

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07K 7/06



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01810568.8

C07K 14/18 C07K 5/062
C07K 5/065 C07K 5/087
C07K 5/107 A61K 38/05
A61K 38/06 A61K 38/07
A61K 38/08 A61P 31/14

[43] 公开日 2003 年 9 月 10 日

[11] 公开号 CN 1441806A

[22] 申请日 2001.4.3 [21] 申请号 01810568.8
[30] 优先权
[32] 2000. 4. 5 [33] US [31] 60/194,607
[86] 国际申请 PCT/US01/10869 2001.4.3
[87] 国际公布 WO01/77113 英 2001.10.18
[85] 进入国家阶段日期 2002.12.2
[71] 申请人 先灵公司
地址 美国新泽西州
[72] 发明人 K·X·陈 A·阿拉萨潘
S·文卡特拉曼 T·N·帕雷克
H·古 F·G·恩约罗格
V·M·吉里亚瓦拉布汉
A·甘古利 A·萨克塞纳 E·焦
N·H·姚 A·J·普伦盖
V·S·马迪森 B·维布尔布汉

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 郭广迅

权利要求书 35 页 说明书 359 页

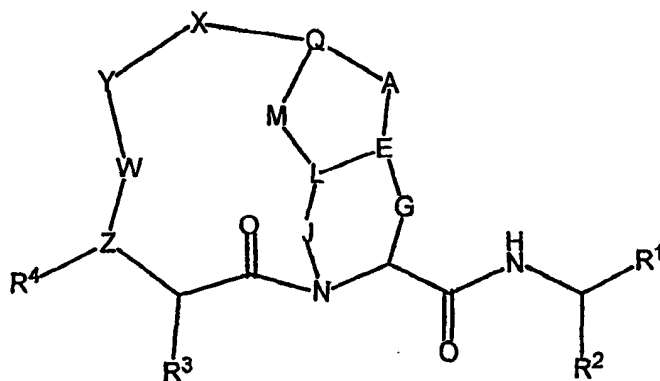
[54] 发明名称 包含 N - 环 P2 部分的丙型肝炎病毒
的大环 NS3 - 丝氨酸蛋白酶抑制剂

[57] 摘要

本发明公开具有 HCV 蛋白酶抑制活性的新的大
环化合物以及制备这样的化合物的方法。 在另一个
实施方案中, 本发明公开包含这样的大环的药用组
合物以及使用它们治疗与 HCV 蛋白酶有关疾病的方
法。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种大环化合物, 包括所述化合物的对映体、立体异构体、外消旋体和互变异构体、所述化合物的药学上可接受的盐或溶剂合物,
- 5 所述化合物具有在式 I 中显示的通式结构:



式 I

其中:

- X 和 Y 独立选自以下部分: 烷基、烷基-芳基、杂烷基、杂芳基、芳基-杂芳基、烷基-杂芳基、环烷基、烷基醚、烷基-芳基醚、芳基醚、烷基氨基、芳基氨基、烷基-芳基氨基、烷基硫、烷基-芳基硫、芳基硫、烷基砷、烷基-芳基砷、芳基砷、烷基-烷基亚砷、烷基-芳基亚砷、烷基酰胺、烷基-芳基酰胺、芳基酰胺、烷基磺酰胺、烷基-芳基磺酰胺、芳基磺酰胺、烷基脲、烷基-芳基脲、芳基脲、烷基氨基甲酸酯、烷基-芳基氨基甲酸酯、芳基氨基甲酸酯、烷基-酰肼、烷基-芳基酰肼、烷基羟酰胺(hydroxamide)、烷基-芳基羟酰胺、烷基磺酰基、芳基磺酰基、杂烷基磺酰基、杂芳基磺酰基、烷基羰基、芳基羰基、杂烷基羰基、杂芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、杂芳氧基羰基、烷基氨基羰基、芳基氨基羰基、杂芳基氨基羰基或它们的组合, 前提是 X 和
- 15 烷基-芳基氨基甲酸酯、芳基氨基甲酸酯、烷基-酰肼、烷基-芳基酰肼、烷基羟酰胺(hydroxamide)、烷基-芳基羟酰胺、烷基磺酰基、芳基磺酰基、杂烷基磺酰基、杂芳基磺酰基、烷基羰基、芳基羰基、杂烷基羰基、杂芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、杂芳氧基羰基、烷基氨基羰基、芳基氨基羰基、杂芳基氨基羰基或它们的组合, 前提是 X 和
- 20 Y 可另外由选自以下的部分任选取代, 包括: 芳族、烷基、烷基-芳基、杂烷基、芳基-杂芳基、烷基-杂芳基、环烷基、烷基醚、烷基-芳基醚、烷基硫、烷基-芳基硫、烷基砷、烷基-芳基砷、烷基酰胺、烷基-芳基

酰胺、烷基磺酰胺、烷基胺、烷基-芳基胺、烷基-芳基磺酰胺、烷基脲、烷基-芳基脲、烷基氨基甲酸酯和烷基-芳基氨基甲酸酯;

- $R^1 = \text{COR}^5$ 或 B(OR)_2 , 其中 $R^5 = \text{H}$ 、 OH 、 OR^8 、 NR^9R^{10} 、 CF_3 、 C_2F_5 、 C_3F_7 、 CF_2R^6 、 R^6 、 COR^7 , 其中 $R^7 = \text{H}$ 、 OH 、 OR^8 、 $\text{CHR}^9\text{R}^{10}$ 或 NR^9R^{10} , 其中 R^6 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 独立选自 H 、烷基、芳基、杂烷基、杂芳基、环烷基、环烷基、芳基烷基、杂芳基烷基、 $\text{CH(R}^1\text{)COOR}^{11}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONR}^{12}\text{R}^{13}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)COOR}^{11}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONR}^{12}\text{R}^{13}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)R}'$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)COOR}^{11}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)CONR}^{12}\text{R}^{13}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)CONHCH(R}^4\text{)COOR}^{11}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)CONHCH(R}^4\text{)CONR}^{12}\text{R}^{13}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)CONHCH(R}^4\text{)CONHCH(R}^5\text{)COOR}^{11}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)CONHCH(R}^4\text{)CONHCH(R}^5\text{)CONR}^{12}\text{R}^{13}$, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 和 R' 独立选自 H 、烷基、芳基、杂烷基、杂芳基、环烷基、烷基-芳基、烷基-杂芳基、芳基-烷基和杂芳烷基;

Z 选自 O 、 N 或 CH ;

- W 可存在或者不存在, 如果 W 存在, W 选自 C=O 、 C=S 或 SO_2 ;

Q 可存在或者不存在, 当 Q 存在时, Q 为 CH 、 N 、 P 、 $(\text{CH}_2)_p$ 、 $(\text{CHR})_p$ 、 $(\text{CRR}')_p$ 、 O 、 NR 、 S 或 SO_2 ; 当 Q 不存在时, M 也不存在, 且 A 直接连接于 X;

- A 为 O 、 CH_2 、 $(\text{CHR})_p$ 、 $(\text{CHR-CHR}')_p$ 、 $(\text{CRR}')_p$ 、 NR 、 S 、 SO_2 或键;

E 为 CH 、 N 或 CR , 或者朝着 A、L 或 G 的双键;

G 可存在或者不存在, 当 Q 存在时, G 为 $(\text{CH}_2)_p$ 、 $(\text{CHR})_p$ 或 $(\text{CRR}')_p$; 当 G 不存在时, J 是存在的且 E 直接连接于 G 连接的碳原子;

J可不存在或者存在,当J存在时,J为 $(\text{CH}_2)_p$ 、 $(\text{CHR})_p$ 或 $(\text{CRR}')_p$ 、 SO_2 、 NH 、 NR 或 O ;当J不存在时,G存在且E直接连接于N;

L可存在或者不存在,当L存在时,L为 CH 、 CR 、 O 、 S 或 NR ;当L不存在时,则M可以不存在或者存在,并且如果M存在而L不存在时,则M直接且独立连接于E,J直接且独立连接于E;

M可存在或者不存在,当M存在时,M为 O 、 NR 、 S 、 SO_2 、 $(\text{CH}_2)_p$ 、 $(\text{CHR})_p$ 、 $(\text{CHR}-\text{CHR}')_p$ 或 $(\text{CRR}')_p$;

p为0-6的数目;和

R、R'、 R^2 、 R^3 和 R^4 独立选自H、C1-C10烷基、C2-C10链烯基、C3-C8环烷基、C3-C8杂环烷基、烷氧基、芳氧基、烷硫基、芳硫基、氨基、酰胺基、酯、羧酸、氨基甲酰基、脲、酮、醛、氰基、硝基、氧、氮、硫或磷原子,所述氧、氮、硫或磷原子的数目为0-6;
(环烷基)烷基和(杂环烷基)烷基,其中所述环烷基由3-8个碳原子、以及0-6个氧、氮、硫或磷原子组成,并且所述烷基具有1-6个碳原子;
芳基;杂芳基;烷基-芳基和烷基-杂芳基;

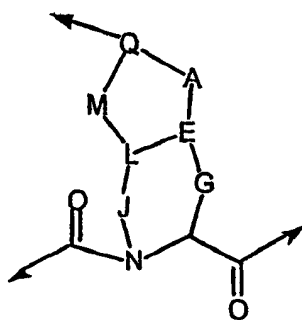
所述烷基、杂烷基、链烯基、杂链烯基、芳基、杂芳基、环烷基和杂环烷基部分可被任选取代,所述术语“取代的”指由1个或者更多个选自以下的部分任选且适宜取代:烷基、链烯基、炔基、芳基、芳烷基、环烷基、杂环基、卤素、羟基、硫代基、烷氧基、芳氧基、烷硫基、芳硫基、氨基、酰胺基、酯、羧酸、氨基甲酸酯、脲、酮、醛、氰基、硝基、氨磺酰基、亚砷、砷、磺酰脲、酰肼和异羟肟酸酯。

2. 权利要求1的化合物,其中 $\text{R}^1 = \text{COR}^5$,且 R^5 为H、OH、 COOR^8 、 $\text{CONR}^9\text{R}^{10}$ 。

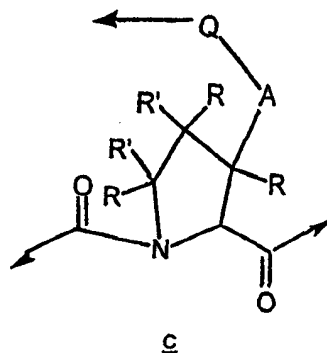
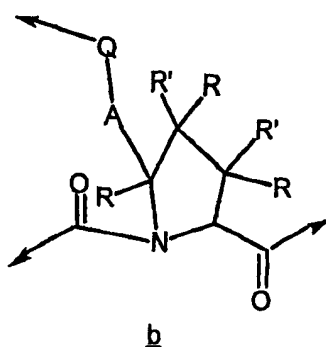
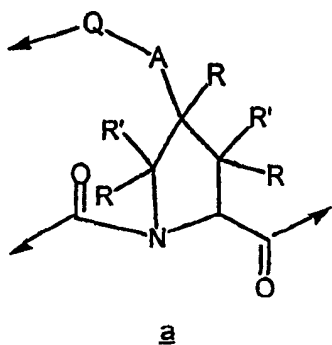
3. 权利要求2的化合物,其中 $\text{R}^1 = \text{COCONR}^9\text{R}^{10}$,且 R^9 为H,
 R^{10} 为H、 $\text{CH}(\text{R}^{1'})\text{COOR}^{11}$ 、 $\text{CH}(\text{R}^{1'})\text{CONR}^{12}\text{R}^{13}$ 、
 $\text{CH}(\text{R}^{1'})\text{CONHCH}(\text{R}^{2'})\text{COOR}^{11}$ 、 $\text{CH}(\text{R}^{1'})\text{CONHCH}(\text{R}^{2'})\text{CONR}^{12}\text{R}^{13}$ 、
 $\text{CH}(\text{R}^{1'})\text{CONHCH}(\text{R}^{2'})\text{R}'$ 。

4. 权利要求3的化合物,其中 $\text{R}^{10} =$

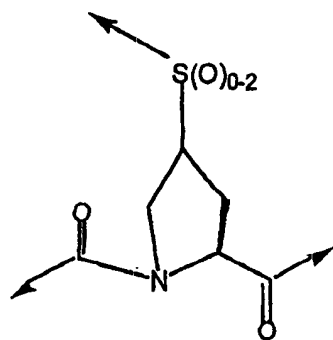
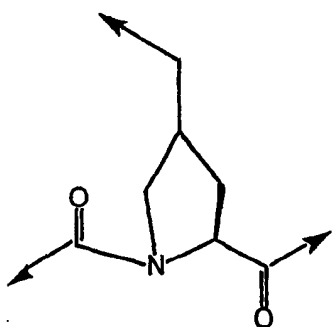
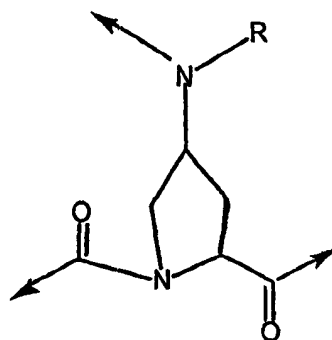
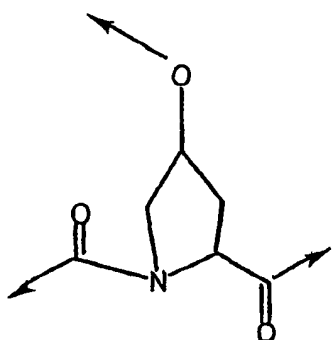
9. 权利要求 8 的化合物, 其中 L 和 M 不存在, J 直接连接于 E。
10. 权利要求 8 的化合物, 其中 L、J 和 M 不存在, E 直接连接于 N。
11. 权利要求 8 的化合物, 其中 G 和 M 不存在。
- 5 12. 权利要求 8 的化合物, 其中所述部分:



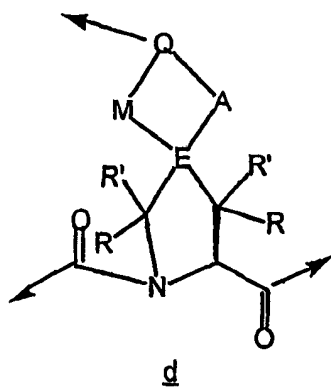
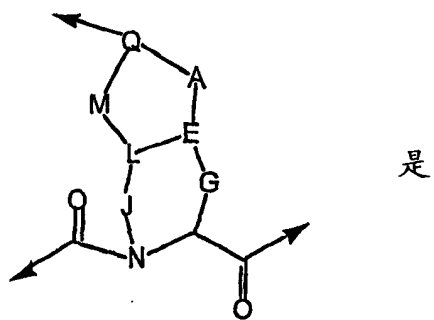
选自以下结构 a、b 或 c:



13. 权利要求 12 的化合物，其中结构 a 选自以下结构：

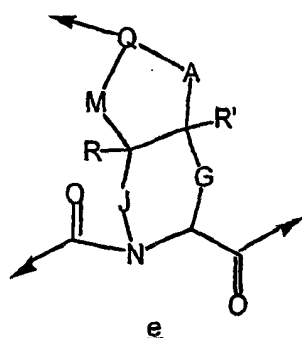
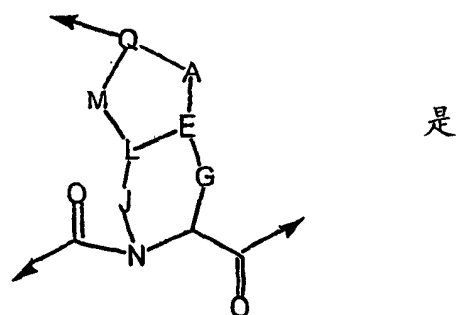


14. 权利要求 8 的化合物，其中



其中 M 可存在或不存在，并且如果 M 不存在，则 Q 连接于 E。

15. 权利要求 8 的化合物, 其中

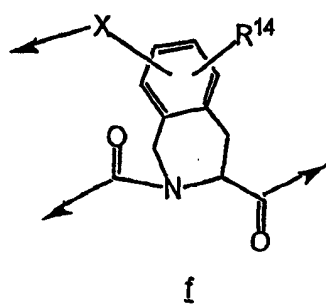
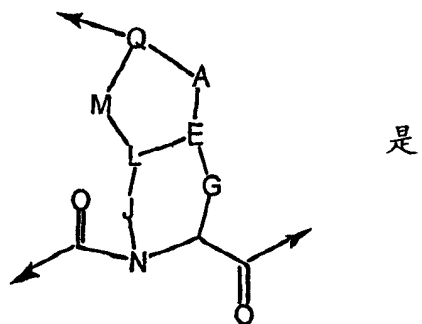


其中 G 和 J 独立选自 $(CH_2)_p$ 、 $(CHR)_p$ 、 $(CHR-CHR')_p$ 和 $(CRR')_p$; A 和 M 独立选自 O、S、 SO_2 、NR、 $(CH_2)_p$ 、 $(CHR)_p$ 、 $(CHR-CHR')_p$ 和 $(CRR')_p$;

5 且 Q 为 CH、CR 或 N。

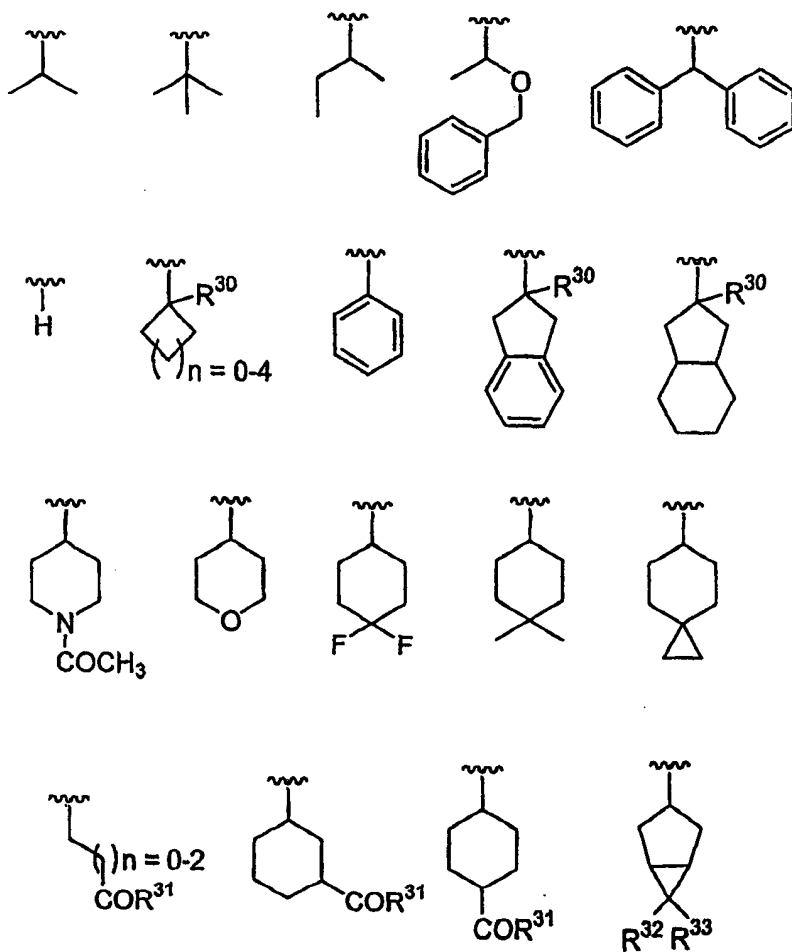
16. 权利要求 8 的化合物, 其中 G 和 J 独立选自 $(CH_2)_p$ 、 $(CHR)_p$ 、 $(CHR-CHR')_p$ 和 $(CRR')_p$, 且部分 A-E-L-M-Q 为由 2-8 个碳原子、0-6 个杂原子组成的芳族环, 其中 X 和 J 彼此相互为邻位、对位或间位。

17. 权利要求 16 的化合物, 其中:



其中 R^{14} 选自 H、烷基、芳基、杂烷基、杂芳基、环烷基、烷基-芳基、烷基-杂芳基、芳基-烷基和杂芳烷基。

18. 权利要求1的化合物，其中 R^3 选自：

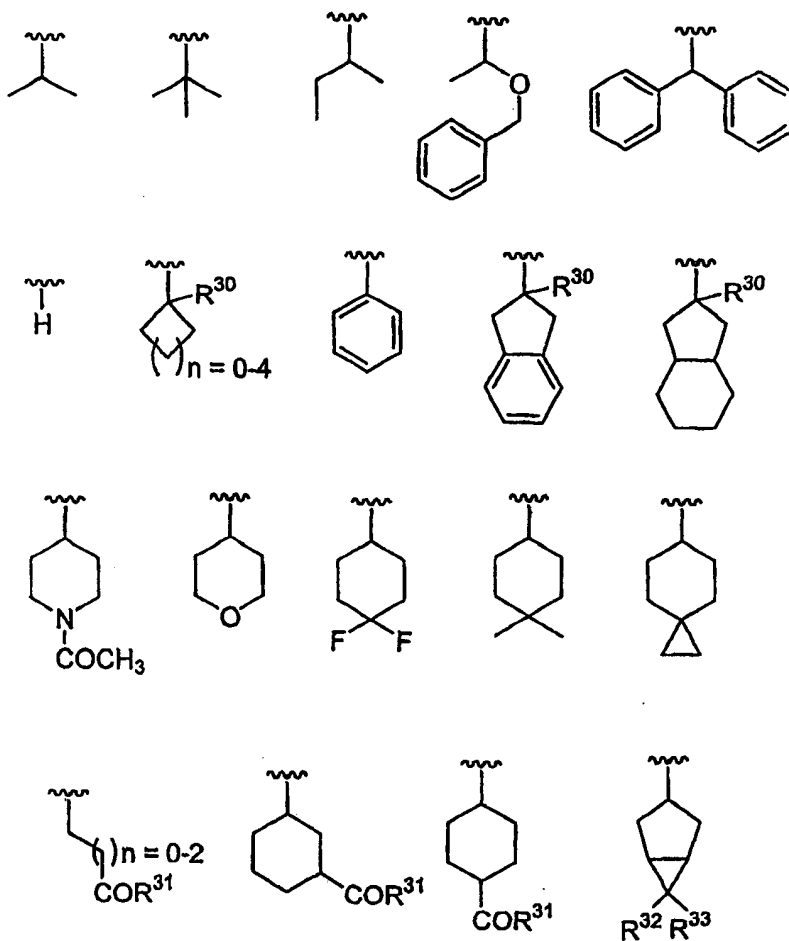


其中 $R^{30} = H$ 、 CH_3 或其它烷基；

$R^{31} = OH$ 、O-烷基、 NH_2 、N-烷基；及

5 R^{32} 和 R^{33} 可以相同或者不同并且独立选自 H、F、Cl、Br 和 CH_3 。

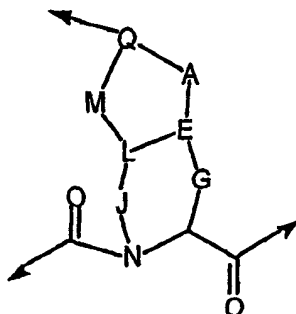
19. 权利要求 8 的化合物, 其中 R^3 选自:



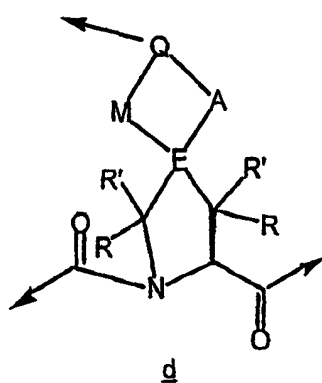
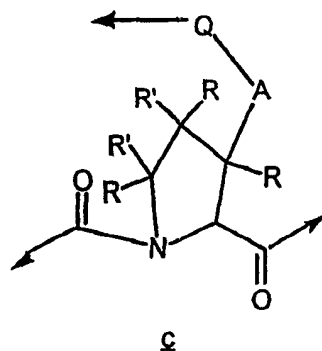
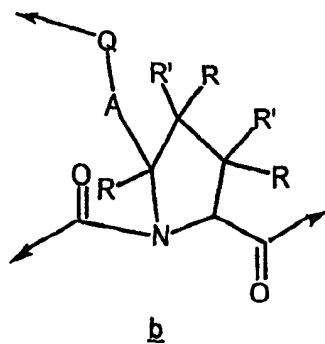
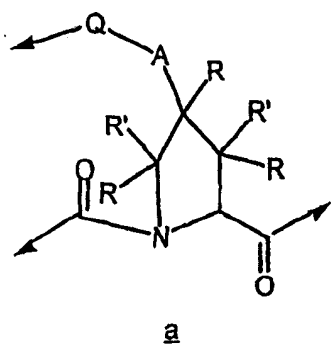
其中 $R^{30} = \text{H}$ 、 CH_3 或其它烷基;

$R^{31} = \text{OH}$ 、 O -烷基、 NH_2 、 N -烷基; 及

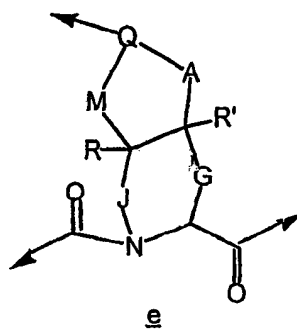
- 5 R^{32} 和 R^{33} 可以相同或者不同并且独立选自 H 、 F 、 Cl 、 Br 和 CH_3 , 和部分:



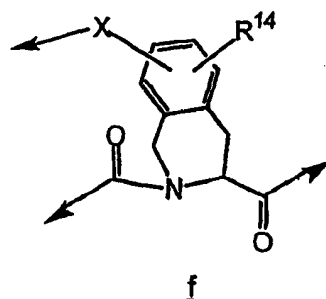
选自以下结构 a、b、c、d、e 和 f 之一:



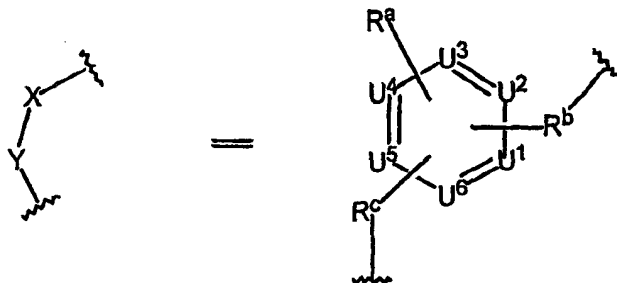
其中 M 可存在或不存在, 并且如果 M 不存在, 则 Q 连接于 E;



其中 G 和 J 独立选自 $(\text{CH}_2)_p$ 、 $(\text{CHR})_p$ 、 $(\text{CHR}-\text{CHR}')_p$ 和 $(\text{CRR}')_p$, A 和 M 独立选自 O、S、 SO_2 、NR、 $(\text{CH}_2)_p$ 、 $(\text{CHR})_p$ 、 $(\text{CHR}-\text{CHR}')_p$ 或 $(\text{CRR}')_p$, Q 为 CH、CR 或 N; 和



- 5 20. 一种权利要求 19 的化合物, 其中 $Z = \text{N}$ 和 $R^4 = \text{H}$.
21. 一种权利要求 20 的化合物, 其中 W 为 $\text{C}=\text{O}$.
22. 一种权利要求 21 的化合物, 其中部分 X-Y 选自 C1-C6 烷基、O-烷基、NR-烷基.
23. 一种权利要求 21 的化合物, 其中:



10

其中如果 Q 存在, 则 R^b 直接连接于 Q, 或者如果 Q 不存在则直接连接于 A; R^c 连接于 W; U^1 至 U^6 可为 6 元碳环, 或者含有一个或更多个杂原子的五元或六元环的一部分;

$R^a = \text{H}$ 、烷基、烷氧基、羟基、硫代基、卤素、硝基、氰基、羧酸、

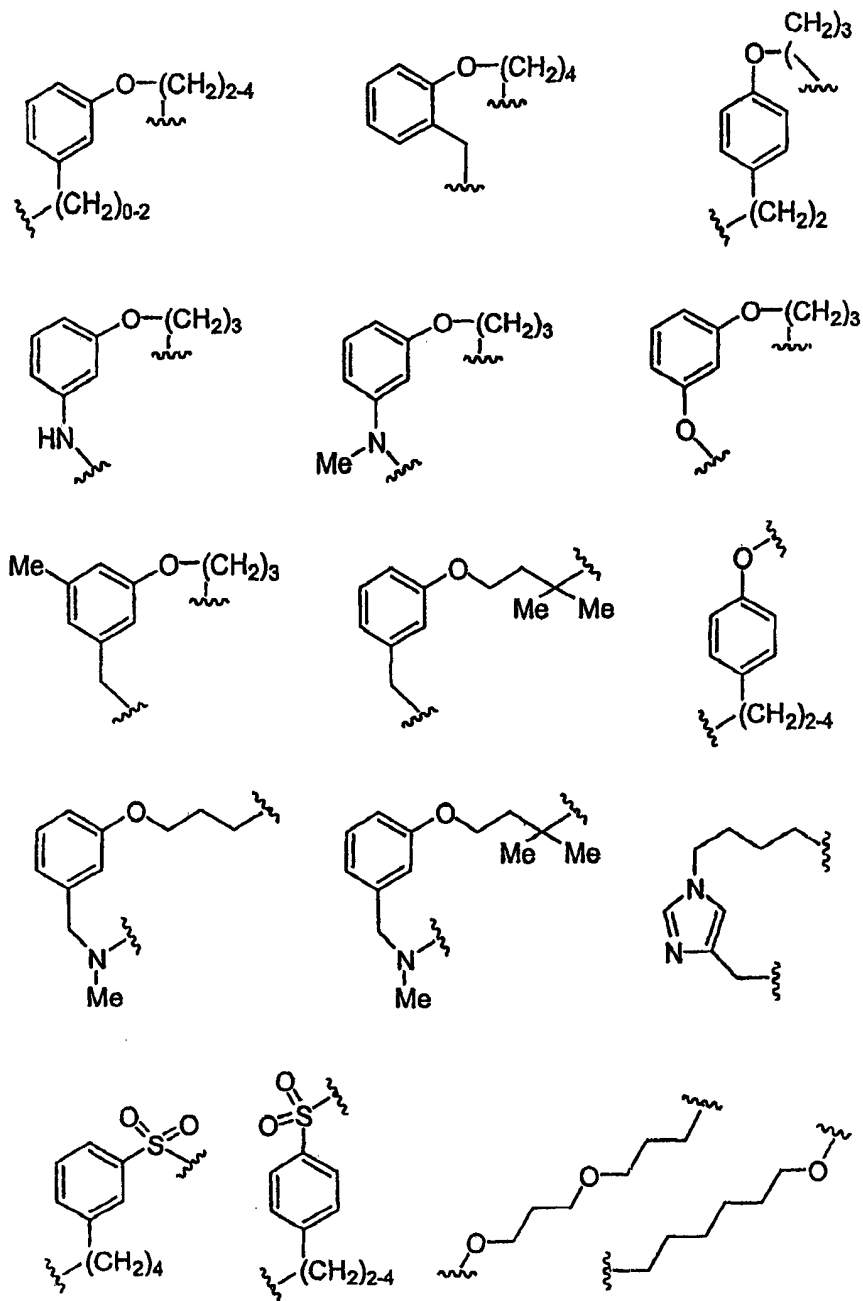
15 酯、酰胺、氨基、腈或 CF_3 ;

R^b 为键、C1-C6 烷基、C2-C6 链烯基、C2-C6 炔基、O、S、 SO_2 、NH、O(烷基)、S(烷基)、 SO_2 (烷基)或 N(烷基); 和

R^c 为键、C1-C6 烷基、C2-C6 链烯基、C2-C6 炔基、O、S、 SO_2 、NH、O(烷基)、S(烷基)、 SO_2 (烷基)、N(烷基)或 $\text{CH}_2\text{-N}$ (烷基), 其中 CH_2 连

接于芳族环。

24. 一种权利要求 21 的化合物, 其中所述部分 X-Y 选自以下结构:



25. 一种药用组合物, 它包含作为活性成分的权利要求 1 的化合物。

26. 用于治疗与 HCV 相关的疾病的权利要求 25 的药用组合物。

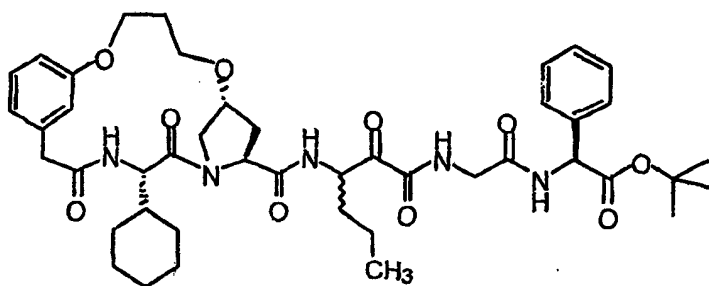
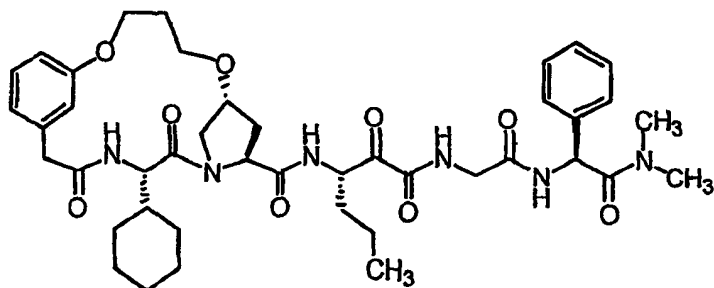
27. 权利要求 25 的药用组合物, 它还包含药学上可接受的载体。

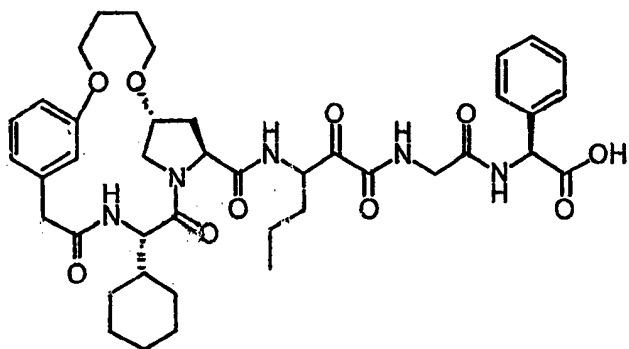
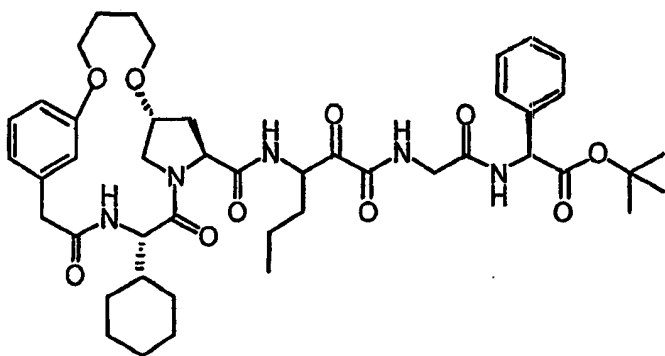
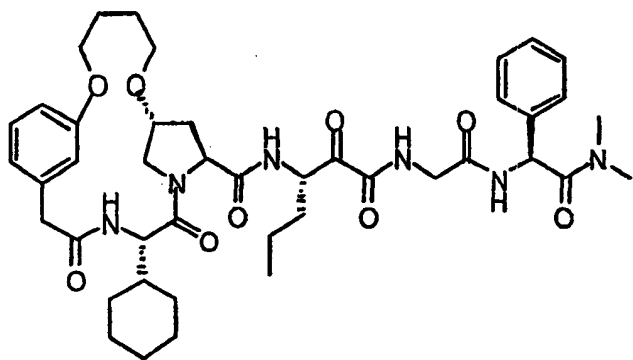
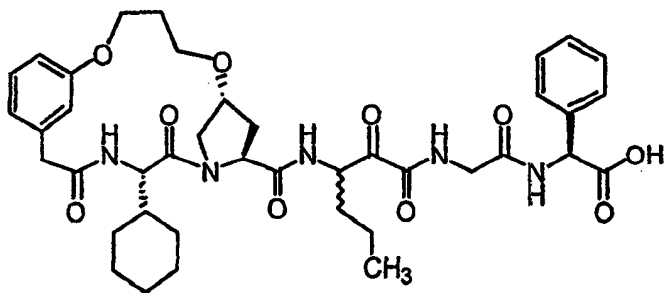
28. 一种治疗与 HCV 蛋白酶相关的疾病的方法, 所述方法包括给予需要这样治疗的患者包含治疗有效量的权利要求 1 的化合物的药用组合物。

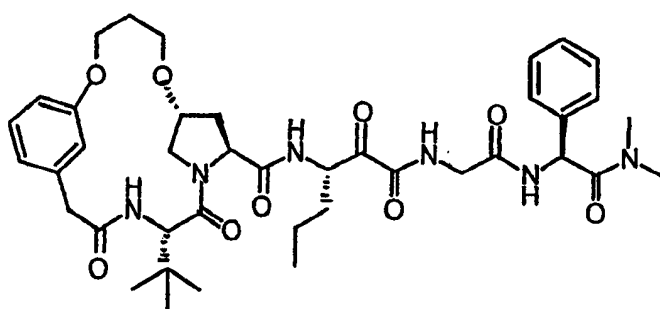
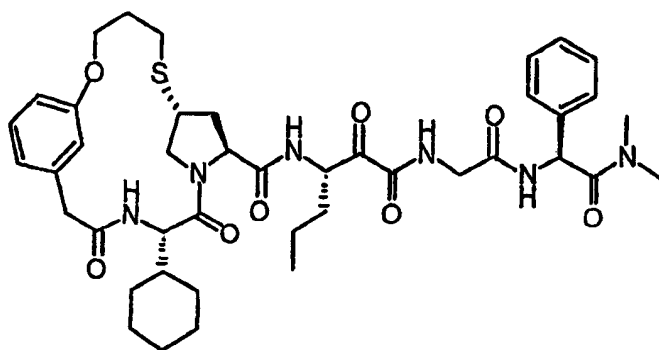
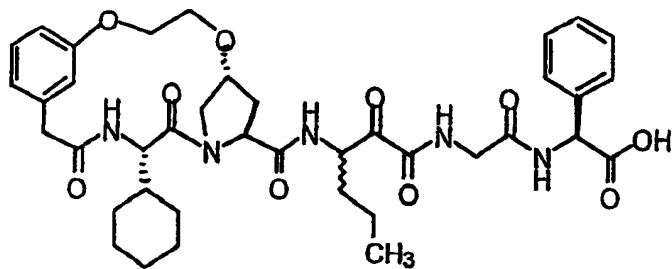
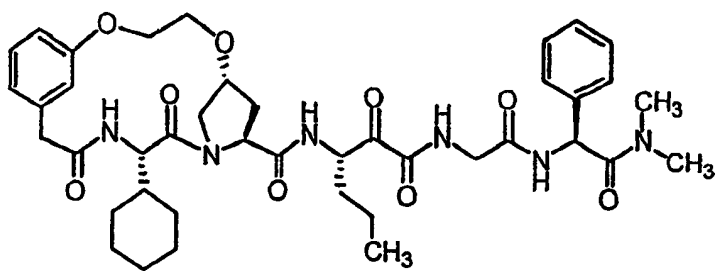
5 29. 权利要求 1 的化合物在制备治疗与 HCV 蛋白酶相关的疾病的药物中的用途。

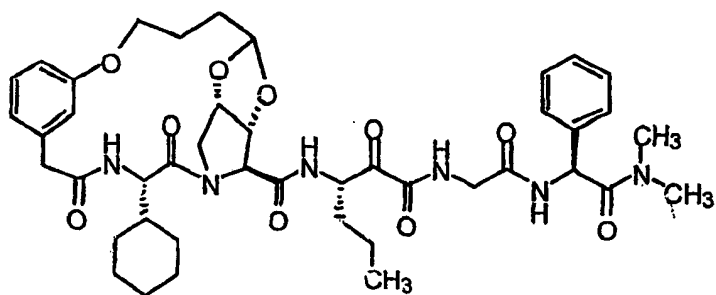
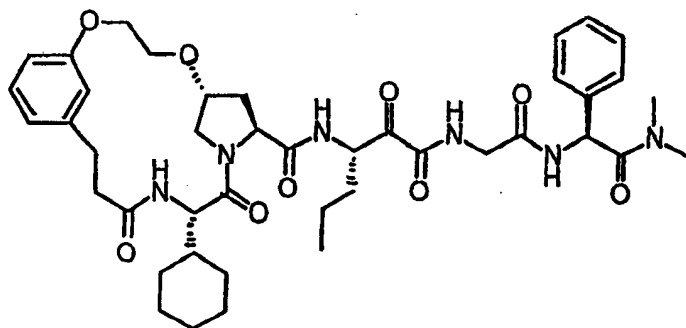
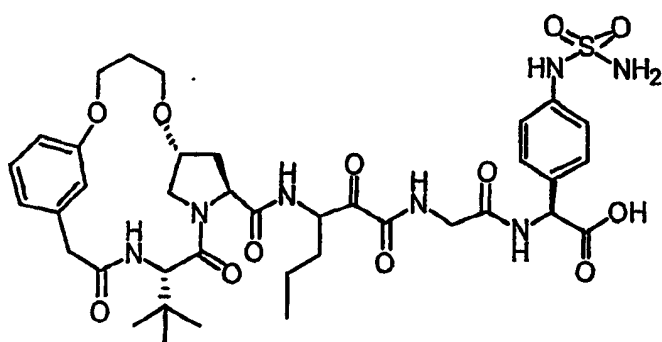
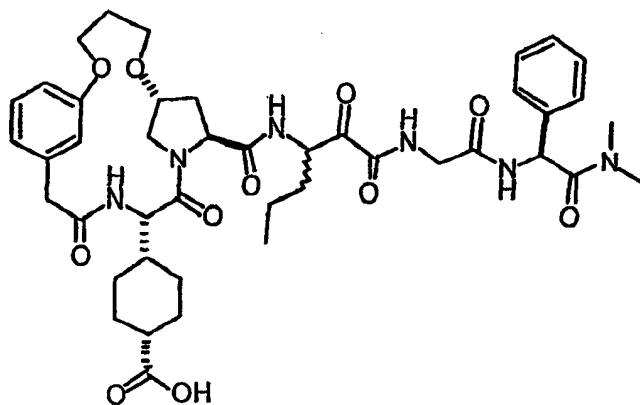
30. 一种制备用于治疗与 HCV 蛋白酶相关的疾病的药用组合物的方法, 所述方法包括使权利要求 1 的化合物与药学上可接受的载体紧密接触。

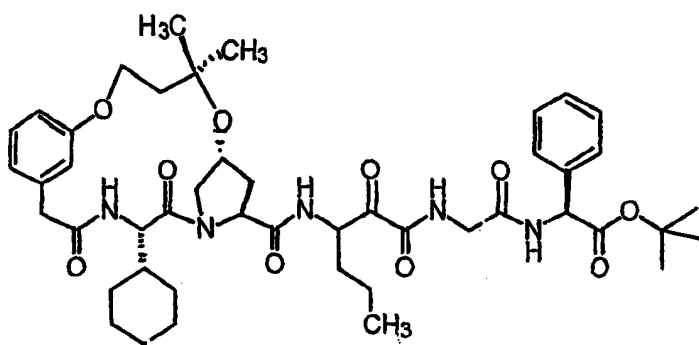
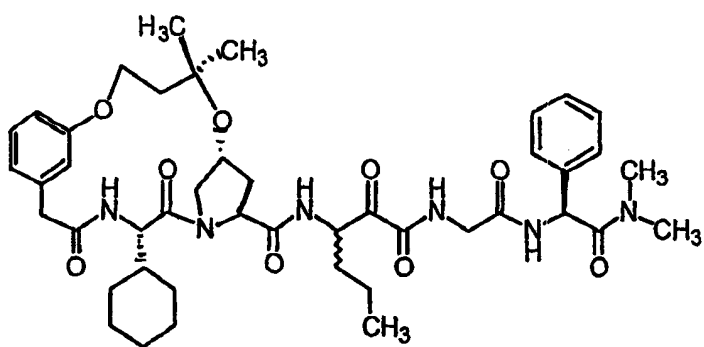
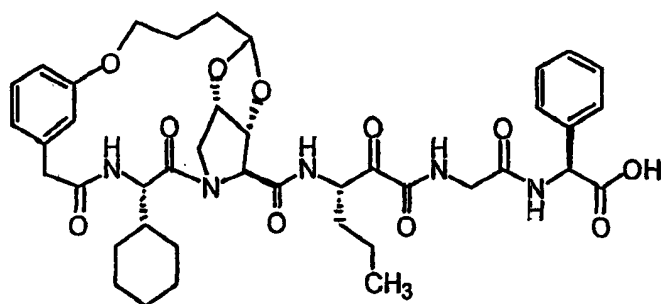
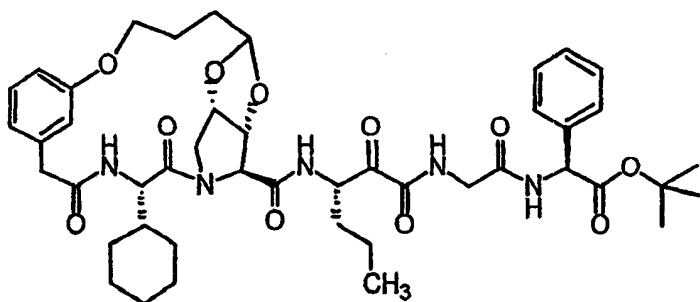
10 31. 一种显示 HCV 蛋白酶抑制活性的化合物, 包括所述化合物的对映体、立体异构体和互变异构体、所述化合物的药学上可接受的盐或溶剂合物, 所述化合物选自以下列出的结构的化合物:

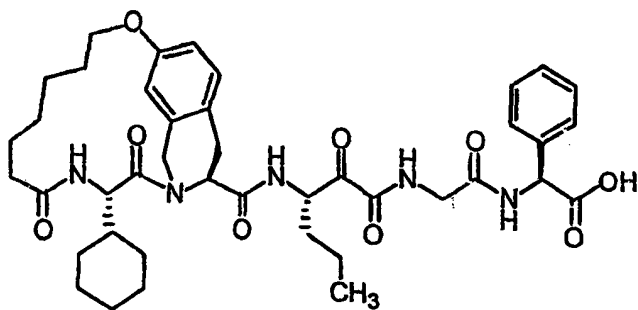
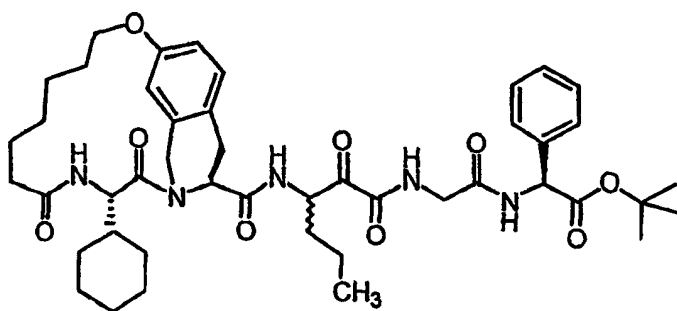
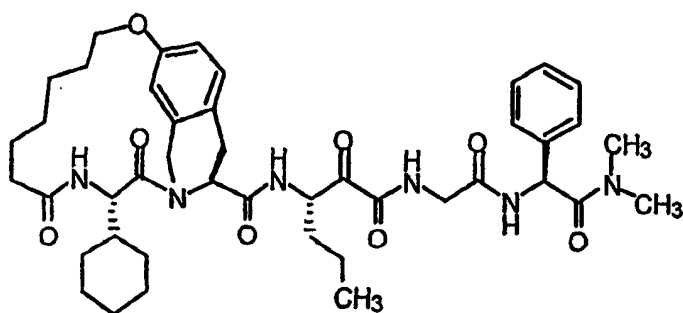
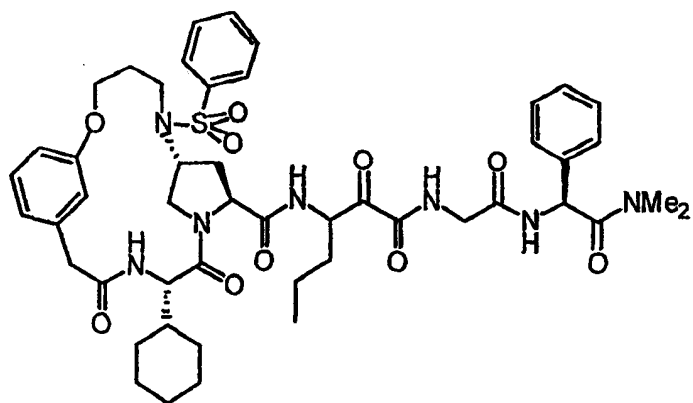


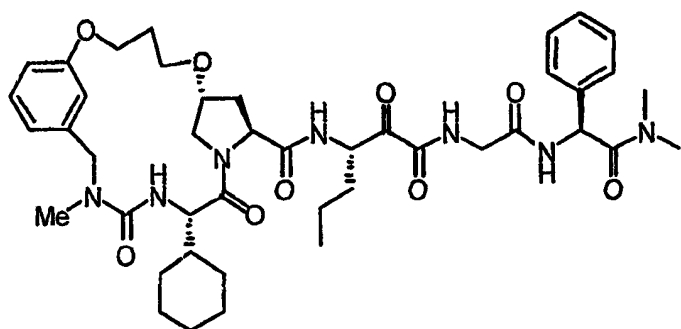
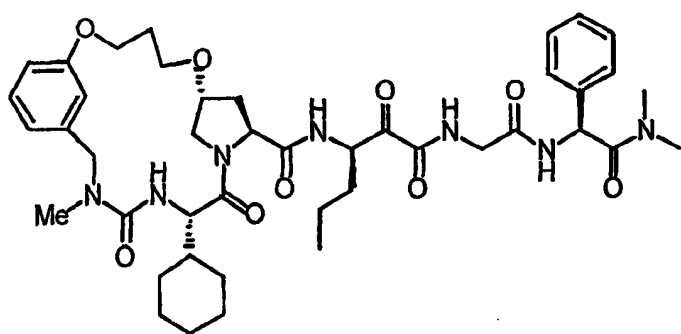
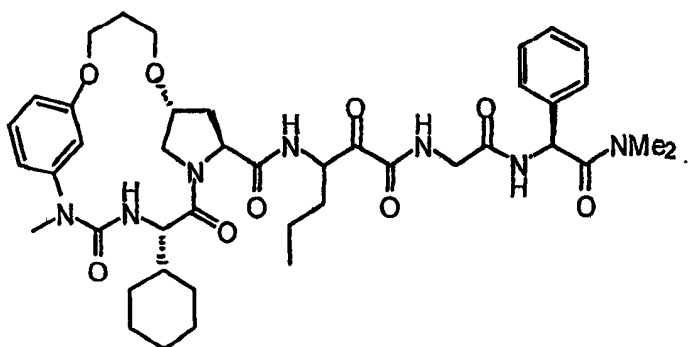
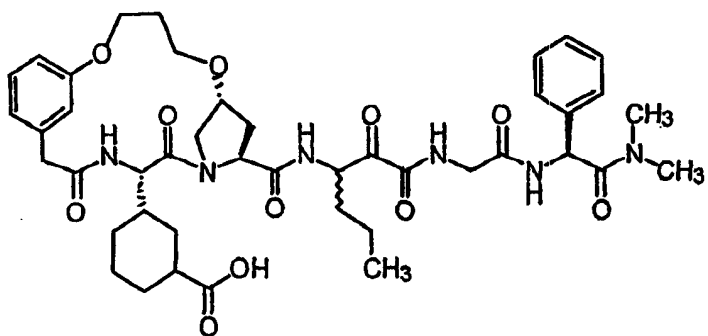


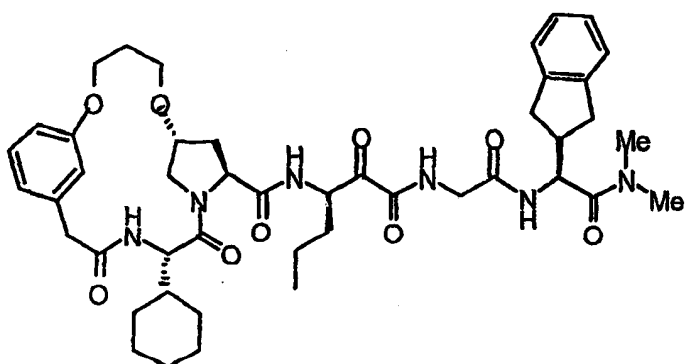
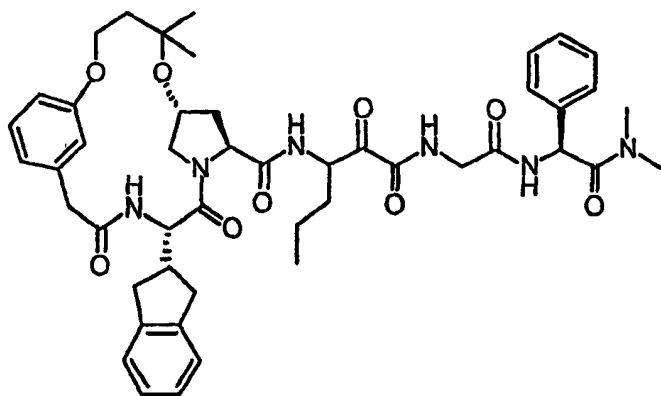
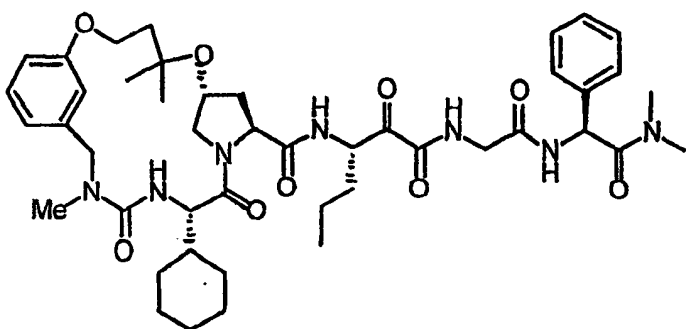
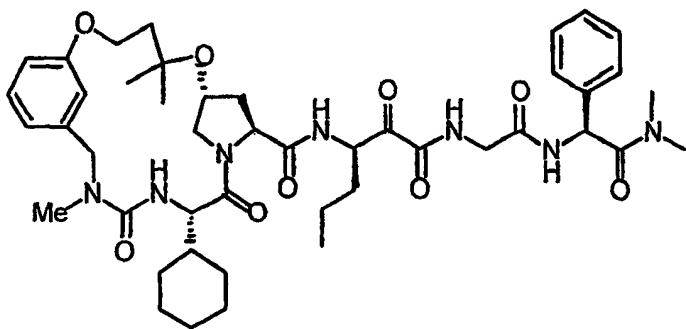


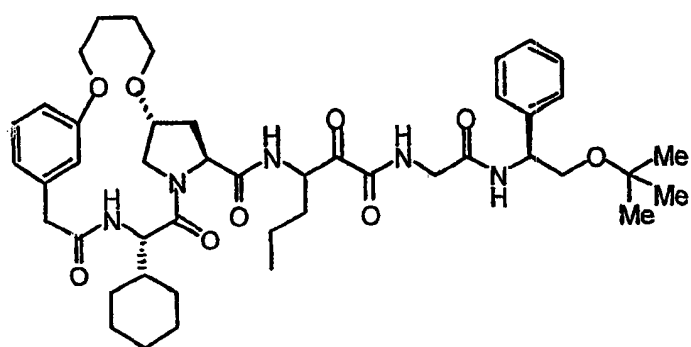
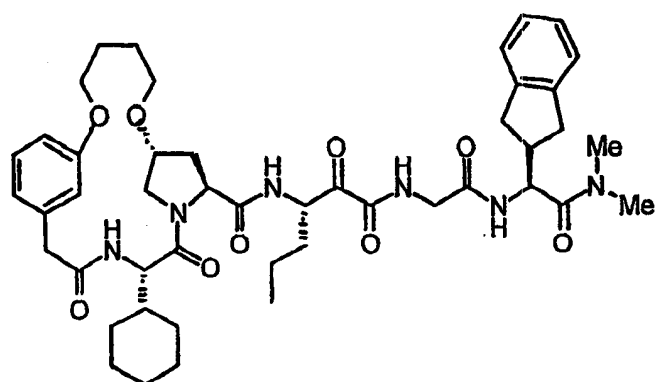
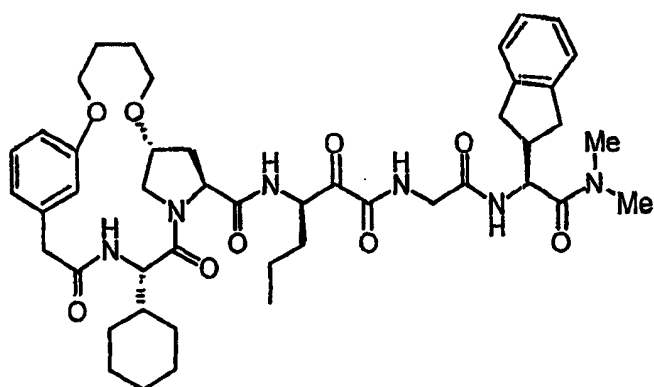
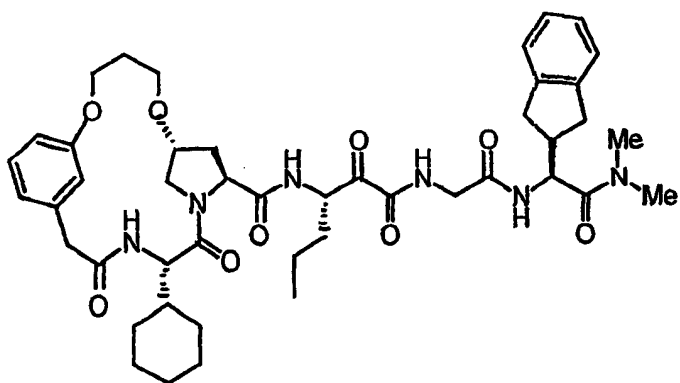


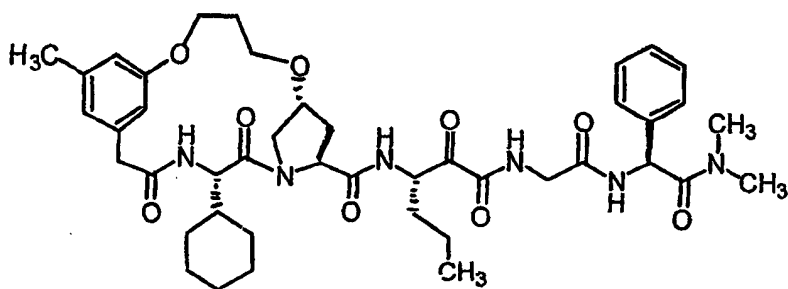
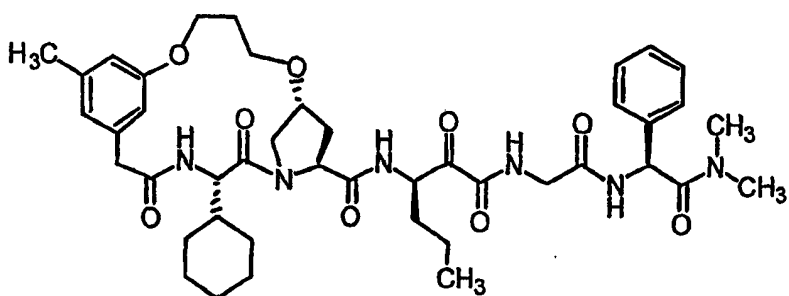
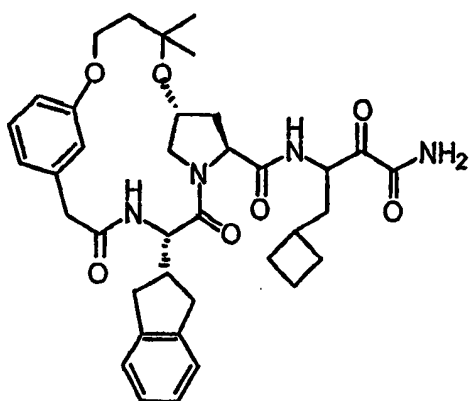


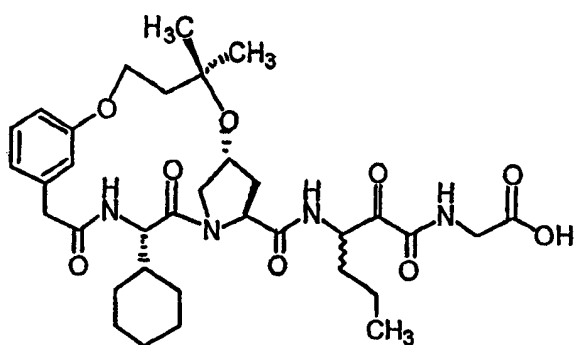
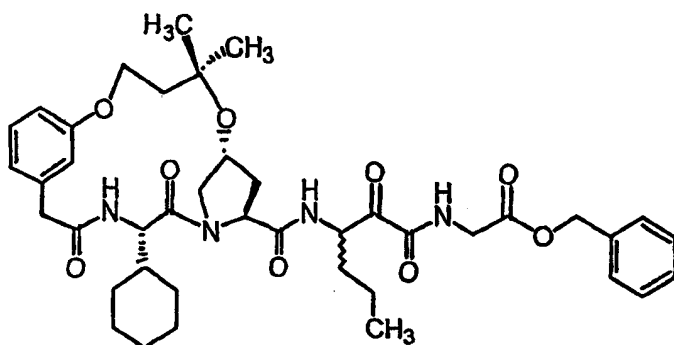
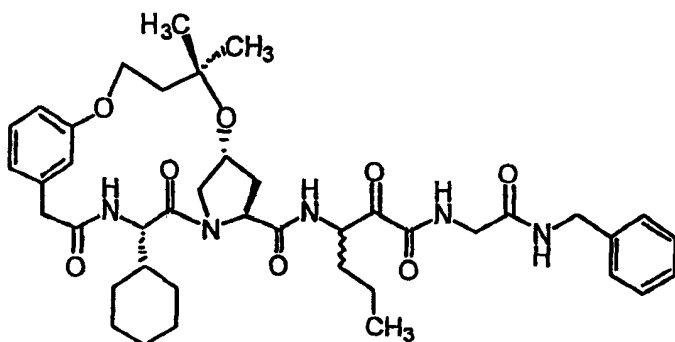
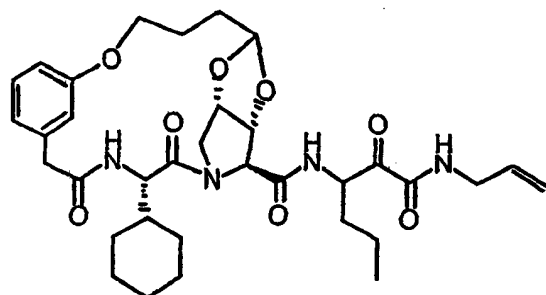


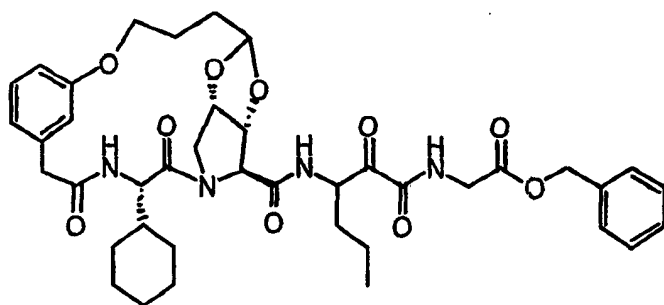
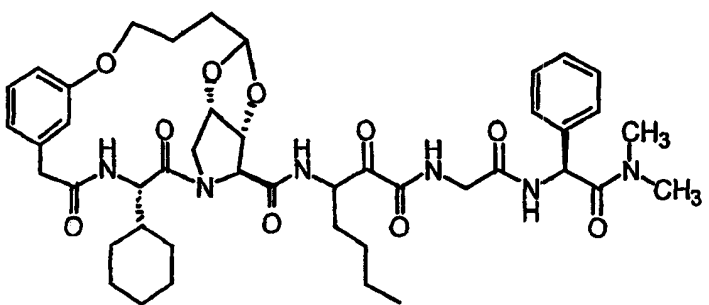
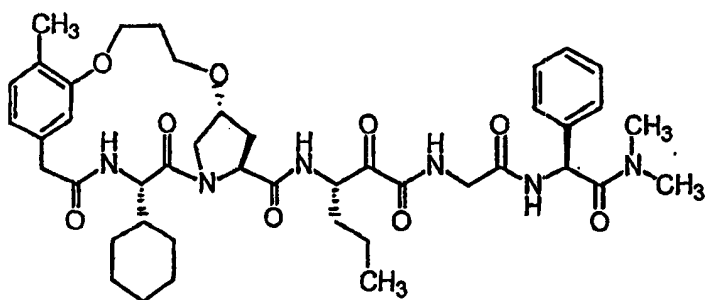
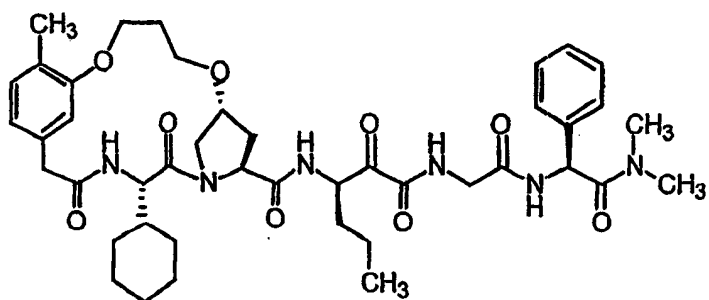


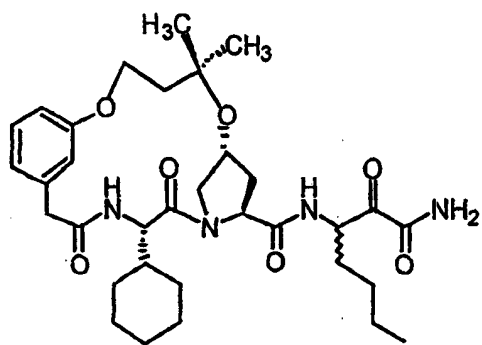
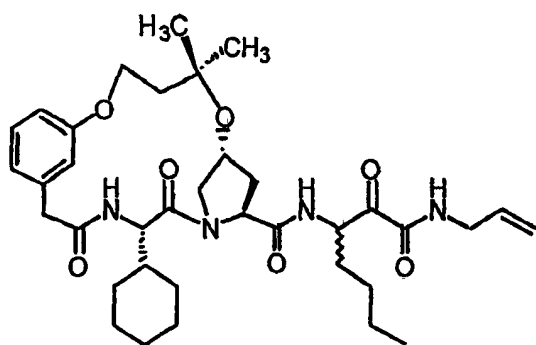
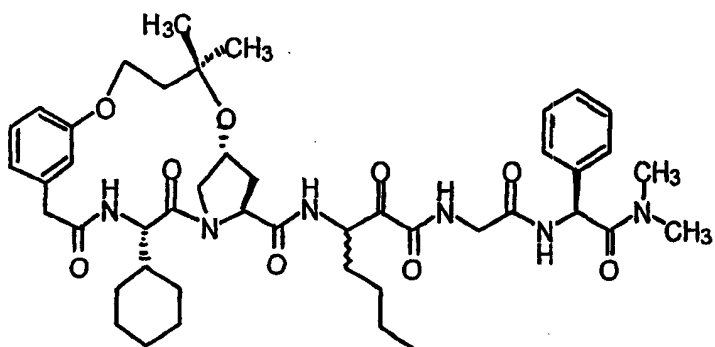
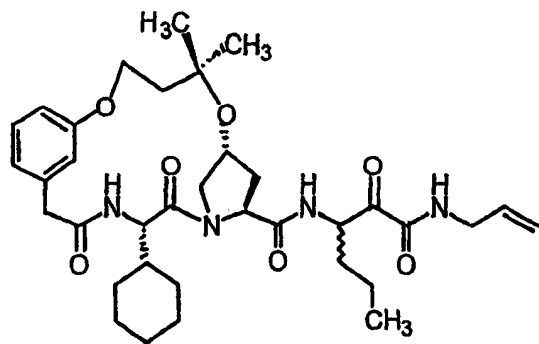


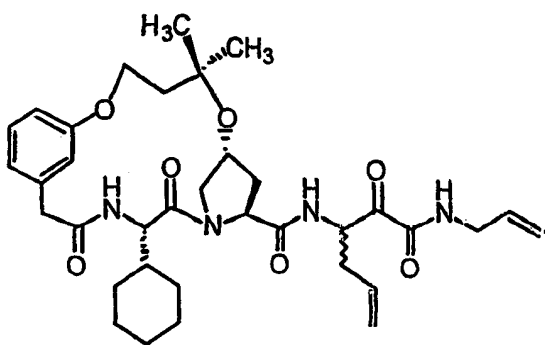
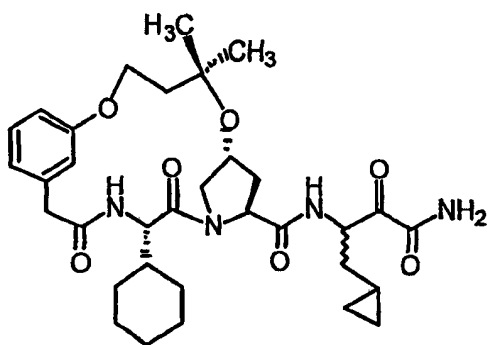
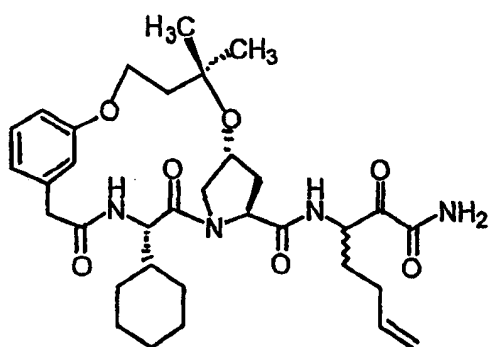
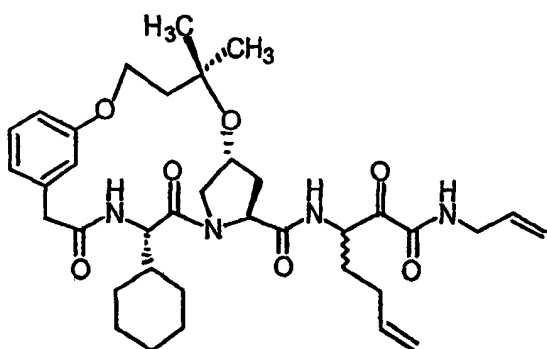


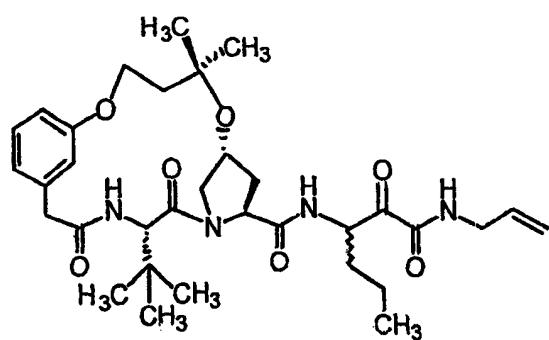
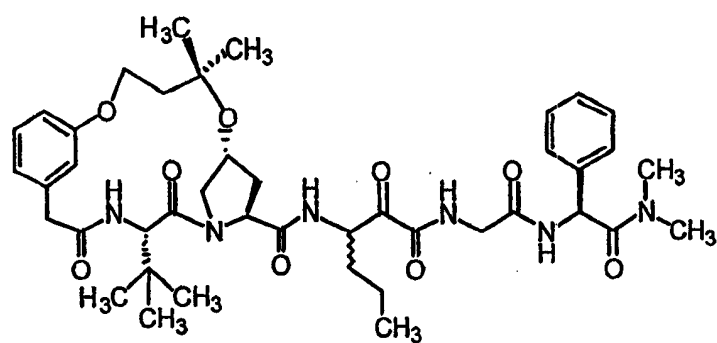
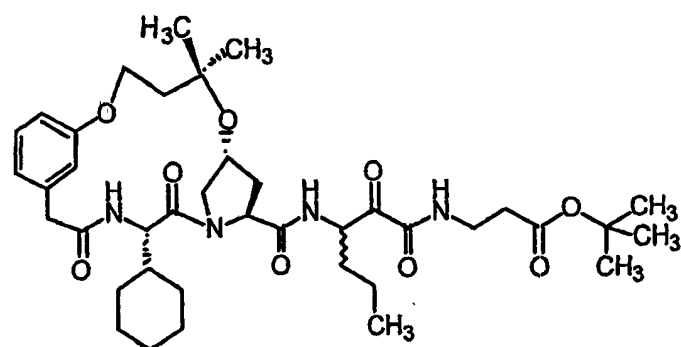
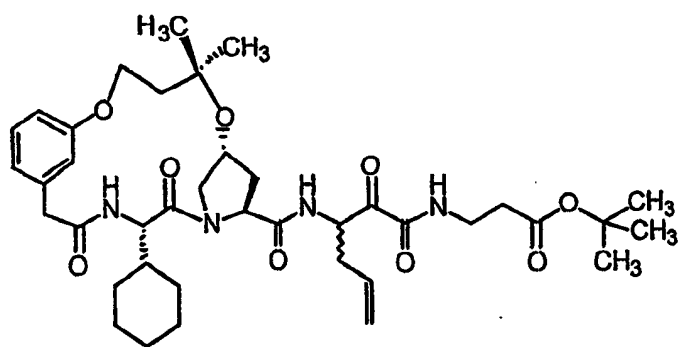


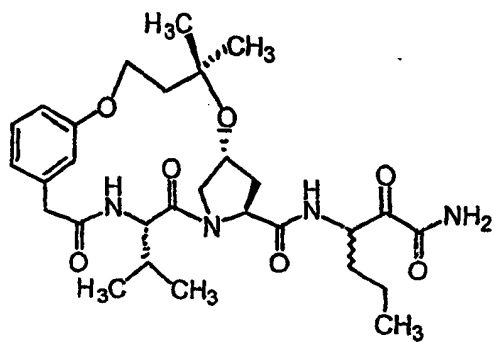
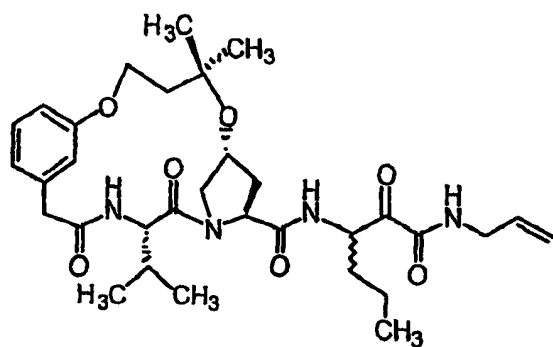
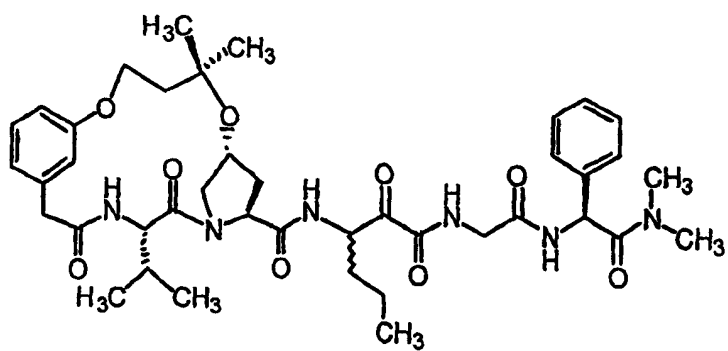
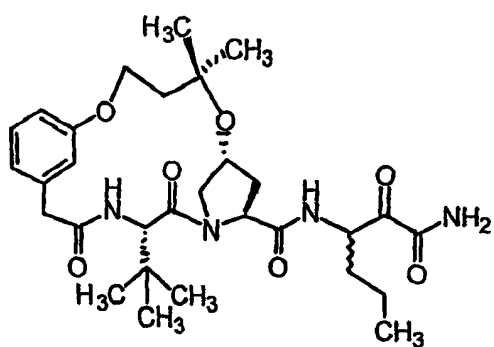


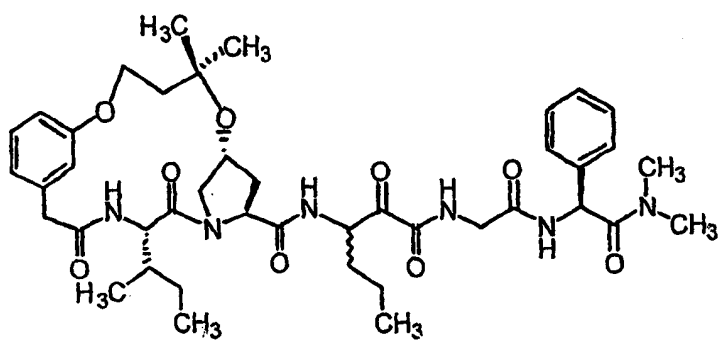
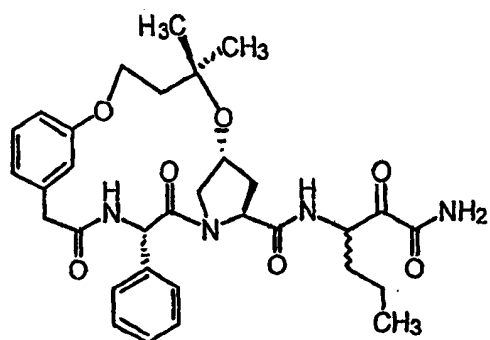
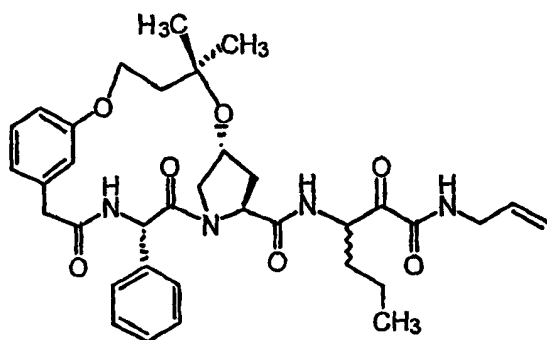
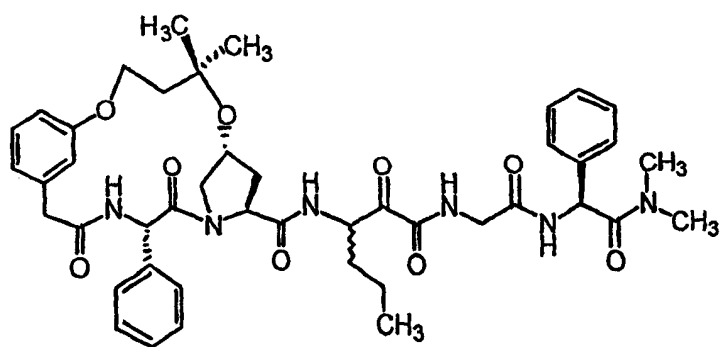


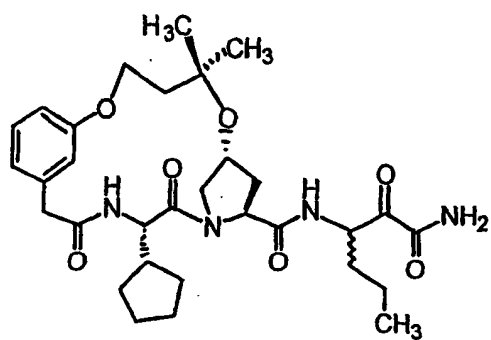
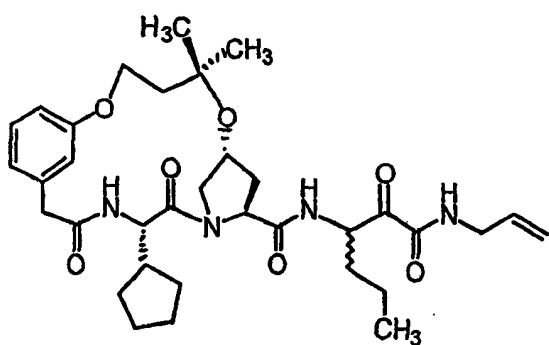
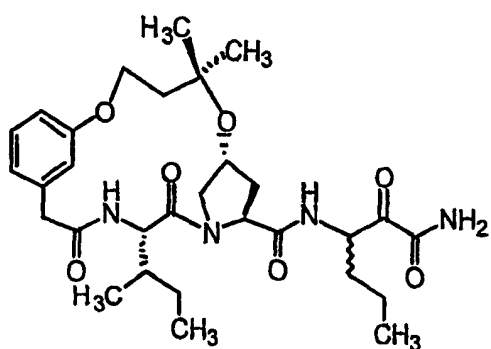
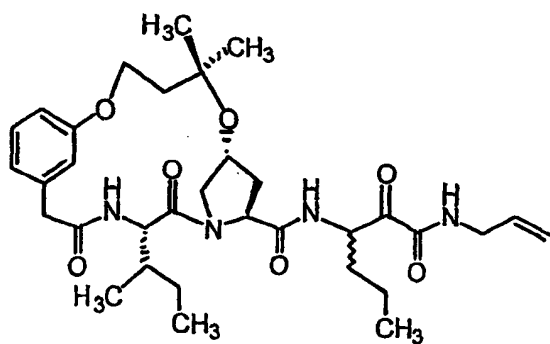


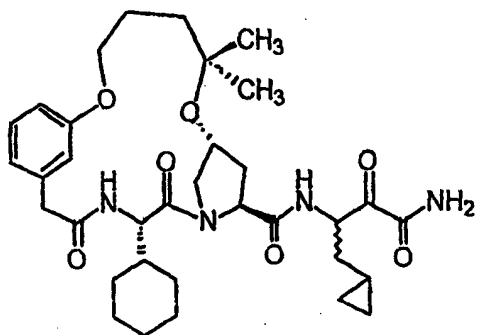
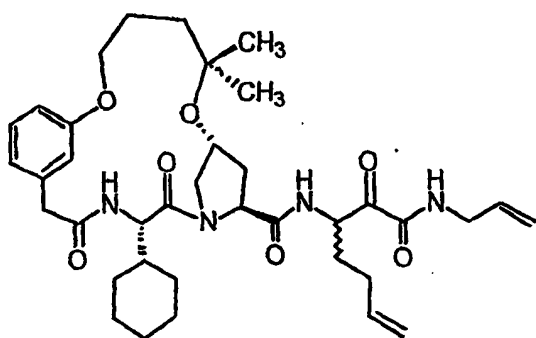
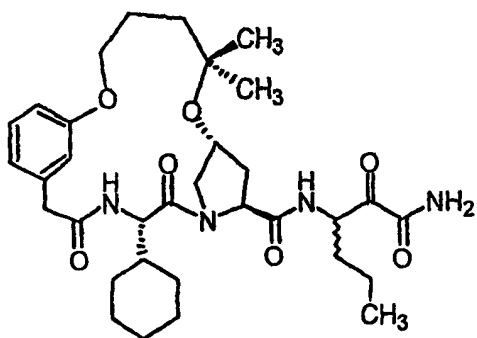
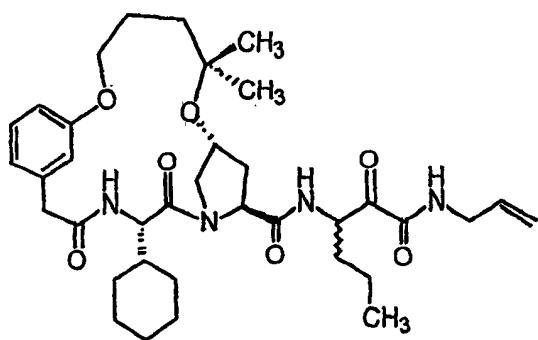


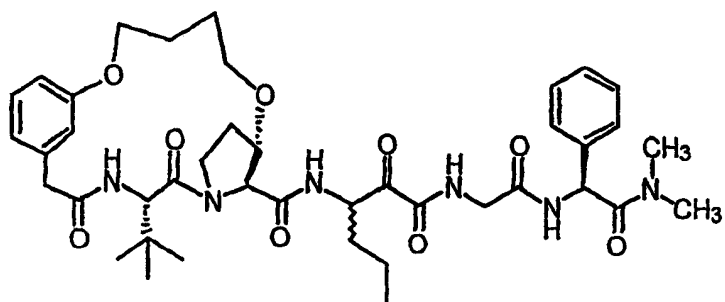
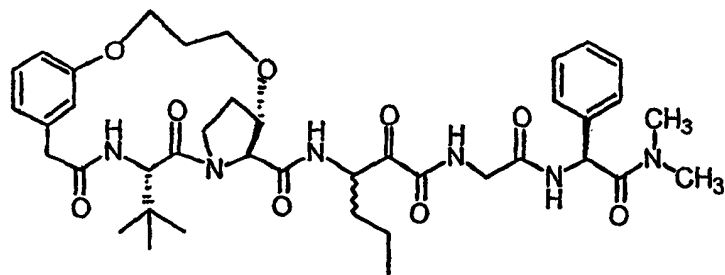












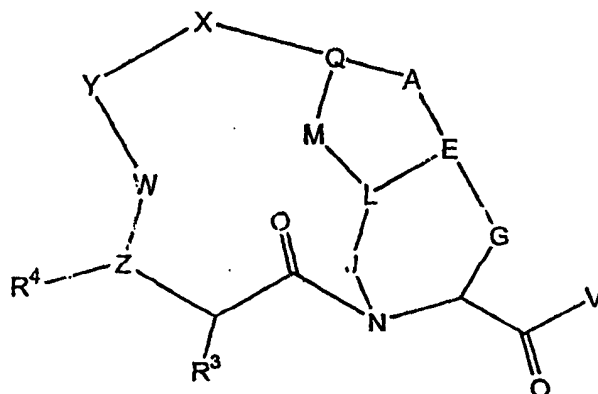
32. 一种治疗与 HCV 蛋白酶相关的疾病的药用组合物, 所述组合物包含治疗有效量的权利要求 31 中的一种或者更多种化合物和药学上可接受的载体。

5 33. 权利要求 32 的药用组合物, 它还包含抗病毒药。

34. 权利要求 32 或权利要求 33 的药用组合物, 它还包含干扰素。

35. 权利要求 34 的药用组合物, 其中所述抗病毒药为利巴韦林和所述干扰素为 α -干扰素。

36. 一种下式的化合物:



10 其中 $V = OR$ 或 NHR , 其中 R 为 H 或烷基; 且 X 、 Y 、 Q 、 A 、 M 、 W 、 L 、 E 、 G 、 J 、 Z 、 R^3 和 R^4 如在权利要求 1 中定义。

包含 N-环 P2 部分的丙型肝炎病毒的大环 NS3-丝氨酸蛋白酶抑制剂

5 发明领域

本发明涉及新的丙型肝炎病毒(“HCV”)蛋白酶抑制剂, 包含一种或更多种这样的抑制剂的药用组合物、制备这样的抑制剂的方法和使用这样的抑制剂治疗丙型肝炎和相关疾病的方法。本发明特别公开作为 HCV NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶抑制剂的新的的大环化合物。

10

发明背景

丙型肝炎病毒(HCV)为一种(+)-有义单链 RNA 病毒, 它作为主要病原体涉及非甲型、非乙型肝炎(NANBH), 尤其是与血液相关的 NANBH (BB- NANBH) (参见国际专利申请公布号 WO 89/04669 和欧洲专利申请公布号 EP 381 216)。NANBH 区别于其它类型的病毒诱导的肝疾病, 例如甲型肝炎病毒(HAV)、乙型肝炎病毒(HBV)、丁型(δ)肝炎病毒(HDV)、巨细胞病毒(CMV)和埃-巴二氏病毒(EBV)、以及区别于其它形式的肝疾病, 例如酒精中毒和原发性胆汁性肝硬化。

最近, 多肽加工和病毒复制所必需的 HCV 蛋白酶已被鉴定, 克隆和表达(参见例如美国专利号 5,712,145)。这种约 3000 个氨基酸的多蛋白, 自氨基末端至羧基末端含有核壳蛋白(C)、包膜蛋白(E1 和 E2)以及几种非结构蛋白(NS1、2、3、4a、5a 和 5b)。NS3 为约 68 kda 的蛋白, 由 HCV 基因组的约 1893 个核苷酸编码, 并且具有 2 个不同的功能域: (a)由约 200 个 N-末端氨基酸组成的丝氨酸蛋白酶功能域; 和(b)蛋白 C-末端依赖 RNA 的 ATP 酶功能域。由于蛋白质序列、整体三维结构和催化机制的相似性, NS3 蛋白酶被认为是胰凝乳蛋白酶家族的一个成员。其它胰凝乳蛋白酶样酶为弹性蛋白酶、Xa 因子、凝血酶、胰蛋白酶、血纤蛋白溶酶、尿激酶、tPA 和 PSA。HCV

NS3 丝氨酸蛋白酶担负 NS3/NS4a、NS4a/NS4b、NS4b/NS5a 和 NS5a/NS5b 接点的多肽(多蛋白)的蛋白水解,因此在病毒复制期间担负生成四种病毒蛋白。HCV NS3 丝氨酸蛋白酶已被作为抗病毒化学治疗学的具有吸引力的靶标。

- 5 已经测定 NS4a 蛋白,约 6 kda 的多肽,为 NS3 的丝氨酸蛋白酶活性的协同因子。经 NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶自动裂解的 NS3/NS4a 接点分子内(即顺式)发生,同时其它的裂解位点分子间(即反式)进行。

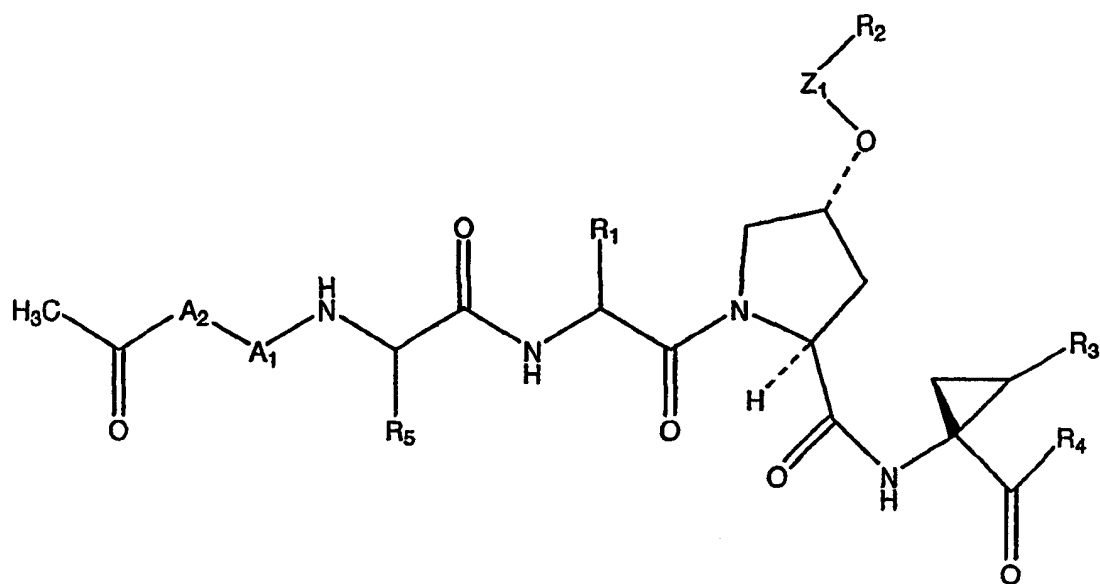
HCV 蛋白酶的天然裂解位点的分析揭示 P1 的半胱氨酸和 P1' 的丝氨酸的存在,并且这些残基完全保存在 NS4a/NS4b、NS4b/NS5a 和 NS5a/NS5b 接点内。NS3/NS4a 接点包含 P1 的苏氨酸和 P1' 的丝氨酸。NS3/NS4a 上的 Cys → Thr 取代被假设解释该接点需要顺式而不是反式加工。参见例如 Pizzi 等(1994) Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 91: 888-892, Failla 等(1996) Folding & Design 1: 35-42。NS3/NS4a 裂解位点也比其它的位点更耐受诱变。参见例如 Kollykhalov 等(1994) J. Virol. 68: 7525-7533。也已发现裂解位点的区域上游区的酸性残基需要有效的裂解。参见例如 Komoda 等(1994) J. Virol. 68: 7351-7357。

已报道的 HCV 蛋白酶抑制剂包括抗氧化剂(参见国际专利申请公布号 WO 98/14181)、某些肽类和肽类似物(参见国际专利申请公布号 WO 98/17679, Landro 等(1997) Biochem. 36: 9340-9348, Ingallinella 等(1998) Biochem. 37: 8906-8914, Llinàs-Brunet 等(1998) Bioorg. Med. Chem. Lett. 8: 1713-1718)、基于 70-氨基酸多肽水蛭蛋白酶抑制剂 c 的抑制剂(Martin 等(1998) Biochem. 37: 11459-11468, 选自人胰腺分泌胰蛋白酶抑制剂(hPSTI-C3)和小体所有组成成分(MBip)的抑制剂亲和性(Dimasi 等(1997) J. Virol. 71: 7461-7469), cV_HE2 (“camelized” 变体功能域抗体片段)(Martin 等(1997) Protein Eng. 10: 607-614)和 α 1-抗胰凝乳蛋白酶(ACT)(Elzouki 等)(1997) J. Hepat. 27: 42-28)。设计用来选择性破坏丙型肝炎病毒 RNA 的核酶最近已被公开(参见 BioWorld Today 9(217): 4(1998 年 11 月 10 日))。

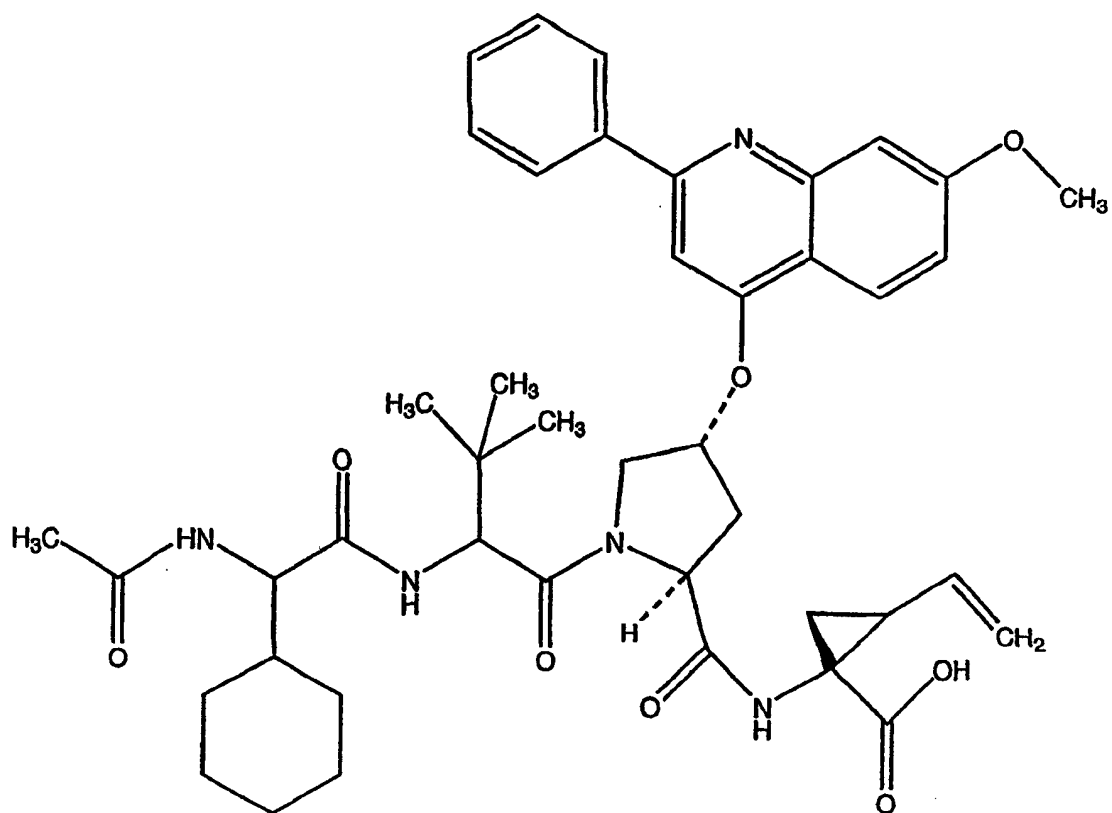
参考文献也指 1998 年 4 月 30 日公开的 PCT 公布号 WO 98/17679 (Vertex Pharmaceuticals Incorporated)、1998 年 5 月 28 日公开的 WO 98/22496 (F. Hoffmann-La Roche AG) 和 1999 年 2 月 18 日公开的 WO 99/07734 (Boehringer Ingelheim Canada Ltd)。

- 5 HCV 已参与肝硬变且参与诱导肝细胞肿瘤。患有 HCV 感染的患者预后目前是很差的。由于缺乏与 HCV 感染有关的免疫或者缓解, HCV 感染比起其它形式的肝炎更难以治疗。目前数据指明硬变诊断后四年的生存率小于 50%。据诊断患有定位可切除肝细胞肿瘤的患者具有 10-30% 的五年生存率, 而那些患有定位不可切除肝细胞肿瘤
- 10 的患者具有小于 1% 的五年生存率。

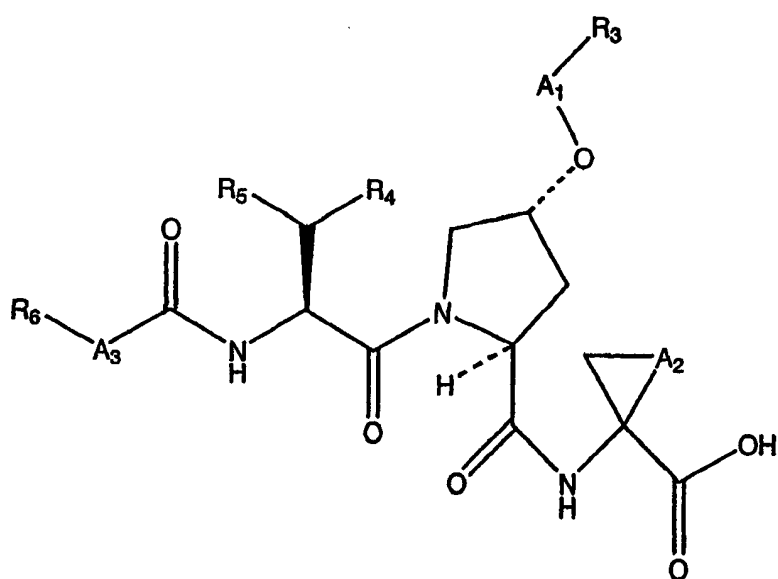
参考文献也指 WO 00/09558(受让人:Boehringer Ingelheim Limited; 2000 年 2 月 24 日公开), 它公开下式的肽衍生物:



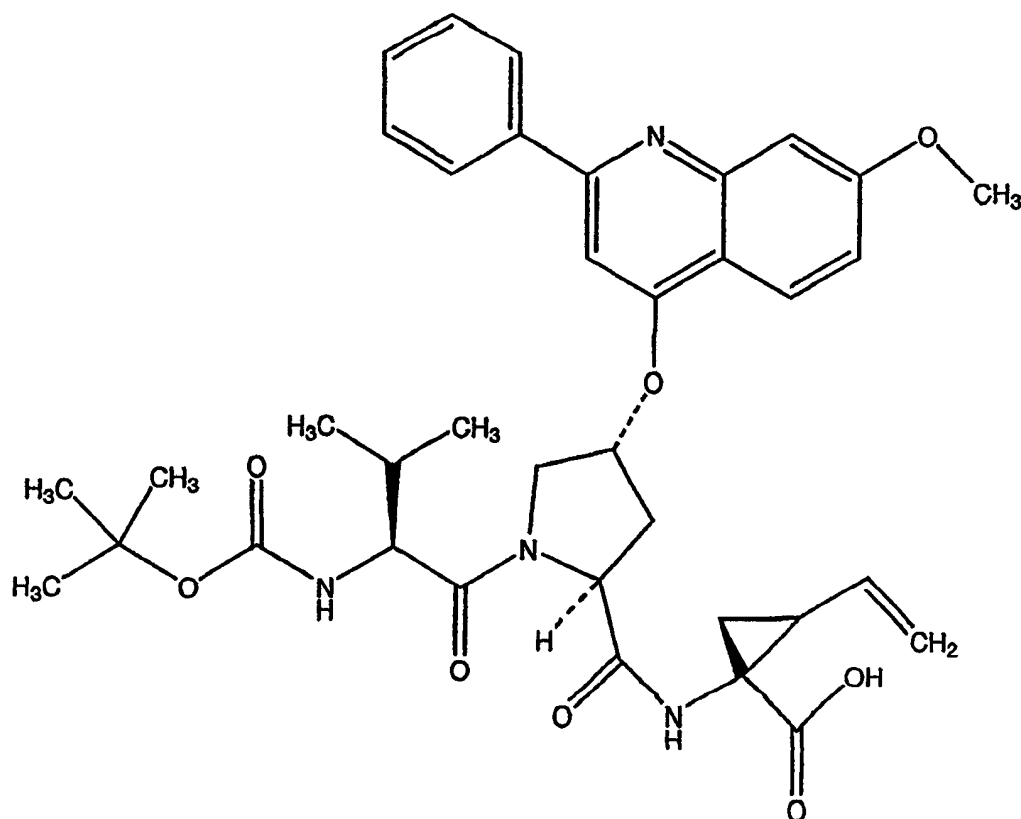
其中各种元素在此定义。该系列的示例性的化合物为：



参考文献也指 WO 00/09543(受让人: Boehringer Ingelheim Limited; 2000 年 2 月 24 日公开), 它公开下式的肽衍生物:



其中各种元素在此定义。该系列的示例性的化合物为：



丙型肝炎的现在的疗法包括干扰素- α (INF_α)和与利巴韦林和干扰素一起的联合疗法。参见例如, Beremguer 等(1998) Proc. Assoc. Am. Physicians 110(2):98-112。这些疗法经历低的持续应答率和频繁的副作用。参见例如, Hoofnagle 等(1997) N. Engl. J. Med. 336: 347。目前, 没有疫苗可用于 HCV 感染。

对丙型肝炎病毒感染存在需要新的治疗和疗法。因此, 本发明一个目的是提供用于治疗或者预防或者改善丙型肝炎的一种或更多种症状的化合物。

在此另一个目的是提供治疗或者预防或者改善丙型肝炎的一种或更多种症状的方法。

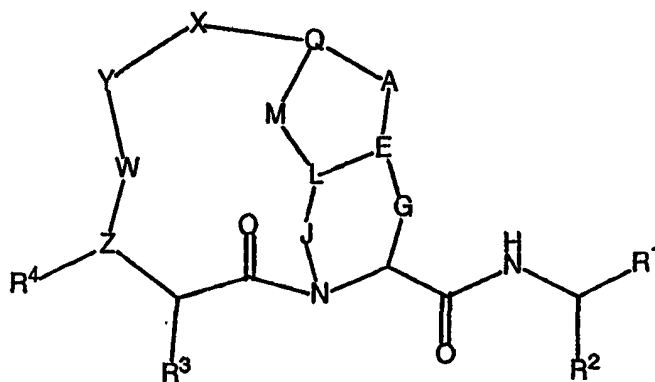
本发明另一个目的是使用在此提供的化合物来提供调节丝氨酸蛋白酶, 特别是 HCV NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶活性的方法。

在此另一个目的是使用在此提供的化合物来提供调节 HCV 多肽的加工的方法。

发明概述

5 在它的许多实施方案中，本发明提供一类新的大环 HCV 蛋白酶抑制剂，包含一种或更多种化合物的药用组合物、制备包含一种或更多种这样的化合物的药用制剂的方法、以及治疗、预防或者改善丙型肝炎的一种或更多种症状的方法。也提供调节 HCV 多肽与 HCV 蛋白酶相互作用的方法。在此提供的化合物中，抑制 HCV NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶活性的化合物为优选。目前所公开的化合物通常包含
10 约三种或者更多种氨基酸残基至少于约十二种氨基酸残基。

在它的基本实施方案中，本发明提供式 I 大环化合物：



式 I

其中：

X 和 Y 独立选自：烷基、烷基-芳基、杂烷基、杂芳基、芳基-杂芳基、烷基-杂芳基、环烷基、烷基醚、烷基-芳基醚、芳基醚、烷基氨基、芳基氨基、烷基-芳基氨基、烷基硫、烷基-芳基硫(aryl sulfide)、
20 芳基硫、烷基砜、烷基-芳基砜、芳基砜、烷基-烷基亚砜、烷基-芳基亚砜、烷基酰胺、烷基-芳基酰胺、芳基酰胺、烷基磺酰胺、烷基-芳基磺酰胺、芳基磺酰胺、烷基脲、烷基-芳基脲、芳基脲、烷基氨

基甲酸酯、烷基-芳基氨基甲酸酯、芳基氨基甲酸酯、烷基酰肼、烷基-芳基酰肼、烷基羟酰胺(hydroxamide)、烷基-芳基羟酰胺、烷基磺酰基、芳基磺酰基、杂烷基磺酰基、杂芳基磺酰基、烷基羰基、芳基羰基、杂烷基羰基、杂芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、杂芳氧基羰基、烷基氨基羰基、芳基氨基羰基、杂芳基氨基羰基或它们的组合,前提是X和Y可由选自以下的基团任选取代,包括:芳族、烷基、烷基-芳基、杂烷基、芳基-杂芳基、烷基-杂芳基、环烷基、烷基醚、烷基-芳基醚、烷基硫、烷基-芳基硫、烷基砷、烷基-芳基砷、烷基酰胺、烷基-芳基酰胺、烷基磺酰胺、烷基胺、烷基-芳基胺、烷基-芳基磺酰胺、烷基脲、烷基-芳基脲、烷基氨基甲酸酯和烷基-芳基氨基甲酸酯;

$R^1 = \text{COR}^5$ 或 B(OR)_2 , 其中 $R^5 = \text{H}$ 、 OH 、 OR^8 、 NR^9R^{10} 、 CF_3 、 C_2F_5 、 C_3F_7 、 CF_2R^6 、 R^6 、 COR^7 , 其中 $\text{R}^7 = \text{H}$ 、 OH 、 OR^8 、 $\text{CHR}^9\text{R}^{10}$ 或 NR^9R^{10} , 其中 R^6 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 独立选自 H 、烷基、芳基、杂烷基、杂芳基、环烷基、芳基烷基、杂芳基烷基、 $\text{CH(R}^1\text{)COOR}^{11}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONR}^{12}\text{R}^{13}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)COOR}^{11}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONR}^{12}\text{R}^{13}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)R}'$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)COOR}^{11}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)CONR}^{12}\text{R}^{13}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)CONHCH(R}^4\text{)COOR}^{11}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)CONHCH(R}^4\text{)CONR}^{12}\text{R}^{13}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)CONHCH(R}^4\text{)CONHCH(R}^5\text{)COOR}^{11}$ 、 $\text{CH(R}^1\text{)CONHCH(R}^2\text{)CONHCH(R}^3\text{)CONHCH(R}^4\text{)CONHCH(R}^5\text{)CONR}^{12}\text{R}^{13}$, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 和 R' 独立选自 H 、烷基、芳基、杂烷基、杂芳基、环烷基、烷基-芳基、烷基-杂芳基、芳基-烷基和杂芳烷基;

Z 选自 O 、 N 或 CH ;

W 可存在或者不存在,且如果 W 存在,W 选自 C=O、C=S 或 SO₂;

Q 可存在或者不存在,当 Q 存在时,Q 为 CH、N、P、(CH₂)_p、(CHR)_p、(CRR')_p、O、NR、S 或 SO₂;当 Q 不存在时,M 也不存在,且 A 直接连接于 X;

5 A 为 O、CH₂、(CHR)_p、(CHR-CHR')_p、(CRR')_p、NR、S、SO₂ 或键;

E 为 CH、N 或 CR,或者朝着 A、L 或 G 的双键;

10 G 可存在或者不存在,当 G 存在时,G 为(CH₂)_p、(CHR)_p或(CRR')_p;当 G 不存在时,J 是存在的且 E 直接连接于 G 连接的碳原子;

J 可不存在或者存在,当 J 存在时,J 为(CH₂)_p、(CHR)_p或(CRR')_p、SO₂、NH、NR 或 O;当 J 不存在时,G 存在且 E 直接连接于 N;

L 可存在或者不存在,当 L 存在时,L 为 CH、CR、O、S 或 NR;当 L 不存在时,则 M 可以不存在或者存在,并且如果

15 M 存在且 L 不存在时,则 M 直接且独立连接于 E;且 J 直接且独立连接于 E;

M 可存在或者不存在,当 M 存在时,M 为 O、NR、S、SO₂、(CH₂)_p、(CHR)_p、(CHR-CHR')_p或(CRR')_p;

p 为 0-6 的数目;和

20 R、R'、R²、R³和 R⁴独立选自 H、C1-C10 烷基、C2-C10 链烯基、C3-C8 环烷基、C3-C8 杂环烷基、烷氧基、芳氧基、烷硫基、芳硫基、氨基、酰胺基、酯、羧酸、氨基甲酸酯、脲、酮、醛、氰基、硝基,氧、氮、硫或磷原子,所述氧、氮、硫或磷原子的数目为 0-6;

25 (环烷基)烷基和(杂环烷基)烷基,其中所述环烷基由 3-8 个碳原子、以及 0-6 个氧、氮、硫或磷原子组成,并且所述烷基具有 1-6 个碳原子;芳基;杂芳基;烷基-芳基和烷基-杂芳基;

所述烷基、杂烷基、链烯基、杂链烯基、芳基、杂芳基、环烷基和杂环烷基部分可任选被取代,所述术语“取代的”指由 1 个或

者更多个选自以下的部分任选且适当取代, 包括: 烷基、链烯基、炔基、芳基、芳烷基、环烷基、杂环基、卤素、羟基、硫代、烷氧基、芳氧基、烷硫基、芳硫基、氨基、酰胺基、酯、羧酸、氨基甲酸酯、脲、酮、醛、氰基、硝基、氨磺酰基、亚砷、砷、磺酰脲、酰肼和异羟肟酸酯。

除非另外指明, 如本发明所属领域的技术人员普遍理解的那样, 在此使用的所有的科技术语具有相同的含义。因此, 例如, 术语烷基(包括烷氧基的烷基部分)指衍生于除去单个原子的具有 1-8 个, 优选 1-6 个碳原子的直或支链的饱和烃的单价基团;

芳基-表示具有 6-14 个碳原子且具有至少 1 个苯型环的碳环基团, 具有全部可取代的芳族碳原子的意欲作为可能的连接点的碳环基团。优选芳基包括苯基、1-萘基、2-萘基和茚满基, 尤其是苯基和取代的苯基;

芳烷基-表示含有通过低级烷基连接的芳基的部分;

烷基芳基-表示含有通过芳基连接的低级烷基的部分;

环烷基-表示具有 3-8 个, 优选 5 或 6 个碳原子的饱和的碳环, 可任选被取代;

杂环-表示(除以下定义的杂芳基以外)具有至少 1 个插入碳环结构(由 1 个环或者 2 个稠合的环组成)的 O、S 和/或 N 原子的饱和的和不饱和的环状有机基团, 其中每环为 3 至 9-元且可具有或者不具有缺乏离域 pi 电子的双键, 其环结构具有 2-8 个, 优选 3-6 个碳原子, 例如 2-或 3-吡啶基、2-或 3-吡嗪基、2-或 3-咪唑基, 或者 2-或 3-硫代咪唑基。

卤素-表示氟、氯、溴和碘;

杂芳基-表示具有至少 1 个插入碳环结构的 O、S 和/或 N 原子且具有足够数量的离域 pi 电子以提供芳族性质的环状有机基团, 芳族杂环具有 2-14 个, 优选 4 或 5 个碳原子, 例如 2-、3-或 4-吡啶基, 2-或 3-呋喃基、2-或 3-噻吩基、2-、4-或 5-噻唑基、2-或 4-咪唑基、2-、

4-或 5-嘧啶基、2-吡嗪基，或者 3-或 4-哒嗪基等。优选杂芳基为 2-、3-和 4-吡啶基；这样的杂芳基也可被任选取代。

本发明也包括式 I 化合物的互变异构体、对映体和其它的光学异构体、以及它们的药学上可接受的盐和溶剂合物。

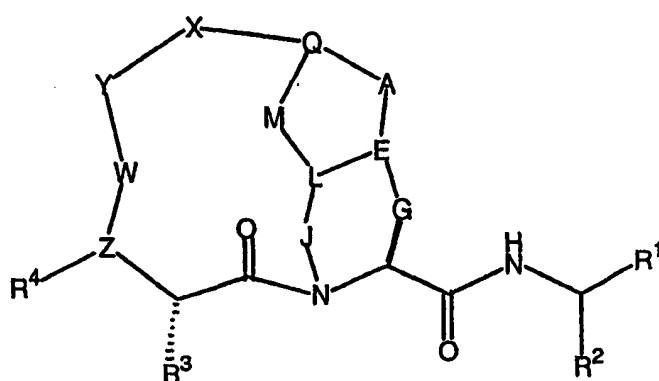
5 本发明另一个特征是包含与药学上可接受的载体或者赋形剂一起的作为活性成分的式 I 化合物(或其盐、溶剂合物或异构体)的药用组合物。

本发明也提供制备式 I 化合物的方法以及治疗例如 HCV 和相关疾病的方法。用于治疗的方法包括给予患有一种或多种所述疾病的患者治疗有效量的式 I 化合物，或者包含式 I 化合物的药用组合物。

式 I 化合物用于制备治疗 HCV 和相关疾病的药物的用途也被公开。

优选实施方案的详细描述

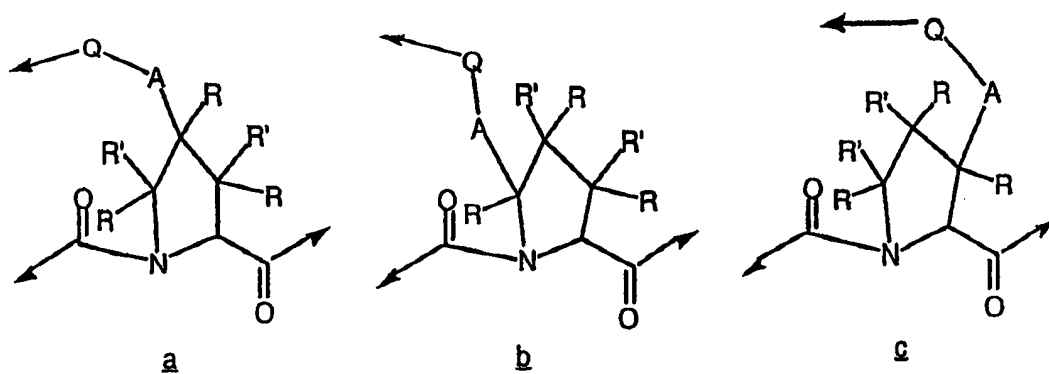
15 在一个实施方案中，本发明公开作为 HCV 蛋白酶，尤其是 HCV NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶抑制剂的式 I 化合物。在式 I 包括的化合物中，优选化合物为那些具有式 II 的化合物或其药学上可接受的衍生物，



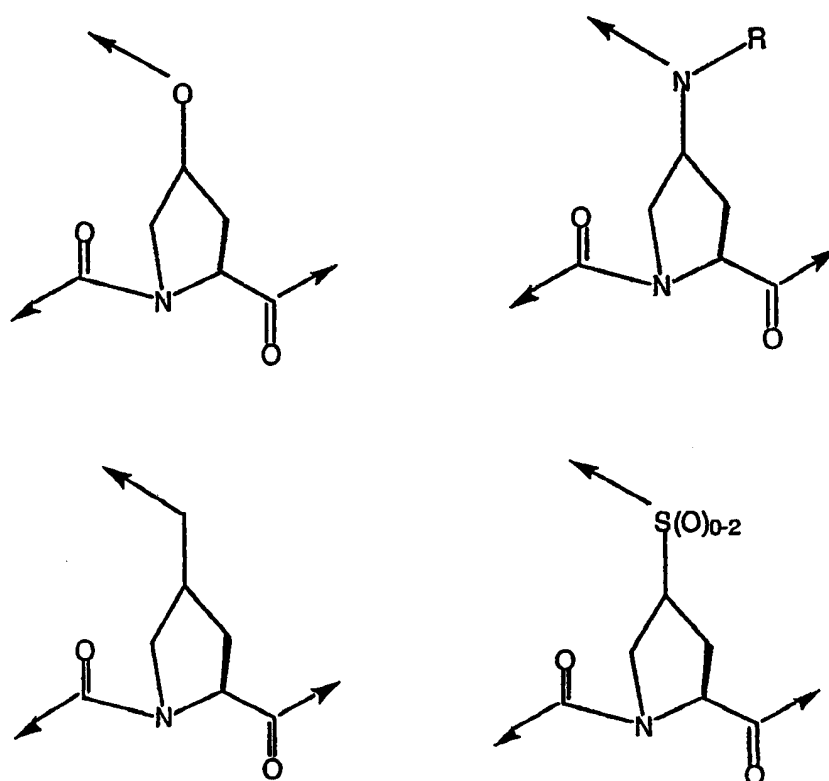
式 II

20 其各种定义如上给出。一些优选实施方案包括(但不限于)以下各种如上提及的通式 I 和 II 中的各种官能团的定义。因此，例如，式 I 中的 R²可选自以下部分：

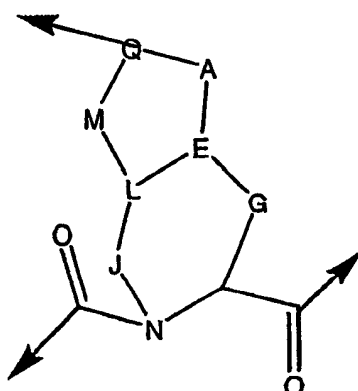
为例如以下结构 a、b 或 c:



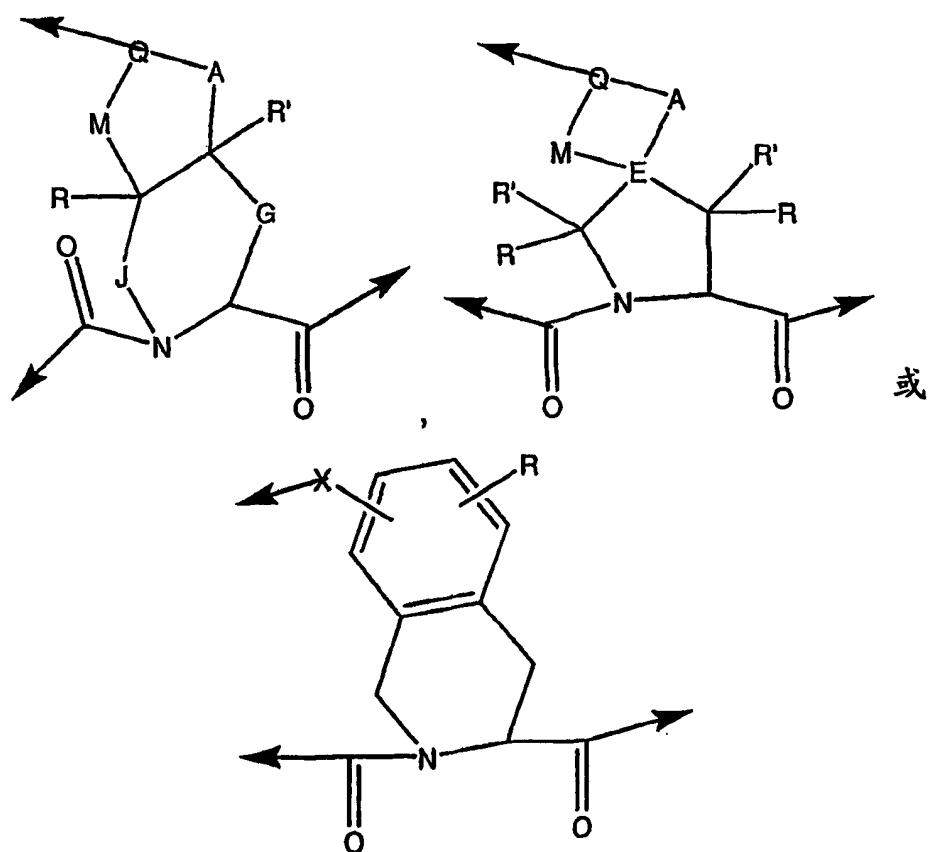
结构 a 可选自以下非限制类型的结构:



其它另外的优选实施方案为例如，其中部分：



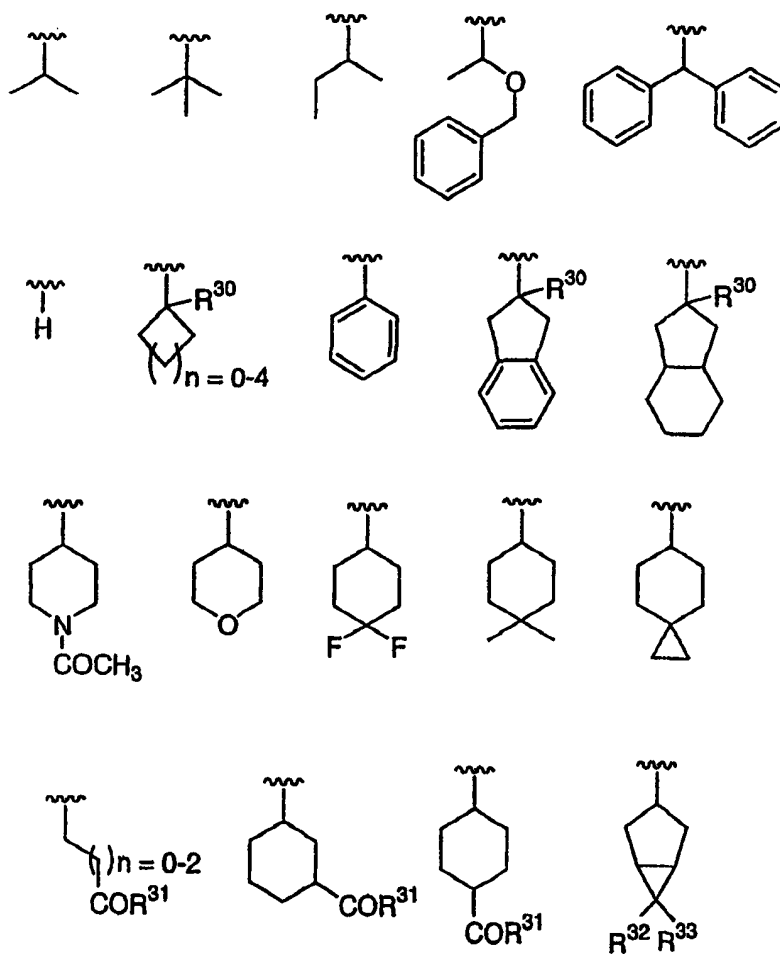
有时为以下结构，其中各种位置的定义在该部分以后显示的化合物的结构中举例说明：



5

在一些更优选的化合物中，部分 G 和 J 独立选自 $(CH_2)_p$ 、 $(CHR)_p$ 、 $(CHR-CHR')_p$ 和 $(CRR')_p$ ，且部分 A-E-L-M-Q 为由 2-8 个碳原子、0-6 个杂原子组成的芳族环，其中 X 和 J 彼此相互为邻位、对位或间位。

在其它的优选实施方案中，式 I 中的 R^3 选自以下结构：

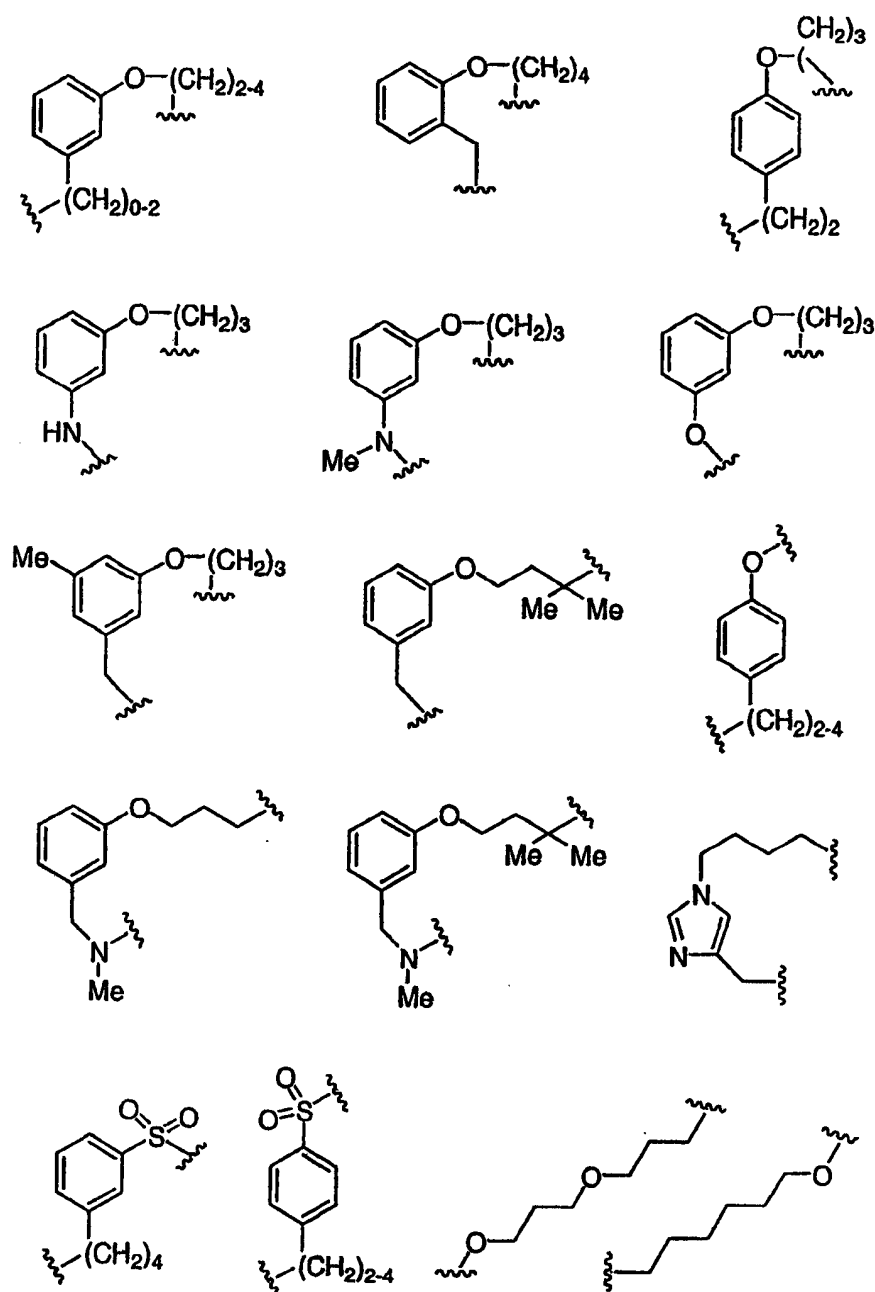


其中 $R^{30} = H$ 、 CH_3 或其它的烷基;

$R^{31} = OH$ 、O-烷基、 NH_2 或 N-烷基;

R^{32} 和 R^{33} 可以相同或者不同并且独立选自 H 、 F 、 Cl 、 Br 和 CH_3 ;

和部分 X-Y 选自以下结构:



由式 I 表示化合物的以上提到的各种定义的几种另外的和进一步的明确表达在该申请书的权利要求部分中注释。它们也由说明书和权利要求中列出的各种化合物表示。这样的明确表达、定义和限制被认为代表该申请的全部发明。

- 5 呈现优良的 HCV 蛋白酶抑制活性的本发明代表性化合物与它们的活性一并列于下面(K_i 值范围以纳摩尔表示, nM)。实施例编号指该申请书以后的部分中发现的实施例部分中的各种结构编号。

表 1: HCV 蛋白酶连续试验结果

实施例编号	K_i^* (nM)
1A	a
1B	b
2	b
3	b
4A	a
4B	b
5	b
6	b
7A	a
7B	b
8	a
9	b
10A	a
10B	b
11	a
12A	a
12B	b
13A	a
13B	b
14	b
15	b
16	b
17	b
18	b
19	b

20A	a
20B	b
21	a
22	b
23	a
24	a
25	a
26A	a
26B	a
27A	a
27B	b
28A	a
28B	b
29A	a
29B	b
30	b
31	b
37A	a
37B	a
38A	a
38B	a
39	a
40	a
41	a
42	a
43	b
44A	a
44B	a
46	a
53A	a
53B	a
56A	a
56B	a
57A	a
57B	b
58	a
59A	b
59B	b
60	a
61	a
62	a
63	a
64	a

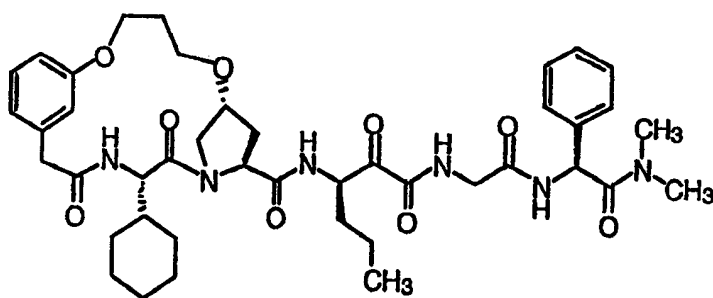
65	b
66A	a
66B	b
67A	a
67B	b
68	b
69A	a
69B	b
70A	a
70B	b
71	b
72	b
73	a
74A	a
74B	b
75A	a
75B	b
76	b
77	a
78	a
79	a
80	b
81	a
82	a
83	b
84	a
85	a
86	a
87	a
88	a
89	a
90	a
91	a
92	b
93	a
94	a
95	b
96	a
97	a
98	b
99	a
100	a
101	b

102	a
103	a
104	a
105	a
106	a
107	a
108	a
109	a
110	b
111	b

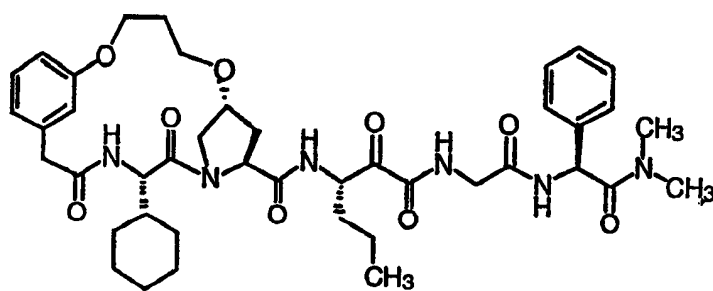
HCV 连续试验 K_i^* 范围:

b 类 = 1-100 nM; a 类 = 101 nM-100 μ M

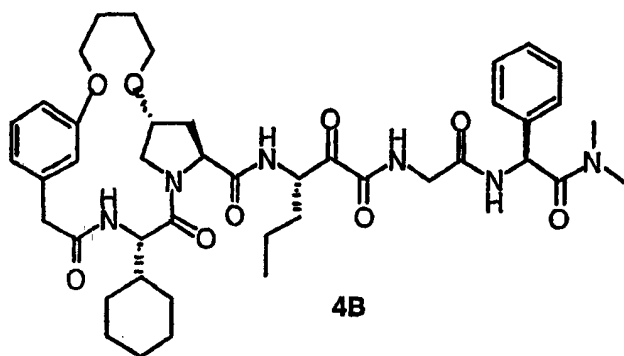
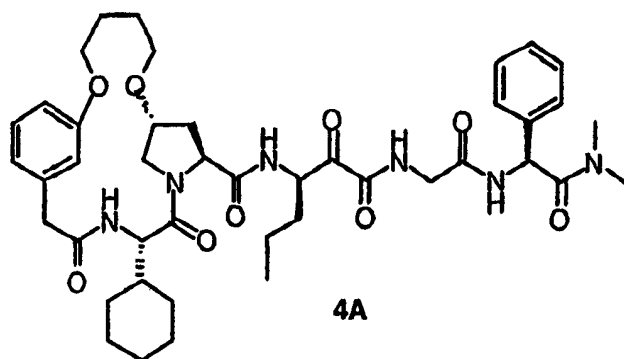
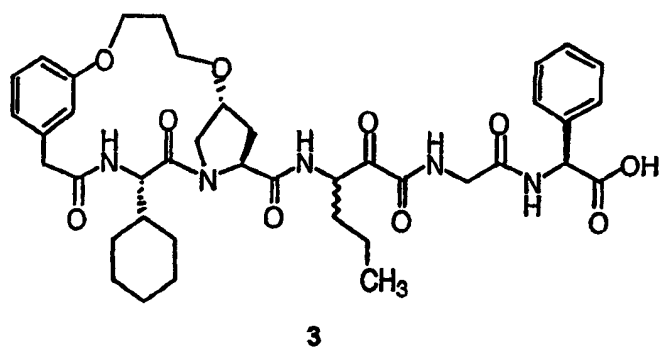
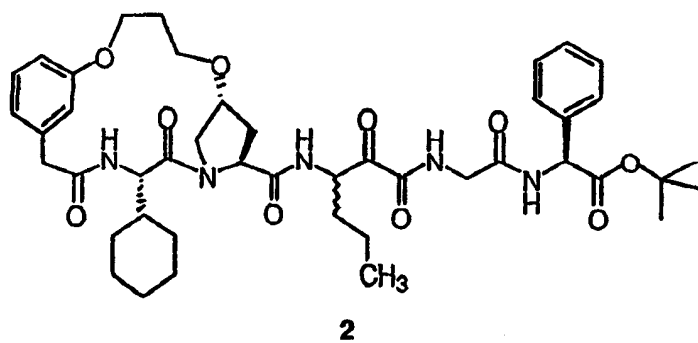
5 一些本发明化合物和合成各种类型的本发明化合物的方法列于下面, 然后作流程描述, 之后阐述实施例。

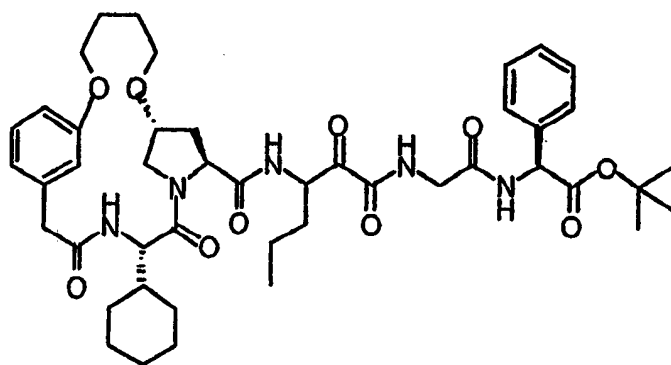


1A

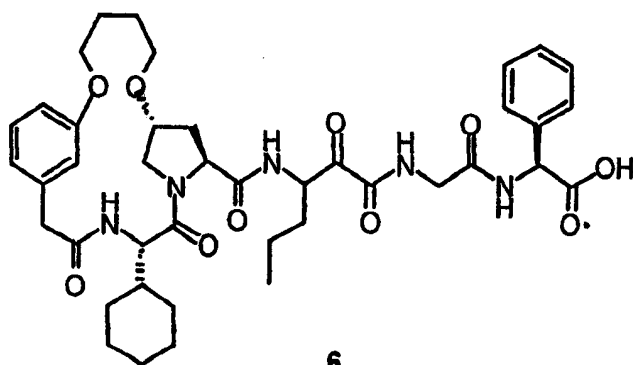


1B

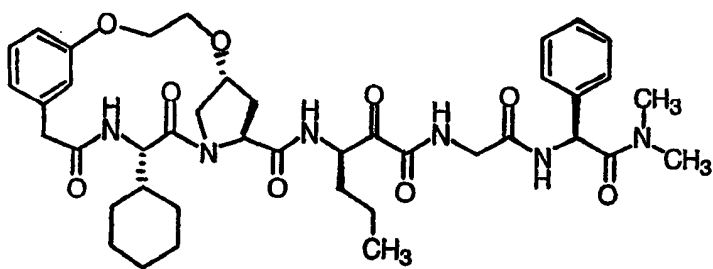




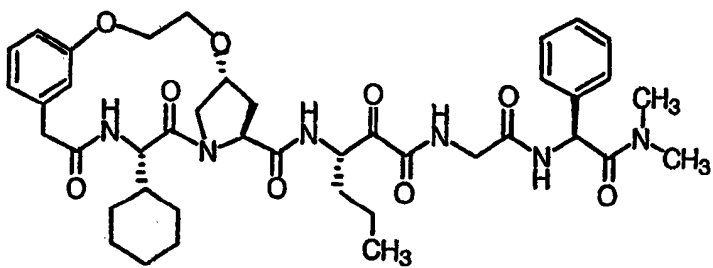
5



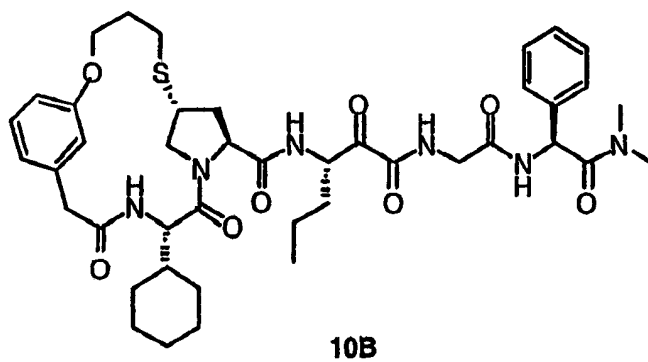
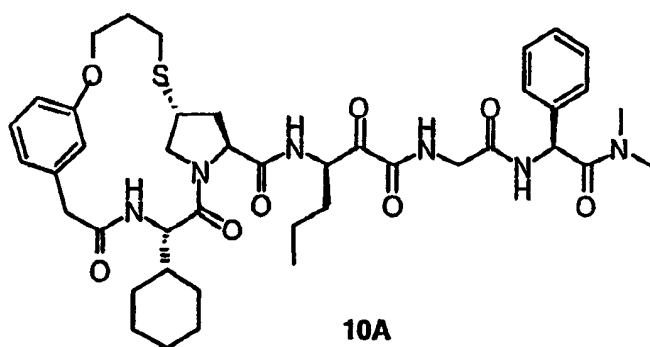
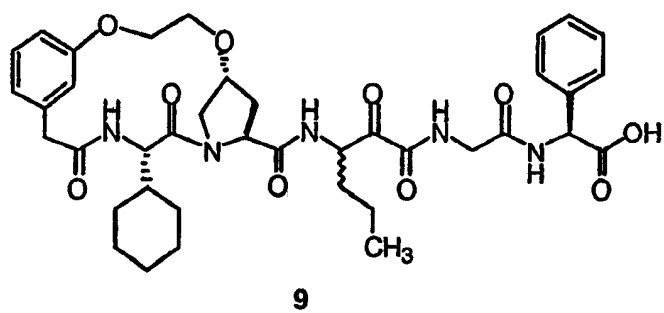
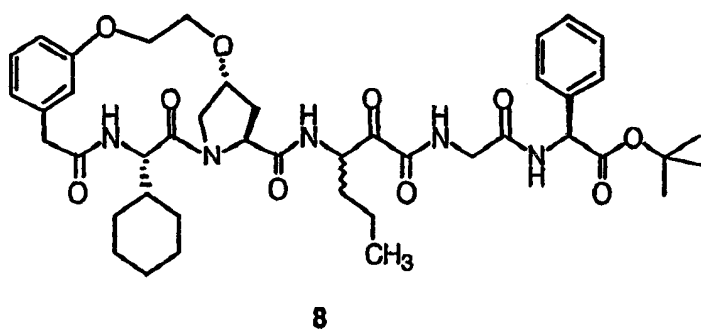
6

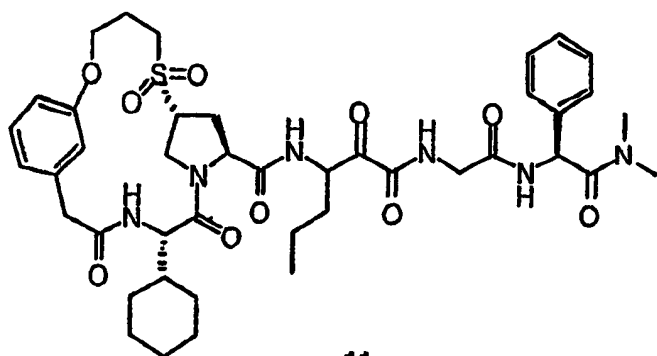


7A

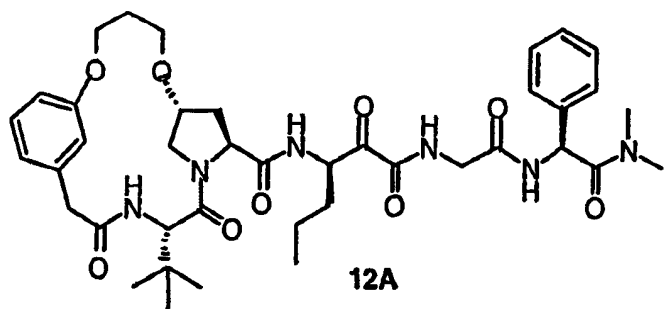


7B

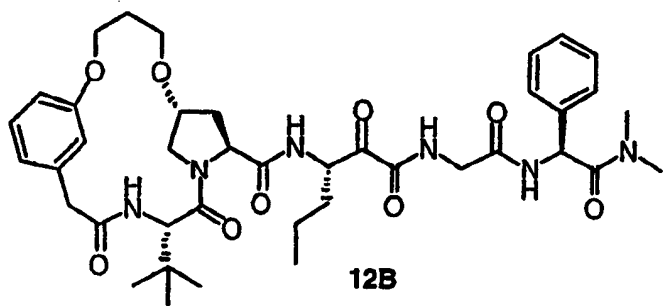




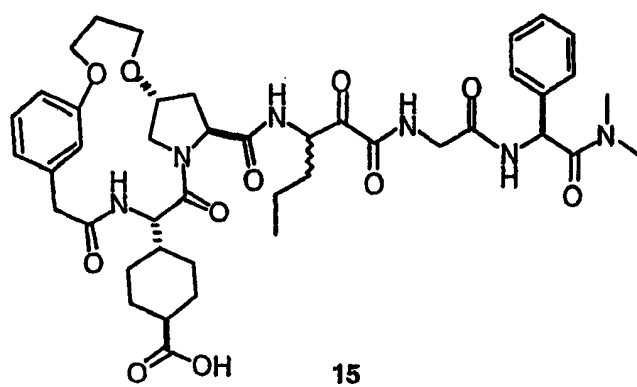
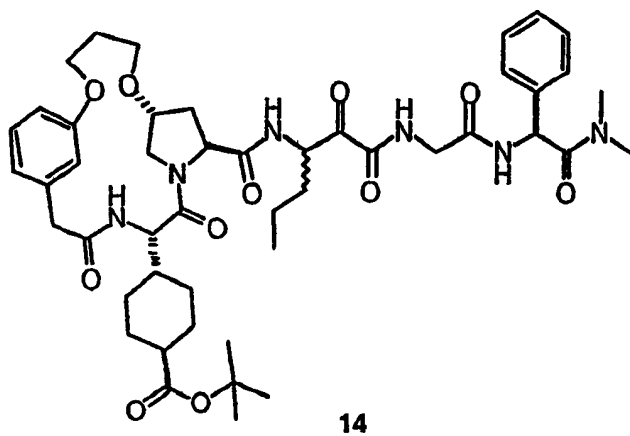
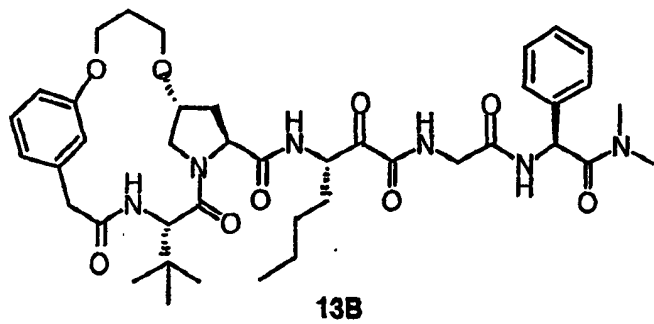
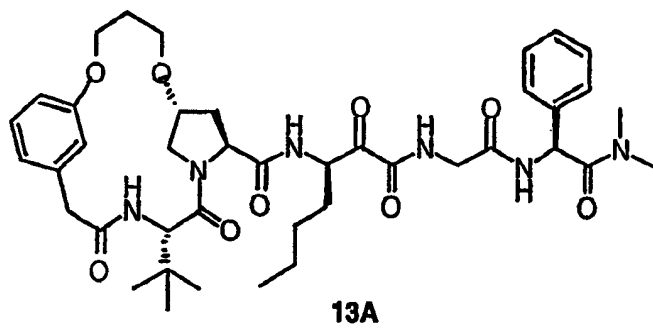
11

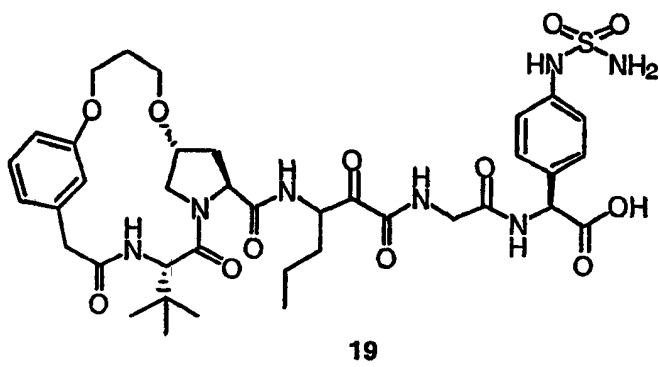
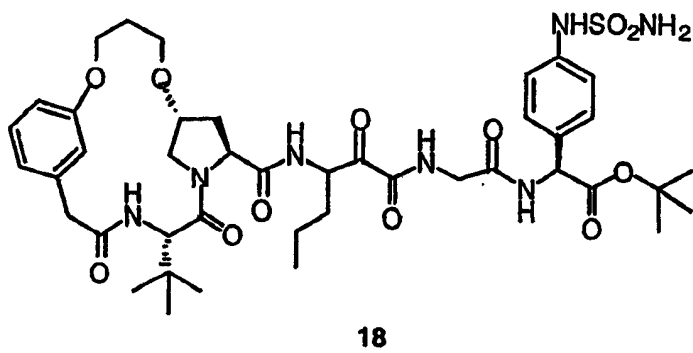
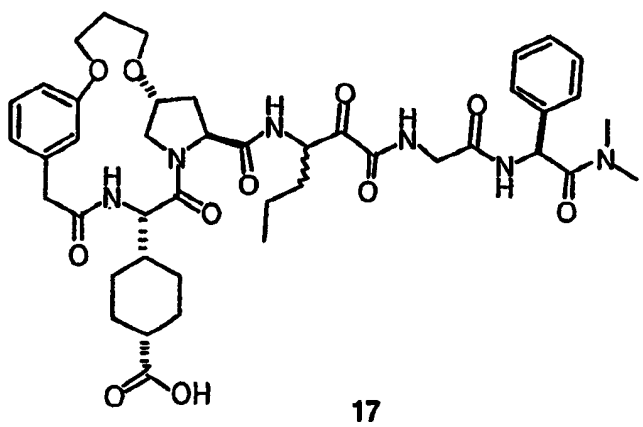
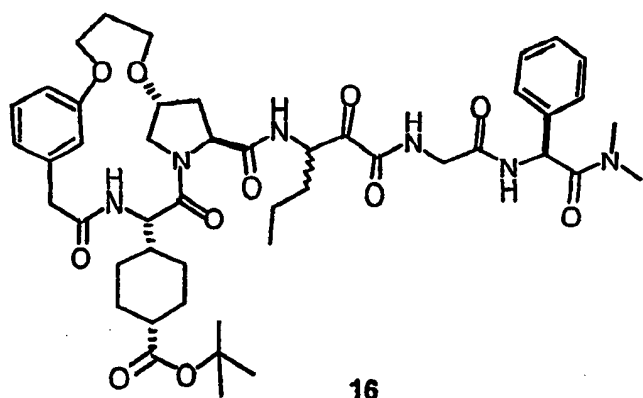


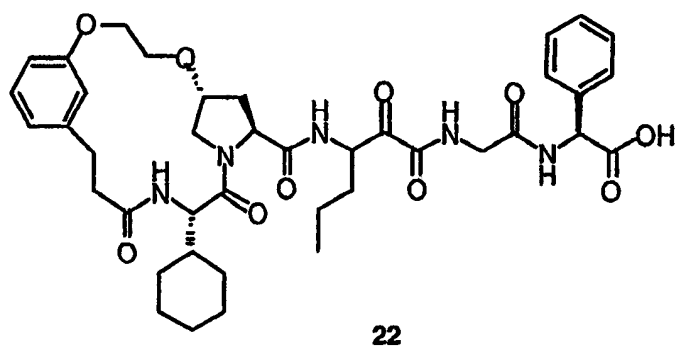
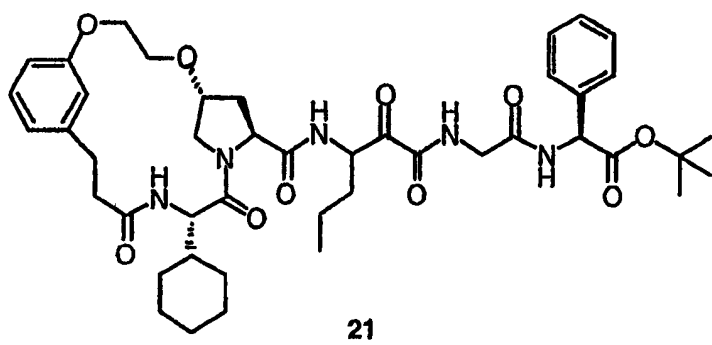
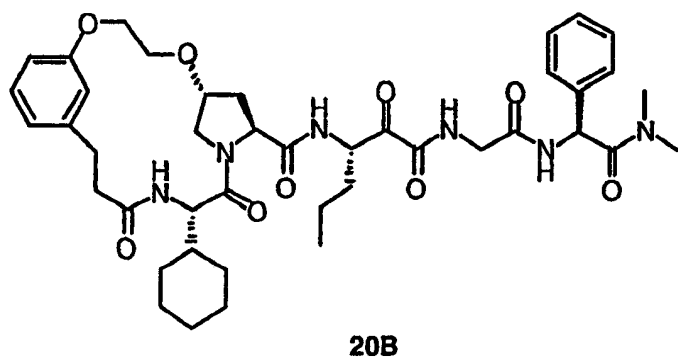
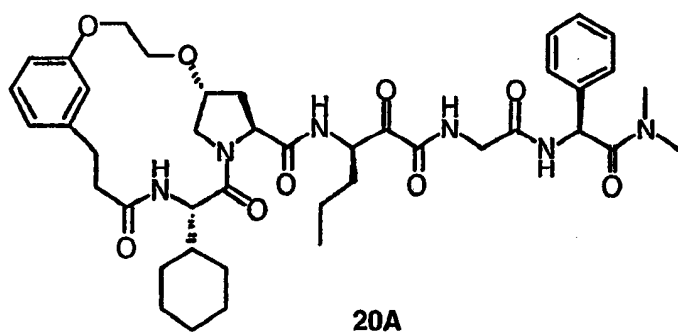
12A

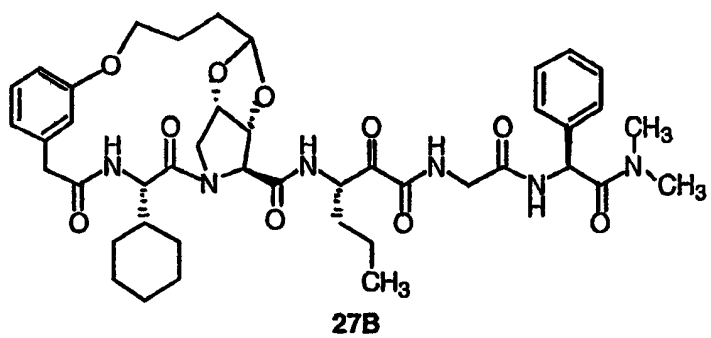
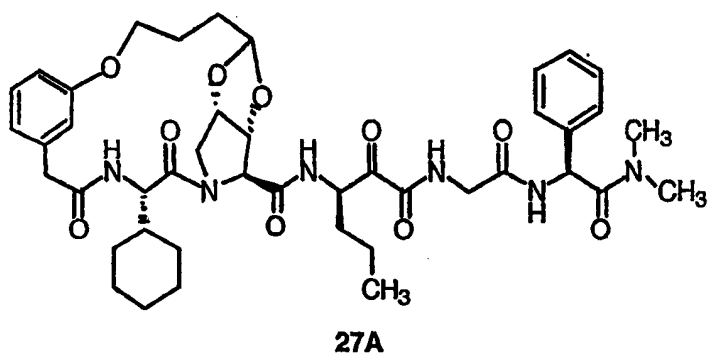
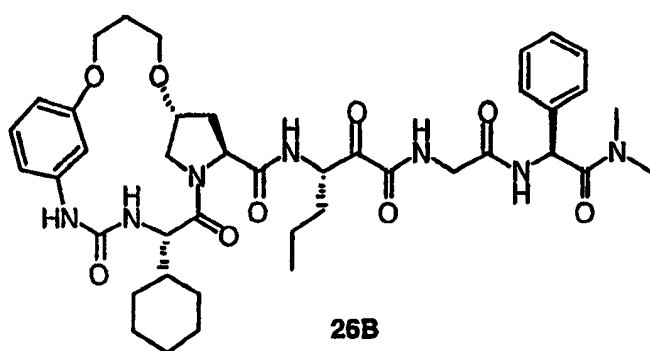
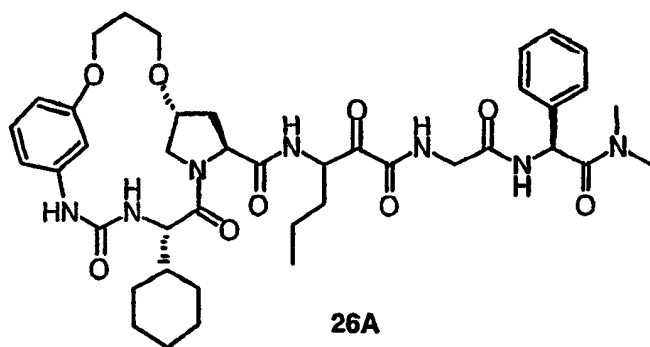


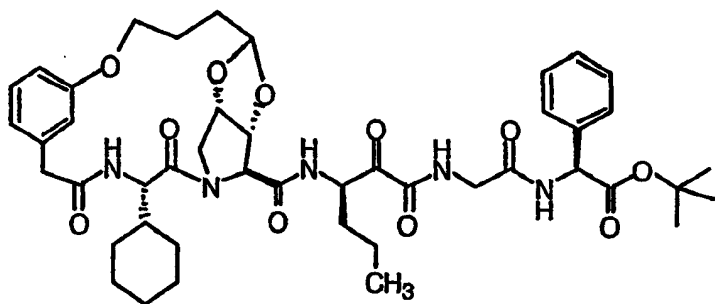
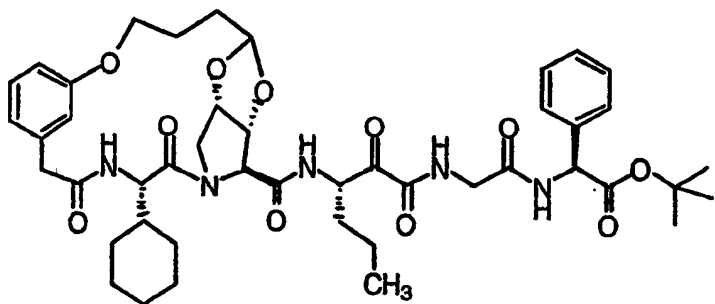
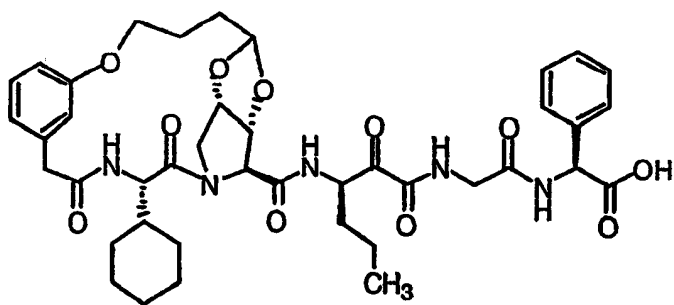
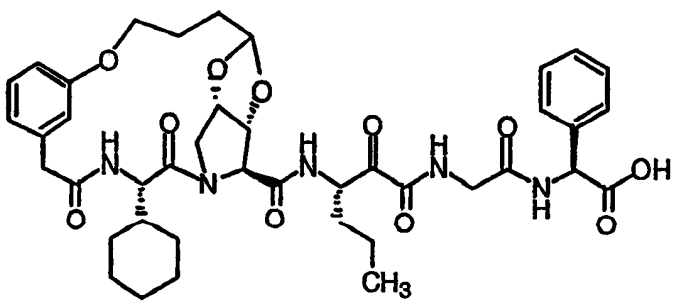
12B

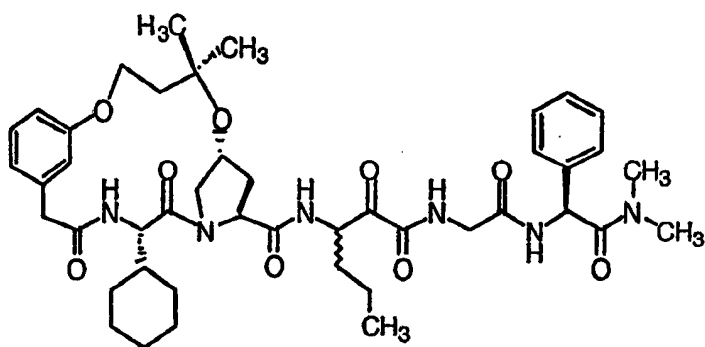




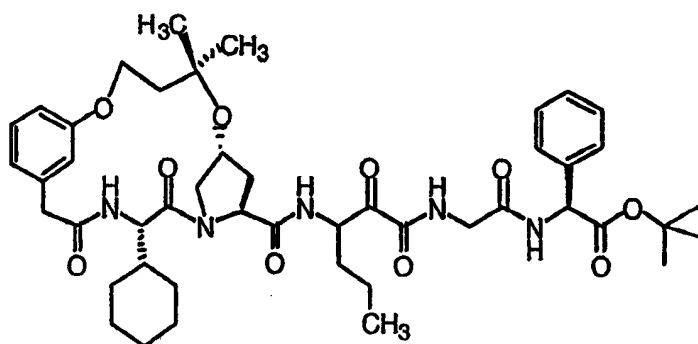




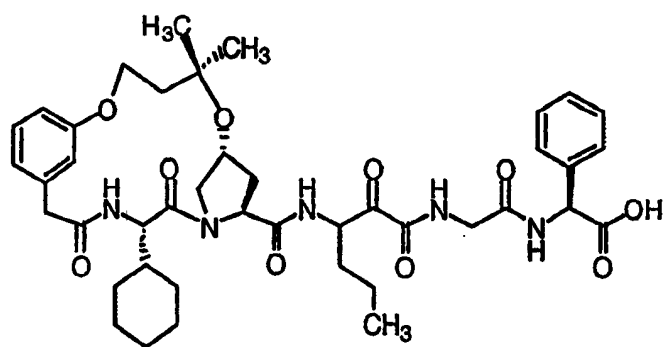
**28A****28B****29A****29B**



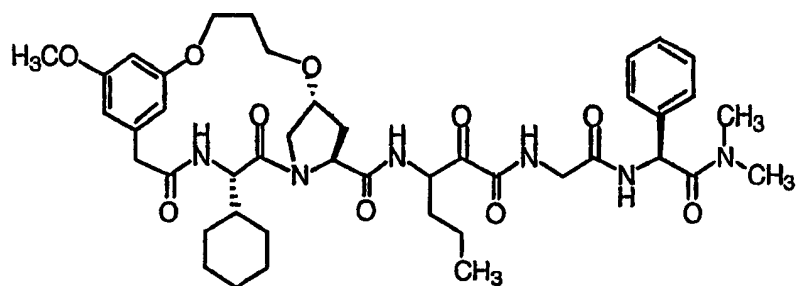
30



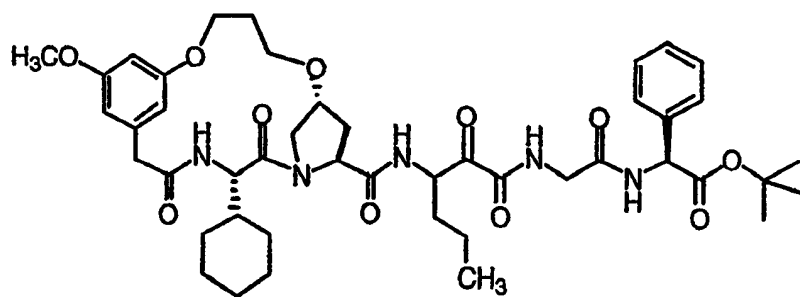
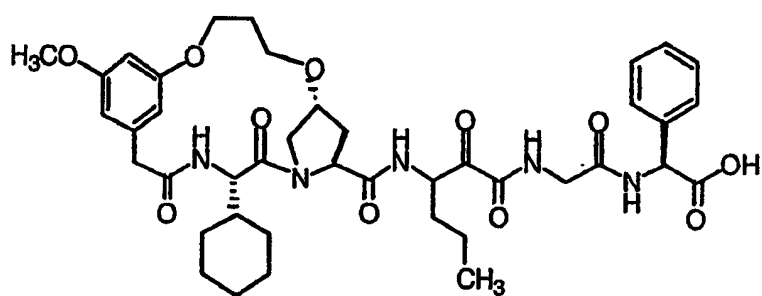
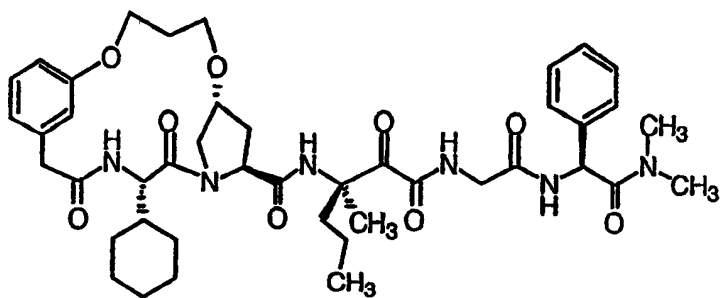
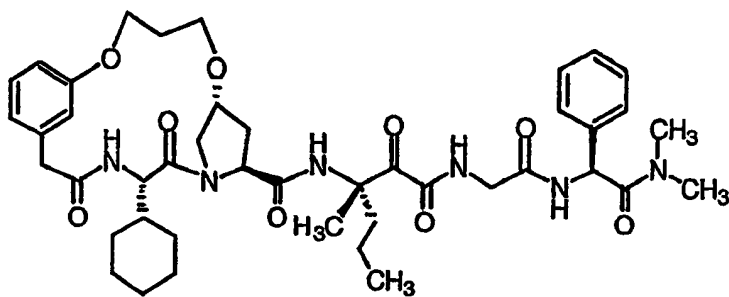
31

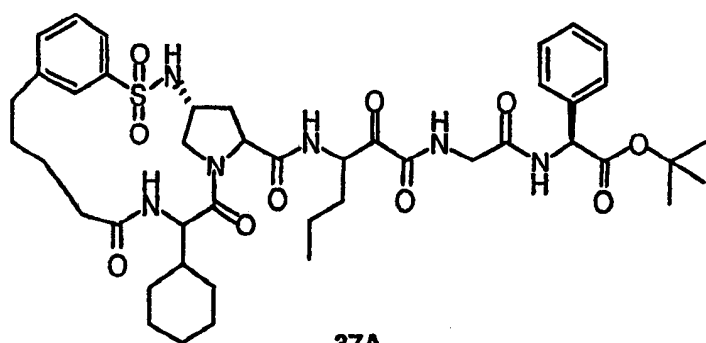
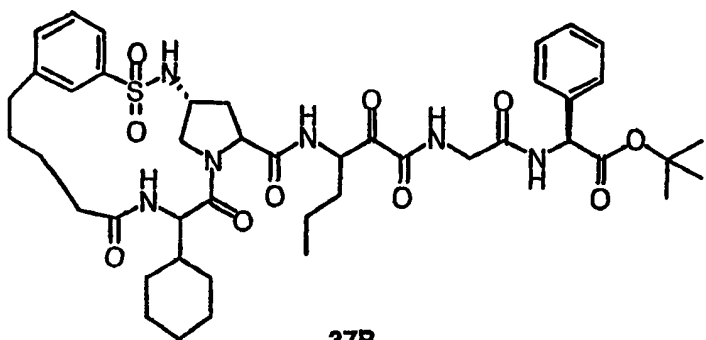
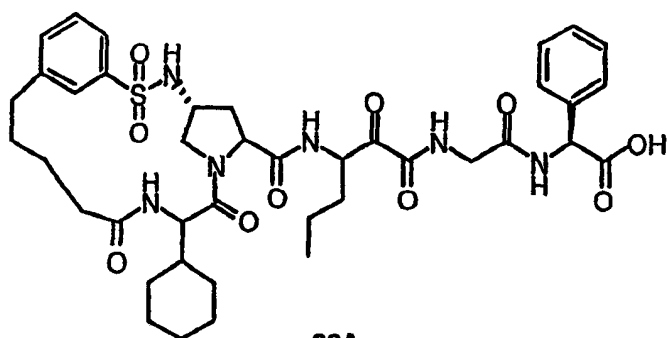
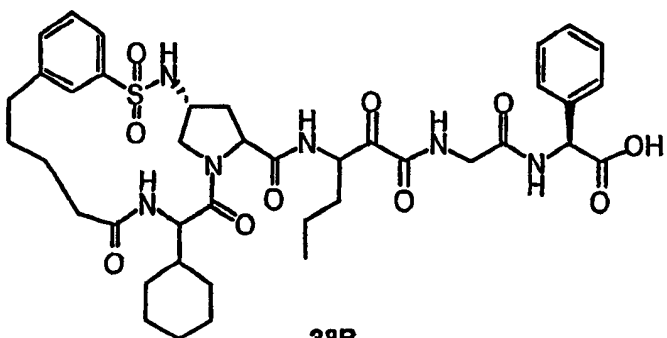


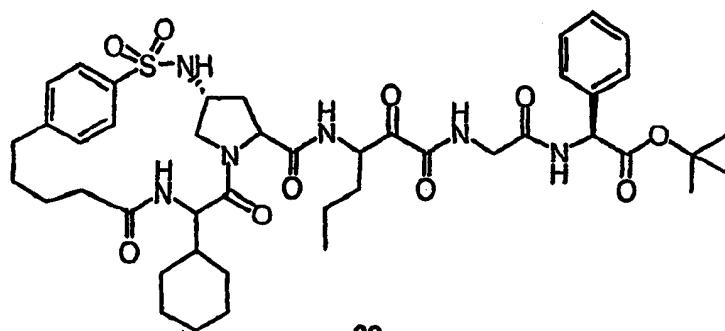
32



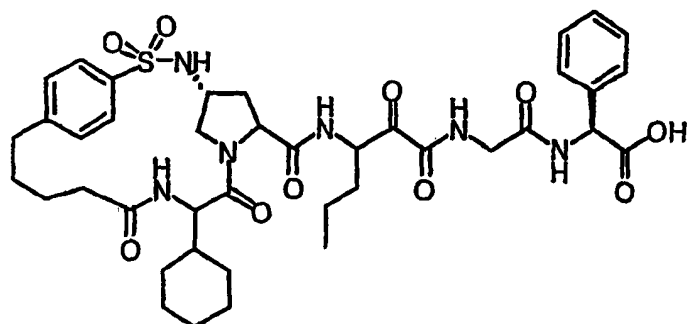
33

**34****35****36A****36B**

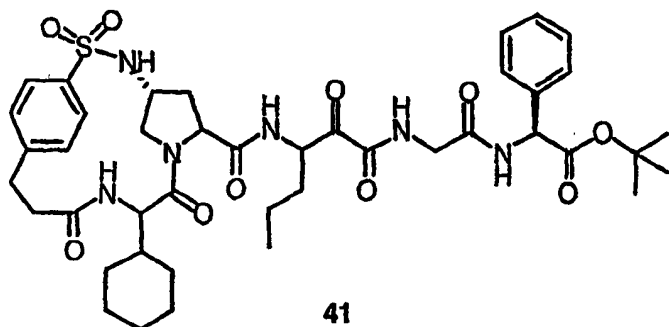
**37A****37B****38A****38B**



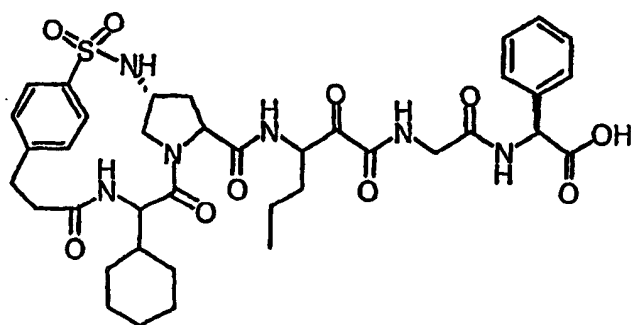
39



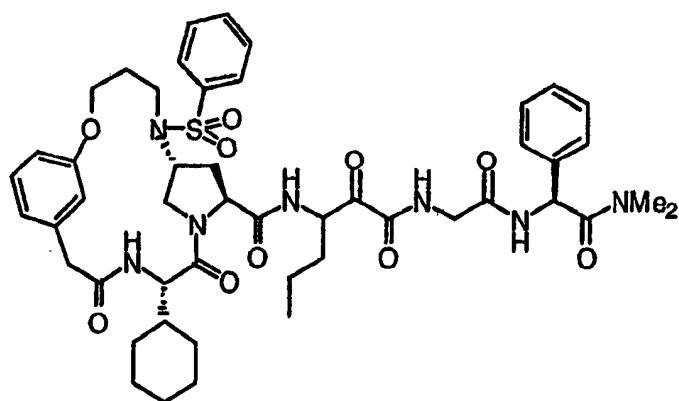
40



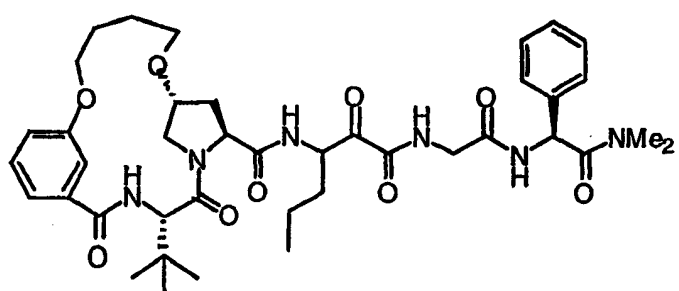
41



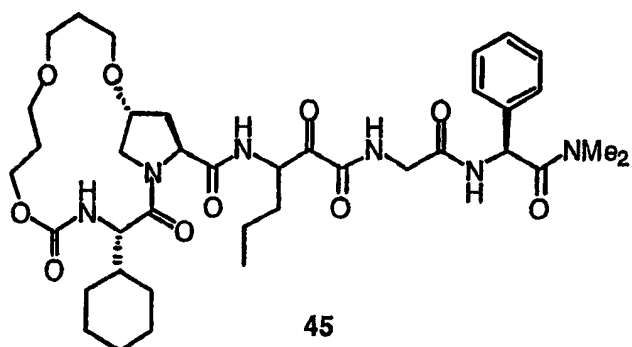
42



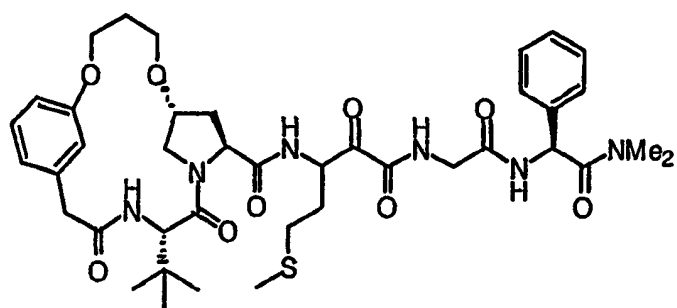
43



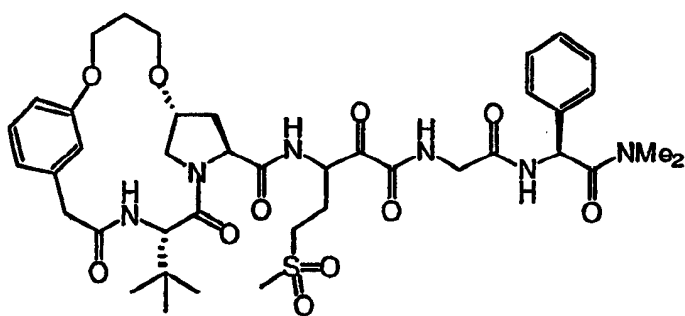
44



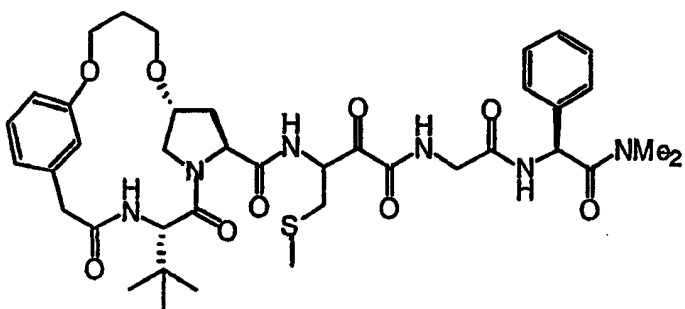
45



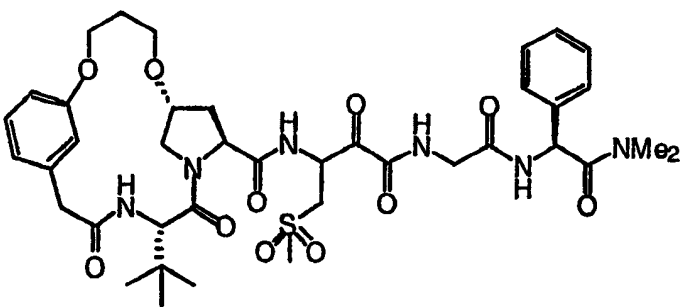
46



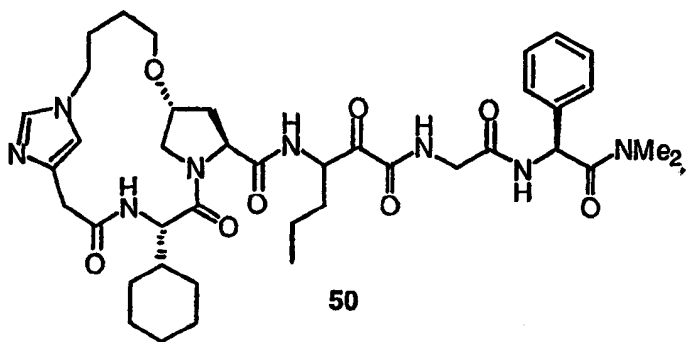
47



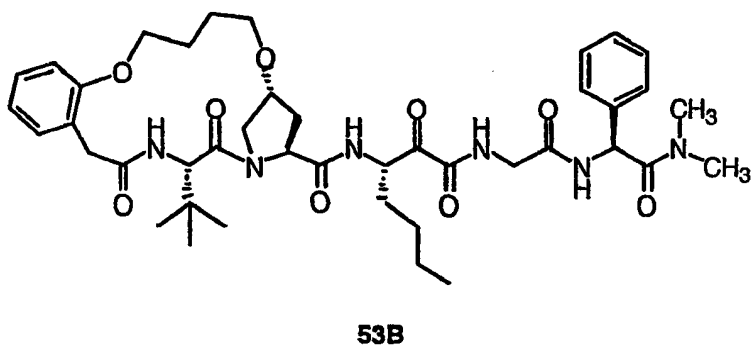
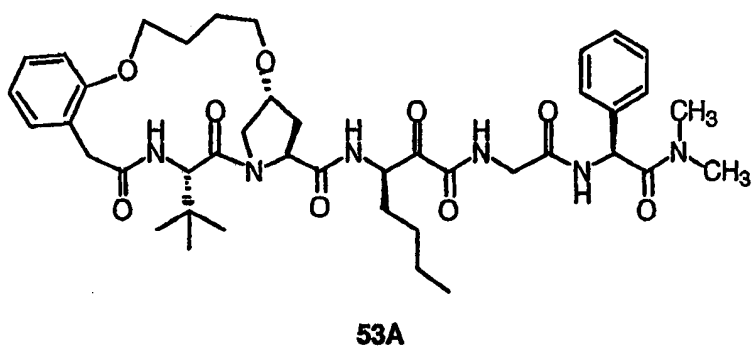
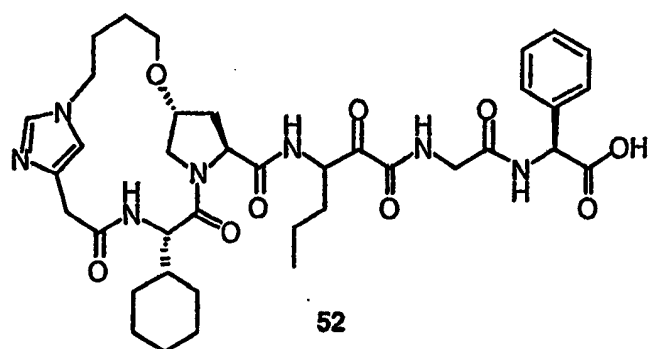
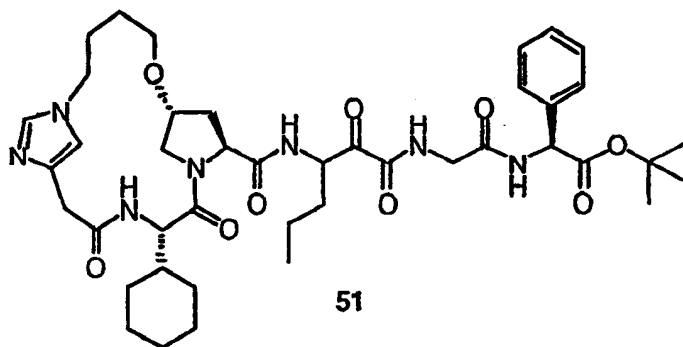
48

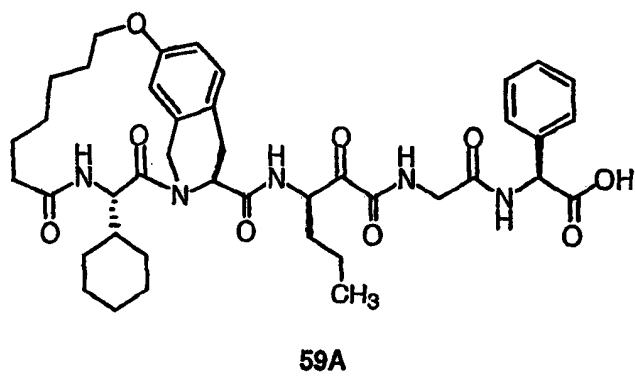
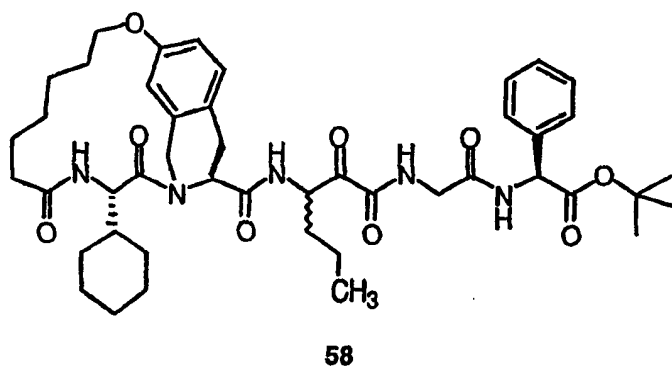
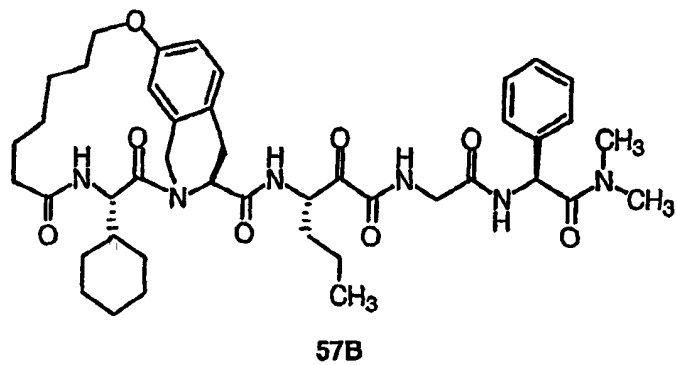
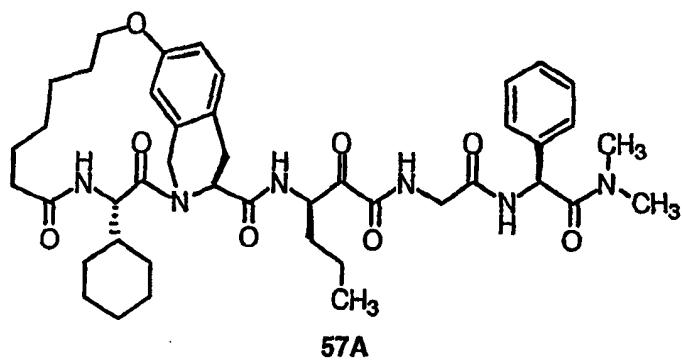


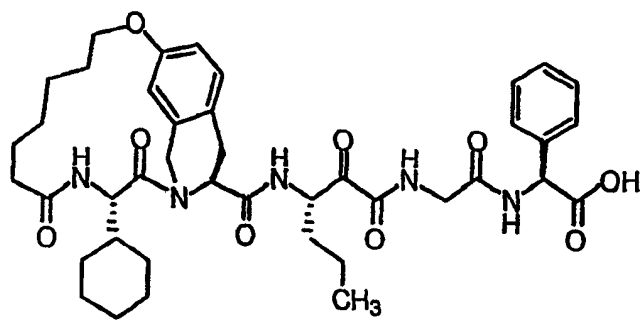
49



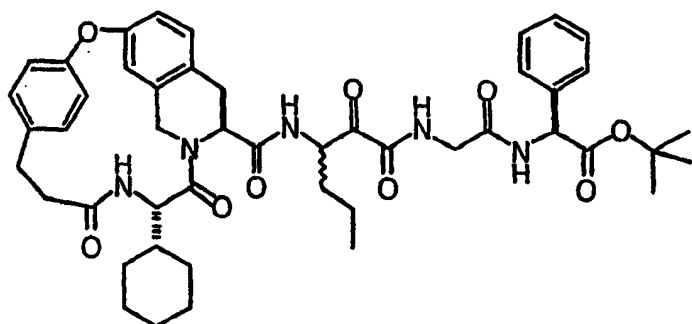
50



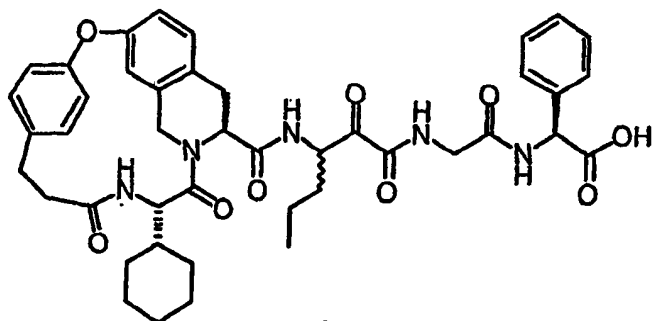




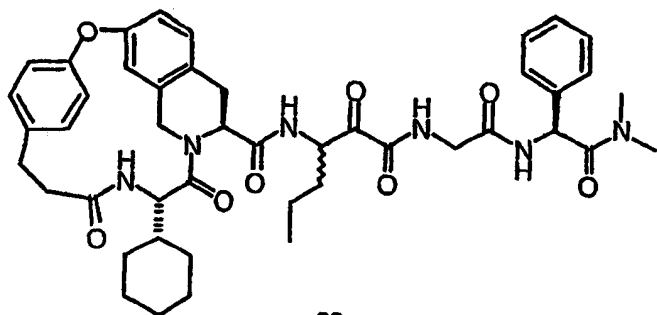
59B



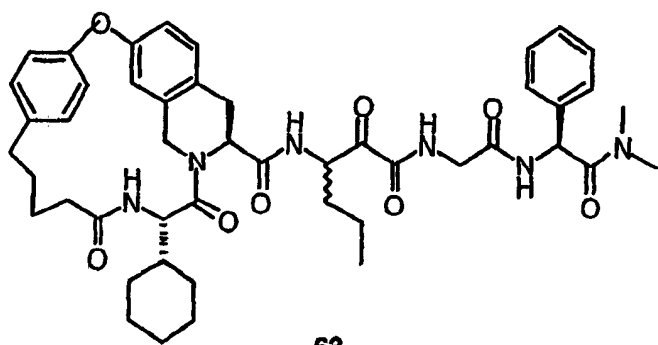
60



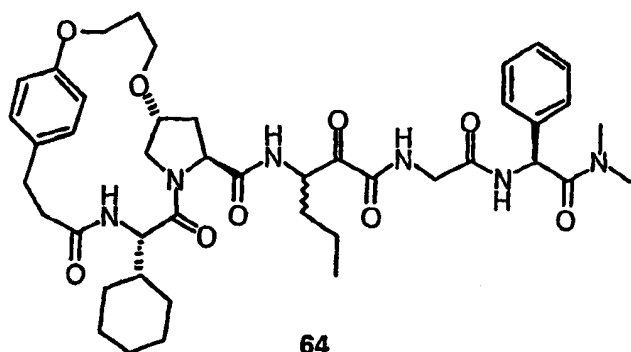
61



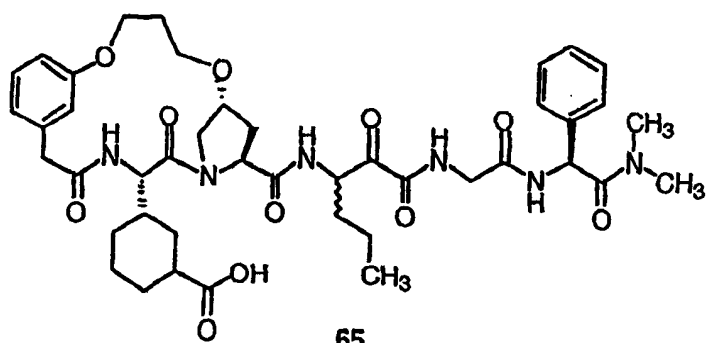
62



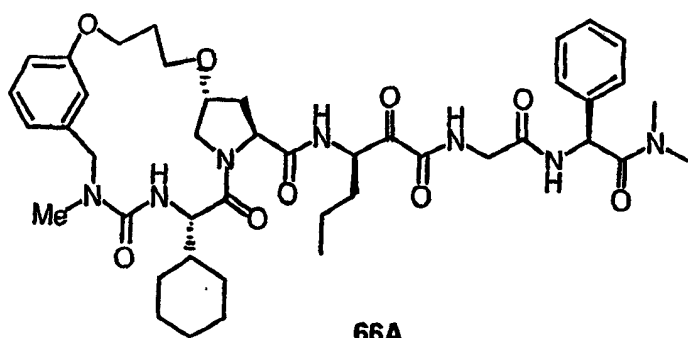
63



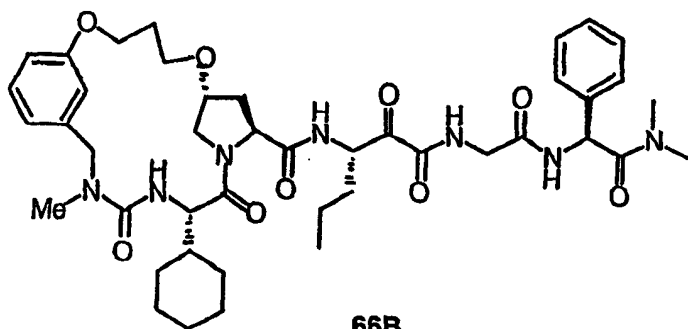
64



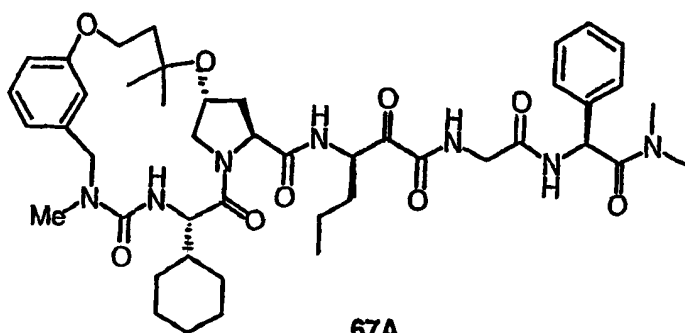
65



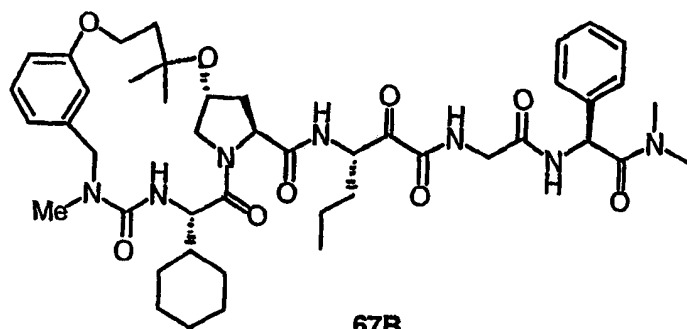
66A



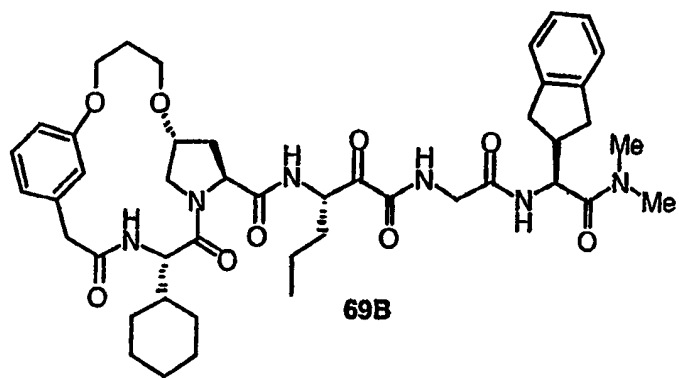
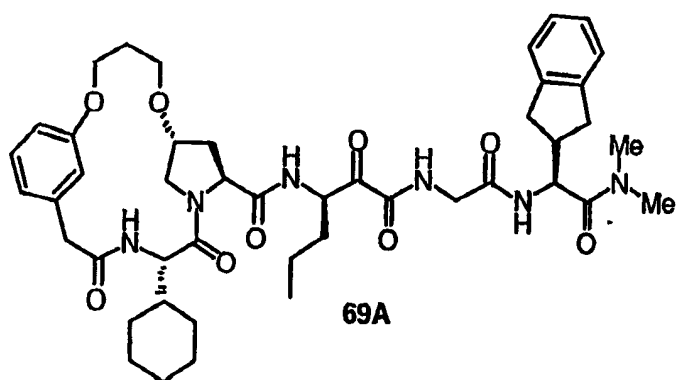
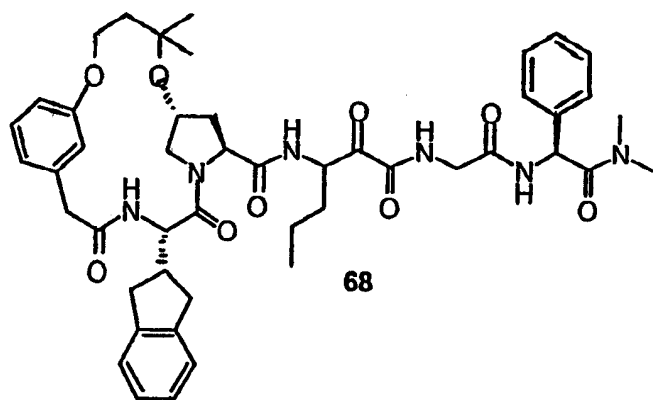
66B

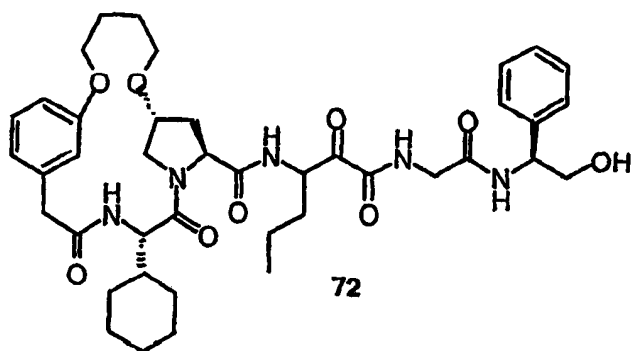
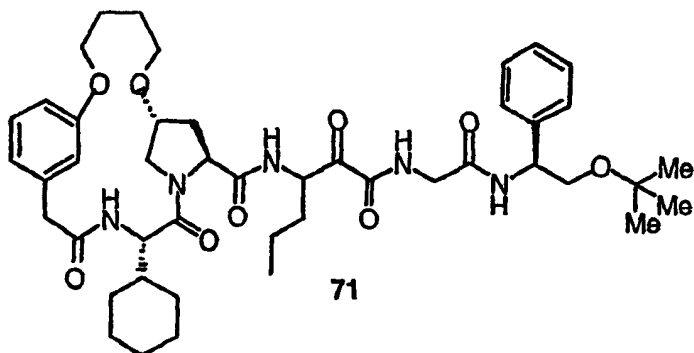
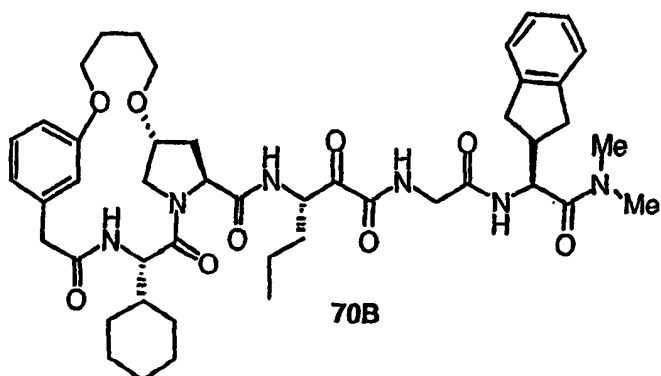
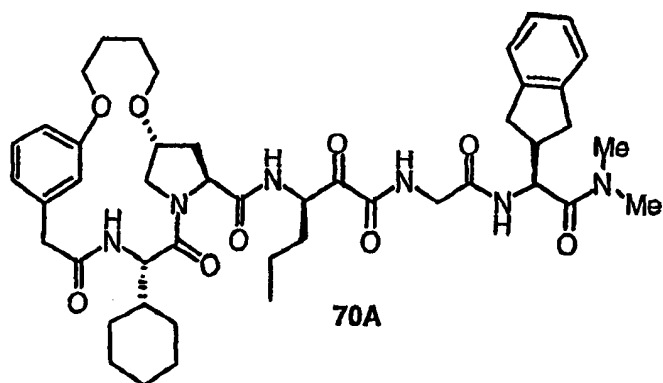


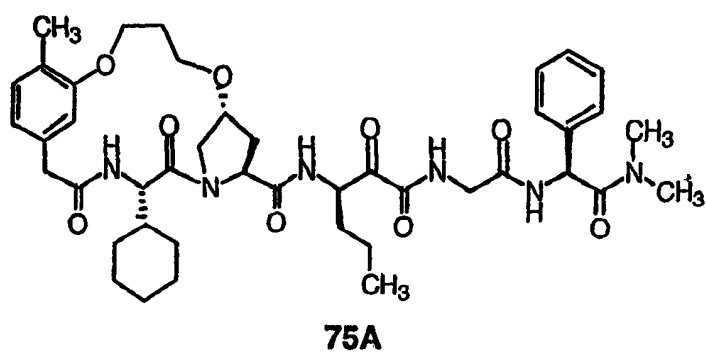
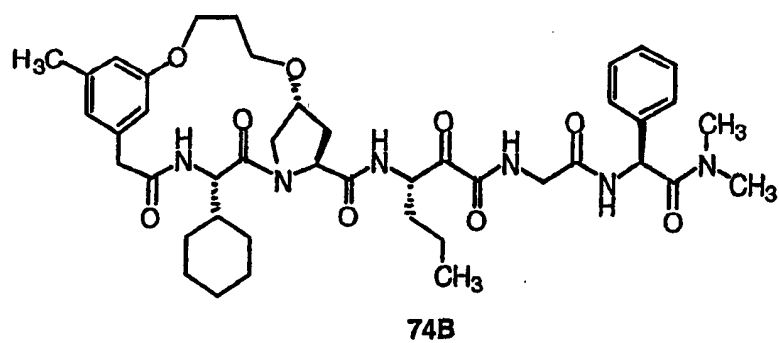
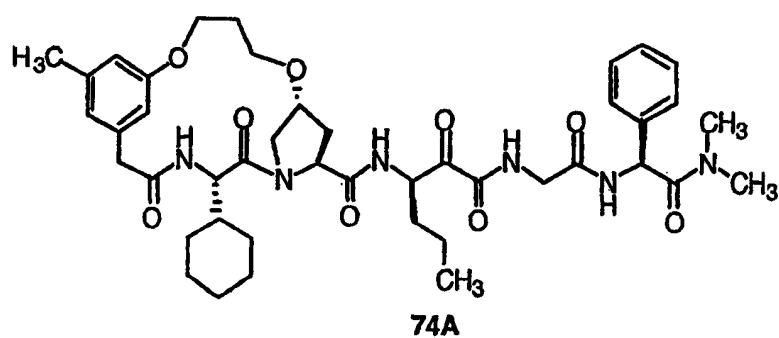
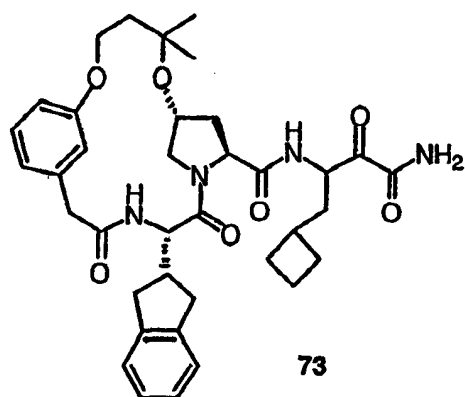
67A

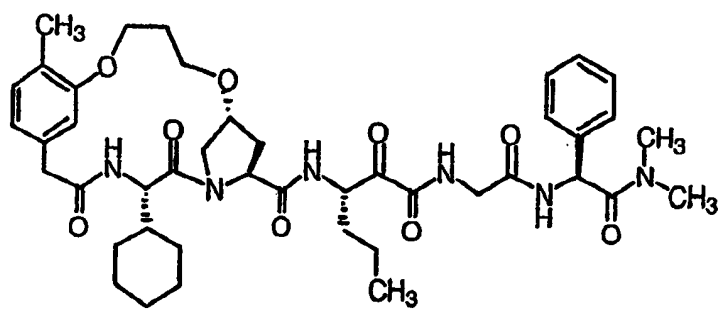
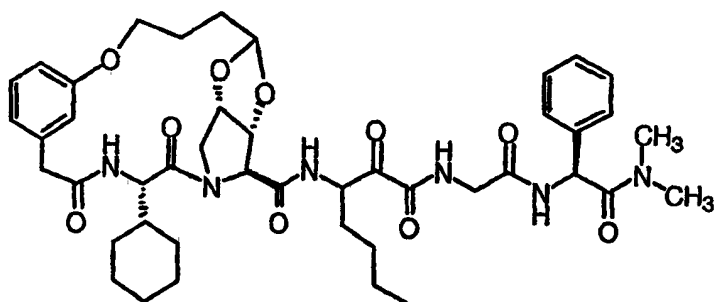
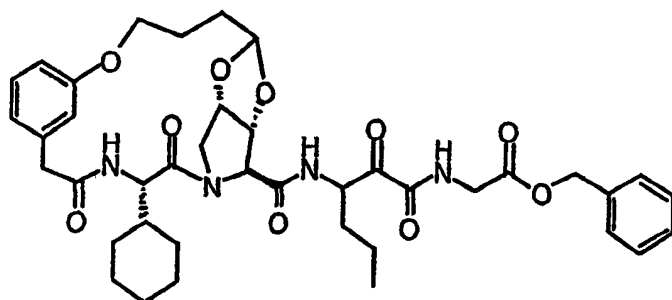
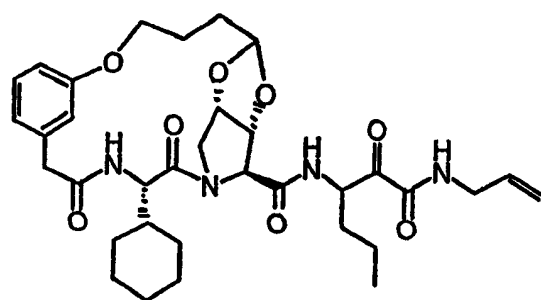


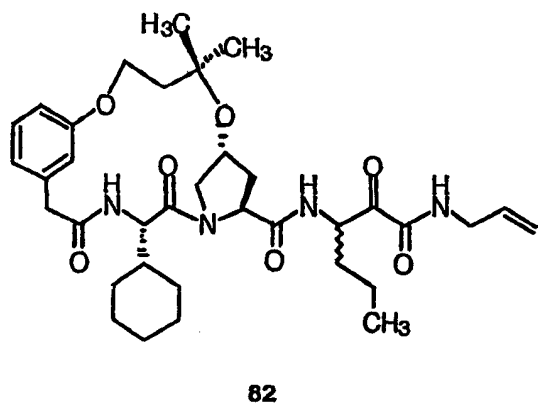
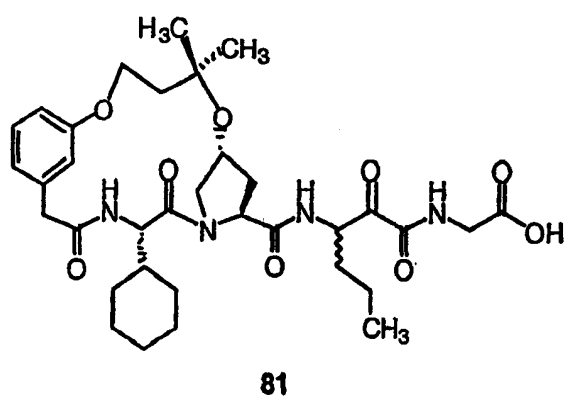
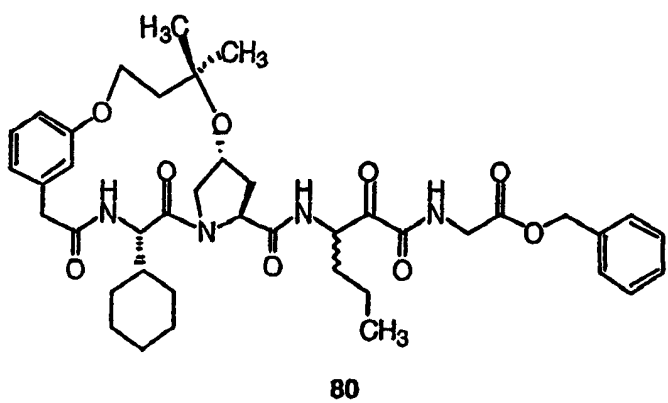
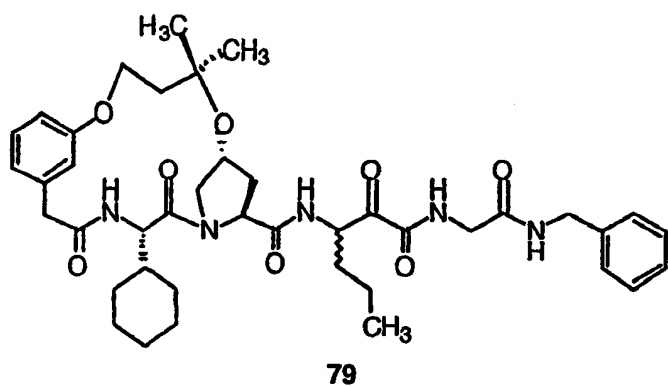
67B

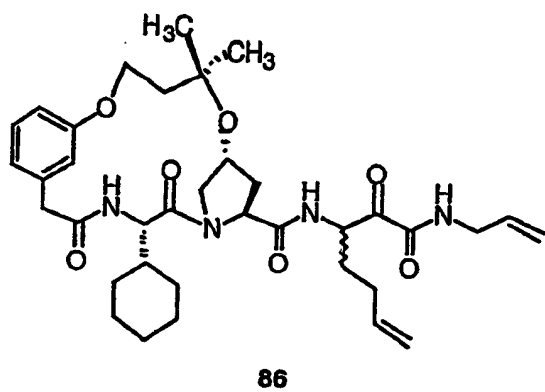
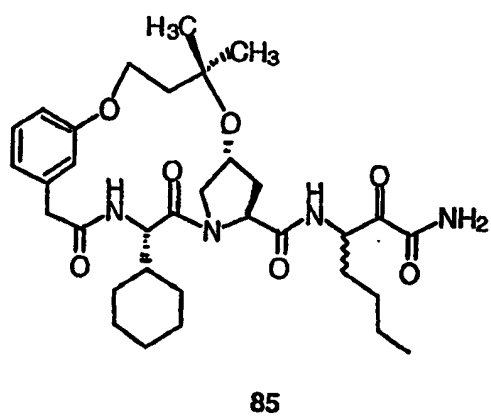
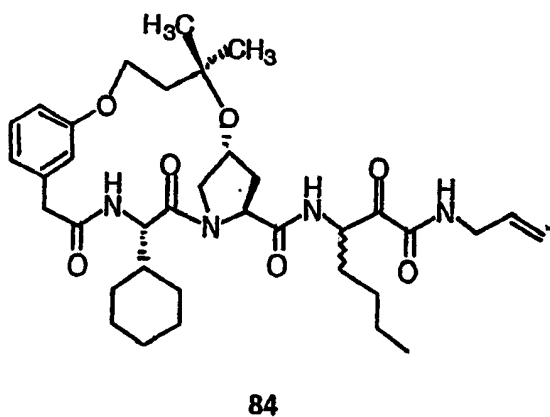
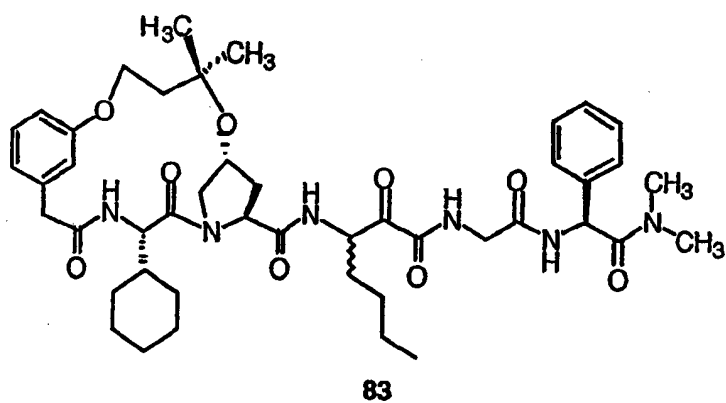


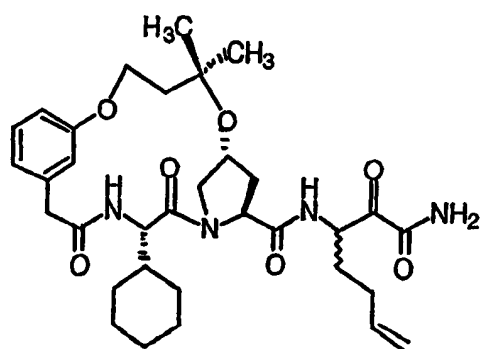




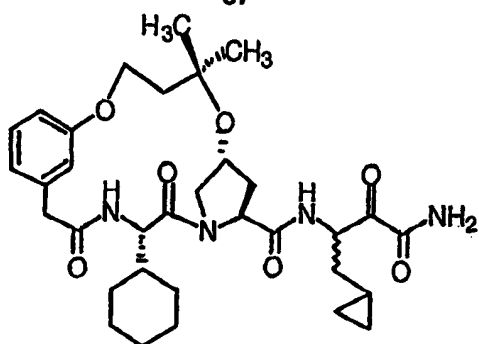
**75B****76****77****78**



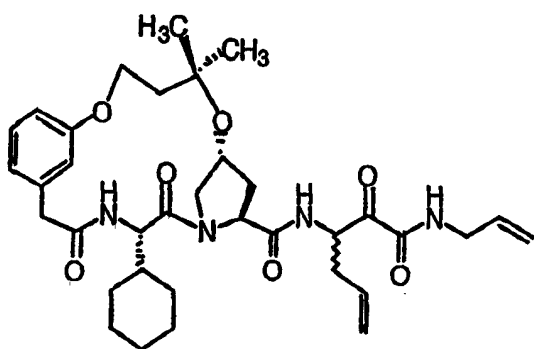




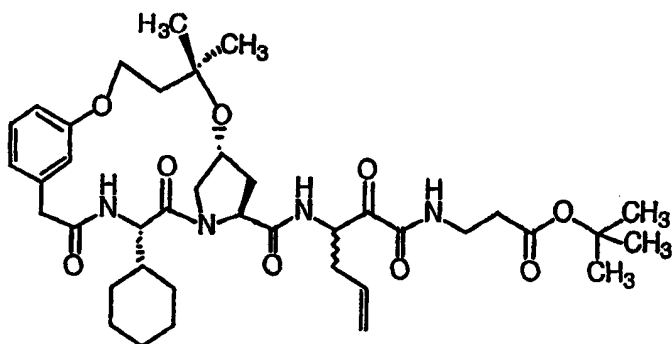
87



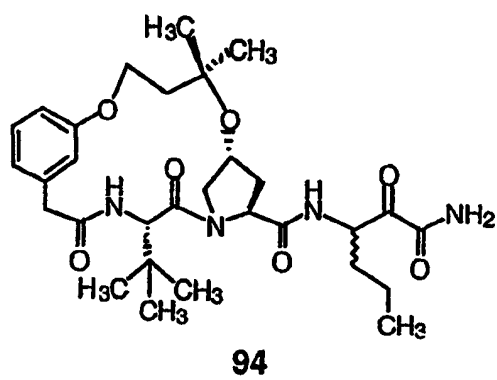
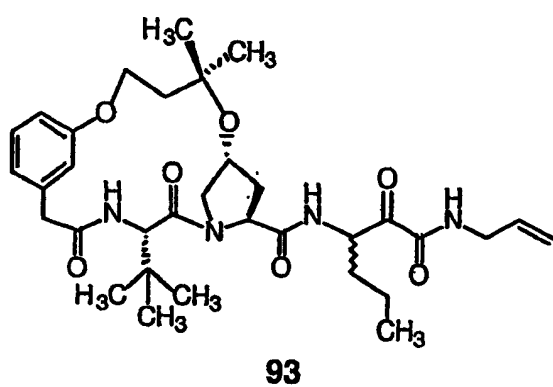
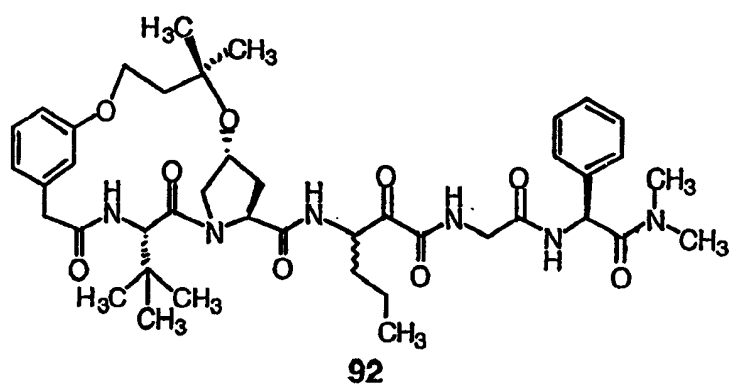
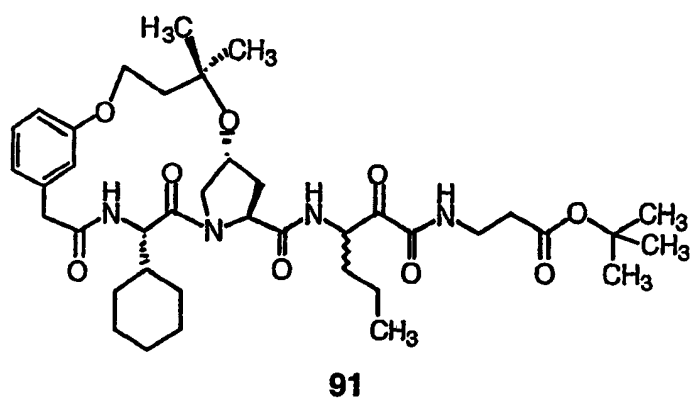
88

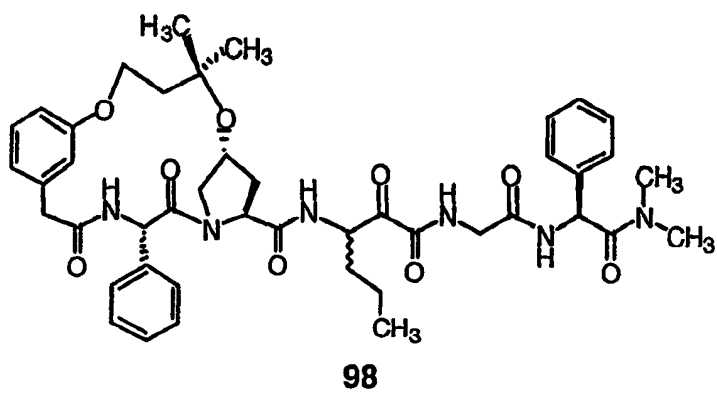
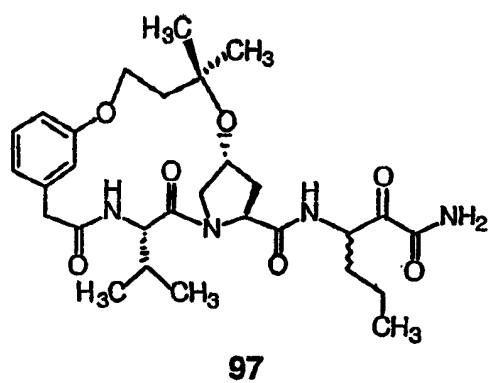
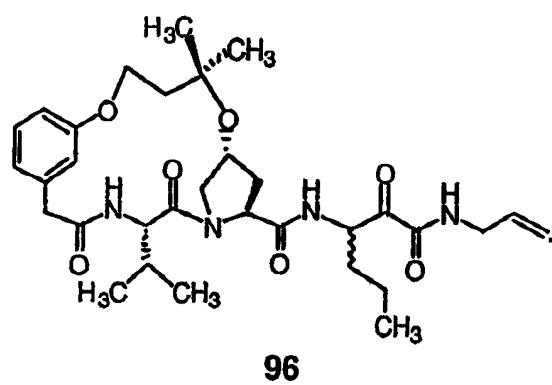
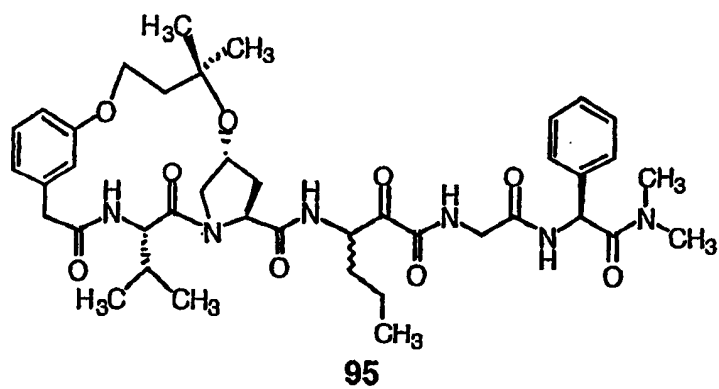


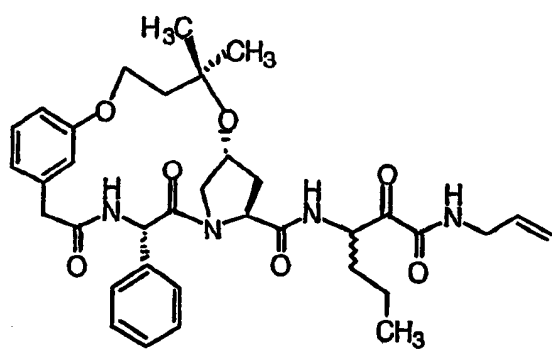
89



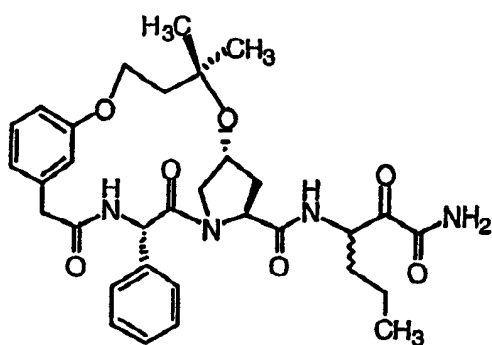
90



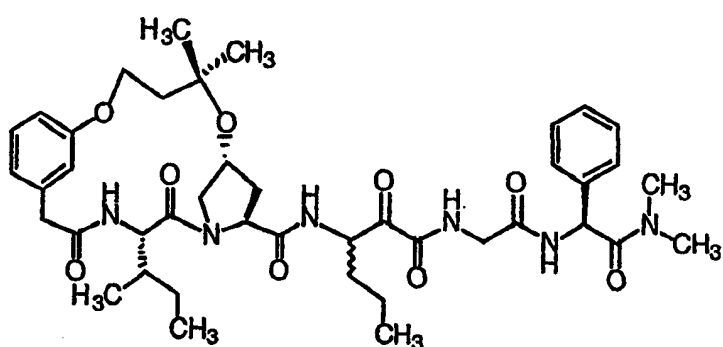




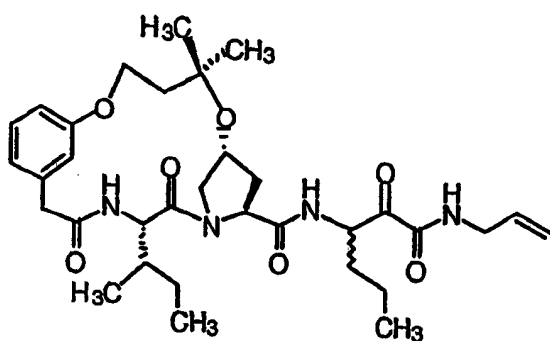
99



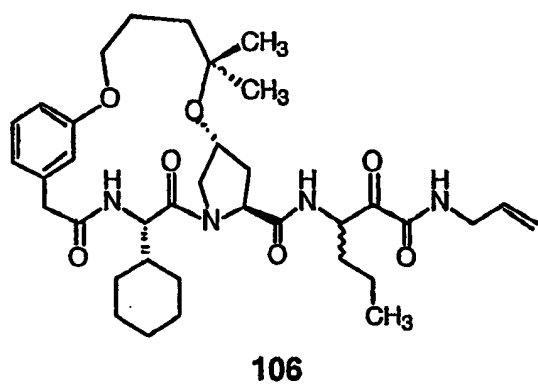
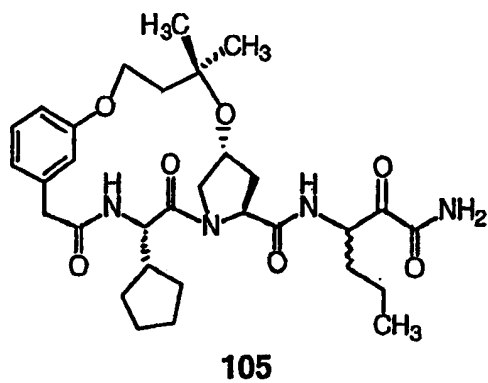
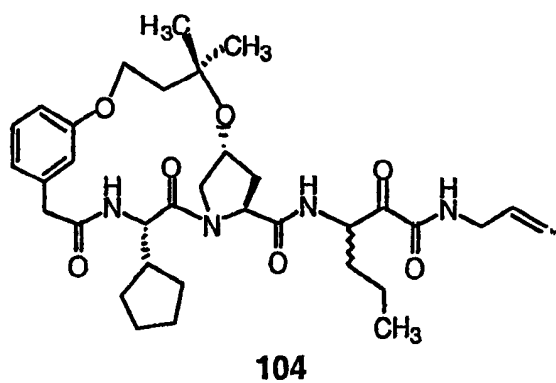
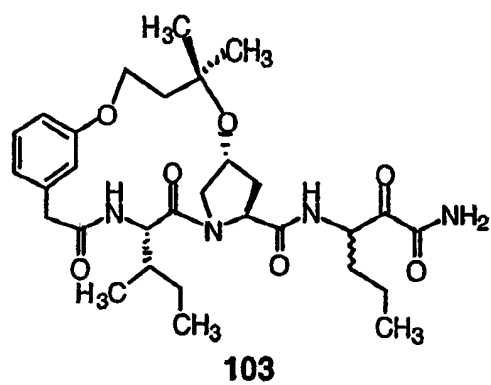
100

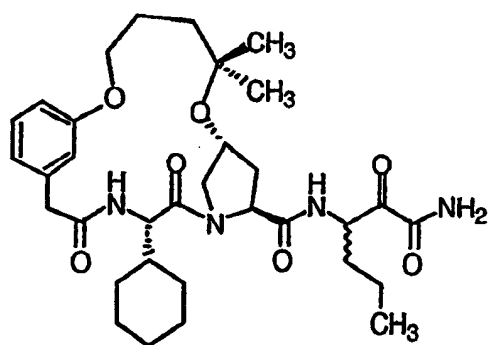


101

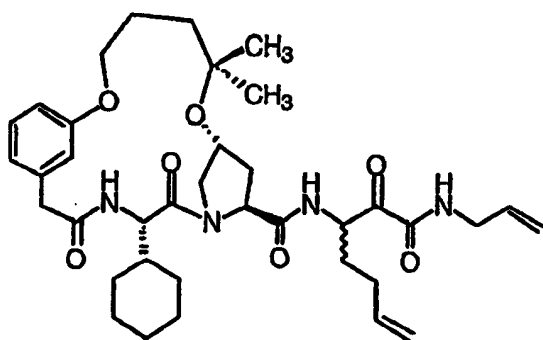


102

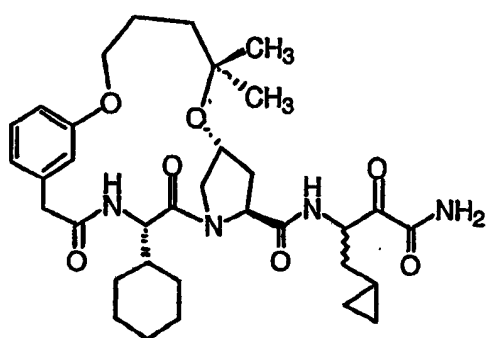




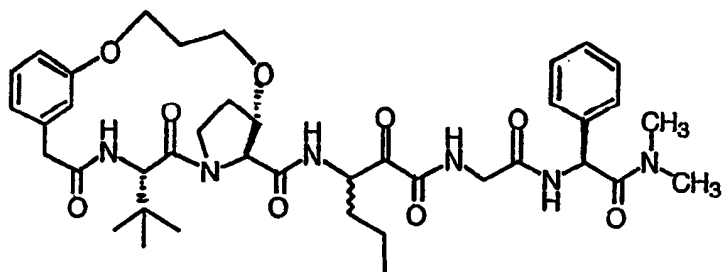
107



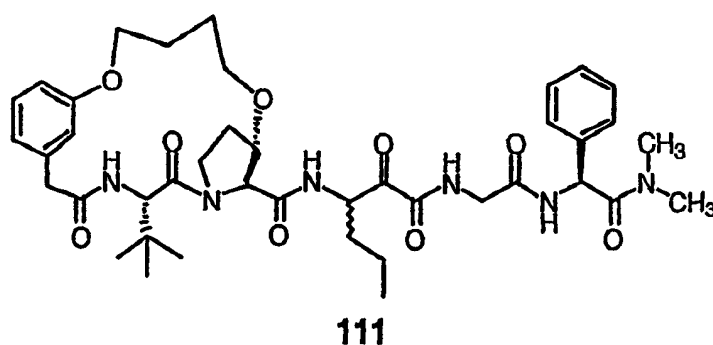
108



109



110



依结构而定，本发明化合物可与有机或无机酸，或者有机或无机碱形成药学上可接受的盐。用于此类盐形成的合适的酸的实例为盐酸、硫酸、磷酸、乙酸、枸橼酸、草酸、丙二酸、水杨酸、马来酸、富马酸、琥珀酸、抗坏血酸、马来酸、甲磺酸和本领域技术人员熟知的其它的矿物酸以及羧酸。对于与碱形成的盐的合适的碱为例如 NaOH、KOH、NH₄OH、四烷基氢氧化铵等。

在另一个实施方案中，本发明提供包含作为活性成分的如上描述的本发明大环类的药用组合物。药用组合物通常另外包含药学上可接受的载体稀释剂、赋形剂或载体(在此统称为载体材料)。由于它们的 HCV 抑制活性，这样的药用组合物具有在治疗丙型肝炎和相关疾病中的用途。

在另一个实施方案中，本发明公开用于制备包含作为活性成分的本发明大环化合物的药用组合物的方法。在本发明的药用组合物和方法中，活性成分一般与适合选自计划的给药形式的载体材料混合给予，包括：例如口服片剂、胶囊剂(或者固体填充、半固体填充或液体填充)、用于构成的散剂、口服凝胶剂、酏剂、可分散颗粒剂、糖浆剂、混悬剂等，并符合常规制药实践。例如，对于以片剂或胶囊剂的形式口服给药，活性药物成分可与任何口服的非毒性的药学上可接受的惰性载体组合，例如乳糖、淀粉、蔗糖、纤维素、硬脂酸镁、磷酸二钙、硫酸钙、滑石粉、甘露糖醇、乙醇(液体形式)等。此外，当要求或者需要时，也可将合适的粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂掺和到混合物中。粉剂和片剂也可包含约 5-95% 的本发明组

合物。

合适的粘合剂包括淀粉、明胶、天然糖类、玉米甜味剂、天然和合成胶如阿拉伯胶、藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙二醇和蜡。在润滑剂中可被提及用于这些剂型的有硼酸、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。崩解剂包括淀粉、甲基纤维素、瓜尔胶等。合适时也可包括甜味剂、矫味剂和防腐剂。以下更详细地讨论以上提及的一些术语，即崩解剂、稀释剂、润滑剂、粘合剂等。

另外，本发明的组合物可配制成持续释放形式以提供速率控制释放任一种或者更多种成分或活性成分来达到最佳治疗作用，即 HCV 抑制活性等。持续释放的合适的剂型包括含有变化的崩解速率的层或者控释聚合物基质(浸渍有活性成分并以片剂形式成型)的多层片或者包含这样的浸渍或包囊化的多孔聚合物基质的胶囊。

液体形式制剂包括溶液剂、混悬剂和乳剂。作为实例可被提及的有助于非肠道注射的水或者水-丙二醇溶液或者对口服液、混悬剂和乳剂加入甜味剂和 pacifiers。液体形式制剂也可包括用于鼻内给药的溶液剂。

适于吸入的气雾剂制剂可包括溶液和以粉末形式存在的固体，它们可与药学上可接受的载体例如惰性压缩气体如氮气组合。

对于制备栓剂，低熔点的蜡例如脂肪酸甘油酯如可可脂的混合物首先熔融，并且通过搅拌或者类似的混合可使活性成分均匀分散于其中。然后将熔融后均匀的混合物倾入到适宜体积的模具中，使之冷却且由此固化。

也可包括临用前转变为用于或者口服或者非肠道给药的液体形式制剂的固体形式制剂。这样的液体形式包括溶液剂、混悬剂和乳剂。

本发明化合物也可经皮传递。经皮组合物可采用霜剂、洗剂、气雾剂和/或乳剂的形式并且可包含在经皮贴剂的基质中或者包含在如对该目的的领域是便利的贮库型中。

化合物优选口服给药。

药物制剂优选以单位剂量形式存在。在这样的形式中，制剂可分为包含合适量的活性成分的合适大小的单位剂量，例如达到所需目的的有效量。

- 5 本发明活性组合物在制剂的单位剂量中的量通常可以是变化的或者在约 1.0 毫克-1,000 毫克之间调整，优选约 1.0-950 毫克，更优选约 1.0-500 毫克，按照具体的应用，一般为约 1-250 毫克。所使用的实际剂量可依患者的年龄、性别、体重和待治疗疾病的严重性而变化。这样的技术是本领域技术人员熟知的。

- 10 通常，包含活性成分的人口服剂型可每天给药 1 或 2 次。给药量和次数应根据主治医师的判断调节。口服给药的一般推荐每天剂量方案可以以单次或分开的剂量，在每天约 1.0 毫克-1,000 毫克的范围内变化。

一些有用的术语描述如下：

- 15 胶囊剂-指特殊容器或者由甲基纤维素、聚乙烯醇，或变性明胶或淀粉制成以保持或包括包含活性成分的组合物的包封物。硬壳胶囊一般由相对高的明胶强度骨架和猪皮肤明胶的掺合物制成。胶囊本身可包含小量的染料、不透明剂、增塑剂和防腐剂。

- 20 片剂-指包含与合适的稀释剂一起的活性成分的压制或模压固体剂型。通过压制混合物或经湿法制粒、干法制粒或者紧压法得到的颗粒，可制备片剂。

口服凝胶剂-指分散或溶于亲水性半固体基质中的活性成分。

用于构成的粉末指包含活性成分和能够悬浮在水或汁中的适宜稀释剂的粉末掺合物。

- 25 稀释剂-指通常组成组合物或者剂型的主要部分的物质。合适的稀释剂包括糖类如乳糖、蔗糖、甘露糖醇和山梨醇、衍生于小麦、玉米、大米和马铃薯的淀粉、以及纤维素例如微晶纤维素。组合物中稀释剂的量可在总组合物的约 10-90%(重量)的范围内，优选约 25-

75%，更优选约 30-60%(重量)，甚至更优选在约 12-60%(重量)的范围内。

崩解剂-指加入到组合物中以便使其分裂(崩解)并释放出药物的物质。合适的崩解剂包括淀粉、“冷水可溶的”变性淀粉例如羧甲基淀粉钠、天然和合成胶类如槐树豆胶(locust bean)、卡拉胶、瓜尔胶、黄蓍胶和琼脂、纤维素衍生物如甲基纤维素和羧甲基纤维素钠、微晶纤维素和交联微晶纤维素如交联羧甲基纤维素钠、藻酸盐如藻酸和藻酸钠、粘土如膨润土、以及泡腾混合物。组合物中崩解剂的量可在组合物约 2-15%(重量)的范围内，更优选在约 4-10%(重量)的范围内。

粘合剂-指使粉末粘合或者“胶着”在一起并通过使它们形成颗粒粘聚，因此在制剂中用作“粘合剂”的物质。粘合剂可增加已在稀释剂或者增量剂中可以得到的粘聚的强度。合适的粘合剂包括糖类如蔗糖、衍生于小麦、玉米、大米和马铃薯的淀粉、天然胶类如阿拉伯胶、明胶和黄蓍胶、海藻衍生物如藻酸、藻酸钠和藻酸钙铵、纤维素材料如甲基纤维素和羧甲基纤维素钠和羟基丙基甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、以及无机物例如硅酸镁铝。组合物中粘合剂的量可在组合物的约 2-20%(重量)的范围内，更优选在约 3-10%(重量)的范围内，甚至更优选在约 3-6%(重量)的范围内。

润滑剂-指加入到剂型中以便在其被压制后通过减少摩擦或磨损确保片剂、颗粒剂等自模具或者冲模中脱出的物质。合适的润滑剂包括金属硬脂酸盐如硬脂酸镁、硬脂酸钙或硬脂酸钾、硬脂酸、高熔点蜡、以及水溶性润滑剂如氯化钠、苯甲酸钠、乙酸钠、油酸钠、聚乙二醇和 d,l-亮氨酸。压制前通常在很后的步骤中加入润滑剂，因为它们必须存在于颗粒的表面并介于它们与片剂压制的部分之间。组合物中润滑剂的量可在组合物的约 0.2-5%(重量)的范围内，优选约 0.5-2%，更优选在约 0.3-1.5%(重量)的范围内。

助流剂-防止结块并改善颗粒的流动性质以使流动平滑和均匀的

物质。合适的助流剂包括二氧化硅和滑石粉。组合物中助流剂的量可在总组合物的约 0.1%-5%(重量), 优选约 0.5-2%(重量)的范围内。

着色剂-向组合物或者剂型提供着色的赋形剂。这样的赋形剂可包括食品等级染料和吸附到合适的吸附剂例如粘土或氧化铝上的食品等级染料。着色剂的量可在组合物的约 0.1-5%, 优选约 0.1-1%(重量)之间变化。

生物利用度-指活性药物成分或者治疗部分自给药剂型吸收进入到全身循环中与标准物或者对照物比较的速率和程度。

制备片剂的常规方法是人们已知的。这样的方法包括干法例如直接压制和经过紧压法产生的颗粒的压制, 或者湿法或其它的特殊的方法。制备其它给药形式例如胶囊剂、栓剂等的常规方法也是人们熟知的。

本发明的另一个实施方案公开用于治疗疾病例如丙型肝炎等的以上公开的药用组合物的用途。方法包括给予患有这样的疾病或者这些疾病和需要这样治疗的患者治疗有效量的本发明药用组合物。

如早先说明的那样, 本发明也包括所述化合物的互变异构体、对映体和其它的立体异构体。因此, 如本领域技术人员已知的那样, 一些本发明化合物可以异构体形式存在。这样的变体包括在本发明的范围内。

本发明另一个实施方案公开制备在此公开的大环化合物的方法。通过本领域已知的几种技术可制备所述化合物。在以下反应流程中概述代表性的示例方法。应该理解, 当以下示例的流程描述主要衍生于 4-顺式-羟基脯氨酸(“顺式-HYP”)或者 7-羟基四氢异喹啉-3-羧酸(“TLC”)的大环的制备时, 天然和非天然氨基酸中的任一种的适宜取代将导致基于这样的取代的所需大环形成。

在以下流程、制备和实施例的描述中所使用的缩写为:

THF: 四氢呋喃

DMF: *N,N*-二甲基甲酰胺

- EtOAc: 乙酸乙酯
AcOH: 乙酸
HOObt: 3-羟基-1,2,3-苯并三嗪-4(3*H*)-酮
EDCl: 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐
5 NMM: *N*-甲基吗啉
ADDP: 1,1'-(偶氮二羧基)二哌啶
DEAD: 二乙基偶氮二羧酸酯
MeOH: 甲醇
EtOH: 乙醇
10 Et₂O: 乙醚
Bn: 苄基
Boc: 叔丁氧基羰基
Cbz: 苄氧基羰基
Cp: 环戊二烯基
15 Ts: 对-甲苯磺酰基
Me: 甲基
PyBrOP: 六氟磷酸三(吡咯烷基)溴代磷鎓
DMSO: 二甲基亚砷
TFA: 三氟乙酸
20 HOBt: 羟基苯并三唑
Hünigs 碱: 二异丙基乙胺
BOP: 六氟磷酸苯并三唑-1-基氧基三(二甲基氨基)磷鎓
LDA: 二异丙基氨基化锂
Ph₃P: 三苯基磷
25 LAH: 氢化铝锂
DMAP: 4-二甲基氨基吡啶
DCC: 二环己基碳二亚胺
MCPBA: 间-氯过氧苯甲酸

BINAP: 2,2'-双(二苯基膦基)-1,1'-联萘酚

MeCN: 乙腈

Pr: 丙基

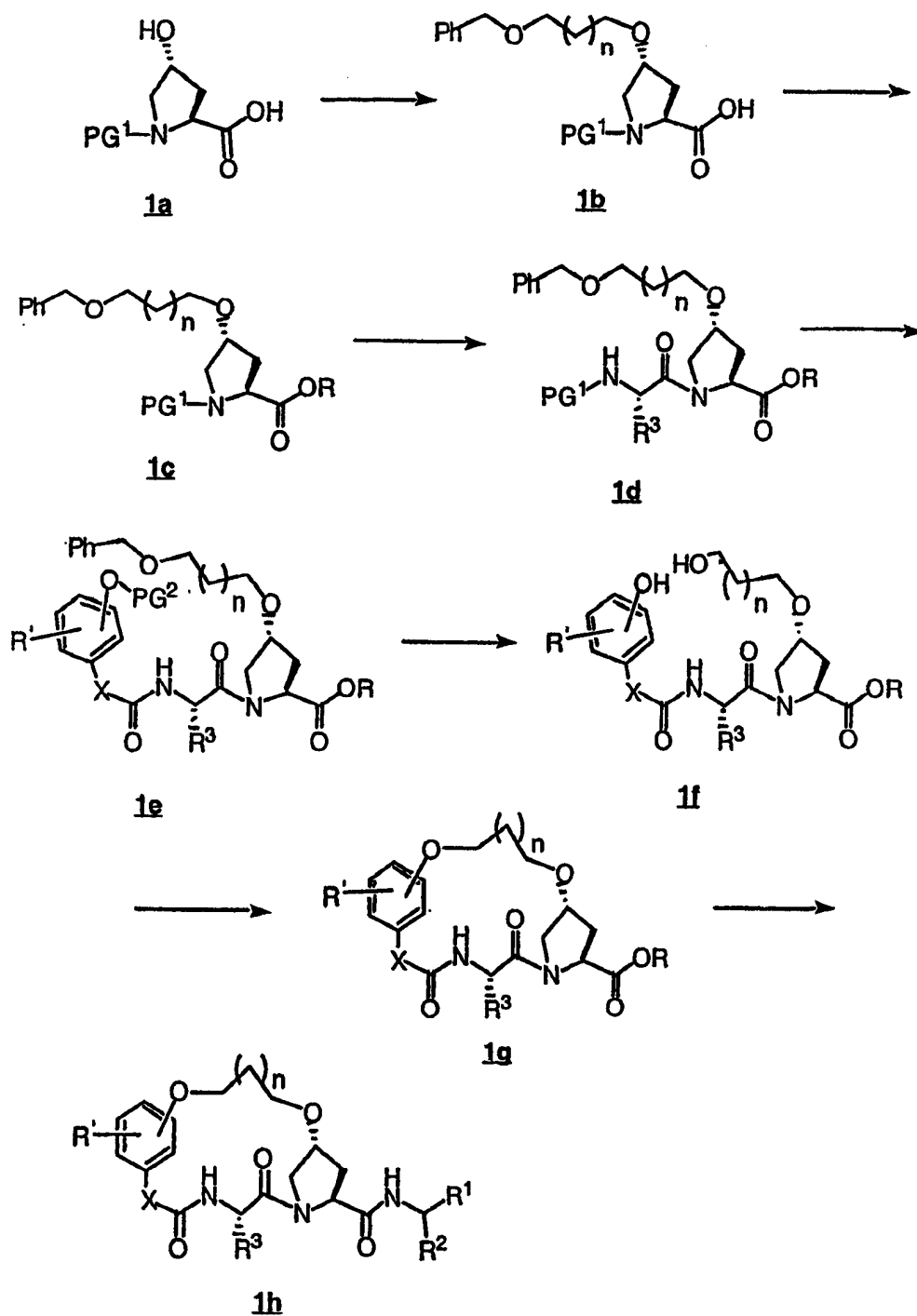
Ac: 乙酰基

5 Ph: 苯基

一般制备流程

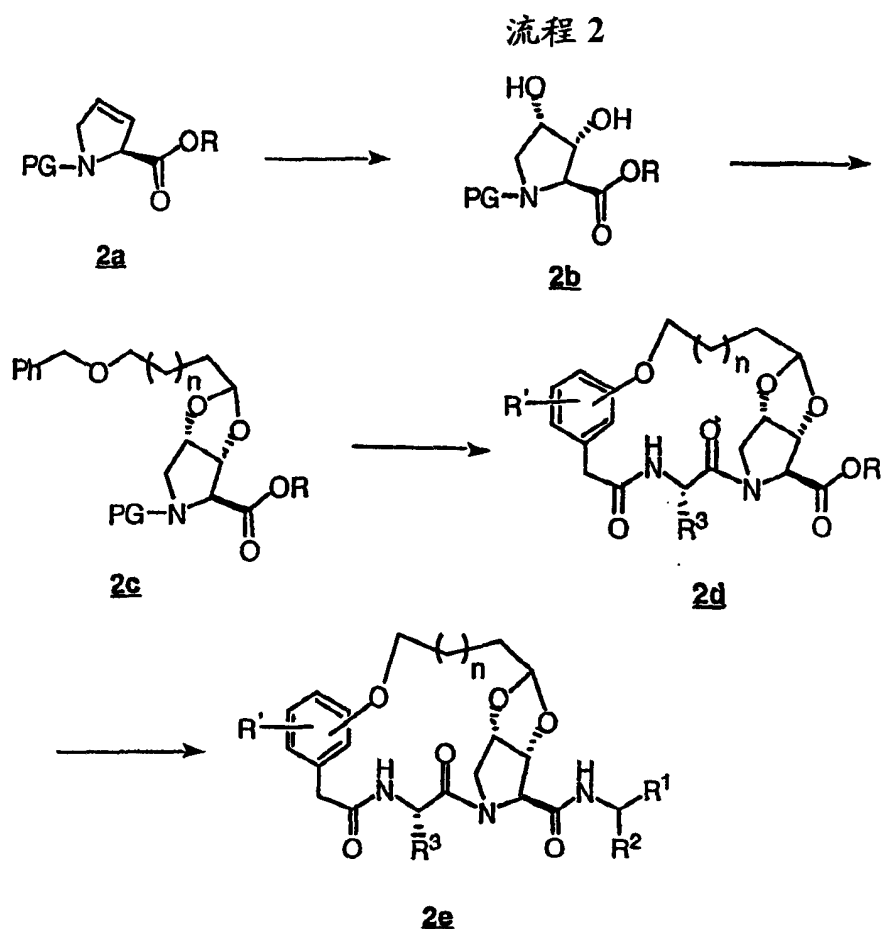
在流程 1 中概述式 **1h** 化合物的制备, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 如上定义, R^1 为烷基、杂烷基(OR'', SR''', NR''R''', 其中 R'' 和 R''' 为烷基)、
10 氧原子的邻、间或对-位的卤代取代基; R 为烷基、芳基或烷基芳基;
n 为 0-5; X 为其中 m 为 1-5 的 $(CH_2)_m$, 氧原子, NY, 其中 Y 为氢原子、烷基、芳基; PG^1 和 PG^2 为合适的保护基团(PG^1 = t-boc、cbz 和 PG^2 = H、Bn 等)。在氢化钠存在下, 通过烷基溴在 4-位将保护的 4-羟基脯氨酸(**1a**)烷基化。然后, 或者用酸性条件下的醇, 或者用三甲基甲硅烷基二氮杂甲烷, 将产物 **1b** 转变为酯。脱除保护后, 在
15 HOObt、EDCI · HCl 和 NMM 存在下使生成的胺与 Boc 保护的氨基酸偶合。自产物 **1d** 除去 Boc 基团后, 使用相同的偶合条件, 使二肽与取代的羟基苯基乙酸反应。苄基醚催化氢化得到用于大环化的前体。通过使用三苯基膦和 ADDP, 在 Mitsunobu 条件下达到大环化。
20 (Mitsunobu 反应由 D. L. Hughes 综述, *Org. Reactions*, **42** (1992) 335, John Wiley & Sons, New York, L. Paquette 编辑)。用氢氧化锂将酯水解为酸后, 它与胺中间体偶合, 得到 **1h**。

流程 1



在流程 2 中概述式 **2e** 化合物的制备, 其中 R¹、R²、R³、R 和 R' 如上定义。保护的 3,4-去氢脯氨酸 **2a** 经非对映体选择性二羟基化, 得到顺式-二醇 **2b**。在催化量的对-甲苯磺酸存在下, 能够实现 **2b** 与

醛之间缩醛的形成。将二环脯氨酸衍生物 **2c** 转变为大环酯 **2d**，随后按照流程 1 中概述的顺序转变为 HCV 抑制剂 **2e**。

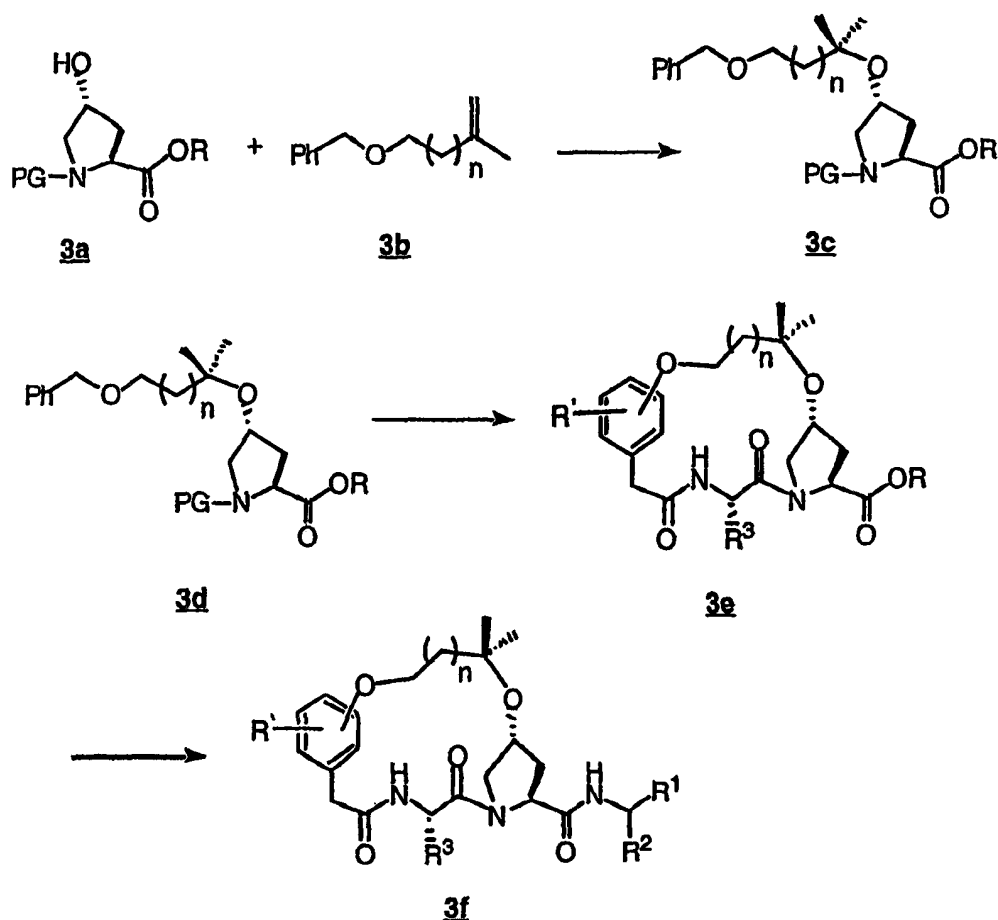


5

在流程 3 中概述式 **3f** 化合物的制备，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R 、 R' 和 n 如上定义。当用三氟硼二乙基乙醚化物处理时，使保护的 4-羟基脯氨酸 **3a** 和链烯 **3b** 转变为脯氨酸醚 **3c**，后者经历流程 1 中概述的相同的转化顺序，得到大环酯 **3e**，随后得到所需的最终产物 **3f**。

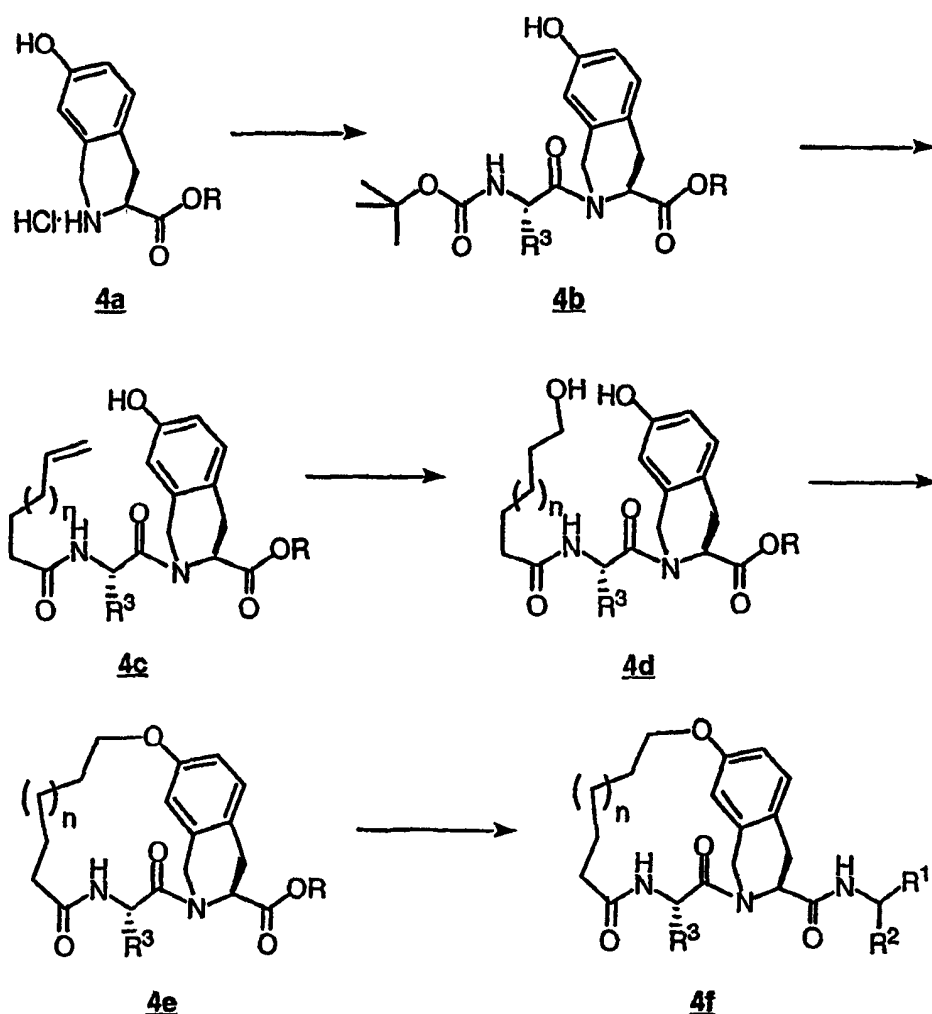
10

流程 3



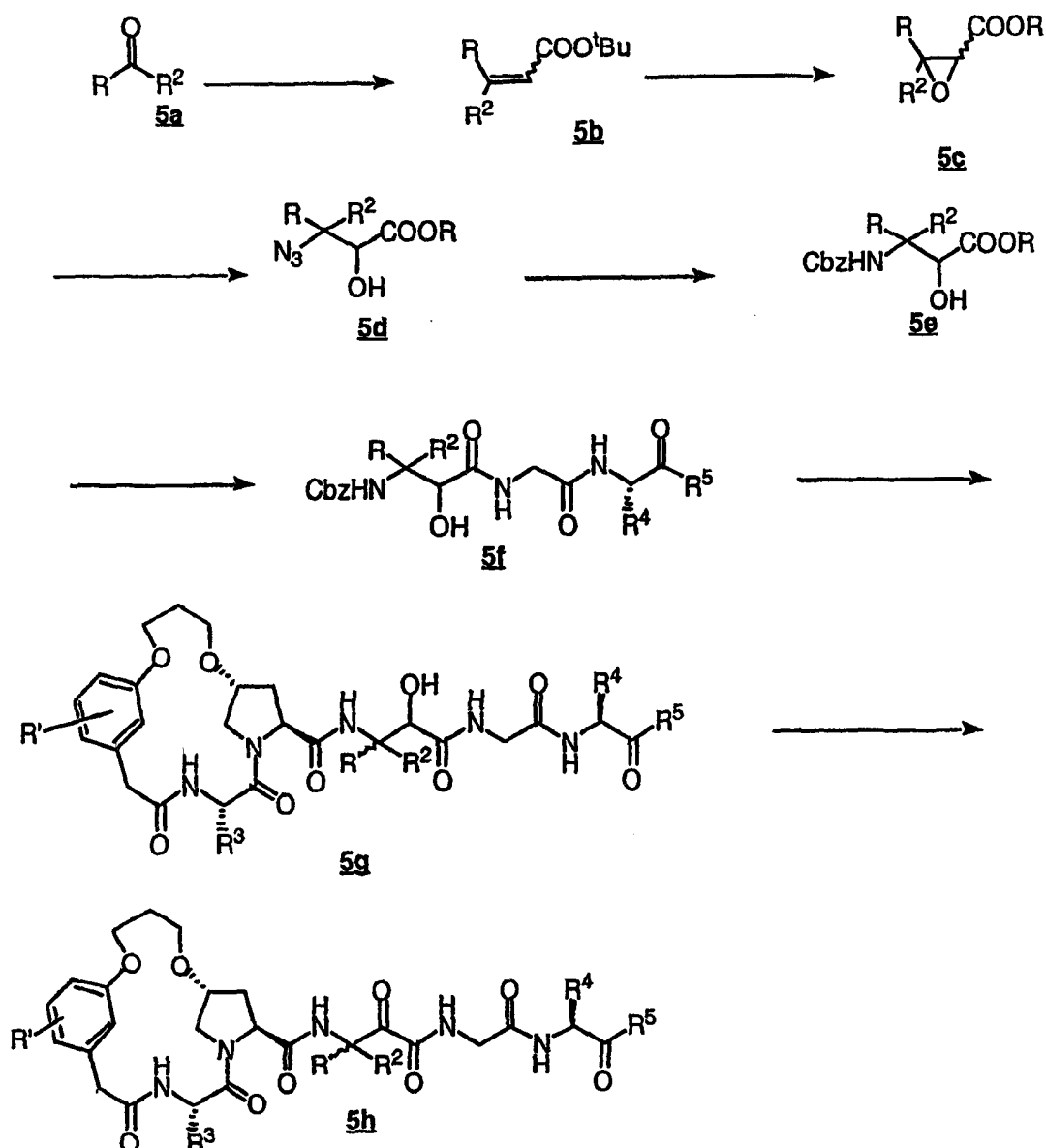
在流程 4 中概述式 **4f** 化合物的制备，其中 R¹、R²、R³、R 和 n 如上定义。在 NMM、HOObt 和 EDCI · HCl 存在下，实现氨基醚 **4a** 与 Boc 保护的氨基酸之间的偶合。自 **4b** 除去 Boc 基团后，使二肽与末端链烯羧酸偶合，得到 **4c**。然后通过硼氢化将双键转变为醇。通过使用三苯基磷和 ADDP，在 Mitsunobu 条件下实现苯酚醇的大环化。在用氢氧化锂将得到的酯 **4e** 水解为酸后，使酸与胺中间体偶合，得到 **4f**。

流程 4



在流程 5 中概述式 **5h** 化合物的制备，其中 R、R²、R³、R⁴ 如在流程 1 中所定义，R⁴ 为烷基、环烷基、芳基、杂芳基和杂烷基且 R⁵ 为 OR、NR₂ 或 OH。通过 **5a** 与叔丁基膦酰基乙酸酯及 NaH 的 Wittig 反应，得到化合物 **5b**。通过 MCPBA 的处理使化合物 **5b** 转变为 **5c**。用 NaN₃ 将环氧化物 **5c** 进一步开环，得到化合物 **5d**，后者用 Pd/C/H₂ 还原为胺并用 Cbz-Cl, Et₃N 进行 Cbz 保护，得到式 **5e** 化合物。用 TFA 将化合物 **5e** 脱除保护，并进一步加工为 **5f**。将 **5f** 的 Cbz 基团氢解，然后使用 EDCI、HOObt、NMM 使之与式 **1g** 化合物偶合，得到 **5g**。用 Dess-Martin 试剂将类型 **5g** 的化合物氧化，生成式 **5h** 化合物。

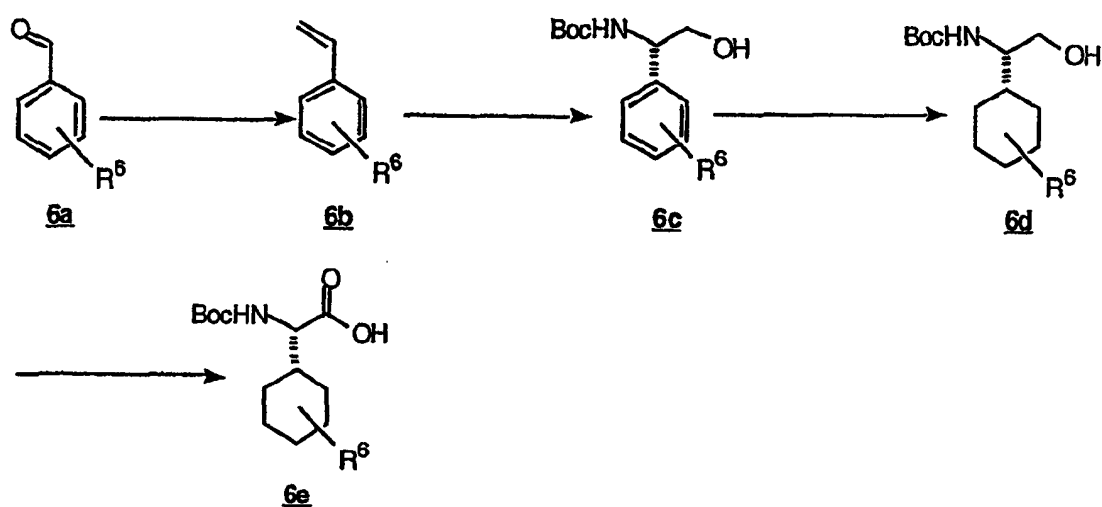
流程 5

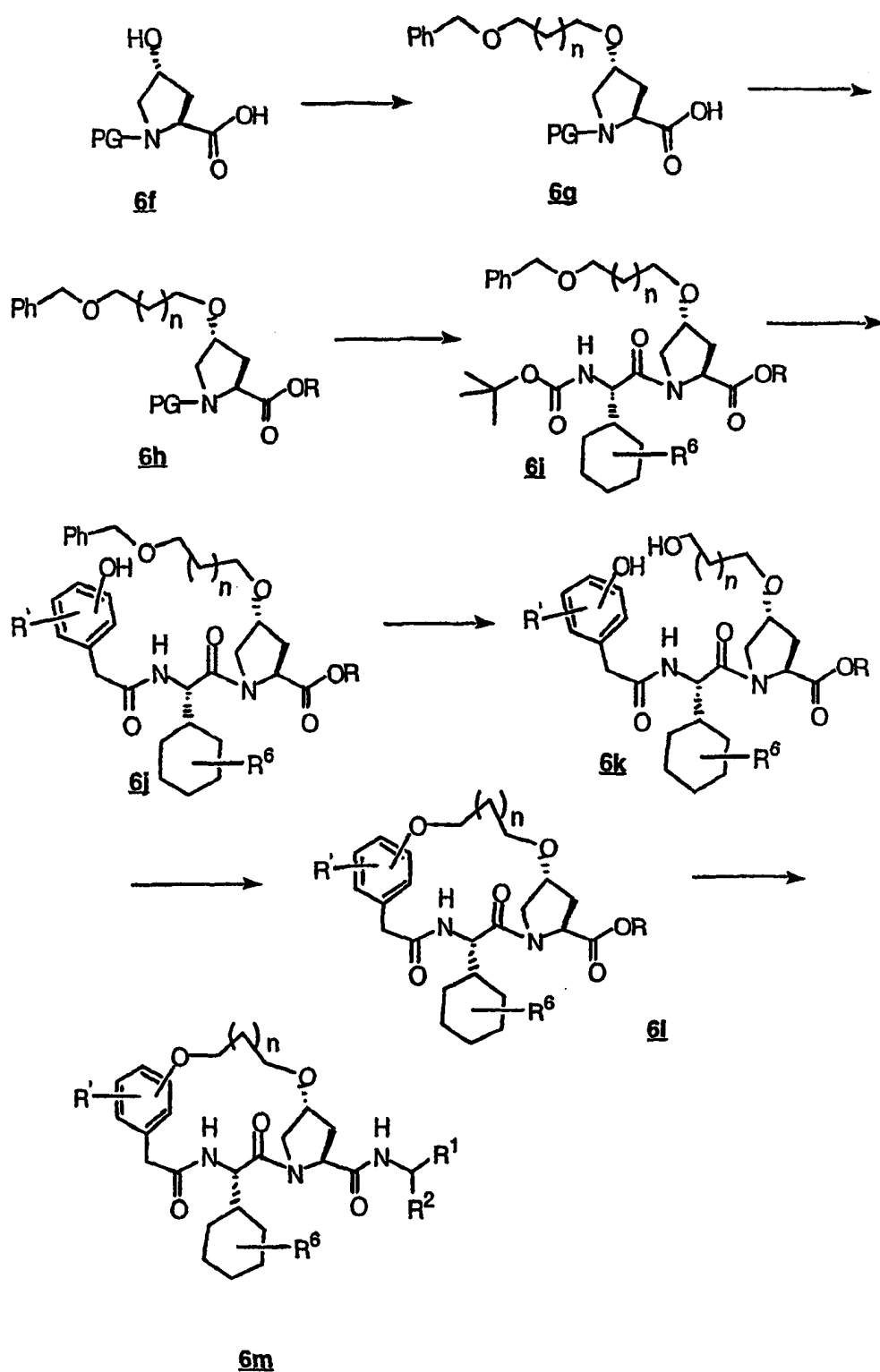


如在流程 6 中概述的合成式 **6m** 化合物, 其中 R¹、R²、R' 和 n 如在流程 1 中定义, R⁶ 为烷基、芳基、酯、羧酸和羧酰胺。使用 Ph₃PCH₃I 和 BuLi, 通过 Wittig 烯化作用自 **6a** 合成类型 **6b** 的化合物。将化合物 **6b** 进一步氨基羟基化, 合成类型 **6c** 的化合物, 使用 Rh/C 和 H₂ 将后者还原, 得到类型 **6d** 的化合物。使用 RuCl₃ 和 H₅IO₆, 将化合物 **6d** 氧化为类型 **6e** 的化合物。使用 NMM、EDCI 和 HOObt, 通过

使其与脱除保护的 **6h** 偶合, 将化合物 **6e** 加工为化合物 **6i**。使用 EDCI、HOObt 和 NMM, 通过使脱除保护的 **6i** 与合适取代的苯乙酸偶合, 再次得到化合物 **6i** 至 **6j** 的扩展。使用 Mitsunobu 条件, 将 **6j** 中的苄基氢解后得到的化合物 **6k** 环合为 **6l**。如在流程 1 中概述的, 将 **6l** 进一步加工为类型 **6m** 的化合物。

流程 6

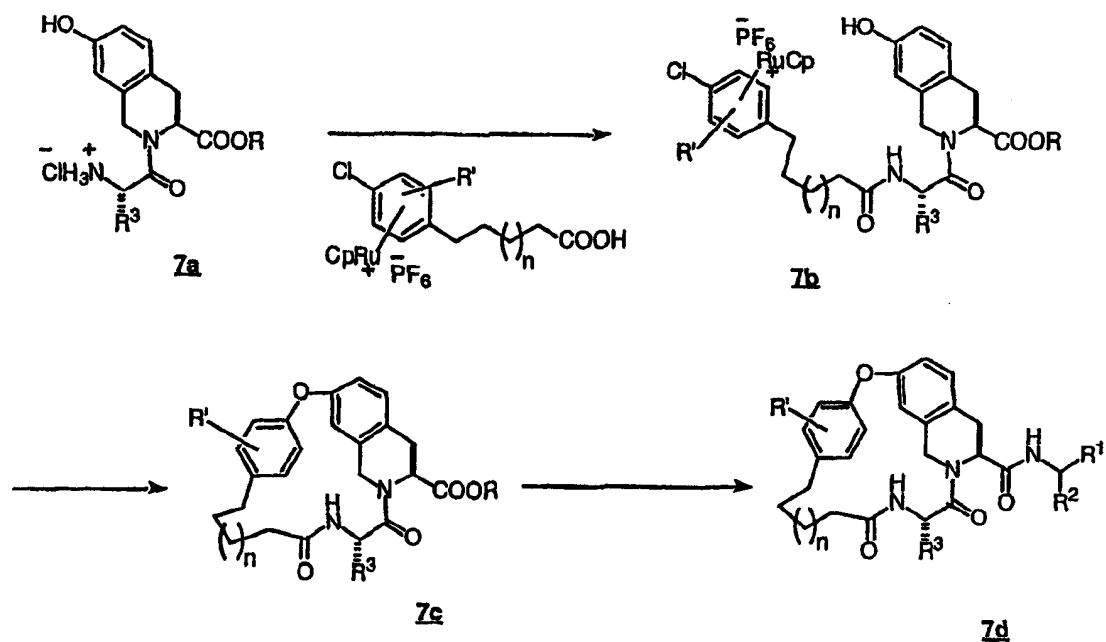




采用芳烯钌化学可合成类型 **7d** 的化合物，其中取代基 R¹、R²、R³、R' 如在流程 1 中定义，n 为 0-3。通过 EDCI、HOBT、Hünigs 碱偶合，自类型 **7a** 化合物可得到式 **7b** 化合物的合成。用 Cs₂CO₃ 处理

7b 且光催化除去钨，使类型 **7b** 化合物转变为 **7c**，如在流程 1 中所述，将后者进一步加工为化合物 **7d**。

流程 7

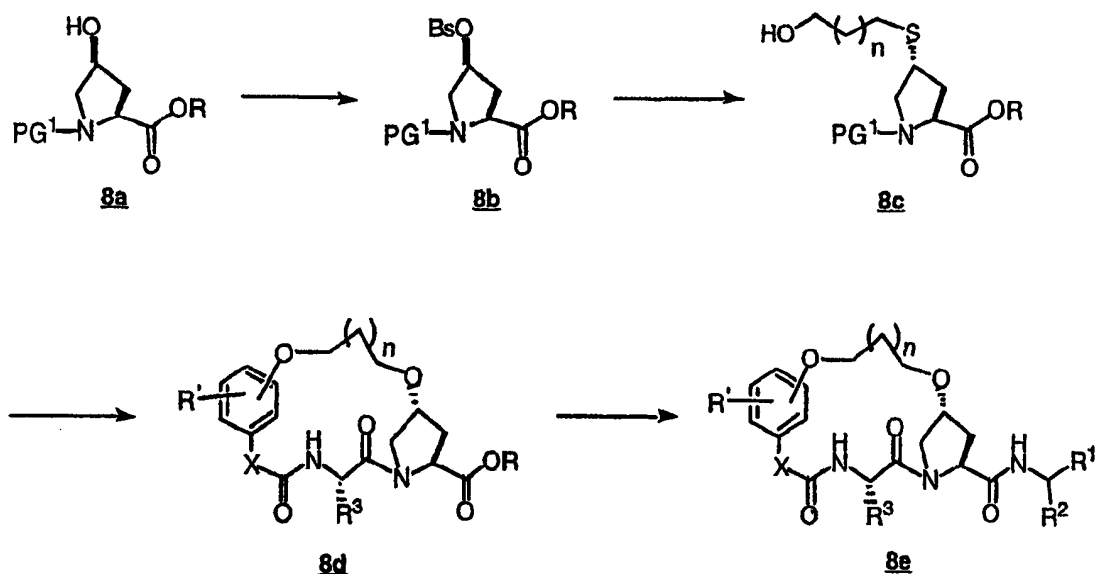


5

在流程 8 中概述式 **8e** 化合物的制备，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 如上定义， R^1 为烷基、杂烷基(OR'、SR'、NR'R')，其中 R' 和 R' 为烷基)、氧原子的邻、间或对-位的卤代取代基；R 为烷基、芳基或烷基芳基；n 为 0-5；X 为其中 m 为 1-5 的 $(CH_2)_m$ ，氧原子，NY，其中 Y 为氢原子、烷基、芳基。将保护的顺式-4-羟基脯氨酸衍生物 **8a** 转变为对溴苯磺酸酯(Bs = 4-溴代苯磺酰基)衍生物 **8b**，后者在氢化钠条件下用合适的巯基醇置换，得到 **8c**。转变为大环酯 **8d**，随后如在流程 1 中概述的，转变为所需目标物 **8e**。

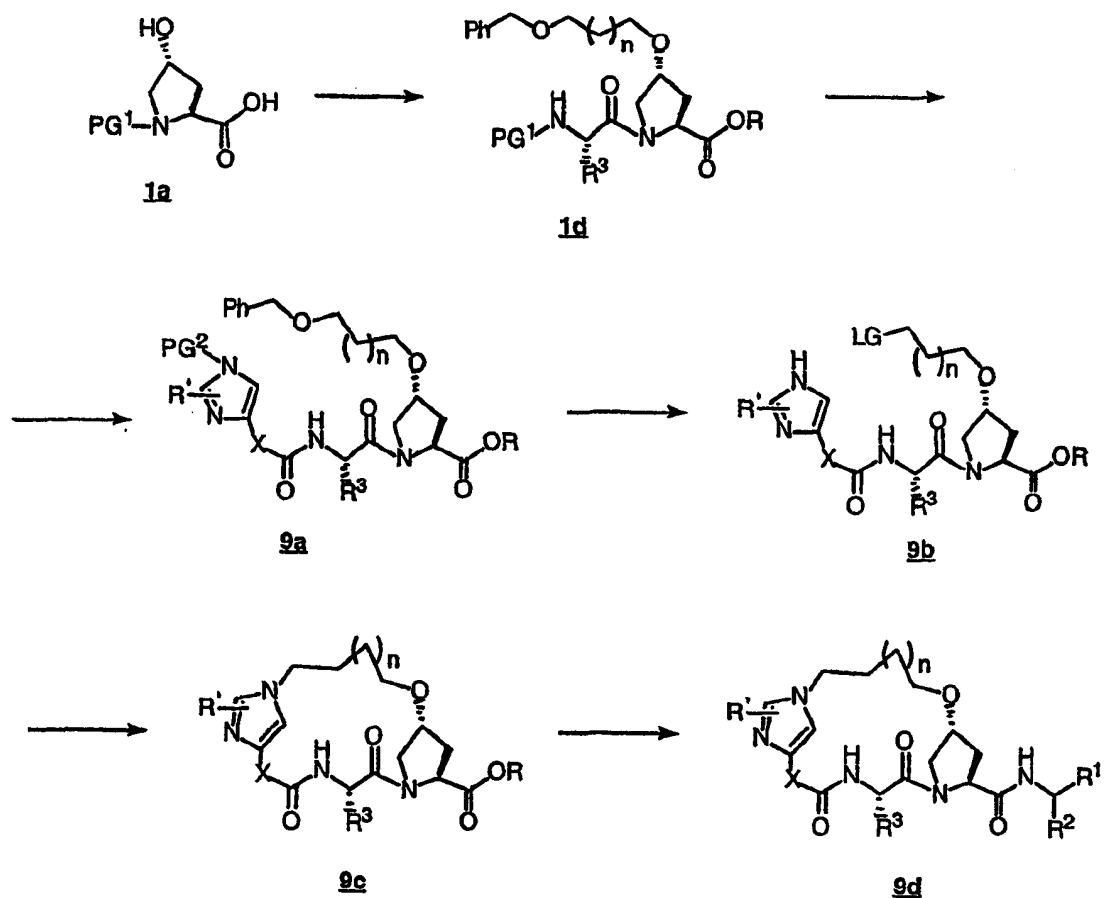
10

流程 8



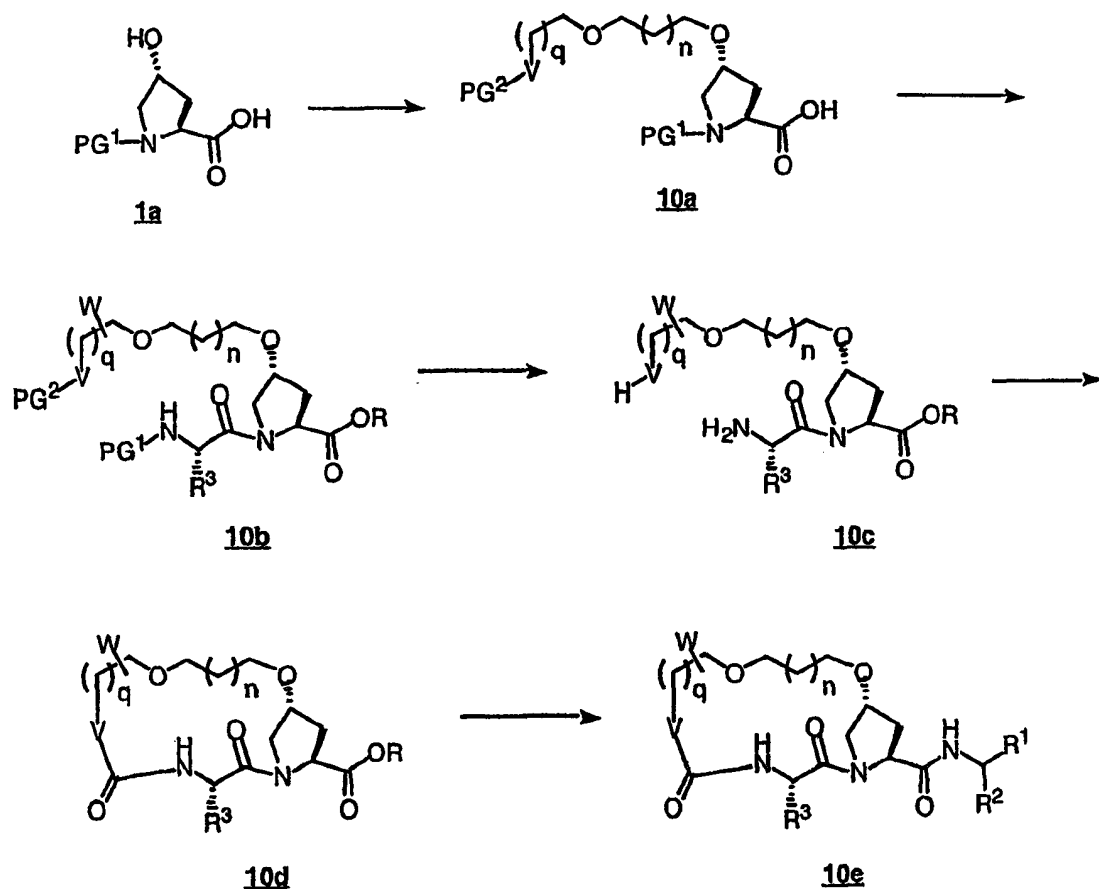
在流程 9 中概述式 **2d** 化合物的制备，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 如上定义， R^1 为烷基、杂烷基(OR'、SR'、NR'R')，其中 R' 和 R' 为烷基)、氧原子的邻、间或对-位的卤代取代基；R 为烷基、芳基或烷基芳基；n 为 0-5；X 为其中 m 为 1-5 的(CH₂)_m，氧原子，NY，其中 Y 为氢原子、烷基、芳基；LG 为离去基团(例如，OTs、Br)。通过 **1d** (这在流程 1 中描述)的形成，将保护的 4-羟基脯氨酸衍生物 **1a** 转变为 **2a**。除去苄基醚，随后转变为合适的离去基团，并且 N 保护基团拆开，得到 **2b**。通过用碳酸钠/碘化钠在回流的丙酮中处理，进行向大环酯 **2c** 的转化。随后如在流程 1 中概述的，加工得到所需的目标物 **2d**。

流程 9



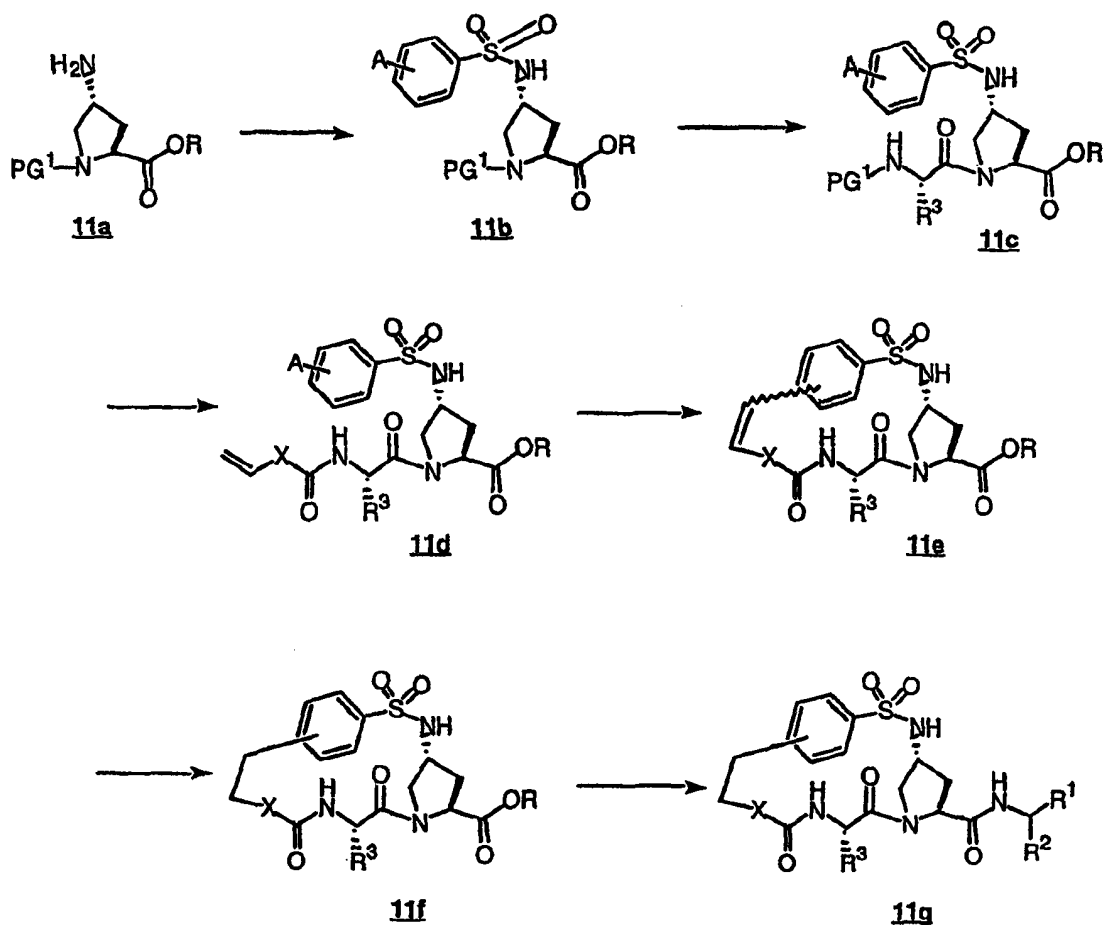
在流程 10 中概述式 **10e** 化合物的制备, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 如上定义, R^1 为烷基、杂烷基(OR'' 、 SR''' 、 $NR''R'''$, 其中 R'' 和 R''' 为烷基)、氧原子的邻、间或对-位的卤代取代基; R 为烷基、芳基或烷基芳基; n 和 q 为 0-5 的任何组合; V 为氧原子, NY , 其中 Y 为氢原子、烷基、芳基; W 为烷基、芳基、烷基芳基、杂芳基; PG^1 和 PG^2 为合适的保护基团($PG^1 = t\text{-boc}$ 、 cbz 和 $PG^2 = H$ 、 Bn 等)。如在流程 1 中概述的, 将保护的 4-羟基脯氨酸衍生物 **1a** 转变为 **10b**。除去保护基团(**10c**), 随后用光气等价物处理, 得到大环酯 **10d**。如在流程 1 中概述的, 实现向目标物 **10e** 的转变。

流程 10



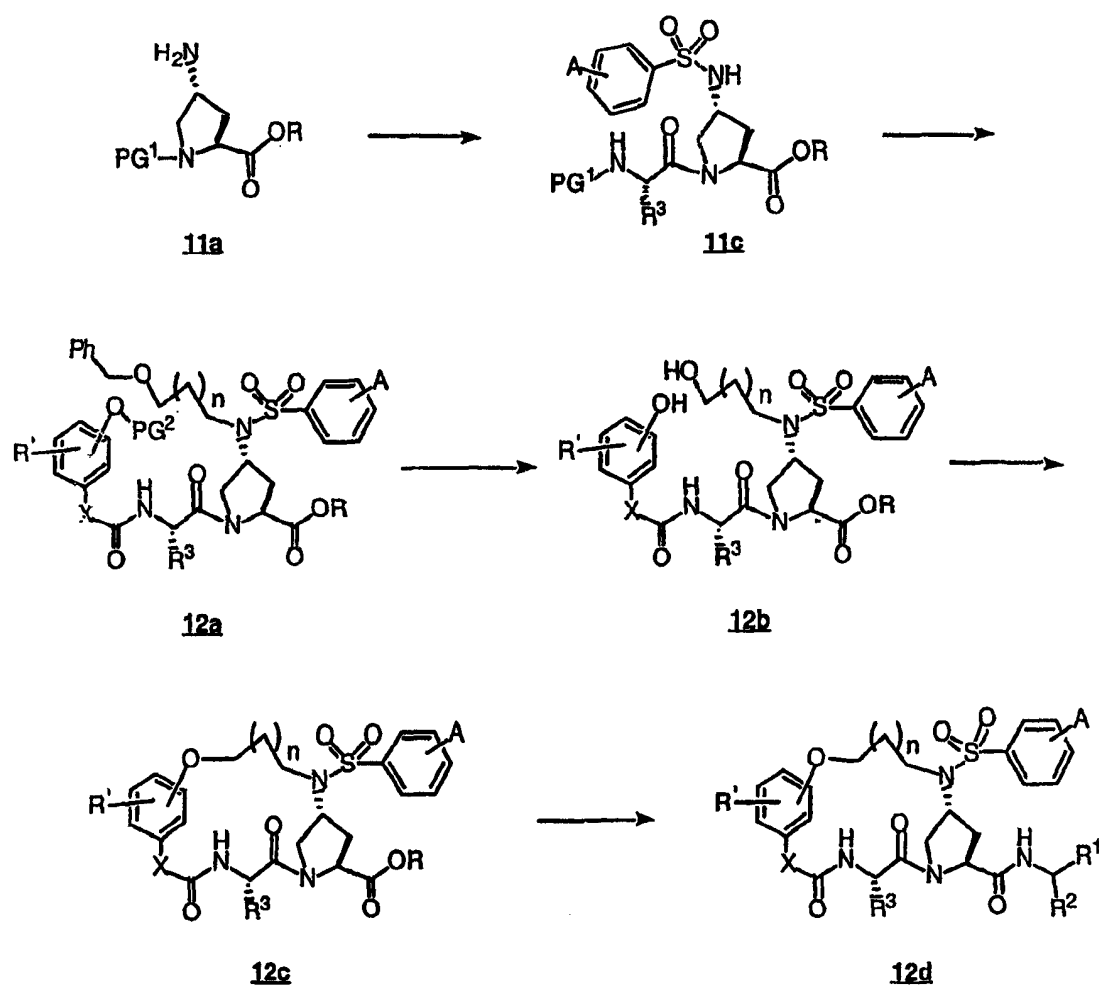
在流程 11 中概述式 **11g** 化合物的制备，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 如上定义， R 为烷基、芳基或烷基芳基； X 为 $(CH_2)_m$ 、 $(CH_2)_mO$ 、 $(CH_2)_mNY$ ，其中 m 为 1-5， Y 为氢原子、烷基、芳基； A 为氢原子或合适的定位卤原子； PG^1 为合适的保护基团 ($PG^1 = t\text{-boc}$ 、 cbz 等)。用合适的苯磺酰氯和碱处理，将保护的 4-氨基脯氨酸衍生物 **11a** 转变为 **11b**。除去保护基团并与保护的氨基酸衍生物偶合，得到 **11c**。采用类似的脱除保护、偶合策略，使之转变为 **11d**。钨(0)催化环合可得到作为异构体混合物的 **11e**，后者经氢化得到大环酯 **11f**。如在流程 1 中概述的，随后转变为所需的目標物 **11g**。

流程 11



在流程 12 中概述式 12d 化合物的制备，其中 R¹、R²、R³ 如上定义，R 为烷基、芳基或烷基芳基；n 为 0-5，X 为其中 m 为 1-5 的 (CH₂)_m，氧原子，NY，其中 Y 为氢原子、烷基、芳基；A 为氢原子或合适的定位卤素原子；PG¹ 和 PG² 为合适的保护基团 (PG¹ = t-boc、cbz 和 PG² = H、Bn 等)。如在流程 11 中所述，将保护的 4-氨基脯氨酸衍生物 11a 转变为 11c。将 11c 转变为大环酯 12c，随后如在流程 1 中概述的，转变为所需的目标物 12d。

流程 12

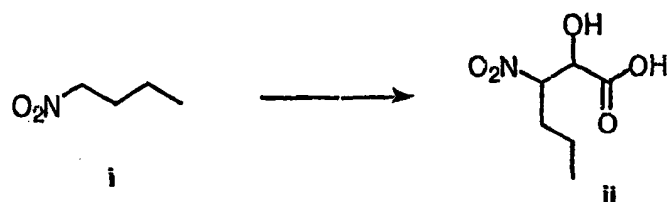


中间体的制备:

中间体 A:

5

步骤 1:



在 0°C - 5°C 下, 于 2 小时内, 向 1-硝基丁烷(16.5 g, 0.16 mol)和乙醛酸在 H_2O (28.1 g, 0.305 mol)和 MeOH (122 mL)中的搅拌着的溶液中滴加三乙胺(93 mL, 0.667 mol)。把溶液温热至室温, 搅拌过夜并浓

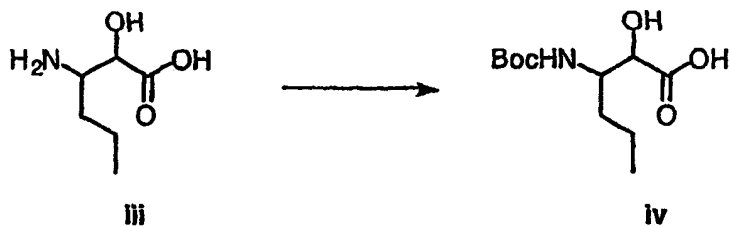
缩至干, 得到油。然后将油溶于 H_2O 中并用 10% HCl 酸化至 $\text{pH} = 1$, 随后用 EtOAc 提取。用盐水洗涤合并的有机溶液, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩至干, 得到产物 **ii** (28.1 g, 99%收率)。

5 步骤 2:



向起始原料 **ii** (240 g, 1.35 mol) 在乙酸(1.25 L)中的搅拌着的溶液中加入 10% Pd/C (37 g)。在 59 磅/平方英寸下把生成的溶液氢化 3 小时, 然后在 60 磅/平方英寸下氢化过夜。然后蒸发乙酸并与甲苯共沸 3 次, 然后用 MeOH 和乙醚研磨。之后过滤溶液并与甲苯共沸 2 次, 得到灰白色固体(131 g, 0.891 mol, 66%)。

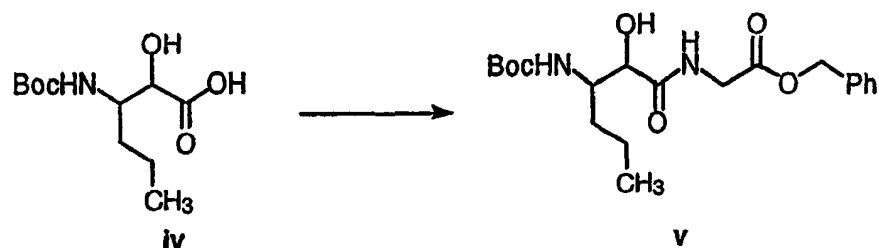
步骤 3:



在 0°C 下, 向氨基酸 **iii** (2.0 g, 13.6 mmol) 在二噁烷(10 mL)和 H_2O (5 mL) 中的搅拌着的溶液中加入 1 N NaOH 溶液(4.3 mL, 14.0 mmol)。把生成的溶液搅拌 10 分钟, 随后加入二碳酸二叔丁酯(0.110 g, 14.0 mmol), 在 0°C 下搅拌 15 分钟。然后, 将溶液温热至室温, 搅拌 45 分钟, 并在冰箱中保持过夜, 浓缩至干, 得到粗品物质。向该粗品物质在 EtOAc (100 mL) 和冰中的溶液中加入 KHSO_4 (3.36 g) 和 H_2O

(32 mL)并搅拌 4-6 分钟。然后分离有机层,并用 EtOAc 将水层提取两次,用水、盐水洗涤合并的有机层,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩至干,得到为透明的胶的产物(3.0 g, 89%收率)。

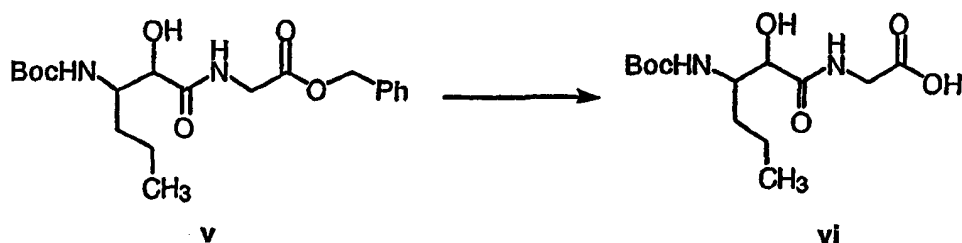
5 步骤 4:



于 -20°C 下,向起始原料(3.00 g, 12.0 mmol)在 DMF (15 mL)和 CH_2Cl_2 (15 mL)中的搅拌着的溶液中加入 HOOBt (1.97 g, 12.0 mmol)、*N*-甲基吗啉(4.0 mL, 36.0 mmol)和 EDCI (2.79 g, 14.5 mmol)并搅拌 10 分钟,随后加入 HCl $\text{H}_2\text{N-Gly-OBn}$ (2.56 g, 13.0 mmol)。在 -20°C 下,将生成的溶液搅拌 2 小时,然后在冰箱中保持过夜,浓缩至干,随后用 EtOAc (150 mL)稀释。然后用饱和 NaHCO_3 、 H_2O 、5% H_3PO_4 、盐水把 EtOAc 溶液洗涤两次,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩至干,得到产物(4.5 g, 94%)。LRMS m/z $\text{MH}^+ = 395.1$ 。

15

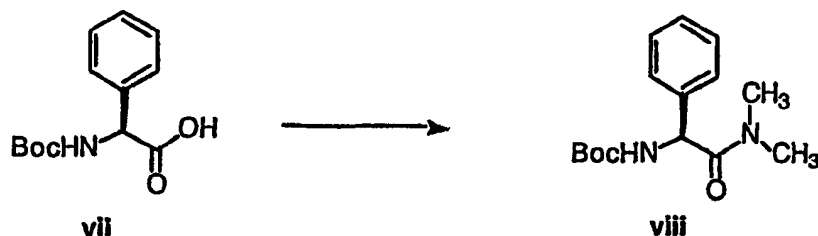
步骤 5:



在 Pd-C (300 mg, 10%)存在下,在氢气氛下,于室温下将起始原料 **v** (7.00 g, 17.8 mmol)在无水乙醇(300 mL)中的溶液搅拌。经 TLC

监测反应进展。2 小时后, 经硅藻土垫过滤混合物, 真空浓缩生成的溶液, 得到产物 **vi** (5.40 g, 定量)。LRMS m/z $MH^+ = 305.1$ 。

步骤 6:

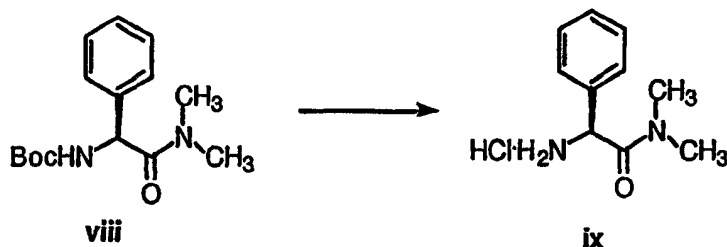


5

在 -20℃ 下, 向二甲胺盐酸盐 (1.61 g, 19.7 mmol)、N-Boc-苯基甘氨酸 (4.50 g, 17.9 mmol)、HOObt (3.07 g, 18.8 mmol) 和 EDCI (4.12 g, 21.5 mmol) 在无水 DMF (200 mL) 和 CH₂Cl₂ (150 mL) 中的溶液中加入 NMM (5.90 mL, 53.7 mmol)。在该温度下搅拌 30 分钟后, 把反应混合物在冰箱中保持过夜 (18 h)。然后将其温热至室温, 并加入 EtOAc (450 mL)、盐水 (100 mL) 和 5% H₃PO₄ (100 mL)。分离这些层后, 用 5% H₃PO₄ (100 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (2 X 150 mL)、水 (150 mL) 和盐水 (150 mL) 洗涤有机溶液, 干燥 (MgSO₄), 过滤, 真空浓缩, 得到为白色固体的粗品产物 **viii** (4.86 g), 它无须进一步纯化即可使用。

15

步骤 7:

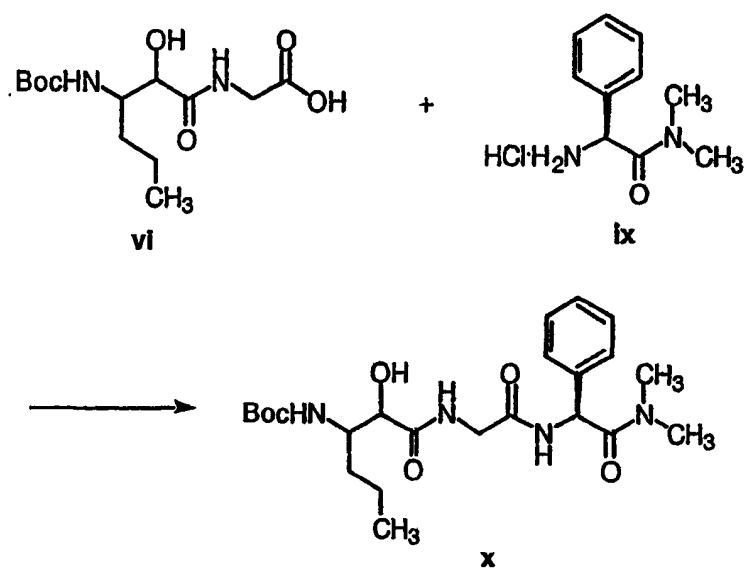


将 N-Boc-苯基甘氨酸二甲基酰胺 **viii** (4.70 g, 粗品) 溶于 4 N HCl (60 mL, 240 mmol) 中并在室温下搅拌生成的溶液。经 TLC 监测反应进展。4 小时后, 真空浓缩溶液, 得到白色固体, 它无须进一步纯化

20

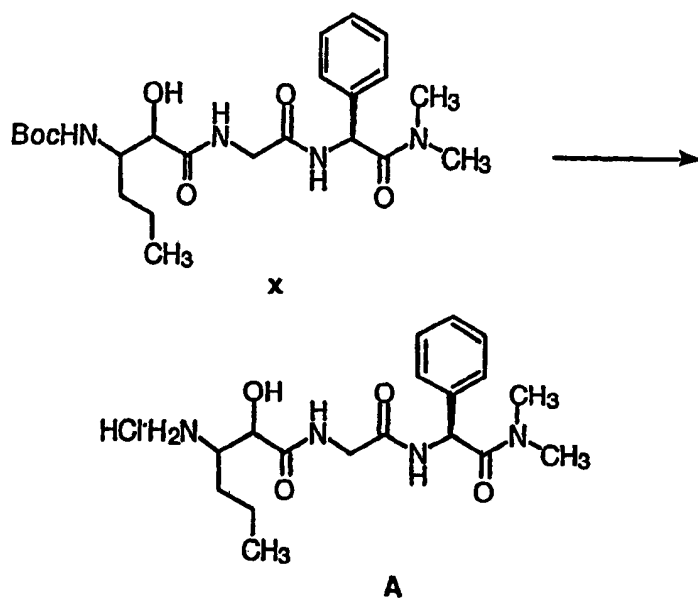
即可用于下一步骤反应。LRMS m/z $MH^+ = 179.0$ 。

步骤 8:



5 按照在步骤 4 中描述的偶合方法,制备所需的化合物 **x**。LRMS m/z $MH^+ = 465.1$ 。

步骤 9:

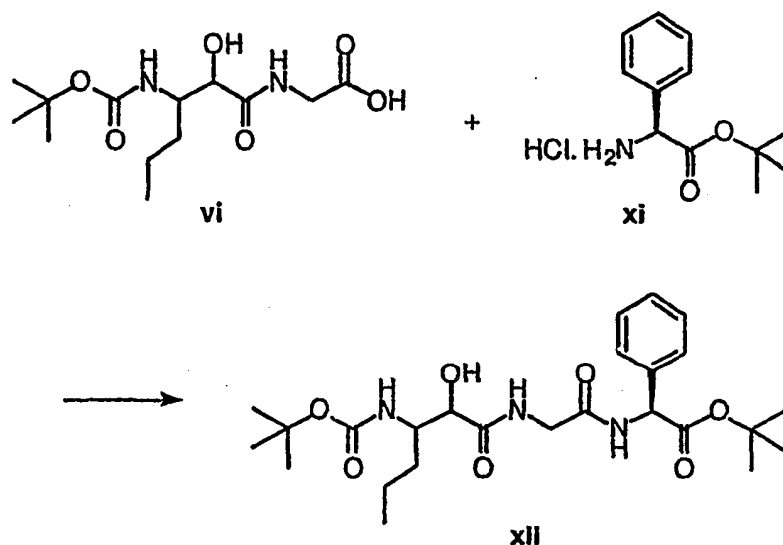


按照在步骤 7 中描述的方法, 从三肽 **x** 制备所需的中间体 **A**。

LRMS m/z $MH^+ = 365.1$ 。

中间体 **B**:

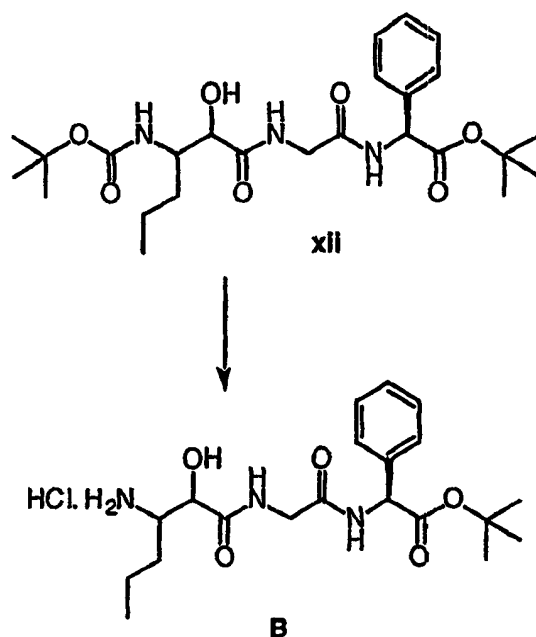
5 步骤 1:



通过对中间体 **A** 步骤 8 描述的方法, 使用市场上可得到的 **xi** 作为偶合配体, 得到所需的产物 **xii**。对于进一步研究, 该粗品物质是足够纯的。使用 97/3 二氯甲烷/MeOH, 经快速层析纯化一份该产物。

10 HRMS (FAB) $C_{25}H_{40}N_3O_7$ 的计算值: 494.2866 $(M+H)^+$ 。实测值: 494.2863。

步骤 2:

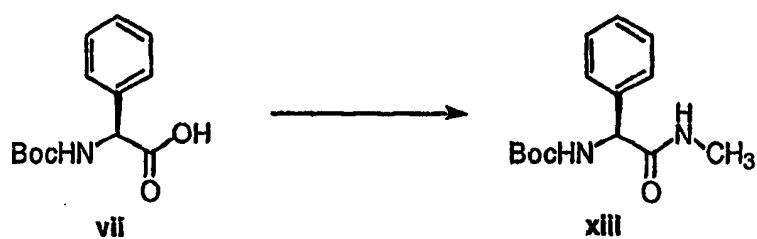


通过对中间体 A 步骤 7 描述的方法, 得到所需的产物 B。该粗品物质无须进一步纯化即可使用。

5

中间体 C:

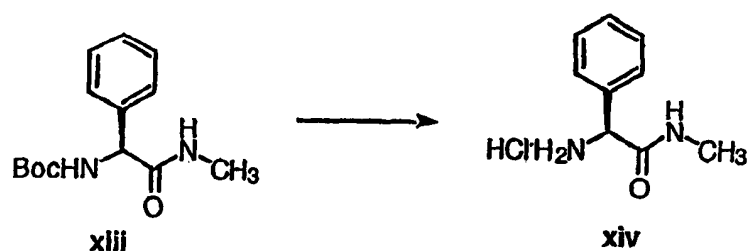
步骤 1:



以类似于中间体 A 步骤 6 中描述的偶合方法, 除了用甲胺替代二甲胺, 制备所需的化合物 xiii。

10

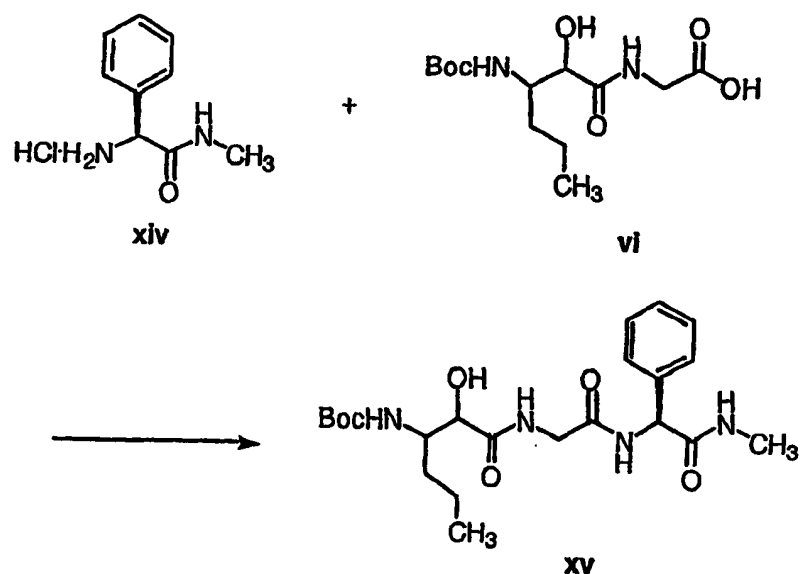
步骤 2:



按照中间体 A 步骤 7 中描述的方法, 自 xlii 制备所需的化合物 xiv。

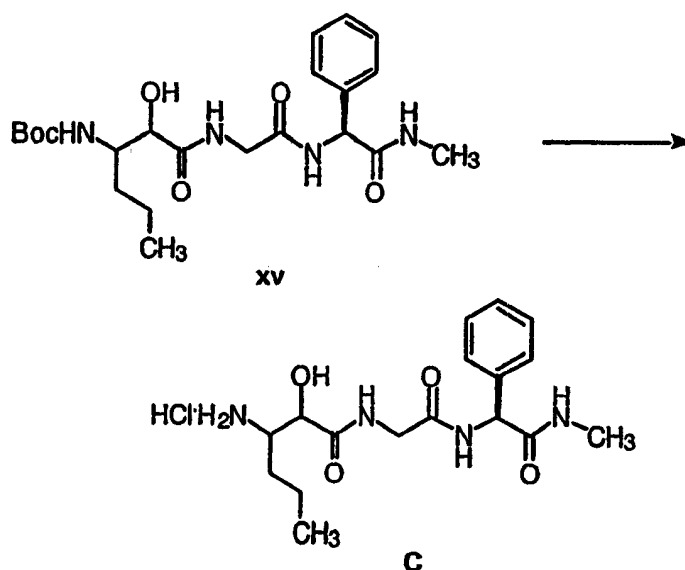
5

步骤 3:



按照中间体 A 步骤 6 中描述的偶合方法, 除了用胺 xiv 替代胺 ix, 制备所需的化合物 xv。LRMS m/z $MH^+ = 451.1$ 。

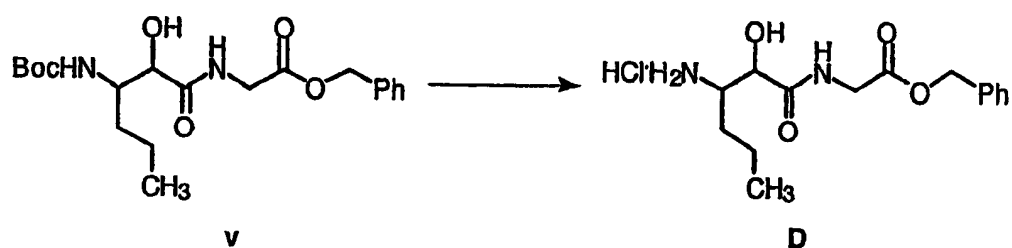
步骤 4:



按照中间体 A 步骤 7 中描述的方法, 制备所需的中间体 C。LRMS m/z $MH^+ = 351.1$ 。其无须进一步纯化即可使用。

5

中间体 D:

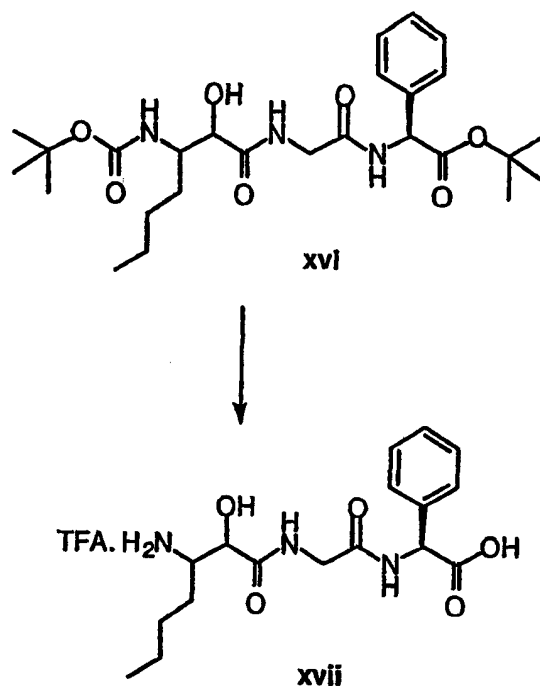


按照中间体 A 步骤 7 中描述的方法, 从化合物 **v** 制备所需的中间体 **D**。其无须进一步纯化即可使用。

10

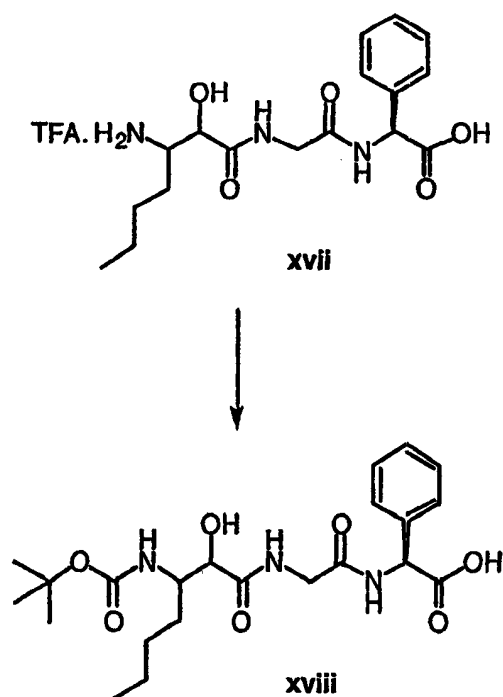
中间体 E:

步骤 1:



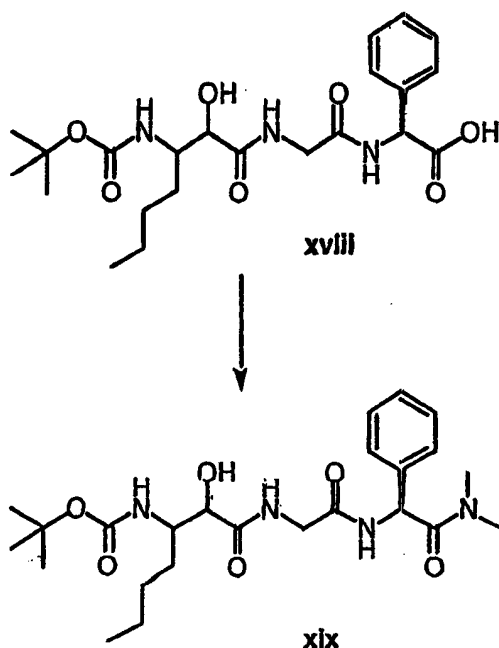
- 5 向 **xvi** (5 g)在二氯甲烷(20 mL)中的溶液中加入 TFA (20 mL)并在环境温度下搅拌 4 小时。加入另一份 TFA (10 mL)，并使之放置另外 3 小时。蒸发所有的挥发物，真空干燥，得到定量收率的 **xvii**。该物质用于下一步骤。(注释：通过对 **B** 描述的类似方法，使用硝基戊烷作为前体，得到该起始原料 **xvi**)。

步骤 2:



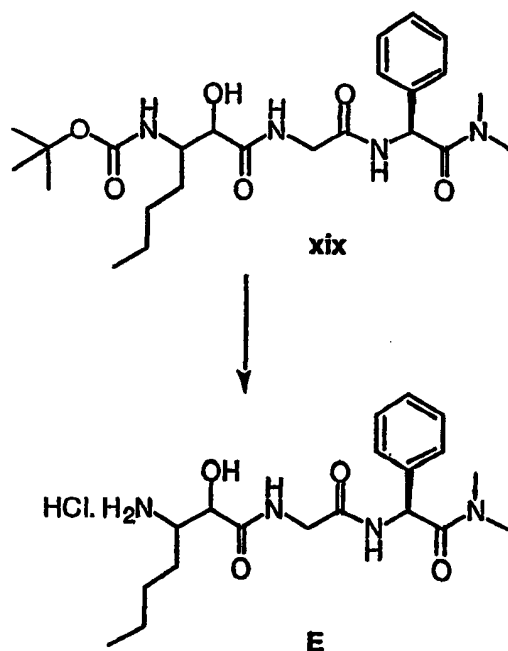
通过对中间体 A 步骤 3 描述的方法，得到所需的化合物 **xviii**。
碳酸钠用作碱替代 NaOH。该粗品物质 **xviii** 无须纯化即可用于下一
步骤。

步骤 3:



向 **xviii** (4.8 g, 10.7 mmol) 在二氯甲烷/DMF (4/1, 25 mL) 中的冷的 (-20℃) 溶液中加入二甲胺盐酸盐 (959 mg, 11.77 mmol)、二异丙基乙胺 (4.2 mL, 24.1 mmol) 和 BOP (6.14 g, 13.89 mmol)。在 -8℃ 下，使之放置过夜。用二氯甲烷稀释反应混合物，并用 10% 枸橼酸溶液、饱和 NaHCO₃ 溶液和盐水洗涤。干燥 (Na₂SO₄) 有机层，浓缩。经快速柱层析纯化残余物，使用 97.5/2.5 二氯甲烷/MeOH 洗脱，得到 2.4 g 的 **xix** (47% 收率)。HRMS (FAB) C₂₄H₃₉N₄O₆ 的计算值: 479.2870 (M+H)⁺。实测值: 479.2862。

步骤 4:

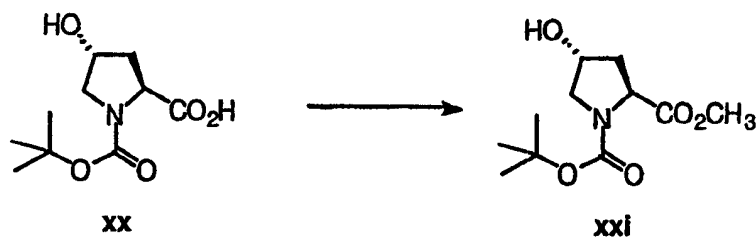


通过对中间体 A 步骤 7 描述的方法, 得到所需的产物 E。该粗品物质无须进一步纯化即可使用。

5

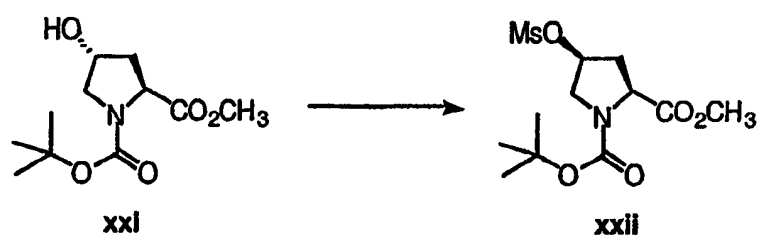
中间体 F

步骤 1



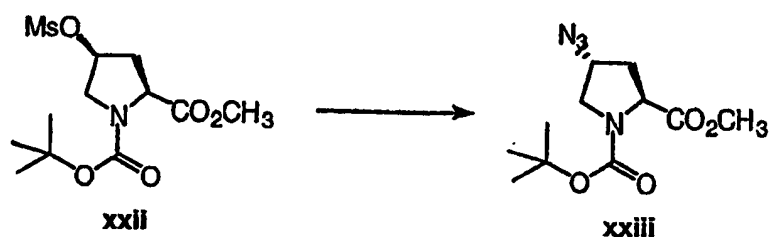
向 xx (20.0 g, 86.5 mmol) 在苯(300 mL)和 MeOH (50 mL) 中的冷的(0℃)溶液中滴加三甲基甲硅烷基重氮甲烷(2 M 在己烷中, 56 mL, 112 mmol)直到溶液保持黄色不变。浓缩反应混合物, 得到 21 g 的 xxi (99%收率), 其纯度足以用于下一步骤。HRMS (FAB) C₁₁H₂₀NO₅ 的计算值: 246.1341 (M+H)⁺。实测值: 246.1347。

步骤 2



向三苯基膦(31.97 g, 121.9 mmol)和甲磺酸(7.66 mL, 118.1 mmol)在甲苯中的冷的($\sim 5^{\circ}\text{C}$)机械搅拌着的混合物中缓慢加入 DEAD (26.47 g, 152 mmol), 期间维持反应物温度低于 35°C 。加入完成后, 将反应混合物冷却至 20°C 并加入 **xxi** (23.71 g, 96.8 mmol)在甲苯中的溶液, 随后加入三乙胺(5.39 mL, 38.7 mmol)。把混合物加热至 $70-75^{\circ}\text{C}$ 6 小时, 并冷却至 $5-10^{\circ}\text{C}$ 1 小时。滤除所有的固体物质并用 5% KH_2PO_4 溶液和盐水洗涤滤液。干燥(Na_2SO_4)有机层, 浓缩。经快速柱层析残余物, 使用 95/5 二氯甲烷/EtOAc 洗脱, 得到 26 g 的 **xxi** (83%收率)。HRMS (FAB) $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{NO}_7\text{S}$ 的计算值: 324.1117 ($\text{M}+\text{H}$) $^{+}$ 。实测值: 324.1115。

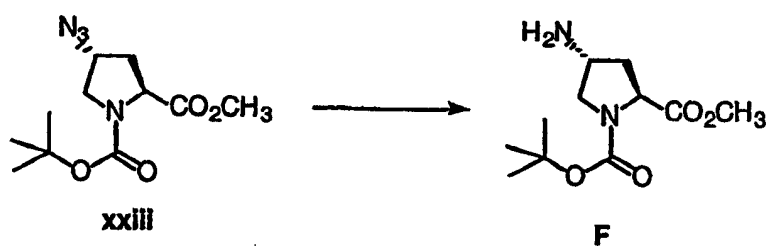
步骤 3



将甲磺酸酯 **xxi** (26 g, 80.4 mmol)溶于 DMF 中, 并真空蒸发所有的挥发物。(小心: 必须经该方法除去痕量的二氯甲烷)。向剩余的溶液中加入叠氮化钠(5.75 g, 88.4 mmol)并温热至 70°C 5 小时。冷却反应混合物, 用 EtOAc 稀释并用饱和 NaHCO_3 洗涤。干燥(Na_2SO_4)有机层, 浓缩, 得到 18 g (83%收率)的 **xxi**, 其对进一步研究是足够

纯的。

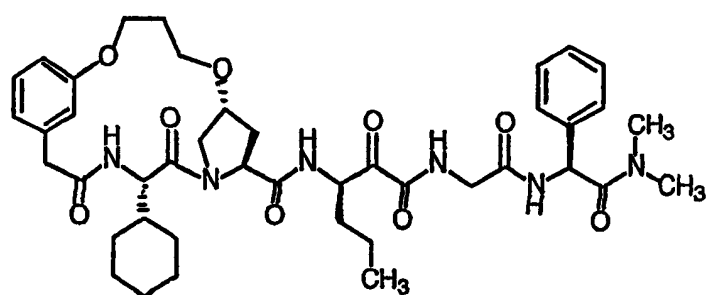
步骤 4



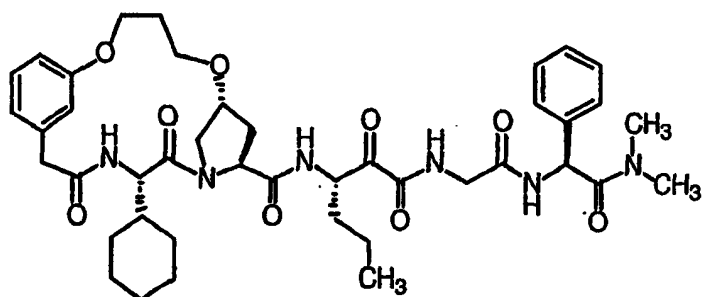
- 5 通过对中间体 A 步骤 5 描述的方法，得到所需的产物 F。该粗品物质无须进一步纯化即可使用。

实施例

实施例 1: 式 1A 和 1B 化合物的制备:

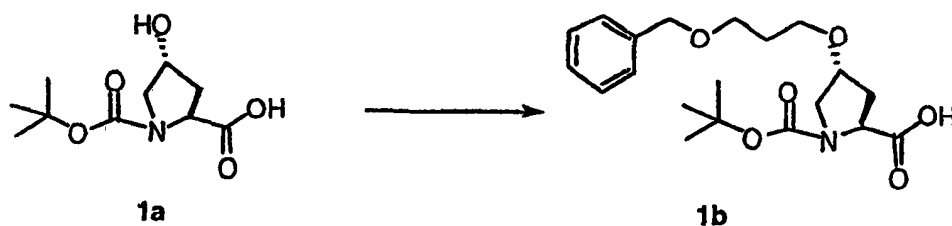


1A



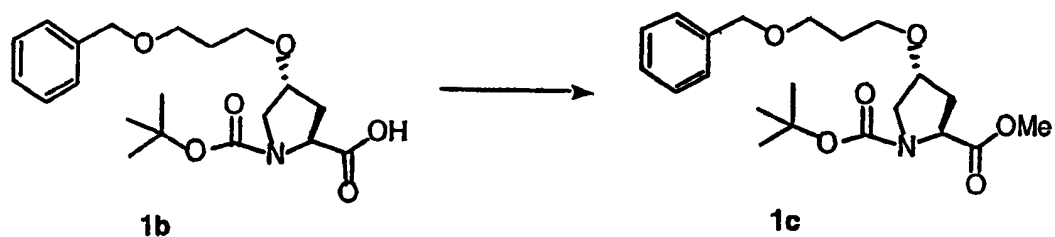
1B

步骤 A:



在室温、伴随搅拌下，向 Boc-Hyp-OH (7.0 g, 30.3 mmol)和苄基
 3-溴代丙基醚(7.8 g, 34.0 mmol)在无水 DMF (400 mL)中的溶液中加入
 5 氢化钠(3.5 g, 60%悬浮液在矿物油中, 87.5 mmol)和碘化钠(0.5 g, 3.33
 mmols)。在室温下，把生成的悬浮液剧烈搅拌过夜(18 h)。用缓慢加
 入水(50 mL)小心猝灭反应物，并用 6 N HCl 溶液(20 mL)酸化。加入
 乙酸乙酯(800 mL)、盐水(150 mL)和另外的水(150 mL)后，分离所形
 成的两层，并用 5% H₃PO₄ (3 X 200 mL)洗涤有机层。然后用 MgSO₄
 10 将它干燥，过滤，真空浓缩，得到为油的 **1b**，它无须进一步纯化即
 可用于步骤 B 中。

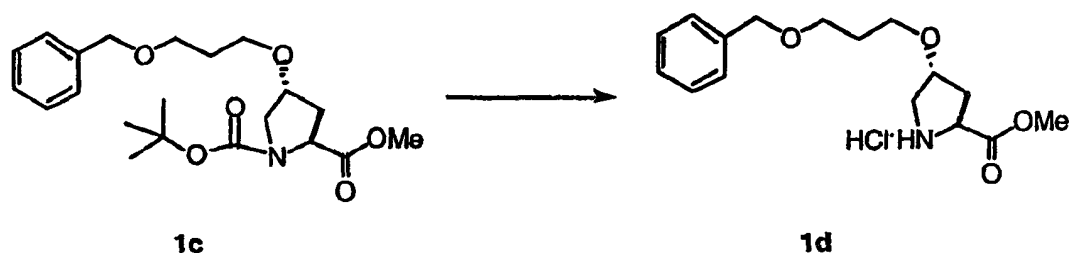
步骤 B:



15

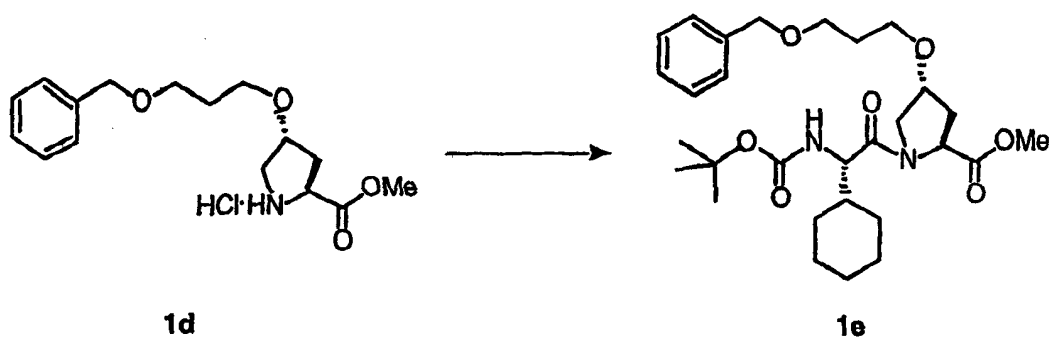
将得自步骤 A 的酸 **1b** 溶于苯(25 mL)和甲醇(28 mL)中。在室温
 下，向该溶液中小心加入三甲基甲硅烷基重氮甲烷溶液(27 mL, 2.0 M
 在环己烷中)。在室温下搅拌 1 小时后，真空浓缩，得到甲基酯。快
 速层析(8-20% EtOAc-CH₂Cl₂)得到为油的 **1c** (5.15 g; 13.1 mmol, 43%, 2
 20 步)。

步骤 C:



将 Boc-氨基甲基酯 **1c** (5.83 g, 14.8 mmol)溶于在二噁烷中的 4 N HCl (80 mL, 320 mmol)中并在室温下搅拌生成的溶液。经 TLC 监测
 5 反应进展。5 小时后，真空浓缩溶液，并在真空下把残余物保持过夜，得到白色固体，它无须进一步纯化即可用于下一步骤偶合反应。

步骤 D:



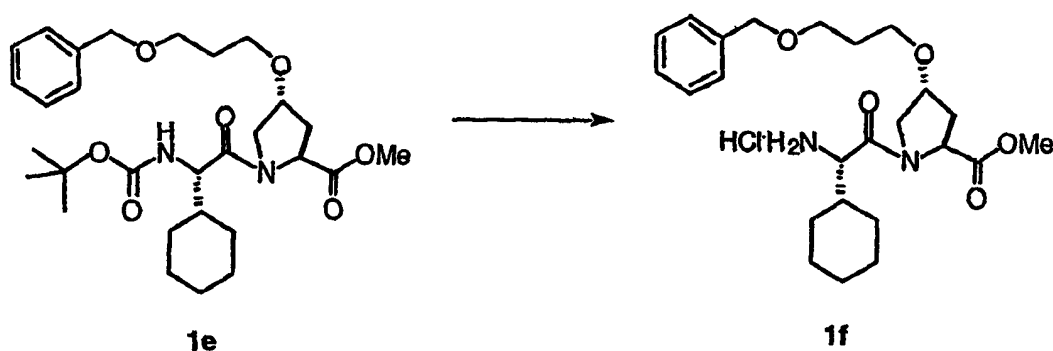
10

15

在-20℃下，向氨基酯 **1d** (得自步骤 1B)、N-Boc-环己基甘氨酸(4.10 g, 14.9 mmol)、HOObt (2.60 g, 15.9 mmol)和 EDCI (3.41 g, 17.8 mmol) 在无水 DMF (150 mL)和 CH₂Cl₂ 中的溶液中加入 NMM (6.50 mL, 59.1 mmol)。在该温度下搅拌 30 分钟后，把反应混合物在冰箱中保持过夜(18 h)。然后在空气中搅拌并使之温热至室温 1 小时。加入 EtOAc (450 mL)、盐水(100 mL)和 5% H₃PO₄ (100 mL)。用 5% H₃PO₄ (100 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液(2 X 150 mL)、水(150 mL)和盐水(150 mL)洗涤分离的有机溶液，经硫酸镁干燥，过滤，真空浓缩。快速层析

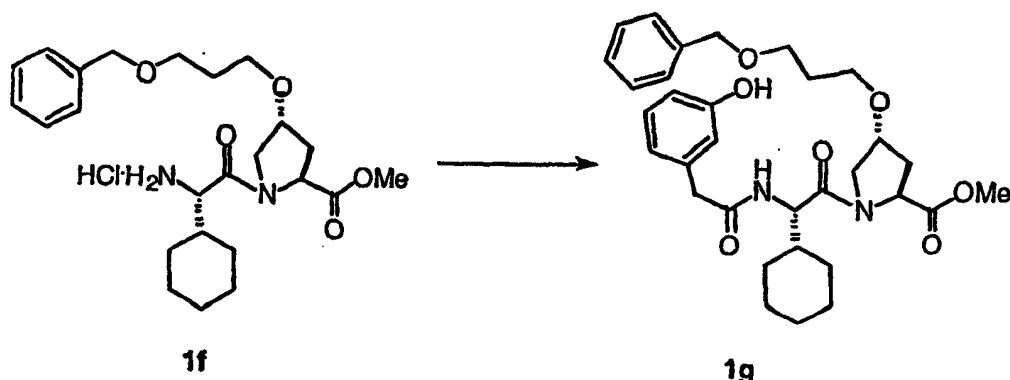
(10-20% EtOAc-CH₂Cl₂)得到为白色固体的 **1e** (6.60 g, 84% 2 步)。¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 7.36-7.25 (m, 5H), 6.87 (d, *J*=8.9 Hz, 1H), 4.46-4.40 (m, 2H), 4.25 (t, *J*=8.3 Hz, 1H), 4.11 (s, 1H), 4.05-4.04 (m, 1H), 4.03-3.94 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.50-3.41 (m, 4H), 2.25-2.20 (m, 1H), 1.95-1.88 (m, 1H), 1.77-1.55 (m, 9H), 1.35 (s, 9H), 1.19-0.90(m, 4H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172.0, 170.7, 155.6, 138.8, 128.2, 127.4, 127.3, 78.0, 77.1, 71.9, 66.6, 65.1, 57.4, 56.3, 51.8, 34.5, 29.6, 28.6, 28.2, 25.9, 25.6, 25.5。

10 步骤 E:



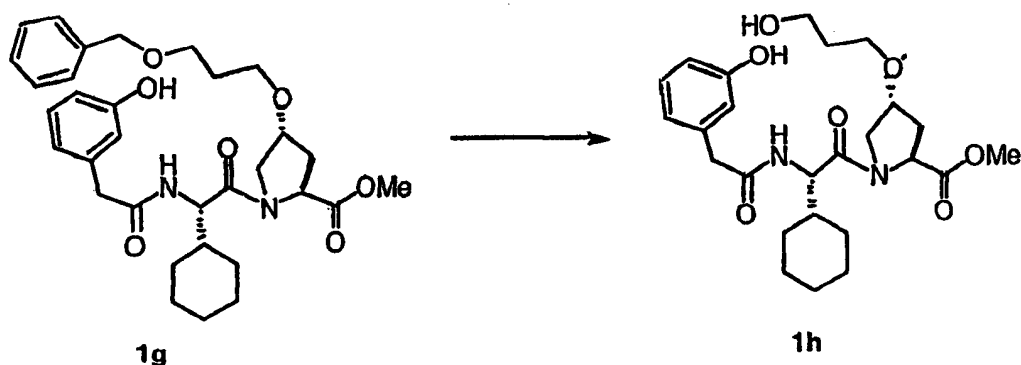
将 Boc-氨基甲酯 **1e** (6.53 g, 12.3 mmol)溶于 4 N HCl (60 mL, 240 mmol)中并在室温下搅拌生成的溶液。经 TLC 监测反应进展。4 小时后，真空浓缩溶液并把残余物在真空下保持过夜，得到白色固体，其无须进一步纯化即可用于下一步骤偶合反应。¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 7.36-7.27 (m, 5H), 4.43 (s, 2H), 4.35-4.31 (m, 1H), 3.88 (d, *J*=11.7 Hz, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.62-3.57 (m, 2H), 3.53-3.41 (m, 3H), 2.32-2.27 (m, 1H), 1.97-1.91 (m, 1H), 1.79-1.60 (m, 8H), 1.17-1.07(m, 5H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 171.5, 167.4, 138.6, 133.3, 129.1, 128.8, 128.2, 127.4, 77.1, 71.9, 66.5, 65.3, 57.8; 54.9, 52.4, 52.0, 34.0, 29.6, 27.7, 27.0, 25.6, 25.5, 25.48; HRMS *m/z* 433.2702 [C₂₄H₃₆N₂O₅ 的计算值: 433.2702]。

步骤 F:



在-20℃下，向胺 **1f** (得自步骤 1D)、3-羟基苯乙酸(1.90 g, 12.5 mmol)、HOObt (2.10 g, 12.9 mmol)和 EDCI (2.85 g, 14.9 mmol)在无水 DMF (250 mL)和 CH₂Cl₂ (100 mL)中的溶液中加入 NMM (4.20 mL, 38.2 mmol)。在该温度下搅拌 30 分钟后，把反应混合物在冰箱中保持过夜(18 h)。然后在空气中搅拌并使之温热至室温 1 小时。加入 EtOAc (500 mL)、盐水(100 mL)和 5% H₃PO₄ (100 mL)。用 5% H₃PO₄ (100 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液(2 X 150 mL)、水(150 mL)和盐水(150 mL)洗涤分离的有机溶液，经硫酸镁干燥，过滤，真空浓缩。快速层析(10-20% EtOAc-CH₂Cl₂)得到为白色固体的 **1g** (6.30 g, 11.1 mmol, 90% (2 步))。 ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9.26 (s, 1H), 8.19 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.36-7.25 (m, 5H), 7.05-7.01 (m, 1H), 6.66-6.64 (m, 1H), 6.60-6.57 (m, 1H), 4.46-4.39 (m, 2H), 4.34 (t, J=8.3 Hz, 1H), 4.29-4.25 (m, 1H), 4.09-4.08 (m, 1H), 3.91 (d, J=11.0 Hz, 1H), 3.66-3.58 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.50-3.39 (m, 5H), 3.30 (d, J=13.7 Hz, 1H), 2.24-2.18 (m, 1H), 1.95-1.89 (m, 1H), 1.74-1.57 (m, 8H), 1.18-0.89 (m, 5H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172.0, 170.3, 170.0, 157.1, 138.6, 137.6, 128.9, 128.2, 127.4, 127.3, 119.6, 116.1, 113.2, 76.9, 71.8, 66.6, 65.2, 57.4, 54.7, 51.9, 51.8, 41.8, 34.4, 29.6, 28.5, 28.0, 25.5, 25.5; HRMS *m/z* 567.3073 [C₃₂H₄₂N₂O₇ 的计算值, 567.3070]。

步骤 G:



于室温、氮气下，向苺基醚 **1g** (6.23 g, 11.0 mmol) 在乙醇(200 mL) 中的溶液中小心加入 10% Pd-C (1.5 g)。在氢气下，于室温下，把生

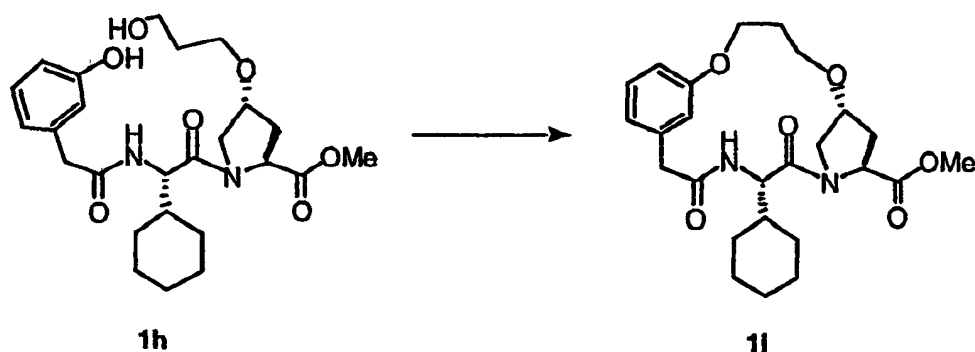
5 成的悬浮液剧烈搅拌 23 小时。小心过滤后，真空浓缩溶液。快速层析(2-5% MeOH-CH₂Cl₂)得到为无色油的 **1h** (4.54 g, 9.52 mmol, 87%)。

¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9.26 (s, 1H), 8.22 (d, *J*=8.6 Hz, 1H), 7.06-7.02 (m, 1H), 6.66-6.58 (m, 3H), 4.42-4.40 (m, 1H), 4.35-4.31 (s, 1H), 4.27 (t, *J*=8.3 Hz, 1H), 4.10-4.09 (m, 1H), 3.92 (d, *J*=11.2 Hz, 1H),

10 3.64 (dd, *J*=11.2, 4.3 Hz, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.59-3.43 (m, 5H), 3.40-3.38 (m, 1H), 2.26-2.21 (m, 1H), 1.97-1.90 (m, 1H), 1.74-1.55 (m, 8H), 1.18-0.89 (m, 5H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172.0, 170.3, 170.1, 157.1, 137.6, 129.0, 119.6, 116.0, 113.3, 76.9, 65.2, 57.6, 57.4, 54.8, 51.9, 51.8, 41.7, 34.4, 32.6, 28.5, 28.0, 25.9, 25.52, 25.49; HRMS *m/z* 477.2606

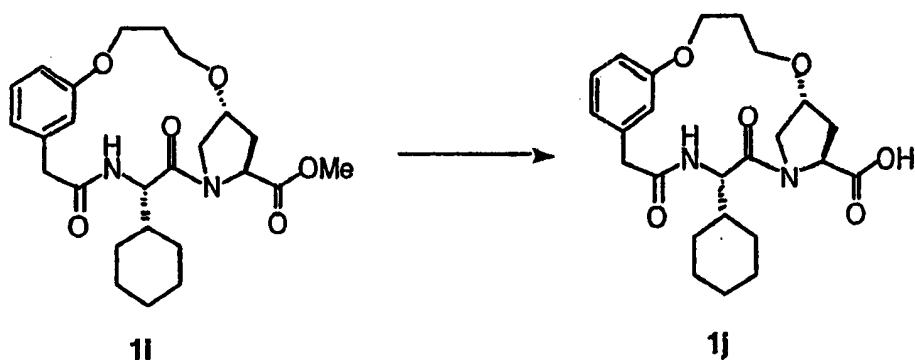
15 [C₂₅H₃₆N₂O₇ 的计算值, 477.2601]。

步骤 H:



将苯酚醇 **1h** (4.50 g, 9.43 mmol)和 ADDP (6.60 g, 26.2 mmol)在无
 水 CH_2Cl_2 中的溶液用氩气通过多孔玻璃鼓泡器鼓泡 20 分钟。向在 0
 5 $^{\circ}\text{C}$ 下的该溶液中加入三苯基膦(4.10 g, 16.3 mmol)。在 0°C 下搅拌 20
 分钟后, 加入第二份三苯基膦(3.40 g, 13.5 mmol)。然后把溶液温热
 至室温并在氩气下搅拌过夜(24 h), 直到 TLC 表明起始原料完全消
 耗。真空除去溶剂后, 经快速层析部分纯化残余物(1-2% MeOH 在
 CH_2Cl_2 中), 得到大环 **1i** 和三苯基膦氧化物的混合物。 ^1H NMR (400
 10 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.47 (d, $J=9.7$ Hz, 1H), 7.17-7.13 (m, 1H), 6.79 (s,
 1H), 6.73 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 4.50-4.45 (m, 1H),
 4.24 (dd, $J=10.3, 7.6$ Hz, 1H), 4.17-4.06 (m, 4H), 3.68 (d, $J=15.1$ Hz, 1H),
 3.63 (s, 3H), 3.60-3.51 (m, 2H), 3.37 (d, $J=15.1$ Hz, 1H), 3.35-3.27 (m,
 1H), 2.51-2.43 (m, 1H), 1.85-1.47 (m, 9H), 1.22-1.12 (m, 3H), 0.97-0.88
 15 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 172.0, 170.0, 169.8, 158.4,
 138.1, 129.1, 121.8, 115.4, 112.2, 77.0, 64.9, 63.6, 57.0, 54.3, 53.4, 51.8,
 41.3, 33.2, 28.9, 28.5, 28.2, 26.0, 25.2; HRMS m/z 459.2495 [$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6$
 的计算值, 459.2495]。

步骤 I:



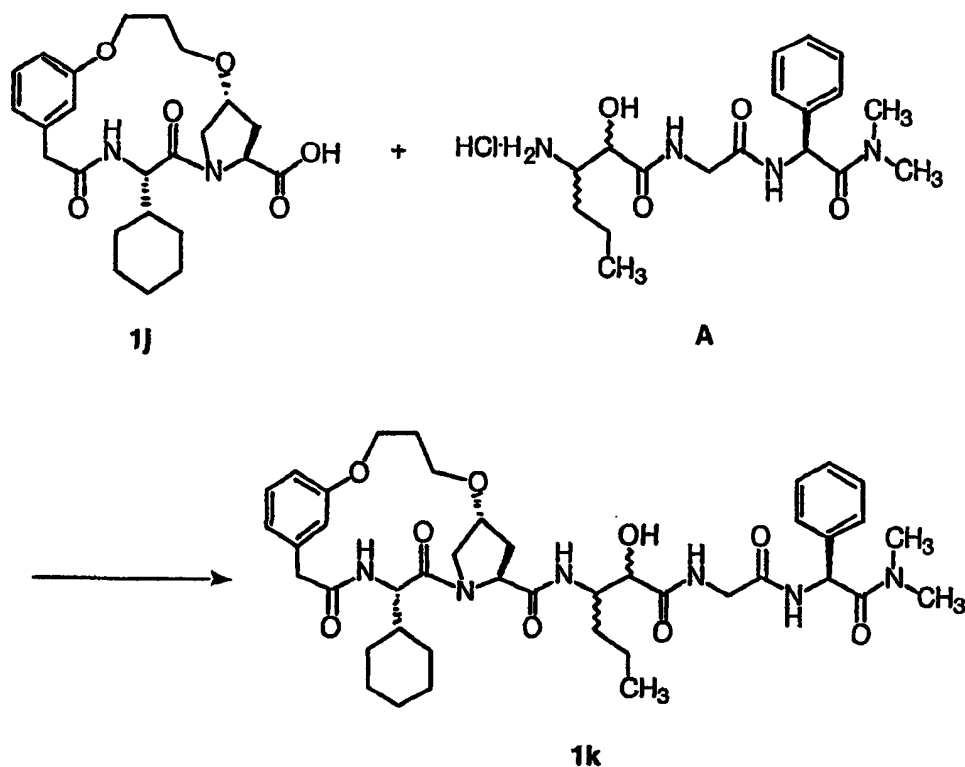
将氢氧化锂水溶液(0.45 g 在 30 mL H₂O 中)加入到甲酯 **1i** 在 THF (30 mL)和甲醇(30 mL)中的 0℃ 溶液中。把混合物在冰浴中搅拌并温

5 热至室温维持 4 小时。经 TLC 监测反应进展。真空除去挥发物后，加入 EtOAc (150 mL)和水(30 mL)并分离这两层。再次用 CH₂Cl₂ (150 mL)提取水溶液，之后酸化至 pH = 1。然后加入 EtOAc (200 mL)并用固体氯化钠使水溶液饱和。分离各层后，用 EtOAc (2 X 150 mL)提取水层。合并有机溶液，经硫酸镁干燥，过滤，真空浓缩，得到为浅

10 黄色泡沫的 **1j** (1.45 g, 3.26 mmol, 35%, 2 步)。¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 12.32 (bs, 1H), 8.45 (d, *J*=9.5 Hz, 1H), 7.17-7.13 (m, 1H), 6.73-6.70 (m, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.73-6.70 (m, 2H), 4.47 (t, *J*=9.7 Hz, 1H), 4.17-4.00 (m, 5H), 3.68 (d, *J*=15.1 Hz, 1H), 3.58-3.45 (m, 2H), 3.39-3.21 (m, 2H), 2.47-2.41 (dd, *J*=13.4, 7.6 Hz, 1H), 1.85-1.56 (m, 9H), 1.19-1.11

15 (m, 3H), 0.93-0.87 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 173.2, 170.2, 170.0, 158.4, 138.1, 129.3, 122.0, 115.5, 112.2, 77.3, 65.1, 63.8, 57.3, 54.2, 53.7, 41.5, 33.6, 29.0, 28.6, 28.4, 26.1, 25.4; HRMS *m/z* 445.2335 [C₂₄H₃₂N₂O₆ 的计算值, 445.2339]。

步骤 J:

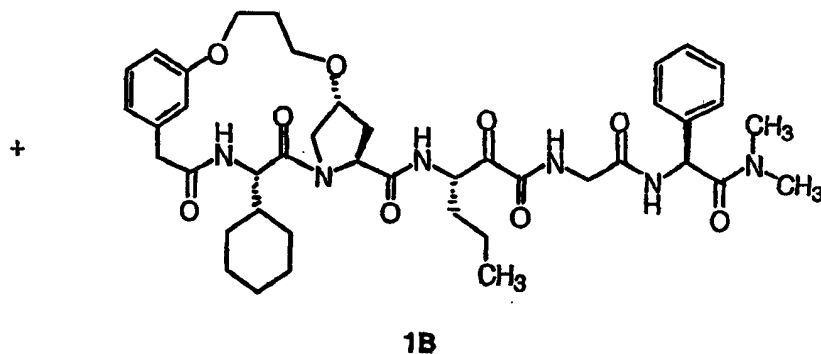
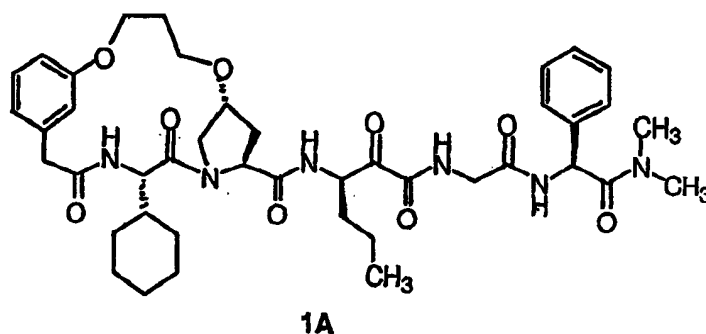
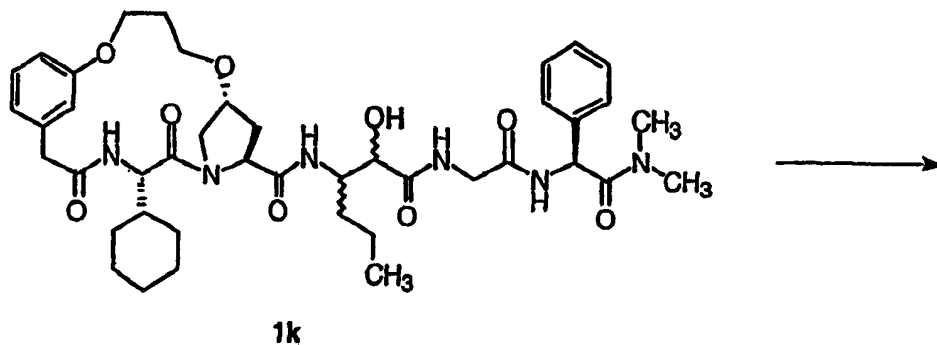


在-20℃下，向酸 **1j** (0.59 g, 1.33 mmol)、胺 A (H₂N-NVa-CH(OH)-CO-Gly-Phg-NMe₂, 0.55 g, 1.37 mmol)、HOObt (250 mg, 1.53 mmol)和 EDCI (315 mg, 1.64 mmol)在无水 DMF (50 mL)和 CH₂Cl₂ (50 mL)中的溶液中加入 NMM (0.50 mL, 4.55 mmol)。在该温度下搅拌 30 分钟后，在冰箱中把反应混合物保持 40 小时。然后加入 EtOAc (200 mL)、盐水(50 mL)和 5% H₃PO₄ (50 mL)。用 5% H₃PO₄ (80 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液(2 X 80 mL)、水(80 mL)和盐水(80 mL)连续洗涤分离的有机溶液，经硫酸镁干燥，过滤，真空浓缩。快速层析(4-7.5% MeOH -CH₂Cl₂)得到为白色固体的四种非对映体的混合物 **1k** (0.59 g, 0.75 mmol, 56%)。 ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8.54-8.35 (m, 2H), 7.95-6.98 (m, 8H), 6.79-6.77 (m, 1H), 6.72-6.70 (m, 2H), 5.96-5.73 (m, 2H), 4.53-4.45 (m, 1H), 4.35-3.61 (m, 11H), 3.54-3.41 (m, 1H), 3.40-3.22 (m, 1H), 2.93-2.92 (m, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.42-2.17 (m, 1H), 1.87-1.55 (m, 10H), 1.49-1.06 (m, 7H), 0.98-0.75 (m, 5H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-

DMSO) δ 172.1, 171.9, 171.8, 170.8, 170.7, 170.4, 170.4, 170.3, 170.0,
 169.8, 169.7, 169.6, 169.2, 169.2, 167.9, 167.8, 167.8, 158.4, 158.3, 138.2,
 138.15, 138.11, 138.07, 137.6, 137.50, 137.48, 129.1, 128.5, 128.3, 127.8,
 127.7, 121.7, 121.6, 115.4, 115.3, 112.09, 112.07, 112.0, 111.9, 76.9, 76.8,
 73.3, 72.1, 71.9, 64.9, 64.8, 63.2, 58.7, 58.5, 57.9, 57.8, 54.6, 54.5, 54.48,
 53.8, 53.78, 53.7, 53.66, 53.0, 52.9, 51.0, 50.8, 50.7, 41.6, 41.5, 41.4, 41.3,
 36.6, 35.3, 33.9, 33.86, 33.5, 32.9, 32.1, 29.9, 29.0, 28.9, 28.5, 28.4, 28.3,
 26.0, 25.9, 25.3, 25.25, 25.2, 18.6, 18.56, 18.5, 13.8, 13.7; HRMS m/z
 791.4339 [$C_{42}H_{58}N_6O_9$ 的计算值, 791.4344, 误差 = 1 ppm].

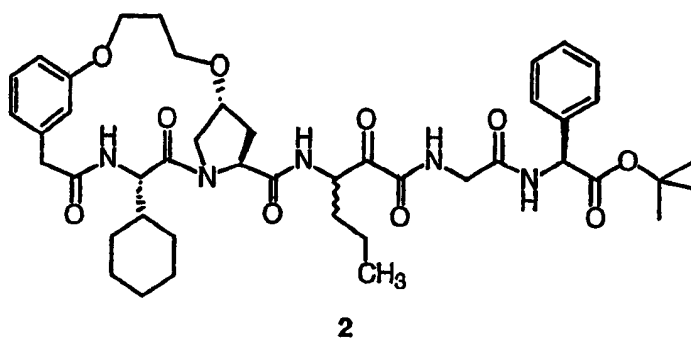
10

步骤 K:

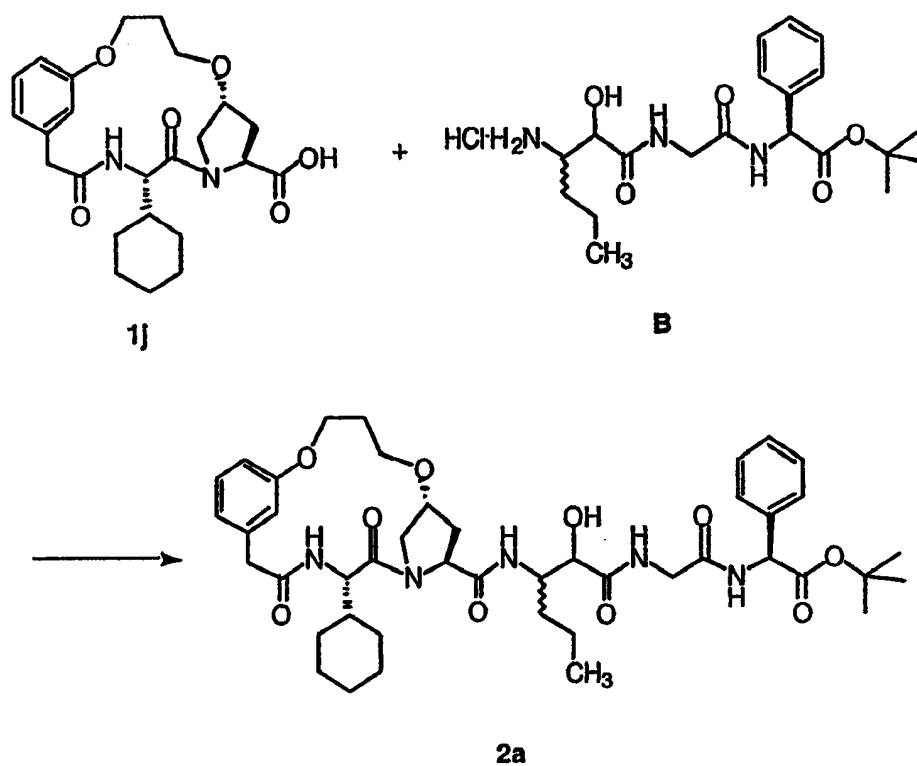


在 0℃ 下, 向羟基酰胺 **1k** (0.57 g, 0.72 mmol) 和 Des-Martin 试剂 (0.76 g, 1.8 mmol) 的混合物中加入无水 CH₂Cl₂。在 0℃ 下, 剧烈搅拌生成的白色悬浮液并温热至室温, 在冰浴中保持 4 小时。加入饱和碳酸氢钠水溶液和亚硫酸氢钠溶液(各 50 mL)并把混合物剧烈搅拌 10 分钟, 之后, 分离各层。用(2 X 150 mL)提取水溶液。经硫酸镁干燥合并的有机溶液, 过滤, 真空浓缩。快速层析(2-4% MeOH-CH₂Cl₂)得到为白色固体的两种非对映体 **1A** (250 mg, 0.32 mmol) 和 **1B** (217 mg, 0.28 mmol, 82% 合并后的收率)。

10 实施例 2: 化合物 **2** 的制备:



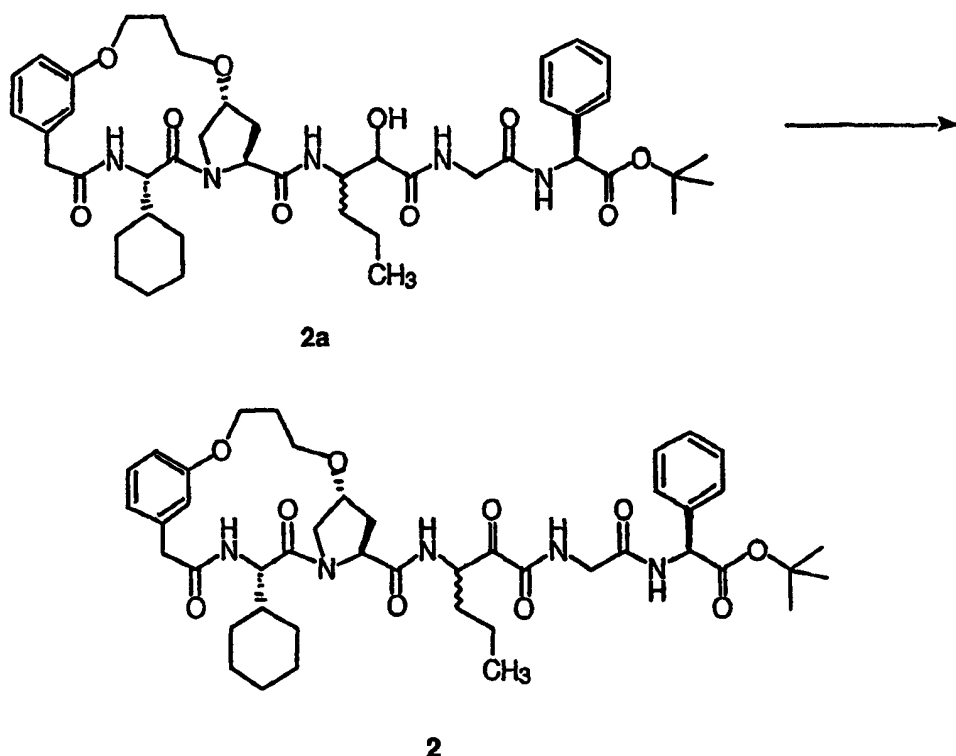
步骤 A:



除了用胺 B 替代胺 A 以外, 按照实施例 1 步骤 J 的方法, 制备所需的化合物 **2a**。以 60% 收率得到作为以白色固体形式存在的不可分离的非对映体混合物的羟基酰胺。

5

步骤 B:

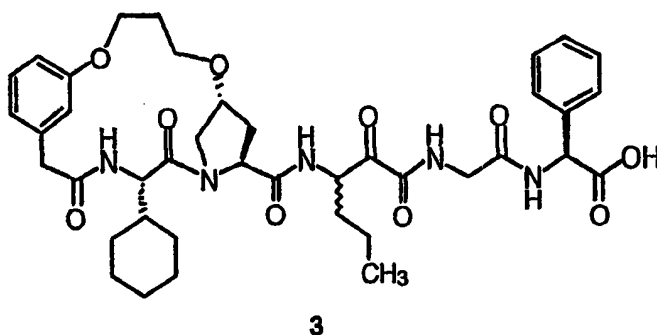


按照实施例 1 步骤 K 的方法, 从羟基酰胺 **2a** 制备所需的酮酰胺。

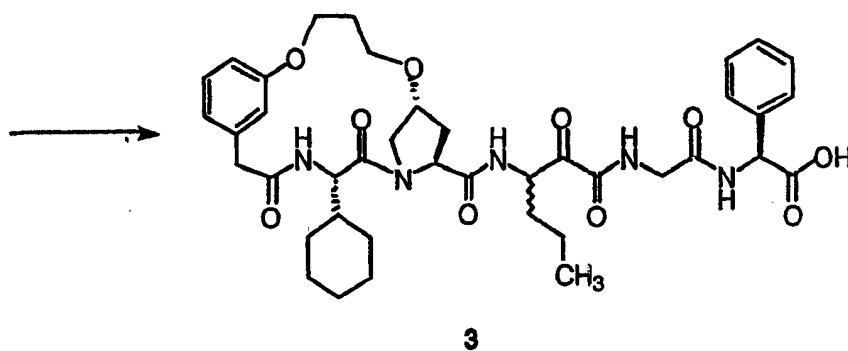
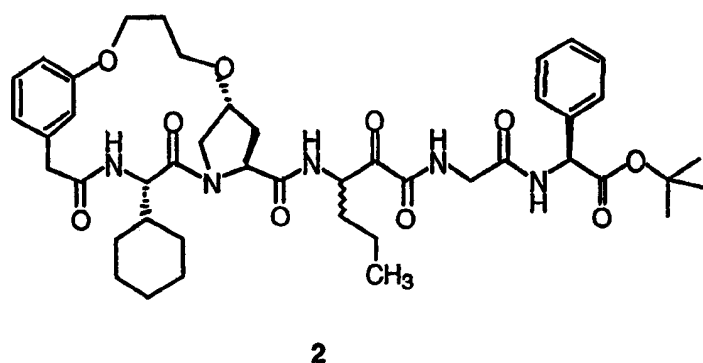
以 78% 收率得到作为不可分离的非对映体混合物的产物, 为白色固体的形式。¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8.69-8.57 (m, 1H), 8.45-8.36 (m, 1H), 7.95-7.72 (m, 1H), 7.64-7.53 (m, 1H), 7.41-7.31 (m, 5H), 7.16-6.97 (m, 1H), 6.79-6.70 (m, 3H), 5.97-5.75 (m, 1H), 5.31-5.27 (m, 1H), 4.52-4.44 (m, 1H), 4.35-3.61 (m, 11H), 3.54-3.41 (m, 1H), 3.39-3.21 (m, 1H), 2.42-2.16 (m, 1H), 1.85-1.54 (m, 9H), 1.49-1.05 (m, 16H), 0.95-0.70 (m, 5H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172.3, 172.2, 172.0, 171.9, 170.9, 170.7, 170.5, 170.5, 170.4, 170.1, 169.9, 169.7, 169.5, 168.6, 168.5, 158.5, 158.4, 138.2, 138.2, 138.1, 136.7, 132.1, 131.6, 131.5, 129.2, 129.1, 128.8, 128.7, 128.1, 127.7, 127.6, 127.6, 127.5, 127.4, 127.4, 121.7, 116.4, 115.4, 115.4, 113.3, 112.1, 112.1, 112.0, 81.3, 77.0, 76.9, 76.9, 73.4, 72.3, 72.0, 64.9, 64.8, 63.3, 58.8, 56.9, 56.8, 54.7, 54.6, 54.6, 53.9, 53.9, 53.8, 51.1, 50.8, 41.6, 41.4, 41.3, 34.0, 33.9, 29.1, 29.0, 28.6, 28.5, 28.4, 28.4, 28.3, 27.5, 26.0, 26.0, 25.4, 25.3, 25.2, 18.7, 18.6, 18.5, 13.9,

13.8; HRMS m/z 820.4493 [$C_{44}H_{61}N_5O_{10}$ 的计算值, 820.4497].

实施例 3: 式 3 化合物的制备如下:



5 步骤 A:

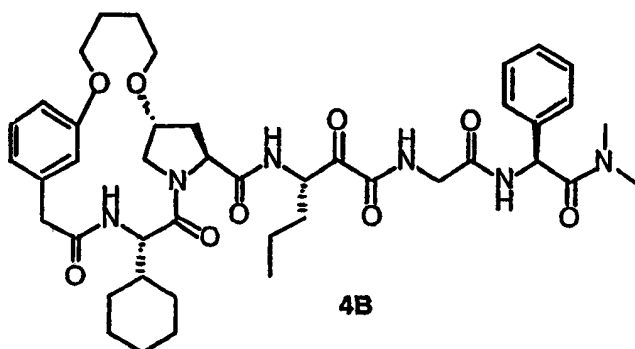
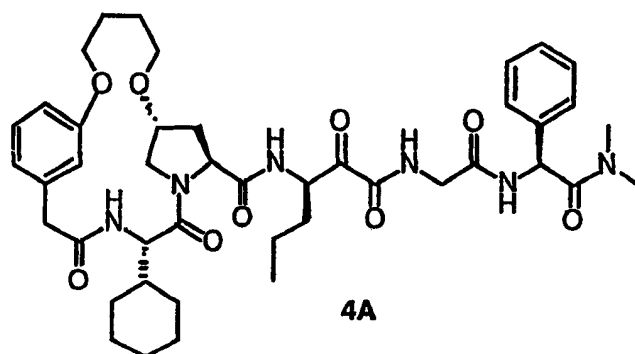


在室温下, 将叔丁基酯 **2** (26 mg, 0.032 mmol) 在三氟乙酸(2 mL)和 CH_2Cl_2 (2 mL) 中的溶液搅拌 3 小时。真空除去挥发物后, 将残余物溶于 50% MeOH- CH_2Cl_2 中, 真空浓缩至干, 得到灰白色固体(24 mg, 0.032 mmol, 定量)。 1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.73-8.65 (m, 2H),

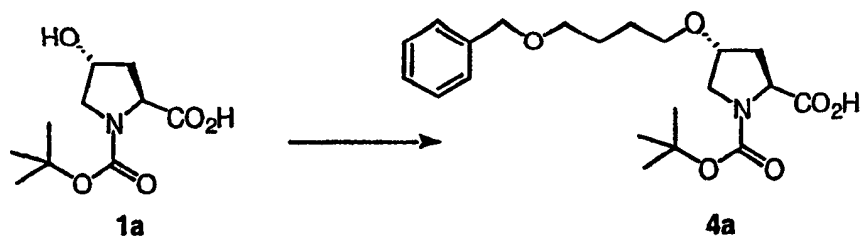
10

8.40 (dd, $J=9.5, 2.6$ Hz, 1H), 8.24-8.05 (1H), 7.64-7.55 (m, 1H), 7.41-7.32 (m, 5H), 7.15 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.80-6.71 (m, 3H), 5.35 (dd, $J=7.5, 1.9$ Hz, 1H), 5.04-4.96 (m, 1H), 4.48-4.43 (m, 1H), 4.37-4.22 (m, 1H), 4.16-3.27 (m, 11H), 2.35-2.31 (m, 1H), 1.84-0.70 (m, 21H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 196.7, 171.7, 171.4, 171.3, 170.0, 169.7, 167.5, 161.0, 160.7, 158.5, 158.5, 158.4, 138.2, 138.2, 137.1, 137.0, 132.1, 132.1, 131.6, 131.5, 131.5, 129.2, 128.8, 128.7, 128.7, 128.6, 128.0, 127.7, 127.5, 127.5, 121.8, 115.4, 112.2, 76.9, 76.8, 65.0, 64.9, 63.4, 63.3, 58.2, 57.4, 56.3, 56.2, 56.2, 54.6, 54.5, 53.8, 53.4, 53.2, 41.5, 41.5, 41.4, 40.2, 33.9, 33.7, 31.9, 31.7, 29.2, 29.0, 28.6, 28.3, 26.1, 25.3, 18.7, 18.6, 13.5; HRMS m/z 762.3705 [$\text{C}_{40}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_{10}$ 的计算值, 762.3714].

实施例 4: 式 4A 和 4B 化合物的制备:



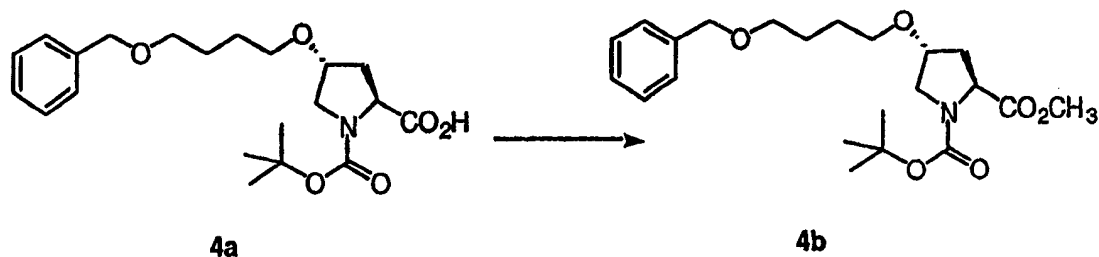
步骤 A:



通过对实施例 1 步骤 A 描述的方法, 得到所需的产物 **4a**。可以说, 该粗品物质直接用于下一步骤。

5

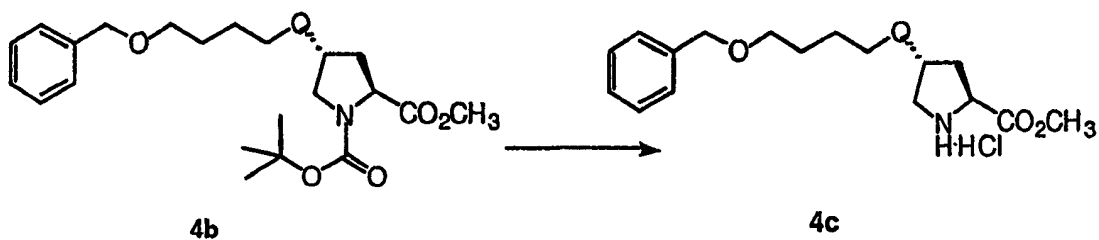
步骤 B:



通过对实施例 1 步骤 B 描述的方法, 得到所需的产物 **4b**。经快速柱层析纯化该物质, 使用 80/20-75/25 己烷/乙酸乙酯洗脱, 以 50% 收率得到为无色油的 **4b**。

10

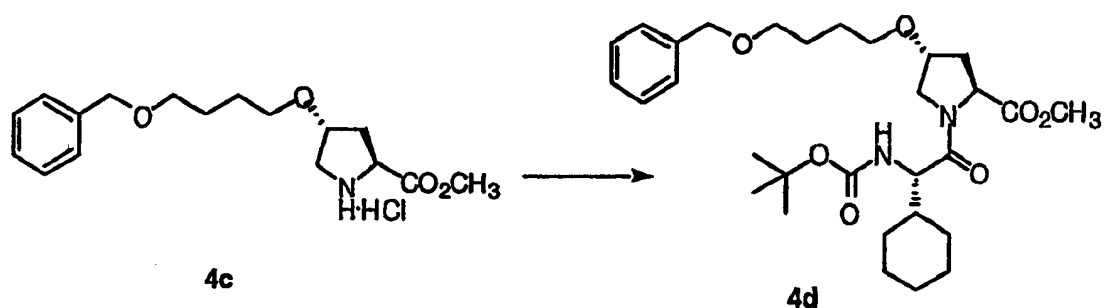
步骤 C:



通过对实施例 1 步骤 C 描述的方法, 制备所需的化合物 **4c**。该

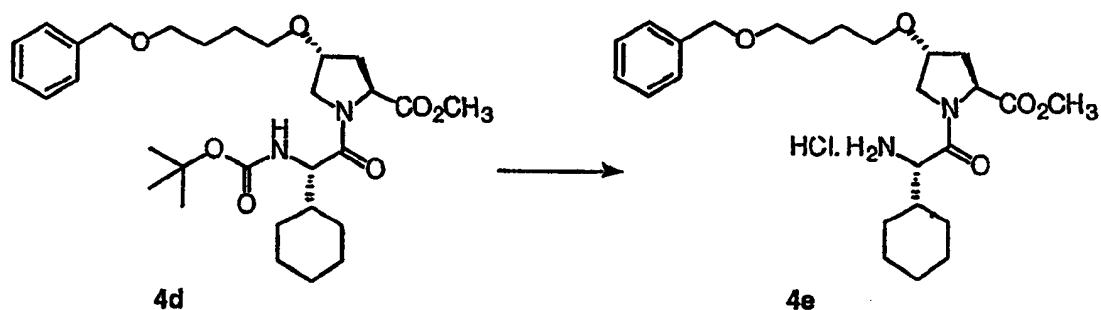
物质可直接原样向下进行。

步骤 D:



- 5 通过在实施例 1 步骤 D 中描述的方法得到所需的产物 **4d**。处理后，该物质足够纯可用于下一步骤。HRMS (FAB) $C_{30}H_{47}N_2O_7$ 的计算值: 547.3383 ($M+H$)⁺。实测值: 547.3372。

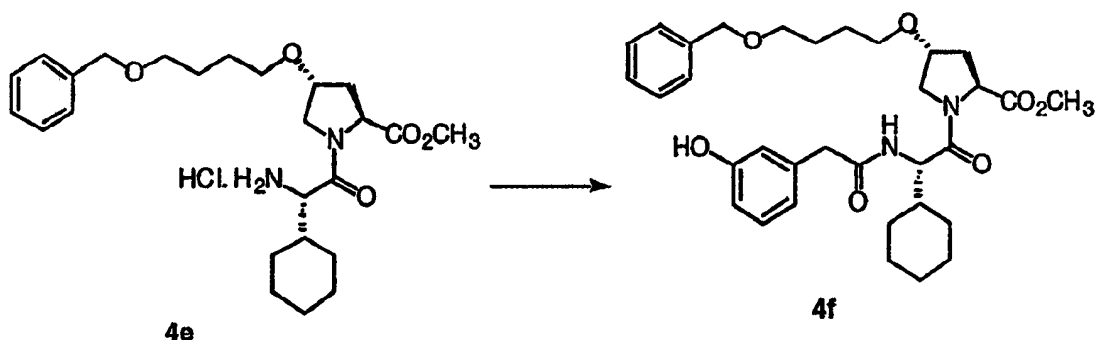
步骤 E:



10

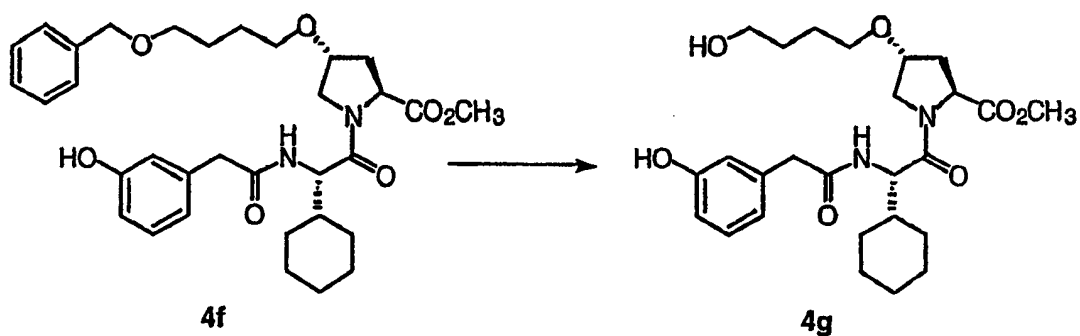
通过在实施例 1 步骤 E 中描述的方法得到所需的产物 **4e**。可以说，该粗品物质可直接用于下一步骤。

步骤 F:



通过在实施例 1 步骤 F 中描述的方法得到所需的产物 **4f**。经快速柱层析纯化该物质，使用 80/20-60/40 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱，以 85% 收率得到 **4f**。HRMS (FAB) $C_{33}H_{45}N_2O_7$ 的计算值: 581.3227 (M+H)⁺。实测值: 581.3222。

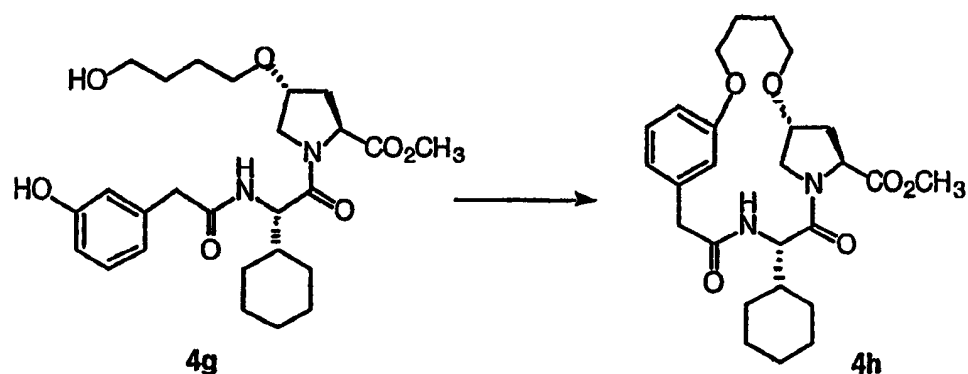
步骤 G:



10

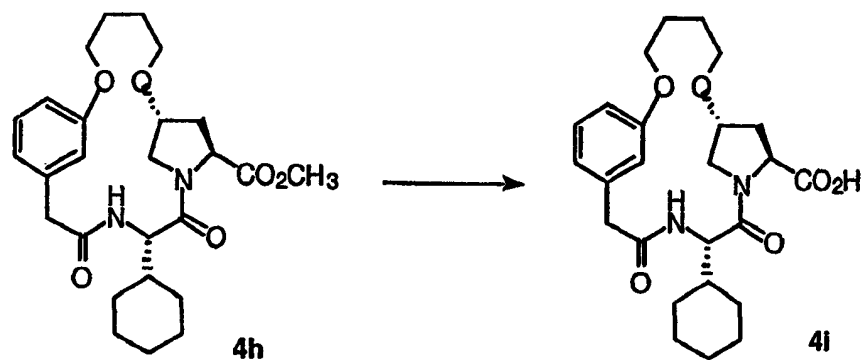
通过在实施例 1 步骤 G 中描述的方法得到所需的产物 **4g**。可以说，该粗品物质可直接用于下一步骤。HRMS (FAB) $C_{26}H_{39}N_2O_7$ 的计算值: 491.2757 (M+H)⁺。实测值: 491.2761。

步骤 H:



通过在实施例 1 步骤 H 中描述的方法得到所需的产物 **4h**。经柱层析纯化，使用 99/1 二氯甲烷/甲醇洗脱，得到含有三苯基膦氧化物的 **4h**。该混合物直接用于下一步骤。

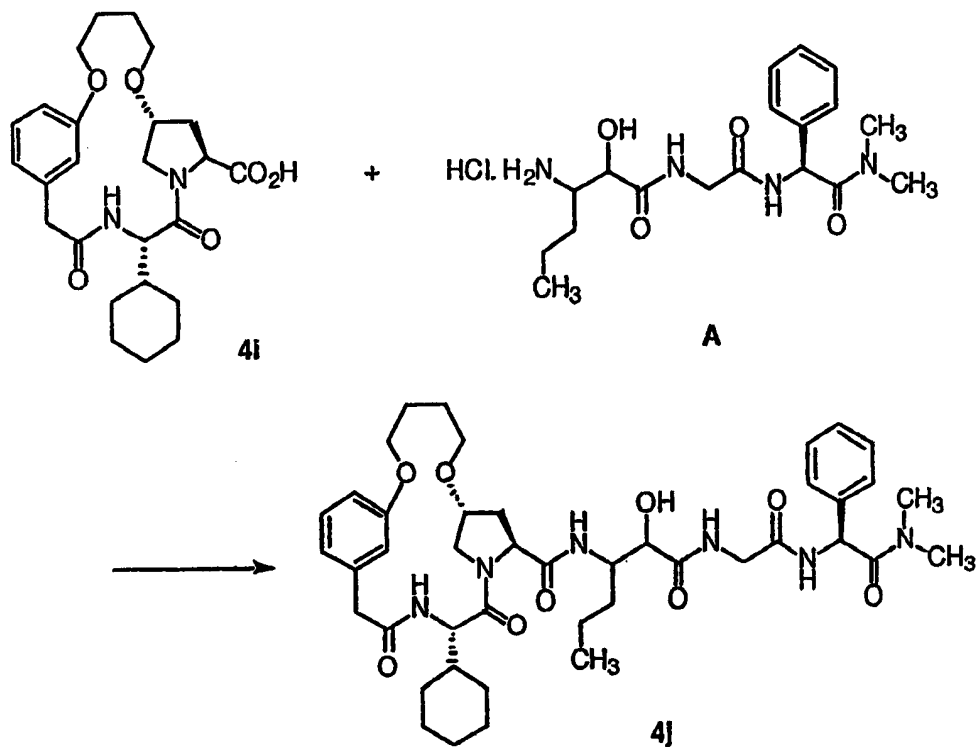
步骤 I:



通过在实施例 1 步骤 I 中描述的方法得到所需的产物。 **4i** (2 步) 的产率 = 24%。 ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 0.90-0.95 (m, 2H), 1.10-1.16 (m, 3H), 1.51-1.79 (m, 11H), 2.43 (dd, 1H), 3.29-3.32 (m, 2H), 3.50-3.54 (m, 1H), 3.62-3.68 (m, 2H), 3.91-3.99 (m, 3H), 4.04-4.08 (m, 2H), 4.46 (t, 1H), 6.67-6.72 (m, 3H), 7.13 (app, t, 1H), 8.36 (d, 1H), 12.40 (br.s, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ 25.26, 25.31, 25.97, 26.62, 28.42, 33.28, 39.75, 41.49, 53.50, 54.28, 57.45, 67.57, 67.98, 77.25, 111.07, 115.23, 121.48,

129.11, 137.99, 158.33, 170.07, 172.92; HRMS (FAB) $C_{25}H_{35}N_2O_6$ 的计算值: 459.2495 ($M+H$)⁺。实测值: 459.2494。

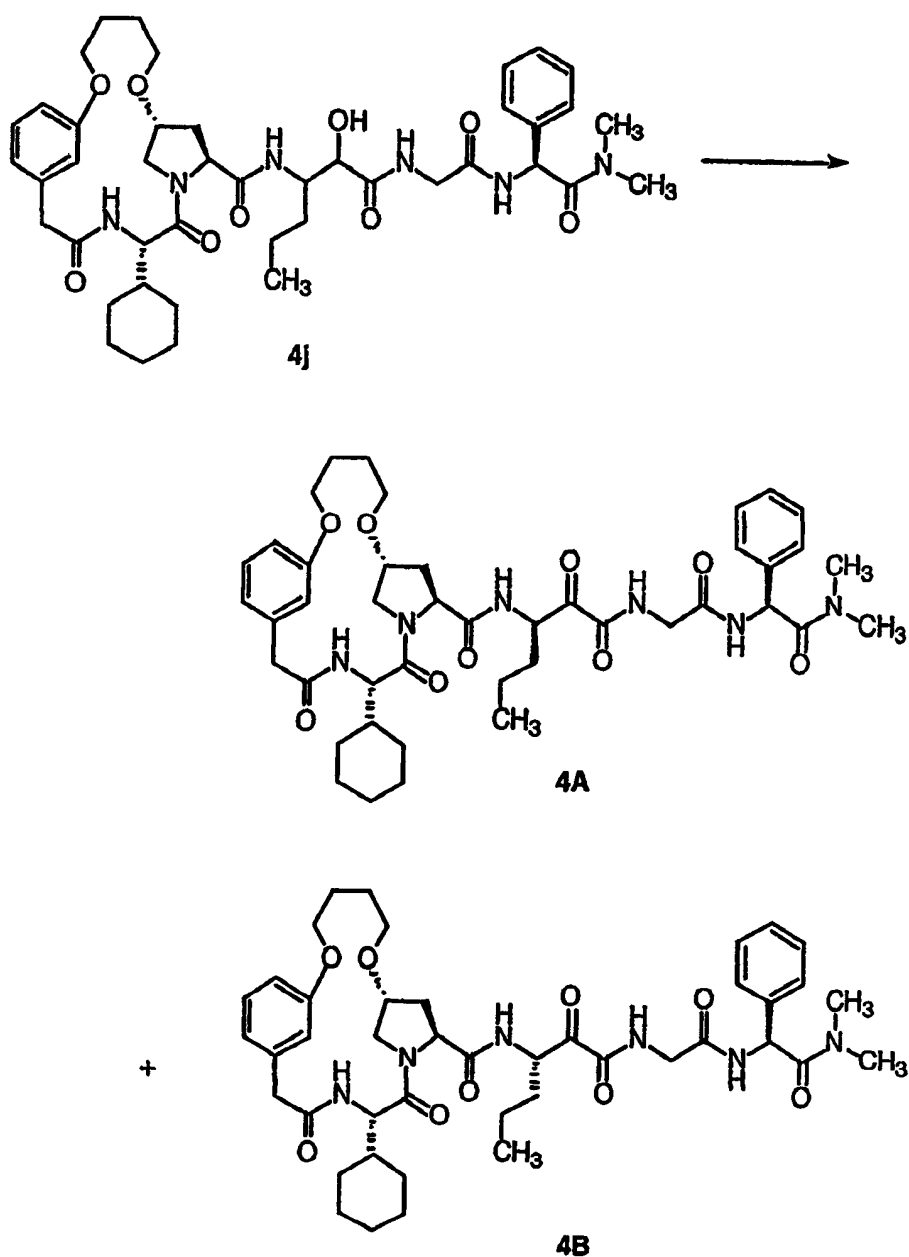
步骤 J:



5

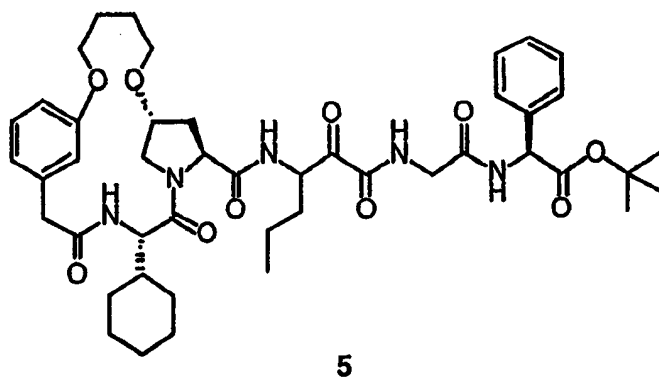
如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样, 可合成期望的产物 **4j**。处理后, 该物质纯度足以用于下一步骤。HRMS (FAB) $C_{43}H_{61}N_6O_9$ 的计算值: 805.4500 ($M+H$)⁺。实测值: 805.4492。

步骤 K:

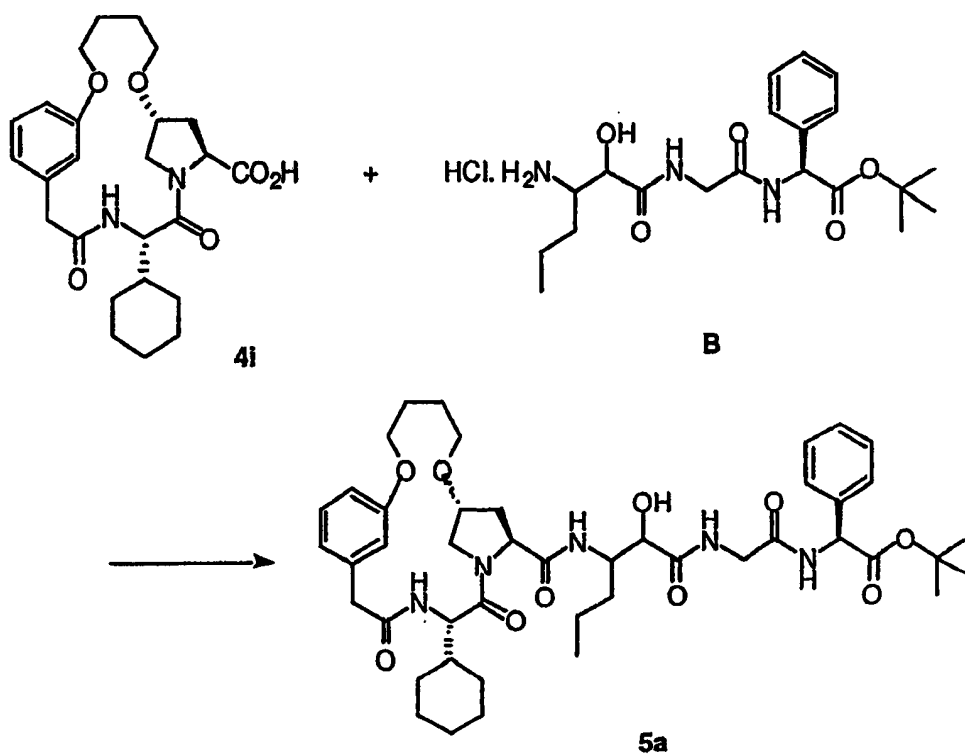


通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物 4A 和 4B。经快速柱层析纯化，使用 100/0-99/1 二氯甲烷/甲醇洗脱，
 5 得到分离的异构体 4A 和 4B 和一些混合物。合并收率 = 34% (2 步)。HRMS (FAB) $C_{43}H_{59}N_6O_9$ 的计算值: 803.4344 (M+H)⁺。实测值: 803.4339 (4A), 803.4347 (4B)。

实施例 5: 化合物 5 的制备:



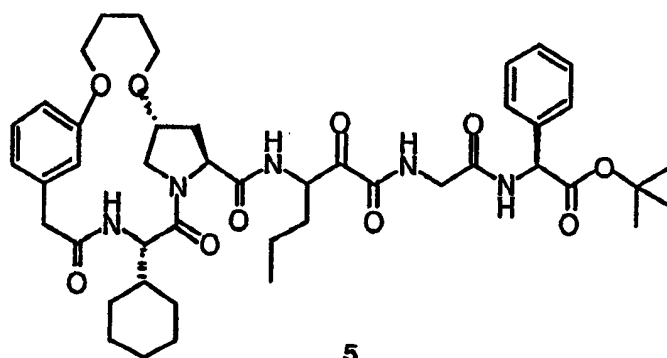
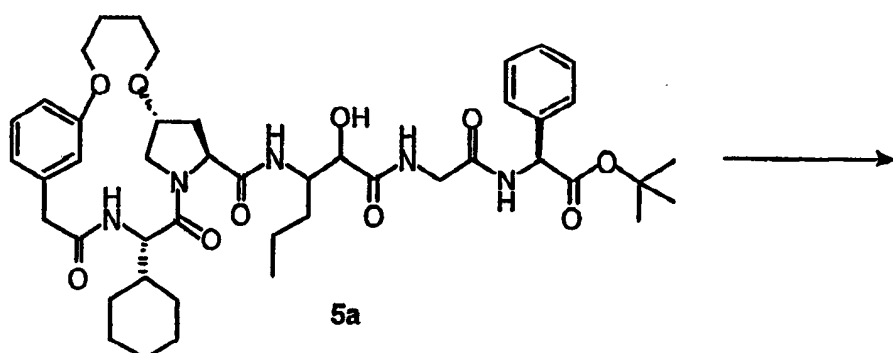
步骤 A:



5

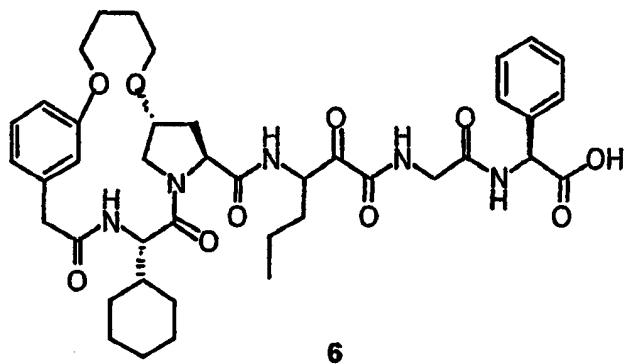
如先前对实施例 2 步骤 A 描述的那样, 可合成期望的产物 **5a**。处理后, 该物质纯度足以用于下一步骤。HRMS (FAB) $C_{45}H_{64}N_5O_{10}$ 的计算值: 834.4653 ($M+H$)⁺。实测值: 834.4648。

步骤 B:

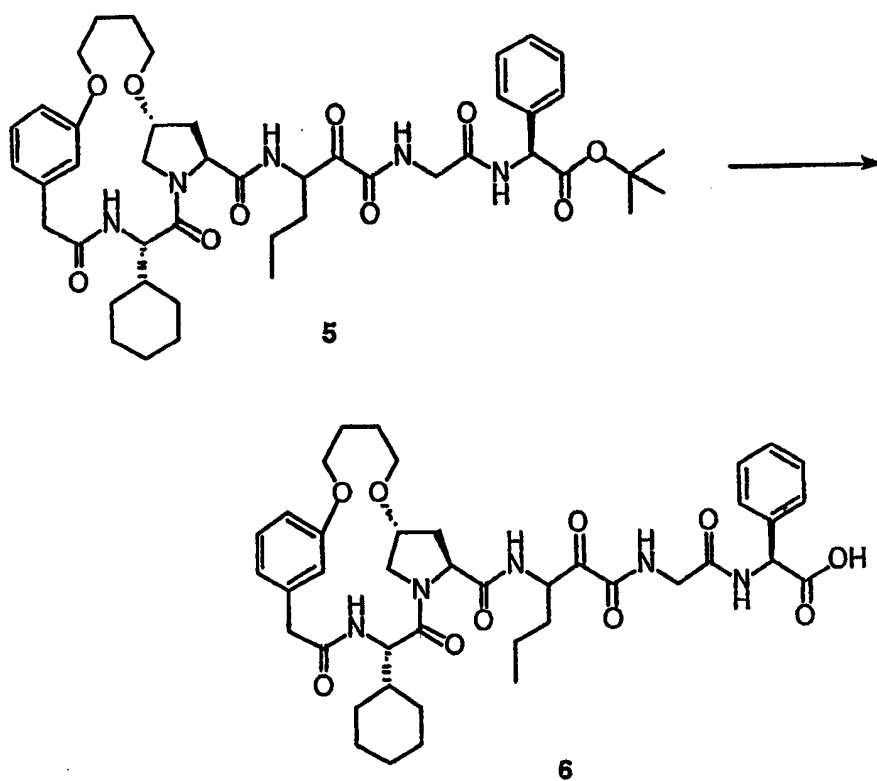


通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法, 得到所需的产物 5。经快速柱层析纯化, 使用 99/1 二氯甲烷/甲醇洗脱, 以 31%收率(2 步)得到为非对映体混合物的 5。HRMS (FAB) $C_{45}H_{62}N_5O_{10}$ 的计算值: 832.4497 (M+H)⁺。实测值: 832.4497。

实施例 6: 化合物 6 的制备:



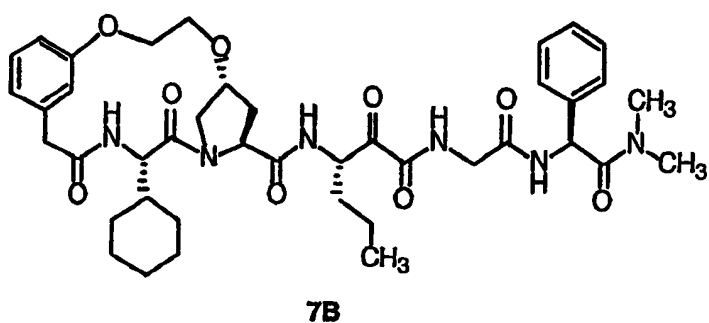
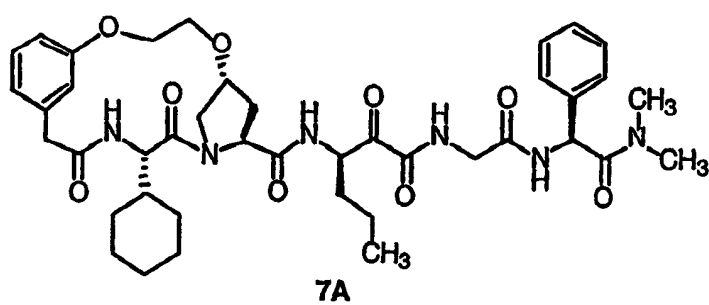
步骤 A:



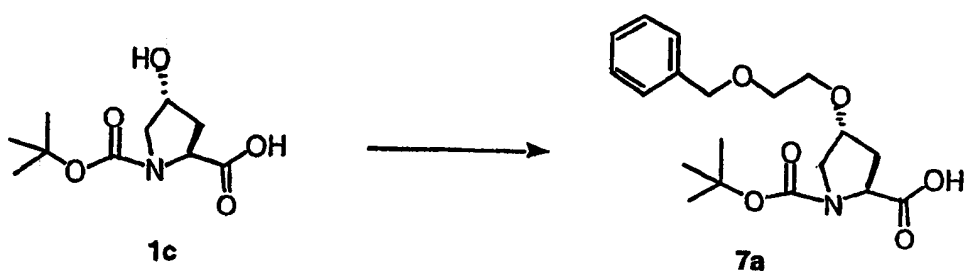
如先前对实施例 3 步骤 A 描述的那样, 以定量的收率合成期望的产物 6。HRMS (FAB) $C_{41}H_{54}N_5O_{10}$ 的计算值: 776.3871 (M+H)⁺。实测值: 776.3865。

5

实施例 7: 化合物 7A 和 7B 的制备:



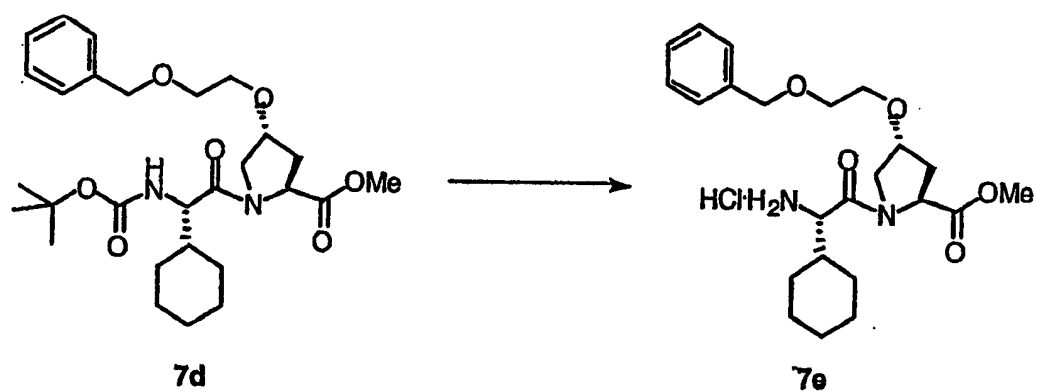
步骤 A:



5

按照实施例 1 步骤 A 的方法, 自 **1c** 制备所需的产物 **7a**。该粗品产物无须进一步纯化即可用于步骤 B。

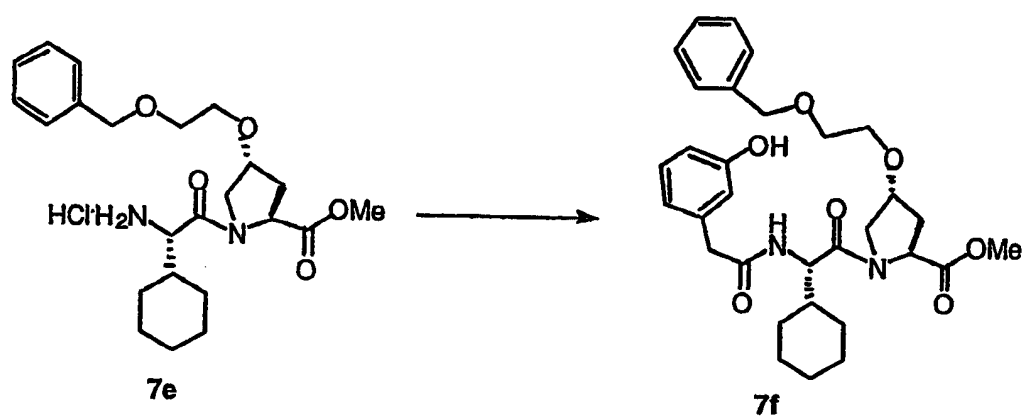
步骤 E:



按照实施例 1 步骤 E 的方法，自 **7d** 制备所需的化合物 **7e**。该产物无须进一步纯化即可用于步骤 F。

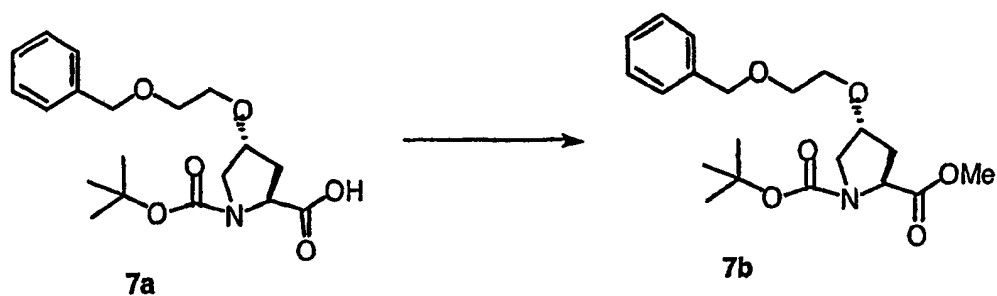
5

步骤 F:



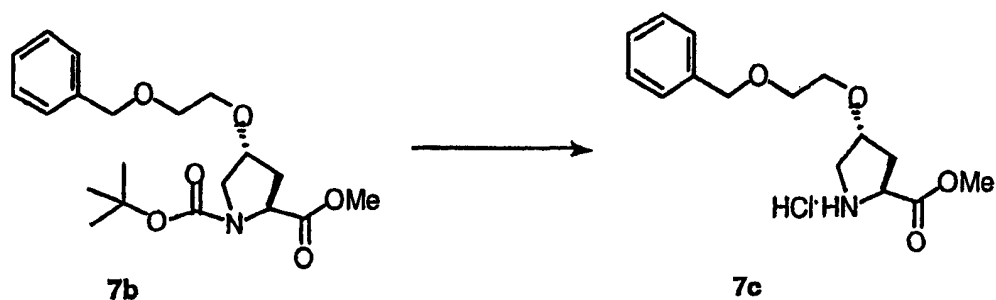
按照实施例 1 步骤 F 的方法，自 **7e** 制备所需的化合物 **7f**。

步骤 B:



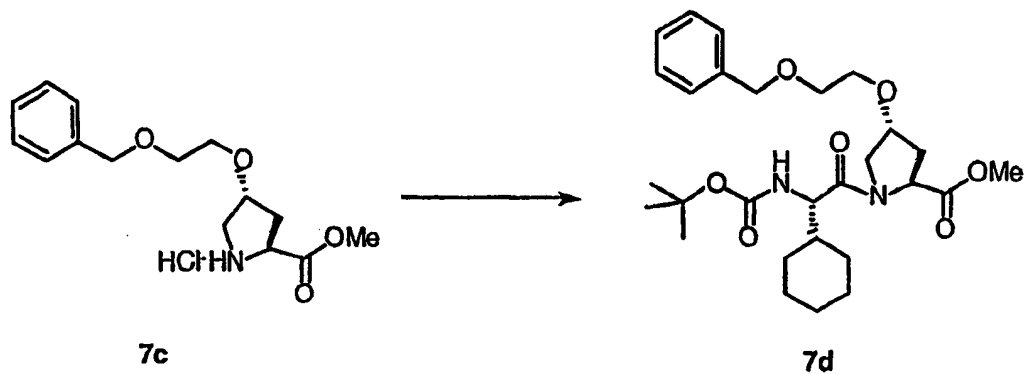
按照实施例 1 步骤 B 的方法, 自 7a 制备所需的化合物 7b。

5 步骤 C:



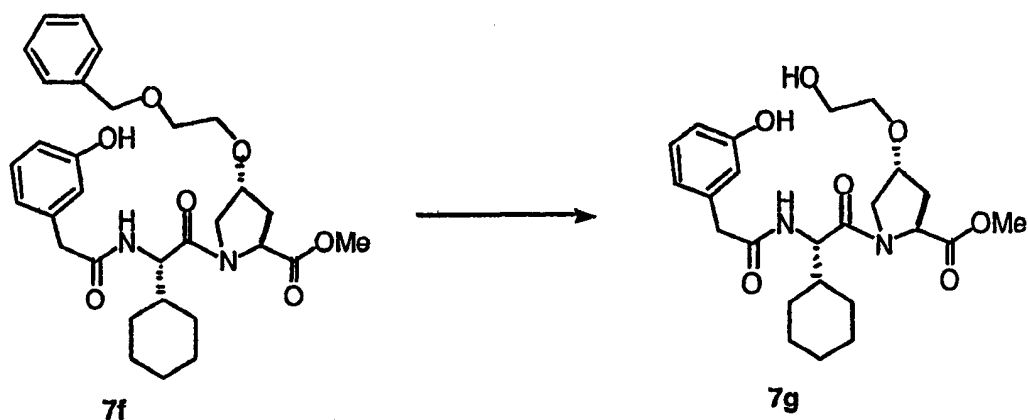
按照实施例 1 步骤 C 的方法, 自 7b 制备所需的化合物 7c。该产物无须进一步纯化即可用于步骤 D。

10 步骤 D:



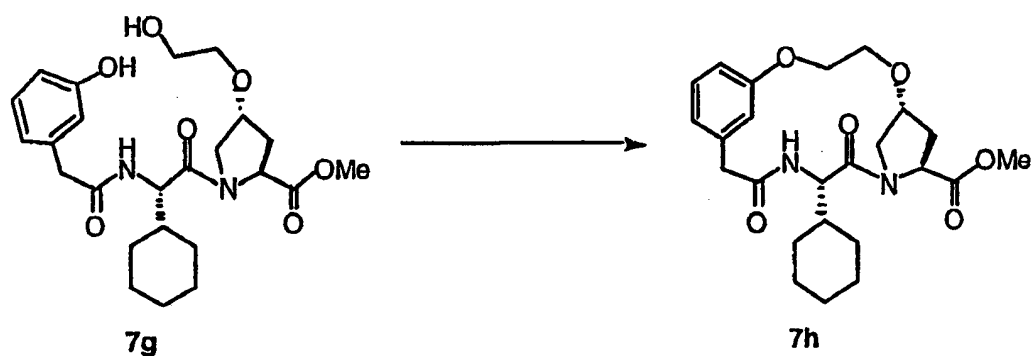
按照实施例 1 步骤 D 的方法, 自 7c 制备所需的化合物 7d。

步骤 G:



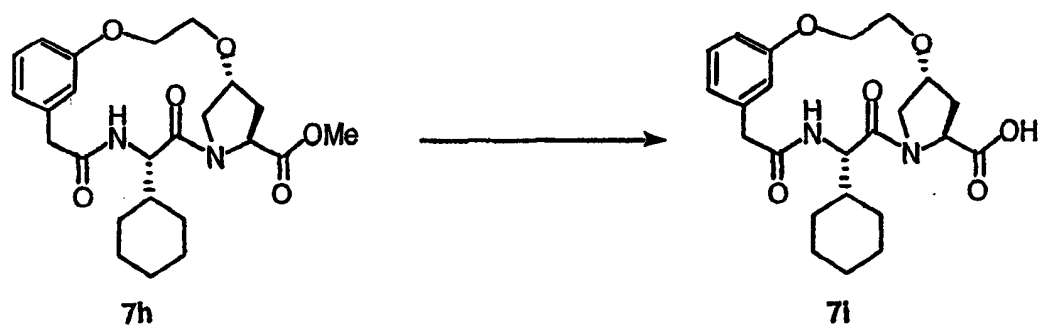
按照实施例 1 步骤 F 的方法，自 7f 制备所需的化合物 7g。

5 步骤 H:



10 将苯酚醇 7g (830 mg, 1.79 mmol) 和 ADDP (1.36 g, 5.39 mmol) 在无水 CH_2Cl_2 (200 mL) 中的溶液用氩气通过多孔玻璃鼓泡器鼓泡 20 分钟。向在 0°C 下的该溶液中加入三苯基膦 (1.41 g, 5.38 mmol)。在 0°C 下搅拌 20 分钟后，把溶液温热至室温并在氮气下搅拌过夜 (20 h)。真空除去溶剂后，经快速层析纯化残余物 (1-3% MeOH 在 CH_2Cl_2 中)，得到所需的产物 7h 和三苯基膦氧化物的混合物，其无须进一步纯化即可用于步骤 I。

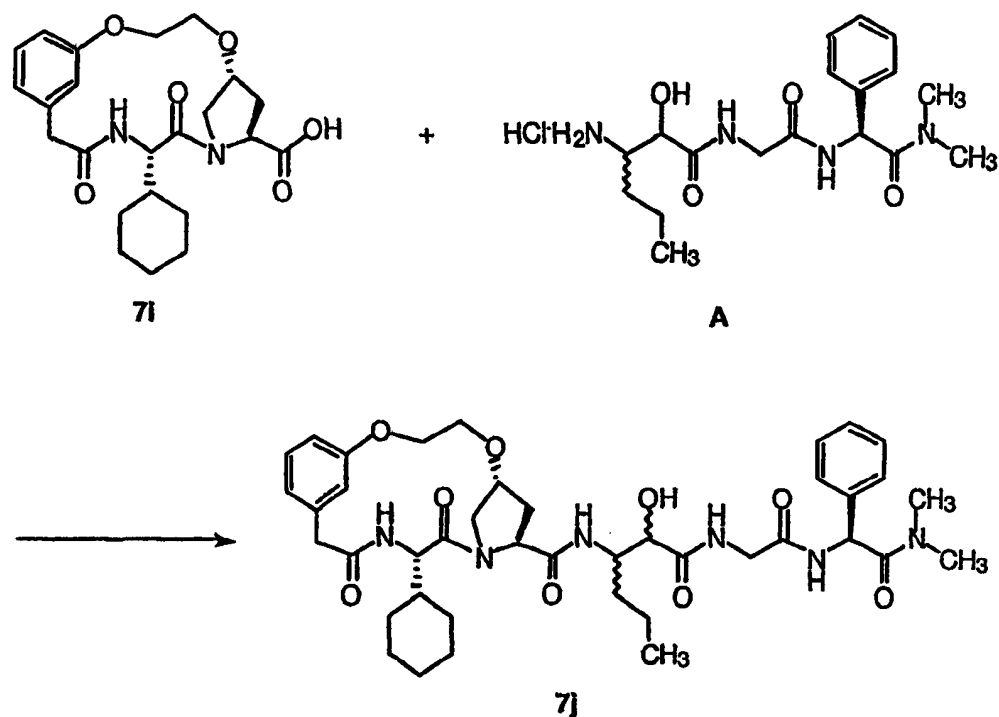
步骤 I:



按照实施例 1 步骤 I 的方法, 以 36% 收率(2 步)自 **7h** 制备所需的化合物 **7i**。

5

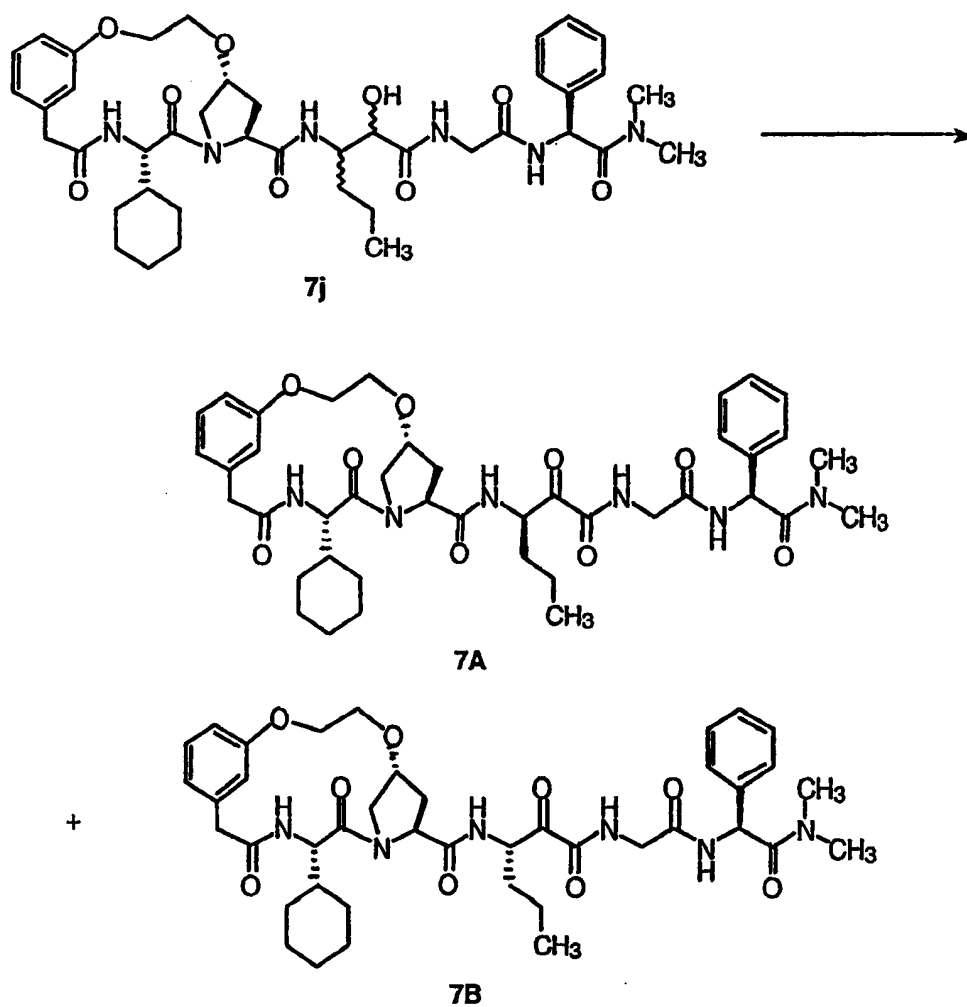
步骤 J:



按照实施例 1 步骤 J 的方法, 以 56% 收率自 **7i** 和 **A** 制备所需的化合物 **7j**。

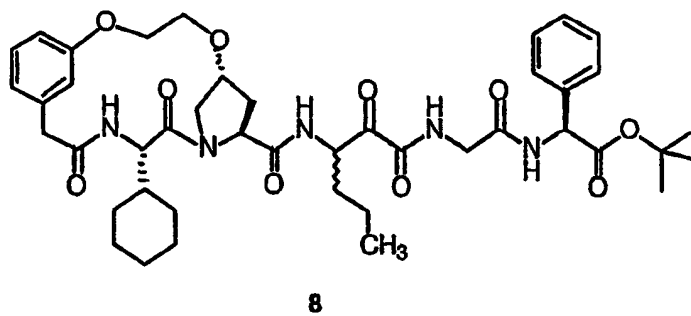
10

步骤 K:

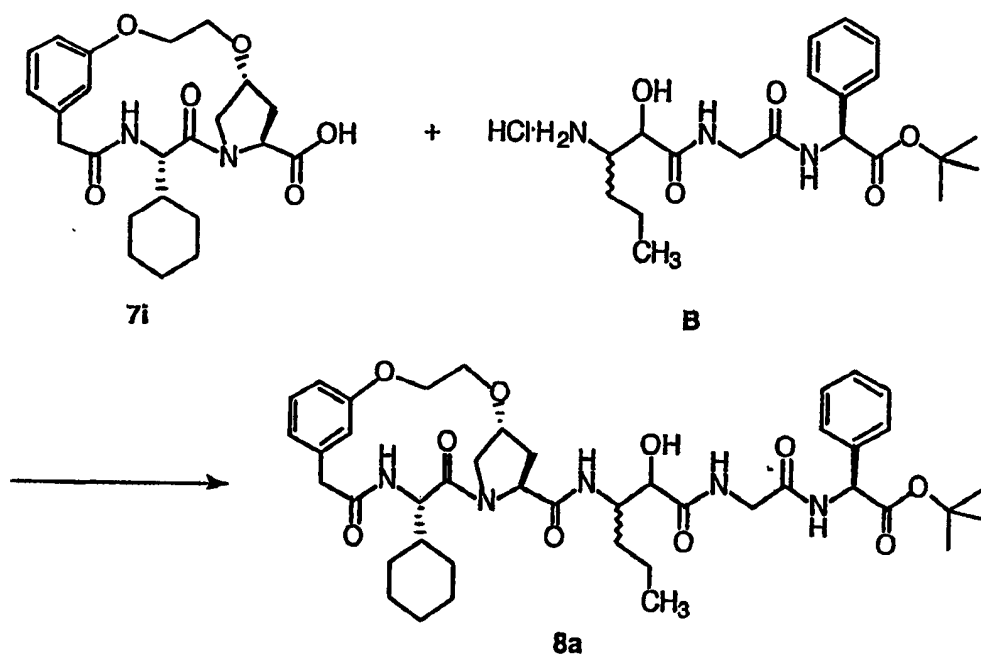


按照实施例 1 步骤 K 的方法, 自 7j 制备所需的化合物 7A 和 7B。

5 实施例 8: 式 8 化合物的制备:

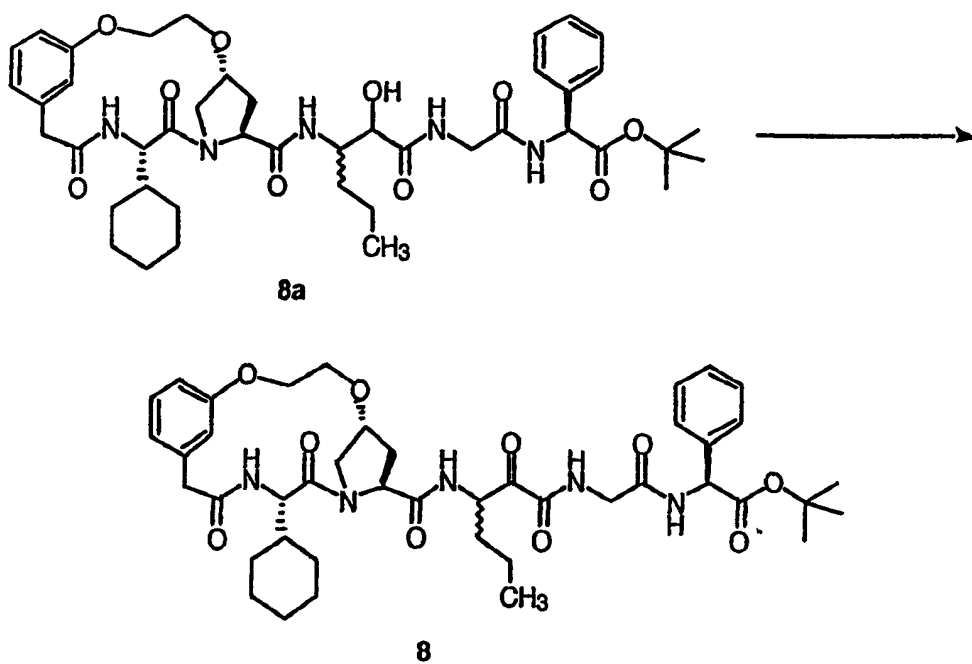


步骤 A:



除了用胺 **B** 替代胺 **A** 以外, 按照实施例 1 步骤 J 的方法, 制备所需的化合物 **8a**。以 57% 收率得到不可分离的非对映体混合物的产物, 为白色固体的形式。

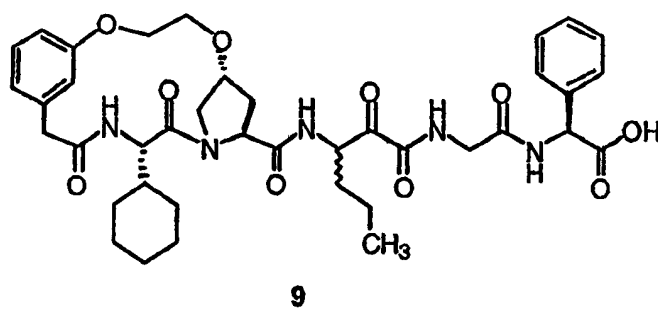
步骤 B:



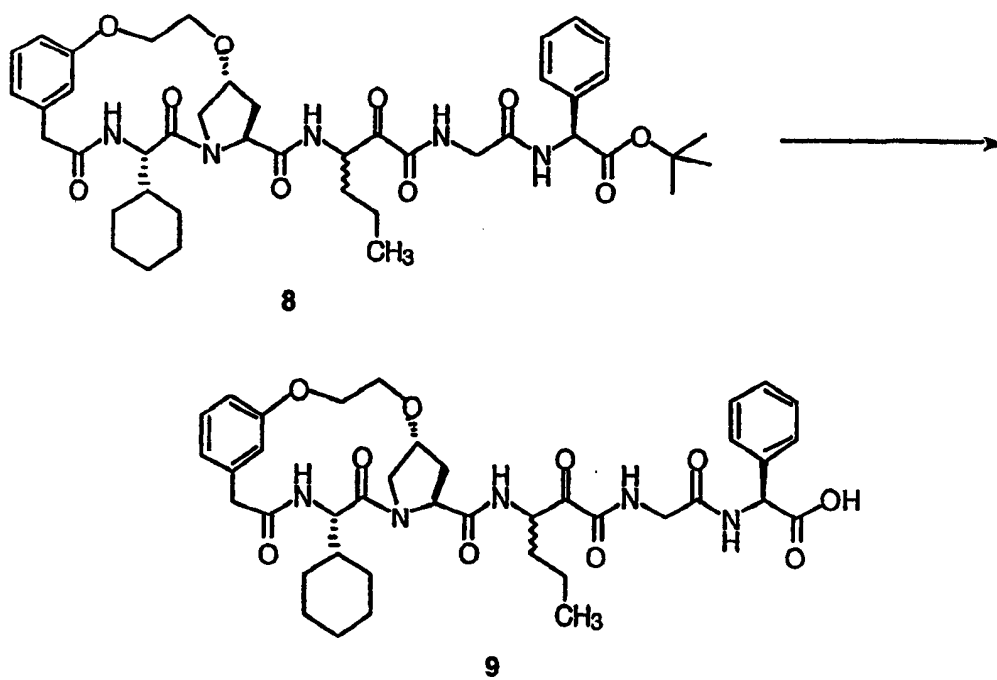
按照实施例 1 步骤 K 的方法，以 72% 收率自 **8a** 制备所需的化合物 **8**。

5

实施例 9: 式 9 化合物的制备:

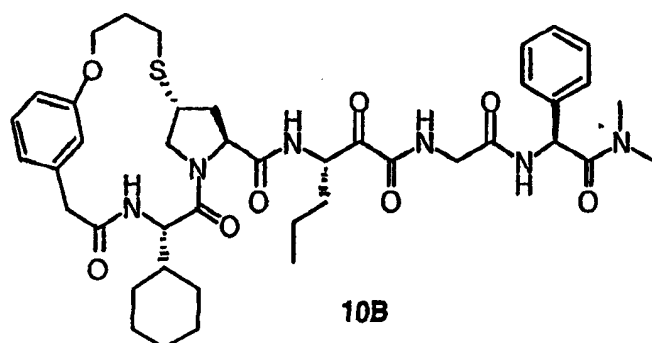
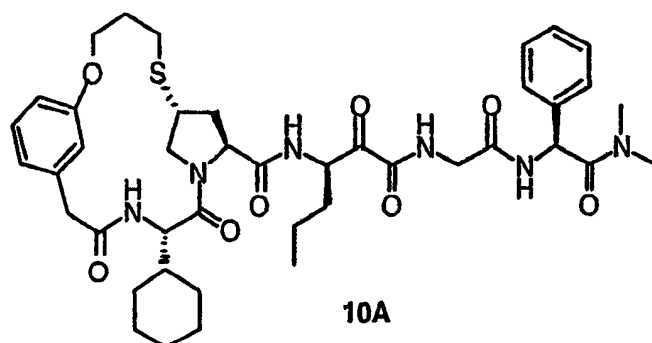


步骤 A:

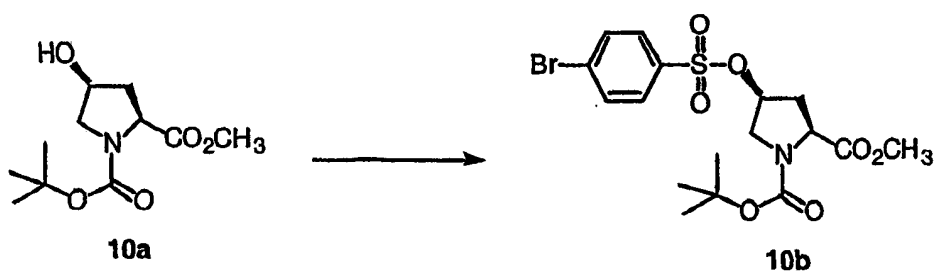


按照实施例 3 步骤 A 的方法，自 **8** 定量制备所需的化合物 **9**。

实施例 10: 式 10A 和 10B 化合物的制备:



步骤 A:



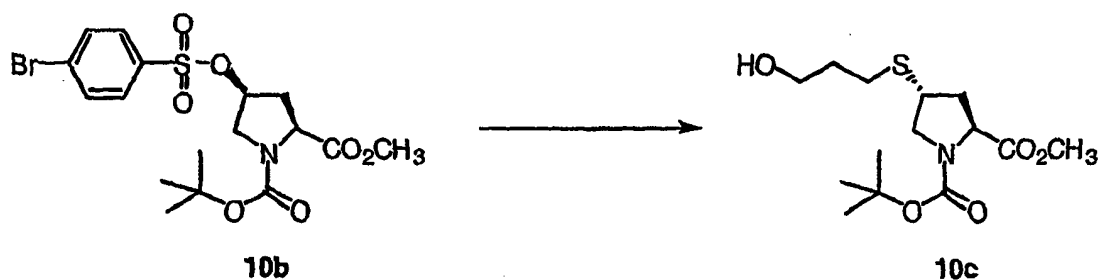
5

向 **10a** (10 g, 41 mmol) 在二氯甲烷(60 mL)中的 0℃ 的溶液中缓慢加入三乙胺(28.68 mL, 204 mmol)。然后加入 4-溴代苯磺酰氯(20.91 g, 82 mmol)和 DMAP (几粒结晶)并将温度维持在 0℃ 30 分钟。把反应混合物在冰箱中 (~5℃) 放置过夜, 随后于 2 小时内缓慢温热至环境温度。此时, TLC 分析显示起始原料完全消耗。用二氯甲烷稀释反应混合物, 用饱和碳酸氢钠溶液和 10% 枸橼酸水溶液洗涤。干燥

10

(Na₂SO₄)有机层, 浓缩。经快速柱层析纯化粗品混合物, 使用 100/0-95/5 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱, 得到 18.4 g (97%收率) 为白色固体的对溴苯磺酸酯 **10b**。¹H NMR (旋转异构体的混合物, CDCl₃) δ 1.41 和 1.45 (2s, 9H), 2.40-2.50 (m, 2H), 3.59-3.69 (m, 5H), 4.33-4.37 和 4.46 (2dd, 1H), 5.11 (m, 1H), 7.72-7.74 (m, 4H); ¹³C NMR (旋转异构体的混合物, CDCl₃) δ 28.18, 28.27, 36.01, 36.98, 51.59, 52.03, 52.20, 52.35, 56.95, 57.22, 57.28, 78.35, 79.53, 80.66, 129.10, 129.26, 132.66, 135.66, 135.81, 153.25, 153.64, 171.45, 171.78; HRMS (FAB) C₁₇H₂₃NO₇SBr 的计算值: 464.0379 (M+H)⁺。实测值: 464.0375。

步骤 B:

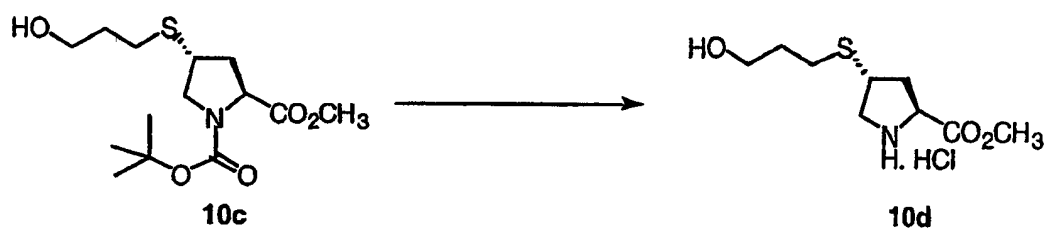


在氩气氛下, 于 0℃ 向氢化钠(60%悬浮液在矿物油中, 187 mg, 4.68 mmol)在 DMF 中的悬浮液中加入 3-巯基丙醇(0.42 mL, 4.85 mmol)。把混合物搅拌 30 分钟, 期间维持该温度。缓慢加入对溴苯磺酸酯 **10b** (1.5 g, 3.23 mmol) 在 DMF (总体积 = 10 mL) 中的溶液, 并把混合物温热至环境温度 2 小时。通过倾入到冷的 10% 枸橼酸溶液中猝灭反应物。用乙酸乙酯提取水层, 干燥(Na₂SO₄)有机层, 浓缩。经快速柱层析纯化粗品物质, 使用 85/15 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱, 得到 800 mg (78%收率) 为油的硫化物 **10c**; ¹H NMR (旋转异构体的混合物, CDCl₃) δ 1.41 和 1.47 (2s, 9H), 1.83-1.89 (m, 2H), 2.13-2.34 (m, 2H), 2.69 (t, 2H), 3.23-3.49 (m, 2H), 3.73-3.78 (m, 5H), 3.86-3.95 (m, 1H), 4.33-4.37 和 4.42-4.46 (2dd, 1H); ¹³C NMR (旋转异构体的混合物,

CDCl₃) δ 28.21, 28.30, 32.15, 32.23, 36.65, 37.27, 40.45, 40.89, 52.16, 52.35, 52.50, 52.84, 58.32, 58.55, 61.22, 61.41, 80.35, 153.49, 153.99, 173.05, 173.23; HRMS (FAB) C₁₄H₂₆NO₅S 的计算值: 320.1532 (M+H)⁺。实测值: 320.1528。

5

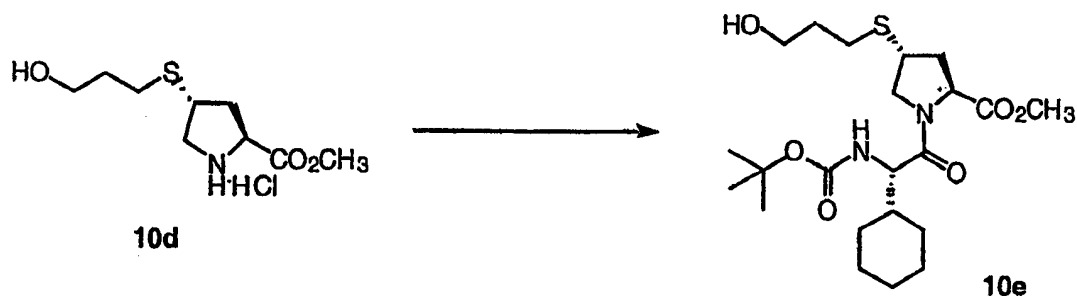
步骤 C:



通过对实施例 1 步骤 C 描述的方法, 制备所需的化合物 **10d**。反应条件为 0℃, 1 小时。该物质可原样直接用于下一步骤。

10

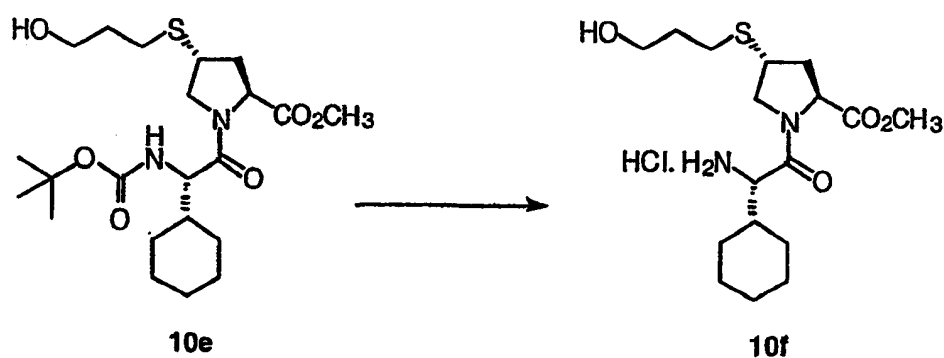
步骤 D:



通过对实施例 1 步骤 D 描述的方法, 制备所需的化合物 **10e**。在 -8℃ 下, 该偶合反应进行 2 天。处理后, 经 TLC 检测, 以 80% 收率得到足够纯的产物 **10e**; HRMS (FAB) C₂₂H₃₉N₂O₆S 的计算值: 459.2529 (M+H)⁺。实测值: 459.2523。

15

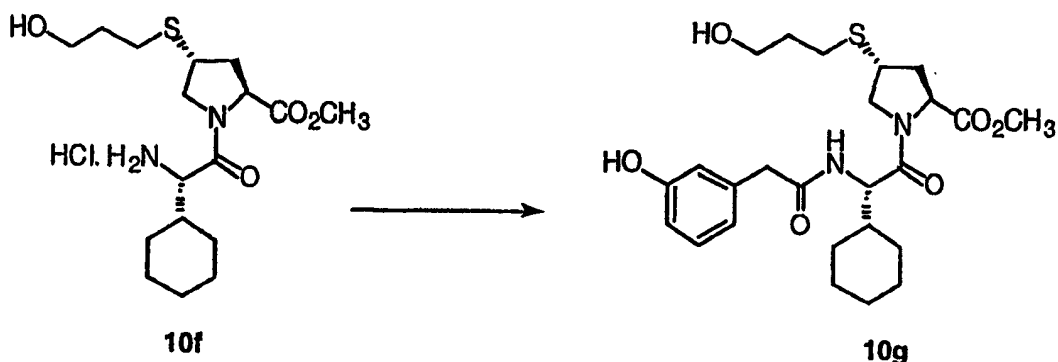
步骤 E:



通过对实施例 1 步骤 E 描述的方法, 制备所需的化合物 **10f**。该物质可原样直接向下进行。

5

步骤 F:



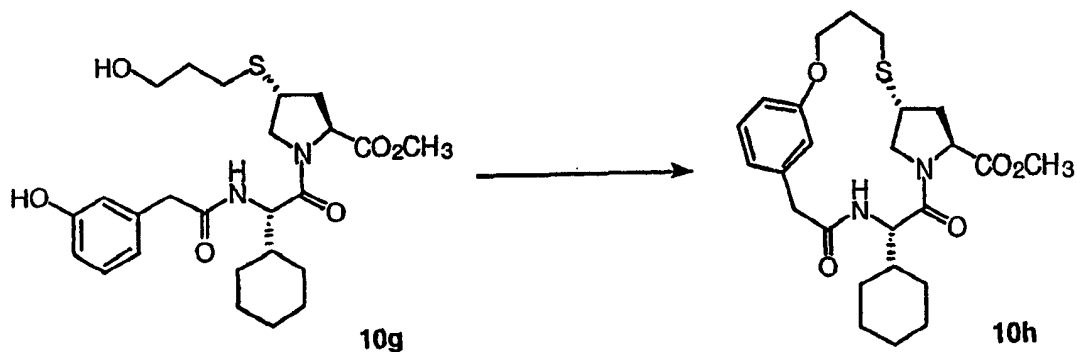
通过对实施例 1 步骤 F 描述的方法, 制备所需的化合物 **10g**。经快速柱层析纯化粗产物, 使用 98/2 二氯甲烷/甲醇洗脱, 以 40% 收率得到为白色固体的 **10g**; ^1H NMR (旋转异构体的混合物, CDCl_3) δ 0.90-1.26 (m), 1.66-1.88 (m), 2.22-2.31 (m, 2H), 2.73 (t, 2H), 3.47 (s), 3.5-3.55 (m), 3.65-3.75 (m), 3.88-3.94 (dd, 1H), 4.07-4.12 (dd, 1H), 4.53 (t, 1H), 4.62 (t, 1H), 6.73-6.80 (m, 4H), 7.17 (t, 1H); ^{13}C NMR (旋转异构体的混合物, CDCl_3) δ 25.80, 25.89, 26.14, 27.71, 28.55, 29.22, 31.88, 35.46, 40.58, 42.44, 43.16, 52.32, 52.90, 55.49, 58.46, 60.30, 114.59, 116.27, 121.01, 130.02, 135.90, 156.73, 171.25, 171.87, 171.96; HRMS

10

15

(FAB) $C_{25}H_{37}N_2O_6S$ 的计算值: 493.2372 ($M+H$)⁺。实测值: 493.2364。

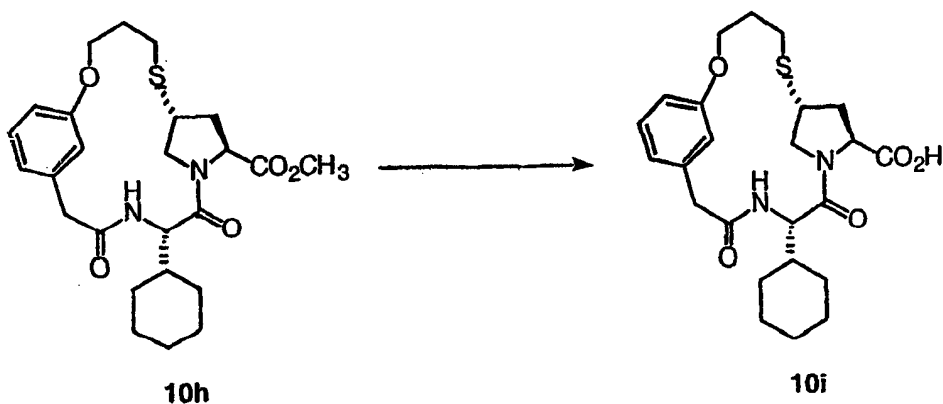
步骤 G:



5 通过对实施例 1 步骤 G 描述的方法, 制备所需的化合物 **10h**。

将粗品产物悬浮于 80/20 乙酸乙酯/己烷中, 并滤除固体物质。浓缩滤液, 经快速柱层析纯化, 使用 80/20 己烷/丙酮洗脱, 得到 22% 的为固体的 **10h**。¹H NMR (CDCl₃) δ 0.98-1.30 (m), 1.64-1.90 (m), 2.06-2.14 (m, 1H), 2.16-2.21 (dd, 2H), 2.62-2.70 (m, 2H), 3.38-3.46 (m, 2H),
 10 3.60-3.66 (m, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.88-3.94 (dd, 1H), 4.07-4.15 (m, 1H), 4.22-4.29 (m, 1H), 4.48 (t, 1H), 4.60 (t, 1H), 5.97 (br t, 1H), 6.76-6.81 (m, 2H), 6.99 (br s, 1H), 7.20 (dd, 1H); HRMS (FAB) $C_{25}H_{35}N_2O_5S$ 的计算值: 475.2267 ($M+H$)⁺。实测值: 475.2260。

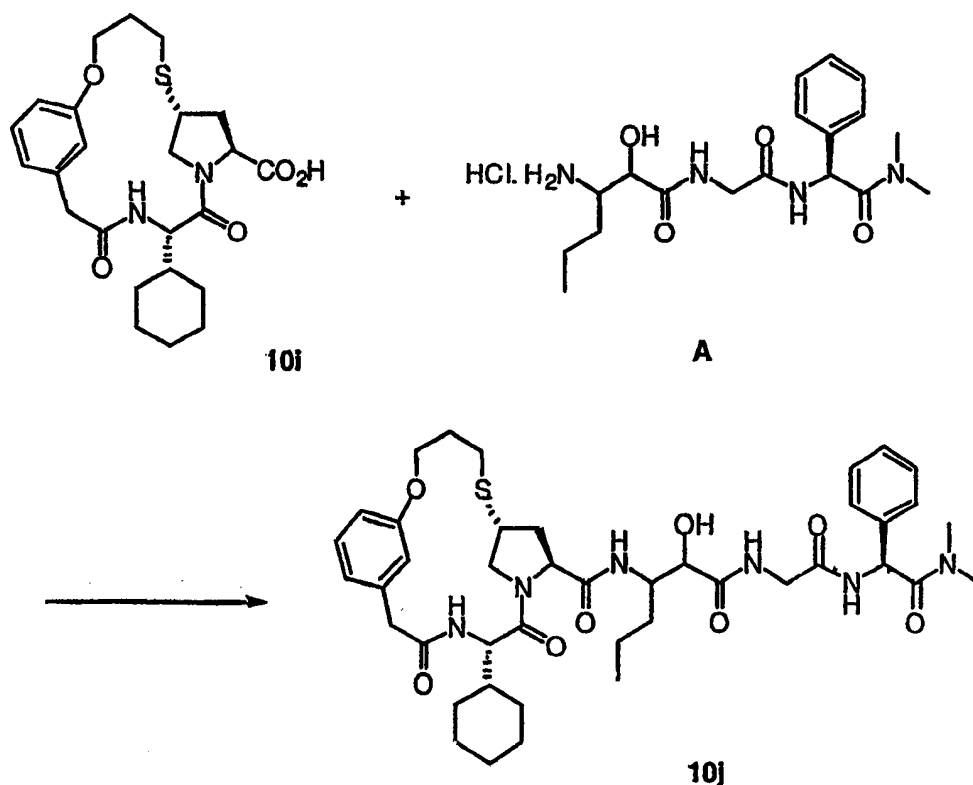
15 **步骤 H:**



如对实施例 1 步骤 H 描述的那样, 以定量收率合成为白色固体

的在前的(advanced)中间体 **10i**。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 0.88-0.96 (m, 2H), 1.10-1.14 (m, 3H), 1.59-1.76 (m, 7H), 1.88-1.94 (m, 1H), 2.09 (app.t, 1H), 2.61 (dd, 1H), 3.32 (app.d, 1H), 3.40-3.45 (m, 2H), 3.61 (app.d, 1H), 3.83 (q, 1H), 4.13 (app.t, 1H), 4.19 (t, J=7.32 Hz, 1H), 4.40 (t, J=9.52 Hz, 1H), 6.76-6.79 (m, 2H), 6.89 (s, 1H), 7.16 (app.t, 1H), 8.39 (d, 1H), 12.5 (br.s, 1H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 25.33, 25.41, 26.01, 26.44, 28.09, 28.62, 29.24, 34.90, 39.50, 41.40, 42.30, 53.18, 54.44, 58.06, 66.94, 114.88, 115.25, 122.28, 129.20, 137.84, 157.90, 169.25, 170.29, 172.59; HRMS (FAB) C₂₄H₃₃N₂O₅S 的计算值: 461.2110 (M+H)⁺。实测值: 461.2104。

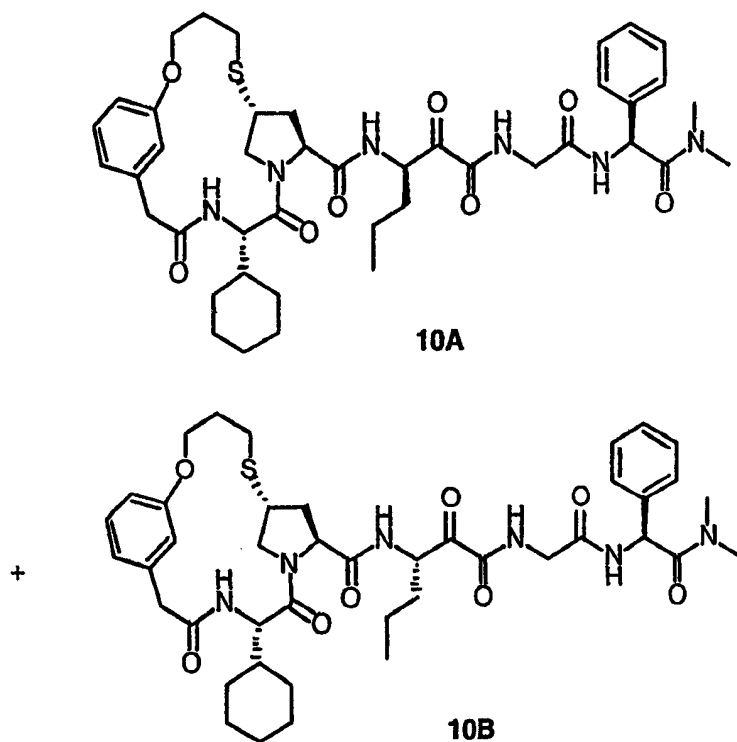
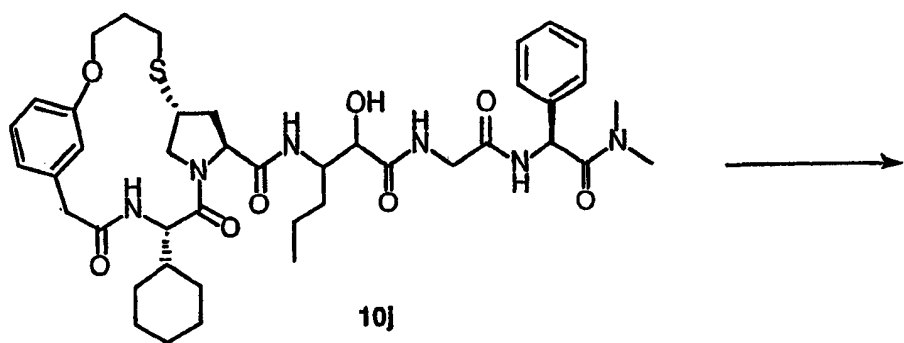
步骤 I:



如先前对实施例 1 步骤 I 描述的那样, 以定量收率制备为浅黄色固体的所需的化合物 **10j**, 处理后, 经 TLC 检测所得到的物质的纯度足以用于进一步操作; HRMS (FAB) C₄₂H₅₉N₆O₈S 的计算值:

807.4115 (M+H)⁺。实测值: 807.4103。

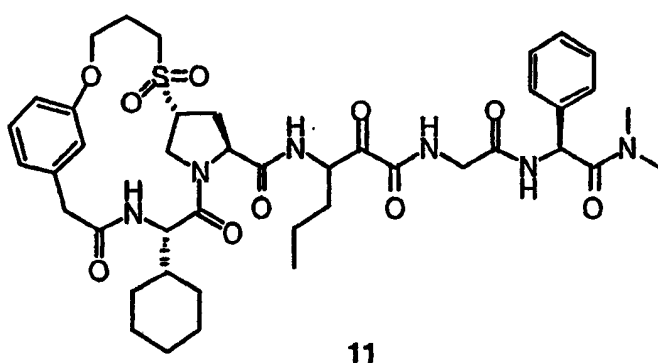
步骤 J:



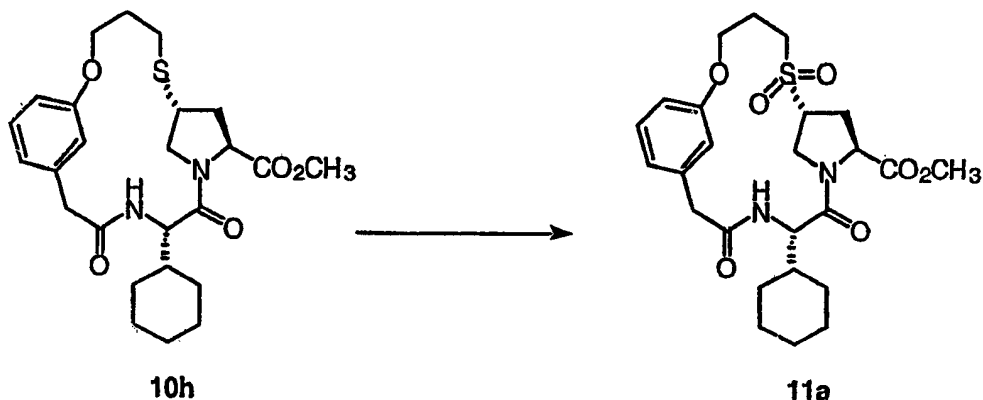
- 5 向 10j (180 mg, 0.22 mmol)在二氯甲烷中的溶液中连续加入
DMSO (0.313 mL, 4.4 mmol)、DCC (908 mg, 4.4 mmol)和二氯乙酸(36.4
μL, 0.44 mmol)。在环境温度下,把反应混合物搅拌过夜。通过加入
5%枸橼酸水溶液(5 mL)和 MeOH (1 mL)猝灭并搅拌 30 分钟。滤除固
10 体物质,并用饱和碳酸氢钠溶液和盐水洗涤滤液。经 Na₂SO₄干燥有
机层,真空除去溶剂。经快速柱层析纯化粗品物质,使用 100/0-98/2

二氯甲烷/甲醇洗脱, 得到 105 mg (60%) 为非对映体混合物的 **10A** 和 **10B**。使一部分混合物(36 mg)再次经历柱层析, 得到纯的异构体 **10A** (较高极性, 白色固体, 8 mg) 和纯的异构体 **10B** (较低极性, 白色固体, 6 mg), 其余为混合物。HRMS (FAB) $C_{42}H_{57}N_6O_8S$ 的计算值: 805.3959 (M+H)⁺。实测值: 805.3958 (**10A**), 805.3950 (**10B**)。

实施例 11: 式 11 化合物的制备:



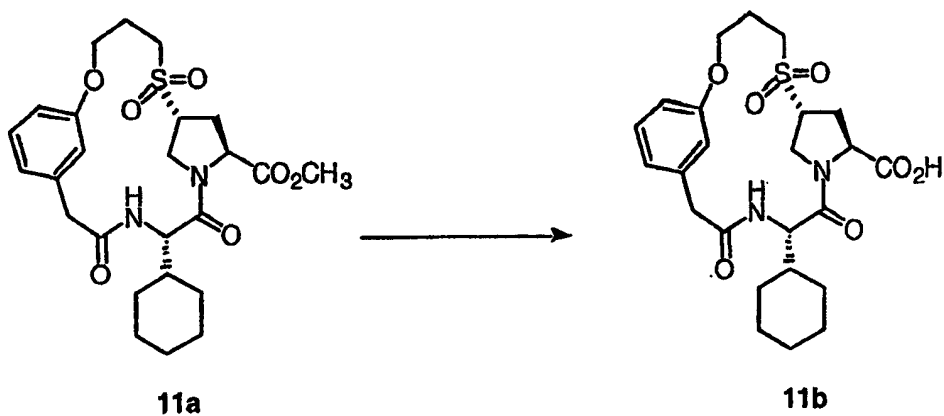
步骤 A:



向 **10h** (200 mg, 0.42 mmol) 在二氯甲烷(10 mL)中的冷(0℃)的溶液中加入 MCPBA (60%, 364 mg, 1.26 mmol)。将反应混合物缓慢温热至环境温度 16 小时。用二氯甲烷稀释反应混合物, 并用饱和碳酸氢钠和亚硫酸氢钠溶液洗涤。干燥(Na_2SO_4)有机层, 浓缩。经快速柱层析纯化, 使用 98/2 二氯甲烷/甲醇洗脱, 得到 **11a** (138 mg, 65%收率)。

HRMS (FAB) $C_{25}H_{35}N_2O_7S$ 的计算值: 507.2165 ($M+H$)⁺。实测值: 507.2158。

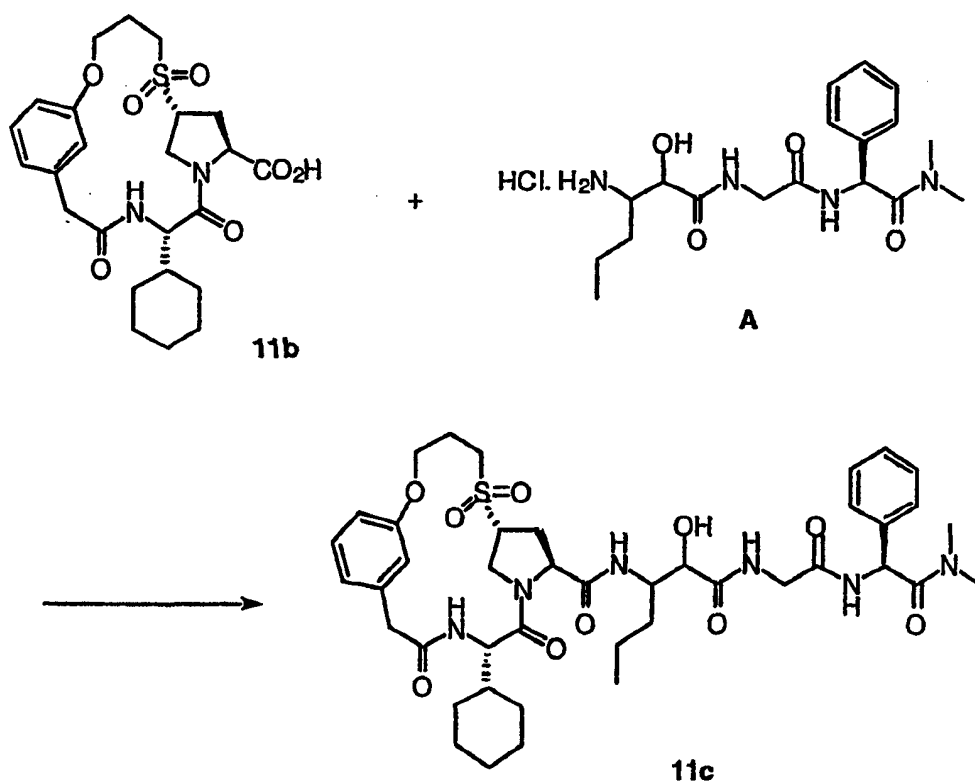
步骤 B:



5

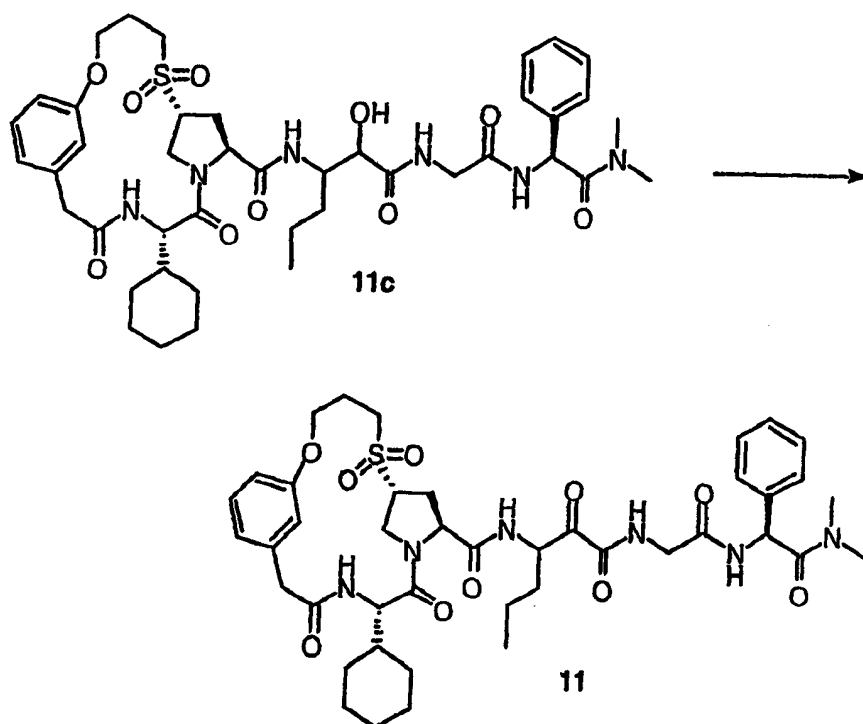
如对实施例 1 步骤 I 描述的那样, 以 90% 收率合成为白色固体的期望的产物 **11b**; HRMS (FAB) $C_{24}H_{33}N_2O_7S$ 的计算值: 493.2008 ($M+H$)⁺。实测值: 493.2012。

步骤 C:



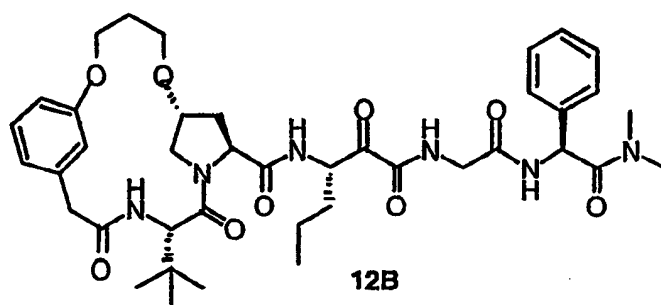
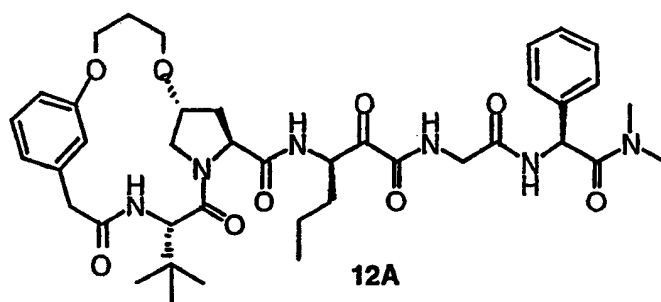
如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样, 以定量收率制备所需的化合物 11c。处理后, 经 TLC 检测所得到的物质纯度足以用于进一步操作。HRMS (FAB) $C_{42}H_{59}N_6O_{10}S$ 的计算值: 839.4013 ($M+H$)⁺。实测值: 839.4019。

步骤 D:

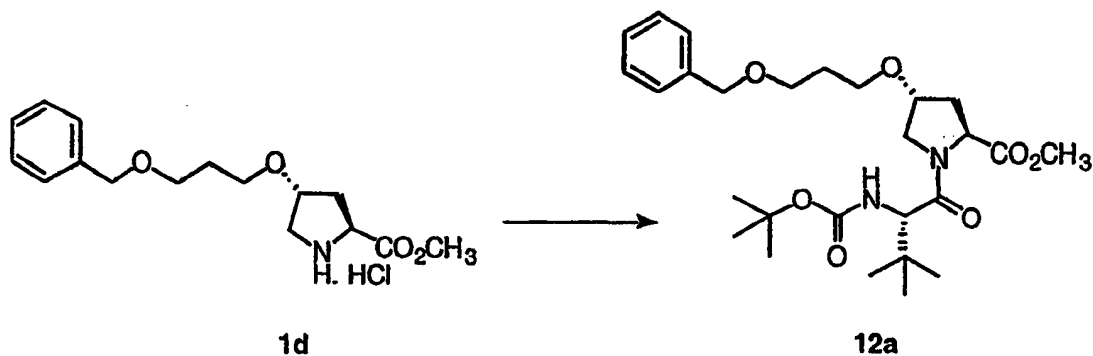


通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物
11。经快速柱层析纯化，使用 98/2 二氯甲烷/甲醇洗脱，以 4% 收率(2
5 步)得到 **11**。HRMS (FAB) $C_{42}H_{57}N_6O_{10}S$ 的计算值: 837.3857 ($M+H$)⁺。
实测值: 837.3865。

实施例 12: 式 12A 和 12B 化合物的制备:



步骤 A:



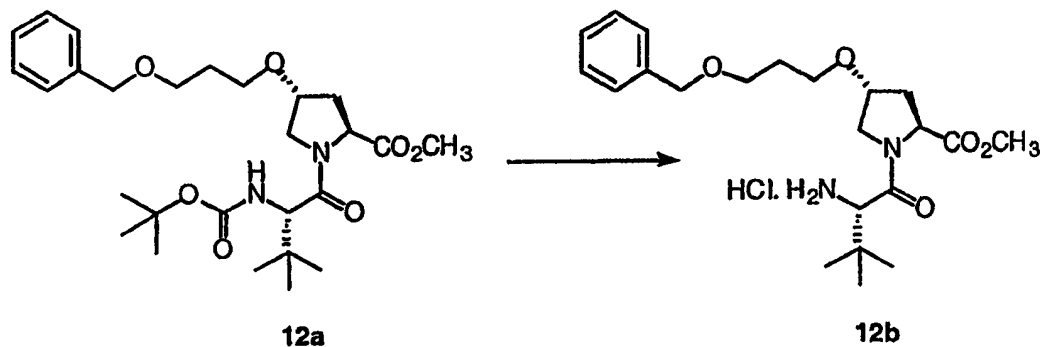
5

通过对实施例 1 步骤 D 描述的方法, 使用 N-Boc-叔丁基甘氨酸作为偶合配体, 得到所需的产物 **12a**。经快速柱层析纯化该物质, 使用 90/10 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱, 以 73% 收率得到 **12a**。¹³C NMR (旋转异构体的混合物, CDCl₃) δ 26.20, 28.31, 29.07, 30.06, 34.94, 35.86, 37.06, 51.21, 52.16, 52.84, 57.78, 58.33, 65.95, 66.92, 72.97, 75.48, 79.45, 127.55, 127.66, 128.35, 138.45, 155.62, 165.06, 171.13, 172.54; HRMS

10

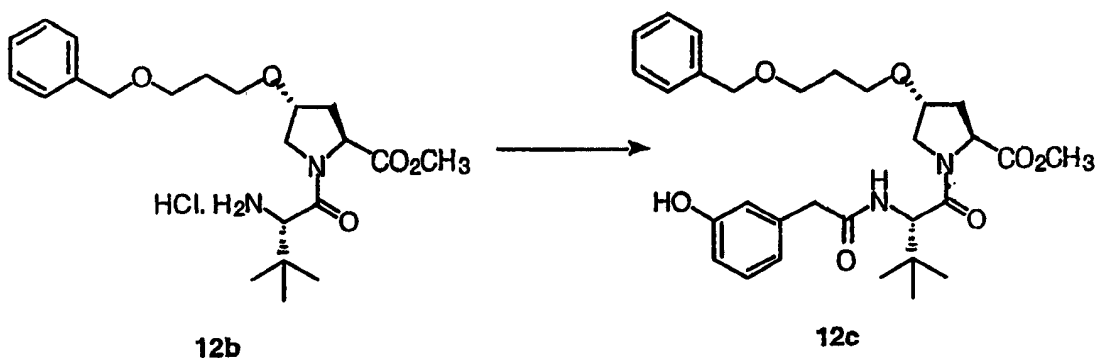
(FAB) $C_{27}H_{43}N_2O_7$ 的计算值: 507.3070 (M+H)⁺。实测值: 507.3077。

步骤 B:



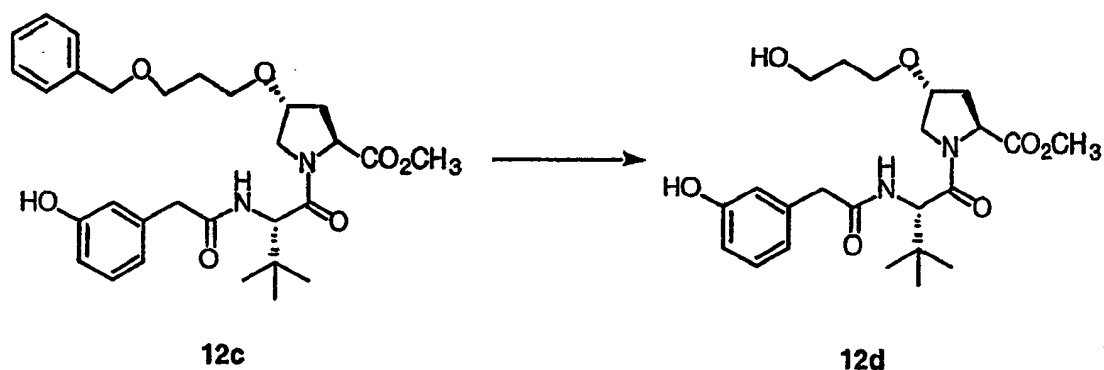
- 5 通过对实施例 1 步骤 E 描述的方法, 制备所需的化合物 **12b**。该物质直接用于下一步骤。

步骤 C:



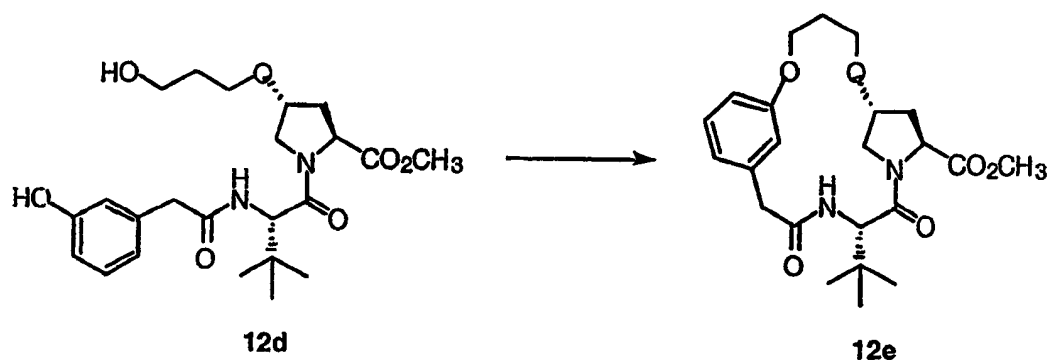
- 10 通过对实施例 1 步骤 F 描述的方法, 得到所需的产物 **12c**。经快速柱层析纯化该物质, 使用 99/1 二氯甲烷/甲醇洗脱, 以 91% 收率得到 **12c**。¹³C NMR (CDCl₃) δ 26.24, 29.93, 34.95, 35.96, 43.48, 52.18, 53.09, 57.06, 58.06, 66.10, 66.92, 72.93, 77.43, 114.59, 116.14, 120.87, 127.58, 127.64, 127.74, 128.37, 130.02, 135.95, 138.39, 156.90, 170.65,
- 15 171.06, 172.38; HRMS (FAB) $C_{30}H_{41}N_2O_7$ 的计算值: 541.2914 (M+H)⁺。实测值: 541.2921。

步骤 D:



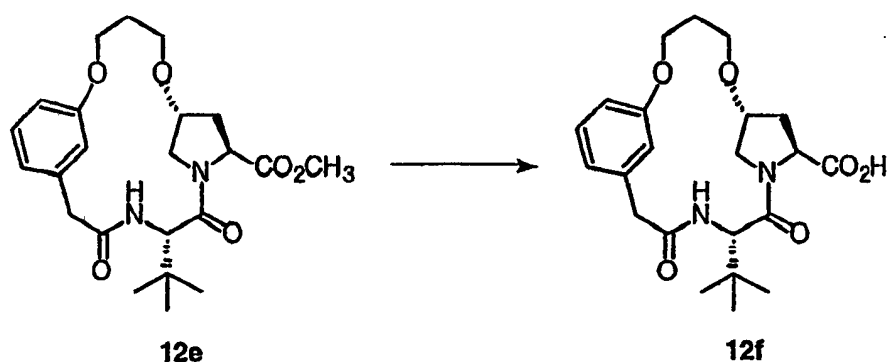
通过对实施例 1 步骤 G 描述的方法, 得到所需的产物 **12d**。滤除催化剂后, 所得到的产物纯度足以进行随后的处理。¹³C NMR (CDCl₃) δ 26.27, 32.09, 35.44, 35.67, 43.19, 52.21, 52.74, 57.60, 58.21, 58.75, 65.78, 77.74, 114.74, 116.02, 120.68, 130.07, 135.66, 157.11, 170.59, 172.05, 172.51; HRMS (FAB) C₂₃H₃₅N₂O₇ 的计算值: 451.2444 (M+H)⁺。实测值: 451.2436。

10 步骤 E:



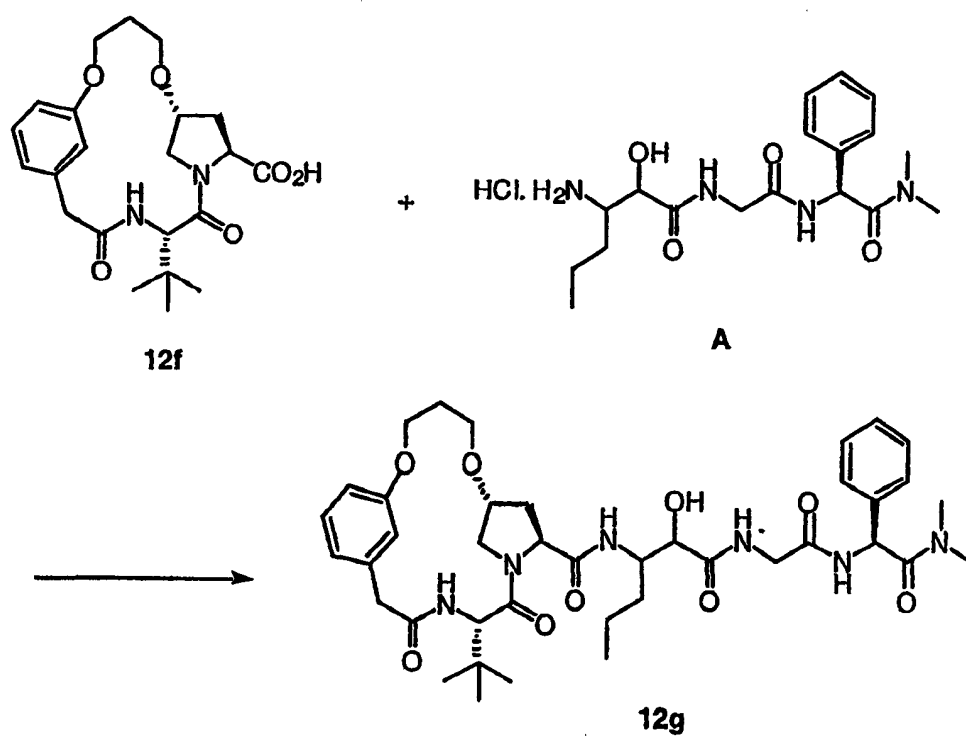
通过对实施例 1 步骤 H 描述的方法, 得到所需的产物 **12e**。将该粗品物质悬浮于乙酸乙酯/己烷(大约 1/1)中, 并滤除不溶的固体物质。再重复该方法一次, 浓缩滤液并作为二氯甲烷溶液应用到柱上。用 75/25 己烷/丙酮洗柱, 得到 29%的 **12e**。HRMS (FAB) C₂₃H₃₃N₂O₆ 的计算值: 433.2339 (M+H)⁺。实测值: 433.2339。

步骤 F:



如对实施例 1 步骤 I 描述的那样, 以定量收率合成在前的中间
 体 **12f**; ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 0.96 (s, 9H), 1.66-1.70 (m, 1H), 1.75-1.82
 5 (m, 2H), 2.43 (dd, 1H), 3.32-3.36 (m, 2H), 3.48-3.52 (m, 1H), 3.55 (dd,
 1H), 3.84 (app. d, 1H), 3.99 (app. d, 1H), 4.06-4.10 (m, 3H), 4.16 (dd, 1H),
 4.69 (d, 1H), 6.70-6.72 (m, 3H), 7.15 (app. t, 1H), 8.42 (d, 1H), 12.43 (br.s,
 1H); ^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ 26.25, 28.54, 33.31, 34.97, 41.22, 53.96,
 56.11, 56.97, 63.36, 64.96, 76.84, 111.94, 115.25, 121.73, 129.13, 138.36,
 10 158.27, 169.85, 170.15, 173.04; HRMS (FAB) $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_6$ 的计算值:
 419.2182 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。实测值: 419.2180。

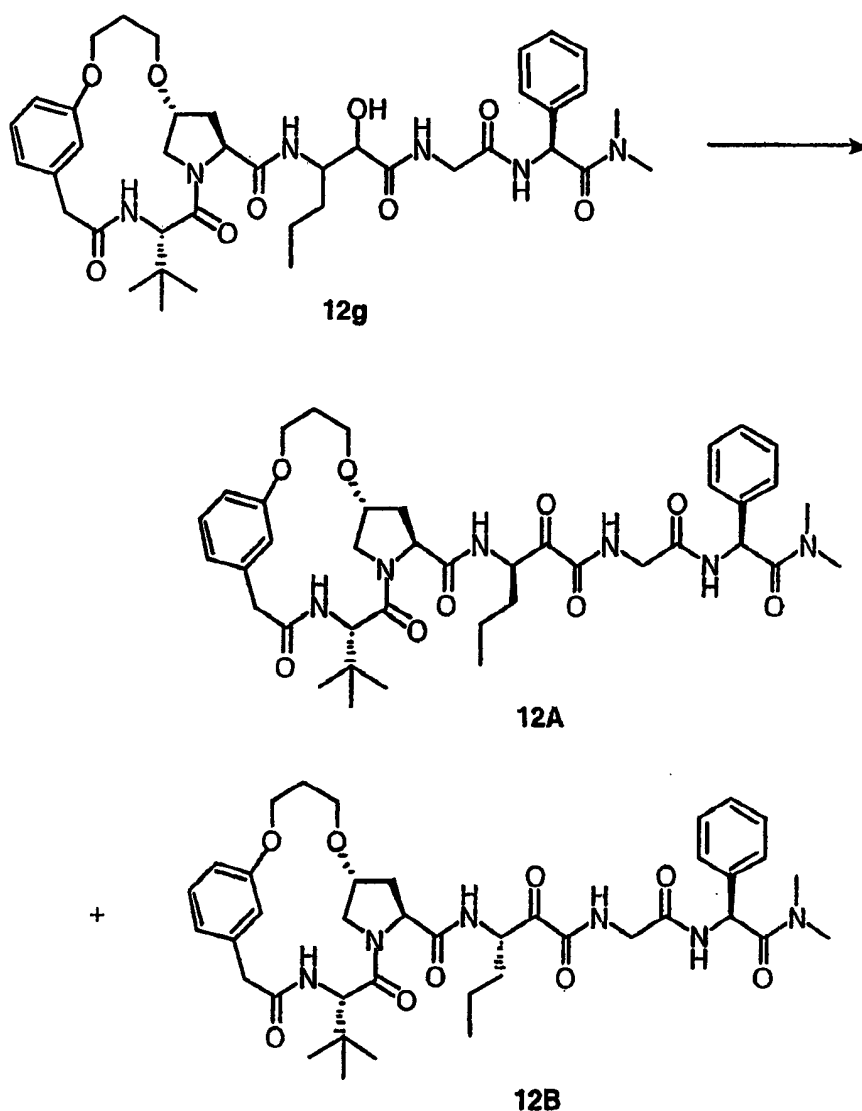
步骤 G:



如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样, 合成期望的产物 **12g**。处理后, 该物质具有足够的纯度以直接用于下一步骤。HRMS (FAB)

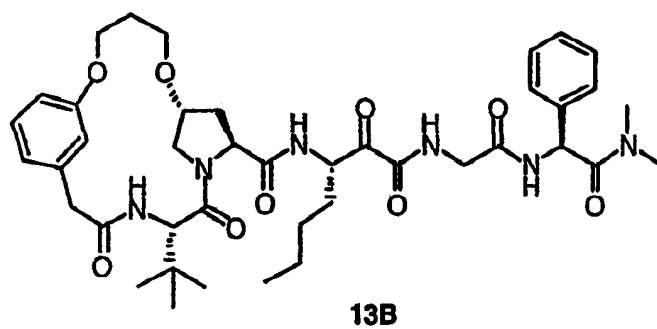
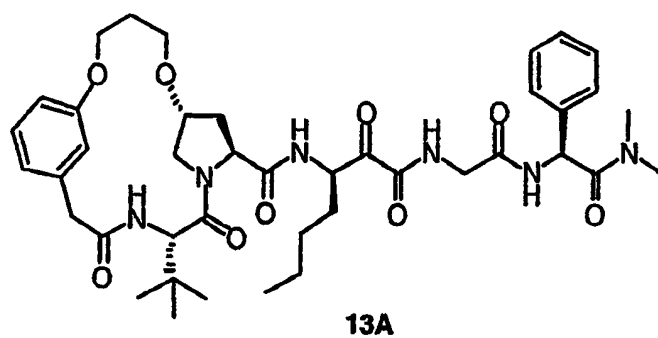
5 $C_{40}H_{57}N_6O_9$ 的计算值: 765.4187 (M+H)⁺。实测值: 765.4175。

步骤 H:

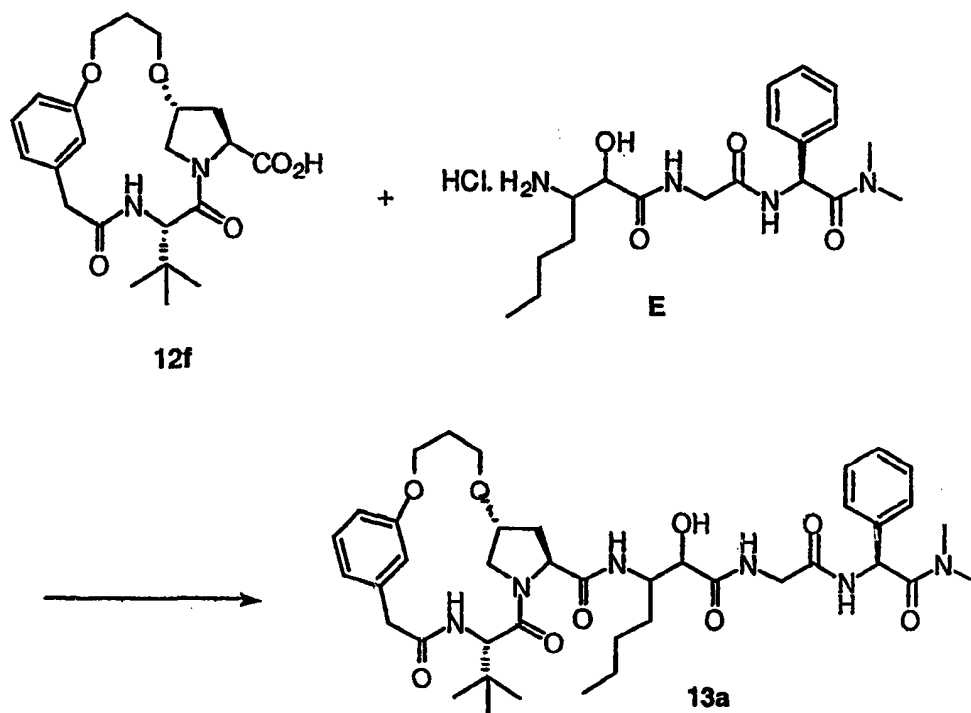


通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物 **12A** 和 **12B**。经快速柱层析纯化，使用 98/2-96/4 二氯甲烷/甲醇洗脱，
 5 得到分离的异构体 **12A** 和 **12B** 和一些混合物。合并收率 = 57% (2 步)。HRMS (FAB) $C_{40}H_{55}N_6O_9$ 的计算值: 763.4031 (M+H)⁺。实测值: 763.4040 (**12A**), 763.4047 (**12B**)。

实施例 13: 式 13A 和 13B 化合物的制备:

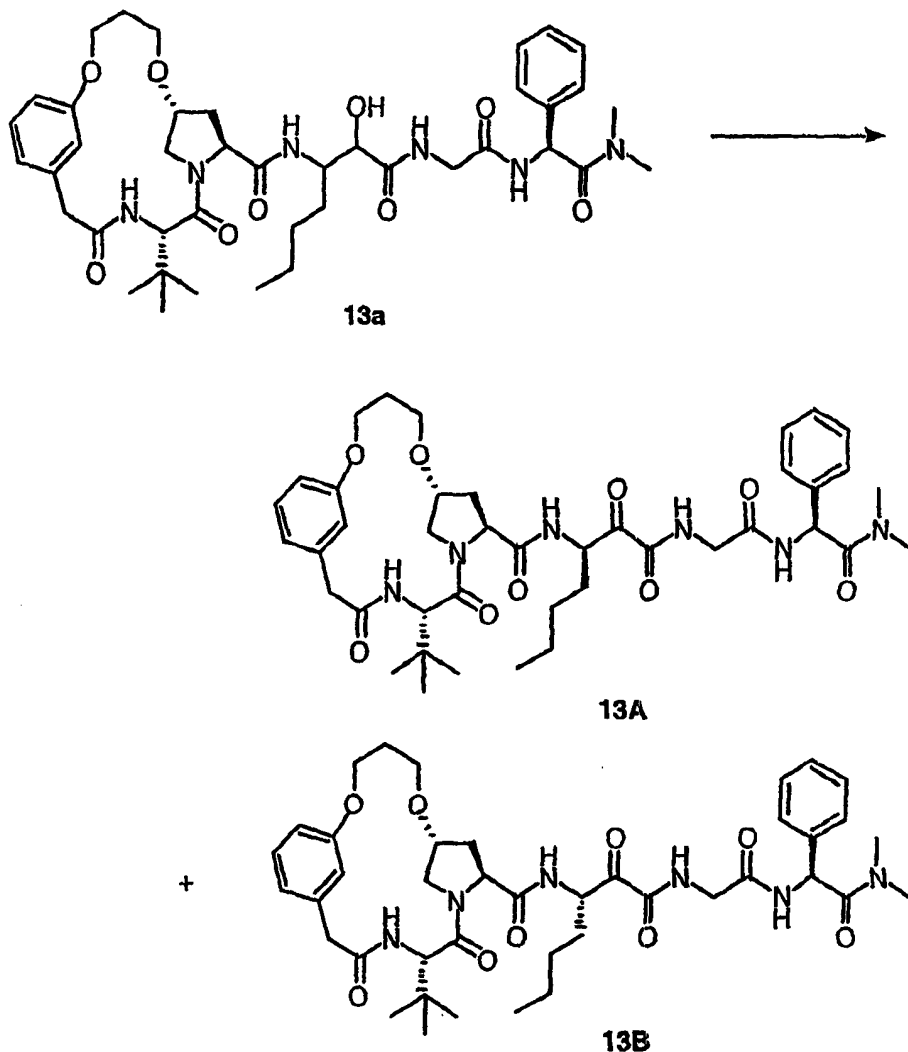


步骤 A:



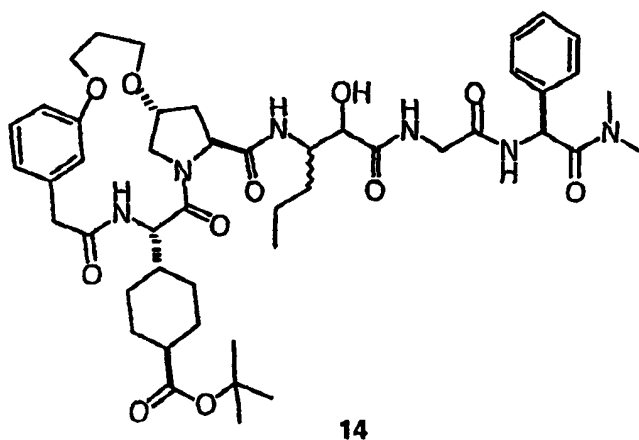
如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样, 合成期望的产物 **13a**。处理后, 该物质具有足够的纯度直接用于下一步骤。HRMS (FAB) $C_{41}H_{59}N_6O_9$ 的计算值: 779.4344 (M+H)⁺。实测值: 779.4350。

5 步骤 B:

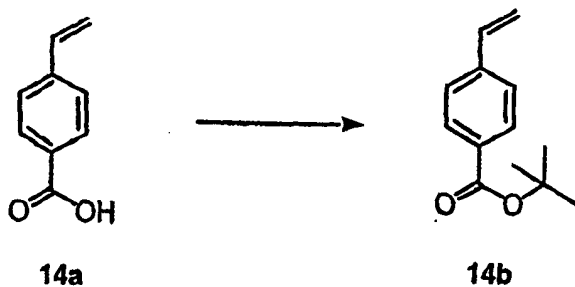


通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法, 得到所需的产物 **13A** 和 **13B**。使用 100/0-96/4 二氯甲烷/甲醇洗脱, 经快速柱层析纯化, 得到分离的异构体 **13A** 和 **13B** 和一些混合物。合并收率 = 50% (2 步)。HRMS (FAB) $C_{41}H_{57}N_6O_9$ 的计算值: 777.4187 (M+H)⁺。实测值: 777.4177 (**13A**), 777.4185 (**13B**)。

实施例 14: 化合物 14 的制备:



步骤 A:

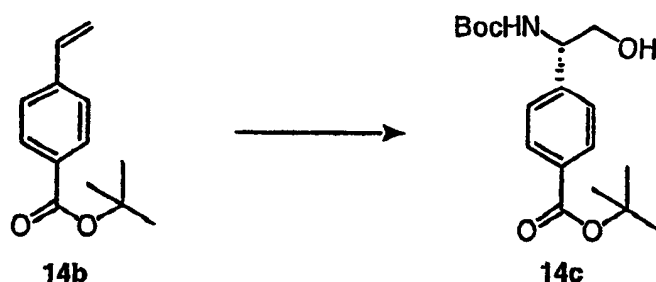


5

用 DMF 的二叔丁基乙缩醛(69 g, 340 mmol, 5.0 当量)处理乙烯基苯甲酸 **14a** (10 g, 68 mmol)在干燥甲苯(150 mL)中的溶液并在回流下加热 4 小时。真空浓缩反应混合物,并用 NaOH 水溶液(1 M, 300 mL)稀释。用乙醚(3 x 100 mL)提取反应混合物。用 NaOH 水溶液(1 M, 100 mL)、H₂O (2 x 100 mL)、盐水(1 x 100 mL)提取合并的有机层,干燥 (Na₂SO₄), 过滤, 真空浓缩。减压蒸馏残余物, 得到为无色油的 **14b** 9.2 g (66.2%)。

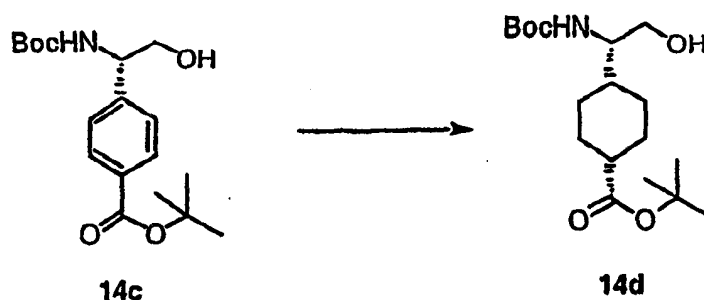
10

步骤 B:



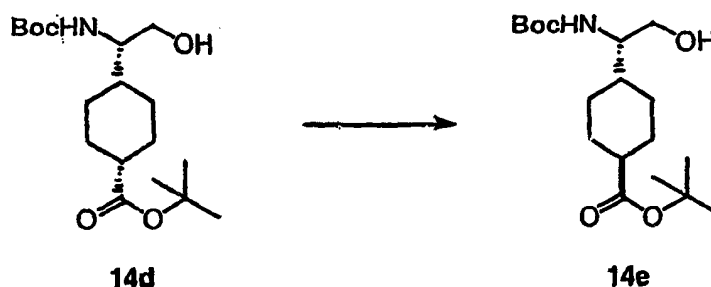
将氨基甲酸叔丁酯(5.96 g, 50.9 mmol)在 1-PrOH (68 mL)中的溶液用 NaOH 水溶液(128 mL, 0.41 M)和次氯酸叔丁酯(5.5 g, 50.9 mmol)处理。把反应混合物冷却至 0℃并加入在 1-PrOH (64 mL)中的 (DHQ)₂Phal (780 mg, 1.00 mmol)。加入 4-乙烯基苯甲酸叔丁酯 **14b** 在 1-PrOH (119 mL)中的溶液, 随后加入 K₂OsO₄·H₂O (248 mg, 0.7 mmol) 并在 0℃下将反应混合物搅拌 4-5 小时。反应物变为绿色并且所有的起始原料消失, 伴随形成一个新的产物。真空浓缩反应混合物, 并用 H₂O (300 mL)稀释残余物, 用 EtOAc (3 x 100 mL)提取。用 HCl 水溶液(200 mL)、盐水(100 mL)提取合并的有机层, 干燥(Na₂SO₄), 真空过滤, 浓缩, 经层析(SiO₂, EtOAc/己烷 1:2)纯化, 得到为无色固体的 **14c** (4.6 g, 82%)。¹H NMR (CD₃OD, δ) 7.90 (d, 2H, *J*=6.0 Hz), 7.40 (d, 2H, *J*=6.3 Hz), 7.22 (bd, 1H, *J*=5.7 Hz), 4.69 (bs, 1H), 3.71-3.62 (m, 2H), 1.58 (s, 9H), 1.39 (s, 9H); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) 169.7, 160.5, 149.8, 134.5, 132.9, 130.4, 84.7, 82.9, 68.7, 60.7, 31.25, 30.9 MS (FAB) 675.2 ([2M+1]⁺, 15), 338 ([M+1]⁺, 15), 282 (65), 225 (50), 165 (100); HRMS C₁₈H₂₈NO₅ (M+1)的计算值: 338.1887 (M+H)⁺。实测值: 338.1967。

步骤 C:



将芳族化合物 **14c** (1.0 g, 2.96 mmol) 在 CH_3OH (20 mL) 中的溶液用 Rh/C (10% w/w 100 mg) 处理并氢化(60 磅/平方英寸) 2 天。通过硅藻土垫过滤反应混合物, 真空浓缩残余物, 得到 **14d**。并经层析(SiO_2 , EtOAc/己烷 2:3) 纯化粗品产物, 得到顺式化合物 **14d** (830 mg, 83%), 将其从己烷中结晶进一步纯化。 ^1H NMR (CD_3OD , δ) 6.31 (d, 1H, $J=6.9$ Hz), 3.58-3.49 (s, 2H), 3.40 (bd, 1H, $J=4.8$ Hz), 2.48-2.46 (m, 1H), 2.1-1.98 (m, 2H), 1.61-1.2 (m, 7H), 1.45 (s, 9H), 1.42 (s, 9H); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) 176.2, 158.5, 81.2, 79.8, 63.1, 57.2, 41.8, 38.8, 28.8, 28.3, 27.7, 27.5, 25.9。MS (FAB) 687.2 ($[\text{2M}+1]^+$, 5), 344 ($[\text{M}+1]^+$, 20), 232 (40), 188 (100), 107 (13); $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{NO}_5$ (M+1) 的 HRMS 计算值: 344.2437; 实测值: 344.2444。 $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{NO}_5$ 的 CHN 计算值 C = 64.07%, H = 8.07%, N = 4.15%, 实测值 C = 64.32%, H = 8.21%, N = 4.32%。

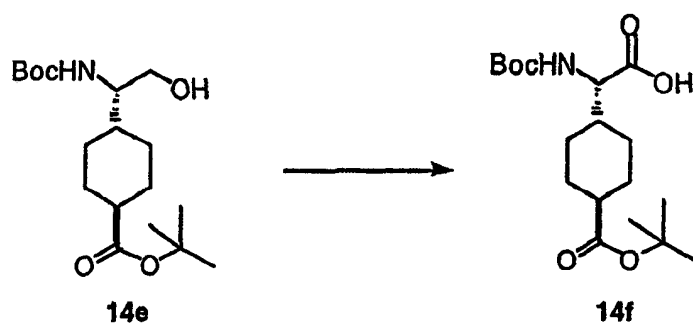
步骤 E:



将氨基醇 **14d** (3.3 g, 11.08 mmol) 在干燥 THF (200 mL) 中的溶液

冷却至-78℃ (干冰/丙酮, 内温-68℃), 用 LDA (44 mL, 2 M 溶液在庚烷中, 88 mmol, 8.0 当量)处理。在-78℃下, 把反应混合物搅拌 2 小时并用 CH₃OH (20 mL)猝灭。用 HCl 水溶液(150 mL, 1 M)处理反应混合物并用乙醚(3 x 100 mL)提取。用盐水(50 mL)提取合并的乙醚层, 干燥(MgSO₄), 真空浓缩, 并通过从沸腾的己烷中结晶纯化。从母液中分离出的固体主要为顺式立体异构体, 而浓缩母液得到纯的反式异构体。以上程序重复另外两次, 得到 2.7 g 的反式化合物和 600 mg 的顺式/反式混合物。¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) 175.3, 156.6, 79.8, 63.6, 57.0, 44.1, 38.3, 37.7, 28.9, 28.6, 28.4, 28.1, 26.6, 26.1。MS (电喷雾) 344 (M⁺, 50), 288 (50), 232 (90), 188 (100)。

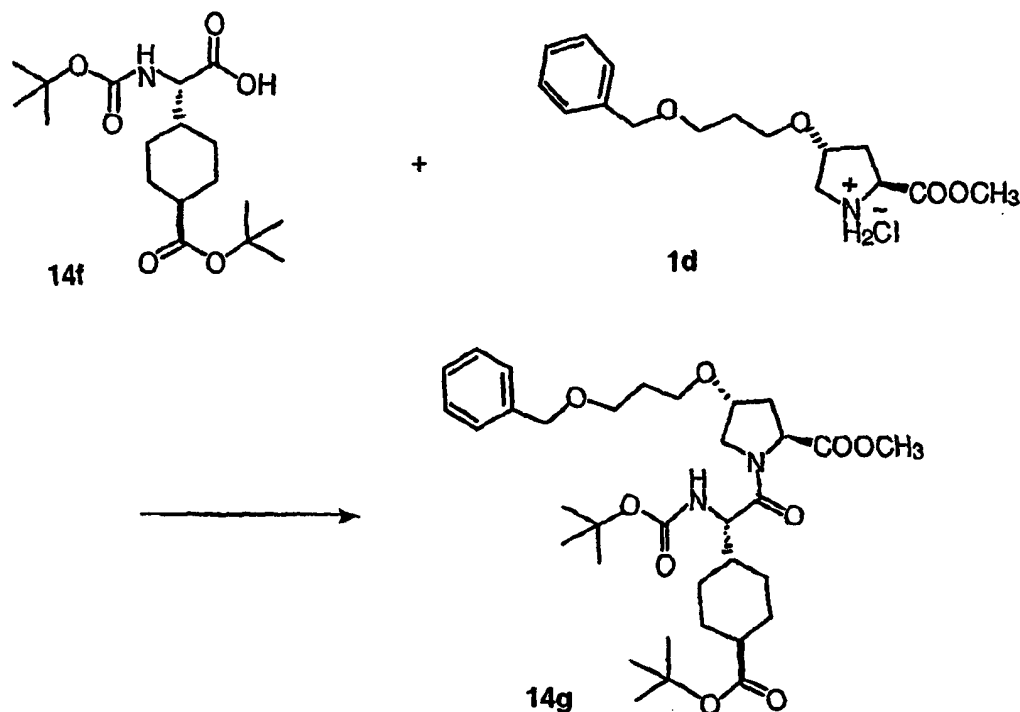
步骤 F:



用 H₂O (22 mL)处理醇 **14e** (2.6 g, 7.6 mmol)在 CH₃CN (150 mL)和 CCl₄ (150 mL)中的溶液, 冷却至 0℃, 用高碘酸(7.05 g, 30.92 mmol, 4.0 当量)和 RuCl₃ · 3 H₂O (60 mg, 0.3 mmol, 4 mol%)处理。在室温下, 将反应混合物搅拌 3 小时, 真空浓缩。用水(150 mL)稀释残余物, 并用 EtOAc (3 x 100 mL)提取。用 H₂O (100 mL)和 NaOH 水溶液(1 M, 3 x 100 mL)提取合并的有机层。用 HCl (6 M, pH~1)酸化合并的水层并用 EtOAc (3 x 100 mL)提取。合并乙酸乙酯层, 用盐水(100 mL)提取, 干燥(Na₂SO₄), 真空过滤, 浓缩, 得到酸 **14f** (1.8 g, 66%), 它无须进一步纯化即可用于进一步的偶合。MS (FAB) 380.2 ([M+Na]⁺, 30) 358

$([M+1]^+, 5), 302 (20), 258 (20), 246 (100), 202 (70), 200 (20)$

步骤 G:

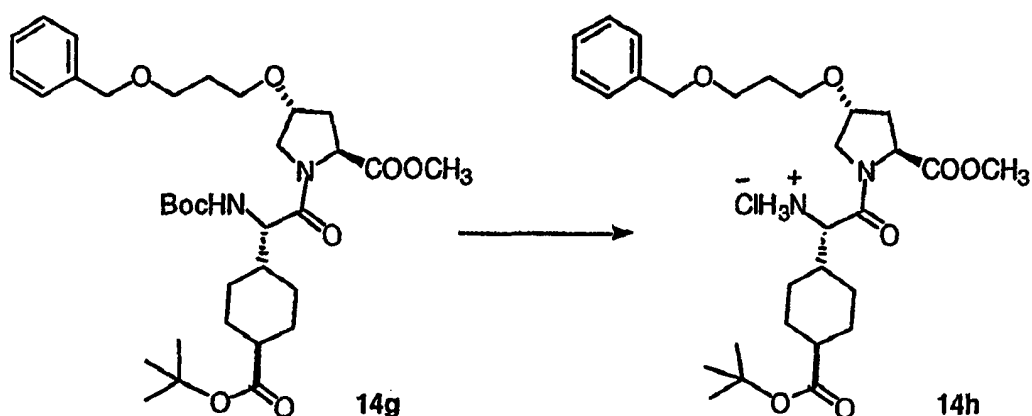


- 5 用脯氨酸化合物 **1d** (1.92 g, 5.85 mmol, 1.1 当量)处理 Boc-反式-4-叔丁基羧基-环己基甘氨酸 **14f** (1.9 g, 5.3 mmol)在 CH_2Cl_2 (30 mL)中的溶液并冷却至 0°C 。用 Hünigs 碱(1.51 g, 11.7 mmol, 2.2 当量, 2.15 mL)处理反应混合物, 随后加入 BOP 试剂溶液(2.6 g, 5.85 mmol, 1.1 当量)。在室温下, 将反应混合物搅拌 12 小时, 用 HCl 水溶液(1 M, 100 mL)稀释, 并用 EtOAc (3 x 100 mL)提取。用 NaOH 水溶液(1 M, 100 mL)、盐水(100 mL)提取合并的乙酸乙酯层, 干燥(Na_2SO_4), 真空过滤, 浓缩, 并经层析(SiO_2 , EtOAc/己烷 2:3)纯化, 得到为无色泡沫的 **14g** (1.8 g, 54%); ^1H NMR (CD_3OD , δ , 旋转异构体的混合物) 7.32-7.23 (m, 5H), 6.64 (d, 1H, $J=9.0$ Hz), 4.47-4.39 (m, 3H), 4.19-4.04 (m, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.66-3.56 (m, 4H), 2.55-2.10 (m, 2H), 1.99-1.00 (m, 12H), 1.42 (s, 9H), 1.40 (s, 9H)。 ^{13}C NMR (CD_3OD , δ , 旋转异构体的混合物) 175.6, 174.6, 172.4, 172.0, 156.4, 138.5, 128.1, 127.5, 127.4, 127.3, 79.8, 79.7, 79.0, 77.5, 72.5, 66.7, 65.4, 58.1, 56.6, 52.1, 51.3, 43.9, 40.4, 39.4,
- 10
- 15

38.6, 34.6, 29.8, 28.4, 27.9, 27.3, 26.1, 25.4, 24.5; MS (FAB) 633
 ([M+1]⁺, 11), 533 (55), 477 (24), 428 (5), 294 (100), 234 (12), 156 (40),
 128 (39); C₃₄H₅₂NO₉ 的 CHN 计算值 C 64.53% H 8.28% N 4.43%; 实
 测值 C 64.41% H 8.00% N 4.19%

5

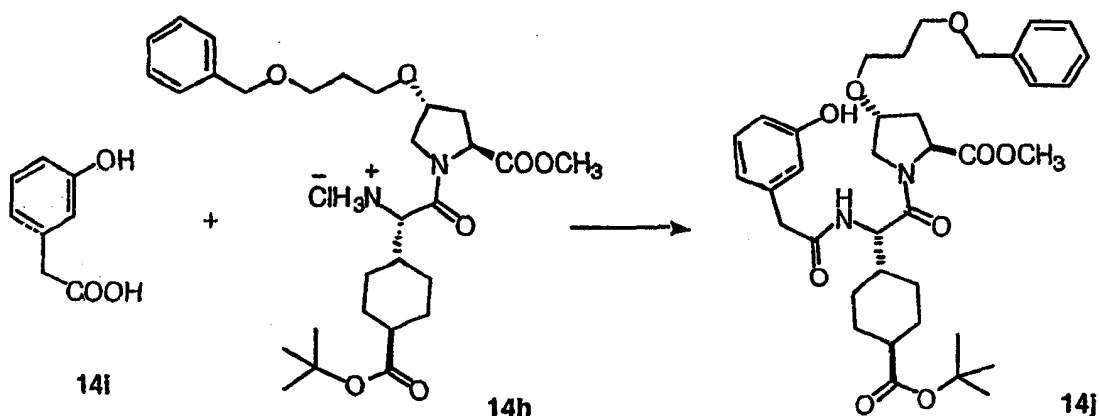
步骤 H:



10

在室温下, 将 Boc-反式-4-叔丁基羧基环己基甘氨酸 **14g** (1.8 g)
 在 HCl (4 M 的二噁烷溶液, 60 mL) 中的溶液搅拌 4-5 小时。经 TLC
 跟踪(EtOAc/己烷 3:7)用于起始原料消失和基线产物出现的反应物。
 真空浓缩反应混合物, 并用泵干燥残余物过夜。固体 **14h** 无须进一
 步纯化即可用于偶合。

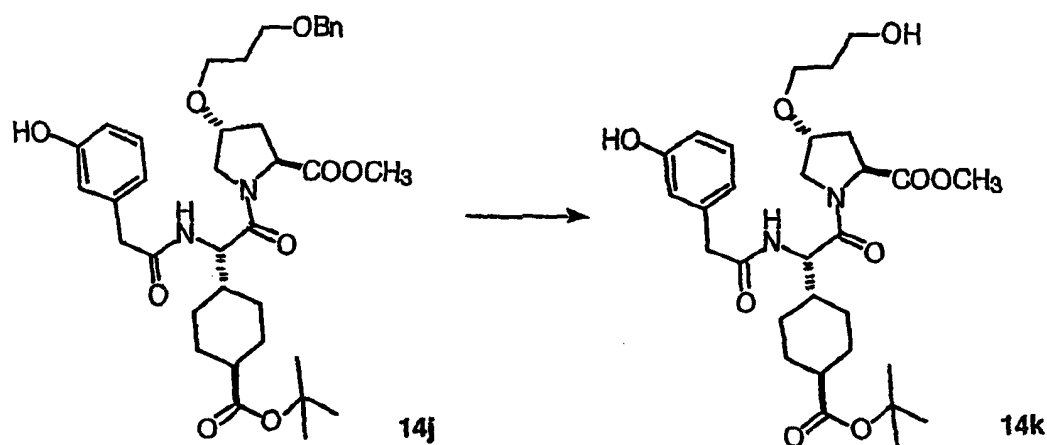
步骤 I:



15

在 0℃下, 将 3-羟基苯乙酸 **14i** (501 mg, 3.29 mmol, 1.8 当量)和
胺盐酸盐 **14h** (1.79 g, 2.99 mmol)在干燥 CH₂Cl₂ (30 mL)中的溶液用
Hünigs 碱(850 mg, 6.59 mmol, 2.20 当量, 1.2 mL)和 BOP 试剂(1.5 g,
3.29 mmol, 1.1 当量)处理并在室温下搅拌 24 小时。真空浓缩反应混
合物并用 HCl 水溶液(1 M, 250 mL)稀释。用 EtOAc (3 x 100 mL)提取
水层。用 NaOH 水溶液(1 x 100 mL)、盐水(1 x 100 mL)提取合并的有
机层, 干燥(Na₂SO₄), 过滤, 真空浓缩并经层析(EtOAc/己烷 1:1)纯化,
得到为无色固体的 **14j** (710 mg, 36%)。

10 步骤 J:

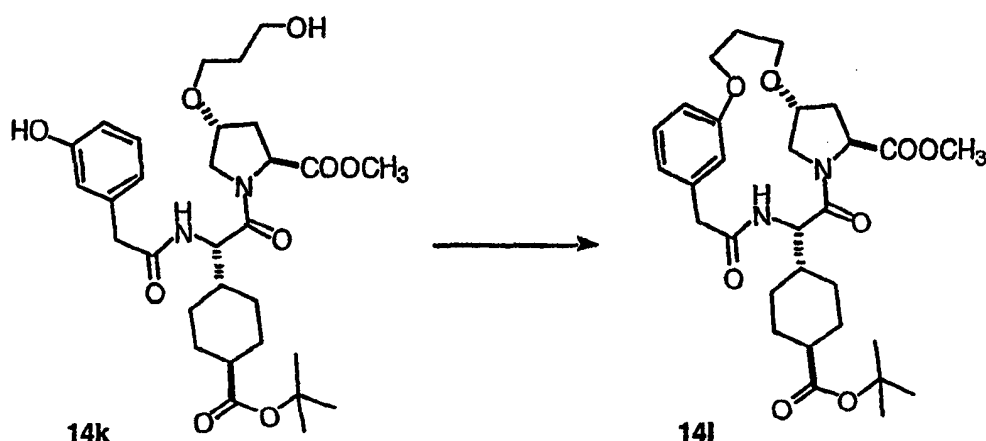


用 Pearlmans 催化剂(10% Pd(OH)₂/C)处理偶合的化合物 **14j** (710
mg, 1.1 mmol)在 CH₃OH (50 mL)中的溶液并氢化(H₂, 40 磅/平方英寸)
12 小时。通过硅藻土垫滤除 Pd/C, 并浓缩滤液, 无须进一步纯化即
可用于下一步骤结晶。R_f 0.12 (丙酮/己烷 3:7); ¹H NMR (CD₃OD, δ, 旋
转异构体的混合物) 8.25 (bs, 1H), 7.01 (bt, 1H, J=7.2 Hz), 6.72 (bs, 1H),
6.65 (d, 2H, J=7.8 Hz), 4.79-4.70 (bs, 3H), 4.55-4.41 (bs, 2H), 4.20-4.12
(bs, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.66-3.44 (bm, 6H), 2.43-1.04 (bm, 14H), 1.40 (s,
9H); ¹³C NMR (CD₃OD, δ, 旋转异构体的混合物) 175.5, 174.6, 172.6,
172.4, 171.3, 161.1, 157.3, 136.8, 136.7, 129.3, 120.0, 115.7, 113.6, 100.0,
94.8, 79.9, 79.8, 77.5, 65.1, 58.5, 58.2, 55.6, 55.5, 54.3, 52.2, 51.5, 43.9,

42.1, 39.4, 35.0, 32.4, 28.6, 28.4, 27.5, 27.2, 27.1, 26.1, 25.2, 25.0; MS (FAB): 577 ($[M+1]^+$, 70), 521 (10), 443 (10), 387 (10), 374 (10), 318 (15), 290 (100), 248 (30); $C_{30}H_{45}N_2O_9$ ($M+H$) $^+$ 的 HRMS 计算值: 577.3125; 实测值: 577.3133。

5

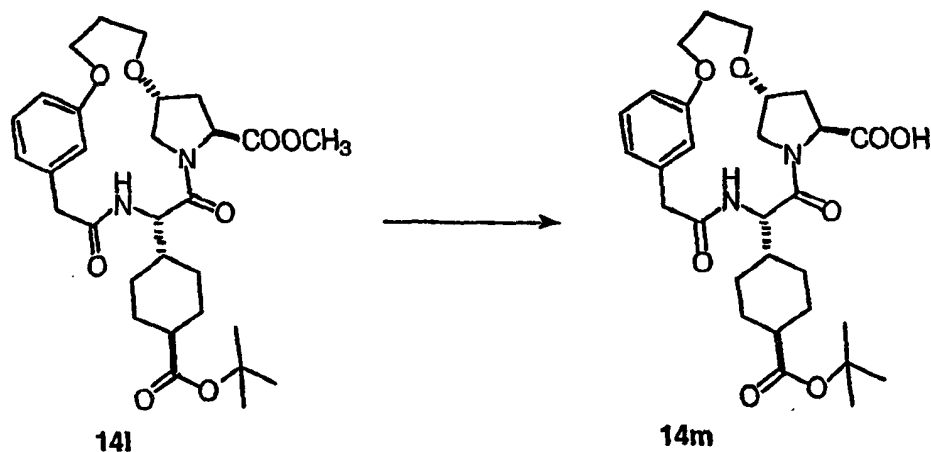
步骤 K:



在 0℃ 下, 于正压的干燥 N_2 下, 用 Ph_3P (818 mg, 3.12 mmol, 3.0 当量) 处理醇 **14k** (600 mg, 1.05 mmol) 和 ADDP (787 mg, 3.12 mmol, 3.0 当量) 在 CH_2Cl_2 (30 mL) 中的溶液。在室温下, 把反应混合物搅拌 24 小时, 真空浓缩, 并经层析 (SiO_2 , 丙酮/己烷 2:3) 纯化残余物, 得到环状产物的无色固体 **14l** (120 mg, 22%); R_f 0.73 (丙酮/己烷 1:1); 1H NMR (CD_3OD , δ) 7.13 (t, 1H, $J=7.8$ Hz), 6.76 (s, 1H), 6.71 (t, 2H, $J=8.1$ Hz), 4.58 (d, 1H, $J=9.9$ Hz), 4.37 (dd, 1H, $J=7.8, 2.7$ Hz), 4.23-4.11 (m, 4H), 3.74-3.61 (m, 2H), 3.66 (s, 3H), 3.59-3.40 (m, 2H), 2.54-2.41 (m, 1H), 2.19-2.10 (m, 1H), 1.98-1.42 (m, 10H), 1.43 (s, 9H); ^{13}C NMR (CD_3OD , δ) 175.6, 172.4, 172.1, 170.8, 159.0, 137.0, 129.1, 121.7, 115.7, 112.2, 94.8, 79.8, 77.4, 65.2, 64.0, 57.6, 55.2, 53.8, 51.3, 44.0, 41.5, 39.1, 33.3, 28.7, 28.1, 26.9; MS (电喷雾) 559 ($[M+1]^+$, 100) 327 (10), 189 (20); $C_{30}H_{43}N_2O_8$ ($M+1$) $^+$ 的 HRMS 计算值: 559.3019; 实测值: 559.3025; $C_{30}H_{42}N_2O_8 \cdot 0.5 H_2O$ 的 CHN 计算值 C = 63.47%, H = 7.63%,

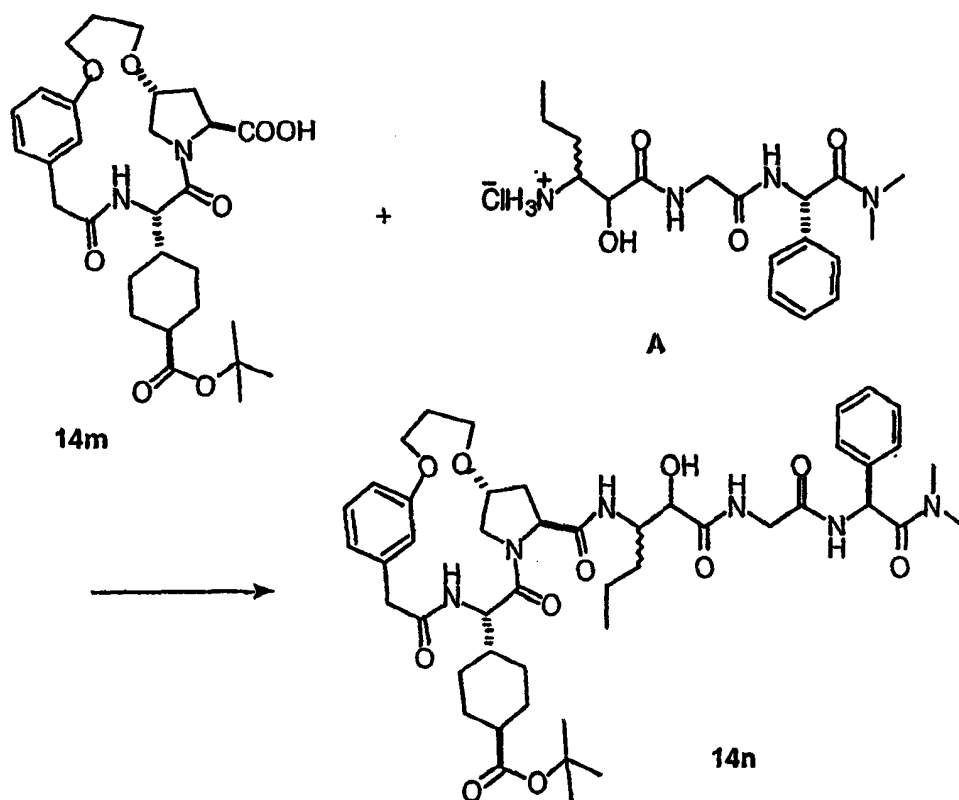
N = 4.93%; 实测值 C = 63.57% H = 7.46%, N = 4.93%。

步骤 L:



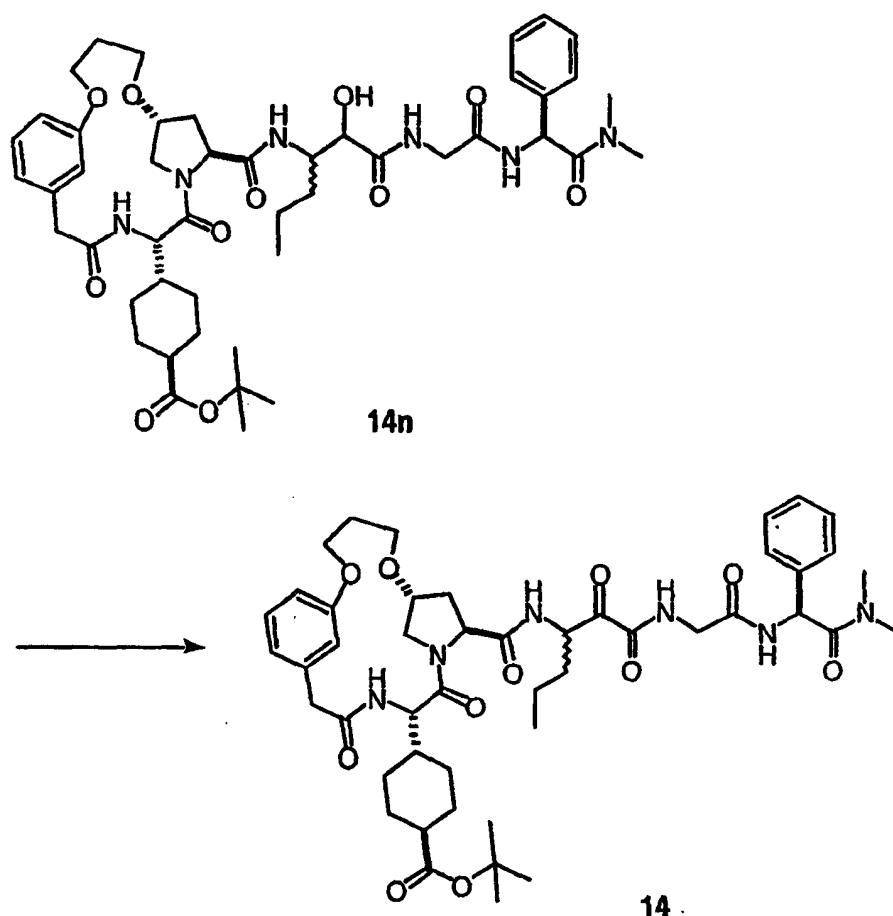
- 5 用 LiOH (20 mg, 0.5 mmol, 2.0 当量)处理甲酯 **14l** (120 mg, 0.22 mmol)在 THF (5.0 mL)和 H₂O (1.0 mL)中的溶液。在室温下,把反应混合物搅拌 3 小时,加入 CH₃OH (1.0 mL)且搅拌另外 1 小时。把反应混合物与 HCl (4.0 M 在二噁烷中, 1 mL)一起搅拌,真空浓缩且冷冻干燥除水,得到无色固体 **14m**,可直接用于下一步骤偶合。

步骤 M:



将羧酸 **14m** (110 mg, 0.21 mmol) 在 DMF (3.0 mL) 和 CH_2Cl_2 (5.0 mL) 中的溶液用 Hünigs 碱 (109 mg, 0.84 mmol, 4.0 当量, 155.0 μL) 和 HOObt (52 mg, 0.315 mmol, 1.5 当量) 处理。把反应混合物冷却至 0°C 并用 EDCI (61 mg, 0.31 mmol, 1.5 当量) 处理。在 0°C 下, 将反应混合物搅拌并在 30 分钟后用胺盐酸盐 **A** 处理。在室温下, 把反应混合物搅拌 24 小时, 真空浓缩以除去 DMF 和 CH_2Cl_2 。用 HCl 水溶液 (100 mL) 稀释残余物, 并用 CH_2Cl_2 (3 x 75 mL) 提取。用 NaOH 水溶液 (1 M, 3 x 50 mL)、盐水 (100 mL) 提取合并的有机层, 真空浓缩。残余物 **14n** (79 mg) 无须进一步纯化即可氧化。

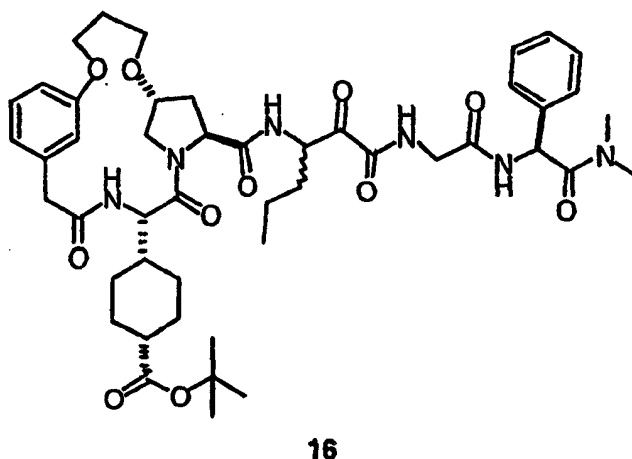
步骤 N:



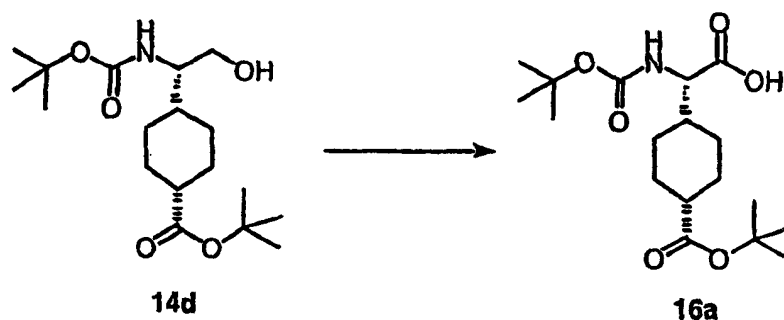
5 用 Dess-Martin 试剂(110 mg, 0.25 mmol, 2.5 当量)处理醇 **14n** (79 mg, 88 μ mol)在 CH_2Cl_2 (4.0 mL)中的溶液。在室温下,把反应混合物搅拌 3 小时,真空浓缩混合物。经层析(SiO_2 , 丙酮/己烷 1:1)纯化残余物,得到为无色固体的氧化产物 **14** (29 mg, 38%); MS (FAB) 889 $[(\text{M}+1)^+, 100]$ 844 (20), 833 (60), 788 (30), 760 (10), 655 (10), 527 (20); $\text{C}_{47}\text{H}_{65}\text{N}_6\text{O}_{11}$ 的 HRMS 计算值: 889.4711; 实测值: 889.4732。

失至基线。完成脱除保护后，真空浓缩反应混合物，并用 CH_2Cl_2 /己烷反复处理残余物，浓缩，得到白色固体 **15** (19 mg, 100%); MS (电喷雾) 833 ($[\text{M}+1]^+$, 60) 661 (10), 530 (40), 391 (75), 279 (100)。

5 实施例 16: 化合物 16 的制备:

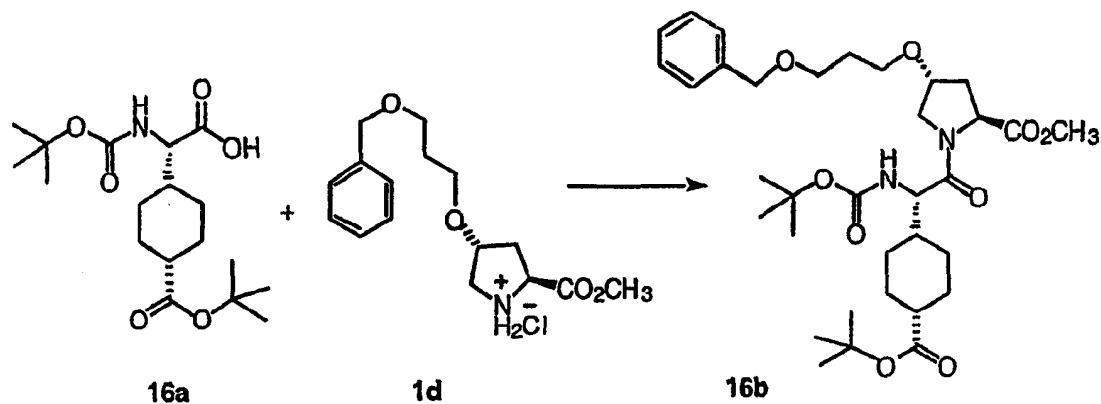


步骤 A:



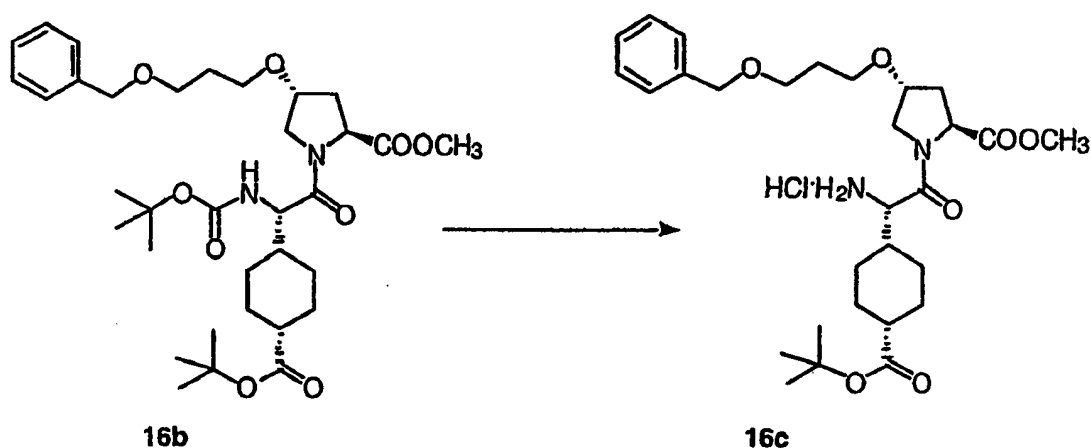
10 按照实施例 14 步骤 F 的方法, 自 **14d** 以 70% 收率制备所需的化合物 **16a**。它无须进一步纯化即可用于偶合; MS (FAB): 380.2 ($[M+Na]^+$, 30) 358 ($[M+1]^+$, 5), 302 (20), 258 (20), 246 (100), 202 (70), 200 (20); $C_{18}H_{32}NO_6 (M+1)^+$ 的 HRMS 计算值: 358.2230; 实测值: 358.2237。

步骤 B:



按照实施例 14 步骤 G 的方法，自 **16a** 制备所需的化合物 **16b**，
 收率 41%； $[\alpha]_D -52.7$ (c 0.3 CHCl_3 , 25)； ^1H NMR (CDCl_3 , δ) 7.35-7.21
 5 (m, 5H), 6.63 (d, 1H, $J=9.3$ Hz), 4.46 (d, 2H, $J=4.3$ Hz), 4.41 (t, 1H, $J=9.3$
 Hz), 4.38-4.07 (m, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.66-3.43 (m, 5H), 2.45 (p, 1H,
 $J=4.2$ Hz), 2.32 (dd, 1H, $J=7.8, 5.7$ Hz), 2.02-1.90 (m, 3H), 1.90-1.56 (m,
 3H), 1.56-1.24 (m, 24H)； ^{13}C NMR (CD_3OD , δ) 174.7, 172.4, 172.0,
 156.4, 138.4, 128.0, 127.5, 127.4, 79.8, 79.0, 77.5, 72.5, 66.6, 65.3, 58.0,
 10 55.3, 52.1, 51.3, 40.4, 38.6, 34.7, 29.7, 27.4, 27.03, 26.1, 24.5。MS (FAB)
 633.2 $[(\text{M}+1)^+, 100]$ ； $\text{C}_{34}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_9$ $(\text{M}+1)^+$ 的 HRMS 计算值: 633.3751；
 实测值: 633.3759。

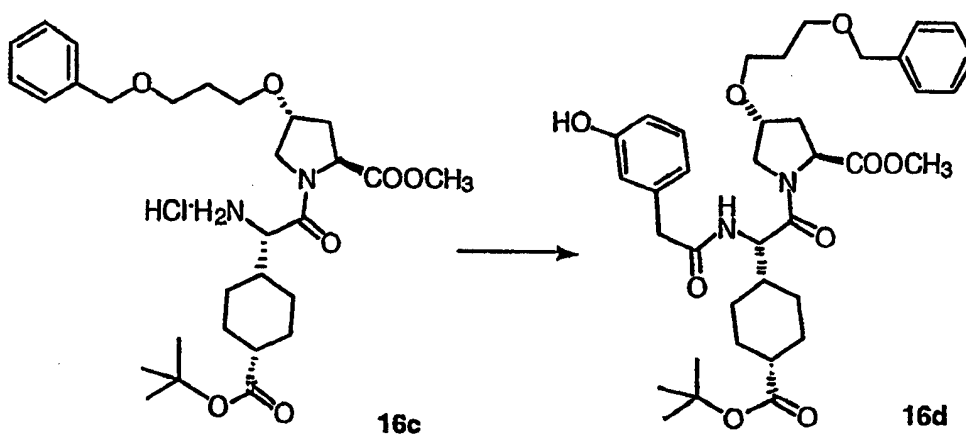
步骤 C:



按照实施例 14 步骤 H 的方法，从 **16b** 制备所需的化合物 **16c**。
该产物无须进一步纯化即可使用。

5

步骤 D:

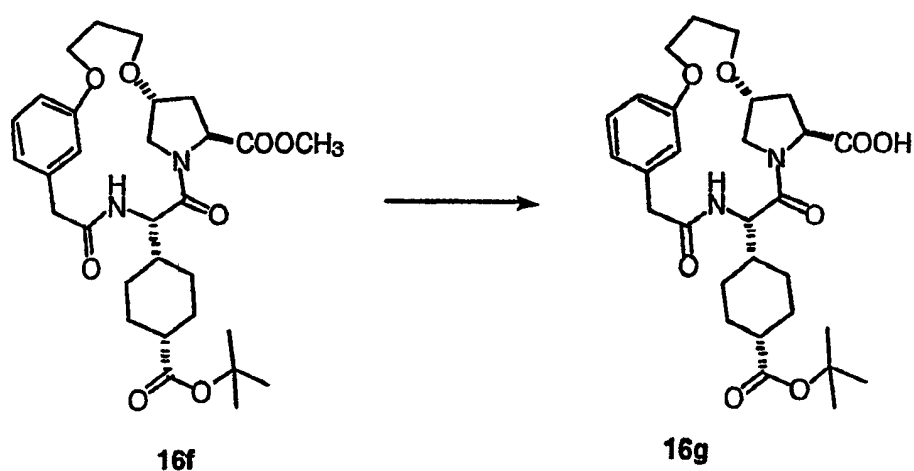


按照实施例 14 步骤 I 的方法，自 **16c** 制备所需的化合物 **16d**，
收率 41%。¹H NMR (CHCl₃, δ) 7.34-7.26 (m, 5H), 7.12 (t, 1H, *J*=7.5 Hz),
6.72-6.67 (m, 3H), 4.76-4.64 (m, 1H), 4.47 (s, 2H), 4.51-4.42 (m, 1H),
4.11-4.02 (m, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.70-3.65 (m, 1H), 3.55-3.43 (m, 6H),
2.54-2.42 (m, 1H), 2.28-2.39 (m, 1H), 2.1-1.9 (m, 3H), 1.86-1.64 (4H),
1.50-1.38 (m, 14H); ¹³C NMR (CDCl₃, δ) 175.0, 172.4, 171.5, 171.1,

10

按照实施例 14 步骤 K 的方法, 自 **16e** 制备所需的化合物 **16f**,
 收率 20%。¹H NMR (CDCl₃, δ) 8.56 (d, 1H, *J*=7.2 Hz), 7.14 (t, 1H, *J*=6
 Hz), 6.86 (s, 1H), 6.66 (d, 1H, *J*=6 Hz), 6.73 (dd, 1H, *J*=6.3, 15 Hz), 4.86-
 4.77 (m, 1H), 4.40 (dd, 1H, *J*=3.0, 2.7 Hz), 4.24-4.13 (m, 4H), 3.70 (s,
 3H), 3.70-3.66 (m, 2H), 3.66-3.32 (m, 3H), 2.53 (dd, 1H, *J*=5.7, 3.9 Hz),
 2.45-2.42 (m, 1H), 1.99-1.80 (m, 6H), 1.60-1.57 (m, 4H), 1.45-1.43 (m,
 11H); ¹³C NMR (CDCl₃, δ) 175.8, 173.3, 173.0, 171.7, 160.0, 138.0,
 130.1, 122.7, 116.8, 113.3, 81.0, 78.6, 66.3, 65.2, 58.8, 55.1, 52.5, 42.6,
 42.4, 38.9, 34.6, 30.0, 28.2, 28.0, 27.0, 26.9, 26.8, 26.2; MS (FAB) 559
 (M⁺, 33), 327 (33), 225 (100)

步骤 G:

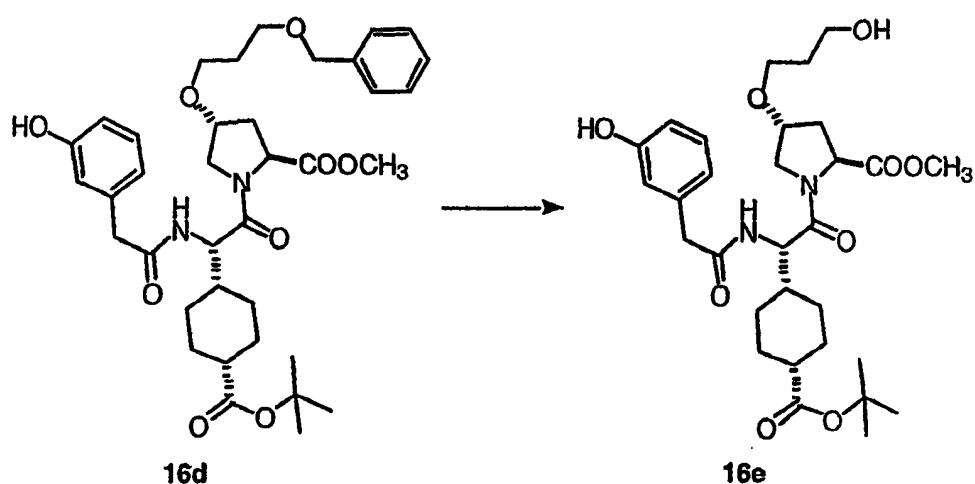


按照实施例 14 步骤 H 的方法, 自 **16f** 制备所需的化合物 **16g**。
 该产物无须进一步纯化即可使用。

157.1, 138.5, 136.0, 130.1, 128.5, 127.9, 127.7, 121.0, 116.0, 114.8, 80.5, 77.6, 73.0, 66.9, 66.2, 58.2, 54.3, 52.5, 52.3, 43.4, 39.4, 39.9, 34.9, 30.0, 28.2, 26.8, 26.6, 26.0, 24.0; MS (FAB) 689 [(M+Na)⁺, 35], 667 [(M+H)⁺, 23], 633 (5), 294 (100), 204 (39), 156 (63).

5

步骤 E:

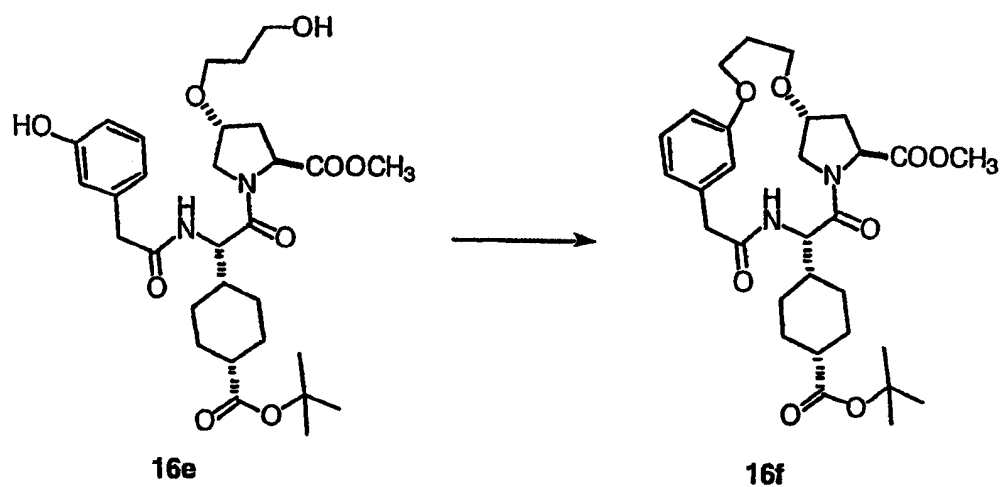


按照实施例 14 步骤 J 的方法, 由 **16d** 制备所需的化合物 **16e**。

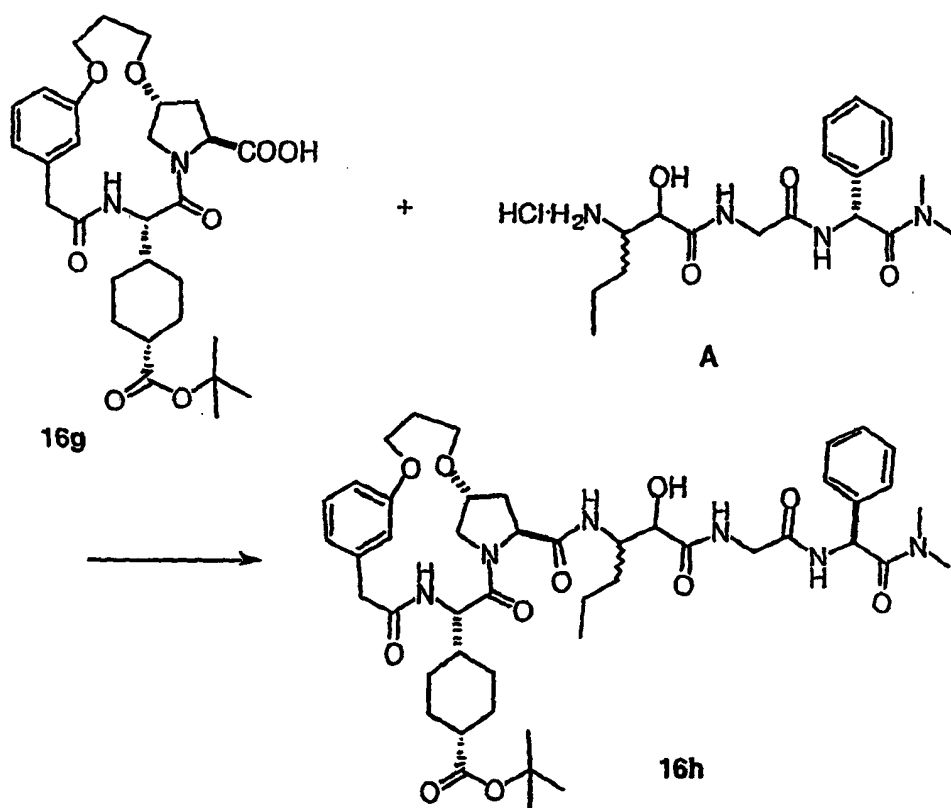
10

该产物无须进一步纯化即可使用。

步骤 F:

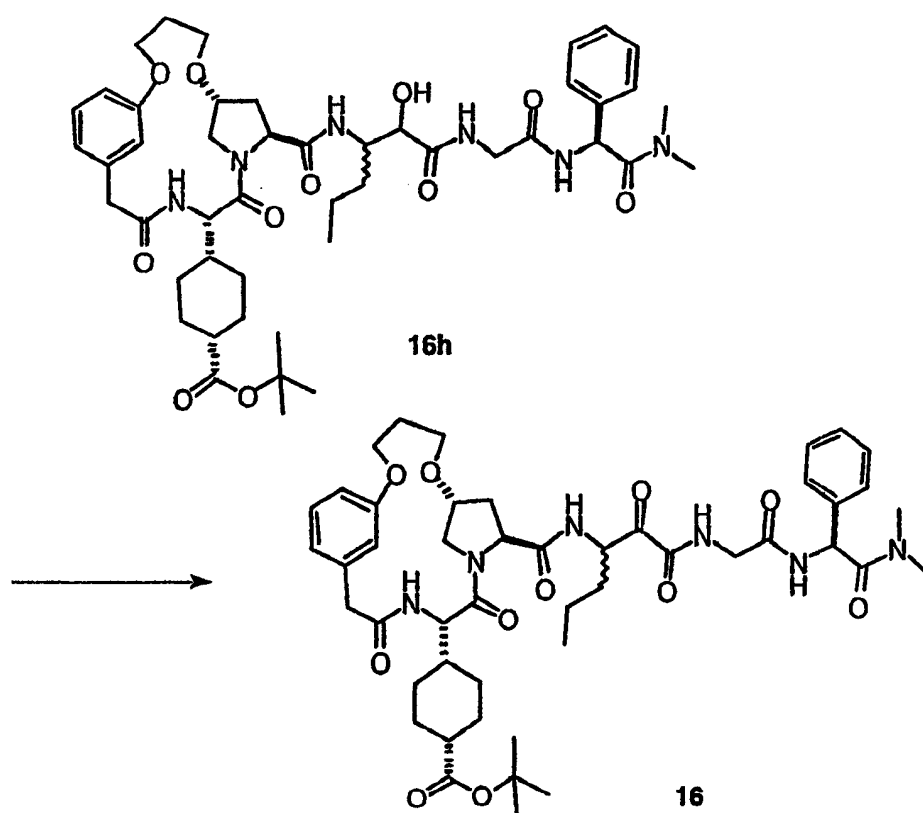


步骤 H:



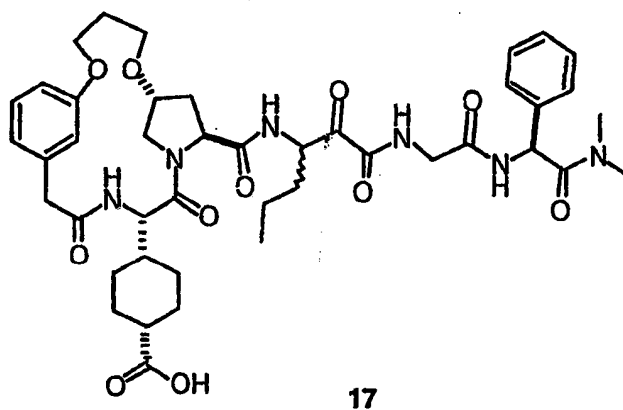
按照实施例 14 步骤 L 的方法，从 **16g** 和 **A** 制备所需的化合物 **16h**。该产物无须进一步纯化即可使用。

步骤 I:

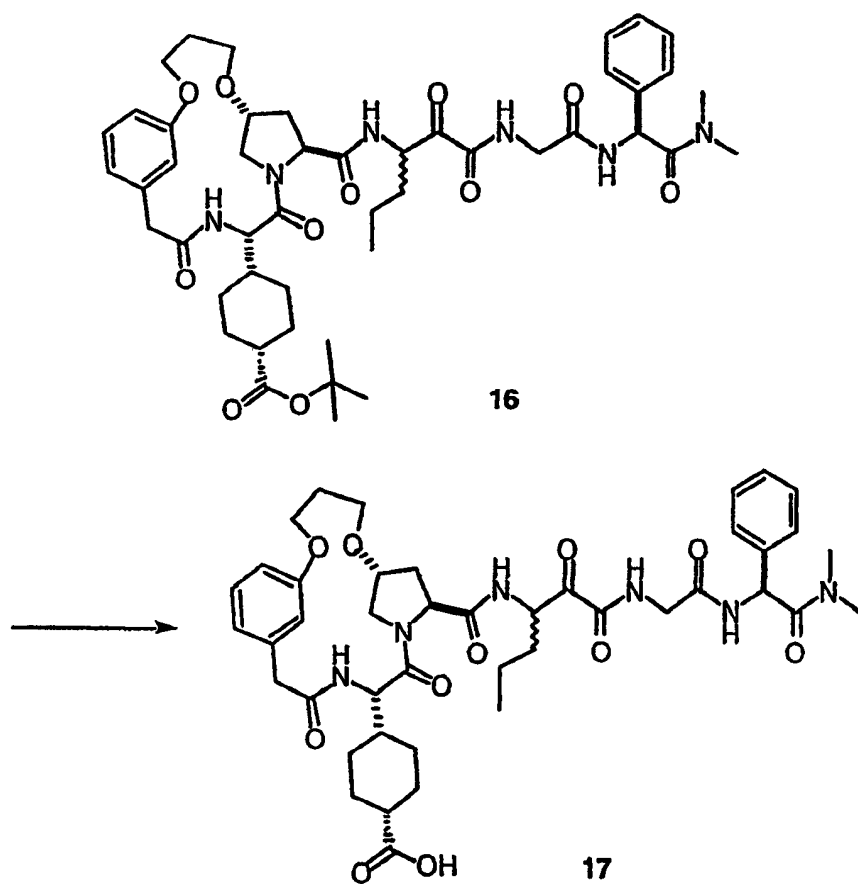


按照实施例 14 步骤 N 的方法, 自 **16h** 以 40% 收率制备为无色固体的所需的化合物 **16**。MS (电喷雾) 889 [(M+1)⁺, 85), 637 (20), 530 (75), 265 (100); C₄₇H₆₅N₆O₁₁ 的 HRMS 计算值: 889.4711; 实测值: 889.4699。

实施例 17: 化合物 17 的制备:



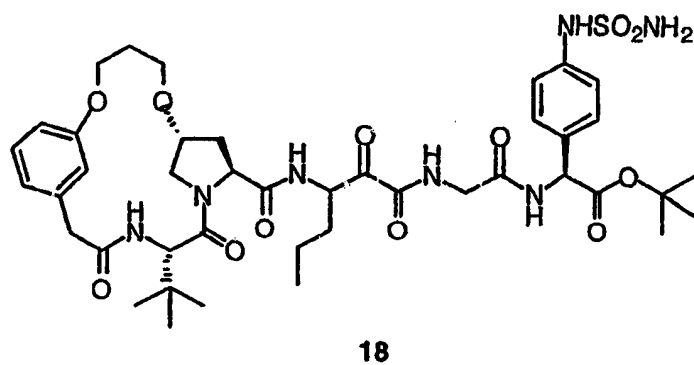
步骤 A:



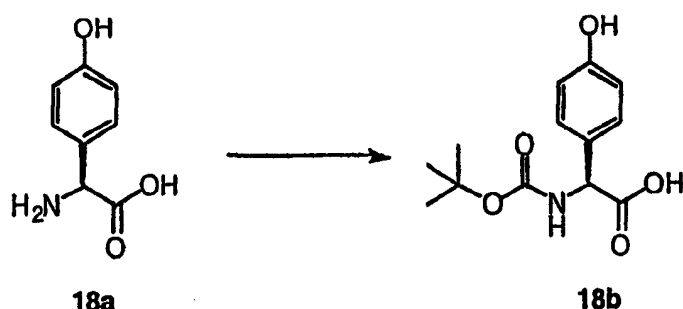
按照实施例 15 步骤 A 的方法, 自 **16** 定量制备所需的化合物 **17**。
MS (FAB) 833 [(M+1)⁺, 100], 788 (10), 723 (5), 308 (100)。

5

实施例 18: 式 18 化合物的制备:



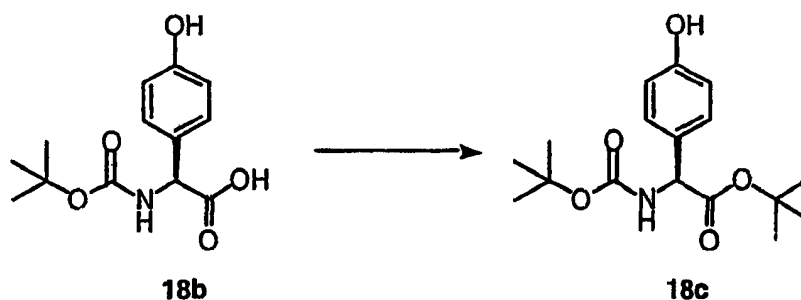
步骤 A:



向 **18a** (15.0 g, 90 mmol) 在二噁烷(100 mL)、水(100 mL)和饱和碳酸氢钠(100 mL)中的冷的(0℃)浆状物中加入叔丁氧基羰基酐(7.2 g, 33 mmol)在二噁烷(100 mL)中的溶液。把反应混合物缓慢温热至环境温度 6 小时。真空浓缩反应混合物。用水稀释残余物并用乙醚(2 x 150 mL)提取。弃去醚层。用固体枸橼酸缓慢酸化水层(pH ~ 4)，并用乙酸乙酯(3 x 150 mL)提取。干燥(Na_2SO_4)有机层，真空浓缩，得到为白色泡沫的 **18b** (14.6 g, 61%收率)。

10

步骤 B:

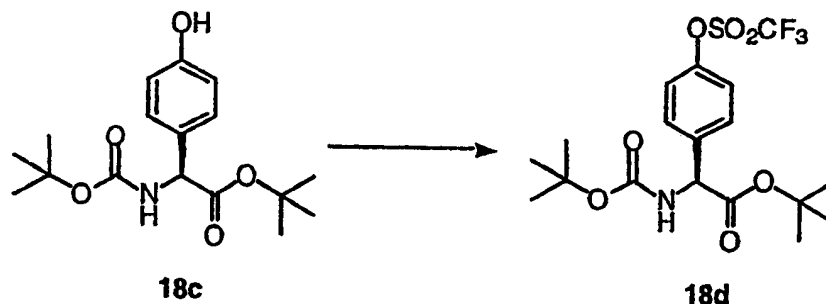


于 2 小时内，向 **18b** (14.6 g, 54.68 mmol) 在甲苯(230 mL)中的 80℃ 溶液中滴加 DMF-二叔丁基乙缩醛(53 mL, 218.72 mmol)。加入完成后，在相同温度下把反应混合物维持 1 小时。然后冷却至环境温度，浓缩。经快速柱层析纯化残余物，使用 96/4-90/10 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱，得到所需的化合物 **18c** (7.53 g, 43%收率)。HRMS (FAB)

15

$C_{17}H_{26}NO_5$ 的计算值: 324.1811 ($M+H$)⁺。实测值: 324.1807。

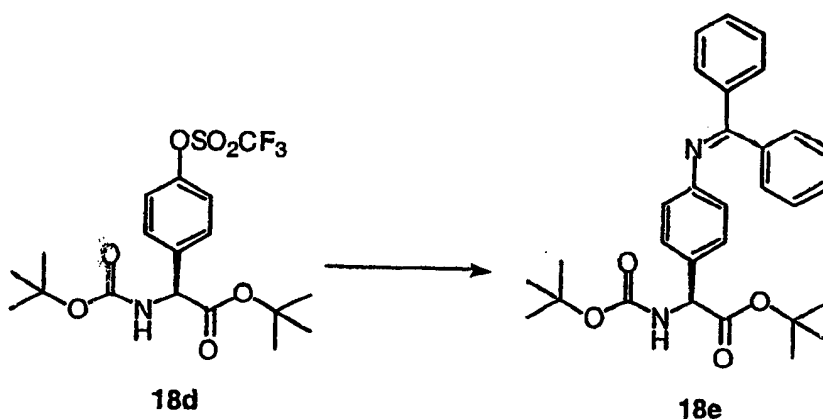
步骤 C:



5 向 **18c** (7.5 g, 23.22 mmol) 在二氯甲烷(100 mL)中的冷的(0℃) 溶液中加入三乙胺(7.12 mL, 51.08 mmol), 随后滴加三氟甲磺酸酐(4.30 mL, 25.54 mmol)。把反应混合物缓慢温热至环境温度 4 小时。用饱和碳酸氢盐溶液猝灭, 并提取进入二氯甲烷中。用饱和碳酸氢盐和盐水洗涤合并的有机层, 干燥(Na_2SO_4), 浓缩。经快速柱层析纯化棕色残余物, 使用二氯甲烷洗脱, 得到 7.74 g 的 **18d** (73%收率)。

10

步骤 D:

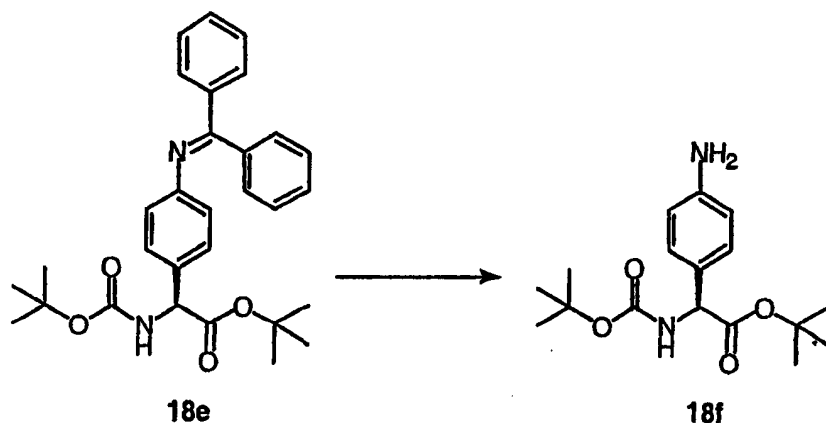


15 在氩气氛下, 向烘箱干燥的烧瓶中加入 THF (75 mL, 通过鼓泡氩气预先除氧)、乙酸钯(74 mg, 0.33 mmol)、R-(+)-BINAP (311 mg, 0.495 mmol)和碳酸铯(5.38 g, 16.5 mmol)。向该混合物中先后加入 **18d** (5.0 g, 11 mmol)和二苯基酮亚胺(2.77 mL, 16.5 mmol)。用氩气冲洗烧

瓶并加热至回流 12 小时(过夜)。把反应混合物冷却至环境温度并用乙醚(500 mL)稀释。用饱和氯化铵溶液(2 x 300 mL)洗涤有机层,干燥(Na_2SO_4),浓缩。经快速层析纯化,使用 100/0-90/10 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱,以 67%收率得到所需的产物 **18e** (3.58 g)。

5

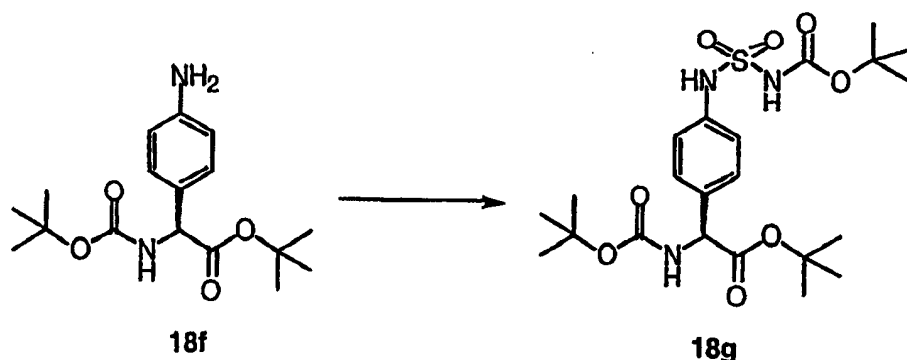
步骤 E:



向 **18e** (3.0 g, 6.17 mmol)在甲醇(62 mL)中的溶液中加入乙酸钠(1.218 g, 14.8 mmol)和羟胺盐酸盐(0.774 g, 11.11 mmol)。在环境温度下,把反应混合物搅拌 3 小时。浓缩反应混合物,用二氯甲烷稀释并用 0.1 N NaOH 溶液洗涤。干燥(Na_2SO_4)有机层,浓缩。经快速柱层析纯化,使用 95/5-92/8 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱,以 66%收率得到 **18f** (1.31 g)。

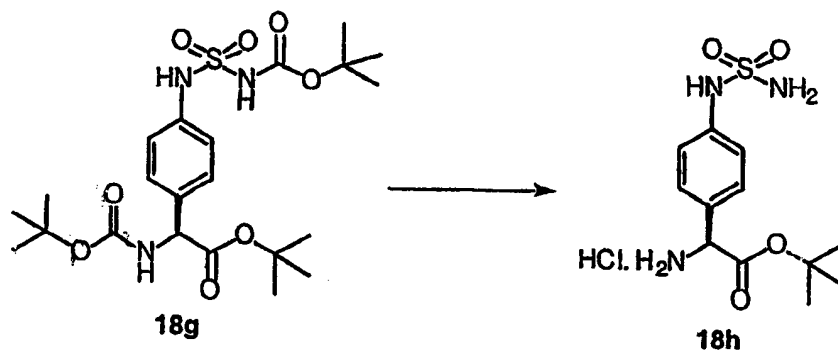
10

步骤 F:



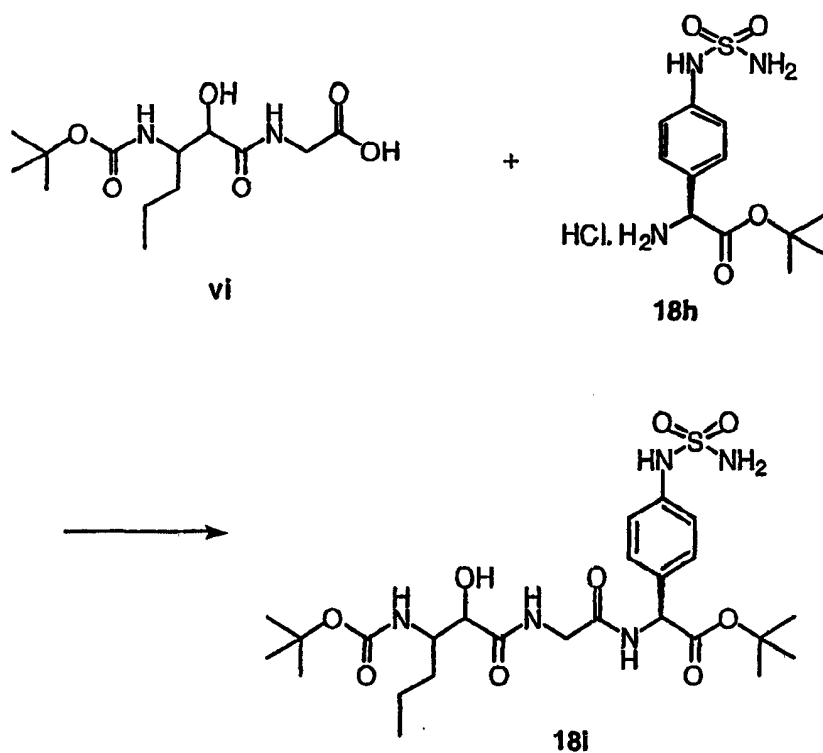
向二氯甲烷(2 mL)的冷的(-20℃)溶液中加入氯代磺酰基异氰酸酯(0.16 mL, 1.87 mmol)。向其中加入在二氯甲烷(2 mL)中的叔丁醇(0.18 mL, 1.87 mmol)并缓慢温热至 0℃ 2.5 小时。此时, 滴加 **18f** (0.6 g, 1.87 mmol) 在含有三乙胺(0.52 mL, 3.73 mmol)的二氯甲烷(6 mL)中的溶液。把反应混合物温热至环境温度 12 小时(过夜)。加入饱和的碳酸氢盐和二氯甲烷, 分离有机层, 干燥(Na_2SO_4), 浓缩。经快速层析纯化, 使用 95/5-90/10 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱, 以 63% 收率得到 **18g** (0.59 g)。

步骤 G:



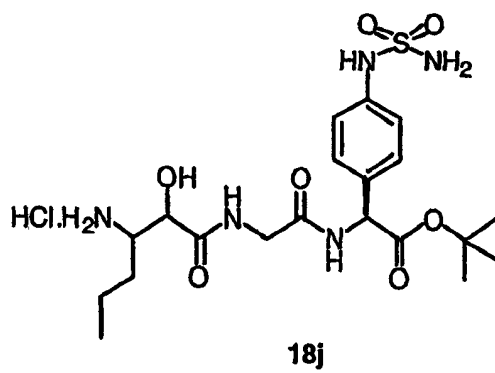
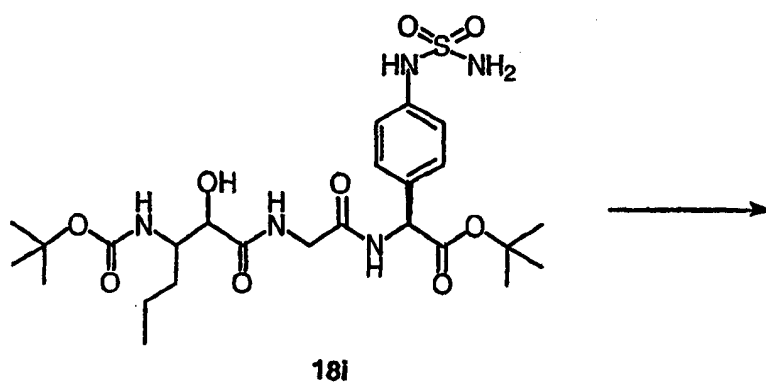
如先前对实施例 1 步骤 C 描述的那样, 合成期望的产物 **18h**。该物质可原样直接用于下一步骤。

步骤 H:



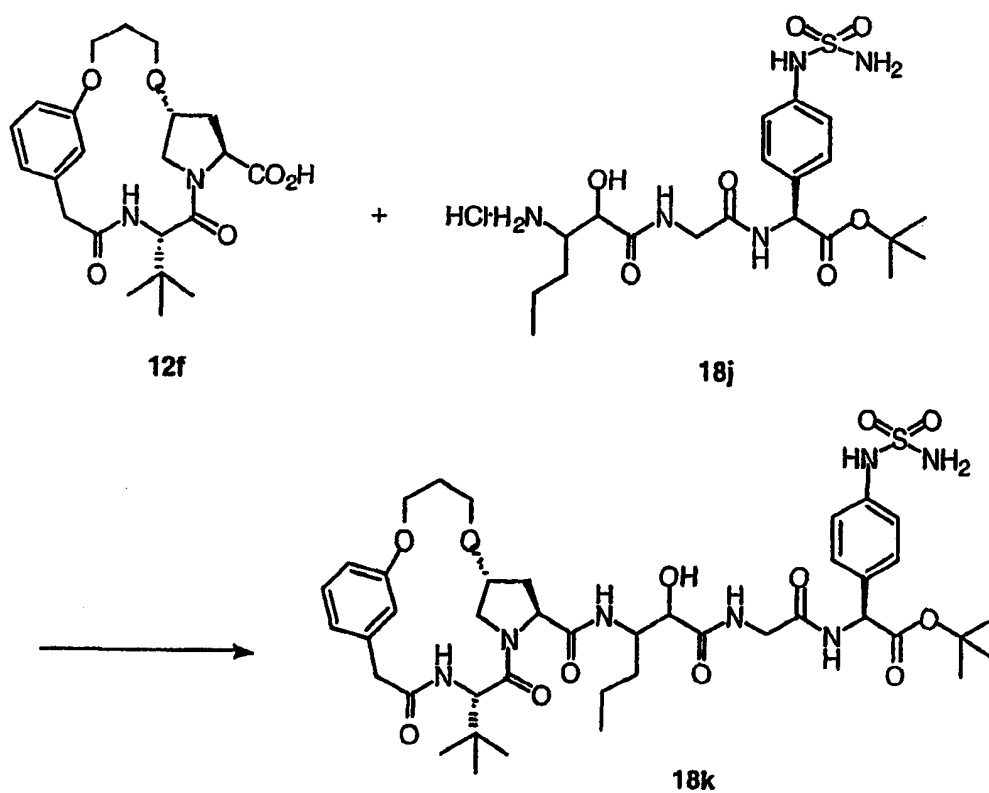
如先前对实施例 1 步骤 D 描述的那样, 合成期望的产物 **18i**。经快速层析纯化该粗品物质, 使用 98/2-90/10 二氯甲烷/甲醇洗脱, 以 34% 收率得到 **18i**。

步骤 I:



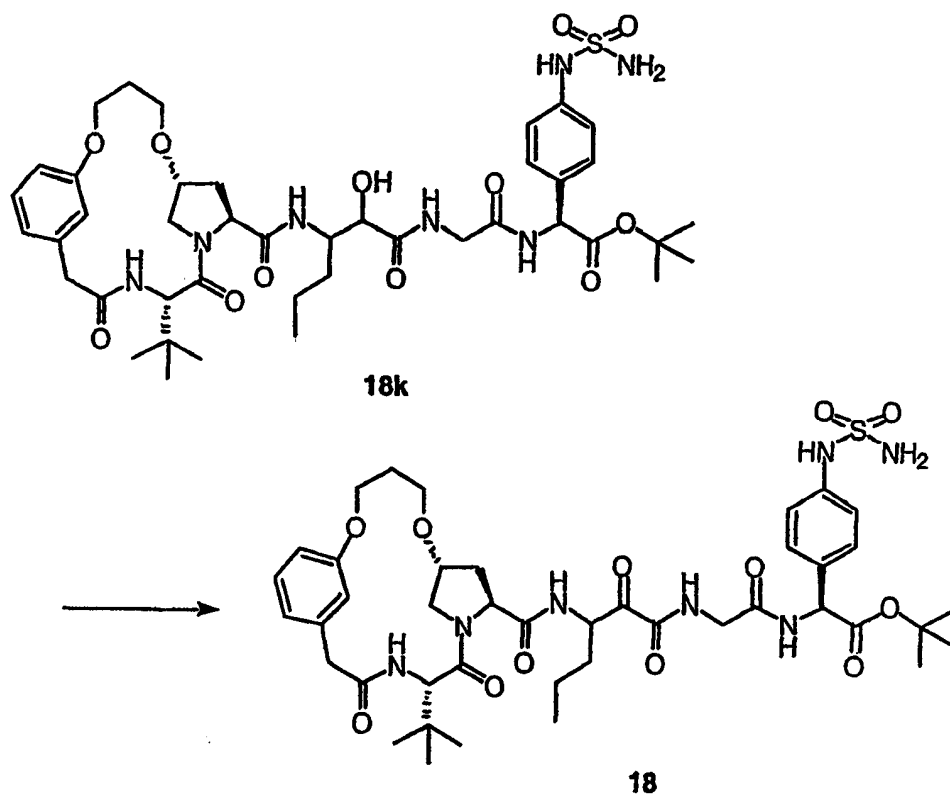
如先前对实施例 1 步骤 C 描述的那样, 合成期望的产物 **18j**。该物质可原样直接用于下一步骤。

步骤 J:



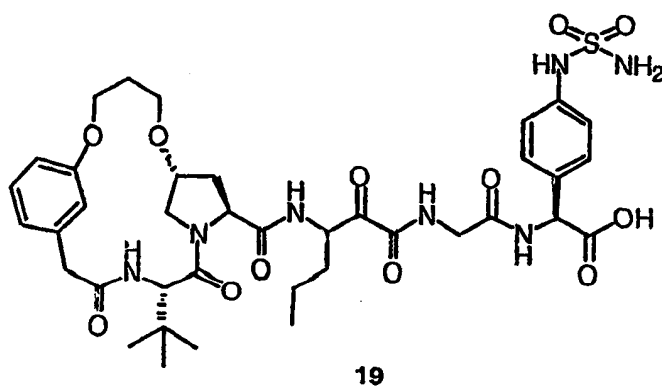
如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样, 合成期望的产物 **18k**。处理后, 该物质纯度足以用于下一步骤。

步骤 K:

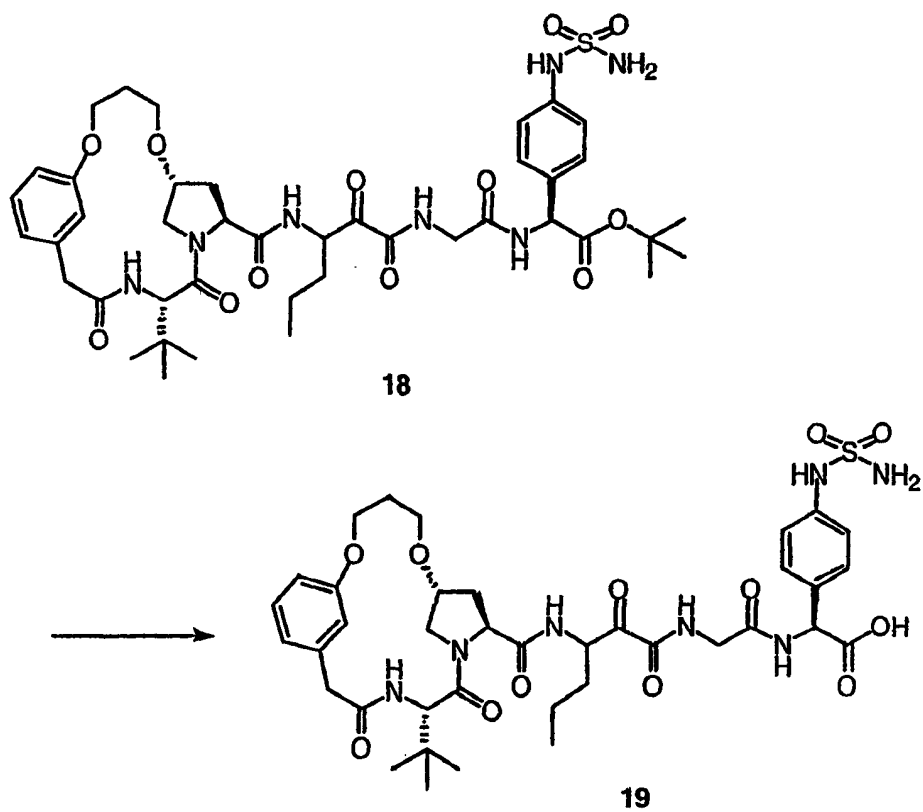


通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物 **18**。经快速柱层析纯化，使用 98/2-92/8 二氯甲烷/MeOH 洗脱，以 13% 收率(2 步)得到为非对映体混合物的 **11**。

实施例 19: 式 19 化合物的制备:

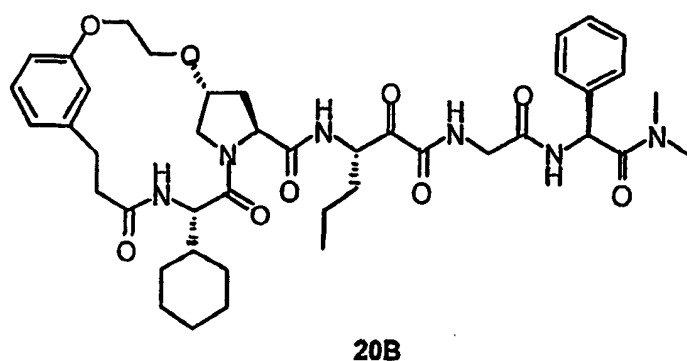
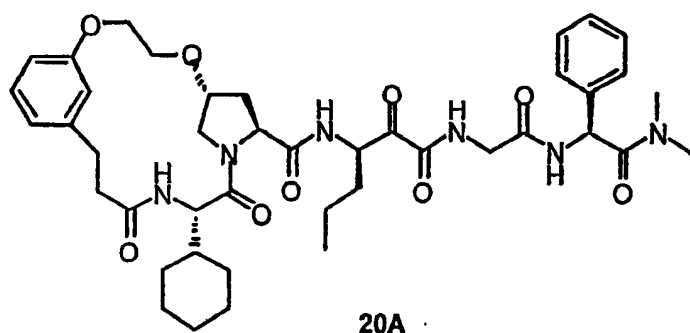


步骤 A:

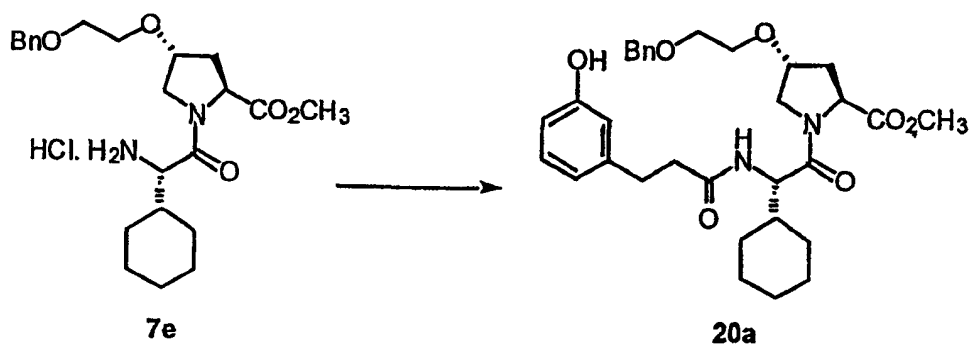


如先前对实施例 3 步骤 A 描述的那样，以定量收率合成期望的产物 19。

实施例 20: 式 20A 和 20B 化合物的制备:

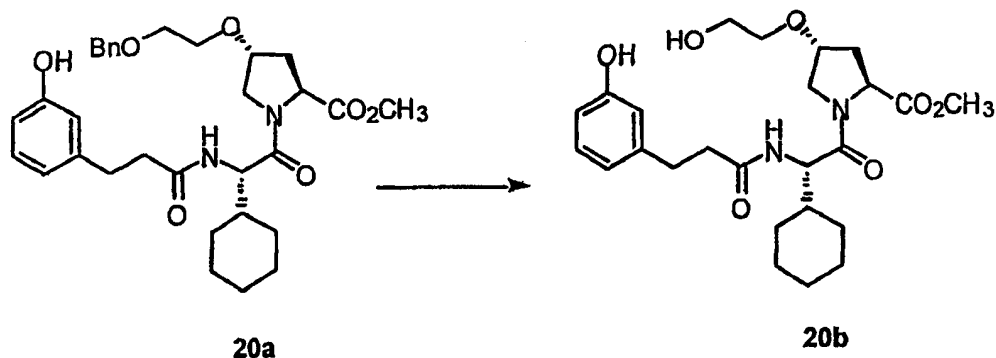


步骤 A:



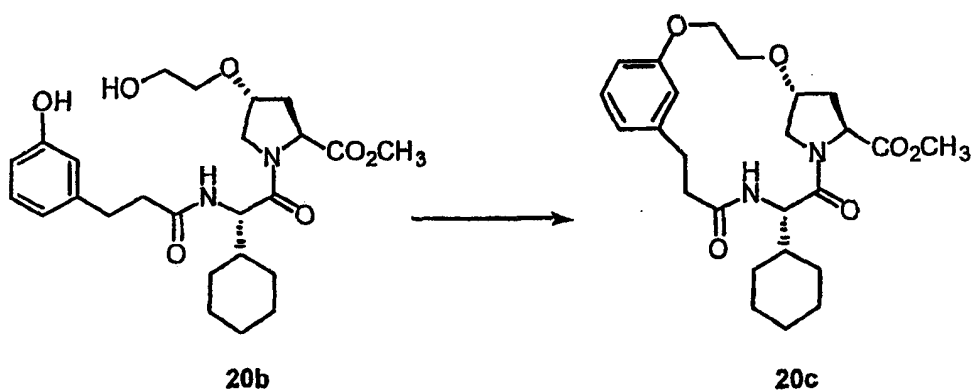
通过对实施例 1 步骤 F 描述的方法, 得到所需的产物 **20a**。经快速柱层析纯化该物质, 使用 98/2 二氯甲烷/甲醇洗脱, 以 97% 收率得到 **20a**。HRMS (FAB) $C_{32}H_{43}N_2O_7$ 的计算值: 567.3070 ($M+H$)⁺。实测值: 567.3073。

步骤 B:



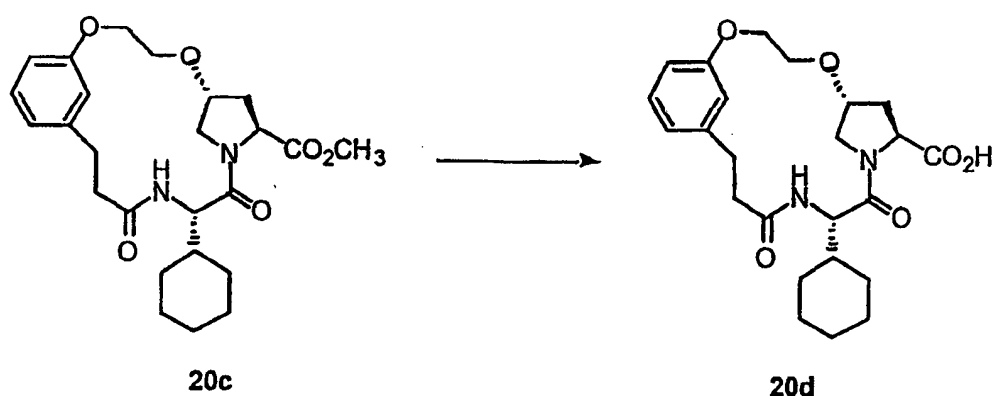
通过对实施例 1 步骤 G 描述的方法, 得到所需的产物 **20b**。经快速柱层析纯化该物质, 使用 98/2-96/4 二氯甲烷/甲醇洗脱, 以 81% 收率得到 **20b**。HRMS (FAB) $C_{25}H_{37}N_2O_7$ 的计算值: 477.2601 ($M+H$)⁺。实测值: 477.2606。

步骤 C:



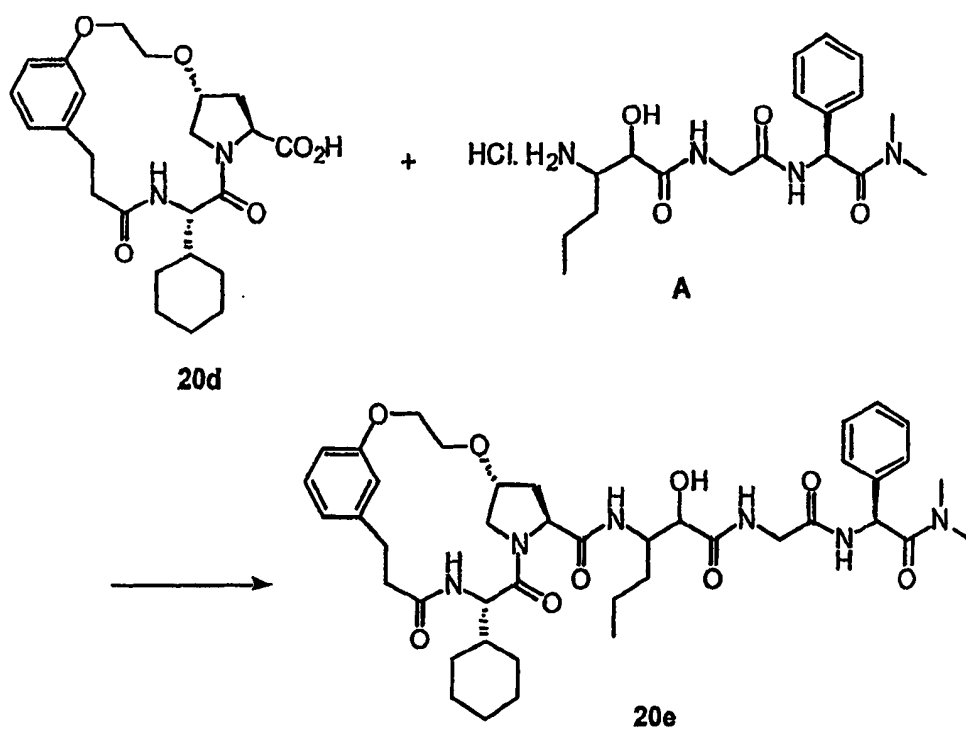
通过对实施例 1 步骤 H 描述的方法, 得到所需的产物 **20c**。经柱层析纯化, 使用 99/1 二氯甲烷/甲醇洗脱, 得到含有三苯基膦氧化物的 **20c**。该混合物直接用于下一步骤。HRMS (FAB) $C_{25}H_{35}N_2O_6$ 的计算值: 459.2495 ($M+H$)⁺。实测值: 459.2490。

步骤 D:



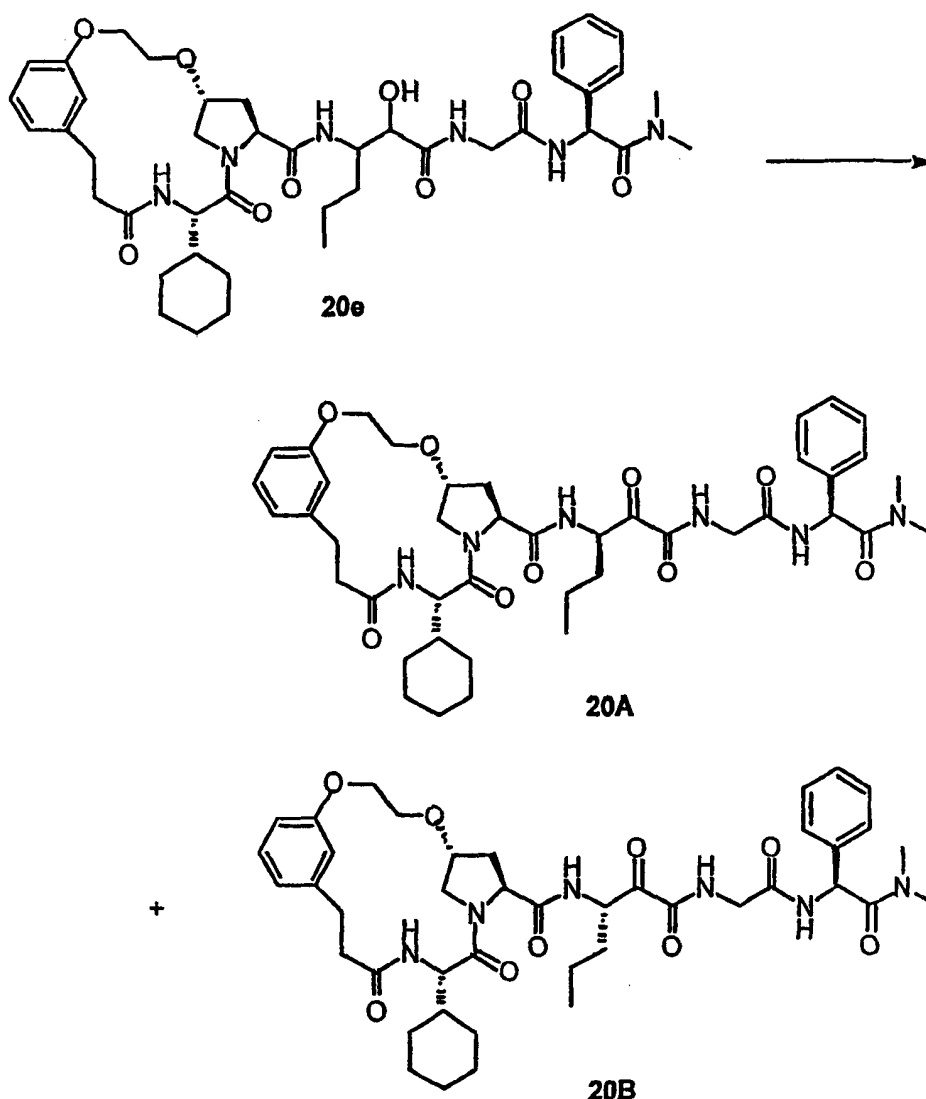
通过对实施例 1 步骤 I 描述的方法, 得到所需的产物 **20d**。 **20d** 的收率(2 步) = 23%。 ^1H NMR (DMSO- d_6) 0.84 (m, 2H), 1.10 (m, 3H), 1.56-1.67 (m, 6H), 1.75-1.81 (m, 1H), 2.32-2.49 (m, 3H), 2.55-2.59 (m, 1H), 2.94 (dt, 1H), 3.50 (dd, 1H), 3.56-3.65 (m, 2H), 3.99 (dd, 1H), 4.06-4.23 (m, 4H), 4.37 (t, 1H), 6.64-6.74 (m, 3H), 7.08 (app.t, 1H), 7.95 (d, 1H), 12.30 (br.s, 1H); ^{13}C NMR δ (DMSO- d_6) 25.25, 25.97, 28.30, 28.55, 30.61, 33.77, 36.04, 39.41, 52.52, 54.02, 57.22, 66.38, 68.03, 77.49, 114.75, 115.37, 121.14, 128.86, 142.66, 158.92, 169.87, 170.83, 172.99; HRMS (FAB) $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_6$ 的计算值: 445.2339 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。 实测值: 445.2343。

步骤 E:



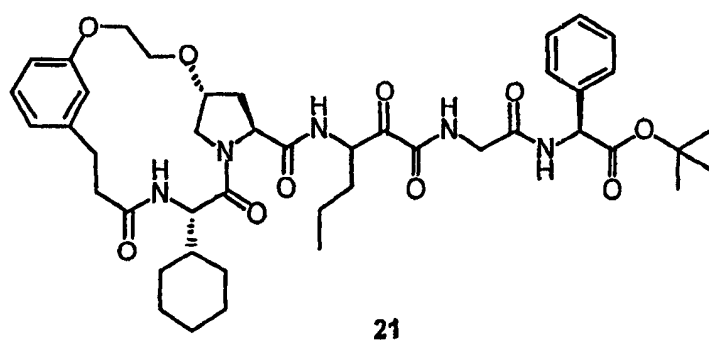
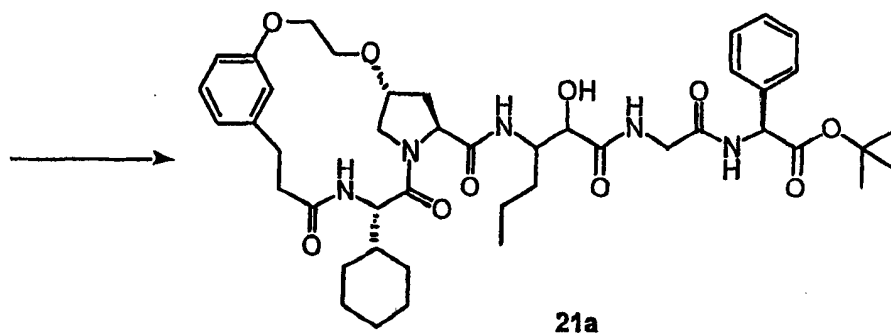
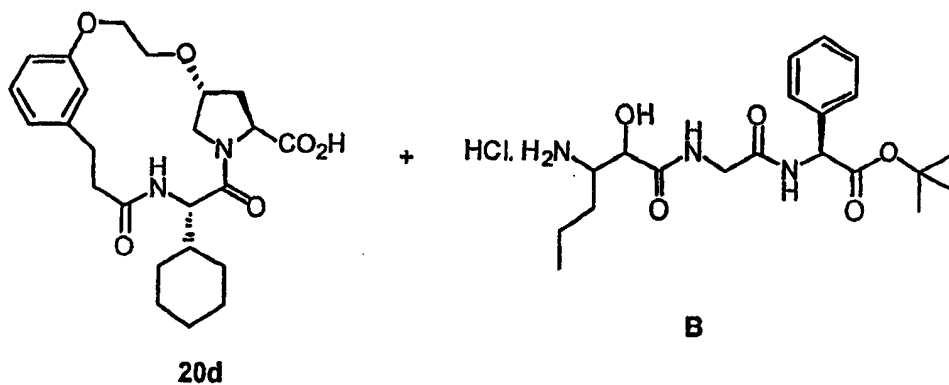
如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样，合成期望的产物 **20e**。处理后，该物质纯度足以直接用于下一步骤。

步骤 F:



通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法, 得到所需的产物 **20A** 和 **20B**。经快速柱层析纯化, 使用 100/0-98/2 二氯甲烷/甲醇洗脱, 得到分离的异构体 **20A** 和 **20B** 和一些混合物。合并收率 = 50% (两

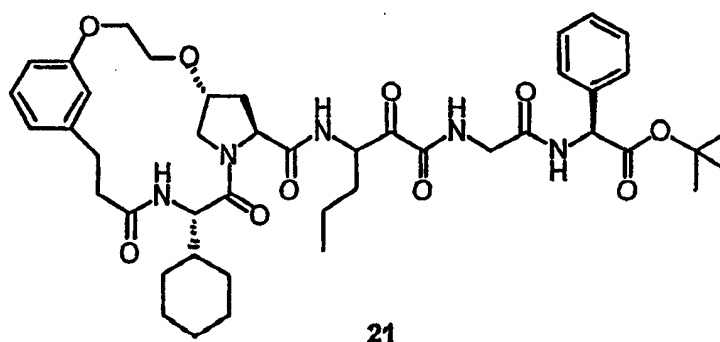
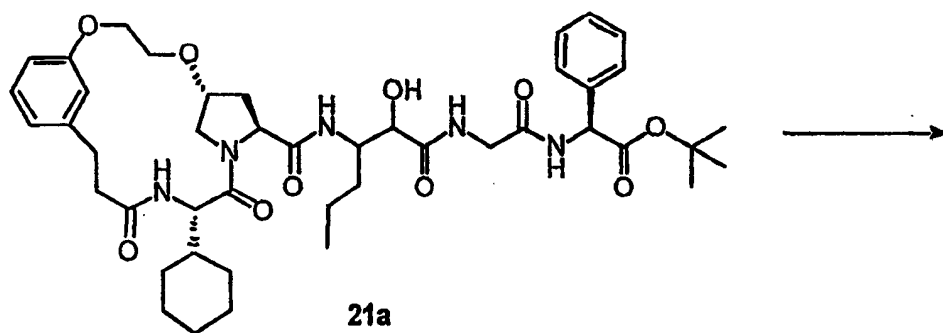
5 步)。HRMS (FAB) $C_{42}H_{57}N_6O_9$ 的计算值: 789.4187 (M+H)⁺。实测值: 789.4179 (**20A**)和 789.4187 (**20B**)。

实施例 21: 式 21 化合物的制备:**21****步骤 A:****21a**

5

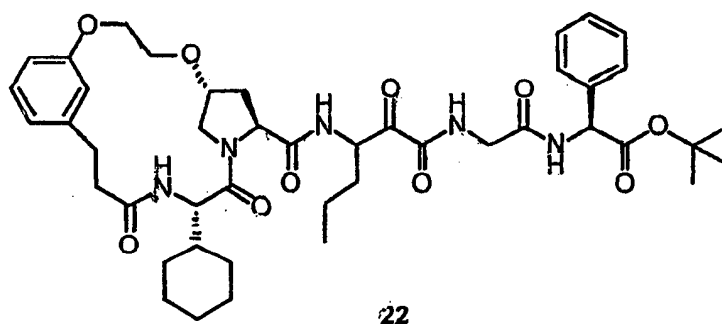
如先前对实施例 2 步骤 A 描述的那样, 合成期望的产物 **21a**。处理后, 该物质纯度足以直接用于下一步骤。

步骤 B:

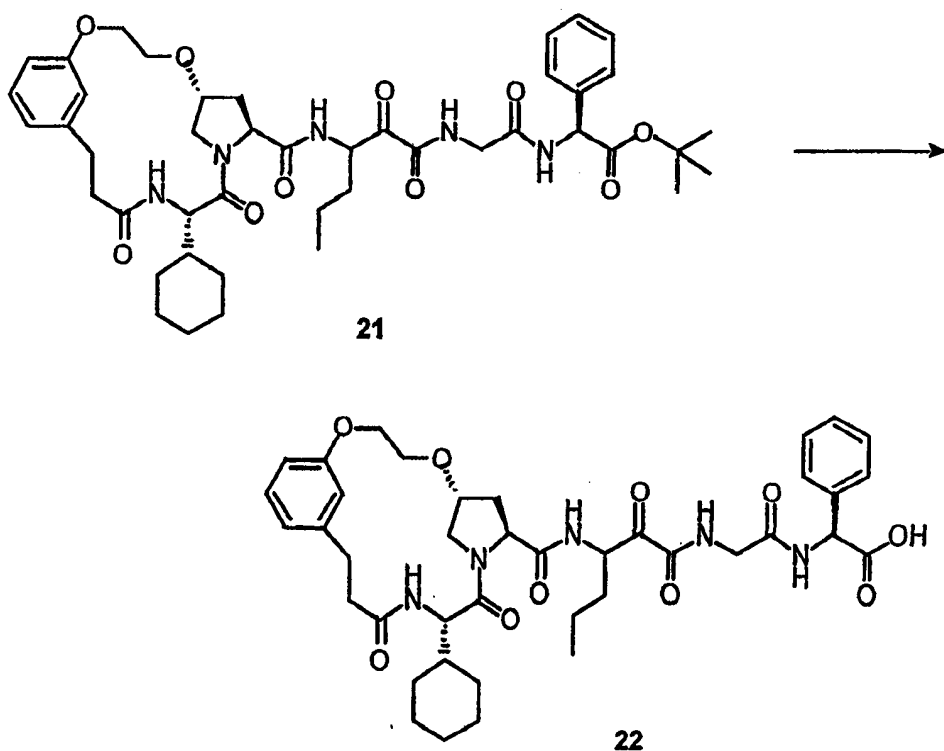


通过先前对实施例 2 步骤 B 描述的氧化方法，得到所需的产物
21。经快速柱层析纯化，使用 100/0-98/2 二氯甲烷/甲醇洗脱，以 38%
 5 收率得 **21**。HRMS (FAB) $C_{44}H_{60}N_5O_{10}$ 的计算值: 818.4340 (M+H)⁺。
 实测值: 818.4329。

实施例 22: 式 22 化合物的制备:



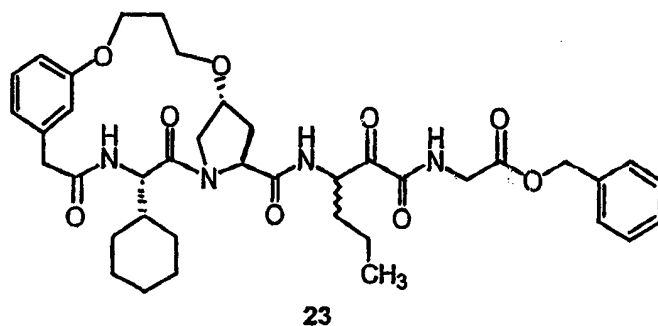
步骤 A:



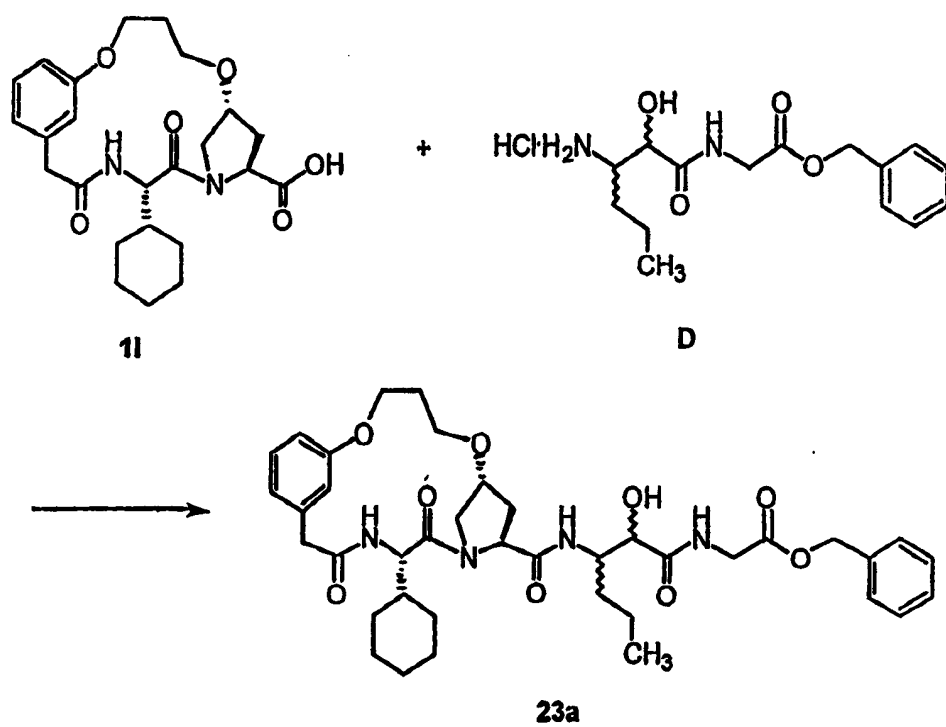
如先前对实施例 3 步骤 A 描述的那样, 以定量收率合成期望的产物 **22**。HRMS (FAB) $C_{40}H_{52}N_5O_{10}$ 的计算值: 762.3714 (M+H)⁺。实测值: 762.3722。

5

实施例 23: 式 23 化合物的制备:

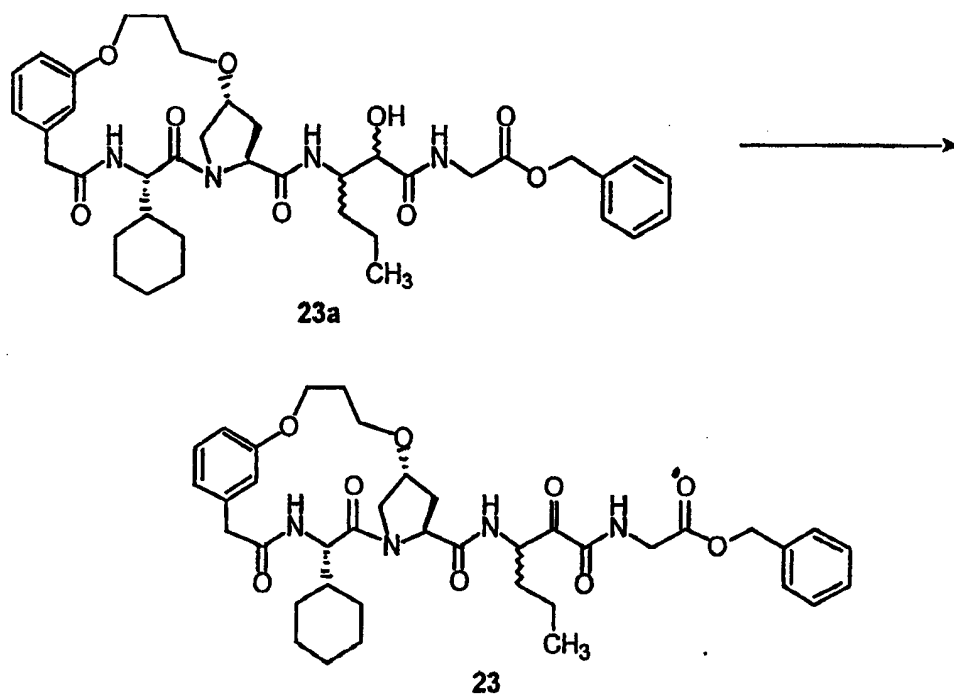


步骤 A:



按照实施例 1 步骤 J 的方法, 自 11 和 D 制备所需的产物 23a, 收率 58%。

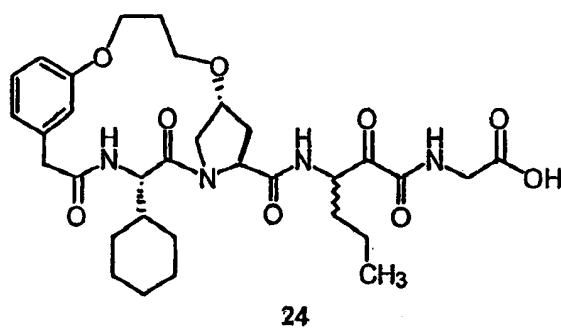
步骤 B:



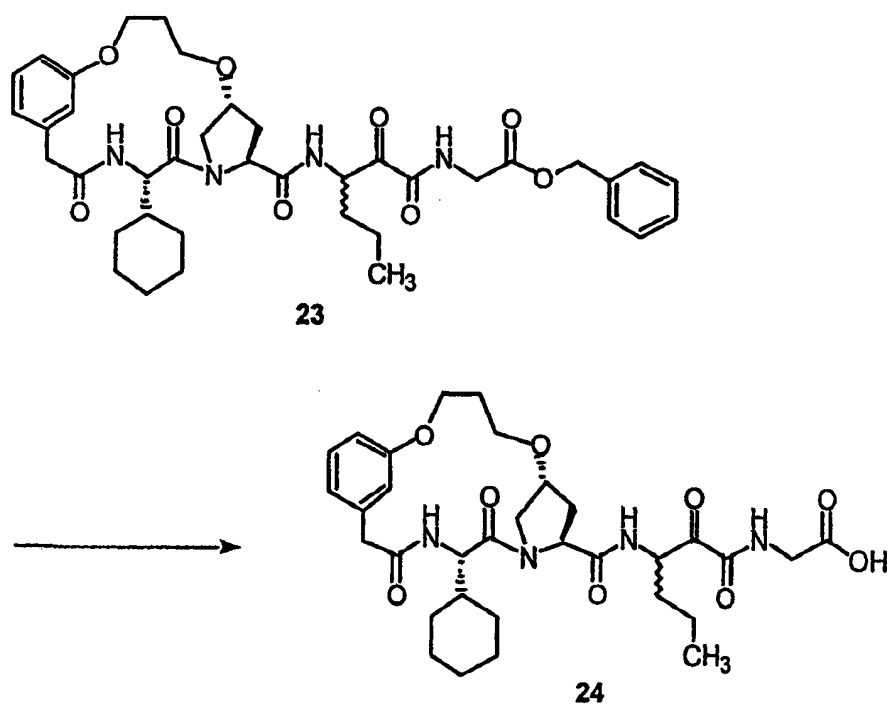
按照实施例 1 步骤 K 的方法，自 **23a** 制备所需的化合物 **23**，收率 79%。

5

实施例 24: 式 24 化合物的制备:



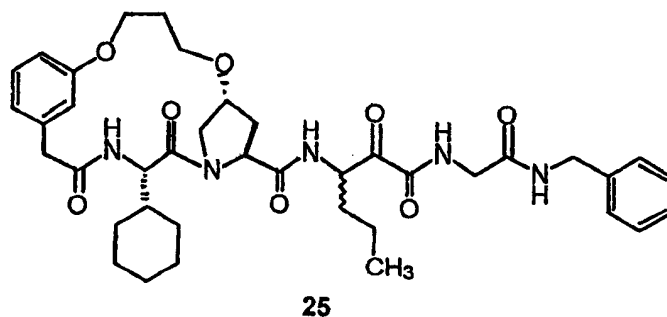
步骤 A:



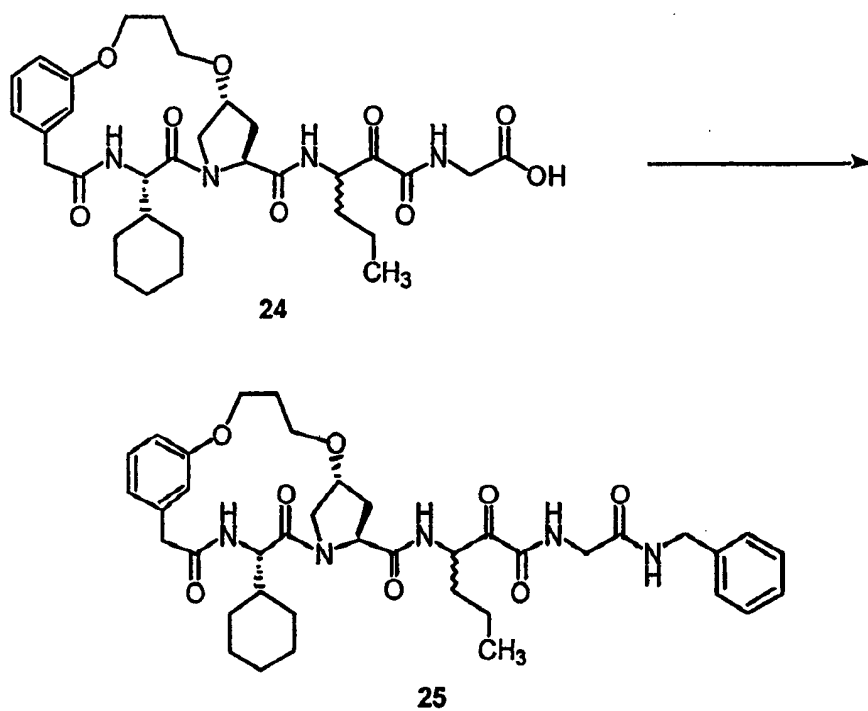
在氢气下，于披钨碳(50 mg)存在下，在室温下，将苄基酯 **23** (80 mg, 0.11 mmol)在乙醇(30 mL)和甲醇(15 mL)中的溶液搅拌 3 小时。

- 5 经 TLC 监测反应进展。通过硅藻土垫小心过滤后，真空除去溶剂，得到白色固体(67 mg, 定量)。

实施例 25: 式 25 化合物的制备:

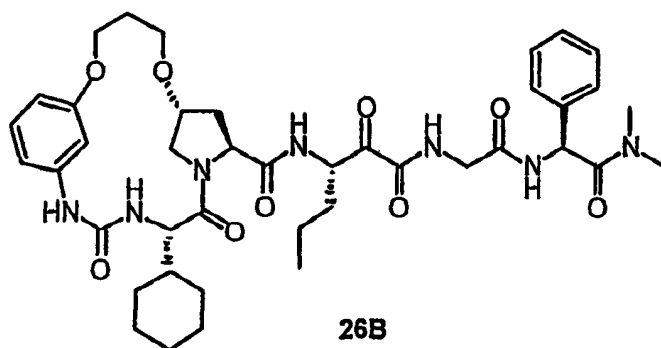
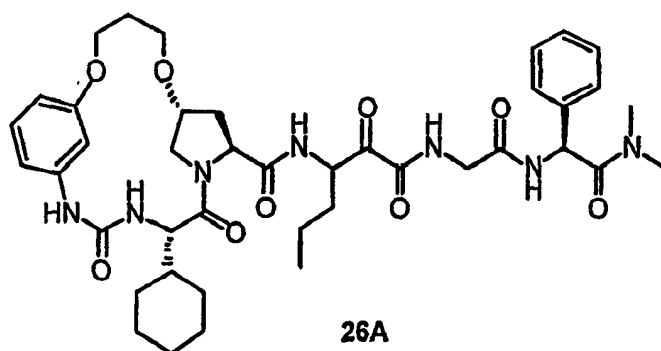


步骤 A:

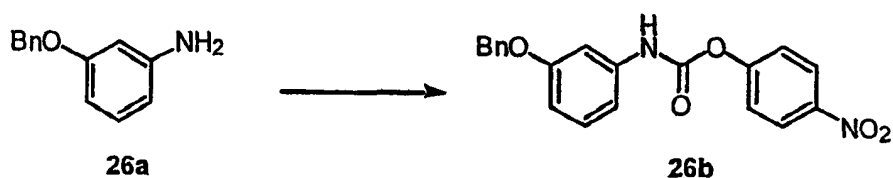


除了用苄基胺替代胺 A 外,按照实施例 1 步骤 J 的方法,以 53% 收率,从 **24** 制备所需的化合物 **25**。

实施例 26: 式 26A 和 26B 化合物的制备:



步骤 A:

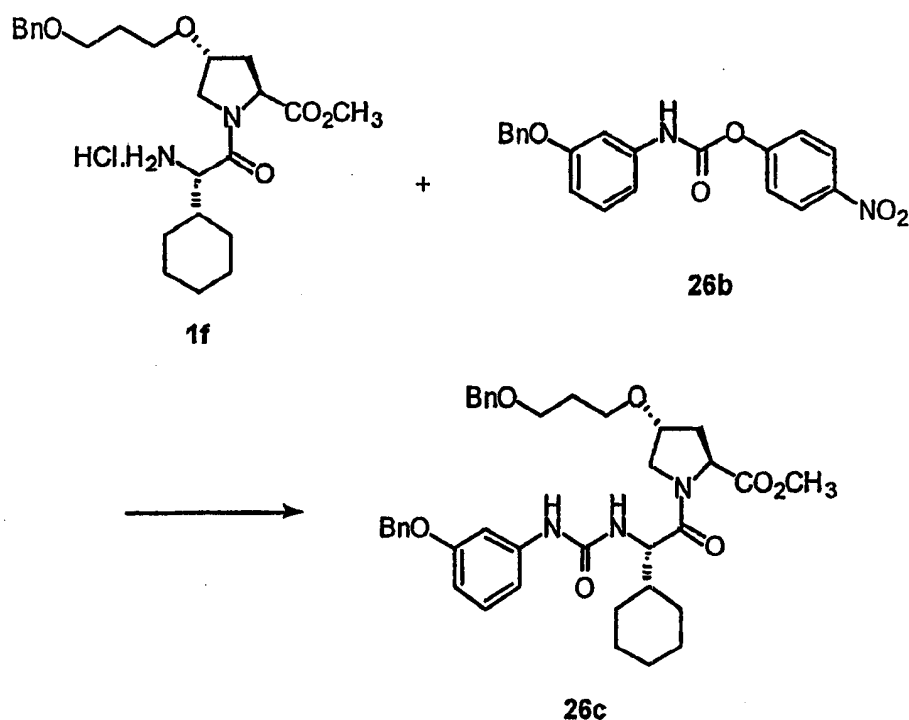


5

向 **26a** (4.0 g, 20 mmol) 在 THF/MeCN (35/5 mL) 中的冷的 (0℃) 溶液中加入 4-硝基苯基氯代甲酸酯 (4.86 g, 24 mmol), 然后加入吡啶 (1.9 mL, 24 mmol)。把反应混合物温热至环境温度 4.5 小时。监测反应直到 **26a** 消耗完全 (需要加入一些更多的其它两种试剂)。通过加入水猝灭反应物, 分离有机物, 用盐水洗涤, 干燥 (Na₂SO₄), 并真空蒸发, 得到产物 **26b**。该物质纯度足以用于进一步研究。

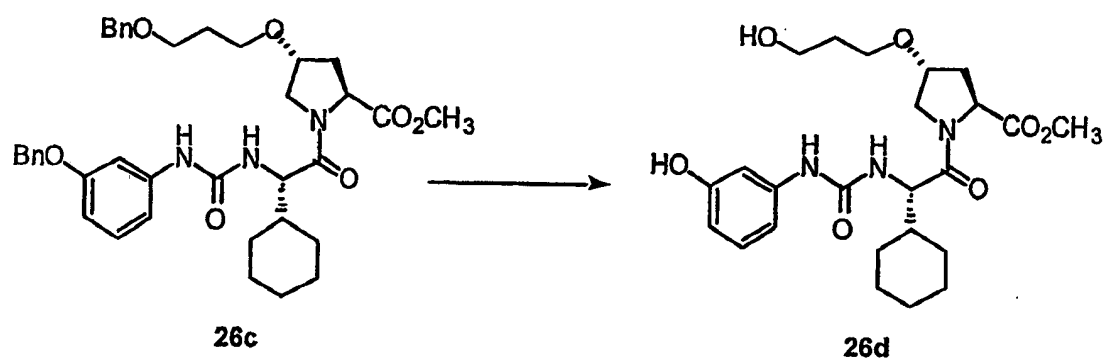
10

步骤 B:



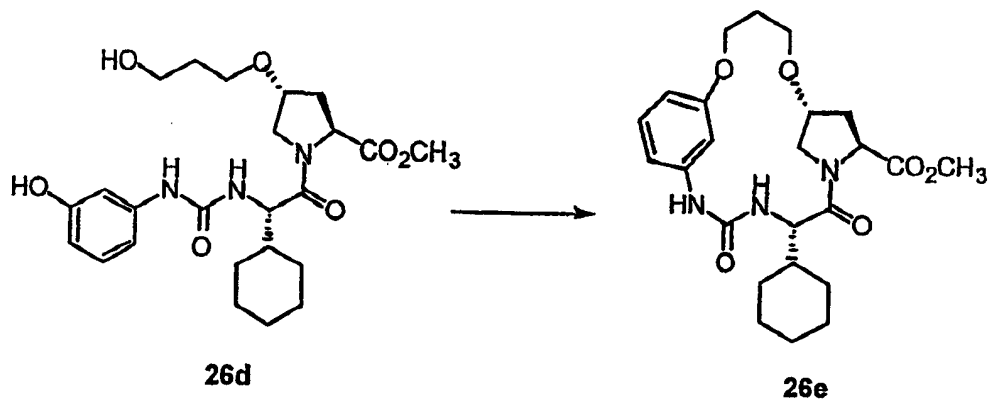
在 0℃ 下，向 **1f** (2.3 g, 5.1 mmol) 在二氯甲烷/DMF (25/5 mL) 中的溶液中先后加入 **26b** (2.24 g, 6.1 mmol) 和三乙胺 (0.86 mL, 6.1 mmol)。加入几粒咪唑结晶并在 -8℃ 下把反应混合物储存 16 小时。用二氯甲烷稀释反应混合物，用饱和碳酸氢钠、10% 枸橼酸水溶液洗涤，干燥 (Na₂SO₄)，真空浓缩。经快速柱层析纯化粗品物质，使用 100/0-70/30 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱，得到 **26c** (1.2 g, 38% 收率)。HRMS (FAB) C₃₈H₄₈N₃O₇ 的计算值: 658.3492 (M+H)⁺。实测值: 658.3483。

步骤 C:



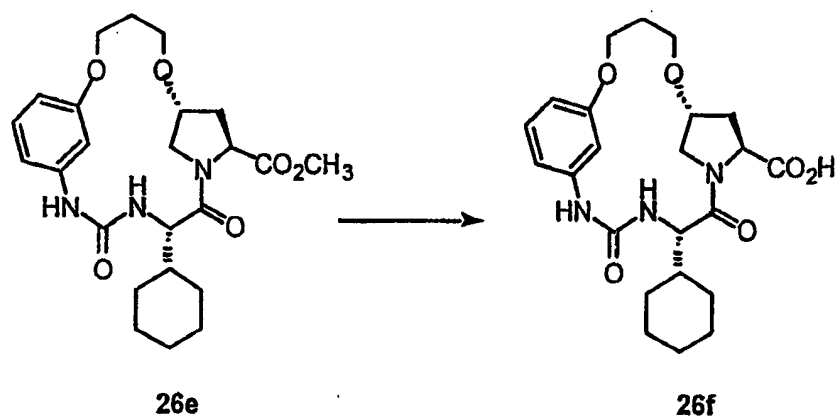
通过对实施例 1 步骤 G 描述的方法，得到所需的产物 **26d**。该粗品物质可原样直接用于下一步骤。HRMS (FAB) $C_{24}H_{36}N_3O_7$ 的计算值: 478.2553 (M+H)⁺。实测值: 478.2547。

步骤 D:



通过对实施例 1 步骤 H 描述的方法，得到所需的产物 **26e**。经柱层析纯化，使用 99/1 二氯甲烷/甲醇洗脱，得到含有三苯基膦氧化物的 **26e**。该混合物可直接用于下一步骤。

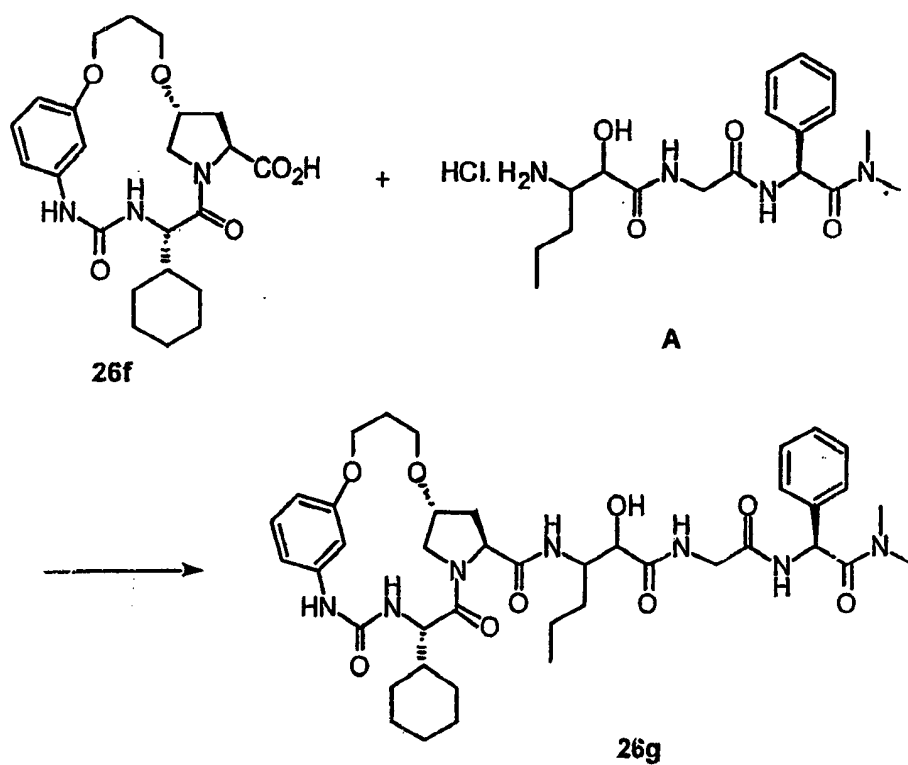
步骤 E:



通过对实施例 1 步骤 I 描述的方法, 得到所需的产物 **26f**。HRMS (FAB) $C_{23}H_{32}N_3O_6$ 的计算值: 446.2291 (M+H)⁺。实测值: 446.2290。

5

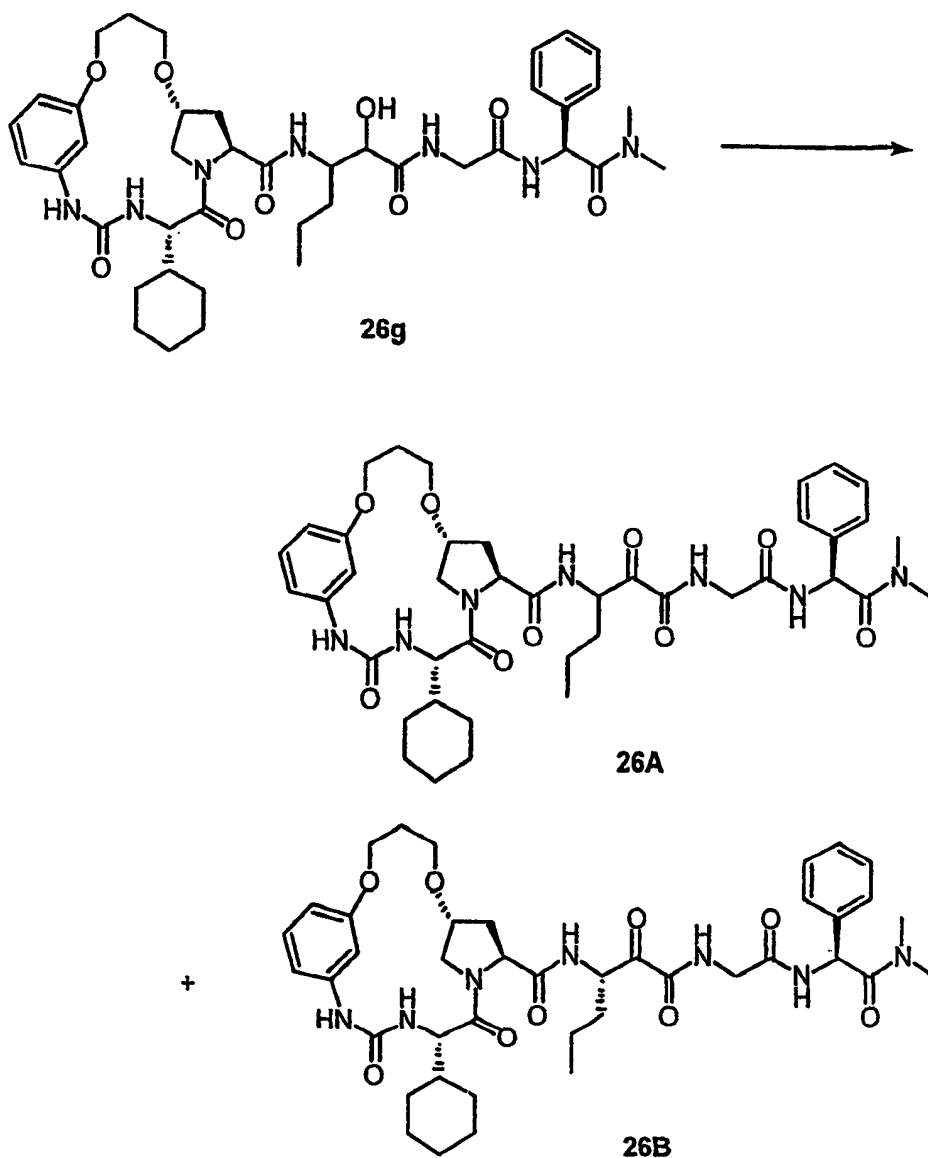
步骤 F:



通过对实施例 1 步骤 J 描述的方法, 得到所需的产物 **26g**。经快速柱层析纯化粗品物质, 使用 98/2 二氯甲烷/甲醇洗脱, 以 31% 收率 (3 步) 得到 **26g**。HRMS (FAB) $C_{41}H_{58}N_7O_9$ 的计算值: 792.4296 (M+H)⁺。实测值: 792.4284。

5

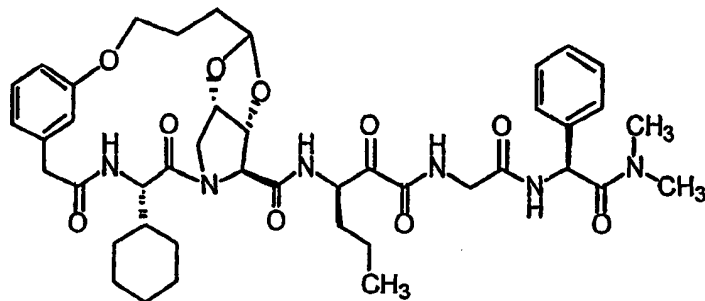
步骤 G:



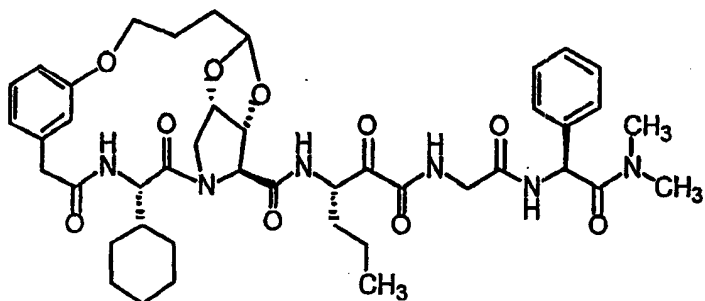
通过对实施例 1 步骤 K 描述的方法, 得到所需的产物 **26A** 和 **26B**。经柱层析纯化, 使用 99/1-95/5 二氯甲烷/甲醇洗脱, 得到 **26A** (为

混合物)和 **26B** (纯的较低 R_f 异构体)。合并收率 = 25%。

实施例 27: 化合物 27 的制备:

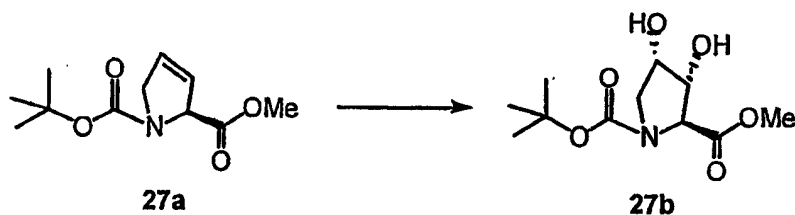


27A



27B

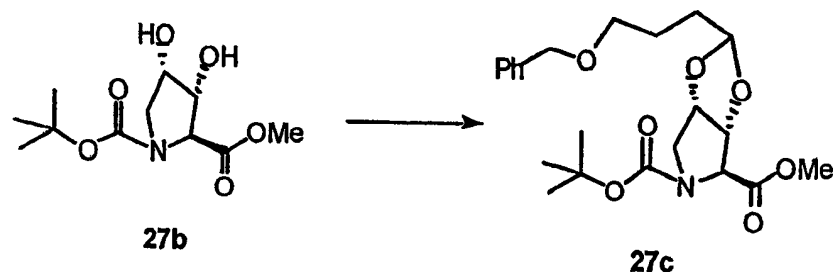
5 步骤 A:



在室温下, 向 Boc-3,4-二脱氢脯氨酸-OMe (**27a**, 5.30 g, 23.4 mmol)、N-甲基吗啉-N-氧化物(4.75 g, 35.1 mmol)在丙酮(10 mL)和水(15 mL)中的混合物中加入四氧化钨在叔丁醇中的溶液(2.5% w/w, 3.5 mL, 0.344 mmol)。向该混浊溶液中加入 THF 直到混合物变得几乎均匀。在室温下搅拌过夜后, 加入饱和的硫代硫酸钠水溶液(30 mL), 并在 10 分钟后, 加入 EtOAc (300 mL)和盐水(80 mL)。分离这些层后, 用 EtOAc (2 X 100 mL)提取水溶液。合并有机溶液, 干燥(MgSO_4),

过滤，真空浓缩，得到深色液体。快速层析(4-8% MeOH/CH₂Cl₂)，得到为油的 **27b** (4.73 g, 18.1 mmol, 77%)。

步骤 B:



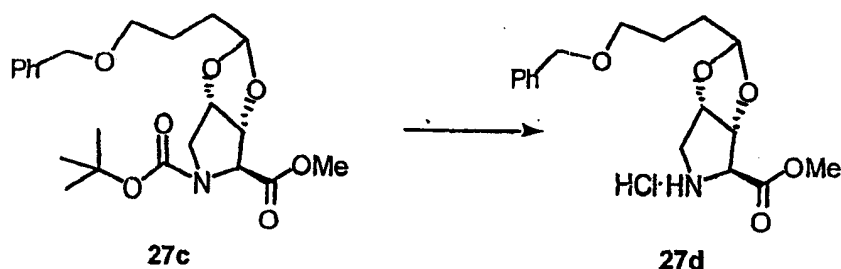
5

在 0℃ 下，向二醇 **27b** (1.6 g, 6.12 mmol)、硫酸镁(4.0 g, 33.2 mmol)和 3-苄氧基丙醛(2.32 g, 13.0 mmol)在无水 CH₂Cl₂ (60 mL) 中的悬浮液中加入对甲苯磺酸(150 mg, 1.01 mmol)。剧烈搅拌生成的混合物并伴随用冰浴温热至室温过夜(18 h)。加入饱和碳酸氢钠溶液(60 mL)、水(30 mL)和 CH₂Cl₂ (100 mL)，分离各层。用 CH₂Cl₂ (2 X 100 mL) 提取水溶液，干燥(MgSO₄)合并的有机溶液，过滤，真空浓缩，得到无色油。快速层析(5-15% EtOAc/CH₂Cl₂)，得到为油的 **27c** (2.35 g, 5.57 mmol, 91%)。

10

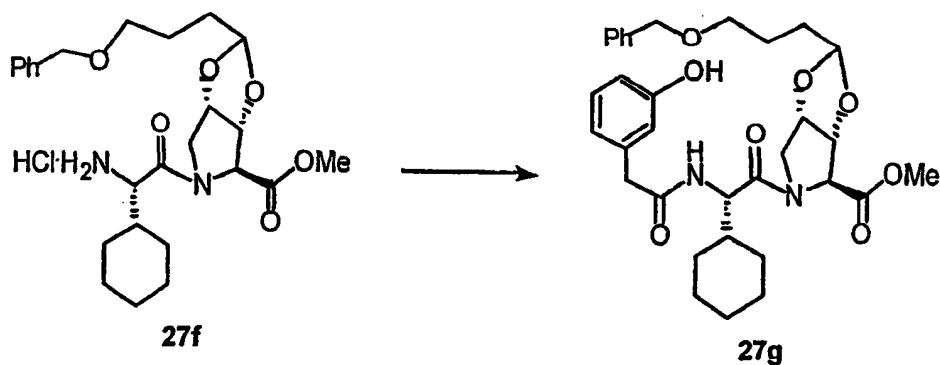
15

步骤 C:



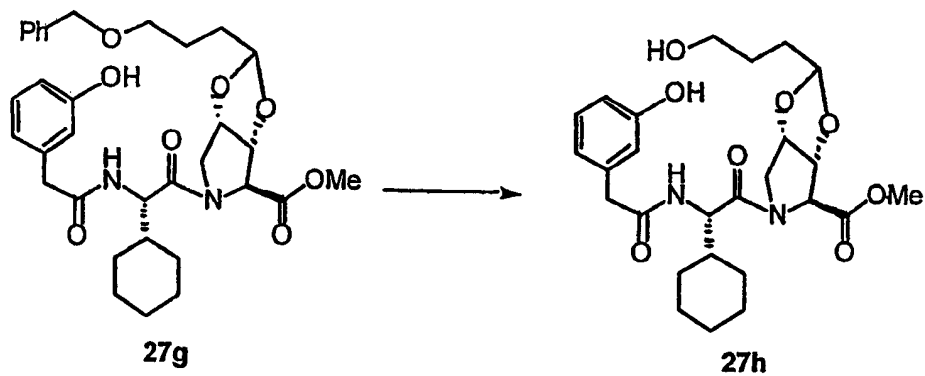
按照实施例 1 步骤 C 的方法，自 **27c** 制备所需的化合物 **27d**。它无须进一步纯化即可用于下一步骤反应。

步骤 F:



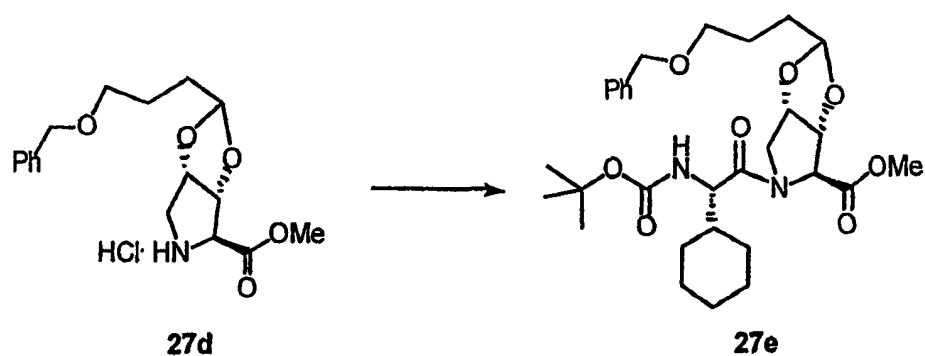
按照实施例 1 步骤 F 的方法，自 **27f** 制备所需的化合物。快速层析(8-20% EtOAc/CH₂Cl₂)，得到 **27g** (36%, 4 步)。HRMS m/z 595.3014
5 [C₃₃H₄₂N₂O₈ 的计算值: 595.3019]。

步骤 G:



按照实施例 1 步骤 G 的方法，自 **27g** 定量制备所需的化合物。快速层析(3-5% MeOH/CH₂Cl₂)，得到为白色固体的 **27h**。HRMS m/z
10 595.2553 [C₂₆H₃₆N₂O₈ 的计算值: 595.2550]。

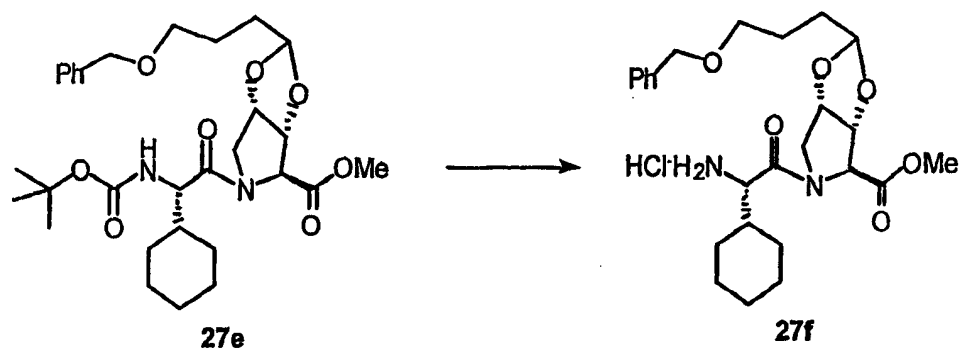
步骤 D:



按照实施例 1 步骤 D 的方法，自 **27d** 制备所需的化合物。快速层析(8-20% EtOAc/CH₂Cl₂)，得到 **27e**。

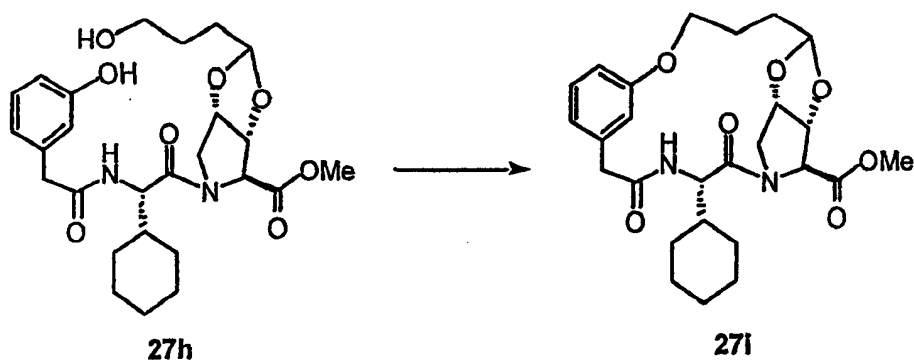
5

步骤 E:



按照实施例 1 步骤 E 的方法，自 **27e** 制备所需的化合物 **27f**。它无须进一步纯化即可用于下一步骤反应。

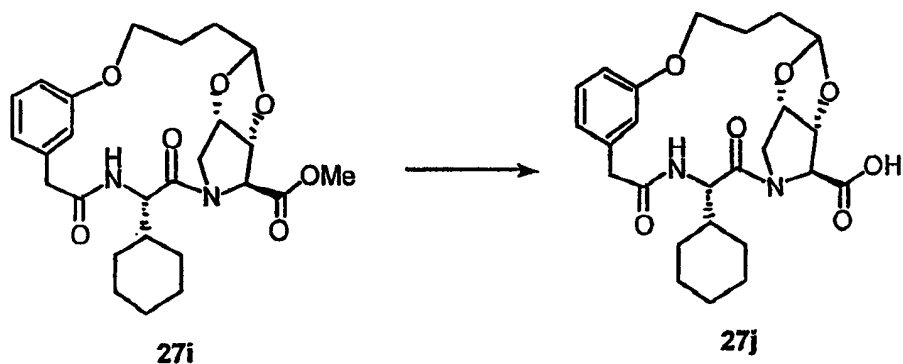
步骤 H:



按照实施例 1 步骤 H 的方法，自 **27h** 制备所需的化合物。快速层析(3-5% MeOH/CH₂Cl₂)，得到为含有三苯基膦氧化物的混合物的 **27i**，它可被水解。

5

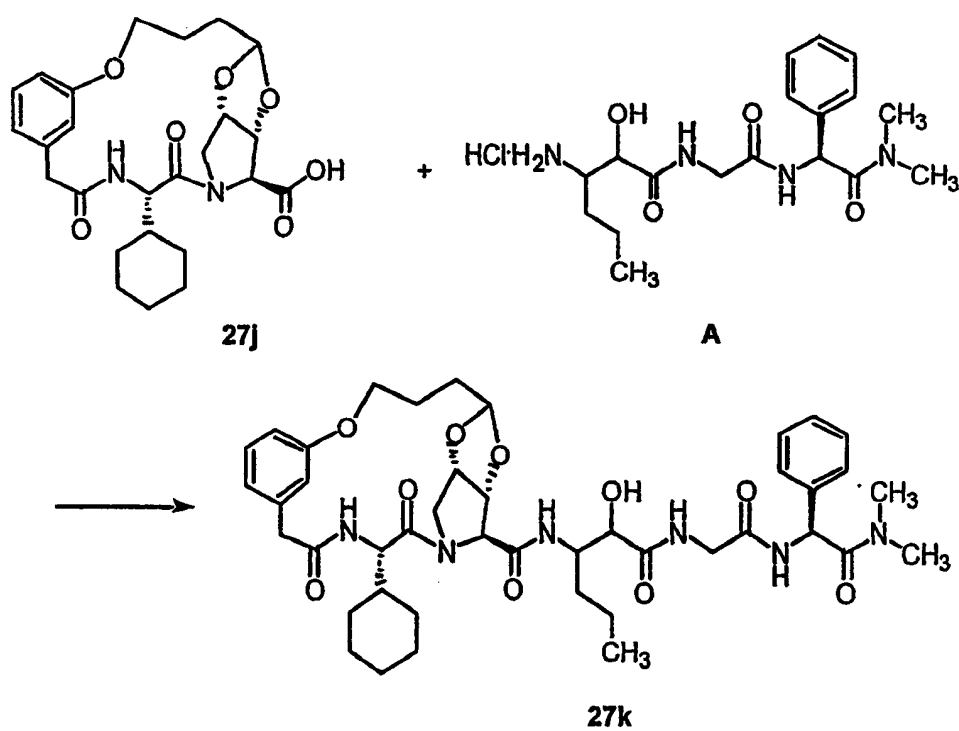
步骤 I:



按照实施例 1 步骤 I 的方法，从 **27i** 制备所需的化合物(72%，两步)。

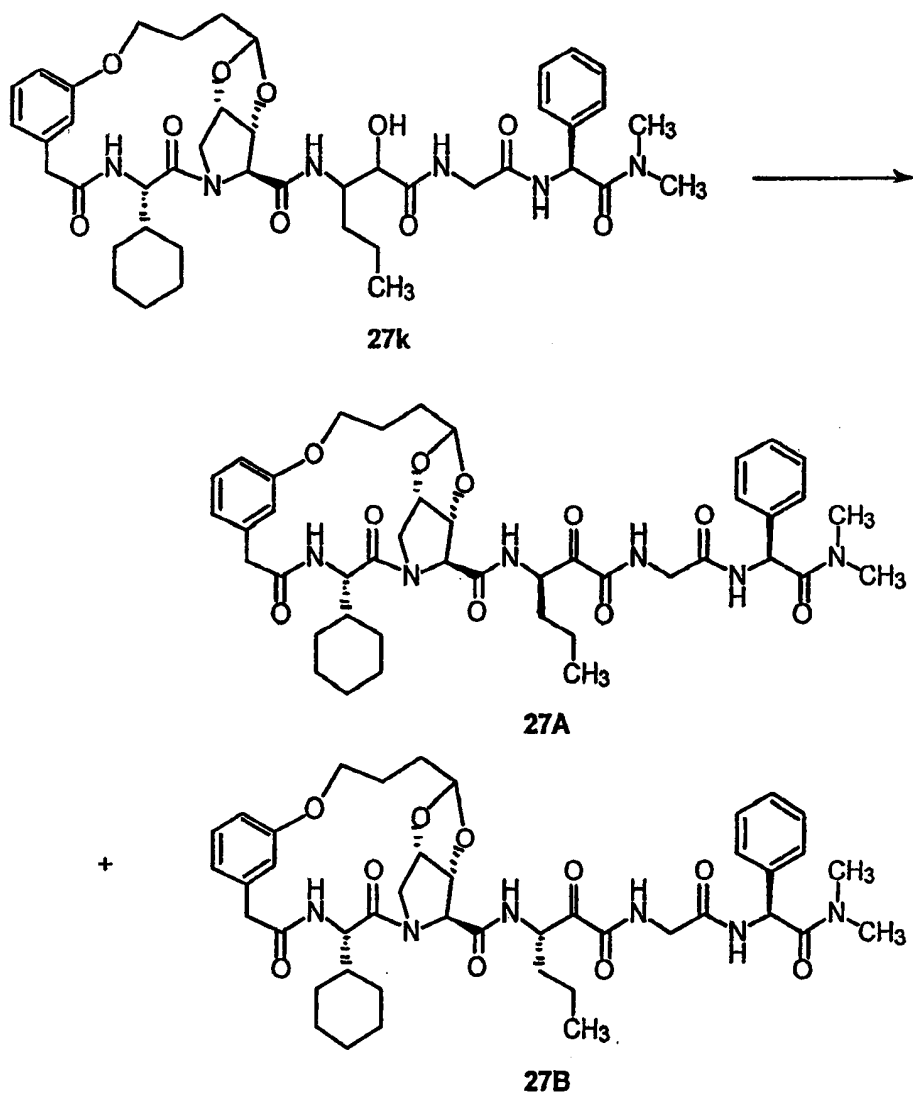
10

步骤 J:



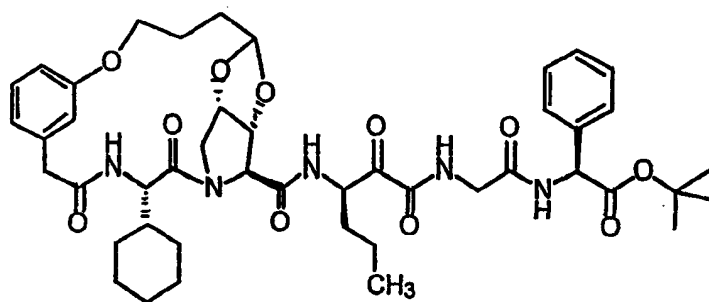
按照实施例 1 步骤 J 的方法, 从 **27j** 制备所需的化合物。快速层析(3-6% MeOH/CH₂Cl₂), 得到为非对映体混合物的 **27k** (69%)。

步骤 K:

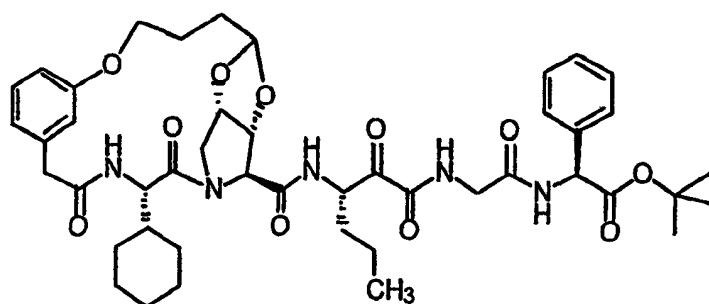


按照实施例 1 步骤 K 的方法，从 **27k** 制备所需的化合物。快速
5 层析(2-5% MeOH/CH₂Cl₂)，得到纯的 **27A** 和 **27B**。

实施例 28: 化合物 28 的制备:

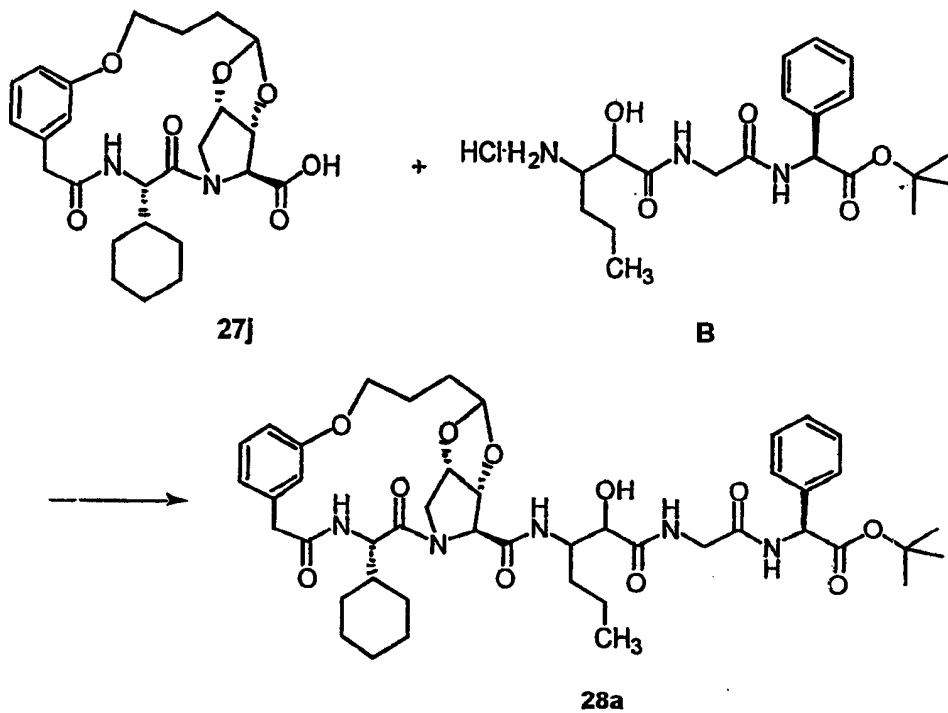


28A



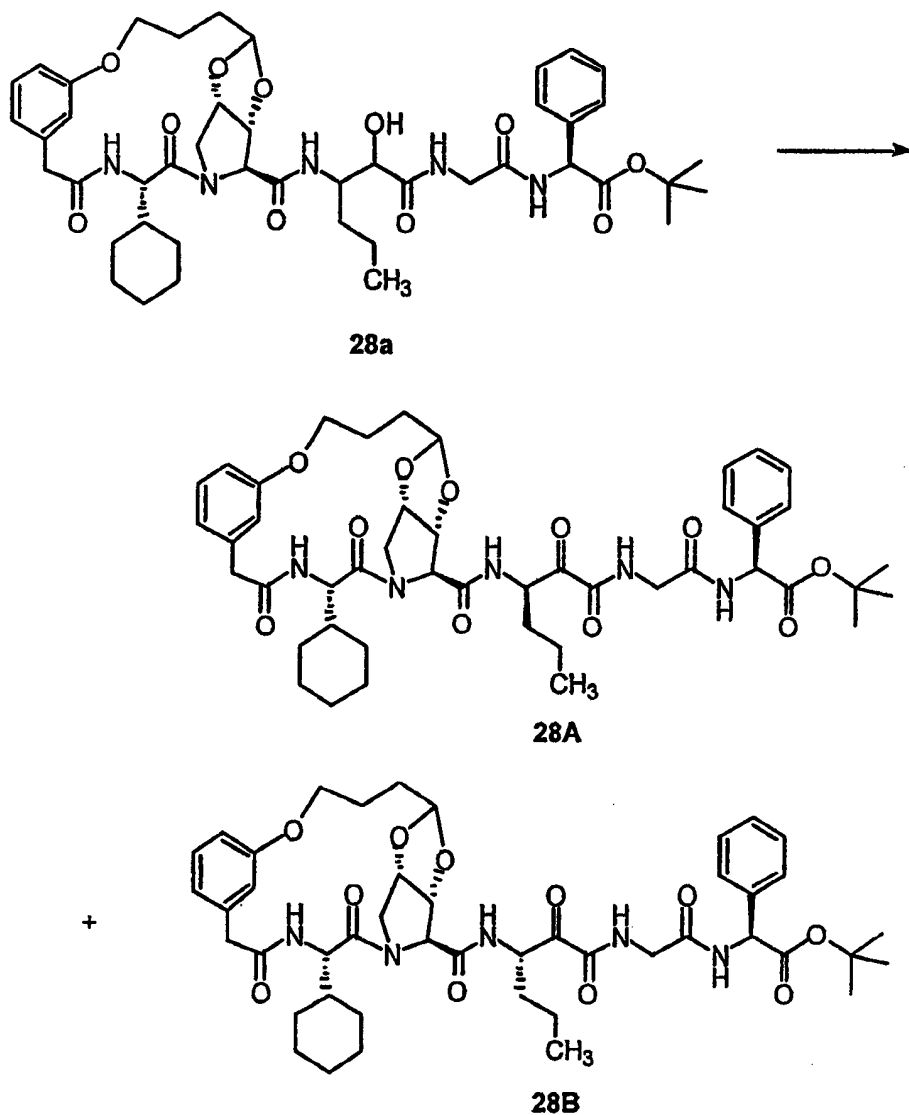
28B

步骤 A:



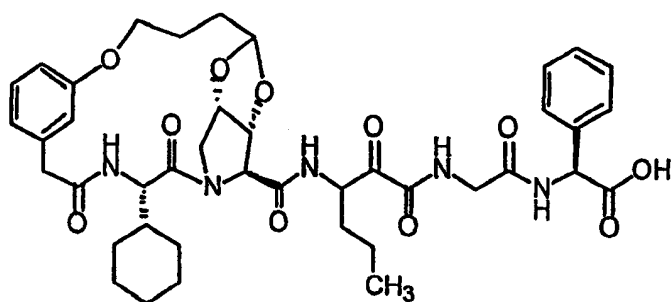
按照实施例 2 步骤 A 的方法, 从 **27j** 制备所需的化合物。快速层析(3-6% MeOH/CH₂Cl₂), 得到为不可分离的非对映体混合物的 **28a** (50%)。

5 步骤 B:

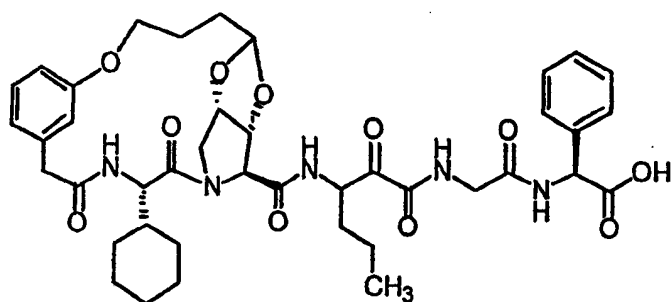


按照实施例 2 步骤 B 的方法, 从 **28a** 制备所需的化合物。快速层析(2-5% MeOH/CH₂Cl₂), 得到 **28A** 和 **28B**。

实施例 29: 化合物 29 的制备:

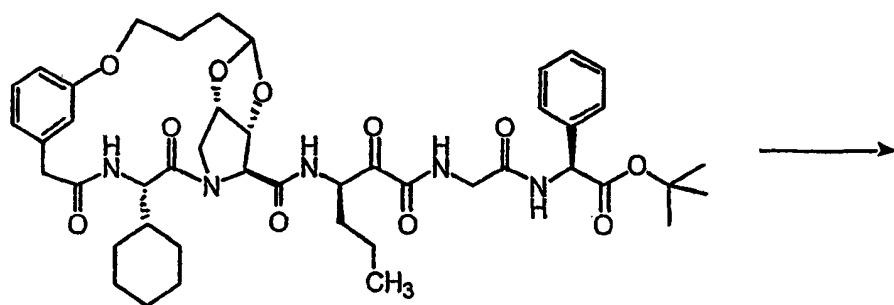


29A

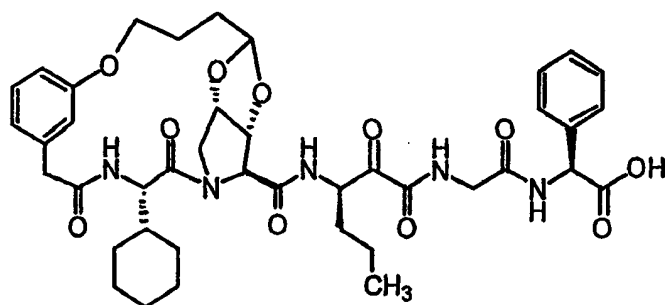


29B

步骤 A:



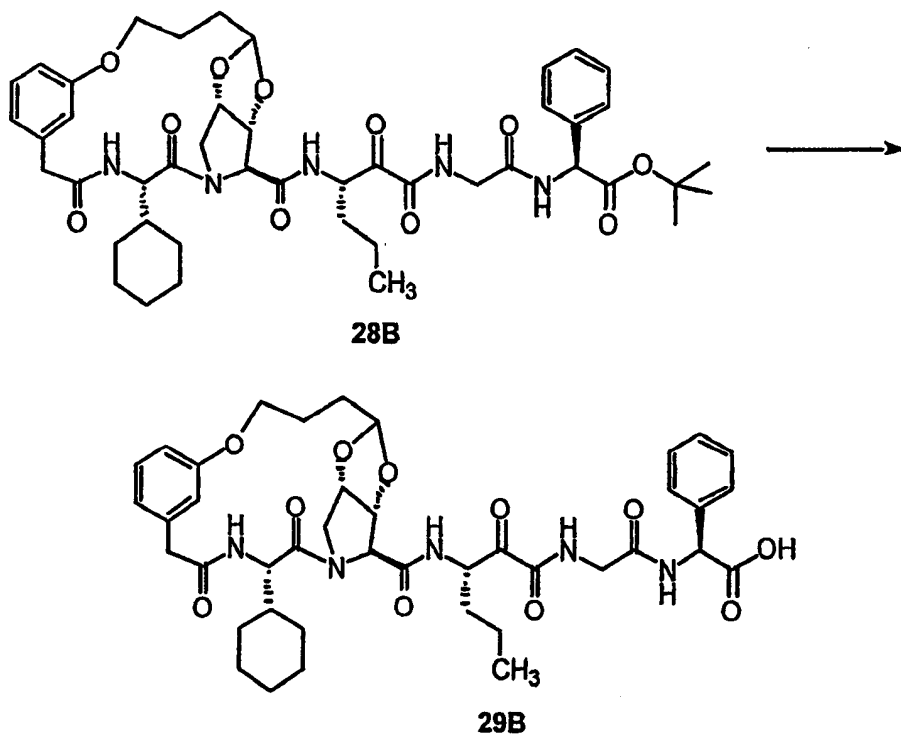
28A



29A

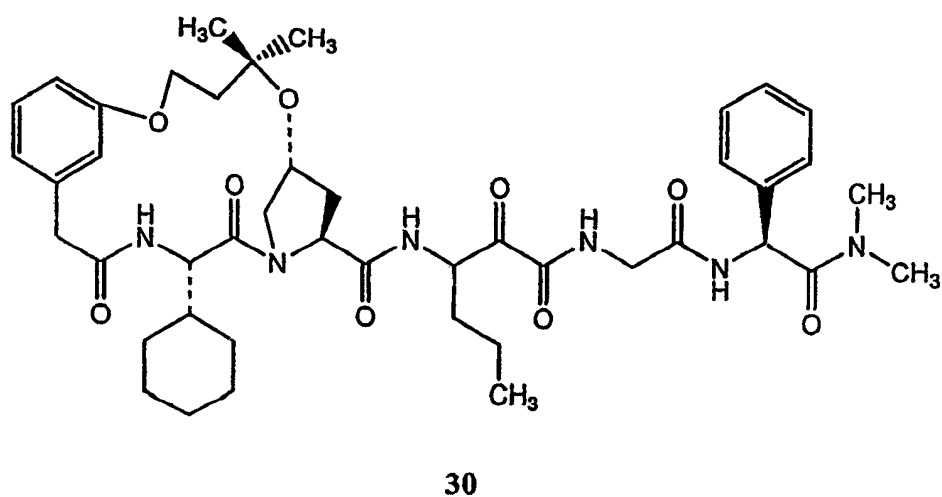
按照实施例 3 步骤 A 的方法, 从 **28A** 制备所需的化合物 **29A**。

步骤 B:

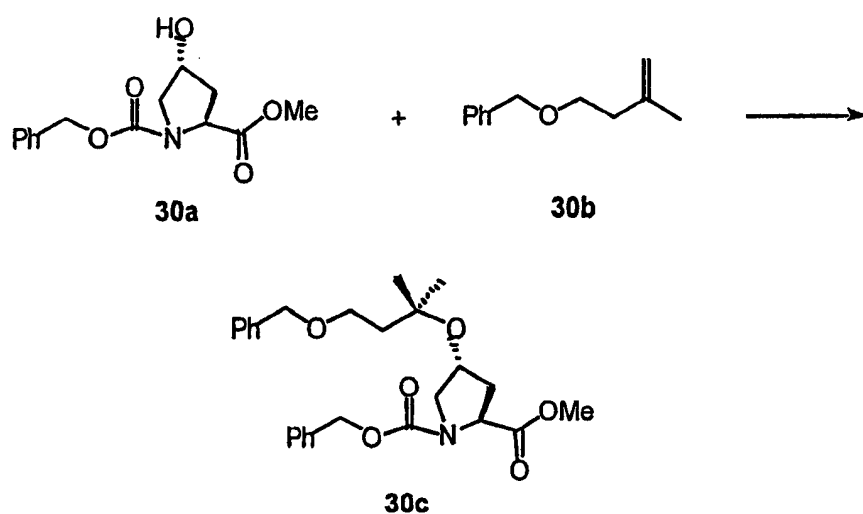


5 按照实施例 3 步骤 A 的方法, 从 **28B** 制备所需的化合物 **29B**。

实施例 30: 化合物 30 的制备:

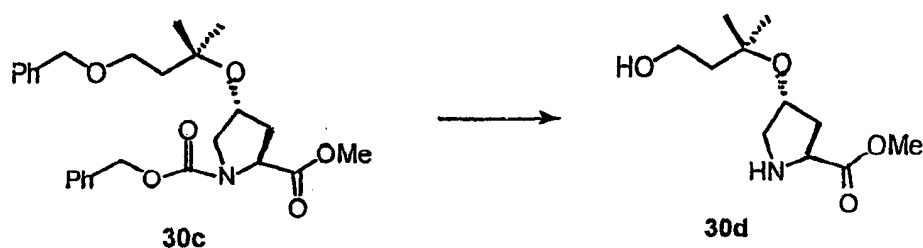


步骤 A:



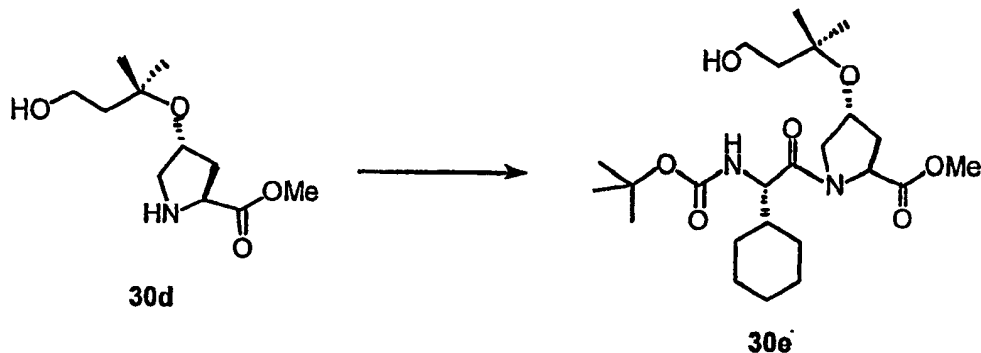
在 0℃ 下, 向 Cbz-HYP-OMe (**30a**)(3.0 g, 10.7 mmol)和 4-苄氧基-2-甲基-1-丁烯 **30b** (5.30 g, 30.0 mmol)在无水 CH₂Cl₂ (80 mL)中的溶液中加入三氟化硼二乙基醚化物(0.25 mL, 1.97 mmol)。在室温下, 把生成的混合物搅拌过夜(18 h)。加入饱和碳酸氢钠溶液(30 mL)、盐水(50 mL)和 EtOAc (300 mL), 分离各层。用 EtOAc (2 x 100 mL)提取水溶液, 干燥(MgSO₄)合并的有机溶液, 过滤, 真空浓缩, 得到黄色的油。快速层析(5-20% EtOAc/CH₂Cl₂), 得到为油的 **30c** (2.00 g, 4.39 mmol, 41%)。

步骤 B:



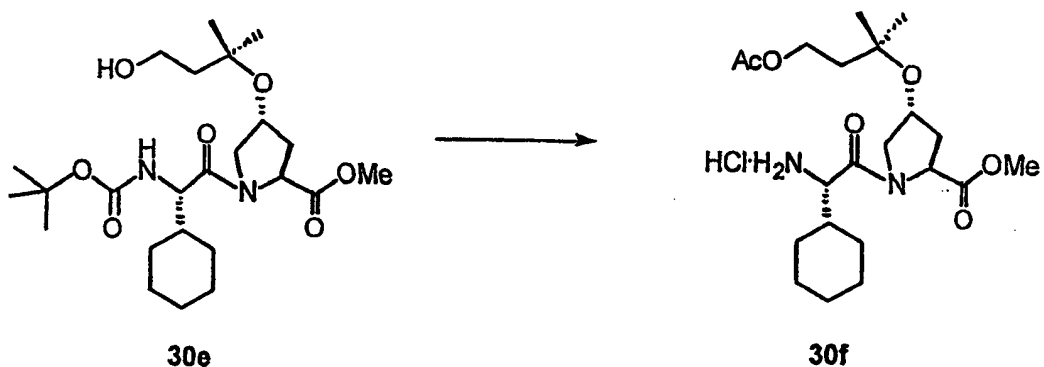
按照实施例 1 步骤 G 的方法,从 **30c** 定量制备所需的化合物 **30d**。

步骤 C:



- 5 按照实施例 1 步骤 D 的方法,从 **30d** 和 Boc-环己基甘氨酸-OH 制备所需的化合物 **30e**。快速层析(3-5% MeOH/CH₂Cl₂), 得到 **30e** (61%)。

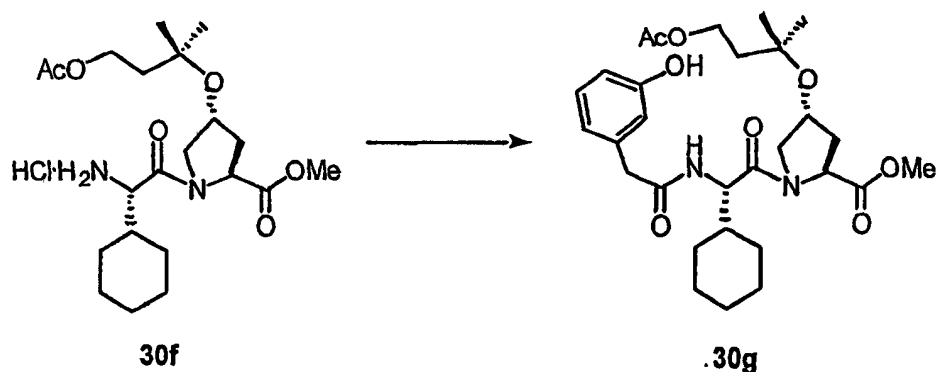
步骤 D:



10

在室温下,将 **30e** 和 2 N HCl 在二噁烷和 EtOAc (1:1)中的溶液搅拌 3 小时,之后,真空浓缩。该产物无须进一步纯化即可用于下一步骤反应。

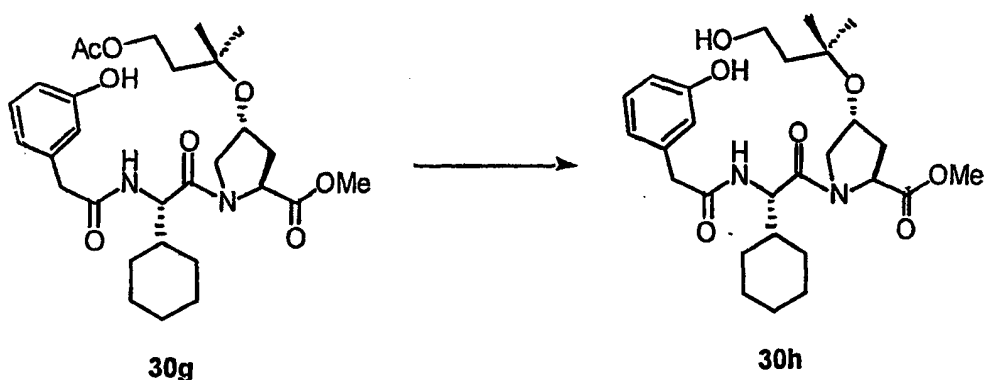
步骤 E:



按照实施例 1 步骤 F 的方法，自 **30f** 制备所需的化合物 **30g**。快速层析(2-5% MeOH/CH₂Cl₂)，得到 **30g** (48%, 2 步)。

5

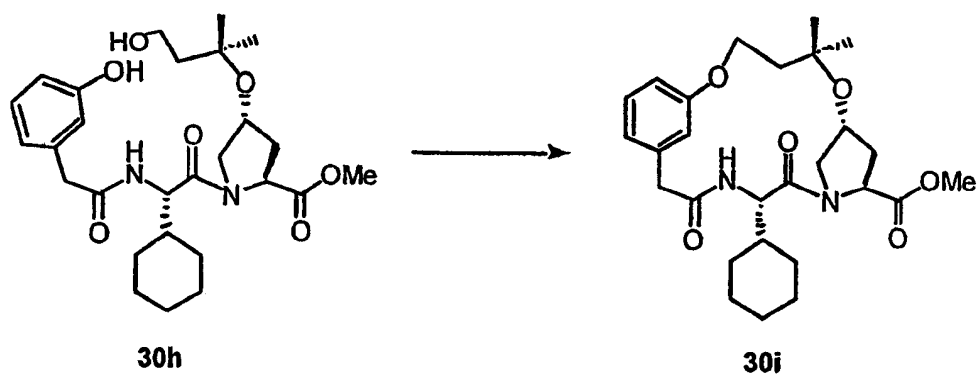
步骤 F:



在室温下，剧烈搅拌 **30g** (700 mg, 1.28 mmol)和碳酸钾(530 mg, 3.84 mmol)在无水甲醇(80 mL)中的混合物。经 TLC 监测反应进展。3 小时后，真空浓缩，之后，加入 EtOAc (200 mL)和水(100 mL)，并分离各层。用 EtOAc (2 x 100 mL)提取水溶液。合并有机溶液，干燥 (MgSO₄)，过滤，真空浓缩。该产物无须进一步纯化即可用于下一步骤反应。

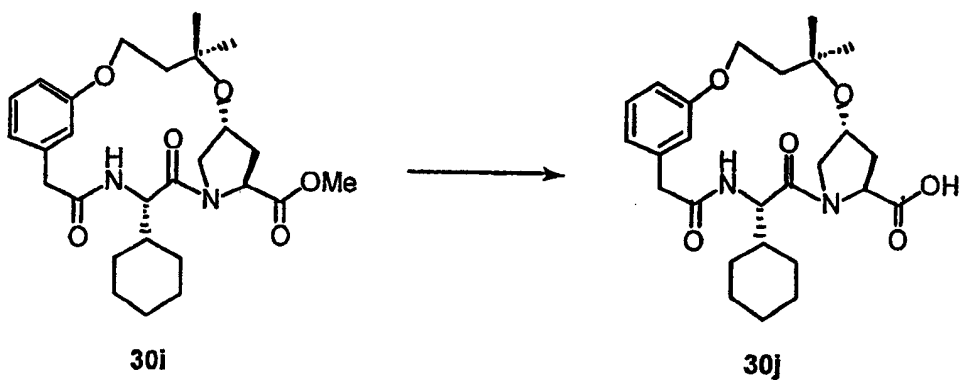
10

步骤 G:



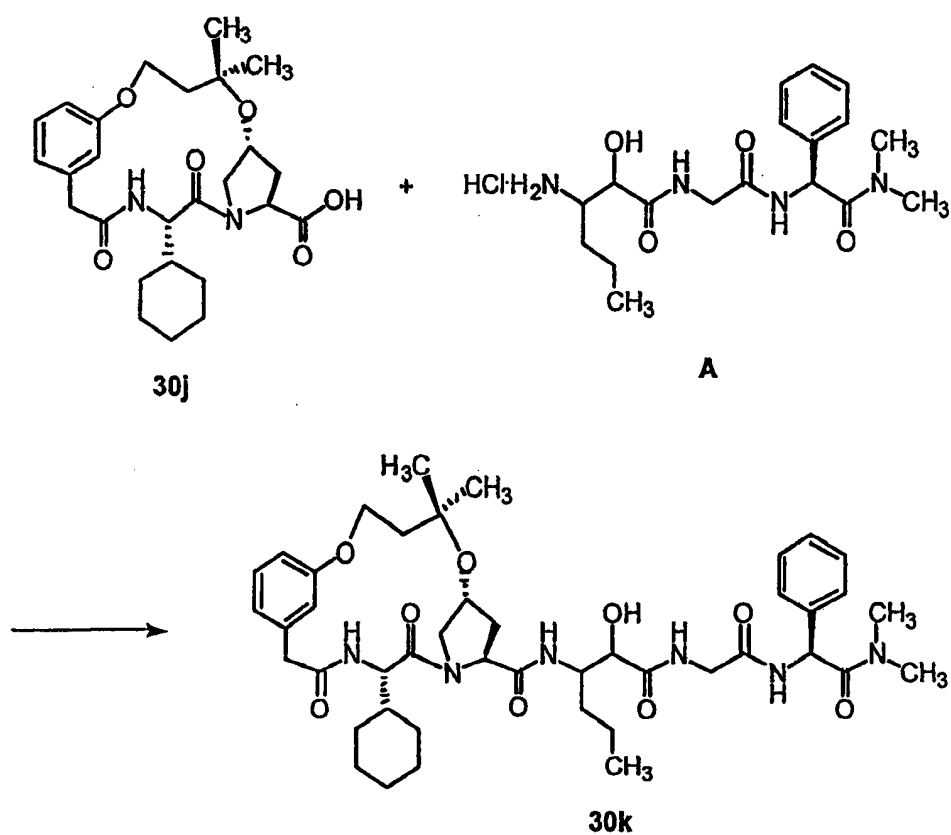
按照实施例 1 步骤 H 的方法, 从 **30h** 制备所需的化合物 **30i**。

5 步骤 H:



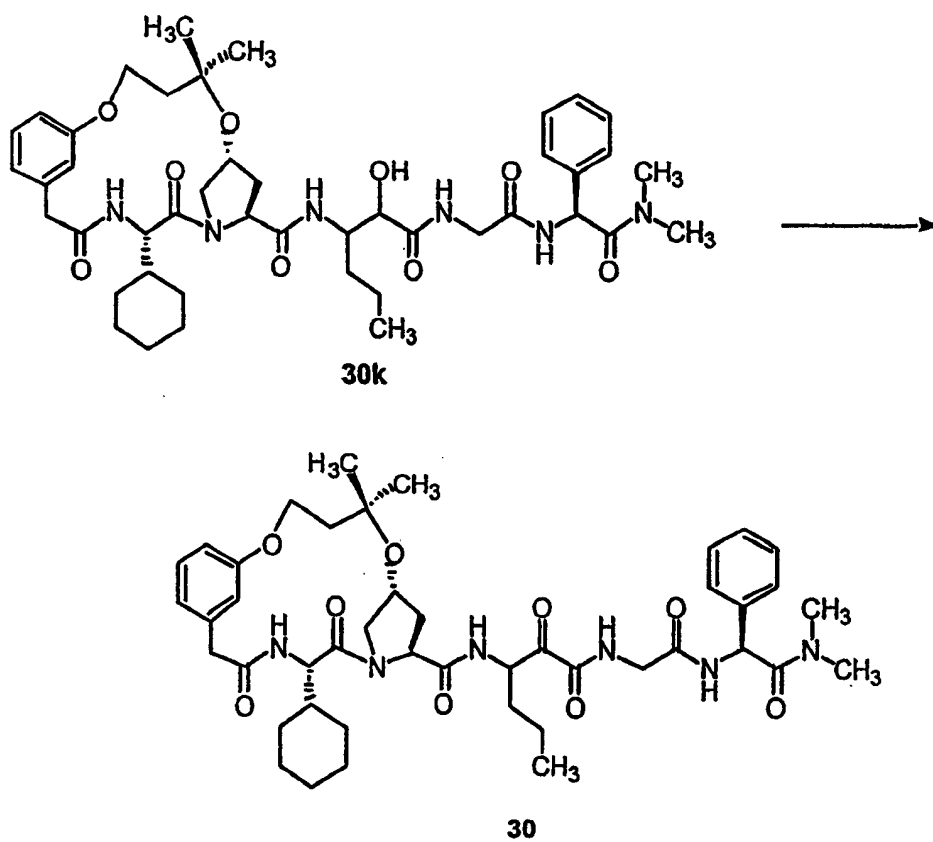
按照实施例 1 步骤 I 的方法, 从 **30i** 制备所需的化合物 **30j** (23%, 3 步)。

步骤 I:



按照实施例 1 步骤 J 的方法, 从 **30j** 制备所需的化合物。快速层析(3-6% MeOH/CH₂Cl₂), 得到 **30k** (58%)。

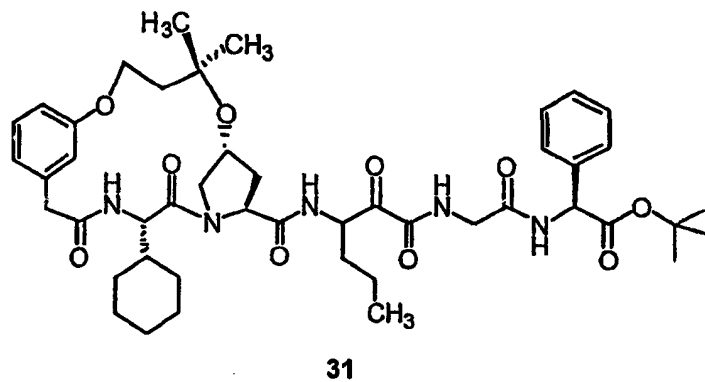
步骤 J:



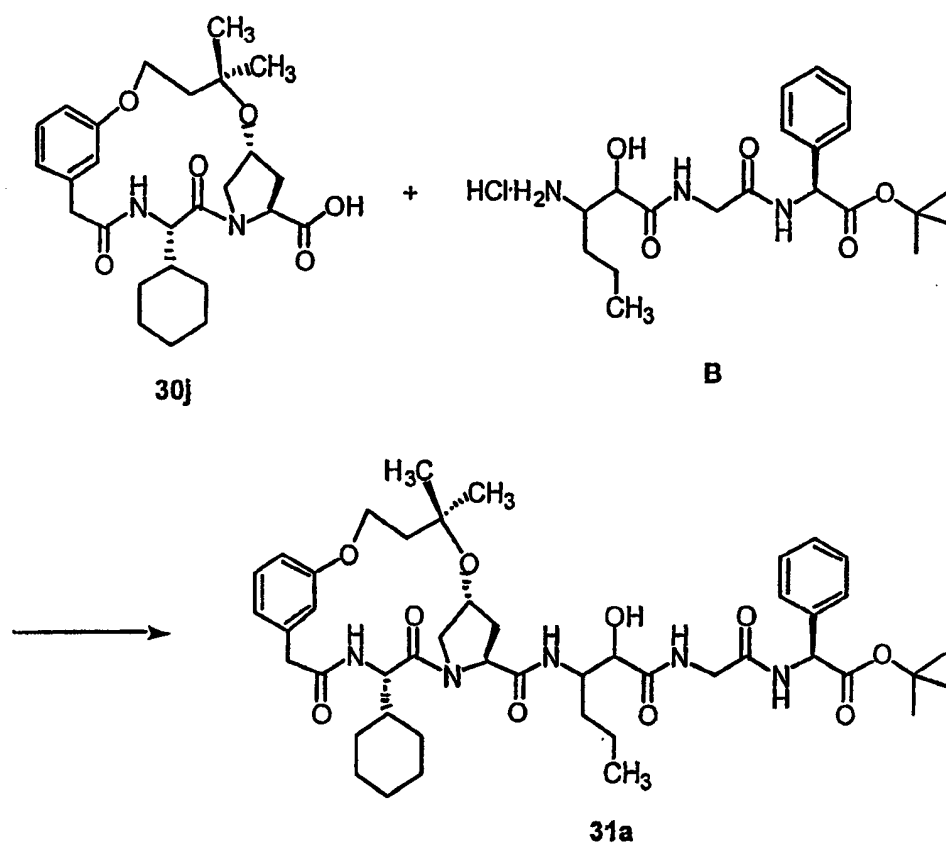
按照实施例 1 步骤 K 的方法, 从 **30k** 制备所需的化合物 **30**。快速层析(3-5% MeOH/CH₂Cl₂), 得到为不可分离的非对映体混合物的 **30**。

5

实施例 31: 化合物 31 的制备:

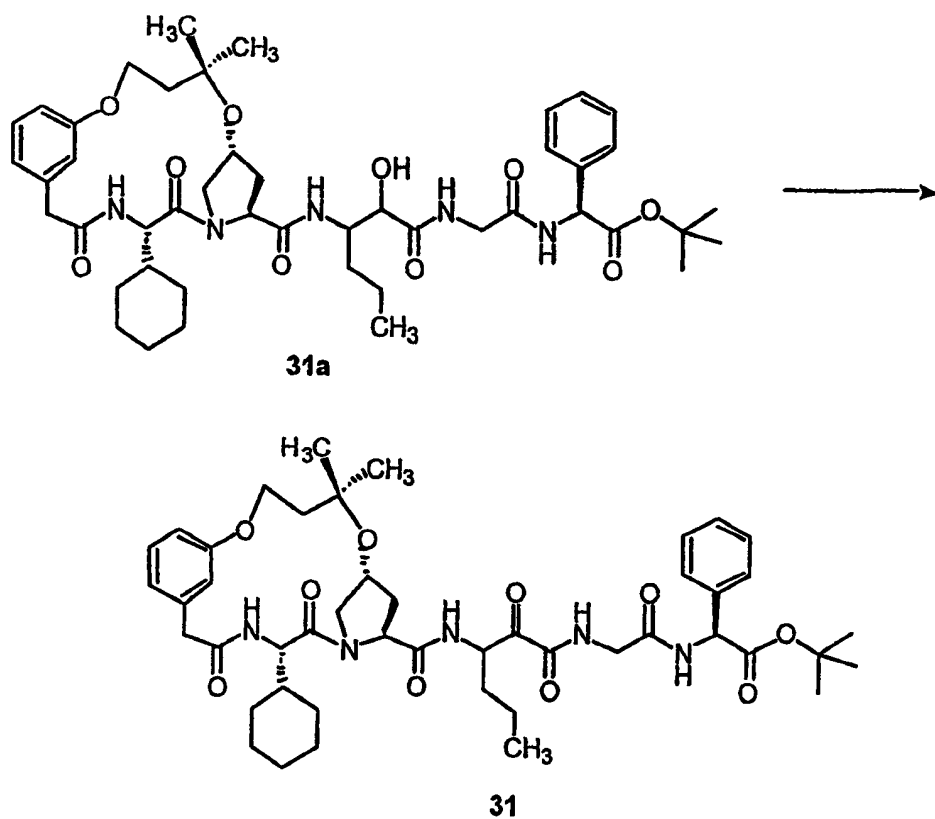


步骤 A:



按照实施例 1 步骤 J 的方法，从 **30j** 和 **B** 制备所需的化合物。快速层析(2-5% MeOH/CH₂Cl₂)，得到 **31a** (73%)。

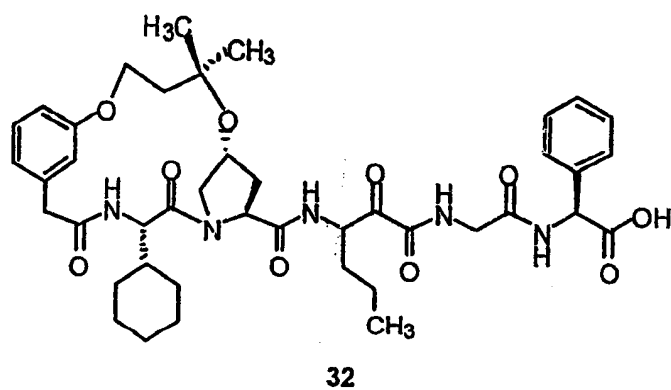
步骤 B:



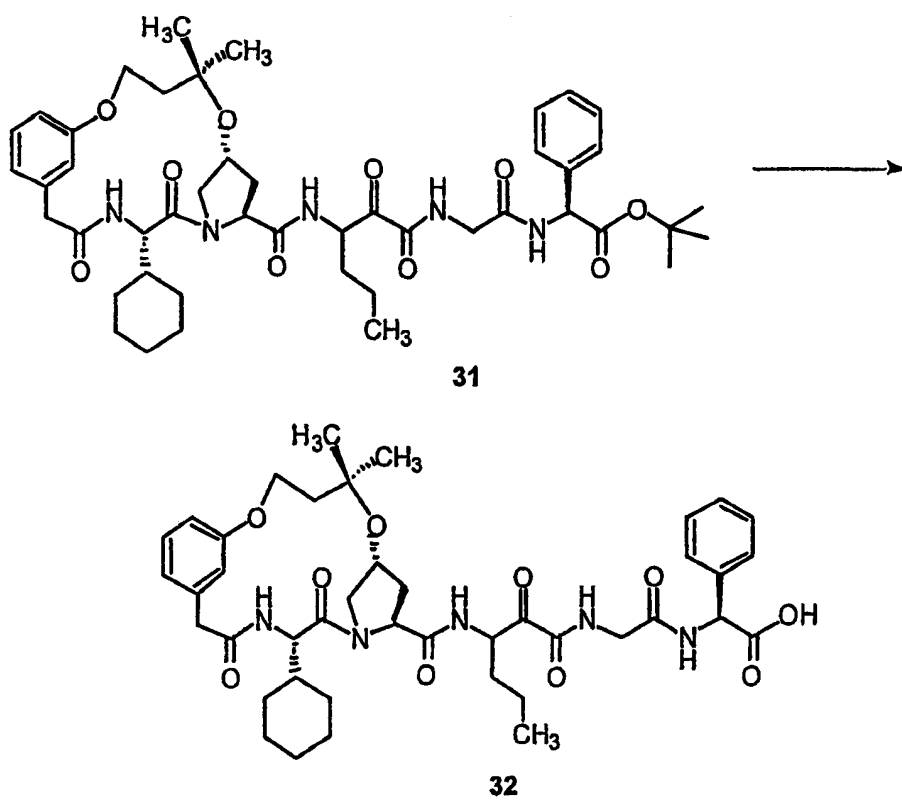
按照实施例 1 步骤 K 的方法, 从 **31a** 制备所需的化合物。快速层析(2-5% MeOH/CH₂Cl₂), 得到为不可分离的非对映体混合物的 **31**。

5

实施例 32: 化合物 32 的制备:

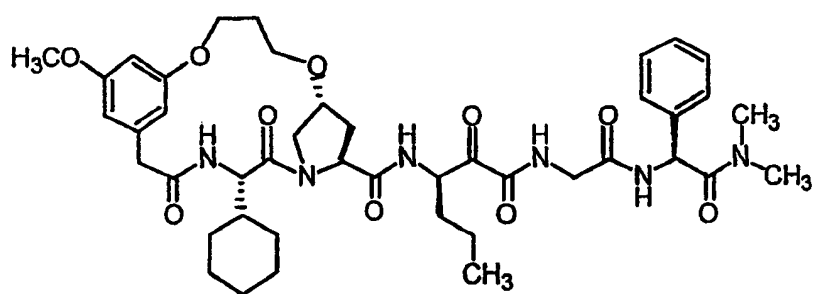


步骤 A:

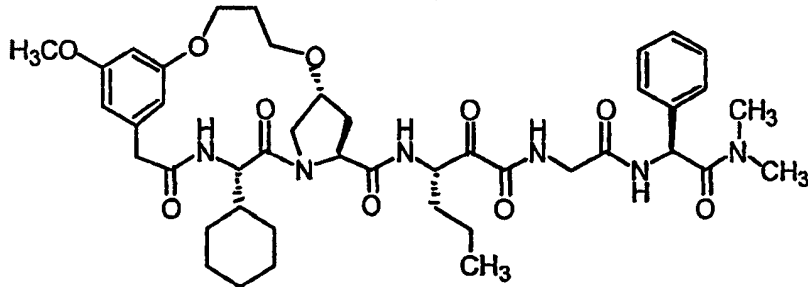


按照实施例 3 步骤 A 的方法，从 **31** 制备所需的化合物 **32**。

实施例 33: 化合物 33 的制备:

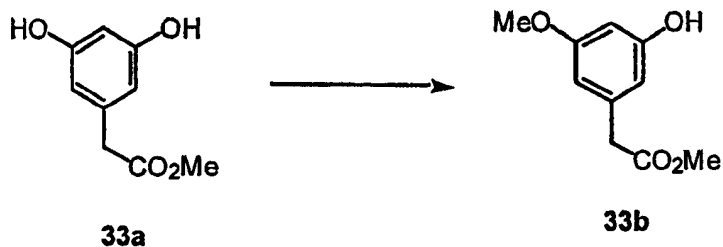


33A



33B

步骤 A:



33a

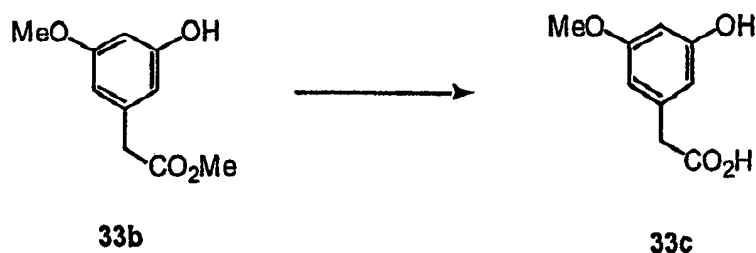
33b

5

将 3,5-二羟基苯基乙酸甲酯(**33a**)(5.0 g, 27.4 mmol)、碘甲烷(4.6 g, 32.9 mmol)、碳酸钾(5.69 g, 41.2 mmol)在 DMF (30 mL)中的悬浮液加热至 55℃并搅拌过夜。冷却至室温后,加入饱和碳酸氢钠水溶液(100 mL)和 EtOAc (200 mL),并分离各层。用 EtOAc (2 x 100 mL)提取水溶液。干燥(MgSO₄)合并的有机溶液,过滤,真空浓缩。快速层析(2-5% MeOH/CH₂Cl₂),得到为白色液体的 **33b** (1.11 g, 29%)。

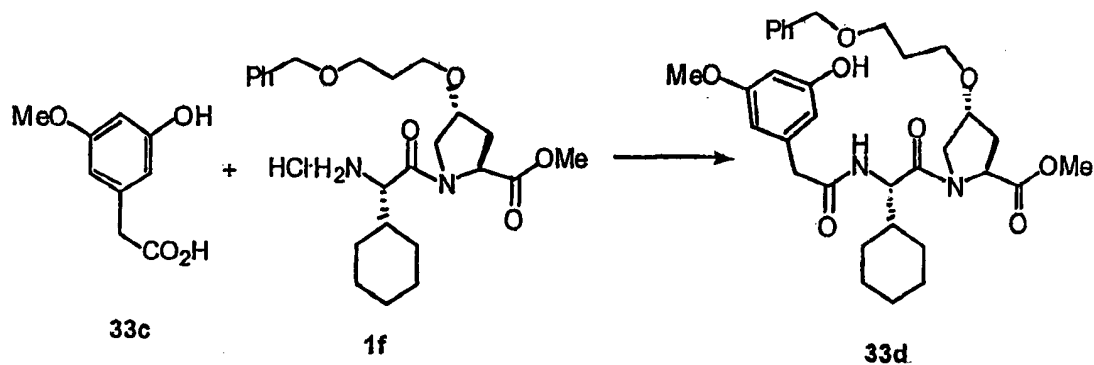
10

步骤 B:



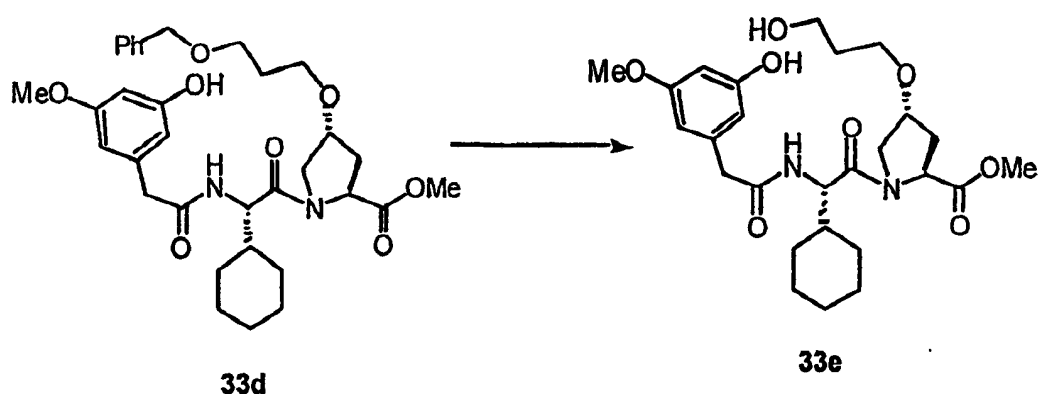
在室温下, 将氢氧化锂水溶液(0.342 g 在 10 mL H₂O 中)加入到甲酯 **33b** 在 THF (10 mL)和甲醇(10 mL)中的溶液中。经 TLC 监测反应进展。4 小时后, 真空除去挥发物, 加入 EtOAc (150 mL)和水(30 mL)并把水溶液酸化至 pH = 1, 用固体氯化钠饱和。分离这些层后, 用 EtOAc (2 X 150 mL)提取水层。合并有机溶液, 用硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩, 得到 **33c** (1.6 g)。

10 步骤 C:



按照实施例 1 步骤 F 的方法, 从 **33c** 和 **1f** 制备所需的化合物 **33d**。快速层析(2-5% MeOH/CH₂Cl₂), 以 90%收率得到 **33d**。

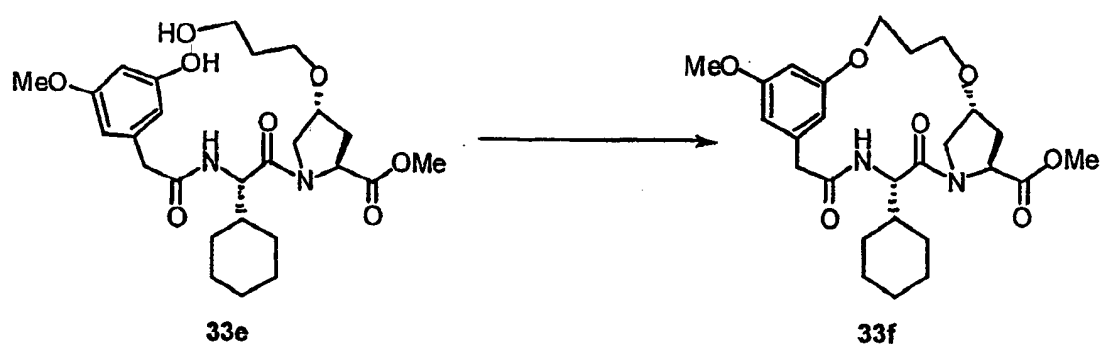
步骤 D:



按照实施例 1 步骤 G 的方法, 从 **33d** 制备所需的化合物 **33e**。
快速层析(2-5% MeOH/CH₂Cl₂), 以 56%收率得到 **33e**。

5

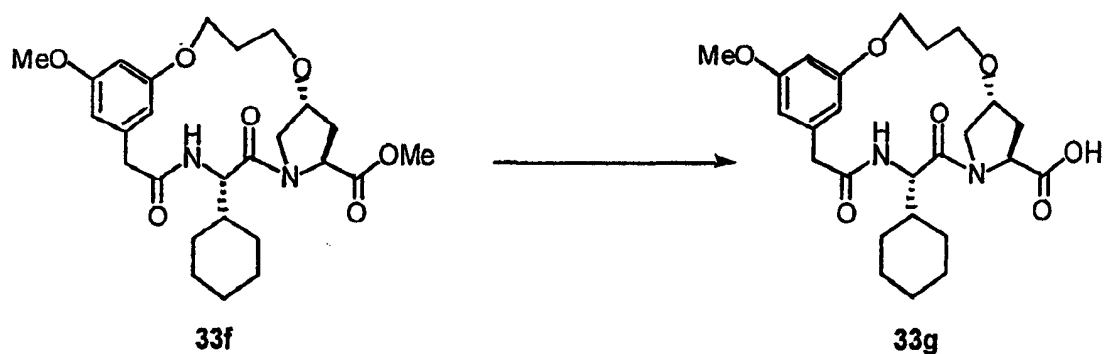
步骤 E:



按照实施例 1 步骤 H 的方法, 从 **33e** 制备所需的化合物 **33f**。快
速层析(2-5% MeOH/CH₂Cl₂), 得到为含有三苯基膦氧化物的混合物的
33e, 无须进一步纯化即可用于下一步骤反应。

10

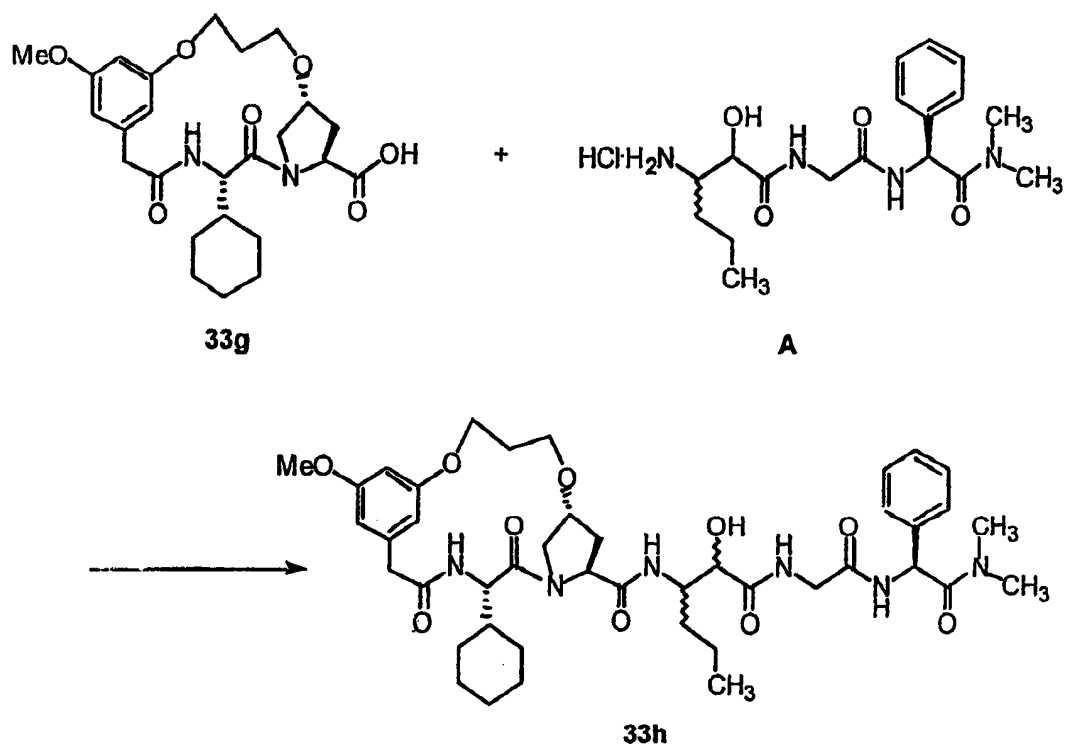
步骤 F:



按照实施例 1 步骤 I 的方法, 自 **33f** 制备所需的化合物 **33g**, 收率 45% (2 步)。

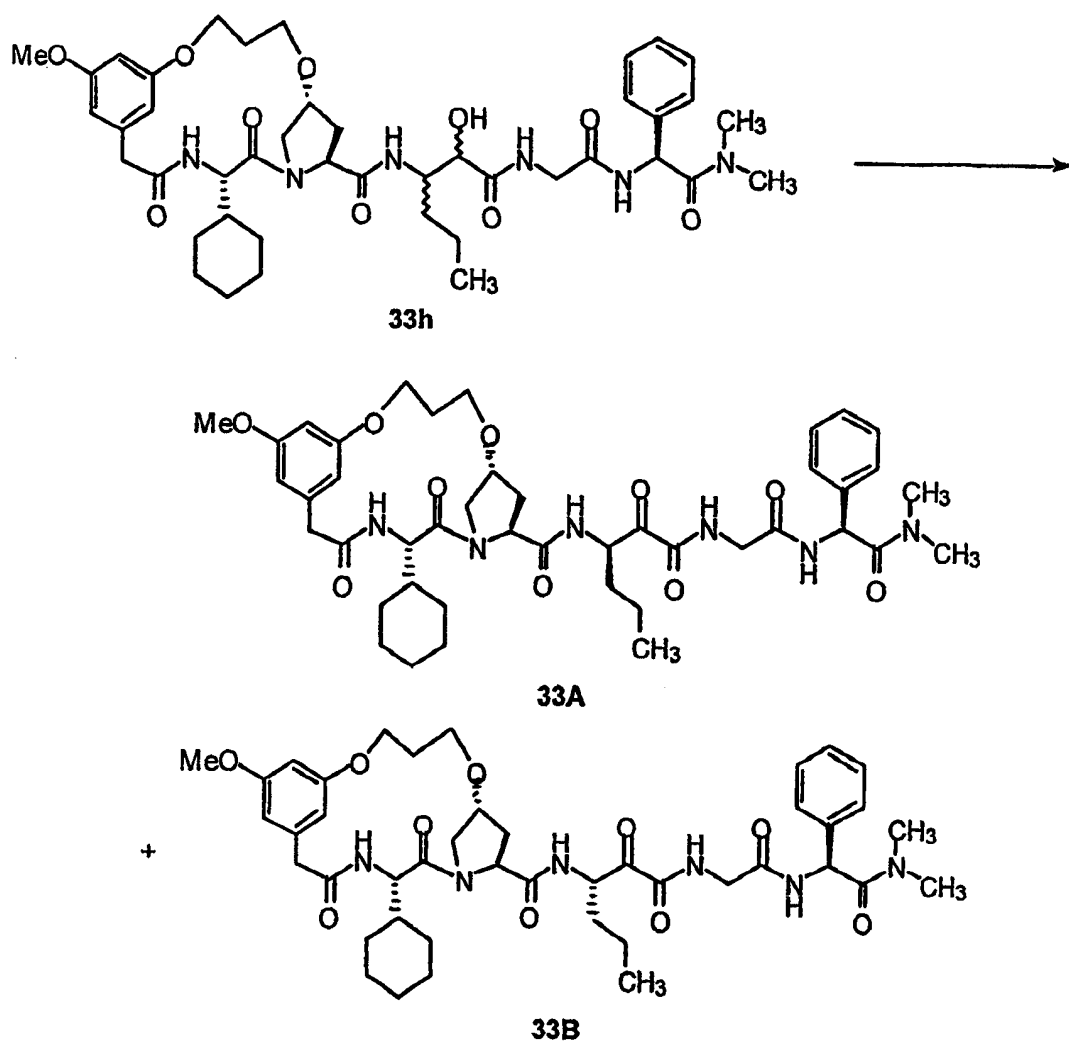
5

步骤 G:



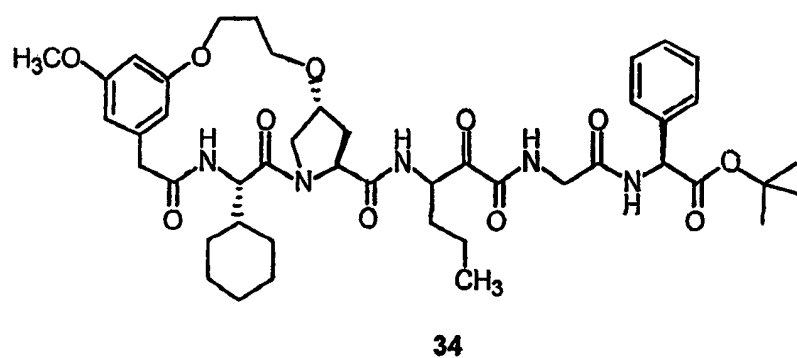
按照实施例 1 步骤 J 的方法, 自 **33g** 和 **A** 制备所需的化合物 **33h**。

步骤 H:

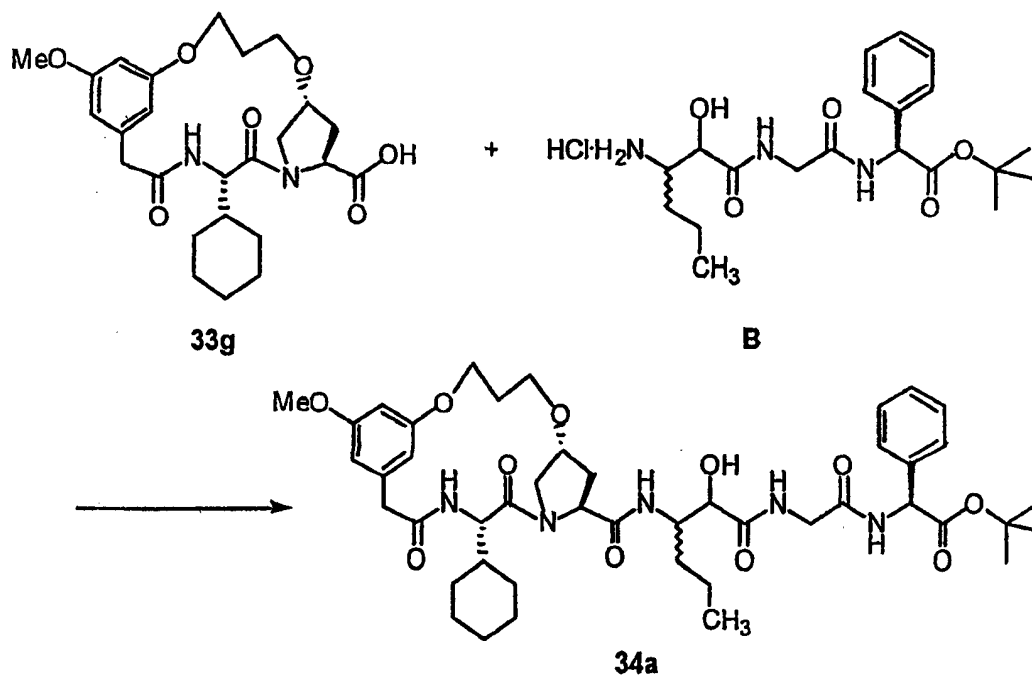


按照实施例 1 步骤 K 的方法，自 **33h** 制备所需的化合物。

实施例 34: 化合物 34 的制备:



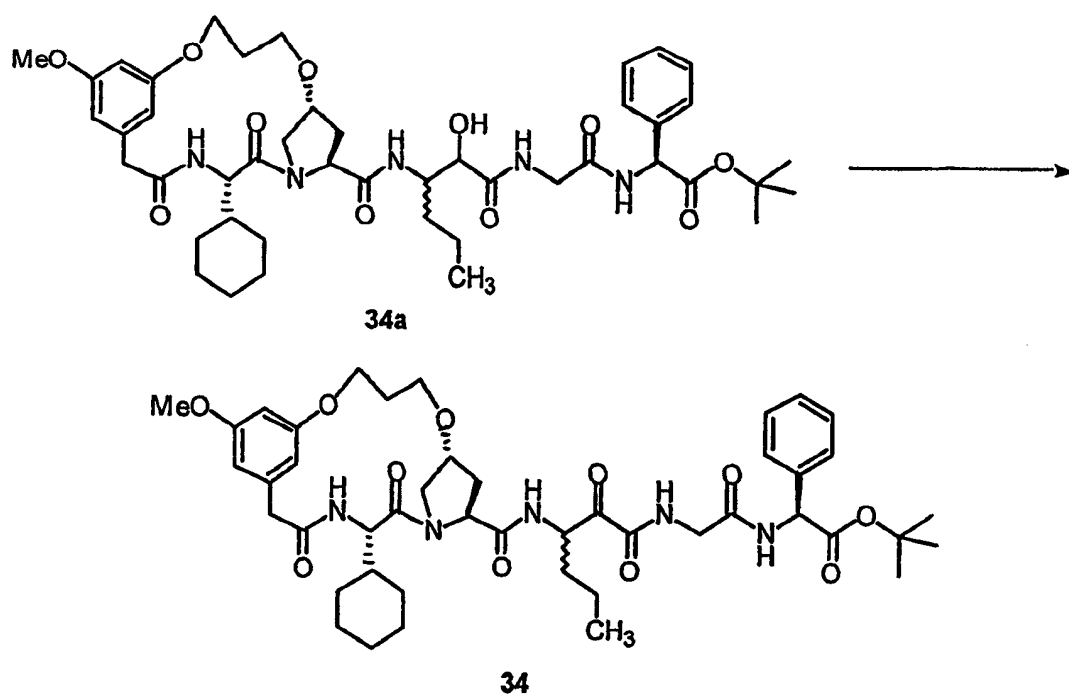
步骤 A:



5

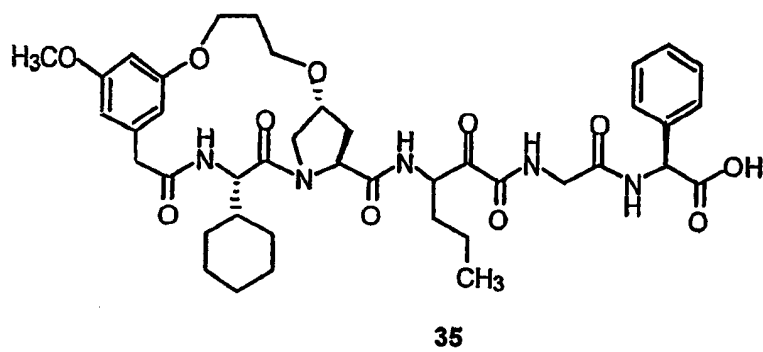
除了用胺 **B** 替代胺 **A** 以外, 按照实施例 1 步骤 J 的方法, 制备所需的化合物 **34a**。该产物作为不可分离的非对映体混合物得到。

步骤 B:

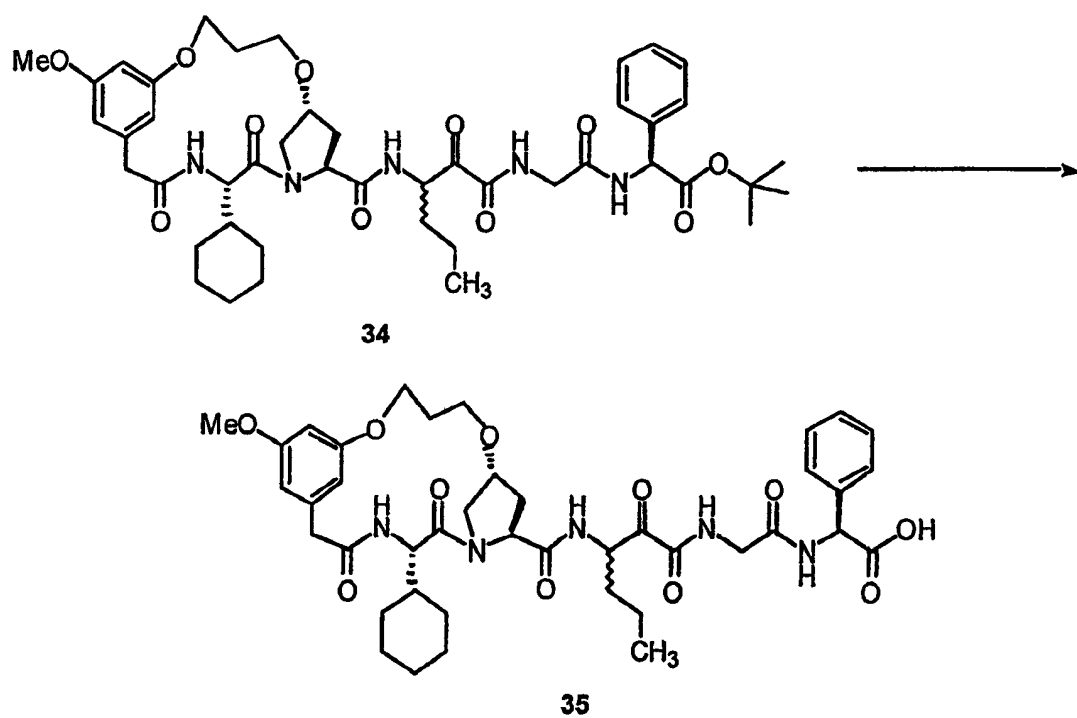


按照实施例 1 步骤 K 的方法，从 **34a** 制备所需的化合物。

5 实施例 35: 化合物 35 的制备:

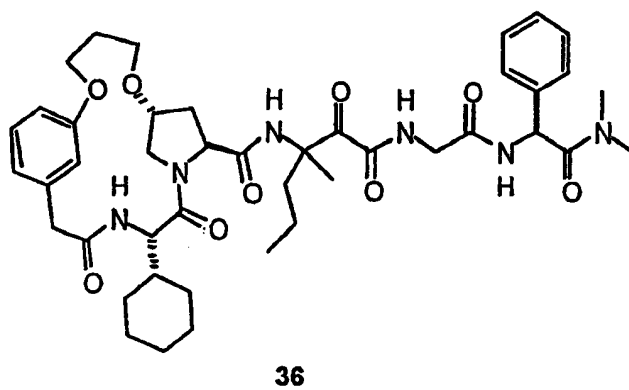


步骤 A:

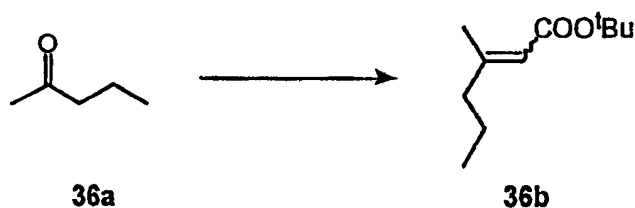


按照实施例 3 步骤 A 的方法，从 **34** 制备所需的化合物 **35**。

5 实施例 36: 化合物 **36** 的制备:

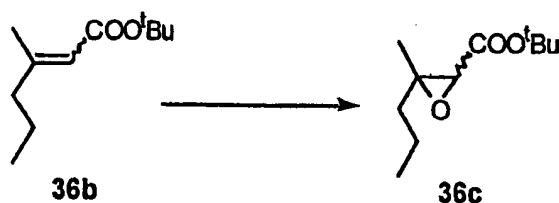


步骤 A:



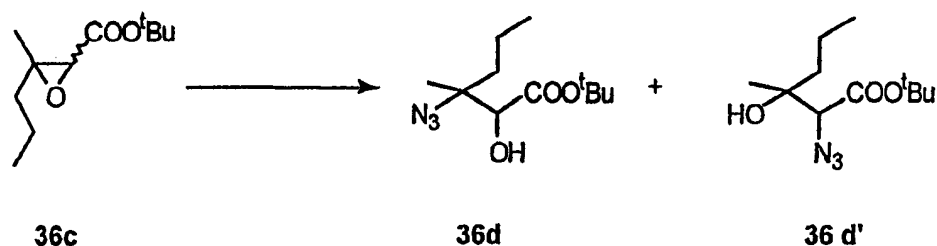
5 将膦酰基乙酸叔丁酯(15.1 g, 50.0 mmol)在干燥 THF 中的溶液冷却至 0℃, 并用 NaH (60%, 2.5 g, 62.5 mmol, 1.25 当量)处理且搅拌 20 分钟。用 2-戊酮(4.3 g, 50 mmol)处理反应混合物并在室温下搅拌 24 小时。用 NaHCO₃ 水溶液稀释反应混合物并提取进入乙醚(3 x 100 mL)中。用盐水提取合并的乙醚层, 干燥(MgSO₄), 真空浓缩, 蒸馏, 得到 8.2 g (88%)的 36b (立体化学比率 2:1)。

10 步骤 B:



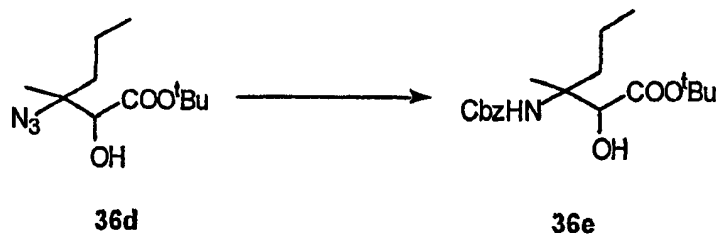
15 将 36b (5.0 g, 27.1 mmol)的溶液溶于二氯甲烷中, 并用 4,4'-硫代双-(2-叔丁基-5-甲基苯酚)(100 mg)和 MCPBA (60-80%, 7.76 g, 27.1 mmol)处理且在回流下加热 4 小时。真空浓缩反应混合物并用乙醚(200 mL)稀释残余物。用饱和 Na₂S₂O₃ 水溶液、NaOH 水溶液和盐水(100 mL)把醚层洗涤两次。真空浓缩反应混合物, 得到 4.2 g (77%)的 36c, 它可原样直接用于下一步骤。

步骤 C:



5 用 NaN₃ (12 g, 184 mmol)和 NH₄Cl (9.6 g, 184 mmol)处理环氧化物(4.0 g, 18.4 mmol)在干燥乙醇(100 mL)中的溶液并在回流下加热 36 小时。用水稀释反应混合物,并用乙醚(300 mL)提取反应混合物。用 Na₂SO₄干燥合并的有机层,浓缩。经 SiO₂层析(EtOAc/己烷 1:19)纯化残余物,得到为无色液体的 1.1 g (28%)的 **36d** 和 731 mg (18%)的 **36d'**。

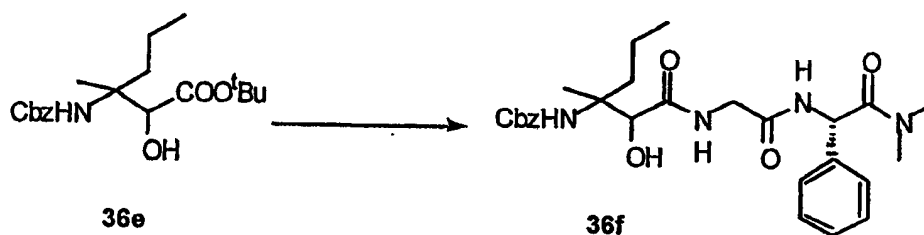
10 步骤 D:



15 将叠氮化物 **36d** (2.1 g, 8.7 mmol)的溶液溶于 CH₃OH (100 mL)中,用 Pd/C (50 mg)处理且氢化(40 磅/平方英寸)24 小时。通过硅藻土垫过滤反应混合物,真空浓缩滤液。残余物无须进一步纯化即可用于下一步骤反应。

在 -78℃ 下,将 Cbz-Cl (1.48 g, 8.7 mmol, 1.23 mL)的溶液滴加到胺和 Et₃N (878 mg, 1.25 mL)在 CH₂Cl₂ (30 mL)中的混合物中。把反应混合物温热至室温,真空浓缩。将残余物在 SiO₂上(EtOAc/己烷 8:2)层析为无色固体的 **36e** (450 mg, 15%)。

步骤 E:



在室温下, 将 **36e** (450 mg, 1.29 mmol) 在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{TFA}$ (10 mL, 1:1) 中的溶液搅拌 4 小时。真空浓缩反应混合物, 得到酸(250 mg), 它无须进一步纯化即可用于下一步骤。

在 -20°C 下, 将通过水解 **36e** 所得到的酸溶于 CH_2Cl_2 (10 mL) 中并用 H-甘氨酸酰基-苯基甘氨酸酰基(glycycl)- $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ (281 mg, 0.93 mmol)、HOObt (208 mg, 1.27 mmol, 1.25 当量)、EDCI (244 mg, 1.27 mmol) 和 NMM (343 mg, 3.4 mmol, 490 μL) 处理。把反应混合物在冰箱中贮存 24 小时并用 HCl 水溶液(1 M, 50 mL)稀释。用 CH_2Cl_2 (3 x 50 mL) 提取反应混合物。用 HCl 水溶液(1 M, 100 mL)、 NaHCO_3 水溶液(1 M, 100 mL)、盐水(100 mL)提取合并的有机层, 干燥(MgSO_4), 过滤, 真空浓缩, 且在 SiO_2 上层析(丙酮/己烷 1:3), 得到为无色固体的 **36f** (330 mg, 75%)。

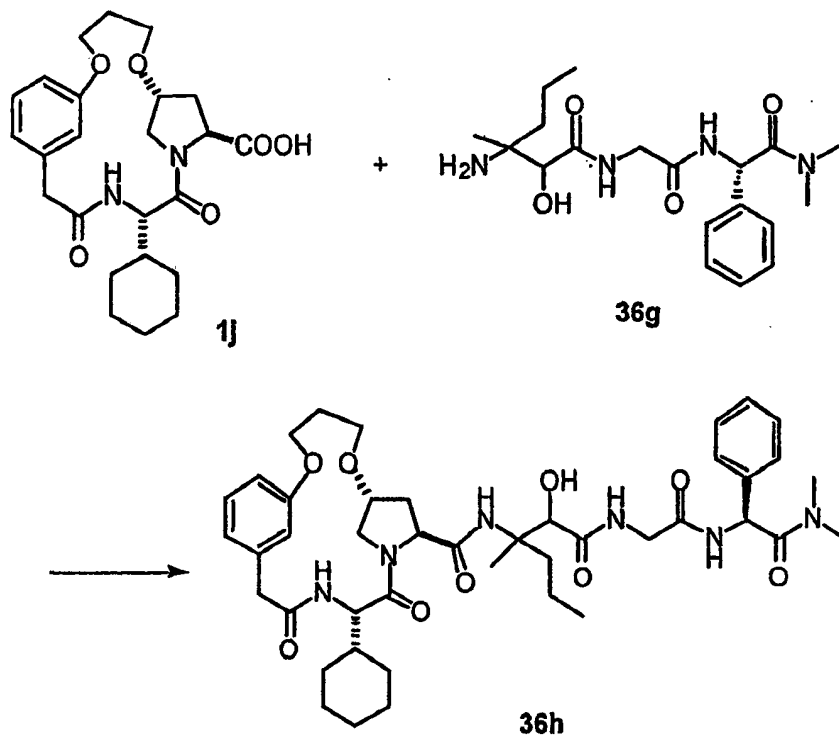
步骤 F:



将 **36f** 的溶液溶于 CH_3OH (20 mL) 中并用 Pd/C (10 mol%, 20 mg) 处理。在 40 磅/平方英寸下, 氢化反应混合物 12 小时。通过硅藻土

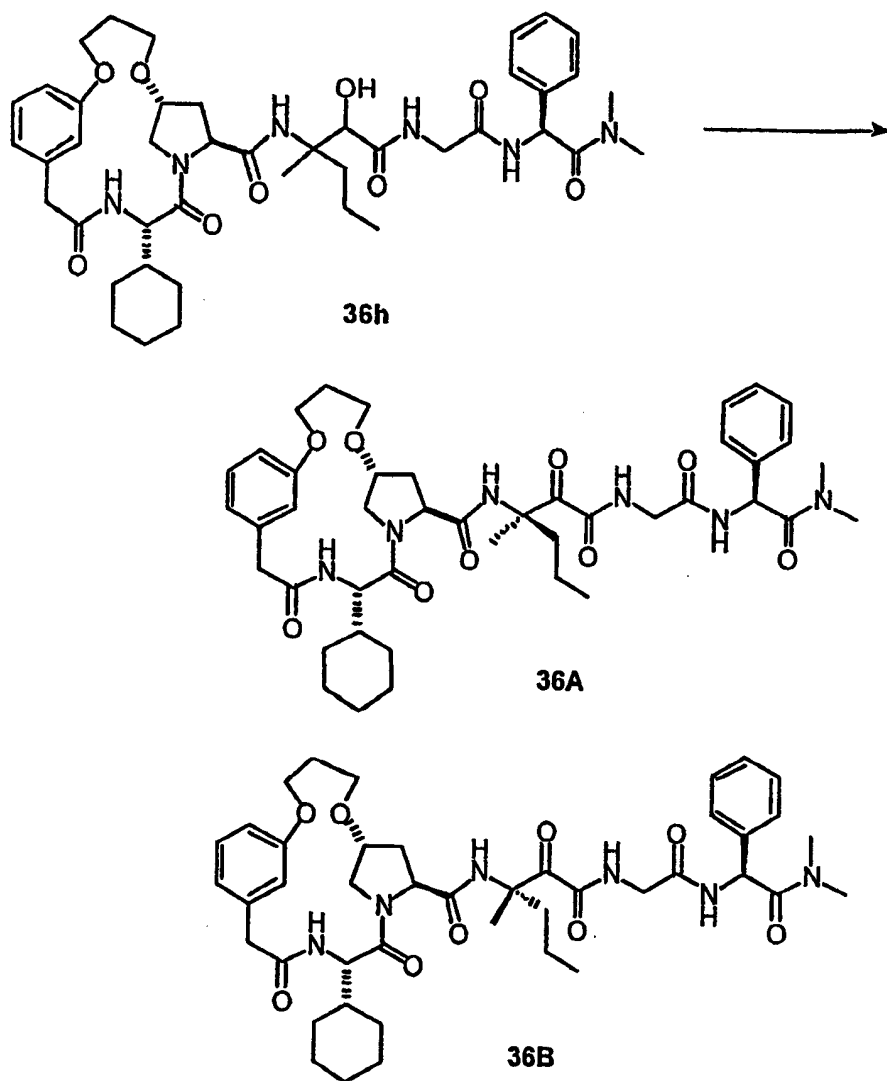
垫过滤反应混合物，真空浓缩滤液，并且直接用于下一步骤。

步骤 G:



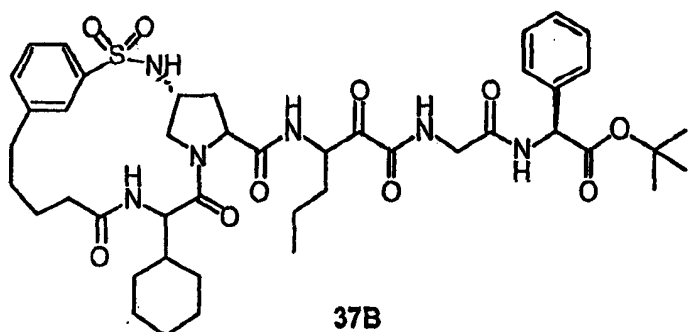
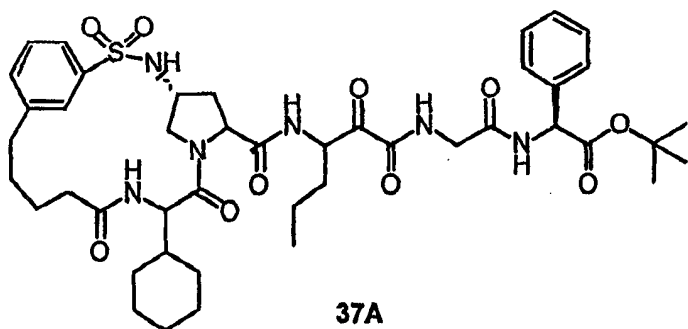
- 5 如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样，合成期望的产物 **36h**。该偶合的物质可直接用于下一步骤用来合成 **36A** 和 **36B**。

步骤 H:

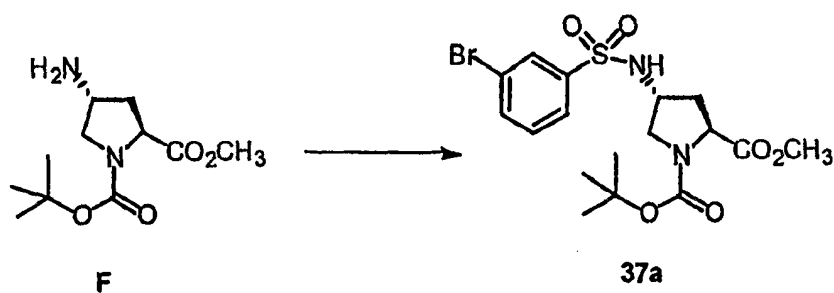


通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物 **36A** 和 **36B**。

实施例 37: 化合物 37 的制备:



步骤 A:



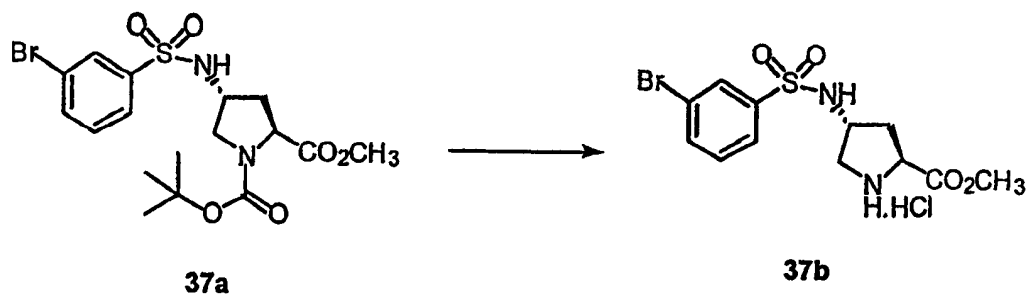
5

向 F (2.3 g, 9.43 mmol) 在二氯甲烷(20 mL)中的冷的(0℃)溶液中加入三乙胺(3.97 mL, 28.28 mmol)、DMAP (几粒结晶)和 3-溴代苯磺酰氯(3.61 g, 14.14 mmol)。把反应混合物在冰箱中(0-5℃)放置过夜。用饱和 NaHCO₃ 和 10%枸橼酸溶液洗涤反应混合物。干燥(Na₂SO₄)有机层, 浓缩。经快速层析纯化残余物, 使用 95/5-90/10 二氯甲烷/EtOAc 洗脱, 得到 2.7 g (62%收率)的 **37a**。HRMS (FAB) C₁₇H₂₄N₂O₆SBr 的

10

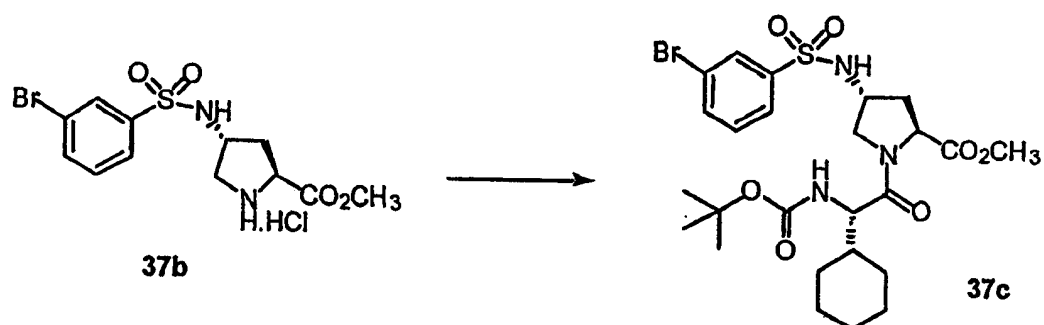
计算值: 465.0518 (M+H)⁺。实测值: 465.0497。

步骤 B:



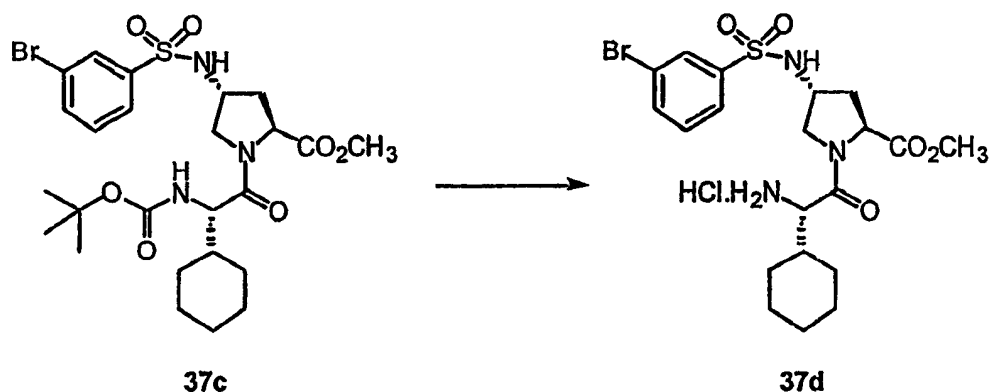
5 通过对实施例 1 步骤 C 描述的方法, 得到所需的产物 **37b**。该粗品物质无须纯化即可用于下一步骤。

步骤 C:



10 通过对实施例 1 步骤 D 描述的方法, 以 97% 收率得到所需的产物 **37c**。处理后, 该物质纯度足以进行下面的步骤。

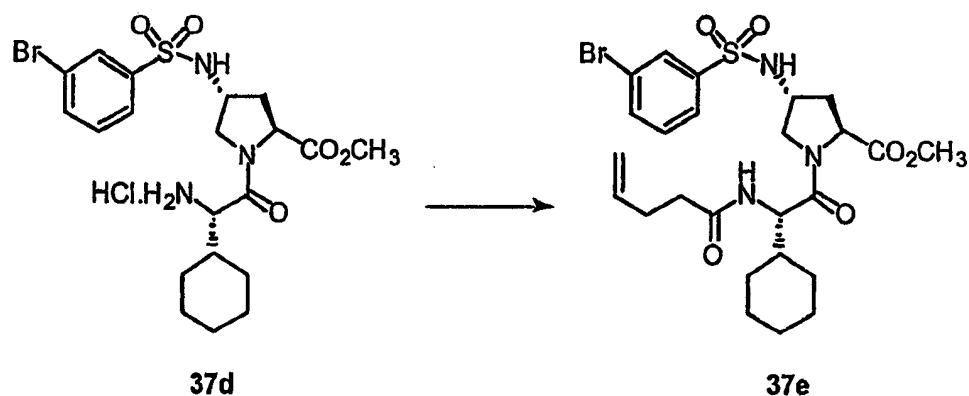
步骤 D:



通过对实施例 1 步骤 E 描述的方法, 得到所需的产物 **37d**。该粗品物质无须纯化即可用于下一步骤。

5

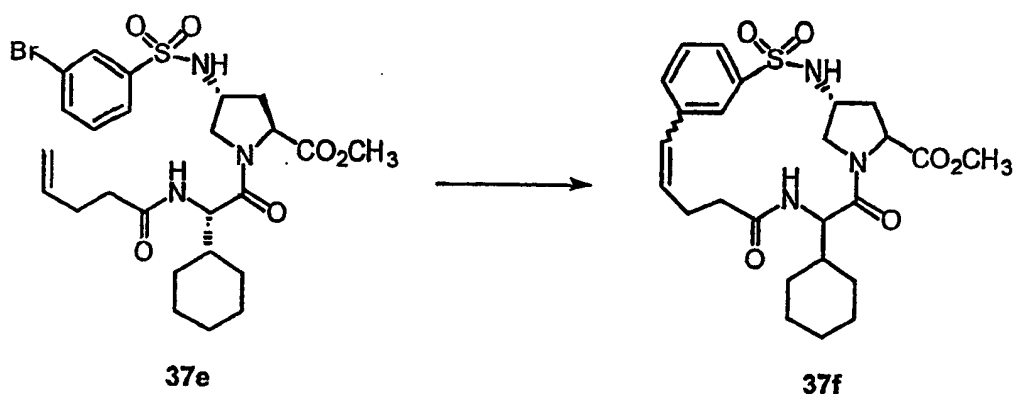
步骤 E:



通过对实施例 1 步骤 F 描述的方法, 使用戊烯酸作为偶合配体, 得到所需的产物 **37e**。经柱层析纯化残余物, 使用 90/10-80/20 二氯甲烷/EtOAc 洗脱, 得到 35%收率的 **37e**。HRMS (FAB) $C_{25}H_{35}N_3O_6SBr$ 的计算值: 586.1409 (M+H)⁺。实测值: 586.1423。

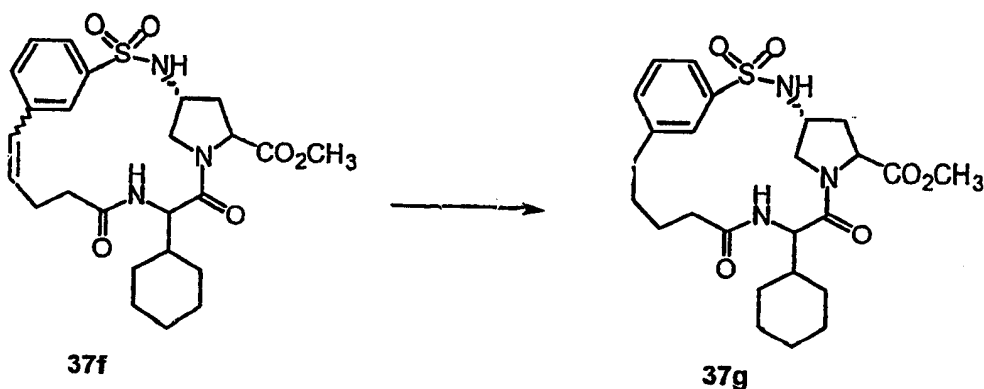
10

步骤 F:



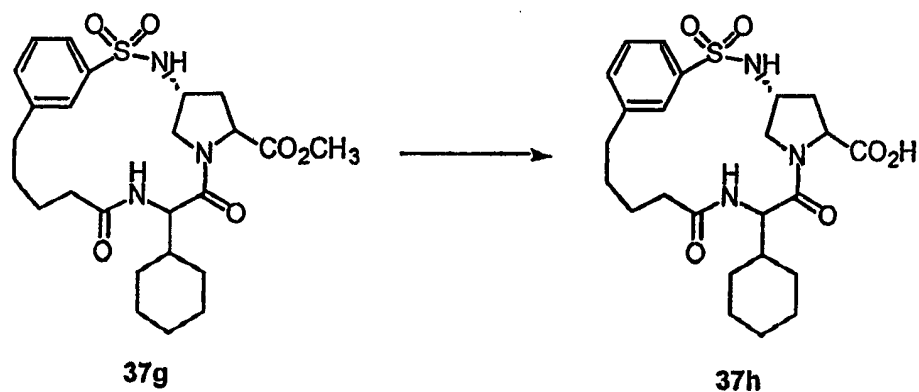
在氮气氛围下，向 **37e** (660 mg, 1.13 mmol) 在 DMF (10 mL) 中的搅拌溶液中加入三乙胺 (3.61 mL, 32.77 mmol)、碳酸钾 (780 mg, 5.65 mmol)、溴化四丁基铵 (730 mg, 2.26 mmol) 和乙酸钨(II) (33 mg, 0.15 mmol)。在 100℃ 下，把混合物加热 2 小时。将反应混合物冷却至室温，用 EtOAc 稀释并用 5% 磷酸溶液洗涤。分离有机层，干燥 (Na₂SO₄) 并浓缩，得到 280 mg (49% 收率) 为非对映体混合物的 **37f**。该物质纯度足以直接用于下一步骤。HRMS (FAB) C₂₅H₃₄N₃O₆S 的计算值：504.2168 (M+H)⁺。实测值：504.2155。

步骤 G:



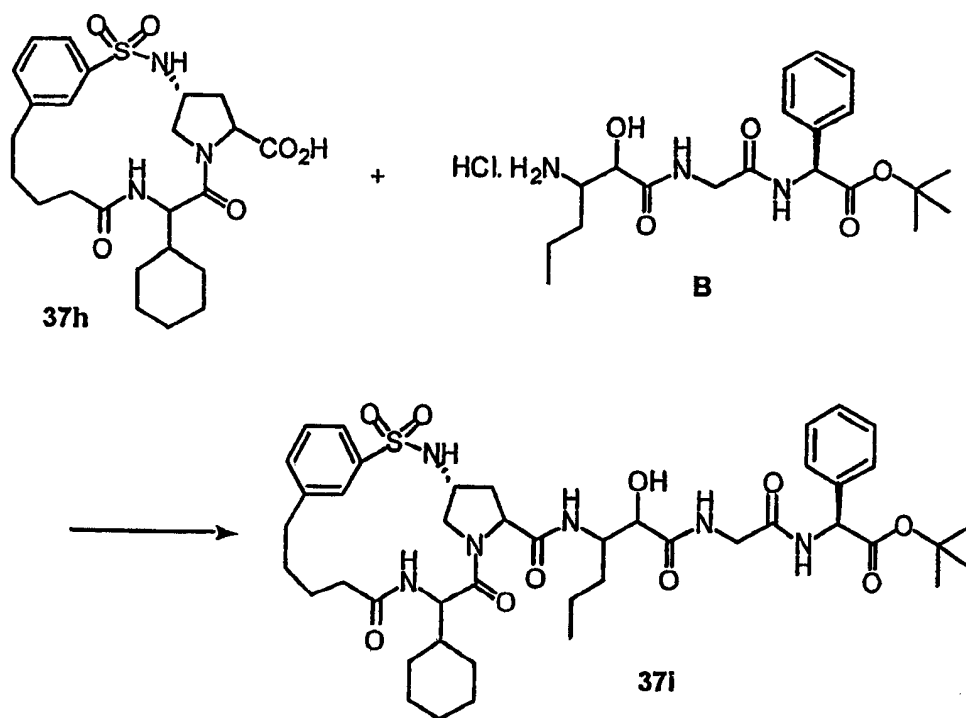
通过对实施例 1 步骤 G 描述的氢化方法, 以 73% 收率得到所需的产物 **37g**。该物质纯度足以直接用于进一步研究。HRMS (FAB) $C_{25}H_{36}N_3O_6S$ 的计算值: 506.2325 ($M+H$)⁺。实测值: 506.2314。

5 步骤 H:



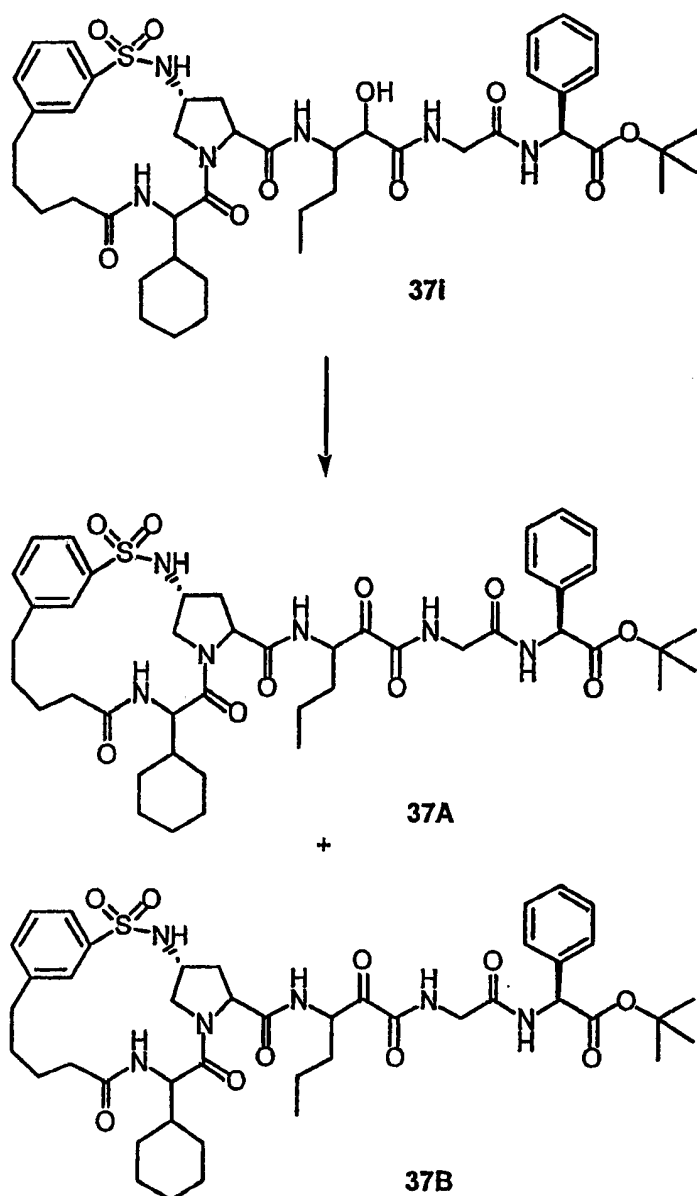
通过对实施例 1 步骤 H 描述的方法, 以 84% 收率得到所需的产物 **37h**。HRMS (FAB) $C_{24}H_{34}N_3O_6S$ 的计算值: 492.2168 ($M+H$)⁺。实测值: 492.2175。

步骤 I:

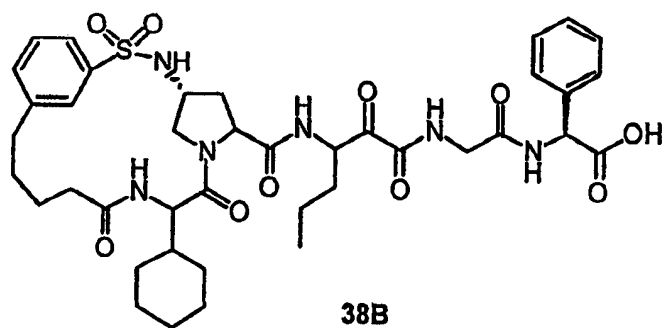
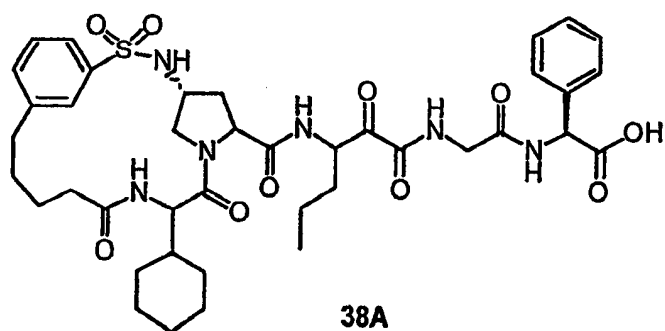


通过对实施例 2 步骤 A 描述的方法，以 90% 收率得到期望的产物 **37i**。该粗品物质纯度足以直接用于进一步研究。HRMS (FAB) $C_{44}H_{63}N_6O_{10}S$ 的计算值: 867.4326 (M+H)⁺。实测值: 867.4342。

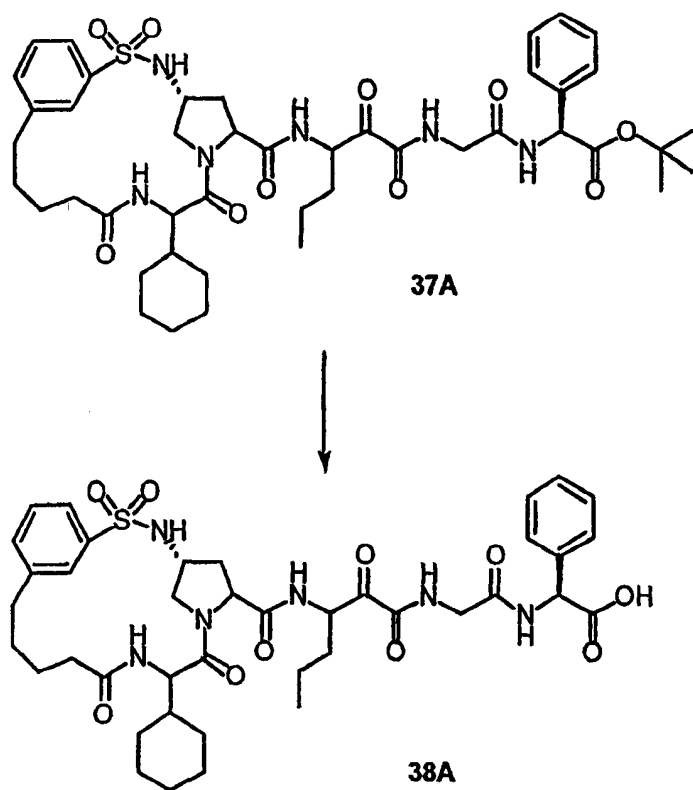
步骤 J:



通过对实施例 2 步骤 B 描述的氧化方法，合成所需的物质 **37A** 和 **37B**。纯化残余物，使用 98/2-96/4 二氯甲烷/MeOH 洗脱，得到为
 5 非对映体混合物的 **37A** (61%，较低极性)和 **37B** (15%，较高极性)。
 HRMS (FAB) $C_{44}H_{61}N_6O_{10}S$ 的计算值: 865.4170 ($M+H$)⁺。实测值:
 865.4190 (**37A**), 865.4181 (**37B**)。

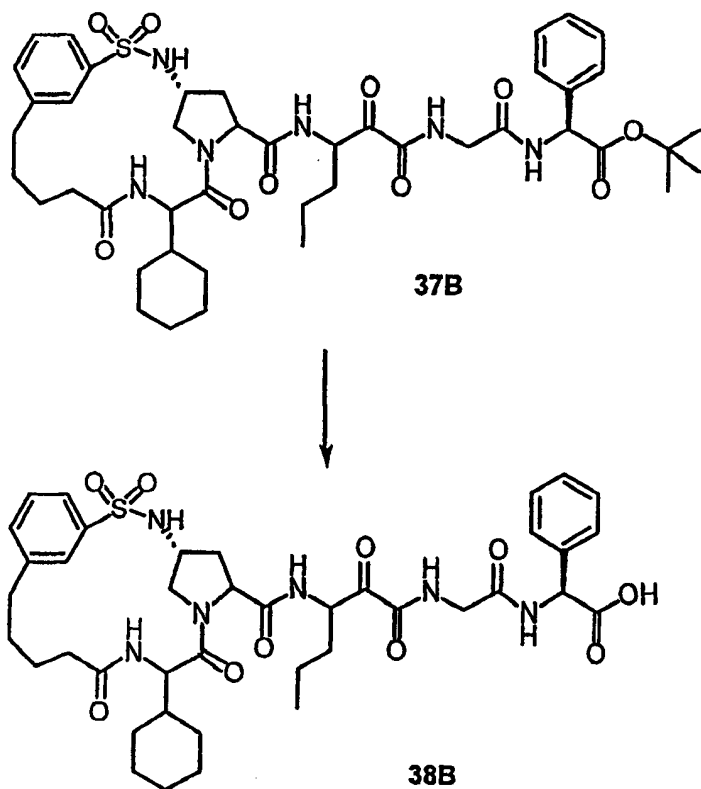
实施例 38: 化合物 38 的制备:

步骤 A:



5 如对实施例 3 步骤 A 描述的那样，合成所需的物质 38A，收率 91%。

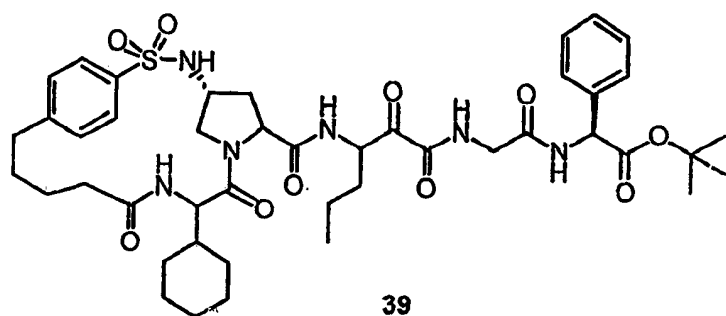
步骤 B:



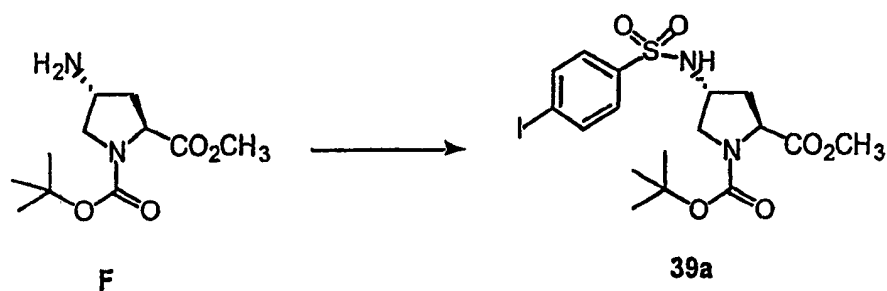
如对实施例 3 步骤 A 描述的那样, 合成所需的物质 **38B**, 收率 83%。HRMS (FAB) $C_{40}H_{53}N_6O_{10}S$ 的计算值: 809.3544 ($M+H$)⁺。实测值: 809.3547。

5

实施例 39: 化合物 39 的制备:

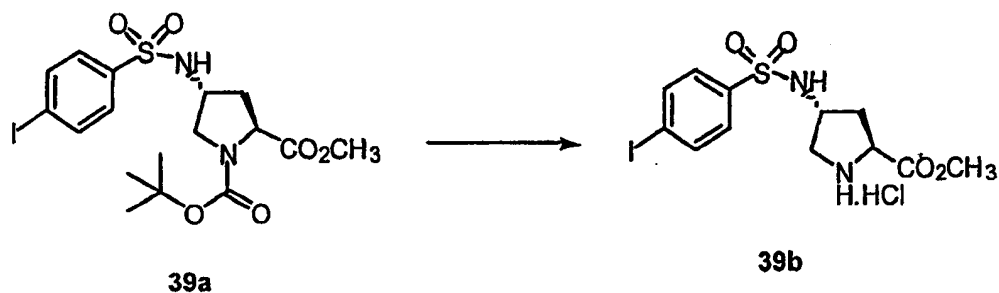


步骤 A:



通过对实施例 37 步骤 A 描述的方法, 使用 4-碘苯磺酰氯替代 3-溴代苯磺酰氯, 得到所需的产物 **39a**。经柱层析纯化残余物, 使用
 5 95/5-90/10 二氯甲烷/EtOAc 洗脱, 得到 75%收率的 **39a**。HRMS (FAB) $C_{17}H_{24}N_2O_6SI$ 的计算值: 511.0400 (M+H)⁺。实测值: 511.0386。

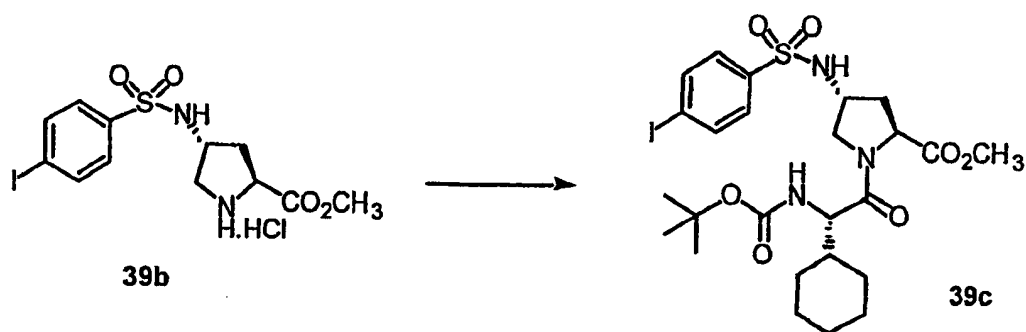
步骤 B:



10

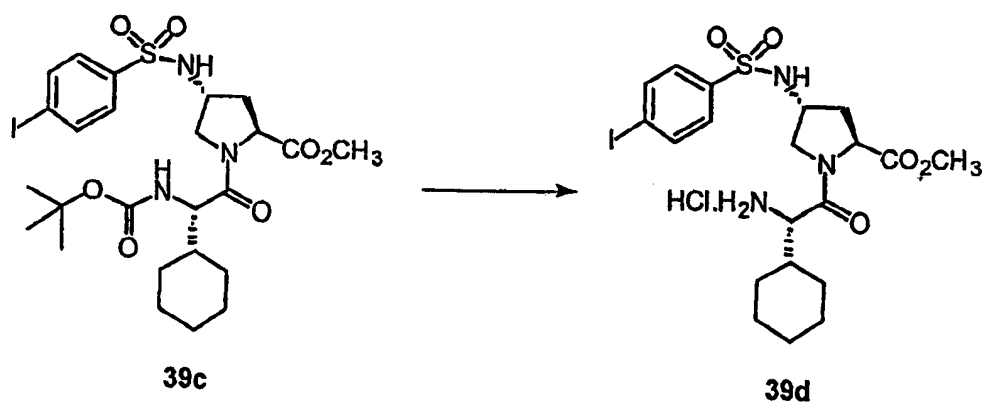
通过对实施例 1 步骤 C 描述的方法, 得到所需的产物 **39b**。该粗品物质无须纯化可直接用于下一步骤。

步骤 C:



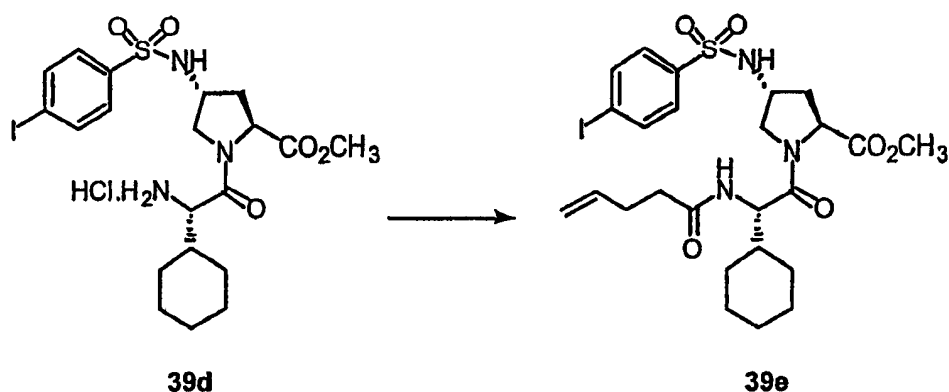
通过对实施例 1 步骤 D 描述的方法, 得到所需的产物 **39c**。经柱层析纯化残余物, 使用 90/10-80/20 二氯甲烷/EtOAc 洗脱, 得到 68% 收率的 **39c**。HRMS (FAB) $C_{25}H_{37}N_3O_7SI$ 的计算值: 650.1397 ($M+H$)⁺。实测值: 650.1398。

步骤 D:



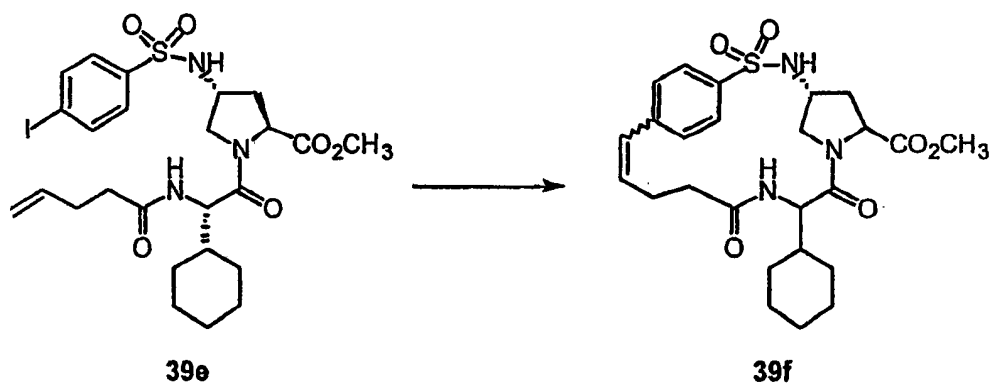
通过对实施例 1 步骤 E 描述的方法, 得到所需的产物 **39d**。该粗品物质无须纯化可直接用于下一步骤。

步骤 E:



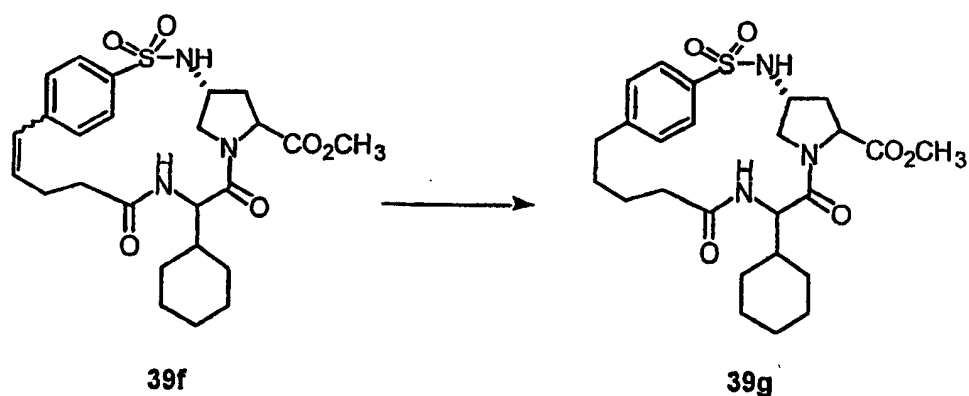
通过对实施例 1 步骤 F 描述的方法, 使用戊烯酸作为偶合配体, 得到所需的产物 **39e**。经柱层析纯化残余物, 使用 98/2 二氯甲烷/MeOH 洗脱, 得到 76%收率的 **39e**。

步骤 F:



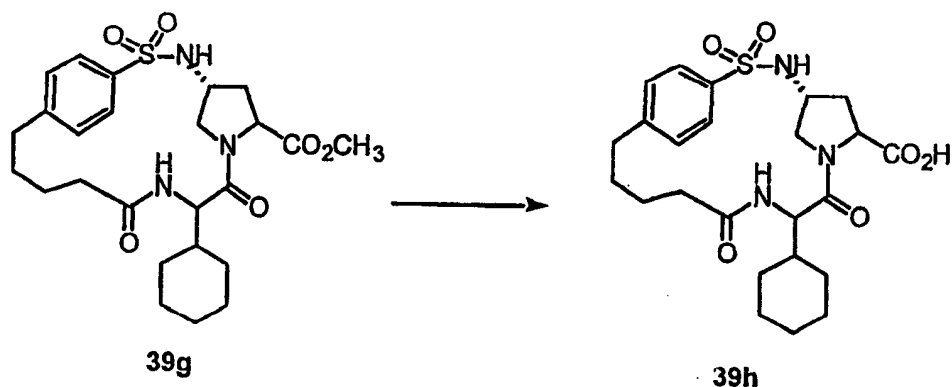
通过对实施例 37 步骤 F 描述的方法, 得到所需的产物 **39f**。经柱层析纯化残余物, 使用 98/2 二氯甲烷/MeOH 洗脱, 得到 28%收率的 **39f**, 为非对映体混合物。HRMS (FAB) $C_{25}H_{34}N_3O_6S$ 的计算值: 504.2168 (M+H)⁺。实测值: 504.2160。

步骤 G:



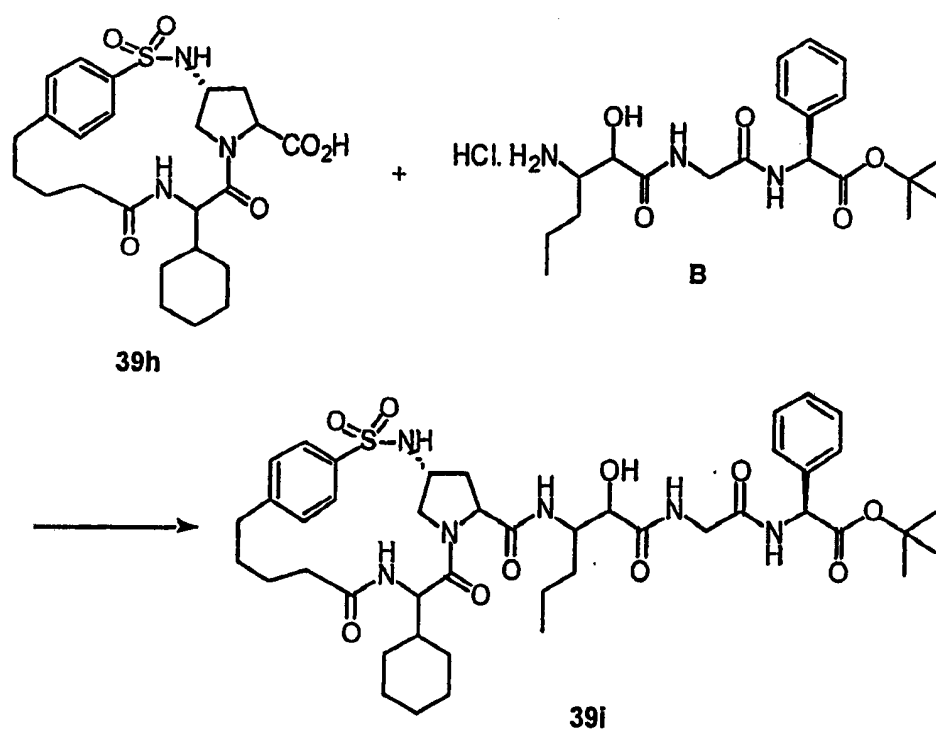
通过对实施例 1 步骤 G 描述的氢化方法, 以 84% 收率得到所需的产物 **39g**。该物质纯度足以用于进一步研究。HRMS (FAB) $C_{25}H_{36}N_3O_6S$ 的计算值: 506.2325 (M+H)⁺。实测值: 506.2314。

步骤 H:



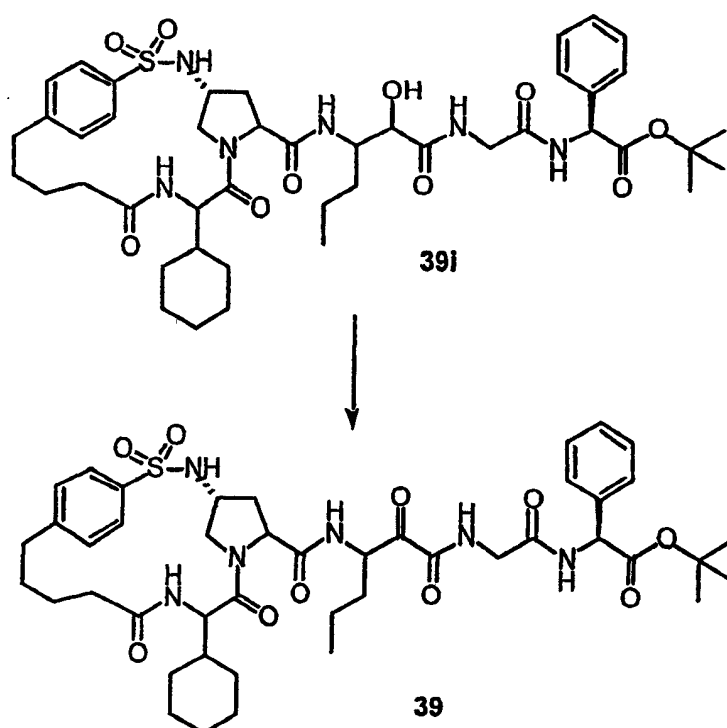
通过对实施例 1 步骤 H 描述的方法, 以定量收率得到所需的产物 **39h**。HRMS (FAB) $C_{24}H_{34}N_3O_6S$ 的计算值: 492.2168 (M+H)⁺。实测值: 492.2175。

步骤 I:



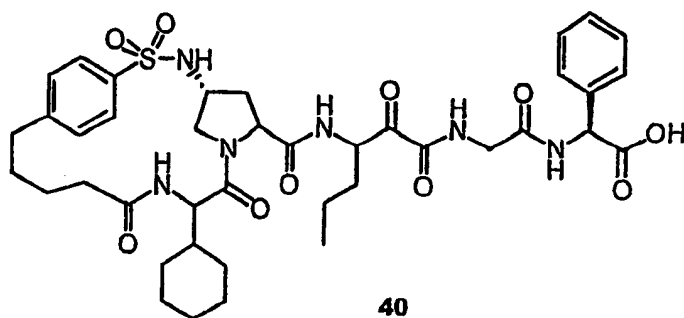
通过对实施例 2 步骤 A 描述的方法, 以 36% 收率得到期望的产物 **39i**。该物质纯度足以用于进一步研究。HRMS (FAB) $C_{44}H_{63}N_6O_{10}S$ 的计算值: 867.4326 (M+H)⁺。实测值: 867.4342。

步骤 J:

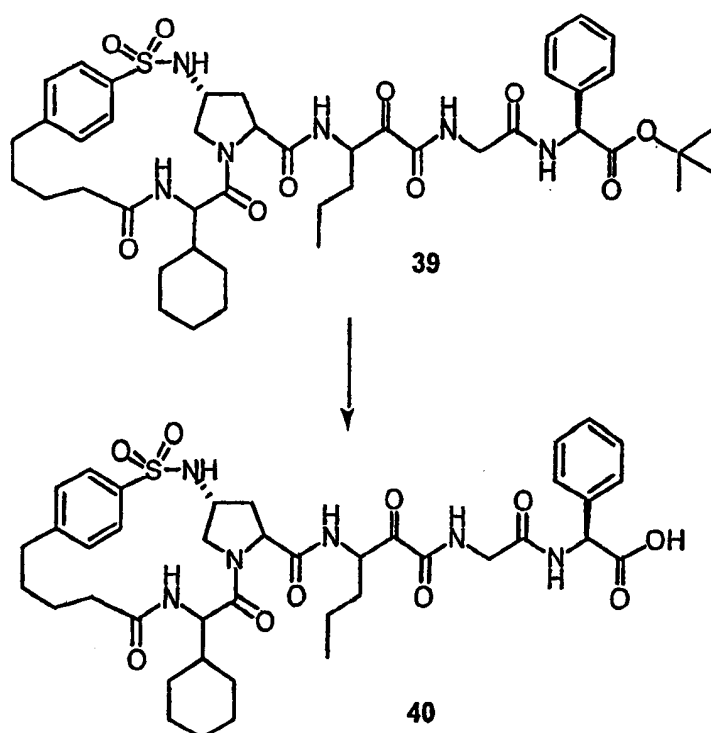


通过对实施例 2 步骤 B 描述的氧化方法, 得到所需的物质 **39**。
 使用 98/2 二氯甲烷/MeOH 洗脱, 纯化残余物, 以 24% 收率得到为非
 对映体混合物的 **39**。HRMS (FAB) $C_{44}H_{61}N_6O_{10}S$ 的计算值: 865.4170
 5 (M+H)⁺。实测值: 865.4181。

实施例 40: 化合物 40 的制备:



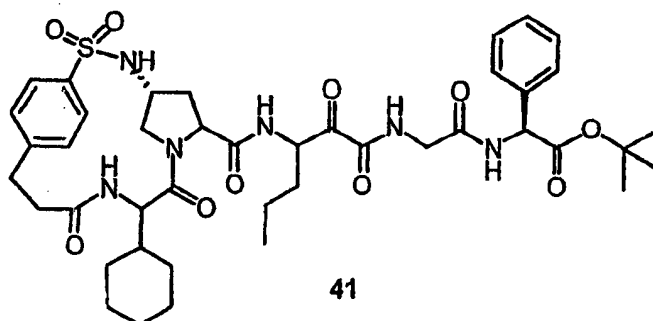
步骤 A:



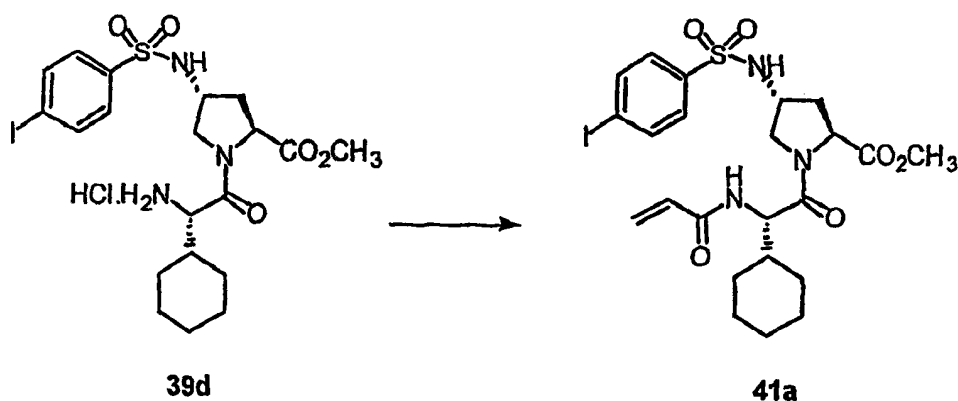
通过对实施例 3 步骤 A 描述的方法, 已 93% 收率得到为非对映体混合物的所需的物质 40。HRMS (FAB) $C_{40}H_{53}N_6O_{10}S$ 的计算值: 809.3544 (M+H)⁺。实测值: 809.3544。

5

实施例 41: 化合物 41 的制备:

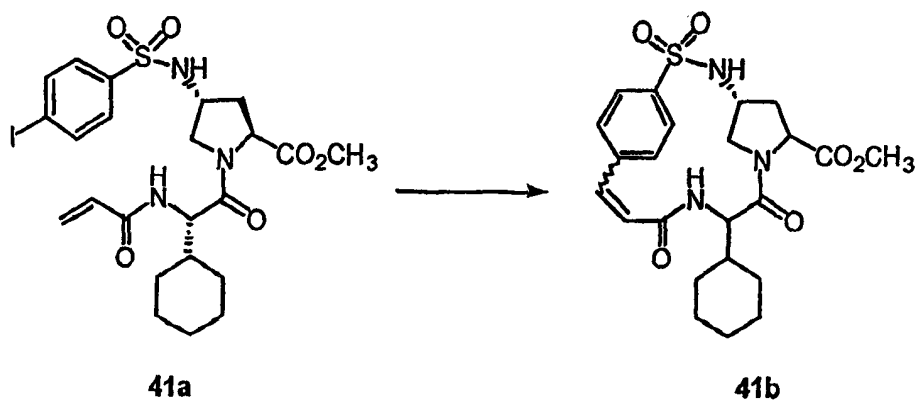


步骤 A:



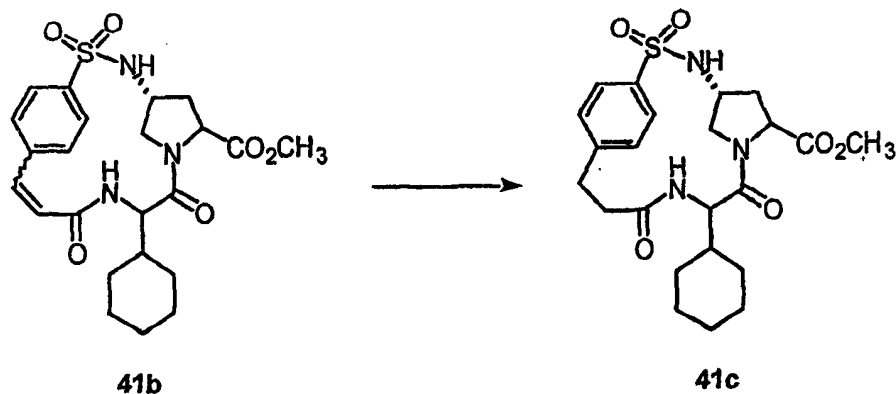
向 25 mL 加料漏斗中加入苯(5 mL)、DMF (0.32 mL, 4.1 mmol)和
 亚硫酸氯(0.33 mL, 4.5 mmol)。5 分钟后, 分离两层。分离较低的层
 5 并缓慢加入到丙烯酸(0.19 mL, 2.8 mmol)在二氯甲烷中的冷的(0-5℃)
 溶液中。在该温度下, 把混合物维持 10 分钟。然后加入三乙胺(0.77 mL,
 5.5 mmol), 随后加入 **39d** (1.13 g, 2.1 mmol)。把反应混合物温热至环
 境温度 5 小时, 并用饱和 NaHCO₃ 猝灭。分离有机层, 用 5% H₃PO₄
 溶液和盐水洗涤。干燥(Na₂SO₄)二氯甲烷层, 浓缩。经快速柱层析纯
 10 化粗品物质, 使用 98/2 二氯甲烷/MeOH 洗脱, 得到 870 mg 的 **41a** (67%
 收率)。HRMS (FAB) C₂₃H₃₁N₃O₆SI 的计算值: 604.0978 (M+H)⁺。实测
 值: 604.0964。

步骤 B:



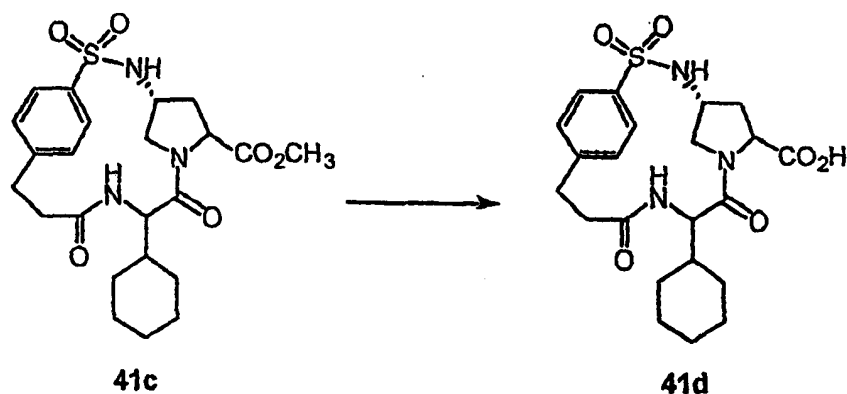
通过对实施例 37 步骤 F 描述的方法, 得到所需的产物 **41b**。使用 97/3 二氯甲烷/MeOH 纯化残余物, 以 26% 收率得到 **41b**。HRMS (FAB) $C_{23}H_{30}N_3O_6S$ 的计算值: 476.1855 ($M+H$)⁺。实测值: 476.1858。

5 步骤 C:



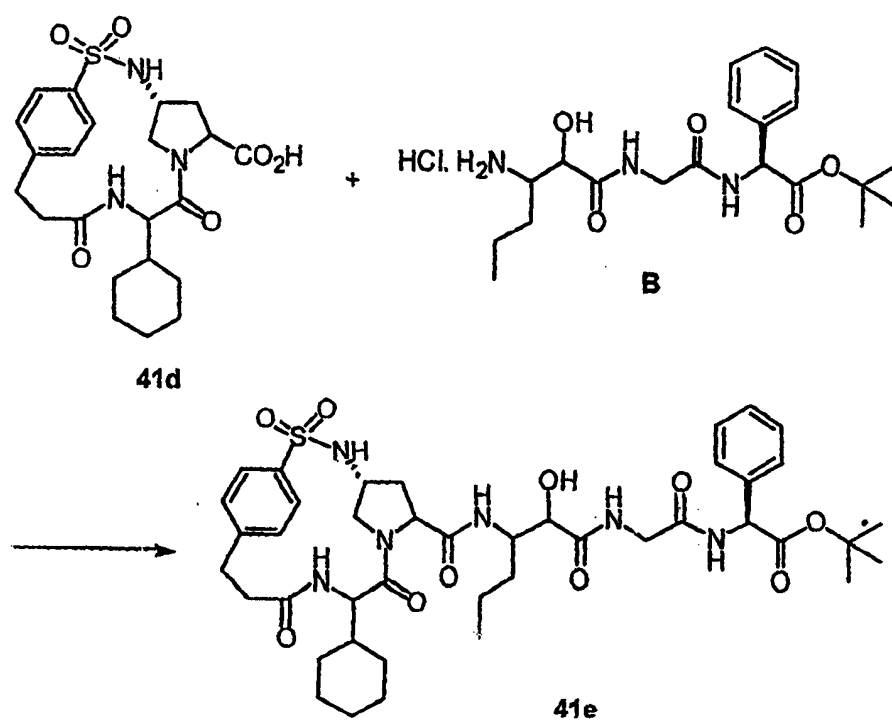
通过对实施例 1 步骤 D 描述的氢化方法, 以 75% 收率得到所需的产物 **41c**。该物质纯度足以用于进一步研究。

10 步骤 D:



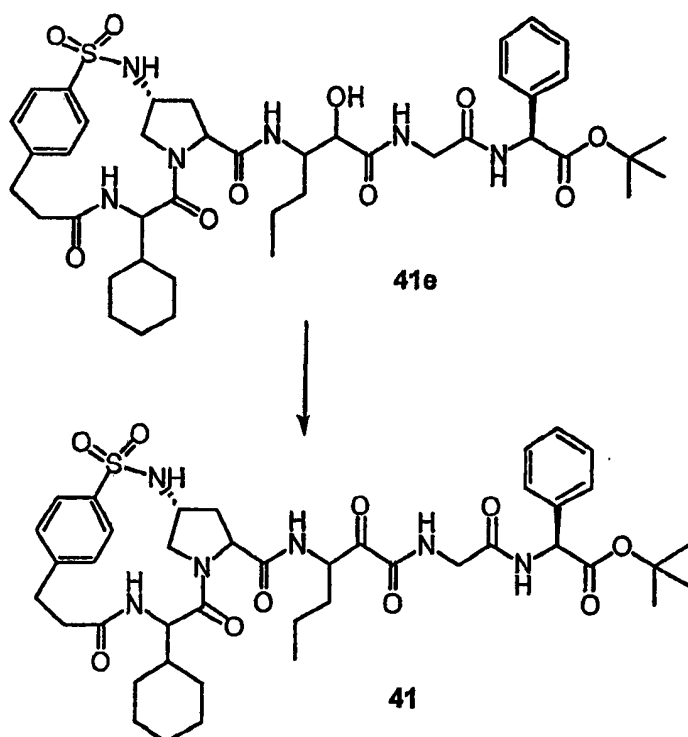
通过对实施例 1 步骤 E 描述的方法, 得到所需的产物 **41d**。该粗品物质无须纯化即可直接用于下一步骤。

步骤 E:



通过对实施例 2 步骤 A 描述的方法, 以 63% 收率得到期望的产物 **41e**。该粗品物质纯度足以用于进一步研究。

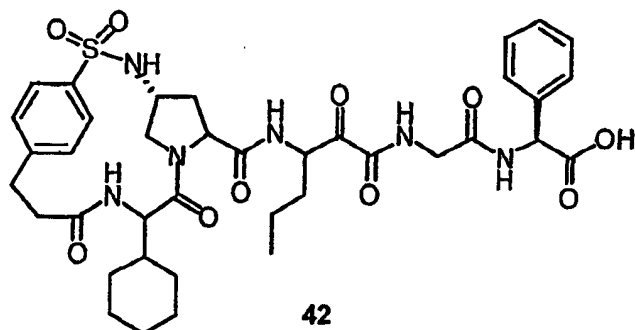
步骤 F:



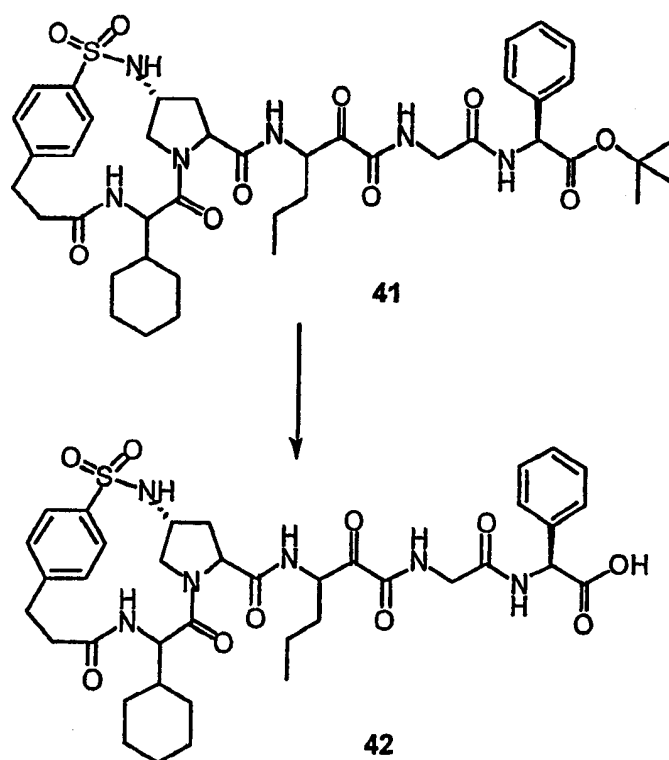
通过对实施例 2 步骤 B 描述的氧化方法，得到所需的物质 41。
使用 98/2-95/5 二氯甲烷/MeOH 纯化残余物，以 52%收率得到为非对映体混合物的 41。

5

实施例 42: 化合物 42 的制备:

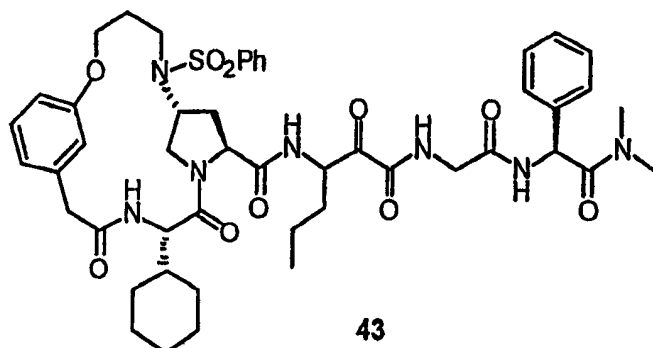


步骤 A:

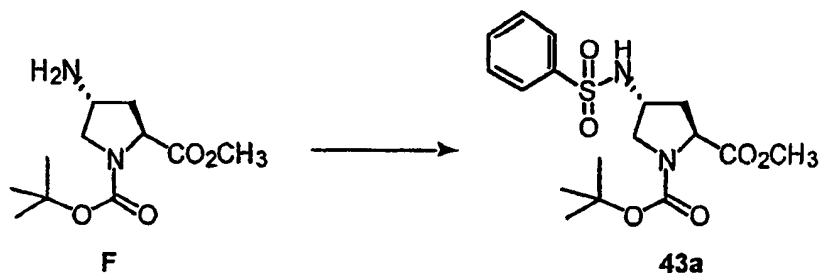


通过对实施例 3 步骤 A 描述的方法, 以定量收率得到为非对映体混合物的所需的物质 **42**。HRMS (FAB) $C_{38}H_{49}N_6O_{10}S$ 的计算值: 781.3231 (M+H)⁺。实测值: 781.3233。

5

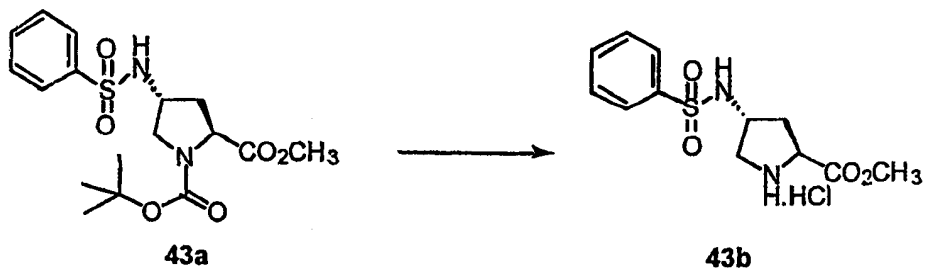
实施例 43: 化合物 **43** 的制备:

步骤 A:



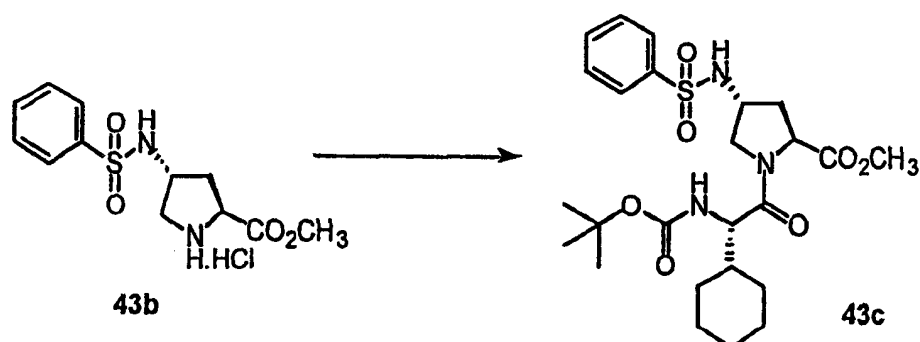
向 **F** (5.4 g, 22.1 mmol) 在二氯甲烷(50 mL)中的冷的(0℃)溶液中加入三乙胺(6.8 mL, 48.6 mmol)、DMAP (几粒结晶)和苯磺酰氯(3.29 g, 24.1 mmol)。把反应混合物在冰箱中(0-5℃)放置过夜。用饱和 NaHCO_3 和 10% 枸橼酸溶液洗涤反应混合物。干燥(Na_2SO_4)有机层, 浓缩。经快速层析纯化残余物, 使用 95/5 二氯甲烷/EtOAc 洗脱, 得到 5.0 g (59% 收率)的 **43a**。

10 步骤 B:



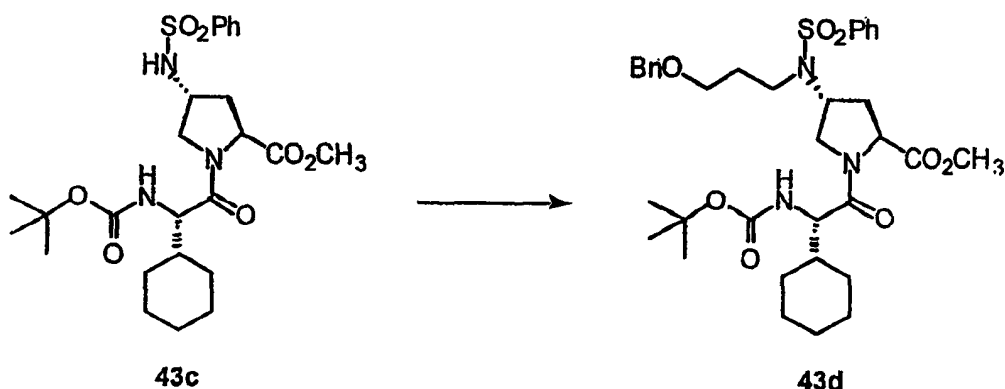
通过对实施例 1 步骤 C 描述的方法, 得到所需的产物 **43b**。该粗品物质无须纯化即可直接用于下一步骤。

步骤 C:



通过对实施例 1 步骤 D 描述的方法, 得到所需的产物 **43c**。经柱层析纯化残余物, 使用 99/1 二氯甲烷/MeOH 洗脱, 得到 60%收率的 **43c**。

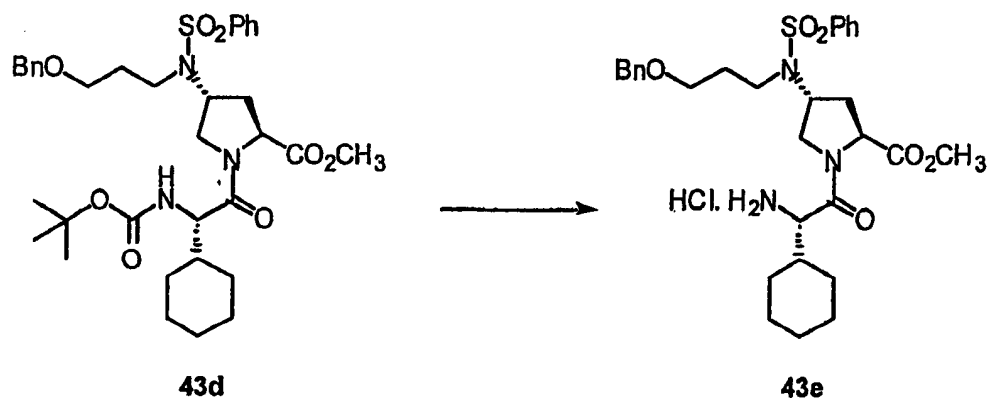
步骤 D:



将氩气鼓泡通入 **43c** (1.72 g, 3.28 mmol) 在二氯甲烷(40 mL)中的冷的(0℃)溶液中 20-30 分钟。加入 ADDP (2.5 g, 9.84 mmol), 随后加入三苯基膦(2.6 g, 9.84 mmol)和 3-苄氧基丙醇(0.57 mL, 3.61 mmol)。把反应物温热至环境温度并放置 2 天。浓缩反应混合物并加入 Et₂O (50 mL)。滤出沉淀的固体物质。重复该操作两次以除去大多数的副产物。浓缩滤液, 经快速层析纯化, 使用 90/10-85/15 二氯甲烷/ EtOAc 洗脱, 得到 330 mg 的 **43d**。回收起始原料, 以及三苯基膦氧化物, 使其经

历以上描述的条件,得到另外 420 mg 的 **43d**。合并收率 = 34%。HRMS (FAB) $C_{35}H_{50}N_3O_8S$ 的计算值: 672.3319 (M+H)⁺。实测值: 672.3330。

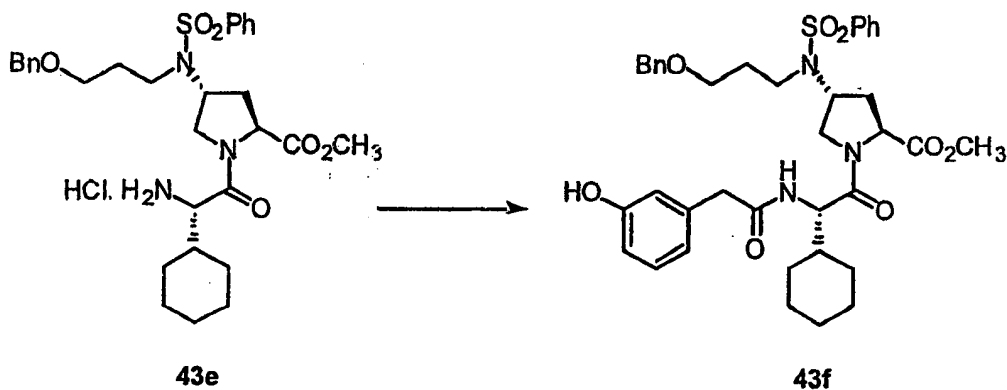
步骤 E:



5

通过对实施例 1 步骤 E 描述的方法,得到所需的产物 **43e**。该粗品物质可直接用于下一步骤。

步骤 F:

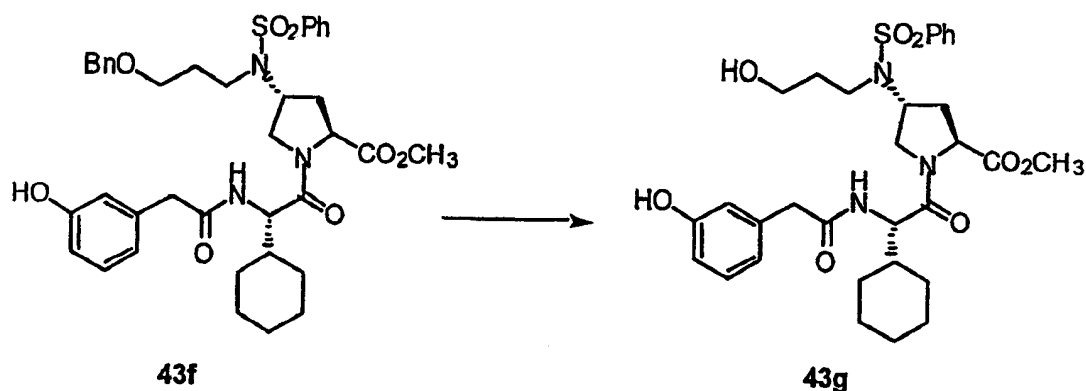


10

通过对实施例 1 步骤 F 描述的方法,制备所需的化合物 **43f**。通过快速层析,用 60/40-50/50 二氯甲烷/EtOAc 进行纯化,以定量收率得到 **43f**。HRMS (FAB) $C_{38}H_{48}N_3O_8S$ 的计算值: 706.3162 (M+H)⁺。实测值: 706.3157。

15

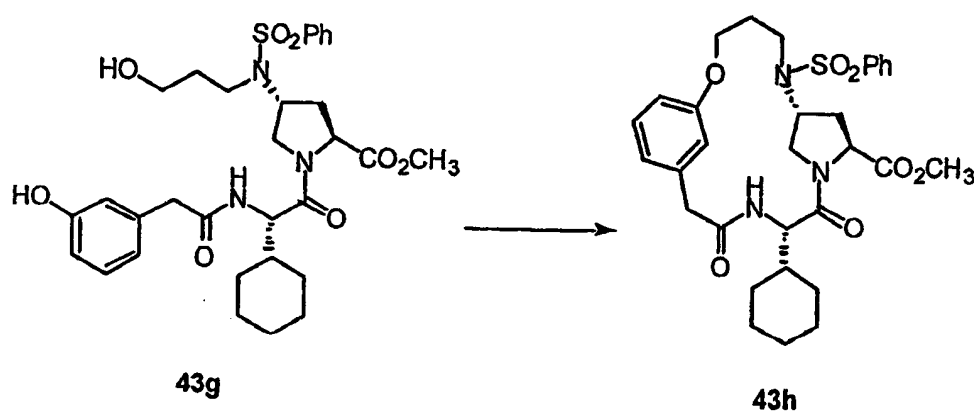
步骤 G:



通过对实施例 1 步骤 G 描述的方法, 得到所需的产物 **43g**。该物质纯度足以用于进一步研究。

5

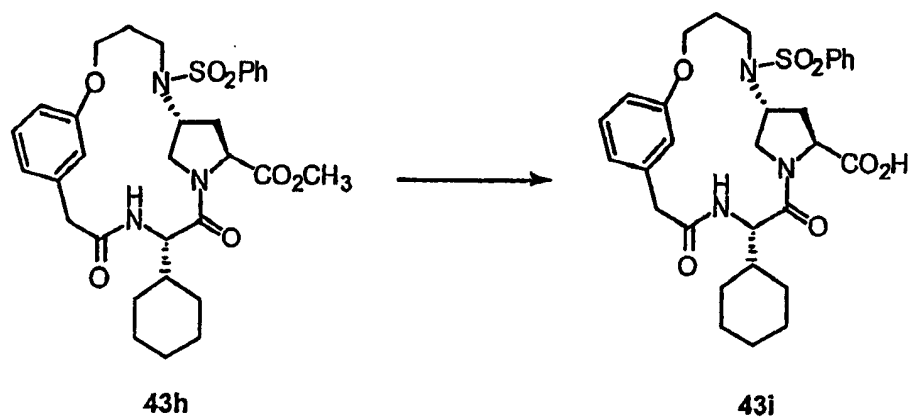
步骤 H:



通过对实施例 1 步骤 H 描述的方法, 得到所需的产物 **43h**。反应完成后, 蒸发溶剂。加入 Et₂O (50 mL) 并滤除固体。浓缩滤液, 加入 Et₂O/EtOAc (50 mL/50 mL)。滤出沉淀的固体, 浓缩滤液。经快速层析纯化残余物, 使用 85/15-80/20 二氯甲烷/EtOAc 洗脱, 以 20% 收率得到纯的 **43h**。HRMS (FAB) C₃₁H₄₀N₃O₇S 的计算值: 598.2587 (M+H)⁺。实测值: 598.2581。

10

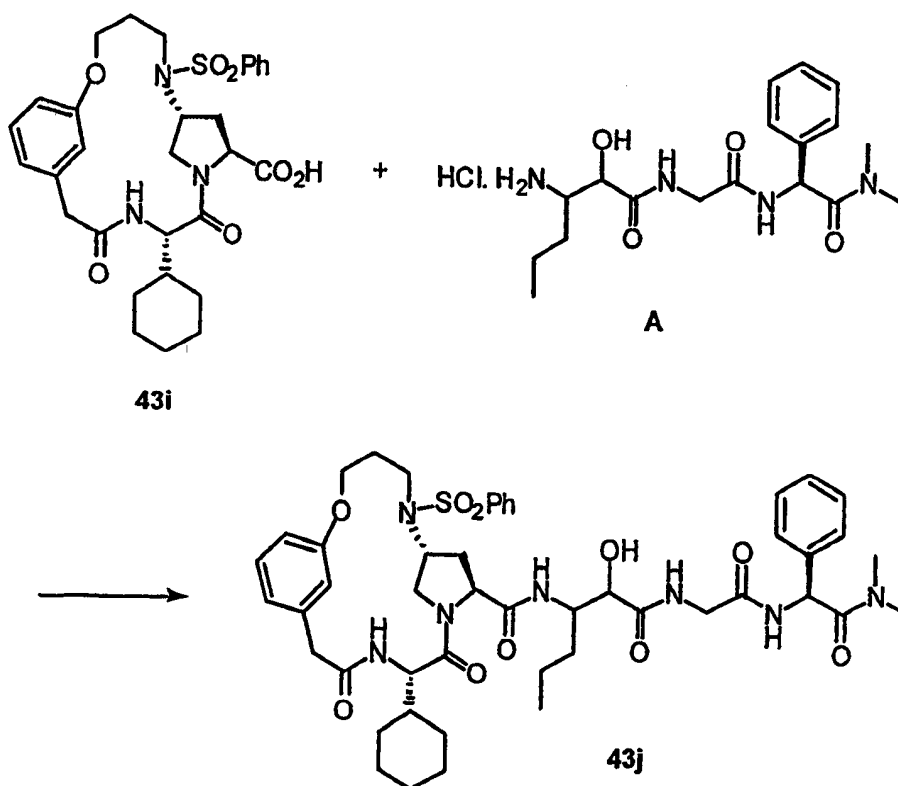
步骤 I:



通过对实施例 1 步骤 I 描述的方法, 以 92% 收率得到期望的产物 **43i**。

5

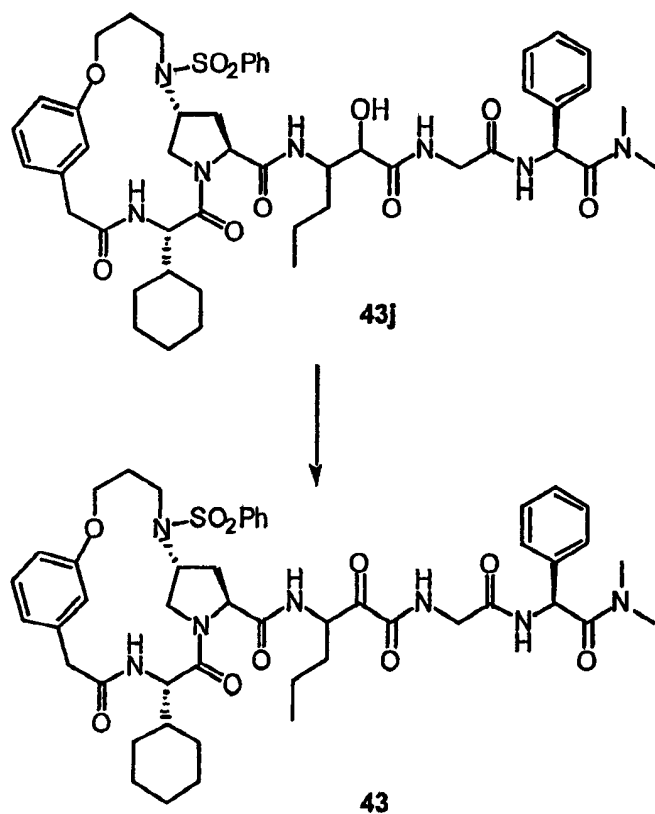
步骤 J:



如对实施例 1 步骤 J 所述, 合成所需的物质 **43j**。该粗品物质纯

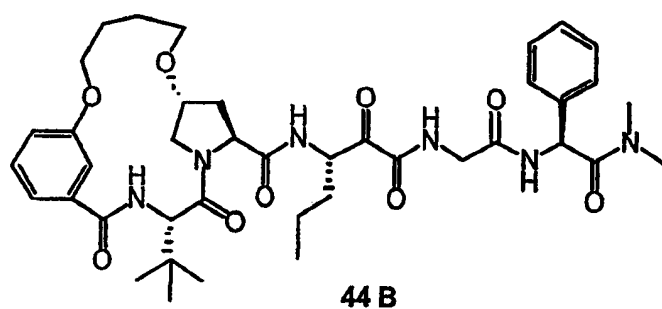
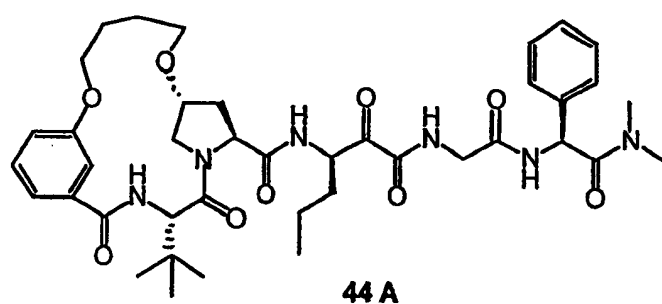
度足以直接用于下一步骤。

步骤 K:

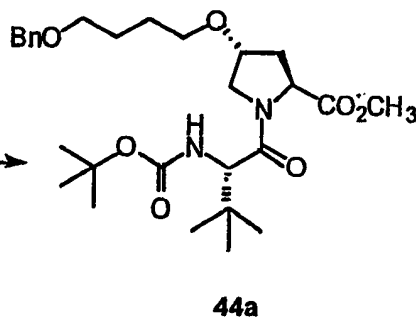
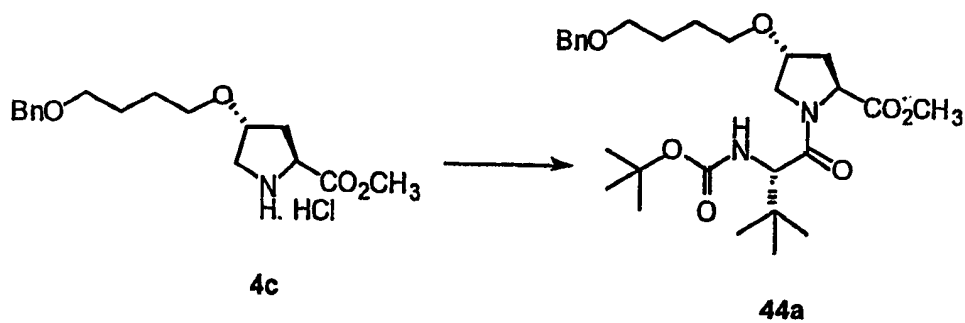


- 5 通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到期望的产物 **43**。经快速柱层析纯化，使用 97/3 二氯甲烷/MeOH 洗脱，得到为非对映体混合物的 **43**。合并收率 = 60% (2 步)。HRMS (FAB) C₄₈H₆₂N₇O₁₀S 的计算值: 928.4279 (M+H)⁺。实测值: 928.4290。

实施例 44: 化合物 44 的制备:

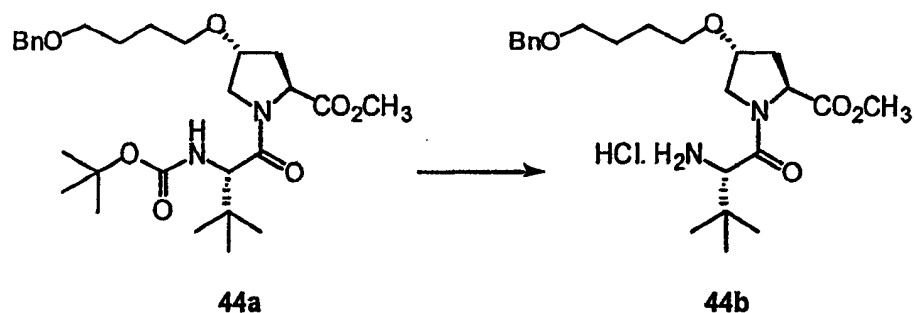


步骤 A:



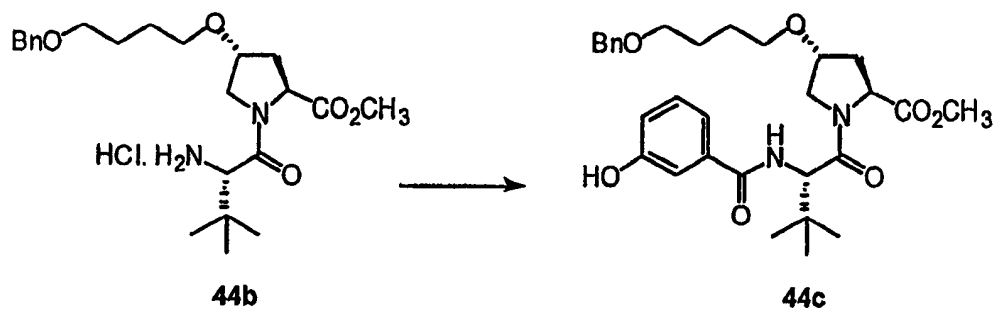
5

通过对实施例 1 步骤 D 描述的方法，使用 N-Boc-叔丁基甘氨酸作为偶合配体，得到所需的产物 **44a**。处理后，该物质纯度足以直接用于下一步骤。

步骤 B:

通过对实施例 1 步骤 E 描述的方法，得到所需的产物 **44b**。该粗品物质无须纯化即可继续使用。

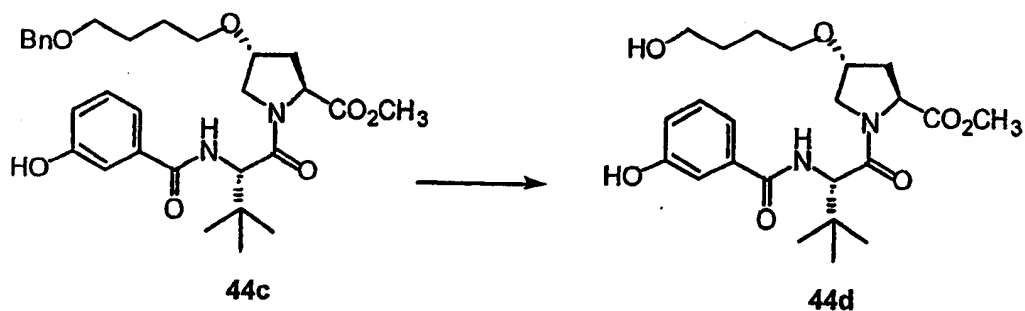
5

步骤 C:

通过对实施例 1 步骤 F 描述的方法，使用 3-羟基苯甲酸得到所需的产物。该物质经快速柱层析纯化，使用 85/15-65/35 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱，以 81% 收率得到 **44c**。

10

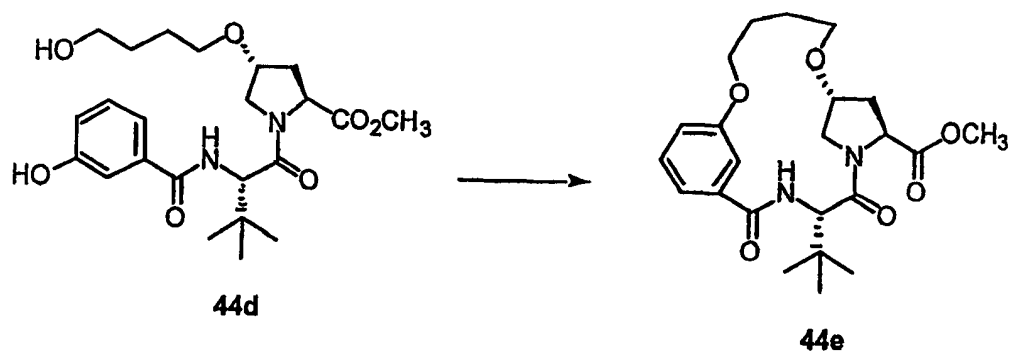
步骤 D:



通过对实施例 1 步骤 G 描述的方法, 得到所需的产物 **44d**。处理后, 该物质纯度足以用于进一步操作。

5

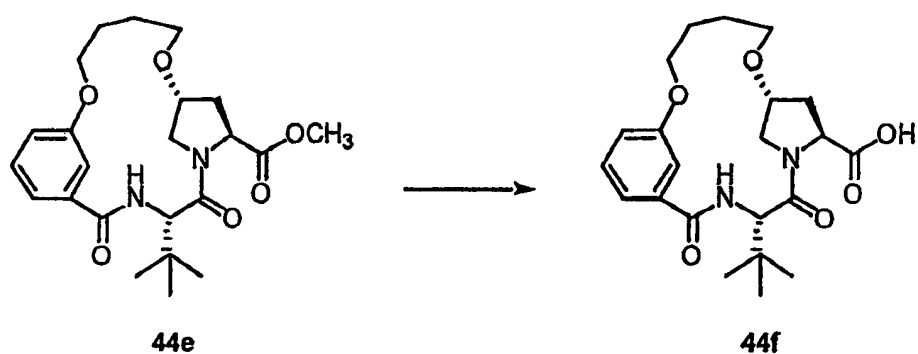
步骤 E:



通过对实施例 1 步骤 H 描述的方法, 得到所需的产物 **44e**。浓缩后, 用己烷/EtOAc (1/1) 处理粗品残余物并滤出固体物质。再次进行该操作以除去一些副产物。经柱层析纯化, 使用 80/20 二氯甲烷/EtOAc 洗脱, 得到含有三苯基膦氧化物的 **44e**。该混合物可用于下一步骤。

10

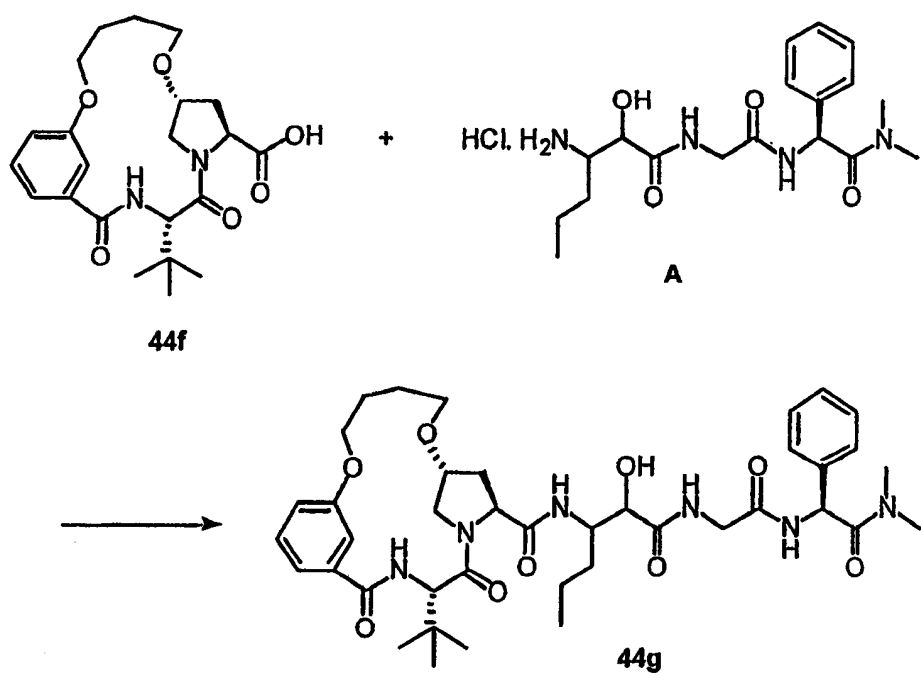
步骤 F:



通过对实施例 1 步骤 I 描述的方法, 得到所需的产物 **44f**。**44f** 的收率(2 步) = 11%。

5

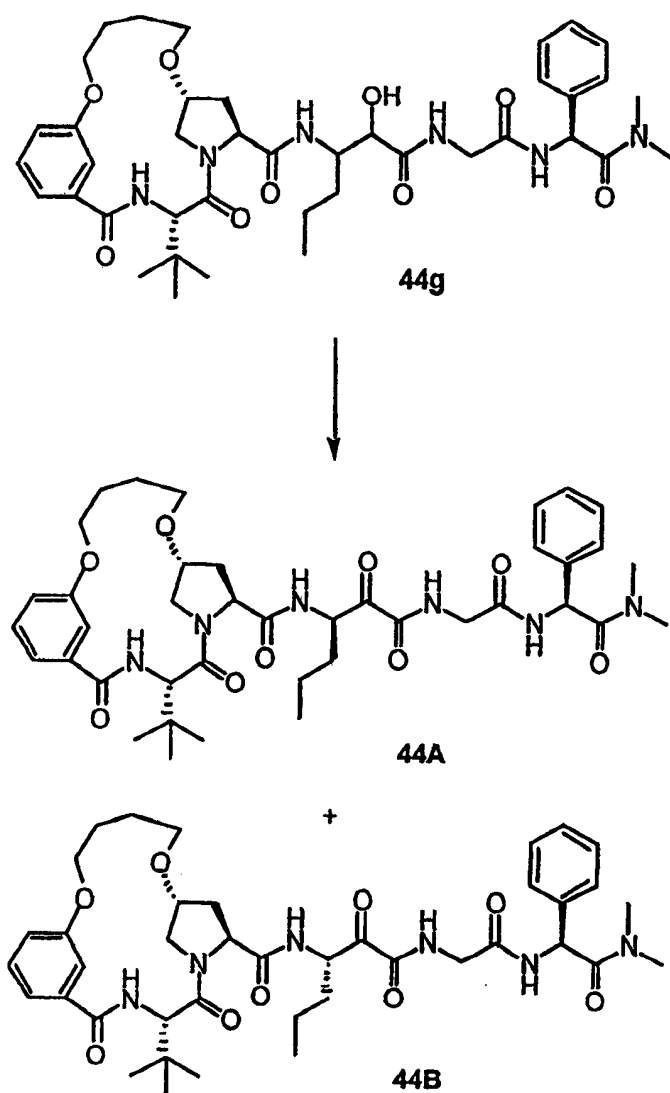
步骤 G:



如先前对实施例 1 步骤 J 所述, 合成期望的产物 **44g**。处理后, 该物质用于下一步骤。

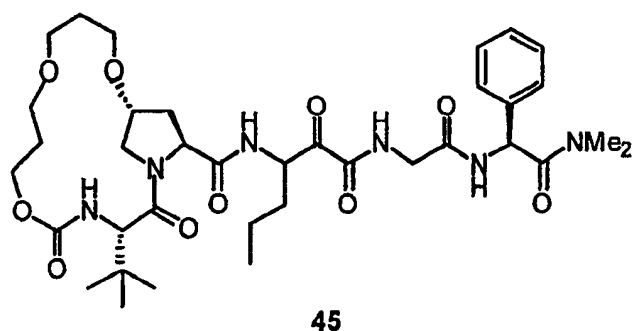
10

步骤 H:

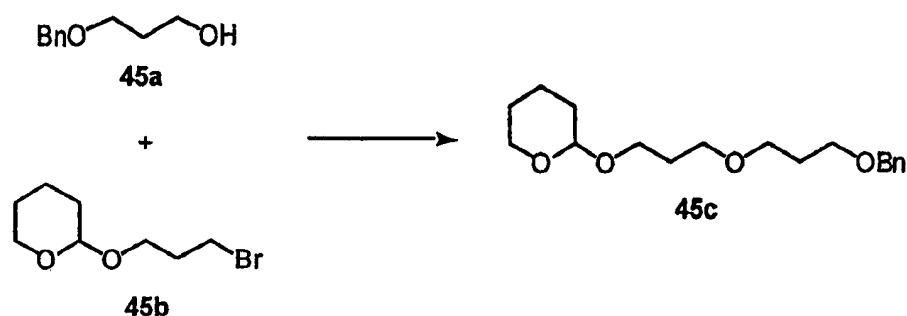


5 通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物 44A 和 44B。经快速柱层析纯化，使用 97/3-96/4 二氯甲烷/甲醇洗脱，得到等量的分离的异构体 44A 和 44B。合并收率 = 58% (2 步)。

实施例 45: 化合物 45 的制备:



步骤 A:



5

使用对实施例 1 步骤 A 描述的方法, 进行 **45a** 与 **45b** 的烷基化。使用 85/0/15-85/5/10 己烷/EtOAc/二氯甲烷纯化粗产物, 以 37%收率得到 **45c**。HRMS (FAB) $C_{18}H_{29}O_4$ 的计算值: 309.2066 (M+H)⁺。实测值: 309.2060。

10

步骤 B:

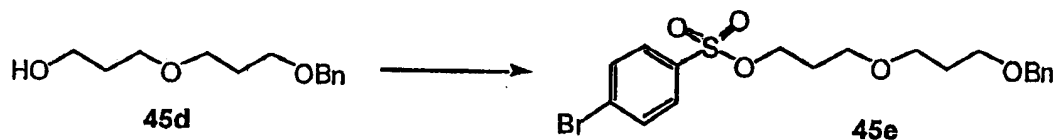


15

向 **45c** (4.8 g, 15.5 mmol) 在 MeOH (30 mL) 中的溶液中加入对甲苯磺酸吡啶鎓 (780 mg, 3.1 mmol), 当所有的起始原料消耗完全时回流 3 小时。浓缩反应混合物。把残余物溶于 EtOAc 中, 用饱和 $NaHCO_3$

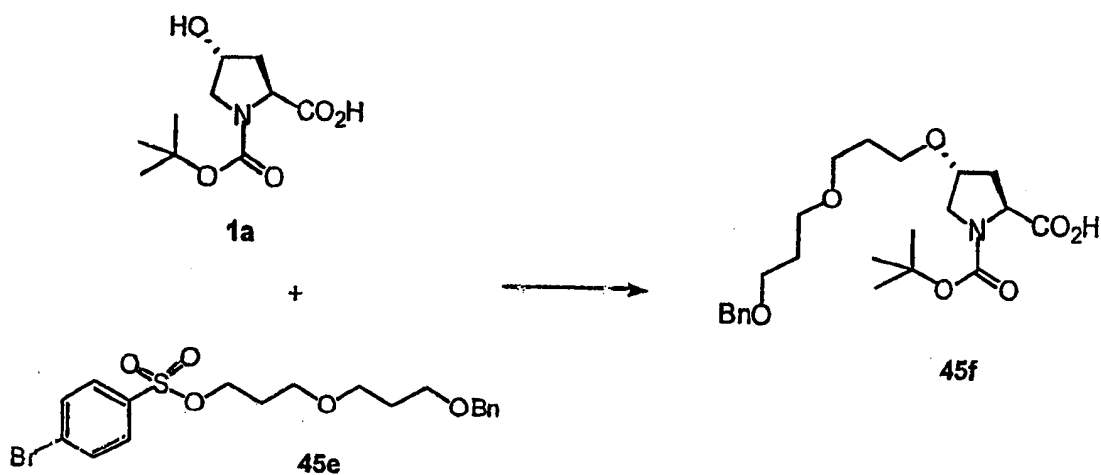
洗涤,干燥(Na_2SO_4),浓缩有机层,得到3.2 g的**45d** (92%收率)。该物质的纯度足以用于进一步研究。HRMS (FAB) $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{O}_3$ 的计算值: 225.1491 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。实测值: 225.1486。

5 步骤 C:



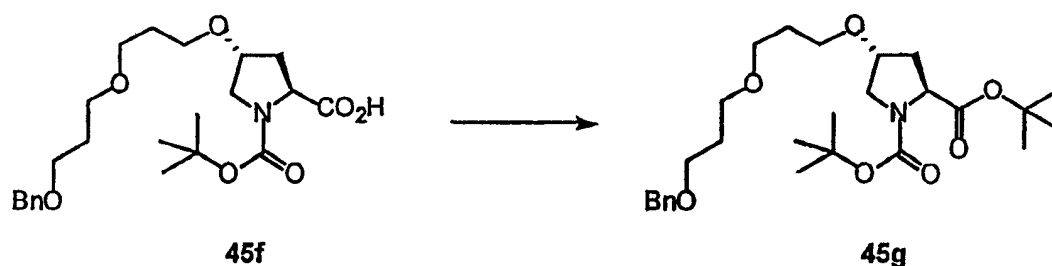
通过对实施例 10 步骤 A 描述的方法,使用**45d**作为起始原料,得到所需的产物**45e**。使用 90/10 己烷/EtOAc 纯化粗产物,以 70%收率得到**45e**。HRMS (FAB) $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_5\text{SBr}$ 的计算值: 443.0528 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。实测值: 443.0552。

步骤 D:



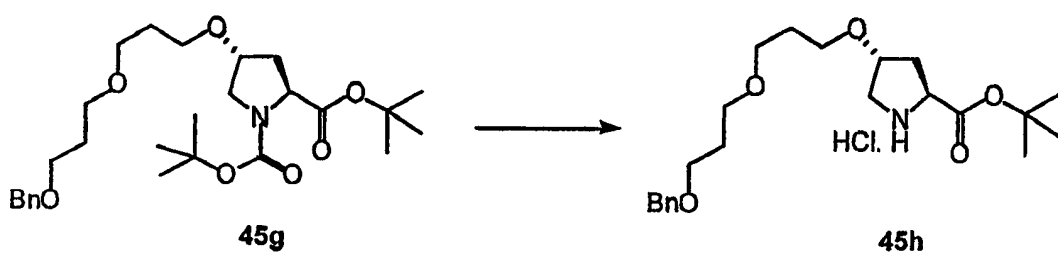
通过对实施例 1 步骤 A 描述的方法,使用**45e**作为起始原料,得到所需的产物**45f**。该粗产物无须纯化即可继续使用。

步骤 E:



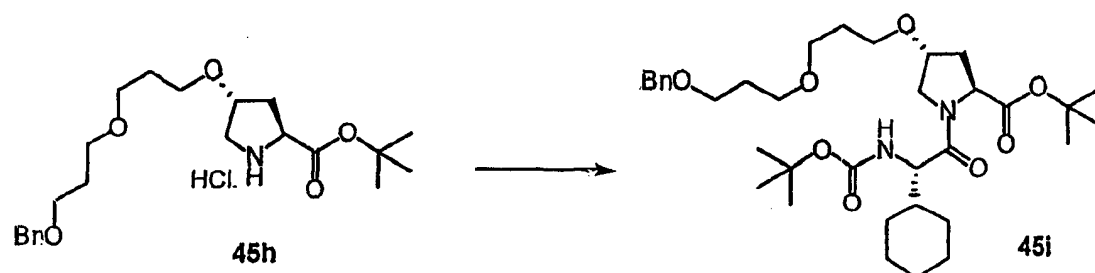
通过对实施例 18 步骤 B 描述的方法, 使用 **45f** 作为起始原料, 得到所需的产物 **45g**。经快速层析纯化残余物, 使用 90/10 二氯甲烷/
EtOAc 洗脱, 以 61% 收率(2 步)得到 **45g**。HRMS (FAB) $C_{27}H_{44}NO_7$ 的
5 的计算值: 494.3118 (M+H)⁺。实测值: 494.3107。

步骤 F:



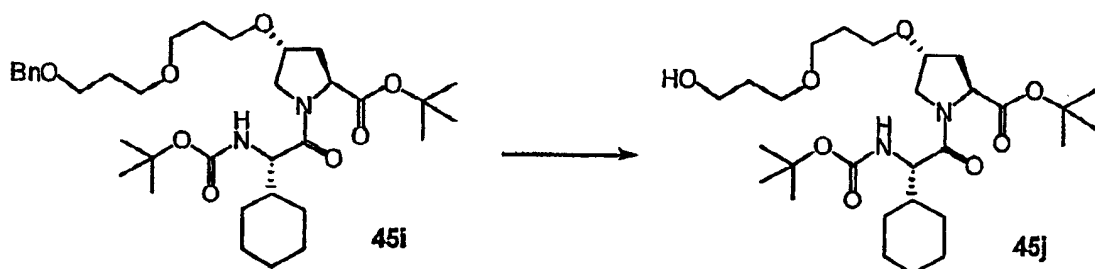
通过对实施例 1 步骤 C 描述的方法，制备所需的化合物 **45h**。
该物质直接向下进行。

步骤 G:



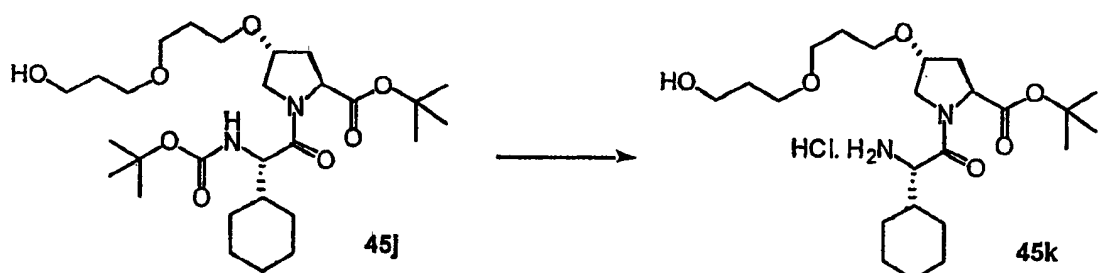
通过对实施例 1 步骤 D 描述的方法，得到所需的产物 **45i**。经快速层析纯化残余物，使用 90/10-85/15 二氯甲烷/ EtOAc 洗脱，以 41% 收率得到 **45i**。

步骤 H:



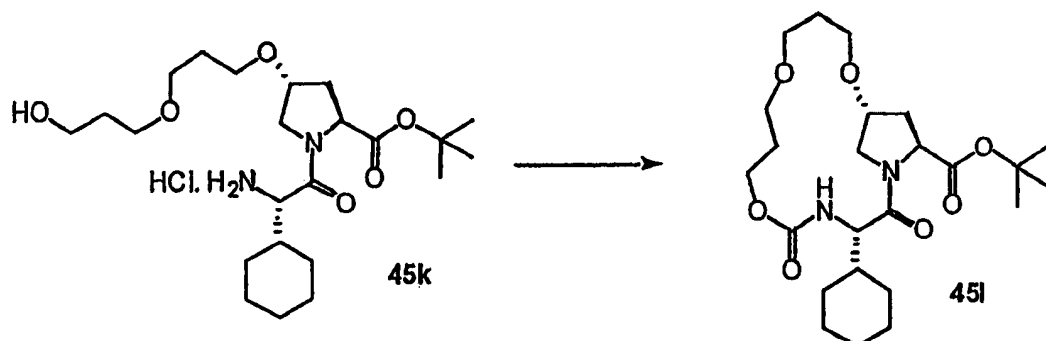
通过先前对实施例 1 步骤 G 描述的氢化方法，得到所需的产物 **45j**。

步骤 I:



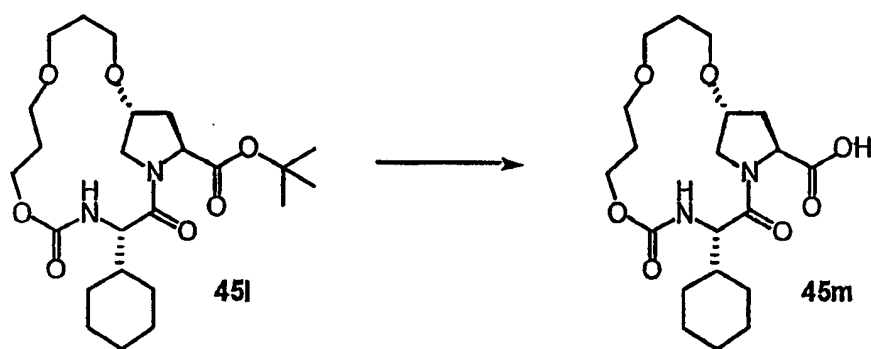
通过先前对实施例 1 步骤 C 描述的方法, 得到所需的产物 **45k**。

步骤 J:



- 5 向 **45k** 在二氯甲烷中的冷的(0℃)溶液中先后加入三乙胺和羰基二咪唑。缓慢温热至环境温度过夜, 得到所需的产物 **45l**。使用常规快速柱层析可纯化该产物, 得到纯的 **45l**。

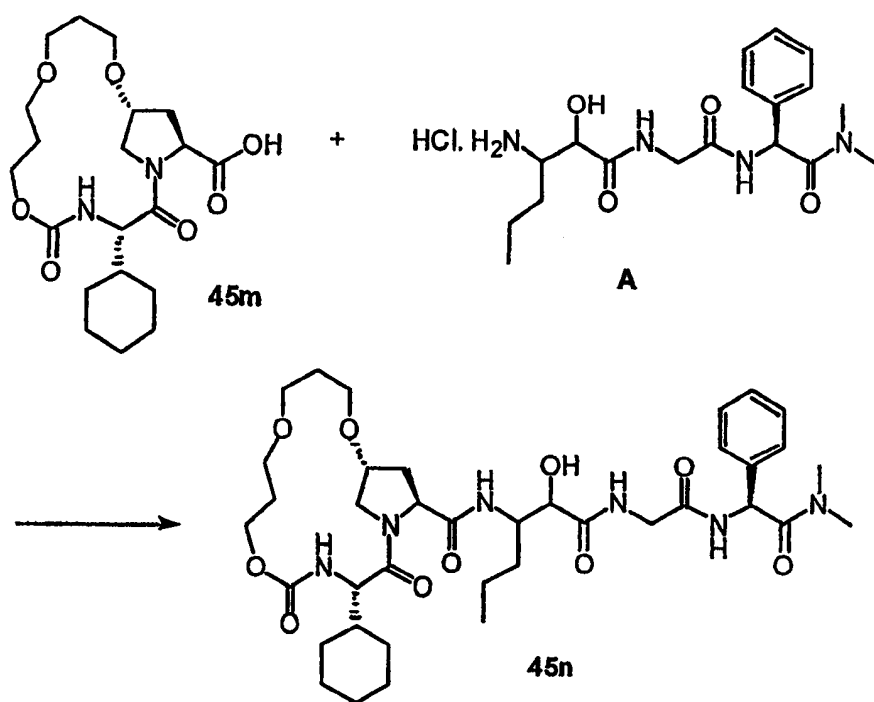
步骤 K:



10

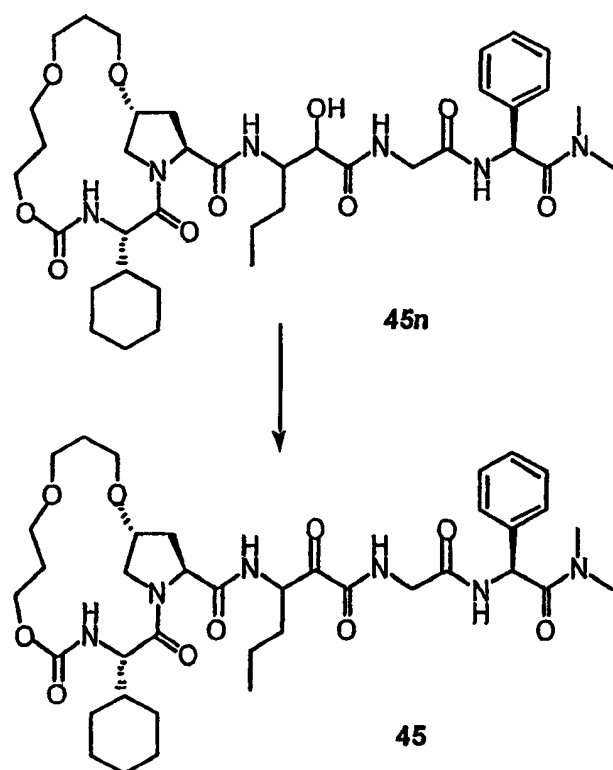
通过先前对实施例 3 步骤 A 描述的产物, 得到所需的产物 **45m**。

步骤 L:



如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样，合成期望的产物 **45n**。

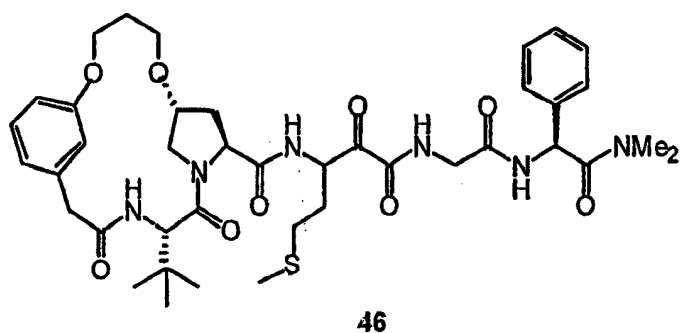
步骤 M:



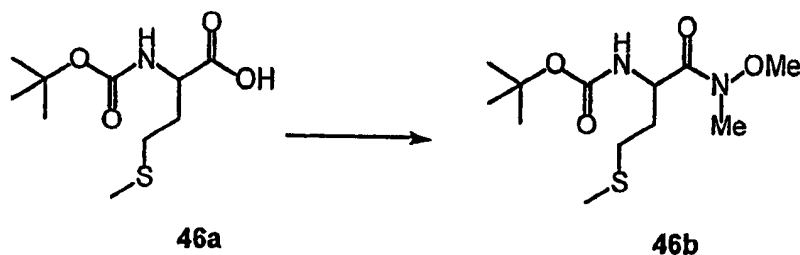
通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物 45。经快速柱层析纯化，得到纯的 45。

5

实施例 46: 化合物 46 的制备:

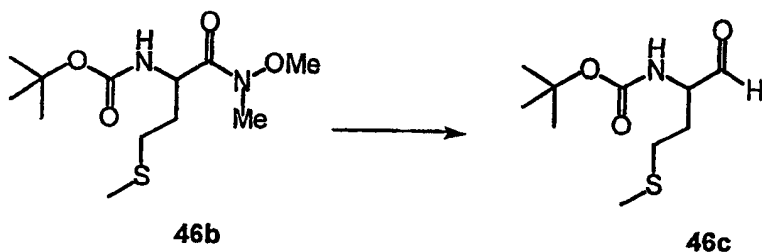


步骤 A:



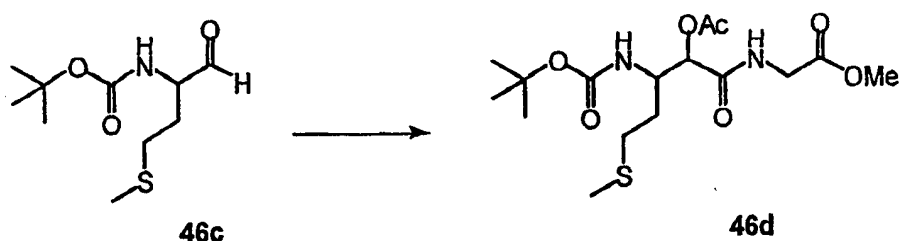
向 **46a** (10.0 g, 42.9 mmol) 在二氯甲烷(100 mL)中的溶液中加入 BOP (22.75 g, 51.5 mmol) 并在室温下搅拌 10 分钟。然后加入 N,O-二甲基羟胺盐酸盐(4.18 g, 42.9 mmol)，随后加入三乙胺(18.1 mL, 128.7 mmol)。在环境温度下，把反应混合物搅拌 3 小时，然后用 3 N HCl、饱和 NaHCO₃ 溶液和盐水洗涤。干燥(Na₂SO₄)有机层，浓缩。粗品物质 **46b** 无须纯化即可用于以下步骤。

10 步骤 B:



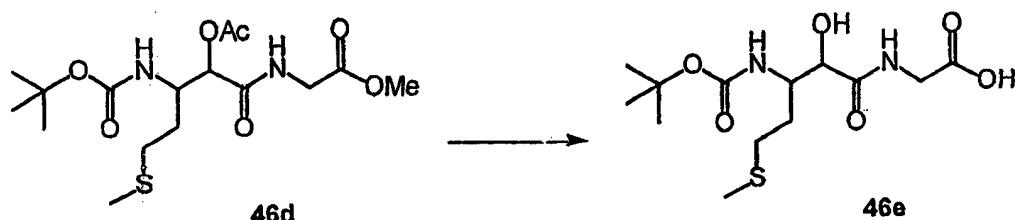
在氮气氛下，向 **46b** 在 THF (60 mL) 中的冷的(0℃)溶液中加入 LAH 溶液(1 M 在 THF 中, 50 mL, 50 mmol)。在该温度下把反应物保持 30 分钟。用 10%磷酸氢钾水溶液(30 mL)(缓慢加入)猝灭反应混合物。用 EtOAc 提取混合物两次。用 3 N HCl、饱和 NaHCO₃ 和盐水洗涤合并的有机层。经硫酸钠干燥 EtOAc 层，浓缩。经快速柱层析纯化残余物，使用 10/90-30/70 EtOAc/二氯甲烷洗脱，得到 4.2 g 的 **46c** (45%收率-2 步)。HRMS (FAB) C₁₀H₂₀NO₃S 的计算值: 234.1164 (M+H)⁺。实测值: 234.1168。

步骤 C:



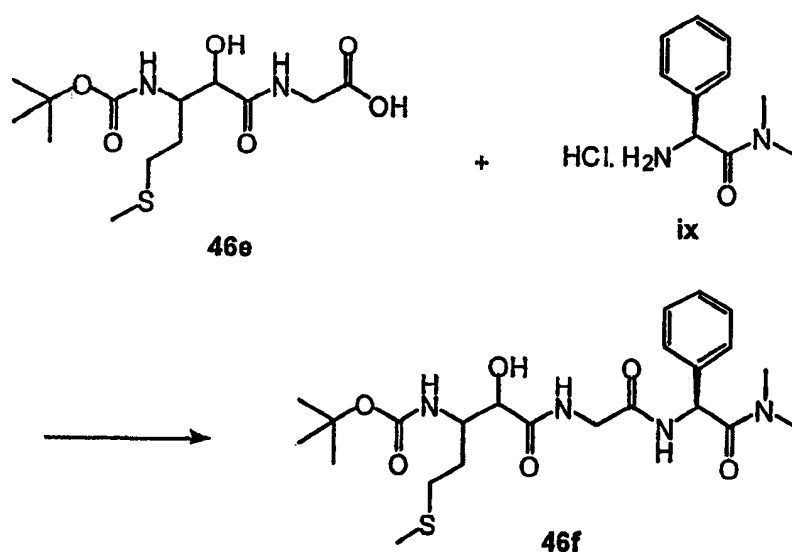
向 **46c** (4.2 g, 19.4 mmol) 在二氯甲烷中的冷的(-15℃)溶液中先后加入乙酸(2.14 mL, 38.8 mmol)和异氰基乙酸甲酯(1.76 mL, 19.4 mmol)。把反应混合物温热至室温并放置 16 小时。用 EtOAc 稀释反应物，用饱和 NaHCO₃、盐水和水洗涤。干燥(Na₂SO₄)有机层，浓缩。经快速柱层析纯化，使用 30/70 EtOAc/二氯甲烷洗脱，以 92% 收率得到为白色固体的纯的 **46d** (6.5 g)。HRMS (FAB) C₁₆H₂₉N₂O₇S 的计算值: 393.1695 (M+H)⁺。实测值: 393.1692。

步骤 D:



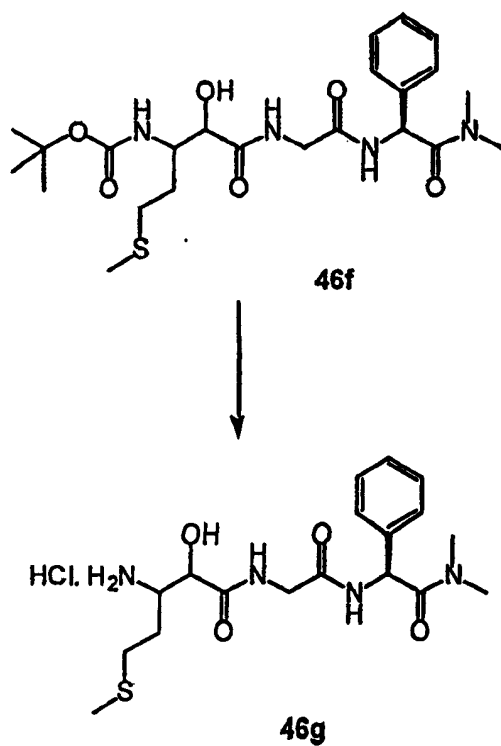
向 **46d** (6.5 g, 16.6 mmol) 在 MeOH (30 mL) 中的溶液中加入氢氧化锂(1.19 g, 50 mmol)在水(30 mL)中的溶液。45 分钟后，浓缩反应混合物。加入枸橼酸水溶液直到酸性 pH (3)，并将产物提取到 EtOAc 中。浓缩有机层，得到酸 **46e** (5.6 g, 90% 收率)。HRMS (FAB) C₁₃H₂₅N₂O₆S 的计算值: 337.1433 (M+H)⁺。实测值: 337.1430。

步骤 E:



通过对中间体 A 步骤 3 描述的方法，得到所需的产物 **46f**。经柱
层析纯化残余物，使用 20/0/80-50/5/45 的在 MeOH/二氯甲烷中的
5 EtOAc/NH₃ 洗脱，得到 3.0 g 的 **46f** (51%)。HRMS (FAB) C₂₃H₃₇N₄O₆S
的计算值: 497.2434 (M+H)⁺。实测值: 497.2439。

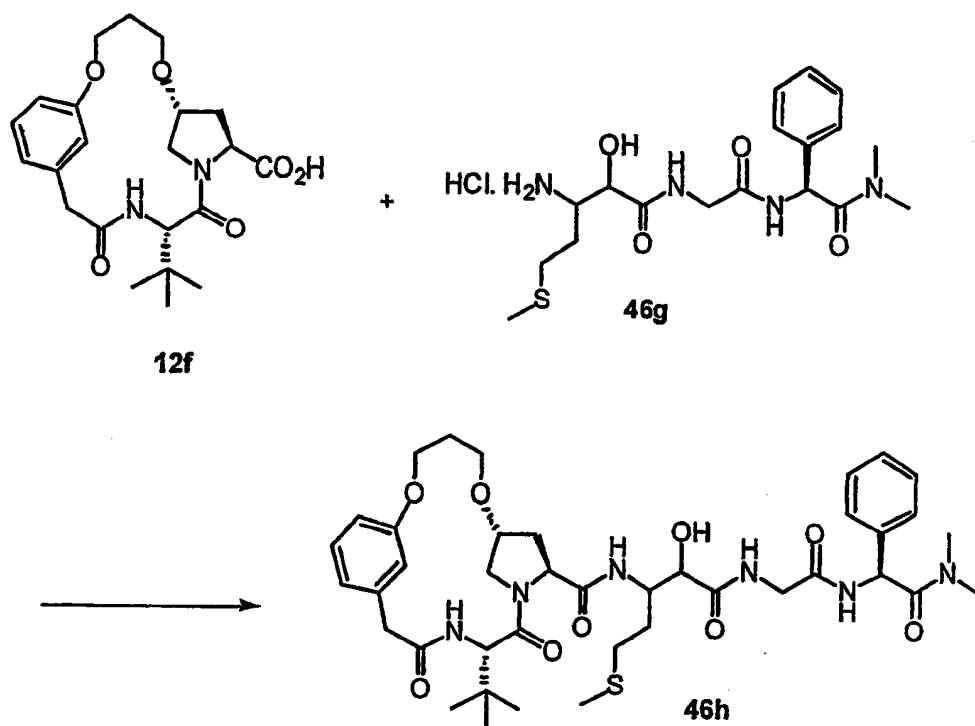
步骤 F:



通过对中间体 A 步骤 4 描述的方法，制备所需的化合物 **46g**。

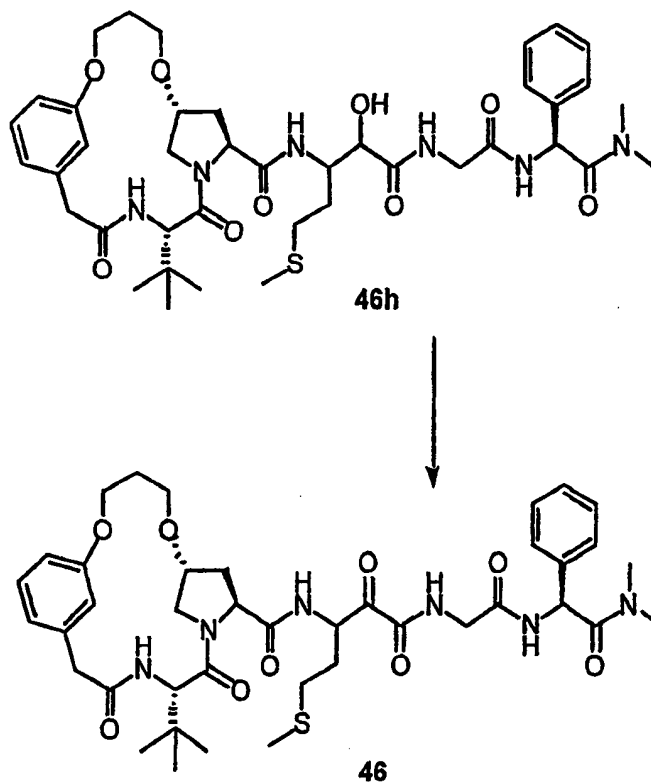
5 该物质可用于进一步的研究。

步骤 G:



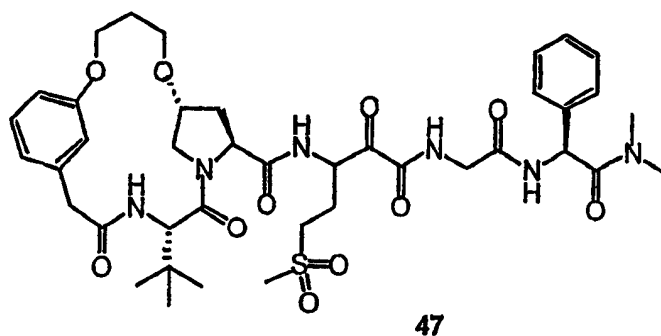
通过对实施例 1 步骤 J 描述的方法，得到所需的产物 **46h**。该粗
5 品物质纯度足以用于进一步操作。HRMS (FAB) C₄₀H₅₇N₆O₉S 的计算
值: 797.3908 (M+H)⁺。实测值: 797.3896。

步骤 H:

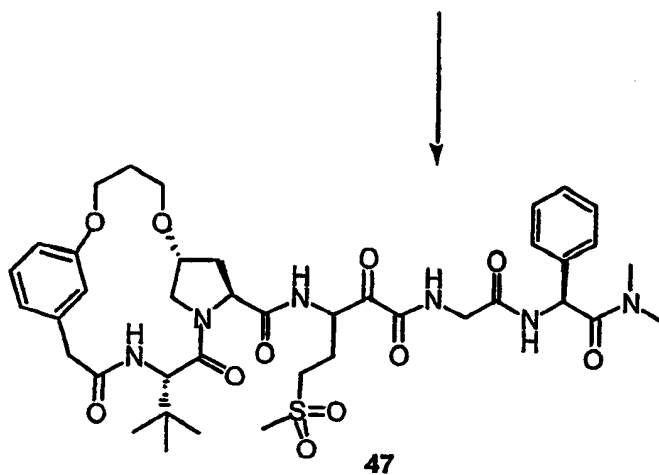
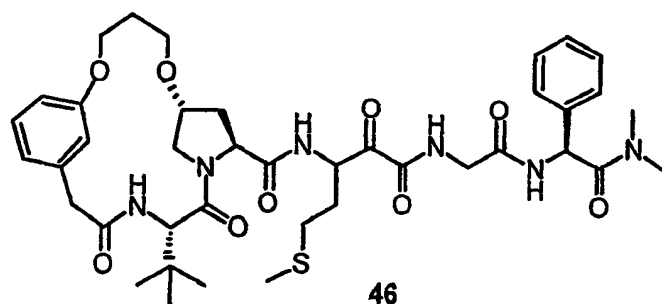


通过先前对实施例 10 步骤 J 描述的氧化方法，得到所需的产物
 46。该反应耗时 4 天完成。经快速柱层析(两次)和制备型 TLC 纯化
 5 残余物，使用 98/2 二氯甲烷/MeOH 洗脱，以 12%收率(2 步)得到为
 非对映体混合物的 46。HRMS (FAB) $C_{40}H_{55}N_6O_9S$ 的计算值: 795.3751
 (M+H)⁺。实测值: 795.3761。

实施例 47: 化合物 47 的制备:



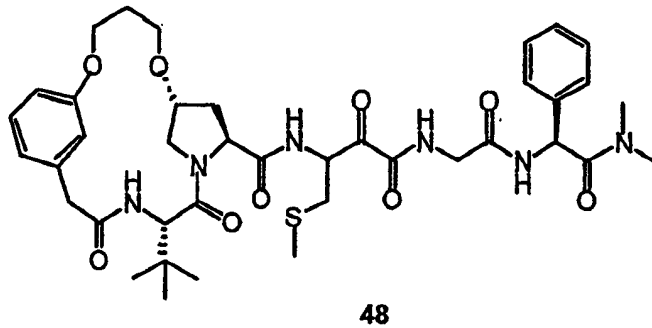
步骤 A:



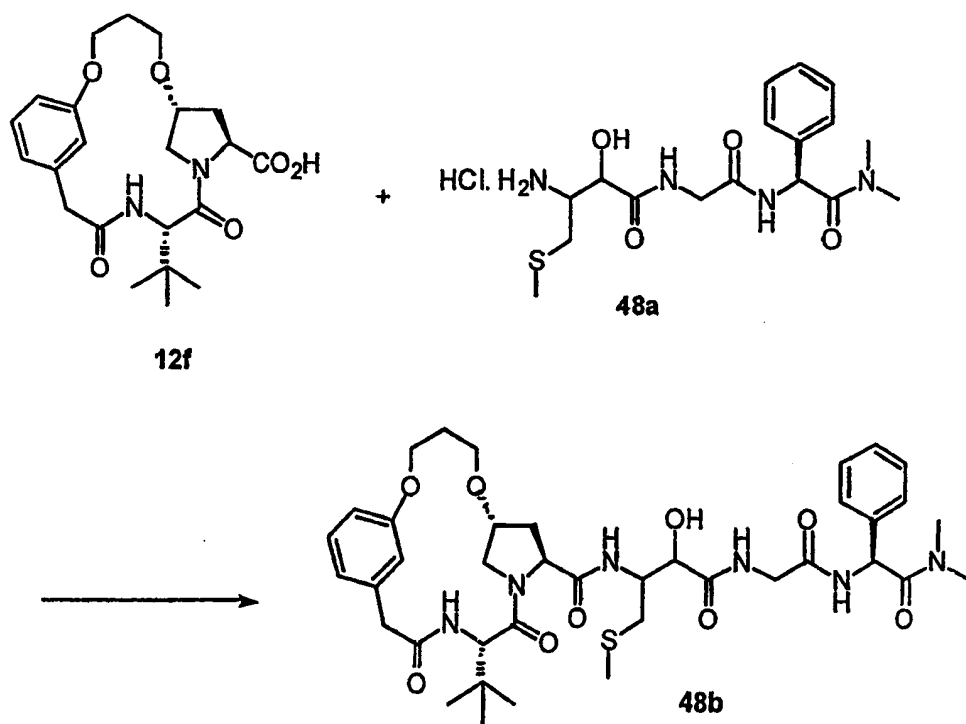
通过先前对实施例 11 步骤 A 描述的氧化方法，得到所需的产物 47。

5

实施例 48: 化合物 48 的制备:

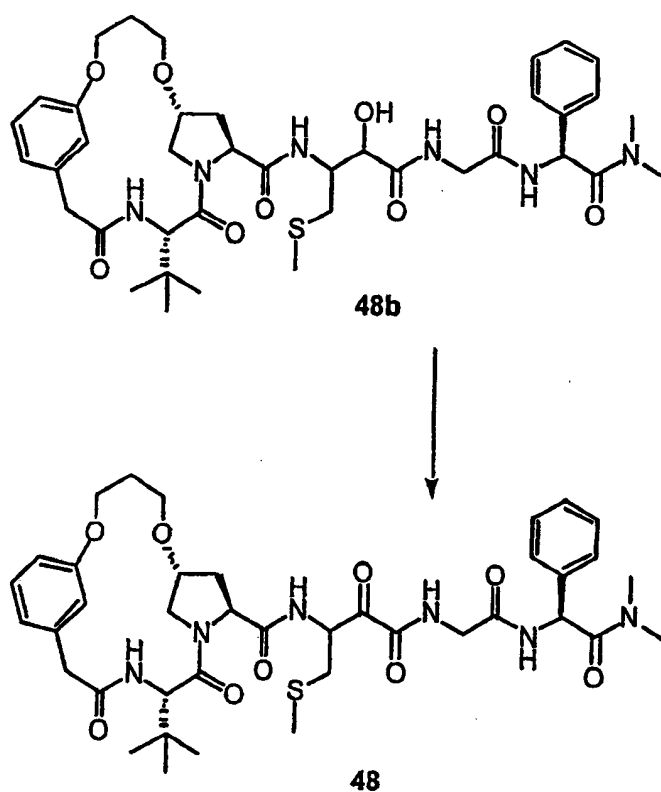


步骤 A:



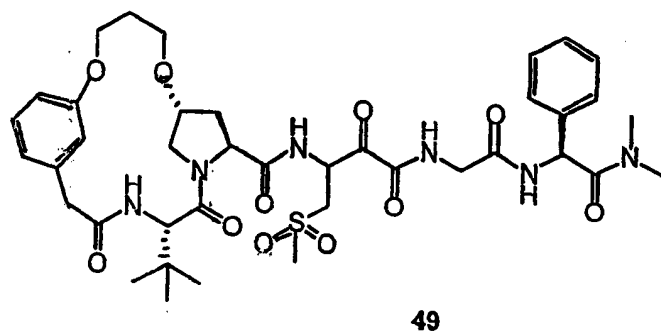
通过对实施例 1 步骤 J 描述的方法，得到所需的产物 **48b**。该粗
品物质纯度足以用于进一步操作(注意：通过对 **46g** 描述的类似方法，
5 从市售获得的 *N*-Boc-S-甲基半胱氨酸得到前体 **48a**)。

步骤 B:

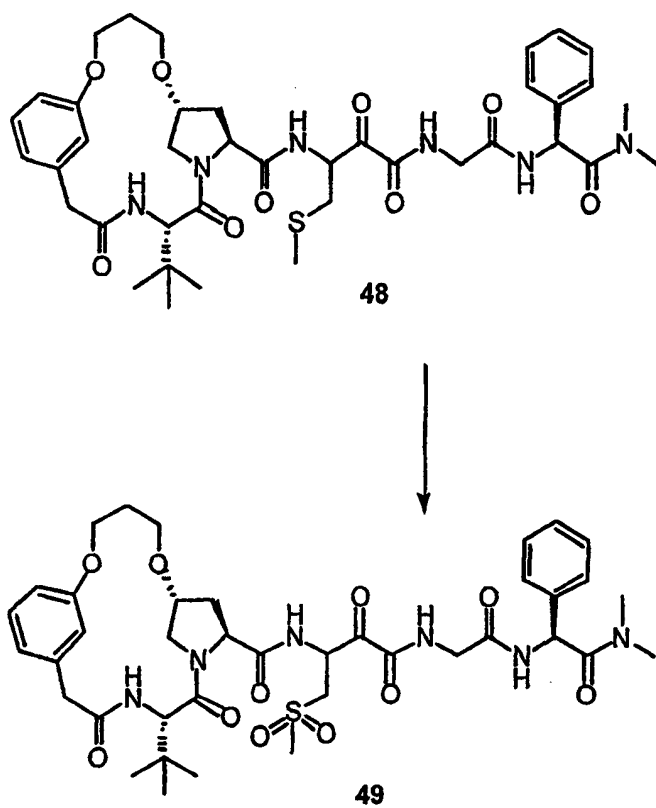


通过先前对实施例 10 步骤 J 描述的氧化方法，得到所需的产物
48。经快速柱层析纯化，使用 98/2 二氯甲烷/MeOH 洗脱，以 21%收
5 率得到为非对映体混合物的 48 (2 步)。

实施例 49: 化合物 49 的制备:



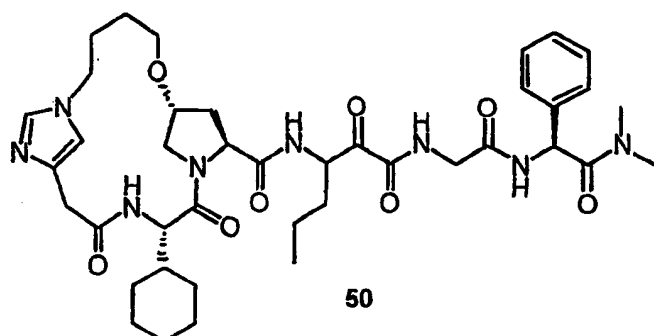
步骤 A:



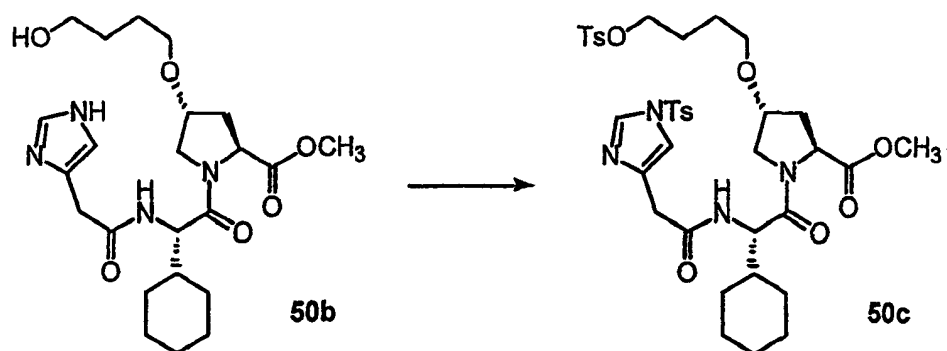
通过先前对实施例 11 步骤 A 描述的氧化方法，得到所需的产物 49。

5

实施例 50: 化合物 50 的制备:



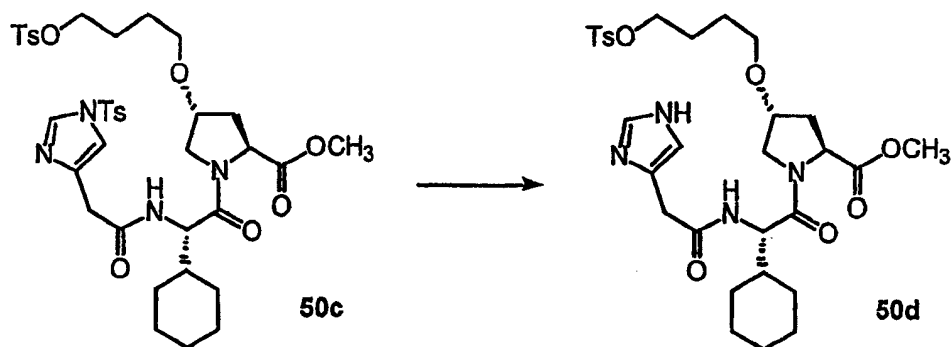
步骤 C:



通过对实施例 10 步骤 A 描述的方法, 使用对甲苯磺酰氯作为起始原料, 得到所需的产物 **50c**。

5

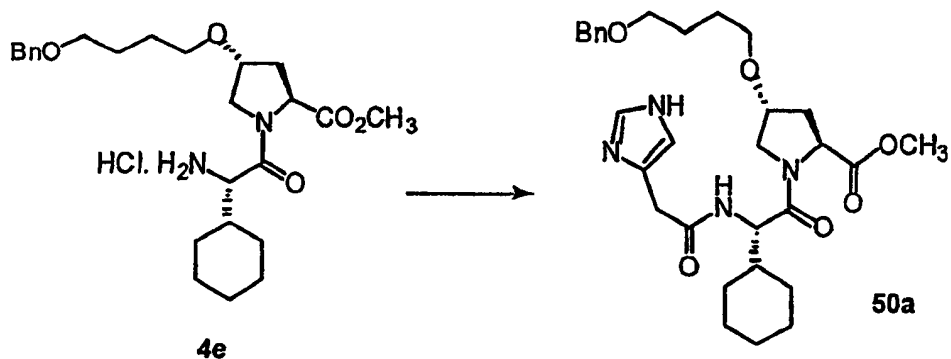
步骤 D:



在环境温度下通过用在 THF 中的 HOBt 处理 **50c** 几小时, 得到所需的产物 **50d**。

10

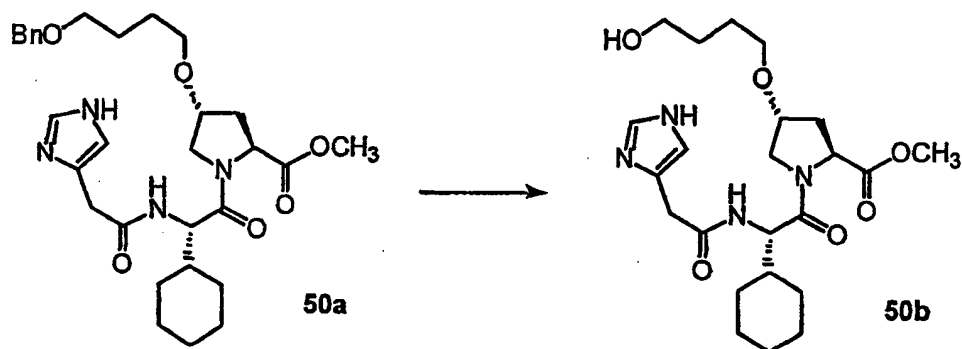
步骤 A:



通过对实施例 1 步骤 F 描述的方法, 使用咪唑-4-乙酸作为偶合配体, 得到所需的产物 50a。

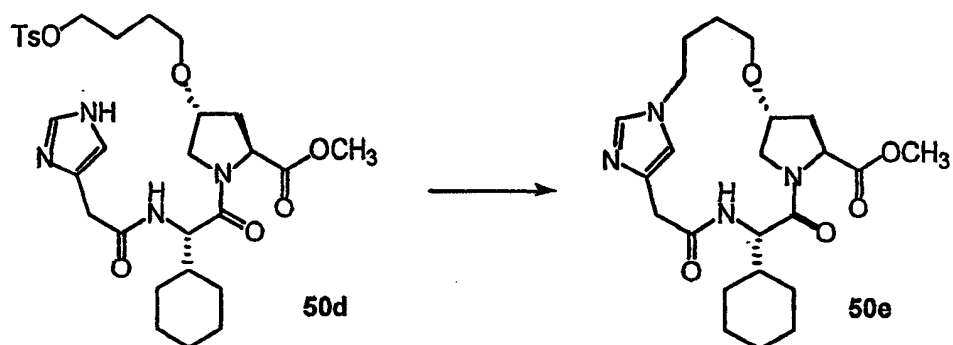
5

步骤 B:



通过对实施例 1 步骤 G 描述的方法, 得到所需的产物 50b。

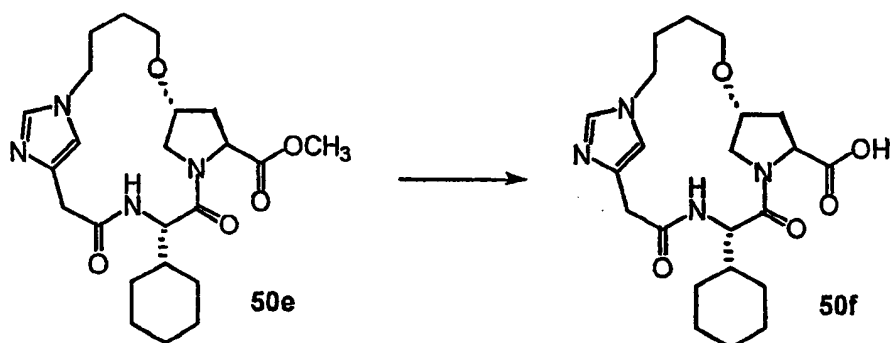
步骤 E:



通过将 **50d** 与碳酸钠和碘化钠在丙酮中于 50℃ 下加热几小时，合成期望的产物 **50e**。可经常规快速层析纯化该产物。

5

步骤 F:

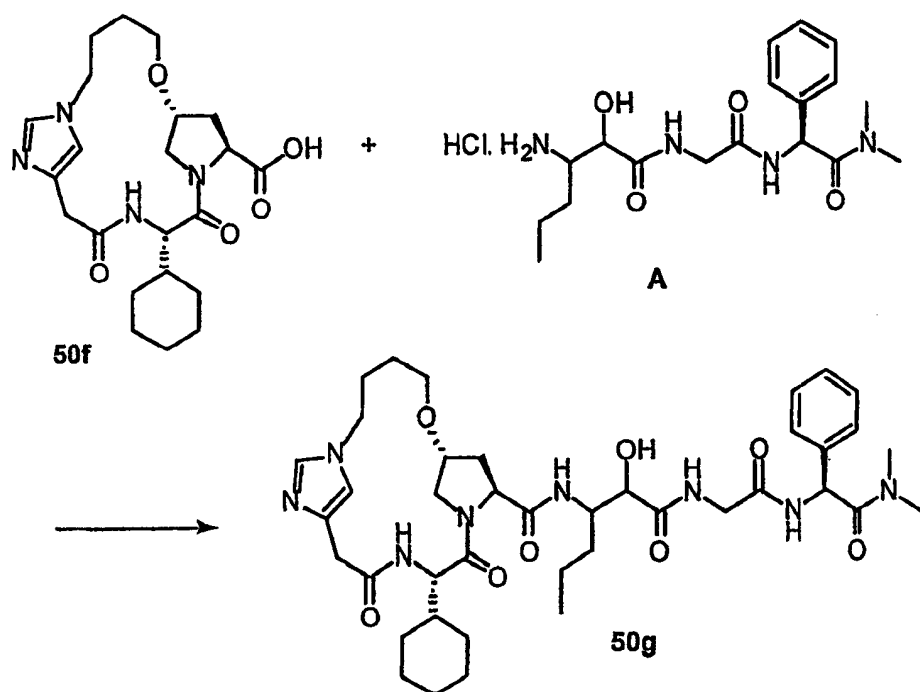


通过先前对实施例 1 步骤 I 描述的水解方法，得到所需的产物

10

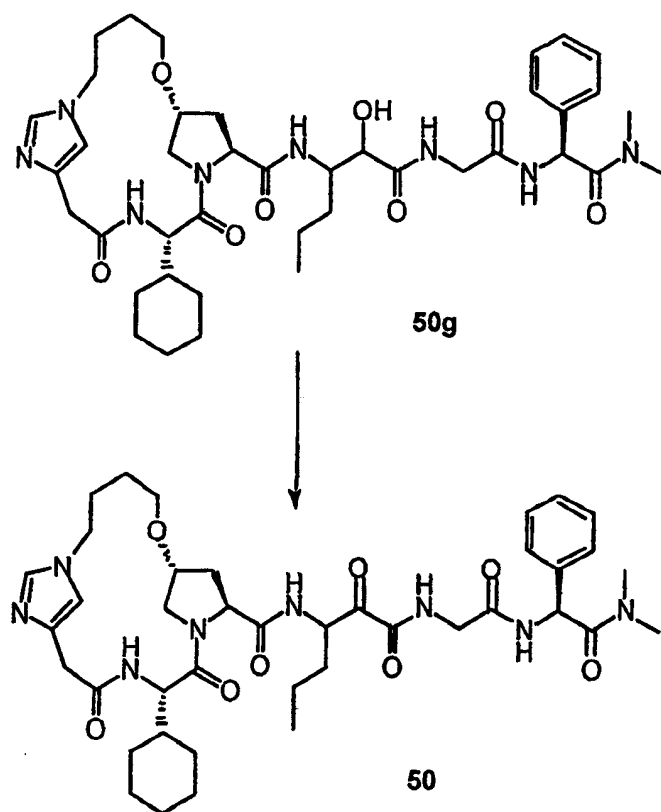
50f。

步骤 G:



如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样，合成期望的产物 **50g**。

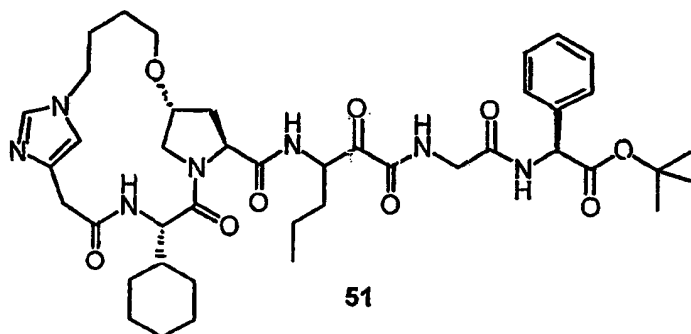
步骤 M:



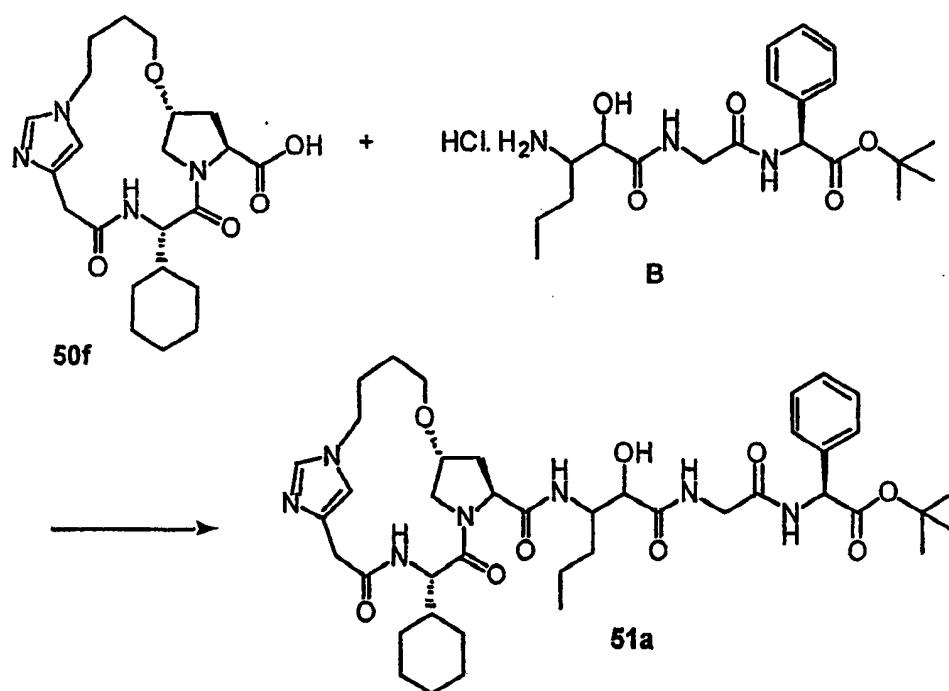
通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物 50。经快速柱层析纯化得到纯的 50。

5

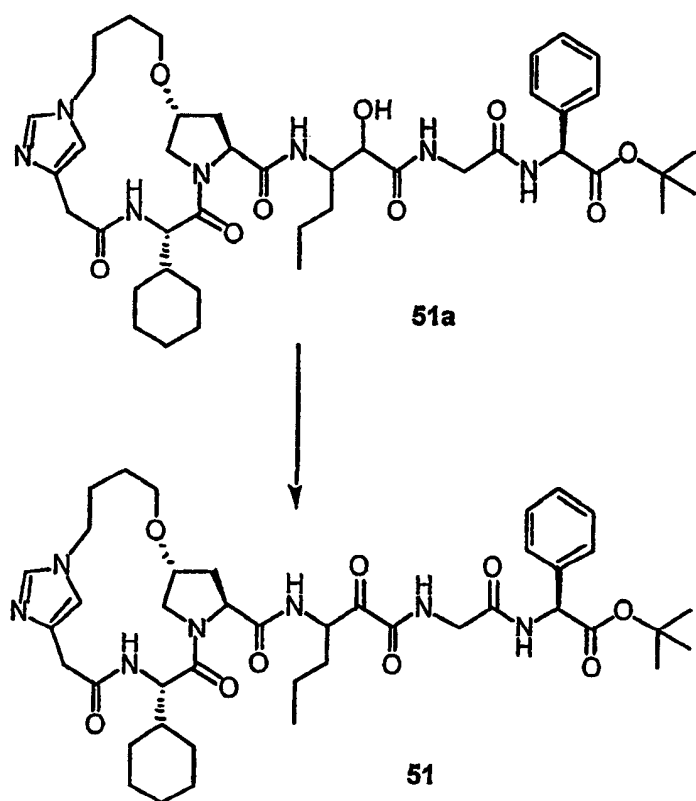
实施例 51: 化合物 51 的制备:



步骤 A:

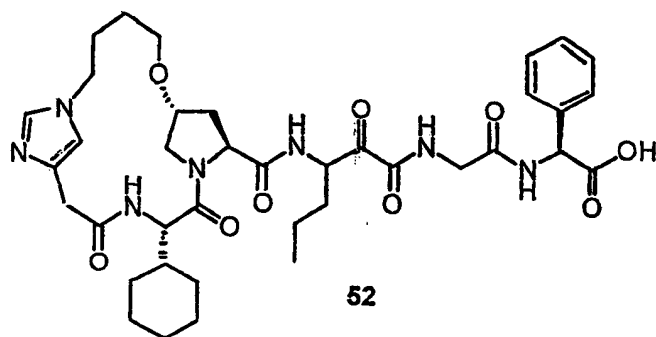


如先前对实施例 2 步骤 A 描述的那样, 合成期望的产物 **51a**。

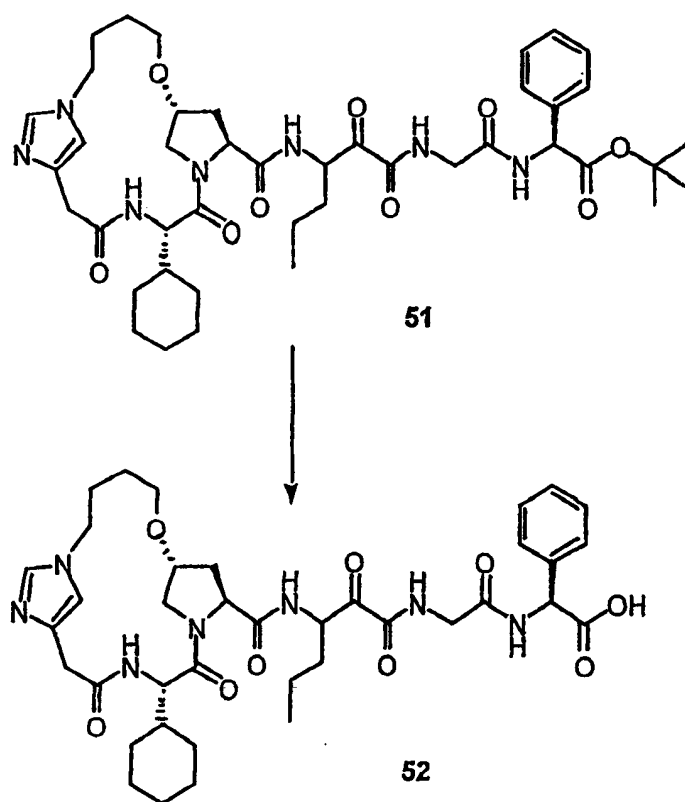
步骤 B:

通过先前对实施例 2 步骤 B 描述的氧化方法，得到所需的产物 51。经快速柱层析纯化得到纯的 51。

5

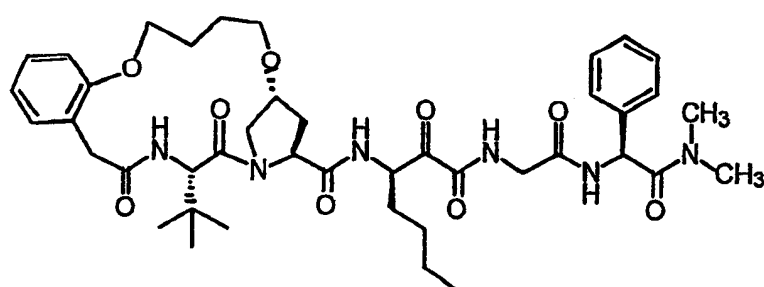
实施例 52: 化合物 52 的制备:

步骤 A:

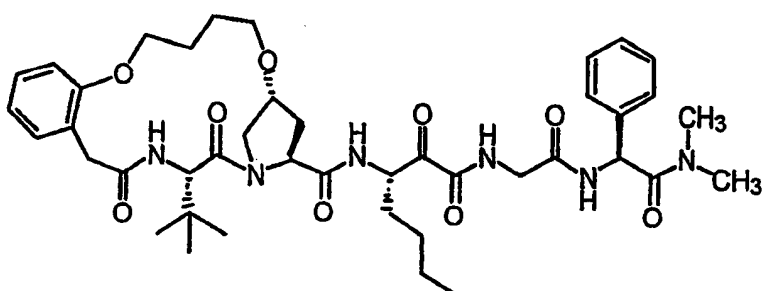


通过先前对实施例 3 步骤 A 描述的方法，得到所需的产物 52。

实施例 53: 式 53A 和 53B 化合物的制备:

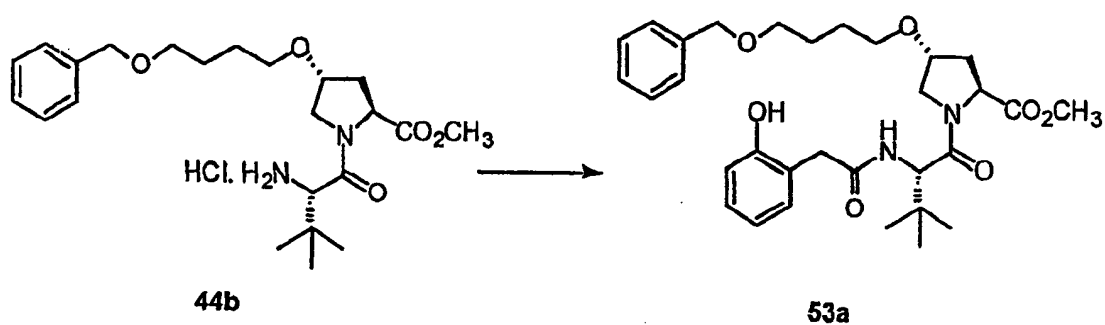


53A



53B

步骤 A:



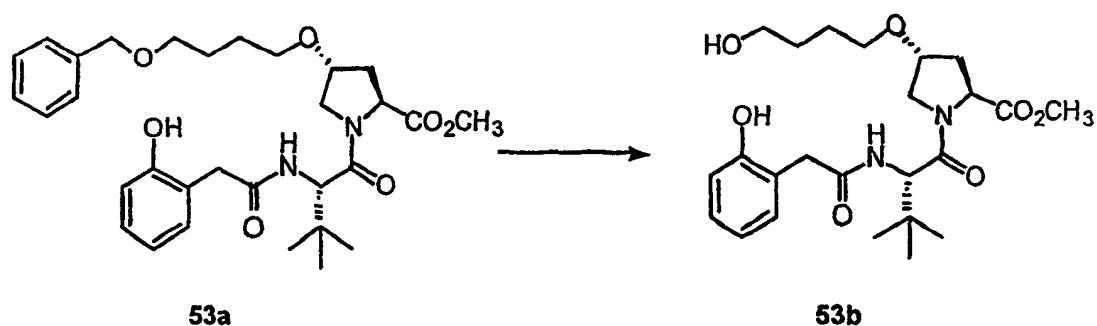
44b

53a

5

通过在实施例 1 步骤 F 中描述的方法, 得到所需的产物 **53a**。经快速柱层析纯化该物质, 使用 80/20-60/40 二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱, 得到 **53a**。

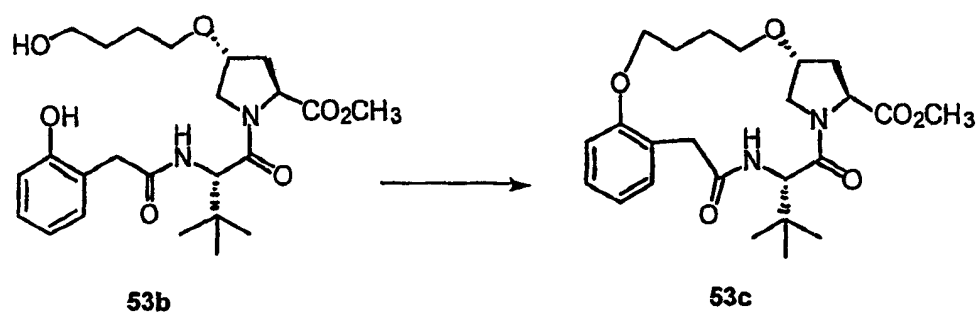
步骤 B:



通过在实施例 1 步骤 G 中描述的方法，得到所需的产物 **53b**。
该粗品物质可原样直接用于下一步骤。

5

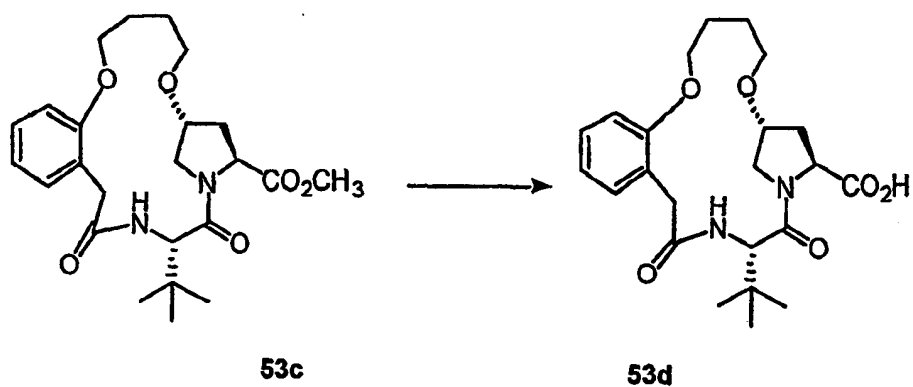
步骤 C:



通过在实施例 1 步骤 H 中描述的方法，得到所需的产物 **53c**。经
柱层析纯化，使用 99/1 二氯甲烷/甲醇洗脱，得到 **53c** 以及三苯基膦
氧化物。该混合物直接用于下一步骤。

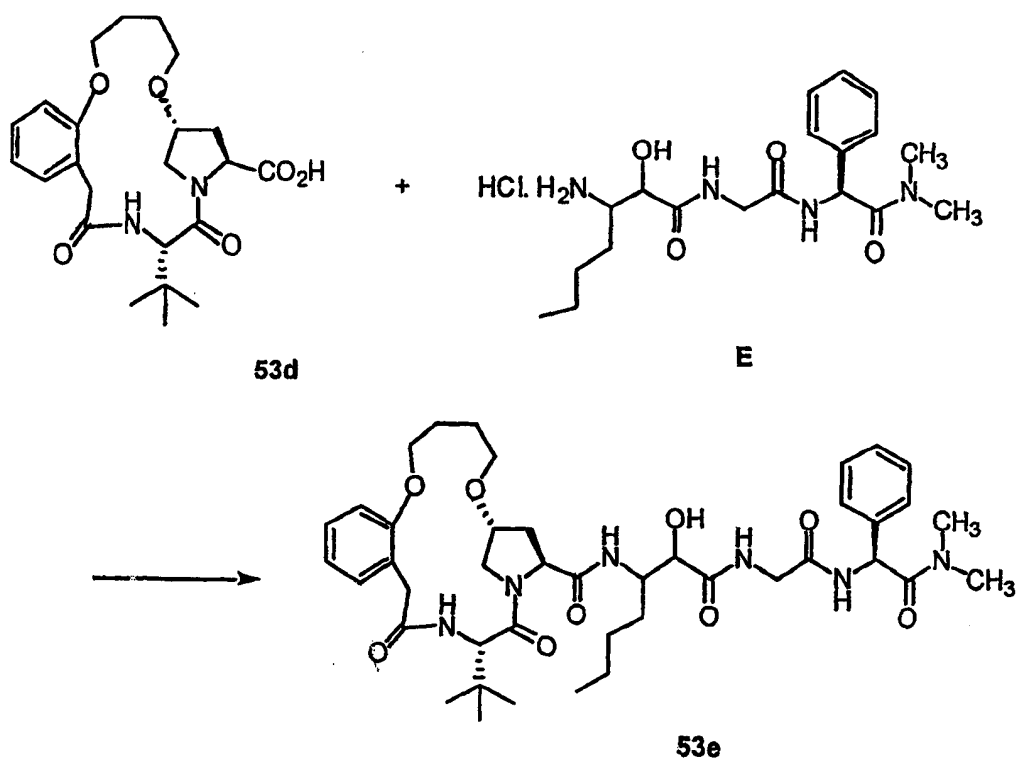
10

步骤 D:



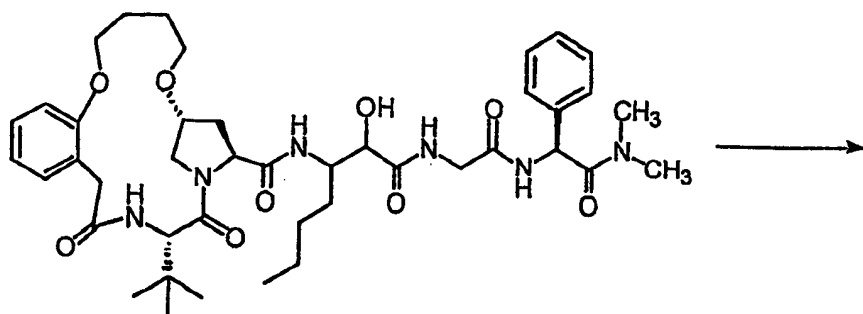
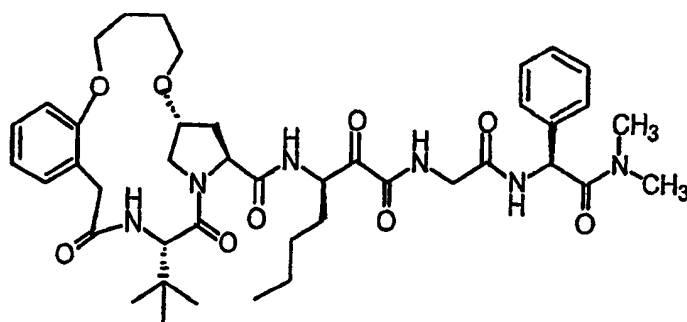
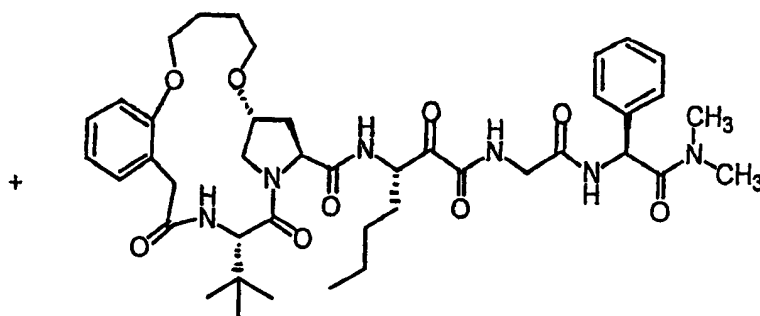
通过在实施例 1 步骤 I 中描述的方法, 得到所需的产物。

5 步骤 E:



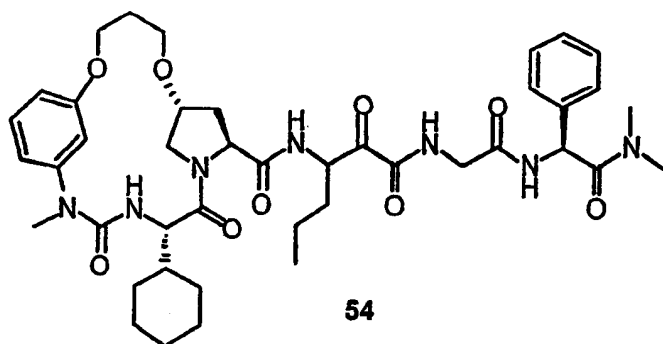
如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样, 合成期望的产物 **53e**。处理后, 该物质纯度足以用于下一步骤。

步骤 F:

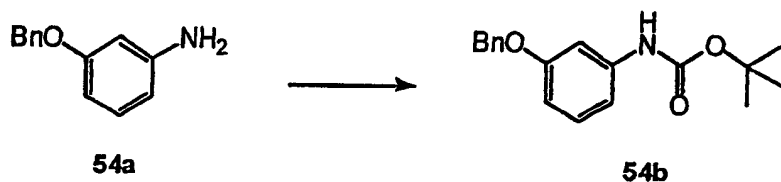
**53e****53A****53B**

通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物
53A 和 **53B**。经快速柱层析纯化，使用 100/0-99/1 二氯甲烷/甲醇洗
 脱，得到分离的异构体 **53A** 和 **53B**，和一些异构体。

实施例 54: 化合物 54 的制备:



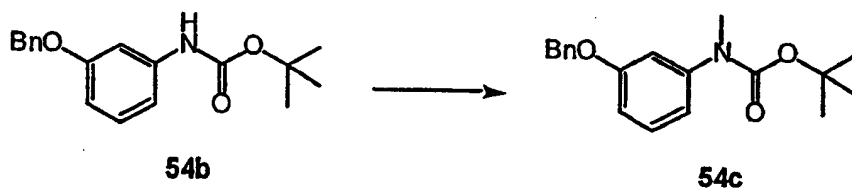
步骤 A:



5

使用对中间体 A 步骤 3 描述的方法, 以定量收率将市售获得的 **54a** 转化为所需的产物 **54b**。

步骤 B:

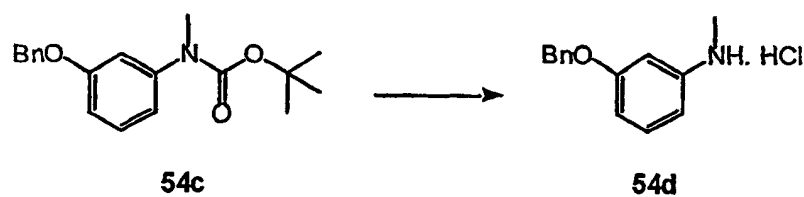


10

向 **54b** (8 g, 26.8 mmol) 在 DMF (100 mL) 中的冷的 (0℃) 溶液中加入氢化钠 (60% 悬浮液在油中, 1.3 g, 32.16 mmol)。10 分钟后, 加入碘甲烷 (2.8 mL, 42.8 mmol) 并把反应物温热至环境温度反应 2 小时。用 NH_4Cl 水溶液猝灭反应混合物, 并用 EtOAc 提取。分离有机层, 干燥 (Na_2SO_4), 浓缩, 得到 **54c**, 其纯度足以用于进一步研究。

15

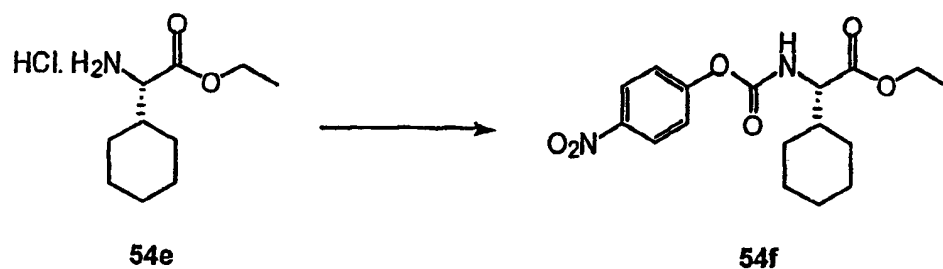
步骤 C:



通过对实施例 1 步骤 C 描述的方法, 得到所需的产物 **54d**。该粗产物无须进一步纯化即可使用。

5

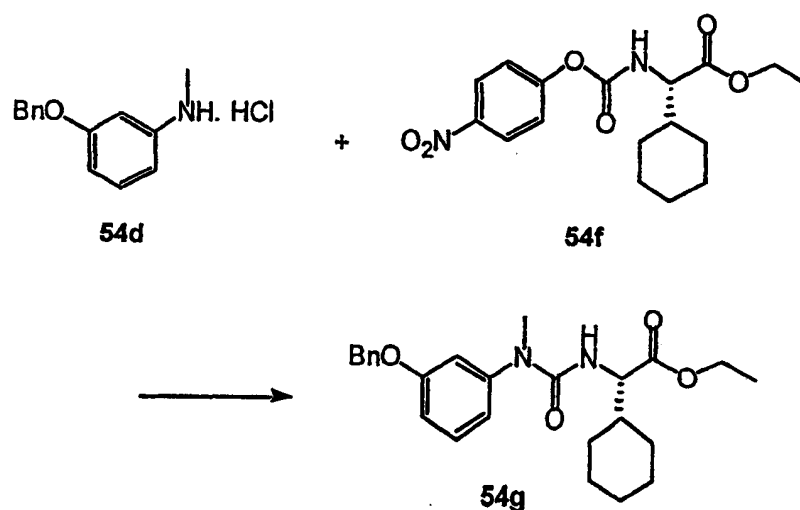
步骤 D:



通过对实施例 26 步骤 A 描述的方法, 使用 **54e** 作为起始原料, 得到所需的产物 **54f**。经快速层析纯化该粗产物, 使用 80/20-100/0 二氯甲烷/己烷洗脱, 得到 **54f**。

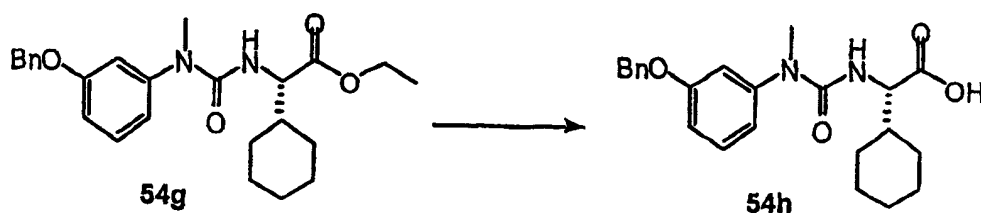
10

步骤 E:



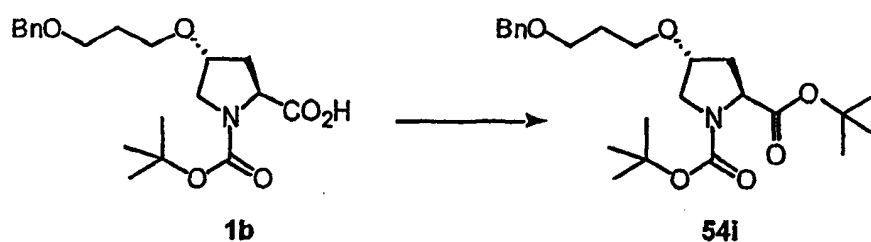
通过对实施例 26 步骤 B 描述的方法, 使用 **54d** 和 **54f** 作为起始原料, 得到所需的产物 **54g**。该反应在氯仿中于 50℃ 下进行。经快速层析纯化残余物, 使用 85/15 己烷/EtOAc 洗脱, 以 56% 收率得到 **54g**。HRMS (FAB) $C_{25}H_{33}N_2O_4$ 的计算值: 425.2440 (M+H)⁺。实测值: 425.2424。

步骤 F:



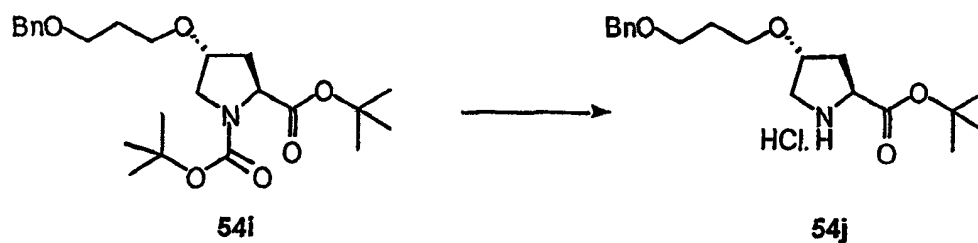
通过先前对实施例 1 步骤 I 描述的方法, 使用 EtOH 作为溶剂, 得到所需的化合物 **54h**。

步骤 G:



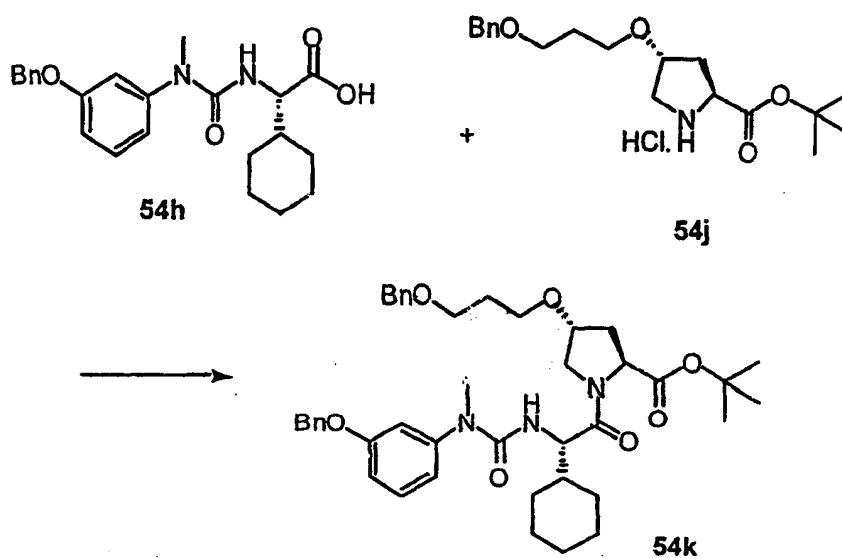
通过对实施例 18 步骤 B 描述的方法, 制备所需的化合物 **54i**。

5 步骤 H:



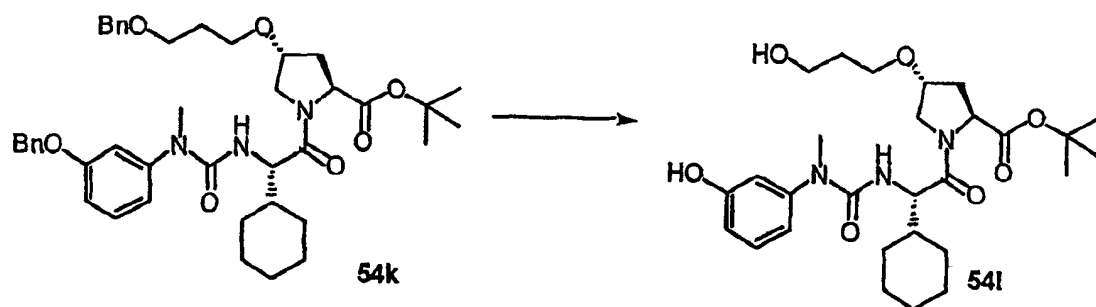
通过对实施例 1 步骤 C 描述的方法, 得到所需的产物 **54j**。该粗品物质无须纯化即可使用。

10 步骤 I:



通过先前对实施例 1 步骤 D 描述的偶合方法, 得到所需的产物 **54k**。

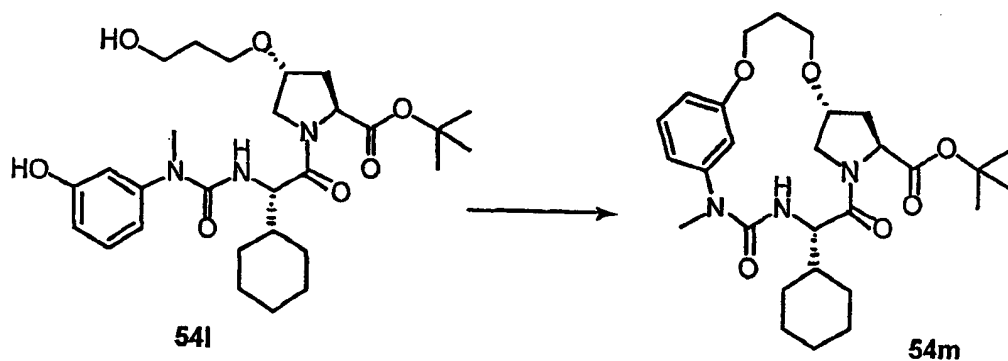
步骤 J:



5

通过先前对实施例 1 步骤 G 描述的氢化方法, 得到所需的产物 **54l**。

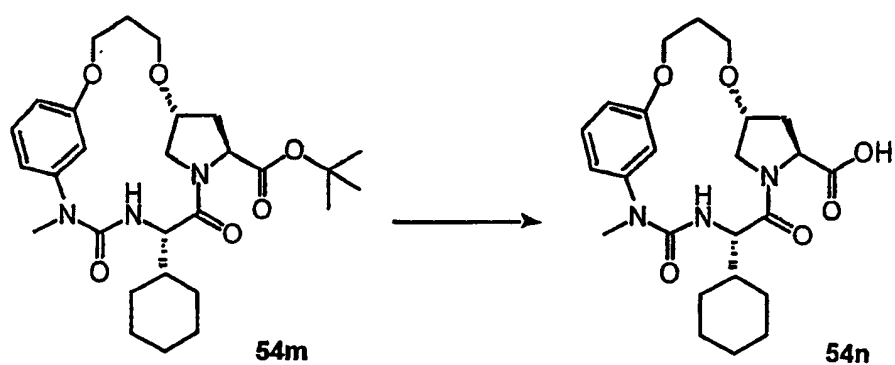
步骤 K:



10

通过对实施例 1 步骤 H 描述的环合方法, 得到所需的产物 **54m**。

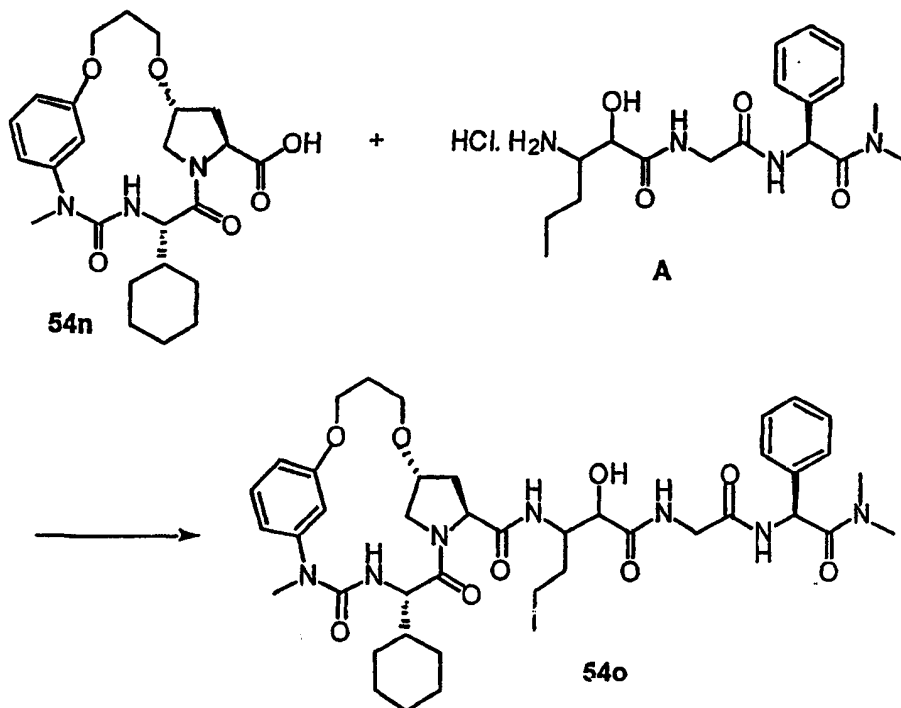
步骤 L:



通过先前对实施例 3 步骤 A 描述的生产方法, 得到所需的产物 **54n**。

5

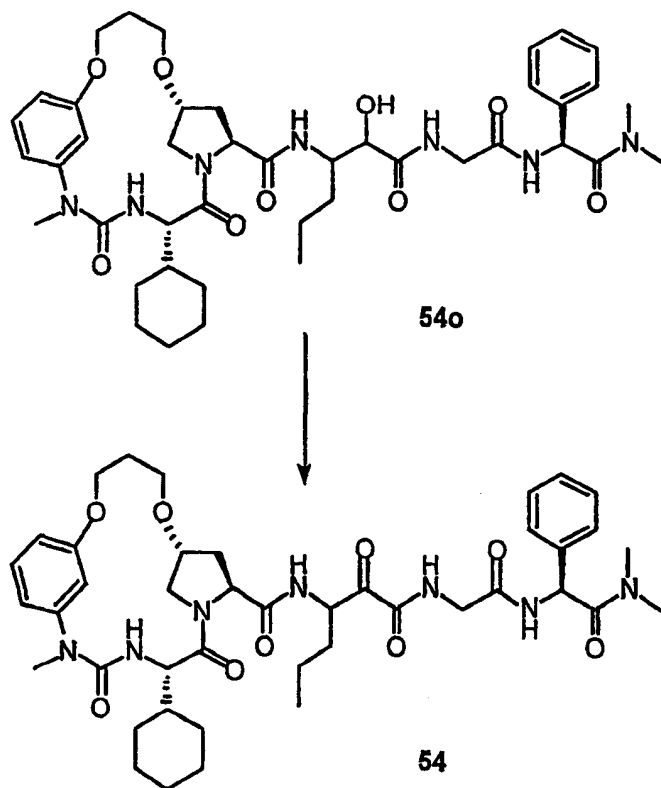
步骤 M:



如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样, 合成期望的产物 **54o**。

10

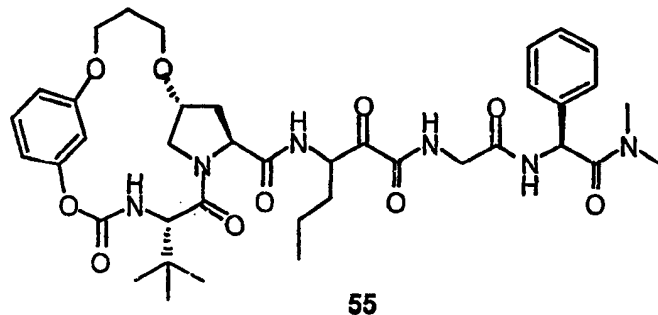
步骤 N:



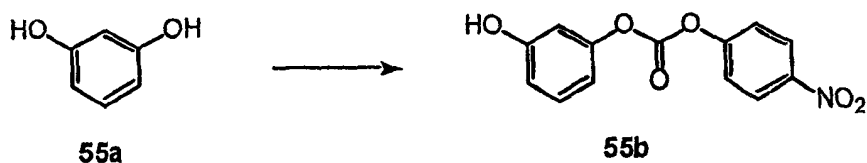
通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物 54。经快速柱层析纯化得到纯的 54。

5

实施例 55: 化合物 55 的制备:



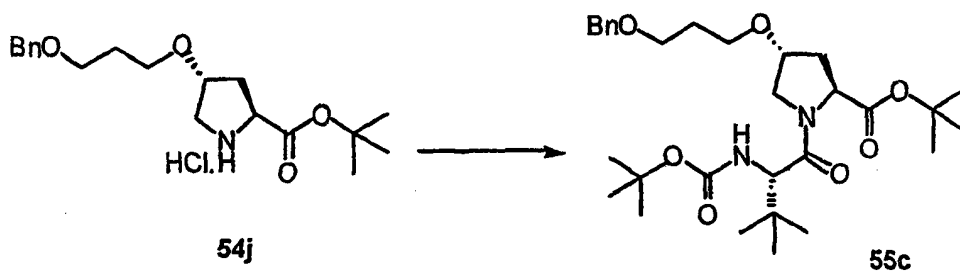
步骤 A:



使用对实施例 26 步骤 A 描述的方法，将市售获得的 **55a** 转化为所需的产物 **55b**，收率 41%。

5

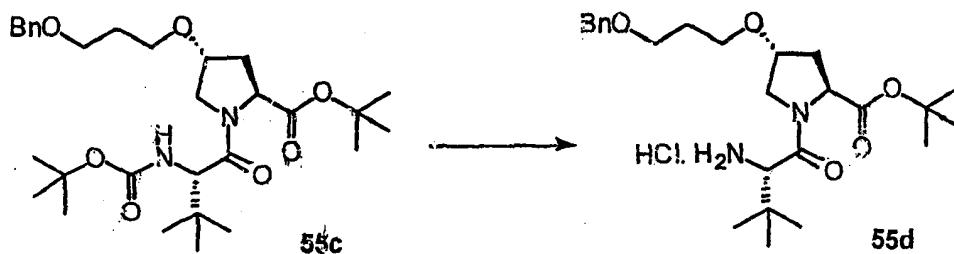
步骤 B:



通过先前对实施例 1 步骤 D 描述的偶合方法，使用 N-Boc-叔丁基甘氨酸作为偶合配体，得到所需的产物 **55c**。使用 95/5 二氯甲烷/EtOAc 纯化，以 57%收率得到 **55c**。

10

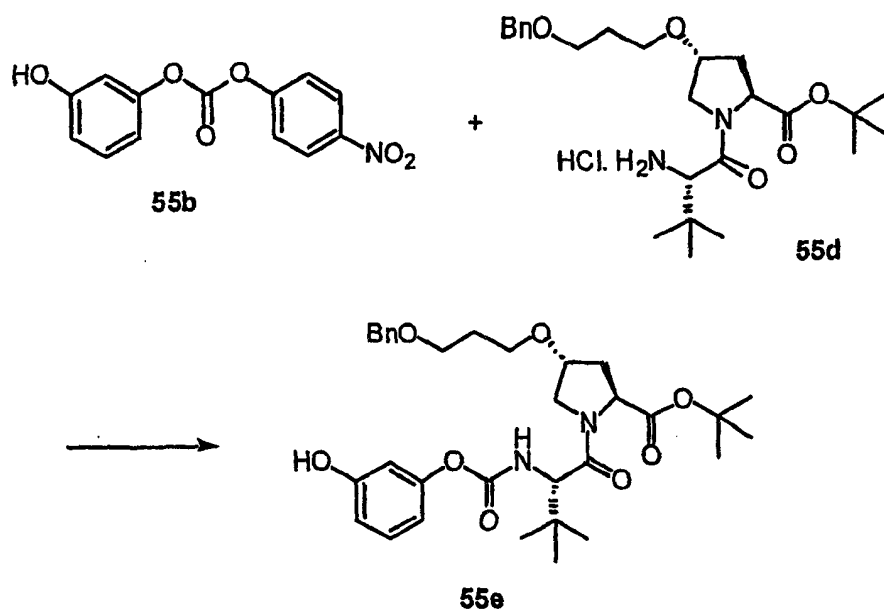
步骤 C:



通过先前对实施例 1 步骤 C 描述的方法，得到所需的产物 **55d**。该粗品物质可直接向下进行。

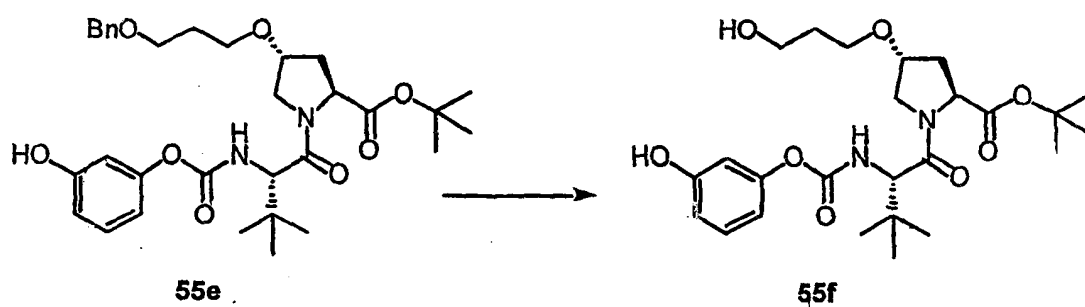
15

步骤 D:



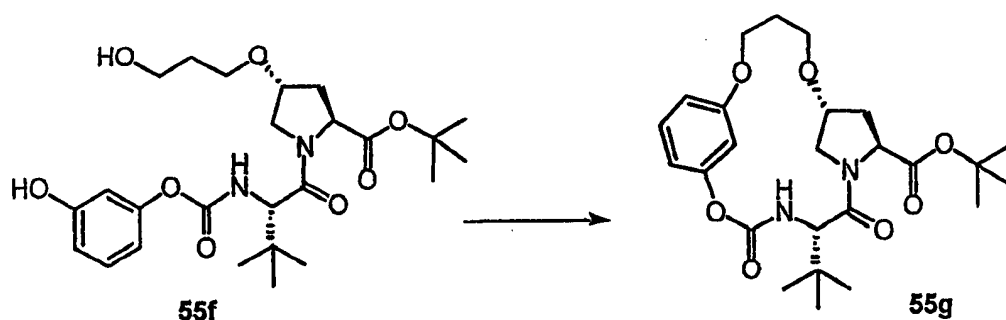
通过对实施例 26 步骤 B 描述的方法, 得到所需的产物 **55e**。使用 80/20 二氯甲烷/EtOAc 纯化, 以 20% 收率得到 **55e**。HRMS (FAB) $C_{32}H_{45}N_2O_8$ 的计算值: 585.3176 (M+H)⁺。实测值: 585.3177。

步骤 E:



通过先前对实施例 1 步骤 G 描述的生产方法, 得到所需的产物 **55f**。HRMS (FAB) $C_{25}H_{39}N_2O_8$ 的计算值: 495.2706 (M+H)⁺。实测值: 495.2704。

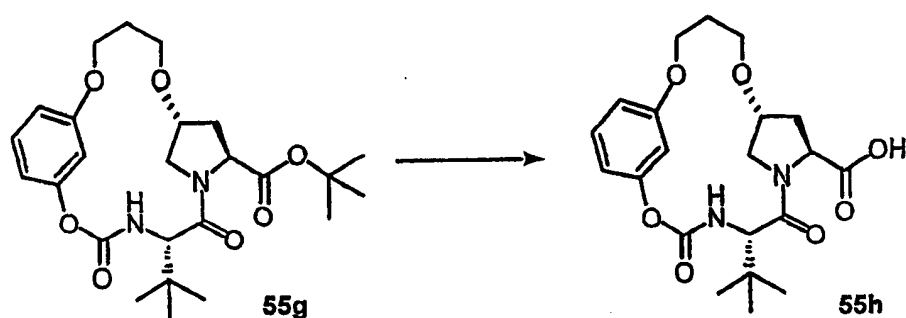
步骤 F:



如先前对实施例 1 步骤 H 描述的那样，合成期望的产物 **55g**。
 经快速层析纯化，使用 85/15 二氯甲烷/EtOAc 洗脱，以 10% 收率得
 到 **55g**。

5

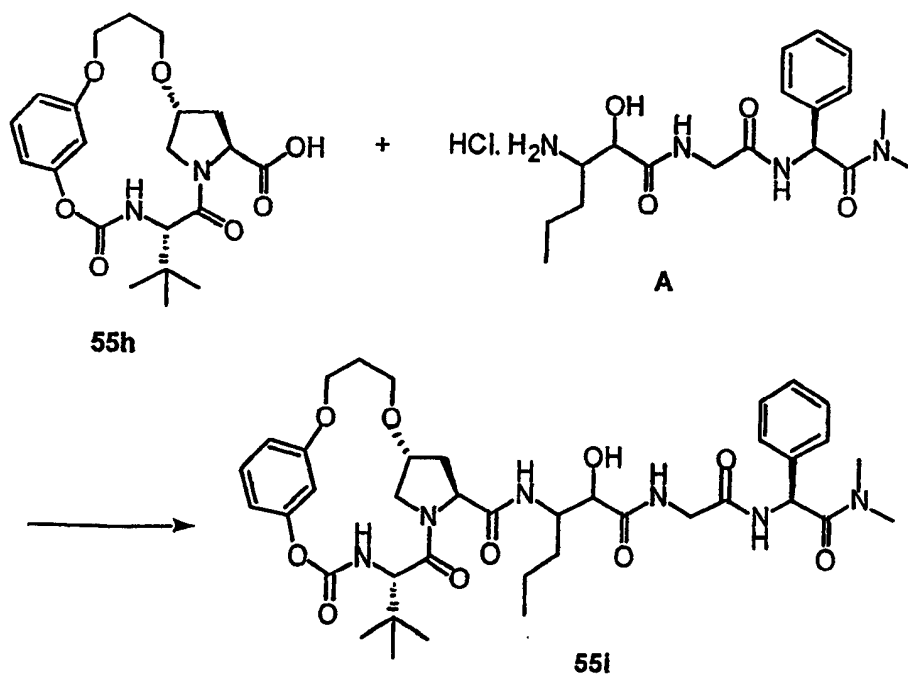
步骤 G:



通过先前对实施例 3 步骤 A 描述的方法，得到所需的产物 **55h**。
 该粗品物质无须纯化即可直接向下进行。

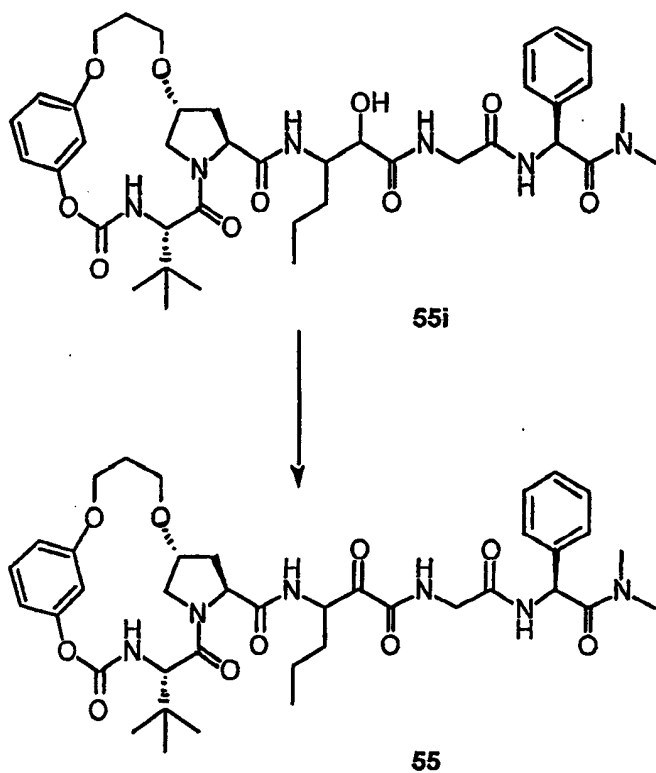
10

步骤 H:



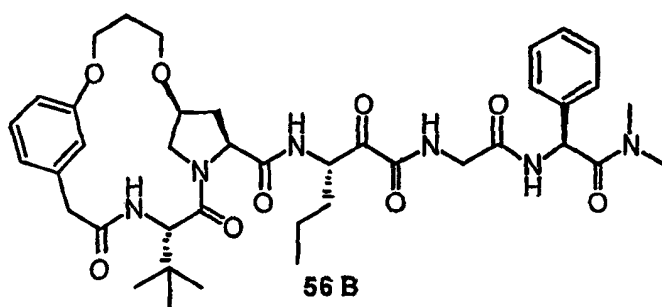
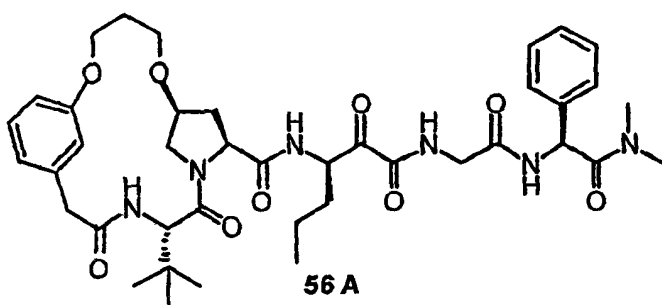
如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样, 合成期望的产物 **55i**。该粗品物质无须纯化即可直接向下进行。

步骤 I:

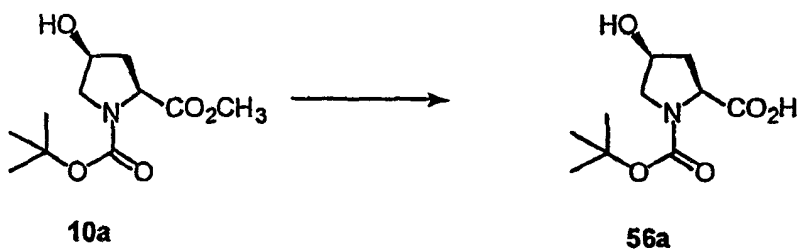


通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物
5 **55**。经快速柱层析纯化，使用 98/2 二氯甲烷/MeOH 洗脱，得到 **55**。

实施例 56: 化合物 56 的制备:



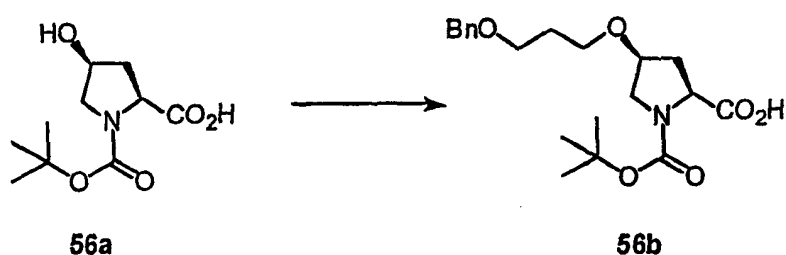
步骤 A:



5

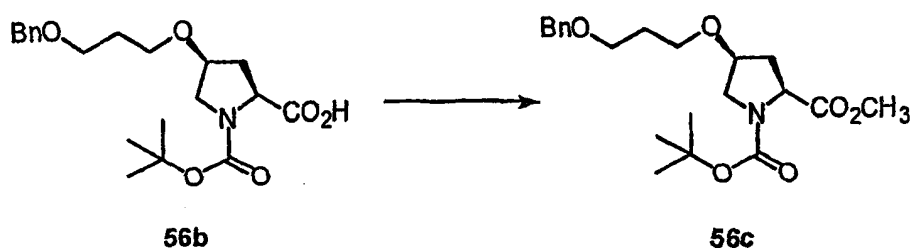
10

向市售获得的甲酯 **10a** (5.0 g, 20.4 mmol) 在 MeOH (20 mL) 中的溶液中加入 LiOH (730 mg, 30.6 mmol) 在水 (20 mL) 中的溶液。在环境温度下, 将反应混合物搅拌 2 小时。TLC 表明起始原料消耗完全。浓缩反应混合物并用 10% 枸橼酸溶液酸化。加入固体 NaCl 并用 EtOAc 把水层提取几次。干燥 (Na₂SO₄) 合并的 EtOAc 层, 浓缩, 以定量收率得到 **56a**。HRMS (FAB) C₁₀H₁₈N₁O₅ 的计算值: 232.1185 (M+H)⁺。实测值: 232.1189。

步骤 B:

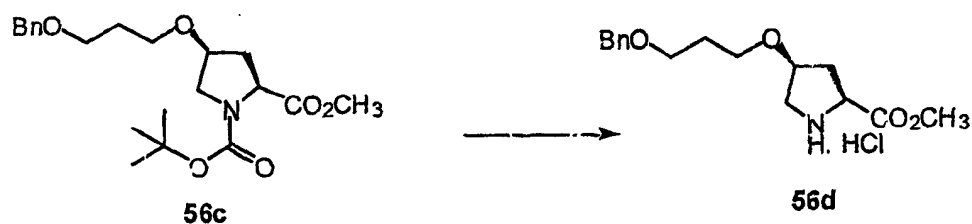
通过对实施例 1 步骤 A 描述的方法, 得到所需的产物 **56b**。无须纯化将该粗品物质转化为甲基酯。

5

步骤 C:

通过对实施例 1 步骤 B 描述的方法, 得到所需的产物 **56c**。经柱层析纯化残余物, 先后使用 80/20-50/50 己烷/EtOAc 和 70/30-40/60 二氯甲烷/EtOAc 洗脱, 得到 13% 的 **56c**。HRMS (FAB) $C_{21}H_{31}NO_6$ 的计算值: 394.2230 ($M+H$)⁺。实测值: 394.2224。

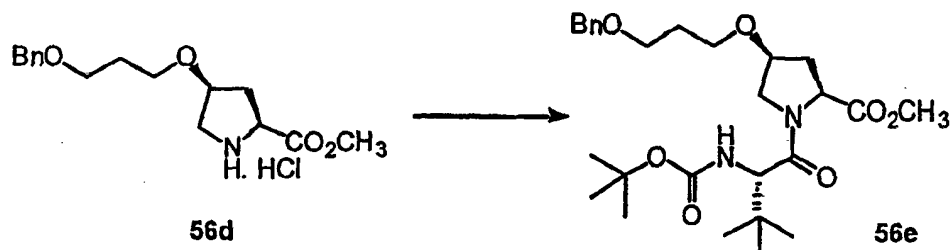
10

步骤 D:

15

通过对实施例 1 步骤 C 描述的方法, 得到所需的产物 **56d**。该粗品物质无须纯化即可直接使用。

步骤 E:

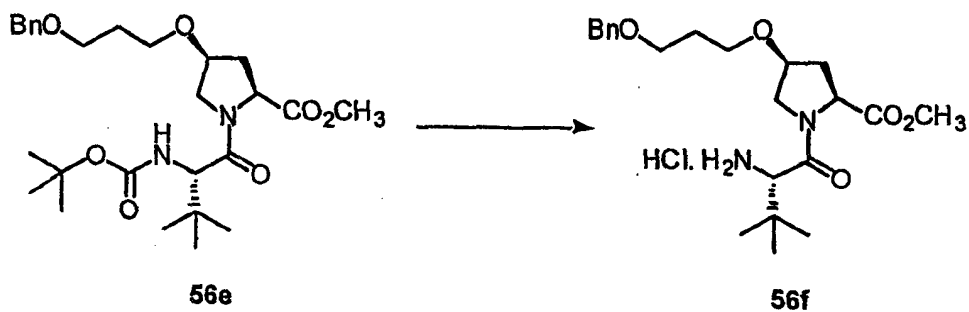


5

通过对实施例 1 步骤 D 描述的方法, 使用 N-Boc-叔丁基甘氨酸作为偶合配体, 得到所需的产物 **56e**。经柱层析纯化残余物, 使用 90/10 二氯甲烷/EtOAc 洗脱, 得到 86% 的 **56e**。HRMS (FAB) $C_{27}H_{43}N_2O_7$ 的计算值: 507.3070 (M+H)⁺。实测值: 507.3072。

10

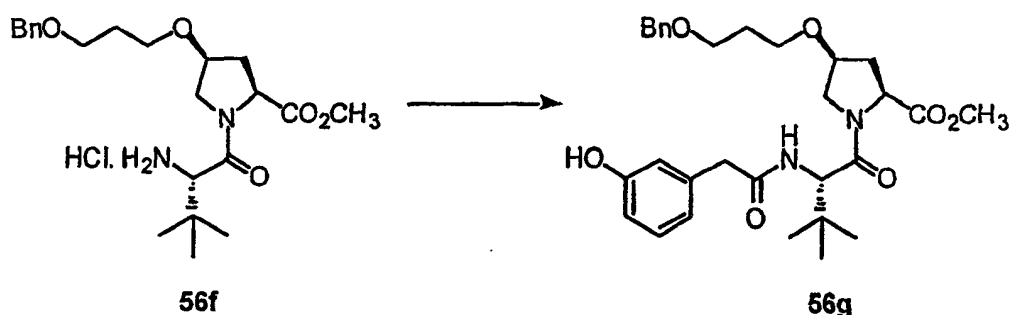
步骤 F:



通过对实施例 1 步骤 E 描述的方法, 制备所需的产物 **56f**。该物质可原样直接向下进行。

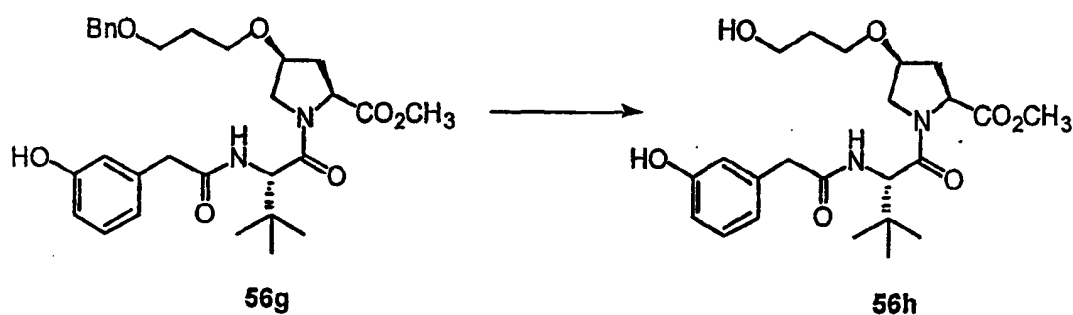
15

步骤 G:



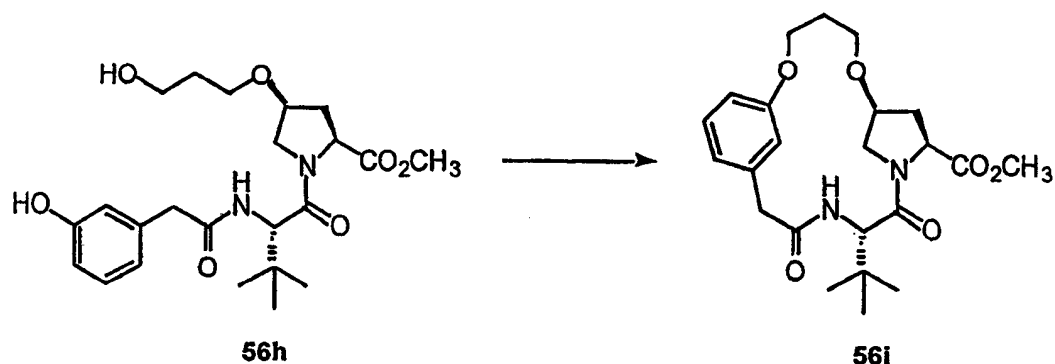
通过对实施例 1 步骤 F 描述的方法, 得到所需的产物 **56g**。经快速柱层析纯化该物质, 使用 98/2 二氯甲烷/MeOH 洗脱, 以 78% 得到为白色泡沫的 **56g**。HRMS (FAB) $C_{30}H_{41}N_2O_7$ 的计算值: 541.2914 (M+H)⁺。实测值: 541.2916。

步骤 H:



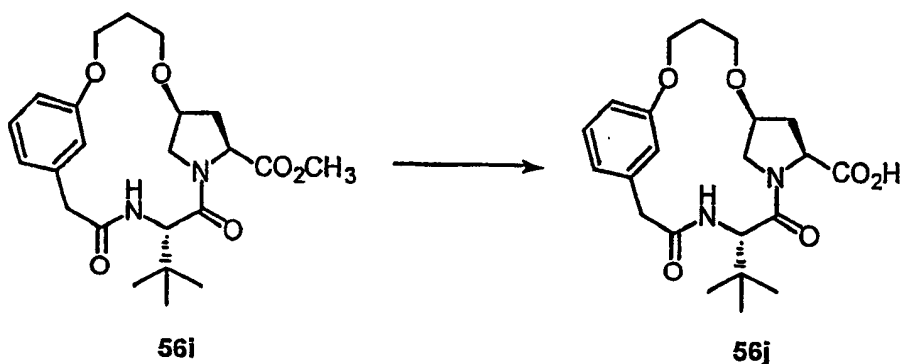
通过对实施例 1 步骤 G 描述的方法, 得到所需的产物 **56h**。滤除催化剂后, 所得到的产物纯度足以用于随后的操作。HRMS (FAB) $C_{23}H_{35}N_2O_7$ 的计算值: 451.2444 (M+H)⁺。实测值: 451.2449。

步骤 I:



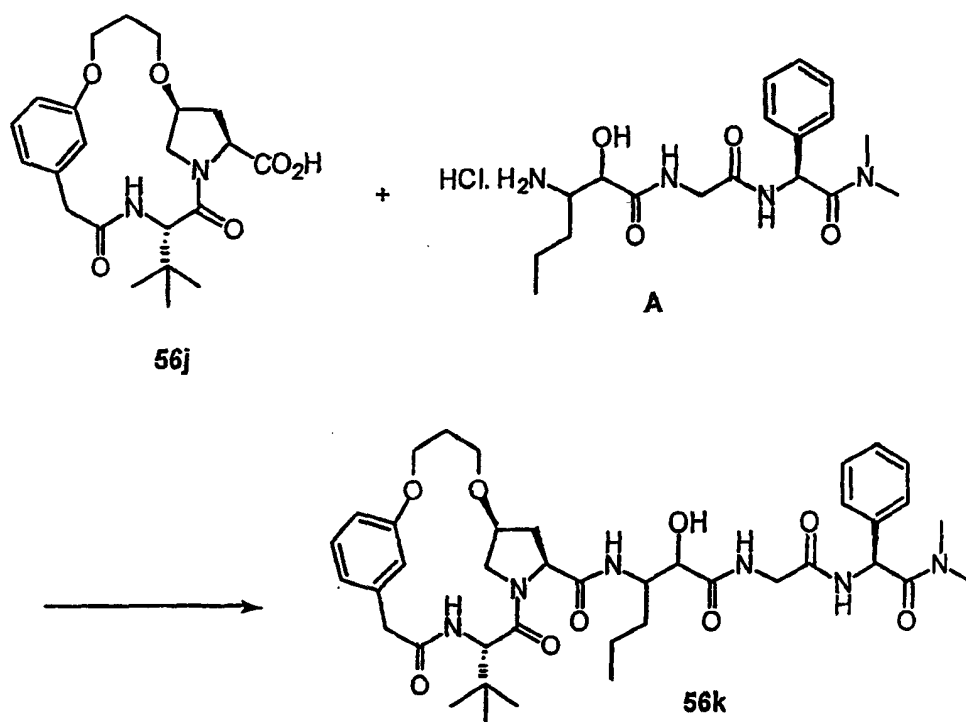
通过对实施例 1 步骤 H 描述的方法，得到所需的产物 **56i**。使用 75/25 己烷/丙酮纯化粗品残余物，得到产物 **56i** 及三苯基膦氧化物的混合物。HRMS (FAB) $C_{23}H_{33}N_2O_6$ 的计算值: 433.2339 (M+H)⁺。实测值: 433.2343。

步骤 J:



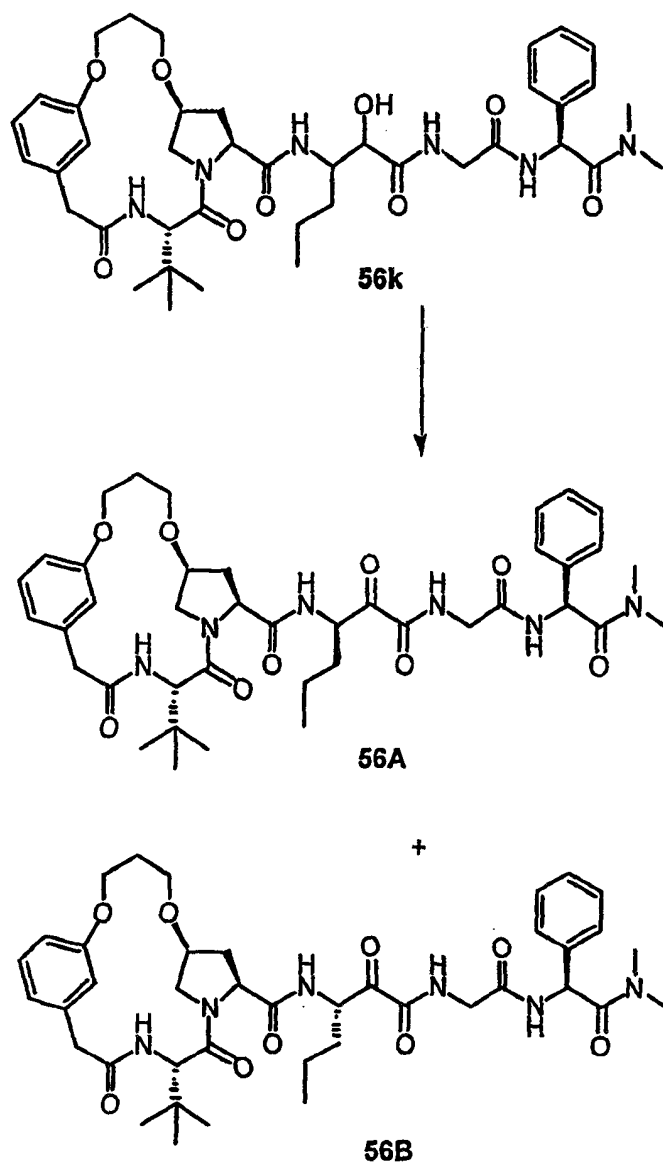
如对实施例 1 步骤 I 描述的那样，合成期望的产物 **56j**。两步收率 = 16%。HRMS (FAB) $C_{22}H_{31}N_2O_6$ 的计算值: 419.2182 (M+H)⁺。实测值: 419.2176。

步骤 K:



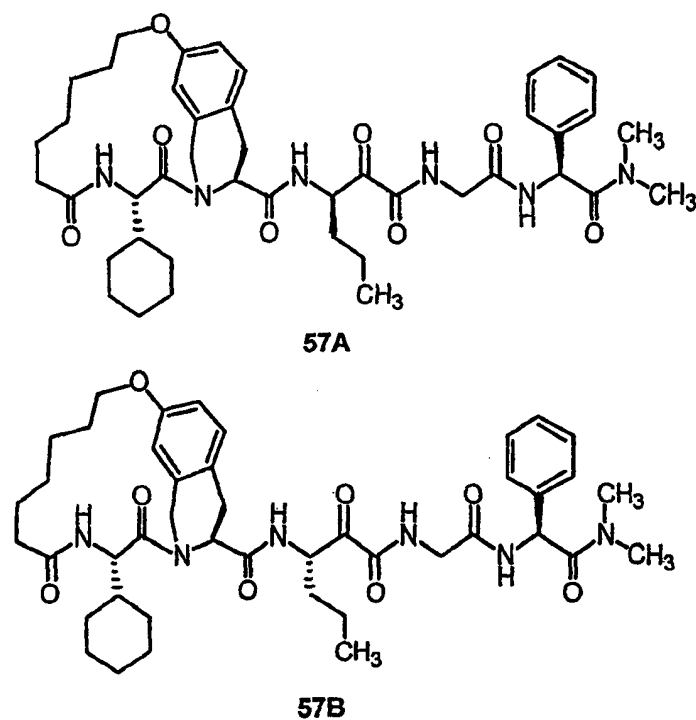
如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样，合成期望的产物 **56k**。处理后，该物质纯度足以直接用于下一步骤。HRMS (FAB) $C_{40}H_{57}N_6O_9$ 的计算值: 765.4187 (M+H)⁺。实测值: 765.4198。

步骤 L:

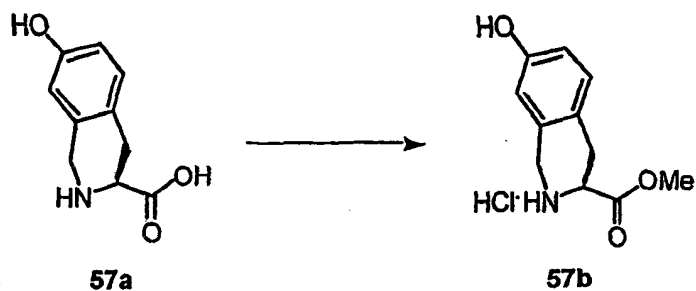


通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物
56A 和 **56B**。经快速柱层析纯化，使用 98/2-96/4 二氯甲烷/MeOH 洗
 脱，得到分离的异构体 **56A** 和 **56B** 以及一些混合物。合并收率 = 35%
 (2 步)。HRMS (FAB) $C_{40}H_{55}N_6O_9$ 的计算值: 763.4013 (M+H)⁺。实测值:
 763.4025 (**56A**)和 763.4040 (**56B**)。

实施例 57: 式 57A 和 57B 化合物的制备:

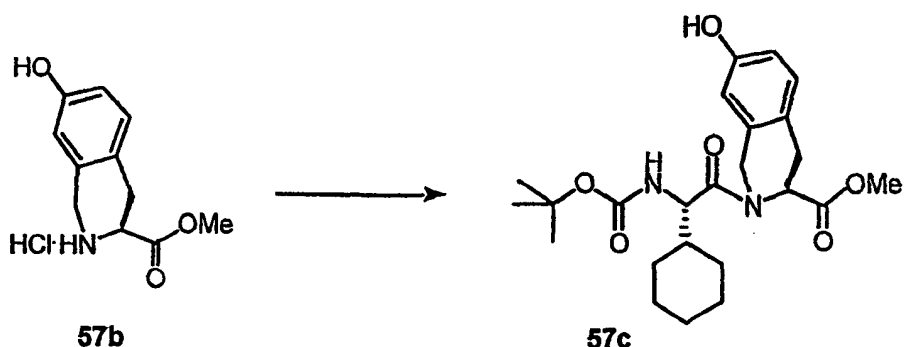


步骤 A:



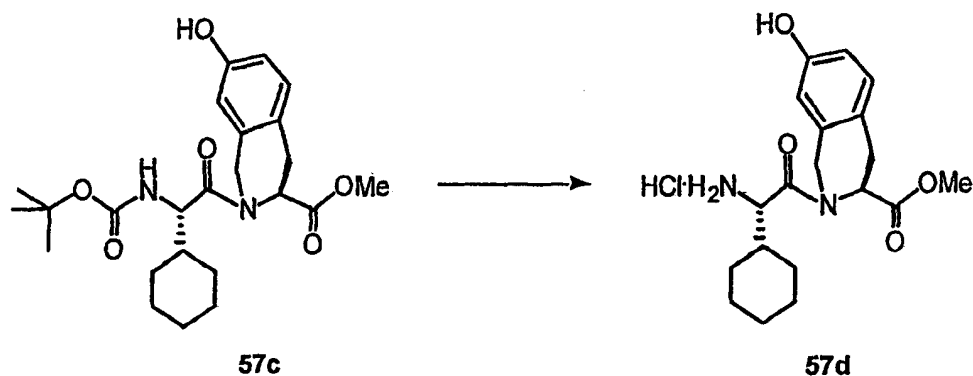
向市售的氨基酸二水合物(3S)-7-羟基-1,2,3,4-四氢异喹啉-3-羧酸 **57a** (5.0 g, 21.8 mmol)在甲醇(180 mL)中的溶液中加入浓盐酸(5.0 mL, 60 mmol)。然后, 在油浴中将生成的透明溶液加热至回流 18 小时。真空除去溶剂, 得到为白色固体的甲酯 **57b**, 它无须进一步纯化可直接用于下一步骤反应。

步骤 B:



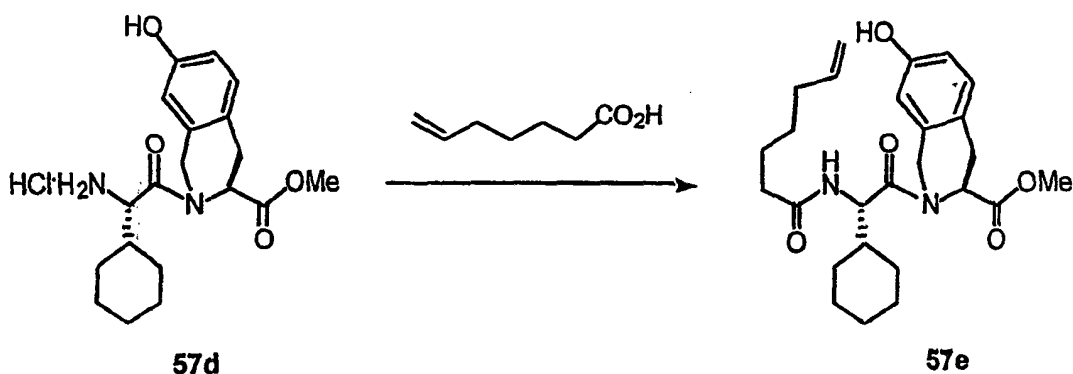
在-20℃下，向胺盐酸盐 **57b**、*N*-Boc-环己基甘氨酸(5.95 g, 21.8 mmol)、HOObt (3.73 g, 22.9 mmol)和 EDCI (5.00 g, 26.1 mmol)在无水 DMF (200 mL)和 CH₂Cl₂ (200 mL)中的溶液中加入 NMM (7.20 mL, 65.5 mmol)。在该温度下搅拌 30 分钟后，把反应混合物在冰箱中保持过夜(18 h)，之后，加入 EtOAc (600 mL)、盐水(150 mL)和 5% H₃PO₄ (150 mL)。用 5% H₃PO₄ (200 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液(2 X 200 mL)、水(200 mL)和盐水(200 mL)洗涤分离的有机溶液，用硫酸镁干燥，过滤并浓缩，得到为白色固体的 **57c** (10.3 g, 定量, 2 步)。¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9.32 (s, 1H), 8.35-8.32 (m, 1H), 6.99 (d, J=8.3 Hz, 1H), 6.65-6.54 (m, 1H), 4.92 (d, J=15.5 Hz, 1H), 4.50 (d, J=15.5 Hz, 1H), 4.43-4.36 (m, 1H), 4.29-4.19 (m, 1H), 3.53 (s, 3H), 3.02-2.81 (m, 2H), 1.98-1.62 (m, 8H), 1.42-1.11 (m, 14H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 171.6, 171.2, 162.3, 156.0, 133.7, 128.8, 125.3, 114.1, 112.6, 78.0, 54.8, 52.4, 51.9, 45.0, 29.5, 28.1, 28.0, 25.9, 25.6, 25.5; HRMS *m/z* 447.2492 [C₂₄H₃₄N₂O₆ 的计算值, 447.2495]。

步骤 C:



将 Boc-氨基甲酯 **57c** (7.20 g, 16.1 mmol) 溶于 4 N HCl (100 mL, 400 mmol) 中并在室温下搅拌生成的溶液。经 TLC 监测反应进展。4 小时后，真空浓缩溶液并将残余物在真空下过夜，得到为白色固体的 **57d**，它无须进一步纯化即可用于下一步骤偶合反应。

步骤 D:



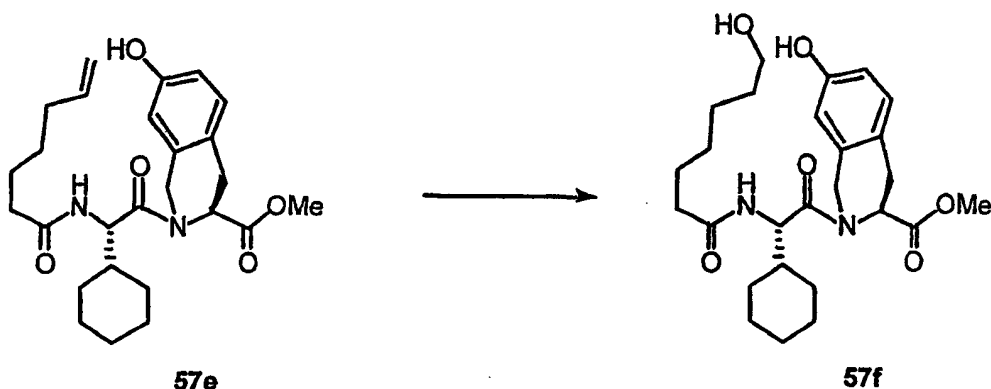
10

在 -20°C 下，向胺盐酸盐 **57d** (来自步骤 D)、6-庚烯酸 (2.90 g, 22.6 mmol)、HOObt (3.70 g, 22.7 mmol) 和 EDCI (4.80 g, 25.0 mmol) 在无水 DMF (250 mL) 和 CH_2Cl_2 (150 mL) 中的溶液中加入 NMM (7.50 mL, 68.2 mmol)。在该温度下搅拌 30 分钟后，把反应混合物在冰箱中保持 2 天。然后在空气中搅拌并使之温热至室温 1 小时。加入 EtOAc (500 mL)、盐水 (100 mL) 和 5% H_3PO_4 (100 mL)。用 5% H_3PO_4 (100 mL)、

15

饱和碳酸氢钠水溶液(2 X 150 mL)、水(150 mL)和盐水(150 mL)洗涤分离的有机溶液,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩。快速层析(5-30% EtOAc-CH₂Cl₂)得到为白色固体的 **57e** (2.30 g, 5.04 mmol, 31% (2 步))。¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9.32 (s, 1H), 8.06-8.01 (m, 1H), 7.00-6.6.96 (m, 1H), 6.63-6.54 (m, 2H), 5.78-5.70 (m, 1H), 5.04-4.89 (m, 4H), 4.73-4.69 (m, 1H), 4.53 (d, J=15.5 Hz, 1H), 3.54 (s, 3H), 3.01-2.91 (m, 2H), 2.15-1.93 (m, 4H), 1.76-0.97 (m, 15H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172.0, 171.5, 171.1, 156.0, 138.6, 134.0, 128.7, 122.5, 114.6, 114.1, 112.5, 52.9, 52.2, 51.9, 45.0, 34.5, 32.8, 32.7, 29.4, 28.7, 28.1, 27.7, 25.9, 25.5, 25.5, 24.8; HRMS *m/z* 457.1 [C₂₆H₃₆N₂O₅ 的计算值, 456.6]。

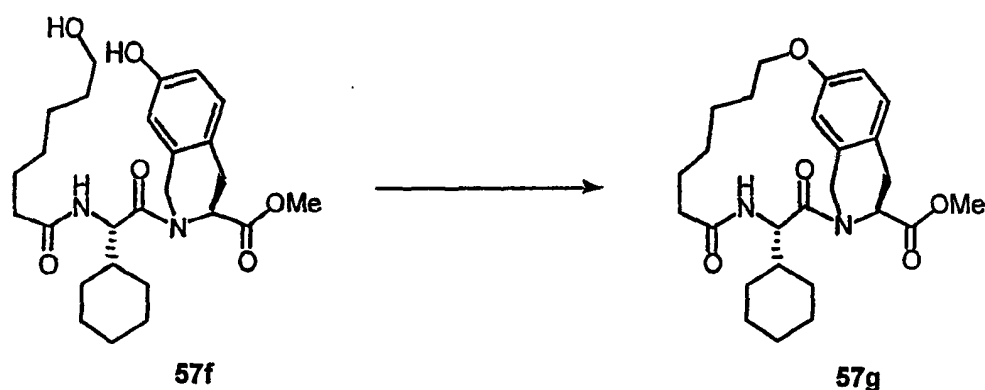
步骤 E:



在 0℃、氮气下,向 **57e** (2.20 g, 4.82 mmol)在无水 THF (100 mL) 中的溶液中小心加入硼烷-THF 溶液(20 mL, 1.0 M, 20 mmol)。在 0℃ 下,于氢气下,把生成的溶液搅拌 1 小时 40 分钟。然后加入乙醇(10 mL)和 pH 7 缓冲液(15 mL),随后加入 30% H₂O₂ 溶液(15 mL)。在 0℃ 下搅拌 20 分钟后,温热至室温并搅拌 2 小时。加入 EtOAc (400 mL)和盐水(200 mL)并分离各层。用 EtOAc (2 x 150 mL)提取水溶液。用硫酸镁干燥合并的有机溶液,过滤,真空浓缩。快速层析(3-5% MeOH -CH₂Cl₂)得到为白色固体的 **57f** (2.18 g, 4.47 mmol, 93%)。¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9.32 (s, 1H), 8.04-8.00 (m, 1H), 6.99-6.96 (m, 1H), 6.63-6.51 (m, 2H), 5.05-5.00 (m, 1H), 4.73-4.21 (m, 3H), 4.51 (d, J=15.5

Hz, 1H), 3.54 (s, 3H), 3.03-2.90 (m, 2H), 2.15-2.00 (m, 2H), 1.75-1.56 (m, 6H), 1.49-0.97 (m, 13H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 172.2, 171.6, 171.2, 156.0, 134.1, 128.7, 122.6, 114.2, 112.5, 60.7, 52.9, 52.3, 51.9, 45.1, 34.8, 32.4, 29.5, 28.7, 28.53, 28.47, 28.10, 25.9, 25.6, 25.5, 25.4, 25.2; HRMS m/z 475.2812 [$\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6$ 的计算值, 475.2808].

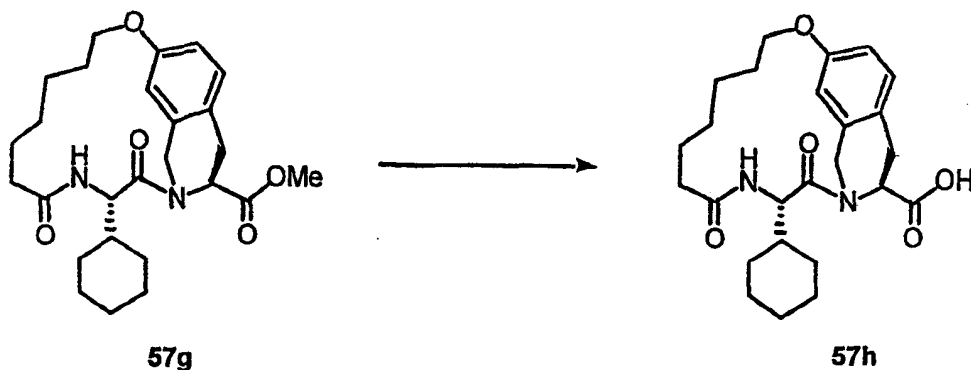
步骤 F:



将苯酚醇 **57f** (2.08 g, 4.38 mmol) 和 ADDP (3.00 g, 11.9 mmol) 在无水 CH_2Cl_2 中的溶液用氩气通过多孔玻璃鼓泡器鼓泡 20 分钟。向在 0°C 下的该溶液中加入三苯基膦 (3.45 g, 13.2 mmol)。在 0°C 下搅拌 20 分钟后, 把溶液温热至室温并在氩气下搅拌过夜 (18 h)。TLC 表明存在相当多的起始原料。加入第二批 ADDP (3.00 g, 11.9 mmol) 和三苯基膦 (3.45 g, 13.2 mmol), 并在氩气下把混合物搅拌 2 天 16 小时。TLC 显示完全消耗起始原料。真空除去溶剂后, 经快速层析部分纯化残余物 (1-2% MeOH 在 CH_2Cl_2 中), 得到大环 **57g** 和三苯基膦氧化物的混合物。将大环 **57g** 水解为相应的酸, 无须进一步纯化。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 8.00 (d, $J=10.0$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 6.82-6.76 (m, 2H), 5.14 (d, $J=14.5$ Hz, 1H), 4.79-4.74 (m, 1H), 4.39 (dd, $J=11.5$, 6.4 Hz, 1H), 4.25 (d, $J=14.7$ Hz, 1H), 4.22-4.18 (m, 1H), 4.08-4.02 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.18 (dd, $J=15.1$, 6.4 Hz, 1H), 2.85 (dd, $J=14.7$, 11.5 Hz, 1H), 2.07-2.04 (m, 2H), 1.81-1.40 (m, 10H), 1.32-0.85 (m, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 171.9, 171.5, 170.2, 157.1, 137.0, 131.5, 126.4,

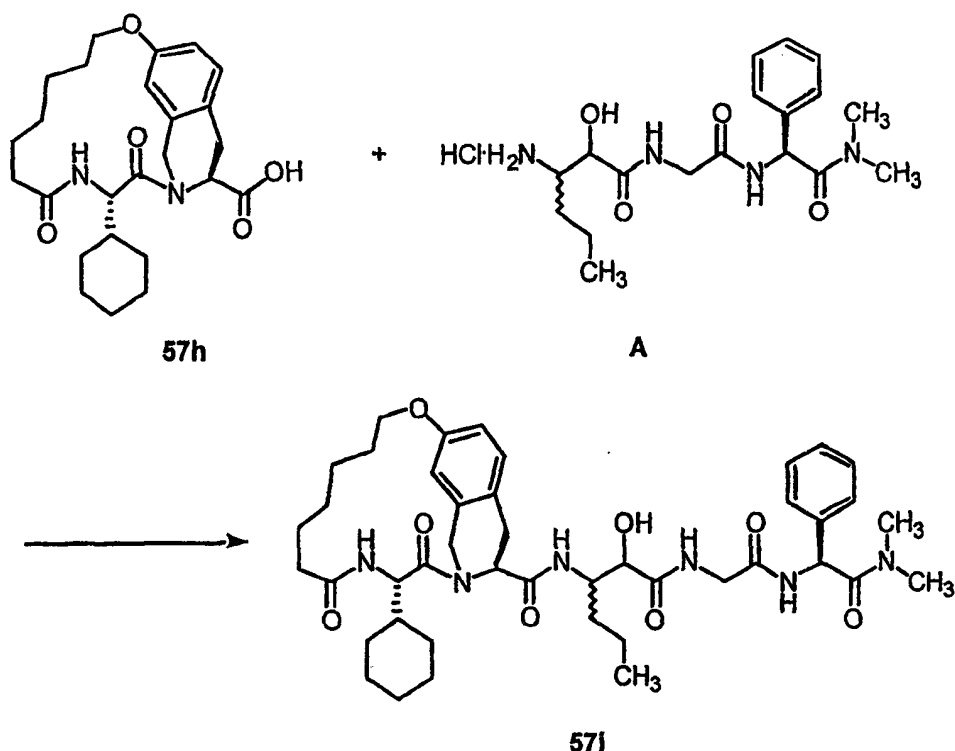
115.9, 112.6, 66.5, 54.4, 52.2, 51.9, 46.8, 44.9, 44.4, 33.6, 29.4, 29.1, 28.0, 27.3, 27.0, 26.0, 25.3, 25.2, 24.3, 24.2, 23.9; HRMS m/z 457.2707 [$C_{26}H_{36}N_2O_5$ 的计算值, 457.2702]。

5 **步骤 G:**



10 将氢氧化锂水溶液(0.21 g, 30 mL H_2O , 8.75 mmol)加入到甲酯 **57g** (来自步骤 1F)在 THF (30 mL)和甲醇(30 mL)中的 0℃ 的溶液中。在冰浴中搅拌混合物并温热至室温并搅拌 4 小时。经 TLC 监测反应进展。真空除去挥发物后, 加入 EtOAc (100 mL)和水(30 mL)并分离这两层。再次用 CH_2Cl_2 (100 mL)提取水溶液, 之后酸化至 $pH = 1$ 。然后加入 EtOAc (150 mL)并用固体氯化钠饱和水溶液。分离这些层后, 用 EtOAc (2 X 100 mL)提取水层。合并有机溶液, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩, 得到为白色固体的 **57h** (1.23 g, 2.78 mmol, 63% (2 步))。

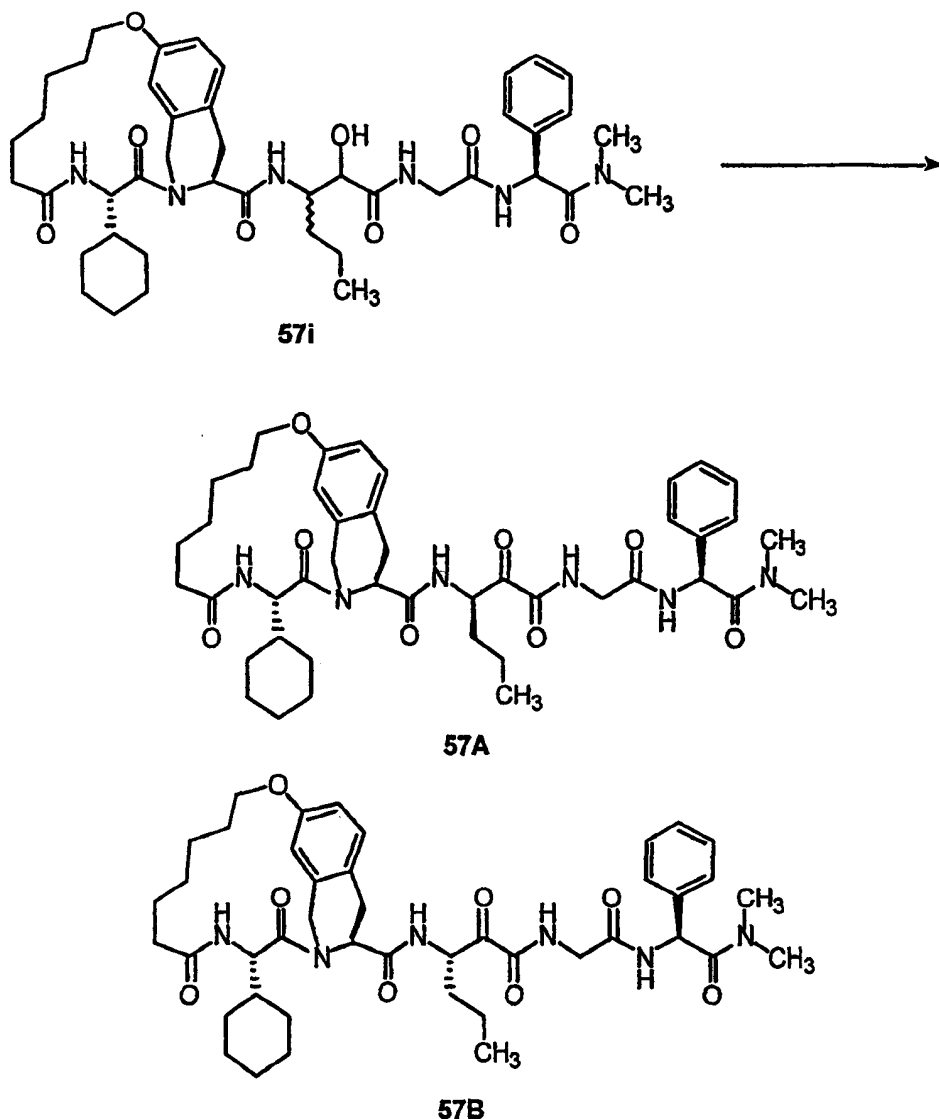
步骤 H:



在-20℃下，向酸 **57h** (0.390 g, 0.881 mmol)、胺 **A** (0.360 g, 0.898 mmol)、HOObt (160 mg, 0.981 mmol)和 EDCI (210 mg, 1.10 mmol)在
 5 无水 DMF (50 mL)和 CH₂Cl₂ (30 mL)中的溶液中加入 NMM (0.40 mL, 3.64 mmol)。在该温度下搅拌 30 分钟后，把反应混合物在冰箱中保持 66 小时。然后加入 EtOAc (200 mL)、盐水(50 mL)和 5% H₃PO₄ (50 mL)。连续用 5% H₃PO₄ (80 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液(2 X 80 mL)、水(80 mL)和盐水(80 mL)洗涤分离的有机溶液，用硫酸镁干燥，过滤
 10 并真空浓缩。快速层析(2-5% MeOH-CH₂Cl₂)得到为四种非对映体混合物的 **57i** (0.340 g, 0.431 mmol, 49%)，为白色固体。¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8.56-8.46 (m, 1H), 7.96-7.82 (m, 2H), 7.40-7.25 (m, 6H), 7.15-6.99 (m, 2H), 6.81-6.74 (m, 2H), 6.05-5.71 (m, 2H), 5.11-5.02 (m, 1H), 4.85-4.68 (m, 1H), 4.40-3.70 (m, 8H), 3.14-3.02 (m, 1H), 2.95-2.73 (m, 7H), 2.06-2.05 (m, 2H), 1.81-1.39 (m, 10H), 1.30-1.05 (m, 11H),
 15 0.89-0.75 (m, 5H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172.24, 172.21,

171.87, 171.81, 171.78, 171.7, 170.8, 170.77, 170.74, 170.5, 170.4, 170.0,
169.97, 169.24, 169.22, 169.1, 169.0, 168.0, 167.9, 167.82, 167.78, 157.2,
156.9, 137.61, 137.57, 137.54, 137.47, 137.43, 137.38, 133.2, 132.2,
128.9, 128.44, 128.41, 128.37, 128.0, 127.96, 127.6, 127.4, 127.3, 127.19,
5 127.16, 115.7, 115.6, 115.5, 112.8, 112.77, 112.7, 112.6, 73.6, 73.39,
73.37, 72.4, 71.7, 66.9, 66.7, 55.8, 55.6, 55.09, 55.07, 53.02, 52.95, 52.9,
52.6, 51.0, 50.96, 50.91, 50.86, 50.76, 45.6, 45.5, 45.44, 45.36, 41.7, 41.6,
41.5, 41.4, 36.6, 36.55, 36.49, 35.3, 33.7, 33.6, 33.5, 33.0, 32.4, 30.7, 30.3,
30.1, 30.0, 29.8, 29.48, 29.45, 29.41, 28.3, 28.2, 28.1, 27.3, 27.2, 27.13,
10 27.09, 27.0, 26.9, 26.85, 26.82, 26.1, 25.4, 25.2, 24.1, 24.08, 24.03, 24.0,
23.9, 23.8, 18.8, 18.7, 18.6, 18.4, 13.9, 13.8, 13.7; HRMS m/z 789.4560
[C₄₃H₆₀N₆O₈ 的计算值, 789.4551, 误差 = 1 ppm]。

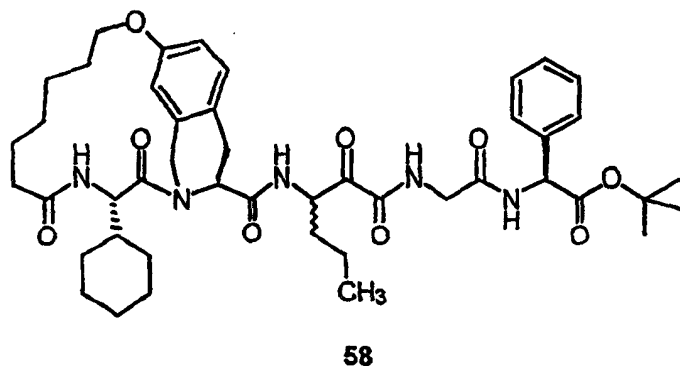
步骤 I:



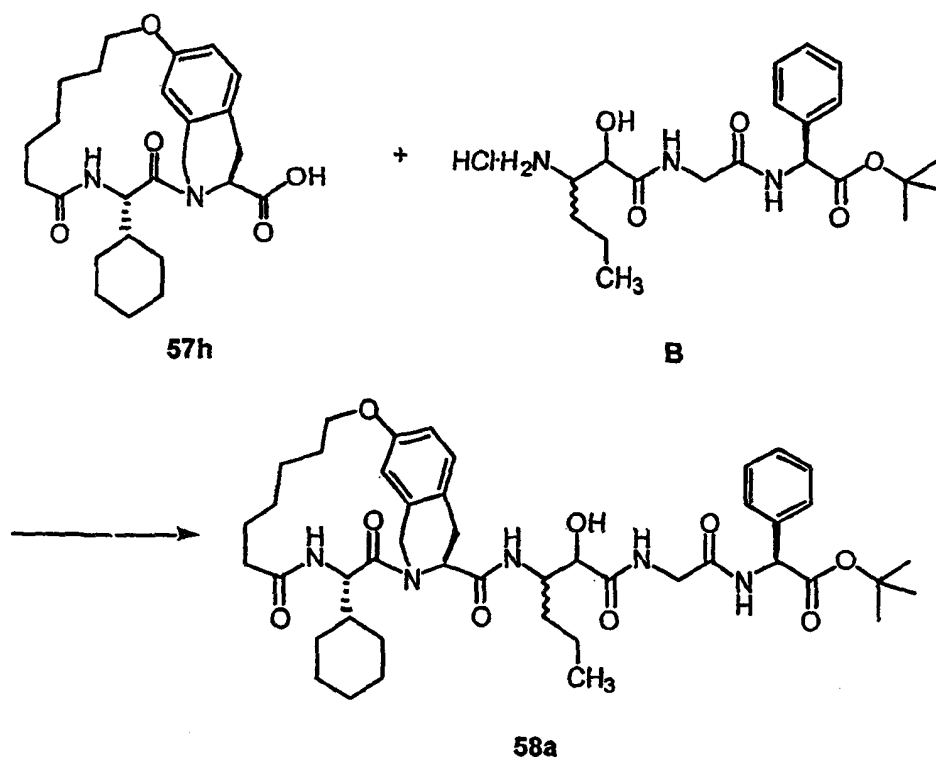
在 0℃ 下，向羟基酰胺 **57i** (0.320 g, 0.406 mmol) 和 Des-Martin 试剂 (0.400 g, 0.943 mmol) 的混合物中加入无水 CH₂Cl₂ (80 mL)。在 0℃ 下，剧烈搅拌生成的白色悬浮液并温热至室温，同时放置在冰浴中 4 小时。加入饱和碳酸氢钠水溶液和亚硫酸氢钠溶液 (各 30 mL) 并把混合物剧烈搅拌 10 分钟，之后分离各层。用 CH₂Cl₂ (2 X 80 mL) 提取水溶液。用硫酸镁干燥合并的有机溶液，过滤并真空浓缩。快速层析 (2-5% MeOH-CH₂Cl₂)，得到为白色固体的两个立体异构体 **57A** (109

mg, 0.139 mmol)和 **57B** (102 mg, 0.130 mmol, 66%合并收率)。

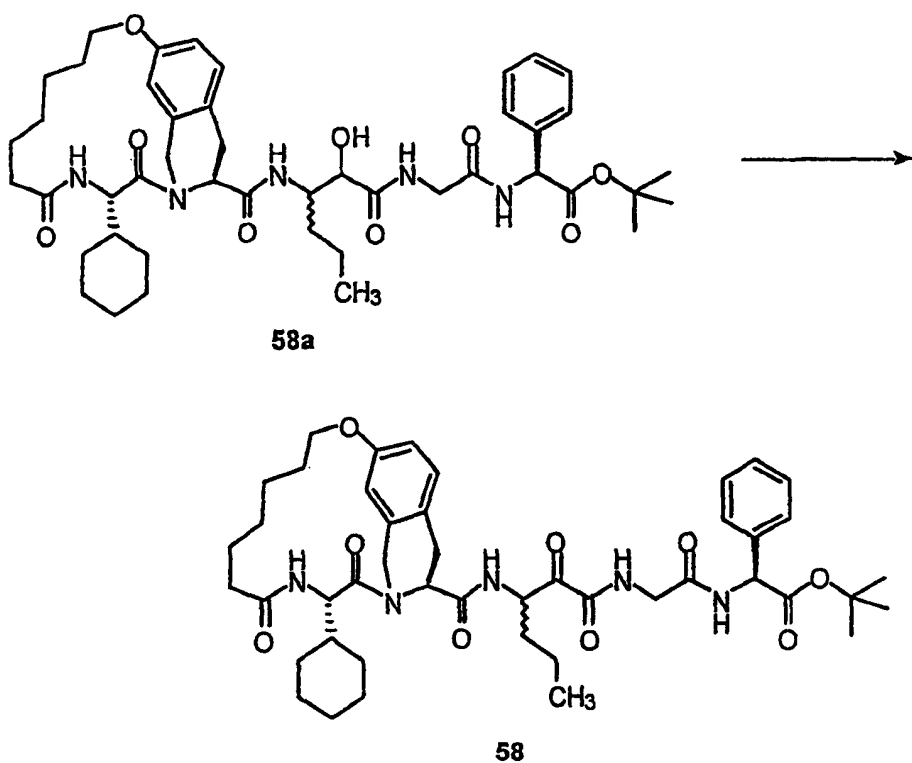
实施例 58: 式 58 化合物的制备



5 步骤 A:

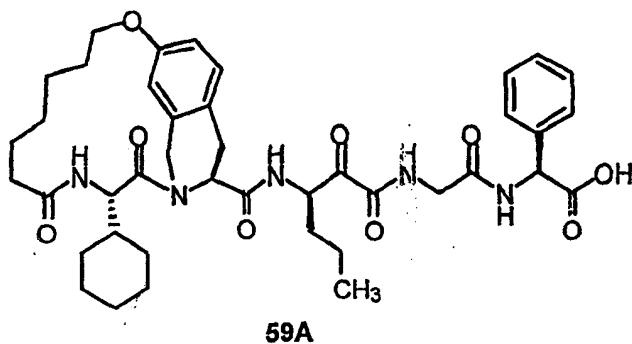


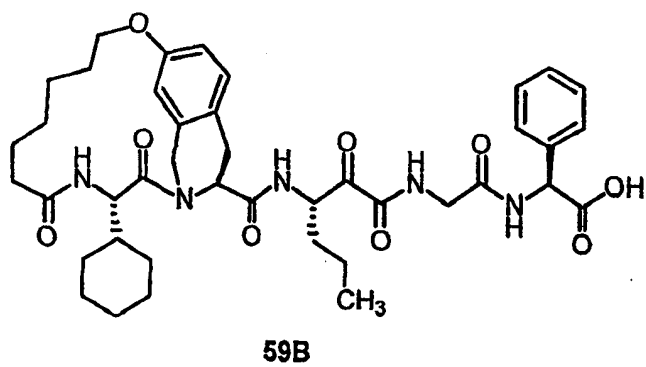
除了用胺盐酸盐 **B** 替代 **A** 外, 按照实施例 1 步骤 J 的方法, 制备所需的化合物 **58a**。以 53% 收率得到为以白色固体形式存在的不可分离的非对映体混合物的羟基酰胺 **58a**。

步骤 B:

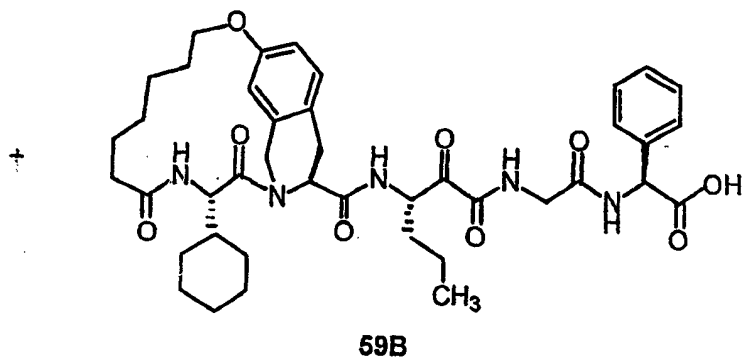
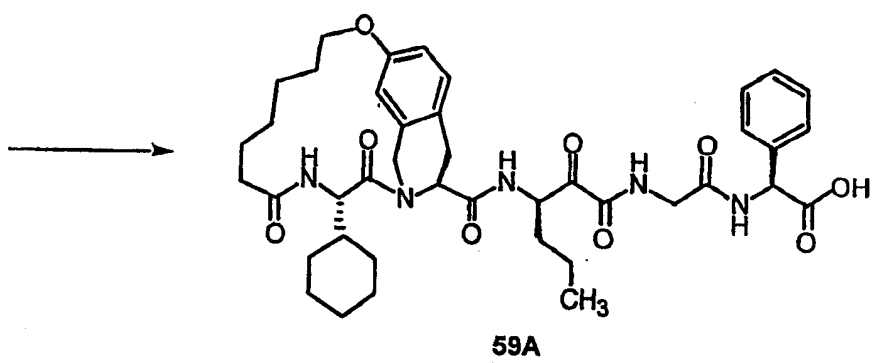
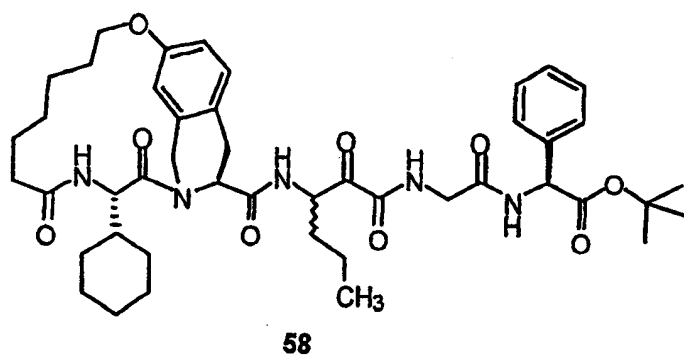
按照实施例 2 步骤 B 的方法，从羟基酰胺 **58a** 制备所需的化合物 **58**。以 88% 收率得到为以白色固体形式存在的不可分离的非对映体混合物。

5

实施例 59: 式 59A 和 59B 化合物的制备



步骤 A:



在室温下, 将叔丁基酯 **58** (18 mg, 0.022 mmol)在三氟乙酸(2 mL)和 CH_2Cl_2 (2 mL)中的溶液搅拌 3 小时。真空除去挥发物后, 将残余物溶于 50% MeOH- CH_2Cl_2 (3 mL)中, 真空浓缩至干, 得到灰白色固体。快速层析(8-15% MeOH, 0.3-0.5% AcOH 在 CH_2Cl_2 中), 得到为

5 白色固体的两个立体异构体 **59A** (6.5 mg, 0.0086 mmol)和 **59B** (6.1 mg, 0.008 mmol, 75%合并收率)。对 **59A** 的分析数据: ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.75-8.72 (m, 1H), 8.60-8.57 (m, 1H), 8.10-8.08 (m, 1H), 7.91-7.88 (m, 1H), 7.38-7.27 (m, 5H), 7.12 (d, $J=8.14$ Hz, 1H), 6.81-6.73 (m, 2H), 5.24-5.22 (m, 1H), 5.06-5.01 (m, 1H), 4.77-4.73 (m, 1H), 4.39-

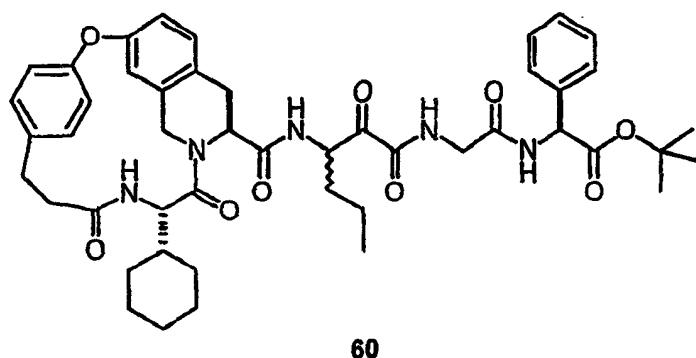
10 4.17 (m, 3H), 4.07-4.01 (m, 1H), 3.92-3.79 (m, 3H), 3.15-3.05 (m, 1H), 2.78-2.72 (m, 1H), 2.08-2.05 (m, 1H), 1.78-1.45 (m, 13H), 1.41-1.22 (m, 4H), 1.18-1.03 (m, 4H), 0.93-0.81 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 196.6, 171.8, 171.5, 171.9, 170.3, 167.2, 161.0, 157.1, 137.4, 128.4, 128.1, 127.7, 127.5, 127.4, 126.9, 115.6, 112.6, 66.8, 56.6, 55.1,

15 53.4, 52.7, 52.6, 45.4, 41.6, 33.5, 31.7, 30.0, 29.6, 28.2, 27.2, 27.1, 26.1, 25.42, 25.36, 24.0, 23.8, 18.7, 13.5; HRMS m/z 760.3915 [$\text{C}_{41}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_9$ 的计算值, 760.3922]。对 **59B** 的分析数据: ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 8.76-8.73 (m, 1H), 8.55 (dd, $J=6.9, 3.2$ Hz, 1H), 8.24 (d, $J=7.11$ Hz, 1H), 7.93-7.88 (m, 1H), 7.37-7.25 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.82-6.74

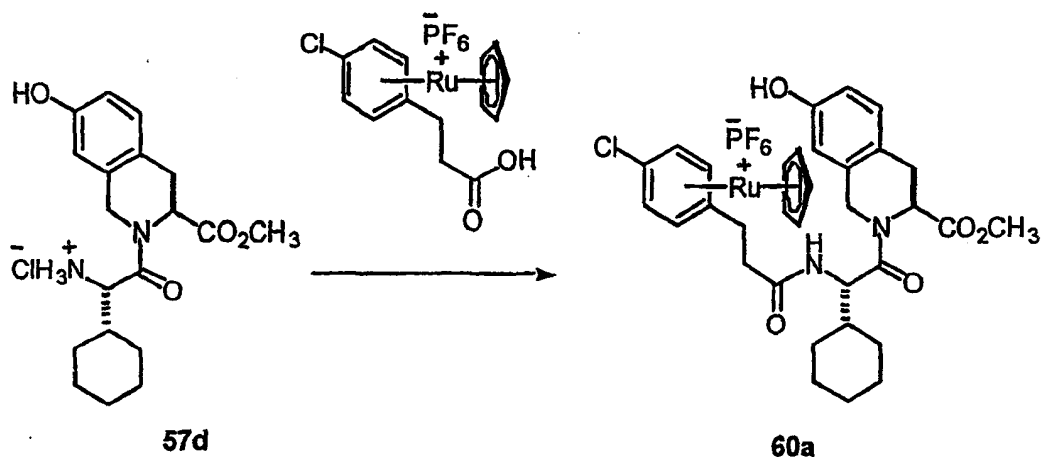
20 (m, 2H), 5.23-5.20 (m, 1H), 5.09-5.01 (m, 1H), 4.75-4.71 (m, 1H), 4.38-4.29 (m, 1H), 4.24-4.17 (m, 2H), 4.07-4.02 (m, 1H), 3.92-3.78 (m, 2H), 3.13-3.08 (m, 1H), 2.78-2.70 (m, 1H), 2.08-2.05 (m, 2H), 1.75-1.13 (m, 21H), 0.89-0.85 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 196.7, 171.6, 171.2, 169.9, 167.1, 160.8, 157.0, 137.5, 128.3, 128.2, 128.0, 127.97,

25 127.9, 127.4, 127.3, 127.1, 115.7, 115.6, 112.7, 112.6, 66.7, 56.8, 54.8, 53.3, 45.5, 41.6, 33.6, 31.8, 29.5, 28.1, 27.3, 27.0, 26.1, 25.4, 24.2, 23.9, 18.6, 13.5; HRMS m/z 760.3915 [$\text{C}_{41}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_9$ 的计算值, 760.3922]。

实施例 60: 化合物 60 的制备:



步骤 A:



5

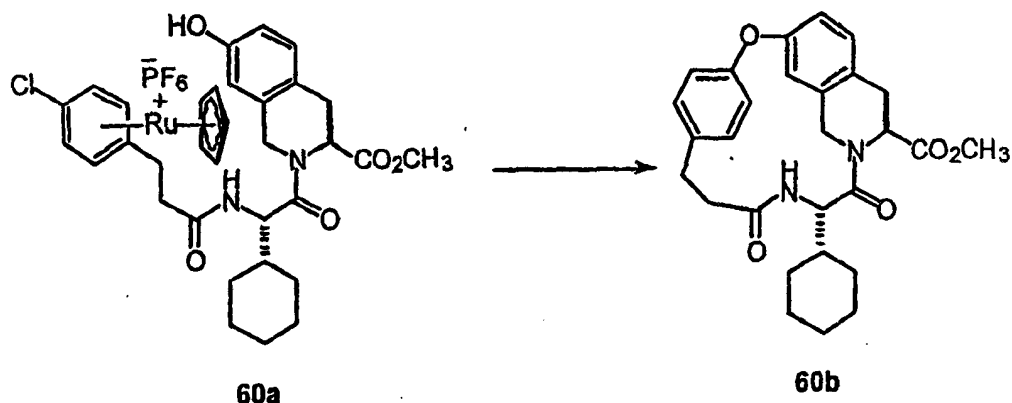
用 HOBt (1.69 g, 12.54 mmol, 1.5 当量)和 Hünigs 碱(6.47 g, 9.20 mL, 50.16 mmol, 6.0 当量)处理[CpRu(η^6 -4-氯代苯基丙酸)]PF₆ (4.14 g, 8.36 mmol)在干燥 DMF (20 mL)中的溶液。把反应混合物冷却至 0℃ 并用 EDCI (2.39 g, 12.54 mmol, 1.5 当量)处理。在 0℃ 下, 将反应混合物搅拌 30 分钟并加入 Tic-铵盐 **57d** (2.90 g, 7.6 mmol, 1.0 当量)。

在室温下, 将反应混合物搅拌 12 小时, 真空蒸馏出 DMF。用 HCl 水溶液(1 M, 100 mL)稀释残余物, 并提取到 CH₂Cl₂ (3 X 100 mL)中。用 NaHCO₃ 水溶液(1 X 100 mL)、盐水(100 mL)洗涤合并的有机层, 干燥(Na₂SO₄), 过滤, 真空浓缩, 得到棕色固体 **60a** (5.2 g, 83%), 该固体被用于环合。MS: (电喷雾): 647 [(M-CH₃OH-PF₆)⁺, 100]。HRMS

15

$C_{32}H_{34}ClN_2O_4Ru [(M-CH_3OH-PF_6)]^+$ 的计算值 647.1256; 实测值: 647.1241。

步骤 B:



5

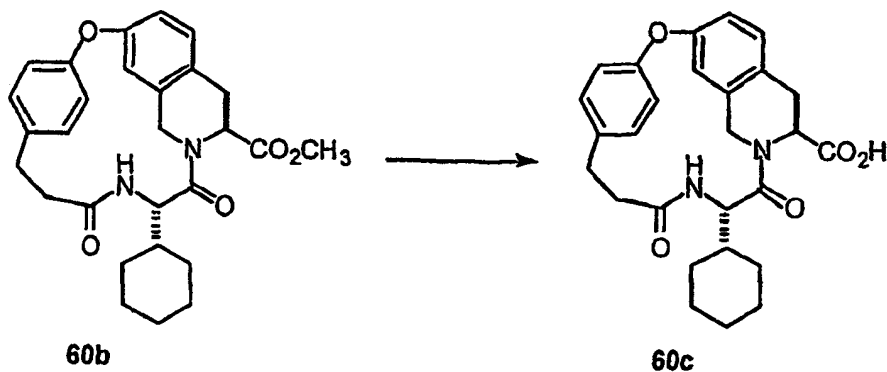
在室温下,将钌复合物 **60a** (5.0 g, 6.01 mmol)在干燥DMF (300 mL)中的溶液用干燥 N_2 脱气, 并加入 Cs_2CO_3 (10.0 g, 30 mmol, 5.0 当量)且在室温下搅拌 24 小时。蒸馏出溶剂 DMF, 并用水(100 mL)稀释残余物, 用 CH_2Cl_2 (3 x 100 mL)和丙腈(3 x 100 mL)提取。用盐水(100 mL)提取合并的有机层, 干燥(Na_2SO_4), 过滤, 真空浓缩, 且真空干燥过夜, 得到棕色固体(5.1 g)。它无须进一步纯化即可用于光解以除去 Ru。MS: (电喷雾): 643 $[(M-PF_6)]^+$, 100]。

将来自前面步骤的环合化合物溶于 CH_3CN (50 mL)中并将它过滤到石英管中。使溶液脱气并在 Raynot 仪器($\lambda=350$ nm)中光解 48 小时。真空浓缩反应混合物, 经层析(SiO_2 , EtOAc/己烷 3:2)纯化残余物, 得到褐色固体 **60b** (289 mg, 20%)。 R_f : 0.73 (丙酮/己烷 3:7) 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.18 (d, 2H, $J=8.1$ Hz), 7.20-7.09 (m, 2H), 6.92 (d, 2H, $J=7.8$ Hz), 6.86 (dd, 1H, $J=2.1, 7.2$ Hz), 6.76 (s, 1H), 5.41 (d, 1H, $J=17.4$ Hz), 4.23-4.18 (m, 2H), 4.00 (bs, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.41 (dd, 1H, $J=12, 3.9$ Hz), 3.01-2.86 (m, 1H), 1.9-1.62 (m, 4H), 1.52 (bd, 1H, $J=9.3$ Hz), 1.36-1.07 (m, 5H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz, δ) 173.2, 167.2, 163.8, 156.5, 155.1, 135.8, 132.7, 130.2, 129.6, 126.2, 119.1, 117.5, 115.8, 60.2, 55.5, 51.6, 44.2, 42.0, 35.7, 30.2, 29.3, 26.5, 26.2, 25.8, 25.7 MS:

20

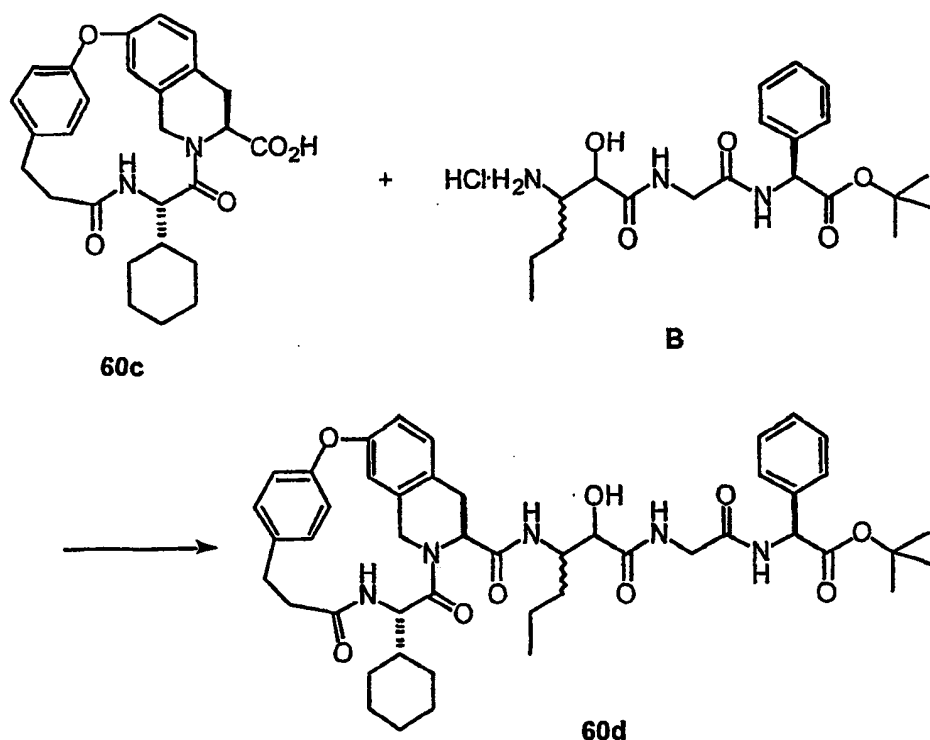
(电喷雾): 477 [(M+1)⁺, 100], 315 (20); HRMS C₂₈H₃₃N₂O₅ (M+1)⁺ 的计算值: 477.2389; 实测值: 477.2375; C₂₈H₃₂N₂O₅ 0.5 H₂O 的 CHN 计算值: C 69.26% H 6.85% N 5.77%; 实测值: C 69.62% H 6.59% N 5.77%。

5 步骤 C:



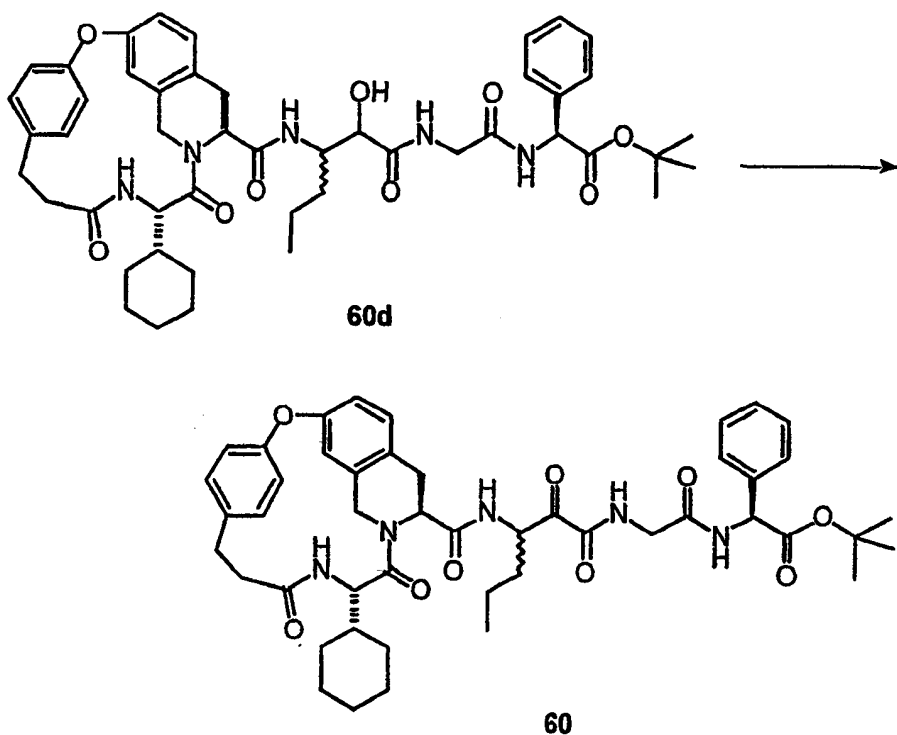
用 $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (41 mg, 1.0 mmol, 2.0 当量) 处理 Tic-大环的甲酯 **60b** (235 mg, 0.5 mmol) 在二噁烷 (10.0 mL)、 H_2O (10.0 mL)、 CH_3OH (50.0 mL) 中的溶液并在室温下搅拌 3 小时。用 (4 M HCl 在二噁烷中) 使反应混合物酸化。真空浓缩反应混合物并把剩余的水冷冻且冻干, 得到用于偶合的无色固体 **60c**。

步骤 D:



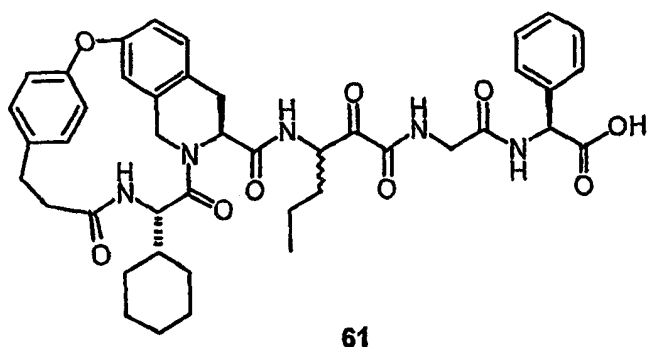
用 HOObt (132 mg, 0.75 mmol, 1.5 当量)处理水解的酸 **60c** (0.5 mmol)在干燥 DMF (5.0 mL)和 CH₂Cl₂ (5.0 mL)中的溶液并冷却至 0 °C, 加入 Hünigs 碱(258 mg, 2.0 mmol, 4.0 当量, 369 μL)。向该混合物中连续加入 EDCI (143 mg, 0.75 mmol, 1.5 当量)和胺盐酸盐 **B** (214 mg, 0.5 mmol, 1.0 当量)。把反应混合物在冰箱中贮存 48 小时并真空浓缩以除去 DMF 和 CH₂Cl₂。用 HCl 水溶液(2 M, 50 mL)稀释残余物并用 CH₂Cl₂ (3 x 30 mL)提取。用 HCl 水溶液(1 M, 2 x 50 mL)、NaOH 水溶液(2 M, 2 x 30 mL)、盐水提取合并的有机层, 干燥(MgSO₄)并真空浓缩。氧化残余物 **60d** (172 mg)无须进一步纯化; MS: (电喷雾): 838 [(M+1)⁺, 50], 490 (100); HRMS C₄₇H₆₀N₅O₉ (M+1)⁺的计算值: 838.4391; 实测值: 838.4398。

步骤 E:

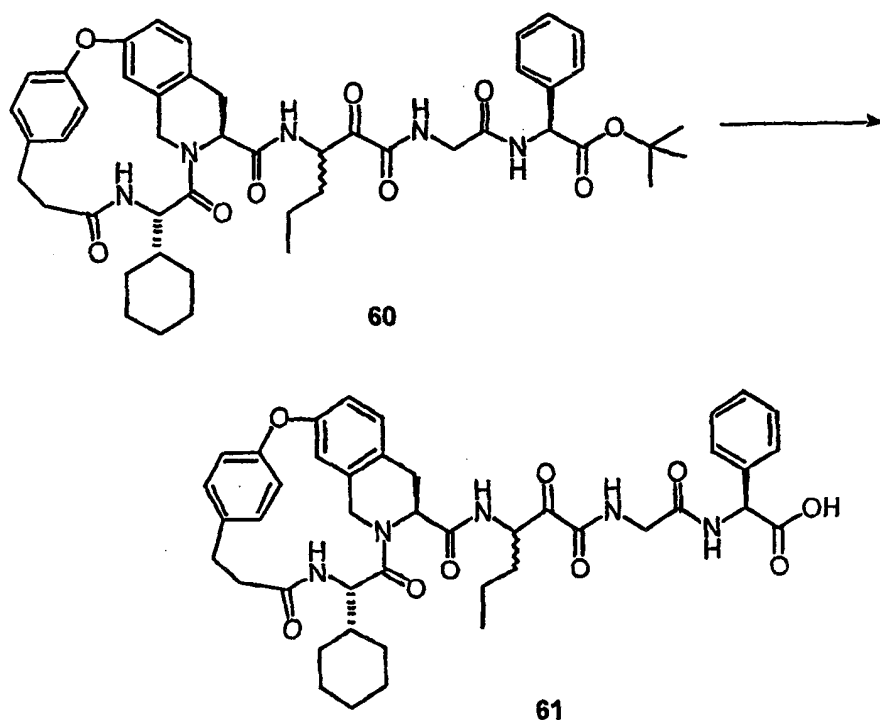


用 Dess-Martin 试剂(175 mg, 0.41 mmol, 2.0 当量)处理醇 **60d** (171
 5 mg, 0.20 mmol)在 CH_2Cl_2 (6.0 mL)中的溶液。在室温下, 把反应混合物搅拌 4 小时并用 NaHCO_3 水溶液和 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水溶液稀释。在室温下, 把反应混合物搅拌 20 分钟, 并用 CH_2Cl_2 (3 x 30 mL)提取反应混合物。用 Na_2CO_3 水溶液提取合并的有机层, 干燥(Na_2SO_4), 过滤, 真空浓缩, 经层析(SiO_2 , CH_3OH (2M- NH_3)/ CH_2Cl_2 1:20)纯化残余物, 得到为
 10 无色固体的酮酰胺 **60** (56 mg, 32%)。R_f: 0.35 (CH_3OH (2M NH_3)/ CH_2Cl_2 1:18) MS: (电喷雾, m/z 相对密度): 836 [(M+1)⁺, 90], 490 (100)。HRMS $\text{C}_{47}\text{H}_{58}\text{N}_5\text{O}_9$ (M+1)⁺的计算值: 836.4235; 实测值: 836.4269。

实施例 61: 化合物 61 的制备



步骤 A:



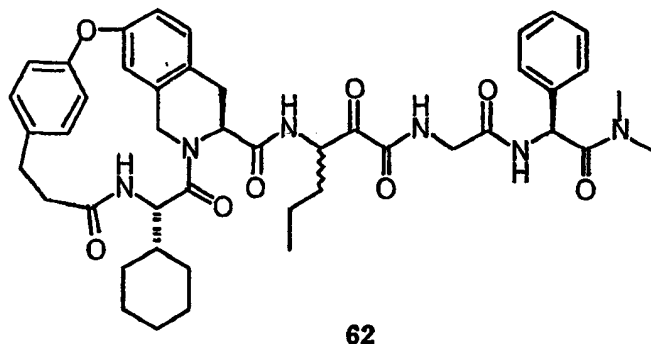
5

用 TFA (10.0 mL) 处理叔丁酯 **60** (50 mg, 0.059 mmol) 在干燥 CH_2Cl_2 (10.0 mL) 中的溶液并在室温下搅拌 4 小时。经 TLC ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 1:19) 跟踪酯消失为基线。真空浓缩反应混合物, 并把残余物重复溶于庚烷/ CH_2Cl_2 中且真空浓缩几次, 得到细的无色固体 **61** (51 mg), 将其真空干燥; MS (FAB) 780 $[(\text{M}+1)^+]$, 85], 516 (20), 417 (20), 403 (100); 321 (20), 248 (40), 236 (40); HRMS $\text{C}_{43}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_9$ $(\text{M}+1)^+$

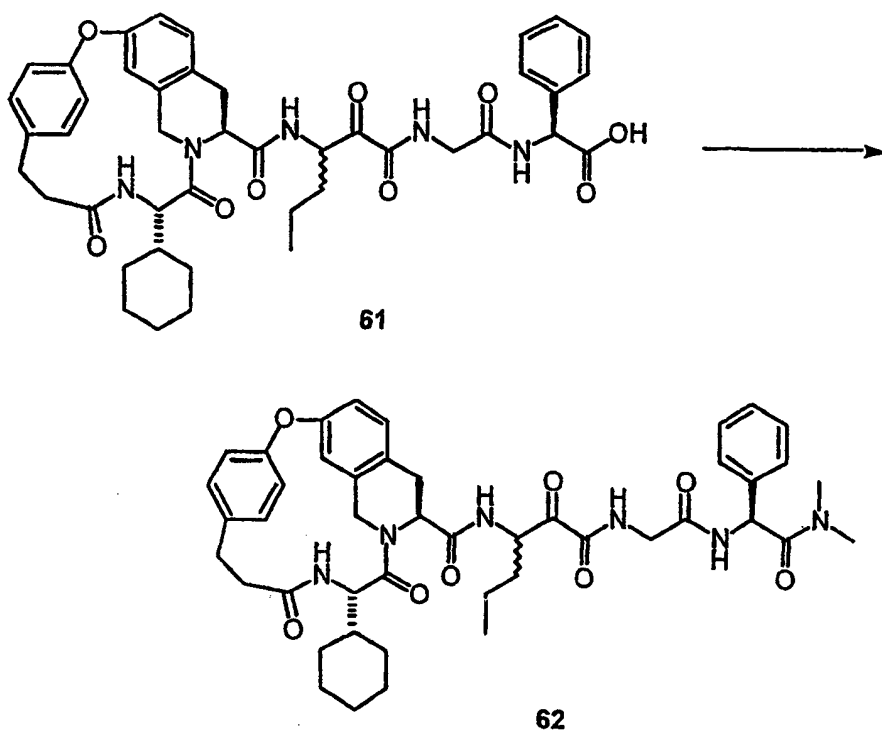
10

的计算值: 780.3609; 实测值: 780.3618。

实施例 62: 化合物 62 的制备



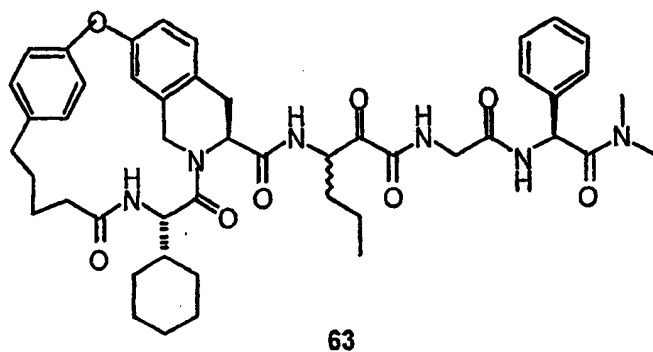
5 步骤 A:



用 Hünigs 碱(9.1 mg, 0.076 mmol, 2.0 当量, 15 μ L)、PyBrOP (35 mg, 0.076 mmol, 2.0 当量)处理酸 **61** (30 mg, 0.038 mmol)、二甲胺盐酸盐 (6.2 mg, 0.076 mmol, 2.0 当量)在 CH_2Cl_2 (1.0 mL)中的溶液并在室温下搅拌 24 小时。真空浓缩反应混合物, 经层析(SiO_2 , 丙酮/己烷 1:1)纯化, 得到为无色固体的二甲基酰胺 **62** (14 mg, 46%); R_f (0.31 丙酮/

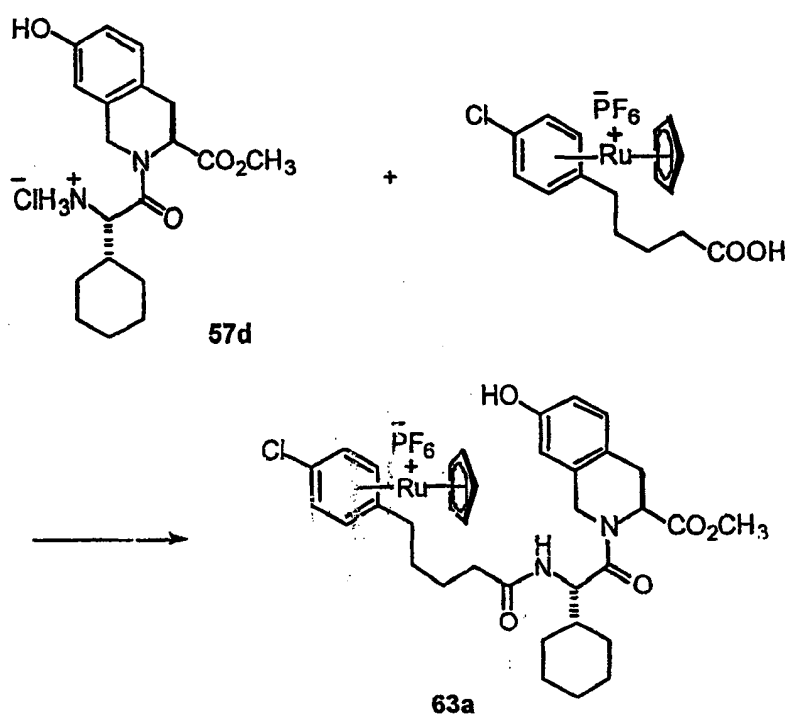
己烷 1:1)。MS (FAB) 807 [(M+1)⁺, 100], 805 (60), 794 (60), 747 (40), 629 (40), 589 (62)。

实施例 63: 化合物 63 的制备



5

步骤 A:

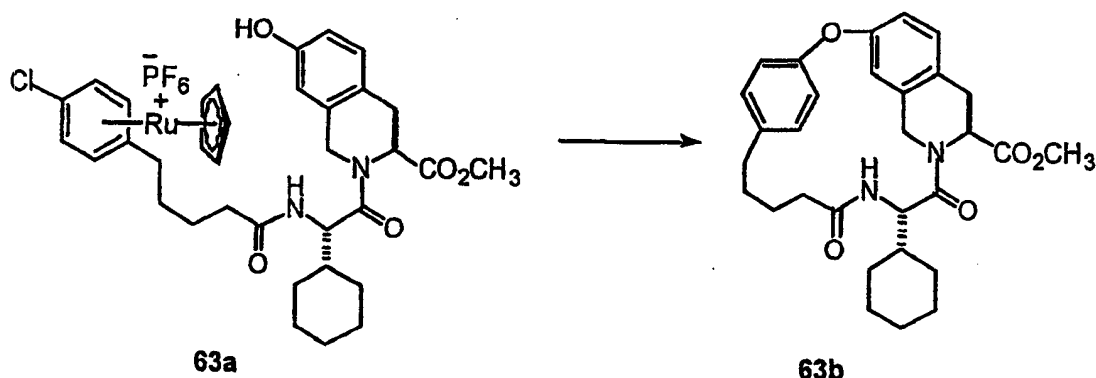


用 HOBt (810 mg, 5.99 mmol, 1.5 当量) 和 Hünigs 碱 (2.58 g, 3.6 mL, 19.9 mmol, 5.0 当量) 处理 [CpRu(η⁶-4-氯代苯基戊酸)]PF₆ (2.2 g, 4.0 mmol) 在干燥 DMF (10 mL) 中的溶液。把反应混合物冷却至 0℃ 并用 EDCI (1.14 g, 6.0 mmol, 1.5 当量) 处理。在 0℃ 下, 将反应混合物搅拌

10

30 分钟并加入 Tic-铵盐 **57d** (1.60 g, 4.0 mmol, 1.0 当量)。在室温下, 将反应混合物搅拌 12 小时, 真空蒸出 DMF。用 HCl 水溶液(1 M, 100 mL)稀释残余物并提取到 CH₂Cl₂ (3 x 100 mL)中。用 NaHCO₃ 水溶液(1 x 40 mL)、盐水(100 mL)提取合并的有机层, 干燥(Na₂SO₄), 过滤, 真空浓缩, 得到用于环合的棕色固体 **63a** (2.41 g, 75%)。

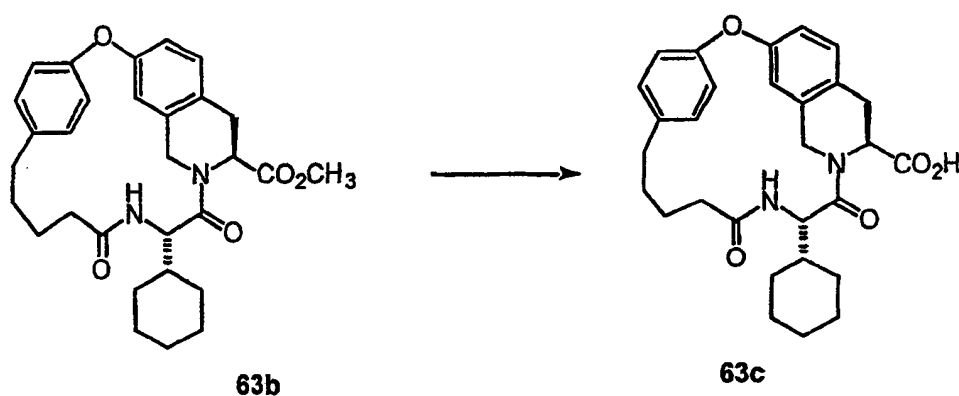
步骤 B:



在室温下, 将钌复合物 **63a** (2.40 g, 2.8 mmol)在干燥 DMF (250 mL) 中的溶液用 N₂ 脱气并加入 Cs₂CO₃ (4.6 g, 14.0 mmol, 5.0 当量)且在室温下搅拌 14 小时。蒸馏出溶剂 DMF 并用水(100 mL)稀释残余物且用 CH₂Cl₂ (3 x 100 mL)提取。用 HCl 水溶液(1 M, 100 mL)、NaHCO₃ (100 mL)、盐水(100 mL)提取合并的有机层, 干燥(Na₂SO₄), 过滤, 真空浓缩并真空干燥过夜, 得到棕色固体(1.9 g, 79%)。无须进一步纯化将其用于光解除去 Ru。MS: (电喷雾): 671 [(M-PF₆)⁺, 40]。

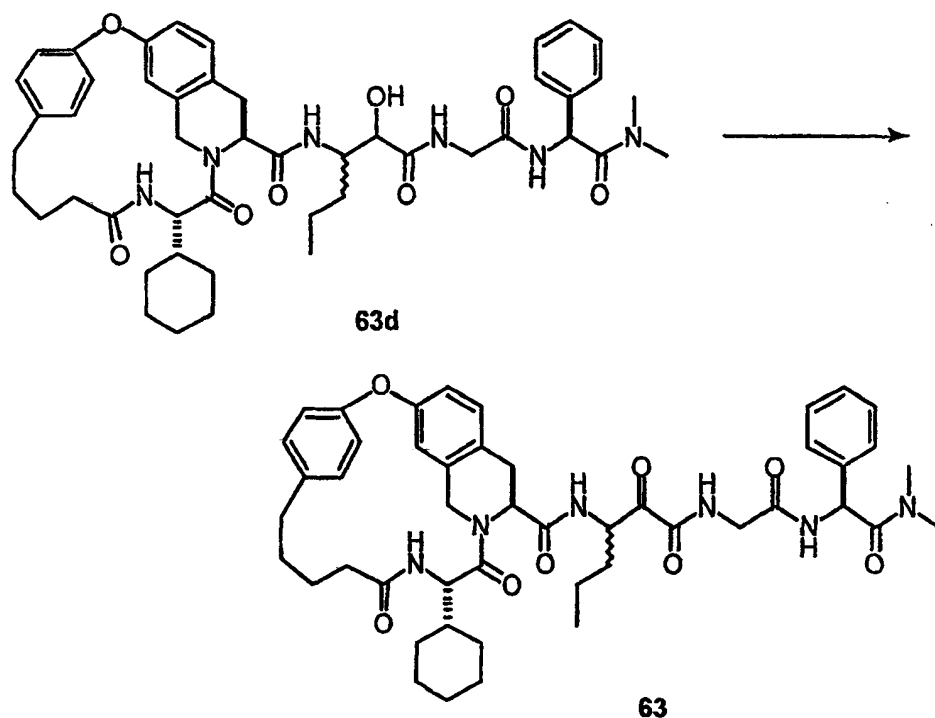
将来自先前步骤的环合化合物溶于 CH₃CN (60 mL)中并过滤到石英管中。把溶液脱气并在 Raynot(λ=350 nm)中光解 48 小时。真空浓缩反应混合物并经层析(SiO₂, 丙酮/己烷 3:7)纯化残余物, 得到褐色固体 **63b** (140 mg, 13%); R_f: 0.73 (丙酮/己烷 3:7); MS: (FAB): 505 [(M+1)⁺, 80], 232 (40); HRMS C₃₀H₃₇N₂O₅ (M+1)⁺的计算值: 505.2702; 实测值: 505.2698。

步骤 C:



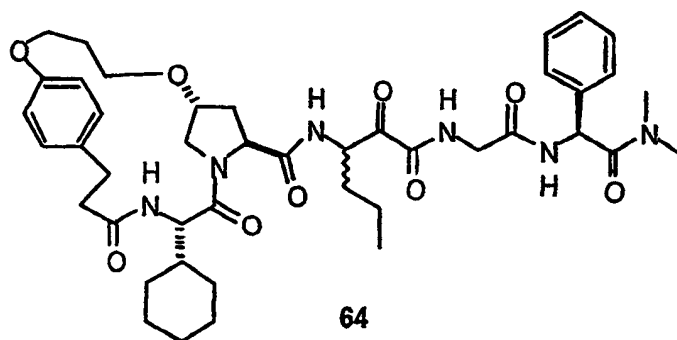
将 Tic-大环的甲酯 **63b** (235 mg, 0.5 mmol) 在二噁烷(10.0 mL)、
 H₂O (10.0 mL)、CH₃OH (50.0 mL) 中的溶液用 LiOH H₂O (41 mg, 1.0
 5 mmol, 2.0 当量) 处理并在室温下搅拌 3 小时。把反应混合物酸化(4 M
 HCl 在二噁烷中)。真空浓缩反应混合物并把剩余的水冷冻且冻干,
 得到用于偶合的无色固体 **63c**。

步骤 E:

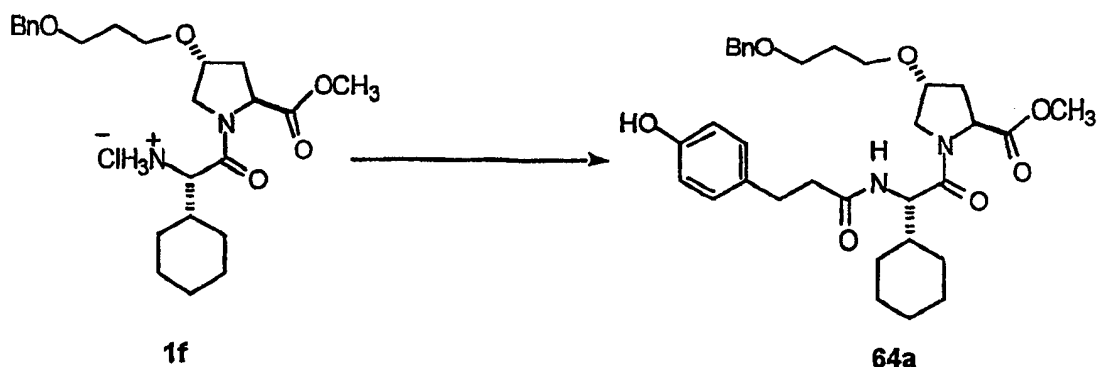


将醇 **63d** (72 mg, 0.86 μ mol) 在 CH_2Cl_2 (5.0 mL) 中的溶液用 Dess-Martin 试剂 (125 mg, 0.28 mmol, 3.2 当量) 处理。在室温下, 把反应混合物搅拌 3 小时并真空浓缩, 经层析 (SiO_2 , $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:19) 纯化残余物, 得到为无色固体的酮酰胺 **63** (11 mg, 15%); MS (FAB): 835 $[(\text{M}+1)^+, 90]$, 490 (100)。

实施例 64: 化合物 64 的制备



步骤 A:

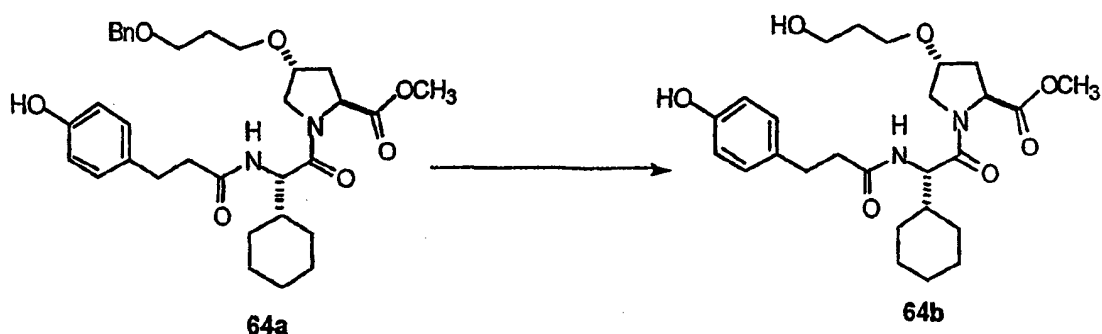


通过对实施例 1 步骤 F 描述的方法, 得到所需的产物 **64a**。经快速柱层析纯化该物质, 使用 EtOAc/Hex (7:3) 洗脱, 以 80% 产率得到

5 **64a**; ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 7.35-7.29 (m, 5H), 7.02 (d, 2H, $J=8.4$ Hz), 6.72 (d, 2H, $J=6.9$ Hz), 6.01 (d, 1H), 4.60 (t, 1H), 4.52 (s, 1H), 3.8-3.61 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.54-3.51 (m, 4H), 2.83 (t, 2H, $J=7.5$ Hz), 2.39 (t, 2H, $J=8.1$ Hz), 2.41-2.20 (m, 1H), 2.05-1.83 (m, 1H), 1.85-1.58 (m, 8H), 1.26-1.24 (m, 5H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , δ): 172.2, 171.9, 171.0, 154.4, 138.3,

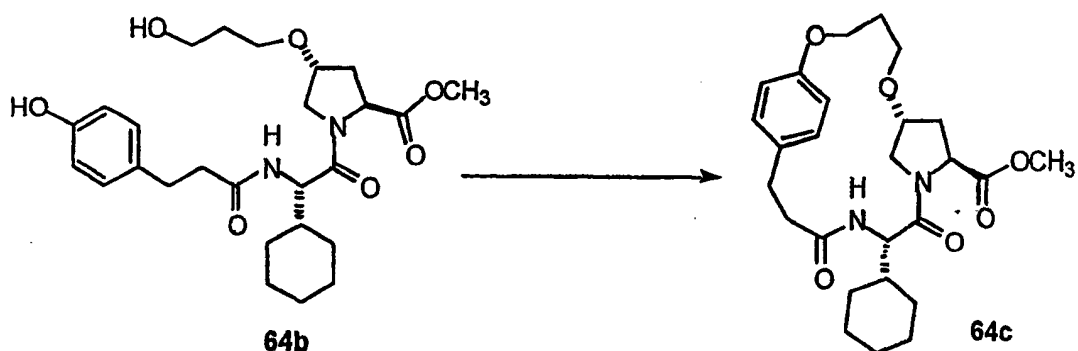
10 132.2, 129.4, 128.4, 127.7, 127.6, 115.4, 73.0, 66.9, 66.2, 57.9, 54.9, 52.5, 52.3, 41.0, 38.5, 34.7, 30.8, 30.0, 29.4, 27.9, 26.1, 26.0, 25.9。

步骤 B:



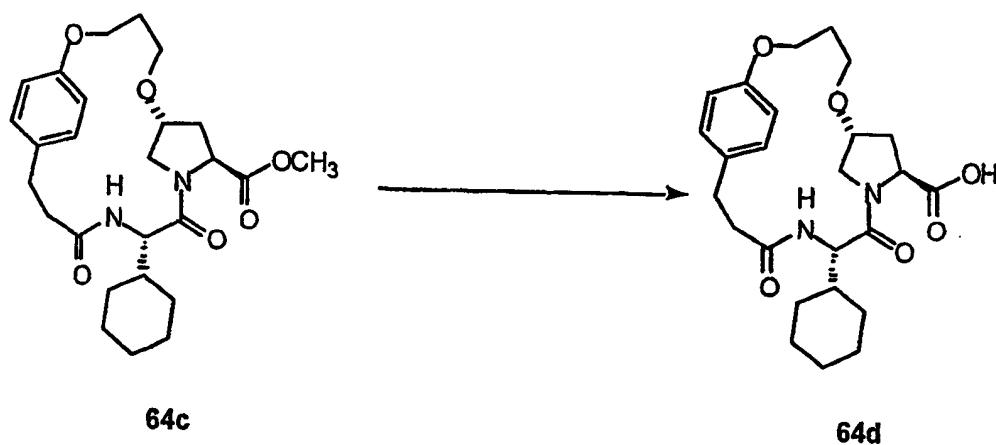
15 通过对实施例 1 步骤 G 描述的方法, 得到所需的产物 **64b**。滤出催化剂后, 所得到的产物纯度足以用于下一步骤。

步骤 C:



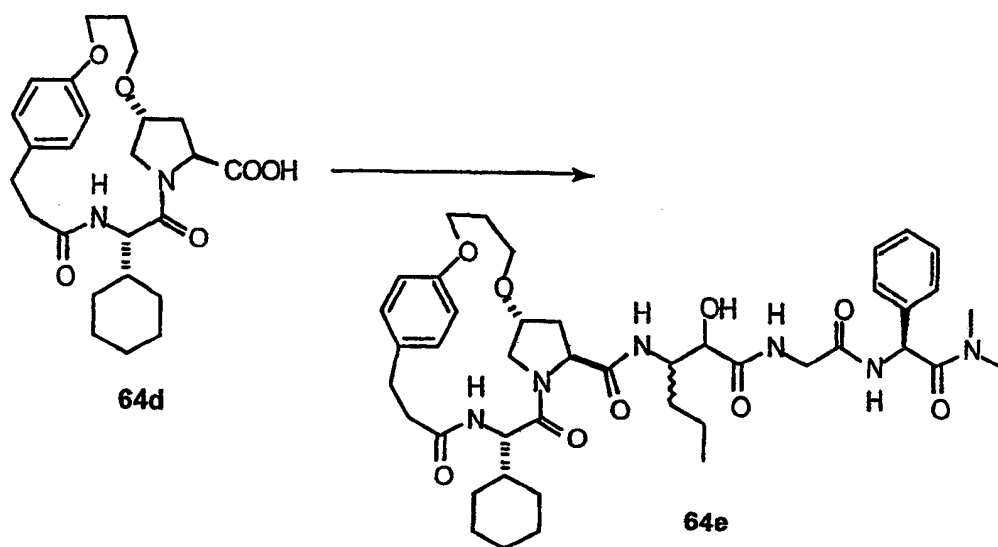
通过对实施例 1 步骤 H 描述的方法,得到所需的产物 **64c**。经 SiO₂ 硅胶层析(丙酮/己烷 3:7)纯化粗品反应混合物,得到为无色固体的 **64c** (64 mg, 16%)。¹³C NMR (CDCl₃) 172.1, 171.1, 171.0, 157.7, 131.0, 129.9, 114.3, 78.1, 64.7, 63.3, 58.7, 55.3, 52.2, 52.0, 42.1, 37.9, 36.1, 30.8, 30.7, 29.7, 28.7, 28.5, 26.2, 26.0; MS (FAB) 473 (M+1)⁺, (100), 327 (20)。

步骤 D:



如对实施例 1 步骤 I 描述的那样,以定量收率合成所述酸。蒸发后,该粗品混合物直接用于下一步骤。

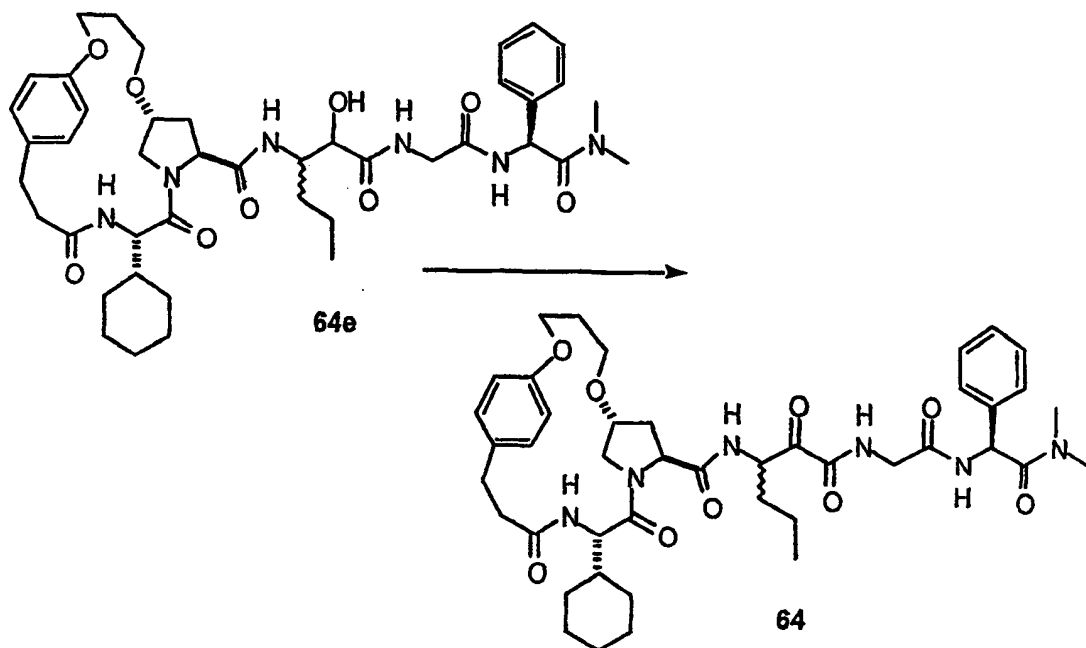
步骤 E:



如先前对实施例 1 步骤 J 描述的那样, 合成期望的产物 **64e**。该偶合的物质直接用于下一步骤以合成 **64**。

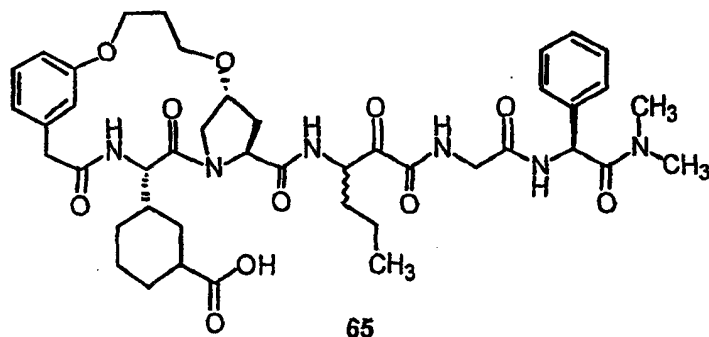
5

步骤 F:



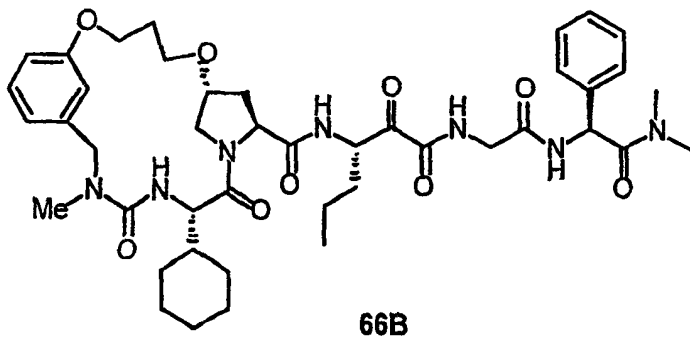
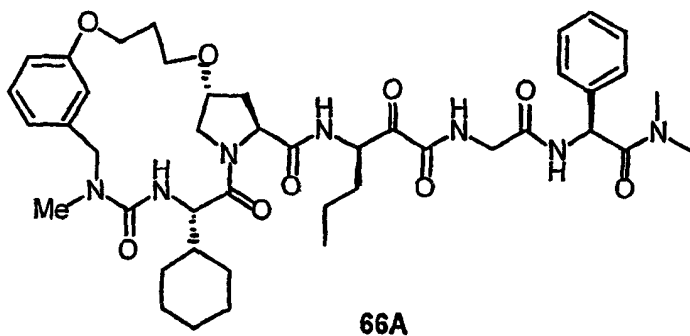
通过先前对实施例 1 步骤 K 描述的氧化方法，得到所需的产物。

实施例 65: 化合物 65 的制备:



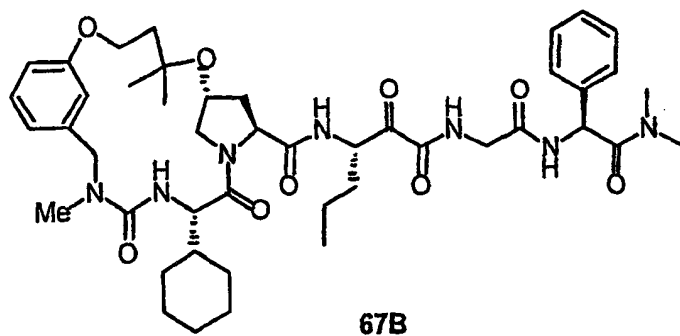
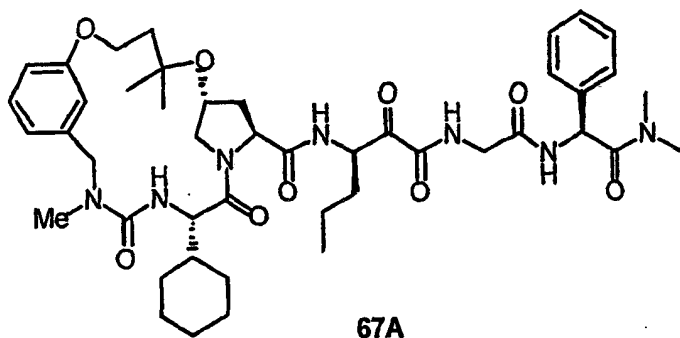
- 5 除了用 3-乙烯基苯甲酸开始合成外，实施例 **65** 的合成与实施例 **14** 的合成相同。苯基部分的还原类似于实施例 **14** 步骤 C。然而，得到非对映体的混合物。

实施例 66: 式 66A 和 66B 化合物的制备:



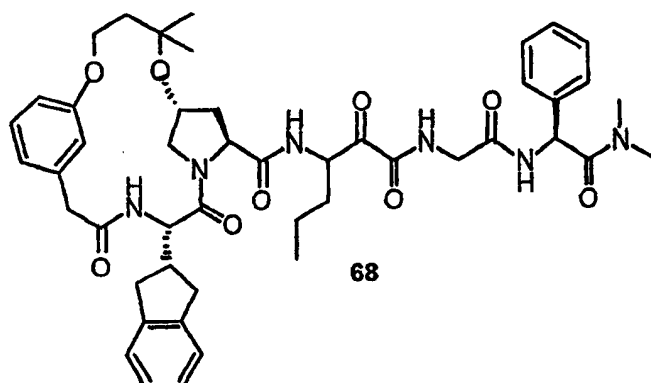
使用适宜的起始原料及适宜的改进, 实施例 66 的合成顺序按照对实施例 54 描述的合成顺序进行。氧化后, 使用柱层析分离异构体 66A 和 66B。LCMS 数据: 818.2 (M+H)⁺ (对 66A 和 66B)。

5 实施例 67: 式 67A 和 67B 化合物的制备:



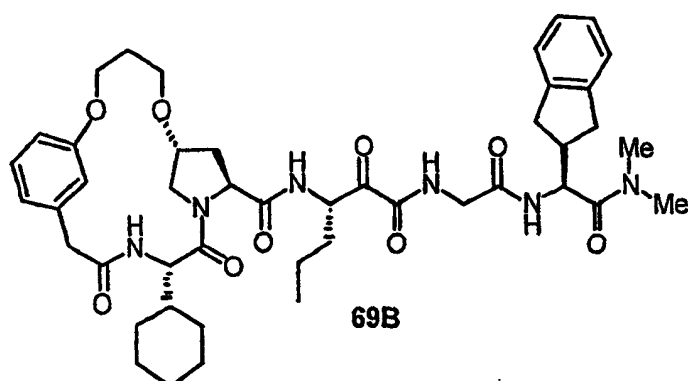
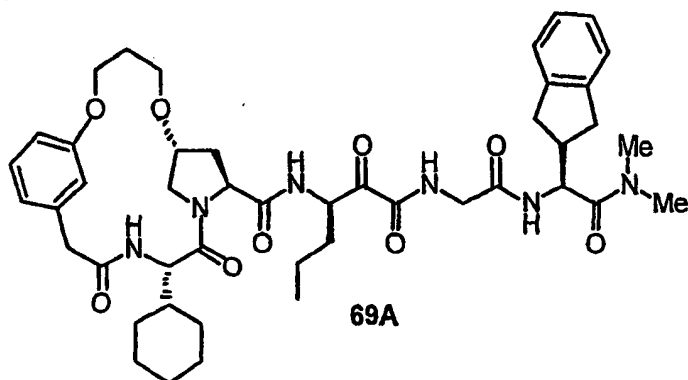
使用适宜的起始原料及适宜的改进, 实施例 67 的合成顺序按照对实施例 54 描述的合成顺序进行。氧化后, 使用柱层析分离异构体 67A 和 67B。HRMS (FAB) C₄₅H₆₄N₇O₉ 的计算值: 846.4766 (M+H)⁺。实测值: 846.4782 (对 67A)和 846.4774 (对 67B)。

实施例 68: 式 68 化合物的制备:



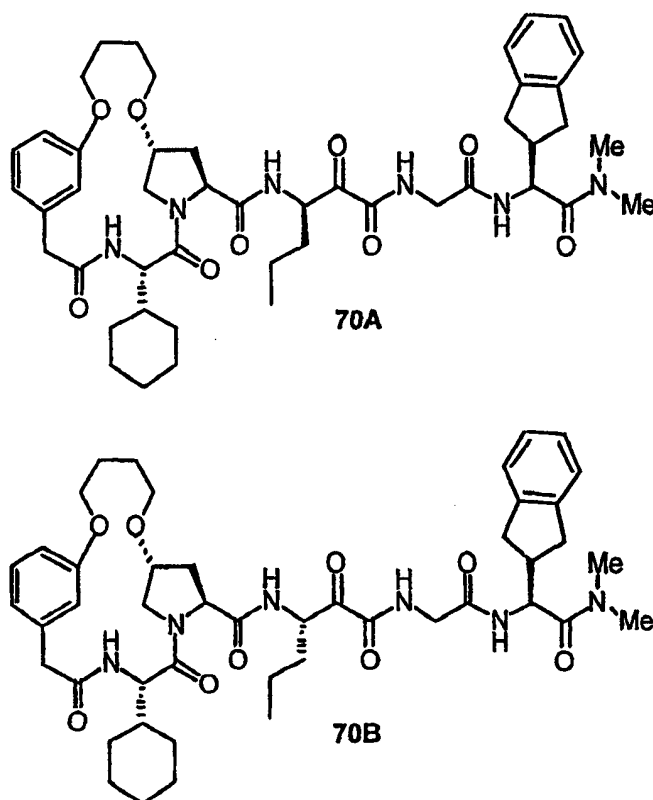
使用适宜的起始原料和适宜的改进, 实施例 **68** 的合成顺序按照对实施例 **30** 描述的合成顺序进行。氧化后, 使用柱层析得到为异构体混合物的所需的产物 **68**。HRMS (FAB) $C_{47}H_{59}N_6O_9$ 的计算值: 851.4344 (M+H)⁺。实测值: 851.4149。

实施例 69: 式 69A 和 69B 化合物的制备:



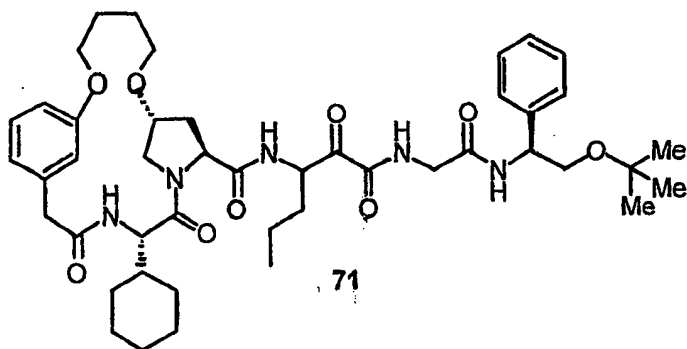
使用适宜的起始原料和适宜的改进, 实施例 69 的合成顺序按照对实施例 1 描述的合成顺序进行。氧化后, 使用柱层析分离异构体 69A 和 69B。LCMS 数据: 829.2 (M+H)⁺ (对 69A 和 69B)。

5 实施例 70: 式 70A 和 70B 化合物的制备:



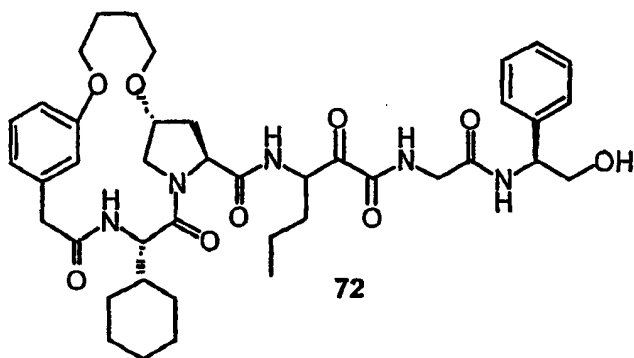
使用适宜的起始原料和适宜的改进, 实施例 70 的合成顺序按照对实施例 4 描述的合成顺序进行。氧化后, 使用柱层析分离异构体 70A 和 70B。LCMS 数据: 843.2 (M+H)⁺ (对 70A 和 70B)。

实施例 71: 式 71 化合物的制备:



使用适宜的起始原料和适宜的改进, 实施例 71 的合成顺序按照
 5 对实施例 5 描述的合成顺序进行。氧化后, 使用柱层析得到为异构
 体混合物的所需的产物 71。LCMS 数据: 818.2 (M+H)⁺。

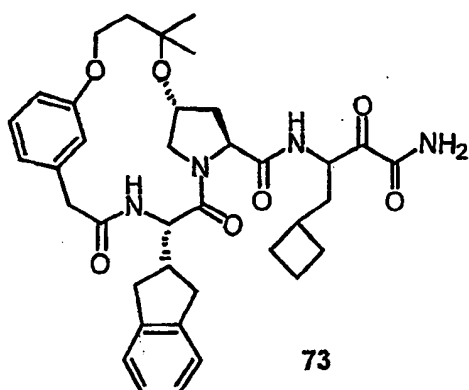
实施例 72: 式 72 化合物的制备:



10

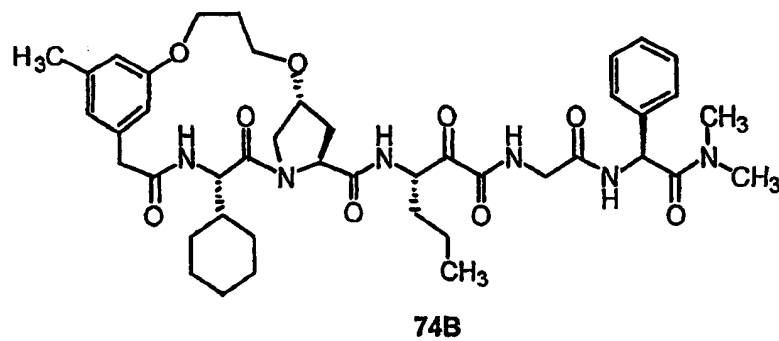
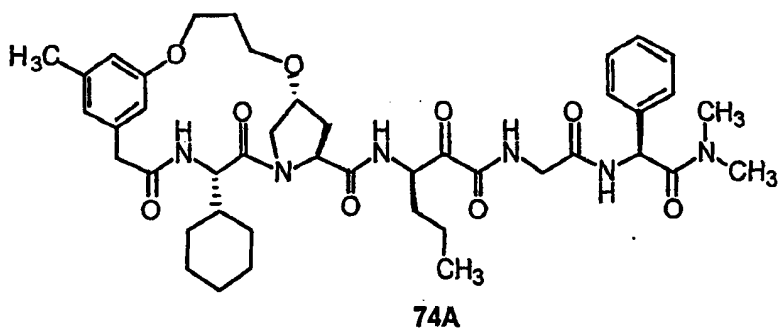
使用适宜的起始原料和适宜的改进, 实施例 72 的合成顺序按照
 对实施例 6 描述的合成顺序进行。氧化后, 使用柱层析得到为异构
 体混合物的所需的产物 72。LCMS 数据: 762.2 (M+H)⁺。

实施例 73: 式 73 化合物的制备:



5 使用适宜的起始原料和适宜的改进, 实施例 73 的合成顺序按照对实施例 10 描述的合成顺序进行。氧化后, 使用柱层析得到为异构体混合物的所需的产物 73。LCMS 数据: 659.2 (M+H)⁺。

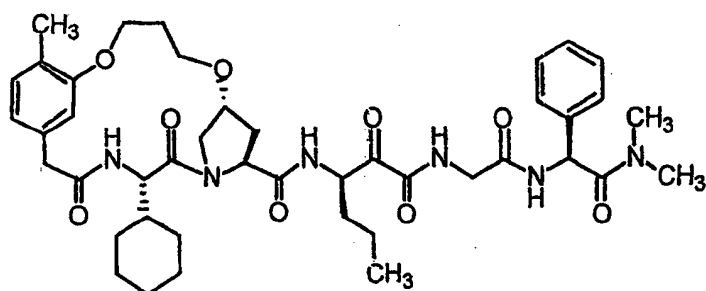
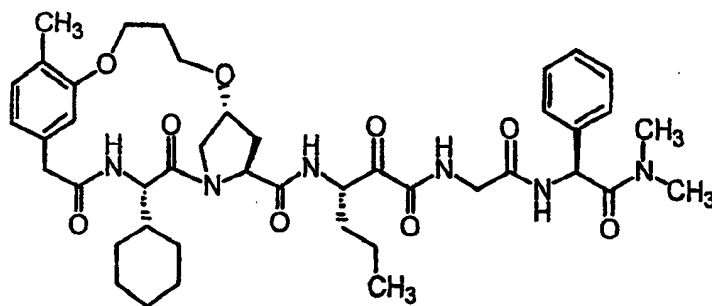
实施例 74: 化合物 74A 和 74B 的制备:



除了用 5-甲基-3-羟基苯基乙酸替代步骤 F 中的 3-羟基苯基乙酸以外, 通过与在实施例 1 中制备化合物 **1A** 和 **1B** 的描述相同的方法, 制备所需的化合物 **74A** 和 **74B**。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 803.1 [对 C₄₃H₅₈N₆O₉ 的计算值, 802.4]。

5

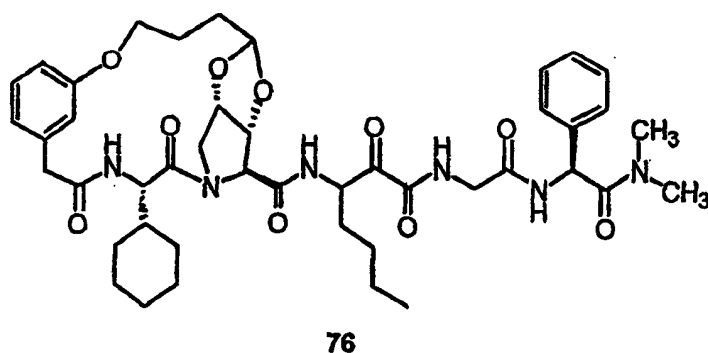
实施例 75: 化合物 75A 和 75B 的制备:

**75A****75B**

10

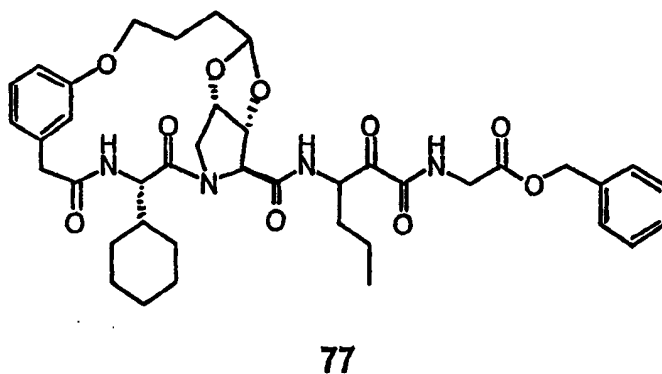
除了用 4-甲基-3-羟基苯基乙酸替代步骤 F 中的 3-羟基苯基乙酸以外, 通过与在实施例 1 中制备化合物 **1A** 和 **1B** 的描述相同的方法, 制备所需的化合物 **75A** 和 **75B**。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 803.1 [对 C₄₃H₅₈N₆O₉ 的计算值, 802.4]。

实施例 76: 化合物 76 的制备:



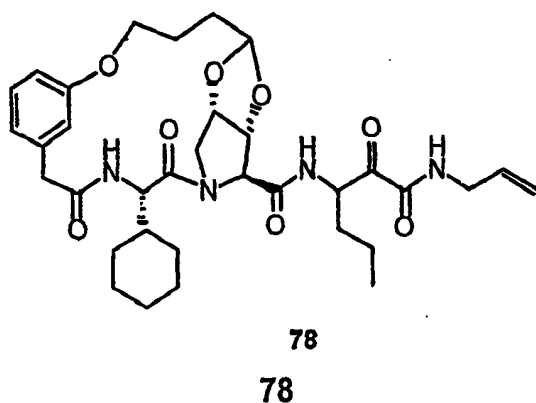
除了用胺 E 替代步骤 J 中的胺 A 以外, 通过与在实施例 27 中制备化合物 **27A** 和 **27B** 的描述相同的方法, 制备所需的化合物 **76**。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 831.1 [对 C₄₄H₅₈N₆O₁₀ 的计算值, 830.4]。

实施例 77: 化合物 77 的制备:



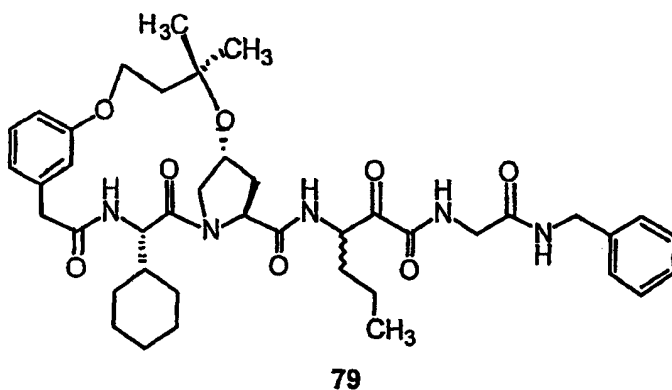
除了用不同的胺中间体替代步骤 J 中的胺 A 以外, 通过与在实施例 27 中制备化合物 **27A** 和 **27B** 的描述相同的方法, 制备所需的化合物 **77**。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 761.1 [对 C₄₁H₅₂N₄O₁₀ 的计算值, 760.4]。

实施例 78: 化合物 78 的制备:



除了用不同的胺中间体替代步骤 J 中的胺 A 以外，通过与在实
 5 施例 27 中制备化合物 27A 和 27B 的描述相同的方法，制备所需的化
 合物 78。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 653.1 [对 C₃₅H₄₈N₄O₈ 的计算值 652.4]。

实施例 79: 化合物 79 的制备:

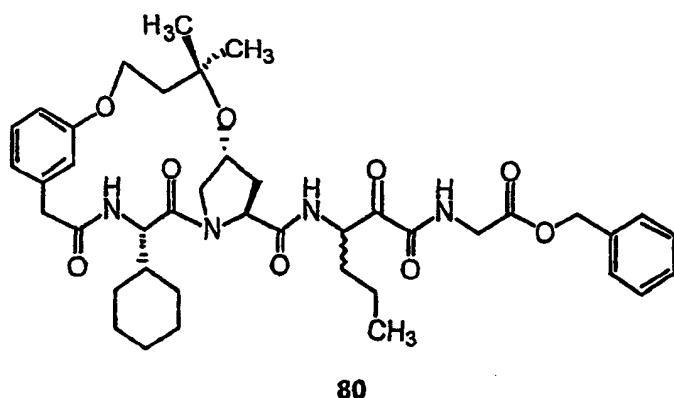


10

除了用不同的胺中间体替代步骤 I 中的胺 A 以外，通过与在实
 施例 30 中制备化合物 30 的描述相同的方法，制备所需的化合物 79。
 LRMS (M+H)⁺ *m/z* 746.1 [对 C₄₁H₅₅N₅O₈ 的计算值 745.4]。

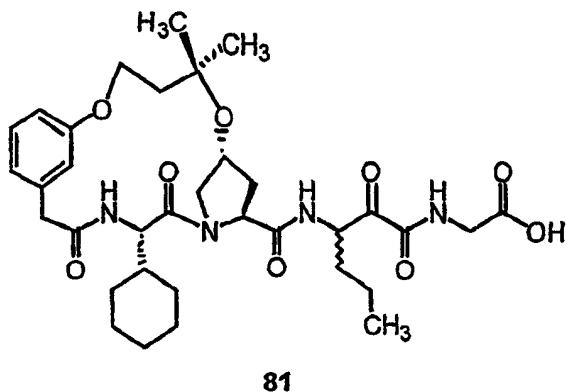
15

实施例 80: 化合物 80 的制备:



除了用胺 **D** 替代步骤 I 中的胺 **A** 以外, 通过与在实施例 30 中制
5 备化合物 **30** 的描述相同的方法, 制备所需的化合物 **80**。LRMS (M+H)⁺
m/z 746.1 [对 C₄₁H₅₅N₅O₈ 的计算值 745.4]。

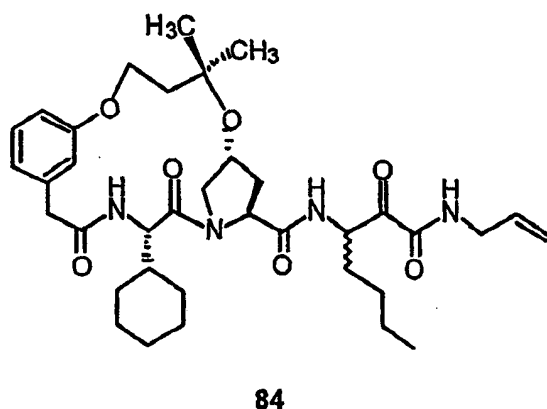
实施例 81: 化合物 81 的制备:



10

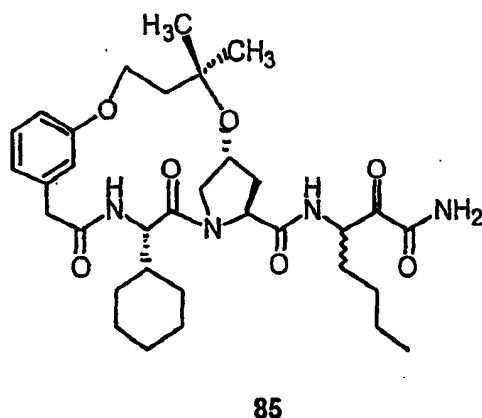
通过与中间体 A 步骤 5 的制备中描述相同的方法, 制备所需的化合物 **81**。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 657.1 [对 C₃₄H₄₈N₄O₉ 的计算值, 656.3]。

实施例 84: 化合物 84 的制备:



除了用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 A 以外，通过与在实施例 30
5 中化合物 30 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 84。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 653.1 [对 C₃₆H₅₂N₄O₇ 的计算值，652.4]。

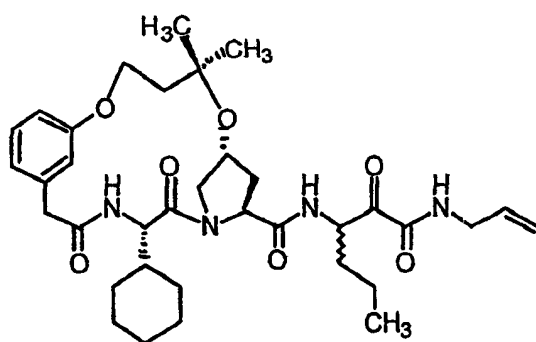
实施例 85: 化合物 85 的制备:



10

通过与在实施例 30 中的化合物 30 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 85。但用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 A，并且按照实施例 10 步骤 J 的方法进行氧化。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 613.1 [对 C₃₃H₄₈N₄O₇ 的计算值，612.4]。

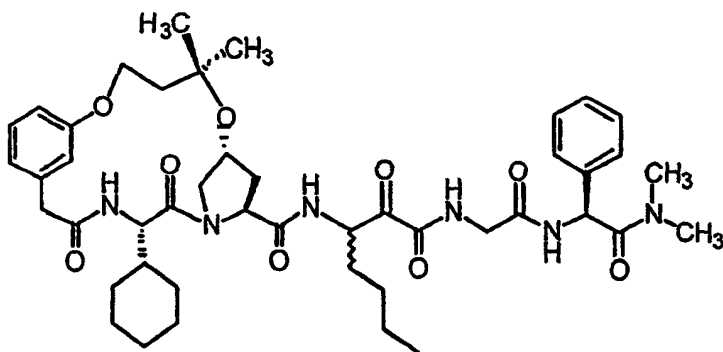
实施例 82: 化合物 82 的制备:



82

除了用不同的胺替代步骤 I 中的胺 A 以外, 通过与制备实施例 30 中化合物 30 的描述相同的方法, 制备所需的化合物 82。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 639.1 [对 C₃₅H₅₀N₄O₇ 的计算值, 638.4]。

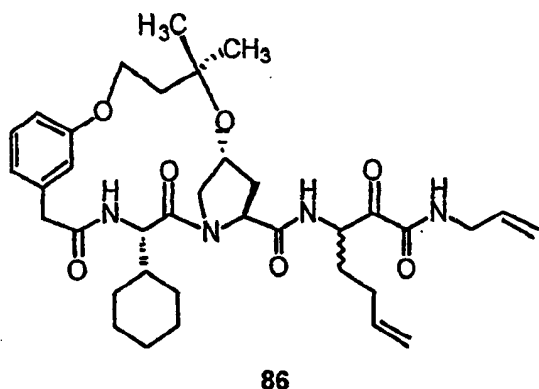
实施例 83: 化合物 83 的制备:



83

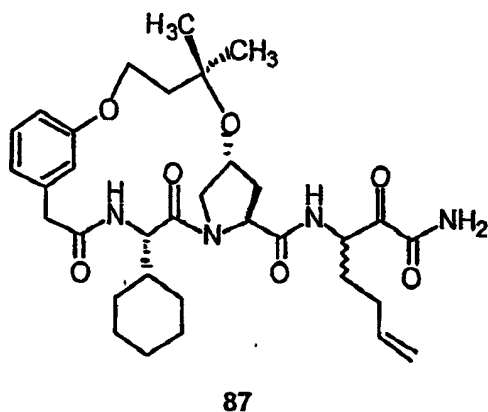
除了用胺 E 替代步骤 I 中的胺 A 以外, 通过与制备实施例 30 中化合物 30 的描述相同的方法, 制备所需的化合物 83。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 831.1 [对 C₄₅H₅₂N₆O₉ 的计算值, 830.5]。

实施例 86: 化合物 86 的制备:



除了用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 A 以外, 通过与在实施例 30 中的化合物 30 的制备描述相同的方法, 制备所需的化合物 86。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 651.1 [对 C₃₆H₅₀N₄O₇ 的计算值, 650.4]。

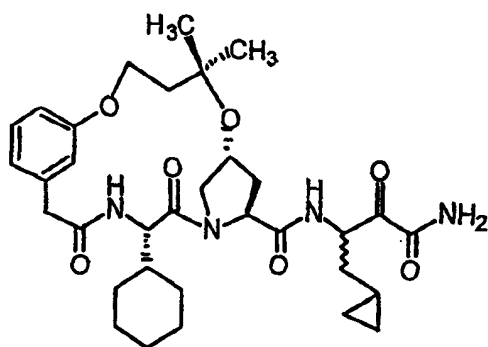
实施例 87: 化合物 87 的制备:



10

通过与在实施例 30 中的化合物 **30** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **87**。但用适宜的胺于替代步骤 I 中的胺 A，并且按照实施例 10 步骤 J 的方法进行氧化。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 611.1 [对 C₃₃H₄₆N₄O₇ 的计算值，610.3]。

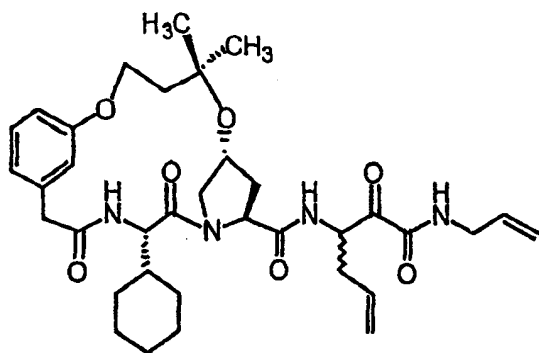
实施例 88: 化合物 88 的制备:



88

通过与在实施例 30 中的化合物 **30** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **88**。但用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 **A**，并且按照实施例 10 步骤 J 的方法进行氧化。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 611.1 [对 C₃₃H₄₆N₄O₇ 的计算值，610.3]。

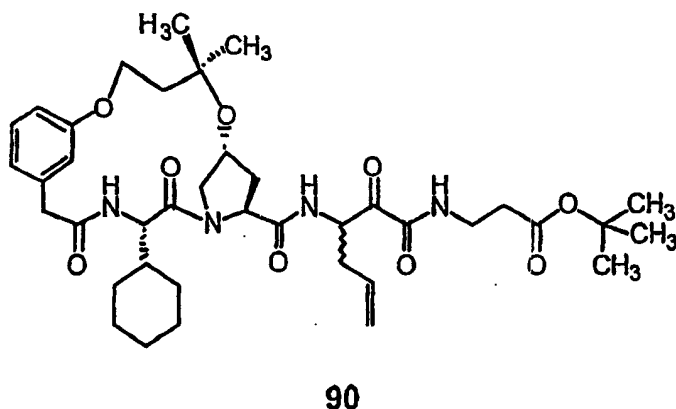
实施例 89: 化合物 89 的制备:



89

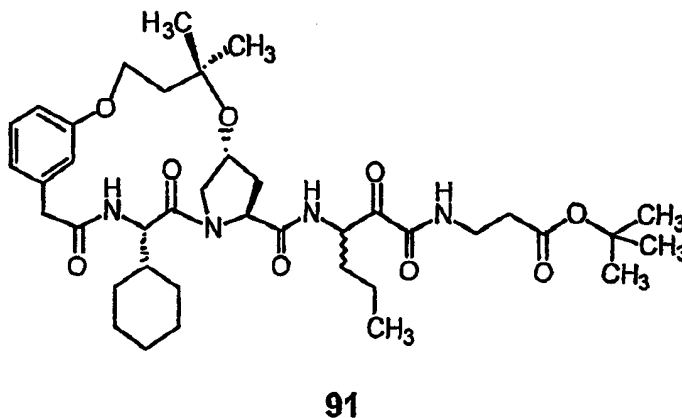
通过与在实施例 30 中的化合物 **30** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **88**。除了用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 **A** 以外。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 637.1 [对 C₃₅H₄₈N₄O₇ 的计算值，636.4]。

实施例 90: 化合物 90 的制备:



通过与在实施例 30 中的化合物 **30** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **90**。除了用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 **A** 以外。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 725.1 [对 C₃₉H₅₆N₄O₉ 的计算值，724.4]。

实施例 91: 化合物 91 的制备:

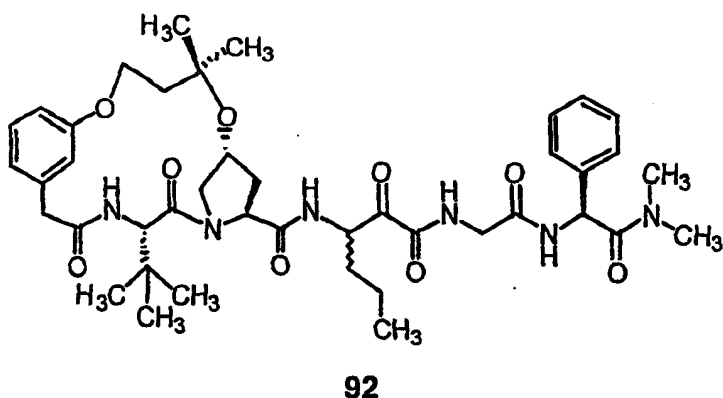


10

通过与在实施例 30 中的化合物 **30** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **91**。除了用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 **A** 以外。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 727.1 [对 C₃₉H₅₈N₄O₉ 的计算值，726.4]。

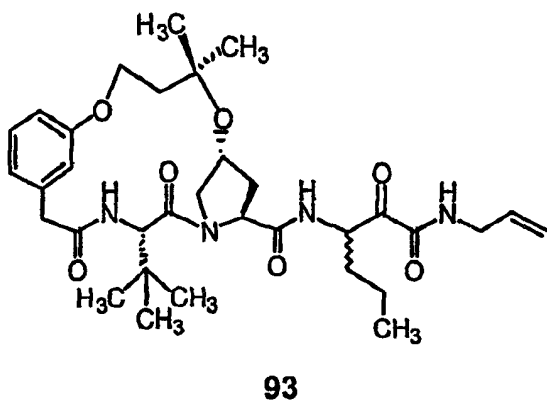
15

实施例 92: 化合物 92 的制备:



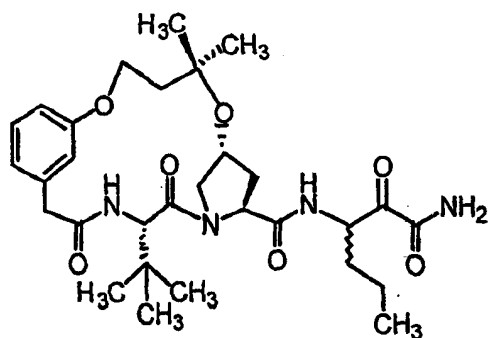
除了用 Boc-叔丁基甘氨酸替代步骤 C 中的 Boc-环己基甘氨酸以外，通过与在实施例 30 中的化合物 **30** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **92**。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 791.1 [对 C₄₂H₅₈N₆O₉ 的计算值，790.4]。

实施例 93: 化合物 93 的制备:



通过与在实施例 92 中的化合物 **92** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **93**。除了用适宜的胺替代胺 **A** 外。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 613.1 [对 C₃₃H₄₈N₄O₇ 的计算值，612.4]。

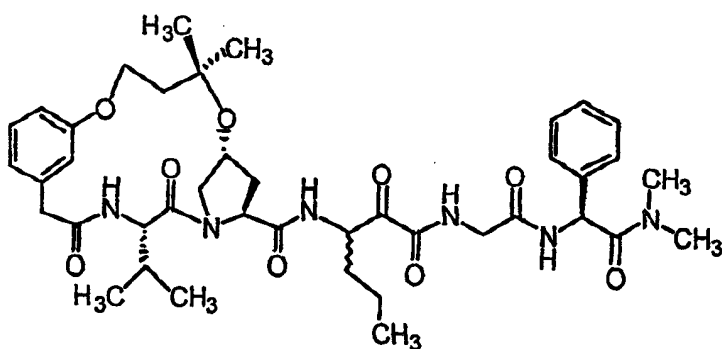
实施例 94: 化合物 94 的制备:



94

通过与在实施例 92 中的化合物 92 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 94。但用适宜的胺替代胺 A，并且按照实施例 10 步骤 J 的方法进行氧化。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 573.1 [对 C₃₀H₄₄N₄O₇ 的计算值，572.3]。

实施例 95: 化合物 95 的制备:

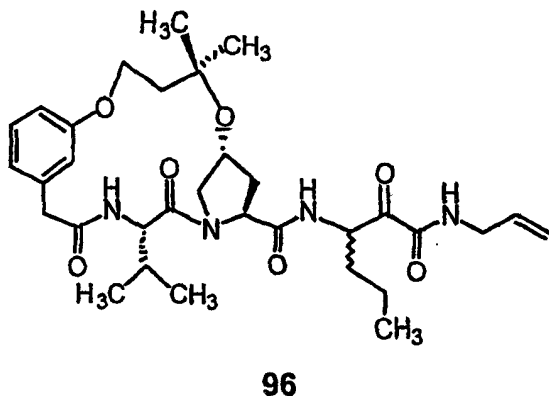


95

除了用 Boc-缬氨酸替代步骤 C 中的 Boc-环己基甘氨酸以外，通过与在实施例 30 中的化合物 30 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 95。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 777.1 [对 C₄₁H₅₆N₆O₉ 的计算值，

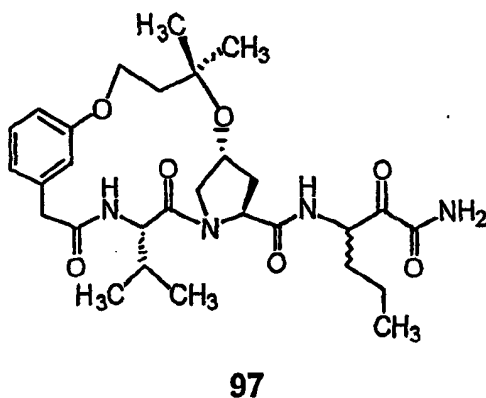
776.4]。

实施例 96: 化合物 96 的制备:



- 5 通过与在实施例 95 中的化合物 **95** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **96**。除了用适宜的胺替代胺 **A**。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 599.1 [对 C₃₂H₄₆N₄O₇ 的计算值，598.3]。

实施例 97: 化合物 97 的制备:

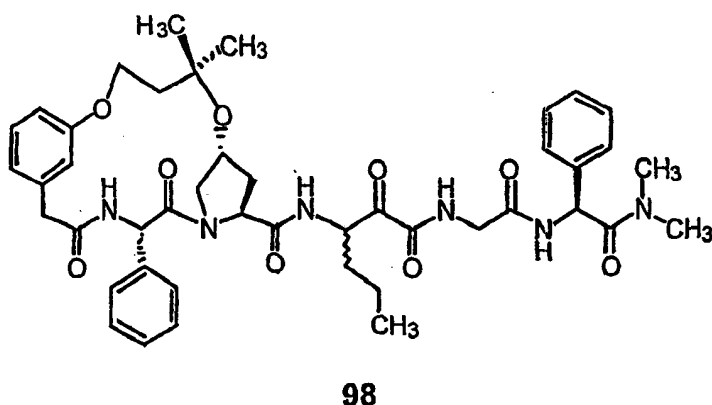


10

通过与在实施例 95 中的化合物 **95** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **97**。但用适宜的胺替代胺 **A**，并且按照实施例 10 步骤 J 的方法进行氧化。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 559.1 [对 C₂₉H₄₂N₄O₇ 的计算值，558.3]。

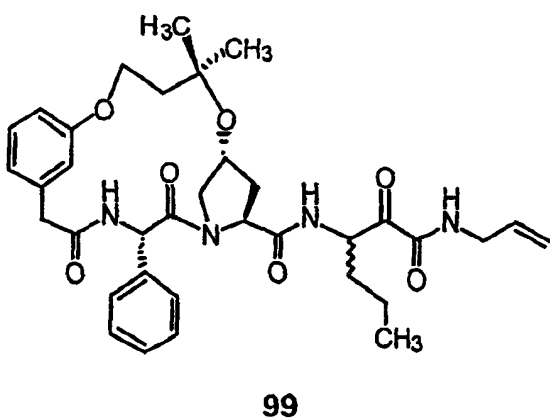
15

实施例 98: 化合物 98 的制备:



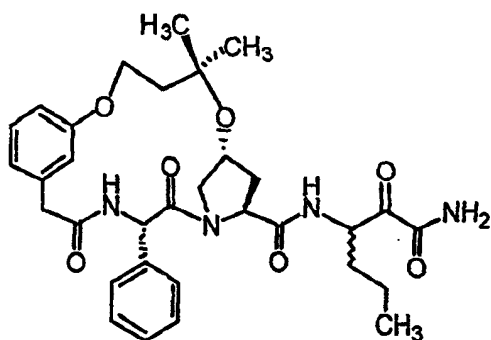
除了用 Boc-苯基甘氨酸替代步骤 C 中的 Boc-环己基甘氨酸以外，通过与在实施例 30 中的化合物 30 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 98。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 811.1 [对 C₄₄H₅₄N₆O₉ 的计算值，810.4]。

实施例 99: 化合物 99 的制备:



通过与在实施例 98 中的化合物 98 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 99。除了用适宜的胺替代胺 A 外。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 633.1 [对 C₃₅H₄₄N₄O₇ 的计算值，632.3]。

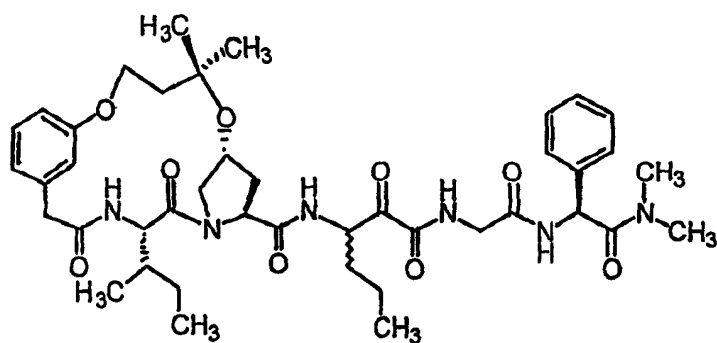
实施例 100: 化合物 100 的制备:



100

通过与在实施例 98 中的化合物 98 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 100。但用适宜的胺替代胺 A，并且按照实施例 10 步骤 J 的方法进行氧化。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 593.1 [对 C₃₅H₄₀N₄O₇ 的计算值，592.3]。

实施例 101: 化合物 101 的制备:

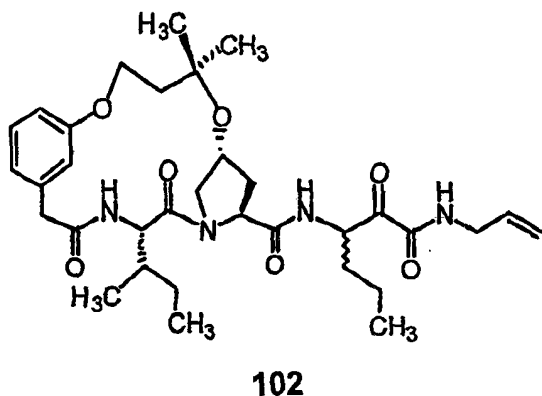


101

除了用 Boc-异亮氨酸替代步骤 C 中的 Boc-环己基甘氨酸以外，通过与在实施例 30 中的化合物 30 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 101。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 791.1 [对 C₄₂H₅₆N₆O₉ 的计算值，

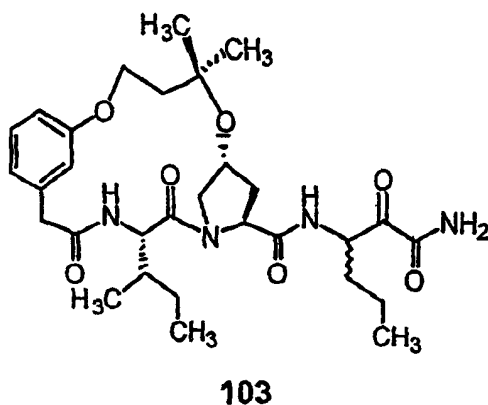
790.4]。

实施例 102: 化合物 102 的制备:



5 通过与在实施例 101 中的化合物 **101** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **102**。除了用适宜的胺替代胺 **A** 外。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 613.1 [对 C₃₃H₄₈N₄O₇ 的计算值，612.4]。

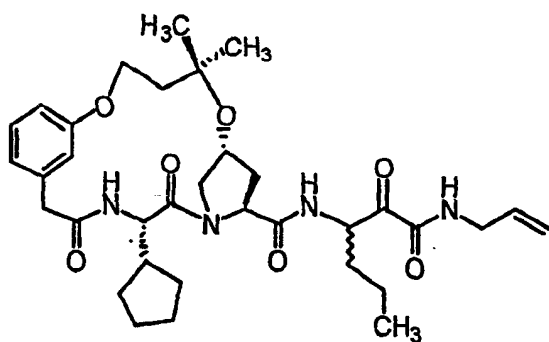
实施例 103: 化合物 103 的制备:



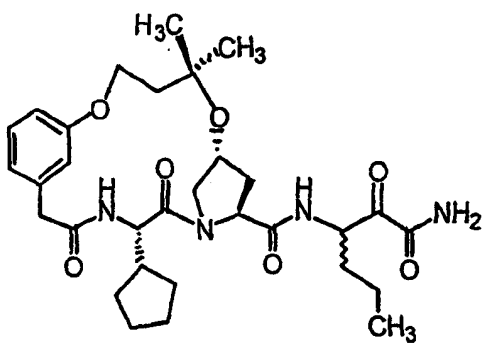
10

通过与在实施例 101 中的化合物 **101** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **103**。但用适宜的胺替代胺 **A**，并且按照实施例 10 步骤 J 的方法进行氧化。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 573.1 [对 C₃₀H₄₄N₄O₇ 的计算值，572.3]。

15

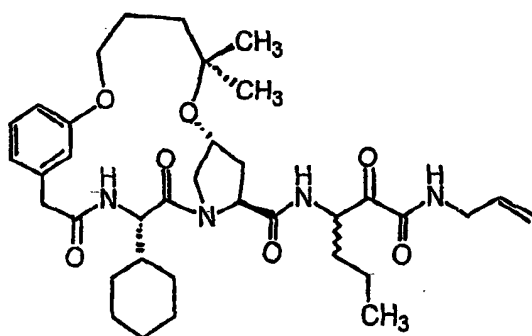
实施例 104: 化合物 104 的制备:**104**

除了用 Boc-环戊基甘氨酸替代步骤 C 中的 Boc-环己基甘氨酸，
 5 并且用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 A 以外，通过与在实施例 30 中的
 化合物 30 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 104。LRMS
 (M+H)⁺ *m/z* 625.1 [对 C₃₄H₄₈N₄O₇ 的计算值，624.4]。

实施例 105: 化合物 105 的制备:**105**

通过与在实施例 104 的化合物 104 的制备中描述相同的方法，
 制备所需的化合物 105。但用适宜的胺替代胺 A，并且按照实施例 10
 步骤 J 的方法进行氧化。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 585.1 [对 C₃₁H₄₄N₄O₇ 的计
 15 算值，584.3]。

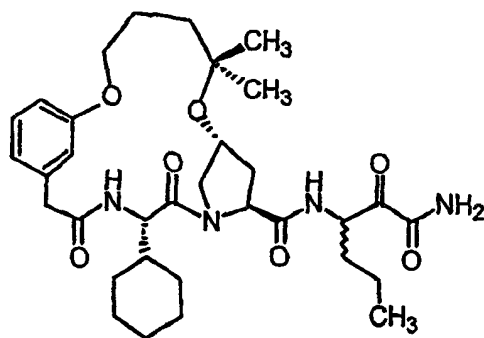
实施例 106: 化合物 106 的制备:



106

通过与在实施例 30 中的化合物 **30** 的制备描述相同的方法，制备所需的化合物 **106**，但以下例外: (a) 用 5-苄氧基-2-甲基-1-戊烯替代步骤 A 中的 4-苄氧基-2-甲基-1-戊烯; (b) 用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 A。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 653.1 [对 C₃₆H₅₂N₄O₇ 的计算值, 652.4]。

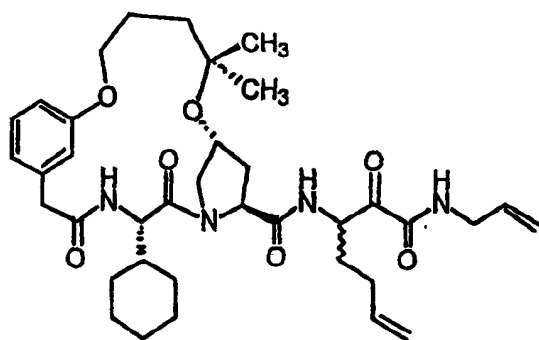
实施例 107: 化合物 107 的制备:



107

通过与在实施例 106 的化合物 **106** 的制备中描述相同的方法，制备所需的化合物 **107**。但用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 A，并且按照实施例 10 步骤 J 的方法进行氧化。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 613.1 [对 C₃₃H₄₈N₄O₇ 的计算值, 612.4]。

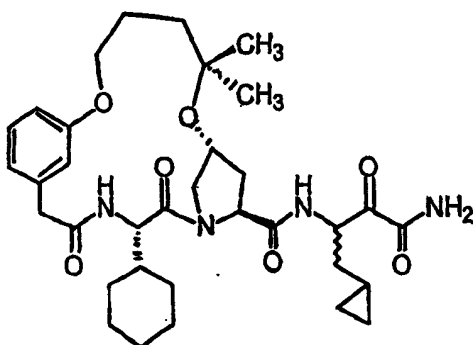
实施例 108: 化合物 108 的制备:



108

除了用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 A 外，通过与在实施例 106
5 的化合物 106 的制备中描述相同的方法，制备所需的化合物 108。
LRMS (M+H)⁺ *m/z* 665.1 [对 C₃₇H₅₂N₄O₇ 的计算值，664.4]。

实施例 109: 化合物 109 的制备:



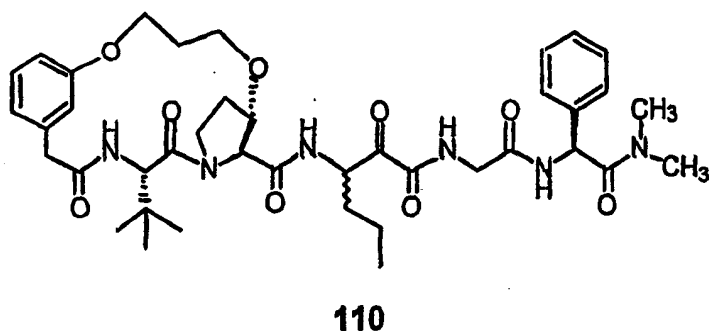
109

10

通过与在实施例 106 中化合物 106 的制备描述相同的方法，制
备所需的化合物 109，但除了用适宜的胺替代步骤 I 中的胺 A，并且
按照实施例 10 步骤 J 的方法进行氧化外。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 625.1 [对
C₃₄H₄₈N₄O₇ 的计算值，624.4]。

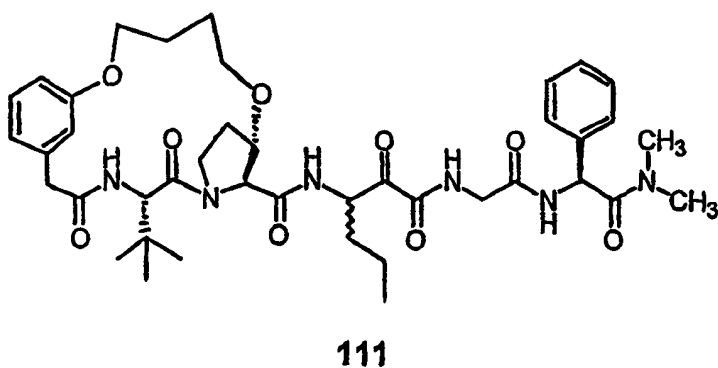
15

实施例 110: 化合物 110 的制备:



通过与在实施例 1 中的化合物 **1A** 和 **1B** 的制备描述相同的方法，
 5 制备所需的化合物 **110**，但用 Boc-3-羟基脯氨酸替代步骤 A 中的脯氨酸 **1a**，并且用 Boc-叔丁基甘氨酸替代步骤 D 中的 Boc-环己基甘氨酸。LRMS (M+H)⁺ *m/z* 763.1 [对 C₄₀H₅₄N₆O₉ 的计算值，762.4]。

实施例 111: 化合物 111 的制备:



通过与在实施例 4 中的化合物 **4A** 和 **4B** 的制备描述相同的方法，
 制备所需的化合物 **111**，但用 Boc-3-羟基脯氨酸替代步骤 A 中的脯氨酸 **1a**，并且用 Boc-叔丁基甘氨酸替代步骤 D 中的 Boc-环己基甘氨酸。
 15 LRMS (M+H)⁺ *m/z* 777.1 [对 C₄₁H₅₆N₆O₉ 的计算值，776.4]。

HCV 蛋白酶抑制活性试验

分光光度试验: 按照由 R. Zhang 等, *Analytical Biochemistry*, 270 (1999) 268-275 描述的方法, 其公开通过引用结合到本文中, 对本发明化合物进行 HCV 丝氨酸蛋白酶的分光光度试验。基于显色酯底物的蛋白水解试验可适用于 HCV NS3 蛋白酶活性的连续监测。底物衍生于 NS5A-NS5B 接合序列(Ac-DTEDVVX(Nva), 其中 X = A 或者 P)的 P 侧, 其 C-末端羧基用 4 种不同的显色醇(3-或 4-硝基苯酚、7-羟基-4-甲基香豆素或 4-苯基偶氮苯酚)中的一种酯化。下面提出这些新的分光光度显色酯底物的合成、特征鉴定和对高通量筛选和 HCV NS3 蛋白酶抑制剂的详细的动力学评价的应用。

材料与方法:

材料: 用于与试验有关的缓冲液的化学试剂得自 Sigma Chemical Company (St. Louis, Missouri)。用于肽合成的试剂得自 Aldrich Chemicals, Novabiochem (San Diego, California)、Applied Biosystems (Foster City, California)和 Perseptive Biosystems (Framingham, Massachusetts)。肽由人工合成或者在型号 431A 的自动 ABI 合成仪(得自 Applied Biosystems)上合成。型号 LAMBDA 12 的 UV/VIS 分光机得自 Perkin Elmer (Norwalk, Connecticut)和 96 孔 UV 板得自 Corning (Corning, New York)。预温热阻断剂得自 USA Scientific (Ocala, Florida)和 96 孔板旋涡仪得自 Labline Instruments (Melrose Park, Illinois)。具有单色光源的 Spectramax Plus 微量滴定板读数器得自 Molecular Devices (Sunnyvale, California)。

酶制备: 通过采用先前公开的方法(D. L. Sali 等, *Biochemistry*, 37 (1998) 3392-3401), 可制备重组异源二聚体(heterodimeric)的 HCV NS3/NS4A 蛋白酶(株 1a)。使用先前经氨基酸分析定量的重组 HCV 蛋白酶标准物, 通过 Biorad 染色法测定蛋白浓度。试验开始前, 采用 Biorad Bio-Spin P-6 预装柱, 将酶储备缓冲液(50 mM 磷酸钠 pH 8.0, 300 mM

NaCl, 10%甘油, 0.05%十二烷基麦芽糖苷和 10 mM DTT)交换为试验缓冲液(25 mM MOPS pH 6.5, 300 mM NaCl, 10%甘油, 0.05%十二烷基麦芽糖苷, 5 μ M EDTA 和 5 μ M DTT)。

5 底物合成和纯化: 如由 R. Zhang 等(同上)报道的那样进行底物的合成并且使用标准方法(K. Barlos 等, *Int. J. Pept. Protein Res.*, **37** (1991), 513-520), 通过将 Fmoc-Nva-OH 固定到 2-chlorotriyl 氯化物树脂上启动。随后, 或者人工或者在型号 431 的自动 ABI 肽合成仪上, 采用 Fmoc 化学装配肽。或者通过在二氯甲烷(DCM)中的 10%乙酸(HOAc)和 10%三氟乙醇(TFE)30 分钟, 或者通过在 DCM 中的 2%三氟乙酸(TFA)10 分钟, 自树脂裂解 N-乙酰化和充分保护的肽片段。共沸蒸发(或者经 Na_2CO_3 水溶液反复提取)合并的滤液和 DCM 洗液, 除去在裂解中所用的酸。经 Na_2SO_4 干燥 DCM 相并且蒸发。

15 采用标准酸-醇偶合方法(K. Holmber 等, *Acta. Chem. Scand.*, **B33** (1979), 410-412)装配酯底物。将肽片段溶于无水吡啶(30-60 mg/ml)中, 向其中加入 10 摩尔等价物的发色团和催化量(0.1 eq.)的对-甲苯磺酸(pTSA)。加入二环己基碳二亚胺(DCC, 3 eq.)以启动偶合反应。经 HPLC 监测产物形成并发现反应在室温下 12-72 小时后完成。真空蒸发吡啶溶剂并经用甲苯共沸蒸发进一步除去。用 95%在 DCM 中的 TFA 将肽酯脱除保护 2 小时并用无水乙醚提取 3 次以除去过量的发色团。经反相 HPLC 在 C3 或 C8 柱上纯化脱除保护的底物, 用 30%-60%乙腈(使用 6 个柱体积)梯度洗脱。HPLC 纯化后总收率为约 20-30%。经电喷雾离子质谱证实分子量。在干燥下, 以干燥粉末形式贮存底物。

25 底物和产物的波谱: 在 pH 6.5 的试验缓冲液中可得到底物和相应显色产物的波谱。采用多倍稀释, 在最佳脱峰波长下, 1-cm 比色杯(340 nm 对 3-Np 和 HMC, 370 nm 对 PAP 和 400 nm 对 4-Np)下测定消光系数。最佳脱峰波长定义为在底物与产物之间得到吸收度最大分部差异的波长(产物 OD-底物 OD/底物 OD)。

蛋白酶试验: 在 96 孔微滴板上, 采用 200 μl 反应混合物在 30 $^{\circ}\text{C}$ 下进行 HCV 蛋白酶试验。试验缓冲液条件(25 mM MOPS pH 6.5, 300 mM NaCl, 10%甘油, 0.05%十二烷基麦芽糖苷、5 μM EDTA 和 5 μM DTT)对 NS3/NS4A 异源二聚体最佳化(D. L. Sali 等, 同上)。一般, 将 150 μl 缓冲液、底物和抑制剂的混合物加入到孔(DMSO 最终浓度, 4% v/v)中并且在 30 $^{\circ}\text{C}$ 下使之预孵育约 3 分钟。然后将 50 μl 在试验缓冲液中的预温热的蛋白酶(12 nM, 30 $^{\circ}\text{C}$)用于启动所述反应(最终体积 200 μl)。采用配有单色光源的 Spectromax Plus 微量滴定板读数器(使用截断滤膜的板读数器可得到可以接受的结果), 在试验全程(60 分钟)监测板在合适的波长(340 nm 对 3-Np 和 HMC, 370 nm 对 PAP 和 400 nm 对 4-Np)下吸收度的变化。在合适的波长下监测 Nva 与发色团之间的酯键的蛋白水解裂解, 相对于作为非酶促水解的对照组的非酶空白组。于 30 倍底物浓度范围(~ 6 -200 μM)内进行底物动力学参数的评价。采用线性回归测定最初速度, 并且采用非线性回归分析(Mac Curve Fit 1.1, K. Raner), 通过将数据拟合到 Michaelis-Menten 方程式中获得动力学常数。假设酶完全活化, 以计算转化数(K_{cat})。

抑制剂和灭活剂的评价: 按照竞争抑制作用动力学的重排 Michaelis-Menten 方程式: $v_0/v_i = 1 + [I]_0/(K_i(1 + [S]_0/K_m))$, 其中 v_0 为未抑制的初始速度, v_i 为在任何给出的抑制剂浓度($[I]_0$)下, 在抑制剂存在下的初始速度, 且 $[S]_0$ 为所使用的底物浓度, 通过 v_0/v_i 对抑制剂浓度($[I]_0$)作图, 在固定的酶和底物的浓度下, 可实验测定竞争性抑制剂 Ac-D-(D-Gla)-L-1-(Cha)-C-OH (27)、Ac-DTEDVVA(Nva)-OH 和 Ac-DTEDVVP(Nva)-OH 的抑制常数(K_i)。采用线性回归拟合所得到数据, 以及所得到的斜率 $1/(K_i(1 + [S]_0/K_m))$ 被用于计算 K_i 值。

在以上提及的表 1 中给出所得到的本发明各种大环的 K_i 值, 其中按 K_i 值的范围的顺序排列化合物。从这些试验结果, 技术人员应该意识到本发明化合物作为 NS3-丝氨酸蛋白酶抑制剂具有优良的用

途。

细胞生物测定方法：按照由 S. Agrawal 等, Development and Characterization of Hepatitis C Virus Serine Protease Cell-based Trans-Cleavage Assay (丙型肝炎病毒丝氨酸蛋白酶细胞-基反式切割测定法的开发和鉴定), Hepatology Supplement to Volume 30 (No. 4, 第 2 部分, 1999 年 10 月), Abstract No. 615 (Proceedings of AASLD 50th Annual Meeting, Dallas, Texas, 1999 年 11 月 5-9 日)描述的方法, 其公开通过引用结合到本文中, 对本发明化合物可进行 HCV 丝氨酸蛋白酶的细胞生物测定。在用质粒(可表达包含 NS5A/5B 裂解识别序列和 1BNS4A₂₁₋₃₂GS-GSNS₃₋₈₁117K 表达载体和 YFPn1 作为控制细胞毒性的内标蛋白的报道基因蛋白底物)共转染的 Hela/Huh7 细胞中进行所述测定。通过总细胞溶胞产物的 SDS-PAGE 随后通过蛋白质印迹检测, 采用直接对抗报道基因底物的单克隆抗体, 可测量蛋白酶活性。通过 15 在磷酸图像仪上扫描免疫印迹, 可进行底物裂解的定量。

材料：

质粒 DNAs

pBFP-5A/5B-GFP：表达底物的报道基因将融合蛋白编码, 后者由 N' 末端蓝色荧光蛋白(BFP)功能域和 C'末端绿色荧光蛋白(GFP)功能域组成, 通过衍生于 NS5A/5B 裂解识别序列的 25 个氨基酸分开。当经合适波长的 UV 光激发时, GFP 和 BFP 两者为分别发射绿光或蓝光的基本上均匀的自动荧光蛋白。在 GFP 的发色团中的四种氨基酸取代改变发射波长并把蛋白转变为 BFP。

25 采用识别两种蛋白的单克隆抗体, 通过免疫学方法在细胞溶胞产物中可检测底物和得到的 GFP 和 BFP 的产物。

BFP-5A/5B-GFP 报道基因包含 BFP 和 GFP 自动荧光蛋白编码序列(Quantum Biotechnologies, Inc., Montreal, Canada), 所述序列通过 NS5A/5B 裂解识别序列分离, 在 pQB125 克隆载体(Quantum

Biotechnologies, Inc.)的 Nhe I 和 Bam HI 限制内切核酸酶位点之间被克隆。融合蛋白的表达处于 CMV IE 启动子增强剂的控制下。载体的牛生长激素 p(A)序列提供 mRNA 的聚腺苷酸化的信号。NS5A/5B 裂解序列为: SSGADTEDVVCCSMSYTWGALVTP。DNA 测序被用来证实克隆。

P1BOO2: 1bNS4A21-32GS-GS NS 3-81 117K: 将亚型 1b 蛋白酶克隆为结合于在载体 pC1neo 中的 CMV 启动子后的 XbaI/NotI 片段。

YFPn1: YFPn1 购自 CLONTECH (Palo Alto, California)。将第三种质粒加入到转染提供控制细胞毒性的内标蛋白且不影响蛋白酶裂解的百分率。

在合适的抗生物素选择下, 于 LB 培养基中, 在 DH5 α 细胞(得自 Life Technologies)中维持和繁殖质粒 DNAs, 并且采用 QiAfilter 质粒试剂盒(Qiagen, Valencia, California)纯化。

细胞培养:

Hela 细胞在经 10%胎牛血清(FCS)、2 mM 谷氨酰胺和 100 u/ml 青霉素-链霉素(BioWhittaker)、2% NaHCO₃ 补充的 Eagle 氏极限必需培养基(EMEM; BioWhittaker, Walkersville, Maryland)中维持和繁殖。

Huh7 细胞在经 10%胎牛血清(FCS)、100 u/ml 青霉素-链霉素(BioWhittaker)和 5 ml NEAA (100x; BioWhittaker)/L 补充的 Dulbecco 氏修饰的 Eagle 氏培养基(DMEM; BioWhittaker)中维持和繁殖。

SOP 方法

日前提转染:

Hela 细胞以 6×10^4 细胞/孔的密度被接种到 24 孔板(Falcon 3047 板)上并且在 5% CO₂ 孵育器中于 37°C 下生长过夜。

转染日:

将质粒 DNAs 在不含有水的核酸酶中稀释至最终浓度 $0.05 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ (Promega, Madison, Wisconsin, 分类号 P119C)。合并 $0.75 \mu\text{g}$ BFP-5A/5B-GFP 并与 $0.175 \mu\text{g}$ P1B002 (0.23X) 和 $0.02 \mu\text{g}$ 的 YFPn1 混合。用不含有 FBS、谷氨酰胺和抗生素的 EMEM 将 DNAs 稀释至最终体积 $60 \mu\text{l}$ 。加入每总 μgs 的 DNA 的 $5 \mu\text{l}$ 体积比例的 SuperFect Reagent (Qiagen, 目录号 301305), 并在室温下将混合物涡旋约 10 秒钟且孵育 10 分钟以使复合物形成。

当复合物形成发生时, 得自细胞培养板的生长培养基被吸出, 并用 1 ml 不含有 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的 PBS (BioWhitaker) 洗涤细胞 1 次。将 $350 \mu\text{l}$ EMEM (用合适的补充-完全培养基补充) 加入到包含转染复合物的试管中并将混合物移液上下 2-3 次。将总体积转移至 24 孔培养板的一个孔中。在 37°C 下和 $5\% \text{CO}_2$ 中, 将 Hela 细胞与转染复合物孵育约 3 小时。通过吸出从细胞中除去包含转染复合物的培养基。

以约 1 ml PBS 洗涤细胞一次, 将 PBS 吸出, 加入 $495 \mu\text{l}$ 完全 EMEM 随后加入 $5 \mu\text{l}$ 化合物/孔。在 37°C 下和 $5\% \text{CO}_2$ 中, 将细胞孵育 22-24 hr。

细胞溶胞产物的制备

自每孔吸出培养基并用 DPBS 洗涤 1 次。在 $100 \mu\text{l}$ 的 $1\times$ Tris-SDS-BME 样品缓冲液 (OWL 分离系统, Portsmouth, New Hampshire, 编号 ER33) 中收获细胞, 并且转移至微量离心管中。然后, 将其煮沸 3-5 分钟以溶解细胞。在 SDS-PAGE 凝胶中, 于 $10 \mu\text{l}/\text{孔}$ 下, 进行填充。在 $10 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$ 12.5% SDS-PAGE (Owl Scientific, 编号 OG-0125B) 上, 在 Tris-Glycine-SDS 缓冲液 (Owl Scientific) 中, 于 30 mamp 运转下经电泳将溶胞产物溶解。临用前, 在 100% 甲醇中浸泡 PVDF 膜 (Immobilon-P; $.45 \mu\text{m}$ 孔径; Millipore, Bedford, Massachusetts) 10 秒钟, 然后将印迹放入到蒸馏水中。在每凝胶 108 mamp 下, 采用半-

干燥电印迹将蛋白转移至 PVDF 滤膜(0.45 μ m, Millipore)90 分钟。

5 经 ECF 蛋白印迹的蛋白的检测(Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, England), 目录号 RPN 5780)。在冰箱中, 于 2-4℃ 下, 通过
在 ~10 ml 的包含 0.05%吐温 20 pH 7.4 (Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, 目录号 3563)的 PBS 中的 5%阻断剂(得自试剂盒), 将 PVDF
滤膜阻断过夜。次日, 用包含 0.05%吐温 20 洗涤缓冲液的 TPBS 短
暂冲洗膜两次, 然后在包含 0.05%吐温 20 (pH 7.4)的 PBS 中冲洗三
次, 每次 5 分钟。在包含 0.05%吐温 20 (pH 7.4)的 PBS 中, 将膜在 12
10 mls 抗-GFP 单克隆抗体的 1:3000 稀释液中孵育 30 分钟(Clontech, Palo Alto, California), 而在同时加入 1% BSA (Albumin, 得自 Sigma 的牛
目录号 A-2153)以减少背景。用 TPBS 短暂冲洗膜两次, 然后用 TPBS
洗涤缓冲液冲洗三次, 每次 5 分钟。将膜在 12 mls 在 TPBS 中的 1:600
稀释抗荧光-连接的抗小鼠 Ig 中孵育 30 分钟。用 TPBS 短暂冲洗膜
15 两次, 然后 5 分钟内用 TPBS 洗涤缓冲液冲洗三次。为用 ECF 信号
扩增, 将底物膜在 10 ml 的 1:2500 抗荧光生物碱磷酸酶接合中孵育 30
分钟。用 TPBS 短暂冲洗膜两次, 然后 5 分钟内用 TPBS 洗涤缓冲液
冲洗三次。按照每个制造商的说明书(等分试样和冷冻), 制备 ECF
底物溶液, 将膜孵育 2-3 分钟, 排出过量的试剂, 然后用滤纸印迹,
20 空气干燥 9-10 分钟, 然后扫描。

扫描膜: 将印迹放入 Storm 860 磷酸图像仪(phosphoimager)的玻璃中。
蓝色化学发光免疫测定法被建立, 200 象素大小, 700 PMT 伏特。在
ImageQuant 中打开文件并经过建立围绕表示底物(S)、产物(P)和内标
25 对照物(IC)的带的面积定量化。底物的裂解百分率可被作为
 $P/(S+P) \times 100$ 测量。比较包括在每个印迹上的药物对照品的重复试验,
可测量在由于药物的裂解中的抑制作用。在 Excel 上建立报告。结果
显示在表 2 中。从这些试验结果, 本领域技术人员应该意识到本发

明化合物作为 NS3-丝氨酸蛋白酶抑制剂具有优良的用途。

表 2: 基于 HCV 细胞的测定结果:

实施例编号	基于细胞的试验 (μM)
1B	2
2	2
4A	2.5
4B	1.8
5	0.6
7B	7
8	3.5
12B	5.2
21	2
23	3
30	1
57B	1.5
58	2

- 5 本领域技术人员应该意识到对本公开、对材料和方法两者的许多改进、变体和变化可被实践。这样的改进、变体和变化打算处于本发明的精神和范围内。