

(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
2023年3月30日 (30.03.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/045978 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 413/14 (2006.01) A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/120267

(22) 国际申请日: 2022年9月21日 (21.09.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202111131041.0 2021年9月26日 (26.09.2021) CN
202211104698.2 2022年9月9日 (09.09.2022) CN

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

(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))。

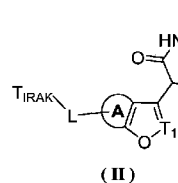
(72) 发明人: 雷茂义(LEI, Maoyi); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。徐雨(XU, Yu); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。王绍辉(WANG, Shaohui); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。罗云富(LUO, Yunfu); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。陈曙辉(CHEN, Shuhui); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。

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

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

(54) Title: 2,6-PIPERIDINEDIONE COMPOUND AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 2,6-哌啶二酮类化合物与其应用



(57) Abstract: Provided are a 2,6-piperidinedione compound and an application thereof. Particularly provided are a compound represented by formula (II), a stereoisomer thereof, and a pharmaceutically acceptable salt thereof.

(57) 摘要: 提供了一种2,6-哌啶二酮类化合物与其应用, 具体提供了式(II)所示化合物、其立体异构体及其药学上可接受的盐。

WO 2023/045978 A1

2,6-哌啶二酮类化合物与其应用

本申请主张如下优先权

本申请要求 1) 于 2021 年 09 月 26 日向中国国家知识产权局提交的第 2021111310410 号中国专利申请的优先权和权益, 和 2) 于 2022 年 09 月 09 日向中国国家知识产权局提交的第 2022111046982 号中国专利申请的优先权和权益, 所述申请公开的内容通过引用整体并入本文中。

技术领域

本发明涉及一类 2,6-哌啶二酮类化合物与其应用。具体涉及式 (II) 所示合物、其立体异构体及其药学上可接受的盐。

背景技术

白细胞介素-1 受体相关激酶 4 (Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase 4, IRAK4) 在 Toll 样受体家族 (TLRs) 与白细胞介素 1 型受体家族 (IL-1R) 的信号传导通路中起到承上启下的作用, 接收上游信号从而激活其下游的 JNK 和 NF- κ B 信号通路, 对人类炎症免疫性疾病和肿瘤的发展与进程具有非常密切的关系。

Toll 样受体 (TLR) 信号转导蛋白髓样分化因子 (MyD88) 经常在华氏巨球蛋白血症、淋巴浆细胞样淋巴瘤、抗免疫型大 B 细胞淋巴瘤和边缘区淋巴瘤等多种淋巴瘤中发生突变, 突变比例分别为 95-97%、79%、50-80%、15-29% 和 6-10% 等。IRAK4 几乎参与 MyD88 所有的生物学功能, 成为一个具有非常大吸引力和无限潜力的药物靶点, 特别是用于治疗 MyD88 驱动的淋巴瘤。

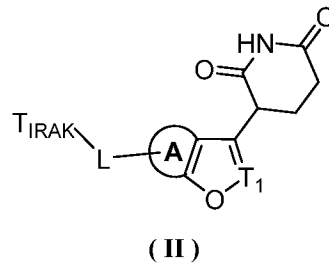
研究发现, IRAK4 的功能不但可以对蛋白质磷酸化, 还可以与 MyD88 形成复合物从而发挥其生物学功能。IRAK4 激活 JNK 信号通路需要其磷酸化功能, 然而激活 NF- κ B 信号通路则不需要其磷酸化功能, 说明 IRAK4 同时具备蛋白激酶和支架蛋白两种功能, 在信号通路中发挥着作用。因此, 传统的靶向 IRAK4 的小分子激酶抑制剂无法完全阻断 IRAK4 的所有生物学功能。

蛋白降解靶向嵌合体 (Proteolysis Targeting Chimera, PROTAC) 是一种应用泛素-蛋白酶体系统靶向特定蛋白质并诱导其在细胞内降解的技术。泛素-蛋白酶体系统是细胞内蛋白质降解的主要途径, 其正常生理功能主要负责清除细胞内变性、突变或有害蛋白质, 细胞内 80% 以上蛋白质的降解都依赖于泛素-蛋白酶体系统。PROTAC 利用细胞自身的蛋白质破坏机制, 清除细胞中的特异性靶向蛋白。迄今为止, PROTAC 技术已日趋成熟, 可用于靶向多种蛋白质, 包括支架蛋白、转录因子、酶和调节蛋白等。另外, 度胺类药物被称为免疫调节药物 (Immunomodulatory Drugs, IMiDs), 激活与 Cereblon (CRBN) 形成的 E3 泛素连接酶复合物对转录因子 IKZF1 与 IKZF3 的泛素化, 然后被蛋白酶体识别与降解, 从而对肿瘤产生毒性作用。CRBN 作为抗肿瘤和免疫调节剂药物的重要靶点, 已被证实在多种血液性恶性肿瘤、麻风结节性红斑等皮肤病、和系统性红斑狼疮等自免疫性疾病具有明确的疗效。

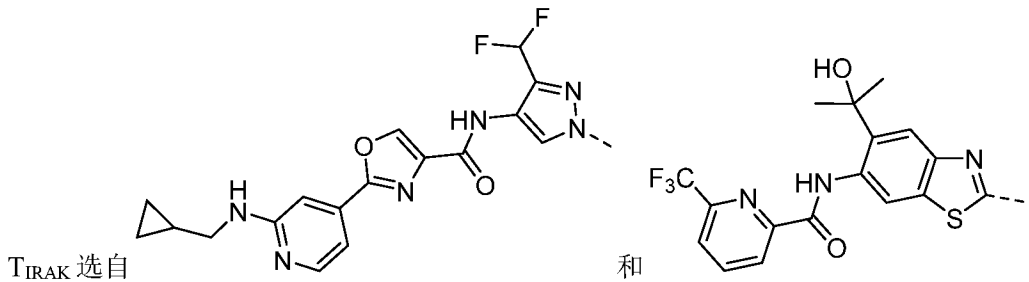
因此，开发靶向 IRAK4 的 PROTAC 和 IMiD 双功能分子，通过降解 IRAK4，移除 IRAK4，更彻底地阻断 IRAK4 的所有功能，进而从根本上对 IRAK4 信号通路进行全面抑制，同时具备良好的 CRBN 调节作用起到协同治疗作用，从而更好地发挥抗肿瘤作用，提高临床治疗效果。

发明内容

本发明提供式 (II) 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，



其中，



L 选自 C_{2-10} 亚烷基，所述 C_{2-10} 亚烷基上的任意 2、3 或 4 个 CH_2 分别独立地被 Ra 置换，所述 C_{2-10} 亚烷基分别独立地任选被 1、2、3、4、5 或 6 个卤素取代；

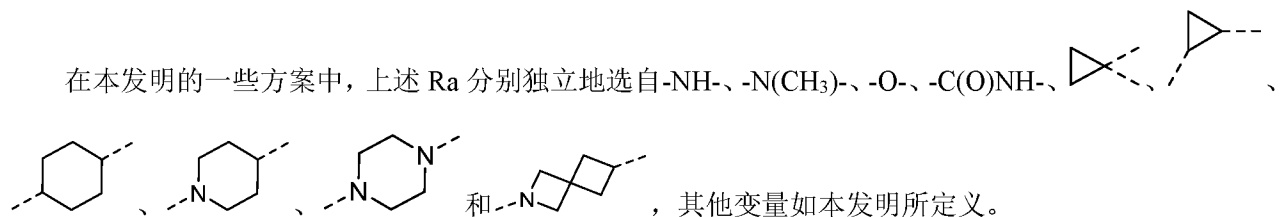
Ra 分别独立地选自 -N(R)-、-O-、-C(O)NH-、- C_{3-6} 环烷基-和-4-8 元杂环烷基-；

R 选自 H 和 C_{1-4} 烷基；

T_1 选自 CH 和 N；

环 A 选自 C_{6-10} 芳基和 5-10 元杂芳基。

在本发明的一些方案中，上述 Ra 分别独立地选自 -NH-、-N(CH₃)-、-O-、-C(O)NH-、-环丙基-、-环丁基-、-环戊基-、-环己基-、-哌啶基-、-哌嗪基-、-氮杂螺[3.3]庚烷基-、-二氮杂螺[3.3]庚烷基-和-氮杂双环[3.1.0]己基-，其他变量如本发明所定义。

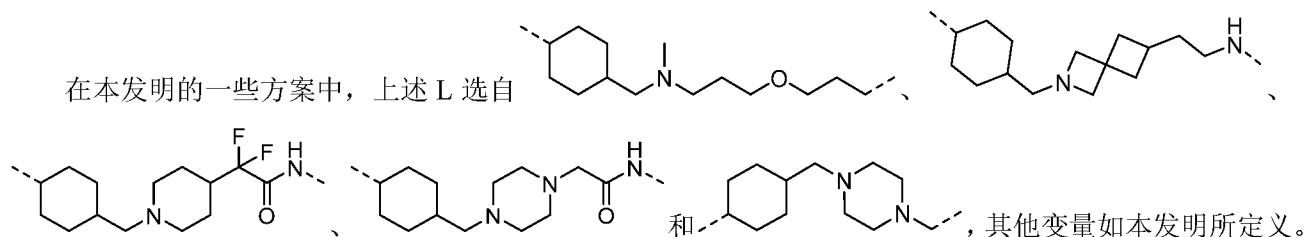


在本发明的一些方案中，上述 L 选自 C_{4-10} 亚烷基，所述 C_{4-10} 亚烷基的任意 3 个 CH_2 分别独立地被 Ra

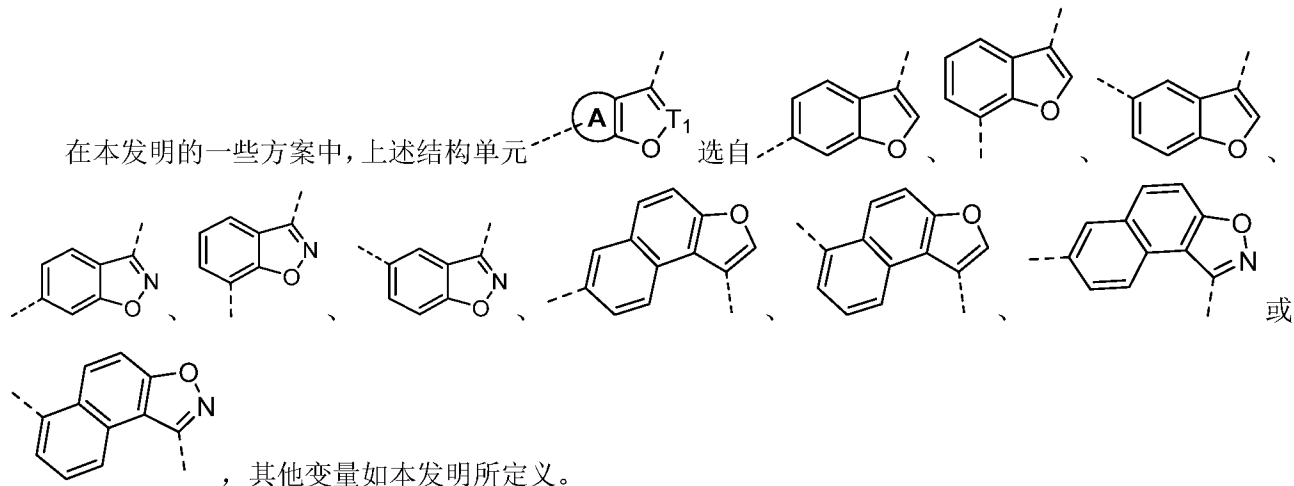
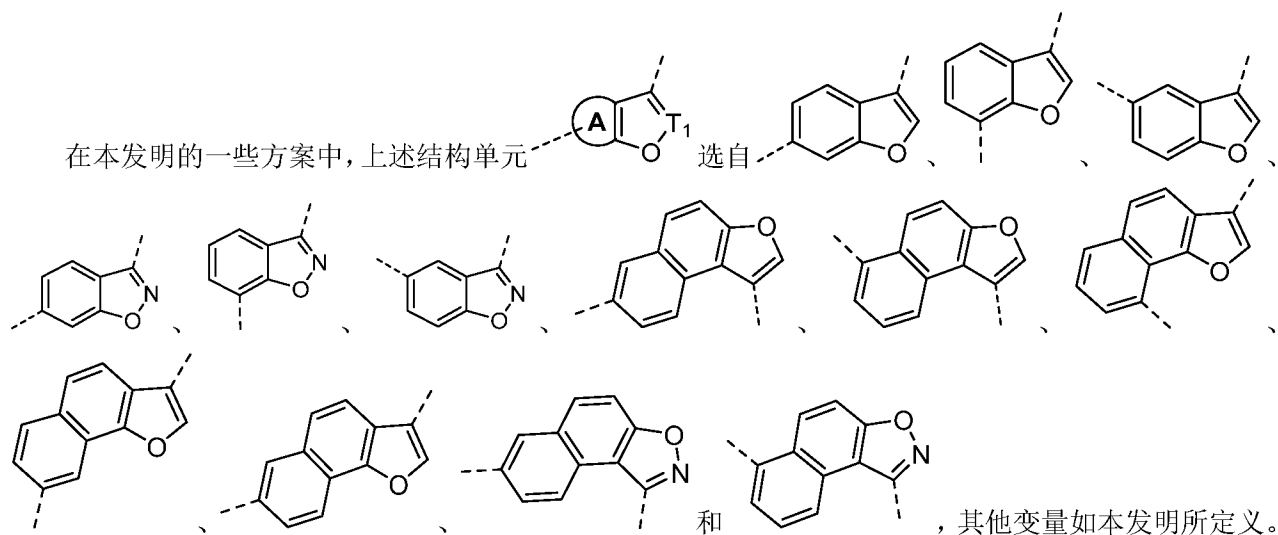
置换, 所述 C₄₋₁₀ 亚烷基分别独立地任选被 1、2、3、4、5 或 6 个卤素取代, 其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中, 上述 L 选自 -C₃₋₆ 环烷基-CH₂-Ra-C₁₋₃ 亚烷基-Ra-C₀₋₃ 亚烷基-、-C₃₋₆ 环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-4-8 元杂环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-Ra-、和 -C₃₋₆ 环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-4-8 元杂环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-, 所述 C₁₋₃ 亚烷基分别独立地任选被 1 或 2 个卤素取代, 其他变量如本发明所定义。

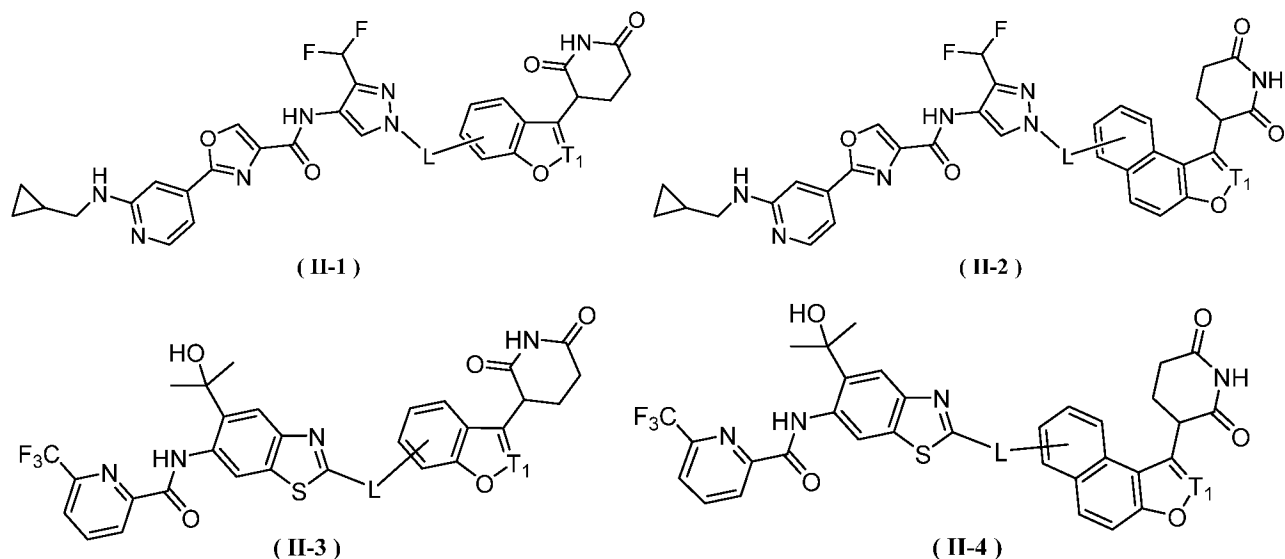
在本发明的一些方案中, 上述 L 选自 -环己基-CH₂-N(R)-C₁₋₃ 亚烷基-O-C₁₋₃ 亚烷基-、-环己基-CH₂-4-8 元杂环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-N(R)-、-环己基-CH₂-哌啶基-C₁₋₃ 亚烷基-C(O)NH-、-环己基-CH₂-哌啶基-CF₂-C(O)NH-、-环己基-CH₂-哌嗪基-C₁₋₃ 亚烷基-C(O)NH-和-环己基-CH₂-哌嗪基-C₁₋₃ 亚烷基-, 其他变量如本发明所定义。



在本发明的一些方案中, 上述环 A 选自苯基和萘基, 其他变量如本发明所定义。

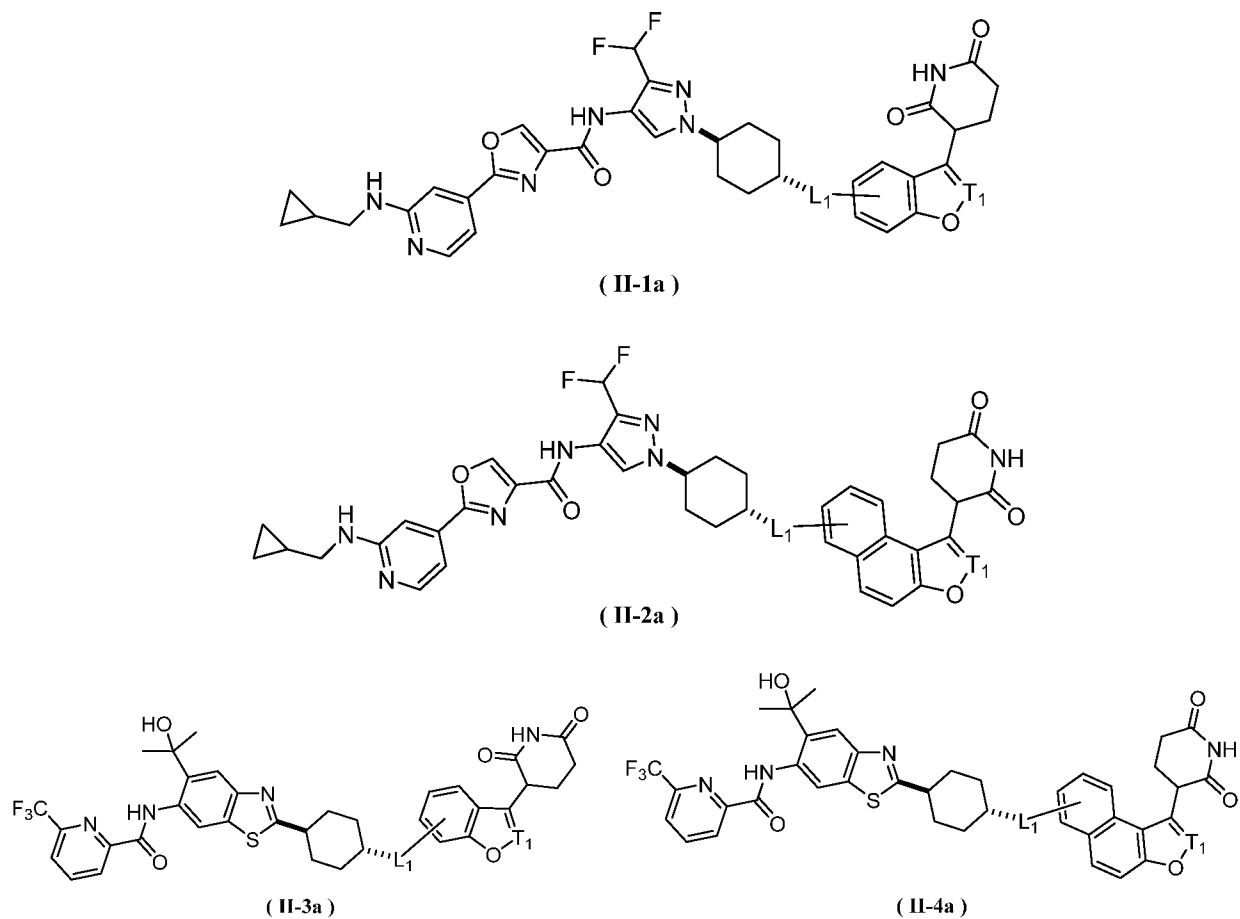


本发明还提供式 (II-1)、(II-2)、(II-3) 和 (II-4) 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐,



其中, L 和 T₁ 如式 (II) 所定义。

本发明还提供式 (II-1a)、(II-2a)、(II-3a) 和 (II-4a) 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐,

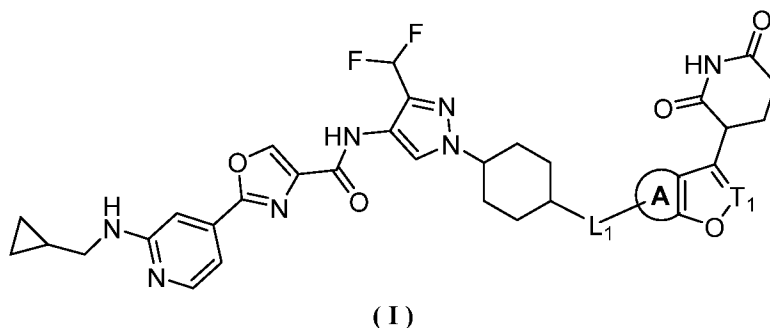


其中,

L_1 选自 $-C_{1-3}$ 亚烷基- $Ra-C_{1-3}$ 亚烷基- $Ra-C_{0-3}$ 亚烷基-、 $-C_{1-3}$ 亚烷基-4-8 元杂环烷基- C_{1-3} 亚烷基- Ra -和- C_{1-3} 亚烷基-4-8 元杂环烷基- C_{1-3} 亚烷基-，所述 C_{1-3} 亚烷基分别独立地任选被 1 或 2 个卤素原子取代；

T_1 和 Ra 如式 (II) 所定义。

本发明还提供式 (I) 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，



其中，

L_1 选自 C_{1-10} 亚烷基，其中的 1、2 或 3 个 CH_2 任选被 Ra 置换，所述 C_{1-10} 亚烷基任选被 1 或 2 个卤素原子取代；

Ra 选自 $-N(R)$ -、 $-O-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-C_{3-6}$ 环烷基-或-4-8 元杂环烷基-；

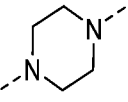
R 选自 H 或 C_{1-4} 烷基；

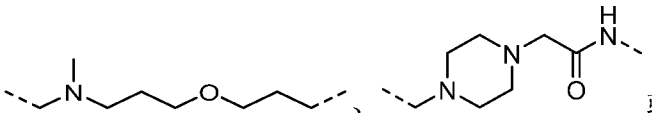
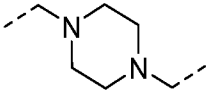
T_1 选自 CH 或 N；

环 A 选自 C_{6-10} 芳基或 5-10 元杂芳基；

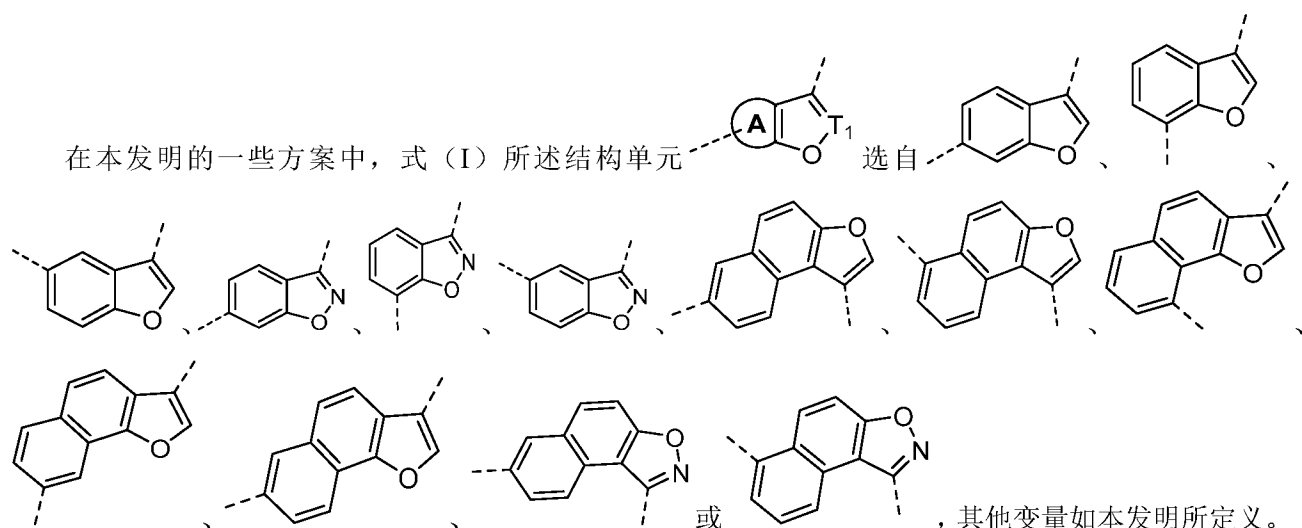
所述“4-8 元杂环烷基和 5-10 元杂芳基”各自包含 1、2 或 3 个独立选自 N、O、S 或 Se 的杂原子。

在本发明的一些方案中，式 (I) 所述 Ra 选自 $-N(CH_3)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)NH-$ 、-环丙基-或-哌嗪基-，其他变量如本发明所定义。

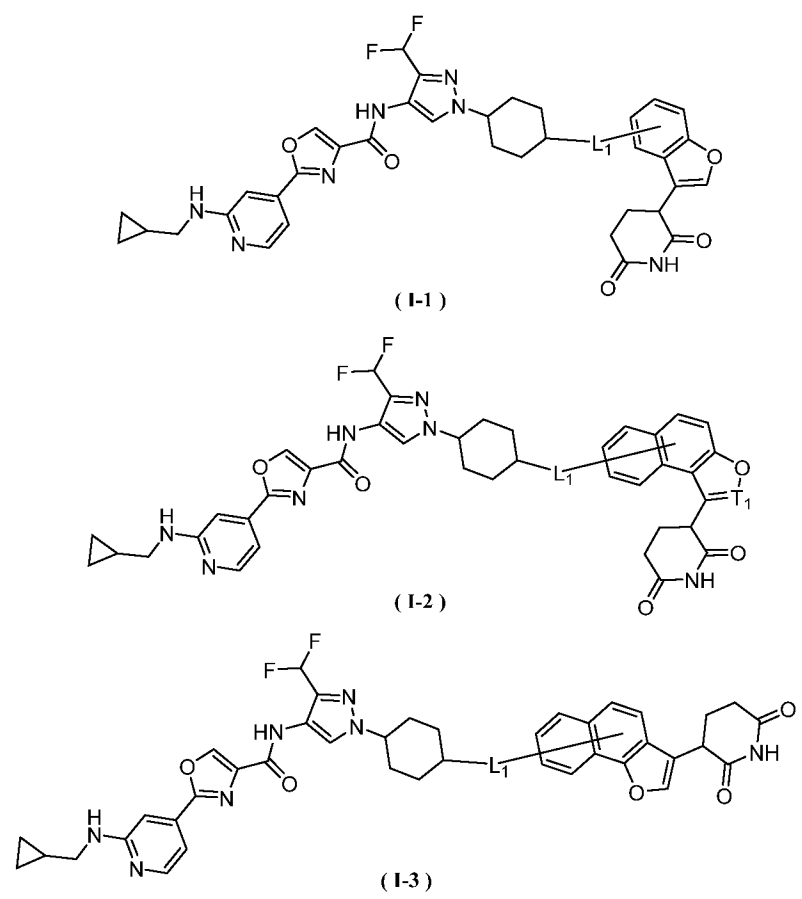
在本发明的一些方案中，式 (I) 所述 Ra 选自 $-N(CH_3)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)NH-$ 或 ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，式 (I) 所述 L_1 选自  或 ，其他变量如本发明所定义。

在本发明的一些方案中，式 (I) 所述环 A 选自苯基或萘基，其他变量如本发明所定义。

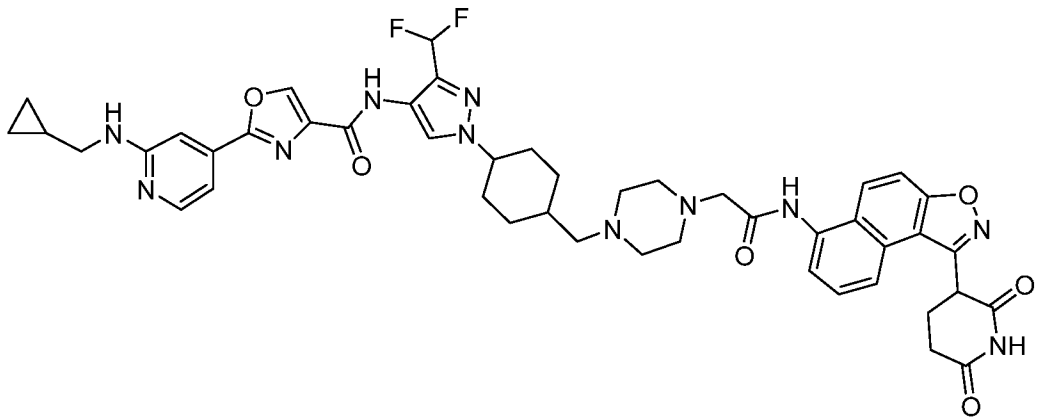
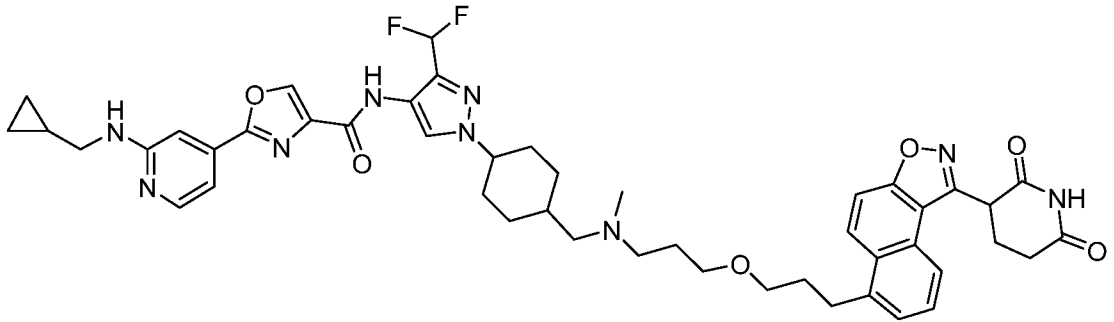
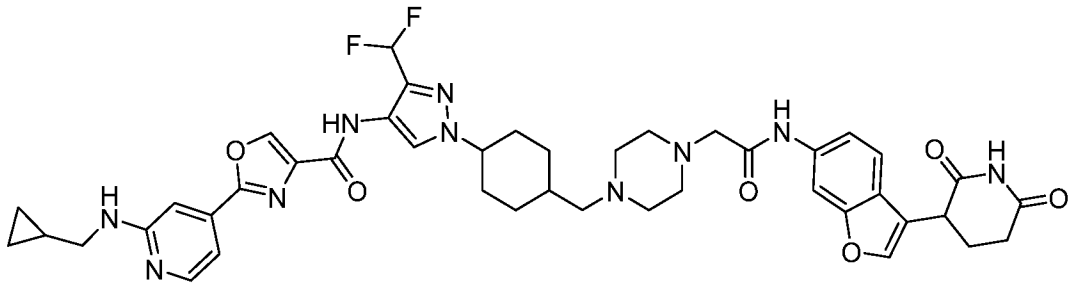
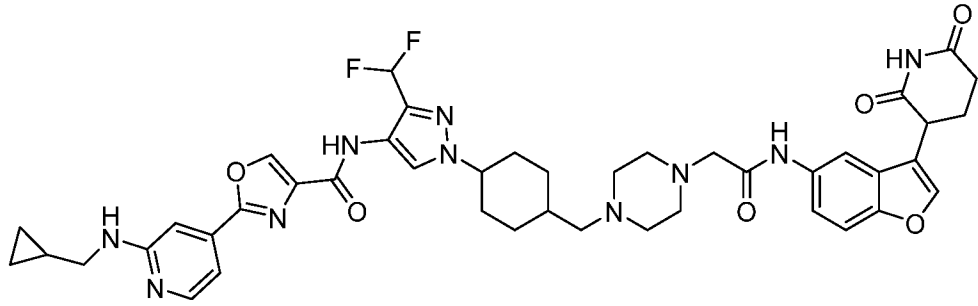
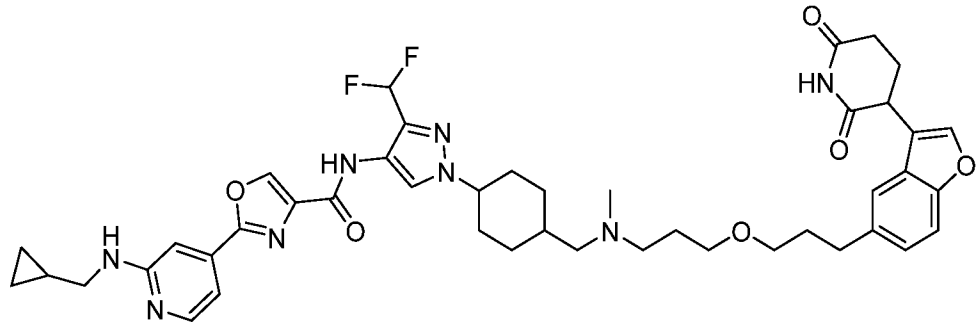


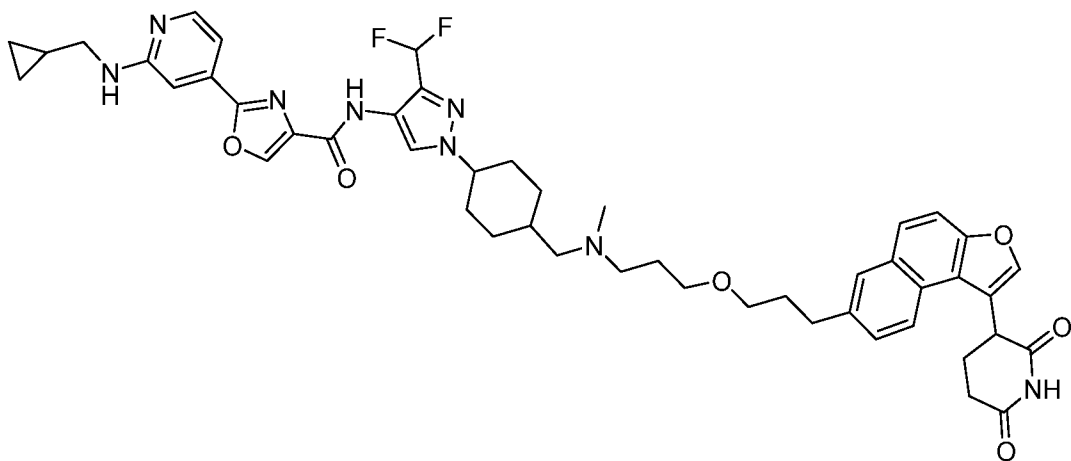
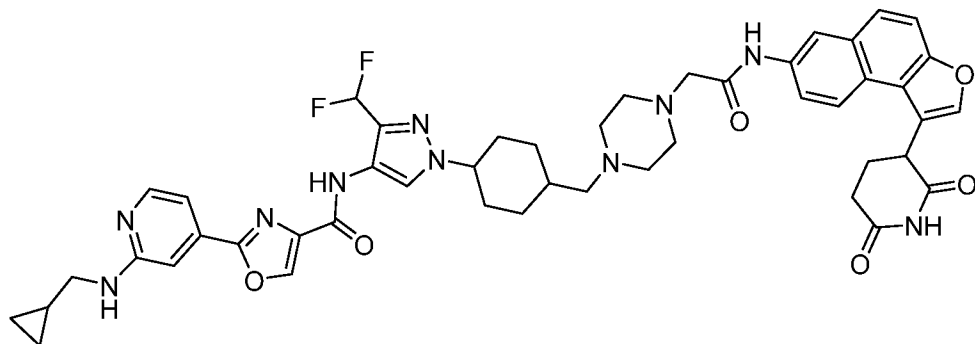
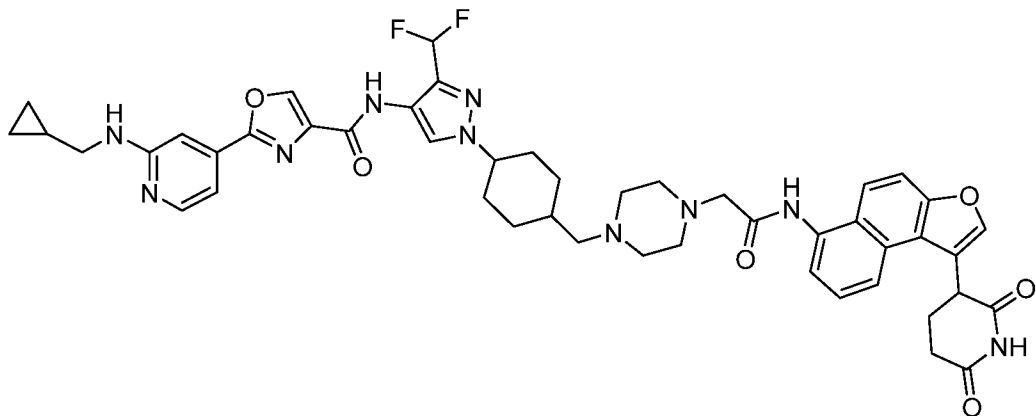
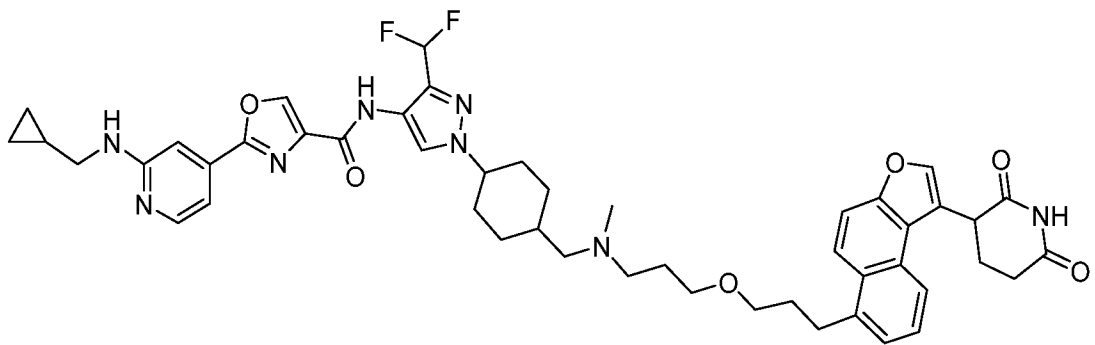
本发明还提供式 (I-1)、(I-2) 和 (I-3) 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，

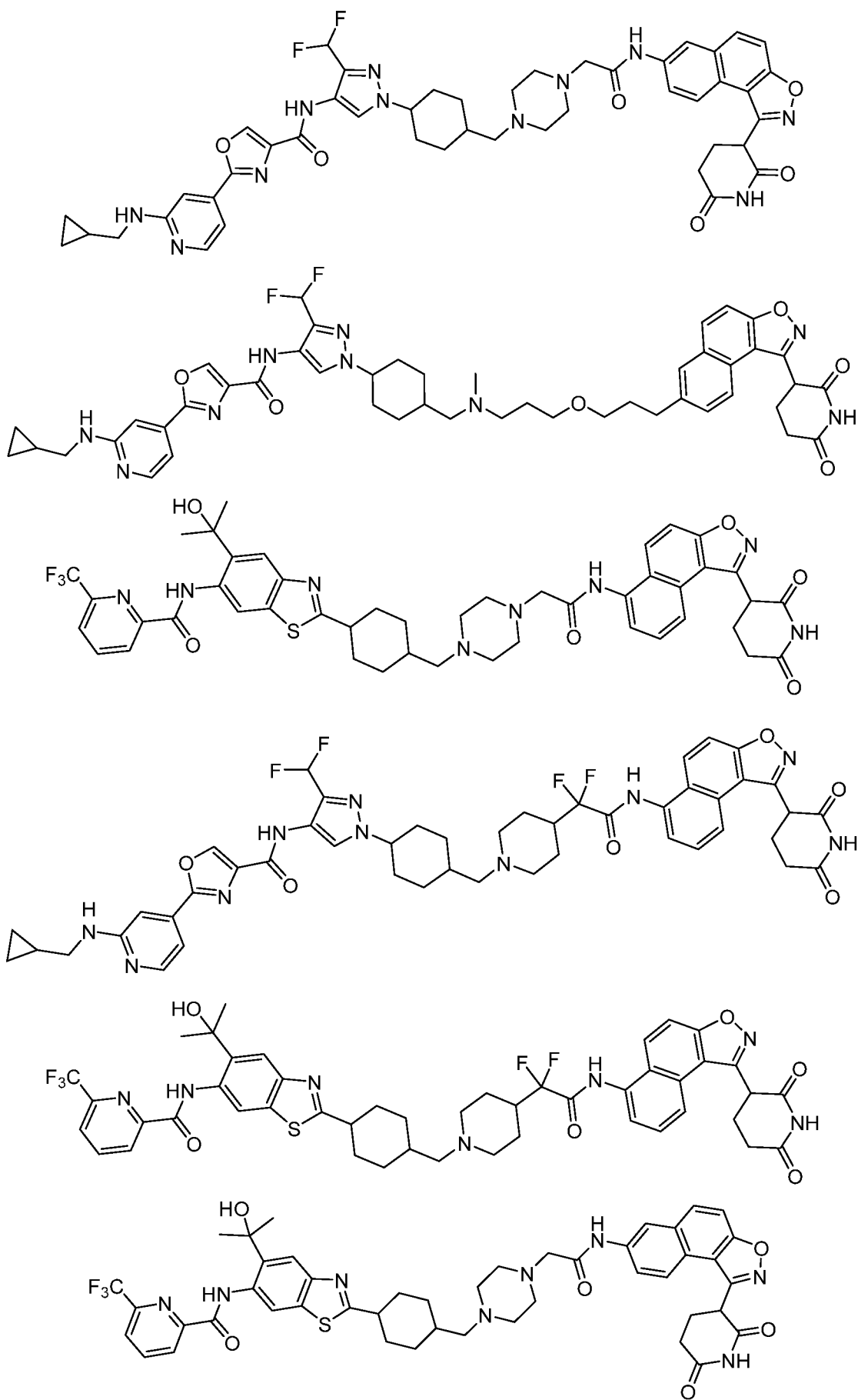


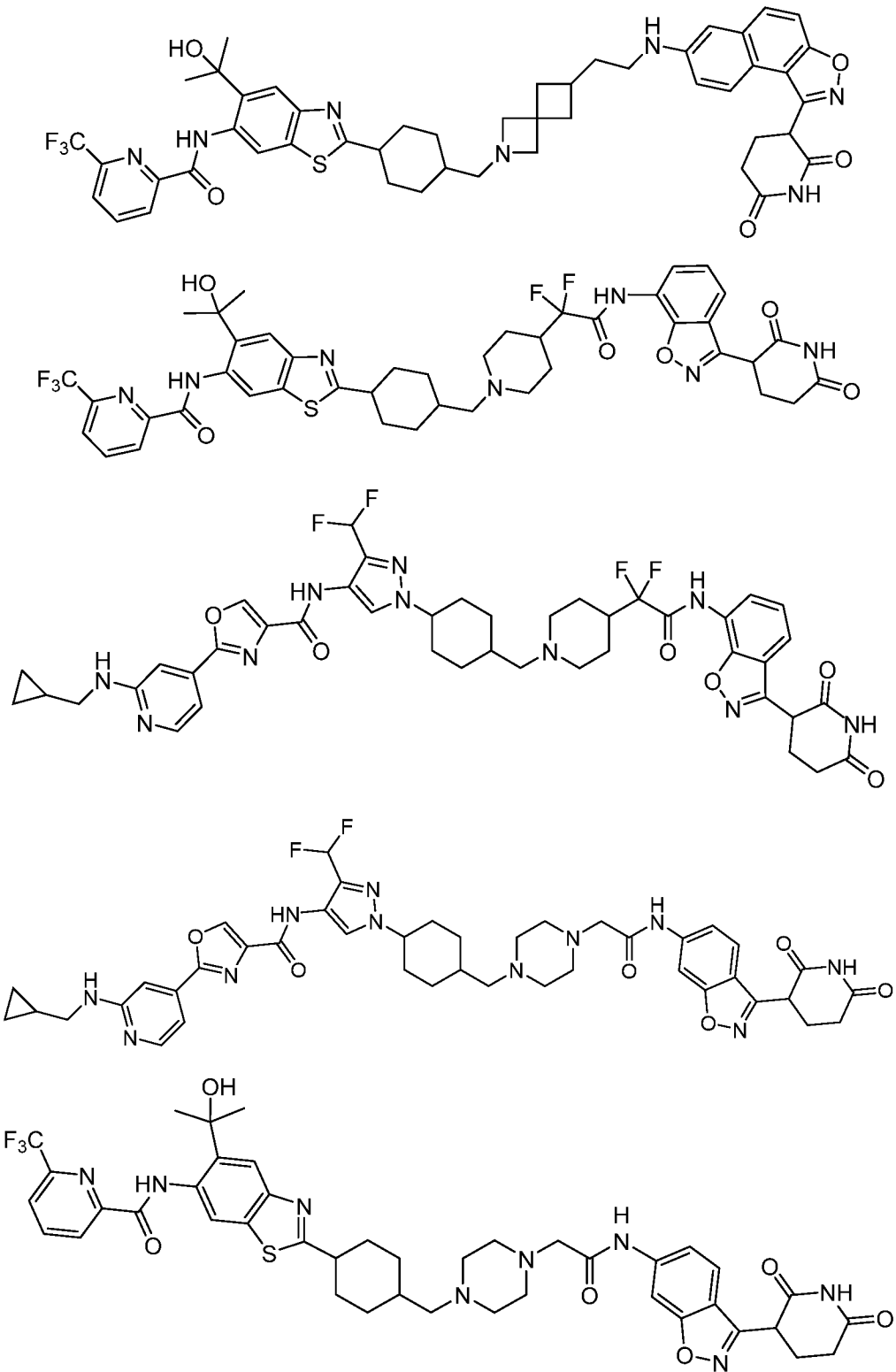
其中，L₁ 和 T₁ 如本发明所定义。

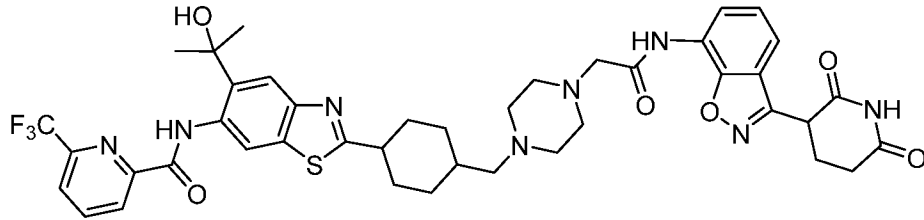
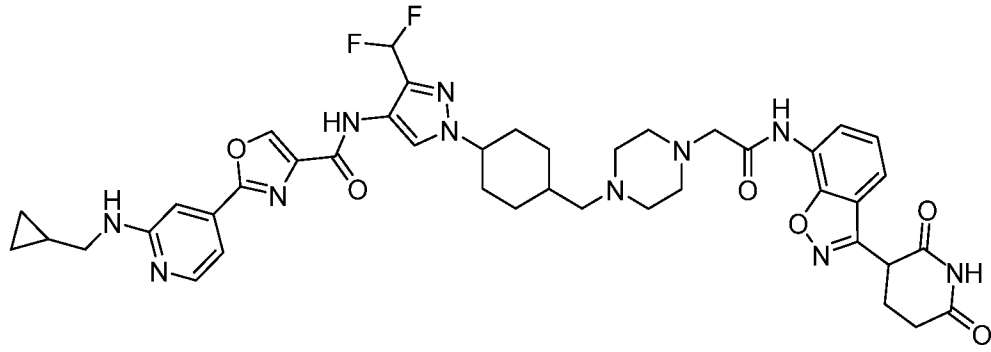
本发明还提供下列化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，



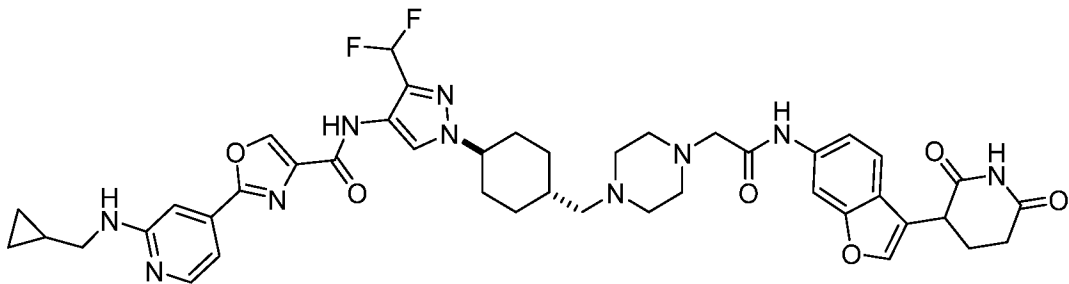
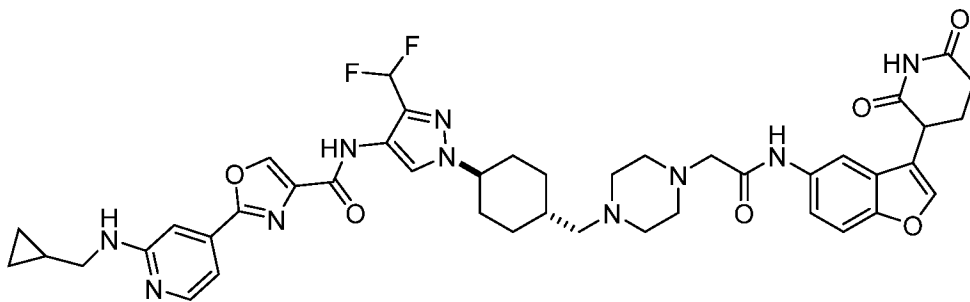
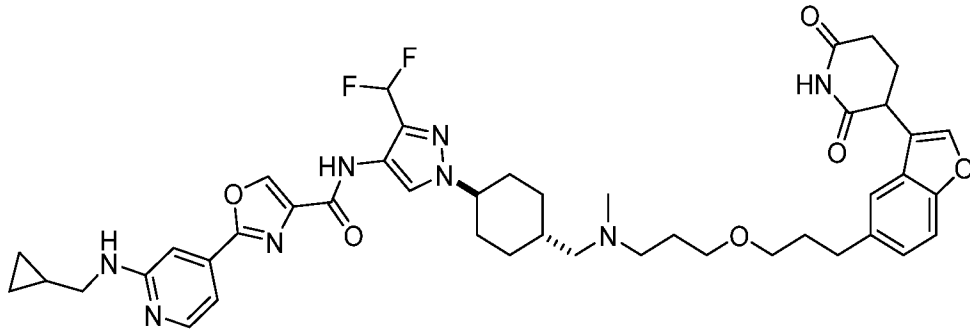


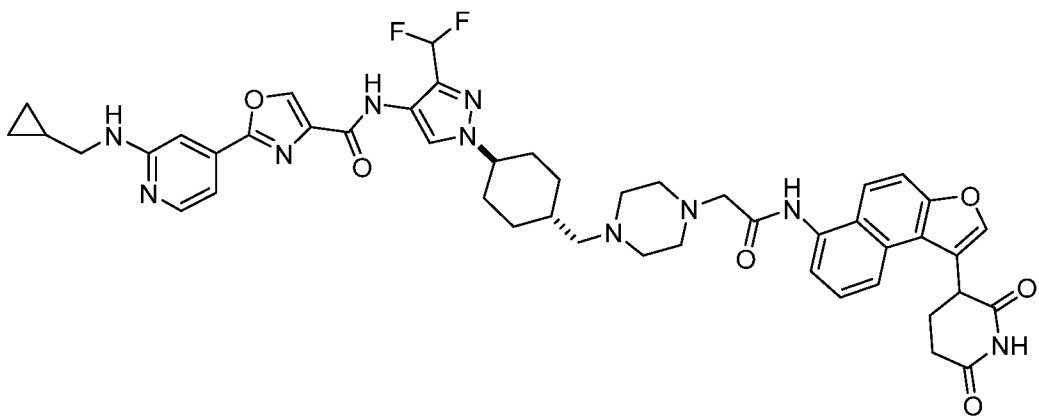
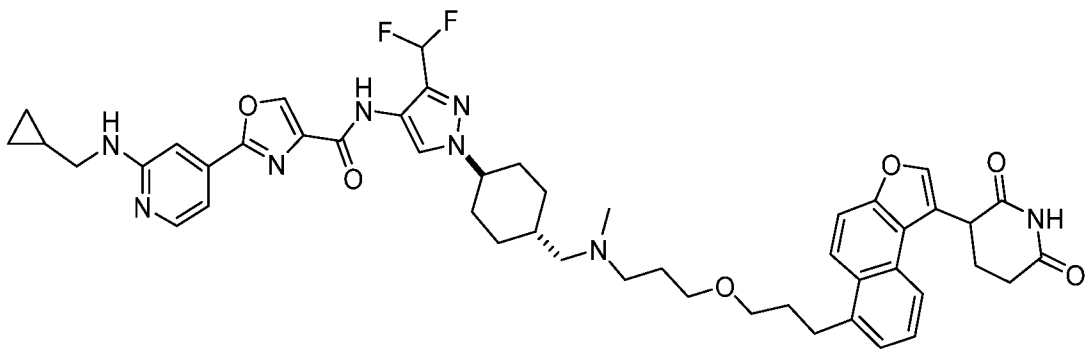
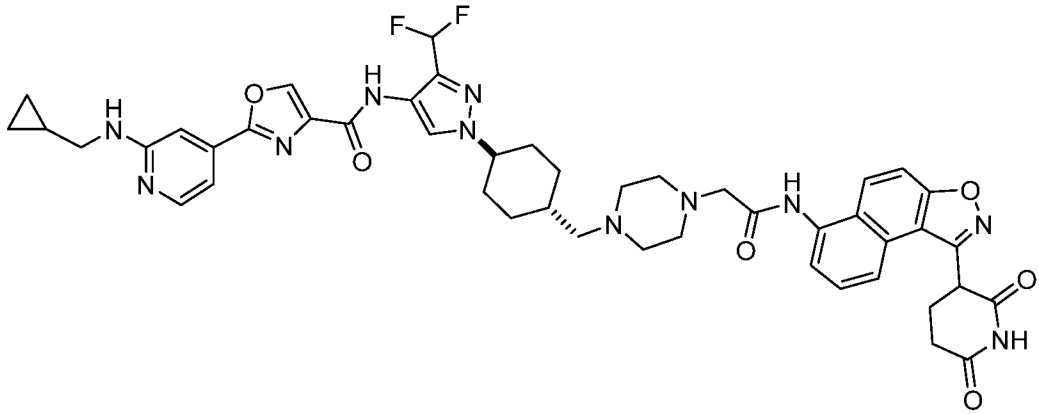
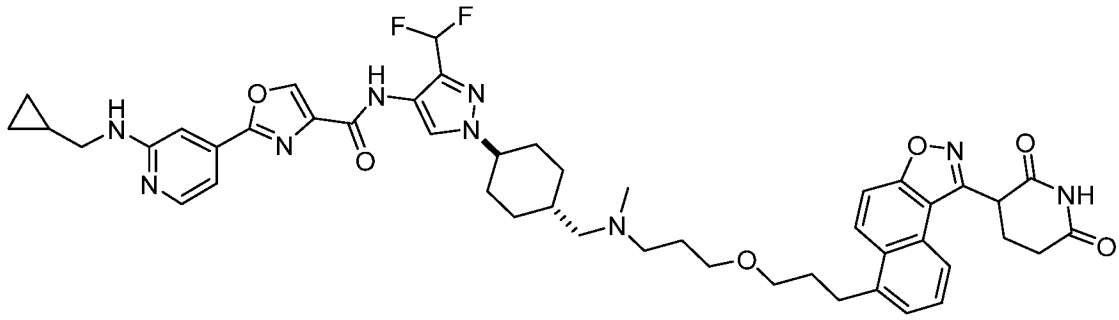


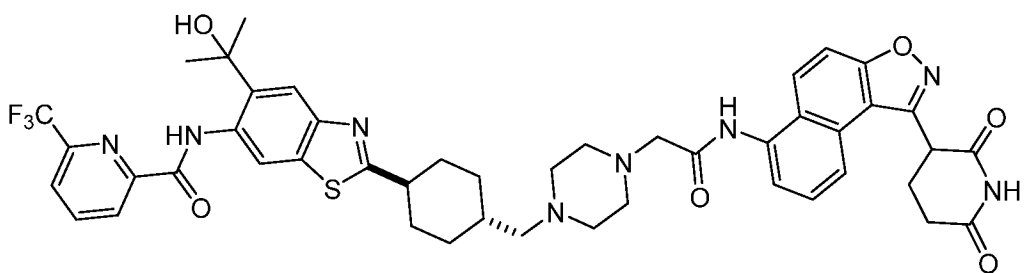
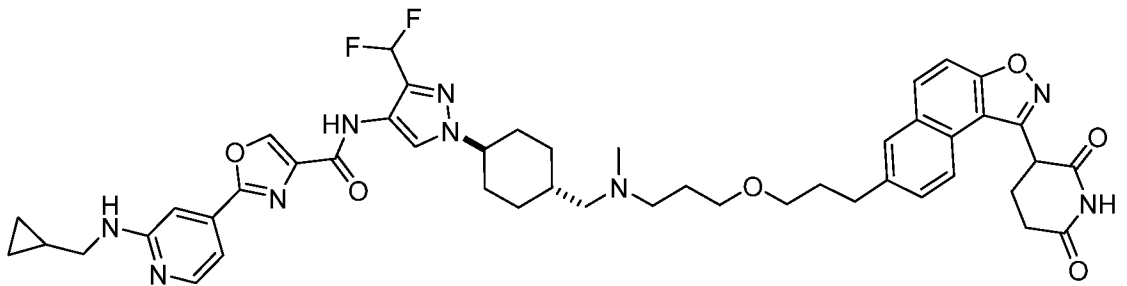
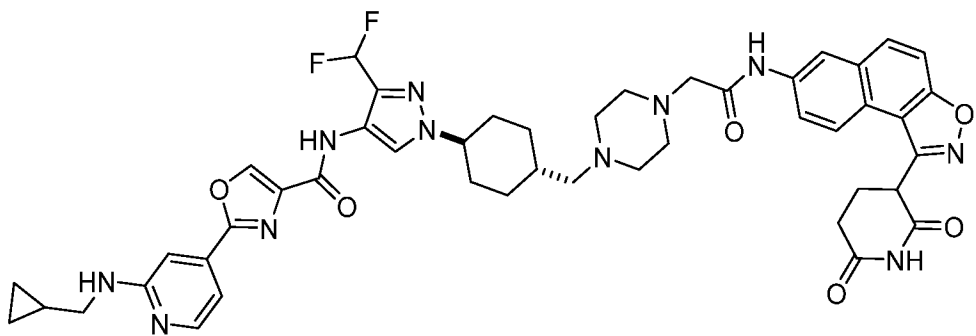
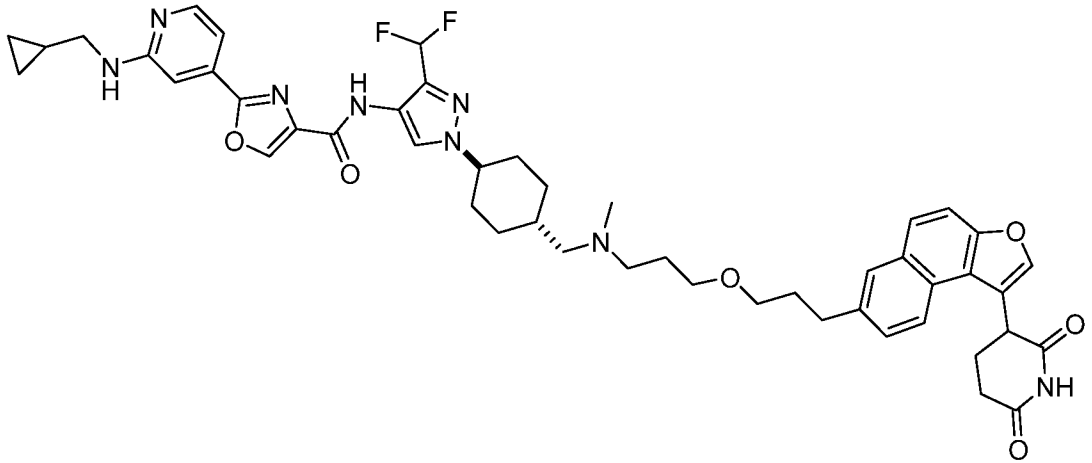
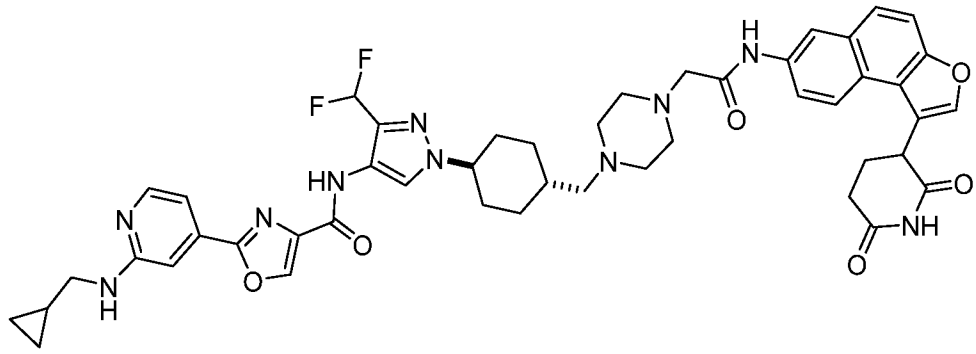


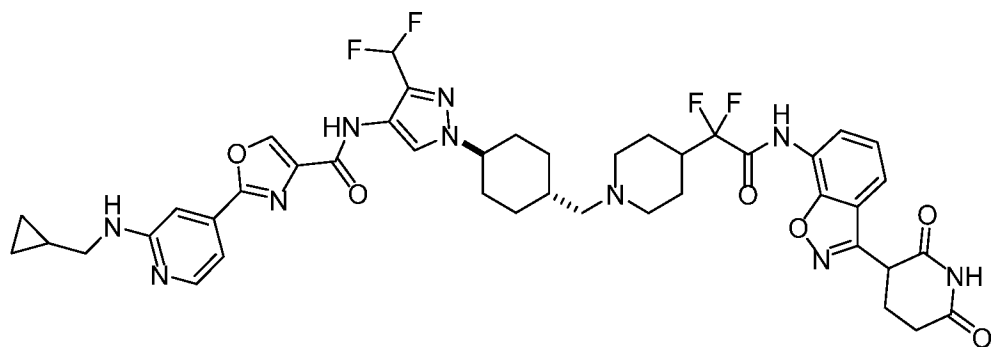
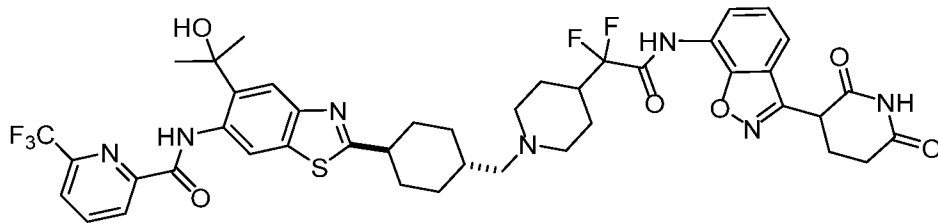
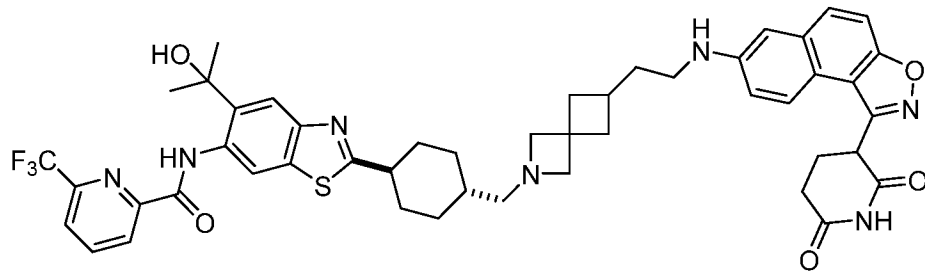
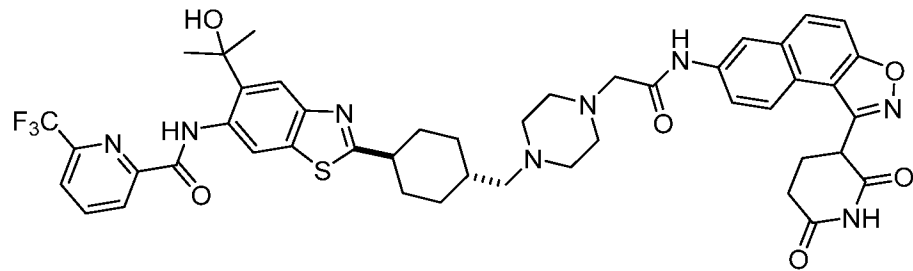
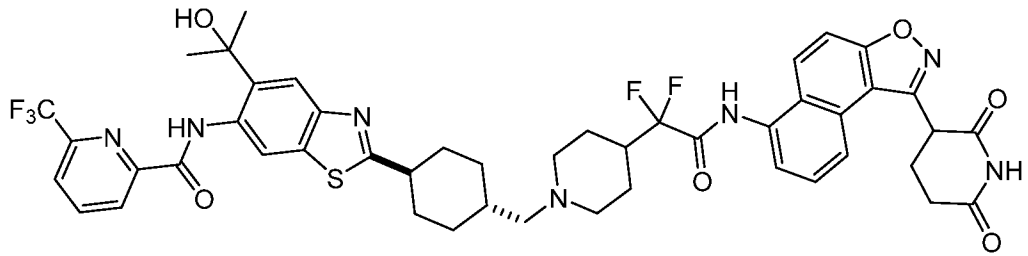
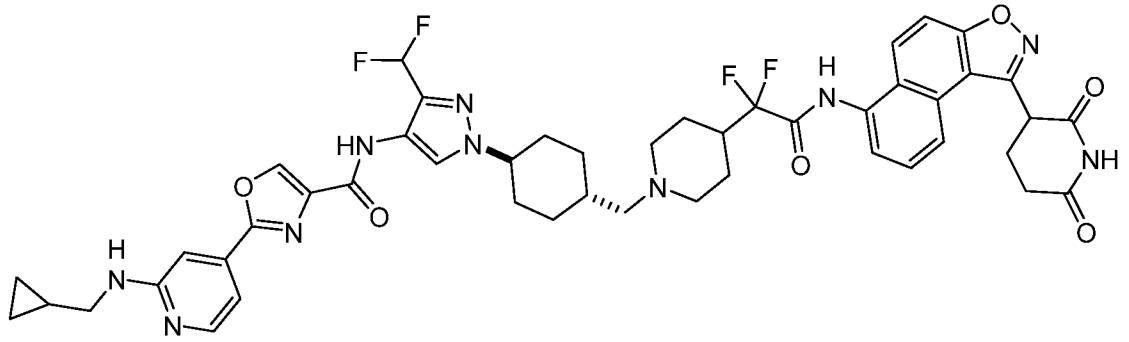


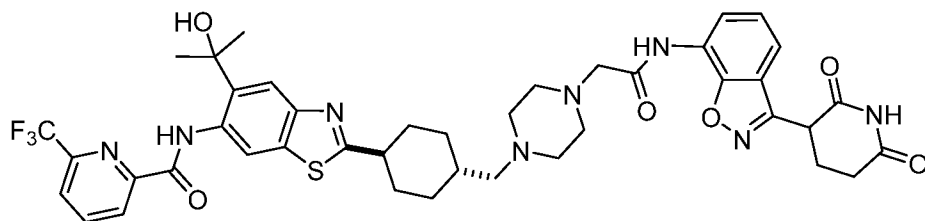
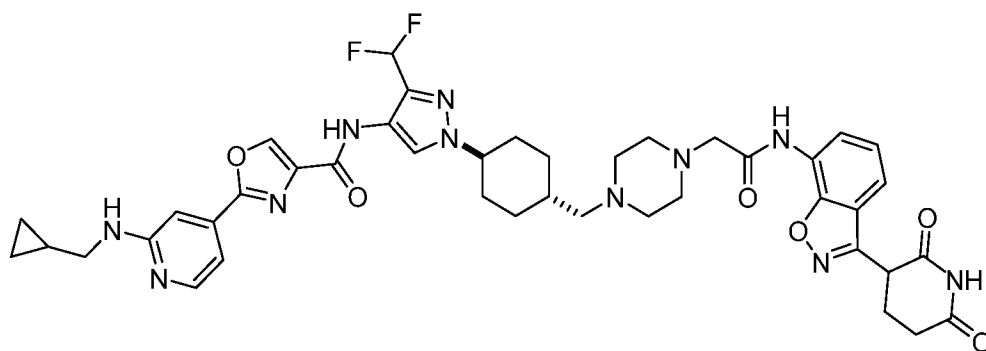
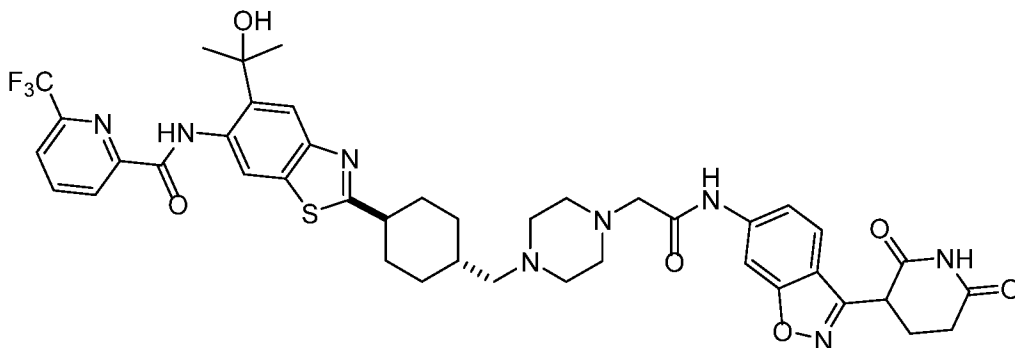
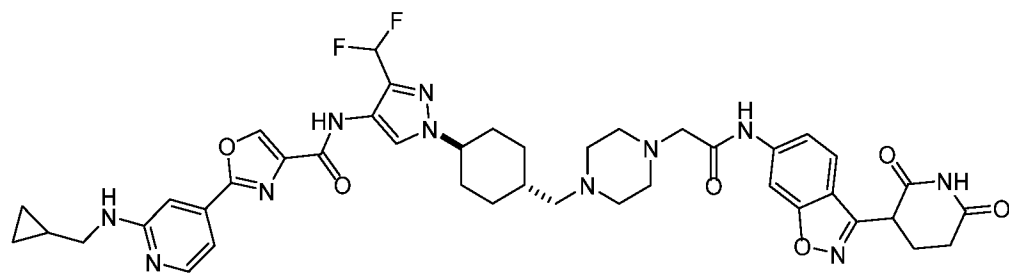
本发明还提供下列化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，



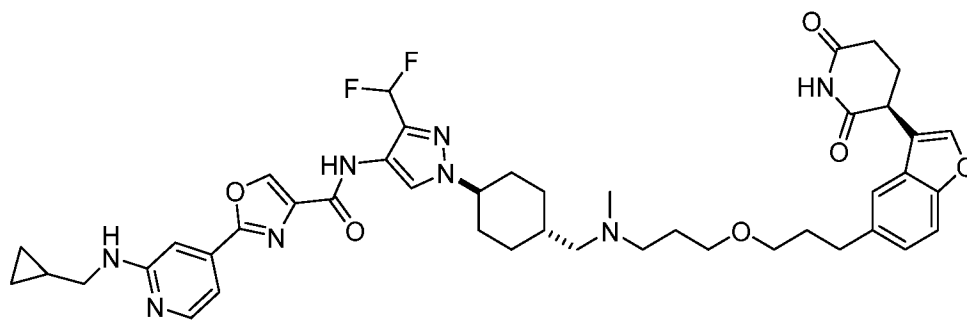


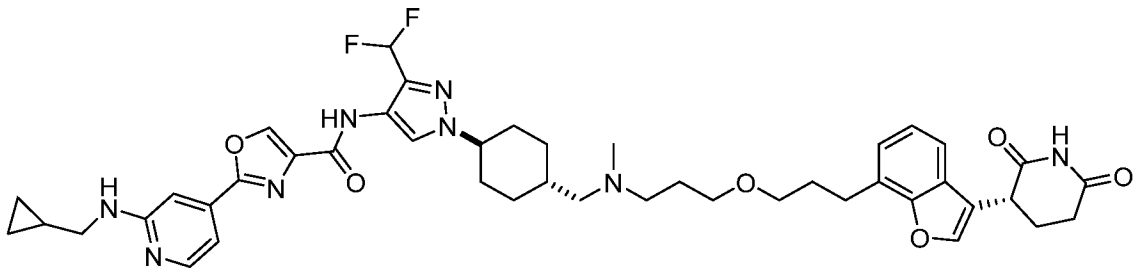
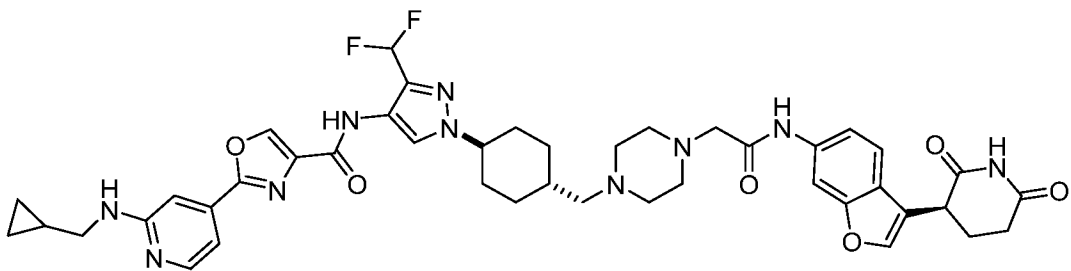
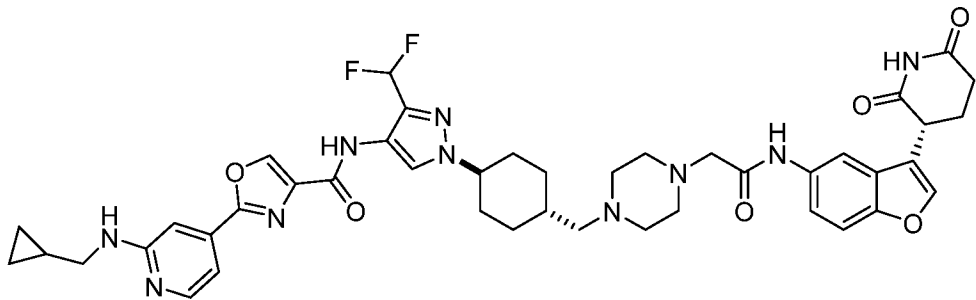
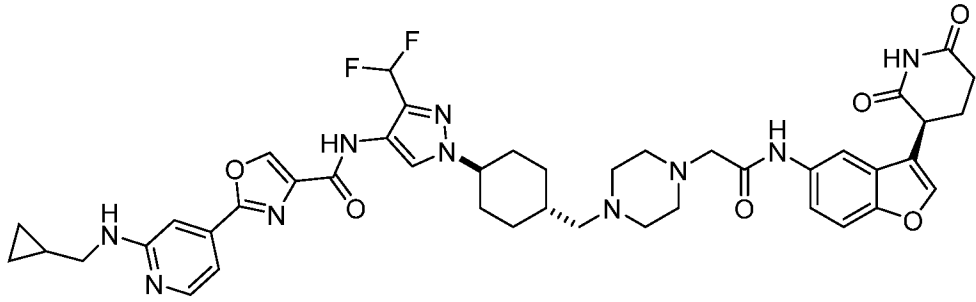
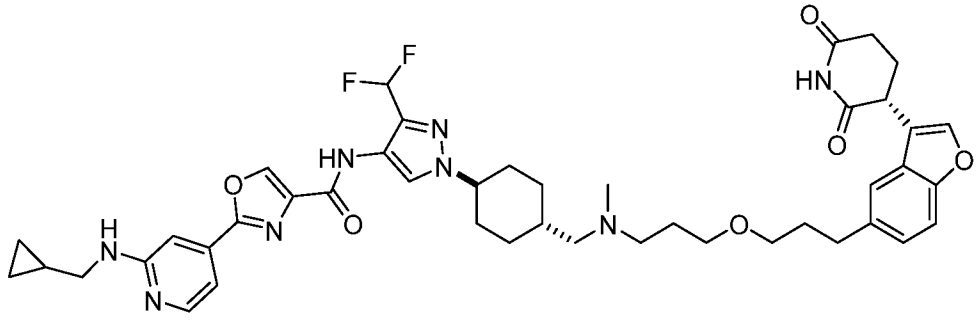


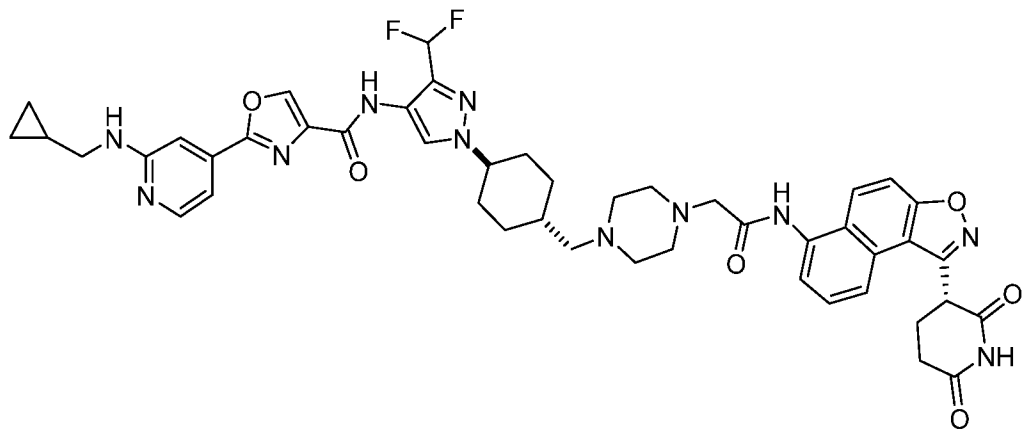
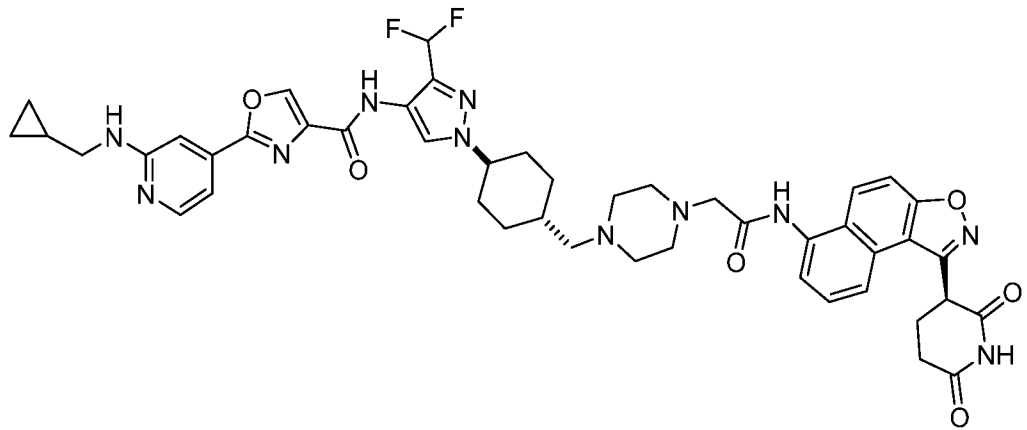
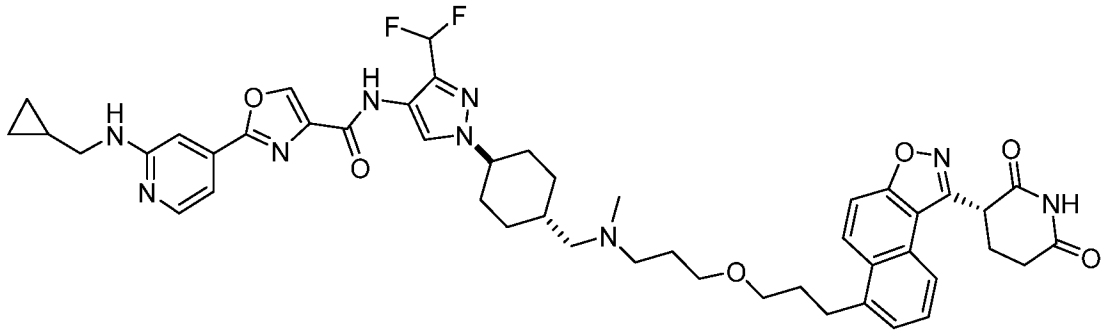
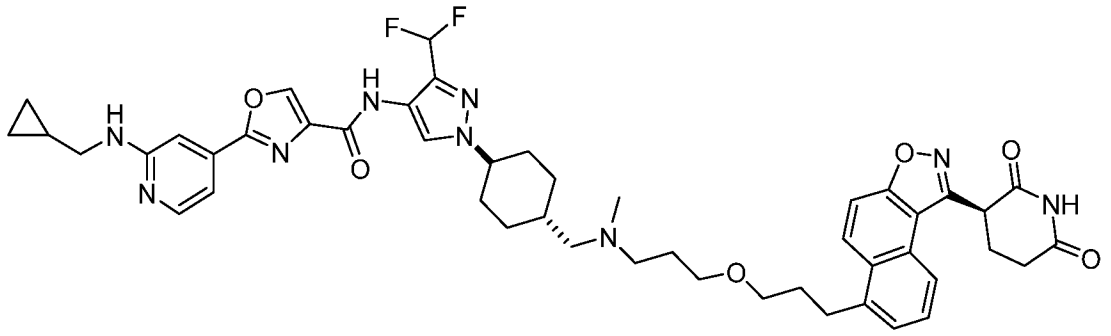


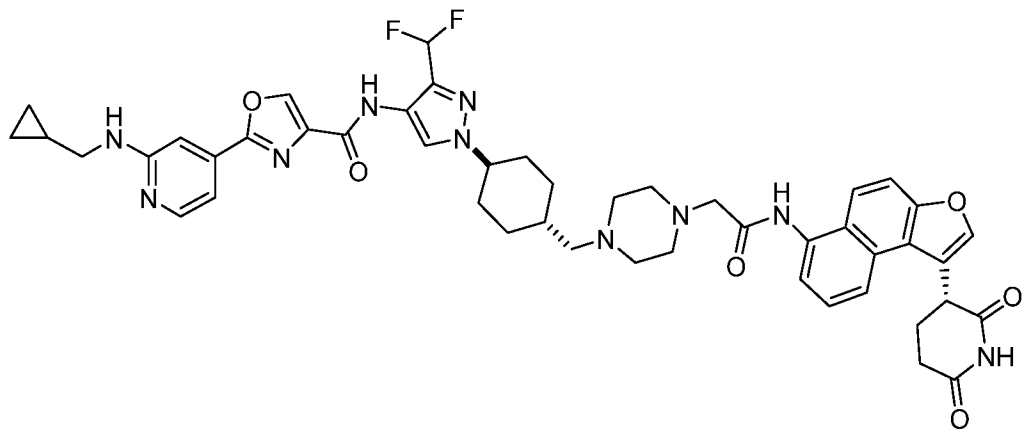
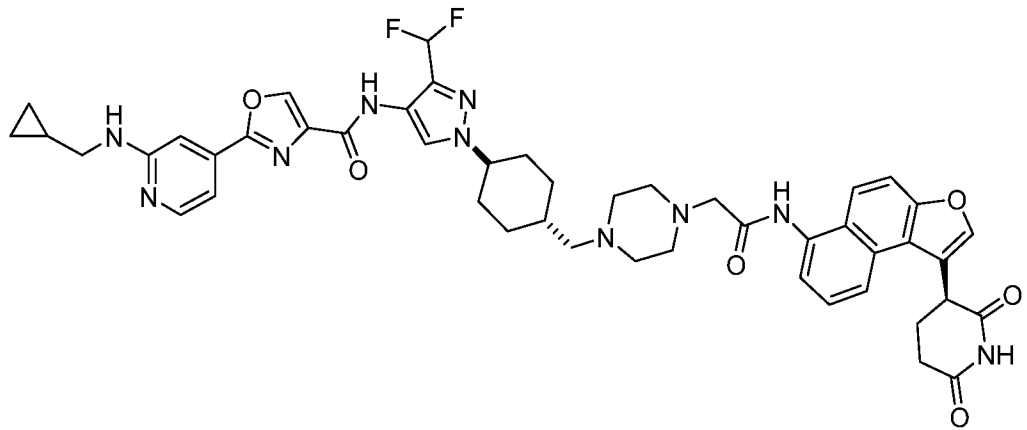
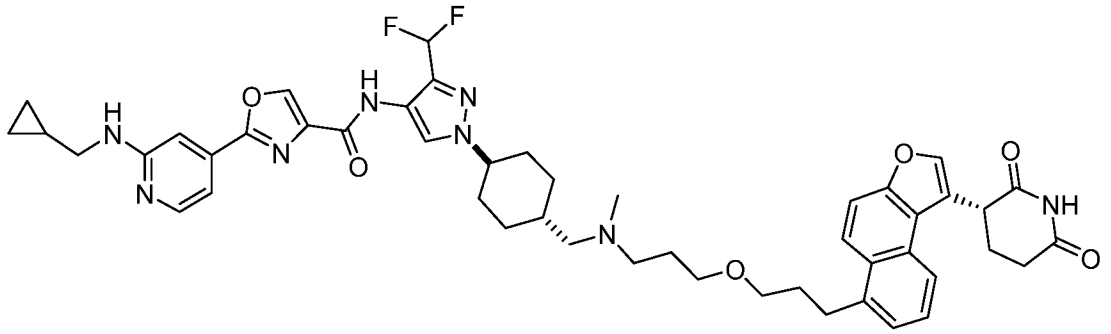
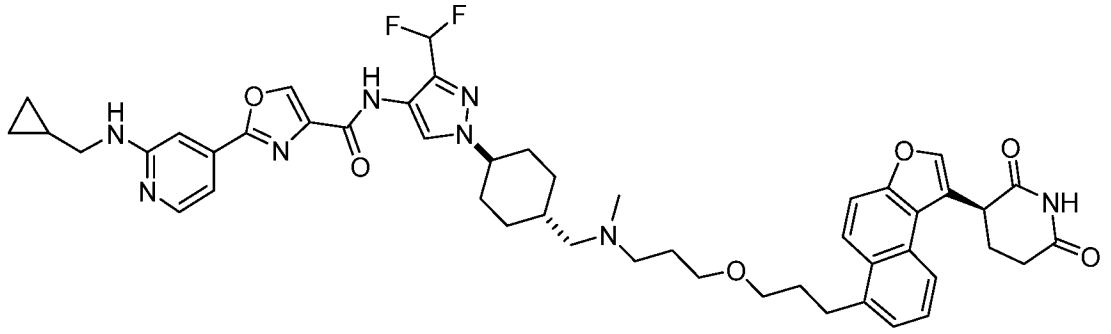


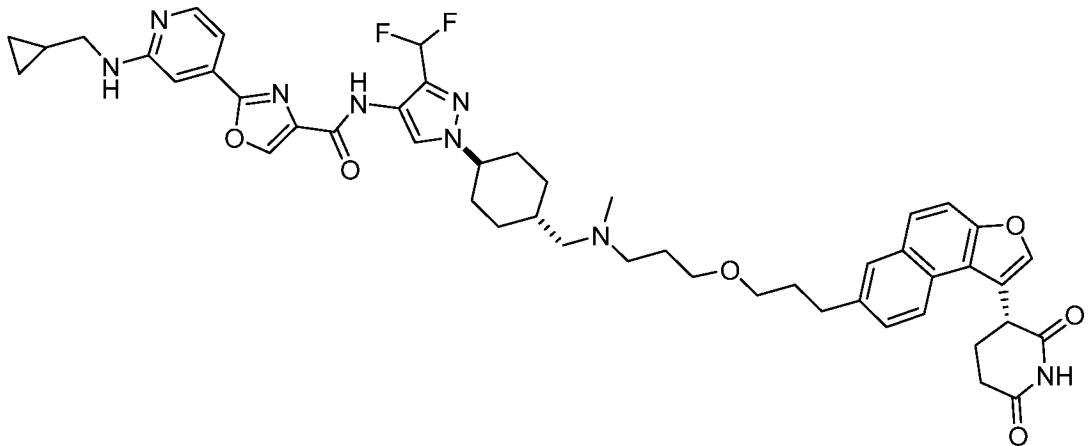
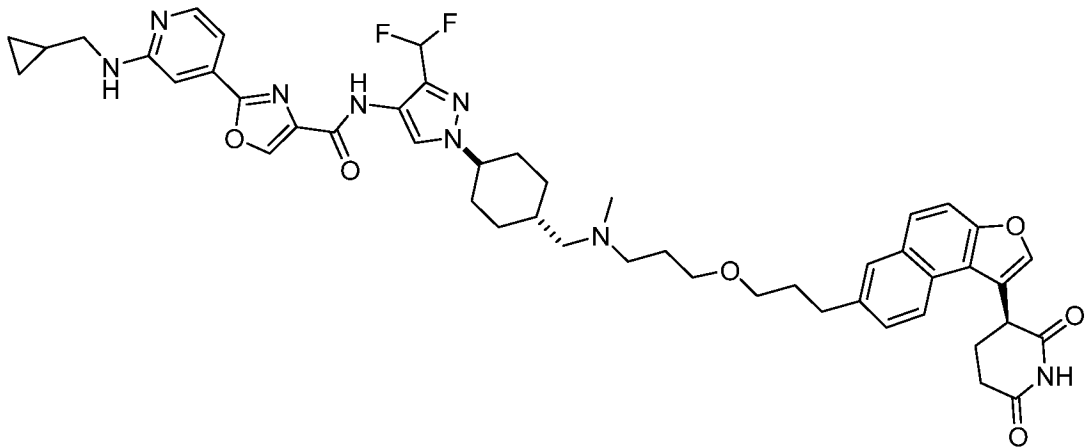
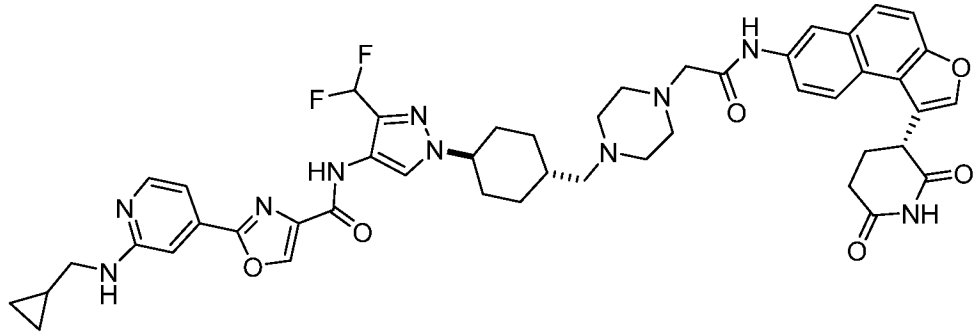
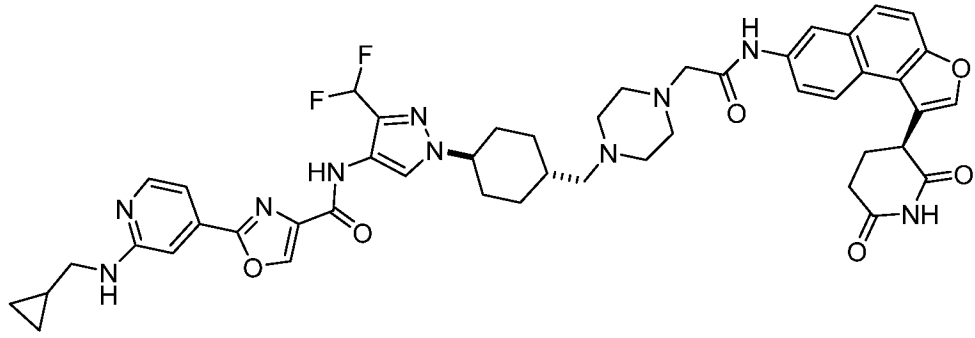
本发明的一些方案中，上述化合物选自：

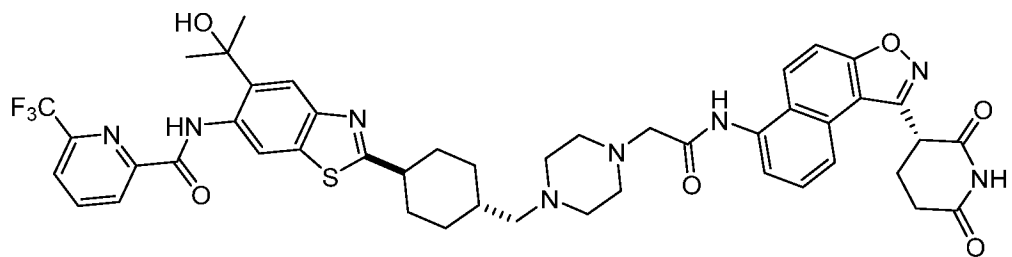
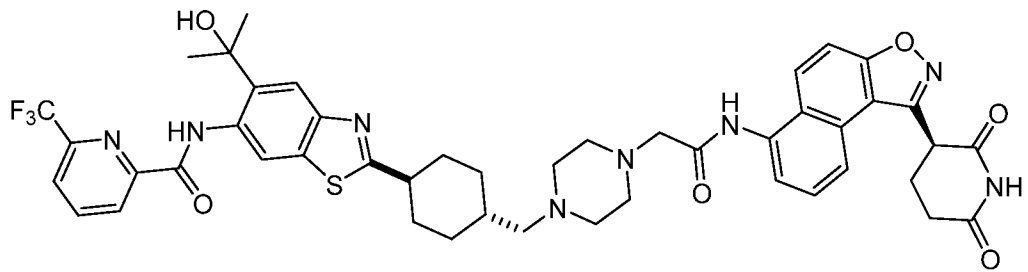
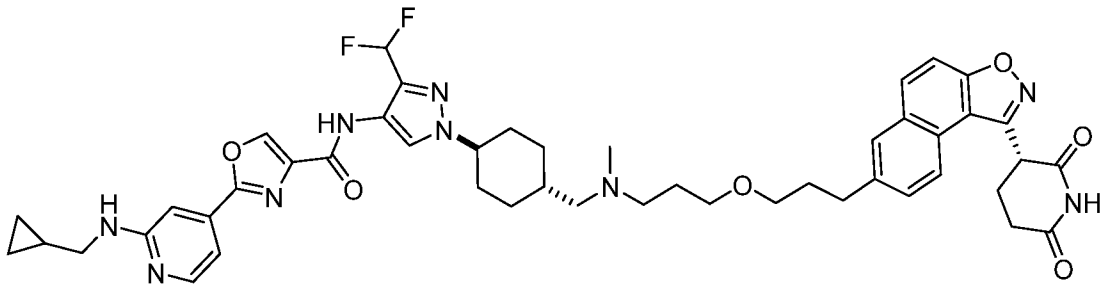
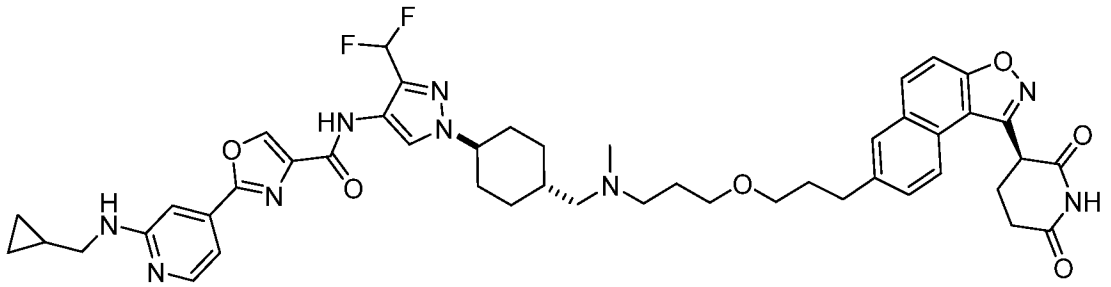
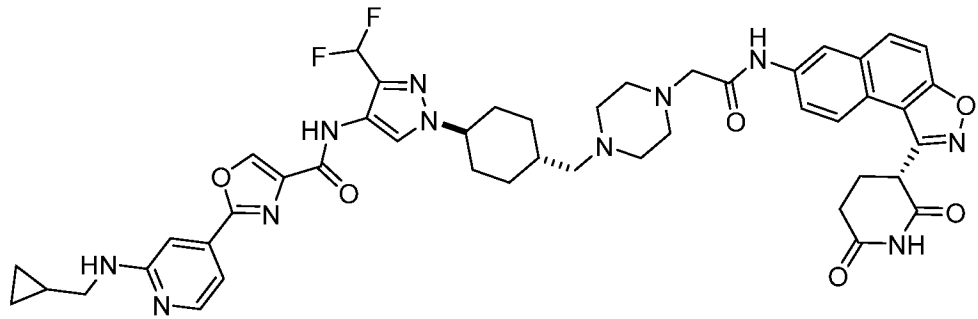
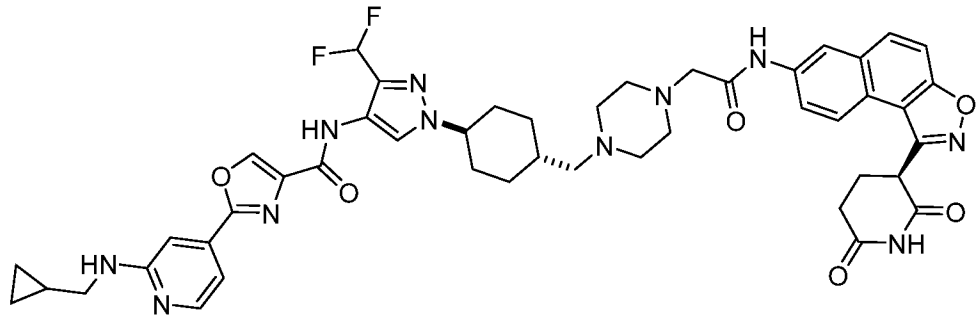


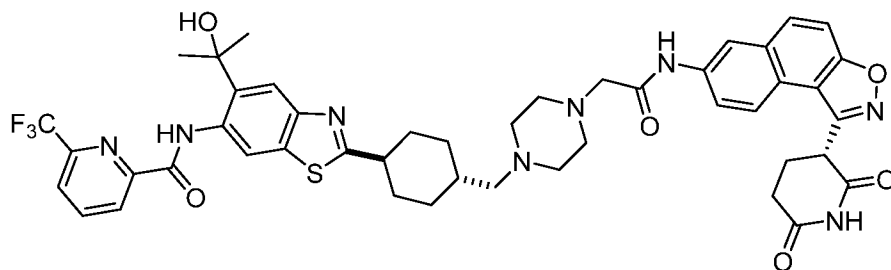
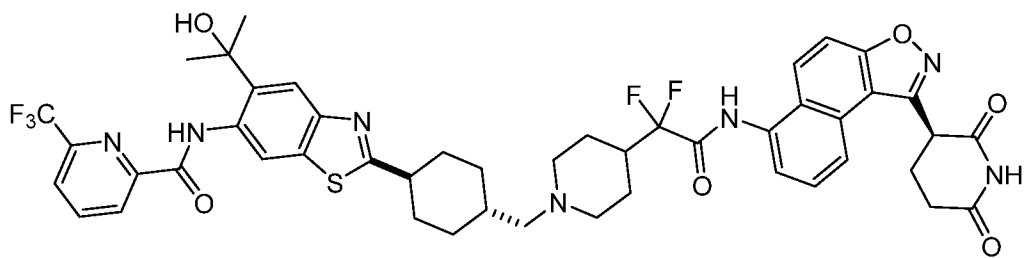
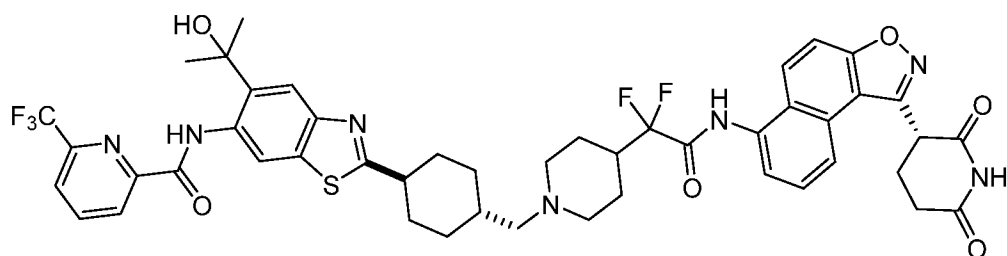
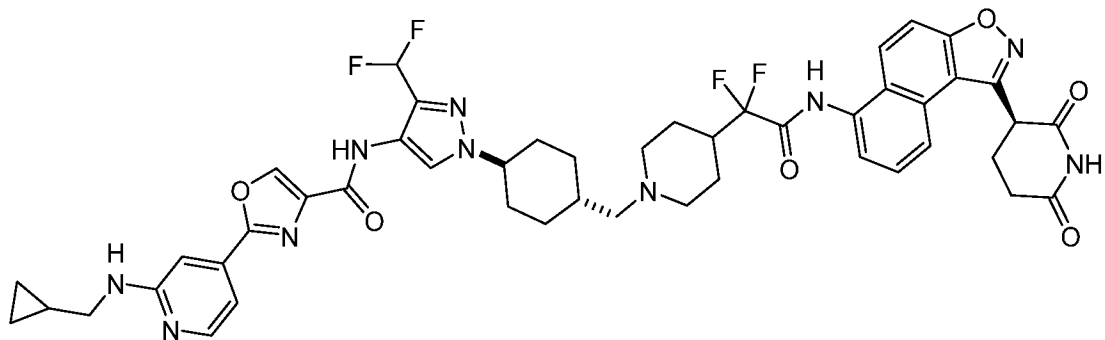
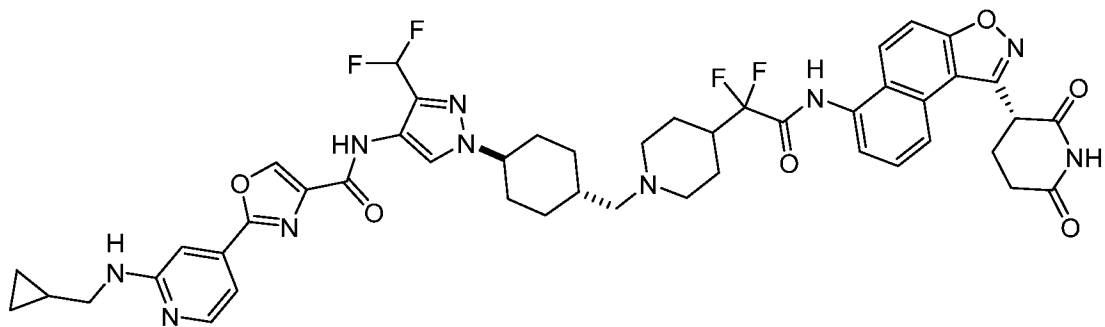


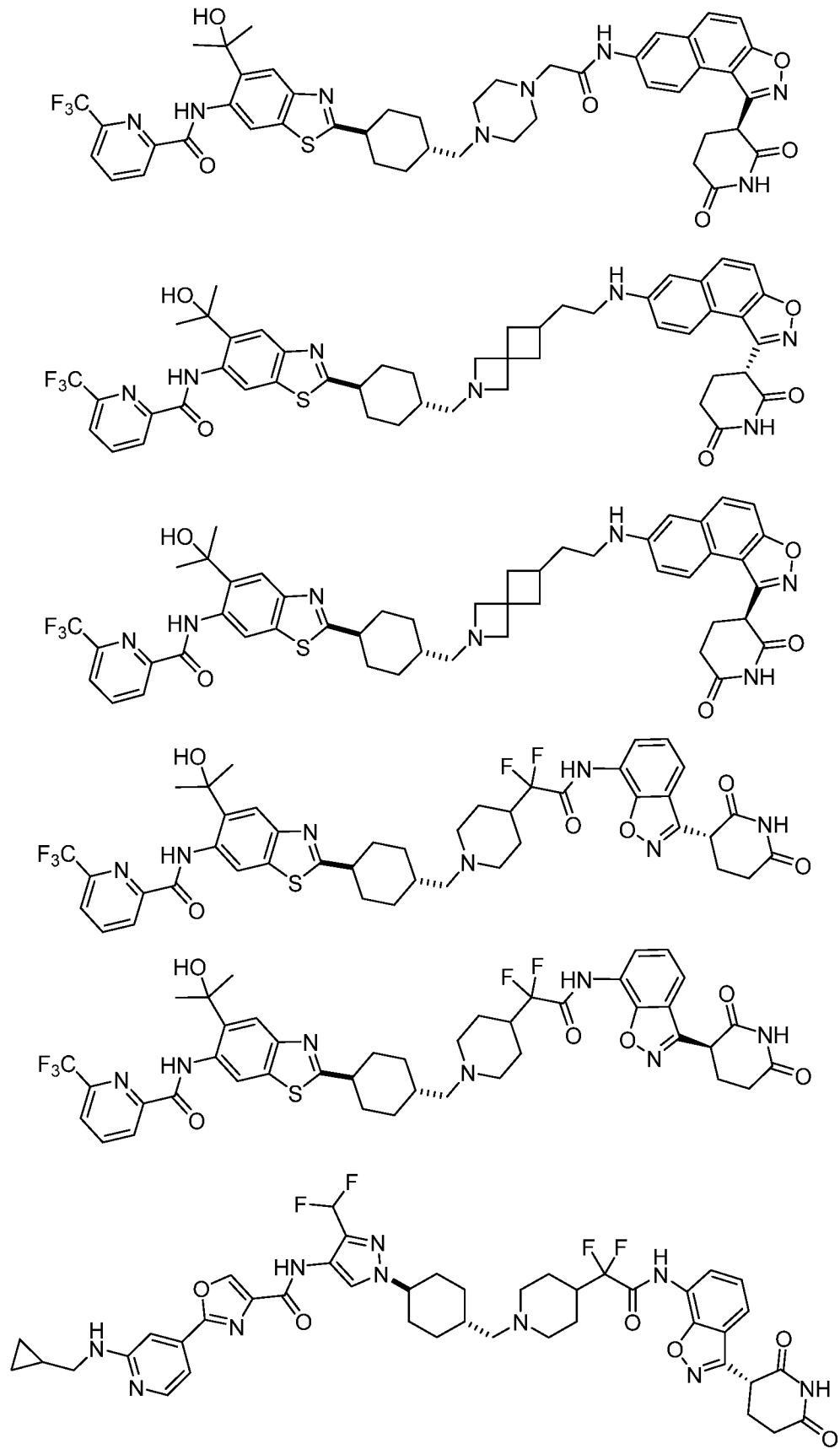


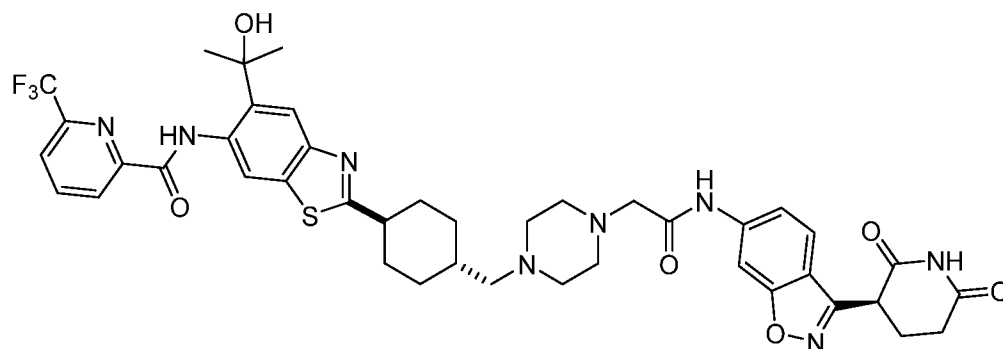
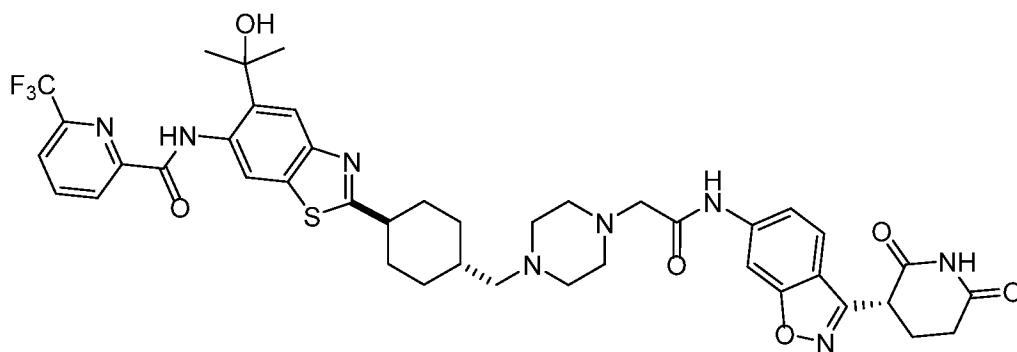
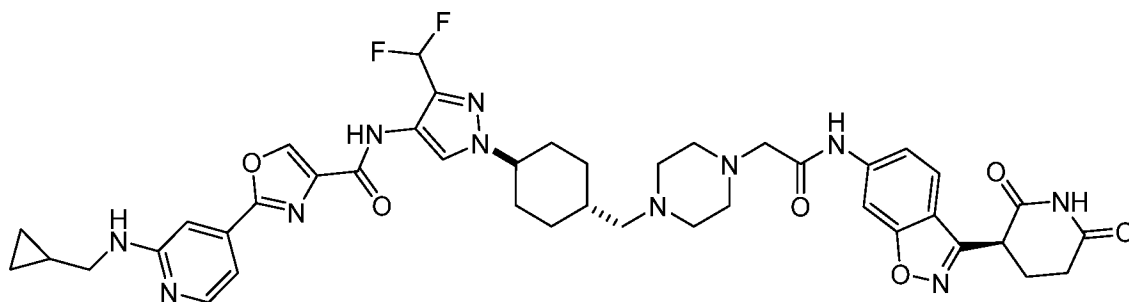
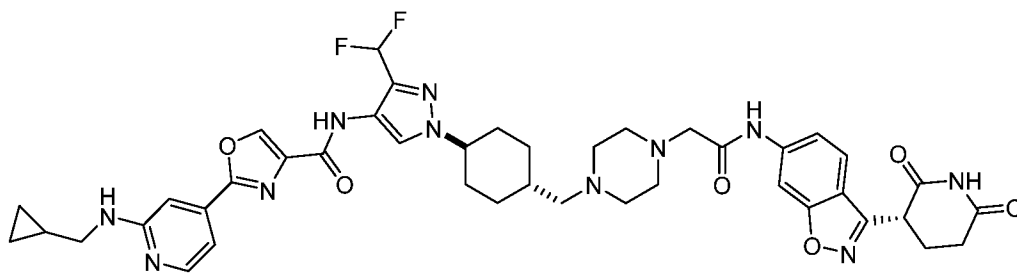
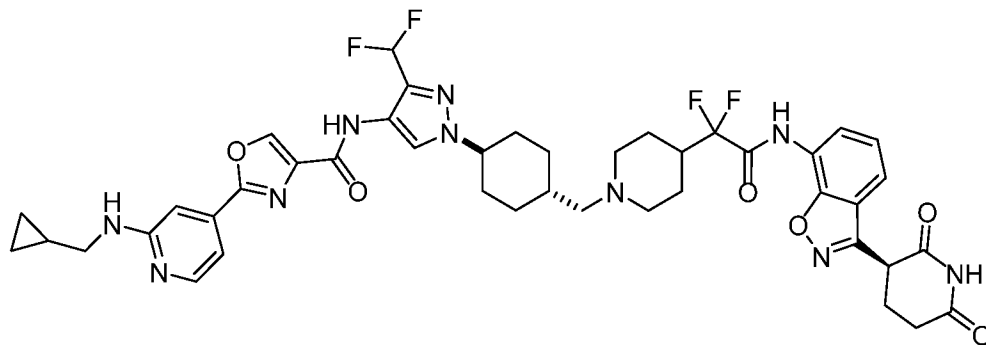


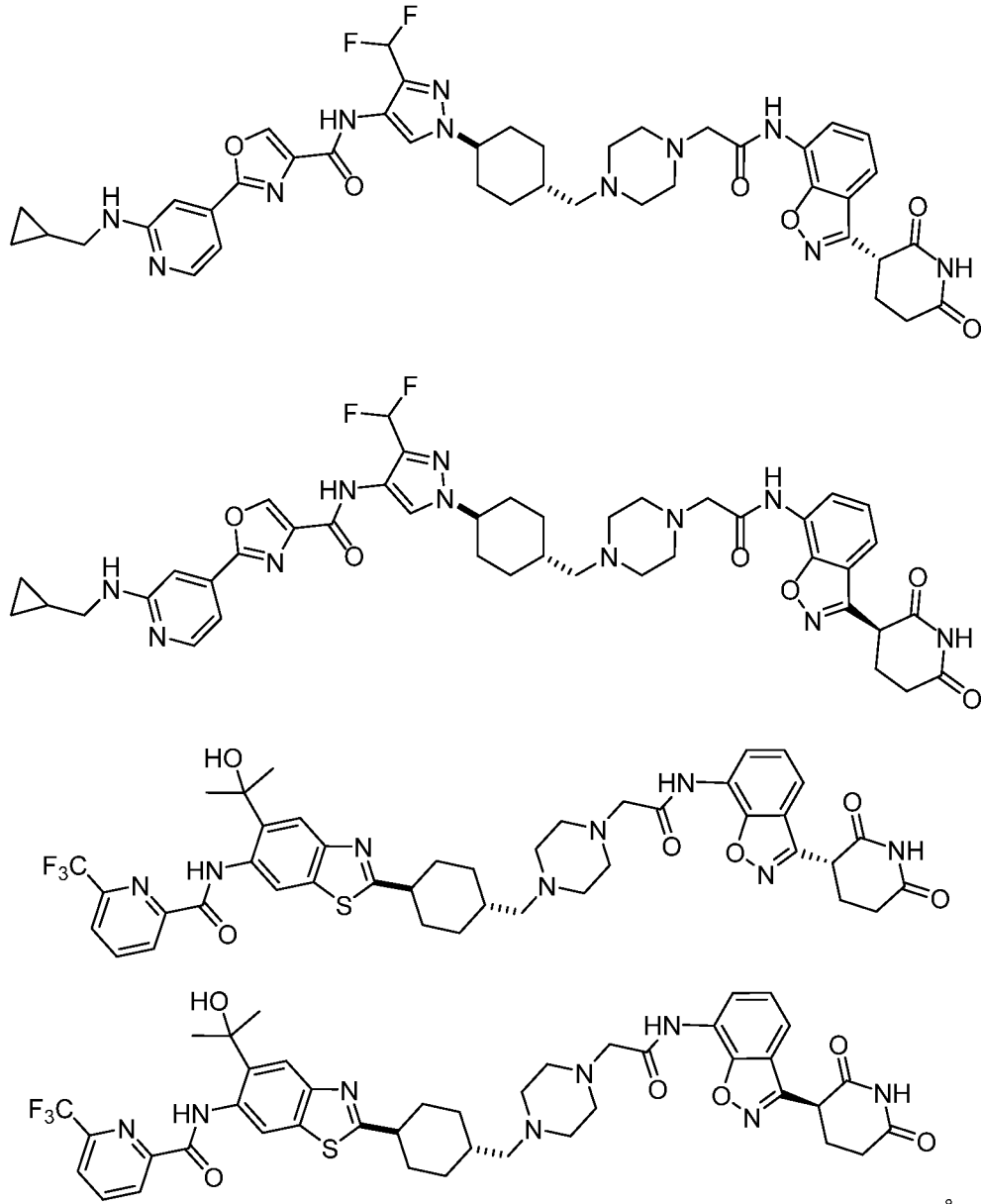












本发明还提供一种药物组合物，其含有治疗有效量的本发明的化合物、其异构体或其药学上可接受的盐。

本发明还提供上述的化合物、其立体异构体、其药学上可接受的盐及其药物组合物在制备治疗与白细胞介素-1受体相关激酶4降解靶向嵌合体相关肿瘤的药物中的应用。

本发明的一些方案中，所述与白细胞介素-1受体相关激酶4降解靶向嵌合体相关肿瘤是B细胞淋巴瘤。

技术效果

本发明化合物展现出对靶蛋白 IRAK4、IKZF1 和 IKZF3 优异的降解作用。本发明化合物在淋巴瘤细胞系 OCI-LY10、TMD-8 与 SU-DHL-2 中均展现出优异细胞增殖的抑制作用。本发明化合物的口服血浆系统暴露量较高。在啮齿动物小鼠、大鼠和非啮齿类动物比格犬中，本发明化合物的药代动力学性质较优。本

发明化合物在人 B 细胞淋巴瘤 OCI-LY10 细胞 SCID 小鼠异种移植瘤模型中具有显著的抑制肿瘤作用，并具有剂量依赖性。本发明化合物在人淋巴瘤 SU-DHL-2 细胞皮下异种移植瘤 CB17 SCID 小鼠模型中具有显著的抑制肿瘤作用。

定义和说明

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

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

“药物组合物”表示含有一种或多种本申请所述化合物、其异构体或其药学上可接受的盐，以及其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

术语“靶向嵌合体”表示包含两种小分子配体的双官能分子，一种具有针对目的靶蛋白的高亲和力，以及第二种用于募集 E3 连接酶，所述 E3 连接酶使蛋白质泛素化并靶向蛋白质以通过 26S 蛋白酶体进行蛋白水解。

术语“治疗有效量”或“有效量”意指本发明化合物实现以下作用的量：(i)治疗或预防特定疾病、病状或病症，(ii)减轻、改善或消除特定疾病、病状或病症的一或多种症状，或(iii)预防或延迟本文所述的特定疾病、病状、或病症的一或多种症状发作。在癌症的情况下，治疗有效量的药物可减少癌细胞数目；减小肿瘤尺寸；抑制(即，在一定程度上减缓和优选停止)癌细胞浸润至周围器官中；抑制(即，在一定程度上减缓和优选停止)肿瘤转移；在一定程度上抑制肿瘤生长；和/或在一定程度上缓解与癌症相关的一或多种症状。对于药物可阻止现有癌细胞生长和/或杀灭现有癌细胞的程度，其可具有细胞生长抑制性和/或细胞毒性。

术语“药学上可接受的盐”是指本申请化合物的盐，由本申请发现的具有特定取代基的化合物与相对无毒的酸或碱制备。当本申请的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱与这类化合物的中性形式接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括钠、钾、钙、铵、有机胺或镁盐或类似的盐。当本申请的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物的中性形式接触的方式获得酸加成盐。本申请的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团，从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

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

量的适当的碱或酸反应来制备。

术语“治疗”包括抑制、减缓、停止或逆转现有症状或病患的进展或严重程度。

除非另有说明，术语“异构体”意在包括几何异构体、顺反异构体、立体异构体、对映异构体、旋光异构体、非对映异构体和互变异构体。





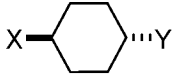
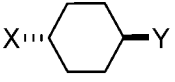
本发明的化合物可以存在特定的几何或立体异构体形式。本发明设想所有的这类化合物，包括顺式和反式异构体、(-)-和(+)-对映体、(R)-和(S)-对映体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体，及其外消旋混合物和其他混合物，例如对映异构体或非对映体富集的混合物，所有这些混合物都属于本发明的范围之内。烷基等取代基中可存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及它们的混合物，均包括在本发明的范围之内。

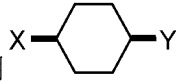
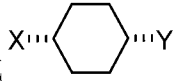
除非另有说明，术语“对映异构体”或者“旋光异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。

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

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

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

除非另有说明，用楔形实线键 () 和楔形虚线键 () 表示一个立体中心的绝对构型，用直形实线键 () 和直形虚线键 () 表示相对构型，例如，用  或  表示反式 1、4-

二取代的环己烷，用  或  表示顺式 1、4-二取代的环己烷。

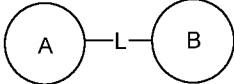
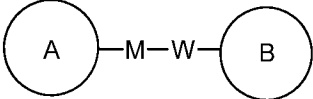
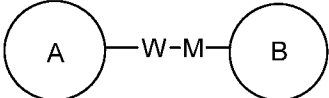
除非另有说明，术语“富含一种异构体”、“异构体富集”、“富含一种对映体”或者“对映体富集”指其中一种异构体或对映体的含量小于 100%，并且，该异构体或对映体的含量大于等于 60%，或者大于等于 70%，或者大于等于 80%，或者大于等于 90%，或者大于等于 95%，或者大于等于 96%，或者大于等于 97%，或者大于等于 98%，或者大于等于 99%，或者大于等于 99.5%，或者大于等于 99.6%，或者大于等于 99.7%，或者大于等于 99.8%，或者大于等于 99.9%。





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

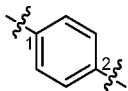
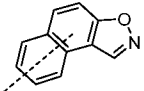
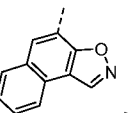
可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的(R)-和(S)-异构体以及 D 和 L 异构

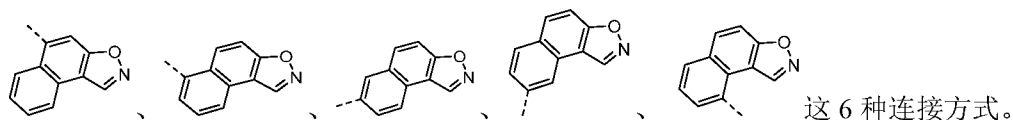
体。如果想得到本发明某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱性官能团（如氨基）或酸性官能团（如羧基）时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的常规方法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合（例如由胺生成氨基甲酸盐）。

本发明的化合物可以在一个或多个构成该化合物的原子上包含非天然比例的原子同位素。例如，可用放射性同位素标记化合物，比如氚（ ^3H ），碘-125（ ^{125}I ）或 C-14（ ^{14}C ）。又例如，可用重氢取代氢形成氘代药物，氘与碳构成的键比普通氢与碳构成的键更坚固，相比于未氘化药物，氘代药物有降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本发明的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本发明的范围之内。

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

除非另有规定，当某一基团具有一个或多个可连接位点时，该基团的任意一个或多个位点可以通过化学键与其他基团相连。当该化学键的连接方式是不定位的，且可连接位点存在 H 原子时，则连接化学键时，该位点的 H 原子的个数会随所连接化学键的个数而对应减少变成相应价数的基团。所述位点与其他基团连接的化学键可以用直形实线键（）、直形虚线键（）、或波浪线（）表示。例如 -OCH₃ 中的直形实线键表示通过该基团中的氧原子与其他基团相连； 中的直形虚线键表示通过该基团中的氮原子的

两端与其他基团相连； 中的波浪线表示通过该苯基基团中的 1 和 2 位碳原子与其他基团相连，再如  表示萘环上的任意可连接位点可以通过 1 个化学键与其他基团相连，至少包括 、



“任选”或“任选地”指的是随后描述的事件或状况可能但不是必需出现的，并且该描述包括其中所述事件或状况发生的情况以及所述事件或状况不发生的情况。

术语“被取代的”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代，取代基可以包括重氢和氢的变体，只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为氧（即=O）时，意味着两个氢原子被取代。氧取代不会发生在芳香基上。术语“任选被取代的”是指可以被取代，也可以不被取代，除非另有规定，取代基的种类和数目在化学上可以实现的基础上可以是任意的。

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

术语“被置换”指特定的原子或基团可以被替换为指定的其他原子或基团。如 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_3$ 中的 CH_2 可被 O、S、NH 置换得到 CH_3OCH_3 、 CH_3SCH_3 和 CH_3NHCH_3 。

除非另有规定， C_{n-n+m} 或 $\text{C}_n\text{-C}_{n+m}$ 包括 n 至 n+m 个碳的任何一种具体情况，例如 C_{1-12} 包括 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 、 C_6 、 C_7 、 C_8 、 C_9 、 C_{10} 、 C_{11} 、和 C_{12} ，也包括 n 至 n+m 中的任何一个范围，例如 C_{1-12} 包括 C_{1-3} 、 C_{1-6} 、 C_{1-9} 、 C_{3-6} 、 C_{3-9} 、 C_{3-12} 、 C_{6-9} 、 C_{6-12} 、和 C_{9-12} 等；同理，n 元至 n+m 元表示环上原子数为 n 至 n+m 个，例如 3-12 元环包括 3 元环、4 元环、5 元环、6 元环、7 元环、8 元环、9 元环、10 元环、11 元环、和 12 元环，也包括 n 至 n+m 中的任何一个范围，例如 3-12 元环包括 3-6 元环、3-9 元环、5-6 元环、5-7 元环、6-7 元环、6-8 元环、和 6-10 元环等。

除非另有规定，术语“ C_{1-10} 烷基”用于表示直链或支链的由 1 至 10 个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述 C_{1-10} 烷基烷基包括 C_{1-9} 、 C_{1-8} 、 C_{1-7} 、 C_{1-6} 、 C_{1-5} 、 C_{1-4} 、 C_{1-3} 、 C_{1-2} 、 C_{18} 、 C_{17} 、 C_{16} 、 C_{15} 、 C_{14} 、 C_{13} 、 C_{12} 、 C_{11} 、 C_{10} 、 C_{1-9} 、 C_8 、 C_7 、 C_6 和 C_5 烷基等；其可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基）。 C_{1-8} 烷基的实例包括但不限于甲基 (Me)、乙基 (Et)、丙基（包括 *n*-丙基和异丙基）、丁基（包括 *n*-丁基，异丁基，*s*-丁基和 *t*-丁基）、戊基（包括 *n*-戊基，异戊基和新戊基）、己基、庚基、辛基等。术语“ C_{1-10} 亚烷基”表示二价的 C_{1-10} 烷基。

当烷基为连接基团时，则“烷基”表示连接的亚烷基基团。术语“亚烷基”表示从饱和的直链或支链烃中去掉两个氢原子所得到的饱和的二价烃基基团。烷基表示为连接的亚烷基基团的实例包括但不限于： $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 等。

除非另有规定，术语“ C_{1-4} 烷基”用于表示直链或支链的由 1 至 4 个碳原子组成的饱和碳氢基团。所述

C₁₋₄ 烷基包括 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₂ 烷基、C₂ 烷基、C₃ 烷基和甲基等；其可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基）。C₁₋₆ 烷基的实例包括但不限于甲基 (Me)、乙基 (Et)、丙基（包括 *n*-丙基和异丙基）、丁基（包括 *n*-丁基，异丁基，*s*-丁基和 *t*-丁基）等。

除非另有规定，“C₃₋₆ 环烷基”表示由 3 至 6 个碳原子组成的饱和环状碳氢基团，其为单环和双环体系，所述 C₃₋₆ 环烷基包括 C₃₋₅、C₄₋₅ 和 C₅₋₆ 环烷基等；其可以是一价、二价或者多价。C₃₋₆ 环烷基的实例包括，但不限于，环丙基、环丁基、环戊基、环己基等。

除非另有规定，术语“4-8 元杂环烷基”本身或者与其他术语联合分别表示由 4 至 8 个环原子组成的饱和环状基团，其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S、N 和 Se 的杂原子，其余为碳原子，其中氮原子任选地被季铵化，氮和硫杂原子可任选被氧化（即 NO 和 S(O)_p，p 是 1 或 2）。其包括单环和双环体系，其中双环体系包括螺环、并环和桥环。此外，就该“4-8 元杂环烷基”而言，杂原子可以占据杂环烷基与分子其余部分的连接位置。所述 4-8 元杂环烷基包括 4-7 元、4-6 元、4-5 元、4 元、5 元和 6 元杂环烷基等。4-8 元杂环烷基的实例包括但不限于氮杂环丁基、氧杂环丁基、硫杂环丁基、吡咯烷基、吡唑烷基、咪唑烷基、四氢噻吩基（包括四氢噻吩-2-基和四氢噻吩-3-基等）、四氢呋喃基（包括四氢呋喃-2-基等）、四氢吡喃基、哌啶基（包括 1-哌啶基、2-哌啶基和 3-哌啶基等）、哌嗪基（包括 1-哌嗪基和 2-哌嗪基等）、吗啉基（包括 3-吗啉基和 4-吗啉基等）、二噁烷基、二噻烷基、异噁唑烷基、异噻唑烷基、1,2-噁嗪基、1,2-噻嗪基、六氢哒嗪基、高哌嗪基、高哌啶基或二氧杂环庚烷基等。

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

除非另有规定，本发明术语“5-10 元杂芳环”和“5-10 元杂芳基”可以互换使用，术语“5-10 元杂芳基”表示由 5 至 10 个环原子组成的具有共轭 π 电子体系的环状基团，其 1、2、3 或 4 个环原子为独立选自 O、S、N 和 Se 的杂原子，其余为碳原子。其可以是单环、稠合双环或稠合三环体系，其中各个环均为芳香性的。其中氮原子任选地被季铵化，氮和硫杂原子可任选被氧化（即 NO 和 S(O)_p，p 是 1 或 2）。5-10 元杂芳基可通过杂原子或碳原子连接到分子的其余部分。所述 5-10 元杂芳基包括 5-8 元、5-7 元、5-6 元、5 元和 6 元杂芳基等。所述 5-10 元杂芳基的实例包括但不限于吡咯基（包括 *N*-吡咯基、2-吡咯基和 3-吡咯基等）、吡唑基（包括 2-吡唑基和 3-吡唑基等）、咪唑基（包括 *N*-咪唑基、2-咪唑基、4-咪唑基和 5-咪唑基等）、噁唑基（包括 2-噁唑基、4-噁唑基和 5-噁唑基等）、三唑基（1*H*-1,2,3-三唑基、2*H*-1,2,3-三唑基、1*H*-1,2,4-三唑基和 4*H*-1,2,4-三唑基等）、四唑基、异噁唑基（3-异噁唑基、4-异噁唑基和 5-异噁唑基等）、噻唑基（包括 2-噻唑基、4-噻唑基和 5-噻唑基等）、呋喃基（包括 2-呋喃基和 3-呋喃基等）、噻吩基（包括 2-噻吩基和

3-噻吩基等)、吡啶基 (包括 2-吡啶基、3-吡啶基和 4-吡啶基等)、吡嗪基、嘧啶基 (包括 2-嘧啶基和 4-嘧啶基等)、苯并噻唑基 (包括 5-苯并噻唑基等)、嘌呤基、苯并咪唑基 (包括 2-苯并咪唑基等)、苯并噁唑基、吡咯基 (包括 5-吡咯基等)、异喹啉基 (包括 1-异喹啉基和 5-异喹啉基等)、喹啉基 (包括 2-喹啉基和 5-喹啉基等)或喹啉基 (包括 3-喹啉基和 6-喹啉基等)。

除非另有规定，术语“卤代素”或“卤素”本身或作为另一取代基的一部分表示氟、氯、溴或碘原子。

本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的常规方法来确认结构，如果本发明涉及化合物的绝对构型，则该绝对构型可以通过本领域常规技术手段予以确证。例如单晶X射线衍射法 (SXRD)，把培养出的单晶用Bruker D8 venture衍射仪收集衍射强度数据，光源为CuK α 辐射，扫描方式： ϕ/ω 扫描，收集相关数据后，进一步采用直接法(Shelxs97)解析晶体结构，便可以确证绝对构型。

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

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

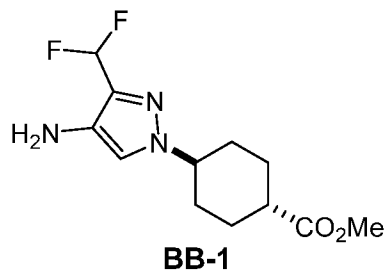
本发明所使用的溶剂可经市售获得。

本发明采用下述缩略词：Ph 代表苯基；Me 代表甲基；Et 代表乙基；M 表示摩尔每升；Boc 代表叔丁氧羰基，是一种氨基保护基。

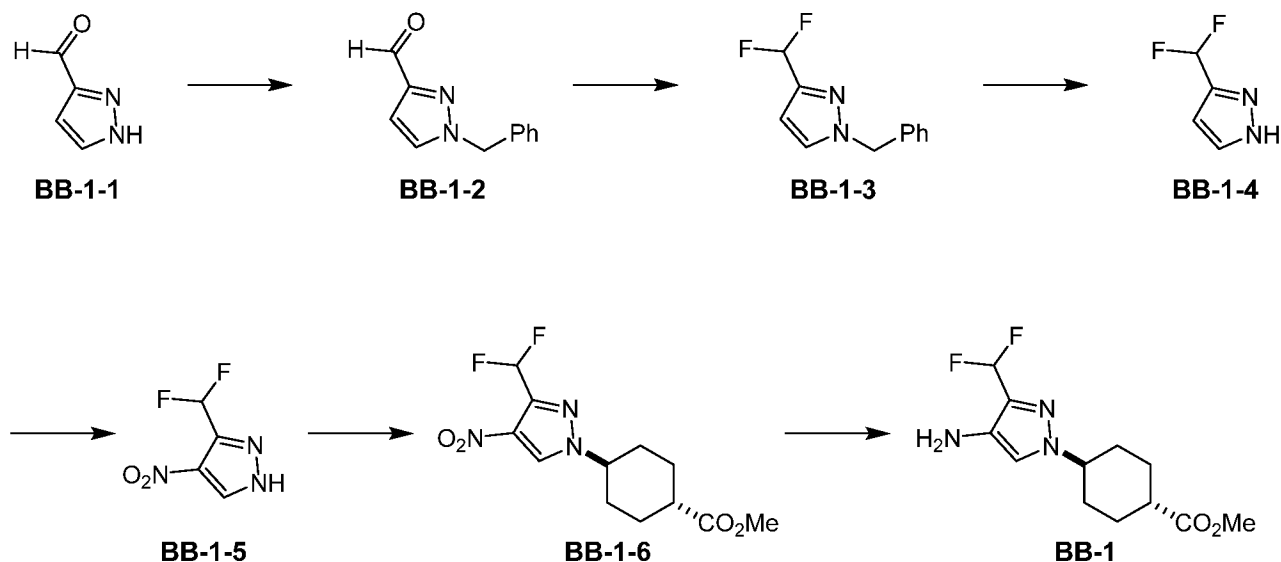
具体实施方式

下面通过实施例对本发明进行详细描述，但并不意味着对本发明任何不利限制。本文已经详细地描述了本发明，其中也公开了其具体实施方式，对本领域的技术人员而言，在不脱离本发明精神和范围的情况下针对本发明具体实施方式进行各种变化和改进行将是显而易见的。

参考例 1：片段 BB-1



合成路线：



步骤 1: 化合物 **BB-1-2** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-1-1** (40 g, 416.29 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (400 mL) 中, 加入苄溴 (74.76 g, 437.10 mmol, 51.92 mL) 和碳酸铯 (339.09 g, 1.04 mol), 反应混合物在室温和氮气保护下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 向反应液中加入水 (1500 mL), 用乙酸乙酯 (5×1000 mL) 萃取, 合并有机相, 用 10% 食盐水 (3×1000 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-20/1, 体积比), 得到化合物 **BB-1-2**。MS-ESI m/z : 187.2 [M+H]⁺。

步骤 2: 化合物 **BB-1-3** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-1-2** (58 g, 311.48 mmol) 溶于二氯甲烷 (500 mL) 中, 降温至 0°C, 加入二氨基三氟化硫 (150.62 g, 934.43 mmol, 123.46 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 16 小时。反应完毕后, 降温至 0°C, 向反应液缓慢滴加甲醇 (200 mL), 淬灭, 减压浓缩除去溶剂, 然后加入水 (1000 mL), 用乙酸乙酯 (3×1000 mL) 萃取, 合并有机相, 依次用饱和碳酸氢钠溶液 (1000 mL) 和饱和食盐水 (1000 mL) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-20/1, 体积比), 所得粗品加入石油醚 (20 mL), 室温搅拌 2 小时, 过滤, 滤饼用石油醚 (10 mL) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-1-3**。MS-ESI m/z : 209.1 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.42-7.31 (m, 4H), 7.26-7.21 (m, 2H), 6.73 (t, $J=55.2$ Hz, 1H), 6.51 (t, $J=1.0$ Hz, 1H), 5.33 (s, 2H)。

步骤 3: 化合物 **BB-1-4** 的合成

室温下, 将化合物 **BB-1-3** (26.5 g, 127.28 mmol) 溶于甲醇 (300 mL) 中, 加入氢氧化钡/碳 (5 g, 纯度: 20%) 和盐酸 (2 M, 25 mL), 反应混合物加热至 60°C, 并在氢气 (50 psi) 氛围下搅拌反应 30 小时。反应完毕后, 将反应液经硅藻土过滤, 滤饼用甲醇 (800 mL) 淋洗, 收集滤液, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到

化合物 **BB-1-4**。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.41 (s, 1H), 7.84 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 7.00 (t, *J*=54.8 Hz, 1H), 6.51 (t, *J*=1.2 Hz, 1H).

步骤 4: 化合物 **BB-1-5** 的合成

0°C下, 将化合物 **BB-1-4** (30 g, 254.06 mmol) 溶于浓硫酸 (300 mL, 纯度: 98%) 中, 然后滴加硝酸 (68.950 g, 711.24 mmol, 49.25 mL, 纯度: 65~68%), 反应混合物在 0°C下搅拌 10 分钟后, 加热至 115°C并搅拌反应 16 小时。反应完毕后, 将反应液缓慢倒入到冰水 (1000 mL) 中, 用乙酸乙酯 (3×500 mL) 萃取, 合并有机相, 依次用饱和碳酸氢钠溶液 (500 mL) 和饱和食盐水 (500 mL) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **BB-1-5**。MS-ESI *m/z*: 164.1 [M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 14.39 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 7.31 (t, *J*=53.0 Hz, 1H).

步骤 5: 化合物 **BB-1-6** 的合成

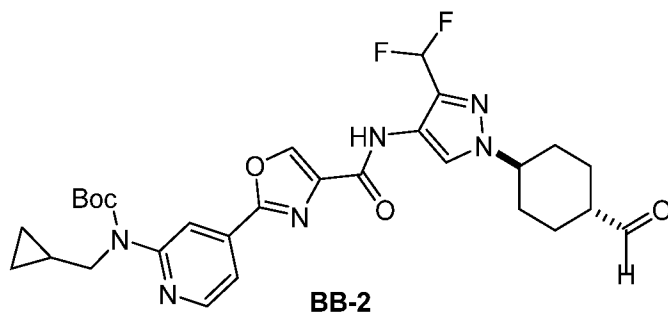
室温和氮气保护下, 将顺式 4-羟基环己烷甲酸甲酯 (35 g, 221.25 mmol) 溶于二氯甲烷 (350 mL) 中, 加入三乙胺 (22.39 g, 221.25 mmol, 30.79 mL), 降温至 0°C, 滴加甲烷磺酰氯 (31.99 g, 279.26 mmol, 21.61 mL), 反应混合物在 0°C下搅拌反应 0.5 小时。反应完毕后, 向反应液中缓慢加入水 (300 mL), 用二氯甲烷 (300 mL) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品, 直接用于下一步。

室温下, 将化合物 **BB-1-5** (13.5 g, 82.78 mmol) 和上述得到的粗品 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (300 mL) 中, 加入碳酸钾 (24 g, 173.65 mmol), 反应混合物加热至 80°C并搅拌反应 16 小时。反应完毕后, 将反应液降温至室温, 加入水 (100 mL), 用乙酸乙酯 (40 mL×2) 萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=1/3, 体积比), 得到化合物 **BB-1-6**。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.22 (s, 1H), 7.12 (t, *J*=53.4 Hz, 1H), 4.25-4.16 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.46-2.37 (m, 1H), 2.36-2.28 (m, 2H), 2.27-2.20 (m, 2H), 1.89-1.77 (m, 2H), 1.72-1.60 (m, 2H).

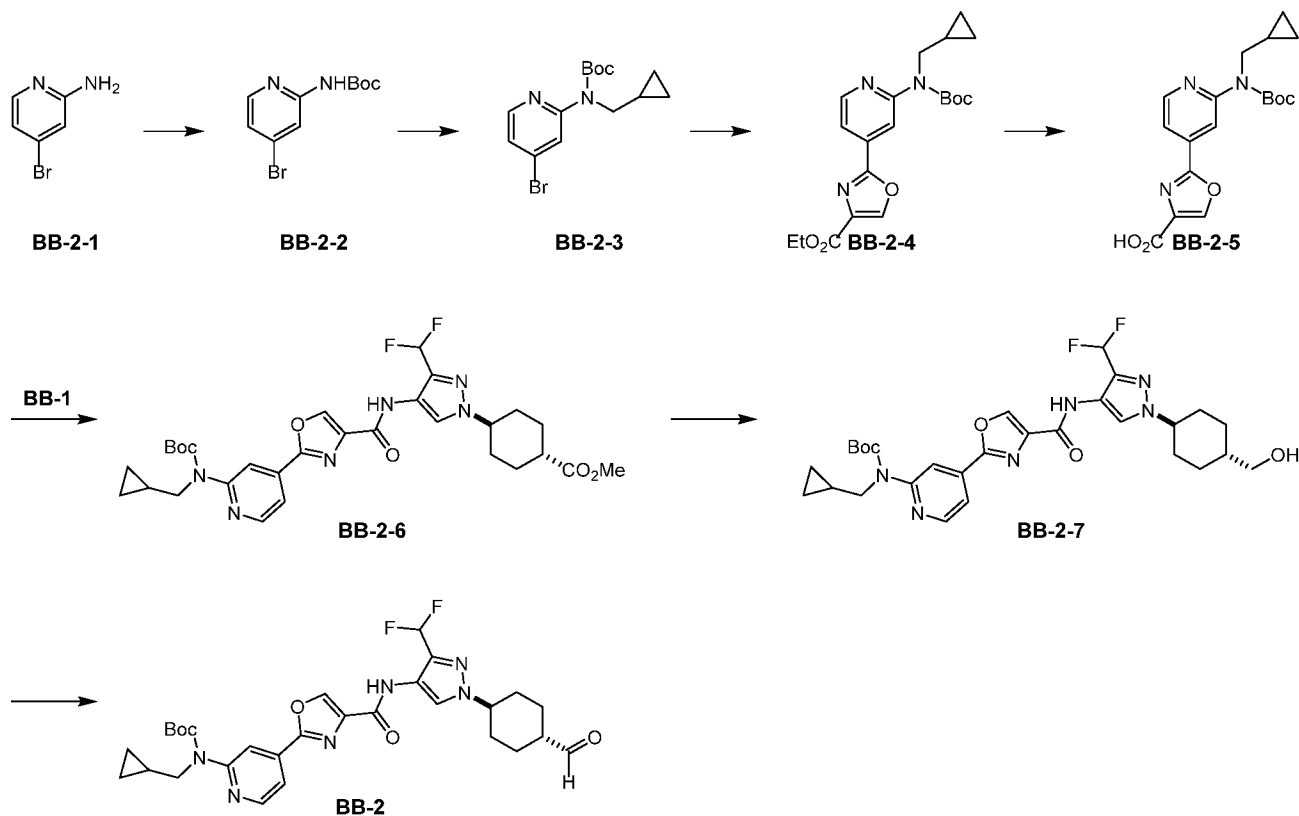
步骤 6: 化合物 **BB-1** 的合成

室温和氮气保护下, 将湿钨碳 (1.5 g, 纯度: 10%) 加入四氢呋喃 (200 mL) 中, 加入化合物 **BB-1-6** (7.5 g, 24.73 mmol), 反应混合物在室温和氢气 (15 psi) 氛围下搅拌反应 15 小时。反应完毕后, 将反应液过滤, 滤饼用二氯甲烷 (50 mL×2) 淋洗, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=1/2, 体积比), 得到化合物 **BB-1**。MS-ESI *m/z*: 274.1 [M+H]⁺。

参考例 2: 片段 **BB-2**



合成路线:



步骤 1: 化合物 **BB-2-2** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-2-1** (50 g, 289.00 mmol) 溶于四氢呋喃 (750 mL) 中, 降温至 -5°C , 加入二(三甲基硅)氨基锂的正己烷溶液 (1 M, 578.00 mL), 反应混合物在 -5°C 下搅拌 10 分钟, 加入二碳酸二叔丁酯 (63.07 g, 289.00 mmol, 66.39 mL), 反应混合物缓慢升至室温并搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 将反应液缓慢加入到饱和氯化铵溶液 (1000 mL) 中, 用乙酸乙酯 (1000 mL \times 3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (2000 mL \times 2) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **BB-2-2**。MS-ESI m/z : 273.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 275.1 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.10 (s, 1H), 8.14 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.27 (dd, $J=1.8, 5.4$ Hz, 1H), 1.47 (s, 9H)。

步骤 2: 化合物 **BB-2-3** 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **BB-2-2** (39 g, 142.79 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (400 mL) 中，降温至 0°C，加入氢氧化钠 (8.57 g, 214.19 mmol, 纯度: 60%)，0~5°C 下反应 30 分钟后，加入溴甲基环丙烷 (23.13 g, 171.35 mmol, 16.41 mL)，反应混合物缓慢升至室温并搅拌反应 15 小时。反应完毕后，将反应液缓慢加入到水 (1.5 L) 中，用乙酸乙酯 (1 L×3) 萃取，合并有机相，用饱和食盐水 (3 L×3) 洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=50/1-20/1, 体积比)，得到化合物 **BB-2-3**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.17 (d, *J*=5.2 Hz, 1H), 7.96 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J*=1.6, 5.2 Hz, 1H), 3.87 (d, *J*=7.2 Hz, 2H), 1.54 (s, 9H), 1.21-1.14 (m, 1H), 0.44-0.39 (m, 2H), 0.27-0.23 (m, 2H).

步骤 3: 化合物 **BB-2-4** 的合成

室温 and 氮气保护下，将化合物 **BB-2-3** (47.53 g, 145.26 mmol) 和 4-恶唑甲酸乙酯 (20.5 g, 145.26 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (500 mL) 中，加入三(邻甲基苯基)膦 (8.84 g, 29.05 mmol)，醋酸钯 (3.26 g, 14.53 mmol) 和碳酸铯 (94.66 g, 290.52 mmol)，反应混合物加热至 80°C 并搅拌 14 小时。反应完毕后，将反应液加入到水 (1 L) 中，用乙酸乙酯 (1 L×3) 萃取，合并有机相，用饱和食盐水 (3 L×3) 洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=5/1-2/1, 体积比)，得到化合物 **BB-2-4**。MS-ESI *m/z*: 388.2 [M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.49 (d, *J*=5.2 Hz, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.70 (dd, *J*=1.2, 5.2 Hz, 1H), 4.45 (q, *J*=7.0 Hz, 2H), 3.92 (d, *J*=6.8 Hz, 2H), 1.55 (s, 9H), 1.42 (t, *J*=7.2 Hz, 3H), 1.22-1.13 (m, 1H), 0.44-0.39 (m, 2H), 0.27-0.22 (m, 2H).

步骤 4: 化合物 **BB-2-5** 的合成

室温 and 氮气保护下，将化合物 **BB-2-4** (18 g, 46.46 mmol) 溶于水 (80 mL) 和四氢呋喃 (400 mL) 中，加入一水合氢氧化锂 (5.85 g, 139.38 mmol)，反应混合物在室温下搅拌反应 4 小时。反应完毕后，将反应液减压浓缩，用 2 M 盐酸调节 pH 至 2-3，用乙酸乙酯 (100 mL×5) 萃取，合并有机相，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂，得到化合物 **BB-2-5**。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.57 (d, *J*=5.2 Hz, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.77 (dd, *J*=1.2, 5.2 Hz, 1H), 3.94 (d, *J*=6.8 Hz, 2H), 1.55 (s, 9H), 1.20-1.11 (m, 1H), 0.45-0.39 (m, 2H), 0.29-0.20 (m, 2H).

步骤 5: 化合物 **BB-2-6** 的合成

室温下，将化合物 **BB-2-5** (5 g, 13.91 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (50 mL) 中，加入 N,N-二异丙基乙胺 (5.39 g, 41.74 mmol, 7.27 mL) 和 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (6.35 g, 16.70 mmol)，反应混合物搅拌反应 0.5 小时，加入化合物 **BB-1** (4.18 g, 15.30 mmol)，继续反应 1.5 小时。反应完毕后，将反应液倒入水 (500 mL) 中，用乙酸乙酯 (150 mL×2) 萃取，合并有机相，用 10% 食盐水 (150 mL×2) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油

醚/乙酸乙酯=2/1, 体积比), 得到化合物 **BB-2-6**。MS-ESI m/z : 615.4 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.77 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.59 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.68 (dd, $J=1.2, 5.2$ Hz, 1H), 7.16 (t, $J=54.2$ Hz, 1H), 4.32-4.22 (m, 1H), 3.86 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.62 (s, 3H), 2.45-2.38 (m, 1H), 2.11-1.99 (m, 4H), 1.88-1.75 (m, 2H), 1.61-1.54 (m, 1H), 1.51 (s, 9H), 1.22-1.12 (m, 1H), 0.44-0.37 (m, 2H), 0.27-0.19 (m, 2H)。

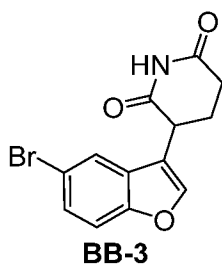
步骤 6: 化合物 **BB-2-7** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-2-6** (5 g, 8.13 mmol) 溶于四氢呋喃 (50 mL) 中, 降温至 $-40^\circ C$, 缓慢加入二异丁基氢化铝的甲苯溶液 (1 M, 48.81 mL), 滴加完毕后, 反应混合物升温至 $0^\circ C$ 并搅拌反应 30 分钟。反应完毕后, 向反应液中加入 1 M 氢氧化钠溶液 (10 mL), 再加入水 (50 mL), 用乙酸乙酯 (4 \times 50 mL) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-1/3, 体积比), 得到化合物 **BB-2-7**。MS-ESI m/z : 587.4 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 9.07 (s, 1H), 8.52 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.33 (s, 2H), 7.64-7.62 (m, 1H), 7.01-6.65 (m, 1H), 4.14-4.10 (m, 1H), 3.94 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.54 (d, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.29-2.23 (m, 2H), 2.05-1.99 (m, 2H), 1.88-1.78 (m, 2H), 1.57 (s, 9H), 1.23-1.14 (m, 4H), 0.45-0.41 (m, 2H), 0.29-0.25 (m, 2H)。

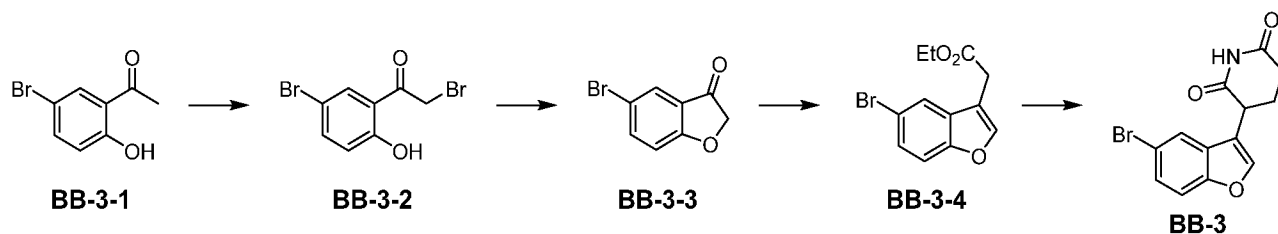
步骤 7: 化合物 **BB-2** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-2-7** (1 g, 1.70 mmol) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 中, 加入戴斯-马丁氧化剂 (1.45 g, 3.41 mmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 向反应液中加入饱和亚硫酸钠溶液 (20 mL), 用二氯甲烷 (3 \times 20 mL) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=4/1-1/1, 体积比), 得到化合物 **BB-2**。MS-ESI m/z : 585.4 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 9.70 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.52 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.63 (dd, $J=1.6, 5.2$ Hz, 1H), 6.84 (t, $J=54.6$ Hz, 1H), 4.16-4.06 (m, 1H), 3.94 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 2.41-2.33 (m, 1H), 2.34-2.28 (m, 2H), 2.25-2.19 (m, 2H), 1.95-1.82 (m, 2H), 1.57 (s, 9H), 1.53-1.42 (m, 2H), 1.24-1.17 (m, 1H), 0.47-0.39 (m, 2H), 0.30-0.24 (m, 2H)。

参考例 3: 片段 **BB-3**



合成路线:



步骤 1: 化合物 **BB-3-2** 的合成

室温和氮气保护下,将化合物 **BB-3-1** (200 g, 930.04 mmol) 溶于氯仿 (1000 mL) 和乙酸乙酯 (1000 mL) 中, 随后加入溴化铜 (415.45 g, 1.86 mol), 反应混合物加热至 90°C 并搅拌反应 16 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 过滤, 滤饼用二氯甲烷 (1.5 L) 淋洗, 得到化合物 **BB-3-2** 的溶液, 直接用于下一步。

步骤 2: 化合物 **BB-3-3** 的合成

将上述得到的化合物 **BB-3-2** 的溶液 (3.5 L) 降温至 0°C, 随后缓慢滴加三乙胺 (141.17 g, 1.40 mol, 194.18 mL), 滴加完毕后, 反应混合物缓慢升温至室温并搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 加入水 (2 L), 分液, 水相用二氯甲烷 (500 mL) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (1 L×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 得到化合物 **BB-3-3**。

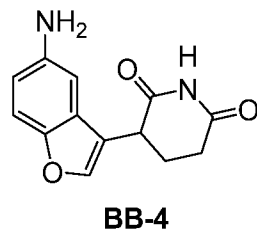
步骤 3: 化合物 **BB-3-4** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-3-3** (198.1 g, 929.93 mmol) 溶于甲苯 (1.5 L) 中, 随后加入乙氧甲基亚甲基三苯基膦 (388.76 g, 1.12 mol), 反应混合物加热至 130°C 并搅拌反应 36 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 减压浓缩除去溶剂, 向所得残余物中加入甲基叔丁基醚 (700 mL×3), 室温下搅拌 20 分钟, 过滤, 滤饼用甲基叔丁基醚 (100 mL) 淋洗, 收集滤液。滤液减压除去溶剂, 所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-70/1, 体积比), 得到化合物 **BB-3-4**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.72 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.41 (dd, *J*=2.0 Hz, 8.8 Hz, 1H), 7.36 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 4.21 (q, *J*=7.0 Hz, 2H), 3.66 (d, *J*=0.8 Hz, 2H), 1.30 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

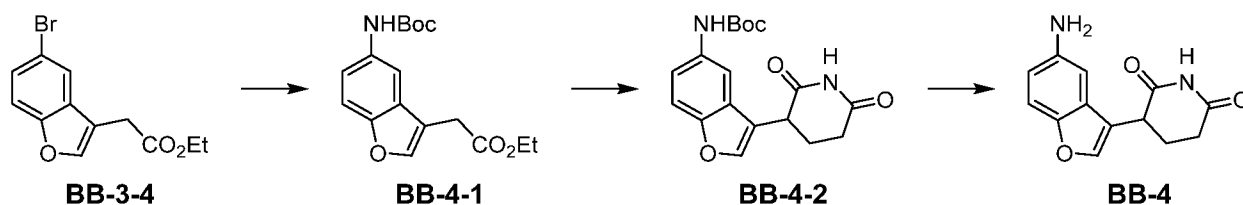
步骤 4: 化合物 **BB-3** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-3-4** (3 g, 10.60 mmol) 加入至 N,N-二甲基甲酰胺 (20 mL) 中, 依次加入丙烯酰胺 (903.79 mg, 12.72 mmol) 和叔丁醇钾 (1.78 g, 15.89 mmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 将反应液倒入 1 N 盐酸 (15 mL) 中, 加入水 (25 mL), 用乙酸乙酯 (35 mL×3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物通过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=5/1-1/1, 体积比), 得到化合物 **BB-3**。MS-ESI *m/z*: 308.0 [M+H]⁺, 310.0 [M+H+2]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.87 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.85 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 7.57 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J*=2.0, 8.8 Hz, 1H), 4.15 (dd, *J*=4.8, 12.4 Hz, 1H), 2.78-2.67 (m, 1H), 2.62-2.54 (m, 1H), 2.43-2.29 (m, 1H), 2.14-2.04 (m, 1H)。

参考例 4: 片段 BB-4



合成路线:

步骤 1: 化合物 **BB-4-1** 的合成

室温和氮气保护下, 向甲苯 (100 mL) 和水 (20 mL) 混合溶剂中依次加入化合物 **BB-3-4** (5 g, 17.66 mmol)、氨基甲酸叔丁酯 (2.48 g, 21.19 mmol)、磷酸钾 (11.25 g, 52.98 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (323.44 mg, 353.21 μmol) 和 2-二叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯 (299.98 mg, 706.42 μmol), 反应混合物加热至 110°C 并搅拌反应 16 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 加入水 (100 mL), 过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (100 mL) 淋洗, 合并滤液, 静置分液, 收集有机相。有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=1/5, 体积比), 得到化合物 **BB-4-1**。¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.71 (br s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.37 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.15 (dd, $J=2.0$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 4.20 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.67 (q, $J=1.2$ Hz, 2H), 1.53 (s, 9H), 1.29 (t, $J=7.2$ Hz, 3H)。

步骤 2: 化合物 **BB-4-2** 的合成

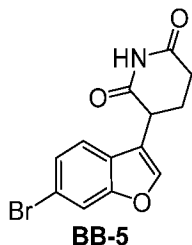
室温下, 将化合物 **BB-4-1** (5.6 g, 17.54 mmol) 和丙烯酰胺 (1.50 g, 21.05 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (100 mL) 中, 随后加入叔丁醇钾 (1.8 g, 16.04 mmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时, 再补加叔丁醇钾 (0.6 g, 5.35 mmol), 反应混合物在室温下继续搅拌反应 0.5 小时。反应完毕后, 将反应液倒入 1 M 稀盐酸 (300 mL) 中, 搅拌 10 分钟, 过滤, 用水 (100 mL) 淋洗滤饼, 收集滤饼。所得滤饼经过柱层析分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=1/1, 体积比), 得到化合物 **BB-4-2**。¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.32 (br s, 1H), 7.72 (br s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.39 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.12 (dd, $J=2.0$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 6.71 (br s, 1H), 3.97 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 2.82-2.63 (m, 2H), 2.39-2.29 (m, 2H), 1.53 (s, 9H)。

步骤 3: 化合物 **BB-4** 的盐酸盐的合成

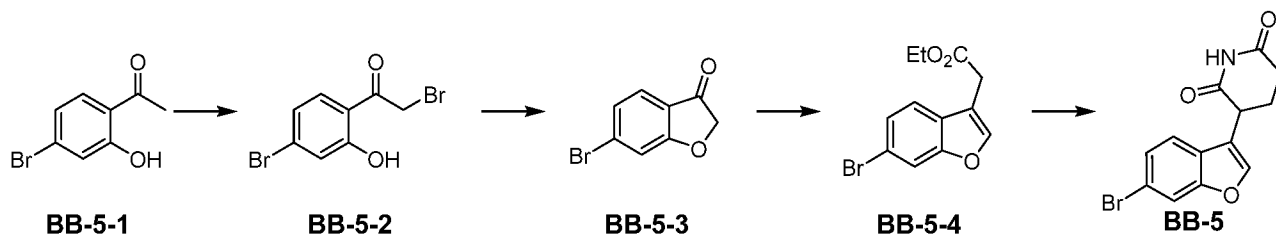
室温下, 将化合物 **BB-4-2** (2.3 g, 6.68 mmol) 溶于乙酸乙酯 (20 mL) 中, 随后加入盐酸的乙酸乙酯溶

液 (4 M, 40 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 16 小时。反应完毕后, 将反应液过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (20 mL) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-4** 的盐酸盐。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ : 7.85 (s, 1H), 7.67 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J=2.0$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 4.24 (dd, $J=5.2$ Hz, 12.4 Hz, 1H), 2.91-2.74 (m, 2H), 2.50-2.37 (m, 1H), 2.35-2.25 (m, 1H)。

参考例 5: 片段 **BB-5**



合成路线:



步骤 1: 化合物 **BB-5-2** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-5-1** (200 g, 930.04 mmol) 溶于氯仿 (1 L) 和乙酸乙酯 (1 L) 中, 随后加入溴化铜 (415.45 g, 1.86 mol), 反应混合物加热至 90°C 并搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 过滤, 滤饼用二氯甲烷 (300 mL \times 2) 淋洗, 收集滤液, 得到化合物 **BB-5-2** 的溶液, 直接用于下一步。

步骤 2: 化合物 **BB-5-3** 的合成

将上述得到的化合物 **BB-5-2** (273 g, 928.76 mmol) 的溶液冷却至 0°C, 随后缓慢滴加三乙胺 (140.97 g, 1.39 mol, 193.91 mL), 滴加完毕后, 反应混合物缓慢升温至室温, 搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 加入水 (600 mL), 萃取分液, 有机相用饱和食盐水 (1 L) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去一半溶剂, 加入甲苯 (500 mL), 继续减压浓缩除去残留的低沸点溶剂, 得到化合物 **BB-5-3** 的甲苯溶液。

步骤 3: 化合物 **BB-5-4** 的合成

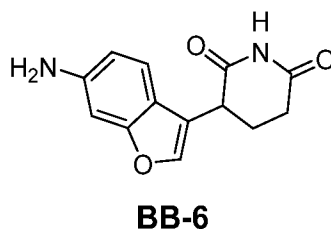
室温和氮气保护下, 向二分之一的上述化合物 **BB-5-3** 的甲苯溶液中加入甲苯 (2 L), 随后加入乙氧基亚甲基三苯基膦 (161.90 g, 464.73 mmol), 反应混合物加热至 130°C 并搅拌反应 20 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 两批次合并处理。减压浓缩除去溶剂, 向所得残余物中加入甲基叔丁基醚 (800 mL), 室温下搅拌 30 分钟, 过滤, 滤饼用甲基叔丁基醚 (100 mL \times 2) 淋洗, 滤液减压除去溶剂, 所得残余物经柱层析分

离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=100/1-10/1, 体积比), 得到化合物 **BB-5-4**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.94 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.56 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.44 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 4.11 (q, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.79 (s, 2H), 1.19 (t, *J*=7.2 Hz, 3H).

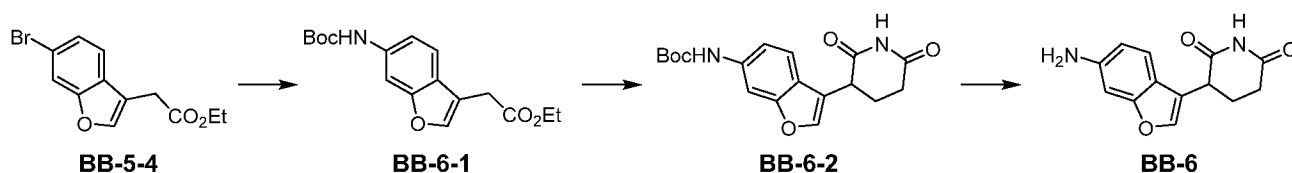
步骤 4: 化合物 **BB-5** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-5-4** (5.00 g, 17.66 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (50 mL) 中, 随后依次加入丙烯酰胺 (1.51 g, 21.19 mmol) 和叔丁醇钾 (2.97 g, 26.49 mmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 倒入 1 M 稀盐酸 (100 mL) 中, 用乙酸乙酯 (30 mL×2) 萃取。合并有机相, 用 10% 食盐水 (100 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=1/1, 体积比), 得到化合物 **BB-5**。MS-ESI *m/z*: 308.0 [M+H]⁺, 310.0 [M+H+2]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.91 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.89 (d, *J*=1.6 Hz, 1H), 7.56 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J*=1.6 Hz, 8.0 Hz, 1H), 4.15 (dd, *J*=4.8 Hz, 12.0 Hz, 1H), 2.80-2.68 (m, 1H), 2.58 (dt, *J*=4.0 Hz, 17.2 Hz, 1H), 2.38-2.25 (m, 1H), 2.15-2.05 (m, 1H)。

参考例 6: 片段 **BB-6**



合成路线:



步骤 1: 化合物 **BB-6-1** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-5-4** (10 g, 35.32 mmol)、氨基甲酸叔丁酯 (4.97 g, 42.39 mmol)、磷酸钾 (22.49 g, 105.96 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钨 (646.88 mg, 706.42 μmol) 和 2-二叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯 (599.95 mg, 1.41 mmol) 溶于甲苯 (100 mL) 和水 (20 mL) 中, 反应混合物加热至 110°C 并搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 加入水 (100 mL), 用乙酸乙酯 (70 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (70 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。残余物中加入正庚烷 (70 mL),

室温搅拌 10 分钟，过滤，收集滤饼。向滤饼中再次加入正庚烷 (50 mL)，室温搅拌 10 分钟，过滤，滤饼用正庚烷 (10 mL×3) 淋洗，收集滤饼，真空干燥，得到化合物 **BB-6-1**。MS-ESI m/z : 264.2 [M-55]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.77 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.44 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.06 (dd, $J=1.6$ Hz, 8.4 Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 4.19 (q, $J=7.0$ Hz, 2H), 3.66 (s, 2H), 1.54 (s, 9H), 1.27 (t, $J=7.2$ Hz, 3H)。

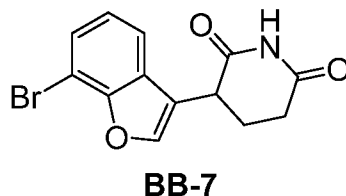
步骤 2: 化合物 **BB-6-2** 的合成

室温下，将化合物 **BB-6-1** (9.8 g, 30.69 mmol) 和丙烯酰胺 (2.62 g, 36.83 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (100 mL) 中，随后加入叔丁醇钾 (6.20 g, 55.24 mmol)，反应混合物在室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后，将反应液倒入 0.5 M 盐酸 (120 mL) 中，然后加入水 (300 mL)，用乙酸乙酯 (150 mL×3) 萃取。合并有机相，用饱和食盐水 (150 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压除去溶剂。向所得残余物中加入甲基叔丁基醚 (70 mL)，室温搅拌 0.5 小时，过滤，用甲基叔丁基醚 (10 mL×3) 淋洗滤饼，收集滤饼，真空干燥，得到化合物 **BB-6-2**。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.88 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 7.78 (s, 2H), 7.43 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J=1.4$ Hz, 8.6 Hz, 1H), 4.07 (dd, $J=4.8$ Hz, 12.0 Hz, 1H), 2.78-2.65 (m, 1H), 2.62-2.53 (m, 1H), 2.35-2.23 (m, 1H), 2.15-2.06 (m, 1H), 1.49 (s, 9H)。

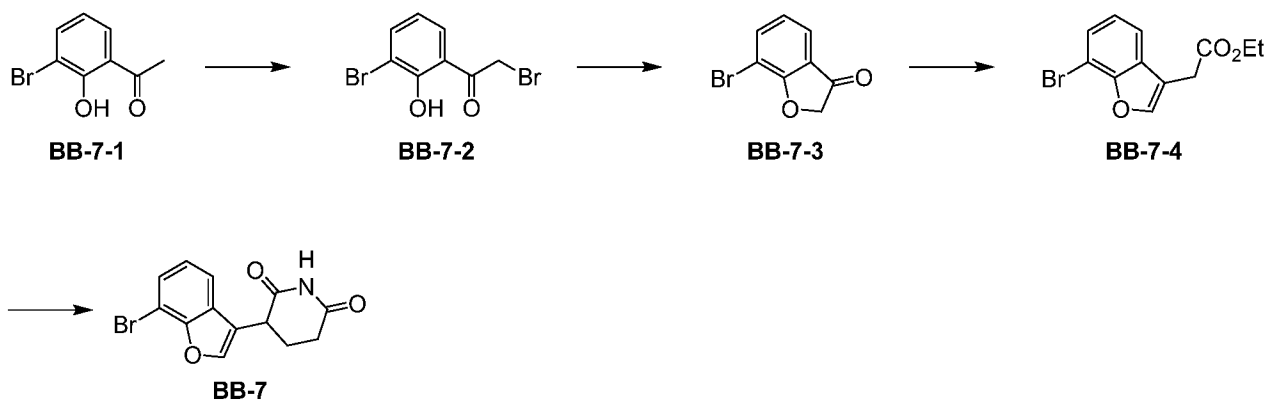
步骤 3: 化合物 **BB-6** 的盐酸盐的合成

室温下，将化合物 **BB-6-2** (6.6 g, 19.17 mmol) 溶于二氯甲烷 (20 mL) 中，随后加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (4 M, 150 mL)，反应混合物在室温下搅拌反应 4 小时。反应完毕后，减压除去溶剂，得到化合物 **BB-6** 的盐酸盐。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.92 (s, 1H), 10.06 (s, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.66 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.21 (dd, $J=1.8$ Hz, 8.2 Hz, 1H), 4.16 (dd, $J=4.8$ Hz, 12.0 Hz, 1H), 2.81-2.69 (m, 1H), 2.63-2.54 (m, 1H), 2.39-2.26 (m, 1H), 2.16-2.07 (m, 1H)。

参考例 7: 片段 **BB-7**



合成路线:



步骤 1: 化合物 **BB-7-2** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-7-1** (11.39 g, 52.97 mmol) 溶于氯仿 (100 mL) 和乙酸乙酯 (100 mL) 中, 随后加入溴化铜 (23.66 g, 105.93 mmol), 反应混合物加热至 110°C 并搅拌反应 16 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 然后向残余物中加入水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取。合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-100/1, 体积比), 得到化合物 **BB-7-2**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 12.39 (s, 1H), 7.81 (dd, *J*=1.2 Hz, 8.0 Hz, 1H), 7.76 (dd, *J*=1.2 Hz, 8.0 Hz, 1H), 6.88 (t, *J*=8.0 Hz, 1H), 4.47 (s, 2H)。

步骤 2: 化合物 **BB-7-3** 的合成

0°C 下, 将化合物 **BB-7-2** (6.86 g, 18.44 mmol) 溶于二氯甲烷 (80 mL) 中, 随后缓慢滴加三乙胺 (1.87 g, 18.44 mmol), 反应混合物缓慢升温至室温并搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 直接减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **BB-7-3** 的粗品, 直接用于下一步。

步骤 3: 化合物 **BB-7-4** 的合成

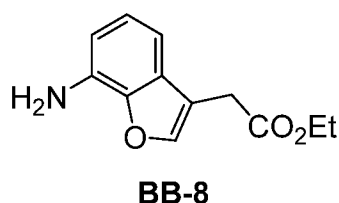
室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-7-3** 的粗品 (3.93 g, 18.45 mmol) 溶于甲苯 (80 mL) 中, 随后加入乙氧甲酰基亚甲基三苯基膦 (9.64 g, 27.67 mmol), 反应混合物加热至 130°C 并搅拌反应 36 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 减压浓缩除去溶剂, 然后向残余物中加入水 (100 mL), 用乙酸乙酯 (50 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-100/1, 体积比), 得到化合物 **BB-7-4**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.72 (s, 1H), 7.52 (dd, *J*=0.8 Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.48 (dd, *J*=0.8 Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.15 (t, *J*=7.6 Hz, 1H), 4.20 (q, *J*=7.2 Hz, 2H), 3.70 (d, *J*=0.8 Hz, 2H), 1.28 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

步骤 4: 化合物 **BB-7** 的合成

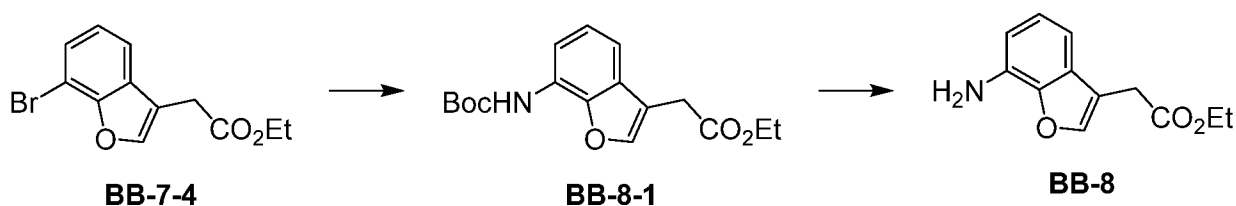
0°C 和氮气保护下, 将化合物 **BB-7-4** (4.77 g, 16.85 mmol) 溶于 N, N-二甲基甲酰胺 (30 mL) 中, 随后依次加入丙烯酰胺 (1.20 g, 16.85 mmol) 和叔丁醇钾 (1.89 g, 16.85 mmol), 反应混合物在 0°C 下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 倒入饱和氯化铵溶液 (50 mL) 中, 有大量白色固体产生, 过滤, 收集固体。固体用甲

醇 (20 mL×2) 室温打浆, 过滤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-7**。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.92 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.62 (dd, *J*=0.8 Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.56 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.21 (t, *J*=7.6 Hz, 1H), 4.17 (dd, *J*=4.8 Hz, 12.0 Hz, 1H), 2.79-2.70 (m, 1H), 2.63-2.55 (m, 1H), 2.40-2.27 (m, 1H), 2.16-2.08 (m, 1H)。

参考例 8: 片段 **BB-8**



合成路线:



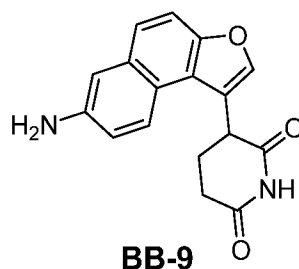
步骤 1: 化合物 **BB-8-1** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-7-4** (2 g, 7.06 mmol) 溶于甲苯 (50 mL) 和水 (5 mL) 中, 随后依次加入三(二亚苄基丙酮)二钯 (647 mg, 706.42 μmol)、2-二-叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯 (450 mg, 1.06 mmol)、磷酸钾 (6 g, 28.26 mmol) 和氨基甲酸叔丁酯 (1.66 g, 14.13 mmol), 反应混合物加热至 100°C 并搅拌反应 16 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 将反应液倒入水 (20 mL) 中, 用乙酸乙酯 (10 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=10/0-10/1, 体积比), 得到化合物 **BB-8-1**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.93 (br s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.24-7.20 (m, 2H), 6.97 (s, 1H), 4.20 (q, *J*=6.8 Hz, 2H), 3.69 (d, *J*=0.8 Hz, 2H), 1.56 (s, 9H), 1.28 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

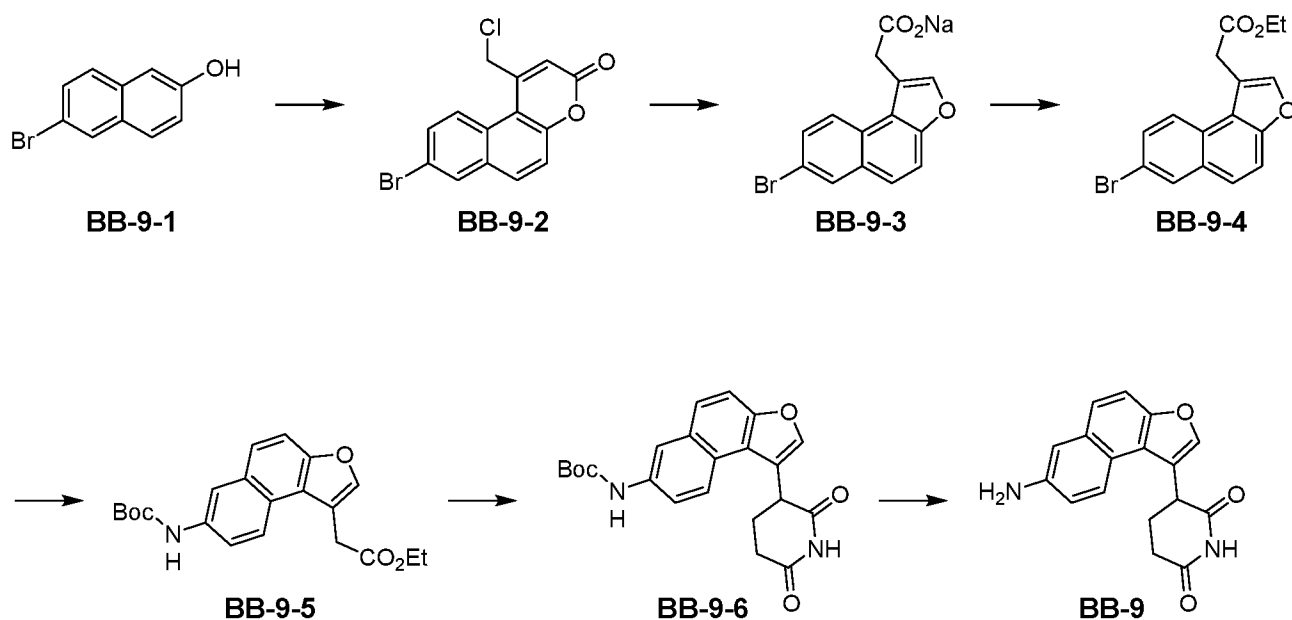
步骤 2: 化合物 **BB-8** 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **BB-8-1** (1.32 g, 4.13 mmol) 溶于乙酸乙酯 (3 mL) 中, 随后加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (4 M, 15 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 直接减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **BB-8** 的盐酸盐。

参考例 9: 片段 **BB-9**



合成路线:



步骤 1: 化合物 **BB-9-2** 的合成

0°C下, 将浓硫酸 (103.08 g, 1.03 mol, 56.02 mL, 纯度: 98%) 缓慢滴加到化合物**BB-9-1** (25 g, 112.07 mmol) 和4-氯乙酰乙酸乙酯 (18.45 g, 112.07 mmol) 的混合物中, 控制内温在0-5°C。滴加完毕后, 反应混合物升温至室温, 搅拌反应12小时。4个批次合并处理。反应完毕后, 在搅拌下将反应液缓慢倒入冰水 (3 L) 中, 室温搅拌10分钟, 过滤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物**BB-9-2**。MS-ESI m/z : 323.0 $[M+H]^+$, 325.0 $[M+H+2]^+$ 。

步骤 2: 化合物 **BB-9-3** 的合成

室温下, 将氢氧化钠 (17.65 g, 441.36 mmol) 溶于水 (700 mL) 中, 随后加入化合物**BB-9-2** (54.40 g, 110.34 mmol, 纯度: 65.63%), 反应混合物升温至80°C并搅拌反应12小时。3个批次合并处理。反应完毕后, 冷却至室温, 过滤, 滤饼用水 (500 mL) 洗涤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物**BB-9-3**。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.50 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.76 (d, $J=1.6$ Hz, 2H), 7.63 (dd, $J=2.0$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 3.50 (s, 2H)。

步骤 3: 化合物 **BB-9-4** 的合成

室温下, 将化合物 **BB-9-3** (33.16 g, 101.37 mmol) 溶于乙醇 (300 mL) 中, 然后缓慢滴加浓硫酸 (27.19 g, 271.68 mmol, 14.78 mL, 纯度: 98%), 反应混合物升温至 80°C, 搅拌反应 12 小时。2 个批次合并处理。反应完毕后, 冷却至室温, 减压浓缩除去溶剂。向所得残余物中加入水 (600 mL), 用乙酸乙酯 (200 mL×2) 萃取。合并有机相, 依次用氢氧化钠水溶液 (2 M, 300 mL) 和饱和食盐水 (500 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 得到化合物 **BB-9-4**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.13-8.06 (m, 2H), 7.78 (s, 1H), 7.69-7.60 (m, 3H), 4.23 (q, *J*=7.2 Hz, 2H), 4.03 (s, 2H), 1.27 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

步骤 4: 化合物 **BB-9-5** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-9-4** (1 g, 3.00 mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钼 (275 mg, 300.14 μmol), 2-二-叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯 (191.18 mg, 450.21 mmol), 磷酸钾 (2.55 g, 12.01 mmol) 和氨基甲酸叔丁酯 (527.41 mg, 4.50 mmol) 溶于甲苯 (50 mL) 和水 (5 mL) 的混合溶剂中, 反应混合物加热至 100°C, 搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 反应液倒入水 (20 mL) 中, 用乙酸乙酯 (10 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=10/0-10/1, 体积比), 得到化合物 **BB-9-5**。MS-ESI *m/z*: 392.2 [M+Na]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.14 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 8.12 (br s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.67 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 7.62 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J*=2.2 Hz, 9.0 Hz, 1H), 6.64 (br s, 1H), 4.22 (q, *J*=7.0 Hz, 2H), 4.04 (s, 2H), 1.57 (s, 9H), 1.27 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

步骤 5: 化合物 **BB-9-6** 的合成

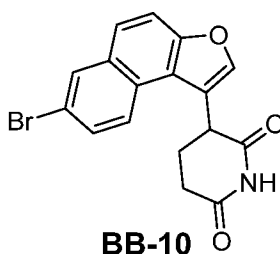
0°C和氮气保护下, 将化合物 **BB-9-5** (1.13 g, 2.74 mmol, 纯度: 89.57%) 和丙烯酰胺 (234 mg, 3.29 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 再加入叔丁醇钾 (368.93 mg, 3.29 mmol), 反应混合物在 0°C 下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 反应液慢慢倒入饱和氯化铵水溶液 (30 mL) 中, 用乙酸乙酯 (15 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物中加入甲醇 (10 mL), 室温下搅拌 0.5 小时, 过滤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-9-6**。MS-ESI *m/z*: 417.0 [M+Na]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.13 (br s, 1H), 8.08 (br s, 1H), 7.90 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.71 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 7.67-7.62 (m, 2H), 7.48 (dd, *J*=2.4 Hz, 8.8 Hz, 1H), 6.67 (br s, 1H), 4.47 (dd, *J*=5.4 Hz, 8.6 Hz, 1H), 2.85-2.71 (m, 2H), 2.55-2.40 (m, 2H), 1.57 (s, 9H)。

步骤 6: 化合物 **BB-9** 的盐酸盐的合成

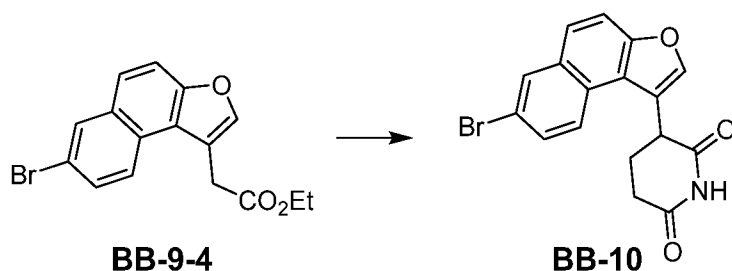
室温下, 将化合物 **BB-9-6** (421 mg, 1.07 mmol) 溶于盐酸/二氧六环溶液 (4 M, 20 mL) 中, 反应混合物在室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 将反应液冷却后, 倒入饱和氯化铵溶液 (100 mL) 中, 用乙酸乙酯 (10 mL×3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后, 过滤旋干。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/1, 体积比), 得到化合物 **BB-9** 的盐酸盐。MS-ESI *m/z*:

294.9 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.95 (br s, 1H), 8.23 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.88-7.81 (m, 3H), 7.48-7.42 (m, 1H), 4.66 (dd, *J*=4.4 Hz, 12.4 Hz, 1H), 2.92-2.81 (m, 1H), 2.69-2.60 (m, 1H), 2.46-2.38 (m, 1H), 2.31-2.23 (m, 1H).

参考例 10: 片段 BB-10



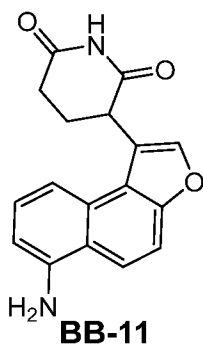
合成路线:



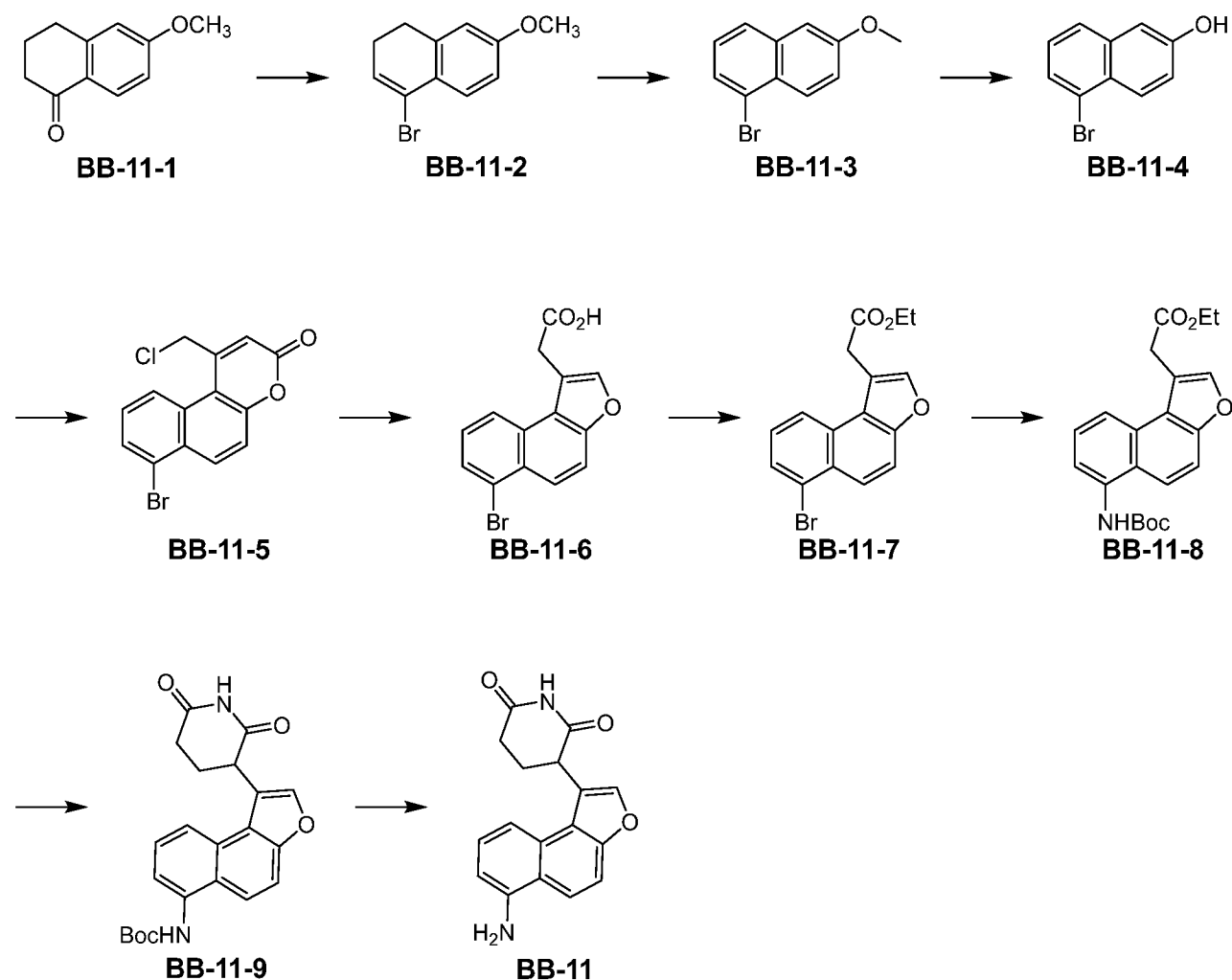
化合物 **BB-10** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-9-4** (1 g, 3.00 mmol) 溶于 N, N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 再依次加入丙烯酰胺 (256 mg, 3.60 mmol) 和叔丁醇钾 (404.15 mg, 3.60 mmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 反应液慢慢倒入饱和氯化铵水溶液 (100 mL) 中, 室温下搅拌 1 小时, 过滤, 收集滤饼。所得滤饼中加入甲醇 (20 mL), 室温下搅拌 0.5 小时, 过滤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-10**。MS-ESI *m/z*: 357.7 [M+H]⁺, 359.7 [M+H+2]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.15 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 8.06 (br s, 1H), 7.87 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.72-7.65 (m, 4H), 4.47 (dd, *J*=5.2 Hz, 9.6 Hz, 1H), 2.89-2.74 (m, 2H), 2.58-2.41 (m, 2H).

参考例 11: 片段 BB-11



合成路线:



步骤 1: 化合物 **BB-11-2** 的合成

室温和氮气保护下, 将亚磷酸三苯酯 (149.14 g, 480.67 mmol) 溶于二氯甲烷 (1.3 L) 中, 降温至-70°C, 逐滴滴加液溴 (83.80 g, 524.37 mmol, 27.03 mL), 滴加完毕后, 再依次滴加三乙胺 (57.48 g, 568.07 mmol, 79.07 mL) 和化合物 **BB-11-1** (77 g, 436.98 mmol) 的二氯甲烷 (200 mL) 溶液, 滴加完毕后, 反应混合物缓慢升温至室温, 搅拌反应15小时。反应完毕后, 反应液缓慢倒入饱和亚硫酸钠水溶液 (1.5 L) 中, 搅拌10分钟, 用二氯甲烷 (1L) 萃取。有机相用饱和食盐水 (1L) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减

压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚), 得到化合物**BB-11-2**。

步骤 2: 化合物 **BB-11-3** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-11-2** (87 g, 363.85 mmol) 溶于甲苯 (1 L) 中, 降温至0°C, 分批缓慢加入2,3-二氯-5,6-二氰基苯醌 (90.86 g, 400.24 mmol), 反应混合物缓慢升温至室温, 搅拌反应15小时。反应完毕后, 滴加饱和亚硫酸钠水溶液 (2 L), 搅拌10分钟, 再加入1 N氢氧化钠水溶液 (1 L), 用乙酸乙酯 (500 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (1 L) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物加入石油醚 (500 mL), 搅拌10分钟, 过滤, 滤饼用石油醚 (50 mL×2) 淋洗, 收集滤液, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚), 得到化合物**BB-11-3**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.12 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 7.68 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.60 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.26-7.20 (m, 2H), 7.11 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H).

步骤 3: 化合物 **BB-11-4** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-11-3** (21.4 g, 90.26 mmol) 溶于二氯甲烷 (250 mL) 中, 降温至0°C, 缓慢滴加三溴化硼 (27.13 g, 108.31 mmol, 10.44 mL), 滴加完毕后, 反应混合物升温至室温, 搅拌反应3小时。反应完毕后, 反应液倒入冰水 (500 mL) 中, 用二氯甲烷 (200 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (500 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 得到化合物**BB-11-4**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.15 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.65-7.59 (m, 2H), 7.25 (t, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.19 (dd, *J*=2.4 Hz, 9.2 Hz, 1H), 7.14 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H).

步骤 4: 化合物 **BB-11-5** 的合成

室温下, 将化合物**BB-11-4** (20 g, 89.66 mmol) 溶于甲烷磺酸 (200 mL) 中, 逐滴滴加4-氯乙酰乙酸乙酯 (22.14 g, 134.49 mmol), 反应混合物室温下搅拌反应15小时。反应完毕后, 反应液倒入冰水 (1 L) 中, 室温下搅拌10分钟, 过滤, 滤饼用水 (200 mL×3) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物**BB-11-5**。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.58 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 8.49 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 8.02 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 7.74 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 7.65 (dd, *J*=7.6 Hz, 8.4 Hz, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.41 (s, 2H).

步骤 5: 化合物 **BB-11-6** 的合成

室温下, 将化合物**BB-11-5** (29 g, 89.63 mmol) 加入到氢氧化钠 (2 M, 300 mL) 的水溶液中, 反应混合物加热至80°C, 搅拌反应3小时。反应完毕后, 冷却至室温, 加入水 (200 mL), 用6 N盐酸调节pH至4, 用乙酸乙酯 (300 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (200 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物中加入甲基叔丁基醚 (50 mL), 室温下搅拌10分钟, 过滤, 滤饼用甲基叔丁基醚 (10 mL×2) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物**BB-11-6**。MS-ESI *m/z*: 305.0 [M+H]⁺, 306.9 [M+H+2]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.68 (br s, 1H), 8.24 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 8.12 (t, *J*=4.6 Hz, 2H), 7.96 (d, *J*=9.2

Hz, 1H), 7.90 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.54 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 4.09 (s, 2H).

步骤 6: 化合物 **BB-11-7** 的合成

室温下, 将化合物**BB-11-6** (18 g, 58.99 mmol) 溶于乙醇 (180 mL) 中, 加入浓硫酸 (5.31 g, 53.09 mmol, 2.89 mL, 纯度: 98%), 反应混合物升温到80°C, 搅拌反应15小时。反应完毕后, 冷却至室温, 减压浓缩除去溶剂, 残余物中加入乙酸乙酯 (300 mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (500 mL), 萃取分液。有机相用饱和食盐水 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。残余物中加入石油醚 (50 mL), 室温搅拌10分钟, 过滤, 滤饼用石油醚 (20 mL×2) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物**BB-11-7**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.22 (t, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.84-7.78 (m, 2H), 7.75 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.41 (dd, $J=7.6$ Hz, 8.4 Hz, 1H), 4.23 (q, $J=7.0$ Hz, 2H), 4.06 (d, $J=0.8$ Hz, 2H), 1.26 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

步骤 7: 化合物 **BB-11-8** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-11-7** (5 g, 15.01 mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯 (961.96 mg, 1.05 mmol), 2-二-叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯 (892.16 mg, 2.10 mmol), 磷酸钾 (12.74 g, 60.03 mmol) 和氨基甲酸叔丁酯 (2.64 g, 22.51 mmol) 溶于甲苯 (50 mL) 和水 (10 mL) 的混合溶剂中, 反应混合物加热至100°C, 搅拌反应15小时。反应完毕后, 冷却至室温, 过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (30 mL×3) 淋洗, 滤液用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。残余物中加入甲基叔丁基醚 (50 mL), 室温搅拌10分钟, 过滤, 滤饼用甲基叔丁基醚 (10 mL×2) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物**BB-11-8**。

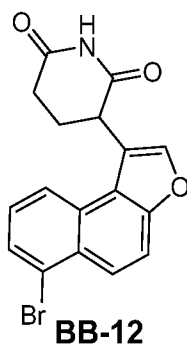
步骤 8: 化合物 **BB-11-9** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-11-8** (4.2 g, 11.37 mmol) 和丙烯酰胺 (888.93 mg, 12.51 mmol) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (40 mL) 中, 降温至0°C, 滴加用N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 溶解的叔丁醇钾 (2.55 g, 22.74 mmol), 反应混合物升温至室温, 搅拌反应2小时。反应完毕后, 反应液倒入0.2 N盐酸 (200 mL) 中, 用乙酸乙酯 (100 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物中加入二氯甲烷 (20 mL), 室温下搅拌10分钟, 过滤, 滤饼用二氯甲烷 (10 mL) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物**BB-11-9**。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.94 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.05-7.92 (m, 3H), 7.79 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.58-7.47 (m, 2H), 4.68 (dd, $J=4.4$ Hz, 12.0 Hz, 1H), 2.95-2.81 (m, 1H), 2.70-2.56 (m, 1H), 2.47-2.34 (m, 1H), 2.33-2.22 (m, 1H), 1.49 (s, 9H).

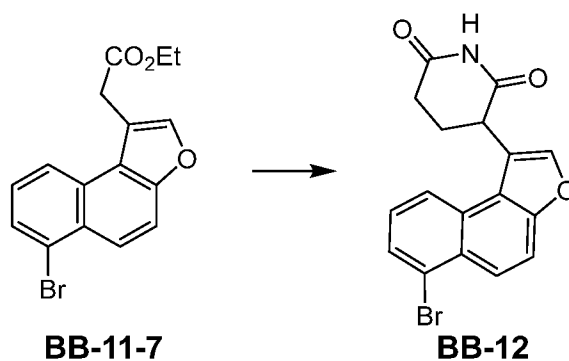
步骤 9: 化合物 **BB-11** 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **BB-11-9** (1.3 g, 3.30 mmol) 溶于乙酸乙酯 (5 mL) 中, 随后加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (4 M, 50 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 3 小时。反应完毕后, 减压浓缩除掉溶剂, 得到化合物 **BB-11** 的盐酸盐。

参考例 12: 片段 BB-12

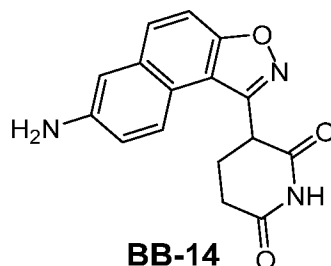


合成路线:

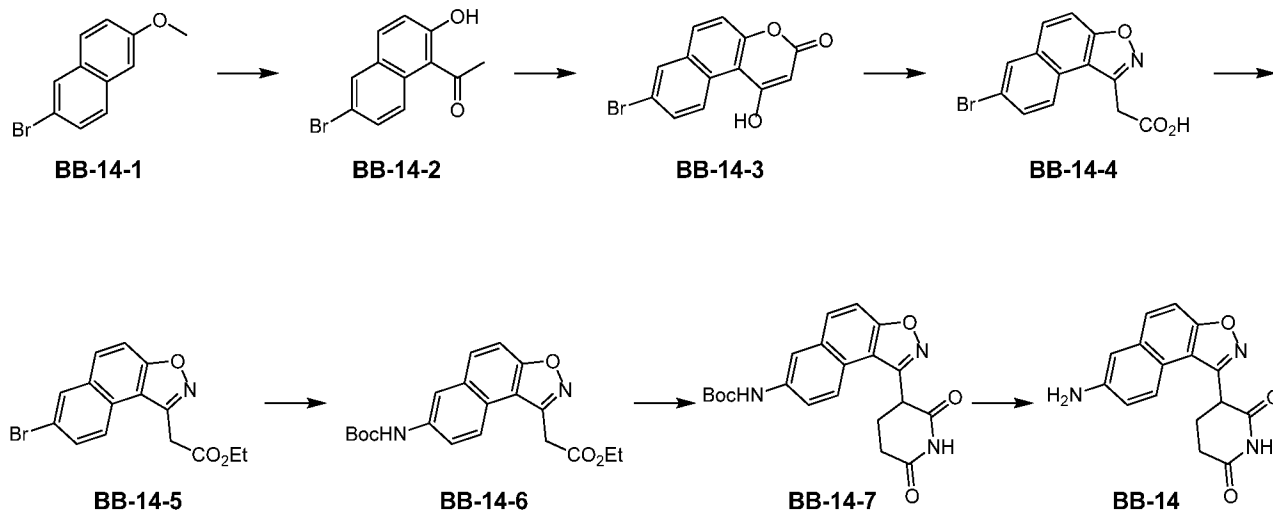
化合物 **BB-12** 的合成

室温和氮气保护下, 将丙烯酰胺 (234.67 mg, 3.30 mmol) 和化合物 **BB-11-7** (1 g, 3.00 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL) 中, 随后加入叔丁醇钾 (370.47 mg, 3.30 mmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 0.5 小时。反应完毕后, 反应液倒入 0.1 N 盐酸 (10 mL) 中, 用二氯甲烷 (5 mL×2) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (5 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物中加入二氯甲烷 (5 mL), 室温下搅拌 1 小时, 过滤, 滤饼用二氯甲烷 (1 mL) 淋洗。收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-12**。MS-ESI m/z : 358.1 $[M+H]^+$, 360.1 $[M+H+2]^+$ 。

参考例 14: 片段 BB-14



合成路线:



步骤 1: 化合物 **BB-14-2** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-14-1** (150 g, 632.67 mmol) 溶于二氯甲烷 (3 L) 中, 随后加入乙酰氯 (49.66 g, 632.67 mmol, 45.15 mL), 反应混合物冷却至 5~15°C, 分批加入三氯化铝 (177.16 g, 1.33 mol), 反应混合物升温至室温, 搅拌反应 4 小时。补加三氯化铝 (29.53 g, 221.43 mmol), 室温下继续搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 反应液缓慢倒入冰水 (3 L) 中, 萃取分液, 水相再次用二氯甲烷 (2 L×2) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (6 L×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 得到化合物 **BB-14-2**。MS-ESI m/z : 265.1 [M+H]⁺, 267.1 [M+H+2]⁺。

步骤 2: 化合物 **BB-14-3** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-14-2** (200 g, 754.43 mmol) 和碳酸二甲酯 (271.83 g, 3.02 mol, 254.04 mL) 溶于四氢呋喃 (2 L) 中, 降温至 0°C, 缓慢加入叔丁醇钾 (507.93 g, 4.53 mol), 反应混合物升温至 70°C, 搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 减压浓缩除去溶剂, 残余物中加入冰水 (4 L), 用 6 N 盐酸调节 pH=2~3, 有大量固体析出, 过滤, 滤饼依次用水 (1 L) 和甲基叔丁基醚 (1 L) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-14-3**。MS-ESI m/z : 291.0 [M+H]⁺, 293.0 [M+H+2]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.18 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 8.30 (d, *J*=1.2 Hz, 1H), 8.16 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.79 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.56 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 5.83 (s, 1H)。

步骤 3: 化合物 **BB-14-4** 的合成

室温下, 将化合物 **BB-14-3** (200 g, 687.06 mmol), 乙酸钠 (309.99 g, 3.78 mol) 和盐酸羟胺 (262.59 g, 3.78 mol) 溶于乙醇 (2 L) 中, 反应混合物升温至 80°C, 搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 倒入水 (2 L) 中, 减压浓缩除去溶剂, 用 2 N 盐酸调节 pH=2~3, 用乙酸乙酯/四氢呋喃=1/1 (2 L×3, 体积比) 萃取。合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。残余物中加入甲基叔丁基醚 (600 mL), 室温搅拌 1 小时, 过滤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-14-4**。MS-ESI m/z : 306.0 [M+H]⁺, 308.0 [M+H+2]⁺。

步骤 4: 化合物 **BB-14-5** 的合成

室温下, 将浓硫酸 (33.38 g, 333.49 mmol, 18.14 mL, 纯度: 98%) 溶于乙醇 (1.3 L) 中, 加入化合物 **BB-14-4** (135 g, 373.32 mmol, 纯度: 84.65%), 反应混合物升温至 75°C, 搅拌反应 16 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 减压浓缩除去溶剂。残余物中加入乙醇 (600 mL), 室温下搅拌 5 分钟, 过滤, 滤饼用乙醇 (100 mL×2) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-14-5**。MS-ESI m/z : 334.1 [M+H]⁺, 336.0 [M+H+2]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.47 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 8.19 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.89 (dd, $J=2.0$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 4.51 (s, 2H), 4.14 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.16 (t, $J=7.2$ Hz, 3H)。

步骤 5: 化合物 **BB-14-6** 的合成

室温和氮气保护下, 向甲苯 (150 mL) 和水 (30 mL) 混合溶剂中依次加入化合物 **BB-14-5** (15 g, 44.89 mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯 (1.44 g, 1.57 mmol), 2-二-叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯 (1.33 g, 3.14 mmol), 磷酸钾 (38.11 g, 179.55 mmol) 和氨基甲酸叔丁酯 (7.89 g, 67.33 mmol), 反应混合物加热至 100°C, 搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 加入水 (100 mL) 和乙酸乙酯 (150 mL), 萃取分液, 水相再次用乙酸乙酯 (200 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (200 mL×3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=20/1-1/1, 体积比), 得到化合物 **BB-14-6**。MS-ESI m/z : 371.2 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.20 (br s, 1H), 8.03 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.53 (dd, $J=2.0$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 6.75 (s, 1H), 4.31 (s, 2H), 4.21 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.57 (s, 9H), 1.20 (t, $J=7.2$ Hz, 3H)。

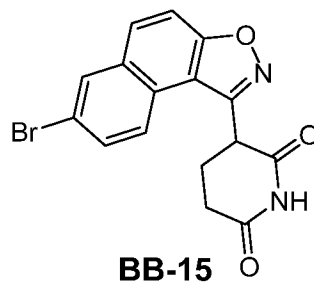
步骤 6: 化合物 **BB-14-7** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-14-6** (7.3 g, 19.71 mmol) 和丙烯酰胺 (1.54 g, 21.68 mmol) 溶于四氢呋喃 (70 mL) 中, 冷却至 0°C, 加入叔丁醇钾 (2.43 g, 21.68 mmol), 反应混合物升温至室温, 搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 反应液倒入 0.1 N 盐酸 (30 mL) 中, 用乙酸乙酯 (80 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物中加入二氯甲烷 (5 mL), 室温下搅拌 5 分钟, 过滤, 滤饼用二氯甲烷 (3 mL) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-14-7**。MS-ESI m/z : 396.2 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.12 (s, 1H), 9.66 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.13 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.07 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.68 (dd, $J=2.0$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 5.00 (dd, $J=4.8$ Hz, 11.6 Hz, 1H), 2.89-2.76 (m, 1H), 2.68-2.60 (m, 1H), 2.59-2.53 (m, 1H), 2.42-2.30 (m, 1H), 1.52 (s, 9H)。

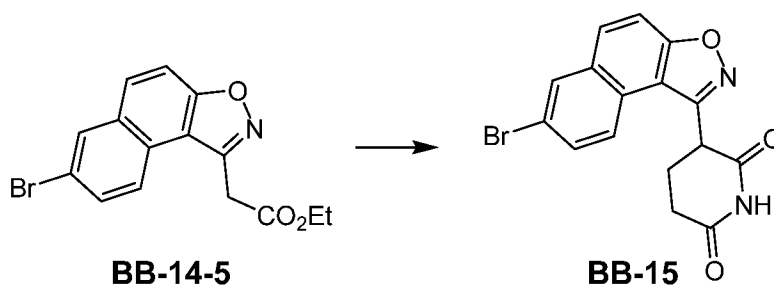
步骤 7: 化合物 **BB-14** 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **BB-14-7** (1 g, 2.53 mmol) 溶于乙酸乙酯 (5 mL) 中, 随后加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (4 M, 20 mL), 反应混合物室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (3 mL×3) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-14** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 295.9 [M+H]⁺。

参考例 15: 片段 BB-15

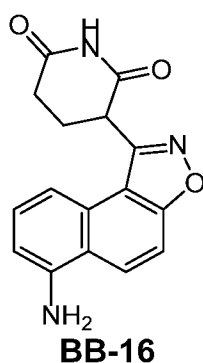


合成路线:

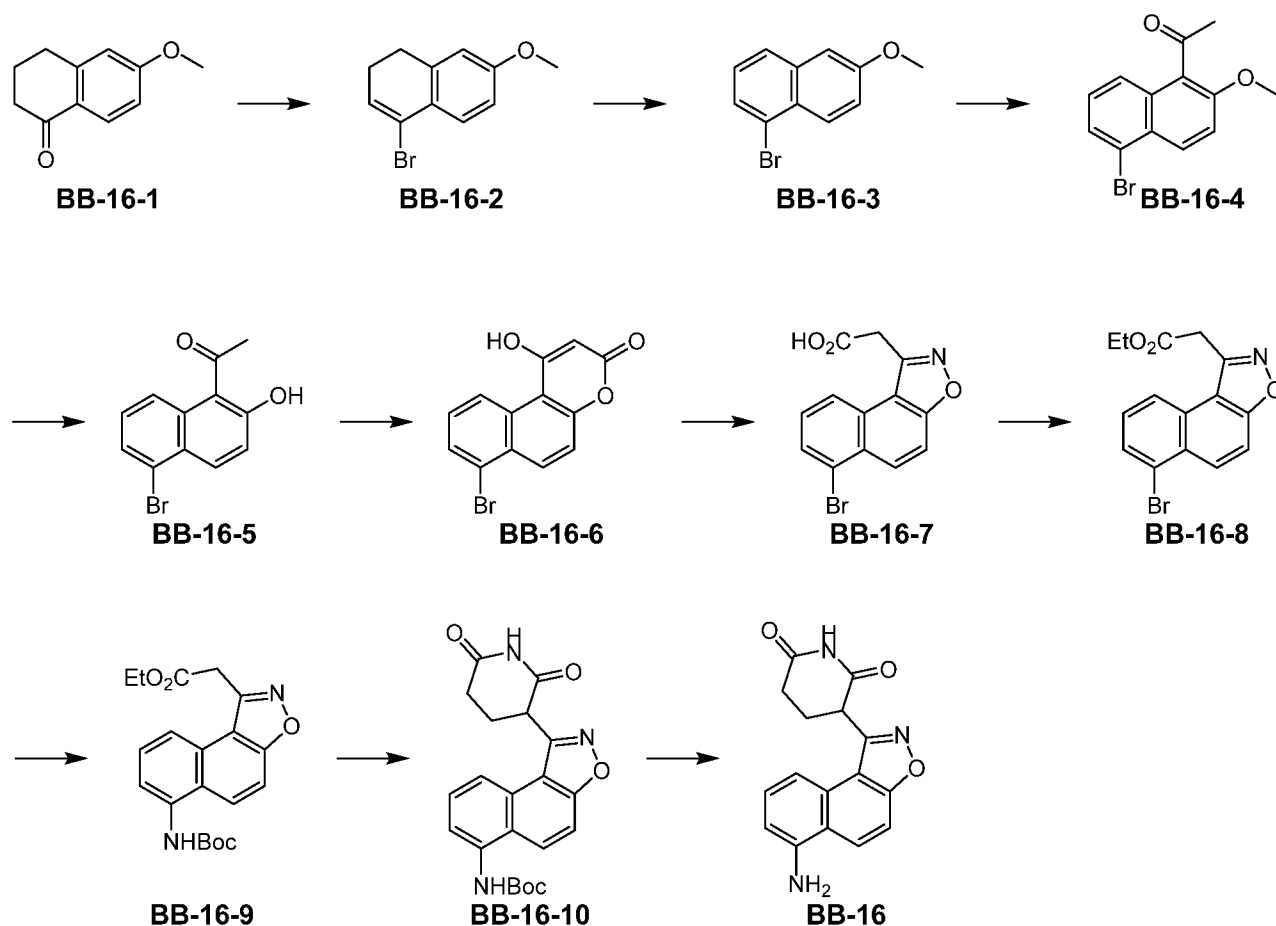
化合物 **BB-15** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-14-5** (3 g, 8.98 mmol) 和丙烯酰胺 (701.92 mg, 9.88 mmol) 溶于四氢呋喃 (70 mL) 中, 冷却至0°C, 分批加入叔丁醇钾 (1.21 g, 10.77 mmol), 反应混合物升温至室温, 搅拌反应1小时。反应完毕后, 反应液倒入1 N盐酸 (20 mL) 中, 用乙酸乙酯 (40 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, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物中加入甲基叔丁基醚 (20 mL), 室温下搅拌10分钟, 过滤, 滤饼用甲基叔丁基醚 (5 mL×2) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物**BB-15**。MS-ESI m/z : 359.0 $[M+H]^+$, 361.0 $[M+H+2]^+$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.14 (s, 1H), 8.47 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 8.24-8.17 (m, 2H), 8.01 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.85 (dd, $J=2.0$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 5.06 (dd, $J=4.8$ Hz, 11.6 Hz, 1H), 2.89-2.78 (m, 1H), 2.70-2.56 (m, 2H), 2.44-2.34 (m, 1H).

参考例 16: 片段 BB-16



合成路线:



步骤 1: 化合物 **BB-16-2** 的合成

室温和氮气保护下, 将亚磷酸三苯酯 (193.69 g, 624.25 mmol) 溶于二氯甲烷 (1 L) 中, 冷却至 -70°C , 逐滴滴加液溴 (108.83 g, 681.00 mmol, 35.11 mL), 滴加完毕后, 再依次滴加三乙胺 (74.65 g, 737.75 mmol, 102.69 mL) 和用二氯甲烷 (500 mL) 溶解的化合物**BB-16-1** (100 g, 567.50 mmol), 滴加完毕后, 反应混合物缓慢升温至室温, 搅拌反应15小时。反应完毕后, 倒入饱和亚硫酸钠水溶液 (700 mL) 中, 搅拌10分钟, 用二氯甲烷 (800 mL) 萃取。有机相用饱和食盐水 (800 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=20/1-7/1, 体积比), 得到化合物**BB-16-2**。
 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.33 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.84-6.75 (m, 2H), 6.33 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.76 (t, $J=8.0$ Hz, 2H), 2.32-2.25 (m, 2H).

步骤 2: 化合物 **BB-16-3** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-16-2** (39.5 g, 165.20 mmol) 溶于甲苯 (500 mL) 中, 冷却至 0°C , 分批加入2,3-二氯-5,6-二氰基苯醌 (41.25 g, 181.72 mmol), 反应混合物缓慢升温至室温, 搅拌反应12小时。反应完毕后, 冷却至 $0\sim 10^{\circ}\text{C}$, 滴加饱和亚硫酸钠水溶液 (1 L) 和1 N 氢氧化钠水溶液 (1 L), 过滤, 滤饼

用乙酸乙酯 (300 mL×3) 淋洗, 滤饼丢弃, 滤液用乙酸乙酯 (500 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (500 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚), 得到化合物**BB-16-3**。MS-ESI m/z : 237.1 $[M+H]^+$, 239.1 $[M+H+2]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.05 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.22-7.13 (m, 2H), 7.04 (s, 1H), 3.85 (s, 3H).

步骤 3: 化合物 **BB-16-4** 的合成

室温和氮气保护下, 将乙酸酐 (21.53 g, 210.89 mmol, 19.75 mL) 置于二氯甲烷 (400 mL) 中, 冷却至-60°C, 滴加三氟化硼乙醚溶液 (63.68 g, 210.89 mmol, 55.38 mL, 纯度: 47%), -60°C下搅拌10分钟, 滴加二氯甲烷 (250 mL) 溶解的化合物**BB-16-3** (25 g, 105.44 mmol) 溶液, 反应混合物缓慢升温至室温, 搅拌反应12小时。反应完成后, 加入冰水 (200 mL), 用二氯甲烷 (100 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=100/1-20/1), 得到化合物**BB-16-4**。MS-ESI m/z : 279.0 $[M+H]^+$, 281.0 $[M+H+2]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.34 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.67 (dd, $J=0.8$ Hz, 7.2 Hz, 1H), 7.38 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J=7.6$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 4.01 (s, 3H), 2.65 (s, 3H).

步骤 4: 化合物 **BB-16-5** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-16-4** (18.8 g, 67.35 mmol) 溶于二氯甲烷 (200 mL) 中, 冷却至0°C, 滴加三溴化硼 (20.25 g, 80.82 mmol, 7.79 mL), 0°C下搅拌反应1小时。反应完成后, 反应液倒入冰水 (300 mL) 中, 用二氯甲烷 (100 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL×3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 得到化合物**BB-16-5**。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 13.05 (s, 1H), 8.41 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.70 (dd, $J=0.8$ Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.40 (dd, $J=7.6$ Hz, 8.4 Hz, 1H), 7.25 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 2.85 (s, 3H).

步骤 5: 化合物 **BB-16-6** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-16-5** (13 g, 49.04 mmol) 和碳酸二甲酯 (17.67 g, 196.15 mmol, 16.51 mL) 溶于四氢呋喃 (130 mL) 中, 冷却至0~10°C, 分批加入叔丁醇钾 (33.02 g, 294.23 mmol), 反应混合物升温至70°C, 搅拌反应12小时。反应完毕后, 冷却至室温, 减压浓缩除去溶剂, 残余物中加入冰水 (200 mL), 用甲基叔丁基醚 (70 mL×2) 萃取。水相用6N盐酸调节pH=2, 有大量固体析出, 过滤, 滤饼用水 (30 mL×2) 洗涤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物**BB-16-6**。MS-ESI m/z : 291.0 $[M+H]^+$, 293.0 $[M+H+2]^+$. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 13.28 (br s, 1H), 9.38 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 8.43 (dd, $J=6.8$ Hz, 9.2 Hz, 1H), 7.96 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.71-7.65 (m, 1H), 7.63-7.56 (m, 1H), 5.92-5.87 (m, 1H).

步骤 6: 化合物 **BB-16-7** 的合成

室温下，将化合物**BB-16-6** (22 g, 75.58 mmol)，乙酸钠 (43.40 g, 529.03 mmol) 和盐酸羟胺 (36.76 g, 529.03 mmol) 溶于乙醇 (400 mL) 中，反应混合物升温至80°C，搅拌反应12小时。反应完毕后，冷却至室温，减压浓缩除去溶剂。残余物中加入水 (100 mL) 和甲基叔丁基醚 (50 mL)，室温搅拌0.5小时，过滤，滤饼用甲基叔丁基醚 (20 mL×3) 淋洗，收集滤饼，真空干燥，得到化合物**BB-16-7**。MS-ESI m/z : 306.0 [M+H]⁺, 308.0 [M+H+2]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.40 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.27 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.62 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.25 (s, 2H).

步骤 7: 化合物 **BB-16-8** 的合成

室温下，将化合物**BB-16-7** (15 g, 49.00 mmol) 溶于乙醇 (300 mL) 中，加入浓硫酸 (1.29 g, 12.87 mmol, 0.7 mL, 纯度: 98%)，反应混合物升温至80°C，搅拌反应12小时。冷却至室温，补加浓硫酸 (4 mL, 纯度: 98%)，反应混合物升温至80°C，搅拌反应3小时。反应完毕后，冷却至室温，减压浓缩除去溶剂。残余物中加入0~10°C饱和碳酸氢钠溶液 (100 mL)，用乙酸乙酯 (70 mL×3) 萃取。合并有机相，用饱和食盐水 (70 mL×2) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压除去溶剂，得到化合物**BB-16-8**。MS-ESI m/z : 334.0 [M+H]⁺, 336.0 [M+H+2]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.50 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.88 (dd, $J=0.8$ Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.81 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.52 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.34 (s, 2H), 4.22 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.21 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

步骤 8: 化合物 **BB-16-9** 的合成

室温和氮气保护下，向甲苯 (90 mL) 和水 (30 mL) 混合溶剂中依次加入化合物**BB-16-8** (9.5 g, 28.43 mmol)，三(二亚苄基丙酮)二钯 (1.30 g, 1.42 mmol)，2-二-叔丁基膦-2',4',6'-三异丙基联苯 (1.21 g, 2.84 mmol)，磷酸钾 (24.14 g, 113.72 mmol) 和氨基甲酸叔丁酯 (3.66 g, 31.27 mmol)，反应混合物加热至100°C，搅拌反应12小时。反应完毕后，冷却至室温，加入水 (200 mL)，用乙酸乙酯 (150 mL×3) 萃取。合并有机相，用饱和食盐水 (200 mL×2) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=6/1-2/1, 体积比)，得到化合物**BB-16-9**。MS-ESI m/z : 371.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.48 (s, 1H), 8.28 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.95-7.87 (m, 2H), 7.75-7.60 (m, 2H), 4.50 (s, 2H), 4.14 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.50 (s, 9H), 1.16 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

步骤 9: 化合物 **BB-16-10** 的合成

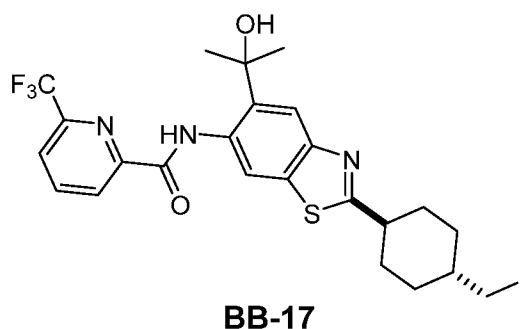
室温和氮气保护下，将化合物**BB-16-9** (3.0 g, 8.10 mmol) 溶于四氢呋喃 (25 mL) 中，随后加入丙烯酰胺 (690.82 mg, 9.72 mmol) 和叔丁醇钾 (1.36 g, 12.15 mmol)，反应混合物室温下搅拌反应1小时。反应完毕后，反应液倒入1N盐酸 (30 mL) 中，用乙酸乙酯 (45 mL×3) 萃取。合并有机相，用饱和食盐水 (30 mL×2) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=5/1-1/1, 体积比)，得到化合物**BB-16-10**。MS-ESI m/z : 396.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ :

11.14 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.28 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 8.04 (br d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.75-7.59 (m, 2H), 5.07 (dd, $J=4.6$ Hz, 11.4 Hz, 1H), 2.93-2.77 (m, 1H), 2.71-2.56 (m, 2H), 2.43-2.31 (m, 1H), 1.50 (s, 9H).

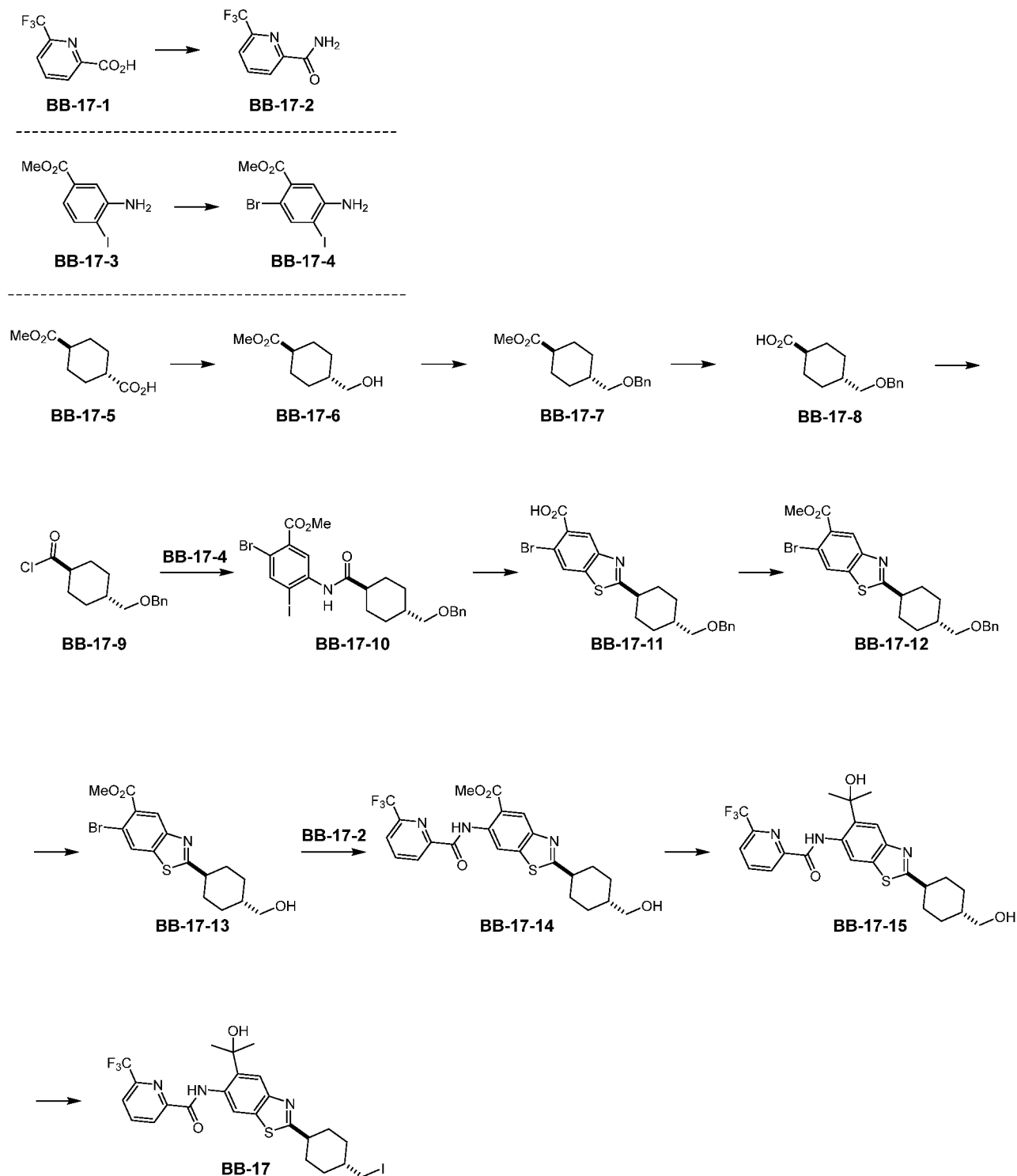
步骤 10: 化合物 **BB-16** 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **BB-16-10** (1.3 g, 3.29 mmol) 加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (4 M, 20 mL) 中, 反应混合物在室温下搅拌反应12小时。反应完毕后, 过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (30 mL) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-16** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 296.1 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.14 (s, 1H), 8.34 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.85 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.61 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.03 (dd, $J=4.6$ Hz, 11.4 Hz, 1H), 2.90-2.76 (m, 1H), 2.70-2.55 (m, 2H), 2.42-2.30 (m, 1H).

参考例 17: 片段 **BB-17**



合成路线:



步骤1: 化合物BB-17-2的合成

室温和氮气保护下, 向化合物 **BB-17-1** (21 g, 109.89 mmol) 的二氯甲烷 (300 mL) 溶液中加入 N,N-二甲基甲酰胺 (422.74 μ L), 反应混合物冷却至 0°C, 滴加草酰氯 (27.89 g, 219.77 mmol, 19.24 mL), 滴加完毕后, 升温至室温搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩得到残余物直接用于下一步。将粗品溶于四氢呋喃 (100 mL) 中, 冷却至 0°C, 加入氨水 (169.08 mL, 纯度: 25%), 反应混合物在室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩除去四氢呋喃, 所得残余物过滤, 收集滤饼, 真空干燥得到化

合物 **BB-17-2**。MS-ESI m/z : 191.0 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.33-8.25 (m, 2H), 8.09 (dd, $J=2.4$, 6.4 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.87 (s, 1H)。

步骤 2: 化合物 **BB-17-4** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-17-3** (25 g, 90.23 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (125 mL) 中, 反应体系冷却至 0°C, 分批加入 N-溴代丁二酰亚胺 (17.67 g, 99.26 mmol), 反应混合物在 0°C 下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 将反应液倒入水 (200 mL) 中, 有固体析出, 过滤, 用水 (100 mL \times 3) 淋洗滤饼, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **BB-17-4**。MS-ESI m/z : 355.8 $[M+H]^+$, 357.8 $[M+H+2]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.84 (s, 1H), 7.13 (s, 1H), 5.66 (s, 2H), 3.81 (s, 3H)。

步骤 3: 化合物 **BB-17-6** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-17-5** (10 g, 53.70 mmol) 溶于四氢呋喃 (50 mL) 中, 降温至 -10°C, 滴加硼烷的四氢呋喃 (1 M, 59.07 mL) 溶液, 反应混合物在 0°C 下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 加入甲醇 (10 mL), 室温搅拌 30 分钟, 再加入 2 M 盐酸 (200 mL), 室温搅拌 30 分钟, 用乙酸乙酯 (200 mL \times 2) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL \times 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到残余物。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-7/3, 体积比), 得到化合物 **BB-17-6**。 1H NMR (400 MHz, CDCl $_3$) δ : 3.67 (s, 3H), 3.47 (d, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.32-2.20 (m, 1H), 2.05-1.98 (m, 2H), 1.92-1.83 (m, 2H), 1.56-1.38 (m, 3H), 1.07-0.93 (m, 2H)。

步骤 4: 化合物 **BB-17-7** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-17-6** (8.2 g, 47.61 mmol) 溶于四氢呋喃 (80 mL) 中, 随后加入氢氧化钾 (4.01 g, 71.42 mmol)、苄溴 (10.59 g, 61.90 mmol, 7.35 mL)、四丁基碘化铵 (3.52 g, 9.52 mmol) 和碘化钾 (1.58 g, 9.52 mmol), 反应混合物室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 过滤, 滤饼用四氢呋喃淋洗 (50 mL \times 3), 收集滤液, 滤液减压浓缩得到残余物。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-19/1, 体积比), 得到化合物 **BB-17-7**。 1H NMR (400 MHz, CDCl $_3$) δ : 7.39-7.27 (m, 5H), 4.50 (s, 2H), 3.29 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.32-2.19 (m, 1H), 2.08-1.97 (m, 2H), 1.96-1.86 (m, 2H), 1.72-1.58 (m, 1H), 1.53-1.38 (m, 2H), 1.09-0.95 (m, 2H)。

步骤 5: 化合物 **BB-17-8** 的合成

室温下, 将化合物 **BB-17-7** (5.9, 22.49 mmol) 溶于四氢呋喃 (50 mL) 和甲醇 (10 mL) 中, 随后加入一水合氢氧化锂 (4.72 g, 112.45 mmol) 水溶液 (10 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 反应液减压浓缩除去溶剂, 加入水 (200 mL), 用石油醚萃取 (200 mL), 有机相丢弃, 收集水相, 水相

用 6 M 盐酸调节 pH=5~6, 用二氯甲烷 (100 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到化合物 **BB-17-8**。MS-ESI m/z : 266.2 $[M+18]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 11.27 (s, 1H), 7.40-7.27 (m, 5H), 4.51 (s, 2H), 3.30 (d, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.35-2.23 (m, 1H), 2.11-2.00 (m, 2H), 1.98-1.87 (m, 2H), 1.75-1.56 (m, 1H), 1.53-1.39 (m, 2H), 1.11-0.91 (m, 2H).

步骤 6: 化合物 **BB-17-9** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-17-8** (5 g, 20.14 mmol) 溶于二氯甲烷 (50 mL) 中, 降温至 0°C, 依次加入 N,N -二甲基甲酰胺 (147.18 mg, 2.01 mmol, 154.92 μ L) 和草酰氯 (3.83 g, 30.20 mmol, 2.64 mL), 反应混合物在 0°C 下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 反应液直接减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **BB-17-9**, 直接用于下一步。

步骤 7: 化合物 **BB-17-10** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-17-4** (6.5 g, 18.26 mmol) 溶于二氯甲烷 (100 mL) 中, 降温至 0°C, 加入三乙胺 (5.54 g, 54.78 mmol, 7.62 mL) 和化合物 **BB-17-9** (5.36 g, 20.09 mmol) 的二氯甲烷 (100 mL) 溶液, 反应混合物恢复室温并搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 加入水 (100 mL), 用二氯甲烷 (100 mL×2) 萃取。合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到残余物。残余物中加入乙酸乙酯 (50 mL), 室温搅拌 30 分钟, 过滤, 收集固体, 真空干燥得到化合物 **BB-17-10**。MS-ESI m/z : 585.8 $[M+H]^+$, 587.8 $[M+H+2]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.76 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.40-7.27 (m, 5H), 4.52 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.33 (d, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.35-2.24 (m, 1H), 2.16-2.06 (m, 2H), 2.05-1.93 (m, 2H), 1.78-1.68 (m, 1H), 1.65-1.51 (m, 2H), 1.20-1.03 (m, 2H).

步骤 8: 化合物 **BB-17-11** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-17-10** (7.5 g, 12.79 mmol) 溶于 N,N -二甲基甲酰胺 (80 mL) 中, 随后加入碘化亚铜 (487.29 mg, 2.56 mmol) 和九水合硫化钠 (18.44 g, 76.76 mmol), 反应混合物升温至 80°C, 搅拌反应 6 小时。LCMS 跟踪原料消耗完全后, 将反应液冷却至室温, 加入三氟乙酸 (20.42 g, 179.10 mmol, 13.26 mL), 反应混合物室温下搅拌反应 16 小时。再补加三氟乙酸 (7 mL), 继续搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 将反应液倒入水 (300 mL) 中, 用乙酸乙酯 (200 mL) 稀释, 过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (100 mL×2) 淋洗, 收集滤液, 分液, 水相用乙酸乙酯 (200 mL×2) 萃取。合并有机相, 用 10% 食盐水 (300 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到化合物 **BB-17-11**。MS-ESI m/z : 459.9 $[M+H]^+$, 461.9 $[M+H+2]^+$.

步骤 9: 化合物 **BB-17-12** 的合成

室温下，将化合物 **BB-17-11** (5.89 g, 12.79 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (70 mL) 中，随后加入碳酸钾 (3.54 g, 25.59 mmol) 和碘甲烷 (3.63 g, 25.59 mmol, 1.59 mL)，反应混合物室温下搅拌反应 12 小时。补加碳酸钾 (3.54 g, 25.59 mmol) 和碘甲烷 (1 mL)，继续搅拌反应 1 小时。反应完毕后，将反应液倒入水 (200 mL) 中，用乙酸乙酯 (200 mL×3) 萃取。合并有机相，依次用 10%食盐水 (200 mL×2) 和饱和食盐水 (100 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得到残余物。残余物经过柱层析分离 (洗脱剂：石油醚/乙酸乙酯=1/0-4/1，体积比)，得到化合物 **BB-17-12**。MS-ESI m/z : 473.9 [M+H]⁺, 475.9 [M+H+2]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.41 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.41-7.27 (m, 5H), 4.53 (s, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.36 (d, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.12-3.00 (m, 1H), 2.36-2.23 (m, 2H), 2.06-1.99 (m, 2H), 1.84-1.74 (m, 1H), 1.73-1.61 (m, 2H), 1.26-1.13 (m, 2H).

步骤 10: 化合物 **BB-17-13** 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **BB-17-12** (4.08 g, 8.60 mmol) 溶于二氯甲烷 (20 mL) 中，随后加入三氯化硼 (1 M, 100 mL) 的二氯甲烷溶液，反应混合物在室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后，将反应液倒入饱和碳酸氢钠水溶液 (100 mL) 中，用二氯甲烷 (50 mL×3) 萃取。合并有机相，用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得到化合物 **BB-17-13**。MS-ESI m/z : 383.9 [M+H]⁺, 386.0 [M+H+2]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.40 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.54 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 3.10-3.00 (m, 1H), 2.36-2.23 (m, 2H), 2.07-1.95 (m, 2H), 1.75-1.55 (m, 4H), 1.28-1.13 (m, 2H).

步骤 11: 化合物 **BB-17-14** 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **BB-17-13** (3.4 g, 8.85 mmol) 溶于二氧六环 (70 mL) 中，随后加入化合物 **BB-17-2** (1.85 g, 9.73 mmol)、4,5-双二苯基磷-9,9-二甲基氧杂氧杂蒽杂蒽 (1.02 g, 1.77 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (810.18 mg, 884.75 μ mol) 和碳酸铯 (8.65 g, 26.54 mmol)，反应混合物升温至 80°C 并搅拌反应 12 小时。反应完毕后，将反应液冷却至室温，过滤，滤饼用四氢呋喃 (100 mL×3) 淋洗，收集滤液，滤液减压浓缩得到残余物。残余物经柱层析分离 (洗脱剂：石油醚/乙酸乙酯=1/0-11/9，体积比)，得到化合物 **BB-17-14**。MS-ESI m/z : 494.0 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.79 (s, 1H), 9.41 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.45 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.39 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 8.21 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.45 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.27 (t, $J=5.8$ Hz, 2H), 3.11-3.00 (m, 1H), 2.23-2.12 (m, 2H), 1.93-1.82 (m, 2H), 1.62-1.50 (m, 2H), 1.49-1.36 (m, 1H), 1.17-1.03 (m, 2H).

步骤 12: 化合物 **BB-17-15** 的合成

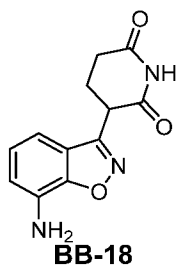
室温和氮气保护下，将化合物 **BB-17-14** (2 g, 4.05 mmol) 溶于四氢呋喃 (40 mL) 中，降温至 0°C，滴加甲基溴化镁 (3 M, 8.11 mL) 四氢呋喃溶液，反应混合物在 0°C 下搅拌反应 2 小时，补加甲基溴化镁 (3 M, 1.35

mL) 四氢呋喃溶液, 继续搅拌反应1小时。反应完毕后, 将反应混合物倒入饱和氯化铵 (100 mL) 中, 用乙酸乙酯 (50 mL×3) 萃取。合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到残余物。残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-1/1, 体积比), 得到化合物**BB-17-15**。MS-ESI m/z : 494.0 $[M+H]^+$ 。¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.55 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.47 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.38 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 8.18 (dd, $J=0.8, 7.6$ Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 4.45 (t, $J=5.2$ Hz, 1H), 3.27 (t, $J=5.8$ Hz, 2H), 3.08-2.98 (m, 1H), 2.20-2.13 (m, 2H), 1.90-1.83 (m, 2H), 1.63 (s, 6H), 1.59-1.50 (m, 2H), 1.49-1.38 (m, 1H), 1.15-1.06 (m, 2H)。

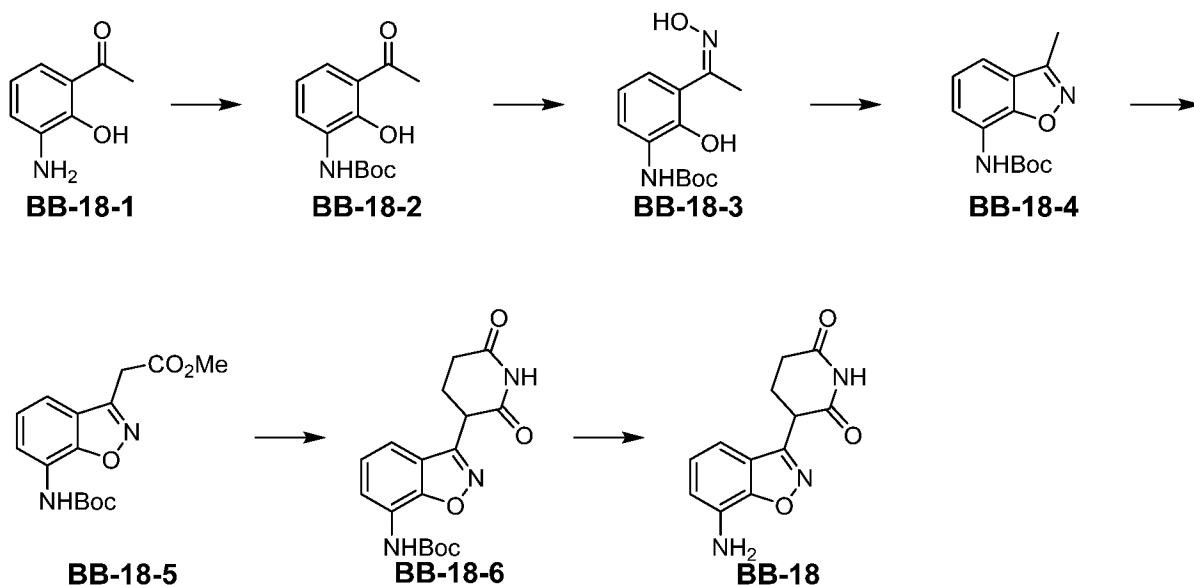
步骤13: 化合物**BB-17**的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-17-15** (1.63 g, 3.30 mmol) 溶于二氯甲烷 (40 mL) 中, 随后加入三苯基磷 (1.04 g, 3.96 mmol) 和咪唑 (337.25 mg, 4.95 mmol), 冷却至0°C, 加入碘 (1.09 g, 4.29 mmol), 反应混合物在室温下搅拌反应12小时。反应完毕后, 将反应液倒入饱和亚硫酸钠 (200 mL) 中, 用二氯甲烷 (100 mL×3) 萃取。合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到残余物。残余物先经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-7/3, 体积比), 再经2次制备HPLC分离 (色谱柱: Phenomenex luna C18 (250*70 mm, 15 μ m); 流动相: 水(0.2%甲酸)-乙腈; B%: 60%-90%, 30 min) 和 (色谱图: Phenomenex Luna C18 75*30 mm*3 μ m; 流动相: 水(0.2%甲酸)-乙腈; B%: 45%-85%, 8 min), 得到化合物**BB-17**。MS-ESI m/z : 603.9 $[M+H]^+$ 。¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.55 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.47 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.38 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 3.27 (d, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.08-2.97 (m, 1H), 2.22-2.13 (m, 2H), 2.02-1.92 (m, 2H), 1.71-1.56 (m, 8H), 1.55-1.42 (m, 1H), 1.28-1.10 (m, 2H)。

参考例 18: 片段 **BB-18**



合成路线:



步骤 1: 化合物 **BB-18-2** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-18-1** (200 g, 1.32 mol) 溶于乙醇 (1.5 L) 中, 分批加入二碳酸二叔丁酯 (346.51 g, 1.59 mol), 反应混合物升温至60°C并搅拌反应16小时。反应完成后, 将反应液冷却至室温, 减压浓缩除去溶剂。向残余物中加入异丙醇 (500 mL), 冷却至0°C, 搅拌1小时, 过滤, 滤饼用异丙醇 (200 mL) 淋洗, 收集滤液。滤液减压浓缩得到化合物**BB-18-2**。MS-ESI m/z : 196.1 [M+H-56]⁺。

步骤 2: 化合物 **BB-18-3** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**BB-18-2** (200 g, 795.93 mmol)、醋酸钾 (97.94 g, 1.19 mol) 和盐酸羟胺 (60.84 g, 875.53 mmol) 溶于甲醇 (1.2 L) 中, 反应混合物室温下搅拌16小时, 再升温至50°C反应1小时, 补加盐酸羟胺 (11.06 g, 159.19 mmol), 继续反应1小时。反应完毕后, 将反应液冷却至室温, 加入水 (1.5 L) 和甲基叔丁基醚 (1.5 L), 搅拌5分钟, 分液, 水相用甲基叔丁基醚 (500 mL×2) 萃取。合并有机相, 用10%食盐水 (500 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物**BB-18-3**。MS-ESI m/z : 211.1 [M+H-56]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.27 (s, 1H), 11.67 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.69 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.86 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 2.27 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)。

步骤 3: 化合物 **BB-18-4** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-18-3** (100 g, 375.53 mmol) 和三乙胺 (49.40 g, 488.19 mmol) 溶于四氢呋喃 (1 L) 中, 缓慢加入 *N,N'*-羰基二咪唑 (66.98 g, 413.08 mmol), 反应混合物升温至 70°C 并搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 将反应液冷却至室温, 加入水 (1 L), 用甲基叔丁基醚和石油醚混合溶剂 (体积比 1/1, 500 mL×2) 萃取, 有机相用 10% 食盐水 (500 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **BB-18-4**。MS-ESI m/z : 249.1 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.16 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 2.59 (s, 3H), 1.57 (s, 9H)。

步骤 4: 化合物 **BB-18-5** 的合成

室温和氮气保护下, 将二异丙基氨基锂 (2 M, 741.11 mL) 的四氢呋喃溶液冷却至-68°C, 逐滴加入碳酸二甲酯 (36.72 g, 407.61 mmol, 34.31 mL) 和化合物 **BB-18-4** (92 g, 370.55 mmol) 的四氢呋喃 (920 mL) 溶液, 约 30 分钟滴加完毕, 控制温度在-50°C~-68°C 搅拌反应 30 分钟。反应完毕后, 将反应液缓慢倒入饱和氯化铵 (1.5 L) 中, 用乙酸乙酯 (500 mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (500 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **BB-18-5**。MS-ESI m/z : 307.1 [M+H]⁺。

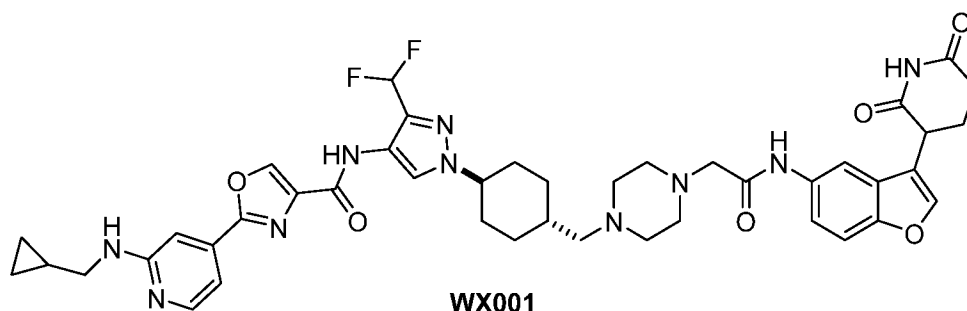
步骤 5: 化合物 **BB-18-6** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-18-5** (10 g, 32.65 mmol) 和丙烯酰胺 (2.78 g, 39.18 mmol) 溶于四氢呋喃 (100 mL) 中, 降温至 0-5°C, 滴加叔丁醇钾四氢呋喃溶液 (1 M, 48.97 mL), 滴加完毕后, 保温搅拌 2 小时。反应完毕后, 将反应液倒入 1 M 盐酸 (150 mL) 中, 用乙酸乙酯 (150 mL×2) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (150 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。向粗品中加入甲基叔丁基醚 (150 mL), 混合物室温下搅拌 30 分钟, 过滤, 滤饼用甲基叔丁基醚 (50 mL) 淋洗, 收集滤饼, 真空干燥得到化合物 **BB-18-6**。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.10 (s, 1H), 9.55 (s, 1H), 7.69 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.54 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.30 (t, *J*=8.0 Hz, 1H), 4.60 (dd, *J*=4.8, 12.0 Hz, 1H), 2.84-2.72 (m, 1H), 2.66-2.57 (m, 1H), 2.57-2.43 (m, 1H), 2.25-2.15 (m, 1H), 1.49 (s, 9H)。

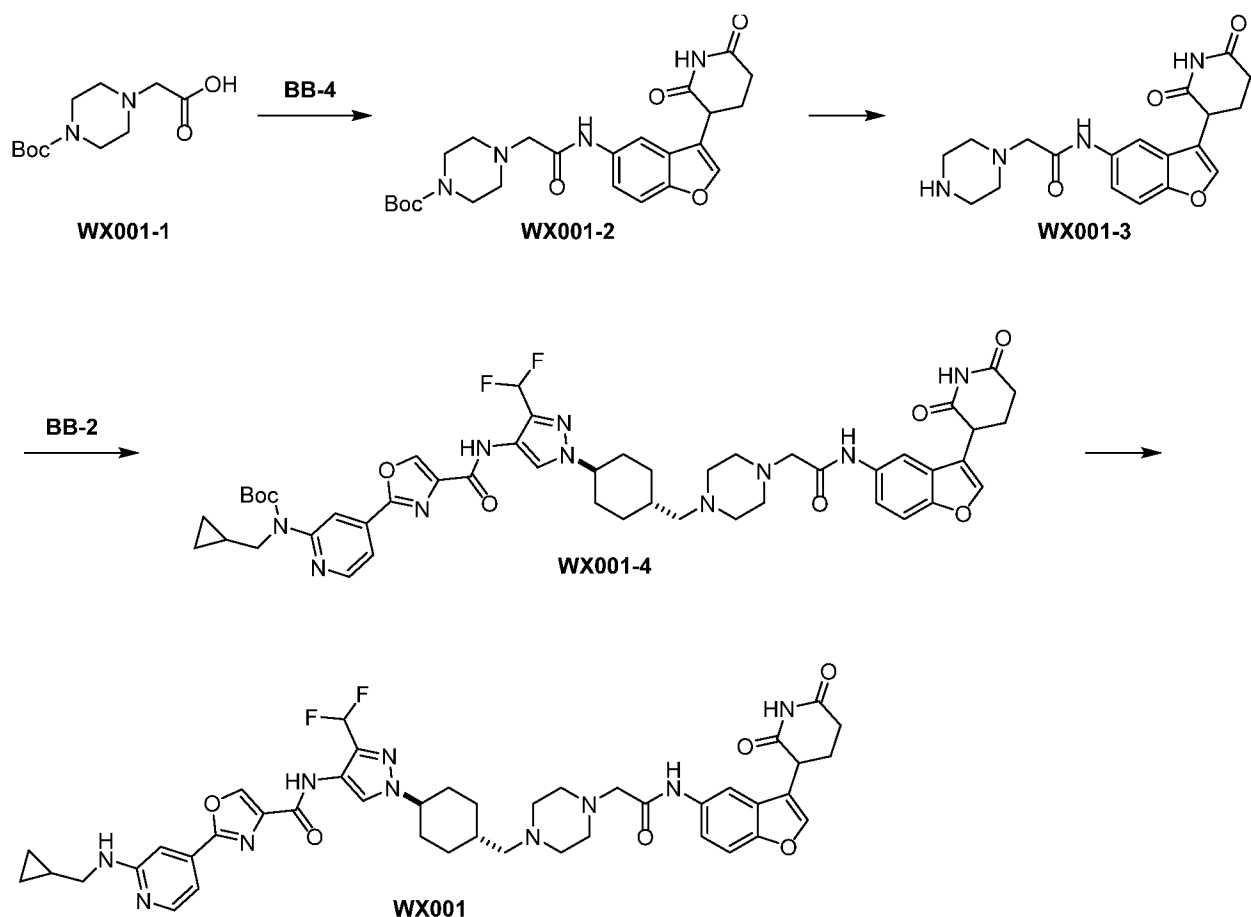
步骤 6: 化合物 **BB-18** 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **BB-18-6** (9.4 g, 27.22 mmol) 溶于乙酸乙酯 (50 mL) 中, 加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (4 M, 150 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (20 mL) 淋洗, 收集滤饼, 得到化合物 **BB-18** 的盐酸盐。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.09 (s, 1H), 8.32 (s, 2H), 7.31 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.26-7.16 (m, 2H), 4.59 (dd, *J*=4.8, 12.0 Hz, 1H), 2.83-2.71 (m, 1H), 2.65-2.56 (m, 1H), 2.55-2.42 (m, 1H), 2.25-2.15 (m, 1H)。

实施例 1



合成路线:



步骤 1: 化合物 WX001-2 的合成

室温下，将化合物 **WX001-1** (612.43 mg, 1.85 mmol, 纯度: 84.92%) 和三乙胺 (720.96 mg, 7.12 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中，加入 2-(7-氯杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (880.46 mg, 2.32 mmol)，反应混合物在室温下搅拌反应 1 小时，加入化合物 **BB-4** 的盐酸盐 (0.5 g, 1.78 mmol)，继续搅拌反应 4 小时。反应完毕后，加入甲基叔丁基醚 (20 mL)，搅拌 5 分钟，过滤，滤饼用甲基叔丁基醚 (5 mL) 淋洗，滤饼丢弃，收集滤液。向滤液中加入水 (50 mL) 和二氯甲烷 (100 mL)，分液，收集有机相，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂，得到化合物 **WX001-2**，直接用于下一步。MS-ESI m/z : 471.3 $[M+H]^+$ 。

步骤 2: 化合物 WX001-3 的盐酸盐的合成

室温下，将化合物 **WX001-2** (0.8 g, 1.70 mmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 中，加入盐酸/乙酸乙酯溶液 (4 M, 20 mL)，反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后，将反应液过滤，滤饼用乙酸乙酯 (20 mL) 淋洗，收集滤饼，得到化合物 **WX001-3** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 371.1 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, D_2O) δ : 7.78 (s, 1H), 7.64 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J=2.0, 8.8$ Hz, 1H), 4.21 (dd, $J=5.2, 12.4$ Hz, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.62-3.56 (m, 4H), 3.55-3.50 (m, 4H), 2.90-2.75 (m, 2H), 2.51-2.38 (m, 1H), 2.33-2.24 (m, 1H)。

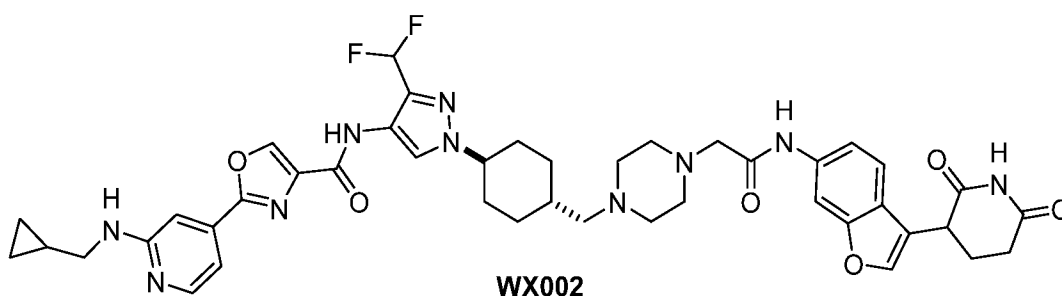
步骤 3: 化合物 WX001-4 的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **BB-2** (0.1 g, 171.05 μmol) 和化合物 **WX001-3** 的盐酸盐 (69.60 mg, 171.05 μmol) 溶于四氢呋喃 (4 mL) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (0.8 mL) 中, 加入醋酸钾 (50.36 mg, 513.16 μmol) 和醋酸 (5.14 mg, 85.53 μmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时, 加入醋酸硼氢化钠 (145.01 mg, 684.21 μmol), 继续搅拌反应 10 小时。反应完毕后, 向反应液中加入饱和氯化铵溶液 (10 mL), 用乙酸乙酯 (20 mL \times 3) 萃取, 合并有机相, 用 10% 食盐水 (30 mL \times 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX001-4**。MS-ESI m/z : 939.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

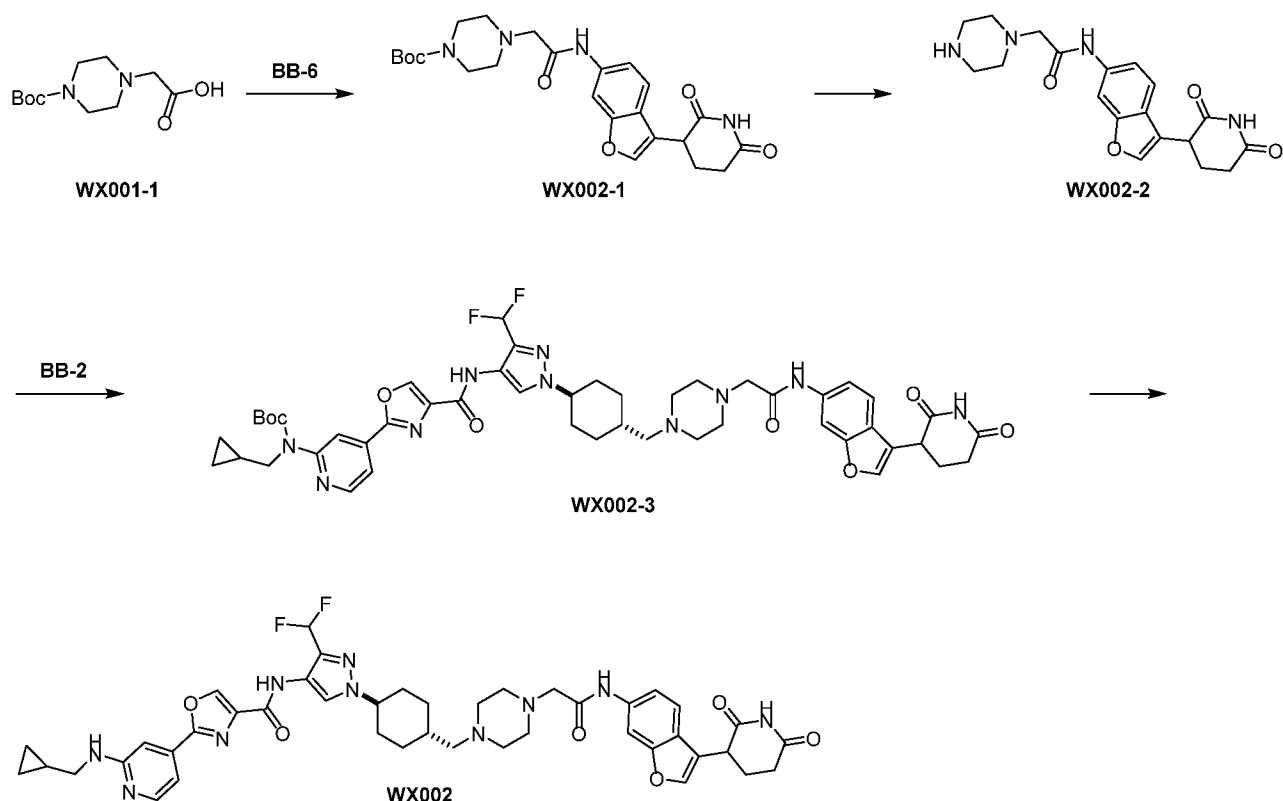
步骤 4: 化合物 **WX001** 的盐酸盐的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **WX001-4** (160 mg, 170.39 μmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 和三氟乙酸 (5 mL) 中, 反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex luna C18 80 \times 40 mm \times 3 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 13%-33%, 7 min), 得到目标化合物 **WX001** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 839.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.94 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 9.14 (s, 1H), 8.27-8.15 (m, 1H), 8.06 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.93 (s, 2H), 7.69 (s, 1H), 7.57 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.37-7.03 (m, 2H), 4.37-4.17 (m, 3H), 4.13 (dd, $J=4.4, 12.0$ Hz, 2H), 3.41-3.32 (m, 5H), 3.15-3.03 (m, 2H), 2.86-2.73 (m, 2H), 2.69-2.55 (m, 2H), 2.35-2.17 (m, 2H), 2.16-1.99 (m, 5H), 1.98-1.88 (m, 1H), 1.87-1.67 (m, 3H), 1.55 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 1.27-1.07 (m, 3H), 0.55 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 0.34 (d, $J=4.0$ Hz, 2H)。

实施例 2



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX002-1** 的合成

室温下, 将化合物 **WX001-1** (0.5 g, 1.78 mmol) 和三乙胺 (632.58 mg, 6.25 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (812.61 mg, 2.14 mmol), 反应混合物搅拌反应 1 小时, 加入化合物 **BB-6** 的盐酸盐 (522.08 mg, 1.33 mmol), 继续搅拌反应 19 小时。反应完毕后, 将反应液过滤, 滤饼用 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 洗涤, 再用甲基叔丁基醚 (20 mL) 洗涤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **WX002-1**。MS-ESI m/z : 471.3 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.88 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.05 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.49 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J=1.2, 8.4$ Hz, 1H), 4.10 (dd, $J=4.8, 12.0$ Hz, 1H), 3.43-3.36 (m, 4H), 3.35-3.33 (m, 2H), 3.22-3.16 (m, 2H), 2.79-2.64 (m, 2H), 2.63-2.52 (m, 2H), 2.37-2.24 (m, 1H), 2.16-2.06 (m, 1H), 1.40 (s, 9H)。

步骤 2: 化合物 **WX002-2** 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **WX002-1** (0.8 g, 1.70 mmol) 溶于乙酸乙酯 (10 mL) 中, 加入盐酸/乙酸乙酯 (4 M, 40 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 15 小时。反应完毕后, 将反应液过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (5 mL) 洗涤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **WX002-2** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 371.3 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, D $_2$ O) δ : 7.75 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.43 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.19 (dd, $J=1.2, 8.4$ Hz, 1H), 4.31 (s, 2H), 4.10-4.03 (m, 1H), 3.80-3.72 (m, 4H), 3.71-3.63 (m, 4H), 2.78-2.61 (m, 2H), 2.33-2.20 (m, 1H), 2.18-2.09 (m, 1H)。

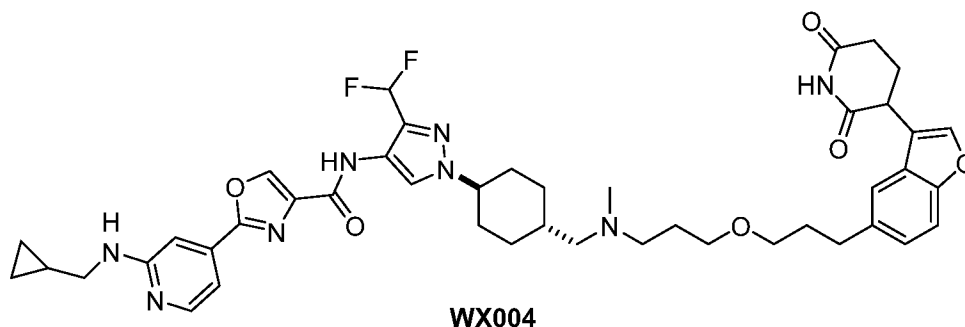
步骤 3: 化合物 **WX002-3** 的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **BB-2** (0.1 g, 171.05 μmol) 和化合物 **WX002-2** 的盐酸盐 (69.60 mg, 171.05 μmol) 溶于四氢呋喃 (4 mL) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (0.8 mL) 中, 加入醋酸钾 (50.36 mg, 513.16 μmol) 和醋酸 (5.14 mg, 85.53 μmol , 4.89 μL), 反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时, 加入醋酸硼氢化钠 (145.01 mg, 684.21 μmol), 继续搅拌反应 10 小时。反应完毕后, 向反应液中加入饱和氯化铵溶液 (10 mL), 用乙酸乙酯 (20 mL \times 3) 萃取, 合并有机相, 用 10% 食盐水 (30 mL \times 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX002-3**。MS-ESI m/z : 939.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

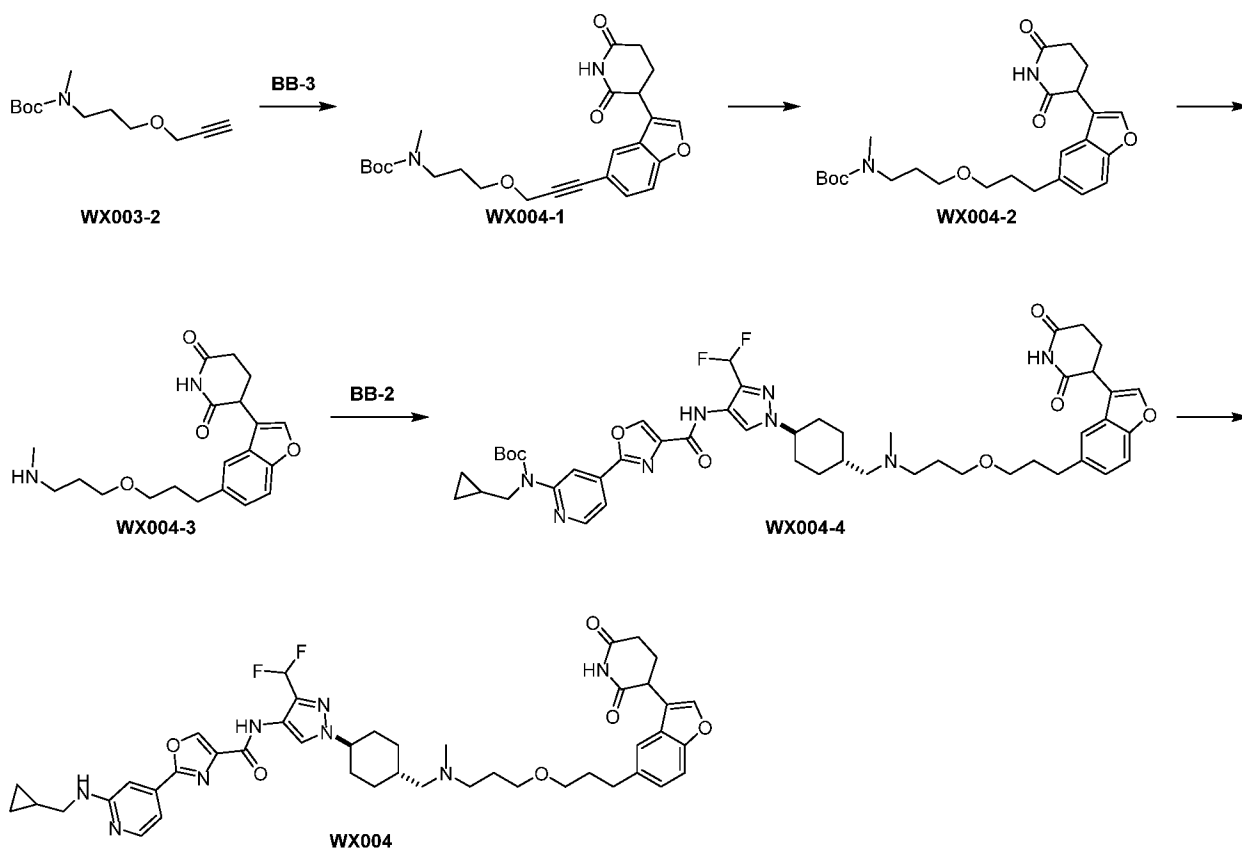
步骤 4: 化合物 **WX002** 的盐酸盐的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **WX002-3** (160 mg, 170.39 μmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 和三氟乙酸 (5 mL) 中, 反应混合物搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex luna C18 80 \times 40 mm \times 3 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 13%-33%, 7 min), 得到目标化合物 **WX002** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 839.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 10.91 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.10-8.04 (m, 2H), 7.88 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.55 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J=1.4, 8.4$ Hz, 1H), 7.34-7.04 (m, 2H), 4.31-4.22 (m, 1H), 4.12 (dd, $J=4.6, 11.8$ Hz, 2H), 3.50-3.25 (m, 7H), 3.08 (s, 2H), 2.80-2.65 (m, 2H), 2.62-2.53 (m, 2H), 2.38-2.25 (m, 2H), 2.15-2.01 (m, 5H), 1.98-1.88 (m, 1H), 1.87-1.77 (m, 2H), 1.54 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 1.27-1.10 (m, 3H), 0.60-0.53 (m, 2H), 0.36-0.30 (m, 2H)。

实施例 4



合成路线:



步骤 1: 化合物 WX004-1 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **WX003-2** (553.26 mg, 2.43 mmol) 加入至 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 依次加入化合物 **BB-3** (0.5 g, 1.62 mmol), 碳酸铯 (2.11 g, 6.49 mmol), 碘化亚铜 (61.81 mg, 324.54 μmol) 和二氯双(三苯基膦)钯 (227.80 mg, 324.54 μmol), 反应混合物加热至 80°C 并搅拌反应 5 小时。反应完毕后, 将反应液倒入 1 mol/L 盐酸 (12 mL) 中, 加入水 (15 mL), 用乙酸乙酯 (15 mL \times 3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (25 mL \times 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物通过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=5/1-1/1, 体积比), 得到化合物 **WX004-1**。MS-ESI m/z : 399.2 [M-55]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.90 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.59 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J=1.2, 8.4$ Hz, 1H), 4.37 (s, 2H), 4.16 (dd, $J=4.8, 12.0$ Hz, 1H), 3.51 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.22 (t, $J=7.0$ Hz, 2H), 2.77 (s, 3H), 2.74-2.66 (m, 1H), 2.61-2.54 (m, 1H), 2.41-2.28 (m, 1H), 2.15-2.05 (m, 1H), 1.78-1.69 (m, 2H), 1.38 (s, 9H)。

步骤 2: 化合物 WX004-2 的合成

室温下, 将化合物 **WX004-1** (0.6 g, 1.32 mmol) 加入至四氢呋喃 (20 mL) 中, 加入湿钯碳 (0.1 g, 1.32 mmol, 纯度: 10%) 和氢氧化钯/碳 (0.1 g, 1.32 mmol, 纯度: 10%), 反应混合物在室温和氢气 (15 psi) 氛围下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 将反应液过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (30 mL) 淋洗, 收集滤液, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX004-2**。MS-ESI m/z : 403.2 [M-55]⁺。

步骤 3: 化合物 WX004-3 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **WX004-2** (0.1 g, 218.08 μmol) 加入至盐酸/乙酸乙酯 (4 mol/L, 4 mL) 中, 反混合物在室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 将反应液过滤, 滤饼用乙酸乙酯 (15 mL) 淋洗, 收集滤饼, 得到化合物 **WX004-3** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 359.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 10.89 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.47 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.15 (dd, $J=1.6, 8.4$ Hz, 1H), 4.12 (dd, $J=4.8, 12.0$ Hz, 1H), 3.43 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 3.38 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 3.34 (s, 3H), 2.95-2.88 (m, 2H), 2.81-2.74 (m, 1H), 2.73-2.67 (m, 2H), 2.62-2.54 (m, 1H), 2.38-2.27 (m, 1H), 2.14-2.05 (m, 1H), 1.88-1.78 (m, 4H).

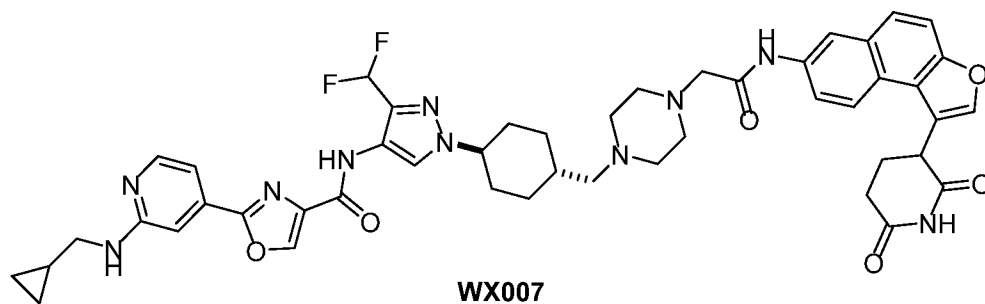
步骤 4: 化合物 **WX004-4** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-2** (0.1 g, 171.05 μmol) 和化合物 **WX004-3** 的盐酸盐 (67.55 mg, 171.05 μmol) 溶于四氢呋喃 (4 mL) 和 N,N -二甲基甲酰胺 (0.8 mL) 中, 加入醋酸钾 (50.36 mg, 513.16 μmol) 和醋酸 (5.14 mg, 85.53 μmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时, 加入醋酸硼氢化钠 (145.01 mg, 684.21 μmol), 继续搅拌反应 10 小时。反应完毕后, 向反应液中加入饱和氯化铵溶液 (10 mL), 用乙酸乙酯 (3 \times 30 mL) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (2 \times 30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX004-4**。MS-ESI m/z : 927.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

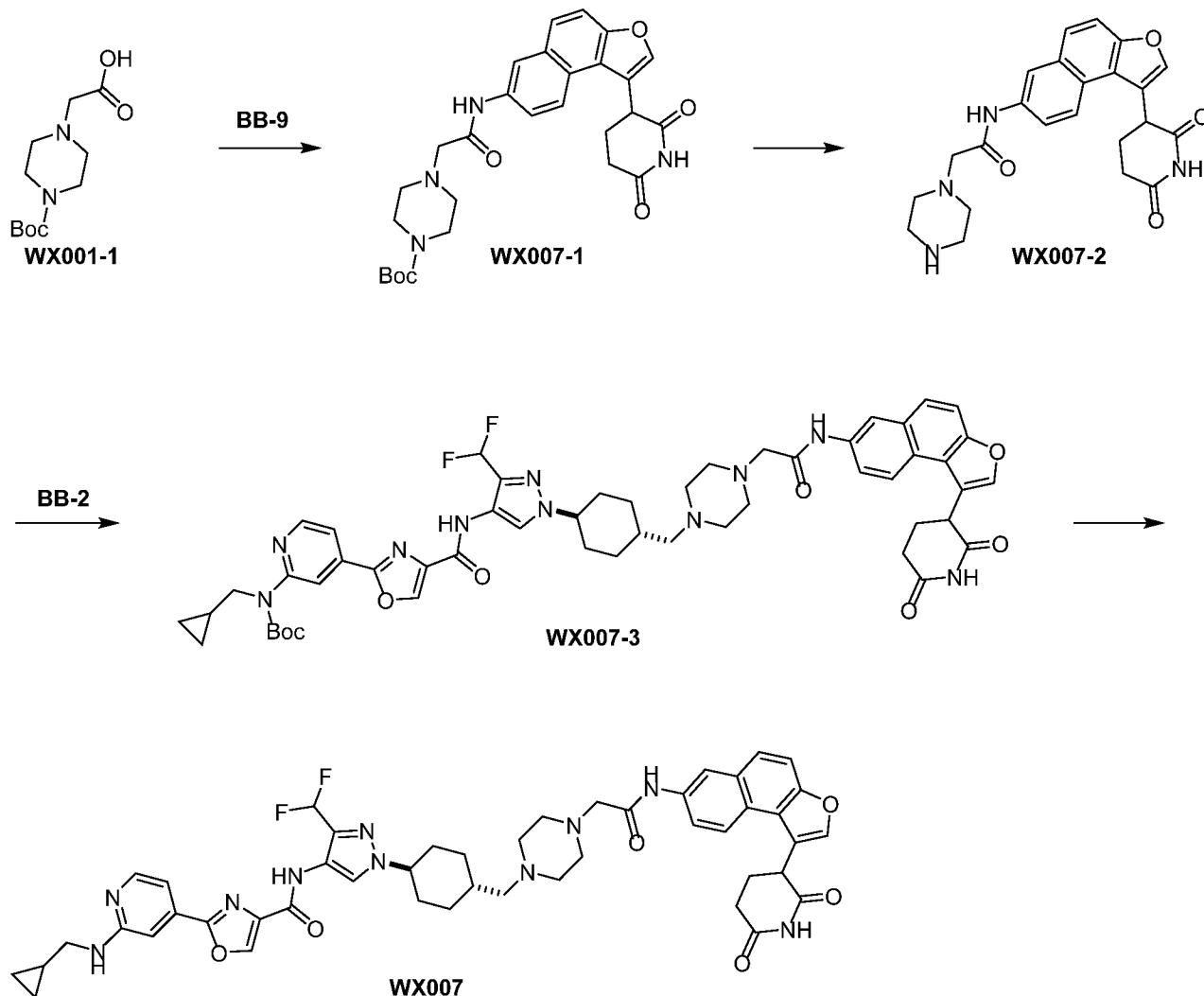
步骤 5: 化合物 **WX004** 的盐酸盐的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **WX004-4** (150 mg, 161.80 μmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 和三氟乙酸 (5 mL) 中, 反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过制备 HPLC 分离(色谱柱: Phenomenex luna C18 80 \times 40 mm \times 3 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 17%-37%, 7 min), 得到目标化合物 **WX004** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 827.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 10.90 (s, 1H), 10.12 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.18 (d, $J=28.8$ Hz, 1H), 8.17-8.03 (m, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.47 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.34-7.04 (m, 3H), 4.13 (dd, $J=5.0, 12.2$ Hz, 2H), 3.44 (t, $J=5.8$ Hz, 2H), 3.41-3.33 (m, 4H), 3.24-3.10 (m, 1H), 3.09-2.97 (m, 2H), 2.96-2.87 (m, 1H), 2.81-2.65 (m, 6H), 2.62-2.55 (m, 1H), 2.39-2.27 (m, 2H), 2.15-2.03 (m, 4H), 2.02-1.89 (m, 3H), 1.87-1.80 (m, 4H), 1.27-1.07 (m, 3H), 0.61-0.51 (m, 2H), 0.39-0.30 (m, 2H).

实施例 7



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX007-1** 的合成

室温下, 将化合物 **WX001-1** (387.74 mg, 1.59 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 随后依次加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (482.81 mg, 1.27 mmol), N,N-二异丙基乙胺 (410.27 mg, 3.17 mmol) 和化合物 **BB-9** 的盐酸盐 (350 mg, 1.06 mmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 将反应液倒入水 (50 mL) 中, 用乙酸乙酯 (10 mL \times 3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱

剂：石油醚/乙酸乙酯=5/1-1/1，体积比)，得到化合物 **WX007-1**。MS-ESI m/z : 521.1 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.25 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.95 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.77-7.70 (m, 2H), 7.69-7.64 (m, 2H), 4.48 (dd, $J=5.0, 8.2$ Hz, 1H), 3.61-3.51 (m, 4H), 3.24 (s, 2H), 2.90-2.76 (m, 2H), 2.70-2.59 (m, 4H), 2.56-2.46 (m, 2H), 1.49 (s, 9H)。

步骤 2：化合物 **WX007-2** 的盐酸盐的合成

将化合物 **WX007-1** (100 mg, 180.19 μmol , 纯度: 93.8%) 溶于盐酸/二氧六环 (4 mol/L, 7.5 mL) 中，反应混合物在室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后，将反应液减压浓缩除去溶剂。所得残余物加入乙酸乙酯 (20 mL)，再减压浓缩除去溶剂，得到化合物 **WX007-2** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 421.1 [M+H]⁺。

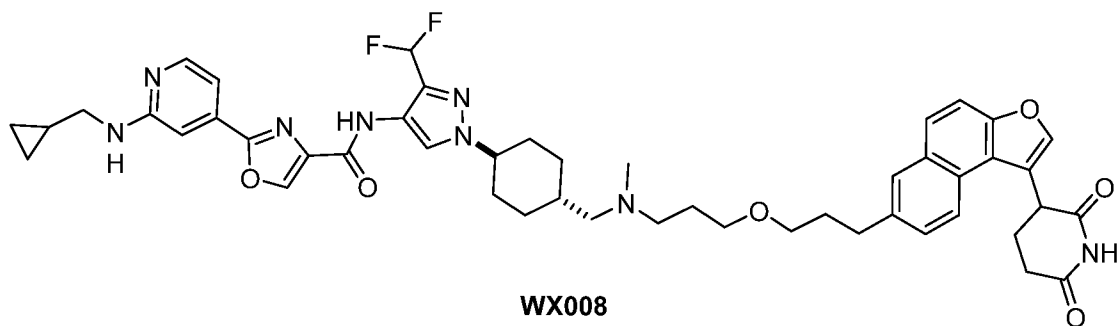
步骤 3：化合物 **WX007-3** 的合成

室温下，将化合物 **BB-2** (77 mg, 131.71 μmol) 和化合物 **WX007-2** 的盐酸盐 (60.18 mg, 131.71 μmol) 溶于四氢呋喃 (5 mL) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 中，随后加入醋酸钾 (38.78 mg, 395.13 μmol) 和醋酸 (3.95 mg, 65.86 μmol)，反应混合物在氮气保护下搅拌反应 0.5 小时，加入三乙酰氧基硼氢化钠 (83.74 mg, 395.13 μmol)，继续搅拌反应 0.5 小时。反应完毕后，加入饱和氯化铵溶液 (20 mL)，用乙酸乙酯萃取 (20 mL \times 3)，合并有机相，用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂，得到化合物 **WX007-3**。MS-ESI m/z : 889.5 [M+H-100]⁺。

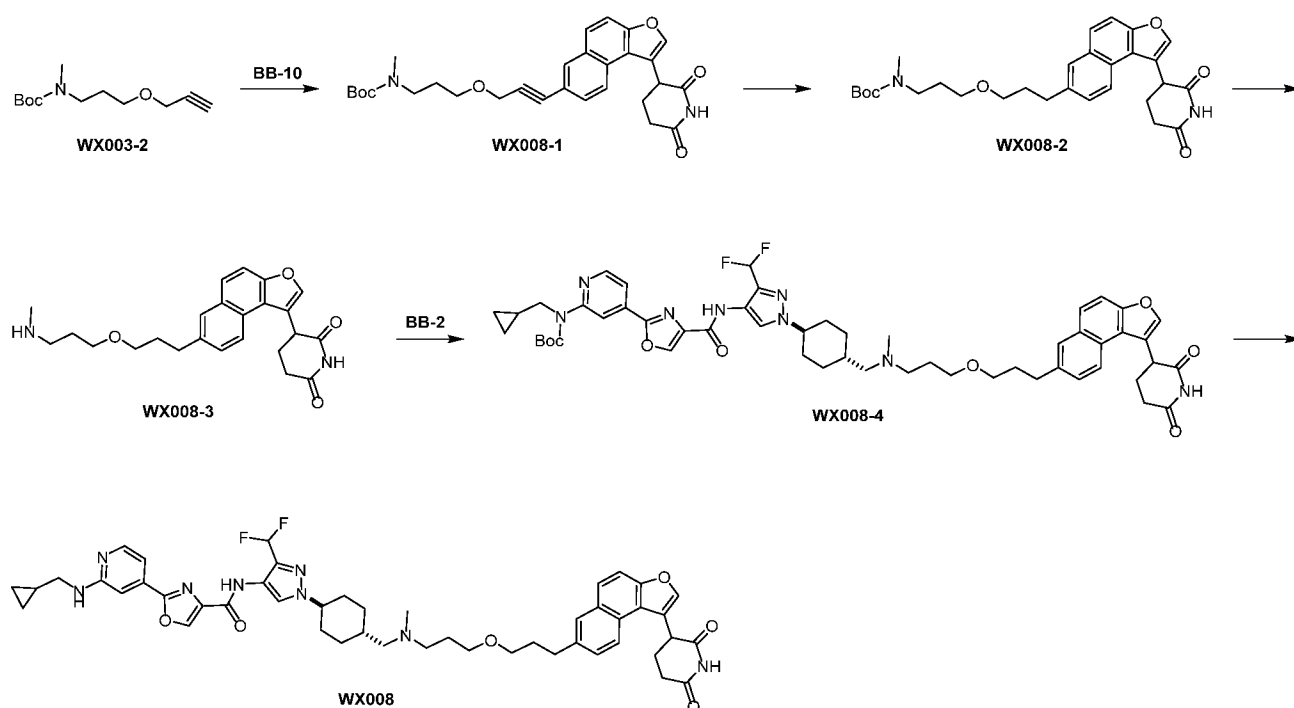
步骤 4：化合物 **WX007** 的合成

室温下，将化合物 **WX007-3** (130 mg, 131.44 μmol) 溶于二氯甲烷 (3 mL) 中，加入三氟乙酸 (3 mL)，反应混合物加热至 40°C 并搅拌反应 1 小时。反应完毕后，减压浓缩除去溶剂。所得残余物先经过制备 HPLC 分离 (色谱柱: Boston Green ODS 150*30 mm*5 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 19%-34%, 10 min)，再经过制备 HPLC 分离 (色谱柱: Welch Xtimate C18 150*25 mm*5 μm ; 流动相: 水(10 mM 碳酸氢铵)-乙腈; 乙腈%: 45%-75%, 11 min)，得到目标化合物 **WX007**。MS-ESI m/z : 890.8 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.94 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.36 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 8.17-8.08 (m, 3H), 7.97 (s, 1H), 7.79-7.70 (m, 3H), 7.15-6.96 (m, 4H), 4.63 (dd, $J=4.2, 11.8$ Hz, 1H), 4.24-4.10 (m, 1H), 3.18-3.14 (m, 3H), 2.94-2.81 (m, 1H), 2.68-2.63 (m, 1H), 2.61-2.54 (m, 4H), 2.30-2.23 (m, 2H), 2.17-2.12 (m, 2H), 2.08-1.95 (m, 4H), 1.93-1.85 (m, 2H), 1.78-1.70 (m, 2H), 1.63-1.55 (m, 1H), 1.22 (s, 3H), 1.09-1.00 (m, 2H), 0.84 (t, $J=6.4$ Hz, 1H), 0.48-0.40 (m, 2H), 0.24-0.17 (m, 2H)。

实施例 8



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX008-1** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-10** (300 mg, 837.55 μmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 随后依次加入化合物 **WX003-2** (285.56 mg, 1.26 mmol), 碳酸铯 (818.68 mg, 2.51 mmol), 碘化亚铜 (31.90 mg, 167.51 μmol) 和二氯双(三苯基膦)钯 (117.58 mg, 167.51 μmol), 反应混合物升温至 80°C 并搅拌反应 5 小时。反应完毕后, 将反应液冷却至室温, 倒入饱和氯化铵溶液 (100 mL) 中, 用乙酸乙酯 (10 mL \times 3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=5/1-1/1, 体积比), 得到化合物 **WX008-1**。MS-ESI m/z : 405.2 [M+H-100]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.15-8.01 (m, 2H), 7.92 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.61 (dd, $J=1.6, 8.8$ Hz, 1H), 4.50 (dd, $J=5.2, 8.8$ Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.65 (t, $J=6.2$ Hz, 2H), 3.35 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.89 (s, 3H), 2.85-2.78 (m, 2H), 2.58-2.41 (m, 2H), 1.94-1.83 (m, 2H), 1.47 (s, 9H)。

步骤 2: 化合物 WX008-2 的合成

室温下, 将化合物 **WX008-1** (160 mg, 317.10 μmol) 溶于四氢呋喃 (10 mL) 中, 随后依次加入湿钨碳 (0.2 g, 317.10 μmol , 纯度: 10%) 和氢氧化钨/碳 (0.2 g, 317.10 μmol , 纯度: 20%), 反应混合物在室温和氢气氛围 (15 psi) 下搅拌反应 2 小时。反应完毕, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX008-2**。MS-ESI m/z : 409.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.09 (s, 1H), 7.92 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.72 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.67-7.63 (m, 2H), 7.45 (d, $J=1.4, 8.6$ Hz, 1H), 4.52 (dd, $J=5.6, 8.0$ Hz, 1H), 3.45 (q, $J=6.6$ Hz, 4H), 3.36-3.28 (m, 2H), 2.92-2.85 (m, 5H), 2.82-2.76 (m, 2H), 2.55-2.46 (m, 2H), 2.04-1.95 (m, 2H), 1.86-1.78 (m, 2H), 1.46 (s, 9H)。

步骤 3: 化合物 WX008-3 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **WX008-2** (100 mg, 196.62 μmol) 溶于乙酸乙酯 (5 mL) 中, 加入盐酸/乙酸乙酯溶液 (4 M, 5 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 减压浓缩除掉溶剂。所得残余物加入乙酸乙酯 (20 mL), 再减压浓缩除掉溶剂, 得到化合物 **WX008-3** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 409.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

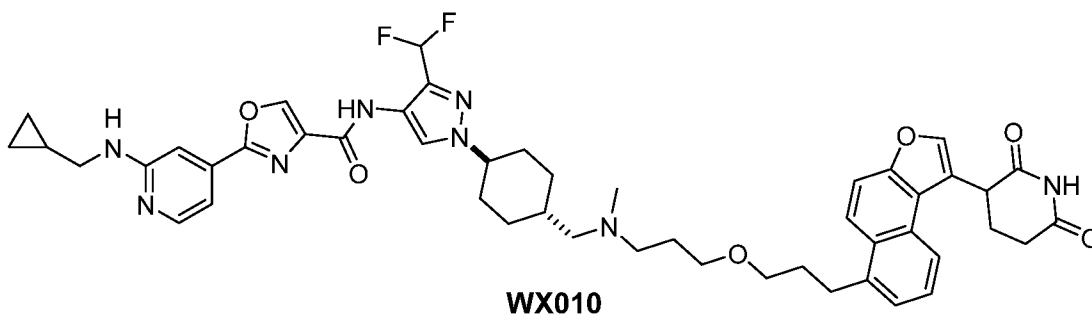
步骤 4: 化合物 WX008-4 的合成

室温下, 将化合物 **BB-2** (91 mg, 147.64 μmol) 溶于四氢呋喃 (5 mL) 和 N,N -二甲基甲酰胺 (1 mL) 中, 随后加入化合物 **WX008-3** 的盐酸盐 (65.69 mg, 147.64 μmol), 醋酸钾 (43.47 mg, 442.93 μmol) 和醋酸 (8.87 mg, 8.44 μL , 147.64 μmol), 反应混合物搅拌反应 0.5 小时, 再加入三乙酰氧基硼氢化钠 (93.87 mg, 442.93 μmol), 继续搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 加入饱和氯化铵溶液 (20 mL), 用乙酸乙酯 (20 mL \times 3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=1/0-20/1, 体积比), 得到化合物 **WX008-4**。MS-ESI m/z : 977.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

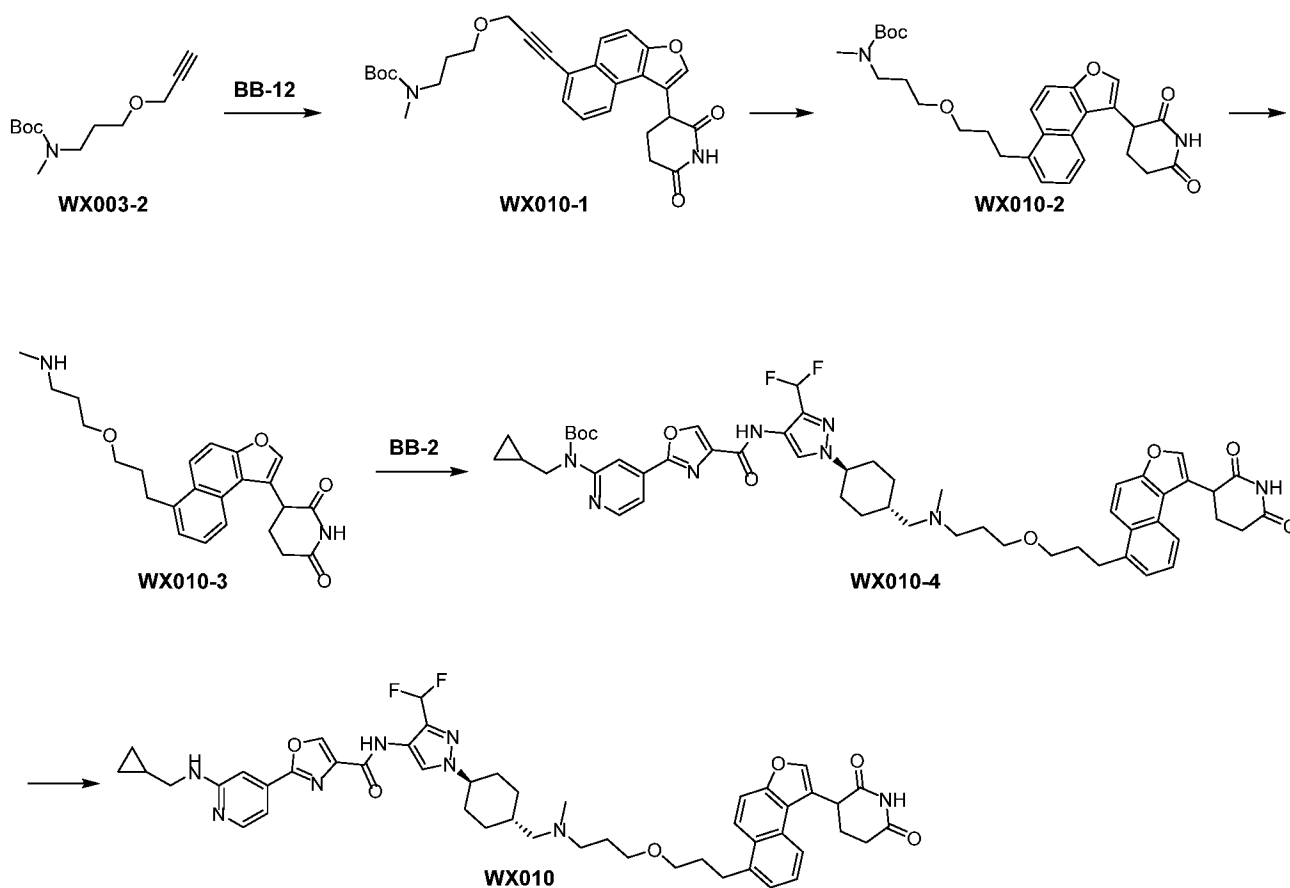
步骤 5: 化合物 WX008 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **WX008-4** (110 mg, 100.36 μmol , 纯度: 89.15%) 溶于二氯甲烷 (3 mL) 中, 随后加入三氟乙酸 (3 mL), 反应混合物加热至 40 $^\circ\text{C}$ 并搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过制备 HPLC 分离 (色谱柱: Boston Green ODS 150 \times 30 mm \times 5 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 25%-45%, 10 min), 得到目标化合物 **WX008** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 877.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 10.96 (s, 1H), 9.89 (s, 1H), 9.54 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.07 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.77 (dd, $J=8.8, 16.0$ Hz, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.46 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.35-7.00 (m, 2H), 4.64 (dd, $J=3.8, 11.8$ Hz, 1H), 4.23 (t, $J=11.8$ Hz, 1H), 3.31-3.24 (m, 2H), 3.20-3.11 (m, 2H), 3.10-2.97 (m, 3H), 2.96-2.86 (m, 2H), 2.82 (t, $J=7.4$ Hz, 2H), 2.76 (d, $J=4.0$ Hz, 3H), 2.67-2.59 (m, 1H), 2.42-2.31 (m, 1H), 2.30-2.21 (m, 1H), 2.10-1.74 (m, 12H), 1.27-1.10 (m, 4H), 0.61-0.51 (m, 2H), 0.36-0.27 (m, 2H)。

实施例 10



合成路线:

步骤 1: 化合物 **WX010-1** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-12** (0.1 g, 279.18 μmol), 化合物 **WX003-2** (126.92 mg, 558.37 μmol), 碘化亚铜 (10.63 mg, 55.84 μmol), 双三苯基膦二氯化钯 (39.19 mg, 55.84 μmol) 和 N, N-二异丙基乙胺 (72.17 mg, 558.37 μmol) 溶于二甲基亚砜 (2 mL) 中, 反应混合物升温至 85°C, 搅拌反应 2.5 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 向反应液中加入水 (2 mL), 用二氯甲烷 (5 mL \times 2) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (5 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩。所得残余物经层析板分离 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油

醚=1/1, 体积比) 纯化, 得到化合物 **WX010-1**。MS-ESI m/z : 405.2 $[M+H-100]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.35 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.99 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.53 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.50 (dd, $J=5.4, 9.0$ Hz, 1H), 3.70 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.36 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.89 (s, 3H), 2.85-2.77 (m, 2H), 2.57-2.42 (m, 2H), 1.96-1.86 (m, 2H), 1.46 (s, 9H)。

步骤 2: 化合物 **WX010-2** 的合成

室温下, 将化合物 **WX010-1** (60 mg, 118.91 μ mol) 溶于四氢呋喃 (5 mL) 中, 随后依次加入湿钨碳 (10 mg, 纯度: 10%) 和氢氧化钨/碳 (10 mg, 纯度: 20%), 反应混合物在室温和氢气氛围 (15 psi) 下, 搅拌反应 15 小时。反应完毕后, 过滤, 滤饼用四氢呋喃 (10 mL \times 2) 淋洗, 收集滤液, 滤液减压浓缩, 得到化合物 **WX010-2**。MS-ESI m/z : 409.2 $[M+H-100]^+$ 。

步骤 3: 化合物 **WX010-3** 的三氟乙酸盐的合成

室温下, 将化合物 **WX010-2** (60 mg, 117.97 μ mol) 溶于二氯甲烷 (1 mL) 中, 加入三氟乙酸 (184.80 mg, 1.62 mmol), 反应混合物室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX010-3** 的三氟乙酸盐。MS-ESI m/z : 409.2 $[M+H]^+$ 。

步骤 4: 化合物 **WX010-4** 的合成

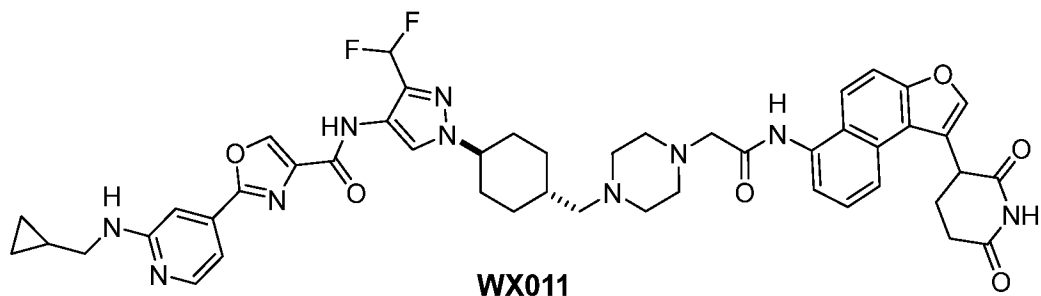
室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-2** (50 mg, 85.53 μ mol), 化合物 **WX010-3** 的三氟乙酸盐 (53.63 mg, 102.63 μ mol) 和乙酸钾 (25.18 mg, 256.58 μ mol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 和冰乙酸 (0.1 mL) 的混合溶剂中, 反应混合物室温下搅拌反应 2 小时, 加入三乙酰基硼氢化钠 (54.38 mg, 256.58 μ mol), 继续搅拌反应 15 小时。反应完毕后, 向反应液中加入饱和氯化铵溶液 (8 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL \times 2) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到化合物 **WX010-4**。MS-ESI m/z : 977.6 $[M+H]^+$ 。

步骤 5: 化合物 **WX010** 的三氟乙酸盐的合成

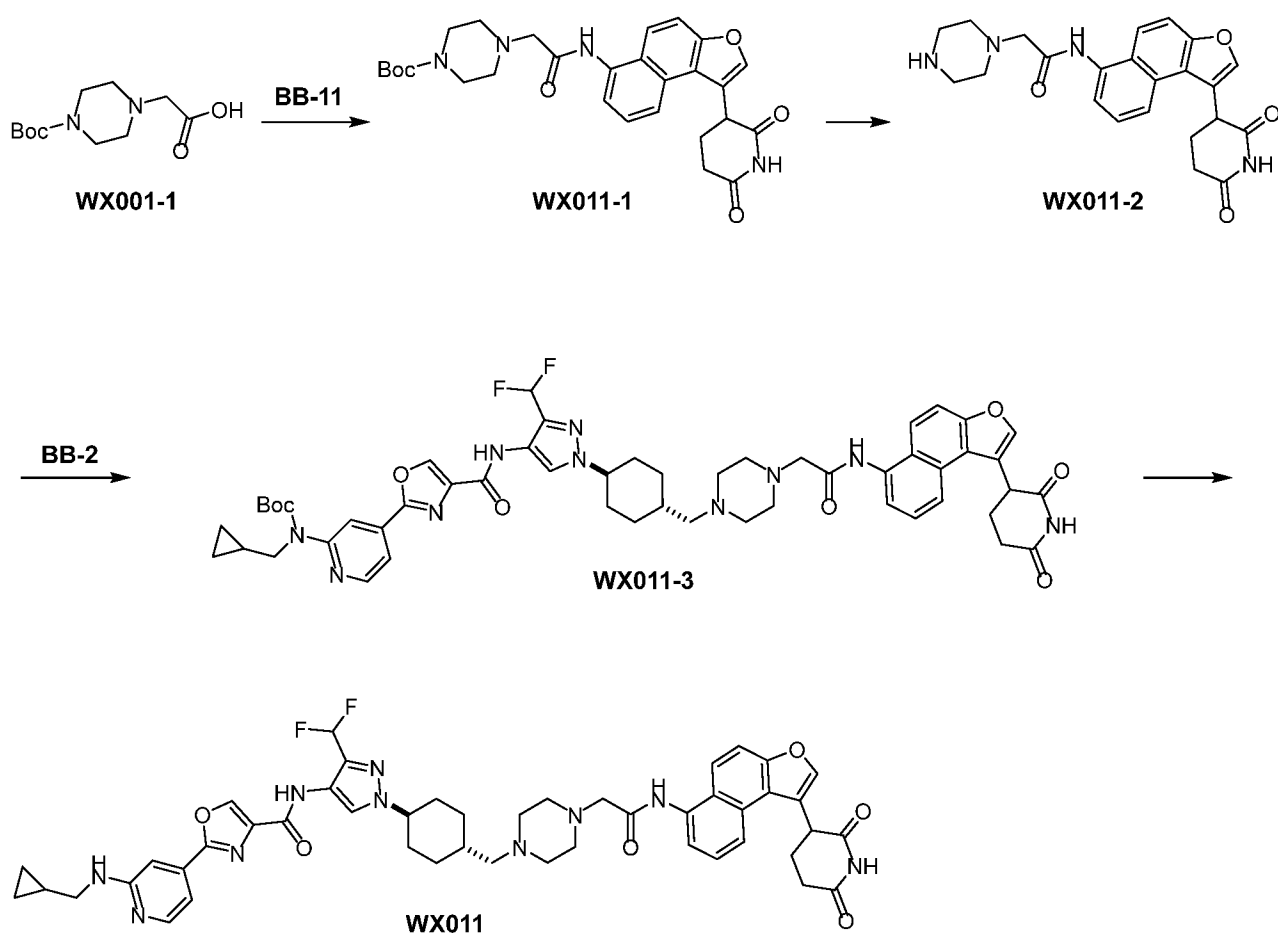
室温下, 将化合物 **WX010-4** (0.1 g, 102.34 μ mol) 溶于二氯甲烷 (2 mL) 中, 滴加三氟乙酸 (3.08 g, 27.01 mmol), 反应混合物室温下搅拌反应 4 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 所得粗品经制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex luna C18 80 \times 30 mm \times 3 μ m; 流动相: 水(0.1%三氟乙酸)-乙腈; 乙腈%: 20%-50%, 8 min), 得到目标化合物 **WX010** 的三氟乙酸盐。MS-ESI m/z : 877.6 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, MeOD- d_4) δ : 8.81 (s, 1H), 8.16 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.74 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.53 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 6.93 (t, $J=54.4$ Hz, 1H), 4.65 (dd, $J=5.0$ Hz, 10.2 Hz, 1H), 4.11-4.02 (m, 1H), 3.65-3.53 (m, 4H), 3.31-3.20 (m, 4H), 3.18-3.07 (m, 2H), 3.01-2.88 (m, 2H), 2.87 (s, 3H), 2.79-2.71 (m, 1H), 2.55-2.40 (m, 2H), 2.17-1.75 (m, 12H), 1.29-

1.17 (m, 3H), 0.75-0.68 (m, 2H), 0.45-0.38 (m, 2H).

实施例 11



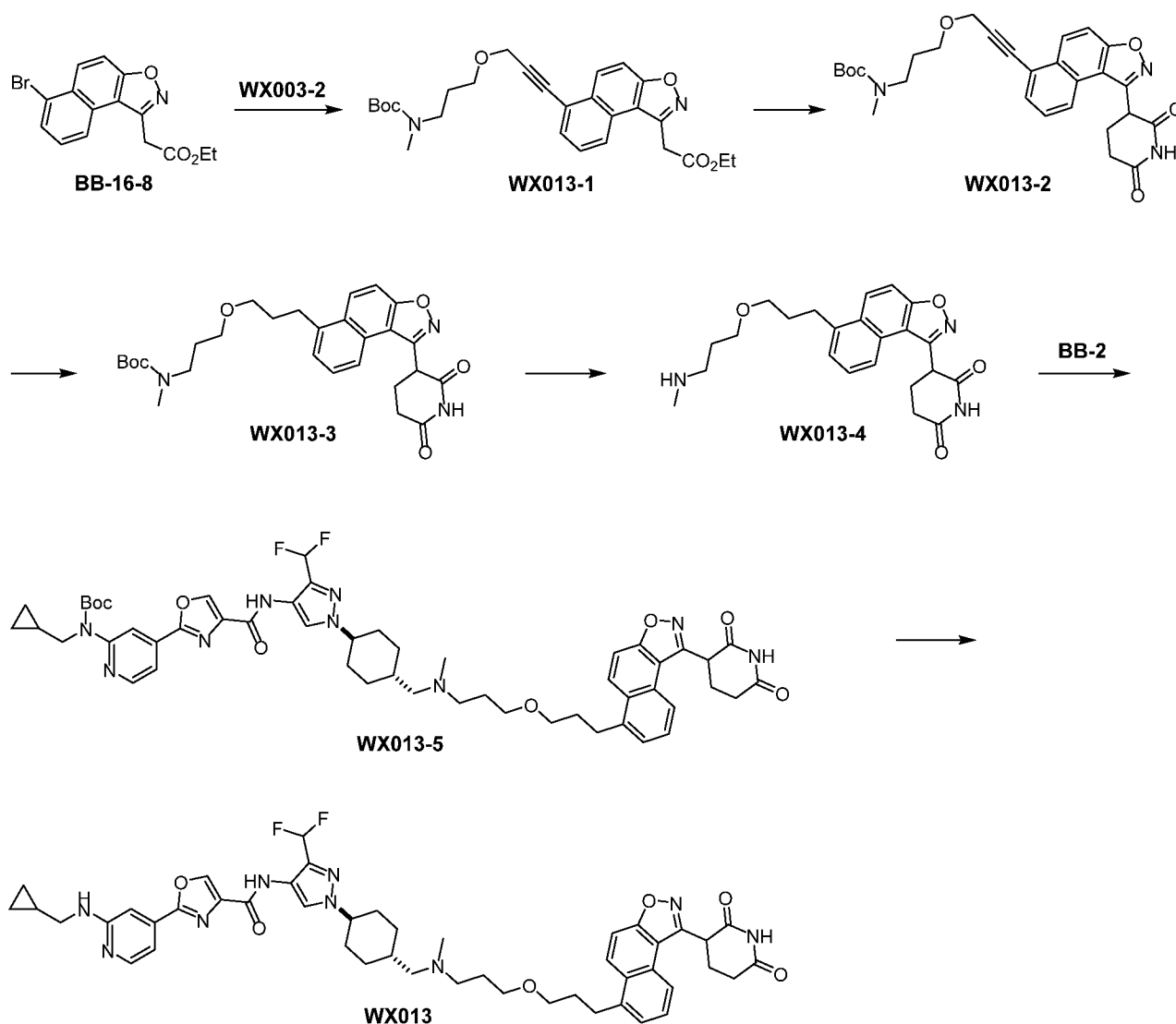
合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX011-1** 的合成

室温和氮气保护下,将化合物 **WX001-1** (102.70 mg, 365.82 μmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中,加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N,N-四甲基脲六氟磷酸酯 (164.39 mg, 432.33 μmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (214.91 mg, 1.66 mmol), 反应混合物室温下搅拌反应 0.5 小时, 加入化合物 **BB-11** 的盐酸盐 (0.11 g, 332.56 μmol), 反应混合物室温下搅拌反应 15 小时。反应完毕后, 向反应液中加入水 (5 mL), 用乙酸乙酯 (2 mL \times 2)

合成路线:

步骤 1: 化合物 **WX013-1** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-16-8** (1 g, 2.99 mmol) 和化合物 **WX003-2** (816.24 mg, 3.59 mmol) 溶于二甲基亚砜 (10 mL) 中, 加入二氯双(三苯基膦)钯 (420.09 mg, 598.51 μmol), 碘化亚铜 (113.99 mg, 598.51 μmol) 和 N, N-二异丙基乙胺 (773.51 mg, 5.99 mmol), 反应混合物升温至 85°C, 搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 冷却至室温, 加入水 (30 mL), 用乙酸乙酯 (3 \times 20 mL) 萃取。合并有机相, 用 10% 食盐水 (3 \times 40 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-4/1, 体积比), 得到化合物 **WX013-1**。MS-ESI m/z : 381.2 $[\text{M}+\text{H}-100]^+$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.54 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.11 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.75 (dd, $J=1.0$ Hz, 7.4 Hz, 1H), 7.62 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.34 (s, 2H), 4.22 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.70 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.36 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.89 (s, 3H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.20 (t, $J=7.0$ Hz, 3H).

步骤 2: 化合物 WX013-2 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **WX013-1** (0.8 g, 1.66 mmol) 和丙烯酰胺 (130.16 mg, 1.83 mmol) 溶于四氢呋喃 (10 mL) 中, 冷却至 0°C, 加入叔丁醇钾 (224.16 mg, 2.00 mmol), 反应混合物室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 将反应液缓慢加入到 1N 盐酸中调节 pH 至 3~4, 加入水 (10 mL), 用乙酸乙酯 (3×20 mL) 萃取。合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=3/1-1/1, 体积比), 得到化合物 **WX013-2**。MS-ESI m/z : 406.2 [M+H-100]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.59 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.04 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.77 (dd, $J=0.8, 7.2$ Hz, 1H), 7.65 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 4.74 (dd, $J=5.0$ Hz, 8.2 Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 3.70 (t, $J=6.2$ Hz, 2H), 3.37 (t, $J=6.2$ Hz, 2H), 2.99-2.91 (m, 1H), 2.90 (s, 3H), 2.84-2.68 (m, 2H), 2.64-2.53 (m, 1H), 1.96-1.86 (m, 2H), 1.46 (s, 9H)。

步骤 3: 化合物 WX013-3 的合成

室温下, 将湿钨碳 (20 mg, 纯度: 10%) 和氢氧化钨/碳 (20 mg, 纯度: 20%) 溶于四氢呋喃 (3 mL) 中, 加入化合物 **WX013-2** (150 mg, 296.70 μ mol) 和三乙胺 (30.02 mg, 296.70 μ mol), 反应混合物在室温和氢气环境下 (15 psi) 搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 经硅藻土过滤, 用乙酸乙酯 (20 mL) 淋洗滤饼, 滤液减压浓缩, 得到化合物 **WX013-3**。MS-ESI m/z : 410.2 [M+H-100]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.31 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.91 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.62 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 4.77 (dd, $J=5.4$ Hz, 7.8 Hz, 1H), 3.52-3.45 (m, 4H), 3.38-3.30 (m, 2H), 3.24 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.91-2.85 (m, 4H), 2.82-2.68 (m, 2H), 2.62-2.52 (m, 1H), 2.05-1.98 (m, 2H), 1.90-1.81 (m, 2H), 1.47 (s, 9H)。

步骤 4: 化合物 WX013-4 的三氟乙酸盐合成

室温下, 将化合物 **WX013-3** (120 mg, 235.48 μ mol) 溶于二氯甲烷 (3 mL) 和三氟乙酸 (0.5 mL) 中, 反应混合物室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX013-4** 的三氟乙酸盐。MS-ESI m/z : 410.3 [M+H]⁺。

步骤 5: 化合物 WX013-5 的合成

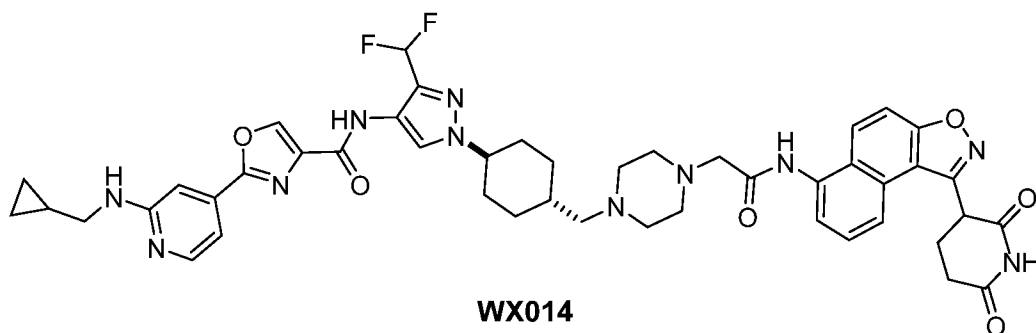
室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-2** (0.1 g, 171.05 μ mol) 和化合物 **WX013-4** 的三氟乙酸盐 (107.45 mg, 205.26 μ mol) 溶于 N, N-二甲基甲酰胺 (3 mL) 中, 加入醋酸钾 (50.36 mg, 513.15 μ mol) 和醋酸 (5.14 mg, 85.53 μ mol), 反应混合物室温下搅拌反应 2 小时, 加入三乙酰氧基硼氢化钠 (145.01 mg, 684.20 μ mol), 继续搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 加入 1 M 盐酸溶液 (1 mL), 减压浓缩除去溶剂。所得残余物经制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex luna C18 80*40 mm*3 μ m; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 40%-60%, 7 min), 得到化合物 **WX013-5**。MS-ESI m/z : 978.5 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.06 (s, 1H), 8.40

(d, $J=5.6$ Hz, 2H), 8.41 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.29 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 7.92 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.65-7.57 (m, 2H), 7.44 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.00-6.65 (m, 1H), 4.82-4.73 (m, 1H), 4.09-4.00 (m, 1H), 3.94 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.52 (t, $J=5.6$ Hz, 4H), 3.30-3.16 (m, 3H), 2.96-2.85 (m, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.78-2.70 (m, 2H), 2.62-2.50 (m, 1H), 2.26-2.12 (m, 4H), 1.93-1.75 (m, 5H), 1.73-1.62 (m, 4H), 1.58 (s, 9H), 1.26-1.15 (m, 3H), 0.47-0.40 (m, 2H), 0.31-0.25 (m, 2H).

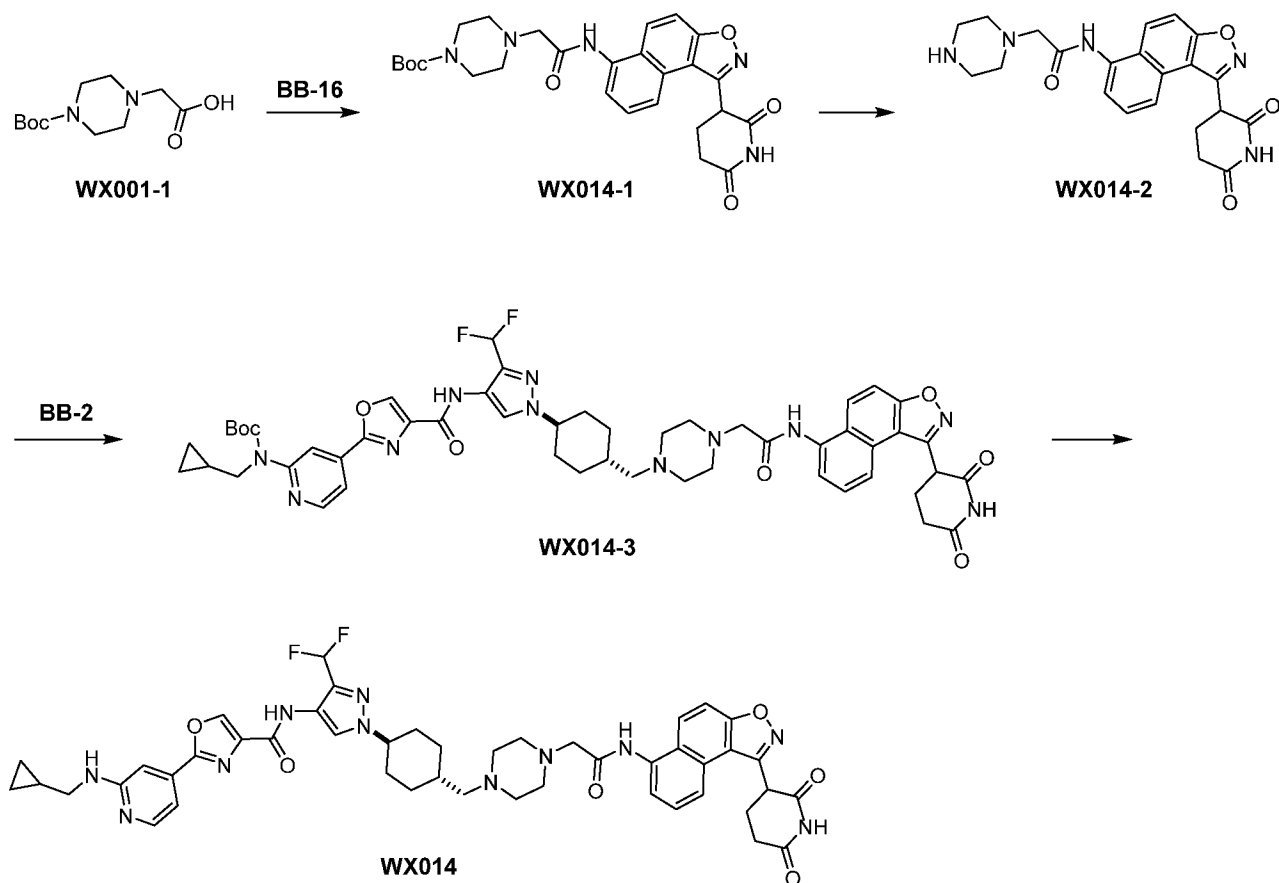
步骤 6: 化合物 **WX013** 的盐酸盐的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **WX013-5** (50 mg, 51.12 μmol) 溶于二氯甲烷 (2 mL) 和三氟乙酸 (2 mL) 中, 反应混合物室温下搅拌反应 1.5 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂。所得残余物经制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex luna C18 80*40 mm*3 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 14%-34%, 7 min), 得到目标化合物 **WX013** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 878.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{MeOD-}d_4$) δ : 8.80 (s, 1H), 8.40 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.11 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.64 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.45 (dd, $J=1.4$ Hz, 6.6 Hz, 1H), 6.91 (t, $J=54.6$ Hz, 1H), 4.97 (dd, $J=4.8$ Hz, 10.0 Hz, 1H), 4.19-4.07 (m, 1H), 3.62-3.55 (m, 4H), 3.27-3.08 (m, 4H), 3.04-2.94 (m, 1H), 2.89 (s, 3H), 2.87-2.59 (m, 4H), 2.54-2.45 (m, 1H), 2.17-1.77 (m, 13H), 1.30-1.15 (m, 3H), 0.74-0.68 (m, 2H), 0.44-0.38 (m, 2H).

实施例 14



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX014-1** 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **WX001-1** (93.09 mg, 331.57 μmol) 溶于 N, N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中，加入 N, N-二异丙基乙胺 (194.78 mg, 1.51 mmol) 和 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (171.92 mg, 452.14 μmol)，反应混合物室温下搅拌反应 0.5 小时，加入化合物 **BB-16** 的盐酸盐 (0.1 g, 301.43 μmol)，反应混合物室温下搅拌反应 11.5 小时。反应完毕后，加入水 (20 mL)，用乙酸乙酯 (3 \times 20 mL) 萃取。合并有机相，用 10%食盐水 (2 \times 30 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂：石油醚/乙酸乙酯=3/1-1/1，体积比)，得到化合物 **WX014-1**。MS-ESI m/z : 522.3 [M+H]⁺。

步骤 2: 化合物 **WX014-2** 的盐酸盐的合成

室温下，将化合物 **WX014-1** (0.1 g, 191.73 μmol) 溶于二氯甲烷 (1 mL) 中，加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (4 M, 2 mL)，反应混合物室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后，减压浓缩除去溶剂，得到化合物 **WX014-2** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 422.2 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.15 (s, 1H), 10.75 (s, 1H), 9.58 (s, 1H), 8.36 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.76 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 5.10 (dd, $J=4.6, 11.4$ Hz, 1H), 4.35-4.10 (m, 2H), 3.41-3.34 (m, 6H), 2.92-2.80 (m, 2H), 2.70-2.66 (m, 1H), 2.65-2.61 (m, 1H), 2.60-2.56 (m, 1H), 2.44-2.36 (m, 1H)。

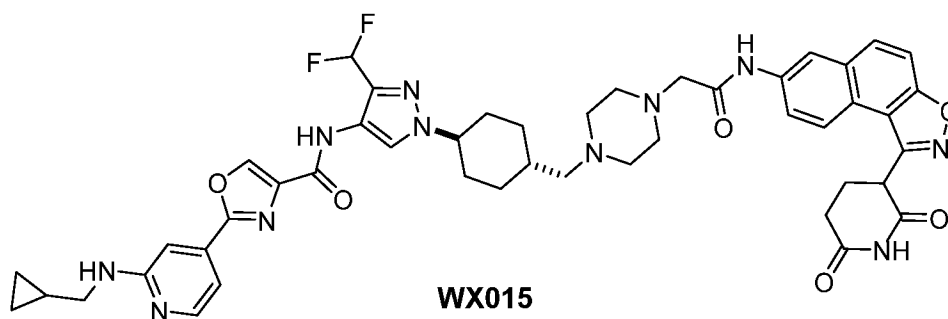
步骤 3: 化合物 **WX014-3** 的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **BB-2** (0.1 g, 171.05 μmol) 和化合物 **WX014-2** 的盐酸盐 (78.33 mg, 171.05 μmol) 溶于四氢呋喃 (2 mL) 和 N, N-二甲基甲酰胺 (0.4 mL) 中, 加入醋酸钾 (50.36 mg, 513.16 μmol) 和醋酸 (5.14 mg, 85.53 μmol), 反应混合物室温下搅拌反应 2 小时, 加入三乙酰氧基硼氢化钠 (145.01 mg, 684.21 μmol), 继续搅拌反应 10 小时。反应完毕后, 加入饱和氯化铵溶液 (20 mL), 用乙酸乙酯 (3 \times 20 mL) 萃取。合并有机相, 用 10% 食盐水 (2 \times 30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX014-3**。MS-ESI m/z : 990.6 [M+H]⁺。

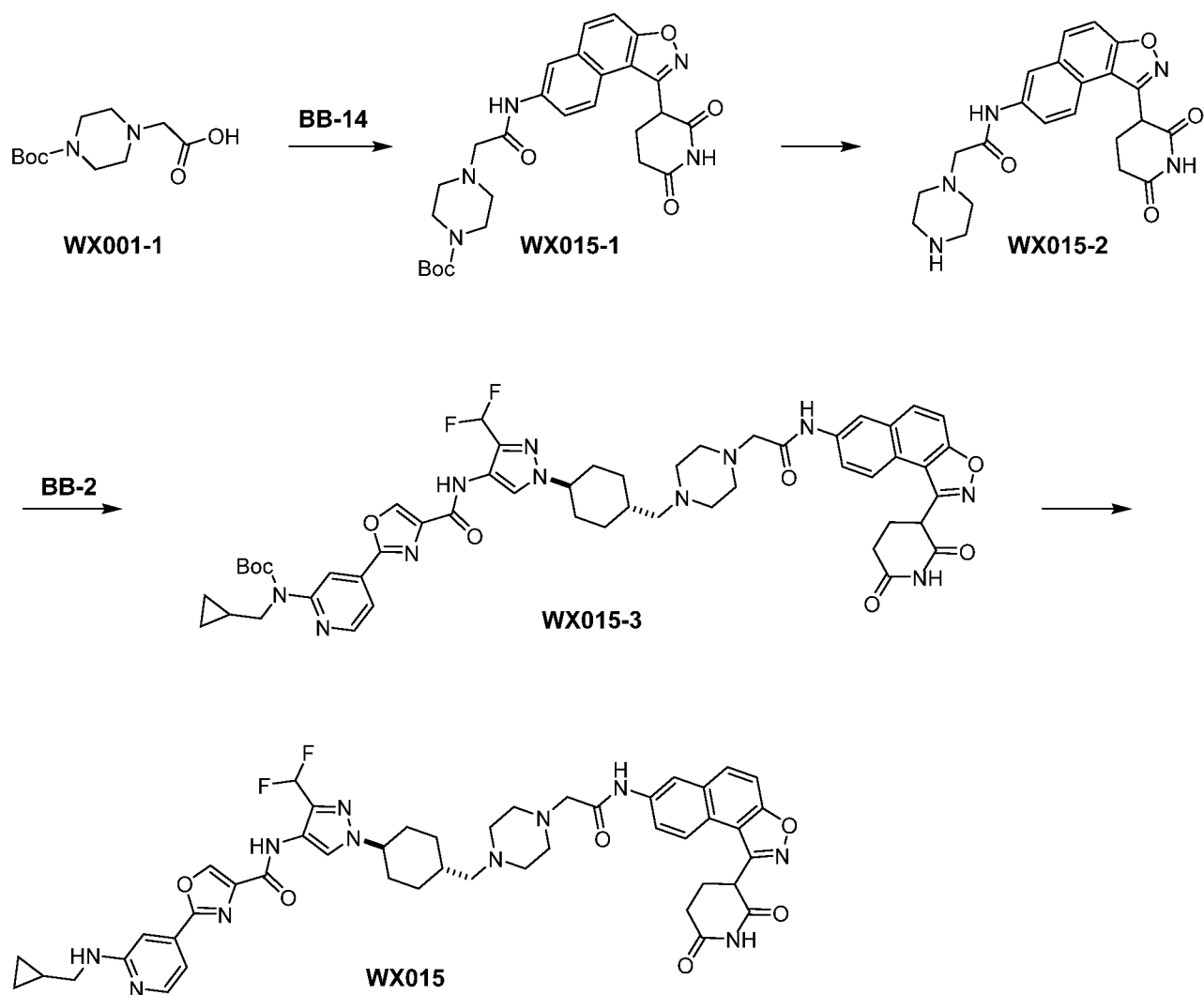
步骤 4: 化合物 **WX014** 的盐酸盐的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **WX014-3** (0.2 g, 202.01 μmol) 溶于二氯甲烷 (7 mL) 和三氟乙酸 (7 mL) 中, 反应混合物室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂。所得残余物经制备 HPLC (色谱柱: Phenomenex luna C18 80 \times 40 mm \times 3 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 12%-32%, 7 min) 分离, 得到目标化合物 **WX014** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 890.5 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄) δ : 8.79 (s, 1H), 8.29 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.19 (dd, $J=1.2$ Hz, 6.8 Hz, 1H), 7.97 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.79-7.69 (m, 3H), 7.45 (dd, $J=1.2$ Hz, 6.8 Hz, 1H), 6.94 (t, $J=54.6$ Hz, 1H), 5.00 (dd, $J=5.0$ Hz, 10.2 Hz, 1H), 4.30-4.23 (m, 1H), 4.21 (s, 2H), 3.86-3.54 (m, 8H), 3.20 (d, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.94-2.63 (m, 4H), 2.58-2.47 (m, 1H), 2.22 (d, $J=11.6$ Hz, 2H), 2.11 (d, $J=12.0$ Hz, 2H), 2.05-1.88 (m, 3H), 1.42-1.30 (m, 2H), 1.27-1.16 (m, 1H), 0.75-0.68 (m, 2H), 0.45-0.38 (m, 2H)。

实施例 15



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX015-1** 的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **WX001-1** (93.09 mg, 331.57 μmol) 溶于 N, N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中, 加入 N, N-二异丙基乙胺 (194.78 mg, 1.51 mmol) 和 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N, N, N', N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (171.92 mg, 452.14 μmol), 反应混合物室温下搅拌反应 0.5 小时, 加入化合物 **BB-14** 的盐酸盐 (0.1 g, 301.43 μmol), 继续反应 1.5 小时。反应完毕后, 加入水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (4 \times 20 mL) 萃取。合并有机相, 用 10%食盐水 (2 \times 30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX015-1**。MS-ESI m/z : 522.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 化合物 **WX015-2** 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **WX015-1** (155 mg, 297.18 μmol) 溶于二氯甲烷 (3 mL) 中, 加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (4M, 5 mL), 反应混合物室温下搅拌反应 12 小时, 然后升温至 40 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX015-2** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 422.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

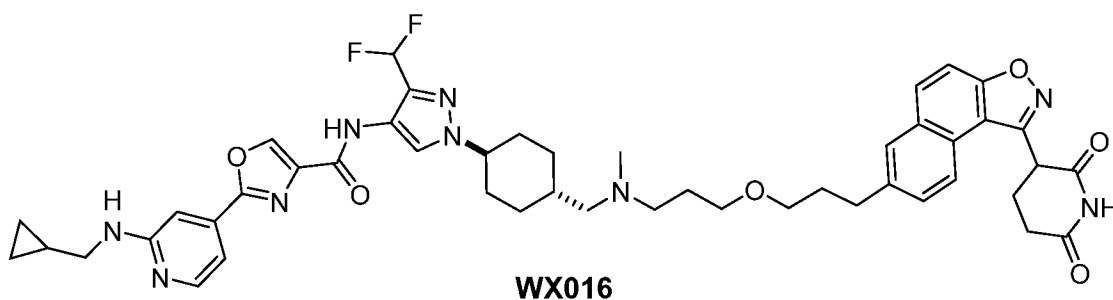
步骤 3: 化合物 **WX015-3** 的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **BB-2** (0.1, 171.05 μmol) 和化合物 **WX015-2** 的盐酸盐 (78.33 mg, 171.05 μmol) 溶于 N, N-二甲基甲酰胺 (3 mL) 中, 加入醋酸钾 (50.36 mg, 513.15 μmol) 和醋酸 (5.14 mg, 85.53 μmol), 反应混合物室温下搅拌反应 2 小时, 加入三乙酰氧基硼氢化钠 (145.01 mg, 684.20 μmol), 继续反应 10 小时。反应完毕后, 加入饱和氯化铵溶液 (20 mL), 用乙酸乙酯 (4 \times 20 mL) 萃取。合并有机相, 用 10% 食盐水 (2 \times 30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX015-3**。MS-ESI m/z : 990.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

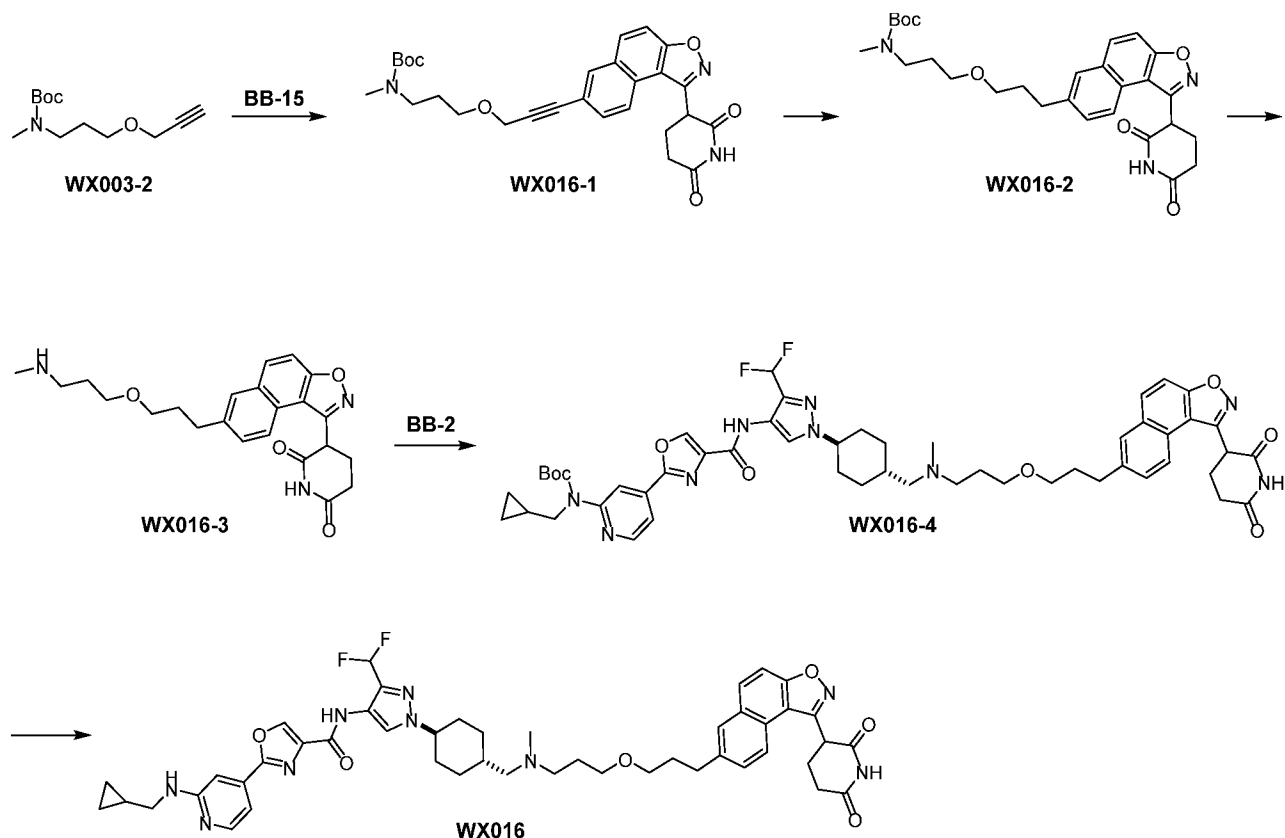
步骤 4: 化合物 **WX015** 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **WX015-3** (160 mg, 161.61 μmol) 溶于二氯甲烷 (6 mL) 和三氟乙酸 (6 mL) 中, 反应混合物室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 所得残余物经制备 HPLC (色谱柱: Phenomenex luna C18 80 \times 40 mm \times 3 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 14%-34%, 7 min) 分离, 得到目标化合物 **WX015** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 890.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400 MHz, MeOD- d_4) δ : 8.79 (s, 1H), 8.42 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.19 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.88 (dd, $J=2.0$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 7.77 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.43 (dd, $J=1.6$ Hz, 6.8 Hz, 1H), 6.93 (t, $J=54.4$ Hz, 1H), 4.95 (dd, $J=5.0$ Hz, 10.2 Hz, 1H), 4.32-4.19 (m, 1H), 4.05 (s, 2H), 3.88-3.49 (m, 8H), 3.29 (s, 1H), 3.21 (d, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.95-2.74 (m, 2H), 2.73-2.61 (m, 1H), 2.58-2.45 (m, 1H), 2.22 (d, $J=10.4$ Hz, 2H), 2.12 (d, $J=12.8$ Hz, 2H), 2.07-1.70 (m, 4H), 1.45-1.30 (m, 2H), 1.29-1.17 (m, 1H), 0.75-0.67 (m, 2H), 0.44-0.37 (m, 2H)。

实施例 16



合成路线:



步骤 1: 化合物 WX016-1 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **BB-15** (0.2 g, 556.83 μmol) 和化合物 **WX003-2** (164.54 mg, 723.88 μmol) 溶于二甲基亚砜 (5 mL) 中，加入二氯双(三苯基膦)钯 (78.17 mg, 111.37 μmol)，碘化亚铜 (21.21 mg, 111.37 μmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (143.93 mg, 1.11 mmol)，反应混合物升温至 85°C 搅拌反应 2 小时。反应完毕后，冷却至室温，加入水 (30 mL)，用乙酸乙酯 (3 \times 30 mL) 萃取。合并有机相，用 10% 食盐水 (3 \times 40 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂：石油醚/乙酸乙酯=3/1-1/1，体积比)，得到化合物 **WX016-1**。MS-ESI m/z : 406.2 [M+H-100]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.18 (s, 1H), 8.13 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 7.97 (t, $J=9.2$ Hz, 2H), 7.75 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J=1.6$ Hz, 8.4 Hz, 1H), 4.72 (dd, $J=5.2$ Hz, 8.4 Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.65 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.35 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 2.89 (s, 3H), 2.84-2.68 (m, 3H), 2.65-2.53 (m, 1H), 1.93-1.85 (m, 2H), 1.47 (s, 9H).

步骤 2: 化合物 WX016-2 的合成

室温下，将湿钯碳 (20 mg, 纯度: 10%) 和氢氧化钯/碳 (20 mg, 纯度: 20%) 溶于四氢呋喃 (3 mL) 中，加入化合物 **WX016-1** (0.1 g, 197.80 μmol) 和三乙胺 (20.02 mg, 197.80 μmol)，反应混合物在室温和氢气环境下 (15 psi) 搅拌反应 12 小时。反应完毕后，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物通过层析板分离 (展开剂：石油醚/乙酸乙酯=1/1) 纯化，得到化合物 **WX016-2**。MS-ESI m/z : 410.2 [M+H-100]⁺. ¹H NMR

(400 MHz, CDCl₃) δ : 8.20 (s, 1H), 7.96 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.70 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J=1.6$ Hz, 8.4 Hz, 1H), 4.75 (dd, $J=4.8$ Hz, 8.4 Hz, 1H), 3.51-3.41 (m, 4H), 3.36-3.26 (m, 2H), 2.96-2.88 (m, 3H), 2.87 (s, 3H), 2.83-2.66 (m, 2H), 2.63-2.51 (m, 1H), 2.04-1.94 (m, 2H), 1.87-1.77 (m, 2H), 1.46 (s, 9H).

步骤 3: 化合物 **WX016-3** 的三氟乙酸盐的合成

室温下, 将化合物 **WX016-2** (70 mg, 137.36 μ mol) 溶于二氯甲烷 (3 mL) 和三氟乙酸 (0.5 mL) 中, 反应混合物室温下搅拌反应 40 分钟。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX016-3** 的三氟乙酸盐。

MS-ESI m/z : 410.2 [M+H]⁺.

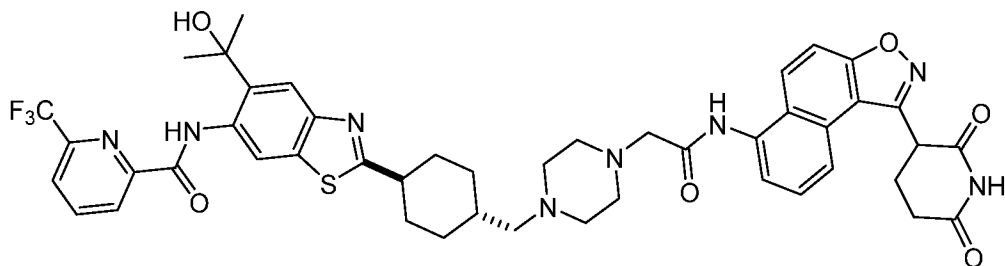
步骤 4: 化合物 **WX016-4** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-2** (70 mg, 119.74 μ mol) 和化合物 **WX016-3** 的三氟乙酸盐 (68.95 mg, 131.71 μ mol) 溶于 N, N-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 加入醋酸钾 (35.25 mg, 359.21 μ mol) 和醋酸 (3.60 mg, 59.87 μ mol), 反应混合物室温下搅拌反应 2 小时, 加入三乙酰氧基硼氢化钠 (101.51 mg, 478.95 μ mol, 4 eq), 继续搅拌反应 10 小时。反应完毕后, 加入饱和氯化铵溶液 (20 mL), 用乙酸乙酯 (2 \times 20 mL) 萃取。合并有机相, 用 10%食盐水 (2 \times 30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX016-4**。MS-ESI m/z : 978.4 [M+H]⁺.

步骤 5: 化合物 **WX016** 的盐酸盐的合成

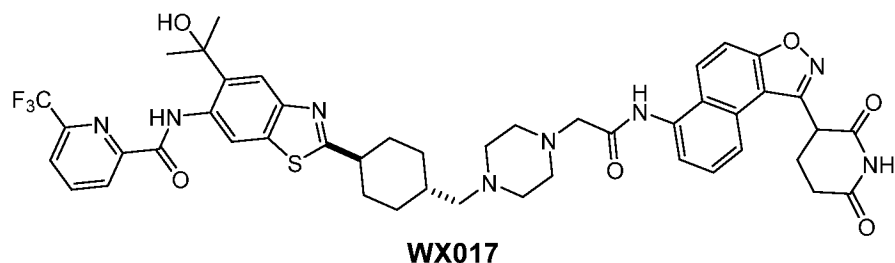
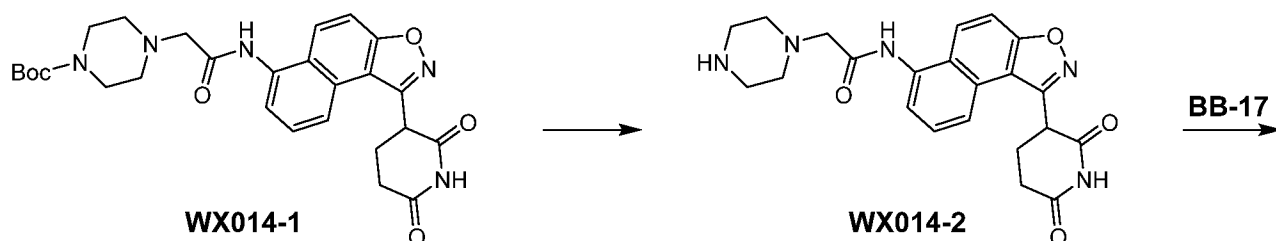
室温和氮气保护下, 将化合物 **WX016-4** (110 mg, 112.46 μ mol) 溶于二氯甲烷 (4 mL) 和三氟乙酸 (4 mL) 中, 反应混合物室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂。所得残余物经制备 HPLC (色谱柱: Phenomenex luna C18 80 \times 40 mm \times 3 μ m; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 13%-30%, 7 min) 纯化, 得到目标化合物 **WX016** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 878.5 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄) δ : 8.77 (s, 1H), 8.13 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.11 (s, 1H), 8.02 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.99-7.95 (m, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.75-7.68 (m, 2H), 7.61 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.46-7.42 (m, 1H), 6.89 (t, $J=54.4$ Hz, 1H), 4.93 (dd, $J=5.2$ Hz, 10.4 Hz, 1H), 4.21-4.09 (m, 1H), 3.62-3.53 (m, 3H), 3.17-3.02 (m, 2H), 2.93 (t, $J=7.4$ Hz, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.85-2.72 (m, 2H), 2.70-2.58 (m, 1H), 2.57-2.43 (m, 1H), 2.23-1.76 (m, 13H), 1.34-1.14 (m, 4H), 0.74-0.68 (m, 2H), 0.44-0.39 (m, 2H).

实施例 17



WX017

合成路线:



WX017

步骤1: 化合物WX014-2的三氟乙酸盐的合成

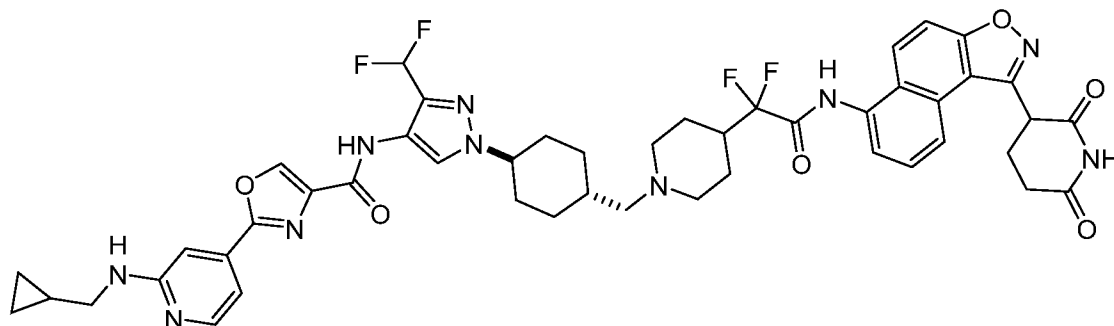
室温和氮气保护下, 将化合物WX014-1 (100 mg, 191.73 μmol) 溶于二氯甲烷 (1 mL) 中, 随后加入三氟乙酸 (308.00 mg, 2.70 mmol, 0.2 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应12小时。反应完毕后, 反应液减压浓缩得到化合物WX014-2的三氟乙酸盐。MS-ESI m/z : 422.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤2: 化合物WX017的甲酸盐的合成

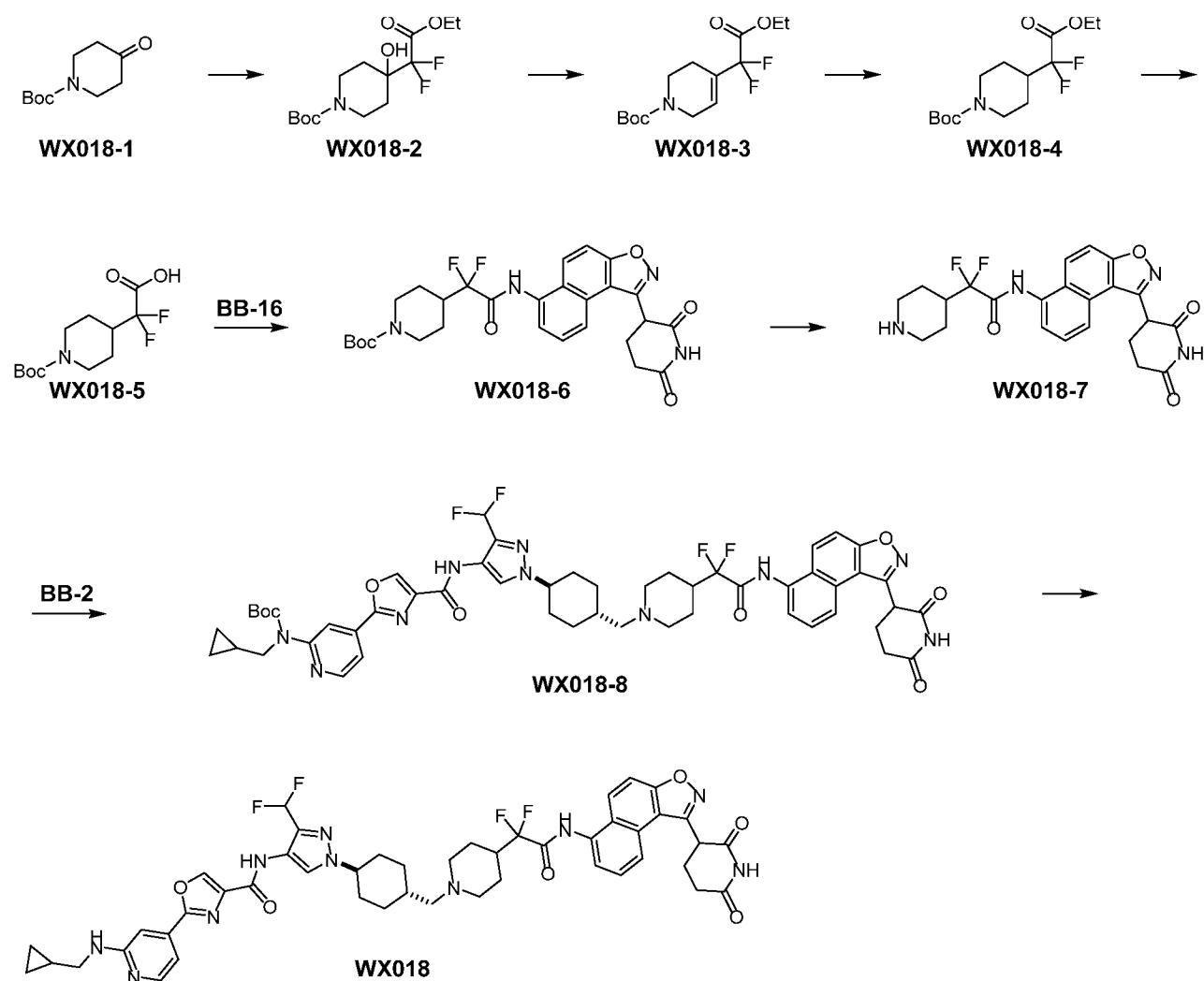
室温和氮气保护下, 将化合物WX014-2的三氟乙酸盐 (100 mg, 186.75 μmol) 溶于乙腈 (2 mL) 中, 随后加入N,N-二异丙基乙胺 (120.68 mg, 933.76 μmol , 162.64 μL) 和化合物BB-17 (112 mg, 167.01 μmol , 纯度: 89.98%), 反应混合物升温至90°C并搅拌反应12小时。反应完毕后, 反应液减压浓缩除去溶剂。残余物经制备HPLC分离 (色谱柱: Phenomenex Luna C18 75*30 mm*3 μm ; 流动相: 水(0.2%甲酸)-乙腈; 乙腈%: 30%-60%, 8 min), 得到目标化合物WX017的甲酸盐。MS-ESI m/z : 897.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.55 (s, 1H), 11.14 (s, 1H), 10.13 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.46 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.38 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.23-8.16 (m, 2H), 8.15-8.08 (m, 1H), 8.01 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.79 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.08 (s, 1H), 5.09 (dd, $J=4.8$ Hz, 11.6 Hz, 1H), 3.30-3.23 (m, 2H), 3.13-3.02 (m, 1H), 2.92-2.79 (m, 1H), 2.78-2.51

(m, 10H), 2.45-2.34 (m, 2H), 2.32-2.25 (m, 1H), 2.19 (d, $J=10.8$ Hz, 2H), 1.94 (d, $J=10.8$ Hz, 2H), 1.70-1.55 (m, 9H), 1.18-1.02 (m, 2H).

实施例 18



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX018-2** 的合成

室温和氮气保护下，将二氯二茂钛 (1.30 g, 5.02 mmol) 和锌粉 (13.31 g, 203.55 mmol) 加入到干燥的反应瓶中，加入四氢呋喃 (100 mL) 溶解，滴加二氟溴乙酸乙酯 (20.37 g, 100.38 mmol, 12.90 mL) 的四氢呋喃 (20 mL) 溶液 (先滴加 1/10 的溶液，反应引发后 (明显升温) 再滴加剩余的溶液)。滴加完毕后，继续搅拌 0.5 小时，过滤，滤液加入到化合物 **WX018-1** (10 g, 50.19 mmol) 的四氢呋喃 (50 mL) 溶液中，搅拌反应 12 小时。反应完毕后，滴加 1 M 盐酸调节 pH=3，加入水 (100 mL)，用乙酸乙酯 (100 mL×3) 萃取，有机相用饱和食盐水 (50 mL×3) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩。所得残余物经过柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=0/1-1/0, 体积比)，得到化合物 **WX018-2**。MS-ESI m/z : 268.0 [M+H-56]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.37 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 4.20-3.92 (m, 2H), 3.17-2.94 (m, 2H), 2.33 (s, 1H), 1.87-1.74 (m, 2H), 1.72-1.65 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.38 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

步骤 2: 化合物 **WX018-3** 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **WX018-2** (1 g, 3.09 mmol)，氯化亚砷 (2.21 g, 18.56 mmol) 和吡啶 (1.47 g, 18.56 mmol) 加入二氧六环 (15 mL) 中，反应混合物在室温下搅拌 1.5 小时，然后加入 4-二甲氨基吡啶 (37.78 mg, 309.28 μ mol)，继续搅拌反应 12 小时。反应完毕后，向反应液中加入水 (20 mL)，用乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取，有机相用饱和食盐水 (20 mL×3) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=20/1-9/1, 体积比)，得到化合物 **WX018-3**。MS-ESI m/z : 206.2 [M+H-100]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.18 (s, 1H), 4.34 (q, $J=7.0$ Hz, 2H), 4.02 (d, $J=2.0$ Hz, 2H), 3.54 (t, $J=5.6$ Hz, 2H), 2.25 (s, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.36 (t, $J=7.2$ Hz, 3H)

步骤 3: 化合物 **WX018-4** 的合成

室温和氮气保护下，将湿氢氧化钾 (0.5 g, 712.07 μ mol, 纯度: 20%) 加入氢化瓶中，然后加入甲醇 (20 mL) 和化合物 **WX018-3** (1.5 g, 4.91 mmol)，氢气置换三次，反应混合物在室温和 40 psi 下搅拌反应 12 小时。反应完毕后，过滤，用甲醇 (50 mL×4) 淋洗滤饼，收集滤液，滤液减压浓缩除去残余溶剂。所得残余物经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=20/1-10/1, 体积比)，得到化合物 **WX018-4**。MS-ESI m/z : 252.2 [M+H-56]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.35 (q, $J=7.0$ Hz, 2H), 4.30-4.15 (m, 2H), 2.68 (t, $J=12.8$ Hz, 2H), 2.32-2.14 (m, 1H), 1.73 (d, $J=12.8$ Hz, 2H), 1.49 (d, $J=4.8$ Hz, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.43 (d, $J=4.4$ Hz, 1H), 1.37 (t, $J=7.0$ Hz, 3H).

步骤 4: 化合物 **WX018-5** 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **WX018-4** (0.26 g, 845.99 μ mol) 溶于乙醇 (5 mL) 和水 (2 mL) 的混合溶剂中，加入一水合氢氧化锂 (71.00 mg, 1.69 mmol)，反应混合物室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后，减压浓缩，残余物用 1 M 盐酸调节 pH=2-3，有固体析出，过滤，收集滤饼，真空干燥得到化合物 **WX018-**

5. MS-ESI m/z : 224.0 $[M+H-56]^+$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.05-3.94 (m, 2H), 2.80-2.63 (m, 2H), 2.37-2.21 (m, 1H), 1.71-1.61 (m, 2H), 1.39 (s, 9H), 1.27-1.12 (m, 2H).

步骤 5: 化合物 **WX018-6** 的合成

室温和氮气保护下,将化合物 **WX018-5** (101.02 mg, 361.71 μ mol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (3 mL) 中, 加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (229.22 mg, 602.86 μ mol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (233.74 mg, 1.81 mmol, 315.01 μ L), 反应混合物搅拌 0.5 小时, 加入化合物 **BB-16** 的盐酸盐 (0.1 g, 301.43 μ mol), 反应混合物继续搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 向反应液中加入水 (20 mL), 有固体析出, 过滤, 收集固体, 真空干燥得到化合物 **WX018-6**。MS-ESI m/z : 457.1 $[M+H-100]^+$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.15 (s, 1H), 11.02 (s, 1H), 8.31-8.18 (m, 1H), 8.05 (q, $J=9.2$ Hz, 2H), 7.83-7.71 (m, 1H), 7.58 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.18-5.04 (m, 1H), 4.15-4.04 (m, 2H), 2.90-2.80 (m, 2H), 2.74-2.61 (m, 4H), 2.44-2.34 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.18-1.10 (m, 3H).

步骤 6: 化合物 **WX018-7** 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **WX018-6** (110 mg, 197.64 μ mol) 溶于乙酸乙酯 (2 mL) 中, 加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (3 mL, 4 M), 反应混合物搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 过滤, 用乙酸乙酯 (5 mL \times 3) 淋洗滤饼, 收集滤饼, 真空干燥得到化合物 **WX018-7** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 457.2 $[M+H]^+$.

步骤 7: 化合物 **WX018-8** 的合成

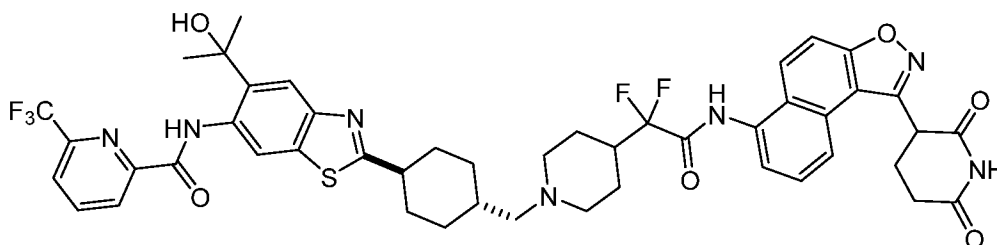
室温和氮气保护下,将化合物 **WX018-7** 的盐酸盐 (97 mg, 196.79 μ mol) 溶于四氢呋喃 (5 mL) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 中, 加入化合物 **BB-2** (115.05 mg, 196.79 μ mol), 乙酸钾 (57.94 mg, 590.38 μ mol) 和冰乙酸 (5.91 mg, 98.40 μ mol, 5.63 μ L), 反应混合物搅拌 2 小时, 然后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (166.83 mg, 787.17 μ mol), 反应混合物继续搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 向反应液中加入饱和氯化铵水溶液 (20 mL), 用乙酸乙酯 (30 mL \times 3) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (30 mL \times 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去溶剂得到化合物 **WX018-8**。MS-ESI m/z : 1025.4 $[M+H]^+$.

步骤 8: 化合物 **WX018** 的盐酸盐的合成

室温下, 将化合物 **WX018-8** (0.2 g, 195.11 μ mol) 溶于乙酸乙酯 (2 mL) 中, 加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (4.98 mL, 4 M), 反应混合物搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 过滤, 用乙酸乙酯 (5 mL \times 3) 淋洗滤饼, 收集滤饼。滤饼经制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex Luna 80 \times 30 mm \times 3 μ m; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 10%-30%, 8 min), 得到目标化合物 **WX018** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 925.5 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, MeOD- d_4) δ : 8.80 (s, 1H), 8.30-8.23 (m, 2H), 8.15 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 7.78 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.72-7.68 (m, 1H), 7.68-7.61 (m, 1H), 7.45 (dd, $J=1.6$ Hz, 6.8 Hz, 1H), 6.94 (t, $J=54.6$

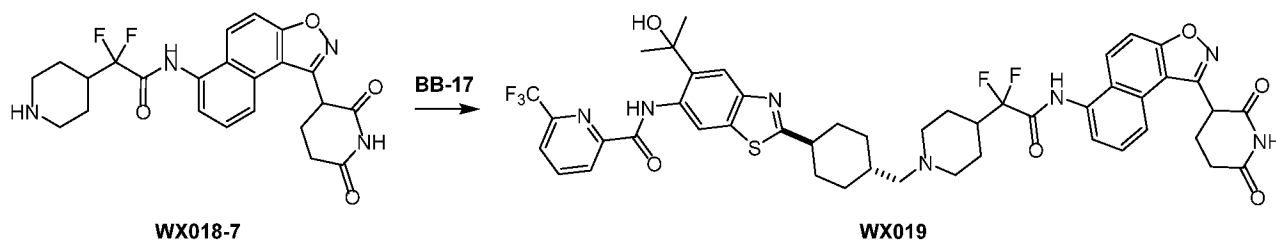
Hz, 1H), 5.01 (dd, $J=5.0$ Hz, 10.2 Hz, 1H), 4.32-4.19 (m, 1H), 3.79 (d, $J=12.0$ Hz, 2H), 3.30-3.27 (m, 1H), 3.24-3.00 (m, 4H), 2.97-2.63 (m, 4H), 2.59-2.46 (m, 1H), 2.34-2.15 (m, 4H), 2.14-1.90 (m, 7H), 1.42-1.27 (m, 3H), 1.26-1.17 (m, 1H), 0.75-0.66 (m, 2H), 0.45-0.36 (m, 2H).

实施例 19



WX019

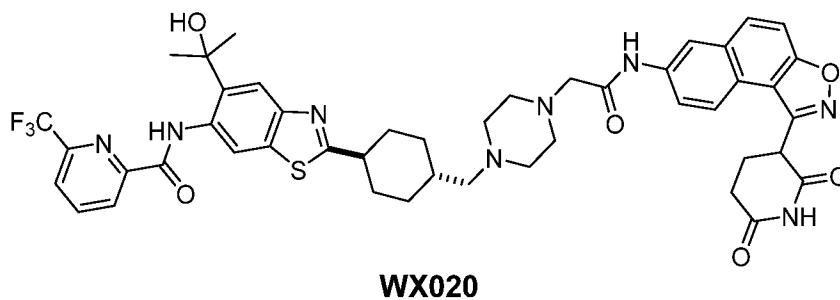
合成路线:



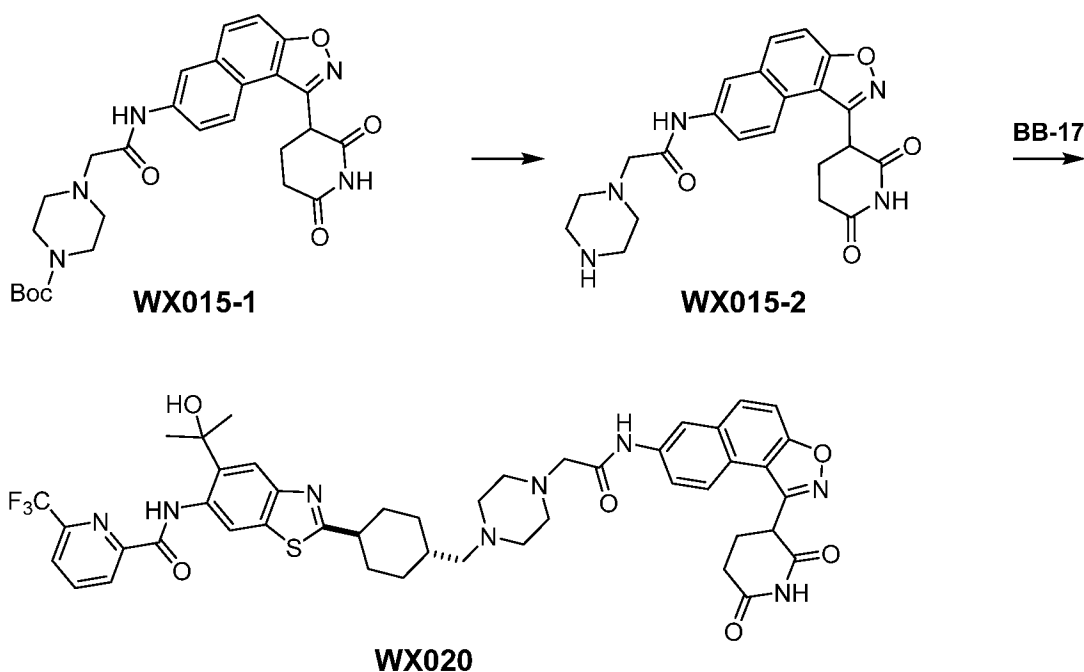
化合物 **WX019** 的甲酸盐的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-17** (0.1 g, 165.72 μmol) 和化合物 **WX018-7** 的三氟乙酸盐 (0.15 g, 262.94 μmol) 溶于乙腈 (3 mL) 中, 加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (214.18 mg, 1.66 mmol, 288.65 μL), 反应混合物升温至 90°C 并搅拌反应 14 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex Luna C18 200*40 mm*10 μm ; 流动相: 水(0.2%甲酸)-乙腈; 乙腈%: 20%-50%, 8 min), 得到目标化合物 **WX019** 的甲酸盐。MS-ESI m/z : 932.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.55 (s, 1H), 11.15 (s, 1H), 10.99 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.47 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.38 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 8.27-8.22 (m, 1H), 8.19 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.06 (q, $J=9.6$ Hz, 2H), 7.89 (s, 1H), 7.77 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.07 (s, 1H), 5.11 (dd, $J=4.2$ Hz, 11.4 Hz, 1H), 3.13-2.96 (m, 3H), 2.92-2.80 (m, 1H), 2.71-2.57 (m, 2H), 2.48-2.24 (m, 3H), 2.22-2.12 (m, 4H), 1.99-1.88 (m, 4H), 1.86-1.77 (m, 2H), 1.63 (s, 6H), 1.62-1.51 (m, 4H), 1.18-1.01 (m, 2H).

实施例 20



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX015-2** 三氟乙酸盐的合成

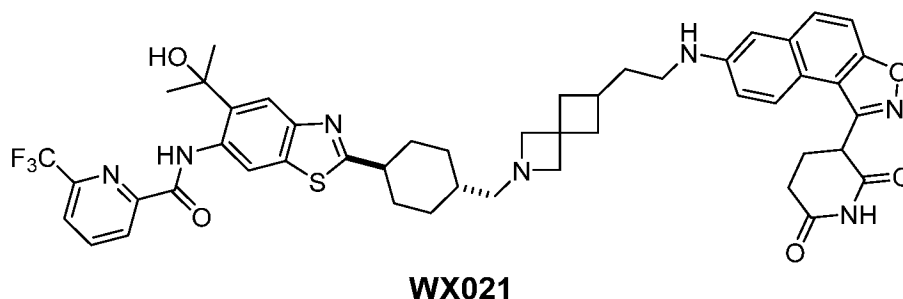
室温和氮气保护下, 将化合物 **WX015-1** (0.1 g, 191.73 μmol) 溶于二氯甲烷 (3 mL) 中, 加入三氟乙酸 (459.10 mg, 4.03 mmol, 298.11 μL), 反应混合物室温下搅拌反应 4 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩, 得到化合物 **WX015-2** 的三氟乙酸盐。MS-ESI m/z : 422.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2: 化合物 **WX020** 的甲酸盐的合成

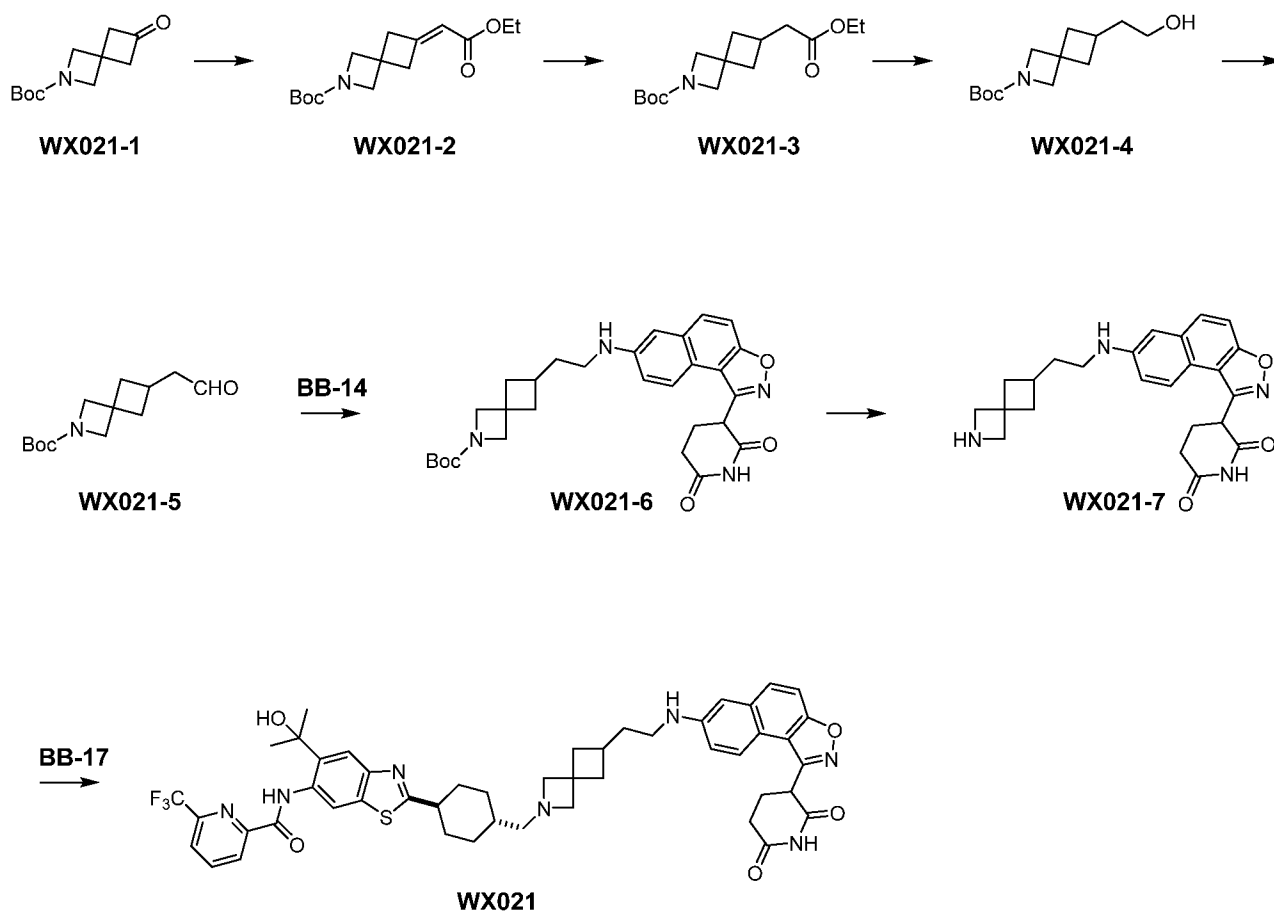
室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-17** (0.075 g, 124.29 μmol) 和化合物 **WX015-2** 的三氟乙酸盐 (0.125 g, 185.93 μmol) 溶于乙腈 (3 mL) 中, 加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (160.63 mg, 1.24 mmol, 216.49 μL), 反应混合物升温至 90°C, 搅拌反应 36 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex Luna C18 75*30 mm*3 μm ; 流动相: 水(0.2%甲酸)-乙腈; 乙腈%: 10%-45%, 8 min), 得到目标化合物 **WX020** 的甲酸盐。MS-ESI m/z : 897.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.54 (s, 1H), 11.13 (s, 1H), 10.01 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.50 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 8.46 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.38 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 8.12 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.95-7.86 (m, 3H), 6.07 (s, 1H), 5.03 (dd, $J=4.6$ Hz, 11.4 Hz,

1H), 3.20 (s, 2H), 3.12-2.99 (m, 1H), 2.91-2.76 (m, 2H), 2.70-2.62 (m, 3H), 2.58-2.53 (m, 4H), 2.43-2.31 (m, 3H), 2.22-2.12 (m, 4H), 1.97-1.85 (m, 2H), 1.72-1.49 (m, 10H), 1.16-0.99 (m, 2H).

实施例 21



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX021-2** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **WX021-1** (30 g, 142.01 mmol) 和乙氧基酰基亚甲基三苯基膦 (54.42 g, 156.21 mmol) 溶于甲苯 (450 mL) 中, 反应混合物升温至 80°C, 搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 冷却至

室温，反应液用水 (3×200 mL) 洗涤，有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得到黄色残余物。残余物经柱层析分离 (洗脱剂：石油醚/乙酸乙酯=1/0-4/1，体积比)，得到化合物 **WX021-2**。MS-ESI m/z : 226.2 [M+H-56]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.67-5.63 (m, 1H), 4.14 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 4.05-3.87 (m, 4H), 3.29 (d, $J=2.4$ Hz, 2H), 3.00 (s, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.27 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

步骤 2: 化合物 **WX021-3** 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **WX021-2** (37 g, 131.51 mmol) 溶于乙醇 (400 mL) 中，加入钯碳 (3.8 g, 纯度: 10%)，氢气置换三次，反应混合物在室温下 25 psi 搅拌反应 12 小时。反应完毕后，过滤，滤饼用乙酸乙酯 (700 mL) 淋洗，滤液减压浓缩得到化合物 **WX021-3**。MS-ESI m/z : 228.2 [M+H-56]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.11 (q, $J=7.0$ Hz, 2H), 3.93 (s, 2H), 3.80 (s, 2H), 2.60-2.45 (m, 1H), 2.40-2.29 (m, 4H), 1.91-1.82 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.24 (t, $J=7.0$ Hz, 3H).

步骤 3: 化合物 **WX021-4** 的合成

室温和氮气保护下，将硼氢化锂 (2.59 g, 118.90 mmol) 溶于四氢呋喃 (100 mL) 中，加入化合物 **WX021-3** (10 g, 35.29 mmol) 的四氢呋喃 (20 mL) 溶液，反应混合物升温至 30°C，缓慢滴加甲醇 (20 mL)，滴加完毕后，反应混合物继续搅拌反应 12 小时。反应完毕后，将反应液倒入水 (300 mL) 中，用乙酸乙酯 (3×300 mL) 萃取，有机相用饱和食盐水 (400 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得到化合物 **WX021-4**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.92 (s, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.57 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.33-2.18 (m, 3H), 1.84-1.75 (m, 2H), 1.63 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 1.43 (s, 9H).

步骤 4: 化合物 **WX021-5** 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **WX021-4** (5.3 g, 21.96 mmol) 溶于二氯甲烷 (70 mL) 中，加入戴斯-马丁过碘烷 (12.11 g, 28.55 mmol)，反应混合物搅拌反应 1.5 小时。反应完毕后，反应液减压浓缩。残余物经柱层析分离 (洗脱剂：石油醚/乙酸乙酯=1/0-4/1，体积比)，得到化合物 **WX021-5**。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.69 (s, 1H), 3.95 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 2.67-2.51 (m, 3H), 2.45-2.32 (m, 2H), 1.92-1.81 (m, 2H), 1.42 (s, 9H).

步骤 5: 化合物 **WX021-6** 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **WX021-5** (0.5 g, 2.09 mmol) 和化合物 **BB-14** 的盐酸盐 (0.6 g, 1.81 mmol) 溶于四氢呋喃 (15 mL) 中，加入醋酸钾 (709.99 mg, 7.23 mmol) 和醋酸 (217.22 mg, 3.62 mmol)，反应混合物搅拌 2 小时，加入三乙酰氧基硼氢化钠 (1.53 g, 7.23 mmol)，继续搅拌 1 小时。反应完毕后，向反应液中加入水 (20 mL)，用乙酸乙酯 (20 mL×4) 萃取。合并有机相，用饱和食盐水 (80 mL×3) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去溶剂。所得残余物经过柱层析分离 (洗脱剂：石油醚/乙酸乙酯=2/1-1/1，

体积比), 得到化合物 **WX021-6**。MS-ESI m/z : 419.2 $[M+H-100]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.18 (s, 1H), 7.80 (d, $J=3.2$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J=3.6$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.03 (dd, $J=2.4$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 7.00 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 4.69 (dd, $J=5.2$ Hz, 8.0 Hz, 1H), 3.95 (s, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.16 (t, $J=7.0$ Hz, 2H), 2.94-2.84 (m, 1H), 2.80-2.63 (m, 2H), 2.58-2.48 (m, 1H), 2.40-2.25 (m, 3H), 1.91-1.83 (m, 2H), 1.77 (q, $J=7.0$ Hz, 2H), 1.44 (s, 9H)。

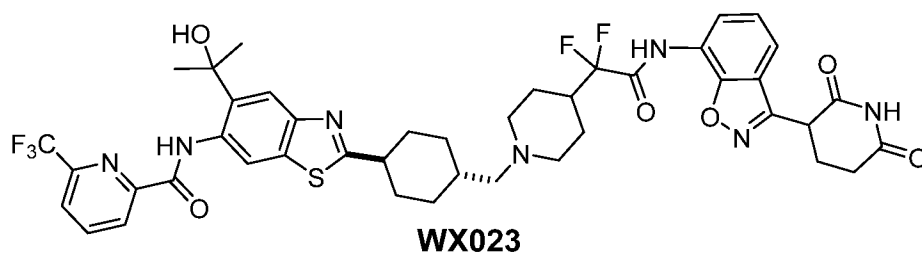
步骤 6: 化合物 **WX021-7** 的三氟乙酸盐的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **WX021-6** (0.18 g, 347.09 μ mol) 溶于二氯甲烷 (6 mL) 中, 加入三氟乙酸 (893.20 mg, 7.83 mmol, 0.58 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 3 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩除去溶剂, 得到化合物 **WX021-7** 的三氟乙酸盐。MS-ESI m/z : 419.1 $[M+H]^+$ 。

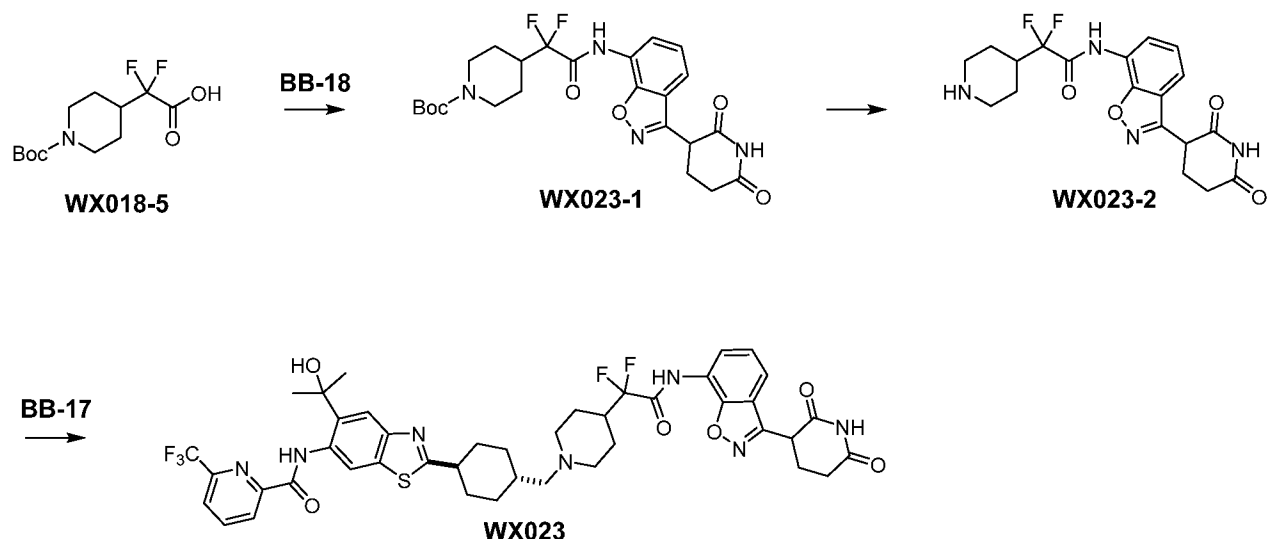
步骤 7: 化合物 **WX021** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-17** (0.1 g, 165.72 μ mol) 和化合物 **WX021-7** 的三氟乙酸盐 (125 mg, 174.84 μ mol) 溶于乙腈 (3 mL) 中, 加入 N,N -二异丙基乙胺 (257.01 mg, 1.99 mmol, 346.38 μ L), 反应混合物升温至 $90^\circ C$, 搅拌反应 30 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩除去溶剂。所得残余物先经过制备 HPLC 分离 (色谱柱: Waters Xbridge BEH C18 100*30 mm*10 μ m; 流动相: 水(10 mM 碳酸氢铵)-乙腈; 乙腈%: 50%-70%, 8 min), 然后再经过薄层层析板分离 (展开剂: 二氯甲烷/甲醇=5/1, 体积比), 得到目标化合物 **WX021**。MS-ESI m/z : 894.4 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 12.54 (s, 1H), 11.11 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.46 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.38 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 8.19 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.94-7.86 (m, 3H), 7.71 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.12 (dd, $J=2.2$ Hz, 9.0 Hz, 1H), 6.99 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.08 (s, 1H), 5.92 (t, $J=5.4$ Hz, 1H), 4.93 (dd, $J=4.8$ Hz, 11.2 Hz, 1H), 3.31-3.21 (m, 4H), 3.07-3.00 (m, 3H), 2.87-2.78 (m, 1H), 2.69-2.52 (m, 3H), 2.42-2.18 (m, 5H), 2.16-2.11 (m, 2H), 1.88-1.81 (m, 3H), 1.73-1.66 (m, 2H), 1.63 (s, 6H), 1.59-1.41 (m, 3H), 1.29-1.20 (m, 1H), 1.18-1.03 (m, 2H)。

实施例 23



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX023-1** 的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **WX018-5** (600 mg, 2.15 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (6 mL) 中, 加入 N,N-二异丙基乙胺 (1.11 g, 8.59 mmol, 1.50 mL) 和 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N,N-四甲基脲六氟磷酸酯 (1.09 g, 2.86 mmol), 反应混合物搅拌 0.5 小时, 加入化合物 **BB-18** 的盐酸盐 (403.46 mg, 1.43 mmol), 继续搅拌 12 小时。反应完毕后, 向反应溶液中加入乙酸乙酯 (30 mL) 和 10% 食盐水 (15 mL), 分离有机相, 水相用乙酸乙酯 (20 mL) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。粗品通过柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-0/1, 体积比), 得化合物 **WX023-1**。MS-ESI m/z : 451.2 $[M+H-56]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.13 (s, 1H), 10.99 (s, 1H), 7.80 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.42 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 4.65 (dd, $J=5.2$ Hz, 12.0 Hz, 1H), 4.13-4.02 (m, 2H), 2.84-2.75 (m, 3H), 2.68-2.54 (m, 2H), 2.28-2.18 (m, 1H), 1.89-1.75 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.38-1.22 (m, 3H)。

步骤 2: 化合物 **WX023-2** 三氟乙酸盐的合成

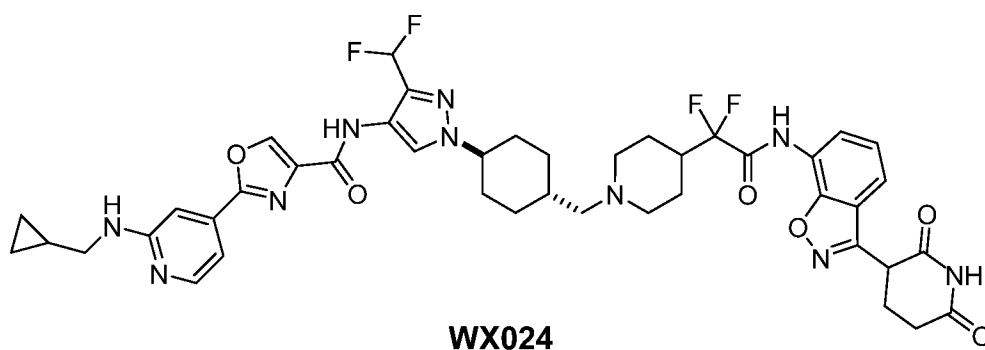
室温 and 氮气保护下, 将化合物 **WX023-1** (600 mg, 1.18 mmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 中, 加入三氟乙酸 (1.85 g, 16.21 mmol, 1.20 mL), 反应混合物在室温下搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩得到化合物 **WX023-2** 的三氟乙酸盐。MS-ESI m/z : 407.1 $[M+H]^+$ 。

步骤 3: 化合物 **WX023** 的甲酸盐的合成

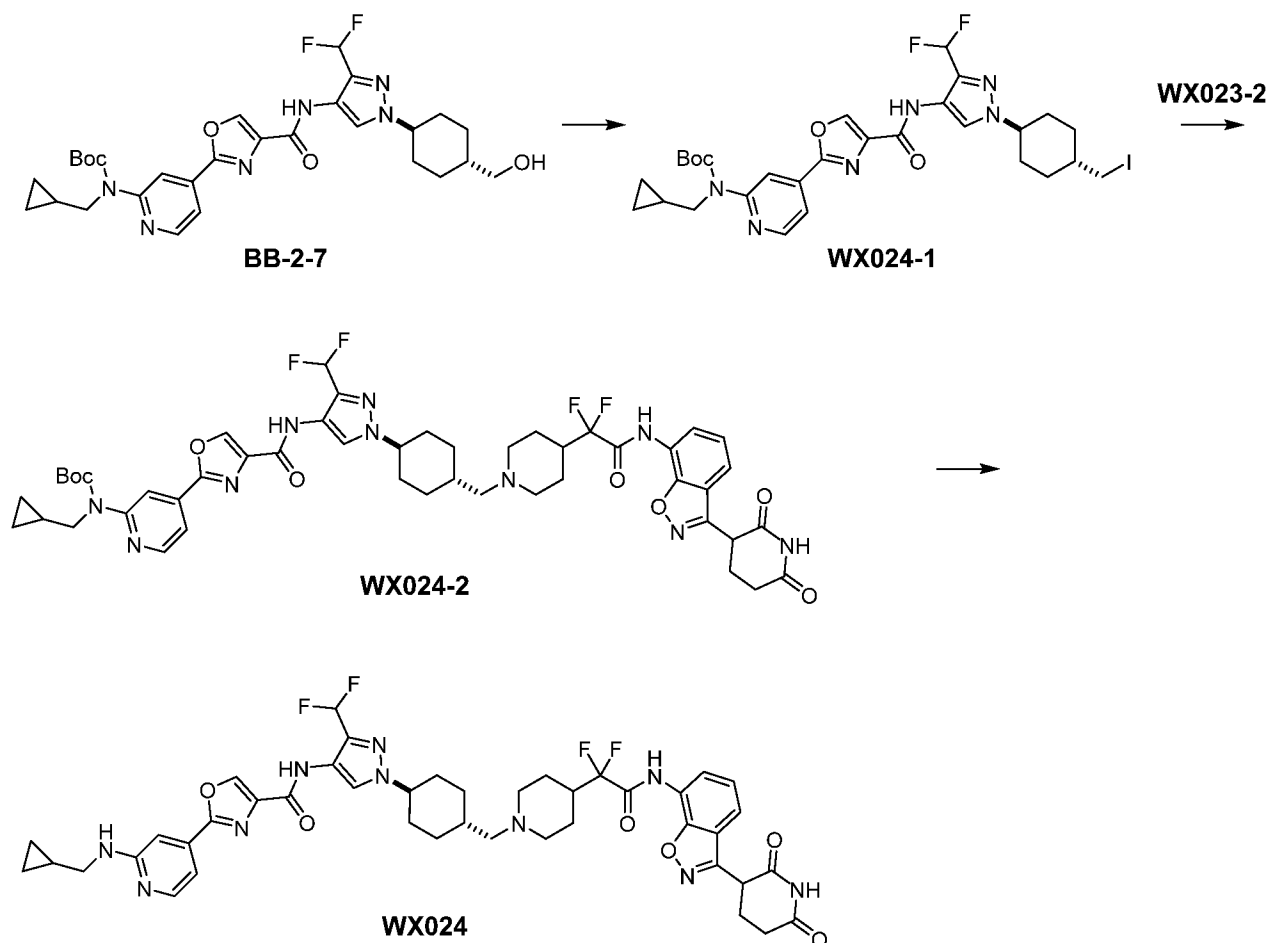
室温 and 氮气保护下, 将化合物 **BB-17** (150 mg, 248.58 μ mol) 加入到乙腈 (2 mL) 中, 加入 N,N-二异丙基乙胺 (149.01 mg, 1.15 mmol), 搅拌反应 10 分钟, 加入化合物 **WX023-2** 的三氟乙酸盐 (200 mg, 384.32 μ mol), 反应混合物升温至 85°C, 搅拌反应 6 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩得到粗品。粗品经制

备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex Luna C18 75*30 mm*3 μm ; 流动相: 水(0.2%甲酸)-乙腈; 乙腈%: 20%-50%, 8 min), 得到目标化合物 **WX023** 的甲酸盐。MS-ESI m/z : 882.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.56 (s, 1H), 11.13 (s, 1H), 11.00 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.47 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.39 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 8.19 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.80 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.42 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.08 (s, 1H), 4.65 (dd, $J=5.2$ Hz, 12.0 Hz, 1H), 3.19-3.00 (m, 3H), 2.87-2.72 (m, 1H), 2.68-2.53 (m, 2H), 2.41-2.28 (m, 3H), 2.27-2.07 (m, 5H), 1.93 (d, $J=11.6$ Hz, 2H), 1.84 (d, $J=11.6$ Hz, 2H), 1.76-1.51 (m, 11H), 1.18-1.03 (m, 2H).

实施例 24



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX024-1** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **BB-2-7** (2 g, 3.41 mmol) 溶于二氯甲烷 (40 mL) 中, 加入三苯基膦 (1.07 g, 4.09 mmol) 和咪唑 (348.15 mg, 5.11 mmol), 冰浴冷却至 0°C, 加入单质碘 (1.12 g, 4.43 mmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 12 小时。反应完毕后, 将反应液倒入饱和亚硫酸钠水溶液 (50 mL) 中, 用二氯甲烷 (80 mL×3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (50 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩除去残余溶剂。所得残余物经过柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=5/1-3/1, 体积比), 得到化合物 **WX024-1**。MS-ESI m/z : 697.0 $[M+H]^+$ 。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.07 (s, 1H), 8.52 (d, $J=4.8$ Hz, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.64 (dd, $J=1.2$ Hz, 5.2 Hz, 1H), 6.83 (t, $J=54.8$ Hz, 1H), 4.16-4.03 (m, 1H), 3.95 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.17 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.28-2.18 (m, 2H), 2.15-2.07 (m, 2H), 1.93-1.80 (m, 2H), 1.60-1.54 (m, 10H), 1.32-1.17 (m, 3H), 0.48-0.40 (m, 2H), 0.31-0.25 (m, 2H)。

步骤 2: 化合物 **WX024-2** 的合成

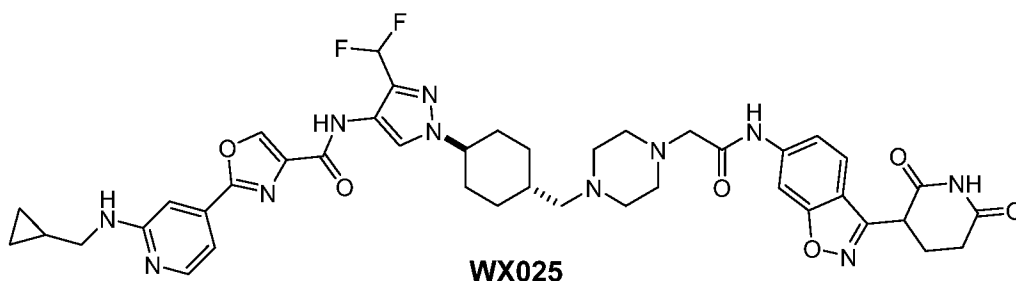
室温和氮气保护下, 将化合物 **WX024-1** (196.30 mg, 281.83 μ mol) 加入到乙腈 (2 mL) 中, 加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (218.54 mg, 1.69 mmol), 搅拌反应 10 分钟, 然后加入化合物 **WX023-2** 的三氟乙酸盐 (220 mg, 422.75 μ mol), 反应混合物升温至 85°C, 搅拌反应 6 小时。反应完毕后, 将反应液冷却至室温, 加入乙

酸乙酯 (20 mL) 和水 (10 mL), 分离有机相, 水相用乙酸乙酯 (15 mL×2) 萃取, 合并有机相, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到化合物 **WX024-2**。MS-ESI m/z : 975.3 [M+H]⁺。

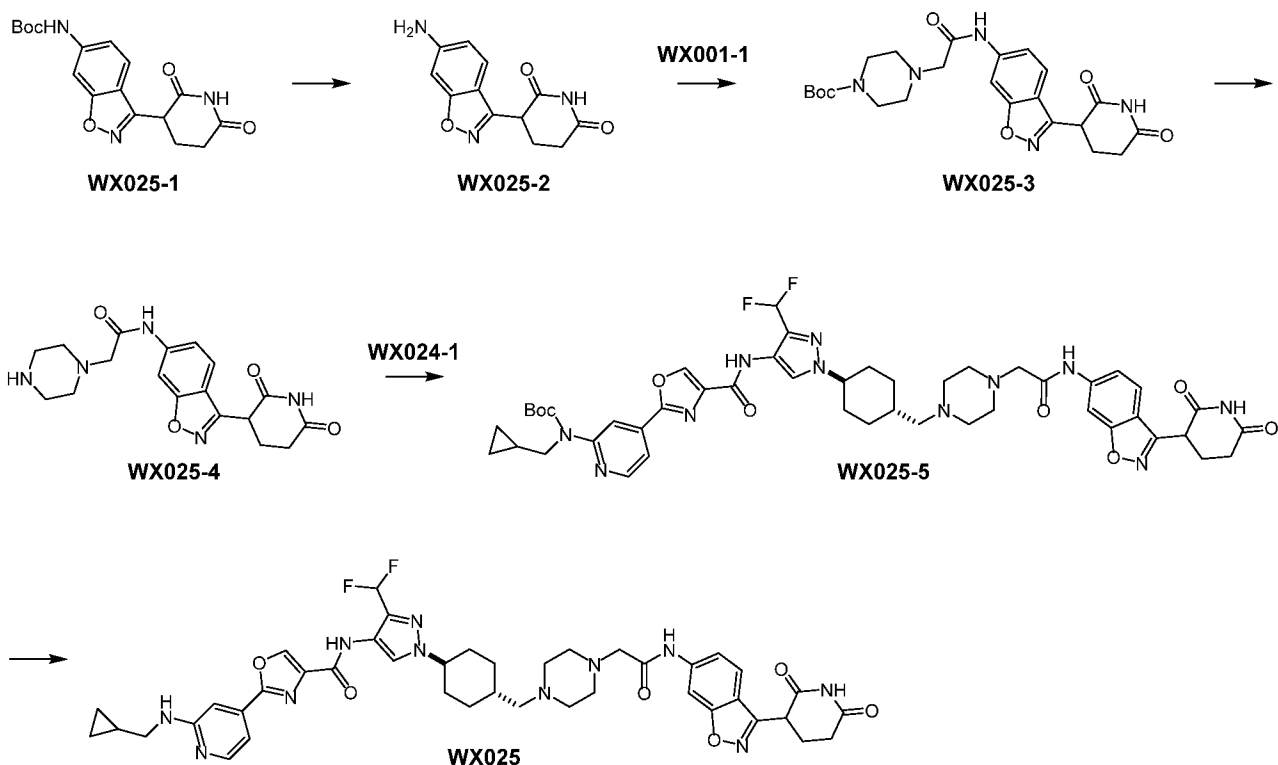
步骤 3: 化合物 **WX024** 的甲酸盐的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **WX024-2** (270 mg, 276.92 μ mol) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 中, 加入三氟乙酸 (770.00 mg, 6.75 mmol, 0.5 mL), 搅拌反应 5 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩得到粗品。粗品经制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex Luna C18 75*30 mm*3 μ m; 流动相: 水(0.2%甲酸)-乙腈; 乙腈%: 1%-30%, 8 min), 得到目标化合物 **WX024** 的甲酸盐。MS-ESI m/z : 875.5 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.12 (s, 1H), 10.97 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.20-8.12 (m, 2H), 7.79 (d, J =8.0 Hz, 1H), 7.61 (d, J =7.6 Hz, 1H), 7.41 (t, J =7.8 Hz, 1H), 7.32-6.99 (m, 4H), 4.64 (dd, J =4.8 Hz, 12.0 Hz, 1H), 4.27-4.14 (m, 1H), 3.18 (t, J =6.2 Hz, 2H), 3.01 (d, J =10.8 Hz, 2H), 2.86-2.73 (m, 1H), 2.66-2.52 (m, 2H), 2.36-2.14 (m, 4H), 2.10-1.87 (m, 6H), 1.85-1.70 (m, 4H), 1.68-1.49 (m, 3H), 1.15-0.99 (m, 3H), 0.50-0.42 (m, 2H), 0.26-0.18 (m, 2H)。

实施例 25



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX025-2** 的盐酸盐的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **WX025-1** (700 mg, 2.03 mmol) 加入到盐酸的乙酸乙酯溶液 (4 M, 10 mL) 中, 搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩得到化合物 **WX025-2** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 246.2 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.04 (s, 1H), 7.47 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.72 (dd, $J=1.4$ Hz, 8.6 Hz, 1H), 4.41 (dd, $J=5.0$ Hz, 11.4 Hz, 1H), 2.79-2.68 (m, 1H), 2.62-2.54 (m, 1H), 2.47-2.35 (m, 1H), 2.21-2.10 (m, 1H).

步骤 2: 化合物 **WX025-3** 的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **WX001-1** (728.45 mg, 2.98 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL) 中, 然后加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (1.89 g, 4.97 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (1.93 g, 14.91 mmol, 2.60 mL), 搅拌反应 30 分钟, 然后加入化合物 **WX025-2** 的盐酸盐 (0.7 g, 2.48 mmol), 继续搅拌反应 4.5 小时。反应完毕后, 向反应液中加入水 (10 mL) 和乙酸乙酯 (30 mL), 室温下搅拌 15 分钟, 过滤, 收集滤饼; 滤液用乙酸乙酯 (30 mL \times 3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。粗品经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-0/1, 体积比), 所得粗品加入乙酸乙酯 (10 mL), 室温下搅拌 1 小时, 过滤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到化合物 **WX025-3**。MS-ESI m/z : 472.3 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.09 (s, 1H), 10.26 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.77 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.55 (dd, $J=4.6$ Hz, 11.8 Hz, 1H), 3.43-3.35 (m, 4H), 3.24 (s, 2H), 2.82-2.71 (m, 1H), 2.64-2.56 (m, 1H), 2.49-2.42 (m, 5H), 2.27-2.12 (m, 1H), 1.40 (s, 9H).

步骤 3: 化合物 WX025-4 的三氟乙酸盐的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 WX025-3 (400 mg, 848.35 μmol) 溶于二氯甲烷 (4 mL) 中, 加入三氟乙酸 (1.23 g, 10.80 mmol, 0.8 mL), 反应混合物搅拌反应 1 小时。反应完毕后, 将反应液减压浓缩, 得到化合物 WX025-4 的三氟乙酸盐。MS-ESI m/z : 372.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

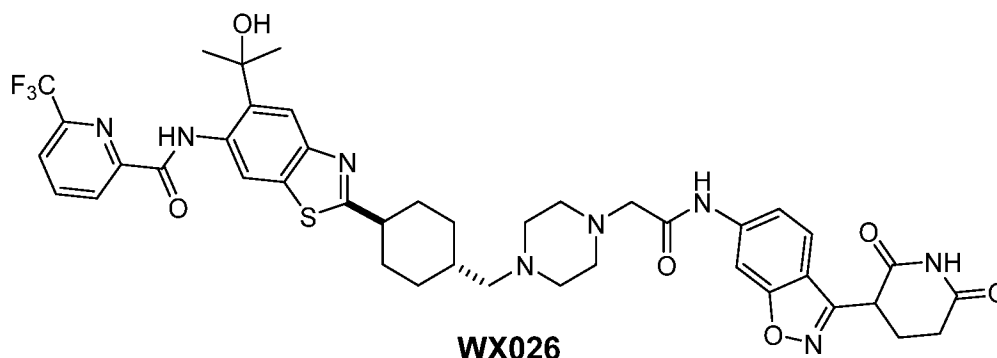
步骤 4: 化合物 WX025-5 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 WX025-4 的三氟乙酸盐 (252.98 mg, 521.16 μmol) 加入乙腈 (7 mL) 中, 加入 N,N-二异丙基乙胺 (367.39 mg, 2.84 mmol), 反应混合物搅拌 10 分钟, 然后加入化合物 WX024-1 (330 mg, 473.78 μmol), 反应混合物升温至 85°C, 搅拌反应 6 小时。反应完毕后, 将反应液冷却至室温, 然后倒入饱和氯化铵水溶液 (10 mL) 中, 用乙酸乙酯 (10 mL \times 3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。粗品经柱层析 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1/0-5/1, 体积比), 得到化合物 WX025-5。MS-ESI m/z : 940.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

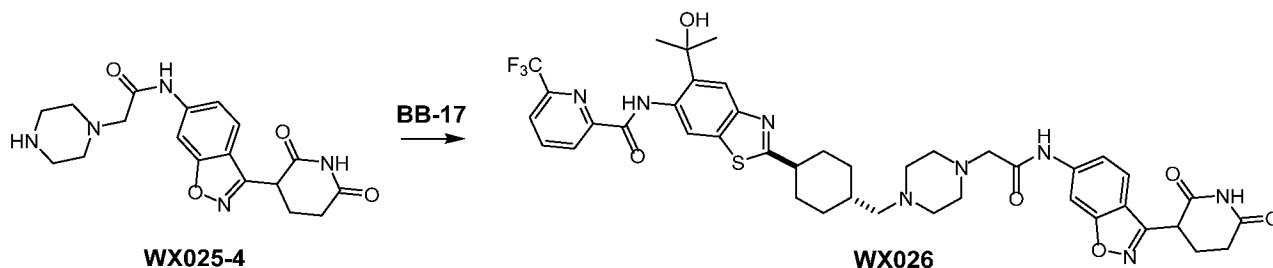
步骤 5: 化合物 WX025 的盐酸盐的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 WX025-5 (300 mg, 319.15 μmol) 溶于乙酸乙酯 (1 mL) 中, 然后加入盐酸的乙酸乙酯溶液 (4 M, 3.00 mL), 反应混合物搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 将反应溶液过滤, 用乙酸乙酯 (2 mL \times 2) 淋洗, 收集滤饼得到粗品。向粗品中加入乙腈 (1 mL) 和水 (1 mL) 的混合溶液, 室温下搅拌 0.5 小时, 过滤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到目标化合物 WX025 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 840.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。
 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 11.11 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 9.13 (s, 1H), 8.23 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.09 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.51 (dd, $J=1.2$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 7.36-7.05 (m, 2H), 4.58 (dd, $J=4.8$ Hz, 12.0 Hz, 1H), 4.34-4.22 (m, 1H), 3.99-3.84 (m, 2H), 3.78-3.70 (m, 2H), 3.47-3.37 (m, 4H), 3.36-3.28 (m, 4H), 3.12-2.98 (m, 2H), 2.87-2.73 (m, 1H), 2.66-2.58 (m, 1H), 2.26-2.17 (m, 1H), 2.13-2.01 (m, 4H), 1.98-1.88 (m, 1H), 1.87-1.75 (m, 2H), 1.32-1.09 (m, 3H), 0.61-0.54 (m, 2H), 0.37-0.31 (m, 2H)。

实施例 26



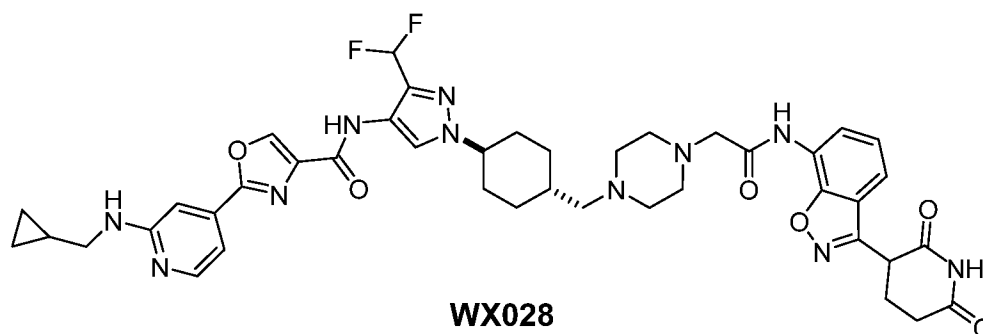
合成路线:



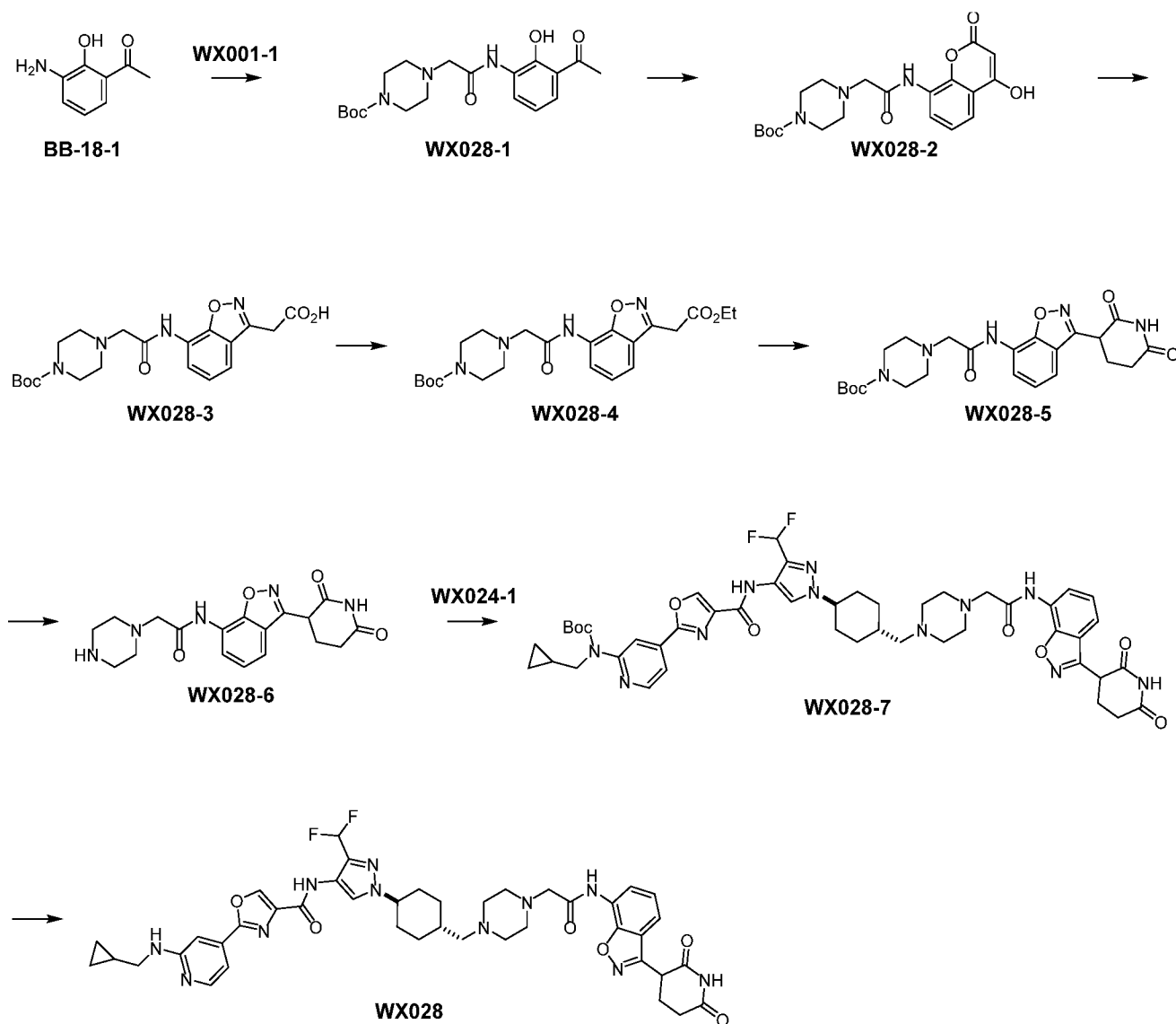
化合物 **WX026** 的甲酸盐的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **WX025-4** 的三氟乙酸盐 (125.49 mg, 258.52 μmol) 加入到乙腈 (2 mL) 中, 加入 N, N-二异丙基乙胺 (133.64 mg, 1.03 mmol), 搅拌反应 10 分钟, 加入化合物 **BB-17** (104.00 mg, 172.35 μmol), 反应混合物升温至 85°C, 搅拌反应 6 小时。反应完毕后, 将反应溶液减压浓缩得到粗品。粗品经制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex Luna C18 75*30 mm*3 μm ; 流动相: 水(0.2%甲酸)-乙腈; 乙腈%: 30%-70%, 8 min), 得到目标化合物 **WX026** 的甲酸盐。MS-ESI m/z : 847.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.55 (s, 1H), 11.09 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.47 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.39 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.19 (dd, $J=0.6$ Hz, 7.8 Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.78 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.49 (dd, $J=1.4$ Hz, 8.6 Hz, 1H), 6.08 (s, 1H), 4.55 (dd, $J=5.0$ Hz, 11.8 Hz, 1H), 3.30 (s, 2H), 3.22 (s, 2H), 3.11-3.01 (m, 1H), 2.82- 2.72 (m, 1H), 2.66-2.55 (m, 5H), 2.47-2.41 (m, 2H), 2.28-2.13 (m, 5H), 1.98-1.87 (m, 2H), 1.72-1.50 (m, 10H), 1.17-1.00 (m, 2H).

实施例 28



合成路线:



步骤 1: 化合物 **WX028-1** 的合成

室温和氮气保护下, 将化合物 **WX001-1** (9.7 g, 39.69 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (50 mL) 中, 随后依次加入 N,N-二异丙基乙胺 (8.55 g, 66.15 mmol) 和 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (16.35 g, 43.00 mmol), 反应混合物在室温下搅拌反应 0.5 小时, 然后再加入化合物 **BB-18-1** (5 g, 33.08 mmol), 反应混合物在室温下继续搅拌反应 2 小时。反应完毕后, 加入水 (200 mL), 用乙酸乙酯 (50 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压除去溶剂。所得残余物经柱层析分离 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=2/1, 体积比), 得到化合物 **WX028-1**。MS-ESI m/z : 378.3 [M+H]⁺。

步骤 2: 化合物 **WX028-2** 的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **WX028-1** (4 g, 10.60 mmol) 和碳酸二甲酯 (3.82 g, 42.39 mmol, 3.57 mL) 溶于四氢呋喃 (50 mL) 中, 加入叔丁醇钾 (7.14 g, 63.59 mmol), 反应混合物升温至 90°C, 搅拌反应 4 小时。反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 加入冰水 (50 mL) 溶解, 用甲基叔丁基醚 (50 mL×2) 萃取, 收集水相, 用 6 M 盐酸调节 pH=7, 水相减压浓缩得到化合物 **WX028-2**。MS-ESI m/z : 404.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ : 7.78 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 5.17 (s, 1H), 3.58-3.45 (m, 4H), 3.27 (s, 2H), 2.62-2.50 (m, 4H), 1.42 (s, 9H).

步骤 3: 化合物 **WX028-3** 的合成

室温下, 将化合物 **WX028-2** (4.2 g, 10.41 mmol) 溶于乙醇 (80 mL) 中, 加入乙酸钠 (3.42 g, 41.64 mmol) 和盐酸羟胺 (2.53 g, 36.44 mmol), 反应混合物升温至 80°C, 搅拌反应 5 小时。反应完毕后, 反应液冷却至室温, 过滤, 滤饼用二氯甲烷 (50 mL×2) 淋洗, 滤液浓缩除去大部分溶剂, 加入水 (100 mL), 用二氯甲烷 (50 mL×3) 萃取。合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到化合物 **WX028-3**。MS-ESI m/z : 419.1 [M+H]⁺.

步骤 4: 化合物 **WX028-4** 的合成

30°C 下, 将化合物 **WX028-3** (2.5 g, 5.97 mmol) 溶于二氯甲烷 (40 mL) 中, 加入 4-二甲氨基吡啶 (1.09 g, 8.96 mmol) 和碳酸二叔丁酯 (2 g, 9.16 mmol, 2.11 mL), 反应混合物在 30°C 下搅拌反应 1.5 小时后, 加入无水乙醇 (2.75 g, 59.75 mmol), 继续反应 1 小时。反应完毕后, 倒入水 (50 mL) 中, 分液, 水相再次用二氯甲烷 (30 mL) 萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。所得粗品经柱层析 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=1/5) 分离纯化, 得到化合物 **WX028-4**。MS-ESI m/z : 447.3 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.79 (s, 1H), 8.46 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.32 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.22 (q, $J=7.0$ Hz, 2H), 4.04 (s, 2H), 3.63-3.54 (m, 4H), 3.26 (s, 2H), 2.69-2.58 (m, 4H), 1.48 (s, 9H), 1.26 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

步骤 5: 化合物 **WX028-5** 的合成

室温 and 氮气保护下, 将化合物 **WX028-4** (0.92 g, 2.06 mmol) 和丙烯酰胺 (175.75 mg, 2.47 mmol) 溶于四氢呋喃 (20 mL) 中, 冷却至 0°C, 滴加叔丁醇钾的四氢呋喃溶液 (1 M, 3.09 mL), 反应混合物在 0°C 下搅拌反应 1.5 小时。反应完毕后, 向反应液中加入 0.05 M 盐酸 (70 mL), 用乙酸乙酯 (40 mL×2) 萃取, 合并有机相。用饱和食盐水 (40 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到粗品。所得粗品经柱层析纯化 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=5/1-1/1), 得到化合物 **WX028-5**。MS-ESI m/z : 472.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.83 (s, 1H), 8.49 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.42 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.35 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 4.34 (dd, $J=5.0$ Hz, 9.0 Hz, 1H), 3.66-3.52 (m, 4H), 3.27 (s, 2H), 3.06-2.95 (m, 1H), 2.83-2.73 (m, 1H), 2.71-2.56 (m, 5H), 2.53-2.43 (m, 1H), 1.49 (s, 9H).

步骤 6: 化合物 **WX028-6** 的三氟乙酸盐的合成

室温下，将化合物**WX028-5** (3 g, 6.36 mmol) 溶于二氯甲烷 (40 mL)中，滴加三氟乙酸 (9.24 g, 81.04 mmol)，反应混合物室温下搅拌4小时。反应完成后，减压浓缩除去溶剂得到化合物**WX028-6**的三氟乙酸盐。MS-ESI m/z : 372.0 $[M+H]^+$ 。

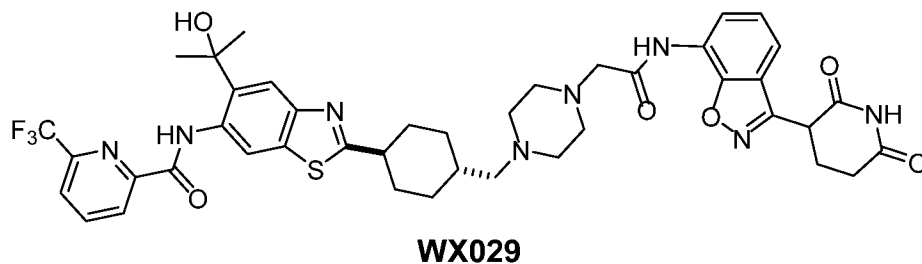
步骤 7: 化合物 **WX028-7** 的合成

室温和氮气保护下，将化合物 **WX024-1** (0.2 g, 287.14 μmol) 溶于乙腈 (4 mL) 中，加入化合物 **WX028-6** 的三氟乙酸盐 (225.35 mg, 315.85 μmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (259.78 mg, 2.01 mmol)，反应混合物升温至 90°C，搅拌反应 12 小时。反应完毕后，将反应液冷却至室温，倒入水 (30 mL) 中，用乙酸乙酯 (50 mL \times 3) 萃取，有机相用饱和食盐水 (50 mL \times 3) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩除去残余溶剂。向所得残余物中加入甲基叔丁基醚 (3 mL)，室温下搅拌 0.5 小时，过滤，用甲基叔丁基醚 (3 mL \times 2) 淋洗滤饼，收集滤饼，真空干燥得到化合物 **WX028-7**。MS-ESI m/z : 940.5 $[M+H]^+$

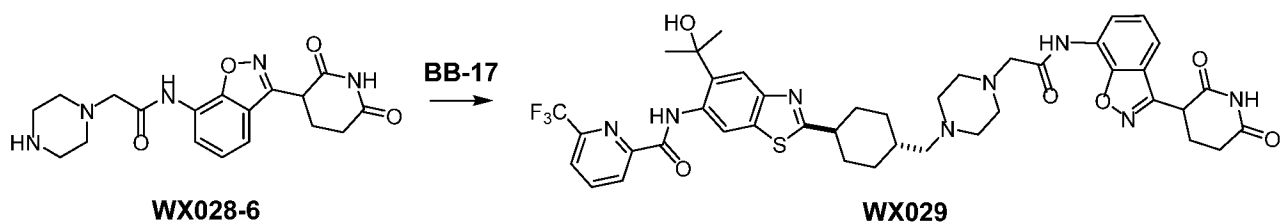
步骤 8: 化合物 **WX028** 的盐酸盐的合成

室温下，将化合物 **WX028-7** (0.21 g, 223.40 μmol) 溶于乙酸乙酯 (2 mL) 中，加入盐酸/乙酸乙酯 (5 mL, 4 M)，室温下搅拌反应 1 小时。反应完毕后，过滤，用乙酸乙酯 (3 mL \times 3) 淋洗滤饼，收集滤饼。滤饼经制备 HPLC 分离 (色谱柱: Phenomenex Luna 80 \times 30 mm \times 3 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 1%-30%, 8 min), 得到目标化合物 **WX028** 的盐酸盐。MS-ESI m/z : 840.4 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{MeOD-}d_4$) δ : 8.80 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.13 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J=0.8$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.45 (dd, $J=1.4$ Hz, 7.0 Hz, 1H), 7.39 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.93 (t, $J=54.4$ Hz, 1H), 4.56 (dd, $J=5.0, 11.0$ Hz, 1H), 4.32-4.20 (m, 1H), 4.09-3.97 (m, 2H), 3.87-3.41 (m, 8H), 3.29 (s, 2H), 3.25-3.16 (m, 2H), 2.86-2.77 (m, 2H), 2.65-2.50 (m, 1H), 2.43-2.34 (m, 1H), 2.23 (d, $J=12.0$ Hz, 2H), 2.11 (d, $J=13.2$ Hz, 2H), 2.06-1.88 (m, 3H), 1.45-1.30 (m, 2H), 1.28-1.14 (m, 1H), 0.77-0.64 (m, 2H), 0.46-0.35 (m, 2H)。

实施例 29



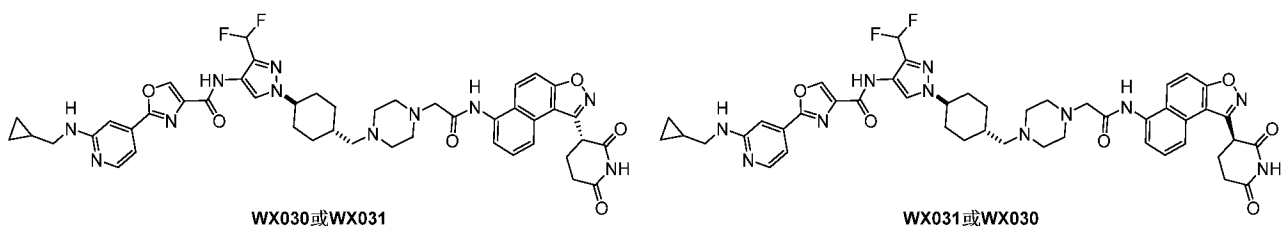
合成路线:



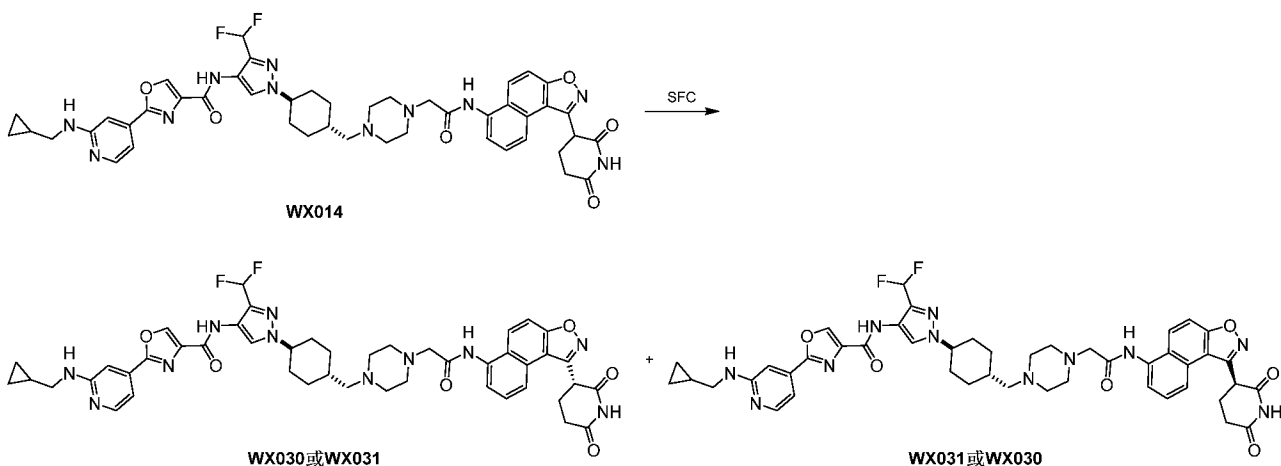
步骤 1: 化合物 **WX029** 的甲酸盐的合成

室温和氮气保护下, 将化合物**WX028-6**的三氟乙酸盐 (170 mg, 238.28 μmol) 溶于乙腈 (2 mL) 中, 随后加入N,N-二异丙基乙胺 (153.97 mg, 1.19 mmol, 207.51 μL) 和化合物**BB-17** (143.78 mg, 238.28 μmol), 反应混合物升温至90 $^{\circ}\text{C}$, 搅拌反应12小时。反应完毕后, 反应液减压浓缩除去溶剂, 残余物经制备HPLC分离 (色谱柱: Phenomenex Luna C18 75*30 mm*3 μm ; 流动相: 水(0.2%甲酸)-乙腈; 乙腈%: 20%-50%, 8 min), 得到化合物**WX029**的甲酸盐。MS-ESI m/z : 847.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.55 (s, 1H), 11.12 (s, 1H), 10.02 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.46 ($J=7.6$ Hz, 1H), 8.38 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 8.18 (dd, $J=0.6, 7.8$ Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.10 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.59 (dd, $J=0.8$ Hz, 8.0 Hz, 1H), 7.36 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.07 (s, 1H), 4.63 (dd, $J=4.8$ Hz, 12.0 Hz, 1H), 3.25 (s, 2H), 3.11-2.99 (m, 1H), 2.85-2.72 (m, 1H), 2.70-2.51 (m, 8H), 2.48-2.43 (m, 2H), 2.28-2.13 (m, 5H), 1.93 (d, $J=11.2$ Hz, 2H), 1.71-1.52 (m, 9H), 1.17-0.99 (m, 2H).

实施例 30 和实施例 31



合成路线:



化合物**WX030**的盐酸盐或**WX031**的盐酸盐的合成

化合物**WX014**的盐酸盐 (480 mg, 518.13 μmol) 经过超临界流体色谱 (分离条件, 色谱柱: REGIS(S,S)WHELK-O1(250mm*25mm,10 μm); 流动相: A:CO₂; B: EtOH/ACN(0.1% IPAm, v/v); B%: 65%-65%, 15 min) 分离, 收集保留时间为1.576 min的样品, 再经制备HPLC分离 (色谱柱: Phenomenex Luna 80*30 mm*3 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 1%-30%, 8 min), 得到目标化合物**WX030**的盐酸盐 (ee%: 99.12%)。收集保留时间为2.770 min的样品, 再经制备HPLC分离 (色谱柱: Phenomenex Luna 80*30 mm*3 μm ; 流动相: 水(0.04%盐酸)-乙腈; 乙腈%: 1%-30%, 8 min), 得到目标化合物**WX031**的盐酸盐 (ee%: 96.36%)。以上保留时间对应的SFC分析方法: 色谱柱: (S,S)-WHELK-O1,50×4.6mm I.D., 3.5 μm ; 流动相: A: CO₂; B: EtOH:ACN=1:1 (0.1% IPAm, v/v),4 min。

化合物**WX030**的盐酸盐: ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄) δ : 11.15 (s, 1H), 10.62 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 8.34 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.18-8.12 (m, 1H), 8.08 (d, *J*=6.4 Hz, 1H), 8.00 (d, *J*=9.6 Hz, 1H), 7.80-7.70 (m, 2H), 7.66-7.54 (m, 1H), 7.36-7.03 (m, 2H), 5.10 (dd, *J*=4.8 Hz, 11.2 Hz, 1H), 4.38-4.20 (m, 2H), 4.18-3.27 (m, 12H), 3.18-2.98 (m, 2H), 2.93-2.80 (m, 1H), 2.72-2.54 (m, 2H), 2.45-2.35 (m, 1H), 2.17-1.99 (m, 4H), 1.97-1.66 (m, 3H), 1.33-1.06 (m, 3H), 0.63-0.48 (m, 2H), 0.38-0.27 (m, 2H)。

化合物**WX031**的盐酸盐: ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄) δ : 11.15 (s, 1H), 10.44 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.31 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.18-8.12 (m, 1H), 8.09 (d, *J*=6.4 Hz, 1H), 8.00 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 7.79-7.69 (m, 2H), 7.61-7.47 (m, 1H), 7.34-7.02 (m, 2H), 5.10 (dd, *J*=4.8 Hz, 11.2 Hz, 1H), 4.40-4.21 (m, 2H), 4.18-3.27 (m, 12H), 3.15-2.95 (m, 2H), 2.94-2.79 (m, 1H), 2.71-2.58 (m, 2H), 2.45-2.35 (m, 1H), 2.13-1.62 (m, 7H), 1.32-1.06 (m, 3H), 0.61-0.50 (m, 2H), 0.38-0.24 (m, 2H)。

生物测试

实验例 1: 在细胞 K562 IRAK4-HiBiT 中的靶蛋白降解作用评估

实验目的: 本实验通过检测受试化合物在细胞 K562 IRAK4-HiBiT 中对靶蛋白 IRAK4 的降解作用。

实验材料:

1. 细胞和培养基

细胞: K562 IRAK4-HiBiT cells

培养基: RPMI 1640+10%胎牛血清+2 mM 谷氨酰胺+1 mM 丙酮酸钠+青霉素/链霉素

阳性对照: 1000 nM; 阴性对照: 0.1 % DMSO

表 1 试剂与耗材

试剂与耗材	生产商	货号
-------	-----	----

RPMI 1640	Gibco	Cat # 31800
胎牛血清 (FBS)	Biosera	#FB-1058/500
青霉素/链霉素	Biosera	#LM-A4118
DPBS	Invitrogen	#14190
0.25% 胰酶/EDTA 溶液	Invitrogen	#25200
谷氨酰胺	Invitrogen	Cat# 35050061
丙酮酸钠	Invitrogen	Cat# 11360070
Nano-Glo® HiBiT 检测试剂盒	Promega	promega# N3040
384-well 白板, 平底	Corning	Cat# 3570
384_LDV 化合物板	Labcyte	Cat# LP-0200

表 2 仪器

仪器名称	生产商	仪器型号
ECHO 移液器	Labcyte	Echo 550
Bravo 自动液体工作站	Agilent	16050-101
Envision 读板器	Perkin Elmer	2104
自动加样器	Thermofisher	Multidrop Combi
细胞计数器	Thermo	Countess II FL

实验方案:

第 1 天

1. 化合物的准备

- (1). 将待测化合物的粉末用 DMSO 溶解到 10 mM 作为储存浓度, 用移液器手动吸取 9 μ L 10 mM 的待测化合物, 至 LDV 板的第 1 列和第 13 列;
- (2). 用 multidrop Combi 加 6 μ L DMSO 至第 2-12 列以及 14-24 列;
- (3). 用 Bravo 将待测化合物进行 3 倍稀释化 (3 μ L+6 μ L), 从第 1-11 列及第 13-23 列;
- (4). 按照板布局, 用 Echo 将 25 nL 化合物溶液 (LDV 板第 1-24 列) 转移到实验板;
- (5). 用 Echo 将 25 nL 的 1 mM 阳性对照的溶液转移到测定板中作为 100%降解对照 (即 LC, HPE), 25 nLDMSO 转移到测定板作为 0%对照 (即 HC, ZPE)。

2. 细胞铺板

- (1). 弃去细胞培养基, DPBS 清洗一次, 胰酶消化细胞, 细胞计数, 制备细胞悬液 2×10^5 cells/mL;

- (2). 用 MultiDrop Combi 中速加入 25 μL /孔的细胞悬液至含有待测化合物的实验板；
- (3). 将含有细胞的实验板放回培养箱中 37°C、5% CO_2 培养 16~18 小时。

第 2 天

- (1). 用 MultiDrop Combi 高速往实验板中加入 25 μL /孔检测试剂 (NanoGlo 裂解溶液+底物+LgBit 蛋白) 至测定板，震荡 10 min；
- (2). 离心 2000 rpm \times 1 min 除去气泡；
- (3). Envision, US Luminescence 检测方法读板。

3. 数据分析

用下列公式来计算检测化合物的降解率 (Degradation rate, DR): $\text{DR} (\%) = (\text{RLU 溶媒对照} - \text{RLU 化合物}) / (\text{RLU 溶媒对照} - \text{RLU 阳性对照}) \times 100\%$, 溶媒对照即空白对照. 在 Excel 中计算不同浓度化合物的降解率, 然后用 XLFit 软件作抑制曲线图和计算相关参数, 包括最小降解率, 最大降解率及 DC_{50} 。

测试结果见表 3。

表 3 本发明化合物在细胞 K562 IRAK4-HiBiT 中的靶蛋白降解作用

化合物编号	DC_{50} (nM)	最大降解率 (%)
WX001 的盐酸盐	76.43	54.34
WX002 的盐酸盐	13.54	100.04
WX013 的盐酸盐	48.70	101.24
WX014 的盐酸盐	4.87	108.46
WX010 的三氟乙酸盐	50.24	81.68
WX011 的三氟乙酸盐	9.60	104.57
WX007	35.09	97.41
WX008 的盐酸盐	121.69	82.20
WX015 的盐酸盐	47.08	100.00
WX016 的盐酸盐	70.73	93.12
WX017 的甲酸盐	4.00	73.88
WX018 的盐酸盐	7.91	119.43
WX019 的甲酸盐	15.08	92.05
WX020 的甲酸盐	29.86	75.09
WX023 的甲酸盐	7.16	114.38

WX024 的甲酸盐	1.75	117.09
WX025 的盐酸盐	2.53	105.26
WX026 的甲酸盐	0.78	80.30
WX028 的盐酸盐	2.11	1113.90
WX029 的甲酸盐	4.26	111.86
WX030 的盐酸盐	4.18	110.35
WX031 的盐酸盐	2.91	107.77

结论： 本发明化合物在细胞 K562 IRAK4-HiBiT 中展现出优异的靶蛋白降解作用。

实验例 2：In Cell Western 分析 MM.1S 细胞中 IKZF1 和 IKZF3 蛋白的表达水平

实验目的： 本实验通过检测受试化合物对 MM.1S 细胞中 IKZF1 和 IKZF3 蛋白表达水平的影响，评估受试化合物对 MM.1S 细胞中 IKZF1 和 IKZF3 蛋白的降解作用。

实验材料：

细胞系：MM.1S cell（来源于 ATCC；货号 CRL-2974）

阴性对照：0.1 % DMSO

表 4 试剂与耗材

试剂与耗材	供应商	货号
96 孔黑色底透酶标板	晶安生物	J09603
D-PBS 缓冲液	Bioleaper	P220610030051
组织固定液	Meilumbio	MA0192-Jan-28G
TritonX-100 Solution (10% sterile)	Beyotime	ST797-500ML
Intercept Blocking Buffer	LI-COR	211114
Ikaros (D6N9Y) Rabbit mAb	Cell Signaling	14859S
Aiolos (D1C1E) Rabbit mAb	Cell Signaling	15103S
GAPDH mouse mAb	proteintech	60004-1-Ig
吐温 20	国药集团化学试剂有限公司	30189328
IRDye 800CW Goat anti-mouse	LI-COR	D00812-08
IRDye 680RD Goat anti-Rabbit	LI-COR	D00891-05

表 5 仪器

仪器名称	供应商	仪器型号
------	-----	------

双色红外激光成像仪	LI-COR	Odyssey-CLx
脱色摇床	QILNBEIER	TS-1000
冰箱	海尔集团	BCD-256KT

实验方案:

- 1) 取对数生长期的 MM.1S 细胞铺 96 孔板, 每孔 1.2×10^5 , 过夜培养;
 - 2) 第二天加药处理, 起始浓度 300 nM, 三倍稀释, 三复孔, 10 个浓度梯度 (含 DMSO), 培养箱孵育 24 h;
 - 3) 离心, 小心去除细胞上清, 沿着孔壁加入 150 μ L 的 4%多聚甲醛固定液, 不要碰到底部细胞, 室温孵育 20 min;
 - 4) 配置破膜液: 取 0.5 mL 的 10% Triton X-100 加入 49.5 mL 的 PBS, 混匀;
 - 5) 沿着孔壁加入 200 μ L 的破膜液, 不要碰到底部细胞, 室温, 摇床上, 孵育 5 min;
 - 6) 重复洗涤 4 次;
 - 7) 沿着孔壁加入 150 μ L 的 Licor INERCEPT 封闭液 (intertent Blacking buffer), 不要碰到底部细胞, 室温, 摇床上孵育 1.5 h;
 - 8) Ikaros (D6N9Y) Rabbit mAb、Aiolos (D1C1E) Rabbit mAb 和 GAPDH mouse mAb (proteintech, 60004-1-Ig) 均按照 1:100 的比例, 使用抗体稀释液稀释;
 - 9) 取 50 μ L 的混合抗体加入孔中, 各 3 个复孔, 4°C, 摇床上孵育过夜;
 - 10) 配置 PBST (PBS 含 0.1%的 tween 20);
 - 11) 去掉一抗, 沿着孔壁加入 200 μ L 的 PBST, 不要碰到底部细胞, 室温, 摇床上, 孵育 5 min;
 - 12) 重复洗涤 4 次;
 - 13) 配置二抗稀释液: Licor INTERCEPT 封闭液中加入终浓度为 0.2%的 tween 20;
 - 14) 避光稀释荧光二抗, (1:800 稀释) 取 400 μ L 的二抗稀释液, 加入 IRDye 800CW 和 IRDye 680CW 各 0.5 μ L; (一抗对应的荧光二抗)
 - 15) 每孔加入 50 μ L 的稀释好的荧光二抗, 室温, 摇床上, 避光孵育 60 min;
 - 16) 去掉二抗, 沿着孔壁加入 200 μ L 的 PBST, 不要碰到底部细胞, 室温, 摇床上, 避光孵育 5 min;
 - 17) 重复洗涤 4 次; 洗完后立马上机使用 Odyssey Gel Imaging System 双色波长 700 nm 及 800 nm 检测。
3. 数据分析
- 运用 GraphPad Prism 6 软件, 带入抑制率数据后拟合曲线并计算出 DC_{50} 值。
- 蛋白抑制率 = $(1 - RL_s / RL_v) * 100\%$

RR (Raw Ratio) = 700 nm/800 nm

RLs = 样本处理细胞的 RR

RLv = 溶剂处理细胞的 RR

测试结果见表 6。

表 6 本发明化合物对 MM.1S 细胞中 IKZF1 和 IKZF3 蛋白的降解作用

化合物编号	蛋白	DC ₅₀ (nM)	最大降解率 Dmax (%)
WX014 的盐酸盐	IKZF1	23.40	72.32
	IKZF3	20.64	73.46
WX018 的盐酸盐	IKZF1	14.50	88.81
	IKZF3	8.34	96.49
WX030 的盐酸盐	IKZF1	27.38	71.41
WX031 的盐酸盐	IKZF1	20.74	71.89
WX008 的盐酸盐	IKZF1	4.66	81.43
WX015 的盐酸盐	IKZF1	7.70	81.84
WX016 的盐酸盐	IKZF1	6.02	81.63
WX017 的甲酸盐	IKZF1	15.68	62.94
WX020 的甲酸盐	IKZF1	3.77	85.16
WX021	IKZF1	2.66	87.59
WX023 的甲酸盐	IKZF1	31.33	57.20
WX024 的甲酸盐	IKZF1	35.17	60.75
WX025 的盐酸盐	IKZF1	14.39	72.20
WX026 的甲酸盐	IKZF1	5.64	84.43
WX028 的盐酸盐	IKZF1	26.71	49.69
WX029 的甲酸盐	IKZF1	38.83	61.76

结论:

本发明化合物对 MM.1S 细胞中 IKZF1 和 IKZF3 蛋白展现出优异的靶蛋白降解作用。

实验例 3: 在淋巴瘤细胞系 OCI-LY10 与 TMD-8 中的抗增殖作用评估

实验目的: 本实验通过检测受试化合物分别在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤细胞系 OCI-LY10 与 TMD-8 中对细胞增殖的抑制作用。

实验材料:

表 7 细胞系及培养方法

细胞系	肿瘤类型	生长特点	培养基
OCI-LY10	淋巴瘤	悬浮	IMDM+20%FBS+55 μ M β -巯基乙醇
TMD-8	淋巴瘤	悬浮	MEM+10%FBS

表 8 培养基及试剂

培养基及试剂	生产商	货号
Dulbecco's PBS	Hyclone	SH30256.01
胎牛血清 (FBS)	GIBCO	10099-141
Antibiotic-antimycotic	GIBCO	15240-062
0.25% Trypsin	GIBCO	25200072
DMSO	SIGMA	D2650
β -巯基乙醇	SIGMA	60-24-2
MEM	GIBCO	11095-080
IMDM	GIBCO	12440-053

1. 多孔板

Greiner CELLSTAR® 96-孔板, 平底白板(带盖及透明底), # 3610。

2. 细胞活性实验所用试剂及仪器

(1) Promega CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测试剂盒 (Promega-G7573)。

(2) 2104 EnVision® 读板器, PerkinElmer。

实验方案:

1. 细胞培养

将肿瘤细胞系按上述培养条件在 37°C, 5% CO₂ 的培养箱中进行培养。定期传代, 取处于对数生长期的细胞用于铺板。

2. 细胞铺板

(1). 用台盼兰进行细胞染色并计数活细胞。

(2). 将细胞浓度调整至合适浓度。

表 9 细胞系及种板密度

细胞系	种板密度(个/孔)
OCI-LY10	5000
TMD-8	5000

(3). 按上图所示在培养板中每孔加入 100 μ L 细胞悬液。

(4). 将培养板在 37°C, 5% CO₂, 及 100%相对湿度的培养箱中培养过夜。

3. 化合物存储板制备

制备化合物起始浓度 1000 倍浓度的母液存储板:将化合物用 DMSO 从最高浓度梯度稀释至最低浓度。每次现用现配。

4. 1000 倍化合物工作液的配制及化合物处理细胞

(1). 化合物起始浓度5倍浓度的工作液的配制: 3倍稀释化合物时, 从化合物起始浓度1000倍浓度的母液中吸取30 μ L化合物, 后面几个孔中加入20 μ L DMSO, 依次从上一个浓度吸取10 μ L到下一个浓度。5倍稀释化合物时, 从化合物起始浓度1000倍浓度的母液中吸取30 μ L化合物, 后面几个孔中加入24 μ L DMSO, 依次从上一个浓度吸取6 μ L到下一个浓度。在溶媒对照中加入20 μ L DMSO。用培养基将1000倍化合物稀释200倍, 即1 μ L 1000倍稀释的化合物加入199 μ L培养基, 用排枪吹打混匀。

(2). 加药: 取25 μ L 5倍的化合物加入到细胞培养板中。

(3). 将96孔细胞板放回培养箱中培养OCI-LY10 (3倍稀释或者5倍稀释, 加药共孵育5天), TMD-8 (3倍稀释或者5倍稀释, 加药共孵育5天)。

5. CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测

以下步骤按照 Promega CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测试剂盒 (Promega-G7573) 的说明书来进行。

(1). 将 CellTiter-Glo 缓冲液融化并放置至室温。

(2). 将 CellTiter-Glo 底物放置至室温。

(3). 在一瓶 CellTiter-Glo 底物中加入 10 mL CellTiter-Glo 缓冲液以溶解底物, 从而配制 CellTiter-Glo 工作液。

(4). 缓慢涡旋震荡使充分溶解。

(5). 取出细胞培养板放置 30 分钟使其平衡至室温。

(6). 在每孔中加入 60 μ L (等于每孔中细胞培养液一半体积) 的 CellTiter-Glo 工作液。用铝箔纸包裹细胞板以避光。

(7). 将培养板在轨道摇床上振摇 2 分钟以诱导细胞裂解。

(8). 培养板在室温放置 10 分钟以稳定发光信号。

(9). 在 2104 EnVision 读板器上检测发光信号。

6. 数据分析

用下列公式来计算检测化合物的抑制率 (Inhibition rate, IR): $IR (\%) = (1 - RLU_{\text{化合物}} / RLU_{\text{溶媒对照}}) * 100\%$. 在 Excel 中计算不同浓度化合物的抑制率, 然后用 GraphPad Prism 软件作抑制曲线图和计算相关参数, 包括最小抑制率, 最大抑制率及 IC_{50} .

测试结果见表 10。

表 10 本发明化合物在 OCI-LY10 与 TMD-8 细胞系中的细胞增殖抑制作用

化合物编号	OCI-LY10		TMD-8	
	IC_{50} (nM)	最大抑制率 (%)	IC_{50} (nM)	最大抑制率 (%)
WX002 的盐酸盐	192.20	63.27	92.0	83.31
WX014 的盐酸盐	13.66	94.54	10.34	89.86
WX011 的三氟乙酸盐	17.02	93.42	17.03	94.65
WX018 的盐酸盐	6.99	99.92	12.85	99.53
WX028 的盐酸盐	85.25	99.01	/	/
WX025 的盐酸盐	24.39	97.39	/	/
WX020 的甲酸盐	24.97	94.96	/	/
WX026 的甲酸盐	/	/	8.65	99.92

“/”代表未检测

结论: 本发明化合物在淋巴瘤细胞系 OCI-LY10 与 TMD-8 中均展现出优异的抑制细胞增殖的作用。

实验例 4: 在淋巴瘤细胞系 SU-DHL-2 中的抗增殖作用评估

实验目的: 本实验通过检测受试化合物在淋巴瘤细胞系 SU-DHL-2 中对细胞增殖的抑制作用。

表 11 细胞系及培养方法

细胞系	肿瘤类型	生长特点	培养方法
SU-DHL-2	淋巴瘤	悬浮	RPMI1640 + 10% FBS(EXCELL)+1%青霉素/链霉素

表 12 培养基及试剂

培养基及试剂	生产商	货号
RPMI 1640	GIBCO	22400-089
Dulbecco's PBS	Thermo	SH30028.02B
胎牛血清 (FBS)	Hyclone	11H233
Antibiotic-antimycotic	GIBCO	15240-062

DMSO	SIGMA	D2650
------	-------	-------

1. 多孔板

Greiner CELLSTAR 384-孔板, 平底黑板 (带盖), # 781090。

2. 细胞活性实验所用试剂及仪器

(1) Promega CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测试剂盒 (Promega-G7573)。

(2) 2104 EnVision® 读板器, PerkinElmer。

实验方案:

1. 细胞培养

将肿瘤细胞系按上述培养条件在 37°C, 5% CO₂ 的培养箱中进行培养。定期传代, 取处于对数生长期的细胞用于铺板。

2. 细胞铺板

(1). 用台盼兰进行细胞染色并计数活细胞。

(2). 将细胞浓度调整至合适浓度。

表 13 细胞系和种板密度

细胞系	种板密度 (个/孔)
SU-DHL-2	1500

(3). 按上图所示在培养板中每孔加入 50 μL 细胞悬液。

(4). 将培养板在 37°C, 5% CO₂, 及 100%相对湿度的培养箱中培养过夜。

3. 化合物存储板制备

用 Echo655 仪器加药。加药体积为 50 nL, DMSO 终浓度为 0.1%, 将培养板 1000 rpm 离心 1 min, 在 37°C, 5% CO₂, 及 100%相对湿度的培养箱中培养 4 天。

4. CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测

以下步骤按照 Promega CellTiter-Glo 发光法细胞活性检测试剂盒 (Promega-G7573) 的说明书来进行。

(1) 将 CellTiter-Glo 缓冲液融化并放置至室温。

(2) 将 CellTiter-Glo 底物放置至室温。

(3) 在一瓶 CellTiter-Glo 底物中加入 CellTiter-Glo 缓冲液以溶解底物, 从而配制 CellTiter-Glo 工作液。

(4) 缓慢涡旋震荡使充分溶解。

(5) 取出细胞培养板放置 30 分钟使其平衡至室温。

(6) 在每孔中加入 25 μL (等于每孔中细胞培养液一半体积) 的 CellTiter-Glo 工作液。用铝箔纸包裹

细胞板以避光。

(7) 将培养板在轨道摇床上振摇 2 分钟以诱导细胞裂解。

(8) 培养板在室温放置 10 分钟以稳定发光信号。

(9) 在 2104 EnVision 读板器上检测发光信号

5. 数据分析

用下列公式来计算检测化合物的抑制率 (Inhibition rate, IR): $IR (\%) = (1 - (RLU_{\text{化合物}} - RLU_{\text{空白对照}}) / (RLU_{\text{溶媒对照}} - RLU_{\text{空白对照}})) * 100\%$ 。在 Excel 中计算不同浓度化合物的抑制率, 然后用 GraphPad Prism 软件作抑制曲线图和计算相关参数, 包括最小抑制率, 最大抑制率及 IC_{50} 。

表 14 本发明化合物在 SU-DHL-2 细胞系中的细胞增殖抑制作用

化合物编号	SU-DHL-2 IC_{50} (nM)	最大抑制率 (%)
WX018 的盐酸盐	11.74	100.27
WX004 的盐酸盐	64.52	99.05
WX026 的甲酸盐	0.91	100.08
WX014 的盐酸盐	28.70	93.55
WX011 的三氟乙酸盐	25.20	99.89

结论:

本发明化合物在淋巴瘤细胞系 SU-DHL-2 中展现出优异的抑制细胞增殖的作用。

实验例 5: 化合物的小鼠药代动力学评价

实验目的:

本研究受试动物选用 C57BL/6N 或 CD-1 雄性小鼠, 应用 LC/MS/MS 法定量测定小鼠静脉注射或灌胃给予测试化合物不同时间点的血浆中的药物浓度, 以评价本发明化合物在小鼠体内的药代动力学特征。

实验材料:

C57BL/6N 小鼠 (雄性, 20-30g, 7~10 周龄, 北京维通利华) 或 CD-1 小鼠 (雄性, 20-35g, 7~10 周龄, 北京维通利华)。

实验操作 A:

将测试化合物的澄清或悬浮溶液经尾静脉注射到 C57BL/6N 小鼠或 CD-1 小鼠体内 (过夜禁食或给食) (溶媒: 10% DMSO/10% solutol/80% H_2O 或 5% DMSO/10% solutol/85% H_2O), 或灌胃给予到 C57BL/6N 小鼠或 CD-1 小鼠体内 (过夜禁食或给食)。静脉注射给药于 0 h (给药前) 和给药后 0.083, 0.25, 0.5, 1,

2, 4, 6, 8, 24 h 从脸颊穿刺采血 50 μ L, 置于添加了肝素钠的抗凝管中, 将混合物充分涡旋混合并在 2~8 $^{\circ}$ C 下 6000g 离心 3 分钟; 口服灌胃给药于 0 h (给药前) 和给药后 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24 h 从脸颊穿刺采血, 置于添加了肝素钠的抗凝管中, 将混合物充分涡旋混合并在 2~8 $^{\circ}$ C 下 6000 g 离心 3 分钟。采用 LC-MS/MS 法测定血药浓度, 使用 Phoenix WinNonlin8.2.0 药动力学软件, 以非房室模型线性对数梯形法计算相关药代动力学参数。

实验操作B:

将测试化合物的澄清溶液经尾静脉注射到 CD-1 小鼠体内(过夜禁食)(溶媒: 10% DMSO/10% solutol/80% H₂O 或 5% DMSO/10% solutol/85% H₂O), 灌胃给予到 CD-1 小鼠体内(过夜禁食)。静脉注射给药于 0 h (给药前) 和给药后 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24 h 从隐静脉采血, 置于 EDTA-K2 抗凝管中, 将混合物充分涡旋混合并在 4 $^{\circ}$ C 下 3200 g 离心 10 分钟得血浆; 口服灌胃给药于 0 h (给药前) 和给药后 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24 h 从隐静脉采血, 置于 EDTA-K2 抗凝管中, 将混合物充分涡旋混合并在 4 $^{\circ}$ C 下 3200 g 离心 10 分钟得血浆。采用 LC-MS/MS 法测定血药浓度, 使用 Phoenix WinNonlin 6.3 药动力学软件, 以非房室模型线性对数梯形法计算相关药代动力学参数。

测试结果见表 15。

表15 本发明化合物在小鼠中的药代动力学参数

化合物编号	小鼠药代参数								
	静脉注射 (2 mg/kg)					灌胃给药(10 mg/kg)			
	实验操作	血浆清除率 (mL/min/kg)	消除半衰期(h)	表观分布容积 (L/kg)	药时曲线下面积(0-inf, μ M.h)	达峰浓度 (μ M)	达峰时间(h)	药时曲线下面积(0-inf, μ M.h)	生物利用度 F (%)
WX002 的盐酸盐 (过夜禁食)	B	/	/		/	0.64	1.00	2.00	/
WX014 的盐酸盐 (给食)	A	7.0	4.22	1.6	5.40	0.54	1.00	4.47	18.90
WX011 的三氟乙酸盐 (过夜禁食)	A	2.76	9.45	1.8	15.31	0.45	1.67	5.00	6.53

WX018 的盐酸盐 (过夜禁食)	B	11.8	5.22	4.39	3.06	0.09	6.00	1.01	6.59
WX019 的甲酸盐 (过夜禁食)	A	/	/	/	/	0.34	3.33	5.10	/
WX017 的甲酸盐 (过夜禁食)	B	12.2	2.32	2.59	3.17	0.65	4.00	5.07	31.9

“/”代表未检测。

结论：本发明化合物的口服血浆系统暴露量 (AUC_{0-inf}) 较高。在啮齿动物小鼠中，其药代动力学性质较优。

实验例7：化合物的比格犬药代动力学评价

实验目的：

本研究受试动物选用雄性比格犬，应用 LC/MS/MS 法定量测定比格犬静脉注射或灌胃给予测试化合物不同时间点的血浆中的药物浓度，以评价本发明化合物在比格犬体内的药代动力学特征。

实验材料：

比格犬 (雄性，7-10 kg，北京玛斯生物技术有限公司)。

实验操作：

将测试化合物的澄清溶液经外周静脉缓慢注射到比格犬体内(给食)(溶媒：5% DMSO/10% Solutol /85% H₂O)，或灌胃给予到比格犬体内 (给食)。静脉注射给药于给药后 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24 h 从外周静脉采血 0.5 mL，置于 EDTA-2K 抗凝管中，在 2-8°C 下 3200 g 离心 10 分钟，分离上清液；口服灌胃给药后 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24 h 从外周静脉采血 0.5 mL，置于 EDTA-2K 抗凝管中，在 2-8°C 下 3200 g 离心 10 分钟，分离上清液。采用 LC-MS/MS 法测定血浆药物浓度，使用 Phoenix WinNonlin 6.3 药动学软件，以非房室模型线性对数梯形法计算相关药代动力学参数。

测试结果见表 16。

表16 本发明化合物在比格犬中的药代动力学参数

化合物编号	比格犬药代参数							
	静脉注射 (0.5 mg/kg)				灌胃给药(5 mg/kg)			
	血浆清除率 (mL/min/kg)	消除 半衰 期(h)	表观分布 容积 (L/kg)	药时曲线下 面积(0-inf,μM.h)	达峰 浓度 (μM)	达峰 时间 (h)	药时曲线下 面积(0- inf,μM.h)	生物利 用度 F (%)

WX014 的盐酸盐	21.3	5.03	5.83	0.44	0.41	4.00	3.20	72.6
----------------------	------	------	------	------	------	------	------	------

结论:

本发明化合物的口服血浆系统暴露量 (AUC_{0-inf}) 较高。在非啮齿类动物比格犬中, 其药代动力学性质较优。

实验例8: 化合物在人B细胞淋巴瘤OCI-LY10细胞SCID小鼠异种移植瘤模型的体内药效学研究**实验目的:**

本研究使用人B细胞淋巴瘤 OCI-LY10 细胞 SCID 小鼠异种移植瘤模型评价受试化合物的抗肿瘤作用。

实验材料:

1. 实验动物: SCID 小鼠, 雌性, 6-8 周龄, 体重 17-20 克。北京维通利华实验动物技术有限公司。
2. 细胞株: 人B细胞淋巴瘤OCI-LY10细胞株购买于南京科佰生物科技有限公司, 货号为CBP60558。

表 17 试剂信息

名称	生产厂家	批号	保存条件
IMDM 培养基	美国 GIBCO 公司	2323369	4°C
胎牛血清 (FBS)	美国 GIBCO 公司	2305262RP	-20°C
基质胶 (Matrigel)	CORNING	2062001	-20°C

表 18 仪器

名称	生产厂家	型号
SHJ 系列洁净工作台	上海上净净化设备有限公司	CA-1390-1
CO ₂ 隔水细胞培养箱	Thermo Scientific Forma	3111
倒置显微镜	Olympus	CKX41SF
电动吸引器	上海医疗器械工业 (集团) 有限公司	YX930D
Eppendorf AG 离心机	Eppendorf	5811XG639987
百分之一天平	上海民桥精密科学仪器有限公司	SL502N
千分之一天平	上海菁海仪器有限公司	JA2003N
电子数显卡尺	SHAHE	(0~150) mm

模型建立:

OCI-LY10细胞培养于含20%FBS的IMDM培养基中, 维持在5% CO₂的37°C饱和湿度培养箱中。收集对

数生长期OCI-LY10细胞，重悬于IMDM基础培养基中，1:1加入Matrigel，调整细胞浓度至 $4 \times 10^7/\text{mL}$ 。在无菌条件下，接种0.1 mL细胞悬液至SCID鼠右侧背部皮下，接种浓度为 $4 \times 10^6/0.1 \text{ mL}$ /小鼠。

实验方案：

药效学实验动物待肿瘤长到一定大小时，淘汰肿瘤体积过大、过小或肿瘤形状不规则的动物，挑选肿瘤体积 $167.65 \sim 231.29 \text{ mm}^3$ 的动物，根据肿瘤体积采用随机分组法将动物分组，每组6只小鼠，肿瘤平均体积约 201.15 mm^3 。分组当日记为Day 0，并按照动物体重开始给药。药效学实验周期为28天，每天给药一次，给药间隔24小时，灌胃给药。实验期间每周测定2次动物体重和肿瘤大小。每日观察并记录临床症状。

受试化合物的给药剂量分别为10 mg/kg、30 mg/kg和100 mg/kg，溶媒：10%DMSO/10%Solutol/80% H_2O 。肿瘤体积 (tumor volume, TV) 计算公式为： $1/2 \times a \times b^2$ ，其中a、b分别为肿瘤测量的长和宽。抑瘤率TGI (%) 计算公式为： $\text{TGI}(\%) = [1 - (\text{某处理组给药结束时平均瘤体积} - \text{该处理组开始给药时平均瘤体积}) / (\text{溶剂对照组治疗结束时平均瘤体积} - \text{溶剂对照组开始治疗时平均瘤体积})] \times 100\%$ 。相对肿瘤增殖率T/C (%)：计算公式如下： $\text{T/C} \% = \text{T}_{\text{RTV}} / \text{C}_{\text{RTV}} \times 100\%$ (T_{RTV} ：治疗组平均RTV； C_{RTV} ：阴性对照组平均RTV)。根据肿瘤测量的结果计算出相对肿瘤体积 (relative tumor volume, RTV)，计算公式为 $\text{RTV} = \text{V}_t / \text{V}_0$ ，其中 V_0 是分组给药时 (即Day 0) 测量所得肿瘤体积， V_t 为某一次测量时的肿瘤体积， T_{RTV} 与 C_{RTV} 取同一天数据。

数据分析：

本研究中，实验数据均以 $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ 表示。

统计分析基于试验结束时RTV的数据运用IBM SPSS Statistics软件进行分析。两组间比较用T test进行分析，三组或多组间比较用one-way ANOVA进行分析，如果方差齐 (F值无显著性差异)，应用Tukey's 法进行分析，如果方差不齐 (F值有显著性差异)，应用Games-Howell法进行检验。 $p < 0.05$ 认为有显著性差异。

实验结果：测试结果见表 19 和 20。

表19 本发明化合物在人B细胞淋巴瘤OCI-LY10细胞皮下异种移植瘤模型的抑瘤药效评价

组别	给药剂量	肿瘤体积 (mm^3) ^a (第 0 天)	肿瘤体积 (mm^3) ^a (第 28 天)	相对肿瘤体 积 ^a (第 28 天)	T/C (%) (第 28 天)	TGI (%) (第 28 天)
溶媒对照	0 mg/kg	201.76 ± 7.08	1422.84 ± 89.14	7.11 ± 0.56	--	--
WX014 的 盐酸盐	10 mg/kg	202.43 ± 8.41	685.61 ± 75.95	3.37 ± 0.34	47.40	60.43
WX014 的	30 mg/kg	199.80 ± 8.02	322.68 ± 20.47	1.64 ± 0.17	23.07	89.94

盐酸盐						
WX014 的 盐酸盐	100 mg/kg	199.75 ± 7.96	188.01 ± 35.59	0.91 ± 0.15	12.80	100.96

注：a. 平均值 ± SEM。

表20 本发明化合物在人B细胞淋巴瘤OCI-LY10异种移植瘤模型各组间相对肿瘤体积比较的p值

组别	溶媒对照	WX014 的盐酸盐 10 mg/kg	WX014 的盐酸盐 30 mg/kg	WX014 的盐酸盐 100 mg/kg
溶媒对照	N/A	0.003	0.001	<0.001
WX014 的盐酸盐 10 mg/kg	0.003	N/A	0.018	0.003
WX014 的盐酸盐 30 mg/kg	0.001	0.018	N/A	0.077
WX014 的盐酸盐 100 mg/kg	<0.001	0.003	0.077	N/A

注：p 值运用 IBM SPSS Statistics 软件进行分析。

结论：

本发明化合物在人 B 细胞淋巴瘤 OCI-LY10 细胞 SCID 小鼠异种移植瘤模型中具有显著的抑制肿瘤作用，并具有剂量依赖性。

实验例9：化合物对人淋巴瘤SU-DHL-2细胞皮下异种移植肿瘤CB17 SCID小鼠模型的体内药效学研究

实验目的：

本研究使用 SU-DHL-2 皮下异种移植肿瘤 CB17 SCID 小鼠模型评价受试化合物的抗肿瘤作用。

实验材料：

1. 实验动物：CB17 SCID小鼠，雌性，6-8周龄，体重18-22克。北京维通利华实验动物技术有限公司。
2. 细胞株：人淋巴瘤SU-DHL-2细胞（货号：ATCC-CRL-2956）。

表21 试剂信息

名称	生产厂家	货号	批号	有效期	保存条件
1640 培养基	gibco	22400089	2462009	2023-02-28	4°C
基质胶	Corning	354234	2013002	2022-10-19	-20°C
100x 双抗(青霉)	meilunbio	MA0110	MA0110-Apr-15H	2023-04-14	-20°C

素、链霉素)					
PBS	HyClone	SH30256.01	AG29791799	2023-08-31	4°C
胎牛血清	ExCell Bio	FND500	11H233	2023-08	-20°C

表 22 仪器

名称	生产厂家	型号
生物安全柜	苏州安泰空气技术有限公司	BSC-1604IIA2
游标卡尺	Mitutoyo	CD-6"ASX
电子天平	常州市天之平仪器设备有限公司	EL-2KJ
涡旋振荡仪	HaiMen City Qilin Medical Instrument Factory	XW-80A
纯水系统	Millipore	MILLI-Q®Direct8

模型建立:

细胞培养: 人淋巴瘤SU-DHL-2细胞 (ATCC-CRL-2956) 体外悬浮培养, 培养条件为RPMI 1640培养基中加10%灭活胎牛血清, 100 U/mL青霉素和100 µg/mL链霉素, 37°C 5%CO₂孵箱培养。一周两次进行常规处理传代。当细胞饱和度为80%-90%, 数量到达要求时, 收取细胞, 计数, 接种。

肿瘤细胞接种及分组: 将0.2 mL (10×10⁶个) (PBS:matrigel=1:1) SU-DHL-2细胞皮下接种于每只小鼠的右后背, 肿瘤平均体积达到约139 mm³时开始分组给药。分组当日记为Day 0, 并按照动物体重开始给药。

实验方案:

药效学实验七天为一个给药周期, 每天给药一次, 给药间隔24小时, 将受试化合物灌胃给药, 一共给药三个周期。实验期间每周测定2次动物体重和肿瘤大小, 每日观察并记录临床症状。

受试化合物的给药剂量分别为10 mg/kg、30 mg/kg和100 mg/kg, 溶媒: 10%DMSO/10%Solutol/80%water。肿瘤体积 (tumor volume, TV) 计算公式为: $1/2 \times a \times b^2$, 其中a、b分别为肿瘤测量的长和宽。抑瘤率TGI (%) 计算公式为: $TGI(\%) = [1 - (\text{某处理组给药结束时平均瘤体积} - \text{该处理组开始给药时平均瘤体积}) / (\text{溶剂对照组治疗结束时平均瘤体积} - \text{溶剂对照组开始治疗时平均瘤体积})] \times 100\%$ 。相对肿瘤增殖率T/C (%) : 计算公式如下: $T/C\% = T_{RTV} / C_{RTV} \times 100\%$ (T_{RTV}: 治疗组平均RTV; C_{RTV}: 阴性对照组平均RTV)。根据肿瘤测量的结果计算出相对肿瘤体积 (relative tumor volume, RTV), 计算公式为 $RTV = V_t / V_0$, 其中V₀是分组给药时 (即Day 0) 测量所得肿瘤体积, V_t为某一次测量时的肿瘤体积, T_{RTV}与C_{RTV}取同一天数据。

数据分析:

统计分析基于试验结束时RTV的数据运用SPSS软件进行分析。两组间比较用T test进行分析, 三组或多组间比较用one-way ANOVA进行分析, 如果方差齐 (F值无显著性差异), 应用Tukey's法进行分析, 如

果方差不齐（F值有显著性差异），应用Games-Howell法进行检验。 $p < 0.05$ 认为有显著性差异。

实验结果：测试结果见表 23 和 24。

表23 本发明化合物在淋巴瘤SU-DHL-2细胞皮下异种移植瘤模型的抑瘤药效评价

组别	给药剂量	肿瘤体积 (mm^3) ^a (第 0 天)	肿瘤体积 (mm^3) ^a (第 21 天)	相对肿瘤体 积 ^a (第 21 天)	T/C (%) (第 21 天)	TGI (%) (第 21 天)
溶媒对照	0 mg/kg	139 ± 6	1883 ± 141	13.68	-	-
WX014 的 盐酸盐	10 mg/kg	139 ± 6	800 ± 48	5.79	42.33	62.13
WX014 的 盐酸盐	30 mg/kg	139 ± 6	813 ± 99	5.78	42.26	61.41
WX014 的 盐酸盐	100 mg/kg	139 ± 5	626 ± 51	4.55	33.23	72.07

注：a. 平均值 ± SEM。

表24 本发明化合物在淋巴瘤SU-DHL-2异种移植瘤模型各组间相对肿瘤体积比较的p值

组别	溶媒对照	WX014 的盐酸盐 10 mg/kg	WX014 的盐酸盐 30 mg/kg	WX014 的盐酸盐 100 mg/kg
溶媒对照	N/A	0.001	0.001	<0.001
WX014 的盐酸盐 10 mg/kg	0.001	N/A	1.000	0.268
WX014 的盐酸盐 30 mg/kg	0.001	1.000	N/A	0.507
WX014 的盐酸盐 100 mg/kg	<0.001	0.268	0.507	N/A

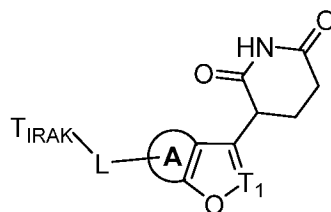
注：p 值运用 one-way ANOVA 进行分析肿瘤体积相对值（RTV）所得，数据方差不齐，应用 Games-Howell 进行分析。

结论：

本发明化合物在人淋巴瘤 SU-DHL-2 细胞皮下异种移植肿瘤 CB17 SCID 小鼠模型中具有显著的抑制肿瘤作用。

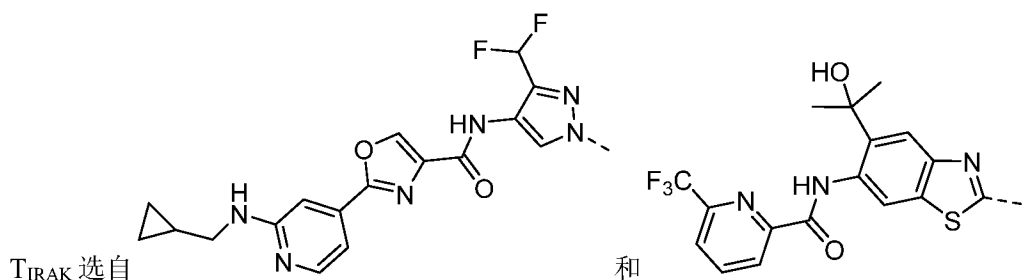
权利要求

1. 式 (II) 所示化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐,



(II)

其中,



L 选自 C₂₋₁₀ 亚烷基, 其中, 所述 C₂₋₁₀ 亚烷基上的任意 2、3 或 4 个 CH₂ 分别独立地被 Ra 置换, 所述 C₂₋₁₀ 亚烷基分别独立地任选被 1、2、3、4、5 或 6 个卤素取代;

Ra 分别独立地选自 -N(R)-、-O-、-C(O)NH-、-C₃₋₆ 环烷基-和-4-8 元杂环烷基-;

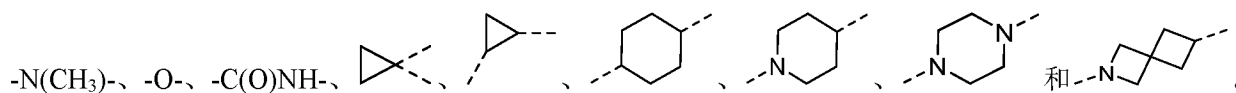
R 选自 H 和 C₁₋₄ 烷基;

T₁ 选自 CH 和 N;

环 A 选自 C₆₋₁₀ 芳基和 5-10 元杂芳基。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐, 其中, Ra 分别独立地选自 -NH-、-N(CH₃)-、-O-、-C(O)NH-、-环丙基-、-环丁基-、-环戊基-、-环己基-、-哌啶基-、-哌嗪基-、-氮杂螺[3.3]庚烷基-、-二氮杂螺[3.3]庚烷基-和-氮杂双环[3.1.0]己基-。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐, 其中, Ra 分别独立地选自 -NH-、



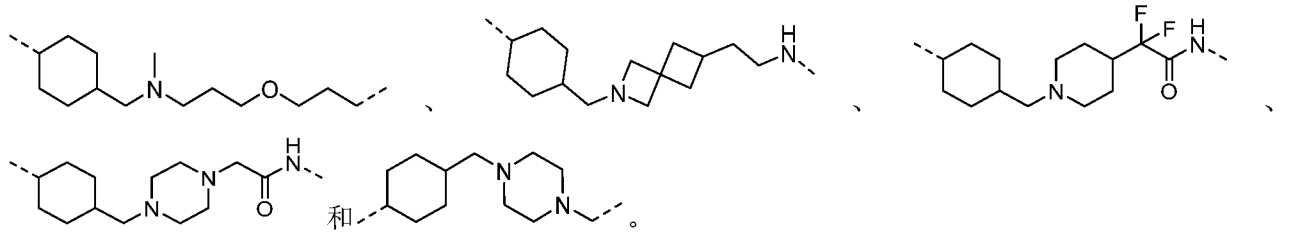
4. 根据权利要求 1 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐, 其中, L 选自 C₄₋₁₀ 亚烷基, 所述 C₄₋₁₀ 亚烷基的任意 3 个 CH₂ 分别独立地被 Ra 置换, 所述 C₄₋₁₀ 亚烷基分别独立地任选被 1、2、3、4、5 或 6 个卤素取代。

5. 根据权利要求 4 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐, 其中, L 选自 -C₃₋₆ 环烷基-CH₂-Ra-C₁₋₃ 亚烷基-Ra-C₀₋₃ 亚烷基-、-C₃₋₆ 环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-4-8 元杂环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-Ra-、和 -C₃₋₆ 环烷基-C₁₋₃

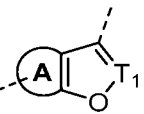
亚烷基-4-8 元杂环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-, 所述 C₁₋₃ 亚烷基分别独立地任选被 1 或 2 个卤素原子取代。

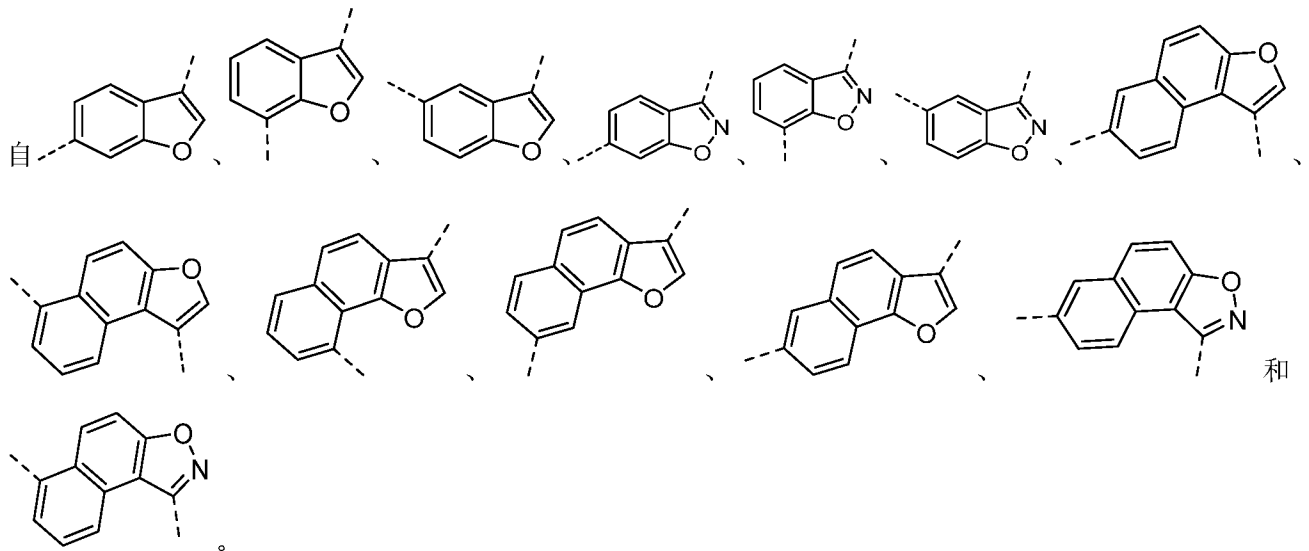
6. 根据权利要求 5 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐, 其中, L 选自-环己基-CH₂-N(R)-C₁₋₃ 亚烷基-O-C₁₋₃ 亚烷基-、-环己基-CH₂-4-8 元杂环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-N(R)-、-环己基-CH₂-哌啶基-C₁₋₃ 亚烷基-C(O)NH-、-环己基-CH₂-哌啶基-CF₂-C(O)NH-、-环己基-CH₂-哌嗪基-C₁₋₃ 亚烷基-C(O)NH-和-环己基-CH₂-哌嗪基-C₁₋₃ 亚烷基-。

7. 根据权利要求 6 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐, 其中, L 选自

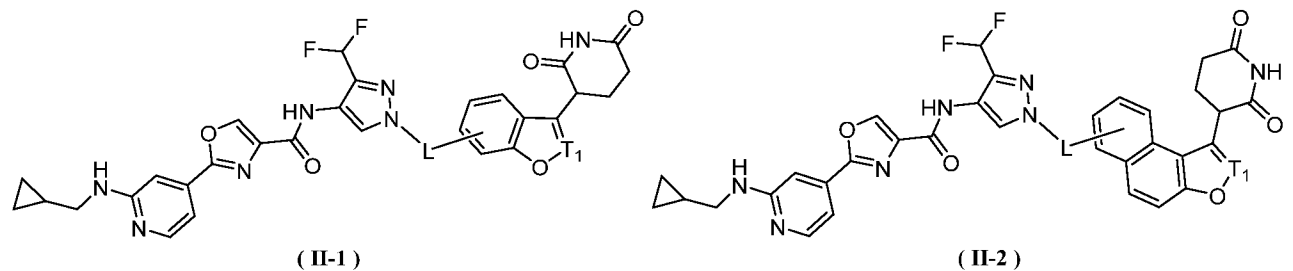


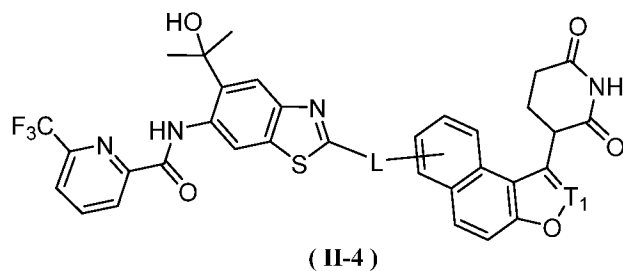
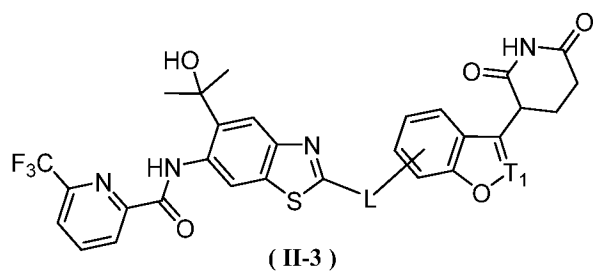
8. 根据权利要求 1 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐, 其中, 环 A 选自苯基或萘基。

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



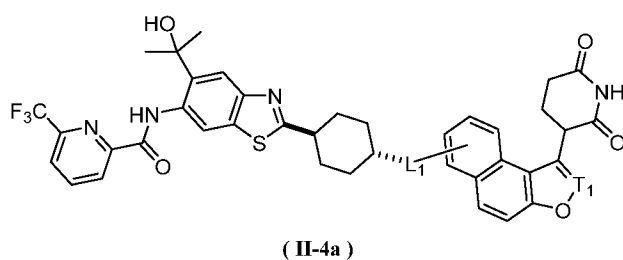
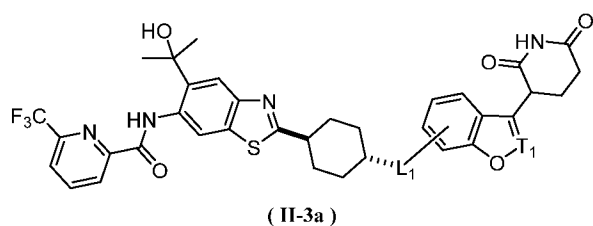
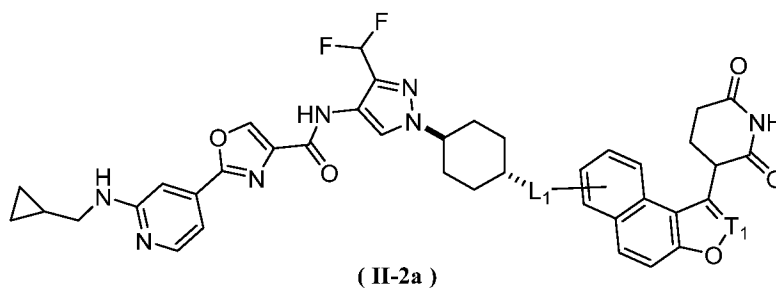
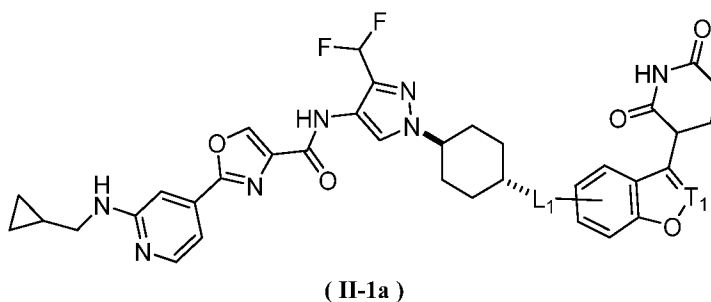
10. 根据权利要求 1 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐, 其选自式 (II-1)、(II-2)、(II-3) 和 (II-4) 所示的结构,





其中, L 和 T₁ 如权利要求 1 所定义。

11. 根据权利要求 1 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐, 其选自式 (II-1a)、(II-2a)、(II-3a) 和 (II-4a) 所示的结构,

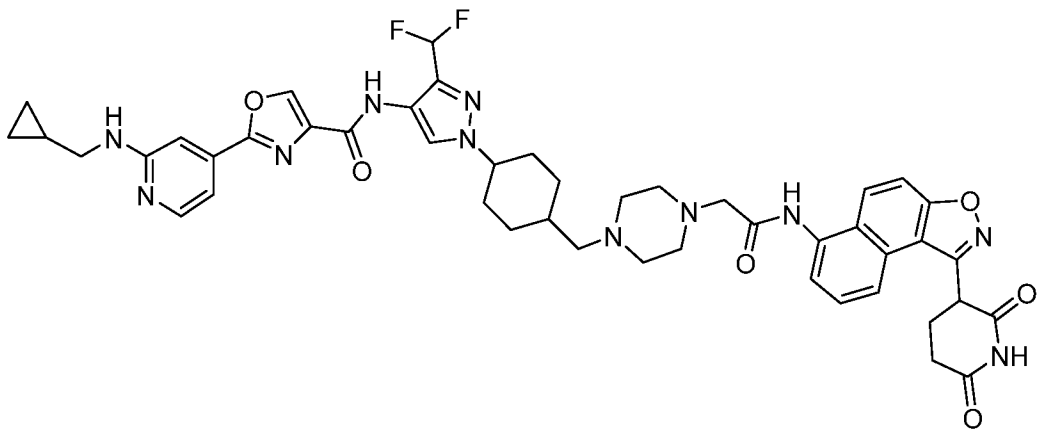
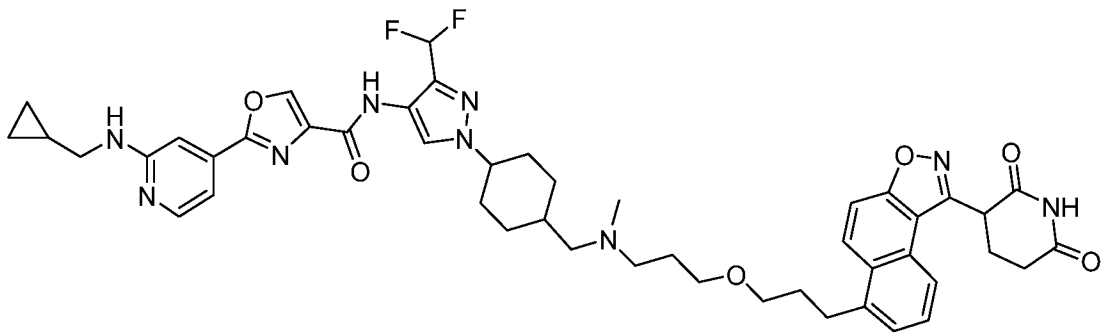
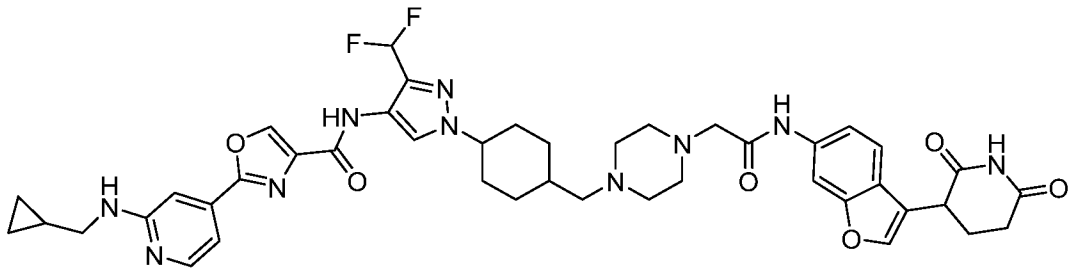
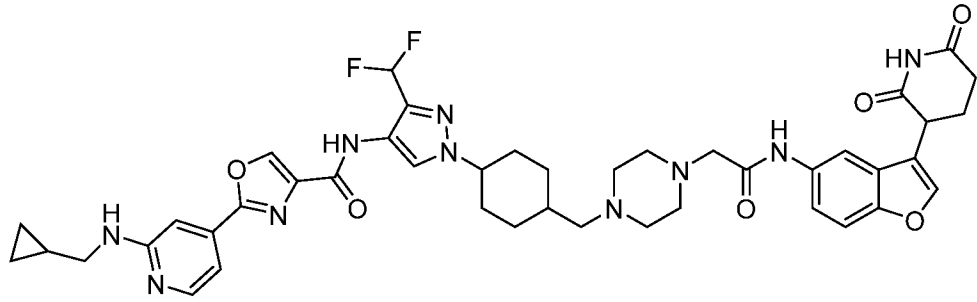
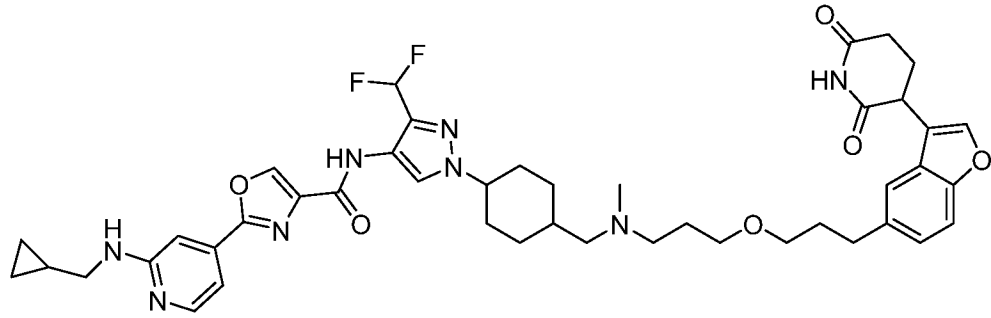


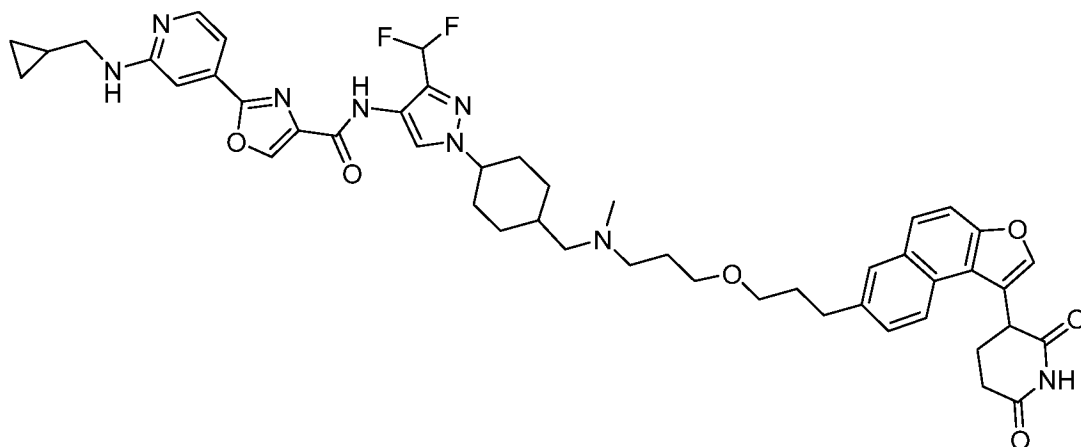
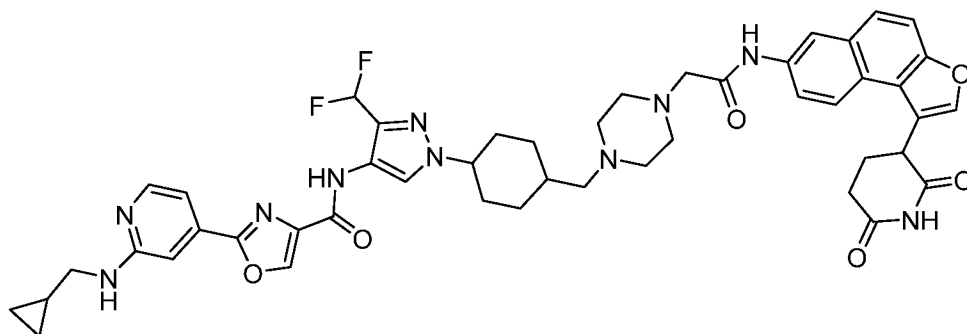
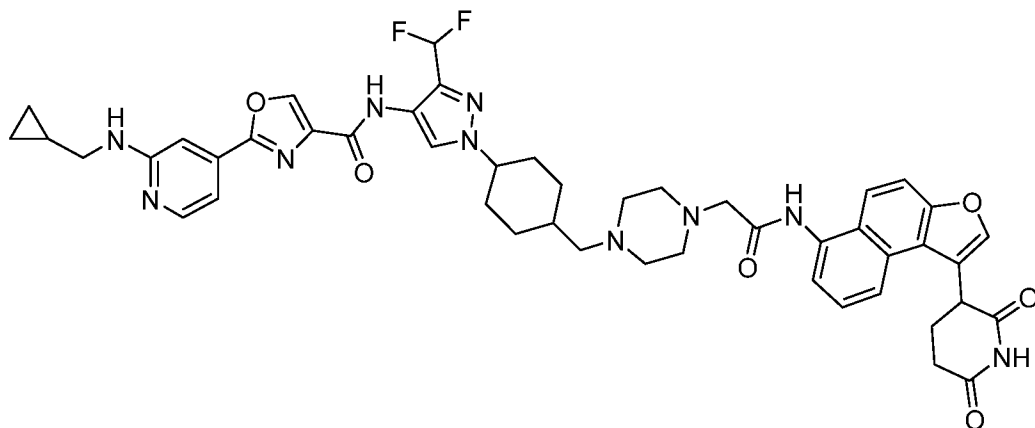
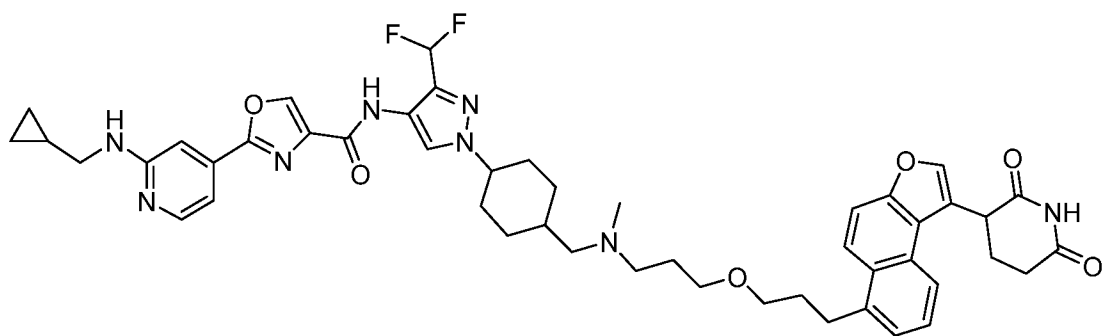
其中,

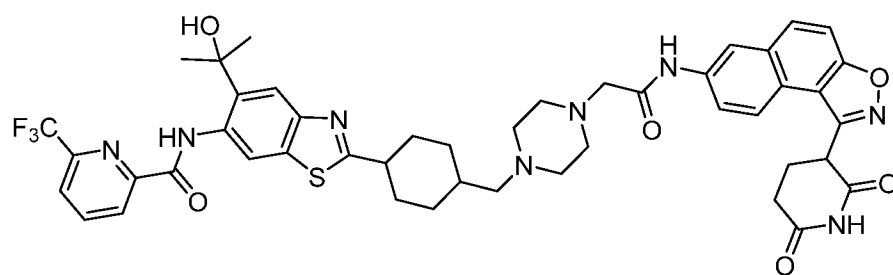
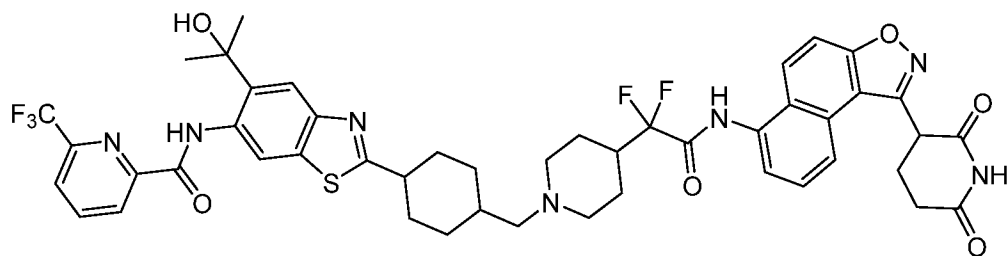
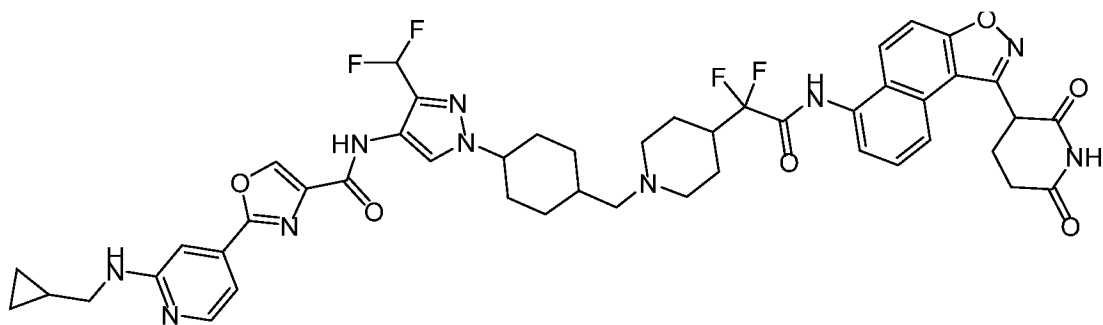
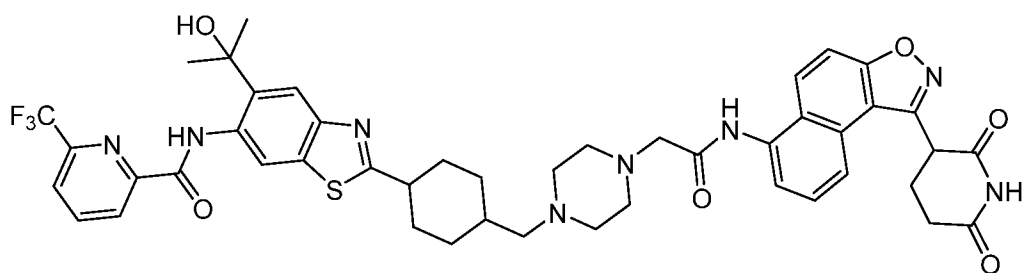
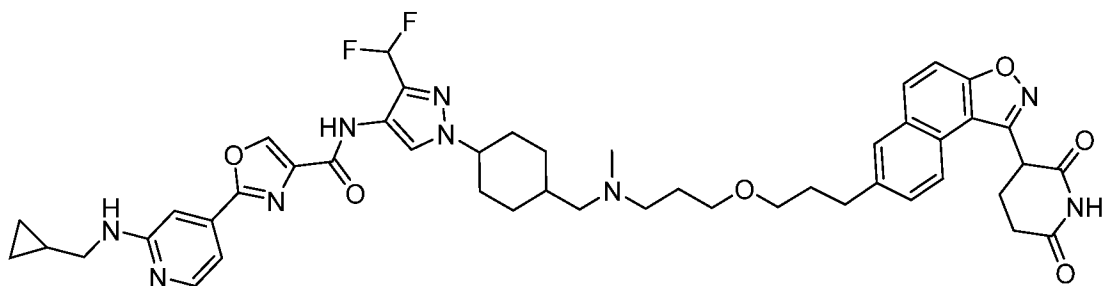
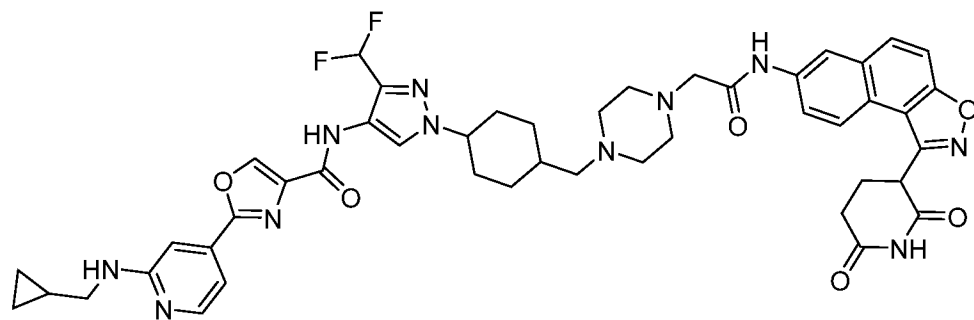
L₁ 选自 -C₁₋₃ 亚烷基-Ra-C₁₋₃ 亚烷基-Ra-C₀₋₃ 亚烷基-, -C₁₋₃ 亚烷基-4-8 元杂环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-Ra-和- C₁₋₃ 亚烷基-4-8 元杂环烷基-C₁₋₃ 亚烷基-, 所述 C₁₋₃ 亚烷基分别独立地任选被 1 或 2 个被卤素原子取代;

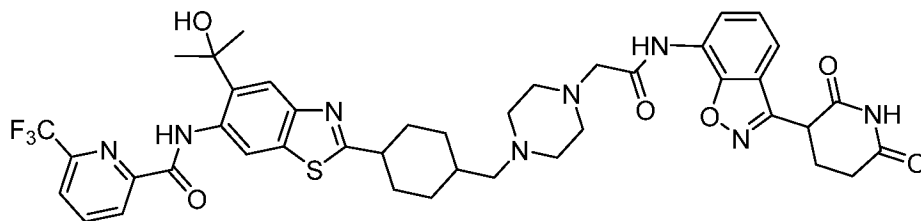
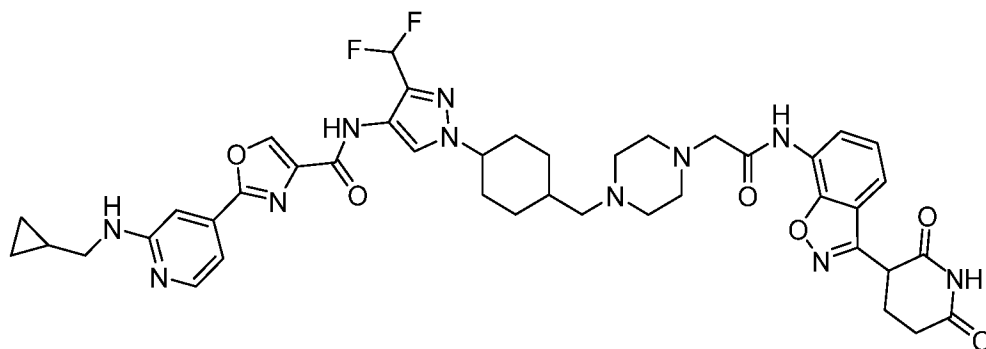
T₁ 和 Ra 如权利要求 1 所定义。

12. 下列化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐,

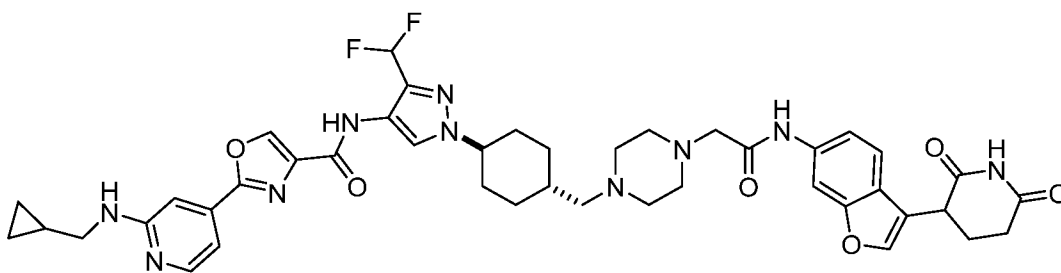
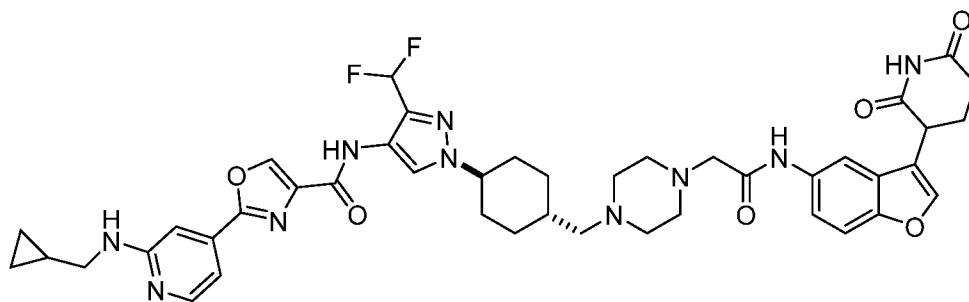
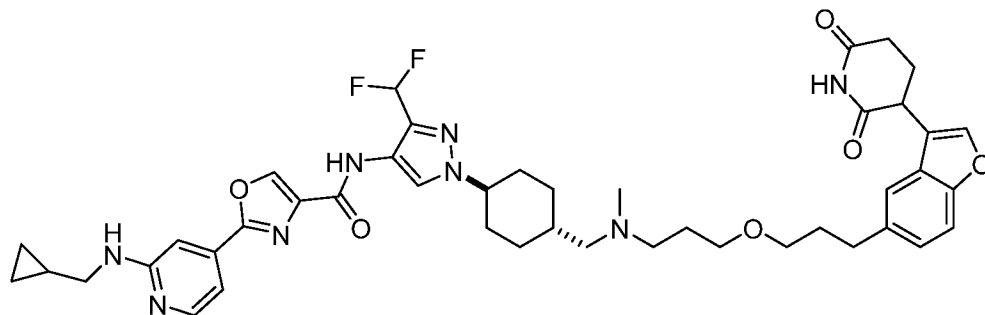


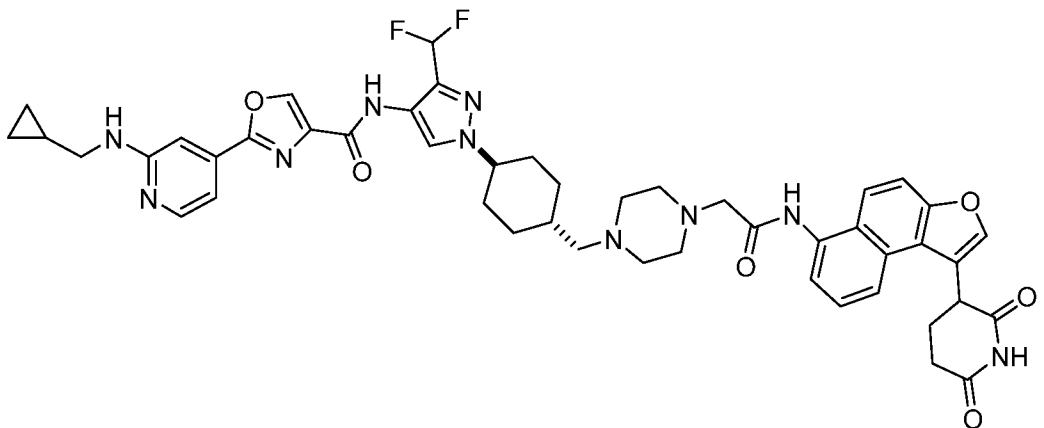
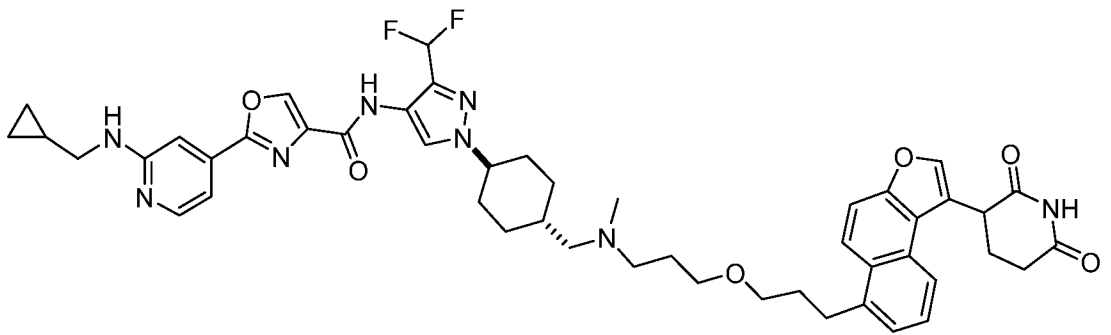
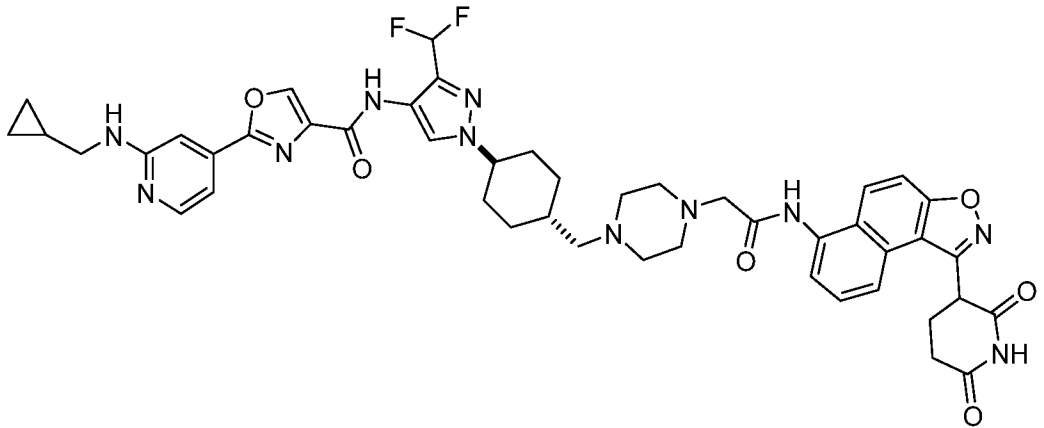
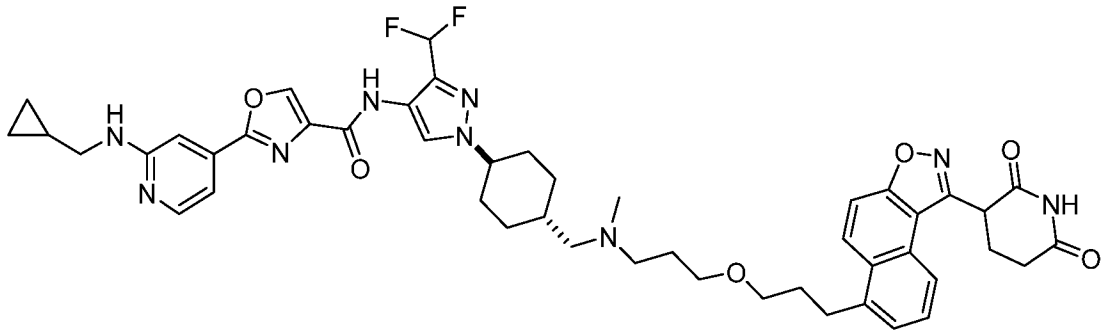


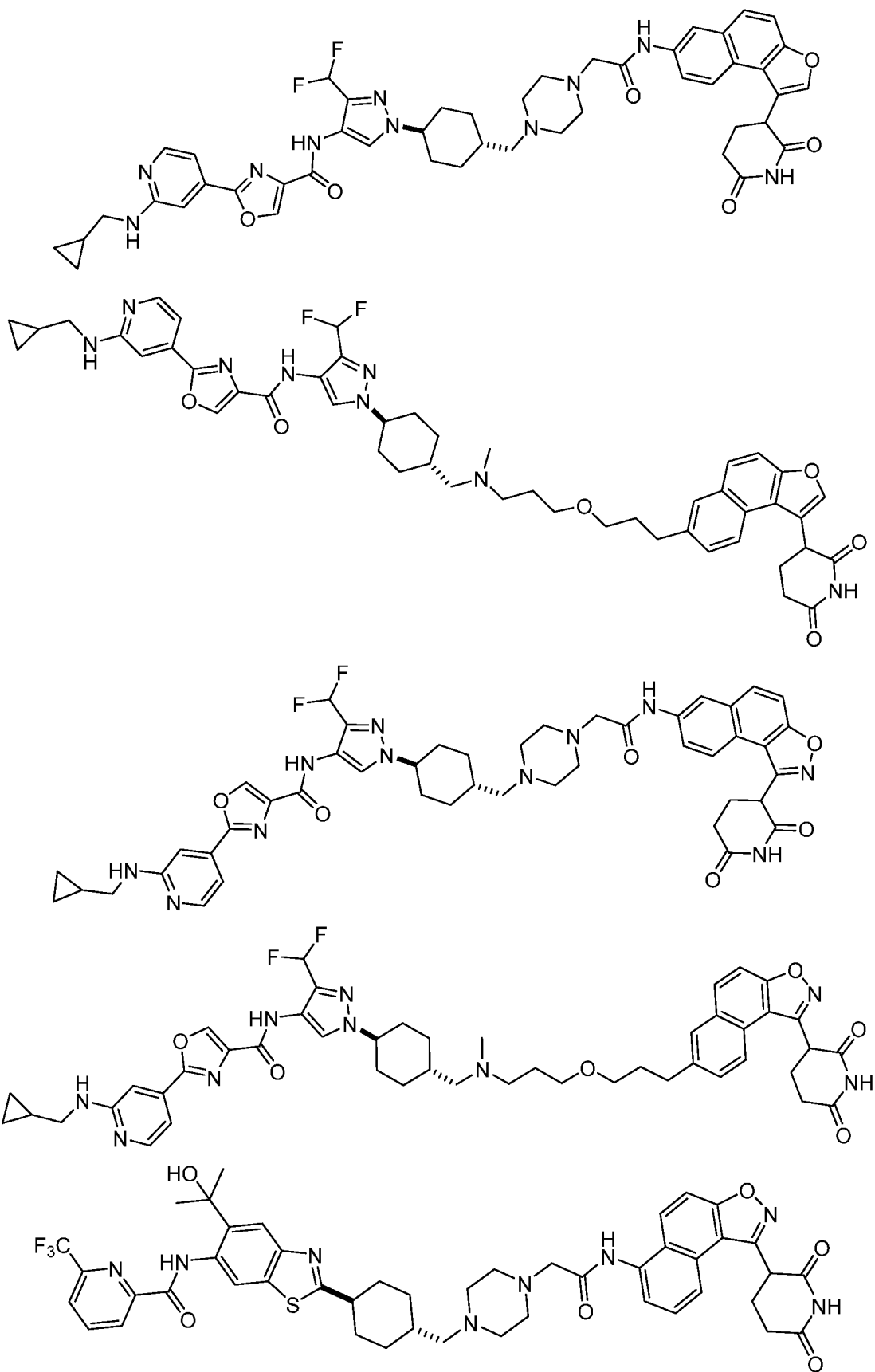


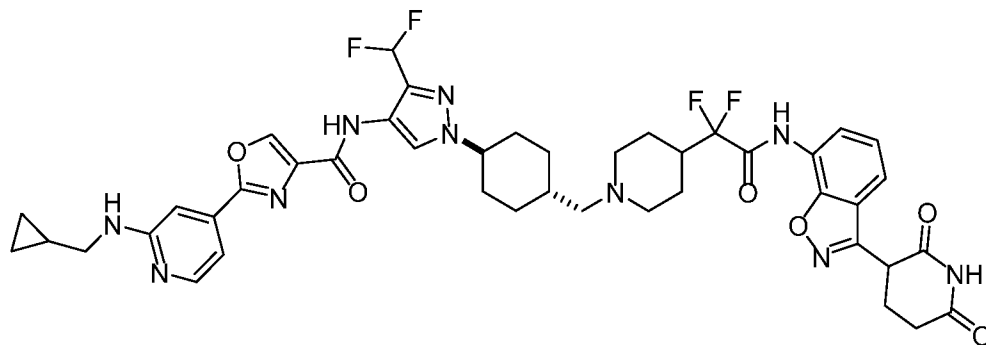
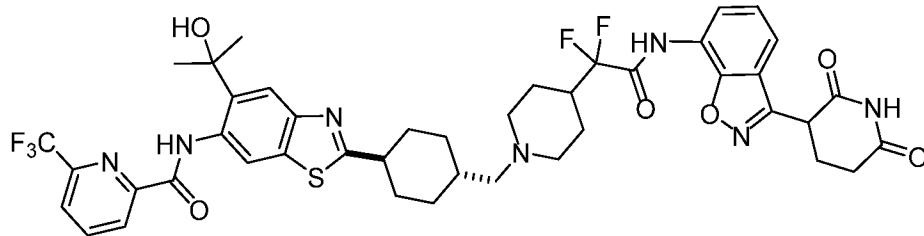
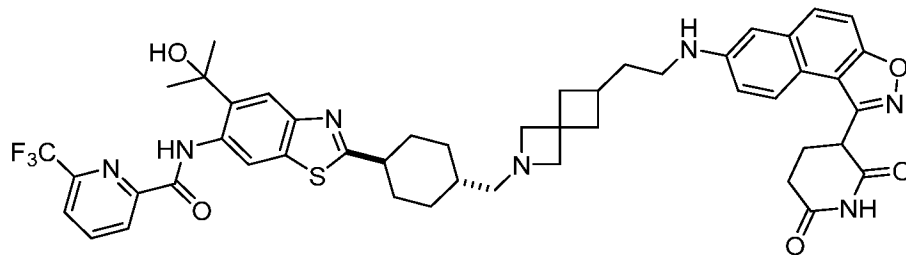
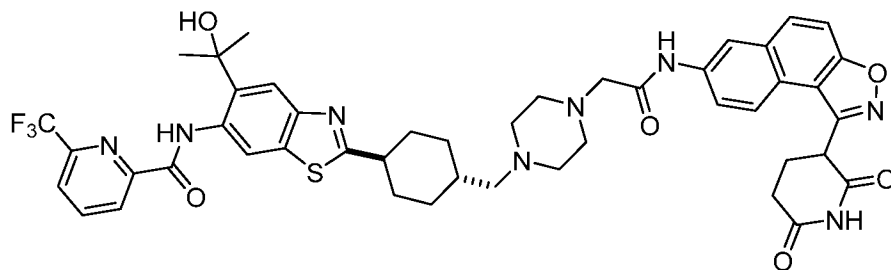
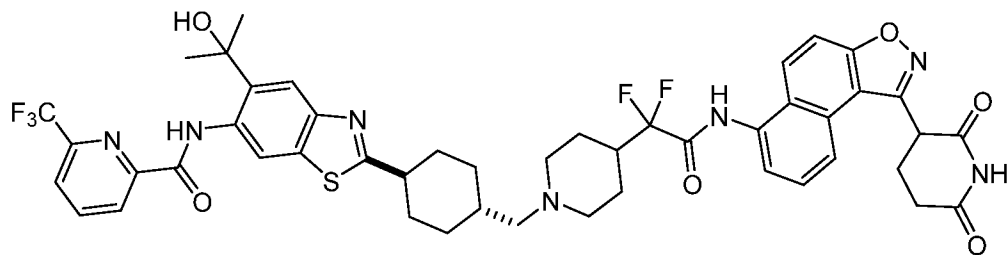
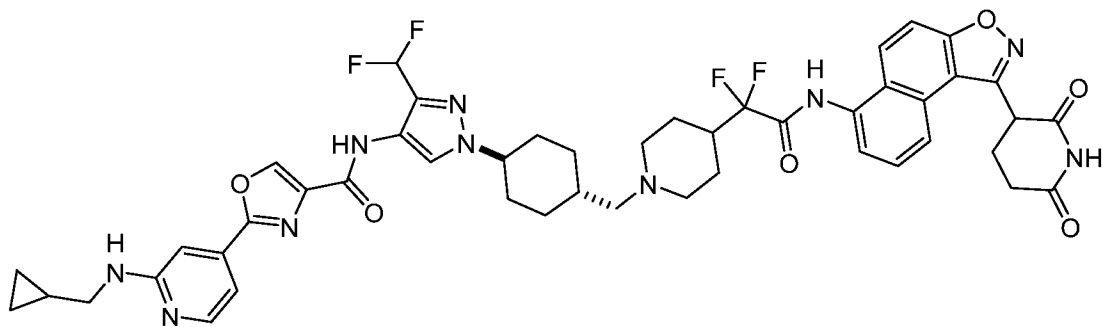


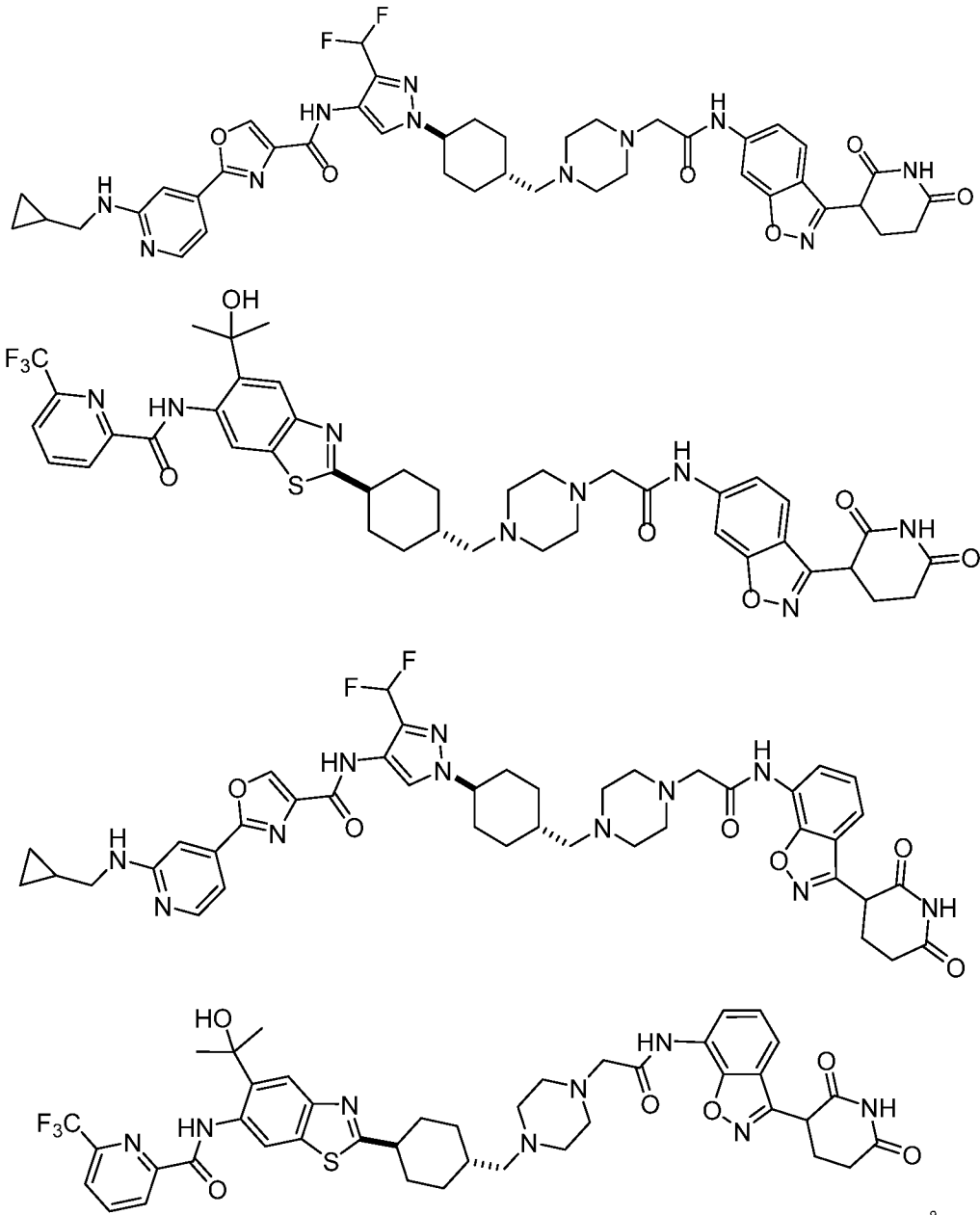
13. 根据权利要求 12 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其化合物选自：



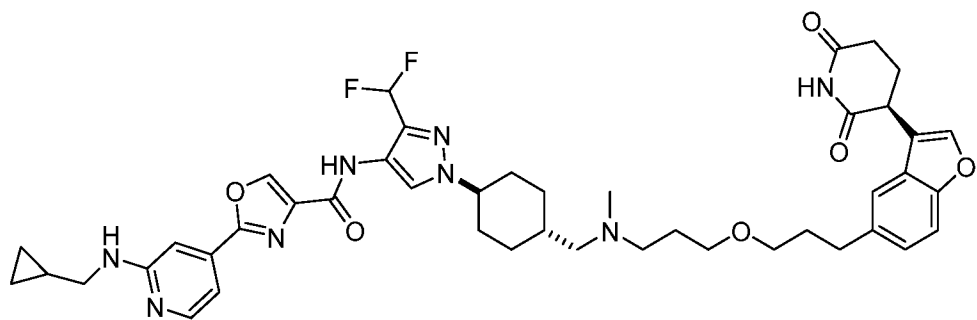


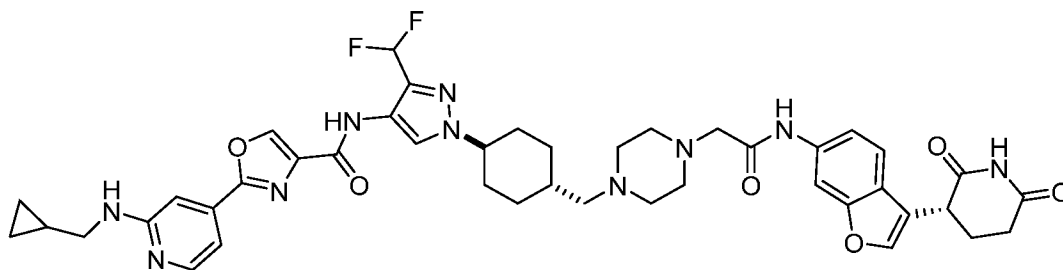
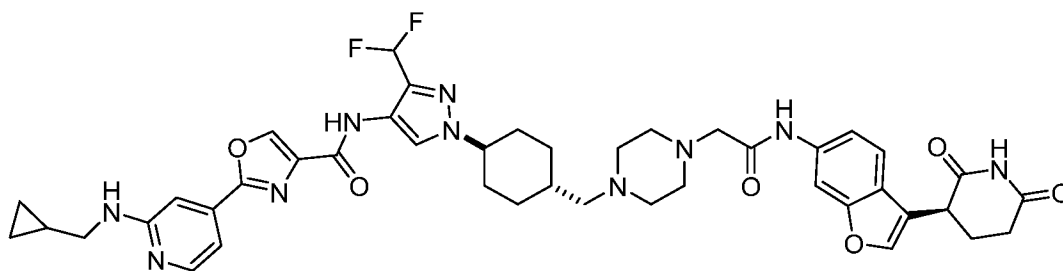
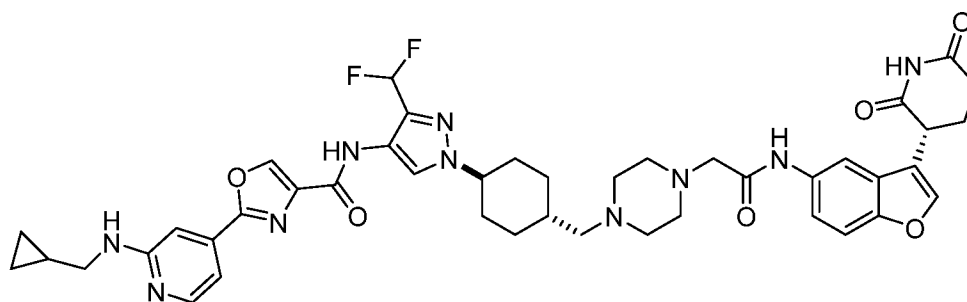
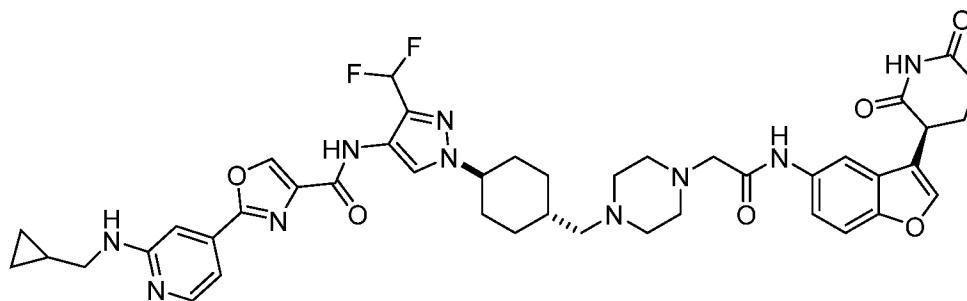
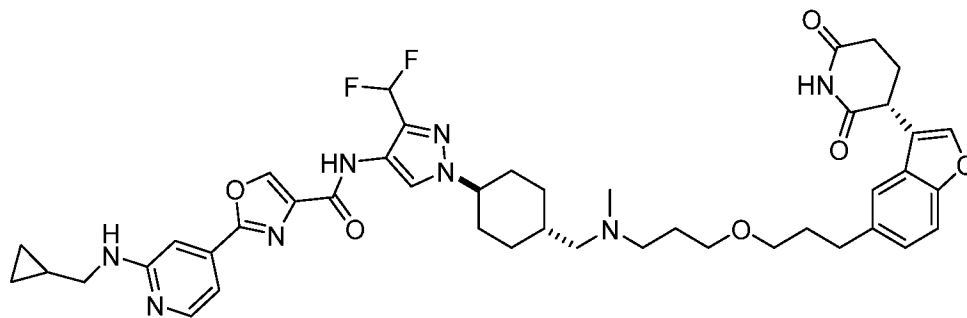


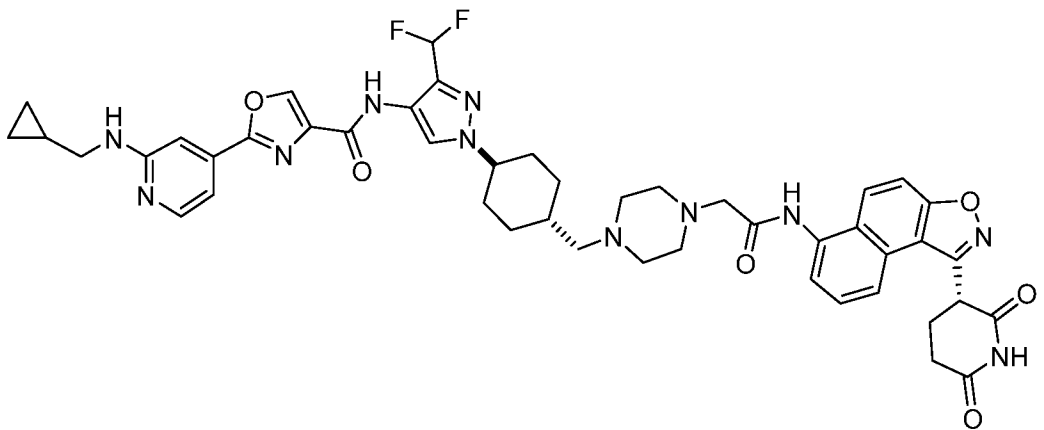
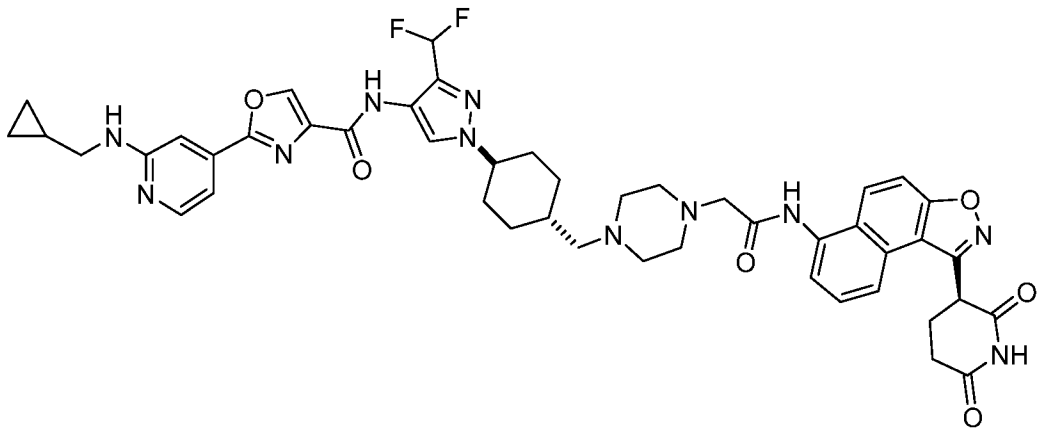
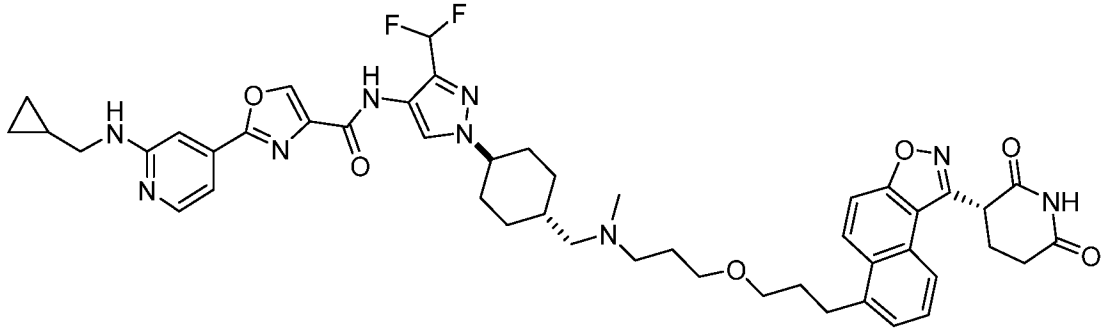
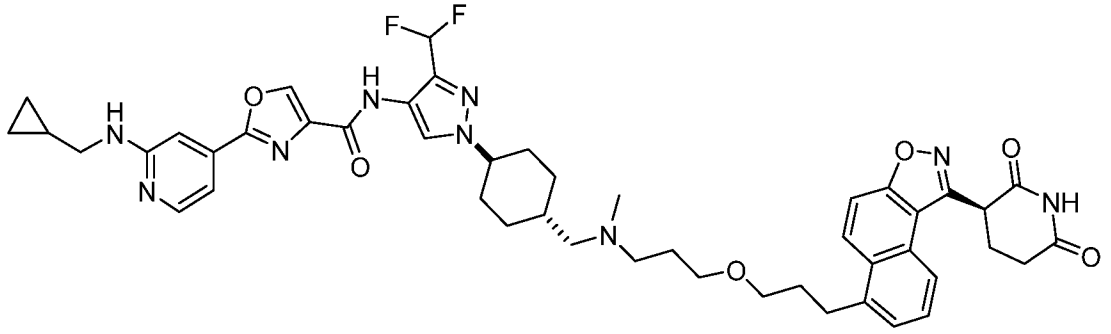


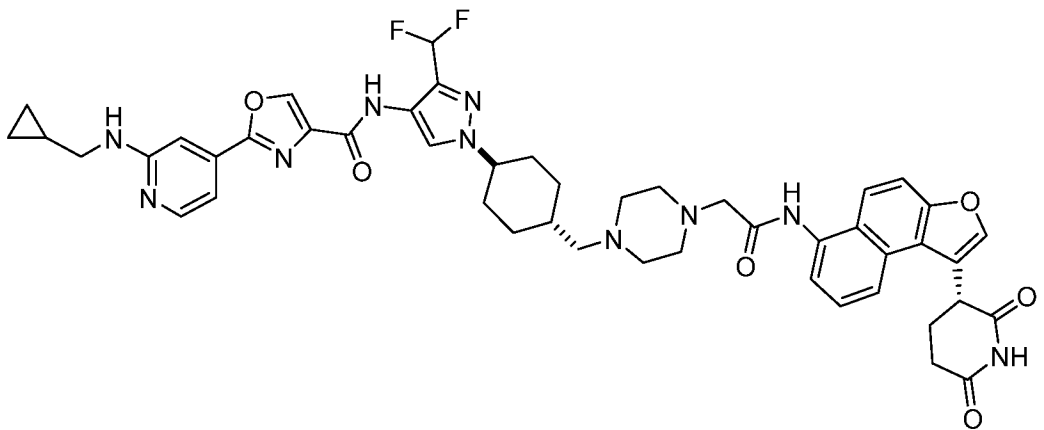
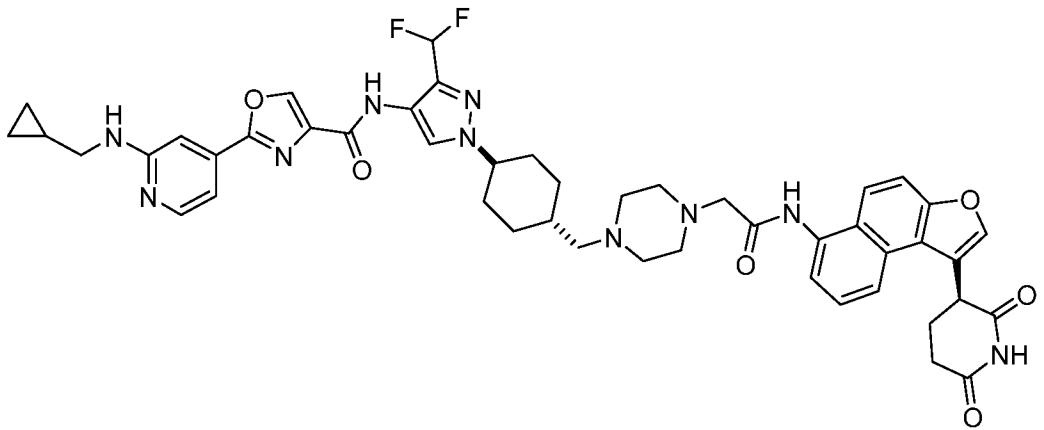
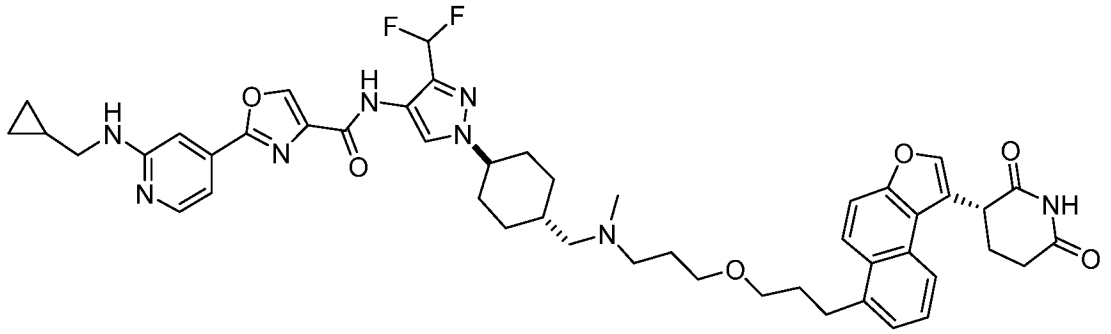
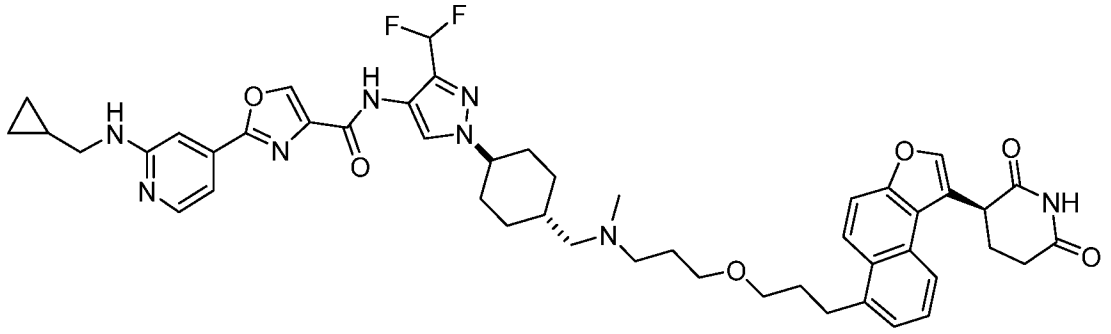


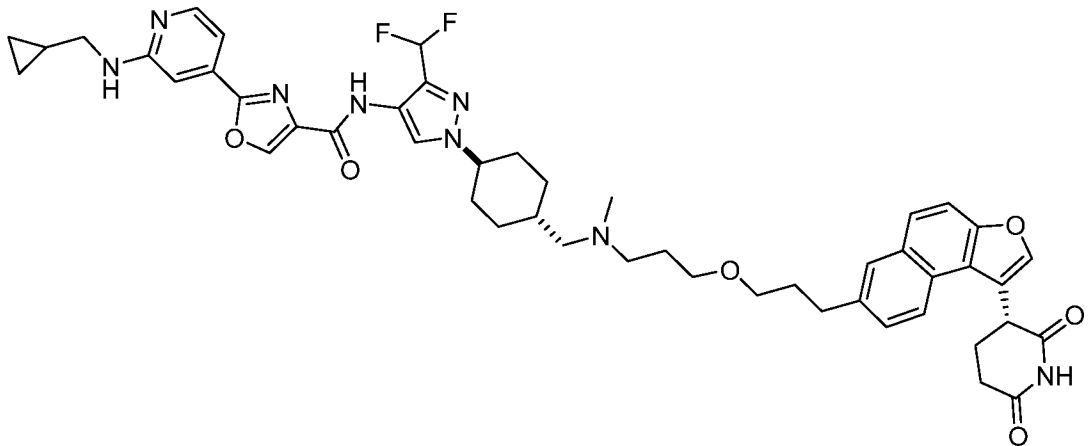
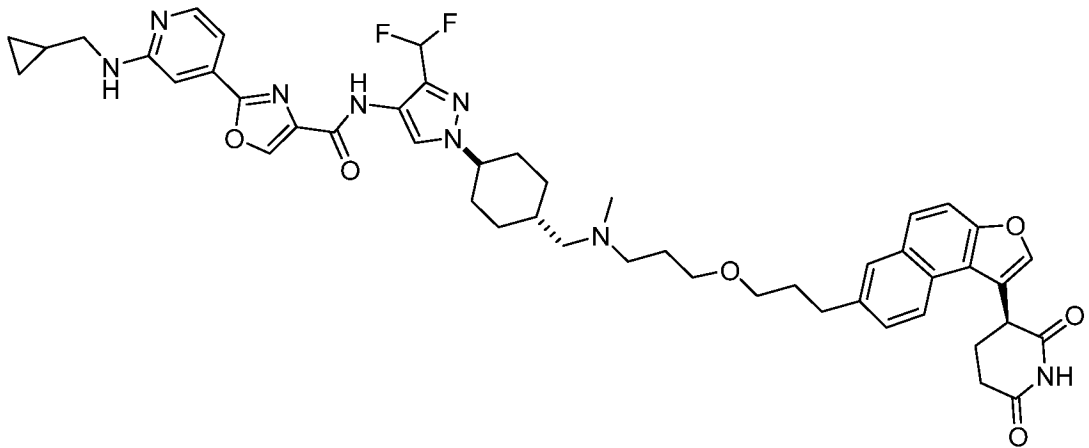
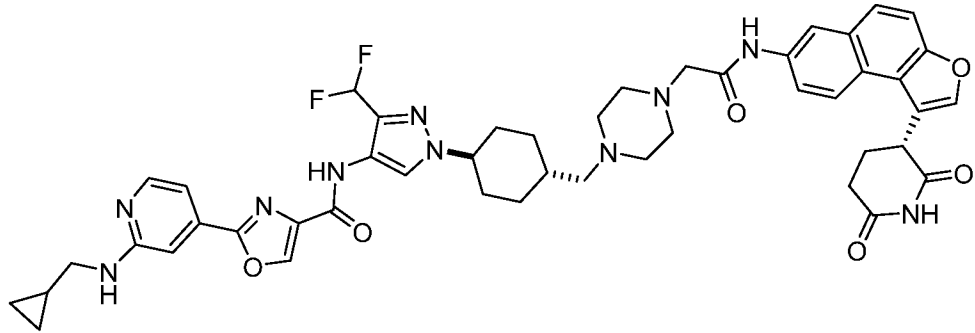
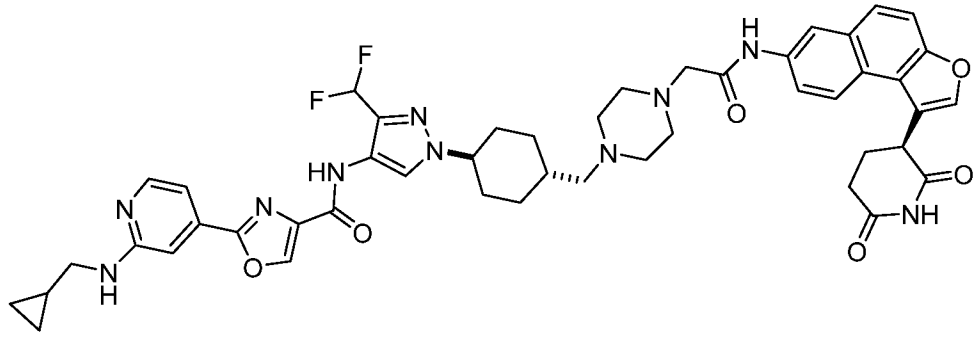
14. 根据权利要求 13 所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐，其化合物选自：

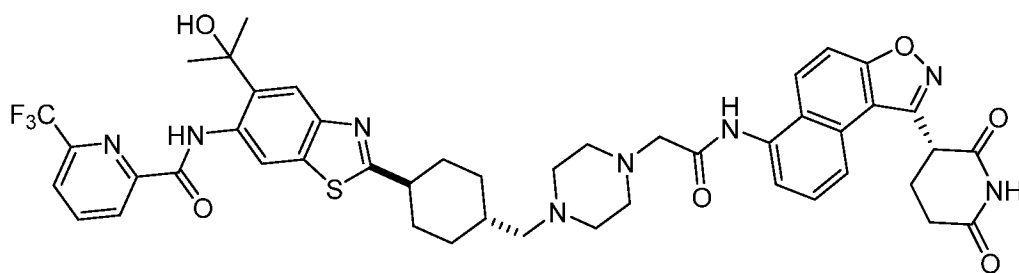
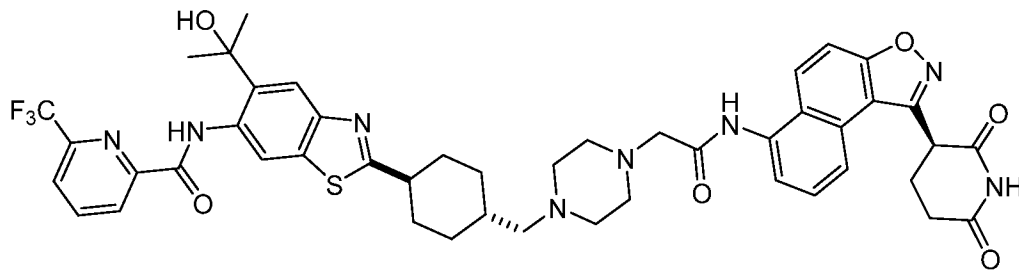
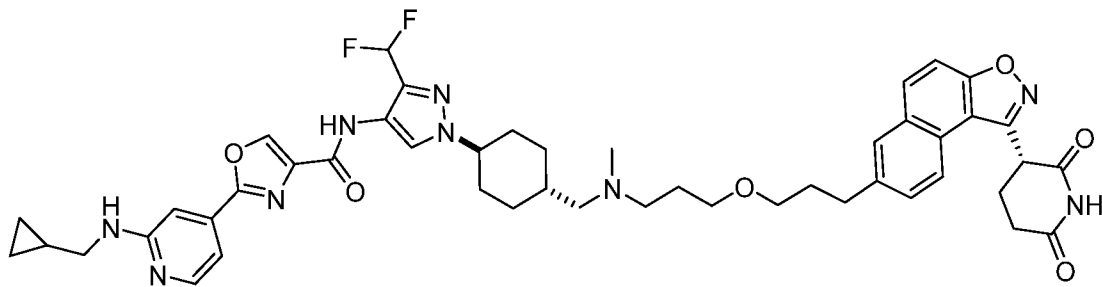
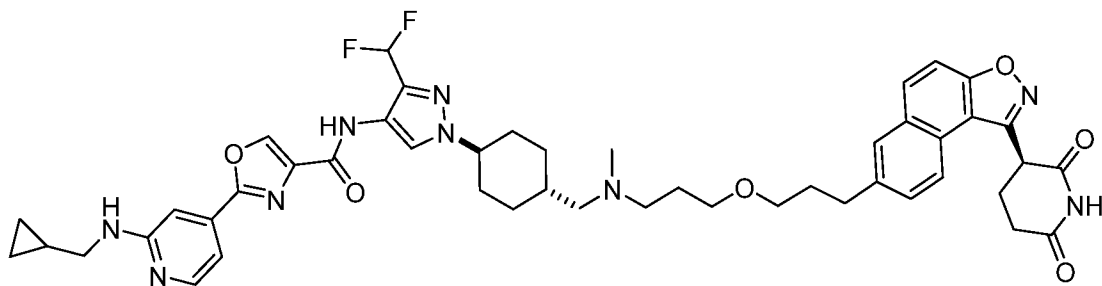
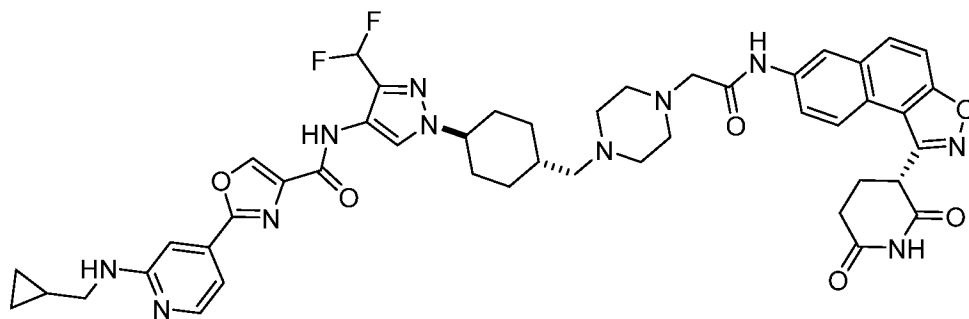
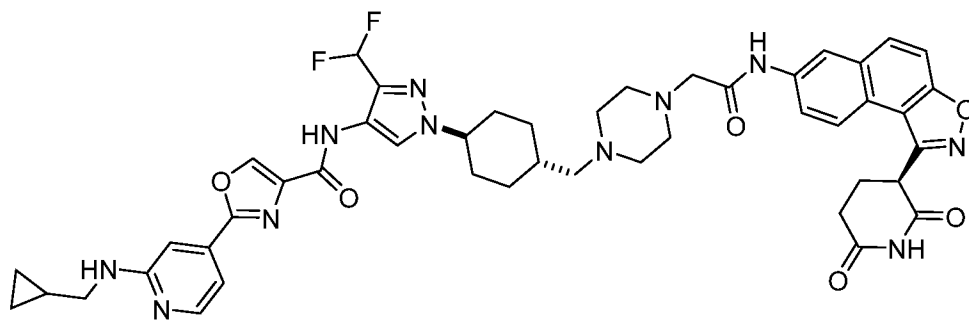


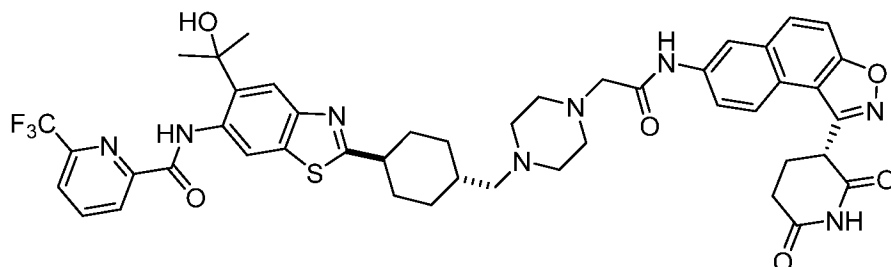
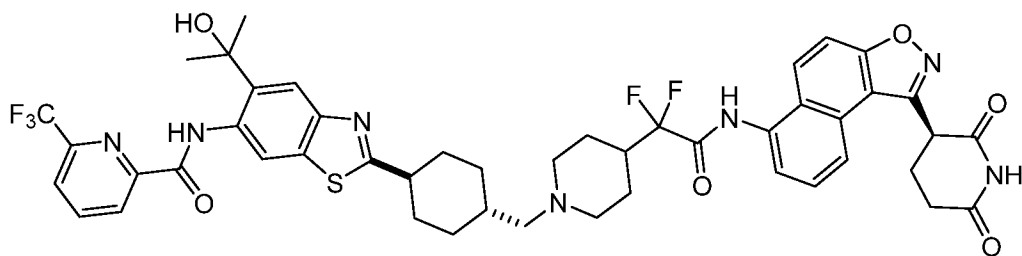
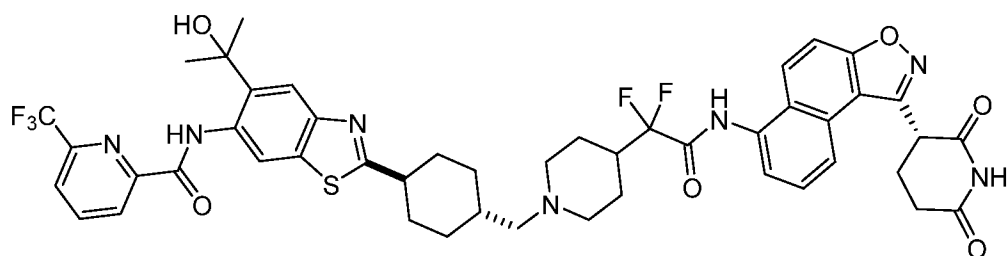
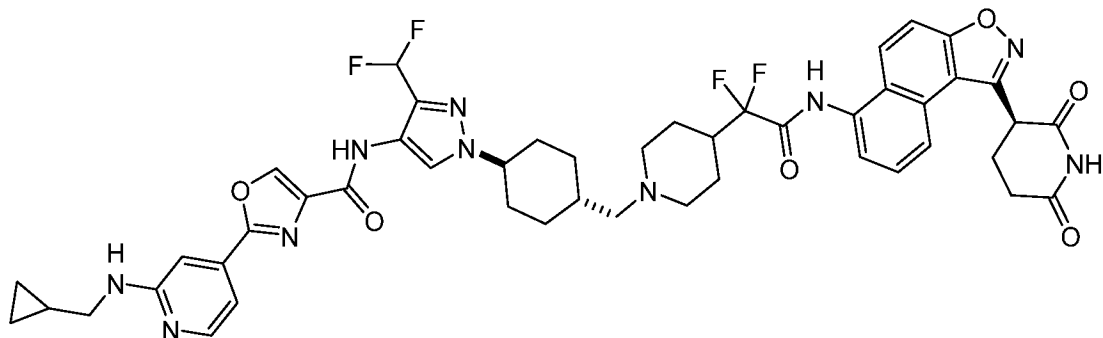
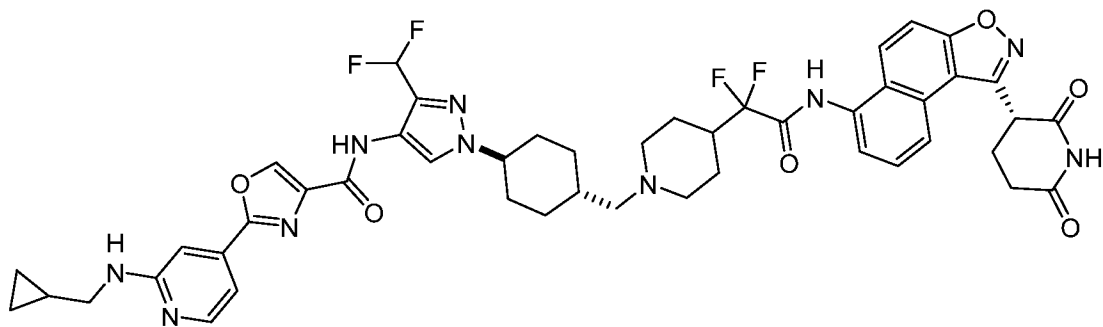


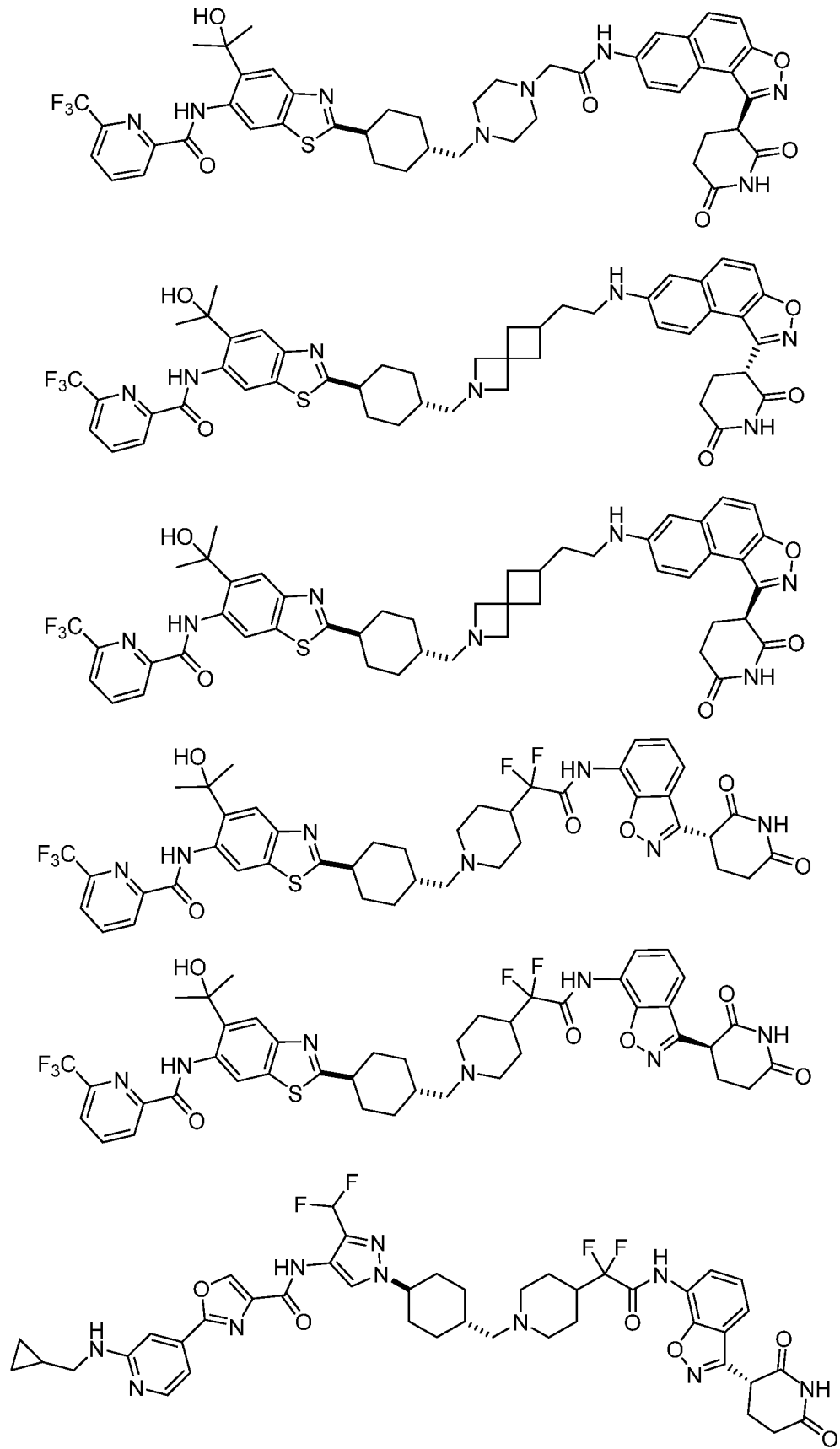


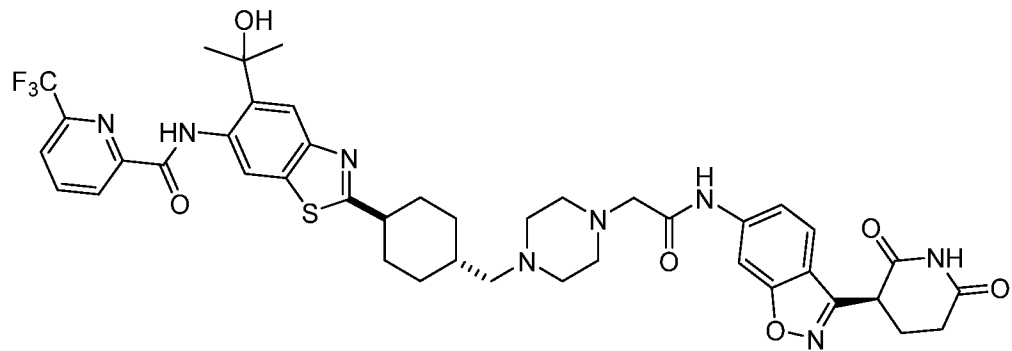
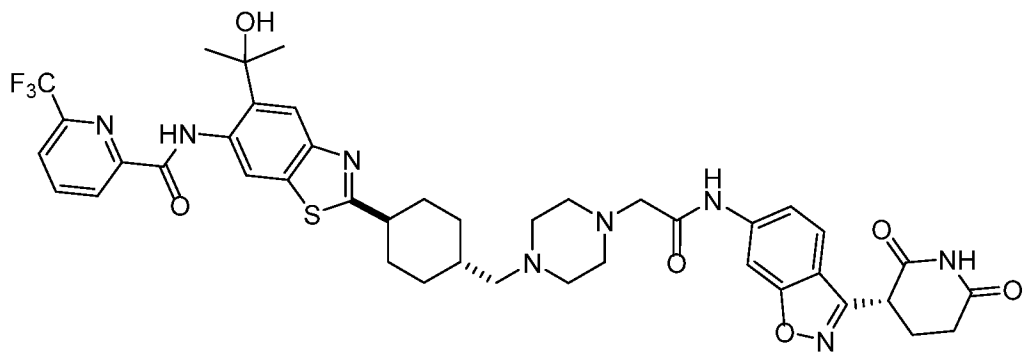
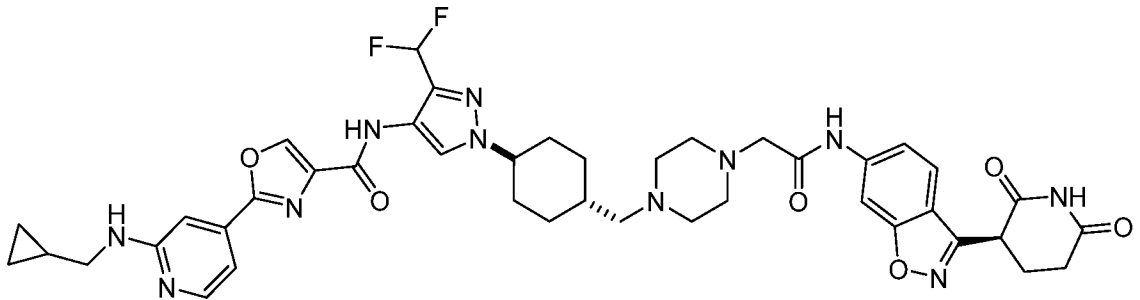
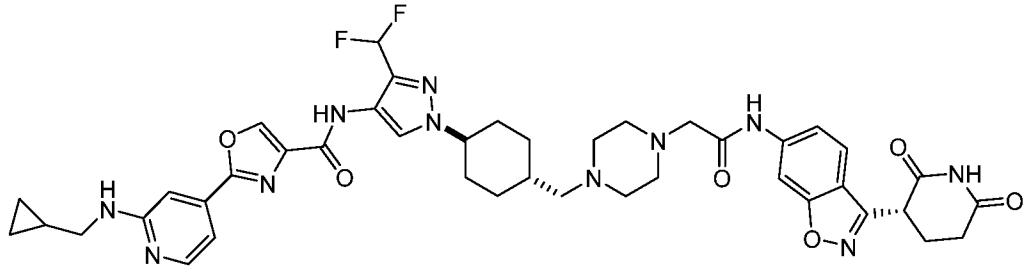
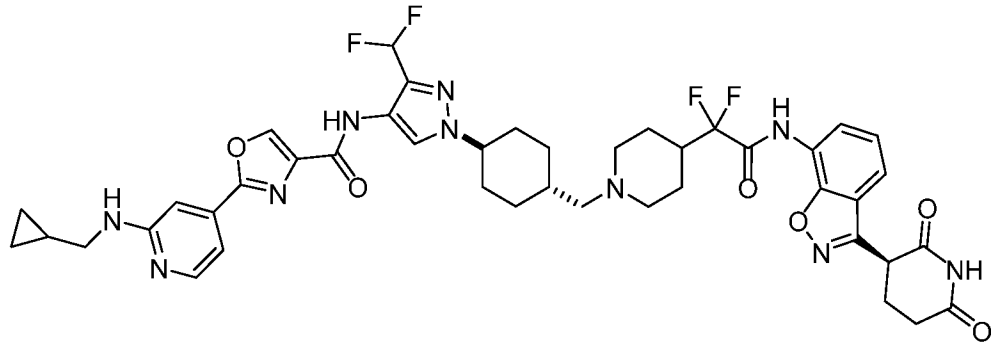


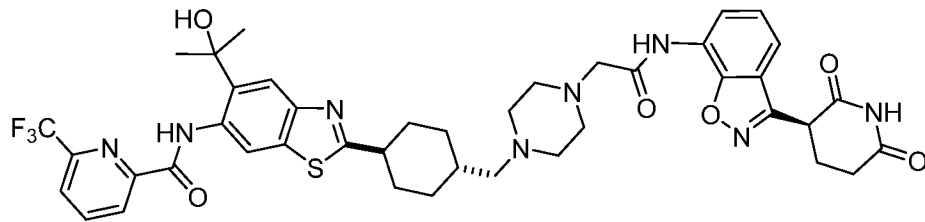
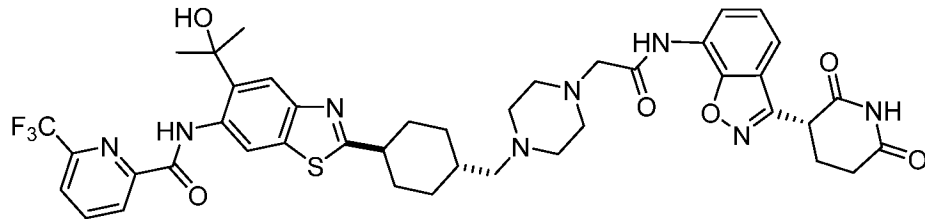
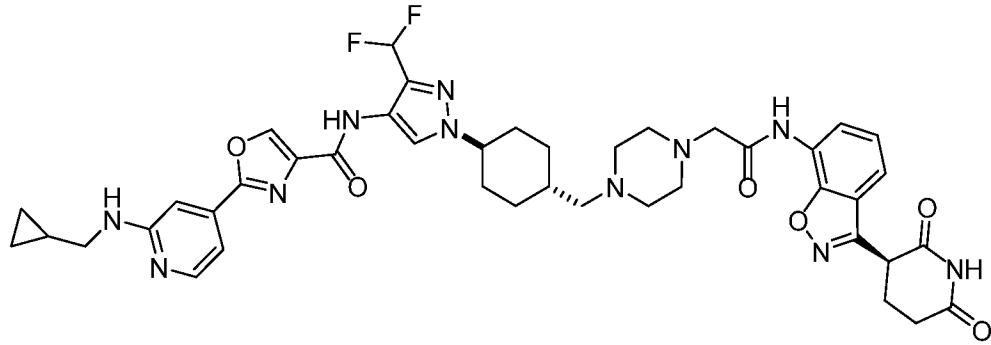
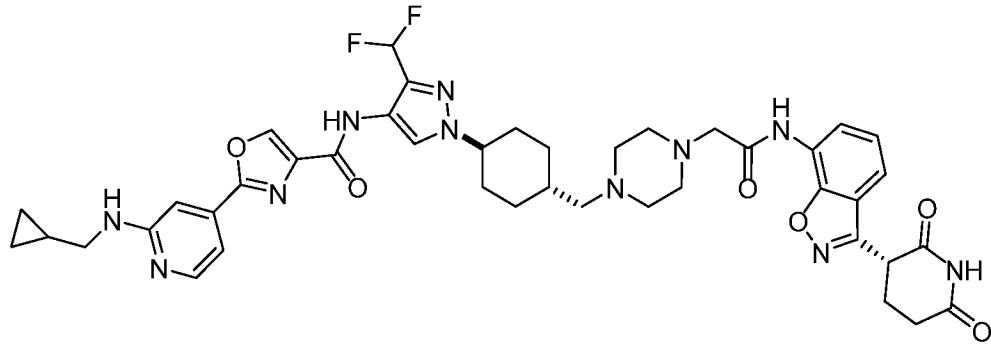












15.一种药物组合物，其含有治疗有效量的权利要求 1-14 任意一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐。

16.权利要求 1-14 任意一项所述的化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐、或者权利要求 15 所述的药物组合物在制备治疗与白细胞介素-1 受体相关激酶 4 降解靶向嵌合体相关肿瘤的药物中的应用。

17.根据权利要求 16 所述的应用，其特征在于，所述与白细胞介素-1 受体相关激酶 4 降解靶向嵌合体相关肿瘤是 B 细胞淋巴瘤。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/120267

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07D 413/14(2006.01)i; A61K 31/4545(2006.01)i; A61K 31/496(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D; A61K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNPAT, CNKI, EPODOC, WPI, STN: 南京明德新药研发有限公司, 哌啶, 白细胞介素-1受体相关激酶, 蛋白降解靶向嵌合体, piperidin+, IRAK, PROTAC, 结构检索		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020264499 A1 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 30 December 2020 (2020-12-30) see claims 1, 4, and 18-22, and description, paragraph [0014], and table 1	1-17
X	WO 2021127283 A2 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 24 June 2021 (2021-06-24) see claims 1, 4, and 25-28, and description, paragraph [0014], and table 1	1-17
X	CN 113423427 A (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 21 September 2021 (2021-09-21) see claims 1, 3, and 20-26, and description, table 1	1-17
X	CN 112105385 A (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 18 December 2020 (2020-12-18) see claims 1, 3, and 15-20, and description, table 1	1-17
A	WO 2021127190 A1 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 24 June 2021 (2021-06-24) see claims 1, 3, and 7-12, and description, table 1	1-17
A	WO 2021185291 A1 (MEDSHINE DISCOVERY INC.) 23 September 2021 (2021-09-23) see claims 1, 10, and 19-20	1-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 November 2022		Date of mailing of the international search report 15 December 2022
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/120267

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2020264499	A1	30 December 2020	EP	3989966	A1	04 May 2022
				JP	2022538192	A	31 August 2022
				BR	112021026517	A2	10 May 2022
				CO	2021017893	A2	17 January 2022
				KR	20220032063	A	15 March 2022
				CA	3144805	A1	30 December 2020
				CN	114502158	A	13 May 2022
				IL	289267	A	01 February 2022
				AU	2020302118	A1	24 February 2022
				<hr/>			
WO	2021127283	A2	24 June 2021	US	2022340570	A1	27 October 2022
				EP	4076524	A2	26 October 2022
<hr/>							
CN	113423427	A	21 September 2021	BR	112021010484	A2	24 August 2021
				JP	2022516401	A	28 February 2022
				CO	2021007068	A2	30 September 2021
				IL	283471	A	29 July 2021
				CA	3119773	A1	04 June 2020
				US	2021323952	A1	21 October 2021
				KR	20210111252	A	10 September 2021
				EP	3886904	A1	06 October 2021
				US	2022324854	A1	13 October 2022
				US	11117889	B1	14 September 2021
				WO	2020113233	A1	04 June 2020
				AU	2019389174	A1	01 July 2021
				SG	11202105424 P	A	29 June 2021
				<hr/>			
CN	112105385	A	18 December 2020	AU	2018396142	A1	16 July 2020
				SG	11202005912 P	A	29 July 2020
				US	2019192668	A1	27 June 2019
				CA	3086763	A1	04 July 2019
				BR	112020012997	A2	01 December 2020
				JP	2021508703	A	11 March 2021
				EP	3731869	A1	04 November 2020
				IL	275649	A	31 August 2020
				WO	2019133531	A1	04 July 2019
				US	11318205	B1	03 May 2022
				<hr/>			
WO	2021127190	A1	24 June 2021	BR	112022011651	A2	23 August 2022
				AU	2020407200	A1	21 July 2022
				EP	4076520	A1	26 October 2022
				CO	2022008406	A2	08 July 2022
				CN	115052627	A	13 September 2022
				CA	3161878	A1	24 June 2021
				TW	202136251	A	01 October 2021
				IL	293917	A	01 August 2022
				KR	20220145325	A	28 October 2022
				US	2021228562	A1	29 July 2021
				<hr/>			
WO	2021185291	A1	23 September 2021	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/120267

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07D 413/14(2006.01)i; A61K 31/4545(2006.01)i; A61K 31/496(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																							
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07D; A61K; A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNPAT, CNKI, EPODOC, WPI, STN: 南京明德新药研发有限公司, 哌啶, 白细胞介素-1受体相关激酶, 蛋白降解靶向嵌合体, piperidin+, IRAK, PROTAC, 结构检索</p>																							
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>WO 2020264499 A1 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 2020年12月30日 (2020 - 12 - 30) 参见权利要求1, 4, 18-22、说明书第[0014]段、表1</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2021127283 A2 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 2021年6月24日 (2021 - 06 - 24) 参见权利要求1, 4, 25-28、说明书第[0014]段、表1</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 113423427 A (凯麦拉医疗公司) 2021年9月21日 (2021 - 09 - 21) 参见权利要求1, 3, 20-26、说明书表1</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 112105385 A (凯麦拉医疗公司) 2020年12月18日 (2020 - 12 - 18) 参见权利要求1, 3, 15-20、说明书表1</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2021127190 A1 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 2021年6月24日 (2021 - 06 - 24) 参见权利要求1, 3, 7-12、说明书表1</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2021185291 A1 (南京明德新药研发有限公司) 2021年9月23日 (2021 - 09 - 23) 参见权利要求1, 10, 19-20</td> <td>1-17</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	X	WO 2020264499 A1 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 2020年12月30日 (2020 - 12 - 30) 参见权利要求1, 4, 18-22、说明书第[0014]段、表1	1-17	X	WO 2021127283 A2 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 2021年6月24日 (2021 - 06 - 24) 参见权利要求1, 4, 25-28、说明书第[0014]段、表1	1-17	X	CN 113423427 A (凯麦拉医疗公司) 2021年9月21日 (2021 - 09 - 21) 参见权利要求1, 3, 20-26、说明书表1	1-17	X	CN 112105385 A (凯麦拉医疗公司) 2020年12月18日 (2020 - 12 - 18) 参见权利要求1, 3, 15-20、说明书表1	1-17	A	WO 2021127190 A1 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 2021年6月24日 (2021 - 06 - 24) 参见权利要求1, 3, 7-12、说明书表1	1-17	A	WO 2021185291 A1 (南京明德新药研发有限公司) 2021年9月23日 (2021 - 09 - 23) 参见权利要求1, 10, 19-20	1-17
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
X	WO 2020264499 A1 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 2020年12月30日 (2020 - 12 - 30) 参见权利要求1, 4, 18-22、说明书第[0014]段、表1	1-17																					
X	WO 2021127283 A2 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 2021年6月24日 (2021 - 06 - 24) 参见权利要求1, 4, 25-28、说明书第[0014]段、表1	1-17																					
X	CN 113423427 A (凯麦拉医疗公司) 2021年9月21日 (2021 - 09 - 21) 参见权利要求1, 3, 20-26、说明书表1	1-17																					
X	CN 112105385 A (凯麦拉医疗公司) 2020年12月18日 (2020 - 12 - 18) 参见权利要求1, 3, 15-20、说明书表1	1-17																					
A	WO 2021127190 A1 (KYMERA THERAPEUTICS, INC.) 2021年6月24日 (2021 - 06 - 24) 参见权利要求1, 3, 7-12、说明书表1	1-17																					
A	WO 2021185291 A1 (南京明德新药研发有限公司) 2021年9月23日 (2021 - 09 - 23) 参见权利要求1, 10, 19-20	1-17																					
<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>“&” 同族专利的文件</p>																							
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年11月23日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年12月15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>孙丽丽</p> <p>电话号码 86-(10)-53962159</p>																					

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/120267

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	2020264499	A1	2020年12月30日	EP	3989966	A1	2022年5月4日
				JP	2022538192	A	2022年8月31日
				BR	112021026517	A2	2022年5月10日
				CO	2021017893	A2	2022年1月17日
				KR	20220032063	A	2022年3月15日
				CA	3144805	A1	2020年12月30日
				CN	114502158	A	2022年5月13日
				IL	289267	A	2022年2月1日
				AU	2020302118	A1	2022年2月24日
WO	2021127283	A2	2021年6月24日	US	2022340570	A1	2022年10月27日
				EP	4076524	A2	2022年10月26日
CN	113423427	A	2021年9月21日	BR	112021010484	A2	2021年8月24日
				JP	2022516401	A	2022年2月28日
				CO	2021007068	A2	2021年9月30日
				IL	283471	A	2021年7月29日
				CA	3119773	A1	2020年6月4日
				US	2021323952	A1	2021年10月21日
				KR	20210111252	A	2021年9月10日
				EP	3886904	A1	2021年10月6日
				US	2022324854	A1	2022年10月13日
				US	11117889	B1	2021年9月14日
				WO	2020113233	A1	2020年6月4日
				AU	2019389174	A1	2021年7月1日
				SG	11202105424P	A	2021年6月29日
CN	112105385	A	2020年12月18日	AU	2018396142	A1	2020年7月16日
				SG	11202005912P	A	2020年7月29日
				US	2019192668	A1	2019年6月27日
				CA	3086763	A1	2019年7月4日
				BR	112020012997	A2	2020年12月1日
				JP	2021508703	A	2021年3月11日
				EP	3731869	A1	2020年11月4日
				IL	275649	A	2020年8月31日
				WO	2019133531	A1	2019年7月4日
				US	11318205	B1	2022年5月3日
WO	2021127190	A1	2021年6月24日	BR	112022011651	A2	2022年8月23日
				AU	2020407200	A1	2022年7月21日
				EP	4076520	A1	2022年10月26日
				CO	2022008406	A2	2022年7月8日
				CN	115052627	A	2022年9月13日
				CA	3161878	A1	2021年6月24日
				TW	202136251	A	2021年10月1日
				IL	293917	A	2022年8月1日
				KR	20220145325	A	2022年10月28日
				US	2021228562	A1	2021年7月29日
				WO	2021185291	A1	2021年9月23日