

含氟取代咪唑盐类化合物、其制备方法、药用组合物及其应用

技术领域

5 本发明涉及药物化学领域，具体地，涉及一类具有激活 5'-腺苷一磷酸活化的蛋白激酶（AMPK）活性的化合物，其制备方法、包含该化合物的药物组合物，以及这些化合物在制备用于降低脂肪酸合成的药物、抑制甘油三酯和胆固醇合成的药物、预防和/或治疗肥胖以及 II 型糖尿病的药物、预防和/或治疗肿瘤的药物、预防和/或治疗帕金森症的药物、预防和/或治疗阿尔茨海默症的药物或者延长哺乳动物寿命的药物中的用途。

10 背景技术

5'-腺苷一磷酸活化的蛋白质激酶（AMP-activated protein kinase, AMPK），是机体和细胞内感应能量水平并调节代谢稳态的最重要的分子。AMPK 是由 α 、 β 和 γ 三个亚基构成的一个异源三聚体，在生理条件下，当细胞内处于能量缺乏状态时，AMPK 被其上游激酶磷酸化而激活，启动一系列下游反应，包括促进脂肪细胞中甘油三酯的水解、促进肝脏摄取血液中的脂肪酸并氧化、抑制脂肪酸和胆固醇的生成以及甘油三酯的形成、促进肌肉中的脂类氧化和葡萄糖的摄取以及分解、抑制胰岛 β 细胞分泌胰岛素以及糖原的合成、抑制蛋白质的合成并促进自噬作用和酮体生成作用等（Hardie DG, Ross FA, Hawley SA. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012 13(4): 251-62）。这些作用的结果是增加体内的产能代谢，减少体内的耗能代谢，从而达到维持能量稳态的作用，保证细胞的正常生命活动。因此，AMPK 的激活能够起到许多有益健康的效果。例如，在多种肿瘤组织，如黑色素瘤、乳腺癌、结肠癌和肺癌组织中，AMPK 的表达或者活性被强烈抑制，这进一步打破了这些组织中原有的合成代谢和分解代谢的平衡，加剧了肿瘤的发展（Shackelford DB, Shaw RJ. *Nat Rev Cancer.* 2009 9(8): 563-75）。在细胞水平上，已经有大量的研究表明 AMPK 的激活可以通过诸如抑制 mTORC1 复合体抑制肿瘤细胞的合成代谢，从而阻止其增殖（Inoki K, Kim J, Guan KL. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2012 52: 381-400），还可以通过促进 p53 的活力引起肿瘤细胞的生长阻滞和凋亡，从而抑制肿瘤细胞的生长（Jones RG et al., *Mol Cell.* 2005 18(3): 283-93）。因此，AMPK 激活剂在肿瘤的预防和治疗中具有重要作用。

除了肿瘤，AMPK 还和糖尿病有密切关系。人们已经发现，在肥胖小鼠和 II 型糖尿病病人的外周组织中，AMPK 的活力明显被抑制（Viollet B. et al., *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2010 45(4): 276-95）。而 AMPK 的激活能够促进肌肉中的葡萄糖转运蛋白 GLUT4 转移到细胞膜上，增加肌肉对血液中葡萄糖的吸收和分解代谢，从而降低血糖（Huang S, Czech MP. *Cell Metab.* 2007 5(4): 237-52）。在肝脏中，AMPK 还可以通过磷酸化 CRTC2 的方式促进后者的出核，或者通过磷酸化去乙酰化酶 HDAC4/5/7 的方式，促进 FOXO1 的出核，这两种方式的结果都是抑制肝脏的糖异生途径，降低血糖（Altarejos JY, Montminy M. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011 12(3): 141-51）。同时，AMPK 的激活还能够促进肥胖小鼠的脂肪水解和脂肪酸氧化，从而达到降低肝脏脂肪含量、治疗脂肪肝，或者减小脂肪组织的体积、达到减肥的效果（Garcia D et al., *Cell Rep.* 2019 26(1): 192-208; Pollard A et al., *Nature Metab.* 2019 1:340-349）。因此，AMPK 激活剂在制备降低脂肪酸合成的药物、抑制甘油三酯和胆固醇合成的药物、预防和/或治疗肥胖以及 II 型糖尿病的药物中具有重要作用。

40 同时，由于 AMPK 对碳水化合物、脂肪和胆固醇代谢及生物合成具有多功能性的作用，而这些作用与帕金森症和阿尔兹海默症（*Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014, 15, 634-646.）、以及延长有机体的寿命（*Curr. Biol.* 2007, 17, 1646-1656, *Cell Metab.* 2013, 17, 101-112, *Cell Metab.* 2014 20, 10-25, and *Nat. Commun.* 2013, 4, 2192.）等密切相关，因此，AMPK 激活剂在制备预防和/或治疗帕金森症的药物、预防和/或治疗阿尔兹海默症的药物或者延长哺乳动物寿命的药物中有重要作用。

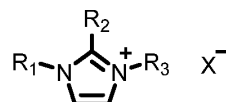
45 然而，尽管 AMPK 和代谢调节乃至人类健康有着如此重要的关联，能够临床使用的 AMPK 激活剂却少之又少，目前仅有二甲双胍作为 II 型糖尿病的一线药物被应用于临床。而二甲双胍作用的靶器官十分有限：仅能作用于肝脏和肾脏；而对于与代谢调节作用密切相关的脂肪、肌肉等组织的 AMPK 则不具有调节作用。因此，寻找更为广泛的 AMPK 激活剂一直是学术界和工业界的热点问题，急需通过新的思路设计并寻找结构新颖、安全性

高、具有较高活性的 AMPK 激活剂。

发明内容

- 5 本发明发明人为了寻找新的 AMPK 的激活剂，经过广泛深入的研究，设计、合成了一系列结构新颖、安全性高、具有较高的活性的多取代含氟咪唑盐类衍生物，并且研究了这一类新型衍生物对 AMPK 信号通路的影响。

本发明提供了以下通式的化合物：



- 10 或上述化合物的立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物。

其中取代基和符号的定义下面详细说明。

本发明的一个目的是提供一类具有激活 5'-腺苷一磷酸活化的蛋白激酶 (AMPK) 活性的化合物及其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物。

- 15 本发明的另一个目的是提供上述化合物的制备方法。

本发明的另一个目的是提供包含上述化合物的药物组合物。

本发明的另一个目的是提供上述化合物及包含所述化合物的药物组合物在制备激活 5'-腺苷一磷酸活化的蛋白激酶 (AMPK) 活性的药物中的用途。

- 20 本发明的另一个目的是提供上述化合物及包含所述化合物的药物组合物在制备用于降低脂肪酸合成的药物、抑制甘油三酯和胆固醇合成的药物、预防和/或治疗肥胖以及 II 型糖尿病的药物、预防和/或治疗肿瘤的药物、预防和/或治疗帕金森症的药物、预防和/或治疗阿尔茨海默症的药物或者延长哺乳动物寿命的药物中的用途。

附图说明

- 25 图 1 为代表性化合物在 MEF 细胞中对 AMPK 的激活水平。图 1 说明化合物在小鼠胚胎成纤维细胞 (mouse embryonic fibroblasts, MEFs) 中能激活 AMPK。结果显示，所测化合物在 10 nM 时能有效激活 AMPK，促进 AMPK 的磷酸化 (p-AMPK) 和其下游底物 ACC1/ACC2 的磷酸化 (p-ACC)。

- 30 图 2 说明 LXY-Cl 在人肝细胞孵育体系中的可能代谢途径。结果表明，LXY-Cl 在人肝细胞中可被代谢成多种不同的代谢物，孵育 120 分钟后原药剩余的相对含量为 21%。

图 3 说明 IB-33 在人肝细胞孵育体系中的可能代谢途径。结果表明，IB-33 即 LXY-Cl 对应的含氟取代化合物在人肝细胞中相对稳定，孵育 120 分钟后原药剩余的相对含量为 79%。比较 IB-33 和 LXY-Cl 在肝细胞中代谢物数据说明含氟化合物的代谢稳定性显著提高。

- 35 图 4 说明 IB-33 在高脂喂养的肥胖小鼠模型中能有效降低体重。

图 5 说明 IB-33 在高脂喂养的肥胖小鼠模型中能有效减轻脂肪在肝脏的累积。

图 6 说明 IB-33 在小鼠的糖耐受性试验中能有效降低血糖。

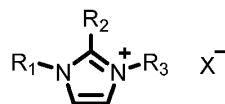
图 7 为化合物 IB-33 在小鼠的糖耐受性试验中的性能，其有效降低血糖；图 7 说明化合物 (IB-33) 在 ip-GTT 中能有效降糖。

- 40 发明详述

本文描述了各种具体实施方案、方式和实施例，包括为了解释所要求保护的本发明而采用的示例性实施方式和定义。尽管以下详细描述给出了具体的优选实施方案，但是本领域技术人员将理解，这些实施方式仅是示例性的，并且本发明可以以其他方式实践。为了确定侵权的目的，本发明的范围将涉及所附权利要求中的任何一个或多个，包括其等同物，以及等同于所述的那些的要素或限制。

- 45 本发明是通过下面技术方案实现的。

第一方面，本发明提供了以下通式的化合物：



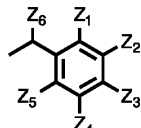
或上述化合物的立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，

其中，

5 R_1 选自被 1-15 个氟原子取代的 C10-C20 烷基；

R_2 选自氢，C1-C6 烷基，C3-C6 环烷基；

R_3 选自



1) Z_1, Z_2, Z_3, Z_4, Z_5 各自独立地选自：

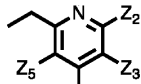
10 (1) 氢，氟，氯，溴，碘，硝基，氰基，氨基，羟基，羧基，羧基甲酰基，甲氧基甲酰基，乙氧基甲酰基，正丙氧基甲酰基，异丙氧基甲酰基，氨基甲酰基，*N*-甲基甲酰基，*N*-乙基甲酰基，*N*-正丙基甲酰基，*N*-异丙基甲酰基，*N*-环丙基甲酰基，*N*-正丁基甲酰基，*N*-异丁基甲酰基，*N*-叔丁基甲酰基，*N*-环丁基甲酰基，*N*-正戊基甲酰基，*N*-异戊基甲酰基，*N*-环戊基甲酰基，*N*-正己基甲酰基，*N*-异己基甲酰基，*N*-环己基甲酰基，*N*，*N*-二甲基甲酰基，*N*，*N*-二乙基甲酰基，*N*，*N*-二正丙基甲酰基，*N*，*N*-二异丙基甲酰基，环丙胺基甲酰基，环丁胺基甲酰基，环戊胺基甲酰基，环己胺基甲酰基，4-羟基哌啶基甲酰基，哌嗪基甲酰基，4-*N*-甲基哌嗪基甲酰基，4-*N*-乙基哌嗪基甲酰基，4-*N*-正丙基哌嗪基甲酰基，4-*N*-异丙基哌嗪基甲酰基，甲磺酰基，乙磺酰基，正丙基磺酰基，异丙基磺酰基，正丁基磺酰基，异丁基磺酰基，羧基磺酰基，氨基磺酰基，*N*-甲基磺酰基，*N*-乙基磺酰基，*N*-正丙基磺酰基，*N*-异丙基磺酰基，*N*-环丙基磺酰基，*N*-正丁基磺酰基，*N*-异丁基磺酰基，*N*-叔丁基磺酰基，*N*-环丁基磺酰基，*N*-正戊基磺酰基，*N*-异戊基磺酰基，*N*-环戊基磺酰基，*N*-正己基磺酰基，*N*-异己基磺酰基，*N*-环己基磺酰基，*N*，*N*-二甲基磺酰基，*N*，*N*-二乙基磺酰基，*N*，*N*-二正丙基磺酰基，*N*，*N*-二异丙基磺酰基，环丙胺基磺酰基，环丁胺基磺酰基，环戊胺基磺酰基，环己胺基磺酰基，4-羟基哌啶基磺酰基，哌嗪基磺酰基，4-*N*-甲基哌嗪基磺酰基，4-*N*-乙基哌嗪基磺酰基，4-*N*-正丙基哌嗪基磺酰基，4-*N*-异丙基哌嗪基磺酰基，甲酰胺基，乙酰胺基，丙酰胺基，正丁酰胺基，异丁酰胺基，环丙基甲酰胺基，环丁基甲酰胺基，环戊基甲酰胺基，环己基甲酰胺基，甲磺酰胺基，乙磺酰胺基，正丙磺酰胺基，异丙磺酰胺基，正丁磺酰胺基，异丁磺酰胺基；

(2) C1-C6 烷基，C1-C6 烷氧基，C1-C6 含氧烷基，C1-C6 含氟烷基，C1-C6 含氟烷氧基；

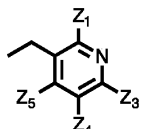
30 (3) Z_2 与 Z_3 可以形成含氧的取代或未取代的五元环或六元环；取代基可以选自与 Z_1 相同的取代基；

(4) Z_4 与 Z_5 可以形成含氮的取代或未取代的五元环或六元环；取代基可以选自与 Z_1 相同的取代基；

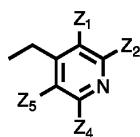
Z_6 选自氢，C1-C3 烷基，C3-C6 环烷基；



35 2) Z_2, Z_3, Z_4, Z_5 与上述 1) 中定义相同；



3) Z_2, Z_3, Z_4, Z_5 与上述 1) 中定义相同；



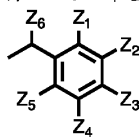
- 4) ,其中 Z_2, Z_3, Z_4, Z_5 与上述 1) 中定义相同;
X 为药理学上可以接受的无机酸盐或有机酸盐的阴离子。

5 在一些实施方案中, R_1 选自: 被 1、3、5、7、9、11、13 或 15 个氟原子取代的 C14-C18 烷基。

在一些实施方案中, R_1 选自: $C_{16}F_{32}H_{22}^-$ 、 $C_{14}F_7H_{22}^-$ 、 $C_{15}F_9H_{22}^-$ 、 $C_{16}F_{11}H_{22}^-$ 、 $C_{17}F_{13}H_{22}^-$ 。

在一些实施方案中, R_2 选自: 氢, C1-C4 烷基, C3-C4 环烷基。

在一些实施方案中, R_2 选自: 氢, 甲基, 异丙基, 环丙基。

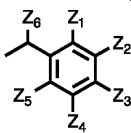


10 在一些实施方案中, R_3 为 , 其中 Z_1, Z_2, Z_3, Z_4, Z_5 中的 2 个各自独立地选自以下, 其余为氢:

(1) 氢, 氟, 氯, 溴, 碘, 硝基, 氰基, 氨基, 羟基, 羧基, 羧基甲酰基, 氨基甲酰基, 甲磺酰基, 羧基磺酰基, 氨基磺酰基, 甲酰胺基, 甲磺酰胺基;

(2) C1-C6 烷基, C1-C6 烷氧基, C1-C6 含氧烷基, C1-C6 含氟烷基, C1-C6 含氟烷氧基;

15 Z_6 选自氢, C1-C3 烷基, C3-C6 环烷基; 优选 Z_6 为氢或甲基。

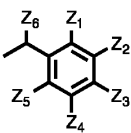


在一些实施方案中, R_3 为 , 其中 Z_1, Z_2, Z_4, Z_5 中的 2 个各自独立地选自以下, 其余的以及 Z_3 为氢:

(1) 氢, 氟, 氯, 溴, 碘, 硝基, 氰基, 氨基, 羟基, 羧基, 羧基甲酰基, 氨基甲酰基, 甲磺酰基, 羧基磺酰基, 氨基磺酰基, 甲酰胺基, 甲磺酰胺基;

20 (2) C1-C6 烷基, C1-C6 烷氧基, C1-C6 含氧烷基, C1-C6 含氟烷基, C1-C6 含氟烷氧基;

Z_6 选自氢, C1-C3 烷基, C3-C6 环烷基; 优选 Z_6 为氢或甲基。



25 在一些实施方案中, R_3 为 , 其中, Z_1, Z_2, Z_3, Z_4, Z_5 中的 Z_1, Z_5 各自、或 Z_2, Z_4 各自、或 Z_1, Z_4 各自独立地选自以下, 其余的为氢:

(1) 氢, 氟, 氯, 溴, 碘, 硝基, 氰基, 氨基, 羟基, 羧基, 羧基甲酰基, 氨基甲酰基, 甲磺酰基, 羧基磺酰基, 氨基磺酰基, 甲酰胺基, 甲磺酰胺基;

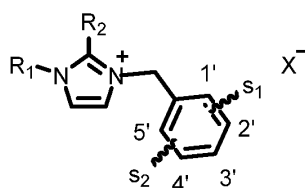
(2) C1-C6 烷基, C1-C6 烷氧基, C1-C6 含氧烷基, C1-C6 含氟烷基, C1-C6 含氟烷氧基;

30 Z_6 选自氢, C1-C3 烷基, C3-C6 环烷基; 优选 Z_6 为氢或甲基。

在一些实施方案中, X 为氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根离子、磷酸根离子、马来酸根离子、富马酸根离子、酒石酸根离子、棕榈酸根离子、草酸根离子、柠檬酸根离子、琥珀酸根离子、甲磺酸根离子、苯磺酸根离子、对甲苯磺酸根离子。

35 在一些实施方案中, X 为氯离子、溴离子、碘离子、硫酸氢根离子、硫酸根离子、磷酸根离子、马来酸根离子、富马酸根离子、酒石酸根离子、棕榈酸根离子、草酸根离子、柠檬酸根离子、琥珀酸根离子、甲磺酸根离子、苯磺酸根离子、对甲苯磺酸根离子。

第二方面, 本发明提供了以下的化合物:



或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物

其中, R_1 选自被 1-15 个氟原子取代的 C10-C20 烷基;

R_2 选自: 氢, C1-C6 烷基, C3-C6 环烷基;

5 S_1 选自: 1'-卤素、1'-C1-C6 烷氧基 (优选 1'-C1-C3 烷氧基);

S_2 选自: 4'-卤素、5'-卤素;

X^- 为药学上可以接受的无机酸和有机酸的阴离子。

在一些实施方案中, R_1 选自: 被 1、3、5、7、9、11、13 或 15 个氟原子取代的 C14-C18 烷基。

10 在一些实施方案中, R_1 选自: $C_{16}F_{H_{32}}$ 、 $C_{14}F_7H_{22}$ 、 $C_{15}F_9H_{22}$ 、 $C_{16}F_{11}H_{22}$ 、 $C_{17}F_{13}H_{22}$ 。

在一些实施方案中, R_1 选自: $n-C_{16}F_{H_{32}}$ 、 $n-C_{14}F_7H_{22}$ 、 $n-C_{15}F_9H_{22}$ 、 $n-C_{16}F_{11}H_{22}$ 、 $n-C_{17}F_{13}H_{22}$ 。

在一些实施方案中, 优选 R_2 选自: 氢, C1-C3 烷基, C3-C4 环烷基。

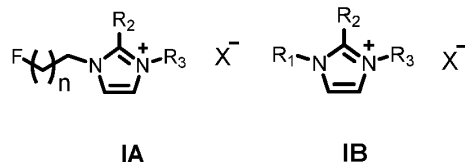
在一些实施方案中, R_2 选自: 氢, 甲基, 异丙基, 环丙基。

15 在一些实施方案中, S_1 , S_2 各自为: 1'-卤素、5'-卤素, 或者 1'-C1-C6 烷氧基 (优选 1'-C1-C3 烷氧基)、4'-卤素。

在一些实施方案中, X^- 为氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根离子、磷酸根离子、马来酸根离子、富马酸根离子、酒石酸根离子、棕榈酸根离子、草酸根离子、柠檬酸根离子、琥珀酸根离子、甲磺酸根离子、苯磺酸根离子、对甲苯磺酸根离子。

20 在一些实施方案中, X^- 为氯离子、溴离子、碘离子、硫酸氢根离子、硫酸根离子、磷酸根离子、马来酸根离子、富马酸根离子、酒石酸根离子、棕榈酸根离子、草酸根离子、柠檬酸根离子、琥珀酸根离子、甲磺酸根离子、苯磺酸根离子、对甲苯磺酸根离子。

第三方面, 本发明提供了以下的化合物:



IA

IB

25 其中, 对于 R_1 、 R_2 、 R_3 以及 X^- 的定义如上, $n = 9 \sim 19$,

或上述化合物的立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物。

除非特殊说明, 上述基团和取代基具有药物化学领域的普通含义。

30 “C₁₀-C₂₀ 烷基”包括碳原子数为 10-20 之间的任意两个整数为端点的区间的直链或支链基团。例如, “C₁₀-C₂₀ 烷基”包括 C14-C18 烷基、C₁₀-C₁₈ 烷基、C₁₀-C₁₆ 烷基、C₁-C₄ 烷基、C₂-C₂₀ 烷基、C₂-C₁₆ 烷基、C₆-C₂₀ 烷基、C₆-C₁₆ 烷基、等等, 以上所列仅为举例而言, 并不是对于所述区间的限定。

术语“被 1-15 个氟原子取代的 C₁₀-C₂₀ 烷基”指的是上述“C₁₀-C₂₀ 烷基”被 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 或 15 个氟原子取代。

35 术语“C₁-C₆ 烷基”指的是任意的含有 1-6 个碳原子的直链或支链基团, 例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、叔戊基、正己基等。

术语“C₁-C₄ 烷基”指的是任意的含有 1-4 个碳原子的直链或支链基团, 例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基等。

40 术语“C₁-C₃ 烷基”指的是任意的含有 1-3 个碳原子的直链或支链基团, 例如甲基、

乙基、正丙基、异丙基等。

术语“C₃-C₆ 环烷基”指的是 3-至 6-元全-碳单环，其可以包含 0 个、一个或多个双键，但不具有完全共轭的 π -电子系统。环烷基的实例是、但不限于环丙烷、环丁烷、环戊烷、环戊烯、环己烷、环己烯、环己二烯。

5 术语“C₃-C₄ 环烷基”指的是 3-至 4-元全-碳单环，其实例是、但不限于环丙烷、环丁烷。

术语“卤素”指的是氟、氯、溴、碘。

术语“氰基”指的是-CN 残基。

术语“硝基”指的是-NO₂ 基团。

10 术语“烷氧基”、“环基氧基”及其衍生物指的是任意上述烷基（例如 C₁-C₂₄ 烷基、C₁-C₆ 烷基等）、环烷基（例如 C₃-C₆ 环烷基），其通过氧原子(-O-)连接到分子的其余部分。

从所有上述描述中，对本领域技术人员显而易见的是，其名称是复合名称的任意基团，例如“含氟含氧烷基”，应该指的是常规地从其衍生的部分例如从被氟基取代的含氧烷基来构建，其中烷基如上文所定义。

15 术语“含氧的取代或未取代的五元环或六元环”或“含氮的取代或未取代的五元环或六元环”指的是 5-或 6-元饱和或部分不饱和碳环，其中一个或多个碳原子被氧或氮替代。非限制性实例是，例如吡喃、吡咯烷、吡咯啉、咪唑啉、咪唑烷、吡唑烷、吡唑啉、二氢呋喃、四氢呋喃、1,3-二氧戊环、哌啶、哌嗪、吗啉、四氢吡咯基等。

20 在上述对于 R₃ 中的 Z₁, Z₂, Z₃, Z₄, Z₅ 的定义中，对于“其中，Z₁, Z₂, Z₃, Z₄, Z₅ 中的 Z₁, Z₅ 各自、或 Z₂, Z₄ 各自、或 Z₁, Z₄ 各自独立地选自以下，其余的为氢：(1) 氢，氟，氯，溴，碘，硝基，氰基；(2) C₁-C₃ 烷基，C₁-C₆ 烷氧基，C₁-C₆ 含氧烷基，C₁-C₆ 含氟烷基，C₁-C₆ 含氟烷氧基”，其意指：“Z₁, Z₅ 各自独立地选自以下”包括 Z₁, Z₅ 独立地分别为所列举的“(1) 氢，氟，氯，溴，碘，硝基，氰基；(2) C₁-C₆ 烷基，C₁-C₆ 烷氧基，C₁-C₆ 含氧烷基，C₁-C₆ 含氟烷基，C₁-C₆ 含氟烷氧基”中的任一个基团所构成的任意组合，“Z₂, Z₄ 各自独立地选自以下”包括 Z₂, Z₄ 独立地分别为所列举的“(1) 氢，氟，氯，溴，碘，硝基，氰基；(2) C₁-C₆ 烷基，C₁-C₆ 烷氧基，C₁-C₆ 含氧烷基，C₁-C₆ 含氟烷基，C₁-C₆ 含氟烷氧基”中的任一个基团所构成的任意组合，“Z₁, Z₄ 各自独立地选自以下”包括 Z₁, Z₄ 独立地分别为所列举的“(1) 氢，氟，氯，溴，碘，硝基，氰基；(2) C₁-C₆ 烷基，C₁-C₆ 烷氧基，C₁-C₆ 含氧烷基，C₁-C₆ 含氟烷基，C₁-C₆ 含氟烷氧基”中的任一个基团所构成的任意组合。

30 如本文所使用，除非另外说明，术语“前药”是指可以在生物学条件（体外或体内）下水解、氧化或进行其他反应以提供本发明的化合物的衍生物。前药仅在生物学条件下经过该反应成为活性化合物，或者它们在它们不反应的形式中具有活性。通常可以使用公知的方法制备前药，例如 Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff 编，第 5 版) 中描述的那些方法。

35 如本文所使用，术语“式(I)化合物的药学上可以接受的盐”的例子是由形成药学上可以接受的阴离子的有机酸形成的有机酸加合盐，包括但不限于甲酸盐、乙酸盐、丙酸盐、苯甲酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、抗坏血酸盐、 α -酮戊二酸盐、 α -甘油磷酸盐、烷基磺酸盐或芳基磺酸盐；优选地，所述烷基磺酸盐为甲基磺酸盐或乙基磺酸盐；所述芳基磺酸盐为苯磺酸盐或对甲苯磺酸盐。也可形成合适的无机盐，包括但不限于盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、碳酸氢盐和碳酸盐、硫酸氢盐和硫酸盐或磷酸盐等。

40 药学上可以接受的盐可使用本领域熟知的标准程序获得，例如，通过将足量的碱性化合物和提供药学上可以接受的阴离子的合适的酸反应。

45 本文使用的术语“治疗”一般是指获得需要的药理和/或生理效应。该效应根据完全或部分地预防疾病或其症状，可以是预防性的；和/或根据部分或完全稳定或治愈疾病和/或由于疾病产生的副作用，可以是治疗性的。本文使用的“治疗”涵盖了对患者疾病的任何治疗，包括：(a) 预防易感染疾病或症状但还没诊断出患病的患者所发生的疾病或症状；(b) 抑制疾病的症状，即阻止其发展；或(c) 缓解疾病的症状，即，导致疾病或症状退化。

50

按照本发明的一种具体技术方案,所述化合物、其立体异构体、其前药、或者其药学上可接受的盐或药学上可接受的溶剂合物,其中所述化合物为下面实施例中所述化合物之一。

5 另一方面,本发明提供了药物组合物,其包含上述任一技术方案所述的化合物、其立体异构体、其前药、或者其药学上可接受的盐或药学上可接受的溶剂合物,和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

10 制备各种含有一定量的活性成分的药物组合物的方法是已知的,或根据本发明的公开内容对于本领域技术人员是显而易见的。如 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, Martin, E.W., ed., Mack Publishing Company, 19th ed.(1995)所述,制备所述药物组合物的方法包括掺入适当的药学赋形剂、载体、稀释剂等。

以已知的方法制造本发明的药物制剂,包括常规的混合、溶解或冻干方法。本发明的化合物可以制成药物组合物,并向患者以适于选定的施用方式的各种途径施用,例如,口服或肠胃外(通过静脉内、肌内、局部或皮下途径)。

15 因此,本发明的化合物结合药学上可以接受的载体(如惰性稀释剂或可同化的可食用的载体)可以全身施用,例如,口服。它们可以封闭在硬或软壳的明胶胶囊中,可以压为片剂。对于口服治疗施用,活性化合物可以结合一种或多种赋形剂,并以可吞咽的片剂、颊含片剂、含片、胶囊剂、酏剂、悬浮剂、糖浆、圆片等的形式使用。这种组合物和制剂应该包含至少 0.1%的活性化合物。这种组合物和制剂的比例当然可以变化,可以占给定的单位剂型重量的大约 1%至大约 99%。在这种治疗有用的组合物中,活性化合物的量使得能够20 获得有效剂量水平。

片剂、含片、丸剂、胶囊剂等也可以包含:粘合剂,如黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;赋形剂,如磷酸氢二钙;崩解剂,如玉米淀粉、马铃薯淀粉、藻酸等;润滑剂,如硬脂酸镁;和甜味剂,如蔗糖、果糖、乳糖或阿司帕坦;或调味剂,如薄荷、冬青油或25 樱桃香味。当单位剂型是胶囊时,除了上面类型的材料,它还可以包含液体载体,如植物油或聚乙二醇。各种其他材料可以存在,作为包衣,或以其他方式改变固体单位剂型的物理形式。例如,片剂、丸剂或胶囊剂可以用明胶、蜡、虫胶或糖等包衣。糖浆或酏剂可以包含活性化合物,蔗糖或果糖作为甜味剂,对羧苯甲酸甲酯或对羧苯甲酸丙酯作为防腐剂,染料和调味剂(如樱桃香料或桔子香料)。当然,用于制备任何单位剂型的任何材料应该是药学上可以接受的且以应用的量基本上无毒。此外,活性化合物可以掺入缓释制剂和缓释30 装置中。

活性化合物也可以通过输注或注射来静脉内或腹膜内施用。可以制备活性化合物或其盐的水溶液,任选地混和无毒的表面活性剂。也可以制备在甘油、液体聚乙二醇、甘油三乙酸酯及其混合物以及油中的分散剂。在普通的储存和使用条件下,这些制剂包含防腐剂以防止微生物生长。

35 适于注射或输注的药物剂型可以包括包含适于无菌的可注射或可输注的溶液或分散剂的即时制剂的活性成分(任选封装在脂质体中)的无菌水溶液或分散剂或无菌粉末。在所有情况下,最终的剂型在生产和储存条件下必须是无菌的、液体的和稳定的。液体载体可以是溶剂或液体分散介质,包括,例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)、植物油、无毒的甘油酯及其合适的混合物。可以维持合适的流动性,例如,通过40 脂质体的形成,通过在分散剂的情况下维持所需的粒子大小,或通过表面活性剂的使用。可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂(如对羧苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等)产生预防微生物的作用。在许多情况下,优选包括等渗剂,如糖、缓冲剂或氯化钠。通过使用延缓吸收剂的组合物(例如,单硬脂酸铝和明胶)可以产生可注射的组合物45 的延长吸收。

通过将合适的溶剂中的需要量的活性化合物与需要的上面列举的各种其他成分结合,然后进行过滤灭菌,制备无菌可注射溶液。在用于制备无菌注射溶液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术,这会产生活性成分加上任何另外需要的以前50 无菌过滤溶液中存在的成分的粉末。

有用的固体载体包括粉碎的固体(如滑石、粘土、微晶纤维素、二氧化硅、氧化铝等)。有用的液体载体包括水、乙醇或乙二醇或水-乙醇/乙二醇混合物,本发明的化合物可以任选

在无毒的表面活性剂的帮助下以有效含量溶解或分散在其中。可以加入佐剂（如香味）和另外的抗微生物剂来优化对于给定用途的性质。

增稠剂（如合成的聚合物、脂肪酸、脂肪酸盐和酯、脂肪醇、改性纤维素或改性无机材料）也可和液体载体用于形成可涂覆的糊剂、凝胶、软膏、肥皂等，直接用于使用者的皮肤上。

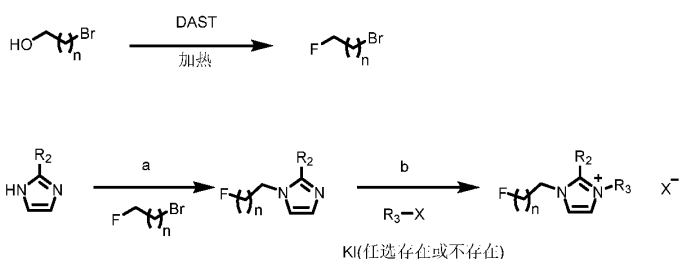
化合物或其活性盐或衍生物的治疗需要量，不仅取决于选择的特定的盐，而且取决于施药方式、待治疗的疾病的本质和患者的年龄和状态，最终取决于在场医师或临床医生的决定。

上述制剂可以以单位剂型存在，该单位剂型是含有单位剂量的物理分散单元，适于向人体和其它哺乳动物体给药。单位剂型可以是胶囊或片剂，或是很多胶囊或片剂。根据所涉及的具体治疗，活性成分的单位剂量的量可以在大约 0.1 到大约 1000 毫克或更多之间进行变化或调整。

此外，还包括各种药物新剂型如乳脂质体、微球和纳米球的应用，如使用微粒分散体系包括聚合物胶束 (polymeric micelles)、纳米乳 (nanoemulsion)、亚微乳 (submicroemulsions)、微囊 (microcapsule)、微球 (microsphere)、脂质体 (liposomes) 和类脂囊泡 (niosomes)（又称非离子表面活性剂囊泡）等制备的药剂。

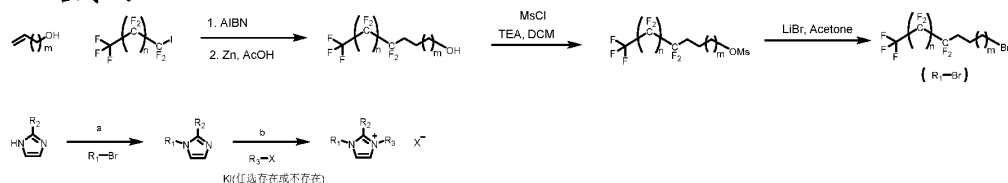
另一方面，本发明还提供了上述任一技术方案所述化合物的制备方法，包括下面步骤：

路线一：



20 反应条件：(a) 溴代烃类的取代反应；(b) 溴代烃类的取代反应。

路线二：



25 反应条件：(a) 碱性条件下（如氢氧化钠，叔丁基醇钠等）的溴代烃类取代反应；(b) 溴代烃类的取代反应。

30 另一方面，本发明还提供了上述任一技术方案所述化合物、其立体异构体、其前药、或者其药学上可接受的盐或药学上可接受的溶剂合物及包含该化合物的药物组合物在制备用于抑制胆固醇合成的药物、降低脂肪酸合成的药物、预防和/或治疗糖尿病的药物、预防和/或治疗肿瘤的药物、预防和/或治疗帕金森症的药物、预防和/或治疗阿尔茨海默症的药物或者延长哺乳动物寿命的药物中的用途。

实验部分

就如下涉及的实施例而言，使用本文所述的方法或本领域众所周知的其他方法合成本发明的化合物。

35 通用纯化和分析方法

在硅胶 GF254 预涂覆板（青岛海洋化工厂）上进行薄层色谱。在中压下经硅胶（300-400 目，烟台芝罘务硅胶开发试剂厂）进行柱色谱分离或通过使用 ISCO Combiflash Rf200 快速纯化系统用预装的硅胶筒 (ISCO 或 Welch) 进行柱色谱分离。成分通过 UV 光 (λ : 254 nm) 和通过碘蒸气显影。当必要时，将化合物通过制备型 HPLC 制备经 Waters Symmetry C18 (19

x 50 mm, 5 μ m)柱或经 Waters X Terra RP 18 (30 x 150 mm, 5 μ m)柱纯化, 使用装配有 996 Waters PDA 检测器的 Waters 制备型 HPLC 600 和 Micromass mod. ZMD 单四级质谱(电喷雾离子化, 阳离子模式)。方法 1: 相 A: 0.1% TFA/MeOH 95/5; 相 B: MeOH/H₂O 95/5。梯度: 10 至 90% B 进行 8 min, 保持 90% B 2 min; 流速 20 mL/min。方法 2: 相 A: 0.05% NH₄OH/MeOH 95/5; 相 B: MeOH/H₂O 95/5。梯度: 10 至 100% B 进行 8 min, 保持 100% B 2 min。流速 20 mL/min。

将 ^1H -NMR 谱在 DMSO- d_6 或 CDCl_3 中经在 600 MHz 操作的 Bruker Avance 600 谱仪 (对于 ^1H 而言) 进行记录。将残留溶剂信号用作参比 ($\delta = 2.50$ 或 7.27 ppm)。化学位移 (δ) 以百万分率 (ppm) 进行报道且偶合常数 (J) 以 Hz 计。以下缩写用于峰裂分: s = 单; br. s. = 宽信号; d = 双; t = 三; m = 多重; dd = 双双。

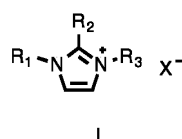
电喷雾(ESI)质谱经 Finnigan LCO 离子阱获得。

除非另外说明,所有最终化合物均是均质的(纯度不低于 95%),如高效液相色谱(HPLC)所确定。用于评价化合物纯度的 HPLC-UV-MS 分析通过组合离子阱 MS 设备与 HPLC 系统 SSP4000 (Thermo Separation Products)来进行,所述 HPLC 系统装配有自动进样器 LC Pal (CTC Analytics)和 UV6000LP 二极管阵列检测器(UV 检测 215-400 nm)。用 Xcalibur 1.2 软件(Finnigan)进行设备控制、数据采集和处理。HPLC 色谱法在室温和 1 mL/min 流速下进行,其使用 Waters X Terra RP 18 柱(4.6x 50 mm; 3.5 μ m)。流动相 A 是乙酸铵 5 mM 缓冲液(采用乙酸得到 pH 5.5):乙腈 90:10,流动相 B 乙酸铵 5 mM 缓冲液(采用乙酸得到 pH 5.5):乙腈 10:90;梯度为 0 至 100% B 进行 7 分钟,然后在再平衡前保持 100% B 达 2 分钟。

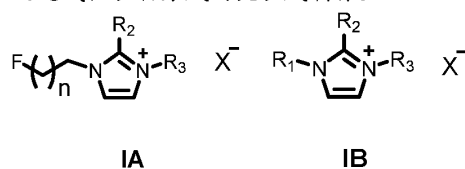
试剂纯化参考 Purification of Laboratory Chemicals (Perrin, D. D., Armarego, W. L. F. and Perrins Eds, D. R.; Pergamon Press: Oxford, 1980)一书进行。石油醚是 60-90 °C 馏分、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷均为分析纯。

具体实施方式

下面通过具体实施例详细描述本发明的实施方式，但是无论如何它们不能解释为对本发明的限制。

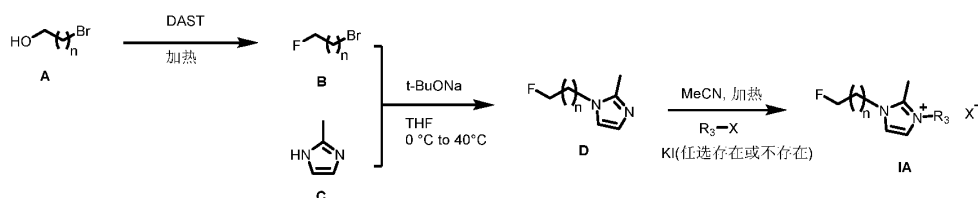


上述通式化合物分成两类合成制备。



其中,

化合物 IA 的合成路线一通式



称取二乙胺基三氟化硫 DAST (2 eq) 于反应瓶中, 化合物 A (1 eq) 溶于二氯甲烷常温下加入反应瓶, 密封, 抽换氮气后置于 40 °C 油浴搅拌 8 h, 将反应体系冷却至室温后倒入冰水中, 用二氯甲烷萃取, 有机相先后用饱和 NaHCO_3 溶液、饱和氯化钠溶液洗一遍,

无水硫酸钠干燥后过滤，浓缩有机相，硅胶柱层析（二氯甲烷洗脱），获得化合物 B。

将化合物 B (1 eq) 和 C (1 eq) 溶解于 THF，冰浴搅拌下加入叔丁醇钠 (2 eq)，继续搅拌 20 min 后置于 40 °C 油浴搅拌，TLC 监测反应完全后将体系冷却至室温，加入饱和氯化铵溶液和乙酸乙酯萃取，有机相用水、饱和氯化钠洗一遍，无水硫酸钠干燥后过滤，

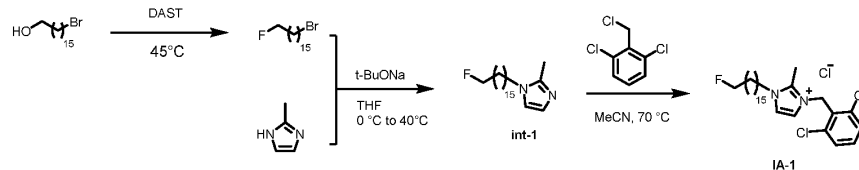
5 浓缩有机相，硅胶柱层析（二氯甲烷/甲醇），获得化合物 D。

将化合物 D (1 eq) 和 R_3-X (1.2 eq) 溶于乙腈，加入可任选存在或不存在的碘化钾 (6 eq) 封口后置于 70 °C 油浴搅拌 12 h，将体系冷却至室温，浓缩，硅胶柱层析（二氯甲烷/甲醇），获得化合物 IA。

下面描述化合物 I 的合成路线一的具体实施。

10

1. 化合物 IA-1:



将 16-溴-1-十六烷醇 (1606 mg, 5 mmol) (CAS: 59101-28-9, 江苏艾康, 江苏) 溶于 4 mL 二氯甲烷中，滴加到装有二乙胺基三氟化硫 (1612 mg, 10 mmol) (CAS: 38078-09-0, 安耐吉, 上海) 的微波管中，密封，抽换氮气后置于 40 °C 油浴搅拌 8 h，将反应体系冷却至室温后倒入冰水中，用二氯甲烷萃取，有机相先后用饱和 NaHCO_3 溶液、饱和氯化钠溶液洗一遍，无水硫酸钠干燥后过滤，浓缩有机相，硅胶柱层析（二氯甲烷洗脱），得到的产物直接与原料 A (附表 1) 中的 2-甲基咪唑 (410 mg, 5 mmol) 溶于 30 mL THF 中，冰浴搅拌下加入叔丁醇钠 (960 mg, 10 mmol) (CAS: 865-48-5, 安耐吉, 上海)，继续搅拌 20 min 后置于 40 °C 油浴搅拌，TLC 监测反应完全后将体系冷却至室温，加入饱和氯化铵溶液和乙酸乙酯萃取，有机相用水、饱和氯化钠洗一遍，无水硫酸钠干燥后过滤，浓缩有机相，硅胶柱层析（二氯甲烷/甲醇），得到中间体 int-1 (106 mg, 0.326 mmol)。

15

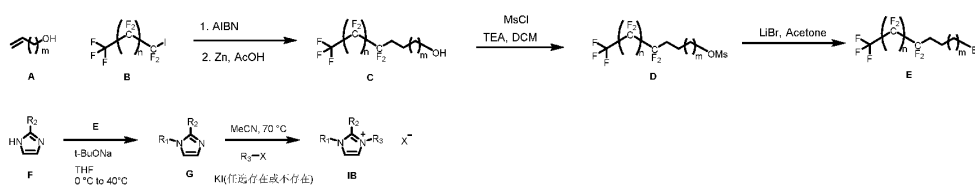
20

将中间体 int-1 (35.4 mg, 0.11 mmol) 和原料 B (附表 1) 中的 2,6-二氯苄基氯 (22.5 mg, 0.12 mmol) 溶于乙腈，封口后置于 70 °C 油浴搅拌 12 h，将体系冷却至室温，浓缩，硅胶柱层析（二氯甲烷/甲醇），获得化合物 IA-1 (21.6 mg)。

25

2. 化合物 IA-2 ~ IA-3 使用类似的方法合成，相应的原料见附表 1。

化合物 I 的合成路线二通式



将化合物 A (1 eq)、化合物 B (1.2 eq) 和 AIBN (0.1 eq) 置于微波管中，封口，抽换氮气 3 次，置于 60 °C 或 100 °C 油浴反应 24 h，冷却至室温，向体系加入冰醋酸和锌粉 (20 eq)，常温搅拌 12 h 后停止反应，体系过滤，浓缩，倒入适量水，用 2 N 氢氧化钠溶液调 pH 至中性，用石油醚萃取水相，浓缩有机相，得到化合物 C。

30

将化合物 C (1 eq) 和三乙胺 (3 eq) 溶于二氯甲烷，以上溶液置于冰浴搅拌，缓慢滴加甲基磺酰氯 (2 eq)，投料完成后继续冰浴搅拌 10 min，置于常温反应 10 h，加水淬灭，用二氯甲烷/水萃取，有机相先后用水、饱和氯化钠洗一遍，无水硫酸钠干燥后浓缩，硅胶柱层析（石油醚/乙酸乙酯），得到化合物 D。

35

将化合物 D (1 eq) 和溴化锂 (3 eq) 溶于丙酮，体系置于 60 °C 回流反应 12 h，过滤，浓缩，硅胶柱层析（石油醚洗脱），得到化合物 E。

将化合物 F (1 eq) 和 E (1.2 eq) 溶解于 THF，冰浴搅拌下加入叔丁醇钠 (2 eq)，继续搅拌 20 min 后置于 40 °C 油浴搅拌，TLC 监测反应完全后将体系冷却至室温，加入饱和氯化铵溶液和乙酸乙酯萃取，有机相用水、饱和氯化钠洗一遍，无水硫酸钠干燥后过滤，浓缩有机相，硅胶柱层析（二氯甲烷/甲醇），获得化合物 G。

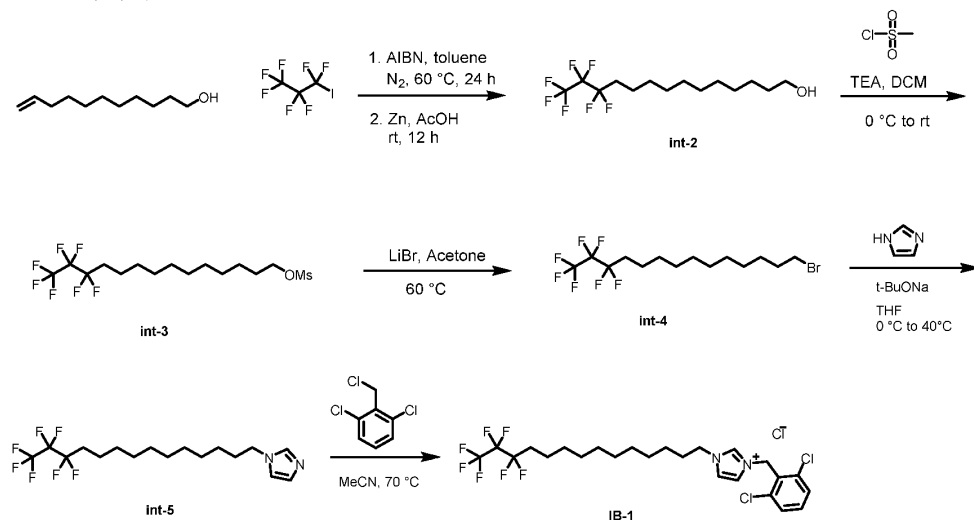
40

将化合物 G (1 eq) 和 R_3-X (1.2 eq) 溶于乙腈, 加入可任选存在或不存在的碘化钾 (6 eq) 封口后置于 70 °C 油浴搅拌 12 h, 将体系冷却至室温, 浓缩, 硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇), 获得化合物 IB。

下面描述化合物 IB 的合成路线一的具体实施。

5

1. 化合物 IB-1:



10 将 10-十一烯-1-醇 (3406 mg, 20 mmol) (CAS: 112-43-6, 江苏艾康, 江苏)、原料 C (附表 1) 中的全氟碘代丙烷 (7102 mg, 24 mmol) 和 AIBN (328.4 mg, 2 mmol) (CAS: 78-67-1, 探索, 上海) 置于微波管中, 封口, 抽换氮气 3 次, 置于 60 °C 油浴反应 24 h, 冷却至室温, 向体系加入 70 ml 冰醋酸和锌粉 (26 g, 400 mmol) (CAS: 7440-66-6, 绿茵, 福建厦门), 常温搅拌 12 h 后停止反应, 体系过滤, 浓缩, 倒入适量水, 用 2 N 氢氧化钠溶液调 pH 至中性, 用石油醚萃取水相, 浓缩有机相, 得到中间体 int-2 (3820 mg, 11.25 mmol)。

15 将 int-2 (3820 mg, 11.25 mmol) 和三乙胺 (3408 mg, 33.75 mmol) (CAS: 121-44-8, 安耐吉, 上海) 溶于 100 mL 二氯甲烷, 以上溶液置于冰浴搅拌, 缓慢滴加甲基磺酰氯 (7735 mg, 67.5 mmol) (CAS: 124-63-0, 安耐吉, 上海), 投料完成后继续冰浴搅拌 10 min, 置于常温反应 10 h, 加水淬灭, 用二氯甲烷/水萃取, 有机相先后用水、饱和氯化钠洗一遍, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 硅胶柱层析 (石油醚/乙酸乙酯), 得到中间体 int-3 (4354 mg, 10.4 mmol)。

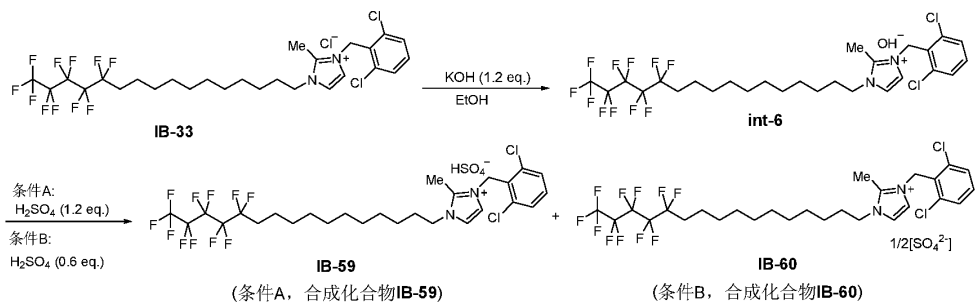
20 将 int-3 (4354 mg, 10.4 mmol) 和溴化锂 (2709 mg, 31.2 mmol) (CAS: 7550-35-8, 安耐吉, 上海) 溶于 50 mL 丙酮, 体系置于 60 °C 回流反应 12 h, 过滤, 浓缩, 硅胶柱层析 (石油醚洗脱), 得到中间体 int-4 (3715 mg, 9.2 mmol)。

25 将 int-4 (403.2 mg, 1 mmol) 和原料 A (附表 1) 中的咪唑 (81.7 mg, 1.2 mmol) 溶解于 30 mL THF, 冰浴搅拌下加入叔丁醇钠 (192 mg, 2 mmol), 继续搅拌 20 min 后置于 40 °C 油浴搅拌, TLC 监测反应完全后将体系冷却至室温, 加入饱和氯化铵溶液和乙酸乙酯萃取, 有机相用水、饱和氯化钠洗一遍, 无水硫酸钠干燥后过滤, 浓缩有机相, 硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇), 获得中间体 int-5 (295 mg, 0.75 mmol)。

30 将 int-5 (39 mg, 0.1 mmol) 和原料 B (附表 1) 中的 2,6-二氯苄基氯 (23.4 mg, 0.12 mmol) 溶于 1.5 mL 乙腈, 封口后置于 70 °C 油浴搅拌 12 h, 将体系冷却至室温, 浓缩, 硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇), 获得化合物 IB-1 (20.5 mg)。

2. 其它化合物 IB-1~IB-58 均可使用类似的方法合成, 相应的原料见附表 1。

化合物 IB-59 和 IB-60 的合成



5 将化合物 IB-33 (10 g, 14.3 mmol) 溶解于 50 mL 乙醇中, 冷却至 0 °C, 加入氢氧化钾 (0.96 g, 17.2 mmol), 该反应体系在 0~5 °C 继续搅拌 8 小时。反应结束后, 将上述反应体系过滤, 得到澄清滤液。

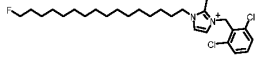
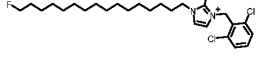
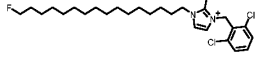
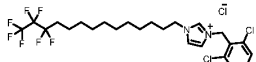
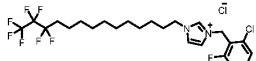
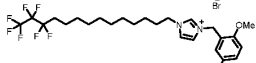
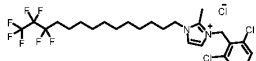
条件 A: 将滤液冷却至 0 °C, 然后加入滴加 98% 浓硫酸 (17.2 mmol, 1.2 eq.), 该反应体系在 0~5 °C 继续搅拌 2 小时。反应结束后, 将反应体系浓缩, 用甲基叔丁基醚重结晶, 得到化合物 IB-59, 6.6 g, 产率 60.66%。其中硫酸氢根的含量用滴定法测定, 其含量为 12.7% (理论值为 12.61%)。

10 条件 B: 将滤液冷却至 0 °C, 然后加入滴加 98% 浓硫酸 (8.6 mmol, 0.6 eq.), 该反应体系在 0~5 °C 继续搅拌 2 小时。反应结束后, 将反应体系浓缩, 用甲基叔丁基醚重结晶, 得到化合物 IB-60, 6.2 g, 产率 60.85%。其中硫酸根的含量用离子色谱测定, 其含量为 6.7% (理论值为 6.74%)。

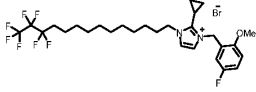
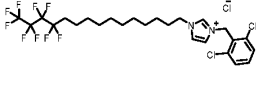
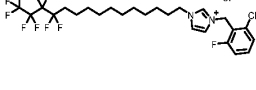
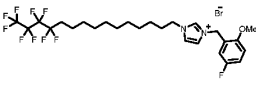
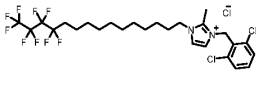
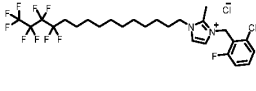
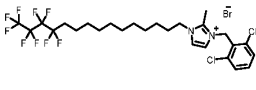
15 附表 1. 合成实例化合物用到的部分商用原料

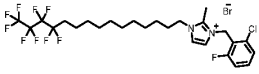
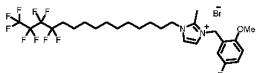
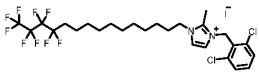
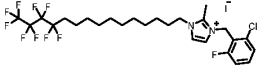
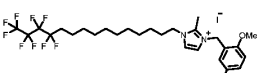
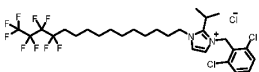
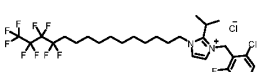
原料 A
咪唑, CAS: 288-32-4, 麦克林, 上海
2-甲基咪唑, CAS: 693-98-1, Acros Organics, 比利时
2-乙基咪唑, CAS: 1072-62-4, 麦克林, 上海
2-异丙基咪唑, CAS: 36947-68-9, 毕得, 上海
2-叔丁基咪唑, CAS: 36947-69-0, 韶远, 上海
2-环丙基-1H-咪唑, CAS: 89532-38-7, 华威锐科, 北京
原料 B
2-氯-6-氟苄基溴, CAS: 68220-26-8, 毕得, 上海
2-氯-6-氟苄基氯, CAS: 55117-15-2, 安耐吉, 上海
2,6-二氯苄基溴, CAS: 20443-98-5, 安耐吉, 上海
2,6-二氯苄基氯, CAS: 2014-83-7, 安耐吉, 上海
5-氟-2-甲氧基苄基溴, CAS: 20-3-560364, 安耐吉, 上海
原料 C
全氟碘代丙烷, CAS: 754-34-7, 江苏艾康, 江苏
全氟碘代丁烷, CAS: 423-39-2, 江苏艾康, 江苏
全氟碘代戊烷, CAS: 638-79-9, 江苏艾康, 江苏
全氟己基碘烷, CAS: 355-43-1, 安耐吉, 上海

表 1. 化合物 IA—IB 结构及表征

化合物 ID	结构	核磁共振谱和/或质谱数据
IA-1		^1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 7.66 – 7.58 (m, 3H), 7.55 (dd, J = 9.2, 6.8 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 5.70 (s, 2H), 4.25 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.58 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.86 (s, 3H), 1.95 – 1.79 (m, 2H), 1.62 – 1.50 (m, 2H), 1.40 – 1.27 (m, 24H). MS (ESI) m/z : 483 [M-Cl] $^+$.
IA-2		^1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 7.66 – 7.60 (m, 3H), 7.56 (dd, J = 9.2, 6.7 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.71 (s, 2H), 4.27 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.59 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 2.88 (s, 3H), 1.95 – 1.83 (m, 2H), 1.64 – 1.51 (m, 2H), 1.44 – 1.32 (m, 24H). MS (ESI) m/z : 483 [M-Br] $^+$.
IA-3		^1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 7.64 – 7.60 (m, 3H), 7.58 – 7.53 (m, 1H), 7.17 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.70 (s, 2H), 4.26 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.58 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.87 (s, 3H), 1.97 – 1.81 (m, 2H), 1.62 – 1.51 (m, 2H), 1.42 – 1.29 (m, 24H). MS (ESI) m/z : 483 [M-I] $^+$.
IB-1		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 9.20 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.71 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 7.60 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.51 – 7.47 (m, 1H), 5.76 (s, 2H), 4.24 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.19 – 2.04 (m, 2H), 1.91 – 1.83 (m, 2H), 1.62 – 1.51 (m, 2H), 1.43 – 1.36 (m, 2H), 1.35 – 1.28 (m, 12H). MS (ESI) m/z : 549 [M-Cl] $^+$.
IB-2		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 9.20 (s, 1H), 7.70 – 7.69 (m, 1H), 7.60 – 7.59 (m, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 1H), 7.40 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.30 – 7.25 (m, 1H), 5.64 (d, J = 1.7 Hz, 2H), 4.23 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.15 – 2.05 (m, 2H), 1.90 – 1.83 (m, 2H), 1.74 – 1.66 (m, 2H), 1.60 – 1.54 (m, 2H), 1.33 – 1.27 (m, 12H). MS (ESI) m/z : 533 [M-Cl] $^+$.
IB-3		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 9.14 (s, 1H), 7.64 (t, J = 1.8 Hz, 1H), 7.62 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 7.29 (dd, J = 8.4, 3.1 Hz, 1H), 7.19 – 7.12 (m, 1H), 7.06 (dd, J = 9.1, 4.3 Hz, 1H), 5.39 (s, 2H), 4.24 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.19 – 2.05 (m, 2H), 1.92 – 1.81 (m, 2H), 1.62 – 1.53 (m, 2H), 1.43 – 1.38 (m, 2H), 1.36 – 1.27 (m, 12H). MS (ESI) m/z : 529 [M-Br] $^+$.
IB-4		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.59 – 7.57 (m, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.51 (dd, J = 8.9, 7.3 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.65 (s, 2H), 4.22 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.82 (s, 3H), 2.17 – 2.05 (m, 2H), 1.90 – 1.78 (m, 2H), 1.65 – 1.53 (m, 2H), 1.42 – 1.29 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 563 [M-Cl] $^+$.

IB-5		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.58 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.55 – 7.50 (m, 1H), 7.42 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.35 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.28 – 7.23 (m, 1H), 5.57 (d, J = 1.2 Hz, 2H), 4.21 – 4.15 (m, 2H), 2.77 (s, 3H), 2.18 – 2.03 (m, 2H), 1.85 – 1.77 (s, 3H), 1.62 – 1.52 (m, 2H), 1.43 – 1.38 (m, 2H), 1.37 – 1.29 (m, 12H). MS (ESI) m/z : 547 [M-Cl] $^+$.
IB-6		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.56 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.20 – 7.13 (m, 2H), 7.07 (dd, J = 9.0, 4.3 Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 4.21 – 4.16 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 2.73 (s, 3H), 2.19 – 2.06 (m, 2H), 1.88 – 1.80 (m, 2H), 1.63 – 1.56 (m, 2H), 1.44 – 1.38 (m, 2H), 1.38 – 1.30 (m, 12H). MS (ESI) m/z : 543 [M-Br] $^+$.
IB-7		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.60 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.57 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.53 (dd, J = 8.9, 7.2 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.73 (s, 2H), 4.28 – 4.26 (m, 2H), 3.91 – 3.87 (m, 1H), 2.18 – 2.06 (m, 2H), 1.91 – 1.84 (m, 2H), 1.61 – 1.55 (m, 8H), 1.41 – 1.36 (m, 6H), 1.36 – 1.30 (m, 8H). MS (ESI) m/z : 591 [M-Cl] $^+$.
IB-8		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.57 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.56 – 7.53 (m, 1H), 7.45 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.30 – 7.26 (m, 1H), 7.20 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.65 (s, 2H), 4.27 – 4.23 (m, 2H), 3.85 (p, J = 7.3 Hz, 1H), 2.17 – 2.06 (m, 2H), 1.90 – 1.83 (m, 2H), 1.61 – 1.55 (m, 2H), 1.52 (d, J = 7.3 Hz, 6H), 1.41 – 1.36 (m, 6H), 1.35 – 1.29 (m, 8H). MS (ESI) m/z : 575 [M-Cl] $^+$.
IB-9		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.60 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.22 – 7.16 (m, 1H), 7.11 (dt, J = 9.1, 3.3 Hz, 2H), 5.45 (s, 2H), 4.30 – 4.25 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.85 – 3.80 (m, 1H), 2.22 – 2.08 (m, 2H), 1.93 – 1.86 (m, 2H), 1.64 – 1.56 (m, 2H), 1.48 (d, J = 7.3 Hz, 6H), 1.44 – 1.39 (m, 6H), 1.39 – 1.33 (m, 8H). MS (ESI) m/z : 571 [M-Br] $^+$.
IB-10		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.58 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.56 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.50 (dd, J = 8.9, 7.3 Hz, 1H), 7.05 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.79 (s, 2H), 4.33 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.18 – 2.05 (m, 3H), 1.94 – 1.87 (m, 2H), 1.62 – 1.55 (m, 2H), 1.48 – 1.44 (m, 2H), 1.42 – 1.29 (m, 14H), 1.25 – 1.21 (m, 2H). MS (ESI) m/z : 589 [M-Cl] $^+$.
IB-11		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.58 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.57 – 7.51 (m, 1H), 7.43 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.31 – 7.26 (m, 1H), 7.25 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.70 (s, 2H), 4.34 – 4.29 (m, 2H), 2.18 – 2.07 (m, 2H), 2.07 – 2.02 (m, 1H), 1.93 – 1.87 (m, 2H), 1.63 – 1.55 (m, 2H), 1.48 – 1.43 (m, 2H), 1.43 – 1.31 (m, 14H), 1.23 – 1.19 (m, 2H). MS (ESI) m/z : 573 [M-Cl] $^+$.

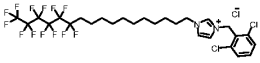
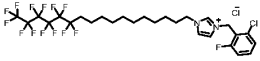
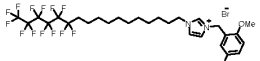
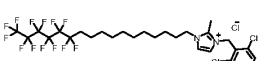
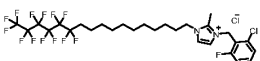
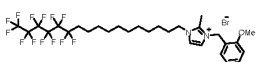
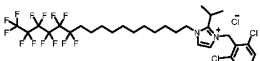
IB-12		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.56 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.19 – 7.12 (m, 2H), 7.08 (dd, J = 8.9, 4.3 Hz, 1H), 5.46 (s, 2H), 4.31 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 2.19 – 2.08 (m, 2H), 2.01 – 1.95 (m, 1H), 1.94 – 1.87 (m, 2H), 1.64 – 1.56 (m, 2H), 1.44 – 1.31 (m, 16H), 1.19 – 1.14 (m, 2H). MS (ESI) m/z : 569 [M-Br] $^+$.
IB-13		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 9.23 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.59 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.52 (dd, J = 8.8, 7.3 Hz, 1H), 5.79 (s, 2H), 4.27 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 2.16 (tt, J = 18.7, 7.9 Hz, 2H), 1.90 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.61 (p, J = 7.6 Hz, 2H), 1.37 – 1.29 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 599 [M-Cl] $^+$.
IB-14		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 9.25 (s, 1H), 7.73 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.55 (td, J = 8.3, 6.1 Hz, 1H), 7.45 – 7.41 (m, 1H), 7.30 (ddd, J = 9.5, 8.4, 1.1 Hz, 1H), 5.68 (d, J = 1.7 Hz, 2H), 4.26 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.22 – 2.09 (m, 2H), 1.90 (p, J = 7.4 Hz, 2H), 1.65 – 1.56 (m, 2H), 1.37 – 1.31 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 583 [M-Cl] $^+$.
IB-15		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 9.17 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.66 (t, J = 1.8 Hz, 1H), 7.64 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 7.31 (dd, J = 8.4, 3.1 Hz, 1H), 7.18 (ddd, J = 9.1, 8.1, 3.1 Hz, 1H), 7.08 (dd, J = 9.1, 4.3 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.26 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 2.22 – 2.09 (m, 2H), 1.90 (p, J = 7.4 Hz, 2H), 1.65 – 1.57 (m, 2H), 1.40 – 1.29 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 579 [M-Br] $^+$.
IB-16		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.62 – 7.59 (m, 2H), 7.59 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.53 (dd, J = 8.9, 7.3 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.67 (s, 2H), 4.23 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.84 (s, 3H), 2.22 – 2.09 (m, 2H), 1.86 (p, J = 7.3 Hz, 2H), 1.68 – 1.57 (m, 2H), 1.39 – 1.34 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 613 [M-Cl] $^+$.
IB-17		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.60 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.55 (td, J = 8.3, 6.1 Hz, 1H), 7.45 (dt, J = 8.3, 1.1 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.30 (ddd, J = 9.7, 8.3, 1.1 Hz, 1H), 5.59 (d, J = 1.4 Hz, 2H), 4.21 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.79 (s, 3H), 2.22 – 2.02 (m, 2H), 1.85 (p, J = 7.4 Hz, 2H), 1.68 – 1.55 (m, 2H), 1.44 – 1.30 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 597 [M-Cl] $^+$.
IB-18		^1H NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ 7.66 – 7.59 (m, 3H), 7.55 (dd, J = 9.2, 6.8 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.70 (s, 2H), 4.27 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.87 (s, 3H), 2.27 – 2.02 (m, 2H), 1.89 (p, J = 7.2 Hz, 2H), 1.71 – 1.55 (m, 2H), 1.49 – 1.31 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 613 [M-Br] $^+$.

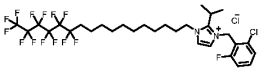
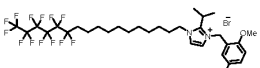
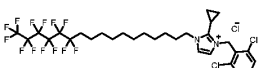
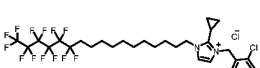
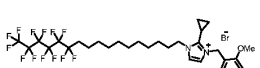
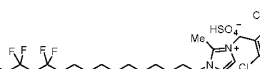
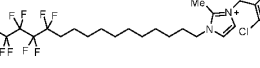
IB-19		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.62 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.56 (td, J = 8.3, 6.1 Hz, 1H), 7.45 (dt, J = 8.3, 1.1 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.30 (ddd, J = 9.6, 8.4, 1.1 Hz, 1H), 5.61 (d, J = 1.4 Hz, 2H), 4.22 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.24 – 2.09 (m, 2H), 1.92 – 1.80 (m, 2H), 1.62 (p, J = 7.6 Hz, 2H), 1.42 – 1.30 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 597 [M-Br] $^+$.
IB-20		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.57 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.21 – 7.14 (m, 2H), 7.08 (dd, J = 8.8, 4.3 Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 4.19 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.74 (s, 3H), 2.22 – 2.02 (m, 2H), 1.89 – 1.77 (m, 2H), 1.66 – 1.56 (m, 2H), 1.43 – 1.29 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 593 [M-Br] $^+$.
IB-21		MS (ESI) m/z : 613 [M-I] $^+$.
IB-22		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.67 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.60 (td, J = 8.1, 5.9 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.34 (t, J = 9.0 Hz, 1H), 5.65 (s, 2H), 4.27 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.87 (s, 3H), 2.28 – 2.08 (m, 2H), 1.95 – 1.86 (m, 2H), 1.71 – 1.61 (m, 2H), 1.47 – 1.34 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 597 [M-I] $^+$.
IB-23		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.57 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.23 – 7.14 (m, 2H), 7.08 (dd, J = 9.0, 4.3 Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 4.20 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.76 (s, 3H), 2.24 – 2.01 (m, 2H), 1.90 – 1.78 (m, 2H), 1.66 – 1.52 (m, 2H), 1.41 – 1.29 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 593 [M-I] $^+$.
IB-24		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.65 – 7.60 (m, 2H), 7.59 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.56 (dd, J = 8.9, 7.2 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 5.76 (s, 2H), 4.30 (dd, J = 8.3, 6.8 Hz, 2H), 3.92 (p, J = 7.3 Hz, 1H), 2.22 – 2.08 (m, 2H), 1.94 – 1.85 (m, 2H), 1.61 (d, J = 7.3 Hz, 8H), 1.49 – 1.26 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 641 [M-Cl] $^+$.
IB-25		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.60 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.59 – 7.55 (m, 1H), 7.49 – 7.45 (m, 1H), 7.31 (ddd, J = 9.6, 8.3, 1.0 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.68 (d, J = 1.3 Hz, 2H), 4.31 – 4.24 (m, 2H), 3.88 (p, J = 7.3 Hz, 1H), 2.23 – 2.08 (m, 2H), 1.94 – 1.85 (m, 2H), 1.66 – 1.58 (m, 2H), 1.55 (d, J = 7.2 Hz, 6H), 1.43 – 1.33 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 625 [M-Cl] $^+$.

IB-26		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.60 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H), 7.39 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H), 7.19 (td, <i>J</i> = 8.6, 3.1 Hz, 1H), 7.11 (dt, <i>J</i> = 8.6, 3.8 Hz, 2H), 5.45 (s, 2H), 4.28 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.85 – 3.79 (m, 1H), 2.23 – 2.09 (m, 2H), 1.95 – 1.83 (m, 2H), 1.67 – 1.57 (m, 2H), 1.48 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 6H), 1.43 – 1.35 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 621 [M-Br] ⁺ .
IB-27		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.62 – 7.59 (m, 3H), 7.53 (dd, <i>J</i> = 8.9, 7.3 Hz, 1H), 7.07 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 5.81 (s, 2H), 4.35 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 2.23 – 2.08 (m, 3H), 1.98 – 1.89 (m, 2H), 1.67 – 1.57 (m, 2H), 1.54 – 1.46 (m, 2H), 1.46 – 1.29 (m, 14H), 1.27 – 1.21 (m, 2H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 639 [M-Cl] ⁺ .
IB-28		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.60 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H), 7.56 (td, <i>J</i> = 8.3, 6.1 Hz, 1H), 7.45 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H), 7.31 (t, <i>J</i> = 9.0 Hz, 1H), 7.26 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H), 5.72 (s, 2H), 4.34 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 2.22 – 2.10 (m, 2H), 2.10 – 2.02 (m, 1H), 1.96 – 1.88 (m, 2H), 1.67 – 1.58 (m, 2H), 1.50 – 1.45 (m, 2H), 1.45 – 1.26 (m, 14H), 1.26 – 1.21 (m, 2H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 623 [M-Cl] ⁺ .
IB-29		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.57 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.37 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.20 – 7.14 (m, 2H), 7.09 (dd, <i>J</i> = 8.6, 4.2 Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 4.32 (t, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 2.22 – 2.10 (m, 2H), 2.03 – 1.96 (m, 1H), 1.93 (p, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 1.66 – 1.56 (m, 2H), 1.49 – 1.26 (m, 16H), 1.20 – 1.14 (m, 2H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 619 [M-Br] ⁺ .
IB-30		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 9.24 (s, 1H), 7.74 (d, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H), 7.63 (d, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H), 7.59 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 2H), 7.52 (dd, <i>J</i> = 8.8, 7.3 Hz, 1H), 5.79 (s, 2H), 4.27 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 2.16 (tt, <i>J</i> = 18.7, 7.9 Hz, 2H), 1.94 – 1.84 (m, 2H), 1.68 – 1.57 (m, 2H), 1.43 – 1.29 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 649 [M-Cl] ⁺ .
IB-31		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 9.23 (s, 1H), 7.73 (t, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H), 7.64 (t, <i>J</i> = 2.0 Hz, 1H), 7.55 (td, <i>J</i> = 8.3, 6.2 Hz, 1H), 7.44 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H), 7.34 – 7.27 (m, 1H), 5.68 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 2H), 4.26 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 2.22 – 2.08 (m, 2H), 1.90 (p, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 1.67 – 1.54 (m, 2H), 1.43 – 1.29 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 633 [M-Cl] ⁺ .
IB-32		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 9.17 (s, 1H), 7.67 (t, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H), 7.64 (t, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H), 7.31 (dd, <i>J</i> = 8.4, 3.1 Hz, 1H), 7.18 (td, <i>J</i> = 8.6, 3.1 Hz, 1H), 7.08 (dd, <i>J</i> = 9.1, 4.3 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.26 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 2.16 (s, 2H), 1.90 (p, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.66 – 1.56 (m, 2H), 1.42 – 1.29 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 629 [M-Br] ⁺ .

IB-33		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.62 – 7.57 (m, 3H), 7.53 (dd, J = 8.9, 7.3 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 5.68 (s, 2H), 4.24 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.84 (s, 3H), 2.22 – 2.02 (m, 2H), 1.86 (p, J = 7.5 Hz, 2H), 1.65 – 1.56 (m, 2H), 1.39 – 1.33 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 663 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$.
IB-34		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.60 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.56 (td, J = 8.3, 6.1 Hz, 1H), 7.45 (dt, J = 8.1, 1.1 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.30 (ddd, J = 9.6, 8.4, 1.1 Hz, 1H), 5.60 (d, J = 1.4 Hz, 2H), 4.21 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.79 (s, 3H), 2.22 – 2.03 (m, 2H), 1.85 (p, J = 7.5 Hz, 2H), 1.67 – 1.56 (m, 2H), 1.41 – 1.27 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 647 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$.
IB-35		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.64 – 7.57 (m, 3H), 7.53 (dd, J = 8.9, 7.3 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.68 (s, 2H), 4.24 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.85 (s, 3H), 2.24 – 2.03 (m, 2H), 1.87 (p, J = 7.4 Hz, 2H), 1.67 – 1.56 (m, 2H), 1.38 – 1.33 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 663 $[\text{M}-\text{Br}]^+$.
IB-36		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.61 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.56 (td, J = 8.3, 6.1 Hz, 1H), 7.48 – 7.43 (m, 1H), 7.38 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.30 (ddd, J = 9.5, 8.3, 1.1 Hz, 1H), 5.60 (d, J = 1.4 Hz, 2H), 4.22 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.23 – 2.10 (m, 2H), 1.91 – 1.82 (m, 2H), 1.67 – 1.56 (m, 2H), 1.42 – 1.30 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 647 $[\text{M}-\text{Br}]^+$.
IB-37		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.57 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.22 – 7.14 (m, 2H), 7.08 (dd, J = 9.0, 4.3 Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 4.20 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.75 (s, 3H), 2.23 – 2.09 (m, 2H), 1.85 (p, J = 7.5 Hz, 2H), 1.66 – 1.54 (m, 2H), 1.41 – 1.30 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 643 $[\text{M}-\text{Br}]^+$.
IB-38		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 7.63 – 7.57 (m, 3H), 7.53 (dd, J = 8.9, 7.3 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 5.68 (s, 2H), 4.24 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.86 (s, 3H), 2.22 – 2.10 (m, 2H), 1.87 (p, J = 7.7 Hz, 2H), 1.66 – 1.57 (m, 2H), 1.41 – 1.30 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 663 $[\text{M}-\text{I}]^+$.
IB-39		^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ 6.09 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.02 (td, J = 8.3, 6.1 Hz, 1H), 5.91 (dt, J = 8.3, 1.1 Hz, 1H), 5.84 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 5.76 (ddd, J = 9.5, 8.3, 1.1 Hz, 1H), 4.07 (d, J = 1.4 Hz, 2H), 2.69 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.29 (s, 3H), 0.68 – 0.57 (m, 2H), 0.37 – 0.27 (m, 2H), 0.13 – 0.03 (m, 2H), -0.13 – -0.22 (m, 14H). MS (ESI) m/z : 647 $[\text{M}-\text{I}]^+$.

IB-40		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.58 (t, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H), 7.47 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.21 (dd, <i>J</i> = 8.5, 3.1 Hz, 1H), 7.17 (td, <i>J</i> = 8.6, 3.1 Hz, 1H), 7.08 (dd, <i>J</i> = 9.1, 4.3 Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 4.21 (t, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 2.76 (s, 3H), 2.22 – 2.10 (m, 2H), 1.90 – 1.79 (m, 2H), 1.67 – 1.56 (m, 2H), 1.43 – 1.30 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 643 [M-I] ⁺ .
IB-41		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.65 – 7.61 (m, 2H), 7.58 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H), 7.57 – 7.53 (m, 1H), 7.00 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H), 5.76 (s, 2H), 4.33 – 4.25 (m, 2H), 3.91 (p, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1H), 2.23 – 2.09 (m, 2H), 1.89 (q, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 1.66 – 1.56 (m, 8H), 1.47 – 1.33 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 691 [M-Cl] ⁺ .
IB-42		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.60 – 7.55 (m, 2H), 7.48 (dt, <i>J</i> = 8.2, 1.1 Hz, 1H), 7.31 (ddd, <i>J</i> = 9.7, 8.4, 1.1 Hz, 1H), 7.23 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 5.68 (d, <i>J</i> = 1.3 Hz, 2H), 4.33 – 4.25 (m, 2H), 3.87 (p, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1H), 2.23 – 2.09 (m, 2H), 1.93 – 1.83 (m, 2H), 1.68 – 1.57 (m, 2H), 1.55 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 6H), 1.47 – 1.32 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 675 [M-Cl] ⁺ .
IB-43		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.60 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H), 7.39 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.19 (ddd, <i>J</i> = 9.1, 8.1, 3.1 Hz, 1H), 7.11 (dt, <i>J</i> = 9.0, 3.6 Hz, 2H), 5.45 (s, 2H), 4.31 – 4.25 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.85 – 3.79 (m, 1H), 2.23 – 2.10 (m, 2H), 1.90 (p, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H), 1.66 – 1.58 (m, 2H), 1.48 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 6H), 1.46 – 1.28 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 671 [M-Br] ⁺ .
IB-44		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.63 – 7.56 (m, 3H), 7.53 (dd, <i>J</i> = 8.9, 7.3 Hz, 1H), 7.24 (d, <i>J</i> = 2.6 Hz, 0H), 7.07 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 5.81 (s, 2H), 4.35 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 2.24 – 2.09 (m, 3H), 1.93 (p, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 1.65 – 1.57 (m, 2H), 1.52 – 1.46 (m, 2H), 1.42 – 1.27 (m, 14H), 1.27 – 1.21 (m, 2H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 689 [M-Cl] ⁺ .
IB-45		MS (ESI) <i>m/z</i> : 673 [M-Cl] ⁺ .
IB-46		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.57 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.38 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.21 – 7.13 (m, 2H), 7.09 (dd, <i>J</i> = 8.9, 4.3 Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 4.32 (t, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 2.23 – 2.09 (m, 2H), 1.99 (tt, <i>J</i> = 8.5, 5.6 Hz, 1H), 1.96 – 1.84 (m, 2H), 1.67 – 1.57 (m, 2H), 1.43 – 1.32 (m, 16H), 1.19 – 1.14 (m, 2H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 669 [M-Br] ⁺ .

IB-47		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 9.19 (s, 1H), 7.70 – 7.69 (m, 1H), 7.59 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.57 (d, <i>J</i> = 0.9 Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.48 (dd, <i>J</i> = 8.8, 7.3 Hz, 1H), 5.75 (s, 2H), 4.23 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 2.18 – 2.06 (m, 2H), 1.91 – 1.81 (m, 2H), 1.63 – 1.54 (m, 2H), 1.42 – 1.36 (m, 2H), 1.34 – 1.25 (m, 12H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 699 [M-Cl] ⁺ .
IB-48		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.70 (d, <i>J</i> = 2.0 Hz, 1H), 7.61 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 7.55 – 7.51 (m, 1H), 7.43 – 7.40 (m, 1H), 7.30 – 7.26 (m, 1H), 5.66 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 2H), 4.24 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 2.20 – 2.05 (m, 2H), 1.88 (p, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.63 – 1.56 (m, 2H), 1.44 – 1.37 (m, 2H), 1.36 – 1.29 (m, 12H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 683 [M-Cl] ⁺ .
IB-49		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 9.10 (s, 1H), 7.62 (t, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H), 7.60 (t, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H), 7.26 (dd, <i>J</i> = 8.4, 3.1 Hz, 1H), 7.18 – 7.12 (m, 1H), 7.05 (dd, <i>J</i> = 9.0, 4.3 Hz, 1H), 5.37 (s, 2H), 4.22 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 2.22 – 2.03 (m, 2H), 1.87 (p, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.62 – 1.54 (m, 2H), 1.42 – 1.37 (m, 2H), 1.34 – 1.27 (m, 12H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 679 [M-Br] ⁺ .
IB-50		¹ H NMR (600 MHz, Chloroform- <i>d</i>) δ 7.74 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 7.41 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.35 (dd, <i>J</i> = 9.1, 7.0 Hz, 1H), 6.95 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H), 4.32 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 2.99 (s, 3H), 2.07 – 1.91 (m, 2H), 1.85 – 1.74 (m, 2H), 1.61 – 1.49 (m, 2H), 1.35 – 1.31 (m, 2H), 1.29 – 1.19 (m, 12H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 713 [M-Cl] ⁺ .
IB-51		¹ H NMR (600 MHz, Chloroform- <i>d</i>) δ 7.61 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 7.38 (td, <i>J</i> = 8.3, 6.1 Hz, 1H), 7.28 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H), 7.22 (d, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H), 7.10 (t, <i>J</i> = 8.8 Hz, 1H), 5.58 (s, 2H), 4.27 (t, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.02 (dq, <i>J</i> = 17.5, 9.1 Hz, 2H), 1.79 (p, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 1.60 – 1.52 (m, 2H), 1.34 – 1.21 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 697 [M-Cl] ⁺ .
IB-52		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.54 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.45 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.17 (dd, <i>J</i> = 8.7, 2.9 Hz, 1H), 7.15 – 7.12 (m, 1H), 7.05 (dd, <i>J</i> = 8.9, 4.3 Hz, 1H), 5.32 (s, 2H), 4.17 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 2.71 (s, 3H), 2.21 – 2.06 (m, 2H), 1.83 (p, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 1.59 (p, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 1.43 – 1.37 (m, 2H), 1.37 – 1.30 (m, 12H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 693 [M-Br] ⁺ .
IB-53		¹ H NMR (600 MHz, Chloroform- <i>d</i>) δ 8.10 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H), 7.45 – 7.37 (m, 3H), 6.77 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 5.62 (s, 2H), 4.39 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 3.91 – 3.82 (m, 1H), 2.07 – 1.91 (m, 2H), 1.87 – 1.77 (m, 2H), 1.54 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 6H), 1.35 – 1.20 (m, 16H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 741 [M-Cl] ⁺ .

IB-54		¹ H NMR (600 MHz, Chloroform- <i>d</i>) δ 8.04 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 7.44 – 7.38 (m, 1H), 7.29 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H), 7.18 – 7.14 (m, 1H), 7.12 – 7.07 (m, 1H), 5.60 (s, 2H), 4.34 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 2H), 3.86 – 3.79 (m, 1H), 2.06 – 1.93 (m, 2H), 1.87 – 1.79 (m, 2H), 1.57 – 1.50 (m, 2H), 1.48 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 6H), 1.34 – 1.21 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 725 [M-Cl] ⁺ .
IB-55		¹ H NMR (600 MHz, Chloroform- <i>d</i>) δ 7.75 (d, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H), 7.42 (d, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H), 7.10 (dd, <i>J</i> = 8.2, 3.1 Hz, 1H), 7.07 – 7.01 (m, 1H), 6.85 (dd, <i>J</i> = 9.0, 4.2 Hz, 1H), 5.48 (s, 2H), 4.28 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.76 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 1H), 2.07 – 1.95 (m, 2H), 1.85 (s, 2H), 1.60 – 1.51 (m, 2H), 1.43 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 6H), 1.33 – 1.22 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 721 [M-Br] ⁺ .
IB-56		¹ H NMR (600 MHz, Chloroform- <i>d</i>) δ 7.93 (s, 1H), 7.44 (d, <i>J</i> = 1.3 Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.38 (dd, <i>J</i> = 9.0, 6.9 Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 5.71 (s, 2H), 4.43 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 2.09 – 2.05 (m, 1H), 2.04 – 1.96 (m, 2H), 1.88 (brs, 2H), 1.59 – 1.53 (m, 2H), 1.46 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 2H), 1.37 – 1.32 (m, 4H), 1.31 – 1.28 (m, 4H), 1.26 – 1.21 (m, 8H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 739 [M-Cl] ⁺ .
IB-57		¹ H NMR (600 MHz, Chloroform- <i>d</i>) δ 7.80 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.40 – 7.35 (m, 1H), 7.27 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H), 7.11 – 7.05 (m, 2H), 5.64 (s, 2H), 4.35 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 2.08 – 1.96 (m, 3H), 1.84 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.58 – 1.50 (m, 2H), 1.45 – 1.39 (m, 2H), 1.33 – 1.24 (m, 12H), 1.22 – 1.20 (m, 4H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 723 [M-Cl] ⁺ .
IB-58		¹ H NMR (600 MHz, Chloroform- <i>d</i>) δ 7.57 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.22 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 1H), 7.13 (dd, <i>J</i> = 8.2, 3.1 Hz, 1H), 7.07 – 7.02 (m, 1H), 6.84 (dd, <i>J</i> = 9.0, 4.3 Hz, 1H), 5.49 (s, 2H), 4.32 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.06 – 1.96 (m, 3H), 1.90 – 1.83 (m, 2H), 1.60 – 1.52 (m, 2H), 1.41 – 1.36 (m, 2H), 1.36 – 1.29 (m, 6H), 1.29 – 1.21 (m, 11H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 719 [M-Br] ⁺ .
IB-59		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.60 – 7.54 (m, 3H), 7.51 (dd, <i>J</i> = 8.9, 7.3 Hz, 1H), 7.13 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H), 5.65 (s, 2H), 4.21 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 2.82 (s, 3H), 2.14 (tt, <i>J</i> = 18.7, 8.0 Hz, 2H), 1.84 (p, <i>J</i> = 7.0 Hz, 2H), 1.60 (p, <i>J</i> = 8.0 Hz, 2H), 1.45 – 1.29 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 663 [M-HSO ₄] ⁺ .
IB-60		¹ H NMR (600 MHz, Methanol- <i>d</i> ₄) δ 7.60 – 7.55 (m, 3H), 7.51 (dd, <i>J</i> = 8.8, 7.3 Hz, 1H), 7.13 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H), 5.66 (s, 2H), 4.22 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 2.82 (s, 3H), 2.14 (tt, <i>J</i> = 18.8, 8.0 Hz, 2H), 1.84 (p, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 1.60 (p, <i>J</i> = 7.8 Hz, 2H), 1.45 – 1.28 (m, 14H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 663 [M-1/2SO ₄] ⁺ .

试验例

生物活性测试:

5 一. 细胞水平 AMPK 活性测试

10 化合物在小鼠胚胎成纤维细胞 (mouse embryonic fibroblasts, MEFs) 中激活 AMPK 能力的测试, 具体可以通过免疫印迹 (western blot) 的方法检测 AMPK 第 172 位苏氨酸的磷酸化水平 (p-AMPK α) 以及 AMPK 的底物 ACC1/ACC2 第 79 位丝氨酸的磷酸化水平 (p-ACC) 实现 (图 1 和表一)。

具体方法如下:

15 (1) 将带有 loxP 插入序列的或者野生型的 MEFs 铺到六孔板中, 培养在含有 10% 血清的 DMEM 中。若此时需要敲除某个基因, 则应在相应的带有 loxP 插入序列的 MEFs 密度达到 30% 左右时向培养孔中加入能够表达 cre 的腺病毒, 再培养 24 小时以上;

20 (2) 当细胞密度接近 90% 时, 给细胞换上新鲜的 DMEM, 同时向细胞中加入化合物 (终浓度 10 nM) 培养 2 小时, 用等体积 DMSO 作为阴性对照, 并用添加了 AICAR (3 mM) 处理处理的细胞作为阳性对照;

(3) 吸掉培养液, 用 200 μ L 细胞裂解液 (配方附后) 裂解细胞, 将细胞从培养皿中刮下, 超声破碎, 以 20000 g 低温离心 10 分钟;

25 (4) 将上清与等体积 2* SDS 溶液 (配方附后) 混合, 跑浓度为 8% 的 SDS-PAGE, 之后将蛋白转至 PVDF 膜上, 每张 PVDF 膜用 25 mL 脱脂牛奶封闭 1 小时, 再之后用 TBST 缓冲液 (配方附后) 漂洗 3 次, 每次 10 分钟;

(5) 将 AMPK α 亚基一抗 (Cell Signaling Technology, #2532)、AMPK 第 172 位苏氨酸磷酸化一抗 (Cell Signaling Technology, #2535)、ACC 一抗 (Cell Signaling Technology, #3662)、ACC 第 79 位丝氨酸磷酸化一抗 (Cell Signaling Technology, #3661) 按 1: 1000 稀释到一抗稀释液 (配方附后) 中, 与 PVDF 膜室温反应 12 小时, 并用 TBST 缓冲液漂洗 3 次;

30 (6) 加入 1: 1000 稀释的 HRP 偶联的山羊抗兔的二抗 (Jackson ImmunoResearch, 111-035-003), 室温反应 1 小时, 并用 TBST 缓冲液漂洗 3 次;

(7) 将 PVDF 膜擦干, 在 ECL 混合液 (WesternBright ECL HRP substrate, Advansta) 中反应并用医用 X-射线胶片曝光、显色, 最后冲洗、烘干, 再扫描得到 AMPK 激活的相关数据。

所用试剂配方:

35 细胞裂解液: 20 mM Tris-base, pH 7.5, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 2.5 mM 焦磷酸钠 (Sodium pyrophosphate), 1 mM β -甘油磷酸 (β -glycerolphosphate), 1% Triton X-100 (v/v);

2*SDS 溶液: 20% 甘油 (Glycerol) (v/v), 4% SDS (m/v), 10% β -巯基乙醇 (β -mecaptoethanol) (v/v), 0.01% 溴酚蓝 (Bromophenol blue) (m/v);

40 TBST 缓冲液: 4.84% Tris-base (m/v), 8% NaCl (m/v), 0.1% Tween-20 (v/v);

一抗稀释液: 含有 5% BSA (v/v) 的 TBST 缓冲液

表一、化合物在 MEF 细胞中激活 AMPK 的能力

化 合 物 编 号	AMPK 激活程度 ^a		化 合 物 编 号	AMPK 激活程度 ^a	
	p-AMPK α /AMPK	p-ACC/ACC		p-AMPK α /AMPK	p-ACC/ACC
IA-1	1.01	0.42	IB-23	0.49	1.50
IA-2	1.00	0.73	IB-24	0.64	1.60
IA-3	0.69	0.83	IB-25	0.58	1.10
IB-1	0.99	0.71	IB-26	0.94	1.04
IB-2	1.45	0.82	IB-27	0.95	1.06
IB-3	1.70	0.64	IB-29	0.76	0.81

IB-4	1.66	0.80	IB-33	0.54	0.94
IB-5	1.85	0.70	IB-34	0.98	0.63
IB-7	1.93	0.87	IB-35	1.02	1.15
IB-8	1.23	0.90	IB-38	2.06	1.34
IB-9	1.07	0.27	IB-39	1.50	1.51
IB-10	1.94	0.35	IB-40	1.06	1.65
IB-11	1.11	0.41	IB-41	0.94	1.49
IB-12	1.18	0.50	IB-42	1.03	1.50
IB-13	1.31	0.57	IB-44	0.59	1.56
IB-14	1.57	0.50	IB-45	0.54	2.22
IB-16	2.28	0.77	IB-46	0.57	1.73
IB-17	1.42	0.72	IB-50	0.65	1.09
IB-18	1.45	0.65	IB-52	0.83	0.98
IB-20	1.22	0.82	IB-53	0.76	1.23
IB-21	0.35	1.73	IB-55	0.87	1.98
IB-22	0.44	1.08	IB-56	0.85	0.99
IB-59	0.98	1.04	IB-60	0.94	1.01

^a化合物在 MEF 细胞中激活 AMPK 的程度，以化合物（10 nM）相对于阳性对照 AICAR（3 mM）处理后的 p-AMPK α /AMPK α 和 p-ACC/ACC 的比值的倍数表示（采用 Image J 对条带的相应亮度进行定量分析），具体见图 1。

5

二. 肝微粒体稳定性测试

实验步骤:

1. 工作液的配制

10

1.1 中间液: 从 10 mM 样品或对照品的母液中取出 5 μ L, 加 495 μ L 甲醇稀释 (Conc.: 100 μ M, 99%MeOH)。

1.2 工作液: 从以上中间液中取出 50 μ L, 加 450 μ L 100 mM 的磷酸钾缓冲液稀释 (Conc.: 10 μ M, 9.9%MeOH)。

2. NADPH 辅因子的配制

15

称取适量的 NADPH 粉末，用 MgCl₂ (10 mM)溶液溶解。

3. 肝微粒体

3.1 肝微粒体信息

肝微粒体	产品信息	来源	缩写
人	Cat No.452117	Corning	HLM
	Lot No.38292		
比格犬 (Beagle dog)	Cat No. D1000	Xenotech	DLM
	Lot No. 1310086		

20

3.2 配制: 用 100 mM 的磷酸钾缓冲液配制适当浓度的微粒体工作液。

4. 停止液

冰乙醇，其中含有 100 ng/mL 甲苯磺丁脲 (Tolbutamide) 和 100 ng/mL 拉贝洛尔 (Labetalol) 作为内标。

25

5. 实验过程

5.1 除空白组以外，往所有板中 (T0, T5, T10, T20, T30, T60, NCF60) 加入 10 μ L 样品或对照品工作液/孔;

5.2 往所有板中再加入 80 μ L 微粒体工作液/孔, 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min;

5.3 往 NCF60 中加入 10 μ L 100 mM 得到磷酸钾缓冲液/孔, 37 $^{\circ}$ C 孵育, 启动 timer 1;

时间点	开始时间	结束时间
NCF60	1:00:00	0:00:00

5.4 经过预热后, 往每个板中加入 10 μ L NADPH/孔开始反应;
孵育培养基中每种成分的最终浓度:

成分	最终浓度
微粒体	0.5 mg 蛋白质/mL
测试化合物	1 μ M
对照	1 μ M
MeOH	0.99%
DMSO	0.01%

5 5.5 37 $^{\circ}$ C 孵育, 启动 timer 1;

时间点	开始时间	结束时间
空白	1:00:00	0:00:00
T60	1:00:00	0:00:00
T30	0:30:00	0:00:00
T20	0:20:00	0:00:00
T10	0:10:00	0:00:00
T5	0:05:00	0:00:00

T0 首先添加终止溶液, 然后添加微粒体溶液和 NADPH 工作溶液

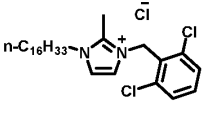
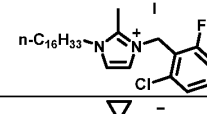
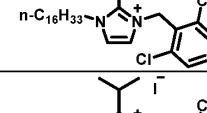
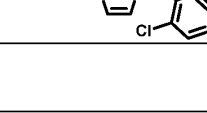
5.6 加 300 μ L/孔停止液终止反应;

5.7 体系震荡大约 10 min;

5.8 样品在 4 $^{\circ}$ C 下离心 (4000 rpm) 20 min;

5.9 取 8 个新 96 孔板, 加 300 μ L HPLC 水/孔, 然后加入 100 μ L 上清液, 混合后做

10 LC/MS/MS.

无氟取代化合物			氟取代化合物		
ID	HLM 0.5 $T_{1/2}$ (min)	DLM 0.5 $T_{1/2}$ (min)	ID	HLM 0.5 $T_{1/2}$ (min)	DLM 0.5 $T_{1/2}$ (min)
LXY-Cl 	53.7	33.7	1A-1	22.3	8.5
	33.2	47.2	IB-34	191.6	110.0
	38.2	38.2	IB-44	93.0	126.8
	47.9	36.9	IB-41	85.3	79.7
			IB-4	>145	>145
			IB-16	>145	>145

			IB-33	>145	>145
			IB-38	>145	>145
			IB-50	>145	122.2

在上表中, HLM 0.5 $T_{1/2}$ (min) 是指化合物在人肝微粒体中的半衰期(分钟), DLM 0.5 $T_{1/2}$ (min) 是指化合物在比格犬肝微粒体中的半衰期(分钟)。

5

三. 肝细胞代谢测试

实验操作: 待测样(浓度 10 μM)或阳性对照(浓度 30 μM)与各种属肝细胞(细胞密度 1.0×10^6 cells/mL)在 37 °C/5%CO₂/饱和湿度条件下共孵育 120 min。样品用含 0.1% 甲酸的乙腈溶液按 1:2 的比例沉淀蛋白后离心, 上清液用氮气吹干。吹干后用 200 μL 的 10% 乙腈/水(含 0.1% 甲酸)溶液复溶。每次进样 15 μL 到 LC-MS 仪器系统进行分析。

10

LXY-Cl 在人肝细胞中检测到的可能的代谢产物

代谢物 编号	[M - Cl] ⁺ m/z	保留时间 (min)	相对丰度(质 谱峰面积%)	代谢途径
M1	327.07	3.58	6.64	氧化脱烷基(P - C ₁₂ H ₂₆ + 2O)
M2	341.08	3.85	0.85	氧化脱烷基(P - C ₁₁ H ₂₄ + 2O)
M3	355.10	4.23	29.31	氧化脱烷基(P - C ₁₀ H ₂₂ + 2O)
M4	427.16	4.51	0.13	氧化脱烷基和单氧化(P - C ₆ H ₁₄ + 2O + O)
M5	369.11	4.66	2.09	氧化脱烷基(P - C ₉ H ₂₀ + 2O)
M7	383.13	5.13	19.24	氧化脱烷基(P - C ₈ H ₁₈ + 2O)
M8	468.18	5.27	1.22	氧化脱烷基和甘氨酸结合(P - C ₆ H ₁₄ + 2O + C ₂ H ₃ NO)
M9	455.19	5.30	0.22	氧化脱烷基和单氧化(P - C ₄ H ₁₀ + 2O + O)
M10	397.14	5.58	1.18	氧化脱烷基(P - C ₇ H ₁₆ + 2O)
M11	483.22	5.98	0.16	氧化脱烷基和单氧化(P - C ₂ H ₆ + 2O + O)
M12	483.22	6.03	0.19	氧化脱烷基和单氧化(P - C ₂ H ₆ + 2O + O)
M13	411.16	6.04	15.15	氧化脱烷基(P - C ₆ H ₁₄ + 2O)
M14	483.22	6.13	0.21	氧化脱烷基和单氧化(P - C ₂ H ₆ + 2O + O)
M15	481.20	6.21	0.21	氧化脱烷基、单氧化和脱氢(P - C ₂ H ₆ + 2O + O - 2H)
M16	481.20	6.28	0.17	氧化脱烷基、单氧化和脱氢(P - C ₂ H ₆ + 2O + O - 2H)
M17	425.18	6.50	0.61	氧化脱烷基(P - C ₅ H ₁₂ + 2O)
M18	511.25	6.75	0.35	氧化(P + 2O - 2H + O)
M19	439.19	6.95	0.71	氧化脱烷基(P - C ₄ H ₁₀ + 2O)
M20	467.22	7.79	0.51	氧化脱烷基(P - C ₂ H ₆ + 2O)
LXY-Cl (母药)	465.28	10.97	20.85	NA

IB-33 在人肝细胞中检测到的可能的代谢产物

代谢物 编号	[M - Cl] ⁺ m/z	保留 时间 (min)	相对丰度 (质谱峰面 积%)	质谱峰 面积	代谢途径
M1	441.17	5.53	1.73	2845.8	氧化脱烷基和单氧化(P + 3O -

C₅HF₁₁)

M2	411.16	5.98	2.71	4466.2	氧化脱烷基 (P + 2O - C ₆ H ₃ F ₁₁)
M3	425.18	6.44	1.38	2281.3	氧化脱烷基 (P + 2O - C ₅ HF ₁₁)
M4	641.15	10.10	7.80	12850.1	脱氟化氢和脱氢 (P - HF - 2H)
M5	661.16	10.17	7.06	11635.1	脱氢 (P - 2H)
IB-33 (母药)	663.18	10.41	79.31	130654.0	不适用

基于上述肝微粒体稳定性和肝细胞代谢结果表明,含氟取代的化合物其代谢稳定性显著提高。

四. 化合物 IB-33 体内药效评价

5 化合物 IB-33 通过皮下注射 (s.c.) 给药,在高脂喂养的肥胖小鼠模型中能有效降低体重,改善肝脏的脂肪累积水平。检测给药后小鼠的体重 (图 4)、肝切片的形态 (图 5) 表明 IB-具有很好的减重和治疗脂肪肝的效果。通过免疫印迹 (western blot) 的方法检测 AMPK 第 172 位苏氨酸的磷酸化水平以及 AMPK 的底物 ACC1/ACC2 第 79 位丝氨酸的磷酸化水平表明 IB-33 在小鼠体内能有效激活 AMPK (图 6)。

10 具体方法如下:

(1) 6 周的野生型 C57BL/6J 雄鼠进行 60%脂肪的高脂喂养,10 周后体重达到 50 g 左右,开始进行给药处理,给药期间保持高脂饮食。

(2) 每天下午 5 点称量小鼠体重,按 0.05、0.15、0.3 mg/kg 的浓度给小鼠皮下注射 (s.c.) 给药 IB-33,每两天一次,并按相同比例皮下注射给药 vehicle。

15 (3) 连续喂饲 90 天,每天称取其重量并做记录,在第 90 天对一部分小鼠进行安乐死,取肝脏,固定,切片,HE 染色之后直接观察其组织学特征。

(4) 给药 90 天后,将一部分小鼠断颈处死,迅速取出小鼠肝脏装入 1.5 mL 管中放入液氮淬灭。

20 (5) 切取 50 mg 左右肝脏,并按照 1 mg/ μ L 的比例加入细胞裂解液 (配方附后),匀浆并超声破碎,以 20000 g 低温离心 10 分钟。

(6) 将上清与等体积 2% SDS 溶液 (配方附后) 混合,跑浓度为 8% 的 SDS-PAGE,之后将蛋白转至 PVDF 膜上,每张 PVDF 膜用 25 mL 脱脂牛奶封闭 1 小时,再之后用 TBST 缓冲液 (配方附后) 漂洗 3 次,每次 10 分钟;

25 (7) 将 AMPK α 亚基一抗 (Cell Signaling Technology, #2532)、AMPK 第 172 位苏氨酸磷酸化一抗 (Cell Signaling Technology, #2535)、ACC 一抗 (Cell Signaling Technology, #3662)、ACC 第 79 位丝氨酸磷酸化一抗 (Cell Signaling Technology, #3661) 按 1:1000 稀释到一抗稀释液 (配方附后) 中,与 PVDF 膜室温反应 12 小时,并用 TBST 缓冲液漂洗 3 次;

30 (8) 加入 1:1000 稀释的 HRP 偶联的山羊抗兔的二抗 (Jackson ImmunoResearch, 111-035-003),室温反应 1 小时,并用 TBST 缓冲液漂洗 3 次;

(9) 将 PVDF 膜擦干,在 ECL 混合液 (WesternBright ECL HRP substrate, Advanta) 中反应并用医用 X-射线胶片曝光、显色,最后冲洗、烘干,再扫描得到 AMPK 激活的相关数据。

所用试剂配方:

35 细胞裂解液: 20 mM Tris-base, pH 7.5, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 2.5 mM

Sodium pyrophosphate, 1 mM β -glycerolphosphate, 1% Triton X-100 (v/v);

2*SDS 溶液: 20% Glycerol (v/v), 4% SDS (m/v), 10% β -mecaptoethanol (v/v), 0.01%

Bromophenol blue (m/v);

TBST 缓冲液: 4.84% Tris-base (m/v), 8% NaCl (m/v), 0.1% Tween-20 (v/v);

5

一抗稀释液: 含有 5% BSA (v/v) 的 TBST 缓冲液

化合物 IB-33, 在小鼠的糖耐受性试验中能有效降低血糖; 图 7 说明化合物 (IB-33) 在 ip-GTT 中能有效降糖。

10

(14) 6 周的野生型 C57BL/6J 雄鼠早晨 6:00 开始撤掉饲料空腹四小时, 测量血糖(-120 min) 并称量体重, 按照 0.2、2 mg/kg 的剂量灌胃给药 IB-33 并按相同比例灌胃给药 vehicle。

(15) 两小时后测量血糖 (0 min), 并按照 1 g/kg 的浓度给小鼠腹腔注射 20% (v/v) 葡萄糖溶液, 注射后的 20、40、60、90 min 分别测量小鼠血糖。