



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112574221 B

(45) 授权公告日 2022.03.04

(21) 申请号 201910959237.5

A61P 25/28 (2006.01)

(22) 申请日 2019.10.10

A61P 27/02 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61P 9/00 (2006.01)

申请公布号 CN 112574221 A

A61P 3/10 (2006.01)

(43) 申请公布日 2021.03.30

A61P 13/08 (2006.01)

(66) 本国优先权数据

A61P 9/10 (2006.01)

201910939482.X 2019.09.30 CN

(73) 专利权人 上海纽思克生物科技有限公司

(56) 对比文件

地址 201321 上海市浦东新区芙蓉花路500

CN 106536525 A, 2017.03.22

弄2号楼1-2层

CN 106536521 A, 2017.03.22

(72) 发明人 肖琼 顾正华 胡有洪

WO 2016012916 A1, 2016.01.28

(74) 专利代理机构 北京坦路来专利代理有限公司

JP 2008508220 A, 2008.03.21

司 11652

CN 105008368 A, 2015.10.28

代理人 汪送来

Xinde Chen, et al.. Discovery of Potent and Orally Active Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 (Lp-PLA2) Inhibitors as a Potential Therapy for Diabetic Macular Edema.《J. Med. Chem.》.2016,第59卷第2674-2687页.

(51) Int. Cl.

C07D 487/22 (2006.01)

马全鑫 等. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 抑制剂 Darapladib 的药效学研究进展.《中国药杂志》.2015,第50卷(第4期),第317-322页.

C07D 471/22 (2006.01)

C07D 498/22 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/5386 (2006.01)

A61P 27/06 (2006.01)

审查员 韦丹青

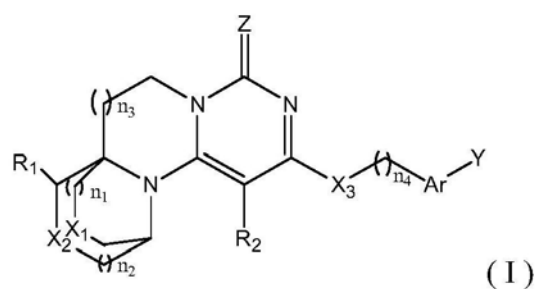
权利要求书8页 说明书34页

(54) 发明名称

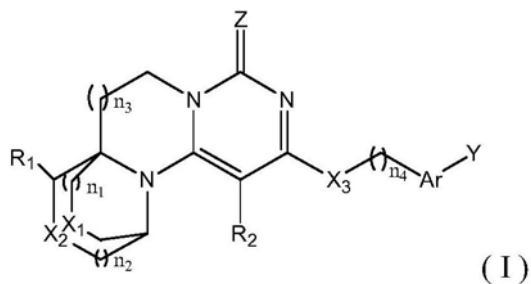
四环嘧啶酮类化合物、其制备方法、其组合物和用途

(57) 摘要

一种式(I)所示的四环嘧啶酮类化合物或其药学上可接受的盐,具有式(I)所示的结构,是一种全新的Lp-PLA2抑制剂,可用于治疗神经退行性相关疾病,如阿尔茨海默病(AD)、青光眼、年龄相关的黄斑变性(AMD),或者包括动脉粥样硬化等心血管疾病。



1. 式 (I) 所示的化合物, 或其药学上可接受的盐,



其中,

$n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_4$ 各自独立地为0、或1;

$n_3$ 为0;

$R_1$ 、 $R_2$ 各自独立地为-H;

$X_1$ 为亚甲基;

$X_2$ 为亚甲基、-O-或-S-;

$X_3$ 为-O-或-S-;

Ar为亚芳基; 所述亚芳基中的氢原子任选被一个或多个取代基取代, 所述取代基选自: 卤素;

Y为-H、卤素、-OAr' ;

Ar' 选自芳基或杂芳基; 所述芳基或杂芳基中的氢原子任选被一个或多个取代基取代, 所述取代基各自独立地选自: 卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、卤代烷氧基、氘代烷基、氘代烷氧基;

Z为O或S;

所述“烷基”、“氘代烷基”、“氘代烷氧基”、“卤代烷基”、“卤代烷氧基”、“烷氧基”、中所具有的烷基各自独立地为 $C_1$ - $C_{10}$ 直链或支链烷基;

所述“芳基”为6-10元芳基;

所述“亚芳基”为6-10元亚芳基;

所述“杂芳基”为环上含有1-3个选自N、O和S中的杂原子的5-10元杂芳环。

2. 根据权利要求1所述的式 (I) 化合物, 或其药学上可接受的盐, 其特征在于,

所述“卤素”、“卤代烷基”、“卤代烷氧基”中所具有的卤原子各自独立地选自F、Cl、Br或I。

3. 根据权利要求1所述的式 (I) 化合物, 或其药学上可接受的盐, 其特征在于,

所述“烷基”、“氘代烷基”、“氘代烷氧基”、“卤代烷基”、“卤代烷氧基”、“烷氧基”、中所具有的烷基各自独立地为 $C_1$ - $C_7$ 直链或支链烷基。

4. 根据权利要求3所述的式 (I) 化合物, 或其药学上可接受的盐, 其特征在于,

所述“烷基”、“氘代烷基”、“氘代烷氧基”、“卤代烷基”、“卤代烷氧基”、“烷氧基”、中所具有的烷基各自独立地为 $C_1$ - $C_4$ 直链或支链烷基。

5. 根据权利要求1所述的式 (I) 化合物, 或其药学上可接受的盐, 其特征在于,

所述“烷基”、“氘代烷基”、“氘代烷氧基”、“卤代烷基”、“卤代烷氧基”、“烷氧基”、中所具有的烷基各自独立地选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、

正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、异戊基、1-乙基丙基、新戊基、正己基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、异己基、1,1-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、3,3-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、3-乙基戊基或2,2,3-三甲基丁基。

6. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述“芳基”为苯基或萘基。

7. 根据权利要求6所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述“芳基”为苯基、1-萘基、2-萘基。

8. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述“亚芳基”为亚苯基或亚萘基。

9. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述“杂芳基”为环上含有1-2个选自N、O和S中的杂原子的5-10元杂芳环。

10. 根据权利要求9所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述5-10元杂芳环选自吡啶环、吡咯环、嘧啶环、吡嗪环、哒嗪环、噻吩环、呋喃环。

11. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述杂芳基选自吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、哒嗪-3-基、哒嗪-4-基、嘧啶-2-基、嘧啶-4-基、嘧啶-5-基、吡嗪-2-基、吡嗪-3-基、吡唑基、异吡唑基、吡唑基、吡嗪基、嘌呤基、喹啉基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、萘啶基、喹啉基、喹啉基、噻吩并[2,3-b]呋喃基、呋喃并[3,2-b]-吡喃基、吡啶并[2,3-d]噻嗪基、吡啶并[4,3-d]噻唑基、咪唑并[4,5-d]噻唑基、吡嗪并[2,3-d]哒嗪基、咪唑并[2,1-b]噻唑基、咪唑并[1,2-b][1,2,4]三嗪基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、苯并噻庚因基、苯并噻嗪基、苯并呋喃基、苯并三唑基、吡咯并[2,3-b]吡啶基、吡咯并[3,2-c]吡啶基、吡咯并[3,2-b]吡啶基、咪唑并[4,5-b]吡啶基、咪唑并[4,5-c]吡啶基、吡啶并[4,3-d]吡啶基、吡啶并[4,3-c]吡啶基、吡啶并[3,4-c]吡啶基、吡啶并[3,4-d]吡啶基、吡啶并[3,4-b]吡啶基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、吡啶并[1,5-a]吡啶基、吡咯并[1,2-b]哒嗪基、咪唑并[1,2-c]嘧啶基、吡啶并[3,2-d]嘧啶基、吡啶并[4,3-d]嘧啶基、吡啶并[3,4-d]嘧啶基、吡啶并[2,3-d]嘧啶基、吡啶并[2,3-b]吡嗪基、吡啶并[3,4-b]吡嗪基、嘧啶并[5,4-d]嘧啶基、吡啶并[2,3-b]吡嗪基、嘧啶并[4,5-d]嘧啶基。

12. 根据权利要求11所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述杂芳基选自吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、嘧啶-2-基、嘧啶-4-基或嘧啶-5-基。

13. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于, $n_1$ 为0。

14. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于, $n_4$ 为1。

15. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于, $X_2$ 选自- $\text{CH}_2$ -或- $\text{O}$ -。

16. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,Ar为亚苯基,所述亚苯基中的氢原子任选被1、2或3个取代基取代,所述取代基各自独立地选自:F、Cl、Br、I。

17. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,Ar为亚苯基,所述亚苯基中的氢原子任选被2个取代基取代,所述取代基为F。

18. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,Y为-H、-F、-Cl、-Br或-0Ar' ;

Ar' 选自苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基,所述苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基环中的氢原子各自独立地任选被1、2或3个取代基取代,所述取代基各自独立地选自:F、Cl、Br、C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>烷基、-CD<sub>3</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷基、-OCH<sub>3</sub>、-OC<sub>2</sub>H<sub>7</sub>、-OC<sub>3</sub>H<sub>7</sub>、或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷氧基。

19. 根据权利要求18所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,Y为-H或-0Ar' 。

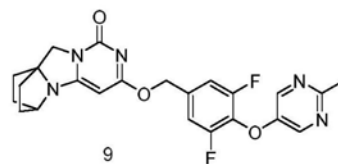
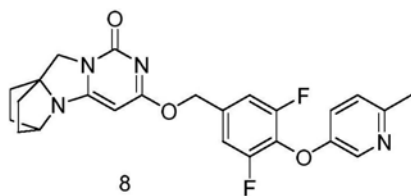
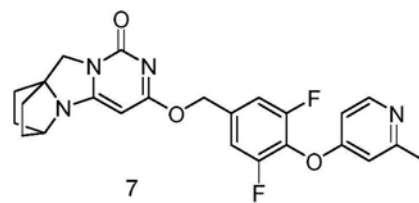
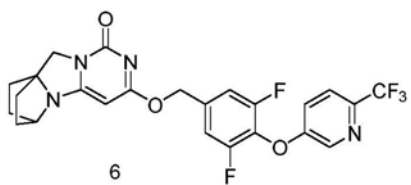
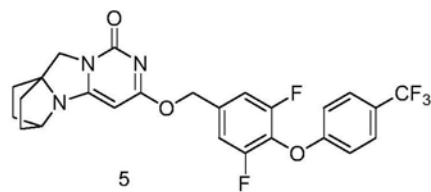
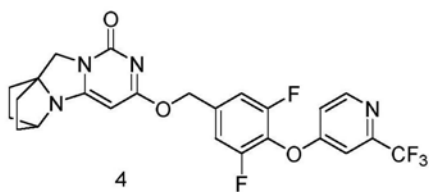
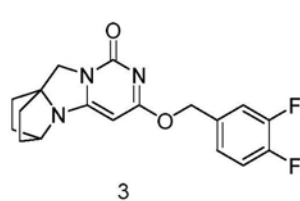
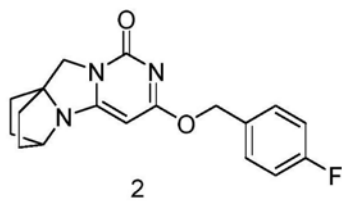
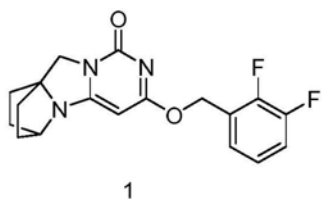
20. 根据权利要求18所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>烷基选为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、异戊基、1-乙基丙基、新戊基、正己基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、异己基、1,1-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、3,3-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、3-乙基戊基或2,2,3-三甲基丁基。

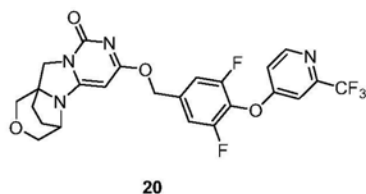
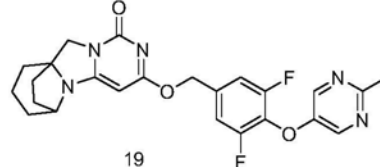
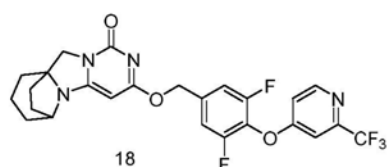
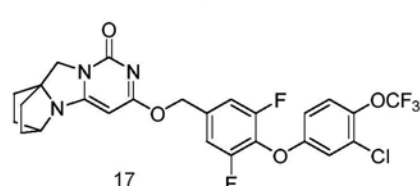
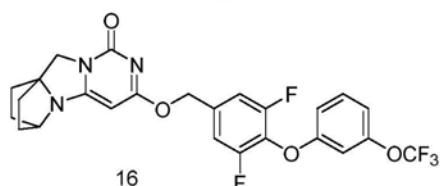
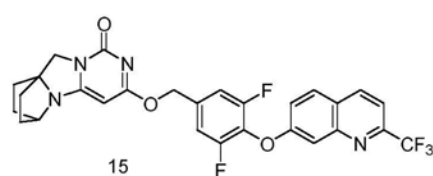
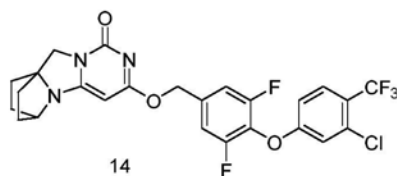
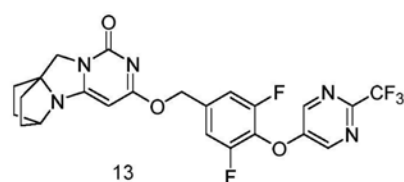
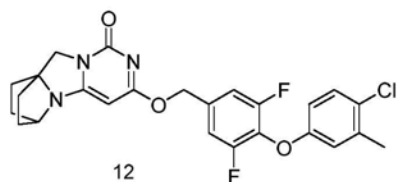
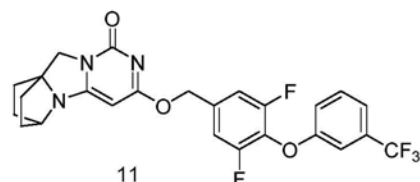
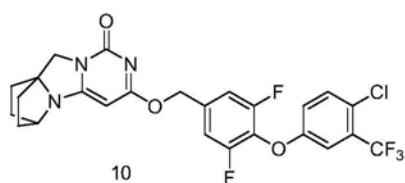
21. 根据权利要求18所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,Ar' 选自苯基、吡啶-3-基或吡啶-4-基或嘧啶-5-基。

22. 根据权利要求21所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述Ar' 被1个或2个取代基取代,所述取代基选自Cl、-CH<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>或-OCF<sub>3</sub>。

23. 根据权利要求1所述的式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其特征在于,Z为0。

24. 下列化合物或其药学上可接受的盐:





25. 根据权利要求1所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述药学上可接受的盐选自式(I)化合物的阴离子盐和阳离子盐。

26. 根据权利要求1所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述药学上可接受的盐选自式(I)化合物的碱金属的盐、碱土金属的盐、铵盐。

27. 根据权利要求26所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述碱金属选自钠、钾、锂、铯,所述碱土金属选自镁、钙、锶。

28. 根据权利要求1所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述药学上可接受的盐选自式(I)化合物与有机碱形成的盐。

29. 根据权利要求28所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述有机碱选自三烷基胺、吡啶、喹啉、哌啶、咪唑、甲基吡啶、二甲氨基吡啶、二甲基苯胺、N-烷基吗啉、1,5-二氮杂双环[4.3.0]壬烯-5、1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳烯-7、1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷。

30. 根据权利要求29所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述三烷基胺选自三甲胺、三乙胺、N-乙基二异丙胺。

31. 根据权利要求29所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述N-烷基吗啉选自N-甲基吗啉。

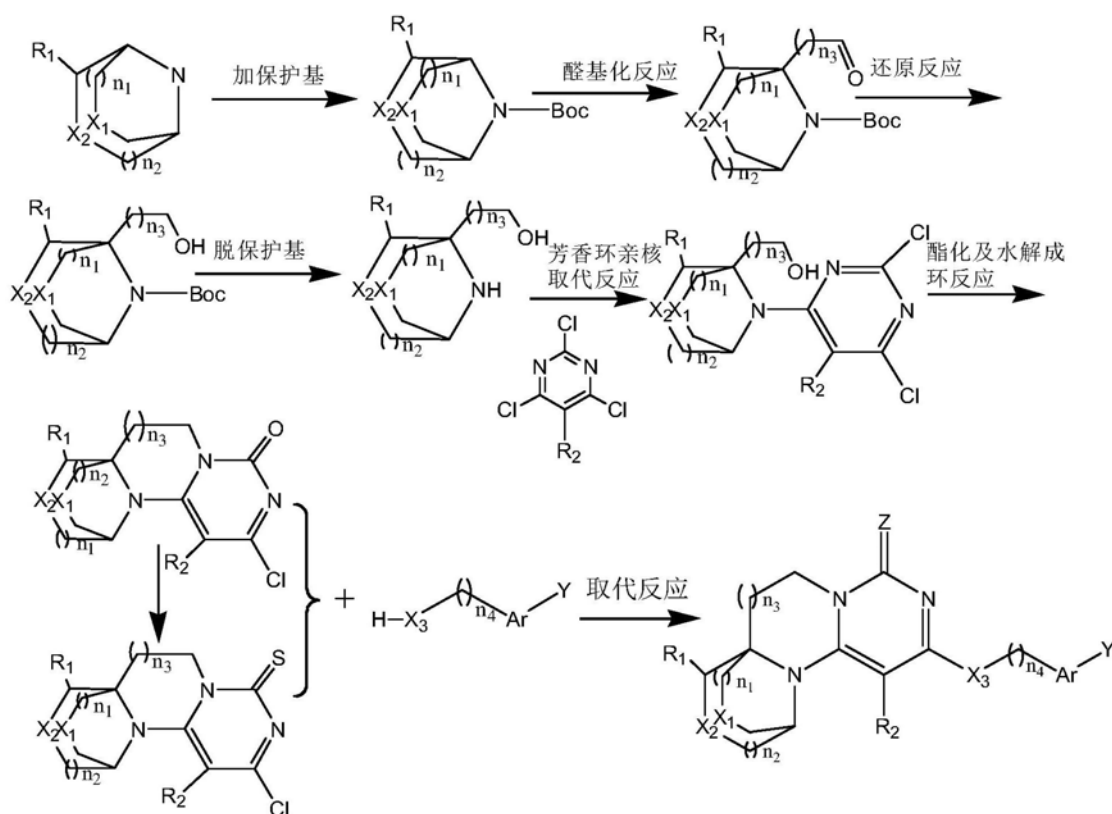
32. 根据权利要求1所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述药学上可接受的盐选自式(I)化合物与酸形成的盐。

33. 根据权利要求32所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述酸选自无机酸、有机酸。

34. 根据权利要求33所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述无机酸选自盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、磷酸、碳酸。

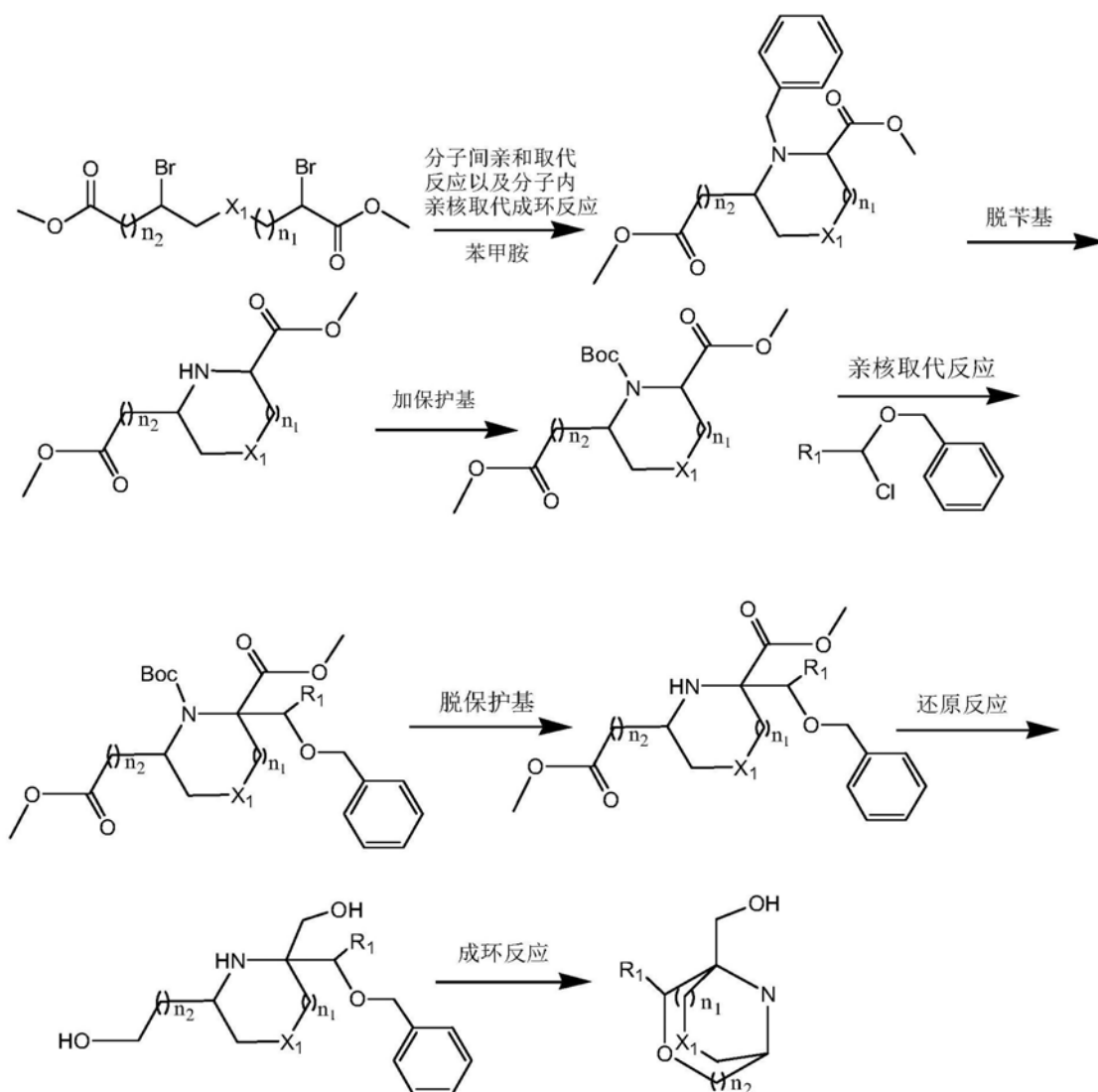
35. 根据权利要求33所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述有机酸选自甲酸、乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、柠檬酸、枸橼酸、酒石酸、碳酸、苦味酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、谷氨酸、双羟萘酸。

36. 权利要求1-35任一项所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐的制备方法,其特征在于,包括以下合成路线:



各式中, $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$ 、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $Z$ 、 $Ar$ 和 $Y$ 的定义如权利要求1-35中任一项所述。

37. 根据权利要求36所述的方法,其特征在于,当 $X_2$ 为-O-且 $n_3$ 为0时,还可以采用以下合成路线,



38. 一种药物组合物, 其包含权利要求1-35任一项所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐中的一种或多种以及任选存在的药学上可接受的载体。

39. 根据权利要求38所述的药物组合物, 其特征在于, 所述药物组合物的剂型包括口服制剂、直肠给药制剂、胃肠外给药制剂。

40. 根据权利要求39所述的药物组合物, 其特征在于, 所述口服制剂包括固体制剂、液体制剂。

41. 根据权利要求40所述的药物组合物, 其特征在于, 所述固体制剂包括片剂、粉剂、颗粒剂、胶囊。

42. 根据权利要求40所述的药物组合物, 其特征在于, 所述液体制剂包括水或油悬浮剂、糖浆。

43. 根据权利要求39所述的药物组合物, 其特征在于, 所述肠外给药制剂包括注射用的溶液、水或油性悬浮剂。

44. 权利要求1-35任一项所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐, 或者权利要求38-43任一项所述的药物组合物在制备Lp-PLA2抑制剂中的用途。

45. 权利要求1-35任一项所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐, 或者权利要求38-43任一项所述的药物组合物在制备治疗神经退行性相关疾病的药物中的用途。

46. 根据权利要求45所述的用途, 其特征在于, 所述神经退行性相关疾病选自阿尔茨海默病AD、青光眼、年龄相关性黄斑变性AMD。

47. 权利要求1-35任一项所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐, 或者权利要求38-43任一项所述的药物组合物在制备治疗心血管疾病、糖尿病性黄斑水肿(DME)或前列腺疾病的药物中的用途。

48. 根据权利要求47所述的用途, 其特征在于, 所述心血管疾病选自动脉粥样硬化。

## 四环嘧啶酮类化合物、其制备方法、其组合物和用途

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药领域,具体涉及一种四环嘧啶酮类化合物、其制备方法、其中组合物、以及其在医药上的用途。

### 背景技术

[0002] 脂蛋白相关磷脂酶A2 (Lp-PLA2) 是磷脂酶A2超家族的成员 (Dennis EA, Cao J, Hsu YH, Magrioti V, Kokotos G. Chem Rev. 2011, 111, 6130-6185)。它主要由单核细胞, 巨噬细胞, T淋巴细胞和主细胞分泌 (Stafforini DM, Elstad MR, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. J Biol Chem. 1990, 265:9682-9687; Nakajima K, Murakami M, Yanoshita R, Samejima Y, Karasawa K, Setaka M, Nojima S, Kudo I. J Biol Chem. 1997, 272, 19708-19713)。磷脂酰胆碱sn-2酯是在低密度脂蛋白 (LDL) 氧化过程中产生的, Lp-PLA2负责水解氧化修饰的磷脂酰胆碱sn-2酯, 然后产生氧化脂肪酸和溶血磷脂酰胆碱 (LysoPC) (Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, Holmes SD, Chamberlain P, Macphée CH. Atherosclerosis. 2000, 150, 413-419; MacPhee CH, Moores KE, Boyd HF, Dhanak D, Iff RJ, Leach CA, Leake DS, Milliner KJ, Patterson RA, Suckling KE, Tew DG, Hickey DM. Biochem J. 1999, 338, 479-487)。氧化脂肪酸和LysoPC都在活化巨噬细胞, 增加氧化应激, 影响T淋巴细胞功能和诱导炎症反应中发挥作用 (Quinn MT, Parthasarathy S, Steinberg D. Proc Natl Acad Sci U S A. 1988, 85, 2805-2809)。据报道, LysoPC诱导多种细胞毒性炎症细胞因子释放 (Shi, et al, Atherosclerosis, 2007, 191, 54-62)。此外, LysoPC还涉及白细胞活化, 细胞凋亡的诱导和内皮功能障碍的介导 (Wilensky et al, Current Opinion in Lipidology, 2009, 20, 415-420)。

[0003] 有文献报道, 血浆的Lp-PLA2水平与心血管疾病 (Fitzpatrick AL, Irizarry MC, Cushman M, Jenny NS, Chi GC, Koro C. Atherosclerosis. 2014, 235, 384-391), 糖尿病性黄斑水肿 (DME) (Staurenghi G, Ye L, Magee MH, Danis RP, Wurzelmann J, Adamson P, McLaughlin MM, Darapladib DMESG. Ophthalmology. 2015, 122, 990-996), 前列腺癌 (Bertilsson H, Tessem MB, Flatberg A, Viset T, Gribbestad I, Angelsen A, Halgunset J. Clin Cancer Res. 2012, 18, 3261-3269) 相关。

[0004] 阿尔茨海默病 (AD) 是一种慢性神经退行性疾病, 它会导致认知能力下降, 情绪波动, 不可逆转的记忆丧失, 方向障碍, 语言障碍和失去自我保护能力 (Hardy J, et al. Science 2002, 297, 353-356.)。阿尔茨海默病通常随着时间的推移开始缓慢并逐渐恶化, 这是60%至70%的痴呆病例的原因, 并影响65岁以上人口的约6%。AD患者将逐渐退出家庭和社会, 越来越依赖帮助, 最终进展至死亡。AD是发达国家中代价最高的疾病之一, 在其他国家的成本也很高。特别是随着老龄化成为一个重要的社会问题, 这些成本将急剧增加。毋庸置疑, AD是一种复杂的涉及多种因素的疾病。尽管AD的病因尚未完全阐明, 但很明显, 有几个因素参与疾病的发生和发展, 包括聚集的tau蛋白和Aβ肽, 氧化应激和神经炎症 (Echeverria V, Yarkov A, Aliev G. Prog Neurobiol. 2016, 144, 142-157)。目前的AD药物

研发主要集中在A $\beta$ 淀粉样变性和tau的靶点上 (Chiang K,Koo EH.*Annu Rev Pharmacol Toxicol.*2014,54,381-405;Awasthi M,Singh S,Pandey VP,Dwivedi UN.*J Neurol Sci.*2016,361,256-271)。然而,尽管临床前数据很强,但后期临床试验的结果迄今未能证明临床疗效。这些令人失望的结果预示,针对AD治疗可能必须探索其他神经病理学机制,例如氧化应激和神经炎症。

[0005] 血浆中Lp-PLA2水平的升高增加了患痴呆症的风险,包括AD (Van Oijen,et al.*Annals of Neurology*,2006,59,139),AD患者中发现了血管性痴呆和混合性痴呆,以及高氧化LDL水平 (Maher-Edwards G,De' Ath J,Barnett C,Lavrov A,Lockhart A,*Alzheimer's&Dementia:Translational Research&Clinical Interventions.*2015,1,131-140;Kassner et al.*Current Alzheimer Research*,2008,5,358-366;Dildar,et al.,*Alzheimer Dis Assoc Disord*,24, April-June (2010);Sinem,et al.*Current Alzheimer Research*,2010,7,463-469)。在AD患者中也发现了神经炎症和上调的多种炎性细胞因子 (Colangelo,et al.,*Journal of Neuroscience Research*,2002,70,462-473;Wyss-Coray,*Nature Medicine*,2006,12,Sept.)。

[0006] 基于所有这些发现,Lp-PLA2是治疗AD的潜在靶点,而Lp-PLA2抑制剂Rilapladib针对AD患者的临床结果进一步证实了这一点 (Maher-Edwards G,De' Ath J,Barnett C,Lavrov A,Lockhart A,*Alzheimer's&Dementia:Translational Research&Clinical Interventions.*2015,1,131-140)。

[0007] 青光眼和年龄相关性黄斑变性 (AMD) 属于视网膜神经退行性疾病。Buschini等报道炎症包括TNF- $\alpha$ 信号,可能在青光眼和AMD的发病机制中起重要作用 (Buschini et al,*Progress in Neurobiology*,2011,95,14-25;Tezel,*Progress in Brain Research*,vol.173,ISSN0079-6123,Chapter 28)。另外,Shi等人证实Lp-PLA2抑制剂可以阻断炎性细胞因子的释放 (Shi,et al,*Atherosclerosis*,2007,191,54-62)。Lp-PLA2的抑制是青光眼和AMD的潜在治疗方法。

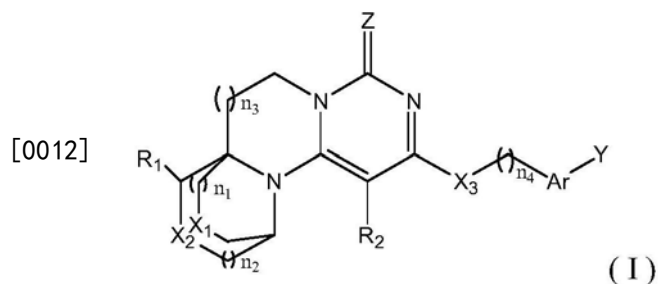
[0008] 已经报道了许多Lp-PLA2抑制剂,包括 $\beta$ -内酰胺 (Tew DG,Boyd HF,Ashman S,Theobald C,Leach CA.*Biochemistry.*1998,37,10087-10093),脲 (Jeong TS,Kim MJ,Yu H,Kim HS,Choi JK,Kim SS,Lee WS.*Bioorg Med Chem Lett.*2005,15,1525-1527;Jeong HJ,Park YD,Park HY,Jeong IY,Jeong TS,Lee WS.*Bioorg Med Chem Lett.*2006,16,5576-5579),黄尿酸的酰胺 (Lin EC,Hu Y,Amantea CM,Pham LM,Cajica J,Okerberg E,Brown HE,Fraser A,Du L,Kohn Y,Ishiyama J,Kozarich JW,Shreder KR.*Bioorg Med Chem Lett.*2012,22,868-871;Hu Y,Lin EC,Pham LM,Cajica J,Amantea CM,Okerberg E,Brown HE,Fraser A,Du L,Kohn Y,Ishiyama J,Kozarich JW,Shreder KR.*Bioorg Med Chem Lett.*2013,23,1553-1556.),和氨基甲酸酯 (Nagano JM,Hsu KL,Whitby LR,Niphakis MJ,Speers AE,Brown SJ,Spicer T,Fernandez-Vega V,Ferguson J,Hodder P,Srinivasan P,Gonzalez TD,Rosen H,Bahnson BJ,Cravatt BF.*Bioorg Med Chem Lett.*2013,23,839-843)。

[0009] 据报道Lp-PLA2抑制剂Darapladib是一种抗动脉粥样硬化和DME的潜在治疗方法 (Magrioti V,Kokotos G.*Expert Opin Ther Pat.*2013;23:333-344)。

## 发明内容

[0010] 本发明人发现, Lp-PLA2抑制剂在治疗神经退行性相关疾病, 如阿尔茨海默病(AD)、青光眼和年龄相关的黄斑变性(AMD), 或者包括动脉粥样硬化等心血管疾病方面有着重要的作用。为此, 本发明人致力于开发出一种全新的Lp-PLA2抑制剂, 四环嘧啶酮类化合物。

[0011] 该四环嘧啶酮类化合物为具有式(I)所示结构的化合物, 或其药学上可接受的盐,



[0013] 其中,

[0014]  $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$ 、 $n_4$ 各自独立地为0、1或2;

[0015]  $R_1$ 、 $R_2$ 各自独立地选自: -H、羟基、氰基、卤素、烷基、氘代烷基、羟烷基、卤代烷基、环烷基、烷氧基;

[0016]  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 各自独立的选自: 亚烷基、-O-、-S-或-NR'-;

[0017] R'选自: -H、烷基、氘代烷基或环烷基;

[0018] Ar为亚芳基或亚杂芳基; 所述亚芳基或亚杂芳基中的氢原子任选被一个或多个取代基取代, 所述取代基各自独立地选自: 卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、卤代烷氧基、氘代烷基、氘代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、单烷基或二烷基取代的氨基、硝基、羧基、醛基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基;

[0019] Y为-H、卤素、烷基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、烷氧基、氘代烷基、氘代烷氧基、-OAr'、-SAr'、-NH-Ar'、-NMe-Ar'、-NR''或-R''-Ar';

[0020] Ar'选自芳基或杂芳基; 所述芳基或杂芳基中的氢原子任选被一个或多个取代基取代, 所述取代基各自独立地选自: 卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟基、羟烷基、卤代烷氧基、氘代烷基、氘代烷氧基、氰基、氨基、硝基、羧基、醛基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基;

[0021] R''为烷基;

[0022] R''为亚烷基;

[0023] Z为O或S;

[0024] 可选地, 其中,

[0025]  $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$ 、 $n_4$ 各自独立地为0、1或2;

[0026]  $R_1$ 、 $R_2$ 各自独立地选自: -H、羟基、氰基、卤素、烷基、氘代烷基、羟烷基、卤代烷基、环烷基、烷氧基;

[0027]  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 各自独立的选自: 亚烷基、-O-、-S-或-NR'-;

[0028] R'选自: -H、烷基、氘代烷基或环烷基;

[0029] Ar为亚芳基或亚杂芳基; 所述亚芳基或亚杂芳基中的氢原子任选被一个或多个取代基取代, 所述取代基各自独立地选自: 卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、卤代烷氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、单烷基或二烷基取代的氨基、硝基、羧基、醛基、环烷基、杂环基、芳基或

杂芳基；

[0030] Y为-H、卤素、烷基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基、烷氧基、-OAr'、-SAr'、-NH-Ar'、-NMe-Ar'、-NR''或-R''-Ar'；

[0031] Ar'选自芳基或杂芳基；所述芳基或杂芳基中的氢原子任选被一个或多个取代基取代，所述取代基各自独立地选自：卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟基、羟烷基、卤代烷氧基、氰基、氨基、硝基、羧基、醛基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基；

[0032] R''为烷基；

[0033] R''为亚烷基；

[0034] Z为O或S。

[0035] 可选地，所述“卤素”、“卤代烷基”、“卤代烷氧基”中所具有的卤原子各自独立地选自F、Cl、Br或I；

[0036] 可选地，所述“烷基”、“氘代烷基”、“氘代烷氧基”、“羟烷基”、“卤代烷基”、“卤代烷氧基”、“烷氧基”、“单烷基或二烷基取代的氨基”中所具有的烷基各自独立地为C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>直链或支链烷基；可选地，为C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>直链或支链烷基；可选地，为C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>直链或支链烷基；可选地，选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、异戊基、1-乙基丙基、新戊基、正己基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、异己基、1,1-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、3,3-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、3-乙基戊基或2,2,3-三甲基丁基；

[0037] 可选地，所述“亚烷基”各自独立地为C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>的直链或支链的亚烷基；可选地，为C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>直链或支链亚烷基；可选地，为C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>直链或支链亚烷基；可选地，选自亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚叔丁基、亚仲丁基、亚正戊基、1-甲基亚丁基、2-甲基亚丁基、3-甲基亚丁基、亚异戊基、1-乙基亚丙基、亚新戊基、亚正己基、1-甲基亚戊基、2-甲基亚戊基、3-甲基亚戊基、亚异己基、1,1-二甲基亚丁基、2,2-二甲基亚丁基、3,3-二甲基亚丁基、1,2-二甲基亚丁基、1,3-二甲基亚丁基、2,3-二甲基亚丁基、2-乙基亚丁基、亚正庚基、2-甲基亚己基、3-甲基亚己基、2,2-二甲基亚戊基、3,3-二甲基亚戊基、2,3-二甲基亚戊基、2,4-二甲基亚戊基、3-乙基亚戊基或2,2,3-三甲基亚丁基

[0038] 可选地，所述“环烷基”为C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>单环或双环环烷基，可选地，为C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>单环环烷基，可选地，为环丙基、环丁基、环戊基、环己基或环庚基；

[0039] 可选地，所述“杂环基”为环上含有1个、2个或3个选自N、O、S的杂原子的3-10元非芳香杂环，可选地，所述杂环为环上含有1个或2个选自N、O的杂原子的3-10元非芳香环；可选地，所述杂环为环上含有1个或2个选自N、O的杂原子的3-6元非芳香环；可选地，所述杂环为环上含有1个或2个选自N、S的杂原子的3-10元非芳香环；所述杂环为环上含有1个或2个选自N、S的杂原子的3-6元非芳香环；

[0040] 可选地，所述“芳基”为6-10元芳基；可选为苯基或萘基，可选为苯基、1-萘基、2-萘基；

[0041] 可选地，所述“亚芳基”为6-10元亚芳基；可选为亚苯基或亚萘基；

[0042] 可选地，所述“杂芳基”为环上含有1-3个选自N、O和S中的杂原子的5-10元杂芳环；

可选地,为环上含有1-2个选自N、O和S中的杂原子的5-10元杂芳环;可选地,所述杂芳环选自吡啶环、吡咯环、嘧啶环、吡嗪环、哒嗪环、噻吩环、呋喃环;可选地,所述杂芳基选自吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、哒嗪-3-基、哒嗪-4-基、嘧啶-2-基、嘧啶-4-基、嘧啶-5-基、吡嗪-2-基、吡嗪-3-基、𠄎噪基、异𠄎噪基、𠄎唑基、𠄎嗪基、𠄎呤基、喹嗪基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、茶啖基、喹啉基、喹喔啉基、噻吩并[2,3-b]呋喃基、呋喃并[3,2-b]-吡喃基、吡啶并[2,3-d]噁嗪基、吡啶并[4,3-d]噁唑基、咪唑并[4,5-d]噻唑基、吡嗪并[2,3-d]哒嗪基、咪唑并[2,1-b]噻唑基、咪唑并[1,2-b][1,2,4]三嗪基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、苯并噁庚因基、苯并噁嗪基、苯并呋喃基、苯并三唑基、吡咯并[2,3-b]吡啶基、吡咯并[3,2-c]吡啶基、吡咯并[3,2-b]吡啶基、咪唑并[4,5-b]吡啶基、咪唑并[4,5-c]吡啶基、吡啶并[4,3-d]吡啶基、吡啶并[4,3-c]吡啶基、吡啶并[3,4-c]吡啶基、吡啶并[3,4-d]吡啶基、吡啶并[3,4-b]吡啶基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、吡啶并[1,5-a]吡啶基、吡啶并[1,2-b]哒嗪基、咪唑并[1,2-c]嘧啶基、吡啶并[3,2-d]嘧啶基、吡啶并[4,3-d]嘧啶基、吡啶并[3,4-d]嘧啶基、吡啶并[2,3-d]嘧啶基、吡啶并[2,3-b]吡嗪基、吡啶并[3,4-b]吡嗪基、嘧啶并[5,4-d]嘧啶基、吡啶并[2,3-b]吡嗪基、嘧啶并[4,5-d]嘧啶基,可选为吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、嘧啶-2-基、嘧啶-4-基或嘧啶-5-基;

[0043] 可选地,所述“亚杂芳基”为环上含有1-3个选自N、O和S中的杂原子的5-10元亚杂芳环;可选地,为环上含有1-2个选自N、O和S中的杂原子的5-10元亚杂芳环;可选地,所述亚杂芳环选自亚吡啶环、亚吡咯环、亚噻吩环、亚吡嗪环、亚哒嗪环、亚噁吩环、亚咪喃环。

[0044] 可选地,  $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$ 、 $n_4$ 各自独立地为0、1或2;可选地,  $n_1$ 为0,可选地,  $n_2$ 为0或1,可选地,  $n_3$ 为0,可选地,  $n_4$ 为1;

[0045] 可选地,  $R_1$ 、 $R_2$ 各自独立地选自: -H、氟、氯、溴、羟基、氰基、 $C_1$ - $C_7$ 烷基(甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、异戊基、1-乙基丙基、新戊基、正己基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、异己基、1,1-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、3,3-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、3-乙基戊基或2,2,3-三甲基丁基)、 $C_1$ - $C_3$ 氘代烷基( $-CD_3$ 、 $-C_2D_5$ 、 $-C_3D_7$ )、环丙烷基、环丁烷基、环戊烷基;可选地,  $R_1$ 为-H,可选地,  $R_2$ 为-H;

[0046] 可选地,  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 各自独立的选自: $C_1$ - $C_7$ 亚烷基(可选为, $-\text{CH}_2-$ 、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基或亚异丁基)、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-\text{NR}'-$ ;可选地,  $X_1$ 为 $-\text{CH}_2-$ ;可选地,  $X_2$ 选自 $-\text{CH}_2-$ 或 $-O-$ ;可选地,  $X_3$ 为 $-O-$ ;

[0047] 可选地, R' 选自 -H、C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> 烷基 (甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、异戊基、1-乙基丙基、新戊基、正己基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、异己基、1,1-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、3,3-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、3-乙基戊基或 2,2,3-三甲基丁基)、氘代烷基 (可选为 -CD<sub>3</sub>、-C<sub>2</sub>D<sub>5</sub>、-C<sub>3</sub>D<sub>7</sub>) 或 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 环烷基 (环丙烷基、环丁烷基、环戊烷基、环己烷基) ;

[0048] 可选地, Ar为亚苯基或吡啶基, 所述亚苯基或吡啶基中的氢原子任选被1、2或3个取代基取代, 所述取代基各自独立地选自: F、Cl、Br、I、-CN、-Me、-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、环丙基、-CD<sub>3</sub>、-OMe、

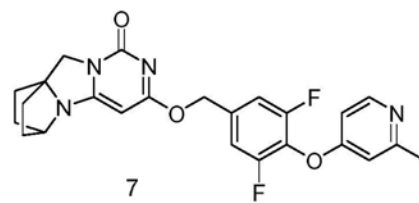
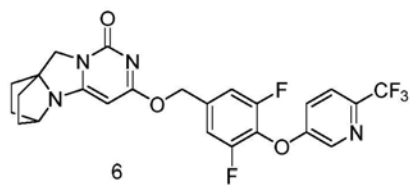
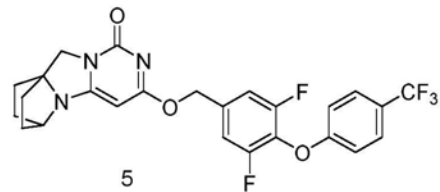
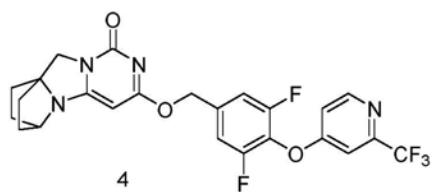
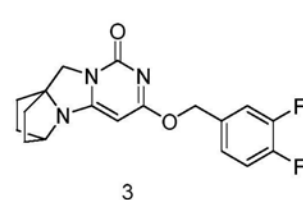
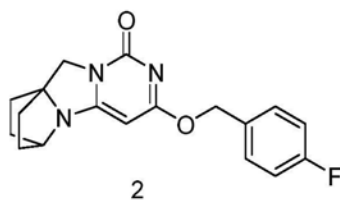
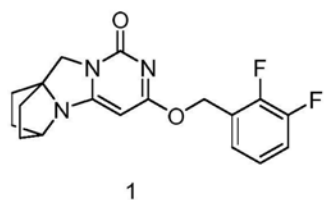
或-OCF<sub>3</sub>;可选地,Ar为亚苯基,所述亚苯基中的氢原子任选被2个取代基取代,所述取代基为F;

[0049] 可选地,Y为-H、-F、-Cl、-Br、甲基、乙基、正丙基、异丙基、-CD<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-OCHF<sub>2</sub>、环丙基、-环丁基、-环戊基、-OCH<sub>3</sub>、-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、-OC<sub>3</sub>H<sub>7</sub>、或-OAr';可选地,Y为-H或-OAr';

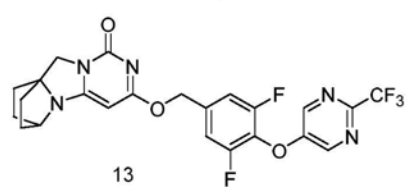
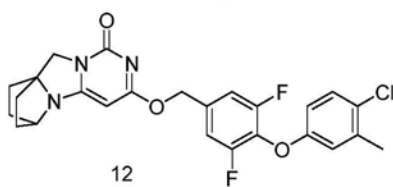
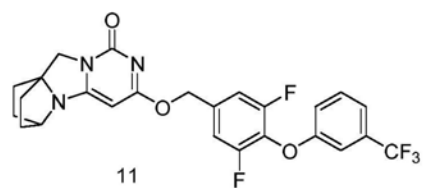
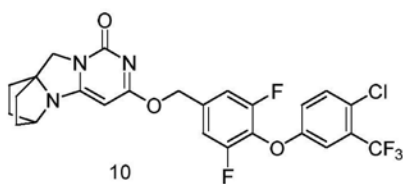
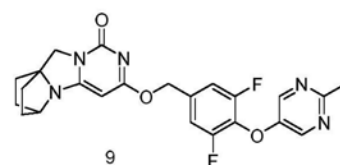
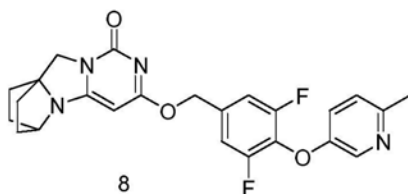
[0050] 可选地,Ar'选自苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基,所述苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基环中的氢原子各自独立地任选被1、2或3个取代基取代,所述取代基各自独立地选自:F、Cl、Br、-CN、C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>烷基(可选为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、异戊基、1-乙基丙基、新戊基、正己基、1-甲基戊基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、异己基、1,1-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、3,3-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、3-乙基戊基或2,2,3-三甲基丁基)、-CD<sub>3</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷基、-OCH<sub>3</sub>、-OC<sub>2</sub>H<sub>7</sub>、-OC<sub>3</sub>H<sub>7</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷氧基或C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基(可选为环丙烷基、环丁烷基、环戊烷基、环己烷基);可选地,Ar'选自苯基、吡啶-3-基或吡啶-4-基或嘧啶-5-基,可选地,所述Ar'被1个或2个取代基取代,所述取代基选自Cl、-CH<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>或-OCF<sub>3</sub>;

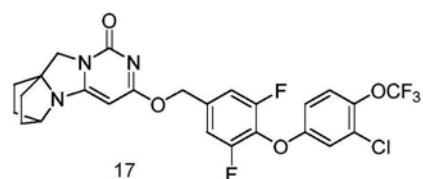
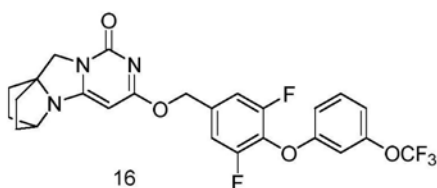
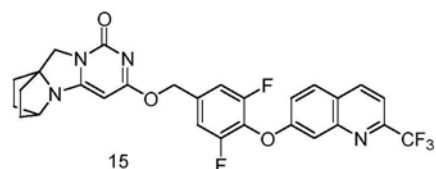
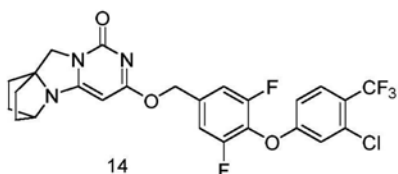
[0051] 可选地,Z为0。

[0052] 可选地,所述式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,其中,所述式(I)化合物选自下列化合物:

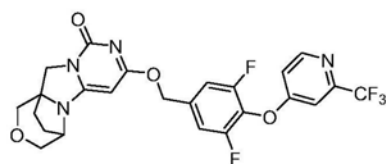
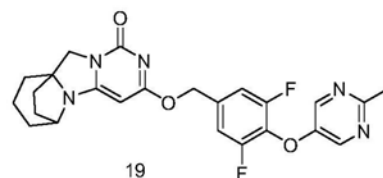
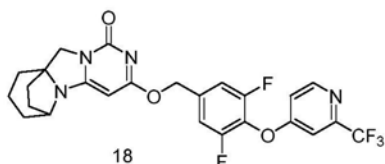


[0053]





[0054]



[0055] 可选地,所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述药学上可接受的盐包括式(I)化合物的阴离子盐和阳离子盐;

[0056] 可选地,所述药学上可接受的盐包括式I化合物的碱金属的盐、碱土金属的盐、铵盐;可选地,所述碱金属包括钠、钾、锂、铯,所述碱土金属包括镁、钙、锶;

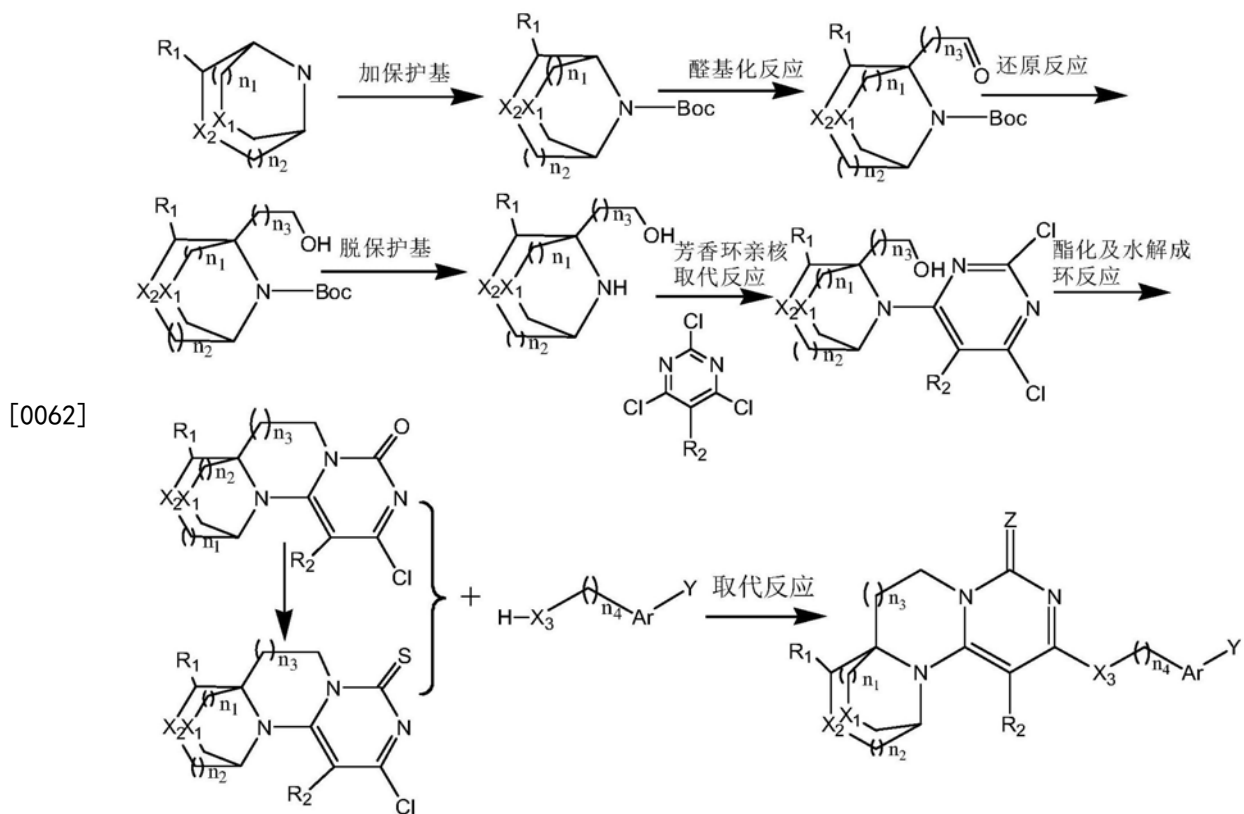
[0057] 可选地,所述药学上可接受的盐包括式I化合物与有机碱形成的盐;

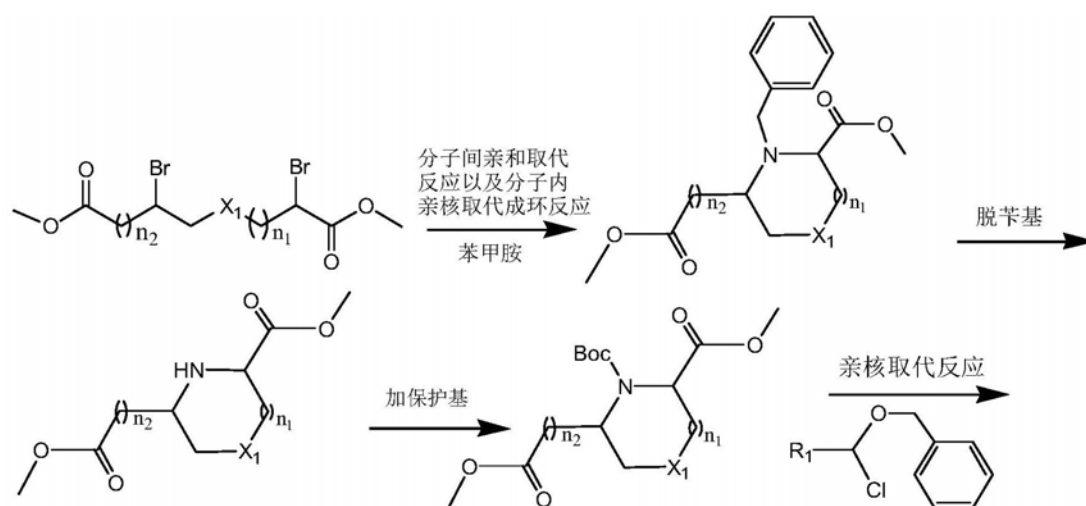
[0058] 可选地,所述有机碱包括三烷基胺、吡啶、喹啉、哌啶、咪唑、甲基吡啶、二甲氨基吡啶、二甲基苯胺、N-烷基吗啉、1,5-二氮杂双环[4.3.0]壬烯-5、1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳烯-7、1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷;可选地,所述三烷基胺包括三甲胺、三乙胺、N-乙基二异丙胺;可选地,所述N-烷基吗啉包括N-甲基吗啉;

[0059] 可选地,所述药学上可接受的盐包括式I化合物与酸形成的盐;

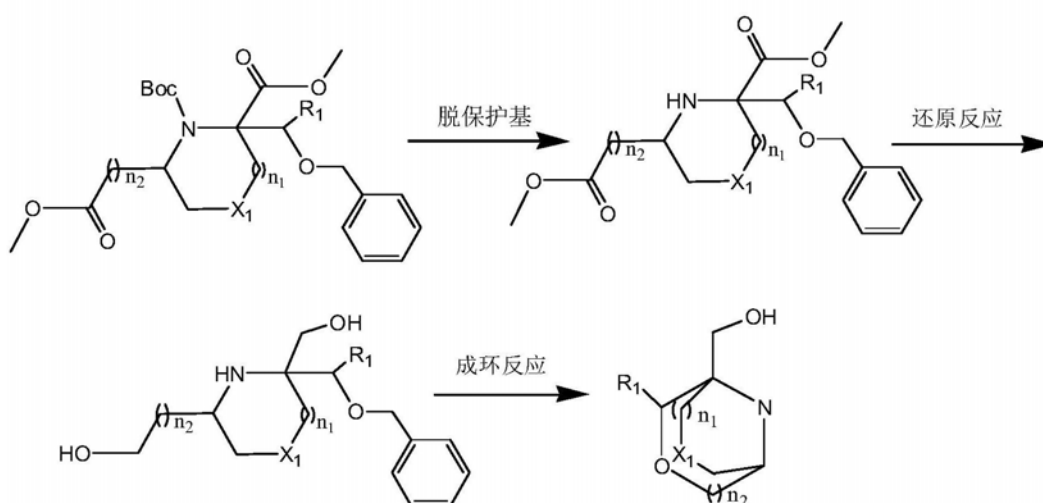
[0060] 可选地,所述酸包括无机酸、有机酸;可选地,所述无机酸包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、磷酸、碳酸;可选地,所述有机酸包括甲酸、乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、柠檬酸、枸橼酸、酒石酸、碳酸、苦味酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、谷氨酸、双羟萘酸。

[0061] 另一方面,提供一种式(I)化合物或其药学上可接受的盐的制备方法,其特征在于,该方法包括以下反应路线:





[0065]



[0066] 对上述各反应的具体反应条件并没有特别的限制,可以采用现有的常规反应条件或步骤。

[0067] 另一方面,提供一种药物组合物,其包含治疗有效量的上述式(I)化合物或其药学上可接受的盐中的一种或多种以及任选存在的药学上可接受的载体。

[0068] 可选地,所述药物组合物的剂型包括口服制剂、直肠给药制剂、胃肠外给药制剂;

[0069] 可选地,所述口服制剂包括固体制剂、液体制剂;

[0070] 可选地,所述固体制剂包括片剂、粉剂、粒剂、胶囊;

[0071] 可选地,所述液体制剂包括水或油悬浮剂、糖浆;

[0072] 可选地,所述用于肠外给药制剂包括注射用的溶液、水或油性悬浮剂。

[0073] 另一方面,提供上述式(I)化合物或其药学上可接受的盐,或者上述药物组合物在制备Lp-PLA2抑制剂中的用途。

[0074] 另一方面,提供上述式(I)化合物或其药学上可接受的盐,或者上述药物组合物在制备治疗神经退行性相关疾病的药物中的用途;

[0075] 可选地,所述神经退行性相关疾病包括阿尔茨海默病(AD)、青光眼、年龄相关性黄斑变性(AMD)。

[0076] 另一方面,提供上述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,或者上述药物组合物

在制备治疗心血管疾病、糖尿病性黄斑水肿 (DME) 或前列腺疾病的药物中的用途;

[0077] 可选地,所述心血管疾病包括动脉粥样硬化。

[0078] 有益效果:

[0079] 式 (I) 化合物是一种四环嘧啶酮类化合物,是全新的Lp-PLA2抑制剂。可用于治疗神经退行性相关疾病,如阿尔茨海默病 (AD)、青光眼和年龄相关的黄斑变性 (AMD),或者包括动脉粥样硬化等心血管疾病。

## 具体实施方式

[0080] 通过以下实施例对本发明进行进一步说明。应当理解的是,此处实施例仅用于示例性对本发明进行说明,并不以任何方式限制本发明的范围。

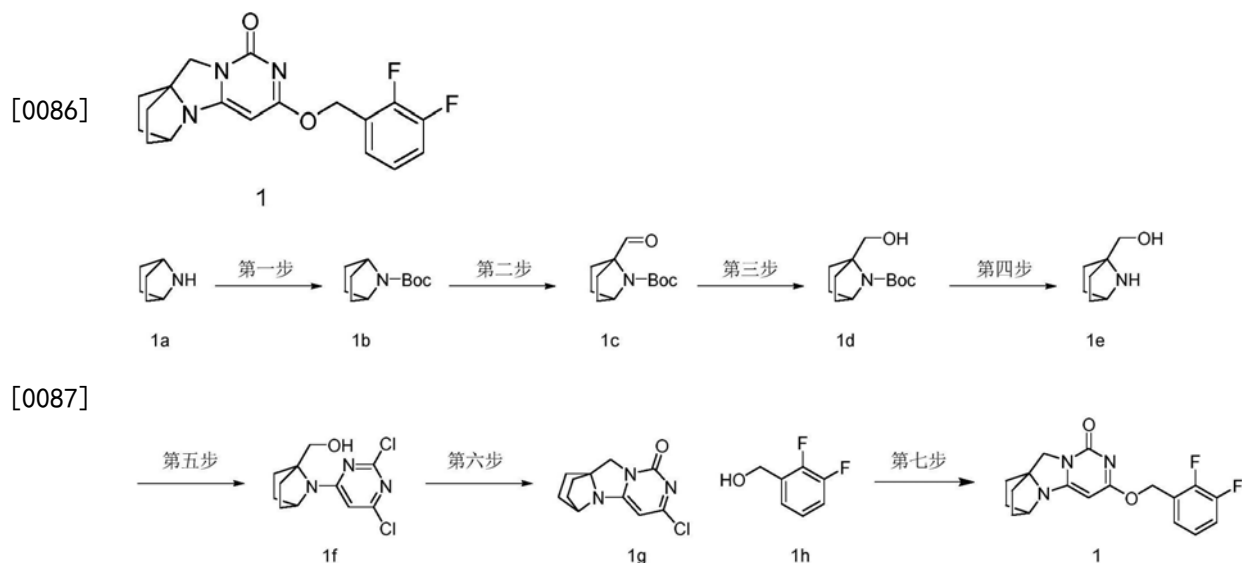
[0081] 本发明的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成,也可购买自ABC R GmbH&Co.KG,Acros Organics,Aldrich Chemical Company,韶远化学科技 (Accela ChemBio Inc)、达瑞化学品等公司。

[0082] 实施例中无特殊说明,溶液是指水溶液。

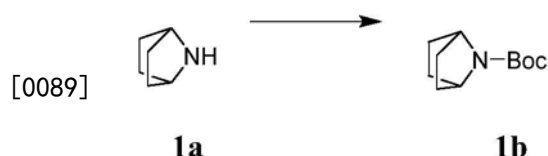
[0083] 实施例中无特殊说明,反应的温度为室温,例如20℃~30℃。

[0084] 实施例1

[0085] 化合物1的制备



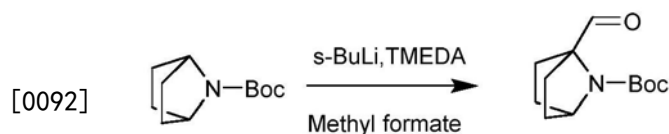
[0088] 第一步:化合物1b的制备



[0090] 室温下将7-氮杂双环[2.2.1]庚烷1a (4g, 41.1mmol) 溶于300mL二氯甲烷中,然后加入三乙胺 (6.3g, 61.8mmol) 和二碳酸二叔丁酯 (13.5g, 61.8mmol)。室温搅拌反应4小时,用二氯甲烷 (100mL×3) 萃取,合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯=20:1) 纯化,得到无色油状产物1b (10g, 产率:100%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ4.16 (s, 2H), 1.74-

1.72 (m, 4H), 1.42 (s, 9H), 1.37-1.35 (m, 4H)。

[0091] 第二步:化合物1c的制备

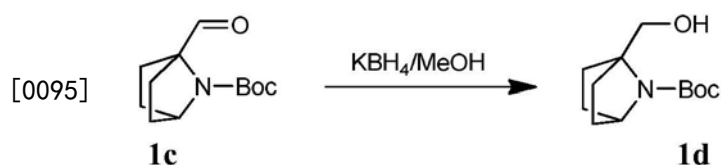


**1b**

**1c**

[0093] 室温下将7-氮杂双环[2.2.1]庚烷-7-羧酸叔丁酯1b(10g, 50.8mmol)和TMEDA(7.1g, 60.9mmol)溶于200mL干燥的乙醚中,氮气保护和-65℃下滴加s-BuLi(1.3M, 60.9mmol)的己烷溶液,搅拌反应30分钟后,滴加甲酸甲酯(3.65g, 60.9mmol)的乙醚溶液,该混合物在-65℃搅拌反应30分钟,升温到0℃反应2小时,向反应液中加入100mL饱和氯化铵水溶液,用乙醚萃取(50mL×3),合并有机相,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=40:1)纯化,得到无色油状产物1c(8.14g, 产率:71%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ9.93(s, 1H), 4.29(s, 1H), 2.03-1.88(m, 4H), 1.65-1.46(m, 4H), 1.42(s, 9H)。

[0094] 第三步:化合物1d的制备

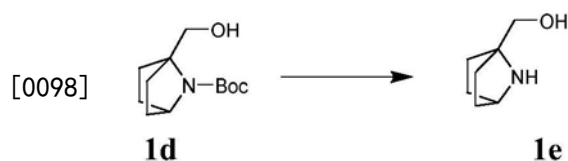


**1c**

**1d**

[0096] 将1-甲酰基-7-氮杂双环[2.2.1]庚烷-7-羧酸叔丁酯1c(8.14g, 36.1mmol)溶于300mL甲醇中,0℃下分批加入KBH<sub>4</sub>(3.03g, 54.2mmol),室温下搅拌反应1小时后,减压浓缩,用二氯甲烷萃取(60mL×3),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=20/1)纯化,得到无色油状产物1d(6.53g, 产率:79.5%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ4.96(s, 1H), 4.24(m, 1H), 3.90(m, 2H), 1.89-1.77(m, 4H), 1.48-1.35(m, 13H)。

[0097] 第四步:化合物1e的制备



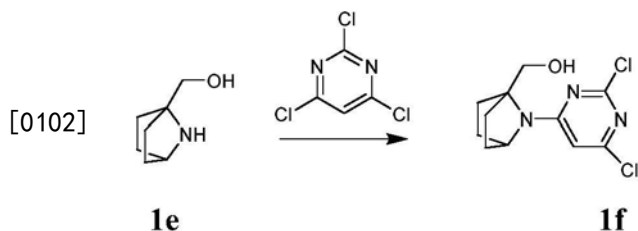
**1d**

**1e**

[0099] 将1-(羟甲基)-7-氮杂双环[2.2.1]庚烷-7-羧酸叔丁酯1d(6.53g, 28.7mmol)溶于100mL盐酸/乙醇(2M)中,室温下搅拌反应4小时后,减压浓缩,得到黄色固体产物1e(4.72g, 产率:100%)。

[0100] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO) δ9.04(s, 2H), 3.98(m, 1H), 3.73(s, 2H), 1.98-1.82(m, 4H), 1.69-1.53(m, 4H)。

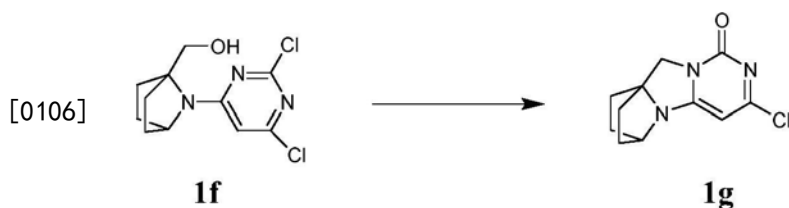
[0101] 第五步:化合物1f的制备



[0103] 室温下将(7-氮杂双环[2.2.1]庚烷-1-基)甲醇1e(4.5g,35.5mmol),2,4,6-三氯嘧啶(7.79g,42.6mmol)和二异丙基乙基胺(13.7g,106.5mmol)溶于200mL乙腈中,搅拌过夜后,减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=5:1)纯化,得到无色固体产物1f(5.2g,产率:53%)。

[0104]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 6.37(s,1H),4.91(m,1H),4.26(m,1H),4.01(m,2H),2.01-1.82(m,4H),1.68-1.52(m,4H)。

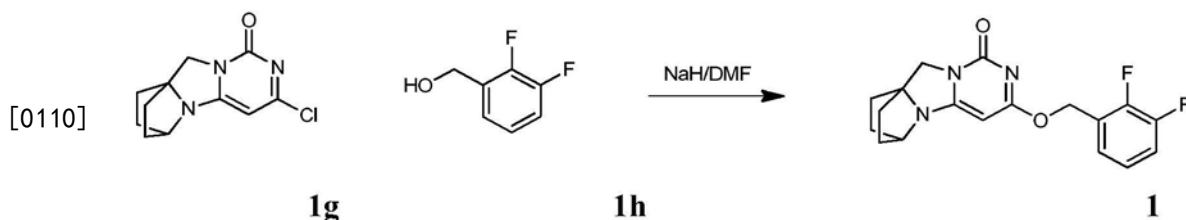
[0105] 第六步:化合物1g的制备



[0107] 室温下将(7-(2,6-二氯嘧啶-4-基)-7-氮杂二环[2.2.1]庚-1-基)甲醇1f(5.46g,19.9mmol)和三乙胺(6.0g,59.7mmol)溶于100mL干燥的二氯甲烷中,0℃下滴加MsCl(2.5g,21.9mmol),0℃下搅拌反应1小时后,减压浓缩,溶于100mL二氧六环/水的混合溶剂(1:1),加入碳酸钾(8.2g,59.7mmol),90℃下搅拌过夜后,减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20:1)纯化,得到无色固体产物1g(2.2g,产率:46%)。

[0108]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,DMSO)  $\delta$ 6.10(s,1H),4.42(m,1H),3.95(s,2H),1.94-1.89(m,2H),1.78-1.69(m,6H)。

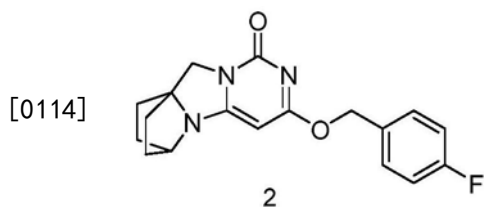
[0109] 第七步:化合物1的制备



[0111] 将(2,3-二氟苯基)甲醇1h(46mg,0.32mmol)溶于2mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中,0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量,17mg,0.42mmol),室温下搅拌反应20分钟后,加入化合物1g(50mg,0.21mmol),搅拌反应1h后,加入少量水淬灭反应,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20:1)纯化,得到白色固体产物1(31mg,产率:43%)。

[0112]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.24-7.03(m,3H),5.45(s,2H),5.15(s,1H),4.09(m,1H),3.99(s,2H),2.14-1.99(m,2H),1.78-1.66(m,6H).MS(ESI):m/z 346.0[M+H]<sup>+</sup>。

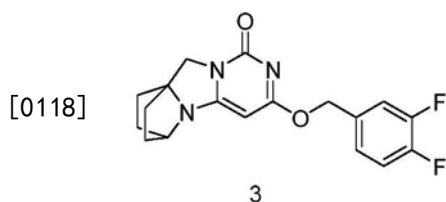
[0113] 实施例2化合物2的制备



[0115] 将(4-氟苯基)甲醇(40mg, 0.32mmol)溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中, 0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol), 室温下搅拌反应20分钟后, 加化合物1g(50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物2(40mg, 产率: 58%)。

[0116]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.43-7.40 (m, 2H), 7.08-7.04 (m, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.17 (s, 1H), 4.11 (m, 1H), 4.01 (s, 2H), 2.10-2.06 (m, 2H), 1.82-1.67 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  328.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

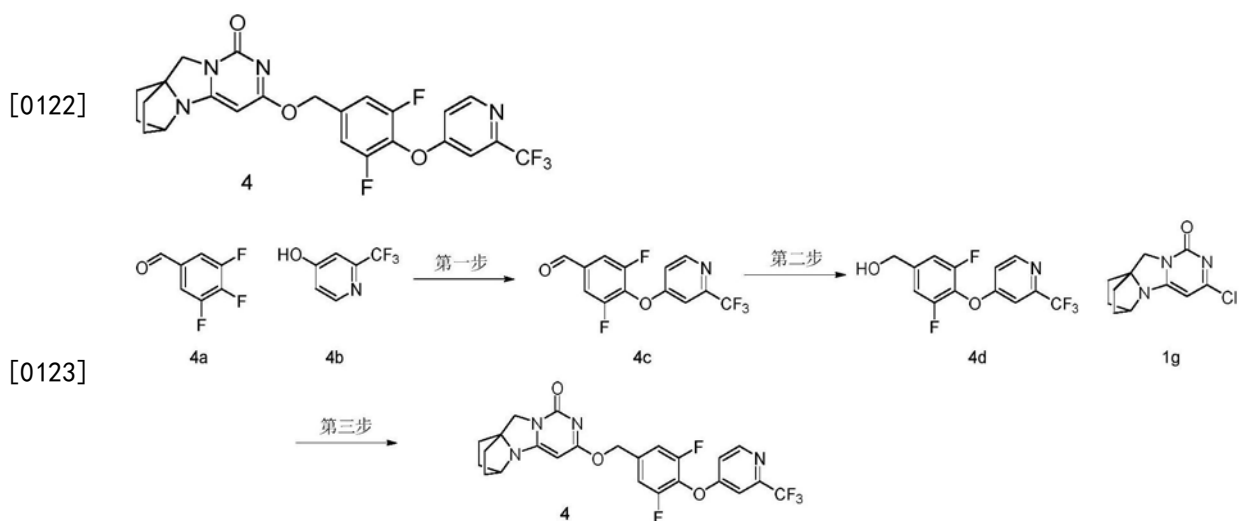
[0117] 实施例3化合物3的制备



[0119] 将(3,4-二氟苯基)甲醇(46mg, 0.32mmol)溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中, 0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol), 室温下搅拌反应20分钟后, 加入化合物1g(50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物3(17mg, 产率: 23%)。

[0120]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.28-7.22 (m, 1H), 7.18-7.11 (m, 2H), 5.35 (s, 2H), 5.17 (s, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.01 (s, 2H), 2.12-2.07 (m, 2H), 1.83-1.74 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  346.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0121] 实施例4化合物4的制备



[0124] 第一步: 化合物4c的制备

[0125] 室温下将2-(三氟甲基)吡啶-4-醇4b(0.85g, 5.2mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛(1g, 6.2mmol)和碳酸钾(0.93g, 6.76mmol)溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中, 在90℃搅拌反应1小

时,冷却到室温后倒入100mL冰水,用乙酸乙酯萃取(50mL×3),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=5/1)纯化得到黄色固体产物4c(1.47g,产率:78.2%)。

[0126]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.97 (s, 1H), 8.65 (m, 1H), 7.63 (m, 2H), 7.27 (m, 1H), 7.01 (m, 1H)。

[0127] 第二步:化合物4d的制备

[0128] 室温下将3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)氧基)苯甲醛4c(1.47g, 4.85mmol)溶于50mL乙醇中,在0℃加入 $\text{NaBH}_4$ (184mg, 4.85mmol),室温搅拌反应0.5小时,减压浓缩,加入水,用乙酸乙酯萃取(100mL×2),合并有机相,用饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=2/1)纯化得到白色固体产物4d(1.04g,产率:70.3%)。

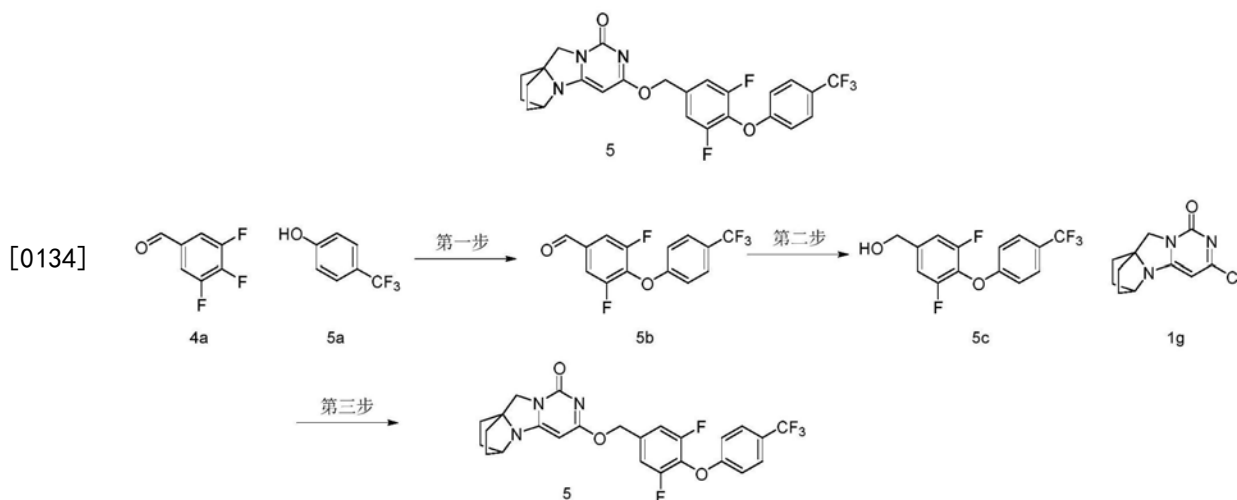
[0129]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.59 (m, 1H), 7.24 (m, 1H), 7.11 (m, 2H), 6.99 (m, 1H), 4.75 (m, 2H), 2.19 (m, 1H)。

[0130] 第三步:化合物4的制备

[0131] 将(3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇(77mg, 0.25mmol)溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中,0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量,17mg, 0.42mmol),室温下搅拌反应5分钟后,加入化合物1g(50mg, 0.21mmol),搅拌反应1h后,加入少量水淬灭反应,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到白色固体产物4(35mg,产率:33%)。

[0132]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.62 (m, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.01 (m, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.24 (s, 1H), 4.16 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 2.12-2.07 (m, 2H), 1.83-1.79 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  506.9  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0133] 实施例5化合物5的制备



[0135] 第一步:化合物5b的制备

[0136] 室温下将4-(三氟甲基)苯酚5a(0.84g, 5.2mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a(1g, 6.2mmol)和碳酸钾(0.93g, 6.76mmol)溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中,在90℃搅拌反应1小时,冷却到室温倒入100mL冰水,用乙酸乙酯萃取(50mL×3),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体

系(石油醚/乙酸乙酯=5/1)纯化得到黄色固体产物5b(1.33g,产率:71.0%)。

[0137]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 9.94 (m, 1H), 7.59 (m, 4H), 7.04 (m, 2H)。

[0138] 第二步:化合物5c的制备

[0139] 室温下将3,5-二氟-4-(4-(三氟甲基)苯氧基)苯甲醛5b(1.33g, 4.4mmol)溶于50mL甲醇中,在0℃加入 $\text{NaBH}_4$ (166mg, 4.4mmol),室温搅拌反应0.5小时,减压浓缩,加入水,用乙酸乙酯萃取(100mL $\times$ 2),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=2/1)纯化得到无色油状产物5c(0.85g,产率:63.6%)。

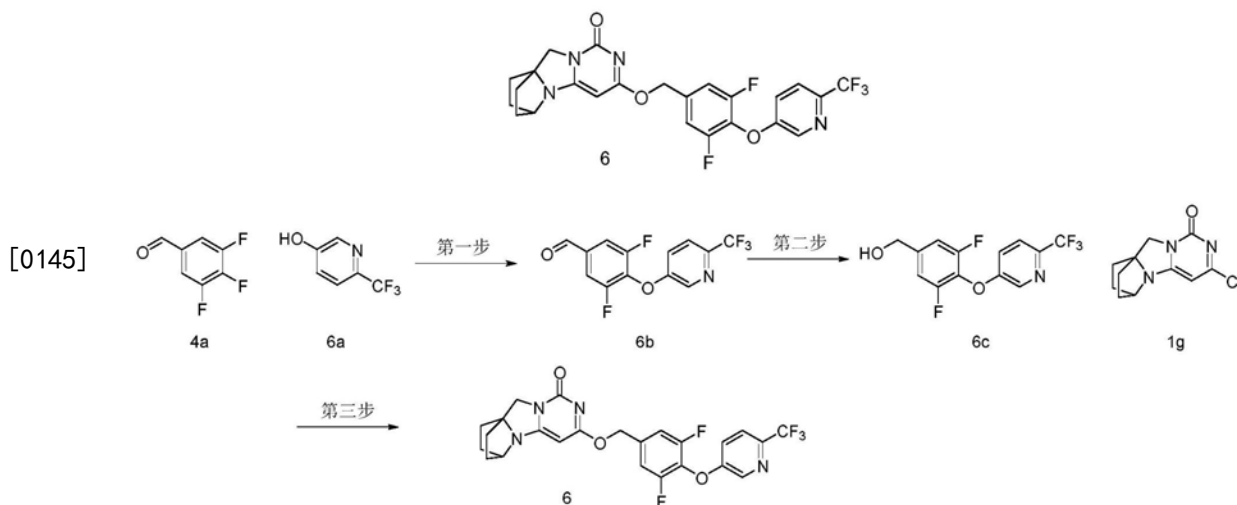
[0140]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.57 (m, 2H), 7.09-7.00 (m, 4H), 4.72 (m, 2H), 2.03 (m, 1H)。

[0141] 第三步:化合物5的制备

[0142] 将3,5-二氟-4-(4-(三氟甲基)苯氧基)苯基)甲醇5c(64mg, 0.21mmol)溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中,0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量,17mg, 0.42mmol),室温下搅拌反应20分钟后,加入化合物1g(50mg, 0.21mmol),搅拌反应1h后,加入少量水淬灭反应,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到白色固体产物5(17mg,产率:16%)。

[0143]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.59 (m, 2H), 7.12-7.02 (m, 4H), 5.42 (s, 2H), 5.23 (s, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 2.12 (m, 2H), 1.87-1.74 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  506.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0144] 实施例6化合物6的制备



[0146] 第一步:化合物6b的制备

[0147] 室温下将6-(三氟甲基)吡啶-3-醇6a(0.85g, 5.2mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a(1g, 6.2mmol)和碳酸钾(0.93g, 6.76mmol)溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中,在90℃搅拌反应1小时,冷却到室温后倒入100mL冰水,用乙酸乙酯萃取(50mL $\times$ 3),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=5/1)纯化得到黄色固体产物6b(1.34g,产率:84.6%)。

[0148] 第二步:化合物6c化合物的制备

[0149] 室温下将3,5-二氟-4-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)氧基)苯甲醛6b(1.34g, 4.4mmol)溶于50mL甲醇中,在0℃加入 $\text{NaBH}_4$ (167mg, 4.4mmol),室温搅拌反应0.5小时,减压浓缩,加入水,用乙酸乙酯萃取(100mL $\times$ 2),合并有机相,用饱和氯化钠溶液洗涤,无水硫酸

钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=2/1)纯化得到无色油状产物6c(0.77g,产率:57.4%)。

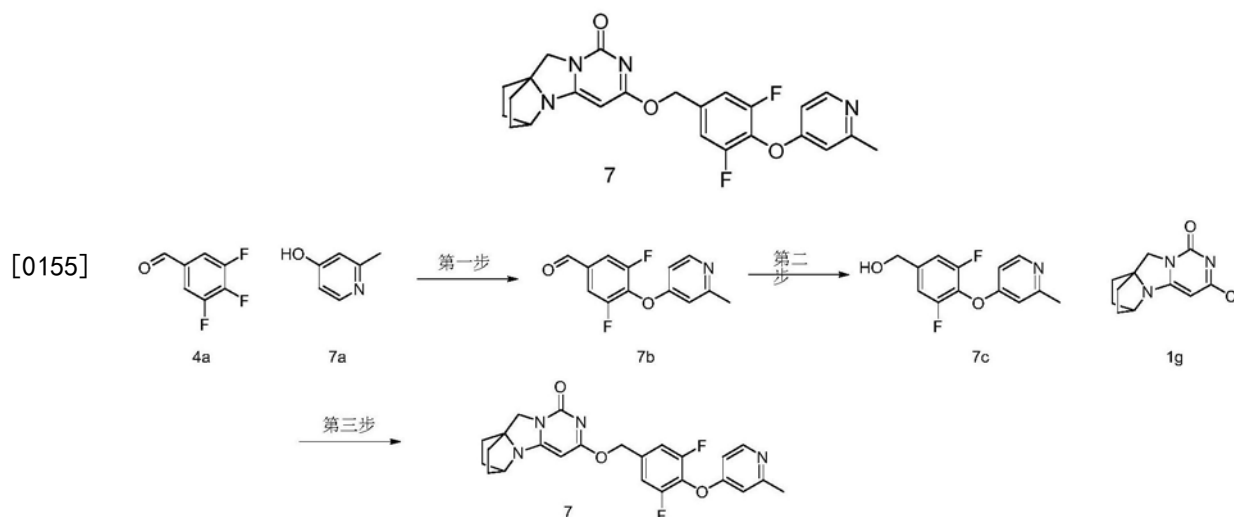
[0150]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.46 (s, 1H), 7.63 (m, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.09 (m, 2H), 4.73 (m, 2H), 2.40 (m, 1H)。

[0151] 第三步:化合物6的制备

[0152] 将(3,5-二氟-4-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)氧基)苯基)甲醇6c(50mg,0.21mmol)溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中,0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量,17mg,0.42mmol),室温下搅拌反应20分钟后,加入化合物1g(50mg,0.21mmol),搅拌反应1h后,加入少量水淬灭反应,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到白色固体产物6(31mg,产率:29%)。

[0153]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.51 (m, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.31 (m, 1H), 7.13 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.23 (s, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 2.12-2.06 (m, 2H), 1.85-1.70 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  507.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0154] 实施例7化合物7的制备



[0156] 第一步:化合物7b的制备

[0157] 室温下将6-甲基吡啶-4-醇7a(0.5g,4.6mmol),3,4,5-三氟苯甲醛4a(0.88g,5.5mmol)和碳酸钾(0.823g,5.95mmol)溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中,在90℃搅拌反应2小时,冷却到室温后倒入100mL冰水,用乙酸乙酯萃取(50mL×3),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到黄色固体产物7b(0.4g,产率:33.8%)。

[0158]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.94 (s, 1H), 8.39 (m, 1H), 7.62-7.56 (m, 2H), 6.70-6.66 (m, 2H), 2.52 (s, 3H)。

[0159] 第二步:化合物7c的制备

[0160] 室温下将3,5-二氟-4-((2-甲基吡啶-4-基)氧基)苯甲醛7b(0.4g,1.86mmol)溶于50mL甲醇中,在0℃加入 $\text{NaBH}_4$ (71mg,1.86mmol),室温搅拌反应0.5小时,减压浓缩,加入水,用乙酸乙酯萃取(100mL×2),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=4/1)纯化得到无色油状产物7c(0.40g,产率:85.7%)。

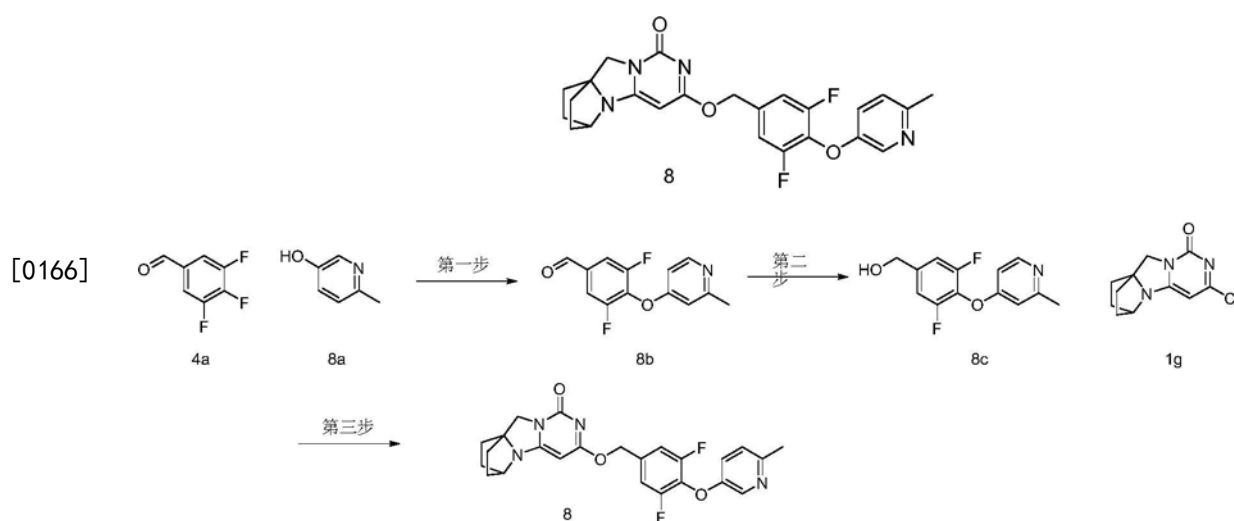
[0161]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.29 (m, 1H), 7.07 (m, 2H), 6.70-6.64 (m, 2H), 4.73 (s, 2H), 3.20 (m, 1H), 2.50 (s, 3H)。

[0162] 第三步: 化合物7的制备

[0163] 将(3,5-二氟-4-((2-甲基吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇7c (53mg, 0.21mmol) 溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中, 0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol), 室温下搅拌反应20分钟后, 加入化合物1g (50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物7 (17mg, 产率: 18%)。

[0164]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.38 (m, 1H), 7.10 (m, 2H), 6.69 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.23 (s, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.21-2.07 (m, 2H), 1.88-1.70 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  453.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0165] 实施例8化合物8的制备



[0167] 第一步: 化合物8b的制备

[0168] 室温下将6-甲基吡啶-3-醇8a (0.57g, 5.2mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a (1g, 6.2mmol) 和碳酸钾 (0.93g, 6.76mmol) 溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中, 在90℃搅拌反应1小时, 冷却到室温后倒入100mL冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50mL  $\times$  3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到黄色固体产物8b (0.91g, 产率: 69.4%)。

[0169]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.92 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.62-7.49 (m, 2H), 7.18-7.10 (m, 2H), 2.54 (s, 3H)。

[0170] 第二步: 化合物8c的制备

[0171] 室温下将3,5-二氟-4-((2-甲基吡啶-4-基)氧基)苯甲醛8b (0.91g, 4.3mmol) 溶于50mL甲醇中, 在0℃加入 $\text{NaBH}_4$  (161mg, 4.3mmol), 室温搅拌反应0.5小时, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100mL  $\times$  2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=4/1)纯化得到无色油状产物8c (0.89g, 产率: 82.5%)。

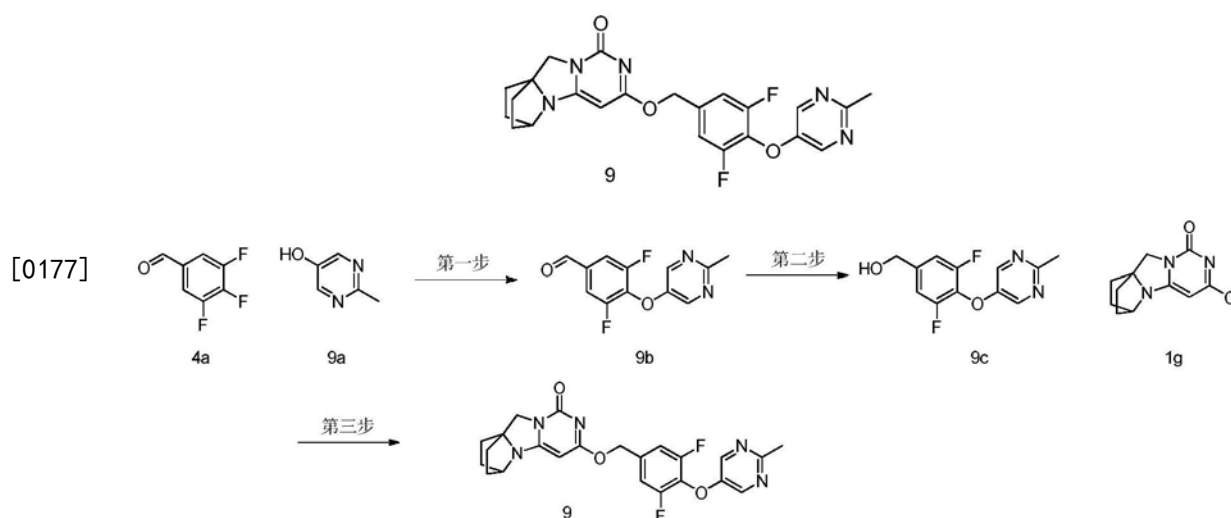
[0172]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.20 (m, 1H), 7.16-6.98 (m, 4H), 4.69 (m, 2H), 2.88 (m, 1H), 2.50 (s, 3H)。

[0173] 第三步:化合物8的制备

[0174] 将(3,5-二氟-4-((2-甲基吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇8c (53mg, 0.21mmol) 溶于2mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中, 0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol), 室温下搅拌反应20分钟后, 加入化合物1g (50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物8 (20mg, 产率:21%)。

[0175]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.30 (m, 1H), 7.18-7.04 (m, 4H), 5.40 (s, 2H), 5.22 (s, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.11 (m, 2H), 1.86-1.74 (m, 6H)。MS (ESI): m/z 453.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0176] 实施例9化合物9的制备



[0178] 第一步:化合物9b的制备

[0179] 室温下将2-甲基嘧啶-5-醇9a (0.25g, 2.27mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a (0.44g, 2.72mmol) 和碳酸钾 (0.41g, 2.95mmol) 溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中, 在90℃搅拌反应2小时, 冷却下来后倒入100mL冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到黄色固体产物9b (0.24g, 产率:34.8%)。

[0180]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 9.93 (s, 1H), 8.39 (s, 2H), 7.64-7.54 (m, 2H), 2.72 (s, 3H)。

[0181] 第二步:化合物9c的制备

[0182] 室温下将3,5-二氟-4-((2-甲基嘧啶-5-基)氧基)苯甲醛9b (0.24g, 0.79mmol) 溶于50mL甲醇中, 在0℃加入NaBH<sub>4</sub> (30mg, 0.79mmol), 室温搅拌反应0.5小时, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100mL×2), 合并有机相, 用氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=4/1)纯化得到无色油状产物9c (0.17g, 产率:85.4%)。

[0183]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.33 (s, 2H), 7.04 (m, 2H), 4.71 (m, 2H), 2.70 (s, 3H)。

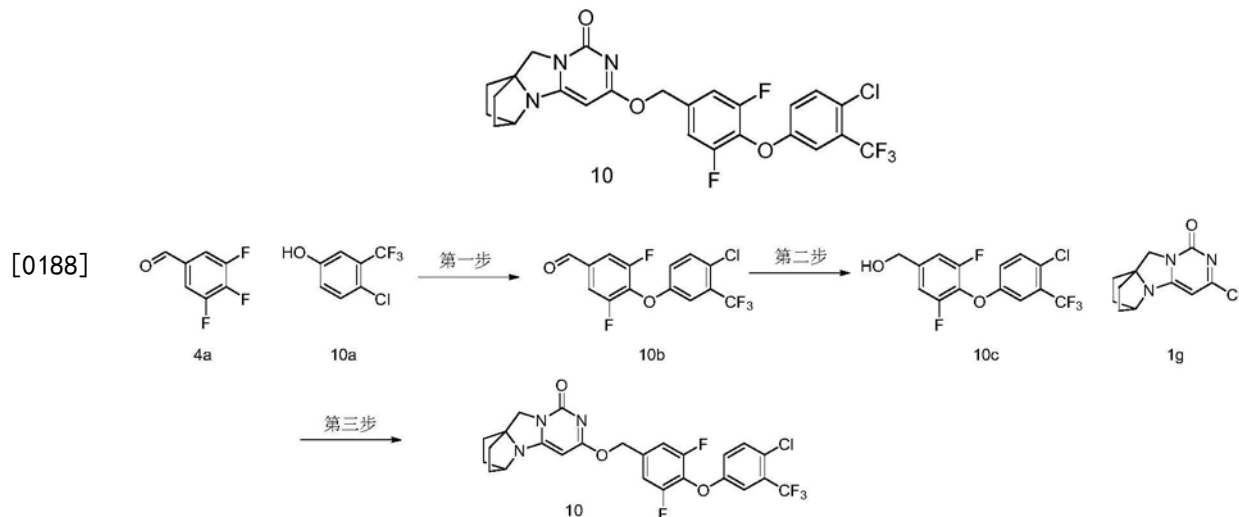
[0184] 第三步:化合物9的制备

[0185] 将(3,5-二氟-4-((2-甲基嘧啶-5-基)氧基)苯基)甲醇9c (53mg, 0.21mmol) 溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中, 0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol), 室温下搅拌反应20分钟后, 加入化合物1g (50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后, 加入少量水淬

灭反应,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到白色固体产物9(18mg,产率:19%)。

[0186]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.34 (s, 2H), 7.09 (m, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.20 (s, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.99 (s, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.13-2.03 (m, 2H), 1.81-1.71 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  454.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0187] 实施例10化合物10的制备



[0189] 第一步:化合物10b的制备

[0190] 室温下将4-氯-3-(三氟甲基)苯酚10a (0.5g, 2.54mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a (0.45g, 2.8mmol) 和碳酸钾 (0.46g, 3.3mmol) 溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中,在90℃搅拌反应2小时,冷却下来后倒入100mL冰水,用乙酸乙酯萃取 (50mL $\times$ 3),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到黄色固体产物10b (0.6g,产率:70.1%)。

[0191]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.94 (s, 1H), 7.64-7.55 (m, 2H), 7.45 (m, 1H), 7.31 (m, 1H), 7.05 (m, 1H)。

[0192] 第二步:化合物10c的制备

[0193] 室温下将4-(4-氯-3-(三氟甲基)苯氧基)-3,5-二氟苯甲醛10b (0.6g, 1.78mmol) 溶于50mL甲醇中,在0℃加入 $\text{NaBH}_4$  (67mg, 1.78mmol),室温搅拌反应0.5h,减压浓缩,加入水,用乙酸乙酯萃取 (100mL $\times$ 2),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=4/1)纯化得到白色固体状产物10c (0.28g,产率:46.4%)。

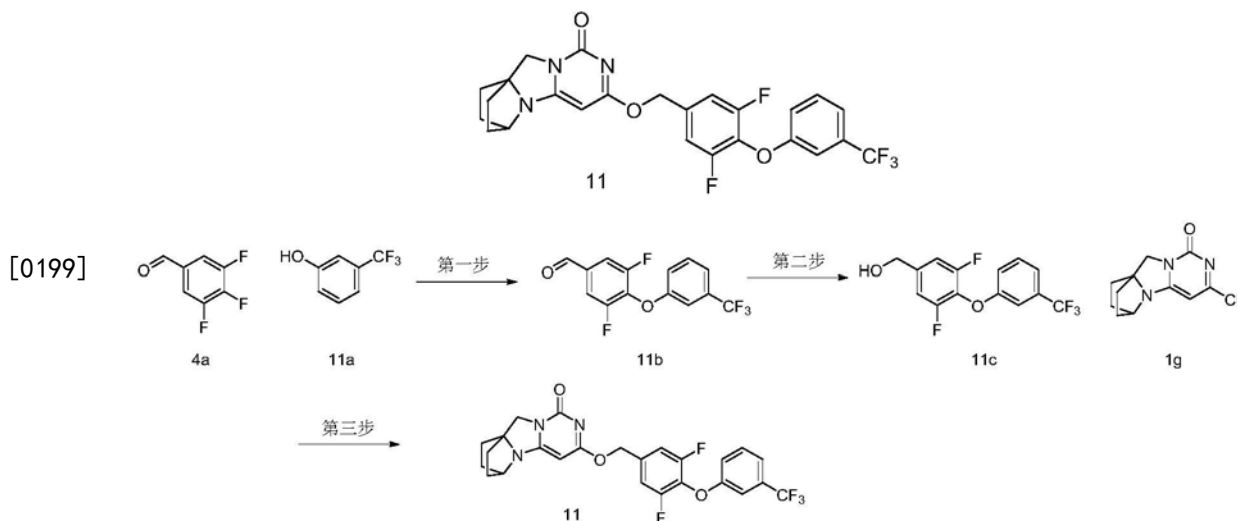
[0194]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.41 (m, 1H), 7.28 (m, 1H), 7.08-7.00 (m, 3H), 4.73 (m, 2H), 1.94 (m, 1H)。

[0195] 第三步:化合物10的制备

[0196] 将4-(4-氯-3-(三氟甲基)苯氧基)-3,5-二氟苯基)甲醇10c (71mg, 0.21mmol) 溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中,0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol),室温下搅拌反应20分钟后,加入化合物1g (50mg, 0.21mmol),搅拌反应1h后,加入少量水淬灭反应,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到白色固体产物10 (28mg,产率:25%)。

[0197]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.41 (m, 1H), 7.29 (m, 1H), 7.08 (m, 2H), 7.01 (m, 1H), 5.38 (s, 2H), 5.20 (s, 1H), 4.13 (m, 1H), 4.00 (s, 2H), 2.19-2.08 (m, 2H), 1.84-1.74 (m, 6H)。MS (ESI) :  $m/z$  539.9  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0198] 实施例11化合物11的制备



[0200] 第一步:化合物11b的制备

[0201] 室温下将3-(三氟甲基)苯酚11a (1g, 6.17mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a (1.09g, 6.79mmol) 和碳酸钾 (1.1g, 8.02mmol) 溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中, 在90℃搅拌反应2小时, 冷却下来后倒入100mL冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50mL  $\times$  3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯=10/1) 纯化得到黄色固体产物11b (1.7g, 产率: 82.5%)。

[0202]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.94 (s, 1H), 7.63-7.55 (m, 2H), 7.46 (m, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.13 (m, 1H)。

[0203] 第二步:化合物11c的制备

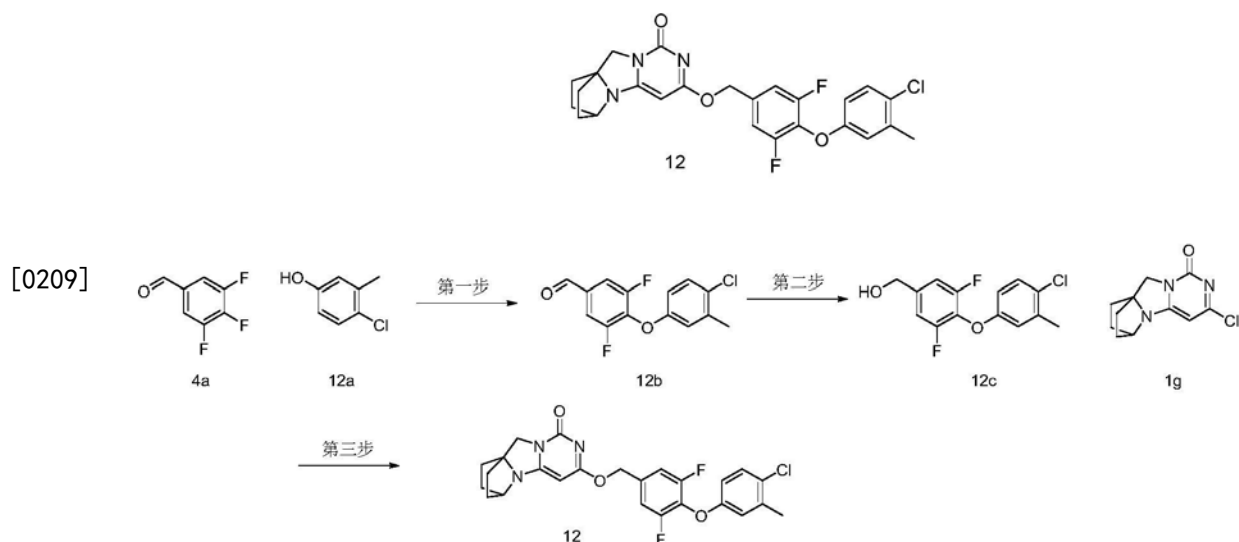
[0204] 室温下将3,5-二氟-4-(3-(三氟甲基)苯氧基)苯甲醛11b (1.7g, 5.6mmol) 溶于50mL甲醇中, 在0℃加入 $\text{NaBH}_4$  (213mg, 5.6mmol), 室温搅拌反应0.5h, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100mL  $\times$  2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯=4/1) 纯化得到无色油状产物11c (1.27g, 产率: 74.5%)。

[0205] 第三步:化合物11的制备

[0206] 将(3,5-二氟-4-(3-(三氟甲基)苯氧基)苯基)甲醇11c (71mg, 0.21mmol) 溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中, 0℃下加入氢化钠 (矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol), 室温下搅拌反应20分钟后, 加入化合物1g (50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (二氯甲烷/甲醇=20/1) 纯化, 得到白色固体产物11 (33mg, 产率: 31%)。

[0207]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.44 (m, 1H), 7.36 (m, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.11 (m, 3H), 5.42 (s, 2H), 5.23 (s, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 2.12 (m, 2H), 1.83-1.77 (m, 6H)。MS (ESI) :  $m/z$  505.9  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0208] 实施例12化合物12的制备



[0210] 第一步:化合物12b的制备

[0211] 室温下将4-氯-3-甲基苯酚12a (1g, 7.0mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a (1.2g, 7.7mmol) 和碳酸钾 (1.3g, 9.1mmol) 溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中, 在90℃搅拌反应2小时, 冷却下来后倒入100mL冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯=10/1) 纯化得到黄色固体产物12b (1.2g, 产率:54.5%)。

[0212]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.92 (s, 1H), 7.61-7.51 (m, 2H), 7.30-7.23 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.73 (m, 1H), 2.34 (s, 3H)。

[0213] 第二步:化合物12c的制备

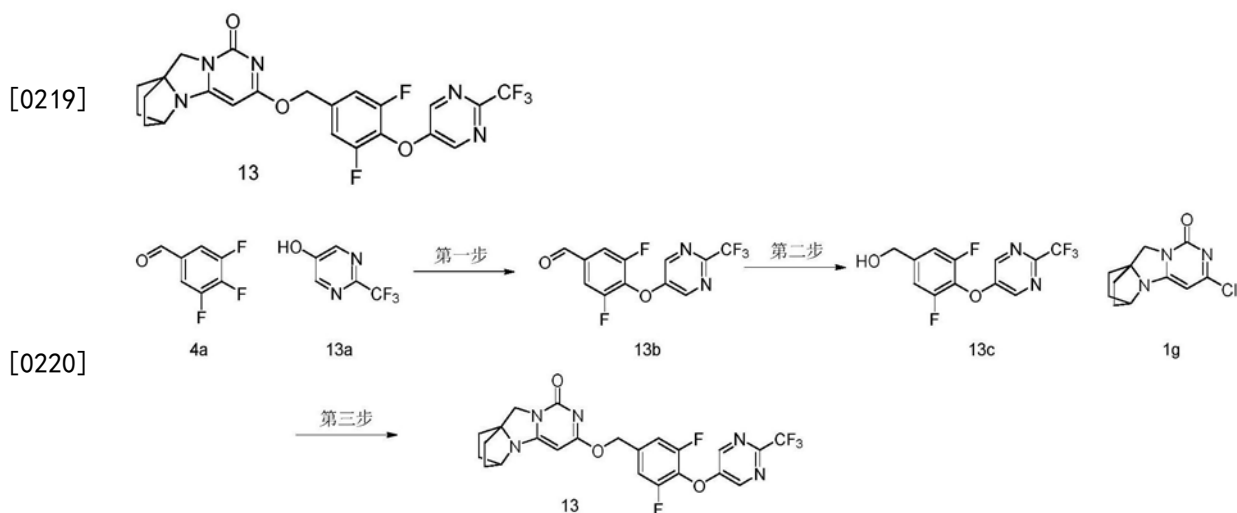
[0214] 室温下将4-(4-氯-3-甲基苯氧基)-3,5-二氟苯甲醛12b (1.2g, 4.2mmol) 溶于50mL 甲醇中, 在0℃加入 $\text{NaBH}_4$  (161mg, 4.2mmol), 室温搅拌反应0.5小时, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯=4/1) 纯化得到无色油状产物12c (0.89g, 产率:74.4%)。

[0215] 第三步:化合物12的制备

[0216] 将4-(4-氯-3-甲基苯氧基)-3,5-二氟苯基) 甲醇12c (59mg, 0.21mmol) 溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中, 0℃下加入氢化钠 (矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol), 室温下搅拌反应20分钟后, 加入化合物1g (50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (二氯甲烷/甲醇=20/1) 纯化, 得到白色固体产物12 (29mg, 产率:31%)。

[0217]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.25 (m, 1H), 7.08 (m, 2H), 6.84 (m, 1H), 6.73 (m, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.22 (s, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.12 (m, 2H), 1.87-1.74 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  486.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0218] 实施例13:化合物13的制备



[0221] 第一步:化合物13b的制备

[0222] 室温下将2-(三氟甲基)吡啶-5-醇13a (0.25g, 1.52mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a (0.29g, 1.83mmol) 和碳酸钾 (0.27g, 1.98mmol) 溶于20mL N,N-二甲基甲酰胺中, 在90℃搅拌反应2h, 冷却下来后倒入100mL冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到黄色固体产物13b (0.24g, 产率:52.0%)。

[0223]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 9.97 (s, 1H), 8.59 (s, 2H), 7.69-7.54 (m, 2H)。

[0224] 第二步:化合物13c的制备

[0225] 室温下将3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)吡啶-5-基)氧基)苯甲醛13b (0.24g, 0.79mmol) 溶于50mL甲醇中, 在0℃加入 $\text{NaBH}_4$  (30mg, 0.79mmol), 室温搅拌反应0.5h, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=4/1)纯化得到无色油状产物13c (0.12g, 产率:49.6%)。

[0226]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.54 (s, 2H), 7.12 (m, 2H), 4.74 (m, 2H), 2.23 (m, 1H)。

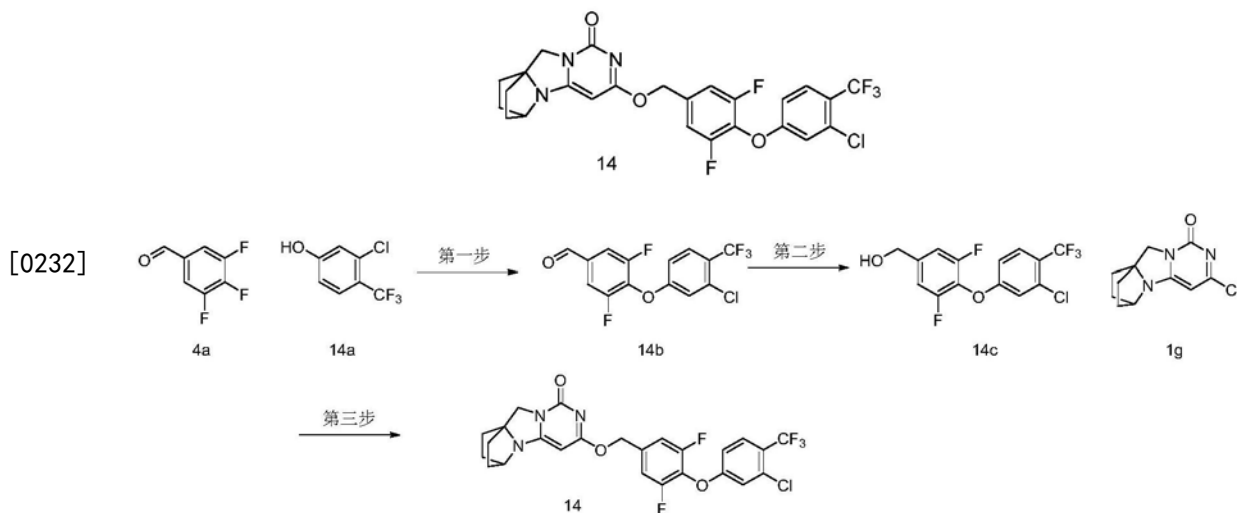
[0227] 第三步:化合物13的制备

[0228] 将(3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)吡啶-5-基)氧基)苯基)甲醇13c (64mg, 0.21mmol) 溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中, 0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol), 室温下搅拌反应20分钟后, 加入化合物1g (50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物13 (18mg, 产率:17%)。

[0229]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.58 (s, 2H), 7.17 (m, 2H), 5.43 (s, 2H), 5.24 (s, 1H), 4.16 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 2.13 (m, 2H), 1.88-1.76 (m, 6H)。

[0230] MS (ESI) :m/z 508.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0231] 实施例14:化合物14的制备



[0233] 第一步:化合物14b的制备

[0234] 室温下将3-氯-4-(三氟甲基)苯酚14a (0.25g, 1.27mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a (0.22g, 1.4mmol) 和碳酸钾 (0.23g, 1.65mmol) 溶于20mL N,N-二甲基甲酰胺中, 在90℃搅拌反应2小时, 冷却下来后倒入100mL冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到黄色固体产物14b (0.32g, 产率:74.0%)。

[0235]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 9.95 (s, 1H), 7.69-7.56 (m, 3H), 7.10 (m, 1H), 6.92 (m, 1H)。

[0236] 第二步:化合物14c的制备

[0237] 室温下将4-(3-氯-4-(三氟甲基)苯氧基)-3,5-二氟苯甲醛14b (0.32g, 0.94mmol) 溶于50mL甲醇中, 在0℃加入 $\text{NaBH}_4$  (36mg, 0.94mmol), 室温搅拌反应0.5小时, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=4/1)纯化得到白色固体状产物14c (0.15g, 产率:47.1%)。

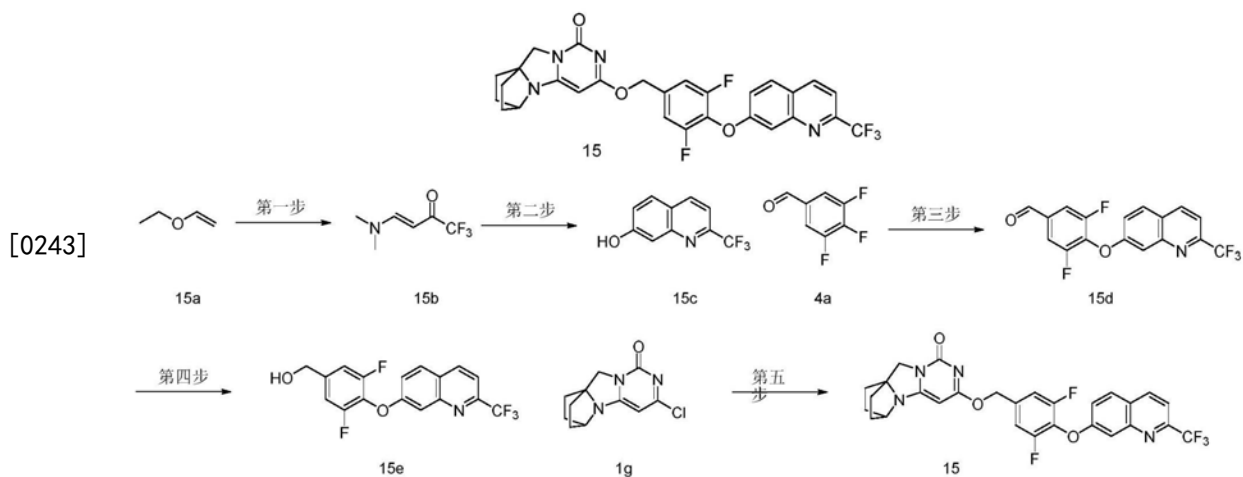
[0238]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.62 (m, 1H), 7.13-7.00 (m, 3H), 6.90 (m, 1H), 4.74 (m, 2H), 1.88 (m, 1H)。

[0239] 第三步:化合物14的制备

[0240] 将4-(3-氯-4-(三氟甲基)苯氧基)-3,5-二氟苯基)甲醇14c (71mg, 0.21mmol) 溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中, 0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol), 室温下搅拌反应20分钟后, 加入化合物1g (50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物14 (12mg, 产率:10%)。

[0241]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.64 (m, 1H), 7.10 (m, 3H), 6.91 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.23 (s, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 2.19-2.04 (m, 2H), 1.83-1.75 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  539.9  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0242] 实施例15化合物15的制备



[0244] 第一步:化合物15b的制备

[0245] 将乙氧基乙烯15a (1g, 13.9mmol), 吡啶 (1.65g, 20.9mmol) 溶于20mL二氯甲烷, 在0℃和氮气保护下加入三氟乙酸酐, 搅拌反应20分钟后, 升温到室温反应2h将反应混合物冷却到-20℃, 在10分钟内滴加二甲胺, 再升温到室温反应2h, 加水淬灭反应, 用二氯甲烷萃取 (50mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯=4/1) 纯化得到白色固体产物15b (540mg, 产率:23.1%)。

[0246]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.85 (m, 1H), 5.26 (m, 1H), 3.21 (s, 3H), 2.95 (s, 3H)。

[0247] 第二步:化合物15c的制备

[0248] 室温下将 (E)-4-(二甲基氨基)-1,1,1-三氟丁-3-烯-2-酮15b (0.54g, 2.98mmol), 溶于20mL二氯乙烷中, 0℃下滴加 $\text{TiF}_2\text{O}$ 的二氯乙烷溶液 (5mL), 接着加入3-氨基苯酚的二氯乙烷溶液 (10mL), 在40℃搅拌反应2h, 过滤得到白色固体产物15c (275mg, 57.4%)。

[0249]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, MeOD)  $\delta$ 8.43 (m, 1H), 7.90 (m, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.32 (m, 1H)。

[0250] 第三步:化合物15d的制备

[0251] 室温下将2-(三氟甲基)喹啉-7-醇15c (0.37g, 1.71mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a (0.28g, 1.71mmol) 和碳酸钾 (0.71g, 5.13mmol) 溶于20mL N,N-二甲基甲酰胺中, 在90℃搅拌反应2h, 冷却下来后倒入100mL冰水, 用乙酸乙酯萃取 (50mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯=5/1) 纯化得到白色固体产物15d (310mg, 51.5%)。

[0252]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 9.97 (s, 1H), 8.36 (m, 1H), 7.96 (m, 1H), 7.69 (m, 1H), 7.62 (m, 3H), 7.40 (s, 1H)。

[0253] 第四步:化合物15e的制备

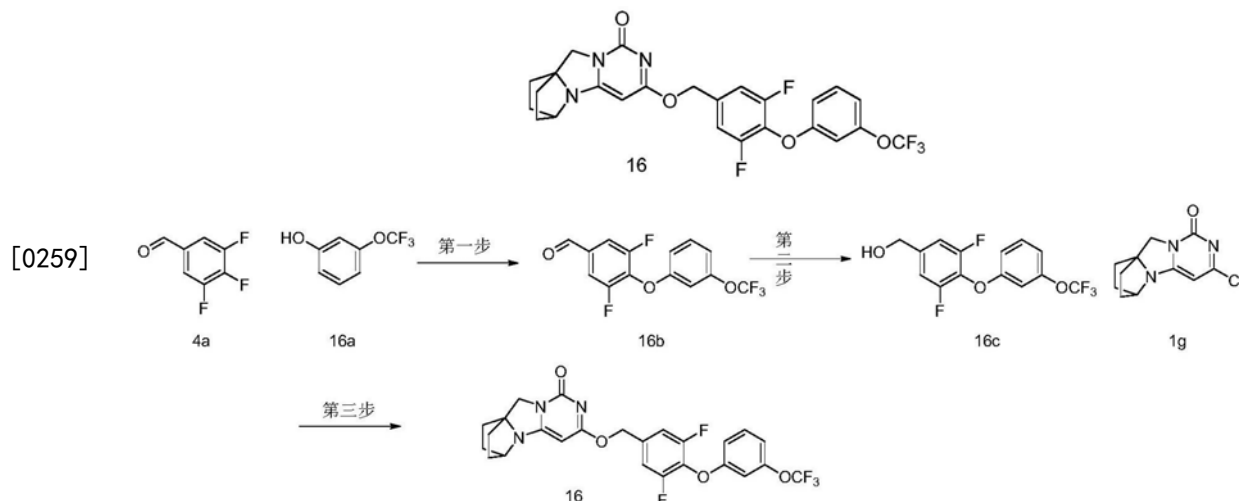
[0254] 室温下将3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)喹啉-7-基)氧基)苯甲醛15d (0.31g, 0.88mmol) 溶于20mL甲醇中, 在0℃加入 $\text{NaBH}_4$  (33mg, 0.88mmol), 室温搅拌反应0.5h, 减压浓缩, 加入水, 用乙酸乙酯萃取 (100mL×2), 合并有机相, 用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 (石油醚/乙酸乙酯=4/1) 纯化得到无色油状产物15e (230mg, 74.6%)。

[0255] 第五步:化合物15的制备

[0256] 将(3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)喹啉-7-基)氧基)苯基)甲醇15e (75mg, 0.21mmol)溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中,0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol),室温下搅拌反应20分钟后,加入化合物1g (50mg, 0.21mmol),搅拌反应1h后,加入少量水淬灭反应,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到白色固体产物15 (18mg, 产率:17%)。

[0257]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.33 (m, 1H), 7.92 (m, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.13 (m, 2H), 5.40 (s, 2H), 5.23 (s, 1H), 4.14 (m, 1H), 4.02 (s, 2H), 2.11 (m, 2H), 1.79 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  557.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0258] 实施例16化合物16的制备



[0260] 第一步:化合物16b的制备

[0261] 室温下将3-(三氟甲氧基)苯酚16a (0.50g, 2.8mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a (0.5g, 2.8mmol)和碳酸钾 (0.5g, 3.64mmol)溶于30mL N,N-二甲基甲酰胺中,在90℃搅拌反应2h,冷却下来后倒入100mL冰水,用乙酸乙酯萃取 (50mL×3),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到黄色固体产物16b (0.73g, 产率:81.4%)。

[0262]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.94 (s, 1H), 7.64-7.54 (m, 2H), 7.34 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 6.87 (m, 2H)。

[0263] 第二步:化合物16c的制备

[0264] 室温下将4-(3-(三氟甲氧基)苯氧基)-3,5-二氟苯甲醛16b (0.73g, 2.28mmol)溶于50mL甲醇中,在0℃加入 $\text{NaBH}_4$  (86mg, 2.28mmol),室温搅拌反应0.5h,减压浓缩,加入水,用乙酸乙酯萃取 (100mL×2),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=4/1)纯化得到无色油状产物16c (0.57g, 产率:71.2%)。

[0265]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.30 (m, 1H), 7.06 (m, 2H), 6.94 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.72 (m, 2H), 1.94 (m, 1H)。

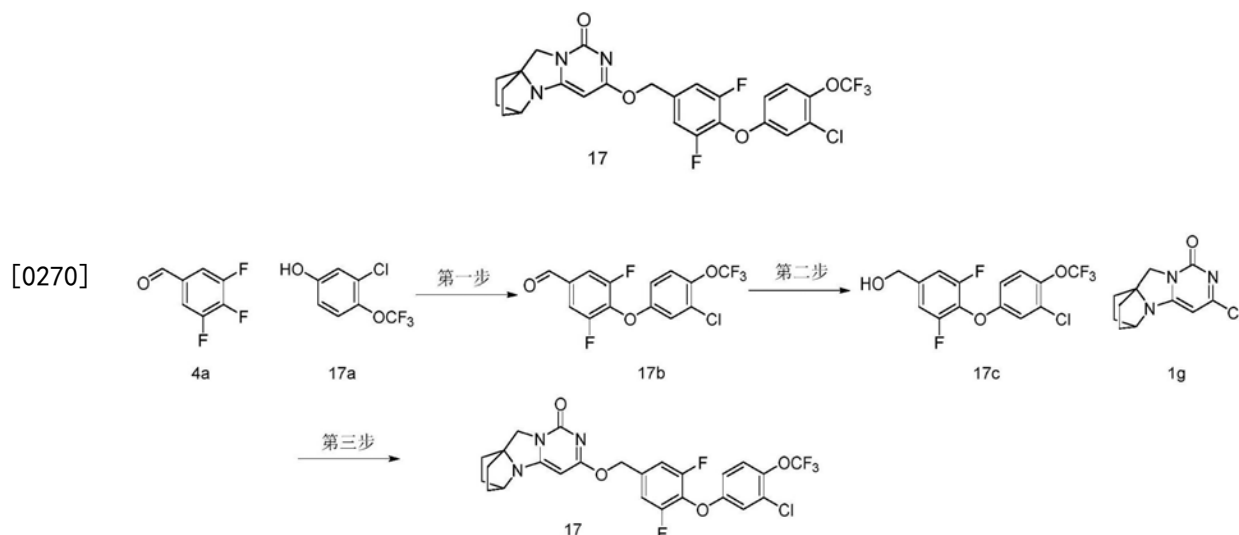
[0266] 第三步:化合物16的制备

[0267] 将4-(3-(三氟甲氧基)苯氧基)-3,5-二氟苯基)甲醇16c (67mg, 0.21mmol)溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中,0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol),室温

下搅拌反应20分钟后,加入化合物1g (50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后,加入少量水淬灭反应,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到白色固体产物16 (25mg, 产率:23%)。

[0268]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.29 (m, 1H), 7.07 (m, 2H), 6.93 (m, 1H), 6.83 (m, 2H), 5.38 (s, 2H), 5.20 (s, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.00 (s, 2H), 2.08 (m, 2H), 1.83-1.73 (m, 6H)。MS (ESI) :  $m/z$  522.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0269] 实施例17化合物17的制备



[0271] 第一步:化合物17b的制备

[0272] 室温下将3-氯-4-(三氟甲氧基)苯酚17a (0.50g, 2.34mmol), 3,4,5-三氟苯甲醛4a (0.41g, 2.58mmol) 和碳酸钾 (0.42g, 3.04mmol) 溶于20mL N,N-二甲基甲酰胺中,在90℃搅拌反应2h,冷却下来后倒入100mL冰水,用乙酸乙酯萃取 (50mL  $\times$  3),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到黄色固体产物17b (0.62g, 产率:74.4%)。

[0273]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.94 (s, 1H), 7.63-7.54 (m, 2H), 7.29 (m, 1H), 7.07 (m, 1H), 6.90 (m, 1H)。

[0274] 第二步:化合物17c的制备

[0275] 室温下将4-(3-氯-4-(三氟甲氧基)苯氧基)-3,5-二氟苯甲醛17b (0.62g, 1.94mmol) 溶于50mL甲醇中,在0℃加入 $\text{NaBH}_4$  (62mg, 1.94mmol), 室温搅拌反应0.5h,减压浓缩,加入水,用乙酸乙酯萃取 (100mL  $\times$  2),合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=4/1)纯化得到无色油状产物17c (0.53g, 产率:77.0%)。

[0276]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.25 (m, 1H), 7.06 (m, 2H), 7.01 (m, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.72 (s, 2H), 2.04 (m, 1H)。

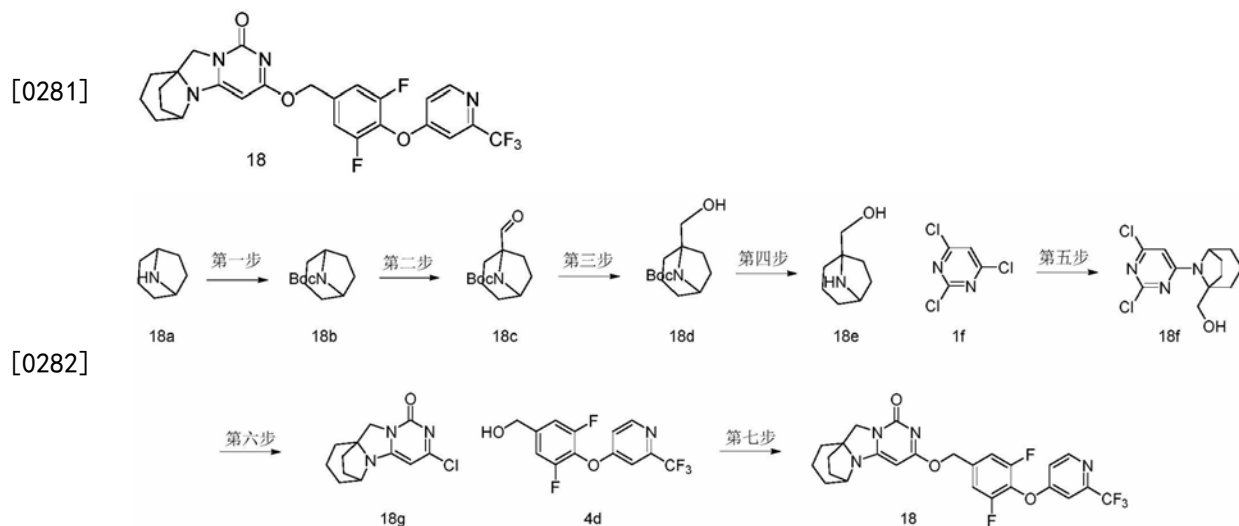
[0277] 第三步:化合物17的制备

[0278] 将4-(3-氯-4-(三氟甲氧基)苯氧基)-3,5-二氟苯基甲醇17c (75mg, 0.21mmol) 溶于5mL干燥的N,N-二甲基甲酰胺中,0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.42mmol), 室温下搅拌反应20分钟后,加入化合物1g (50mg, 0.21mmol), 搅拌反应1h后,加

入少量水淬灭反应,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到白色固体产物17(23mg,产率:20%)。

[0279]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.23 (s, 1H), 7.09 (m, 2H), 7.03 (m, 1H), 6.87 (m, 1H), 5.39 (s, 2H), 5.21 (s, 1H), 4.13 (m, 1H), 4.01 (s, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.83-1.71 (m, 6H)。MS (ESI):  $m/z$  555.9  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0280] 实施例18化合物18的制备



[0283] 第一步:化合物18b的制备

[0284] 室温下将8-氮杂二环[3.2.1]辛烷18a (5g, 33.9mmol) 和三乙胺 (5.2g, 50.8mmol) 溶于300mL二氯甲烷中,加入  $(\text{Boc})_2\text{O}$  (11.1g, 50.8mmol), 搅拌反应4h,用二氯甲烷萃取 (100mL $\times$ 3), 合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到无色液体产物18b (9.4g, 100%)。

[0285]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.14 (m, 2H), 1.97-1.86 (m, 2H), 1.81-1.53 (m, 6H), 1.46 (s, 9H), 1.41-1.35 (m, 2H)。

[0286] 第二步:化合物18c的制备

[0287] 室温下将8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羧酸叔丁酯18b (7.2g, 34.1mmol), TMEDA (4.7g, 40.9mmol) 溶于150mL干燥的乙醚中,在-65 $^{\circ}\text{C}$ 氮气保护下,滴加  $s\text{-BuLi}$  (1.3M in hexane, 31.5mL, 40.9mmol), 在-65 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应30分钟后,滴加甲酸甲酯 (2.45g, 40.9mmol) 的乙醚溶液 (20mL), 在-65 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应30分钟后,升温到0 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌反应2h,加入饱和氯化铵水溶液 (100mL), 用乙醚萃取 (50mL $\times$ 3), 合并有机相,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到无色液体产物18c (3.13g, 38.4%)。

[0288]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.45 (s, 1H), 4.24 (m, 1H), 2.15 (s, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.85 (m, 2H), 1.82-1.60 (m, 6H), 1.45 (s, 9H)。

[0289] 第三步:化合物18d的制备

[0290] 室温下将1-甲酰基-8-氮杂二环[3.2.1]辛烷-8-羧酸叔丁酯18c (3.13g, 13.1mmol) 溶于100mL干燥的甲醇中,在0 $^{\circ}\text{C}$ 下分批加入  $\text{KBH}_4$  (1.1g, 19.6mmol), 在室温下搅拌反应1h,加入40mL水,用二氯甲烷萃取 (60mL $\times$ 3), 合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗

涤,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到无色液体产物18d(3.45g,100%)。

[0291]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.37 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 3.72-3.49 (m, 2H), 2.00-1.73 (m, 4H), 1.61 (m, 6H), 1.46 (s, 9H)。

[0292] 第四步:化合物18e的制备

[0293] 室温下将1-(羟甲基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-羧酸叔丁酯18d(3.13g, 13.1mmol)溶于60mL HCl/乙醇混合溶剂中,搅拌反应4h,减压浓缩,得到黄色固体产物18e(2.45g,100%)。

[0294]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  8.94 (s, 2H), 5.55 (s, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.58-3.48 (m, 2H), 2.04 (m, 1H), 1.86-1.40 (m, 9H)。

[0295] 第五步:化合物18f的制备

[0296] 室温下将(8-氮杂双环[3.2.1]辛-1-基)甲醇18e(2.45g,17.35mmol),2,4,6-三氯嘧啶(3.49g,19.1mmol)和DIPEA(0.42g,52.05mmol)溶于100mL乙腈中,搅拌反应过夜,减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=4/1)纯化得到白色固体产物18f(1g,20.1%)。

[0297]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.41 (s, 1H), 5.43 (m, 1H), 4.30 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 2.13-1.52 (m, 10H)。

[0298] 第六步:化合物18g的制备

[0299] 18f(1g,3.1mmol),三乙胺(0.94g,1.3mmol)溶于50mL干燥的二氯甲烷中,在0℃下,滴加MsCl(0.4g,3.4mmol),在0℃下搅拌反应1h后,减压浓缩得到无色油状中间体(1.1g,100%)。将该粗产品和碳酸钾(1.28g,9.3mmol)溶于60mL1/1二氧六环/水的混合溶液,在90℃下搅拌反应过夜,减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化得到白色固体产物18g(0.4g,51%)。

[0300]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.66 (s, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.11 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 2.05-1.88 (m, 4H), 1.85-1.71 (m, 6H)。

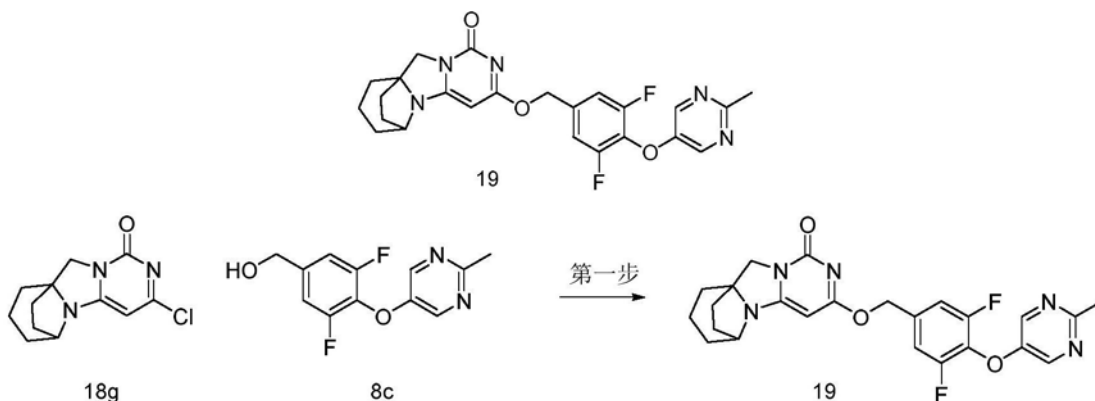
[0301] 第七步:化合物18的制备

[0302] 将(3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇4d(92mg,0.3mmol)溶于5mL干燥的DMF中,0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量,17mg,0.4mmol),室温下搅拌反应20分钟后,加入化合物18g(50mg,0.2mmol),搅拌反应1h后,加入少量水淬灭反应,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到白色固体产物18(49mg,产率:47%)。

[0303]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.60 (m, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.13 (m, 2H), 6.98 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.19 (s, 1H), 4.24 (m, 1H), 4.07 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 2.05-1.87 (m, 3H), 1.73 (m, 7H)。MS (ESI): m/z 521.2[M+H]<sup>+</sup>。

[0304] 实施例19化合物19的制备

[0305]



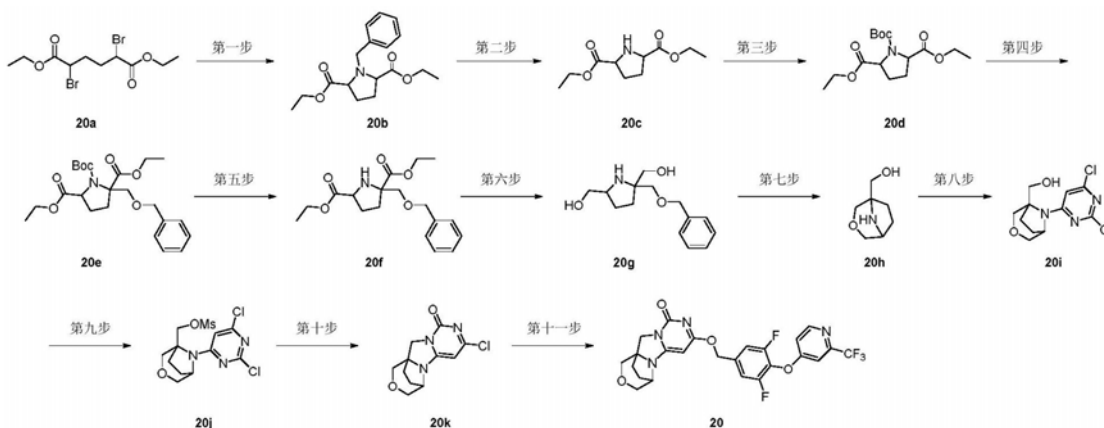
[0306] 第一步:化合物19的制备

[0307] 将(3,5-二氟-4-((2-甲基嘧啶-5-基)氧基)苯基)甲醇8c (53mg, 0.21mmol) 溶于5mL干燥的DMF中, 0℃下加入氢化钠(矿物油中60%含量, 17mg, 0.4mmol), 室温下搅拌反应20分钟后, 加入化合物18g (50mg, 0.2mmol), 搅拌反应1h后, 加入少量水淬灭反应, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化, 得到白色固体产物19 (52mg, 产率: 55.5%)。

[0308]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.38 (s, 2H), 7.10 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.20 (s, 1H), 4.23 (m, 1H), 4.06 (m, 1H), 3.68 (m, 1H), 2.70 (s, 3H), 2.00-1.90 (m, 3H), 1.85-1.69 (m, 7H)。MS (ESI):  $m/z$  468.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0309] 实施例20化合物20的制备

[0310]



[0311] 第一步:化合物20b的制备

[0312] 室温下将化合物2,5-二溴己二酸二乙酯 (10.0g, 27.8mmol) 和碳酸钾 (4.60g, 33.3mmol) 溶解在甲苯和水中 (200mL, v/v=4:1), 加入苯甲胺 (2.99g, 27.8mmol), 将反应液加热到80℃反应24h。将反应液冷却到室温, 减压浓缩, 除去大部分溶剂, 加入50ml的水, 并用乙酸乙酯 (80mL x 3) 萃取, 合并有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=10/1)纯化得到油状的液体化合物20b (6.6g, 77.7%)。

[0313]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  7.31-7.18 (m, 5H), 3.96-3.86 (m, 4H), 3.83 (s, 2H), 3.38 (m, 2H), 2.08-1.98 (m, 2H), 1.94-1.83 (m, 2H), 1.08 (m, 6H)。

[0314] 第二步:化合物20c的制备

[0315] 室温下将化合物N-苄基-2,5-吡咯二羧酸二乙酯 (6.6g, 21.6mmol) 溶解在甲醇中

(100mL), 加入钨碳(20%, 1.3g), 反应液在H<sub>2</sub>条件下室温反应7h。将反应液进行过滤, 滤液减压浓缩得到无色油状的化合物20c(4.4g, 94.4%)。

[0316] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDC13) δ4.23-4.11 (m, 4H), 3.81-3.71 (m, 2H), 2.18-2.06 (m, 2H), 1.97-1.83 (m, 2H), 1.26 (m, 6H)。

[0317] 第三步: 化合物20d的制备

[0318] 室温条件下将化合物2, 5-吡咯烷羧酸二乙酯(4.4g, 19.5mmol) 溶解在甲苯中, 加入二碳酸二叔丁酯(5.35g, 24.5mmol), 将反应液加热到95℃反应4h。反应液冷却到室温, 并进行减压浓缩, 用硅胶色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=5/1) 纯化得到无色的油状化合物20d(4.3g, 70.0%)。

[0319] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDC13) δ4.38 (s, 1H), 4.27 (s, 1H), 4.24-4.14 (m, 4H), 2.16 (m, 4H), 1.42 (s, 9H), 1.31-1.21 (m, 6H)。

[0320] 第四步: 化合物20e的制备

[0321] 室温条件下将化合物N-叔丁基氧羰基-2, 5-吡咯二羧酸二乙酯(2.7g, 8.6mmol) 溶解在干燥的四氢呋喃(80mL) 中, 在氮气保护和-78℃的条件下滴加二异丙基氨基锂(2M, 8.2ml, 16.3mmol) 的四氢呋喃溶液, 搅拌反应30分钟后, 加入苄基氯甲基醚(1.49g, 9.5mmol), 该混合物在-78℃搅拌反应1h, 升温到室温反应2小时。在反应液中加入100mL饱和氯化铵水溶液, 用乙酸乙酯萃取(50mL×3), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=5/1) 纯化, 得到淡黄色油状化合物20e(2.3g, 61.4%)。

[0322] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDC13) δ7.41-7.20 (m, 5H), 4.71-4.52 (m, 2H), 4.25-4.07 (m, 4H), 2.49 (m, 1H), 2.28 (m, 1H), 2.15-2.01 (m, 2H), 1.37 (s, 9H), 1.29-1.17 (m, 6H)。

[0323] 第五步: 化合物20f的制备

[0324] 室温条件下将化合物N-叔丁基氧羰基-2, 5-(2-苯氧基甲基) 吡咯二羧酸二乙酯溶解在盐酸二氧六环(4N, 20mL) 中, 室温条件下搅拌2小时, 将反应液减压浓缩, 得到棕色的油状化合物20f粗品(1.44g, 50.0%), 不纯化直接进行下一步反应。

[0325] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDC13) δ7.39-7.27 (m, 5H), 4.60-4.46 (m, 2H), 3.71 (m, 1H), 3.55 (m, 2H), 3.44-3.27 (m, 3H), 1.89-1.76 (m, 1H), 1.76-1.45 (m, 3H)。

[0326] 第六步: 化合物20g的制备

[0327] 在反应瓶中加入干燥的四氢呋喃(40mL), 在冰浴和氮气的保护下加入四氢铝锂(0.33g, 8.6mmol), 10分钟后滴加[6-(苄氧基)-6-(羟甲基)-2-哌啶基] 甲醇的四氢呋喃溶液, 滴加完毕后移至室温条件下反应1h。将反应重新置于冰浴条件下, 加入氢氧化钠溶液(2M, 2mL), 有白色的固体产生, 进行过滤并用四氢呋喃洗涤, 滤液用无水硫酸钠进行干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩得到淡黄色油状化合物20g粗品(1.0g, 92.5%), 不纯化直接进行下一步。

[0328] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDC13) δ7.39-7.27 (m, 5H), 4.57-4.46 (m, 2H), 3.71 (m, 1H), 3.55 (m, 2H), 3.44-3.31 (m, 3H), 1.88-1.78 (m, 1H), 1.75-1.58 (m, 2H), 1.52 (m, 1H)。

[0329] 第七步: 化合物20h的制备

[0330] 室温条件下将化合物(2-((苄氧基) 甲基) 吡咯烷-2, 5-二基) 二甲醇(1.0g, 3.98mmol) 溶解在甲磺酸中, 在氩气保护的条件下将反应液加热到140℃反应8h。冷却到室

温,将反应液倒入冰水中(20ml),在0℃条件下加入50%的氢氧化钠24ml,将混合物减压浓缩后,用甲醇进行溶解,过滤,将滤液进行减压浓缩,得到淡黄色油状目标化合物20h粗品(0.3g,52.8%)。

[0331] 第八步:化合物20i的制备

[0332] 室温条件下将化合物3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛-5-基甲醇(0.3g,2.1mmol)、2,4,6-三氯嘧啶(0.46g,2.5mmol)和二异丙基乙胺(0.81g,6.3mmol)溶解在乙腈中(20ml),将反应液室温搅拌过夜。将反应液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(石油醚/乙酸乙酯=2/1)纯化得到白色固体化合物20i(0.15g,24.8%)。

[0333]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,CDC13)  $\delta$ 6.39(s,1H),5.25(m,1H),4.22(m,1H),3.98-3.76(m,3H),3.67(m,3H),2.23-2.14(m,1H),2.14-1.96(m,2H),1.78(m,1H)。

[0334] 第九&十步:化合物20k的制备

[0335] 室温条件下将化合物(8-(2,6-二氯嘧啶-4-基)-3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛-1-基)甲醇(0.15g,24.8%)溶解在干燥的二氯甲烷中,加入三乙胺(158mg,1.56mmol)并置于冰浴条件下,缓慢加入甲磺酰氯(66mg,0.57mmol),反应液在冰浴条件下反应1h。将反应液减压浓缩,得到白色固体化合物不纯化直接进行下一步。将粗产品和碳酸钾(215mg,1.56mmol)溶解在二氧六环和水中(40mL,1/1),将反应液室温条件下反应过夜。将反应液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化得到白色固体化合物20k(40mg,30.8%)。

[0336]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,CDC13)  $\delta$ 5.72(s,1H),4.29(m,1H),4.08(m,1H),3.97(m,1H),3.77(m,4H),2.46-2.27(m,1H),2.14(m,1H),1.96(m,1H),1.77(m,1H)。

[0337] 第十一步:化合物20的制备

[0338] 室温下将化合物(3,5-二氟-4-((2-(三氟甲基)吡啶-4-基)氧基)苯基)甲醇(58,0.19mmol)溶解在干燥的N,N-二甲基甲酰胺(5mL)中,在冰浴的条件下加入钠氢(60%在矿物油中,13mg,0.32mmol),15分钟后加入7-氯-3,4-二氢-1H-4,11a-ethanopyrimido[6',1':2,3]咪唑并[5,1-c][1,4]噻基-9(11H)-酮(40mg,0.16mmol),室温条件下反应1h。将反应液加入冰水淬灭,用乙酸乙酯(20mL×3)萃取,合并有机层,无水硫酸钠干燥,过滤除去干燥剂,滤液减压浓缩,用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系(二氯甲烷/甲醇=20/1)纯化,得到白色固体化合物20(35mg,35.3%)。

[0339]  $^1\text{H}$  NMR(600MHz,CDC1<sub>3</sub>)  $\delta$ 8.61(m,1H),7.26(s,1H),7.14(m,2H),6.99(m,1H),5.43(s,2H),5.22(s,1H),4.26(m,1H),4.00(m,1H),3.93(m,1H),3.78-3.68(m,4H),2.33-2.26(m,1H),2.08(m,1H),1.99-1.92(m,1H),1.73(m,1H)。m/z 523.0[M+H]<sup>+</sup>。

[0340] 生物学评价

[0341] 化合物的生物活性可通过使用用于测定作为LpPLA2抑制剂的化合物活性的任何适当测定方法及组织和体内模型来测定。

[0342] (1) 重组人Lp-PLA2测定(rhLp-PLA2),也叫PED6的测定

[0343] PED6是一种荧光标记的磷脂,可从Invitogene或Molecular Probes直接购买。其Sn3位上有荧光猝灭的对硝基苯基团,sn2位上有Bodipy荧光素(FL)基团,一旦被Lp-PLA2酶断裂,释放出FL基团,导致荧光增强。但是Lp-PLA2抑制剂可以阻止这种断裂的产生,从而不会观察到荧光增强。

[0344] 测定方法：将待测化合物(如表1所示)与DMSO溶液按照体积比1:3混合,经过稀释制成384孔微量板的源板。然后用ECHO液体分配器从源板上转移0.01微升化合物到384孔Greiner784076板,将5微升由50mM HEPES,pH7.4,150mM NaCl,1mM CHAPS构成的缓冲液(该缓冲溶液中含有浓度为4nM或110pM的重组人Lp-PLA2酶)加到板上的各孔中。板以500rpm离心10秒钟,经过30分钟预温育后,将5微升上述缓冲液加到384孔Greiner784076板,板以500rpm离心10秒钟,避光室温下温育20分钟后,用ViewLux微量板成像仪在ex 480/em 540读取荧光强度,使用Excel的XL拟合模型进行曲线和QC分析,计算pIC50,结果列于表1。

[0345] 表1

| 化合物编号               | rhLp-PLA2 (pIC <sub>50</sub> ) |
|---------------------|--------------------------------|
| 1                   | 8.6                            |
| 2                   | 9.1                            |
| 3                   | 9.3                            |
| 4                   | 10.4                           |
| 5                   | 10.5                           |
| 6                   | 10.3                           |
| 7                   | 10.4                           |
| 8                   | 10.5                           |
| 9                   | 10.0                           |
| [0346] 10           | 10.2                           |
| 11                  | 10.1                           |
| 12                  | 10.1                           |
| 13                  | 9.6                            |
| 14                  | 10.1                           |
| 16                  | 10.0                           |
| 17                  | 10.1                           |
| 18                  | 10.0                           |
| 19                  | 9.5                            |
| 阳性化合物<br>Rilapladib | 8.9                            |

[0347] (2) 人血浆Lp-PLA2测定(又叫Thio-PAF测定)

[0348] 人血浆测定利用PAF(磷脂酰胆碱)的硫脂类似物,它水解产生含自由巯基的磷脂,与CPM迈克尔加成生成增强荧光的马来酰亚胺,通过对荧光强度检测,可以对硫醇进行连续定量分析。该方法可以检测Lp-PLA2抑制剂对人血浆中Lp-PLA2酶的抑制活性。

[0349] 测定方法：将待测化合物(如表2所示)与DMSO溶液按照体积比(1:3),经过稀释制成384孔的微量板的源板。用ECHO液体分配器从源板上转移0.01微升化合物到384孔Greiner784076低容积板,然后加入预先等分并冷冻的8微升混合人血浆。板以500rpm离心10秒钟,经过30分钟预温育后,用BRAVO液体处理站将2微升的底物溶液,含2.5mM的2-硫代PAF(乙醇溶液),32μM CPM(DMSO溶液)和3.2mM N-乙基马来酰亚胺(NEM)的缓冲液(50mM HEPES,pH7.4,150mM NaCl,1mM CHAPS构成的缓冲溶液)加到384孔Greiner784076低容积板,2分钟后,用5微升5%的三氟乙酸猝灭反应,避光室温下温育40分钟后,用Envision微量

读板仪在ex 380/em 485读取荧光强度,使用Excel的XL拟合模型进行曲线和QC分析,计算pIC<sub>50</sub>,结果列于表2。

[0350] 表2

| 化合物编号               | Thio-PAF (pIC <sub>50</sub> ) |
|---------------------|-------------------------------|
| 1                   | 7.0                           |
| 2                   | 7.6                           |
| 3                   | 7.8                           |
| 4                   | 8.4                           |
| 5                   | 8.2                           |
| 6                   | 8.1                           |
| 7                   | 8.5                           |
| 8                   | 8.1                           |
| 9                   | 7.9                           |
| 10                  | 8.1                           |
| 11                  | 7.9                           |
| 12                  | 8.0                           |
| 13                  | 7.7                           |
| 14                  | 8.1                           |
| 16                  | 7.9                           |
| 17                  | 8.0                           |
| 18                  | 8.1                           |
| 19                  | 7.8                           |
| 阳性化合物<br>Rilapladib | 7.8                           |

[0351]