(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108290855 A
(43)申请公布日 2018.07.17

(21)申请号 201680049553.3

(22)申请日 2016.06.30

(30)优先权数据
62/187,461 2015.07.01 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.02.27

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/040467 2016.06.30

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/004405 EN 2017.01.05

(71)申请人 西北大学
地址 美国伊利诺斯

(72)发明人 D·克赖因克 R·B·西尔弗曼 J·郑

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 11038
代理人 袁志明

(51)Int.Cl.
C07D 401/04(2006.01)
C07D 401/14(2006.01)
C07D 471/04(2006.01)
C07D 413/14(2006.01)
C07D 405/12(2006.01)
C07D 409/04(2006.01)
C07D 405/14(2006.01)
C07D 403/04(2006.01)
C07D 239/94(2006.01)
C07D 495/04(2006.01)
A61K 31/519(2006.01)
A61K 31/505(2006.01)
A61K 31/506(2006.01)
A61K 31/553(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)
A61P 25/16(2006.01)

权利要求书7页 说明书75页 附图6页

(54)发明名称

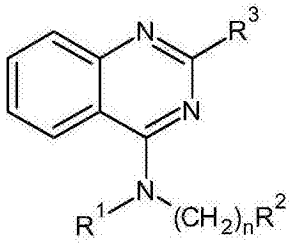
被取代的喹唑啉化合物及其调节葡糖脑苷脂酶活性的用途

(57)摘要

公开了具有被取代的喹唑啉核结构的新颖小分子及其用于调节葡糖脑苷脂酶活性的用途。还公开了包含所述小分子或与所述小分子缀合的活化的葡糖脑苷脂酶的药物组合物，所述组合物可以在治疗与葡糖脑苷脂酶活性相关的疾病或病症的方法中施用，所述疾病或病症包括神经系统疾病和病症，例如戈谢病和帕金森病。

CN 108290855 A

1.具有式I的化合物或其盐或溶剂合物：

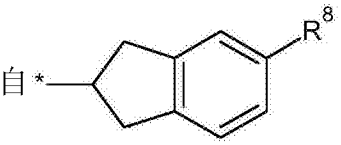
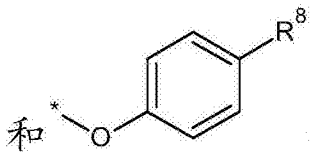
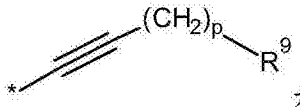
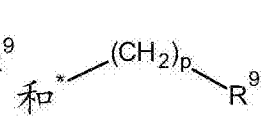
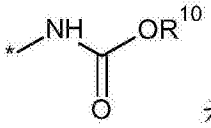
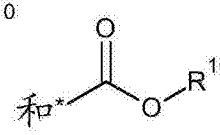


I

其中：

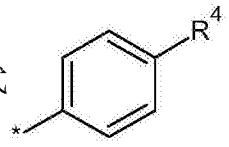
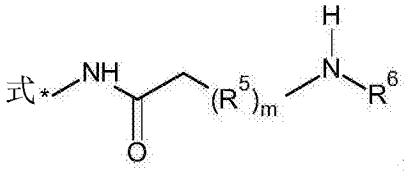
R^1是氢或C1-C10烷基；

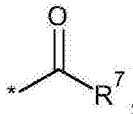
n是0、1、2、3或4；且

R^2是氢，条件是R^1和R^2二者不都为氢；C1-C10烷基(直链或支链)；C3-C8环烷基；包含一个5元或6元环或包含两个或三个稠合5元或6元环的饱和或不饱和碳环或杂环基；苯氧基；C1-C6支链或直链烷基-苯氧基；2,3-二氢-1H-茚基；1,2,3,4-四氢-萘基；C2-C10直链或支链烯基；C2-C10直链或支链炔基；聚氧化乙烯基；吡啶氧基；吲哚氧基；苯并呋喃氧基；或R^2具有选自和的式，其中R^8是氢、C1-C8烷氧基、C1-C8烷基、卤素，或R^8具有选自和的式，p是1-10，且R^9是氨基或R^9具有选自和的式，其中R^{10}是H、C1-C6直链或支链烷基或琥珀酰亚氨基；

R^2任选地在一个或多个位置上被如下基团取代：C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、卤素基团、苯基、苄基、氨基、羟基、叔丁氧羰基(BOC)、磺酰基甲基苯基、2,3-二氢-1,4-苯并二氧杂环己烯-2-甲醛基、2,3-二氢甲基-1,4-苯并二氧杂环己烯基、咪唑基、哌嗪基、1-甲基哌嗪基、4-哌嗪-1-基-苯甲醛基、4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯甲醛基或叠氮基；或

如果n是0，则R^1和R^2一起形成包含一个、两个或三个5元或6元环的杂环；且

R^3是吡啶基、苯基、噻吩基、卤素、呋喃基、嘧啶基，且R^3任选地在一个或多个位置上被C1-C8烷基、卤素、氨基、酰氨基取代，或R^3具有式其中R^4是氨基或R^4具有式，其中R^5是$-CH_2-$或$-O-CH_2-CH_2-$，且m是0-4，R^6是H或R^6具有式


其中R^7是H、-OH、C1-C8烷基或C1-C8烷氧基。

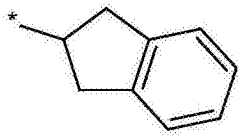
2.权利要求1的化合物，其中R^1是H，且n是0。

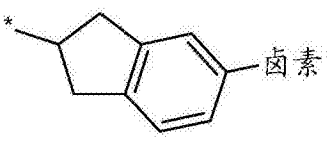
3.权利要求1的化合物，其中R^1是甲基，且n是0。

4.权利要求1的化合物，其中R^1是H，且n是1。

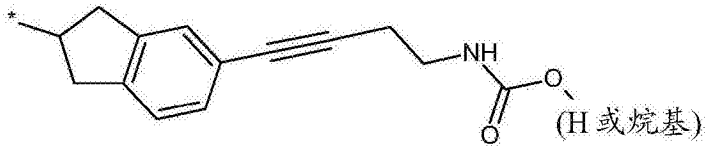
5.权利要求1的化合物，其中R^1是甲基，且n是1。

6.权利要求1的化合物，其中R^2是包含一个5元或6元环的饱和或不饱和碳环或杂环，或是包含两个或三个稠合5元或6元环的饱和或不饱和碳环或杂环，且R^2任选地在一个或多个位置上被如下基团取代：C1-C8烷基、C1-C8烷氧基、卤素基团、苯基、苄基、叔丁氧羰基(BOC)、磺酰基甲基苯基、2,3-二氢-1,4-苯并二氧杂环己烯-2-甲醛基、2,3-二氢甲基-1,4-苯并二氧杂环己烯基、咪唑基、哌嗪基、1-甲基哌嗪基、4-哌嗪-1-基-苯甲醛基、4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯甲醛基或叠氮基。

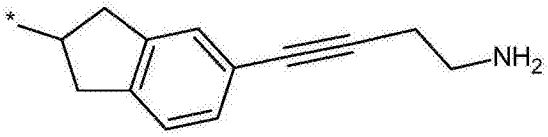
7.权利要求1的化合物，其中R^2选自、。


卤素

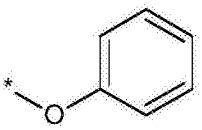
、


NH
O
O
(H 或烷基)

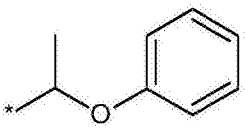
、


NH2

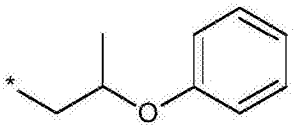
、


O

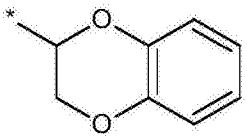
、


O

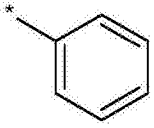
、


O

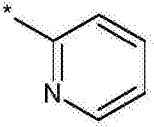
、


O
O

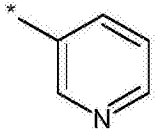
、



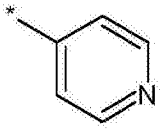
、


N

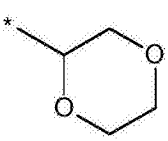
、


N

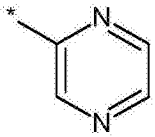
、


N

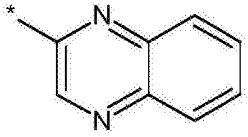
、


O
O

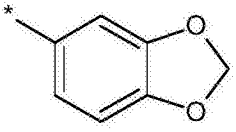
、


N
N

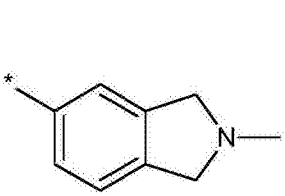
、


N
N

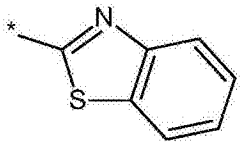
、


O
O

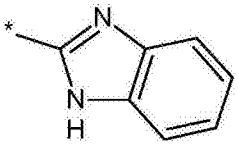
、


N

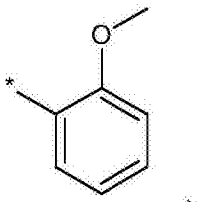
、


N
S

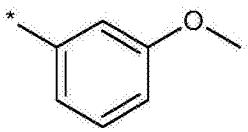
、


N
N
H

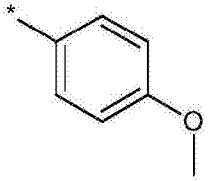
、


O

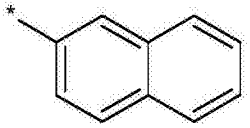
、


O

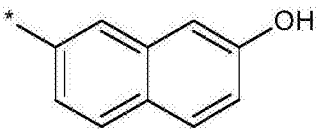
、


O

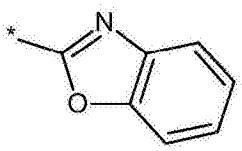
、



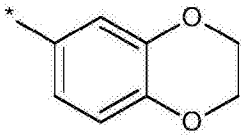
、


OH

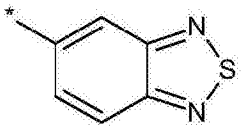
、


N
O

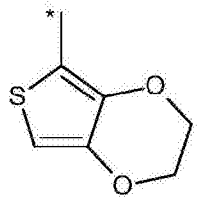
、


O
O

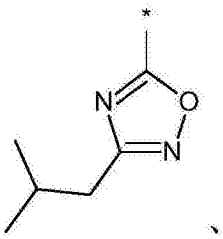
、


N
S
N

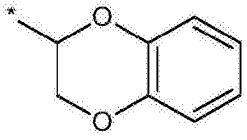
、


S
O
O

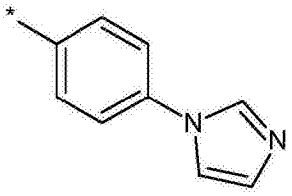
、


N
O
N

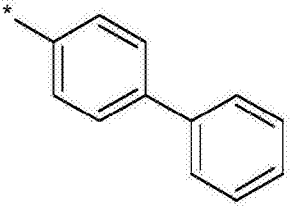
、


O
O

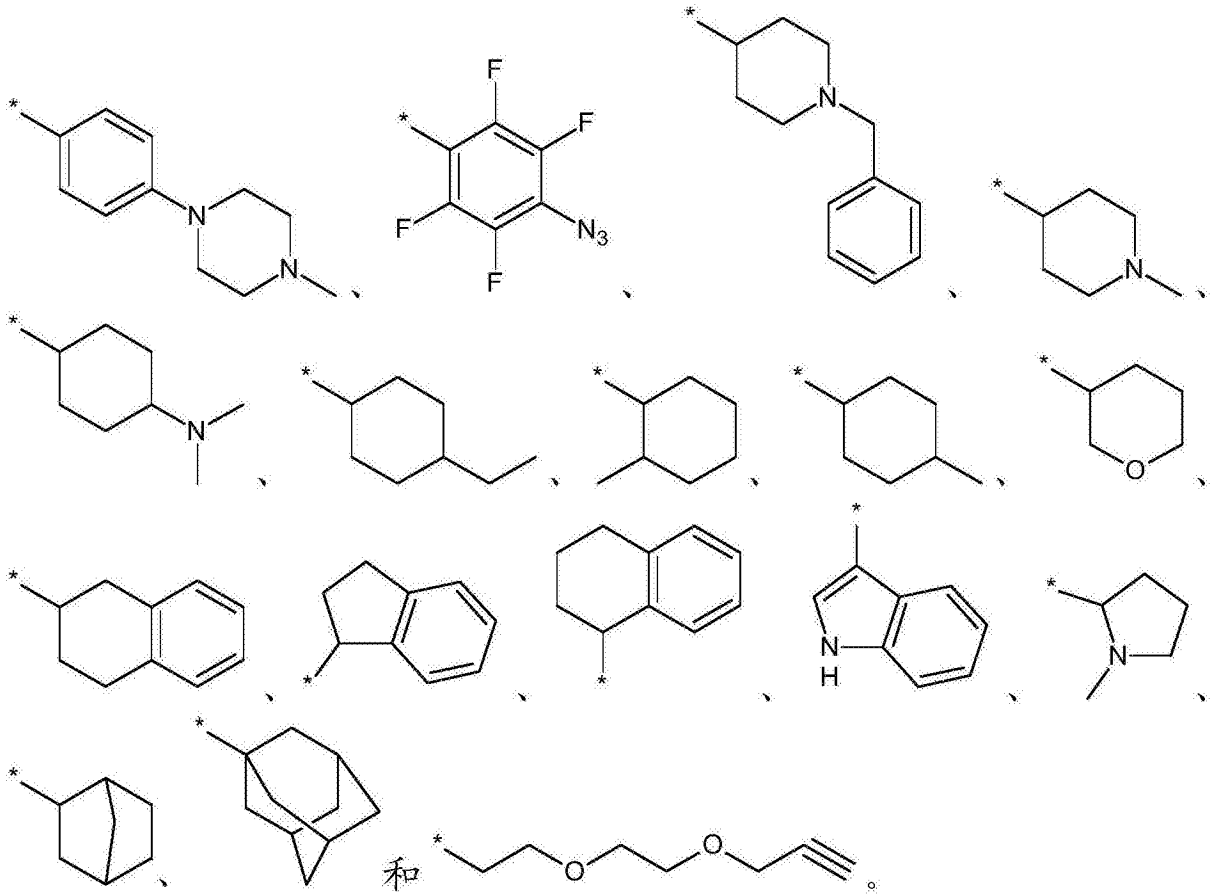
、

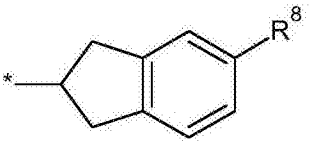
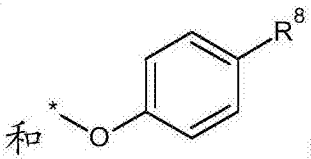
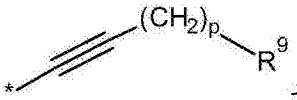
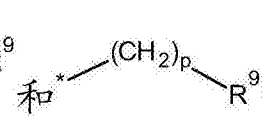
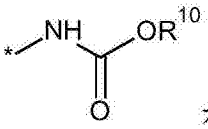
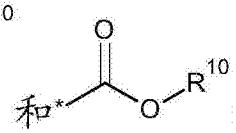

N
N

、

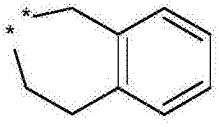


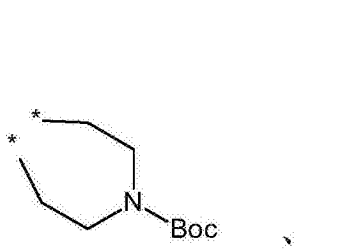
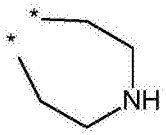
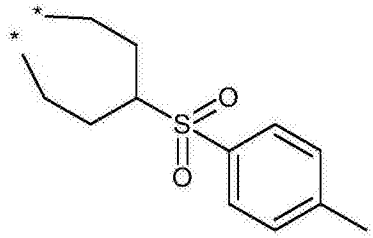
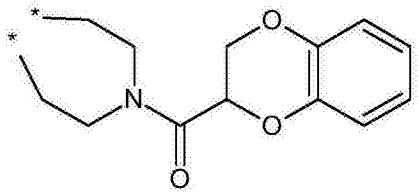
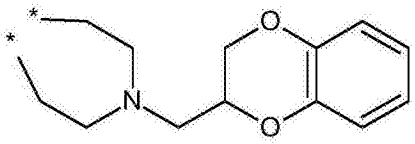
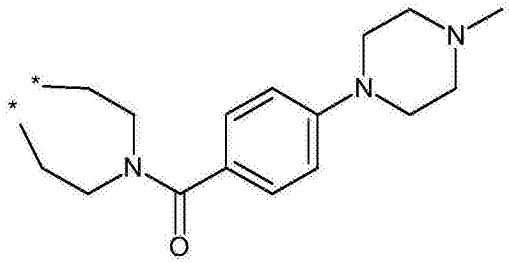
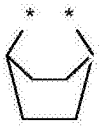
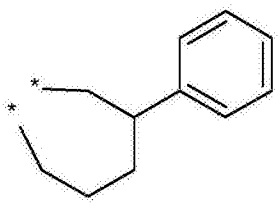
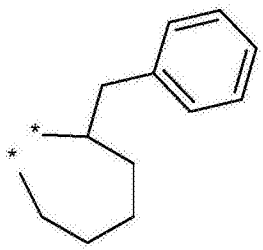
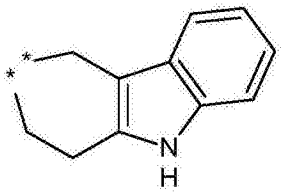
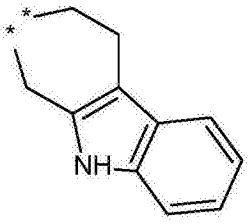
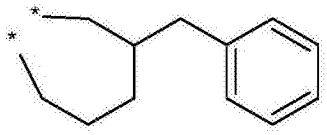
、



8.权利要求1的化合物，其中R^2是和，其中R^8是氢、C1-C8烷氧基、C1-C8烷基、卤素，或R^8具有选自和的式，p是1-10，且R^9是氨基或R^9具有选自和的式，其中R^{10}是H、C1-C6直链或支链烷基或琥珀酰亚氨基。

9.权利要求1的化合物，其中R^1和R^2一起形成杂环，该杂环包含一个5元或6元环或两个或三个稠合5元或6元环。

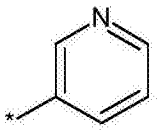
10.权利要求8的化合物，其中R^1和R^2选自。

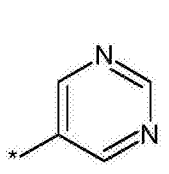
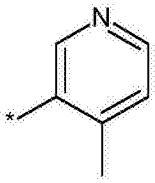
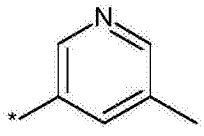
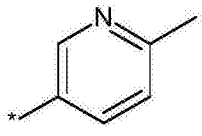
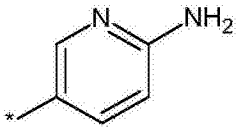
和

。

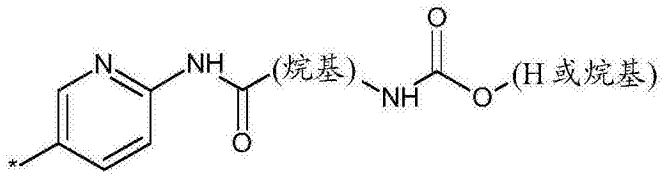
11.上述权利要求任一项的化合物,其中R^3选自



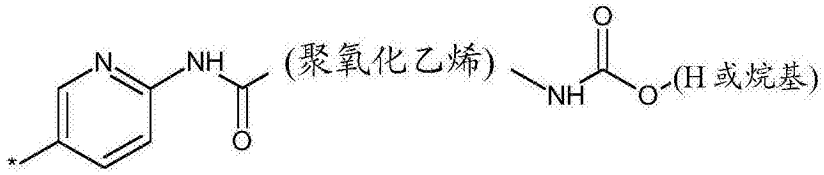
、

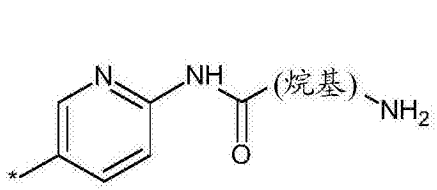
、



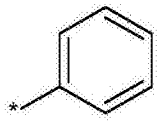
、



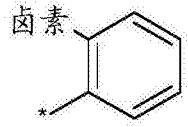
、



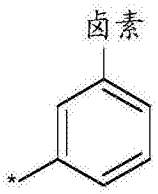
、



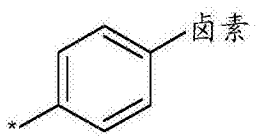
、



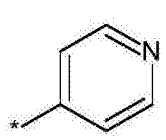
、



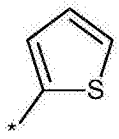
、



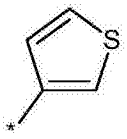
、



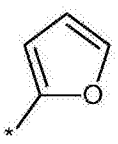
、



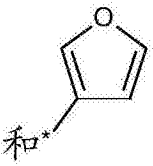
、



、



、

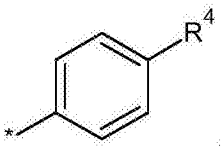


和

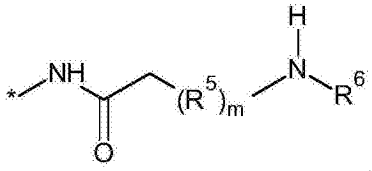
。

12.权利要求1的化合物，其中R^3是吡啶基，且R^3任选地在一个或多个位置上被C1-C8烷基、卤素、氨基、酰氨基取代。

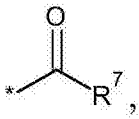
13.权利要求1的化合物，其中R^3具有式



其中R^4是氨基，或R^4具有式



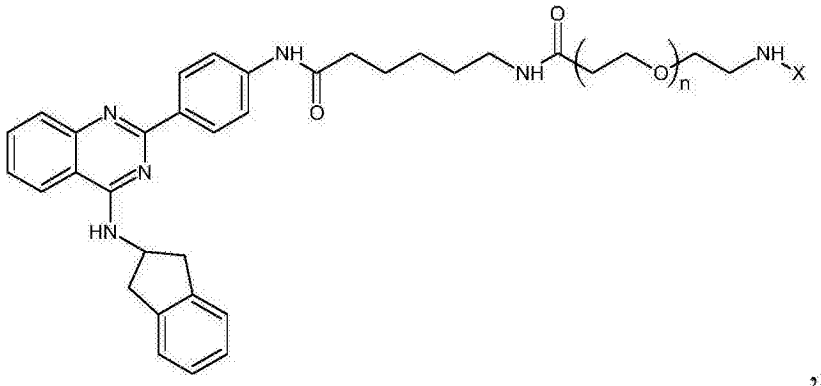
其中R^5是-CH_2-或-O-CH_2-CH_2-，且m是0-4，R^6是H或R^6具有式



其中R^7是H、-OH、C1-C8烷基或C1-C8烷氧基。

14.权利要求1的化合物，它与生物素、固体支持物或荧光团缀合。

15.权利要求1的化合物，它具有下式：



，

其中n＝1-10，且X是荧光团、生物素或固体支持物。

16.药物组合物，它包含权利要求1的化合物和药用载体。

17.治疗与葡糖脑苷脂酶活性相关的疾病或病症的方法，该方法包括施用权利要求16的组合物。

18.活化的葡糖脑苷脂酶，它包含与权利要求1的化合物共价结合的葡糖脑苷脂酶。

19.药物组合物，它包含权利要求18的活化的葡糖脑苷脂酶和药用载体。

20.治疗与葡糖脑苷脂酶活性相关的疾病或病症的方法，该方法包括施用权利要求19的组合物。

被取代的喹唑啉化合物及其调节葡糖脑苷脂酶活性的用途

[0001] 相关专利申请的交叉引用

[0002] 根据35U.S.C.§119(e)，本申请要求享有2015年7月1日提交的美国临时专利申请号62/187,461的优先权的利益，通过引用将该临时专利申请的完整内容并入本申请。

[0003] 背景

[0004] 本发明的领域涉及新颖小分子和该新颖小分子调节葡糖脑苷脂酶活性的用途。所述的新颖小分子具有被取代的喹唑啉核结构，并且可以被施用以治疗与异常葡糖脑苷脂酶活性相关的疾病和病症，包括神经变性疾病，例如戈谢(Gaucher)病和帕金森病。

[0005] 葡糖脑苷脂酶(EC 3.2.1.45)(也称为β-葡糖脑苷脂酶、β-葡糖苷酶、D-葡糖基-N-酰基鞘氨醇葡糖水解酶或GCase)是具有葡糖神经酰胺酶活性的酶。裂解化学葡糖脑苷脂的β-糖苷键需要葡糖脑苷脂酶(GCase)，葡糖脑苷脂是糖脂代谢中的中间体。葡糖脑苷脂酶位于溶酶体中，且葡糖脑苷脂酶基因(GBA1)中的失能突变与溶酶体中脂质的异常蓄积有关。

[0006] 由GBA1中的突变引起的遗传疾病包括神经变性疾病，例如戈谢病和帕金森病。戈谢病是由GBA1基因突变引起的罕见遗传病。目前，1型戈谢病的治疗是每两周施用一次的酶替代疗法(ERT)。ERT非常昂贵，并且对戈谢病的神经病变形式无效。GBA1中的突变也与帕金森病(PD)有关，并增加PD的风险。

[0007] 为了活化GCase作为与GCase活性缺乏相关的疾病和病症的治疗，此前尝试了所谓的“药理学蛋白伴侣策略”。然而，在药理学蛋白伴侣策略中使用的化合物无一成功地活化GCase，推断原因是它们靶向GCase的活性位点。

[0008] 在本申请中，我们公开了新型被取代的喹唑啉化合物，它们调节葡糖脑苷脂酶活性。该新化合物的一些具有有效的抑制活性和结合亲和力。因此，这些化合物可以被用作药理学蛋白伴侣。另外，本研究中的一些化合物在GCase活性测定中显示出高活化活性，可以被用作GCase活化剂。本申请中所公开的新型被取代的喹唑啉化合物具有比此前报道的非活性位点GCase抑制剂更好的化学和物理性质。(参见Marugan等人，J.Med.Chem.2011;54(4)1033-58，通过引用将该文献的完整内容并入本申请)。这些更好的化学和物理性质包括极性表面积、溶解度、可旋转键的数量增加以及潜在的氢键成员的数量的增加。

[0009] 概述

[0010] 本申请中所公开的是具有喹唑啉核结构的新颖小分子和该小分子用于调节葡糖脑苷脂酶活性的用途。所述的新颖小分子优选通过与葡糖脑苷脂酶结合并抑制或可替代地活化葡糖脑苷脂酶来调节葡糖脑苷脂酶活性。所述的新颖小分子可以被配制成药物组合物，该药物组合物包含该小分子或包含与该小分子缀合的活化葡糖脑苷脂酶，该组合物可以被施用于治疗和/或预防与葡糖脑苷脂酶活性相关的疾病或病症的方法中，所述疾病或病症包括神经学疾病和病症，例如戈谢病和帕金森病。所公开的小分子也可以包含荧光团或者可以与荧光团缀合以产生荧光探针。本申请中所考虑的荧光探针可表现出荧光偏振，并可用于高通量筛选方法中以鉴定葡糖脑苷脂酶的新颖调节剂。

[0011] 附图简述

[0012] 图1.GCase抑制剂的结构。

[0013] 图2.一系列新的有效喹唑啉抑制剂的合理设计。

[0014] 图3.选定化合物的荧光热移动分析。化合物9a、9b、11d、11f、11g和IFG显示它们以剂量依赖性方式稳定野生型GCase的能力。数据代表每个样品三次重复进行的三次独立实验的结果。

[0015] 图4.抑制剂11g对相关水解酶的选择性。对GCase、酸α-葡糖苷酶(GAA)和α-半乳糖苷酶A(GLA)测试了11g。数据代表每个样品三次重复进行的三次独立实验的结果。

[0016] 图5.GCase抑制剂(A)4和(B)11g的酶动力学的莱恩威佛-伯克(Lineweaver-Burk)作图。在两个独立的试验中一式三份测试了每种抑制剂,浓度显示在每个图的图例框中,(○)表示不存在抑制剂。(A)化合物4和(B)化合物11g显示K_m增加和V_{max}降低,表明线性混合抑制。

[0017] 图6.GCase抑制剂增加戈谢病患者成纤维细胞中的GCase蛋白水平和活性。(A)用GCase抑制剂11d、11f、11g或IFG处理3天的N370S成纤维细胞的蛋白质印迹。(B)抑制剂和IFG处理后N370S成纤维细胞的蛋白质印迹的统计分析。我们使用GAPDH信号归一化GCase信号,并用DMSO处理的样品作为对照(100%)。(C)11g和IFG3天处理后N370S成纤维细胞的GCase活性测定。N=3次独立实验。单侧T-检验*意指$p<0.05$。

[0018] 详细描述

[0019] 可以利用下文所定义的术语进一步描述所公开的主题。

[0020] 除非上下文另有明确说明或显示,否则术语“a”、“an”和“the”意味着“一种(个)或多种(个)”。例如,“葡糖脑苷脂酶活性的a调节剂”应解释为意指“葡糖脑苷脂酶活性的一种或多种调节剂”。

[0021] 如本申请中所使用,“大约”,“近似”,“基本上”和“显著”将被本领域普通技术人员理解,并且将在一定程度上根据其被使用的上下文而变化。如果存在鉴于被使用的上下文本领域的普通技术人员不清楚的术语使用,则“大约”和“近似”将表示特定术语的±≤10%,“基本上”和“显著”将表示特定术语的±>10%。

[0022] 如本申请中所使用,术语“包括(include)”和“包括(including)”具有与术语“包含(comprise)”和“包含(comprising)”相同的含义。术语“包括”和“包含”应被解释为“开放式”的过渡性术语,除权利要求中所记载的要素外,其允许还包含额外的要素。术语“由.....组成”和“由...构成”应被解释为“封闭式”过渡性术语,其不允许包含除权利要求中所述要素之外的额外要素。术语“基本上由...组成”应被解释为部分封闭式的并且允许仅包含不会根本上改变所要求保护的主题的性质的额外要素。

[0023] 在本申请中术语“受试者”、“患者”和“个体”可以互换使用。受试者可以是人。受试者可以指具有与异常葡糖脑苷脂酶活性相关的疾病或病症的人类受试者,或指处于获得上述疾病或病症风险中的人类受试者。如本申请中所使用,术语“异常”意指相对于正常健康受试者而言更高或更低的活性。在具体的实施方案中,显示异常葡糖脑苷脂酶的受试者患有神经疾病或病症或处于获得上述疾病或病症的风险中,该疾病或病症包括与异常葡糖脑苷脂酶活性相关的退行性神经疾病或病症,例如戈谢病和帕金森病。

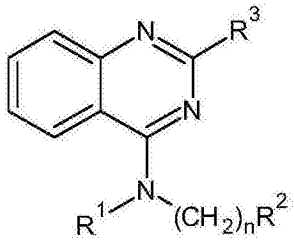
[0024] 如本申请中所使用,短语“有效量”应意指提供特定药理学应答的药物剂量,为了药理学应答在需要所述治疗的有意义数目的患者中施用所述药物。即使这类剂量被本领域技术人员认为是治疗有效量,在特定情况下给予特定患者的药物的有效量在治疗本申请中

所述的病症/疾病中并非总是有效。

[0025] 本申请中所考虑的术语“烷基”包括所有异构体形式的直链或支链烷基。类似地，术语“烷氧基”是指经由氧原子连接的任何烷基(即，表示为“烷基-O-*”的基团)。如本申请中所使用，星号“*”用于表示任何基团或取代基的连接点。

[0026] 如本申请中所使用，术语“调节”是指降低或抑制活性和/或增加或增强活性。例如，调节葡糖脑苷脂酶活性是指降低或抑制葡糖脑苷脂酶活性和/或增加或增强葡糖脑苷脂酶活性。可以施用本申请中所公开的化合物以调节葡糖脑苷脂酶活性，例如作为抑制剂、蛋白伴侣或活化剂。

[0027] 本申请中所公开的化合物可以称为“2-被取代的，N-被取代的喹唑啉化合物”或“被取代的喹唑啉化合物。”可以将该化合物或其盐或溶剂合物描述为具有如下的式I：

[0028] 

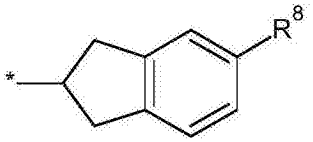
I

[0029] 其中：

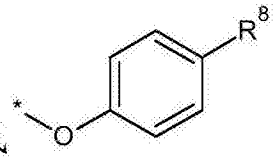
[0030] R^1是氢或C1-C6烷基；

[0031] n是0、1、2、3或4；且

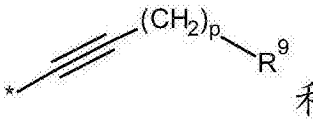
[0032] R^2是氢、C1-C10烷基(直链或支链)、C3-C8环烷基、包含一个5元或6元环或包含两个或三个稠合5元或6元环的饱和或不饱和碳环或杂环基、苯氧基、C1-C6支链或直链烷基-苯氧基、2,3-二氢-1H-茚基、1,2,3,4-四氢-萘基、C2-C10烯基(直链或支链)、C2-C10炔基、聚氧化乙烯基(例如，PEG)、吡啶氧基(例如，2-吡啶氧基、3-吡啶氧基或4-吡啶氧基)、吲哚氧基(例如，1H-吲哚-4-基-氧基)、苯并呋喃氧基(例如，苯并呋喃-4-基-氧基)，或R^2具有式



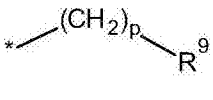
或



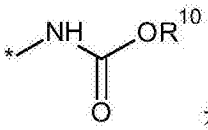
，其中R^8是卤素或R^8具有选自



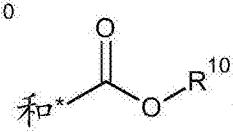
和



的化学式，p是1-10，且R^9是氨基或R^9具有选自



和



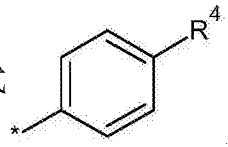
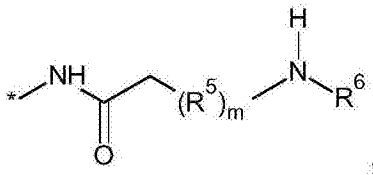
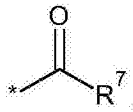
的化学式，其中R^{10}是H、C1-C1烷基(直链或支链)或琥珀酰亚氨基(例如，N-琥珀酰亚氨基)；

[0033] R^2任选地在一个或多个位置上被如下基团取代：C1-C6烷基、C1-C6烷氧基、卤素基团、苯基、苄基、氨基、羟基、叔丁氧羰基(BOC)、磺酰基甲基苯基、2,3-二氢-1,4-苯并二氧杂环己烯-2-甲醛基、2,3-二氢甲基-1,4-苯并二氧杂环己烯基、咪唑基、哌嗪基、1-甲基哌嗪基、4-哌嗪-1-基-苯甲醛基、4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯甲醛基或叠氮基；或

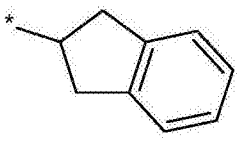
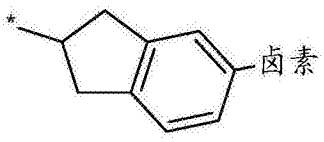
[0034] 如果n是0，则R^1和R^2一起形成包含一个、两个或三个5元或6元环的杂环(例如，N-2，

3,4,9-四氢-吡啶并[3,4-b]吲哚、四氢-β-咔啉(tryptolinyl)或2,3,4,5-四氢-苯并[f][1,4]氧氮杂环庚三烯)；

[0035] 任选地，R^1和R^2的至少一个不为氢；且

[0036] R^3是吡啶基(例如，2-基、3-基或4-基)、苯基、噻吩基(例如，2-基或3-基)、卤素、呋喃基(例如，2-基或3-基)、嘧啶基(例如，2-基、4-基或5-基)，且R^3任选地在一个或多个位置上被C1-C6烷基、卤素、氨基取代，或R^3具有式  其中R^4是氨基或R^4具有式  ，其中R^5是$-CH_2-$或$-O-CH_2-CH_2-$，且m是0-4，R^6是H或R^6具有式  ，其中R^7是H、-OH、C1-C6烷基(可以为直链或支链)或C1-C6烷氧基(可以为直链或支链)。

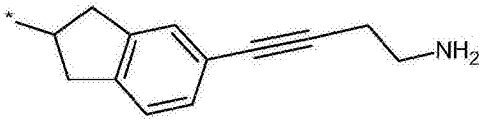
[0037] 在一些实施方案中，R^2选自环己氨基、N-烷基环己氨基、N,N-二烷基环己氨基、7-氮杂双环[2.2.1]庚烷基、哌啶基、四氢吡喃基、1,4-二噁烷基、二氢苯并[1,4]二噁烷基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、喹喔啉基、1,3-苯并间二氧杂环戊烯基、(2h)四氢异喹啉基、异二氢吲哚基、N-甲基异二氢吲哚基、1,3-苯并噻唑基、1,3-苯并二唑基、萘基、1,3-苯并噁唑基、1,4-苯并二噁烷基、3,4-二氢-2H-1-苯并吡喃基、2,1,3-苯并噻二唑基、1,2,4-噁二唑基、3-异丁基-1,2,4-噁二唑-5-基、噻唑基、四氢氢萘基、2,3-二氢-1H-茚基、吲哚基、吡咯烷基、N-甲基吡咯烷基、双环[2.2.1]庚烷基(即，降莰烷基)和三环[3.3.1.1(3,7)]癸烷基(即，金刚烷基)和烷基-苯氧基(例如，乙-2-基-苯氧基、丙-2-基-苯氧基、异丙基-苯氧基)、2,3-二氢-1H-茚基、1,2,3,4-四氢-萘基、C2-C10烯基(直链或支链)、C2-C10炔基、聚氧化乙烯基(例如，PEG)、吡啶氧基(例如，2-吡啶氧基、3-吡啶氧基或4-吡啶氧基)、吲哚氧基(例如，1H-吲哚-4-基-氧基)或苯并呋喃氧基(例如，苯并呋喃-4-基-氧基)。3,4-二氢-2H-1-苯并吡喃。

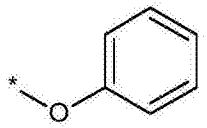
[0038] 在其它实施方案中，R^2选自  、 

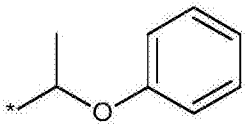
、

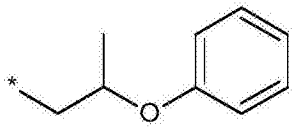
[0039]

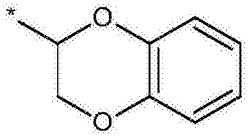

NH
O
O
(H或烷基)
、

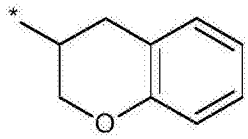

NH2
、

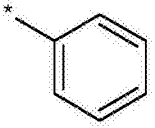

O
、

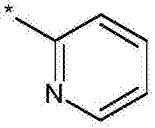

O
、

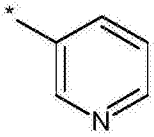

O
、

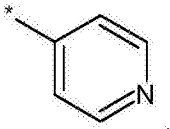

O
O
、

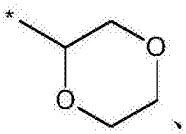

O
、

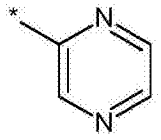

、

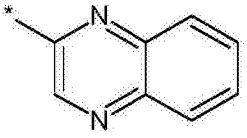

N
、

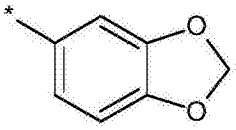

N
、

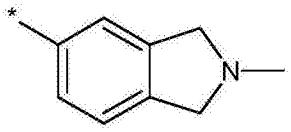

N
、

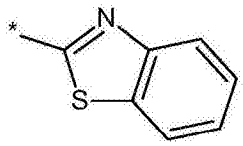

O
O
、

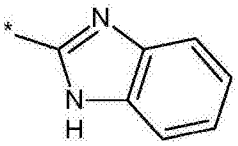

N
N
、

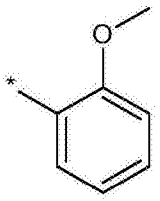

N
N
、

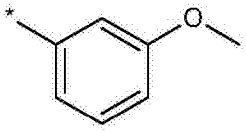

O
O
、

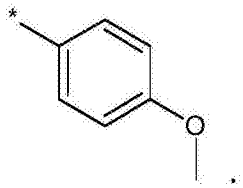

N
、

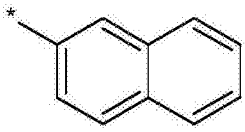

N
S
、

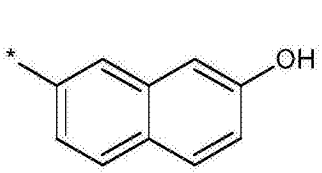

N
N
H
、

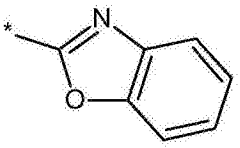

O
、

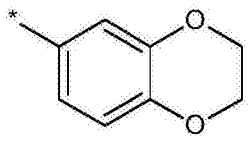

O
、

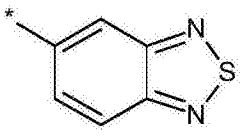

O
、

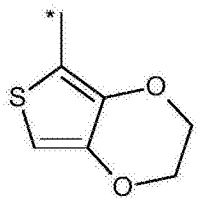

、

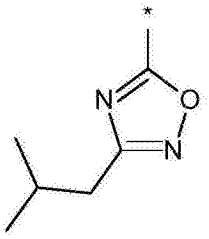

OH
、


N
O
、

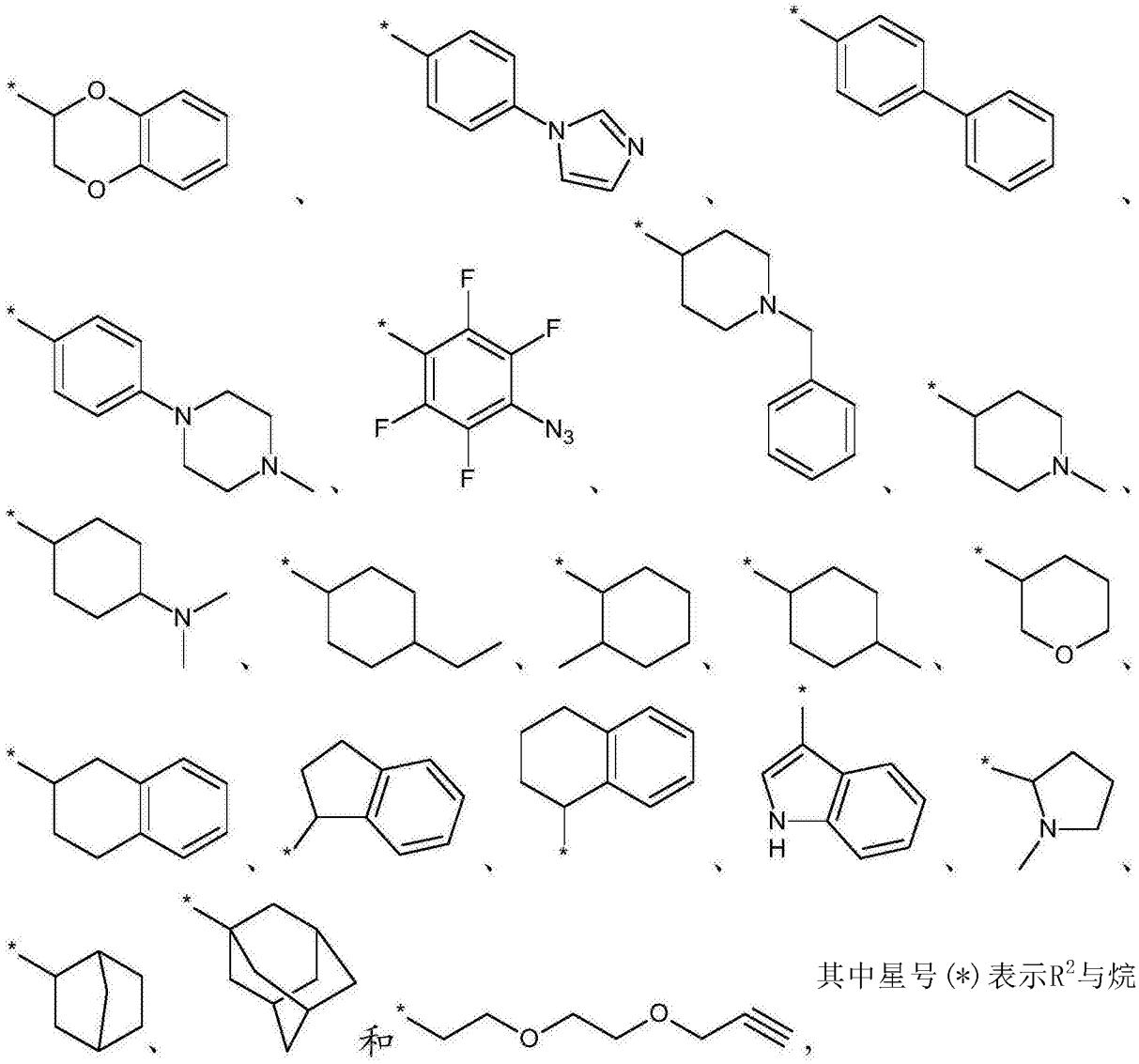

O
O
、


N
S
N
、


S
O
O
、

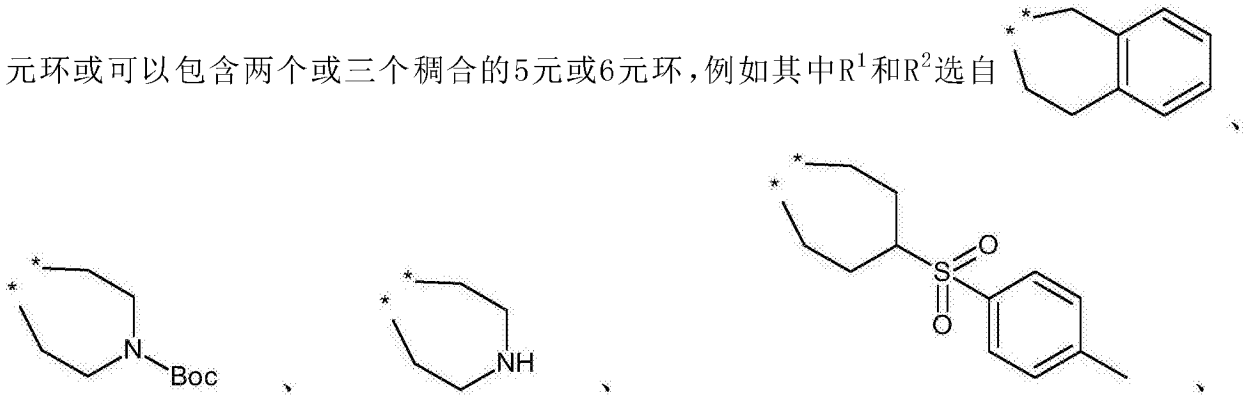

N
O
N
、

[0040]

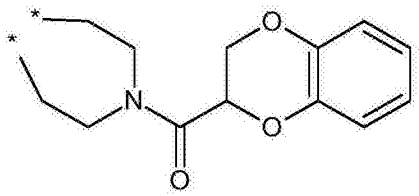
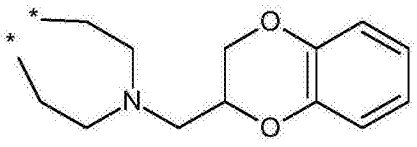
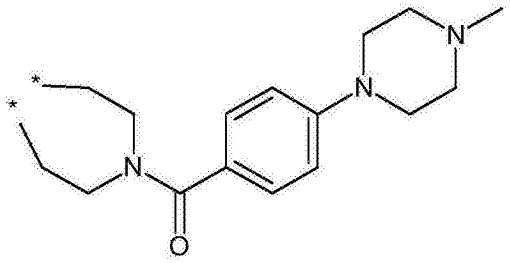
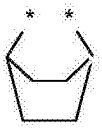
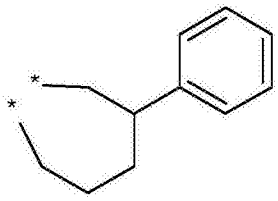
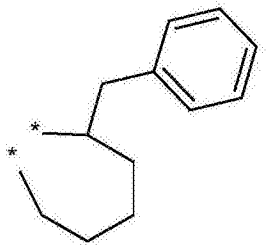
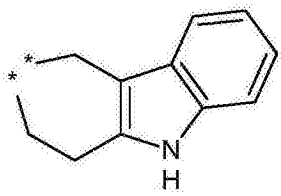
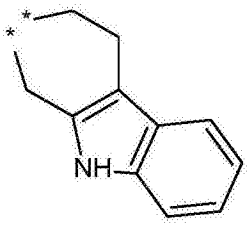
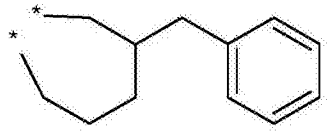


其中星号(*)表示R^2与烷基连接基$(CH_2)_n$的连接点或R^2与喹唑啉部分的悬挂氮的连接点，其中n是0。

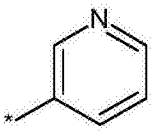
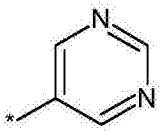
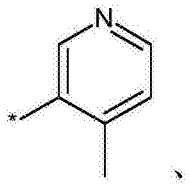
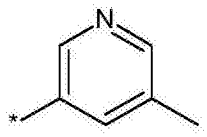
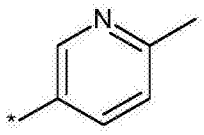
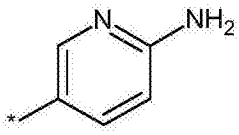
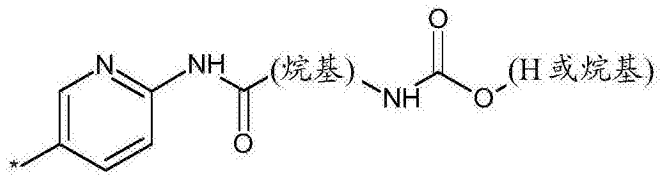
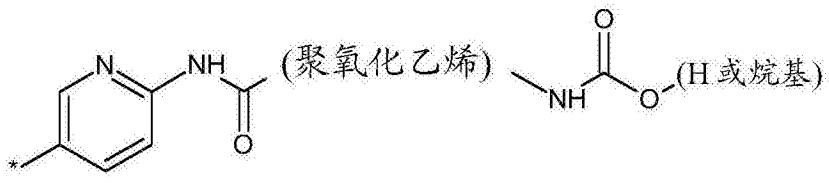
[0041] 在一些实施方案中，R^1和R^2与喹唑啉部分的悬挂氮原子一起形成杂环(例如，其中n是0，且R^1和R^2直接键合至喹唑啉部分的4-碳氮原子)。由此形成的杂环可以包含一个5元或6元环或可以包含两个或三个稠合的5元或6元环，例如其中R^1和R^2选自



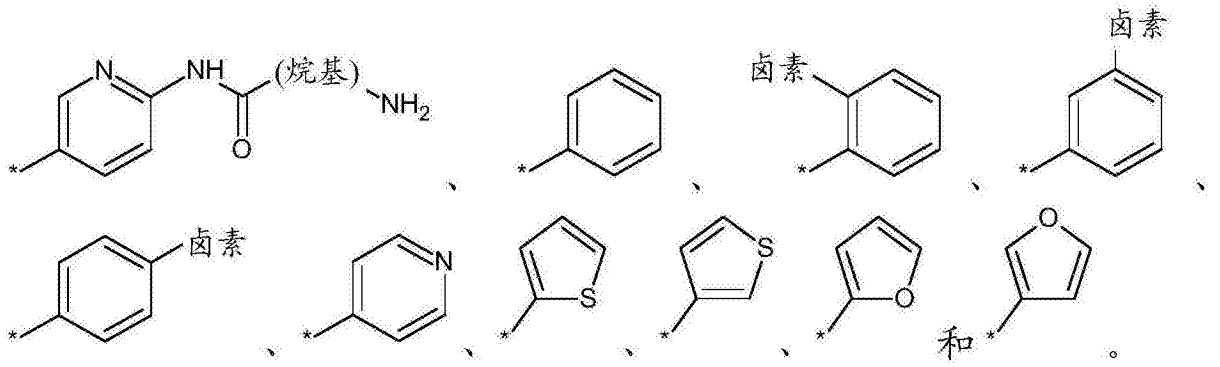
[0042]


、

、

、

、

、

、

、

和

，

其中星号(*)表示R^1和R^2与喹唑啉部分的悬挂氮原子的连接点。

[0043] 在一些实施方案中，R^3选自

、

、

、

、

、

、

、

、

[0044]



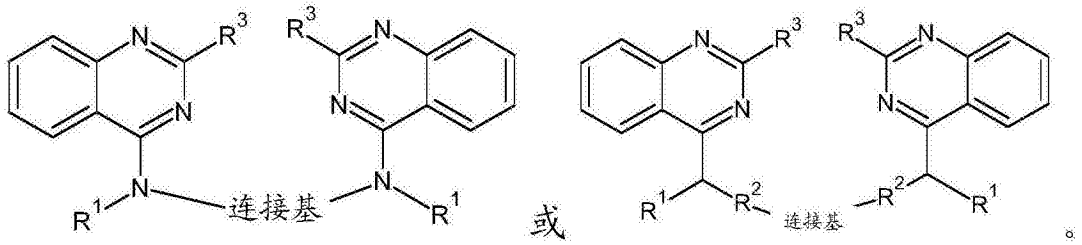
[0045] 在一些实施方案中，所公开的化合物可以与生物素缀合(例如，经由R^3成分，其任选地经由在生物素与R^3成分之间的连接基)。在其它实施方案中，所公开的化合物可以与固体支持物例如琼脂糖珠缀合(例如，经由R^3成分，其任选地经由在固体支持物与R^3成分之间的连接基)。

[0046] 在其它实施方案中，所公开的化合物可以包含荧光团例如罗丹明或荧光素或可以与它们缀合。在所公开化合物的一些实施方案中，取代基R^1、R^2和R^3中的任意一个可以包含荧光团或可以与之缀合(例如，经由R^3成分，其任选地经由荧光团与R^3成分之间的连接基)，包括适合用于荧光偏振测定法中的荧光团。如本申请中所使用，“荧光团”是可以被激发(例如，通过光或化学反应)以发射荧光的化学基团。一些适合的荧光团可以被光激发以发射磷光。如本申请中所使用，“染料”可以包括荧光团。本申请中所述的二硫代化合物可以包括荧光团，其选自，但不限于：1,5IAEDANS；1,8-ANS；4-甲基伞形酮；5-羧基-2,7-二氯荧光素；5-羧基荧光素(5-FAM)；5-羧基四甲基罗丹明(5-TAMRA)；5-FAM(5-羧基荧光素)；5-HAT(羟基色胺)；5-羟基色胺(HAT)；5-ROX(羧基-X-罗丹明)；5-TAMRA(5-羧基四甲基罗丹明)；6-羧基罗丹明6G；6-CR 6G；6-JOE；7-氨基-4-甲基香豆素；7-氨基放线菌素D(7-AAD)；7-羟基-4-甲基香豆素；9-氨基-6-氯-2-甲氧基吖啶；ABQ；酸性品红；ACMA(9-氨基-6-氯-2-甲氧基吖啶)；吖啶橙；吖啶红；吖啶黄；吖啶黄素；吖啶黄素Feulgen SITSA；Alexa Fluor 350™；Alexa Fluor 430™；Alexa Fluor 488™；Alexa Fluor 532™；Alexa Fluor 546™；Alexa Fluor 568™；Alexa Fluor 594™；Alexa Fluor 633™；Alexa Fluor 647™；Alexa Fluor 660™；Alexa Fluor 680™；茜草素络合酮；茜素红；别藻蓝蛋白(APC)；AMC；AMCA-S；AMCA(氨基甲基香豆素)；AMCA-X；氨基放线菌素D；氨基香豆素；氨基甲基香豆素(AMCA)；苯胺蓝(Anilin Blue)；Anthrocyl硬脂酸酯；APC(别藻蓝蛋白)；APC-Cy7；APTS；Astrazon亮红4G；Astrazon橙R；Astrazon红6B；Astrazon黄7GLL；米帕林；ATTO-TAG™CBQCA；ATTO-TAG™FQ；金胺；Aurophosphine G；Aurophosphine；BAO 9(双氨基苯基噁二唑)；硫酸黄连素；β-内酰胺酶；BFP青移GFP(Y66H)；蓝色荧光蛋白；BFP/GFP FRET；Bimane；双苯甲酰胺；双苯甲酰胺(Hoechst)；Blancophor FFG；Blancophor SV；BOBO™-1；BOBO™-3；氟化硼二吡咯(Bodipy)492/515；氟化硼二吡咯493/503；氟化硼二吡咯500/510；氟化硼二吡咯505/515；氟化硼二吡咯530/550；氟化硼二吡咯542/563；氟化硼二吡咯558/568；氟化硼二吡咯564/570；氟化硼二吡咯576/589；氟化硼二吡咯581/591；氟化硼二吡咯630/650-X；氟化硼二吡咯650/665-X；氟化硼二吡咯665/676；氟化硼二吡咯FL；氟化硼二吡咯FL ATP；氟化硼二吡咯F1-神经酰胺；氟化硼二吡咯R6G SE；氟化硼二吡咯TMR；氟化硼二吡咯TMR-X缀合物；氟化硼二吡

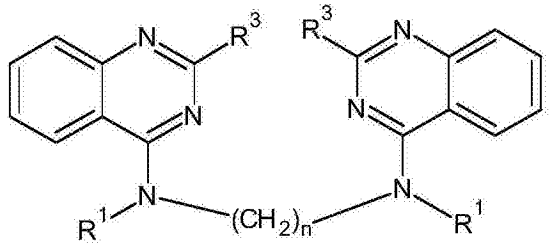
咯TMR-X,SE;氟化硼二吡咯TR;氟化硼二吡咯TR ATP;氟化硼二吡咯TR-X SE;BO-PRO™-1;BO-PRO™-3;亮磺基黄素FF;钙黄绿素;钙黄绿素蓝;钙Crimson™;钙绿;钙橙;Calcofluor白;羧基-X-罗丹明(5-ROX);Cascade蓝™;Cascade黄;儿茶酚胺;CCF2(GeneBlazer);CFDA;CFP-蓝绿色荧光蛋白质;CFP/YFP FRET;叶绿素;色霉素A;CL-NERF(Ratio Dye,pH);CMFDA;Coelenterazine(肠腔素)f;肠腔素fcp;肠腔素h;肠腔素hcp;肠腔素ip;肠腔素n;肠腔素O;香豆素鬼笔环肽;C-藻青素(phycocyanine);CPM甲基香豆素;CTC;CTC甲月替;Cy2™;Cy3.18;Cy3.5™;Cy3™;Cy5.1 8;Cy5.5™;Cy5™;Cy7™;Cyan GFP;环AMP荧光传感剂(FiCRhR);琥珀酰亚胺酯(Dabcyl);丹磺酰;丹磺酰胺;丹磺酰尸胺;丹磺酰氯;丹磺酰DHPE;丹磺酰氟;DAPI;Dapoxyl;Dapoxyl 2;Dapoxyl 3;DCFDA;DCFH(双乙酸二氯二氢荧光素酯);DDAO;DHR(二氢罗丹明123);二-4-ANEPPS;二-8-ANEPPS(非-比例);DiA(4-二-16-ASP);双乙酸二氯二氢荧光素酯(DCFH);DiD-亲脂性示踪物;DiD(DiIC18(5));DIDS;二氢罗丹明123(DHR);DiI(DiIC18(3));二硝基酚;DiO(DiOC18(3));DiR;DiR(DiIC18(7));DNP;多巴胺;DsRed;DTAF;DY-630-NHS;DY-635-NHS;EBFP;ECFP;EGFP;ELF 97;曙红;赤藓红色素;赤藓红色素ITC;溴化乙锭;乙啡啶同质二聚体-1(EthD-1);Euchrysin;EukoLight;氯化铕(III);EYFP;固蓝(Fast Blue);FDA;Feulgen(副玫瑰苯胺);FITC;Flazo橙;Fluo-3;Fluo-4;荧光素(FITC);双乙酸荧光素酯;Fluoro-Emerald;Fluoro-Gold(羟芪巴脒);Fluor-Ruby;FluorX;FM 1-43™;FM 4-46;Fura Red™;Fura Red™/Fluo-3;Fura-2;Fura-2/BCECF;Genacryl亮红B;Genacryl亮黄10GF;Genacryl粉红3G;Genacryl黄5GF;GeneBlazer(CCF2);GFP(S65T);GFP红移(rsGFP);GFP野生型无UV激发(wtGFP);GFP野生型UV激发(wtGFP);GFPuv;Gloxalic酸;颗粒蓝;血卟啉;烟酸己可碱(Hoechst)33258;烟酸己可碱33342;烟酸己可碱34580;HPTS;羟基香豆素;羟芪巴脒(FluoroGold);羟基色胺;Indo-1;Indodicarbocyanine(DiD);Indotricarbocyanine(DiR);Intrawhite Cf;JC-1;JO-JO-1;JO-PRO-1;Laurodan;LDS 751(DNA);LDS 751(RNA);雷可福(Leucophor)PAF;雷可福SF;雷可福WS;丽丝胺罗丹明;丽丝胺罗丹明B;钙黄绿素/乙啡啶同质二聚体;LOLO-1;LO-PRO-1;荧光黄;Lyso Tracker蓝;Lyso Tracker蓝-白;Lyso Tracker绿;Lyso Tracker红;Lyso Tracker黄;LysoSensor蓝;LysoSensor绿;LysoSensor黄/蓝;Mag绿;马格达拉红(Phloxin B);Mag-Fura红;Mag-Fura-2;Mag-Fura-5;Mag-Indo-1;镁绿(Magnesium Green);镁橙;孔雀绿;Marina蓝;Maxilon亮黄素10GFF;Maxilon亮黄素8GFF;Merocyanin;甲氧基香豆素;Mitotracker绿FM;Mitotracker橙;Mitotracker红;普卡霉素;溴甲烷;溴甲烷(mBBr-GSH);Monochlorobimane;MPS(甲基绿派罗宁均二苯代乙烯);NBD;NBD胺;尼罗红;Nitrobenzoxadidole;去甲肾上腺素;核坚牢红;核黄;Nylosan亮Iavin E8G;Oregon绿;Oregon绿488-X;Oregon Green™;Oregon Green™488;Oregon Green™500;Oregon Green™514;太平洋蓝(Pacific Blue);副玫瑰苯胺(Feulgen);PBFI;PE-Cy5;PE-Cy7;PerCP;PerCP-Cy5.5;PE-德克萨斯红[Red 613];根皮红B(马格达拉红);Phorwite AR;Phorwite BKL;Phorwite Rev;Phorwite RPA;膦3R;藻红蛋白B[PE];藻红蛋白R[PE];PKH26(Sigma);PKH67;PMIA;Pontochrome蓝黑;POPO-1;POPO-3;PO-PRO-1;PO-PRO-3;樱草灵;普施安黄;碘化丙啶(PI);PyMPO;芘;派罗宁;焦宁B;Pyrozal亮黄素7GF;QSY 7;奎纳克林氮芥;Red 613[PE-德克萨斯红];试卤灵;RH 414;Rhod-2;罗丹明;罗丹明110;罗丹明123;罗丹明5GLD;罗丹明6G;罗丹明B;罗丹明B 200;碱性玫瑰精;罗丹明BB;罗丹明BG;罗丹明绿;

罗丹明Phallicidine;罗丹明鬼笔环肽;罗丹明红;罗丹明WT;玫瑰红;R-藻青素;R-藻红蛋白(PE);RsGFP;S65A;S65C;S65L;S65T;氧化铝GFP;SBFI;血清素;Sevron亮红2B;Sevron亮红4G;Sevron亮红B;Sevron橙;Sevron黄L;sgBFP™;sgBFP™(超辉光BFP);sgGFP™;sgGFP™(超辉光GFP);SITS;SITS(樱草灵);SITS(均二苯代乙烯异硫代磺酸);SNAFL钙黄绿素;SNAFL-1;SNAFL-2;SNARF钙黄绿素;SNARF1;钠绿(Sodium Green);SpectrumAqua;SpectrumGreen;SpectrumOrange;Spectrum Red;SPQ(6-甲氧基-N-(3-磺丙基)喹啉鎓);均二苯代乙烯;Sulphorhodamine B can C;Sulphorhodamine G Extra;SYTO 11;SYTO 12;SYTO 13;SYTO 14;SYTO 15;SYTO 16;SYTO 17;SYTO 18;SYTO 20;SYTO 21;SYTO 22;SYTO 23;SYTO 24;SYTO 25;SYTO 40;SYTO 41;SYTO 42;SYTO 43;SYTO 44;SYTO 45;SYTO 59;SYTO 60;SYTO 61;SYTO 62;SYTO 63;SYTO 64;SYTO 80;SYTO 81;SYTO 82;SYTO 83;SYTO 84;SYTO 85;SYTOX蓝;SYTOX绿;SYTOX橙;四环素;四甲基罗丹明(TRITC);Texas Red™;德克萨斯红-X™缀合物;硫杂二羰花青(DiSC3);噻嗪红R;噻唑桔;硫磺素5;硫磺素S;硫磺素TCN;Thiolyte;Thiozole橙;Tinopol CBS(Calcofluor白);TMR;TO-PRO-1;TO-PRO-3;TO-PRO-5;TOTO-1;TOTO-3;TriColor(PE-Cy5);TRITC四甲基罗丹明异硫氰酸酯;真蓝;TruRed;Ultralite;荧光素B;Uvitex SFC;wt GFP;WW 781;X-罗丹明;XRITC;二甲苯橙;Y66F;Y66H;Y66W;黄GFP;YFP;YO-PRO-1;YO-PRO-3;YOYO-1;以及YOYO-3。如本申请中所使用,“荧光团”可以包括荧光团的盐。

[0047] 所公开的化合物可以包括通过连接基缀合的两个被取代的喹唑啉基团。包括通过喹唑啉基团的悬挂4-碳氮之间的连接基缀合的两个被取代的喹唑啉基团的化合物可以举例说明如下:

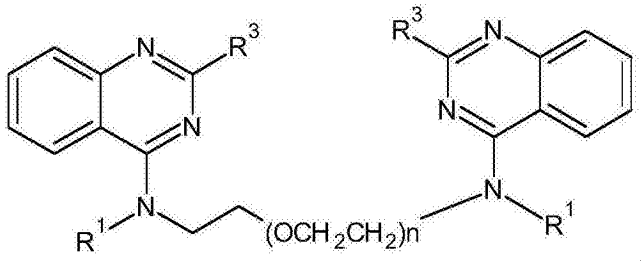
[0048] 

[0049] 在一些实施方案中,所公开的具有通过连接基缀合的两个被取代的喹唑啉基团的化合物可以描述为具有如下式II:

[0050] 

[0051] 其中R^1和R^3如上文对式I所定义,n=1-10,且烷基($(CH_2)_n$)用作两个被取代的喹唑啉基团之间的连接基。

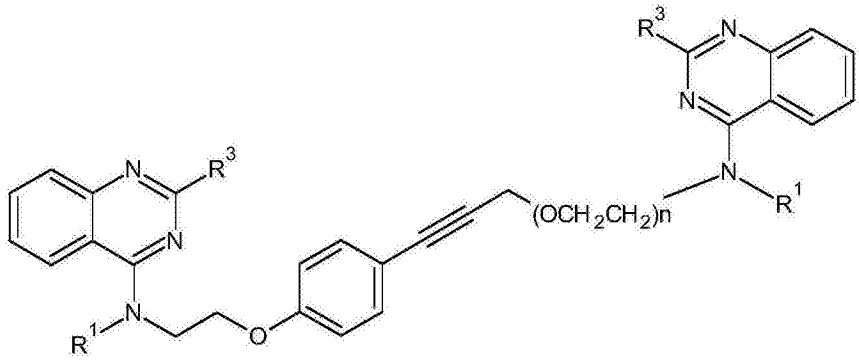
[0052] 在一些实施方案中,所公开的具有通过连接基缀合的两个被取代的喹唑啉基团的化合物可以描述为具有如下式III:

[0053] 

III

[0054] 其中R^1和R^3如上文对式I所定义，n＝1-10，且聚氧化乙烯基团（$(OCH_2CH_2)_n$）用作两个被取代的喹唑啉基团之间的连接基。

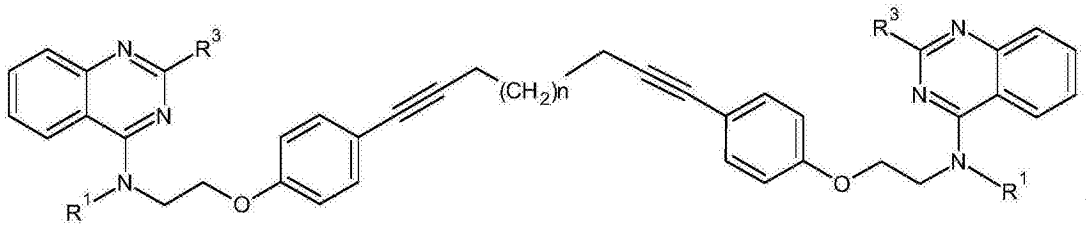
[0055] 在一些实施方案中，所公开的具有通过连接基缀合的两个被取代的喹唑啉基团的化合物可以描述为具有如下式IV：

[0056] 

IV，

其中R^1和R^3如上文对式I所定义，n＝1-10，且所述化合物具有苯氧基炔基聚氧化乙烯连接基。

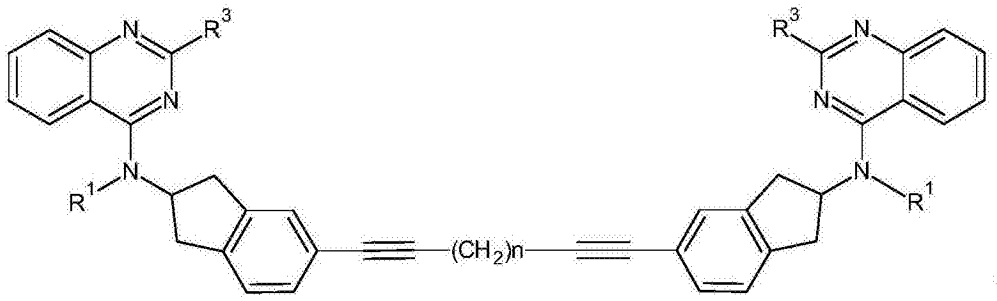
[0057] 在一些实施方案中，所公开的具有通过连接基缀合的两个被取代的喹唑啉基团的化合物可以描述为具有如下式V：

[0058] 

V

[0059] 其中R^1和R^3如上文对式I所定义，n＝0-8，且所述化合物具有二苯氧基炔基连接基。

[0060] 在一些实施方案中，所公开的具有通过连接基缀合的两个被取代的喹唑啉基团的化合物可以描述为具有如下式VI：

[0061] 

VI

[0062] 其中R^1和R^3如上文对式I所定义，n＝1-10，且所述化合物具有二-2,3-二氢-1H-茚基炔基连接基。

[0063] 本申请中所公开的化合物优选调节葡糖脑苷脂酶的活性。调节可以包括抑制或降低葡糖脑苷脂酶活性。调节还可以包括活化或增加葡糖脑苷脂酶活性。可以采用本领域中已知的方法和本申请中所公开的方法评价葡糖脑苷脂酶活性，包括本申请中所提供的实施例中所公开的方法。在一些实施方案中，所述化合物相对于对照降低或增加了葡糖脑苷脂酶活性(例如，至少约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或更多)。在其它实施方案中，可以测定所述化合物关于抑制或活化葡糖脑苷脂酶的AC_{50}值或IC_{50}值，并且优选所述化合物具有低于约10μM、5μM、1μM、0.5μM 0.01μM、0.05μM或0.001μM的AC_{50}或IC_{50}值。

[0064] 本申请中所公开的化合物(例如，式I、II、III、IV、V或VI的化合物)可以具有几个手性中心，涉及立体异构体、差向异构体和对映异构体。对于一个或多个手性中心，化合物可以是光学纯的(例如，手性中心的一些或全部可以完全处于S构型；手性中心的一些或全部可以完全处于R构型等)。另外或可替代地，手性中心中的一个或多个可以作为构型的混合物(例如，R构型和S构型的外消旋或另一种混合物)存在。包含基本上纯化的立体异构体、差向异构体或对映异构体或它们的类似物或衍生物的组合物是本申请中所预期的(例如，包含至少约90％、95％或99％纯的立体异构体、差向异构体或对映异构体的组合物)。如本申请中所使用，未明确显示在一个或多个手性中心的取向的结构式意指涵盖所有的取向和它们的混合物。

[0065] 本申请中所公开的组合物和方法中使用的化合物可以以药物组合物的形式施用，因此，掺入所述化合物的药物组合物被认为是本申请中所公开的组合物的实施方案。这样的组合物可以采取药学上可接受的任何物理形式；举例来说，它们可以是口服施用的药物组合物。这样的药物组合物含有有效量的所公开的化合物，该有效量与被施用的化合物的日剂量有关。每个剂量单位可以包含给定化合物的日剂量，或者每个剂量单位可以包含日剂量的一部分，例如剂量的一半或三分之一。每个剂量单位中包含的每种化合物的量可部分取决于为疗法而选择的具体化合物的属性和其它因素，例如给予它的适应证。通过采用众所周知的方法可以配制本申请中所公开的药物组合物以便在施用于患者之后提供活性成分的快速、持续或延迟释放。

[0066] 根据本申请中所公开的方法使用的化合物可以以单一化合物或化合物的组合的形式施用。例如，调节葡糖脑苷脂酶活性的化合物可以以单一化合物的形式施用，或以与调节葡糖脑苷脂酶活性或具有不同药理学活性的另一个化合物组合的形式施用。

[0067] 如上所述，化合物的药学上可接受的盐是所预期的，并且也可用于所公开的方法中。本申请中使用的术语“药学上可接受的盐”是指对活的生物体基本上无毒的化合物的盐。典型的药学上可接受的盐包括通过使本申请中所公开的化合物与药学上可接受的无机酸或有机酸或有机碱或无机碱反应而制备的那些盐。这样的盐称为酸加成盐和碱加成盐。本领域技术人员理解，本申请中所公开的化合物中的大部分或全部能够形成盐，并且通常使用药物的盐形式，通常因为它们比游离酸或碱更容易结晶和纯化。

[0068] 通常用于形成酸加成盐的酸可以包括无机酸如盐酸，氢溴酸，氢碘酸，硫酸，磷酸等，以及有机酸如对甲苯磺酸，甲磺酸，草酸，对溴苯磺酸，碳酸，琥珀酸，柠檬酸，苯甲酸，乙酸等。适合的药学上可接受的盐的实例可以包括硫酸盐，焦硫酸盐，硫酸氢盐，亚硫酸盐，硫酸氢盐，磷酸盐，磷酸一氢盐，磷酸二氢盐，偏磷酸盐，焦磷酸盐，溴化物，碘化物，乙酸盐，丙酸盐，癸酸盐，辛酸盐，丙烯酸盐，甲酸盐，盐酸盐，二盐酸盐，异丁酸盐，己酸盐，庚酸盐，丙

炔酸盐，草酸盐，丙二酸盐，琥珀酸盐，辛二酸盐，癸二酸盐，富马酸盐，马来酸盐，丁炔-1,4-二酸盐，己炔-1,6-二酸盐，苯甲酸盐，氯苯甲酸盐，甲基苯甲酸盐，羟基苯甲酸盐，甲氧基苯甲酸盐，邻苯二甲酸盐，二甲苯磺酸盐，苯乙酸盐，苯基丙酸盐，苯基丁酸盐，柠檬酸盐，乳酸盐，α-羟基丁酸盐，乙醇酸盐，酒石酸盐，甲磺酸盐，丙磺酸盐，萘-1-磺酸盐，萘-2-磺酸盐，扁桃酸盐等。

[0069] 碱加成盐包括衍生自无机碱的盐，例如铵氢氧化物或碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物，碳酸盐，碳酸氢盐等。用于制备这类盐的碱包括氢氧化钠，氢氧化钾，氢氧化铵，碳酸钾，碳酸钠，碳酸氢钠，碳酸氢钾，氢氧化钙，碳酸钙等。

[0070] 形成本申请中所公开的化合物的任何盐的一部分的特定抗衡离子对于化合物的活性可能不是关键的，只要盐作为整体在药理学上是可接受的，并且只要抗衡离子不为整个盐贡献不期望的品质。不期望的品质可以包括不期望的溶解度或毒性。

[0071] 化合物的药学上可接受的酯和酰胺也可以用于本申请中所公开的组合物和方法中。适合的酯的实例包括烷基酯、芳基酯和芳烷基酯，如甲酯、乙酯、丙酯、十二烷基酯、苄酯等。适合的酰胺的实例包括未取代的酰胺、单取代的酰胺和二取代的酰胺，如甲酰胺、二甲基酰胺、甲基乙酰胺等。

[0072] 另外，本申请中所公开的方法可以使用所述化合物的溶剂合物形式或其盐、酯和/或酰胺来实施。溶剂合物形式可以包括乙醇溶剂合物、水合物等。

[0073] 药物组合物可以用于治疗与葡糖脑苷脂酶活性有关的疾病或病症的方法中。例如，所述药物组合物可用于治疗患有神经疾病或病症或处于患神经疾病或病症风险中的患者，所述神经疾病或病症包括退行性神经系统疾病或疾病，例如戈谢病和帕金森病。适合的患者包括例如哺乳动物，例如人和非人灵长类动物(例如，黑猩猩)或其它哺乳动物(例如，狗、猫、马、大鼠和小鼠)。适合的人类患者可以包括例如那些先前已被确定患有或发生神经疾病或病症的风险的人，所述神经疾病或病症包括退行性神经系统疾病或疾病，如戈谢病和帕金森病。

[0074] 如本申请中所使用，术语“治疗(treating)”或“治疗(to treat)”各自意指缓解症状，临时或永久性地消除所产生的症状的原因，和/或防止或减缓或逆转所述疾病或病症的所得症状的进展或严重程度。据此，本申请中所公开的方法涵盖治疗性和预防性施用。

[0075] 如本申请中所使用，术语“有效量”是指在向受试者单次或多次剂量施用时化合物的量或剂量，其在进行诊断或治疗的受试者中提供期望的效果。所公开的方法可以包括施用有效量的所公开的化合物(例如，存在于药物组合物中)用于治疗与超氧化物歧化酶突变相关的疾病或病症，包括施用有效量的抑制超氧化物歧化酶突变形式的表达的化合物。

[0076] 作为本领域技术人员的主治诊断医师通过使用已知技术并通过观察在类似情况下获得的结果，可以轻易地确定有效量。在确定所施用的化合物的有效量或剂量中，主治诊断医生可以考虑许多因素，例如：受试者的物种；其尺寸、年龄和一般健康状况；涉及程度或所涉及的疾病或病症的严重程度；个体受试者的响应；所施用的具体化合物；施用模式；所施用制剂的生物利用度特征；所选择的剂量方案；伴随药物的应用；以及其它有关情况。

[0077] 典型的日剂量可以含有约0.01mg/kg至约100mg/kg(例如，约0.05mg/kg至约50mg/kg和/或约0.1mg/kg至约25mg/kg)的本发明治疗方法中使用的每种化合物。

[0078] 可以将组合物配制成单位剂型，每个剂量单独或在单个单位剂型中含有约1至约

500mg的每种化合物，例如约5至约300mg、约10至约100mg和/或约25mg。术语“单位剂型”是指适合作为患者的单位剂量的物理上离散的单位，每个单位含有经计算产生所需治疗效果的预定量的活性物质，以及适合的药用载体、稀释剂或赋形剂。

[0079] 口服施用是施用本申请中所公开的组合物和方法中使用的化合物的示例性途径。其它示例性的施用途径包括透皮，经皮，静脉内，肌内，鼻内，颊粘膜，鞘内，大脑内或直肠内途径。施用途径可以以任何方式变化，受所使用的化合物的物理性质和受试者和护理人员的便利性的限制。

[0080] 如本领域技术人员将认识到的，适合的制剂包括适用于多于一种施用途径的制剂。例如，所述的制剂可以是适用于鞘内和脑内施用的制剂。或者，适合的制剂包括仅适用于一种施用途径的制剂以及适用于一种或多种施用途径但不适合于一种或多种其它施用途径的制剂。例如，所述制剂可以是适用于口服，经皮，透皮，静脉内，肌肉内，鼻内，颊粘膜和/或鞘内施用但不适合脑内施用的制剂。

[0081] 药物组合物的惰性成分和配制方式是常规的。本申请中可以使用制药科学中使用的常用制剂方法。可以使用所有常用类型的组合物，包括片剂，咀嚼片，胶囊，溶液，肠胃外溶液，鼻内喷雾剂或粉末，锭剂，栓剂，透皮贴剂和混悬剂。通常，组合物总计包含约0.5％至约50％的化合物，视期望的剂量和待使用的组合物的类型而定。然而，将化合物的量最好定义为“有效量”，即为需要这类治疗的患者提供期望剂量的化合物的量。不认为用于本申请中所公开的组合物和方法中的化合物的活性在很大程度上取决于组合物的性质，因此可以主要或仅为了方便和经济而选择和配制组合物。

[0082] 通过将化合物与适合的稀释剂混合并将适量的混合物填充到胶囊中来制备胶囊剂。通常的稀释剂包括惰性粉状物质(如淀粉)，粉状纤维素(特别是结晶和微晶纤维素)，糖(如果糖，甘露糖醇和蔗糖)，谷物粉和类似的可食用粉末。

[0083] 可以通过直接压制、湿法制粒或干法制粒制备片剂。其制剂通常掺入稀释剂、粘合剂、润滑剂和崩解剂(除化合物外)。典型的稀释剂包括，例如不同类型的淀粉、乳糖、甘露糖醇、高岭土、磷酸钙或硫酸钙、无机盐(例如，氯化钠)和糖粉。还可以使用粉状纤维素。典型的片剂粘合剂包括这样的物质，例如淀粉、明胶和糖(例如，乳糖、果糖、葡萄糖等)。还可以使用天然和合成树胶，包括阿拉伯胶、藻酸盐、甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮等。聚乙二醇、乙基纤维素和拉也可以充当粘合剂。

[0084] 片剂可以用糖(例如，作为增味剂和密封剂)包衣。通过在制剂中使用大量品尝令人愉快的物质，例如甘露糖醇，也可以将化合物配制成咀嚼片。例如，也可以使用速溶片剂样制剂，以确保患者消费剂型并避免一些患者吞咽固体物体的困难。

[0085] 可以在片剂中使用润滑剂以防止片剂和冲头粘附在模具中。润滑剂可以选自光滑的固体，例如滑石粉，硬脂酸镁和硬脂酸钙，硬脂酸和氢化植物油。

[0086] 片剂还可以包含崩解剂。崩解剂是在润湿时溶胀以分散片剂并释放化合物的物质。它们包括淀粉，粘土，纤维素，藻胶和树胶。作为进一步的示例，可以使用玉米淀粉和马铃薯淀粉，甲基纤维素，琼脂，膨润土，木质纤维素，粉状天然海绵，阳离子交换树脂，海藻酸，瓜尔豆胶，柑橘果肉，月桂基硫酸钠和羧甲基纤维素。

[0087] 可以将组合物配制成肠溶制剂，例如以保护活性成分不受胃中强酸含量的影响。这种制剂可以通过用不溶于酸性环境且可溶于碱性环境的聚合物薄膜包衣固体剂型来制

备。示例性的膜包括醋酸邻苯二甲酸纤维素，邻苯二甲酸聚乙酸乙烯酯，邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素和醋酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素。

[0088] 当期望将化合物作为栓剂施用时，可以使用常规的基质。示例性地，可可脂是传统的栓剂基质。可可脂可以通过添加蜡来改性以略微升高其熔点。可与水混溶的栓剂基质如各种分子量的聚乙二醇也可用于栓剂中。

[0089] 透皮贴剂也可用于递送化合物。透皮贴剂可以包括其中化合物将溶解或部分溶解的树脂组合物；以及保护组合物并使树脂组合物与皮肤接触的膜。也可以使用其它更复杂的贴剂组合物，例如具有穿透多个孔的膜的药物，通过这些孔通过渗透作用泵送药物。

[0090] 本领域技术人员也将理解，制剂可以用具有使制剂适合的性质（例如，纯度）的材料（例如，活性剂赋形剂，载体（例如，环糊精），稀释剂等）制备用于对人施用。或者，所述制剂可以用具有使所述制剂适合施用于非人类受试者但不适合施用于人的纯度和/或其它性质的材料来制备。

[0091] 本申请中所公开的化合物可以起葡糖脑苷脂酶的活化剂的作用。例如，本申请中所公开的化合物可以与葡糖脑苷脂酶反应以制备与化合物共价连接的活化葡糖脑苷脂酶。如此形成的活化的葡糖脑苷脂酶可以制备成药物组合物，在本领域中已知的酶替代疗法中治疗和/或预防与葡糖脑苷脂酶活性相关的疾病或病症。

[0092] 下面的制剂清单是举例说明性的。这些示例性的制剂可适用于制备包含所公开的化合物作为“活性成分”的药物组合物。下面的制剂清单是举例说明性的，不应被解释为以任何方式限制本申请公开的内容或权利要求：

[0093] 制剂1

[0094] 使用下列成分制备硬明胶胶囊：

[0095]

	量(毫克/胶囊)
活性成分	250
干淀粉	200
硬脂酸镁	10
总计	460毫克

[0096] 混合上述成分并，且以460毫克的量将其填充入硬明胶胶囊。

[0097] 制剂2

[0098]

	量(毫克/片)
活性成分	250
微晶纤维素	400
热解（fumed）二氧化硅	10
硬脂酸	5
总计	665毫克

[0099] 掺合所述成分并且将其压制成各自重量为665毫克的片剂。

[0100] 制剂3

[0101] 制备包含如下成分的气雾剂溶液：

	重量%
活性成分	0.25
乙醇	29.75
喷射剂 22 (氯二氟甲烷)	70.00
总计	100.00

[0102]

[0103] 将活性化合物与乙醇混合，并且将该混合物加到部分喷射剂22中，冷却至-30℃，并且转移至填充装置。然后将所需的量进料至不锈钢容器中并且用其余的喷射剂稀释。然后将阀门单元与容器接合。

[0104] 制剂4

[0105] 如下制备各自包含60mg活性成分的片剂：

活性成分	60 mg
淀粉	45 mg
微晶纤维素	35 mg
聚乙烯吡咯烷酮	4 mg
羧甲基淀粉钠	4.5 mg
硬脂酸镁	0.5 mg
滑石粉	1 mg
总计	150 mg

[0106]

[0107] 使活性成分、淀粉和纤维素通过美国45号目筛并且充分混合。将聚乙烯吡咯烷酮溶液与得到的粉末混合，然后使其通过美国14号目筛。将由此产生的颗粒在50℃干燥并且通过美国18号目筛。然后将此前通过美国60号目筛的羧甲基淀粉钠、硬脂酸镁和滑石粉加到颗粒中，混合后，用压片机将它们压制以生成各自重量为150mg的片剂。

[0108] 制剂5

[0109] 如下制备各自包含80mg药剂的胶囊：

活性成分	80 mg
淀粉	59 mg
微晶纤维素	59 mg
硬脂酸镁	2 mg
总计	200 mg

[0110]

[0111] 掺合活性成分、纤维素、淀粉和硬脂酸镁，使其通过45号筛，并且以200mg的量填入

硬明胶胶囊。

[0112] 制剂6

[0113] 可以如下制备各自包含225mg活性成分的栓剂：

[0114] 活性成分 225mg

[0115] 饱和脂肪酸甘油酯 2,000mg

[0116] 总计 2,225mg

[0117] 使活性成分通过美国60号目筛并且混悬于此前已使用必须最小加热熔化的饱和脂肪酸甘油酯中。然后将该混合物倾入标称2g容量的栓剂塑模并且使其冷却。

[0118] 制剂7

[0119] 如下制备各自每5毫升剂量包含50毫克药剂的混悬液：

[0120]

活性成分	50 mg
羧甲基纤维素钠	50 mg
糖浆	1.25 ml
苯甲酸溶液	0.10 ml
矫味剂	适量
着色剂	适量
纯水至总计	5 ml

[0121] 使药剂通过美国45号目筛并且与羧甲基纤维素钠和糖浆混合以形成调匀的糊剂。用一些水稀释苯甲酸溶液、矫味剂和着色剂并且在搅拌下添加它们。然后加入足量的水以产生所需体积。

[0122] 制剂8

[0123] 可以如下制备每5毫升剂量包含100毫克药剂的静脉内制剂：

[0124]

活性成分	100 mg
甘露糖醇	100 mg
5 N 氢氧化钠	200 ml
纯水至总计	5 ml

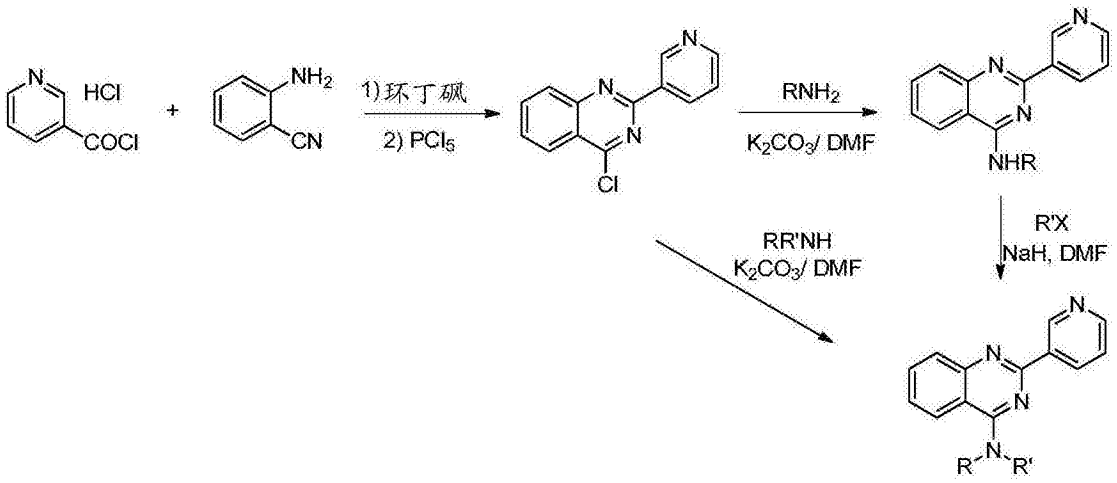
实施例

[0125] 下面的实施例仅仅是举例说明性的，不想将它们用来限制所请求保护的主题的范围。

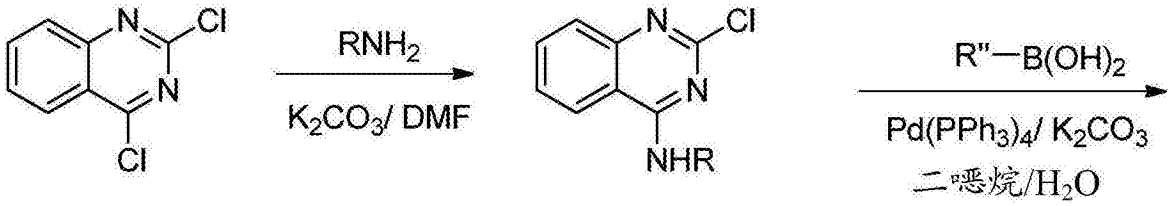
[0126] 实施例1-被取代的喹唑啉化合物的合成

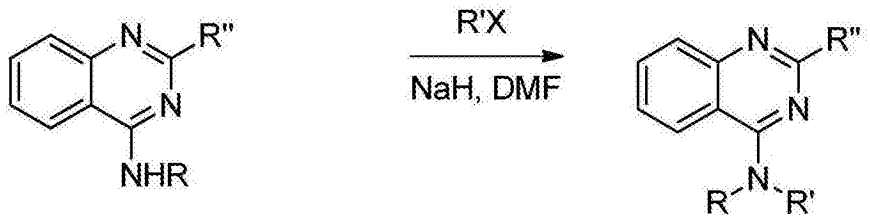
[0127] 采用如下示例的方案1和方案2制备了化合物：

[0128] 方案1

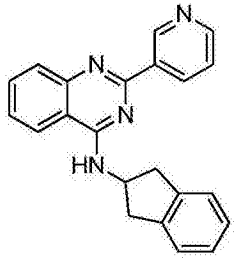
[0129] 

[0130] 方案2

[0131] 



[0132] (S)-2-(吡啶-3-基)-N-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)喹唑啉-4-胺(1)的制备

[0133] 

1

[0134] 方法A

[0135] a.4-氯-2-(吡啶-3-基)喹唑啉的制备。向2-氨基苄腈(5.90g,50mmol)在环丁砜(20mL)中的溶液中加入烟酰氯盐酸盐(12.0g,67.4mmol),将该混合物在100℃搅拌16小时。一次加入PCl_5(18.2g,87.5mmol),在100℃搅拌10小时。将该混合物冷却至室温,谨慎地倾入400mL饱和碳酸氢钠溶液,用冰浴冷却。过滤固体,用水洗涤,干燥,通过急骤色谱法纯化,得到5.50g(46%)淡黄色固体。

[0136] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ9.76(d,J=1.3Hz,1H),8.82(dt,J=8.0,1.9Hz,1H),8.73

(dd,J=4.7,1.4Hz,1H),8.26(dd,J=8.4,0.8Hz,1H),8.10(d,J=8.4Hz,1H),7.95(ddd,J=8.4,7.0,1.4Hz,1H),7.69(ddd,J=8.2,7.0,1.1Hz,1H),7.44(dd,J=7.5,4.8Hz,1H)。^{13}C NMR:(100MHz,$CDCl_3$)δ(ppm):162.9,158.3,151.8,151.7,150.3,136.1,135.2,132.4,129.1,128.9,126.0,123.5,122.8.

[0137] b.N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-2-(吡啶-3-基)喹唑啉-4-胺(1)的制备。将4-氯-2-(吡啶-3-基)喹唑啉(120mg,0.5mmol)、2,3-二氢-1H-茚-2-胺(67mg,0.5mmol)和碳酸钾(69mg,0.5mmol)在DMF(3mL)中的混合物在室温搅拌5小时。加入水(20mL),过滤所形成的固体,用水洗涤,干燥,得到150mg(73%)灰白色固体。

[0138] ^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ9.78(d,J=1.7Hz,1H),8.84(dd,J=7.9,1.7Hz,1H),8.69(d,J=4.7Hz,1H),7.93(d,J=8.3Hz,1H),7.77-7.70(m,1H),7.68(d,J=8.1Hz,1H),7.47-7.37(m,2H),7.32-7.27(m,2H),7.25-7.20(m,2H),6.04(s,1H),5.37-5.29(m,1H),3.60(dd,J=16.2,7.2Hz,2H),3.08(dd,J=16.2,4.8Hz,2H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ159.4,158.6,150.7,150.3,141.1,135.8,134.4,132.9,128.9,127.0,126.0,125.1,123.3,120.7,113.9,52.6,40.3。ESI-MS m/z:339$(M+H)^+$。

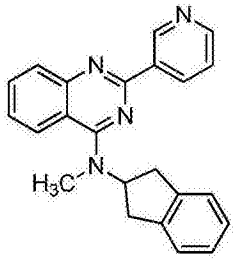
[0139] 方法B

[0140] a.2-氯-N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)喹唑啉-4-胺的制备。将2,4-二氯喹唑啉(398mg,2.0mmol)、2,3-二氢-1H-茚-2-胺(266mg,2.0mmol)和碳酸钾(276mg,2.0mmol)在DMF(5mL)中的混合物在室温搅拌5小时。加入水(20mL),过滤所形成的固体,用水洗涤,干燥,得到390mg(66%)灰白色固体。

[0141] ^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ7.76(d,J=8.2Hz,1H),7.74-7.69(m,1H),7.60(d,J=8.2Hz,1H),7.41(t,J=7.4Hz,1H),7.30-7.26(m,2H),7.24-7.19(m,2H),6.08(d,J=6.7Hz,1H),5.27-5.15(m,1H),3.53(dd,J=16.2,7.0Hz,2H),3.00(dd,J=16.2,4.0Hz,2H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ160.6,157.8,151.0,140.7,133.6,128.0,127.1,126.2,125.1,120.8,113.3,52.6,40.2。

[0142] b.N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-2-(吡啶-3-基)喹唑啉-4-胺(1)的制备。将2-氯-N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)喹唑啉-4-胺(148mg,0.5mmol)、3-吡啶基硼酸(62mg,0.5mmol)、$Pd(PPh_3)_4$(58mg,0.05mmol)、碳酸钾(276mg,2.0mmol)在二噁烷(10mL)和水(1.5mL)中的混合物在85℃在氩气气氛中加热16小时。加入水(5mL),用EtOAc(25mL×3)萃取该混合物。用盐水(15mL)洗涤合并的有机相,干燥(Na_2SO_4),过滤,蒸发,用急骤色谱法纯化,得到了132mg(78%)灰白色固体。

[0143] (S)-N-甲基-2-(吡啶-3-基)-N-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)喹唑啉-4-胺(2)的制备。

[0144] 

2

[0145] 在室温向(S)-2-(吡啶-3-基)-N-(1,2,3,4-四氢萘-2-基)喹唑啉-4-胺(70mg,

0.2mmol)在DMF(3mL)中的溶液中加入NaH(60％)(10mg,0.25mmol),搅拌30分钟。向该混合物中加入二碘甲烷(16uL,0.25mmol),搅拌过夜。加入水(20mL),过滤所形成的固体,用水洗涤,干燥,得到了50mg(69％)灰白色固体。

[0146] 实施例2-使用蓝色底物的葡糖脑苷脂酶活性测定法

[0147] 将化合物的DMSO溶液0.5微升/孔转移至黑色96孔板。最终滴度为24nM至50μM,12个浓度,2倍稀释。将33.5μL酶溶液(7.5nM终浓度)转移至各孔。在室温温育5分钟后,通过添加33微升/孔蓝色底物启动酶反应。蓝色底物(4MU-Glc)的终浓度为1.5mM。在37℃温育30分钟后,通过添加33微升/孔终止溶液(1M NaOH和1M甘氨酸混合物,pH 10)终止蓝色底物反应。然后在Biotek Synergy H1多模式读板器中用Ex＝365nm,Em＝440nm测定了荧光。

[0148] 实施例3-荧光偏振测定法

[0149] 使用Labcyte Echo 550液体处理机系统将荧光探针3(25毫微升/孔,50nM终浓度)转移至384孔黑色平板。将用GCase酶活性缓冲液稀释的25微升/孔酶稀释液加到平板上,在室温在黑暗中振摇20分钟。最终滴度为5nM至10μM,10个浓度,2倍稀释。在Molecular Devices Analyst GT中用Ex＝535nm,Em＝580nm,G因子＝1.05测定了荧光偏振。

[0150] 实施例4-通过荧光偏振进行化合物高通量筛选(HTS)

[0151] 将在GCase酶活性缓冲液中的酶(25微升/孔)加到384孔黑色平板上。使用Labcyte Echo 550液体处理机系统将荧光探针3(25毫微升/孔,50nM终浓度)转移至384孔黑色平板。将DMSO储备溶液中的化合物(50nL)转移至平板上。将该平板在室温在黑暗中振摇20分钟。最终浓度为19.5nM至10μM,10个浓度,2倍稀释。在Molecular Devices Analyst GT中用Ex＝535nm,Em＝580nm,G因子＝1.05测定了荧光偏振。

[0152] 实施例5-化合物-活化的葡糖脑苷脂酶的制备

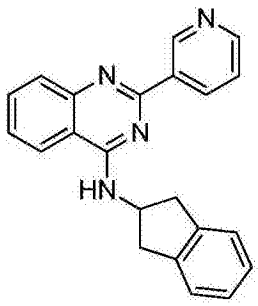
[0153] 向在0.1M磷酸盐缓冲液(pH 7.2)中的重组野生型酶(22μM,95μL,1当量)中一次加入在DMSO中的3-(2-(2-(4-(4-(2,4-二甲基吡咯并[1,2-a]嘧啶-8-甲酰氨基)苯基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)丙酸2,5-二氧代吡咯烷-1-基酯(4)(0.89mM,5μL,2当量),即刻涡旋5秒。在指定的时间点,将反应溶液(2μL)采样,稀释(1:3125稀释)到测定缓冲液(50mM柠檬酸、176mM K_2HPO_4和0.01％吐温-20,pH 5.9)中。2小时后,用0.1M磷酸盐缓冲液(pH 7.2)将该反应溶液透析3次。将所述的酶调整至相同浓度,针对活性采样。用3种底物,即试卤灵底物、4-MU底物和天然底物,采用上述实施例中所述的方法,不添加化合物,测定了稀释溶液。

[0154] 实施例6-另外化合物的合成和测试

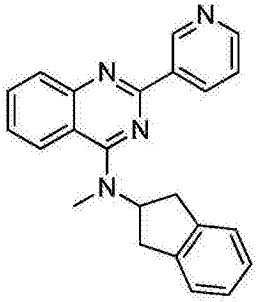
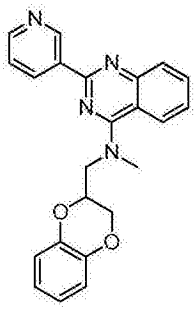
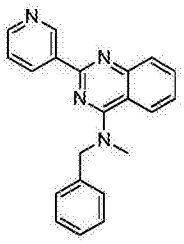
[0155] 根据上述实施例中提供的方法制备和测试了另外的化合物。制备剂量-响应曲线以测定IC_{50}或AC_{50}并且将其与已知的葡糖脑苷脂酶活化剂NCGC00188758(参见Aflaki等人,Sci.Transl.Med.6,240ra273(2014)比较。结果如下表中所示。

[0156] 被取代的喹唑啉化合物的表

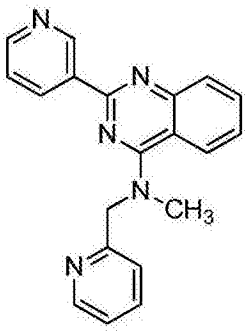
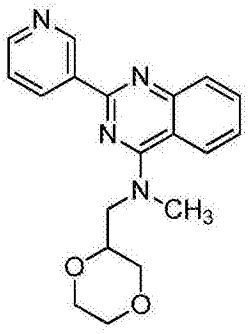
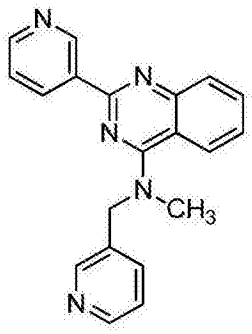
[0157]

编号	结构	MW	IC_{50}或 AC_{50} (μM)	1H NMR	13C NMR	质量
1		338	0.007 (抑制剂)	^1H NMR (500 MHz，$CDCl_3$) δ 9.78 (d，J = 1.7 Hz，1H)，8.84 (dd，J = 7.9，1.7 Hz，1H)，8.69 (d，J = 4.7 Hz，1H)，7.93 (d，J = 8.3 Hz，1H)，7.77 – 7.70 (m，1H)，7.68 (d，J = 8.1 Hz，1H)，7.47 – 7.37 (m，2H)，7.32 – 7.27 (m，2H)，7.25 – 7.20 (m，2H)，6.04 (s，1H)，5.37 – 5.29 (m，1H)，3.60 (dd，J = 16.2，7.2 Hz，2H)，3.08 (dd，J = 16.2，4.8 Hz，2H)。	^{13}C NMR (125 MHz，$CDCl_3$) δ 159.4，158.6，150.7，150.3，141.1，135.8，134.4，132.9，128.9，127.0，126.0，125.1，123.3，120.7，113.9，52.6，40.3。	ESI-MS m/z: 339 $(M+H)^+$

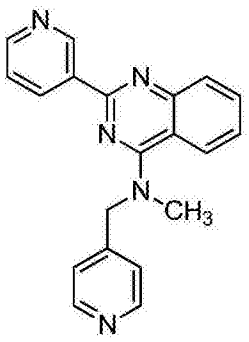
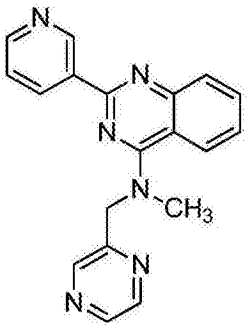
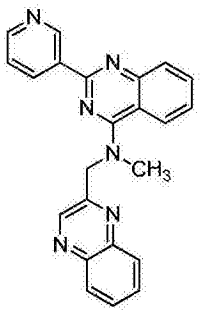
[0158]

2		352	2.15 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.74 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.7, 1.5 Hz, 1H), 8.04 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.78 – 7.69 (m, 1H), 7.45 – 7.41 (m, 1H), 7.39 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 7.29 (dd, J = 5.2, 3.4 Hz, 2H), 7.25 – 7.20 (m, 2H), 5.66 – 5.58 (m, 1H), 3.47 (dd, J = 16.4, 8.6 Hz, 2H), 3.35 – 3.26 (m, 5H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.7, 157.5, 153.1, 150.8, 150.4, 141.3, 135.7, 134.3, 132.5, 129.0, 126.9, 125.5, 124.8, 124.7, 123.3, 115.7, 60.2, 36.4, 35.6	ESI-MS m/z: 353 $(M+H)^+$
3		384	1.78 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.67 (s, 1H), 8.74 (dt, J = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 8.14 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.78 – 7.68 (m, 1H), 7.45 – 7.37 (m, 2H), 6.91 – 6.81 (m, 4H), 4.88 – 4.75 (m, 1H), 4.38 (dd, J = 11.5, 2.3 Hz, 1H), 4.32 (dd, J = 14.3, 4.5 Hz, 1H), 4.17 – 4.14 (m, 1H), 4.13 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 3.67 (s, 3H)。	163.1, 157.2, 153.2, 150.8, 150.1, 143.2, 142.7, 135.7, 134.2, 132.6, 129.0, 125.6, 124.9, 123.4, 121.9, 121.7, 117.5, 117.4, 115.1, 71.9, 66.1, 53.1, 43.2,	ESI-MS m/z: 385 $(M+H)^+$
4		326	NA	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.79 (dt, J = 7.9 Hz, 1.7 Hz, 1H), 7.96 (dd, J = 8.2, 4.4 Hz, 2H), 7.76 – 7.68 (m, 1H), 7.45 – 7.38 (m, 5H), 7.37 – 7.30 (m, 2H), 5.07 (s, 2H), 3.40 (s, 3H)。	163.9, 157.5, 152.9, 150.8, 150.3, 137.4, 135.8, 134.2, 132.5, 129.0, 128.9, 127.6, 127.3, 125.2, 125.0, 123.2, 115.0, 57.1, 39.7,	ESI-MS m/z: 327 $(M+H)^+$

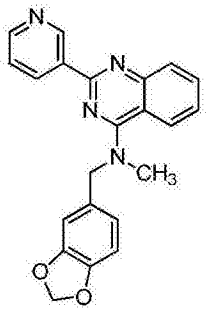
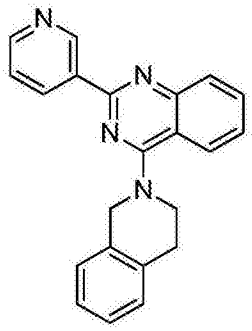
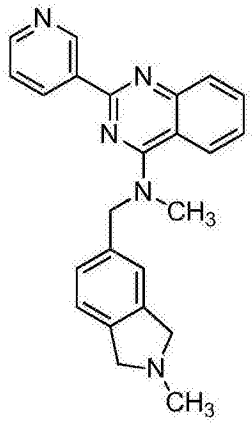
[0159]

5		327	35.48 (活化剂)	^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.66 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.75 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.71 – 8.62 (m, 2H), 8.05 (dd, J = 8.5, 0.8 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.80 – 7.64 (m, 2H), 7.45 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.41 – 7.30 (m, 2H), 7.26 – 7.22 (m, 1H), 5.17 (s, 2H), 3.52 (s, 3H).	^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 163.5, 157.7, 157.4, 153.0, 150.7, 150.2, 149.8, 137.1, 135.7, 134.2, 132.5, 128.9, 125.2, 125.0, 123.2, 122.5, 121.5, 115.0, 58.9, 40.4	ESI-MS m/z: 328 $(M+H)^+$
6		336	11.22 (活化剂)	^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.68 (s, 1H), 8.76 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 8.14 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.78 – 7.67 (m, 1H), 7.45 – 7.36 (m, 2H), 4.22 – 4.12 (m, 1H), 4.09 (dd, J = 14.2, 4.0 Hz, 1H), 3.91 (dd, J = 11.5, 2.5 Hz, 1H), 3.85 – 3.68 (m, 4H), 3.65 (dd, J = 11.2, 2.9 Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.43 (dd, J = 11.5, 10.1 Hz, 1H).	^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 163.2, 157.2, 153.1, 150.7, 150.1, 135.6, 134.2, 132.4, 128.8, 125.7, 124.7, 123.2, 115.1, 74.4, 69.4, 66.8, 66.5, 53.9, 42.6,	ESI-MS m/z: 337 $(M+H)^+$
7		327	12.59 (活化剂)	^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.70 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.70 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.59 (dd, J = 4.7, 1.0 Hz, 1H), 7.99 (dd, J = 8.7, 0.8 Hz, 2H), 7.81 – 7.71 (m, 2H), 7.44 – 7.36 (m, 2H), 7.32 (dd, J = 7.8, 4.9 Hz, 1H), 5.11 (s, 2H), 3.43 (s, 3H).	^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 163.9, 157.4, 153.0, 150.8, 150.1, 149.3, 149.2, 135.8, 135.3, 134.1, 133.1, 132.8, 129.1, 125.2, 125.1, 123.9, 123.3, 115.0, 54.3, 40.3,	ESI-MS m/z: 328 $(M+H)^+$

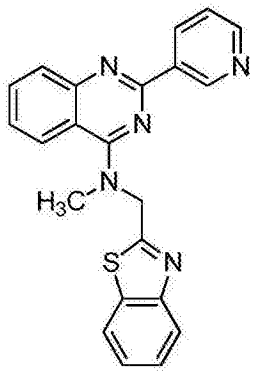
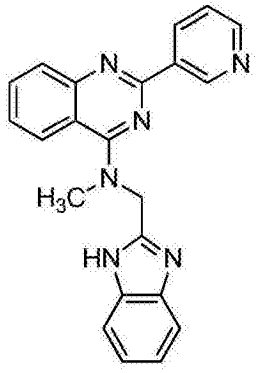
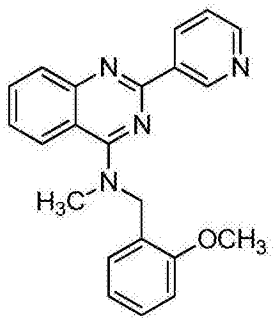
[0160]

8		327	15.85 (活化剂)	^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.66 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.73 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.67 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.64 – 8.61 (m, 2H), 7.96 (dd, J = 17.9, 8.4 Hz, 2H), 7.80 – 7.70 (m, 1H), 7.44 – 7.31 (m, 4H), 5.06 (s, 2H), 3.45 (s, 3H).	^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 163.8, 157.4, 153.0, 150.9, 150.4, 150.2, 146.9, 135.7, 134.0, 132.8, 129.2, 125.3, 124.9, 123.3, 122.3, 115.0, 56.1, 40.4.	ESI-MS m/z: 328 $(M+H)^+$
9		328	14.13 (活化剂)	^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.60 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.71 – 8.62 (m, 2H), 8.58 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.10 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.81 – 7.70 (m, 1H), 7.45 – 7.32 (m, 2H), 5.21 (s, 2H), 3.58 (s, 3H).	163.4, 157.4, 153.5, 153.0, 150.8, 150.1, 144.3, 144.0, 143.7, 135.7, 134.0, 132.7, 129.1, 125.2, 123.2, 115.0, 56.4, 41.3.	ESI-MS m/z: 329 $(M+H)^+$
10		378	0.89 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.65 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.70 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 8.65 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.14 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.99 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.83 – 7.72 (m, 3H), 7.42 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.35 (dd, J = 7.2, 5.0 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 3.63 (s, 3H).	^{13}C NMR (100 MHz, CDCl3) δ 163.5, 157.4, 153.2, 153.1, 150.8, 150.1, 144.7, 142.1, 135.7, 134.0, 132.8, 130.4, 129.9, 129.4, 129.2, 129.1, 125.3, 125.2, 123.3, 115.0, 57.0, 41.4.	ESI-MS m/z: 379 $(M+H)^+$

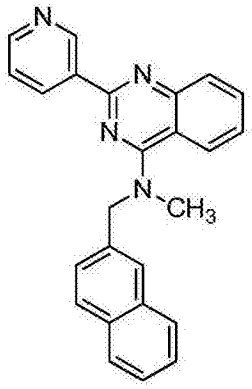
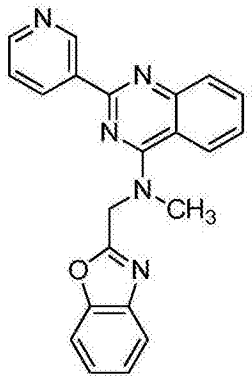
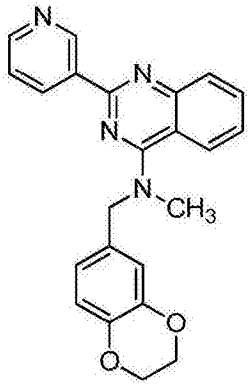
[0161]

11		370	1.00 (活化剂)	^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.74 (s, 1H), 8.81 (dt, J = 8.0, 1.9 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.76 – 7.66 (m, 1H), 7.40 (dd, J = 7.8, 4.8 Hz, 1H), 7.37 – 7.32 (m, 1H), 6.89 (d, J = 9.4 Hz, 2H), 6.83 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.97 (s, 2H), 4.98 (s, 2H), 3.37 (s, 3H).	^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 163.8, 157.5, 152.9, 150.8, 150.3, 148.4, 147.2, 135.8, 132.5, 131.2, 128.9, 125.2, 125.0, 123.3, 120.7, 115.1, 108.6, 107.8, 101.2, 56.7, 39.6,	ESI-MS m/z: 371 $(M+H)^+$
12		338	NA	^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.79 (s, 1H), 8.83 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.99 (dd, J = 14.1, 8.4 Hz, 2H), 7.76 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.53 – 7.37 (m, 2H), 7.23 (s, 4H), 5.07 (s, 2H), 4.15 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 3.22 (t, J = 5.6 Hz, 2H).	^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 164.2, 157.6, 152.8, 150.8, 150.4, 135.8, 134.8, 133.9, 132.6, 129.0, 128.9, 126.9, 126.6, 126.5, 125.2, 125.0, 123.3, 115.6, 51.4, 48.2, 29.0,	ESI-MS m/z: 339 $(M+H)^+$
13		381	44.67 (活化剂)	^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.79 (dt, J = 8.0, 1.9 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.8, 1.7 Hz, 1H), 7.99 – 7.91 (m, 2H), 7.77 – 7.68 (m, 1H), 7.39 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 7.36 – 7.29 (m, 1H), 7.28 – 7.21 (m, 3H), 5.05 (s, 2H), 3.97 (d, J = 6.7 Hz, 4H), 3.38 (s, 3H), 2.64 (s, 3H).	^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 163.9, 157.6, 153.0, 150.8, 150.3, 136.2, 135.7, 134.3, 132.5, 128.9, 126.1, 125.2, 125.0, 123.2, 122.8, 121.1, 115.1, 60.9, 60.8, 57.1, 42.4, 39.6,	ESI-MS m/z: 382 $(M+H)^+$

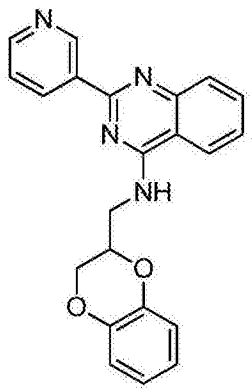
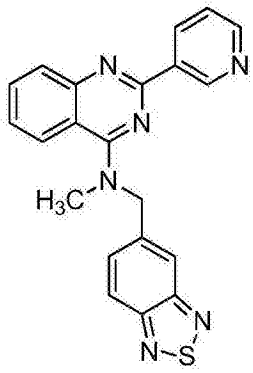
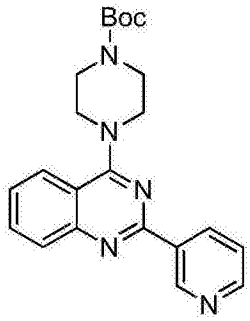
[0162]

14		383	1.12 (活化剂)	^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.80 (s, 1H), 8.84 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 8.13 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.02 (dd, J = 16.6, 8.2 Hz, 2H), 7.81 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.46 – 7.34 (m, 3H), 5.44 (s, 2H), 3.58 (s, 3H),	^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 168.5, 163.2, 157.2, 153.1, 152.8, 150.9, 150.4, 135.9, 135.8, 133.8, 132.9, 129.1, 126.2, 125.4, 125.3, 125.3, 123.3, 123.0, 121.9, 115.0, 54.8, 40.8,	ESI-MS m/z: 384 $(M+H)^+$
15		366	8.91 (活化剂)	^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.61 (s, 1H), 8.66 (dt, J = 8.0, 1.9 Hz, 1H), 8.61 – 8.48 (m, 1H), 8.03 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.79 – 7.68 (m, 1H), 7.57 (brs, 2H), 7.46 – 7.33 (m, 1H), 7.26 – 7.20 (m, 3H), 5.27 (s, 2H), 3.47 (s, 3H),	^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 163.4, 156.9, 152.9, 151.1, 150.7, 149.5, 135.5, 133.7, 133.2, 128.9, 125.6, 125.5, 123.4, 122.8, 114.9, 50.5, 40.7,	ESI-MS m/z: 367 $(M+H)^+$
16		356	3.13 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (s, 1H), 8.79 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.67 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.74 – 7.63 (m, 1H), 7.43 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.38 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 7.35 – 7.30 (m, 1H), 7.30 – 7.23 (m, 1H), 7.00 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 5.00 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.38 (s, 3H),	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.1, 157.5, 152.8, 150.7, 150.3, 135.7, 134.4, 132.3, 128.7, 128.6, 127.6, 125.2, 125.2, 124.8, 123.2, 120.8, 115.2, 110.3, 55.3, 53.3, 39.4,	ESI-MS m/z: 357 $(M+H)^+$

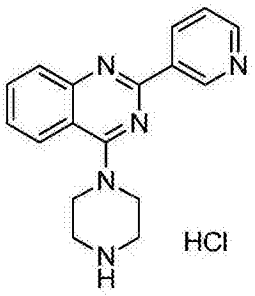
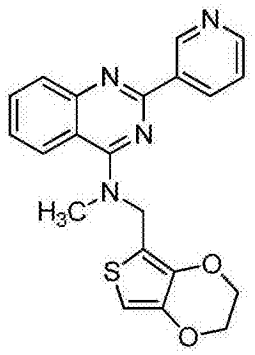
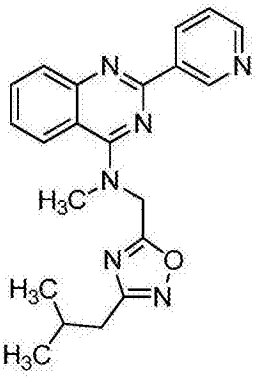
[0163]

17		376	1.56 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.77 (s, 1H), 8.83 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 7.99 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.95 – 7.78 (m, 4H), 7.78 – 7.67 (m, 1H), 7.58 – 7.44 (m, 3H), 7.41 (dd, J = 7.7, 4.9 Hz, 1H), 7.37 – 7.28 (m, 1H), 5.23 (s, 2H), 3.45 (s, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.0, 157.5, 152.9, 150.8, 150.3, 135.8, 134.9, 134.3, 133.6, 133.0, 132.6, 129.0, 128.9, 127.9, 126.6, 126.1, 125.9, 125.3, 125.2, 125.1, 123.3, 115.1, 57.4, 39.7.	ESI-MS m/z: 377 $(M+H)^+$
18		367	11.22 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.66 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.73 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.65 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.21 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.99 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.82 – 7.75 (m, 1H), 7.75 – 7.70 (m, 1H), 7.59 – 7.51 (m, 1H), 7.50 – 7.44 (m, 1H), 7.38 – 7.30 (m, 3H), 5.25 (s, 2H), 3.71 (s, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 163.5, 163.1, 157.2, 153.0, 150.9, 150.7, 150.1, 141.1, 135.9, 134.0, 132.9, 129.1, 125.4, 125.3, 125.3, 124.7, 123.3, 120.2, 115.1, 110.8, 50.4, 41.7.	ESI-MS m/z: 368 $(M+H)^+$
19		384	3.98 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (s, 1H), 8.79 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.67 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 7.95 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 7.74 – 7.66 (m, 1H), 7.39 (dd, J = 7.7, 4.9 Hz, 1H), 7.36 – 7.30 (m, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.89 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.27 (s, 4H), 3.37 (s, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 163.8, 157.5, 153.0, 150.8, 150.3, 144.0, 143.1, 135.7, 134.3, 132.5, 130.6, 128.9, 125.2, 124.9, 123.2, 120.3, 117.7, 116.1, 115.1, 64.5, 64.4, 56.5, 39.5.	ESI-MS m/z: 385 $(M+H)^+$

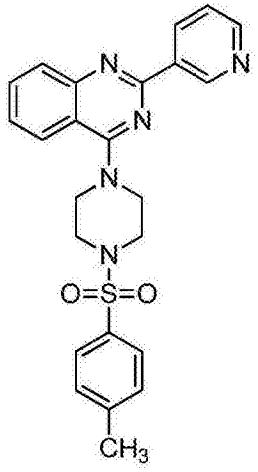
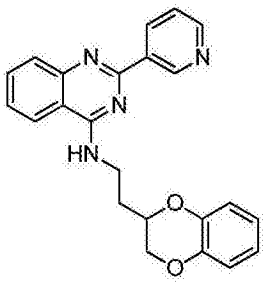
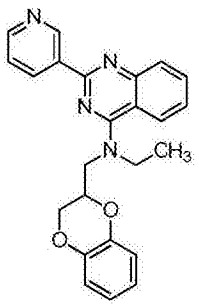
[0164]

20		370	7.94 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.79 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.70 (dd, J = 4.7, 1.6 Hz, 1H), 7.99 – 7.90 (m, 1H), 7.82 – 7.75 (m, 2H), 7.54 – 7.47 (m, 1H), 7.42 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 6.98 – 6.92 (m, 1H), 6.92 – 6.82 (m, 3H), 6.23 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 4.66 – 4.60 (m, 1H), 4.43 (dd, J = 11.5, 2.3 Hz, 1H), 4.24 (ddd, J = 14.3, 6.1, 4.3 Hz, 1H), 4.16 – 4.08 (m, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.9, 158.5, 150.9, 150.5, 150.2, 143.2, 142.8, 135.7, 134.3, 133.1, 129.1, 126.3, 123.3, 121.8, 120.8, 117.4, 117.4, 113.9, 71.9, 66.0, 41.5,	ESI-MS m/z: 371 $(M+H)^+$
21		384	3.55 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.70 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.77 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.67 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.07 – 8.02 (m, 2H), 8.00 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 7.79 – 7.70 (m, 1H), 7.64 (dd, J = 9.1, 1.4 Hz, 1H), 7.43 – 7.32 (m, 2H), 5.24 (s, 2H), 3.49 (s, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 163.9, 157.5, 155.2, 154.6, 153.1, 150.9, 150.3, 139.7, 135.7, 134.1, 132.8, 129.5, 129.2, 125.2, 125.0, 123.3, 122.2, 119.2, 115.1, 56.8, 40.3,	ESI-MS m/z: 385 $(M+H)^+$
22		391	10.00 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.72 (s, 1H), 8.82 – 8.75 (m, 1H), 8.69 (dd, J = 4.7, 1.6 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.83 – 7.73 (m, 1H), 7.50 – 7.43 (m, 1H), 7.43 – 7.36 (m, 1H), 3.84 (d, J = 4.6 Hz, 4H), 3.75 – 3.65 (m, 4H), 1.50 (d, J = 1.6 Hz, 9H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 165.0, 157.6, 154.9, 152.8, 151.0, 150.3, 135.7, 134.0, 132.9, 129.2, 125.7, 124.8, 123.3, 115.6, 80.3, 49.9, 43.9, 28.5	ESI-MS m/z: 392 $(M+H)^+$

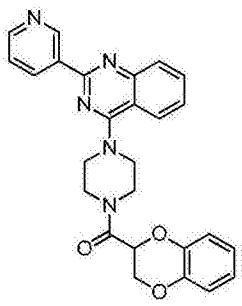
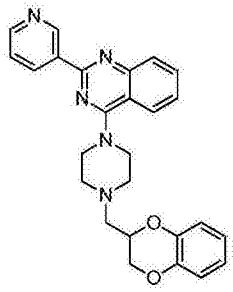
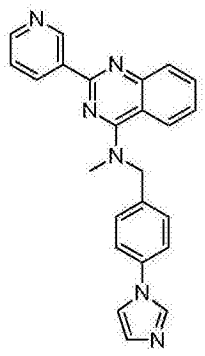
[0165]

23		327	35.48 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) δ 9.61 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 9.31 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 9.01 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 8.26 (dd, J = 8.1, 5.9 Hz, 1H), 8.16 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.06 – 7.99 (m, 1H), 7.96 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.75 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 4.57 – 4.48 (m, 4H), 3.57 – 3.48 (m, 4H)。	^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 163.5, 151.2, 145.6, 144.6, 142.6, 142.1, 136.8, 131.6, 128.6, 127.7, 126.6, 120.4, 112.0, 45.9, 42.8	ESI-MS m/z: 292 $(M+H)^+$
24		390	2.00 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.82 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 8.87 (dt, J = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 8.69 (dd, J = 4.7, 1.5 Hz, 1H), 8.09 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.78 – 7.65 (m, 1H), 7.45 – 7.32 (m, 2H), 6.23 (s, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.25 (d, J = 4.7 Hz, 2H), 4.23 – 4.18 (m, 2H), 3.45 (s, 3H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 163.5, 157.4, 153.0, 150.8, 150.6, 141.1, 140.2, 135.9, 134.1, 132.5, 128.9, 125.6, 124.7, 123.2, 115.1, 113.2, 99.1, 64.9, 64.8, 47.0, 39.9	ESI-MS m/z: 391 $(M+H)^+$
25		374	35.48 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.60 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.66 (dd, J = 4.8, 1.7 Hz, 1H), 8.63 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.14 (dd, J = 8.4, 0.7 Hz, 1H), 7.98 (dd, J = 8.4, 0.7 Hz, 1H), 7.77 (ddd, J = 8.3, 7.0, 1.3 Hz, 1H), 7.47 (ddd, J = 8.3, 7.0, 1.2 Hz, 1H), 7.36 (ddd, J = 7.9, 4.8, 0.7 Hz, 1H), 5.11 (s, 2H), 3.70 (s, 3H), 2.59 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 2.16 – 2.05 (m, 1H), 0.90 (d, J = 6.7 Hz, 6H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 176.2, 170.1, 163.2, 157.2, 153.0, 150.9, 150.2, 135.6, 133.7, 132.9, 129.2, 125.4, 125.2, 123.2, 115.0, 48.8, 42.2, 34.7, 27.1, 22.3,	ESI-MS m/z: 375 $(M+H)^+$

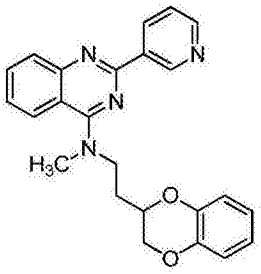
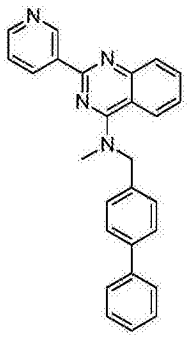
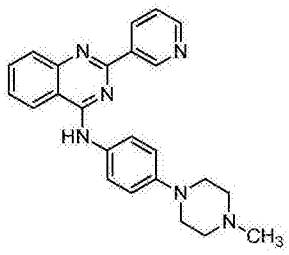
[0166]

26		445	1.00 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.66 (s, 1H), 8.75 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.77 – 7.72 (m, 1H), 7.68 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.50 – 7.37 (m, 2H), 7.33 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 3.94 (brs, 4H), 3.25 (brs, 4H), 2.41 (s, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.6, 157.4, 152.7, 150.9, 150.0, 144.1, 135.8, 133.9, 133.1, 132.5, 130.0, 129.3, 127.9, 125.9, 124.6, 123.4, 115.4, 49.2, 45.8, 21.6,	ESI-MS m/z: 446 $(M+H)^+$
27		384	0.60 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.76 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.81 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.69 (dd, J = 4.8, 1.7 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.79 – 7.72 (m, 2H), 7.56 – 7.44 (m, 1H), 7.40 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 6.99 – 6.81 (m, 4H), 6.36 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 4.45 – 4.37 (m, 1H), 4.28 (dd, J = 11.3, 2.2 Hz, 1H), 4.18 – 4.09 (m, 1H), 4.09 – 3.98 (m, 2H), 2.28 – 2.19 (m, 1H), 2.15 – 2.05 (m, 1H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.7, 158.7, 150.9, 150.4, 150.3, 143.3, 142.9, 135.7, 134.4, 132.9, 129.1, 126.1, 123.2, 121.8, 121.8, 120.6, 117.4, 117.3, 114.0, 72.4, 67.9, 38.4, 30.1,	ESI-MS m/z: 385 $(M+H)^+$
28		398	2.82 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.68 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 8.75 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.69 (dd, J = 4.7, 1.6 Hz, 1H), 7.98 (dd, J = 13.2, 8.4 Hz, 2H), 7.80 – 7.68 (m, 1H), 7.50 – 7.35 (m, 2H), 6.93 – 6.75 (m, 4H), 4.86 – 4.73 (m, 1H), 4.36 (dd, J = 11.4, 2.3 Hz, 1H), 4.23 – 4.11 (m, 2H), 4.06 – 3.81 (m, 3H), 1.50 (t, J = 7.1 Hz, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 163.4, 157.2, 152.9, 150.9, 150.1, 143.2, 142.8, 135.6, 134.2, 132.7, 129.2, 125.3, 124.7, 123.4, 121.9, 121.6, 117.5, 117.3, 115.5, 71.5, 66.2, 50.3, 49.2, 14.2,	ESI-MS m/z: 399 $(M+H)^+$

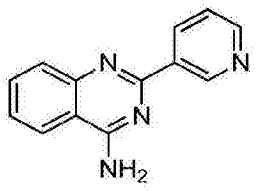
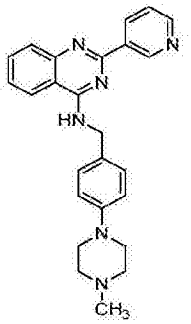
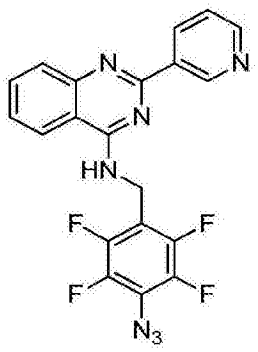
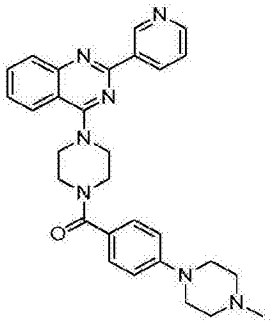
[0167]

29		453	2.24 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.72 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.78 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.69 (dd, J = 4.8, 1.7 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.82 – 7.74 (m, 1H), 7.53 – 7.45 (m, 1H), 7.40 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 6.97 – 6.81 (m, 4H), 4.89 (dd, J = 8.0, 2.5 Hz, 1H), 4.52 (dd, J = 11.9, 2.5 Hz, 1H), 4.37 (dd, J = 11.9, 8.0 Hz, 1H), 4.13 – 3.70 (m, 8H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 165.4, 164.9, 157.7, 152.8, 151.1, 150.3, 143.4, 142.5, 135.7, 133.9, 133.1, 129.4, 126.0, 124.6, 123.3, 122.5, 121.7, 117.6, 117.4, 115.6, 70.9, 65.2, 50.0, 49.7, 45.6, 42.0,	ESI-MS m/z: 454 $(M+H)^+$
30		439	3.13 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 8.79 (dt, J = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 8.69 (dd, J = 4.7, 1.4 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.77 – 7.71 (m, 1H), 7.48 – 7.36 (m, 2H), 6.97 – 6.73 (m, 4H), 4.45 – 4.31 (m, 2H), 4.18 (s, 1H), 4.06 (dd, J = 11.2, 7.1 Hz, 1H), 3.91 (t, J = 4.6 Hz, 4H), 2.91 – 2.60 (m, 5H).	164.8, 157.7, 152.8, 150.9, 150.3, 143.3, 143.1, 135.7, 134.1, 132.7, 129.1, 125.4, 125.0, 123.3, 121.7, 121.5, 117.5, 117.2, 115.6, 71.4, 66.9, 58.6, 53.9, 49.8, 49.5,	ESI-MS m/z: 440 $(M+H)^+$
31		392	19.95 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.70 (s, 1H), 8.78 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.71 – 8.62 (m, 1H), 7.98 (dd, J = 8.1, 4.7 Hz, 2H), 7.87 (s, 1H), 7.73 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.45 – 7.34 (m, 4H), 7.29 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 5.12 (s, 2H), 3.44 (s, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 163.8, 157.5, 153.1, 150.9, 150.3, 137.1, 136.8, 135.7, 135.7, 134.2, 132.7, 130.6, 129.1, 128.9, 125.1, 125.0, 123.3, 122.0, 118.3, 115.1, 56.3, 40.0,	ESI-MS m/z: 393 $(M+H)^+$

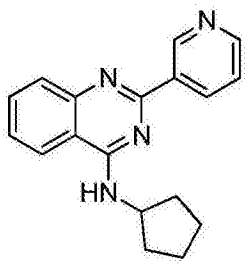
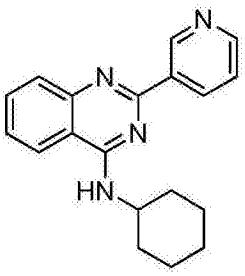
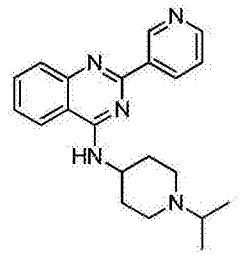
[0168]

32		398	3.16 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 8.79 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.7, 1.5 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.77 – 7.69 (m, 1H), 7.44 – 7.34 (m, 2H), 6.93 – 6.77 (m, 4H), 4.36 – 4.18 (m, 3H), 4.08 – 3.93 (m, 2H), 3.52 (s, 3H), 2.34 – 2.22 (m, 1H), 2.22 – 2.10 (m, 1H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 163.2, 157.4, 153.1, 150.8, 150.2, 143.3, 143.1, 135.7, 134.3, 132.4, 129.0, 125.5, 124.8, 123.3, 121.7, 121.6, 117.4, 117.3, 115.3, 71.1, 68.0, 49.3, 41.1, 28.7.	ESI-MS m/z: 399 $(M+H)^+$
33		402	NA	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.76 (s, 1H), 8.80 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 7.99 (dd, J = 11.9, 8.7 Hz, 2H), 7.73 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.68 – 7.55 (m, 5H), 7.50 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.45 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.42 – 7.32 (m, 3H), 5.12 (s, 2H), 3.43 (s, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.0, 157.6, 153.0, 150.8, 150.4, 140.7, 140.6, 136.5, 135.7, 134.3, 132.5, 129.0, 128.9, 127.8, 127.7, 127.5, 127.1, 125.2, 125.0, 123.2, 115.1, 56.8, 39.7.	
34		396	NA	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.71 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.77 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.67 (dd, J = 4.7, 1.5 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.80 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.52 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.40 (dd, J = 7.8, 4.8 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 3.32 – 3.15 (m, 4H), 2.68 – 2.53 (m, 4H), 2.37 (s, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 158.7, 157.7, 150.9, 150.4, 148.5, 135.8, 134.3, 133.0, 130.5, 129.3, 126.4, 123.3, 123.1, 120.4, 116.5, 114.1, 55.2, 49.5, 46.3.	ESI-MS m/z: 397 $(M+H)^+$

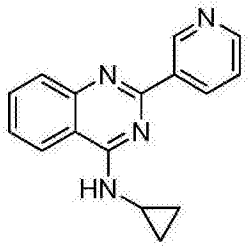
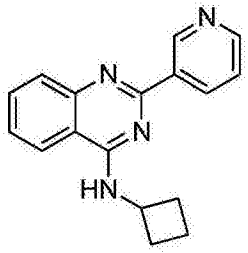
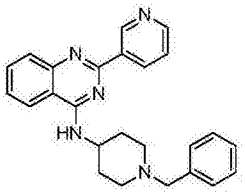
[0169]

35		222	弱 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, d6-DMSO) δ 9.59 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.71 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.7, 1.5 Hz, 1H), 8.29 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.98 (brs, 2H), 7.83 – 7.73 (m, 2H), 7.57 – 7.45 (m, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 162.6, 158.6, 151.0, 150.6, 149.6, 135.4, 134.3, 133.6, 128.1, 126.0, 124.1, 123.8, 113.9.	ESI-MS m/z: 223 $(M+H)^+$
36		410	39.81 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.77 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.82 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.8, 1.5 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.78 – 7.71 (m, 1H), 7.69 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.47 – 7.38 (m, 2H), 7.35 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.92 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.03 (s, 1H), 4.89 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 3.27 – 3.11 (m, 4H), 2.64 – 2.47 (m, 4H), 2.34 (s, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.5, 158.8, 151.0, 150.8, 150.5, 150.4, 135.8, 134.5, 132.8, 129.3, 129.1, 129.0, 125.9, 123.2, 120.7, 116.2, 113.9, 55.1, 49.1, 46.2, 45.1.	ESI-MS m/z: 411 $(M+H)^+$
37		425	弱 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.76 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.82 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.71 (dd, J = 4.8, 1.7 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.82 – 7.76 (m, 1H), 7.74 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.54 – 7.46 (m, 1H), 7.43 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 6.23 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 5.13 (d, J = 6.0 Hz, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.1, 158.6, 151.0, 150.5, 150.3, 135.7, 134.2, 133.2, 129.2, 126.4, 123.3, 120.5, 113.8, 33.4.	ESI-MS m/z: 426 $(M+H)^+$
38		493	弱 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.70 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.77 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.7, 1.6 Hz, 1H), 7.99 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.81 – 7.72 (m, 1H), 7.51 – 7.44 (m, 1H), 7.44 – 7.35 (m, 3H), 6.91 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.89 (s, 8H), 3.35 – 3.22 (m, 4H), 2.61 – 2.51 (m, 4H), 2.35 (s, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 171.1, 165.0, 157.6, 152.7, 152.5, 151.0, 150.2, 135.7, 133.9, 133.0, 129.3, 129.2, 125.8, 125.0, 124.7, 123.3, 115.6, 114.7, 54.9, 50.0, 48.2, 46.2, 46.0.	ESI-MS m/z: 494 $(M+H)^+$

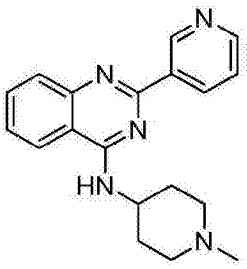
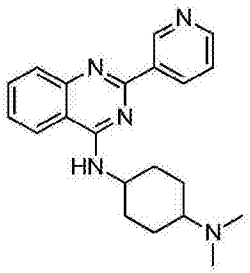
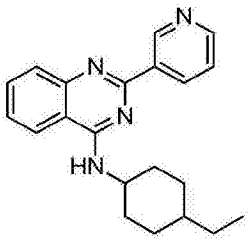
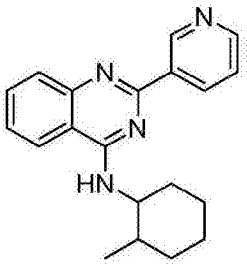
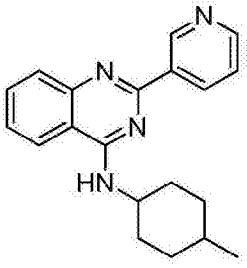
[0170]

39		290	0.79 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.76 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.81 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.8, 1.7 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.76 – 7.71 (m, 1H), 7.70 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.46 – 7.42 (m, 1H), 7.40 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 5.73 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 4.80 – 4.72 (m, 1H), 2.34 – 2.25 (m, 2H), 1.86 – 1.71 (m, 4H), 1.67 – 1.59 (m, 2H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.4, 158.8, 150.7, 150.4, 150.3, 135.7, 134.6, 132.7, 129.0, 125.8, 123.2, 120.6, 113.9, 53.2, 33.4, 24.1,	ESI-MS m/z: 291 $(M+H)^+$
40		304	0.177 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.74 (s, 1H), 8.84 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.95 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.74 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 7.49 – 7.35 (m, 2H), 5.77 (s, 1H), 4.48 – 4.32 (m, 1H), 2.28 – 2.20 (m, 2H), 1.93 – 1.79 (m, 2H), 1.79 – 1.67 (m, 1H), 1.61 – 1.46 (m, 2H), 1.46 – 1.23 (m, 3H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 158.9, 158.8, 150.7, 150.5, 150.3, 135.7, 134.6, 132.7, 129.0, 125.8, 123.2, 120.5, 113.9, 50.1, 33.0, 25.9, 25.1,	ESI-MS m/z: 305 $(M+H)^+$
41		347	35.48 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.79 (dt, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.6, 1.2 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.77 – 7.73 (m, 1H), 7.71 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.49 – 7.43 (m, 1H), 7.41 (dd, J = 7.8, 4.8 Hz, 1H), 5.68 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 4.49 – 4.35 (m, 1H), 2.99 (d, J = 11.1 Hz, 2H), 2.90 – 2.79 (m, 1H), 2.47 (t, J = 11.6 Hz, 2H), 2.28 (d, J = 11.5 Hz, 2H), 1.80 – 1.66 (m, 2H), 1.13 (d, J = 6.4 Hz, 6H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.0, 158.7, 150.8, 150.5, 150.4, 135.7, 134.5, 132.8, 129.0, 125.9, 123.3, 120.6, 113.9, 54.9, 48.7, 47.8, 32.3, 18.4,	ESI-MS m/z: 348 $(M+H)^+$

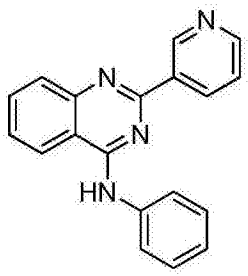
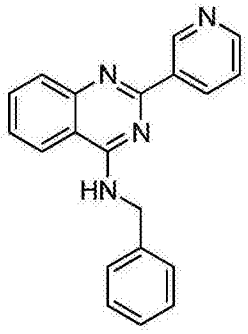
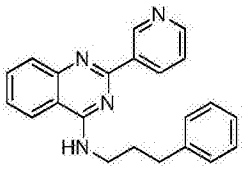
[0171]

42		262	39.81 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.81 (s, 1H), 8.89 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.70 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.77 – 7.73 (m, 1H), 7.71 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.47 – 7.36 (m, 2H), 6.14 (s, 1H), 3.17 (td, J = 6.9, 3.1 Hz, 1H), 1.07 – 0.95 (m, 2H), 0.79 – 0.67 (m, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 160.9, 158.9, 150.8, 150.5, 150.4, 135.8, 134.5, 132.8, 129.0, 126.0, 123.2, 120.6, 113.9, 24.5, 7.5,	ESI-MS m/z: 263 $(M+H)^+$
43		276	4.47 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (s, 1H), 8.87 – 8.79 (m, 1H), 8.69 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 7.93 (dd, J = 8.0, 4.1 Hz, 1H), 7.74 (t, J = 8.2 Hz, 2H), 7.47 – 7.43 (m, 1H), 7.43 – 7.39 (m, 1H), 6.03 (s, 1H), 4.96 – 4.97 (m, 1H), 2.66 – 2.54 (m, 2H), 2.16 – 2.03 (m, 2H), 1.96 – 1.85 (m, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 158.8, 150.7, 150.5, 150.4, 135.7, 134.5, 132.8, 129.0, 125.9, 123.2, 120.6, 113.7, 46.8, 31.4, 15.6,	ESI-MS m/z: 277 $(M+H)^+$
44		395	31.62 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.72 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.78 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.69 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.77 – 7.72 (m, 1H), 7.71 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.50 – 7.43 (m, 1H), 7.41 (dd, J = 7.8, 5.0 Hz, 1H), 7.39 – 7.27 (m, 5H), 5.66 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 4.49 – 4.37 (m, 1H), 3.62 (s, 2H), 2.98 (d, J = 10.6 Hz, 2H), 2.38 – 2.29 (m, 2H), 2.24 (d, J = 11.4 Hz, 2H), 1.81 – 1.69 (m, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.0, 158.7, 150.8, 150.5, 150.3, 135.6, 134.5, 132.8, 129.4, 129.0, 128.4, 127.4, 125.9, 123.2, 120.6, 113.9, 63.2, 52.5, 48.4, 32.0,	ESI-MS m/z: 396 $(M+H)^+$

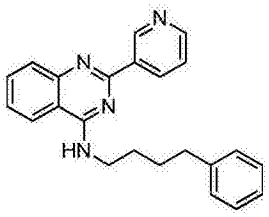
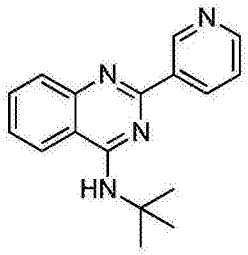
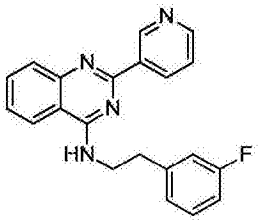
[0172]

45		319	弱 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.72 (s, 1H), 8.78 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.73 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.49 – 7.34 (m, 3H), 5.73 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 4.48 – 4.30 (m, 1H), 2.91 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.32 – 2.17 (m, 4H), 1.72 (m, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.0, 158.7, 150.8, 150.4, 150.3, 135.6, 134.5, 132.8, 129.0, 125.9, 123.2, 120.7, 113.9, 54.7, 48.0, 46.3, 32.1,	ESI-MS m/z: 320 $(M+H)^+$
46		347	NA	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.70 (s, 1H), 8.76 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.65 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.75 – 7.66 (m, 1H), 7.42 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.37 (dd, J = 7.5, 4.9 Hz, 1H), 6.02 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 4.64 (s, 1H), 2.38 (s, 6H), 2.30 (s, 1H), 2.05 (s, 2H), 1.83 (s, 6H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.0, 158.6, 150.6, 150.3, 150.2, 135.7, 134.6, 132.7, 128.8, 125.9, 123.2, 120.8, 114.0, 62.2, 46.0, 42.5, 27.9, 25.6,	ESI-MS m/z: 348 $(M+H)^+$
47		332	0.126 (抑制剂)	3:2 异构体混合物		ESI-MS m/z: 333 $(M+H)^+$
48		318	0.089 (抑制剂)	2:1 异构体混合物		ESI-MS m/z: 319 $(M+H)^+$
49		318	0.056 (抑制剂)	顺式: 反式=3:2 异构体混合物		ESI-MS m/z: 319 $(M+H)^+$

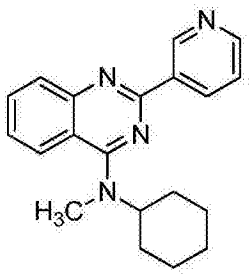
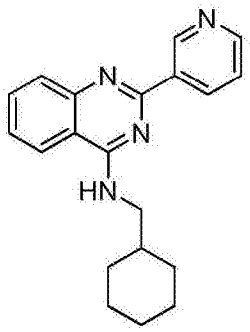
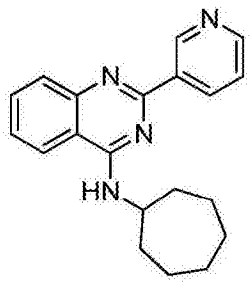
[0173]

50		298	弱 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.82 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.70 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.01 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.84 – 7.80 (m, 1H), 7.69 (brs, 1H), 7.61 – 7.52 (m, 1H), 7.50 – 7.45 (m, 2H), 7.43 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 7.21 (t, J = 7.4 Hz, 1H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 158.4, 157.6, 150.8, 150.7, 150.2, 138.4, 136.1, 134.2, 133.3, 129.3, 129.2, 126.8, 124.6, 123.4, 121.6, 120.5, 114.1	ESI-MS m/z: 299 $(M+H)^+$
51		312	7.08 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.56 (s, 1H), 8.61 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.47 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.58 – 7.44 (m, 1H), 7.28 – 7.18 (m, 4H), 7.18 – 7.13 (m, 2H), 7.13 – 7.07 (m, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.78 (d, J = 5.4 Hz, 2H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.6, 158.7, 150.6, 150.4, 150.2, 138.5, 135.8, 134.5, 132.8, 128.8, 128.0, 127.7, 126.0, 123.2, 120.9, 113.9, 45.4,	ESI-MS m/z: 313 $(M+H)^+$
52		340	1.78 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.74 (s, 1H), 8.76 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.78 – 7.66 (m, 1H), 7.53 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.45 – 7.34 (m, 2H), 7.33 – 7.27 (m, 2H), 7.25 – 7.19 (m, 3H), 5.94 (s, 1H), 3.89 – 3.75 (m, 2H), 2.81 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.13 (p, J = 7.2 Hz, 2H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.7, 158.7, 150.7, 150.3, 150.2, 141.6, 135.8, 134.5, 132.7, 128.8, 128.7, 128.5, 126.2, 125.8, 123.2, 120.6, 113.9, 41.2, 33.7, 30.7,	ESI-MS m/z: 341 $(M+H)^+$

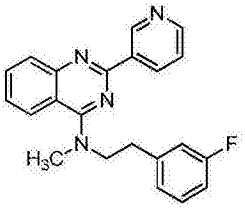
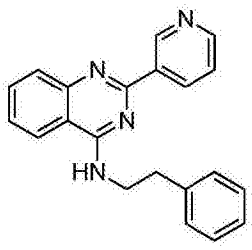
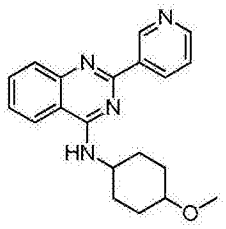
[0174]

53		354	1.58 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (s, 1H), 8.81 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.77 – 7.71 (m, 1H), 7.70 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.51 – 7.35 (m, 2H), 7.28 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.23 – 7.10 (m, 3H), 5.90 (s, 1H), 3.89 – 3.70 (m, 2H), 2.72 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 1.90 – 1.75 (m, 4H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.7, 158.7, 150.8, 150.3, 150.1, 142.1, 135.8, 134.4, 132.8, 128.8, 128.5, 128.5, 126.0, 125.9, 123.3, 120.6, 113.9, 41.4, 35.7, 29.0, 28.9,	ESI-MS m/z: 355 $(M+H)^+$
54		278	弱 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.74 (s, 1H), 8.82 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.73 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.48 – 7.40 (m, 2H), 5.70 (s, 1H), 1.69 (s, 9H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.1, 158.2, 150.7, 150.3, 150.0, 135.8, 134.6, 132.6, 129.0, 125.9, 123.3, 120.5, 114.3, 52.9, 29.0,	ESI-MS m/z: 279 $(M+H)^+$
55		344	0.141 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.76 (s, 1H), 8.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.71 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.78 – 7.72 (m, 1H), 7.71 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.48 – 7.40 (m, 2H), 7.33 – 7.26 (m, 1H), 7.06 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 6.97 – 6.92 (m, 1H), 6.35 (brs, 1H), 4.07 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 3.12 (t, J = 7.0 Hz, 2H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.1, 162.2, 159.7, 158.3, 150.9, 150.1, 149.2, 141.6, 141.5, 136.1, 133.8, 133.2, 130.4, 130.3, 128.2, 126.3, 124.6, 123.4, 120.9, 115.9, 115.7, 113.8, 113.8, 113.6, 42.5, 35.2,	ESI-MS m/z: 345 $(M+H)^+$

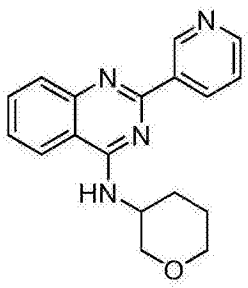
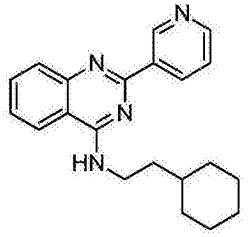
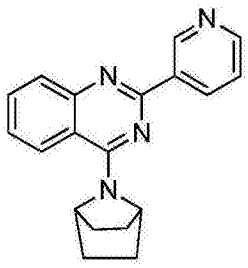
[0175]

56		318	5.01 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.72 (s, 1H), 8.79 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.67 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.70 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.47 – 7.29 (m, 2H), 4.52 (t, J = 11.8 Hz, 1H), 3.28 (s, 3H), 2.01 (d, J = 11.5 Hz, 2H), 1.92 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 1.81 – 1.58 (m, 3H), 1.58 – 1.34 (m, 2H), 1.29 – 1.10 (m, 1H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 163.8, 157.3, 153.0, 150.7, 150.3, 135.7, 134.4, 132.2, 128.7, 125.5, 124.4, 123.2, 115.4, 59.9, 34.3, 30.1, 26.0, 25.8,	ESI-MS m/z: 319 $(M+H)^+$
57		318	0.354 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (s, 1H), 8.81 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.79 – 7.65 (m, 2H), 7.50 – 7.34 (m, 2H), 5.98 (s, 1H), 3.65 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 1.87 (d, J = 12.6 Hz, 2H), 1.82 – 1.61 (m, 4H), 1.32 – 1.18 (m, 3H), 1.14 – 1.04 (m, 1H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.9, 158.8, 150.7, 150.3, 135.7, 134.6, 132.7, 128.9, 125.8, 123.2, 120.5, 114.0, 47.6, 38.0, 31.3, 26.5, 26.0,	ESI-MS m/z: 319 $(M+H)^+$
58		318	0.063 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (s, 1H), 8.82 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.68 (s, 1H), 7.93 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.78 – 7.65 (m, 2H), 7.50 – 7.37 (m, 2H), 5.76 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.64 – 4.46 (m, 1H), 2.25 – 2.12 (m, 2H), 1.83 – 1.52 (m, 10H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 158.7, 158.6, 150.7, 150.3, 150.2, 135.8, 134.5, 132.7, 128.8, 125.9, 123.3, 120.6, 113.9, 52.3, 34.9, 28.3, 24.6,	ESI-MS m/z: 319 $(M+H)^+$

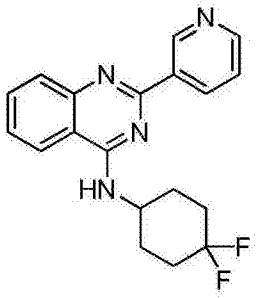
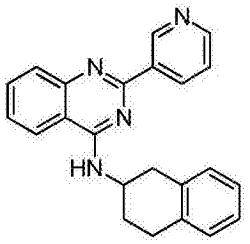
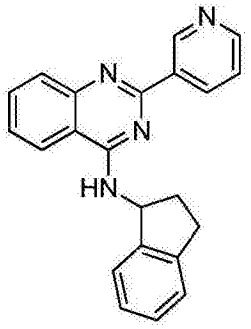
[0176]

59		358	4.47 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (s, 1H), 8.90 (brs, 1H), 8.72 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 8.06 (brs, 1H), 7.99 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.75 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.46 (dd, J = 7.8, 4.9 Hz, 1H), 7.44 – 7.39 (m, 1H), 7.30 – 7.27 (m, 1H), 7.05 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 6.93 (td, J = 8.5, 2.3 Hz, 1H), 4.19 – 4.04 (m, 2H), 3.46 (s, 3H), 3.23 – 3.10 (m, 2H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.1, 163.1, 162.1, 150.7, 150.0, 136.3, 132.8, 130.3, 130.3, 125.4, 125.0, 124.6, 123.5, 115.9, 115.7, 113.7, 113.6, 54.8, 41.2, 33.4,	ESI-MS m/z: 359 $(M+H)^+$
60		326	0.112 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.79 (s, 1H), 8.85 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.94 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.78 – 7.69 (m, 1H), 7.60 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.46 – 7.39 (m, 2H), 7.38 – 7.31 (m, 2H), 7.30 – 7.25 (m, 3H), 5.98 (s, 1H), 4.11 – 3.99 (m, 2H), 3.11 (t, J = 6.9 Hz, 2H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.6, 158.7, 150.8, 150.3, 150.2, 139.0, 135.8, 134.4, 132.9, 129.0, 128.9, 126.8, 126.0, 123.3, 120.5, 113.9, 42.6, 35.4,	ESI-MS m/z: 327 $(M+H)^+$
61		334	0.251 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (s, 1H), 8.81 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 8.70 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.81 – 7.57 (m, 2H), 7.52 – 7.32 (m, 2H), 5.69 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 4.52 – 4.27 (m, 1H), 3.40 (s, 3H), 3.31 – 3.13 (m, 1H), 2.35 (d, J = 12.5 Hz, 2H), 2.18 (d, J = 11.3 Hz, 2H), 1.61 – 1.22 (m, 4H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.1, 158.7, 150.8, 150.3, 135.8, 134.3, 132.8, 128.9, 125.9, 123.3, 120.6, 113.8, 78.4, 56.0, 49.7, 30.6, 30.4,	ESI-MS m/z: 335 $(M+H)^+$

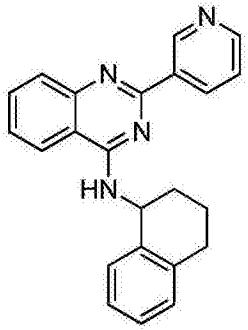
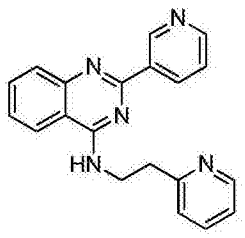
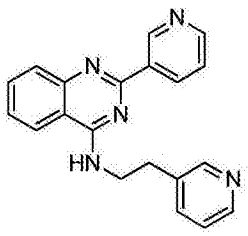
[0177]

62		306	0.891 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.72 (s, 1H), 8.80 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.78 – 7.73 (m, 1H), 7.50 – 7.44 (m, 1H), 7.41 (dd, J = 7.8, 4.8 Hz, 1H), 6.18 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 4.68 – 4.59 (m, 1H), 4.01 (dd, J = 11.5, 2.7 Hz, 1H), 3.89 – 3.80 (m, 1H), 3.80 – 3.66 (m, 2H), 2.08 – 2.00 (m, 3H), 1.95 – 1.83 (m, 1H), 1.73 – 1.61 (m, 1H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.0, 158.6, 150.7, 150.3, 150.2, 135.9, 134.4, 133.0, 128.9, 126.1, 123.3, 120.7, 113.9, 71.5, 68.6, 46.5, 27.8, 23.0.	ESI-MS m/z: 307 $(M+H)^+$
63		332	0.282 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.76 (s, 1H), 8.86 – 8.78 (m, 1H), 8.69 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 7.92 (dd, J = 7.9, 5.4 Hz, 1H), 7.79 – 7.67 (m, 2H), 7.48 – 7.37 (m, 2H), 5.84 (s, 1H), 3.86 – 3.75 (m, 2H), 1.83 (d, J = 12.3 Hz, 2H), 1.76 – 1.60 (m, 5H), 1.50 – 1.38 (m, 1H), 1.33 – 1.12 (m, 3H), 1.08 – 0.96 (m, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.7, 158.8, 150.7, 150.4, 150.3, 135.8, 135.7, 134.5, 132.8, 132.7, 128.9, 128.9, 125.9, 123.2, 120.6, 114.0, 39.4, 37.0, 35.7, 33.4, 26.6, 26.3.	ESI-MS m/z: 333 $(M+H)^+$
64		302	2.24 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (s, 1H), 8.83 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.81 – 7.70 (m, 1H), 7.51 – 7.44 (m, 1H), 7.41 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 4.90 (s, 2H), 2.07 – 1.92 (m, 4H), 1.59 (d, J = 7.1 Hz, 4H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 162.5, 158.0, 151.7, 150.8, 150.3, 135.8, 134.2, 132.8, 128.6, 125.6, 125.0, 123.3, 116.5, 60.1, 29.3.	ESI-MS m/z: 303 $(M+H)^+$

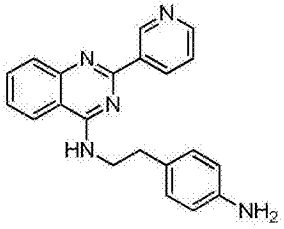
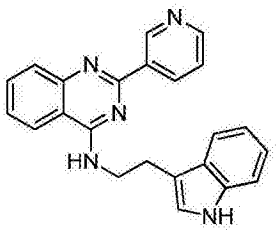
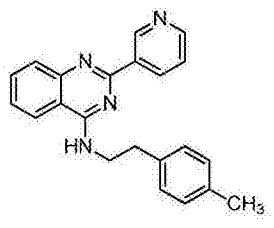
[0178]

65		340	0.316 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.72 (s, 1H), 8.80 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.70 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.80 – 7.75 (m, 1H), 7.73 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.47 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.43 (dd, J = 7.7, 4.8 Hz, 1H), 5.70 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 4.60 – 4.45 (m, 1H), 2.32 (d, J = 12.6 Hz, 2H), 2.28 – 2.12 (m, 2H), 2.12 – 1.93 (m, 2H), 1.85 – 1.70 (m, 2H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.1, 158.5, 150.8, 150.3, 150.1, 135.8, 134.3, 133.1, 129.0, 126.2, 123.6 (q, J_{C-F} = 241 Hz), 123.4, 120.5, 113.8, 48.1, 32.5 (t, J_{C-F} = 24.7 Hz), 28.6 (d, J_{C-F} = 9.2 Hz)	ESI-MS m/z: 341 $(M+H)^+$
66		352	0.006 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (s, 1H), 8.82 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.75 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.47 – 7.42 (m, 1H), 7.41 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 7.24 – 7.11 (m, 4H), 5.87 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.00 – 4.87 (m, 1H), 3.43 (dd, J = 16.2, 5.0 Hz, 1H), 3.12 – 2.88 (m, 3H), 2.40 – 2.30 (m, 1H), 2.13 – 2.01 (m, 1H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.2, 158.7, 150.8, 150.2, 135.8, 135.7, 134.3, 134.1, 132.9, 129.7, 129.1, 128.9, 126.4, 126.2, 126.0, 123.3, 120.7, 113.9, 47.1, 35.8, 28.5, 27.5。	ESI-MS m/z: 353 $(M+H)^+$
67		338	0.891 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.78 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.84 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.67 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.80 – 7.73 (m, 1H), 7.70 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.50 – 7.37 (m, 3H), 7.35 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.33 – 7.28 (m, 1H), 7.26 – 7.20 (m, 2H), 6.17 (q, J = 7.4 Hz, 1H), 6.02 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 3.12 (ddd, J = 15.8, 8.7, 4.0 Hz, 1H), 3.04 (dt, J = 16.0, 8.0 Hz, 1H), 2.92 – 2.83 (m, 1H), 2.16 – 2.01 (m, 1H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.5, 158.8, 150.8, 150.5, 150.3, 143.9, 143.4, 135.8, 134.5, 132.9, 129.0, 128.4, 127.0, 126.0, 125.2, 124.3, 123.3, 120.7, 113.8, 56.5, 34.1, 30.5。	ESI-MS m/z: 339 $(M+H)^+$

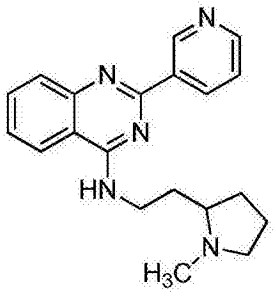
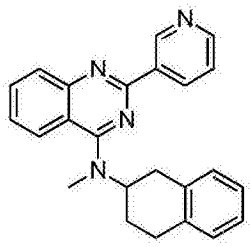
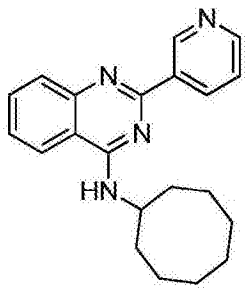
[0179]

68		352	1.12 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.78 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 8.89 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.83 – 7.73 (m, 1H), 7.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.51 – 7.41 (m, 2H), 7.39 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.25 – 7.22 (m, 1H), 7.22 – 7.15 (m, 2H), 6.02 (s, 1H), 5.94 – 5.86 (m, 1H), 3.00 – 2.80 (m, 2H), 2.34 – 2.23 (m, 1H), 2.20 – 2.12 (m, 1H), 2.00 – 1.93 (m, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.0, 158.7, 150.6, 150.2, 138.1, 136.8, 136.1, 133.0, 129.5, 129.1, 128.8, 127.7, 126.6, 126.1, 123.4, 120.7, 113.8, 49.2, 29.6, 29.5, 20.2.	ESI-MS m/z: 353 $(M+H)^+$
69		327	1.12 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.82 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.70 – 8.66 (m, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.47 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.77 – 7.72 (m, 1H), 7.68 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.46 – 7.38 (m, 2H), 7.24 (dd, J = 7.7, 4.9 Hz, 1H), 6.28 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 4.10 – 3.96 (m, 2H), 3.13 (t, J = 7.0 Hz, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.7, 158.6, 150.7, 150.2, 150.1, 148.1, 136.6, 135.8, 134.7, 134.4, 133.0, 128.9, 126.2, 123.8, 123.4, 120.7, 113.9, 42.4, 32.6.	ESI-MS m/z: 328 $(M+H)^+$
70		327	5.01 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.77 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 8.83 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.8, 1.7 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.73 (ddd, J = 8.3, 7.0, 1.3 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.46 – 7.37 (m, 2H), 7.07 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.72 – 6.62 (m, 2H), 5.96 – 5.87 (m, 1H), 4.03 – 3.94 (m, 2H), 2.98 (t, J = 6.9 Hz, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.6, 158.8, 150.7, 150.3, 145.1, 135.8, 134.5, 132.8, 129.8, 128.9, 128.8, 125.9, 123.3, 120.6, 115.6, 114.0, 42.8, 34.5.	ESI-MS m/z: 328 $(M+H)^+$

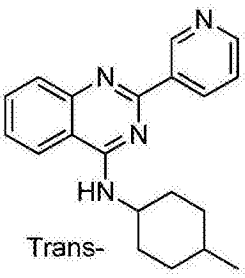
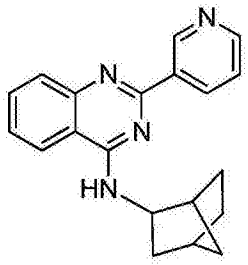
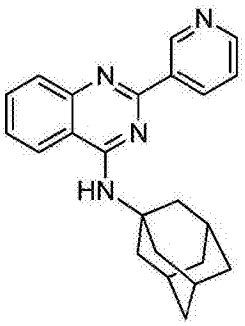
[0180]

71		341	2.00 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.74 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.80 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.66 (dd, J = 4.8, 1.7 Hz, 1H), 8.61 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.73 – 7.67 (m, 1H), 7.63 (td, J = 7.7, 1.8 Hz, 1H), 7.47 – 7.41 (m, 1H), 7.38 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.18 (dd, J = 7.4, 5.0 Hz, 1H), 4.26 – 4.03 (m, 2H), 3.30 – 3.09 (m, 2H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 160.2, 159.7, 158.8, 150.7, 150.3, 150.2, 149.2, 137.1, 135.8, 134.6, 132.7, 128.7, 125.9, 123.8, 123.2, 121.9, 121.1, 114.3, 40.7, 36.2,	ESI-MS m/z: 342 $(M+H)^+$
72		365	1.28 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.80 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 8.83 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.69 (dd, J = 4.7, 1.3 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.91 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.74 – 7.70 (m, 1H), 7.69 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.44 – 7.39 (m, 2H), 7.37 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.24 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.15 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 4.21 – 4.03 (m, 2H), 3.26 (t, J = 6.6 Hz, 2H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.7, 158.9, 150.7, 150.4, 150.3, 136.6, 135.8, 134.6, 132.8, 128.9, 127.5, 125.9, 123.3, 122.5, 122.3, 120.6, 119.7, 118.8, 114.0, 113.2, 111.5, 41.7, 25.1	ESI-MS m/z: 366 $(M+H)^+$
73		340	1.78 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.78 (s, 1H), 8.84 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.80 – 7.68 (m, 1H), 7.59 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.48 – 7.37 (m, 2H), 7.22 – 7.11 (m, 4H), 5.91 (s, 1H), 4.09 – 3.95 (m, 2H), 3.06 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.6, 158.7, 150.8, 150.3, 150.2, 136.3, 135.9, 135.8, 134.5, 132.8, 129.6, 128.9, 128.8, 126.0, 123.3, 120.5, 114.0, 42.7, 35.0, 21.1	ESI-MS m/z: 341 $(M+H)^+$

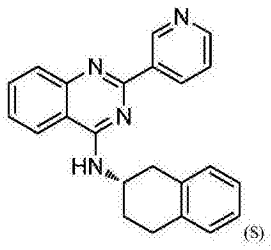
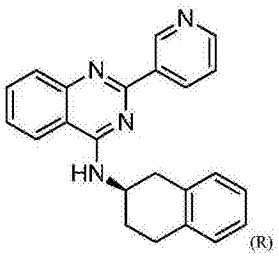
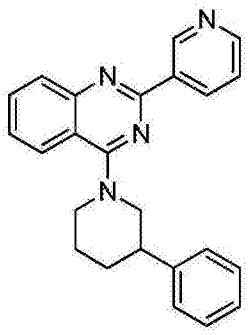
[0181]

74		333	NA	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.74 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 8.80 (dt, J = 7.9, 1.9 Hz, 2H), 8.67 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.76 – 7.65 (m, 1H), 7.61 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.47 – 7.33 (m, 2H), 4.18 – 4.02 (m, 1H), 3.78 – 3.63 (m, 1H), 3.30 – 3.13 (m, 1H), 2.63 (s, 1H), 2.48 (s, 3H), 2.37 – 2.27 (m, 1H), 2.17 – 2.04 (m, 1H), 2.04 – 1.68 (m, 6H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.8, 159.1, 150.6, 150.3, 150.3, 135.7, 134.8, 132.4, 128.7, 125.7, 123.2, 121.1, 114.6, 65.5, 57.2, 40.8, 38.5, 27.9, 27.8, 22.9	ESI-MS m/z: 334 $(M+H)^+$
75		366	1.58 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.71 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 8.80 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.67 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.07 – 7.92 (m, 2H), 7.79 – 7.66 (m, 1H), 7.45 – 7.34 (m, 2H), 7.17 (s, 4H), 5.09 – 4.95 (m, 1H), 3.38 (s, 3H), 3.24 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 3.13 – 2.99 (m, 2H), 2.30 – 2.21 (m, 1H), 2.21 – 2.08 (m, 1H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.3, 157.3, 150.7, 150.2, 135.9, 135.7, 135.2, 134.2, 132.5, 129.5, 128.9, 128.7, 126.3, 126.1, 125.4, 124.8, 123.3, 115.4, 56.6, 34.3, 32.2, 29.7, 27.2	ESI-MS m/z: 367 $(M+H)^+$
76		332	0.028 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 8.82 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.69 (dd, J = 4.7, 1.4 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.76 – 7.72 (m, 1H), 7.70 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.51 – 7.35 (m, 2H), 5.73 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 4.73 – 4.56 (m, 1H), 2.18 – 2.00 (m, 2H), 2.00 – 1.43 (m, 12H)。	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 158.8, 158.6, 150.7, 150.3, 150.2, 135.8, 134.5, 132.7, 128.9, 125.8, 123.3, 120.5, 114.0, 51.0, 32.7, 27.2, 26.1, 24.2	ESI-MS m/z: 333 $(M+H)^+$

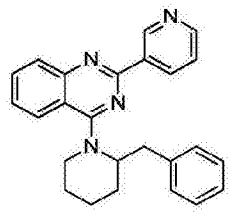
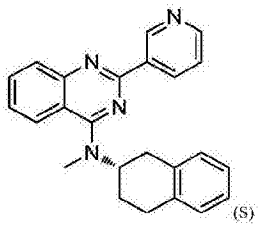
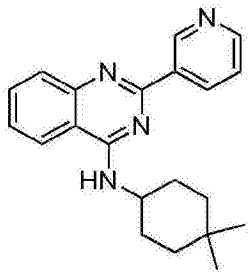
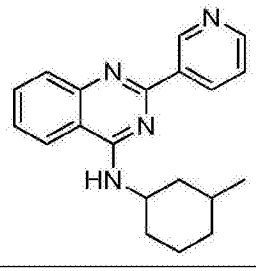
[0182]

77		318	0.020 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (s, 1H), 8.80 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.69 (s, 1H), 7.92 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.77 – 7.71 (m, 1H), 7.70 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.53 – 7.33 (m, 2H), 5.63 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 4.38 – 4.26 (m, 1H), 2.28 (d, J = 9.9 Hz, 2H), 1.84 (d, J = 12.6 Hz, 2H), 1.54 – 1.40 (m, 1H), 1.40 – 1.30 (m, 2H), 1.30 – 1.14 (m, 3H), 0.98 (d, J = 6.5 Hz, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.0, 158.8, 150.8, 150.5, 150.4, 135.7, 134.6, 132.7, 129.0, 125.7, 123.2, 120.5, 113.9, 50.4, 34.1, 33.1, 32.3, 22.3	ESI-MS m/z: 319 $(M+H)^+$
78		316	0.355 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (s, 1H), 8.82 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.75 – 7.71 (m, 1H), 7.69 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.49 – 7.35 (m, 2H), 5.64 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.27 – 4.16 (m, 1H), 2.51 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 2.39 (s, 1H), 2.05 (ddd, J = 13.2, 7.9, 2.2 Hz, 1H), 1.73 – 1.61 (m, 1H), 1.61 – 1.53 (m, 1H), 1.51 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 1.48 – 1.36 (m, 2H), 1.34 – 1.20 (m, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 158.9, 158.7, 150.7, 150.3, 150.2, 135.8, 134.5, 132.7, 128.9, 125.8, 123.3, 120.5, 113.9, 55.1, 42.1, 41.0, 36.0, 35.9, 28.3, 26.7	ESI-MS m/z: 317 $(M+H)^+$
79		356	1.12 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.73 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.83 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.69 (dd, J = 4.7, 1.5 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.80 – 7.69 (m, 1H), 7.66 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.51 – 7.32 (m, 2H), 5.58 (s, 1H), 2.38 (d, J = 2.3 Hz, 6H), 2.25 – 2.18 (m, 3H), 1.88 – 1.74 (m, 6H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.0, 158.1, 150.7, 150.3, 135.8, 134.5, 132.6, 128.9, 125.9, 123.3, 120.6, 114.2, 53.6, 41.7, 36.7, 29.7	ESI-MS m/z: 357 $(M+H)^+$

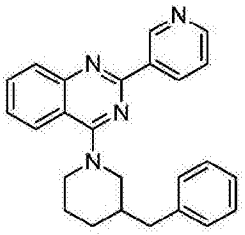
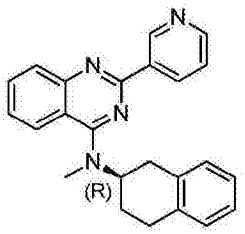
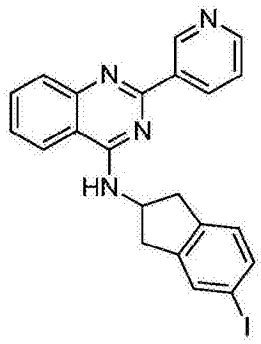
[0183]

80	 (S)	352	0.006 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (s, 1H), 8.82 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.75 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.47 – 7.42 (m, 1H), 7.41 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 1H), 7.24 – 7.11 (m, 4H), 5.87 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.00 – 4.87 (m, 1H), 3.43 (dd, J = 16.2, 5.0 Hz, 1H), 3.12 – 2.88 (m, 3H), 2.40 – 2.30 (m, 1H), 2.13 – 2.01 (m, 1H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.2, 158.7, 150.8, 150.2, 135.8, 135.7, 134.3, 134.1, 132.9, 129.7, 129.1, 128.9, 126.4, 126.2, 126.0, 123.3, 120.7, 113.9, 47.1, 35.8, 28.5, 27.5	ESI-MS m/z: 353 $(M+H)^+$
81	 (R)	352	0.010 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.75 (s, 1H), 8.82 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.75 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.47 – 7.42 (m, 1H), 7.41 (dd, J = 7.9, 4.8 Hz, 0H), 7.24 – 7.11 (m, 4H), 5.87 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.00 – 4.87 (m, 1H), 3.43 (dd, J = 16.2, 5.0 Hz, 1H), 3.12 – 2.88 (m, 3H), 2.40 – 2.30 (m, 1H), 2.13 – 2.01 (m, 1H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.2, 158.7, 150.8, 150.2, 135.8, 135.7, 134.3, 134.1, 132.9, 129.7, 129.1, 128.9, 126.4, 126.2, 126.0, 123.3, 120.7, 113.9, 47.1, 35.8, 28.5, 27.5	ESI-MS m/z: 353 $(M+H)^+$
82		366	弱 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.68 (s, 1H), 8.73 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.61 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 7.87 (dd, J = 17.0, 8.3 Hz, 2H), 7.66 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.38 – 7.27 (m, 4H), 7.26 – 7.18 (m, 3H), 4.58 – 4.45 (m, 2H), 3.24 – 3.13 (m, 2H), 3.08 – 2.98 (m, 1H), 2.12 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 1.96 – 1.73 (m, 3H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 165.0, 157.7, 152.8, 150.8, 150.3, 143.5, 135.7, 134.3, 132.6, 129.0, 128.8, 127.2, 126.9, 125.3, 125.2, 123.2, 115.8, 56.6, 50.8, 42.8, 32.2, 25.9	ESI-MS m/z: 367 $(M+H)^+$

[0184]

83		380	2.24 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.72 (s, 1H), 8.76 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.40 (dd, J = 7.8, 4.9 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.22 – 7.08 (m, 5H), 5.03 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 4.30 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 3.68 – 3.55 (m, 1H), 3.26 (dd, J = 13.5, 6.6 Hz, 1H), 3.09 (dd, J = 13.5, 8.8 Hz, 1H), 2.05 – 1.54 (m, 6H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 165.2, 157.7, 152.9, 150.7, 150.4, 139.0, 135.7, 134.5, 132.4, 129.2, 128.8, 128.5, 126.4, 125.1, 124.7, 123.2, 115.6, 58.0, 45.4, 35.8, 27.3, 25.9, 19.5	ESI-MS m/z: 381 $(M+H)^+$
84	 (S)	366	0.50 抑制剂	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.71 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 8.80 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.67 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.07 – 7.92 (m, 2H), 7.79 – 7.66 (m, 1H), 7.45 – 7.34 (m, 2H), 7.17 (s, 4H), 5.09 – 4.95 (m, 1H), 3.38 (s, 3H), 3.24 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 3.13 – 2.99 (m, 2H), 2.30 – 2.21 (m, 1H), 2.21 – 2.08 (m, 1H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.3, 157.3, 150.7, 150.2, 135.9, 135.7, 135.2, 134.2, 132.5, 129.5, 128.9, 128.7, 126.3, 126.1, 125.4, 124.8, 123.3, 115.4, 56.6, 34.3, 32.2, 29.7, 27.2	ESI-MS m/z: 367 $(M+H)^+$
85		332	0.46 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.74 (s, 1H), 8.80 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.69 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.79 – 7.63 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.41 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 5.66 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.43 – 4.25 (m, 1H), 2.16 – 2.00 (m, 2H), 1.64 – 1.38 (m, 6H), 1.01 (d, J = 3.0 Hz, 6H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.0, 158.8, 150.8, 150.4, 135.7, 134.5, 132.7, 129.0, 125.8, 123.2, 120.6, 113.9, 50.3, 37.9, 31.8, 29.9, 28.7, 25.2	ESI-MS m/z: 366 $(M+H)^+$
86		318	0.079 (抑制剂)	1:1 混合物		ESI-MS m/z: 319 $(M+H)^+$

[0185]

87		380	2.51 (活化剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.70 (s, 1H), 8.68 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.92 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.71 – 7.59 (m, 2H), 7.38 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.36 – 7.29 (m, 2H), 7.24 (t, J = 8.2 Hz, 2H), 7.21 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 4.43 (dd, J = 30.6, 13.0 Hz, 2H), 3.30 – 3.14 (m, 1H), 2.91 (dd, J = 13.0, 10.7 Hz, 1H), 2.69 (dd, J = 13.5, 6.5 Hz, 1H), 2.60 (dd, J = 13.5, 8.1 Hz, 1H), 2.24 – 2.08 (m, 1H), 2.06 – 1.95 (m, 1H), 1.95 – 1.84 (m, 1H), 1.84 – 1.67 (m, 1H), 1.48 – 1.30 (m, 1H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.6, 157.6, 152.7, 150.7, 150.3, 139.8, 135.7, 132.5, 129.1, 128.8, 128.6, 126.3, 125.1, 125.0, 123.3, 115.5, 55.6, 50.6, 40.7, 38.6, 31.7, 25.7	ESI-MS m/z: 381 $(M+H)^+$
88		366	弱(抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.71 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 8.80 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.67 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.07 – 7.92 (m, 2H), 7.79 – 7.66 (m, 1H), 7.45 – 7.34 (m, 2H), 7.17 (s, 4H), 5.09 – 4.95 (m, 1H), 3.38 (s, 3H), 3.24 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 3.13 – 2.99 (m, 2H), 2.30 – 2.21 (m, 1H), 2.21 – 2.08 (m, 1H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 164.3, 157.3, 150.7, 150.2, 135.9, 135.7, 135.2, 134.2, 132.5, 129.5, 128.9, 128.7, 126.3, 126.1, 125.4, 124.8, 123.3, 115.4, 56.6, 34.3, 32.2, 29.7, 27.2	ESI-MS m/z: 367 $(M+H)^+$
89		464	0.168 (抑制剂)	^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.77 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 8.80 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.68 (dd, J = 4.8, 1.5 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.78 – 7.71 (m, 1H), 7.69 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.53 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.45 – 7.37 (m, 2H), 7.03 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.03 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 5.32 – 5.25 (m, 1H), 3.54 (td, J = 16.4, 7.1 Hz, 2H), 3.04 (td, J = 15.9, 4.7 Hz, 2H).	^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.3, 158.6, 150.9, 150.4, 150.3, 143.9, 140.9, 136.0, 135.7, 134.4, 134.1, 132.9, 129.0, 126.9, 126.0, 123.3, 120.7, 113.9, 92.0, 52.5, 39.9, 39.9	ESI-MS m/z: 465 $(M+H)^+$

[0186] 实施例7-作为选择性β-葡糖脑苷脂酶调节剂的有效喹唑啉类的设计和合成

[0187] 摘要

[0188] 戈谢病是由β-葡糖脑苷脂酶(GBA1)基因中的突变导致的常见遗传病，所述突变也与帕金森病和Lewy体痴呆的风险增加有关。错误折叠突变β-葡糖脑苷脂酶(GCase)的稳定化代表突触核蛋白病的重要治疗策略。在本申请中，我们报告了一类新颖的GCase喹唑啉抑制剂，它们是在高通量筛选中获得的，对野生型GCase具有适度的效能。这类化合物的合理设计和SAR研究产生了一系列新颖的具有个位数纳摩尔浓度效能的喹唑啉衍生物。与其它溶酶体酶相比时，显示这些化合物选择性地稳定GCase，并在细胞测定法中增加N370S突变GCase蛋白浓度和活性。尽我们所知，这些分子是迄今为止最有效的非亚氨基糖GCase抑制剂，它们可以证实适用于戈谢病和帕金森病的未来机制和临床前研究有用。

[0189] 前言

[0190] 戈谢病(GD)是最常见的溶酶体贮存病，它是由β-葡糖脑苷脂酶(GCase)中的隐性遗传缺陷和随后的有毒脂质底物葡糖神经酰胺蓄积造成的[1,2]。底物蓄积导致肝脾肿大、骨髓抑制和骨损害[1-3]。许多GCase突变是错义突变[4]，其导致所述酶的单一氨基酸置换。这些突变中的大多数，包括优势N370S突变，仍然是功能性的，尽管由于酶错误折叠和蛋白酶体介导的分解[5]，残留的GCase活性极低[5]。目前对GD的治疗包括酶替代疗法(ERT)和底物减少疗法(SRT)[2,6]。近年来，还发现GBA1中的突变是帕金森病(PD)和具有Lewy体的痴呆(DLB)的主要危险因素[7-11]。GCase的底物β-葡糖神经酰胺在神经元中的蓄积促进了α-突触核蛋白寡聚体的形成，在PD中α-突触核蛋白寡聚体被认为是有毒性的[12]。GCase活性的增强被认为是GCase相关突触核蛋白病(包括PD)的潜在治疗策略[13,14]。

[0191] 新出现的治疗方法涉及使用小分子作为药理学蛋白伴侣(PCs)恢复易降解的突变酶的适合折叠和溶酶体递送[5]。先前的研究已经显示，亚氨基糖类增加了GCase的N370S突变形式[15,16]以及野生型酶[5,17]的细胞活性。Isofagomine(IFG,1)在亚氨基糖类化合物中最受关注(图1)[18]。然而，亚氨基糖类在细胞中倾向于具有差的选择性和相对短的半衰期[19]。自2007年以来已经报道了几种不同的非亚氨基糖抑制剂的骨架(图1中2和3是例子)作为GCase PCs[20-24]；然而，这些非亚氨基糖PCs的机制仍然未知。

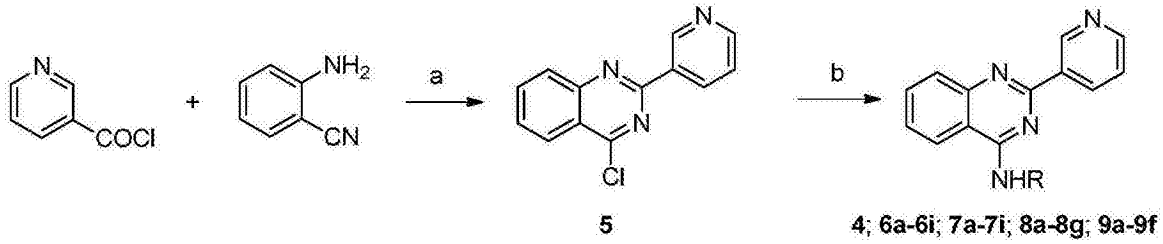
[0192] 在我们发现有效GCase调节剂的高通量筛选努力中，在基于4-甲基伞形酮基(umbelliferyl)β-D-吡喃葡糖苷(4MU-β-Glc)酶活性的高通量筛选中，将化合物4(图1)鉴定为有效的GCase抑制剂(IC_{50}0.177μM)。用另外的合成化合物证实了该活性。为了进一步开发有效的GCase抑制剂并将其用于体外机制研究，我们对一系列喹唑啉衍生物进行了结构活性关系(SAR)研究，导致发现了个位数纳摩尔浓度效能GCase抑制性调节剂。

[0193] 化学

[0194] 用于SAR研究的化合物4及其类似物的合成是直截了当的并且详细描述在如下方案1和2中。如方案1中所示，根据已知方法[25]，由2-氨基-苄腈和烟酰氯制备了5。5与适合的胺类在碳酸钾作为碱的存在下反应，得到了4、6a-6i、7a-7i、8a-8g和9a-9f。

[0195] 方案1.在仲胺上带有取代基的4、6a-6i、7a-7i、8a-8g和9a-9f的合成

[0196]



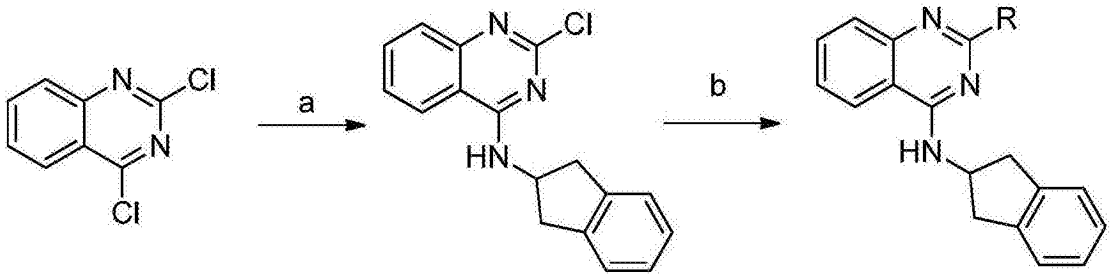
5 4; 6a-6i; 7a-7i; 8a-8g; 9a-9f

[0197] 试剂和条件：(a) (i)环丁砜(ii)PCl_5；(b)RNH_2,K_2CO_3,DMF

[0198] 采用用2,4-二氯喹唑啉使2,3-二氢-1H-茚-2-胺烷基化，接着与适合的烃基代硼酸进行Suzuki偶联得到11a-11h，合成了在喹唑啉环的2位上具有修饰的另外类似物(方案2)。通过光谱和分析技术确认了全部所制备的化合物的结构和纯度。

[0199] 方案2.在喹唑啉环的2-位上具有修饰的11a-11h的合成

[0200]



10 11a-11h

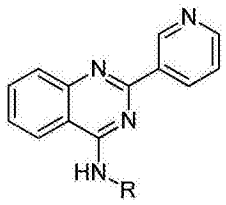
[0201] 试剂和条件：(a)2,3-二氢-1H-茚-2-胺,K_2CO_3,DMF；(b)RB(OH)$_2$,Pd(PPh$_3$)$_4$,K_2CO_3,1,4-二噁烷,H_2O。

[0202] 结果和讨论

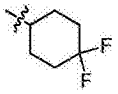
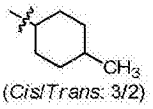
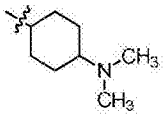
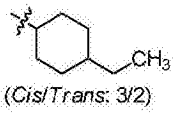
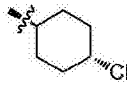
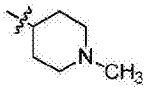
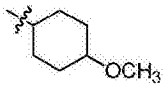
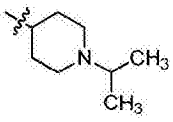
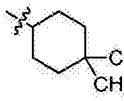
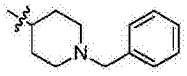
[0203] 在我们发现有效的GCase抑制剂/活化剂的高通量筛选努力中，我们在优化的pH 5.9缓冲液中使用了重组野生型GCase和4MU-β-Glc作为底物[26]。在以前的研究中，使用高浓度牛磺胆酸盐(4-10mM)来改善GCase酶活性测定中的信号[16,27,28]。我们发现牛磺胆酸盐可以干扰我们的测定结果，Berger等人最近也报道了这一现象[29]；因此我们在筛选测定中排除了牛磺胆酸盐。使用这种方法，我们发现了几种不同的具有适度活性的GCase抑制剂和活化剂的骨架。其中，我们鉴定了喹唑啉化合物(4,图1)作为有效的GCase抑制剂。此前发现喹唑啉环在所测定的几个环体系中为GCase抑制剂的最佳骨架[21]。在本申请中我们描述了我们对喹唑啉环上取代基的修饰。

[0204] 为了研究氨基上的SAR，将一系列取代基引入4的N-环己基环的4-位上(表1)。4-甲基取代基(6a,顺式/反式＝3/2混合物)产生了3倍高的活性(IC_{50} 56nM)，而4-乙基取代(6b,顺式/反式＝3/2混合物)没有表现出显著的活性变化，这提示在这个位置上较小的疏水性基团可能是有益的。然后，合成了反式-4-甲基化合物(6c)，其表现出抑制活性的巨大改善(IC_{50} 20nM)。通过在相同位置上配备4-甲氧基(6d)、4,4-二甲基(6e)或4,4-二氟(6f)基团的进一步修饰降低了效能；氨基取代基对活性是有害的。用四氢-2H-吡喃-3-基(6h)或N-被取代的哌啶(6i-6k)替代环己基得到了弱或无活性的化合物，这支持了亲脂性环己基环的重要性。

[0205] 表1.具有被取代的环己基和相关环的2-(吡啶-3-基)喹唑啉衍生物的结构和抑制活性[a]

[0206] 

[0207]

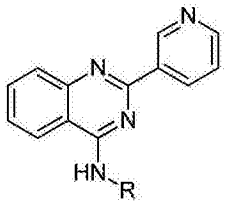
化合物	R	IC_{50} (μM)	化合物	R	IC_{50} (μM)
4		0.177 ± 0.012	**6f**		0.234 ± 0.017
6a	 (*Cis*/*Trans*: 3/2)	0.056 ± 0.005	**6g**		无活性
6b	 (*Cis*/*Trans*: 3/2)	0.126 ± 0.007	**6h**		0.891 ± 0.023
6c		0.020 ± 0.002	**6i**		无活性
6d		0.251 ± 0.018	**6j**		33.21 ± 9.71
6e		0.431 ± 0.042	**6k**		36.07 ± 8.72

[0208] [a]实验按一式三份进行，且显示平均值±SD。

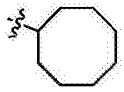
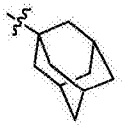
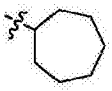
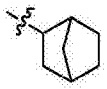
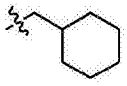
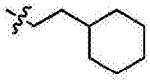
[0209] 结果和讨论

[0210] 为了进一步扩大氨基的SAR，4的环己基环被一系列不同大小的饱和碳环替代。用不同的碳环(7a-7e)观察到显著的SAR。如表2所示，较大的环烷基环更有效；具有环辛基的化合物(7a，IC_{50} 27nM)是最有效的。然而，当将大基团引入环烷基环时，化合物(7f和7g)的效能降低，这提示疏水结合袋可能是紧密的。在4中环己基和NH基团之间引入一个或两个碳(7h和7i)降低了抑制活性，这再次表明疏水袋的容积有限。

[0211] 表2.具有饱和烷基环的2-(吡啶-3-基)喹唑啉衍生物的结构和抑制活性[a]

[0212] 

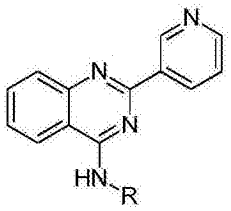
[0213]

化合物	R	IC_{50} (μM)	化合物	R	IC_{50} (μM)
7a		0.027 ± 0.002	**7f**		0.926 ± 0.08
7b		0.042 ± 0.003	**7g**		0.282 ± 0.043
7c		0.72 ± 0.05	**7h**		0.405 ± 0.040
7d		2.84 ± 0.34	**7i**		0.857 ± 0.033
7e		28.07 ± 3.21			

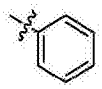
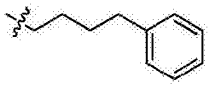
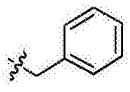
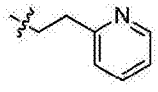
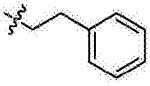
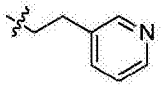
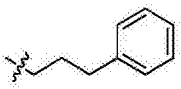
[0214] [a]实验按一式三份进行，且显示平均值±SD。

[0215] 为了理解结合位点的性质，将具有不同长度连接基的苯环引入分子(8a-e，表3)。化合物8a，通过用苯环置换4上的环己基环，丧失了活性。在苯基和喹唑啉环之间插入1-4个碳连接基得到了8b-8e。有意意思的是，具有苯乙基的8c的效能稍高于4。连接基的延伸并不有益于活性，这提示8c的苯基环和仲氨基之间的两个碳长度的连接基可允许苯基的最佳结合。8上的苯基基团被2-或3-吡啶环取代(8f或8g)导致效能显著降低，这表明吡啶氮原子的排斥作用。

[0216] 表3.具有芳族环的2-(吡啶-3-基)喹唑啉衍生物的结构和抑制活性[a]

[0217] 

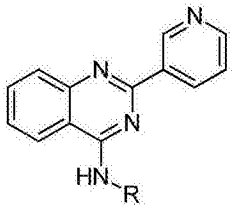
[0218]

化合物	R	IC_{50} (μM)	化合物	R	IC_{50} (μM)
8a		无活性	**8e**		1.28 ± 0.13
8b		5.77 ± 0.82	**8f**		1.40 ± 0.12
8c		0.097 ± 0.009	**8g**		4.29 ± 0.57
8d		1.53 ± 0.22			

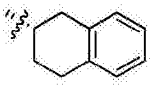
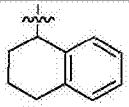
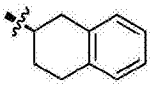
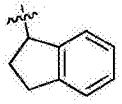
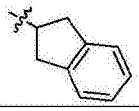
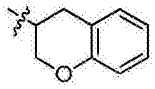
[0219] [a]实验按一式三份进行，且显示平均值±SD。

[0220] 为了增强化合物与GCase的结合亲和力，通过使环己基环(4)与苯环稠合，设计了一系列新化合物，以整合A环的疏水相互作用和B环的π-π相互作用(图2和表4)。这些衍生物(9a-c)显示出针对GCase的个位数纳摩尔抑制活性。立体化学似乎并不重要(9a和9b)。具有茚满环的化合物(9c)与具有四氢化萘环的化合物(9a)具有相当的活性。喹唑啉环在1位上而不是2位上(9a和9c)与四氢化萘环(9d)和二氢化茚环(9e)结合将IC_{50}值显著增加至低微摩尔浓度范围，这表明这种取代基的取向对这些抑制剂的结合活性的重要性。氧原子的引入得到色满(9f)没有显著影响效能。这些结果提示这一系列化合物与GCase的结合中重要的疏水相互作用和π-π相互作用。

[0221] 表4.具有稠合环的2-(吡啶-3-基)喹唑啉衍生物的结构和抑制活性[a]

[0222] 

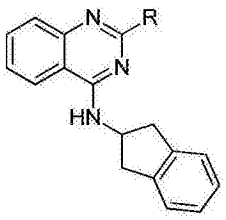
[0223]

化合物	R	IC_{50} (nM)	化合物	R	IC_{50} (nM)
9a		8.7 ± 1.1	**9d**		872 ± 71
9b		9.9 ± 1.3	**9e**		821 ± 73
9c		8.3 ± 1.0	**9f**		35 ± 3

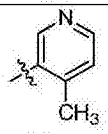
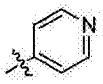
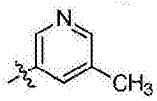
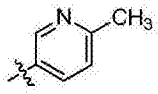
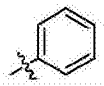
[0224] [a]实验按一式三份进行，且显示平均值±SD。

[0225] 最终，我们研究了吡啶环上的取代基效应。将甲基引入9c的3-吡啶基环的不同位置，得到11a-c(表5)。吡啶环的甲基化降低了效能。尽管在吡啶基环的4位上具有甲基的化合物(11a)仅显示中度效能，另外两种在5-位和6-位上具有甲基的化合物(11b和11c)更有效，与当2-呋喃基团替代吡啶环时的化合物相当，但仍然不如9c那样有效。然而，用苯基或3-噻吩基替代9c上的3-吡啶基环得到的化合物保留了与9c相同的效能，这提示可以在喹唑啉环的2位引入更多的基团。

[0226] 表5.具有芳族环的4-(2,3-二氢-1H-2-茚氨基)喹唑啉衍生物的结构和抑制活性[a]

[0227] 

[0228]

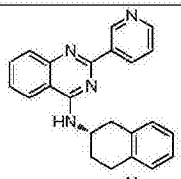
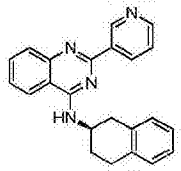
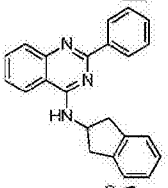
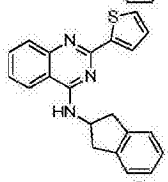
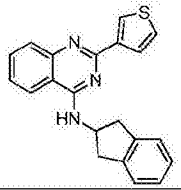
化合物	R	IC_{50} (nM)	化合物	R	IC_{50} (nM)
11a		122 ± 12	**11e**		168 ± 18
11b		12.5 ± 1.7	**11f**		8.2 ± 1.0
11c		29.4 ± 3.6	**11g**		5.2 ± 0.6
11d		6.5 ± 0.7	**11h**		21.1 ± 2.4

[0229] [a]实验按一式三份进行，且显示平均值±SD。

[0230] 我们还评价了这些选择的化合物在不同pH条件下的活性(表6)。有意思的是，与在pH 5.9的抑制活性相比，具有3-吡啶基环的9a、9b和9c在pH 5.0的活性降低了3倍，这提示吡啶环在pH 5.0质子化并且干扰了与GCase的结合亲和力，而11d、11f和11g的活性在上述两种pH条件下仅略微下降。该结果可应用于设计具有可质子化基团的pH敏感性化合物以区分在酸性和中性pH条件下的抑制活性。

[0231] 表6.在pH 5.0、pH 5.9和pH 7.0条件下9a、9b、9c、11d、11g和11f的GCase抑制活性[a]

[0232]

化合物	结构	IC_{50} (nM)		
		pH 5.0	pH 5.9	pH 7.0
9a		22.4 ±3.4	8.7 ± 1.1	16.9 ± 2.7
9b		30.1 ± 4.5	9.9 ± 1.3	18.8 ± 2.5
9c		25.9 ± 3.9	8.3 ± 1.0	12.7 ± 1.4
11d		10.5 ± 1.5	6.5 ± 0.7	9.4 ± 1.4
11f		13.9 ± 1.9	8.2 ± 1.0	12.9 ± 2.0
11g		8.9 ± 1.3	5.2 ± 0.6	6.6 ± 1.0

[0233] [a]实验按一式三份进行，且显示平均值±SD。

[0234] 显示出充当GCase(或其它溶酶体酶)的药理学蛋白伴侣的化合物也稳定该酶以防热变性。开发了荧光热移动测定法来评价配体与蛋白质的结合亲和力[30]。为了评价它们稳定GCase的能力，在野生型GCase荧光热移动测定法中在pH 5.0使用阴性对照(8a)和阳性对照(IFG)获得最有效的化合物9a、9b、11d、11g和11f。所选择的化合物以剂量依赖性方式增加了GCase熔点(图3)，而无活性化合物8a没有显著改变熔点。在较低浓度下，大多数化合物表现出比IFG更大的稳定GCase的能力，且11g显示最大热移动至多约11℃。这些化合物的最大热移动对应于它们在pH 5.0的抑制活性。

[0235] 对两种其它溶酶体水解酶(酸性α-葡糖苷酶(GAA)和α-半乳糖苷酶A(GLA))进一步评价了所选择的化合物(9a、9b、11d、11g和11f)。高至100μM的化合物处理未显著改变所测试的酶的活性(图4中显示了11g的代表性结果)。

[0236] 我们通过以不同底物浓度(30-150μM)且存在或不存在增加浓度的GCase抑制剂测定GCase活性，进一步测试了化合物4和11g。与报道的非亚氨基糖抑制剂[20]类似，我们的两种

抑制剂都呈现线性混合抑制，增加抑制剂浓度时K_m值增加而V_{max}值减小(图5A和5B)。

[0237] 最终，我们在患者N370S成纤维细胞中测试了抑制剂11d、11f和11g。用这些化合物处理成纤维细胞3天，并且通过蛋白质印迹测定了GCase蛋白质的水平。我们发现11d、11f和11g显著增加了GCase的浓度，而相同浓度的IFG没有效果(图6A和6B)。与此发现一致，化合物11g增加了患者细胞中的GCase活性，而IFG无效(图6C)，这提示11g既增加患者N370S成纤维细胞中的GCase水平和增加其活性。

[0238] 结论

[0239] 在本研究中，我们描述了具有个位数纳摩尔效能的一系列喹唑啉GCase抑制剂的设计和SAR。该SAR提示，化合物与GCase的结合中可能牵涉疏水相互作用和π-π相互作用。这些喹唑啉衍生物也稳定了GCase，如热移动测定法所示，并显示出相对于其它溶酶体水解酶的高度选择性。此外，最有效的化合物增加了患者N370S成纤维细胞中的GCase浓度和活性，而IFC则没有。在更多生物测定法和戈谢病和帕金森病模型中进一步测试这些化合物是有意义的。

[0240] 实验部分

[0241] 材料和方法

[0242] 化学

[0243] 使用商购试剂和溶剂，没有进一步纯化。如本实施例和上述实施例中所示，合成和分析了化合物。通过薄层色谱法(TLC)，采用0.25mm Silicycle超硬250μM TLC板(60F254)监测全部反应。通过急骤色谱法，采用使用Silicycle硅胶柱，使用Agilent 971-FP急骤纯化系统进行反应产物的纯化。没有优化收率。全部化合物的纯度均超过95％，如使用Agilent 1260Infinity HPLC系统和Agilent Poroshell 120EC-C18(4.6×50mm,2.7μm)反相柱，采用UV吸光度(254nm)检测所分析的。使用Bruker Avance III 500MHz系统(500MHz,^{1}H NMR;以及125MHz,^{13}C NMR)光谱仪得到了^{1}H NMR和^{13}C NMR光谱。报告相对于氯仿(δ＝7.26,^{1}H NMR光谱;以及δ＝77.16,^{13}C NMR光谱)或二甲亚砜(δ＝2.50,^{1}H光谱;以及δ＝39.52,^{13}C NMR光谱)的化学位移。将数据报告为br＝宽峰，s＝单峰，d＝双峰，t＝三重峰，q＝四重峰，m＝多重峰。采用Bruker AmaZon SL系统得到了质谱。采用与Agilent1200HPLC偶联的Agilent 6210A LC-TOF仪器，用双喷雾ESI源、高分辨率飞行时间(TOF)质量分析器并且在2GigHz检测器模式中采集，完成了高分辨率质谱(HRMS)。本实施例和上述实施例中提供了分析数据。

[0244] 4-氯-2-(吡啶-3-基)喹唑啉(5)[25]的制备。向2-氨基苄腈(5.90g,50mmol)在环丁砜(20mL)中的溶液中加入烟酰氯盐酸盐(12.0g,67.4mmol)，将该混合物在100℃搅拌16小时。一次加入PCl_5(18.2g,87.5mmol)，在100℃搅拌10小时。将该混合物冷却至室温，谨慎地倾入400mL饱和碳酸氢钠溶液，用冰浴冷却。过滤固体，用水洗涤，干燥，通过急骤色谱法纯化，得到5，为淡黄色固体(5.50g,46％);mp 160-163℃。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ9.76(d,J＝1.3Hz,1H),8.82(dt,J＝8.0,1.9Hz,1H),8.73(dd,J＝4.7,1.4Hz,1H),8.26(dd,J＝8.4,0.8Hz,1H),8.10(d,J＝8.4Hz,1H),7.95(ddd,J＝8.4,7.0,1.4Hz,1H),7.69(ddd,J＝8.2,7.0,1.1Hz,1H),7.44(dd,J＝7.5,4.8Hz,1H)。^{13}C NMR:(100MHz,$CDCl_3$)δ162.9,158.3,151.8,151.7,150.3,136.1,135.2,132.4,129.1,128.9,126.0,123.5,122.8。ESI-MS m/z:242$(M+H)^+$。

[0245] 化合物4、6a-6i、7a-7i、8a-8g和9a-9f的通用方法。将4-氯-2-(吡啶-3-基)喹唑啉5(72mg,0.3mmol)、胺(0.3mmol)和碳酸钾(69mg,0.3mmol)在DMF(3mL)中的混合物在室温或60℃搅拌过夜。加入水(20mL),过滤所形成的固体,用水洗涤,真空干燥,得到产物。产物通常为纯的(>95%纯度)。通过急骤色谱法纯化不足够纯的那些产物。

[0246] 2-氯-N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)喹唑啉-4-胺(10)的制备。将2,4-二氯喹唑啉(398mg,2.0mmol)、2,3-二氢-1H-茚-2-胺(266mg,2.0mmol)和碳酸钾(276mg,2.0mmol)在DMF(5mL)中的混合物在室温搅拌5小时。加入水(20mL),过滤所形成的固体,用水洗涤,干燥固体,得到10,为灰白色固体(390mg,66%);mp 239-240℃。

[0247] ^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ7.76(d,J=8.2Hz,1H),7.74-7.69(m,1H),7.60(d,J=8.2Hz,1H),7.41(t,J=7.4Hz,1H),7.30-7.26(m,2H),7.24-7.19(m,2H),6.08(d,J=6.7Hz,1H),5.27-5.15(m,1H),3.53(dd,J=16.2,7.0Hz,2H),3.00(dd,J=16.2,4.0Hz,2H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ160.6,157.8,151.0,140.7,133.6,128.0,127.1,126.2,125.1,120.8,113.3,52.6,40.2.MS(ESI)m/z[M+H]+:计算值,296.09;测定值,296.13。

[0248] 11a-11h合成的通用方法。将2-氯-N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)喹唑啉-4-胺10(148mg,0.5mmol)、烃基代硼酸(0.5mmol)、$Pd(PPh_3)_4$(58mg,0.05mmol)、碳酸钾(276mg,2.0mmol)在二噁烷(10mL)和水(1.5mL)中的混合物在85℃在氩气气氛中加热16小时。加入水(5mL),用EtOAc(25mL×3)萃取该混合物。用盐水(15mL)洗涤合并的有机相,干燥(Na_2SO_4),过滤,蒸发,通过急骤色谱法纯化,得到产物。

[0249] 化合物11a-11h的分析数据

[0250] N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-2-(4-甲基吡啶-3-基)喹唑啉-4-胺(11a)。白色固体(125mg,71%);mp 170-172℃。^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ9.16(s,1H),8.50(d,J=5.0Hz,1H),7.91(d,J=7.9Hz,1H),7.75(ddd,J=8.3,7.0,1.2Hz,1H),7.67(d,J=7.8Hz,1H),7.49-7.42(m,1H),7.29(dd,J=5.3,3.4Hz,2H),7.25-7.19(m,3H),5.94(d,J=7.0Hz,1H),5.26(tdd,J=7.1,4.4,2.6Hz,1H),3.54(dd,J=16.2,7.1Hz,2H),3.04(dd,J=16.2,4.4Hz,2H),2.72(s,3H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ161.1,159.1,151.3,150.1,149.2,146.6,140.9,135.4,132.7,128.8,126.8,125.9,124.9,120.7,113.2,52.3,40.2,21.0.HRMS(ESI):计算值$C_{23}H_{21}N_4$[M+H]$^+$,353.1761;测定值,353.1765。

[0251] N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-2-(5-甲基吡啶-3-基)喹唑啉-4-胺(11b)。黄色固体(134mg,76%);mp 200-201℃。^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ9.59(d,J=1.6Hz,1H),8.63(s,1H),8.53(d,J=1.6Hz,1H),7.92(d,J=8.0Hz,1H),7.77-7.71(m,1H),7.66(d,J=7.8Hz,1H),7.45-7.38(m,1H),7.30(dd,J=5.3,3.4Hz,2H),7.23(dd,J=5.5,3.2Hz,2H),5.95(d,J=6.8Hz,1H),5.40-5.29(m,1H),3.61(dd,J=16.2,7.2Hz,2H),3.08(dd,J=16.2,4.8Hz,2H),2.45(s,3H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ159.3,158.8,151.2,150.3,147.6,141.1,136.0,134.0,132.7,132.6,128.7,126.8,125.7,124.9,120.8,113.9,52.4,40.1,18.5.HRMS(ESI):计算值$C_{23}H_{21}N4$[M+H]$^+$,353.1761;测定值,353.1757。

[0252] N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-2-(6-甲基吡啶-3-基)喹唑啉-4-胺(11c)。黄色固体(129mg,73%);mp 175-176℃。^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ9.66(d,J=1.9Hz,1H),8.69(dd,J=8.1,2.2Hz,1H),7.89(d,J=8.0Hz,1H),7.73-7.68(m,1H),7.63(d,J=7.9Hz,1H),7.41-7.36(m,1H),7.29-7.25(m,2H),7.23-7.19(m,3H),5.91(d,J=6.6Hz,1H),5.33-5.23(m,

1H),3.58(dd,J=16.2,7.2Hz,2H),3.06(dd,J=16.1,4.8Hz,2H),2.62(s,3H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ159.8,159.2,158.8,150.4,149.7,141.0,136.0,132.6,131.6,128.8,126.9,125.6,124.9,122.7,120.5,113.7,52.5,40.2,24.5.HRMS(ESI):计算值$C_{23}H_{21}N_4$[M+H]$^+$,353.1761;测定值,353.1767。

[0253] N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-2-苯基喹唑啉-4-胺(11d)。白色固体(84mg,50%);mp 221-223℃。^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ8.64-8.56(m,2H),7.93(d,J=8.3Hz,1H),7.72(ddd,J=8.3,7.0,1.3Hz,1H),7.64(d,J=7.8Hz,1H),7.53-7.46(m,3H),7.39(ddd,J=8.1,7.0,1.1Hz,1H),7.31(dd,J=5.3,3.3Hz,2H),7.24(dd,J=5.5,3.2Hz,2H),5.86(d,J=6.6Hz,1H),5.38(tdd,J=7.1,5.1,2.1Hz,1H),3.61(dd,J=16.1,7.2Hz,2H),3.08(dd,J=16.1,5.0Hz,2H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ160.4,159.2,150.5,141.1,138.9,132.5,130.1,128.9,128.4,128.2,126.8,125.3,125.0,120.4,113.6,52.4,40.2.HRMS(ESI):计算值$C_{23}H_{20}N_3$[M+H]$^+$,338.1652;测定值,338.1647

[0254] N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-2-(吡啶-4-基)喹唑啉-4-胺(11e)。棕色固体(59mg,35%);mp 246-247℃。^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ8.74(d,J=5.5Hz,2H),8.40(d,J=5.9Hz,2H),7.93(d,J=8.2Hz,1H),7.78-7.70(m,1H),7.67(d,J=8.1Hz,1H),7.48-7.39(m,1H),7.29(dd,J=5.2,3.4Hz,2H),7.22(dd,J=5.4,3.3Hz,2H),5.99(d,J=6.7Hz,1H),5.37-5.29(m,1H),3.59(dd,J=16.2,7.2Hz,2H),3.07(dd,J=16.1,4.8Hz,2H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ159.4,158.4,150.2,150.2,146.4,141.0,132.8,129.2,126.9,126.3,125.0,122.3,120.6,114.1,77.2,77.0,76.7,52.5,40.1.HRMS(ESI):计算值$C_{22}H_{19}N_4$[M+H]$^+$,339.1604;测定值,339.1608。

[0255] N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-2-(噻吩-2-基)喹唑啉-4-胺(11f)。灰白色固体(68mg,40%);mp 243-246℃。^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ8.08(d,J=3.1Hz,1H),7.85(d,J=8.4Hz,1H),7.69(t,J=7.6Hz,1H),7.61(d,J=8.1Hz,1H),7.45(d,J=4.9Hz,1H),7.38-7.33(m,1H),7.32-7.27(m,2H),7.23(dd,J=5.3,3.3Hz,2H),7.18-7.13(m,1H),5.88(d,J=6.3Hz,1H),5.31-5.24(m,1H),3.60(dd,J=16.2,7.2Hz,2H),3.06(dd,J=16.2,5.0Hz,2H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ159.0,157.3,150.4,145.2,141.1,132.6,129.0,128.5,128.2,127.9,126.8,125.1,124.9,120.5,113.5,52.5,40.1.HRMS(ESI):计算值$C_{21}H_{18}N_3S$[M+H]$^+$,344.1216;测定值,344.1218。

[0256] N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-2-(噻吩-3-基)喹唑啉-4-胺(11g)。黄色固体(75mg,44%);mp 232-233℃。^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ8.34(d,J=3.0Hz,1H),8.02(dd,J=5.0,0.9Hz,1H),7.87(d,J=8.3Hz,1H),7.74-7.65(m,1H),7.62(d,J=8.0Hz,1H),7.42-7.34(m,2H),7.30(dd,J=5.2,3.4Hz,2H),7.25-7.21(m,2H),5.85(d,J=6.5Hz,1H),5.36-5.25(m,1H),3.58(dd,J=16.2,7.2Hz,2H),3.07(dd,J=16.1,5.0Hz,2H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ159.1,157.8,150.5,143.1,141.1,132.5,128.6,127.9,127.4,126.8,125.4,125.1,124.9,120.5,113.5,52.3,40.2.HRMS(ESI):计算值$C_{21}H_{18}N_3S$[M+H]$^+$,344.1216;测定值,344.1215。

[0257] N-(2,3-二氢-1H-茚-2-基)-2-(呋喃-2-基)喹唑啉-4-胺(11h)。淡黄色固体(80mg,49%);mp 231-232℃.^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ7.96(d,J=8.4Hz,1H),7.73-7.67(m,1H),7.67-7.61(m,2H),7.41-7.32(m,2H),7.32-7.26(m,2H),7.25-7.21(m,2H),6.57(dd,J

=3.3,1.7Hz,1H),5.98(d,J=6.8Hz,1H),5.34-5.20(m,1H),3.57(dd,J=16.1,7.2Hz,2H),3.05(dd,J=16.1,5.0Hz,2H)。^{13}C NMR(125MHz,$CDCl_3$)δ159.1,153.7,153.4,150.1,144.6,141.0,132.7,128.8,126.8,125.3,124.9,120.5,113.7,113.1,111.8,52.3,40.1.HRMS(ESI):计算值$C_{21}H_{18}N_3O[M+H]^+$,328.1444;测定值,328.1448。

[0258] 酶测定法

[0259] 4-甲基伞形酮基β-D-吡喃葡萄糖苷(4MU-β-Glc)、4-甲基伞形酮基α-D-吡喃葡萄糖苷、4-甲基伞形酮基α-D-吡喃半乳糖苷和缓冲液成分购自Sigma-Aldrich(St.Louis,MO)。将重组野生型GCase酶velaglucerase α(Vpriv®,Shire Human Genetic Therapies,Inc.)、酸性α-葡糖苷酶酶alglucosidase α(Lumizyme®,Genzyme Corporation)、α-半乳糖苷酶A agalsidase β(Fabrazyme®,Genzyme Corporation)用于活性测定法中。GCase活性测定缓冲液由pH 5.0、pH 5.9和pH 7.0的50mM柠檬酸、176mM K_2HPO_4和0.01%吐温-20组成。使用1M氢氧化钠和1M甘氨酸(pH 10)的溶液作为所有三种酶活性测定法的终止溶液。

[0260] GCase酶活性测定法。将DMSO溶液中的化合物(0.5微升/孔)转移至黑色96孔板(最终滴定从100μM开始,12或24点2倍稀释系列)。将酶溶液(33.5μL,7.5nM终浓度,在pH 5.9缓冲液中)转移至孔中。在室温温育5分钟后,通过加入蓝色底物(4MU-β-Glc)(33微升/孔)启动酶反应。蓝色底物的最终浓度是1.5mM。在37℃温育30分钟后,通过加入33微升/孔终止溶液(1M NaOH和1M甘氨酸混合物,pH 10)终止蓝色底物反应。然后在具有Ex=365nm和Em=440nm的Biotek Synergy H1多模式读板器中测量荧光。在pH 5.0和pH 7.0下进一步测定所选择的化合物以评价它们在各种pH条件下的选择性。

[0261] 酶动力学测定法。将底物试卤灵β-D-吡喃葡萄糖苷稀释至30-150μM的五种浓度。将七种浓度的抑制剂(IC_{50}值的0.5至5倍)和DMSO对照加到酶溶液中。最终的酶浓度为10nM以在10分钟内产生线性反应。通过向96孔测定板中加入66μL底物,随后使用Biotek Synergy H1多模式读板器上的分配模块,加入33μL酶溶液(含或不含抑制剂)测量酶动力学。在平板读数器中以1分钟间隔测量产物荧光的增加10分钟。通过使用游离荧光团试卤灵的标准曲线,将荧光单位转换成每分钟纳摩尔产物来计算产物形成速率。

[0262] 酶选择性测定法。酸性α-葡萄糖苷酶和α-半乳糖苷酶A酶活性测定方法类似于上面的GCase酶活性测定法,稍有修改。两种酶测定法的缓冲液由pH 4.8的50mM柠檬酸、176mM K_2HPO_4和0.01%吐温-20组成。酸性α-葡萄糖苷酶和α-半乳糖苷酶A的最终酶浓度分别为8和1nM。这些相关酶的底物浓度分别为0.16和0.4mM。

[0263] 荧光热移动分析[31]。高通量分析实验室(HTAL)中的机器人管线用于通过荧光热移动(FTS)分析进行的蛋白质配体筛选。该管线使用用于蛋白质分配的蚊式机器人(TTP Labtech)和Echo 550(Labcyte)来添加化合物。在实时PCR仪CFX384(Bio-Rad Laboratories)上进行与荧光检测相结合的热扫描。在每孔中使用10μL柠檬酸/K_2HPO_4缓冲液(50mM柠檬酸,150mM K_2HPO_4,pH 5.0)在384孔PCR板中运行测定法。蛋白质的测定浓度是1μM,而Sypro Orange(Invitrogen)的测定浓度是5X。将蛋白质与Sypro Orange预混合并首先分配到平板上,并添加化合物。化合物的最终浓度范围为0.5至200μM。然后用光密封物密封,摇动,离心。热扫描温度从10℃到95℃,升温速度为1.5℃/分钟。每10秒记录一次荧光。使用内部软件excelFTS进行数据分析和报告生成。在isofagomine或所选化合物存在下进

行变性时，发现野生型GCase的T_m遵循对数剂量依赖性趋势。

[0264] N370S细胞培养和化合物处理。N370S成纤维细胞系获自Coriell，GM00372，在DMEM培养基(Life Tech)(包括1％v/v L-谷氨酰胺200mM(Life Tech)，1％v/v pen strep(Life Tech)，10％FBS(Life Tech)在37℃和5％CO_2下处理，并用0.2μM和2μM的不同化合物处理。处理3天后，将细胞用不含抑制剂的培养基洗涤3次，并加入不含抑制剂的培养基1天，然后用1％Triton X-100裂解缓冲液裂解细胞。用Bradford试剂盒(Thermo)测量蛋白质浓度，在pH 5.5下测定GCase活性。

[0265] 蛋白质印迹。使蛋白质在20％SDS样品缓冲液中于100℃变性10分钟；10％Bis-Tris凝胶(Life Tech)用于凝胶；使用Trans-Blot Turbo PVDF试剂盒(Bio-Rad)进行膜转移，并使用Chemidoc MP系统(Bio-Rad)分析印迹。

[0266] 参考文献

[0267] (1)Grabowski,G.A.Phenotype,diagnosis,and treatment of Gaucher's disease.Lancet 2008,372,1263-1271.

[0268] (2)Bennett,L.L.;Mohan,D.Gaucher disease and its treatment options.Ann.Pharmacother.2013,47,1182-1193.

[0269] (3)Grabowski,G.A.;Zimran,A.;Ida,H.Gaucher disease types 1and 3:Phenotypic characterization of large populations from the ICGG Gaucher Registry.Am.J.Hematol.2015,90Suppl 1,S12-18.

[0270] (4)Hruska,K.S.;LaMarca,M.E.;Scott,C.R.;Sidransky,E.Gaucher disease:mutation and polymorphism spectrum in the glucocerebrosidase gene(GBA)。Hum.Mutat.2008,29,567-583.

[0271] (5)Sawkar,A.R.;Cheng,W.C.;Beutler,E.;Wong,C.H.;Balch,W.E.;Kelly,J.W.Chemical chaperones increase the cellular activity of N370S beta-glucosidase:a therapeutic strategy for Gaucher disease.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.2002,99,15428-15433.

[0272] (6)Tekoah,Y.;Tzaban,S.;Kizhner,T.;Hainrichson,M.;Gantman,A.;Golembo,M.;Aviezer,D.;Shaaltiel,Y.Glycosylation and functionality of recombinant beta-glucocerebrosidase from various production systems.Biosci.Rep.2013,33,771-U272.

[0273] (7)Aharon-Peretz,J.;Rosenbaum,H.;Gershoni-Baruch,R.Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews.N.Engl.J.Med.2004,351,1972-1977.

[0274] (8)Sidransky,E.;Nalls,M.A.;Aasly,J.O.;Aharon-Peretz,J.;Annesi,G.;Barbosa,E.R.;Bar-Shira,A.;Berg,D.;Bras,J.;Brice,A.;Chen,C.M.;Clark,L.N.;Condroyer,C.;De Marco,E.V.;Durr,A.;Eblan,M.J.;Fahn,S.;Farrer,M.J.;Fung,H.C.;Gan-Or,Z.;Gasser,T.;Gershoni-Baruch,R.;Giladi,N.;Griffith,A.;Gurevich,T.;Januario,C.;Kropp,P.;Lang,A.E.;Lee-Chen,G.J.;Lesage,S.;Marder,K.;Mata,I.F.;Mirelman,A.;Mitsui,J.;Mizuta,I.;Nicoletti,G.;Oliveira,C.;Ottman,R.;Orr-Urtreger,A.;Pereira,L.V.;Quattrone,A.;Rogaeva,E.;Rolfs,A.;Rosenbaum,H.;

Rozenberg,R.;Samii,A.;Samaddar,T.;Schulte,C.;Sharma,M.;Singleton,A.;Spitz,M.;Tan,E.K.;Tayebi,N.;Toda,T.;Troiano,A.R.;Tsuji,S.;Wittstock,M.;Wolfsberg,T.G.;Wu,Y.R.;Zabetian,C.P.;Zhao,Y.;Ziegler,S.G.Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease.N.Engl.J.Med.2009,361,1651-1661.

[0275] (9)Schapira,A.H.V.;Olanow,C.W.;Greenamyre,J.T.;Bezard,E.Slowing of neurodegeneration in Parkinson's disease and Huntington's disease:future therapeutic perspectives.Lancet 2014,384,545-555.

[0276] (10)Sidransky,E.;Lopez,G.The link between the GBA gene and parkinsonism.Lancet Neurol.2012,11,986-998.

[0277] (11)Lin,M.K.;Farrer,M.J.Genetics and genomics of Parkinson's disease.Genome Med.2014,6,48.

[0278] (12)Mazzulli,J.R.;Xu,Y.H.;Sun,Y.;Knight,A.L.;McLean,P.J.;Caldwell,G.A.;Sidransky,E.;Grabowski,G.A.;Krainc,D.Gaucher disease glucocerebrosidase and alpha-synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies.Cell 2011,146,37-52.

[0279] (13)Sardi,S.P.;Clarke,J.;Viel,C.;Chan,M.;Tamsett,T.J.;Treleaven,C.M.;Bu,J.;Sweet,L.;Passini,M.A.;Dodge,J.C.;Yu,W.H.;Sidman,R.L.;Cheng,S.H.;Shihabuddin,L.S.Augmenting CNS glucocerebrosidase activity as a therapeutic strategy for parkinsonism and other Gaucher-related synucleinopathies.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.2013,110,3537-3542.

[0280] (14)Sybertz,E.;Krainc,D.Development of targeted therapies for Parkinson's disease and related synucleinopathies.J.Lipid Res.2014,55,1996-2003.

[0281] (15)Wang,G.N.;Reinkensmeier,G.;Zhang,S.W.;Zhou,J.;Zhang,L.R.;Zhang,L.H.;Butters,T.D.;Ye,X.S.Rational design and synthesis of highly potent pharmacological chaperones for treatment of N370S mutant Gaucher disease.J.Med.Chem.2009,52,3146-3149.

[0282] (16)Trapero,A.;Gonzalez-Bulnes,P.;Butters,T.D.;Llebaria,A.Potent aminocyclitol glucocerebrosidase inhibitors are subnanomolar pharmacological chaperones for treating gaucher disease.J.Med.Chem.2012,55,4479-4488.

[0283] (17)Sawkar,A.R.;Schmitz,M.;Zimmer,K.P.;Reczek,D.;Edmunds,T.;Balch,W.E.;Kelly,J.W.Chemical chaperones and permissive temperatures alter localization of Gaucher disease associated glucocerebrosidase variants.ACS Chem.Biol.2006,1,235-251.

[0284] (18)Steet,R.A.;Chung,S.;Wustman,B.;Powe,A.;Do,H.;Kornfeld,S.A.The iminosugar isofagomine increases the activity of N370S mutant acid beta-glucosidase in Gaucher fibroblasts by several mechanisms.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.2006,103,13813-13818.

[0285] (19)Butters,T.D.;Dwek,R.A.;Platt,F.M.Imino sugar inhibitors for treating the lysosomal glycosphingolipidoses.Glycobiology 2005,15,43R-52R.

[0286] (20)Zheng,W.;Padia,J.;Urban,D.J.;Jadhav,A.;Goker-Alpan,O.;Simeonov,A.;Goldin,E.;Auld,D.;LaMarca,M.E.;Inglese,J.;Austin,C.P.;Sidransky,E.Three classes of glucocerebrosidase inhibitors identified by quantitative high-throughput screening are chaperone leads for Gaucher disease.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.2007,104,13192-13197.

[0287] (21)Marugan,J.J.;Zheng,W.;Motabar,O.;Southall,N.;Goldin,E.;Westbroek,W.;Stubblefield,B.K.;Sidransky,E.;Aungst,R.A.;Lea,W.A.;Simeonov,A.;Leister,W.;Austin,C.P.Evaluation of quinazoline analogues as glucocerebrosidase inhibitors with chaperone activity.J.Med.Chem.2011,54,1033-1058.

[0288] (22)Marugan,J.J.;Huang,W.;Motabar,O.;Zheng,W.;Xiao,J.;Patnaik,S.;Southall,N.;Westbroek,W.;Lea,W.A.;Simeonov,A.;Goldin,E.;Debernardi,M.A.;Sidransky,E.Non-iminosugar glucocerebrosidase small molecule chaperones.Medchemcomm.2012,3,56-60.

[0289] (23)Tropak,M.B.;Kornhaber,G.J.;Rigat,B.A.;Maegawa,G.H.;Buttner,J.D.;Blanchard,J.E.;Murphy,C.;Tuske,S.J.;Coales,S.J.;Hamuro,Y.;Brown,E.D.;Mahuran,D.J.Identification of pharmacological chaperones for Gaucher disease and characterization of their effects on beta-glucocerebrosidase by hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry.Chembiochem 2008,9,2650-2662.

[0290] (24)Huang,W.;Zheng,W.;Urban,D.J.;Inglese,J.;Sidransky,E.;Austin,C.P.;Thomas,C.J.N4-phenyl modifications of N2-(2-hydroxyl)ethyl-6-(pyrrolidin-1-yl)-1,3,5-triazine-2,4-diamines enhance glucocerebrosidase inhibition by small molecules with potential as chemical chaperones for Gaucher disease.Bioorg.Med.Chem.Lett.2007,17,5783-5789.

[0291] (25)Storz,T.;Heid,R.;Zeldis,J.;Hoagland,S.M.;Rapisardi,V.;Hollywood,S.;Morton,G.Convenient and Practical One-Pot synthesis of 4-chloropyrimidines via a Novel Chloroimidate Annulation.Org.Process Res.Dev.2011,15,918-924.

[0292] (26)Urban,D.J.;Zheng,W.;Goker-Alpan,O.;Jadhav,A.;Lamarca,M.E.;Inglese,J.;Sidransky,E.;Austin,C.P.Optimization and validation of two miniaturized glucocerebrosidase enzyme assays for high throughput screening.Comb.Chem.High Throughput Screen.2008,11,817-824.

[0293] (27)Aguilar-Moncayo,M.;Garcia-Moreno,M.I.;Trapero,A.;Egido-Gabas,M.;Llebaria,A.;Fernandez,J.M.G.;Mellet,C.O.Bicyclic(galacto)nojirimycin analogues as glycosidase inhibitors:Effect of structural modifications in their pharmacological chaperone potential towards beta-glucocerebrosidase.Org.Biomol.Chem.2011,9,3698-3713.

[0294] (28)Trapero,A.;Alfonso,I.;Butters,T.D.;Llebaria,A.Polyhydroxylated bicyclic isoureas and guanidines are potent glucocerebrosidase inhibitors and

nanomolar enzyme activity enhancers in Gaucher cells.J.Am.Chem.Soc.2011,133,5474-5484.

[0295] (29)Berger,Z.;Perkins,S.;Ambroise,C.;Oborski,C.;Calabrese,M.;Noell,S.;Riddell,D.;Hirst,W.D.Tool compounds robustly increase turnover of an artificial substrate by glucocerebrosidase in human brain lysates.PLoS One 2015,10,e0119141.

[0296] (30)Lo,M.C.;Aulabaugh,A.;Jin,G.;Cowling,R.;Bard,J.;Malamas,M.;Ellestad,G.Evaluation of fluorescence-based thermal shift assays for hit identification in drug discovery.Anal.Biochem.2004,332,153-159.

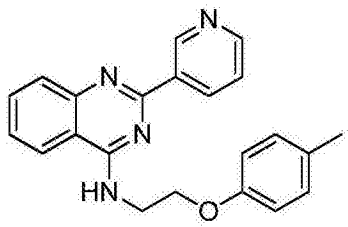
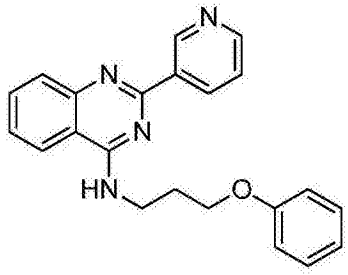
[0297] (31)Filippova,E.V.;Luan,C.H.;Dunne,S.F.;Kiryukhina,O.;Minasov,G.;Shuvalova,L.;Anderson,W.F.Structural characterization of a hypothetical protein:a potential agent involved in tri甲基amine metabolism in Catenulispora acidiphila.J.Struct.Funct.Genomics 2014,15,33-40.

[0298] 实施例8-另外的被取代的喹唑啉化合物的合成和测试

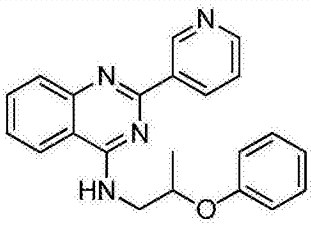
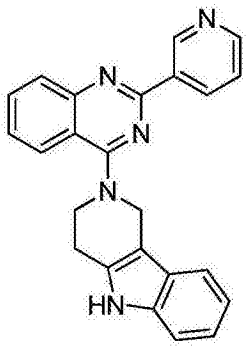
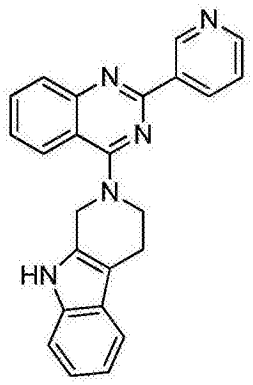
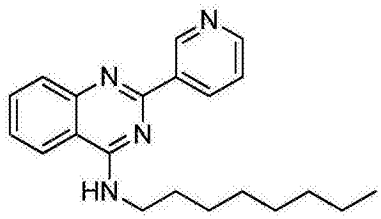
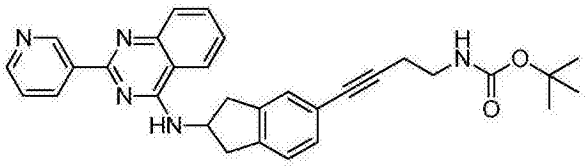
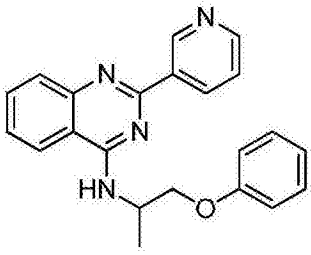
[0299] 根据上述实施例中提供的方法制备和测试了另外的被取代的喹唑啉化合物。结果如下表中所示。

[0300] 另外的被取代的喹唑啉化合物的表

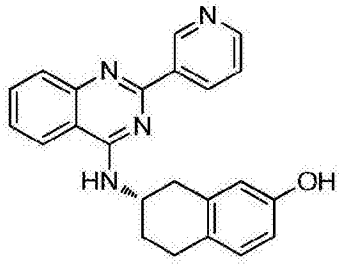
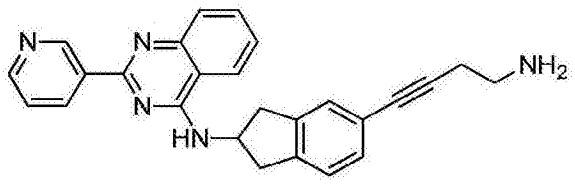
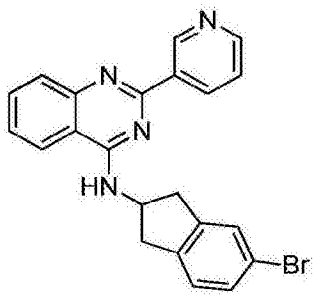
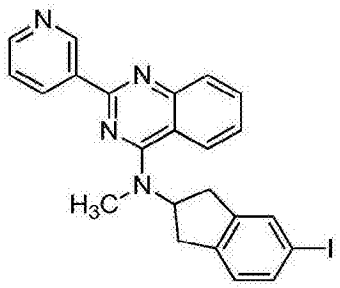
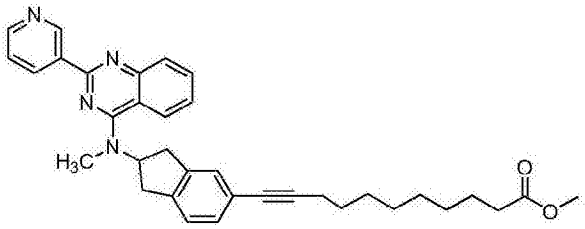
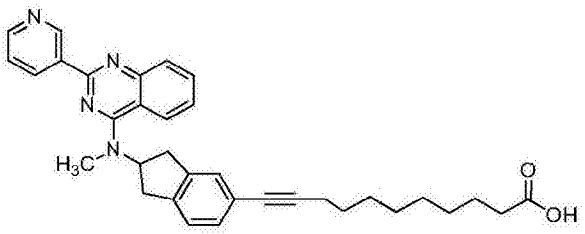
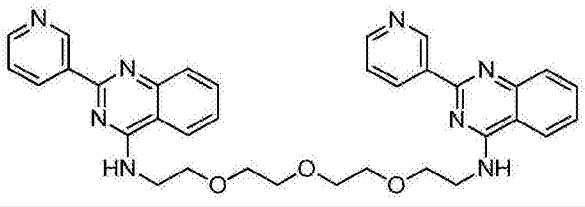
[0301]

编号	结构	MW	活性 AC_{50} 或 IC_{50} (μM，除非指示为 nM)
90		356	0.62 弱活化剂
91		356	2.82 抑制剂

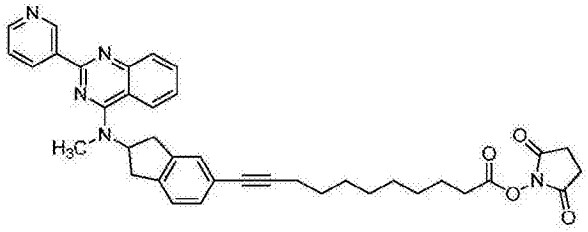
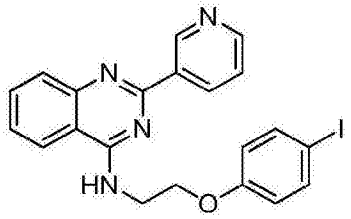
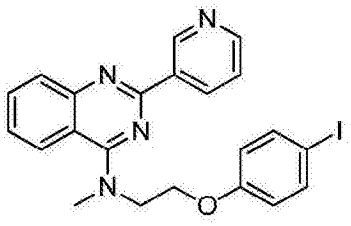
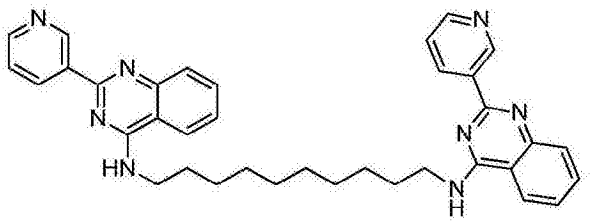
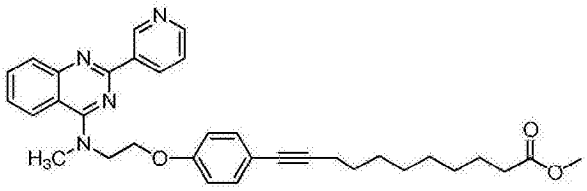
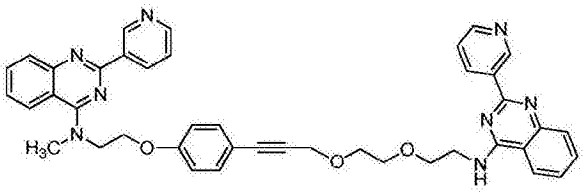
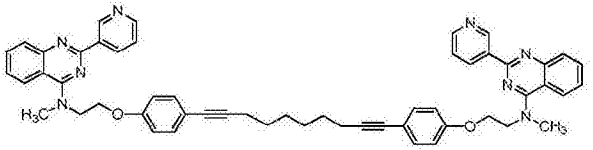
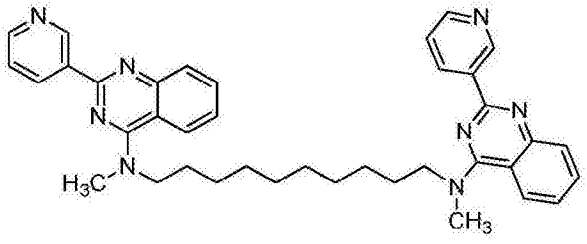
[0302]

92		356	5.01 部分抑制剂
93		377	6.31 活化剂
94		377	2.82 活化剂
95		334	2.24 部分抑制剂
96		505	0.56 抑制剂
97		356	2.51 抑制剂

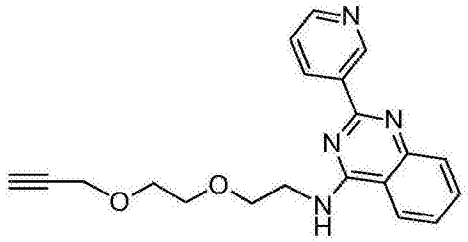
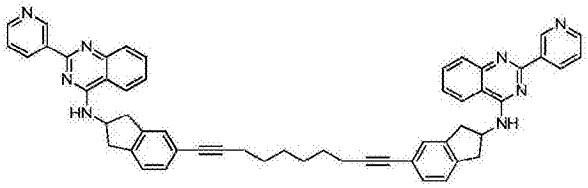
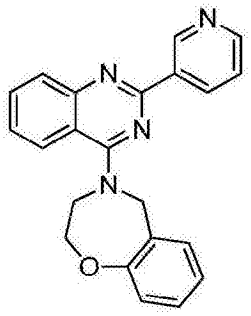
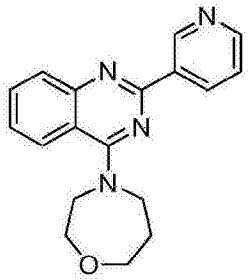
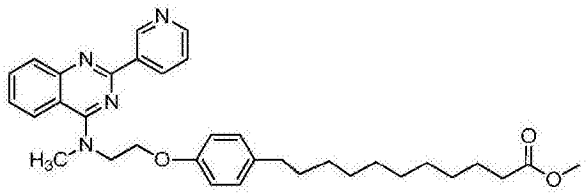
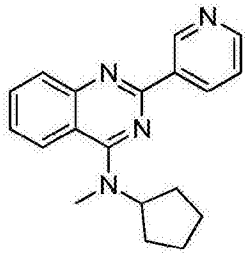
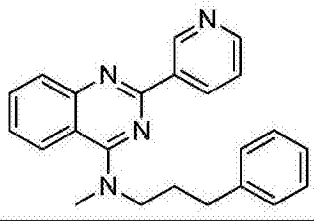
[0303]

98		368	0.079 抑制剂
99		405	0.891 抑制剂
100		416	0.178 抑制剂
101		478	NA
102		546	NA
103		532	NA
104		602	NA

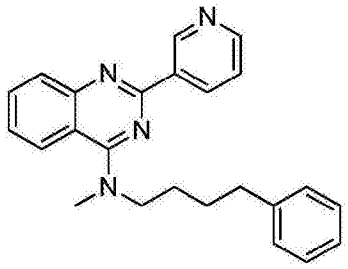
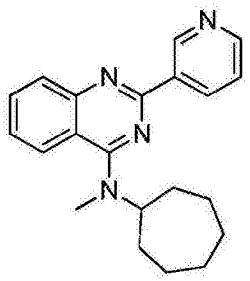
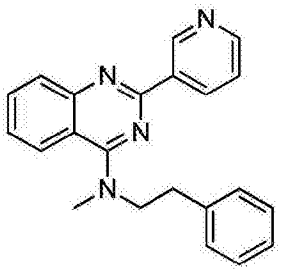
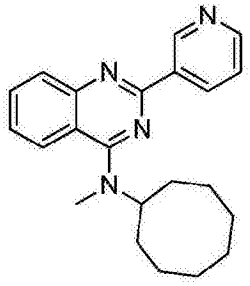
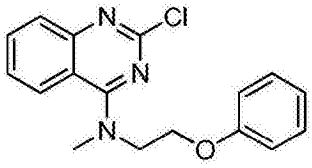
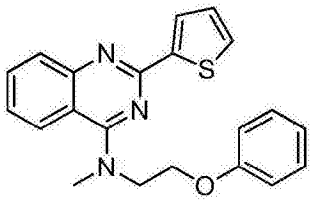
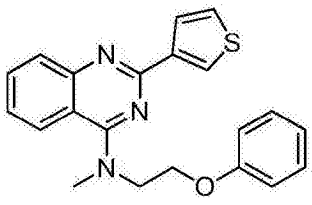
[0304]

105		629	弱 活化剂
106		468	NA
107		482	6.25
108		582	0.141 抑制剂
109		550	弱活化剂
110		702	弱活化剂
111		842	35 活化剂
112		610	弱活化剂

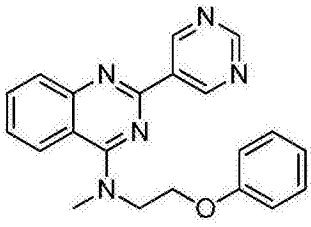
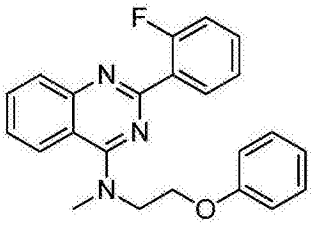
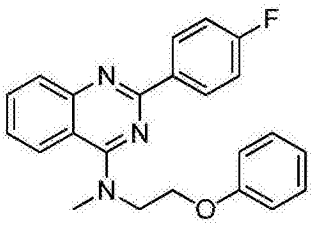
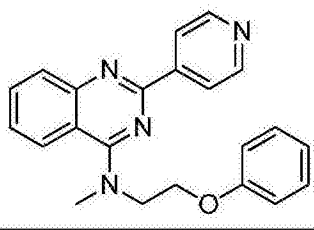
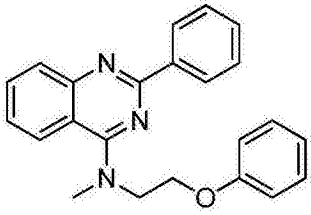
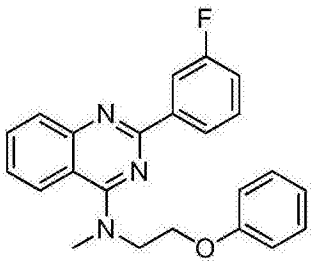
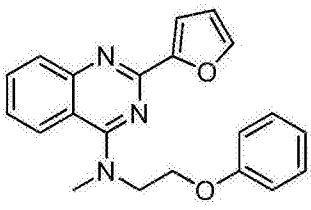
[0305]

113		348	12.58 活化剂
114		806	NA
115		354	7.94 活化剂
116		306	弱活化剂
117		554	7.08 活化剂
118		304	22.38 活化剂
119		354	5.01 活化剂

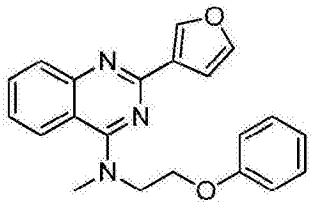
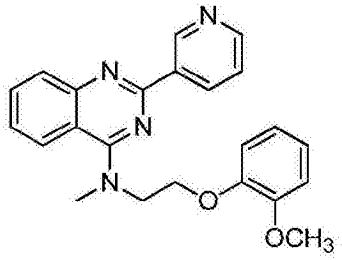
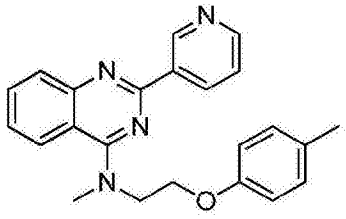
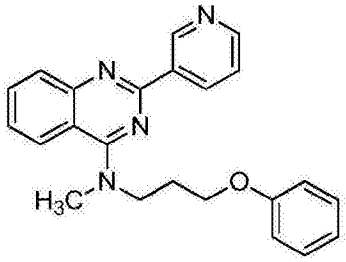
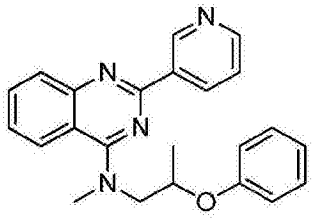
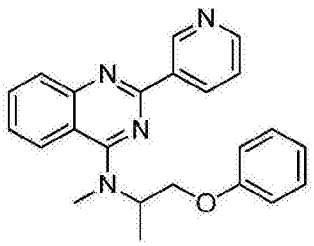
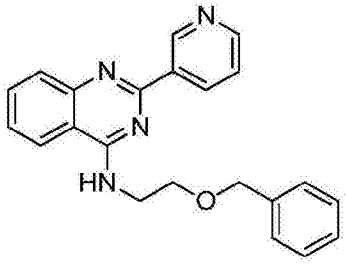
[0306]

120		368	3.16 活化剂
121		332	8.91 活化剂
122		340	5.01 活化剂
123		346	弱活化剂
124		314	10 活化剂
125		361	无活性
126		361	无活性

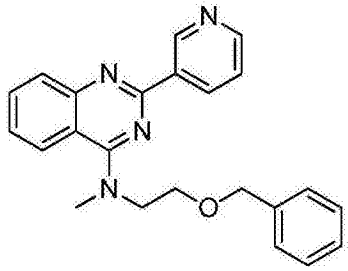
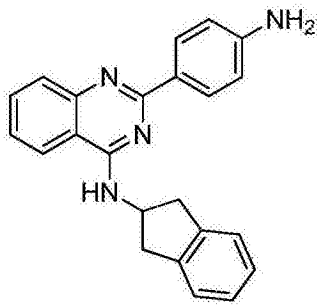
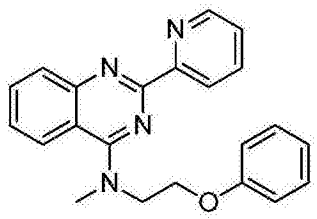
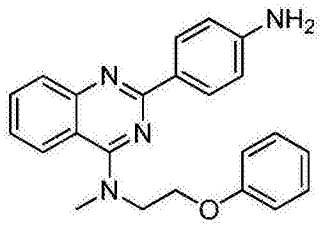
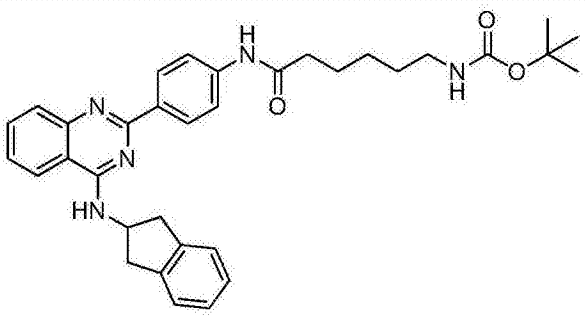
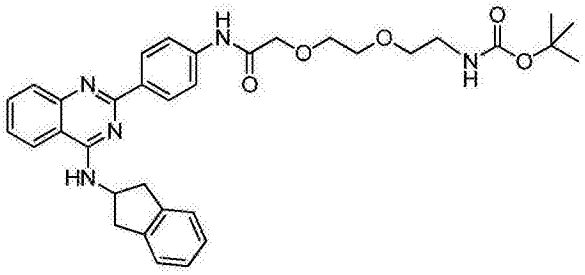
[0307]

127		357	1.25 活化剂
128		373	1.25 活化剂
129		373	无活性
130		356	3.98 活化剂
131		355	无活性
132		373	无活性
133		345	31.62 活化剂

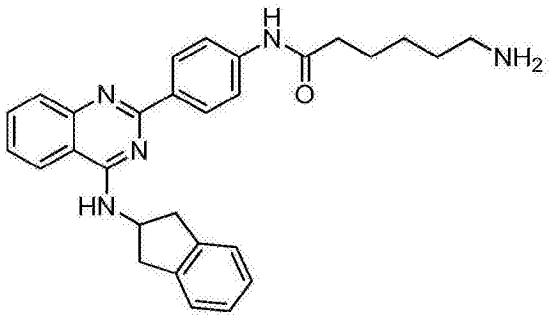
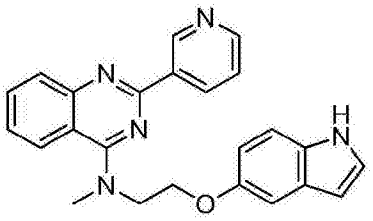
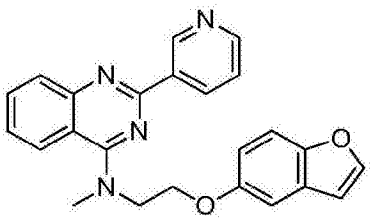
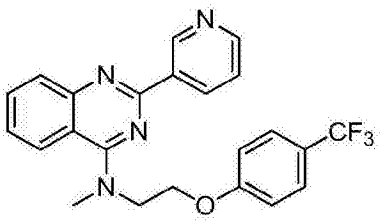
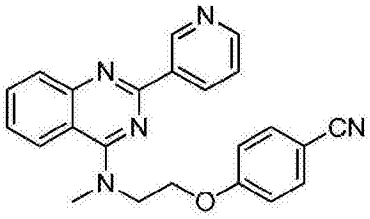
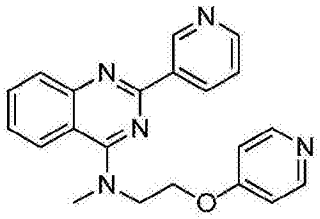
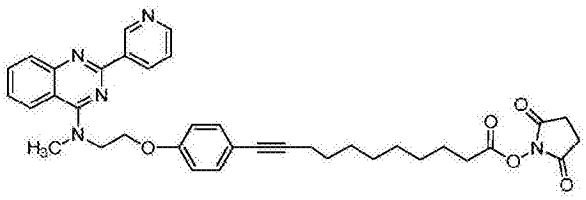
[0308]

134		345	0.65 活化剂
135		386	22.39 活化剂
136		370	3.55 活化剂
137		370	5.01 活化剂
138		370	5.62 活化剂
139		370	5.62 活化剂
140		356	11.22 抑制剂

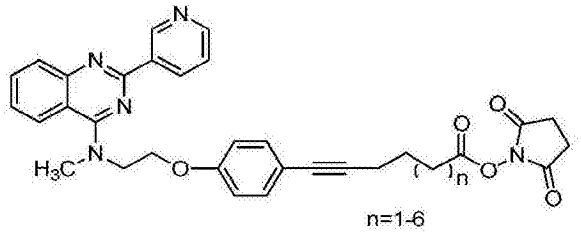
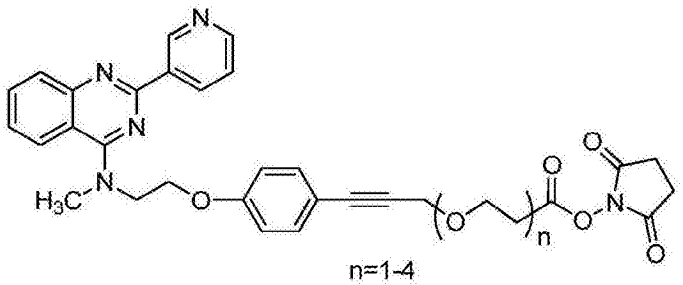
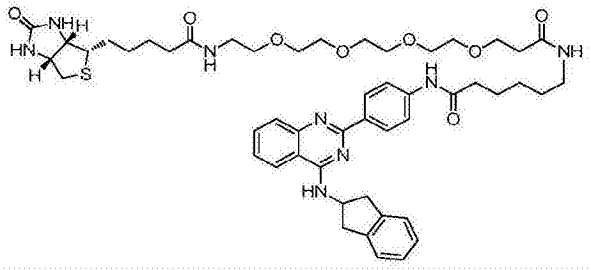
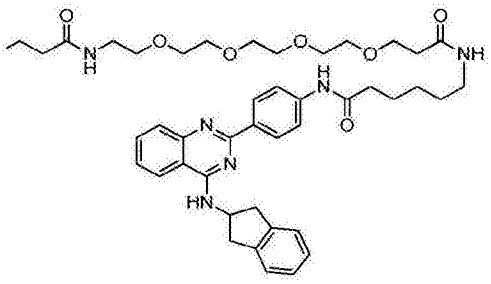
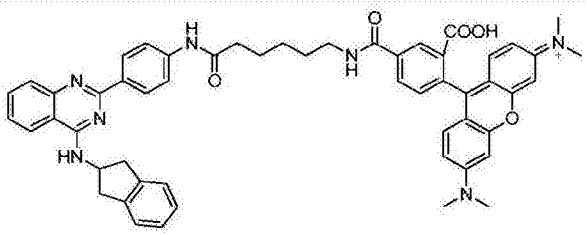
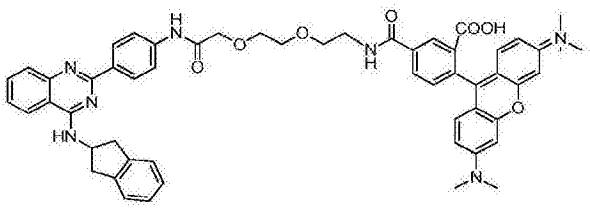
[0309]

141		370	11.22 活化剂
142		352	0.0071 抑制剂
143		356	弱活化剂
144		370	弱抑制剂
145		565	5.6 nM 抑制剂
146		597	39.8 nM 抑制剂

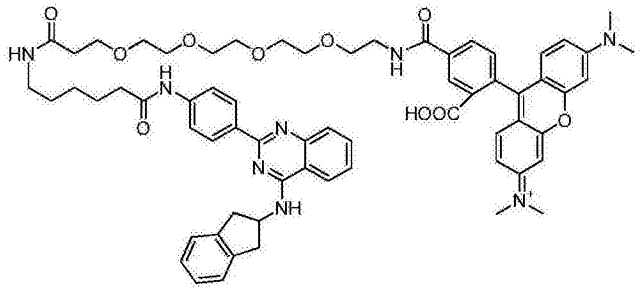
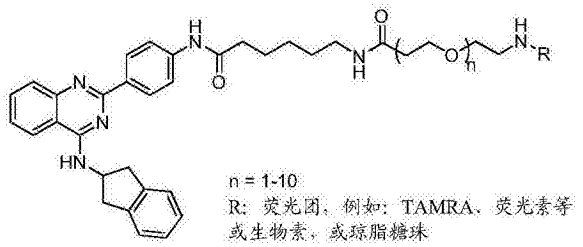
[0310]

147		465	7.5nM 抑制剂
148		395	
149		396	
150		424	NA
151		381	7.08
152		357	
153		633	活化剂

[0311]

154	 n=1-6		
155	 n=1-4		
156		938	1.95 nM 抑制剂
157	琼脂糖珠 		
			Kd 值
158		878	79nM
159		910	126nM

[0312]

160		1125.5	7.1 nM
161			

[0313] 对于本领域技术人员明显的是，可以在不脱离本发明的范围和精神的情况下对本申请中所公开的发明做出取代和修饰的改变。可以在缺乏本申请中没有具体公开的任何要素或技术特征的存在下实施本申请中所示例描述的发明。所使用的术语和表述作为描述的词语而不是限制的词语使用，且在这类术语和表述的应用中不想排除所示和所述特征的任何等效方案或其部分，而是认为各种变型可能在本发明的范围内。因此，应当理解，尽管通过具体实施方案和任选的特征举例说明了本发明，但是本领域技术人员可以将本申请中所公开的概念的变型和/或改变再分类，并且认为这类变型和改变在本发明的范围内。

[0314] 本申请引用了许多专利和非专利参考文献。通过参考将所引用的参考文献整体并入本申请。在本说明书中某个术的语定义与所引用的参考文献中该术语的定义之间存在不一致的情况下，应当基于本说明书中的定义解释该术语。

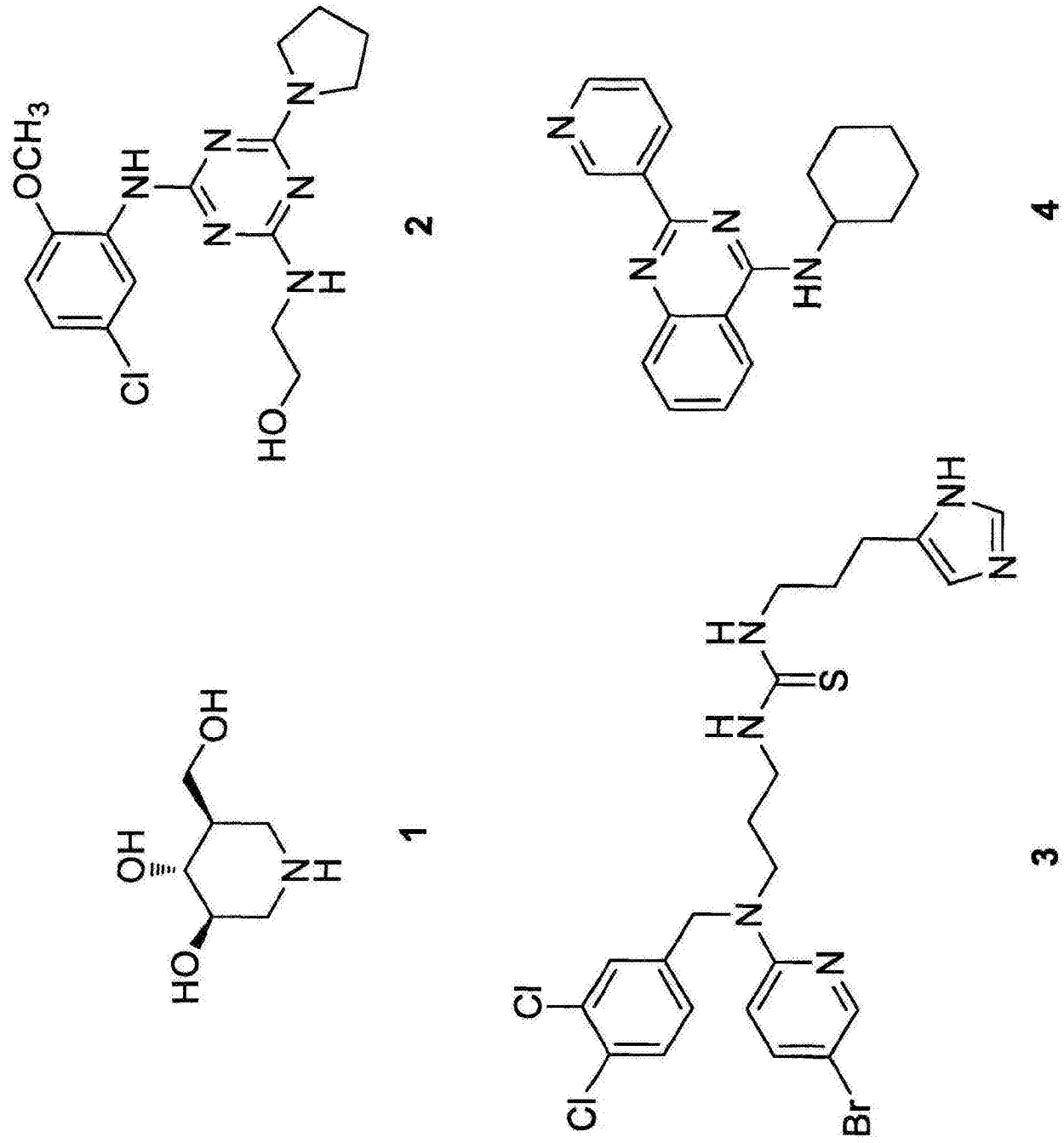


图1

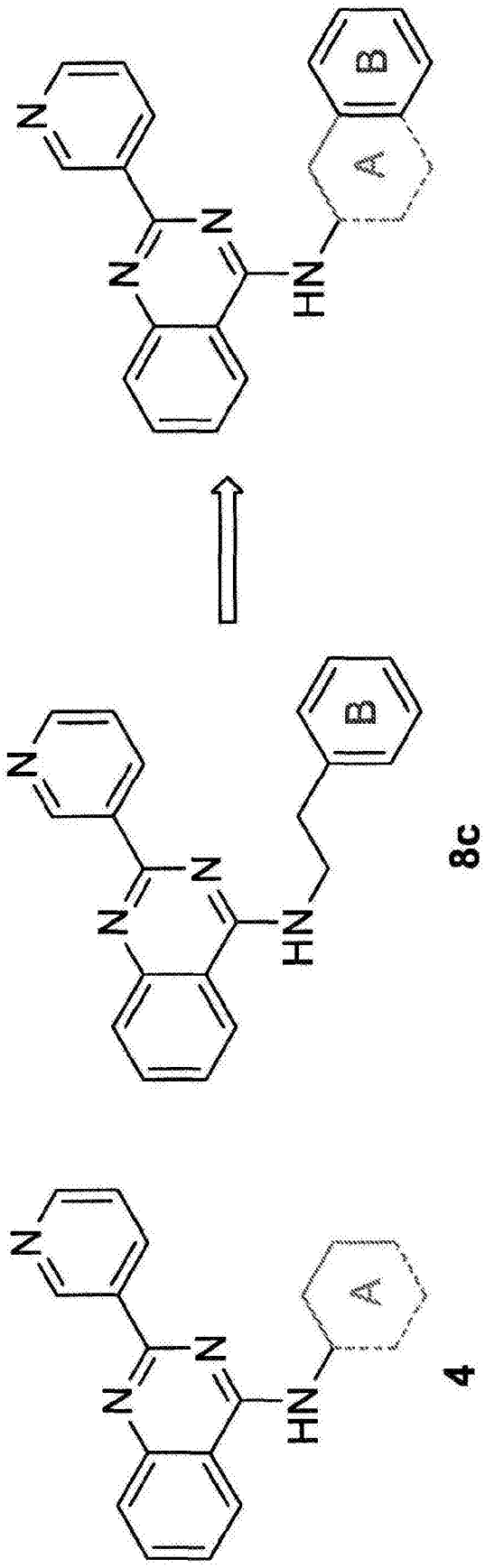


图2

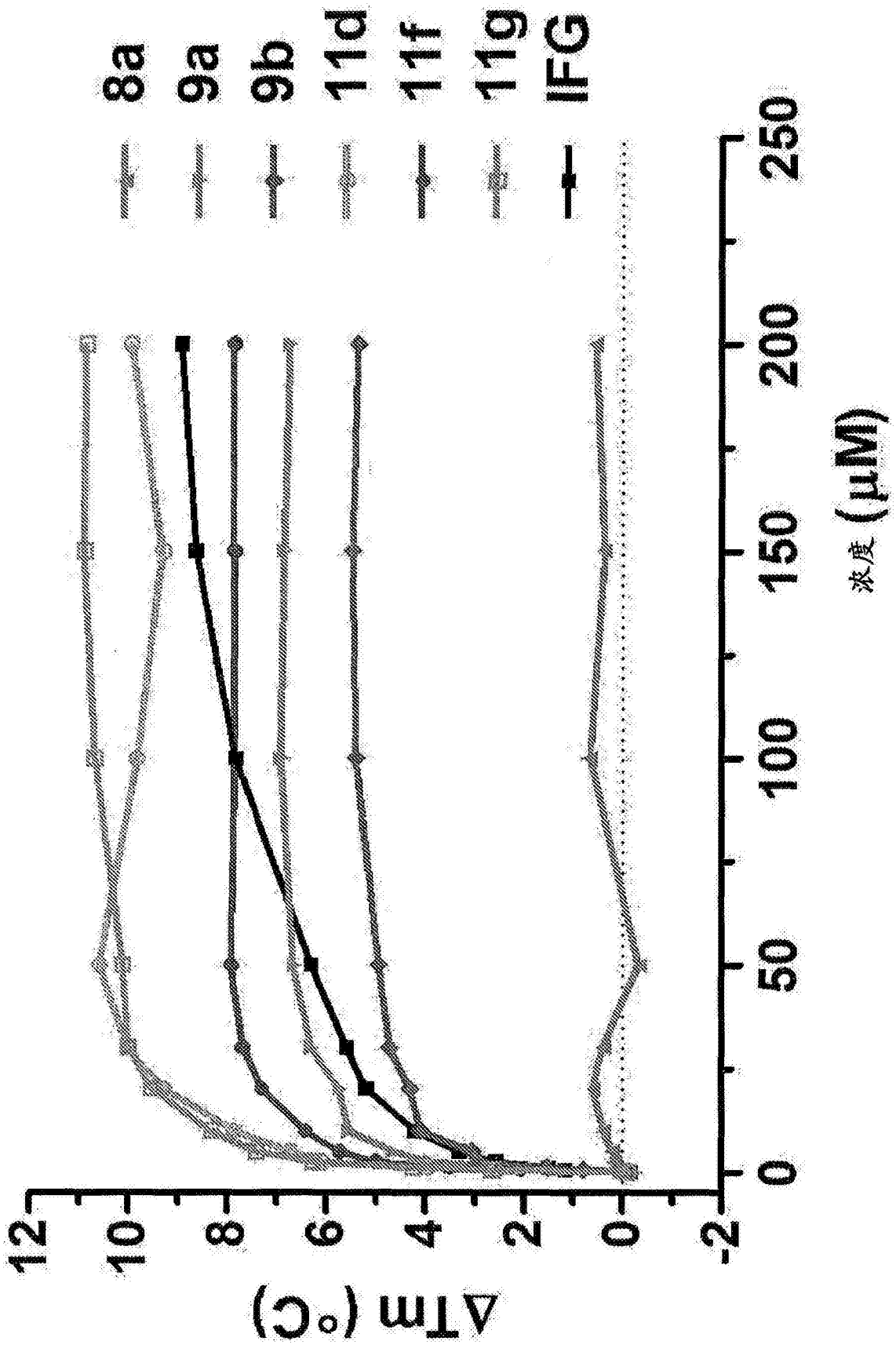

8a
9a
9b
11d
11f
11g
IFG
ΔTm (°C)
12
10
8
6
4
2
0
-2
0
50
100
150
200
250
浓度 (μM)

图3

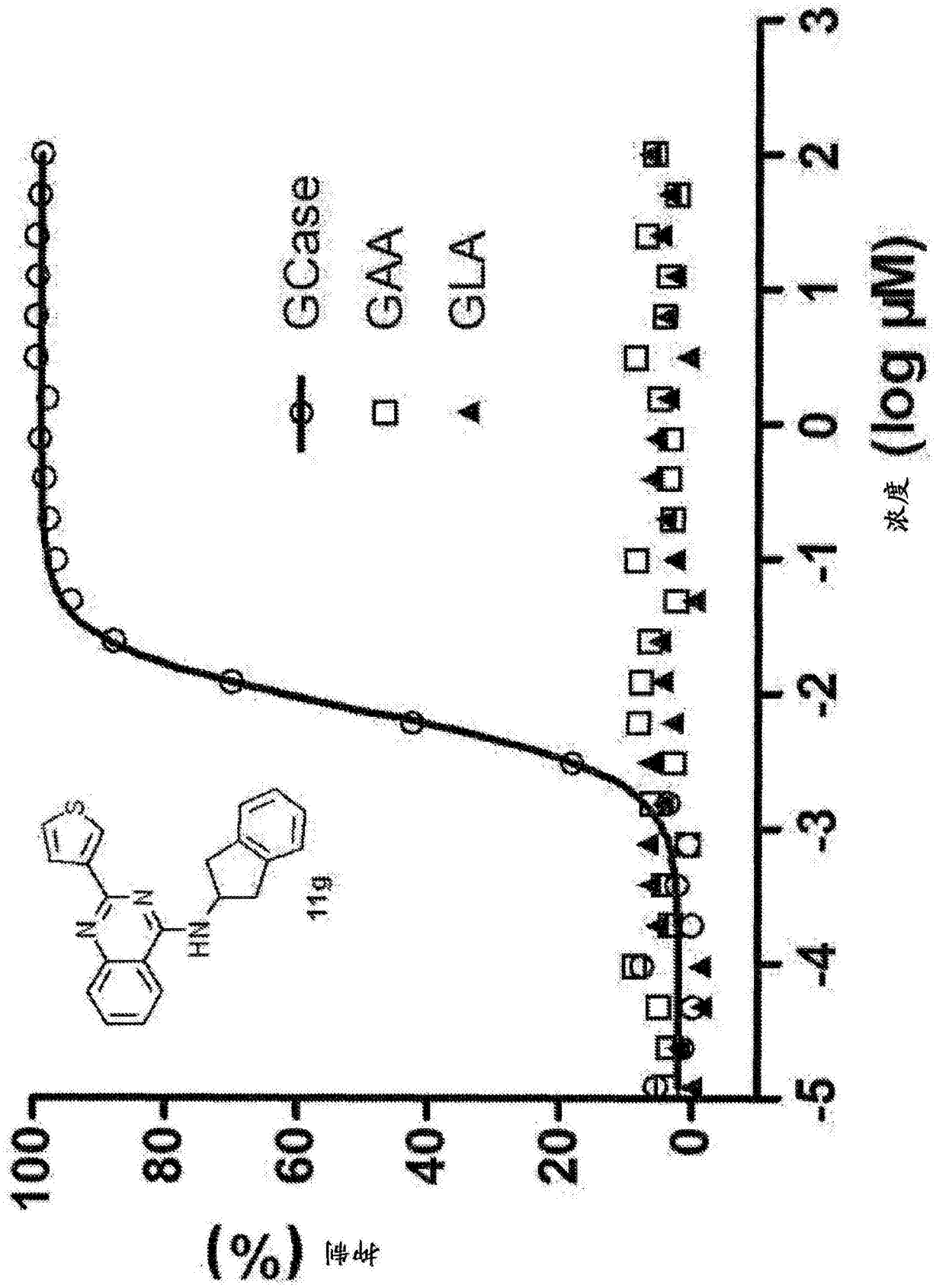


图4

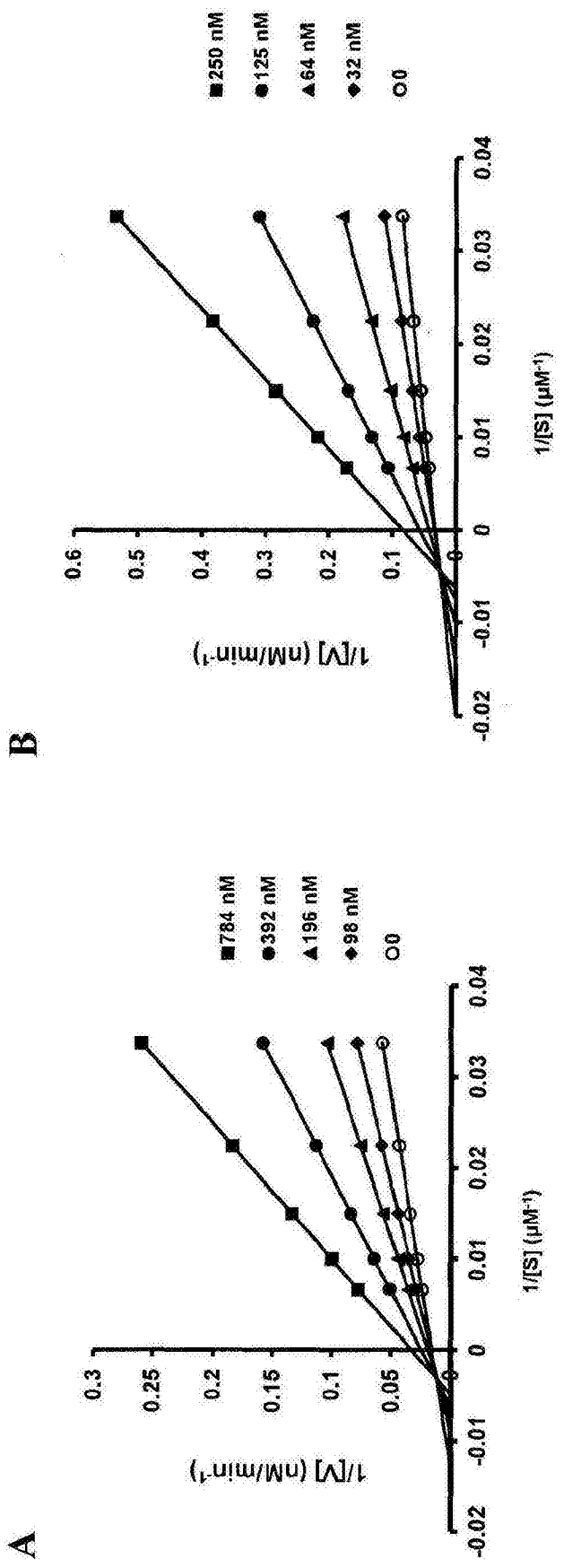

B
■250 nM
●125 nM
▲64 nM
◆32 nM
○0
1/[V] (nM/min-1)
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
-0.01
-0.02
0.01
0.02
0.03
0.04
1/[S] (μM-1)
A
■784 nM
●392 nM
▲196 nM
◆98 nM
○0
1/[V] (nM/min-1)
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
-0.01
-0.02
0.01
0.02
0.03
0.04
1/[S] (μM-1)

图5

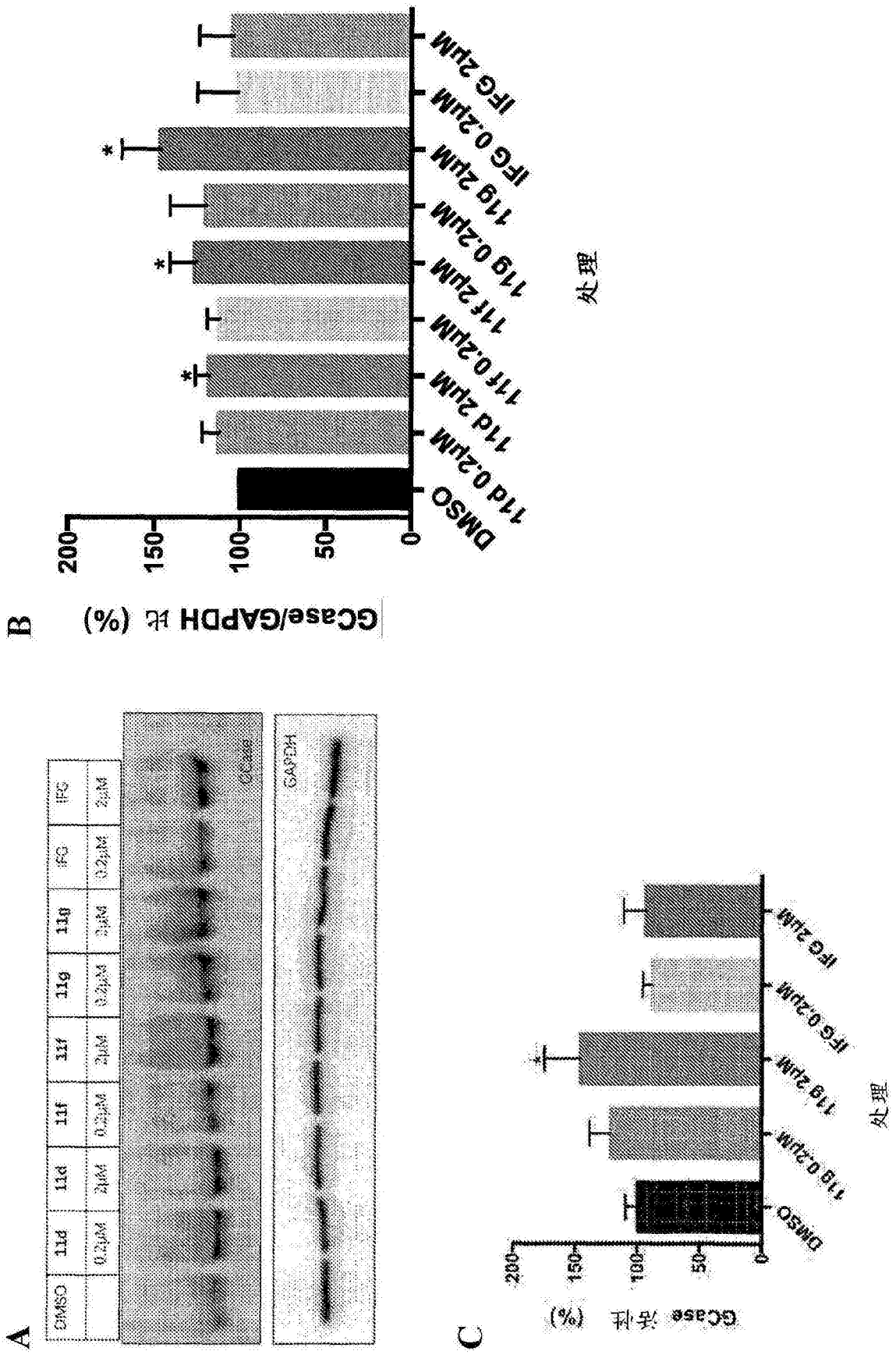

A
DMSO
11d 0.2μM
11d 2μM
11f 0.2μM
11f 2μM
11g 0.2μM
11g 2μM
IFG 0.2μM
IFG 2μM
GCase
GAPDH
B
GCase/GAPDH 比 (%)
200
150
100
50
0
DMSO
11d 0.2μM
11d 2μM
11f 0.2μM
11f 2μM
11g 0.2μM
11g 2μM
IFG 0.2μM
IFG 2μM
处理
C
GCase 活性 (%)
200
150
100
50
0
DMSO
11g 0.2μM
11g 2μM
IFG 0.2μM
IFG 2μM
处理

图6