/04(2006.01)i; A61K 31/4985(2006.01)i; A61P 25/00(2006.01)i; A61P 13/12(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNPAT EPODOC WPI STN(REGISTRY, CAPLUS, MARPAT): TRPC5, C07D, 结构式检索, structural formula search		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2019055966 A2 (GOLDFINCH BIO INC) 21 March 2019 (2019-03-21) claims 1, 115-122, 129-146, and description, p. 2, line 3 to p. 5, line 18, and tables 6-8	1-28
A	WO 2020061162 A1 (GOLDFINCH BIO INC) 26 March 2020 (2020-03-26) claims 1-16, and description, p. 2, line 7 to p. 4, line 14, and embodiments 1-27	1-28
A	WO 2019212937 A1 (RIBON THERAPEUTICS INC) 07 November 2019 (2019-11-07) claims 1 and 440-443, embodiments 1-773, and embodiments A-C	1-28
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search <b>12 April 2022</b>		Date of mailing of the international search report <b>26 April 2022</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China</b> Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer  Telephone No.

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: **24-28**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  - [1] The subject matter of claims 24-28 is a "method for treating and/or preventing a disease", relating to a living human or animal body, and belonging to a disease prevention or treatment method. The present report is provided on the basis of a pharmaceutical use.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2022/074649**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2019055966	A2	21 March 2019	AU	2018334290	A1	02 April 2020
				EP	3684364	A2	29 July 2020
				CA	3075727	A1	21 March 2019
WO	2020061162	A1	26 March 2020	AU	2019344928	A1	29 April 2021
				TW	202035402	A	01 October 2020
				UY	38377	A	30 April 2020
				KR	20210069652	A	11 June 2021
				US	2022024917	A1	27 January 2022
				EP	3852533	A1	28 July 2021
				CA	3113236	A1	26 March 2020
				IL	281438	D0	29 April 2021
				CO	2021004789	A2	30 July 2021
				SG	11202102053V	A	29 April 2021
				EC	SP21026485	A	30 July 2021
				US	2020102301	A1	02 April 2020
				PE	20211774	A1	08 September 2021
				JP	2022500359	A	04 January 2022
				CL	2021000648	A1	06 August 2021
				PH	12021550443	A1	06 December 2021
				US	2020283437	A1	10 September 2020
BR	112021004926	A2	01 June 2021				
CN	112911935	A	04 June 2021				
WO	2019212937	A1	07 November 2019	EC	SP20069404	A	29 January 2021
				US	2019330194	A1	31 October 2019
				IL	278116	D0	30 November 2020
				MA	52486	A	10 March 2021
				EP	3788040	A1	10 March 2021
				KR	20210014108	A	08 February 2021
				BR	112020022006	A2	26 January 2021
				JP	2021523104	A	02 September 2021
				SG	11202010183 X	A	27 November 2020
				CN	112424188	A	26 February 2021
				PH	12020551760	A1	28 June 2021
				US	2021024502	A1	28 January 2021
				CR	20200518	A	22 March 2021
				PE	20211382	A1	27 July 2021
				CO	2020013599	A2	21 December 2020
				US	2020123134	A1	23 April 2020
				EA	202092590	A1	08 April 2021
JP	2022017221	A	25 January 2022				
AU	2019262927	A1	12 November 2020				
TW	202014416	A	16 April 2020				
CA	3098585	A1	07 November 2019				
CL	2020002821	A1	19 February 2021				

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/074649

<p><b>A. 主题的分类</b></p> <p>C07D 487/04(2006.01)i; A61K 31/4985(2006.01)i; A61P 25/00(2006.01)i; A61P 13/12(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>														
<p><b>B. 检索领域</b></p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07D A61K A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNPAT EPODOC WPI STN(REGISTRY, CAPLUS, MARPAT): TRPC5, C07D, 结构式检索</p>														
<p><b>C. 相关文件</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>WO 2019055966 A2 (GOLDFINCH BIO INC) 2019年3月21日 (2019 - 03 - 21) 权利要求1、115-122、129-146, 说明书第2页第3行至第5页第18行, 表6-8</td> <td>1-28</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2020061162 A1 (GOLDFINCH BIO INC) 2020年3月26日 (2020 - 03 - 26) 权利要求1-16, 说明书第2页第7行至第4页第14行, 实施例1-27</td> <td>1-28</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2019212937 A1 (RIBON THERAPEUTICS INC) 2019年11月7日 (2019 - 11 - 07) 权利要求1、440-443, 实施例1-773, 实施例A-C</td> <td>1-28</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	WO 2019055966 A2 (GOLDFINCH BIO INC) 2019年3月21日 (2019 - 03 - 21) 权利要求1、115-122、129-146, 说明书第2页第3行至第5页第18行, 表6-8	1-28	A	WO 2020061162 A1 (GOLDFINCH BIO INC) 2020年3月26日 (2020 - 03 - 26) 权利要求1-16, 说明书第2页第7行至第4页第14行, 实施例1-27	1-28	A	WO 2019212937 A1 (RIBON THERAPEUTICS INC) 2019年11月7日 (2019 - 11 - 07) 权利要求1、440-443, 实施例1-773, 实施例A-C	1-28
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
A	WO 2019055966 A2 (GOLDFINCH BIO INC) 2019年3月21日 (2019 - 03 - 21) 权利要求1、115-122、129-146, 说明书第2页第3行至第5页第18行, 表6-8	1-28												
A	WO 2020061162 A1 (GOLDFINCH BIO INC) 2020年3月26日 (2020 - 03 - 26) 权利要求1-16, 说明书第2页第7行至第4页第14行, 实施例1-27	1-28												
A	WO 2019212937 A1 (RIBON THERAPEUTICS INC) 2019年11月7日 (2019 - 11 - 07) 权利要求1、440-443, 实施例1-773, 实施例A-C	1-28												
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>														
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&amp;” 同族专利的文件</p>														
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年4月12日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年4月26日</p>												
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>张英姝</p> <p>电话号码 86-(10)-53962163</p>												

## 第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1.  权利要求： 24-28  
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：  
[1] 权利要求24-28的主题为“治疗和/或预防疾病的方法”，均涉及有生命的人体或动物体，属于疾病的预防或治疗方法。本报告是基于制药用途的基础上做出的。
2.  权利要求：  
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3.  权利要求：  
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/074649

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2019055966	A2	2019年3月21日	AU	2018334290	A1	2020年4月2日
				EP	3684364	A2	2020年7月29日
				CA	3075727	A1	2019年3月21日
WO	2020061162	A1	2020年3月26日	AU	2019344928	A1	2021年4月29日
				TW	202035402	A	2020年10月1日
				UY	38377	A	2020年4月30日
				KR	20210069652	A	2021年6月11日
				US	2022024917	A1	2022年1月27日
				EP	3852533	A1	2021年7月28日
				CA	3113236	A1	2020年3月26日
				IL	281438	D0	2021年4月29日
				CO	2021004789	A2	2021年7月30日
				SG	11202102053V	A	2021年4月29日
				EC	SP21026485	A	2021年7月30日
				US	2020102301	A1	2020年4月2日
				PE	20211774	A1	2021年9月8日
				JP	2022500359	A	2022年1月4日
				CL	2021000648	A1	2021年8月6日
				PH	12021550443	A1	2021年12月6日
				US	2020283437	A1	2020年9月10日
				BR	112021004926	A2	2021年6月1日
CN	112911935	A	2021年6月4日				
WO	2019212937	A1	2019年11月7日	EC	SP20069404	A	2021年1月29日
				US	2019330194	A1	2019年10月31日
				IL	278116	D0	2020年11月30日
				MA	52486	A	2021年3月10日
				EP	3788040	A1	2021年3月10日
				KR	20210014108	A	2021年2月8日
				BR	112020022006	A2	2021年1月26日
				JP	2021523104	A	2021年9月2日
				SG	11202010183X	A	2020年11月27日
				CN	112424188	A	2021年2月26日
				PH	12020551760	A1	2021年6月28日
				US	2021024502	A1	2021年1月28日
				CR	20200518	A	2021年3月22日
				PE	20211382	A1	2021年7月27日
				CO	2020013599	A2	2020年12月21日
				US	2020123134	A1	2020年4月23日
				EA	202092590	A1	2021年4月8日
				JP	2022017221	A	2022年1月25日
AU	2019262927	A1	2020年11月12日				
TW	202014416	A	2020年4月16日				
CA	3098585	A1	2019年11月7日				
CL	2020002821	A1	2021年2月19日				