



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104662005 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 27

(21) 申请号 201380044624. 7

赵毅 郑亚军

(22) 申请日 2013. 08. 26

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

(30) 优先权数据

代理人 陈文平

61/693, 512 2012. 08. 27 US

61/788, 839 2013. 03. 15 US

61/816, 458 2013. 04. 26 US

(51) Int. Cl.

*C07D 235/02*(2006. 01)

*C07D 401/06*(2006. 01)

*C07D 403/04*(2006. 01)

*A61K 31/4184*(2006. 01)

*A61P 25/28*(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 02. 26

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/056566 2013. 08. 26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/035860 EN 2014. 03. 06

(71) 申请人 贝林格尔·英格海姆国际有限公司

地址 德国英格海姆

申请人 生命医药公司

(72) 发明人 Y·布克蒂亚罗维 S·卡卡蒂安

L·W·迪拉德

C·多尔纳-西奥塞克 K·富克斯

U·格罗斯 N·海涅 贾兰齐

D·S·拉拉 A·莫拉尔斯-拉莫斯

S·B·辛格 A·索尔

S·文卡特拉曼 徐振荣 苑晶

权利要求书5页 说明书60页

序列表1页

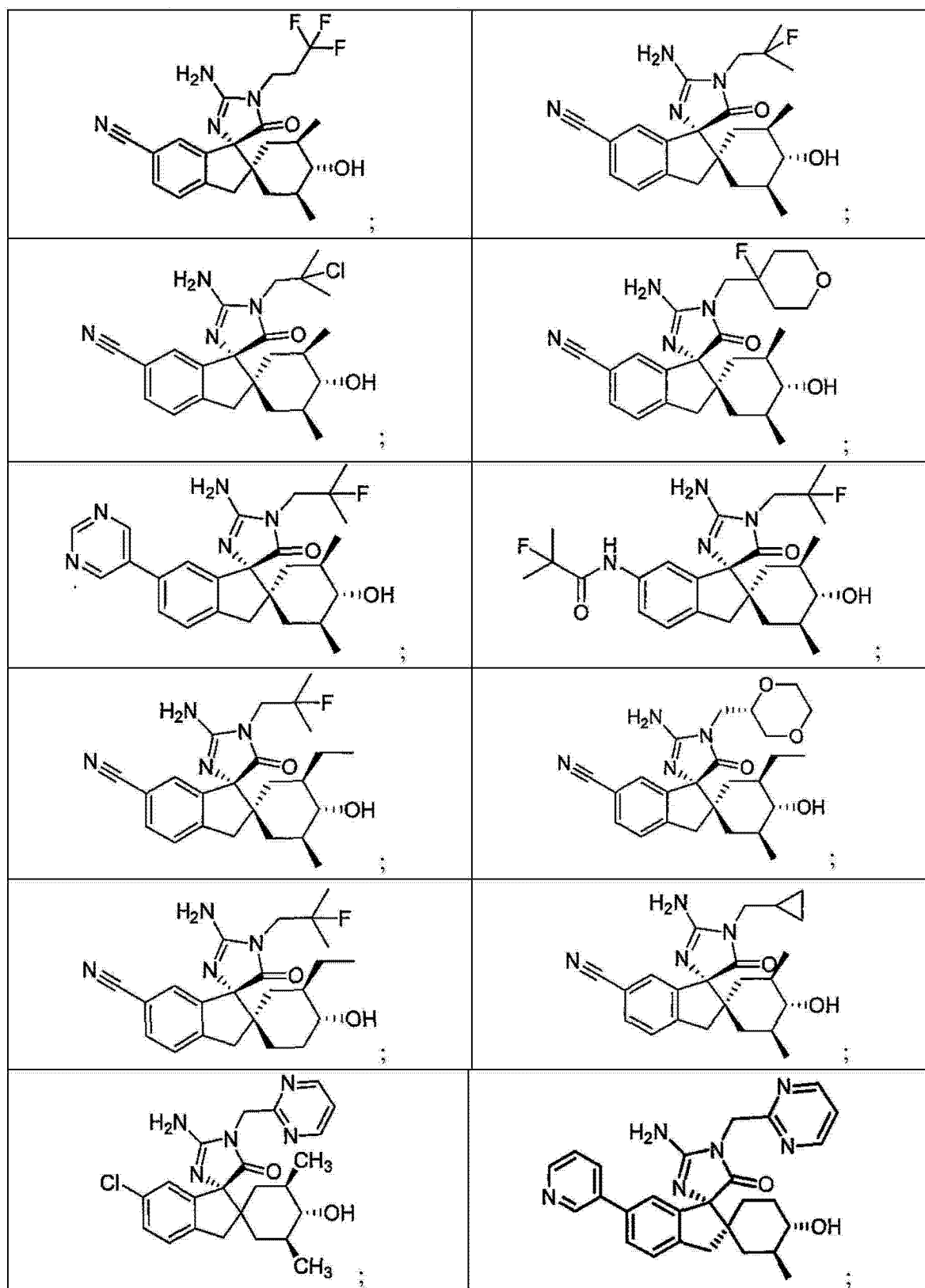
(54) 发明名称

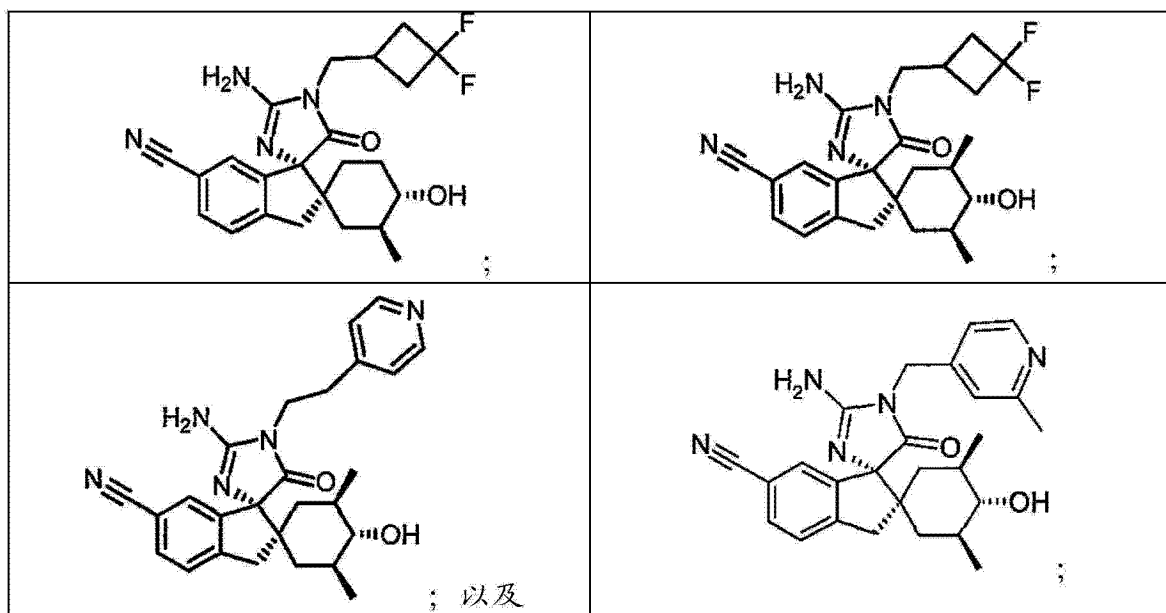
$\beta$ -分泌酶抑制剂

(57) 摘要

本发明涉及螺环酰基胍及其作为  $\beta$ -分泌酶 (BACE1) 活性抑制剂的用途, 含有它的药物组合物, 以及使用它作为治疗神经退化性病症、以认知减退、认知障碍、痴呆为特征的病症、和以产生  $\beta$ -淀粉样蛋白聚集体为特征的疾病的治疗剂的方法。

1. 由选自以下的结构式表示的化合物：





或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐,其用作药品。

3. 药物组合物,其包含至少一种如权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐与药学上可接受的辅料、稀释剂和 / 或载体的混合物。

4. 如权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗 BACE1 介导的病症或疾病。

5. 如权利要求 4 所述用途的化合物或其药学上可接受的盐,其中该 BACE1 介导的病症或疾病选自:神经退化性病症、认知减退、认知障碍、痴呆及以产生  $\beta$ -淀粉样蛋白沉积或神经原纤维缠结为特征的疾病。

6. 如权利要求 5 所述用途的化合物或其药学上可接受的盐,其中该病症或疾病选自:阿耳茨海默症、第 21 号染色体三体症(唐氏综合征)、荷兰型淀粉样变性的遗传性脑出血(HCHWA-D)、老年痴呆、大脑类淀粉蛋白血管病、退化性痴呆、混合型血管源性及退化源性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、与进行性核上性麻痹相关的痴呆、与皮质基底核退化相关的痴呆、泛发性路易体型阿耳茨海默症、干性年龄相关黄斑变性(AMD)及青光眼。

7. 如权利要求 6 所述用途的化合物或其药学上可接受的盐,其中该病症或疾病为阿耳茨海默症。

8. 如权利要求 6 所述用途的化合物或其药学上可接受的盐,其中该病症或疾病为青光眼。

9. 权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐在制造用以治疗个体的 BACE1 介导的病症的药物中的用途。

10. 如权利要求 9 所述的化合物或其药学上可接受的盐的用途,其中该 BACE1 介导的疾病或病症选自:神经退化性病症、认知减退、认知障碍、痴呆及以产生  $\beta$ -淀粉样蛋白沉积或神经原纤维缠结为特征的疾病。

11. 如权利要求 10 所述的化合物或其药学上可接受的盐的用途,其中该疾病或病症为选自:阿耳茨海默症、第 21 号染色体三体症(唐氏综合征)、荷兰型淀粉样变性的遗传性脑出血(HCHWA-D)、老年痴呆、大脑类淀粉蛋白血管病、退化性痴呆、混合型血管源性及退化源

性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、与进行性核上性麻痹相关的痴呆、与皮质基底核退化相关的痴呆、泛发性路易体型阿耳茨海默症、干性年龄相关黄斑变性 (AMD) 及青光眼。

12. 如权利要求 11 所述的化合物或其药学上可接受的盐的用途, 其中该疾病或病症为阿耳茨海默症。

13. 如权利要求 11 所述的化合物或其药学上可接受的盐的用途, 其中该疾病或病症为青光眼。

14. 用于治疗个体的 BACE1 介导的病症或疾病的方法, 所述方法包括向所述个体施用有效量的如权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐。

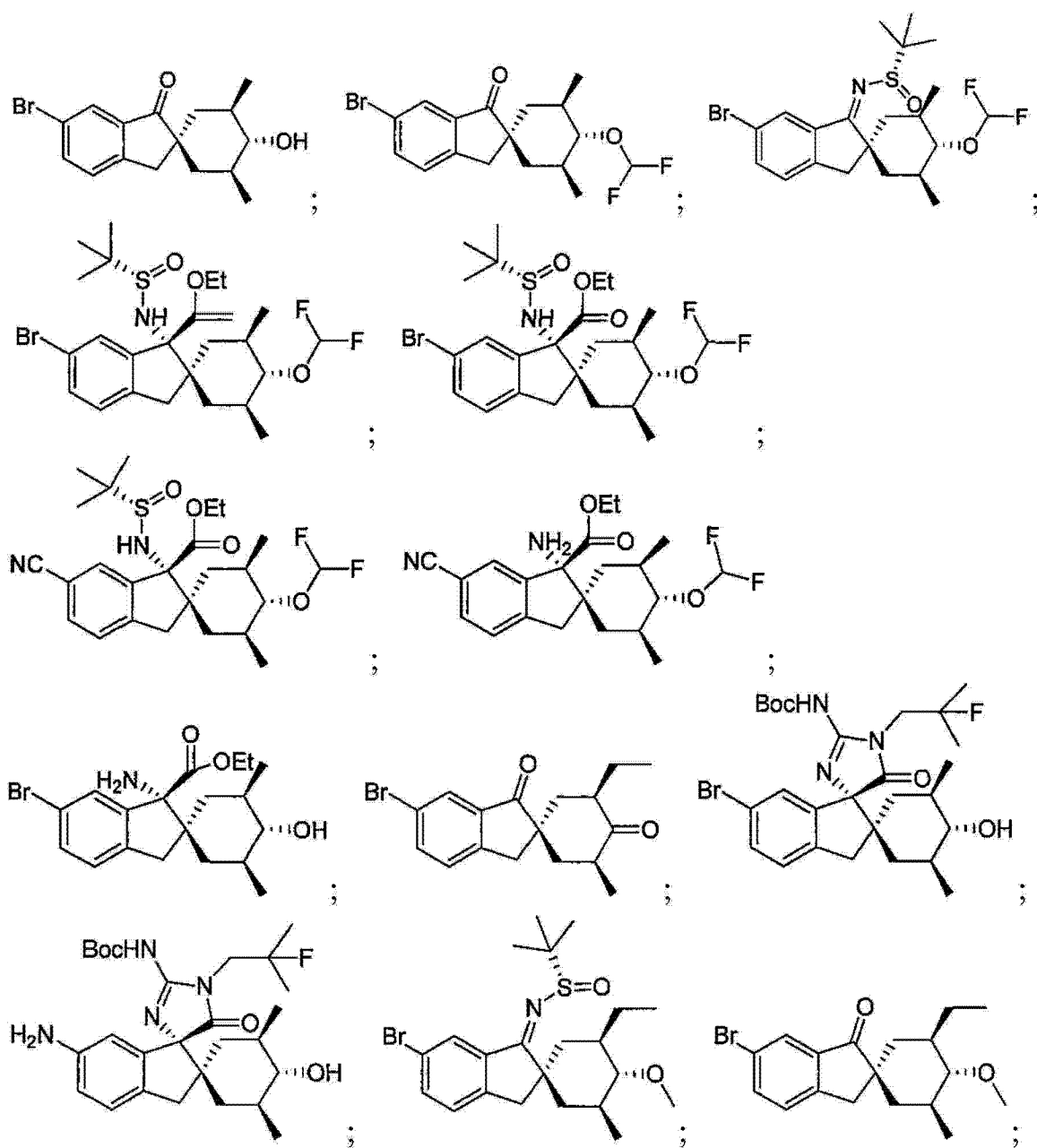
15. 如权利要求 14 所述的方法, 其中该 BACE1 介导的病症或疾病选自: 神经退化性病症、认知减退、认知障碍、痴呆及以产生  $\beta$ -淀粉样蛋白沉积或神经原纤维缠结为特征的疾病。

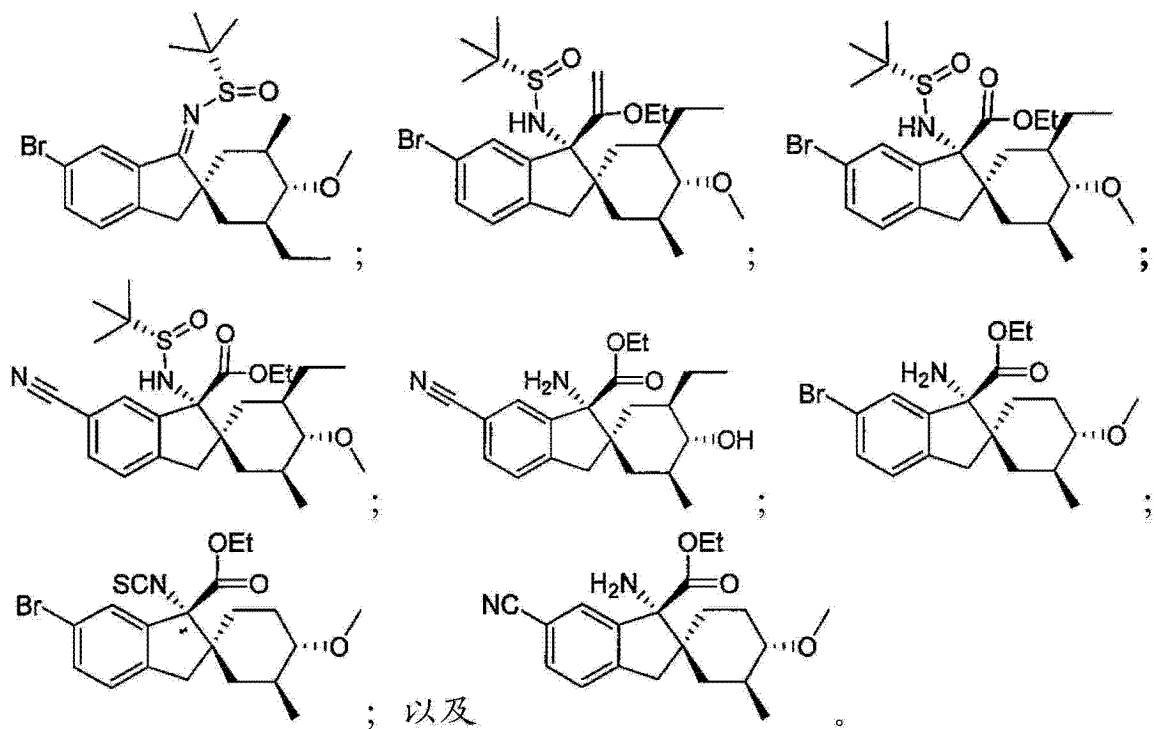
16. 如权利要求 15 所述的方法, 其中该病症或疾病选自: 阿耳茨海默症、第 21 号染色体三体症 (唐氏综合征)、荷兰型淀粉样变性的遗传性脑出血 (HCHWA-D)、老年痴呆、大脑类淀粉蛋白血管病、退化性痴呆、混合型血管源性及退化源性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、与进行性核上性麻痹相关的痴呆、与皮质基底核退化相关的痴呆、泛发性路易体型阿耳茨海默症、干性年龄相关黄斑变性 (AMD) 及青光眼。

17. 如权利要求 16 所述的方法, 其中该病症或疾病为阿耳茨海默症。

18. 如权利要求 16 所述的方法, 其中该病症或疾病为青光眼。

19. 选自以下的化合物或其盐:





## $\beta$ - 分泌酶抑制剂

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2012 年 8 月 27 日提交的美国临时申请序列号 61/693512、2013 年 3 月 15 日提交的美国临时申请序列号 61/788839 及 2013 年 4 月 26 日提交的美国临时申请序列号 61/816458 的权益。上述临时申请的全部教导以引用的方式并入本文中。

### 技术领域

[0003] 本发明涉及螺环酰基胍及其作为  $\beta$  - 分泌酶 (BACE1) 活性抑制剂的用途, 含有它的药物组合物及使用它作为治疗神经退化性病症、以认知减退、认知障碍、痴呆为特征的病症、和以产生  $\beta$  - 淀粉样蛋白沉积和 / 或神经原纤维缠结为特征的疾病的治疗剂的方法。

### 背景技术

[0004]  $\beta$  - 淀粉样蛋白 (本文中也称为“Abeta”或“ $A\beta$ ”) 沉积和神经原纤维缠结为与阿耳茨海默症 (AD) 相关的两种主要病理学特征。AD 在临床上的特征在于损失记忆、认知、推理、判断及方位感。随着疾病进展, 运动、感官及语言能力也受影响直至发生多种认知功能的整体损害。这样的认知损失逐渐发生, 但典型地导致严重损害且最终在 4 至 12 年内死亡。

[0005]  $\beta$  - 淀粉样蛋白沉积物主要为  $A\beta$  肽的聚集体, 其又为淀粉样前体蛋白 (APP) 的蛋白分解产物。更特别地,  $A\beta$  肽由一种或多种  $\gamma$  - 分泌酶在 C 末端及由  $\beta$  - 分泌酶 (BACE1) 在 N 末端裂解 APP 而产生, 该  $\beta$  - 分泌酶也称为天冬胺酰基蛋白酶及 memapsin 2, 其为促  $\beta$  - 淀粉样蛋白路径的一部分。

[0006] BACE 活性与自 APP 产生  $A\beta$  肽直接相关, 且越来越多的研究表明抑制 BACE 可抑制产生  $A\beta$  肽。

[0007] 促淀粉样蛋白斑块及血管淀粉样蛋白血管病也表征患有第 21 号染色体三体症 (Trisomy 21) (唐氏综合征)、荷兰型淀粉样变性的遗传性脑出血 (HCHWA-D) 及其他神经退化性病症的患者的大脑。神经原纤维缠结也发生在其他神经退化性病症 (包括痴呆诱发病症) 中。

[0008] 最近报导在青光眼的视网膜节细胞 (RGC) 的细胞凋亡发展中涉及  $A\beta$ , 证据在于半胱天冬酶 -3 介导的异常淀粉样前体蛋白质加工、 $A\beta$  在实验青光眼的 RGC 中的表达增加及青光眼患者的玻璃体  $A\beta$  含量减少 (与视网膜  $A\beta$  沉积一致)。在罹患干性年龄相关黄斑变性 (AMD) 的患者及 AMD 动物模型中, 淀粉样蛋白沉积也与黄斑变性相关。

[0009] W02010/021680、W02011/106414 及 W02010/105179 公开具有螺环骨架的螺环酰基胍作为  $\beta$  - 分泌酶的抑制剂。

### 发明内容

[0010] 本发明提供作为 BACE1 抑制剂且适用于治疗患者的以  $\beta$  - 淀粉样蛋白沉积或  $\beta$  - 淀粉样蛋白含量升高为特征的疾病或病症的治疗剂的化合物。所公开的 BACE1 抑制剂

具有以下特征：

[0011] (1) 对抑制 BACE1 酶活性的高效能（分析 1）

[0012] (2) 在细胞分析中关于心脏 hERG 通道的高选择性（分析 2）

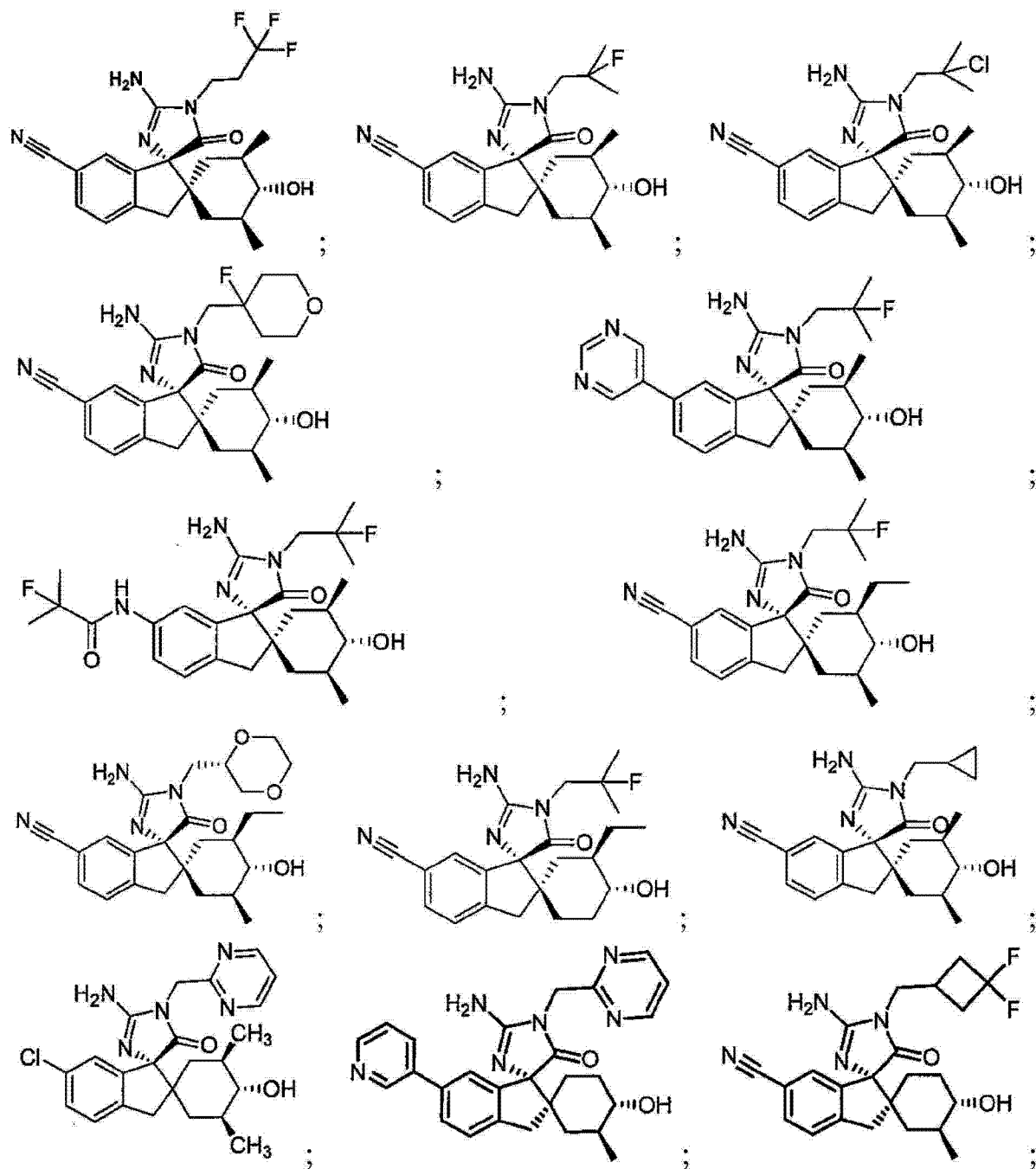
[0013] (3) 在细胞磷脂质病分析中低导致磷脂质病倾向（分析 3），及

[0014] (4) 在肝细胞中抗代谢性降解的高稳定性（分析 4）。

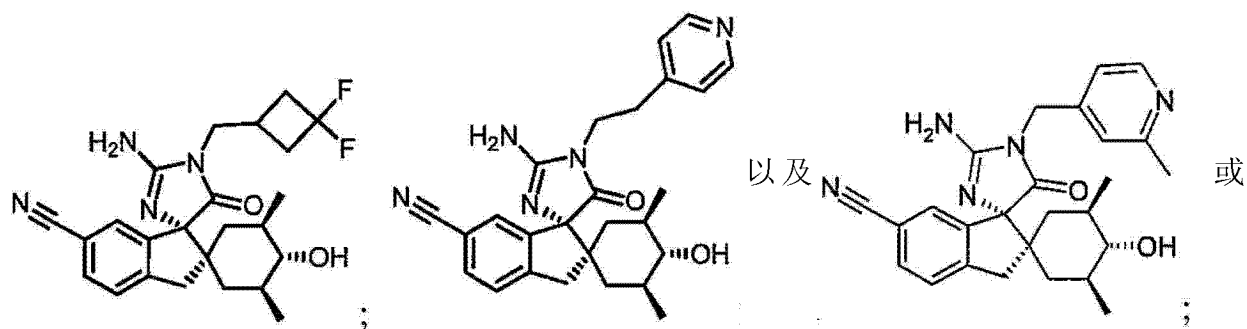
[0015] 因此，本发明提供显示作为 BACE1 抑制剂的高效能、关于心脏 hERG 通道的高选择性、低磷脂质病活性及针对代谢性降解的高稳定性的组合的化合物。

[0016] 本发明的一个实施方式为一种由选自以下的结构式表示的化合物：

[0017]







任何上述化合物的药学上可接受的盐。刚刚提到的上述化合物在本文中称作“本发明的化合物”。

[0018] 本发明的另一实施方式为一种本发明的化合物或其药学上可接受的盐，其用作药品。

[0019] 本发明的另一实施方式为一种药物组合物，其包含本发明的化合物或其药学上可接受的盐与药学上可接受的辅料、稀释剂或载体的混合物。

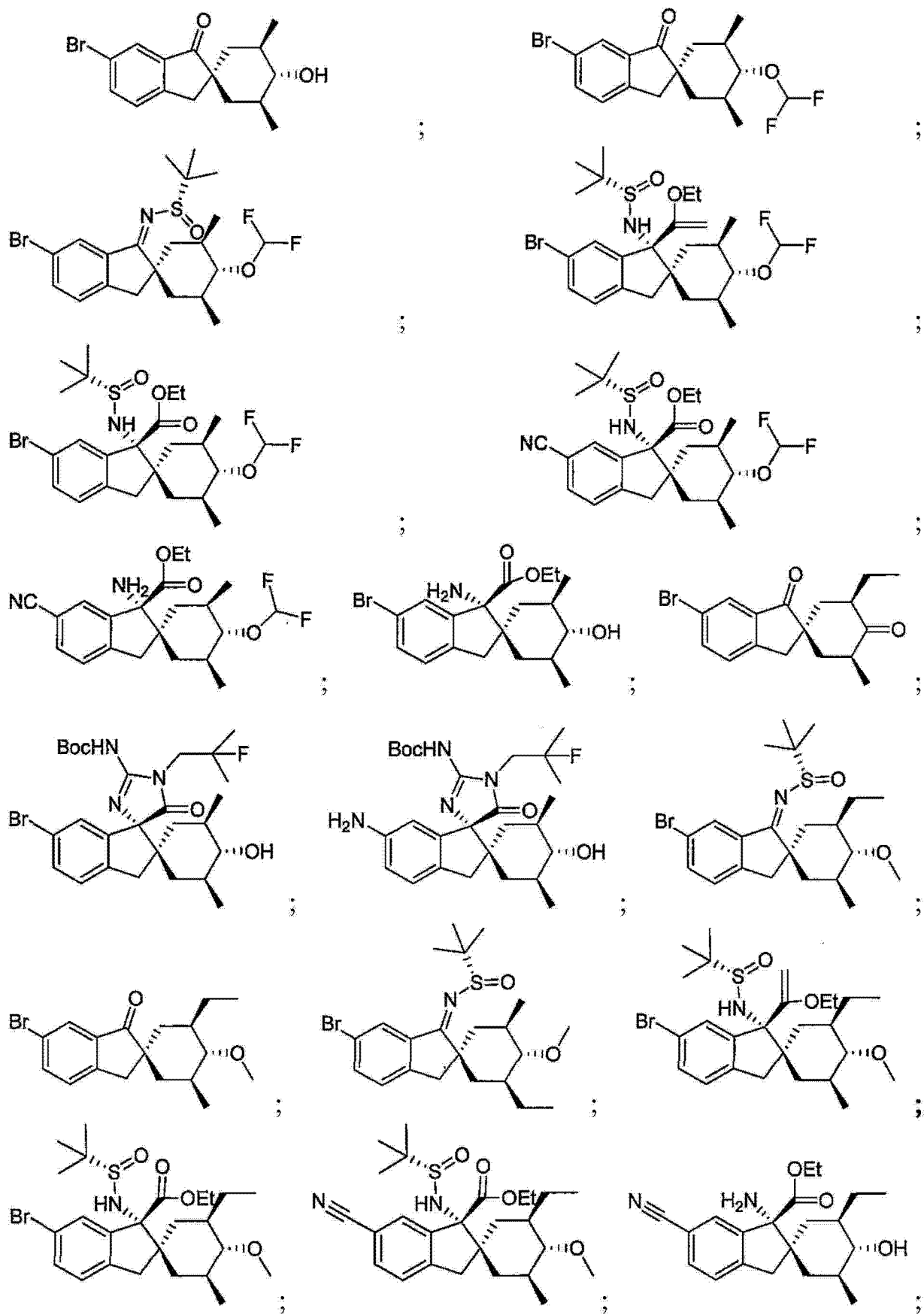
[0020] 本发明的另一实施方式为一种本发明的化合物或其药学上可接受的盐，其用于治疗个体的 BACE1 介导的病症或疾病。

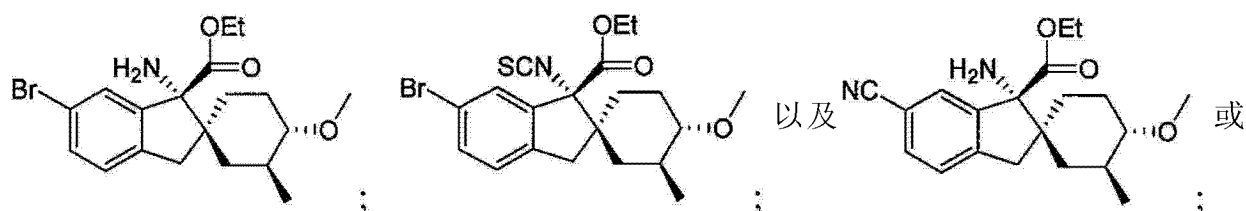
[0021] 本发明的另一实施方式为本发明的化合物或其药学上可接受的盐的用途，其用于制造用以治疗个体的 BACE1 介导的病症的药品。

[0022] 本发明的另一实施方式为一种治疗患有 BACE1 介导的疾病或病症的个体的方法，其包含向该个体施用有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐。

[0023] 本发明的又一实施方式为一种用于制备本发明化合物的中间体。这样的中间体由选自以下的结构式表示：

[0024]





任何上述化合物的盐。

### 具体实施方式

[0025] 本发明的化合物展现对抗 BACE1 酶和 A $\beta$  形成的有效活性以及针对 hERG 通道的高选择性、低导致磷脂质病倾向及高代谢稳定性。举例而言,本发明的化合物显示 IC<sub>50</sub><15nM 的 BACE1 抑制、在 10  $\mu$  M 下小于 35% 的 hERG 抑制、磷脂质病的第一效应浓度 (FEC) 为至少 100  $\mu$  M 及在 1  $\mu$  M 下肝脏血流小于 25% 的代谢稳定性。这样的组合特性使得本发明的化合物适用于治疗人类的病理学病况,尤其适用于治疗阿耳茨海默症以及由 BACE1 介导的其他病症及疾病。

[0026] 如 Sanguinetti 等人 (1995, Cell, Apr. 21, 81(2):299-307) 及大量后续证据证实,外源生物体对 hERG (人类 Ether- $\alpha$ -go-go 相关基因) 通道的抑制及随后延迟的心脏再极化与特定多形性室性快速型心律失常、即尖端扭转型室性心动过速的风险增加相关。为在早期避免此风险,如由 ICH 准则 S7B (International Conference on Harmonization (2005): ICH Topic S 7B: The nonclinical Evaluation of the Potential for delayed Ventricular Repolarization: Human Pharmaceuticals 的 (QT Interval Prolongation) ([www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html](http://www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html))) 所推荐,常用实践为在使用 hERG 通道异源表达的体外系统中针对 hERG 相互作用进行筛选,且此类型的分析也为后来临床前期候选剖析的重要部分。因此,治疗剂高度需要低 hERG 通道抑制,诸如本发明化合物所示的低 hERG 通道抑制作用。

[0027] 磷脂质病为一种在细胞内积聚过量磷脂的脂质储存病症。药物诱发的磷脂质病为一种不期望的药物反应。因此,为避免有害副作用,具有低磷脂质病潜力的化合物优选用于人类治疗用途。

[0028] 代谢稳定性指化合物对在选择和 / 或设计具有有利药物动力学特性的药物情形下的生物转化的易感性。多种药物的主要代谢部位为肝脏。完整肝细胞含有细胞色素 P450 (CYP)、其他非 P450 酶及 II 期酶 (诸如磺基转移酶及葡萄糖醛酸基转移酶),且因此代表用于体外研究药物代谢的基本模型系统。代谢稳定性增强与若干优势相关,包括生物利用度增加及半衰期较长,其可使得对患者给药的频率较低及较小。因此,代谢稳定性增强为欲用于药物的化合物的一种有利特征。

[0029] 下表 1 中提供的数据显示,本发明的化合物具有有效 BACE1 抑制活性、关于心脏 hERG 的选择性、低导致磷脂质病倾向及高代谢稳定性的组合。表 2 提供显示 W02010/105179 中所述的某些比较化合物不满足一种或多种这样的标准的数据。

[0030] 本文中未特定定义的术语应给予本领域技术人员根据公开内容及上下文所应给予其的含义。然而,除非相反规定,否则如说明书中所用,以下术语具有所示含义且符合以下惯例。

[0031] 当由名称或结构描述本发明的化合物而未指示所有互变异构形式时,应理解该化合物及其药学上可接受的盐应涵盖所有互变异构体。

[0032] 当由名称或结构描述本发明的化合物而未指示立体化学时,应理解该化合物及其药学上可接受的盐应涵盖所有立体、光学及几何异构体(例如对映异构体、非对映异构体、E/Z 异构体等)及其外消旋体,以及不同比例的各别对映异构体混合物、非对映异构体混合物或任何上述形式的混合物。

[0033] 当由名称或结构描述的立体、光学或几何异构体时,应理解所命名或描述的立体、光学或几何异构体的立体、光学和/或几何异构纯度以重量计为至少 60%、70%、80%、90%、99%或 99.9% 纯。通过将混合物中所命名或描述的立体、光学及几何异构体的重量除以混合物中所有立体、光学及几何异构体的总重量来确定立体、光学及几何异构纯度。

[0034] 当本发明的化合物或其药学上可接受的盐由结构来命名或描述时,应理解本发明中包括该化合物的溶剂合物、水合物及无水形式及其药学上可接受的盐的溶剂合物、水合物及无水形式。“溶剂合物”指溶剂分子在结晶期间并入晶格中的结晶形式。溶剂合物可包括水或非水性溶剂,诸如乙醇、异丙醇、DMSO、乙酸、乙醇胺及 EtOAc。水为并入晶格中的溶剂分子的溶剂合物典型地称作“水合物”。水合物包括化学计量水合物以及含有不同量的水的组合物。“无水形式”指无溶剂或水或实质上无溶剂或水并入晶体结构中的化合物(例如溶剂或水与化合物的摩尔比小于 1:10、1:20、1:100 或 1:200)。

[0035] 盐

[0036] “药学上可接受”一词在本文中用于指在合理的医学判断范畴内适用于与人类及动物组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症且与合理的效益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0037] 如本文所用,“药学上可接受的盐”指母化合物通过制成其酸或碱盐而改质的所公开化合物的衍生物。药学上可接受的盐的实例包括(但不限于)碱性残基(诸如胺)的无机酸或有机酸盐;酸性残基(诸如羧酸)的碱金属盐或有机盐;及其类似物。举例而言,这样的盐包括来自以下各物的盐:氨、L-精氨酸、甜菜碱、苄苯乙胺(benethamine)、苄星青霉素、氢氧化钙、胆碱、丹醇、二乙醇胺(2,2'-亚胺基双(乙醇))、二乙胺、2-(二乙基胺基)-乙醇、2-胺基乙醇、乙二胺、N-乙基-还原葡萄糖胺、海卓胺(hydrabamine)、1H-咪唑、离胺酸、氢氧化镁、4-(2-羟基乙基)-吗啉、哌嗪、氢氧化钾、1-(2-羟基乙基)-吡咯啉、氢氧化钠、三乙醇胺(2,2',2''-氨基参(乙醇))、缓血酸胺、氢氧化锌、乙酸、2,2-二氯-乙酸、己二酸、海藻酸、抗坏血酸、L-天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、2,5-二羟基苯甲酸、4-乙酰胺基-苯甲酸、(+)-樟脑酸、(+)-樟脑-10-磺酸、碳酸、肉桂酸、柠檬酸、环己胺磺酸、癸酸、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙烷磺酸、2-羟基-乙烷磺酸、乙二胺四乙酸、甲酸、反丁烯二酸、半乳糖二酸、龙胆酸、D-葡萄庚酸、D-葡萄糖酸、D-葡萄糖醛酸、麸胺酸、戊二酸、2-侧氧基-戊二酸、甘油磷酸、甘氨酸、乙醇酸、己酸、马尿酸、氢溴酸、盐酸、异丁酸、DL-乳酸、乳糖酸、月桂酸、离胺酸、顺丁烯二酸、(-)-L-苹果酸、丙二酸、DL-杏仁酸、甲烷磺酸、半乳糖二酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟碱酸、硝酸、辛酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸(恩波酸(embonic acid))、磷酸、丙酸、(-)-L-焦麸胺酸、水杨酸、4-胺基-水杨酸、癸二酸、硬脂酸、丁二酸、硫酸、鞣酸、(+)-L-酒石酸、硫氰酸、对甲苯磺酸及十一碳烯酸。优选盐为 L-杏仁酸及顺丁烯二酸。其他药学上可接受的盐可与来

自如以下金属的阳离子形成：铝、钙、锂、镁、钾、钠、锌及其类似物（也参见 Pharmaceutical salts, Berge, S. M. 等人, J. Pharm. Sci., (1977), 66:1-19）。

[0038] 本发明的药学上可接受的盐可通过常规化学方法由含有碱性或酸性部分的母化合物合成。这样的盐一般可通过使自由酸或碱形式的这些化合物与足量适当碱或酸在水或有机稀释剂（如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈或其混合物）中反应而制备。

[0039] 除上文提及的那些酸以外，例如适用于纯化或分离本发明化合物的酸的盐（例如三氟乙酸盐）也构成本发明的一部分。

[0040] 生物资料

[0041] BACE1 分析（分析 1）

[0042] 使用可商购的底物 HiLyte Fluor™ 488-Glu-Val-Asn-Leu-Asp-Ala-Glu-Phe-Lys-(QXL™ 520)-OH (SEQ ID NO:1) (AnaSpec, San Jose, CA) 及与 myc-his 标签融合且自 HEK293/BACEct 细胞分泌至 OptiMEM™ (Invitrogen) 中的截短人类  $\beta$ -分泌酶 BACE1 (氨基酸 1-454)，通过对 BACE1 活性的荧光淬灭分析来评估化合物的抑制活性。将底物以 1mg/ml 溶解于 DMSO 中。

[0043] 在 384 孔板中，以 50  $\mu$ l 总分析体积，在含有 BACE1 胞外域的 OptiMEM™ (经 24 小时收集上清液且通过离心清除细胞碎片)、25  $\mu$ l 含有所需 2 倍浓度的测试化合物与 2% DMSO 的水、1  $\mu$ M 底物肽、20mM NaOAc (pH 4.4) 及 0.04% Triton-X100 存在下进行分析。一般而言，向该培养板中添加 25  $\mu$ l 化合物稀释液，随后添加 10  $\mu$ l 含有以 1:10 用含 0.2% Triton X-100 的水稀释的 OptiMEM™ 的 BACE1。以添加含 15  $\mu$ l 底物的 NaOAc 缓冲液开始反应。在室温（黑暗）下在 Envision® 多标记读取器 (Perkin Elmer) 中培育反应物且在 ex:485nm、em:538nm 下动态记录底物裂解持续 60 分钟。每一培养板上均包括不含酶的空白孔。

[0044] 将荧光强度针对时间进行回归以导出所有 384 孔中的反应速度。使用含有 1% DMSO 的未抑制对照组作为 100% 且在酶不存在下进行的空白对照组作为 0%，将这样的速度用于计算对照百分比。通过使用 Assay Explorer® 使对照百分比相对于测试化合物浓度拟合来计算 IC<sub>50</sub> 值。

[0045] hERG- 通道分析（分析 2）

[0046] 细胞：以 hERG cDNA 稳定转染 HEK (人类胚胎肾) 293 细胞。

[0047] 移液管与溶液：

[0048] 以经 NaOH 达成 pH 7.4 的含有以下 (mM) 的电解液灌流细胞：NaCl (137)、KCl (4.0)、MgCl<sub>2</sub> (1.0)、CaCl<sub>2</sub> (1.8)、葡萄糖 (10)、HEPES (10)。膜片移液管为使用水平拉拔器由硼硅酸盐玻璃管制得且填充有经 KOH 达成 pH 7.2 的含有以下 (mM) 的移液管溶液：天冬氨酸钾 (130)、MgCl<sub>2</sub> (5.0)、EGTA (5.0)、K<sub>2</sub>ATP (4.0)、HEPES (10.0)。微电极的电阻在 2 与 5M $\Omega$  之间。

[0049] 刺激与记录：

[0050] 使用 EPC-10 膜片钳放大器与 PatchMaster 软件记录膜电流。在 35°C 下使用膜片钳技术的全细胞组态记录 hERG 介导的膜电流。在 -60mV 保持电势下夹住经转染的 HEK293 细胞且使用以 15 秒间隔重复的具有固定振幅的脉冲图案（活化 / 失活：40mV 持续 2000 毫

秒;恢复:-120mV 持续 2 毫秒;在 2 毫秒内匀变至 40mV;失活尾电流:40mV 持续 50 毫秒)引发 hERG 介导的失活尾电流。在每一脉冲间的时间间隔期间,记录以 0.2 倍数按比例减小的 4 次脉冲用于 P/n 漏减程序。在安全允许无减幅振荡(ringing)记录的程度上采用  $R_s$  补偿。

[0051] 化合物制备及应用:

[0052] 依次对所研究的每一种不同细胞应用不同浓度的测试化合物。测量至少 6 次扫描的基线电流的稳定状态水平,之后应用第一测试化合物浓度。

[0053] 将测试化合物溶解于 DMSO 中以产生母储备溶液,其进一步用 DMSO 稀释为较低浓度所需的储备溶液。每次在开始实验之前,由这样的储备液以 1:1000 稀释步骤新鲜制备细胞外缓冲液中的最终稀释液。

[0054] 数据分析:

[0055] 在匀变至 +40mV 之后 3 毫秒测量峰电流振幅。对于基线及每一浓度而言,计算在应用下一浓度之前最后三次扫描的峰电流的平均值。以实际平均峰电流与平均基线峰电流的分数计算每一细胞的残余电流 ( $I/I_0$ )。

[0056] 体外磷脂质病分析(分析 3)

[0057] 使用人类造血 U937 细胞系分析测试化合物的致磷脂质病潜力。测试原则为通过以荧光染料尼罗红(Nile red)将细胞染色来分析磷脂含量。

[0058] 将 U937 细胞以每毫升  $0.5 \times 10^6$  个细胞接种于细胞培养板中的含有 10% FBS、1% DMSO 及 0.005% 正大霉素(gentamicin)的 RPMI 培养基中。在标准培养条件下,将细胞与不同浓度的测试化合物或不与测试化合物一起培养 48 小时。

[0059] 为了收集,将细胞以  $130 \times g$  离心 4 分钟且用 PBS 洗涤一次。随后,制备  $2 \times 0.5$  mL 细胞悬浮液用于非固定细胞测量(0.5mL 用于碘化丙锭(PI)生存力测量及 0.5mL 用于尼罗红测量)。

[0060] 将剩余细胞用 3.7% 甲醛固定 30 分钟。又一离心步骤之后,用 1.3mL 尼罗红工作溶液( $1 \mu g/mL$ )使细胞再悬浮且在室温下培育 5 分钟。用 3mL PBS 洗涤细胞悬浮液两次且以  $130 \times g$  离心 4 分钟。丢弃上清液且用 0.5mL PBS 使细胞再悬浮且保存用于流动式细胞测量术测量。

[0061] 对于 0.5mL 非固定细胞样品的尼罗红染色而言,每一样品添加  $50 \mu L$  即用尼罗红溶液( $10 \mu g/mL$ )。将样品在冰上保持 5 分钟。此后,将其用 4mL PBS 洗涤一次( $4^\circ C$ ,  $250 \times g$  持续 8 分钟)且最后再悬浮于  $400 \mu L$  PBS 中且保存用于流动式细胞测量术测量。

[0062] 对于生存力测量而言,将  $12.5 \mu L$  即用 PI 溶液( $10 \mu g/mL$ )添加至 0.5mL 非固定细胞悬浮液中。在冰上培育 15 分钟之后,通过流动式细胞测量术使用 Coulter Epics XL/MCL 流动式细胞仪测量样品。

[0063] 通过流动式细胞测量术测量信道 2(568 至 590nm)的 PI 含量来确定每一样品的细胞生存力。基于分析细胞培养基对照样品来定义活细胞与死细胞之间荧光依赖性区别的截止闸。

[0064] 仅分析相对于对照样品具有  $\geq 90\%$  细胞生存力的样品的磷脂质病。通过流式细胞测量术测量信道 1(504 至 541nm)及信道 4(660 至 680nm)的每一尼罗红样品(非固定与固定样品)。

[0065] 对于每一信道而言,计算测试样品与对照样品相比的相对尼罗红荧光强度且以对照荧光强度的百分比表示。基于固定细胞以及非固定细胞两者波长下的荧光强度手动进行对测试化合物的致磷脂质病潜力及第一有效浓度 (FEC) 的评估。

[0066] 体外肝细胞稳定性分析 (分析 4)

[0067] 在肝细胞悬浮液中分析测试化合物的代谢性降解。将冷冻保藏的肝细胞培育于含有 5% 物种血清的适当缓冲液系统 (例如杜尔贝科氏改良伊格尔培养基 (Dulbecco's modified eagle medium) 加 3.5  $\mu$ g 升糖素 /500mL、2.5mg 胰岛素 /500mL 及 3.75mg/500mL 氢皮质酮) 中。在培育箱 (37°C, 10% CO<sub>2</sub>) 中预培育 30 分钟之后,向 395  $\mu$ l 肝细胞悬浮液 (细胞密度在每毫升 0.25–5 $\times$ 10<sup>6</sup> 个细胞范围内,典型地为每毫升 1 $\times$ 10<sup>6</sup> 个细胞:测试化合物的最终浓度为 1  $\mu$ M,最终 DMSO 浓度为 0.05%) 中添加 5  $\mu$ l 测试化合物溶液 (80  $\mu$ M; 来自以 1:25 用培养基稀释的 2mM DMSO 储备溶液)。

[0068] 将细胞培育 6 小时 (培育箱,回旋振荡器) 且在 0、0.5、1、2、4 及 6 小时获取样品 (25  $\mu$ l)。将样品转移至乙腈中且通过离心 (5 分钟) 集结成粒。将上清液转移至新的 96DeepWell™ 板中,在氮气下蒸发且再悬浮。通过 HPLC-MS/MS 分析化合物下降。如下计算 CL<sub>int</sub> (体外肝脏固有清除率):

[0069]  $CL_{int} = \text{剂量} / AUC = (C_0 / CD) / (AUD + C_{\text{最后}} / k) \times 1000 / 60$

[0070] C<sub>0</sub>: 培育液中的初始浓度 [ $\mu$ M];

[0071] CD: 活细胞的细胞密度 [细胞数 / mL];

[0072] AUD: 数据下面积 [ $\mu$ M $\times$ h];

[0073] C<sub>最后</sub>: 最后数据点的浓度 [ $\mu$ M];

[0074] K: 化合物下降的回归线的斜率 [h<sup>-1</sup>].

[0075] 所计算的体外肝脏固有清除率按比例增加至固有活体内肝脏清除率 (CL<sub>int, 活体内</sub>) 且通过使用肝脏模型 (重复搅拌模型) 用于预测肝脏活体内血液清除率 (CL), 如下:

[0076]  $CL_{int, \text{活体内}} [\text{mL}/\text{min}/\text{kg}] = (CL_{int} [\mu\text{L}/\text{min}/10^6 \text{个细胞}] \times \text{肝脏细胞率} [10^6 \text{个细胞}/\text{g 肝脏}] \times \text{肝脏因子} [\text{g}/\text{kg 体重}]) / 1000$

[0077]  $CL [\text{mL}/\text{min}/\text{kg}] = CL_{int, \text{活体内}} [\text{mL}/\text{min}/\text{kg}] \times \text{肝脏血流} [\text{mL}/\text{min}/\text{kg}] / (CL_{int, \text{活体内}} [\text{mL}/\text{min}/\text{kg}] + \text{肝脏血流} [\text{mL}/\text{min}/\text{kg}])$ 。

[0078] 将活体内血液清除率转化为肝脏血流百分比 (% Qh):

[0079]  $\% Qh = CL [\text{mL}/\text{min}/\text{kg}] / \text{肝脏血流} [\text{mL}/\text{min}/\text{kg}] \times 100$

[0080] 肝脏细胞率, 人类: 1.2 $\times$ 10<sup>7</sup> 个细胞 / g 肝脏;

[0081] 肝脏因子, 人类: 25.7g/kg 体重;

[0082] 肝脏血流, 人类: 21mL / (min $\times$ kg)。

[0083] 大鼠大脑 A $\beta$  降低分析 (分析 5)

[0084] 在大鼠大脑 A $\beta$  降低 (减少) 分析中证实本发明化合物的活体内功效, 且数据呈现于表 3 中。使用 5 至 6 周龄的雄性史泊格多利 (Sprague-Dawley) 大鼠来证实本发明的化合物减少大脑淀粉样蛋白肽 A $\beta$  1–x 的能力。在表 3 中所示的单次剂量下, 经由在 1% 聚山梨醇酯-80 及 0.5% Natrosol® 中经口管饲来施用化合物。在给药后 3 小时将动物处死, 且切除大脑, 解剖为小脑及左右大脑且速冻于液氮中。

[0085] 在 4°C 下使用玻璃 Dounce 均质器将大脑在补充有蛋白酶抑制剂的 20mM

Tris-HCL (pH 8.5)、0.2% Triton-X100 (cOmplete, Roche Applied Science) 中均质化 (每重量 5 体积)。在 4°C 下将均质物以  $120,000 \times g$  离心 60 分钟, 且收集上清液并使用具有化学发光侦测的免疫分析 (Meso-Scale Discovery, Rockville, MD (MSD)) 来分析 Aβ1-x。

[0086] 在室温下在回旋振荡器上用 5% 阻断剂 A 溶液 (MSD) 预阻断抗生蛋白链菌素 96 孔板 (MSD) 1 小时且用磷酸盐缓冲生理盐水 (PBS) 洗涤 4 次。在室温下用每孔 20ng 生物素标记抗体 SIG-39155 (纯系 M3.2, 对啮齿动物 Aβ 的胺基酸 10 至 15 具特异性) 预涂布这样的孔 1 小时且用 PBS 洗涤 4 次。对于 Aβ1-x 分析而言, 在室温下将 25 μl 澄清大脑溶解产物或 Aβ1-40 标准物 (8 至 500pg/ml, 以 2 倍增量) 在恒定振荡下培育 1 小时。用 PBS 洗涤这样的孔 4 次, 且添加 25 μl 侦测抗体 (由 MSD 供应的磺基-TAG 标记的抗-Aβ40 抗体) 且在室温下培育 1 小时。在用 PBS 洗涤 4 次之后, 添加 150 μl 化学发光侦测试剂 (Read Buffer T, MSD), 且在 MSD Sector Imager 6000 仪器上读取培养板。将校准曲线拟合于非线性四参数回归模型中, 且计算含有澄清大脑溶解产物的每一孔的 Aβ1-x 浓度。基于对于来自经单独媒剂处理的动物的大脑所获得的平均 Aβ 浓度差异来计算 Aβ 降低百分比。

[0087] 表 1 展示本发明化合物的以下特性: 如分析 1 中所测量的 BACE1 抑制效能、如分析 2 中所测量的 hERG 抑制、如分析 3 中所测量的磷脂质病的第一效应浓度 (FEC) 及如分析 4 中所测量的代谢稳定性。

[0088] 表 1

[0089]

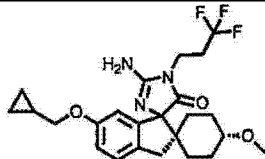
| 实施例<br>编号 | BACE1 IC <sub>50</sub><br>nM (分析 1) | 在 10 μM 下的 hERG<br>抑制% (分析 2) | 磷脂质病 FEC<br>IC <sub>50</sub> μM (分析 3) | 在 1 μM 下的体外<br>人类肝细胞<br>% Qh (分析 4) |
|-----------|-------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|
| 1         | 14.6                                | 13                            | 400                                    | 0                                   |
| 2         | 10.3                                | 4.5                           | 400                                    | 1.6                                 |
| 3         | 3.0                                 | 20                            | 200                                    | 3.1                                 |
| 4         | 2.7                                 | 13                            | 800                                    | 6.1                                 |
| 5         | 2.6                                 | 12                            | 400                                    | 6.1                                 |
| 6         | 6.3                                 | 1.8                           | 400                                    | 11                                  |
| 7         | 3.4                                 | 15                            | 400                                    | 13                                  |
| 8         | 1.9                                 | 6                             | 800                                    | 19.1                                |
| 9         | 10.7                                | 2.5                           | 400                                    | 12.4                                |
| 10        | 10.6                                | 33                            | >100                                   | 0                                   |
| 11        | 14.6                                | 19                            | 200                                    | 0                                   |
| 12        | 6.8                                 | 15                            | 100                                    | 0                                   |
| 13        | 8.7                                 | 12                            | 200                                    | 4.2                                 |
| 14        | 4.5                                 | 27                            | 200                                    | 5.2                                 |
| 15        | 9.7                                 | 15.2                          | 800                                    | 22.9                                |
| 16        | 9.4                                 | 1.4                           | 200                                    | 19                                  |



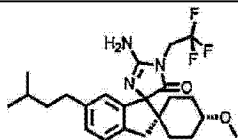
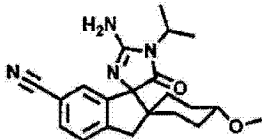
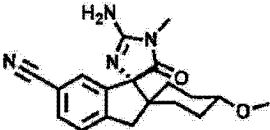
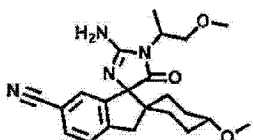
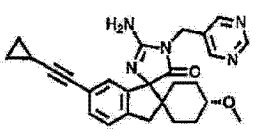
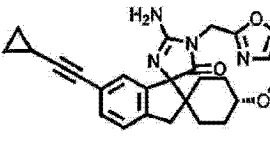
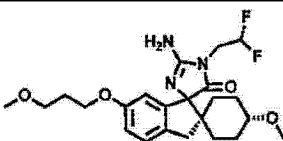
[0090] 表 2 提供显示本发明的化合物相对于 WO2010/105179 中所述的某些比较化合物具有至少一种以下特性的数据：1) 在 BACE1 酶促分析中显著较低的  $IC_{50}$  抑制值、显著较低的 hERG 抑制百分比、显著较低的导致磷脂质病倾向及显著较大的相对代谢稳定性。

[0091] 表 2

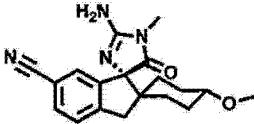
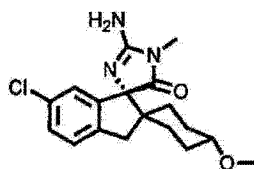
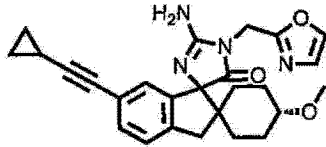
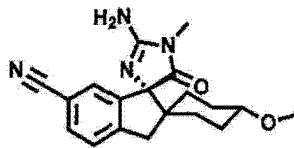
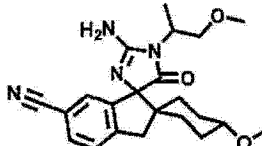
[0092]

| 实施例编号                                                                                                     | BACE1<br>$IC_{50}$ nM<br>(分析 1) | 在 10 $\mu$ M 下<br>的 hERG 抑<br>制% (分析 2) | 磷脂质病<br>FEC $IC_{50}$<br>$\mu$ M (分析 3) | 在 1 $\mu$ M 下的试管<br>内人类肝细胞%<br>Qh (分析 4) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 比较 1                                                                                                      |                                 |                                         |                                         |                                          |
| 1                                                                                                         | 14.6                            | 13                                      | 400                                     | 0                                        |
| <br>WO2010/105179 中的 428 | 8.3                             | 87                                      | -                                       | -                                        |

[0093]

|                                                                                                             |      |     |      |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----|------|-----|
| <br>WO2010/105179 中的 512   | 3.5  | 89  | -    | 88  |
| 比较 2                                                                                                        |      |     |      |     |
| 10                                                                                                          | 10.6 | 33  | >100 | 0   |
| <br>WO2010/105179 中的 121   | 107  | -   | -    | -   |
| <br>WO2010/105179 中的 174   | 16   | 90  | 400  | 14  |
| 比较 3                                                                                                        |      |     |      |     |
| 3                                                                                                           | 3.0  | 20  | 200  | 3.1 |
| <br>WO2010/105179 中的 251  | 256  | -   | -    | -   |
| 比较 4                                                                                                        |      |     |      |     |
| 12                                                                                                          | 6.8  | 15  | 100  | 0   |
| <br>WO2010/105179 中的 255 | 1.1  | 60  | 25   | 36  |
| <br>WO2010/105179 中的 249 | 5.1  | 60  | -    | 8.5 |
| 比较 5                                                                                                        |      |     |      |     |
| 2                                                                                                           | 10.3 | 4.5 | 400  | 1.6 |
|                          | 7.3  | 36  | 50   | 43  |

[0094]

|                                                                                                             |      |    |     |      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|----|-----|------|
| WO2010/105179 中的 602                                                                                        |      |    |     |      |
| <br>WO2010/105179 中的 174   | 16   | 90 | 400 | 14   |
| <b>比较 6</b>                                                                                                 |      |    |     |      |
| <b>11</b>                                                                                                   | 14.6 | 19 | 200 | 0    |
| <br>WO2010/105179 中的 172   | 19   | 58 | 100 | -    |
| <br>WO2010/105179 中的 249   | 5.1  | 60 | -   | 8.5  |
| <b>比较 7</b>                                                                                                 |      |    |     |      |
| <b>8</b>                                                                                                    | 1.9  | 6  | 800 | 19.1 |
| <br>WO2010/105179 中的 174 | 16   | 90 | 400 | 14   |
| <br>WO2010/105179 中的 251 | 256  | -  | -   | -    |

[0095] 如分析 5 中所述,在大鼠中证实本发明的化合物减少大脑 A $\beta$  的能力,且活体内功效数据呈现于表 3 中。

[0096] 表 3

[0097]

| 实施例 | 剂量 (mg/kg) | A $\beta$ 减少% |
|-----|------------|---------------|
| 1   | 25         | 25            |
| 2   | 12.5       | 40            |
| 4   | 12.5       | 21            |

|   |    |    |
|---|----|----|
| 7 | 25 | 58 |
| 9 | 25 | 42 |

[0098]

[0099] 治疗方法

[0100] 本发明系针对适用于治疗个体的以  $\beta$ -淀粉样蛋白沉积或  $\beta$ -淀粉样蛋白含量增加为特征的病症或疾病的化合物,其中对  $\beta$ -分泌酶 (BACE1) 活性的抑制具治疗效果,包括 (但不限于) 治疗、缓解或预防神经退化性病症、以认知减退、认知障碍、痴呆为特征的病症及以产生  $\beta$ -淀粉样蛋白沉积和 / 或神经原纤维缠结为特征的疾病。

[0101] 本发明的化合物适用于治疗阿耳茨海默症、第 21 号染色体三体症 (唐氏综合征)、荷兰型淀粉样变性的遗传性脑出血 (HCHWA-D)、老年痴呆、大脑淀粉样蛋白血管病、退化性痴呆、混合型血管源性及退化源性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、与进行性核上性麻痹相关的痴呆、与皮质基底核退化相关的痴呆、泛发性路易体型阿耳茨海默症、干性年龄相关黄斑变性 (AMD) 及青光眼。“干性”形式的 AMD (也称作“中心地形萎缩”由感觉神经性视网膜下方的视网膜色素上皮层萎缩而产生,其经由眼睛中心部分的感光体 (视柱细胞与视锥细胞) 损失而导致视力损失。目前尚无医学或手术治疗可用于此病状。迄今可用的治疗 (例如国家眼科研究所 (National Eye Institute) 所建议) 包括使用维生素补充物伴随高剂量的抗氧化剂、叶黄素及玉米黄素,其可减缓干性黄斑变性的进展。青光眼为一种眼内流体压力增加,从而对视神经造成不可逆转的损伤及视力损失的疾病。 $A\beta$  在实验性青光眼中与凋亡视网膜节细胞共定位且以剂量与时间依赖性方式诱发显著视网膜节细胞凋亡。

[0102] 因此,本发明涉及一种用作药品的化合物或其药学上可接受的盐。

[0103] 此外,本发明涉及化合物用于治疗抑制  $\beta$ -分泌酶 (BACE1) 活性具治疗效果的疾病和 / 或病状的用途。

[0104] 此外,本发明涉及化合物用于治疗神经退化性病症、以认知减退、认知障碍、痴呆为特征的病症及以产生  $\beta$ -淀粉样蛋白沉积或神经原纤维缠结为特征的疾病的用途。

[0105] 因此,本发明涉及本发明的化合物用于治疗以下疾病的用途: 阿耳茨海默症、第 21 号染色体三体症 (唐氏综合征)、荷兰型淀粉样变性的遗传性脑出血 (HCHWA-D)、老年痴呆、大脑淀粉样蛋白血管病、退化性痴呆、混合型血管源性及退化源性痴呆、与帕金森病相关的痴呆、与进行性核上性麻痹相关的痴呆、与皮质基底核退化相关的痴呆、泛发性路易体型阿耳茨海默症、干性 AMD 及青光眼。

[0106] 本发明也提供一种治疗有需要的患者的与过度 BACE1 活性有关或相关的病症的方法,其包含向该患者施用有效量的所公开化合物或其药学上可接受的盐。本发明也提供抑制有需要的个体的 BACE1 活性的方法,其包含向个体施用有效量的至少一种所公开的化合物或其药学上可接受的盐和 / 或使其受体与之接触。本发明也提供缓解有需要的个体的  $\beta$ -淀粉样蛋白沉积的方法,其包含向该个体施用有效量的至少一种所公开的化合物或其药学上可接受的盐。

[0107] 本发明包括一种治疗或缓解有需要的个体的 BACE1 介导的病症的治疗方法,其包含向有需要的个体施用有效量的本文所述的本发明化合物或其药学上可接受的盐或其组合物。

[0108] 如本文所用,术语“个体 (subject)”及“患者 (patient)”可互换使用,且意谓需要治疗的哺乳动物,例如伴侣动物 (例如狗、猫及其类似动物)、农畜 (例如奶牛、猪、马、绵羊、山羊及其类似动物) 及实验室动物 (例如大鼠、小鼠、天竺鼠及其类似动物)。个体典型地为需要治疗的人类。

[0109] 如本文所用,术语“治疗 (treating)”或“治疗 (treatment)”指获得所需的药理学和 / 或生理学作用。该作用可为预防性 (也即降低病症或疾病发展的可能性) 或治疗性的,其包括部分或实质上达成一或多种以下结果:部分或完全降低疾病、病症或症候群的程度;缓解或改善与病症相关的临床症状或适应症;或延迟、抑制或减小疾病、病症或症候群进展的可能性。

[0110] 本发明化合物每日可用的剂量范围通常为 0.1 至 3000mg、优选 1 至 2000mg,更佳 10 至 1000mg、最佳 50 或 500mg。每一剂量单位宜含有 0.1 至 1000mg、优选 25 至 250mg。

[0111] 当然,实际药理学有效量或治疗剂量将视本领域技术人员已知的因素而定,诸如患者的年龄及体重、投药途径及疾病严重性。在任何情形下,将以允许基于患者独特病状传递药理学有效量的剂量及方式来施用组合。

[0112] 药物组合物

[0113] 适于施用本发明化合物的制剂将为一般技术者显而易见且包括例如锭剂、丸剂、胶囊、栓剂、口含锭、糖衣锭、溶液、糖浆、酏剂、药囊、注射剂、吸入剂及散剂等。药理学活性化合物的含量应在以整个组合物计 0.1 至 95wt.-%、优选 5 至 90wt.-% 的范围内。

[0114] 举例而言,可通过将一或多种本发明的化合物与已知赋形剂 (例如惰性稀释剂、载体、崩解剂、佐剂、表面活性剂、黏合剂和 / 或润滑剂) 混合来获得适合的锭剂。这样的锭剂也可组成若干层。

[0115] 组合法

[0116] 在一个实施方式中,本发明包括用于治疗或缓解本文所述疾病或病症的组合法。该组合法包含施用至少一种本发明的化合物与一或多种选自的药剂的组合:例如  $\gamma$ -分泌酶抑制剂或调节剂;阻断 A $\beta$  寡聚物或 A $\beta$  碎片形成的淀粉样蛋白聚集抑制剂 (例如 ELND-005);直接或间接作用的神经保护性和 / 或疾病改善性物质;抗氧化剂 (例如维生素 E 或银杏内酯 (ginkgolide));消炎物质 (例如 Cox 抑制剂、另外或排他性地具有 A $\beta$  降低特性的 NSAID);HMG-CoA 还原酶抑制剂 (斯达汀 (statin));乙酰胆碱酯酶抑制剂 (例如多奈哌齐 (donepezil)、雷斯替明 (rivastigmine)、他克林 (tacrine) 以及加兰他敏 (galantamine));NMDA 受体拮抗剂 (例如美金刚 (memantine));AMPA 受体促效剂;AMPA 受体阳性调节剂、安帕金 (AMPAkine)、单胺受体再吸收抑制剂、调节神经递质浓度或释放的物质;诱发生长激素分泌的物质 (例如伊布莫仑甲磺酸盐 (ibutamoren mesylate) 及卡普瑞林 (capromorelin));CB-1 受体拮抗剂或逆向促效剂;抗生素 (例如米诺环素 (minocyclin) 或利福平 (rifampicin));PDE2、PDE4、PDE5、PDE9、PDE10 抑制剂、GABAA 受体逆向促效剂、GABAA 受体拮抗剂、烟碱受体促效剂或部分促效剂或阳性调节剂、 $\alpha 4 \beta 2$  烟碱受体促效剂或部分促效剂或阳性调节剂、 $\alpha 7$  烟碱受体促效剂或部分促效剂或阳性调节剂;组织胺 H3 拮抗剂、5HT-4 促效剂或部分促效剂、5HT-6 拮抗剂、 $\alpha 2$ -肾上腺素受体拮抗剂、钙拮抗剂、蕈毒碱受体 M1 促效剂或部分促效剂或阳性调节剂、蕈毒碱受体 M2 拮抗剂、蕈毒碱受体 M4 拮抗剂、代谢型麸胺酸受体 5 阳性调节剂、抗抑郁剂,诸如西塔普兰

(citalopram)、氟西汀 (fluoxetine)、帕罗西汀 (paroxetine)、舍曲林 (sertraline) 及曲唑酮 (trazodone) ;抗焦虑剂,诸如劳拉西泮 (lorazepam) 及奥沙西泮 (oxazepam) ;抗精神病剂,诸如阿立哌唑 (aripiprazole)、氯氮平 (clozapine)、氟哌醇 (haloperidol)、奥氮平 (olanzapine)、喹硫平 (quetiapine)、利培酮 (risperidone) 及齐拉西酮 (ziprasidone) 及以使得可增加本发明化合物的功效和 / 或安全性和 / 或减少非所要副作用的方式调节受体或酶的其他物质。本发明的化合物也可与免疫疗法 (例如以 A $\beta$  或其部分进行主动免疫接种或以人类化抗 -A $\beta$  抗体或奈米抗体进行被动免疫接种) 组合用于治疗上文提及的疾病及病状。

[0117] 组合疗法包括共同施用本发明的化合物与一或多种其他药剂,依次施用化合物与一或多种其他药剂,施用含有化合物与一或多种其他药剂的组合物,或同时施用含有化合物与一或多种其他药剂的各别组合物。

[0118] 实验部分

[0119] 制备化合物的方法

[0120] 可采用使用易得试剂及起始物质的常规方法来制备本发明的化合物。用于制备本发明中间体的试剂可自商业获得或可通过文献中所述的标准程序来制备。

[0121] 在使用发现型 SP 系统的 CEM 反应器中或在 Biotage, Initiator 60EXP 中进行微波反应。在呈现 NMR 数据时,在 Varian-400 (400MHz) 中获得光谱。以自四甲基硅烷向低场偏移的 ppm 以及参考氘化溶剂附加说明所示的质子数、多重性及在某些情形下偶合常数报导光谱。如下文所述通过碱性制备型 HPLC 方法纯化化合物。

[0122] 方法 1: 移动相 A: 含 0.05% NH<sub>4</sub>OH 的水 :移动相 B:ACN :流动速率 :25mL/min :检测 :UV 220nm/254nm :管柱 :Phenomenex Gemini C18 250\*30mm\*5  $\mu$ m :管柱温度 :30°C。

[0123]

| 时间 (min) | %A | %B  |
|----------|----|-----|
| 0.0      | 68 | 32  |
| 12.00    | 38 | 62  |
| 12.20    | 0  | 100 |
| 13.5     | 0  | 100 |
| 13.7     | 90 | 10  |

[0124] 方法 2: 移动相 A: 含 0.05% NH<sub>4</sub>OH 的水 :移动相 B:ACN :流动速率 :25mL/min :检测 :UV 220nm/254nm :管柱 :Durashe11 C18 250\*30mm\*5  $\mu$ m :管柱温度 :30°C。

[0125]

| 时间 (min) | %A | %B  |
|----------|----|-----|
| 0.0      | 67 | 33  |
| 12.00    | 47 | 53  |
| 12.20    | 0  | 100 |
| 13.5     | 0  | 100 |
| 13.7     | 90 | 10  |

[0126] 通过利用以下层析条件获得 LC-MS 数据 :

[0127] 方法 1:HPLC 系统 :Waters ACQUITY :管柱 :Waters ACQUITY CSH<sup>TM</sup>C18 1.7  $\mu$ M。

[0128] 保护管柱:Waters Assy.Frit,0.2  $\mu$  M,2.1mm:管柱温度:40°C。

[0129] 移动相:A:TFA:水(1:1000, v:v),移动相B:TFA:CAN(1:1000, v:v):流动速率:0.65mL/min:注射体积:2  $\mu$  L:获取时间:约1.5分钟。

[0130] 梯度程序:

[0131]

| 时间 (min) | B% |
|----------|----|
| 0        | 10 |
| 0.8      | 90 |
| 1.20     | 90 |
| 1.21     | 10 |

[0132] 质谱仪参数

[0133] 质谱仪:Waters SQD:电离:阳离子电喷雾电离(Positive Electrospray Ionization,ESI):模式扫描(在每0.2秒钟内100至1400m/z):ES毛细管电压:3.5kV:ES锥电压:25v。

[0134] 源极温度:120°C:溶解温度:500°C:去溶剂化气流:氮气设定为650(L/h):锥气流:氮气设定为50(L/h)。

[0135] 方法2:

[0136] HPLC系统:具有DA-及MS-检测器的Waters Alliance:管柱:Waters XBridge C18 4.6 $\times$ 30mm,3.5  $\mu$  m:管柱温度:60°C。

[0137] 移动相:A:TFA:水(1:1000, v:v),移动相B:MeOH:流动速率:4mL/min。

[0138] 梯度程序:

[0139]

| 时间 (min) | B%  |
|----------|-----|
| 0        | 5   |
| 1.6      | 100 |
| 1.85     | 100 |
| 1.9      | 5   |

[0140] 方法3:

[0141] HPLC系统:具有DA-及MS-检测器的Waters Alliance:管柱:Waters XBridge C18 4.6 $\times$ 30mm,3.5  $\mu$  m:管柱温度:60°C。

[0142] 移动相:A:TFA:水(1:1000, v:v),移动相B:ACN:流动速率:5mL/min。

[0143] 梯度程序:

[0144]

| 时间 (min) | B%  |
|----------|-----|
| 0        | 3   |
| 0.2      | 3   |
| 1.6      | 100 |
| 1.7      | 100 |

[0145] 方法4:

[0146] HPLC 系统：具有 DA- 及 MS- 检测器的 Waters Alliance；管柱：Waters XBridge C18 4.6×30mm, 3.5 μm；管柱温度：60℃。

[0147] 移动相：A:TFA：水（1:1000, v:v），移动相 B:MeOH；流动速率：4mL/min。

[0148] 梯度程序：

[0149]

| 时间 (min) | B%  |
|----------|-----|
| 0        | 5   |
| 0.2      | 5   |
| 1.5      | 100 |

[0150]

|      |     |
|------|-----|
| 1.75 | 100 |
| 1.85 | 5   |

[0151] 经以下方法进行化合物的 SFC 分离及特性化：

[0152] 方法 A：

[0153] 仪器：Thar SFC 80；管柱：AD 250mm\*30mm, 5 μm；移动相：A：超临界 CO<sub>2</sub>，B:IPA(0.05% DEA)，A:B = 80:20，在 60ml/min 下；管柱温度：38℃；喷嘴压力：100 巴 (Bar)；喷嘴温度：60℃；蒸发器温度：20℃；微调器温度：25℃；波长：220nm。

[0154] 方法 B：

[0155] 仪器：SFC MG2；管柱：OJ 250mm\*30mm, 5 μm；移动相：A：超临界 CO<sub>2</sub>，B:MeOH(0.05% DEA)，A:B = 90:10，在 70ml/min 下；管柱温度：38℃；喷嘴压力：100 巴；喷嘴温度：60℃；蒸发器温度：20℃；微调器温度：25℃；波长：220nm。

[0156] 由以下实施例说明本发明，其中可采用以下缩写：

[0157]

| 缩写                 | 含义          |
|--------------------|-------------|
| ACN                | 乙腈          |
| Boc                | 叔丁氧羰基       |
| Boc <sub>2</sub> O | 二碳酸二叔丁酯     |
| 盐水                 | 饱和 NaCl 水溶液 |
| DAST               | 三氟化（二乙基胺基）硫 |
| DCM                | 二氯甲烷        |
| DIEA               | 二异丙基乙胺      |
| DMA                | 二甲基乙酰胺      |
| DMF                | 二甲基甲酰胺      |



|                   |                                |
|-------------------|--------------------------------|
| DMSO              | 二甲亚砜                           |
| Et                | 乙基                             |
| dppf              | 1,1- 双 ( 二苯基膦基 ) 二茂铁           |
| EDCI              | 1- (3- 二甲基胺基丙基 )-3- 乙基碳化二亚胺盐酸盐 |
| EtI               | 碘乙烷                            |
| Et <sub>3</sub> N | 三乙胺                            |
| Et <sub>2</sub> O | 乙醚                             |
| EtOAc             | 乙酸乙酯                           |
| EtOH              | 乙醇                             |
| h                 | 小时                             |

[0158]

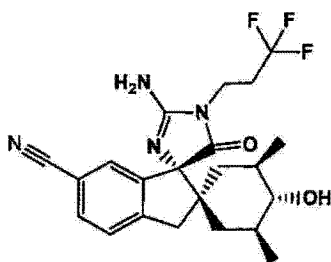
|                   |         |
|-------------------|---------|
| 缩写                | 含义      |
| HPLC              | 高效液相层析  |
| LDA               | 二异丙基胺基锂 |
| min               | 分钟      |
| MeOH              | 甲醇      |
| MeI               | 碘甲烷     |
| Me                | 甲基      |
| Me <sub>2</sub> S | 二甲硫醚    |
| MsCl              | 甲烷磺酰氯   |
| mL                | 毫升      |
| mmol              | 毫摩尔     |
| mg                | 毫克      |
| NaOMe             | 甲醇钠     |

|                                      |                                       |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| NCS                                  | N- 氯丁二酰胺                              |
| $\text{PdCl}_2\text{dppf}$           | [1,1- 双 (二苯基膦基) 二茂铁] 二氯钯 (II)         |
| $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$          | 叁 (二苯亚甲基丙酮) 二钯 (0)                    |
| PE                                   | 石油醚                                   |
| rt                                   | 室温                                    |
| sat.                                 | 饱和                                    |
| SFC                                  | 超临界流体层析                               |
| t-BuOK                               | 叔丁醇钾                                  |
| t-BuLi                               | 叔丁基锂                                  |
| t-BuNH <sub>2</sub> -BH <sub>3</sub> | 叔丁基胺 - 甲硼烷复合物                         |
| t-BuOOH                              | 叔丁基过氧化物                               |
| TEA                                  | 三乙胺                                   |
| TFA                                  | 三氟乙酸                                  |
| TFAA                                 | 三氟乙酸酐                                 |
| THF                                  | 四氢呋喃                                  |
| Ti(OEt) <sub>4</sub>                 | 四乙醇钛                                  |
| TLC                                  | 薄层层析                                  |
| TMSI                                 | 碘化三甲基硅烷                               |
| v                                    | 体积                                    |
| XPhos                                | 二环己基膦基 -2', 4', 6' - 三异丙基 -1, 1' - 联苯 |
| Zn(CN) <sub>2</sub>                  | 氰化锌                                   |

[0159] 实施例

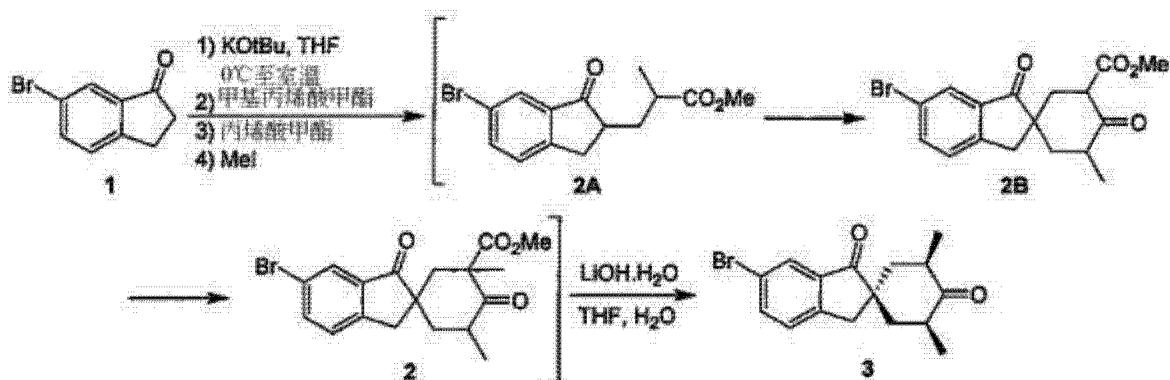
[0160] 实施例 1

[0161]



[0162] 步骤 1 :合成中间体 3

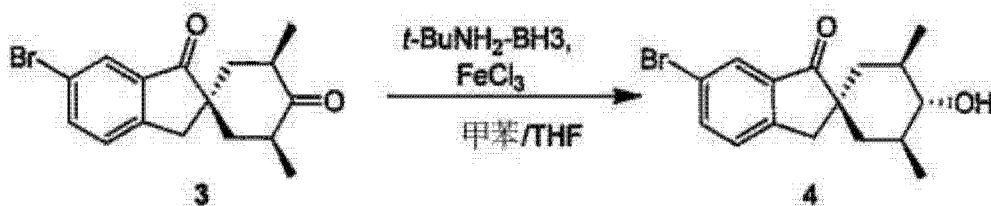
[0163]



[0164] 在 0℃下,向 6-溴-二氢茚-1-酮 (100.00g, 473.8mmol) 在无水 THF (1L) 中的混合物中添加 *t*-BuOK (58.5g, 521.2mmol)。5 分钟之后,将混合物温至室温且再搅拌 10 分钟,之后整份添加甲基丙烯酸甲酯 (49.8g, 53.2mL, 497.5mmol, 1.05 当量)。2 小时之后,向反应混合物中添加丙烯酸甲酯 (49.0g, 51.2mL, 568.6mmol, 1.2 当量)。在室温下搅拌 3 小时之后,向反应混合物中添加 MeI (101g, 44.3mL, 710.7mmol, 1.5 当量),且再搅拌混合物 16 小时。添加 H<sub>2</sub>O (1L),随后添加 LiOH·H<sub>2</sub>O (79.5g, 1895mmol, 4.0 当量)。在室温下搅拌混合物 28 小时。在减压下移除 THF。用 H<sub>2</sub>O (1L) 稀释残余物,过滤且用 H<sub>2</sub>O 洗涤直至滤液呈中性。用 MeOH 洗涤产物,得到 50g 中间体 3。

[0165] 步骤 2 :合成中间体 4

[0166]



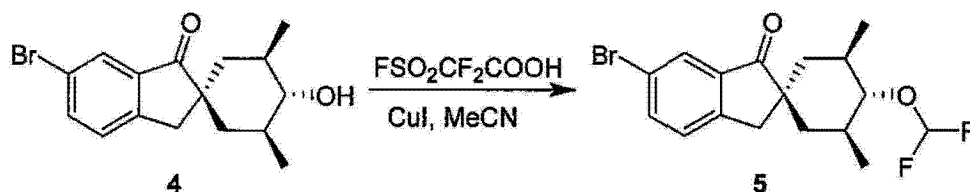
[0167] 将 FeCl<sub>3</sub> (6.0g, 37.0mmol) 与甲苯 (60mL) 的混合物冷却至 0℃。向该混合物中添加中间体 3 (11.9g, 37.0mmol) 在 THF (48mL) 中的混合物。在 0℃下搅拌混合物 5 分钟且随后冷却至 -10℃。在 -10℃下向反应混合物中逐滴添加 *t*-BuNH<sub>2</sub>-BH<sub>3</sub> (3.5g, 40.7mmol) 于 THF (12mL) 中的溶液。在约 -10℃下搅拌反应混合物 30 分钟,用 HCl 水溶液 (6N, 10mL) 淬灭,在约 0℃下搅拌 30 分钟,且随后使其温至室温。浓缩混合物以移除 THF,且添加甲苯 (60mL)。移除水层,且用水 (3×60mL) 洗涤有机相。将有机相浓缩至一半体积,加热至 50℃以获得溶液,且随后经 1 小时冷却至 0℃并在 0℃下保持 1 小时。过滤固体且用冷 (0℃) 甲苯 (12mL) 洗涤,且在真空中干燥,产生化合物 4 (9.93g)。

[0168] LC-MS(方法1):tR = 1.24 分钟, MS(ESI)m/z 323.1 [M+H]<sup>+</sup>。

[0169] <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>): δ: 7.889-7.894(s, 1H), 7.671-7.696(d, 1H), 7.311-7.332(d, 1H), 3.605(s, 1H), 2.981(s, 2H), 1.769-1.797(m, 4H), 1.072-1.082(m, 2H), 1.019-1.056(m, 6H)。

[0170] 步骤3:合成中间体5

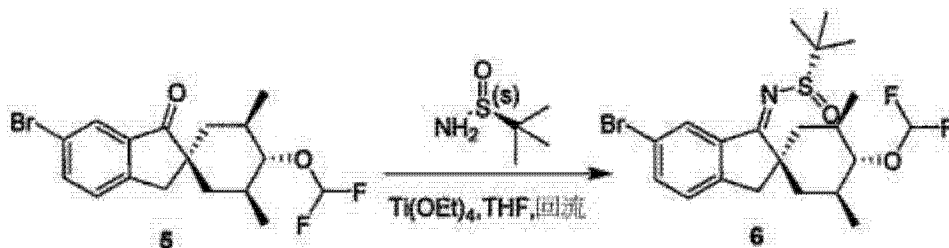
[0171]



[0172] 将中间体4(6.0g, 18.6mmol)与CuI(0.71g, 3.72mmol, 0.2当量)在ACN(120mL)中的混合物加热至60℃且添加2-(氟磺酰基)二氟乙酸(13.2g, 74.4mmol)。在60℃下搅拌混合物20分钟。冷却混合物,用H<sub>2</sub>O淬灭且以EtOAc萃取。用H<sub>2</sub>O及盐水洗涤合并的有机相,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>脱水,浓缩,得到15g粗产物,其通过硅胶管柱(洗脱剂:石油醚:乙酸乙酯300:1至50:1)纯化,得到中间体5(4.6g)。

[0173] 步骤4:合成中间体6

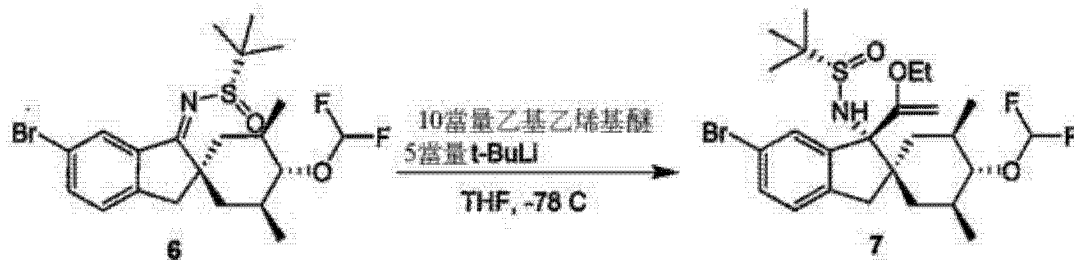
[0174]



[0175] 在室温下搅拌将中间体5(3.4g, 9.2mmol)与乙醇钛(IV)(21g, 92mmol)在无水THF(40mL)中的混合物1小时。添加(S)-N-叔丁基亚磺酰胺(4.5g, 36.8mmol)且在80℃下在N<sub>2</sub>氛围下搅拌所得混合物12小时。冷却反应混合物且添加水(400mL)。过滤混合物且用乙酸乙酯(3×400mL)萃取水层。使分离的有机相经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>脱水且在减压下浓缩。通过硅胶管柱层析(石油醚:乙酸乙酯=20:1)纯化残余物,得到中间体6(3.9g)。

[0176] 步骤5:合成中间体7

[0177]

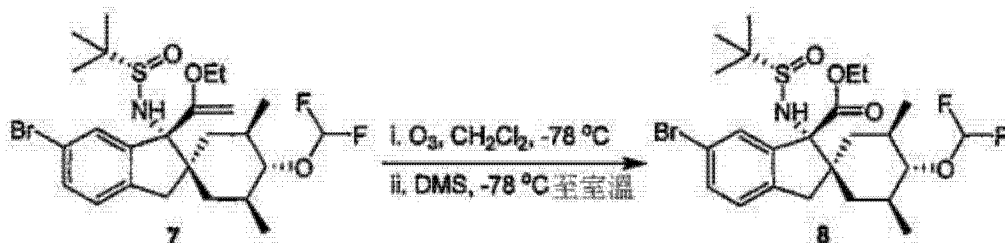


[0178] 在-78℃下在N<sub>2</sub>氛围下,将t-BuLi溶液(32mL, 41.0mmol, 1.3M在己烷中)逐滴添加至乙基乙烯基醚(7.05g, 82mmol)在无水THF(50mL)中的溶液中且搅拌混合物20分钟。在0℃下再搅拌所得混合物45分钟且随后冷却至-78℃。逐滴添加在-78℃下预冷却的于

无水 THF (80mL) 中含有中间体 6 (3.9g, 8.2mmol) 的溶液且在  $-78^{\circ}\text{C}$  下搅拌混合物 2 小时。用饱和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (50mL) 水溶液使反应物淬灭且以乙酸乙酯 ( $3 \times 300\text{mL}$ ) 萃取。合并有机相且在减压下浓缩。通过制备型 HPLC (方法 2) 纯化粗产物, 得到中间体 7 (3.3g)。

[0179] 步骤 6 : 合成中间体 8

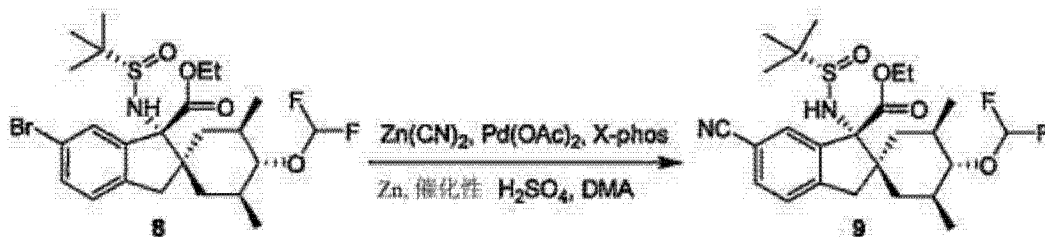
[0180]



[0181] 将中间体 7 (10g, 18.2mmol) 添加至 MeOH 于 DCM (5:1, 100mL) 中的溶液中且冷却至  $-78^{\circ}\text{C}$ 。使臭氧鼓泡穿过混合物持续 20 分钟。再搅拌 10 分钟之后, 以  $\text{N}_2$  净化混合物 15 分钟且随后在  $-78^{\circ}\text{C}$  下用  $\text{Me}_2\text{S}$  (20mL) 处理。使其温至室温且在室温下搅拌 3 小时。在减压下移除溶剂且通过硅胶管柱层析 (石油醚 : 乙酸乙酯 = 20:1 至 5:1) 纯化残余物, 得到中间体 8 (6g)。

[0182] 步骤 7 : 合成中间体 9

[0183]

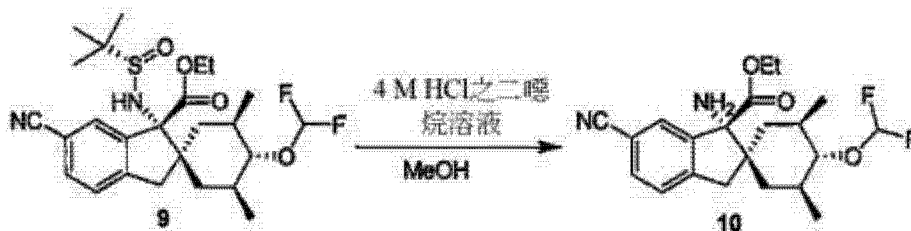


[0184] 向 DMA (20mL) 中添加浓硫酸 ( $48 \mu\text{L}$ ) 且以  $\text{N}_2$  净化溶剂持续 20 分钟。在  $\text{N}_2$  下向 50mL 圆底烧瓶中装入  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (0.3g) 及 Xphos (1.25g), 随后将上述溶剂转入。在  $80^{\circ}\text{C}$  下加热所得混合物 30 分钟, 产生混合物 A。

[0185] 在另一烧瓶中, 用  $\text{N}_2$  净化 DMA (50mL) 且添加中间体 8 (2.2g, 4.0mmol)、 $\text{Zn}(\text{CN})_2$  (0.5g, 4.0mmol) 及锌粉 (14.1mg)。将混合物 A 添加至此溶液中, 且在  $90^{\circ}\text{C}$  下加热所得混合物 1 小时。将反应混合物冷却至室温, 用水 (100mL) 及乙酸乙酯 (100mL) 稀释且搅拌 10 分钟。经硅藻土过滤混合物且分离有机层。以乙酸乙酯 ( $2 \times 30\text{mL}$ ) 萃取水层。用水、盐水洗涤合并的有机层, 脱水且在减压下移除溶剂。在硅胶急骤管柱 (石油醚 : 乙酸乙酯 : 20:1 至 3:1) 上纯化残余物, 得到中间体 9 (1.5g)。

[0186] 步骤 8 : 合成中间体 10

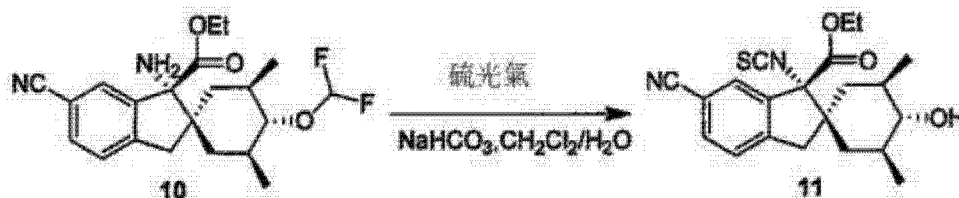
[0187]



[0188] 向中间体 9 (0.5g, 1.01mmol) 于 MeOH (11mL) 中的混合物中添加 HCl 的二噁烷溶液 (4M, 2.25mL)。搅拌所得混合物 1 小时。在减压下移除溶剂, 得到粗中间体 10 (529mg), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0189] 步骤 9 : 合成中间体 11

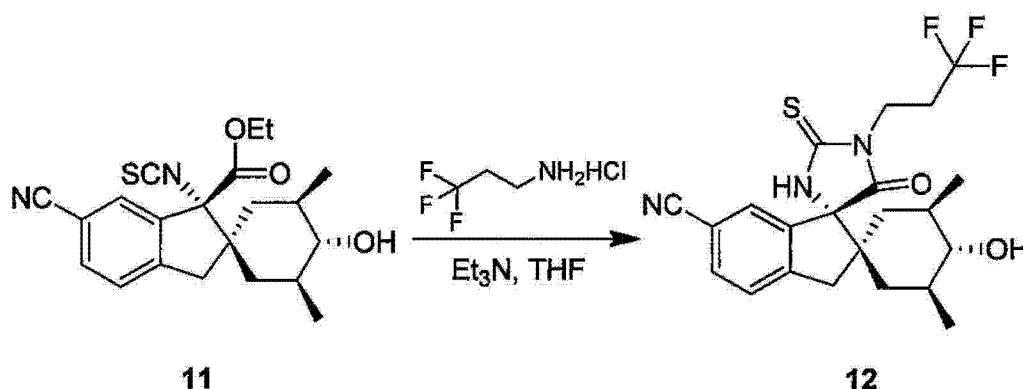
[0190]



[0191] 在室温下向中间体 10 (529mg, 1.35mmol) 于 DCM (6mL) 中的溶液中添加 H<sub>2</sub>O (6mL) 及 NaHCO<sub>3</sub> (1.13g, 13.5mmol)。在有力搅拌下添加硫光气 (310mg, 2.7mmol) 且搅拌混合物 1 小时。分离有机层且以 DCM (3×40mL) 萃取水层。合并有机层且用盐水 (2×40mL) 洗涤, 脱水且在减压下移除溶剂, 得到粗中间体 11 (520mg), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0192] 步骤 10 : 合成中间体 12

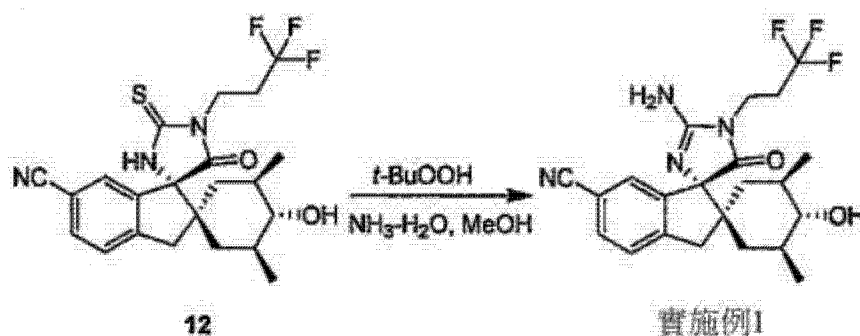
[0193]



[0194] 向中间体 11 (200mg, 0.52mmol) 于 THF (10mL) 中的混合物中添加 3,3,3-三氟-N-(2-胺基乙基)丙酰胺盐酸盐 (156mg, 1.04mmol) 及 TEA (526mg, 5.2mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。用水稀释反应物且以 EtOAc (30mL) 萃取。合并有机层, 用盐水 (10mL) 洗涤, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水, 过滤且在减压下浓缩, 得到粗产物。通过制备型 TLC (石油醚 : 乙酸乙酯 : 1:1) 纯化残余物, 得到中间体 12 (265mg)。

[0195] 步骤 11 : 合成实施例 1

[0196]



[0197] 向中间体 12 (265mg, 0.59mmol) 于 MeOH (10mL) 中的混合物中添加氢氧化铵水溶液

(1.5mL) 及  $t\text{-BuO}_2\text{H}$  (0.8mL, 5.0M 壬烷溶液)。在室温下搅拌混合物 16 小时且随后用饱和  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  水溶液 (0.5mL) 淬灭。将残余物分配于  $\text{EtOAc}$  (20mL) 与  $\text{H}_2\text{O}$  (10mL) 之间。分离有机层且用盐水 (10mL) 洗涤, 经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  脱水, 过滤且在减压下浓缩。通过制备型 HPLC (方法 2) 纯化残余物, 得到实施例 1 (86.9mg)。

[0198] LC-MS (方法 1):  $t_R = 0.92$  分钟, MS (ESI)  $m/z$  435.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

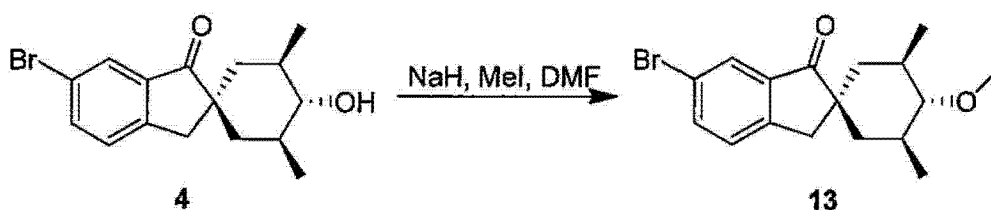
[0199]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.65 (d,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.49 (d,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.30 (s, 1H), 3.82-3.85 (t,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 2H), 3.24 (s, 1H), 3.15 (d,  $J = 16.0\text{Hz}$ , 1H), 2.56 (m, 3H), 1.23-1.79 (m, 5H), 0.956-1.02 (m, 7H)。

[0200]  $^{19}\text{F-NMR}$ :  $\delta$  -66.64。

[0201] 合成中间体 20

[0202] 步骤 1: 合成中间体 13

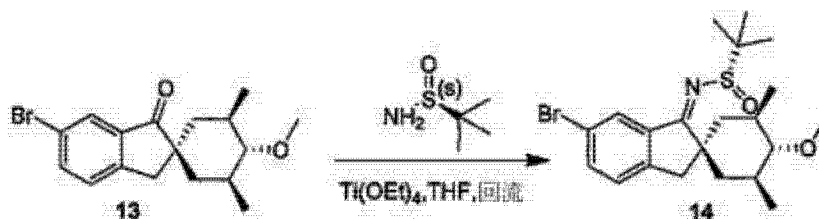
[0203]



[0204] 在  $0^\circ\text{C}$  下向中间体 4 (20.0g, 61.9mmol) 于  $\text{DMF}$  (200mL) 中的混合物中添加  $\text{NaH}$  (5.0g, 123.8mmol) 且在  $0^\circ\text{C}$  下搅拌混合物 15 分钟。在  $0^\circ\text{C}$  下添加碘甲烷 (17.6g, 123.8mmol) 且将混合物温至室温并在室温下搅拌 1.5 小时。用  $\text{H}_2\text{O}$  使混合物淬灭且以  $\text{EtOAc}$  萃取。依次用  $\text{H}_2\text{O}$ 、盐水洗涤合并的有机相, 脱水且浓缩, 得到粗产物, 其通过硅胶管柱 (石油醚: 乙酸乙酯: 30:1 至 5:1) 纯化, 得到中间体 13 (20g)。

[0205] 步骤 2: 合成中间体 14

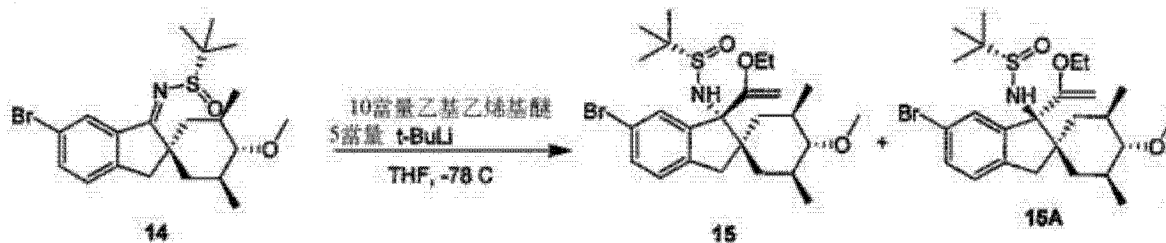
[0206]



[0207] 在室温下搅拌中间体 13 (20.0g, 59.3mmol) 与乙醇钛 (IV) (108.2g, 474.4mmol) 在无水  $\text{THF}$  (200mL) 中的混合物 1 小时。添加 (S)-N-叔丁基亚磺酰胺 (29g, 237.2mmol) 且在  $80^\circ\text{C}$  下在  $\text{N}_2$  氛围下搅拌所得混合物过夜。冷却反应混合物且添加水 (400mL)。过滤混合物且以乙酸乙酯 ( $3 \times 400\text{mL}$ ) 萃取水层。将合并的有机相脱水且在减压下浓缩, 得到粗中间体。其通过硅胶管柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯: 20:1) 纯化, 得到中间体 14 (18.4g)。

[0208] 步骤 3: 合成中间体 15

[0209]



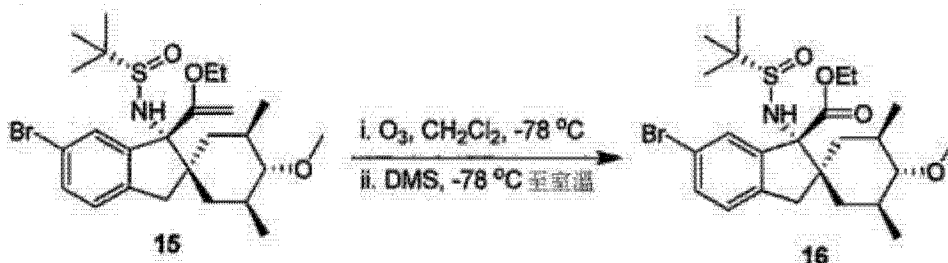
[0210] 在 $-78^{\circ}\text{C}$ 下在 $\text{N}_2$ 下将 $t\text{-BuLi}$  (131mL, 170.3mmol, 1.3M 在己烷中) 逐滴添加至乙基乙烯基醚 (12.3g, 170.3mmol, 5.0 当量) 在无水的 THF (100mL) 中的溶液中且搅拌混合物 20 分钟。在 $0^{\circ}\text{C}$ 下再搅拌所得混合物 45 分钟且再冷却至 $-78^{\circ}\text{C}$ 。逐滴添加在 $-78^{\circ}\text{C}$ 下预冷却的中间体 14 (15.0g, 34.1mmol) 在无水的 THF (50mL) 中的溶液且在 $-78^{\circ}\text{C}$ 下搅拌混合物 2 小时。用饱和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  水溶液 (50mL) 使反应混合物淬灭且以  $\text{EtOAc}$  ( $3 \times 300\text{mL}$ ) 萃取。合并有机相且在减压下浓缩, 得到残余物, 其通过硅胶管柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯: 50:1 至 3:1) 纯化, 分别得到中间体 15 (11g) 及 15A (1.44g)。

[0211] LC-MS (方法 1)  $t_R = 5.67$  分钟; MS (ESI)  $m/z$  514.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0212]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.546 (s, 1H), 7.454–7.479 (d, 1H), 7.208–7.228 (d, 1H), 4.620–4.755 (d, 1H), 4.373–4.381 (m, 1H), 4.048–4.055 (m, 1H), 3.844–3.903 (m, 2H), 3.458–3.474 (s, 3H), 2.986–3.000 (m, 2H), 2.326–2.377 (m, 1H), 1.969–2.001 (m, 1H), 1.671 (s, 1H), 1.457–1.520 (t,  $J = 12\text{Hz}$ , 3H), 1.373–1.408 (m, 2H), 1.328 (s, 9H), 1.169–1.278 (m, 5H), 1.073–1.106 (d, 3H)。

[0213] 步骤 4: 合成中间体 16

[0214]



[0215] 将中间体 15 (4.8g, 9.37mmol) 添加至 DCM 在  $\text{MeOH}$  (5:1, 40mL) 中的混合物中且将混合物冷却至 $-78^{\circ}\text{C}$ 。使臭氧鼓泡穿过混合物持续 20 分钟。以 $\text{N}_2$ 净化混合物 10 分钟且在 $-78^{\circ}\text{C}$ 下用  $\text{Me}_2\text{S}$  (10mL) 处理。使混合物温至室温且在室温下搅拌 3 小时。在真空下移除溶剂, 通过硅胶管柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯: 20:1 至 8:1) 纯化残余物, 得到中间体 16 (3.5g)。

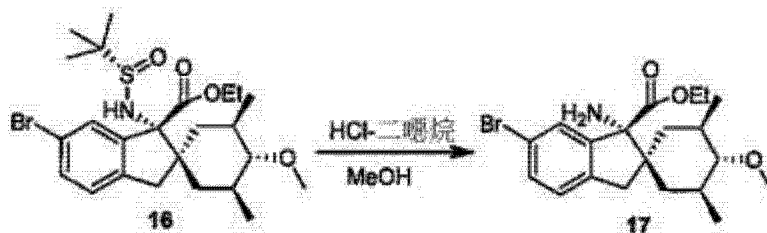
[0216] LC-MS (方法 1):  $t_R = 1.30$  分钟; MS (ESI)  $m/z$  516.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0217]  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.84 (s, 1H), 7.42–7.44 (d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.09–7.11 (d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 1H), 4.40 (s, 1H), 4.26–4.39 (m, 2H), 3.44 (s, 3H), 2.93–2.97 (d,  $J = 15.6\text{Hz}$ , 1H), 2.70–2.74 (d,  $J = 15.2\text{Hz}$ , 1H), 2.22–2.30 (t,  $J = 10.0\text{Hz}$ , 1H), 1.75–1.79 (m, 1H), 1.61–1.66 (m, 1H), 1.54–1.57 (m, 2H), 1.32–1.38 (m, 4H), 1.14 (s, 9H), 1.06–1.08 (d,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 3H), 0.89–0.91 (d,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 3H), 0.67–0.74 (m, 1H)。

[0218] 步骤 5: 合成中间体 17

[0219]



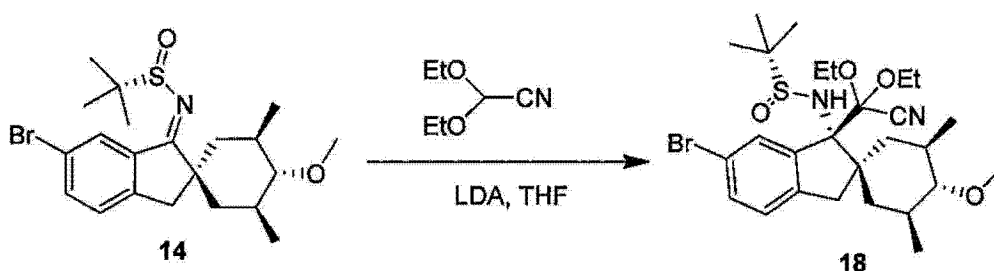


[0220] 向中间体 16 (5.1g, 10mmol) 于 MeOH (10mL) 中的混合物中添加 HCl 的二噁烷溶液 (4.0M, 8.0mL)。搅拌所得混合物 1 小时。在减压下移除溶剂, 得到粗中间体 17 (6.0g), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0221] 替代合成中间体 17

[0222] 步骤 1. 合成中间体 18

[0223]

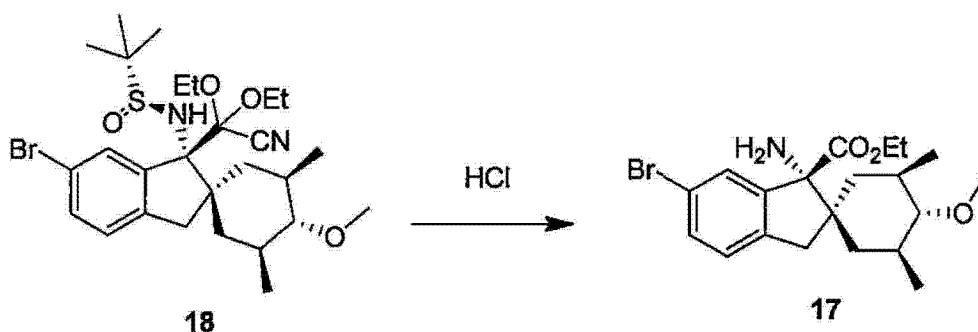


[0224] 将中间体 14 (5.00g, 11.4mmol)、二乙氧基乙腈 (3.5mL, 24.4mmol) 及 THF (50mL) 的混合物冷却至  $-7^{\circ}\text{C}$  且用 LDA (25.0mL, 45.0mmol, 1.8M 在 THF/庚烷/乙基苯中) 逐滴处理。在  $-7$  至  $-2^{\circ}\text{C}$  下搅拌混合物 2 小时, 且随后用水 (50mL) 及饱和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  水溶液 (25mL) 淬灭。添加己烷 (100mL) 且分离各层。用水、盐水洗涤有机层且在减压下浓缩, 得到粗中间体 18 (9.00g), 其直接用于下一步骤。

[0225] LC-MS (方法 1):  $t_R = 3.74$  分钟, MS (ESI)  $m/z$  523.2/525.2  $[\text{M}-\text{OEt}+\text{H}]^+$

[0226] 步骤 2. 合成中间体 17

[0227]

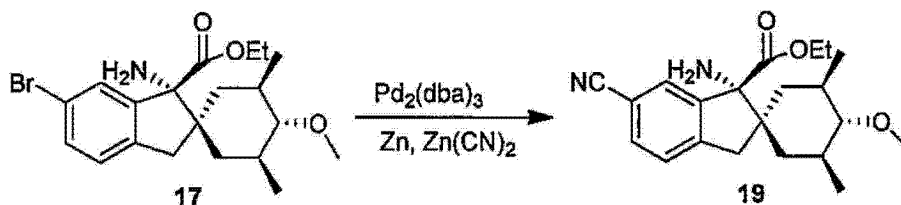


[0228] 用 HCl 水溶液 (6N, 20mL) 处理以上中间体 18 (9.00g, 11.4mmol) 于 EtOH (30mL) 中的混合物。在  $75^{\circ}\text{C}$  下加热反应混合物 24 小时且冷却至室温。以甲苯 (50mL) 萃取反应物, 且用 NaOH 水溶液 (2N, 约 60mL) 碱化水相 ( $\text{pH} = 8$ )。添加甲苯 (100mL) 且搅拌混合物 10 分钟。分离有机层且用  $\text{NaHCO}_3$  水溶液、盐水洗涤并在减压下浓缩。添加己烷且在减压下浓缩溶液, 得到粗中间体 17 (3.47g), 其直接用于下一步骤。

[0229] LC-MS:  $t_R = 0.86$  分钟, MS (ESI)  $m/z$  410.2/412.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0230] 步骤 6: 合成中间体 19

[0231]

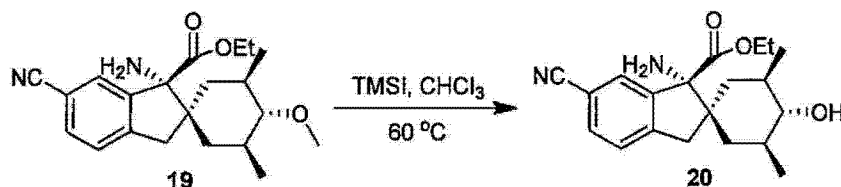


[0232] 在 CEM 微波反应器中将氮气下的化合物 17 (500mg, 1.9mmol)、 $\text{Zn}(\text{CN})_2$  (300mg, 2.6mmol)、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (150mg, 0.16mmol)、dppf (160mg, 0.32mmol) 及 Zn 粉 (60mg, 0.9mmol) 在 DMF (15mL) 中的混合物加热至  $120^\circ\text{C}$  后持续 3 小时。在真空下浓缩混合物且通过硅胶管柱 (洗脱剂: 石油醚: 乙酸乙酯: 20:1 至 8:1) 纯化残余物, 得到中间体 19 (300mg)。

[0233] LC-MS:  $t_{\text{R}} = 0.880$ ; MS (ESI)  $m/z$  308.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0234] 步骤 7: 合成中间体 20

[0235]

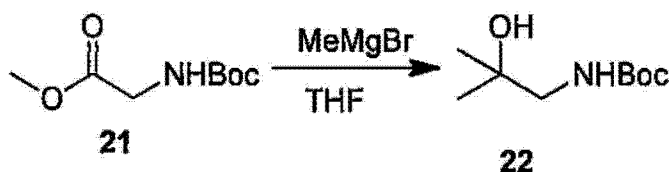


[0236] 向中间体 19 (3.1g, 7.4mmol) 在  $\text{CHCl}_3$  (20mL) 中的溶液中添加 TMSI (10mL) 且在  $65^\circ\text{C}$  下搅拌 2 小时。将混合物冷却至室温且添加饱和  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (10mL)、饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (10mL), 且搅拌混合物 10 分钟。将残余物分配于 DCM (40mL) 与  $\text{H}_2\text{O}$  (10mL) 之间。分离有机层且用盐水 (10mL) 洗涤, 经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  脱水, 过滤且在真空下浓缩, 得到粗中间体 20 (2.6g), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0237] 合成中间体 26

[0238] 步骤 1: 合成中间体 22

[0239]

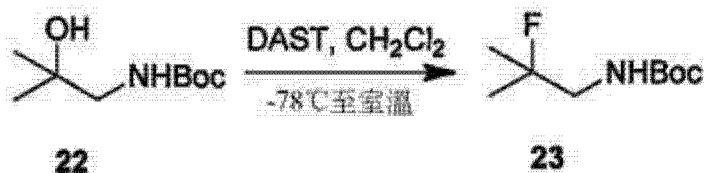


[0240] 在  $-30^\circ\text{C}$  下在  $\text{N}_2$  氛围下, 将中间体 21 (2.0g, 10.6mmol) 在无水 THF (20mL) 中的混合物添加至溴化甲基镁 (14mL, 42mmol, 3.0M 在  $\text{Et}_2\text{O}$  中) 中。在  $-30^\circ\text{C}$  下搅拌混合物 4 小时, 且随后通过在  $0^\circ\text{C}$  下在搅拌下添加  $\text{H}_2\text{O}$  (40mL) 及 HCl 水溶液 (1M, 50mL) 而淬灭。分离混合物, 且以  $\text{EtOAc}$  ( $2 \times 50\text{mL}$ ) 萃取水层。用盐水 ( $2 \times 50\text{mL}$ ) 洗涤合并的有机层, 脱水, 过滤且在真空下浓缩, 得到粗中间体 22 (2.1g), 其不经纯化即可直接用于下一步骤。

[0241]  $^1\text{H}$  NMR: ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.97 (br, 1H), 3.10 (s, 2H), 2.17 (br, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.20 (s, 6H)。

[0242] 步骤 2: 合成中间体 23

[0243]



[0244] 在  $-78^{\circ}\text{C}$  下在  $\text{N}_2$  氛围下, 向中间体 22 (3.0g, 15.9mmol) 在无水 DCM (50mL) 中的混合物中添加 DAST (2.3mL, 17.4mmol)。在  $-78^{\circ}\text{C}$  下搅拌混合物 1 小时, 且随后使其温至室温过夜。将混合物冷却至  $0^{\circ}\text{C}$  且通过在  $0^{\circ}\text{C}$  下在搅拌下缓慢添加饱和水层  $\text{NaHCO}_3$  (30mL) 而淬灭。分离混合物, 且用 DCM ( $2 \times 20\text{mL}$ ) 萃取水层。用盐水 ( $2 \times 30\text{mL}$ ) 洗涤合并的有机层, 脱水, 过滤且在真空下浓缩, 得到粗中间体 23 (2.5g), 其不经纯化即可直接用于下一步骤。

[0245]  $^1\text{H}$  NMR: ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.82 (br, 1H), 3.30–3.35 (d,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 1H), 3.24–3.26 (d,  $J = 6.0\text{Hz}$ , 1H), 1.44 (s, 9H), 1.37 (s, 3H), 1.35 (s, 3H)。

[0246]  $^{19}\text{F}$  NMR: ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -144.93。

[0247] 步骤 3: 合成中间体 24

[0248]



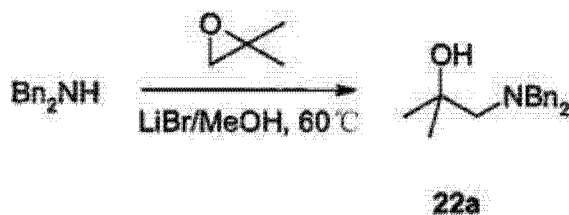
[0249] 在搅拌下向中间体 23 (2.0g, 10.5mmol, 粗) 在无水 DCM (10mL) 中的混合物中添加 HCl 的二噁烷溶液 (4M, 10mL, 40mmol)。在室温下搅拌混合物 2 小时, 在此时间之后在减压下移除溶剂。用 DCM-石油醚的混合物 (1:1,  $3 \times 10\text{mL}$ ) 处理残余物且收集沉淀物并在真空下干燥, 得到粗中间体 24 (1.1g), 其不经纯化即可直接用于下一步骤。

[0250]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  3.15–3.25 (d,  $J = 20.0\text{Hz}$ , 2H), 1.51 (s, 3H), 1.48 (s, 3H)。  $^{19}\text{F}$  NMR: ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -147.59。

[0251] 或者, 可根据以下程序由二苯甲基胺获得中间体 24:

[0252] 步骤 1: 合成中间体 22a

[0253]



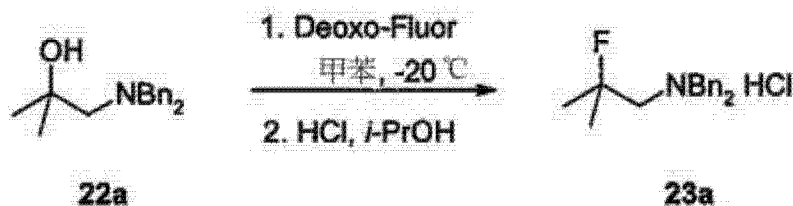
[0254] 在约 20 至  $25^{\circ}\text{C}$  下向 LiBr (1.66g, 19.06mmol, 0.2 当量) 于 MeOH (3.8mL) 中的浆料中添加  $\text{Bn}_2\text{NH}$  (18.80g, 95.30mmol, 1.0 当量)。以一定速率添加仲异丁基氧化物 (10.31g, 142.95mmol, 1.5 当量) 以维持温度低于  $65^{\circ}\text{C}$ 。添加完成之后, 在约  $60^{\circ}\text{C}$  下搅拌批料 6 小时。将该批料冷却至约  $20^{\circ}\text{C}$ , 且添加甲苯 (37.6mL) 及水 (18.8mL)。搅拌约 5 分钟之后, 分离各层。在真空下将有机相浓缩成油状物, 且添加甲苯并再次将溶液蒸馏成油状物。获得呈甲苯溶液形式的化合物 22a (33.88g, 75.1wt. %), 产率为 99% 且直接用于下一步骤。

[0255]  $^1\text{H}$  NMR: ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.11 (s, 6H), 2.42 (s, 1H), 2.56 (s, 2H), 3.70 (s, 4H),

7. 23-7. 35 (m, 10H)。

[0256] 步骤 2: 合成中间体 23a

[0257]



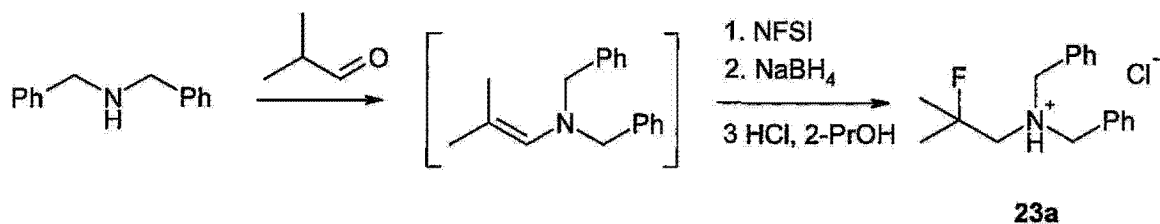
[0258] 将中间体 22a (10.32g, 75.1wt. %, 28.77mmol) 在无水甲苯 (40mL) 中的溶液冷却至  $-20^{\circ}\text{C}$ 。逐滴添加 Deoxo-Fluor (7.0g, 31.64mmol, 1.10 当量), 同时保持温度低于  $-10^{\circ}\text{C}$ 。在  $-20^{\circ}\text{C}$  至  $-10^{\circ}\text{C}$  下搅拌混合物 3 小时。随后通过添加 KOH 水溶液 (6.46g 的 85wt. % KOH 颗粒, 96.86mmol, 3.40 当量于 25.84g 水中) 使反应物淬灭, 同时保持温度低于  $10^{\circ}\text{C}$ 。将混合物温至室温且分离各层。用水 ( $3 \times 25\text{mL}$ ) 洗涤有机层。在真空下浓缩有机相且与庚烷一起重复蒸馏直至水含量  $<200\text{ppm}$ 。用庚烷 (25mL) 稀释粗产物且经硅胶垫 (8g 硅胶) 过滤。用庚烷 ( $2 \times 20\text{mL}$ ) 冲洗硅胶垫且将合并的庚烷滤液在真空下蒸馏至最小体积并与异丙醇一起重复蒸馏。添加异丙醇 (40mL) 且将溶液冷却至  $-10^{\circ}\text{C}$ 。添加氯化氢的异丙醇溶液 (8.3mL, 5.2N, 43.16mmol, 1.50 当量), 同时保持温度低于  $30^{\circ}\text{C}$ 。在 20 至  $25^{\circ}\text{C}$  下搅拌 1 小时之后, 将混合物加热至  $75^{\circ}\text{C}$  以得到澄清溶液且在此温度下保持 15 分钟。将混合物冷却至 20 至  $25^{\circ}\text{C}$  且在此温度下搅拌 2 至 3 小时。过滤固体, 用庚烷洗涤且在 20 至  $25^{\circ}\text{C}$  下在真空下干燥, 得到呈白色固体状的产物 (5.74g, 91wt. %), 产率为 65%。

[0259]  $^1\text{H NMR}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.31-1.35 (d,  $J = 21.5\text{Hz}$ , 6H), 3.35-3.38 (d,  $J = 18.8\text{Hz}$ , 2H), 4.39-4.45 (dd,  $J = 18.6\text{Hz}$ ,  $J = 3.5\text{Hz}$ , 4H), 7.50-7.62 (m, 10H)。

[0260]  $^{19}\text{F NMR}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -143.58。

[0261] 或者, 可根据以下程序由二苯甲基胺获得中间体 23a:

[0262]

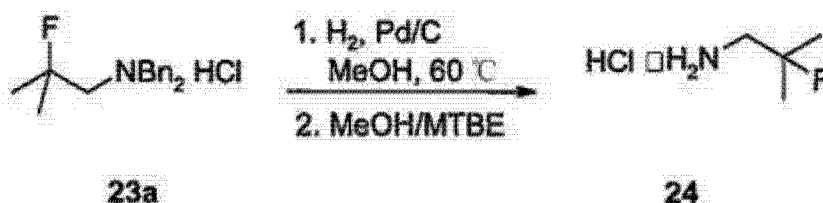


[0263] 向装配有迪恩-斯达克收集器 (Dean-Stark trap) 的反应容器 (预填充有异丁醛) 中装入二苯甲基胺 (40.06g, 203.06mmol)、异丁醛 (19.04g, 264.98mmol, 1.30 当量) 及甲苯 (20mL)。在氮气下将混合物加热至回流以在约 4 小时内移除水 (约 3.8mL), 同时使温度逐渐升至约  $115^{\circ}\text{C}$ 。随后在减压下蒸馏过量异丁醛及甲苯。将粗液体冷却至  $-10^{\circ}\text{C}$  且在低于  $20^{\circ}\text{C}$  下缓慢添加 N-氟苯磺酰亚胺 (NFSI, 76.84g, 243.67mmol, 1.20 当量) 于 N,N-二甲基乙酰胺 (100mL) 中的溶液。在室温下搅拌混合物直至完全转化 (5 至 20 小时)。将混合物冷却至  $0^{\circ}\text{C}$  且在低于  $20^{\circ}\text{C}$  下添加  $\text{NaBH}_4$  (4.22g, 111.68mmol, 0.55 当量) 于 N,N-二甲基乙酰胺 (48mL) 中的溶液。添加之后, 在室温下搅拌混合物 2.5 小时。将混合物冷却至  $10^{\circ}\text{C}$  且缓慢添加 NaOH (10.56g, 263.98, 1.50 当量) 于水 (40mL) 中的溶液 (释放气体), 随后添

加 200mL 水。在室温下搅拌混合物 0.5 小时,且以庚烷 (250mL) 萃取。用水 (2×150mL) 洗涤有机层且在正常压力下蒸馏 (高达 115℃)。添加 2-丙醇 (150mL) 且蒸馏混合物以移除溶剂 (50mL)。在约 30℃ 下乙酸酐 (2.07g, 20.29mmol, 0.10 当量) 且搅拌 0.5 小时。在约 30℃ 下向混合物中添加 4.5M HCl 的 2-丙醇溶液 (54mL, 243.67mmol, 1.20 当量)。在 60℃ 下搅拌所得悬浮液 1 小时且随后在 1 小时内冷却至 20℃。过滤固体,用 2-丙醇 (50mL) 冲洗且干燥,得到白色固体 (23a) (47.46g, 97.7% 纯度),产率为 74%。

[0264] 步骤 3:合成中间体 24

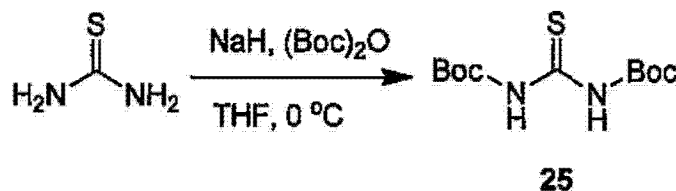
[0265]



[0266] 向氢化容器中装入 10% 碳上钯 (用水湿润 50%, 0.53g, 0.25mmol, 0.01 当量)、23a (8.74g, 89.5wt. %, 25.41mmol, 1.00 当量) 及甲醇 (24mL)。在 60℃ 及 400psi H<sub>2</sub> 下使混合物氢化 5 至 8 小时。在冷却至 20 至 25℃ 之后,经硅藻土垫过滤混合物,且用 MeOH 冲洗该垫。在 50℃ 下在真空下将溶剂蒸馏至 4 至 5mL 体积。在搅拌下向批料中逐滴添加 MTBE (25mL) 以形成浆料。在 50℃ 下搅拌 30 分钟之后,使批料冷却至 20 至 25℃,在此温度下保持 1 小时且过滤。用 MTBE 冲洗固体且随后在 25℃ 下在真空下干燥 4 小时。获得呈白色固体状的化合物 24 (3.24g, 96wt. %),产率为 96%。<sup>1</sup>H NMR: (CD<sub>3</sub>OD): δ 1.44–1.49 (d, J = 21.2Hz, 6H), 3.13–3.18 (d, J = 19.7Hz, 2H)。<sup>19</sup>F NMR: (CDCl<sub>3</sub>): δ -147.55。

[0267] 步骤 4:合成中间体 25

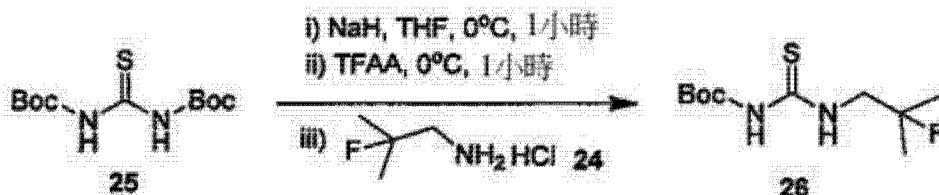
[0268]



[0269] 在 0℃ 下在氩气下,向经搅拌的硫脲 (23.0g, 302mmol) 于 THF (5.0L) 中的混合物中添加 NaH (29.9g, 755mmol, 60% 于矿物油中)。在 5 分钟之后,移除冰浴,且在室温下搅拌反应混合物 10 分钟。将混合物冷却至 0℃ 且添加 Boc<sub>2</sub>O (138g, 635mmol)。在彼温度下搅拌 30 分钟之后移除冰浴。在室温下再搅拌所得浆料 2 小时。用饱和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (500mL) 使反应物淬灭且倾入水 (5.0L) 中并以 EtOAc (3×2.0L) 萃取。将合并的有机层经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水,过滤且在减压下浓缩,得到中间体 25 (80.0g),其不经进一步纯化即可用于下一步骤。LCMS (方法 1): t<sub>R</sub> = 1.15 分钟, MS (ESI) m/z 575.2 [2M+Na]<sup>+</sup>。

[0270] 步骤 5:合成中间体 26

[0271]



[0272] 在 0 °C 下向中间体 25 (3.9g, 14.2mmol) 与无水 THF (285mL) 的混合物中添加 NaH (0.68g, 17.0mmol, 60% 于矿物油中) 且搅拌混合物 1 小时, 随后添加 TFAA (2.20mL, 15.6mmol) 且继续再搅拌 1 小时。添加中间体 24 (2.0g, 15.6mmol) 与 Et<sub>3</sub>N (3.96mL, 28.40mmol) 于无水 THF (130mL) 中的预混混合物且在室温下搅拌所得混合物过夜。添加水 (150mL) 以使反应物淬灭且以 EtOAc (3×200mL) 萃取混合物。将合并的有机层脱水, 过滤且在减压下移除溶剂。通过硅胶急骤管柱层析 (洗脱剂: 石油醚: 乙酸乙酯 50:1 至 8:1) 纯化残余物, 得到中间体 26 (2.49g)。

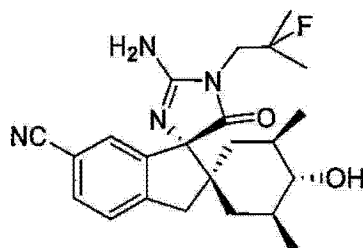
[0273] LC-MS (方法 1):  $t_R = 1.08$  分钟, MS (ESI)  $m/z$  194.8 [M-55]<sup>+</sup>。

[0274] <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  3.88–3.93 (m, 2H), 1.53 (s, 9H), 1.43 (s, 3H), 1.38 (s, 3H)

[0275] <sup>19</sup>F NMR (CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  -144.15

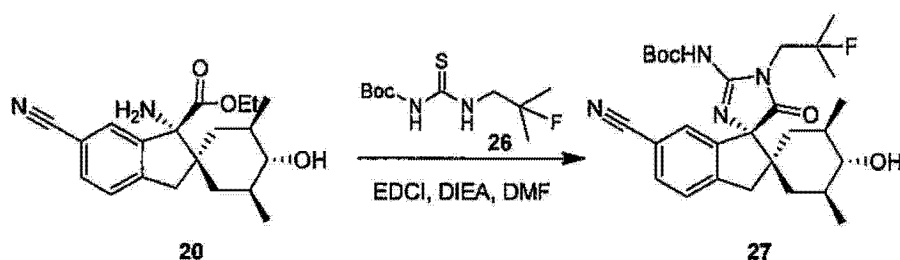
[0276] 实施例 2

[0277]



[0278] 步骤 1: 合成中间体 27

[0279]

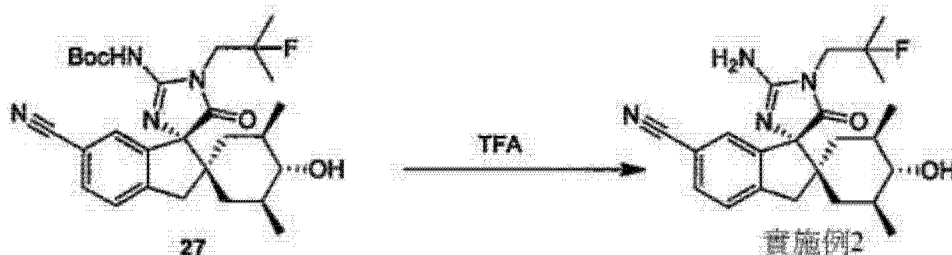


[0280] 向中间体 20 (550mg, 1.61mmol) 于 DMF (5mL) 中的溶液中添加中间体 26 (425mg, 1.69mmol)、EDCI (614mg, 3.22mmol) 及 DIEA (416mg, 3.22mmol)。在室温下搅拌混合物 36 小时。依次添加 EtOAc (200mL)、水 (20mL) 且搅拌混合物 10 分钟。分离有机层且用水 (3×20mL)、盐水 (3×50mL) 洗涤, 干燥且在减压下移除溶剂, 得到粗产物。通过管柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯: 5:1) 纯化残余物, 得到中间体 27 (547mg)。

[0281] LC-MS:  $t_R = 1.14$ ; MS (ESI)  $m/z$  513.3 [M+H]<sup>+</sup>。

[0282] 步骤 2: 合成实施例 2

[0283]



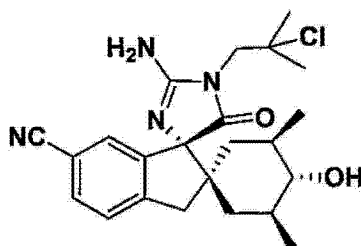
[0284] 向中间体 27 (400mg, 0.56mmol) 于 DCM (5mL) 中的混合物中添加 TFA (1mL) 且在室温下搅拌混合物 2 小时。向此混合物中添加饱和  $\text{NaHCO}_3$  溶液 (10mL) 且搅拌 10 分钟。将混合物分配于 DCM (10mL) 与  $\text{H}_2\text{O}$  (10mL) 之间。分离有机层且用盐水 (10mL) 洗涤, 经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  脱水且在减压下浓缩。通过制备型 HPLC (碱性方法 1) 及 SFC 方法 A 纯化残余物, 得到化合物 实施例 2 (303.9mg)。

[0285] LC-MS (方法 1):  $t_R = 0.90$  分钟, MS (ESI)  $m/z$  413.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0286]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.63-7.65 (dd,  $J = 8.0, 1.6\text{Hz}$ , 1H), 7.49-7.51 (d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.30 (s, 1H), 3.69-3.76 (m, 2H), 3.26-3.30 (m, 1H), 3.15-3.19 (m, 1H), 2.55-2.59 (t,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 1H), 1.79-1.84 (m, 1H), 1.27-1.63 (m, 11H), 1.03-1.09 (t,  $J = 12.0\text{Hz}$ , 1H), 1.00-1.01 (t,  $J = 4.0\text{Hz}$ , 3H), 0.96-0.97 (d,  $J = 4.0\text{Hz}$ , 3H)。  $^{19}\text{F NMR}$ : ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  -139.5。

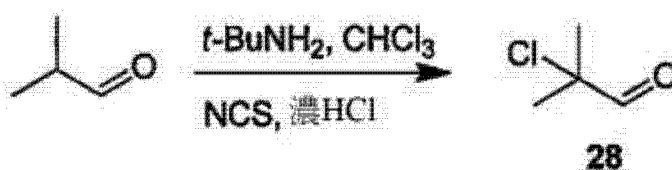
[0287] 实施例 3

[0288]



[0289] 步骤 1: 合成中间体 28

[0290]

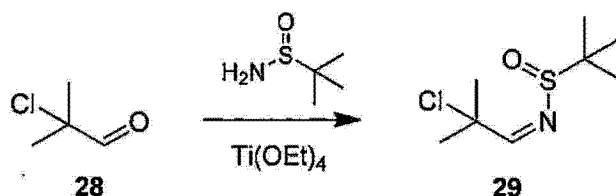


[0291] 在  $0^\circ\text{C}$  下将 2-甲基丙醇 (9.3g, 129mmol) 添加至  $t\text{-BuNH}_2$  (4.75g, 129mmol) 中且在室温下搅拌 2 小时。向此混合物中添加  $\text{CHCl}_3$  (130mL), 且将混合物经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  脱水并过滤。在  $0^\circ\text{C}$  下向所得溶液中添加 NCS (18.20g, 136mmol), 随后在室温下搅拌 5 小时。将水 (100mL) 倾入反应混合物中且以  $\text{CHCl}_3$  ( $3 \times 100\text{mL}$ ) 萃取混合物。用水 (200mL) 洗涤合并的有机层, 脱水且在减压下浓缩。向所得残余物中添加浓 HCl。在室温下搅拌混合物 5 小时, 且添加饱和  $\text{NaHCO}_3$  (200mL)。以  $\text{CHCl}_3$  萃取产物且在大气压下蒸馏残余物, 获得中间体 28 (2g)。

[0292]  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.44 (s, 1H), 1.65 (s, 6H)。

[0293] 步骤 2: 合成中间体 29

[0294]

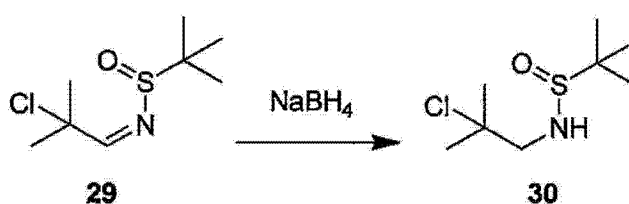


[0295] 向中间体 28 (1.06g, 10mmol) 与乙醇钛 (IV) (2.72mL, 12mmol) 在无水 THF (22mL) 中的混合物中添加 (±)N-叔丁基亚磺酰胺 (1.21g, 9mmol)。在 N<sub>2</sub> 氛围下在回流下搅拌所得混合物 4 小时。冷却反应混合物且添加水 (20mL)。过滤所得混合物且以乙酸乙酯 (3×20mL) 萃取水层。将合并的有机相经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水且在减压下浓缩, 得到中间体 29 (1g)。

[0296] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.94 (s, 1H), 1.71 (s, 6H), 1.14 (s, 9H)。

[0297] 步骤 3: 合成中间体 30

[0298]

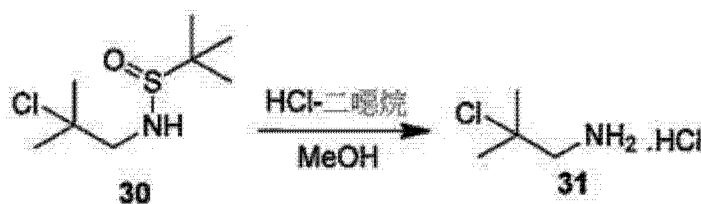


[0299] 在 0 °C 下向中间体 29 (0.7g, 3.33mmol) 在无水 THF (5mL) 中的溶液中添加 NaBH<sub>4</sub> (0.25g, 6.66mmol)。在室温下搅拌反应混合物 16 小时, 用饱和 NH<sub>4</sub>Cl 溶液 (5mL)、KHCO<sub>3</sub> 水溶液 (20mL) 及 EtOAc (20mL) 使反应物淬灭。以 EtOAc (2×20mL) 萃取水层。将合并的有机层脱水且在减压下浓缩, 得到粗中间体 30 (260mg), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0300] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 3.40–3.45 (m, 1H), 3.11–3.17 (m, 1H), 1.55–1.57 (m, 6H), 1.23 (s, 9H)。

[0301] 步骤 4: 合成中间体 31

[0302]



[0303] 向中间体 30 (450mg, 2.12mmol) 在无水 MeOH (3mL) 中的混合物中添加 HCl 的二噁烷溶液 (4M, 2mL)。在室温下搅拌所得混合物 2 小时。在减压下移除溶剂, 得到粗产物 31, 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0304] 以类似于实施例 1 的方式, 在步骤 10 中使用中间体 31 来合成实施例 3。

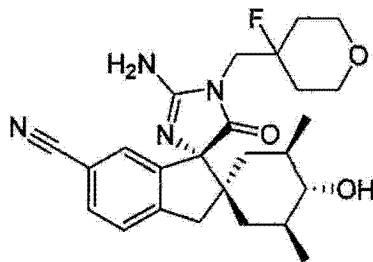
[0305] LC-MS (方法 1): t<sub>R</sub> = 0.86 分钟, MS (ESI) m/z 429.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0306] <sup>1</sup>H NMR: (CD<sub>3</sub>OD): δ 7.60–7.62 (d, J = 7.6Hz, 1H), 7.45–7.47 (d, J = 7.6Hz, 1H), 7.27 (s, 1H), 3.76–3.85 (m, 2H), 3.11–3.25 (m, 2H), 2.51–2.56 (m, 1H), 1.57–1.58 (d, J = 4.0Hz, 1H), 1.42–1.52 (m, 9H), 1.23–1.26 (m, 1H), 1.03–1.09 (m, 1H), 0.97–0.99 (m, 3H), 0.93–0.94 (m, 3H) ppm。

[0307] 实施例 4

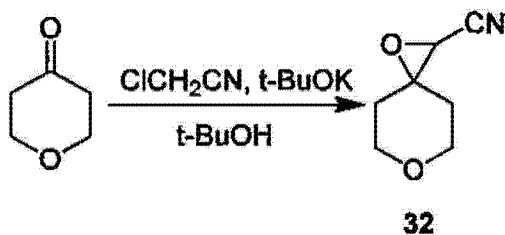


[0308]



[0309] 步骤 1 : 合成中间体 32

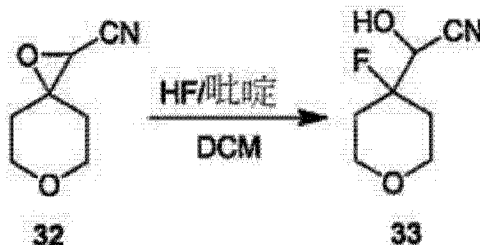
[0310]



[0311] 搅拌二氢-2H-吡喃-4(3H)-酮 (50.0g, 500mmol) 与 2-氯乙腈 (35.0g, 350mmol) 在叔丁醇 (50mL) 中的混合物 30 分钟。经 40 分钟向此混合物中添加 t-BuOK (60g, 550mmol) 于叔丁醇 (500mL) 中的溶液。在室温下搅拌反应混合物 16 小时。将其用水 (100mL) 稀释且用 HCl (10% 水溶液, 20mL) 淬灭。将反应混合物浓缩至其初始体积的三分之一, 且以 Et<sub>2</sub>O (3×200mL) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 脱水且浓缩, 得到粗中间体 32 (57g), 其不经纯化即可直接用于下一步骤。

[0312] 步骤 2 : 合成中间体 33

[0313]

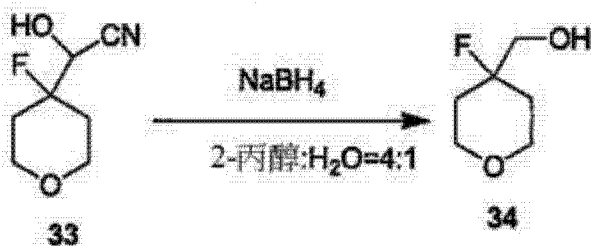


[0314] 在 0℃ 下, 在聚丙烯瓶中向中间体 32 (57g) 于 DCM (200mL) 中的混合物中缓慢添加 70% 氟化氢-吡啶 (50mL)。使混合物温至室温过夜。用 EtOAc (500mL) 稀释反应混合物且倾入饱和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (200mL) 中。使用额外固体 NaHCO<sub>3</sub> 小心中和混合物直至停止鼓泡。以 EtOAc (3×500mL) 萃取水层。用 HCl 水溶液 (1%, 200mL)、盐水洗涤合并的有机层, 脱水且浓缩, 得到粗中间体 33 (54g), 其不经纯化即可直接用于下一步骤。

[0315] <sup>1</sup>H NMR: (CDCl<sub>3</sub>): δ 4.37 (m, 2H), 3.96–2.70 (m, 4H), 1.97–1.81 (m, 4H)。

[0316] 步骤 3 : 合成中间体 34

[0317]

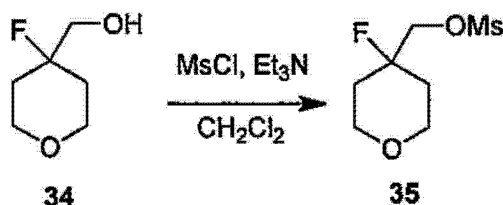


[0318] 在 0℃ 下向中间体 33 (54g : 340mmol) 在 2-丙醇 (1000mL) 及水 (250mL) 中的混合物中添加 NaBH<sub>4</sub> (20g, 509mmol)。搅拌混合物且经 3 小时使其温至室温。用丙酮 (50mL) 使反应物淬灭且再搅拌 1 小时。通过倾析自固体分离澄清液体。使用 EtOAc (100mL) 洗涤固体, 且合并滤液。在减压下浓缩合并的有机溶液且通过硅胶急骤管柱层析 (含 5-20% 乙酸乙酯的己烷) 纯化, 得到中间体 34 (22g)。

[0319] <sup>1</sup>H NMR: (CDCl<sub>3</sub>): δ : 3.82-3.77 (m, 4H), 3.72-3.52 (dd, J = 20.8, 6.4Hz, 2H), 2.69 (s, 1H), 1.82-1.60 (m, 4H)。

[0320] 步骤 4 : 合成中间体 35

[0321]

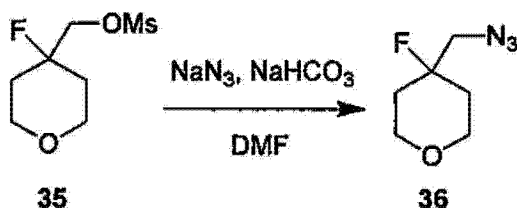


[0322] 在 0℃ 下将 MsCl (25.8g, 225mmol) 添加至中间体 34 (20g, 150mmol) 与 TEA (22.7g, 225mmol) 于 DCM (200mL) 中的混合物中。在室温下搅拌混合物 2 小时, 且随后添加水 (100mL)。以 DCM (2×200mL) 萃取水层, 合并有机相, 脱水且在减压下移除溶剂, 得到粗中间体 35 (30g), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0323] <sup>1</sup>H NMR: (CDCl<sub>3</sub>): δ : 4.22 (d, J = 20.0Hz, 2H), 3.87-3.82 (m, 4H), 3.06 (s, 3H), 1.88-1.68 (m, 4H)。

[0324] 步骤 5 : 合成中间体 36

[0325]



[0326] 在室温下向中间体 35 (10g, 47mmol) 于 DMF (150mL) 中的混合物中添加 NaN<sub>3</sub> (16g, 250mmol) 及 NaHCO<sub>3</sub> (9.3g, 100mmol)。在 120℃ 下搅拌混合物 20 小时。在室温下用水使反应物淬灭, 以 EtOAc (2×200mL) 萃取。合并有机相, 脱水且在真空下移除溶剂, 得到粗中间体 36 (8g), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0327] 步骤 6 : 合成中间体 37

[0328]



[0329] 在  $\text{N}_2$  氛围下向中间体 36 (8g, 50mmol) 于 EtOAc (100mL) 中的混合物中添加 10% Pd/C (0.8g), 使混合物除气且与氢气交换 3 次。在室温下在 1 个大气压氢气氛围下搅拌最终混合物 24 小时。经硅藻土垫滤除催化剂且用 EtOAc ( $2 \times 50\text{mL}$ ) 洗涤。在减压下浓缩合并的滤液, 得到中间体 37 (5.3g)。

[0330]  $^1\text{H}$  NMR: ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  3.83-3.79 (m, 4H), 2.76-2.71 (d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 2H), 1.83-1.65 (m, 4H)。

[0331]  $^{19}\text{F}$  NMR: ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  : -169.66。

[0332] 以类似于实施例 1 的方式, 在步骤 10 中使用中间体 37 来合成实施例 4。

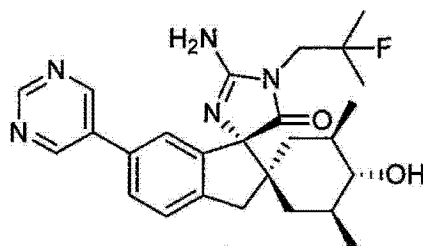
[0333] LC-MS (方法 1):  $t_{\text{R}} = 0.80$  分钟, MS (ESI)  $m/z$  455.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0334]  $^1\text{H}$ -NMR: ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.61-7.63 (d,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.47-7.49 (d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.30 (s, 1H), 3.63-3.83 (m, 6H), 3.23-3.27 (m, 1H), 3.12-3.16 (m, 1H), 2.52-2.57 (t,  $J = 10.0\text{Hz}$ , 1H), 1.48-1.82 (m, 7H), 1.38-1.44 (t,  $J = 12.0\text{Hz}$ , 1H), 1.23-1.28 (m, 1H), 0.97-1.05 (m, 4H), 0.94-0.95 (d,  $J = 4.0\text{Hz}$ , 3H)。

[0335]  $^{19}\text{F}$  NMR: ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  -160.48

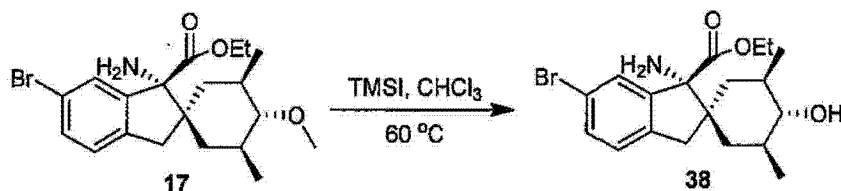
[0336] 实施例 5

[0337]



[0338] 步骤 1: 合成中间体 38

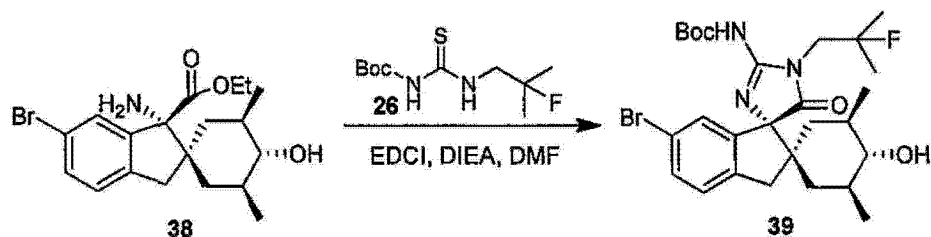
[0339]



[0340] 向中间体 17 (3.6g, 7.4mmol) 于  $\text{CHCl}_3$  (25mL) 中的溶液中添加 TMSI (10mL) 且在  $65^\circ\text{C}$  下搅拌混合物 2 小时。将混合物冷却至室温, 添加饱和  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (10mL) 及饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (10mL), 且搅拌混合物 10 分钟。将混合物分配于 DCM (50mL) 与  $\text{H}_2\text{O}$  (10mL) 之间。分离有机层且用盐水 (10mL) 洗涤, 经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  脱水, 过滤且在减压下浓缩, 得到粗中间体 38 (2.6g), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0341] 步骤 2: 合成中间体 39

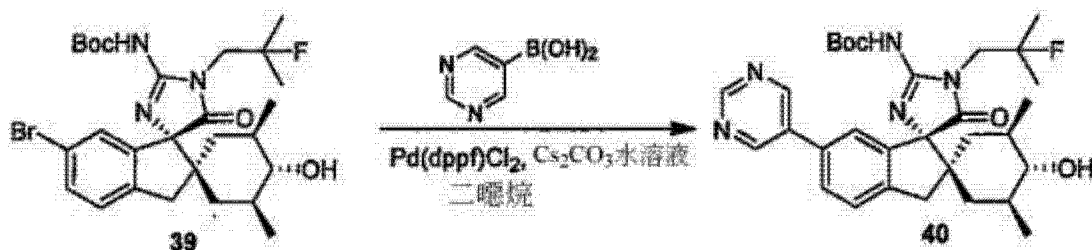
[0342]



[0343] 向中间体 38 (2.5g, 6.4mmol) 于 DMF (20mL) 中的混合物中添加中间体 26 (1.8g, 7.0mmol, 1.1 当量)、EDCI (2.5g, 13mmol) 及 DIEA (1.7g, 13mmol)。搅拌混合物过夜。用水稀释反应混合物且以 EtOAc (3×30mL) 萃取。用盐水 (3×30mL) 洗涤合并的有机层, 脱水, 在减压下移除溶剂, 得到粗产物, 其通过管柱 (石油醚: 乙酸乙酯 = 20:1 至 5:1) 纯化, 得到中间体 39 (2.8g)。

[0344] 步骤 3: 合成中间体 40

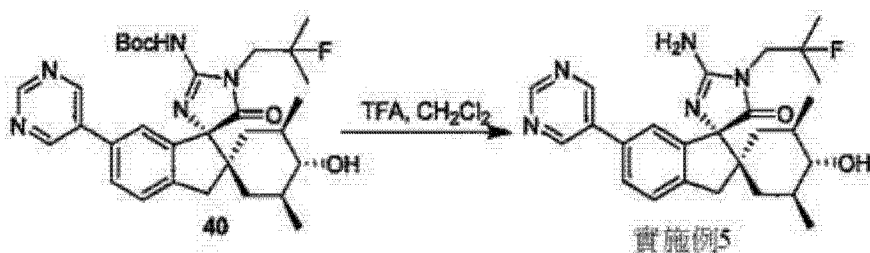
[0345]



[0346] 在  $N_2$  氛围下, 向中间体 39 (350mg, 0.6mmol) 于二噁烷 (5mL) 中的溶液中添加 5-嘧啶硼酸 (90mg, 0.66mmol) 及  $Cs_2CO_3$  水溶液 (2mL, 2M 于水中)。通过  $N_2$  蒸汽鼓泡来净化混合物持续 5 分钟, 随后添加  $Pd(dppf)Cl_2$  (40mg, 0.06mmol)。在 110℃ 下在  $N_2$  氛围下搅拌混合物 2 小时。将反应物冷却至室温, 用 EtOAc 稀释且过滤。用  $Na_2CO_3$  水溶液 (5mL) 洗涤滤液且在减压下浓缩, 得到粗中间体 40 (300mg), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0347] 步骤 4: 合成实施例 5

[0348]



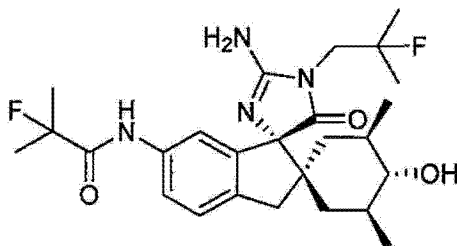
[0349] 向中间体 40 (300mg, 0.53mmol) 于 DCM (5mL) 中的溶液中添加 TFA (1mL) 且在室温下搅拌混合物 2 小时。向此混合物中添加饱和  $NaHCO_3$  溶液 (10mL) 且搅拌 10 分钟。将残余物分配于 DCM (10mL) 与  $H_2O$  (10mL) 之间。分离有机层且用盐水 (10mL) 洗涤, 经  $Na_2SO_4$  脱水, 过滤且在减压下浓缩。通过制备型 HPLC (碱性, 方法 1) 纯化残余物, 得到实施例 5 (141mg)。

[0350] LC-MS (方法 1): MS (ESI)  $m/z$  466.2  $[M+H]^+$ .  $^1H$  NMR: ( $CD_3OD$ ):  $\delta$  9.12 (s, 1H), 9.02 (s, 2H), 7.64–7.62 (dd,  $J = 7.6, 1.6$ Hz, 1H), 7.51 (d,  $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 3.80–3.66 (m, 2H), 3.30–3.13 (m, 2H), 2.59 (t,  $J = 10.0$ Hz, 1H), 1.85 (d,  $J = 12.4$ Hz, 1H), 1.65–1.32 (m, 10H), 1.11–1.05 (m, 1H), 1.02 (d,  $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.02 (d,  $J = 6.4$ Hz, 3H).  $^{19}F$

NMR: (CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  -139.27。

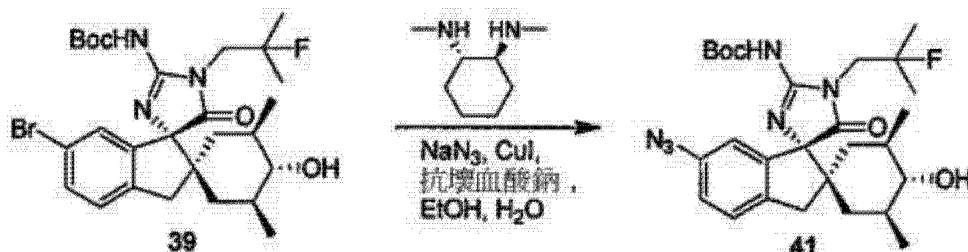
[0351] 实施例 6

[0352]



[0353] 步骤 1:合成中间体 41

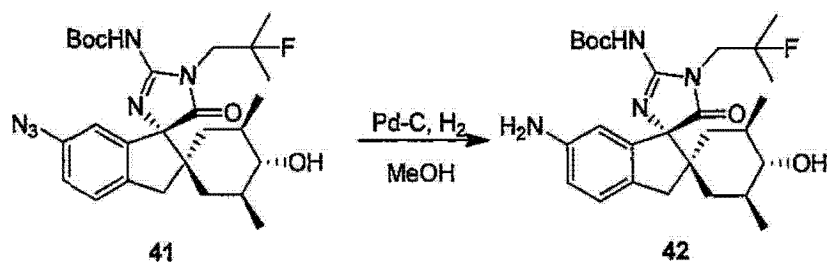
[0354]



[0355] 在 N<sub>2</sub> 氛围下向中间体 39 (1.0g, 1.8mmol) 在乙醇 (23mL) 及水 (10mL) 中的混合物中添加 NaN<sub>3</sub> (300mg, 3.6mmol)、CuI (40mg, 10%)、抗坏血酸钠 (40mg, 0.20mmol, 5%) 及 N, N'-二甲基-环己烷-1,2-二胺 (40mg, 0.28mmol, 15%)。在 90℃ 下在 N<sub>2</sub> 氛围下搅拌混合物 3 小时。将混合物冷却至室温, 用 EtOAc 稀释且过滤。浓缩滤液, 得到粗中间体 41 (830mg), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0356] 步骤 2:合成中间体 42

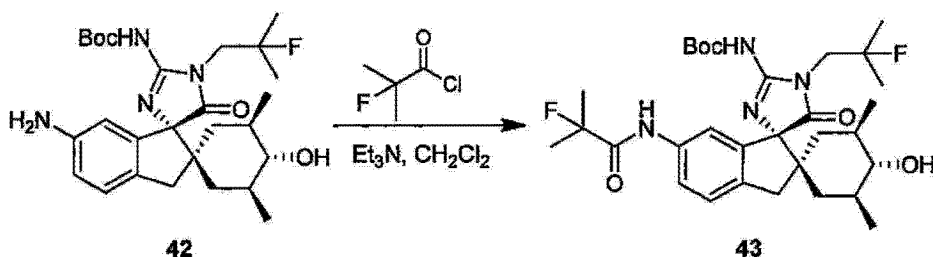
[0357]



[0358] 在氮气氛围下向中间体 41 (830mg, 1.6mmol) 于 MeOH (10mL) 中的混合物中添加 10% Pd/C (0.1g), 使混合物除气且与氢气交换 3 次。在室温下在 1 个大气压氢气氛围下搅拌混合物 4 小时。经硅藻土垫过滤混合物且用 EtOAc (2×10mL) 洗涤。在减压下浓缩合并的滤液及洗涤液, 得到中间体 42 (0.7g), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。LC-MS (方法 1):  $t_R$  = 0.99 分钟, MS (ESI)  $m/z$  503.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0359] 步骤 3:合成中间体 43

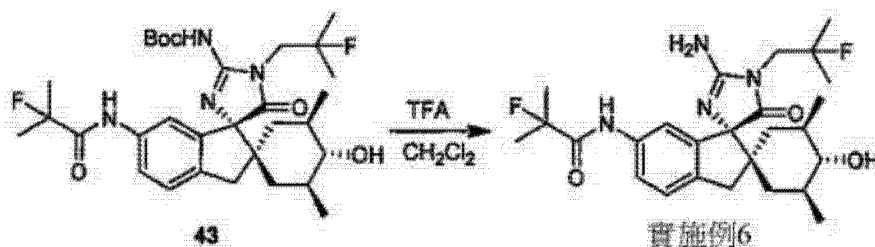
[0360]



[0361] 向中间体 42 (350mg, 0.7mmol) 于 DCM (5mL) 中的混合物中添加 Et<sub>3</sub>N (0.2mL, 1.2mmol, 2.0 当量) 及 2-氟-2-甲基丙酰氯 (150mg, 2mmol)。在室温下搅拌混合物 3 小时。用水使反应物淬灭且以 DCM (2×10mL) 萃取。用盐水 (3×15mL) 洗涤合并的有机层, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水且在减压下移除溶剂, 得到粗中间体 43 (320mg), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0362] 步骤 4: 合成实施例 6

[0363]



[0364] 向中间体 43 (320mg, 0.54mmol) 在 DCM (5mL) 中的混合物中添加 TFA (1mL) 且在室温下搅拌混合物 2 小时。用饱和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (10mL) 使反应物淬灭。将混合物分配于 DCM (10mL) 与 H<sub>2</sub>O (10mL) 之间。分离有机层且用盐水洗涤 (10mL), 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水, 过滤且在减压下浓缩。通过制备型 HPLC (碱性方法 1) 纯化残余物, 得到实施例 6 (179.9mg)。

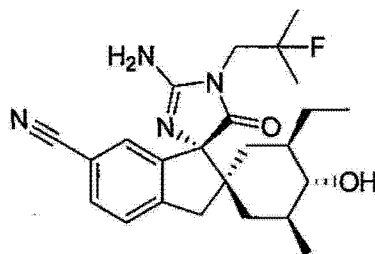
[0365] LC-MS (方法 1): LC-MS  $t_R$  = 0.86 分钟, MS (ESI)  $m/z$  491.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0366] <sup>1</sup>H NMR: (CD<sub>3</sub>OD): δ 7.42 (m, 1H), 7.30 (m, 2H), 3.78-3.71 (m, 2H), 3.17-3.05 (m, 2H), 2.59 (t, J = 10.0Hz, 1H), 1.80 (d, J = 12.0Hz, 1H), 1.64-1.53 (m, 8H), 1.42-1.34 (m, 8H), 1.08-0.96 (m, 7H)。

[0367] <sup>19</sup>F NMR: (CD<sub>3</sub>OD): δ -138.95, -147.61。

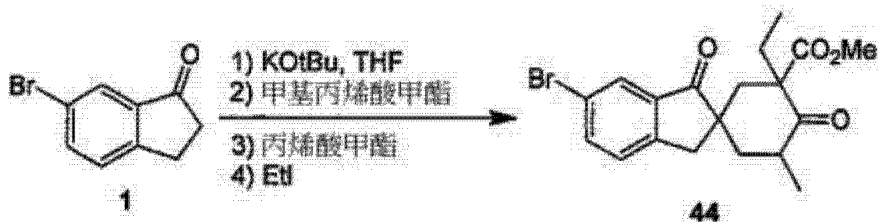
[0368] 实施例 7

[0369]



[0370] 步骤 1: 合成中间体 44

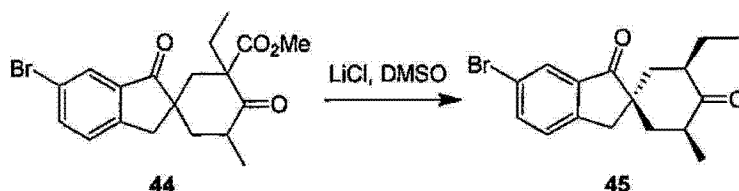
[0371]



[0372] 在 0℃ 下向 6-溴-二氢茚-1-酮 (100.0g, 0.48mol) 溶解于 THF (2.0L, 0.24M) 中的溶液中整份添加 *t*-BuOK (64.0g, 0.57mol)。在 0℃ 下搅拌反应物 5 分钟且在室温下再搅拌 10 分钟。整份添加甲基丙烯酸甲酯 (56.0mL, 0.53mol)。30 分钟之后, 整份添加丙烯酸甲酯 (52.0mL, 0.57mol) 且搅拌混合物过夜。向此反应混合物中添加 DMF (260mL, 1.8M) 及 EtI (76.0mL, 0.96mol) 且搅拌混合物过夜。用饱和柠檬酸水溶液 (200mL) 使反应物淬灭且分离有机层。在减压下移除 EtOAc 且用 H<sub>2</sub>O (3L) 稀释粗物质并以 EtOAc (3×3L) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水, 过滤且在减压下移除溶剂, 得到粗中间体 44 (200g), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0373] 步骤 2: 合成中间体 45

[0374]

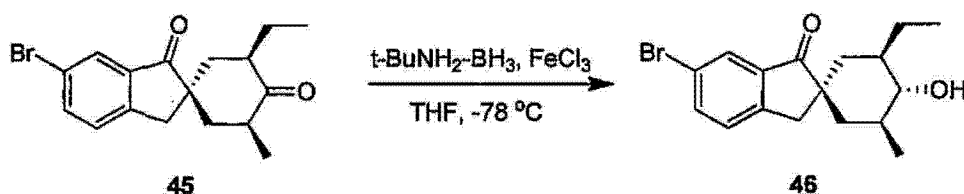


[0375] 将中间体 44 (200.0g, 0.51mol) 与 DMSO (1.0L, 0.5M) 混合且添加 LiCl (215.0g, 5.1mol)。将混合物加热至 120℃ 后持续 4 天。在真空下浓缩混合物。将残余物溶解于 EtOAc 中, 过滤且浓缩滤液。通过硅胶管柱层析 (石油醚:EtOAc = 30:1) 纯化残余物, 得到粗中间体。将该中间体溶解于少量 MeOH 中, 且添加 NaOMe 的 MeOH 溶液 (30%, 20mL)。20 分钟之后, 过滤混合物, 得到中间体 45 (40g)。

[0376] <sup>1</sup>H-NMR: (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.93 (d, *J* = 1.6Hz, 1H), 7.77 (dd, *J* = 10.8, 2.4Hz, 1H), 7.42-7.45 (d, *J* = 10.8Hz, 1H), 3.34 (s, 2H), 2.60-2.70 (m, 1H), 2.36-2.47 (m, 1H), 1.76-1.99 (m, 5H), 1.21-1.30 (m, 1H), 1.07 (d, *J* = 8.8Hz, 3H), 0.90 (t, *J* = 9.6Hz, 3H) ppm。

[0377] 步骤 3: 合成中间体 46

[0378]

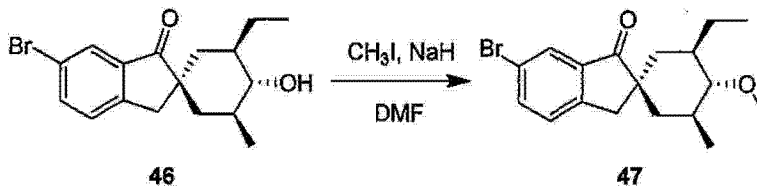


[0379] 通过类似于实施例 1 的步骤 2 中所述的方法, 由中间体 45 合成中间体 46。

[0380] <sup>1</sup>H-NMR: (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.81 (d, *J* = 1.8Hz, 1H), 7.63 (dd, *J* = 8.1, 2.1Hz, 1H), 7.42-7.45 (d, *J* = 8.4Hz, 1H), 3.34 (s, 2H), 2.60-2.70 (m, 1H), 2.36-2.47 (m, 1H), 1.76-1.99 (m, 5H), 1.21-1.30 (m, 1H), 1.07 (d, *J* = 7.2Hz, 3H), 0.90 (t, *J* = 7.5Hz, 3H) ppm。

[0381] 步骤 4: 合成中间体 47

[0382]

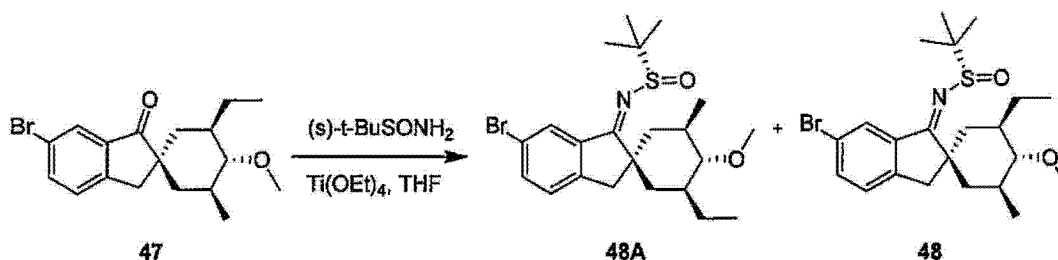


[0383] 在 0℃ 下向中间体 46 (30.0g, 0.08mol) 于 DMF (500mL) 中的溶液中添加 NaH (8.0g, 0.16mol)。在 0℃ 下搅拌混合物 30 分钟, 且随后添加 MeI (25.0mL, 0.4mol) 并在室温下搅拌混合物过夜。用 H<sub>2</sub>O (100mL) 使混合物淬灭, 以 EtOAc (3×300mL) 萃取。浓缩有机层且通过管柱层析 (石油醚/EtOAc = 20/1) 纯化, 得到中间体 47 (22.0g)。

[0384] <sup>1</sup>H-NMR: (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.81 (d, J = 1.8Hz, 1H), 7.63 (m, J = 8.1, 1.8Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.1Hz, 1H), 3.41 (s, 3H), 2.91 (s, 2H), 2.46–2.52 (m, 1H), 1.75–1.79 (m, 1H), 1.59–1.62 (m, 1H), 1.29–1.47 (m, 5H), 1.08–1.15 (m, 1H), 0.98 (d, J = 6.3Hz, 3H), 0.78 (t, J = 7.5Hz, 3H)。

[0385] 步骤 5: 合成中间体 48

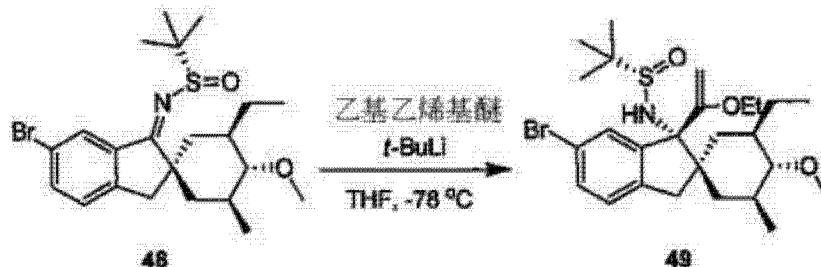
[0386]



[0387] 在室温下搅拌中间体 47 (22.0g, 0.06mol) 与乙醇钛 (IV) (130mL, 0.62mol) 在无水 THF (400mL) 中的混合物 1 小时。添加 (S)-N-叔丁基亚磺酰胺 (30.0g, 0.25mol) 且在 80℃ 下在 N<sub>2</sub> 下搅拌所得混合物过夜。冷却反应混合物且添加水 (200mL)。过滤混合物且以 EtOAc (3×400mL) 萃取水层。将合并的有机层经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水且在减压下浓缩。通过硅胶管柱层析 (石油醚:EtOAc = 20:1) 纯化残余物, 分别得到中间体 48A (7.0g) 及 48 (10.0g)。

[0388] 步骤 6: 合成中间体 49

[0389]



[0390] 在 -78℃ 下经 20 分钟向乙氧基-乙烯 (4.7mL, 49.5mmol) 在无水 THF (50mL) 中的混合物中逐滴添加 t-BuLi (38.0mL, 49.5mmol, 1.3M 在己烷中) 且搅拌混合物 20 分钟。在 0℃ 下再搅拌所得混合物 45 分钟且随后冷却回 -78℃。

[0391] 经 30 分钟将在 -78℃ 下预冷却的中间体 48 (4.5g, 9.9mmol) 于无水 THF (60mL) 中的溶液逐滴添加至以上溶液中且在 -78℃ 下搅拌混合物 2.5 小时。用饱和 NH<sub>4</sub>Cl (50mL) 使

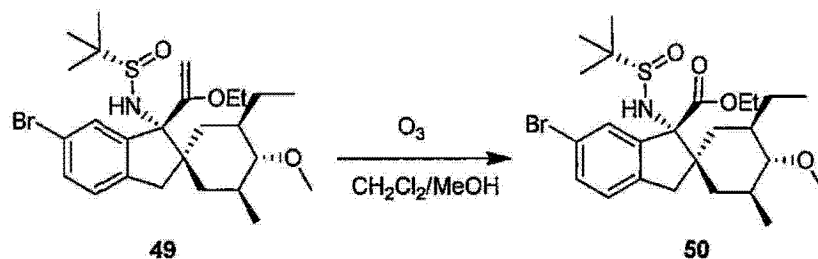


反应物淬灭且以 EtOAc (3×100mL) 萃取。在减压下浓缩合并的有机相,得到残余物,其通过管柱层析 (石油醚:EtOAc = 20:1) 纯化,得到中间体 49 (3.5g)。

[0392] LC-MS (方法 1):  $t_R$  = 5.94 分钟, MS (ESI)  $m/z$  528.1  $[M+H]^+$ 。

[0393] 步骤 7:合成中间体 50

[0394]

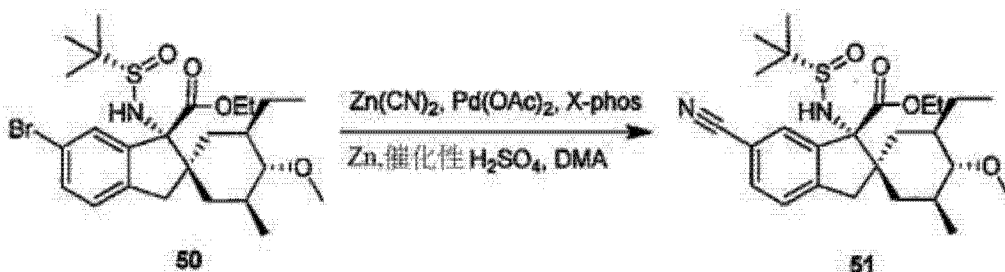


[0395] 将中间体 49 (3.5g, 6.60mmol) 溶解于 DCM 与 MeOH (5:1:40mL) 的混合物中且冷却至  $-78^{\circ}\text{C}$ 。使臭氧鼓泡穿过混合物持续 20 分钟。再搅拌反应物 10 分钟,此后以  $\text{N}_2$  净化混合物且在  $-78^{\circ}\text{C}$  下用  $\text{Me}_2\text{S}$  处理。使反应物温至室温且再搅拌 3 小时。在减压下移除溶剂且通过硅胶管柱层析 (石油 /EtOAc = 15/1) 纯化残余物,得到中间体 50 (2.3g)。

[0396]  $^1\text{H-NMR}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.83 (s, 1H), 7.43 (dd,  $J$  = 8.0, 2.0Hz, 1H), 7.10 (d,  $J$  = 8.0Hz, 2H), 4.26-4.43 (m, 3H), 3.42 (s, 3H), 2.95 (d,  $J$  = 16.0Hz, 1H), 2.68 (d,  $J$  = 16.0Hz, 1H), 2.32-2.37 (m, 1H), 2.17 (s, 1H), 1.91-1.97 (m, 1H), 1.82-1.89 (m, 1H), 1.63-1.68 (m, 1H), 1.31-1.40 (m, 6H), 1.13 (s, 9H), 0.90-0.95 (m, 6H), 0.68 (t,  $J$  = 12.0Hz, 1H)。

[0397] 步骤 8:合成中间体 51

[0398]



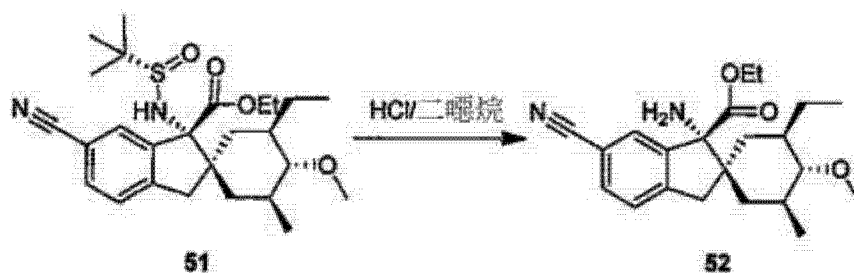
[0399] 将浓硫酸 (49  $\mu\text{L}$ ) 添加至 DMA (20mL) 中且以  $\text{N}_2$  净化溶剂 20 分钟。在  $\text{N}_2$  下向 50mL 圆底烧瓶中装入  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (1.35g) 及 Xphos (3.15g) 且转移至以上溶液中。在  $80^{\circ}\text{C}$  下加热所得混合物 30 分钟,得到混合物 A。

[0400] 在另一烧瓶中,在  $\text{N}_2$  下净化 DMA (30mL) 20 分钟且添加中间体 50 (2.3g, 4.50mmol)、 $\text{Zn}(\text{CN})_2$  (527mg, 4.50mmol) 及 Zn 粉 (15mg),随后添加混合物 A。在  $90^{\circ}\text{C}$  下加热所得混合物 40 分钟。将反应混合物冷却至室温,用水 (80mL) 及 EtOAc (100mL) 稀释。搅拌 10 分钟之后,经硅藻土过滤混合物,且分离有机层。以 EtOAc (3×100mL) 萃取水层。用水、盐水洗涤合并的有机层,经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  脱水且在减压下移除溶剂。通过硅胶管柱层析 (石油:EtOAc = 10:1) 纯化残余物,得到中间体 51 (1.8g)。

[0401] LC-MS (方法 1):  $t_R$  = 1.19 分钟, MS (ESI)  $m/z$  475.2  $[M+H]^+$ 。

[0402] 步骤 9:合成中间体 52

[0403]

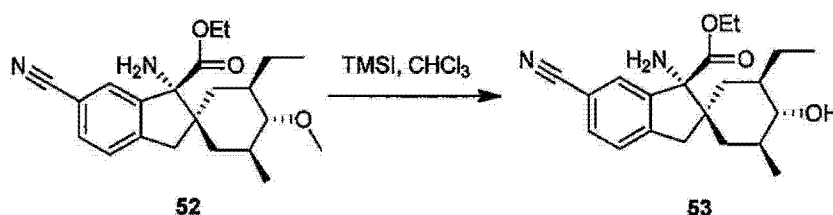


[0404] 向中间体 51 (590mg, 1.24mmol) 于 MeOH (10mL) 中的混合物中添加 4M HCl 的二噁烷溶液 (2mL)。搅拌所得混合物 30 分钟。在减压下移除溶剂, 得到粗中间体 52 (550mg), 其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0405] LC-MS (方法 1):  $t_R = 0.88$  分钟, MS (ESI)  $m/z$  322.1  $[M-48]^+$ 。

[0406] 步骤 10: 合成中间体 53

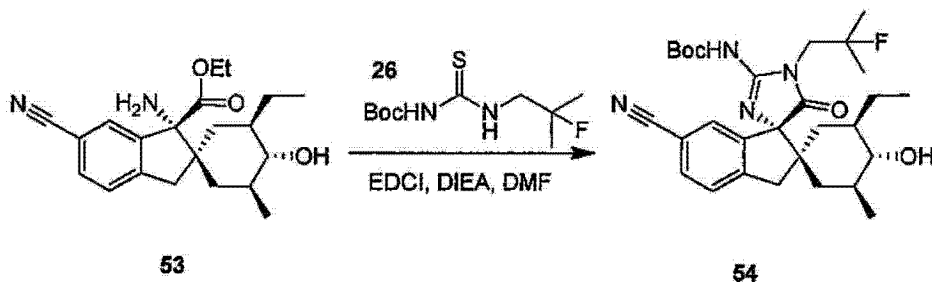
[0407]



[0408] 在室温下向中间体 52 (550mg, 1.59mmol) 于  $CHCl_3$  (10mL) 中的混合物中缓慢添加 TMSI (2.5mL, 15.9mmol)。在 60°C 下搅拌混合物 2 小时且随后使其冷却至室温。经 10 分钟添加 MeOH (5mL) 及饱和  $Na_2S_2O_3$  (5mL) 溶液。分离各层且以  $CH_2Cl_2$  (3×40mL) 萃取水层。合并有机层, 用水 (2×40mL) 洗涤, 脱水且在减压下移除溶剂, 得到粗中间体 53 (400mg)。

[0409] 步骤 11: 合成中间体 54

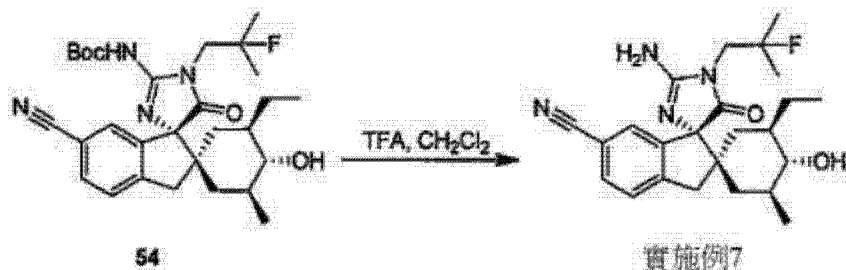
[0410]



[0411] 向中间体 53 (1.2g, 3.30mmol) 在 DMF (15mL) 中的混合物中添加中间体 26 (850mg, 3.30mmol)、EDCI (1.28g, 6.60mmol) 及 DIEA (1.2mL, 6.60mmol)。在 30°C 下搅拌混合物过夜。将溶液冷却至室温且添加 EtOAc (20mL) 及水 (20mL)。分离有机层且以 EtOAc (3×60mL) 萃取水层。用盐水 (3×50mL) 洗涤合并的有机层, 脱水且在减压下移除溶剂。通过硅胶管柱层析 (石油醚/EtOAc = 5/1) 纯化残余物, 得到 54 (760mg)。

[0412] 步骤 12: 合成实施例 7

[0413]



[0414] 向中间体 54(750mg, 1.43mmol) 于 DCM(8mL) 中的混合物中添加 TFA(2mL) 且在室温下搅拌 1 小时。通过添加饱和  $\text{NaHCO}_3$  溶液将反应混合物的 pH 值调整至 8.5。分离有机层且在减压下浓缩, 得到粗产物。通过制备型 HPLC(碱性, 方法 2) 纯化残余物, 得到实施例 7(465mg)。

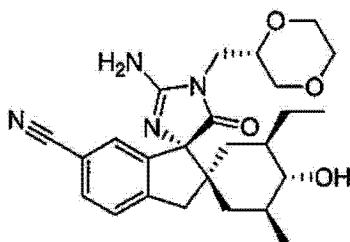
[0415] LC-MS(方法 1):  $t_R = 0.85$  分钟, MS(ESI)  $m/z$  427.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0416]  $^1\text{H-NMR}$ : ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 7.65(dd,  $J = 8.0, 1.6\text{Hz}$ , 1H), 7.49(d,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.30(s, 1H), 3.65-3.80(m, 2H), 3.12-3.29(m, 2H), 2.64-2.69(m, 1H), 1.79-1.84(m, 2H), 1.51-1.55(m, 1H), 1.32-1.50(m, 9H), 1.32-1.42(m, 1H), 1.00-1.20(m, 4H), 0.78(t,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 3H)。

[0417]  $^{19}\text{F-NMR}$ : ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): -139.444。

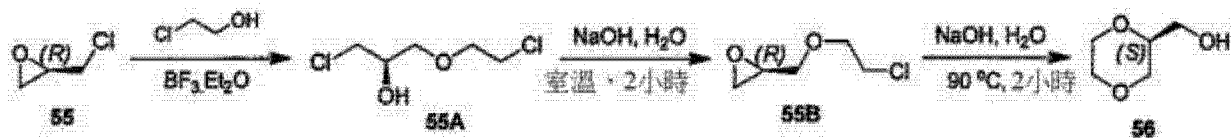
[0418] 实施例 8

[0419]



[0420] 步骤 1: 合成中间体 56

[0421]

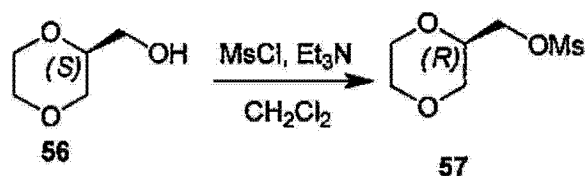


[0422] 将 (R)-2-(氯甲基)环氧乙烷 (55, 109mL, 1.62mol) 与  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (3.4mL, 0.027mol) 于甲苯 (200mL) 中的混合物加热至  $30^\circ\text{C}$  的内部温度且以足以使反应温度维持在  $36$  至  $38^\circ\text{C}$  的速率逐滴添加 2-氯乙醇 (49g, 0.53mol)。在  $36^\circ\text{C}$  下使所得混合物老化 20 分钟。将混合物冷却至  $16^\circ\text{C}$  且在有力搅拌下经 1 小时添加 NaOH 水溶液 (250mL, 23%), 维持反应温度低于  $20^\circ\text{C}$ 。在室温下使混合物老化 1 小时。分离两个层, 且以甲苯 (130mL) 萃取水相。用水 (100mL) 洗涤合并的有机层, 将所得有机层蒸馏至低体积, 监测馏出液的产物损失, 得到最终中间体 56(23g)。

[0423]  $^1\text{H-NMR}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.33-3.84(m, 9H)。

[0424] 步骤 2: 合成中间体 57

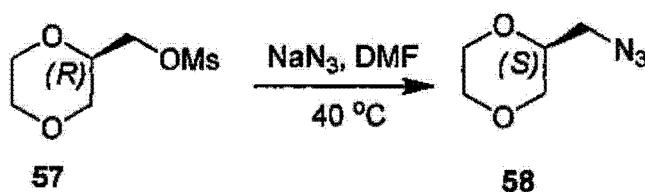
[0425]



[0426] 在 0 °C 下向中间体 56 (81.0g, 0.686mol) 于 DCM (500mL) 中的混合物中添加 TEA (196mL, 1.37mol) 及 MsCl (80mL, 1.029mol)。在室温下搅拌混合物 5 小时, 且用水 (200mL) 淬灭, 以二氯甲烷 (2×200mL) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水且浓缩, 得到粗中间体 57 (132.8g), 其不经纯化即可直接用于下一步骤。

[0427] 步骤 3: 合成中间体 58

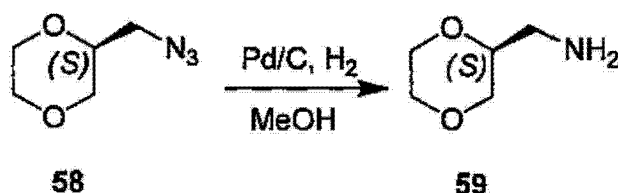
[0428]



[0429] 向中间体 57 (132.8g, 0.677mol) 于 DMF (640mL) 中的混合物中添加 NaN<sub>3</sub> (88.0g, 1.35mol)、NaHCO<sub>3</sub> (170.6g, 2.03mol) 及 NaI (20.3g, 0.135mol)。在室温下搅拌混合物过夜。用水 (300mL) 使反应混合物淬灭且随后以乙酸乙酯 (2×300mL) 萃取。依次用水及盐水洗涤合并的有机层, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水且在减压下浓缩, 得到粗中间体 58 (96g), 其不经纯化即可直接用于下一步骤。

[0430] 步骤 4: 合成中间体 59

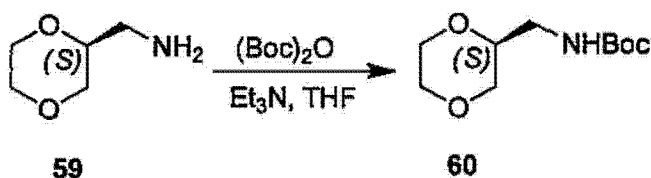
[0431]



[0432] 在氮气氛围下向中间体 58 (3.6g, 25.48mmol) 于 MeOH (100mL) 中的混合物中添加 Pd/C (0.4g, 10% 含量), 将混合物除气且与氢气交换 3 次。在室温下在氢气球下搅拌最终混合物 24 小时。经硅藻土垫滤除催化剂且用 MeOH (2×50mL) 洗涤。在减压下浓缩合并的滤液及洗涤物, 得到粗中间体 59 (2.93g)。

[0433] 步骤 5: 合成中间体 60

[0434]

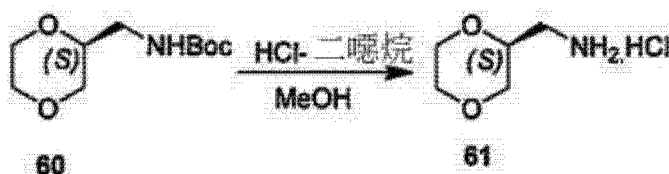


[0435] 向中间体 59 (1.1g, 10mmol) 于 THF (50mL) 中的溶液中添加 Et<sub>3</sub>N (3.0g, 30mmol) 及 (Boc)<sub>2</sub>O (2.6g, 12mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。用水 (20mL) 使反应物淬灭且以 EtOAc (2×30mL) 萃取。用盐水 (20mL) 洗涤合并的有机层, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水, 过滤且在真空下

浓缩,得到粗产物,其通过硅胶管柱层析(石油醚:乙酸乙酯:100:1至20:1)纯化,得到纯中间体 60(500mg)。

[0436] 步骤 6:合成中间体 61

[0437]

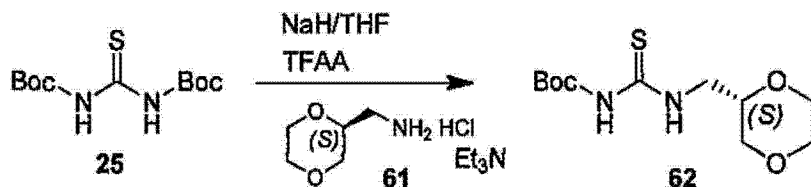


[0438] 将中间体 60(20g,92mmol) 溶解于 MeOH(150mL) 中且随后添加 HCl 的二噁烷溶液(4M,30mL,120mmol)。在室温下搅拌反应混合物 18 小时。在真空下移除 MeOH,得到纯中间体 61(14g),其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0439]  $^1\text{H}$  NMR( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  3.62–3.90(m,6H),3.32–3.35(m,1H),3.01–3.04(m,1H),2.85–2.90(m,1H)。

[0440] 步骤 7:合成中间体 62

[0441]



[0442] 在 0℃下向中间体 25(12.3g,44.55mmol) 在无水 THF(600mL) 中的混合物中添加 NaH(2.1g,53.46mmol,60%在矿物油中)。搅拌反应混合物 1 小时,随后添加 TFAA(6.9mL,49.0mmol) 且继续再搅拌 1 小时。添加中间体 61(7.5g,49.0mmol) 及在无水 THF(300mL) 中的  $\text{Et}_3\text{N}$ (12.4mL,89.1mmol) 且在室温下搅拌所得反应混合物过夜。添加  $\text{H}_2\text{O}$ (300mL) 以使反应物淬灭且以  $\text{EtOAc}$ (3×350mL) 萃取混合物。将合并的有机层脱水,过滤且在减压下移除溶剂。通过硅胶管柱层析(含 5–50% 乙酸乙酯的己烷)纯化残余物,得到中间体 62(7.95g)。

[0443] LCMS(方法 1): $t_{\text{R}}$  = 0.90 分钟,MS(ESI) $m/z$  221.1 $[\text{M}-55]^+$ 。

[0444]  $^1\text{H}$  NMR( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  3.80–3.90(m,4H),3.70–3.80(m,2H),3.55–3.65(m,2H),3.35–3.40(m,1H),1.57(s,9H)。

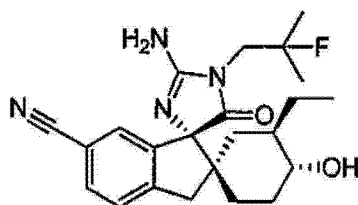
[0445] 根据实施例 7 的步骤 11 及 12 中所述的方法,由中间体 53 及中间体 62 合成实施例 8。

[0446] LC-MS(方法 1): $t_{\text{R}}$  = 0.87 分钟,MS(ESI) $m/z$  453.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0447]  $^1\text{H}$ -NMR( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):7.64(dd, $J$  = 8.0,1.2Hz,1H),7.49(d, $J$  = 7.6Hz,1H),7.30(s,1H),3.51–3.86(m,8H),3.11–3.35(m,3H),2.64–2.69(m,1H),1.78–1.84(m,2H),1.49–1.55(m,1H),1.39(s,3H),1.13–1.20(m,1H),0.99–1.06(m,4H),0.78(t, $J$  = 7.6Hz,3H)。

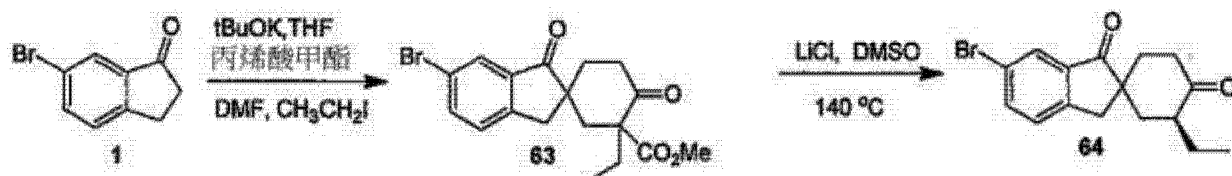
[0448] 实施例 9

[0449]



[0450] 步骤 1 :合成中间体 64

[0451]



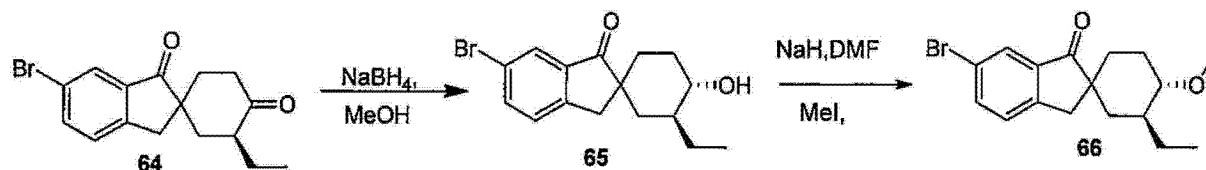
[0452] 将 6-溴-二氢茚-1-酮 1 (50.0g, 236mmol) 与丙烯酸甲酯 (42.0g, 472mmol) 在无水 THF (900mL) 中的混合物预冷却至 0℃ 且经 30 分钟逐份添加 t-BuOK (31.8g, 284mmol, 1.1 当量)。经 1 小时将混合物温至室温且在室温下再搅拌 40 分钟。向此反应混合物中添加 DMF (200L) 及 EtI (74g, 472mmol) 且在室温下搅拌混合物过夜。在减压下移除 THF。用 H<sub>2</sub>O (300mL) 稀释残余物且以 EtOAc (300mL) 萃取。在减压下浓缩有机层, 得到粗中间体 63 (120.0g)。此产物按原样用于下一步骤。

[0453] 使中间体 63 (120.0g, 310mmol) 与 LiCl (130.0g, 3100mmol) 于 DMSO (900mL) 中的混合物回流过夜。用水 (3L) 使混合物淬灭且以 EtOAc (3×400mL) 萃取。将合并的有机相脱水且在减压下浓缩。通过硅胶管柱层析 (石油醚:EtOAc:20:1) 纯化残余物, 得到中间体 64 (15g)。

[0454] <sup>1</sup>H NMR: (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.91 (s, 1H), 7.74 (dd, J = 8.0Hz, 1H), 7.41 (d, J = 8.0Hz, 1H), 3.80 (s, 2H), 2.48-2.53 (m, 2H), 2.33-2.49 (m, 1H), 2.15-2.23 (m, 1H), 1.75-1.95 (m, 4H), 1.21-1.40 (m, 1H), 0.88 (t, J = 8.0Hz, 3H)。

[0455] 步骤 2 :合成中间体 66

[0456]



[0457] 在 -78 °C 下向 THF (20mL) 与 MeOH (5mL) 的混合物中添加中间体 64 (6.0g, 18.7mmol)、NaBH<sub>4</sub> (355mg, 9.3mmol) 及 CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O (70mg, 0.19mmol)。在 -78℃ 下搅拌混合物 20 分钟, 用饱和 NH<sub>4</sub>Cl 溶液 (30mL) 淬灭且以 EtOAc (400mL×4) 萃取。合并有机层且在减压下浓缩, 得到粗中间体 65 (6.5g)。

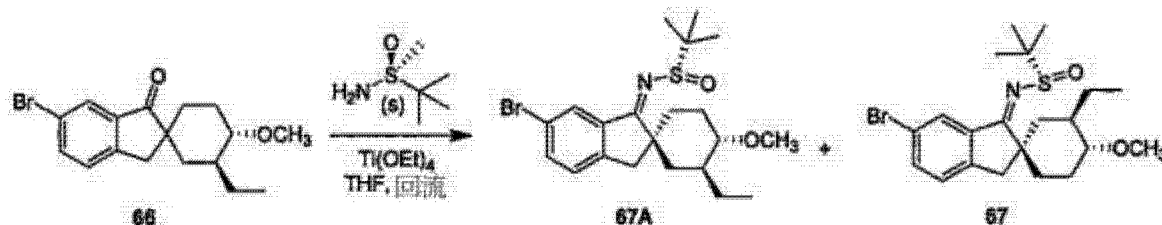
[0458] 在 0℃ 下向中间体 65 (6.5g, 20.0mmol) 及 NaH (3.2g, 80.0mmol) 于 DMF (100mL) 中的混合物中添加 MeI (11.4g, 80.0mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。用 H<sub>2</sub>O 使混合物淬灭, 以 EtOAc 萃取且在减压下浓缩, 得到粗产物, 其通过硅胶管柱层析 (洗脱剂: 石油醚: 乙酸乙酯: 20:1 至 15:1) 纯化, 得到中间体 66 (3.5g)。

[0459] LC-MS (方法 1): t<sub>R</sub> = 1.32 分钟, MS (ESI) m/z 339.1 [M+H]<sup>+</sup>。

[0460]  $^1\text{H}$  NMR: ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.88 (s, 1H), 7.69 (dd,  $J = 8.4, 2.0\text{Hz}$ , 1H), 7.31 (d,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 1H), 3.39 (s, 3H), 2.97 (s, 2H), 2.88-2.94 (m, 1H), 2.21-2.26 (m, 1H), 1.81-1.87 (m, 1H), 1.70-1.78 (m, 1H), 1.40-1.59 (m, 4H), 1.12-1.39 (m, 2H), 0.88 (t,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 3H)。

[0461] 步骤3:合成中间体67和67A

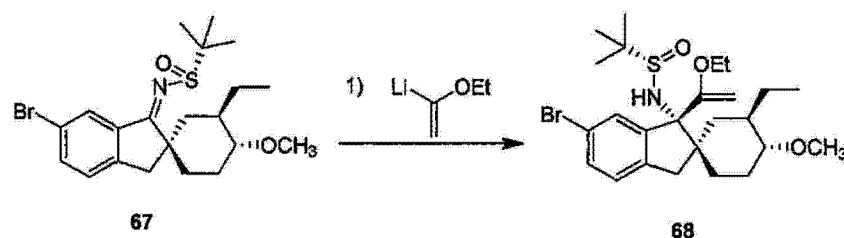
[0462]



[0463] 在室温下搅拌将中间体66(3.5g, 10.4mmol)与乙醇钛(IV)(23.7g, 104mmol)在无水THF(40mL)中的混合物1小时。添加(S)-N-叔丁基亚磺酰胺(1.6g, 11.6mmol)且在80℃下在 $\text{N}_2$ 氛围下搅拌所得混合物过夜。将反应混合物冷却且添加水(400mL)并过滤。以EtOAc( $3 \times 200\text{mL}$ )萃取水层。合并分离的有机相并脱水且在减压下浓缩。通过硅胶管柱层析(石油醚:EtOAc:20:1)纯化残余物且按以下次序洗脱化合物,分别得到中间体67A(1.5g)及67(1.5g)。

[0464] 步骤4:合成中间体68

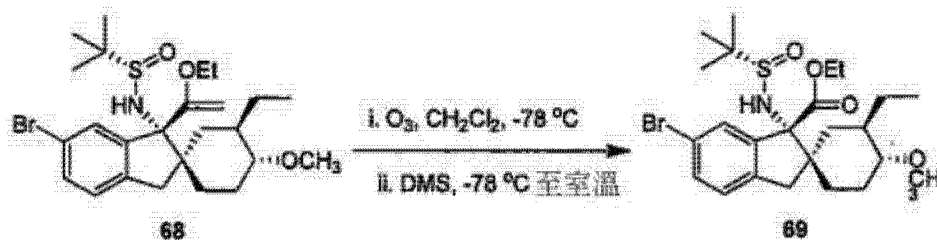
[0465]



[0466] 在-78℃下在 $\text{N}_2$ 氛围下,向乙氧基-乙烯(1.3g, 17.0mmol)在无水THF(20mL)中的混合物中逐滴添加t-BuLi(13.0mL, 17.0mmol, 1.3M在己烷中)且搅拌20分钟。在0℃下再搅拌所得混合物45分钟且随后冷却回-78℃。向此混合物中逐滴添加在-78℃下预冷却的中间体67(1.5g, 3.4mmol)在无水THF(20mL)中的溶液且搅拌2.5小时。用饱和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ (50mL)使反应物淬灭且随后以EtOAc( $3 \times 100\text{mL}$ )萃取。合并有机相且在减压下浓缩,得到粗产物,将其通过硅胶管柱(石油醚:乙酸乙酯:20:1)纯化,得到中间体68(1.2g)。

[0467] 步骤5:合成中间体69

[0468]



[0469] 将中间体68(1.2g, 2.4mmol)添加至甲醇于DCM(5:1, 20mL)中的混合物中且冷却至-78℃。使臭氧鼓泡穿过混合物持续20分钟。以 $\text{N}_2$ 净化混合物且在-78℃下用 $\text{Me}_2\text{S}$ (5mL)

处理。使反应物温至室温且再搅拌 3 小时。在真空下移除溶剂,通过制备型 TLC(石油醚:乙酸乙酯:3:1)纯化残余物,得到中间体 69(860mg)。

[0470] LC-MS(方法 1): $t_R$  = 1.35 分钟,MS(ESI) $m/z$  516.1  $[M+H]^+$ 。

[0471] 步骤 6:合成中间体 70

[0472]



[0473] 向含中间体 69(860mg, 1.7mmol) 的 MeOH(10mL) 中添加 HCl 的二噁烷溶液 (4M, 2mL)。在室温下搅拌所得混合物 30 分钟。在减压下移除溶剂,得到粗中间体 70(800mg),其不经进一步纯化即可用于下一步骤。

[0474] 通过实施例 7 中步骤 10 至步骤 12 所述的方法由中间体 70 合成实施例 9。

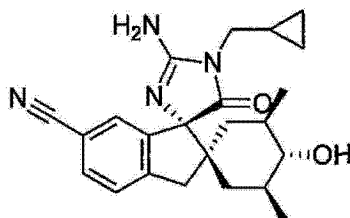
[0475] LC-MS(方法 1): $t_R$  = 0.79 分钟,MS(ESI) $m/z$  413.2  $[M+H]^+$ 。

[0476]  $^1H$ -NMR( $CD_3OD$ ): 7.66(dd,  $J$  = 7.6, 1.6Hz, 1H), 7.51(d,  $J$  = 8.0Hz, 1H), 7.32(s, 1H), 3.69-3.76(m, 2H), 3.12-3.27(m, 3H), 1.78-1.95(m, 3H), 1.32-1.42(m, 11H), 1.11-1.18(m, 1H), 0.78(t,  $J$  = 7.6Hz, 3H)。

[0477]  $^{19}F$ -NMR( $CD_3OD$ ): -139.768。

[0478] 实施例 10

[0479]



[0480] 通过实施例 1 中所述的方法,在步骤 10 中使用环丙基甲基胺来制备实施例 10。

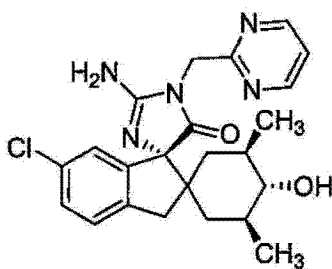
[0481] LC-MS(方法 1): $t_R$  = 1.02 分钟; $[M+H]^+$  = 393。

[0482]  $^1H$  NMR( $CD_3OD$ )  $\delta$  (ppm): 7.62(dd,  $J$  = 8.0, 2.0Hz, 1H), 7.47(d,  $J$  = 8.0Hz, 1H), 7.26(d,  $J$  = 2.0Hz, 1H), 3.47(dd,  $J$  = 14.8, 6.4Hz, 1H), 3.34(dd,  $J$  = 14.8, 6.4Hz, 1H), 3.24(d,  $J$  = 16.0Hz, 1H), 3.12(d,  $J$  = 16.0Hz, 1H), 2.54(t,  $J$  = 10.0Hz, 1H), 1.79, (d,  $J$  = 12.4Hz, 1H), 1.60-1.40(m, 3H), 1.22(m, 2H), 1.03(m, 1H), 0.99(d,  $J$  = 6.4Hz, 3H), 0.94(d,  $J$  = 6.0Hz, 3H), 0.49(m, 2H), 0.32(m, 2H)。

[0483] 实施例 11

[0484]



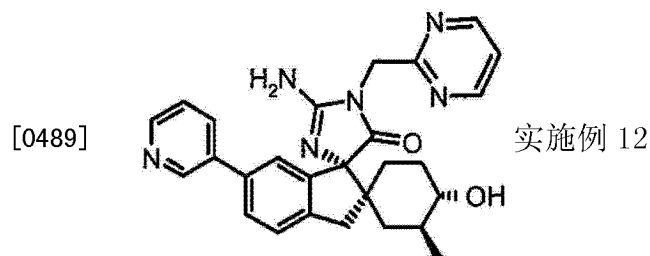


[0485] 通过实施例 1 中所述的方法,在第一步骤中使用 6-氯二氢茛-1-酮且在步骤 10 中使用 2-氨基甲基嘧啶来制备实施例 11。

[0486] LC-MS(方法 1)  $t_R$  = 0.90 分钟,  $m/z$  440,442 ( $MH^+$ )

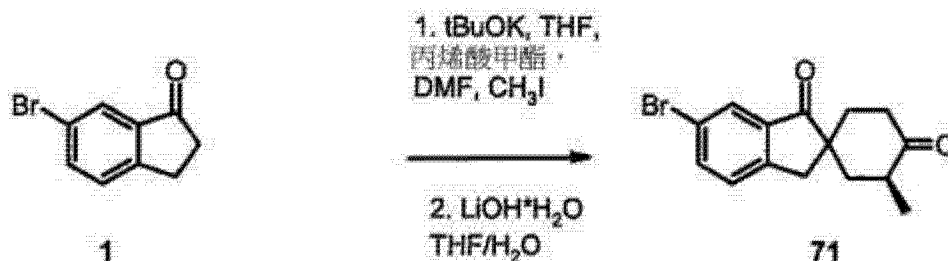
[0487]  $^1H$  NMR( $CD_3OD$ )  $\delta$  8.73(d,  $J$  = 4.7Hz, 2H), 7.38(t,  $J$  = 4.7Hz, 1H), 7.27-7.24(m, 2H), 5.01(s, 2H), 3.14-3.05(m, 2H), 2.60(t,  $J$  = 9.8Hz, 1H), 1.77-1.74(m, 1H), 1.67-1.58(m, 1H), 1.55-1.45(m, 1H), 1.40-1.24(m, 3H), 1.01-0.97(m, 6H)。

[0488] 实施例 12



[0490] 步骤 1:合成中间体 71

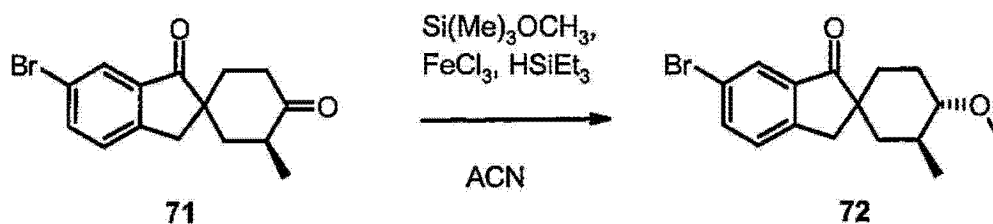
[0491]



[0492] 将 6-溴-二氢茛-1-酮 1(100g,474mmol) 及丙烯酸甲酯(86.4g,995mmol) 与 800mL THF 混合且在冰冷却下分两份添加  $t$ -BuOK(1.0g)。移除冷却浴且经 20 分钟以平均份添加剩余  $t$ -BuOK(63.0g)(总计 64.0g,569mmol)。在室温下搅拌混合物 2 小时。向反应混合物中依次添加 DMF(240mL)、MeI(135g,948mmol) 且搅拌混合物 2 小时。用 10% 柠檬酸溶液使反应物淬灭。在减压下浓缩反应混合物且过滤。依次用水、MeOH 洗涤滤饼,得到粗中间体,将其与 THF/ $H_2O$ (1.8L/1.8L) 混合。添加  $LiOH \cdot H_2O$ (92.0g,2.19mol)。在室温下搅拌混合物 16 小时且随后在 70℃ 下搅拌 12 小时。在减压下浓缩反应混合物且过滤。用  $H_2O$  洗涤滤饼且随后将其与 MeOH(50mL) 一起搅拌 5 分钟,再次过滤且用额外量的 MeOH(50mL) 洗涤。收集固体,得到 75g 中间体 71,其按原样用于下一步骤。

[0493] 步骤 2:合成中间体 72

[0494]



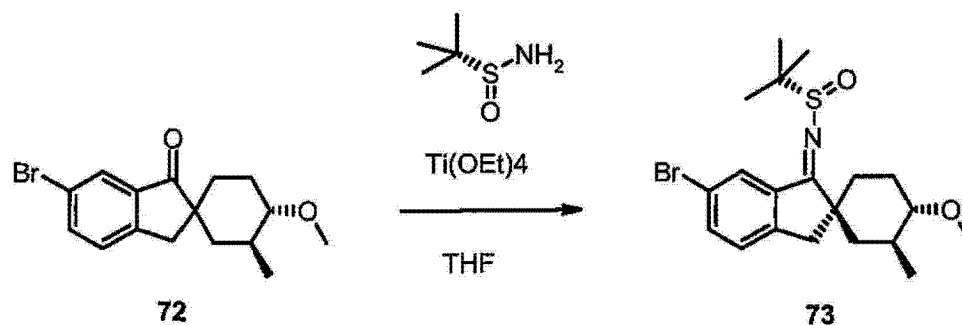
[0495] 将 10.0g (32.5mmol) 中间体 71 及 530mg (3.27mmol) 氯化铁与 200ml THF 混合。向经搅拌混合物中添加 14.0mL (102mmol) 甲氧基三甲基硅烷及 16.0mL (100mmol) 三乙基硅烷且在周围温度下搅拌混合物 35 分钟。将混合物添加至磷酸盐缓冲液 (pH 7) 中且搅拌 14 小时。以乙酸乙酯萃取混合物, 将有机相脱水且蒸发。通过 MPLC (340g 二氧化硅, 环己烷 / 乙酸乙酯 (在 60 分钟内 100/0 至 85/15)) 纯化残余物。合并含有产物的洗脱份且蒸发溶剂, 得到 3.69g 中间体 72。

[0496] LC-MS (方法 2):  $t_R = 1.53$  分钟,  $m/z$  323/5Br ( $M+H^+$ )

[0497]  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 对应于所要产物。

[0498] 步骤 3: 合成中间体 73

[0499]



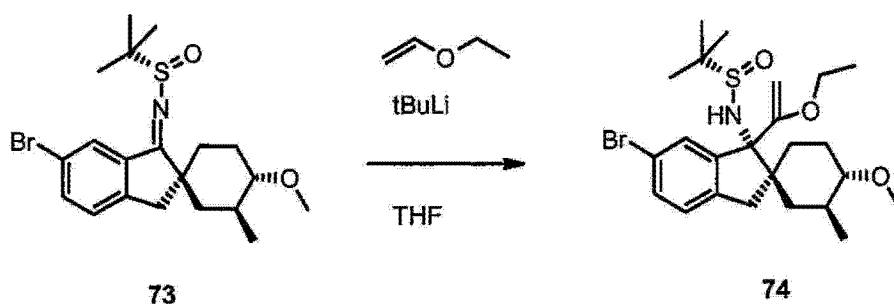
[0500] 将 16.0g (49.5mmol) 中间体 72 与 100mL THF 混合, 添加 57.0g (249mmol) 乙醇钛 (IV) 且在周围温度下搅拌混合物 1 小时。此后, 添加 12.0g (99.0mmol) (S)-2-甲基-2-丙烷亚磺酰胺且在氮气下将混合物回流 3 天。添加 200mL 水及 200mL DCM 且经硅藻土过滤混合物。分离有机层且在真空下移除溶剂。通过 MPLC (600g 二氧化硅, 环己烷 / 乙酸乙酯 (在 3 小时内 100/0 至 75/25, 在 15 分钟内 95/5 至 85/15, 0/100 持续 10 分钟)) 纯化残余物。合并含有产物的洗脱份。通过 MPLC 再次层析混合的洗脱份。首先洗脱出所要产物。蒸发溶剂, 得到 3.69g 中间体 73。

[0501] LC-MS (方法 2):  $t_R = 1.61$  分钟,  $m/z$  426/8Br ( $M+H^+$ )

[0502]  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 对应于所要产物。

[0503] 步骤 4: 合成中间体 74

[0504]



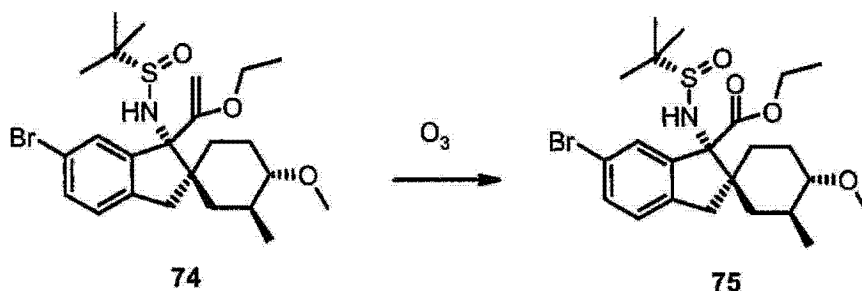
[0505] 在氮气下将与 70mL THF 混合的 4.14mL g(43.3mmol) 乙基乙烯基醚冷却至  $-78^{\circ}\text{C}$  且添加 25mL 叔丁基锂 (1.7M 在戊烷中, 43.4mmol)。将混合物温至  $0^{\circ}\text{C}$  且搅拌 30 分钟。在  $-78^{\circ}\text{C}$  下通过套管将混合物转移至 3.69g(8.65mmol) 中间体 73 在 130mL THF 中的混合物中。在此温度下搅拌混合物 30 分钟, 添加 100mL 饱和氯化铵水溶液且以乙酸乙酯萃取混合物。在真空下移除溶剂且通过 MPLC(340g 二氧化硅, 环己烷 / 乙酸乙酯 (在 70 分钟内 90/10 至 60/40) 纯化残余物。合并含有产物的洗脱份且蒸发溶剂, 得到 3.62g 中间体 74。

[0506] LC-MS(方法 2):  $t_{\text{R}} = 1.20$  分钟,  $m/z$  598/500Br ( $\text{M} + \text{H}^{+}$ )

[0507]  $^1\text{H}$  NMR( $\text{DMSO}-d_6$ ) 对应于所要产物。

[0508] 步骤 5: 合成中间体 75

[0509]



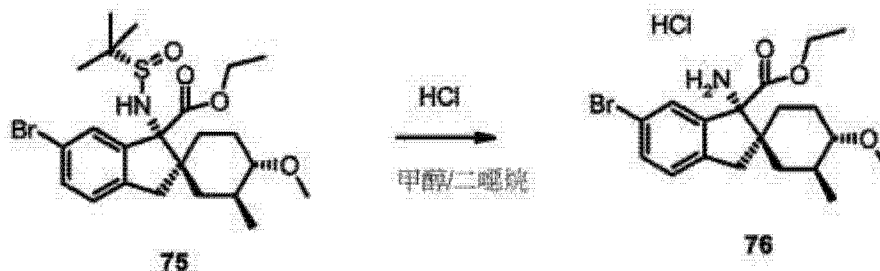
[0510] 将 3.62g(95%, 6.89mmol) 中间体 74 与 60mL DCM 及 15mL 甲醇混合且冷却至  $-78^{\circ}\text{C}$ 。使臭氧鼓泡穿过混合物持续 20 分钟。以  $\text{N}_2$  净化混合物且在  $-78^{\circ}\text{C}$  下用 5mL (68.4mmol)  $\text{Me}_2\text{S}$  处理。使反应物温至室温。在真空下移除溶剂, 通过 MPLC(340g 二氧化硅, 环己烷 / 乙酸乙酯 (在 35 分钟内 95/25 至 65/35) 纯化残余物。合并含有产物的洗脱份且蒸发溶剂, 得到 2.50g 中间体 75。

[0511] LC-MS(方法 2):  $t_{\text{R}} = 1.20$  分钟,  $m/z$  500/2Br ( $\text{M} + \text{H}^{+}$ )

[0512]  $^1\text{H}$  NMR( $\text{DMSO}-d_6$ ) 对应于所要产物。

[0513] 步骤 6: 合成中间体 76

[0514]



[0515] 将 650mg(0.98mmol) 中间体 75 与 8mL 甲醇混合且在  $0^{\circ}\text{C}$  下添加 1mL 4M HCl 的 1,

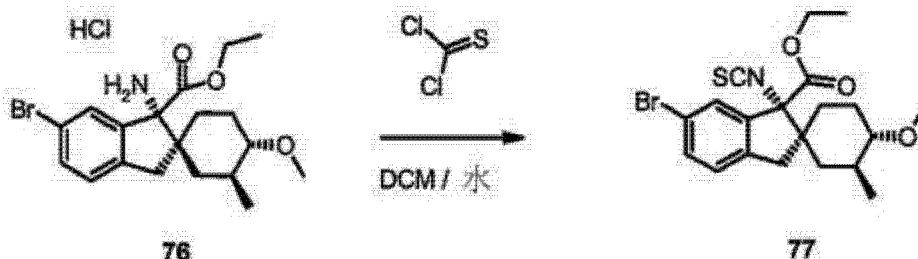
4-二噁烷溶液。在相同温度下搅拌混合物 2 小时。蒸发混合物且剩余粗产物 76 按原样用于下一步骤。

[0516] LC-MS(方法 2):  $t_R = 1.20$  分钟,  $m/z$  396/8Br ( $M+H^+$ )

[0517]  $^1H$  NMR(DMSO- $d_6$ ) 对应于所要产物。

[0518] 步骤 7: 合成中间体 77

[0519]

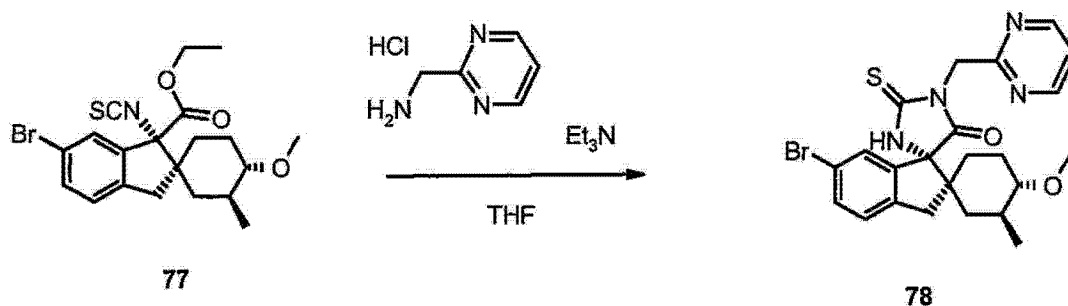


[0520] 将 530mg (1.23mmol) 中间体 76 及 675mg (8.04mmol)  $NaHCO_3$  与 8mL 水及 4mL DCM 混合。在  $0^\circ C$  下在搅拌下添加 188  $\mu L$  (2.54mmol) 硫光气。在  $0^\circ C$  下搅拌混合物 1 小时。以 DCM 萃取混合物, 蒸发溶剂且剩余粗产物 77 按原样用于下一步骤。

[0521] LC-MS(方法 2)  $t_R = 1.74$  分钟,  $m/z$  347/9Br ( $M+H^+$ )

[0522] 步骤 8: 合成中间体 78

[0523]



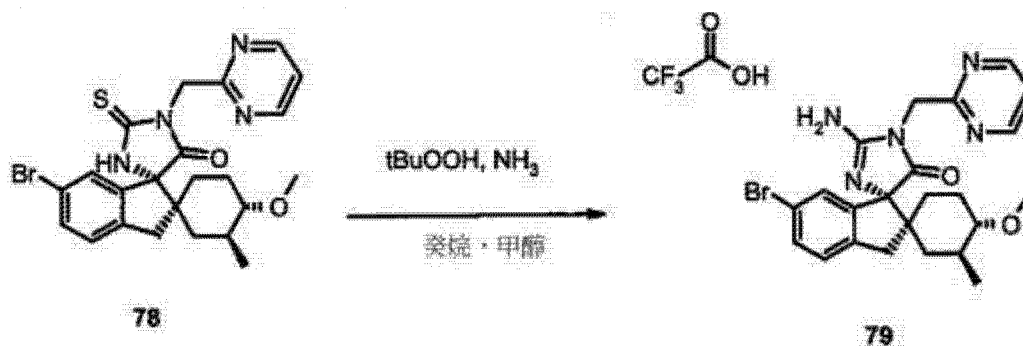
[0524] 将 510mg (80%, 0.93mmol) 2-氨基甲基嘧啶盐酸盐与 3mL THF 混合且添加 290  $\mu L$  (2.07mmol) 三乙胺。5 分钟之后, 添加与 7mL THF 混合的中间体 77, 且在周围温度下搅拌混合物 2 小时。添加 290  $\mu L$  (2.07mmol) 三乙胺且再搅拌混合物 2 小时。蒸发混合物且通过 MPLC (25g 二氧化硅, 环己烷 / 乙酸乙酯 (在 50 分钟内 110/0 至 70/30)) 纯化残余物。合并含有产物的洗脱份且蒸发溶剂, 得到 305mg 中间体 78。

[0525] LC-MS(方法 2):  $t_R = 1.00$  分钟,  $m/z$  501/3Br ( $M+H^+$ )

[0526]  $^1H$  NMR(DMSO- $d_6$ ) 对应于所要产物。

[0527] 步骤 9: 合成中间体 79

[0528]



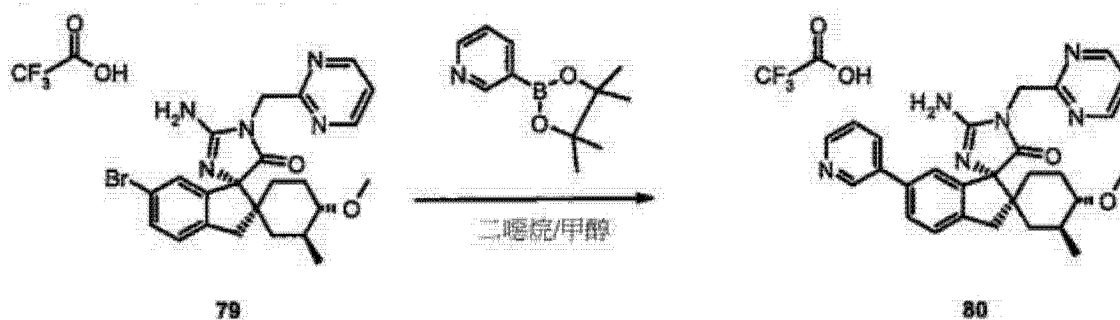
[0529] 将 303mg (0.60mmol) 中间体 78、2.65mL (14.6mmol, 5.5M 于癸烷中) 叔丁基氢过氧化物、10mL (70.0mmol, 7M 于甲醇中) 氨混合且在室温下搅拌 14 小时。蒸发混合物且通过 HPLC (管柱: Waters Sunfire; 洗脱剂 A: 水 + 0.1% TFA; 洗脱剂 B: MeOH) 纯化残余物。合并含有产物的洗脱份, 蒸发甲醇且冻干残余物, 得到 155mg 呈三氟乙酸盐形式的中间体 79。

[0530] LC-MS (方法 2):  $t_R = 1.00$  分钟,  $m/z$  484/6Br ( $M+H^+$ )

[0531]  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 对应于所要产物。

[0532] 步骤 10: 合成中间体 80

[0533]



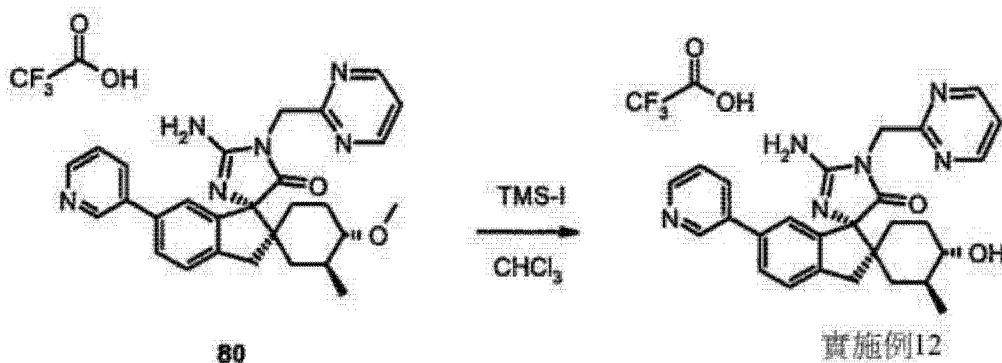
[0534] 将 70mg (90%, 0.11mmol) 中间体 79、52.5mg (0.26mmol) 2-(3-吡啶基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧环戊硼烷、16.1mg (0.022mmol) 氯(2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)[2-(2-氨基乙基)苯基]钯(II)、210  $\mu$ L 2M  $Na_2CO_3$  水溶液、1.4mL 二噁烷及 0.75mL 甲醇在馈有氩气的微波小瓶中混合。在 140°C 下在微波炉 (Biotage) 中搅拌混合物 30 分钟。经硫醇滤筒 (Agilent Technologies, 500mg, PL-Thiol MP SPE) 过滤混合物, 蒸发甲醇且通过 HPLC (管柱: Waters Sunfire; 洗脱剂 A: 水 + 0.1% TFA; 洗脱剂 B: MeOH) 纯化残余物。合并含有产物的洗脱份, 蒸发甲醇且冻干残余物, 得到 56.5mg 呈三氟乙酸盐形式的中间体 80。

[0535] LC-MS (方法 2):  $t_R = 1.00$  分钟,  $m/z$  483 ( $M+H^+$ )

[0536]  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 对应于所要产物。

[0537] 步骤 11: 合成实施例 12

[0538]

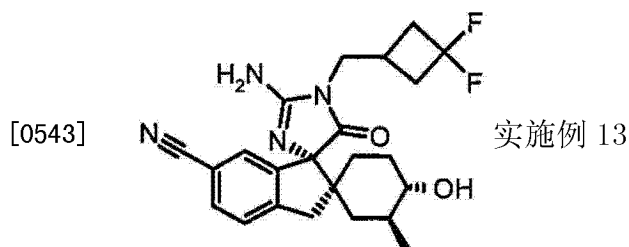


[0539] 向 25mg (0.042mmol) 中间体 80 在 1mL 氯仿中的悬浮液中添加 30  $\mu$ L (97%, 0.21mmol) 碘三甲硅烷且搅拌混合物 60 分钟。用 0.5mL 甲醇使反应物淬灭且添加 5mL 饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液及 5mL 10%  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  水溶液。以乙酸乙酯萃取混合物且将合并的有机层脱水, 蒸发且通过 HPLC (管柱: Waters Sunfire; 洗脱剂 A: 水 + 0.1% TFA; 洗脱剂 B: MeOH) 纯化残余物。合并含有产物的洗脱份, 蒸发甲醇且冻干剩余残余物, 得到 15.9mg 呈三氟乙酸盐形式的实施例 12。

[0540] LC-MS (方法 2):  $t_R = 0.84$  分钟,  $m/z$  469 ( $M+H^+$ )

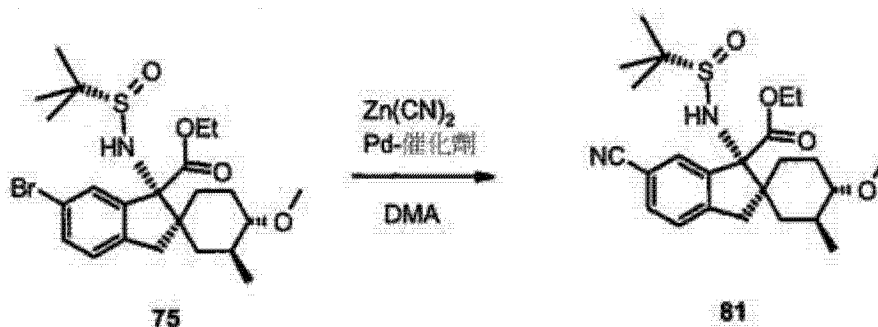
[0541]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  10.96 (br s, 1H), 9.58 (br s, 2H), 8.93 (d, 1H), 8.79 (d, 2H), 8.63 (dd, 1H), 8.14 (br d, 1H), 7.76 (dd, 1H), 7.70 (br s, 1H), 7.59 (dd, 1H), 7.51 (m, 2H), 5.18 (d, 1H), 5.08 (d, 1H), 4.30 (br s, 0H), 3.16 (d, 1H), 3.02 (d, 1H), 2.94 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 1.58-1.24 (m, 6H), 0.92 (d, 3H)。

[0542] 实施例 13



[0544] 步骤 1: 合成中间体 81

[0545]



[0546] 将 1.58g (90%, 2.84mmol) 中间体 75 与 60mL DMA 混合且使氩气鼓泡穿过混合物。在室温下添加氰化锌 (556mg, 4.74mmol) 及氯 (2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)[2-(2-氨基乙基)苯基]钯(II) (690mg, 0.93mmol)。在 120 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌混合物 20 分钟。此后, 在 70 $^{\circ}\text{C}$  下在 3 毫巴 (mbar) 下蒸发混合物, 且将残余物与水及乙酸乙酯混合, 经

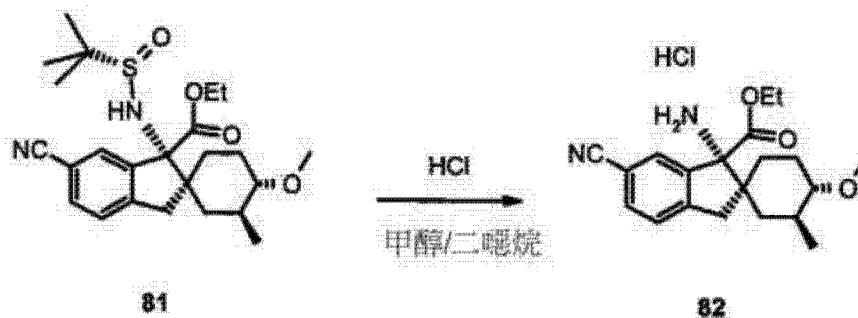
硅藻土过滤且分离各相。以乙酸乙酯萃取水相,且合并有机相,脱水且蒸发。通过 MPLC(100g 二氧化硅,在 70 分钟内 CH/EE 80/20 至 55/45) 纯化残余物。合并含有产物的洗脱份,得到 1.17g 中间体 81。

[0547] LC-MS(方法 2):  $t_R = 1.40$  分钟,  $m/z$  447 ( $M+H^+$ )

[0548]  $^1H$  NMR(DMSO- $d_6$ ) 对应于所要产物。

[0549] 步骤 2: 合成中间体 82

[0550]



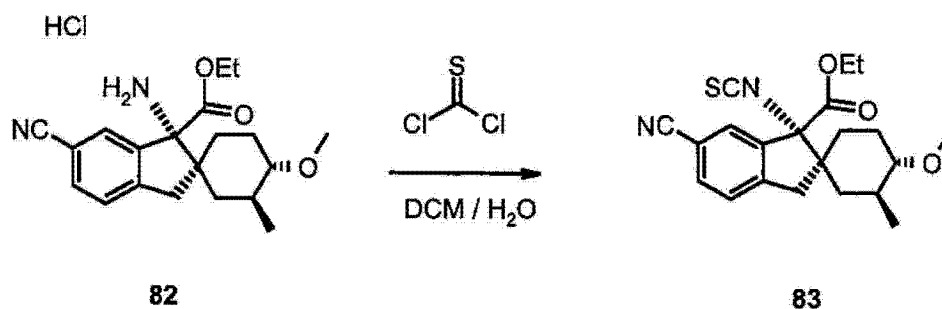
[0551] 通过实施例 12 步骤 6 中所述的方法,由 4.00g(80%, 7.17mmol) 中间体 81 合成中间体 82。获得 4.13g 粗产物且按原样用于下一步骤。

[0552] LC-MS(方法 2):  $t_R = 1.11$  分钟,  $m/z$  343 ( $M+H^+$ )

[0553]  $^1H$  NMR(DMSO- $d_6$ ) 对应于所要产物。

[0554] 步骤 3: 合成中间体 83

[0555]

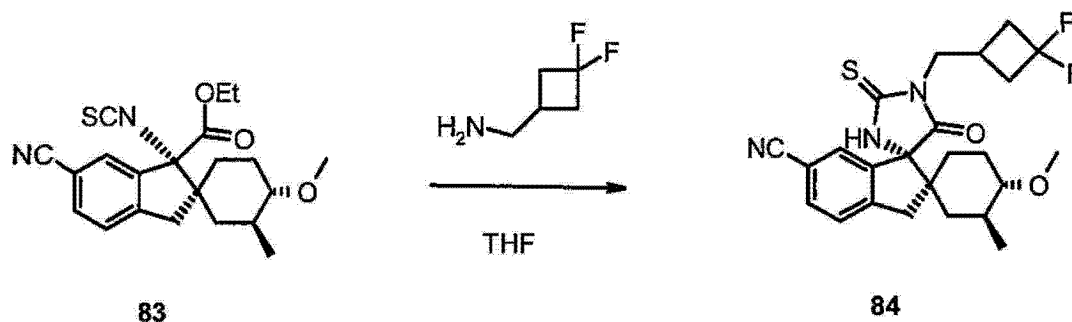


[0556] 通过实施例 12 步骤 7 中所述的方法,由 4.13g(70%, 7.63mmol) 中间体 82 合成中间体 83。获得 4.6g 粗产物且按原样用于下一步骤。

[0557] LC-MS(方法 2):  $t_R = 1.58$  分钟,  $m/z$  294 ( $M+H^+$ )

[0558] 步骤 4: 合成中间体 84

[0559]

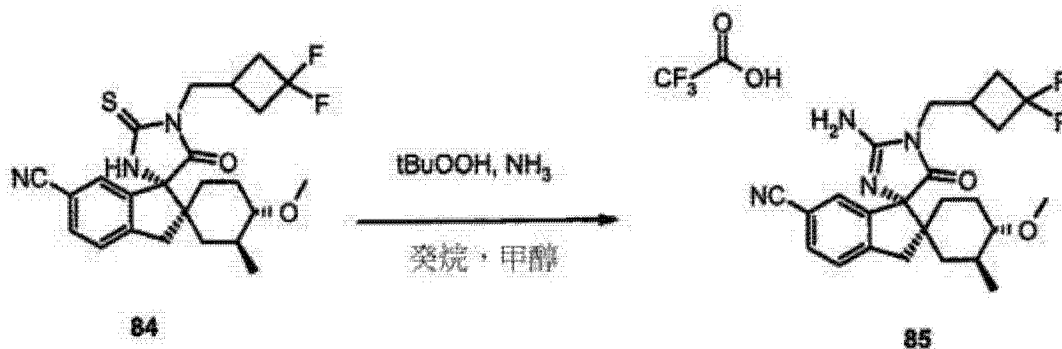


[0560] 根据实施例 12 步骤 8 中所述的方法,由 200mg (0.33mmol) 中间体 83 合成中间体 84。使用 63mg (0.49mmol) 3,3-二氟环丁基甲胺及 3 当量三乙胺代替 2-氨基甲基嘧啶盐酸盐。通过 MPLC (25g 二氧化硅, CH/EE65/35 在 45 分钟内) 纯化粗产物,得到 141mg 中间体 84。

[0561] LC-MS (方法 2):  $t_R = 1.53$  分钟,  $m/z$  460 ( $M+H^+$ )

[0562] 步骤 5: 合成中间体 85

[0563]



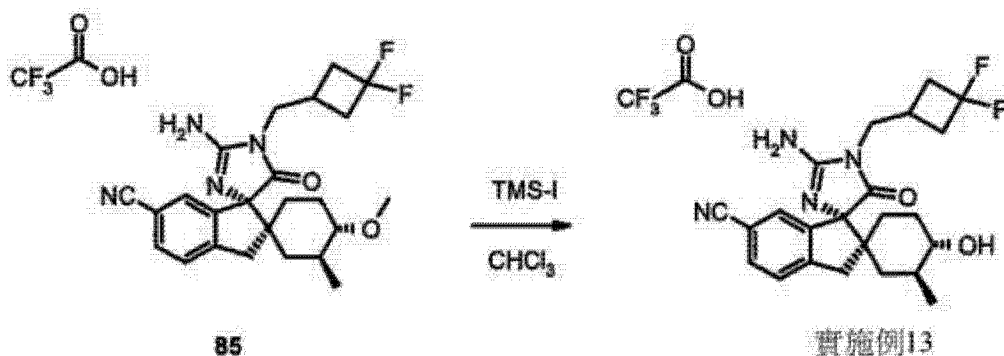
[0564] 根据实施例 12 步骤 9 中所述的方法,使用 139mg (0.30mmol) 中间体 84 合成中间体 85。通过 HPLC (管柱: Waters Sunfire; 洗脱剂 A: 水 + 0.1% TFA; 洗脱剂 B: MeOH) 纯化粗产物,得到 96.8mg 呈三氟乙酸盐形式的中间体 85。

[0565] LC-MS (方法 2):  $t_R = 1.19$  分钟,  $m/z$  443 ( $M+H^+$ )

[0566]  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 对应于所要产物。

[0567] 步骤 6: 合成实施例 13

[0568]



[0569] 根据实施例 12 步骤 11 中所述的方法,使用 40mg (0.072mmol) 中间体 85 合成实施例 13。通过 HPLC (管柱: Waters Sunfire; 洗脱剂 A: 水 + 0.1% TFA; 洗脱剂 B: MeOH) 纯化粗产物,得到 20mg 实施例 13。

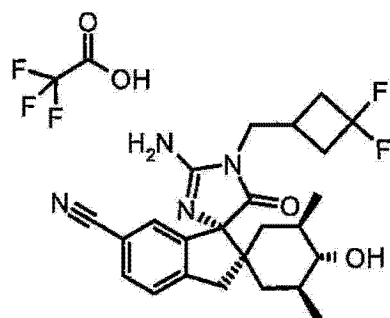
[0570] LC-MS (方法 2):  $t_R = 0.88$  分钟,  $m/z$  429 ( $M+H^+$ )

[0571]  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10.83 (br s, 1H), 9.65 (br s, 2H), 7.90 (d, 1H), 7.84 (dd, 1H), 7.59 (d, 1H), 4.35 (br s, OH), 3.78 (m, 2H), 3.20 (d, 1H), 3.03 (d, 1H), 2.88 (m, 1H), 2.68-2.26 (m, 5H), 1.72 (m, 1H), 1.54 (m, 1H), 1.45-1.28 (m, 3H), 1.16 (m, 1H), 1.05 (t, 1H), 0.91 (d, 3H)。

[0572] 实施例 14



[0573]



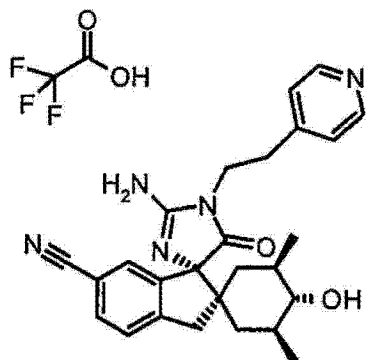
实施例 14

[0574] 通过实施例 13 中所述的方法,使用中间体 17 替代步骤 1 中的中间体 75 来合成实施例 14。

[0575] LC-MS(方法 3):  $t_R = 0.96$  分钟,  $m/z$  443 ( $M+H^+$ )

[0576]  $^1H$  NMR(DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10.85(br s, 1H), 9.65(br s, 2H), 7.88(d, 1H), 7.84(dd, 1H), 7.59(d, 1H), 4.40(br s, OH), 3.78(m, 2H), 3.20(d, 1H), 3.06(d, 1H), 2.68-2.26(m, 6H), 1.60-1.04(m, 6H), 0.92(d, 3H), 0.88(d, 3H)。

[0577] 实施例 15



[0578]

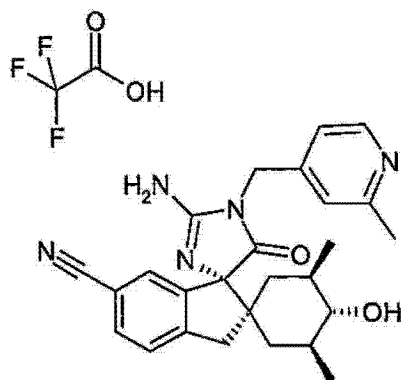
实施例 15

[0579] 通过实施例 13 中所述的方法,使用中间体 17 替代步骤 1 中的中间体 75 且使用 2-吡啶-4-基-乙胺替代步骤 4 中的 3,3-二氟环丁基甲胺来合成实施例 15。

[0580] LC-MS(方法 3):  $t_R = 0.96$  分钟,  $m/z$  444.5 ( $M+H^+$ )

[0581]  $^1H$  NMR(DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10.81(br s, 1H), 9.70(br s, 2H), 8.55(d, 2H), 7.84(br s, 1H), 7.83(dd, 1H), 7.55(m, 3H), 4.30(br s, OH), 4.06-3.90(m, 2H), 3.16-2.96(m, 4H), 2.40(t, 1H), 1.49(m, 1H), 1.35(m, 2H), 1.18(m, 1H), 1.02-0.90(m, 2H), 0.88(d, 3H), 0.86(d, 3H)。

[0582] 实施例 16



[0583]

实施例 16

[0584] 通过实施例 13 中所述的方法,使用中间体 17 替代步骤 1 中的中间体 75 且使用

(2-甲基-吡啶-4-基)-甲胺替代步骤 4 中的 3,3-二氟环丁基甲胺来合成实施例 16。

[0585] LC-MS(方法 4):  $t_R = 0.82$  分钟,  $m/z$  444 ( $M+H^+$ )

[0586]  $^1H$  NMR(DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10.96(br s, 1H), 9.70(br s, 2H), 8.52(d, 1H), 7.98(d, 1H), 7.85(dd, 1H), 7.60(d, 1H), 7.32(d, 1H), 7.28(br s, 1H), 4.93(s, 2H), 4.30(br s, OH), 3.20(d, 1H), 3.03(d, 1H), 2.52(s, 3H), 2.47(m, 1H), 1.59-1.10(m, 6H), 0.90(d, 3H), 0.88(d, 3H)。

[0001]

## 序列表

<110> 贝尔格林·英格海姆国际有限公司  
生命医药公司

<120>  $\beta$ -分泌酶抑制剂

<130> 120573-00520

<140> PCT/US2013/056566

<141> 2013-08-26

<150> 61/816,458

<151> 2013-04-26

<150> 61/788,839

<151> 2013-03-15

<150> 61/693,512

<151> 2012-08-27

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /note="人工序列的说明：合成肽"

<400> 1

Glu Val Asn Leu Asp Ala Glu Phe Lys

1

5