



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102170872 A

(43) 申请公布日 2011.08.31

---

(21) 申请号	200880127474.5	<i>C07C 217/48</i> (2006.01)
(22) 申请日	2008.12.18	<i>C07C 217/46</i> (2006.01)
(30) 优先权数据		<i>C07C 237/42</i> (2006.01)
	61/015189 2007.12.19 US	<i>C07C 225/08</i> (2006.01)
		<i>C07C 225/14</i> (2006.01)
(85) PCT申请进入国家阶段日		<i>C07C 225/16</i> (2006.01)
	2010.08.19	<i>C07D 213/63</i> (2006.01)
(86) PCT申请的申请数据		<i>C07D 213/79</i> (2006.01)
	PCT/CN2008/002027 2008.12.18	<i>C07D 213/81</i> (2006.01)
(87) PCT申请的公布数据		<i>A61P 9/12</i> (2006.01)
	W02009/089680 EN 2009.07.23	<i>A61P 27/00</i> (2006.01)
		<i>A61P 13/12</i> (2006.01)
(71) 申请人	港大科桥有限公司	<i>A61P 25/14</i> (2006.01)
	地址 中国香港薄扶林道	<i>A61P 25/08</i> (2006.01)
	申请人 香港中文大学	<i>A61P 25/00</i> (2006.01)
(72) 发明人	杨丹 李祥 沈兵 姚晓强	<i>A61P 19/08</i> (2006.01)
(74) 专利代理机构	中国专利代理(香港)有限公司	
	司 72001	
	代理人 梁谋 李连涛	
(51) Int. Cl.		
	<i>A61K 31/16</i> (2006.01)	
	<i>A61K 31/215</i> (2006.01)	
	<i>A61K 31/4412</i> (2006.01)	
	<i>C07C 239/14</i> (2006.01)	
	<i>C07C 239/20</i> (2006.01)	

权利要求书 17 页 说明书 59 页 附图 23 页

---

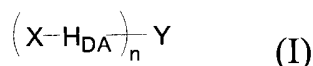
(54) 发明名称

调节细胞膜电位的方法

(57) 摘要

本文提供使用自组装化合物调节细胞膜的膜电位的方法。本文还提供使用本文公开的自组装化合物调节细胞膜中的天然电压依赖性离子通道的方法。本文进一步提供通过使用本文公开的自组装化合物治疗、预防和/或管理与异常的膜电位响应相关的疾病的方法。

1. 一种调节细胞膜的膜电位的方法,所述方法包括以下步骤:
  - (a) 在细胞膜中形成合成阴离子通道;和
  - (b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动。
2. 权利要求 1 的方法,其中所述细胞膜包含脂质双层。
3. 权利要求 1-2 中任一项的方法,其中所述阴离子通道为氯化物通道。
4. 权利要求 1-3 中任一项的方法,其中所述合成阴离子通道由具有下式 (I) 的自组装化合物或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体的多个分子形成:

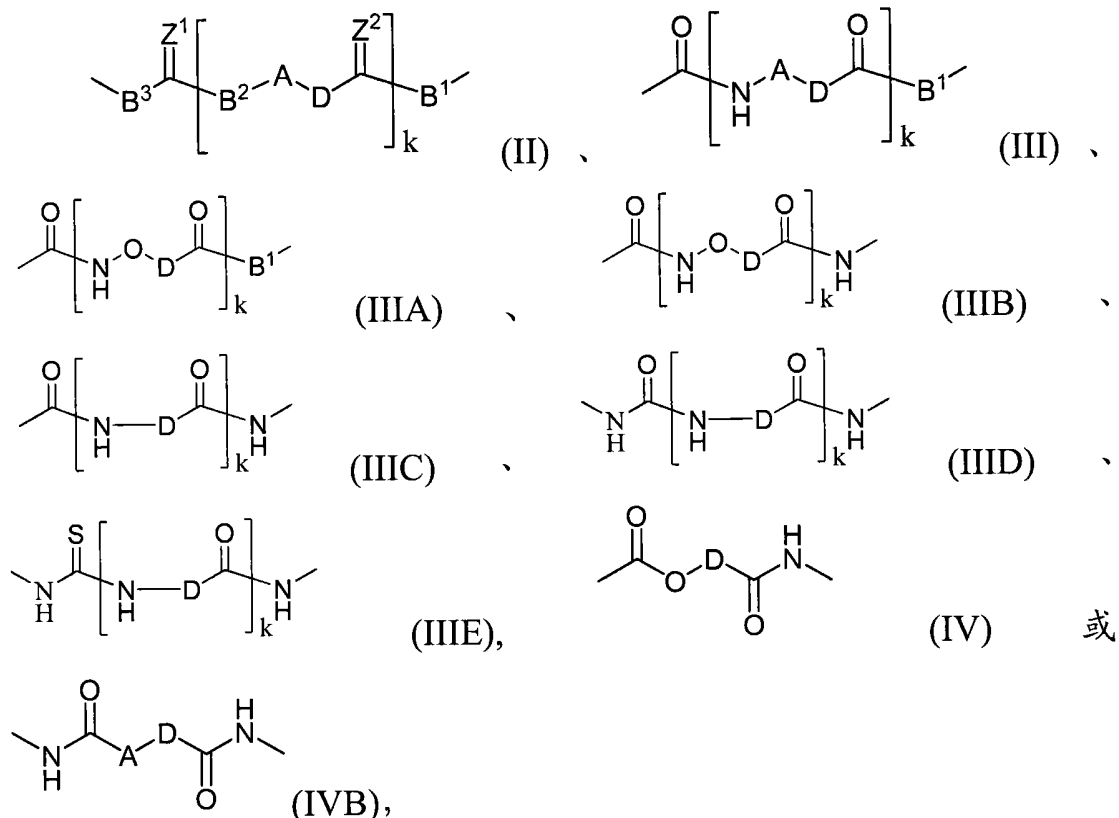


其中 X 为未取代的或取代的烃基或杂环基;

n 为 1-6 的整数;

Y 为通过由未取代的或取代的烃、碳环或杂环分别除去 1、2、3、4、5 和 6 个氢原子形成的单价、二价、三价、四价、五价或六价连接基团;和

$H_{DA}$  为具有下式 (II)、(III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE)、(IV) 或 (IVB) 的二价基团:



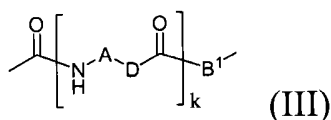
其中  $Z^1$  和  $Z^2$  各自独立为 O、S 或  $NR^1$ ;

A、 $B^2$  和 D 各自独立为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基;

$B^1$  和  $B^3$  各自独立为键、O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基;和

k 为 1-20 的整数,其中  $R^1$  和  $R^2$  各自独立为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基,且式 (II) 的  $B^1$  和  $B^2$  中的至少一个为 NH。

5. 权利要求 4 的方法,其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (III) 表示:



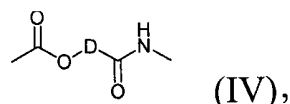
其中 k 为 1-20 的整数；

A 为 O、S、NR<sup>2</sup> 或者取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基，其中 R<sup>2</sup> 为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基；

B<sup>1</sup> 为 O 或 NH；和

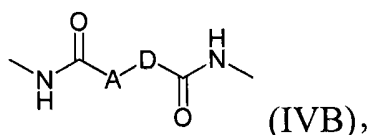
D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

6. 权利要求 4 的方法，其中式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (IV) 表示：



其中 D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

7. 权利要求 4 的方法，其中式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (IVB) 表示：



其中 A 为 O、S、NR<sup>2</sup> 或者取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基，其中 R<sup>2</sup> 为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基；和

D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

8. 权利要求 4-7 中任一项的方法，其中式 (I) 的 n 为 1。

9. 权利要求 4-7 中任一项的方法，其中式 (I) 的 n 为 2 或 3，且 X-H<sub>DA</sub> 单元中的至少两个相同。

10. 权利要求 4-7 中任一项的方法，其中式 (I) 的 n 为 2 或 3，且 X-H<sub>DA</sub> 单元中的至少两个不同。

11. 权利要求 4-10 中任一项的方法，其中 X 为烃基或取代的烃基。

12. 权利要求 11 的方法，其中 X 为包含 1-14 个碳原子的烃基或者取代的烃基。

13. 权利要求 12 的方法，其中 X 为具有 1-14 个碳原子的烷基或取代的烷基。

14. 权利要求 13 的方法，其中 X 为异丁基。

15. 权利要求 4-14 中任一项的方法，其中 Y 为通过由未取代的或取代的烷烃、烯烃或炔烃分别除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。

16. 权利要求 15 的方法，其中 Y 为通过由未取代的或取代的 C<sub>2-12</sub> 烷烃、烯烃或炔烃分别除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。

17. 权利要求 16 的方法，其中 Y 为未取代的或取代的亚丙基或亚丙烯基。

18. 权利要求 4-14 中任一项的方法，其中 Y 为通过由未取代的或取代的单环、双环或三环芳香族碳环分别除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。

19. 权利要求 18 的方法，其中 Y 为通过由未取代的或取代的苯分别除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。

20. 权利要求 4-14 中任一项的方法，其中 Y 为通过由未取代的或取代的单环、双环或三环杂环分别除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。

21. 权利要求 20 的方法, 其中 Y 为通过由未取代的或取代的吡啶分别除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。

22. 权利要求 4-21 中任一项的方法, 其中 D 为被至少烷基、芳基、取代的烷基或取代的芳基基团取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

23. 权利要求 22 的方法, 其中 D 为被至少异丁基基团取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

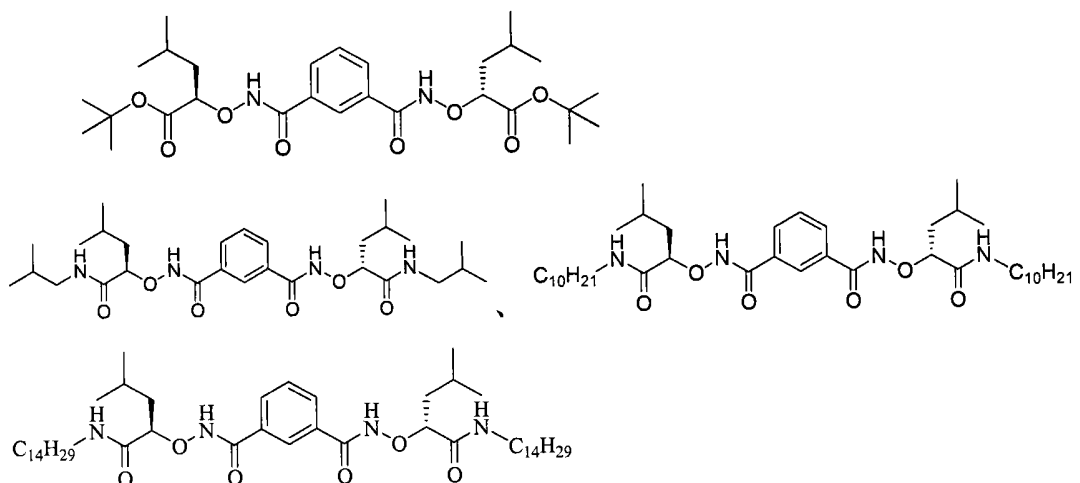
24. 权利要求 4-23 中任一项的方法, 其中 A 为键; D 为亚甲基或取代的亚甲基; 而 k 为 1。

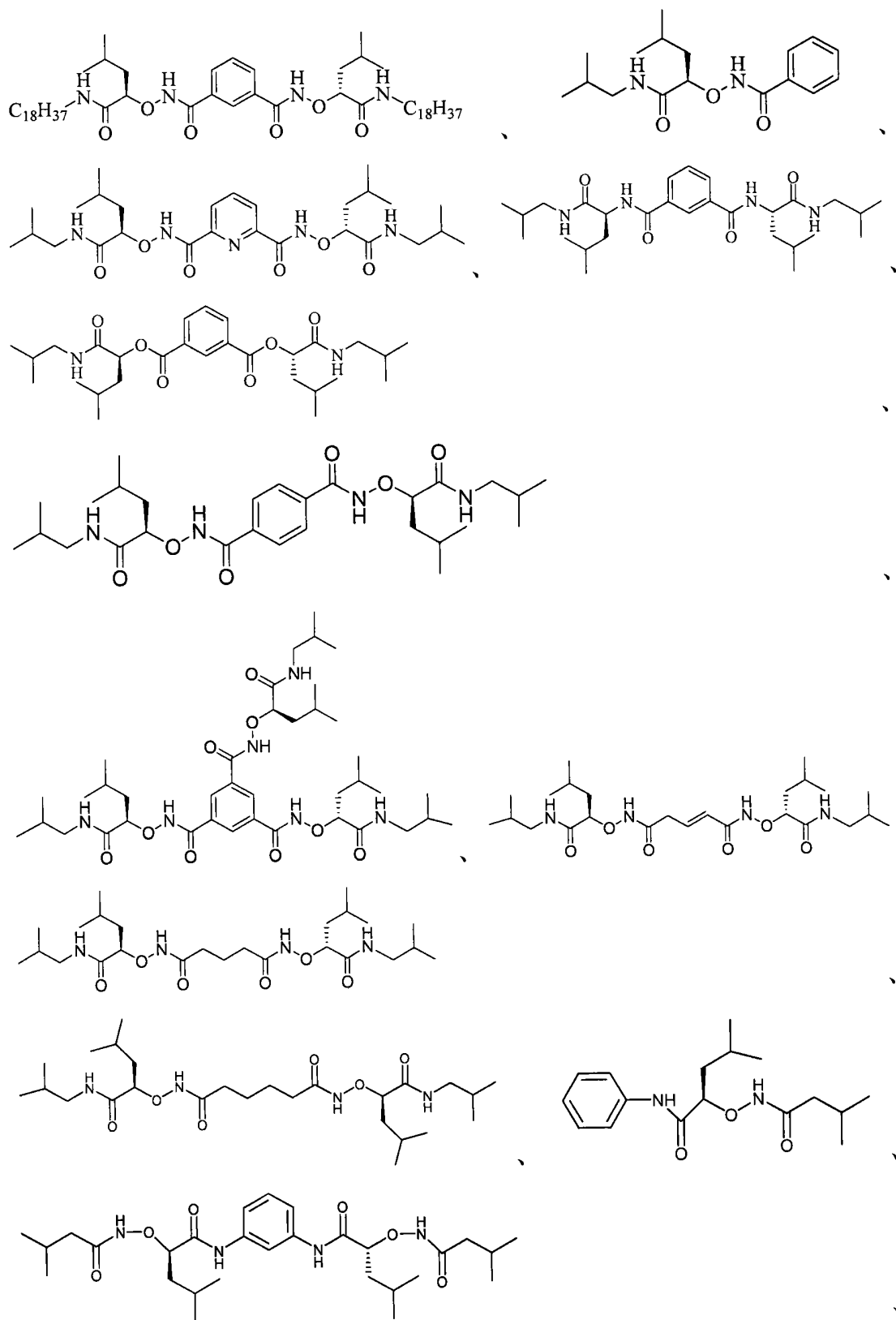
25. 权利要求 4-23 中任一项的方法, 其中 A 为 O; D 为亚甲基或取代的亚甲基; 而 k 为 1。

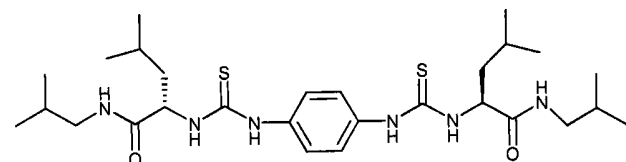
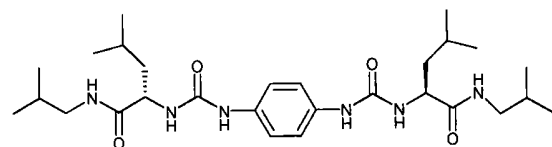
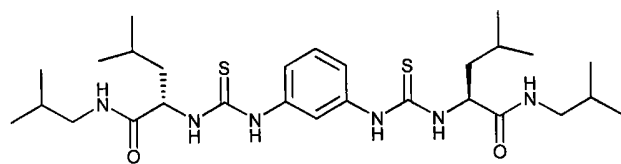
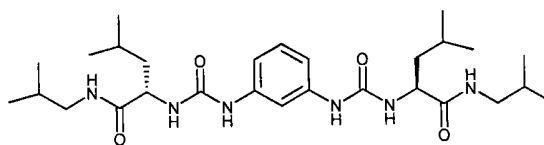
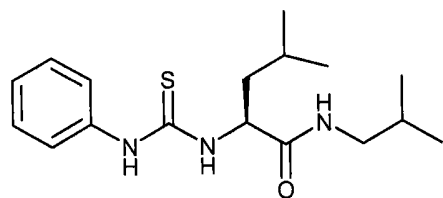
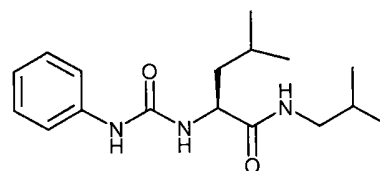
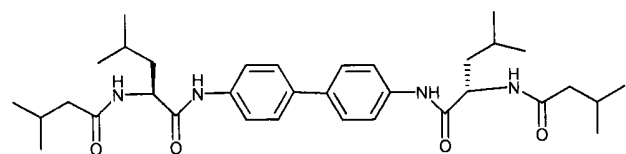
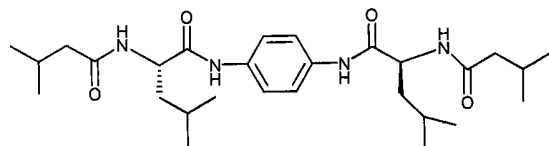
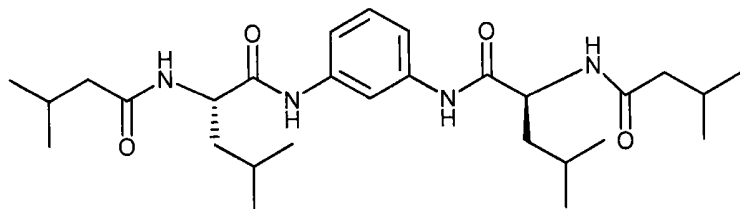
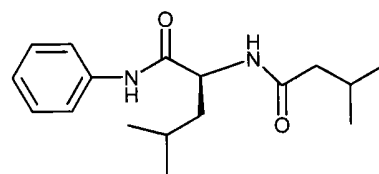
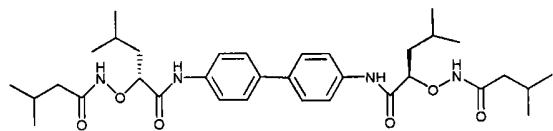
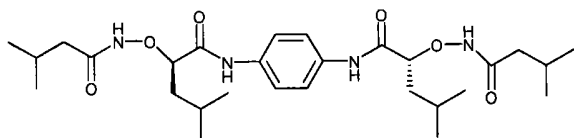
26. 权利要求 4-14 中任一项的方法, 其中 Y 为亚芳基、杂亚芳基、亚烷基或亚烯基; 且每个 X 均为未取代的或取代的具有 1-14 个碳原子的烃基。

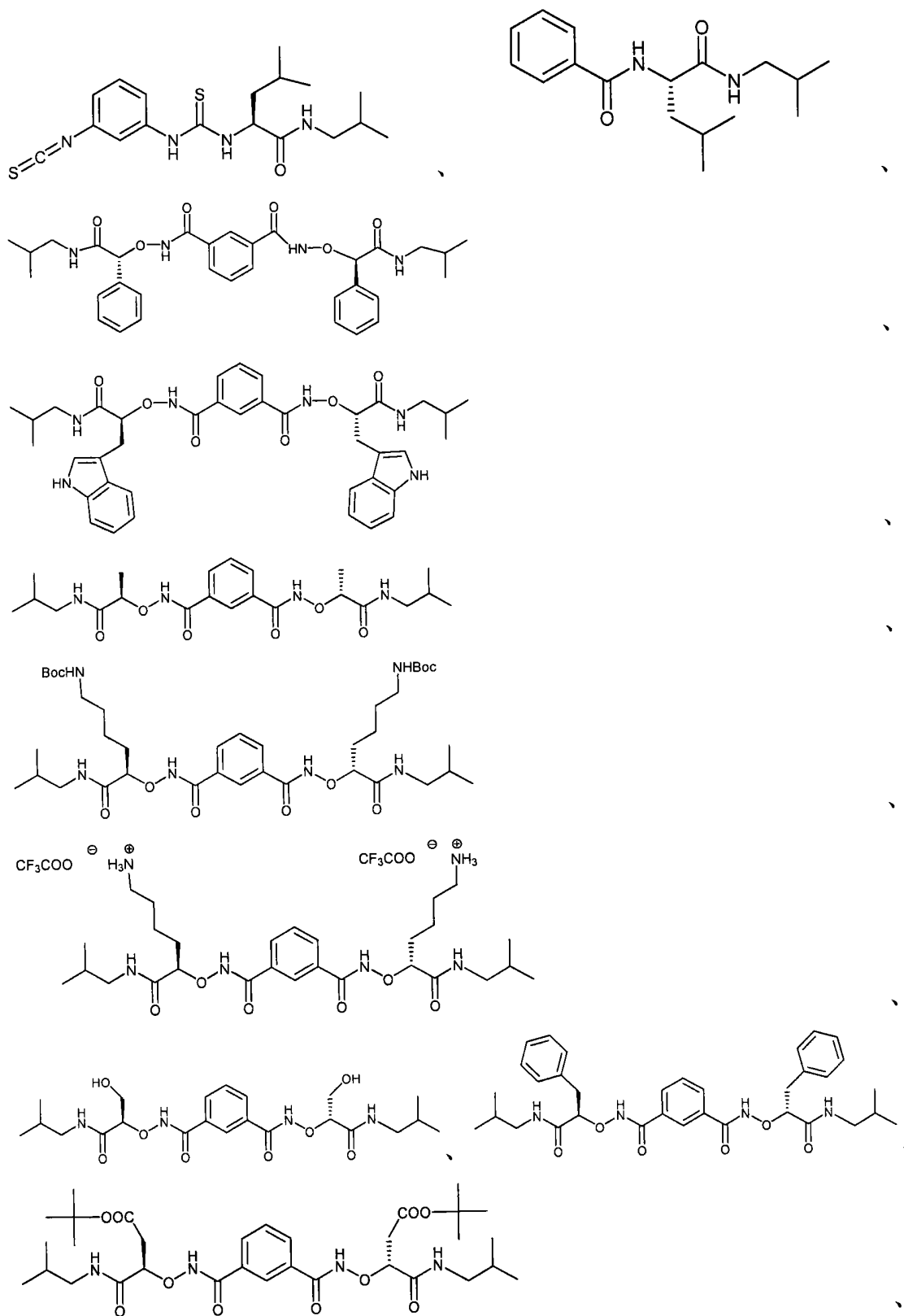
27. 权利要求 4-26 中任一项的方法, 其中 D 为被异丁基取代的亚甲基。

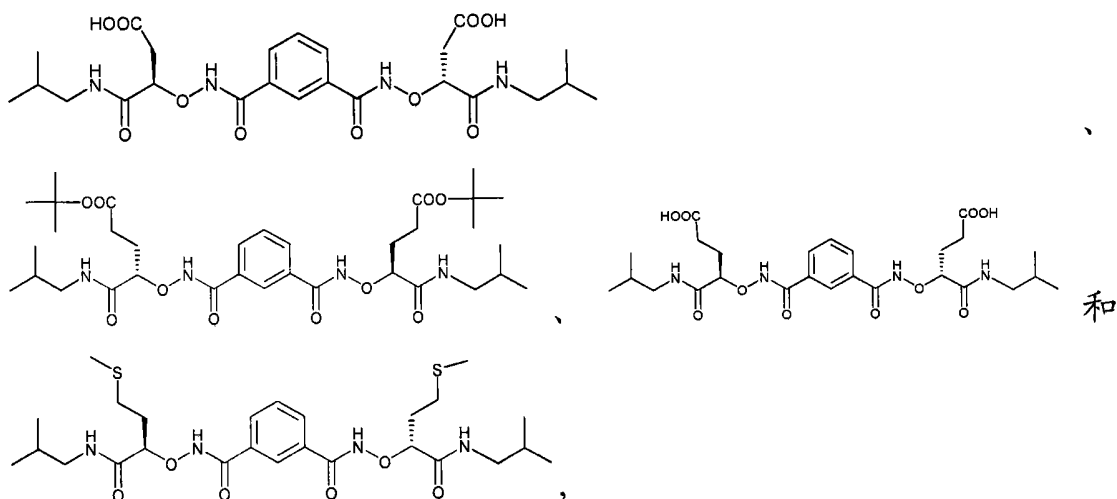
28. 权利要求 4 的方法, 其中所述自组装化合物为:





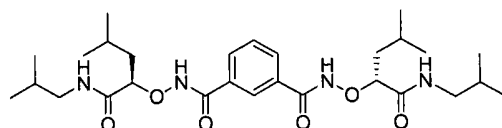






或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体。

29. 权利要求 28 的方法, 其中所述自组装化合物为:



或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体。

30. 一种调节细胞膜中的天然电压依赖性离子通道的方法, 所述方法包括以下步骤:

- (a) 在细胞膜中形成合成阴离子通道;
- (b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动; 和
- (c) 调节所述天然电压依赖性离子通道。

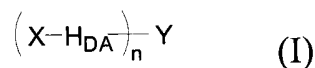
31. 权利要求 31 的方法, 其中所述细胞膜包含脂质双层。

32. 权利要求 30-32 中任一项的方法, 其中所述阴离子通道为氯化物通道。

33. 权利要求 30-32 中任一项的方法, 其中所述天然电压依赖性离子通道为电压依赖性钠离子通道、钾离子通道或钙离子通道。

34. 权利要求 30-32 中任一项的方法, 其中所述天然电压依赖性离子通道为电压依赖性钙离子通道。

35. 权利要求 30-34 中任一项的方法, 其中所述合成阴离子通道由具有下式 (I) 的自组装化合物或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体的多个分子形成:



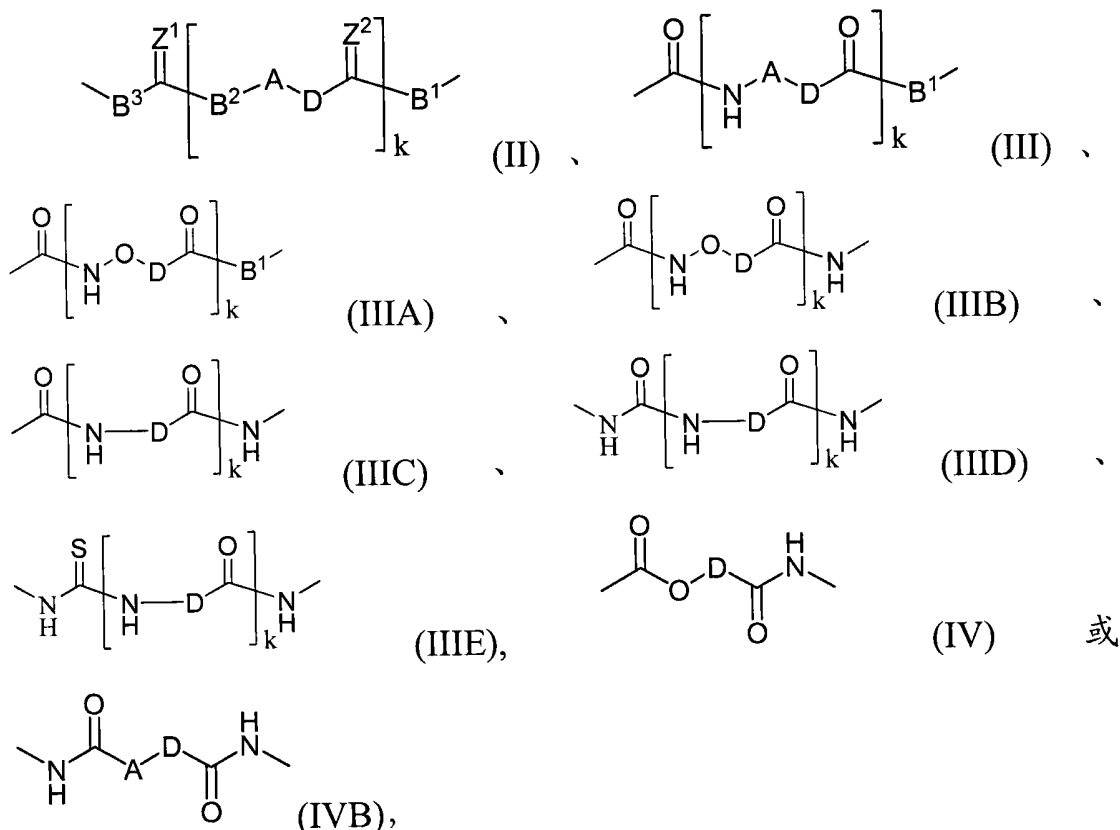
其中 X 为未取代的或取代的烃基或杂环基;

n 为 1-6 的整数;

Y 为通过由未取代的或取代的烃、碳环或杂环分别除去 1、2、3、4、5 和 6 个氢原子形成单价、二价、三价、四价、五价或六价连接基团; 和

$H_{DA}$  为具有下式 (II)、(III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE)、(IV) 或 (IVB) 的二价基团:





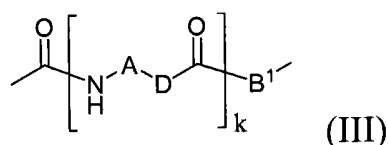
其中  $Z^1$  和  $Z^2$  各自独立为 O、S 或  $NR^1$  ；

A、 $B^2$  和 D 各自独立为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基 ；

$B^1$  和  $B^3$  各自独立为键、O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基 ；和

k 为 1-20 的整数，其中  $R^1$  和  $R^2$  各自独立为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基，且式 (II) 的  $B1$  和  $B2$  中的至少一个为 NH。

36. 权利要求 35 的方法，其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (III) 表示 ；



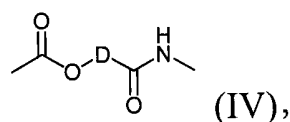
其中 k 为 1-20 的整数 ；

A 为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基，其中  $R^2$  为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基 ；

$B^1$  为 O 或 NH；和

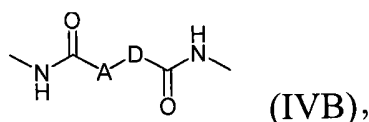
D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

37. 权利要求 35 的方法，其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IV) 表示 ；



其中 D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

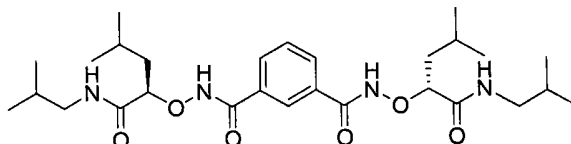
38. 权利要求 35 的方法，其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IVB) 表示 ；



其中 A 为 O、S、NR<sup>2</sup> 或取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基, 其中 R<sup>2</sup> 为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基; 和

D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

39. 权利要求 35 方法, 其中所述自组装化合物为



或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体。

40. 一种调节细胞的胞内钙浓度的方法, 所述方法包括以下步骤:

- (a) 在细胞膜中形成合成阴离子通道;
- (b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位转移;
- (c) 调节天然电压依赖性钙通道; 和
- (d) 调节细胞的胞内钙浓度。

41. 权利要求 40 的方法, 其中所述细胞膜包含脂质双层。

42. 权利要求 40-41 中任一项的方法, 其中所述阴离子通道为氯化物通道。

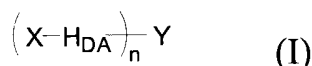
43. 权利要求 40-42 中任一项的方法, 其中所述细胞为肌细胞。

44. 权利要求 43 的方法, 其中所述细胞为平滑肌细胞。

45. 权利要求 44 的方法, 其中所述细胞为血管平滑肌细胞。

46. 权利要求 40-45 中任一项的方法, 其中所述天然电压依赖性钙通道为 L-型钙通道。

47. 权利要求 40-46 中任一项的方法, 其中所述合成阴离子通道由具有下式 (I) 的自组装化合物或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体的多个分子形成:

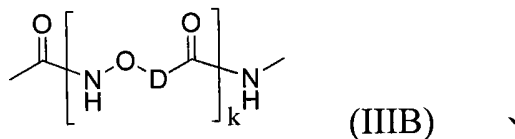
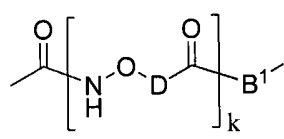
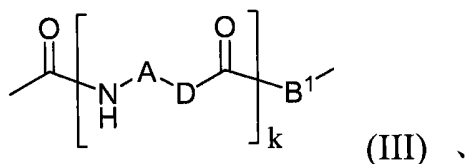
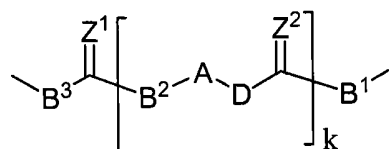


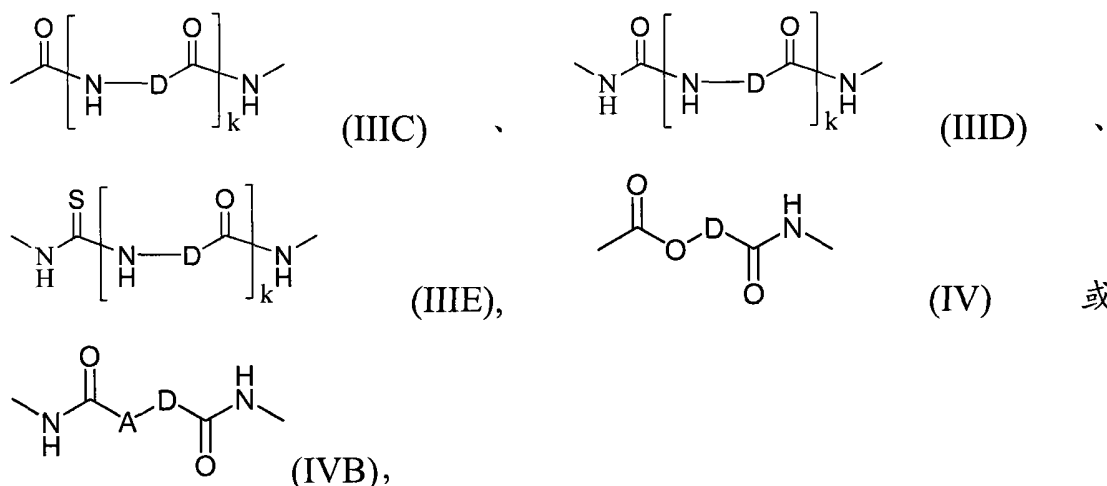
其中 X 为未取代的或取代的烃基或杂环基;

n 为 1-6 的整数;

Y 为通过由未取代的或取代的烃、碳环或杂环分别除去 1、2、3、4、5 和 6 个氢原子形成的单价、二价、三价、四价、五价或六价连接基团; 和

H<sub>DA</sub> 为具有下式 (II)、(III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE)、(IV) 或 (IVB) 的二价基团:





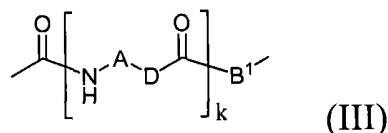
其中  $Z^1$  和  $Z^2$  各自独立为 O、S 或  $NR^1$  ;

A、 $B^2$  和 D 各自独立为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基 ;

$B^1$  和  $B^3$  各自独立为键、O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基 ; 和

k 为 1-20 的整数, 其中  $R^1$  和  $R^2$  各自独立为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基, 且式 (II) 的 B1 和 B2 中的至少一个为 NH。

48. 权利要求 47 的方法, 其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (III) 表示 :



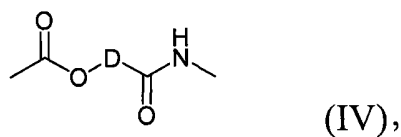
其中 k 为 1-20 的整数 ;

A 为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基, 其中  $R^2$  为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基 ;

$B^1$  为 O 或 NH ; 和

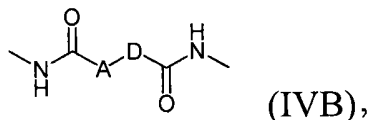
D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或者被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

49. 权利要求 47 的方法, 其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IV) 表示 :



其中 D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或者被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

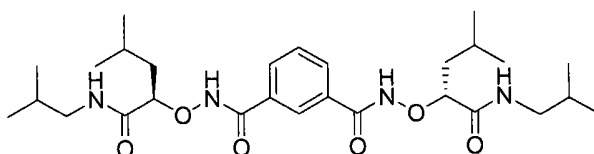
50. 权利要求 47 的方法, 其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IVB) 表示 :



其中 A 为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基, 其中  $R^2$  为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基 ; 和

D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或者被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

51. 权利要求 47 的方法, 其中所述自组装化合物为



或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体。

52. 一种调节肌细胞的张力的方法,所述方法包括以下步骤:

- (a) 在肌细胞的膜中形成合成阴离子通道;
- (b) 将肌细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动;
- (c) 调节天然电压依赖性钙通道;
- (d) 调节肌细胞的胞内钙浓度;和
- (e) 调节肌细胞的张力。

53. 权利要求 52 的方法,其中所述细胞膜包含脂质双层。

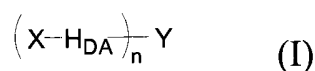
54. 权利要求 52-53 中任一项的方法,其中所述阴离子通道为氯化物通道。

55. 权利要求 52-54 中任一项的方法,其中所述肌细胞为平滑肌细胞。

56. 权利要求 55 的方法,其中所述肌细胞为血管平滑肌细胞。

57. 权利要求 52-56 中任一项的方法,其中所述天然电压依赖性钙通道为 L-型钙通道。

58. 权利要求 52-57 中任一项的方法,其中所述合成阴离子通道由具有下式 (I) 的自组装化合物或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体的多个分子形成:

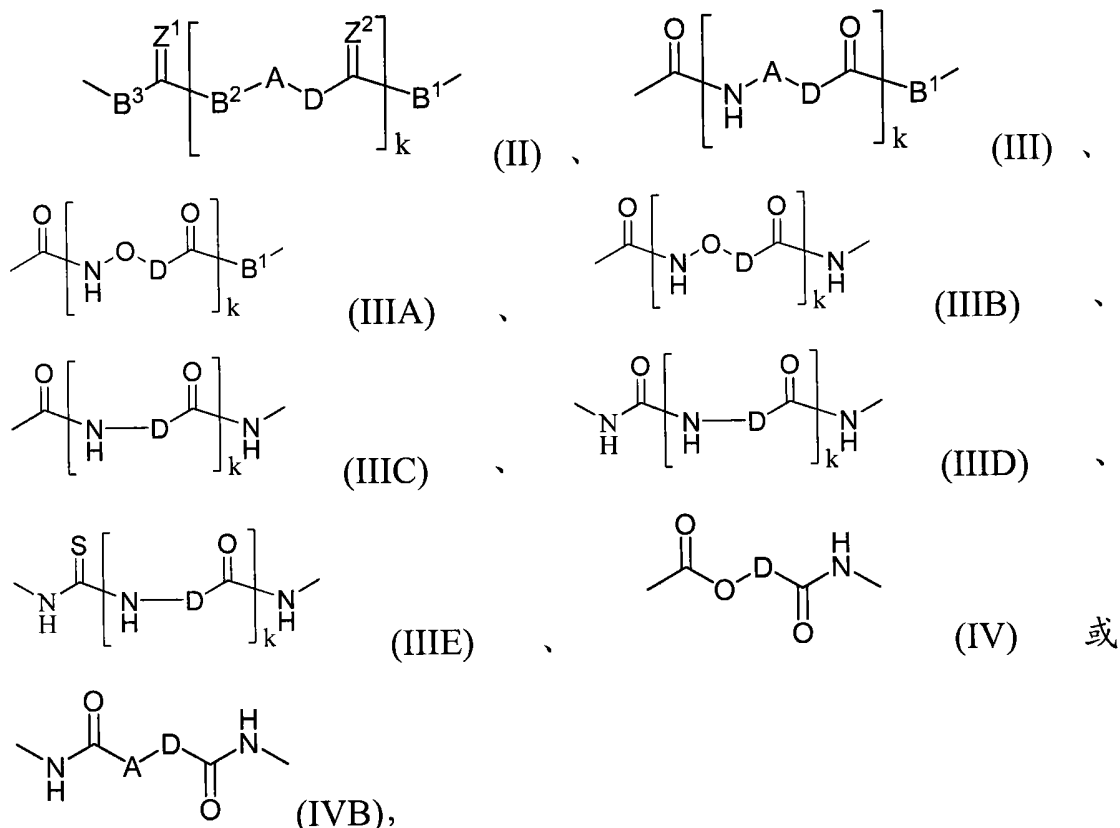


其中 X 为未取代的或取代的烃基或杂环基;

n 为 1-6 的整数;

Y 为通过由未取代的或取代的烃、碳环或杂环分别除去 1、2、3、4、5 和 6 个氢原子形成的单价、二价、三价、四价、五价或六价连接基团;和

$H_{DA}$  为具有下式 (II)、(III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE)、(IV) 或 (IVB) 的二价基团:



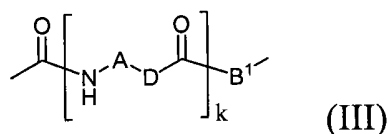
其中  $Z^1$  和  $Z^2$  各自独立为 O、S 或  $NR^1$  ；

A、 $B^2$  和 D 各自独立为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基 ；

$B^1$  和  $B^3$  各自独立为键、O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基 ；和

k 为 1-20 的整数,其中  $R^1$  和  $R^2$  各自独立为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基,且式 (II) 的  $B^1$  和  $B^2$  中的至少一个为 NH。

59. 权利要求 58 的方法,其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (III) 表示 ；



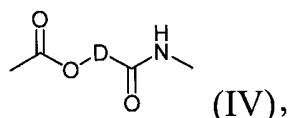
其中 k 为 1-20 的整数 ；

A 为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基,其中  $R^2$  为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基 ；

$B^1$  为 O 或 NH;和

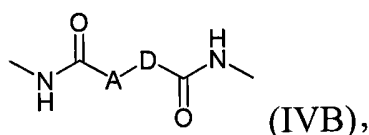
D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或者被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

60. 权利要求 58 的方法,其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IV) 表示 ；



其中 D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或者被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

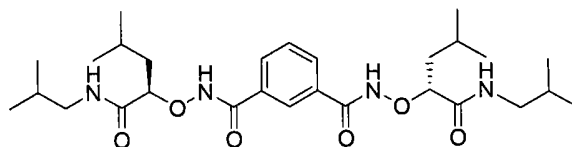
61. 权利要求 58 的方法,其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IVB) 表示 ；



其中 A 为 O、S、NR<sup>2</sup> 或者取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基, 其中 R<sup>2</sup> 为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基; 和

D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或者被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

62. 权利要求 58 的方法, 其中所述自组装化合物为



或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体。

63. 一种调节血管紧张度的方法, 所述方法包括以下步骤:

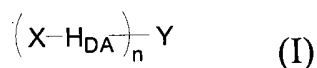
- (a) 在血管平滑肌细胞的膜中形成合成阴离子通道;
- (b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动;
- (c) 调节天然电压依赖性钙通道;
- (d) 调节细胞的胞内钙浓度;
- (e) 调节血管平滑肌细胞的张力; 和
- (f) 调节血管紧张度。

64. 权利要求 63 的方法, 其中所述细胞膜包含脂质双层。

65. 权利要求 63-64 中任一项的方法, 其中所述阴离子通道为氯化物通道。

66. 权利要求 63-65 中任一项的方法, 其中所述天然电压依赖性钙通道为 L-型钙通道。

67. 权利要求 63-66 中任一项的方法, 其中所述合成阴离子通道由具有下式 (I) 的自组装化合物或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体的多个分子形成:

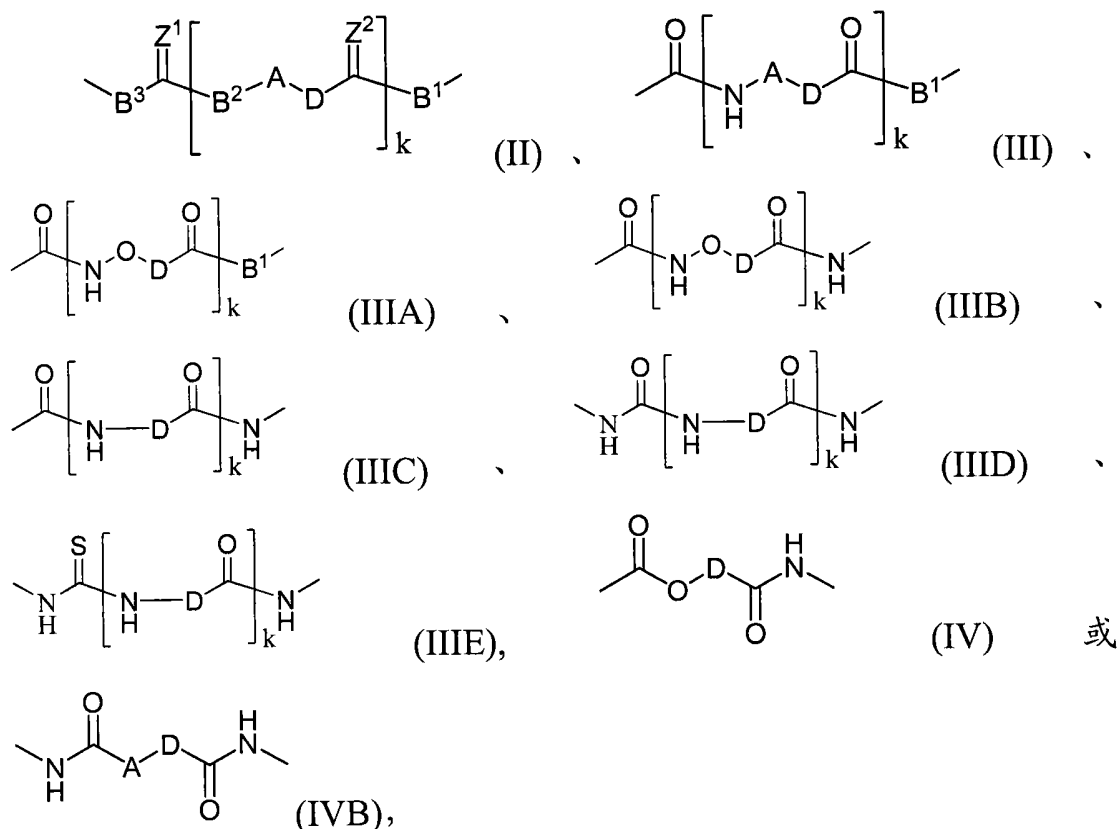


其中 X 为未取代的或取代的烃基或杂环基;

n 为 1-6 的整数;

Y 为通过由未取代的或取代的烃、碳环或杂环分别除去 1、2、3、4、5 和 6 个氢原子形成的单价、二价、三价、四价、五价或六价连接基团; 和

H<sub>DA</sub> 为具有下式 (II)、(III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE)、(IV) 或 (IVB) 的二价基团:



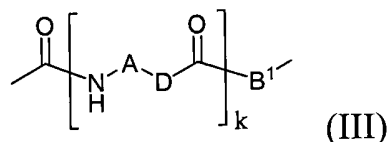
其中  $Z^1$  和  $Z^2$  各自独立为 O、S 或  $NR^1$  ；

A、 $B^2$  和 D 各自独立为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基 ；

$B^1$  和  $B^3$  各自独立为键、O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基 ；和

k 为 1-20 的整数，其中  $R^1$  和  $R^2$  各自独立为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基，且式 (II) 的  $B^1$  和  $B^2$  中的至少一个为 NH。

68. 权利要求 67 的方法，其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (III) 表示 ；



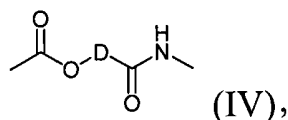
其中 k 为 1-20 的整数 ；

A 为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基，其中  $R^2$  为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基 ；

$B^1$  为 O 或 NH；和

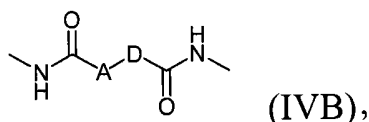
D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

69. 权利要求 67 的方法，其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IV) 表示 ；



其中 D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或者被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。

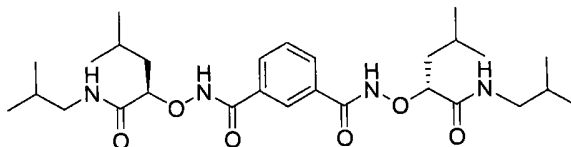
70. 权利要求 67 的方法，其中式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IVB) 表示 ；



其中 A 为 O、S、NR<sup>2</sup> 或者取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基, 其中 R<sup>2</sup> 为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基; 和

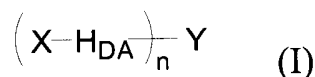
D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或者被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

71. 权利要求 67 的方法, 其中所述自组装化合物为



或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体。

72. 一种治疗、管理或预防与异常的膜电位响应相关的人类疾病的方法, 所述方法包括给予具有下式 (I) 的自组装化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、多形体或立体异构体的多个分子:



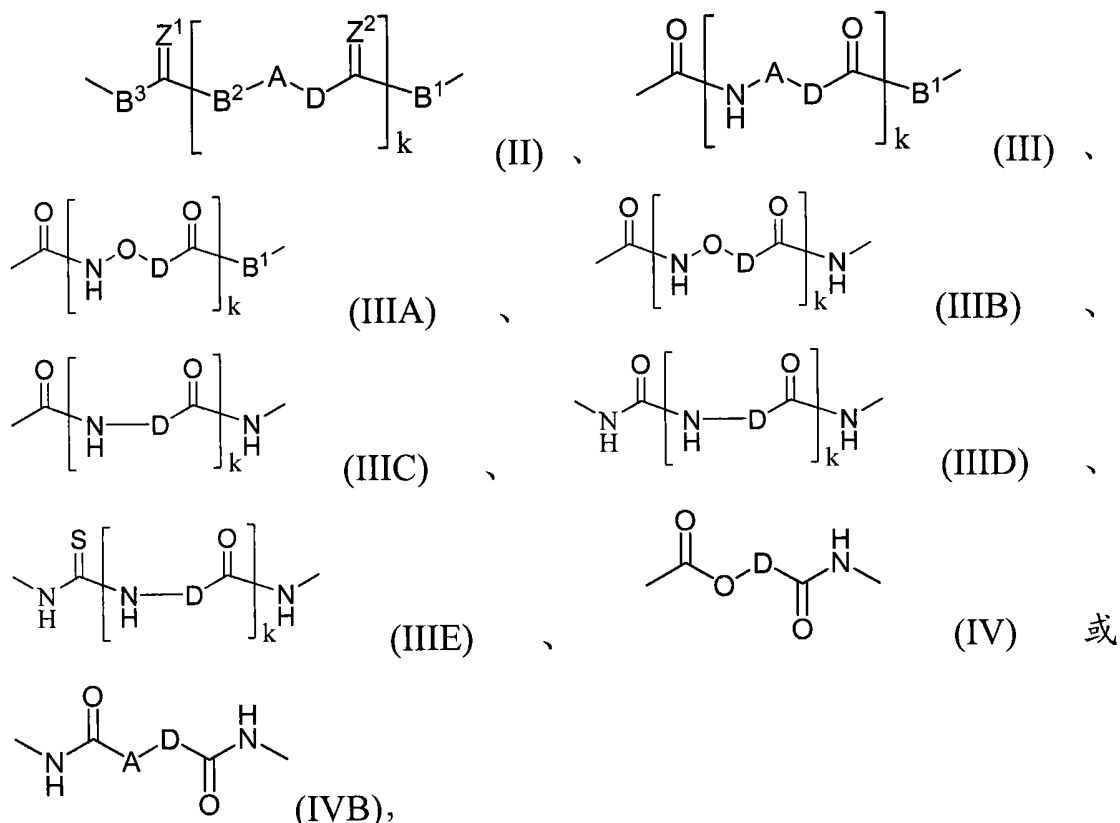
其中 X 为未取代的或取代的烃基或杂环基;

n 为 1-6 的整数;

Y 为通过由未取代的或取代的烃、碳环或杂环分别除去 1、2、3、4、5 和 6 个氢原子形成的单价、二价、三价、四价、五价或六价连接基团; 和

H<sub>DA</sub> 为具有下式 (II)、(III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE)、(IV) 或 (IVB) 的二价基团:





其中 Z1 和 Z2 各自独立为 O、S 或 NR<sup>1</sup>；

A、B<sup>2</sup> 和 D 各自独立为 O、S、NR<sup>2</sup> 或者取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基；

B<sup>1</sup> 和 B<sup>3</sup> 各自独立为键、O、S、NR<sup>2</sup> 或者取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基；和

k 为 1-20 的整数，其中 R<sup>1</sup> 和 R<sup>2</sup> 各自独立为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基，且式 (II) 的 B1 和 B2 中的至少一个为 NH。

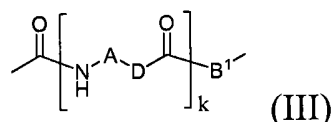
73. 权利要求 72 的方法，其中所述疾病为高血压、常染色体显性长 QT 综合征伴耳聋、常染色体隐性长 QT 综合征、良性家族性新生儿惊厥、长 QT 综合征、长 QT 综合征伴畸形特征、全身性癫痫伴热性惊厥 (GEFS+)、全身性癫痫伴热性和非热性惊厥、先天性肌强直病、钾加重的强直性高钾型周期性麻痹或 Brugada 综合征。

74. 权利要求 72 的方法，其中所述疾病为高血压、常染色体显性长 QT 综合征伴耳聋、常染色体隐性长 QT 综合征、良性家族性新生儿惊厥、长 QT 综合征或长 QT 综合征伴畸形特征。

75. 权利要求 72 的方法，其中所述自组装化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或立体异构体插入到哺乳动物细胞的脂质双层中。

76. 权利要求 75 的方法，其中所述哺乳动物为人。

77. 权利要求 72 的方法，其中式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (III) 表示：



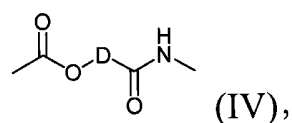
其中 k 为 1-20 的整数；

A 为 O、S、NR<sup>2</sup> 或者取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基，其中 R<sup>2</sup> 为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基；

B<sup>1</sup> 为 O 或 NH；和

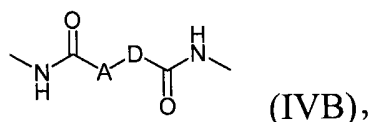
D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

78. 权利要求 72 的方法, 其中式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (IV) 表示:



其中 D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

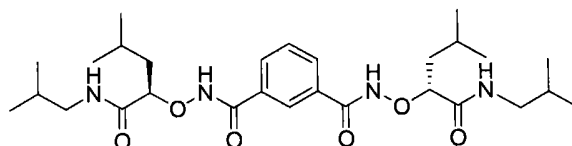
79. 权利要求 72 的方法, 其中式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (IVB) 表示:



其中 A 为 O、S、NR<sup>2</sup> 或者取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基, 其中 R<sup>2</sup> 为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基; 和

D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或者被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

80. 权利要求 72 的方法, 其中所述自组装化合物为



或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体。

## 调节细胞膜电位的方法

### 发明领域

[0001] 本文提供使用自组装化合物调节细胞膜的膜电位的方法。本文还提供使用本文公开的自组装化合物调节细胞膜中的天然电压依赖性离子通道的方法。本文进一步提供通过使用本文公开的自组装化合物治疗、预防和 / 或管理与异常的膜电位响应相关的疾病的方法。

### [0002] 发明背景

[0003] 膜电位,即跨活细胞膜的电位差,是活细胞的固有特征。许多重要的生理过程,例如神经元信号转导、肌收缩、心血管功能和免疫应答,涉及膜电位的改变。一般而言,细胞的膜电位尤其取决于3种因素:1) 在细胞内侧和外部的离子浓度;2) 细胞膜对那些离子通过特定离子通道的通透性;和3) 保持跨膜的离子浓度的生电泵的活性。因此,可以选择性介导离子跨细胞膜转移的离子通道可能对建立和控制细胞的膜电位起关键作用。

[0004] 尽管离子通道可控制细胞的膜电位,但是膜电位可以以可逆方式调节许多离子通道(尤其是电压依赖性离子通道)的功能。例如,由某些离子通道的开启引起的膜电位改变可以影响其它离子通道的行为,并诱导它们的作用级联,例如肌细胞的收缩。实际上,异常膜电位响应已涉及许多严重的人类疾病,例如高血压、常染色体显性长QT综合征伴耳聋、常染色体隐性长QT综合征、良性家族性新生儿惊厥、长QT综合征、长QT综合征伴畸形特征、全身性癫痫伴热性惊厥(GEFS+)、全身性癫痫伴热性和非热性惊厥、先天性肌强直病、钾加重的强直性高钾型周期性麻痹或Brugada综合征。

[0005] 尽管大部分研究已集中于天然离子通道,但需要产生模拟天然离子通道的控制膜电位和 / 或调节天然电压依赖性离子通道的生物功能的合成离子通道系统。然而,迄今为止,仍没有据报道能够在活系统中建立膜电位和 / 或调节天然电压依赖性离子通道的合成离子通道。因此,需要新的合成离子通道,其可以调节膜电位和 / 或调节天然电压依赖性离子通道和它们在活细胞和组织中的生理功能。此外,需要治疗或预防与异常的膜电位响应相关的病症和疾病的方法。

### [0006] 发明概述

[0007] 本文提供使用自组装化合物调节细胞膜的膜电位、调节细胞膜中的天然电压依赖性离子通道或者治疗、管理或预防与异常的膜电位响应相关的疾病的方法。

[0008] 一方面,本文提供调节细胞膜的膜电位的方法,其包括以下步骤:(a) 在细胞膜中形成合成阴离子通道;和(b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动。在某些实施方案中,所述方法还包括施加跨细胞膜的阴离子梯度的步骤。

[0009] 另一方面,本文提供调节细胞膜中的天然电压依赖性离子通道的方法,所述方法包括以下步骤:(a) 在细胞膜中形成合成阴离子通道;(b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动;和(c) 调节天然电压依赖性离子通道,其中所述自组装化合物具有如本文定义的式(I)。在某些实施方案中,所述方法进一步包含施加跨细胞膜的阴离子梯度的步骤。在其它实施方案中,天然电压依赖性离子通道是电压依赖性钠通道、钾通道或钙通道。在进一步的实施方案中,所述天然电压依赖性离子通道为电压依赖性钙通道。

[0010] 另一方面,本文提供调节细胞的胞内钙浓度的方法,其包括以下步骤:(a)在细胞膜中形成合成阴离子通道;(b)将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动;(c)调节天然电压依赖性钙通道;和(d)调节细胞的胞内钙浓度。

[0011] 另一方面,本文提供调节肌细胞张力的方法,所述方法包括以下步骤:(a)在细胞膜中形成合成阴离子通道;(b)将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位转移;(c)调节天然电压依赖性钙通道;(d)调节细胞的胞内钙浓度;和(e)调节肌细胞的张力。

[0012] 另一方面,本文提供调节血管紧张度的方法,其包含以下步骤:(a)在血管平滑肌细胞膜中形成合成阴离子通道;(b)将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动;(c)调节天然电压依赖性钙通道;(d)调节细胞的胞内钙浓度;(e)调节血管平滑肌细胞的张力;和(f)调节血管紧张度。

[0013] 在某些实施方案中,所述细胞为肌细胞。在其它实施方案中,所述细胞为平滑肌细胞。在进一步的实施方案中,所述细胞为血管平滑肌细胞。在再进一步的实施方案中,所述天然电压依赖性钙通道为L-型钙通道。

[0014] 在某些实施方案中,所述阴离子为氟、氯、溴、碘、硝酸根、亚硝酸根、硫酸根、硫酸氢根、碳酸根、碳酸氢根、磷酸根、磷酸氢根、磷酸二氢根或乙酸根。在其它实施方案中,阴离子为氯。在进一步的实施方案中,阴离子通道为氯通道。在再进一步的实施方案中,阴离子梯度是氯梯度。在再进一步的实施方案中,所述细胞膜包含脂质双层。

[0015] 另一方面,本文提供治疗、管理或预防与异常的膜电位响应相关的人类疾病的方法,所述方法包括给予具有如下定义的式(I)的自组装化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、多形体或立体异构体的多个分子。

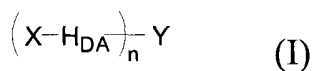
[0016] 在某些实施方案中,所述疾病为高血压、常染色体显性长QT综合征伴耳聋、常染色体隐性长QT综合征、良性家族性新生儿惊厥、长QT综合征、长QT综合征伴畸形特征、全身性癫痫伴热性惊厥(GEFS+)、全身性癫痫伴热性和非热性惊厥、先天性肌强直病、钾加重的强直性高钾型周期性麻痹或Brugada综合征。在其它实施方案,所述疾病是高血压、常染色体显性长QT综合征伴耳聋、常染色体隐性长QT综合征、良性家族性新生儿惊厥、长QT综合征或长QT综合征伴畸形特征。在进一步的实施方案中,将自组装化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或立体异构体插入哺乳动物细胞的脂质双层。在再进一步的实施方案中,所述哺乳动物为人。

[0017] 另一方面,本文提供治疗、管理或预防与异常的膜电位响应相关的人类疾病的方法,所述方法包括给予包含具有如下定义的式(I)的自组装化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、多形体或立体异构体的药物组合物。

[0018] 在某些实施方案中,所述药物组合物进一步包含载体。在某些实施方案中,所述药物组合物进一步包含至少选自以下的成分:赋形剂、载体、稀释剂及其组合。在其它实施方案中,所述药物组合物为单一单位剂型。在进一步的实施方案中,所述药物组合物为适于插入到哺乳动物细胞的脂质双层中的单一单位剂型。

[0019] 在某些实施方案中,合成阴离子通道由具有下式(I)的自组装化合物的多个分子形成:

[0020]



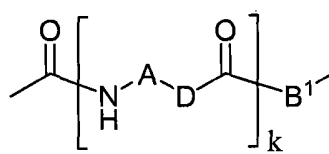
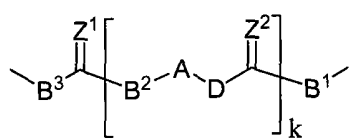
[0021] 其中 X 为未取代的或取代的烃基或杂环基；

[0022] n 为 1-6 的整数；

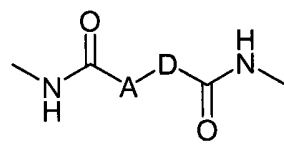
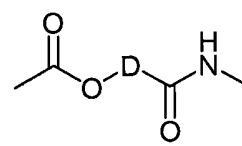
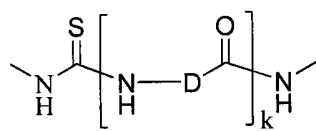
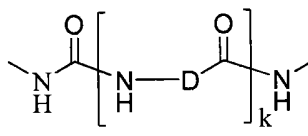
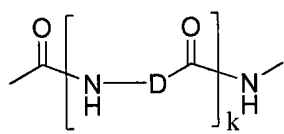
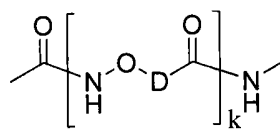
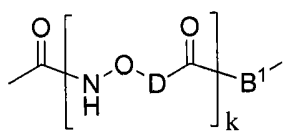
[0023] Y 为通过由未取代的或取代的烃（例如烷烃、烯烃和炔烃）、碳环（例如脂肪族碳环，例如环己烷，或芳烃，例如苯）或杂环（例如杂芳烃，例如吡啶）分别除去 1、2、3、4、5 和 6 个氢原子形成的单价、二价、三价、四价、五价或六价连接基团；和

[0024]  $H_{DA}$  为具有下式 (II)、(III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE)、(IV) 或 (IVB) 的二价基团：

[0025]



[0026]



[0027] 其中  $Z^1$  和  $Z^2$  各自独立为 O、S 或  $NR^1$ ；

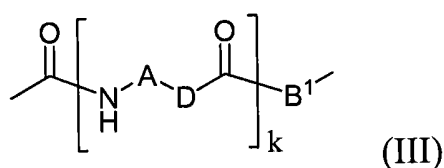
[0028] A、 $B^2$  和 D 各自独立为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基；

[0029]  $B^1$  和  $B^3$  各自独立为键、O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基；和

[0030] k 为 1-20 的整数，其中  $R^1$  和  $R^2$  各自独立为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基，且式 (II) 的  $B^1$  和  $B^2$  中的至少一个为 NH。

[0031] 在其它实施方案中，式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (III) 表示：

[0032]



[0033] 其中 k 为 1-20 的整数；

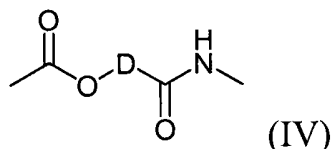
[0034] A 为 O、S、NR<sup>2</sup> 或者取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基，其中 R<sup>2</sup> 为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基；

[0035] B<sup>1</sup> 为 O 或 NH；和

[0036] D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

[0037] 在某些实施方案中，式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (IV) 表示：

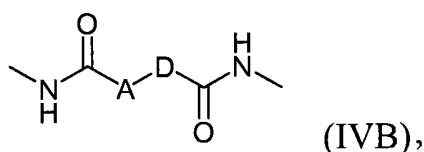
[0038]



[0039] 其中 D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

[0040] 在某些实施方案中，式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (IVB) 表示：

[0041]



[0042] 其中 A 为 O、S、NR<sup>2</sup> 或取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基，其中 R<sup>2</sup> 为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基；和

[0043] D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

[0044] 在某些实施方案中，本文公开的自组装化合物的式 (I) 的 n 为 1。在其它实施方案中，n 为 2 或 3，且 X-H<sub>DA</sub> 单元中的至少两个相同。在进一步的实施方案中，n 为 2 或 3，且 X-H<sub>DA</sub> 单元中的至少两个不同。

[0045] 在某些实施方案中，本文公开的自组装化合物的式 (I) 的 X 为烃基或取代的烃基。在其它实施方案中，X 为含有 1-14 个碳原子的烃基或取代的烃基。在进一步的实施方案中，X 为具有 1-14 个碳原子的烷基或取代的烷基。在再进一步的实施方案中，X 为异丁基。

[0046] 在某些实施方案中，本文公开的自组装化合物的式 (I) 的 Y 为通过由未取代的或取代的烷烃、烯烃或炔烃除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。在其它实施方案中，Y 为通过由未取代的或取代的 C<sub>2-12</sub> 烷烃、烯烃或炔烃除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。在进一步的实施方案中，Y 为未取代的或取代的亚丙基或亚丙烯基。

[0047] 在某些实施方案中，本文公开的自组装化合物的式 (I) 的 Y 为通过由未取代的或取代的单环、双环或三环芳香族碳环分别除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。在其它实施方案中，Y 为通过由未取代的或取代的芳烃例如苯分别除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。

[0048] 在某些实施方案中，本文公开的自组装化合物的式 (I) 的 Y 为通过由未取代的或取代的单环、双环或三环杂环分别除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。在其它实施方案中，Y 为通过由未取代的或取代的杂芳烃例如吡啶分别除去 2 个或 3 个氢原子形成的二价或三价连接基团。

[0049] 在某些实施方案中，本文公开的自组装化合物的式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 包含至少一个伯胺或

仲胺基团。

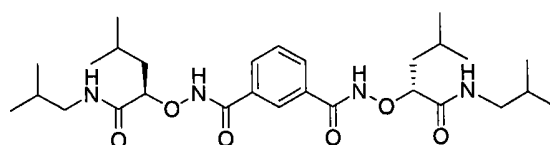
[0050] 在某些实施方案中,式(II)、(III)、(IV)或(IVB)的D为被至少烷基、芳基、取代的烷基或取代的芳基取代的 $C_{1-3}$ 亚烷基。在其它实施方案中,D为被至少异丁基取代的 $C_{1-3}$ 亚烷基。在再进一步的实施方案中,D为被异丁基取代的亚甲基。

[0051] 在某些实施方案中,式(II)或(III)的A为键;D为亚甲基或取代的亚甲基;而k为1。在进一步的实施方案中,式(II)或(III)的A为O;D为亚甲基或取代的亚甲基;而k为1。在再进一步的实施方案中,Y为亚芳基、杂亚芳基、亚烷基或亚烯基;且各个X为未取代的或取代的具有1-14个碳原子的烃基。

[0052] 在某些实施方案中,本文公开的自组装化合物为实施例1-42之一或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体。

[0053] 在进一步的实施方案中,所述自组装化合物为

[0054]



[0055] 或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体。

[0056] 附图简述

[0057] 图1图示了合成离子通道基于其结构或“设计”的一些分类。

[0058] 图2图示了跨脂质双层的合成离子通道,其中虚线代表氢原子,粗实线代表自组装分子,它们各自都包含至少一个氢键供体(由D代表)和至少一个氢键受体(由A代表)。

[0059] 图3图示了图2的合成离子通道中的可能的阴离子转运过程,其中球形代表阴离子,虚线代表氢原子,而粗实线代表自组装分子,它们各自包含至少一个氢键供体(由D代表)和至少一个氢键受体(由A代表)。阴离子在通过通道时,单独地且序贯地与各个氢键供体连同合成离子通道形成氢键。

[0060] 图4a-d图示了实施例2的多种化学表达式。图4a图示了实施例2的化学结构。图4b以棒图图示了实施例2的晶体结构,其中碳原子、氢原子、氮原子和氧原子分别由灰色、白色、蓝色和红色棒代表。具有 $2.13 \text{ \AA}$ 键长的两个8元环分子内氢键以绿色虚线表示。图4c和4d分别图示了实施例2的固态装填的顶视图和侧视图。图4c和4d中的CH氢原子为清楚起见而被省略。在图4d中以绿色实线显示的分子间氢键与相邻分子连接并对齐,一起形成孔状结构。

[0061] 图5显示了由不同浓度的实施例2介导的由大单层囊泡(LUV)的氯化物释放,其中使用NaCl囊泡外和囊泡内缓冲液。实验细节描述于实施例43。

[0062] 图6显示了在存在氯化物但不存在硫酸盐的情况下实施例2介导的电解质交换。实验细节描述于实施例43。

[0063] 图7显示了得自实施例1-42的不同合成离子通道在LUV中的氯化物转运能力,其中使用NaCl囊泡外和囊泡内缓冲液。

[0064] 图8显示了单通道记录结果,其表明实施例2可以通过以电压依赖性门控特征为特性的离子通道机制介导跨脂质双层的氯化物转运。实验细节描述于实施例44。

[0065] 图9显示了全细胞记录结果,其表明实施例2在分配入人细胞膜中时可以增加细

胞氯电流。实验细节描述于实施例 45。

[0066] 图 10 显示了实施例 2 在脂质体中的氯化物转运活性,采用氯化物敏感型荧光指示剂 SPQ。

[0067] 图 11 显示了实施例 2 的 X 射线晶体结构。

[0068] 图 12A 图示了在将实施例 2 加至脂质体后脂质体的膜电位改变。图 12B 显示了在将实施例 2 加至脂质体后于不同时间(分钟)的荧光强度变化。图 12C-12J 显示了在将实施例 10-42 加至脂质体后于不同时间(分钟)的荧光强度变化。

[0069] 图 13A 图示了在将 (1) 缬氨霉素和 (2) 实施例 2 加入脂质体后脂质体膜电位的变化。图 13B 显示了在将缬氨霉素和实施例 2 加入脂质体后于不同时间(分钟)的荧光强度变化。

[0070] 图 14A-E 图示了在分别将 (A) 10  $\mu$  M 毛喉素 (foskolin); (B) 10  $\mu$  M 实施例 2; (C) 100mM  $\text{Cl}^-$  和 10  $\mu$  M 实施例 2; (D) 1mM 二苯胺 -2- 甲酸酯 (DPC) 和 10  $\mu$  M 实施例 2; (E) 60mM  $\text{Cl}^-$ 、1mM DPC 和 10  $\mu$  M 实施例 2 加至 Madin-Darby 犬肾 (MDCK) 细胞后 MDCK 细胞于不同时间(分钟)的膜电位的荧光强度变化。

[0071] 图 15A 图示了在用 60mM  $\text{K}^+$  溶液和 10  $\mu$  M 实施例 2 序贯处理 A7r5 细胞后于不同时间(分钟)A7r5 细胞的膜电位的变化。图 16B 图示了在用 60mM  $\text{K}^+$  溶液、1  $\mu$  M 实施例 2 和 10  $\mu$  M 实施例 2 序贯处理 A7r5 细胞后于不同时间(分钟)A7r5 细胞的  $[\text{Ca}^{2+}]$  变化。

[0072] 图 16A-B 图示了在用 10  $\mu$  M 实施例 2 和 60mM  $\text{K}^+$  溶液序贯处理 A7r5 细胞后于不同时间(分钟)A7r5 细胞的膜电位和  $[\text{Ca}^{2+}]$  的各自变化。

[0073] 图 17A-B 显示了逐渐增加实施例 2 的浓度对分别由 (A) 60mM  $\text{K}^+$  溶液;和 (B) 10  $\mu$  M  $\alpha$ -肾上腺素能激动剂苯肾上腺素 (PE) 预收缩的小鼠大动脉的血管舒张作用。图 17C 图示了实施例 2 的浓度和对分别由 60mM  $\text{K}^+$  溶液 (●) 和 10  $\mu$  M PE (▲) 预收缩的小鼠大动脉的血管舒张作用之间的关系。

[0074] 定义

[0075] 为有利于理解本文公开的主旨,以下定义了本文使用的许多术语、缩写或其它简写。任何未定义的术语、缩写或简写都被理解为具有与本申请的提交同时代的技术人员所使用的通常含义。

[0076] “pS”是指皮西门子。

[0077] “mM”是指毫摩尔。

[0078] “ $\mu$  M”是指 M = 微摩尔。

[0079] “nM”是指纳摩尔。

[0080] “阴离子”是指带负电荷的离子。

[0081] “阳离子”是指带正电荷的离子。

[0082] “双层膜”或“脂质双层”是指双分子厚的组装体,其环绕在真核细胞周围构成透过障碍,并在胞内区室、脂质体和其它细胞器中起相似的作用。该膜包含大量两性脂质分子中的任一种,但在细胞中其主要包含磷脂。

[0083] “细胞”是指原核细胞、酵母细胞、真核细胞、植物细胞、人细胞、动物细胞,在一个实施方案中,其为哺乳动物细胞。

[0084] “膜”是指薄的半透过屏障,其分隔两个可具有相同或不同组成的液体相。



- [0085] “细胞膜”是指由蛋白包被的选择性透过的脂质双层。细胞膜包含细胞的外层。
- [0086] “通道”或“离子通道”是指不可透过膜的化合物在细胞膜中的水扩散途径,其通常由孔形成,允许中性或离子物质通过其由膜的一侧转移至另一侧。
- [0087] “超分子组装体”是指由非共价键如范德华力或氢键保持在一起的界限明确的分子复合物。超分子组装体可以包含两个或多个分子。超分子组装体可以为任何形式或形状,例如球形、圆柱形、碟形或片状,其可为固体或中空的。在某些实施方案中,超分子组装体为中空圆柱形式。在其它实施方案中,超分子组装体为带孔的通道形式。超分子组装体的维度可在纳米至微米的范围内。
- [0088] “自组装”是指在没有外部来源的指引或管理的情况下的分子组装。一般有两种类型的自组装:分子内自组装和分子间自组装。分子内自组装的分子一般为能够由随机卷曲构型组装为界限明确的稳定结构的复杂聚合物。分子间自组装是分子形成超分子组装体的能力。
- [0089] “自组装化合物”或“自组装分子”是指可以通过分子间自组装过程形成超分子组装体的化合物或分子。
- [0090] “氢键供体”是指具有至少一个连接至强电负性杂原子(包括氧、氮和硫)的氢原子的基团。
- [0091] “氢键受体”是指强电负性杂原子,包括氧、氮、硫、氟、氯和溴。
- [0092] “脂质体”是指人工的液囊,通常为球形,由磷脂的一个(单层)或多个(多层)双层膜组成,其包封水性内核,以有效方式模拟生物膜。术语脂质体有时可与“囊泡”互换使用。
- [0093] “单层”是指由单层组成的磷脂脂质体的双层膜。
- [0094] “多层”是指由一个以上的同心层组成的磷脂脂质体的双层膜,在结构上与洋葱类似。
- [0095] “选择性”是指一种物质相对于另一种物质(包括阳离子对阴离子、阴离子对阳离子、一种阳离子对不同的阳离子,或者一种阴离子对不同的阴离子)的可检测的优先性。
- [0096] “转运”是指离子或其它物质跨膜界限的移动。
- [0097] “氨基”是指任选地可为烃基、取代的烃基或杂原子取代的伯胺、仲胺或叔胺。特别包括为杂环成员的仲胺或叔胺氮原子。例如还特别包括被酰基部分取代的仲氨基或叔氨基。
- [0098] “烷基”是指含碳和氢的完全饱和的无环单价基团,其可为支链或直链。烷基的实例为甲基、乙基、正丁基、叔丁基、正庚基和异丙基。除非另有说明,否则本文描述的烷基优选为在主链含有1-10个碳原子且至多20个碳原子的低级烷基,以甲基、乙基、正丁基、异丁基、叔丁基、异戊基(isoamyl)、正戊基和异戊基(isopentyl)为例。
- [0099] “烯基”是指单价或二价不饱和的、优选单不饱和的含碳和氢的基团,其可为环链、支链或直链。除非另有说明,否则本文所述的烯基优选为在主链含有2-8个碳原子且至多20个碳原子的低级烷基,以乙烯基、丙烯基、异丙烯基、丁烯基、异丁烯基、己烯基等为例。
- [0100] “炔基”是指主链含有2-8个碳原子且至多20个碳原子的低级烷基。它们可以包含直链或支链,以乙炔基、丙炔基、异丙炔基、丁炔基、异丁炔基、己炔基等为例。
- [0101] “芳族”是指芳基或杂芳基。

[0102] “芳基”是指任选取代的碳环芳香基,优选为在环部分包含 6-12 个碳原子的单环或双环基团,例如苯基、联苯基、萘基、取代的苯基、取代的联苯基或取代的萘基。苯基和取代的苯基是更优选的芳基。

[0103] “卤素”或“卤代”是指氟、氯、溴和碘。

[0104] “杂原子”应是指非碳和氢的原子。

[0105] “杂环”或“杂环基”是指任选取代的、完全饱和的或不饱和的、单环或双环的、芳香族的或非芳香族的基团,其在至少一个环中具有至少一个杂原子,优选在每个环中具有 5 个或 6 个原子。芳香族杂环基(即杂芳基)优选在环中具有 1 个或 2 个氧原子、1 个或 2 个硫原子和/或 1-4 个氮原子,并可以通过碳或杂原子键合所述分子的余下部分。杂芳基的非限制性实例包括咪喃基、噁吩基、噁唑基、吡啶基、噁唑基、吡咯基、吡啶基、喹啉基或异喹啉基等。取代基的非限制性实例包括一种或多种以下基团:烷基、取代的烷基、酮基、羟基、保护的羟基、酰基、酰氧基、烷氧基、烯氧基、炔氧基、芳氧基、卤素、酰氨基、氨基、硝基、氰基、硫醇、缩酮、乙缩醛、酯和醚。

[0106] “烃”或“烃基”是指由元素碳和氢专有组成的有机化合物或基团。烃基包括烷基、烯基、炔基和芳基部分。烃基还包括被其它脂肪族、环形或芳族烃基取代的烷基、烯基、炔基和芳基部分,例如烷芳基、烯芳基和炔芳基。在某些实施方案中,“烃”或“烃基”包含 1-20 个碳原子。

[0107] “亚烃基”是通过由烃除去两个氢原子形成的二价基团,其自由价不涉及双键,例如 1,3-亚苯基、丙烷-1,3-二基和亚甲基。

[0108] 本文用于描述化合物或化学部分的“取代的”是指该化合物或化学部分的至少一个氢原子被第二个化学部分取代。第二个化学部分可以为任何需要的取代基,该取代基没有不利地影响化合物的所需活性。取代基的实例是存在于示例性化合物和本文公开的实施方案中的那些,以及卤素;烷基;杂芳基;烯基;炔基;芳基;杂芳基;羟基;烷氧基;氨基;硝基;硫醇;硫醚;亚胺;氰基;异氰酸酯、异硫氰酸酯、酰氨基;膦酸基(phosphonato);磷化氢;羧基;硫代羧基;磺酰基;磺酰胺;酮;醛;酯;氧代;卤代烷基(例如三氟甲基);碳环烷基,其可为单环或稠合或非稠合多元环(例如环丙基、环丁基、环戊基或环己基)或杂环烷基,其可为单环或稠合或非稠合多元环(例如吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基或噁唑基);碳环或杂环的、单环或稠合的或非稠合的多环芳基(例如苯基、萘基、吡咯基、吡啶基、咪唑基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噁唑基、三唑基、四唑基、吡唑基、吡啶基、喹啉基、异喹啉基、吡啶基、吡嗪基、哒嗪基、嘧啶基、苯并咪唑基、苯并苯硫基或苯并咪喃基);氨基(伯氨基、仲氨基或叔氨基);o-低级烷基;o-芳基、芳基;芳基-低级烷基;-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;-CONH<sub>2</sub>;-OCH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>;-NH<sub>2</sub>;-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>;-OCHF<sub>2</sub>;-CF<sub>3</sub>;-OCF<sub>3</sub>;-NH(烷基);-N(烷基)<sub>2</sub>;-NH(芳基);-N(烷基)(芳基);-N(芳基)<sub>2</sub>;-CHO;-CO(烷基);-CO(芳基);-CO<sub>2</sub>(烷基);和-CO<sub>2</sub>(芳基);且这样的部分还可以任选地被稠合环结构或桥取代,例如-OCH<sub>2</sub>O-。这些取代基可以任选地被选自这些基团的取代基进一步取代。本文公开的所有的化学基团都可被取代,除非其另有说明。例如,本文描述的“取代的”烷基、烯基、炔基、芳基、烃基或杂环部分为被烃基部分、取代的烃基部分、杂原子或杂环取代的部分。此外,取代基可以包括其中碳原子被杂原子取代的部分,所述杂原子例如氮原子、氧原子、硅原子、磷原子、硼原子、硫原子或卤素原子。这些取代基可以包括卤素、杂环、烷氧基、烯氧基、炔氧基、芳氧基、羟基、

保护的羟基、酮基、酰基、酰氧基、硝基、氨基、酰氨基、氰基、硫醇基、缩酮、乙缩醛、酯和醚。

[0109] “药学上可接受的盐”包括但不限于可以在本发明的化合物中存在的酸性或碱性基团的盐。天然为碱性的本发明化合物能够与多种无机酸和有机酸形成多种多样的盐。可用于制备这样的碱性化合物的药学上可接受的盐的酸为形成包含药学上可接受的阴离子的盐的那些；包括但不限于乙酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、碳酸氢盐、酒石酸氢盐、溴化物、乙二胺四乙酸钙、右旋樟脑磺酸盐、碳酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、柠檬酸盐、二氢盐酸盐、乙二胺四乙酸盐、乙二磺酸盐、丙酸酯十二烷基硫酸盐、乙基磺酸盐、延胡索酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、谷氨酸盐、乙醇酰基对氨基苯砷酸盐 (glycollylarsanilate)、己基间苯二酚盐 (hexylresorcinate)、海巴明盐 (hydrabamine)、羟基萘甲酸盐、异硫代羟酸盐 (isethionate)、乳酸盐、乳糖醛酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、粘酸盐、萘磺酸盐、硝酸盐、泛酸盐、磷酸盐 / 磷酸氢盐、聚半乳糖醛酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、硫酸盐、单宁酸盐、酒石酸盐、茶氯酸盐 (teoclolate)、三乙基碘化物和戊酸盐。除了以上提及的酸以外，包含氨基的本发明化合物还可以与多种氨基酸形成药学上可接受的盐。性质为酸性的本发明化合物能够与多种药理学上可接受的阳离子形成碱盐。这样的盐的非限制性实例包括碱金属盐或碱土金属盐，具体地说，包括钙盐、镁盐、钠盐、锂盐、锌盐、钾盐和铁盐。

[0110] “立体异构体”包括所有光学异构 / 立体异构 (enantiomerically / stereomerically) 纯的且光学异构 / 立体异构富集的本文公开的化合物。

[0111] “立体异构纯”或“光学异构纯”是指化合物包含一个立体异构体，并基本上没有其反立体异构体或光学异构体。例如，当化合物包含 80%、90% 或 95% 以上的一种立体异构体且 20%、10% 或 5% 以下的反立体异构体时，则所述化合物是立体异构纯或光学异构纯的。在某些情况下，当本发明的化合物相对于特定的手性中心为约 80% ee (对映体过量) 或以上，优选等于或大于 90% ee，更优选相对于特定的手性中心为 95% ee 时，所述化合物被认为相对于该手性中心为光学活性的或立体异构 / 光学异构纯的 (即基本上 R- 型或基本上 S- 型)。

[0112] “立体异构富集的”或“光学异构富集的”包括本发明化合物的立体异构体的外消旋混合物以及其它混合物 (例如 R/S = 30/70、35/65、40/60、45/55、55/45、60/40、65/35 和 70/30)。

[0113] “水合物”是指本发明的化合物或其盐，其进一步包括由非共价分子间力结合的化学计量或非化学计量的水。

[0114] “溶剂化物”是指由一个或多个溶剂分子与本发明的化合物结合而形成的溶剂化物。术语“溶剂化物”包括水合物 (例如一水合物、二水合物、三水合物、四水合物等)。

[0115] “多形体”是指本发明化合物或其复合物的固体晶形。相同化合物的不同多形体可以表现出不同的物理、化学和 / 或光谱特性。

[0116] 发明详述

[0117] 本文提供调节细胞膜的膜电位的方法，其包括以下步骤：(a) 在细胞膜中形成合成阴离子通道；和 (b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动。在某些实施方案中，所述方法进一步包括施加跨细胞膜的阴离子梯度的步骤。

[0118] 本文还提供调节细胞膜中的天然电压依赖性离子通道的方法，其包括以下步骤：

(a) 在细胞膜中形成合成阴离子通道 ;(b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动 ;和 (c) 调节天然电压依赖性离子通道,其中所述自组装化合物具有本文定义的式 (I)。在某些实施方案中,所述方法进一步包括施加跨细胞膜的阴离子梯度的步骤。在其它实施方案中,所述天然电压依赖性离子通道为电压依赖性钠通道、钾通道或钙通道。在进一步的实施方案中,所述天然电压依赖性离子通道为电压依赖性钙通道。

[0119] 本文还提供调节细胞中的胞内钙浓度的方法,其包括以下步骤:(a) 在细胞膜中形成合成阴离子通道 ;(b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动 ;(c) 调节天然电压依赖性钙通道 ;和 (d) 调节细胞的胞内钙浓度。

[0120] 本文还提供调节肌细胞的张力的方法,其包括以下步骤:(a) 在细胞膜中形成合成阴离子通道 ;(b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动 ;(c) 调节天然电压依赖性钙通道 ;(d) 调节细胞的胞内钙浓度 ;和 (e) 调节肌细胞的张力。

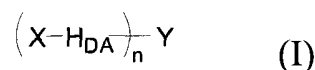
[0121] 本文还提供调节血管紧张度的方法,其包括以下步骤:(a) 在血管平滑肌细胞的膜中形成合成阴离子通道 ;(b) 将细胞中的膜电位向阴离子的平衡电位移动 ;(c) 调节天然电压依赖性钙通道 ;(d) 调节细胞的胞内钙浓度 ;(e) 调节血管平滑肌细胞的张力 ;和 (f) 调节血管紧张度。

[0122] 在某些实施方案中,在本文公开的方法中使用的细胞为肌细胞。在其它实施方案中,所述细胞为平滑肌细胞。在进一步的实施方案中,所述细胞为血管平滑肌细胞。在再进一步的实施方案中,所述天然电压依赖性钙通道为 L-型钙通道。在再进一步的实施方案中,所述细胞膜包含脂质双层。

[0123] 在某些实施方案中,在本文公开的方法中使用的阴离子为氟化物、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、亚硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、碳酸盐、碳酸氢盐、磷酸盐、磷酸氢盐、磷酸二氢盐或乙酸盐。在其它实施方案中,所述阴离子为氯化物。在进一步的实施方案中,所述阴离子通道为氯通道。在再进一步的实施方案中,所述阴离子梯度为氯梯度。

[0124] 任何可以形成合成阴离子通道的自组装化合物都可以用于本文公开的方法。在某些实施方案中,所述合成阴离子通道由具有下式 (I) 的自组装化合物的多个分子形成 :

[0125]



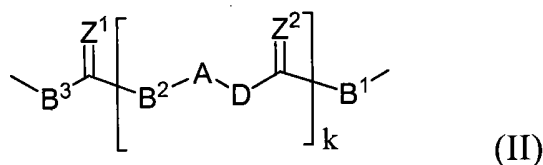
[0126] 其中 X 为未取代的或取代的烃基或杂环基 ;

[0127] n 为 1-6 的整数 ;

[0128] Y 为通过由未取代的或取代的烃、碳环或杂环分别除去 1、2、3、4、5 和 6 个氢原子形成的单价、二价、三价、四价、五价或六价连接基团 ;和

[0129]  $H_{DA}$  为具有下式 (II) 的二价基团 :

[0130]



[0131] 其中  $Z^1$  和  $Z^2$  各自独立为 O、S 或  $NR^1$  ;

[0132] A、 $B^1$ 、 $B^2$ 、 $B^3$  和 D 各自独立为键、O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基 ;和

[0133]  $k$  为 1-20 的整数,其中  $R^1$  和  $R^2$  各自独立为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基,且式 (II) 的 B1 和 B2 中的至少一个为 NH。

[0134] 在某些实施方案中,A、 $B^2$  和 D 各自独立为 O、S、 $NR^2$  或者取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基;而  $B^1$  和  $B^3$  各自独立为键、O、S、 $NR^2$  或取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基。

[0135] 在某些实施方案中, $H_{DA}$  为取代的亚烷基,其包含至少一个氢键供体和至少一个氢键受体。在进一步的实施方案中,所述氢键供体包含直接键合氧、氮或硫的氢原子。在进一步的实施方案中,所述氢键受体为氧、氮、硫、氟、氯或溴原子。在某些实施方案中,式 (I) 的  $H_{DA}$  包含至少一个伯胺或仲胺基团。

[0136] 在某些实施方案中,式 (I) 的  $n$  为 1。在其它实施方案中,式 (I) 的  $n$  为 2,且两个  $X-H_{DA}$  单元相同或不同。

[0137] 在某些实施方案中, $X$  为烃基,例如包含至多 18 个碳原子的烷基、芳基或芳烷基,其任选地被含氧、氮或硫的部分取代。在其它实施方案中, $X$  为任选地被含氧、氮或硫的部分取代的杂环部分。在一个实施方案中, $H_{DA}$  包含二酰胺,而  $X$  为通过氮原子连接至  $H_{DA}$  单元的异丁基 ( $-CH_2CH(CH_3)_2$ ),形成末端异丁基酰胺。在其它实施方案中,式 (I) 的  $X$  为烃基或取代的烃基。在某些实施方案中,式 (I) 的  $X$  为含有 1-14 个碳原子的烃基或取代的烃基。在进一步的实施方案中,式 (I) 的  $X$  为具有 1-14 个碳原子的烷基或取代的烷基。在进一步的实施方案中,式 (I) 的  $X$  为异丁基。

[0138] 在某些实施方案中,式 (I) 的  $Y$  为通过由未取代的或取代的烷烃、烯烃或炔烃分别除去 2 个或 3 个氢原子而形成的二价或三价连接基团。在进一步的实施方案中, $Y$  为通过由未取代的或取代的  $C_{2-12}$  烷烃、烯烃或炔烃分别除去 2 个或 3 个氢原子而形成的二价或三价连接基团。在再进一步的实施方案中, $Y$  为未取代的或取代的亚丙基或亚丙烯基。

[0139] 在某些实施方案中,式 (I) 的  $Y$  为通过由未取代的或取代的单环、双环或三环芳香族碳环分别除去 2 个或 3 个氢原子而形成的二价或三价连接基团。在进一步的实施方案中,芳香族碳环为未取代的或取代的苯。在进一步的实施方案中, $Y$  为通过由未取代的苯分别除去 2 个或 3 个氢原子而形成的二价或三价连接基团。

[0140] 在某些实施方案中,式 (I) 的  $Y$  为通过由未取代的或取代的单环、双环或三环杂环分别除去 2 个或 3 个氢原子而形成的二价或三价连接基团。在进一步的实施方案中,所述杂环为未取代的或取代的吡啶。在进一步的实施方案中, $Y$  为吡啶亚基。

[0141] 在某些实施方案中,式 (I) 的  $Y$  为亚芳基或杂亚芳基,且每个  $H_{DA}$  均键合至  $Y$  的环原子。在某些实施方案中,式 (I) 的  $Y$  为单环、双环或三环亚芳基。在其它实施方案中,式 (I) 的  $Y$  为仅具有 1 个 5 元、6 元或 7 元环的亚芳基或杂亚芳基;且每个  $H_{DA}$  均键合至  $Y$  的环原子。在某些实施方案中,式 (I) 的  $Y$  为亚苯基、吡啶亚基、取代的亚苯基或取代的吡啶亚基。

[0142] 在进一步的实施方案中, $Y$  为亚芳基或杂亚芳基;每个  $H_{DA}$  均键合至  $Y$  的环原子;且每个  $X$  均为未取代的或取代的具有 1-14 个碳原子的烃基。

[0143] 在某些实施方案中, $H_{DA}$  可以选自包含氢键供体和氢键受体这二者的多个有机单元。例如, $H_{DA}$  可为取代的烃基或杂环基。不囿于任何理论,似乎用于自组装化合物以形成离子通道的驱动力主要由大量明确的分子间氢键键合相互作用提供,该相互作用有利于脂质双层的低介电常数电介质。在某些实施方案中, $H_{DA}$  将为取代的烃基,其具有低级烷基酯、

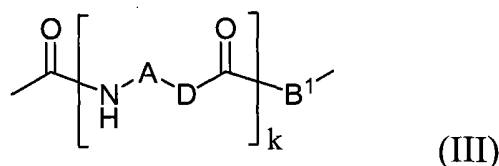
醚、硫酯、酰胺、羟基、硫醇、氨基、含氮或卤素取代基或其它氢键供体和氢键受体。在一个实施方案中,例如,  $H_{DA}$  包含两个酰胺键,例如羧酰胺键。在另一个实施方案中,  $H_{DA}$  为肽。

[0144] 在其它实施方案中,当 Y 将相同或不同的  $X-H_{DA}$  单元连接在一起时,所述化合物形成离子通道的自组装效率可被增强,使得形成三维分子间氢键合网络的概率更高。在这些实施方案中,所述单元 Y 在某些实施方案中是刚性的,足以将  $X-H_{DA}$  单元保持在其中所述化合物可更有效地组装的某些方向。满足这些设计考虑的 Y 单元可以选自多种有机单元。一般而言,这些单元为碳环或杂环。还设想了非环形 Y 单元。例如, Y 可为含碳环原子并任选地包含氮环原子、氧环原子或硫环原子的 5 元或 6 元环,其中所述  $X-H_{DA}$  单元共价连接至环原子。在一个实施方案中, Y 为亚苯基环。

[0145] 本文提供的化合物可由有机合成技术人员通过已知技术以及本文公开的一般合成程序制备。所述化合物的设计、合成和表征详述于实施例。在一个实施方案中,例如,  $H_{DA}$  为肽,并因此其可以通过使用标准肽偶联方法分别通过酰胺键与 X 和 Y 单元连接。

[0146] 在其它实施方案中,式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (III) 表示:

[0147]



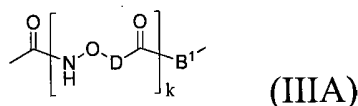
[0148] 其中 k 为 1 或 2;

[0149] A 为 O、S、 $NR^2$  或取代的或未取代的  $C_{1-10}$  亚烷基,其中  $R^2$  为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基;

[0150]  $B^1$  为 O 或 NH;和

[0151] D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。在其它实施方案中,式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IIIA) 表示:

[0152]

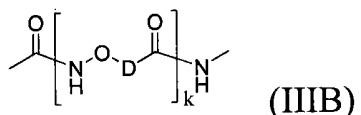


[0153] 其中 k 为 1 或 2;

[0154]  $B^1$  为 O 或 NH;和

[0155] D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。在其它实施方案中,式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IIIB) 表示:

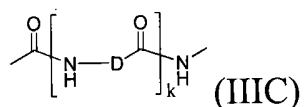
[0156]



[0157] 其中 k 为 1 或 2;

[0158] D 为  $C_{1-3}$  亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的  $C_{1-3}$  亚烷基。在其它实施方案中,式 (I) 的  $H_{DA}$  由下式 (IIIC) 表示:

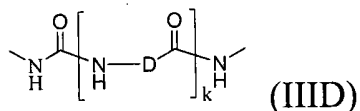
[0159]



[0160] 其中 k 为 1 或 2；

[0161] D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。在其它实施方案中,式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (IIID) 表示：

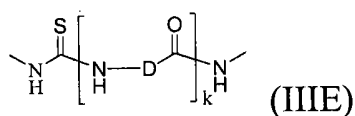
[0162]



[0163] 其中 k 为 1 或 2；

[0164] D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。在其它实施方案中,式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (IIIE) 表示：

[0165]

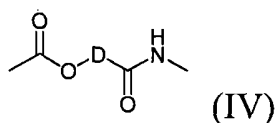


[0166] 其中 k 为 1 或 2；

[0167] D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

[0168] 在某些实施方案中,式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (IV) 表示：

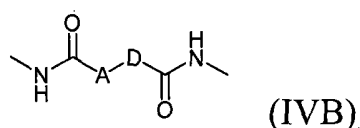
[0169]



[0170] 其中 D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

[0171] 在其它实施方案中,式 (I) 的 H<sub>DA</sub> 由下式 (IVB) 表示：

[0172]



[0173] A 为 O、S、NR<sup>2</sup> 或取代的或未取代的 C<sub>1-10</sub> 亚烷基,其中 R<sup>2</sup> 为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基；和

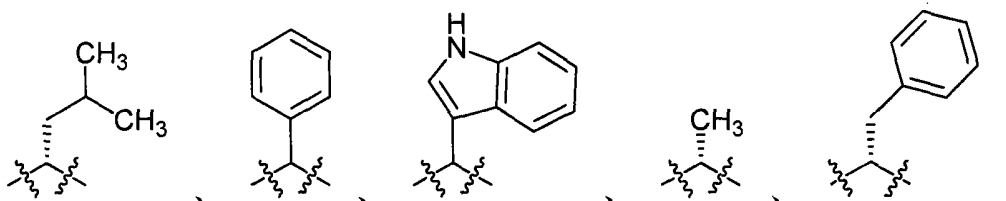
[0174] D 为 C<sub>1-3</sub> 亚烷基或被一个或多个烃基或杂环基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。

[0175] 在某些实施方案中,式 (III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE) 或 (IV) 的 D 为被至少烷基、芳基、取代的烷基或取代的芳基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。在某些实施方案中,式 (III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE)、(IV) 或 (IVB) 的 k 为 1。在进一步的实施方案中,式 (III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE) 或 (IV) 的 D 为被至少异丁基取代的 C<sub>1-3</sub> 亚烷基。在进一步的实施方案中,式 (III) 的 A 为键；D 为亚甲基或取代的亚甲基；且 k 为 1。在进一步的实施方案中,式 (III) 的 A 为 O；D 为亚甲基或取代的亚甲基；且 k 为 1。

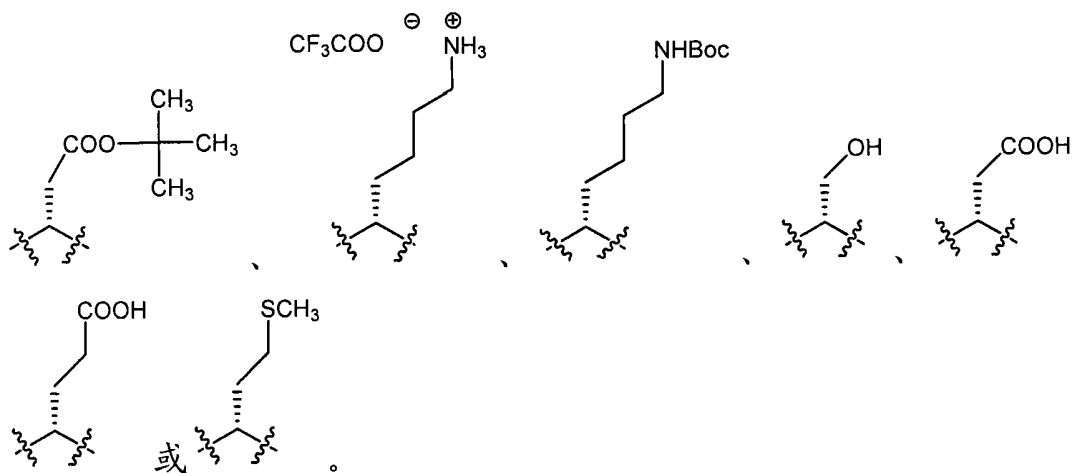
[0176] 在其它实施方案中,式 (III)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)、(IIIE) 或 (IV) 的

D 为下式之一：

[0177]

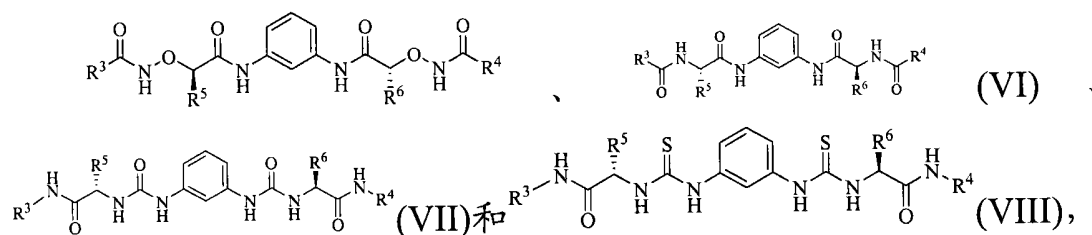


[0178]



[0179] 在某些实施方案中,所述自组装化合物具有下式之一：

[0180]



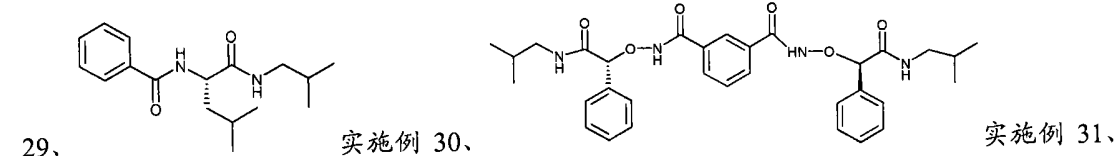
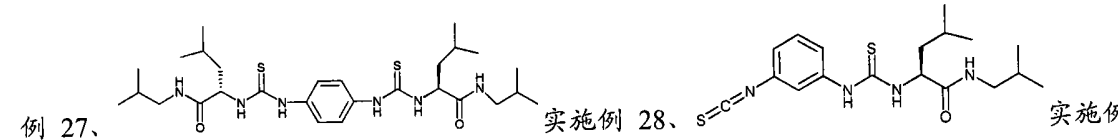
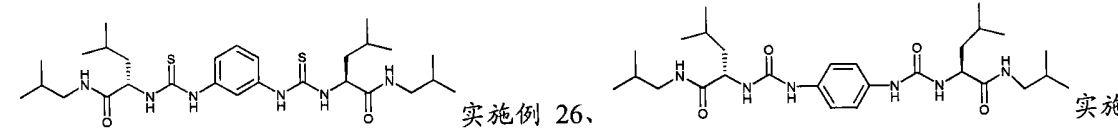
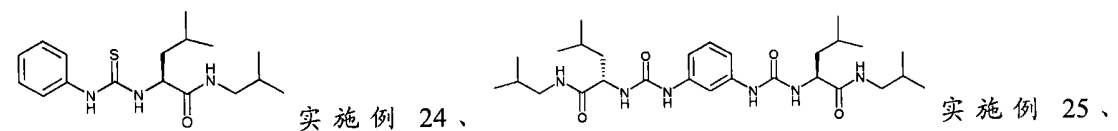
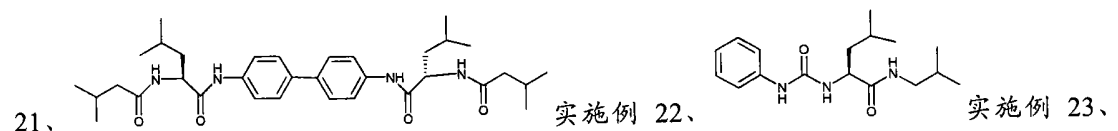
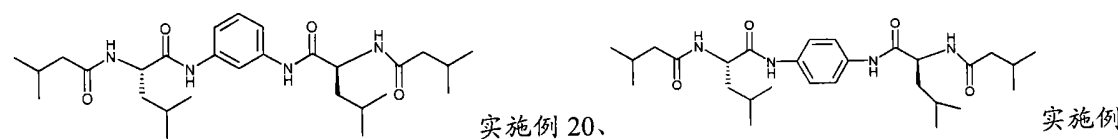
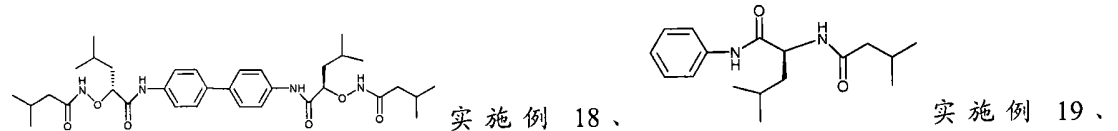
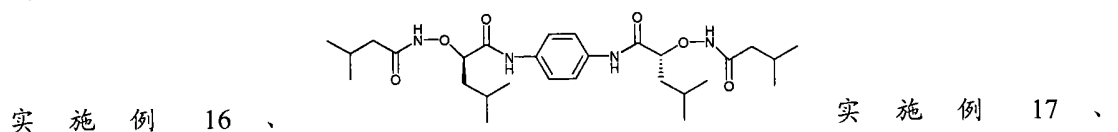
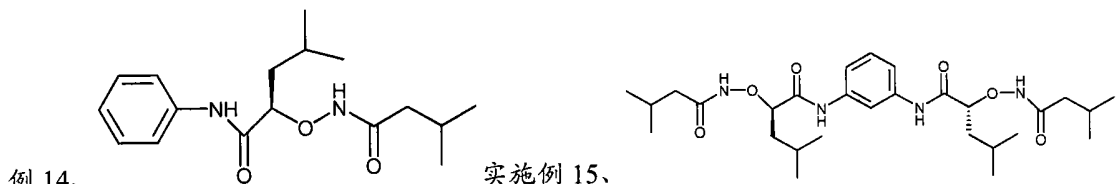
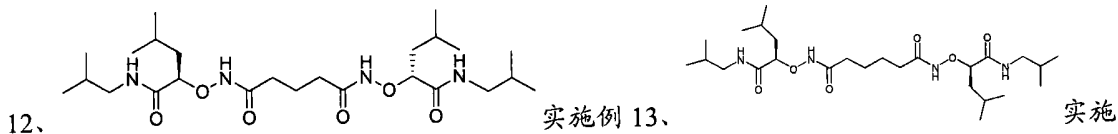
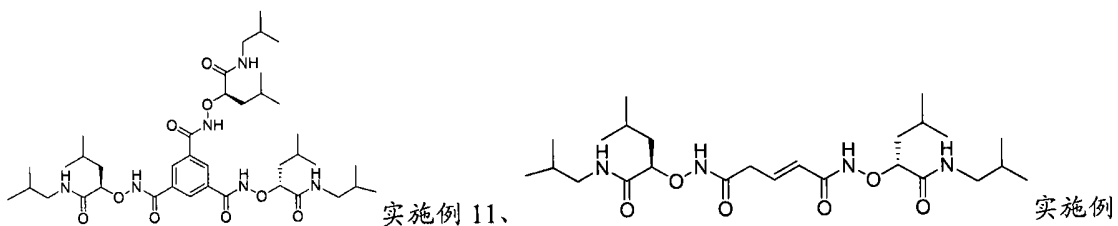
[0181] 其中  $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$  和  $R^6$  各自独立为 H、酰基、烃基、碳环基或杂环基。

[0182] 在某些实施方案中,所述自组装化合物为以下化合物中的一种：

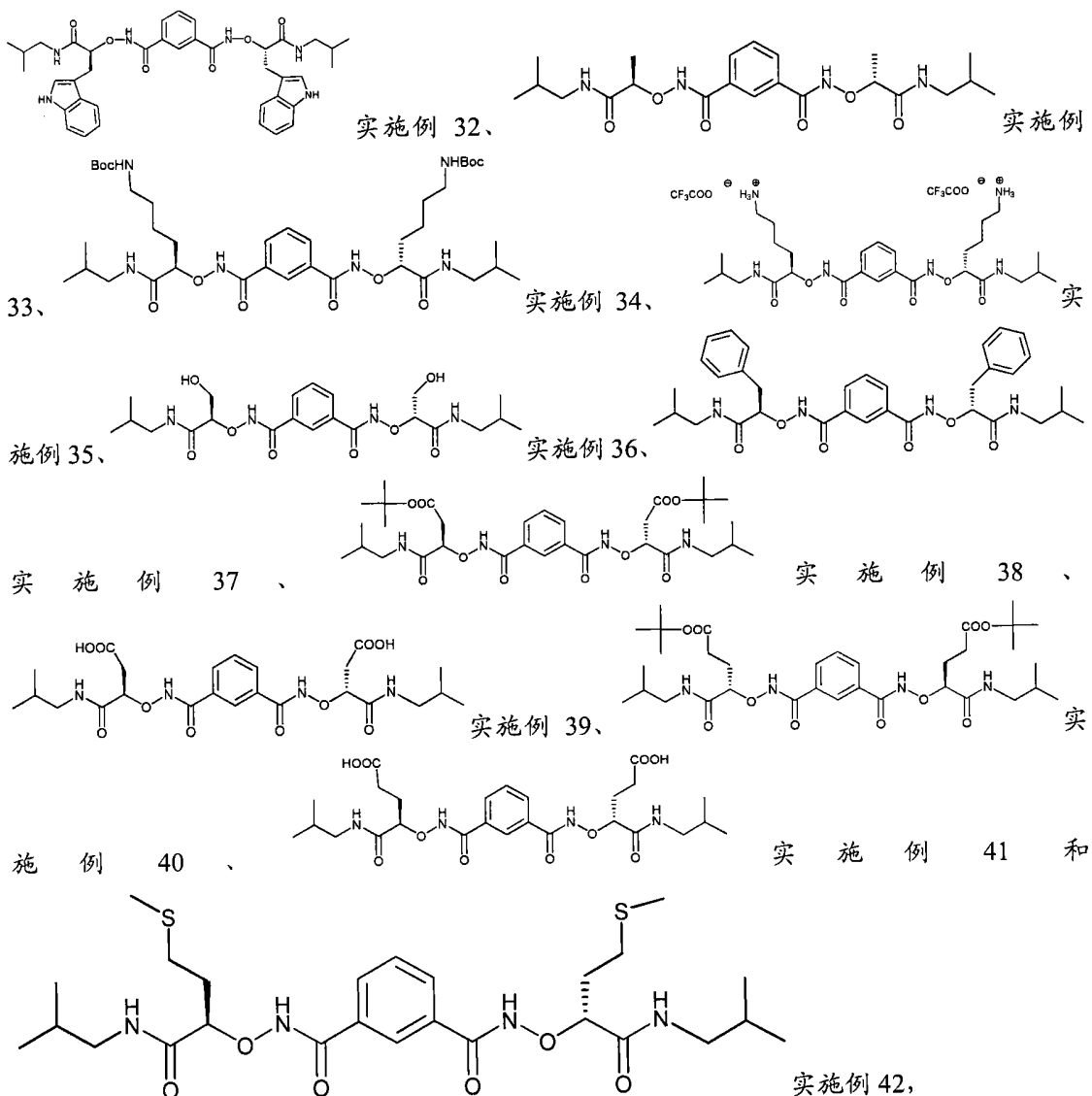
[0183]







[0185]



[0186] 或其盐、溶剂化物、多形体或立体异构体。

[0187] 合成离子通道可以通过构建跨细胞膜的孔样结构制备。合成离子通道可以基于其结构或“设计”分类。参考图 1, 合成离子通道的最简单设计包含长度约 25–40 Å 的大分子, 其具有“单分子”孔样结构。制备超分子组装离子通道的其它设计策略包括将线性的筒样单体自组装为“桶-桶板”孔样结构; 和将大环的环样单体堆积成“桶-桶箍”孔样结构。某些较小的大分子可以自组装为复杂的“桶-玫瑰花结”孔样结构, 其可被想象为带有碎片式条板的“桶-桶板”孔样结构或带有碎片式箍的“桶-桶箍”孔样结构。

[0188] 直至现在, 所有的合成离子通道都设计为孔样结构, 离子通过其跨膜转运。本文提供一种设计自组装化合物的新策略, 所述自组装化合物的分子可以自组装为离子通道。在某些实施方案中, 所设计的分子可以通过非共价相互作用自组装, 以在脂质膜的反向形成分子柱。在一个实施方案中, 在两个平行的分子柱之间, 在脂质膜的横向存在分子间氢键, 如图 2 所示。当阴离子或阳离子到达膜时, 这些分子间氢键可被重新组织。原始分子间氢键的供体或受体在跨脂质膜的疏水区转运时, 它们将分别为阴离子或阳离子的稳定化提供连续的结合位点, 如图 3 所示。在一个实施方案中, 所设计的自组装化合物显示出其固态的自组装结构, 如图 4b-d 所示, 具有可以用作氯离子通道的通道。

[0189] 不囿于任何理论, 尽管迄今还没有清楚了解详细的机制, 但本文公开的自组装化合物有能力分配入脂质双层中, 并在其中自组装为离子通道。这些化合物被认为通过界限明确的分子间氢键键合相互作用组装, 这有利于脂质双层的低介电常数电介质。这样的氢键合诱导具有相对亲脂表面的化合物的组装, 这允许在脂质双层的非极性环境中稳定整合和自组装, 可以穿透脂质双层的疏水区, 以形成离子通道。

[0190] 生理活性的阴离子, 例如氯离子, 涉及众多生物学过程。实际上, 氯离子通过细胞膜转运受中性阴离子结合蛋白(氯离子通道)调节。本文公开的自组装化合物可以分配入生物和合成细胞膜的脂质双层中, 并用作合成离子通道。例如, 在实施例 2 中公开的化合物可以用于制备这样的合成氯通道。实施例 2 可以插入脂质体的脂质双层中, 并自组装, 以形成 54pS(皮西门子)氯通道, 其显示出氯选择性和电压依赖性门控。实施例 2 的化合物也可以在人胚胎肾(HEK 293)细胞的膜中有效形成氯通道, 并由此以显著低的浓度 50nM(纳摩尔)急剧增加细胞氯电流。实施例 2 的化合物的离子通道行为表明, 本文公开的合成离子通道结构可以提供在许多方面等同于在天然蛋白通道中观察到的选择性膜透过性。

[0191] 本文公开的自组装化合物可以调节靶阴离子的浓度, 以允许研究生理系统或其模型的行为。或者, 阴离子浓度可以通过在治疗系统中应用自组装化合物而改变或调节, 以增加或降低阴离子浓度, 以便抵消或者改变致病或有害的病症。因此, 本文公开的自组装化合物可用于调节阴离子(包括但不限于卤化物, 例如氯化物或溴化物, 或其它阴离子, 例如硝酸根和碳酸氢根)在哺乳动物细胞或其它膜系统(例如线粒体、核内体、溶酶体、分泌性囊泡、内质网、核、高尔基体、胞内转运囊泡、MHC 加工囊泡、来自破骨细胞的重构的波缘膜囊泡和其它具有脂质双层膜的膜系统)中的流入或流出。

[0192] 在生物和合成系统中, 细胞膜的组成随其在生物系统中的定位及其在合成系统中所需的功能而改变。因此, 提供的是在膜中形成合成离子通道, 与所述膜为天然来源还是合成来源无关。在某些实施方案中, 本文公开的自组装化合物有能力通过生理系统和非生理系统中的氢键自组装, 并在脂质双层或细胞膜中形成阴离子通道。

[0193] 还提供使用本文提供的自组装化合物和组合物治疗、预防、管理或改善与异常的膜电位响应相关的疾病或病症的症状的方法。这样的疾病或病症的非限制性实例包括高血压、常染色体显性长 QT 综合征伴耳聋、常染色体隐性长 QT 综合征、良性家族性新生儿惊厥、长 QT 综合征、长 QT 综合征伴畸形特征、全身性癫痫伴热性惊厥(GEFS+)、全身性癫痫伴热性和非热性惊厥、先天性肌强直病、钾加重的强直性高钾型周期性麻痹和 Brugada 综合征。在某些实施方案中, 根据所述具体化合物、患者概况和疾病的特征, 以适宜的量 and 方式将本文公开的自组装化合物插入到哺乳动物细胞的脂质双层中。

[0194] 在某些实施方案中, 所述化合物和组合物可以体内应用于组织, 诸如肺、气管、皮肤、肌肉、脑、肝、心脏、脾、骨髓、胸腺、膀胱、淋巴、血液、胰腺、胃、肾、卵巢、睾丸、直肠、外周神经系统或中枢神经系统、眼睛、淋巴器管、软骨和内皮。在某些实施方案中, 靶细胞为肌细胞(例如骨骼肌细胞、心肌细胞和平滑肌细胞)、神经细胞、造血干细胞、神经元细胞、上皮细胞或气管细胞。在其它实施方案中, 所述靶细胞为气管细胞或肺细胞。在进一步的实施方案中, 所述靶细胞为呼吸道上皮细胞。

[0195] 本文公开的自组装化合物可以用作用于治疗或预防目的的药物。具体地说, 所述自组装化合物可用于治疗性治疗的方法, 所述方法由以下组成: 将所述化合物导入到用于

离子转运的靶细胞的脂质双层中。因此,所述化合物可用于制备用于治疗或预防目的的药物,所述药物预期用于治疗人体或动物体。

[0196] 所述药物可以直接体内给予,例如通过输注给予肌肉、通过气溶胶给予肺等。还有可能采用离体方法,其由以下组成:由患者收集细胞(骨髓干细胞、外周血淋巴细胞、肌细胞、神经细胞、神经元细胞、上皮细胞等),给予所述化合物,并将所述细胞再给予患者。

[0197] 本文提供的自组装化合物可以利用注射器或任何其它等效手段、适于治疗气管或粘膜的系统(例如吸入、滴注或气溶胶化),通过肌内、气管内、鼻内、脑内、胸膜内、肿瘤内、心脏内、胃内、腹膜内、表皮、静脉内或动脉内途径给予。其它给予途径包括施用霜剂、口服给予或本领域技术人员已知的并可用于本文提供的化合物和组合物的任何其它方法。

[0198] 给予可以通过多种不同途径实现。一种途径是口服给予组合物,例如丸剂、胶囊或混悬剂。这样的组合物可以按照本领域已知的任何方法制备,并可以包含众多无活性成分中的任一种。适用于这样的组合物的赋形剂包括惰性稀释剂(其可以为固体材料、水溶液和/或油状物),例如碳酸钙、碳酸钾或碳酸钠、乳糖、磷酸钙、磷酸钾或磷酸钠、水、花生油(arachis oil)、花生油(peanut oil)、液体石蜡或橄榄油;成粒剂和崩解剂,例如玉米淀粉、明胶或刺槐和/或润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。可以但不是必需存在的其它无活性成分包括一种或多种悬浮剂(例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄芪树胶和阿拉伯树胶)、增稠剂(例如蜂蜡、石蜡或鲸蜡醇)、分散剂或润湿剂、防腐剂(例如抗氧化剂,例如抗坏血酸)、着色剂、甜味剂和/或风味剂。

[0199] 药物组合物可以用保护活性成分抵抗肌体的快速清除的载体制备,例如延时释放制剂或包衣剂。这样的载体包括控释制剂(例如但不限于微囊化传递系统)和生物可降解的、生物相容性聚合物(例如乙烯-乙酸乙烯酯、聚酞、聚乙醇酸、聚原酸酯、聚乳酸、聚乙二醇、聚乙二醇醚和本领域一般技术人员已知的其它聚合物)。

[0200] 在其它实施方案中,提供其中化合物作为加压的气溶胶或雾化制剂经吸入直接给予患者肺的方法。这样的制剂可以包含众多已知可用于肺内和/或鼻内吸入给予的气溶胶抛射剂中的任一种。另外,可以存在水,有或没有任何共溶剂、表面活性剂、稳定剂(例如抗氧化剂、螯合剂、惰性气体和缓冲剂)。对于要由多剂量容器给予的组合物,典型地加入抗微生物剂。这样的组合物还可以过滤和除菌,并可以冻干,以提供增强的稳定性和改善溶解性。

[0201] 药物组合物可以以一定的量和一定的频率给予,所述量和频率有效抑制或减轻疾病或病症(例如囊性纤维化)的症状,和/或延迟疾病的发展。治疗的精确剂量和时程可以使用已知的测试方案凭经验确定,或以本领域已知的模型系统测试组合物并由其推导。剂量还可以随疾病的严重性变化。可以配制并给予药物组合物,以发挥治疗上有用的作用,同时使不利的副作用最小。显而易见,对于任何具体的受试者,可以按照个体需要随着时间调整具体的给药方案。

[0202] 如上所述,药物组合物可以给予哺乳动物,以刺激氯运输,或治疗、管理或预防囊性纤维化、Bartter 氏综合征、Dent 氏病、遗传性肾结石疾病、先天性肌强直、Becker 氏综合征、癫痫、卵黄状黄斑营养不良、惊跳病、青少年肌阵挛性癫痫或骨石化病。可由给予本文提供的自组装化合物获益的患者是受囊性纤维化、Bartter 氏综合征、Dent 氏病、遗传性肾

结石疾病、先天性肌强直、Becker 氏综合征、癫痫、卵黄状黄斑营养不良、惊跳病、青少年肌阵挛性癫痫或骨石化病侵袭的那些患者。这样的患者可以基于本领域众所周知的诊断标准鉴定,包括在汗试验中存在异常高的盐浓度、存在高鼻电位,或者存在囊性纤维化相关的突变。氯转运的活化还可能对在气管中显示出异常高的粘膜累积的其它疾病(例如哮喘和慢性支气管炎)有益。同样,便秘可以由如本文所提供的氯转运活化获益。

[0203] 还提供通过静脉内、口服、滴注、吸入、局部、腹膜内、皮下或肌内途径给予药物组合物的方法。所述药物组合物例如可以以胶囊剂、粉剂、片剂、液体剂、溶液剂和气溶胶溶液剂的形式给予。还提供在哺乳动物中治疗产生跨细胞膜的缺陷型阴离子转运的疾病或其它病症的方法。

[0204] 本发明的其它特征和优势将被阐述,并部分地由说明书显而易见,或者可以由本发明的实施了解。

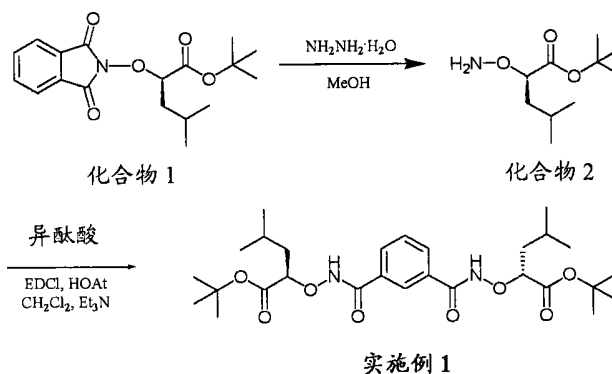
[0205] 所提供的组合物的剂量将根据诸如以下的因素改变:化合物的半衰期、化合物或其降解产物的潜在的副作用、给予途径、患者的病症等。这样的因素能够由本领域技术人员确定。当然,基于每日给予的确切的剂量水平是指由医师修改而适于提供最佳的治疗反应。

## 实施例

[0206] 以下的实施例 1-42 是制备和使用由通式 (I) 表示的化合物的方法的详述。在本文公开内容范围内的其它化合物可以使用采用适宜的起始物质的程序制备,这些程序对本领域技术人员是显而易见的。提供这些实施例仅是为了阐述目的,无意限制本发明的范围。

[0207] 实施例 1 的制备

[0208]



[0209] 流程 A

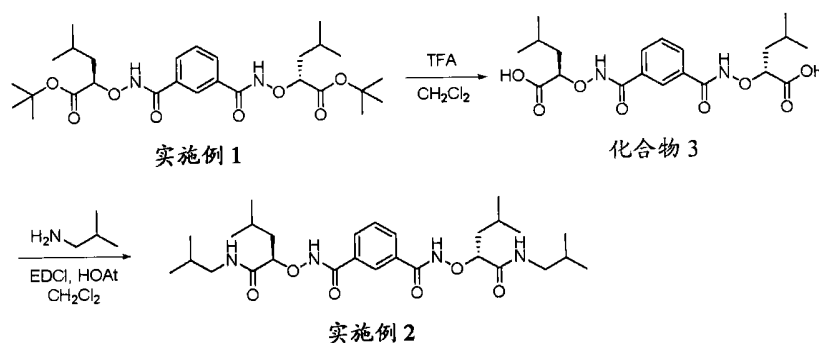
[0210] 按照以上流程 A 制备实施例 1。按照 Yang 等人, J. Org. Chem, 2001, 66, 7303-7312 所述的程序合成起始物质 2- 酞酰亚氨基氧基 (phthalimidoxy)-4- 甲基戊酸 D- 叔丁酯 (化合物 1)。化合物 1 为白色晶体固体,以以下数据表征:熔点 92-93°C;  $[\alpha]_D^{20} +77.0^\circ$  (c 1.01, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.85-7.81 (m, 2H), 7.78-7.74 (m, 2H), 4.74 (dd, J = 8.5, 5.4Hz, 1H), 2.05-1.91 (m, 2H), 1.72-1.63 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.07 (d, J = 6.3Hz, 3H), 1.00 (d, J = 6.3Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.13, 163.21, 134.50, 128.87, 123.53, 84.74, 83.39, 39.89, 27.82, 24.47, 22.90, 21.96; IR (CHCl<sub>3</sub>) 3032, 1793, 1738cm<sup>-1</sup>; LRMS (EI, 70eV) m/z 333 (M<sup>+</sup>, 1), 278 (6), 232 (17), 164 (15), 148 (100); C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub> (M<sup>+</sup>) 的 HRMS (EI): 理论值 333.1576, 实测值 333.1573。

[0211] 向化合物 1 (2.00g, 6.0mmol) 的  $\text{CH}_3\text{OH}$  (20mL) 溶液加入  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (900mg, 18.0mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后, 在真空下浓缩反应混合物。将残余物溶解在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中, 并用 5%  $\text{NaHCO}_3$  洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩, 以提供为无色油状物的游离胺 (化合物 2) 和邻苯二甲酰肼 (phthahydroazide) 的混合物。将该混合物立即用于以下的肽偶联反应, 无需进一步纯化。

[0212] 肽偶联反应。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80mL) 加入含干燥的化合物 2 的烧瓶, 之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 2.11g, 15.6mmol)、异酞酸 (498mg, 3.0mmol)、三乙胺 (0.83mL, 6.0mmol), 并最后加入 1-乙基-3-(3-二甲基氨基-丙基)-碳二亚胺 (EDCI, 5.35g, 18.0mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的 1.32g (82% 收率) 实施例 1。实施例 1 以下数据表征: 熔点  $57-59^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +78.1^\circ$  (c 0.50,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.86 (br, 2H), 8.14 (t,  $J = 1.5\text{Hz}$ , 1H), 7.90 (dd,  $J = 7.8, 1.5\text{Hz}$ , 2H), 7.48 (t,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 1H), 4.53 (dd,  $J = 9.0, 4.2\text{Hz}$ , 2H), 2.01-1.92 (m, 2H), 1.77-1.68 (m, 2H), 1.60-1.51 (m, 2H), 1.46 (s, 18H), 1.02 (d,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 12H), 0.96 (d,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.80, 164.58, 132.18, 130.41, 128.91, 125.58, 82.37, 82.17, 39.86, 27.97, 24.60, 23.18, 23.01, 21.79; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3403, 3019, 1730,  $1688\text{cm}^{-1}$ ; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  536 ( $\text{M}^+$ );  $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_8$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 536.3098, 实测值 536.3078。

[0213] 实施例 2 的制备

[0214]



[0215] 流程 B

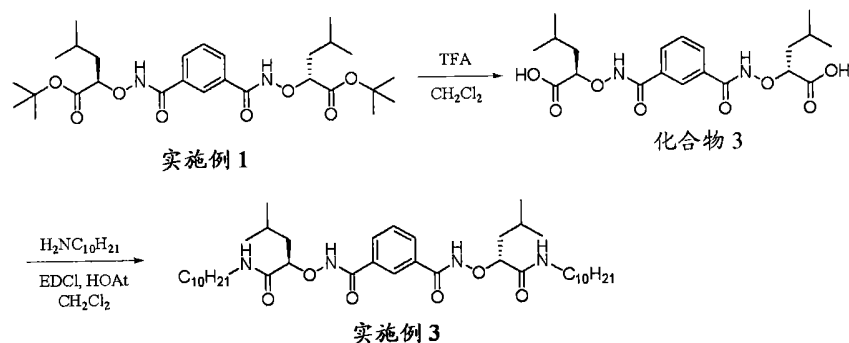
[0216] 按照以上的流程 B 制备实施例 2。通过注射器于室温向实施例 1 (537mg, 1.0mmol) 的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5mL) 溶液小心加入等体积的  $\text{CF}_3\text{COOH}$  (5mL)。于室温搅拌 3 小时后, 在真空下浓缩反应混合物。残余物与甲苯共沸 2 次, 得到为白色固体的游离酸化合物 3, 所述白色固体直接用于肽偶联。

[0217] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加入含干燥的游离酸化合物 3 的烧瓶, 之后加入 HOAt (354mg, 2.6mmol)、异丁胺 (0.21mL, 2.1mmol), 并最后加入 EDCI (891mg, 3.0mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的 492mg 实施例 2 (92% 收率)。实施例 2 以下数据表征: 熔点  $176-178^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +67.3^\circ$  (c 0.50,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.43 (s, 2H), 8.12 (s, 1H), 8.07 (t,  $J = 5.7\text{Hz}$ , 2H), 8.04 (d,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.57 (t,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 1H), 4.40 (dd,  $J = 9.5, 3.4\text{Hz}$ , 2H),

3.05-3.01 (m, 2H), 2.91-2.88 (m, 2H), 1.86-1.62 (m, 8H), 0.92 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 12H), 0.84 (d,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 6H), 0.78 (d,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.89, 166.14, 131.97, 131.30, 129.69, 124.93, 85.60, 46.69, 41.15, 28.29, 24.85, 23.18, 21.81, 20.04, 19.99; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3332, 3185, 1663 $\text{cm}^{-1}$ ; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  534 ( $\text{M}^+$ );  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 534.3417, 实测值 534.3435。

[0218] 实施例 3 的制备

[0219]

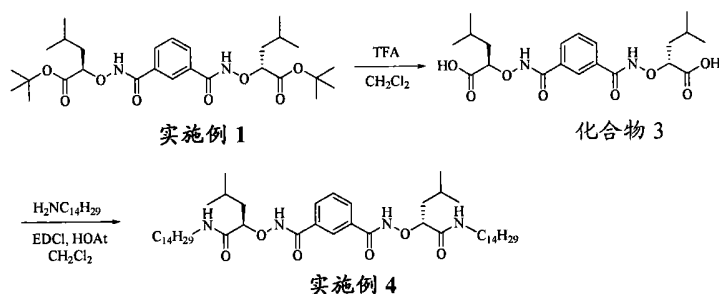


[0220] 流程 C

[0221] 按照以上与用于实施例 2 的流程 B 类似的流程 C 制备实施例 3, 只是用癸胺代替异丁胺。分离为无色油状物的实施例 3。实施例 3 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} +34.5^\circ$  ( $c$  1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.32 (s, 2H), 8.28 (br, 2H), 8.19 (s, 1H), 8.05 (d,  $J = 7.5\text{Hz}$ , 2H), 7.52 (t,  $J = 7.5\text{Hz}$ , 1H), 4.38 (br, 2H), 3.13-3.02 (m, 4H), 1.82 (m, 2H), 1.65-1.55 (m, 4H), 1.42 (br, 4H), 1.35-1.25 (m, 28H), 0.89-0.85 (m, 18H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.30, 165.91, 132.05, 131.29, 129.37, 124.98, 85.31, 41.17, 39.47, 31.89, 29.55, 29.53, 29.30, 29.12, 26.91, 24.73, 23.18, 22.67, 21.79, 14.10; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3446, 1662 $\text{cm}^{-1}$ ; LRMS (FAB)  $m/z$  704 ( $\text{M}^+$ , 1);  $\text{C}_{40}\text{H}_{71}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $\text{M}^+$ , 1) 的 HRMS (FAB): 理论值 703.5374, 实测值 703.5354。

[0222] 实施例 4 的制备

[0223]



[0224] 流程 D

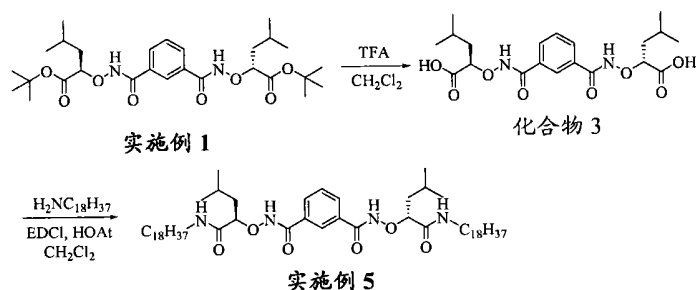
[0225] 按照以上与用于实施例 2 的流程 B 类似的流程 D 制备实施例 4, 只是用十四胺代替异丁胺。分离为黄色油状物的实施例 4。实施例 4 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} +52.2^\circ$  ( $c$  1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.97 (s, 2H), 8.15 (br, 3H), 8.05 (d,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.53 (t,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 1H), 4.36 (dd,  $J = 9.1, 3.7\text{Hz}$ , 2H), 3.16-3.06 (m, 4H), 1.80 (m, 2H), 1.65-1.55 (m, 4H), 1.43 (br, 4H), 1.25-1.17 (m, 44H), 0.89-0.85 (m, 18H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,



$\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.96, 165.92, 132.00, 131.26, 129.43, 124.93, 85.38, 41.07, 39.39, 31.89, 29.67, 29.64, 29.59, 29.53, 29.33, 29.27, 29.14, 26.89, 24.72, 23.12, 22.66, 21.77, 14.08; IR( $\text{CHCl}_3$ ) 3441, 3342,  $1662\text{cm}^{-1}$ ; LRMS(FAB)  $m/z$  816 ( $M^+$ , 1);  $\text{C}_{48}\text{H}_{87}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $M^+$ , 1) 的 HRMS(FAB): 理论值 815.6626, 实测值 815.6610.

[0226] 实施例 5 的制备

[0227]

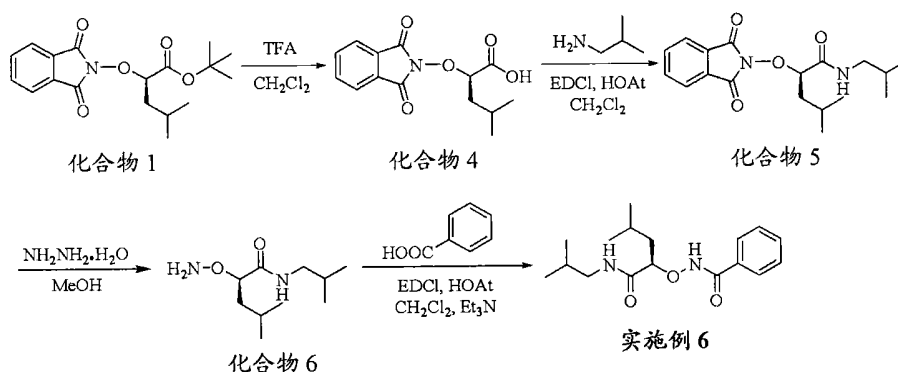


[0228] 流程 E

[0229] 按照以上与用于实施例 2 的流程 B 类似的流程 E 制备实施例 5, 只是用十八胺代替异丁胺。分离为白色固体的实施例 5。实施例 5 以以下数据表征: 熔点  $88-90^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_D^{20} +43.9^\circ$  ( $c$  1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.11 (s, 2H), 8.18 (br, 3H), 8.05 (d,  $J = 7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.55 (t,  $J = 7.7\text{Hz}$ , 1H), 4.36 (dd,  $J = 8.8, 3.4\text{Hz}$ , 2H), 3.15-3.05 (m, 4H), 1.80 (m, 2H), 1.65-1.54 (m, 4H), 1.41 (br, 4H), 1.30-1.16 (m, 60H), 0.89-0.84 (m, 18H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.03, 165.89, 131.98, 129.37, 124.98, 85.31, 41.06, 39.39, 31.89, 29.69, 29.60, 29.53, 29.33, 29.28, 29.12, 26.88, 24.68, 23.12, 22.56, 21.74, 14.08; IR( $\text{CHCl}_3$ ) 3444, 3345,  $1662\text{cm}^{-1}$ ; LRMS(FAB)  $m/z$  928 ( $M^+$ );  $\text{C}_{66}\text{H}_{102}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $M^+$ +Na) 的 HRMS(MALDI): 理论值 927.4323, 实测值 949.7678.

[0230] 实施例 6 的制备

[0231]



[0232] 流程 F

[0233] 按照以上的流程 F 制备实施例 6。通过注射器于室温向化合物 1 (1.00g, 3.0mmol) 的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 溶液小心加入等体积的  $\text{CF}_3\text{COOH}$  (10mL)。于室温搅拌 3 小时后, 在真空下浓缩反应混合物。残余物与甲苯共沸两次, 得到为白色固体的化合物 4, 所述白色固体直接用于以下的下一步。

[0234] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80mL) 加入含干燥的化合物 4 的烧瓶, 之后加入 HOAt (530mg, 3.9mmol)、异丁胺 (0.32mL, 3.15mmol), 并最后加入 EDCI (1.34g, 4.5mmol)。在

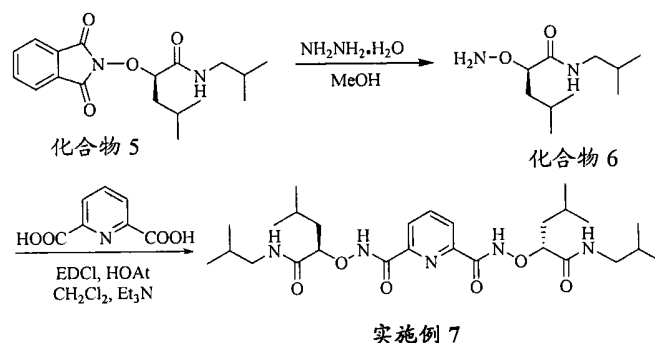
过夜搅拌后,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  和盐水洗涤,然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,并浓缩,得到为白色固体的化合物 5 (0.99g, 99%) (化合物 5),其直接用于下一步,无需进一步纯化。

[0235] 向化合物 5 的  $\text{CH}_3\text{OH}$  (10mL) 溶液加入  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (450mg, 9.0mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后,在真空下浓缩反应混合物。将残余物溶解于  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,并用 5%  $\text{NaHCO}_3$  洗涤两次,然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥,并浓缩,得到为无色油状物的化合物 6 和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物立即用于下一步,无需进一步纯化。

[0236] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加至含干燥的化合物 6 的烧瓶,之后加入 HOAt (530mg, 3.9mmol)、苯甲酸 (366mg, 3.0mmol)、三乙胺 (0.41mL, 3.0mmol),并最后加入 EDCI (1.34g, 4.5mmol)。在过夜搅拌后,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  和盐水洗涤,然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到为白色固体的实施例 6 (832mg, 86%)。实施例 6 以以下数据表征:熔点  $130\text{--}132^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +31.7^\circ$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.98 (br, 1H), 8.21 (br, 1H), 7.75 (d,  $J = 7.5\text{Hz}$ , 2H), 7.52 (t,  $J = 7.3\text{Hz}$ , 1H), 7.52 (t,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 2H), 4.40 (dd,  $J = 9.4, 3.8\text{Hz}$ , 1H), 3.13–2.97 (m, 2H), 1.85–1.61 (m, 4H), 0.92–0.85 (m, 12H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.94, 167.74, 132.41, 131.01, 128.65, 127.27, 85.40, 46.61, 40.97, 28.32, 24.71, 23.19, 21.62, 20.06, 19.88; IR ( $\text{CHCl}_3$ )  $3345, 1659\text{cm}^{-1}$ ; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  307 ( $\text{M}^+$ , 1);  $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 306.1943, 实测值 306.1923。

[0237] 实施例 7 的制备

[0238]



[0239] 流程 G

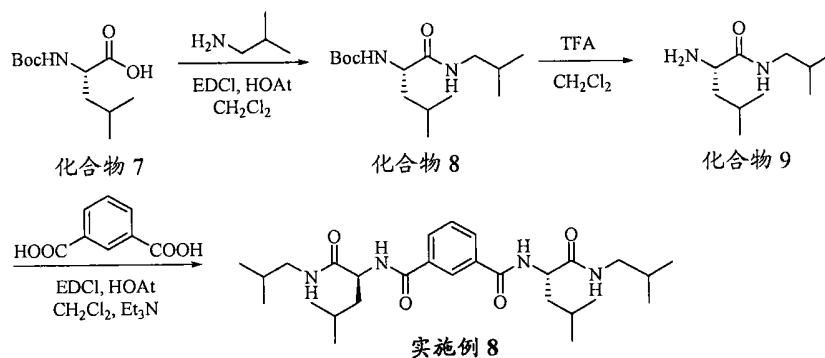
[0240] 按照以上的流程 G 制备实施例 7。向化合物 5 (332mg, 1mmol) 的  $\text{CH}_3\text{OH}$  (10mL) 溶液加入  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (150mg, 3.0mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后,在真空下浓缩反应混合物。将残余物溶解在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中,并用 5%  $\text{NaHCO}_3$  洗涤两次,然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥,并浓缩,得到为无色油状物的化合物 6 和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物立即用于下一步,无需进一步纯化。

[0241] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加至含干燥的化合物 6 的烧瓶,之后加入 HOAt (177mg, 1.3mmol)、吡啶 -2,6- 二甲酸 (366mg, 0.5mmol)、三乙胺 (0.14mL, 1.0mmol),并最后加入 EDCI (447mg, 1.5mmol)。在过夜搅拌后,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  和盐水洗涤,然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到为白色固体的实施例 7 (214mg, 80%)。实施例 7 以以下数据表征:熔点  $175\text{--}177^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +117.2^\circ$  (c 0.50,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.97 (s, 2H), 8.31 (d,  $J =$

7.8Hz, 2H), 8.20 (t, J = 5.7Hz, 2H), 8.10 (t, J = 7.8Hz, 1H), 4.41 (dd, J = 8.6, 4.2Hz, 2H), 3.05-2.98 (m, 4H), 1.81-1.60 (m, 8H), 0.90-0.78 (m, 24H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.73, 162.30, 147.51, 139.20, 125.59, 85.30, 46.68, 41.12, 28.16, 24.65, 23.03, 21.97, 19.99, 19.95; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3321, 1673  $\text{cm}^{-1}$ ; LRMS (EI, 20eV) m/z 535 ( $\text{M}^+$ );  $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_6$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 535.3370, 实测值 535.3371。

[0242] 实施例 8 的制备

[0243]



[0244] 流程 H

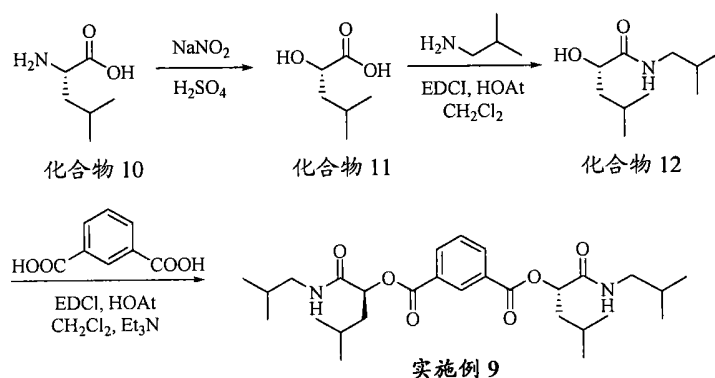
[0245] 按照以上的流程 H 制备实施例 8。在氮气氛下将 N-Boc-L-亮氨酸 (化合物 7) (693mg, 3.0mmol) 溶解在新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 中, 之后加入 HOAt (530mg, 3.9mmol)、异丁胺 (0.32mL, 3.15mmol), 并最后加入 EDCI (1.34g, 4.5mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为白色固体的化合物 8 (851mg, 99%), 其直接用于下一步, 无需进一步纯化。

[0246] 通过注射器于室温向化合物 8 的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5mL) 溶液小心加入等体积的  $\text{CF}_3\text{COOH}$  (5mL)。于室温搅拌 3 小时后, 在真空下浓缩反应混合物。将残余物溶解在  $\text{CHCl}_3$  中, 用  $\text{K}_2\text{CO}_3$  溶液 (pH = 12) 和盐水洗涤, 经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为无色油状物的游离胺化合物 9, 其直接用于下一步。

[0247] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加入含干燥的化合物 9 的烧瓶, 之后加入 HOAt (530mg, 3.9mmol)、异酞酸 (249mg, 1.5mmol)、三乙胺 (0.41mL, 3.0mmol), 并最后加入 EDCI (1.34g, 4.5mmol)。在搅拌过夜后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的实施例 8 (617mg, 82%)。实施例 8 以下数据表征: 熔点 240-242 $^{\circ}\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  32.1 $^{\circ}$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.20 (s, 1H), 7.92 (d, J = 7.8Hz, 2H), 7.48 (t, J = 7.8Hz, 1H), 7.09 (d, J = 8.2Hz, 2H), 6.35 (t, J = 5.8Hz, 2H), 4.65 (m, 2H), 3.15-3.10 (m, 2H), 3.05-3.00 (m, 2H), 1.81-1.69 (m, 8H), 0.97 (d, J = 6.7Hz, 12H), 0.90 (d, J = 6.7Hz, 12H);  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.01, 166.53, 134.19, 130.47, 128.98, 125.53, 52.48, 46.94, 41.27, 28.45, 24.93, 22.86, 22.31, 20.08, 20.06; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3400, 1653  $\text{cm}^{-1}$ ; LRMS (EI, 20eV) m/z 503 ( $\text{M}^+$ );  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_4$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 502.3519, 实测值 502.3486。

[0248] 实施例 9 的制备

[0249]



## [0250] 流程 I

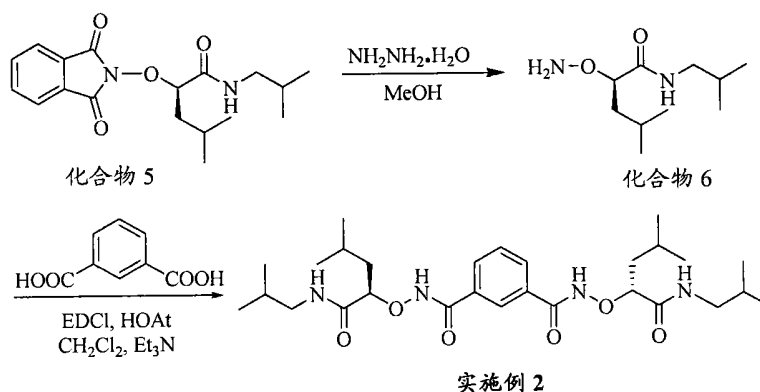
[0251] 按照以上的流程 I 制备实施例 9。小心地向在含 L-亮氨酸 (化合物 10) (787mg, 6.0mmol) 的 100mL 圆底烧瓶中的水 (22mL) 中加入浓硫酸 (0.48mL)。通过滴液漏斗以使反应混合物的温度不超过 5°C 的速率加入 NaNO<sub>2</sub> (1.24g, 18mmol) 的水 (40mL) 溶液。于 0°C 搅拌 1 小时后, 将反应混合物缓慢温至室温, 并再搅拌 1 小时。产物用乙酸乙酯萃取, 并用盐水洗涤有机层, 然后经无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥。蒸馏掉有机溶剂, 得到粘性的淡黄色油状化合物 11, 其直接用于下一步。

[0252] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 加至含化合物 11 的烧瓶, 之后加入 HOAt (1.06g, 7.8mmol)、异丁胺 (0.63mL, 6.3mmol), 并最后加入 EDCI (2.68g, 9.0mmol)。在过夜搅拌后, 用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 稀释反应混合物。有机层用 5% NaHCO<sub>3</sub> 和盐水洗涤, 然后经无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 并浓缩, 得到为白色固体的化合物 12, 其直接用于下一步, 无需进一步纯化。

[0253] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 加入含化合物 12 的烧瓶, 之后加入 HOAt (1.06g, 7.8mmol)、异酞酸 (500mg, 3mmol)、三乙胺 (0.82mL, 6.0mmol), 并最后加入 EDCI (2.68g, 9.0mmol)。在过夜搅拌后, 用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 稀释反应混合物。有机层用 5% NaHCO<sub>3</sub> 和盐水洗涤, 然后经无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的实施例 9 (1.02g, 68%)。实施例 9 以以下数据表征: 熔点 137-139°C;  $[\alpha]_D^{20} +22.6^\circ$  (c 1.00, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.74 (t, J = 1.6Hz, 1H), 8.32 (dd, J = 7.8, 1.7Hz, 2H), 7.63 (t, J = 7.8Hz, 1H), 6.06 (t, J = 5.7Hz, 2H), 5.43 (dd, J = 9.4, 3.9Hz, 2H), 3.11 (t, J = 6.6Hz, 4H), 1.96-1.75 (m, 8H) 1.00-0.97 (m, 12H), 0.90-0.87 (m, 12H); <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.78, 164.66, 134.48, 130.85, 130.08, 129.20, 74.03, 46.50, 40.78, 28.45, 24.73, 23.13, 21.81, 19.94; IR (CHCl<sub>3</sub>) 3450, 1729, 1679cm<sup>-1</sup>; LRMS (EI, 20eV) m/z 504 (M<sup>+</sup>); C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (M<sup>+</sup>) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 504.3199, 实测值 504.3199。

[0254] 实施例 2 的替代制备方法

[0255]

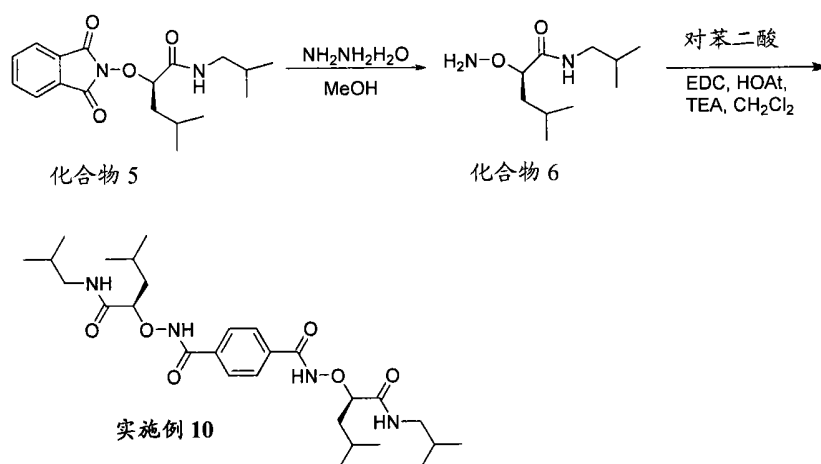


## [0256] 流程 J

[0257] 还按照以上的流程 J 制备实施例 2, 流程 J 类似于用于实施例 7 的流程 G, 只是用异酞酸替代吡啶-2,6-二甲酸。分离为白色固体的实施例 2, 其以以下数据表征: 熔点 176-178 °C;  $[\alpha]_D^{20}$  (deg cm<sup>3</sup>g<sup>-1</sup>dm<sup>-1</sup>) +67.3° (c = 0.01g cm<sup>-3</sup> in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.43ppm (s, 2H), 8.12 (s, 1H), 8.07 (t, J = 5.7Hz, 2H), 8.04 (d, J = 7.8Hz, 2H), 7.57 (t, J = 7.8Hz, 1H), 4.40 (dd, J = 9.5, 3.4Hz, 2H), 3.05-3.01 (m, 2H), 2.91-2.88 (m, 2H), 1.86-1.62 (m, 8H), 0.92 (d, J = 6.6Hz, 12H), 0.84 (d, J = 6.7Hz, 6H), 0.78 (d, J = 6.7Hz, 6H); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 171.89, 166.14, 131.97, 131.30, 129.69, 124.93, 85.60, 46.69, 41.15, 28.29, 24.85, 23.18, 21.81, 20.04, 19.99; IR (CHCl<sub>3</sub>) 3332cm<sup>-1</sup>, 3185, 1663 (C=O) cm<sup>-1</sup>; LRMS (EI, 20eV) m/z 534 (M<sup>+</sup>); C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> [M<sup>+</sup>] 的 HRMS (EI, 20eV) (m/z): 理论值 534.3417; 实测值 534.3435。

## [0258] 实施例 10 的制备

## [0259]



## [0260] 流程 K

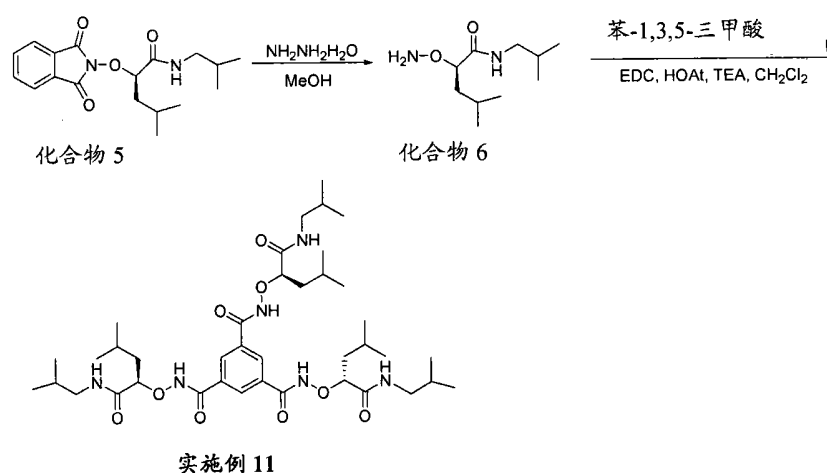
[0261] 按照以上的流程 K 制备实施例 10。向化合物 5 (332mg, 1mmol) 的 CH<sub>3</sub>OH (10mL) 溶液加入 NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O (150mg, 3.0mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后, 在真空下浓缩反应混合物。将残余物溶解在 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中, 并用 5% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液洗涤 2 次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 并浓缩, 得到为无色油状物的化合物 6 和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物立即用于下一步, 无需进一步纯化。

[0262] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 加至含干燥的化合物 6 的烧瓶, 之后加入 HOAt (177mg, 1.3mmol)、对苯二酸 (83mg, 0.5mmol)、三乙胺 (0.14mL, 1.0mmol), 并最后加入

N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC·HCl, 300mg, 1.5mmol)。在过夜搅拌后,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤 2 次,然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到为白色固体的实施例 10 (107mg, 40%)。实施例 10 以以下数据表征:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 58.9$ 。 (c 1.00, DMSO);  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  12.03 (s, 2H), 8.24 (s, 2H), 7.82 (s, 4H), 4.38 (dd,  $J = 8.5, 4.5\text{Hz}$ , 2H), 2.96-2.90 (m, 4H), 1.83-1.50 (m, 8H), 0.98 (d,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 6H) 0.93 (d,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 6H), 0.81 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 0.79 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  170.93, 164.99, 135.00, 127.79, 84.01, 46.25, 28.42, 24.66, 23.47, 22.47, 20.40, 20.16; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  534 ( $\text{M}^+$ , 1), 131 (100);  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI): 理论值 534.3417, 实测值 534.3419。

[0263] 实施例 11 的制备

[0264]



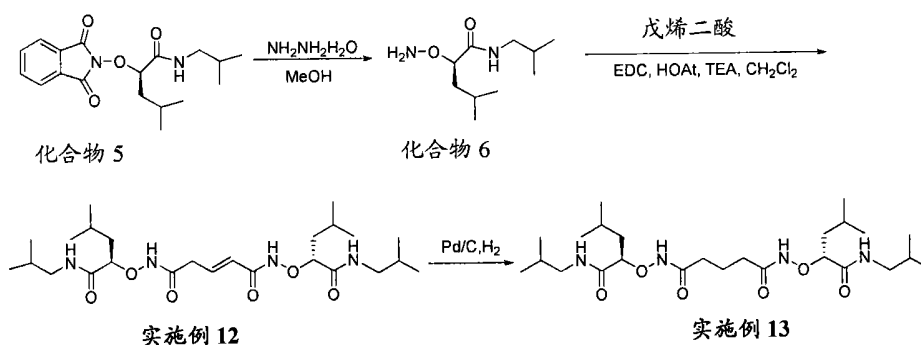
[0265] 流程 L

[0266] 按照以上的流程 L 制备实施例 11。向化合物 5 (332mg, 1mmol) 的  $\text{CH}_3\text{OH}$  (10mL) 溶液加入  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (150mg, 3.0mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后,在真空下浓缩反应混合物。将残余物溶解在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中,并用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次,然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥,并浓缩,得到为无色油状物的化合物 6 和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物立即用于下一步,无需进一步纯化。

[0267] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加入含干燥的化合物 6 的烧瓶,之后加入 HOAt (177mg, 1.3mmol)、苯-1,3,5-三甲酸 (105mg, 0.5mmol)、三乙胺 (0.14mL, 1.0mmol), 并最后加入 EDC·HCl (300mg, 1.5mmol)。在过夜搅拌后,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次,然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到为白色固体的实施例 11 (171mg, 45%)。实施例 11 以以下数据表征:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 46.1^\circ$  (c 1.00, DMSO);  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  12.14 (s, 3H), 8.26 (s, 3H), 8.22 (s, 3H), 4.38 (dd,  $J = 8.4, 4.0\text{Hz}$ , 3H), 3.00-2.89 (m, 6H), 1.85-1.51 (m, 12H), 0.98 (d,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 9H), 0.93 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 9H), 0.81 (d,  $J = 7\text{Hz}$ , 9H), 0.79 (d,  $J = 8\text{Hz}$ , 9H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  170.97, 164.43, 132.80, 129.45, 84.19, 46.25, 28.43, 24.69, 23.48, 22.42, 20.40; LRMS (FAB)  $m/z$  763 ( $\text{M}^+\text{H}$ );  $\text{C}_{39}\text{H}_{67}\text{N}_6\text{O}_9$  ( $\text{M}^+\text{H}$ ) 的 HRMS (FAB): 理论值 763.4891, 实测值 763.4949。

[0268] 实施例 12 和 13 的制备

[0269]



[0270] 流程 M

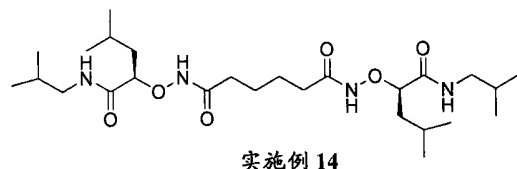
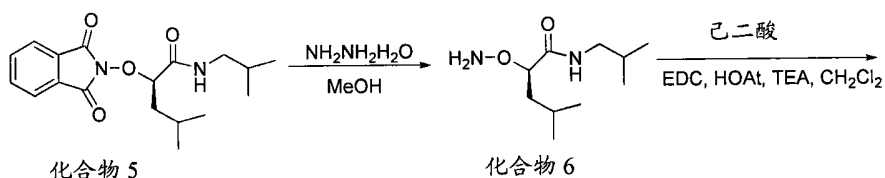
[0271] 按照以上的流程 M 制备实施例 12 和 13。向化合物 5 (332mg, 1mmol) 的  $\text{CH}_3\text{OH}$  (10mL) 溶液加入  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (150mg, 3.0mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后, 在真空下浓缩反应混合物。将残余物溶解在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中, 并用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为无色油状物的化合物 6 和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物立即用于下一步, 无需进一步纯化。

[0272] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加至含干燥的化合物 6 的烧瓶, 之后加入 HOAt (177mg, 1.3mmol)、戊烯二酸 (65mg, 0.5mmol)、三乙胺 (0.14mL, 1.0mmol), 并最后加入 EDC  $\cdot$  HCl (300mg, 1.5mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的实施例 12 (40mg, 16%)。实施例 12 以以下数据表征:  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.60 (br, 1H), 10.49 (br, 1H), 8.07 (br, 1H), 7.88 (br, 1H), 6.88 (dt,  $J = 15.4, 6.9\text{Hz}$ , 1H), 5.89 (d,  $J = 15\text{Hz}$ , 1H), 4.28 (d,  $J = 5.2\text{Hz}$ , 2H), 3.11–2.97 (m, 6H), 1.84–1.60 (m, 8H), 0.95–0.87 (m, 24H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.97, 167.92, 137.25, 123.45, 85.31, 85.22, 46.70, 46.66, 40.98, 28.34, 24.71, 23.16, 21.71, 20.07; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  498 ( $\text{M}^+$ , 1), 131 (100);  $\text{C}_{25}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI): 理论值 498.3417, 实测值 498.3436。

[0273] 将实施例 12 (40mg, 0.08mmol) 溶解于 1mL  $\text{MeOH}$ , 并将 4mg 10% Pd/C 加至所述混合物。然后于室温在气囊气压下用  $\text{H}_2$  过夜搅拌混合物。反应混合物通过赛力特过滤, 并浓缩, 得到实施例 13 (40mg, 定量的)。实施例 13 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} +27.9^\circ$  ( $c$  1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.69 (br, 2H), 4.35 (dd,  $J = 8.6, 3.8\text{Hz}$ , 2H), 3.29–3.24 (m, 2H), 2.87–2.85 (m, 2H), 2.18–2.16 (m, 2H), 1.88–1.63 (m, 12H), 1.00–0.92 (m, 24H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.72, 170.30, 86.21, 46.59, 40.77, 30.58, 28.44, 24.75, 23.04, 21.80, 20.71, 20.05; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  500 ( $\text{M}^+$ , 1), 131 (100);  $\text{C}_{25}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI): 理论值 500.3574, 实测值 500.3596。

[0274] 实施例 14 的制备

[0275]



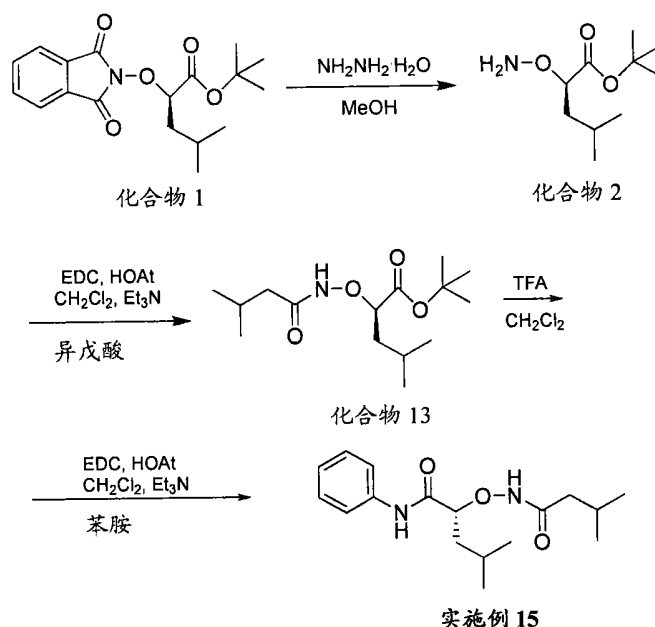
## [0276] 流程 N

[0277] 按照以上的流程 N 制备实施例 14。向化合物 5 (332mg, 1mmol) 的  $\text{CH}_3\text{OH}$  (10mL) 溶液加入  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (150mg, 3.0mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后, 在真空下浓缩反应混合物。将残余物溶解于  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 并用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为无色油状物的化合物 6 和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物立即用于下一步, 无需进一步纯化。

[0278] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加至含干燥的化合物 6 的烧瓶, 之后加入 HOAt (177mg, 1.3mmol)、己二酸 (73mg, 0.5mmol)、三乙胺 (0.14mL, 1.0mmol), 并最后加入 EDC  $\cdot$  HCl (300mg, 1.5mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的实施例 14 (110mg, 40%)。实施例 14 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} +31.4^\circ$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$ NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.78 (s, 2H), 7.98 (br, 2H), 4.30-4.26 (m, 2H), 3.21-3.14 (m, 2H), 3.02-2.93 (m, 2H), 2.12-2.11 (m, 4H), 1.73-1.60 (m, 12H), 0.99-0.91 (m, 24H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.11, 171.89, 85.35, 46.55, 41.02, 32.37, 28.36, 24.71, 23.16, 21.71, 20.07; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  515 ( $\text{M}^+$ +1, 10), 131 (100);  $\text{C}_{26}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI): 理论值 514.373, 实测值 514.3768。

## [0279] 实施例 15 的制备

## [0280]





## [0281] 流程 0

[0282] 按照以上的流程 0 制备实施例 15。向化合物 1 (2.00g, 6.0mmol) 的  $\text{CH}_3\text{OH}$  (20mL) 溶液加入  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (900mg, 18.0mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后, 在真空下浓缩反应混合物。将残余物溶解在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中, 并用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为无色油状物的游离胺 (化合物 2) 和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物立即用于以下的肽偶联反应, 无需进一步纯化。

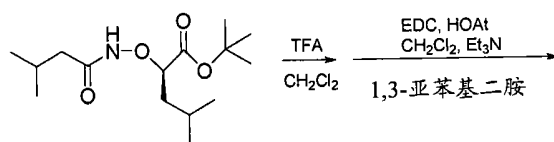
[0283] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80mL) 加入含干燥的化合物 2 的烧瓶, 之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 1.05g, 7.8mmol)、异戊酸 (0.66mL, 6.0mmol)、三乙胺 (0.83mL, 6.0mmol), 并最后加入 EDC  $\cdot$  HCl (1.80g, 9mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到化合物 13 (1.07g, 62% 收率)。化合物 13 以以下数据表征:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +138.1^\circ$  (c 1.00,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.78 (s, 1H), 4.44 (br, 1H), 2.13-1.93 (m, 4H), 1.70-1.51 (m, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.03-0.93 (m, 12H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.85, 169.62, 81.99, 42.37, 39.85, 28.02, 25.84, 24.56, 23.09, 22.45, 22.27, 21.74; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  287 ( $\text{M}^+$ , 2), 186 (88), 102 (100);  $\text{C}_{15}\text{H}_{29}\text{NO}_4$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI): 理论值 287.2100, 实测值 287.2101。

[0284] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30mL) 加入含干燥的化合物 13 (860mg, 3.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (6mL, 75mmol)。混合物于室温搅拌, 直至化合物 13 被耗尽。然后真空浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到酸, 其无需进一步纯化即用于下一步。

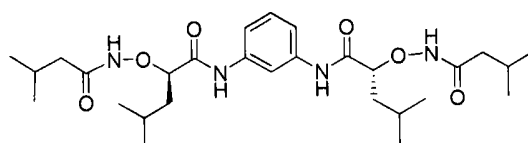
[0285] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80mL) 加入含上一步提供的酸的烧瓶, 之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 0.525g, 3.9mmol)、苯胺 (0.3mL, 3.3mmol)、三乙胺 (0.42mL, 3mmol), 并最后加入 EDC  $\cdot$  HCl (0.90g, 4.5mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到实施例 15 (0.8g, 88% 收率)。实施例 15 以以下数据表征:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +128.6^\circ$  (c 1.00,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.17 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.69 (d,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.32 (t,  $J = 7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.1 (t,  $J = 7.4\text{Hz}$ , 1H), 4.34 (t,  $J = 6.8\text{Hz}$ , 1H), 2.10-1.90 (m, 4H), 1.80-1.76 (m, 2H), 0.99 (t,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 6H), 0.91 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 3H), 0.84 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  173.02, 169.97, 137.76, 128.86, 124.28, 119.97, 86.12, 41.89, 40.80, 25.86, 24.82, 23.20, 22.28, 22.02, 21.70; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  306 ( $\text{M}^+$ , 38), 151 (100);  $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$  ( $\text{M}^+$ ) 的理论值 306.1900, 实测值 306.1937。

## [0286] 实施例 16 的制备

## [0287]



化合物 13



实施例 16

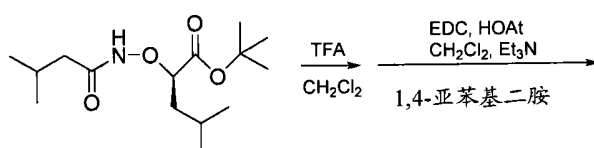
## [0288] 流程 P

[0289] 按照以上的流程 P 制备实施例 16。在氮气氛围下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30mL) 加至含干燥的化合物 13 (860mg, 3.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (6mL, 75mmol)。混合物于室温搅拌, 直至化合物 13 被耗尽。然后真空浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到酸, 其无需进一步纯化即可用于下一步。

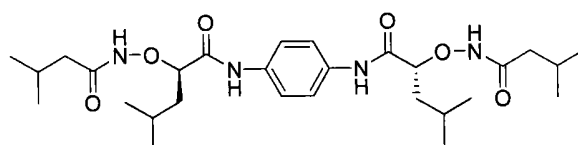
[0290] 在氮气氛围下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80mL) 加至含有上一步提供的酸的烧瓶, 之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 0.525g, 3.9mmol)、1,3-亚苯基二胺 (162mg, 1.5mmol)、三乙胺 (0.42mL, 3mmol), 并最后加入 EDC·HCl (0.90g, 4.5mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到实施例 16 (0.24g, 30% 收率)。实施例 16 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} +163.0^\circ$  (c 1.00,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  11.33 (s, 2H), 10.34 (s, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.2Hz, 2H), 7.24 (t, J = 8Hz, 1H), 4.37 (dd, J = 9.1, 4.2Hz, 2H), 1.95-1.85 (m, 8H), 1.77-1.55 (m, 2H), 1.55-1.45 (m, 2H), 0.97 (d, J = 6.6Hz, 6H), 0.93 (d, J = 6.6Hz, 6H), 0.84-0.80 (m, 12H);  $^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.70, 170.12, 139.18, 129.32, 115.30, 111.19, 84.33, 41.51, 40.71, 25.78, 24.65, 23.52, 22.49, 22.46, 22.28; LRMS (EI, 20eV) m/z 535 ( $\text{M}^+ + 1$ , 22), 222 (100);  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 534.3417, 实测值 534.3428。

## [0291] 实施例 17 的制备

## [0292]



化合物 13



实施例 17

## [0293] 流程 Q

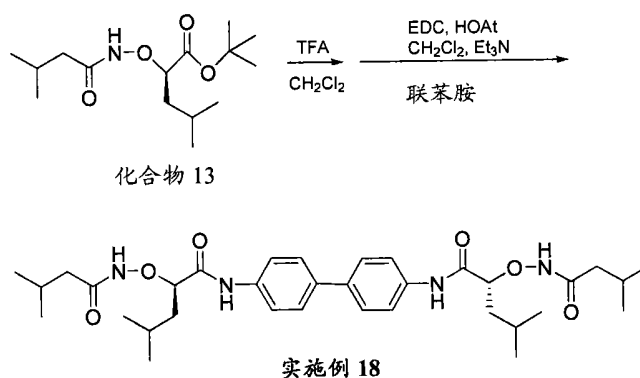
[0294] 按照以上的流程 Q 制备实施例 16。在氮气氛围下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30mL) 加至含干燥的化合物 13 (860mg, 3.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (6mL, 75mmol)。混合物于室温搅

拌,直至化合物 13 被耗尽。然后真空浓缩反应混合物,并与甲苯共沸 3 次,得到酸,其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0295] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80mL) 加至含上一步提供的酸的烧瓶,之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 0.525g, 3.9mmol)、1,4-亚苯基二胺 (162mg, 1.5mmol)、三乙胺 (0.42mL, 3mmol), 并最后加入 EDC·HCl (0.90g, 4.5mmol)。在过夜搅拌后,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤两次,然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到实施例 17 (0.33g, 41% 收率)。实施例 17 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} +236.2^\circ$  (c 1.00, DMSO);  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  11.36 (s, 2H), 10.31 (s, 2H), 7.56 (s, 4H), 4.33 (dd,  $J = 9.3, 4.1\text{Hz}$ , 2H), 1.95-1.85 (m, 8H), 1.65-1.62 (m, 2H), 1.55-1.52 (m, 2H), 0.97 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 0.93 (d,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 6H), 0.83 (d,  $J = 6.3\text{Hz}$ , 6H), 0.80 (d,  $J = 6.3\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{CNMR}$  (100MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  170.75, 169.86, 134.64, 120.15, 84.44, 41.51, 40.74, 25.79, 25.57, 24.67, 23.52, 22.48, 22.43, 22.23; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  535 ( $M^+ + 1$ , 55), 222 (84), 108 (100);  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $M^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 534.3417, 实测值 534.3405。

[0296] 实施例 18 的制备

[0297]



[0298] 流程 R

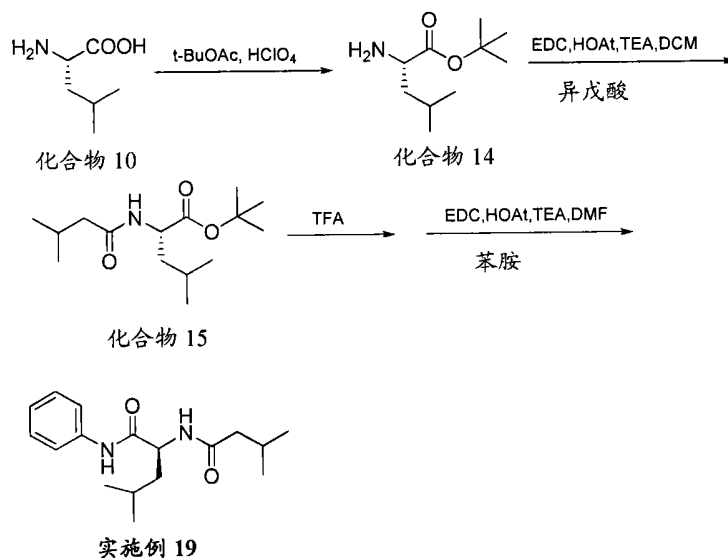
[0299] 按照以上的流程 R 制备实施例 16。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30mL) 加至含干燥的化合物 13 (860mg, 3.0mmol) 的烧瓶,之后加入 TFA (6mL, 75mmol)。混合物于室温搅拌,直至化合物 13 被耗尽。然后真空浓缩反应混合物,并与甲苯共沸 3 次,得到酸,其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0300] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80mL) 加至含有上一步提供的酸的烧瓶,之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 0.525g, 3.9mmol)、联苯胺 (276mg, 1.5mmol)、三乙胺 (0.42mL, 3mmol), 并最后加入 EDC·HCl (0.90g, 4.5mmol)。在过夜搅拌后,用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤 2 次,然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到实施例 18 (0.6g, 66% 收率)。实施例 18 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} +275.4^\circ$  (c 1.00, 丙酮);  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  11.40 (s, 2H), 10.45 (s, 2H), 7.70 (d,  $J = 8.7\text{Hz}$ , 4H), 7.62 (d,  $J = 8.8\text{Hz}$ , 4H), 4.37 (dd,  $J = 9.3, 4.2\text{Hz}$ , 2H), 1.95-1.86 (m, 8H), 1.78-1.55 (m, 2H), 1.45-1.23 (m, 2H), 0.98 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 6H), 0.94 (d,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 6H), 0.84 (d,  $J = 6.3\text{Hz}$ , 6H), 0.82 (d,  $J = 6.3\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  170.85, 170.16, 138.01, 135.27, 126.94, 120.20, 84.57, 41.52, 40.74,

25. 79, 24. 68, 23. 52, 22. 49, 22. 45, 22. 26 ;LRMS (FAB)  $m/z$  611 ( $M^+H$ ) ; $C_{34}H_{51}N_4O_6$  ( $M^+H$ ) 的 HRMS (FAB) :理论值 611. 373, 实测值 611. 3811。

[0301] 实施例 19 的制备

[0302]



[0303] 流程 S

[0304] 按照以上的流程 S 制备实施例 19。化合物 14 按照 Miller 等人, J. Org. Chem, 1986, 51, 5332-5337 描述的程序合成。在搅拌下于冰浴中将 L-亮氨酸 (2.88g, 22mmol) 溶解在 60% 高氯酸 (4g, 24mmol) 水溶液中。加入乙酸叔丁酯 (75mL), 并继续搅拌, 直至获得均一的溶液。将混合物于室温保持 2 天, 然后将 0.1N HCl (100mL) 加入混合物。将水相与醚相分离, 用  $Na_2CO_3$  水溶液调节水相的 pH 至约 9。用 EtOAc 萃取水相 3 次, 并合并有机层, 用盐水洗涤, 经无水  $MgSO_4$  干燥, 并浓缩, 得到为无色油状物的化合物 14 (3.05g, 74% 收率), 其直接用于下一步。

[0305] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $CH_2Cl_2$  (80mL) 加至含干燥的化合物 14 (540mg, 2.9mmol) 的烧瓶, 之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 513mg, 3.77mmol)、异戊酸 (0.32mL, 2.9mmol)、三乙胺 (0.4mL, 2.9mmol), 并最后加入 EDC·HCl (870mg, 4.35mmol)。在过夜搅拌后, 用  $CH_2Cl_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $NaHCO_3$  水溶液洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $MgSO_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到化合物 15 (918mg, 93% 收率)。化合物 15 以以下数据表征:  $^1H$  NMR (300MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  5.8 (br, 1H), 4.64-4.45 (m, 1H), 2.12-2.05 (m, 3H), 1.70-1.50 (m, 3H), 1.46 (s, 9H), 0.97-0.89 (m, 12H);  $^{13}C$  NMR (75MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  172.5, 172.05, 81.78, 51.10, 45.99, 42.02, 27.95, 26.12, 24.94, 22.77, 22.44, 22.38, 22.08。

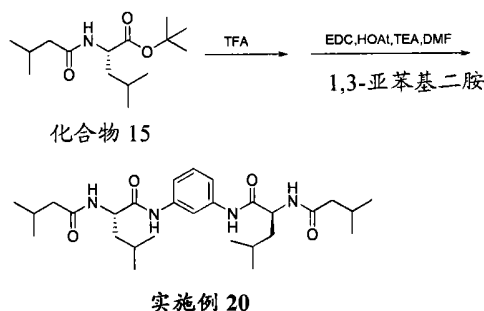
[0306] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $CH_2Cl_2$  (10mL) 加入含干燥的化合物 15 (270mg, 1.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (5mL)。混合物于室温搅拌, 直至化合物 15 被耗尽。然后真空浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到酸, 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0307] 在氮气氛下将蒸馏的 DMF (10mL) 加入含上一步获得的酸 (215mg, 1mmol) 的烧瓶, 之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 177mg, 1.3mmol)、苯胺 (0.1mL, 1.1mmol)、三乙胺 (0.14mL, 1mmol), 并最后加入 EDC·HCl (300mg, 1.5mmol)。在过夜搅拌后, 用 EtOAc 稀

释反应混合物。有机层用 5% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液洗涤两次,然后用盐水洗涤。有机层经无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到实施例 19 (248mg, 87% 收率)。实施例 19 以以下数据表征: <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.59 (br, 1H), 7.49 (d, J = 4.7Hz, 2H), 7.28 (d, J = 4.7Hz, 2H), 7.08 (dd, J = 4.5, 7.4Hz, 1H), 6.0 (br, 1H), 4.73-4.55 (m, 1H), 2.21-2.05 (m, 2H), 1.84-1.67 (m, 4H), 0.97-0.92 (m, 12H); <sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 173.46, 171.21, 138.00, 128.75, 124.13, 119.99, 52.60, 45.56, 40.73, 26.18, 24.86, 22.92, 22.40, 22.28, 22.12。

[0308] 实施例 20 的制备

[0309]



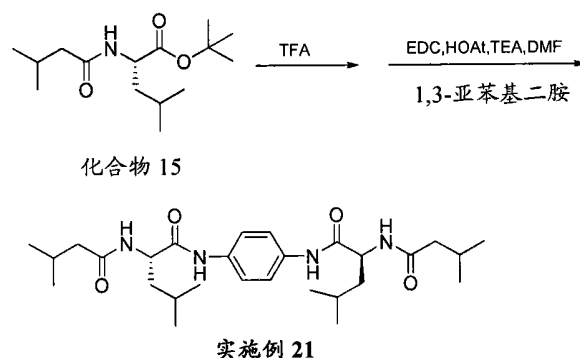
[0310] 流程 T

[0311] 按照以上的流程 T 制备实施例 20。在氮气氛下将新鲜蒸馏的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10mL) 加至含干燥的化合物 15 (270mg, 1.0mmol) 的烧瓶,之后加入 TFA (5mL)。混合物于室温搅拌,直至化合物 15 被耗尽。然后真空浓缩反应混合物,并与甲苯共沸 3 次,得到酸,其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0312] 在氮气氛下将蒸馏的 DMF (10mL) 加入含上一步获得的酸 (215mg, 1mmol) 的烧瓶,之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 177mg, 1.3mmol)、1,3-亚苯基二胺 (54mg, 0.5mmol)、三乙胺 (0.14mL, 1mmol) 和 EDC·HCl (300mg, 1.5mmol)。在过夜搅拌后,用 EtOAc 稀释反应混合物。有机层用 5% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液和盐水洗涤,然后经无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到实施例 20 (173mg, 69% 收率)。实施例 20 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} +26.7^\circ$  (c 1.00, DMSO); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.03 (s, 1H), 8.03 (d, J = 7.8Hz, 2H), 7.91 (d, J = 1.6Hz, 1H), 7.28 (dd, J = 1.7, 7.6Hz, 2H), 7.18 (dd, J = 7.4, 8.7Hz, 1H), 4.49-4.38 (m, 2H), 2.50-2.48 (m, 6H), 1.54-1.43 (m, 6H), 0.89-0.84 (m, 24H); <sup>13</sup>C NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 172.12, 171.89, 139.69, 129.24, 114.79, 110.91, 52.20, 44.81, 26.11, 24.78, 23.43, 22.72, 22.68, 21.93。

[0313] 实施例 21 的制备

[0314]



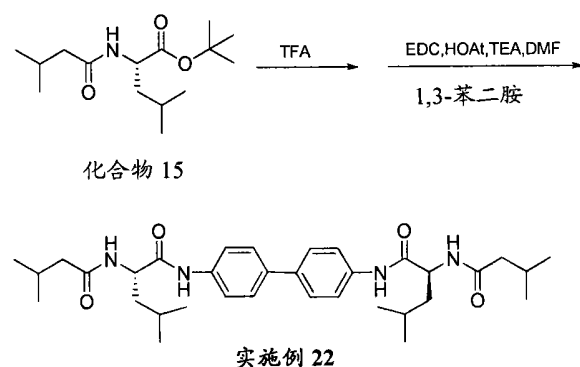
[0315] 流程 U

[0316] 按照以上的流程 U 制备实施例 21。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含干燥的化合物 15 (270mg, 1.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (5mL)。混合物于室温搅拌, 直至化合物 15 被耗尽。然后真空浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到酸, 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0317] 在氮气氛下将蒸馏的 DMF (10mL) 加入含上一步提供的酸 (215mg, 1mmol) 的烧瓶, 之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 177mg, 1.3mmol)、1,4-亚苯基二胺 (54mg, 0.5mmol)、三乙胺 (0.14mL, 1mmol), 并最后加入 EDC·HCl (300mg, 1.5mmol)。在过夜搅拌后, 用 EtOAc 稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到实施例 21 (143mg, 57% 收率)。实施例 21 以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} +16.6^\circ$  (c 1.00, DMSO);  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  9.99 (s, 2H), 8.05 (d,  $J = 7.9\text{Hz}$ , 2H), 7.52 (s, 4H), 4.56-4.38 (m, 2H), 2.55-2.40 (m, 6H), 1.65-1.44 (m, 6H), 0.91-0.86 (m, 24H);  $^{13}\text{C NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  172.07, 171.56, 134.93, 120.02, 52.08, 44.82, 26.10, 24.77, 23.46, 22.74, 22.67, 21.93。

[0318] 实施例 22 的制备

[0319]



[0320] 流程 V

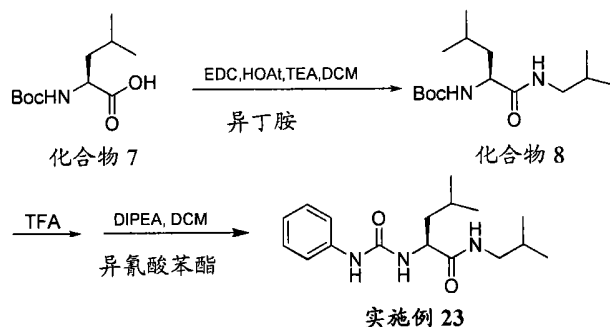
[0321] 按照以上的流程 V 制备实施例 22。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含干燥的化合物 15 (270mg, 1.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (5mL)。混合物于室温搅拌, 直至化合物 15 被耗尽。然后真空浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到酸, 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0322] 在氮气氛下将蒸馏的 DMF (10mL) 加入含上一步获得的酸 (215mg, 1mmol) 的烧瓶, 之后加入 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt, 177mg, 1.3mmol)、联苯胺 (92mg, 0.5mmol)、三乙胺 (0.14mL, 1mmol), 并最后加入 EDC·HCl (300mg, 1.5mmol)。在过夜搅拌后, 用 EtOAc 稀

释反应混合物。有机层用 5% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液和盐水洗涤,然后经无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到实施例 22(120mg,42% 收率)。实施例 22 以以下数据表征: $[\alpha]_D^{20}+24.2^\circ$  (c 1.00, DMSO);<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.20(s,2H),8.08(d, J = 7.8Hz,2H),7.68(d, J = 8.5Hz,4H),7.59(d, J = 8.4Hz,4H),4.58-4.40(dd, J = 8.6, 13.3Hz,2H),2.03-1.95(m,6H),1.65-1.47(m,6H),0.93-0.87(m,24H);<sup>13</sup>C NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 172.15,171.92,138.58,134.93,126.85,120.04,52.22,44.82,26.12,24.80,23.45,22.73,22.68,21.96。

[0323] 实施例 23 的制备

[0324]



[0325] 流程 W

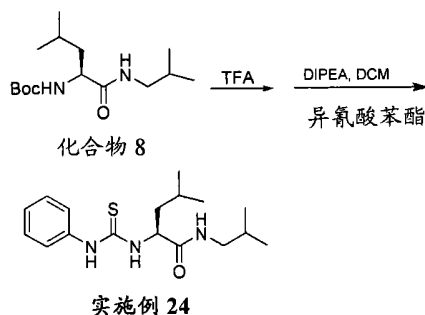
[0326] 按照以上的流程 W 制备实施例 23。在氮气氛下将新鲜蒸馏的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 加入含 Boc-Leu-OH(1.25g,5mmol) 的烧瓶,之后加入 HOAt(0.88g,6.5mmol)、异丁胺(1mL,10mmol),并最后加入 EDC·HCl(1.50g,7.5mmol)。在过夜搅拌后,用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 稀释反应混合物。有机层用 5% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液和盐水洗涤,然后经无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥,并浓缩,得到为油状物的化合物 8(1.33g,93%),其以以下数据表征:<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.25(br,1H),4.91(br,1H),4.16-3.98(m,1H),3.08(t, J = 5.6Hz,2H),1.80-1.66(m,4H),1.44(s,9H),0.94-0.90(m,12H);<sup>13</sup>C NMR(75MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 172.46,155.00,53.15,46.69,41.04,28.45,28.27,24.74,22.84,22.08,19.99。

[0327] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10mL) 加入含干燥的化合物 8(286mg,1.0mmol) 的烧瓶,之后加入 TFA(5mL)。反应混合物于室温搅拌,直至化合物 8 被耗尽。然后以旋转蒸发器浓缩反应混合物,并与甲苯共沸 3 次,得到胺(TFA 盐),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0328] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10mL) 加入含上一步获得的胺的烧瓶,之后加入 DIPEA(0.16mL,1.0mmol) 和异氰酸苯酯(0.11mL,1mmol)。在过夜搅拌后,用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 稀释反应混合物。有机层用 5% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液和盐水洗涤,然后经无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化。得到为白色固体的实施例 23(220mg,70%)。实施例 23 以以下数据表征:<sup>1</sup>H NMR(300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.57(s,1H),8.09(t, J = 5.6Hz,1H),7.35(d, J = 8.0Hz,2H),7.21(t, J = 7.8Hz,2H),6.88(t, J = 7.3Hz,1H),6.29(d, J = 8.5Hz,1H),4.34-4.26(m,1H),2.97-2.80(m,2H),1.71-1.58(m,2H),1.44-1.38(m,2H),0.92-0.82(m,12H);<sup>13</sup>C NMR(75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 172.94,155.04,140.81,129.12,121.48,117.87,51.72,46.40,43.03,28.44,24.79,23.39,22.56,20.51。

[0329] 实施例 24 的制备

[0330]



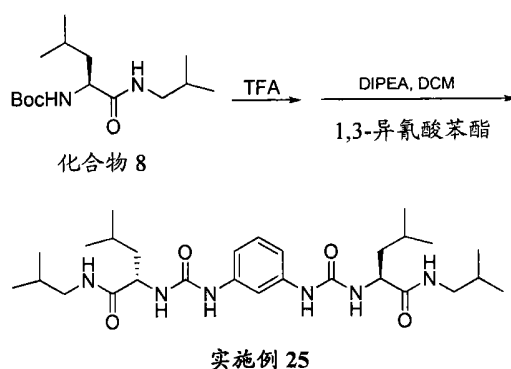
[0331] 流程 X

[0332] 按照以上的流程 X 制备实施例 24。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含干燥的化合物 8 (286mg, 1.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (5mL)。反应混合物于室温搅拌, 直至化合物 8 被耗尽。然后以旋转蒸发器浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到胺 (TFA 盐), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0333] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含上一步获得的胺的烧瓶, 之后加入 DIPEA (0.16mL, 1.0mmol) 和异氰酸苯酯 (0.12mL, 1mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的实施例 24 (210mg, 65%)。实施例 24 以以下数据表征:  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.96 (s, 1H), 7.42 (d,  $J = 7.5\text{Hz}$ , 1H), 7.39 (d,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 1H), 7.32-7.23 (m, 3H), 6.68 (d,  $J = 8.3\text{Hz}$ , 1H), 6.54 (br, 1H), 5.15-5.00 (m, 1H), 3.12-3.03 (m, 2H), 1.83-1.57 (m, 4H), 0.97-0.90 (m, 12H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  180.57, 172.17, 136.51, 129.67, 126.85, 125.00, 56.97, 46.98, 40.73, 28.34, 24.85, 22.77, 22.55, 20.05, 20.04;

[0334] 实施例 25 的制备

[0335]



[0336] 流程 Y

[0337] 按照以上的流程 Y 制备实施例 25。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含干燥的化合物 8 (286mg, 1.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (5mL)。反应混合物于室温搅拌, 直至化合物 8 被耗尽。然后以旋转蒸发器浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到胺 (TFA 盐), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

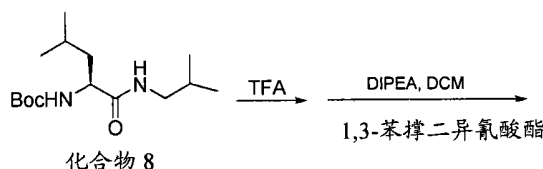
[0338] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含上一步获得的胺的烧瓶, 之后加入 DIPEA (0.16mL, 1.0mmol) 和 1,3-亚苯基二异氰酸酯 (80mg, 0.5mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥,



并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到为白色固体的实施例 25(194mg,73%)。实施例 25 以下数据表征:<sup>1</sup>H NMR(300MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.53(s,2H),8.09(t,J = 5.6Hz,2H),7.40(s,1H),7.13-6.98(m,3H),6.98-6.90(m,2H),6.22(d,J = 8.5Hz,2H),4.30-4.20(m,2H),2.96-2.82(m,4H),1.70-1.58(m,4H),1.43-1.37(m,4H),0.90(d,J = 2.2Hz,6H),0.88(d,J = 2.1Hz,6H),0.82(d,J = 6.7Hz,12H);<sup>13</sup>C NMR(75MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ 172.96,154.97,141.13,129.30,110.90,107.00,51.69,46.40,43.04,28.44,24.78,23.41,22.53,20.52。

[0339] 实施例 26 的制备

[0340]



实施例 26

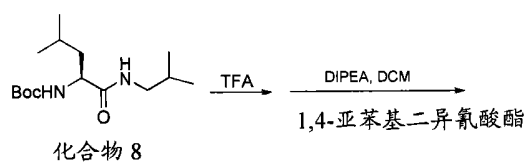
[0341] 流程 Z

[0342] 按照以上的流程 Z 制备实施例 26。在氮气氛下将新鲜蒸馏的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(10mL) 加入含干燥的化合物 8(286mg,1.0mmol) 的烧瓶,之后加入 TFA(5mL)。反应混合物于室温搅拌,直至化合物 8 被耗尽。然后以旋转蒸发器浓缩反应混合物,并与甲苯共沸 3 次,得到胺(TFA 盐),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0343] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(10mL) 加入含上一步获得的胺的烧瓶,之后加入 DIPEA(0.16mL,1.0mmol) 和 1,3-亚苯基二异氰酸酯(96mg,0.5mmol)。在过夜搅拌后,用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 稀释反应混合物。有机层用 5% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液和盐水洗涤,然后经无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥,并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化,得到为白色固体的实施例 26(220mg,78%)。实施例 26 以下数据表征:<sup>1</sup>H NMR(300MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ 8.47(s,2H),7.63(br,2H),7.35-7.28(m,1H),7.23-7.13(m,3H),6.71(t,J = 5.5Hz,2H),5.02-4.95(m,2H),3.11-2.98(m,4H),1.82-1.66(m,8H),0.96-0.84(m,24H);<sup>13</sup>C NMR(100MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ 180.63,173.21,138.02,129.46,121.26,120.56,57.17,47.12,41.01,28.38,24.86,22.93,22.31,20.18,20.14。

[0344] 实施例 27 的制备

[0345]



实施例 27

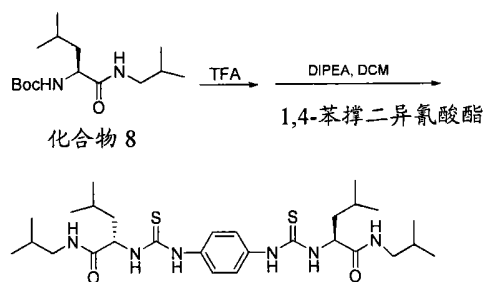
[0346] 流程 AA

[0347] 按照以上的流程 AA 制备实施例 27。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含干燥的化合物 8 (286mg, 1.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (5mL)。反应混合物于室温搅拌, 直至化合物 8 被耗尽。然后以旋转蒸发器浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到胺 (TFA 盐), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0348] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含上一步获得的胺的烧瓶, 之后加入 DIPEA (0.16mL, 1.0mmol) 和 1,4-亚苯基二异氰酸酯 (80mg, 0.5mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的实施例 27 (200mg, 76%)。实施例 27 以以下数据表征:  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8.38 (s, 2H), 8.07 (t,  $J = 5.5\text{Hz}$ , 2H), 7.20 (s, 4H), 6.18 (d,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 2H), 4.28-4.15 (m, 2H), 2.98-2.90 (m, 2H), 2.86-2.81 (m, 2H), 1.70-1.58 (m, 4H), 1.43-1.37 (m, 4H), 0.90-0.88 (m, 12H), 0.82 (d,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 12H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  173.07, 155.20, 134.63, 118.66, 51.76, 46.39, 42.99, 28.43, 24.77, 23.39, 22.54, 20.50。

[0349] 实施例 28 的制备

[0350]



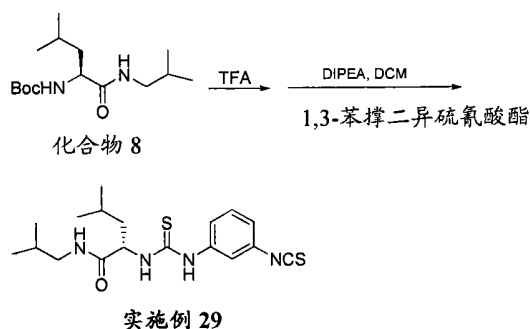
[0351] 流程 AB

[0352] 按照以上的流程 AB 制备实施例 28。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含干燥的化合物 8 (286mg, 1.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (5mL)。于室温搅拌反应混合物, 直至化合物 8 被耗尽。然后以旋转蒸发器浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到胺 (TFA 盐), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0353] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含上一步获得的胺的烧瓶, 之后加入 DIPEA (0.16mL, 1.0mmol) 和 1,4-亚苯基二异硫氰酸酯 (96mg, 0.5mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为黄色固体的实施例 28 (254mg, 90%)。实施例 28 以以下数据表征:  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.50 (s, 2H), 7.65 (br, 2H), 7.09 (s, 4H), 6.82 (br, 2H), 5.02-4.95 (m, 2H), 3.15-3.09 (m, 2H), 3.04-2.99 (m, 2H), 1.80-1.67 (m, 8H), 0.98 (d,  $J = 5.9\text{Hz}$ , 12H), 0.90-0.88 (m, 12H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  180.93, 173.53, 135.23, 125.25, 57.00, 47.12, 41.18, 28.43, 24.87, 22.92, 22.29, 20.17, 20.11。

[0354] 实施例 29 的制备

[0355]



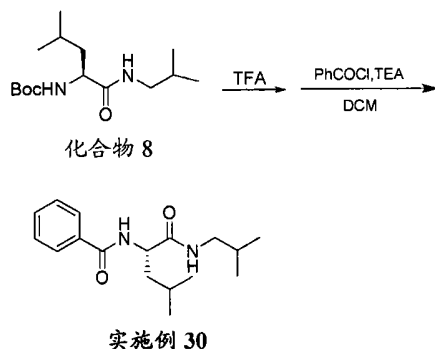
[0356] 流程 AC

[0357] 按照以上的流程 AC 制备实施例 29。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含干燥的化合物 8 (286mg, 1.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (5mL)。反应混合物于室温搅拌, 直至化合物 8 被耗尽。然后以旋转蒸发器浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到胺 (TFA 盐), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0358] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含上一步获得的胺的烧瓶, 之后加入 DIPEA (0.16mL, 1.0mmol) 和 1,4-亚苯基二异硫氰酸酯 (192mg, 1mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为泡沫状固体的实施例 29 (320mg, 85%)。实施例 29 以以下数据表征:  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.56 (s, 1H), 7.92 (d,  $J = 6.3\text{Hz}$ , 1H), 7.49 (s, 1H), 7.40-7.19 (m, 2H), 7.00-6.97 (m, 1H), 6.44 (t,  $J = 5.8\text{Hz}$ , 1H), 5.05-4.98 (m, 1H), 3.12-3.06 (m, 2H), 1.81-1.70 (m, 4H), 1.02-0.98 (m, 6H), 0.92-0.88 (m, 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  181.06, 173.89, 139.31, 135.81, 131.51, 129.68, 122.88, 122.66, 121.25, 56.94, 47.32, 41.21, 28.38, 24.88, 22.86, 22.34, 20.09, 20.06。

[0359] 实施例 30 的制备

[0360]



[0361] 流程 AD

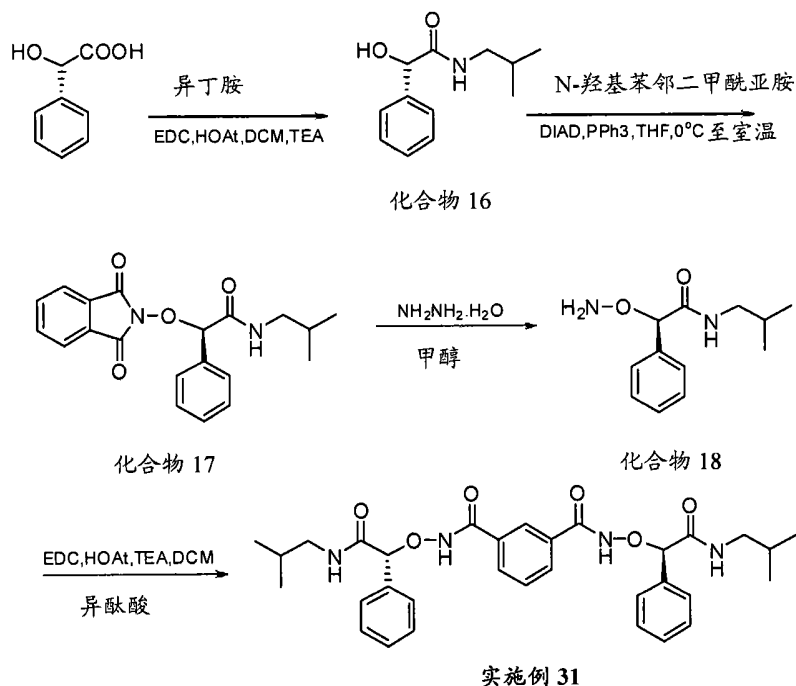
[0362] 按照以上的流程 AD 制备实施例 30。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含干燥的化合物 8 (286mg, 1.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (5mL)。反应混合物于室温搅拌, 直至化合物 8 被耗尽。然后以旋转蒸发器浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到胺 (TFA 盐), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0363] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含上一步获得的胺的烧瓶, 之后加入 TEA (0.42ml, 3.0mmol) 和苯酰氯 (0.12mL, 1mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过

快速柱色谱纯化,得到为白色固体的实施例 30 (210mg, 70%)。实施例 30 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} -57.3^\circ$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.79-7.77 (m, 2H), 7.52-7.48 (m, 1H), 7.43-7.39 (m, 2H), 6.88 (br, 1H), 6.60 (br, 1H), 4.73-4.67 (m, 1H), 3.10-3.03 (m, 2H), 1.81-1.71 (m, 4H), 0.99-0.97 (m, 6H), 0.88 (d,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.28, 167.48, 133.88, 131.64, 128.47, 127.14, 52.31, 46.86, 41.26, 28.40, 24.95, 22.85, 22.41, 20.05; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  290 ( $\text{M}^+$ , 1), 105 (100);  $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$  ( $\text{M}^+$ ) 的理论值 290.1994, 实测值 290.1991。

[0364] 实施例 31 的制备

[0365]



[0366] 流程 AE

[0367] 按照以上的流程 AE 制备实施例 31。在氮气氛围下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加入含 L-(+)-扁桃酸 (1.52g, 10mmol) 的烧瓶, 之后加入 HOAt (1.633g, 12mmol)、异丁胺 (1.2mL, 12mmol), 并最后加入 EDC·HCl (2.60g, 13mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为油状物的化合物 16 (1.94g, 94%)。

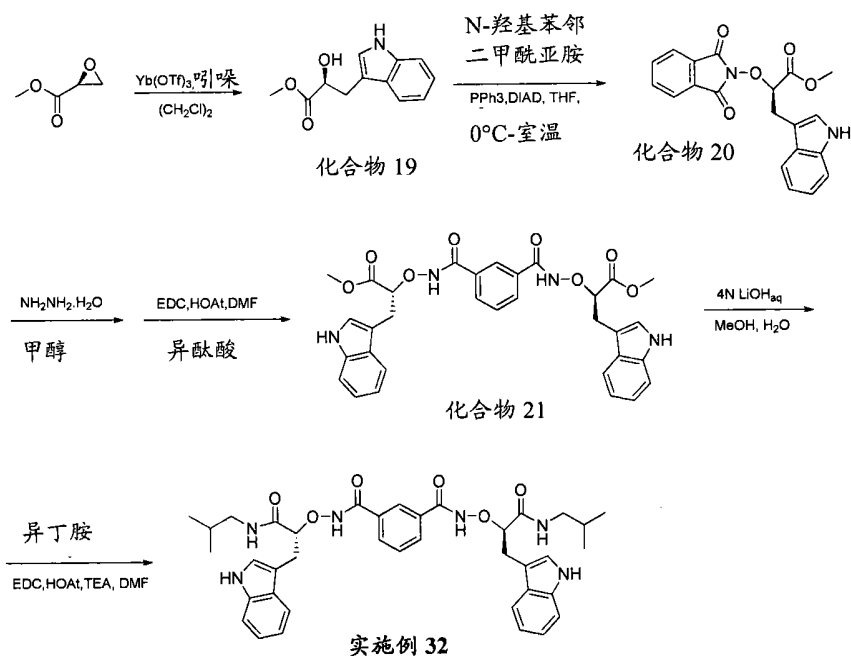
[0368] 将化合物 16 (1.22g, 5.9mmol)、N-羟基邻苯二甲酰亚胺 (1.01g, 6.2mmol) 和  $\text{PPh}_3$  (1.73g, 6.5mmol) 溶解于 250mL 干燥的圆底烧瓶中的无水 THF (100mL) 中。然后使用注射器在冰浴下滴加 DIAD (偶氮二甲酸二异丙酯, 1.24mL, 6.2mmol)。搅拌 1.5 小时后, 以旋转蒸发器去除溶剂。将残余物溶解于乙酸乙酯中, 并用水和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的化合物 17 (1.5g, 72%)。

[0369] 向化合物 17 (1.5g, 4.25mmol) 的  $\text{CH}_3\text{OH}$  (40mL) 溶液加入  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0.4mL, 12.8mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后, 在真空下浓缩反应混合物。将残余物溶解于  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中, 并用 5%  $\text{NaHCO}_3$  洗涤两次, 然后用盐水洗涤。有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为无色油状物的化合物 18 和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物立即用于下一步, 无需进一步纯化。

[0370] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加入含干燥的化合物 18 的烧瓶, 之后加入 HOAt (752mg, 5.13mmol)、异酞酸 (353mg, 2.13mmol)、三乙胺 (0.6mL, 4.3mmol), 并最后加入 EDC·HCl (1.27g, 6.38mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的实施例 31 (734mg, 60% 收率)。实施例 31 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} -58.2^\circ$  (c 1.00, DMSO);  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  12.19 (s, 2H), 8.47 (br, 2H), 8.16 (s, 1H), 7.89 (d,  $J = 7.4\text{Hz}$ , 2H), 7.60-7.55 (m, 1H), 7.49 (d,  $J = 7.2\text{Hz}$ , 4H), 7.42-7.39 (m, 6H), 5.43 (s, 2H), 3.02-2.89 (m, 4H), 1.74-1.67 (m, 2H), 0.80-0.78 (m, 12H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  168.9, 165.2, 136.4, 132.4, 130.8, 129.2, 129.1, 128.7, 128.2, 126.9, 86.1, 46.3, 28.5, 20.4; LRMS (FAB)  $m/z$  575 ( $\text{M}^+\text{H}$ );  $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $\text{M}^+\text{H}$ ) 的 HRMS (FAB): 理论值 575.2791, 实测值 575.2871。

[0371] 实施例 32 的制备

[0372]



[0373] 流程 AF

[0374] 按照以上的流程 AF 制备实施例 32。按照 Satoshi mura 等人, Org. Lett, 2005, 7, 941-943 所述的程序合成化合物 19。将化合物 19 (2.0g, 9.1mmol)、N-羟基苯邻二甲酰亚胺 (1.64g, 10.1mmol) 和  $\text{PPh}_3$  (2.9g, 11mmol) 溶解于 250mL 干燥的圆底烧瓶中的无水 THF (100mL) 中。然后使用注射器在冰浴下滴加 DIAD (偶氮二甲酸二异丙酯, 2mL, 10.1mmol)。搅拌 1.5 小时后, 以旋转蒸发器除去溶剂。将残余物溶解在乙酸乙酯中, 并用水和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的化合物 20 (2.18g, 67% 收率)。化合物 20 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} -12.4^\circ$  (c 1.00, 丙酮);  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.17 (s, 1H), 7.86-7.78 (m, 2H), 7.78-7.70 (m, 2H), 7.64 (d,  $J = 7.7\text{Hz}$ , 1H), 7.35-7.29 (m, 2H), 7.20-7.11 (m, 2H), 5.07 (t,  $J = 6.8\text{Hz}$ , 1H), 3.67 (s, 3H), 3.59-3.47 (m, 2H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.50, 163.19, 136.02, 134.57, 128.81, 127.31, 123.65, 123.49, 122.09, 119.58, 118.50, 111.13, 108.77, 85.30, 52.46, 26.70;

LRMS(EI, 20eV)  $m/z$  364 ( $M^+$ , 10), 201 (100);  $C_{20}H_{16}N_2O_5$  ( $M^+$ ) 的 HRMS(EI): 理论值 364.1059, 实测值 364.1056。

[0375] 向化合物 20 (1.68g, 4.6mmol) 的  $CH_3OH$  (40mL) 溶液加入  $NH_2NH_2 \cdot H_2O$  (0.3mL, 5.1mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后, 以旋转蒸发器浓缩反应混合物。将残余物溶解在  $CH_2Cl_2$  中, 并用 5%  $NaHCO_3$  水溶液和盐水洗涤。有机层经无水  $Na_2SO_4$  干燥, 并浓缩, 得到为固体的胺和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物直接用于下一步, 无需进一步纯化。

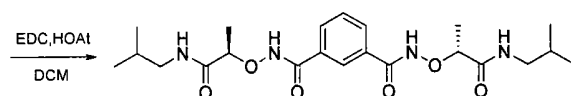
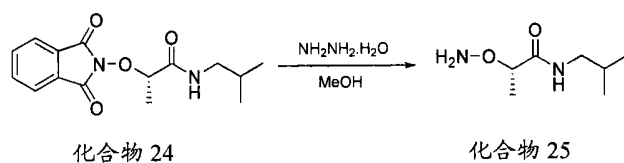
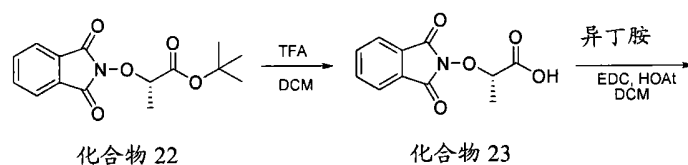
[0376] 在氩气氛下将新鲜蒸馏的 DMF (50mL) 加入含上一步得到的混合物的烧瓶, 之后加入 HOAt (817mg, 6mmol)、异酞酸 (382mg, 2.3mmol), 并最后加入 EDC  $\cdot$  HCl (1.38g, 6.9mmol)。在过夜搅拌后, 用稀 EtOAc 释反应混合物。有机层用 5%  $NaHCO_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $MgSO_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的化合物 21 (1.18g, 86%)。化合物 21 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20}$  24.4° (c 1.00, 丙酮);  $^1H$  NMR (400MHz, 丙酮- $d_6$ )  $\delta$  10.10 (s, 2H), 8.23 (s, 1H), 7.98–7.96 (m, 2H), 7.60–7.54 (m, 3H), 7.43–7.37 (m, 4H), 7.09–7.02 (m, 4H), 4.96 (t,  $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.61 (s, 6H), 3.34 (d,  $J = 6.3$ Hz, 4H);  $^{13}C$  NMR (100MHz, 丙酮- $d_6$ )  $\delta$  171.04, 136.57, 135.02, 132.44, 130.15, 128.75, 127.73, 125.90, 123.94, 123.78, 123.62, 121.21, 118.68, 118.28, 111.25, 111.20, 110.29, 109.68, 108.95, 83.52, 51.23, 26.89; LRMS (FAB)  $m/z$  599 ( $M^+ + H$ );  $C_{32}H_{30}N_4O_8$  ( $M^+$ ) 的 HRMS (FAB): 理论值 598.2064, 实测值 598.2069。

[0377] 在冰浴中将化合物 21 (490mg, 0.82mmol) 溶解于 THF (6mL) 中。将 LiOH 水溶液 (140mg, 溶解于 3mL 水中) 滴加入以上溶液中, 反应混合物于室温搅拌 1.5 小时。在旋转蒸发器上除去 THF 后, 用水稀释残余物, 并用 EtOAc 萃取, 以除去有机杂质。然后用 1M HCl 酸化水相至 pH 约 4, 并用 EtOAc 萃取。最后, 合并有机层, 并浓缩, 得到泡沫状酸 (400mg, 86% 收率), 其直接用于下一步的偶联反应。

[0378] 在氩气氛下将 DMF (10mL) 加入含以上的酸 (400mg, 0.7mmol) 的烧瓶, 之后加入 HOAt (124mg, 0.91mmol)、异丁胺 (0.2mL, 2.1mmol), 并最后加入 EDC  $\cdot$  HCl (220mg, 1.1mmol)。在过夜搅拌后, 用 EtOAc 稀释反应混合物。有机层用 5%  $NaHCO_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $MgSO_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到实施例 32 (130mg, 28% 收率)。实施例 32 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20}$  +64.8° (c 1.00,  $CHCl_3$ );  $^1H$  NMR (300MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  9.48 (s, 2H), 8.26 (s, 2H), 8.08 (t,  $J = 5.7$ Hz, 2H), 7.60 (d,  $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.52 (d,  $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.30–7.25 (m, 2H), 7.17–7.15 (m, 2H), 7.05–6.94 (m, 6H), 4.47 (dd,  $J = 9.2$ , 3.1Hz, 2H), 3.37–3.31 (m, 2H), 3.14–2.93 (m, 6H), 1.73–1.64 (m, 2H), 0.82–0.77 (m, 12H);  $^{13}C$  NMR (75MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  170.88, 165.88, 135.99, 131.44, 130.80, 129.29, 127.18, 123.99, 123.49, 122.08, 119.59, 118.66, 111.28, 110.82, 87.37, 46.73, 28.25, 28.09, 19.98; LRMS (FAB)  $m/z$  681 ( $M^+ + H$ );  $C_{38}H_{44}N_6O_6$  ( $M^+$ ) 的 HRMS (FAB): 理论值 680.3322, 实测值 680.3239。

[0379] 实施例 33 的制备

[0380]



### 实施例 33

#### [0381] 流程 AG

[0382] 按照以上的流程 AG 制备实施例 33。按照 Yang 等人, J. Org. Chem, 2001, 66, 7303-7312 所述的程序合成化合物 22。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 加入含干燥的化合物 22 (880mg, 3.0mmol) 的烧瓶, 之后加入 TFA (5mL)。混合物于室温搅拌, 直至化合物 22 被耗尽。然后以旋转蒸发器浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到化合物 23, 其无需进一步纯化即可用于下一步。

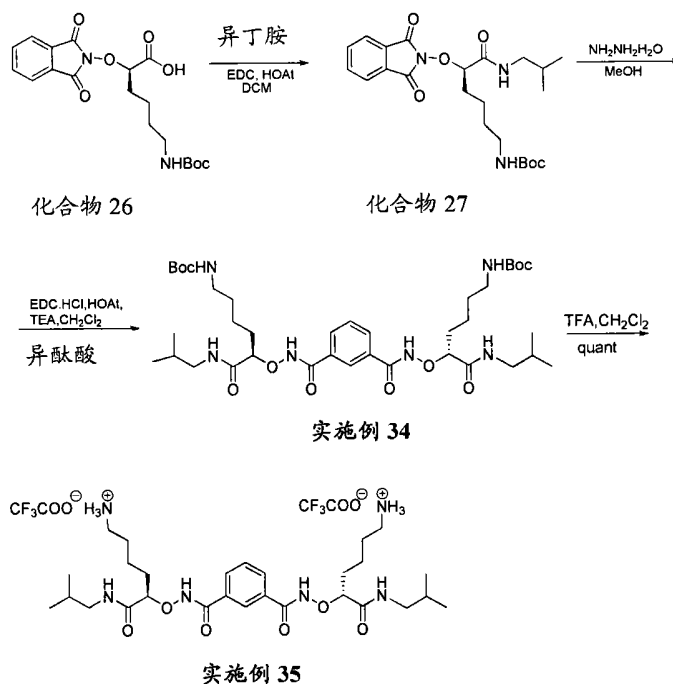
[0383] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加入含化合物 23 的烧瓶中, 之后加入 HOAt (0.53g, 3.9mmol)、异丁胺 (0.3mL, 3mmol), 并最后加入 EDC·HCl (900mg, 4.5mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为油状物的化合物 24 (850mg, 93%)。

[0384] 向化合物 24 (850mg, 3mmol) 的  $\text{CH}_3\text{OH}$  (40mL) 溶液加入  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0.23mL, 3.8mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后, 以旋转蒸发器浓缩反应混合物。将残余物溶解在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中, 并用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤。有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为固体的化合物 25 和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物立即用于下一步, 无需进一步纯化。

[0385] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的 DMF (30mL) 加入含上一步获得的混合物的烧瓶, 之后加入 HOAt (530mg, 3.9mmol)、异酞酸 (250mg, 1.5mmol), 并最后加入 EDC·HCl (900mg, 4.5mmol)。在过夜搅拌后, 用 EtOAc 稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的实施例 33 (350mg, 4 步: 86%)。实施例 33 以以下数据表征:  $[\alpha]_D^{20} +44.1^\circ$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.98 (s, 2H), 8.20-8.17 (m, 3H), 8.06 (d,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.58 (t,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 1H), 4.46 (m, 2H), 3.05-2.88 (m, 4H), 1.78-1.69 (m, 2H), 1.44 (d,  $J = 6.9\text{Hz}$ , 6H), 0.82 (t,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 12H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  172.26, 166.19, 131.81, 131.29, 129.50, 125.03, 82.72, 46.67, 28.26, 19.95, 17.59; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  451 ( $\text{M}^+ + 1$ , 17), 148 (100);  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI): 理论值 450.2478, 实测值 450.2478。

#### [0386] 实施例 34 和 35 的制备

#### [0387]



## [0388] 流程 AH

[0389] 按照以上的流程 AH 制备实施例 34 和 35。化合物 26 按照 Yoon 等人, J. Org. Chem, 2000, 65, 7667-7675 所述的程序合成。在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 加入含化合物 26 (1.18g, 3mmol) 的烧瓶, 之后加入 HOAt (0.53g, 3.9mmol)、异丁胺 (0.3mL, 3mmol), 并最后加入 EDC·HCl (900mg, 4.5mmol)。在过夜搅拌后, 用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为油状物的化合物 27 (1.2g, 93%)。

[0390] 向化合物 27 (1.2g, 2.7mmol) 的  $\text{CH}_3\text{OH}$  (40mL) 溶液加入  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0.58mL, 9.6mmol)。1 小时后出现白色沉淀。于室温搅拌 2.5 小时后, 以旋转蒸发器浓缩反应混合物。将残余物溶解于  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中, 并用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤。有机层经无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩, 得到为固体的胺和邻苯二甲酰肼的混合物。该混合物立即用于下一步, 无需进一步纯化。

[0391] 在氮气氛下将新鲜蒸馏的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30mL) 加入含上一步获得的混合物的烧瓶, 之后加入 HOAt (530mg, 3.9mmol)、异酞酸 (225mg, 1.35mmol), 并最后加入 EDC·HCl (900mg, 4.5mmol)。在过夜搅拌后, 用 EtOAc 稀释反应混合物。有机层用 5%  $\text{NaHCO}_3$  水溶液和盐水洗涤, 然后经无水  $\text{MgSO}_4$  干燥, 并浓缩。粗油状物通过快速柱色谱纯化, 得到为白色固体的实施例 34 (688mg, 4 步: 30%)。实施例 34 以以下数据表征:  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.04 (br, 2H), 8.26 (m, 3H), 8.05 (d,  $J = 7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.61-7.50 (m, 1H), 4.98 (br, 2H), 4.40-4.32 (m, 2H), 3.16-2.96 (m, 4H), 1.94-1.75 (m, 6H), 1.52-1.45 (m, 8H), 1.36 (s, 18H), 0.92-0.85 (m, 12H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  170.70, 166.28, 156.89, 131.56, 131.40, 129.27, 125.63, 86.42, 79.58, 46.64, 39.85, 30.59, 29.69, 28.36, 28.09, 21.80, 20.07。

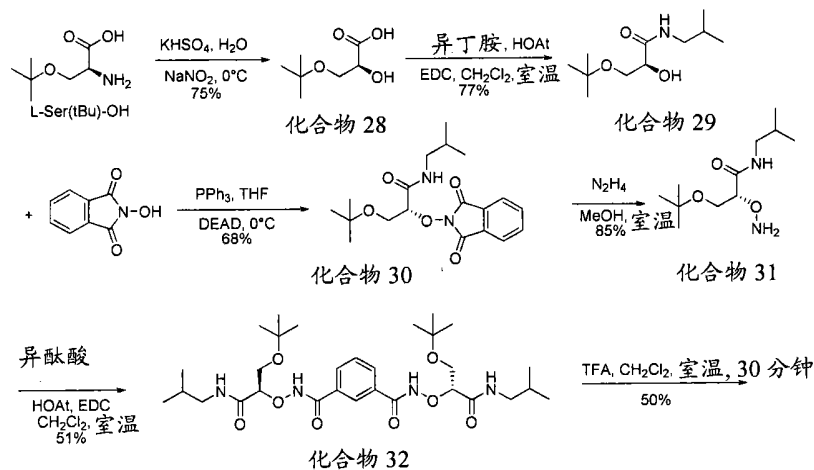
[0392] 将实施例 34 (270mg, 0.35mmol) 溶解于  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2mL) 中。在冰浴中, 滴加 TFA (1mL)。4 小时后, 以旋转蒸发器浓缩反应混合物, 并与甲苯共沸 3 次, 得到实施例 35。实施例 35 以以下数据表征:  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.94 (d,  $J = 1.6\text{Hz}$ , 1H), 7.87 (d,  $J = 7.8\text{Hz}$ ,



1H), 7.86(d, J = 7.9Hz, 1H), 7.60(t, J = 7.9Hz, 1H), 4.49(dd, J = 12.6, 6.4Hz, 2H), 3.12-2.98(m, 8H), 1.90-1.86(m, 4H), 1.77-1.70(m, 6H), 1.57-1.53(m, 4H), 0.84-0.80(m, 12H); <sup>13</sup>C NMR(75MHz, D<sub>2</sub>O) δ 172.43, 167.76, 131.25, 131.18, 129.63, 126.16, 85.36, 72.09, 46.60, 39.12, 30.16, 27.81, 26.43, 21.29, 19.23, 19.20; LRMS(FAB)m/z 565(M<sup>+</sup>+H); C<sub>28</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>(M<sup>+</sup>)的HRMS(FAB):理论值564.3635,实测值564.3598。

[0393] 实施例 36 的制备

[0394]



实施例 36

[0395] 流程 AI

[0396] 按照流程 AI 制备实施例 36。将 L-Ser(tBu)-OH(1.61g, 10mmol) 溶解于 KHSO<sub>4</sub> 水溶液(2.04g, 在 40mL 水中)。将该溶液冷却至 0℃, 之后在 30 分钟过程中滴加 NaNO<sub>2</sub> 水溶液(1.04g, 在 20mL 水中)。然后于室温过夜持续搅拌。用乙酸乙酯萃取该溶液 3 次, 干燥合并的有机相, 并浓缩, 得到为黄色油状物的化合物 28(1.21g, 75% 收率), 其可以直接用于下一步, 无需进一步纯化。

[0397] 将化合物 28 和异丁胺(1.11mL, 11.2mmol) 溶解于 50mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中, 之后连续加入 HOAt(1.12g, 8.25mmol) 和 EDC·HCl(1.80g, 9mmol)。搅拌所述溶液 5 小时, 然后用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 稀释, 并用 5% KHSO<sub>4</sub>(2 次)、10% NaHCO<sub>3</sub>(2 次) 连续洗涤, 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用乙酸乙酯/己烷作为洗脱剂, 得到为无色油状物的化合物 29(1.25g, 77% 收率)。[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>-13.8°(c 1.00, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>HNMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.92(br, 1H), 4.14-4.10(m, 1H), 3.64(d, J = 4.2Hz, 1H), 3.60-3.58(m, 2H), 3.17-3.08(m, 2H), 1.80(sept, J = 6.7Hz, 1H), 1.21(s, 9H), 0.93(d, J = 6.7Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR(100MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 172.1, 74.0, 70.5, 63.1, 46.4, 28.5, 27.4, 20.0; LRMS(EI, 20eV)m/z 217(M<sup>+</sup>, 4), 131(100); C<sub>11</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>(M<sup>+</sup>)的HRMS(EI, 20eV):理论值217.1678,实测值217.1666。

[0398] 将化合物 29(1.09g, 5.0mmol)、三苯基膦(1.97g, 7.5mmol) 和 N-羟基苯邻二甲酰亚胺(0.98g, 6.0mmol) 溶解于 50mL 无水 THF 中。将该溶液冷却至 0℃, 之后在 5 分钟内滴加 DEAD(1.31g, 7.5mmol)。然后于室温再搅拌该溶液 2 小时。浓缩后, 残余物通过硅胶纯化, 使用乙酸乙酯/己烷作为洗脱剂, 得到为无色油状物的化合物 30(1.23g, 68% 收率)。

$[\alpha]_D^{20} + 70.2^\circ$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.86–7.78 (m, 4H), 7.69 (br, 1H), 4.78 (dd,  $J = 3.6, 2.3\text{Hz}$ , 1H), 4.06 (dd,  $J = 10.7, 2.3\text{Hz}$ , 1H), 3.93 (dd,  $J = 10.7, 4.0\text{Hz}$ , 1H), 3.367–3.30 (m, 1H), 3.05–3.00 (m, 1H), 1.90 (sept,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 1H), 1.16 (s, 9H), 0.99 (dd,  $J = 6.6, 4.1\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.4, 163.7, 134.8, 128.7, 123.8, 87.7, 73.6, 61.8, 46.7, 28.4, 27.2, 20.1; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  362 ( $\text{M}^+$ , 3.5), 144 (100);  $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 362.1842, 实测值 362.1833。

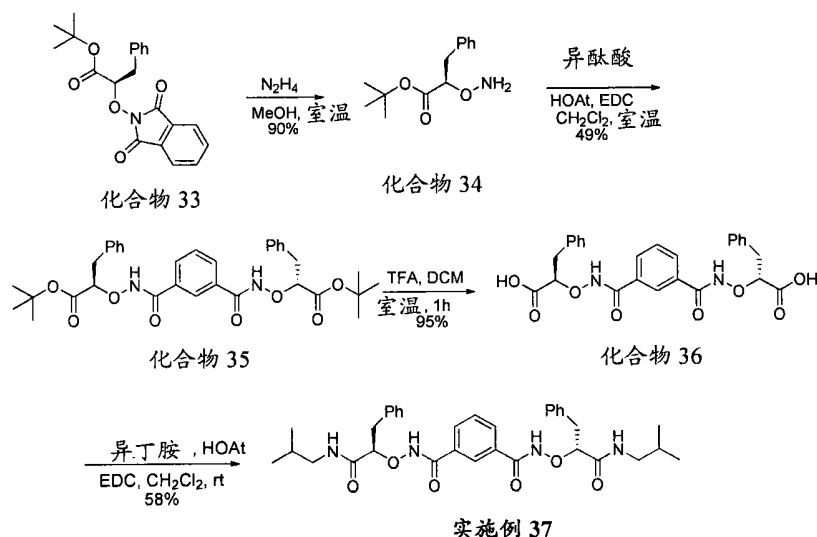
[0399] 将化合物 30 (362mg, 1.0mmol) 溶解在 5mL MeOH 中。然后一次性将水合肼 (80% 的水溶液, 0.19mL, 3.0mmol) 加入该溶液中。2 小时后 (TLC 显示完全转化), 真空除去 MeOH 和过量的肼。将残余物悬浮在醚/己烷 (2:1, 体积/体积) 中; 过滤掉白色固体 (邻苯二甲酰肼, 肼解作用的副产物), 并用醚/己烷 (2:1, 体积/体积) 洗涤。收集滤过液, 并浓缩, 得到为无色油状物的化合物 31 (197mg, 85% 收率), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0400] 将异酞酸 (41.5mg, 0.25mmol) 加至化合物 31 (116mg, 0.5mmol) 的 5mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液中, 之后连续加入 HOAt (75mg, 0.55mmol) 和 EDC·HCl (120mg, 0.6mmol)。搅拌该溶液 10 小时, 然后用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 稀释, 并用 5%  $\text{KHSO}_4$  (2 次)、10%  $\text{NaHCO}_3$  (2 次) 连续洗涤, 用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用乙酸乙酯/己烷作为洗脱剂, 得到为无色泡沫的化合物 32 (77mg, 52% 收率)。  $[\alpha]_D^{20} + 27.5^\circ$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.70 (s, 2H), 8.30 (br, 2H), 8.16 (s, 1H), 7.98 (d,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.54 (t,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 1H), 4.53 (dd,  $J = 7.4, 2.6\text{Hz}$ , 2H), 3.90 (d,  $J = 8.7\text{Hz}$ , 2H), 3.74 (dd,  $J = 10.0, 8.0\text{Hz}$ , 2H), 3.17–3.04 (m, 4H), 1.82 (sept,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 2H), 1.20 (s, 18H), 0.91 (t,  $J = 6.4\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  168.5, 165.7, 131.7, 131.3, 129.4, 125.3, 86.6, 74.4, 62.4, 46.7, 28.3, 27.4, 20.1; LRMS (FAB)  $m/z$  595 ( $\text{M}^+\text{H}$ );  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_8$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (FAB): 理论值 594.3629, 实测值 594.3620。

[0401] 将化合物 32 (77mg, 0.13mmol) 溶解于 3mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中, 之后加入 1mL TFA。在 30 分钟后 (TLC 显示完全转化), 减压除去溶剂, 余下的固体用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  洗涤, 并收集, 得到为白色粉末的化合物 36 (31mg, 50% 收率)。熔点 174–176°C;  $[\alpha]_D^{20} + 50.8^\circ$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  12.29 (s, 2H), 8.31 (br, 2H), 8.1 (s, 1H), 7.91 (d,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.54 (t,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 1H), 4.33 (dd,  $J = 5.2, 3.2\text{Hz}$ , 2H), 3.77 (dd,  $J = 12.2, 3.2\text{Hz}$ , 4H), 2.95 (t,  $J = 6.4\text{Hz}$ , 4H), 1.69 (sept,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 2H), 0.80 (dd,  $J = 7.6, 6.2\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  168.9, 165.5, 132.0, 130.9, 129.6, 126.6, 87.6, 61.3, 46.3, 28.4, 20.2; LRMS (FAB)  $m/z$  483 ( $\text{M}^+\text{H}$ );  $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_8$  ( $\text{M}^+\text{H}$ ) 的 HRMS (FAB): 理论值 483.2455, 实测值 483.2451。

[0402] 实施例 37 的制备

[0403]



## [0404] 流程 AJ

[0405] 按照流程 AJ 制备实施例 37。将化合物 33 (735mg, 2mmol) 溶解于 10mL MeOH, 然后一次性向该溶液加入水合肼 (80% 的水溶液, 0.5mL, 6mmol)。2 小时后 (TLC 显示完全转化), 真空除去 MeOH 和过量的肼。将残余物悬浮在醚 / 己烷 (2 : 1, 体积 / 体积) 中。过滤掉白色固体 (邻苯二甲酰肼, 肼解作用的副产物), 并用醚 / 己烷 (2 : 1, 体积 / 体积) 洗涤。收集滤过液, 并浓缩, 得到化合物 34 (426mg, 90% 收率), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0406] 将异酞酸 (83mg, 0.5mmol) 加入 34 (237mg, 0.5mmol) 的 5mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 溶液, 之后连续加入 HOAt (75mg, 0.55mmol) 和 EDC · HCl (120mg, 0.6mmol)。搅拌所述溶液 10 小时, 然后用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10mL) 稀释, 并用 5% KHSO<sub>4</sub> (2 次)、10% NaHCO<sub>3</sub> (2 次) 连续洗涤, 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用乙酸乙酯 / 己烷作为洗脱剂, 得到为无色淤浆的化合物 35 (149mg, 49% 收率)。[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +21.8° (c 1.00, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.79 (br, 2H), 8.09 (s, 1H), 7.85 (d, J = 6.0Hz, 2H), 7.45 (t, J = 7.5Hz, 1H), 7.30-7.20 (m, 10H), 4.79 (t, J = 6.0Hz, 2H), 3.21 (d, J = 6.0Hz, 2H), 1.34 (s, 18H); <sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 175.9, 170.7, 138.0, 132.7, 131.2, 130.0, 129.5, 128.7, 127.8, 126.3, 84.2, 83.2, 37.8, 28.3; LRMS (FAB) m/z 605 (M<sup>+</sup>+H); C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (M<sup>+</sup>) 的 HRMS (FAB): 理论值 604.2784, 实测值 604.2794。

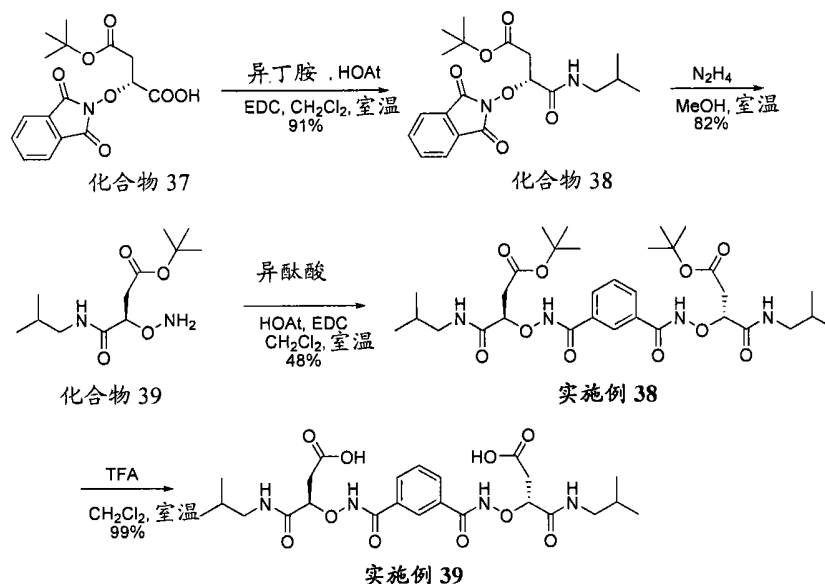
[0407] 将化合物 35 (121mg, 0.2mmol) 溶解于 5mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中, 向该溶液加入 TFA (2mL)。30 分钟后 (TLC 显示完全转化), 真空除去溶剂, 余下的化合物 36 无需进一步纯化即可用于下一步。

[0408] 将粗化合物 36 和异丁胺 (30 μL, 0.29mmol) 溶解于 5mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中, 之后连续加入 HOAt (26mg, 0.22mmol) 和 EDC · HCl (60mg, 0.3mmol)。搅拌所述溶液 10 小时, 然后用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40mL) 稀释, 并用 5% KHSO<sub>4</sub> (2 次)、10% NaHCO<sub>3</sub> (2 次) 连续洗涤, 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用丙酮 / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 作为洗脱剂, 得到为白色粉末的实施例 37 (67mg, 58% 收率)。熔点 145-148°C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +32.5° (c 1.00, CH<sub>3</sub>OH); <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.21 (br, 2H), 8.26 (t, J = 5.4Hz, 2H), 7.77 (d, J = 7.6Hz, 2H), 7.67 (s, 1H), 7.40 (t, J = 7.8Hz, 1H), 7.30-7.20 (m, 10H), 4.64 (dd, J = 7.2, 2.4Hz, 2H), 3.23-2.87 (m, 8H), 1.68 (qui, J = 6.7Hz, 2H), 0.78 (dd, J = 14.4, 6.6Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  171.0, 166.3, 137.3, 132.3, 131.2, 129.8, 128.9, 127.2, 124.9, 118.6, 87.5, 47.2, 39.0, 28.7, 20.4; LRMS (FAB)  $m/z$  603 ( $M^+ + H$ );  $C_{34}H_{43}N_4O_6$  ( $M^+ + H$ ) 的 HRMS (FAB): 理论值 603.3183, 实测值 603.3181。

[0409] 实施例 38 和 39 的制备

[0410]



[0411] 流程 AK

[0412] 按照流程 AK 制备实施例 38 和 39。将化合物 37 [按照 J. Org. Chem. 2000, 65, 7667 制备] (335mg, 1.0mmol) 加入 30mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 之后在搅拌下连续加入 HOAt (150mg, 1.1mmol) 和 EDC·HCl (240mg, 1.2mmol)。2 分钟后, 滴加异丁胺 (105  $\mu$ L, 1.05mmol)。搅拌溶液 5 小时, 然后用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30mL) 稀释, 并用 5% KHSO<sub>4</sub> (2 次)、10% NaHCO<sub>3</sub> (2 次) 连续洗涤, 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用乙酸乙酯 / 己烷作为洗脱剂, 得到为无色淤浆的化合物 38 (355mg, 91% 收率)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.87–7.77 (m, 4H), 7.74 (br, 1H), 4.97 (dd, J = 6.7Hz, 4.2, 1H), 3.24–3.17 (m, 3H), 3.01 (dd, J = 17.0, 6.8Hz, 1H), 1.90 (sept, J = 6.7Hz, 1H), 1.45 (s, 9H), 0.99 (dd, J = 6.6, 4.6Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  169.1, 167.9, 163.6, 134.9, 128.6, 123.9, 85.2, 81.5, 47.0, 38.2, 28.4, 28.0, 20.1; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  390 ( $M^+$ , 2.9), 147 (100); C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> ( $M^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 390.1791, 实测值 390.1778。

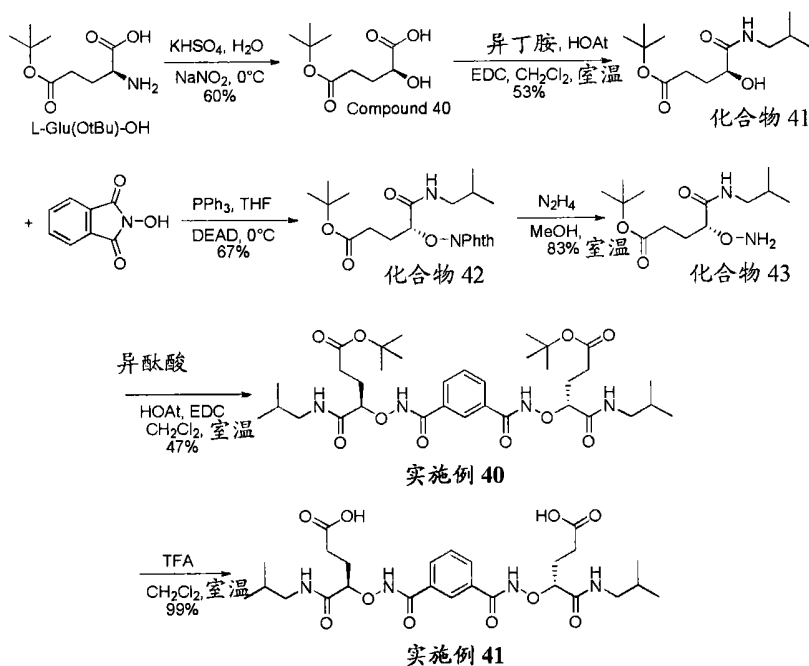
[0413] 将化合物 38 (190mg, 0.5mmol) 溶解于 5mL MeOH, 然后一次性将水合肼 (80% 的水溶液, 0.19mL, 1.5mmol) 加入该溶液。2 小时后 (TLC 显示完全转化), 真空除去 MeOH 和过量的肼。将残余物悬浮在醚 / 己烷 (2 : 1, 体积 / 体积) 中。过滤掉白色固体 (邻苯二甲酰肼, 肼解作用的副产物), 并用醚 / 己烷 (2 : 1, 体积 / 体积) 洗涤。收集滤过液, 并浓缩, 得到化合物 39 (111mg, 85% 收率), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0414] 将异酞酸 (33.2mg, 0.2mmol) 加入化合物 39 (104mg, 0.4mmol) 的 5mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 溶液, 之后连续加入 HOAt (60mg, 0.44mmol) 和 EDC·HCl (100mg, 0.5mmol)。搅拌所述溶液 10 小时, 然后用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 稀释, 并用 5% KHSO<sub>4</sub> (2 次)、10% NaHCO<sub>3</sub> (2 次) 连续洗涤, 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用丙酮 / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 作为洗脱剂, 得到为无色泡沫的实施例 38 (62mg, 48% 收率)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  10.60 (s, 2H), 8.75 (br,

2H), 8.18(s, 1H), 7.98(d,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.54(t,  $J = 7.7\text{Hz}$ , 1H), 4.74(dd,  $J = 10.2, 2.6\text{Hz}$ , 2H), 3.15-3.09(m, 6H), 2.75(dd,  $J = 17.6, 10.4\text{Hz}$ , 2H), 1.84(sept,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 2H), 1.47(s, 18H), 0.91(dd,  $J = 10.8, 6.8\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR(100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.2, 169.3, 165.8, 131.4, 131.3, 129.5, 125.5, 84.0, 82.1, 46.9, 37.8, 28.3, 28.1, 20.1; LRMS(FAB) $m/z$  ( $\text{M}^+\text{H}$ ) 651;  $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{10}$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS(FAB): 理论值 650.3527, 实测值 650.3520。以 TFA/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  去保护实施例 38 以定量的收率得到实施例 39。

[0415] 实施例 40 和 41 的制备

[0416]



[0417] 流程 AL

[0418] 按照流程 AL 制备实施例 40 和 41。将 L-Glu-(OtBu)-OH(2.03g, 10mmol) 溶解于  $\text{KHSO}_4$  水溶液 (2.04g, 在 50mL 水中)。然后将该溶液冷却至  $0^\circ\text{C}$ , 之后在 30 分钟内滴加  $\text{NaNO}_2$  水溶液 (1.04g, 在 20mL 水中)。然后于室温过夜连续搅拌。该溶液用乙酸乙酯萃取 3 次; 干燥合并的有机相, 并浓缩, 得到为黄色油状物的粗化合物 40 (1.21g, 60% 收率), 其可直接用于下一步, 无需进一步纯化。

[0419] 将粗化合物 40 (1.21g) 和异丁胺 (0.89mL, 9.0mmol) 溶解在 60mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中, 之后连续加入 HOAt (1.36g, 10mmol) 和 EDC·HCl (1.20g, 6.0mmol)。搅拌所述溶液 5 小时, 然后用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100mL) 稀释, 并用 5%  $\text{KHSO}_4$  (2 次)、10%  $\text{NaHCO}_3$  (2 次) 连续洗涤, 用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用乙酸乙酯/己烷作为洗脱剂, 得到为无色油状物的化合物 41 (824mg, 53% 收率)。 $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.97(br, 1H), 4.72(d,  $J = 4.4\text{Hz}$ , 1H), 4.14-4.10(m, 1H), 3.17-3.07(m, 2H), 2.51-2.44(m, 2H), 2.20-2.11(m, 1H), 1.98-1.90(m, 1H), 1.79(sept,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 1H), 1.45(s, 9H), 0.92(d,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  176.5, 173.8, 81.9, 72.6, 46.7, 32.6, 29.6, 28.5, 28.4, 20.4; LRMS(EI, 20eV) $m/z$  259 ( $\text{M}^+$ , 2), 85 (100);  $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{NO}_4$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS(EI, 20eV): 理论值 259.1784, 实测值 259.1783。

[0420] 将化合物 41 (777mg, 3.0mmol)、三苯基膦 (1.18g, 4.5mmol) 和 N-羟基苯邻二甲酰

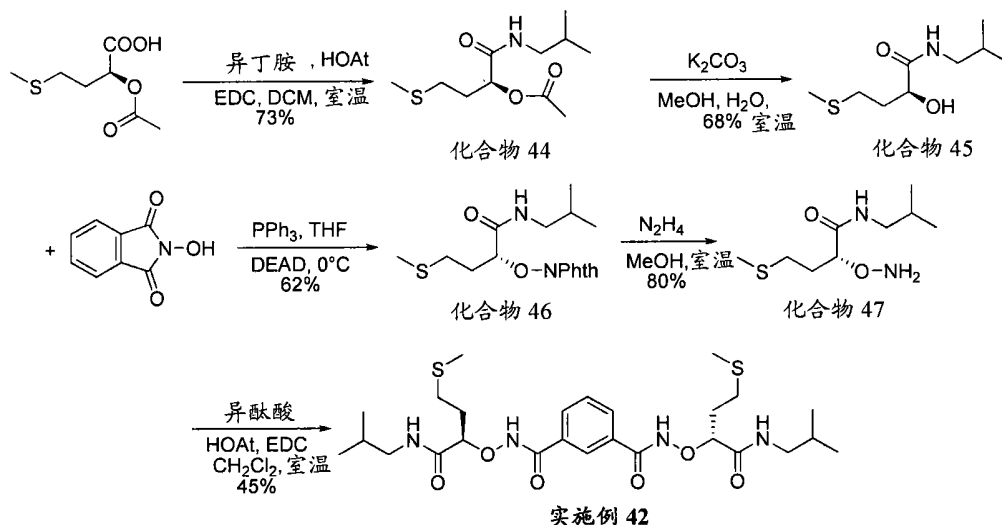
亚胺 (587mg, 3.6mmol) 溶解于 30mL 无水 THF 中。然后将该溶液冷却至 0°C, 之后在 5 分钟内滴加 DEAD (784mg, 4.5mmol)。然后于室温再搅拌该溶液 2 小时。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用乙酸乙酯 / 己烷作为洗脱剂, 得到为无色泡沫的化合物 42 (812mg, 67% 收率)。<sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.86-7.79 (m, 4H), 7.70 (br, 1H), 4.73 (dd, J = 8.1, 4.0Hz, 1H), 3.30-3.21 (m, 1H), 3.07-3.00 (m, 1H), 2.69-2.62 (m, 2H), 2.41-2.30 (m, 1H), 2.21-2.11 (m, 1H), 1.87 (sept, J = 6.75Hz, 1H), 1.46 (s, 9H), 0.96 (t, J = 6.3Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.9, 168.3, 164.6, 135.0, 128.9, 123.9, 87.4, 85.3, 46.9, 31.5, 28.5, 28.3, 27.9, 20.1; LRMS (EI, 20eV) m/z 405 (M<sup>+</sup>, 3), 147 (100); C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (M<sup>+</sup>) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 404.1947, 实测值 404.1937。

[0421] 将化合物 42 (203mg, 0.5mmol) 溶解于 5mL MeOH, 然后一次性将水合肼 (80% 的水溶液, 0.19mL, 1.5mmol) 加入该溶液。2 小时后 (TLC 显示完全转化), 真空除去 MeOH 和过量的肼。将残余物悬浮在醚 / 己烷 (2 : 1, 体积 / 体积) 中。过滤掉白色固体 (邻苯二甲酰肼, 肼解作用的副产物), 并用醚 / 己烷 (2 : 1, 体积 / 体积) 洗涤。收集滤过液, 并浓缩, 得到化合物 43 (114mg, 83% 收率), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0422] 将异酞酸 (33.2mg, 0.2mmol) 加入化合物 43 (110mg, 0.4mmol) 的 5mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 溶液, 之后连续加入 HOAt (60mg, 0.44mmol) 和 EDC · HCl (100mg, 0.5mmol)。搅拌所述溶液 10 小时, 然后用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) 稀释, 并用 5% KHSO<sub>4</sub> (2 次)、10% NaHCO<sub>3</sub> (2 次) 连续洗涤, 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用丙酮 / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 作为洗脱剂, 得到为无色泡沫的实施例 40 (64mg, 47% 收率)。<sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.79 (s, 2H), 8.32 (br, 2H), 8.18 (s, 1H), 7.99 (d, J = 7.8Hz, 2H), 7.54 (t, J = 7.7Hz, 1H), 4.42 (dd, J = 7.6Hz, 3.4, 2H), 3.12-3.043 (m, 4H), 2.50-2.42 (m, 6H), 2.15-2.08 (m, 2H), 1.81 (sept, J = 6.7Hz, 2H), 1.43 (s, 18H), 0.89 (t, J = 6.2Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 174.2, 170.4, 166.3, 132.0, 131.7, 129.8, 126.0, 86.5, 81.7, 47.2, 32.2, 28.7, 28.4, 26.9, 20.5; LRMS (FAB) m/z 679 (M<sup>+</sup>+H); C<sub>34</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub> (M<sup>+</sup>) 的 HRMS (FAB): 理论值 678.3840, 实测值 678.3852。以 TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 去保护实施例 40 以定量收率得到实施例 41。

[0423] 实施例 42 的制备

[0424]



[0425] 流程 AM

[0426] 按照流程 AM 制备实施例 42。将 (S)-2-乙酰氧基-4-(甲基硫基)-丁酸 [按照专利 EP0338735 制备] (960mg, 5.0mmol) 和异丁胺 (0.75mL, 7.5mmol) 溶解于 50mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中, 之后连续加入 HOAt (748mg, 5.5mmol) 和 EDC·HCl (1.2g, 6.0mmol)。搅拌该溶液 5 小时, 然后用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100mL) 稀释, 并用 5%  $\text{KHSO}_4$  (2 次)、10%  $\text{NaHCO}_3$  (2 次) 连续洗涤, 用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用乙酸乙酯/己烷作为洗脱剂, 得到为无色油状物的化合物 44 (902mg, 73% 收率)。 $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.17 (br, 1H), 5.25 (dd,  $J = 6.7, 5.5\text{Hz}$ , 1H), 3.13-3.09 (m, 2H), 2.57-2.52 (m, 2H), 2.19-2.12 (m, 5H), 2.10 (s, 3H), 1.81 (sept,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 1H), 1.21 (s, 9H), 0.93 (d,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.7, 169.1, 73.0, 46.5, 31.3, 29.5, 28.4, 21.0, 20.0, 15.4。

[0427] 将化合物 44 (742mg, 3mmol) 溶解于 5mL MeOH 中, 然后加入  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (830mg, 6mmol) 和 1mL 水。在 5 小时后 (TLC 表明完全转化), 真空除去溶剂。残余物通过快速柱色谱纯化, 使用乙酸乙酯/己烷作为洗脱剂, 得到为无色油状物的化合物 45 (418mg, 68% 收率)。 $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.86 (br, 1H), 4.30-4.27 (m, 1H), 4.08 (br, 1H), 3.17-3.08 (m, 2H), 2.70-2.64 (m, 2H), 2.18-2.13 (m, 4H), 1.97-1.92 (m, 1H), 1.80 (sept,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 1H), 0.92 (d,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  173.5, 71.8, 46.4, 32.9, 30.4, 28.5, 20.0, 15.4。LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  205 ( $\text{M}^+$ , 20), 131 (100);  $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{NO}_2\text{S}$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 205.1137, 实测值 205.1139。

[0428] 将化合物 45 (410mg, 2.0mmol)、三苯基膦 (787mg, 3.0mmol) 和 *N*-羟基苯邻二甲酰亚胺 (392mg, 2.4mmol) 溶解于 30mL 无水 THF 中。然后将该溶液冷却至  $0^\circ\text{C}$ , 之后在 5 分钟内滴加 DEAD (523mg, 3.0mmol)。然后于室温再搅拌该溶液 2 小时。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用乙酸乙酯/己烷作为洗脱剂, 得到为无色泡沫的化合物 46 (435mg, 62%)。  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.86-7.78 (m, 5H), 4.79 (dd,  $J = 7.8, 3.7\text{Hz}$ , 1H), 3.29-3.22 (m, 1H), 3.08-3.02 (m, 1H), 2.92-2.82 (m, 2H), 2.48-2.15 (m, 5H), 1.89 (sept,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 1H), 0.97 (t,  $J = 6.3\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.7, 164.3, 135.5, 129.0, 124.3, 87.8, 85.8, 47.2, 32.7, 30.7, 28.8, 20.5, 15.6; LRMS (EI, 20eV)  $m/z$  350 ( $\text{M}^+$ , 1) 148 (100);  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$  ( $\text{M}^+$ ) 的 HRMS (EI, 20eV): 理论值 350.1300, 实测值 350.1285。

[0429] 将化合物 46 (175mg, 0.5mmol) 溶解于 5mL MeOH, 然后一次性将水合肼 (80% 的水溶液, 0.19mL, 1.5mmol) 加入该溶液。2 小时后 (TLC 显示完全转化), 真空除去 MeOH 和过量的肼。将残余物悬浮在醚/己烷 (2:1, 体积/体积) 中; 过滤掉白色固体 (邻苯二甲酰肼, 肼解作用的副产物), 并用醚/己烷 (2:1, 体积/体积) 洗涤。收集滤过液, 并浓缩, 得到化合物 47 (90mg, 83% 收率), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0430] 将异酞酸 (33.2mg, 0.2mmol) 加入化合物 47 (88mg, 0.4mmol) 的 5mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液, 之后连续加入 HOAt (60mg, 0.44mmol) 和 EDC (100mg, 0.5mmol)。搅拌所述溶液 10 小时, 然后用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) 稀释, 并用 5%  $\text{KHSO}_4$  (2 次)、10%  $\text{NaHCO}_3$  (2 次) 连续洗涤, 用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥。在浓缩后, 残余物通过快速柱色谱纯化, 使用丙酮/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  作为洗脱剂, 得到为无色泡沫的实施例 42 (60mg, 47% 收率)。  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.03 (br, 2H), 8.33 (br, 2H), 8.16 (s, 1H), 8.02 (d,  $J = 7.4\text{Hz}$ , 2H), 7.54 (t,  $J = 7.7\text{Hz}$ , 1H), 4.54 (dd,  $J = 8.1, 3.3\text{Hz}$ , 2H), 3.07-2.97 (m, 4H), 2.75-2.65 (m, 4H), 2.20-1.98 (m, 10H), 1.76 (sept,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 2H), 0.89 (dd,  $J = 12.2, 6.6\text{Hz}$ , 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.4, 166.1, 132.1, 131.7, 129.9,

125. 5, 86. 6, 47. 2, 31. 8, 30. 2, 28. 1, 20. 4, 15. 5 ;LRMS (FAB)  $m/z$  571 ( $M^+H$ ) ; $C_{26}H_{42}N_4O_6S_2$  ( $M^+$ ) 的 HRMS (FAB) :理论值 570. 2546, 实测值 570. 2551。

[0431] 实施例 43-pH-stat 荧光转运测定

[0432] 该实施例表明, 实施例 2 的化合物在掺入到脂质体中时介导氯化物释放。基于脂质体的 pH-stat 荧光测定是常规用于鉴别生理相关性离子载体的测定, 所述离子载体公开于 (a) Deng, G., Dewa, T. 和 Regen, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 8975 ; (b) Schlesinger, P. H., Ferdani, R., Liu, J., Pajewska, J., Pajewski, R., Saito, M., Shabany, H. 和 Gokel, G. W. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 1848 ; (c) Sidorov, V., Kotch, F. W., Abdrakhmanova, G., Mizani, R., Fettingner, J. C. 和 Davis, J. T. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 2267 ; (d) Sidorov, V., Kotch, F. W., Kuebler, J. L., Lam, Y.-F. 和 Davis, J. T. *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 2840 ; 和 (e) Baumeister, B., Sakai, N. 和 Matile, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2000, 39, 1955, 所有这些文献都通过引用结合到本文中。例如, 在该测定中, 将受控量的碱和电位离子载体加入含 pH 敏感型染料 8-羟基芘-1,3,6-三磺酸酯 (HPTS, 荧光黄 (pyranine)) 的脂质体悬浮液。所获的跨双层膜的 pH 梯度引起水合氢离子的流出或氢氧离子的流入, 并建立静电位。该电位可以被阴离子的流出或阳离子的流入补偿 ( $H^+/M^+$  或  $OH^-/A^-$  反向转运和  $H^+/A^-$  或  $M^+/OH^-$  同向转运机制是可能的)。如果目标化合物介导这样的离子转运, 则水合氢离子的流出或氢氧离子的流入持续改变血管内的 pH 和报告染料的荧光。

[0433] 测定 100nm 平均直径的大单层囊泡 (LUV) 中实施例 2 介导的氯化物释放, 如在 Sidorov, V., Kotch, F. W., Abdrakhmanova, G., Mizani, R., Fettingner, J. C. 和 Davis, J. T. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 2267 中所报告的。图 5 表明, 应用实施例 2 在囊泡外和囊泡内电解液之间产生快速的、浓度依赖性交换。重要的是, 实施例 2 介导具有高阴离子选择性的电解质交换。其在存在氯化物但不存在硫酸盐的情况下介导电解质交换 (参见图 6)。与其中使用 NaCl 囊泡外和囊泡内缓冲液的图 6 所示的结果相反, 在均衡载荷  $Na_2SO_4$  的 LUV 中未检测到转运活性。这种阴离子依赖性活性是实施例 2 介导跨双层的氯化物转运的强有力证据。图 7 表明, 除了实施例 2 以外, 实施例 1 和 3-42 也可以以不同的效率介导跨含氯化物的脂质体的脂质双层的氯化物转运。

[0434] 实施例 44

[0435] 实施例 44 表明, 实施例 2 的化合物在分配入脂质双层中时可以用作电压依赖性氯选择性通道。使用膜片钳技术进行单通道记录是鉴定与其它离子转运机制如离子载体不同的离子通道形成并定量膜通道的离子转运效率的最关键测试。使用膜片钳技术对大脂质体检验掺入到脂质双层中的实施例 2 的通道形成活性。在浴液 (bath solution) 中施加实施例 2 时, 以一级电导率 54pS 记录均衡的 0.2M N-甲基-盐酸葡糖胺 (NMDG-Cl) 溶液中的特征性单通道电流 (图 8), 表明实施例 2 可以有效分配入脂质体的脂质双层中, 并由此形成离子通道。

[0436] 实际上, 离子通道的两个关键特性是离子选择性, 即通道仅允许某些离子物质通过其孔和门控流出, 所述门控是指通道开启和关闭的机制。由实施例 2 形成的离子通道原来是阴离子选择性的和电压门控的。当溶液中的 NMDG-Cl 被氯化钾 (KCl) 替换时, 电导率或逆转电位没有可检测的变化, 提示这些通道不透过 K 离子。当在生理相关性电压范围内增加脂质双层的电压时, 通道开启概率 ( $P_o$ ) 和频率急剧增强, 提示电压依赖性门控 (图 8)。



**[0437] 实施例 45**

**[0438]** 实施例 45 表明, 实施例 2 的化合物分配入人细胞膜中, 并急剧增加细胞氯电流。使用膜片钳技术的全细胞构型检验人胚胎肾 (HEK293) 细胞中由实施例 2 诱导的离子电流的电生理学特性。最初得自美国典型培养物保藏中心的 HEK 293 细胞系在补加 10% FBS 和 100IU/ml 青霉素 G 和 0.1mg/ml 链霉素的 DMEM 中培养。细胞在 37°C 的 5% CO<sub>2</sub> 湿润培养箱中培养。使用由 Pulse/PulseFit 8.7 软件 (HEKA) 控制的 EPC 9 膜片钳放大器 (HEKA Elektronik, Lambrecht/Pfalz, 德国) 以电压-钳模式记录全细胞氯电流。膜片移液管 (电阻, 3-5MΩ) 填充有内部移液管溶液, 该溶液含有 CsCl 140、MgCl<sub>2</sub> 1、HEPES 10、EGTA5、Na<sub>2</sub>ATP 5 (mmol/L, pH 7.2, 含 CsOH)。溶液包含 NaCl 140、CsCl 5、CaCl<sub>2</sub> 1、MgCl<sub>2</sub> 1、HEPES 10 (mmol/L, pH 7.4, 含 CsOH)。在获得千兆欧姆密封之后, 膜用脉冲负压破裂。移液管和膜电容被自动补偿。串联电阻通常被补偿 70%。细胞保持于 0mV, 以 20mV 阶跃增幅施加在 -80mV 至 +80mV 范围内的电压阶跃 800ms。所有的宏观电流都以 50kHz 采样, 并以 5kHz 滤波, 数据用 PulseFit (HEKA) 分析。检测相同细胞在接触含 50nM 浓度的实施例 2 的溶液之前和之后的 Cl 电流的变化。所有的实验都于室温 (22-25°C) 进行。

**[0439]** 实施例 2 于 50nM 的低浓度引起全细胞电流的大幅增加 (图 9), 表明实施例 2 可以有效地介导跨 HEK 293 细胞的细胞膜的 Cl 离子转运。另外, 在细胞阴离子转运抑制剂如 4,4'-二异氰硫基芪-2,2'-二磺酸酯 (DIDS) 存在下所诱导的电流未被降低。该特性排除了实施例 2 可以通过活化 HEK 293 细胞中的天然氯通道而增加全细胞电流, 并提示由实施例 2 形成的合成氯通道实际上是导致所观测到的电流的原因。

**[0440] 实施例 46**

**[0441]** 实施例 46 显示了实施例 2 的化合物在含氯敏感型荧光指示剂 SPQ 的脂质体中的氯转运活性。

**[0442]** 脂质体制备: 将卵黄 L-α-磷脂酰胆碱 (EYPC, 91mg, 120 μmol) 溶解于 CHCl<sub>3</sub>/MeOH 混合物, 该溶液在减压下蒸发, 所获薄膜在高真空下干燥 3 小时。脂质膜在 1.2mL 溶液 A (200mM NaNO<sub>3</sub>, 0.5mM SPQ) 中水合 2 小时。在水合过程中, 对悬浮液进行 5 个冻融循环 (液氮、水, 于室温)。于室温对大的多层脂质体悬浮液 (1mL) 进行高压挤压 (通过 0.1 μm 聚碳酸酯膜进行 > 21 次的挤压, 得到平均直径 100nm 的大单层囊泡 (LUV) 的悬浮液)。通过大小排阻层析 (SEC) (静止相: SephadexG-50, 流动相: 溶液 B: 20mM NaNO<sub>3</sub>) 将 LUV 悬浮液与囊泡外染料分离, 并用溶液 B 稀释, 得到 10mM 脂质浓度的母液 (假定 100% 的脂质掺入到脂质体中)。

**[0443]** 荧光测定: 通常, 将 100 μL 的 SPQ- 载荷囊泡 (母液) 悬浮在 1.9mL 溶液 C (200mM NaCl) 中, 并置于荧光细胞中。以 360nm 的激发波长监测于 430nm 的 SPQ 发射。以 100 秒通过注射孔加入 20 μL 实施例 2 的 0.5mM THF 溶液。结果示于图 10。

**[0444] 实施例 47**

**[0445]** 实施例 47 显示了实施例 2 的 X-射线晶体学分析。实施例 2 的 X-射线晶体结构示于图 11。以下显示了其它 X-射线晶体学数据和数据采集方法。

**[0446]** 数据采集: 使用在玻璃纤维上放置的 0.4x0.35x0.1mm 尺寸的晶体于 -20°C 以带有 300mm 图象板检测器的 MAR 衍射计使用石墨单色化 Mo-K<sub>α</sub> 放射 (λ = 0.71073 Å) 进行数据采集。数据采集以 2° 摆动幅度 φ、15 分钟暴露时间和 120mm 扫描器距离进行。采集 100

个图像。

[0447] 晶体数据:  $[C_{28}H_{46}N_4O_6]$ ; 分子量 = 534.69, 正交晶系, C 222<sub>1</sub>,  $a = 7.725(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 18.967(4) \text{ \AA}$ ,  $c = 21.145(4) \text{ \AA}$ ,  $V = 3098.2(11) \text{ \AA}^3$ ,  $Z = 4$ ,  $D_c = 1.146 \text{ g cm}^{-3}$ ,  $\mu (\text{Mo-K}\alpha) = 0.081 \text{ mm}^{-1}$ ,  $F(000) = 1160$ ,  $T = 253 \text{ K}$ 。

[0448] 表 1. 实施例 2 的晶体数据和结构精修

实验式	$C_{28}H_{46}N_4O_6$
分子量	534.69
温度	253(2) K
波长	0.71073 $\text{ \AA}$
晶系	正交晶系
空间群	C 2 2 2 <sub>1</sub>
晶胞尺寸	$a = 7.725(2) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 18.967(4) \text{ \AA}$ $\beta = 90^\circ$ $c = 21.145(4) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$
[0449] 体积	3098.2(11) $\text{ \AA}^3$
Z	4
密度(理论值)	1.146 $\text{ Mg/m}^3$
吸收系数	0.081 $\text{ mm}^{-1}$
F(000)	1160
晶体尺寸	0.4 x 0.35 x 0.1 $\text{ mm}^3$
数据收集的 $\theta$ 范围	1.93-25.35°
指数范围	-7 $\leq h \leq$ 7, -21 $\leq k \leq$ 21, -24 $\leq l \leq$ 24
收集的衍射	7174
独立衍射	2039[R(int) = 0.0498]
$\theta = 25.35^\circ$ 的完备性	75.2%
吸收校正	无
精修方法	对 $F^2$ 的全矩阵最小二乘
[0450] 数据/约束/参数	2039/2/185
对 $F^2$ 的拟合优度	0.969
最终的 R 指数 [ $I > 2\sigma(I)$ ]	$R1 = 0.0497$ , $wR2 = 0.1217$
R 指数(所有数据)	$R1 = 0.0707$ , $wR2 = 0.1310$
绝对结构参数	1(2)
最大差值的峰顶和峰谷	0.365 和 -0.284 $\text{ e.\AA}^{-3}$

[0451] 实施例 48

[0452] 按照以下方法研究由实施例 2 形成的合成氯通道就其对细胞膜电位的影响而言

的生理行为和功能。为避免天然离子通道的干扰,脂质体和人工脂质双层囊泡用作模型系统,以评价实施例 2 改变膜电位的能力。

[0453] 参阅图 12A,将包含硫酸钠 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 的卵黄磷脂酰胆碱 (EYPC) 脂质体悬浮在含膜电位敏感型染料 (即番红 O) 的等渗氯化钠 ( $\text{NaCl}$ ) 囊泡外溶液中。如图 12B 所示,向脂质体悬浮液加入实施例 2 诱导番红 O 的荧光强度快速增加,表明在脂质体内形成稳定的负电荷。这可能归因于以下事实:实施例 2 仅可以介导氯离子而不能介导硫酸根离子或钠离子跨脂质双层的转运。当实施例 2 介导氯离子流入脂质体时,脂质体的内部相对于外部逐渐变得更负。图 12C-12J 表明,除了实施例 2 以外,实施例 10-42 也可以以不同的效率调节脂质体的膜电位。

[0454] 实施例 49

[0455] 研究实施例 2 调节极化的脂质体的膜电位的能力。在如图 13A 所示的测定中,将包封氯化钾 ( $\text{KCl}$ ) 的 EYPC- 脂质体悬浮在  $\text{KCl}$  和  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  溶液的等渗混合物中,以产生跨膜  $\text{K}^+$  浓度梯度。外部加入选择性  $\text{K}^+$  载体缬氨霉素导致  $\text{K}^+$  流出,其通过建立内部负膜电位极化脂质体。该测定通过施加实施例 2 完成,膜电位通过囊泡外番红 O 的荧光强度的改变来监测。如图 13B 所示,实施例 2 快速去极化 EYPC- 脂质体。由实施例 2 诱导的该去极化过程可能归因于由实施例 2 形成氯通道,其介导氯离子流出极化的脂质体,以平衡由缬氨霉素建立的静电位。

[0456] 实施例 50

[0457] 为测定应用于生物和医学科学的实施例 2 的电位,研究实施例 2 对活细胞质膜的掺入并由此通过增加细胞膜的氯化物透过性调节它们的膜电位。使用电位敏感型染料 bis-oxonal 检测 Madin-Darby 犬肾 (MDCK) 细胞的膜电位的相对变化,所述细胞是分泌氯离子的肾远端小管和收集管的模型。bis-oxonal 的荧光增加表明细胞去极化,而降低表明超极化。用毛喉素 (可以活化细胞中的 CFTR 氯通道的胞内环 AMP 的激动剂) 处理 MDCK 细胞使 bis-oxonal 的荧光产生适度增加,表明细胞去极化 (图 14A)。该去极化作用可能归因于 MDCK 细胞中的氯平衡电位 ( $E_{\text{Cl}}$ ) 高于静息膜电位。因此,氯通道的开启将膜电位向  $E_{\text{Cl}}$  移动。正如所料,施加实施例 2 也对膜电位显示出相似的去极化作用 (图 14B),这与实施例 2 通过形成氯化物通道增加 MDCK 细胞的氯化物透过性的能力相一致。如图 14C 所示,降低胞外氯化物浓度激发胞内氯化物通过  $E_{\text{Cl}}$  正迁移流出,并因此去极化膜电位。令人感兴趣的是,加入实施例 2 明显有利于通过增加细胞氯化物透过性的该去极化过程。另外,尽管存在天然氯化物通道阻断剂 - 完全抑制由低氯化物胞外溶液诱导的去极化作用的二苯胺-2-甲酸酯 (DPC),但实施例 2 通过恢复细胞膜的氯化物透过性去极化细胞 (图 14D 和 14E)。这些结果证实了实施例 2 通过形成与天然氯化物通道无关的人工氯化物通道调节活细胞的膜电位的能力。

[0458] 总之,图 14A-E 表明了加入不同的物质 (包括实施例 2) 对 Madin-Darby 犬肾 (MDCK) 细胞的膜电位的作用。通过电位敏感型染料 bis-oxonal (DiBAC4 (3)) 的发射强度的变化监测 MDCK 细胞的膜电位。荧光强度增加表明去极化。图 14A 表明,加入  $10 \mu\text{M}$  毛喉素导致 MDCK 细胞的膜电位的显著去极化。图 14B 表明,加入  $10 \mu\text{M}$  实施例 2 导致 MDCK 细胞的膜电位的去极化。图 14C 表明,用相对低的氯化物 ( $100\text{mM}$  氯化物) 溶液灌注 MDCK 细胞辅助加入  $10 \mu\text{M}$  实施例 2 导致 MDCK 细胞的膜电位轻微去极化。图 14D 表明,加入  $1\text{mM}$  DPC 导致

膜电位超极化,随后加入 10  $\mu\text{M}$  实施例 2 导致超极化的膜电位向原始的静息电位移动。图 14E 表明,在 1mM DPC 存在下用低  $\text{Cl}^-$  (60mM  $\text{Cl}^-$ ) Ringer 氏溶液灌注 MDCK 细胞未导致 MDCK 细胞的膜电位去极化,但随后加入 10  $\mu\text{M}$  实施例 2 导致这样的膜电位去极化。图 14A-E 中的每个点均代表平均值  $\pm$  标准偏差 (在 4-6 个实验中  $n = 20-80$  个细胞)。

#### [0459] 实施例 51

[0460] 众所周知,胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的升高触发多种细胞功能,例如由神经末端释放神经递质和肌肉收缩。介导跨质膜的  $\text{Ca}^{2+}$  流入的电压门控的  $\text{Ca}^{2+}$  通道用作其中一种重要的调节血管平滑肌细胞胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) 的途径。研究由实施例 2 形成的人工氯化物通道通过调节血管平滑肌细胞的膜电位调节天然电压门控的  $\text{Ca}^{2+}$  通道。使用大鼠胸主动脉平滑肌细胞系 A7r5 阐明实施例 2 对膜电位和血管平滑肌细胞的  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  的作用。如图 15A 和 15B 所示,用 60mM  $\text{K}^+$  (高  $-\text{K}$ ) 胞外溶液处理平滑肌细胞强烈去极化膜电位,并刺激  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  急剧增加,因为高  $-\text{K}$  胞外溶液通过  $\text{K}^+$  平衡电位 ( $E_K$ ) 的正迁移可以去极化细胞膜电位,以活化电压门控的 L-型  $\text{Ca}^{2+}$  通道,并因此可以升高  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 。然而,随后以该高  $\text{K}$  胞外溶液施加实施例 2 导致  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  缓慢降低至几乎原始水平 (图 15B),提示实施例 2 可以再极化细胞膜,以失活电压门控的钙通道。该假定的再极化过程通过在相同的实验条件下检测 A7r5 细胞的细胞膜电位被进一步证实 (图 15A)。该结果提示,高  $-\text{K}$  胞外溶液去极化膜电位至这样的程度:不仅高得足以活化 L-型  $\text{Ca}^{2+}$  通道,而且远高于这些细胞的  $E_{\text{Cl}}$ 。因此,实施例 2 可以增加氯化物透过性,并因此将膜电位向可能低于这些细胞中的 L-型  $\text{Ca}^{2+}$  通道的活化电位的  $E_{\text{Cl}}$  回移 (即再极化膜电位)。而且,先施加实施例 2 对 A7r5 细胞的膜电位和  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  未显示出明显作用,暗示  $E_{\text{Cl}}$  接近细胞的静息膜电位。另外,高  $-\text{K}$  诱导的对膜电位和  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  的作用被实施例 2 预处理细胞显著抑制。该结果揭示,通过增加氯化物透过性,实施例 2 可以平衡由正迁移的  $E_K$  激发的去极化作用。总之,实施例 2 可以用作通过调节活细胞的膜电位调节  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  的第一个合成离子通道。

[0461] 图 15A-B、16A-B 表明了实施例 2 和 60mM  $\text{K}^+$  胞外溶液 (高  $-\text{K}^+$  溶液) 对调节平滑肌细胞 (A7r5 细胞) 的膜电位和  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  的作用。可以看出,用高  $-\text{K}^+$  溶液处理 A7r5 细胞导致膜电位的强去极化 (图 15A) 和  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  的急剧增加 (图 15B)。随后加入 10  $\mu\text{M}$  实施例 2 导致膜电位的再极化,如图 15A 所示,以及  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  缓慢降低至几乎原始水平,如图 15B 所示。每个点均代表平均值  $\pm$  标准偏差 (在 4-6 个实验中  $n = 20-80$  个细胞)。

[0462] 图 16A-B 表明,实施例 2 先处理 A7r5 细胞未产生显著的去极化作用,  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  也没有改变。随后加入高  $-\text{K}^+$  溶液相比于不存在实施例 2 时处理的那些细胞产生弱得多的去极化作用,如图 16A-B 所示。每个点均代表平均值  $\pm$  标准偏差 (在 4-6 个实验中  $n = 20-80$  个细胞)。

#### [0463] 实施例 52

[0464] 实施例 52 研究了在由去极化诱导的血管收缩过程中实施例 2 是否可以促进血管舒张。在器官槽装置中建立小鼠胸主动脉环,并检测它们的肌肉活动。图 17A 显示了典型实验,其中将实施例 2 的浓度由 1  $\mu\text{M}$  增加至 30  $\mu\text{M}$  诱导由高  $\text{K}$  溶液预收缩的小鼠主动脉环的完全舒张。实施例 2 使预收缩的主动脉环产生浓度依赖性舒张,半最大舒张值  $\text{IC}_{50}$  为  $8.42 \pm 0.18 \mu\text{M}$  ( $n = 5$ )。

[0465] 实施例 52 研究了实施例 2 是否可以通过活化  $\alpha$ -肾上腺素能受体诱导肌肉收缩。

为验证实施例 2 的血管舒张作用,测试实施例 2 松弛由  $\alpha$ -肾上腺素能受体激动剂苯肾上腺素 (PE) 收缩的小鼠主动脉环。图 17B 表明,实施例 2 不能松弛这些主动脉环 ( $n = 4$ )。该实验表明,实施例 2 不能通过阻断电压门控的  $\text{Ca}^{2+}$  通道降低  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 。

[0466] 除了实施例 2 调节膜电位和调节  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  的作用,与所提出的由囊性纤维化跨膜电导调节剂 (CFTR) 氯化物通道在平滑肌细胞中所起的控制血管紧张度的功能作用相比较,实施例 2 可能通过再极化膜电位,以失活平滑肌细胞中的电压门控的  $\text{Ca}^{2+}$  通道,导致预收缩的小鼠主动脉环舒张。该作用也成为了使用合成氯化物通道治疗高血压的基础。

[0467] 如上所述,本文的实施方案提供了多种自组装化合物,其可用于制备离子通道组合物和包含其的膜。尽管已针对有限数目的实施方案描述了本文的公开内容,但一个实施方案的具体特征不应归属于本发明的其它实施方案。没有一个实施方案代表本发明的所有方面。在某些实施方案中,所述组合物或方法可以包括本文未提及的众多化合物或步骤。在其它实施方案中,所述组合物或方法不包括或基本没有本文未列举的任何化合物或步骤。所述实施方案存在变化和修改。例如,本文公开的离子通道组合物不一定仅包含自组装化合物。其可以包含一般适于离子通道组合物的任何类型的化合物。要指出的是,根据众多步骤描述了制备和使用本文公开的离子通道组合物的方法。这些步骤可以以任何顺序实施。一个或多个步骤可被忽略或组合,但仍基本达到相同的结果。随附的权利要求意在涵盖所有这样的属于本发明范围的改变和修改。

[0468] 本说明书提及的所有出版物和专利申请都通过引用结合到本文中,其程度如同每个单独的出版物或专利申请都具体并单独地被指出通过引用结合到本文中。要理解的是,本文的公开内容已通过阐述和实施例详细描述,以便本领域其它技术人员熟悉本发明、其原则及其实际应用。此外,如所陈述的本文提供的具体实施方案不是排它性的或限制所述公开内容,依据前述实施例和详述,许多替代、修饰和改变对本领域技术人员是显而易见的。因此,本文的公开内容意在涵盖所有这样的属于以下权利要求的精神和范围的替代、修改和改变。尽管以上的某些实施例和描述包括有关所述化合物、组合物和方法可能起作用的方式的一些结论,但本发明人无意受这些结论和功能束缚,而是依据目前的理解仅作为可能的解释提出它们。

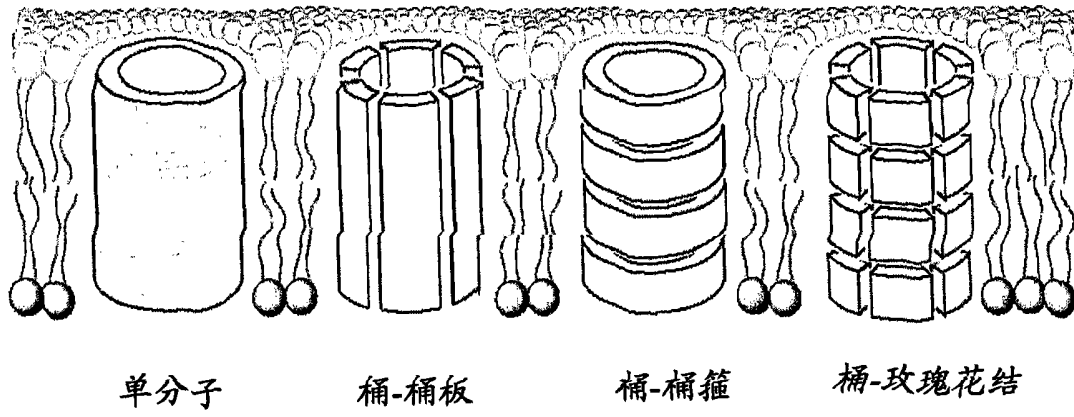


图 1

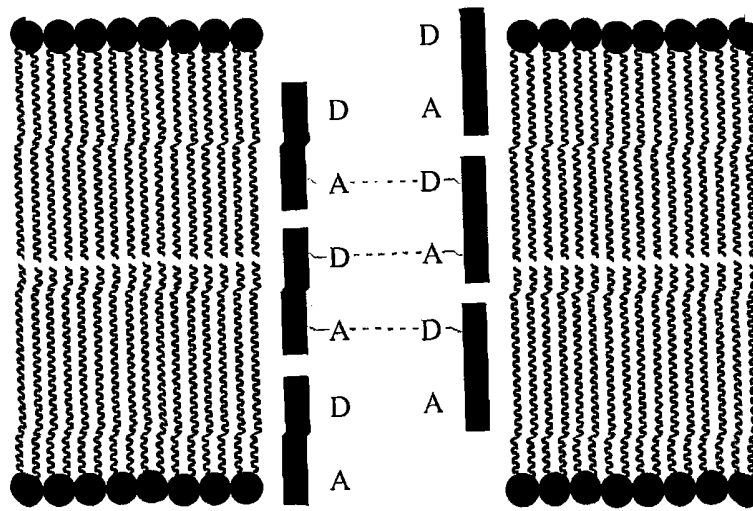


图 2

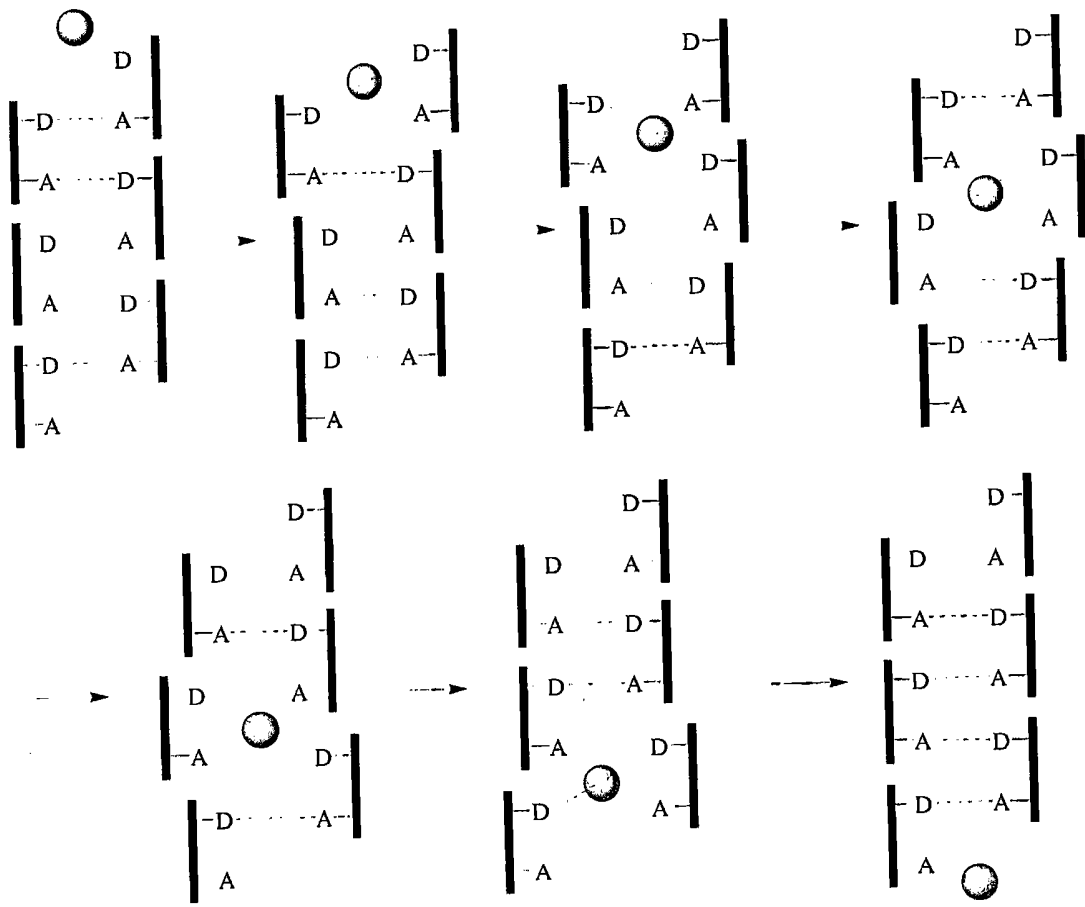


图 3

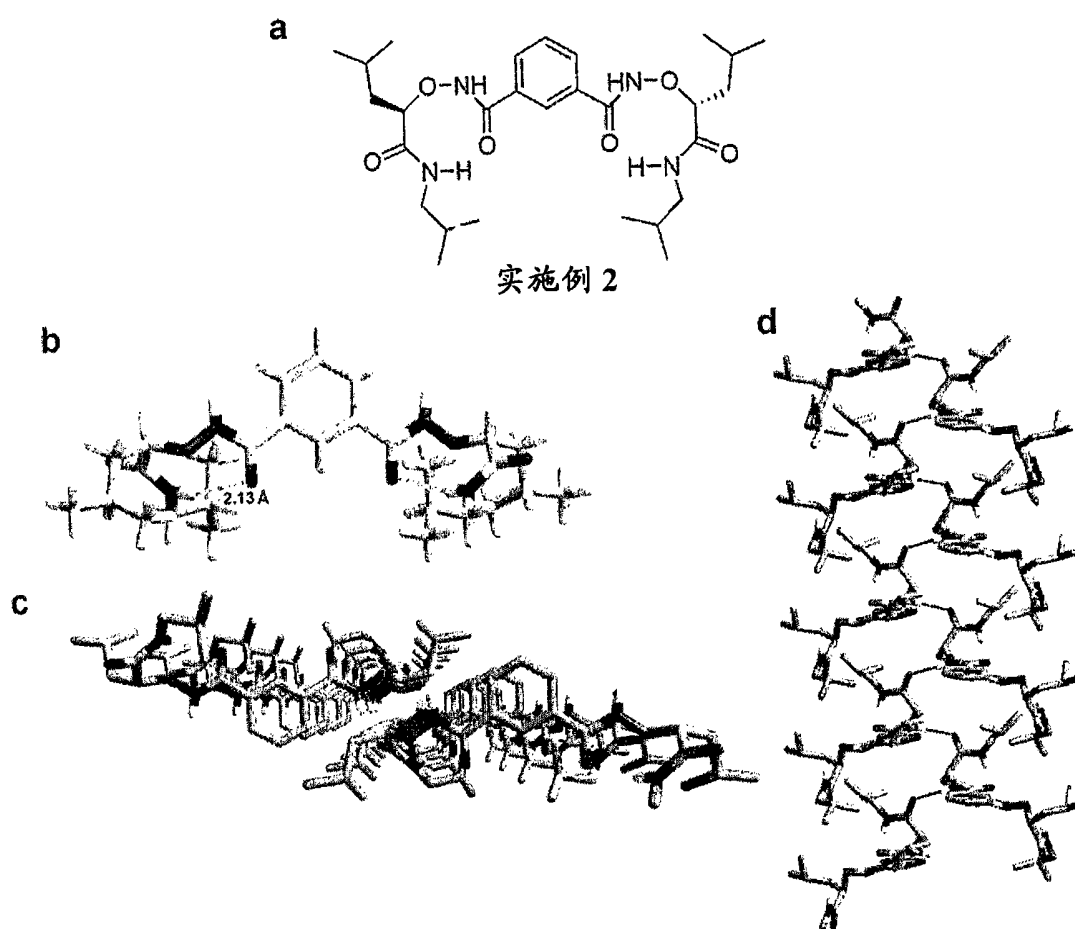


图 4



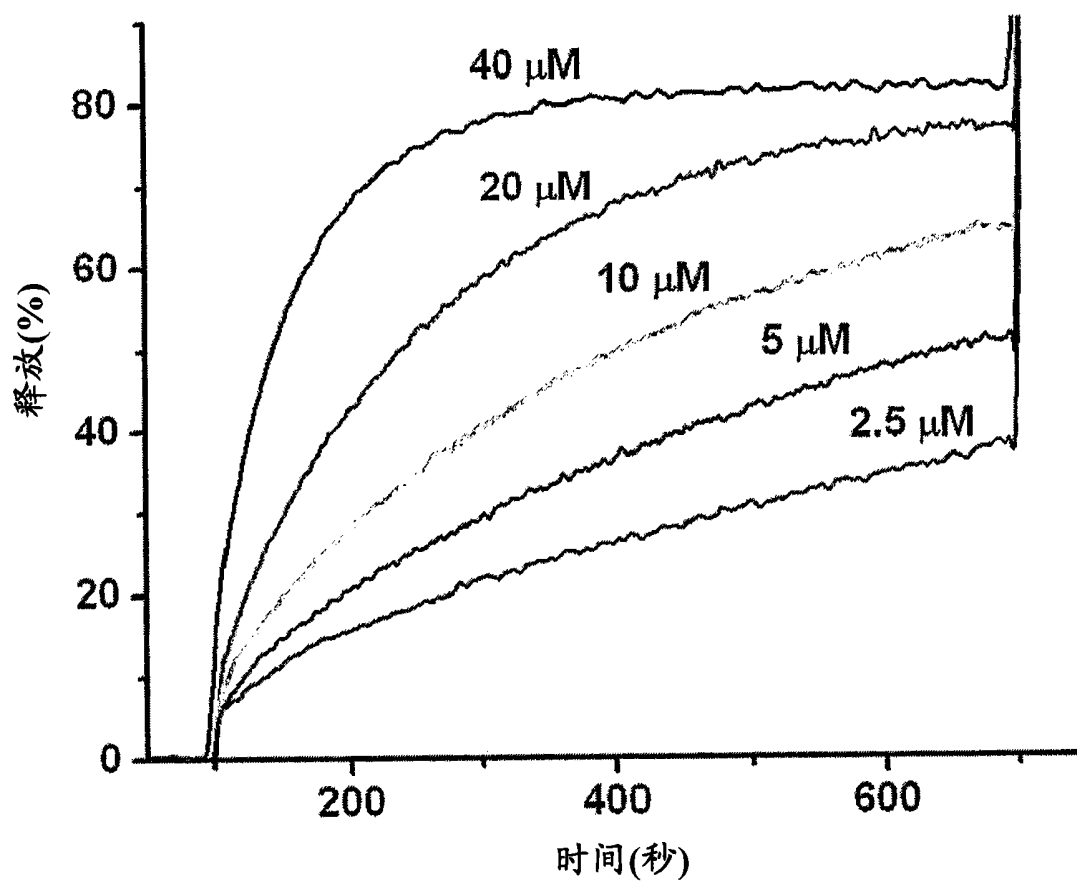


图 5

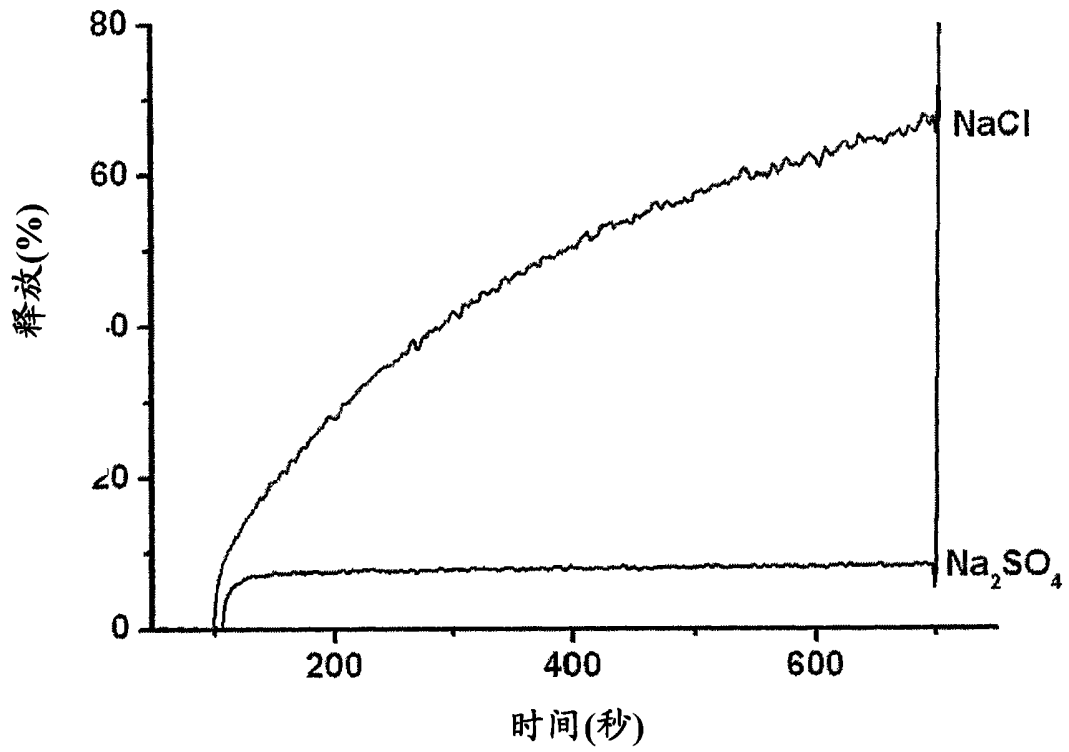


图 6

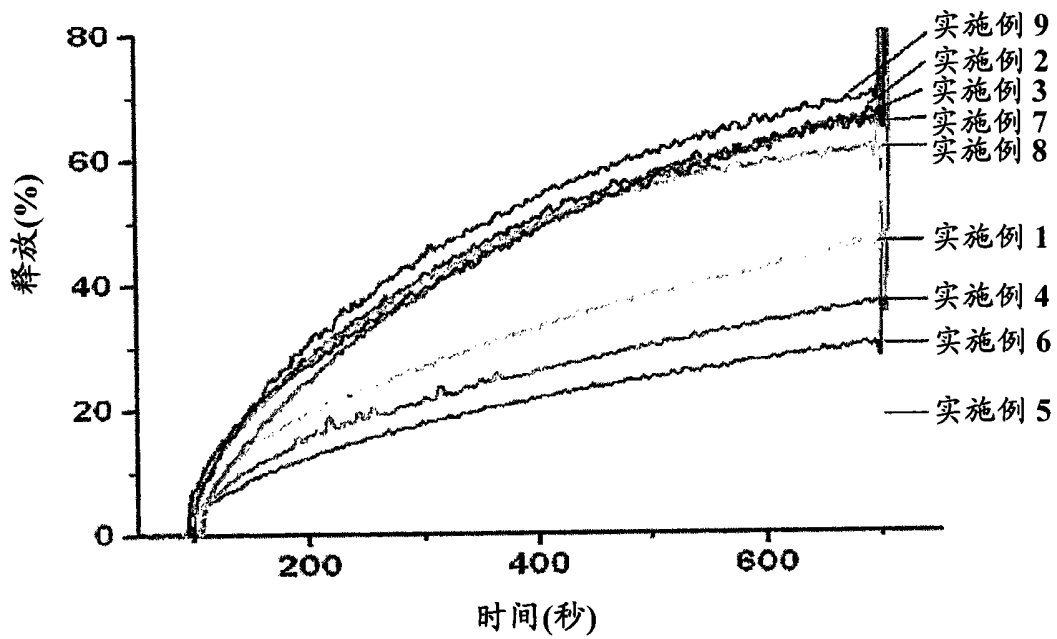


图 7A

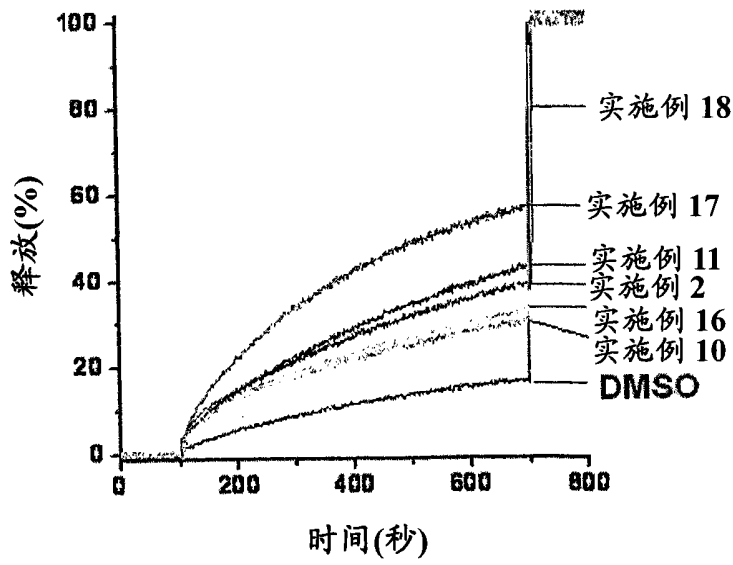


图 7B

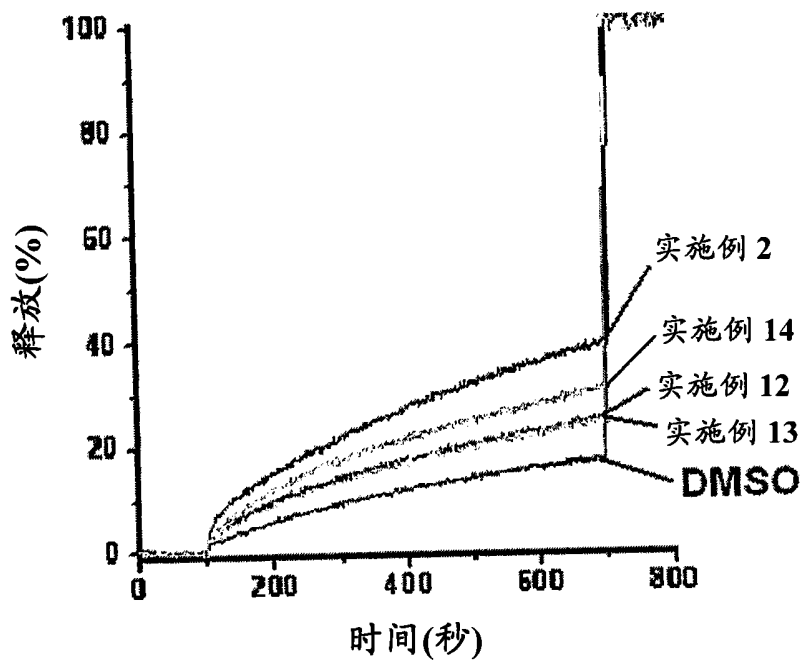


图 7C

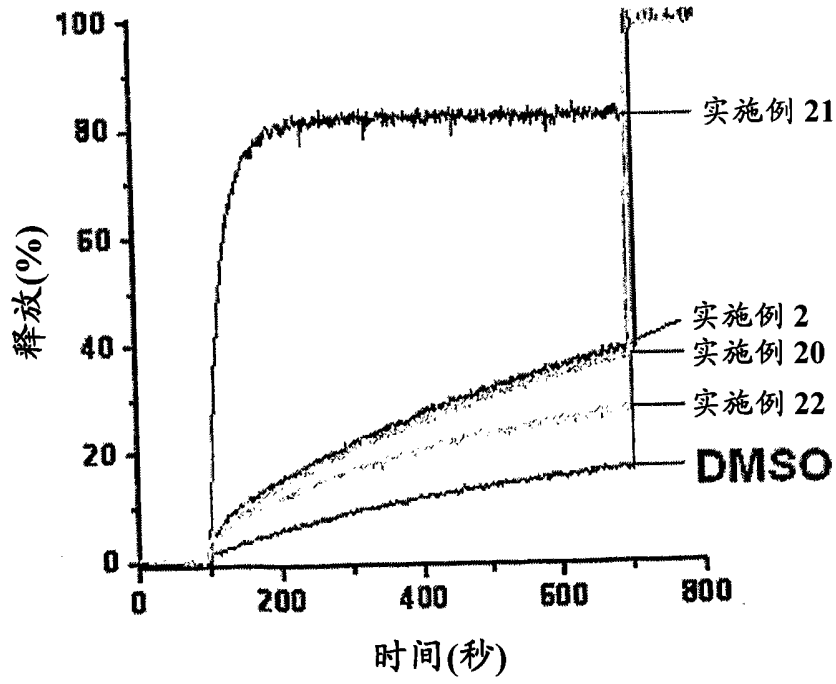


图 7D

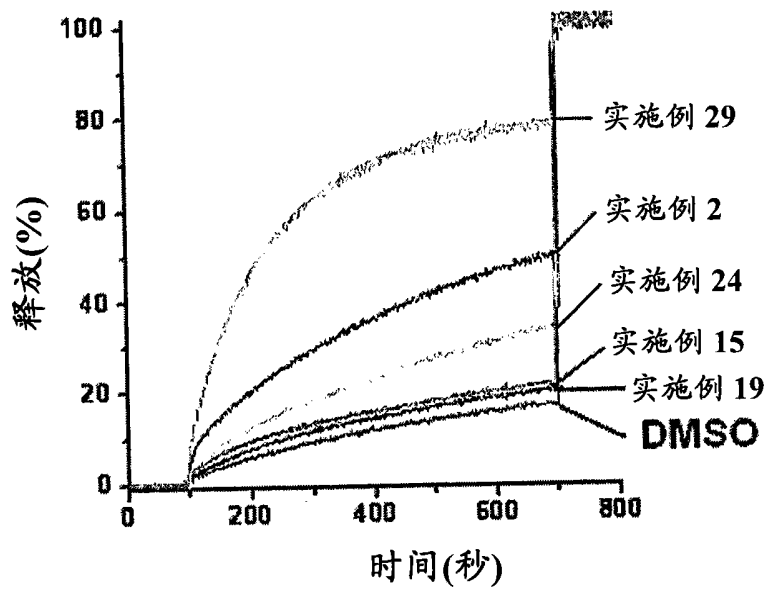


图 7E

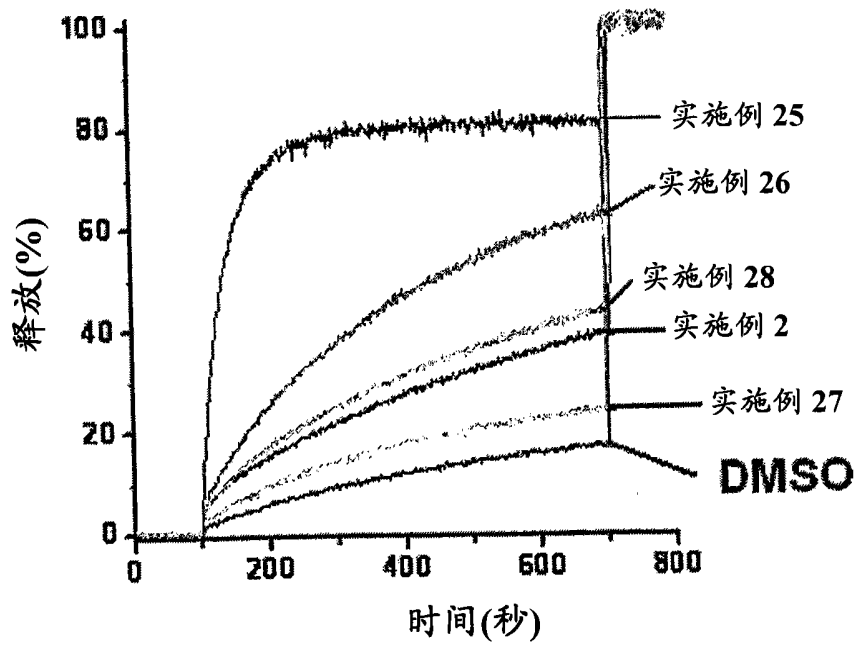


图 7F

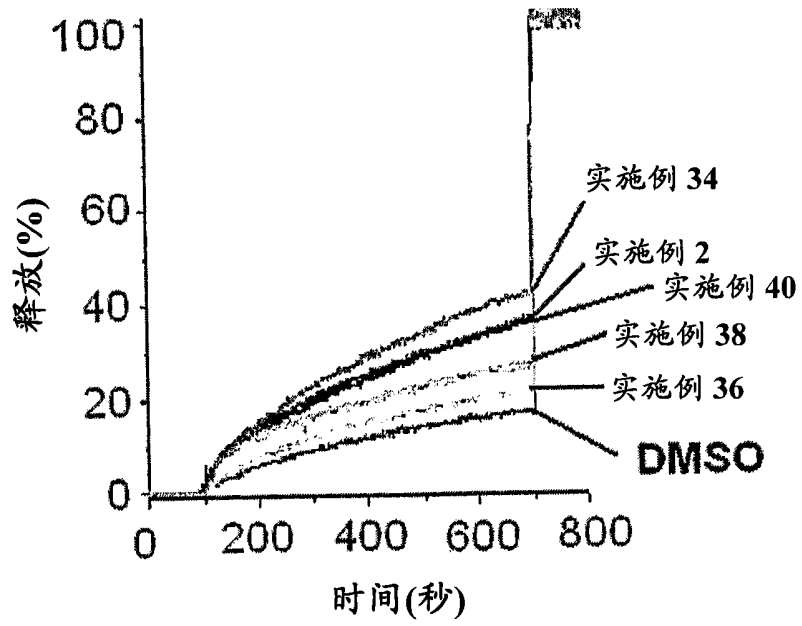


图 7G

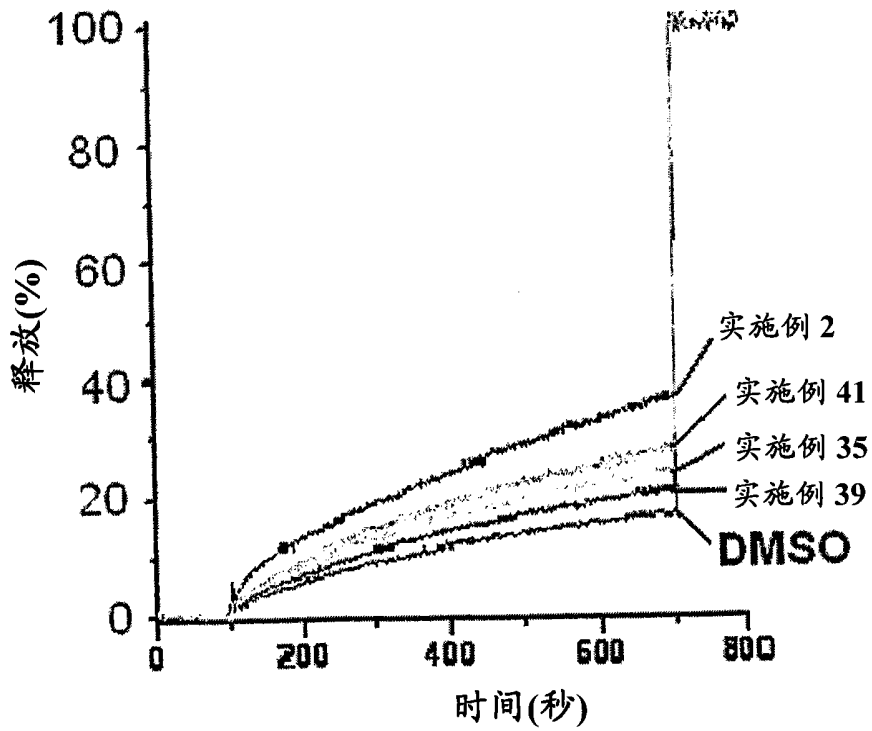


图 7H

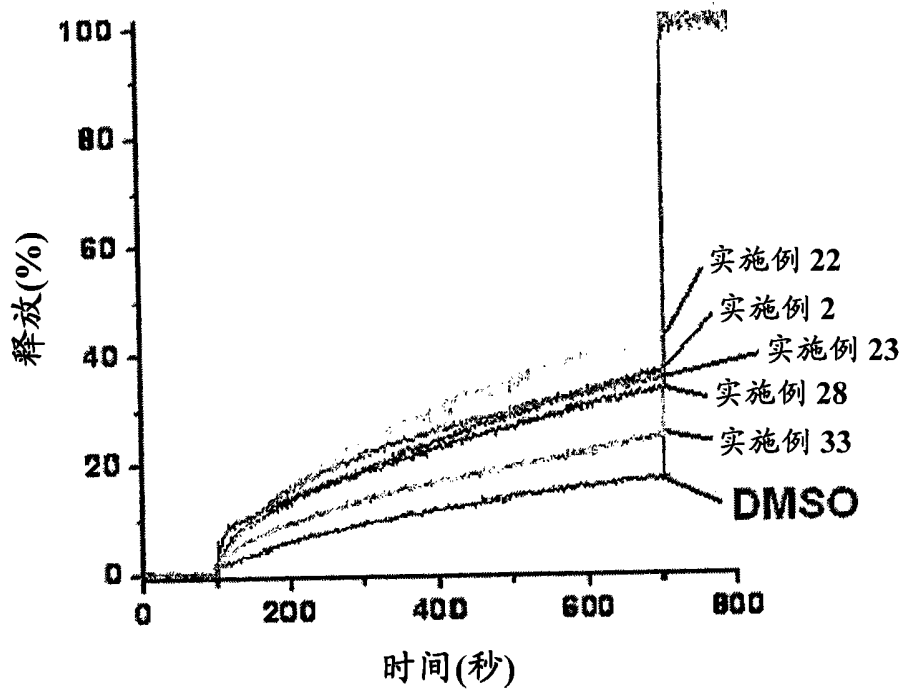


图 7I

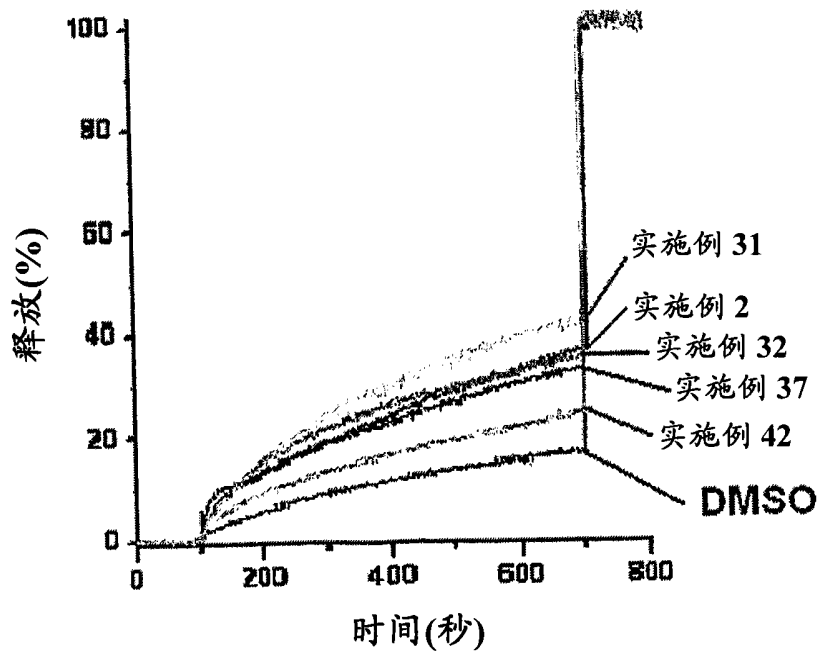


图 7J

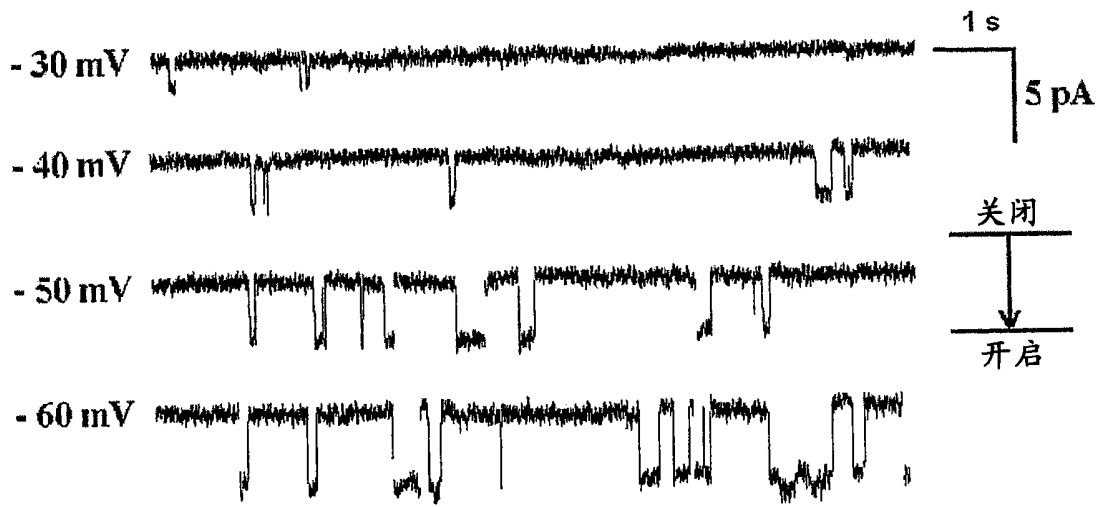


图 8A

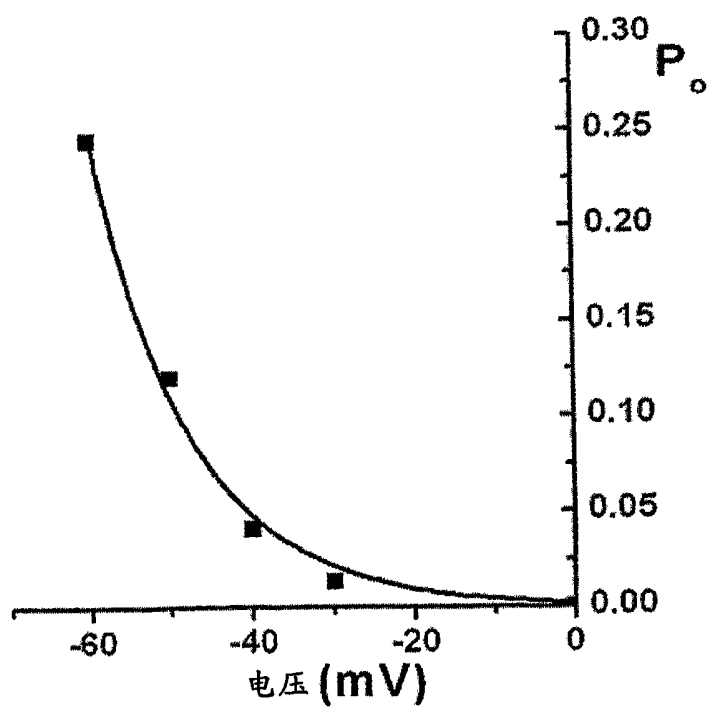


图 8B

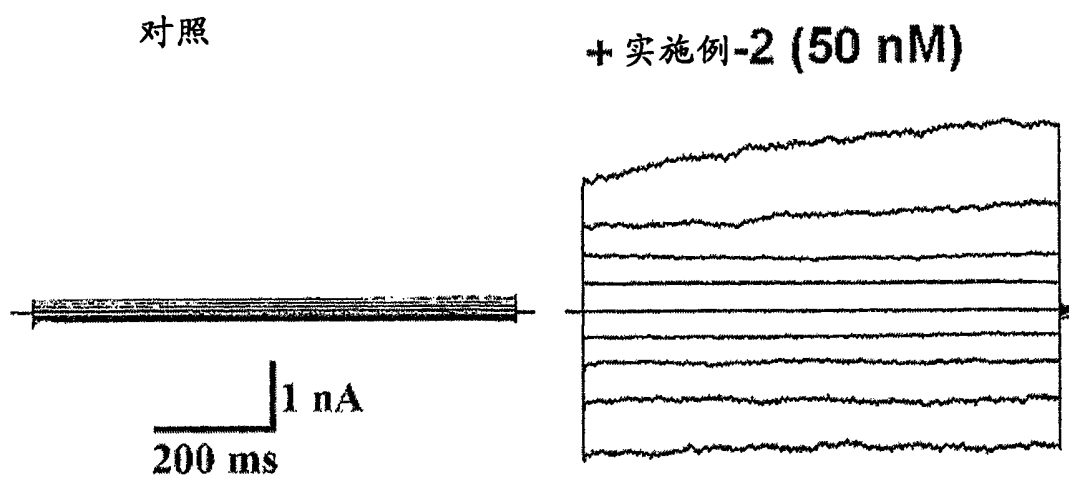


图 9



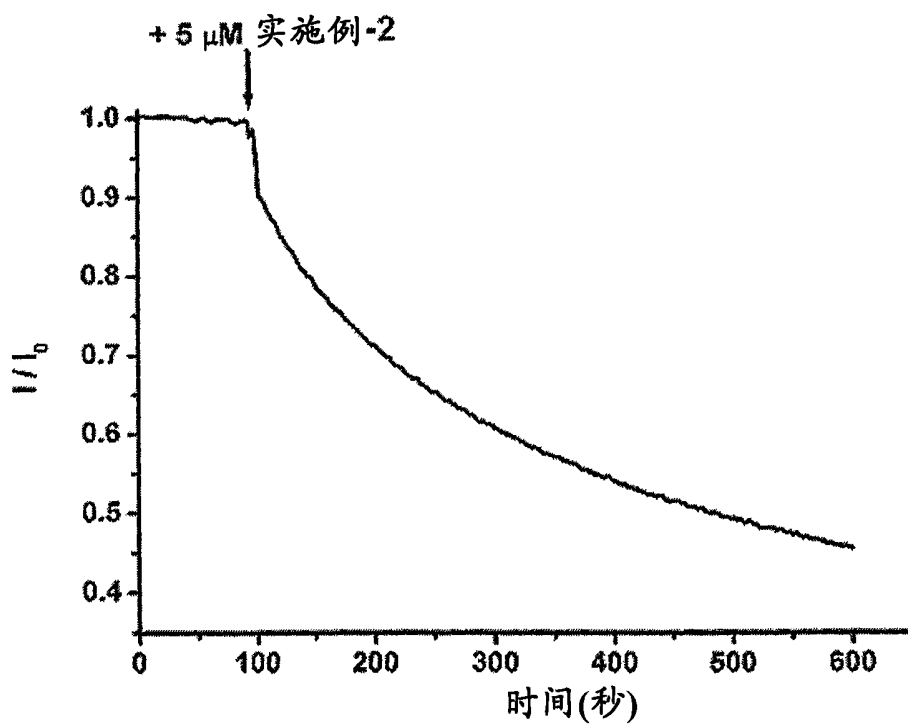


图 10

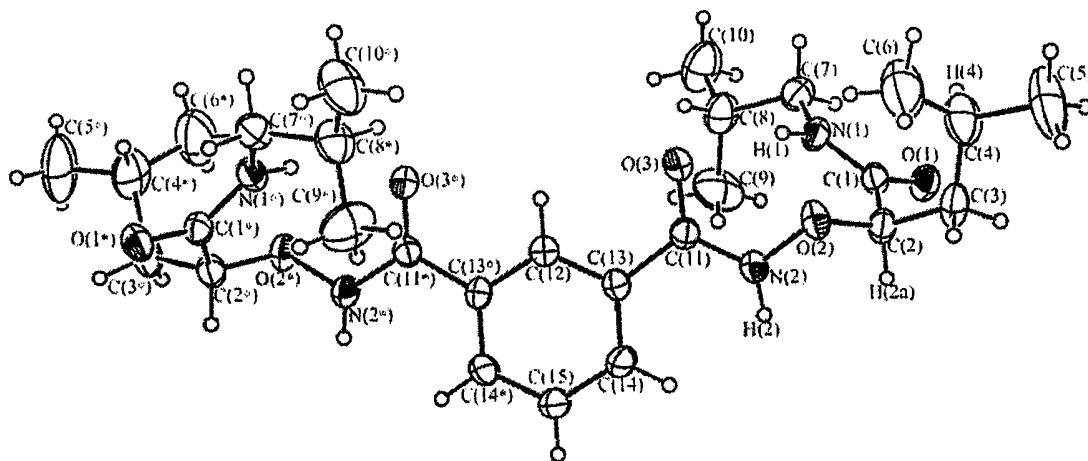


图 11

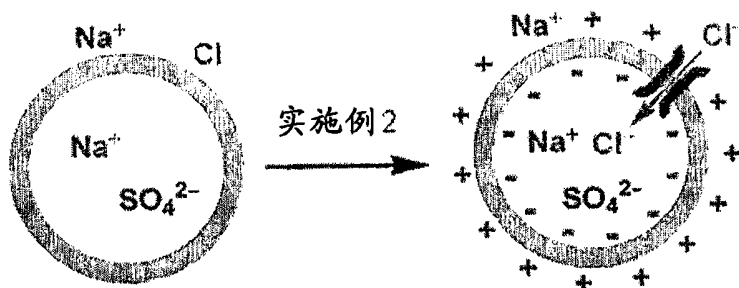


图 12A

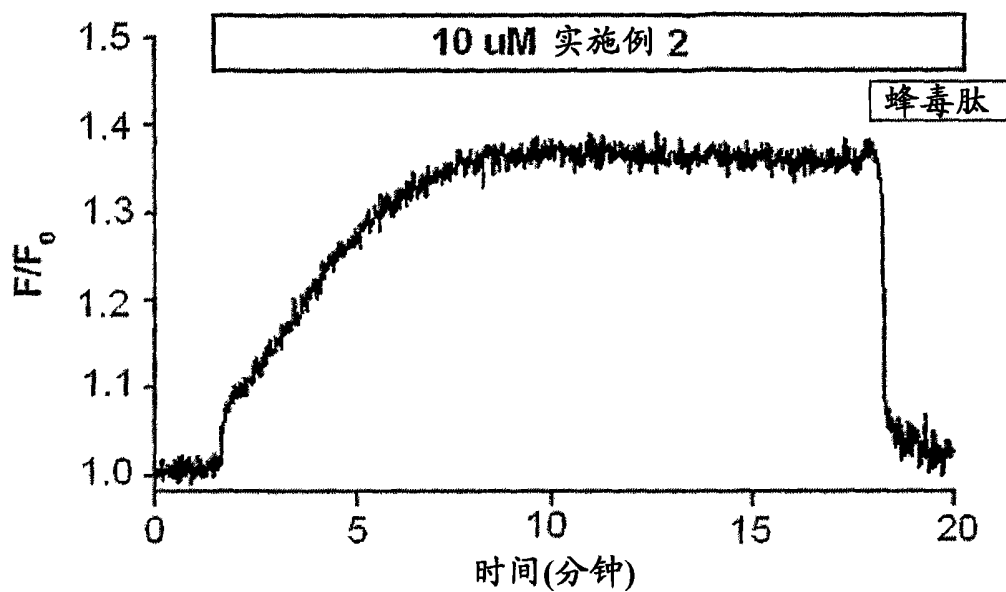


图 12B

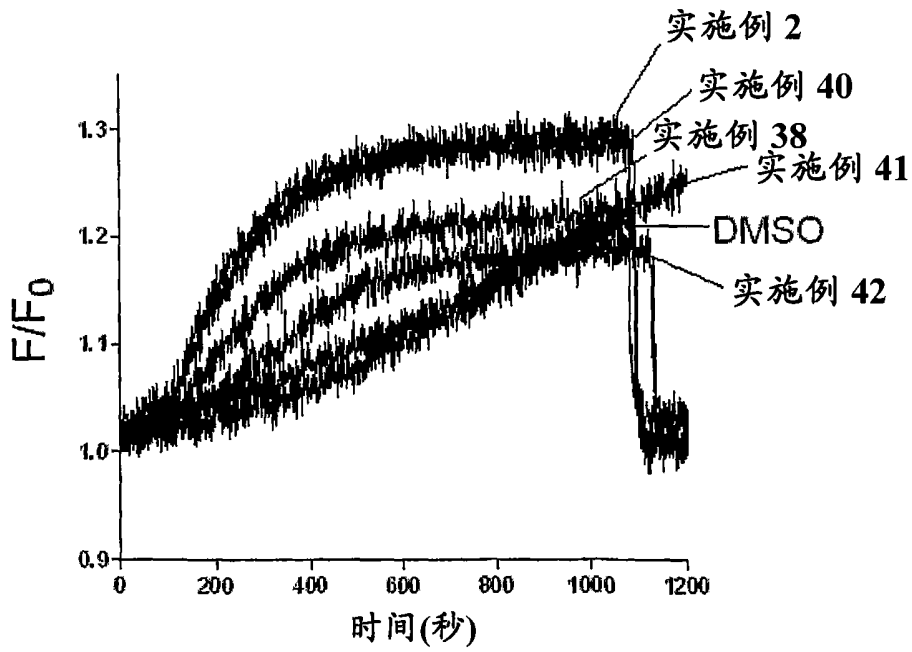


图 12C

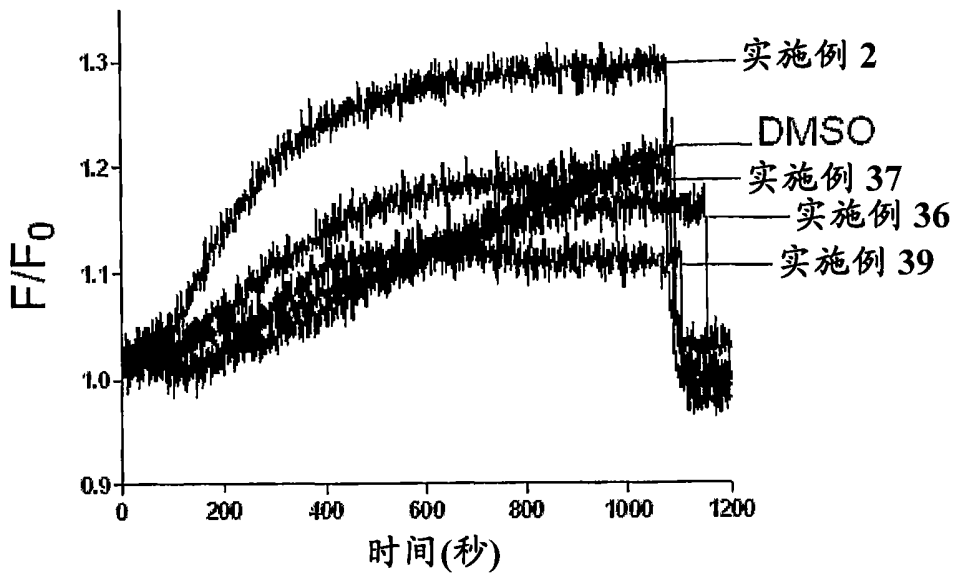


图 12D

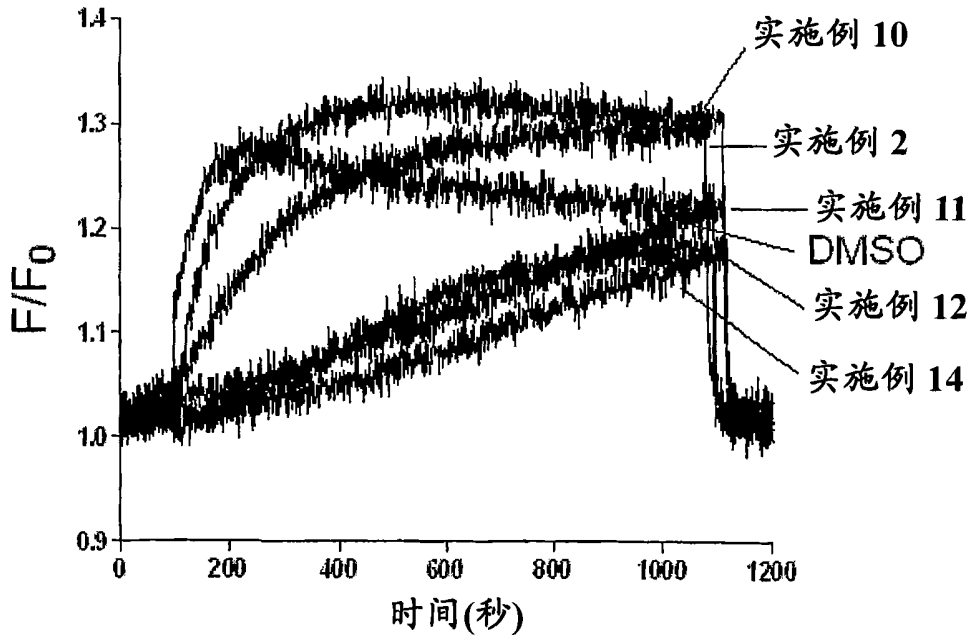


图 12E

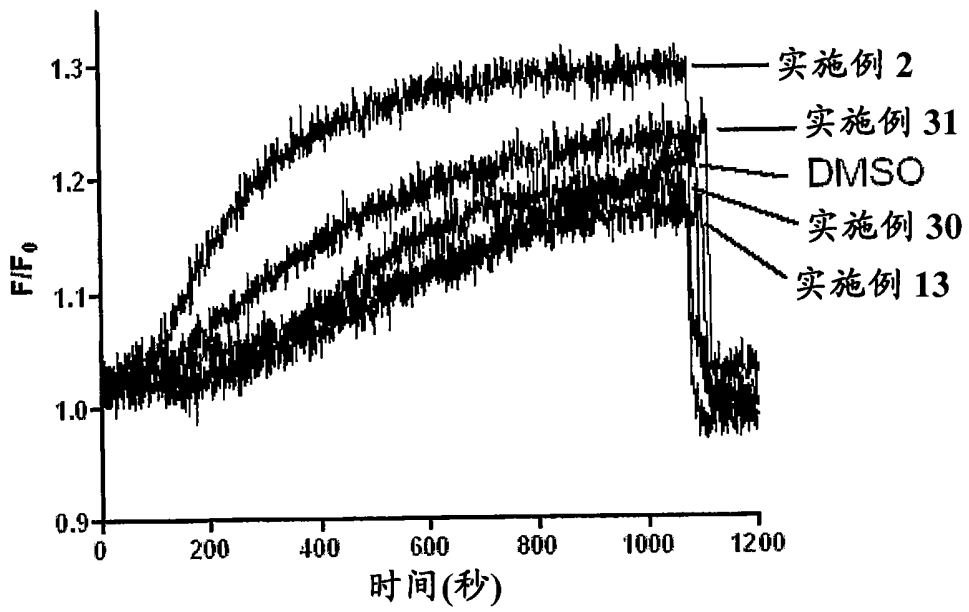


图 12F

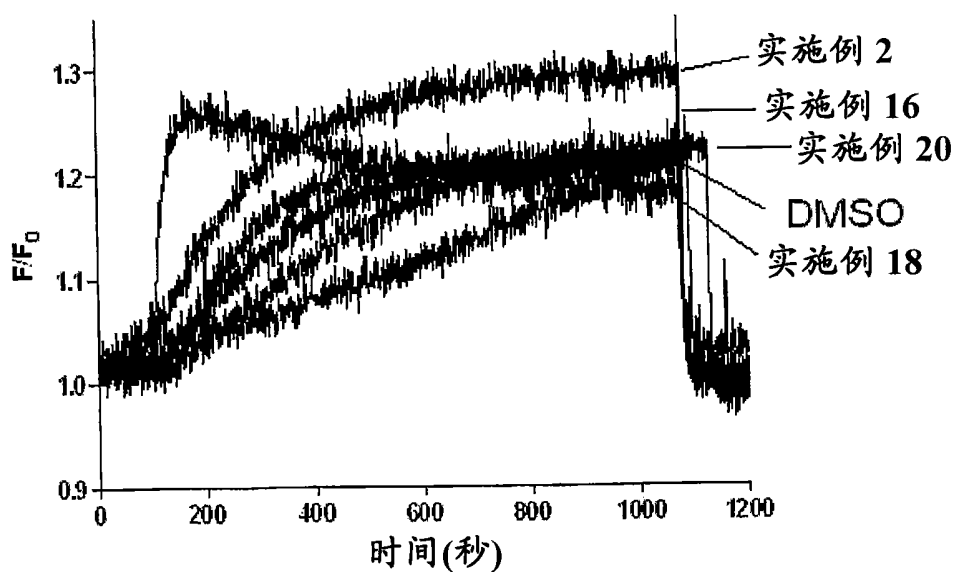


图 12G

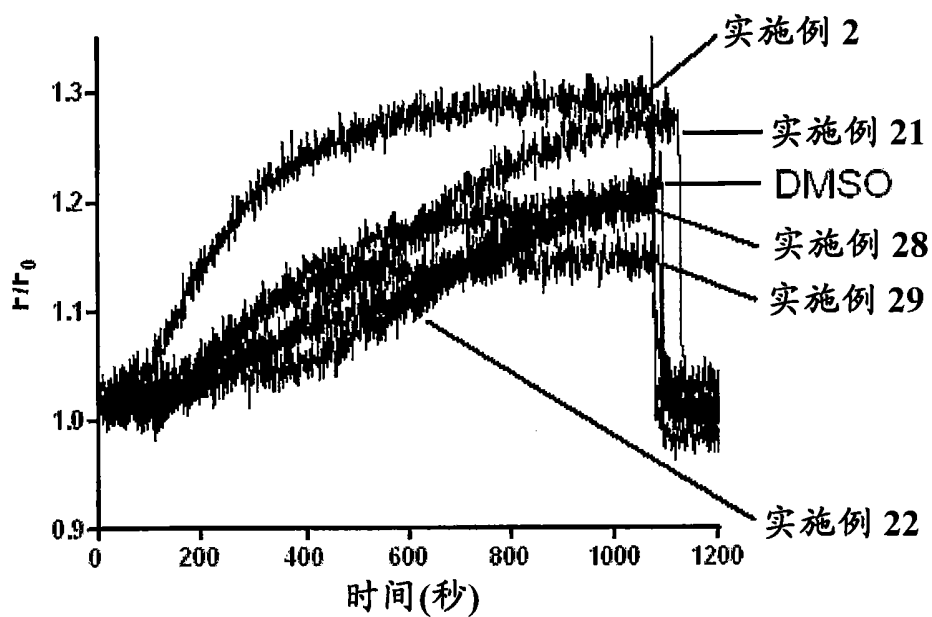


图 12H

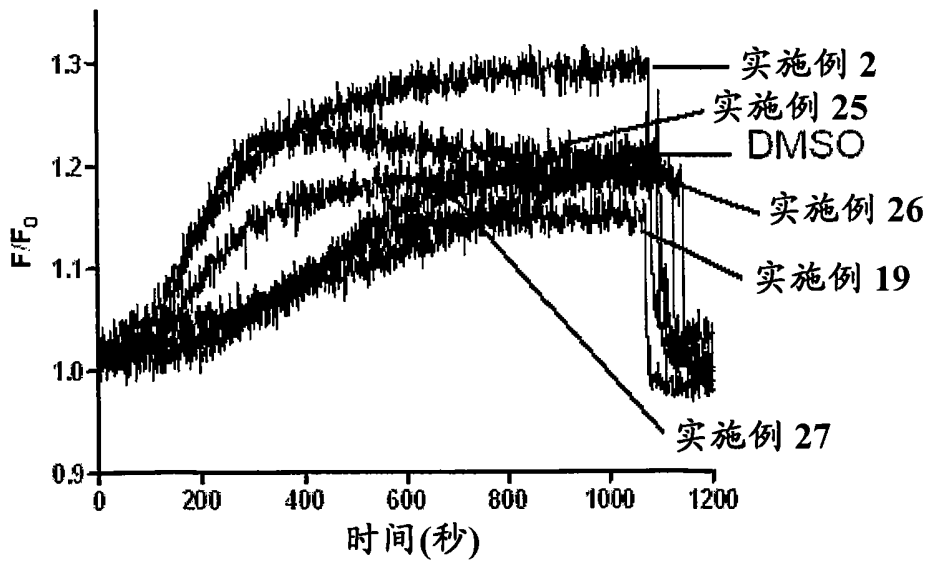


图 12I

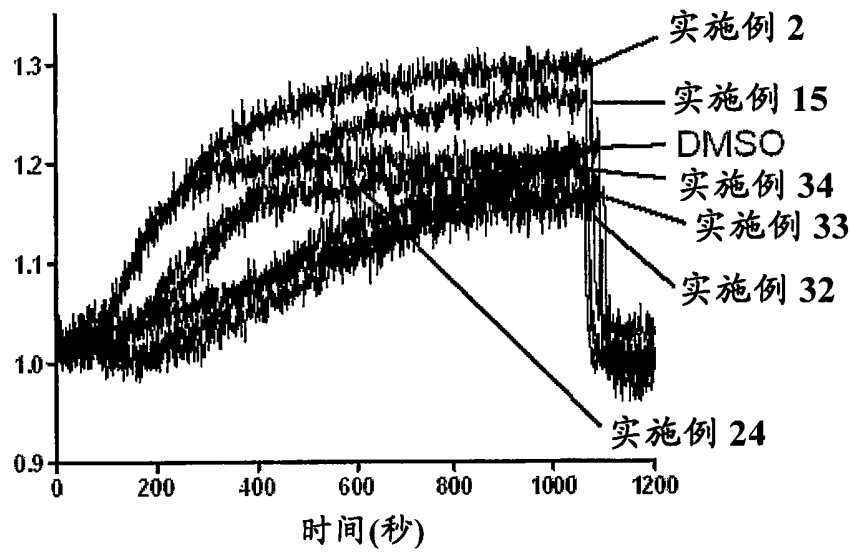


图 12J

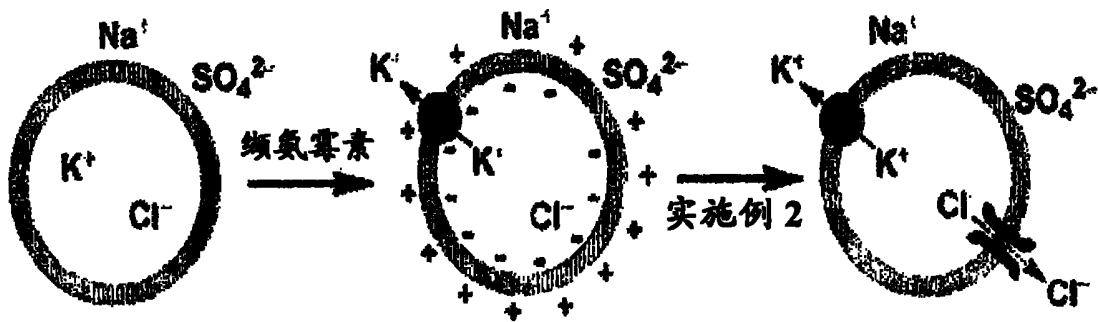


图 13A

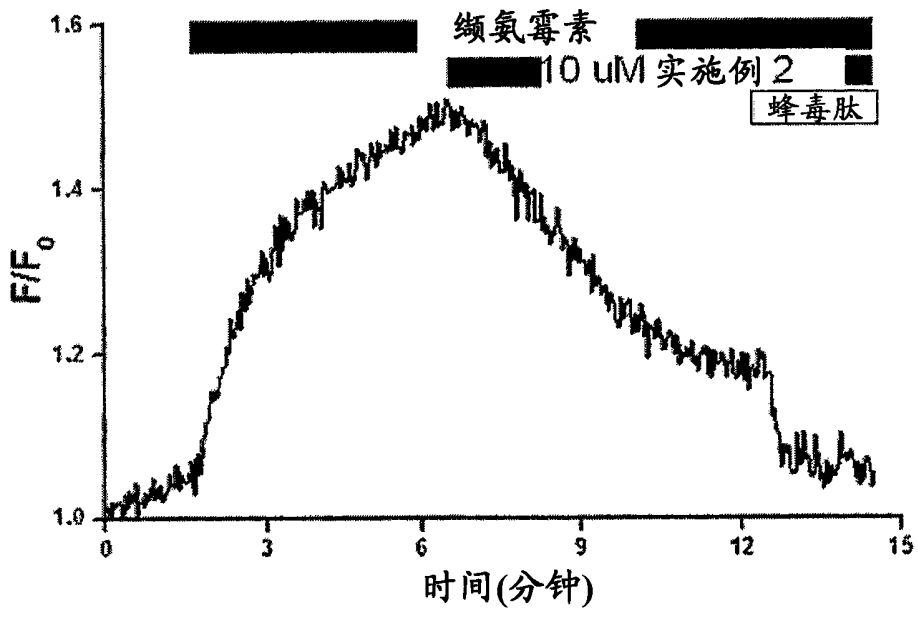


图 13B

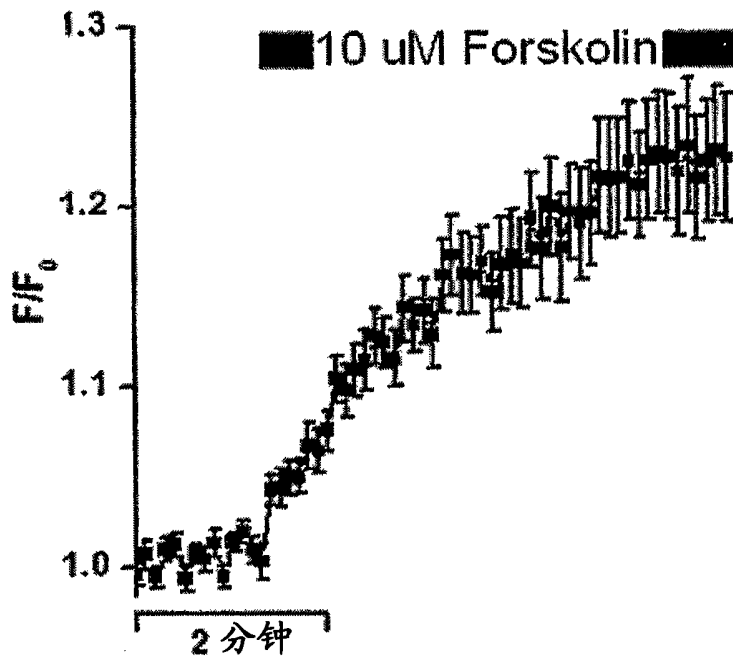


图 14A

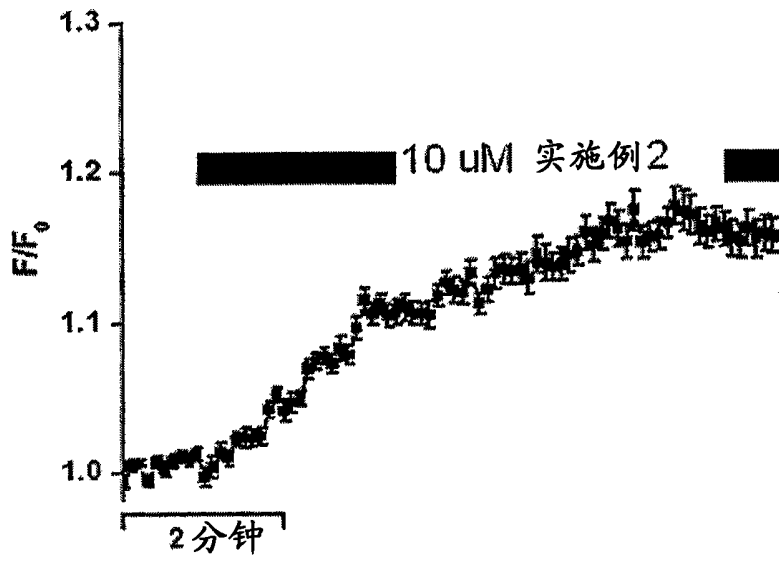


图 14B

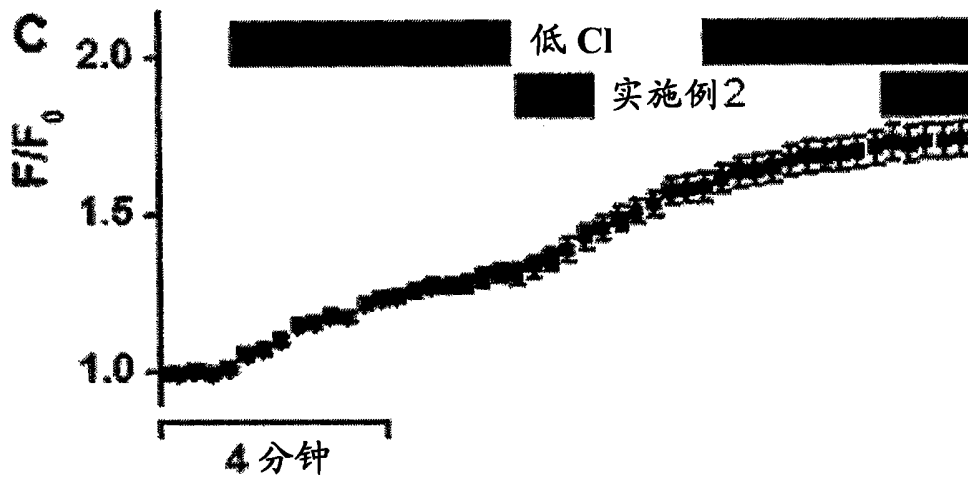


图 14C



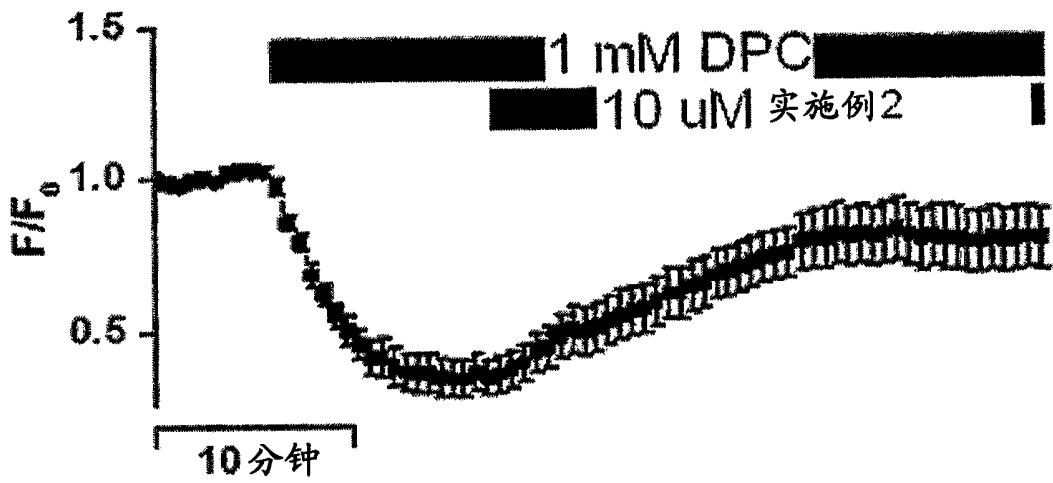


图 14D

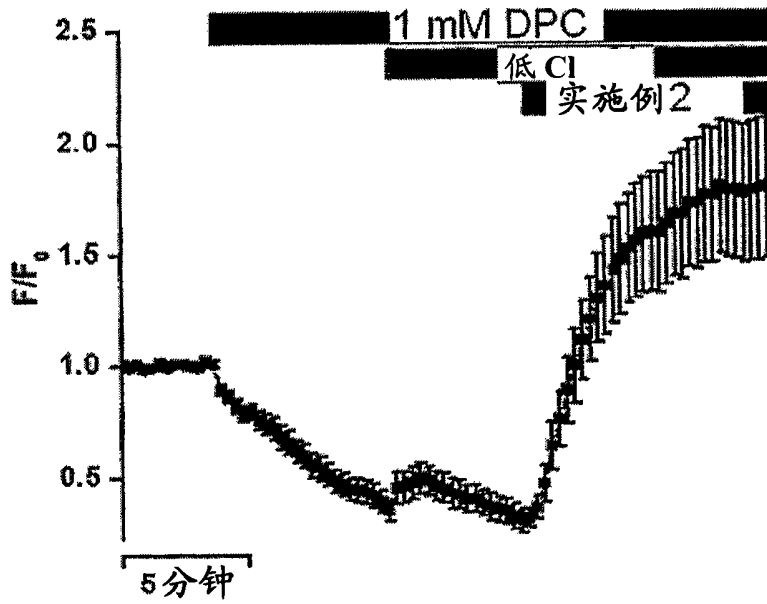


图 14E

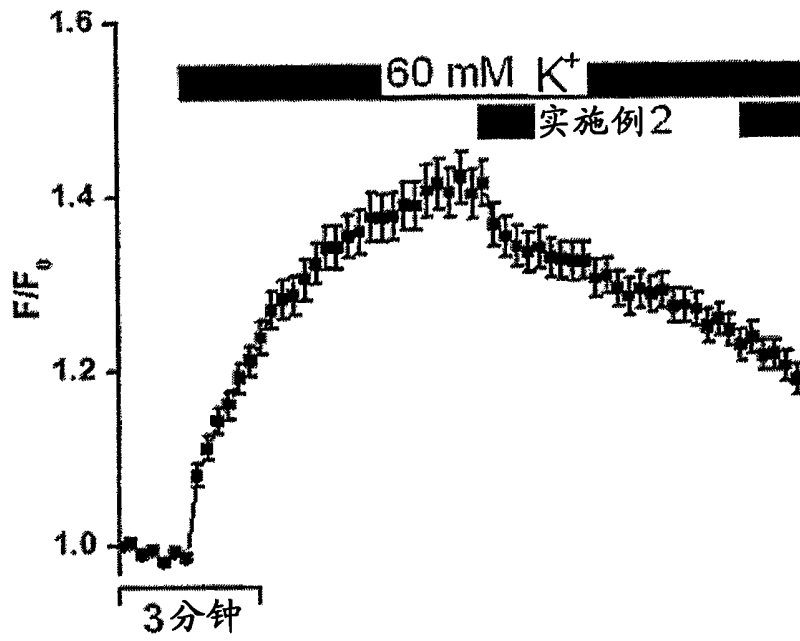


图 15A

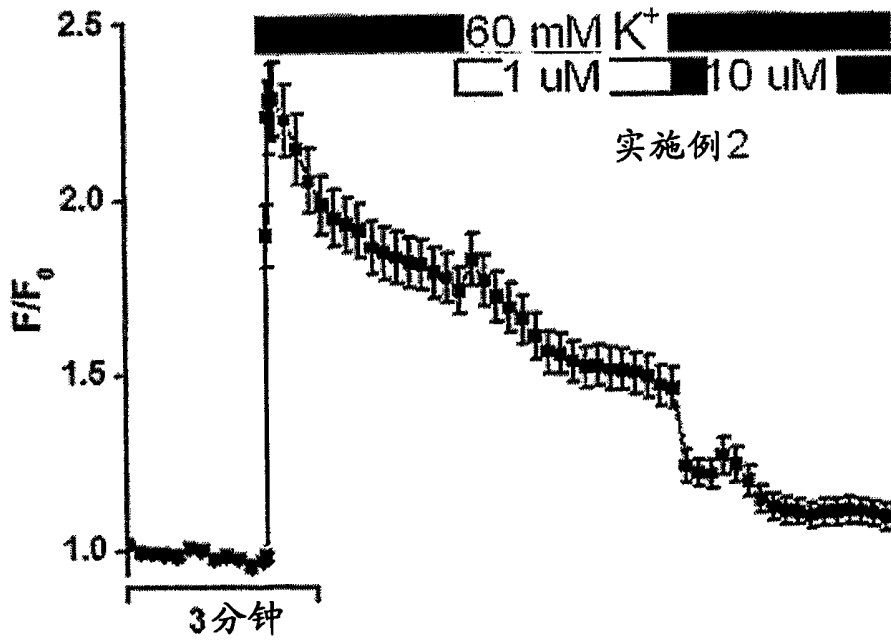


图 15B

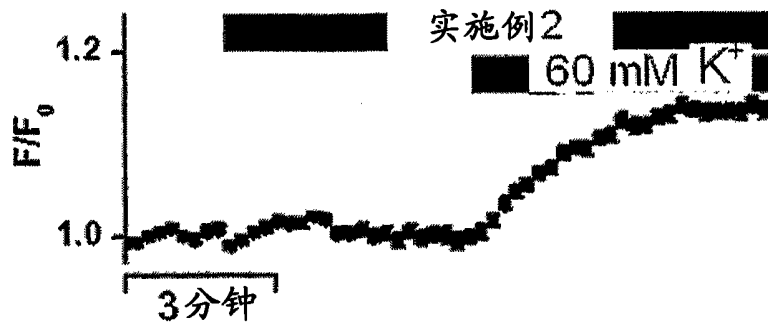


图 16A

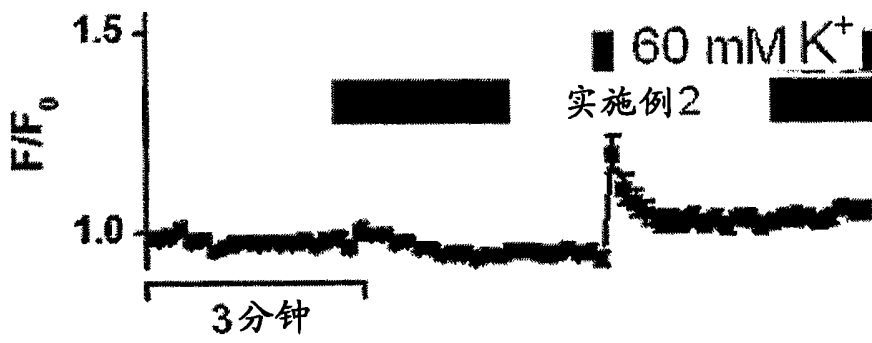


图 16B

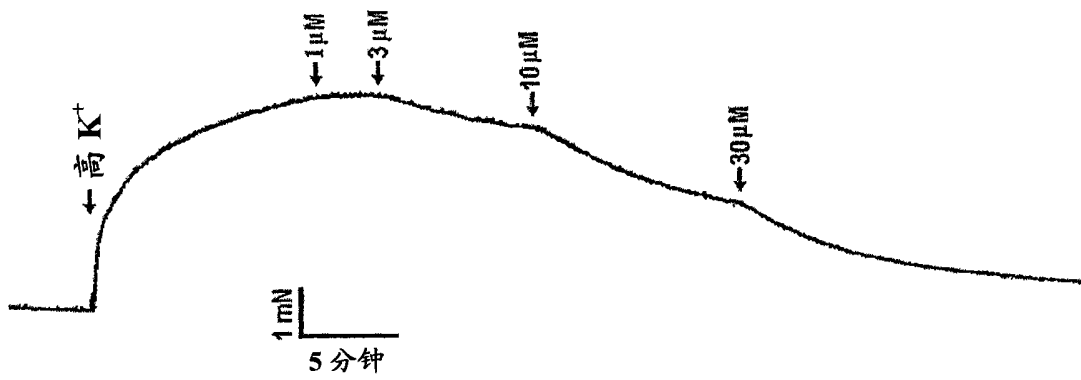


图 17A

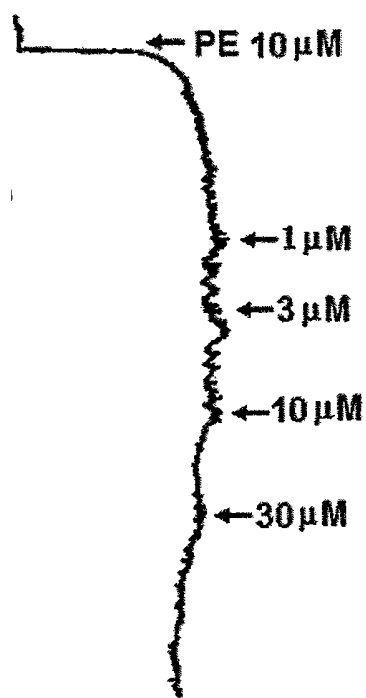


图 17B

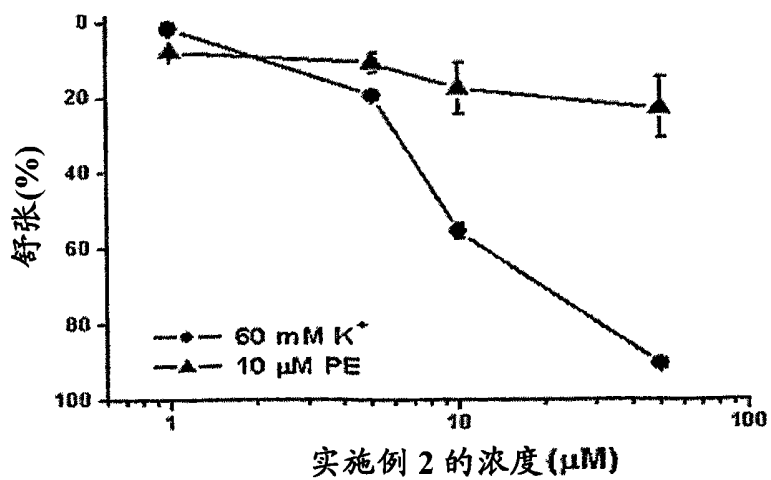


图 17C